

(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2012-517238

(P2012-517238A)

(43) 公表日 平成24年8月2日(2012.8.2)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	2 G O 4 5
G O 1 N 33/15 (2006.01)	G O 1 N 33/15 Z	4 B O 2 4
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 M	4 B O 6 3
G O 1 N 37/00 (2006.01)	G O 1 N 37/00 I O 2	
G O 1 N 33/48 (2006.01)	G O 1 N 33/53 Y	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 165 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2011-550131 (P2011-550131)	(71) 出願人	511195459
(86) (22) 出願日	平成22年2月11日 (2010. 2. 11)		カリス エムピーアイ インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成23年10月6日 (2011. 10. 6)		アメリカ合衆国 アリゾナ州 フェニックス
(86) 国際出願番号	PCT/US2010/000407		ス ノース フィフス ストリート 4 4 5
(87) 国際公開番号	W02010/093465	(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開日	平成22年8月19日 (2010. 8. 19)		弁理士 清水 初志
(31) 優先権主張番号	61/229, 686	(74) 代理人	100102118
(32) 優先日	平成21年7月29日 (2009. 7. 29)		弁理士 春名 雅夫
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100160923
(31) 優先権主張番号	61/170, 565		弁理士 山口 裕孝
(32) 優先日	平成21年4月17日 (2009. 4. 17)	(74) 代理人	100119507
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 刑部 俊
(31) 優先権主張番号	61/151, 758		
(32) 優先日	平成21年2月11日 (2009. 2. 11)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 腫瘍の分子プロファイリング法

(57) 【要約】

本明細書において、がんなどの疾患の分子プロファイリングの方法およびシステムを提供する。いくつかの態様では、疾患に対する治療、例えばその疾患の治療として最初に同定されなかった治療、または特定の疾患の治療であると予測されなかった治療などを同定するために、分子プロファイリングを用いることができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の段階を含む、その治療を必要とする対象に対する候補治療を同定する方法：

(a) 対象由来の試料において免疫組織化学(IHC)解析を行い、少なくとも5種類のタンパク質に関するIHC発現プロファイルを決定する段階；

(b) 該試料においてマイクロアレイ解析を行い、少なくとも10種類の遺伝子に関するマイクロアレイ発現プロファイルを決定する段階；

(c) 該試料において蛍光インサイチュールハイブリダイゼーション(FISH)解析を行い、少なくとも1種類の遺伝子に関するFISH突然変異プロファイルを決定する段階；

(d) 該試料においてDNA配列決定を行い、少なくとも1種類の遺伝子に関する配列決定突然変異プロファイルを決定する段階；ならびに

(e) i. 該IHC発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種のタンパク質を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞、

ii. 該マイクロアレイ発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞、

iii. 該FISH突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1つもしくは複数の突然変異を有するがん細胞、および/または

iv. 該配列決定突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1つもしくは複数の突然変異を有するがん細胞

に対する生物活性が判明している治療についてのマッピングを含む規則データベースに対して、該IHC発現プロファイル、マイクロアレイ発現プロファイル、FISH突然変異プロファイル、および配列決定突然変異プロファイルと比較する段階；ならびに

(f) i. 段階(e)の比較によって、治療が該がんに対する生物活性を有するはずであることが示されて、かつ

ii. 段階(e)の比較によって、該がんの治療に関して該治療の禁忌が示されない場合に、候補治療を同定する段階。

【請求項2】

以下の段階を含む、その治療を必要とする対象に対する候補治療を同定する方法：

(a) 対象由来の試料において免疫組織化学(IHC)解析を行い、SPARC、PGP、Her2/neu、ER、PR、c-kit、AR、CD52、PDGFR、TOP2A、TS、ERCC1、RRM1、BCRP、TOPO1、PTEN、MGMT、およびMRP1のうち少なくとも5つに関するIHC発現プロファイルを決定する段階；

(b) 該試料においてマイクロアレイ解析を行い、ABCC1、ABCG2、ADA、AR、ASNS、BCL2、BIRC5、BRCA1、BRCA2、CD33、CD52、CDA、CES2、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、EGF1、EGFR、EPHA2、ERBB2、ERCC1、ERCC3、ESR1、FLT1、FOLR2、FYN、GART、GNRH1、GSTP1、HCK、HDAC1、HIF1A、HSP90AA1、IL2RA、HSP90AA1、KDR、KIT、LCK、LYN、MGMT、MLH1、MS4A1、MSH2、NFKB1、NFKB2、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA1、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGFA、VHL、YES1、およびZAP70のうち少なくとも5つに関するマイクロアレイ発現プロファイルを決定する段階；

(c) 該試料において蛍光インサイチュールハイブリダイゼーション(FISH)解析を行い、EGFRおよび/またはHER2に関するFISH突然変異プロファイルを決定する段階；

(d) 該試料においてDNA配列決定を行い、KRAS、BRAF、c-KIT、およびEGFRのうち少なくとも1つに関する配列決定突然変異プロファイルを決定する段階；ならびに

(e) i. 該IHC発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種のタンパク質を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞、

ii. 該マイクロアレイ発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞、

iii. 該FISH突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において

10

20

30

40

50

突然変異を有さないか、もしくは1つもしくは複数の突然変異を有するがん細胞、および/または

iv. 該配列決定突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1つもしくは複数の突然変異を有するがん細胞に対する生物活性が判明している治療についてのマッピングを含む規則データベースに対して、該IHC発現プロファイル、マイクロアレイ発現プロファイル、FISH突然変異プロファイル、および配列決定突然変異プロファイルを比較する段階；ならびに

(f) i. 段階(e)の比較によって、治療が該がんに対する生物活性を有するはずであることが示されて、かつ

ii. 段階(e)の比較によって、該がんの治療に関して該治療の禁忌が示されない場合に、候補治療を同定する段階。

10

【請求項3】

以下の段階を含む、その治療を必要とする対象のがんに対する候補治療を同定する方法：

(a) 対象由来の試料において免疫組織化学(IHC)解析を行い、SPARC、PGP、Her2/neu、ER、PR、c-kit、AR、CD52、PDGFR、TOP2A、TS、ERCC1、RRM1、BCRP、TOPO1、PTEN、MGMT、およびMRP1からなる少なくともタンパク質群に関するIHC発現プロファイルを決定する段階；

(b) 該試料においてマイクロアレイ解析を行い、ABCC1、ABCG2、ADA、AR、ASNS、BCL2、BIRC5、BRCA1、BRCA2、CD33、CD52、CDA、CES2、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、EGF1、EGFR、EPHA2、ERBB2、ERCC1、ERCC3、ESR1、FLT1、FOLR2、FYN、GART、GNRH1、GSTP1、HCK、HDAC1、HIF1A、HSP90AA1、IL2RA、HSP90AA1、KDR、KIT、LCK、LYN、MGMT、MLH1、MS4A1、MSH2、NFKB1、NFKB2、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA1、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGFA、VHL、YES1、およびZAP70からなる少なくとも遺伝子群に関するマイクロアレイ発現プロファイルを決定する段階；

20

(c) 該試料において蛍光インサイチュールハイブリダイゼーション(FISH)解析を行い、EGFRおよびHER2からなる少なくとも遺伝子群に関するFISH突然変異プロファイルを決定する段階；

30

(d) 該試料においてDNA配列決定を行い、KRAS、BRAF、c-KIT、およびEGFRからなる少なくとも遺伝子群に関する配列決定突然変異プロファイルを決定する段階；ならびに

(e) i. 該IHC発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種のタンパク質を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞、

ii. 該マイクロアレイ発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞、

iii. 該FISH突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1種以上の突然変異を有するがん細胞、および/または

iv. 該配列決定突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1種以上の突然変異を有するがん細胞に対する生物活性が判明している治療についてのマッピングを含む規則データベースに対して、該IHC発現プロファイル、マイクロアレイ発現プロファイル、FISH突然変異プロファイル、および配列決定突然変異プロファイルを比較する段階；ならびに

40

(f) i. 段階(e)の比較によって、治療が該がんに対する生物活性を有するはずであることが示されて、かつ

ii. 段階(e)の比較によって、該がんの治療に関して該治療の禁忌が示されない場合に、候補治療を同定する段階。

【請求項4】

試料が、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織、新鮮凍結(FF)組織、または核酸もしくはタンパク質分子を保存する溶液中に含まれる組織を含む、請求項1、2、または3記

50

載の方法。

【請求項 5】

マイクロアレイ解析、FISH突然変異解析、または配列決定突然変異解析のうちのいずれか1つが行われない、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 6】

試料が品質管理試験に合格している、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 7】

品質管理試験がA260/A280比またはRPL13a mRNAのRT-PCRのCt値を含む、請求項6記載の方法。

【請求項 8】

品質管理試験が、1.5より低いA260/A280比または30より高いRPL13a Ct値を含む、請求項7記載の方法。

【請求項 9】

IHC発現プロファイリングが、段階(a)に記載されるバイオマーカーの少なくとも50%、60%、70%、80%、または90%に関して行われる、請求項2記載の方法。

【請求項 10】

マイクロアレイ発現プロファイリングが、段階(b)に記載されるバイオマーカーの少なくとも50%、60%、70%、80%、または90%に関して行われる、請求項2記載の方法。

【請求項 11】

マイクロアレイ発現プロファイリングが、低密度マイクロアレイ、発現マイクロアレイ、比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)マイクロアレイ、一塩基多型(SNP)マイクロアレイ、プロテオミクスアレイ、または抗体アレイを用いて行われる、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 12】

IHC発現プロファイリングが少なくともSPARC、TOP2A、および/またはPTENに関して行われる、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 13】

マイクロアレイ発現プロファイリングが少なくともCD52に関して行われる、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 14】

IHC発現プロファイリングがさらに、DCK、EGFR、BRCA1、CK 14、CK 17、CK 5/6、E-カドヘリン、p95、PARP-1、SPARC、およびTLE3のうちの1つまたは複数を実行することからなる、請求項2記載の方法。

【請求項 15】

IHC発現プロファイリングがさらに、Cox-2および/またはKi-67を実行することからなる、請求項2記載の方法。

【請求項 16】

マイクロアレイ発現プロファイリングがさらに、HSPCAを実行することからなる、請求項2記載の方法。

【請求項 17】

FISH突然変異プロファイリングがさらに、c-Mycおよび/またはTOP2Aを実行することからなる、請求項2記載の方法。

【請求項 18】

配列決定突然変異プロファイリングがさらに、PI3Kを実行することからなる、請求項2記載の方法。

【請求項 19】

IHC発現プロファイリング、マイクロアレイ発現プロファイリング、FISH突然変異プロファイリング、および配列決定突然変異プロファイリングに用いられる遺伝子が、ABCC1、ABCG2、ACE2、ADA、ADH1C、ADH4、AGT、アンドロゲン受容体、AR、AREG、ASNS、BCL2、BCRP、BDCA1、BIRC5、B-RAF、BRCA1、BRCA2、CA2、カベオリン、CD20、CD25、CD33、CD52

10

20

30

40

50

、CDA、CDK2、CDW52、CES2、CK 14、CK 17、CK 5/6、c-KIT、c-Myc、COX-2、サイクリンD 1、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、E-カドヘリン、ECGF1、EGFR、EPHA2、エピレギユリン、ER、ERBR2、ERCC1、ERCC3、EREG、ESR1、FLT1、葉酸受容体、FOLR1、FOLR2、FSH B、FSHPRH1、FSHR、FYN、GART、GNRH1、GNRHR1、GSTP1、HCK、HDAC1、Her2/Neu、HGF、HIF1A、HIG1、HSP90、HSP90AA1、HSPCA、IL13RA1、IL2RA、KDR、KIT、K-RAS、LCK、LTB、リンホトキシン 受容体、LYN、MGMT、MLH1、MRP1、MS4A1、MSH2、Myc、NFKB1、NFKB2、NFKBIA、ODC1、OGFR、p53、p95、PARP-1、PDGFC、PDGFR、PDGFRA、PDGFRB、PGP、PGR、PI3K、POLA、POLA1、PPARG、PPARGC1、PR、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SPARC MC、SPARC PC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、サバイピン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TOPO1、TOPO2B、トポイソメラーゼII、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、およびZAP70のうちの1つまたは複数を独立して含む、請求項1記載の方法。

10

【請求項 2 0】

IHC発現プロファイリングが、SPARC、PGP、Her2/neu、ER、PR、c-kit、AR、CD52、PDGFR、TOP2A、TS、ERCC1、RRM1、BCRP、TOPO1、PTEN、MGMT、およびMRP1のうちの1つまたは複数をアッセイすることを含む、請求項1記載の方法。

【請求項 2 1】

マイクロアレイ発現プロファイリングが、ABCC1、ABCG2、ADA、AR、ASNS、BCL2、BIRC5、BRCA1、BRCA2、CD33、CD52、CDA、CES2、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、ECGF1、EGFR、EPHA2、ERBB2、ERCC1、ERCC3、ESR1、FLT1、FOLR2、FYN、GART、GNRH1、GSTP1、HCK、HDAC1、HIF1A、HSP90AA1、IL2RA、HSP90AA1、KDR、KIT、LCK、LYN、MGMT、MLH1、MS4A1、MSH2、NFKB1、NFKB2、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA1、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGFA、VHL、YES1、およびZAP70のうちの1つまたは複数をアッセイすることを含む、請求項1記載の方法。

20

【請求項 2 2】

FISH突然変異プロファイリングが、EGFRおよび/またはHER2をアッセイすることを含む、請求項1記載の方法。

【請求項 2 3】

配列決定突然変異プロファイリングが、KRAS、BRAF、c-KIT、およびEGFRのうちの1つまたは複数をアッセイすることを含む、請求項1記載の方法。

30

【請求項 2 4】

マイクロアレイ発現解析が、遺伝子が参照と比べて統計的有意性をもって上方制御されるかまたは下方制御されるかを同定することを含む、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 2 5】

統計的有意性が、0.05、0.01、0.005、0.001、0.0005、または0.0001以下のp値で判定される、請求項24記載の方法。

【請求項 2 6】

p値が多重比較に関して補正される、請求項25記載の方法。

【請求項 2 7】

多重比較の補正がボンフェローニ補正またはその改良法を含む、請求項26記載の方法。

40

【請求項 2 8】

IHC解析が、試料の30%またはそれ以上が+2またはそれ以上の染色強度であるかどうかを判定することを含む、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 2 9】

規則データベースが、表1および/または表2に記載される規則を含む、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 3 0】

規則データベース内に含まれる規則が、標的遺伝子または遺伝子産物に特有の様々な治療の有効性に基づいている、請求項1、2、または3記載の方法。

50

【請求項 3 1】

候補治療の優先順位リストが同定される、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 3 2】

優先順位づけが、マイクロアレイ解析、およびIHC解析またはFISH解析のいずれかに基づく治療；マイクロアレイ解析ではなく、IHC解析に基づく治療；ならびにIHC解析ではなく、マイクロアレイ解析に基づく治療に則して、優先順位の高いものから優先順位の低いものへと治療を順序づけることを含む、請求項31記載の方法。

【請求項 3 3】

治療が1つまたは複数の候補治療薬の投与を含む、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 3 4】

1つまたは複数の候補治療薬が、5-フルオロウラシル、アパレリックス、アレムツズマブ、アミノグルテチミド、アナストラゾール(Anastrozole)、アロマターゼ阻害薬(アナストラゾール、レトロゾール)、アスパラギナーゼ、アスピリン、ATRA、アザシチジン、ベバシズマブ、ベキサロテン、ピカルタミド、ボルテゾミブ、カルシトリオール、カペシタピン、カルボプラチン、セレコキシブ、セツキシマブ、化学内分泌療法、コレカルシフェロール、シスプラチン、カルボプラチン、シクロホスファミド、シクロホスファミド/ビンクリスチン、シタラピン、ダサチニブ、デシタピン、ドキシソルピシン、エビルピシン、エビルピシン、エルロチニブ、エトポシド、エキセメスタン、フルオロピリミジン、フルタミド、フルベストラント、ゲフィチニブ、ゲフィチニブおよびトラスツズマブ、ゲムシタピン、ゴナドレリン、ゴセレリン、ヒドロキシウレア、イマチニブ、イリノテカン、イクサベピロン、ラパチニブ、レトロゾール、リュープロリド、リボソームドキシソルピシン、メドロキシプロゲステロン、メゲストロール、メトトレキサート、マイトマイシン、nab-パクリタキセル、オクトレオチド、オキサリプラチン、パクリタキセル、パニツムマブ、ペグアスパルガーゼ、ペメトレキセド、ペントスタチン、ソラフェニブ、スニチニブ、タモキシフェン、タモキシフェンに基づく治療、テモゾロミド、トポテカン、トレミフェン、トラスツズマブ、VBMCP/シクロホスファミド、ビンクリスチン、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項33記載の方法。

【請求項 3 5】

1つまたは複数の候補治療薬が、5FU、ベバシズマブ、カペシタピン、セツキシマブ、セツキシマブ+ゲムシタピン、セツキシマブ+イリノテカン、シクロホスファミド、ジエチルスチベステロール(diethylstilbestrol)、ドキシソルピシン、エルロチニブ、エトポシド、エキセメスタン、フルオロピリミジン、ゲムシタピン、ゲムシタピン+エトポシド、ゲムシタピン+ペメトレキセド、イリノテカン、イリノテカン+ソラフェニブ、ラパチニブ、ラパチニブ+タモキシフェン、レトロゾール、レトロゾール+カペシタピン、マイトマイシン、nab-パクリタキセル、nab-パクリタキセル+ゲムシタピン、nab-パクリタキセル+トラスツズマブ、オキサリプラチン、オキサリプラチン+5FU+トラスツズマブ、パニツムマブ、ペメトレキセド、ソラフェニブ、スニチニブ、スニチニブ、スニチニブ+マイトマイシン、タモキシフェン、テモゾロミド、テモゾロミド+ベバシズマブ、テモゾロミド+ソラフェニブ、トラスツズマブ、ビンクリスチン、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項33記載の方法。

【請求項 3 6】

試料ががん細胞を含む、請求項1または2記載の方法。

【請求項 3 7】

対象が、がんを治療するための1つまたは複数の治療薬で以前に治療を受けている、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 3 8】

対象が、段階(f)で同定された1つまたは複数の候補治療薬で以前に治療を受けていない、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項 3 9】

がんが転移性がんを含む、請求項1、2、または3記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項40】

がんが以前の治療に対して難治性である、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項41】

以前の治療ががんの標準ケアを含む、請求項40記載の方法。

【請求項42】

がんが、前立腺癌、肺癌、黒色腫、小細胞癌(食道/後腹膜)、胆管癌、中皮腫、頭頸部癌(SCC)、膵癌、膵臓神経内分泌癌、小細胞癌、胃癌、腹膜偽粘液腫、肛門管癌(SCC)、腔癌(SCC)、子宮頸癌、腎癌、エクリン汗腺腺癌、唾液腺腺癌、子宮軟部組織肉腫(子宮)、GIST(胃)、または甲状腺未分化癌を含む、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項43】

がんが、副鼻腔(accessory, sinuses)、中耳、および内耳、副腎、虫垂、造血系、骨および関節、脊髄、乳房、小脳、子宮頸部、結合軟部組織、子宮体、食道、眼、鼻、眼球、卵管、肝外胆管、口腔、肝内胆管、腎臓、虫垂-結腸、喉頭、口唇、肝臓、肺および気管支、リンパ節、大脳、脊髄、鼻軟骨、網膜、眼、中咽頭、内分泌腺、女性生殖器、卵巣、膵臓、陰茎および陰嚢、脳下垂体、胸膜、前立腺、直腸 腎盂、尿管、腹膜、唾液腺、皮膚、小腸、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、未知、膀胱、子宮、腔、陰唇、ならびに外陰のがんを含む、請求項1、2、または3記載の方法。

10

【請求項44】

試料が、脂肪、副腎皮質、副腎、副腎-髄質、虫垂、膀胱、血液、血管、骨、骨軟骨、脳、乳房、軟骨、子宮頸部、結腸、S状結腸、樹状細胞、骨格筋、子宮内膜、食道、卵管、線維芽細胞、胆嚢、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節、メラニン細胞、中皮内層、筋上皮細胞、骨芽細胞、卵巣、膵臓、耳下腺、前立腺、唾液腺、副鼻腔組織、骨格筋、皮膚、小腸、平滑筋、胃、滑膜、関節内層組織(joint lining tissue)、腱、精巣、胸腺、甲状腺、子宮、および子宮体からなる群より選択される細胞を含む、請求項1、2、または3記載の方法。

20

【請求項45】

がんが、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、肺癌、非小細胞肺癌、胆管癌、中皮腫、汗腺癌、またはGIST癌を含む、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項46】

対象の無進行生存期間(PFS)または無病生存期間(DFS)が延長される、請求項1、2、または3記載の方法。

30

【請求項47】

PFSまたはDFSが、以前の治療と比較して少なくとも約10%、約15%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、または少なくとも約100%延長される、請求項46記載の方法。

【請求項48】

候補治療の選択により対象の寿命が延長される、請求項1、2、または3記載の方法。

【請求項49】

患者の寿命が、少なくとも1週間、2週間、3週間、4週間、1ヶ月、5週間、6週間、7週間、8週間、2ヶ月、9週間、10週間、11週間、12週間、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、12ヶ月、13ヶ月、14ヶ月、15ヶ月、16ヶ月、17ヶ月、18ヶ月、19ヶ月、20ヶ月、21ヶ月、22ヶ月、23ヶ月、24ヶ月、2年、2年半、3年、4年、または少なくとも5年延長される、請求項48記載の方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

本出願は、2009年2月11日に出願された米国仮特許出願第61/151,758号；2009年4月17日に出願された米国仮特許出願第61/170,565号、および2009年7月29日に出願された米国仮特許出願第61/229,686号の恩典を主張し、これらの出願はすべて、全体として参照により

50

本明細書に組み入れられる。

【背景技術】

【0002】

背景

患者の病態は典型的に、臨床に基づく基準を基にして選択される治療計画または治療法で治療される；すなわち、患者が特定の疾患であると診断されたという判定に基づいて(その診断は、古典的な診断アッセイからなされたものである)、該患者に対して治療法または治療計画が選択される。様々な病態の背後にある分子機構は長年にわたり研究の課題であったが、罹患個体に対する治療計画および治療法の決定における該個体の分子プロファイルの具体的適用は、疾患特異的であり、かつ広く推進されてこなかった。

10

【0003】

いくつかの治療計画は、医師による所見(例えば国際疾病分類によるコード、およびそのようなコードが決定された日付など)、臨床検査結果、X線、生検結果、患者による説明、および特定の疾患において診断を下すために医師が典型的に信頼している任意の他の医学的情報などの患者の臨床的特徴づけと、分子プロファイリングを併用して決定されている。しかしながら、いくつかの治療計画は、特定の種類の病態を治療することと関連しているにもかかわらず、異なる病態に対しても功を奏する場合があるため、治療計画または治療法を決定するために、分子プロファイリングおよび臨床的特徴づけに基づいて選択材料の組み合わせを用いることは(特定の種類のがんの診断など)、特定の個体に対して有効な治療計画が見過ごされ得るというリスクがある。

20

【0004】

難治性でかつ転移性のがんを有する患者は、治療を行う医師にとって特に関心が高い。転移性がん患者の大部分は、最終的にそれらの腫瘍に対する治療選択肢が尽きてしまう。それらの腫瘍に対して標準的な一次および二次(および場合によっては、三次およびそれ以上)治療が進められた後、これらの患者にはごく限られた選択肢しかない。これらの患者は新規抗がん剤の第I相および第II相臨床試験に参加することもできるが、通常それに参加するためには非常に厳格な適格性基準を満たさなければならない。患者がこのような種類の治験に参加した場合、新規抗がん剤は、第I相設定における平均5%~10%から第II相設定における12%という範囲の奏効率をもたらし得るということが、研究によって示されている。これらの患者はまた、それらの症状を治療するための最良の支持療法を受けるように選択するという選択肢を有する。

30

【0005】

近年、細胞表面受容体または上方制御もしくは増幅された遺伝子産物をより一層標的化する新規抗がん剤の開発に対する関心が急増している。このアプローチはいくらかの成功を収めている(例えば、乳癌細胞におけるHER2/neuに対するトラスツズマブ、リンパ腫細胞におけるCD20に対するリツキシマブ、VEGFに対するベバシザマブ(bevacizumab)、およびEGFRに対するセツキシマブ)。しかしながら、患者の腫瘍は、これらの治療法においてもやはり最終的には進行する。より多くの標的または分子知見、例えば分子機構、遺伝子、遺伝子発現タンパク質、および/もしくはそれらの組み合わせなどが患者の腫瘍において測定されれば、特定の治療薬を使用することによって利用され得るさらなる標的または分子知見を見出せる可能性がある。複数の標的または根底にある機構を処置し得る複数の薬剤を同定することによって、既存の治療計画の実行可能な代替治療法ががん患者に提供される。

40

【0006】

分子プロファイリング解析によって、より情報に基づき、かつより効果的な個別化された治療選択肢をしばしば推進する1つまたは複数の個別プロファイルが同定され、該治療選択肢により患者ケアの向上および治療成績の改善がもたらされ得る。本発明は、個体由来の試料の分子プロファイリングを行うことにより、これらの個体に対する治療を同定する方法およびシステムを提供する。

【発明の概要】

50

【 0 0 0 7 】

本発明は、分子プロファイリングを行い、分子プロファイリングによる結果を用いて、個体に対する治療を同定する方法およびシステムを提供する。いくつかの態様において、該治療は、その疾患の治療として最初に同定されなかったものである。

【 0 0 0 8 】

1つの局面において、本発明は、対象由来の試料において免疫組織化学(IHC)解析を行い、少なくとも5種類のタンパク質に関するIHC発現プロファイルを決定する段階；該試料においてマイクロアレイ解析を行い、少なくとも10種類の遺伝子に関するマイクロアレイ発現プロファイルを決定する段階；該試料において蛍光インサイチュウハイブリダイゼーション(FISH)解析を行い、少なくとも1種類の遺伝子に関するFISH突然変異プロファイルを決

10 定する段階；該試料においてDNA配列決定を行い、少なくとも1種類の遺伝子に関する配列決定突然変異プロファイルを決定する段階；ならびに該IHC発現プロファイル、マイクロアレイ発現プロファイル、FISH突然変異プロファイル、および配列決定突然変異プロファイルを規則データベースに対して比較する段階を含む、その治療を必要とする対象に対する候補治療を同定する方法を提供する。該規則データベースは、i) 該IHC発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種のタンパク質を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞；ii) 該マイクロアレイ発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞；iii) 該FISH突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1つもしくは複数の突然変異を有するがん細胞；および/またはiv) 該配列決定突然変異プロファイル中

20 に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1つもしくは複数の突然変異を有するがん細胞に対する生物活性が判明している治療についてのマッピングを含む。候補治療は、i) 前記比較段階によって、該治療が該がんに対する生物活性を有するはずであることが示されて；かつii) 前記比較段階によって、該がんの治療に関して該治療の禁忌が示されない場合に同定される。

【 0 0 0 9 】

いくつかの態様において、IHC発現プロファイリングは、SPARC、PGP、Her2/neu、ER、PR、c-kit、AR、CD52、PDGFR、TOP2A、TS、ERCC1、RRM1、BCRP、TOPO1、PTEN、MGMT、およびMRP1のうちの1つまたは複数を実行することを含む。

【 0 0 1 0 】

いくつかの態様において、マイクロアレイ発現プロファイリングは、ABCC1、ABCG2、ADA、AR、ASNS、BCL2、BIRC5、BRCA1、BRCA2、CD33、CD52、CDA、CES2、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、ECGF1、EGFR、EPA2、ERBB2、ERCC1、ERCC3、ESR1、FLT1、FOLR2、FYN、GART、GNRH1、GSTP1、HCK、HDAC1、HIF1A、HSP90AA1、IL2RA、HSP90AA1、KDR、KIT、LCK、LYN、MGMT、MLH1、MS4A1、MSH2、NFKB1、NFKB2、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA1、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGFA、VHL、YES1、およびZAP70のうちの1つまたは複数を実行することを含む。

【 0 0 1 1 】

いくつかの態様において、FISH突然変異プロファイリングは、EGFRおよび/またはHER2を実行することを含む。

【 0 0 1 2 】

いくつかの態様において、配列決定突然変異プロファイリングは、KRAS、BRAF、c-KIT、およびEGFRのうちの1つまたは複数を実行することを含む。

【 0 0 1 3 】

別の局面において、本発明は、対象由来の試料において免疫組織化学(IHC)解析を行い、SPARC、PGP、Her2/neu、ER、PR、c-kit、AR、CD52、PDGFR、TOP2A、TS、ERCC1、RRM1、BCRP、TOPO1、PTEN、MGMT、およびMRP1のうちの少なくとも5つに関するIHC発現プロファイルを決定する段階；該試料においてマイクロアレイ解析を行い、ABCC1、ABCG2、ADA、AR、ASNS、BCL2、BIRC5、BRCA1、BRCA2、CD33、CD52、CDA、CES2、DCK、DHFR、DNMT1、DNM

10

20

30

40

50

T3A、DNMT3B、ECGF1、EGFR、EPA2、ERBB2、ERCC1、ERCC3、ESR1、FLT1、FOLR2、FYN、GART、GNRH1、GSTP1、HCK、HDAC1、HIF1A、HSP90AA1、IL2RA、HSP90AA1、KDR、KIT、LCK、LYN、MGMT、MLH1、MS4A1、MSH2、NFKB1、NFKB2、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA1、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGFA、VHL、YES1、およびZAP70のうちの少なくとも5つに関するマイクロアレイ発現プロファイルを決定する段階；該試料において蛍光インサイチューハイブリダイゼーション(FISH)解析を行い、EGFRおよび/またはHER2に関するFISH突然変異プロファイルを決定する段階；該試料においてDNA配列決定を行い、KRAS、BRAF、c-KIT、およびEGFRのうちの少なくとも1つに関する配列決定突然変異プロファイルを決定する段階；ならびに該IHC発現プロファイル、マイクロアレイ発現プロファイル、FISH突然変異プロファイル、および配列決定突然変異プロファイルを規則データベースに対して比較する段階を含む、その治療を必要とする対象に対する候補治療を同定する方法を提供する。該規則データベースは、i) 該IHC発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種のタンパク質を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞；ii) 該マイクロアレイ発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞；iii) 該FISH突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1つもしくは複数の突然変異を有するがん細胞；および/またはiv) 該配列決定突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1つもしくは複数の突然変異を有するがん細胞に対する生物活性が判明している治療についてのマッピングを含む。候補治療は、i) 前記比較段階によって、該治療が該がんに対する生物活性を有するはずであることが示されて；かつii) 前記比較段階によって、該がんの治療に関して該治療の禁忌が示されない場合に同定される。いくつかの態様において、IHC発現プロファイリングは、記載されるバイオマーカーの少なくとも50%、60%、70%、80%、または90%に関して行われる。いくつかの態様において、マイクロアレイ発現プロファイリングは、記載されるバイオマーカーの少なくとも50%、60%、70%、80%、または90%に関して行われる。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 4 】

第3の局面において、本発明は、対象由来の試料において免疫組織化学(IHC)解析を行い、SPARC、PGP、Her2/neu、ER、PR、c-kit、AR、CD52、PDGFR、TOP2A、TS、ERCC1、RRM1、BCRP、TOPO1、PTEN、MGMT、およびMRP1からなる少なくともタンパク質群に関するIHC発現プロファイルを決定する段階；該試料においてマイクロアレイ解析を行い、ABCC1、ABCG2、ADA、AR、ASNS、BCL2、BIRC5、BRCA1、BRCA2、CD33、CD52、CDA、CES2、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、ECGF1、EGFR、EPA2、ERBB2、ERCC1、ERCC3、ESR1、FLT1、FOLR2、FYN、GART、GNRH1、GSTP1、HCK、HDAC1、HIF1A、HSP90AA1、IL2RA、HSP90AA1、KDR、KIT、LCK、LYN、MGMT、MLH1、MS4A1、MSH2、NFKB1、NFKB2、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA1、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGFA、VHL、YES1、およびZAP70からなる少なくとも遺伝子群に関するマイクロアレイ発現プロファイルを決定する段階；該試料において蛍光インサイチューハイブリダイゼーション(FISH)解析を行い、EGFRおよびHER2からなる少なくとも遺伝子群に関するFISH突然変異プロファイルを決定する段階；該試料においてDNA配列決定を行い、KRAS、BRAF、c-KIT、およびEGFRからなる少なくとも遺伝子群に関する配列決定突然変異プロファイルを決定する段階；ならびに該IHC発現プロファイル、マイクロアレイ発現プロファイル、FISH突然変異プロファイル、および配列決定突然変異プロファイルを規則データベースに対して比較する段階を含む、その治療を必要とする対象のがんに対する候補治療を同定する方法を提供する。該規則データベースは、i) 該IHC発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種のタンパク質を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞；ii) 該マイクロアレイ発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子を過剰発現もしくは過小発現するがん細胞；iii) 該FISH突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数

種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1種以上の突然変異を有するがん細胞；および/またはiv) 該配列決定突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1種以上の突然変異を有するがん細胞に対する生物活性が判明している治療についてのマッピングを含む。候補治療は、i) 前記比較段階によって、該治療が該がんに対する生物活性を有するはずであることが示されて；かつii) 前記比較段階によって、該がんの治療に関して該治療の禁忌が示されない場合に同定される。

【0015】

本発明の方法のいくつかの態様において、試料は、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織、新鮮凍結(FF)組織、または核酸もしくはタンパク質分子を保存する溶液中に含まれる組織を含む。いくつかの態様において、マイクロアレイ解析、FISH突然変異解析、または配列決定突然変異解析のうちのいずれか1つは行われ得ない。例えば、試料が品質管理試験に合格しない限り、方法は実施され得ない。いくつかの態様において、品質管理試験は、A260/A280比またはRPL13a mRNAのRT-PCRのCt値を含む。例えば、品質管理試験は、1.5より低いA260/A280比または30より高いRPL13a Ct値を必要とし得る。

10

【0016】

いくつかの態様において、マイクロアレイ発現プロファイリングは、低密度マイクロアレイ、発現マイクロアレイ、比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)マイクロアレイ、一塩基多型(SNP)マイクロアレイ、プロテオミクスアレイ、または抗体アレイを用いて行われる。

20

【0017】

本発明の方法は、付加的なマーカーを含む特定のマーカーをアッセイすることを必要とし得る。いくつかの態様において、IHC発現プロファイリングは、少なくともSPARC、TOP2A、および/またはPTENに関して行われる。マイクロアレイ発現プロファイリングは、少なくともCD52に関して行われ得る。IHC発現プロファイリングはさらに、DCK、EGFR、BRCA1、CK 14、CK 17、CK 5/6、E-カドヘリン、p95、PARP-1、SPARC、およびTLE3のうちの1つまたは複数を実行することからなる。いくつかの態様において、IHC発現プロファイリングはさらに、Cox-2および/またはKi-67を実行することからなる。いくつかの態様において、マイクロアレイ発現プロファイリングはさらに、HSPCAを実行することからなる。いくつかの態様において、FISH突然変異プロファイリングはさらに、c-Mycおよび/またはTOP2Aを実行することからなる。配列決定突然変異プロファイリングは、PI3Kを実行することを含み得る。

30

【0018】

本発明の方法に従って、いくつかの遺伝子および遺伝子産物をアッセイすることができる。例えば、IHC発現プロファイリング、マイクロアレイ発現プロファイリング、FISH突然変異プロファイリング、および配列決定突然変異プロファイリングに用いられる遺伝子は、ABCC1、ABCG2、ACE2、ADA、ADH1C、ADH4、AGT、アンドロゲン受容体、AR、AREG、ASNS、BCL2、BCRP、BDCA1、BIRC5、B-RAF、BRCA1、BRCA2、CA2、カベオリン、CD20、CD25、CD33、CD52、CDA、CDK2、CDW52、CES2、CK 14、CK 17、CK 5/6、c-KIT、c-Myc、COX-2、サイクリンD1、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、E-カドヘリン、ECGF1、EGFR、EPHA2、エピレギュリン、ER、ERBR2、ERCC1、ERCC3、EREG、ESR1、FLT1、葉酸受容体、FOLR1、FOLR2、FSHB、FSHPRH1、FSHR、FYN、GART、GNRH1、GNRHR1、GSTP1、HCK、HDAC1、Her2/Neu、HGF、HIF1A、HIG1、HSP90、HSP90AA1、HSPCA、IL13RA1、IL2RA、KDR、KIT、K-RAS、LCK、LTB、リンホトキシン 受容体、LYN、MGMT、MLH1、MRP1、MS4A1、MSH2、Myc、NFKB1、NFKB2、NFKBIA、ODC1、OGFR、p53、p95、PARP-1、PDGFC、PDGFR、PDGFRA、PDGFRB、PGP、PGR、PI3K、POLA、POLA1、PPARG、PPARGC1、PR、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SPARC MC、SPARC PC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、サバイピン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TOPO1、TOPO2B、トポイソメラーゼII、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、およびZAP70のうちの1つまたは複数を実行して含む。

40

50

【0019】

いくつかの態様において、マイクロアレイ発現解析は、遺伝子が参照と比べて統計的有意性をもって上方制御されるかまたは下方制御されるかを同定することを含む。統計的有意性は、0.05、0.01、0.005、0.001、0.0005、または0.0001以下のp値で判定され得る。p値はまた、多重比較に関して補正され得る。多重比較の補正は、ボンフェローニ補正またはその改良法を含み得る。

【0020】

いくつかの態様において、IHC解析は、前記試料の30%またはそれ以上が+2またはそれ以上の染色強度であるかどうかを判定することを含む。

【0021】

本発明の方法によって用いられる規則データベース内に含まれる規則は、標的遺伝子または遺伝子産物に特有の様々な治療の有効性に基つき得る。該規則データベースは、本明細書において表1および/または表2に記載される規則を含み得る。

【0022】

本発明の方法のいくつかの態様において、候補治療の優先順位リストが同定される。優先順位づけは、マイクロアレイ解析、およびIHC解析またはFISH解析のいずれかに基づく治療；マイクロアレイ解析ではなく、IHC解析に基づく治療；ならびにIHC解析ではなく、マイクロアレイ解析に基づく治療に則して、優先順位の高いものから優先順位の低いものへと治療を順序づけることを含み得る。

【0023】

本発明の方法のいくつかの態様において、候補治療は1つまたは複数の候補治療薬の投与を含む。1つまたは複数の候補治療薬は、5-フルオロウラシル、アバレリックス、アレムツズマブ、アミノグルテチミド、アナストラゾール(Anastrozole)、アロマターゼ阻害薬(アナストラゾール、レトロゾール)、アスパラギナーゼ、アスピリン、ATRA、アザシチジン、ベバシズマブ、ベキサロテン、ピカルタミド、ボルテゾミブ、カルシトリオール、カペシタビン、カルボプラチン、セレコキシブ、セツキシマブ、化学内分泌療法、コレカルシフェロール、シスプラチン、カルボプラチン、シクロホスファミド、シクロホスファミド/ピンクリスチン、シタラビン、ダサチニブ、デシタビン、ドキシソルピシン、エピルピシン、エピルピシン、エルロチニブ、エトポシド、エキセメスタン、フルオロピリミジン、フルタミド、フルベストラント、ゲフィチニブ、ゲフィチニブおよびトラスツズマブ、ゲムシタビン、ゴナドレリン、ゴセレリン、ヒドロキシウレア、イマチニブ、イリノテカン、イクサベピロン、ラパチニブ、レトロゾール、リュープロリド、リボソームドキシソルピシン、メドロキシプロゲステロン、メゲストロール、メトトレキサート、マイトマイシン、nab-パクリタキセル、オクトレオチド、オキサリプラチン、パクリタキセル、パニツムマブ、ペグアスパルガーゼ、ペメトレキセド、ペントスタチン、ソラフェニブ、スニチニブ、タモキシフェン、タモキシフェンに基づく治療、テモゾロミド、トボテカン、トレミフェン、トラスツズマブ、VBMCP/シクロホスファミド、ピンクリスチン、またはそれらの任意の組み合わせであってよい。1つまたは複数の候補治療薬はまた、5FU、ベバシズマブ、カペシタビン、セツキシマブ、セツキシマブ+ゲムシタビン、セツキシマブ+イリノテカン、シクロホスファミド、ジエチルスチベステロール(diethylstilbestrol)、ドキシソルピシン、エルロチニブ、エトポシド、エキセメスタン、フルオロピリミジン、ゲムシタビン、ゲムシタビン+エトポシド、ゲムシタビン+ペメトレキセド、イリノテカン、イリノテカン+ソラフェニブ、ラパチニブ、ラパチニブ+タモキシフェン、レトロゾール、レトロゾール+カペシタビン、マイトマイシン、nab-パクリタキセル、nab-パクリタキセル+ゲムシタビン、nab-パクリタキセル+トラスツズマブ、オキサリプラチン、オキサリプラチン+5FU+トラスツズマブ、パニツムマブ、ペメトレキセド、ソラフェニブ、スニチニブ、スニチニブ、スニチニブ+マイトマイシン、タモキシフェン、テモゾロミド、テモゾロミド+ベバシズマブ、テモゾロミド+ソラフェニブ、トラスツズマブ、ピンクリスチン、またはそれらの任意の組み合わせであってよい。

【0024】

10

20

30

40

50

本発明の方法の態様において、試料はがん細胞を含む。がんは転移性がんであってよい。がんは、以前の治療に対して難治性であってよい。以前の治療は、がんの標準ケアであってよい。場合によっては、対象は、がんを治療するための1つまたは複数の治療薬で以前に治療を受けている。場合によっては、対象は、同定された1つまたは複数の候補治療薬で以前に治療を受けていない。

【0025】

いくつかの態様において、がんは、前立腺癌、肺癌、黒色腫、小細胞癌(食道/後腹膜)、胆管癌、中皮腫、頭頸部癌(SCC)、膵癌、膵臓神経内分泌癌、小細胞癌、胃癌、腹膜偽粘液腫、肛門管癌(SCC)、腔癌(SCC)、子宮頸癌、腎癌、エクリン汗腺腺癌、唾液腺腺癌、子宮軟部組織肉腫(子宮)、GIST(胃)、または甲状腺未分化癌を含む。いくつかの態様において、がんは、副鼻腔(accessory, sinuses)、中耳、および内耳、副腎、虫垂、造血系、骨および関節、脊髄、乳房、小脳、子宮頸部、結合軟部組織、子宮体、食道、眼、鼻、眼球、卵管、肝外胆管、口腔、肝内胆管、腎臓、虫垂-結腸、喉頭、口唇、肝臓、肺および気管支、リンパ節、大脳、脊髄、鼻軟骨、網膜、眼、中咽頭、内分泌腺、女性生殖器、卵巣、膵臓、陰茎および陰嚢、脳下垂体、胸膜、前立腺、直腸 腎盂、尿管、腹膜、唾液腺、皮膚、小腸、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、未知、膀胱、子宮、腔、陰唇、ならびに外陰のがんを含む。いくつかの態様において、試料は、脂肪、副腎皮質、副腎、副腎-髄質、虫垂、膀胱、血液、血管、骨、骨軟骨、脳、乳房、軟骨、子宮頸部、結腸、S状結腸、樹状細胞、骨格筋、子宮内膜、食道、卵管、線維芽細胞、胆嚢、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節、メラニン細胞、中皮内層、筋上皮細胞、骨芽細胞、卵巣、膵臓、耳下腺、前立腺、唾液腺、副鼻腔組織、骨格筋、皮膚、小腸、平滑筋、胃、滑膜、関節内層組織(joint lining tissue)、腱、精巣、胸腺、甲状腺、子宮、および子宮体からなる群より選択される細胞を含む。いくつかの態様において、がんは、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、肺癌、非小細胞肺癌、胆管癌、中皮腫、汗腺癌、またはGIST癌を含む。

10

20

30

【0026】

本発明の方法を用いて、対象の無進行生存期間(PFS)または無病生存期間(DFS)が延長され得る。例えば、PFSまたはDFSは、以前の治療と比較して少なくとも約10%、約15%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、または少なくとも約100%延長され得る。加えて、候補治療を選択するために本発明の方法を用いて、患者の寿命が延長され得る。例えば、患者の寿命は、少なくとも1週間、2週間、3週間、4週間、1ヶ月、5週間、6週間、7週間、8週間、2ヶ月、9週間、10週間、11週間、12週間、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、12ヶ月、13ヶ月、14ヶ月、15ヶ月、16ヶ月、17ヶ月、18ヶ月、19ヶ月、20ヶ月、21ヶ月、22ヶ月、23ヶ月、24ヶ月、2年、2年半、3年、4年、または少なくとも5年延長され得る。

【0027】

参照による組み入れ

本明細書において引用される出版物および特許出願はすべて、個々の出版物または特許出願が詳細にかつ個別に参照により組み入れられることが示されるのと同程度に、参照により本明細書に組み入れられる。

【図面の簡単な説明】

40

【0028】

本発明の特徴および利点のより良い理解は、本発明の原理が利用される例示的な態様を記載している以下の詳細な説明、および添付の図面を参照することによって得られるであろう。

【図1】疾患特異的でない、患者の生物学的検体の分子プロファイリングを利用する、特定の病態に対して個別化医学的介入を決定するためのシステムの例示的な態様のブロック図を示す。

【図2】疾患特異的でない、患者の生物学的検体の分子プロファイリングを利用する、特定の病態に対して個別化医学的介入を決定するための方法の例示的な態様のフローチャートである。

50

- 【図3A】図2の段階80による例示的な患者プロフィール報告書を示す。
- 【図3B】図2の段階80による例示的な患者プロフィール報告書を示す。
- 【図3C】図2の段階80による例示的な患者プロフィール報告書を示す。
- 【図3D】図2の段階80による例示的な患者プロフィール報告書を示す。
- 【図4】標的と相互作用し得る薬物療法/薬剤を同定するための方法の例示的な態様のフローチャートである。
- 【図5】本発明による、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分を示すフローチャートおよび図である。
- 【図6】本発明による、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分を示すフローチャートおよび図である。
- 【図7】本発明による、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分を示すフローチャートおよび図である。
- 【図8】本発明による、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分を示すフローチャートおよび図である。
- 【図9】本発明による、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分を示すフローチャートおよび図である。
- 【図10】本発明による、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分を示すフローチャートおよび図である。
- 【図11】本発明による、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分を示すフローチャートおよび図である。
- 【図12】本発明による、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分を示すフローチャートおよび図である。
- 【図13】本発明による、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分を示すフローチャートおよび図である。
- 【図14】本発明による、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分を示すフローチャートおよび図である。
- 【図15】図5~14に示される、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーン印刷出力である。
- 【図16】図5~14に示される、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーン印刷出力である。
- 【図17】図5~14に示される、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーン印刷出力である。
- 【図18】図5~14に示される、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーン印刷出力である。
- 【図19】図5~14に示される、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーン印刷出力である。
- 【図20】図5~14に示される、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーン印刷出力である。
- 【図21】図5~14に示される、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーン印刷出力である。
- 【図22】図5~14に示される、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーン印刷出力である。
- 【図23】図5~14に示される、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーン印刷出力である。
- 【図24】図5~14に示される、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーン印刷出力である。
- 【図25】図5~14に示される、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーン印刷出力である。
- 【図26A】腫瘍型による、遺伝子発現タンパク質の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

10

20

30

40

50

【図280】腫瘍型による、特定の遺伝子発現タンパク質の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図29】標的としてタグが付されたバイオマーカー(遺伝子発現タンパク質)を、図28に基づく頻度順に示す表である。

【図30A】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30B】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30C】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30D】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30E】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30F】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30G】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30H】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30I】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30J】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30K】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30L】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30M】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30N】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図30O】腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度を示す表を示す。

【図31】標的としてタグが付された遺伝子を、図30に基づく頻度順に示す表である。

【図32】分子プロファイリングによって選択された治療法を用いた無進行生存期間(PFS)(期間B)と、患者が進行を開始した際の一番最近の治療法のPFS(期間A)を示す。PFS(B)/PFS(A)比 1.3である場合に、分子プロファイリングによって選択された治療法は患者に対して有益性があると定義した。

【図33】標的が同定された場合に、分子プロファイリングによって治療を同定するための方法の模式図である。

【図34】実施例1で行われた研究における患者の分布を示す。

【図35】PFS比 1.3を有する患者が18/66(27%)であった研究の結果を示すグラフである。

【図36】ベースライン直径に対する標的病変の合計直径の最大変化%に関する全患者のウォーターフォールプロットである。

【図37】分子プロファイリング結果が何を提案したかを知る前に、臨床医が患者を治療するために使用するものとして何を選択したかの関係を示す。PFS比 1.3である患者18名について、一致は認められなかった。

【図38】PFS比 1.3である患者18名と全患者66名の全生存期間の模式図である。

【図39】マイクロアレイプロファイリング結果、およびカットオフ値を用いて作成されたコールの例示的出力を示す。

【図40A】分子プロファイリングに基づく例示的な患者報告書を示す。

【図40B】分子プロファイリングに基づく例示的な患者報告書を示す。

【図40C】分子プロファイリングに基づく例示的な患者報告書を示す。

【図40D】分子プロファイリングに基づく例示的な患者報告書を示す。

【図40E】分子プロファイリングに基づく例示的な患者報告書を示す。

【図40F】分子プロファイリングに基づく例示的な患者報告書を示す。

【図40G】分子プロファイリングに基づく例示的な患者報告書を示す。

【図40H】分子プロファイリングに基づく例示的な患者報告書を示す。

【図40I】分子プロファイリングに基づく例示的な患者報告書を示す。

【図40J】分子プロファイリングに基づく例示的な患者報告書を示す。

【発明を実施するための形態】

【0029】

発明の詳細な説明

10

20

30

40

50

本発明は、分子プロファイリングを用いることにより、治療の標的を同定するための方法およびシステムを提供する。分子プロファイリングアプローチは、がんなどの状態または疾患を有する個体の臨床経過を都合よく変更し得る候補治療を個体に対して選択するための方法を提供する。分子プロファイリングアプローチは、治療計画を選択するために従来のアプローチを用いるよりも、分子プロファイリングアプローチを用いて治療した場合に、より長い無進行生存期間(PFS)、より長い無病生存期間(DFS)、より長い全生存期間(OS)、または寿命の延長をもたらすなど、臨床的有益性を個体にもたらし得る。分子プロファイリングは、例えばがんが標準ケアに対して耐性を生じた後など、疾患が現在の治療法に対して難治性である場合に、候補治療を提案し得る。

【0030】

分子プロファイリングは、生体試料中の分子を検出するための任意の公知の手段によって行うことができる。プロファイリングは、任意の適用可能な生体試料において行うことができる。試料は典型的に、疾患または障害が疑われるかまたは判明している個体由来し、例としてがん患者由来の生検試料などがあるが、これに限定されない。試料の分子プロファイリングは、DNA配列、mRNA配列、またはタンパク質などの生物学的因子の量または状態を評価するいくつかの技法によって行うこともできる。このような技法には、非限定的に、免疫組織化学法(IHC)、インサイチューハイブリダイゼーション(ISH)、蛍光インサイチューハイブリダイゼーション(FISH)、様々な種類のマイクロアレイ(mRNA発現アレイ、タンパク質アレイ等)、様々な種類の配列決定(サンガー、ピロシーケンシング等)、比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)、次世代シーケンシング、ノーザンプロット、サザンプロット、免疫測定法、および関心対象の生体分子の存在または量をアッセイするための、開発中である任意の他の適切な技法が含まれる。これらの方法のうちのいずれか1つまたは複数、互いに同時にまたは連続して使用することができる。

【0031】

分子プロファイリングは、対象における障害に対して候補治療を選択するために用いられる。例えば、候補治療は、分子プロファイリング技法によって同定されるように遺伝子を差次的に発現する細胞に対して効果を有することが判明している治療であってよい。差次的発現は、例えば遺伝子、mRNA、またはタンパク質といった生物学的産物の、対照と比較した過剰発現および過小発現のどちらも含み得る。対照は、試料と類似しているが、疾患を含まない細胞を含み得る。対照は、例えば罹患細胞と同一器官の正常な隣接部分のように、同一患者に由来してよく、または対照は他の患者からの健常組織に由来してもよい。対照は、例えばハウスキーピング遺伝子またはその産物(例えば、mRNAまたはタンパク質)といった、同一試料中に見出される対照であってよい。例えば、対照核酸は、細胞のがん性状態または非がん性状態に応じて異なることが判明しているものであってよい。対照核酸の発現レベルを用いて、試験集団および参照集団中のシグナルレベルを正規化することができる。例示的な対照遺伝子には、例えば -アクチン、グリセルアルデヒド3-リン酸脱水素酵素、およびリボソームタンパク質P1が含まれるが、これらに限定されない。複数の対照または複数の種類の対照を用いることができる。差次的発現の原因は異なり得る。例えば、細胞において遺伝子コピー数が増加し、それによって該遺伝子の発現増加が生じる場合がある。あるいは、例えばクロマチンリモデリング、差次的メチル化、転写因子の差次的発現または活性等によって、遺伝子の転写が変更される場合がある。例えば、例えばマイクロRNAまたはsiRNAといった、mRNAを分解する因子、mRNAを翻訳する因子、または翻訳を抑制する因子の差次的発現によって、翻訳が変更される場合もある。いくつかの態様において、差次的発現は差次的活性を含む。例えば、タンパク質は、構成的活性化のように、該タンパク質の活性を増大させる突然変異を保有し、これによって罹患状態に寄与する場合がある。活性の変化を明らかにする分子プロファイリングを用いて、治療選択を導くことができる。

【0032】

分子プロファイリングによって、複数の薬物標的が差次的に発現されると明らかにされる場合には、特定の治療の選択に優先順位をつけるために、決定規則が導入され得る。例

10

20

30

40

50

えば、分子プロファイリングの直接的な結果、予測される有効性、同じまたは他の治療による前歴、予測される副作用、利用可能性、コスト、薬物間相互作用、および治療する医師により考慮される他の要因など、治療に優先順位をつけるのを助ける任意のそのような規則を用いて、治療に優先順位をつけることができる。医師は最終的に、治療過程を決定することができる。したがって、分子プロファイリングは、ある種の徴候に対して治療法を標的化するために取られる伝統的な画一的アプローチに頼るのとは対照的に、例えば腫瘍細胞のような罹患細胞の個々の特徴、および治療を必要とする対象における他の個別の要因に基づいて候補治療を選択し得る。場合によっては、推奨される治療は、対象が罹患している疾患または障害を治療するために典型的には用いられないものである。場合によっては、推奨される治療は、標準ケアがもはや適切な有効性を提供しなくなった後に用いられる。

10

【0033】

核酸は、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド、および一本鎖または二本鎖形態のそれらのポリマー、およびそれらの相補体を含む。核酸は、合成、天然、および非天然であり、参照核酸と類似の結合特性を有し、かつ参照ヌクレオチドと同様の様式で代謝される、公知のヌクレオチド類似体または修飾骨格残基もしくは結合を含み得る。このような類似体の例には、非限定的に、ホスホロチオエート、ホスホロアミダート、メチルホスホン酸、キラル-メチルホスホン酸、2-O-メチルリボヌクレオチド、ポリペプチド核酸(PNA)が含まれる。核酸配列は、明示された配列の他に、保存的に改変されたそのバリエーション(例えば、縮重コドン置換物)および相補的配列も包含し得る。具体的には、縮重コドン置換物は、1つまたは複数の選択された(またはすべての)コドンの3番目の位置を混合塩基および/またはデオキシイノシン残基で置換した配列を作製することによって得られ得る(Batzer et al., *Nucleic Acid Res.* 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608 (1985); Rossolini et al., *Mol. Cell Probes* 8:91-98 (1994))。核酸という用語は、遺伝子、cDNA、mRNA、オリゴヌクレオチド、およびポリヌクレオチドと互換的に用いられ得る。

20

【0034】

特定の核酸配列は、該特定の配列および「スプライスバリエーション」および切断型をコードする核酸配列も暗黙のうちに包含し得る。同様に、ある核酸によってコードされる特定のタンパク質は、その核酸のスプライスバリエーションまたは切断型によってコードされる任意のタンパク質を包含し得る。「スプライスバリエーション」は、その名の通り、遺伝子の選択的スプライシングの産物である。転写後に、最初の核酸転写産物は、異なる(代替的な)核酸スプライス産物が異なるポリペプチドをコードするようにスプライスされ得る。スプライスバリエーションの産生機構は様々であるが、エキソンの選択的スプライシングを含む。読み過ごし転写によって同一の核酸から導出された代替的なポリペプチドも、この定義に包含される。組換え型のスプライス産物を含むスプライス反応の任意の産物が、この定義に含まれる。核酸は5'末端または3'末端で切断され得る。ポリペプチドはN末端またはC末端で切断され得る。核酸またはポリペプチド配列の切断型は、天然に生じてよく、または組換えによって作製され得る。

30

【0035】

「遺伝子バリエーション」および「ヌクレオチドバリエーション」という用語は本明細書において互換的に用いられ、コード領域および非コード領域におけるヌクレオチド塩基の欠失、挿入、逆位、および置換を含むがこれらに限定されない、特定の座位における参照ヒト遺伝子またはcDNA配列に対する変化または変更を指す。欠失は、単一のヌクレオチド塩基、遺伝子のヌクレオチド配列のある一部もしくはある領域、または遺伝子配列全体のものであってよい。挿入は、1つまたは複数のヌクレオチド塩基のものであってよい。遺伝子バリエーションまたはヌクレオチドバリエーションは、転写調節領域、mRNAの非翻訳領域、エキソン、イントロン、エキソン/イントロン接合部等で生じ得る。遺伝子バリエーションまたはヌクレオチドバリエーションは潜在的に、終止コドン、フレームシフト、アミノ酸の欠失、遺伝子転写産物スプライス型の変化、またはアミノ酸配列の変化をもたらし得る。

40

50

【0036】

対立遺伝子または遺伝子対立遺伝子は一般に、参照配列を有する天然遺伝子または特定のヌクレオチドバリエーションを含む遺伝子を含む。

【0037】

ハプロタイプとは、個体に見出される1つの染色体上のmRNAまたはゲノムDNAのある領域における遺伝子(ヌクレオチド)バリエーションの組み合わせを指す。したがって、ハプロタイプは、典型的に単位として共に遺伝する、いくつかの遺伝的に連鎖した多型バリエーションを含む。

【0038】

本明細書において用いられる「アミノ酸バリエーション」という用語は、参照ヒトタンパク質をコードする参照ヒト遺伝子に対する遺伝子バリエーションまたはヌクレオチドバリエーションから生じた、該参照タンパク質配列に対するアミノ酸変化を指す。「アミノ酸バリエーション」という用語は、単一のアミノ酸置換のみならず、アミノ酸の欠失、挿入、および参照タンパク質におけるアミノ酸配列の他の顕著な変化を包含することが意図される。

10

【0039】

本明細書において用いられる「遺伝子型」という用語は、遺伝子(または特定の染色体領域)の一方の対立遺伝子または両方の対立遺伝子における特定のヌクレオチドバリエーション(または座位)のヌクレオチド特性を意味する。関心対象の遺伝子の特定のヌクレオチド位置に関して、一方または両方の対立遺伝子におけるその座位のヌクレオチドまたはその均等物は、その座位における該遺伝子の遺伝子型を形成する。遺伝子型は、ホモ接合性またはヘテロ接合性であってよい。したがって、「遺伝子型同定」とは、遺伝子型、すなわち特定の遺伝子座のヌクレオチドを決定することを意味する。遺伝子型同定はまた、対応するヌクレオチドバリエーションを推定するために用いられ得るタンパク質の特定の位置におけるアミノ酸バリエーションを決定することによって行うこともできる。

20

【0040】

「座位」という用語は、遺伝子配列またはタンパク質における特定の位置または部位を指す。したがって、特定の遺伝子座に1つもしくは複数の連続したヌクレオチドが存在してよく、またはポリペプチド中の特定の座位に1つもしくは複数のアミノ酸が存在してよい。さらに、座位は、1つまたは複数のヌクレオチドが欠失している、挿入されている、または逆位している遺伝子の特定の位置を指す場合もある。

30

【0041】

本明細書で用いられる「ポリペプチド」、「タンパク質」、および「ペプチド」という用語は互換的に用いられ、アミノ酸残基が共有ペプチド結合によって連結しているアミノ酸鎖を指す。アミノ酸鎖は、全長タンパク質を含め、アミノ酸が少なくとも2個の任意の長さのものであってよい。別段の規定がない限り、ポリペプチド、タンパク質、およびペプチドは、グリコシル化型、リン酸化型等を含むがこれらに限定されない、それらの様々な修飾型も包含する。ポリペプチド、タンパク質、またはペプチドは、遺伝子産物とも称され得る。

【0042】

分子プロファイリング技法によってアッセイされ得る遺伝子および遺伝子産物のリストを本明細書において示す。遺伝子のリストは、遺伝子産物(例えば、mRNAまたはタンパク質)を検出する分子プロファイリング技法と関連して示される場合もある。当業者は、このことが、記載される遺伝子の遺伝子産物の検出を意味することを理解するであろう。同様に、遺伝子産物のリストは、遺伝子配列またはコピー数を検出する分子プロファイリング技法と関連して示される場合もある。当業者は、このことが、遺伝子産物をコードするDNAを例として含む、遺伝子産物に対応する遺伝子の検出を意味することを理解するであろう。当業者に理解されるように、「バイオマーカー」または「マーカー」は、文脈に応じて遺伝子および/または遺伝子産物を含む。

40

【0043】

「標識」および「検出可能な標識」という用語は、分光学的、光化学的、生化学的、免

50

疫化学的、電気的、光学的、化学的方法、または類似の方法によって検出可能な任意の組成物を指し得る。このような標識には、標識されたストレプトアビジンコンジュゲートで染色するためのビオチン、磁気ビーズ(例えば、DYNABEADS(商標))、蛍光色素(例えば、フルオレセイン、テキサスレッド、ローダミン、緑色蛍光タンパク質等)、放射標識(例えば、 ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、または ^{32}P)、酵素(例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、およびELISAで一般的に用いられる他のもの)、およびコロイド金または着色ガラスもしくはプラスチック(例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックス等)ビーズなどの比色標識が含まれる。このような標識の使用を教示する特許には、米国特許第3,817,837号；第3,850,752号；第3,939,350号；第3,996,345号；第4,277,437号；第4,275,149号；および第4,366,241号が含まれる。このような標識を検出する手段は当業者に周知である。したがって、例えば、放射標識は感光フィルムまたはシンチレーションカウンターを用いて検出することができ、蛍光マーカは、放出された光を検出するための光検出器を用いて検出することができる。酵素標識は典型的に、酵素に基質を提供し、酵素の基質に対する作用によって産生された反応産物を検出することによって検出され、比色標識は、着色標識を単純に可視化することによって検出される。標識は、例えば、標識抗体に結合するリガンド、フルオロフォア、化学発光剤、酵素、および標識リガンドの特異的結合対メンバーとして機能し得る抗体を含み得る。標識の概論、標識手順、および標識の検出は、Polak and Van Noorden *Introduction to Immunocytochemistry*, 2nd ed., Springer Verlag, NY (1997)；およびHaugland *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*, a combined handbook and catalogue Published by Molecular Probes, Inc. (1996)に見出される。

【0044】

検出可能な標識には、ヌクレオチド(標識または非標識)、コンポマー、糖、ペプチド、タンパク質、抗体、化合物、導電性ポリマー、ビオチンなどの結合成分、質量タグ、比色剤、発光剤、化学発光剤、光散乱剤、蛍光タグ、放射性タグ、チャージタグ(電荷または磁荷)、揮発性タグおよび疎水性タグ、生体分子(例えば、結合対である抗体/抗原、抗体/抗体、抗体/抗体断片、抗体/抗体受容体、抗体/プロテインAまたはプロテインG、ハプテン/抗ハプテン、ビオチン/アビジン、ビオチン/ストレプトアビジン、葉酸/葉酸結合タンパク質、ビタミンB12/内因子、化学反応基/相補的化学反応基(例えば、スルフヒドリル/マレイミド、スルフヒドリル/ハロアセチル誘導体、アミン/イソトリオシアネート(isotriocyanate)、アミン/スクシンイミジルエステル、およびアミン/ハロゲン化スルホニルのメンバー)等が含まれるが、これらに限定されない。

【0045】

本明細書において用いられる「抗体」という用語は、例えば、一本鎖抗体、キメラ抗体、二機能性抗体、およびヒト化抗体、ならびにそれらの抗原結合断片(例えば、Fab'、F(ab')₂、Fab、Fv、およびrIgG)を含む、天然抗体および非天然抗体を包含する。Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, Ill)も参照されたい。例えば、Kuby, J., *Immunology*, 3.sup.rd Ed., W. H. Freeman & Co., New York (1998)も参照されたい。このような非天然抗体は固相ペプチド合成を用いて構築することができ、組換えによって産生することもでき、または例えば、参照により本明細書に組み入れられるHuse et al., *Science* 246:1275-1281 (1989)に記載されているように、可変重鎖および可変軽鎖からなる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得ることもできる。例えば、キメラ抗体、ヒト化抗体、CDR移植抗体、一本鎖抗体、および二機能性抗体を作製するこれらおよび他の方法は、当業者に周知である。例えば、Winter and Harris, *Immunol. Today* 14:243-246 (1993)；Ward et al., *Nature* 341:544-546 (1989)；Harlow and Lane, *Antibodies*, 511-52, Cold Spring Harbor Laboratory publications, New York, 1988；Hilyard et al., *Protein Engineering: A practical approach* (IRL Press 1992)；Borrebaeck, *Antibody Engineering*, 2d ed. (Oxford University Press 1995)を参照されたい；これらはそれぞれ参照により本明細書に組み入れられる。

【0046】

別段の規定がない限り、抗体はポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の両方を含み得る。抗体はまた、キメラ抗体(例えば、ヒト化マウス抗体)およびヘテロ結合抗体(例えば、二重特異性抗体)などの、遺伝子操作された形態も含む。この用語はまた、組換え一本鎖Fv断片(scFv)も指す。抗体という用語はまた、二価または二重特異性分子、ダイアボディ(diabody)、トリアボディ(triabody)、およびテトラボディ(tetrabody)を含む。二価および二重特異性分子は、例えば、Kostelny et al. (1992) J Immunol 148:1547、Pack and Pluckthun (1992) Biochemistry 31:1579、Hollinger et al. (1993) Proc Natl Acad Sci USA. 90:6444、Gruber et al. (1994) J Immunol :5368、Zhu et al. (1997) Protein Sci 6:781、Hu et al. (1997) Cancer Res. 56:3055、Adams et al. (1993) Cancer Res. 53:4026、および McCartney, et al. (1995) Protein Eng. 8:301に記載されている。

10

【0047】

典型的に、抗体は重鎖および軽鎖を有する。重鎖および軽鎖はそれぞれ、定常領域および可変領域(これらの領域は「ドメイン」としても知られる)を含む。軽鎖および重鎖可変領域は、相補性決定領域(CDR)とも称される3つの超可変領域によって中断される4つのフレームワーク領域を含む。フレームワーク領域およびCDRの範囲は規定されている。異なる軽鎖または重鎖のフレームワーク領域の配列は、種内で比較的保存されている。抗体のフレームワーク領域、すなわち構成する軽鎖と重鎖のフレームワーク領域を合わせたものは、CDRを三次元空間に位置づけ、整列させるのに役立つ。CDRは主に、抗原エピトープへの結合を担っている。各鎖のCDRは、典型的にN末端から順に番号がつけられてCDR1、CDR2、およびCDR3と称され、また典型的にその特定のCDRが位置する鎖によって同定される。したがって、 V_H CDR3はそれが見出される抗体の重鎖の可変ドメインに位置し、 V_L CDR1はそれが見出される抗体の軽鎖の可変ドメインに由来するCDR1である。 V_H への言及は、Fv、scFv、またはFabの重鎖を含む、抗体の免疫グロブリン重鎖の可変領域を指す。 V_L への言及は、Fv、scFv、dsFv、またはFabの軽鎖を含む、免疫グロブリン軽鎖の可変領域を指す。

20

【0048】

「一本鎖Fv」または「scFv」という語句は、従来の二本鎖抗体の重鎖および軽鎖の可変ドメインが連結されて1つの鎖を形成している抗体を指す。典型的に、リンカーペプチドが2つの鎖の間に挿入されて、適切な折りたたみおよび活性結合部位の創出を可能にしている。「キメラ抗体」とは、(a)異なるもしくは変更されたクラス、エフェクター機能、および/もしくは種の定常領域に、またはキメラ抗体に新たな特性を付与する全く異なる分子、例えば酵素、毒素、ホルモン、成長因子、薬物等に抗原結合部位(可変領域)が連結されるように、定常領域またはその一部が変更された、置き換えられた、または交換された；あるいは(b)可変領域またはその一部が、異なるまたは変更された抗原特異性を有する可変領域に変更された、置き換えられた、または交換された免疫グロブリン分子である。

30

【0049】

「ヒト化抗体」とは、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含む免疫グロブリン分子である。ヒト化抗体は、所望の特異性、親和性、および能力を有するマウス、ラット、またはウサギなどの非ヒト種(ドナー抗体)の相補性決定領域(CDR)に由来する残基で、レシピエントのCDR由来の残基が置き換えられているヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)を含む。場合によっては、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク残基が、対応する非ヒト残基で置き換えられる。ヒト化抗体はまた、レシピエント抗体にも、移入されたCDRもしくはフレームワーク配列にも見られない残基を含む場合がある。一般に、ヒト化抗体は少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的にすべてを含み、CDR領域のすべてまたは実質的にすべては非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、フレームワーク(FR)領域のすべてまたは実質的にすべてはヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである。ヒト化抗体は最適にはまた、免疫グロブリン定常領域(Fc)、典型的にはヒト免疫グロ

40

50

ブリンのものの少なくとも一部を含む(Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-327 (1988); および Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992))。ヒト化は本質的には、Winterと共同研究者ら(Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-327 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534-1536 (1988))の方法に従って、齧歯類のCDRまたはCDR配列でヒト抗体の対応配列を置換することによって行うことができる。したがって、このようなヒト化抗体はキメラ抗体であり(米国特許第4,816,567号)、この場合、実質的に完全でないヒト可変ドメインが非ヒト種由来の対応配列によって置換されている。

【0050】

「エピトープ」および「抗原決定基」という用語は、抗体が結合する抗原上の部位を指す。エピトープは、連続アミノ酸から、またはタンパク質の三次折りたたみによって近接して並べられた非連続アミノ酸の両方から形成され得る。連続アミノ酸から形成されたエピトープは典型的に、変性溶媒に曝露されても保持されるのに対し、三次折りたたみによって形成されたエピトープは典型的に、変性溶媒による処理で失われる。エピトープは、典型的には独自の空間的高次構造中に少なくとも3個、より一般的には少なくとも5個または8~10個のアミノ酸を含む。エピトープの空間的高次構造を決定する方法には、例えばX線結晶解析および二次元核磁気共鳴が含まれる。例えば、Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed (1996)を参照されたい。

【0051】

「プライマー」、「プローブ」、および「オリゴヌクレオチド」という用語は本明細書において互換的に用いられて、比較的短い核酸断片または配列を指す。それらは、DNA、RNA、もしくはそれらのハイブリッド、または化学的に修飾されたそれらの類似体もしくは誘導体を含み得る。典型的に、それらは一本鎖である。しかしながら、それらは、変性によって分離され得る2本の相補鎖を有する二本鎖であってもよい。通常、プライマー、プローブ、およびオリゴヌクレオチドは、約8ヌクレオチド~約200ヌクレオチド、好ましくは約12ヌクレオチド~約100ヌクレオチド、より好ましくは約18~約50ヌクレオチドの長さを有する。様々な分子生物学的適用のために、それらを検出可能なマーカーで標識するか、または従来の様式を用いて修飾することができる。

【0052】

核酸(例えば、ゲノムDNA、cDNA、mRNA、またはそれらの断片)に関して用いられる場合の「単離された」という用語は、核酸分子が、通常その分子に付随する他の天然核酸から実質的に分離された形態で存在することを意味することが意図される。天然に存在する染色体(またはそのウイルス均等物)は長い核酸配列を含むため、単離された核酸は、染色体中の核酸配列の一部のみを有し、同一染色体上に存在する1つまたは複数の他の部分を有さない核酸分子あってよい。より具体的には、単離された核酸は、天然に存在する染色体(またはそのウイルス均等物)において該核酸に隣接する天然核酸配列を含み得る。単離された核酸は、同一生物の異なる染色体上にある他の天然核酸から実質的に分離され得る。単離された核酸はまた、特定の核酸分子が、組成物中の全核酸の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または少なくとも99%を構成するように顕著に濃縮された組成物であってよい。

【0053】

単離された核酸は、特定の核酸分子が、該特定の核酸に天然で隣接している核酸ではない1つまたは複数の核酸分子に共有結合しているハイブリッド核酸であってよい。例えば、単離された核酸はベクター中に存在してよい。加えて、特定の核酸は、天然核酸と同一であるヌクレオチド配列、またはヌクレオチドの置換、欠失/挿入、逆位等の1つもしくは複数の突然変異を有するその改変型または変異体(mutein)を有し得る。

【0054】

単離された核酸は、組換え体宿主細胞(該核酸が組み換えによって増幅および/または発現されている)から調製することができ、または天然ヌクレオチド配列もしくはその人為

10

20

30

40

50

的改変型を有する化学合成核酸であってよい。

【0055】

本明細書で用いられる「単離されたポリペプチド」という用語は、天然に見出される形態以外の形態で存在するポリペプチド分子と定義される。したがって、単離されたポリペプチドは非天然ポリペプチドであってよい。例えば、単離されたポリペプチドは「ハイブリッドポリペプチド」であってよい。単離されたポリペプチドはまた、アミノ酸の付加または欠失または置換によって天然ポリペプチドから導出されたポリペプチドであってよい。単離されたポリペプチドはまた、特定のポリペプチド分子が、組成物中の全タンパク質含量の少なくとも10%を構成するように顕著に濃縮された組成物または調製物を意味するために本明細書で用いられる「精製ポリペプチド」であってよい。当業者に明白であるように、「精製ポリペプチド」は、標準的な精製技法によって天然細胞もしくは組換え体宿主細胞から得ることができ、または化学合成によって得ることができる。

10

【0056】

「ハイブリッドタンパク質」、「ハイブリッドポリペプチド」、「ハイブリッドペプチド」、「融合タンパク質」、「融合ポリペプチド」、および「融合ペプチド」という用語は本明細書において互換的に用いられ、特定のポリペプチド分子が、天然では該特定のポリペプチドに連結しない1つまたは複数の他のポリペプチド分子に共有結合している非天然ポリペプチドまたは単離されたポリペプチドを意味する。したがって、「ハイブリッドタンパク質」は、共有結合によって共に連結された2つの天然タンパク質またはそれらの断片であってよい。「ハイブリッドタンパク質」は、2つの人工的ポリペプチドを共に共有結合することによって形成されるタンパク質であってよい。必ずしもそうとは限らないが典型的には、2つまたはそれ以上のポリペプチド分子は、単一の非分岐ポリペプチド鎖を形成するペプチド結合によって共に連結または「融合」される。

20

【0057】

「高ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件」という用語は、核酸ハイブリダイゼーションに関して用いられる場合、50%ホルムアミド、5×SSC(750 mM NaCl、75 mMクエン酸ナトリウム)、50 mMリン酸ナトリウム、pH 7.6、5×デンハルト溶液、10%デキストラン硫酸、および20 µg/ml変性かつ剪断サケ精子DNAを含む溶液中で42℃で一晩行うハイブリダイゼーション、ならびに約65℃の0.1×SSC中でのハイブリダイゼーションフィルターの洗浄を含む。「中程度のストリンジェントな条件」という用語は、核酸ハイブリダイゼーションに関して用いられる場合、50%ホルムアミド、5×SSC(750 mM NaCl、75 mMクエン酸ナトリウム)、50 mMリン酸ナトリウム、pH 7.6、5×デンハルト溶液、10%デキストラン硫酸、および20 µg/ml変性かつ剪断サケ精子DNAを含む溶液中で37℃で一晩行うハイブリダイゼーション、ならびに約50℃の1×SSC中でのハイブリダイゼーションフィルターの洗浄を含む。当業者に明白であるように、多くの他のハイブリダイゼーション法、溶液、および温度を用いて、匹敵するストリンジェントハイブリダイゼーション条件を達成することができることに留意されたい。

30

【0058】

2つの異なる核酸またはポリペプチド配列を比較する目的で、一方の配列(試験配列)は、もう一方の配列(比較配列)と特定のパーセンテージで同一であると記載され得る。同一性パーセンテージは、様々なBLASTプログラムに組み入れられているKarlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:5873-5877 (1993)のアルゴリズムによって決定することができる。同一性パーセンテージは、国立バイオテクノロジー情報センター(NCBI)ウェブサイトを利用可能な「BLAST 2 Sequences」ツールによって決定することができる。Tatusova and Madden, FEMS Microbiol. Lett., 174(2):247-250 (1999)を参照されたい。DNA間の対比較には、BLASTNプログラムが初期設定パラメータ(マッチ:1; ミスマッチ:-2; オープンギャップ:5ペナルティ; 伸長ギャップ:2ペナルティ; ギャップx_ドロップオフ:50; 期待値:10; およびワードサイズ:11、フィルタあり)で用いられる。タンパク質配列間の対比較には、BLASTPプログラムが初期設定パラメータ(行列:BLOSUM62; ギャップオープン:11; ギャップ伸長:1; x_ドロップオフ:15; 期待値:10.0; およびワ

40

50

ードサイズ：3、フィルタあり)を用いて使用され得る。2つの配列の同一性パーセンテージは、BLASTを用いて試験配列と比較配列を整列させ、比較配列の同じ位置にあるアミノ酸またはヌクレオチドと同一である、整列させた試験配列中のアミノ酸またはヌクレオチドの数を決定し、同一アミノ酸またはヌクレオチドの数を比較配列中のアミノ酸またはヌクレオチドの数で除すことによって算出される。2つの配列を比較するためにBLASTを用いた場合、それによって該配列が整列させられ、規定された整列領域にわたる同一性パーセンテージが得られる。2つの配列がそれらの全長にわたって整列させられる場合、BLASTによって得られる同一性パーセンテージは、該2つの配列の同一性パーセンテージである。BLASTが2つの配列をそれらの全長にわたって整列させない場合、試験配列と比較配列の非整列領域における同一アミノ酸またはヌクレオチドの数はゼロと見なされ、同一性パーセンテージは、整列領域中の同一アミノ酸またはヌクレオチドの数を加算し、その数を比較配列の長さで除すことによって算出される。配列を比較するために、例えばBLAST 2.1.2またはBLAST+ 2.2.22といった様々なバージョンのBLASTプログラムを用いることができる。

10

20

30

40

50

【0059】

対象は、例えば、ヒト、ならびに霊長類、齧歯類、ウマ、イヌ、およびネコなどの非ヒト哺乳動物を含む、本発明の方法から恩恵を受け得る任意の動物であってよい。対象には、非限定的に、真核生物、最も好ましくは、霊長類、例えばチンパンジーまたはヒト、ウシ；イヌ；ネコ；齧歯類、例えばモルモット、ラット、マウス；ウサギなどの哺乳動物；または鳥類；爬虫類；または魚類が含まれる。本明細書に記載される方法を用いる治療のために具体的に意図される対象には、ヒトが含まれる。対象は、個体または患者と称され得る。

【0060】

本発明による疾患または個体の治療とは、必ずしも治癒とは限らないが、臨床結果を含む、有益なまたは所望の医学的結果を得るためのアプローチである。本発明の目的のためには、有益なまたは所望の臨床結果には、検出可能であろうと検出可能でなからうと、1つまたは複数の症状の軽減または改善、疾患の程度の減少、疾患の安定した(すなわち、悪化しない)状態、疾患の広がりの防止、疾患の進行の遅延または緩徐化、病態の改善または緩和、および寛解(部分的または全体的にかかわらない)が含まれるが、これらに限定されない。治療はまた、治療を受けていない場合、または異なる治療を受けている場合に予測される生存期間と比較して、生存期間を延長することも含む。治療は治療薬の投与を含んでよく、治療薬は、例えばがん細胞、または病的状態を促進し得る他の細胞といった罹患細胞に細胞傷害、細胞静止、または免疫調節効果を及ぼす薬剤であってよい。本発明の方法によって選択される治療薬には制限がない。分子プロファイリングと薬剤の潜在的有効性との間に関連があると見られ得る任意の治療薬が選択され得る。治療薬には、非限定的に、小分子、タンパク質療法、抗体療法、ウイルス療法、遺伝子療法等が含まれる。がんの治療または療法には、非限定的に化学療法、ホルモン療法、放射線療法、免疫療法、およびこれらの組み合わせを含む、アポトーシス媒介性および非アポトーシス媒介性のがん療法が含まれる。化学療法薬は、例えばがん細胞を処置する、例えば死滅させる、治療薬および治療薬の組み合わせを含む。様々な種類の化学療法薬の例には、非限定的に、アルキル化剤(例えば、ナイトロジェンマスタード誘導体、エチレンイミン、スルホン酸アルキル、ヒドラジンおよびトリアジン、ニトロソウレア、および金属塩)、植物性アルカロイド(例えば、ピンカアルカロイド、タキサン、ポドフィロトキシン、およびカンブトテカン類似体)、抗腫瘍抗生物質(例えば、アントラサイクリン、クロマイシン等)、代謝拮抗薬(例えば、葉酸拮抗薬、ピリミジン拮抗薬、プリン拮抗薬、およびアデノシンデアミナーゼ阻害薬)、トポイソメラーゼI阻害薬、トポイソメラーゼII阻害薬、および種々の抗新生物薬(例えば、リボヌクレオチド還元酵素阻害薬、副腎皮質ステロイド阻害薬、酵素、抗微小管薬、およびレチノイド)が含まれる。

【0061】

本明細書において用いられる試料には、例えば、生検試料または手術もしくは他の処置

中に採取された組織などの組織の切片、剖検試料、および組織学的目的のために採取された凍結切片といった、分子プロファイリングに用いることのできる任意の関連試料が含まれる。このような試料には、血液および血液画分または血液産物(例えば、血清、パフューコート、血漿、血小板、赤血球等)、痰、頬側細胞組織、培養細胞(例えば、初代培養物、外植片、および形質転換細胞)、糞便、尿、他の生物学的液体または体液(例えば、前立腺液、胃液、腸液、腎液、肺液、脳脊髄液等)等が含まれる。試料は、当業者によって理解される技法に従って処理されてもよい。試料は非限定的に、新鮮であってよく、凍結または固定されてもよい。いくつかの態様において、試料は、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織または新鮮凍結(FF)組織を含む。試料は、対象試料に由来する初代細胞株または不死化細胞株を含む培養細胞を含み得る。試料はまた、対象由来の試料からの抽出物を指し得る。例えば、試料は、組織または体液から抽出されたDNA、RNA、またはタンパク質を含み得る。このような目的のために、多くの技法および市販キットが利用可能である。個体由来の新鮮試料は、例えば細胞の溶解および抽出といったさらなる処理の前に、RNAを保存するための薬剤で処理することができる。試料は、他の目的のために採取された凍結試料を含み得る。試料は、対象の年齢、性別、および臨床症状；試料の供給源；ならびに試料の採取および保存の方法などの関連情報を伴い得る。試料は典型的に、対象から採取される。

10

【0062】

生検は、診断評価または予後評価のために組織試料を採取する過程、および組織検体自体を含む。当技術分野において公知の任意の生検技法を、本発明の分子プロファイリング法に適用することができる。適用される生検技法は、いくつかある要因の中でも特に、評価すべき組織型(例えば、結腸、前立腺、腎臓、膀胱、リンパ節、肝臓、骨髄、血液細胞、肺、乳房等)、腫瘍の大きさおよび種類(例えば、固形または懸濁、血液または腹水)に依存し得る。代表的な生検技法には、切除生検、切開生検、針生検、外科生検、骨髄生検が含まれるが、これらに限定されない。「切除生検」とは、腫瘍塊全体とそれを取り囲む正常組織のわずかな周縁部の採取を指す。「切開生検」とは、腫瘍の断面直径を含むくさび状の組織の採取を指す。分子プロファイリングは、腫瘍塊の「コア針生検」、または一般に腫瘍塊内から細胞の懸濁液を得る「細針吸引生検」を用いることができる。生検技法は、例えば、Harrison's Principles of Internal Medicine, Kasper, et al., eds., 16th ed., 2005, Chapter 70およびPart V全体で議論されている。

20

30

【0063】

当技術分野で公知であり、かつ具体的に記載されていない標準的な分子生物学技法は、一般に、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1989)、およびAusubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Baltimore, Md. (1989)、およびPerbal, A Practical Guide to Molecular Cloning, John Wiley & Sons, New York (1988)、およびWatson et al., Recombinant DNA, Scientific American Books, New York、およびBirren et al (eds) Genome Analysis: A Laboratory Manual Series, Vols. 1-4 Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1998)、ならびに米国特許第4,666,828号；第4,683,202号；第4,801,531号；第5,192,659号、および第5,272,057号に記載され、かつ参照により本明細書により組み入れられる方法論に従う。ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)は、一般的には、PCRプロトコル：A Guide To Methods And Application, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)と同様に行うことができる。

40

【0064】

遺伝子発現プロファイリング

本発明のいくつかの局面において、バイオマーカーは遺伝子発現プロファイリングによって評価される。遺伝子発現プロファイリングの方法には、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、およびポリヌクレオチドの配列決定に基づく方法が含まれる。試料中のmRNA発現の定量のために当技術分野で公知の一般的に用いられる方法には、ノーザンブロットングおよびインサイチュハイブリダイゼーション(Parker & Ba

50

rnes (1999) *Methods in Molecular Biology* 106:247-283) ; RNase保護アッセイ(Hod (1992) *Biotechniques* 13:852-854) ; および逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)(Weis et al. (1992) *Trends in Genetics* 8:263-264) が含まれる。あるいは、DNA二重鎖、RNA二重鎖、およびDNA-RNAハイブリッド二重鎖、またはDNA-タンパク質二重鎖を含む特定の二重鎖を認識し得る抗体を使用することもできる。配列決定に基づく遺伝子発現解析の代表的な方法には、遺伝子発現の連続解析(SAGE)、および大規模並列シグネチャー配列決定(MPS S)による発現解析が含まれる。

【0065】

逆転写PCR(RT-PCR)

本発明のバイオマーカーのRNAレベル、例えばmRNAまたはmiRNAレベルを測定するために、RT-PCRを用いることができる。正常組織および腫瘍組織における、薬物治療を受けたまたは受けていない、異なる試料集団中の本発明のバイオマーカーのそのようなRNAレベルを比較するため、遺伝子発現のパターンを特徴づけるため、密接に関連したRNAを識別するため、およびRNA構造を解析するために、RT-PCRを用いることができる。

【0066】

第一段階は、試料からのRNA、例えばmRNAの単離である。出発材料は、ヒトの腫瘍または腫瘍細胞株、およびそれぞれ対応する正常な組織または細胞株から単離された全RNAであってよい。したがって、試料、例えば腫瘍細胞または腫瘍細胞株からRNAを単離し、健康ドナー由来のプールされたDNAと比較することができる。mRNAの供給源が原発腫瘍である場合には、例えば凍結組織試料、またはパラフィン包埋されて固定された(例えば、ホルマリン固定された)保存組織試料からmRNAを抽出することができる。

【0067】

mRNA抽出のための一般的な方法は当技術分野で周知であり、Ausubel et al. (1997) *Current Protocols of Molecular Biology*, John Wiley and Sonsを含む、分子生物学の標準的な教科書に開示されている。パラフィン包埋組織からRNAを抽出する方法は、例えば、Rupp & Locker (1987) *Lab Invest.* 56:A67、およびDe Andres et al., *BioTechniques* 18:42044 (1995)に開示されている。特に、RNAの単離は、Qiagenなどの商業的製造業者による精製キット、緩衝液セット、およびプロテアーゼを用いて、該製造業者の説明書に従って行うことができる(QIAGEN Inc., Valencia, CA)。例えば、Qiagen RNeasyミニカラムを用いて、培養細胞から全RNAを単離することができる。多くのRNA単離キットが市販されており、本発明の方法において用いることができる。

【0068】

別法において、第一段階は標的試料からのmiRNAの単離である。出発材料は典型的に、ヒトの腫瘍または腫瘍細胞株、およびそれぞれ対応する正常な組織または細胞株から単離された全RNAである。したがって、健康ドナー由来のプールされたDNAと共に、種々の原発腫瘍または腫瘍細胞株からRNAを単離することができる。miRNAの供給源が原発腫瘍である場合には、例えば、凍結組織試料、またはパラフィン包埋されて固定された(例えば、ホルマリン固定された)保存組織試料からmiRNAを抽出することができる。

【0069】

miRNA抽出のための一般的な方法は当技術分野で周知であり、Ausubel et al. (1997) *Current Protocols of Molecular Biology*, John Wiley and Sonsを含む、分子生物学の標準的な教科書に開示されている。パラフィン包埋組織からRNAを抽出する方法は、例えば、Rupp & Locker (1987) *Lab Invest.* 56:A67、およびDe Andres et al., *BioTechniques* 18:42044 (1995)に開示されている。特に、RNAの単離は、Qiagenなどの商業的製造業者による精製キット、緩衝液セット、およびプロテアーゼを用いて、該製造業者の説明書に従って行うことができる。例えば、QiagenのRNeasyミニカラムを用いて、培養細胞から全RNAを単離することができる。多くのRNA単離キットが市販されており、本発明の方法において用いることができる。

【0070】

RNAがmRNA、miRNA、または他のRNA型を含むかにかかわらず、RT-PCRによる遺伝子プロ

10

20

30

40

50

ファイリングは、RNA鋳型のcDNAへの逆転写と、それに続くPCR反応での増幅を含み得る。一般的に用いられる逆転写酵素には、トリ骨髄芽球症ウイルス逆転写酵素(AMV-RT)およびモロニー Maus 白血病ウイルス逆転写酵素(MMLV-RT)が含まれるが、これらに限定されない。逆転写段階は典型的に、発現プロファイリングの状況および目的に応じて、特異的プライマー、ランダムヘキサマー、またはオリゴ-dTプライマーを用いてプライミングされる。例えば、抽出されたRNAを、Gene Amp RNA PCRキット(Perkin Elmer, Calif., USA)を用いて、製造業者の説明書に従って逆転写させることができる。次いで、誘導されたcDNAを次のPCR反応における鋳型として用いることができる。

【0071】

PCR段階では種々の熱安定性DNA依存性DNAポリメラーゼを用いることができるが、典型的には、5'-3'ヌクレアーゼ活性を有するが、3'-5'校正エンドヌクレアーゼ活性を欠くTaq DNAポリメラーゼを使用する。TaqMan PCRは典型的に、TaqまたはTthポリメラーゼの5'-ヌクレアーゼ活性を利用して、その標的である単位複製配列に結合しているハイブリダイゼーションプローブを加水分解するが、同等の5'ヌクレアーゼ活性を有する任意の酵素を用いることができる。2つのオリゴヌクレオチドプライマーを用いて、PCR反応に典型的な単位複製配列を生成させる。この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、第3のオリゴヌクレオチド、すなわちプローブを設計する。このプローブは、Taq DNAポリメラーゼ酵素によって伸長することができず、レポーター蛍光色素およびクエンチャー蛍光色素で標識されている。2つの色素が、プローブ上で互いに近接している場合には、レポーター色素からのいかなるレーザー誘起発光もクエンチャー色素によって消光される。増幅反応の過程で、Taq DNAポリメラーゼ酵素は鋳型依存的様式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、第2のフルオロフォアの消光効果から解放される。新しい分子が合成されるたびに1分子のレポーター色素が遊離するため、消光されないレポーター色素を検出することで、データを定量的に解釈するための基礎が提供される。

【0072】

TaqMan(商標) RT-PCRは、市販の機器、例えば、ABI PRISM 7700(商標) Sequence Detection System(商標)(Perkin-Elmer-Applied Biosystems, Foster City, Calif., USA)、またはLightcycler(Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany)などを用いて行うことができる。1つの特定の態様において、5'ヌクレアーゼ手順は、ABI PRISM 7700(商標) Sequence Detection System(商標)などのリアルタイム定量PCR装置上で行われる。このシステムは、サーモサイクラー、レーザー、電荷結合素子(CCD)、カメラ、およびコンピュータからなる。このシステムは、サーモサイクラー上で96ウェル形式で試料を増幅する。増幅中、96ウェルすべてについて、レーザー誘起蛍光シグナルが光ファイバーケーブルを介してリアルタイムで収集され、CCDで検出される。このシステムは、機器を作動させるため、およびデータを解析するためのソフトウェアを含む。

【0073】

TaqManデータは、まず、Ctすなわち閾値サイクルとして表される。上記のように、蛍光値が各サイクル中に記録され、増幅反応においてその時点までに増幅された産物の量を表す。蛍光シグナルが統計的に有意であると最初に記録された時点が閾値サイクル(Ct)である。

【0074】

誤差および試料間の変動の影響を最小限に抑えるために、RT-PCRは通常、内部標準を用いて行われる。理想的な内部標準は、異なった組織間でも一定レベルで発現され、かつ実験処理により影響を受けない。遺伝子発現のパターンを正規化するために最も頻繁に用いられる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-リン酸脱水素酵素(GAPDH)および β -アクチンのmRNAである。

【0075】

リアルタイム定量PCR(同様に、定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応、QRT-PCR、またはQ-PCR)は、RT-PCR技法のより最近の変法である。Q-PCRは、二重標識蛍光発生プロ

ープ(すなわち、TaqMan(商標)プローブ)を通じて、PCR産物の蓄積を測定することができる。リアルタイムPCRは、各標的配列に対する内部競合物が正規化のために用いられる定量的競合PCR、および試料内に含まれている正規化遺伝子またはRT-PCR用のハウスキーピング遺伝子を用いる定量的比較PCRの両方に適合する。例えば、Held et al. (1996) *Genome Research* 6:986-994を参照されたい。

【0076】

免疫組織化学法(IHC)

IHCとは、組織内の抗原に特異的な抗体と結合する、組織の細胞内の抗原(例えば、タンパク質)の位置を特定する過程である。抗原結合抗体は、例えば可視化によってその検出を可能にするタグに結合または融合させることができる。いくつかの態様において、タグは、アルカリホスファターゼまたは西洋ワサビペルオキシダーゼなどの、発色反応を触媒し得る酵素である。酵素は抗体に融合させることができ、または例えばビオチン-アビジン系を用いて非共有結合させることもできる。あるいは、フルオレセイン、ローダミン、DyLight Fluor、またはAlexa Fluorなどのフルオロフォアで抗体をタグ化することもできる。抗原結合抗体を直接タグ化することもできるし、またはタグを保有する検出抗体によって抗原結合抗体自体を認識することもできる。IHCを用いて、1種または複数種のタンパク質を検出することができる。遺伝子産物の発現は、対照レベルと比較したその染色強度に関連し得る。いくつかの態様において、遺伝子産物は、対照に対して試料中でその染色が少なくとも1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.2、2.5、2.7、3.0、4、5、6、7、8、9、または10倍変化した場合に、差次的に発現すると見なされる。

10

20

【0077】

マイクロアレイ

本発明のバイオマーカーは、マイクロアレイ技法を用いて同定、確認、および/または測定することもできる。したがって、マイクロアレイ技術を用いて、新鮮腫瘍組織またはパラフィン包埋腫瘍組織のいずれかで発現プロファイルバイオマーカーを測定することができる。本方法では、関心対象のポリヌクレオチド配列をマイクロチップ基板上にプレーティングまたはアレイ化する。次いで、アレイ化された配列を、関心対象の細胞または組織由来の特異的DNAプローブとハイブリダイズさせる。mRNAの供給源は、例えばヒトの腫瘍もしくは腫瘍細胞株、および対応する正常な組織または細胞株といった試料から単離された全RNAであってよい。このように、種々の原発腫瘍または腫瘍細胞株からRNAを単離

30

【0078】

マイクロアレイ技術を用いて、新鮮腫瘍組織もしくはパラフィン包埋腫瘍組織または体液のいずれかで、バイオマーカーの発現プロファイルを測定することができる。本方法では、関心対象のポリヌクレオチド配列をマイクロチップ基板上にプレーティングまたはアレイ化する。次いで、アレイ化された配列を、関心対象の細胞または組織由来の特異的DNAプローブとハイブリダイズさせる。RT-PCR法と同様に、miRNAの供給源は典型的に、血清、尿、涙、およびエキソソームなどの体液を含む、ヒトの腫瘍または腫瘍細胞株、および

40

【0079】

マイクロアレイ技法の特定の態様では、cDNAクローンのPCR増幅挿入物を高密度アレイの基板に適用する。1つの局面では、少なくとも100、200、300、400、500、600、700、800、900、1,000、1,500、2,000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10,000、15,000、20,000、25,000、30,000、35,000、40,000、45,000、または少なくとも50,000個のヌクレオチド配列を基板に適用する。各配列は異なる遺伝子に対応してもよく、または

50

1つの遺伝子につき複数の配列をアレイ化してもよい。マイクロチップ上に固定されたマイクロアレイ化遺伝子は、ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーションに適している。関心対象の組織から抽出されたRNAの逆転写による蛍光ヌクレオチドの取り込みにより、蛍光標識されたcDNAプローブを作製することができる。チップに適用された標識cDNAプローブは、アレイ上のDNAの各スポットに特異的にハイブリダイズする。ストリンジェントな洗浄を行って非特異的に結合したプローブを除去した後、共焦点レーザー電子顕微鏡により、またはCCDカメラなどの別の検出法により、チップをスキャンする。アレイ化された各要素のハイブリダイゼーションを定量することにより、対応するmRNA存在量の評価が可能になる。2色蛍光を用いて、2つのRNA供給源から作製された別々に標識されたcDNAプローブを、対にしてアレイにハイブリダイズさせる。このようにして、特定の遺伝子それぞれに対応する2つの供給源からの転写産物の相対存在量が同時に測定される。ハイブリダイゼーションの小型化によって、多数の遺伝子の発現パターンの簡便かつ迅速な評価が可能になる。このような方法は、細胞当たり数コピーずつ発現される希少な転写産物を検出するため、および発現レベルの少なくともおよそ2倍の差を再現性よく検出するために必要とされる感度を有することが示されている(Schena et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(2):106-149)。マイクロアレイ解析は、非限定的にAffymetrix GeneChip技術(Affymetrix, Santa Clara, CA)、Agilent(Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA)マイクロアレイ技術、またはIllumina(Illumina, Inc., San Diego, CA)マイクロアレイ技術を含む製造業者のプロトコルに従って、市販の機器によって行うことができる。

10

20

【0080】

遺伝子発現を大規模に解析するためのマイクロアレイ法の開発により、種々の腫瘍型においてがん分類および転帰予測の分子マーカーを体系的に探索することが可能になる。

【0081】

いくつかの態様では、Agilent Whole Human Genome Microarray Kit(Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA)。このシステムは、すべて公有の注釈で表示される、41,000個を超える固有のヒト遺伝子および転写産物を解析することができる。このシステムは、製造業者の説明書に従って用いられる。

【0082】

いくつかの態様では、Illumina Whole Genome DASLアッセイ(Illumina Inc., San Diego, CA)が用いられる。このシステムは、新鮮凍結(FF)組織供給源およびホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織供給源由来の最小のRNAインプットから24,000個を超える転写産物を、ハイスループット様式で同時にプロファイする方法を提供する。

30

【0083】

マイクロアレイ発現解析は、遺伝子または遺伝子産物が参照と比べて上方制御されるか、または下方制御されるかを同定することを含む。同定は、観察された任意の差次的発現の統計的有意性を判定するために、統計検定を用いて行うことができる。いくつかの態様において、統計的有意性はパラメトリック統計検定を用いて判定される。パラメトリック統計検定は、例えば、一部実施要因計画、分散分析(ANOVA)、t検定、最小二乗、ピアソン相関、単純線形回帰、非線形回帰、多重線形回帰、または多重非線形回帰を含み得る。あるいは、パラメトリック統計検定は、一元配置分散分析、二元配置分散分析、または反復測定分散分析を含み得る。他の態様において、統計的有意性はノンパラメトリック統計検定を用いて判定される。例として、ウィルコクソンの符号順位検定、マンホイットニー検定、クラスカル・ウォリス検定、フリードマン検定、スピアマンの順位相関係数、ケンドールのタウ解析、およびノンパラメトリック回帰検定が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの態様において、統計的有意性は、約0.05、0.01、0.005、0.001、0.0005、または0.0001未満のp値で判定される。本発明の方法において用いられるマイクロアレイシステムは何千もの転写産物をアッセイすることができるが、データ解析は関心対象の転写産物で行うことしか必要とせず、よって、複数の統計検定を行う際に付いて回る多重比較の問題が軽減される。p値はまた、例えば、ボンフェローニ補正、その改良法、または

40

50

当業者に公知の他の技法、例えばホッホバーク補正、ホルム-ボンフェローニ補正、シダック補正、またはダネット補正を用いて、多重比較に関して補正され得る。差次的発現の程度もまた考慮され得る。例えば、対照レベルと比較した発現の変化倍率が、該対照に対して試料において少なくとも1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.2、2.5、2.7、3.0、4、5、6、7、8、9、または10倍異なる場合に、遺伝子は差次的に発現すると見なされ得る。差次的発現は、過剰発現および過小発現の両方を考慮に入れる。差次的発現が統計的閾値、変化倍率閾値、またはその両方を満たす場合に、遺伝子または遺伝子産物は上方制御または下方制御されると見なされ得る。例えば、差次的発現を同定するための基準は、p値0.001および変化倍率少なくとも1.5倍(上方または下方)の両方を含み得る。このような統計的尺度および閾値尺度を適合させて、本明細書に開示される任意の分子プロファイリング技法によって差次的発現を判定することができることを、当業者は理解するであろう。

10

20

30

40

50

【0084】

本発明の様々な方法は、試料中の生物学的実体の存在および潜在的に量を検出する多くの種類のマイクロアレイを使用する。アレイは典型的に、例えば結合事象を介して、試料中の実体の存在を検出し得るアドレス可能な成分を含む。マイクロアレイには、非限定的に、cDNAマイクロアレイ、オリゴヌクレオチドマイクロアレイ、およびSNPマイクロアレイなどのDNAマイクロアレイ、マイクロRNAアレイ、タンパク質マイクロアレイ、抗体マイクロアレイ、組織マイクロアレイ、細胞マイクロアレイ(トランスフェクションマイクロアレイとも称される)、化合物マイクロアレイ、および糖質アレイ(グリコアレイ)が含まれる。DNAアレイは典型的に、試料中に存在する配列に結合し得るアドレス可能なヌクレオチド配列を含む。マイクロRNAアレイ、例えばルイビル大学によるMMChips、またはAgilentによる市販のシステムを用いて、マイクロRNAを検出することができる。タンパク質マイクロアレイを用いて、非限定的に、プロテインキナーゼの基質、転写因子タンパク質活性化を同定することを含め、タンパク質間相互作用を同定すること、または生物活性小分子の標的を同定することができる。タンパク質アレイは、様々なタンパク質分子、通常は抗体、または関心対象のタンパク質に結合するヌクレオチド配列のアレイを含み得る。抗体マイクロアレイは、例えば細胞または組織溶解物溶液由来の試料からタンパク質または他の生物学的物質を検出するための捕捉分子として用いられる、プロテインチップ上にスポットされた抗体を含む。例えば、診断用途のために、抗体アレイを用いて、体液、例えば血清または尿からバイオマーカーを検出することができる。組織マイクロアレイは、多重の組織学的解析を可能にするためにアレイ様式で構築された別個の組織コアを含む。細胞マイクロアレイは、トランスフェクションマイクロアレイとも称され、細胞と相互作用して、アドレス可能な位置でそれらの捕捉を促進することができる、抗体、タンパク質、または脂質などの様々な捕捉剤を含む。化合物マイクロアレイは化合物のアレイを含み、該化合物と結合するタンパク質または他の生体物質を検出するために用いることができる。糖質アレイ(グリコアレイ)は糖質のアレイを含み、例えば、糖成分と結合するタンパク質を検出することができる。当業者は、本発明の方法に従って同様の技術または改良法を用いることができることを理解するであろう。

【0085】

大規模並列シグネチャー配列決定(MPSS)による遺伝子発現解析

Brenner et al. (2000) Nature Biotechnology 18:630-634によって記載されているこの方法は、非ゲルベースのシグネチャー配列決定と、別個のマイクロビーズ上での何百万もの鋳型のインビトロクロニングを併用する配列決定アプローチである。まず、DNA鋳型のマイクロビーズライブラリーをインビトロクロニングによって構築する。次に、鋳型含有マイクロビーズの平面アレイをフローセル内で高密度で組み立てる。各マイクロビーズ上のクローン化鋳型の遊離末端を、DNA断片の分離を必要としない蛍光に基づくシグネチャー配列決定法を用いて同時に解析する。この方法は、1回の操作で、何十万もの遺伝子シグネチャー配列をcDNAライブラリーから同時にかつ正確に提供することが示されている。

【 0 0 8 6 】

MPSSデータは多くの用途を有する。ほとんどすべての転写産物の発現レベルが定量的に測定され得る；シグネチャーの存在量は、解析した組織中の遺伝子の発現レベルを表す。タグ頻度を解析するため、およびライブラリー間の差を検出するための定量法は公表され、かつSAGE(商標)データの公的データベース中に取り込まれており、MPSSデータに適用可能である。完全なゲノム配列が利用可能であることで、シグネチャーとゲノム配列の直接的な比較が可能になり、MPSSデータの有用性がさらに広がる。MPSS解析の標的は(マイクロアレイと同様に)あらかじめ選択されないため、MPSSデータはトランスクリプトームの完全な複雑性を特徴づけ得る。これは何百万ものESTを一度に配列決定することと類似しており、MPSSシグネチャーの供給源がコンピュータ手段によって容易に同定され得るように、ゲノム配列データを用いることができる。

10

【 0 0 8 7 】

遺伝子発現の連続解析(SAGE)

遺伝子発現の連続解析(SAGE)は、各転写産物に対して個々のハイブリダイゼーションプロンプを提供することを必要とせず、多数の遺伝子転写産物を同時にかつ定量的に解析することを可能にする方法である。まず、タグが各転写産物内の固有の位置から得られるという条件で、転写産物を一意的に同定するのに十分な情報を含む短い配列タグ(例えば、約10~14 bp)を作製する。次いで、多くの転写産物を共に連結して長い連続した分子を形成させ、これを配列決定して、複数のタグの同一性を同時に明らかにすることができる。個々のタグの存在量を測定し、各タグに対応する遺伝子を同定することによって、任意の転写産物集団の発現パターンを定量的に評価することができる。例えば、Velculescu et al. (1995) Science 270:484-487；およびVelculescu et al. (1997) Cell 88:243-51を参照されたい。

20

【 0 0 8 8 】

DNAコピー数プロファイリング

解像度が本発明のバイオマーカーを同定するのに十分である限り、特定の試料のDNAコピー数プロファイルを決する能力を有する任意の方法を、本発明による分子プロファイリングに用いることができる。当業者は、本発明の1つまたは複数のバイオマーカーのコピー数を同定するのに十分な解像度で全ゲノムコピー数変化を評価するために、いくつかの異なるプラットフォームを用いることを認識しており、かつそれを用いることができる。プラットフォームおよび技法のいくつかを、以下の態様において説明する。

30

【 0 0 8 9 】

いくつかの態様において、コピー数プロファイル解析は、全ゲノム増幅法による全ゲノムDNAの増幅を伴う。全ゲノム増幅法は、鎖置換ポリメラーゼおよびランダムプライマーを使用し得る。

【 0 0 9 0 】

これらの態様のいくつかの局面において、コピー数プロファイル解析は、高密度アレイによる全ゲノム増幅DNAのハイブリダイゼーションを伴う。より具体的な局面において、高密度アレイは、5,000個またはそれ以上の異なるプローブを有する。別の具体的な局面において、高密度アレイは、5,000、10,000、20,000、50,000、100,000、200,000、300,000、400,000、500,000、600,000、700,000、800,000、900,000、もしくは1,000,000個またはそれ以上の異なるプローブを有する。別の具体的な局面において、アレイ上の異なるプローブはそれぞれ、約15~200塩基長を有するオリゴヌクレオチドである。別の具体的な局面において、アレイ上の異なるプローブはそれぞれ、約15~200、15~150、15~100、15~75、15~60、または20~55塩基長を有するオリゴヌクレオチドである。

40

【 0 0 9 1 】

いくつかの態様では、例えば腫瘍由来の細胞のような試料のコピー数プロファイルの決定を支援するために、マイクロアレイが使用される。マイクロアレイは典型的に、アレイパターンで基板(例えば、ガラス支持体)上に合成または被着された複数のオリゴマー(例えば、DNAもしくはRNAのポリヌクレオチドもしくはオリゴヌクレオチド、または他のポリ

50

マー)を含む。支持体結合オリゴマーは、ハイブリダイゼーション実験において、試料物質(例えば、腫瘍試料から調製されたまたは得られた核酸)にハイブリダイズまたは結合するように機能する「プローブ」である。逆の状況も適用可能である：試料をマイクロアレイ基板上に結合させることができ、オリゴマープローブがハイブリダイゼーションの溶液中に存在する。使用に際しては、プローブの1つまたは複数に対する標的の特異的な高親和性結合を促進する条件下で、アレイ表面を1つまたは複数の標的と接触させる。いくつかの設定では、ハイブリダイズした試料およびプローブがスキャン装置で検出可能となるように、試料核酸を蛍光タグなどの検出可能な標識で標識する。DNAアレイ技術は、多数の(何十万もの)異なるオリゴヌクレオチドを用いて、DNAコピー数プロファイルを解析する能力を提供する。いくつかの態様において、アレイに用いられる基板は、表面誘導体化ガラスもしくはシリカ、またはポリマー膜表面である(例えば、それぞれ参照により本明細書に組み入れられる、Z. Guo, et al., *Nucleic Acids Res*, 22, 5456-65 (1994); U. Maskos, E. M. Southern, *Nucleic Acids Res*, 20, 1679-84 (1992)、およびE. M. Southern, et al., *Nucleic Acids Res*, 22, 1368-73 (1994)を参照されたい)。アレイ基板の表面の修飾は、多くの技法によって達成することができる。例えば、シリカまたは金属酸化物表面を二官能性シラン、すなわち表面への共有結合を可能にする第1官能基(例えば、それぞれ $-\text{SiCl}_3$ または $-\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$ において見られるようなSi-ハロゲンまたはSi-アルコキシ基)ならびに表面に所望の化学的および/または物理的修飾を付与し得る第2官能基を有するシランで誘導体化して、生物学的プローブアレイ用のリガンドおよび/またはポリマーもしくはモノマーを共有結合または非共有結合させることができる。当技術分野で公知のシリル化誘導体化および他の表面誘導体化(例えば、それぞれ参照により本明細書に組み入れられる、Sundbergに対する米国特許第5,624,711号、Willisに対する米国特許第5,266,222号、およびFarnsworthに対する米国特許第5,137,765号を参照されたい)。アレイを調製するための他の工程は、Agilent Corp.に譲渡された、Bass et. al.に対する米国特許第6,649,348号に記載されており、これはインサイチュー合成法により作製されたDNAアレイを開示している。

【0092】

ポリマーアレイ合成もまた、以下を含む文献において十分に記載されており：WO 00/58516、米国特許第5,143,854号、第5,242,974号、第5,252,743号、第5,324,633号、第5,384,261号、第5,405,783号、第5,424,186号、第5,451,683号、第5,482,867号、第5,491,074号、第5,527,681号、第5,550,215号、第5,571,639号、第5,578,832号、第5,593,839号、第5,599,695号、第5,624,711号、第5,631,734号、第5,795,716号、第5,831,070号、第5,837,832号、第5,856,101号、第5,858,659号、第5,936,324号、第5,968,740号、第5,974,164号、第5,981,185号、第5,981,956号、第6,025,601号、第6,033,860号、第6,040,193号、第6,090,555号、第6,136,269号、第6,269,846号、および第6,428,752号、第5,412,087号、第6,147,205号、第6,262,216号、第6,310,189号、第5,889,165号、および第5,959,098号、PCT出願番号PCT/US99/00730(国際公開公報番号WO99/36760)およびPCT/US01/04285(国際公開公報番号WO 01/58593)、これらはすべて、すべての目的のために全体として参照により本明細書に組み入れられる。

【0093】

本発明において有用である核酸アレイには、GeneChip(商標)という商品名でAffymetrix(Santa Clara, Calif.)から市販されているものが含まれるが、これに限定されない。例となるアレイは、affymetrix.comのウェブサイトで示されている。別のマイクロアレイ供給業者はSan Diego, Calif.のIllumina, Inc.であり、例となるアレイはillumina.comのウェブサイトで示されている。

【0094】

いくつかの態様において、本発明の方法は試料の調製を提供する。実施するマイクロアレイおよび実験に応じて、当業者に公知の方法によるいくつかの様式で、試料核酸を調製することができる。本発明のいくつかの局面では、遺伝子型同定(コピー数プロファイルの解析)の前に、またはそれと同時に、試料をいくつかの機構で増幅させることができる

10

20

30

40

50

。用いられる最も一般的な増幅手順はPCRを伴う。例えば、PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification (Ed. H. A. Erlich, Freeman Press, NY, N.Y., 1992); PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Eds. Innis, et al., Academic Press, San Diego, Calif., 1990); Mattila et al., Nucleic Acids Res. 19, 4967 (1991); Eckert et al., PCR Methods and Applications 1, 17 (1991); PCR (Eds. McPherson et al., IRL Press, Oxford); ならびに米国特許第4,683,202号、第4,683,195号、第4,800,159号、第4,965,188号、および第5,333,675号を参照されたく、これらはそれぞれ、すべての目的のために全体として参照により本明細書に組み入れられる。いくつかの態様において、試料はアレイ上で増幅させることができる(例えば、参照により本明細書に組み入れられる米国特許第6,300,070号を参照されたい)。

10

【 0 0 9 5 】

他の適切な増幅法には、リガーゼ連鎖反応(LCR)(例えば、Wu and Wallace, Genomics 4, 560 (1989)、Landegren et al., Science 241, 1077 (1988)、およびBarringer et al. Gene 89:117 (1990))、転写増幅(Kwoh et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 1173 (1989)、およびWO88/10315)、自己持続配列複製(Guatelli et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 87, 1874 (1990)、およびWO90/06995)、標的ポリヌクレオチド配列の選択的増幅(米国特許第6,410,276号)、コンセンサス配列プライムドポリメラーゼ連鎖反応(CP-PCR)(米国特許第4,437,975号)、任意プライムドポリメラーゼ連鎖反応(AP-PCR)(米国特許第5,413,909号、第5,861,245号)、および核酸に基づく配列増幅(NABSA)が含まれる。(例えば、米国特許第5,409,818号、第5,554,517号、および第6,063,603号を参照されたく、これらはそれぞれ参照により本明細書に組み入れられる)。用いられ得る他の増幅法は、米国特許第5,242,794号、第5,494,810号、第4,998,617号、および米国特許出願第09/854,317号に記載されており、これらはそれぞれ参照により本明細書に組み入れられる。

20

【 0 0 9 6 】

試料調製のさらなる方法、および核酸試料の複雑さを軽減するための技法は、Dong et al., Genome Research 11, 1418 (2001)、米国特許第6,361,947号、第6,391,592号、ならびに米国特許出願第09/916,135号、第09/920,491号(米国特許出願公開第20030096235号)、第09/910,292号(米国特許出願公開第20030082543号)、および第10/013,598号に記載されている。

【 0 0 9 7 】

ポリヌクレオチドハイブリダイゼーションアッセイを実施する方法は、当技術分野において十分に開発されている。本発明の方法において用いられるハイブリダイゼーションアッセイの手順および条件は適用に応じて変わり、Maniatis et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2.sup.nd Ed. Cold Spring Harbor, N.Y., 1989); Berger and Kimmel Methods in Enzymology, Vol. 152, Guide to Molecular Cloning Techniques (Academic Press, Inc., San Diego, Calif., 1987); Young and Davism, P.N.A.S, 80: 1194 (1983)において言及されているものを含む公知の一般的な結合法に従って選択される。反復および制御ハイブリダイゼーション反応を実施するための方法および装置は、米国特許第5,871,928号、第5,874,219号、第6,045,996号、および第6,386,749号、第6,391,623号に記載されており、これらはそれぞれ参照により本明細書に組み入れられる。

30

40

【 0 0 9 8 】

本発明の方法はまた、ハイブリダイゼーション後(および/またはハイブリダイゼーション中)のリガンド間のハイブリダイゼーションのシグナル検出を伴い得る。米国特許第5,143,854号、第5,578,832号; 第5,631,734号; 第5,834,758号; 第5,936,324号; 第5,981,956号; 第6,025,601号; 第6,141,096号; 第6,185,030号; 第6,201,639号; 第6,218,803号; および第6,225,625号、米国特許出願第10/389,194号、ならびにPCT出願PCT/US99/06097(W099/47964として公開)を参照されたく、これらもそれぞれ、すべての目的のために全体として参照により本明細書に組み入れられる。

【 0 0 9 9 】

シグナル検出および強度データの処理のための方法および装置は、例えば、米国特許第

50

5,143,854号、第5,547,839号、第5,578,832号、第5,631,734号、第5,800,992号、第5,834,758号；第5,856,092号、第5,902,723号、第5,936,324号、第5,981,956号、第6,025,601号、第6,090,555号、第6,141,096号、第6,185,030号、第6,201,639号；第6,218,803号；および第6,225,625号、米国特許出願第10/389,194号、第60/493,495号、ならびにPCT出願PCT/US99/06097(WO99/47964として公開)に開示されており、これらもそれぞれ、すべての目的のために全体として参照により本明細書に組み入れられる。

【0100】

配列解析

本発明による分子プロファイリングは、個体が、遺伝子または遺伝子産物の1つまたは複数において1つまたは複数のヌクレオチドバリエーション(またはアミノ酸バリエーション)を有するかどうかを判定することによって、1つまたは複数のバイオマーカーの遺伝子型を同定する方法を含む。いくつかの態様において本発明の方法に従って1つまたは複数の遺伝子の遺伝子型を同定することは、治療を選択するためのさらなる根拠を提供し得る。

10

【0101】

本発明のバイオマーカーは、核酸またはそれらがコードするタンパク質の変化を判定するのに有用な任意の方法によって解析することができる。1つの態様に従って、当業者は、欠失変異体、挿入変異体、フレームシフト変異体、ナンセンス変異体、ミスセンス変異体、およびスプライシング変異体を含む変異体に関して、1つまたは複数の遺伝子を解析することができる。

【0102】

1つまたは複数の遺伝子の解析に用いられる核酸は、標準的な方法論に従って試料中の細胞から単離することができる(Sambrook et al., 1989)。核酸は例えば、ゲノムDNA、または分画されたRNAもしくは全細胞RNA、またはエキソソームもしくは細胞表面から得られたmiRNAであってよい。RNAを用いる場合には、RNAを相補的DNAに変換することが望ましい場合がある。1つの態様において、RNAは全細胞RNAであり；別の態様では、RNAはポリA RNAであり；別の態様では、RNAはエキソソームRNAである。通常は、核酸を増幅させる。1つまたは複数の遺伝子を解析するためのアッセイの形式に応じて、関心対象の特定の核酸は、増幅を用いて直接試料中で同定されるか、または増幅後に第2の公知の核酸を用いて同定される。次いで、同定された産物を検出する。ある種の適用では、検出を視覚的手段(例えば、ゲルの臭化エチジウム染色)によって行うことができる。あるいは検出は、化学発光、放射標識の放射活性シンチグラフィ、もしくは蛍光標識による、またはさらには電気もしくは熱インパルスシグナルを用いる系(Affymax Technology ; Bellus, 1994)による産物の間接的同定を含み得る。

20

30

【0103】

本発明のバイオマーカーにおいて様々な種類の欠陥が生じることが知られている。変化には、非限定的に、欠失、挿入、点突然変異、および重複が含まれる。点突然変異はサイレントである場合もあれば、終止コドン、フレームシフト変異、またはアミノ酸置換を生じる場合もある。1つまたは複数の遺伝子のコード領域の内部および外部で突然変異が生じる場合があり、本発明の方法に従って解析することができる。関心対象の核酸の標的部位は、配列が変動する領域を含み得る。例として、単一ヌクレオチド変化、ヌクレオチド反復、複数塩基欠失(コンセンサス配列から2つ以上のヌクレオチドが欠失)、複数塩基挿入(コンセンサス配列から2つ以上のヌクレオチドが挿入)、マイクロサテライト反復(典型的な5~1000個の反復単位を有する少数ヌクレオチド反復)、ジヌクレオチド反復、トリヌクレオチド反復、配列再構成(転座および重複を含む)、キメラ配列(異なる遺伝子起源からの2つの配列が共に融合される)等のような異なる形態で存在する多型が含まれるが、これに限定されない。配列多型の中で、ヒトゲノムにおいて最も頻度の高い多型は、一塩基多型(SNP)とも称される一塩基変化である。SNPは、ゲノム全体に大量に、安定して、かつ広く分布している。

40

【0104】

分子プロファイリングは、1つまたは複数の遺伝子のハプロタイプを同定する方法を含

50

む。ハプロタイプとは、単一の染色体上に位置する1組の遺伝的決定因子であり、典型的に、染色体のある領域における対立遺伝子(遺伝子の選択的配列のすべて)の特定の組み合わせを含む。つまりハプロタイプは、個々の染色体の位相配列情報である。非常に多くの場合、染色体上の位相SNPがハプロタイプを規定する。染色体上のハプロタイプの組み合わせが、細胞の遺伝子プロファイルを決定し得る。特異的遺伝子マーカーと疾患変異との間の関連性を決定するのは、ハプロタイプである。ハプロタイプ型同定は、当技術分野で公知の任意の方法によって行うことができる。SNPをスコア化する一般的方法には、Landgren et al., *Genome Research*, 8:769-776, 1998に概説されているハイブリダイゼーションマイクロアレイまたは直接ゲル配列決定が含まれる。例えば、1つまたは複数の遺伝子の1コピーのみを個体から単離することができ、バリエーション位置のそれぞれにおけるヌクレオチドを決定する。あるいは、対立遺伝子特異的PCRまたは類似の方法を用いて、個体における1つまたは複数の遺伝子の1コピーのみを増幅することができ、本発明のバリエーション位置におけるSNPを決定する。ハプロタイプ同定のために、当技術分野で公知のクラーク法を使用することもできる。ハイスループット分子ハプロタイプ同定法もまた、Tost et al., *Nucleic Acids Res.*, 30(19):e96 (2002)に開示されており、これは参照により本明細書に組み入れられる。

10

【0105】

したがって、遺伝学およびハプロタイプ同定の分野の当業者に明白であるように、本発明のバリエーションおよび/またはハプロタイプと連鎖不平衡であるさらなるバリエーションを、当技術分野で公知のハプロタイプ同定法によって同定することができる。本発明のバリエーションおよび/またはハプロタイプと連鎖不平衡であるさらなるバリエーションもまた、以下に記載する様々な適用で有用であり得る。

20

【0106】

遺伝子型同定およびハプロタイプ同定のために、ゲノムDNAおよびmRNA/cDNAの両方を用いることができ、これらはいずれも本明細書において一般的に「遺伝子」と称される。

【0107】

ヌクレオチドバリエーションを検出するための多くの技法が当技術分野で公知であり、いずれも本発明の方法のために用いることができる。この技法はタンパク質に基づくか、または核酸に基づき得る。いずれの場合も、用いられる技法は、わずかなヌクレオチドまたはアミノ酸の変化を正確に検出するために十分に感度が高くなければならない。非常に多くの場合、検出可能なマーカーで標識されたプローブが利用される。以下に記載する特定の技法において別段の規定がない限り、放射性同位体、蛍光化合物、ストレプトアビジンを用いて検出可能なビオチン、酵素(例えば、アルカリホスファターゼ)、酵素の基質、リガンド、および抗体等を含むがこれらに限られない、当技術分野で公知の任意の適切なマーカーを用いることができる。Jablonski et al., *Nucleic Acids Res.*, 14:6115-6128 (1986); Nguyen et al., *Biotechniques*, 13:116-123 (1992); Rigby et al., *J. Mol. Biol.*, 113:237-251 (1977)を参照されたい。

30

【0108】

核酸に基づく検出法では、標的DNA試料、すなわち1つまたは複数の遺伝子に対応するゲノムDNA、cDNA、mRNA、および/またはmiRNAを含む試料を、試験すべき個体から採取しなければならない。1つまたは複数の遺伝子に対応するゲノムDNA、miRNA、mRNA、および/またはcDNA(またはその一部)を含む任意の組織または細胞試料を用いることができる。この目的のために、細胞核およびひいてはゲノムDNAを含む組織試料を個体から採取することができる。白血球細胞および他のリンパ球のみが細胞核を有する一方、赤血球には核がなく、mRNAまたはmiRNAのみを含むということを除いて、血液試料も有用であり得る。それにもかかわらず、miRNAおよびmRNAはいずれも、その配列のヌクレオチドバリエーションの存在について解析することができ、またはcDNA合成の鋳型として役立ち得るため、これらもまた有用である。組織または細胞試料は、ほとんど処理せずに直接解析することができる。あるいは、標的配列を含む核酸を、以下で論じられる様々な検出手順に供する前に、抽出、精製、および/または増幅することもできる。組織また細胞試料以外に、試験すべき個

40

50

体から採取された組織または細胞試料を用いて構築されたcDNAまたはゲノムDNAのライブラリーに由来するcDNAまたはゲノムDNAもまた有用である。

【0109】

配列解析

特定のヌクレオチドバリエーションの有無を判定するために、標的ゲノムDNAまたはcDNA、特に、検出すべきヌクレオチドバリエーション座位を包含する領域の配列決定。サンガー法およびギルバート化学法を含む様々な配列決定技法が、当技術分野で一般に公知であり、かつ広く用いられている。ピロシーケンシング法は、発光検出システムを用いてDNA合成をリアルタイムでモニターする。ピロシーケンシングは、一塩基多型のような遺伝的多型の解析において有効であることが示されており、本発明においても用いることができる。No 10
rdstrom et al., *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 31(2):107-112 (2000); Ahmadian et al., *Anal. Biochem.*, 280:103-110 (2000)を参照されたい。

【0110】

核酸バリエーションは、適切な検出過程によって検出することができる。検出、定量、配列決定等の方法の非限定的な例は、質量改変された単位複製配列の質量検出(例えば、マトリックス支援レーザー脱離イオン化(MALDI)質量分析およびエレクトロスプレー(ES)質量分析)、プライマー伸長法(例えば、iPLEX(商標); Sequenom, Inc.)、マイクロシーケンシング法(例えば、プライマー伸長方法論の改良法)、リガーゼ配列決定法(例えば、米国特許第5,679,524号および第5,952,174号、ならびにWO 01/27326)、ミスマッチ配列決定法(例えば、米国特許第5,851,770号; 第5,958,692号; 第6,110,684号; および第6,183,958号) 20
)、直接DNA配列決定、制限断片長多型(RFLP解析)、対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチド(ASO)解析、メチル化特異的PCR(MSPCR)、ピロシーケンシング解析、アシクロプライム解析、逆ドットプロット、GeneChipマイクロアレイ、動的対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーション(DASH)、ペプチド核酸(PNA)プローブおよびロックド核酸(LNA)プローブ、TaqMan、分子ビーコン、インターカレート色素、FRETプライマー、AlphaScreen、SNPstream、遺伝子ビット解析(GBA)、多重ミニシーケンシング、SNaPshot、GOODアッセイ、マイクロアレイミニシーケンシング、アレイ型プライマー伸長(APEX)、マイクロアレイプライマー伸長(例えば、マイクロアレイ配列決定法)、タグアレイ、コード化マイクロスフェア、鋳型依存性取り込み(TDI)、蛍光偏光、比色オリゴヌクレオチド連結アッセイ(OLA)、配列コード化OLA、マイクロアレイ連結、リガーゼ連鎖反応、パドロックプローブ、Invaderアッセイ 30
、ハイブリダイゼーション法(例えば、少なくとも1つのプローブを用いるハイブリダイゼーション、少なくとも1つの蛍光標識プローブを用いるハイブリダイゼーション等)、従来のドットプロット解析、一本鎖高次構造多型解析(SSCP、例えば、米国特許第5,891,625号および第6,013,499号; Orita et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86: 27776-2770 (1989))、変性勾配ゲル電気泳動(DGGE)、ヘテロ二重鎖解析、ミスマッチ切断検出、ならびにSheffield et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 49: 699-706 (1991)、White et al., *Genomics* 12: 301-306 (1992)、Grompe et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 58 40
55-5892 (1989)、およびGrompe, *Nature Genetics* 5: 111-117 (1993)に記載されている技法、クローニングおよび配列決定、電気泳動、ハイブリダイゼーションプローブおよび定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応(QRT-PCR)の使用、デジタルPCR、ナノポア配列決定、チップ、ならびにそれらの組み合わせである。対立遺伝子またはパラログの検出および定量は、2007年12月4日に出版された米国特許出願第11/950,395号に記載されている「閉管」法を用いて行うことができる。いくつかの態様において、核酸種の量は、質量分析、プライマー伸長、配列決定(例えば任意の適切な方法、例えばナノポアまたはピロシーケンシング)、定量PCR(Q-PCRまたはQRT-PCR)、デジタルPCR、それらの組み合わせ等によって測定される。

【0111】

本明細書で用いられる「配列解析」という用語は、ヌクレオチド配列、例えば増幅産物のヌクレオチド配列を決定することを指す。ポリヌクレオチド、例えばDNAまたはmRNAの全配列または部分配列を決定することができ、決定されたヌクレオチド配列は「読み取り 50

」または「配列読み取り」と称され得る。例えば、いくつかの態様では、線形増幅産物をさらなる増幅なしに直接解析することができる(例えば、単一分子配列決定方法論を用いることによる)。特定の態様では、線形増幅産物をさらなる増幅に供してから、解析してもよい(例えば、連結による配列決定またはピロシーケンシング方法論を用いる)。読み取りは、様々な種類の配列解析に供することができる。任意の適切な配列決定法を利用して、ヌクレオチド配列種、増幅核酸種、または前述のものから作製された検出可能な産物の量を検出および測定することができる。特定の配列決定法の例を以下に記載する。

【0112】

配列解析装置または配列解析成分は、本明細書に記載される過程から生じたヌクレオチド配列(例えば、線形増幅産物および/または指数関数的増幅産物)を決定するために当業者によって用いられ得る装置、およびそのような装置と共に用いられる1つまたは複数の成分を含む。配列決定プラットフォームの例には、非限定的に、454プラットフォーム(Roche)(Margulies, M. et al. 2005 Nature 437, 376-380)、Illumina Genomic Analyzer(またはSolexaプラットフォーム)またはSOLIDシステム(Applied Biosystems)またはHelicos True Single Molecule DNA配列決定技術(Harris TD et al. 2008 Science, 320, 106-109)、Pacific Biosciences の1分子リアルタイム(SMRT(商標))技術、およびナノポア配列決定(Soni G V and Meller A. 2007 Clin Chem 53: 1996-2001)が含まれる。このようなプラットフォームにより、検体から単離された多くの核酸分子を、並行様式で高次に多重化して配列決定することが可能になる(Dear Brief Funct Genomic Proteomic 2003; 1: 397-416)。これらのプラットフォームのそれぞれにより、クローン的に増殖した、または増幅されていない、核酸断片の単一分子の配列決定が可能になる。ある種のプラットフォームは、例えば、色素修飾プローブの連結による配列決定(周期的な連結および切断を含む)、ピロシーケンシング、および単一分子配列決定を伴う。ヌクレオチド配列種、増幅核酸種、およびそれらから作製された検出可能な産物を、そのような配列解析プラットフォームによって解析することができる。

【0113】

連結による配列決定は、塩基対合ミスマッチに対するDNAリガーゼの感度に依存する核酸配列決定法である。DNAリガーゼは、正確に塩基対合するDNAの末端を連結する。DNAリガーゼが正確に塩基対合するDNA末端のみを連結する能力と、蛍光標識されたオリゴヌクレオチドまたはプライマーの混合プールを併用することにより、蛍光検出による配列決定が可能になる。標識同定後に切断され得る切断可能な結合を含むプライマーを含めることにより、より長い配列読み取りを得ることができる。リンカー位置での切断により標識が除去され、連結されたプライマーの末端上で5'リン酸が再生され、連結のさらなるラウンドのためのプライマーが調製される。いくつかの態様において、プライマーは2種類以上の蛍光標識、例えば少なくとも1、2、3、4、または5種類の蛍光標識で標識することができる。

【0114】

連結による配列決定は一般に、以下の段階を伴う。標的核酸鋳型配列、増幅反応成分、ビーズ、およびプライマーを含むエマルジョンマイクロリアクター内で、クローンビーズ集団を調製することができる。増幅後、鋳型を変性させ、伸長した鋳型を伴うビーズを望ましくないビーズ(例えば、伸長しなかった鋳型を伴うビーズ)から分離するようにビーズの濃縮を行う。選択されたビーズ上の鋳型は、スライドへの共有結合が可能となるように3'修飾を受け、修飾されたビーズをスライドガラス上に堆積させることができる。堆積チャンパーは、ビーズを負荷する過程において、スライドを1、4、または8個のチャンパーに分割する能力を提供する。配列解析のため、プライマーがアダプター配列にハイブリダイズする。4色の色素で標識された1組のプローブが、配列決定プライマーに対する連結において競合する。プローブ連結の特異性は、一連の連結中に、4番目および5番目ごとの塩基を調べることによって達成される。5~7ラウンドの連結、検出、および切断で、用いられるライブラリーの種類によって決定されるラウンド数と共に、5番目ごとの位置における色が記録される。連結の各ラウンド後に、さらなる一連の連結のために、5'方向に1塩

10

20

30

40

50

基分差し引いた新たな相補的プライマーを配置する。プライマーのリセットおよび連結ラウンド(ラウンドあたり5~7回の連結サイクル)を連続して5回繰り返し、単一のタグに対して25~35塩基対の配列を作製する。メイトペア配列決定の場合には、この過程を2つ目のタグについて繰り返す。

【0115】

ピロシーケンシングは、ヌクレオチド取り込み時に放出されるピロリン酸の検出に依存する、合成による配列決定に基づく核酸配列決定法である。一般に、合成による配列決定は、その配列が求められている鎖に相補的なDNA鎖で、一度に1ヌクレオチドを合成する段階を伴う。標的核酸を固体支持体に固定化し、配列決定プライマーとハイブリダイズさせ、DNAポリメラーゼ、ATPスルフィラーゼ、ルシフェラーゼ、アピラーゼ、アデノシン5'ホスホ硫酸、およびルシフェリンと共にインキュベートすることができる。ヌクレオチド溶液を順次添加および除去する。ヌクレオチドの正確な取り込みによりピロリン酸が放出され、これがアデノシン5'ホスホ硫酸の存在下でATPスルフィラーゼと反応して、ATPを生成し、ルシフェリン反応を刺激し、この反応によって化学発光シグナルが生成されて、配列決定が可能となる。生じた光の量は、付加された塩基の数と比例する。それによって、配列決定プライマーの下流の配列を決定することができる。ピロシーケンシングの例示的な系は以下の段階を伴う：調査中の核酸にアダプター核酸を連結し、得られた核酸をビーズにハイブリダイズさせる段階；エマルジョン中でヌクレオチド配列を増幅する段階；ピコリットルのマルチウェル固体支持体を用いてビーズを選別する段階；およびピロシーケンシング方法論によって増幅ヌクレオチド配列を配列決定する段階(例えば、Nakano et al., 「Single-molecule PCR using water-in-oil emulsion;」 *Journal of Biotechnology* 102: 117-124 (2003))。

10

20

【0116】

ある種の単一分子配列決定態様は合成による配列決定の原理に基づいており、ヌクレオチド取り込みが成功した結果として光子が放出される機構として、単一ペア蛍光共鳴エネルギー移動(単一ペアFRET)を利用する。放出された光子は多くの場合、内部全反射顕微鏡(TIRM)と共に、増感または高感度冷却電荷結合素子を用いて検出される。導入された反応溶液が、配列決定過程の結果として合成される伸長核酸鎖に取り込まれるための正確なヌクレオチドを含む場合にのみ、光子が放出される。FRETに基づく単一分子配列決定では、場合によってポリメチンシアニン色素Cy3およびCy5である2つの蛍光色素間で、長距離双極子相互作用を介してエネルギーが移動する。ドナーがその特異的な励起波長で励起され、励起状態エネルギーがアクセプター色素に無放射で移動し、次にこれが励起される。アクセプター色素は最終的に、光子の放射放出によって基底状態に戻る。エネルギー移動過程において用いられる2つの色素は、単一ペアFRETにおける「単一ペア」を表す。ドナーフルオロフォアとしてCy3が用いられる場合が多く、第1標識ヌクレオチドとして取り込まれる場合が多い。アクセプターフルオロフォアとしてCy5が用いられる場合が多く、第1Cy3標識ヌクレオチドの取り込み後の連続的なヌクレオチド付加のためのヌクレオチド標識として用いられる。フルオロフォアは一般的に、エネルギー移動がうまく起こるように、それぞれ10ナノメートル以内である。

30

【0117】

単一分子配列決定に基づいて用いられ得る系の例は一般的に、標的核酸配列に対してプライマーをハイブリダイズさせて複合体を作製する段階；該複合体を固相に結合させる段階；蛍光分子でタグ化されたヌクレオチドにより、プライマーを反復して伸長させる段階；および各相互作用後に蛍光共鳴エネルギー移動シグナルの画像を撮る段階を伴う(例えば、米国特許第7,169,314号；Braslavsky et al., *PNAS* 100(7): 3960-3964 (2003))。このような系を用いて、本明細書に記載される過程によって作製された増幅産物(線形増幅産物または指数関数的増幅産物)を直接配列決定することができる。いくつかの態様では、増幅産物を、固体支持体、例えばビーズまたはスライドガラス上に存在する固定化捕捉配列に相補的な配列を含むプライマーにハイブリダイズさせることができる。プライマー-増幅産物複合体と固定化捕捉配列のハイブリダイゼーションにより、単一ペアFRETに基

40

50

づく合成による配列決定のために、増幅産物が固体支持体上に固定化される。核酸が固定化されているスライドの表面の初期参照画像が作製され得るように、プライマーは蛍光性である場合が多い。初期参照画像は、真のヌクレオチド取り込みが起こっている位置を判定するのに有用である。「プライマーのみ」の参照画像において最初に同定されないアレイ位置に検出される蛍光シグナルは、非特異的蛍光として破棄される。プライマー-増幅産物複合体の固定化後、結合した核酸は、a) 1つの蛍光標識ヌクレオチドの存在下におけるポリメラーゼ伸長、b) 適切な顕微鏡、例えばTIRMを用いた蛍光の検出、c) 蛍光ヌクレオチドの除去、およびd) 異なる蛍光標識ヌクレオチドによる段階aへの回復、の反復段階により並行して配列決定される場合が多い。

【0118】

いくつかの態様において、ヌクレオチド配列決定は、固相単一ヌクレオチド配列決定の方法および過程によるものであってよい。固相単一ヌクレオチド配列決定法は、単一分子の試料核酸が単一分子の固体支持体にハイブリダイズする条件下で、標的核酸と固相支持体を接触させる段階を伴う。このような条件は、「マイクロリアクター」中に固体支持体分子および単一分子の標的核酸を提供する段階を含み得る。このような条件はまた、標的核酸分子が、固体支持体上の固相核酸にハイブリダイズし得る混合物を提供する段階を含み得る。本明細書に記載される態様において有用な単一ヌクレオチド配列決定法は、2008年1月17日に出願された米国仮特許出願第61/021,871号に記載されている。

【0119】

特定の態様において、ナノポア配列決定検出法は、(a) 配列特異的検出器が、配列決定のための標的核酸(「基礎核酸」、例えば連結されたプローブ分子)の実質的相補配列に特異的にハイブリダイズする条件下で、該基礎核酸を該検出器と接触させる段階；(b) 該検出器からのシグナルを検出する段階、および(c) 検出されたシグナルに従って該基礎核酸の配列を決定する段階を含む。特定の態様では、基礎核酸が孔を通過する際に、検出器がナノポア構造を妨げる場合に、基礎核酸にハイブリダイズしている検出器が該基礎核酸から解離され(例えば、連続して解離される)、該基礎核酸から解離された該検出器が検出される。いくつかの態様において、基礎核酸から解離された検出器は検出可能なシグナルを発生し、基礎核酸にハイブリダイズしている検出器は異なる検出可能なシグナルを発生するか、または検出可能なシグナルを発生しない。特定の態様において、核酸(例えば、連結されたプローブ分子)中のヌクレオチドは、特定のヌクレオチドに対応する特定のヌクレオチド配列(「ヌクレオチド代表」)によって置換され、それによって拡大された核酸が生じ(例えば、米国特許第6,723,513号)、検出器は、基礎核酸として機能する該拡大核酸中の該ヌクレオチド代表にハイブリダイズする。このような態様において、ヌクレオチド代表は2成分またはより高次の配置で並べられ得る(例えば、Soni and Meller, *Clinical Chemistry* 53(11): 1996-2001 (2007))。いくつかの態様では、核酸は拡大されず、拡大核酸を生じず、基礎核酸として直接働き(例えば、連結されたプローブ分子は非拡大基礎核酸として機能する)、検出器を該基礎核酸と直接接触させる。例えば、第1検出器は第1サブ配列にハイブリダイズすることができ、第2検出器は第2サブ配列にハイブリダイズすることができ、この場合、第1検出器と第2検出器はそれぞれ、互いに識別され得る検出可能な標識を有し、かつ第1検出器および第2検出器からのシグナルは、それらが基礎核酸から解離された場合に互いに識別され得る。特定の態様において、検出器は、基礎核酸にハイブリダイズする領域(例えば、2つの領域)を含み、それは約3~約100ヌクレオチド長(例えば、約4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、50、55、60、65、70、75、80、85、90、または95ヌクレオチド長)であってよい。検出器はまた、基礎核酸にハイブリダイズしないヌクレオチドの1つまたは複数の領域を含み得る。いくつかの態様において、検出器は分子ビーコンである。検出器は多くの場合、本明細書に記載されるものから独立して選択される1つまたは複数の検出可能な標識を含む。検出可能な標識はそれぞれ、各標識によって生じるシグナル(例えば、磁氣的、電氣的、化学的、光学的等)を検出し得る任意の簡便な検出過程によって検出することができる。例えば、CDカメラを用いて、検出器に連結された1つまたは複数の識別可能な量子ドット

10

20

30

40

50

からのシグナルを検出することができる。

【0120】

特定の配列解析態様では、読み取りを用いてより大きなヌクレオチド配列を構築することができ、これは、異なる読み取り中の重複配列を同定し、該読み取り中の同定配列を用いることによって促進され得る。読み取りからより大きな配列を構築するためのこのような配列解析法およびソフトウェアは、当業者に公知である(例えば、Venter et al., Science 291: 1304-1351 (2001))。特定の配列解析態様では、特定の読み取り、部分的ヌクレオチド配列構築物、および完全なヌクレオチド配列構築物を、試料核酸内のヌクレオチド配列間で比較することができ(すなわち、内部比較)、または参照配列と比較することもできる(すなわち、参照比較)。内部比較は、複数の試料から、または配列変化を含む単一の試料供給源から試料核酸が調製される場合に行われ得る。参照比較は場合により、参照ヌクレオチド配列が公知であり、かつ試料核酸が、参照ヌクレオチド配列と実質的に類似しているかもしくは同じであるヌクレオチド配列を含むか、または参照ヌクレオチド配列と異なるヌクレオチド配列を含むかを判定することが目的である場合に行われる。配列解析は、上記の配列解析の装置および成分の使用により促進され得る。

10

【0121】

プライマー伸長多型検出法は、本明細書において「マイクロシーケンシング」法とも称され、典型的に、多型部位を保有する核酸に対して相補的オリゴヌクレオチドをハイブリダイズさせることによって行われる。これらの方法において、該オリゴヌクレオチドは典型的に多型部位に隣接してハイブリダイズする。「マイクロシーケンシング」法に關して用いられる場合の「隣接」という用語は、伸長オリゴヌクレオチドが核酸にハイブリダイズした場合の該核酸における、場合により多型部位の5'末端から1ヌクレオチド、多くの場合には多型部位の5'末端から2または3ヌクレオチド、時には4、5、6、7、8、9、または10ヌクレオチドに存在する伸長オリゴヌクレオチドの3'末端を指す。次に伸長オリゴヌクレオチドをヌクレオチド1個または複数個分だけ、多くの場合にはヌクレオチド1個、2個、または3個分だけ伸長させ、該伸長オリゴヌクレオチドに付加されるヌクレオチドの数および/または種類により、1つまたは複数のどの多型パリアントが存在するのかが決定される。オリゴヌクレオチド伸長法は、例えば、米国特許第4,656,127号；第4,851,331号；第5,679,524号；第5,834,189号；第5,876,934号；第5,908,755号；第5,912,118号；第5,976,802号；第5,981,186号；第6,004,744号；第6,013,431号；第6,017,702号；第6,046,005号；第6,087,095号；第6,210,891号；およびWO 01/20039に開示されている。伸長産物は、蛍光法(例えば、Chen & Kwok, Nucleic Acids Research 25: 347-353 (1997)、およびChen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94/20: 10756-10761 (1997)を参照されたい)によるか、または質量分析法(例えば、MALDI-TOF質量分析)および本明細書に記載される他の方法によるなど、任意の様式で検出することができる。質量分析を用いるオリゴヌクレオチド伸長法は、例えば、米国特許第5,547,835号；第5,605,798号；第5,691,141号；第5,849,542号；第5,869,242号；第5,928,906号；第6,043,031号；第6,194,144号；および第6,258,538号に記載されている。マイクロシーケンシング検出法は、多くの場合、伸長段階を進行する増幅過程を組み入れる。増幅過程は典型的に、多型部位を含む核酸試料由来の領域を増幅する。増幅は、上記の方法を利用して、または例えばポリメラーゼ連鎖反応(PCR)において、一方のオリゴヌクレオチドプライマーが典型的に多型の3'側の領域に相補的であり、かつもう一方が典型的に多型の5'側の領域に相補的である一対のオリゴヌクレオチドプライマーを用いて行うことができる。PCRプライマー対は、例えば米国特許第4,683,195号；第4,683,202号；第4,965,188号；第5,656,493号；第5,998,143号；第6,140,054号；WO 01/27327；およびWO 01/27329に開示されている方法において使用され得る。PCRプライマー対はまた、Applied Biosystemsから入手可能なGeneAmp(商標)システムのいずれかのような、PCRを実行する任意の市販の機械で使用され得る。

20

30

40

【0122】

他の適切な配列決定法には、多重ポロニー配列決定(参照により本明細書に組み入れられる、www.sciencexpress.org/4 Aug. 2005/Page1/10.1126/science.1117389において利

50

用可能なShendure et al., Accurate Multiplex Polony Sequencing of an Evolved Bacterial Genome, Scienceexpress, Aug. 4, 2005, pg 1に記載されている)が含まれ、これは固定化マイクロビーズ、および微細加工ピコリットルリアクター中での配列決定を使用する(参照により本明細書に組み入れられる、www.nature.com/nature (published online 31 Jul. 2005, doi:10.1038/nature03959において利用可能なMargulies et al., Genome Sequencing in Microfabricated High-Density Picolitre Reactors, Nature, August 2005に記載されている)。

【0123】

いくつかの態様では、RNA転写産物の対立遺伝子を識別するために、全ゲノム配列決定を利用することもできる。全ゲノム配列決定法の例には、上記のナノポアに基づく配列決定法、合成による配列決定、および連結による配列決定が含まれるが、これらに限定されない。

【0124】

インサイチューハイブリダイゼーション

インサイチューハイブリダイゼーションアッセイは周知であり、Angerer et al., Methods Enzymol. 152:649-660 (1987)に一般的に記載されている。インサイチューハイブリダイゼーションアッセイでは、例えば生検標本由来の細胞を固体支持体、典型的にはスライドガラスに固定化する。DNAをプロービングする場合には、細胞を熱またはアルカリで変性させる。次に細胞をハイブリダイゼーション溶液と適度な温度で接触させて、標識されている特異的プローブのアニーリングを可能にする。プローブは、放射性同位体または蛍光レポーターで標識されていることが好ましい。FISH(蛍光インサイチューハイブリダイゼーション)は、それらが高度の配列類似性を示す配列の部分にのみ結合する蛍光プローブを使用する。

【0125】

FISHは、細胞内の特定のポリヌクレオチド配列を検出し、その位置を特定するために用いられる細胞遺伝学的技法である。例えば、FISHを用いて、染色体上のDNA配列を検出することができる。FISHを用いて、組織試料内の特定のRNA、例えばmRNAを検出し、その位置を特定することもできる。FISHは、それらが高度の配列類似性を示す特異的ヌクレオチド配列に結合する蛍光プローブを使用する。蛍光顕微鏡を用いて、蛍光プローブが結合しているかどうか、およびどこに結合しているかを見出すことができる。FISHは、特定のヌクレオチド配列、例えば転座、融合、切断、重複、および他の染色体異常を検出することに加えて、細胞および組織内の特定の遺伝子コピー数および/または遺伝子発現の空間的-時間的パターンを明確にするのにも役立つ。

【0126】

比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)はインサイチューハイブリダイゼーションの動力学を使用して、ある試料に由来する異なるDNAもしくはRNA配列のコピー数を比較するか、または1つの試料中の異なるDNAもしくはRNAのコピー数を別の試料中の実質的に同一の配列のコピー数と比較する。CGHの多くの有用な適用において、DNAまたはRNAは対象細胞または細胞集団から単離する。比較は定性的または定量的であってよい。1つまたはいくつかの配列に関して絶対コピー数が公知であるかまたは決定される場合に、細胞または細胞集団のゲノム全体にわたってDNA配列の絶対コピー数の決定を可能にする手順が記載されている。異なる配列は、通常は分裂中期の染色体であるが、場合によっては間期の核である参照ゲノムにハイブリダイズした場合のそれらの結合部位の異なる位置によって、互いに識別される。コピー数情報は、参照ゲノム上の異なる位置間でのハイブリダイゼーションシグナルの強度の比較に由来する。CGHの方法、技法、および適用は、米国特許第6,335,167号および米国特許出願第60/804,818号に記載されているように公知であり、それらの関連部分は参照により本明細書に組み入れられる。

【0127】

その他の配列解析法

核酸バリエーションはまた、標準的な電気泳動技法を用いて検出することもできる。検出段

階は場合によって増幅段階により先行され得るが、本明細書に記載される態様において増幅は必要ではない。電気泳動技法を用いる核酸の検出および定量的方法の例は、当技術分野において見出され得る。非限定的な例は、アガロースまたはポリアクリルアミドゲルにおいて試料(例えば、母体血清から単離された混合核酸試料、または例えば増幅核酸種)を泳動する段階を含む。ゲルを臭化エチジウム染色で標識(例えば、染色)してもよい(Sambrook and Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3d ed., 2001を参照されたい)。標準対照と同じ大きさのバンドの存在は標的核酸配列の存在の指標であり、次にその量を該バンドの強度に基づいて該対照と比較することができ、このようにして関心対象の標的配列を検出および定量することができる。いくつかの態様では、母性対立遺伝子と父性対立遺伝子を識別し得る制限酵素を用いて、標的核酸種を検出および定量することができる。特定の態様では、関心対象の標的配列の存在を検出するために、該関心対象の配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブが用いられる。該オリゴヌクレオチドを用いて、該プローブによって付与されるシグナルの強度に基づいて、標準対照と比較して標的核酸分子の量を示すこともできる。

【0128】

配列特異的プローブハイブリダイゼーションを用いて、他の核酸種を含む混合物または混合集団中の特定の核酸を検出することができる。十分にストリンジентなハイブリダイゼーション条件下で、プローブは、実質的に相補的な配列にのみ特異的にハイブリダイズする。様々な量の配列ミスマッチを許容するために、ハイブリダイゼーション条件のストリンジエンシーを緩和することができる。いくつかのハイブリダイゼーション形式が当技術分野で公知であり、これには、液相、固相、または混合相ハイブリダイゼーションアッセイが含まれるが、これらに限定されない。以下の論文は様々なハイブリダイゼーションアッセイ形式の概要を提供する：Singer et al., *Biotechniques* 4:230, 1986；Haase et al., *Methods in Virology*, pp. 189-226, 1984；Wilkinson, *In situ Hybridization*, Wilkinson ed., IRL Press, Oxford University Press, Oxford；およびHames and Hignins eds., *Nucleic Acid Hybridization: A Practical Approach*, IRL Press, 1987。

【0129】

ハイブリダイゼーション複合体は、当技術分野で公知の技法によって検出することができる。標的核酸(例えば、mRNAまたはDNA)に特異的にハイブリダイズし得る核酸プローブを任意の適切な方法によって標識することができ、該標識プローブを用いて、ハイブリダイズされた核酸の存在を検出することができる。一般的に用いられる1つの検出方法は、³H、¹²⁵I、³⁵S、¹⁴C、³²P、または³³P等で標識されたプローブを用いるオートラジオグラフィである。放射性同位体の選択は、選択される同位体の合成の容易性、安定性、および半減期に起因する研究の好みに依存する。他の標識には、フルオロフォア、化学発光剤、および酵素で標識された抗リガンドまたは抗体に結合する化合物(例えば、ビオチンおよびジゴキシゲニン)が含まれる。いくつかの態様において、プローブは、フルオロフォア、化学発光剤、または酵素などの標識と直接結合させることができる。標識の選択は、必要な感度、プローブとの結合の容易性、安定性要件、および利用可能な機器に依存する。

【0130】

あるいは、制限断片長多型(RFLP)およびAFLP法を分子プロファイリングに用いてもよい。1つまたは複数の遺伝子に対応する標的DNA中のヌクレオチドバリエーションが制限酵素認識部位の消失または創出をもたらす場合には、特定の制限酵素による標的DNAの消化により、変化した制限断片長パターンが生じる。したがって、検出されたRFLPまたはAFLPにより、特定のヌクレオチドバリエーションの存在が示されることになる。

【0131】

別の有用なアプローチは一本鎖高次構造多型アッセイ(SSCA)であり、これは関心対象のヌクレオチドバリエーションにまたがる一本鎖標的DNAの移動度変化に基づいている。標的配列中の単一ヌクレオチド変化は、異なる分子内塩基対合パターン、およびひいては一本鎖DNAの異なる二次構造をもたらす得て、これは非変性ゲルで検出され得る。Orita et al.,

10

20

30

40

50

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:2776-2770 (1989)を参照されたい。変性剤濃度固定ゲル電気泳動(CDGE)および変性剤濃度勾配ゲル電気泳動(DGGE)のような変性ゲルに基づく技法は、変性ゲル中の野生型配列と比較した変異体配列の移動率の差を検出する。Miller et al., *Biotechniques*, 5:1016-24 (1999); Sheffield et al., *Am. J. Hum. Genet.*, 49:699-706 (1991); Wartell et al., *Nucleic Acids Res.*, 18:2699-2705 (1990); および Sheffield et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:232-236 (1989)を参照されたい。加えて、二本鎖高次構造解析(DSCA)もまた本発明において有用であり得る。Arguello et al., *Nat. Genet.*, 18:192-194 (1998)を参照されたい。

【0132】

個体の1つまたは複数の遺伝子における特定の座位のヌクレオチドバリエーションの有無は、増幅抵抗突然変異システム(ARMS)技法を用いて検出することもできる。欧州特許第0,332,435号; Newton et al., *Nucleic Acids Res.*, 17:2503-2515 (1989); Fox et al., *Br. J. Cancer*, 77:1267-1274 (1998); Robertson et al., *Eur. Respir. J.*, 12:477-482 (1998)を参照されたい。ARMS法では、試験される座位のヌクレオチドに対応する3'末端ヌクレオチドが所定のヌクレオチドであることを除いて、該座位からすぐ5'上流側のヌクレオチド配列に一致するプライマーを合成する。例えば、3'末端ヌクレオチドは変異型座位におけるヌクレオチドと同一であってよい。該プライマーは、その3'末端ヌクレオチドが試験される座位におけるヌクレオチドと一致する場合にのみ、ストリンジェントな条件下で標的DNAにハイブリダイズする限り、任意の適切な長さのものであってよい。好ましくは該プライマーは少なくとも12ヌクレオチド、より好ましくは約18~50ヌクレオチドを有する。試験された個体が該座位に突然変異を有し、その中のヌクレオチドが該プライマーの3'末端ヌクレオチドと一致する場合には、該プライマーは標的DNA鋳型にハイブリダイズした際にさらに伸長され得、該プライマーは別の適切なPCRプライマーと共にPCR増幅反応を開始し得る。対照的に、該座位のヌクレオチドが野生型のものである場合には、プライマー伸長は達成され得ない。過去数年間に開発された様々な形態のARMS技法を用いることができる。例えば、Gibson et al., *Clin. Chem.* 43:1336-1341 (1997)を参照されたい。

【0133】

ARMS技法に類似しているのはミニシーケンシングまたは単一ヌクレオチドプライマー伸長法であり、これは単一ヌクレオチドの取り込みに基づいている。試験される座位のすぐ5'側のヌクレオチド配列と一致するオリゴヌクレオチドプライマーを、標識ジデオキシリボヌクレオチドの存在下で標的DNA、mRNA、またはmiRNAにハイブリダイズさせる。ジデオキシリボヌクレオチドが、検出されるバリエーション座位のヌクレオチドと一致する場合にのみ、該標識ヌクレオチドが該プライマーに取り込まれるかまたは連結される。したがって、取り込まれたジデオキシリボヌクレオチドに結合している検出標識に基づいて、バリエーション座位のヌクレオチドの同一性を明らかにすることができる。Syvanen et al., *Genomics*, 8:684-692 (1990); Shumaker et al., *Hum. Mutat.*, 7:346-354 (1996); Chen et al., *Genome Res.*, 10:549-547 (2000)を参照されたい。

【0134】

本発明において有用である別の一連の技法は、野生型座位と突然変異との識別が、標的DNA分子上で2つのオリゴヌクレオチドが互いに近接してアニールして、該2つのオリゴヌクレオチドがDNAリガーゼによって共に連結されるようにする能力に基づいている、いわゆる「オリゴヌクレオチド連結アッセイ」(OLA)である。Landergrén et al., *Science*, 241:1077-1080 (1988); Chen et al., *Genome Res.*, 8:549-556 (1998); Iannone et al., *Cytometry*, 39:131-140 (2000)を参照されたい。したがって、例えば、1つまたは複数の遺伝子における特定の座位の単一ヌクレオチド変異を検出するためには、一方は該座位からすぐ5'上流側の配列を有し、かつその3'末端ヌクレオチドはその特定の遺伝子のバリエーション座位におけるヌクレオチドと同一であり、もう一方は該遺伝子の該座位からすぐ3'下流側の配列と一致するヌクレオチド配列を有する、2つのオリゴヌクレオチドを合成することができる。該オリゴヌクレオチドは、検出の目的のために標識することができる。ス

トリンジエントな条件下で標的遺伝子にハイブリダイズさせると、該2つのオリゴヌクレオチドは適切なリガーゼの存在下で連結に供される。2つのオリゴヌクレオチドの連結により、標的DNAが、検出される座位にヌクレオチドバリエーションを有することが示される。

【0135】

わずかな遺伝的変化の検出は、ハイブリダイゼーションに基づく種々のアプローチによって達成することもできる。対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドが最も有用である。Conner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:278-282 (1983); Saiki et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:6230-6234 (1989)を参照されたい。特定の座位に特定の遺伝子バリエーションを有する対立遺伝子に特異的にハイブリダイズするが、他の対立遺伝子にはハイブリダイズしないオリゴヌクレオチドプローブ(対立遺伝子特異的)を、当技術分野で公知の方法によって設計することができる。該プローブは、例えば10~約50ヌクレオチド塩基の長さを有し得る。ヌクレオチドバリエーションがハイブリダイゼーションの有無に基づいて野生型遺伝子と識別され得るように、標的DNAおよびオリゴヌクレオチドプローブを十分にストリンジエントな条件下で互いに接触させることができる。該プローブは、検出シグナルを提供するように標識することができる。あるいは、対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドプローブを「対立遺伝子特異的PCR」におけるPCR増幅プライマーとして用いることができ、予測された長さのPCR産物の有無により、特定のヌクレオチドバリエーションの有無が示される。

10

【0136】

ハイブリダイゼーションに基づく他の有用な技法は、ヌクレオチドの置換、挿入、または欠失のためにミスマッチが存在する場合でさえ、2つの1本鎖核酸を共にアニールさせる。その後、様々な技法を用いてミスマッチを検出することができる。例えば、アニールした二重鎖を電気泳動に供することができる。ミスマッチ二重鎖は、完全に一致した二重鎖と異なるそれらの電気泳動移動度に基づいて検出することができる。Cariello, Human Genetics, 42:726 (1988)を参照されたい。あるいは、RNアーゼ保護アッセイにおいて、検出すべきヌクレオチドバリエーションにまたがり、かつ検出マーカーを有するRNAプローブを調製することができる。Giunta et al., Diagn. Mol. Path., 5:265-270 (1996); Finkelstein et al., Genomics, 7:167-172 (1990); Kinszler et al., Science 251:1366-1370 (1991)を参照されたい。該RNAプローブを標的DNAまたはmRNAにハイブリダイズさせてヘテロ二重鎖を形成させることができ、次いでこれをリボヌクレアーゼRNアーゼA消化に供する。RNアーゼAは、ミスマッチの部位でのみヘテロ二重鎖中のRNAプローブを消化する。消化は、サイズ変化に基づく変性電気泳動ゲル上で判定することができる。加えて、ミスマッチはまた、当技術分野で公知の化学開裂法によって検出することもできる。例えば、Roberts et al., Nucleic Acids Res., 25:3377-3378 (1997)を参照されたい。

20

30

【0137】

mutSアッセイでは、所定のヌクレオチドがバリエーション座位において用いられることを除いて、突然変異の有無が検出されるべき座位の周囲の遺伝子配列と一致するプローブを調製することができる。該プローブを標的DNAにアニールさせて二重鎖を形成させた上で、大腸菌(E.coli)のmutSタンパク質を該二重鎖と接触させる。mutSタンパク質はヌクレオチドミスマッチを含むヘテロ二重鎖配列にのみ結合するため、mutSタンパク質の結合は突然変異の存在を示すことになる。Modrich et al., Ann. Rev. Genet., 25:229-253 (1991)を参照されたい。

40

【0138】

本発明において突然変異またはヌクレオチドバリエーションを検出するのに有用であり得る上記の基礎的な技法に基づいて、多種多様な改良法および変法が当技術分野で開発された。例えば、「サンライズプローブ」または「分子ビーコン」は蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)特性を使用し、高感度をもたらす。Wolf et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:8790-8794 (1988)を参照されたい。典型的には、検出すべきヌクレオチド座位にまたがるプローブをヘアピン型構造となるように設計し、一方の末端を消光フルオロフォアで標識し、もう一方の末端をレポーターフルオロフォアで標識する。その自然状態では、一方の

50

フルオロフォアがもう一方のフルオロフォアに近接しているため、レポーターフルオロフォアからの蛍光は消光フルオロフォアによって消光される。プローブが標的DNAにハイブリダイズすると、5'末端は3'末端から離れて分離され、したがって蛍光シグナルが再生される。Nazarenko et al., *Nucleic Acids Res.*, 25:2516-2521 (1997); Rychlik et al., *Nucleic Acids Res.*, 17:8543-8551 (1989); Sharkey et al., *Bio/Technology* 12:506-509 (1994); Tyagi et al., *Nat. Biotechnol.*, 14:303-308 (1996); Tyagi et al., *Nat. Biotechnol.*, 16:49-53 (1998)を参照されたい。プライマー二量体の蓄積を抑制するために、ホモタグ支援非二量体システム(HANDS)を分子ビーコン法と併用することができる。Brownie et al., *Nucleic Acids Res.*, 25:3235-3241 (1997)を参照されたい。

【0139】

色素標識オリゴヌクレオチド連結アッセイは、OLAアッセイとPCRを併用する、FRETに基づく方法である。Chen et al., *Genome Res.* 8:549-556 (1998)を参照されたい。TaqManは、ヌクレオチドバリエーションを検出するための、FRETに基づく別の方法である。TaqManプローブは、関心対象のバリエーション座位にまたがる遺伝子のヌクレオチド配列を有し、かつ異なる対立遺伝子と差次的にハイブリダイズするように設計されたオリゴヌクレオチドであってよい。該プローブの2つの末端を、それぞれ消光フルオロフォアおよびレポーターフルオロフォアで標識する。TaqManプローブを、Taqポリメラーゼを用いた、関心対象の座位を含む標的遺伝子領域の増幅のためのPCR反応に取り込む。Taqポリメラーゼは5'-3'エキソヌクレアーゼ活性を示すが、3'-5'エキソヌクレアーゼ活性を有さないため、TaqManプローブを標的DNAの鋳型にアニールさせた場合、TaqManプローブの5'末端はPCR反応中にTaqポリメラーゼによって分解され、したがって消光フルオロフォアからレポーターフルオロフォアが分離され、蛍光シグナルが放出される。Holland et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:7276-7280 (1991); Kalinina et al., *Nucleic Acids Res.*, 25:1999-2004 (1997); Whitcombe et al., *Clin. Chem.*, 44:918-923 (1998)を参照されたい。

【0140】

加えて、本発明における検出は化学発光に基づく技法を使用することもできる。例えば、オリゴヌクレオチドプローブを、野生型またはバリエーション遺伝子座のいずれかにハイブリダイズするが、その両方にはハイブリダイズしないように設計することができる。該プローブを高化学発光性アクリジニウムエステルで標識する。アクリジニウムエステルの加水分解により、化学発光が損なわれる。該プローブが標的DNAにハイブリダイズすることにより、アクリジニウムエステルの加水分解が妨げられる。したがって、化学発光の変化を測定することにより、標的DNAにおける特定の突然変異の有無が判定される。Nelson et al., *Nucleic Acids Res.*, 24:4998-5003 (1996)を参照されたい。

【0141】

本発明による遺伝子における遺伝的变化の検出は、「塩基除去配列スキャニング」(BESS)技法に基づいてもよい。BESS法は、PCRに基づく突然変異スキャニング法である。ジデオキシ配列決定のTおよびGのラダーと類似しているBESS T-ScanおよびBESS G-Trackerが作製される。正常DNAと変異体DNAの配列を比較することにより、突然変異が検出される。例えば、Hawkins et al., *Electrophoresis*, 20:1171-1176 (1999)を参照されたい。

【0142】

本発明による分子プロファイリングに、質量分析を用いることができる。Graber et al., *Curr. Opin. Biotechnol.*, 9:14-18 (1998)を参照されたい。例えば、プライマーオリゴ塩基伸長(PROBE(商標))法では、標的核酸を固相支持体に固定化する。解析すべき座位からすぐ5'上流側の標的に、プライマーをアニールさせる。デオキシリボヌクレオチドおよびジデオキシリボヌクレオチドの選択された混合物の存在下で、プライマー伸長を行う。その後、結果として生じた新たに伸長されたプライマーの混合物を、MALDI-TOFによって解析する。例えば、Monforte et al., *Nat. Med.*, 3:360-362 (1997)を参照されたい。

【0143】

加えて、マイクロチップまたはマイクロアレイ技術もまた、本発明の検出法に適用可能である。本質的に、マイクロチップでは、多数の異なるオリゴヌクレオチドプローブを、

10

20

30

40

50

基板または担体、例えばシリコンチップまたはスライドガラス上のアレイに固定化する。解析すべき標的核酸配列を、マイクロチップ上の固定化オリゴヌクレオチドプローブと接触させることができる。Lipshutz et al., *Biotechniques*, 19:442-447 (1995); Chee et al., *Science*, 274:610-614 (1996); Kozal et al., *Nat. Med.* 2:753-759 (1996); Hacia et al., *Nat. Genet.*, 14:441-447 (1996); Saiki et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:6230-6234 (1989); Gingeras et al., *Genome Res.*, 8:435-448 (1998)を参照されたい。あるいは、調べるべき複数の標的核酸配列を基板上に固定し、一連のプローブを固定化標的配列と接触させる。Drmanac et al., *Nat. Biotechnol.*, 16:54-58 (1998)を参照されたい。突然変異を検出するための上記の技法の1つまたは複数を組み入れて、多数のマイクロチップ技術が開発された。コンピュータ解析ツールと組み合わせたマイクロチップ技術は、大規模な迅速スクリーニングを可能にする。本発明へのマイクロチップ技術の適合化は、本開示を知らされている当業者に明白であろう。例えば、Fodor et al.に対する米国特許第5,925,525号; Wilgenbus et al., *J. Mol. Med.*, 77:761-786 (1999); Graber et al., *Curr. Opin. Biotechnol.*, 9:14-18 (1998); Hacia et al., *Nat. Genet.*, 14:441-447 (1996); Shoemaker et al., *Nat. Genet.*, 14:450-456 (1996); DeRisi et al., *Nat. Genet.*, 14:457-460 (1996); Chee et al., *Nat. Genet.*, 14:610-614 (1996); Lockhart et al., *Nat. Genet.*, 14:675-680 (1996); Drobyshev et al., *Gene*, 188:45-52 (1997)を参照されたい。

10

【0144】

適切な検出技法の上記概説から明らかのように、用いる検出技法に応じて、標的DNA分子の数を増大させるために、標的DNA、すなわち遺伝子、そのcDNA、mRNA、miRNA、または一部を増幅することが必要である場合もあれば、必要でない場合もある。例えば、PCRに基づく大部分の技法は、標的の一部の増幅と突然変異の検出を併用する。PCR増幅は当技術分野で周知であり、米国特許第4,683,195号および第4,800,159号で開示されており、これらはいずれも参照により本明細書に組み入れられる。PCRに基づかない検出技法では、必要に応じて、増幅は、例えばインビボプラスミド増殖により、または大量の組織もしくは細胞試料から標的DNAを精製することにより達成され得る。一般的に、Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989を参照されたい。しかしながら、希少な試料であっても、単一ヌクレオチド置換などのわずかな遺伝的变化が、試料中の標的DNAを増幅する必要なしに検出され得る多くの高感度技法が開発されている。例えば、例えば標的DNAにハイブリダイズし得る分岐DNAまたはデンドリマーを使用することにより、標的DNAに対してシグナルを増幅する技法が開発されている。分岐DNAまたはデンドリマーDNAは、ハイブリダイゼーションプローブが、それに結合して、検出シグナルを増幅するための複数のハイブリダイゼーション部位を提供する。Detmer et al., *J. Clin. Microbiol.*, 34:901-907 (1996); Collins et al., *Nucleic Acids Res.*, 25:2979-2984 (1997); Horn et al., *Nucleic Acids Res.*, 25:4835-4841 (1997); Horn et al., *Nucleic Acids Res.*, 25:4842-4849 (1997); Nilsen et al., *J. Theor. Biol.*, 187:273-284 (1997)を参照されたい。

20

30

【0145】

Invader(商標)アッセイは、本発明による分子プロファイリングに用いることのできる、単一ヌクレオチド変化を検出するための別の技法である。Invader(商標)アッセイは、典型的なPCR DNA配列決定に基づく解析に必要な長いターンアラウンド時間を改良する新規な線形シグナル増幅技術を使用する。Cooksey et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44:1296-1301 (2000)を参照されたい。このアッセイは、「フラップ」を形成するように関心対象の標的配列にハイブリダイズする2つの重複オリゴヌクレオチドの間で形成された固有の二次構造の切断に基づいている。その後、各「フラップ」は1時間当たり何千ものシグナルを生じる。したがって、この技法の結果を容易に解読することができ、本方法はDNA標的の指数関数的増幅を必要としない。Invader(商標)システムは、DNA標的にハイブリダイズする2つの短いDNAプローブを利用する。ハイブリダイゼーション事象によって形成された構造は特異的なcleavase酵素により認識され、この酵素によ

40

50

ってプローブの一方が切断されて、短いDNA「フラップ」が放出される。その後、放出された各「フラップ」は蛍光標識プローブに結合して、別の切断構造を形成する。cleavase酵素が標識プローブを切断すると、該プローブは検出可能な蛍光シグナルを放出する。例えば、Lyamichev et al., Nat. Biotechnol., 17:292-296 (1999)を参照されたい。

【0146】

ローリングサークル法は、指数関数的増幅を回避する別の方法である。Lizardi et al., Nature Genetics, 19:225-232 (1998)(参照により本明細書に組み入れられる)。例えば、本方法の商業上の態様であるSniper(商標)は、特定のバリエーションの正確な蛍光検出のために設計された高感度ハイスループットSNPスコアリングシステムである。各ヌクレオチドバリエーションに対して、2つの直線状対立遺伝子特異的プローブを設計する。この2つの対立遺伝子特異的プローブは、バリエーション部位を補完するために変更される3'塩基を除いて同一である。アッセイの第1段階では、標的DNAを変性した後、一对の一本鎖、対立遺伝子特異的、開環状オリゴヌクレオチドプローブとハイブリダイズさせる。3'塩基が標的DNAを正確に補完する場合、プローブの連結が優先的に起こる。環状化オリゴヌクレオチドプローブのその後の検出は、ローリングサークル増幅によるものであり、増幅されたプローブ産物は蛍光によって検出される。Clark and Pickering, Life Science News 6, 2000, Amersham Pharmacia Biotech (2000)を参照されたい。

10

【0147】

増幅を一斉に回避するいくつかの他の技法には、例えば、表面増強共鳴ラマン散乱(SERRS)、蛍光相関分光法、および単一分子電気泳動が含まれる。SERRSでは、発色団-核酸コンジュゲートをコロイド銀上に吸収させ、該発色団の共鳴周波数のレーザー光を照射する。Graham et al., Anal. Chem., 69:4703-4707 (1997)を参照されたい。蛍光相関分光法は、電場における変動光シグナルと捕捉単一分子との間の空間的-時間的相関に基づいている。Eigen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91:5740-5747 (1994)を参照されたい。単一分子電気泳動では、分子が2つのレーザービーム間の所定の距離を移動するのに要する時間を測定することにより、蛍光タグ化核酸の電気泳動速度を測定する。Castro et al., Anal. Chem., 67:3181-3186 (1995)を参照されたい。

20

【0148】

加えて、試料として組織または細胞を用いるインサイチュ-ハイブリダイゼーションにおいて、対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチド(ASO)を用いることもできる。野生型遺伝子配列、または突然変異を有する遺伝子配列と差次的にハイブリダイズし得るオリゴヌクレオチドプローブを、放射性同位体、蛍光、または他の検出可能なマーカーで標識することができる。インサイチュ-ハイブリダイゼーション技法は当技術分野で周知であり、特定の個体の1つまたは複数の遺伝子におけるヌクレオチドバリエーションの有無を検出するための本発明への適合化は、本開示を知らされている当業者に明白であろう。

30

【0149】

ヌクレオチドバリエーションが、タンパク質の一次構造、二次構造、または三次構造に影響するアミノ酸の置換または欠失または挿入またはフレームシフトを引き起こす場合には特に、タンパク質に基づく検出技法もまた、分子プロファイリングに有用である。アミノ酸変化を検出するために、タンパク質配列決定技法を用いることができる。例えば、試験すべき個体から単離されたDNA断片を用いる組換え体発現によって、遺伝子に対応するタンパク質またはその断片を合成することができる。好ましくは、決定すべき多型座位を包含する100~150塩基対以下のcDNA断片を用いる。その後、従来のタンパク質配列決定法によって、ペプチドのアミノ酸配列を決定することができる。あるいは、アミノ酸配列変化を判定するために、HPLC-顕微鏡タンデム質量分析技法を用いることもできる。この技法では、タンパク質に対してタンパク質分解消化を行い、結果として生じたペプチド混合物を逆相クロマトグラフィー分離によって分離する。次いでタンデム質量分析を行い、そこから収集されたデータを解析する。Gatlin et al., Anal. Chem., 72:757-763 (2000)を参照されたい。

40

【0150】

50

タンパク質に基づく他の検出分子プロファイリング技法には、本発明による変異体遺伝子にコードされるタンパク質と選択的に免疫反応する抗体に基づく免疫親和性アッセイが含まれる。このような抗体を作製する方法は、当技術分野で公知である。抗体を用いて、液体試料から特定のタンパク質を免疫沈降させること、または例えばポリアクリルアミドゲルによって分離されたタンパク質を免疫プロットすることができる。組織または細胞内の特定のタンパク質多型を検出するのに、免疫細胞化学的方法を用いることもできる。例えば、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体を用いるサンドイッチアッセイを含む、酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)、放射免疫測定法(RIA)、免疫放射定量測定法(IRMA)、および免疫酵素測定法(IEMA)を含む、抗体に基づく他の周知の技法を用いることもできる。例えば、米国特許第4,376,110号および第4,486,530号を参照されたく、これらはいずれも参照により本明細書に組み入れられる。

10

【0151】

したがって、個体における1つまたは複数の遺伝子ヌクレオチドバリエーションまたはアミノ酸バリエーションの有無を、上記の検出法のいずれかを用いて判定することができる。

【0152】

典型的には、1つまたは複数の遺伝子ヌクレオチドバリエーションまたはアミノ酸バリエーションの有無がいったん判定されると、医師または遺伝子カウンセラーまたは患者または他の研究者は結果を知らされ得る。具体的には、結果は、他の研究者または医師または遺伝子カウンセラーまたは患者に通信または送信され得る送信可能な形態で放たれ得る。このような形態は様々であってよく、有形または無形であってよい。試験される個体における本発明のヌクレオチドバリエーションの有無に関する結果は、説明的な記載、図、写真、図表、画像、または任意の他の視覚形態で具体化され得る。例えば、結果を説明するのに、PCR産物のゲル電気泳動の画像が用いられ得る。個体の遺伝子のどこにバリエーションが生じるのかを示す図もまた、試験結果を示すのに有用である。記載および視覚形態は、有形媒体、例えば紙、コンピュータ可読媒体、例えばフロッピーディスク、コンパクトディスク等、または無形媒体、例えばインターネットもしくはイントラネット上の電子メールもしくはウェブサイトの形態の電子媒体に記録され得る。加えて、試験される個体におけるヌクレオチドバリエーションまたはアミノ酸バリエーションの有無に関する結果は、音形態でも記録され、電話、ファクシミリ、無線携帯電話、インターネット電話等により、任意の適切な媒体、例えばアナログまたはデジタルケーブル線、光ファイバーケーブル等を通して送信され得る。

20

30

【0153】

したがって、試験結果に関する情報およびデータは世界中のどこでも作成され、異なる場所に送信され得る。例えば、遺伝子型同定アッセイが海外で行われる場合、試験結果に関する情報およびデータは上記の送信可能な形態で作成され、放たれ得る。送信可能な形態の試験結果は、このようにして米国に輸入され得る。したがって、本発明はまた、個体由来のがんと疑われる2つまたはそれ以上の試料の遺伝子型に関する送信可能な形態の情報を作成する方法を包含する。本方法は、(1)本発明の方法に従って試料からDNAの遺伝子型を決定する段階；および(2)該決定段階の結果を送信可能な形態で具体化する段階を含む。該送信可能な形態は該作成方法の産物である。

40

【0154】

データおよび解析

本発明の実行は、従来の生物学の方法、ソフトウェア、およびシステムを使用してもよい。本発明のコンピュータソフトウェア製品は典型的に、本発明の方法の論理的な段階を実施するためのコンピュータ実行可能命令を有するコンピュータ可読媒体を含む。適切なコンピュータ可読媒体には、フロッピーディスク、CD-ROM/DVD/DVD-ROM、ハードディスクドライブ、フラッシュメモリ、ROM/RAM、磁気テープ等が含まれる。コンピュータ実行可能命令は、適切なコンピュータ言語またはいくつかの言語の組み合わせで書き込まれ得る。基本的な計算生物学の方法は、例えば、Setubal and Meidanis et al., Introduction to Computational Biology Methods (PWS Publishing Company, Boston, 1997); Salzber

50

g, Searles, Kasif, (Ed.), Computational Methods in Molecular Biology, (Elsevier, Amsterdam, 1998); Rashidi and Buehler, Bioinformatics Basics: Application in Biological Science and Medicine (CRC Press, London, 2000)、およびOuelette and Bzevanis Bioinformatics: A Practical Guide for Analysis of Gene and Proteins (Wiley & Sons, Inc., 2.sup.nd ed., 2001)に記載されている。米国特許第6,420,108号を参照されたい。

【0155】

本発明は、プローブ設計、データ管理、解析、および機器操作などの種々の目的のために、様々なコンピュータプログラム製品およびソフトウェアを使用することもできる。米国特許第5,593,839号、第5,795,716号、第5,733,729号、第5,974,164号、第6,066,454号、第6,090,555号、第6,185,561号、第6,188,783号、第6,223,127号、第6,229,911号、および第6,308,170を参照されたい。

10

【0156】

さらに、本発明は、米国特許出願第10/197,621号、第10/063,559号(米国公開第20020183936号)、第10/065,856号、第10/065,868号、第10/328,818号、第10/328,872号、第10/423,403号、および第60/482,389号に示されているような、インターネットなどのネットワーク上で遺伝子情報を提供する方法を含む態様に関する。例えば、1つの場所、例えば市、州、国、または大陸で1つまたは複数の分子プロファイリング技法を実施することができる、その結果を別の市、州、国、または大陸に送信することができる。次いで、第2の場所の全体または一部において、治療選択を行うことができる。本発明の方法は、異なる場所間での情報の送信を含む。

20

【0157】

治療選択のための分子プロファイリング

本発明の方法は、候補治療選択を、それを必要とする対象に提供する。分子プロファイリングを用いて、本明細書に開示されるバイオマーカーの1つまたは複数治療の標的である病態に罹患している個体に対して1つまたは複数の候補治療薬を同定することができる。例えば本方法は、がんに対して、1つまたは複数の化学療法治療を同定することができる。1つの局面において、本発明は、対象由来の試料において免疫組織化学(IHC)解析を行い、少なくとも5種類のタンパク質に関するIHC発現プロファイルを決定する段階；該試料においてマイクロアレイ解析を行い、少なくとも10種類の遺伝子に関するマイクロアレイ発現プロファイルを決定する段階；該試料において蛍光インサイチューハイブリダイゼーション(FISH)解析を行い、少なくとも1種類の遺伝子に関するFISH突然変異プロファイルを決定する段階；該試料においてDNA配列決定を行い、少なくとも1種類の遺伝子に関する配列決定突然変異プロファイルを決定する段階；ならびにi) 該IHC発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種のタンパク質を過剰発現もしくは過小発現する罹患細胞、ii) 該マイクロアレイ発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子を過剰発現もしくは過小発現する罹患細胞、iii) 該FISH突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1種以上の突然変異を有する罹患細胞、および/またはiv) 該配列決定突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1種以上の突然変異を有する罹患細胞に対する生物活性が判明している治療についてのマッピングを含む規則データベースに対して、該IHC発現プロファイル、マイクロアレイ発現プロファイル、FISH突然変異プロファイル、および配列決定突然変異プロファイルと比較する段階；ならびに該規則データベースに対する比較によって、治療が該罹患細胞に対する生物活性を有するはずであることが示されて、かつ該規則データベースに対する比較によって、該罹患細胞の治療に関して該治療の禁忌が示されない場合に、該治療を同定する段階を含む方法を提供する。疾患はがんであってよい。分子プロファイリング段階は任意の順序で行うことができる。いくつかの態様において、分子プロファイリング段階のすべてが実施されるわけではない。非限定的な例として、本明細書に記載されるように、試料の質が閾値を満たさない場合には、マイクロアレイ解析は行われぬ。別の例では、FISH解析が閾値を満たす場合

30

40

50

にのみ、配列決定が行われる。本明細書に記載されるか、または当技術分野で公知である分子プロファイリングの1つまたは複数を用いて、任意の関連バイオマーカーを評価することができる。該マーカーは、有用となる治療といくらかの直接的または間接的な関連を有することのみが必要である。

【0158】

分子プロファイリングは、実施される各アッセイ技法に関して少なくとも1つの遺伝子(または遺伝子産物)のプロファイリングを含む。様々な数の遺伝子を様々な技法でアッセイすることができる。標的治療法と直接的または間接的に関連している本明細書に開示される任意のマーカーを、遺伝子、例えばDNA配列、および/または遺伝子産物、例えばmRNAもしくはタンパク質に基づいて評価することができる。このような核酸および/またはポリペプチドは、有無、レベルまたは量、突然変異、配列、ハプロタイプ、再構成、コピー数等に関して規定通りにプロファイリングすることができる。いくつかの態様では、単一の遺伝子および/または1つもしくは複数の対応する遺伝子産物を、2つ以上の分子プロファイリング技法によってアッセイする。遺伝子または遺伝子産物(本明細書では「マーカー」または「バイオマーカー」とも称される)、例えばmRNAもしくはタンパク質を、非限定的にFISH、マイクロアレイ、IHC、配列決定、または免疫測定法を含む適用可能な技法(例えば、DNA、RNA、タンパク質を評価するための)を用いて評価する。したがって、本明細書に開示されるマーカーのいずれかを、単一の分子プロファイリング技法によって、または本明細書に開示される複数の方法によってアッセイすることができる(例えば、単一のマーカーを、IHC、FISH、配列決定、マイクロアレイ等のうちの1つまたは複数によってプロファイリングする)。いくつかの態様では、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95個、または少なくとも約100個の遺伝子または遺伝子産物を、少なくとも1つの技法、複数の技法、またはFISH、マイクロアレイ、IHC、および配列決定のそれぞれによってプロファイリングする。いくつかの態様では、少なくとも約100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10,000、11,000、12,000、13,000、14,000、15,000、16,000、17,000、18,000、19,000、20,000、21,000、22,000、23,000、24,000、25,000、26,000、27,000、28,000、29,000、30,000、31,000、32,000、33,000、34,000、35,000、36,000、37,000、38,000、39,000、40,000、41,000、42,000、43,000、44,000、45,000、46,000、47,000、48,000、49,000個、または少なくとも約50,000個の遺伝子または遺伝子産物を、各技法によってプロファイリングする。アッセイするマーカーの数は、用いる技法に依存し得る。例えば、マイクロアレイおよび大規模並列配列決定はハイスループット解析に役立つ。

【0159】

いくつかの態様では、それを必要とする対象由来の試料を、以下のうちの1つまたは複数に関して、IHC発現プロファイリング、マイクロアレイ発現プロファイリング、FISH突然変異プロファイリング、および/または配列決定突然変異プロファイリング(PCR、RT-PCR、ピロシーケンシングによるなど)を含むがこれらに限定されない方法を用いてプロファイリングする：ABCC1、ABCG2、ACE2、ADA、ADH1C、ADH4、AGT、アンドロゲン受容体、AR、AREG、ASNS、BCL2、BCRP、BDCA1、BIRC5、B-RAF、BRCA1、BRCA2、CA2、カベオリン、CD20、CD25、CD33、CD52、CDA、CDK2、CDW52、CES2、CK 14、CK 17、CK 5/6、c-KIT、c-Myc、COX-2、サイクリンD1、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、E-カドヘリン、EGF1、EGFR、EPHA2、エピレギュリン、ER、ERBR2、ERCC1、ERCC3、EREG、ESR1、FLT1、葉酸受容体、FOLR1、FOLR2、FSHB、FSHPRH1、FSHR、FYN、GART、GNRH1、GNRHR1、GSTP1、HCK、HDAC1、Her2/Neu、HGF、HIF1A、HIG1、HSP90、HSP90AA1、HSPCA、IL13RA1、IL2RA、KDR、KIT、K-RAS、LCK、LTB、リンホトキシン受容体、LYN、MGMT、MLH1、MRP1、MS4A1、MSH2、Myc、NFKB1、NFKB2、NFKBIA、ODC1、OGFR、p53、p95、PARP-1、PDGFC、PDGFR、PDGFRA、PDGFRB、PGP、PGR、PI3K、POLA、POLA1、PPARG、PPARGC1、PR、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SPARC MC、SPARC PC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3

、SSTR4、SSTR5、サバイピン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TOPO1、TOPO2B、トポイソメラーゼII、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、およびZAP70。

【0160】

いくつかの態様では、さらなる分子プロファイリング法を実施する。これらは、非限定的に、PCR、RT-PCR、Q-PCR、SAGE、MPSS、免疫測定法、および本明細書に記載されるかまたは当業者に公知の生物学的システムを評価するための他の技法を含み得る。アッセイすべき遺伝子および遺伝子産物の選択は、新たな治療および新たな薬物標的が同定されるのと共に更新され得る。バイオマーカーの発現または突然変異が治療選択肢とひとたび関連づけられたならば、それを分子プロファイリングによって評価することができる。このよ
10
うな分子プロファイリングは本明細書に開示される技法に限定されず、核酸もしくはタンパク質レベル、配列情報、またはそれらの両方を評価するのに慣行的である任意の方法論を含むことを、当業者は理解するであろう。本発明の方法はまた、現行法に対する任意の改良、または将来開発される新たな分子プロファイリング技法を利用することができる。いくつかの態様では、遺伝子または遺伝子産物を、単一の分子プロファイリング技法によ
20
って評価する。他の態様では、遺伝子および/または遺伝子産物を、複数の分子プロファイリング技法によって評価する。非限定的な例において、遺伝子配列は、FISHおよびピロシーケンシング解析のうちの1つまたは複数によって解析することができ、mRNA遺伝子産物は、RT-PCRおよびマイクロアレイのうちの1つまたは複数によってアッセイすることが
30
でき、タンパク質遺伝子産物は、IHCおよび免疫測定法のうちの1つまたは複数によってアッセイすることができる。疾患治療に恩恵をもたらすバイオマーカーと分子プロファイリング技法の任意の組み合わせが本発明によって意図されることを、当業者は理解するであ
40
らう。

【0161】

がんにおいて役割を果たすことが知られており、かつ本発明の分子プロファイリング技法のいずれかによってアッセイすることができる遺伝子および遺伝子産物には、非限定的に、2AR、ディスインテグリン、甲状腺およびレチノイン酸受容体の活性化因子(ACR)、A
DAM 11、脂肪生成阻害因子(ADIF)、6インテグリンサブユニット、Vインテグリンサブ
30
ユニット、カテニン、乳癌での増幅1(AIB1)、乳癌での増幅3(AIB3)、乳癌での増幅4(AI
B4)、アミロイド前駆体タンパク質セクレターゼ(APPS)、AP-2、APPS、ATP結合カセット
40
輸送体(ABCT)、胎盤特異的(ABCP)、ATP結合カセットサブファミリーCメンバー(ABCC1)、B
AG-1、BASIGIN(BSG)、BCE1、B細胞分化因子(BCDF)、B細胞白血病2(BCL-2)、B細胞刺激因
子-2(BSF-2)、BCL-1、BCL-2結合タンパク質(BAX)、BCRP、1インテグリンサブユニット
、3インテグリンサブユニット、5インテグリンサブユニット、2インターフェロン
、カテニン、カテニン、骨シアロタンパク質(BSP)、乳癌エストロゲン誘導性配列(BC
EI)、乳癌抵抗性タンパク質(BCRP)、乳癌1型(BRCA1)、乳癌2型(BRCA2)、乳癌増幅配列2(B
CAS2)、カドヘリン、上皮型カドヘリン-11、カドヘリン結合タンパク質、カルシトニン受
容体(CTR)、カルシウム胎盤タンパク質(CAPL)、カルサイクリン、CALLA、CAM5、CAPL、癌
胎児抗原(CEA)、カテニン、1、カテプシンB、カテプシンD、カテプシンK、カテプシンL
2、カテプシンO、カテプシンO1、カテプシンV、CD10、CD146、CD147、CD24、CD29、CD44
40
、CD51、CD54、CD61、CD66e、CD82、CD87、CD9、CEA、細胞性レチノール結合タンパク質1
(CRBP1)、c-ERBB-2、CK7、CK8、CK18、CK19、CK20、クローディン-7、c-MET、コラゲナー
ゼ、線維芽細胞、コラゲナーゼ、間質、コラゲナーゼ3、共通急性リンパ球性白血病抗原(
CALLA)、コネキシン26(Cx26)、コネキシン43(Cx43)、コルタクチン、COX-2、CTLA-8、CT
R、CTSD、サイクリンD1、シクロオキシゲナーゼ-2、サイトケラチン18、サイトケラチン1
9、サイトケラチン8、細胞傷害性Tリンパ球関連セリンエステラーゼ8(CTLA-8)、分化阻害
50
活性(DIA)、乳癌で増幅されるDNA1(DAM1)、DNAトポイソメラーゼII、DR-NM23、E-カド
ヘリン、EMMPRIN、EMS1、内皮細胞増殖因子(ECGR)、血小板由来(PD-ECGF)、エンケファリ
ナーゼ、上皮増殖因子受容体(EGFR)、エピシアリン、上皮膜抗原(EMA)、ER-、ERBB2、E
RBB4、ER-、ERF-1、赤血球増強活性(EPA)、ESR1、エストロゲン受容体-、エストロゲ

ン受容体、ETS-1、細胞外基質メタロプロテイナーゼ誘導物質(EMMPRIN)、フィブロネクチン受容体、ポリペプチド(FNRB)、フィブロネクチン受容体サブユニット(FNRB)、FLK-1、GA15.3、GA733.2、ガレクチン-3、カテニン、ギャップ結合タンパク質(26 kDa)、ギャップ結合タンパク質(43 kDa)、ギャップ結合タンパク質-1(GJA1)、ギャップ結合タンパク質-2(GJB2)、GCP1、ゼラチナーゼA、ゼラチナーゼB、ゼラチナーゼ(72 kDa)、ゼラチナーゼ(92 kDa)、グリオスタチン、グルココルチコイド受容体相互作用タンパク質1(GRIP1)、グルタチオンS-トランスフェラーゼp、GM-CSF、顆粒球走化性タンパク質1(GCP1)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、増殖因子受容体結合-7(GRB-7)、GSTp、HAP、熱ショック同族タンパク質70(HSC70)、熱安定性抗原、肝細胞増殖因子(HGF)、肝細胞増殖因子受容体(HGFR)、肝細胞刺激因子III(HSF III)、HER-2、HER2/NEU、HERMES抗原、HET、HHM、腫瘍随伴液性高カルシウム血症(HHM)、ICERE-1、INT-1、細胞間接着分子-1(ICAM-1)、インターフェロン誘導因子(IGIF)、インターロイキン-1(IL-1A)、インターロイキン-1(IL-1B)、インターロイキン-11(IL-11)、インターロイキン-17(IL-17)、インターロイキン-18(IL-18)、インターロイキン-6(IL-6)、インターロイキン-8(IL-8)、エストロゲン受容体発現と逆相関-1(ICERE-1)、KAI1、KDR、ケラチン8、ケラチン18、ケラチン19、KISS-1、白血病抑制因子(LIF)、LIF、炎症性乳癌で喪失(LIBC)、LOT(「形質転換で喪失」)、リンパ球ホーミング受容体、マクロファージコロニー刺激因子、MAGE-3、マンマグロビン、マスピン、MC56、M-CSF、MDC、MDNCF、MDR、メラノーマ細胞接着分子(MCAM)、膜メタロエンドペプチダーゼ(MME)、膜結合中性エンドペプチダーゼ(NEP)、システインリッチタンパク質(MDC)、メタスタチン(MTS-1)、MLN64、MMP1、MMP2、MMP3、MMP7、MMP9、MMP11、MMP13、MMP14、MMP15、MMP16、MMP17、モエシン、単球アルギニン-セルピン、単球由来好中球走化性因子、単球由来プラスミノゲンアクチベーターインヒビター、MTS-1、MUC-1、MUC18、ムチン様癌関連抗原(MCA)、ムチン、MUC-1、多剤耐性タンパク質1(MDR、MDR1)、多剤耐性関連タンパク質-1(MRP、MRP-1)、N-カドヘリン、NEP、NEU、中性エンドペプチダーゼ、好中球活性化ペプチド1(NAP1)、NM23-H1、NM23-H2、NME1、NME2、核内受容体コアクチベーター-1(NCoA-1)、核内受容体コアクチベーター-2(NCoA-2)、核内受容体コアクチベーター-3(NCoA-3)、ヌクレオシドニリン酸キナーゼA(NDPKA)、ヌクレオシドニリン酸キナーゼB(NDPKB)、オンコスタチンM(OSM)、オルニチン脱炭酸酵素(ODC)、破骨細胞分化因子(ODF)、破骨細胞分化因子受容体(ODFR)、オステオネクチン(OSN、ON)、オステオポンチン(OPN)、オキシトシン受容体(OXTR)、p27/kip1、p300/CBPコインテグレーター関連タンパク質(p/CIP)、p53、p9Ka、PAI-1、PAI-2、副甲状腺腫症1(PRAD1)、副甲状腺ホルモンの様ホルモン(PTHrP)、副甲状腺ホルモンの関連ペプチド(PTHrP)、P-カドヘリン、PD-ECGF、PDGF、ピーナッツ反応性尿ムチン(PUM)、P-糖タンパク質(P-GP)、PGP-1、PHGS-2、PHS-2、PIP、プラコグロビン、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター(1型)、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター(2型)、プラスミノゲンアクチベーター(組織型)、プラスミノゲンアクチベーター(ウロキナーゼ型)、血小板糖タンパク質IIIa(GP3A)、PLAU、多形性腺腫遺伝子様1(PLAGL1)、多形性上皮ムチン(PEM)、PRAD1、プロゲステロン受容体(PgR)、プロゲステロン耐性、プロスタグランジンエンドペルオキシド合成酵素-2、プロスタグランジンG/H合成酵素-2、プロスタグランジンH合成酵素-2、pS2、PS6K、ソリアシン、PTHrP、PTHrP、RAD51、RAD52、RAD54、RAP46、受容体結合コアクチベーター-3(RAC3)、エストロゲン受容体活性の抑制因子(REA)、S100A4、S100A6、S100A7、S6K、SART-1、足場付着因子B(SAF-B)、散乱因子(SF)、分泌リンタンパク質-1(SPP-1)、分泌タンパク質、酸性かつシステインリッチ(SPARC)、スタニオカルシン、ステロイド受容体コアクチベーター-1(SRC-1)、ステロイド受容体コアクチベーター-2(SRC-2)、ステロイド受容体コアクチベーター-3(SRC-3)、ステロイド受容体RNAアクチベーター(SRA)、ストロメライシン-1、ストロメライシン-3、テネイシン-C(TN-C)、精巣特異的プロテアーゼ50、トロンボスポンジンI、トロンボスポンジンII、チミジンホスホリラーゼ(TP)、甲状腺ホルモン受容体アクチベーター分子1(TRAM-1)、密着結合タンパク質1(TJP1)、TIMP1、TIMP2、TIMP3、TIMP4、組織型プラスミノゲンアクチベーター、TN-C、TP53、tPA、転写中間因子2(TRANSCRIPTIONAL INTERMEDIARY FACTOR 2, TIF2)、トレフォイル因子1(TFF1)、TSG

101、TSP-1、TSP1、TSP-2、TSP2、TSP50、腫瘍細胞コラゲナーゼ刺激因子(TCSF)、腫瘍関連上皮ムチン、uPA、uPAR、ウロキナーゼ、ウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター、ウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター受容体(uPAR)、ウボモルリン、血管内皮増殖因子、血管内皮増殖因子受容体-2(VEGFR2)、血管内皮増殖因子-A、血管透過性因子、VEGFR2、最晩期T細胞抗原 (VLA-)、ビメンチン、ビトロネクチン受容体 ポリペプチド(VNRA)、ビトロネクチン受容体、フォン・ヴィレブランド因子、VPF、VWF、WNT-1、ZAC、ZO-1、および閉鎖帯-1が含まれる。

【 0 1 6 2 】

IHC発現プロファイリングに用いられる遺伝子産物には、非限定的に、SPARC、PGP、Her2/neu、ER、PR、c-kit、AR、CD52、PDGFR、TOP2A、TS、ERCC1、RRM1、BCRP、TOPO1、PTEN、MGMT、およびMRP1のうちの一つまたは複数が含まれる。EGFRのIHCプロファイリングを行うこともできる。IHCはまた、非限定的に以下のうちの一つまたは複数を含む様々な遺伝子産物を検出または試験するために用いられる：EGFR、SPARC、C-kit、ER、PR、アンドロゲン受容体、PGP、RRM1、TOPO1、BRCP1、MRP1、MGMT、PDGFR、DCK、ERCC1、チミジル酸合成酵素、Her2/neu、またはTOPO2A。いくつかの態様において、IHCは、非限定的に以下のものを含む以下のタンパク質のうちの一つまたは複数を検出するために用いられる：ADA、AR、ASNA、BCL2、BRCA2、CD33、CDW52、CES2、DNMT1、EGFR、ERBB2、ERCC3、ESR1、FOLR2、GART、GSTP1、HDAC1、HIF1A、HSPCA、IL2RA、KIT、MLH1、MS4A1、MASH2、NFKB2、NFKB1A、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RXRB、SPARC、SSTR1、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VHL、またはZAP70。

【 0 1 6 3 】

マイクロアレイ発現プロファイリングは、非限定的に以下のものを含む一つまたは複数の遺伝子または遺伝子産物の発現を同時に測定するために用いることができる：ABCC1、ABC2、ADA、AR、ASNS、BCL2、BIRC5、BRCA1、BRCA2、CD33、CD52、CDA、CES2、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、ECGF1、EGFR、EPHA2、ERBB2、ERCC1、ERCC3、ESR1、FLT1、FOLR2、FYN、GART、GNRH1、GSTP1、HCK、HDAC1、HIF1A、HSP90AA1、IL2RA、HSP90AA1、KDR、KIT、LCK、LYN、MGMT、MLH1、MS4A1、MSH2、NFKB1、NFKB2、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA1、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGFA、VHL、YES1、およびZAP70。いくつかの態様において、マイクロアレイ発現プロファイリングに用いられる遺伝子は、EGFR、SPARC、C-kit、ER、PR、アンドロゲン受容体、PGP、RRM1、TOPO1、BRCP1、MRP1、MGMT、PDGFR、DCK、ERCC1、チミジル酸合成酵素、Her2/neu、TOPO2A、ADA、AR、ASNA、BCL2、BRCA2、CD33、CDW52、CES2、DNMT1、EGFR、ERBB2、ERCC3、ESR1、FOLR2、GART、GSTP1、HDAC1、HIF1A、HSPCA、IL2RA、KIT、MLH1、MS4A1、MASH2、NFKB2、NFKB1A、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RXRB、SPARC、SSTR1、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VHL、またはZAP70のうちの一つまたは複数を含む。低密度マイクロアレイ、発現マイクロアレイ、比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)マイクロアレイ、一塩基多型(SNP)マイクロアレイ、プロテオミクスアレイ 抗体アレイ、または本明細書に開示されるかもしくは当業者に公知の他のアレイを用いて、マイクロアレイ発現プロファイリングを行うことができる。いくつかの態様では、ハイスループット発現アレイが用いられる。このような系には、非限定的に、本明細書においてより詳細に記載される、AgilentまたはIlluminaから市販されている系が含まれる。

【 0 1 6 4 】

FISH突然変異プロファイリングを用いて、EGFRおよびHER2のうちの一つまたは複数を実行プロファイリングすることができる。いくつかの態様において、FISHは、以下のものを含むがこれらに限定されない以下の遺伝子の中の一つまたは複数を検出または試験するために用いられる：EGFR、SPARC、C-kit、ER、PR、アンドロゲン受容体、PGP、RRM1、TOPO1、BRCP1、MRP1、MGMT、PDGFR、DCK、ERCC1、チミジル酸合成酵素、HER2、またはTOPO2A。いくつかの態様において、FISHは、非限定的に以下のうちの一つまたは複数を含む様々なバ

イオマーカーを検出または試験するために用いられる：ADA、AR、ASNA、BCL2、BRCA2、CD33、CDW52、CES2、DNMT1、EGFR、ERBB2、ERCC3、ESR1、FOLR2、GART、GSTP1、HDAC1、HIF1A、HSPCA、IL2RA、KIT、MLH1、MS4A1、MASH2、NFKB2、NFKB1A、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RXRB、SPARC、SSTR1、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VHL、またはZAP70。

【0165】

いくつかの態様において、配列決定突然変異プロファイリングに用いられる遺伝子は、KRAS、BRAF、c-KIT、およびEGFRのうちの1つまたは複数を含む。配列決定解析はまた、ABCC1、ABCG2、ADA、AR、ASNS、BCL2、BIRC5、BRCA1、BRCA2、CD33、CD52、CDA、CES2、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、ECGF1、EGFR、EPHA2、ERBB2、ERCC1、ERCC3、ESR1、FLT1、FOLR2、FYN、GART、GNRH1、GSTP1、HCK、HDAC1、HIF1A、HSP90AA1、IL2RA、HSP90AA1、KDR、KIT、LCK、LYN、MGMT、MLH1、MS4A1、MSH2、NFKB1、NFKB2、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA1、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGFA、VHL、YES1、およびZAP70のうちの1つまたは複数において突然変異を評価することを含み得る。

10

【0166】

関連局面において、本発明は、公知のバイオマーカーのセットの分子プロファイリングを用いることにより、その治療を必要とする対象に対する候補治療を同定する方法を提供する。例えば、本方法は、がんを有する個体に対して化学療法薬を同定することができる。本方法は、対象から試料を採取する段階；該試料において免疫組織化学(IHC)解析を行い、SPARC、PGP、Her2/neu、ER、PR、c-kit、AR、CD52、PDGFR、TOP2A、TS、ERCC1、RRM1、BCRP、TOP01、PTEN、MGMT、およびMRP1のうちの少なくとも5つに関するIHC発現プロファイルを決する段階；該試料においてマイクロアレイ解析を行い、ABCC1、ABCG2、ADA、AR、ASNS、BCL2、BIRC5、BRCA1、BRCA2、CD33、CD52、CDA、CES2、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、ECGF1、EGFR、EPHA2、ERBB2、ERCC1、ERCC3、ESR1、FLT1、FOLR2、FYN、GART、GNRH1、GSTP1、HCK、HDAC1、HIF1A、HSP90AA1、IL2RA、HSP90AA1、KDR、KIT、LCK、LYN、MGMT、MLH1、MS4A1、MSH2、NFKB1、NFKB2、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA1、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGFA、VHL、YES1、およびZAP70のうちの少なくとも5つに関するマイクロアレイ発現プロファイルを決する段階；該試料において蛍光インサイチュールハイブリダイゼーション(FISH)解析を行い、EGFRおよびHER2のうちの少なくとも1つに関するFISH突然変異プロファイルを決する段階；該試料においてDNA配列決定を行い、KRAS、BRAF、c-KIT、およびEGFRのうちの少なくとも1つに関する配列決定突然変異プロファイルを決する段階；ならびにi) 該IHC発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種のタンパク質を過剰発現もしくは過小発現する罹患細胞、ii) 該マイクロアレイ発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子を過剰発現もしくは過小発現する罹患細胞、iii) 該FISH突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1種以上の突然変異を有する罹患細胞、および/またはiv) 該配列決定突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1種以上の突然変異を有する罹患細胞に対する生物活性が判明している治療についてのマッピングを含む規則データベースに対して、該IHC発現プロファイル、マイクロアレイ発現プロファイル、FISH突然変異プロファイル、および配列決定突然変異プロファイルと比較する段階；ならびに該規則データベースに対する比較によって、治療が該疾患に対する生物活性を有するはずであることが示されて、かつ該規則データベースに対する比較によって、該疾患の治療に関して該治療の禁忌が示されない場合に、該治療を同定する段階を含む。疾患はがんであってよい。分子プロファイリング段階は任意の順序で行うことができる。いくつかの態様において、分子プロファイリング段階のすべてが実施されるわけではない。非限定的な例として、本明細書に記載されるように、試料の質が閾値

20

30

40

50

を満たさない場合には、マイクロアレイ解析は行われない。いくつかの態様において、IHC発現プロファイリングは、上記の遺伝子産物の少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または95%に関して行われる。いくつかの態様において、マイクロアレイ発現プロファイリングは、上記の遺伝子の少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または95%に関して行われる。

【0167】

関連局面において、本発明は、公知のバイオマーカーの既定のセットの分子プロファイリングを用いることにより、その治療を必要とする対象に対する候補治療を同定する方法を提供する。例えば、本方法は、がんを有する個体に対して化学療法薬を同定することができる。本方法は、対象から試料を採取する段階であって、該試料がホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織または新鮮凍結組織を含み、かつ該試料ががん細胞を含む、段階；該試料において免疫組織化学(IHC)解析を行い、少なくともSPARC、PGP、Her2/neu、ER、PR、c-kit、AR、CD52、PDGFR、TOP2A、TS、ERCC1、RRM1、BCRP、TOP01、PTEN、MGMT、およびMRP1に関するIHC発現プロファイルを決定する段階；該試料においてマイクロアレイ解析を行い、少なくともABCC1、ABCG2、ADA、AR、ASNS、BCL2、BIRC5、BRCA1、BRCA2、CD33、CD52、CDA、CES2、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、ECGF1、EGFR、EPHA2、ERBB2、ERCC1、ERCC3、ESR1、FLT1、FOLR2、FYN、GART、GNRH1、GSTP1、HCK、HDAC1、HIF1A、HSP90AA1、IL2RA、HSP90AA1、KDR、KIT、LCK、LYN、MGMT、MLH1、MS4A1、MSH2、NFKB1、NFKB2、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA1、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGFA、VHL、YES1、およびZAP70に関するマイクロアレイ発現プロファイルを決定する段階；該試料において蛍光インサイチュールハイブリダイゼーション(FISH)解析を行い、少なくともEGFRおよびHER2に関するFISH突然変異プロファイルを決定する段階；該試料においてDNA配列決定を行い、少なくともKRAS、BRAF、c-KIT、およびEGFRに関する配列決定突然変異プロファイルを決定する段階を含む。該IHC発現プロファイル、マイクロアレイ発現プロファイル、FISH突然変異プロファイル、および配列決定突然変異プロファイルを、規則データベースに対して比較し、この場合、該規則データベースは、i) 該IHC発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種のタンパク質を過剰発現もしくは過小発現する罹患細胞；ii) 該マイクロアレイ発現プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子を過剰発現もしくは過小発現する罹患細胞；iii) 該FISH突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1種以上の突然変異を有する罹患細胞；および/またはiv) 該配列決定突然変異プロファイル中に含まれる1種もしくは複数種の遺伝子において突然変異を有さないか、もしくは1種以上の突然変異を有する罹患細胞に対する生物活性が判明している治療についてのマッピングを含み；ならびに以下の場合に治療を同定する：該規則データベースに対する比較によって、該治療が該疾患に対する生物活性を有するはずであることが示されて；かつ該規則データベースに対する比較によって、該疾患の治療に関して該治療の禁忌が示されない場合。疾患はがんであってよい。分子プロファイリング段階は任意の順序で行うことができる。いくつかの態様において、分子プロファイリング段階のすべてが実施されるわけではない。非限定的な例として、本明細書に記載されるように、試料の質が閾値を満たさない場合には、マイクロアレイ解析は行われない。いくつかの態様において、生物学的物質はmRNAであり、品質管理試験は、A260/A280比、および/またはハウスキーピング遺伝子、例えばRPL13aを用いるRT-PCRのCt値を含む。いくつかの態様において、1.5より低いA260/A280比または30より高いRPL13a Ct値である場合、mRNAは品質管理試験に合格しない。この場合、マイクロアレイ解析は実施され得ない。あるいは、マイクロアレイ結果は、例えば他の分子プロファイリング技法の結果と比較してより低い優先度が付与されるなど、減弱され得る。

【0168】

いくつかの態様では、分子プロファイリングは常に特定の遺伝子または遺伝子産物において行われ、他の遺伝子または遺伝子産物のプロファイリングは任意である。例えば、IHC

10

20

30

40

50

C発現プロファイリングは、少なくともSPARC、TOP2A、および/またはPTENに関して行われ得る。同様に、マイクロアレイ発現プロファイリングは、少なくともCD52に関して行われ得る。他の態様では、治療を同定するために、上記の遺伝子に加えてさらなる遺伝子が用いられる。例えば、IHC発現プロファイリングに用いられる遺伝子群は、DCK、EGFR、BRCA1、CK 14、CK 17、CK 5/6、E-カドヘリン、p95、PARP-1、SPARC、およびTLE3をさらに含み得る。いくつかの態様において、IHC発現プロファイリングに用いられる遺伝子の群は、Cox-2および/またはKi-67をさらに含む。いくつかの態様では、HSPCAがマイクロアレイ解析によりアッセイされる。いくつかの態様では、FISH突然変異がc-MycおよびTOP2Aに関して行われる。いくつかの態様では、配列決定がPI3Kに関して行われる。

【0169】

本発明の方法は、差次的発現または突然変異解析が様々な治療の有効性に関連づけられている任意の設定において行うことができる。いくつかの態様において、本方法は、がんを有する対象に対して候補治療を同定するために用いられる。これらの条件下で、分子プロファイリングに用いられる試料は、好ましくはがん細胞を含む。試料中のがんのパーセンテージは、例えば病理学の技法を用いるなど、当業者に公知の方法によって決定することができる。がん細胞はまた、例えばマイクロダイセクション技法等を用いて、試料から濃縮することもできる。試料は、それが分子プロファイリングに用いられる前に、がん細胞の特定の閾値を有することが必要とされ得る。閾値は、少なくとも約5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、または95%のがん細胞であってよい。閾値は解析法に依存し得る。例えば、個々の細胞における発現を明らかにする技法は、異なる細胞の混合物から抽出された試料を用いる技法よりも低い閾値を必要とし得る。いくつかの態様では、罹患試料を、同一患者から採取された正常試料、例えば隣接している非がん組織と比較する。

【0170】

治療選択

本発明のシステムおよび方法を用いて、予測される有効性が分子プロファイリング結果と関連づけられ得る任意の治療を選択することができる。本発明は、治療反応との関連性を示唆するための、分子プロファイリング結果の使用を含む。1つの態様では、分子プロファイリングのための適切なバイオマーカーは、対象の腫瘍型に基づいて選択される。このように示唆されるバイオマーカーを用いて、バイオマーカーの初期設定リストを変更することができる。他の態様では、分子プロファイリングは供給源物質に依存しない。いくつかの態様では、分子プロファイリング試験結果に基づいて提案される化学療法治療を提供するために、規定が用いられる。1つの態様において、該規定は、論文審査のある臨床腫瘍学文献の要約から作成される。専門家の意見規定を用いることもできるが、任意である。1つの態様では、米国予防医療作業部会によって用いられる根拠評点システムから導き出される階層を用いて、臨床的引用を、本発明の方法に対するそれらの関連性に関して評価する。「最良の根拠」を、規定の基礎として用いることができる。最も簡単な規定は、「バイオマーカーが陽性であれば治療選択肢は1つであり、そうでなければ治療選択肢は2つである」という形式で構築される。治療選択肢は、特定の薬物による治療なし、特定の薬物による治療、または薬物の組み合わせによる治療を含む。いくつかの態様では、2つまたはそれ以上のバイオマーカーの相互作用を含むより複雑な規定が構築される。このような場合、より複雑な相互作用は典型的に、該規定内に含まれるバイオマーカー間の相互作用を解析する臨床研究によって支持される。最後に、化学療法反応とバイオマーカーの関連性、および選択される治療を指示する最良の根拠の要約文を記載する報告書が作成され得る。最終的には、治療する医師が最良の治療過程を決定する。

【0171】

非限定的な例として、分子プロファイリングは、EGFR遺伝子が増幅または過剰発現されることを明らかにし、そうすることによって、モノクローナル抗体阻害薬であるセツキシマブおよびパニツムマブ、またはゲフィチニブ、エルロチニブ、およびラパチニブなどの、EGFRに活性化突然変異を有する患者において有効である小分子キナーゼ阻害薬のような、EGFR活性を阻止し得る治療の選択を示し得る。臨床開発中である他の抗EGFRモノクロー

10

20

30

40

50

ナル抗体には、ザルツムマブ、ニモツズマブ、およびマツズマブが含まれる。選択される候補治療は、分子プロファイリングによって明らかにされる設定に依存し得る。例えば、EGFRが活性化突然変異を有することが判明した場合には、キナーゼ阻害薬が処方される場合が多い。例示的な態様を続けると、分子プロファイリングはまた、これらの治療の一部またはすべてが有効性が低い可能性が高いことを明らかにする場合もある。例えば、ゲフィチニブまたはエルロチニブを摂取している患者は、最終的にEGFRにおいて薬物耐性突然変異を生じる。したがって、薬物耐性突然変異の存在は、小分子キナーゼ阻害薬の選択の禁忌を示す。この例を拡張して、分子プロファイリングによって差次的発現が明らかにされる遺伝子または遺伝子産物に対して作用する他の候補治療の選択を導くことができることを、当業者は理解するであろう。同様に、分子プロファイリングが特定の核酸バリエーションを明らかにする場合には、そのようなバリエーションを保有する罹患細胞に対して有効であることが判明している候補薬剤を選択することができる。

10

【0172】

本発明の方法によって候補治療として同定され得るがん療法には、非限定的に、13-シス-レチノイン酸、2-CdA、2-クロロデオキシアデノシン、5-アザシチジン、5-フルオロウラシル、5-FU、6-メルカプトプリン、6-MP、6-TG、6-チオグアニン、アブラキサン、Accutane(登録商標)、アクチノマイシン-D、Adriamycin(登録商標)、Adrucil(登録商標)、Afinitor(登録商標)、Agyrin(登録商標)、Ala-Cort(登録商標)、アルデスロイキン、アレムツズマブ、ALIMTA、アリトレチノイン、Alkaban-AQ(登録商標)、Alkeran(登録商標)、オールトランスレチノイン酸、インターフェロン、アルトレタミン、アメトプテリン、アミホスチン、アミノグルテチミド、アナグレリド、Anandron(登録商標)、アナストロゾール、アラビノシルシトシン、Ara-C、Aranesp(登録商標)、Aredia(登録商標)、Arimidex(登録商標)、Aromasin(登録商標)、Arranon(登録商標)、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、ATRA、Avastin(登録商標)、アザシチジン、BCG、BCNU、ベンダムスチン、ベバシズマブ、ベキサロテン、BEXXAR(登録商標)、ピカルタミド、BiCNU、Blenoxane(登録商標)、プレオマイシン、ボルテゾミブ、ブルスファン、Busulfex(登録商標)、C225、ロイコボリンカルシウム、Campath(登録商標)、Camptosar(登録商標)、カンプトテシン-11、カペシタビン、Carac(商標)、カルボプラチン、カルムスチン、カルムスチンウエハ、Casodex(登録商標)、CC-5013、CCI-779、CCNU、CDDP、CeeNU、Cerubidine(登録商標)、セツキシマブ、クロラムブシル、シスプラチン、シトロボラム因子、クラドリピン、コルチゾン、Cosmegen(登録商標)、CPT-11、シクロホスファミド、Cytadren(登録商標)、シタラビン、シタラビンリポソーム、Cytosar-U(登録商標)、Cytosan(登録商標)、ダカルバジン、Dacogen、ダクチノマイシン、ダルベポエチンアルファ、ダサチニブ、ダウノマイシン、ダウノルピシン、塩酸ダウノルピシン、ダウノルピシンリポソーム、DaunoXome(登録商標)、Decadron、デシタビン、Delta-Cortef(登録商標)、Deltasone(登録商標)、デニロイキン、ディフテイトックス、DepoCyt(商標)、デキサメタゾン、酢酸デキサメタゾン、デキサメタゾンリン酸ナトリウム、Dexasone、デクスラゾキサソ、DHAD、DIC、Diodex、ドセタキセル、Doxil(登録商標)、ドキシソルピシン、ドキシソルピシンリポソーム、Droxia(商標)、DTIC、DTIC-Dome(登録商標)、Duralone(登録商標)、Efudex(登録商標)、Eligard(商標)、Ellence(商標)、Eloxatin(商標)、Elspar(登録商標)、Emcyt(登録商標)、エビルピシン、エポエチンアルファ、エルビタックス、エルロチニブ、エルウィニアL-アスパラギナーゼ、エストラムスチン、Ethyol Etopophos(登録商標)、エトポシド、リン酸エトポシド、Eulexin(登録商標)、エベロリムス、Evista(登録商標)、エキセメスタン、Fareston(登録商標)、Faslodex(登録商標)、Femara(登録商標)、フィルグラスチム、フロクスウリジン、Fludara(登録商標)、フルダラビン、Fluoroplex(登録商標)、フルオロウラシル、フルオロウラシル(クリーム)、フルオキシメステロン、フルタミド、フォルリン酸、FUDR(登録商標)、フルベストラント、G-CSF、ゲフィチニブ、ゲムシタビン、ゲムツズマブオゾガマイシン、Gemzar、Gleevec(商標)、Gliadel(登録商標)ウエハ、GM-CSF、ゴセレリン、顆粒球コロニー刺激因子、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、Halotestin(登録商標)、Herceptin(登録商標)、Hexadrol、Hexalen(登録商標)、ヘキサメチルメラニン、HMM、Hycamtin(登録商

20

30

40

50

標)、Hydrea(登録商標)、Hydrocort Acetate(登録商標)、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾンリン酸エステルナトリウム、ヒドロコルチゾンコハク酸エステルナトリウム、Hydrocortone Phosphate、ヒドロキシウレア、イブリツモマブ、イブリツモマブ、チウキセタン、Idamycin(登録商標)、イダルピシン、Ifex(登録商標)、IFN- α 、イホスファミド、IL-11、IL-2、メシル酸イマチニブ、イミダゾールカルボキサミド、インターフェロン α 、インターフェロン α -2b (PEGコンジュゲート)、インターロイキン-2、インターロイキン-11、Intron A(登録商標)(インターフェロン α -2b)、Iressa(登録商標)、イリノテカン、イソトレチノイン、イクサベピロン、Ixempra(商標)、Kidrolase (t)、Lanacort(登録商標)、ラパチニブ、L-アスパラギナーゼ、LCR、レナリドマイド、レトロゾール、ロイコボリン、Leukeran、Leukine(商標)、リュープロリド、ロイコクリスチン、Leustatin(商標)、リポソームAra-C Liquid Pred(登録商標)、ロムスチン、L-PAM、L-サルコリシン、Lupron(登録商標)、Lupron Depot(登録商標)、Matulane(登録商標)、Maxidex、メクロレタミン、塩酸メクロレタミン、Medralone(登録商標)、Medrol(登録商標)、Megace(登録商標)、メゲストロール、酢酸メゲストロール、メルファラン、メルカプトプリン、メスナ、Mesnex(商標)、メトトレキサート、メトトレキサートナトリウム、メチルプレドニゾロン、Meticorten(登録商標)、マイトマイシン、マイトマイシン-C、ミトキサントロン、M-Prednisol(登録商標)、MTC、MTX、Mustargen(登録商標)、ムスチン、Mutamycin(登録商標)、Myleran(登録商標)、Mylocel(商標)、Mylotarg(登録商標)、Navelbine(登録商標)、ネララビン、Neosar(登録商標)、Neulasta(商標)、Neumega(登録商標)、Neupogen(登録商標)、Nexavar(登録商標)、Nilandron(登録商標)、ニルタミド、Nipent(登録商標)、ナイトロジエンマスタード、Novaldex(登録商標)、Novantrone(登録商標)、オクトレオチド、酢酸オクトレオチド、Oncospar(登録商標)、Oncovin(登録商標)、Ontak(登録商標)、Onxal(商標)、オプレルベキン、Orapred(登録商標)、Orasone(登録商標)、オキサリプラチン、パクリタキセル、タンパク質結合パクリタキセル、パミドロネート、パニツムマブ、Panretin(登録商標)、Paraplatin(登録商標)、Pediapred(登録商標)、PEGインターフェロン、ペグアスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、PEG-INTRON(商標)、PEG-L-アスパラギナーゼ、ペメトレキセド、ペントスタチン、フェニルアラニンマスタード、Platinol(登録商標)、Platinol-AQ(登録商標)、プレドニゾロン、プレドニゾン、Prelone(登録商標)、プロカルバジン、PROCRIT(登録商標)、Proleukin(登録商標)、カルムスチンインプラントを伴うプロリフェブロスパン20、Purinethol(登録商標)、ラロキシフェン、Revlimid(登録商標)、Rheumatrex(登録商標)、Rituxan(登録商標)、リツキシマブ、Roferon-A(登録商標)(インターフェロン α -2a)、Rubex(登録商標)、塩酸ルビドマイシン、Sandostatin(登録商標)、Sandostatin LAR(登録商標)、サルグラモスチム、Solu-Cortef(登録商標)、Solu-Medrol(登録商標)、ソラフェニブ、SPRYCEL(商標)、STI-571、ストレプトゾシン、SU11248、スニチニブ、Sutent(登録商標)、タモキシフェン、Tarceva(登録商標)、Targretin(登録商標)、Taxol(登録商標)、Taxotere(登録商標)、Temodar(登録商標)、テモゾロミド、テムシロリムス、テニポシド、TESPA、サリドマイド、Thalomid(登録商標)、TheraCys(登録商標)、チオグアニン、Thioguanine Tabloid(登録商標)、チオホスホアミド、Thioplex(登録商標)、チオテパ、TICE(登録商標)、Toposar(登録商標)、トポテカン、トレミフェン、Torisel(登録商標)、トシツモマブ、トラスツズマブ、Treanda(登録商標)、トレチノイン、Trisoxal(商標)、Trisenox(登録商標)、TSPA、TYKERB(登録商標)、VCR、Vectibix(商標)、Velban(登録商標)、Velcade(登録商標)、VePesid(登録商標)、Vesanoid(登録商標)、Viadur(商標)、Vidaza(登録商標)、ビンブラスチン、硫酸ビンブラスチン、Vincasar Pfs(登録商標)、ピンクリスチン、ピノレルピン、酒石酸ピノレルピン、VLB、VM-26、ポリノスタット、VP-16、Vumon(登録商標)、Xeloda(登録商標)、Zanosar(登録商標)、Zevalin(商標)、Zinecard(登録商標)、Zoladex(登録商標)、ゾレドロン酸、ゾリンザ、Zometa(登録商標)、およびそれらの任意の組み合わせが含まれる。

【 0 1 7 3 】

いくつかの態様では、治療と分子プロファイリング結果をマッピングするデータベースが作成される。治療情報は、分子プロファイリングによって測定され得る特定の特質を有

10

20

30

40

50

する細胞に対する治療薬の予測される有効性を含み得る。分子プロファイリングは、関心対象の特定の遺伝子、タンパク質、または他の生体分子における差次的発現または突然変異を含み得る。マッピングを通して、分子プロファイリングの結果をデータベースに対して比較して、治療を選択することができる。データベースは、治療と分子プロファイリング結果との間の正および負のマッピングの両方を含み得る。いくつかの態様において、マッピングは、生物学的作用物質と治療薬との間の関連に関する文献を再検討することにより作成される。例えば、学術論文、特許公報または特許出願公開、科学的発表等を潜在的マッピングのために再検討することができる。マッピングは、インビボ、例えば動物試験もしくは臨床試験、またはインビトロ実験、例えば細胞培養の結果を含み得る。例えば、ある遺伝子またはタンパク質を発現する細胞に対するある治療薬の細胞毒性効果など、見出される任意のマッピングをデータベース中に組み入れることができる。この様式で、データベースは継続的に更新され得る。本発明の方法も同様に更新されることが理解されよう。

10

20

30

40

50

【0174】

マッピングのための規則は、種々の補足情報を含み得る。いくつかの態様において、データベースは優先順位づけ基準を含む。例えば、所与の設定においてより高い予測有効性を有する治療は、より低い有効性を有すると予測される治療よりも好ましいと考えられる。特定の設定、例えば臨床試験に由来するマッピングは、別の設定、例えば細胞培養実験に由来するマッピングよりも優先され得る。より強力な文献の支持を有する治療は、より予備的な結果によって支持される治療よりも優先され得る。例えば特定の組織起源のがんのような、問題となっている疾患の種類に一般的に適用される治療は、その特定の疾患に対して適応されない治療よりも優先され得る。マッピングは、治療と分子プロファイリング結果との間の正および負の相関の両方を含み得る。非限定的な例において、あるマッピングは、EGFRにおいて活性化突然変異を有する腫瘍に対してエルロチニブのようなキナーゼ阻害薬の使用を提案し得るのに対して、別のマッピングは、EGFRが薬物耐性突然変異をも有する場合には、その治療に反して提案し得る。同様に、ある治療は、特定の遺伝子またはタンパク質を過剰発現する細胞において有効であると示され得るが、該遺伝子またはタンパク質が過小発現される場合には有効ではないと示され得る。

【0175】

個体に対する候補治療の選択は、記載される方法のいずれか1つまたは複数による分子プロファイリング結果に基づき得る。あるいは、個体に対する候補治療の選択は、記載される方法の2つ以上による分子プロファイリング結果に基づき得る。例えば、個体に対する治療の選択は、FISHのみ、IHCのみ、またはマイクロアレイ解析のみによる分子プロファイリング結果に基づき得る。他の態様において、個体に対する治療の選択は、IHC、FISH、およびマイクロアレイ解析；IHCおよびFISH；IHCおよびマイクロアレイ解析、またはFISHおよびマイクロアレイ解析による分子プロファイリング結果に基づき得る。個体に対する治療の選択はまた、配列決定または突然変異検出の他の方法による分子プロファイリング結果に基づき得る。分子プロファイリング結果は、IHC、免疫測定法、および/またはマイクロアレイ解析などの1つまたは複数の方法と共に突然変異解析を含んでもよい。様々な組み合わせおよび逐次結果を用いることができる。例えば、分子プロファイリングによって得られた結果に従って、治療に優先順位をつけることができる。1つの態様において、優先順位づけは以下のアルゴリズムに基づく：1) IHC/FISHとマイクロアレイが同じ標的を示す場合、これを第1優先順位とする；2) 単独のIHC陽性結果を次の優先順位とする；または3) 単独のマイクロアレイ陽性結果を最終優先順位とする。選択を導くのに、配列決定を用いることもできる。いくつかの態様では、配列決定が薬物耐性突然変異を明らかにし、その結果、たとえIHC、マイクロアレイ、および/またはFISHを含む技法が標的分子の差次的発現を示すとしても、もたらされた薬物は選択されない。任意のそのような禁忌、例えば、別の遺伝子または遺伝子産物の差次的発現または突然変異は、治療の選択を覆す場合がある。

【0176】

マイクロアレイ発現結果と予測される治療の例示的なリストを表1に示す。分子プロファイリングを行い、試料中のある遺伝子または遺伝子産物が対照と比較して差次的に発現されるかどうかを判定する。対照は、非限定的に、ハウスキーピング遺伝子などの対照遺伝子の発現レベル、同一または他の個体由来の健常組織における同一遺伝子の発現、統計的基準、検出のレベル等を含む、その設定に適した任意の対照であってよい。任意の適用可能な分子プロファイリング技法；例えば、マイクロアレイ解析 PCR、Q-PCR、RT-PCR、免疫測定法、SAGE、IHC、FISH、または配列決定の結果を用いて、発現状態を判定することができることを、当業者は理解するであろう。遺伝子または遺伝子産物の発現状態を用いて、有効であるまたは有効でないと予測される薬剤を選択する。例えば表1は、ADA遺伝子またはタンパク質の過剰発現が、可能な治療としてペントスタチンを提示することを示す。一方、ADA遺伝子またはタンパク質の過小発現は、シタラピンに対する耐性を意味し、シタラピンが最適な治療ではないことを示唆する。

10

【 0 1 7 7 】

(表1) 分子プロファイリング結果および予測される治療

遺伝子名	発現状態	可能な薬剤	予想される耐性
ADA	過剰発現	ペントスタチン	
ADA	過小発現		シタラビン
AR	過剰発現	アバレリックス、ビカルタミド、フルタミド、ゴナドレリン、ゴセレリン、リュープロリド	
ASNS	過小発現	アスパラギナーゼ、ペグアスパルガーゼ	
BCRP (ABCG2)	過剰発現		シスプラチン、カルボプラチン、イリノテカン、トポテカン
BRCA1	過小発現	マイトマイシン	
BRCA2	過小発現	マイトマイシン	
CD52	過剰発現	アテムツズマブ	
CDA	過剰発現		シタラビン
CES2	過剰発現	イリノテカン	
c-kit	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、イマチニブ	
COX-2	過剰発現	セレコキシブ	
DCK	過剰発現	ゲムシタビン	シタラビン
DHFR	過小発現	メトトレキサート、ペメトレキセド	
DHFR	過剰発現		メトトレキサート
DNMT1	過剰発現	アザシチジン、デシタビン	
DNMT3A	過剰発現	アザシチジン、デシタビン	

10

20

30

40

DNMT3B	過剰発現	アザシチジン、デシタ ビン		
EGFR	過剰発現	エルロチニブ、ゲフィ チニブ、セツキシマ ブ、パニツムマブ		
EPHA2	過剰発現	ダサチニブ		
ER	過剰発現	アナストラゾール、エ キセメスタン、フルベ ストラント、レトロゾ ール、メゲストロー ール、タモキシフェン、 メドロキシプロゲステ ロン、トレミフェン、 アミノグルテチミド		10
ERCC1	過剰発現		カルボプラチン、シス プラチン	
GART	過小発現	ペメトレキセド		20
HER-2 (ERBB2)	過剰発現	トラスツズマブ、ラパ チニブ		
HIF-1 α	過剰発現	ソラフェニブ、スニチ ニブ、ベバシズマブ		
I κ B- α	過剰発現	ボルテゾミブ		
MGMT	過小発現	テモゾロミド		
MGMT	過剰発現		テモゾロミド	30
MRP1 (ABCC1)	過剰発現		エトポシド、パクリタ キセル、ドセタキセ ル、ビンブラスチン、 ビノレルビン、トボテ カン、テニポシド	
P-gp (ABCB1)	過剰発現		ドキシソルビシン、エト ポシド、エピルビシ ン、パクリタキセル、 ドセタキセル、ビンブ ラスチン、ビノレルビ ン、トボテカン、テニ ポシド、リポソームド キシソルビシン	40

PDGFR- α	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、イマチニブ	
PDGFR- β	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、イマチニブ	
PR	過剰発現	エキセメスタン、フルベストラント、ゴナドレリン、ゴセレリン、メドロキシプロゲステロン、メゲストロール、タモキシフェン、トレミフェン	10
RARA	過剰発現	ATRA	
RRM1	過小発現	ゲムシタビン、ヒドロキシウレア	
RRM2	過小発現	ゲムシタビン、ヒドロキシウレア	20
RRM2B	過小発現	ゲムシタビン、ヒドロキシウレア	
RXR- α	過剰発現	ベキサロテン	
RXR- β	過剰発現	ベキサロテン	
SPARC	過剰発現	nab-パクリタキセル	
SRC	過剰発現	ダサチニブ	
SSTR2	過剰発現	オクトレオチド	30
SSTR5	過剰発現	オクトレオチド	
TOPO I	過剰発現	イリノテカン、トポテカン	
TOPO II α	過剰発現	ドキソルビシン、エピルビシン、リポソームドキソルビシン	
TOPO II β	過剰発現	ドキソルビシン、エピルビシン、リポソームドキソルビシン	40
TS	過小発現	カペシタビン、5-フルオロウラシル、ペメトレキセド	

TS	過剰発現		カペシタビン、5-フルオロウラシル
VDR	過剰発現	カルシトリオール、コレカルシフェロール	
VEGFR1 (Flt1)	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、ベバシズマブ	
VEGFR2	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、ベバシズマブ	
VHL	過小発現	ソラフェニブ、スニチニブ	

10

【 0 1 7 8 】

表2は、治療選択に関するより包括的な規則概要を示す。表中の各バイオマーカーについて、アッセイの種類およびアッセイ結果が示されている。アッセイ結果を所与とした様々な治療薬の有効性の概要は、医学文献または他の医学知識基盤に由来し得る。結果を用いて、推奨されるまたは推奨されない特定の治療薬の選択を導くことができる。いくつかの態様において、本表は、新たな文献報告および治療が利用できるようになり次第、継続的に更新される。このようにして、本発明の分子プロファイリングは時間と共に発展および向上することになる。表2における規則は、データベース中に保存され得る。例えばある遺伝子または遺伝子産物の差次的発現または突然変異といった分子プロファイリング結果が得られたならば、その結果をデータベースに対して比較して、治療選択を導くことができる。データベース中の規則のセットは、新たな治療および新たな治療データが利用できるようになり次第、更新され得る。いくつかの態様において、規則データベースは継続的に更新される。いくつかの態様において、規則データベースは定期的に更新される。規則データベースは、少なくとも1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、10日、2週間、3週間、4週間、1ヶ月、6週間、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、12ヶ月、1年、18ヶ月、2年ごと、または少なくとも3年ごとに更新され得る。任意の関連する相関または比較アプローチを用いて、分子プロファイリング結果を規則データベースと比較することができる。1つの態様において、分子プロファイリングにより、ある遺伝子または遺伝子産物が差次的に発現すると同定される。規則データベースに問い合わせを行い、該遺伝子または遺伝子産物に関する項目を選択する。規則データベースから選択された治療選択情報を抽出し、これを用いて治療を選択する。例えば特定の治療を推奨するまたは推奨しないための情報は、該遺伝子または遺伝子産物が過剰発現されるかまたは過小発現されるかに依存し得る。場合によっては、分子プロファイリングの結果に応じて、複数の規則および治療が引き出され得る。いくつかの態様では、治療選択肢はリスト中で優先順位がつけられて、エンドユーザーに示される。いくつかの態様では、治療選択肢は優先順位づけ情報なしに示される。いずれの場合にも、個体、例えば治療する医師または同様の介護者が、利用可能な治療選択肢の中から選択することができる。

20

30

40

【 0 1 7 9 】

(表2) 治療選択に関する規則概要

バイオマーカー	アッセイ	結果	概要	推奨薬剤	耐性薬剤
アンドロゲン受容体	IHC	閾値超	ARタンパク質の高発現は、アンドロゲン除去療法(ビカルタミド、フルタミド、リユープロリド、およびゴセレリン)に対する反応およびより長いRFSと関連し得る。	ビカルタミド、フルタミド、リユープロリド、ゴセレリン	
アンドロゲン受容体	IHC	陰性	ARタンパク質の低発現は、アンドロゲン除去療法(ビカルタミド、フルタミド、リユープロリド、およびゴセレリン)に対する反応の欠如およびより長いRFSと関連し得る。		ビカルタミド、フルタミド、リユープロリド、ゴセレリン
BCRP	IHC	閾値超	BCRPの高発現は、白金に基づく併用化学療法で治療した場合の、より短い無進行生存期間(PFS)および全生存期間(OS)と関連づけられている		シスプラチン、カルボプラチン
BCRP	IHC	陰性	BCRPの低発現は、白金に基づく併用化学療法で治療した場合の、より長い無進行生存期間(PFS)および全生存期間(OS)と関連づけられている	シスプラチン、カルボプラチン	
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ
BRAF	突然変異解析	野生型 遺伝子型	野生型BRAFは、EGFR標的化抗体療法に対する潜在的反応および付随する生存率の上昇と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ	
CD52	IHC	閾値超	CD52の高発現は、アレムツズマブ治療による有益性と関連づけられている。	アレムツズマブ	
CD52	IHC	陰性			アレムツズマブ
c-kit	IHC	閾値超	C-Kitの高発現は、イマチニブで治療した場合の有意により良好な生存率と関連づけられている	イマチニブ	
c-kit	IHC	陰性			イマチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR高遺伝子コピー数は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の増大およびより長い生存期間と関連している	エルロチニブ、ゲフィチニブ	
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数の増加の欠如は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR高遺伝子コピー数は、EGFR標的化療法による反応の増大およびより長い生存期間と関連している	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ	
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数の増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
ER	IHC	閾値超	ERの高発現は、内分泌療法に対する反応と関連づけられている。	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストラゾール、レトログール)	
ER	IHC	陰性	ERの低発現は、イクサペピロンに対する反応と関連づけられている。	イクサペピロン	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストラゾール、レトログール)

10

20

30

40

ERCC1	IHC	閾値超	ERCC1の高発現は、白金に基づく化学療法で治療した場合の、より低い奏効率ならびに有意により短い無進行生存期間中央値および全生存期間中央値と関連づけられている。	カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチン	カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチン
ERCC1	IHC	陰性	ERCC1の低発現は、白金に基づく化学療法で治療した場合の、より高い奏効率ならびに有意により長い無進行生存期間中央値および全生存期間中央値と関連づけられている。	カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチン	カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチン
Her2/Neu	IHC	閾値超	Her-2の高発現およびまたは高遺伝子コピー数は、トラスツズマブに対する奏効率の向上、またはラパチニブによる有益性の向上もしくは臨床転帰の改善と関連づけられている。	ラパチニブ、トラスツズマブ	ラパチニブ、トラスツズマブ
Her2/Neu	IHC	陰性	Her-2の低発現およびまたは高遺伝子コピー数は、トラスツズマブに対する奏効率の向上、またはラパチニブによる有益性の向上もしくは臨床転帰の改善と関連づけられている。	ラパチニブ、トラスツズマブ	ラパチニブ、トラスツズマブ
Her2/Neu	FISH	増幅	Her-2の高発現およびまたは高遺伝子コピー数は、トラスツズマブに対する奏効率の向上、またはラパチニブによる有益性の向上もしくは臨床転帰の改善と関連づけられている。	ラパチニブ、トラスツズマブ	ラパチニブ、トラスツズマブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。	セツキシマブ、パニツムマブ	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	野生型 遺伝子型	KRAS突然変異の非存在(野生型)は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の上昇と関連づけられている。	セツキシマブ、パニツムマブ	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の進行性疾患、より短い無増悪期間中央値、および生存率の低下と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ	エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	野生型 遺伝子型	KRAS突然変異の非存在(野生型)は、患者をEGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の安定した疾患およびより長い無増悪期間中央値と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ	エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をVBMCP/シクロホスファミドで治療した場合のより短い生存期間中央値と関連づけられている。	VBMCP/シクロホスファミド	VBMCP/シクロホスファミド
KRAS	突然変異解析	野生型 遺伝子型	KRAS突然変異の非存在(野生型)は、反応と関連づけられている。	VBMCP/シクロホスファミド	VBMCP/シクロホスファミド
KRAS	突然変異解析	変異型	コドン61におけるKRAS突然変異の存在は、結腸直腸癌を含む複数の悪性腫瘍における活性化突然変異として関係づけられており、したがってこれはセツキシマブまたはパニツムマブ療法による臨床的有益性の欠如と関連づけられ得る。	セツキシマブ、パニツムマブ	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS_OLD	突然変異解析	野生型 遺伝子型	コドン61におけるKRAS突然変異の非存在(野生型)は、患者をセツキシマブまたはパニツムマブ療法で治療した場合の反応、より緩徐な疾患進行、および生存率の上昇と関連づけられている。	セツキシマブ、パニツムマブ	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化療法で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。	セツキシマブ、パニツムマブ、ゲフィチニブ	セツキシマブ、パニツムマブ、ゲフィチニブ

KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	KRAS突然変異の非存在(野生型)は、患者をEGFR標的化療法で治療した場合の反応、より緩徐な疾患進行、および生存率の上昇と関連づけられている	セツキシマブ、エルロチニブ、パニツムマブ、ゲフィチニブ	
MGMT	IHC	閾値超	MGMTの高発現は、テモゾロミドに基づく療法に対する耐性と関連づけられている	テモゾロミド	テモゾロミド
MGMT	IHC	陰性	MGMTの低発現は、テモゾロミドに基づく療法に対する反応と関連づけられている	テモゾロミド	
MRP1	IHC	閾値超	MRP1の高発現は、シクロホスファמידで治療した場合の有意により短い無再発生存期間(RFS)および全生存期間(OS)と関連づけられている	シクロホスファמיד	シクロホスファמיד
MRP1	IHC	陰性	MRP1の低発現は、シクロホスファמידで治療した場合の有意により長い無再発生存期間(RFS)および全生存期間(OS)と関連づけられている	シクロホスファמיד	
MRP1	IHC	閾値超	MRP1の高発現は、エトボシドに対する有意により不良な反応と関連づけられている	エトボシド	エトボシド
MRP1	IHC	陰性	MRP1の低発現は、エトボシドに対する有意により良好な反応と関連づけられている	エトボシド	
MRP1	IHC	閾値超	MRP1の高発現は、シクロホスファמיד/ビンクリスチンに対するより低い完全奏効率(CR)と関連づけられている	シクロホスファamid/ビンクリスチン	シクロホスファamid/ビンクリスチン
MRP1	IHC	陰性	MRP1の低発現は、シクロホスファמיד/ビンクリスチンに対するより高い完全奏効率(CR)と関連づけられている	シクロホスファamid/ビンクリスチン	
MRP1	IHC	閾値超	MRP1の高発現は、シクロホスファמיד、エトボシド、またはビンクリスチンで治療した場合の有意により不良な反応、ならびにより短い無再発生存期間(RFS)および全生存期間(OS)と関連づけられている	シクロホスファamid、エトボシド、ビンクリスチン	シクロホスファamid、エトボシド、ビンクリスチン
MRP1	IHC	陰性	MRP1の低発現は、シクロホスファמיד、エトボシド、またはビンクリスチンで治療した場合の有意により良好な反応、より長い無再発生存期間(RFS)および全生存期間(OS)と関連づけられている	シクロホスファamid、エトボシド、ビンクリスチン	
PDGFR	IHC	閾値超	PDGFRの高発現は、イマチニブ治療に対する反応と関連づけられている	イマチニブ	
PDGFR	IHC	陰性		イマチニブ	
PGP	IHC	閾値超	P-糖タンパク質高発現は、導入療法に対する反応の欠如、およびエトボシドで治療した場合のより短いOSと関連し得る		イマチニブ エトボシド
PGP	IHC	陰性	P-糖タンパク質低発現は、導入療法に対する反応、およびエトボシドで治療した場合のより長いOSと関連し得る	エトボシド	
PGP	IHC	閾値超	P-糖タンパク質高発現は、ドキシソルビシン治療に対する耐性と関連し得る		ドキシソルビシン
PGP	IHC	陰性	P-糖タンパク質低発現は、ドキシソルビシン治療に対する反応と関連し得る	ドキシソルビシン	
PGP	IHC	閾値超	P-糖タンパク質高発現は、パクリタキセルに対する反応の欠如と関連し得る		パクリタキセル

PGP	IHC	陰性	P-糖タンパク質低発現は、パクリタキセルに対する反応と関連し得る	パクリタキセル	
PGP	IHC	閾値超	P-糖タンパク質高発現は、ビンクリスチン化学療法後のより短いDFSおよびOSと関連し得る	ビンクリスチン	
PGP	IHC	陰性	P-糖タンパク質低発現は、ビンクリスチン化学療法後のより長いDFSおよびOSと関連し得る	ビンクリスチン	
PGP	IHC	閾値超	P-糖タンパク質高発現は、エトポシド、ドキシソルビシン、パクリタキセル、またはビンクリスチンに対する反応の欠如、ならびに放射化学療法後のより短いDFSおよびOSと関連し得る	ビンクリスチン、エトポシド、ドキシソルビシン、パクリタキセル	
PGP	IHC	陰性	P-糖タンパク質低発現は、エトポシド、ドキシソルビシン、パクリタキセル、またはビンクリスチンに対する反応、ならびに放射化学療法後のより長いDFSおよびOSと関連し得る	ビンクリスチン、エトポシド、ドキシソルビシン、パクリタキセル	
PR	IHC	閾値超	PR高発現は、タモキシフェン、アナストラゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得るが、化学内分泌療法による有益性の欠如と関連し得る	タモキシフェン、アナストラゾール、レトロゾール	化学内分泌療法
PR	IHC	陰性		化学内分泌療法	タモキシフェン、アナストラゾール、レトロゾール
PTEN	IHC	閾値超	PTEN高発現は、乳癌患者におけるトラスツズマブに対する反応およびより長いTTPと関連し得る	トラスツズマブ	
PTEN	IHC	陰性	PTEN低発現は、乳癌患者におけるトラスツズマブに対する反応の欠如およびより短いTTPと関連し得る	トラスツズマブ	
PTEN	IHC	閾値超	PTEN高発現は、ゲフィチニブに対する反応およびより長いOSと関連し得る	ゲフィチニブ	
PTEN	IHC	陰性	PTEN低発現は、ゲフィチニブに対する反応の欠如およびより短いOSと関連し得る	ゲフィチニブ	
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、セツキシマブおよびパニツムマブを含むEGFR標的療法に対する反応と関連し得る	セツキシマブ、パニツムマブ	
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブおよびパニツムマブを含むEGFR標的療法に対する耐性と関連し得る	セツキシマブ、パニツムマブ	
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、エルロチニブおよびゲフィチニブを含むEGFR標的療法に対する反応と関連し得る	エルロチニブ、ゲフィチニブ	
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、エルロチニブおよびゲフィチニブを含むEGFR標的療法に対する耐性と関連し得る	エルロチニブ、ゲフィチニブ	
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的療法、ならびにHer2標的療法トラスツズマブに対する反応と関連し得る	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ	
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的療法、ならびにHer2標的療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ	

RRM1	IHC	閾値超	RRM1高発現は、ゲムシタピンに基づく治療に対する反応の欠如および転帰不良と関連し得る	ゲムシタピン	ゲムシタピン	ゲムシタピン
RRM1	IHC	陰性	RRM1低発現は、ゲムシタピンに基づく治療に対する反応および転帰の改善と関連し得る	nab-パクリタキセル	nab-パクリタキセル	nab-パクリタキセル
SPARC	IHC	閾値超	高SPARCタンパク質は、nab-パクリタキセルに基づく併用療法に対する反応と関連し得る	フルオロピリミジン	フルオロピリミジン	フルオロピリミジン
SPARC	IHC	陰性	低SPARCタンパク質は、nab-パクリタキセルに基づく併用療法に対する反応の欠如と関連し得る	イリノテカン	イリノテカン	イリノテカン
TS	IHC	閾値超	TS高発現レベルは、フルオロピリミジンに対する反応不良ならびにより短いOSおよびDFSと関連している	ドキシソルピシジン、リボソームドキシソルピシジン	ドキシソルピシジン、リボソームドキシソルピシジン	ドキシソルピシジン、リボソームドキシソルピシジン
TS	IHC	陰性	TS発現の欠如は、フルオロピリミジンに対する反応ならびにより長いOSおよびDFSと関連している	ペントスタチン	ペントスタチン	ペントスタチン
TOP1	IHC	閾値超	TOP1の高発現は、イリノテカンを含む一次併用化学療法による生存延長効果と関連づけられている	シタラビン	シタラビン	シタラビン
TOP1	IHC	陰性	TOP1の低発現は、イリノテカンを含む一次併用化学療法に対する反応の欠如と関連づけられている	アバレリックス、ピカルタミド、フルタミド、ゴナドレリン、ゴセレリン、リュープロリド	アバレリックス、ピカルタミド、フルタミド、ゴナドレリン、ゴセレリン、リュープロリド	アバレリックス、ピカルタミド、フルタミド、ゴナドレリン、ゴセレリン、リュープロリド
TOP2A	IHC	閾値超	topo IIa高発現は、アントラサイクリンに基づく(ドキシソルピシジン、リボソームドキシソルピシジン、エビルピシジン)療法に対する反応と関連し得る	アスパラギナーゼ、ペグアスバルガーゼ	アスパラギナーゼ、ペグアスバルガーゼ	アスパラギナーゼ、ペグアスバルガーゼ
TOP2A	IHC	陰性	topo IIa低発現は、アントラサイクリンに基づく(ドキシソルピシジン、リボソームドキシソルピシジン、エビルピシジン)療法に対する反応の欠如と関連し得る	マイトマイシン	マイトマイシン	マイトマイシン
ADA	マイクロアレイ	過剰発現		アラムツズマブ	アラムツズマブ	アラムツズマブ
ADA	マイクロアレイ	過小発現				
AR	マイクロアレイ	過剰発現				
ASNS	マイクロアレイ	過小発現				
ABCG2	マイクロアレイ	過剰発現				
BRCA1	マイクロアレイ	過小発現				
BRCA2	マイクロアレイ	過小発現				
CD52	マイクロアレイ	過剰発現				

CDA	マイクロ アレイ	過剰発現			シタラビン
CES2	マイクロ アレイ	過剰発現		イリノテカン	
KIT	マイクロ アレイ	過剰発現		ソラフェニブ、スニチニ ブ、イマチニブ	
PTGS2	マイクロ アレイ	過剰発現		セレコキシブ	
DCK	マイクロ アレイ	過剰発現		ゲムシタビン	シタラビン
DHFR	マイクロ アレイ	過小発現		メトトレキサート、ペメトレ キセド	
DHFR	マイクロ アレイ	過剰発現			メトトレキサート
DNMT1	マイクロ アレイ	過剰発現		アザシチジン、デシタビン	
DNMT3A	マイクロ アレイ	過剰発現		アザシチジン、デシタビン	
DNMT3B	マイクロ アレイ	過剰発現		アザシチジン、デシタビン	
EGFR	マイクロ アレイ	過剰発現		エロロチニブ、ゲファイチニ ブ、セツキシマブ、パニツム マブ	
EPHA2	マイクロ アレイ	過剰発現		ダサチニブ	
ESR1	マイクロ アレイ	過剰発現		アナストロゾール、エキセ メスタン、フルバストラン ト、レトロゾール、メゲス トロール、タモキシフェ ン、メドロキシプロゲステ ロン、トレミフェン、アミ ノグルテチミド	
ERCC1	マイクロ アレイ	過剰発現			カルボプラチン、シスプラ チン
GART	マイクロ アレイ	過小発現		ペメトレキサド	
ERBB2	マイクロ アレイ	過剰発現		トラスツズマブ、ラパチニ ブ	
HIF1A	マイクロ アレイ	過剰発現		ソラフェニブ、スニチニ ブ、ペバシズマブ	
IL2RA	マイクロ アレイ	過剰発現		ホルテゾミブ	

10

20

30

40

MGMT	マイクロ アレイ	過小発現		テモゾロミド	
MGMT	マイクロ アレイ	過剰発現			テモゾロミド
ABCC1	マイクロ アレイ	過剰発現			エトポシド、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンブラスチン、ビノレルビン、トポテカン、テニポシド
PGP	マイクロ アレイ	過剰発現			ドキシソルピシン、エトポシド、エピルピシン、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンブラスチン、ビノレルビン、トポテカン、テニポシド、リポソームドキシソルピシン
PDGFRA	マイクロ アレイ	過剰発現		ソラフェニブ、スニチニブ、イマチニブ	
PDGFRB	マイクロ アレイ	過剰発現		ソラフェニブ、スニチニブ、イマチニブ	
PGR	マイクロ アレイ	過剰発現		エキセメスタン、フルベス トラント、ゴナドレリン、 ゴセレリン、メドロキシプロ ゲステロン、メダストロ ール、タモキシフェン、ト レミフェン	
RARA	マイクロ アレイ	過剰発現		ATRA	
RRM1	マイクロ アレイ	過小発現		ゲムシタビン、ヒドロキシ ウレア	
RRM2	マイクロ アレイ	過小発現		ゲムシタビン、ヒドロキシ ウレア	
RRM2B	マイクロ アレイ	過小発現		ゲムシタビン、ヒドロキシ ウレア	
RXR- α	マイクロ アレイ	過剰発現		ベキサロテン	
RXRB	マイクロ アレイ	過剰発現		ベキサロテン	
SPARC	マイクロ アレイ	過剰発現		nab-パクリタキセル	
SRC	マイクロ アレイ	過剰発現		ダサチニブ	

10

20

30

40

SSTR2	マイクロアレイ	過剰発現			オクトレオチド	
SSTR5	マイクロアレイ	過剰発現			オクトレオチド	
TOP1	マイクロアレイ	過剰発現			イリノテカン、トポテカン	
TOP2A	マイクロアレイ	過剰発現			ドキシソルピジン、エベルピジン、リボソームドキシソルピジン	
TOP2B	マイクロアレイ	過剰発現			ドキシソルピジン、エベルピジン、リボソームドキシソルピジン	
TYMS	マイクロアレイ	過小発現			カペシタビン、5-フルオロウラシル、ペメトレキセド	カペシタビン、5-フルオロウラシル
TYMS	マイクロアレイ	過剰発現				
VDR	マイクロアレイ	過剰発現			カルシトリアル、コレカルシフェロール	
FLT1	マイクロアレイ	過剰発現			ソラフェニブ、スニチニブ、ベバシズマブ	
KDR	マイクロアレイ	過剰発現			ソラフェニブ、スニチニブ、ベバシズマブ	
VHL	マイクロアレイ	過小発現			ソラフェニブ、スニチニブ	
TOP2A	IHC	陰性	TOPO IIA低発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応の欠如と関連づけられている。			ドキシソルピジン
PGP	IHC	閾値超	P-糖タンパク質高発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応の欠如と関連づけられている。			ドキシソルピジン
TOP2A	IHC	陰性	TOPO IIA低発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応の欠如と関連づけられている			ドキシソルピジン
PGP	IHC	陰性	アントラサイクリンに基づく療法は、TOPO IIAが低いことよって潜在的に有益性は最小である。			ドキシソルピジン
TOP2A	IHC	閾値超	アントラサイクリンに基づく療法は、P-糖タンパク質が高いことよって潜在的に有益性は最小である。			ドキシソルピジン
PGP	IHC	閾値超	P-糖タンパク質高発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応の欠如と関連づけられている。			ドキシソルピジン
TOP2A	IHC	閾値超	TOPO IIA高発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応と関連づけられている。		ドキシソルピジン	
PGP	IHC	陰性	P-糖タンパク質低発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応と関連づけられている。		ドキシソルピジン	
TOP2A	IHC	陰性	TOPO IIA低発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応の欠如と関連づけられている。			ドキシソルピジン

PGP	IHC	閾値超	P-糖タンパク質高発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応の欠如と関連づけられている。		ドキシソルピジン
TOP2B	マイクロナレイ	過剰発現	アントラサイクリンに基づく療法は、P-糖タンパク質が高いことにより潜在的に有益性は最小である。		ドキシソルピジン
TOP2A	IHC	陰性	アントラサイクリンに基づく療法は、IHCによりp-糖タンパク質が低いことおよびMAIによりTOP2Bが高いことにより潜在的に有効である。		ドキシソルピジン
PGP	IHC	陰性	P-糖タンパク質低発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応と関連づけられている。		ドキシソルピジン
TOP2B	マイクロナレイ	過剰発現			
TOP2A	IHC	閾値超	アントラサイクリンに基づく療法は、IHCによりP-糖タンパク質が高いことにより潜在的に有益性は最小である。		ドキシソルピジン
PGP	IHC	閾値超	P-糖タンパク質高発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応の欠如と関連づけられている。		ドキシソルピジン
TOP2B	マイクロナレイ	過剰発現	アントラサイクリンに基づく療法は、IHCによりP-糖タンパク質が高いことにより潜在的に有益性は最小である。		ドキシソルピジン
TOP2A	IHC	閾値超	TOPO IIA高発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応と関連づけられている。		ドキシソルピジン
PGP	IHC	陰性	P-糖タンパク質低発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応と関連づけられている。		ドキシソルピジン
TOP2B	マイクロナレイ	過剰発現			
TOP2A	IHC	閾値超	topo IIa高発現は、アントラサイクリンに基づく(ドキシソルピジン、リボソームドキシソルピジン、エピルビジン)療法に対する反応と関連し得る		ドキシソルピジン、リボソームドキシソルピジン、エピルビジン
TOP2B	マイクロナレイ	過剰発現			
ABC1	マイクロナレイ	過剰発現	アントラサイクリンは、Topo II α および β の発現によって潜在的に価値がある		ドキシソルピジン、リボソームドキシソルピジン、エピルビジン
TOP2A	IHC	閾値超	TOPO IIA高発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応と関連づけられている。		ドキシソルピジン、リボソームドキシソルピジン、エピルビジン
TOP2B	マイクロナレイ	過剰発現			
TOP2A	IHC	閾値超	topo IIa高発現は、アントラサイクリンに基づく(ドキシソルピジン、リボソームドキシソルピジン、エピルビジン)療法に対する反応と関連し得る		ドキシソルピジン、リボソームドキシソルピジン、エピルビジン

ABCB1	マイクロアレイ	過剰発現	アントラサイクリンは、Topo II α および β の発現によって潜在的に値がある	ドキシルピシン、リポソームドキシルピシン、エピルピシン	
TOP2A	IHC	陰性	TOPO II α 低発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応の欠如と関連づけられている。	ドキシルピシン、リポソームドキシルピシン、エピルピシン	
TOP2B	マイクロアレイ	過剰発現	アントラサイクリンに基づく療法は、マイクロアレイによりP-糖タンパク質が高いことによって潜在的に有益性は最小である。	ドキシルピシン、リポソームドキシルピシン、エピルピシン	
ABCB1	マイクロアレイ	過剰発現		ドキシルピシン、リポソームドキシルピシン、エピルピシン	
TOP2A	IHC	陰性	アントラサイクリンに基づく療法は、マイクロアレイによりTOPO II β が高いことによって潜在的に有益である可能性がある。	ドキシルピシン、リポソームドキシルピシン、エピルピシン	
TOP2B	マイクロアレイ	過剰発現		ドキシルピシン、リポソームドキシルピシン、エピルピシン	
TOP2A	IHC	陰性	TOPO II α 低発現は、アントラサイクリンに基づく療法に対する反応の欠如と関連づけられている。	ドキシルピシン、リポソームドキシルピシン、エピルピシン	
ABCB1	マイクロアレイ	過剰発現		ドキシルピシン、リポソームドキシルピシン、エピルピシン	
PGP	IHC	閾値超	P糖タンパク質高発現は、パクリタキセルに対する反応の欠如と関連づけられている。	パクリタキセル	
ABCC1	マイクロアレイ	過剰発現		パクリタキセル	
PGP	IHC	陰性	パクリタキセルは、マイクロアレイによりABCC1が高いことによって潜在的に有益性は最小である。	パクリタキセル	
ABCC1	マイクロアレイ	過剰発現		パクリタキセル	
TOPO1	IHC	陰性	TOPO I低発現は、イリノテカンに対する反応の欠如と関連づけられている。	イリノテカン	
CES2	マイクロアレイ	過剰発現	イリノテカンは、TOPO Iが低いことによって有益性が最小である可能性がある。	イリノテカン	
TOPO1	IHC	閾値超	TOPO I高発現は、イリノテカンに対する反応と関連づけられている。	イリノテカン	
CES2	マイクロアレイ	過剰発現		イリノテカン	
TOP1	マイクロアレイ	過剰発現	トポテカンは、マイクロアレイによりP-糖タンパク質が高いことおよびMRP1が高いことによって潜在的に有益性は最小である。	トポテカン	

ABCB1	マイクロアレイ	過剰発現				トポテカン
ABCC1	マイクロアレイ	過剰発現				トポテカン
TOP1	マイクロアレイ	過剰発現	トポテカンは、マイクロアレイによりP-糖タンパク質が高いことにより潜在的に有益性は最小である。			トポテカン
ABCB1	マイクロアレイ	過剰発現				トポテカン
TOP1	マイクロアレイ	過剰発現	トポテカンは、マイクロアレイによりMRP1が高いことにより潜在的に有益性は最小である。			トポテカン
ABCC1	マイクロアレイ	過剰発現				トポテカン
PGP	IHC	陰性	エトポシドおよびビンクリスチンは、IHCによりMRP1が高いことにより潜在的に有益性は最小である。			エトポシド、ビンクリスチン
MRP1	IHC	閾値超	MRP1の高発現は、エトポシドおよびビンクリスチンに対する反応の欠如と関連づけられている。			エトポシド、ビンクリスチン
PGP	IHC	陰性	P-糖タンパク質の低発現は、エトポシドおよびビンクリスチンに対する反応と関連づけられている。		エトポシド、ビンクリスチン	エトポシド、ビンクリスチン
MRP1	IHC	陰性	MRP1の低発現は、エトポシドおよびビンクリスチンに対する反応と関連づけられている。		エトポシド、ビンクリスチン	エトポシド、ビンクリスチン
PGP	IHC	閾値超	P-糖タンパク質の高発現は、エトポシドおよびビンクリスチンに対する反応の欠如と関連づけられている。			エトポシド、ビンクリスチン
MRP1	IHC	陰性	エトポシドおよびビンクリスチンは、IHCによりP-糖タンパク質が高いことにより潜在的に有益性は最小である。			エトポシド、ビンクリスチン
Her2/Neu	IHC	陰性	HER-2の低発現は、トラスツズマブまたはラパチニブに対する反応の欠如と関連づけられている。			トラスツズマブ、ラパチニブ
PTEN	IHC	閾値超	トラスツズマブまたはラパチニブは、Her2上昇の欠如によって有益性が最小である可能性がある。			トラスツズマブ、ラパチニブ
Her2/Neu	IHC	陰性	HER-2の低発現は、トラスツズマブまたはラパチニブに対する反応の欠如と関連づけられている。			トラスツズマブ、ラパチニブ
PTEN	IHC	陰性	トラスツズマブまたはラパチニブは、Her2上昇の欠如によって有益性が最小である可能性がある。			トラスツズマブ、ラパチニブ
Her2/Neu	IHC	閾値超	HER-2の高発現は、トラスツズマブまたはラパチニブに対する反応と関連づけられている。		トラスツズマブ、ラパチニブ	トラスツズマブ、ラパチニブ
PTEN	IHC	閾値超	PTENの高発現は、トラスツズマブまたはラパチニブに対する反応と関連づけられている。		トラスツズマブ、ラパチニブ	トラスツズマブ、ラパチニブ
Her2/Neu	IHC	閾値超	トラスツズマブまたはラパチニブは、PTENの喪失によって有益性が最小である可能性があるが、ラパチニブは、HER-2上昇によって潜在的に有益である可能性がある。			トラスツズマブ
PTEN	IHC	陰性	PTENの低発現およびHER-2の高発現は、ラパチニブに対する反応と関連づけられているが、トラスツズマブに対する反応とは関連づけられていない。			トラスツズマブ

PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化治療法に対する耐性および付随す る生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的治療法で治療した場合の 反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけら れている。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の 低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失、KRASの突然変異、および FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的治療法で治療した場合の 反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけら れている。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の 低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失、KRASの突然変異、および FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失、BRAFの突然変異、および FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の 低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびFISH陰性EGFRによっ て潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ

KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならびにHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的抗体治療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的治療法で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけていられる。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失ならびにBRAFおよびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならびにHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的治療法で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけていられる。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならびにHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ

PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随す る生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびBRAFの突然変異によ って潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびBRAFの突然変異によ って潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随す る生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	コドン61におけるKRAS突然変異の存在は、結腸直腸癌を含む複数 の悪性腫瘍における活性化突然変異として関係づけられており、し たがってこれはセツキシマブまたはパニツムマブ療法による臨床的 有益性の欠如と関連づけられ得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の 低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失、KRASの突然変異、および FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	コドン61におけるKRAS突然変異の存在は、結腸直腸癌を含む複数 の悪性腫瘍における活性化突然変異として関係づけられており、し たがってこれはセツキシマブまたはパニツムマブ療法による臨床的 有益性の欠如と関連づけられ得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の 低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ

BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	コドン61におけるKRAS突然変異の存在は、結腸直腸癌を含む複数の悪性腫瘍における活性化突然変異として関係づけられており、したがってこれはセツキシマブまたはパニツムマブ療法による臨床的有益性の欠如と関連づけられる。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失ならびにBRAFおよびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失およびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	コドン61におけるKRAS突然変異の存在は、結腸直腸癌を含む複数の悪性腫瘍における活性化突然変異として関係づけられており、したがってこれはセツキシマブまたはパニツムマブ療法による臨床的有益性の欠如と関連づけられる。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失およびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、KRASの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化療法は、KRASの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化療法で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、BRAFの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ

KRAS	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的治療法は、BRAFの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的治療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的治療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的治療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的治療法は、KRASおよびBRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的治療法で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけていている。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的治療法は、KRASおよびBRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的治療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的治療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的治療法で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけていている。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的治療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ

PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、BRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
KRAS	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的化療法は、BRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化療法は、BRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲファイチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する反応と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
BRAF	突然変異解析	野生型遺伝子型	野生型BRAFは、EGFR標的化療法に対する潜在的反応および付随する生存率の上昇と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
KRAS	突然変異解析	野生型遺伝子型	KRAS突然変異の非存在(野生型)は、患者をEGFR標的化療法で治療した場合の反応、より緩徐な疾患進行、および生存率の上昇と関連づけられている。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR高遺伝子コピー数は、EGFR標的化療法による反応の増大およびより長い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、BRAFおよびKRASの突然変異ならびにFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
KRAS	突然変異解析	変異型	コドン61におけるKRAS突然変異の存在は、結腸直腸癌を含む複数の悪性腫瘍における活性化突然変異として関係づけられており、したがってこれはセツキシマブまたはパニツムマブ療法による臨床的有益性の欠如と関連づけられ得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、KRASの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲファイチニブ

BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的療法は、KRASの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	コドン61におけるKRAS突然変異の存在は、結腸直腸癌を含む複数の悪性腫瘍における活性化突然変異として関係づけられており、したがってこれはセツキシマブまたはパニツムマブ療法による臨床的有益性の欠如と関連づけられ得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的療法は、BRAFおよびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	コドン61におけるKRAS突然変異の存在は、結腸直腸癌を含む複数の悪性腫瘍における活性化突然変異として関係づけられており、したがってこれはセツキシマブまたはパニツムマブ療法による臨床的有益性の欠如と関連づけられ得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的療法は、BRAFおよびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	コドン61におけるKRAS突然変異の存在は、結腸直腸癌を含む複数の悪性腫瘍における活性化突然変異として関係づけられており、したがってこれはセツキシマブまたはパニツムマブ療法による臨床的有益性の欠如と関連づけられ得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
ER	IHC	陰性	タモキシフェン、アナストロゾール、およびレトロゾールは、PRの発現によって潜在的に有益である。ERの低発現は、乳癌でのみイクサペピロンに対する反応と関連づけられている。	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール、イクサペピロン	

PR	IHC	閾値超	PR高発現は、タモキシフェン、アナスタロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得るが、化学内分泌療法による有益性の欠如と関連し得る。	PR高発現は、タモキシフェン、アナスタロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得る。	タモキシフェン、アナスタロゾール
ER	IHC	陰性	ERの低発現は、イクサペピロンに対する反応と関連づけられている。	ERの低発現は、イクサペピロンに対する反応と関連づけられている。	タモキシフェン、アナスタロゾール
PR	IHC	陰性	PRの低発現は、タモキシフェンおよびアロマターゼ阻害薬に対する反応の欠如と関連づけられている。	PRの低発現は、タモキシフェン、アナスタロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得る。	タモキシフェン、アナスタロゾール
ER	IHC	閾値超	ERの高発現は、卵巣癌を除くすべてのがんにおける内分泌療法に対する反応と関連づけられ、かつイクサペピロンに対する反応の欠如と関連づけられている。	ERの高発現は、タモキシフェン、アナスタロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得る。	タモキシフェン、アナスタロゾール
PR	IHC	閾値超	PRの高発現は、タモキシフェン、アナスタロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得る。	PRの高発現は、タモキシフェン、アナスタロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得る。	タモキシフェン、アナスタロゾール
ER	IHC	閾値超	ERの高発現は、卵巣癌を除くすべてのがんにおける内分泌療法に対する反応と関連づけられ、かつイクサペピロンに対する反応の欠如と関連づけられている。	ERの高発現は、卵巣癌を除くすべてのがんにおける内分泌療法に対する反応と関連し得る。	タモキシフェン、アナスタロゾール
PR	IHC	陰性	タモキシフェン療法は、ER高発現によって潜在的に有益である。	タモキシフェン療法は、ER高発現によって潜在的に有益である。	タモキシフェン、アナスタロゾール
アンドロゲン受容体	IHC	閾値超	ARタンパク質の高発現は、アンドロゲン除去療法(ピカルタミド、フルタミド、リユープロリド、およびゴセレリン)に対する反応、より長いRFSと関連し得る。	ARタンパク質の高発現は、アンドロゲン除去療法(ピカルタミド、フルタミド、リユープロリド、およびゴセレリン)に対する反応、より長いRFSと関連し得る。	ゴセレリン、リユープロリド
PR	マイクロアレイ	過剰発現			ゴセレリン、リユープロリド
アンドロゲン受容体	IHC	陰性	ゴセレリンおよびリユープロリドは、マイクロアレイによりPRが高いことによって潜在的に有益である可能性がある。	ゴセレリンおよびリユープロリドは、マイクロアレイによりPRが高いことによって潜在的に有益である可能性がある。	ゴセレリン、リユープロリド
PR	マイクロアレイ	過剰発現			ゴセレリン、リユープロリド
ERCC1	IHC	陰性	白金に基づく療法は、BCRPが高いことによって潜在的に有益性は最小である。	白金に基づく療法は、BCRPが高いことによって潜在的に有益性は最小である。	シスプラチン、カルボプラチン
BCRP	IHC	閾値超	BCRPの高発現は、白金に基づく併用化学療法で治療した場合の、より短い無進行生存期間(PFS)および全生存期間(OS)と関連づけられている。	BCRPの高発現は、白金に基づく併用化学療法で治療した場合の、より短い無進行生存期間(PFS)および全生存期間(OS)と関連づけられている。	シスプラチン、カルボプラチン
ERCC1	IHC	陰性	ERCC1の低発現は、白金に基づく化学療法で治療した場合の、より高い奏効率ならびに有意により長い無進行生存期間中央値および全生存期間中央値と関連づけられている。	ERCC1の低発現は、白金に基づく化学療法で治療した場合の、より高い奏効率ならびに有意により長い無進行生存期間中央値および全生存期間中央値と関連づけられている。	シスプラチン、カルボプラチン
BCRP	IHC	陰性	BCRPの低発現は、白金に基づく併用化学療法で治療した場合の、より長い無進行生存期間(PFS)および全生存期間(OS)と関連づけられている。	BCRPの低発現は、白金に基づく併用化学療法で治療した場合の、より長い無進行生存期間(PFS)および全生存期間(OS)と関連づけられている。	シスプラチン、カルボプラチン
ERCC1	IHC	閾値超	ERCC1の高発現は、白金に基づく化学療法で治療した場合の、より低い奏効率ならびに有意により短い無進行生存期間中央値および全生存期間中央値と関連づけられている。	ERCC1の高発現は、白金に基づく化学療法で治療した場合の、より低い奏効率ならびに有意により短い無進行生存期間中央値および全生存期間中央値と関連づけられている。	シスプラチン、カルボプラチン

BCRP	IHC	閾値超	BCRPの高発現は、白金に基づく併用化学療法で治療した場合の、より短い無進行生存期間(PFS)および全生存期間(OS)と関連づけられている。		シスプラチン、カルボプラチン
ERCC1	IHC	閾値超	ERCC1の高発現は、白金に基づく化学療法で治療した場合の、より低い奏効率ならびに有意により短い無進行生存期間中央値および全生存期間中央値と関連づけられている。		シスプラチン、カルボプラチン
BCRP	IHC	陰性	白金に基づく療法は、ERCC1が高いことにより潜在的に有益性は最小である。		シスプラチン、カルボプラチン
RRM1	IHC	陰性	RRM1低発現は、ゲムシタビン治療に対する反応および転帰の改善と関連し得る。	ゲムシタビン	
DCK	マイクログロアレイ	過剰発現		ゲムシタビン	
RRM1	IHC	陰性	RRM1低発現は、ゲムシタビン治療に対する反応および転帰の改善と関連し得る。	ゲムシタビン	
DCK	マイクログロアレイ	過剰発現		ゲムシタビン	
RRM2	マイクログロアレイ	過小発現		ゲムシタビン	
RRM1	IHC	陰性	RRM1低発現は、ゲムシタビン治療に対する反応および転帰の改善と関連し得る。	ゲムシタビン	
DCK	マイクログロアレイ	過剰発現		ゲムシタビン	
RRM2B	マイクログロアレイ	過小発現		ゲムシタビン	
RRM1	IHC	陰性	RRM1低発現は、ゲムシタビン治療に対する反応および転帰の改善と関連し得る。	ゲムシタビン	
DCK	マイクログロアレイ	過剰発現		ゲムシタビン	
RRM2	マイクログロアレイ	過小発現		ゲムシタビン	
RRM2B	マイクログロアレイ	過小発現		ゲムシタビン	
RRM1	IHC	陰性	RRM1低発現は、ゲムシタビン治療に対する反応および転帰の改善と関連し得る。	ゲムシタビン	
RRM2	マイクログロアレイ	過小発現		ゲムシタビン	
RRM1	IHC	陰性	RRM1低発現は、ゲムシタビン治療に対する反応および転帰の改善と関連し得る。	ゲムシタビン	
RRM2B	マイクログロアレイ	過小発現		ゲムシタビン	
RRM1	IHC	陰性	RRM1低発現は、ゲムシタビン治療に対する反応および転帰の改善と関連し得る。	ゲムシタビン	

10

20

30

40

RRM2	マイクロアレイ	過小発現				ゲムシタピン	
RRM2B	マイクロアレイ	過小発現				ゲムシタピン	
RRM1	IHC	閾値超	RRM1高発現は、ゲムシタピン治療に対する反応の欠如および転帰不良と関連し得る。			ゲムシタピン	
DCK	マイクロアレイ	過剰発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことにより潜在的に有益性は最小である。			ゲムシタピン	
RRM1	IHC	閾値超	RRM1高発現は、ゲムシタピン治療に対する反応の欠如および転帰不良と関連し得る。			ゲムシタピン	
DCK	マイクロアレイ	過剰発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことにより潜在的に有益性は最小である。			ゲムシタピン	
RRM2	マイクロアレイ	過小発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことにより潜在的に有益性は最小である。			ゲムシタピン	
RRM1	IHC	閾値超	RRM1高発現は、ゲムシタピン治療に対する反応の欠如および転帰不良と関連し得る。			ゲムシタピン	
DCK	マイクロアレイ	過剰発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことにより潜在的に有益性は最小である。			ゲムシタピン	
RRM2B	マイクロアレイ	過小発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことにより潜在的に有益性は最小である。			ゲムシタピン	
RRM1	IHC	閾値超	RRM1高発現は、ゲムシタピン治療に対する反応の欠如および転帰不良と関連し得る。			ゲムシタピン	
DCK	マイクロアレイ	過剰発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことにより潜在的に有益性は最小である。			ゲムシタピン	
RRM1	IHC	閾値超	RRM1高発現は、ゲムシタピン治療に対する反応の欠如および転帰不良と関連し得る。			ゲムシタピン	
RRM2	マイクロアレイ	過小発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことにより潜在的に有益性は最小である。			ゲムシタピン	
RRM1	IHC	閾値超	RRM1高発現は、ゲムシタピン治療に対する反応の欠如および転帰不良と関連し得る。			ゲムシタピン	
RRM2B	マイクロアレイ	過小発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことにより潜在的に有益性は最小である。			ゲムシタピン	
RRM1	IHC	閾値超	RRM1高発現は、ゲムシタピン治療に対する反応の欠如および転帰不良と関連し得る。			ゲムシタピン	
RRM2	マイクロアレイ	過小発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことにより潜在的に有益性は最小である。			ゲムシタピン	
RRM2B	マイクロアレイ	過小発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことにより潜在的に有益性は最小である。			ゲムシタピン	
CDA	マイクロアレイ	過剰発現				シタラピン	
DCK	マイクロアレイ	過剰発現				シタラピン	

10

20

30

40

ADA	マイクロアレイ	過小発現	シタラピンは、マイクロアレイによりCDAが高いことおよびDCKが高いことによって潜在的に有益性は最小である。	シタラピン
CDA	マイクロアレイ	過剰発現		シタラピン
DCK	マイクロアレイ	過剰発現		シタラピン
CDA	マイクロアレイ	過剰発現		シタラピン
ADA	マイクロアレイ	過小発現	シタラピンは、マイクロアレイによりCDAが高いことによって潜在的に有益性は最小である。	シタラピン
DCK	マイクロアレイ	過剰発現		シタラピン
ADA	マイクロアレイ	過小発現	シタラピンは、マイクロアレイによりDCKが高いことによって潜在的に有益性は最小である。	シタラピン
c-kit	IHC	陰性	イマチニブは、IHCによりPDGFRAが高いことおよびSMAによりPDGFRBが高いことによって潜在的に有益である可能性がある。	イマチニブ
PDGFR	IHC	閾値超	PDGFRの高発現は、イマチニブ治療に対する反応と関連づけられている	イマチニブ
PDGFRB	マイクロアレイ	過剰発現		イマチニブ
c-kit	IHC	陰性	イマチニブは、MAIによりPDGFRBが高いことによって潜在的に有益である可能性がある。	イマチニブ
PDGFR	IHC	陰性	イマチニブは、MAIによりPDGFRBが高いことによって潜在的に有益である可能性がある。	イマチニブ
PDGFRB	マイクロアレイ	過剰発現		イマチニブ
c-kit	IHC	閾値超	c-Kitの高発現は、イマチニブで治療した場合の有意により良好な生存率と関連づけられている。	イマチニブ
PDGFR	IHC	陰性	イマチニブは、IHCによりc-kitが高いことおよびSMAによりPDGFRBが高いことによって潜在的に有益である可能性がある。	イマチニブ
PDGFRB	マイクロアレイ	過剰発現		イマチニブ
PGP	IHC	閾値超	P-糖タンパク質の高発現は、エトポシドおよびビンクリスチンに対する反応の欠如と関連づけられている。	エトポシド、ビンクリスチン
MRP1	IHC	閾値超	MRP1の高発現は、エトポシドおよびビンクリスチンに対する反応の欠如と関連づけられている。	エトポシド、ビンクリスチン
RRM2	マイクロアレイ	過小発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことによって潜在的に有益性は最小である。	ゲムシタピン
RRM2B	マイクロアレイ	過小発現	ゲムシタピンは、IHCによりRRMIが高いことによって潜在的に有益性は最小である。	ゲムシタピン
c-kit	IHC	閾値超	c-Kitの高発現は、イマチニブで治療した場合の有意により良好な生存率と関連づけられている。	イマチニブ

PDGFR	IHC	閾値超	PDGFRの高発現は、イマチニブ治療に対する反応と関連づけられている	イマチニブ	
PDGFRB	マイクログレイ	過剰発現		イマチニブ	
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的療法は、BRAFおよびKRASの突然変異ならびにFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的療法で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
CES2	マイクログレイ	過剰発現	イリノテカン、TOPO Iが低いことおよびABC2が高いことによって有益性が最小である可能性がある。	イリノテカン	
ABCG2	マイクログレイ	過剰発現		イリノテカン	
ABCG2	マイクログレイ	過剰発現		イリノテカン	
CES2	マイクログレイ	過剰発現		イリノテカン	
ABCG2	マイクログレイ	過剰発現	イリノテカンは、Topo Iの高発現によって臨床的に有益である可能性がある。	イリノテカン	
ABCG2	マイクログレイ	過剰発現	イリノテカンは、Topo Iの高発現によって臨床的に有益である可能性がある。	イリノテカン	
TOP2A	マイクログレイ	過剰発現	アントラサイクリンに基づく療法は、P-糖タンパク質が高いことによって潜在的に有益性は最小である。		ドキシルピシン
ER	IHC	閾値超	ERの高発現は、内分泌療法に対する反応と関連づけられ、かつイクサベピロンに対する反応の欠如と関連づけられている。	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストラゾール、レトロゾール)	
ER	IHC	陰性	ERの低発現は、イクサベピロンに対する反応と関連づけられている。	イクサベピロン	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストラゾール、レトロゾール)
ER	IHC	陰性	タモキシフェン、アナストラゾール、およびレトロゾールは、PRの発現によって潜在的に有益である。	タモキシフェン、アナストラゾール、レトロゾール	

PR	IHC	閾値超	PR高発現は、タモキシフェン、アナストロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得るが、化学内分泌療法による有益性の欠如と関連し得る。	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール
ER	IHC	閾値超	ERの高発現は、内分泌療法に対する反応と関連づけられている。	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストロゾール、レトロゾール)
PR	IHC	閾値超	PR高発現は、タモキシフェン、アナストロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得るが、化学内分泌療法による有益性の欠如と関連し得る。	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール
ER	IHC	閾値超	ERの高発現は、内分泌療法に対する反応と関連づけられている。	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストロゾール、レトロゾール)
PR	IHC	陰性	タモキシフェン療法は、ER高発現によって潜在的に有益である。	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストロゾール、レトロゾール)
ER	IHC	陰性	タモキシフェン、アナストロゾール、およびレトロゾールは、PRの発現によって潜在的に有益である。ERの低発現は、イクサベピロンに対する反応と関連づけられている。	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール、イクサベピロン
PR	IHC	閾値超	PR高発現は、タモキシフェン、アナストロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得るが、化学内分泌療法による有益性の欠如と関連し得る。	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール
ER	IHC	閾値超	ERの高発現は、内分泌療法に対する反応と関連づけられ、かつイクサベピロンに対する反応の欠如と関連づけられている。	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストロゾール、レトロゾール)
PR	IHC	閾値超	PR高発現は、タモキシフェン、アナストロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得る。	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール
ER	IHC	閾値超	ERの高発現は、内分泌療法に対する反応と関連づけられ、かつイクサベピロンに対する反応の欠如と関連づけられている。	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストロゾール、レトロゾール)
PR	IHC	陰性	タモキシフェン療法は、ER高発現によって潜在的に有益である。	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール
ER	IHC	陰性	タモキシフェン、アナストロゾール、およびレトロゾールは、PRの発現によって潜在的に有益である。	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール

PR	IHC	閾値超	PR高発現は、タモキシフェン、アナストロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得るが、化学内分泌療法による有益性の欠如と関連し得る。	PR高発現は、タモキシフェン、アナストロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得るが、化学内分泌療法による有益性の欠如と関連し得る。	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール
ER	IHC	閾値超	ERの高発現は、内分泌療法に対する反応と関連づけられている。	ERの高発現は、内分泌療法に対する反応と関連づけられている。	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストロゾール、レトロゾール)	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストロゾール、レトロゾール)
PR	IHC	閾値超	PR高発現は、タモキシフェン、アナストロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得るが、化学内分泌療法による有益性の欠如と関連し得る。	PR高発現は、タモキシフェン、アナストロゾール、およびレトロゾールによる有益性と関連し得るが、化学内分泌療法による有益性の欠如と関連し得る。	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール	タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール
ER	IHC	閾値超	ERの高発現は、内分泌療法に対する反応と関連づけられている。	ERの高発現は、内分泌療法に対する反応と関連づけられている。	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストロゾール、レトロゾール)	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストロゾール、レトロゾール)
PR	IHC	陰性	タモキシフェン療法は、ER高発現によって潜在的に有益である。	タモキシフェン療法は、ER高発現によって潜在的に有益である。	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストロゾール、レトロゾール)	タモキシフェンに基づく治療、アロマターゼ阻害薬(アナストロゾール、レトロゾール)
Her2/Neu	IHC	閾値超			ラパチニブ	
SPARC ポリ	IHC	閾値超	高SPARCタンパク質は、nab-パクリタキセルに基づく併用療法に対する反応と関連し得る	高SPARCタンパク質は、nab-パクリタキセルに基づく併用療法に対する反応と関連し得る	nab-パクリタキセル	nab-パクリタキセル
SPARC ポリ	IHC	閾値超	高SPARCタンパク質は、nab-パクリタキセルに基づく併用療法に対する反応と関連し得る	高SPARCタンパク質は、nab-パクリタキセルに基づく併用療法に対する反応と関連し得る	nab-パクリタキセル	nab-パクリタキセル
SPARC モノ	IHC	閾値超	高SPARCタンパク質は、nab-パクリタキセルに基づく併用療法に対する反応と関連し得る	高SPARCタンパク質は、nab-パクリタキセルに基づく併用療法に対する反応と関連し得る	nab-パクリタキセル	nab-パクリタキセル
SPARC モノ	IHC	閾値超	高SPARCタンパク質は、nab-パクリタキセルに基づく併用療法に対する反応と関連し得る	高SPARCタンパク質は、nab-パクリタキセルに基づく併用療法に対する反応と関連し得る	nab-パクリタキセル	nab-パクリタキセル
COX-2	IHC	閾値超	COX-2タンパク質高発現は、患者をアスピリンで治療した場合、より良好な生存率と関連し得る。	COX-2タンパク質高発現は、患者をアスピリンで治療した場合、より良好な生存率と関連し得る。		
COX-2	IHC	陰性	COX-2タンパク質高発現の欠如は、患者をアスピリンで治療した場合の生存率の低下と関連し得る。	COX-2タンパク質高発現の欠如は、患者をアスピリンで治療した場合の生存率の低下と関連し得る。		
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エロロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的療法、ならびにHer2標的療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	PTENタンパク質喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エロロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的療法、ならびにHer2標的療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エロロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をエロロチニブで治療した場合の無反応と関連づけられている。	KRAS突然変異の存在は、患者をエロロチニブで治療した場合の無反応と関連づけられている。		エロロチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エロロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エロロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的療法、ならびにHer2標的療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	PTENタンパク質喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エロロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的療法、ならびにHer2標的療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エロロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ

KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	エルロチニブは、PTEN発現の喪失およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をエルロチニブで治療した場合の無反応と関連づけられている。	エルロチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失およびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	エルロチニブは、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、KRASの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をエルロチニブで治療した場合の無反応と関連づけられている。	エルロチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	エルロチニブは、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をエルロチニブで治療した場合の無反応と関連づけられている。	エルロチニブ

EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する反応と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
KRAS	突然変異解析	野生型	KRAS突然変異の非存在(野生型)は、患者をエルロチニブで治療した場合の反応と関連づけられている。	エルロチニブ
EGFR	FISH	遺伝子型陽性	EGFR高遺伝子コピー数は、EGFR標的化療法による反応の増大およびより長い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、エルロチニブおよびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法に対する耐性と関連し得る	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、エルロチニブおよびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法に対する耐性と関連し得る	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、エルロチニブおよびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法に対する反応と関連し得る	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR高遺伝子コピー数は、EGFR標的化療法による反応の増大およびより長い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の低下およびより短い生存期間と関連している。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ

PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、エルロチニブおよびゲフィチニブによる反応の低下および短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、トラスツズマブ
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する反応と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR高遺伝子コピー数は、エルロチニブまたはゲフィチニブ治療による反応の増大およびより長い生存期間と関連している	セツキシマブ、パニツムマブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブおよびパニツムマブを含むEGFR標的化療法に対する耐性と関連し得る	セツキシマブ、パニツムマブ
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている	セツキシマブ、パニツムマブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブおよびパニツムマブを含むEGFR標的化療法に対する耐性と関連し得る	セツキシマブ、パニツムマブ
BRAF	突然変異解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失およびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている	セツキシマブ、パニツムマブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブおよびパニツムマブを含むEGFR標的化療法に対する耐性と関連し得る	セツキシマブ、パニツムマブ
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失およびBRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブおよびパニツムマブを含むEGFR標的化療法に対する耐性と関連し得る	セツキシマブ、パニツムマブ
BRAF	突然変異解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、BRAFおよびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ

KRAS	突然変異 解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている	セツキシマブ、パニツムマブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化抗体療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化抗体療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている	セツキシマブ、パニツムマブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化抗体療法は、BRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である	セツキシマブ、パニツムマブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化抗体療法は、BRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、セツキシマブおよびパニツムマブを含むEGFR標的化療法に対する反応と関連し得る	セツキシマブ、パニツムマブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	野生型BRAFは、EGFR標的化抗体療法に対する潜在的反応および付随する生存率の上昇と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	KRAS突然変異の非存在(野生型)は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応、より緩徐な疾患進行、および生存率の上昇と関連づけられている。	セツキシマブ、パニツムマブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブに対する耐性と関連し得る。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異 解析	変異型	EGFR突然変異の存在は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の反応ならびにより長いOSおよびPFSと関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブに対する耐性と関連し得る。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR突然変異の非存在は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の欠如ならびにより短いOSおよびPFSと関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ

EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブに対する耐性と関連し得る。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	野生型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異解析	変異型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブに対する耐性と関連し得る。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	野生型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失ならびに野生型およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異解析	野生型	EGFR突然変異の非存在は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の欠如ならびにより短いVOSおよびVPFSと関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブに対する耐性と関連し得る。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異解析	変異型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失およびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失およびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブに対する耐性と関連し得る。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異解析	野生型	EGFR突然変異の非存在は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の欠如ならびにより短いVOSおよびVPFSと関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失、KRASの突然変異、および野生型EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬に対する耐性と関連し得る。	ゲフィチニブ

KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異 解析	変異型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬がファイチニブに対する耐性と関連し得る。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失および野生型EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR突然変異の非存在は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の欠如ならびにより短いOSおよびPFPSと関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失および野生型EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬がファイチニブは、KRASの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異 解析	変異型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、KRASの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬がファイチニブは、KRASの突然変異ならびに野生型およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR突然変異の非存在は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の欠如ならびにより短いOSおよびPFPSと関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬がファイチニブは、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異 解析	変異型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ

EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブは、野生型およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	野生型	EGFR標的治療法は、野生型およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異解析	野生型	EGFR突然変異の非存在は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の欠如ならびにより短いOSおよびPF5と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブは、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異解析	変異型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブは、KRASの突然変異および野生型EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異解析	野生型	EGFR突然変異の非存在は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の欠如ならびにより短いOSおよびPF5と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、KRASの突然変異および野生型EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブに対する反応と関連し得る。	ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	野生型	KRAS突然変異の非存在(野生型)は、患者をEGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬で治療した場合の反応、より緩徐な疾患進行、および生存率の上昇と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異解析	変異型	EGFR突然変異の存在は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応ならびにより長いOSおよびPF5と関連づけられている。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR高遺伝子コピー数は、EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬による反応の増大およびより長い生存期間と関連している。	エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブは、野生型EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	ゲフィチニブ

KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化チロシキンナーゼ阻害薬は、野生型EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR突然変異の非存在は、EGFR標的化チロシキンナーゼ阻害薬による反応の欠如ならびにより短いOSおよびPFSと関連づけられている。		エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化チロシキンナーゼ阻害薬は、野生型EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失、KRASの突然変異、およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失、BRAFの突然変異、およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ

PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびFISH陰性EGFRによっ て潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびFISH陰性EGFRによっ て潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の 低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随す る生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマ ブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で 治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連 づけられている。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失ならびにBRAFおよびKRAS の突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびKRASの突然変異によ って潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で 治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連 づけられている。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびKRASの突然変異によ って潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随す る生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマ ブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびBRAFの突然変異によ って潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ

EGFR	FISH	陽性	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失およびBRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならびにHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異解析	野生型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	野生型	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的治療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的治療法は、BRAFおよびKRASの突然変異ならびにFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的治療法は、KRASの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。	トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異解析	野生型	EGFR標的治療法は、KRASの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的治療法は、BRAFの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。	トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ

KRAS	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的化療法は、BRAFの突然変異およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。	トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的化療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的化療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、KRASおよびBRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。	トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化療法に対する画性および随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化療法は、KRASおよびBRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。	トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的化療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	変異型	KRASにおける活性化突然変異の存在は、患者をEGFR標的化抗体で治療した場合の反応の欠如、疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、BRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。	トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ

BRAF	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	野生型 遺伝子型	EGFR標的化療法は、BRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	陽性	EGFR標的化療法は、BRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	閾値超	PTENタンパク質発現は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する反応と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
BRAF	野生型 遺伝子型	野生型BRAFは、EGFR標的化療法に対する潜在的な反応および付随する生存率の上昇と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	野生型 遺伝子型	KRAS突然変異の非存在(野生型)は、患者をEGFR標的化療法で治療した場合の反応、より緩徐な疾患進行、および生存率の上昇と関連づけられている。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	陽性	EGFR高遺伝子コピー数は、EGFR標的化療法による反応の増大およびより長い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
EGFR	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
EGFR	陽性	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	閾値超	EGFR標的化療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	閾値超	PTENタンパク質発現は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する反応と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ

10

20

30

40

EGFR		陽性	EGFR高遺伝子コピー数は、EGFR標的化療法による反応の増大およびより長い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化療法で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。		
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		
KRAS	突然変異解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		
KRAS	突然変異解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的化療法で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。		
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失およびKRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的化療法、ならびにHer2標的化療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		
KRAS	突然変異解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。		
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。		
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、BRAFおよびKRASの突然変異ならびにFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。	トラスツズマブ	

KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的治療法で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的治療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。	トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的治療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的治療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。	トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	変異型	KRAS突然変異の存在は、患者をEGFR標的治療法で治療した場合の反応の欠如、より速い疾患進行、および生存率の低下と関連づけられている。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的治療法は、KRASの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならびにHer2標的治療法トラスツズマブに対する反応と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	KRAS突然変異の非存在(野生型)は、患者をEGFR標的治療法で治療した場合の反応の反応、より緩徐な疾患進行、および生存率の上昇と関連づけられている。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR高遺伝子コピー数は、EGFR標的治療法による反応の増大およびより長い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならびにHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ

PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化抗体療法は、PTEN発現の喪失およびFISH陰性EGFRに よって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマ ブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の 低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随す る生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマ ブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化抗体療法は、PTEN発現の喪失およびBRAFの突然変異によ って潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エ ルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的治療法、ならび にHer2標的治療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。		セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ、トラスツズマブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化抗体療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性 は最小である。		セツキシマブ、パニツムマ ブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的化抗体療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最 小である。		セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、BRAFの突然変異およびFISH陰性EGFRによっ て潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブに よる臨床的有益性と関連づけられている。	トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
BRAF	突然変異 解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随す る生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマ ブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の 低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小 である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連 づけられている。	トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ
BRAF	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR標的化抗体療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は 最小である。		セツキシマブ、パニツムマ ブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的治療法による反応の 低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマ ブ、エルロチニブ、ゲフィ チニブ

10

20

30

40

PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的療法は、BRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。PTEN発現は、トラスツズマブによる臨床的有益性と関連づけられている。	トラスツズマブ	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ
EGFR	FISH	陽性	EGFR標的療法は、BRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的療法、ならびにHer2標的療法トラスツズマブに対する反応と関連し得る。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、トラスツズマブ	
BRAF	突然変異解析	野生型 遺伝子型	野生型BRAFは、EGFR標的抗体療法に対する潜在的反応および付随する生存率の上昇と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ	
EGFR	FISH	陽性	EGFR高遺伝子コピー数は、EGFR標的療法による反応の増大およびより長い生存期間と関連している。	セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ	
Her2/Neu	IHC	陰性	(報告なし)		トラスツズマブ、ラパチニブ
PTEN	IHC	閾値超	PTENタンパク質発現は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的療法に対する反応と関連し得る。トラスツズマブまたはラパチニブは、Her2の上昇の欠如によって有益性が最小である可能性がある。	エルロチニブ、ゲフィチニブ、セツキシマブ、パニツムマブ	
Her2/Neu	IHC	陰性	(報告なし)		トラスツズマブ、ラパチニブ
PTEN	IHC	陰性	PTENタンパク質発現の喪失は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的療法、ならびにHer2標的療法トラスツズマブに対する耐性と関連し得る。ラパチニブは、Her2上昇の欠如によって有益性が最小である可能性がある。		エルロチニブ、ゲフィチニブ、セツキシマブ、パニツムマブ、トラスツズマブ、ラパチニブ
Her2/Neu	IHC	閾値超	HER-2の高発現は、トラスツズマブまたはラパチニブに対する反応と関連づけられている。	トラスツズマブ、ラパチニブ	
PTEN	IHC	閾値超	PTENの高発現は、セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブを含むEGFR標的療法、ならびにHer2標的療法トラスツズマブに対する反応と関連し得る。	エルロチニブ、ゲフィチニブ、セツキシマブ、パニツムマブ、トラスツズマブ	
Her2/Neu	IHC	閾値超	トラスツズマブは、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小であるが、ラパチニブは、HER-2上昇によって潜在的に有益である。	ラパチニブ	トラスツズマブ
PTEN	IHC	陰性	PTENの低発現およびHER-2の高発現は、トラスツズマブに対する反応の欠如と関連づけられている。PTEN低発現はまた、EGFR標的薬による臨床的有益性の欠如と関連している。		エルロチニブ、ゲフィチニブ、セツキシマブ、パニツムマブ、トラスツズマブ
Her2/Neu	IHC	陰性	(報告なし)		トラスツズマブ、ラパチニブ

10

20

30

40

PTEN	IHC	閾値超	トラスツズマブまたはラパチニブは、Her2上昇の欠如によって有益性が最小である可能性がある。 (報告なし)	トラスツズマブ、ラパチニブ
Her2/Neu	IHC	陰性	PTEN低発現は、乳癌患者におけるトラスツズマブに対する反応の欠如およびより短いVTPと関連し得る	トラスツズマブ、ラパチニブ
PTEN	IHC	陰性	HER-2の高発現は、トラスツズマブまたはラパチニブに対する反応と関連づけられている。	トラスツズマブ
Her2/Neu	IHC	閾値超	PTENの高発現は、トラスツズマブに対する反応と関連し得る。	トラスツズマブ、ラパチニブ
PTEN	IHC	閾値超	トラスツズマブは、PTENの喪失によって有益性が最小である可能性があるが、ラパチニブは、HER-2上昇によって潜在的に有益である可能性がある。	トラスツズマブ
Her2/Neu	IHC	閾値超	PTENの低発現およびHER-2の高発現は、ラパチニブに対する反応と関連づけられているが、トラスツズマブに対する反応とは関連づけられていない。	トラスツズマブ
PTEN	IHC	陰性		トラスツズマブ
COX-2	マイクログ アレイ	過剰発現	血液悪性腫瘍での使用に限る	セレコキシブ、アスピリン
RARA	マイクログ アレイ	過剰発現		ATRA
CD52	マイクログ アレイ	過剰発現	血液悪性腫瘍での使用に限る	アレムツズマブ
COX-2	IHC	閾値超	COX-2タンパク質高発現は、患者をアスピリンで治療した場合のより良好な生存率と関連し得る。	アスピリン
COX-2	IHC	陰性	COX-2タンパク質発現の欠如は、患者をアスピリンで治療した場合の生存率の低下と関連し得る。	アスピリン
c-kit	突然変異 解析	変異型	エキソン11におけるc-Kit突然変異は、イマチニブで治療した場合のより高い客観的奏効率、優れた無発症生存期間および全生存期間と関連していたが、スニチニブで治療した場合のより低い臨床的有益性および客観的反応と関連していた。	イマチニブ
c-kit	突然変異 解析	変異型	エキソン9におけるc-Kit突然変異は、イマチニブで治療した場合のより低い客観的奏効率、劣った無発症生存期間および全生存期間と関連していたが、スニチニブで治療した場合の臨床的有益性および客観的反応の増大と関連していた。	スニチニブ
c-kit	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	c-Kit突然変異の欠如は、イマチニブで治療した場合のより低い客観的奏効率、劣った無発症生存期間および全生存期間と関連し得るが、スニチニブで治療した場合の臨床的有益性および客観的反応の増大と関連し得る。	スニチニブ
c-kit	突然変異 解析	変異型	L576P突然変異は、ダサチニブで治療した2名の転移性黒色腫患者でのみ、臨床的有益性と関連づけられている	ダサチニブ
c-kit	突然変異 解析	変異型	エキソン11におけるc-Kit突然変異は、イマチニブで治療した場合のより高い客観的奏効率、優れた無発症生存期間および全生存期間と関連していたが、スニチニブで治療した場合のより低い臨床的有益性および客観的反応と関連していた。	イマチニブ

c - kit	突然変異 解析	変異型	エキソン9におけるc-Kit突然変異は、イマチニブで治療した場合のより低い客観的奏効率、劣った無発症生存期間および全生存期間と関連していたが、スニチニブで治療した場合の臨床的有益性および客観的反応の増大と関連していた。	イマチニブ	スニチニブ
c - kit	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	c-Kit突然変異の欠如は、イマチニブで治療した場合のより低い客観的奏効率、劣った無発症生存期間および全生存期間と関連し得るが、スニチニブで治療した場合の臨床的有益性および客観的反応の増大と関連し得る。	イマチニブ	スニチニブ
c - kit	突然変異 解析	変異型	L576P突然変異は、ダサチニブで治療した2名の転移性黒色腫患者でのみ、臨床的有益性と関連づけられている		ダサチニブ
EGFR	突然変異 解析	変異型	EGFR標的化チロシinkinナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失、変異型KRAS、およびFISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。	エルロチニブ、ゲファイチニブ	
EGFR	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR突然変異の非存在は、EGFR標的化チロシinkinナーゼ阻害薬で治療した場合の反応の欠如ならびにより短いOSおよびPFSと関連づけられている。		エルロチニブ、ゲファイチニブ
EGFR	突然変異 解析	変異型	EGFR突然変異の存在は、EGFR標的化チロシinkinナーゼ阻害薬で治療した場合の反応の欠如ならびにより長いOSおよびPFSと関連づけられている。	エルロチニブ、ゲファイチニブ	
EGFR	突然変異 解析	野生型 遺伝子型	EGFR突然変異の非存在は、EGFR標的化チロシinkinナーゼ阻害薬で治療した場合の反応の欠如ならびにより短いOSおよびPFSと関連づけられている。		エルロチニブ、ゲファイチニブ
Her2/Neu	FISH	増幅	HER-2の高発現は、トラスツズマブまたはラパチニブに対する反応と関連づけられている。	トラスツズマブ、ラパチニブ	
Her2/Neu	FISH	増幅	トラスツズマブは、PTENの喪失によって有益性が最小である可能性があるが、ラパチニブは、HER-2上昇によって潜在的に有益である可能性がある。		トラスツズマブ
Her2/Neu	FISH	増幅	トラスツズマブは、PTENの喪失によって有益性が最小である可能性があるが、ラパチニブは、HER-2上昇によって潜在的に有益である可能性がある。	ラパチニブ	
Her2/Neu	FISH	増幅なし	(報告なし)		トラスツズマブ、ラパチニブ
Her2/Neu	FISH	増幅	HER-2の高発現は、トラスツズマブまたはラパチニブに対する反応と関連づけられている。	トラスツズマブ、ラパチニブ	
Her2/Neu	FISH	増幅	HER-2の高発現は、トラスツズマブまたはラパチニブに対する反応と関連づけられている。	トラスツズマブ、ラパチニブ	
Her2/Neu	FISH	増幅	トラスツズマブは、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小であるが、ラパチニブは、HER-2上昇によって潜在的に有益である。	ラパチニブ	トラスツズマブ
Her2/Neu	FISH	増幅なし	(報告なし)		トラスツズマブ、ラパチニブ
Her2/Neu	FISH	増幅なし	(報告なし)		トラスツズマブ、ラパチニブ

Her2/Neu	FISH	増幅	HER-2の高発現は、トラスツズマブまたはラパチニブに対する反応と関連づけられている。	トラスツズマブ、ラパチニブ	トラスツズマブ
Her2/Neu	FISH	増幅	トラスツズマブは、PTENの喪失によって有益性が最小である可能性があるが、ラパチニブは、HER-2上昇によって潜在的に有効である可能性がある。	ラパチニブ	
Her2/Neu	FISH	増幅		ラパチニブ	
BRAF	突然変異解析	変異型	BRAF突然変異は、EGFR標的化抗体療法に対する耐性および付随する生存率の低下と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ
KRAS	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的化療法は、BRAFの突然変異によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
BRAF	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的化療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	FISH	陰性	EGFR遺伝子コピー数増加の欠如は、EGFR標的化療法による反応の低下およびより短い生存期間と関連している。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	マイクロアレイ	過剰発現	EGFR標的化療法は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
EGFR	マイクロアレイ	過剰発現	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、PTEN発現の喪失によって潜在的に有益性は最小である。		エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的化療法は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		セツキシマブ、パニツムマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、野生型EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN	IHC	閾値超	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬ゲフィチニブは、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		ゲフィチニブ
KRAS	突然変異解析	野生型遺伝子型	EGFR標的化チロシンキナーゼ阻害薬は、FISH陰性EGFRによって潜在的に有益性は最小である。		エルロチニブ、ゲフィチニブ
Her2/Neu	FISH	増幅	トラスツズマブは、PTENの喪失によって有益性が最小である可能性があるが、ラパチニブは、HER-2上昇によって潜在的に有益である可能性がある。	ラパチニブ	トラスツズマブ

10

20

30

40

50

【 0 1 8 0 】

本明細書に記載される方法を用いて、個別化された治療選択肢を提供することにより、対象の生存期間を延長することができる。いくつかの態様において、対象は、例えばがん

などの疾患を治療するための1つまたは複数の治療薬で以前に治療を受けている。がんは、例えば薬物耐性突然変異を獲得することにより、これらの薬剤のうちの1つに対して難治性であってよい。いくつかの態様において、がんは転移性である。いくつかの態様において、対象は、本方法によって同定される1つまたは複数の候補治療薬で以前に治療を受けていない。がん細胞の病期、解剖学的位置、または解剖学的起源にかかわらず、分子プロファイリングを用いて、候補治療を選択することができる。

【0181】

無進行生存率(PFS)とは、例えばがんなどの疾患に罹患している個体または個体の群が、治療過程の開始後に疾患進行のないままでいる可能性を意味する。これは、特定の持続期間後に、ある群の中でその疾患が安定した状態を保つ(例えば、進行の兆候を示さない)可能性が高い個体のパーセンテージを指し得る。無進行生存率は、特定の治療の有効性の指標である。同様に、無病生存率(DFS)とは、がん罹患している個体または個体の群が、特定の治療の開始後に疾患がないままである可能性を意味する。これは、特定の持続期間後に、ある群の中で疾患がない可能性が高い個体のパーセンテージを指し得る。無病生存率は、特定の治療の有効性の指標である。同様の患者群において得られるPFSまたはDFSに基づいて、治療戦略を比較することができる。がん生存率について記載される場合、無病生存率は全生存率という用語と共に用いられることが多い。

10

【0182】

分子プロファイリングによって選択された治療法を用いた無進行生存期間(PFS)(期間B)を、患者が進行を開始した際の一番最近の治療法のPFS(期間A)と比較することにより、本発明による分子プロファイリングによって選択された候補治療を、分子プロファイリング以外で選択された治療と比較することができる。図32を参照されたい。1つの設定では、分子プロファイリングによって選択された治療法が患者に恩恵をもたらすことを示すために、PFS(B)/PFS(A)比 1.3を使用した(Robert Temple, *Clinical measurement in drug evaluation*. Edited by Wu Ningano and G.T. Thicker John Wiley and Sons Ltd. 1995; Von Hoff, D.D. *Clin Can Res.* 4: 1079, 1999; Dhani et al. *Clin Cancer Res.* 15: 118-123, 2009)。分子プロファイリングによって選択された治療を、分子プロファイリング以外で選択された治療と比較する他の方法は、奏効率(RECIST)、および4ヶ月の時点で進行も死亡もしていない患者のパーセントを決定することを含む。PFSの数値との関連で用いられる場合の「約」という用語は、数値に対する ± 10 パーセント(10%)の変動を意味する。分子プロファイリングによって選択された治療によるPFSは、分子プロファイリング以外で選択された治療と比較して少なくとも10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または少なくとも90%延長され得る。いくつかの態様において、分子プロファイリングによって選択された治療によるPFSは、分子プロファイリング以外で選択された治療と比較して少なくとも100%、150%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または少なくとも約1000%延長され得る。さらなる他の態様において、PFS比(分子プロファイリングによって選択された治療法または新規治療におけるPFS/以前の治療法または治療におけるPFS)は少なくとも約1.3である。さらなる他の態様において、PFS比は少なくとも約1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、または2.0である。さらなる他の態様において、PFS比は少なくとも約3、4、5、6、7、8、9、または10である。

20

30

40

【0183】

同様に、その治療が分子プロファイリングを用いて、または用いずに選択される患者におけるDFSを比較することができる。いくつかの態様において、分子プロファイリングによって選択された治療によるDFSは、非分子プロファイリング選択治療と比較して少なくとも10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または少なくとも90%延長される。いくつかの態様において、分子プロファイリングによって選択された治療によるDFSは、非分子プロファイリング選択治療と比較して少なくとも100%、150%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、または少なくとも約1000%延長され得る。さらなる他の態様において、DFS比(分子プロファイリングによって選択された治療法または新規治療におけるDFS/以前の治療法または治療におけるDFS)は少なくとも約1.3である。さらなる他

50

の態様において、DFS比は少なくとも約1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、または2.0である。さらなる他の態様において、DFS比は少なくとも約3、4、5、6、7、8、9、または10である。

【0184】

いくつかの態様では、分子プロファイリングが貴重な患者有益性をもたらすにもかかわらず、本発明の候補治療は患者においてPFS比またはDFS比を増加させない。例えば、ある症例において、患者に対して好ましい治療が同定されていない。このような症例において、現在は何も同定されていない場合に、分子プロファイリングは候補治療を同定する方法を提供する。分子プロファイリングは、PFS、DFS、または寿命を少なくとも1週間、2週間、3週間、4週間、1ヶ月、5週間、6週間、7週間、8週間、2ヶ月、9週間、10週間、11週間、12週間、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、12ヶ月、13ヶ月、14ヶ月、15ヶ月、16ヶ月、17ヶ月、18ヶ月、19ヶ月、20ヶ月、21ヶ月、22ヶ月、23ヶ月、24ヶ月、または2年延長させ得る。分子プロファイリングは、PFS、DFS、または寿命を少なくとも2年半、3年、4年、5年、またはそれ以上延長させ得る。いくつかの態様において、本発明の方法は、患者が寛解状態にあるように転帰を改善する。

10

【0185】

治療の有効性は、他の手段によってモニターすることもできる。完全寛解(CR)は疾患の完全な消失を含む：無疾患は、診察、スキャン、または他の検査で明らかである。部分寛解(PR)とは、身体にいくらかの疾患は残っているが、病変の大きさまたは数が30%またはそれ以上減少していることを指す。安定した疾患(SD)とは、病変の大きさおよび数が比較的变化しないままである疾患を指す。一般的に、大きさの50%未満の減少またはわずかな増加は、安定した疾患と記載される。進行性疾患(PD)とは、疾患が、治療において大きさまたは数の上で増加したことを意味する。いくつかの態様において、本発明による分子プロファイリングは完全寛解または部分寛解をもたらす。いくつかの態様において、本発明の方法は安定した疾患をもたらす。いくつかの態様において、本発明は、非分子プロファイリングが進行性疾患を招く場合に、安定した疾患を達成することができる。

20

【0186】

コンピュータシステム

本システムの従来のデータネットワーク化、アプリケーション開発、および他の機能的局面(および本システムの個々の動作コンポーネントの構成成分)は、本明細書において詳細に記載され得ないが、本発明の一部である。さらに、本明細書中に含まれる様々な図面で示される接続線は、様々な要素間の例示的な機能的関係および/または物理的連結を示すことが意図される。多くの代替のまたは付加的な機能的関係または物理的連結が実際のシステムにおいて存在し得ることに留意されたい。

30

【0187】

本明細書で論じられる様々なシステムコンポーネントは、以下のうちの1つまたは複数を含み得る：デジタルデータを処理するためのプロセッサを含むホストサーバーまたは他のコンピュータシステム；デジタルデータを保存するための、プロセッサに連結されたメモリ；デジタルデータを入力するための、プロセッサに連結された入力デジタイザ；プロセッサによるデジタルデータの処理を命令するための、メモリに保存され、かつプロセッサによりアクセス可能なアプリケーションプログラム；プロセッサによって処理されたデジタルデータから得られた情報を表示するための、プロセッサおよびメモリに連結された表示装置；ならびに複数のデータベース。本明細書において用いられる様々なデータベースは、以下を含み得る：家族歴などの患者データ、人口統計学および環境データ、生体試料データ、以前の治療およびプロトコルのデータ、患者の臨床データ、生体試料の分子プロファイリングデータ、治療薬および/または研究薬物に関するデータ、遺伝子ライブラリー、疾患ライブラリー、薬物ライブラリー、患者追跡データ、ファイル管理データ、財務管理データ、課金データ、ならびに/または本システムの動作において有用な同様のデータ。当業者が理解するように、ユーザーコンピュータは、オペレーティングシステム(例えば、Windows NT、95/98/2000、OS2、UNIX、Linux、Solaris、MacOS等)、ならびに典

40

50

型的にコンピュータに付随する様々な従来の支援ソフトウェアおよびドライバーを含み得る。コンピュータには、任意の適切なパーソナルコンピュータ、ネットワークコンピュータ、ワークステーション、ミニコンピュータ、メインフレーム等が含まれ得る。ユーザーコンピュータは、ネットワークへのアクセスを有する家庭または医療/事業環境にあってよい。例示的な態様において、アクセスは、市販のウェブブラウザソフトウェアパッケージを介するネットワークまたはインターネットによるものである。

【 0 1 8 8 】

本明細書において用いられる「ネットワーク」という用語は、そのハードウェアコンポーネントおよびソフトウェアコンポーネントの両方を組み込んだ任意の電気通信手段を含む。関係者間の通信は、例えば、電話回線網、エクストラネット、イントラネット、インターネット、相互作用デバイスのポイント、携帯情報端末(例えば、Palm Pilot(登録商標)、Blackberry(登録商標))、携帯電話、キオスク等)、オンライン通信、衛星通信、オフライン通信、無線通信、トランスポンダ通信、ローカルエリアネットワーク(LAN)、広域ネットワーク(WAN)、ネットワーク化もしくは連結されたデバイス、キーボード、マウス、および/または任意の適切な通信もしくはデータ入力様式などの任意の適切な通信チャネルによって達成され得る。さらに、本システムは、TCP/IP通信プロトコルで実行されると本明細書において頻繁に記載されるが、本システムはまた、IPX、Appletalk、IP-6、NetBIOS、OSI、またはいくつもの既存もしくは将来のプロトコルを使用しても実行され得る。ネットワークがインターネットなどの公的なネットワークの性質を帯びている場合、そのネットワークは安全ではなく、傍受者に対して開かれていると推定することが有益であり得る。インターネットと接続して利用されるプロトコル、規格、およびアプリケーションソフトウェアに関する特定の情報は、当業者に一般に公知であり、したがって本明細書において記載される必要はない。例えば、DILIP NAIK, INTERNET STANDARDS AND PROTOCOLS (1998); JAVA 2 COMPLETE, various authors, (Sybex 1999); DEBORAH RAY AND ERIC RAY, MASTERING HTML 4.0 (1997); ならびにLOSHIN, TCP/IP CLEARLY EXPLAINED (1997)、およびDAVID GOURLEY AND BRIAN TOTTY, HTTP, THE DEFINITIVE GUIDE (2002)を参照されたく、これらの内容は参照により本明細書に組み入れられる。

【 0 1 8 9 】

様々なシステムコンポーネントは、独立して、個別に、または集合的に、データリンクを介してネットワークに適切に連結され得、そのネットワークは、典型的には標準的なモデム通信、ケーブルモデム、ディッシュネットワーク、ISDN、デジタル加入者回線(DSL)、または様々な無線通信方法と接続して使用されるように、例えば、ローカルループを通じたインターネットサービスプロバイダ(ISP)への接続を含む。例えば、参照により本明細書に組み入れられる、GILBERT HELD, UNDERSTANDING DATA COMMUNICATIONS (1996)を参照されたい。ネットワークが、双方向テレビ(ITV)ネットワークのような他の種類のネットワークとしても実行され得ることに留意されたい。さらに、本システムは、本明細書に記載される類似の機能性を有する任意のネットワーク上での任意の物品、サービス、または情報の使用、販売、または流通を意図する。

【 0 1 9 0 】

本明細書において用いられる場合の「送信」は、ネットワーク接続を介して1つのシステムコンポーネントから別のシステムコンポーネントに電子データを送ることを含み得る。さらに、本明細書において用いられる場合の「データ」は、デジタルまたは任意の他の形態におけるコマンド、クエリー、ファイル、保存用データ等のような包括的情報を含み得る。

【 0 1 9 1 】

本システムは、ウェブサービス、ユーティリティコンピューティング、パーペイシブおよび個別コンピューティング、セキュリティおよびアイデンティティソリューション、自律型コンピューティング、コモディティコンピューティング、移動および無線ソリューション、オープンソース、バイオメトリクス、グリッドコンピューティング、および/またはメッシュコンピューティングと関連する使用を意図する。

【0192】

本明細書で論じられる任意のデータベースは、関係構造、階層構造、グラフィック構造、もしくはオブジェクト指向構造、および/または任意の他のデータベース構成を含み得る。データベースを実行するために使用され得る共通データベース製品には、IBM(White Plains, NY)によるDB2、Oracle Corporation(Redwood Shores, CA)から入手可能な様々なデータベース製品、Microsoft Corporation(Redmond, Washington)によるMicrosoft AccessもしくはMicrosoft SQL Server、または任意の他の適切なデータベース製品が含まれる。さらに、データベースは、例えばデータ表またはルックアップテーブルとして、任意の適切な様式で組織化され得る。各記録は、単一のファイル、一連のファイル、リンクされた一連のデータフィールド、または任意の他のデータ構造であってよい。特定のデータの関連づけは、当技術分野で公知であるかまたは実施される関連づけ技法のような、任意の所望のデータ関連づけ技法によって達成され得る。例えば、関連づけは、手動または自動のいずれかで達成され得る。自動関連づけ技法には、例えば、データベース検索、データベースマージ、GREP、AGREP、SQL、高速検索のために表においてキーフィールドを使用すること、すべての表およびファイルにわたる順次検索、検索を単純化するために公知の順序に従ってファイル中の記録を選別すること、ならびに/または同様のものが含まれ得る。関連づけ段階は、例えば、予め選択されたデータベースまたはデータセクターにおいて、例えば「キーフィールド」を用いてデータベースマージ機能によって達成され得る。

10

【0193】

より詳細には、「キーフィールド」は、キーフィールドによって規定される高レベルクラスのオブジェクトに従ってデータベースを分割する。例えば、ある特定の種類のデータは、複数の関連するデータ表においてキーフィールドとして指定され得、次いでそのデータ表は、キーフィールドにおけるデータの種類に基づいてリンクされ得る。リンクされたデータ表の各々におけるキーフィールドに対応するデータは、好ましくは、同じかまたは同じ種類のものである。しかしながら、キーフィールドにおいて同一でないにしても類似のデータを有するデータ表もまた、例えばAGREPを使用することによってリンクされ得る。1つの態様によれば、任意の適切なデータ保存技法が、標準的なフォーマットなしにデータを保存するために利用され得る。データセットは任意の適切な技法を用いて保存され得、その技法には、例えば、ISO/IEC 7816-4ファイル構造を使用して個々のファイルを保存すること；1つまたは複数のデータセットを含む1つまたは複数の基本ファイルを公表する専用ファイルが選択されるドメインを実装すること；階層型ファイリングシステムを使用して個々のファイルに保存されたデータセットを使用すること；単一のファイル内に記録として保存されたデータセット(圧縮、SQLアクセス可能、第1タプルにより1つまたは複数のキー、数値、英字を介してハッシュ化された等を含む)；バイナリラージオブジェクト(BLOB)；ISO/IEC 7816-6データ要素を用いてコード化されたグループ化されていないデータ要素として保存されること；ISO/IEC 8824および8825におけるようなISO/IEC Abstract Syntax Notation(ASN.1)を用いてコード化されたグループ化されていないデータ要素として保存されること；および/またはフラクタル圧縮法、画像圧縮法を含み得る他の専有技法等が含まれる。

20

30

【0194】

1つの例示的な態様において、多種多様な情報を異なるフォーマットで保存する能力は、BLOBとして情報を保存することによって容易になる。したがって、任意の2進法情報は、データセットと関連する保存領域に保存され得る。BLOB法は、固定記憶域割り当て、循環キュー技法、またはメモリ管理(例えば、最も長い間使用されていないページ化メモリ等)に関する最良実践のいずれかを用いて、固定メモリオフセットを介して2成分のブロックとしてフォーマットされたグループ化されていないデータ要素としてデータセットを保存し得る。BLOB法を使用することで、異なるフォーマットを有する様々なデータセットを保存する能力によって、データセットの複数かつ無関係の所有者によるデータの保存が容易になる。例えば、保存され得る第1データセットは、第1者によって提供され得、保存され得る第2データセットは、無関係の第2者によって提供され得、さらに保存され得る第3

40

50

データセットは、第1者および第2者と無関係の第3者によって提供され得る。これら3つの例示的なデータセットの各々は、異なるデータ保存フォーマットおよび/または技法を用いて保存されている異なる情報を含み得る。さらに、各データセットは、他のサブセットとも異なり得るデータのサブセットを含み得る。

【0195】

上記のように、様々な態様において、データは共通フォーマットに関係なく保存され得る。しかしながら、1つの例示的な態様では、データセット(例えば、BLOB)は、データを操作するために提供される場合、標準的な様式で注釈づけされ得る。注釈は、様々なデータセットの管理に有用な情報を伝達するために構成される、短いヘッダー、後書き、または各データセットに関連する他の適切なインジケータを含み得る。例えば、注釈は本明細書中で「条件ヘッダー」、「ヘッダー」、「後書き」、または「ステータス」と称される場合があり、データセットのステータスの表示を含み得るか、またはデータの特定の発行者もしくは所有者に相関する識別子を含み得る。データの次なるバイトは、例えば、データの発行者または所有者の識別、ユーザー、トランザクション/会員アカウント識別子等を示すために使用され得る。これらの条件注釈の各々は、本明細書においてさらに論じられる。

10

【0196】

データセット注釈はまた、他の種類のステータス情報および様々な他の目的にも使用され得る。例えば、データセット注釈は、アクセスレベルを確立するセキュリティー情報を含み得る。アクセスレベルは、例えば、特定の個人、従業員のレベル、会社、もしくは他の実体にもデータセットにアクセスすることを許可するか、またはトランザクション、データの発行者もしくは所有者、ユーザー等に基づいて特定のデータセットへのアクセスを許可するように構成され得る。さらに、セキュリティー情報は、データセットへのアクセス、データセットの修正、および/またはデータセットの削除などの特定の行為のみを制限/許可し得る。一例において、データセット注釈は、データセットの所有者またはユーザーのみがデータセットを削除することを許可されること、様々な識別されたユーザーが読み込みのためにデータセットにアクセスすることを許可され得ること、および他者がデータセットへのアクセスから完全に排除されることを示す。しかしながら、様々な実体が必要に応じて様々な許可レベルでデータセットにアクセスすることを許可する他のアクセス制限パラメータもまた使用され得る。ヘッダーまたは後書きを含むデータは、該ヘッダーまたは後書きに従ってデータを追加する、削除する、修正する、または増補するように構成されたスタンドアロン型の相互作用デバイスによって受信され得る。

20

30

【0197】

セキュリティー上の理由で、任意のデータベース、システム、デバイス、サーバー、または本システムの他のコンポーネントは、単一の場所または複数の場所においてそれらの任意の組合せからなり得、各データベースまたはシステムは、ファイアウォール、アクセスコード、暗号化、暗号解読、圧縮、解凍、および/または同様のものなどの様々な適切なセキュリティー機能のいずれかを含むことを、当業者はまた理解するであろう。

【0198】

ウェブクライアントの演算器は、標準的なダイヤルアップ、ケーブル、DSL、または当技術分野で公知の任意の他のインターネットプロトコルを使用してインターネットまたはイントラネットに接続されたインターネットブラウザをさらに備え得る。他のネットワークのユーザーからの権限のないアクセスを防止するために、ウェブクライアントから出ているトランザクションはファイアウォールを通過し得る。さらに、セキュリティーをさらに高めるために、CMSの様々なコンポーネント間にさらなるファイアウォールが配備され得る。

40

【0199】

ファイアウォールは、CMSコンポーネントおよび/または企業のコンピューティング資源を他のネットワークのユーザーから保護するために適切に構成された任意のハードウェアおよび/またはソフトウェアを含み得る。さらに、ファイアウォールは、ウェブサーバー

50

を介して接続しているウェブクライアントに対して、ファイアウォールの背後での様々なシステムおよびコンポーネントへのアクセスを限定または制限するように構成され得る。ファイアウォールは、とりわけステートフルインスペクション、プロキシ型、およびパケットフィルタリングを含む様々な構成で存在し得る。ファイアウォールは、ウェブサーバーもしくは任意の他のCMSコンポーネント内に統合されてもよいし、またはさらに別個の実体として存在してもよい。

【0200】

本明細書で論じられるコンピュータは、ユーザーによってアクセス可能な適切なウェブサイトまたは他のインターネットベースのグラフィカルユーザーインターフェースを提供し得る。1つの態様では、Microsoft Internet Information Server(IIS)、Microsoft Transaction Server(MTS)、およびMicrosoft SQL Serverが、Microsoftオペレーティングシステム、Microsoft NTウェブサーバーソフトウェア、Microsoft SQL Serverデータベースシステム、およびMicrosoft Commerce Serverと共に使用される。加えて、AccessまたはMicrosoft SQL Server、Oracle、Sybase、Informix MySQL、Interbase等のようなコンポーネントが、Active Data Object(ADO)対応データベース管理システムを提供するために使用され得る。

10

【0201】

本明細書で論じられる通信、入力、保存、データベース、またはディスプレイのいずれも、ウェブページを有するウェブサイトを通じて促進され得る。本明細書で用いられる「ウェブページ」という用語は、ユーザーと相互作用するために使用され得るドキュメントおよびアプリケーションの種類を限定するように意図されない。例えば、典型的なウェブサイトは、標準的なHTMLドキュメントに加えて、様々な形式、Javaアプレット、JavaScript、アクティブサーバーページ(ASP)、共通ゲートウェイインターフェーススクリプト(CGI)、拡張マークアップ言語(XML)、ダイナミックHTML、カスケーディングスタイルシート(CSS)、ヘルパーアプリケーション、プラグイン等を含み得る。サーバーは、ウェブサーバーからの要求を受信するウェブサービスを含み得、その要求にはURL(<http://yahoo.com/stockquotes/ge>)およびIPアドレス(123.56.789.234)が含まれる。ウェブサーバーは適切なウェブページを検索し、そのウェブページのデータまたはアプリケーションをIPアドレスに送信する。ウェブサービスは、インターネットなどの通信手段上で他のアプリケーションと相互作用し得るアプリケーションである。ウェブサービスは典型的に、XML、XSLT、SOAP、WSDL、およびUDDIなどの標準またはプロトコルに基づく。ウェブサービス方法は当技術分野において周知であり、多くの標準的な教科書において網羅されている。例えば、参照により本明細書に組み入れられる、ALEX NGHIEM, IT WEB SERVICES: A ROADMAP FOR THE ENTERPRISE (2003)を参照されたい。

20

30

【0202】

本発明のシステムおよび方法のためのウェブベースの臨床データベースは、好ましくは、ネイティブなフォーマットで臨床データファイルをアップロードおよび保存する能力を有し、任意の臨床パラメータについて検索可能である。このデータベースはまた拡張可能であり、EAVデータモデル(メタデータ)を利用して、他の研究と容易に統合するために任意の研究からの臨床注釈を入力し得る。加えて、ウェブベースの臨床データベースは順応性があり、ユーザーにカスタマイズされた質問を動的に付加することができるXMLおよびXSLTであってよい。さらに、このデータベースは、CDISC ODMに対するエクスポート能力を含む。

40

【0203】

実施者はまた、ブラウザベースのドキュメント内のデータを表示するためのいくつかの方法が存在することを理解するであろう。データは、標準テキストとして、または固定リスト、スクロール可能なリスト、ドロップダウンリスト、編集可能なテキスト領域、固定テキスト領域、ポップアップウィンドウ等の中に表示され得る。同様に、例えば、キーボードを使用する自由なテキスト入力、メニュー項目の選択、チェックボックス、オプションボックス等のような、ウェブページにおいてデータを修正するために利用可能ないくつか

50

の方法が存在する。

【0204】

本システムおよび方法は、機能ブロックコンポーネント、スクリーンショット、オプションの選択、および様々な処理段階に関して本明細書において記載され得る。このような機能ブロックが、特定の機能を行うように構成されたいくつものハードウェアおよび/またはソフトウェアコンポーネントによって実現されることが理解されるべきである。例えば、本システムは、1つまたは複数のマイクロプロセッサまたは他の制御デバイスの制御下で種々の機能を実行し得る、例えばメモリ要素、処理要素、論理要素、ルックアップテーブル等の様々な集積回路コンポーネントを使用し得る。同様に、本システムのソフトウェア要素は、C、C++、Macromedia Cold Fusion、Microsoft Active Server Pages、Java、COBOL、アセンブラ、PERL、Visual Basic、SQL Stored Procedures、拡張マークアップ言語(XML)などの任意のプログラミング言語またはスクリプト言語によって実行され得、種々のアルゴリズムは、データ構造、オブジェクト、プロセス、ルーチン、または他のプログラミング要素の任意の組み合わせによって実行される。さらに、本システムが、データ伝送、信号伝達、データ処理、ネットワーク制御等のためのいくつかの従来技法を使用し得ることに留意されたい。さらになお、本システムは、JavaScript、VBScript等のようなクライアント側スクリプト言語によって、セキュリティー問題を検出または防止するために使用され得る。暗号化およびネットワークセキュリティーの基本的な序論については、以下の参考文献のいずれかを参照されたい：(1)「Applied Cryptography: Protocols, Algorithms, And Source Code In C」、Bruce Schneier著、John Wiley & Sonsによる出版(second edition, 1995)；(2)「Java Cryptography」、Jonathan Knudson著、O'Reilly & Associatesによる出版(1998)；(3)「Cryptography & Network Security: Principles & Practice」、William Stallings著、Prentice Hallによる出版；これらはすべて、参照により本明細書に組み入れられる。

10

20

【0205】

本明細書において用いられる「エンドユーザー」、「消費者」、「顧客」、「クライアント」、「治療する医師」、「病院」、または「事業」という用語は互いに互換的に用いられ得、それぞれ任意の人、実体、機械、ハードウェア、ソフトウェア、または事業を意味する。各関係者は、本システムと相互作用し、オンラインのデータアクセスおよびデータ入力を容易にするために、コンピューティングデバイスを装備している。顧客はパーソナルコンピュータの形態の演算器を有するが、ラップトップ型、ノート型、携帯用コンピュータ、セットトップボックス、携帯電話、プッシュホン式電話等を含む他の種類の演算器も使用され得る。本発明のシステムおよび方法の所有者/操作者は、コンピュータサーバーの形態で実行される演算器を有するが、メインフレームコンピュータとして示されるコンピューティングセンター、ミニコンピュータ、PCサーバー、同じかまたは異なる地理的位置に位置するコンピュータのネットワーク等を含むシステムによる他の実行も意図される。さらに、本システムは、本明細書に記載される類似の機能性を有する任意のネットワーク上での任意の物品、サービス、または情報の使用、販売、または流通を意図する。

30

【0206】

1つの例示的な態様において、各クライアント顧客は、「アカウント」または「アカウント番号」を発行され得る。本明細書において用いられる場合、アカウントまたはアカウント番号は、消費者が本システムにアクセスできるように、本システムと相互作用できるように、または本システムと通信できるように適切に構成された任意のデバイス、コード、番号、文字、記号、デジタル証明書、スマートチップ、デジタル信号、アナログ信号、バイオメトリック、または他の識別子/しるし(例えば、承認/アクセスコード、個人識別番号(PIN)、インターネットコード、他の識別コード、および/または同様のものうちの1つまたは複数)を含み得る。アカウント番号は任意に、チャージカード、クレジットカード、デビットカード、プリペイドカード、エンボスカード、スマートカード、磁気ストライプカード、バーコードカード、トランスポング、無線周波数カード、または関連アカウント上に位置してもよいし、またはそれに付随してもよい。本システムは、前述のカード

40

50

もしくはデバイス、またはトランスポンダを有するフォブおよび該フォブとのRF通信におけるRFIDリーダーのいずれかを含んでもよいし、またはそれと連動してもよい。本システムはフォブの態様を含み得るが、本発明はそのように限定されない。実際に、システムは、RF通信を介してRFIDリーダーと通信するように構成されているトランスポンダを有する任意のデバイスを含み得る。典型的なデバイスには、例えば、キーホルダー、タグ、カード、携帯電話、腕時計、または問い合わせのために提示され得る任意のそのような形態が含まれ得る。さらに、本明細書で論じられるシステム、演算器、またはデバイスは「パーベイシブコンピューティングデバイス」を含んでよく、これは、演算器が内蔵された従来の非コンピュータ化デバイスを含み得る。アカウント番号は、それ自体から第2デバイスへのデータの送信またはダウンロードが可能なプラスチックデバイス、電子デバイス、磁気デバイス、無線周波数デバイス、無線デバイス、音響デバイス、および/または光学デバイスの任意の形態で分配および保存され得る。

10

20

30

40

50

【0207】

当業者に理解されるように、本システムは、既存システムのカスタマイズ、アドオン製品、アップグレードされたソフトウェア、スタンドアロン型のシステム、分散システム、メソッド、データ処理システム、データ処理用のデバイス、および/またはコンピュータプログラム製品として具体化され得る。したがって、本システムは、全くのソフトウェア態様、全くのハードウェア態様、またはソフトウェアとハードウェアの両方の局面を兼ね備える態様の形態をとり得る。さらに、本システムは、記憶媒体において具体化されるコンピュータ可読プログラムコード手段を有するコンピュータ可読記憶媒体上のコンピュータプログラム製品の形態をとってもよい。ハードディスク、CD-ROM、光学記憶デバイス、磁気記憶デバイス、および/または同様のものを含む任意の適切なコンピュータ可読記憶媒体が利用され得る。

【0208】

本システムおよび方法は、様々な態様による方法、装置(例えば、システム)、およびコンピュータプログラム製品のスクリーンショット、ブロック図、およびフローチャート図を参照して本明細書に記載される。ブロック図およびフローチャート図の各機能ブロックならびにブロック図およびフローチャート図における機能ブロックの組み合わせが、それぞれコンピュータプログラムの命令によって実行され得ることが理解されよう。

【0209】

ここで図2~25を参照していくが、示されるプロセスフローおよびスクリーンショットは単なる態様にすぎず、本明細書に記載される本発明の範囲を限定することを意図するものではない。例えば、方法または工程の説明のいずれかにおいて列挙される段階は、任意の順序で実行することができ、表示の順序に限定されない。以下の説明が、図2~25に示される段階およびユーザーインターフェース要素のみならず、図1を参照して上記した様々なシステムコンポーネントについても適切に言及することが理解されよう。

【0210】

これらのコンピュータプログラム命令は、機械を製造するために汎用コンピュータ、特殊目的コンピュータ、または他のプログラム可能なデータ処理装置にロードされ得、該コンピュータまたは他のプログラム可能なデータ処理装置で実行する該命令は、1つまたは複数のフローチャートブロックにおいて特定される機能を実行するための手段を生み出す。これらのコンピュータプログラム命令はまた、コンピュータまたは他のプログラム可能なデータ処理装置に特定の様式で機能するように指示し得るコンピュータ可読メモリに保存され得、該コンピュータ可読メモリ内に保存された該命令は、1つまたは複数のフローチャートブロックにおいて特定される機能を実行する命令手段を含む製品を生み出す。コンピュータプログラム命令はまた、コンピュータまたは他のプログラム可能なデータ処理装置にロードされて、該コンピュータまたは他のプログラム可能な装置において実施されるべき一連の操作段階をもたらす、コンピュータによって実行される工程を生じさせ得、該コンピュータまたは他のプログラム可能な装置において実行する該命令は、1つまたは複数のフローチャートブロックにおいて特定される機能を実行するための工程を提供する

。

【0211】

したがって、ブロック図およびフローチャート図の機能ブロックは、特定の機能を実施するための手段の組み合わせ、特定の機能を実施するための段階の組み合わせ、および特定の機能を実施するためのプログラム命令手段を支持する。ブロック図およびフローチャート図の各機能ブロックならびにブロック図およびフローチャート図における機能ブロックの組み合わせが、特定の機能もしくは段階を実施する特殊目的ハードウェアベースのコンピュータシステム、または特殊目的ハードウェアとコンピュータ命令との適切な組み合わせのいずれかによって実行され得ることも理解されよう。さらに、プロセスフローの図およびその説明は、ユーザーウィンドウ、ウェブページ、ウェブサイト、ウェブフォーム、プロンプト等について言及し得る。本明細書に記載される図示された段階が、ウィンドウ、ウェブページ、ウェブフォーム、ポップアップウィンドウ、プロンプト等の使用を含むいくつもの構成において含み得ることを、実施者は理解するであろう。図示および説明される複数の段階は、単一のウェブページおよび/またはウィンドウに一体化され得るが、単純化するために拡張されていることがさらに理解されるべきである。他の場合には、単一の工程段階として図示および説明される段階は、複数のウェブページおよび/またはウィンドウに分割され得るが、単純化するために一体化されている。

10

【0212】

問題に対する利点、他の長所、および解決法を、特定の態様に関して本明細書において説明してきた。しかしながら、問題に対する該利点、長所、解決法、および任意の利点、長所、もしくは解決法をもたらし得るか、またはそれらをより明白にし得る任意の要素は、本発明の特許請求の範囲のいずれかまたはすべての重大な、必要な、または必須の特徴または要素と解釈されるべきでない。したがって、本発明の範囲は特許請求の範囲以外の何ものによっても限定されるべきでなく、特許請求の範囲において、要素に対する単数形での言及は、「1つおよび1つのみ」と明示的に述べられない限りそのように意味すると意図されず、「1つまたは複数」を意味すると意図される。当業者に公知である、上記の例示的な態様の要素に対する構造的、化学的、および機能的均等物はすべて、参照により本明細書に明確に組み入れられ、本発明の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。さらに、装置または方法は、本発明の特許請求の範囲によって包含されることで、本発明が解決しようとするありとあらゆる問題に対処する必要はない。さらに、本開示における要素、構成要素、または方法段階は、該要素、構成要素、または方法段階が特許請求の範囲において明示的に列挙されているかどうかにかかわらず、公共に供されるように意図されない。本明細書における特許請求の範囲の要素は、その要素が「のための手段」という語句を用いて明示的に列挙されない限り、35 U.S.C. 第112条第6章の規定に従って解釈されるべきでない。本明細書において用いられる「含む」、「含むこと」、またはそれらの任意の他の変化形は非排他的な包含を網羅することが意図され、一連の要素を含む工程、方法、物品、または装置は、このような要素のみを含むわけではなく、明示的に記載されていないか、またはそのような工程、方法、物品、もしくは装置に固有の他の要素も含み得る。さらに、本明細書に記載される要素は、「必須の」または「重大な」と明示的に記載されない限り、本発明の実施に必要ではない。

20

30

40

【0213】

図1は、患者の生物学的検体の分子プロファイリングを利用する、特定の病態に対して個別化医学的介入を決定するためのシステム10の例示的な態様のブロック図を示す。システム10は、ユーザーインターフェース12、データを処理するためのプロセッサ16を含むホストサーバー14、該プロセッサに連結されたメモリ18、プロセッサ16によるデータの処理を指示するための、メモリ18内に保存され、かつプロセッサ16によりアクセス可能なアプリケーションプログラム20、複数の内部データベース22、および外部データベース24、ならびに有線または無線通信ネットワーク26(例えば、インターネットなど)とのインターフェースを含む。システム10はまた、ユーザーインターフェース12から受信されるデータからデジタルデータを入力するための、プロセッサ16に連結された入力デジタイザ28を含み

50

得る。

【0214】

ユーザーインターフェース12は、システム10にデータを入力するため、およびプロセッサ16によって処理されたデータから得られた情報を表示するための、入力装置30およびディスプレイ32を含む。ユーザーインターフェース12はまた、標的に関する試験結果および該試験結果に基づいて提案される薬物療法を含み得る患者報告書などの、プロセッサ16によって処理されたデータから得られた情報を印刷するためのプリンタ34を含み得る。

【0215】

内部データベース22には、患者の生体試料/検体の情報および追跡、臨床データ、患者データ、患者追跡、ファイル管理、研究プロトコル、分子プロファイリングによる患者の試験結果、ならびに課金情報および追跡が含まれ得るが、これらに限定されない。外部データベース24には、薬物ライブラリー、遺伝子ライブラリー、疾患ライブラリー、ならびにUniGene、OMIM、GO、TIGR、GenBank、KEGG、およびBiocartaなどの公的および私的データベースが含まれ得るが、これらに限定されない。

10

【0216】

分子プロファイリング法

システム10に従って、様々な方法を用いることができる。図2は、疾患特異的でない、患者の生物学的検体の分子プロファイリングを利用する、特定の病態に対して個別化医学的介入を決定するための方法50の例示的な態様のフローチャートを示す。疾患系列診断に依存しない(すなわち、単一の疾患に限定されない)分子プロファイリングを用いて、特定の病態に対して医学的介入を決定するために、段階52において、罹患患者の生体試料由来の少なくとも1つの標的に関して少なくとも1つの試験を行う。標的は、分子試験から得られ得る任意の分子知見と定義される。例えば、標的には、1つもしくは複数の遺伝子、1つもしくは複数の遺伝子発現タンパク質、1つもしくは複数の分子機構、および/またはそれらの組み合わせが含まれ得る。例えば、標的の発現レベルは、該標的もしくは遺伝子のmRNAレベル、または該遺伝子のタンパク質レベルの解析によって測定することができる。そのような標的を見出すための試験には、蛍光インサイチュハイブリダイゼーション(FISH)、インサイチュハイブリダイゼーション(ISH)、および当業者に公知の他の分子試験が含まれ得るが、これらに限定されない。リアルタイムPCRまたは定量PCRなどの、PCRに基づく方法を用いることもできる。さらに、本明細書に開示される方法において、比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)マイクロアレイ、一塩基多型(SNP)マイクロアレイ、プロテオミクスアレイ、または抗体アレイ解析などのマイクロアレイ解析を用いることもできる。いくつかの態様において、マイクロアレイ解析は、遺伝子が参照と比べて $p < 0.001$ の有意性をもって上方制御されるかまたは下方制御されるかを同定することを含む。標的の試験または解析はまた、免疫組織化学的(IHC)解析を含み得る。いくつかの態様において、IHC解析は、試料の30%またはそれ以上が染色されるかどうか、染色強度が+2もしくはそれ以上であるかどうか、またはその両方を判定することを含む。

20

30

【0217】

さらに、本明細書に開示される方法はまた、2つ以上の標的をプロファイリングすることを含む。例えば、複数の遺伝子の発現を同定することができる。さらに、試料中の複数の標的の同定は、1つの方法によるものであってもよいし、または様々な手段によるものであってもよい。例えば、第1遺伝子の発現を1つの方法によって測定することができ、第2遺伝子の発現レベルを異なる方法によって測定することができる。あるいは、同じ方法を用いて、第1遺伝子および第2遺伝子の発現レベルを検出することもできる。例えば、第1の方法はIHCであってよく、第2の方法は、遺伝子の遺伝子発現を検出するようなマイクロアレイ解析によるものであってもよい。

40

【0218】

いくつかの態様において、分子プロファイリングはまた、標的の突然変異、多型(SNPなど)、欠失、または挿入などの遺伝子パリアントを同定することを含み得る。例えば、遺伝子中のSNPの同定は、マイクロアレイ解析、リアルタイムPCR、または配列決定によって

50

決定することができる。本明細書に開示される他の方法を用いて、1つまたは複数の標的のパリアントを同定することもできる。

【0219】

したがって、以下のうちの1つまたは複数を実施することができる：段階54におけるIHC解析、段階56におけるマイクロ解析、および段階58における当業者に公知の他の分子試験。

【0220】

生体試料は、腫瘍の生検標本を採取することによって、低侵襲手術を行うことによって、最近の腫瘍が入手できない場合には、患者の血液、または細胞抽出物、核抽出物、細胞溶解物、もしくは生物学的起源の生物学的産物もしくは物質、例えば排泄物、血液、血清、血漿、尿、痰、涙、便、唾液、膜抽出物等を含むがこれらに限定されない任意の他の生物学的液体の試料を採取することによって、罹患患者から採取する。

10

【0221】

段階60において、段階52で試験された標的のうちの1つまたは複数が、その特定の標的の正常参照と比較して発現の変化を示すかどうかに関して判定を行う。本発明の1つの例示的な方法では、段階54においてIHC解析を行うことができ、特定の標的について生体試料細胞の30%またはそれ以上が+2またはそれ以上の染色であったかどうかを判定することによって、段階64においてIHC解析による任意の標的が発現の変化を示すかどうかに関する判定を行う。試験を行う技術者および試験される標的の種類に応じて染色結果が変動し得るため、+1またはそれ以上の染色が発現の変化を示す場合があることが、当業者によって理解されよう。本発明の別の例示的な態様では、段階56においてマイクロアレイ解析を行うことができ、起源参照の正常組織に対する特定の標的の発現の変化倍率が $p < 0.001$ で有意であるかどうかを判定することにより、どの標的が上方制御されるかまたは下方制御されるかを同定することによって、段階66においてマイクロアレイ解析による任意の標的が発現の変化を示すかどうかに関する判定を行う。発現の変化は、1つまたは複数の遺伝子、遺伝子発現タンパク質、分子機構、または他の分子知見が存在しないことによって証明することもできる。

20

【0222】

段階60においてどの標的が発現の変化を示すのかを決定した後、段階70において、発現変化を有する各標的と相互作用する少なくとも1つの非疾患特異的薬剤を同定する。薬剤は、治療効果を有する任意の薬物または化合物であってよい。非疾患特異的薬剤とは、発現の変化を示した患者の生体試料由来の標的と相互作用し得る、患者の診断された疾患の治療と以前は関連のなかった治療薬または化合物である。様々ながん患者において見出された特定の標的と相互作用することが見出されている非疾患特異的薬剤の一部を以下の表3に示す。

30

【0223】

(表3)

患者	見出された標的	治療
進行膵癌	HER 2/ <i>neu</i> (IHC/アレイ)	Herceptin(商標)
進行膵癌	EGFR (IHC), HIF 1 α	Erbbitux(商標)、 Rapamycin(商標)
進行卵巣癌	ERCC3 (アレイ)	イロフルベン
進行腺様嚢胞癌	ビタミンD受容体、 アンドロゲン受容体	Calcitriol(商標)、 Flutamide(商標)

10

【0224】

最後に、段階80において、様々な標的に関する患者の試験結果およびそれらの結果に基づいて提案される任意の治療法を含む患者プロフィール報告書を提出することができる。例示的な患者プロフィール報告書100を図3A~3Dに示す。図3Aに示される患者プロフィール報告書100は、試験された標的102、発現の有意な変化を示したそのような試験された標的104、および該標的と相互作用するために提案された非疾患特異的薬剤106を特定する。図3Bに示される患者プロフィール報告書100は、特定の遺伝子発現タンパク質110に関する免疫組織化学的解析の結果108、および腫瘍細胞の30%またはそれ以上が+2またはそれ以上の染色であったかどうかを判定することによって、遺伝子発現タンパク質が分子標的であるかどうか112を特定する。報告書100はまた、実施されなかった免疫組織化学的試験114も特定する。図3Cに示される患者プロフィール報告書100は、マイクロアレイ解析で解析された遺伝子116、および該遺伝子が参照と比較して過小発現したかまたは過剰発現したか118を特定する。最後に、図3Dに示される患者プロフィール報告書100は、患者の臨床歴120および患者から提出された検体122を特定する。分子プロフィールング技法は、例えば海外などどこでも行うことができ、その結果をネットワークにより、例えば患者、医師、研究所、または離れて位置する他の関係者といった適切な関係者に送信することができる。

20

30

【0225】

図4は、標的と相互作用し得る薬物療法/薬剤を同定するための方法200の例示的な態様のフローチャートを示す。段階202において、何名かの罹患個体において発現の変化を示す分子標的を同定する。次に段階204において、罹患個体に薬物療法/薬剤を施す。段階204において施された薬物療法/薬剤が、段階202において同定された分子標的と相互作用するかどうかを判定するために、薬物療法/薬剤の施行後、段階202において同定された分子標的の任意の変化を段階206において同定する。段階204において施された薬物療法/薬剤が、段階202において同定された分子標的と相互作用すると判定される場合、該薬物療法/薬剤を特定の疾患に対して承認するのではなく、該薬物療法/薬剤を、同定された該分子標的の発現の変化を示す患者を治療するために承認することができる。

40

【0226】

図5~14は、本発明による、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分を示すフローチャートおよび図である。図5は、本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の例示的な臨床判断支援システムを示す図である。臨床試験データ、生物医学的/分子イメージングデータ、ゲノミクス/プロテオミクス/化学ライブラリー/文献/専門家のキュレーション、生物検体追跡/LIMS、家族歴/環境の記録、および臨床データなどの、臨床研究および臨床ケアを通じて得られたデータを収集し、それらをデータウェアハウス内にデータベースおよびデータマートとして保存する。図6は、ウェブサ

50

ービスを使用する、本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の臨床判断支援システムを通じた情報の流れを示す図である。ユーザーは、データセットのフォームベースの入力/アップロードを介した本システムへのデータの入力、クエリーの定式化およびデータ解析ジョブの実行、ならびに出力データの表示の取得および評価によって、本システムと相互作用する。ウェブベースのシステムにおけるデータウェアハウスは、データが抽出され、変換され、および様々なデータベースシステムからロードされる場所である。データウェアハウスは、共通フォーマット、マッピング、および変換が生じる場所でもある。このウェブベースのシステムはまた、関心対象のデータビューに基づいて作成されるデータマートを含む。

【0227】

10

本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の例示的な臨床判断支援システムのフローチャートを図7に示す。臨床情報管理システムは研究所情報管理システムを含み、データウェアハウスおよびデータベースに含まれている医療情報は、文献テキストマイニングに加えて、薬物ライブラリー、遺伝子ライブラリー、および疾患ライブラリーなどの医療情報ライブラリーを含む。特定の患者に関する情報管理システムと、医療情報データベースおよびデータウェアハウスの両方が、診断情報および治療選択肢が得られ得るデータ連結センターにおいて一体となる。財務管理システムもまた、本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の臨床判断支援システムに組み込まれ得る。

【0228】

20

図8は、本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の一部として利用され得る例示的な生物検体の追跡および管理システムを示す図である。図8は、組織/血液バンクに検体を転送する2つのホスト医療センターを示す。検体は、発送前に研究所解析を通過し得る。研究は、マイクロアレイ、遺伝子型同定、およびプロテオミクス解析を介して試料に対して行われ得る。この情報は、組織/血液バンクに再配布され得る。図9は、本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法と共に利用され得る例示的な生物検体の追跡および管理システムのフローチャートを示す。ホスト医療センターは患者から試料を取得し、次いで該患者試料を、RNAおよびDNAの単離および解析も行い得る分子プロファイリング研究所に発送する。

【0229】

30

本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法と共に使用するための臨床上の標準語彙を維持するための方法を示す図を図10に示す。図10は、ある1人の医師の患者に関連する医師の所見および患者情報が、別の医師がその患者に対して診断的および治療的判断を行う際にそのデータを利用できるように、その別の医師に対してどのようにアクセス可能になり得るのかを示す。

【0230】

40

図11は、本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の一部として使用され得る例示的なマイクロアレイ遺伝子発現データベースの模式図を示す。マイクロアレイ遺伝子発現データベースは、ウェブベースのシステムを介してアクセス可能な外部データベースおよび内部データベースの両方を含む。外部データベースには、UniGene、GO、TIGR、GenBank、KEGGが含まれ得るが、これらに限定されない。内部データベースには、組織追跡、LIMS、臨床データ、および患者追跡が含まれ得るが、これらに限定されない。図12は、本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の一部として使用され得る例示的なマイクロアレイ遺伝子発現データベースデータウェアハウスの図を示す。研究所データ、臨床データ、および患者データはすべて、マイクロアレイ遺伝子発現データベースデータウェアハウス内に収容され得、そのデータは次に公的/私的公開によってアクセスされ得、またデータ解析ツールによって利用され得る。

【0231】

50

本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法を通じた情報の流れを示す別の模式図を図13に示す。図7と同様に、本模式図は、本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の臨床情報管理、医療および文献情報管理、ならびに財務管理

を含む。図14は、本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の例示的なネットワークを示す模式図である。同定された様々な標的に基づいて提案される治療法または薬剤を患者に提供するために、患者、医療実施者、ホスト医療センター、および研究所はすべて、種々の情報を共有および交換する。

【0232】

図15~25は、図5~14に示される情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法の様々な部分に関連するコンピュータスクリーンの印刷出力である。図15および16は、クライアントに代わって医師情報および保険会社情報を入力するコンピュータスクリーンを示す。図17~19は、患者試料に対する解析および試験を注文するために情報を入力することができるコンピュータスクリーンを示す。

10

【0233】

図20は、患者試料を用いて試験された特定の遺伝子のマイクロアレイ解析結果を示すコンピュータスクリーンである。この情報およびコンピュータスクリーンは、図3Cに示される患者プロフィール報告書に詳述されている情報と類似している。図22は、様々な遺伝子に関する特定の患者の免疫組織化学試験結果を示すコンピュータスクリーンである。この情報は、図3Bに示される患者プロフィール報告書に含まれている情報と類似している。

【0234】

図21は、特定の患者を見出すため、試験の注文および/または結果について、患者報告書を公表するため、ならびに現在の症例/患者を追跡するための選択肢を示すコンピュータスクリーンである。

20

【0235】

図23は、図3Aから3Dに示されるような患者プロフィール報告書を作成するための段階のいくつかを概説するコンピュータスクリーンである。図24は、患者試料に対する免疫組織化学試験を注文するためのコンピュータスクリーンを示し、図25は、マイクロアレイ解析用の原発腫瘍部位に関する情報を入力するためのコンピュータスクリーンを示す。本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法を利用する目的で必要な情報を入力するため、および本発明の、情報に基づく個別化医薬探索システムおよび方法を利用することによって生じる情報を得るために、任意の数および種類のコンピュータスクリーンを利用できることが、当業者によって理解されよう。

【0236】

30

図26~31は、腫瘍型による、特定の遺伝子および遺伝子発現タンパク質の発現の有意な変化の頻度、すなわち遺伝子および/または遺伝子発現タンパク質が、有意に過剰発現または過小発現するとして、腫瘍型による標的としてフラグが付された回数を示す表を示す(実施例1~3も参照されたい)。これらの表は、特定の腫瘍型において遺伝子および/または遺伝子発現タンパク質が過剰発現または過小発現する全回数、ならびに発現の該変化が免疫組織化学解析によって判定されたか(図26、図28)、またはマイクロアレイ解析によって判定されたか(図27、図30)を示す。これらの表はまた、免疫組織化学を用いて、特定の腫瘍型において任意の遺伝子発現タンパク質の過剰発現が起こった全回数、およびマイクロアレイ解析を用いて、特定の腫瘍型において任意の遺伝子の過剰発現または過小発現が起こった全回数を特定する。

40

【0237】

したがって本発明は、先に上記されるIHCおよびマイクロアレイ試験に従って、IHC試験および遺伝子マイクロアレイ試験を用いて罹患組織を解析するための方法およびシステムを提供する。患者は疾患の進行期にあってよい。脂肪、副腎皮質、副腎、副腎-髄質、虫垂、膀胱、血管、骨、骨軟骨、脳、乳房、軟骨、子宮頸部、結腸、S状結腸、樹状細胞、骨格筋、子宮内膜、食道、卵管、線維芽細胞、胆嚢、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節、メラニン細胞、中皮内層、筋上皮細胞、骨芽細胞、卵巣、膵臓、耳下腺、前立腺、唾液腺、副鼻腔組織、骨格筋、皮膚、小腸、平滑筋、胃、滑膜、関節内層組織、腱、精巣、胸腺、甲状腺、子宮、および子宮体を含むいくつかの腫瘍型、罹患組織型、または罹患細胞におけるバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを決定すること

50

ができる。

【0238】

本発明の方法は、乳癌、膵癌、結腸および/または直腸の癌、白血病、皮膚癌、骨癌、前立腺癌、肝癌、肺癌、脳癌、喉頭、胆嚢、副甲状腺、甲状腺、副腎、神経組織、頭頸部、胃、気管支、腎臓の癌、基底細胞癌、潰瘍性および乳頭型の扁平上皮癌、転移性皮膚癌、骨肉腫、ユーイング肉腫、細網肉腫、骨髄腫、巨細胞腫、小細胞肺腫瘍、島細胞癌、原発性脳腫瘍、急性および慢性のリンパ球性および顆粒球性腫瘍、ヘアリー細胞腫瘍、腺腫、過形成、髄様癌、褐色細胞腫、粘膜神経腫、腸神経節細胞種、過形成性角膜神経腫瘍、マルファン症候群様体質腫瘍(marfanoid habitus tumor)、ウィルムス腫瘍、精上皮腫、卵巣腫瘍、平滑筋腫、子宮頸部異形成および上皮内癌、神経芽細胞種、網膜芽細胞腫、軟部組織肉腫、悪性カルチノイド、局所的皮膚病変、菌状息肉腫、横紋筋肉腫、カボジ肉腫、骨原性および他の肉腫、悪性高カルシウム血症、腎細胞腫瘍、真性多血症、腺癌、多形性神経膠芽腫、白血病、リンパ腫、悪性黒色腫、ならびに類表皮癌を含むがこれらに限定されない任意のがんの治療を選択するために用いることができる。

10

【0239】

副鼻腔、中耳、および内耳、副腎、虫垂、造血系、骨および関節、脊髄、乳房、小脳、子宮頸部、結合軟部組織、子宮体、食道、眼、鼻、眼球、卵管、肝外胆管、他の口腔、肝内胆管、腎臓、虫垂-結腸、喉頭、口唇、肝臓、肺および気管支、リンパ節、大脳、脊髄、鼻軟骨、網膜、眼、特定不能を除く、中咽頭、他の内分泌腺、他の女性生殖器、卵巣、膵臓、陰茎および陰嚢、脳下垂体、胸膜、前立腺、直腸 腎盂、尿管、腹膜、唾液腺、皮膚、小腸、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、未知、膀胱、子宮、特定不能、膣および陰唇、ならびに外陰、特定不能のがんを含むいくつかの腫瘍型、罹患組織型、または罹患細胞におけるバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットもまた決定することができる。

20

【0240】

したがって、バイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを用いて、該バイオマーカーパターンまたはシグネチャーセットと相互作用し得る治療薬または治療プロトコルを決定することができる。例えば、進行性乳癌について、免疫組織化学解析を用いて、過剰発現する1つまたは複数の遺伝子発現タンパク質を決定することができる。したがって、進行期乳癌に関してバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを同定することができ、該バイオマーカーパターンまたはシグネチャーセットと相互作用し得る治療薬または治療プロトコルを同定することができる。

30

【0241】

進行期乳癌に関するバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットのこのような例は、図26~31に示される表から同定され得るいくつかの進行期疾患またはがんに関する多数のバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーの一例に過ぎない。加えて、図1~2および図5~14に示されるような上記の本発明の方法段階を利用することにより、これらのバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを有する患者を治療するために、いくつかの非疾患特異的治療法または治療プロトコルを同定することができる。

40

【0242】

図26および28に示される表ならびに図27および30に示される表に開示されているバイオマーカーパターンおよび/またはバイオマーカーシグネチャーセットは、特定のがん/疾患の検出、特定のがん/疾患の治療、および特定のがん/疾患に対する新たな薬物療法またはプロトコルの同定を含むがこれらに限定されないいくつかの目的のために用いることができる。図26および28に示される表ならびに図27および30に示される表に開示されているバイオマーカーパターンおよび/またはバイオマーカーシグネチャーセットは、特定の腫瘍型またはがん型の薬物耐性発現プロファイルもまた示し得る。図26および28に示される表ならびに図27および30に示される表に開示されているバイオマーカーパターンおよび/またはバイオマーカーシグネチャーセットは、進行期薬物耐性プロファイルを示す。

50

【0243】

バイオマーカーパターンおよび/またはバイオマーカーシグネチャーセットは、少なくとも1つのバイオマーカーを含み得る。さらなる他の態様において、バイオマーカーパターンまたはシグネチャーセットは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のバイオマーカーを含み得る。いくつかの態様において、バイオマーカーシグネチャーセットまたはバイオマーカーパターンは、少なくとも15、20、30、40、50、または60個のバイオマーカーを含み得る。いくつかの態様において、バイオマーカーシグネチャーセットまたはバイオマーカーパターンは、少なくとも70、80、90、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9000、10,000、15,000、20,000、25,000、30,000、35,000、40,000、45,000、または50,000個のバイオマーカーを含み得る。1つまたは複数のバイオマーカーの解析は、1つまたは複数の方法によるものであってよい。例えば、マイクロアレイを用いて、2つのバイオマーカーの解析を行うことができる。あるいは、1つのバイオマーカーをIHCによって解析し、別のバイオマーカーをマイクロアレイによって解析することもできる。方法とバイオマーカーの任意のそのような組み合わせが本明細書において意図される。

10

【0244】

1つまたは複数のバイオマーカーは、これらに限定されないが、Her2/Neu、ER、PR、c-kit、EGFR、MLH1、MSH2、CD20、p53、サイクリンD1、bcl2、COX-2、アンドロゲン受容体、CD52、PDGFR、AR、CD25、VEGF、HSP90、PTEN、RRM1、SPARC、サバイピン、TOP2A、BCL2、HIF1A、AR、ESR1、PDGFRA、KIT、PDGFRB、CDW52、ZAP70、PGR、SPARC、GART、GSTP1、NFKB1A、MSH2、TXNRD1、HDAC1、PDGFC、PTEN、CD33、TYMS、RXRB、ADA、TNF、ERCC3、RAF1、VEGF、TOP1、TOP2A、BRCA2、TK1、FOLR2、TOP2B、MLH1、IL2RA、DNMT1、HSPCA、ERBR2、ERBB2、SSTR1、VHL、VDR、PTGS2、POLA、CES2、EGFR、OGFR、ASNS、NFKB2、RARA、MS4A1、DCK、DNMT3A、EREG、エピレギュリン、FOLR1、GNRH1、GNRHR1、FSHB、FSHR、FSHPRH1、葉酸受容体、HGF、HIG1、IL13RA1、LTB、ODC1、PPARG、PPARGC1、リンホトキシン受容体、Myc、トポイソメラーゼII、TOPO2B、TXN、VEGFC、ACE2、ADH1C、ADH4、AGT、AREG、CA2、CDK2、カベオリン、NFKB1、ASNS、BDCA1、CD52、DHFR、DNMT3B、EPHA2、FLT1、HSP90AA1、KDR、LCK、MGMT、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRG、SRC、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、VEGFA、またはYES1からなる群より選択され得る。

20

【0245】

例えば、個体由来の生体試料を解析して、HSP90、サバイピン、RRM1、SSTR3、DNMT3B、VEGFA、SSTR4、RRM2、SRC、RRM2B、HSP90AA1、STR2、FLT1、SSTR5、YES1、BRCA1、RRM1、DHFR、KDR、EPHA2、RXRG、またはLCKなどのバイオマーカーを含むバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを決定することができる。他の態様では、バイオマーカーSPARC、HSP90、TOP2A、PTEN、サバイピン、またはRRM1が、バイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットの一部を形成する。さらなる他の態様では、バイオマーカーMGMT、SSTR3、DNMT3B、VEGFA、SSTR4、RRM2、SRC、RRM2B、HSP90AA1、STR2、FLT1、SSTR5、YES1、BRCA1、RRM1、DHFR、KDR、EPHA2、RXRG、CD52、またはLCKが、バイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセット中に含まれる。

30

40

【0246】

HSP90、サバイピン、RRM1、SSTR3、DNMT3B、VEGFA、SSTR4、RRM2、SRC、RRM2B、HSP90AA1、STR2、FLT1、SSTR5、YES1、BRCA1、RRM1、DHFR、KDR、EPHA2、RXRG、またはLCKの発現レベルを測定し、これを用いて個体に対して治療法を同定することができる。該バイオマーカーの発現レベルを用いて、バイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを形成することができる。発現レベルの測定は、マイクロアレイ解析またはIHCによるなど、mRNAまたはタンパク質のレベルを解析することによるものであってよい。いくつかの態様では、SPARC、TOP2A、またはPTENなどに関して、IHCによりバイオマーカーの発現レベルを実施し、これを用いて個体に対して治療法を同定する。IHCの結果を用いて、バイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを形成すること

50

ができる。さらなる他の態様では、例えば、マイクロアレイ解析を含むがこれに限定されない方法によってmRNA発現レベルを測定することなどにより、個体または対象由来の生体試料をCD52の発現レベルについて解析する。CD52の発現レベルを用いて、個体に対して治療法を同定することができる。CD52の発現レベルを用いて、バイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを形成することができる。

【0247】

本明細書に記載されるように、1つまたは複数の標的の分子プロファイリングを用いて、個体に対して治療法を決定または同定することができる。例えば、1つまたは複数のバイオマーカーの発現レベルを用いて、個体に対して治療法を決定または同定することができる。本明細書に開示されるような1つまたは複数のバイオマーカーを用いて、個体に対して治療法を同定するために用いられるバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを形成することができる。いくつかの態様において、同定される治療法は、その個体が以前に治療を受けなかったものである。

10

【0248】

例えば、特定の治療法に関して参照バイオマーカーパターンが確立され、該参照バイオマーカーパターンを有する個体は該治療法に反応することになる。例えば、バイオマーカーパターンにおける遺伝子の発現が該参照のものと変化しているかまたは異なるなど、該参照と異なるバイオマーカーパターンを有する個体は、該治療法を施行されない。別の例において、該参照と同じかまたは実質的に同じバイオマーカーパターンを示す個体は、該治療法によって治療を受けるように助言される。いくつかの態様において、該個体は、以前に該治療法による治療を受けておらず、したがって該個体に対して新たな治療法が同定された。

20

【実施例】

【0249】

実施例1：患者500名超のIHCおよびマイクロアレイ試験

図26A~Hおよび図27A~27Hに示される表中に示されるデータは、先に上記されるIHCおよびマイクロアレイ試験に従って、罹患組織がIHC試験を受けた患者544名(図26)および罹患組織が遺伝子マイクロアレイ試験を受けた患者540名(図27)に関する。患者は全員、疾患の進行期にあった。

30

【0250】

このデータは、脂肪、副腎皮質、副腎、副腎-髄質、虫垂、膀胱、血管、骨、骨軟骨、脳、乳房、軟骨、子宮頸部、結腸、S状結腸、樹状細胞、骨格筋、子宮内膜、食道、卵管、線維芽細胞、胆嚢、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節、メラニン細胞、中皮内層、筋上皮細胞、骨芽細胞、卵巣、膵臓、耳下腺、前立腺、唾液腺、副鼻腔組織、骨格筋、皮膚、小腸、平滑筋、胃、滑膜、関節内層組織、腱、精巣、胸腺、甲状腺、子宮、および子宮体を含むいくつかの腫瘍型、罹患組織型、または罹患細胞におけるバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを示す。

【0251】

進行性乳癌を有する個体99名において、遺伝子発現タンパク質20種の免疫組織化学解析から(図26B)、解析された遺伝子発現タンパク質は合計で367回過剰発現したこと、ならびに全過剰発現のうちの16.35%はHSP90過剰発現に起因し、次いで過剰発現のうちの12.53%はTOP2A過剰発現に起因し、および過剰発現のうちの11.17%はSPARCに起因したことが示された。加えて、過剰発現のうちの9.81%はアンドロゲン受容体過剰発現に起因し、過剰発現のうちの9.54%はPDGFR過剰発現に起因し、および過剰発現のうちの9.26%はc-kit過剰発現に起因した。

40

【0252】

したがって、進行期乳癌に関してバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを同定することができ、該バイオマーカーパターンまたはシグネチャーセットと相互作用し得る治療薬または治療プロトコルを同定することができる。

【0253】

50

進行期乳癌の別のバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットは、図27A~Hによって示される表中のマイクロアレイデータから示される。例えば、進行性乳癌を有する個体100名において(図27B)、遺伝子64種の遺伝子マイクロアレイ解析から、解析された遺伝子は発現の変化を合計1,158回示したこと、ならびに全発現変化のうちの6.39%はSSTR3発現変化に起因し、次いで発現変化のうちの5.79%はVDR発現変化に起因し、および発現変化のうちの5.35%はBRCA2発現変化に起因したことが示された。したがって、進行期乳癌に関して別のバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを同定することができ、このバイオマーカーパターンまたはシグネチャーセットと相互作用し得る別の治療薬または治療プロトコルを同定することができる。

【0254】

実施例2：患者1300名超のIHC試験

図28A~28Oは、腫瘍型による、特定の遺伝子発現タンパク質の発現の有意な変化の頻度、すなわち免疫組織化学解析により、遺伝子発現タンパク質が有意に過剰発現するとして、腫瘍型による標的としてフラグが付された回数を示す表を示す。この表はまた、免疫組織化学を用いて、特定の腫瘍型において任意の遺伝子発現タンパク質の過剰発現が起こった全回数を特定する。

【0255】

図28A~28Oに示される表中に示されるデータは、先に上記されるIHC試験に従って、罹患組織がIHC試験を受けた患者1392名に関する。患者は全員、疾患の進行期にあった。

【0256】

このデータは、副鼻腔、中耳、および内耳、副腎、虫垂、造血系、骨および関節、脊髄、乳房、小脳、子宮頸部、結合軟部組織、子宮体、食道、眼、鼻、眼球、卵管、肝外胆管、他の口腔、肝内胆管、腎臓、虫垂-結腸、喉頭、口唇、肝臓、肺および気管支、リンパ節、大脳、脊髄、鼻軟骨、網膜、眼、特定不能を除く、中咽頭、他の内分泌腺、他の女性生殖器、卵巣、膵臓、陰茎および陰囊、脳下垂体、胸膜、前立腺、直腸 腎盂、尿管、腹膜、唾液腺、皮膚、小腸、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、未知、膀胱、子宮、特定不能、腔および陰唇、ならびに外陰、特定不能を含むいくつかの腫瘍型、罹患組織型、または罹患細胞におけるバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを示す。

【0257】

進行性乳癌を有する個体254名において、遺伝子発現タンパク質19種の免疫組織化学解析から(図28C)、解析された遺伝子発現タンパク質は合計で767回過剰発現したこと、ならびに全過剰発現のうちの13.43%はSPARC過剰発現に起因し、次いで過剰発現のうちの12.26%はc-kit過剰発現に起因し、および過剰発現のうちの11.47%はEGFRに起因したことが示された。加えて、過剰発現のうちの11.34%はアンドロゲン受容体過剰発現に起因し、過剰発現のうちの11.08%はHSP90過剰発現に起因し、および過剰発現のうちの10.43%はPDGFR過剰発現に起因した。したがって、進行期乳癌に関してバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを同定することができ、該バイオマーカーパターンまたはシグネチャーセットと相互作用し得る治療薬または治療プロトコルを同定することができる。

【0258】

図29は、標的としてタグが付されたバイオマーカー(遺伝子発現タンパク質)を、IHC試験された全組織における頻度順に示す表を示す。遺伝子発現タンパク質19種の免疫組織化学から、遺伝子発現タンパク質19種は、試験された様々な組織において標的として3878回タグが付されたこと、および最も頻繁に過剰発現した遺伝子発現タンパク質はEGFRであり、次はSPARCであったことが示された。

【0259】

実施例3：患者300名超のマイクロアレイ試験

図30A~300は、腫瘍型による、特定の遺伝子の発現の有意な変化の頻度、すなわちマイクロアレイ解析により、遺伝子が有意に過剰発現または過小発現するとして、腫瘍型によ

10

20

30

40

50

る標的としてフラグが付された回数を示す表を示す。この表はまた、遺伝子マイクロアレイ解析を用いて、特定の腫瘍型において任意の遺伝子の過剰発現または過小発現が起こった全回数を特定する。

【0260】

図30A~30Cに示される表中に示されるデータは、先に上記されるマイクロアレイ試験に従って、罹患組織が遺伝子マイクロアレイ試験を受けた患者379名に関する。患者は全員、疾患の進行期にあった。このデータは、副鼻腔、中耳、および内耳、副腎、肛門管および肛門、虫垂、血液、骨髄および造血系、骨および関節、脳および脳神経および脊髄(脳室および小脳を除く)、乳房、小脳、子宮頸部、結合軟部組織、子宮体、食道、眼、特定不能、眼球、卵管、胆嚢、肝外胆管、歯肉、口腔底部および他の口腔、肝内胆管、腎臓、大腸(虫垂-結腸を除く)、喉頭、口唇、肝臓、肺および気管支、リンパ節、髄膜(大脳、脊髄)、鼻腔(鼻軟骨を含む)、眼窩および涙腺(網膜、眼、特定不能を除く)、中咽頭、他の内分泌腺、他の女性生殖器、卵巣、膵臓、陰茎および陰嚢、脳下垂体、胸膜、前立腺、直腸、腎盂および尿管、後腹膜および腹膜、唾液腺、皮膚、小腸、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、未知、不特定の消化器、膀胱、子宮、特定不能、膣および陰唇、ならびに外陰、特定不能を含むいくつかの腫瘍型、罹患組織型、または罹患細胞におけるバイオマーカーパターンまたはバイオマーカーシグネチャーセットを示す。

10

【0261】

例えば、進行性乳癌を有する個体168名において(図30C)、遺伝子63種のマイクロアレイ解析から、解析された遺伝子は合計で1863回過剰発現または過小発現したこと、ならびに全発現変化のうちの5.05%はSSTR3発現変化に起因し、次いで発現変化のうちの4.83%はNKFBIA発現変化に起因し、および発現変化のうちの4.62%はVDRに起因したことが示された。加えて、発現変化のうちの4.35%はMGMT発現変化に起因し、発現変化のうちの4.19%はADA発現変化に起因し、および発現変化のうちの3.97%はCES2発現変化に起因した。

20

【0262】

図31は、標的としてのバイオマーカーを、試験された全組織における頻度順に示す表を示す。

【0263】

実施例4：難治性がんに関して標的を見出し、治療を選択するために患者の腫瘍の分子プロファイリングを利用する予備研究

30

主目的は、分子プロファイリングによって選択された治療計画を用いた無進行生存期間(PFS)と、患者が進行を開始した際の一番最近の治療計画のPFSを比較することであった(例えば、患者は患者自身の対照である)(図32)。PFS比(分子プロファイリングによって選択された治療法におけるPFS/以前の治療法におけるPFS) 1.3を有した個々の患者に対して、分子プロファイリングアプローチが臨床上有効であると見なした。

【0264】

本研究はまた、IHC、FISH、およびマイクロアレイによる分子プロファイリングが、市販の治療薬が存在する標的をもたらす頻度を決定するために、ならびに奏効率(RECIST)および4ヶ月の時点で進行も死亡もしていない患者のパーセントを決定するために行った。

【0265】

40

本研究は、米国中の9つのセンターで実施した。本方法の概要を図33に示す。図33に見られ得るように、本研究に関して患者のスクリーニングを行い、かつ同意を得た。2名の医師監視要員のうちの1名によって、患者の適格性を検証した。同じ医師が、患者が以前の治療法で進行したかどうか、およびPFS(TTP)がどれぐらいの期間であったかを確認した。次いで、以下に論じるように腫瘍生検を実施した。(パラフィン包埋材料における)IHC、FISH、および(新鮮凍結組織における)マイクロアレイ解析を用いて、腫瘍をアッセイした。

【0266】

IHC/FISHおよびマイクロアレイの結果が2名の研究医師に提供され、該医師は一般的に、患者のケアを行う医師に治療法を提案する上で以下のアルゴリズムを使用した：1) IHC

50

/FISHとマイクロアレイが同じ標的を示す場合、これを第1優先順位とする；2) 単独のIHC陽性結果を次の優先順位とする；および3) 単独のマイクロアレイ陽性結果を最終優先順位とする。

【0267】

患者の医師は提案された治療を知らされ、患者は提案された薬剤(添付文書の推奨)で治療を受けた。患者の疾患状態を8週間ごとに評価し、有害作用をNCI CTCAEバージョン3.0によって評価した。

【0268】

本研究の資格を有するには、患者には以下のことが必要であった：1) インフォームド consentおよびHIPAAの承諾を提出すること；2) 任意の組織型の転移性がんを有すること；3) 進行性疾患に対する少なくとも2つの以前の治療計画において、RECIST基準により進行したこと；4) 腫瘍試料を採取するために、生検または外科手技を受けることができること；5) 18歳であり、平均余命>3ヶ月を有し、かつ米国東海岸癌臨床試験グループ(ECOG)一般状態0~1を有すること；6) 測定可能または評価可能な疾患を有すること；7) 最終次の治療法に対して抵抗性であること(最終治療において疾患の進行が実証された；最終治療を6週間受けた；進行のために最終治療を中断した)；8) 十分な臓器および骨髄機能を有すること；9) 受胎調節の適切な方法を有すること；ならびに10) CNS転移がある場合には、適切に抑制されること。ECOG活動尺度は、Oken, M.M., Creech, R.H., Tormey, D.C., Horton, J., Davis, T.E., McFadden, E.T., Carbone, P.P.: Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Clin Oncol 5:649-655, 1982に記載されており、これは全体として参照により組み入れられる。分子プロファイリングを実施する前に、患者のケアを行う場の主たる研究者は、分子プロファイリング結果が得られなかった場合に、患者を何で治療するかを指定しなければならない。

【0269】

方法

生検はすべて、地域の研究者の場で行われた。針生検では、18ゲージ針コア生検が2~3回行われた。DNAマイクロアレイ(MA)解析用に、組織は直ちに凍結され、FedExによりドライアイス上で、中心的なCLIA認定研究所であるPhoenix, ArizonaのCaris MPIに発送された。IHC用に、パラフィンブロックが冷パックで発送された。IHCでは、細胞の30%で2+である場合に、標的について陽性で見なした。MAでは、腫瘍と対照臓器組織との間の遺伝子の発現の差がp 0.001の有意水準である場合に、標的について陽性で見なした。

【0270】

1) IHC

IHC研究に関して、ホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍試料は、以下のタンパク質のIHC試験のために提出されたこれらのブロックに由来する切片を有した：EGFR、SPARC、C-kit、ER、PR、アンドロゲン受容体、PGP、RRM1、TOPO1、BRCP1、MRP1、MGMT、PDGFR、DCK、ERCC1、チミジル酸合成酵素、Her2/neu、およびTOPO2A。全患者の腫瘍に対して全タンパク質のIHCを行ったわけではない。

【0271】

ホルマリン固定パラフィン包埋患者組織ブロックの切片を作製し(4µm厚)、スライドガラス上に封入した。脱パラフィンおよび一連の段階的アルコールによる再水和後、標的抗原を露出させるために必要な前処理を行った。

【0272】

Her-2およびEGFRは、製造供給元(DAKO, Denmark)によって明記される通りに染色した。他の抗体はすべて、商業的供給源から購入し、DABピオチンフリーポリマー検出キットで可視化した。各抗体について、適切な陽性対照組織を使用した。陰性対照スライドは、一次抗体を、適切に一致するアイソタイプの陰性対照試薬と置き換えることにより染色した。スライドはすべて、最終段階としてヘマトキシリンで対比染色し、カバーガラスをかけた。組織マイクロアレイ切片は、製造業者の説明書に従って、EGFRおよびHER-2/neuコピー数に関してFISHにより解析した。HER-2/neuのFISHは、PathVysion HER2 DNA Probe Kit

(Vysis, Inc.)を用いて行った。EGFRのFISHは、LSI EGFR/CEP 7 Probe(Vysis)を用いて行った。

【0273】

スライドはすべて第1病理学者が半定量的に評価し、該病理学者は初期診断を確認すると共に、光学顕微鏡を用いて免疫組織化学染色のそれぞれを読み取った。必要に応じて、初期診断を確認するために、いくつかの系統免疫組織化学染色を行った。染色強度および染色の範囲を判定した；いずれも陽性である腫瘍細胞の腫瘍特異的染色、および高度に陽性(2+)で、広範囲(30%)の腫瘍特異的染色結果を記録した。第2病理学者により、標準的な10%の品質管理を行った。

【0274】

II) マイクロアレイ

マイクロアレイ用に採取された腫瘍試料は、切除の30分以内に即座に凍結され、ドライアイス上でCaris-MPIに送付された。凍結腫瘍断片を、ガラス管中の0.5mL分割量の凍結0.5 M Guanidinium Isothiocyanate溶液上に置き、Covaris集束音波ホモジナイザーで同時に解凍し、ホモジナイズした。0.5 mL分割量のTriZolを添加して混合し、この溶液を65で5分間加熱した後、氷上で冷却し、クロロホルムを添加してから遠心分離することにより相を分離した。水相に等量の70%エタノールを添加し、この混合物をQiagen Rneasyカラム上でクロマトグラフした。RNAを特異的に結合させた後、溶出した。Agilent BioAnalyzer上で28SリボソームRNAと18SリボソームRNAの比を評価することにより、RNAを完全性について試験した。2~5 µgの腫瘍RNA、および原発腫瘍組織の正常組織代表物の試料に由来する2~5 µgのRNAを別個にcDNAに変換し、次いでT7ポリメラーゼ増幅中に、対照的な蛍光タグ化(Cy3、Cy5) CTPで標識した。標識された腫瘍およびその原発組織参照を、17,085個の固有のプロープを有するAgilent H1Av2 60 merオリゴアレイチップにハイブリダイズさせた。

【0275】

前記アレイは、(高発現または低発現のいずれかを有する)その遺伝子と潜在的に相互作用する可能性のある治療薬が存在する50種の遺伝子に対するプロープを含む。このような50種の遺伝子には以下のものが含まれた：ADA、AR、ASNA、BCL2、BRCA2、CD33、CDW52、CES2、DNMT1、EGFR、ERBB2、ERCC3、ESR1、FOLR2、GART、GSTP1、HDAC1、HIF1A、HSPCA、IL2RA、KIT、MLH1、MS4A1、MASH2、NFKB2、NFKB1A、OGFR、PDGFC、PDGFRA、PDGFRB、PGR、POLA、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RXRB、SPARC、SSTR1、TK1、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VHL、およびZAP70。

【0276】

チップを60で16~18時間ハイブリダイズさせた後、洗浄して、非厳密にハイブリダイズしたプロープを除去し、Agilent Microarray Scannerでスキャンした。Agilent Feature Extraction Softwareを用いて、蛍光強度データを抽出し、正規化し、解析した。各チャンネルのノイズに対するシグナルのレベルを考慮に入れ、かつ推定を調整するために、チップ上で反復される多数の陽性および陰性対照を使用するエラーモデルを用いて推定された、変化の程度の有意性の推定に基づいて、遺伝子発現をその参照と異なると判断した。p < 0.001の水準での発現変化を、有意に異なると見なした。

【0277】

III) 統計的考察

本プロトコルは計画された92名の患者の登録を求め、そのうち推計64名の患者が、分子プロファイリングによって割り当てられた治療法により治療を受けた。残りの28名の患者は、(a) 患者の生検が不可能；(b) 分子プロファイリングにより標的が同定されない；または(c) 一般状態の悪化という理由により、分子プロファイリング結果を利用できないと予測された。患者の15%が1.3のPFS比を有するという帰無仮説(Ho)(例えば、見込みのない結果)を棄却するため、64名の患者は分子プロファイリング治療を受ける必要があった。

【0278】

IV) 治療選択

分子プロファイリング結果に基づく患者の治療は、以下のアルゴリズムを用いて選択した：1) IHC/FISHとマイクロアレイが同じ標的を示す；2) 単独のIHC陽性結果；3) 単独のマイクロアレイ陽性結果。患者の医師は提案された治療を知らされ、患者は添付文書の推奨に基づいて治療を受けた。疾患状態を8週間ごとに評価した。有害作用をNCI CTCAEバージョン3.0によって評価した。

【0279】

結果

患者の分布を図34に図示し、患者の特性を表4および5に示す。図34に見られ得るように、106名の患者が同意し、評価を受けた。図34に概説した理由(主に、状態の悪化、または同意の取り下げ、または患者がさらなる治療法を何も望まなかった)により、分子プロファイリングを進めなかった患者が20名存在した。分子プロファイリング後に治療を受けなかった患者は18名存在した(主に、状態の悪化、または患者がさらなる治療法を望まなかったことによる同意の取り下げのため)。治療を受けた患者は68名存在し、そのうち66名は分子プロファイリング結果に従って治療を受け、2名は分子プロファイリング結果に従って治療を受けなかった。2名のうち1名は、患者のケアを行う臨床医が治療の緊急性を感じたために、別の薬剤で治療を受け、もう1名は、保険会社が分子プロファイリングによって提案された治療を負担しないために、別の薬剤で治療を受けた。

10

【0280】

臨床医が分子プロファイリング結果を利用できるまでの期間中央値は、生検から16日(8~30日の範囲)、および解析用の組織試料の受領から中央値で8日(0~23日の範囲)であった。いくらかのわずかな遅れは、(検体の病理検査の必要性のために)地域のチームが患者のブロックを直ちに送付しなかったためである。患者の腫瘍は、以下を含む米国中の9つの場所から送付された：Greenville, SC；Tyler, TX；Beverly Hills, CA；Huntsville, AL；Indiannapolis, IN；San Antonio, TX；Scottsdale, AZ、およびLos Angeles, CA。

20

【0281】

表4は、腫瘍で分子プロファイリングが行われ、かつ分子プロファイリング結果に従って治療を受けた患者66名の特性を列挙する。表1に見られるように、66名の患者のうち大多数は女性であり、年齢中央値は60歳(27~75歳の範囲)であった。以前の治療計画数は、53%の患者で2~4であり、および38%の患者で5~13であった。認可された有効な二次治療法が得られないために、以前の治療法が1つのみであった患者が6名(9%)存在した。20名の患者が、以前の第I相治療法で進行した。患者の大多数は、ECOG一般状態1を有した。

30

【0282】

(表4) 患者特性 (n=66)

特性	n	%
性別		
女性	43	65
男性	23	35
年齢		
中央値(範囲)	60	(27-75)
以前の治療数		
2-4*	35	53
5-13	25	38
ECOG		
0	18	27
1	48	73

10

*注記：患者6名(9%)は以前の治療数が1であった

【0283】

表5に見られるように、患者66名における腫瘍型には、乳癌18例(27%)、結腸直腸11例(17%)、卵巣5例(8%)が含まれ、32名の患者(48%)はその他種々のカテゴリーに入った。多くの患者は、より稀ながん型を有した。

20

【0284】

(表5)結果 患者の腫瘍型(n=66)

腫瘍型	n	%
乳房	18	27
結腸直腸	11	17
卵巣	5	8
その他種々	32	48
前立腺	4	6
肺	3	5
黒色腫	2	3
小細胞(食道/後腹膜)	2	3
胆管癌	2	3
中皮腫	2	3
H&N (SCC)	2	3
膵臓	2	3
膵臓神経内分泌	1	1.5
未知(SCC)	1	1.5
胃	1	1.5
腹膜偽粘液腫	1	1.5
肛門管(SCC)	1	1.5
膣(SCC)	1	1.5
子宮頸部	1	1.5
腎臓	1	1.5
エクリン汗腺腺癌	1	1.5
唾液腺腺癌	1	1.5
軟部組織肉腫(子宮)	1	1.5
GIST(胃)	1	1.5
甲状腺-未分化	1	1.5

10

20

30

40

50

【0285】

一次エンドポイント：PFS比 1.3

本研究の一次エンドポイント(PFS比 1.3)に関して言えば、分子プロファイリング結果に従って治療を受けた患者66名において、PFS比が1.3以上である患者の数は66名中18名、すなわち27%、95% CI 17~38%片側、1標本ノンパラメトリック検定 $p=0.007$ であった。帰無仮説は、この患者集団の15%が1.3のPFS比を有するというものであった。したがってこの帰無仮説は棄却され、この分子プロファイリングアプローチは有益であるというのが本発明者らの結論である。図35は、18名の患者について、分子プロファイリング治療法におけるPFS(バー)と患者の以前の最後の治療法におけるPFS(TTP)(四角)の比較を列挙する。PFS比中央値は2.9(1.3~8.15の範囲)である。

【0286】

表6に示されるように一次エンドポイントを検討した場合、PFS比 1.3は、乳癌患者の8/18(44%)、結腸直腸癌患者の4/11(36%)、卵巣癌患者の1/5(20%)、およびその他種々の腫瘍型の患者の5/32(16%)で達成された(PFS比 1.3であるその他種々の腫瘍型には、肺1/3、胆管癌1/3、中皮腫1/2、エクリン汗腺腫瘍1/1、およびGIST(胃) 1/1が含まれたことに留意されたい)。

【0287】

(表6) 腫瘍型による一次エンドポイント PFS比 1.3

腫瘍型	治療総数	PFS比 \geq 1.3である数	%
乳房	18	8	44
結腸直腸	11	4	36
卵巣	5	1	20
その他種々*	32	5	16
計	66	18	27

* 肺1/3、胆管癌1/2、中皮腫1/2、エクリン汗腺1/1、GIST(胃) 1/1

【0288】

PFS比 1.3である18名の患者がプロファイリングに基づいて受けた治療を表7に列挙する。乳癌患者に関してその表に見られ得るように、治療は、ジエチルスチベステロールからnab-パクリタキセル+トラスツズマブ、そしてドキシソルピシンにまで及んだ。他の腫瘍型を有する患者に対する治療もまた表7に列挙される。全体として、14名は組み合わせによって治療を受け、4名は単独の薬剤で治療を受けた。

【0289】

(表7) PFS比 1.3である患者18名が(分子プロファイリングに基づいて)受けた治療

10

20

腫瘍型	患者が受けた療法
乳房	ジエチルスチベステロール
乳房	nab-パクリタキセル+トラスツズマブ
乳房	nab-パクリタキセル + ゲムシタビン
乳房	レトロゾール+カペシタビン
乳房	オキサリプラチン+5FU+トラスツズマブ
乳房	ゲムシタビン+ペメトレキセド
乳房	ドキシソルビシン
乳房	エキセメスタン
結腸直腸	イリノテカン+ソラフェニブ
結腸直腸	テモゾロミド+ベバシズマブ
結腸直腸	スニチニブ+マイトマイシン
結腸直腸	テモゾロミド+ソラフェニブ
卵巣	ラパチニブ+タモキシフェン
NSCLC	セツキシマブ+イリノテカン
胆管癌	セツキシマブ+イリノテカン
中皮腫	ゲムシタビン+エトポシド
エクリン汗腺	スニチニブ
GIST (胃)	セツキシマブ+ゲムシタビン

10

20

30

40

50

【0290】

二次エンドポイント

本研究の二次エンドポイントの結果は以下の通りである。分子プロファイリングが試みられた患者86名において、患者の腫瘍の分子プロファイリングが標的をもたらした頻度は84/86(98%)であった。方法論によって分類すると、IHC/FISHにより83/86(97%)が標的をもたらし、マイクロアレイにより81/86(94%)が標的をもたらした。Agilent BioAnalyzer上で28SリボソームRNAと18SリボソームRNAの比を評価することにより、RNAを完全性について試験した。83/86(97%)の検体が1またはそれ以上の比を有し、高いチップ内再現性比をもたらした。このことから、米国中での患者の検体の非常に良好な採取および発送、ならびに優れた技術的結果が得られ得ることが実証される。

【0291】

患者66名におけるRECIST基準により、完全寛解が1例および部分寛解が5例存在し、全奏効率は10%であった(CR 1例は乳癌患者においてであり、PRは、乳癌患者、卵巣癌患者、結腸直腸癌患者、およびNSCL癌患者においてであった)。4ヶ月の時点で進行していない患者は、66名のうち14名、すなわち21%を含んだ。

【0292】

探索解析において、ベースライン直径に対する標的病変の合計直径の最大変化%に関する全患者のウォーターフォールプロットを作成した。進行した患者、およびRECIST基準による部分寛解と共に過程のどこかで腫瘍がいくらか縮小した患者を図36に示す。(2回またはそれ以上の評価が完了した)患者の47%超で、患者の腫瘍にいくらかの縮小が認められる。

【0293】

他の解析 安全性

安全性解析に関して、治療関連死は存在しなかった。貧血(患者2名)、好中球減少症(患者2名)、脱水症(患者1名)、膵炎(患者1名)、嘔気(患者1名)、嘔吐(患者1名)、および発熱性好中球減少症(患者1名)を含む、治療に関連した重篤な有害事象が9例存在した。1名の患者(1.5%)のみが、2等級疲労の治療関連有害事象のために中断した。

【0294】

他の解析 患者のケアを行う臨床医が選択したであろうものと、分子プロファイリングが選択したものの関係

分子プロファイリング結果が治療に何を提案したかを知る前に、臨床医が患者を治療するために何を選擇したかの関係を調べた。図37に列挙されるように、2つの間にパターンは存在しない。より具体的には、PFS比 1.3である患者18名について、一致は認められなかった。

10

【0295】

PFS比 1.3である患者18名と全患者66名の全生存期間を図38に示す。この探索解析は、PFS比がいくらかの臨床的関連性を有するかどうかの判定を助けるために行った。PFS比 1.3である患者18名の全生存期間は9.7ヶ月であるのに対して、全集団では5ヶ月であるログランク0.026。この探索解析から、PFS比はさらなる別の臨床パラメータと相関することが示される。

20

【0296】

結論

この前向き多施設予備研究から、(a) 良質でかつ十分な腫瘍収集物を用いて、米国内の9つの異なるセンターからの患者の腫瘍において分子標的を測定すること およびそのような結果に基づいて患者を治療することの実現可能性；(b) この分子プロファイリングアプローチが、患者の27%について、患者が進行を開始した際の治療計画よりも分子プロファイリングによって提案された治療計画において、患者に対してより長いPFSをもたらしたこと(信頼区間17~38%) $p=0.007$ ；ならびに、(c) これが分子プロファイリングの使用および有益性を実証する有望な結果であることが実証される。

30

【0297】

この結果から、難治性がんを有する患者は一般に、治療法が利用でき、かつそれが患者に対して有益であり得る単純な標的(ERなど)を有し得ることもまた実証される。他の治療法を使い尽くした、および第I相または第II相治験のおそらくは候補である患者の分子プロファイリングは、この分子プロファイリングが行われ得る。

30

【0298】

実施例5：分子プロファイリングシステム

システムは、新鮮凍結組織から抽出されたRNAからのRT-PCRを通して、およそ44,000種の異なる配列の相対発現レベルを測定し得るAgilent 44Kチップを用いる遺伝子発現アレイを含む、いくつかの個々の成分を有する。新鮮凍結組織の採取に関する実際的なことが理由で、試料の一部のみがAgilent 44K解析を実行され得る。この遺伝子発現アレイに加えて、本システムはまた、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)がん組織において40例の異なる免疫組織化学アッセイのサブセットを実施する。最後に、FISH(蛍光インサイチュハイブリダイゼーション)により、いくつかの遺伝子に関して遺伝子コピー数を測定し、またいくつかの特定の突然変異に関して、DNA配列決定により突然変異解析を行う。このデータのすべてを、各患者症例に関して保存する。治療選択肢に影響することが示されている64種を超える遺伝子のマイクロアレイ結果を用いて、最終報告書を作成する。データはまた、IHC、FISH、およびDNA配列決定解析からも報告される。報告書は、実践するがん専門医によって説明される。データが報告されたならば、最終決定は治療を行う医師次第である。

40

【0299】

実施例6：Illumina発現解析

50

Illumina Whole Genome DASLアッセイ(Illumina Inc., San Diego, CA)は、新鮮凍結(F F)組織供給源およびホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織供給源由来の最小のRNAインプットから24,000個を超える転写産物を、ハイスルーブット様式で同時にプロファイする方法を提供する。この解析は、UDG(Illumina, cat#DA-903-1024/DA-903-1096)、Illumina Hybridization Oven、およびIllumina iScan Systemと共にWhole-Genome DASL Assayを使用する。

【0300】

Whole Genome DASLアッセイは、製造業者の説明書に従って実施する。FFまたはFFPE供給源から単離された全RNAを、ビオチン化オリゴ(dT)プライマーおよびランダムノナープライマーを用いてcDNAに変換する。オリゴ(dT)プライマーおよびランダムノナープライマーを両方使用することは、FFPE組織から得られたような分解したRNA断片のcDNA合成を確実にするのに役立つ。次いで、ビオチン化cDNAをDASL Assay Pool(DAP)プローブ群にアニールさせる。プローブ群は、転写産物中の各標的配列を調べるように特別に設計されたオリゴヌクレオチドを含む。プローブはおよそ50塩基にわたり、そのため部分分解したRNAのプロファイリングが可能になる。

10

【0301】

アッセイプローブセットは、5'末端における遺伝子特異的配列および汎用性PCRプライマー配列(P1)を含む上流オリゴヌクレオチド、ならびに3'末端における遺伝子特異的配列および汎用性PCRプライマー配列(P2)を含む下流オリゴヌクレオチドからなる。上流オリゴヌクレオチドを標的cDNA部位にハイブリダイズさせ、次に伸長させ、その対応する下流オリゴヌクレオチドと連結させてPCR鋳型を作製し、この鋳型を製造業者の説明書に従って汎用性PCRプライマーで増幅することができる。

20

【0302】

結果として得られたPCR産物をHumanRef-8 Expression BeadChipにハイブリダイズさせて、特定の遺伝子の有無を判定する。HumanRef-8 BeadChipは、国立バイオテクノロジー情報センター参照配列(RefSeq)データベース(ビルド36.2、リリース22)に由来する>24,000個の注釈つき転写産物を網羅する最新の内容を備えている(表8)。

【0303】

(表8) HumanRef-8 BeadChipのRefSeq*内容

プローブ	説明	数
NM	コード転写産物、十分に確立した注釈	23,811
XM	コード転写産物、仮注釈	426
NR	非コード転写産物、十分に確立した注釈	263
XR	非コード転写産物、仮注釈	26
計		24,526

30

*ビルド36.2、リリース22

【0304】

ハイブリダイゼーション後、iScanシステムを用いてHumanRef-8 Expression BeadChipをスキャンする。このシステムは、迅速定量スキャンのために、高性能レーザー、光学、および検出系を組み入れている。該システムは、高いシグナル対ノイズ比、高感度、低い検出限界、および広いダイナミックレンジを提供して、並外れたデータ品質をもたらす。

40

【0305】

DASL化学マイクロアレイを用いる全ゲノム遺伝子発現解析により、特定の遺伝子が腫瘍において、該腫瘍の由来元の細胞型よりもより多くのまたはより少ないmRNAを産生しているかどうかの推定が可能になる。所与の遺伝子のより高いかまたはより低いという活性に基づいて、腫瘍が、その治療されるがんの種類に応じた特定の治療法に反応する可能性が高まり得る。正常組織と比較した場合の患者の腫瘍の差次的発現は、がん専門医が適切な治療経路を決定するのに助けるための有用な診断ツールを提供し得る。

【0306】

50

DASL化学は、従来の直接ハイブリダイゼーションマイクロアレイ方法論から逸脱することにより、分解したFFPE RNAでの作業の限界に対処する。しかしながら、FFPE組織の固定法には大きな違いがあり、より高レベルのRNA分解を招き得る。DASLアッセイは部分分解したRNAに用いることはできるが、完全に分解したRNAには用いることができない。DASLアッセイ解析の前にRNA試料を限定するために、高発現するリボソームタンパク質遺伝子、RPL13aをSYBRグリーン化学を用いて増幅するリアルタイムqPCR法を用いて、RNAの質を調べる。試料が、サイクル閾値 29を有する場合に、この試料はDASL化学を進めるのに十分に無傷であると見なす。Biotinylated cDNA Pre-Qualification, Illumina, Inc.; Abramovitz, M., et al., Optimization of RNA extraction from FFPE tissues for expression profiling in the DASL assay. Biotechniques, 2008. 44(3): p. 417-23を参照されたい。1.5より低いA260/A280比または30より高いRPL13a Ct値を有する試料はいずれも、Whole Genome DASL遺伝子発現化学を用いて処理するには過度に分解されている、または過度に大幅に変更されていると見なす。Abramovitz, M., et al.。

10

【0307】

HumanRef-8 Expression BeadChip上でのハイブリダイゼーションの前に、試料を沈降させる。試料沈降物は青色ペレットの形態となる。その試料について青色ペレットが見えない場合には、BeadChip上でのハイブリダイゼーションの前に該試料を再処理しなければならない。

【0308】

Whole Genome DASLアッセイは何千もの遺伝子の発現を調べるが、関心対象の遺伝子のみの発現を解析する必要がある。

20

【0309】

Illumina Whole Genome DASL技術を用いた患者データの報告を正規化するために、以下のアルゴリズムを使用する。このデータは、Genome Studios Software v2009.1(Gene Expression Moduleバージョン1.1.1)を用いて得られる。

【0310】

段階1: Genome Studiosソフトウェアによって決定された検出p値は、0.01未満でなくてはならない。この値は、アレイ上に存在する陰性対照プローブで観察されたばらつきに関連して、特定の遺伝子の同じプローブの2つ組コピーによって生じたシグナルのばらつきを調べることによって決定される。特定の遺伝子について、対照または患者試料のいずれかの検出p値が0.01よりも大きい場合には、該遺伝子の発現は「不確定」として報告される。0.01のカットオフを選択したが、その理由は、発現に変化がないという帰無仮説が正しければ、このデータが観察される確率は1%未満であることをそれが示すからである。p値は、多重比較に関して補正され得る。

30

【0311】

段階2: 差次的発現のp値は0.001未満でなくてはならない。このp値は以下の式を用いることによって決定される： $1/(10^{(D/(10^{\text{SIGN}}(PS-CS)))))$ 。この式で、「D」は、Genome Studiosによって作成される差次的発現スコアを示す。「PS」および「CS」は、それぞれ患者試料(PS)および対照試料(CS)について、アレイ上で得られる特定の遺伝子の相対蛍光単位(RFU)を示す。「SIGN」関数は、PS RFUからCS RFUを減算することにより生じた値の符号を数値に変換する。PSマイナスCSが>0である場合には、1という値が生じる。PSマイナスCSが<0である場合には、-1という値が生じる。PSとCSが等しい場合には、0という値が生じる。任意の特定の遺伝子について差次的発現p値が.001よりも大きい場合には、該遺伝子の発現は「変化なし」として報告される。0.001のカットオフを選択したが、それは、この閾値に合格する遺伝子がおよそ95%の確率で別の方法により差次的に発現すると確認され得るためである。

40

【0312】

段階3: 特定の遺伝子について発現比が0.66よりも小さい場合には、該遺伝子の発現は「過小発現」として報告される。発現比が1.5よりも大きい場合には、該遺伝子の発現は「過剰発現」として報告される。発現比が0.66~1.5である場合には、特定の遺伝子の発

50

現は「変化なし」として報告される。発現比は、患者試料由来の遺伝子のRFUを対照試料由来の同じ遺伝子のRFUで除することによって決定される(PS/CS)。「変化なし」は、 $p < 0.001$ の有意水準で、腫瘍と対照組織との間でこの遺伝子の発現に差がないことを示す。 $p = 0.001$ の有意水準を選択したが、それは、この閾値に合格する遺伝子がおよそ95%の確率で別の方法により差次的に発現すると確認され得るためである。

【0313】

「情報価値なし(NI)」は、患者試料または対照試料のいずれかについて得られたデータが、特定のRNA転写産物の発現レベルに対して確信してコールを作成するのに十分なほど質が高くなかったことを示す。

【0314】

段階4：FFPE試料のみを使用する場合には、上記のアルゴリズムを用いて「過小発現」と同定される遺伝子はすべて「不確定」として報告される。これは、FFPE試料から得られるRNAの分解性質に起因し、したがって対照試料に対する患者試料における遺伝子のRFUの低下が、その特定のRNAの存在の減少によるものであるのかどうか、またはRNAが高度に分解され、その特定のRNA転写産物の検出を妨げるのかどうかを判定することは不可能であると考えられる。改良された技術では、FFPE試料による「過小発現」としての一部またはすべての遺伝子が報告される。

【0315】

図39は、FFPE試料のマイクロアレイプロファイリングから得られた結果を示す。腫瘍組織から全RNAを抽出し、cDNAに変換した。次いでcDNA試料を、Illumina cDNA媒介アニーリング、選択、伸長、および連結(DASL)過程を用いる全ゲノム(24K)マイクロアレイ解析に供した。次に、80種の遺伝子のサブセットの発現を組織特異的正常対照と比較し、図中に示されるこれら80種の標的遺伝子の相対発現比を、差次的発現の統計的有意性と共に決定した。

【0316】

実施例7：分子プロファイリングシステムおよび報告書

システムは、実施例6に記載されるIllumina Whole Genome DASL Assayを用いる遺伝子発現アレイを含む、いくつかの個々の成分を有する。この遺伝子発現アレイに加えて、本システムはまた、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)がん組織において免疫組織化学アッセイのサブセットを実施する。最後に、FISH(蛍光インサイチュウハイブリダイゼーション)により、いくつかの遺伝子に関して遺伝子コピー数を測定し、またいくつかの特定の突然変異に関して、DNA配列決定により突然変異解析を行う。このデータのすべてを、各患者症例に関して保存する。マイクロアレイ、IHC、FISH、およびDNA配列決定解析からデータが報告される。研究室の実験はすべて、標準操作手順書(SOP)に従って行う。

【0317】

突然変異解析用のDNAは、病理学者により判断して腫瘍核 10%の領域での固定化スライドのマクロダイセクション後に、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織から抽出する。腫瘍核の% 10%である場合に、抽出されたDNAのみを突然変異解析に使用する。DNAは、製造業者の説明書に従って、QIAamp DNA FFPE Tissueキット(QIAGEN Inc., Valencia, CA)を用いて抽出する。BRAF Mutector I BRAF Kit(TrimGen, cat#MH1001-04)を用いて、BR AF突然変異を検出する(TrimGen Corporation, Sparks, MD)。DxS KRAS Mutation Test Kit(DxS, #KR-03)を用いて、KRAS突然変異を検出する(QIAGEN Inc., Valencia, CA)。増幅DNAのBRAFおよびKRAS配列決定は、Applied BiosystemのBigDye(登録商標) Terminator V1.1化学(Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA)を用いて実施する。

【0318】

IHCは、標準プロトコルに従って実施する。IHC検出系はマーカーによって異なり、これにはDakoのAutostainer Plus(Dako North America, Inc., Carpinteria, CA)、Ventana Medical Systems Benchmark(登録商標) XT(Ventana Medical Systems, Tucson, AZ)、およびLeica/Vision Biosystems Bond System(Leica Microsystems Inc., Bannockburn, IL)が含まれる。いずれの系も、製造業者の手順に従って操作する。

10

20

30

40

50

【0319】

FISHは、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織で実施する。FISH用のFFPEスライドは、ヘマトキシリンおよびエオシン(H & E)で染色し、評価のために病理学者に供する必要がある。病理学者は、解析のためにFISHを行うべき腫瘍の領域に印をつける。病理学者の報告書は、腫瘍が存在し、かつ完全な解析を行うのに十分であることを示さなければならない。FISHは、製造業者の説明書に従ってAbbott Molecular VP2000を用いて実施する(Abbott Laboratories, Des Plaines, IA)。

【0320】

本システムによって作成される報告書を図40A~40Jに示す。図40Aは、患者が卵巣に原発腫瘍を有したことを示す。パラフィンブロック試料を使用した。図40A~40Bは、マイクロアレイまたはIHC解析によって差次的に発現すると同定されたバイオマーカの要約リストを示す。各差次的発現バイオマーカと対応する治療選択肢が示される。患者の医師は、どの候補治療を適用するかを決定することができる。図40Cは、バイオマーカに候補治療を関連づける文献の証拠の表を示す。図40DはIHC解析の結果を示し、図40Eはマイクロアレイの結果を示す。図40F~40Gは、差次的発現バイオマーカの要約説明を示す。図40H~40Iは、差次的発現バイオマーカに関連づけられた候補治療法を支持する文献の要約説明を、各出版物に付随する証拠のレベルの評点と共に示す。図40Cは、証拠のレベルの規範を説明する図表を示す。

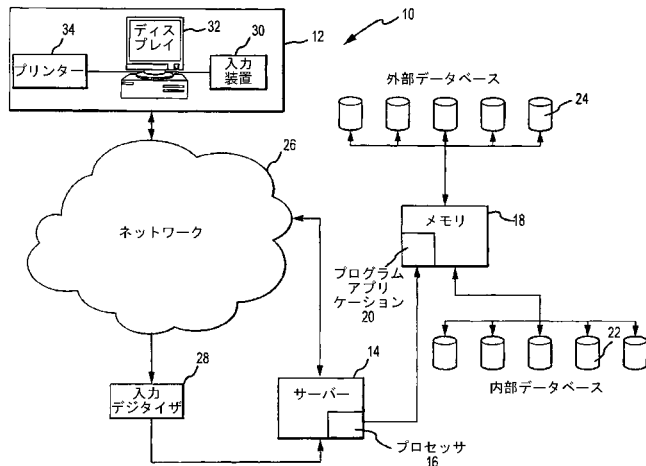
10

【0321】

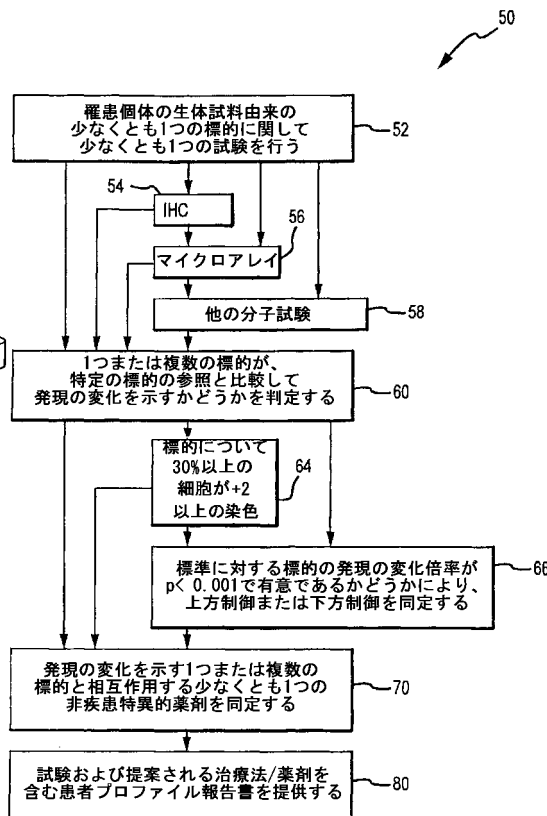
本発明の好ましい態様を本明細書に示し説明してきたが、そのような態様が例として提供されるに過ぎないことは当業者には明白であろう。本発明から逸脱することなく、多数の変形、変更、および置き換えが当業者に想起されるであろう。本発明を実施する際に、本明細書に記載された本発明の態様の様々な代替が使用され得ることを理解されたい。特許請求の範囲が本発明の範囲を規定し、これら特許請求の範囲の範囲内にある方法および構造ならびにそれらの均等物がそれによって包含されることが意図される。

20

【図1】



【図2】



【図3A】

MOLECULAR PROFILING INSTITUTE	患者情報	医師情報
	氏名: サンプル患者 性別: 女性 DOB: 6/1/1974 SSN#: 123-45-6789	ある医師, M.D. 1234 E. SOUTH ST. TUCSON, AZ 12345 480-123-4567
	報告書情報 VER 1.6.2.4-25-06 検体受領日: 02/01/2006 報告日: 02/09/2006 症例番号 MP-TN06-05040 ホスト医療センターでの検体採取日: 01/24/2006	
特殊検査 結果および解説		

解説:

病理学スライドの概説(主病院、TUCSON, AZより受領、M01-123と表示された1つのパラフィンブロックおよび凍結組織)。

骨盤および後腹膜腫瘍: 炎症性筋線維芽細胞腫瘍。

候補遺伝子標的と相互作用する可能性のある薬剤:

アッセイ*	候補標的	有意な結果	可能性のある薬剤
マイクロアレイ	NFKBIA	(増加 1.78)**	VELCADE
IHC	C-KIT	(増加 +2, 90%)	GLEEVEC, SUTENT
マイクロアレイ	PDGFRA	(増加 4.74)**	GLEEVEC, ソラフェニブ, SUTENT
マイクロアレイ	GART	(増加 1.90)**	ALIMTA
マイクロアレイ	VDR	(増加 37.30)**	カルシトリオール
マイクロアレイ	ADA	(増加 5.26)**	ペントスタチン
マイクロアレイ	TOP1	(増加 2.78)**	トボテカン, CAMPTOSAR (CPT11)
マイクロアレイ	HIF1A	(増加 4.03)**	AVASTIN, ソラフェニブ, SUTENT
マイクロアレイ	DNMT1	(増加 1.51)**	MOAZA (5-アザシチジン)

*IHC=免疫組織化学

**増加または減少は正常対照に対するものである。

【図3B】

MOLECULAR PROFILING INSTITUTE	患者情報	医師情報
	氏名: サンプル患者 性別: 女性 DOB: 6/1/1974 SSN#: 123-45-6789	ある医師, M.D. 1234 E. SOUTH ST. TUCSON, AZ 12345 480-123-4567
	報告書情報 VER 1.6.2.4-25-06 検体受領日: 02/01/2006 報告日: 02/09/2006 症例番号 MP-TN06-05040 ホスト医療センターでの検体採取日: 01/24/2006	
特殊検査 結果および解説		

高度な免疫組織化学的解析:

遺伝子発現タンパク質	結論	特異性	強度	%	標的状態*
HER2/NEU	陰性				
ER	陰性				
PR	陰性				
C-KIT	陽性	特異的	2	90	標的
EGFR	陰性				
COX-2	陰性				
アンドロゲン受容体	陰性				
CD52	陰性				
PDGFR	陰性	非特異的			
CD25	陰性				

*腫瘍細胞の30%超における2+ IHCを、薬理学的有効性の増大を補助するのに陽性であるとして潜在的標的を報告するための保存的分割点として選択した。

実施されなかった免疫組織化学的試験

IL-2	トポイソメラーゼI	MLH1
NF-κβ	トポイソメラーゼII	MSH2
チミジル酸合成酵素	レチノイン酸受容体	CD20
ERCC3 (ヘリカーゼ)	RXR	PS3
チミンホスホリラーゼ	オルニチン脱炭酸酵素	サイクリンD1
NGF	ソマトスタチン	BCL-2
MTAP	RAS (変異型)	VEGF
MAPキナーゼタンパク質	アスパラギン合成酵素	
キサンチン酸化酵素		

【図3C】

MOLECULAR PROFILING INSTITUTE	患者情報	医師情報
	氏名: サンプル患者 性別: 女性 DOB: 6/1/1974 SSN#: 123-45-6789	ある医師, M.D. 1234 E. SOUTH ST. TUCSON, AZ 12345 480-123-4567
	報告書情報 VER 1.6.2.4-25-06 検体受領日: 02/01/2006 報告日: 02/09/2006 症例番号 MP-TN06-05040 ホスト医療センターでの検体採取日: 01/24/2006	
特殊検査 マイクロアレイ結果		

遺伝子	比	発現*	解析	遺伝子	比	発現*	解析	遺伝子	比	発現*	解析
AR	0.02	過小発現		EGFR	1.16	変化なし		ZAP70	3.00	変化なし	
ESR1	0.09	過小発現		OGFR	1.17	変化なし		ZAP70	3.02	変化なし	
PGR	0.10	過小発現		MLH1	1.19	変化なし		CD33	3.05	過剰発現	
VEGF	0.33	過小発現		VHL	1.22	変化なし		ZAP70	3.06	変化なし	
KIT	0.51	過小発現		TNF	1.29	変化なし		ZAP70	3.13	変化なし	
PDGFC	0.53	過小発現		RARA	1.36	変化なし		ZAP70	3.18	変化なし	
RXRβ	0.62	変化なし		HSPCA	1.42	変化なし		ZAP70	3.40	変化なし	
TOP2B	0.62	過小発現		TXNRD1	1.42	変化なし		CD33	3.52	過剰発現	
RAP1	0.68	変化なし		ASNS	1.44	変化なし		HIF1A	3.64	過剰発現	
ERBB2	0.69	変化なし		DNMT1	1.51	過剰発現		HIF1A	3.85	過剰発現	
ERCC3	0.71	変化なし		NFKB2	1.74	変化なし		HIF1A	3.88	過剰発現	
BCL2	0.71	変化なし		NFKBIA	1.78	過剰発現		HIF1A	3.90	過剰発現	
PDGFRβ	0.78	変化なし		PTGS2	1.81	変化なし		HIF1A	3.90	過剰発現	
BCL2	0.80	変化なし		BRCA2	1.83	変化なし		HIF1A	3.91	過剰発現	
GSTP1	0.85	変化なし		GART	1.80	過剰発現		HIF1A	3.94	過剰発現	
SPARC	0.92	変化なし		CD452	2.15	過剰発現		HIF1A	3.97	過剰発現	
HDAC1	0.95	変化なし		ZAP70	2.18	変化なし		HIF1A	4.07	過剰発現	
POLA	0.98	変化なし		FOLR2	2.21	過剰発現		HIF1A	4.08	過剰発現	
MSH2	0.98	変化なし		ZAP70	2.76	変化なし		PDGFRα	4.74	過剰発現	
CE52	1.05	変化なし		TOP1	2.78	過剰発現		TKI	4.94	過剰発現	
VEGF	1.08	変化なし		MSA1	2.86	変化なし		IL2RA	5.07	変化なし	
SSR1	1.11	変化なし		ZAP70	2.86	変化なし		ADA	5.28	過剰発現	
PTEN	1.11	変化なし		ZAP70	2.92	変化なし		TOP2A	9.34	変化なし	
								TYMS	22.95	過剰発現	
								VDR	37.30	過剰発現	

*「変化なし」は、有意水準p<0.001において腫瘍と対照組織の間にこの遺伝子に関して発現の差がないことを示す。有意水準p<0.001を選択したが、それは、この閾値に合格する遺伝子がおおよそ95%の確率で別の方法により差次的に発現すると確認され得るためである。

【図3D】

患者: サンプル患者	症例番号 MP-TN06-05040	報告日: 2/9/2006
臨床情報		

臨床歴

本患者は、2004年2月に炎症性筋線維芽細胞腫瘍と診断された。その際、腹部から大きな腫瘍が摘出された。現在、本患者は左上腹部および骨盤に再発性腫瘍を有している。患者のカルテによれば、ある医師がVON HOFF 医師と共に本症例を再検討し、この患者におけるDNAマイクロアレイおよびIHC試験の実施によりさらなる治療選択肢への洞察がもたらされることが同意された。

提出された検体

主病院、TUCSON, AZより受領、外科病理学報告書が添付された、M01-123と表示された1つのパラフィンブロックおよび凍結組織。

免責事項

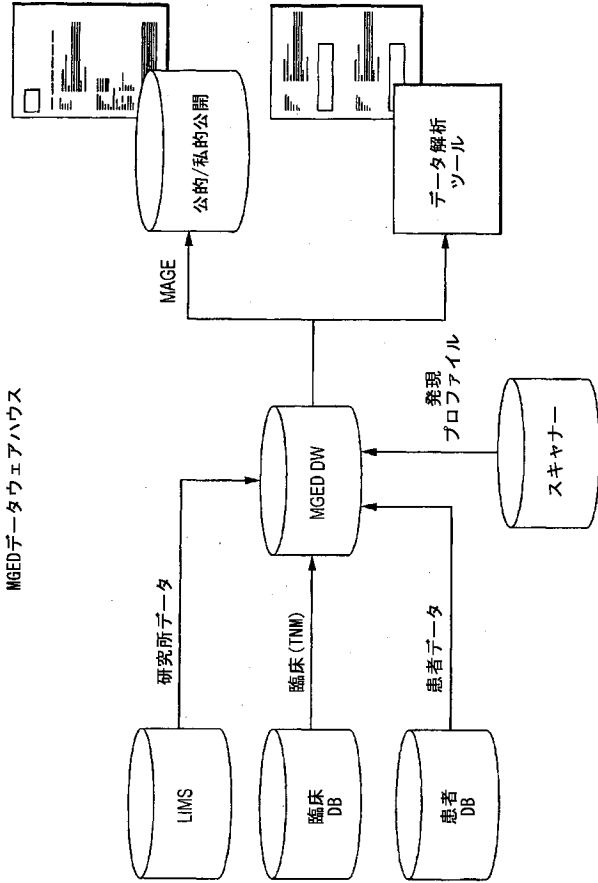
これらの試験はMOLECULAR PROFILINGIによって開発されたものであり、それらの性能特性はMOLECULAR PROFILINGIによって決定された。これは、米国食品医薬品局(FDA)によって認可または承認されていない。これらの試験は臨床目的のために許可されるものであり、純粋な調査または研究用と見なされるべきではない。MOLECULAR PROFILINGIは、1998年の臨床検査機関改善修正法(CLIA)の下で、高度複雑臨床試験を行う資格を有すると認定されている。

ケアおよび治療に関する判断は、この試験のような単一の試験に基づくべきではない。むしろ、ケアおよび治療に関する判断は、所定の国体の標準治療に従って、他の臨床検査を含む患者の状態に関する入手可能な情報をすべて考慮に入れた、治療する医師の独立した医学的診断に基づくべきである。

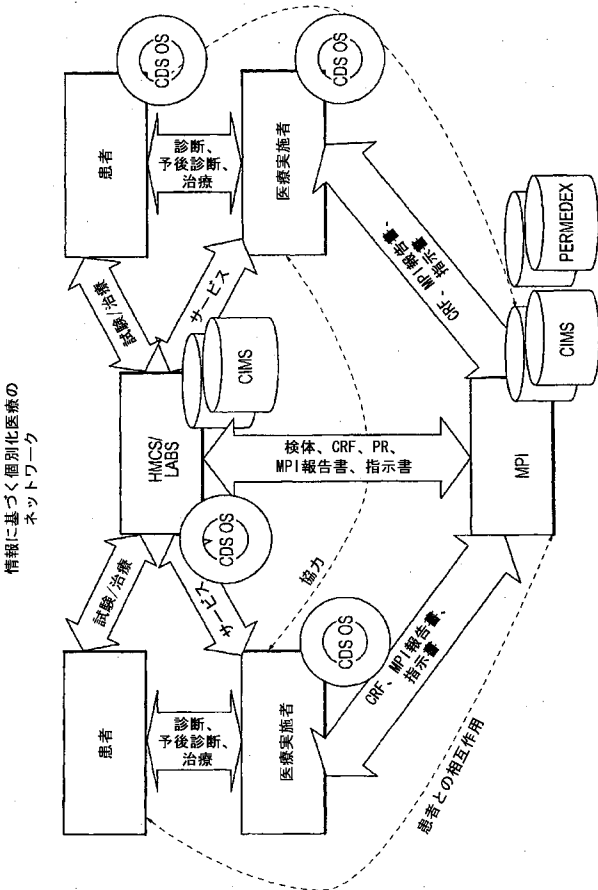
標的の発見は、必ずしも薬理学的有効性を示すものではない。

Robert J. Penny, MD, PhD 2/9/2006
病理学者および医師 日付

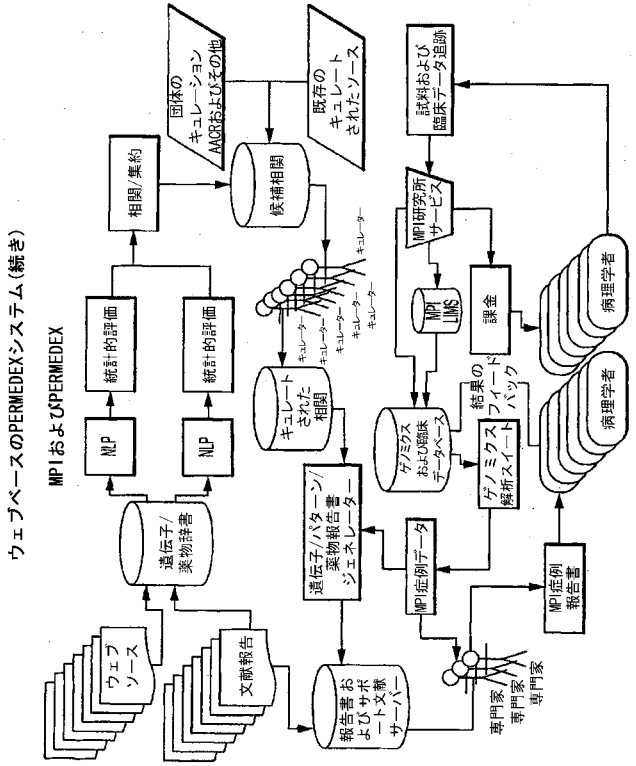
【 図 1 2 】



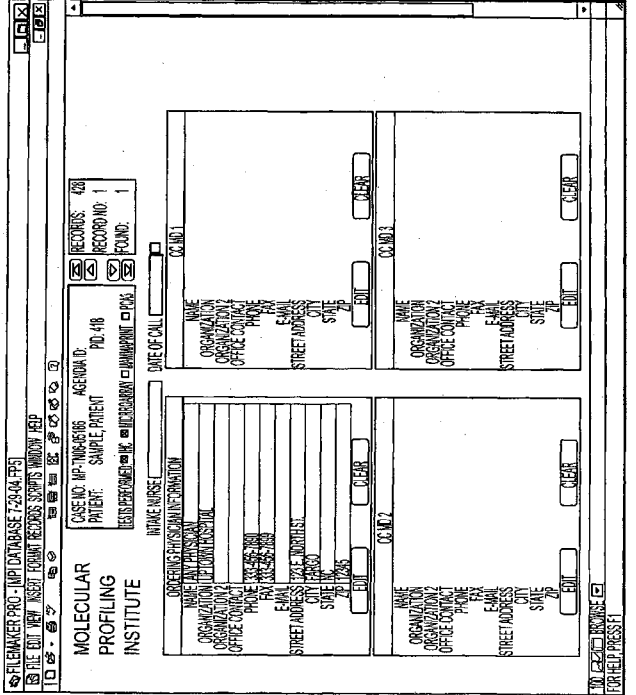
【 図 1 4 】



【 図 1 3 】



【 図 1 5 】



[X] 1 6]

FILEMAKER PRO - IHP DATABASE 7:34:44 (PP) FILE EDIT NEW INSERT FORMAT RECORDS SORTS WINDOW HELP

MOLECULAR PROFILING INSTITUTE

REGISTRATION INFORMATION
 CASE NO. IHP-INS-0588 AGENCY ID: PD-410 RECORDS: 408
 PATIENT: SAMPLE PATIENT RECORD NO.: 1
 TESTS PERFORMED: HORMONAL IMMUNO OTHER FOUND: 1

PRIMARY INSURANCE COMPANY
 POLICY NUMBER
 RELIANCE PATIENT
 POLICY HOLDER'S SSN
 POLICY HOLDER'S DATE OF BIRTH
 POLICY HOLDER'S GENDER
 POLICY HOLDER'S ADDRESS
 POLICY HOLDER'S CITY
 POLICY HOLDER'S STATE
 POLICY HOLDER'S ZIP

SECONDARY INSURANCE COMPANY
 POLICY NUMBER
 RELIANCE PATIENT
 POLICY HOLDER'S SSN
 POLICY HOLDER'S DATE OF BIRTH
 POLICY HOLDER'S GENDER
 POLICY HOLDER'S ADDRESS
 POLICY HOLDER'S CITY
 POLICY HOLDER'S STATE
 POLICY HOLDER'S ZIP

INSURANCE COMPANY ADDRESS
 INSURANCE COMPANY CITY
 INSURANCE COMPANY STATE
 INSURANCE COMPANY ZIP
 INSURANCE COMPANY PHONE
 INSURANCE COMPANY FAX
 INSURANCE COMPANY EMAIL
 INSURANCE AUTHORIZATION REFERENCE NO.

HOME <<BACK

FILEMAKER PRO - IHP DATABASE 7:34:44 (PP) FILE EDIT NEW INSERT FORMAT RECORDS SORTS WINDOW HELP

[X] 1 7]

FILEMAKER PRO - IHP DATABASE 7:34:44 (PP) FILE EDIT NEW INSERT FORMAT RECORDS SORTS WINDOW HELP

MOLECULAR PROFILING INSTITUTE

REGISTRATION INFORMATION
 CASE NO. IHP-INS-0588 AGENCY ID: PD-410 RECORDS: 408
 PATIENT: SAMPLE PATIENT RECORD NO.: 1
 TESTS PERFORMED: HORMONAL IMMUNO OTHER FOUND: 1

LABORATORY INFORMATION
 NAME
 ORGANIZATION
 ORGANIZATION ADDRESS
 OFFICE CONTACT
 PHONE
 FAX
 EMAIL
 STREET ADDRESS
 CITY
 STATE
 ZIP
 DATE OF PRIMARY DX
 NET DATE 1
 NET DATE 2
 NET DATE 3

DIFFERENTIAL

HOME <<PREVIOUS

FILEMAKER PRO - IHP DATABASE 7:34:44 (PP) FILE EDIT NEW INSERT FORMAT RECORDS SORTS WINDOW HELP

[X] 1 8]

FILEMAKER PRO - IHP DATABASE 7:34:44 (PP) FILE EDIT NEW INSERT FORMAT RECORDS SORTS WINDOW HELP

MOLECULAR PROFILING INSTITUTE

REGISTRATION INFORMATION
 CASE NO. IHP-INS-0588 AGENCY ID: PD-410 RECORDS: 408
 PATIENT: SAMPLE PATIENT RECORD NO.: 1
 TESTS PERFORMED: HORMONAL IMMUNO OTHER FOUND: 1

LABORATORY INFORMATION
 NAME
 ORGANIZATION
 ORGANIZATION ADDRESS
 OFFICE CONTACT
 PHONE
 FAX
 EMAIL
 STREET ADDRESS
 CITY
 STATE
 ZIP
 DATE OF PRIMARY DX
 NET DATE 1
 NET DATE 2
 NET DATE 3

DIFFERENTIAL

HOME <<PREVIOUS

FILEMAKER PRO - IHP DATABASE 7:34:44 (PP) FILE EDIT NEW INSERT FORMAT RECORDS SORTS WINDOW HELP

[X] 1 9]

FILEMAKER PRO - IHP DATABASE 7:34:44 (PP) FILE EDIT NEW INSERT FORMAT RECORDS SORTS WINDOW HELP

MOLECULAR PROFILING INSTITUTE

REGISTRATION INFORMATION
 CASE NO. IHP-INS-0588 AGENCY ID: PD-410 RECORDS: 408
 PATIENT: SAMPLE PATIENT RECORD NO.: 1
 TESTS PERFORMED: HORMONAL IMMUNO OTHER FOUND: 1

LABORATORY INFORMATION
 NAME
 ORGANIZATION
 ORGANIZATION ADDRESS
 OFFICE CONTACT
 PHONE
 FAX
 EMAIL
 STREET ADDRESS
 CITY
 STATE
 ZIP
 DATE OF PRIMARY DX
 NET DATE 1
 NET DATE 2
 NET DATE 3

DIFFERENTIAL

HOME <<PREVIOUS

FILEMAKER PRO - IHP DATABASE 7:34:44 (PP) FILE EDIT NEW INSERT FORMAT RECORDS SORTS WINDOW HELP

【図26E】

Table with 10 columns: フラッグが付けられたバイオマーカー, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型. Rows include data for various markers and their amplification rates.

【図26F】

Table with 10 columns: フラッグが付けられたバイオマーカー, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型. Rows include data for various markers and their amplification rates.

【図27A】

Table with 10 columns: 遺伝子名(マイクロアレイ), 発現(13), 発現(14), 発現(15), 発現(16), 発現(17), 発現(18), 発現(19), 発現(20), 発現(21). Rows include gene names like ADA, AR, ASSS, etc.

【図26G】

Table with 10 columns: フラッグが付けられたバイオマーカー, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型, 増幅型. Rows include data for various markers and their amplification rates.

【図26H】

Table with 10 columns: 甲株(4), 子(3), 子(10), 全体. Rows include data for various markers and their amplification rates.

【図27B】

Table with 10 columns: 腫瘍(7), 血管腫瘍(4), 骨(3), 神経系(4), 脳(4), 乳癌(10), 軟骨肉腫(5). Rows include data for various markers and their amplification rates.

【図28C】

乳房		小腸		子宮頸部		結合軟部組織	
254		12		16		49	
標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%
87	11.34%	0	0.00%	1	2.04%	6	4.51%
94	12.26%	1	25.00%	4	8.16%	8	8.02%
4	0.52%	0	0.00%	1	2.04%	0	0.00%
2	0.28%	0	0.00%	0	0.00%	1	0.75%
10	1.30%	0	0.00%	1	2.04%	2	1.50%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
88	11.47%	0	0.00%	9	18.37%	26	19.55%
53	6.81%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
46	6.00%	0	0.00%	4	8.16%	0	0.00%
85	11.08%	1	25.00%	9	18.37%	22	16.94%
1	0.13%	0	0.00%	1	2.04%	1	0.75%
6	0.78%	0	0.00%	1	2.04%	3	2.26%
80	10.43%	0	0.00%	2	4.08%	17	12.78%
31	4.04%	1	25.00%	1	2.04%	4	3.01%
4	0.52%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
1	0.13%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
103	13.43%	1	25.00%	6	12.24%	32	24.08%
3	0.39%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
68	9.00%	0	0.00%	9	18.37%	11	8.27%
767	100.00%	4	100.00%	49	100.00%	133	100.00%

【図28D】

子宮体		食道		眼、特定不能		眼球	
22		24		6		1	
標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%
5	6.94%	1	1.47%	0	0.00%	0	0.00%
3	4.17%	7	10.29%	4	28.57%	1	33.33%
0	0.00%	2	2.94%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	2	2.94%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
12	16.67%	19	27.94%	2	14.29%	0	0.00%
5	6.94%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
2	2.78%	7	10.29%	0	0.00%	0	0.00%
8	11.11%	7	10.29%	1	7.14%	1	33.33%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
1	1.39%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
12	16.67%	7	10.29%	2	14.29%	0	0.00%
5	6.94%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
14	19.44%	8	8.82%	3	21.43%	1	33.33%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
5	6.94%	10	14.71%	2	14.29%	0	0.00%
72	100.00%	68	100.00%	14	100.00%	3	100.00%

【図28E】

尿管		肝外胆管		他の口腔		肝内胆管	
2		12		2		4	
標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
1	33.33%	1	3.57%	2	33.33%	1	25.00%
1	33.33%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	2	7.14%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	3	10.71%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	7	25.00%	1	16.67%	1	25.00%
1	33.33%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	3	10.71%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	4	14.29%	0	0.00%	1	25.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	1	3.57%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	6	21.43%	1	16.67%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	1	16.67%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	1	3.57%	1	16.67%	1	25.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
3	100.00%	28	100.00%	6	100.00%	4	100.00%

【図28F】

腎臓		血管・結核		喉頭		口腔	
16		138		4		11	
標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%
10	11.36%	3	0.80%	0	0.00%	0	0.00%
4	4.55%	63	16.71%	1	6.25%	0	0.00%
0	0.00%	2	0.53%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	2	0.53%	0	0.00%	0	0.00%
3	3.41%	12	3.18%	0	0.00%	1	33.33%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
31	35.23%	62	16.45%	4	25.00%	1	33.33%
0	0.00%	1	0.27%	0	0.00%	0	0.00%
1	1.14%	9	2.39%	0	0.00%	0	0.00%
10	11.36%	65	17.24%	2	12.50%	0	0.00%
1	1.14%	1	0.27%	1	6.25%	0	0.00%
1	1.14%	4	1.09%	1	6.25%	0	0.00%
7	7.95%	57	15.12%	1	6.25%	1	33.33%
2	2.27%	1	0.27%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	5	1.33%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
17	19.32%	32	8.49%	3	18.75%	0	0.00%
0	0.00%	1	0.27%	0	0.00%	0	0.00%
1	1.14%	57	15.12%	3	18.75%	0	0.00%
88	100.00%	377	100.00%	16	100.00%	3	100.00%

【図28K】

腎盂、尿管		膀胱		唾液腺		皮膚	
標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%
1	14.29%	0	0.00%	2	4.08%	3	2.31%
1	0.00%	4	10.53%	8	16.33%	25	19.23%
0	0.00%	1	2.63%	2	4.08%	0	0.00%
0	0.00%	1	2.63%	1	2.04%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	1	2.04%	1	0.77%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
3	42.86%	6	15.79%	8	16.33%	11	8.46%
0	0.00%	2	5.26%	0	0.00%	0	0.00%
1	14.29%	0	0.00%	1	2.04%	2	1.54%
1	14.29%	5	13.16%	5	10.20%	21	16.15%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	1	0.77%
1	14.29%	7	18.42%	9	18.37%	15	11.54%
0	0.00%	2	5.26%	1	2.04%	2	1.54%
0	0.00%	1	2.63%	1	2.04%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	7	18.42%	8	16.33%	41	31.54%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	2	5.26%	2	4.08%	8	6.15%
7	100.00%	36	100.00%	49	100.00%	130	100.00%

【図28L】

小腸		胃		精巣		胸腺	
標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%
0	0.00%	2	3.23%	0	0.00%	3	0.1%
2	15.38%	7	11.29%	0	0.00%	7	23.33%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	3	4.84%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
3	23.08%	18	25.81%	3	27.27%	8	26.67%
0	0.00%	2	3.23%	1	9.09%	0	0.00%
0	0.00%	1	1.61%	1	9.09%	0	0.00%
1	7.69%	10	13.13%	1	9.09%	3	10.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	1	1.61%	2	18.18%	2	6.67%
4	30.77%	6	9.68%	2	18.18%	2	6.67%
0	0.00%	4	6.45%	1	9.09%	3	10.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
1	7.69%	4	6.45%	2	18.18%	4	13.33%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
2	15.38%	8	9.68%	0	0.00%	0	0.00%
13	100.00%	62	100.00%	11	100.00%	30	100.00%

【図28M】

甲状腺		舌		未知	
標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%
0	0.00%	0	0.00%	2	1.25%
0	0.00%	2	18.18%	13	8.13%
0	0.00%	1	9.09%	1	0.63%
0	0.00%	0	0.00%	2	1.25%
2	9.52%	0	0.00%	3	1.88%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
6	28.57%	4	36.36%	35	21.88%
1	4.76%	0	0.00%	2	1.25%
2	9.52%	0	0.00%	5	3.13%
3	14.29%	0	0.00%	19	11.88%
0	0.00%	0	0.00%	2	1.25%
0	0.00%	0	0.00%	3	1.88%
2	9.52%	0	0.00%	17	10.63%
2	9.52%	0	0.00%	10	6.25%
0	0.00%	0	0.00%	1	0.63%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
3	14.29%	3	27.27%	31	19.38%
0	0.00%	0	0.00%	1	0.63%
0	0.00%	1	9.09%	13	8.13%
21	100.00%	11	100.00%	160	100.00%

【図28N】

膀胱		子宮、特定不能		腎および尿管		外陰、特定不能	
標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	腫瘍型における%
3	4.82%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
5	7.69%	1	2.22%	1	10.00%	1	25.00%
0	0.00%	1	2.22%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
16	24.62%	6	13.33%	1	10.00%	0	0.00%
0	0.00%	4	8.89%	0	0.00%	0	0.00%
6	12.31%	1	2.22%	0	0.00%	0	0.00%
9	13.85%	6	13.33%	1	10.00%	1	25.00%
1	1.54%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
1	1.54%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
5	7.69%	6	13.33%	2	20.00%	1	25.00%
0	0.00%	1	2.22%	2	20.00%	0	0.00%
1	1.54%	2	4.44%	1	10.00%	0	0.00%
0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0	0.00%
8	12.31%	8	17.78%	2	20.00%	0	0.00%
0	0.00%	1	2.22%	0	0.00%	0	0.00%
8	12.31%	8	17.78%	0	0.00%	1	25.00%
65	100.00%	45	100.00%	10	100.00%	4	100.00%

【 図 2 8 0 】

(プランク)		総計	
16	1382		
標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	種類型における%	標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	IHC
3	5.45%	187	4.82%
5	9.09%	411	10.80%
	0.00%	45	1.16%
1	1.82%	40	1.03%
	0.00%	91	2.35%
	0.00%	1	0.03%
7	12.73%	731	18.85%
4	7.27%	139	3.58%
1	1.82%	143	3.69%
8	14.55%	483	12.45%
	0.00%	13	0.34%
	0.00%	41	1.06%
4	7.27%	439	11.32%
3	5.45%	153	3.95%
1	1.82%	33	0.85%
	0.00%	4	0.10%
10	18.18%	569	14.67%
	0.00%	7	0.18%
8	14.55%	348	8.97%
55	100.00%	3876	100.00%

【 図 2 9 】

頻度順の、標的としてタグが付されたバイオマーカー

標的としてバイオマーカーにフラグが付された回数	種類型における%	IHC
3876	100.00%	総計
731	18.85%	EGFR
569	14.67%	SPARC
483	12.45%	HSP90
439	11.32%	PDGFR
411	10.60%	c-kit
348	8.97%	TOP2A
187	4.82%	アンドロゲン受容体
153	3.95%	PR
143	3.69%	Her2/Neu
139	3.58%	ER
91	2.35%	COX-2
45	1.16%	CD25
41	1.06%	MSH2
40	1.03%	CD52
33	0.85%	PTEN
13	0.34%	MLH1
7	0.18%	サバイビン
4	0.10%	RRM1
1	0.03%	サイクリンD1

【 図 3 0 A 】

種類型	前鼻腺、中耳、および内耳	前腎	肛門管および肛門
遺伝子	バイオマーカーにフラグが付された回数	バイオマーカーにフラグが付された回数	バイオマーカーにフラグが付された回数
ADA	0.00%	0	0.00%
AR	0.00%	1	0.00%
ASNS	0.00%	0	0.00%
ASNS	0.00%	0	0.00%
BRCA1	0.00%	0	0.00%
BRCA2	0.00%	0	0.00%
CD52	0.00%	1	0.00%
CDW52	0.00%	0	0.00%
CEB3	0.00%	4	2.11%
DCP	0.00%	0	0.00%
DHFR	0.00%	0	0.00%
DNMT1	0.00%	8	4.42%
DNMT3A	0.00%	8	4.42%
DNMT3B	7.14%	13	7.18%
EGFR	0.00%	7	3.87%
EPHA2	0.00%	1	0.52%
ERBB2	0.00%	0	0.00%
ERCC3	0.00%	0	0.00%
ESR1	0.00%	0	0.00%
FLT1	0.00%	1	0.52%
GAT1	7.14%	1	0.52%
GRRH1	0.00%	0	0.00%
HEP1A	7.14%	8	4.37%
HSP90A1	0.00%	0	0.00%
HSPCA	0.00%	0	0.00%
IL3RA	0.00%	0	0.00%
KIF	0.00%	1	0.52%
KIT	0.00%	5	2.61%
LCK	0.00%	0	0.00%
MDM2	7.14%	5	2.61%
MLH1	0.00%	0	0.00%
MSH2	0.00%	0	0.00%
NFKB1	0.00%	4	2.11%
NFKB2	7.14%	1	0.52%
NFKBIA	7.14%	5	2.61%
PDGFR	0.00%	2	1.05%
PDGFRA	7.14%	0	0.00%
PDGFRB	7.14%	5	2.61%
PCP4	0.00%	2	1.05%
PTEN	0.00%	0	0.00%
PTGS2	0.00%	0	0.00%
RARA	0.00%	0	0.00%
RRM1	0.00%	0	0.00%
ROR2	0.00%	0	0.00%
RRM3B	0.00%	3	1.56%
RXRG	0.00%	0	0.00%
SPARC	7.14%	23	12.74%
SRC	0.00%	1	0.52%
SSTR1	0.00%	2	1.05%
SSTR2	0.00%	0	0.00%
SSTR3	7.14%	3	1.56%
SSTR4	0.00%	1	0.52%
SSTR5	0.00%	4	2.11%
TOP1	7.14%	7	3.61%
TOP2A	7.14%	8	4.37%
TOP2B	7.14%	4	2.11%
TYMS	0.00%	1	0.52%
VEG	7.14%	1	0.52%
VEGF	0.00%	0	0.00%
VEGFA	0.00%	4	2.11%
VHL	0.00%	0	0.00%
YES1	0.00%	3	1.56%
ZAP70	0.00%	0	0.00%
総計	14	181	47

【 図 3 0 B 】

遺伝子	血液、骨髄、および造血系	骨および関連	脳および脳神経および脊髄(脳室、小脳を除く)
遺伝子	バイオマーカーにフラグが付された回数	バイオマーカーにフラグが付された回数	バイオマーカーにフラグが付された回数
ADA	0.00%	0	0.00%
AR	2.94%	1	12.50%
ASNS	0.00%	0	0.00%
ASNS	0.00%	0	0.00%
BRCA1	0.00%	0	0.00%
BRCA2	0.00%	0	0.00%
CD52	0.00%	0	0.00%
CDW52	0.00%	0	0.00%
CEB3	0.00%	4	22.11%
DCP	0.00%	0	0.00%
DHFR	0.00%	0	0.00%
DNMT1	0.00%	8	44.21%
DNMT3A	0.00%	8	44.21%
DNMT3B	7.14%	13	71.8%
EGFR	0.00%	7	38.7%
EPHA2	0.00%	1	0.52%
ERBB2	0.00%	0	0.00%
ERCC3	0.00%	0	0.00%
ESR1	0.00%	0	0.00%
FLT1	0.00%	1	0.52%
GAT1	7.14%	1	0.52%
GRRH1	0.00%	0	0.00%
HEP1A	7.14%	8	43.7%
HSP90A1	0.00%	0	0.00%
HSPCA	0.00%	0	0.00%
IL3RA	0.00%	0	0.00%
KIF	0.00%	1	0.52%
KIT	0.00%	5	26.1%
LCK	0.00%	0	0.00%
MDM2	7.14%	5	26.1%
MLH1	0.00%	0	0.00%
MSH2	0.00%	0	0.00%
NFKB1	0.00%	4	21.1%
NFKB2	7.14%	1	0.52%
NFKBIA	7.14%	5	26.1%
PDGFR	0.00%	2	10.5%
PDGFRA	7.14%	0	0.00%
PDGFRB	7.14%	5	26.1%
PCP4	0.00%	2	10.5%
PTEN	0.00%	0	0.00%
PTGS2	0.00%	0	0.00%
RARA	0.00%	0	0.00%
RRM1	0.00%	0	0.00%
ROR2	0.00%	0	0.00%
RRM3B	0.00%	3	15.6%
RXRG	0.00%	0	0.00%
SPARC	7.14%	23	127.4%
SRC	0.00%	1	0.52%
SSTR1	0.00%	2	10.5%
SSTR2	0.00%	0	0.00%
SSTR3	7.14%	3	15.6%
SSTR4	0.00%	1	0.52%
SSTR5	0.00%	4	21.1%
TOP1	7.14%	7	36.1%
TOP2A	7.14%	8	43.7%
TOP2B	7.14%	4	21.1%
TYMS	0.00%	1	0.52%
VEG	7.14%	1	0.52%
VEGF	0.00%	0	0.00%
VEGFA	0.00%	4	21.1%
VHL	0.00%	0	0.00%
YES1	0.00%	3	15.6%
ZAP70	0.00%	0	0.00%
総計	102	8	230

【図30G】

計画	前および後進		リンパ節		腫瘍 (大腸、腎臓)	
	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数
1	3.33%	31	2.50%	7	3.33%	0.00%
2	0.00%	1	0.11%	3	2.27%	0.00%
3	0.00%	1	0.09%	0	0.00%	0.00%
4	0.00%	2	0.22%	2	1.82%	0.00%
5	0.00%	0	0.00%	2	1.52%	0.00%
6	0.00%	4	0.33%	4	3.03%	0.00%
7	0.00%	18	1.50%	4	3.50%	0.00%
8	0.00%	13	1.08%	5	4.50%	0.00%
9	0.00%	2	0.22%	2	1.52%	0.00%
10	0.00%	17	1.35%	1	0.78%	0.00%
11	0.00%	39	3.25%	8	6.65%	0.00%
12	0.00%	49	4.08%	3	2.52%	0.00%
13	0.00%	19	1.52%	2	1.52%	0.00%
14	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0.00%
15	0.00%	8	0.67%	0	0.00%	0.00%
16	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
17	0.00%	4	0.33%	6	5.00%	0.00%
18	0.00%	48	3.92%	4	3.50%	0.00%
19	0.00%	12	0.98%	3	2.52%	0.00%
20	0.00%	37	3.00%	3	2.27%	0.00%
21	0.00%	12	0.98%	1	0.78%	0.00%
22	0.00%	1	0.11%	1	0.78%	0.00%
23	0.00%	1	0.11%	1	0.78%	0.00%
24	0.00%	12	0.98%	1	0.78%	0.00%
25	0.00%	12	0.98%	0	0.00%	0.00%
26	0.00%	50	4.08%	2	1.52%	0.00%
27	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
28	0.00%	1	0.11%	0	0.00%	0.00%
29	0.00%	51	4.08%	0	0.00%	0.00%
30	0.00%	36	2.92%	6	5.00%	0.00%
31	0.00%	48	3.92%	4	3.50%	0.00%
32	0.00%	4	0.33%	0	0.00%	0.00%
33	0.00%	10	0.82%	0	0.00%	0.00%
34	0.00%	1	0.11%	0	0.00%	0.00%
35	0.00%	8	0.67%	5	4.17%	0.00%
36	0.00%	2	0.22%	1	0.78%	0.00%
37	0.00%	3	0.25%	6	5.00%	0.00%
38	0.00%	24	1.92%	0	0.00%	0.00%
39	0.00%	4	0.33%	0	0.00%	0.00%
40	0.00%	14	1.12%	4	3.50%	0.00%
41	0.00%	8	0.67%	2	1.52%	0.00%
42	0.00%	17	1.35%	2	1.52%	0.00%
43	0.00%	43	3.42%	11	8.33%	0.00%
44	0.00%	18	1.42%	7	5.33%	0.00%
45	0.00%	18	1.42%	1	0.78%	0.00%
46	0.00%	39	3.12%	8	6.00%	0.00%
47	0.00%	42	3.33%	4	3.00%	0.00%
48	0.00%	96	7.68%	1	0.78%	0.00%
49	0.00%	1	0.11%	1	0.78%	0.00%
50	0.00%	32	2.56%	2	1.52%	0.00%
51	0.00%	7	0.56%	1	0.78%	0.00%
52	0.00%	13	1.04%	1	0.78%	0.00%
53	0.00%	11	0.88%	1	0.78%	0.00%
54	0.00%	7	0.56%	0	0.00%	0.00%
55	0.00%	1	0.11%	0	0.00%	0.00%
56	0.00%	1	0.11%	0	0.00%	0.00%
57	0.00%	1	0.11%	0	0.00%	0.00%
58	0.00%	1	0.11%	0	0.00%	0.00%
59	0.00%	1	0.11%	0	0.00%	0.00%
60	100.00%	692	55.36%	132	100.00%	0.00%

【図30H】

計画	前および後進		リンパ節		腫瘍 (大腸、腎臓)	
	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数
1	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0.00%
2	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
3	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
4	0.00%	2	0.16%	0	0.00%	0.00%
5	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0.00%
6	0.00%	4	0.32%	4	3.12%	0.00%
7	0.00%	18	1.44%	4	3.75%	0.00%
8	0.00%	13	1.04%	5	4.69%	0.00%
9	0.00%	2	0.16%	2	1.88%	0.00%
10	0.00%	17	1.36%	1	0.94%	0.00%
11	0.00%	39	3.04%	8	7.50%	0.00%
12	0.00%	49	3.76%	3	2.71%	0.00%
13	0.00%	19	1.44%	2	1.88%	0.00%
14	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0.00%
15	0.00%	8	0.64%	0	0.00%	0.00%
16	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
17	0.00%	4	0.32%	6	5.62%	0.00%
18	0.00%	48	3.68%	4	3.75%	0.00%
19	0.00%	12	0.96%	3	2.81%	0.00%
20	0.00%	37	2.88%	3	2.81%	0.00%
21	0.00%	12	0.96%	1	0.94%	0.00%
22	0.00%	1	0.08%	1	0.94%	0.00%
23	0.00%	1	0.08%	1	0.94%	0.00%
24	0.00%	12	0.96%	1	0.94%	0.00%
25	0.00%	12	0.96%	0	0.00%	0.00%
26	0.00%	50	3.84%	2	1.88%	0.00%
27	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
28	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
29	0.00%	51	3.92%	0	0.00%	0.00%
30	0.00%	36	2.88%	6	5.62%	0.00%
31	0.00%	48	3.68%	4	3.75%	0.00%
32	0.00%	4	0.32%	0	0.00%	0.00%
33	0.00%	10	0.76%	0	0.00%	0.00%
34	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
35	0.00%	8	0.64%	5	4.69%	0.00%
36	0.00%	2	0.16%	1	0.94%	0.00%
37	0.00%	3	0.24%	6	5.62%	0.00%
38	0.00%	24	1.84%	0	0.00%	0.00%
39	0.00%	4	0.32%	0	0.00%	0.00%
40	0.00%	14	1.04%	4	3.75%	0.00%
41	0.00%	8	0.64%	2	1.88%	0.00%
42	0.00%	17	1.36%	2	1.88%	0.00%
43	0.00%	43	3.28%	11	10.31%	0.00%
44	0.00%	18	1.36%	7	6.56%	0.00%
45	0.00%	18	1.36%	1	0.94%	0.00%
46	0.00%	39	2.96%	8	7.50%	0.00%
47	0.00%	42	3.16%	4	3.75%	0.00%
48	0.00%	96	7.28%	1	0.94%	0.00%
49	0.00%	1	0.08%	1	0.94%	0.00%
50	0.00%	32	2.48%	2	1.88%	0.00%
51	0.00%	7	0.56%	1	0.94%	0.00%
52	0.00%	13	0.96%	1	0.94%	0.00%
53	0.00%	11	0.84%	1	0.94%	0.00%
54	0.00%	7	0.56%	0	0.00%	0.00%
55	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
56	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
57	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
58	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
59	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
60	100.00%	692	55.36%	132	100.00%	0.00%

【図30I】

計画	前および後進		リンパ節		腫瘍 (大腸、腎臓)		
	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	
1	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0.00%	
2	0.00%	1	0.12%	26	5.86%	0.00%	
3	0.00%	1	0.12%	1	0.21%	0.00%	
4	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
5	0.00%	1	0.12%	2	0.42%	0.00%	
6	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0.00%	
7	0.00%	11	1.56%	16	3.34%	0.00%	
8	0.00%	27	3.24%	15	3.19%	0.00%	
9	0.00%	11	1.56%	1	0.21%	0.00%	
10	0.00%	12	1.56%	13	2.71%	0.00%	
11	0.00%	17	2.04%	10	2.08%	0.00%	
12	0.00%	44	5.28%	4	0.82%	0.00%	
13	0.00%	15	1.88%	9	1.88%	0.00%	
14	0.00%	7	0.84%	4	0.82%	0.00%	
15	0.00%	11	1.56%	7	1.42%	0.00%	
16	0.00%	0	0.00%	1	0.21%	0.00%	
17	0.00%	19	2.28%	1	0.21%	0.00%	
18	0.00%	3	0.36%	1	0.21%	0.00%	
19	0.00%	45	5.40%	29	6.06%	0.00%	
20	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
21	0.00%	46	5.52%	31	6.47%	0.00%	
22	0.00%	20	2.40%	8	1.68%	0.00%	
23	0.00%	16	1.92%	8	1.68%	0.00%	
24	0.00%	2	0.24%	0	0.00%	0.00%	
25	0.00%	3	0.36%	0	0.00%	0.00%	
26	0.00%	2	0.24%	4	0.82%	0.00%	
27	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0.00%	
28	0.00%	46	5.52%	23	4.78%	0.00%	
29	0.00%	2	0.24%	1	0.21%	0.00%	
30	0.00%	11	1.32%	1	0.21%	0.00%	
31	0.00%	29	3.48%	1	0.21%	0.00%	
32	0.00%	49	5.88%	19	3.97%	0.00%	
33	0.00%	20	2.40%	21	4.38%	0.00%	
34	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0.00%	
35	0.00%	0	0.00%	9	1.88%	0.00%	
36	0.00%	2	0.24%	17	3.54%	0.00%	
37	0.00%	2	0.24%	1	0.21%	0.00%	
38	0.00%	1	0.12%	1	0.21%	0.00%	
39	0.00%	3	0.36%	22	4.59%	0.00%	
40	0.00%	1	0.12%	1	0.21%	0.00%	
41	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
42	0.00%	0	0.00%	2	0.42%	0.00%	
43	0.00%	3	0.36%	4	0.82%	0.00%	
44	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
45	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
46	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
47	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
48	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
49	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
50	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
51	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
52	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
53	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
54	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
55	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
56	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
57	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
58	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
59	0.00%	1	0.12%	0	0.00%	0.00%	
60	100.00%	831	100.00%	472	100.00%	12	100.00%

【図30J】

計画	前および後進		リンパ節		腫瘍 (大腸、腎臓)	
	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数	バイオマーカーに付された回数
1	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0.00%
2	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
3	0.00%	1	0.08%	0	0.00%	0.00%
4	0.00%	2	0.16%	0	0.00%	0.00%
5	0.00%	0	0.00%	0	0.00%	0.00%
6	0.00%	4	0.32%	4	3.12%	0.00%
7	0.00%	18	1.44%	4	3.75%	0.00%
8	0.00%	13	1.04%			

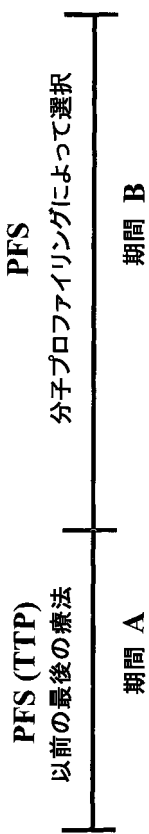
【図 3 0 0】

(プランク)			
バイオマーカーにフラグが付された患者数	腫瘍型に占める割合	患者数	遺伝子
4	4.82%	371	4.18% AKT
4	0.00%	65	0.72% AR
4	0.00%	192	1.13% ASNS
3	0.00%	11	0.01% ASNS
3	0.00%	78	0.84% BRCA1
1	1.20%	120	1.32% BRCA2
4	0.00%	4	0.01% CD32
4	0.00%	16	0.18% CDW52
2	0.00%	213	2.35% CES2
2	2.41%	182	2.01% CEN
3	0.00%	59	0.64% DHFR
3	3.61%	151	1.67% DNMT3B
3	3.61%	287	2.6% DNMT3A
5	8.62%	339	3.74% DNMT3B
1	0.00%	120	1.32% EGF
1	1.20%	87	0.41% EPHA2
1	0.00%	66	0.73% ERBB2
1	0.00%	11	0.01% ERCC3
2	2.41%	87	0.51% ESR1
1	1.20%	100	1.10% FLT1
5	6.12%	360	4.0% GART
1	0.00%	1	0.01% GNRH1
3	3.61%	348	3.82% HIF1A
1	0.00%	1114	1.22% HSP90AA1
1	1.20%	61	0.69% HSPCA
1	0.00%	9	0.07% IL13NA
3	0.00%	38	0.43% IGF1R
2	0.00%	68	0.77% KIT
2	0.00%	2	0.02% LCK
4	4.82%	386	4.29% MGMT
1	1.20%	14	0.15% MLH1
1	1.20%	49	0.55% MSH2
3	3.61%	278	3.07% NFKB1
3	3.61%	821	3.54% NFKB2
4	4.82%	385	4.29% NFKBIA
4	0.00%	41	0.45% PDGFR
1	0.00%	71	0.79% PDGFRA
1	0.00%	228	2.53% PDGFRB
1	0.00%	22	0.24% PGR
1	1.20%	21	0.23% PTEN
1	0.00%	100	1.10% PTGS2
1	0.00%	9	0.10% RARA
1	0.00%	61	0.69% RRM1
2	2.41%	159	1.75% RRM2
1	1.20%	114	1.26% RRM2B
1	1.20%	26	0.29% ROR2
2	2.41%	260	2.81% SPARC
2	2.41%	188	1.50% SRC
1	1.20%	152	1.60% SSTR1
1	1.20%	101	1.11% SSTR2
3	3.61%	385	4.27% SSTR3
2	2.41%	167	1.80% SSTR4
1	1.20%	96	1.05% SSTR5
4	4.82%	390	4.37% TQPI
4	4.82%	388	4.27% TOP2A
4	4.82%	393	4.37% TOP2B
2	2.41%	80	1.00% TVMS
1	1.20%	318	3.51% VDR
1	1.20%	130	1.52% VEGF
2	2.41%	181	2.00% VEGFA
1	1.20%	53	0.6% VHL
1	0.00%	79	0.87% YES1
1	0.00%	2	0.02% ZAP70
83	100.00%	1063	100.00% 総計

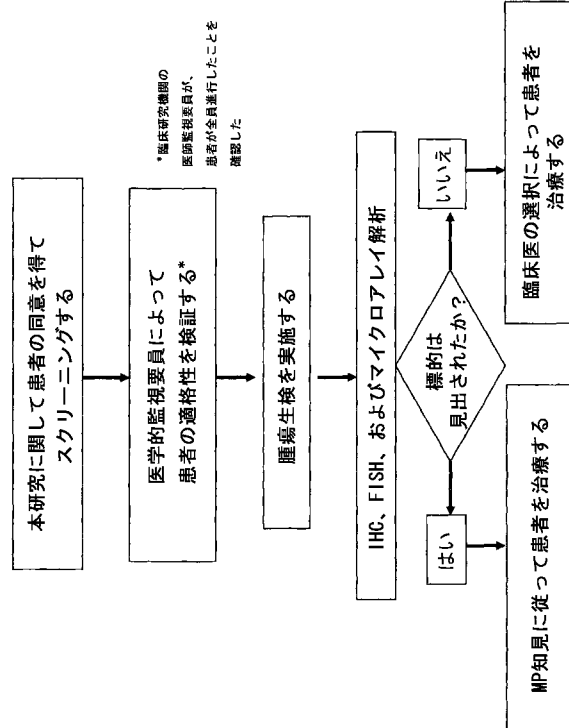
【図 3 1】

腫瘍型	割合 (%)	患者数
396	4.39%	MGMT
396	4.37%	SSTR3
396	4.37%	TQPI
395	4.36%	NFKBIA
384	4.24%	TOP2A
379	4.18%	ADA
359	4.07%	TOP2B
356	4.04%	GART
349	3.82%	HIF1A
339	3.74%	DNMT3B
331	3.54%	NFKB2
318	3.51%	VDR
278	3.07%	NFKB1
257	2.85%	DNMT3A
260	2.87%	SPARC
229	2.53%	PDGFRB
213	2.35%	CES2
182	2.01%	CEN
181	2.00%	VEGFA
167	1.80%	SSTR4
159	1.75%	RRM2
152	1.65%	SSTR1
151	1.67%	DNMT1
136	1.52%	VEGF
134	1.45%	SRG
128	1.39%	EGFR
120	1.32%	BRCA2
114	1.26%	GNRH1
111	1.22%	HSP90AA1
102	1.13%	ASNS
101	1.11%	SSTR2
100	1.10%	FLT1
100	1.10%	PTGS2
86	1.06%	SSTR5
80	0.87%	TTMS
80	0.87%	KIT
87	0.96%	ESR1
81	0.89%	HSPCA
79	0.87%	YES1
78	0.84%	BRCA1
71	0.79%	PDGFRA
66	0.73%	ERBB2
65	0.72%	AKT
61	0.67%	RRM1
58	0.64%	DHFR
60	0.63%	UHL
49	0.54%	MSH2
41	0.45%	PDGFR
39	0.43%	KDR
37	0.41%	EPHA2
28	0.29%	RXRG
22	0.24%	PGR
211	0.23%	PTEN
16	0.18%	CDW52
14	0.15%	MLM1
9	0.10%	RARA
6	0.07%	IL13NA
4	0.04%	CD32
2	0.02%	LCK
11	0.03%	ZAP70
1	0.01%	ASNS
1	0.01%	ERCC3
1	0.01%	GNRH1

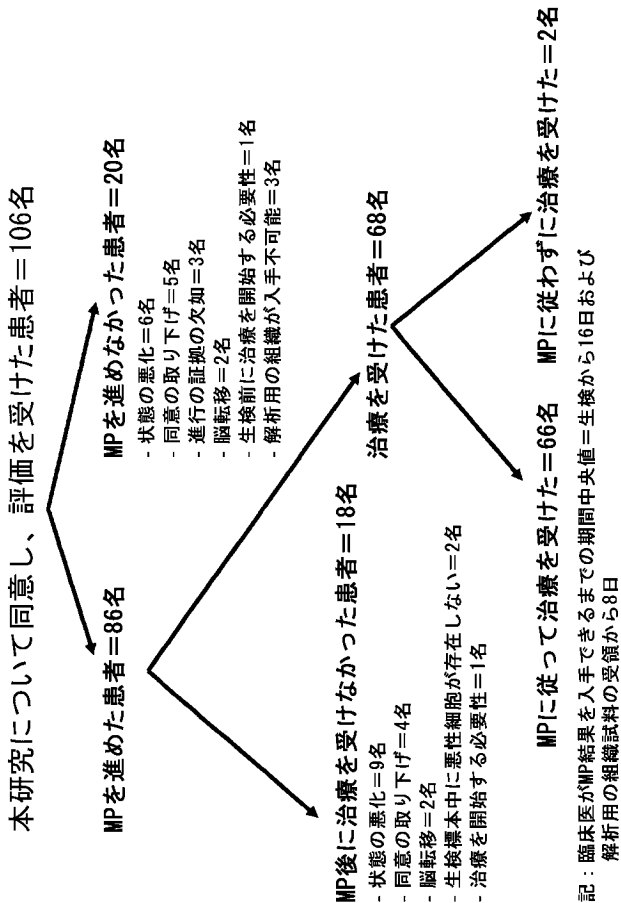
【図 3 2】



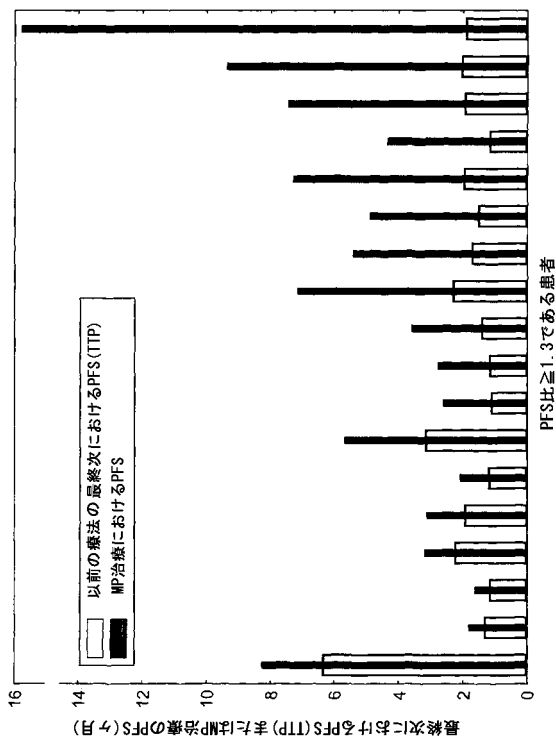
【図 3 3】



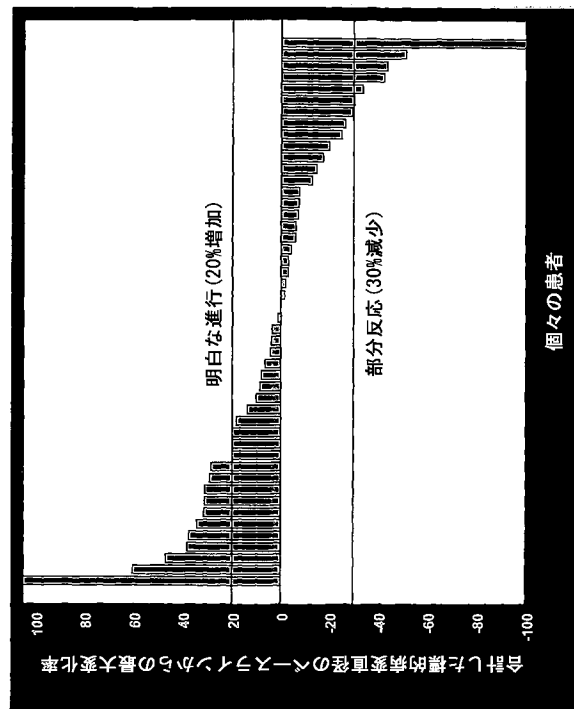
【 図 3 4 】



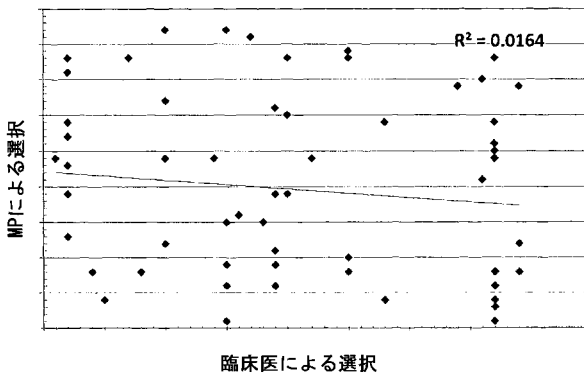
【 図 3 5 】



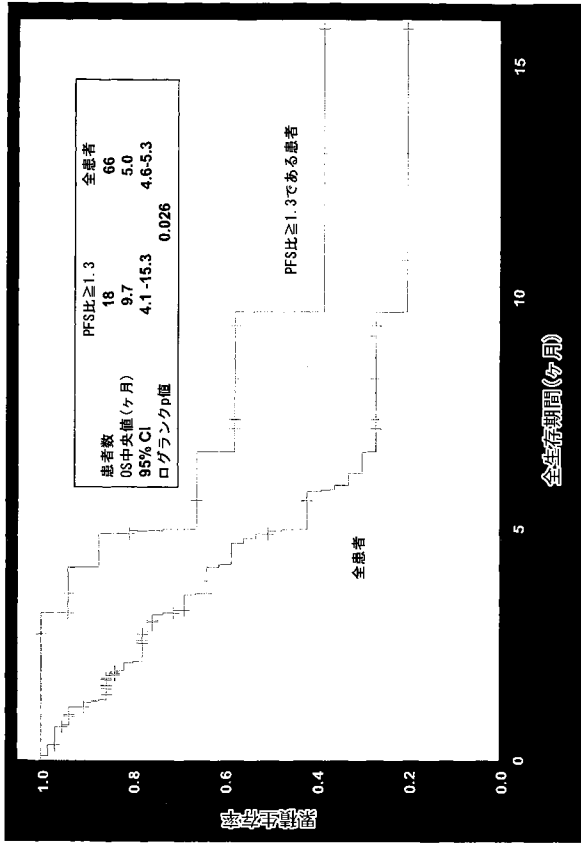
【 図 3 6 】



【 図 3 7 】



【 図 3 8 】



【 図 3 9 】

ホルマリン固定組織におけるRNA発現のマイクロアレイ解析

遺伝子	比	発現	有意な結果	遺伝子	比	発現	有意な結果	遺伝子	比	発現	有意な結果
KIT	0.10	不確定		RRM1	0.79	変化なし		DHFR	1.27	変化なし	
TOP2B	0.22	過小発現		PDGFRB	0.91	変化なし		ABCG2	1.28	変化なし	
DGFR	0.23	不確定		NFKB1	0.93	変化なし		TNF	1.31	不確定	
MLH1	0.29	不確定		LYN	0.94	変化なし		NFKB2	1.32	不確定	
CD33	0.31	不確定		DNMT3A	0.94	不確定		CDA	1.33	変化なし	
SSTR2	0.31	不確定		CD52	0.95	不確定		HSP90AA1	1.34	変化なし	
AR	0.42	不確定		TOP2A	0.97	不確定		BARA	1.42	不確定	
ERCC3	0.43	不確定		RXRG	0.97	不確定		CES2	1.44	変化なし	
PDGFRA	0.44	過小発現		HCK	0.97	変化なし		TYMS	1.50	不確定	
SPARC	0.45	過小発現		PTEN	1.01	変化なし		HIF1A	1.64	過剰発現	✓
PGR	0.50	不確定		BRC1	1.01	不確定		SRC	1.64	不確定	
RAF1	0.50	過小発現		FLT1	1.04	不確定		MGMT	1.73	過剰発現	✓
GART	0.55	過小発現		DNMT3B	1.05	不確定		VDR	1.83	不確定	
FOXR2	0.57	過小発現		SSTR3	1.05	不確定		CSTP1	1.84	過剰発現	
ADA	0.57	過小発現		DNMT1	1.11	変化なし		EGFR	1.94	不確定	
POLA1	0.59	不確定		KLRF1	1.12	不確定		TK1	1.94	過剰発現	
ZAP70	0.59	不確定		SSTR4	1.13	不確定		BIRC5	2.14	不確定	
ESR1	0.63	不確定		BRC2	1.16	不確定		MSH2	2.17	不確定	
LCK	0.63	不確定		HDAC1	1.17	変化なし		VEGFA	2.22	過剰発現	
TNFRD1	0.64	不確定		SNRH1	1.18	変化なし		EPHA2	2.35	不確定	
SSTR1	0.65	不確定		ERCC1	1.19	不確定		VHL	2.75	過剰発現	
VDR	0.66	不確定		RRM2B	1.19	変化なし		SSTR5	3.43	不確定	
PDGFC	0.68	変化なし		RXRB	1.20	変化なし		ABCC1	3.59	不確定	
FYN	0.71	変化なし		MSA1	1.20	不確定		ECGF1	4.08	過剰発現	
DCK	0.71	変化なし		ENBB2	1.23	変化なし		RRM2	9.01	不確定	
ASNS	0.75	変化なし		TOP1	1.25	不確定		PTGS2	9.21	過剰発現	✓
BCL2	0.77	不確定		YES1	1.25	変化なし					

*FFPE材料におけるRNAの分解は、特定の遺伝子群に対して過小発現のコールをもたらす場合がある。しかしながら、この患者から抽出されたRNAが、本試験の性能に関して存続できる質のものであったことに留意されたい。

【 図 4 0 A 】

TARGET NOW CARIS LIFE SCIENCES

PATIENT INFORMATION
 Case Number: MP-TN03-00000 Ordering Physician: Test Ordering Physician, MD
 Patient: Jane Doe Primary Tumor Site: Ovary
 Date of Birth: 01/01/1960 Test Organization: Test Organization
 Sex: Female 1234 Main Street Specimen Site: Consecutive Tissue
 SSN: 1234567890 Dallas, TX 75138 Specimen Collector: 01/16/2000
 Date Reported: 10/1/2000

Interpretation: Received one paraffin block labeled "123456-A1" from Test University Medical Center, Greenville, SC, with the corresponding surgical pathology report disclosing:
 Macro right back, excision. Metastatic adenocarcinoma, extending to inked resection margins.
 Interpretation is done by Dr. Ashfaq and signed out by Dr. Gupta for Dr. Ashfaq.

Clinical History: Per the submitted patient history, the patient is a 30-year-old female with a history of cancer of unknown primary. She underwent a back mass excision in January 2000 showing metastatic adenocarcinoma. No history of prior therapies were provided.

TARGET NOW SUMMARY - AGENTS ASSOCIATED WITH CLINICAL BENEFIT
 The use of Target Now is clinically validated and therefore associated with clinical benefit or lack of clinical benefit for agents patients. The addition of any of or none of the matched agents results with the direction of the treating physician. If a patient's tumor has previously progressed on an agent identified as associated with clinical benefit on this report, the patient should not be re-treated with that agent.

Biomarker	Assay	Results	Agents Associated With CLINICAL BENEFIT
TOP1	IHC	Significant (+2, 85%)	irinotecan
PDGFR	IHC	Significant (+2, 80%)	imatinib
c-Kit	IHC	Significant (+2, 50%)	imatinib
SPARC	IHC	Significant (+2, 50%)	nal-paclitaxel
ER	IHC	Significant (+1, 20%)	tamoxifen, aromatase inhibitors (anastrozole, letrozole)
PTGS2	Microarray	Increased (9.21)	celecoxib
HIF1A	Microarray	Increased (1.64)	sorafenib, sunitinib, bevacizumab
GART	Microarray	Decreased (1.55)	peritrexed

【 図 4 0 B 】

TARGET NOW CARIS LIFE SCIENCES

PATIENT INFORMATION
 Case Number: MP-TN03-00000 Ordering Physician: Test Ordering Physician, MD

TARGET NOW SUMMARY

Biomarker	Assay	Results	Agents Associated With LACK OF CLINICAL BENEFIT
MGMT	IHC	Significant (+3, 50%)	tenoxicam
MGMT	Microarray	Increased (1.73)	tenoxicam
ERCC1	IHC	Significant (+2, 80%)	oxiplatin, carboplatin
BCRP	IHC	Significant (+2, 60%)	oxiplatin, carboplatin
RRM1	IHC	Significant (+2, 80%)	gemtacin
MRP1	IHC	Significant (+2, 40%)	etoposide, vincristine
PGP	IHC	Significant (+1, 10%)	etoposide, vincristine
TS	IHC	Significant (+2, 35%)	fluoropyrimidines

【 図 4 0 C 】

TARGET NOW CARIS LIFE SCIENCES

PATIENT INFORMATION
 Patient: Jane Doe Case Number: MP-TN03-00000 Ordering Physician: Test Ordering Physician, MD

Biomarker	Information on Therapeutic Impact from Literature	Literature Level of Evidence
SPARC	High SPARC protein was associated with response to nab-epidolone-based combination therapy	III / Good
TOP1	High expression of TOP1 has been associated with a higher response rate when treated with etoposide	II-3 / Fair
PGP	High expression of P-glycoprotein has been associated with lack of response to Etoposide and Vinorelbine	II-3 / Fair
BCRP	High expression of BCRP has been associated with shorter progression-free (PFS) and overall survival (OS), when treated with platinum-based combination chemotherapy	II-3 / Good
MRP1	High expression of MRP1 has been associated with lack of response to Etoposide and Vinorelbine	II-3 / Fair
TS	High TS expression levels are associated with poor response to fluoropyrimidines and shorter OS and DFS.	II-3 / Good
ERCC1	High expression of ERCC1 has been associated with lower response rates and a significantly shorter median progression-free and overall survival when treated with platinum-based chemotherapy	II-3 / Good
RRM1	High RRM1 expression was associated with lack of response to gemtacin and poor outcome	II-2 / Good
MGMT	High expression of MGMT has been associated with resistance to temozolomide-based therapy	II-3 / Good
c-Kit	High expression of c-Kit has been associated with significantly better survival, when treated with imatinib	II-2 / Fair
PDGFR	High expression of PDGFR has been associated with response to imatinib treatment	III / Fair
ER	High expression of ER has been associated with response to endocrine therapy	II-3 / Good
GART		
HIF1A		
MGMT		
PTGS2		

Biomarker associations with drugs based on microarray results have been identified by mechanistic association

【 4 0 D 】

TARGETNOW



PATIENT INFORMATION Patient: Jane Doe Case Number: MP-TND0-0000 Ordering Physician: Test Ordering Physician, MD

IHC Biomarker Detail table with columns: Biomarker, Staining Result, Patient Tumor Staining Intensity, Percent Staining, Threshold/Percent, and Biomarker Intensity/Percentage.

*Came De has defined threshold levels of reactivity for IHC to establish cutoff points based on published evidence. **All significant results are reflected in the Target Now Summary. ***SPARC results reflect analyses performed with both monoclonal and polyclonal antibodies.

【 4 0 E 】

TARGETNOW



PATIENT INFORMATION Patient: Jane Doe Case Number: MP-TND0-0000 Ordering Physician: Test Ordering Physician, MD

Microarray Analysis of RNA Expression on Formalin-Fixed Tissue table with columns: Gene, Rate, Expression, Log2 Ratio, Gene, Rate, Expression, Log2 Ratio.

*No Change indicates that there is no difference in expression for this gene between the tumor and control tissues at a significance level of p=0.001. A significance level of p=0.001 has been chosen as a gene passing this threshold can be validated as differentially expressed by alternative methods approximately 90% of the time.

RNA extracted from this patient was of acceptable quality for performance of this test. The expression profiles obtained with FFPE samples show more variability and may differ from expression profiles obtained with fresh frozen samples.

Methodology Total RNA is extracted from tumor tissue and is converted to cDNA. The cDNA sample is then subjected to a whole genome (24K) microarray analysis using Illumina DNA microarray technology, selection, extension and hybridization (ASL) process.

【 4 0 F 】

TARGETNOW



PATIENT INFORMATION Patient: Jane Doe Case Number: MP-TND0-0000 Ordering Physician: Test Ordering Physician, MD

Appendix table with columns: Target, Biomarker Description. Includes descriptions for BCRP, c-Kit, ER, ERCC1, MGMT, MRP1, PDGFR, PDP, RRM1, and SPARC.

【 4 0 G 】

TARGETNOW



PATIENT INFORMATION Patient: Jane Doe Case Number: MP-TND0-0000 Ordering Physician: Test Ordering Physician, MD

Appendix table with columns: Target, Biomarker Description. Includes descriptions for TOP1 and TS.

【 40H 】

TARGET NOW



PATIENT INFORMATION Patient: Jane Doe Case Number: MP-1N0-0000 Ordering Physician: Test Ordering Physician, MD

LITERATURE LEVEL OF EVIDENCE

Table with columns: Target, Reference, Level of Evidence. Lists various targets like BCRP, MDR1, ERCC1, MGMT, MRP1, PGP, RRM1, SPARC with their respective evidence levels.

【 40I 】

TARGET NOW



PATIENT INFORMATION Patient: Jane Doe Case Number: MP-1N0-0000 Ordering Physician: Test Ordering Physician, MD

LITERATURE LEVEL OF EVIDENCE

Table with columns: Target, Reference, Level of Evidence. Lists targets like SPARC, TOP1, TS with their respective evidence levels.

【 40J 】

TARGET NOW



PATIENT INFORMATION Patient: Jane Doe Case Number: MP-1N0-0000 Ordering Physician: Test Ordering Physician, MD

LITERATURE LEVEL OF EVIDENCE ASSESSMENT FRAMEWORK*

Table with columns: Hierarchy of Design, Criteria, Grade, Criteria. Details the assessment framework for evidence levels I, II-1, II-2, II-3, and III.

Disclaimer text regarding the use of CARIS MR1 and the responsibility of the user in interpreting results and making clinical decisions.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 10/00407
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - G01N 33/574 (2010.01) USPC - 435/7.23 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - G01N 33/574 (2010.01) USPC - 435/7.23 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 422/50; 435/6, 7.23, 174, 283.1, 960; 382/129, 133; 702/19, 20, 22 (Text Search) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST (PGPB, USPT, USOC, EPAB, JPAB); Google Scholar and PubMed. Search Terms: molecular, profilis, treatment, therap\$, regimen, database, compar\$, marker, biomarker, fluorescent in-situ hybridization, FISH, mutation, EGFR, Her2, PGP, TS, ERCC1, RRM1, BCRP, TOP1, MRP1, MGMT, immunohistochemistry, IHC, expression.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2008/0014146 A1 (VON HOFF et al.) 17 January 2008 (17.01.2008) table 1; para [0008]-[0010], [0013], [0014], [0024], [0055]-[0058].	1-3, 4-8/(1-3), 9-10, 11-13/(1-3), 14-23, 24-35/(1-3), 36 and 37-49/(1-3)
Y	US 2008/0090233 A1 (GARCIA et al.) 17 April 2008 (17.04.2008) table 7A, 7B; para [0007], [0014], [0015], [0069], [0070], [0072], [0114], [0119], [0120], [0132], [0148]-[0156], [0157], [0182]-[0185], [0187].	1-3, 4-8/(1-3), 9-10, 11-13/(1-3), 14-23, 24-35/(1-3), 36 and 37-49/(1-3)
Y	US 2004/0058352 A1 (STEIN et al.) 25 March 2004 (25.03.2004) claim 3; para [0001], [0003], [0006], [0011], [0013].	3, 4-8/3, 11-13/3, 24-28/3, 29/(1-3), 30-35/3 and 37-49/3
Y	US 2004/0265813 A1 (TAKECHI et al.) 30 December 2004 (30.12.2004) table 4; para [0013], [0016], [0026], [0031], [0039], [0114].	3, 4-8/3, 11-13/3, 24-28/3, 29/(1-3), 30-35/3 and 37-49/3
Y	US 2006/0019256 A1 (CLARKE et al.) 26 January 2006 (26.01.2006) table 4-6, 7A-D and 8; para [0033], [0112], [0113], [0122], [0123].	3, 4-8/3, 11-13/3, 24-28/3, 29/(1-3), 30-35/3 and 37-49/3
Y	US 2007/0050146 A1 (BENTWICH et al.) 01 March 2007 (01.03.2007) table 8, 9; para [0140].	3, 4-8/3, 11-13/3, 24-28/3, 29/(1-3), 30-35/3 and 37-49/3
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* 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 application or patent 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 10 June 2010 (10.06.2010)		Date of mailing of the international search report 20 JUL 2010
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 10/00407

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MARIELLE, I. et al. Integration of Gene Dosage and Gene Expression in Non-Small Cell Lung Cancer, Identification of HSP90 as Potential Target. PLoS ONE. 05 March 2008, Vol 3(3), e1722, pages 1-7: abstract; pg 4, col 2, para 2.	3, 4-8/3, 11-13/3, 24-35/3 and 37-49/3
Y	CHRISTIANSEN, D.H. et al. Mutations of Genes in the Receptor Tyrosine Kinase (RTK)/RAS-BRAF Signal Transduction Pathway in Therapy-Related Myelodysplasia and Acute Myeloid Leukemia. Leukemia. December 2005, Vol 19(12), pages 2232-2240: abstract.	3, 4-8/3, 11-13/3, 24-35/3 and 37-49/3
Y	US 2008/0220418 A1 (BALLHAUSE et al.) 11 September 2008 (11.09.2008) para [0379], [0380], [0397], [0740].	6-8/(1-3)
Y	US 2003/0091994 A1 (JENKINS et al.) 15 May 2003 (15.05.2003) para [0005], [0034]-[0037].	17
Y	SHE, Q.-B. et al. Breast Tumor Cells with PI3K Mutation or HER2 Amplification Are Selectively Addicted to Akt Signaling. PLoS ONE. August 2008, Vol 3(8), e3065, pages 1-10: abstract; pg 9, col 1, para 1.	18
Y	US 2002/0095260 A1 (HUYN) 18 July 2002 (18.07.2002) para [0012], [0035].	26-27/(1-3)
Y	US 2006/0147959 A1 (BELL et al.) 06 July 2006 (06.07.2006) para [0016], [0017], [0320], [0321].	31-32/(1-3)
Y	US 2006/0134664 A1 (SCHERZER et al.) 22 June 2006 (22.06.2006) para [0031].	32/(1-3)
Y	US 2008/0038271 A1 (AMLER et al.) 14 February 2008 (14.02.2008) claim 1, 28; para [0059]-[0062], [0326], [0327].	46-49/(1-3)
Y	SHOSHIDIA, S. et al. N-(4-Hydroxyphenyl)Retinamide Inhibits Invasion, Suppresses Osteoclastogenesis, and Potentiates Apoptosis through Down-regulation of IKBA Kinase and Nuclear Factor-KB-Regulated Gene Products. Cancer Research, October 2005, Vol 65(20), pages 9555-9565: abstract; pg 9555, col 2, para 3; pg 9559, col 2, para 4.	29/(1-3)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	G 0 1 N 33/48	P
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	Z
	G 0 1 N 33/53	D
	C 1 2 N 15/00	A

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(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, 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, ID, 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, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

- 1 . フロッピー
- 2 . W I N D O W S
- 3 . U N I X
- 4 . L i n u x
- 5 . J A V A
- 6 . J A V A S C R I P T

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100130845

弁理士 渡邊 伸一

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889

弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 フォン ホフ ダニエル ディー .

アメリカ合衆国 アリゾナ州 フェニックス ノース フィフス ストリート 4 4 5 サード
フロア

(72)発明者 ローシュ デイビッド エム .

アメリカ合衆国 アリゾナ州 フェニックス ノース フィフス ストリート 4 4 5 サード
フロア

(72)発明者 アラルコン アーレット

アメリカ合衆国 アリゾナ州 フェニックス ノース フィフス ストリート 4 4 5 サード
フロア

(72)発明者 ペニー ロバート ジェイ .

アメリカ合衆国 アリゾナ州 フェニックス ノース フィフス ストリート 4 4 5 サード

- フロア
 (72)発明者 ライト アラン
 アメリカ合衆国 アリゾナ州 フェニックス ノース フィフス ストリート 445 サード
 フロア
- (72)発明者 マクギニス マシュー ジェイ.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サンディエゴ アンドラ ウェイ 15485
- (72)発明者 ベンダー ライアン ピー.
 アメリカ合衆国 アリゾナ州 フェニックス イースト フィルモア ストリート 200 アパ
 ートメント 118
- (72)発明者 パウロウスキー トレイシー
 アメリカ合衆国 アリゾナ州 フェニックス ノース フィフス ストリート 445 サード
 フロア
- (72)発明者 クスリッチ クリスティーヌ
 アメリカ合衆国 アリゾナ州 ギルバート ウェスト スパー アベニュー 1185
- F ターム(参考) 2G045 AA13 AA25 AA26 AA40 BB22 BB24 CB01 CB02 CB09 CB13
 CB26 DA13 DA14 DA36 FA12 FB01 FB02 FB03 FB12 FB13
 FB16
 4B024 AA11 CA01 HA12 HA15
 4B063 QA19 QQ02 QQ42 QQ53 QQ79 QQ96 QR08 QR32 QR42 QR48
 QR55 QR62 QS15 QS25 QS33 QS34 QX02

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2012517238A5	公开(公告)日	2013-03-28
申请号	JP2011550131	申请日	2010-02-11
[标]申请(专利权)人(译)	卡里斯MPI公司		
申请(专利权)人(译)	圣杯Emupiai公司		
[标]发明人	フォンホフダニエルディー ローシュデイビッドエム アラルコンアーレット ペニーロバートジェイ ライトアラン マクギニスマシュージェイ ベンダーライアンピー パウロウスキートレイシー クスリッチクリスティーヌ		
发明人	フォン ホフ ダニエル ディー. ローシュ デイビッド エム. アラルコン アーレット ペニー ロバート ジェイ. ライト アラン マクギニス マシュー ジェイ. ベンダー ライアン ピー. パウロウスキー トレイシー クスリッチ クリスティーヌ		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N37/00 G01N33/48 G01N33/50 C12N15/09		
CPC分类号	C12Q1/6886 C12Q2600/106 C12Q2600/156 C12Q2600/158 G01N33/574		
FI分类号	C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/53.M G01N37/00.102 G01N33/53.Y G01N33/48.P G01N33/50.Z G01N33/53.D C12N15/00.A		
F-TERM分类号	2G045/AA13 2G045/AA25 2G045/AA26 2G045/AA40 2G045/BB22 2G045/BB24 2G045/CB01 2G045/CB02 2G045/CB09 2G045/CB13 2G045/CB26 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FA12 2G045/FB01 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB12 2G045/FB13 2G045/FB16 4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/HA12 4B024/HA15 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QQ96 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS15 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX02		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 渡边真一 正人大关 五十嵐弘		
优先权	61/229686 2009-07-29 US 61/170565 2009-04-17 US 61/151758 2009-02-11 US		
其他公开文献	JP2012517238A		

摘要(译)

本文提供了疾病（例如癌症）的分子谱分析的方法和系统。在一些实施方案中，分子谱可用于鉴定疾病的治疗，例如最初未鉴定为疾病治疗或预期不是特定疾病治疗的治疗。