

(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2017-534248

(P2017-534248A)

(43) 公表日 平成29年11月24日(2017.11.24)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C12Q 1/68 (2006.01)</b>	C12Q 1/68 ZNAA	4B063
<b>G01N 33/53 (2006.01)</b>	G01N 33/53 D	4C076
<b>G01N 33/574 (2006.01)</b>	G01N 33/574	4C084
<b>A61P 13/08 (2006.01)</b>	G01N 33/53 M	4C086
<b>A61P 35/00 (2006.01)</b>	A61P 13/08	4C087
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求		(全 92 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-511236 (P2017-511236)  
 (86) (22) 出願日 平成27年8月25日 (2015. 8. 25)  
 (85) 翻訳文提出日 平成29年4月24日 (2017. 4. 24)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/046806  
 (87) 国際公開番号 W02016/033114  
 (87) 国際公開日 平成28年3月3日 (2016. 3. 3)  
 (31) 優先権主張番号 62/041, 368  
 (32) 優先日 平成26年8月25日 (2014. 8. 25)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 62/149, 408  
 (32) 優先日 平成27年4月17日 (2015. 4. 17)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 62/120, 877  
 (32) 優先日 平成27年2月26日 (2015. 2. 26)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 399005046  
 ザ ジョンズ ホプキンス ユニヴァーシ  
 ティー  
 アメリカ合衆国 メリーランド州 212  
 18 ボルティモア ノース チャールズ  
 ストリート 3400  
 (74) 代理人 100094569  
 弁理士 田中 伸一郎  
 (74) 代理人 100088694  
 弁理士 弟子丸 健  
 (74) 代理人 100103610  
 弁理士 ▲吉▼田 和彦  
 (74) 代理人 100084663  
 弁理士 箱田 篤

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 前立腺がん治療に関する方法及び組成物

(57) 【要約】

本明細書の開示は、前立腺がんに関連する生体分子及びバイオマーカーを検出するための、組成物ならびに方法である。本明細書の開示は、去勢抵抗性前立腺がんに関連する生体分子及びバイオマーカーを検出するための、組成物ならびに方法であって、ここでそのような生体分子及びバイオマーカーが、前立腺がん患者に対して効果的な治療計画を開発するために使用できる、アンドロゲン受容体スプライス変異体を含む。本明細書の開示は、エンザルタミド及びアピラテロンなどの薬剤に対する治療耐性を評価するための、アンドロゲン受容体スプライス変異体と関連する生体分子及びバイオマーカーの使用方法である。

【選択図】 図1 A

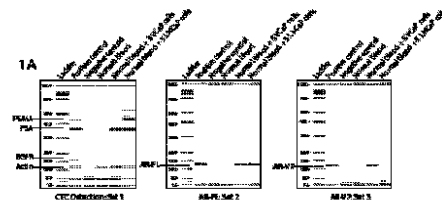


FIG. 1A

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

前立腺がん患者からのサンプルにおいて、アンドロゲン 受容体変異体のレベルを決定する工程を含む方法であって、前記サンプルが、循環性腫瘍細胞で濃縮されていることを特徴とする方法。

## 【請求項 2】

前記アンドロゲン 受容体変異体が、AR - V7であるか又はそれを含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記決定工程が、AR - V7 転写産物のレベルを検査することを含む、請求項 1 に記載の方法。 10

## 【請求項 4】

前記検査が、ポリメラーゼ連鎖反応（「PCR」）での増幅を伴う、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記 PCR が、完全長アンドロゲン受容体（「AR - FL」）及び AR - V7 転写産物の両方を増幅する、多重化 PCR であるか又はそれを含む、請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記 PCR が、定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（「qRT - PCR」）であるか又はそれを含む、請求項 4 に記載の方法。 20

## 【請求項 7】

前記 PCR が、その配列が、SEQ ID 番号：1 ~ 2（AR - V7（順方向）5' - CCATCTTGTCGTCCTTCGGA AATGTTA - 3' SEQ ID 番号：1、AR - V7（逆方向）5' - TTGAATGAGGCAAGTCAGC - CTTTCT - 3' SEQ ID 番号：2）及び / 又は SEQ ID 番号：3 ~ 4（AR - FL（順方向）5' - CAGCCTATTGCGAGAGAGCTG - 3' SEQ ID 番号：3、AR - FL（逆方向）5' - GAAAGGATCTTGGGC ACTTGC - 3' SEQ ID 番号：4）であるか又はそれらを含むプライマーを利用する、請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記 PCR が、ヌクレオチド類似体を含む、1つ以上のプライマーを利用する、請求項 4 に記載の方法。 30

## 【請求項 9】

前記 PCR が、ヌクレオチド置換を含む、1つ以上のプライマーを利用する、請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記患者が、去勢抵抗性前立腺がんの患者（「CRPC」）である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 11】

前記患者が、ARシグナル伝達阻害剤で治療される、請求項 10 に記載の方法。 40

## 【請求項 12】

前記患者が、CYP17阻害剤で治療される、請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 13】

前記患者が、アピラテロン、エンザルタミド、及びそれらの組み合わせから成る群から選択される薬剤での治療を開始している CRPC 患者である、請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 14】

前記患者が、アピラテロン、エンザルタミド、及びそれらの組み合わせから成る群から選択される薬剤に耐性の CRPC 患者である、請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 15】

複数サンプルに基づく決定を繰り返す工程を更に含み、各サンプルが、前立腺がんの診 50

断後の異なる時点で取得される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 16】

複数の前記時点が、一連の治療中に発生する、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

少なくとも 1 つの時点が、基準の時点である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 18】

少なくとも 1 つの時点が、臨床又は生化学的応答の瞬間である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 19】

前記臨床又は生化学的応答が、前立腺特異性抗原の測定であるか又はそれを含む、請求項 18 に記載の方法。

10

【請求項 20】

少なくとも 1 つの時点が、臨床又は放射線学的進行の瞬間である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 21】

前記臨床又は放射線学的進行が、疾患関連症状の悪化、がん関連合併症、放射線学的進行、軟部組織の標的病変の合計直径の拡大、骨病変の数の増加、死亡、及びそれらの組み合わせから成る群から選択された、症状の進行をモニターすることを含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

AR - V7 を検出する時に、アビラテロン又はエンザルタミドでの治療に対する代替療法を投与する工程を更に含む、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 23】

前記代替療法が、アシピシン、アクラルピシン、アコダゾール塩酸塩、アクロニン (Acronine)、アドゼレシン、アルデスロイキン、アルトレタミン、アンボマイシン、アメタントロン酢酸塩、アミノグルテチミド、アムサクリン、アナストロゾール、アントラマイシン、アスパラギナーゼ、アスペルリン、アザシチジン、アゼテパ、アゾトマイシン、パチマスタット、ベンゾデパ、ピカルタミド、ビスアントレン塩酸塩、メシル酸ピスナフィド、ピセレシン、プレオマイシン硫酸塩、プレキナルナトリウム、プロピリミン、プスルファン、カクチノマイシン、カルステロン、カラセミド、カルベチマー、カルボプラチン、カルムスチン、カルピシン塩酸塩、カルゼルシン、セデフィンゴール、クロランプシル、シロレマイシン、シスプラチン、クラドリピン、メシル酸クリスナトール、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン塩酸塩、デシタピン、デキソルマプラチン、デアザグアニン、メシル酸デアザグアニン、ジアジクオン、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ドキシソルピシン塩酸塩、ドロロキシフェン、ドロロキシフェンクエン酸、ドロモスタノロンプロピオン酸塩、デュアゾマイシン、エダトレキサート、エフロミチン塩酸塩、エルサミトルシン、エンロプラチン、エンプロメート、エピプロピジン、エピルピシン塩酸塩、エルプロゾール、エソルピシン塩酸塩、エストラムスチン、リン酸エストラムスチン ナトリウム、エタニダゾール、ヨード化ケシ油エチルエステル I 131、エトボシド、リン酸エトボシド、エトプリン、ファドロゾール塩酸塩、ファザラビン、フェンレチニド、フロクスウリジン、リン酸フルダラビン、フルオロウラシル、フルロシタピン、ホスキドン、ホストリエシンナトリウム、ゲムシタピン、ゲムシタピン塩酸塩、ゴールド Au 198、ヒドロキシウレア、イダルピシン塩酸塩、イホスファミド、イルモホシン、インターフェロン アルファ - 2a、インターフェロン アルファ - 2b、インターフェロン アルファ - n1、インターフェロン アルファ - n3、インターフェロン ベータ - 1a、インターフェロン ガンマ - 1b、イプロプラチン、イリノテカン塩酸塩、ランレオチド酢酸塩、レトロゾール、リユープロリド酢酸塩、リアロゾール塩酸塩、ロメテレキソールナトリウム、ロムスチン、ロソキサントロン塩酸塩、マソプロコール、マイタンシン、メクロレタミン塩酸塩、メゲストロール酢酸塩、メレンゲストロール酢酸塩、メルファラン、メノガリル、メルカプトプリン、メトトレキサート

30

40

50

、メトトレキサート ナトリウム、メトプリン、メツレデバ、ミチンドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトギリン、ミトマルシン、マイトマイシン、ミトスパー、ミトタン、ミトキサントロン塩酸塩、ミコフェノール酸、ノコダゾール、ノガラマイシン、オルマプラチン、オキシスラン、パクリタキセル、ペグアスパルガーゼ、ペリオマイシン、ペンタムスチン、ペプロマイシン硫酸塩、ベルホスファミド、ビボプロマン、ビボスルファン、ピロキサントロン塩酸塩、プリカマイシン、プロメスタン、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、プレドニムスチン、プロカルバジン塩酸塩、ピューロマイシン、ピューロマイシン塩酸塩、ピラゾフリン、リボプリン、ログレチミド、サフムゴール ( s a f m g o l )、サフィンゴール塩酸塩、セムスチン、シムトラゼン、スパルホサートナトリウム、スパルソマイシン、スピロゲルマニウム塩酸塩、スピロムスチン、スピロプラチン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、塩化ストロンチウム S r 8 9、スロフェヌル、タリソマイシン、タキサン、タキソイド、テコガランナトリウム、テガフル、テロキサントロン塩酸塩、テモポルフィン、テニポシド、テロキシロン、テストラクトン、チアミプリン、チオグアニン、チオテバ、チアゾフリン、チラバザミン、トポテカン塩酸塩、トレミフェンクエン酸塩、トレストロン酢酸塩、リン酸トリシリピン、トリメトトレキサート、グルクロン酸トリメトトレキサート、トリプトレリン、ツプロゾール塩酸塩、ウラシルマスタード、ウレデバ、パブレオチド、ベルテポルフィン、ピンブラスチン硫酸塩、ピンクリスチン硫酸塩、ピンデシン、ピンデシン硫酸塩、ピネピジン硫酸塩、ピングリシナート硫酸塩、ピンロイロシン硫酸塩、ピノレルビン酒石酸塩、ピンロシジン硫酸塩、ピンゾリジン硫酸塩、ポロゾール、ゼニプラチン、ジノスタチン、ゾルピシン塩酸塩、2 0 - エピ - 1 , 2 5 ジヒドロキシビタミン D 3、5 - エチニルウラシル、アピラテロン、アクルルピシン、アシルフルベン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、A L L - T K 拮抗薬、アルトレタミン、アンバムスチン、アミドックス、アミフォスチン、アミノレプリン酸、アムルピシン、アトラサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アンドログラホリド、血管新生阻害剤、拮抗薬 D、拮抗薬 G、アンタレリックス、抗 - 背側化形態形成タンパク質 - 1、抗アンドロゲン剤、前立腺がん、抗エストロゲン、抗新生物薬、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフィディコリングリシネート、アポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシスレギュレーター、アプリン酸、a r a - C D P - D L - P T B A、アルギニン脱アミノ化酵素、アスラクリン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン 1、アキシナスタチン 2、アキシナスタチン 3、アザセトロン、アザトキシン、アザチロシン、バッカチン I I I 誘導体、バラノール、バチマスタット、B C R / A B L 拮抗薬、ベンゾクロリンス、ベンゾイルスタウロスポリン、ベータラクタム誘導体、ベータ - アレチン、ベタクラマイシン B、ベツリン酸、b F G F 阻害剤、ピカルタミド、ピスアントレン、ピスアジリジニルスペルミン、ピスナフィド、ピストラテン A、ピゼレシン、プレフラート、プロピリミン、ブドチタン、ブチオニンスルホキシミン、カルシポトリオール、カルホスチン C、カンプトテシン誘導体、カナリア痘 I L - 2、カペシタピン、カルボキサミド - アミノ - トリアゾール、カルボキシアミドトリアゾール、C a R e s t M 3、C A R N 7 0 0、軟骨由来阻害剤、カルゼルシン、カゼインキナーゼ阻害剤 ( I C O S )、カスタノスペルミン、セクロピン B、セトロレリクス、クロリンズ、クロロキノキサリンスルホンアミド、シカプロスト、シス - ポルフィリン、クラドリピン、クロミフェン類似体、クロトリマゾール、コリスマイシン A、コリスマイシン B、コンプレタスタチン A 4、コンプレタスタチン類似体、コナゲニン、クランベシジン 8 1 6、クリスナトール、クリプトフィシン 8、クリプトフィシン A 誘導体、キュラシン A、シクロペンタアントラキノ、シクロプラタム、シペマイシン、シタラピンオクホスファート、細胞傷害性因子、シトスタチン、ダクリキシマブ、デシタピン、デヒドロジデムニン B、デスロレリン、デキシホスファミド、デクスラゾキサ、デクスベラパミル、ジアジクオン、ジデムニン B、ジドックス、ジエチルノルスペルミン、ジヒドロ - 5 - アザシチジン、ジヒドロタキソール、9 - 、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロマスチン、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドロロキシフェン、ドロナビノール、デュオカルマイシン S A、エブセレン、エコムスチン、エデルホシン、エドレコロマブ、エ

フロルニチン、エレメン、エミテフル、エピルピシン、エプリステリド、エストラムスチン類似体、エストロゲン作用薬、エストロゲン拮抗薬、エタニダゾール、リン酸エトボシド、エキセメスタン、ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリドール、フレゼラスチン、フルアステロン、フルダラビン、フルオロダウノルニシン塩酸塩、ホルフェニメックス、ホルメスタン、ホストリエシン、フォテムスチン、ガドリニウムテキサフィリン、ガリウム硝酸塩、ガロシタピン、ガニレリクス、ゼラチナーゼ阻害剤、ゲムシタピン、グルタチオン阻害剤、ヘプスルファム、ヘレグリン、ヘキサメチレンビスアセトアミド、ヒペリシン、イバンドロン酸、イダルピシン、イドキシフェン、イドラマントン、イルモホシン、イロマスタット、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫刺激剤ペプチド、インスリン様成長因子 - 1 受容体阻害剤、インターフェロン作動薬、インターフェロン、インターロイキン、ヨーベングアン、ヨードキシソルピシン、イボメアノール、4 - 、イリノテカン、イロブラクト、イルソグラジン、イソベングゾール、イソホモハリコンドリノB、イタセトロン、ジャスプラキノリド、カハラリドF、ラメラリンNトリアセテート、ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、レンチナン硫酸塩、レプトルスタチン、レトロゾール、白血病抑制因子、白血球アルファインターフェロン、リユープロリド + エストロゲン + プロゲステロン、リユープロレリン、レバミゾール、リアロゾール、線形ポリアミン類似体、脂溶性二糖ペプチド、脂溶性白金化合物、リソクリナミド7、ロパブラチン、ロンプリシン、ロメテレキソール、ロニダミン、ロソキサントロン、ロバスタチン、ロキシリピン、ラルトテカン、ルテチウムテキサフィリン、リソフィリン、溶解ペプチド、マイタンシン、マンノスタチンA、マリマスタット、マソプロコール、マスピン、マトリライシン阻害剤、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、メノガリル、メルバロン、メテレリン、メチオニン分解酵素、メトクロプラミド、M I F 阻害剤、ミフェプリストン、ミルテホシン、ミリモスチム、不一致二重鎖RNA、ミトグアゾン、ミトラクトール、マイトマイシン類似体、ミトナフィド、マイトトキシン線維芽細胞成長因子 - サポリン、ミトキサントロン、モファロテン、モルグラモスチム、モノクローナル抗体、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、モノホスホリル脂質A + マイコバクテリウム細胞壁s k、モピダモール、複数薬剤耐性遺伝子(genie)阻害剤、複数腫瘍サプレッサー1 - に基づく療法、マスタード抗がん剤、ミカペルオキシドB、ミコバクテリア細胞壁抽出物、ミリアポロン、N - アセチルジナリン、N - 置換ベンズアミド、ナファレリン、ナグレスチップ、ナロキソン + ペンタゾシン、ナパビン(napavin)、ナフテルピン、ナルトグラスチム、ネダブラチン、ネモルピシン、ネリドロロン酸、中性エンドペプチダーゼ、ニルタミド、ニサマイシン、一酸化窒素モジュレーター、ニトロキシド抗酸化剤、ニトルリン、O6 - ベンジルグアニン、オクトレオチド、オキセノン、オリゴヌクレオチド、オナプリストン、オンダンセトロン、オンダンセトロン、オラシン、経口サイトカイン誘導物質、オルマブラチン、オサテロン、オキサリプラチン、オキサウノマイシン、パクリタキセル類似体、パクリタキセル誘導體、パラウアミン、パルミトイルリゾキシシン、パミドロロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン、ペグアスパラガーゼ、ベルデシン、ペントサンポリサルフェートナトリウム、ペントスタチン、ペントロゾール、ペルフルブロン、ペルホスファミド、ペリリルアルコール、フェナジノマイシン、フェニルアセテート、ホスファターゼ阻害剤、ピシバニール、ピロカルピン塩酸塩、ピラルピシン、ピリトレキシム、プラセチンA、プラセチンB、プラスミノゲン活性化因子阻害剤、白金複合体、白金化合物、白金 - トリアミン複合体、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、プロビルビス - アクリドン、プロスタグランジンJ2、プロテアソーム阻害剤、タンパク質Aベース免疫モジュレーター、プロテインキナーゼC阻害剤、プロテインキナーゼC阻害剤、マイクロアルガル(microalgal)、タンパク質チロシン・ホスファターゼ阻害剤、プリンヌクレオシド・ホスホリラーゼ阻害剤、プルプリン、ピラゾロアクリジン、ピリドキシル化ヘモグロビン・ポリオキシエチレン共役体、raf拮抗薬、ラルチトレキセド、ラモセトロン、rasファルネシルタンパク質転移酵素阻害剤、ras阻害剤、ras - GAP阻害剤、脱メチル化レテリプチン、レニウムRe186エチドロネート、リゾキシシン、リボザイム、R

10

20

30

40

50

IIテチナミド、ログレチミド、ロヒツキン、ロムルチド、ロキニメックス、ルビジノン  
B 1、ル

ボキシル、サフィンゴール、サイントピン、SarCNU、サルコフィトールA、サルグ  
ラモスチム、Sdi1模倣薬、セムスチン、老化細胞由来阻害剤1、センスオリゴヌクレ  
オチド、シグナル伝達阻害剤、シグナル伝達モジュレーター、一本鎖抗原結合タンパク質  
、シゾフィラン、ソブゾキサソ、ナトリウムボロカプテイト、フェニル酢酸ナトリウム、  
ソルベロール、ソマトメジン結合タンパク質、ソネルミン、スパルホス酸、スピカマイシ  
ンD、スピロムスチン、スプレノペンチン、スポンギスタチン1、スクアラミン、幹細胞  
阻害剤、幹細胞分裂阻害剤、スチピアミド、ストロメリシン阻害剤、スルフモシン、超活  
性血管作動性腸管ペプチド拮抗薬、スラジスタ、スラミン、スワインソニン、合成グリコ  
サミノグリカン、タリムスチン、タモキシフェン・メチオジド、タウロムスチン、タザロ  
テン、テコガランナトリウム、テガフル、テルラピリリウム、テロメラゼ阻害剤、テ  
モポルフィン、テモゾロミド、テニポシド、テトラクロロデカオキシド、テトラゾミン、  
タリブラスチン、サリドマイド、チオコラリン、トロンボポエチン、トロンボポエチン模  
倣薬、サイマルファシン、サイモポエチン受容体作動薬、サイモトリナン、甲状腺刺激ホ  
ルモン、エチルエチオプルプリン錫、チラパザミン、二塩化チタノセン、トポテカン、ト  
ブセンチン、トレミフェン、全能性幹細胞因子、翻訳阻害剤、トレチノイン、トリアセチ  
ルウリジン、トリシリピン、トリメトレキサート、トリプトレリン、トロピセトロン、ツ  
ロステリド、チロシンキナーゼ阻害剤、チロホスチン、UBC阻害剤、ウベニメクス、泌  
尿生殖器洞由来成長阻害因子、ウロキナーゼ受容体拮抗薬、バプレオチド、バリオリンB  
、ベクターシステム、赤血球遺伝子療法、ベラレソール、ベラミン、バーデン、ベルテポ  
ルフィン、ピノレルピン、ピンキサルチン、ピタキシン、ボロゾール、ザノテロン、ゼニ  
プラチン、ジラスコルブ、ジノスタチンスチマラマー、及びそれらの組み合わせから成る  
群から選択される、抗悪性腫瘍剤の投与を含む、請求項22に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項24】

前記代替療法が、アルキル化剤、代謝拮抗薬、アントラサイクリン、植物アルカロイド  
、トポイソメラーゼ阻害剤、モノクローナル抗体、及びそれらの組み合わせから成る群か  
ら選択される薬剤の投与であるか又は含む、請求項22に記載の方法。

【請求項25】

前記代替療法が、テルベノイド、ピンカアルカロイド、タキサン、抗腫瘍抗生物質、及  
びそれらの組み合わせから成る群から選択される薬剤の投与であるか又はを含む、請求項  
22に記載の方法。

【請求項26】

前記代替療法が、ホルモン療法を含む、請求項22に記載の方法。

【請求項27】

前記決定工程が、ハイブリダイゼーションアッセイの活用を含む、請求項3に記載の方  
法。

【請求項28】

前記ハイブリダイゼーションアッセイが、新鮮な又は解剖した腫瘍サンプルの現場での  
ハイブリダイゼーションである、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

前記決定工程が、AR-FLの量と比較したAR-V7の量を決定するためのPCRを  
含む、請求項4又は27に記載の方法。

【請求項30】

前記前立腺がん患者が、一連の治療を受けており、前記決定工程が、その一連の治療に  
わたり、複数の時点で繰り返される、請求項2に記載の方法。

【請求項31】

前記AR-V7が、最初の決定工程において、初期に検出不可能であり、その一連の治  
療にわたり、経過後の時点で実施された、少なくとも1回の後続決定工程において、1以  
上である、請求項30に記載の方法。

**【請求項 3 2】**

各決定工程が、AR - FL に対する AR - V 7 の絶対複製数の比率を決定することを含む、請求項 3 0 に記載の方法。

**【請求項 3 3】**

前記代替療法が、AR - FL 及び ARV の両方を阻害する、請求項 2 2 に記載の方法。

**【請求項 3 4】**

前記代替療法が、経口で、非経口で、筋肉内注射によって、腹腔内注射によって、経皮的に、体外で、腔内投与によって、経皮的に、又は局所的に、局所鼻腔内投与を含んで投与される、請求項 2 4 ~ 2 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【発明の詳細な説明】**

10

**【技術分野】****【0001】**

## 関連出願の相互参照

本出願は、2014年8月25日に出願された、米国仮特許出願番号62/041,368の優先利益、2015年2月26日に出願された、米国仮特許出願番号62/120,877の優先利益、及び2015年4月17日に出願された、米国仮特許出願番号62/149,408の優先利益を主張する。各出願は、その全体を参照として、本明細書に組み入れる。

**【0002】**

## 連邦政府助成による研究開発に関する声明

20

本発明は、国防総省前立腺がん研究プログラムによって与えられた、グラント番号W81XWH-12-1-0605、国立衛生研究所(NIH)によって与えられた、グラント番号P50CA058236及びグラント番号P30CA006973のもとで、政府援助により達成された。米国政府は、本発明に一定の権利を有する。

**【0003】**

## 配列リストの参照

2015年、8月25日作成のテキストファイル名「36406\_\_0008P1\_\_Sequence\_\_Listing(36406\_\_0008P1配列リスト)」で、2015年8月25日に提出され、及び4,096バイトのサイズを有する配列リストを、参照として本明細書に組み入れる。

30

**【0004】**

本発明は、生体分子及びバイオマーカーの検出を伴う、分子生物学及びタンパク質生物学の分野に関する。本出願はまた、腫瘍生物学、がん、及び特定の前立腺がんの分野に関する。

**【背景技術】****【0005】**

がんの分子を基礎とする知識が、治療に対してがん細胞を標的とする多数の戦略を潜在的に拡大している。がんにおける多重の遺伝子変化は、腫瘍における生物学的メカニズムの破壊及びその結果の悪性進行に繋がる、シグナル伝達分子及びその他のバイオマーカーの生物学的性質に異常をきたす。

40

**【0006】**

前立腺がん(PCa)は、その増殖及び生存がアンドロゲンシグナル伝達に依存する。アンドロゲンは、転写因子のステロイドホルモン受容体ファミリーの一員である、アンドロゲン受容体(AR)との結合を介して、それら細胞の及び生理学的な効果を発揮する。ヒトAR遺伝子は、染色体Xq11-12上にあり、及び既知の8つのエクソンを伴い、DNAに約180kbの範囲を占める。そのプロトタイプARタンパク質は、複数の機能性ドメインを備えている。エクソン1によってコードされる、NH2末端ドメイン(NTD)は、110kDaの完全長タンパク質の約60%を構成し、及びそのタンパク質の転写制御領域である。中央DNA結合ドメイン(DBD)は、エクソン2及び3にコードされ、そこでは、エクソン4から8は、COOH末端リガンド結合ドメイン(LBD)に対

50

してコードする。このARのLBDを結合するアンドロゲンは、そのリガンド結合受容体の核へ参入し及びそれに続くアンドロゲン応答性遺伝子の転写制御を可能にする。

【0007】

転移性前立腺がんの治療に対し、ホルモン療法が1941年以来利用されてきた。抗アンドロゲン剤との組み合わせと共に、手術及び/又は医療による去勢を取り入れたアンドロゲン遮断療法(ADT)は、進行性前立腺がんに対する全身療法の主流となっている。進行性PCaに対するADTは、アンドロゲン及び/又はARのLBDに結合するアンドロゲンの産生を抑制することによって、そのARの介在機能を標的にする。現代の臨床場面において、しばしば血清前立腺特異抗原(PSA)測定によって評価される、その臨床的寛解の期間は、臨床表現型の広いスペクトルのために、治療患者間で大幅に変動する。しかしながら、ほとんど常に、前立腺がんは、去勢抵抗性表現型を発達させ、及びADTであるにもかかわらず、生命を脅かす段階にまで進行する。ADTの広範な利用は、前立腺がんが原因で死亡した殆どすべての患者が、アンドロゲン遮断療法を受けて失敗したとの所見に明らかにされている。

10

【0008】

必要なことは、前立腺がんの治療のための、及び特定薬剤ならびに治療に対して耐性を持つ患者にとって効果的な治療計画を積極的に設計するための方法及び組成物である。

【発明の概要】

【0009】

本開示は、前立腺がんの治療のための、及び特定薬剤ならびに治療に対して耐性を持つ患者にとって効果的な治療計画のための方法及び組成物を含む。本明細書に開示の方法及び組成物は、非限定的に、治療薬剤の耐性に関連するバイオマーカーを検出することを含んで、前立腺がんの生物学的側面を作り、使用し、検査し、及び評価することに対応した、ペプチド、ポリペプチド、抗体、核酸、ベクター、及び宿主細胞を含んでも良い。

20

【0010】

本開示の方法は、特定のアンドロゲン受容体、又はアンドロゲン受容体変異体の存在を検出する方法を含む。この方法は、前立腺がんの患者からの体液サンプル中に、AR-V7などのアンドロゲン受容体変異体の存在を検出することを含んでも良い。この方法はまた、前立腺がんの患者からの体液サンプル中に、AR-V7などのアンドロゲン受容体変異体の存在を検出することを含み、ここでそのサンプルが、去勢抵抗性前立腺がんの患者からの循環性腫瘍細胞(circulating tumor cell)を含んでも良い。この方法は、本明細書で開示される方法によって特定された前立腺がん患者の治療を含む。そのような治療には、患者のサンプルにおけるアンドロゲン受容体変異体ポリペプチドの発現又は生物学的活性のレベルを決定すること、ここで、参照サンプルにおける発現又は生物学的活性のレベルと比較した、その発現又は生物学的活性のレベルの上昇が、その患者がアンドロゲン療法に反応しないであろうことを示し、及び前述の上昇があると特定された患者に対して、アンドロゲン受容体変異体ポリペプチドの発現を変える化学療法、放射線療法、免疫療法、ならびに医薬組成物から成る群から選ばれた療法を投与することを含んでも良い。

30

【図面の簡単な説明】

40

【0011】

【図1】図1A及び1Bは、CTCにおけるAR-V7転写産物の検出に関する代表的なデータを示す。(A)正常なヒトボランティアからの5mLの血液にスパイクされた腫瘍細胞における、完全長アンドロゲン受容体(AR-FL)及びARスプライス変異体-7(AR-V7)転写産物の、血液に基づく検出。多重化PCRによる、CTC特異のmRNA転写産物(セット1)、ならびにAR-FL(セット2)及びAR-V7(セット3)に対する転写産物の存在を検査するために、CTCキャプチャー、溶解、及びcDNA合成の後に、3セットの独立したPCR反応を実施した。(B)エンザルタミドで治療された2人の患者からの基準(治療前)血液サンプルにおける、AR-V7の陽性及び陰性検出の実施例。左パネルの患者は、AR-FL及びAR-V7の両方に対して陽性であり

50

、一方右パネルの患者は、AR - FLのみに陽性だが、AR - V7には陰性である。AdnaGen社から提供された製造者指示に従って、多重化PCRアッセイ（PSMA、PSA、EGFR及びアクチンの検査に基づく）によって決定したように、両患者とも、CTCに対して陽性であった。

【図2】図2A及び2Bは、AR - V7の検出閾値の正当性に関する代表的データを示す。

【図3】図3A～Cは、アビラテロン及びエンザルタミドで治療を開始しているCRPC患者からのCTCにおける、AR - FL及びAR - V7の転写産物レベルの定量化に関する代表的データを示す。(A)基準点(すなわち、治療前CTCサンプル)で、AR - V7に対して陽性であった18人の患者からの、循環性腫瘍細胞(CTC)中に検出されたAR - FL及びAR - V7の絶対転写複製数。AR - FLに対するAR - V7の比率を、パーセンテージで示し、及びこれらは、1.8%から208.0%の範囲を占める。(B)アビラテロンで治療された患者における、AR - FL及びAR - V7の転写産物レベルの定量化。AR - V7陽性及びAR - V7陰性の両サンプルに対して、AR - FLレベルを示す。AR - FLに陰性であった患者(n = 8、図示せず)は、AR - V7にも陰性であった。(C)エンザルタミドで治療された患者における、AR - FL及びAR - V7の転写産物レベルの定量化。AR - V7陽性及びAR - V7陰性の両サンプルに対して、AR - FLレベルを示す。1人の患者が、AR - FL及びAR - V7(図示せず)の両方に対して、陰性であった。

【図4】図4A及び4Bは、31人のエンザルタミドで治療された患者(4A)及び31人のアビラテロンで治療された患者(4B)において、CTCのAR - V7状態での最高PSA応答を描写した、代表的なウォーターフォールプロットを示す。「アスタリスク(\*)」印は、短縮したバー表示を示す。図中点線は、PSA応答(基準点から50%のPSA減少)を定義するための閾値を示す。事前にアビラテロンの投与を受けたエンザルタミド群の患者、及び事前にエンザルタミドの投与を受けたアビラテロン群の患者は、「ダガー(†)」印で示している。PSA応答に達したエンザルタミドで治療された患者(A)の間では、AR - V7陽性が、0%(0/10人; 95%CI、0~31.2%)の一方で、PSA応答無しの人々患者においては、AR - V7陽性が、57.1%(12/21人; 95%CI、34.3~78.1%)であった。PSA応答に達したアビラテロンで治療された患者(B)の間では、AR - V7陽性が、0%(0/17人; 95%CI、0~20.2%)の一方で、PSA応答無しの人々患者においては、AR - V7陽性が、42.9%(6/14人; 95%CI、18.3~71.2%)であった。

【図5】図5A及び5Bは、エンザルタミドで治療された患者(5A)又はアビラテロンで治療された患者(5B)のいずれかにおいて、CTCのAR - V7で層別化された、PSA - 無増悪期間(progression-free-survival) [PSA - PFS]のカプランマイヤー解析に関する代表的データを示す。エンザルタミドで治療された患者(A)のPSA - PFS中央値は、AR - V7陽性及びAR - V7陰性患者の各々において、1.4ヶ月(95%CI、0.9~未達)及び6.0ヶ月(95%CI、3.8~未達)であった(HR 7.4、95%CI 2.7~20.6、ログランク検定P < 0.001)。アビラテロンで治療された患者(B)のPSA - PFS中央値は、AR - V7陽性及びAR - V7陰性患者の各々において、1.3ヶ月(95%CI、0.9~未達)及び> 5.3ヶ月(95%CI、5.3~未達)であった(HR 16.1、95%CI 3.9~66.0、ログランク検定P < 0.001)。図5C及び5Dは、エンザルタミドで治療された患者(5C)又はアビラテロンで治療された患者(5D)のいずれかにおいて、AR - V7で層別化された、臨床/放射線 - 無増悪期間(progression-free-survival) [PFS]のカプランマイヤー解析に関する代表的データを示す。エンザルタミドで治療された患者(C)のPFS中央値は、AR - V7陽性及びAR - V7陰性患者の各々において、2.1ヶ月(95%CI、2.0~未達)及び6.1ヶ月(95%CI、4.7~未達)であった(HR 8.5、95%CI 2.8~25.5、ログランク検定P < 0.001)。アビラテロンで治療された患者(D)のPFS中央値は、AR - V7陽性及びAR - V7陰性患

10

20

30

40

50

者の各々において、2.3ヶ月(95%CI、1.4~未達)及び>6.3ヶ月(95%CI、6.3~未達)であった(HR16.5、95%CI 3.3~82.9、ログランク検定 $P < 0.001$ )。図5E及び5Fは、エンザルタミドで治療された患者(5E)又はアピラテロンで治療された患者(5F)のいずれかにおいて、AR-V7で層別化された、全生存期間[OS]のカプランマイヤー解析に関する代表的データを示す。エンザルタミドで治療された患者(E)のOS中央値は、AR-V7陽性及びAR-V7陰性患者の各々において、5.5ヶ月(95%CI、3.9~未達)及び未達(95%CI、未達~未達)であった(HR6.9、95%CI 1.7~28.1、ログランク検定 $P = 0.002$ )。アピラテロンで治療された患者(F)のOS中央値は、AR-V7陽性及びAR-V7陰性患者の各々において、10.6ヶ月(95%CI、8.5~未達)及び>11.9ヶ月(95%CI、11.9~未達)であった(HR12.7、95%CI 1.3~125.3、ログランク検定 $P = 0.006$ )。

【図6】図6A~Dは、AR-V7状態による、患者転帰の複合分析に関する代表的データを示す。

【図7】図7A及び7Bは、エンザルタミド及びアピラテロンによる治療前後での、CTCに検出されたAR-V7及びAR-FLの転写複製数の変動に関する代表的データを示す。

【図8】図8は、転移性前立腺がん組織における、AR-V7転写産物の検出に関する代表的データを示す。AR-FL、及びAR-V7(左パネル)の既知の発現を伴う細胞株、ならびに前立腺がん腫瘍検体(右パネル)における、AR-FL及びAR-V7 mRNAの現場(in situ)検出。RNA-ISH解析を使用して可視化した場合、示される3つの前立腺がん細胞株(LNCaP95、VCaP及びCWR22Rv1)は、AR-V7と共にAR-FLを発現している一方、LAPC-4株は、AR-FLに対してのみ陽性で、AR-V7に対しては陰性である。示される腫瘍組織検体には、AR-V7発現を欠く、ホルモン療法を受けていない前立腺全摘手術検体(HNPC;本研究で登録された患者の1人ではない)、CTC(剖検)においてAR-V7陽性である患者からの解剖由来の肝転移がん、及びCTCにおいてAR-V7陰性(生検1)及び陽性(生検2)である患者からのコア針生検を含む。右パネルに示される全ての腫瘍検体は、AR-FLの発現を示している。

【図9】図9は、CTCに検出可能なAR-V7転写産物を持つ患者における、ウェスタンブロット解析を使用したタンパク質レベルでの、AR-V7の検出を示す図解描写を提供する。

【図10】図10A~Bは、2人のAR-V7陽性患者及び2人のAR-V7陰性患者における、AR転写産物のRNA-配列解析を提供する。

【図11】図11は、基準点で検出可能なAR-V7を持つ男性において、エンザルタミド又はアピラテロンでの治療の前後での、PSA転写産物の発現の変化を示すグラフを提供する。

【図12】図12は、AR-V7陽性及びAR-V7陰性患者からの、転移性腫瘍の遺伝子セット濃縮解析を提供する。

【図13】図13(A及びB)は、AR-V7陰性及びAR-V7陽性の転移性腫瘍及び細胞株における、AR制御遺伝子の発現プロファイルを示す表11を提供する。

【図14】図14は、タキサン化学療法で治療を開始した、転移性CRPC患者からのCTCにおける、AR-FL及びAR-V7の転写産物レベルの定量化を示すグラフである。基準点で(すなわち、彼らの治療前CTCサンプルにおいて)、AR-V7に陽性であった17人のタキサンで治療された患者に対する、循環性腫瘍細胞(CTC)に検出されたAR-FL及びAR-V7転写産物の絶対複製数が示されている。AR-V7/AR-FL比は、前述の各パーにパーセンテージで示す。AR-V7陰性サンプルに対して、AR-FLレベルも示す。更に、AR-FLに対して陰性であり、その全てがAR-V7に対しても陰性である、6人の患者(図示せず)がいた。AR-V7の検出は、AR-FLの発現増加と関連していた( $P < 0.001$ )。

10

20

30

40

50

【図15】図15は、37人のタキサンで治療された患者での、CTCのAR-V7状態における、最高PSA応答を描写したウォーターフォールプロットである。図中点線は、PSA応答（基準点から50%のPSA減少）を定義するための閾値を示す。PSA応答に達した患者間で、35%（7/20人）がAR-V7陽性であった一方、PSA応答無しのそれら患者間では、59%（12/17人）が、AR-V7陽性であった。

【図16】図16A～Cは、AR-V7状態で層別化した、タキサンで治療された患者、及びエンザルタミド/アピラテロンで治療された患者の臨床結果。16Aは、AR-V7状態によって分けた、タキサンで治療された患者（実線）、及びエンザルタミド/アピラテロンで治療された患者（点線）における、PSA-無増悪期間（PSA-PFS）を表す Kaplan-Meier 解析を示す。AR-V7状態と治療タイプの間には正の相互関係が観察された（調製後  $P = 0.001$ ）。16Bは、AR-V7状態による、タキサンで治療された患者（実線）、及びエンザルタミド/アピラテロンで治療された患者（点線）における、臨床/放射線-無増悪期間（PFS）を表す Kaplan-Meier 解析を示す。AR-V7状態と治療タイプの間には正の相互関係が観察された（調製後  $P = 0.003$ ）。16Cは、AR-V7状態による、タキサンで治療された患者（実線）、及びエンザルタミド/アピラテロンで治療された患者（点線）における、全生存期間（OS）を表す Kaplan-Meier 解析を示す。AR-V7状態と治療タイプの間には、有意な相互作用は観察されなかった（調製後  $P = 0.16$ ）。

【図17】図17は、AR-V7陽性又は陰性対象者の各々に対する、PSA無増悪期間を表すグラフである。

【図18】図18は、AR-V7陽性又は陰性である対象者の各々の、無増悪期間を表すグラフである。

【図19】図19A～Bは、AR-V7陽性又は陰性各々の、タキサンでの治療対エンザルタミド/アピラテロンでの治療の対象者に対するPSA-PFSを表すグラフである。

【図20】図20A～Dは、AR-V7陽性又は陰性の、タキサンでの治療対エンザルタミド/アピラテロンでの治療の対象者に対する、(A)無増悪期間（AR-V7陽性）、(B)無増悪期間（AR-V7陰性）、及び(C～D)全生存期間を表すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0012】

本明細書の開示は、去勢抵抗性前立腺がんを含む前立腺がんに関連する生体分子及びバイオマーカーを検出するための方法及び組成物であり、ここでそのような生体分子及びバイオマーカーは、前立腺がん患者に対応した治療計画を決定するのに有用である。本明細書に開示の方法は、特定の薬剤及び治療介入に耐性がある前立腺がんの検出を可能にし、及び前立腺がんの治療に効果的な治療薬を検出する。本明細書に開示の方法は、本明細書に開示のバイオマーカーを有すると特定された、前立腺がんの対象者の治療を含む。

【0013】

ホルモン療法での前立腺がんの進行は、ヒト乳がんとは異なり、ホルモンシグナル伝達への依存性の欠如のためではなく、代わりに、アンドロゲンの生理学的レベルの要求を迂回する、持続的なアンドロゲンシグナル伝達によって特徴づけられる、といういくつかの証拠が確立されている。第一に、唯一の特定例外はあるが、去勢抵抗性前立腺がん（CRPC）により死亡した前立腺がん患者は、アンドロゲンシグナル伝達によって惹起される産物である、非常に高いレベルの血清PSAを有している。第二に、CRPCは、アンドロゲンシグナル伝達、ARの主要メディエーターに上昇した発現レベルを有し、及びこの点は、CRPCの患者から誘発された組織に、非常に一貫した分子の特徴である。第三に、最初の一連のADTの後に、再発した前立腺がんのサブセットは、そのARシグナル伝達中枢を破壊するように設計された二番目の一連の治療に、引き続き応答し、AR媒介アンドロゲンシグナル伝達が、これらCRPC腫瘍間で依然として働いていることを示唆している。AR陰性の前立腺がん細胞が、アンドロゲン非依存性前立腺がんを生じさせる場合があるが、主としてAR陰性悪性細胞（すなわち、小細胞及び神経内分泌細胞）から構成される前立腺がんは、稀である。

10

20

30

40

50

## 【0014】

したがって、AR媒介機能は、既存アンドロゲン及びアンドロゲン受容体指向治療によって、完全には無効にされない、ということが非常に明確になっている。CRPCは、AR媒介機能に依存し続けるが、しかしアンドロゲンの生理学的レベルへの要求を迂回する。ARそれ自身を関与させる分子変化である、AR過剰発現及び機能獲得ARのLBD変異などは、CRPCによく見られ、及び減少し又は変化したりリガンドの存在下で、継続的なAR媒介ゲノム機能の発揮を可能にする。CRPCの代替メカニズムは、ARのLBDを欠いたAR変異体の存在又は過剰発現である。

## 【0015】

去勢抵抗性前立腺がん(CRPC)は、アンドロゲン非依存性ではなく、アンドロゲンシグナル伝達に依存し続けていることは、現在は受け入れられている(Longo, D. L. (2010) *The New England Journal of Medicine* 363, 479-481)。この新しい見解の基に、CRPC治療に対して、複数の薬剤が、最近浮上している。これら薬剤は、性腺外アンドロゲンの合成を抑制する、又はアンドロゲン受容体を直接標的にする(Ryan, C. J. and Tindall, D. J. (2011) *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 29, 3651-3658)。例えば、エンザルタミドは、ARシグナル伝達阻害剤であり、そのARリガンド結合ドメインへ貧欲に結合することによって活性を発揮し、この受容体(テストステロン及びジヒドロテストステロン)の天然リガンドと競合し及び置き換える一方で、ARのその核への移行を阻害し、及びアンドロゲン応答性の標的遺伝子の転写活性を弱める(Tran, C., et al. (2009) *Science* 324, 787-790; Scher, H. I., et al. (2010) *Lancet* 375, 1437-1446)。新しい薬剤の他の実施例には、副腎及び腫瘍内アンドロゲンを枯渇させることによって、ARシグナル伝達を弱めるCYP17阻害剤であるアピラテロンを含む(O'Donnell, A., et al. (2004) *British Journal of Cancer* 90, 2317-2325、Attard, G., et al. (2008) *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 26, 4563-4571)。エンザルタミド及びアピラテロンの両薬剤は、生存に改善が見られた後の、転移性CRPCの男性の治療に対して、FDAから承認されている(Scher, H. I., et al. (2012) *New England Journal of Medicine* 367, 1187-1197、Ryan, C. J., et al. (2013) *New England Journal of Medicine* 368, 138-148、de Bono, J. S., et al. (2011) *New England Journal of Medicine* 364, 1995-2005)。

## 【0016】

現在、去勢抵抗性前立腺がん(CRPC)の治療に対して、6つの利用可能な療法があり、その全てが、生存期間の改善を生み出した<sup>1</sup>。これらの療法は、4つに分類され、アンドロゲン受容体(AR)指向療法(アピラテロン<sup>2</sup>、エンザルタミド<sup>3</sup>)、タキサン化学療法(ドセタキセル<sup>4</sup>、カバジタキセル<sup>5</sup>)、免疫療法(シプロイセル-T<sup>6</sup>)、及び骨を標的にした放射性医薬品(ラジウム-223)<sup>7</sup>である。もちろん、最も広く使用されているのは、AR標的療法及び化学療法である。しかしながら、これら療法への応答性及び耐性の機構は、乏しい理解のままである<sup>8,9</sup>。更に、療法選択(すなわち、特定の療法への賛否を選択する)を助ける予測バイオマーカーは、予後マーカーが豊富である一方で、依然として不足している<sup>10</sup>。

## 【0017】

エンザルタミド及びアピラテロンは、転移性CRPCの治療において、飛躍的進歩を見

せているが、患者の約20～40%は、これら薬剤に対してPSA応答を示さない(すなわち、一次耐性を示す)(Scher, H. I., et al. (2010) *Lancet* 375, 1437-1446、Scher, H. I., et al. (2012) *New England Journal of Medicine* 367, 1187-1197、Ryan, C. J., et al. (2013) *New England Journal of Medicine* 368, 138-148、de Bono, J. S., et al. (2011) *New England Journal of Medicine* 364, 1995-2005)。エンザルタミド又はアピラテロンに初期に応答する患者間でも、事実上すべてが、最終的には二次(後天性)耐性を発達させる。CRPCの患者において、エンザルタミド及びアピラテロン耐性に横たわる機構はほとんど知られておらず、充足されていない医療ニーズの代用的な分野である。

10

**【0018】**

本明細書に開示の方法及び組成物は、タキサン化学療法で治療中のCRPCの男性において、AR-Vの予測影響度を評価するために利用できる。いかなる特定の理論にも拘束されることを望まないが、検出可能なCTC誘発AR-V7を持つ男性は、タキサンに対して感受性を保持しており、AR-V7状態は、タキサンで治療された男性とエンザルタミド/アピラテロンで治療された男性では、異なる影響を与えると考えられる。本明細書に開示のデータは、AR-V7の検出は、タキサン化学療法への一次耐性と関連しておらず、タキサンは、AR-V7陽性患者において、AR標的薬と比べて優れた効果を持っている可能性があることを示す。

20

**【0019】**

AR-Vは、C末端リガンド結合ドメインを欠くが、転写促進N末端ドメインを保持しており、断ち切られたARタンパク質をコードする、そのARの選択的スプライシング転写変異体である(Dehm, S. M., et al. (2008) *Cancer Research* 68, 5469-5477、Hu, R., et al. (2009) *Cancer Res* 69, 16-22)。これらのAR-Vは、リガンドを結合できないが、恒常的に活性であり、標的遺伝子の活性化を促進する能力がある。エンザルタミド又はアピラテロンの治療を受けている患者における、AR-Vの臨床的な意義は、これまで知られていなかった。

30

**【0020】**

定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(qRT-PCR)を含む、PCRなどの検出法は、AR-V、特にAR-V7として知られるAR-Vの有無に対して、循環性腫瘍細胞(CTC)の評価に利用される。CTCを分析し、AR-V7状態とPSA応答率、PSA-無増悪期間(PSA-PFS)、臨床/放射線-無増悪期間(PFS)、及び完全生存期間(OS)の間の関係性を試験評価することにより、臨床結果におけるAR-V7状態の非依存影響度を決定した。1つの態様において、去勢抵抗性前立腺がんの患者からのCTCにおけるAR-V7の検出を、治療薬、例えば、タキサンなどの治療薬への応答性、エンザルタミド及びアピラテロンなどの薬剤への耐性の評価に使用しても良い。本明細書で使用する、治療薬及び化学療法薬は、互換的に使用しても良い。

40

**【0021】**

本明細書の開示は、前立腺がんと診断された対象者の体液中のAR-V7の検出を含み、前立腺がんと診断された対象者における、治療薬への耐性を評価する方法である。例えば、AR-V7の存在は、治療薬への耐性を示す。当該前立腺がんは、去勢抵抗性前立腺がんであっても良く、及びその治療薬は、少なくとも1つのタキサン、エンザルタミド又はアピラテロン、もしくは当業者には公知のその他の治療薬を含んでも良い。当該体液は、血漿、血清、又は末梢血、もしくはその他の体液であっても良い。当該体液、例えば、血漿、血清、又は末梢血は、循環性腫瘍細胞を含んでも良い。当該体液は、複数の時点で、診断前に、前立腺がんの診断後に、又は一連の治療中に、基準点で、臨床/生化学的応答の時点で、及び臨床/放射線学的進行の時点で、採取されても良い。当該臨床/生化学的応答には、前立腺特異抗原の測定を含んでも良く、及び当該臨床/放射線学的進行には、

50

非限定的に、疾患関連症状の悪化、がん関連合併症、放射線学的進行、軟部組織の標的病変の合計直径の拡大、骨病変の数の増加、又は死亡を含む、症状の進行をモニターすることを含んでも良い。AR-V7の存在は、非限定的に、PCR、qRT-PCR、配列解析、ノーザン、サザン又はウェスタンブロット法、チップアレイ、及び抗体アッセイを含む、タンパク質又はペプチドの検出法及び/又は分子の生物学的検出などの、当業者には公知の検出アッセイによって決定される。特定の実施形態において、AR-V7の検出に利用するPCRアッセイには、プライマーの使用を含み、ここでそのプライマーには、SEQ ID番号：1~2 (AR-V7 (順方向) 5' - CCATCTTGTCGTCCTTCGGAATGTTA - 3' SEQ ID番号：1、AR-V7 (逆方向) 5' - TTGAATGAGGCAAGTCAGC - CTTTCT - 3' SEQ ID番号：2) の1つ以上を含んでも良い。特定の実施形態において、当該方法は更に、AR-FL量の測定を含み、AR-V7とAR-FLの量とを比較し、そのような実施形態において、AR-FL量の測定には、プライマーの使用を含んでも良く、ここでそのプライマーには、SEQ ID番号：3~4 (AR-FL (順方向) 5' - CAGCCTATTGCGAGAGAGCTG - 3' SEQ ID番号：3、AR-FL (逆方向) 5' - GAAAGGATCTTGCGCACTTGC - 3' SEQ ID番号：4) の1つ以上を含んでも良い。

#### 【0022】

本明細書の開示は、前立腺がんと診断された対象者の体液中に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんである対象者が、治療薬への耐性を有するかどうかを評価する方法であって、ここでその体液が循環性腫瘍細胞を含み、また、ここでAR-V7の検出が、治療薬への耐性を示す独立した因子である。例えば、AR-V7の検出は、治療薬であるエンザルタミド及び/又はアピラテロンへの耐性を示す指標又はバイオマーカーである。本開示の1つの態様は、前立腺がんと診断された対象者の体液中に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんである対象者が、治療薬への耐性を持たないことを決定する方法であって、ここでその体液が循環性腫瘍細胞を含み、また、ここでAR-V7の検出が、治療薬(例えば、その治療薬がタキサンであっても良い)への耐性をわずかに示すか全く示さない独立した因子である。本明細書の開示は、前立腺がんと診断された対象者の体液中に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんである対象者に対する治療計画を決定する方法であって、ここで体液が循環性腫瘍細胞を含み、また、ここでAR-V7の検出が、効果的な治療薬がタキサンであることを示す独立した因子である。当該体液は、前立腺がんの診断後に又は一連の治療中に、基準点で、臨床/生化学的反応の時点で、及び臨床/放射線学的進行の時点での、1つ以上の時点で採取されても良い。当該臨床/生化学的応答には、前立腺特異抗原の測定を含んでも良く、及び当該臨床/放射線学的進行には、非限定的に、疾患関連症状の悪化、がん関連合併症、放射線学的進行、軟部組織の標的病変の合計直径の拡大、骨病変の数の増加、又は死亡を含む、症状の進行をモニターすることを含んでも良い。AR-V7の存在は、非限定的に、PCR、ペプチド又はタンパク質の検出、分子の生物学的検出、配列解析、ノーザン、サザン又はウェスタンブロット法、チップアレイ、及び抗体アッセイを含む、当業者には公知の検出アッセイによって決定される。特定の実施形態において、AR-V7の検出に利用するPCRアッセイには、プライマーの使用を含み、ここでそのプライマーには、SEQ ID番号：1~2の1つ以上を含んでも良い。特定の実施形態において、当該方法は更に、AR-FL量の測定、及びAR-V7とAR-FLの量との比較を含み、そのような実施形態において、AR-FL量(完全長のアンドロゲン受容体)の測定には、プライマーの使用を含んでも良く、ここでそのプライマーには、SEQ ID番号：3~4の1つ以上を含んでも良い。

#### 【0023】

本明細書の開示は、前立腺がんと診断された対象者の体液中に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんであると診断された対象者に対する治療計画を決定する方法であって、ここでその体液が循環性腫瘍細胞を含み、また、ここでAR-

10

20

30

40

50

V7の検出が、その患者が、特定治療薬による治療に耐性である、前立腺がんを有することを示す。当該治療薬には、エンザルタミド又はアピラテロンを含んでも良い。本明細書の開示は、前立腺がんと診断された対象者の体液中に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんであると診断された対象者に対する治療計画を決定する方法であって、ここでその体液が循環性腫瘍細胞を含み、また、ここでAR-V7の検出が、その患者が、特定治療薬（例えば、その特定治療薬がタキサンを含んでも良い）による治療に耐性ではない、前立腺がんを有することを示す。当該体液は、前立腺がんの診断後に又は一連の治療中に、基準点で、臨床/生化学的反応の時点で、及び臨床/放射線学的進行の時点での、複数の時点で採取されても良い。当該臨床/生化学的応答には、前立腺特異抗原の測定を含んでも良く、また、当該臨床/放射線学的進行には、非限定的に、疾患関連症状の悪化、がん関連合併症、放射線学的進行、軟部組織の標的病変の合計直径の拡大、骨病変の数の増加、又は死亡を含む、症状の進行をモニターすることを含んでも良い。AR-V7の存在は、非限定的に、PCRを含む、当業者には公知の検出アッセイによって決定される。特定の実施形態において、AR-V7の検出に利用するPCRアッセイには、プライマーの使用を含み、ここでそのプライマーには、SEQ ID番号：1～2の1つ以上を含んでも良い。特定の実施形態において、当該方法は更に、AR-FL量の測定、及びAR-V7とAR-FLの量とを比較することを含み、そのような実施形態において、AR-FL量の測定には、プライマーの使用を含んでも良く、ここでそのプライマーには、SEQ ID番号：3～4の1つ以上を含んでも良い。

10

20

#### 【0024】

本明細書の開示は、去勢抵抗性前立腺がんと診断された対象者を治療する方法であって、ここでその対象者が、体液中にAR-V7の存在及び/又は量を持つと決定されており、その体液が循環性腫瘍細胞を含み、ここでAR-V7の検出が、その患者が、特定治療薬による治療に耐性である前立腺がんを有することを示し、その対象者が、当業者には公知のその他のがん治療法で治療されている。そのような治療には、患者のサンプル中に、アンドロゲン受容体変異体ペプチドの発現又は生物学的活性のレベルを決定することを含んでも良く、ここで参照サンプルの発現又は生物学的活性と比較した、当該発現又は生物学的活性のレベルにおける上昇が、その対象者が、アンドロゲン療法、及び非限定的に、化学療法、放射線療法、免疫療法又は前述の上昇を特定された対象者へのアンドロゲン受容体変異体ポリペプチド（例えば、AR-V7）の発現を変化させる医薬組成物を含む治療法の投与に、応答していないことを示す。治療薬には、1つ以上の、タキサン、エンザルタミド又はアピラテロンを含んでも良い。本開示は、その対象者の体液にAR-V7を有する去勢抵抗性前立腺がんと診断された対象者の治療法であって、ここで体液が循環性腫瘍細胞を含み、また、ここでAR-V7の検出が、その患者が、特定治療薬、例えば、タキサン、による治療に耐性ではなく、又は特定治療薬、例えば、エンザルタミド及び/又はアピラテロンに耐性である、のどちらかの前立腺がんを有することを示し、その対象者が、非限定的に、化学療法、放射線療法、免疫療法又は医薬組成物/治療薬を含む療法で治療されている。当該体液は、前立腺がんの診断後に又は一連の治療中に、基準点で、臨床/生体化学的反応の時点で、及び臨床/放射線学的進行の時点での、複数の時点で採取されても良い。当該臨床/生体化学的応答には、前立腺特異抗原の測定を含んでも良く、当該臨床/放射線学的進行には、非限定的に、疾患関連症状の悪化、がん関連合併症、放射線学的進行、軟部組織の標的病変の合計直径の拡大、骨病変の数の増加、又は死亡を含む、症状の進行をモニターすることを含んでも良い。AR-V7の存在は、非限定的に、PCR又はAR-V7に特異的な抗体を含む、当業者には公知の検出アッセイによって測定される。特定の実施形態において、AR-V7の検出に利用するPCRアッセイには、プライマーの使用を含み、ここでそのプライマーには、SEQ ID番号：1～2の1つ以上を含んでも良い。特定の実施形態において、当該方法は更に、AR-FL量の測定を、及びAR-V7とAR-FLの量とを比較することを含み、そのような実施形態において、AR-FL量の測定には、プライマーの使用を含んでも良く、ここでそのプライマーには、SEQ ID番号：3～4の1つ以上を含んでも良い。

30

40

50

## 【 0 0 2 5 】

本明細書の開示は、治療選択マーカーとして、A R - V 7 の検出を利用する方法である。例えば、本明細書の開示は、前立腺がんと診断された対象者の体液中に、A R - V 7 の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんであると診断された対象者に対する治療計画を決定する方法であって、ここでその体液が循環性腫瘍細胞を含み、ここでそのA R - V 7 の検出が、1つ以上の治療薬を含む又は含まない治療計画の決定をもたらす。例えば、前立腺がんである対象者は、特定の治療薬による治療に耐性を見出されても良く、ここでP C Rによってなどの、A R - V 7 の検出が、その患者が、特定治療の候補である、又は候補でないことを示す。1つの態様において、本明細書の開示は、治療選択マーカーとして、A R - V 7 の検出を利用する方法である。例えば、本明細書の開示は、前立腺がん

と診断された対象者の体液中に、A R - V 7 の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんであると診断された対象者に対する治療計画を決定する方法であって、ここでその体液が循環性腫瘍細胞を含み、ここでそのA R - V 7 の検出が、その患者が、特定治療薬、(例えば、タキサン)による治療に耐性でない前立腺がんを有することの決定をもたらし、ここで、P C R又はその他の検出方法によってなどの、A R - V 7 の検出が、その患者が、非限定的に化学療法、放射線療法、免疫療法又はその対象者におけるアンドロゲン受容体変異体ポリペプチド又はポリヌクレオチド(例えば、A R - V 7)の発現を変化させる医薬組成物を含む、その他のがん治療法の候補であることを示す。特定の

実施形態において、当該治療には、1つ以上の実験的療法、又は1つ以上の既存療法、もしくは実験と既存療法との組み合わせを含む。

10

20

## 【 0 0 2 6 】

本明細書の開示は、A R - V 7 を含む、本明細書に開示のアンドロゲン受容体変異体に相同のポリペプチドである。本明細書で考察のように、用語としての相同及び特定の使用は、類似した意味であることは理解されよう。したがって、例えば、仮に用語の相同の使用が、2つの非天然配列で使用される場合、これら2配列間の進化的な関係を示す必要はなく、むしろそれらペプチド又は核酸配列間の類似性もしくは関連性を見ていることは理解されよう。2つの進化的に関連する分子間の相同性を決定する多数の方法は通常、それらが、進化的に関連しているかどうかにかかわらず、配列類似性を測定する目的のために、任意の2つ又はそれ以上の核酸もしくはタンパク質に適用される。したがって、本明細書に開示のポリペプチドは、非限定的に、マウス、ヒト、鶏、豚、ラット、牛、チンパンジー、ゼブラフィッシュなどの複数の種のポリペプチドを含む。

30

## 【 0 0 2 7 】

本開示の検出法には、P C R、配列解析、マイクロアレイ(すなわち、作成済チップ)、抗体アッセイ(すなわち、E L I S A)、高性能タンパク質アレイ、ノーザンプロット、サザンプロット、ウェスタンプロット法などの技術を使用した、アンドロゲン受容体変異体などのバイオマーカーの存在を検出する生物学的アッセイを含む分子検出アッセイなどの、当業者には公知のものを含む。いくつかの実施形態において、本明細書に提供される方法には、サンプル中のm R N Aを検出するためのq R T - P C Rの使用を含む。

## 【 0 0 2 8 】

本明細書に開示のポリペプチドには、天然に発生した又は合成の分子を包含し、遺伝子にコードされた20のアミノ酸以外の変異アミノ酸を含んでも良い。当該ポリペプチドは、翻訳後プロセスなどの天然プロセスによって、又は当技術分野で公知の化学的修飾技術によって、改変されうる。変異は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖、及びアミノ又はカルボキシ末端を含む、当該ポリペプチドの任意の場所で発生しうる。類似型の変異は、目的ポリペプチドの複数の部位で、同じに又は変動した度合いで存在しうる。

40

## 【 0 0 2 9 】

本明細書の開示は、ここに開示の1つ以上のポリペプチドの多量体である。1つの態様において、多量体は、本明細書に開示の2つ以上の単量体を含む。

## 【 0 0 3 0 】

変異には、限定なしに、アセチル化、アシル化、A D P - リボシル化、アミド化、共有

50

結合性の架橋や環化反応、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチド又はヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質又は脂質誘導体の共有結合、ホスフィチジルイノシトール (phosphatidylinositol) の共有結合、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、システイン又はピログルタミン酸の形成、ホルミル化、ガンマ-カルボキシル化、グリコシル化、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリスチル化、酸化、ペグ化、タンパク質分解性処理、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化 (selenoylation)、硫酸化、及びアルギニン化などの、転移RNA媒介のアミノ酸のタンパク質への添加を含む。

#### 【0031】

また、本明細書に開示のポリペプチドは、1つ以上の変異型を有することができる。本開示のペプチド及び類似体の、多数の変異体又は誘導体もまた、熟考される。本明細書に使用する用語「analog (類似体)」は、「variant (変異体)」及び「derivative (誘導体)」と互換的に使用される。変異体及び誘導体は、当業者にはよく理解されており、及びアミノ酸配列の変異に関与できる。そのようなアミノ酸配列の変異は通常、置換、挿入、又は欠失変異の、3分類の1つ以上に分類される。挿入には、アミノ及び/又はカルボキシ末端の融合と共に、単一又は複数アミノ酸残基の配列内挿入を含む。挿入は通常、例えば、1から4残基の順方向における、アミノ又はカルボキシ末端の融合の場合に比べ、より小さな挿入である。これらの変異体は通常、タンパク質をコードするDNAにおける、ヌクレオチドの部位に特異的な突然変異誘発によって用意され、そのためその変異体をコードするDNAを産生し、その後、遺伝子組換え細胞培養において、そのDNAを発現する。公知の配列を有するDNAの所定部位で、置換変異を作成する技術は、例えば、M13プライマー変異及びPCR変異などが公知である。アミノ酸置換は通常、単一残基に起こるが、しかし一度に多数の異なる位置で発生することが可能である。置換、欠失、挿入又は任意のそれらの組み合わせは、最終誘導体又は類似体で達成するように組み合わせられても良い。

#### 【0032】

本明細書に開示のポリペプチドには、1つ以上の置換変異、すなわち、少なくとも1つの残基が取り除かれ、その場所に異なる残基が挿入されたポリペプチドを含むことができる。そのような置換は一般に、以下の表に従って作られ、保存置換と呼ばれる。

例示的な保存アミノ酸置換

10

20

30

元の残基	例示的な保存置換
Ala	Ser
Arg	Gly, Gln
Asn	Gln; His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn, Lys
Glu	Asp
Gly	Ala
His	Asn; Gln
Ile	Leu; Val
Leu	Ile; Val
Lys	Arg; Gln
Met	Leu; Ile
Phe	Met; Leu; Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp; Phe
Val	Ile; Leu

10

20

## 【 0 0 3 3 】

機能における大きな変化は、上記表に示されるものに比べ、より保存性の少ない置換を選択することによって、すなわち ( a ) 置換領域におけるポリペプチド骨格の構造、例えば、シート状又はヘリカル構造、( b ) 標的部位でのその分子の電荷又は疎水性、もしくは ( c ) 大きな側鎖の維持において、それらの効果がより著しく異なる残基を選択することによって、作られる。そのタンパク質の特徴に最も大きな変化を生み出すと一般に期待される置換は、( a ) 親水性残基、例えば、セリル又はスレオニルが、疎水性残基、例えば、ロイシル、イソロイシル、フェニルアラニル、バリル又はアラニルへ ( 又はによって ) 置換される、( b ) システイン又はプロリンが、任意のその他の残基へ ( 又はによって ) 置換される、( c ) 正電荷側鎖を持つ残基、例えば、リジル、アルギニル、又はヒスチジルが、負電荷残基、例えば、グルタミル又はアスパルチルへ ( 又はによって ) 置換される、もしくは ( d ) 大きな側鎖を有する残基、例えば、フェニルアラニンが、側鎖を持たないもの、例えば、この場合はグリシンへ ( 又はによって ) 置換される、又は ( e ) 硫酸化及び / 又はグリコシル化のための部位の数を増やすことによって、などである。

30

## 【 0 0 3 4 】

ポリペプチドは、当技術分野で公知の任意の方法で産出されても良い。ポリペプチドを産出する 1 つの方法は、タンパク質合成化学技術によって、2 つ以上のアミノ酸残基、ペプチド又はポリペプチドと一緒に連結することである。例えば、ペプチド又はポリペプチドは、Fmoc ( 9 - フルオレニルメトキシカルボニル ) 又は Boc ( tert - ブチロキシカルボニル ) 化学のいずれかを利用した、現在入手可能な実験装置を使用して、化学的に合成される。ペプチド又はポリペプチドは、合成されその合成レジンから開裂され得ず、その一方でペプチド又はタンパク質のその他断片は、合成され、その後そのレジンから開裂され得て、したがって末端基が暴露されるので、その他断片上で、機能的に封止される。ペプチド濃縮反応によって、これら 2 つの断片を、それらのカルボキシル及びアミノの各々の末端で、ペプチド結合を介して共有結合させることができる。あるいは、そのペプチド又はポリペプチドを、個別に生体内で合成できる。一旦単離し、これらの個別ペプチド又はポリペプチドを、同様のペプチド濃縮反応を介して、ペプチド又はそれらの断

40

50

片を形成するように結合しても良い。

【0035】

当業者は、2つ以上のタンパク質又は2つ以上の核酸間で、どのように配列同一性を決定するかを容易に理解している。例えば、その同一性は、その同一性が最高レベルに来るように、2つの配列を整列させた後に計算できる。同一性を計算する他の方法は、公開されているアルゴリズムによって実施できる。比較に最適な配列の配置は、Smith et al., (1981)の局所的相同性アルゴリズム、Needleman et al., (1970)の配置アルゴリズム、Pearson et al., (1988)の類似方式の検索、これらアルゴリズムのコンピューター化実施態様(GAP, BESTFIT, FASTA, 及びTFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI)、又は綿密な調査によって実施されても良い。

10

20

30

【0036】

本開示は、プライマー及びプローブを含み、本明細書に開示のAR-V7などの、アンドロゲン受容体変異体配列と相互作用することができる、標識化されたプローブを含み、非限定的にSEQ ID番号1~2を含む、方法及び組成物である。さらなる実施形態において、AR-FLなどの、アンドロゲン受容体変異体配列と相互作用することができるプライマー及びプローブはまた、非限定的にSEQ ID番号3~4を含んで、提供される。場合によっては、取得する反応及び終点に依存して、プライマーは、プローブとして利用されても良く、及びプローブは、プライマーとして利用されても良いことは理解されよう。特定の実施形態において、当該プライマーは、DNA増幅反応を支援するために使用される。通常、当該プライマーは、配列特異の方法で、拡張することができる。配列特異の方法でのプライマーの拡張には、任意の方法を含み、ここでそのプライマーと、核酸分子の配列及び/又は組成物がハイブリダイゼーションを行い、さもなければ直接関与するか、もしくはそのプライマーの拡張によって産生された産物の組成又は配列に影響を与える。したがって、配列特異の方法でのプライマーの拡張には、非限定的に、PCR、DNA配列解析、DNA拡張、DNA重合、RNA転写、又は逆転写を含む。配列特異の方法で、そのプライマーを増幅する技術及び条件が好ましい。特定の実施形態において、当該プライマーは、PCRなどの、DNA増幅反応に使用される。特定の実施形態において、当該プライマーはまた、非酵素技術を使用して拡張され得て、ここで例えば、そのプライマーの拡張に使用されるヌクレオチド又はオリゴヌクレオチドは、配列特異の方法でそのプライマーを拡張するように化学的に反応して修飾されることは理解されよう。通常、本開示のプライマーは、核酸又は核酸の領域とハイブリダイゼーションを行い、もしくはそれらは、核酸の補体又は核酸領域の補体とハイブリダイゼーションを行う。

40

【0037】

当該ポリヌクレオチド(プライマー又はプローブ)は、塩基部分、糖残基、及びリン酸部分、例えば、塩基部分-アデニン9イル(A)、シトシン1イル(C)、グアニン9イル(G)、ウラシル1イル(U)、及びチミン1イル(T)、糖残基-リボース又はデオキシリボース、及びリン酸部分-五価リン酸塩から構成される、通常のヌクレオチドを含むことができる。それらはまた、ヌクレオチド類似体を含むことができ、その塩基、糖、又はリン酸部分のいずれかへの、いくつかの変異型を含む。ヌクレオチドへの変異は、当技術分野では公知であり、その糖又はリン酸部分での変異と同様に、例えば、5メチルシトシン(5meC)、5ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、及び2アミノアデニンを含む。当該ポリヌクレオチドは、ヌクレオチドに対して類似の機能的特徴を持つ分子であるが、ペプチド核酸(PNA)などのリン酸部分を含まない、ヌクレオチド置換基を含むことができる。ヌクレオチド置換基は、ワトソン・クリック型又はフーグスティーン型の核酸であると認められる分子であり、リン酸部分以外の部分を介して共に連結する。ヌクレオチド置換基は、適切な標的核酸と相互作用する場合には、二重らせん構造に一致させることができる。

50

## 【0038】

特定の実施形態における、核酸との相互関係に対応するプライマー又はプローブの大きさは、DNA増幅又はそのプローブもしくはプライマーの単一のハイブリダイゼーションなどの、そのプライマーの望ましい酵素作用を支援する、任意の大きさであり得る。通常のプライマー又はプローブは、少なくとも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、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1250、1500、1750、2000、2250、2500、2750、3000、3500、又は4000のヌクレオチドの長さであろう。

10

## 【0039】

その他の実施形態において、プライマー又はプローブは、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、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1250、1500、1750、2000、2250、2500、2750、3000、3500、又は4000以下のヌクレオチドの長さであり得る。

20

30

## 【0040】

標的のアンドロゲン受容体変異体に対応するプライマーは通常、標的のアンドロゲン受容体変異体の領域又は完全なアンドロゲン受容体変異体を含む、増幅されたDNA産物の産生に使用される。

## 【0041】

特定の実施形態において、この産物は、少なくとも20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1250、1500、1750、2000、2250、2500、2750、3000、3500、又は4000のヌクレオチドの長さである。

40

## 【0042】

その他の実施形態において、当該産物は、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、5

50

3、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1250、1500、1750、2000、2250、2500、2750、3000、3500、又は4000以下のヌクレオチドの長さである。

#### 【0043】

プライマー又はプローブとして使用されるオリゴヌクレオチドなどの核酸は、標準的な化学合成法を使用して作ることができ、又は酵素的な方法もしくは任意のその他公知の方法を使用して産出できる。そのような方法は、標準的な酵素による消化とそれに続くヌクレオチド断片の単離（例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989) Chapters 5, 6を参照）から、純粋な化学合成法、例えば、Milligen or Beckman System 1 Plus DNA synthesizer（例えば、Model 8700 automated synthesizer of Milligen-Biosearch, Burlington, MA or ABI Model 380B）を使用したシアノエチル・ホスホロアミダイト法によるものまでに及び得る。オリゴヌクレオチドを作成するのに有用な合成法はまた、Ikuta et al., Ann. Rev. Biochem. 53: 323 - 356 (1984), (リン酸トリエステル及び亜リン酸トリエステル法)、及びNarang et al., Methods Enzymol., 65: 610 - 620 (1980), (リン酸トリエステル法)によって、記述されている。タンパク質及び核酸分子は、Nielsen et al., Bioconjug. Chem. 5: 3 - 7 (1994)によって記述されるものなどの、公知の方法を使用して作成され得る。

#### 【0044】

核酸増幅及び生体外翻訳における条件は、当業者には公知であり、好ましくはRoberts及びSzostak (Roberts R.W. and Szostak J.W. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94(23) 12997 - 302 (1997))において実施され、参照として本明細書に組み入れる。標識化されたプローブは、当技術分野では公知であり、本開示では、標識化された核酸の使用を意図している。標識には、非限定的に、放射線標識、ビオチン化標識、蛍光体、化学発光標識、ナノ粒子、又はその他の標識を含んで良い。

#### 【0045】

さらなる開示は、チップ、例えば、マイクロアレイチップであり、ここで少なくとも1つのアドレスは、本明細書に開示の核酸配列のいずれにおいても説明される、配列又は配列の一部である。例えば、当該チップには、AR-V7のプローブを含む。

#### 【0046】

したがって、本明細書の提示は、複数のアドレスを有する基質を含むアレイであり、ここで各アドレスには、厳しい条件下で、AR-V7の核酸を特異的に結合するキャプチャープローブを含む。各アドレスのキャプチャープローブによって結合された核酸は、多数のアドレス間で、固有のものである。

#### 【0047】

アレイを創出するために、単鎖ポリヌクレオチドプローブを、二次元マトリクス又はアレイの基質上に配置することができる。各単鎖ポリヌクレオチドは、例えばAR-V7などの、多数のマーカのヌクレオチド配列から選ばれた、少なくとも6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、又は30も

10

20

30

40

50

しくはそれ以上連続したヌクレオチドを含むことができる。この基質は、非限定的に、ガラス、ニトロセルロース、シリコン、及びナイロンを含んで、ポリヌクレオチドプローブが付着され得る、任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドプローブは、共有結合、又は疎水性相互作用などの非特異的相互作用のどちらかによって、その基質上に結合され得る。アレイを構築する技術及びそれらアレイを使用する方法は、EP第0 799 897号、PCT第WO 97/29212号、PCT第WO 97/27317号、EP第0 785 280号、PCT第WO 97/02357号、米国特許第5,593,839号、第5,578,832号、EP第0 728 520号、米国特許第5,599,695号、EP第0 721 016号、米国特許第5,556,752号、PCT第WO 95/22058号、及び米国特許第5,631,734号に記述される。Affymetrix GeneChip (商標)などの、商業的に入手可能なポリヌクレオチドもまた使用され得る。遺伝子発現を検出するthe GeneChip (商標)の使用は、例えば、Lockhart et al., Nature Biotechnology 14:1675 (1996)、Chee et al., Science 274:610 (1996)、Hacia et al., Nature Genetics 14:441, 1996、及びKozal et al., Nature Medicine 2:753, 1996に記述される。

10

**【0048】**

組織サンプルは、例えば、実施例に記述するような当技術分野で公知の、加熱によって、又は化学変性によって、単鎖ポリヌクレオチドを形成するように処理され得る。組織サンプル中のこの単鎖ポリヌクレオチドを、次いで、アレイ上で、標識化し及びポリヌクレオチドプローブとハイブリダイゼーションをさせることができる。使用できる検出可能な標識は、非限定的に、放射線標識、ビオチン化標識、蛍光体、及び化学発光標識である。ポリヌクレオチドプローブに結合された、標識化されたサンプルのポリヌクレオチドを含む、二本鎖ポリヌクレオチドは、一旦そのサンプルの非結合部分が洗い流されると、検出可能になる。検出は、目視で又はコンピューターの支援を得て可能になる。

20

**【0049】**

本明細書の開示は、本明細書に開示の実践的な方法に使用できる試薬として引用されるキットである。このキットには、任意の試薬又は本明細書で考察される試薬の組み合わせ、もしくはここに開示する方法の実践において必要又は有益であると考えられるものを含むことができる。例えば、当該キットは、前述の増幅反応を実行するためのプライマーと共に、意図したとおりにそのプライマーを使用するために必要な緩衝液及び酵素を含むことができるであろう。例えば、本開示は、AR-V7の核酸を含む、薬剤耐性を評価するためのキットである。当該キットには、本明細書に開示の方法で記述される試薬を使用するための、指示書を含むことができる。

30

**【0050】**

本明細書の開示は、前立腺がんの患者からの体液サンプル中に、AR-V7などのアンドロゲン受容体変異体の存在を検出する方法であり、ここでそのサンプルが、去勢抵抗性前立腺がんの患者からの循環性腫瘍細胞を含み、前立腺がんの患者からのサンプル中に、AR-V7を検出することを含む。

40

**【0051】**

予期せぬ発見において、本明細書の開示は、前立腺がんの患者において、AR-V7の検出を含む方法であって、特定薬剤、例えばエンザルタミド及びアピラテロンに耐性である、又は特定治療薬、例えばタキサンには耐性がないことに、AR-V7の存在又は量を関連付ける。

**【0052】**

本開示の組成物及び方法を使用する当業者は、対象者からのサンプルに、AR-V7を検出でき、したがって、その対象者が、エンザルタミド及びアピラテロンへの薬剤耐性を増加させた可能性がある、又は対象者が、例えば、タキサンへの薬剤耐性を増加させた可能性がないと特定できる、と考えられる。

50

## 【0053】

例えば、前立腺がんの患者からの組織サンプルを、AR-V7が存在するか、又は特定の量で存在するかどうかを決定するために試験評価できる。特定の実施形態において、当該組織サンプルには、循環性腫瘍細胞を含むサンプルなどの、体液サンプルを含む。特定の実施形態において、当該前立腺がんの患者は、去勢抵抗性前立腺がんを有する。本明細書で使用する、対象者及び患者は、互換的に使用されても良い。

## 【0054】

本明細書の開示は、対象者からのサンプルに、AR-V7を検出するための方法及び組成物であり、したがって、サンプル、対象者、又は患者におけるAR-V7のレベルを決定するために、モノクローナル抗体を使用することを含んで、エンザルタミド及びアピラテロンへの薬剤耐性を増加させた可能性がある、としてその対象者を特定する。1つの態様において、モノクローナル抗体は、AR-V7に結合する。

10

## 【0055】

用語「antibodies (抗体)」は、広い意味合いで本明細書に使用し、ポリクローナル及びモノクローナルの両抗体を含む。無傷免疫グロブリン分子に加えて、用語「antibodies (抗体)」に含めるものはまた、それらがAR-V7などのアンドロゲン受容体変異体と相互作用する能力に対応して選択される限り、それら免疫グロブリン分子の断片又はポリマー、及び免疫グロブリン分子又はそれらの断片のヒト又はヒト化版である。

## 【0056】

1つの態様において、抗体は、AR-V7に対して、70、75、80、85、90、又は95パーセント相同性を持つ、又は70～99パーセントの間での相同性があるポリペプチドなどの、AR-V7に特定の相同性を持つポリペプチドと結合又は相互作用する。特に、本開示は、AR-V7に対して、少なくとも70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99パーセントの相同性を持つ、ペプチド変異体と結合又は相互作用する抗体である。

20

## 【0057】

開示される抗体は、それらの生体内の治療及び/又は予防効果が、公知の臨床評価法に従って試験評価された後に、本明細書に記述の生体外アッセイを使用して、又は類似の方法によって、それらの望ましい活性を試験評価され得る。

30

## 【0058】

本明細書で使用する用語「monoclonal antibody (モノクローナル抗体)」は、実質的に同質な抗体の集団から得られた抗体である、すなわち、その集団内の個々の抗体が、その抗体分子の小さなサブセットにおいて存在するかもしれない、自然発生可能な変異を除いて、同一であることを指す。当該モノクローナル抗体は、本明細書では特に、その重鎖及び/又は軽鎖部分が、特定種又は特定の抗体分類又はサブ分類に属する種から誘導された抗体において、対応した配列が同一又は相同であり、一方でその鎖(複数可)の残りの部分が、他の種又は他の抗体分類又はサブ分類に属する種から誘導された抗体、ならびにそのような抗体の断片において、それらが、望ましい拮抗活性を示すかぎり、対応した配列が同一又は相同である、「キメラ」抗体を含む(米国特許第4,816,567号及びMorrisson et al., 1984)。

40

## 【0059】

当該断片はまた、その他の配列に付着したかどうかにかかわらず、特定領域又は特定アミノ酸残基の挿入、欠失、置換、又はその他の選択された変異を含むことができ、付与されたその抗体又は抗体断片の活性が、非変異の抗体又は抗体断片と比較して、著しくは変化しないか又は損なわれない。これら変異は、ジスルフィド結合が可能なアミノ酸を除去/追加すること、その生物寿命を伸ばすこと、その分泌特性を変化させることなどの、いくつかの追加の特性を提供できる。任意のケースにおいて、当該抗体又は抗体断片は、その同種抗原に特異的に結合するなどの、生物学的特性を保持していなければならない。当

50

該抗体又は抗原断片の機能的又は活性な領域は、そのタンパク質の特定領域の突然変異誘発、それに続く発現されたポリペプチドの発現及び検査によって、特定されても良い。当業者には、既知のアミノ酸配列を有するポリペプチドに特異的に結合する、モノクローナル抗体をどのように製造及び生産するかについては公知である（例えば、Steplewski et al., 1985、Spira et al., 1984、WO 86/01533 (1986)、米国特許第6,458,592号）。いくつかの態様における、当該モノクローナル抗体は、キメラ（例えば、米国特許第5,843,708号）、ヒト化（例えば、米国特許第6,423,511号）、霊長類化（例えば、米国特許第6,113,898号）、及び/又は融合タンパク質としてその他のポリペプチドに連結されたものであり得る。当該モノクローナル抗体の一部分はまた、単独で又はその他のタンパク質に連結されるかのいずれにおいても、有用であり得る。これらのタンパク質には、非限定的、Fab (Fab)<sub>2</sub>、Fvなどを含む。1つの態様において、当該モノクローナル抗体は、キャリアー（例えば、水、緩衝水、0.4%生理食塩水、0.3%グリシンなど）に連結され得て、又は免疫補助剤（例えば、ビリベルジン、ビリルビン、ピオチン、カルノシン、キチンなど）と関連し得る。免疫補助剤は、未知の抗原に対して、免疫の一般化増進を促進するために、実験的に利用されてきた（例えば、米国特許第4,877,611号）。

10

#### 【0060】

ヒト化抗体をヒト化する方法は当技術分野では周知である。多数の非ヒト抗体（例えば、マウス、ラット、又はウサギ由来のものなど）は、ヒトにおいて自然に抗原性を持ち、したがって、ヒトへの投与に際して、望ましくない免疫反応の亢進を与える可能性がある。したがって、当該方法における、ヒト又はヒト化抗体の使用は、抗体のヒトへ投与が、望ましくない免疫反応を呼び起こす機会を減らすために役立つ。ヒト化抗体は、齧歯動物のCDR又はCDR配列を、ヒト抗体の相応する配列に置き換えることによる、Winter及び共同研究者（Jones et al., 1986、Riechmann et al., 1988、Verhoeven et al., 1988）の方法に従って作り出すことができる。ヒト化抗体を作り出すために使用可能な方法はまた、米国特許第4,816,567号、第5,565,332号、第5,721,367号、第5,837,243号、第5,939,598号、第6,130,364号、及び第6,180,377号に記述されている。これらの方法はまた、例えば、AR-V7又はそれらの部位に結合もしくは相互作用するヒト化抗体を作り出すために利用できる。

20

30

#### 【0061】

本明細書の開示は、エンザルタミド及びアピラテロンを伴う抗がん療法及び/又は治療などでの、がんの一連の治療中に又はその後、AR-V7などの、アンドロゲン受容体変異体の存在、量、又はそこでの変化を決定することにより、対象者における前立腺がん治療の効果を決定するための方法及び組成物である。本開示は、タキサンを伴うがん療法及び/又は治療などでの、がんの一連の治療中に又はその後、AR-V7などの、アンドロゲン受容体変異体の存在、量、又はそこでの変化を決定することにより、対象者における去勢抵抗性前立腺がんの治療効果を決定するための方法及び組成物を含む。

#### 【0062】

開示される方法及び組成物は、去勢抵抗性前立腺がんを有する患者又は対象者への、治療計画を決定するために使用できる。本明細書で使用される治療は、異常な細胞増殖、腫瘍発達、及びがんを使用できる、各種組成物、技術、治療法、及び装置を指すことができる。例えば、治療は、異常な細胞増殖、腫瘍発達、及びがんを治療するために、対象者に投与できる、化学薬品、医薬品又はそれらの組み合わせを含むことができる。治療には、外科的な介入を含むことができる。治療には、療法を含むことができる。治療は、単独で送達又は行使され得て、又は1つ以上のその他の治療形態との組み合わせで送達又は行使され得る。治療は、繰り返して又は継続して送達され得る。そのような治療は、異常な細胞増殖、腫瘍発達、及びがんに対して、又は異常な細胞増殖、腫瘍発達、及びがんの影響を部分的に又は完全に反転させるために、その対象者の感受性に影響を与えることができる

40

50

。

## 【0063】

本明細書で提供されるのは、エンザルタミド及びアピラテロンなどの、特定薬剤への耐性を決定するために、AR-V7の存在を検出することを含んで、対象者又は患者における去勢抵抗性前立腺がんの治療を決定する方法である。本明細書で提供されるのは、タキサンなどの、特定薬剤への耐性がない事を決定するために、AR-V7の存在を検出することを含んで、対象者又は患者における去勢抵抗性前立腺がんの治療を決定する方法である。本開示の方法のがんは、無秩序な増殖、浸潤、又は転移段階である対象者における、任意の細胞であり得る。

## 【0064】

用語「subject (対象者)」は、投与の対象である任意の個人を意味する。当該対象者は、脊椎動物、例えば、哺乳類であり得る。したがって、当該対象者は、ヒトであり得る。この用語は、特定の年齢又は性別を表してはいない。したがって、成人及び新生児、同様に胎児、男性又は女性のどちらも含まれることを意図している。患者は、疾患又は傷害に苦しむ対象者を指す。用語「patient (患者)」には、ヒト又は獣医学的対象者を含む。対象者には、非限定的に、動物、植物、細菌、ウイルス、寄生虫及び任意のその他生物又は核酸を有する実在物を含む。当該対象者は、脊椎動物、より特定には哺乳類（例えば、ヒト、馬、豚、ウサギ、犬、羊、ヤギ、ヒト以外の霊長類、牛、猫、モルモット又は齧歯動物）、魚、鳥又は爬虫類もしくは両生類であっても良い。当該対象者は、無脊椎動物、より特定には節足動物（例えば、昆虫や甲殻類）に対してであっても良い。当該用語は、特定の年齢又は性別を表してはいない。したがって、成体及び新生体、同様に胎児、雄又は雌のどちらも含まれることを意図している。患者は、疾患又は傷害に苦しむ対象者を指す。用語「patient (患者)」には、ヒト又は獣医学的対象者を含む。

## 【0065】

本明細書の開示は、去勢抵抗性前立腺がんの患者における、エンザルタミド及びアピラテロンなどの薬剤への耐性を評価するための、方法及び組成物である。追加の治療薬はまた、例えば、抗がん（抗悪性腫瘍）剤、抗悪性腫瘍剤である次の一覧、アシピシン、アクリルピシン、アコダゾール塩酸塩、アクロニン (Acroquine)、アドゼレシン、アルデスロイキン、アルトレタミン、アンボマイシン、アメタントロン酢酸塩、アミノグルテチミド、アムサクリン、アナストロゾール、アントラマイシン、アスパラギナーゼ、アスペルリン、アザシチジン、アゼテパ、アゾトマイシン、バチマスタット、ベンゾデパ、ビカルタミド、ビスアントレン塩酸塩、メシル酸ビスナフィド (Bisnafide Dimesylate)、ピセレシン、プレオマイシン硫酸塩、プレキナルナトリウム、プロピリミン、プスルファン、カクチノマイシン、カルステロン、カラセミド、カルベチマー、カルボプラチン、カルムスチン、カルピシン塩酸塩、カルゼルシン、セデフィンゴール、クロランブシル、シロレマイシン、シスプラチン、クラドリピン、メシル酸クリスナトール、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン塩酸塩、デシタピン、デキソルマプラチン、デザグアニン、メシル酸デザグアニン、ジアジクオン、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ドキシソルピシン塩酸塩、ドロロキシフェン、ドロロキシフェンクエン酸、ドロモスタノロンプロピオン酸塩、デュアゾマイシン、エダトレキサート、エフロミチン塩酸塩、エルサミトルシン、エンロプラチン、エンプロメート、エピプロピジン、エピルピシン塩酸塩、エルプロゾール、エソルピシン塩酸塩、エストラムスチン、エストラムスチンリン酸ナトリウム、エタニダゾール、ヨード化ケシ油エチルエステル I 131、エトボシド、リン酸エトボシド、エトプリン、ファドロゾール塩酸塩、ファザラビン、フェンレチニド、フロクスウリジン、リン酸フルダラビン、フルオロウラシル、フルロシタピン、ホスキドン、ホストリエシンナトリウム、ゲムシタピン、ゲムシタピン塩酸塩、ゴールド Au 198、ヒドロキシウレア、イダルピシン塩酸塩、イホスファミド、イルモホシン、インターフェロン アルファ - 2 a、インターフェロン アルファ - 2 b、インターフェロン アルファ - n 1、インターフェロン アルファ - n 3、インターフェロン

10

20

30

40

50

ベータ - 1 a、インターフェロン ガンマ - 1 b、イプロプラチン、イリノテカン塩酸塩、ランレオチド酢酸塩、レトロゾール、リュープロリド酢酸塩、リアロゾール塩酸塩、ロメレキソールナトリウム、ロムスチン、ロソキサントロン塩酸塩、マソプロコール、マイタンシン、メクロレタミン塩酸塩、メゲストロール酢酸塩、メレンゲストロール酢酸塩、メルファラン、メノガリル、メルカプトプリン、メトトレキサート、メトトレキサートナトリウム、メトプリン、メツレデパ、ミチンドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトギリン、ミトマルシン、マイトマイシン、ミトスパー、ミトタン、ミトキサントロン塩酸塩、ミコフェノール酸、ノコダゾール、ノガラマイシン、オルマブラチン、オキシスラン、パクリタキセル、ペグアスパルガーゼ、ペリオマイシン、ペンタムスチン、ペプロマイシン硫酸塩、ペルホスファミド、ピボプロマン、ピボスルファン、ピロキサントロン塩酸塩、プリカマイシン、プロメスタン、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、プレドニムスチン、プロカルバジン塩酸塩、ピューロマイシン、ピューロマイシン塩酸塩、ピラゾフリン、リボプリン、ログレチミド、サフムゴール ( s a f m g o l )、サフィンゴール塩酸塩、セムスチン、シムトラゼン、スパルホサートナトリウム、スパルソマイシン、スピロゲルマニウム塩酸塩、スピロムスチン、スピロブラチン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、塩化ストロンチウム S r 8 9、スロフェヌル、タリソマイシン、タキサン、タキソイド、テコガランナトリウム、テガフル、テロキサントロン塩酸塩、テモポルフィン、テニポシド、テロキシロン、テストラクトン、チアミプリン、チオグアニン、チオテパ、チアゾフリン、チラバザミン、トボテカン塩酸塩、トレミフェンクエン酸塩、トレストロン酢酸塩、リン酸トリシリピン、トリメトトレキサート、グルクロン酸トリメトトレキサート、トリプトレリン、ツプロゾール塩酸塩、ウラシルマスタード、ウレデパ、パブレオチド、ベルテポルフィン、ビンブラスチン硫酸塩、ビンクリスチン硫酸塩、ビンデシン、ビンデシン硫酸塩、ピネピジン硫酸塩、ピングリシナート硫酸塩、ピンロイロシン硫酸塩、ピノレルピン酒石酸塩、ピンロシジン硫酸塩、ピンゾリジン硫酸塩、ボロゾール、ゼニプラチン、ジノスタチン、ゾルピシン塩酸塩を含んで、患者における潜在的な治療耐性に対して評価されても良い。

【 0 0 6 6 】

その他の抗悪性腫瘍化合物には、20 - エピ - 1、25ジヒドロキシビタミンD3、5 - エチニルウラシル、アピラテロン、アクラルピシン、アシルフルベン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、ALL - TK 拮抗薬、アルトレタミン、アンバムスチン、アミドックス、アミフォスチン、アミノレプリン酸、アムルピシン、アトラサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アンドログラホリド、血管新生阻害剤、拮抗薬D、拮抗薬G、アンタレリックス、抗 - 背側化形態形成タンパク質 - 1、抗アンドロゲン剤、前立腺がん、抗エストロゲン、抗新生物薬、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフイディコリングリシネート、アポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシスレギュレータ、アプリン酸、a r a - C D P - D L - P T B A、アルギニン脱アミノ化酵素、アスラクリン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、アザセトロン、アザトキシン、アザチロシン、バッカチンI I I 誘導体、バラノール、パチマスタット、BCR / A B L 拮抗薬、ベンゾクロリンス (benzochlorins)、ベンゾイルスタウロスポリン、ベータラクタム誘導体、ベータ - アレチン、ベタクラマイシンB、ベツリン酸、b F G F 阻害剤、ビカルタミド、ビスアントレン、ビスアジリジニルスペルミン、ビスナフィド、ビストラテンA、ビゼレシン、プレフラート、プロピリミン、ブドチタン、ブチオニンスルホキシミン、カルシボトリオール、カルホスチンC、カンプトテシン誘導体、カナリア痘I L - 2、カペシタピン、カルボキサミド - アミノ - トリアゾール、カルボキシアミドトリアゾール、C a R e s t M 3、C A R N 7 0 0、軟骨由来阻害剤、カルゼルシン、カゼインキナーゼ阻害剤 ( I C O S )、カスタノスペルミン、セクロピンB、セトロレリクス、クロリNZ (chlorins)、クロロキノキサリンスルホンアミド、シカプロスト、シス - ポルフィリン、クラドリピン、クロミフェン類似体、クロトリマゾール、コリスマイシンA、コリスマイシンB、コンプレタスタチンA 4、コンプレタスタチン類似体、コナゲニン、クランベシジン816、クリスナトール

10

20

30

40

50

、クリプトフィシン 8、クリプトフィシン A 誘導体、キュラシン A、シクロペントアント  
ラキノン、シクロプラタム、シペマイシン、シタラビンオクホスファート、細胞傷害性因  
子、シトスタチン、ダクリキシマブ、デシタピン、デヒドロジデムニン B、デスロレリン  
、デキシホス ファミド、デクスラゾキサソ、デクスベラパミル、ジアジクオン、ジデム  
ニン B、ジドックス、ジエチルノルスベルミン、ジヒドロ - 5 - アザシチジン、ジヒドロ  
タキソール、9 - 、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロマスチン、ドコサノール、ドラ  
セトロン、ドキシフルリジン、ドロロキシフェン、ドロナビノール、デュオカルマイシン  
S A、エブセレン、エコムスチン、エデルホシン、エドレコロマブ、エフロルニチン、エ  
レメン、エミテフル、エピルピシン、エプリステリド、エストラムスチン類似体、エス  
トロゲン作用薬、エストロゲン拮抗薬、エタニダゾール、リン酸エトボシド、エキセメス  
タン、ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステ  
リド、フラボピリドール、フレゼラスチン、フルアステロン、フルダラビン、フルオロダ  
ウノルニシン塩酸塩、ホルフェニメックス、ホルメスタン、ホストリエシン、フォテムス  
チン、ガドリニウムテキサフィリン、ガリウム硝酸塩、ガロシタピン、ガニレリクス、ゼ  
ラチナーゼ阻害剤、ゲムシタピン、グルタチオン阻害剤、ヘブスルファミン、ヘレグリン、  
ヘキサメチレンビスアセトアミド、ヘペリシン、イバンドロン酸、イダルピシン、イドキ  
シフェン、イドラマントン、イルモホシン、イロマスタット、イミダゾアクリドン、イミ  
キモド、免疫刺激剤ペプチド、インスリン様成長因子 - 1 受容体阻害剤、インターフェロ  
ン作動薬、インターフェロン、インターロイキン、ヨーベングアン、ヨードドキソルピシ  
ン、イポメアノール、4 - 、イリノテカン、イロブラクト、イルソグラジン、イソベンガ  
ゾール、イソホモハリコンドリン B、イタセトロン、ジャスプラキノリド、カハラリド F  
、ラメラリン N トリアセテート、ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、レン  
チナン硫酸塩、レプトルスタチン、レトロゾール、白血病抑制因子、白血球アルファイン  
ターフェロン、リュープロリド + エストロゲン + プロゲステロン、リュープロレリン、  
レバミゾール、リアロゾール、線形ポリアミン類似体、脂溶性二糖ペプチド、脂溶性白金  
化合物、リソクリナミド 7、ロバプラチン、ロンブリシン、ロメテレキソール、ロニダ  
ミン、ロソキサントロン、ロバスタチン、ロキソリピン、ラルトテカン、ルテチウムテキ  
サフィリン、リソフィリン、溶解ペプチド、マイタンシン、マンノスタチン A、マリマス  
タット、マソプロコール、マスピン、マトリライシン阻害剤、マトリックスメタロプロテ  
アーゼ阻害剤、メノガリル、メルパロン、メテレリン、メチオニン分解酵素、メトクロブ  
ラミド、M I F 阻害剤、ミフェプリストン、ミルテホシン、ミリモスチム、不一致二重鎖  
R N A、ミトグアゾン、ミトラクトール、マイトマイシン類似体、ミトナフィド、マイト  
トキシシン線維芽細胞成長因子 - サボリン、ミトキサントロン、モファロテン、モルグラモ  
スチム、モノクローナル抗体、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、モノホスホリル脂質 A + マイ  
コバクテリウム細胞壁 s k、モピダモール、複数薬剤耐性遺伝子阻害剤、複数腫瘍サブ  
レッサー 1 - に基づく療法、マスタード抗がん剤、ミカペルオキシド B、ミコバクテリア細  
胞壁抽出物、ミリアポロン、N - アセチルジナリン、N - 置換ベンズアミド、ナファレリ  
ン、ナグレスチップ、ナロキソン + ペンタゾシン、ナバピン ( n a p a v i n )、ナフテ  
ルピン、ナルトグラスチム、ネダプラチン、ネモルピシン、ネリドロロン酸、中性エンドペ  
プチダーゼ、ニルタミド、ニサマイシン、一酸化窒素 (nitric oxide) モジュレーター、ニ  
トロキシド抗酸化剤、ニトルリン、O 6 - ベンジルグアニン、オクトレオチド、オキセノ  
ン、オリゴヌクレオチド、オナプリストン、オングンセトロン、オングンセトロン、オラ  
シン、経口サイトカイン誘導物質、オルマプラチン、オサテロン、オキサリプラチン、オ  
キサウノマイシン、パクリタキセル類似体、パクリタキセル誘導体、パラウアミン、パル  
ミトイルリゾキシシン、パミドロロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、バラバクチン  
、パゼリプチン、ペグアスパラガーゼ、ペルデシン、ペントサンポリサルフェートナトリ  
ウム、ペントスタチン、ペントロゾール、ペルフルブロン、ペルホスファミド、ペリリル  
アルコール、フェナジノマイシン、フェニルアセテート、ホスファターゼ阻害剤、ピシバ  
ニール、ピロカルピン塩酸塩、ピラルピシン、ピリトレキシム、プラセチン A、プラセチ  
ン B、プラスミノゲン活性化因子阻害剤、白金複合体、白金化合物、白金 - トリアミン

10

20

30

40

50

複合体、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、プロピルビス - アクリドン、プロスタグランジン J 2、プロテアソーム阻害剤、タンパク質 A ベース免疫モジュレーター、プロテインキナーゼ C 阻害剤、プロテインキナーゼ C 阻害剤、ミクロアルガル (micro algal)、タンパク質チロシン・ホスファターゼ阻害剤、プリンスクレオシド・ホスホリラーゼ阻害剤、ブルプリン、ピラゾロアクリジン、ピリドキシル化ヘモグロビン・ポリオキシエチレン共役体、raf 拮抗薬、ラルチトレキセド、ラモセトロン、ras ファルネシルタンパク質転移酵素阻害剤、ras 阻害剤、ras - GAP 阻害剤、脱メチル化レテリプチン、レニウム Re 186 エチドロネート (etodronate)、リゾキシム、リボザイム、R I I レチナミド、ログレチミド、ロヒツキン、ロムルチド、ロキニメックス、ルビジノン B 1、ルボキシム、サフィンゴール、サイントピン、Sar C NU、サルコフィトール A、サルグラモスチム、S di 1 模倣薬、セムスチン、老化細胞由来阻害剤 1、センスオリゴヌクレオチド、シグナル伝達阻害剤、シグナル伝達モジュレーター、一本鎖抗原結合タンパク質、シゾフィラン、ソブゾキサム、ナトリウムボロカプテイト、フェニル酢酸ナトリウム、ソルベロール、ソマトメジン結合タンパク質、ソネルミン、スパルホス酸、スピカマイシン D、スピロムスチン、スプレノペンチン、スポンギスタチン 1、スクアラミン、幹細胞阻害剤、幹細胞分裂阻害剤、スチピアミド、ストロメリシン阻害剤、スルフモシン、超活性血管作動性腸管ペプチド拮抗薬、スラジスタ、スラミン、スワインソニン、合成グリコサミノグリカン、タリムスチン、タモキシフェン・メチオジド、タウロムスチン、タザロテン、テコランナトリウム、テガフル、テルラピリウム、テロメラゼ阻害剤、テモポルフィン、テモゾロミド、テニボシド、テトラクロロデカオキシド、テトラゾミン、トリブラスチン、サリドマイド、チオコラリン、トロンボポエチン、トロンボポエチン模倣薬、サイマルファシン、サイモポエチン受容体作動薬、サイモトリナン、甲状腺刺激ホルモン、エチルエチオプルプリン錫、チラパザミン、二塩化チタノセン、トポテカン、トプセンチン、トレミフェン、全能性幹細胞因子、翻訳阻害剤、トレチノイン、トリアセチルウリジン、トリシリピン、トリメトレキサート、トリプトレリン、トロピセトロン、ツロステリド、チロシンキナーゼ阻害剤、チロホスチン、U B C 阻害剤、ウベニメックス、泌尿生殖器洞由来成長阻害因子、ウロキナーゼ受容体拮抗薬、バプレオチド、バリオリン B、ベクターシステム、赤血球遺伝子療法、ベラレソール、ベラミン、バーデン、ベルテポルフィン、ピノレルピン、ピンキサルチン、ピタキシム、ボロゾール、ザノテロン、ゼニプラチン、ジラスコルブ、ジノスタチンスチマラーを含む。

10

20

30

## 【0067】

本開示の方法は更に、1つ以上の追加の放射線増感剤に耐性である薬剤の評価を含む。公知の放射線増感剤の実施例には、ゲムシタピン、5 - フルオロウラシル、ペントキシフィリン、及びピノレルピンを含む。

## 【0068】

ほとんどの化学療法薬は、アルキル化剤、代謝拮抗薬、アントラサイクリン、植物アルカロイド、トポイソメラーゼ阻害剤、モノクローナル抗体、及びその他の抗腫瘍剤に分けることができる。これら薬剤のすべては、細胞分裂又は DNA 合成に影響を及ぼす。いくつかの新規薬剤は、直接的には DNA に干渉しない。これらには、新規のチロシンキナーゼ阻害剤であるメシル酸イマチニブを含み、がんの特定のタイプ (慢性骨髄性白血病、消化管間質腫瘍) における分子異常を直接標的にする。更に、いくつかの薬剤は、それらの細胞を直接には攻撃せずに、腫瘍細胞の挙動を調節するために使用できる。ホルモン療法は、この術後補助療法の領域に分類される。

40

## 【0069】

本開示の方法の範囲に含まれる化学療法薬は、アルキル化剤であり得る。アルキル化剤は、細胞の存在条件下で、多数の電気陰性基にアルキル基を付加する能力があるために、そう命名される。オキサリプラチンと共に、シスプラチン及びカルボプラチンは、アルキル化剤である。その他の薬剤には、メクロレタミン、シクロホスファミド、クロランブシルがある。それら薬剤は、細胞の DNA を化学的に修飾することによって作用する。

## 【0070】

50

本開示の方法の範囲に含まれる化学療法薬は、代謝拮抗薬であり得る。代謝拮抗薬は、プリン（アザチオプリン、メルカプトプリン）又はピリミジンのように振る舞い、DNAの構成単位になる。それらは、（細胞周期の）「S」期の中に、DNAに組み込まれる物質を抑え、正常な発達及び分裂を止める。それらはまた、RNA合成に影響を及ぼす。それらの効力のために、これら薬剤は、最も広く活用される細胞増殖抑制剤である。

【0071】

本開示の方法の範囲に含まれる化学療法薬は、植物アルカロイド又はテルペノイドであり得る。これらのアルカロイドは、植物から誘導され、及び微小管機能を阻むことによって、細胞分裂を阻止する。微小管は、細胞分裂にとって重要であり、及びそれら無しでは、分裂が起こらない。この主な実施例は、ビンカアルカロイド及びタキサンである。

10

【0072】

本開示の方法の範囲に含まれる化学療法薬は、ビンカアルカロイドであり得る。ビンカアルカロイドは、チュープリンの特定部位と結合し、微小管内へのチュープリンの組み立て（その細胞周期のM期）を阻害する。それらは、マダガスカル原産ニチニチソウ、ニチニチソウ（正式には、ツルニチニチソウ（*Vinca rosea*）として知られる）から誘導される。このビンカアルカロイドには、ピンクリスチン、ピンブラスチン、ピノレルピン、ピンデシン、及びポドフィロトキシンを含む。ポドフィロトキシンは、2つのその他の細胞増殖抑制剤である、エトピシド及びテニポシドを生産するために使用される、植物由来化合物である。それらは、G1期（DNA複製の開始）及びDNA複製（S期）に、細胞が入り込むことを阻止する。この作用の正確な機能は、依然として解明されねばならない。この物質は、当初はアメリカハッカクレン（*Podophyllum peltatum*）から得られた。希少なヒマラヤハッカクレン（*Podophyllum hexandrum*）は、より高品質なものを含むが、しかし当該植物は、絶滅危惧種であり、その供給は制限されている。当該物質を遺伝子組み換えで取得できるように、その物質の生産に関与する遺伝子を単離するために、研究が行われてきた。

20

【0073】

本開示の方法の範囲に含まれる化学療法薬は、タキサンであり得る。タキサンの原型は、天然産物のパクリタキセルであり、元来はタキソールとして知られ、及び太平洋イチイの樹皮から最初に誘導された。ドセタキセルは、パクリタキセルの半合成の類似体である。タキサンは、微小管の安定性を高め、細胞周期の後期での、染色体の分離を防ぐ。

30

【0074】

本開示の方法の範囲に含まれる化学療法薬には、トポイソメラーゼ阻害剤を含む。トポイソメラーゼは、DNAのトポロジーを維持する重要な酵素である。タイプI又はタイプIIトポイソメラーゼ阻害剤は、適当なDNA超らせん形成を壊すことによって、DNAの転写及び複製の両方に干渉する。いくつかのタイプIIトポイソメラーゼ阻害剤には、カンプトテシン・イリノテカン及びトポテカンを含む。タイプII阻害剤には、アムサクリン、エトピシド、リン酸エトピシド、及びテニポシドを含む。これらは、アメリカハッカクレン（*Podophyllum peltatum*）の根に天然に発生するアルカロイドである、エピポドフィロトキシンの半合成誘導体である。

40

【0075】

本開示の方法の範囲に含まれる化学療法薬は、抗腫瘍性抗生物質（抗悪性腫瘍剤）であり得る。

【0076】

本開示の方法の範囲に含まれる化学療法薬は、（モノクローナル）抗体であり得る。モノクローナル抗体は、腫瘍に特異的な抗原を標的化することによって作用し、したがってその薬剤がそれ自身を付着させる腫瘍細胞への、宿主の免疫反応を高める。実施例としては、トラスツズマブ（ハーセプチン）、セツキシマブ、リツキシマブ（リツキサン又はマブセラ）がある。ベパシズマブは、腫瘍細胞を直接には攻撃しないが、代わりに新しい腫瘍血管の形成を阻止するモノクローナル抗体である。

50

【0077】

ホルモン療法は、本開示の方法の範囲に含まれる。複数の悪性腫瘍は、ホルモン療法に対して応答する。厳密に言えば、これは化学療法ではない。乳腺及び前立腺を含む、特定組織に発生するがんは、そのホルモンバランスにおける適切な変化によって、阻害され又は刺激される可能性がある。ステロイド（しばしば、デキサメタゾン）は、腫瘍の成長又は関連する浮腫（組織の腫れ）を抑制でき、リンパ節の悪性腫瘍の退縮を引き起こす可能性がある。前立腺がんは多くの場合、テストステロンのジヒドロテストステロンへの末梢変換を阻止する薬剤である、フィナステリドに感受性である。乳がん細胞はしばしば、エストロゲン及び/又はプロゲステロン受容体を高発現する。これらホルモンの産生（アロマターゼ阻害剤で）又は作用（タモキシフェンで）を阻害することは、療法への補助手段として、しばしば利用可能である。ゴセレリンなどの、性腺刺激ホルモンを放出するホルモン作用薬（GnRH）は、継続的に与えられた場合、異常な負のフィードバック効果を保持し、次いでFSH（卵胞刺激ホルモン）及びLH（黄体形成ホルモン）の放出を阻害する。いくつかのその他の腫瘍はまた、その特異な機構はいまだ不明であるが、ホルモン依存性である。

10

20

30

40

50

#### 【0078】

一般に、治療を指す場合、本明細書で考察される治療組成物は、経口で、非経口で（例えば、静脈又は皮下投与）、筋肉内注射によって、腹腔内注射によって、経皮的に、体外で、腔内投与によって、経皮的に、又は局所的に、もしくは局所鼻腔内投与又は吸入による投与を含んだものなどで、投与されて良い。当該局所投与は、眼科的に、経膈的に、直腸に、又は鼻腔内であり得る。本明細書で使用する「*topical intranasal administration*（局所鼻腔内投与）」は、鼻孔の片方又は両方を通して、鼻及び鼻腔に、当該組成物を送達することを意味し、及び当該核酸又はベクターの、スプレー機構又は液滴化機構による、もしくはエアゾール化を通しての送達を含むことができる。吸入による当該組成物の投与は、スプレー又は液滴化機構によって、鼻又は口腔を介したものであり得る。送達はまた、挿管を介して呼吸器系（例えば、肺）の任意の領域への直接的なものであり得る。

#### 【0079】

本明細書で使用する、当該組成物の「*parenteral administration*（非経口投与）」を使用する場合は、一般に注射によって特徴づけられる。注射は、溶液又は懸濁液のいずれかで、注射前に液体に懸濁される溶液に適した固形形態、もしくはエマルジョンとして、従来形態で調合され得る。非経口投与には、徐放性、時間放出、又は一定用量が投与される維持放出システムの利用を含む。

#### 【0080】

用語「*therapeutically effective*（治療に効果的な）」は、使用する組成物の量が、異常な細胞増殖、腫瘍の発達、及びがんなどの、疾患又は障害の1つ以上の原因もしくは症状を改善するために適切な量である、ことを意味する。そのような改善には、減少又は変化が必要であるが、必ずしも消失が必要ではない。本開示の組成物の投与に対応した効果的な用量及び計画は、経験的に決定されても良く、そのような決定の策定は、当業者において成される。当該組成物の投与に対応した用量範囲は、その障害の症状が影響を受けるように、望ましい効果を生み出すのに十分な量である。この用量は、望ましくない交差反応、アナフィラキシー反応などの、有害な副作用を起こすほど多くしてはならない。一般に、その用量は、その患者の年齢、症状、性別及び疾患の程度に応じて、又はその他の薬剤が、その治療計画に含まれているかどうかによって変動し、及び当業者によって決定され得る。当該用量は、いずれかの反対の兆候が発生した場合には、個々の医師によって調整が可能である。用量は、変更でき、及び毎日、1日又は数日にわたって、1回以上の投与で、与えられて良い。目的の医薬品分類に対応した適切な用量については、その指示内容を、文献に見出すことができる。

#### 【0081】

任意の特定の対象者又は患者にとって治療に特に効果的な量は、治療を受けている病気や障害、及び障害の重症度、採用された特定組成物の特徴及び活性、その患者の年齢、体

重、一般的な健康状態、性別、食事状態、投与の時間、投与の経路、採用された特定組成物の排泄率、その治療期間、採用された特定組成物との組み合わせで、又は同時に使用される薬剤、及び医療技術分野公知の要因などを含む、多様な要因に依存するであろう。

【0082】

例えば、組成物の投薬量を、その治療に望ましい効果を達成するのに必要な用量より少ないレベルで開始し、その望ましい効果に達するまでその用量を徐々に増やすことは、当業者にはよく知られている。当業者はまた、虚血再灌流傷害、外傷、薬/毒性物質による傷害、神経変性疾患、がん、その他の病気及び/又は症状の治療に対して注意が必要な、対象者の状態を評価するのに有用であると公知の、医療履歴、兆候、症状の特定態様、及び客観的な臨床検査を評価できる。これらの兆候、症状、及び客観的な臨床検査は、治療され又は予防されている特定疾患もしくは症状に依存して変動するであろうし、そのような患者を治療する任意の臨床医又は本分野で実験を行う研究者にとっては、公知のことであろう。例えば、仮に、適切な対照群及び/又は一般集団又は特定対象者もしくは患者における、疾患の通常進行の知見との比較に基づいて、(1)対象者の体調に、改善が見られる(例えば、腫瘍が、部分的に又は完全に退縮した)、(2)その疾患又は症状の進行が、安定している、又は遅い、もしくは反転していることを示す、又は(3)その疾患又は症状を治療するために、その他の投薬の必要性が、軽減又は除外された場合、そのときは特定の治療計画が、有効であると考えられるであろう。

10

【0083】

処方された治療に効果的な量は、毎日、1日おき、毎週、毎月、2ヶ月毎、隔月に、毎年、又は医師もしくは提供者によって有効であると決定された、任意のその他の間隔で、与えられても良い。例えば、効果的な毎日の用量は、投与の目的に応じて、複数用量に分割できる。その結果、単回投与の療法には、1日の用量を構成する量又はその約数量を含むことができる。本開示の治療法はまた、抗腫瘍又は抗がん治療の部分的な組み合わせとして、投与され得る。1つの態様において、本開示の組成物は、抗腫瘍又は抗がん治療を伴う治療の前に、その対象者又は患者へ投与できる。1つの態様において、本開示の組成物は、抗腫瘍又は抗がん治療と並行して、投与できる。1つの態様において、本開示の組成物は、抗腫瘍又は抗がん治療の後に、投与できる。1つの態様において、当該患者又は対象者は、交互の又は巡回のスケジュールで、両方の治療を受ける。1つの態様において、当該対象者又は患者は、本開示の組成物で、単回の治療を受ける。1つの態様において、当該対象者又は患者は、本開示の組成物での少なくとも1回の治療を受ける。1つの態様において、当該対象者又は患者は、本開示の組成物での少なくとも1回の治療、及び少なくとも1回のその他の抗腫瘍又は抗がん治療を受ける。

20

30

【0084】

当該用量は、いずれかの反対の兆候が発生した場合には、個々の医師又はその対象者によって調整が可能である。用量は、変更でき、毎日、1日又は数日間で、1回以上の用量で、投与され得る。目的の医薬品分類に対応した適切な用量については、その指示内容を、文献に見出すことができる。

【0085】

本開示は、AR-V7のレベルを決定するための検査に対応した方法及び組成物である。本開示は、非限定的にSEQ ID番号1~2を含むプライマーを使用したPCRなどの、ハイブリダイゼーションアッセイの利用を含んで、AR-V7の存在に対応したスクリーニング法を含む。特定の実施形態において、例えば、SEQ ID番号1~4を含むプライマーを使用して、AR-FLの量と比較したAR-V7の量を決定するために、PCRを利用する。

40

【0086】

本開示は、生体外又はコンピューター内において、対象者又はその他の供給者からのサンプルにおいて、細胞におけるAR-V7のレベルを決定する方法及び組成物を含む。方法には、PCRなどの検出法の利用によって、サンプル中にAR-V7のレベルを決定することを含む。

50

## 【0087】

任意の対象者又は患者に特定された、本開示のポリペプチド及び核酸ならびに、そのポリペプチド及び核酸の配列は、コンピューターによって読み込まれ及び評価され得る任意の媒体上で、格納され、記録され、及び処理され得る、ことは当業者には理解されよう。本開示の方法は、コンピューター内で実施され得る。本明細書で使用する用語「recorded（記録された）」及び「stored（格納された）」は、コンピューター媒体上で情報を格納するプロセスを指す。当業者は、本開示の1つ以上の核酸を含む配列リストを作り出すために、コンピューターで読み取り可能な媒体上で、情報を記録する現在公知の方法のいずれをも、容易に導入できる。本開示の他の態様は、コンピューター読み取り可能な媒体であって、それらに記録された、少なくとも2、5、10、15、20、25、30、50、100、200、250、300、400、500、1000、2000、3000、4000、5000、10,000、又はそれ以上の、任意の対象者又は患者に特定された、本開示のポリペプチド又は核酸、もしくはポリペプチド配列もしくは核酸配列を有する。

10

## 【0088】

したがって、本明細書の提供は、AR-V7及びAR-V7をコードする核酸の記録を含むデータベースを備える、コンピューターシステムである。本明細書の開示は、AR-V7の変異体を含むポリペプチド、及びAR-V7の変異体をコードするその配列を含む核酸に対応した記録を含む、データベースを備えるコンピューターシステムである。コンピューター読み取り可能な媒体には、磁気読み取り可能な媒体、光学的に読み取り可能な媒体、電子的に読み取り可能な媒体、及び磁気/光媒体を含む。例えば、当該コンピューター読み取り可能な媒体は、ハードディスク、フロッピーディスク、磁気テープ、CD-ROM、DVD、RAM、又はROM、ならびに当技術分野で公知のその他媒体のその他の種類であっても良い。

20

## 【0089】

本開示の態様には、システム、特に本明細書に記述される配列情報を含むコンピューターシステムを含む。本明細書で使用する「a computer system（コンピューターシステム）」は、本開示のヌクレオチド配列又はその他の配列を格納し及び/又は解析するために使用される、ハードウェアコンポーネント、ソフトウェアコンポーネント、及びデータ格納コンポーネントを指す。当該コンピューターシステムには好ましくは、上記のコンピューター読み取り可能な媒体、及び非限定的に、本開示のポリペプチド及び核酸を含む、本開示の組成物の配列データを評価し、処理するプロセッサを含む。

30

## 【0090】

好ましくは、このコンピューターは、中央処理装置（CPU）、データを格納する1つ以上のデータ格納コンポーネント、そのデータ格納コンポーネント上に格納されたデータを取得する1つ以上のデータ取得装置を備える汎用システムである。当業者は、現在利用可能なコンピューターシステムの任意の1つが適していることを容易に理解されよう。

## 【0091】

1つの態様において、当該コンピューターシステムは、主要メモリーに繋がっており、好ましくはRAMのように実装され、バスに接続されたプロセッサ、及びハードウェアドライブ及び/又はそこに記録されたデータを保持するその他のコンピューター読み取り可能な媒体などの1つ以上のデータ格納装置を備える。1つの態様において、当該コンピューターシステムは更に、そのデータ格納コンポーネント上に格納されたデータを読み取るための1つ以上のデータ取得装置を備える。そのデータ取得装置は、例えば、フロッピーディスクドライブ、コンパクトディスクドライブ、磁気テープドライブ、ハードディスクドライブ、CD-ROMドライブ、DVDドライブなどを表しても良い。1つの態様において、当該データ格納コンポーネントは、フロッピーディスク、コンパクトディスク、磁気テープなどの、それらに記録された制御ロジック及び/又はデータを含む、取り外し可能なコンピューター読み取り可能な媒体である。当該コンピューターシステムは、そのデータ取得装置に一旦挿入されたデータ格納コンポーネントからの、制御ロジック及び/又

40

50

はデータを読み取るのに適切なソフトウェアを有利に備え、又は、そのソフトウェアによってプログラム化されても良い。本開示の核酸のヌクレオチド配列を評価し及び処理するソフトウェア（検索ツール、比較ツール、モデリングツールなど）は、処理実行の間、主要メモリに常在しても良い。

【0092】

1つの態様において、当該コンピューターシステムには、コンピューター読み取り可能媒体に格納されたポリペプチド及び核酸配列を、コンピューター読み取り可能媒体に格納された他の検査配列と比較する、配列比較部を含む。「sequence comparer（配列比較部）」は、そのコンピューターシステム上で、核酸配列とその他の核酸配列との比較、及びポリペプチドとその他のポリペプチドとの比較を実行する、1つ以上のプログラムを指す。

10

【0093】

したがって、本開示の1つの態様は、プロセッサ、本開示のポリペプチド又は核酸をそこに格納したデータ格納装置、検査又はサンプル配列と比較するために、参照のポリペプチド又はヌクレオチド配列をそこに取得可能に格納したデータ格納装置、及びその比較を実行する配列比較部を備える、コンピューターシステムである。当該配列比較部は、比較された配列間の相同性レベルを示し、又は2つ以上の配列間の差異を特定しても良い。例えば、AR-V7、又は任意のその断片を含むサンプルは、対象者又は患者からの検査配列と、仮にその検査配列が、参照配列と同じかどうかを決定するために、比較され得る。

【0094】

本明細書で使用する用語は、特定の態様を記述する目的だけのためであり、及び制限を意図してはいない。

20

【0095】

本明細書及び添付の請求項に使用する単数形「a」、「an」及び「the」は、その文脈が、明確に指示しない限り、複数対象を含むことができる。したがって、例えば、「a compound（化合物）」の言及には、化合物の混合物を含み、「a pharmaceutical carrier（医薬キャリア）」の言及には、2つ以上のそのようなキャリアの混合物を含む、などである。

【0096】

範囲は、本明細書では、「about（約）」1つの特定値から、及び/又は「about（約）」他の特定値までを表しても良い。用語「about（約）」は、おおよそ、その範囲で、おおまかに、約の意味で、本明細書では使用される。用語「about（約）」が、数値範囲を伴って使用される場合、その定められた数値の上下境界まで拡張された範囲に修正する。一般に、用語「about（約）」は、その明示された値の上下20%の変動まで、その数値を修正するために、本明細書では使用される。そのような範囲が明示される場合、1つの態様は、その1つの特定値から及び/又はその他の特定値までを含む。同様に、値が、おおよそとして表現される場合、先行詞「about（約）」の使用によって、その特定値が、1つの態様を形成すると理解されるであろう。当該範囲の各終点が、その他の終点との関連において、及びその他の終点とは無関係に、その両方において意味を成す。

30

40

【0097】

本明細書で使用するアミノ酸の省略形は、従来から使用されてきたアミノ酸に対する1つの文字コードであり、及びアラニンには、Ala又はA、アルギニンには、Arg又はR、アスパラギンには、Asn又はN、アスパラギン酸（アスパラギン酸塩）には、Asp又はD、システインには、Cys又はC、グルタミンには、Gln又はQ、グルタミン酸（グルタミン酸塩）には、Glu又はE、グリシンには、Gly又はG、ヒスチジンには、His又はH、イソロイシンには、Ile又はI、ロイシンには、Leu又はL、リジンには、Lys又はK、メチオニンには、Met又はM、フェニルアラニンには、Phe又はF、プロリンには、Pro又はP、セリンには、Ser又はS、トレオニンには、Thr又はT、トリプトファンには、Trp又はW、チロシンには、Tyr又はY、

50

バリンには、Val又はV、アスパラギン酸又はアスパラギンには、Asx又はB、グルタミン又はグルタミン酸には、Glx又はZ、のように表す。

【0098】

本明細書で使用する「Polypeptide (ポリペプチド)」は、任意のペプチド、オリゴペプチド、ポリペプチド、遺伝子産物、発現産物、又はタンパク質を指す。ポリペプチドは、連続したアミノ酸から構成される。用語「polypeptide (ポリペプチド)」は、自然発生の又は合成の分子を含む。更に、本明細書で使用する「polypeptide (ポリペプチド)」は、ペプチド結合又は修飾されたペプチド結合、例えばペプチドイソスターなどによって互いに繋がったアミノ酸を指し、20の遺伝子にコードされたアミノ酸以外の、修飾されたアミノ酸を含んでも良い。当該ポリペプチドは、翻訳後プロセスなどのいずれかの自然プロセスによって、又は当技術分野で公知の化学的改変技術によって改変され得る。改変は、そのペプチド骨格、アミノ酸側鎖、及びアミノ又はカルボキシ末端を含む、当該ポリペプチドのどこにおいても発生する可能性がある。いくつかのタイプの改変は、目的のポリペプチドにおける複数の部位で、同じか又は異なる度合いで存在することができる。

10

【0099】

本明細書で使用する用語「amino acid sequence (アミノ酸配列)」は、アミノ酸残基を表す省略形、文字、文字列又は単語の一覧を指す。

【0100】

本明細書で使用する用語「or」は、特定一覧の任意の一員を意味し、またその一覧のメンバーの任意の組み合わせを含む。

20

【0101】

本明細書で使用するフレーズ「nucleic acid (核酸)」は、自然発生の又は合成のオリゴヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドを指し、DNA又はRNAもしくはDNA-RNAハイブリッド、単鎖又は二本鎖、センス又はアンチセンスにかかわらず、ワトソン・クリック型塩基対によって、相補的核酸にハイブリダイゼーションをすることができる。本開示の核酸はまた、ヌクレオチド類似体 (例えば、BrdU)、及び非リン酸ジエステル・ヌクレオシド間連結 (例えば、ペプチド核酸 (PNA) 又はチオジエステル連結) を含むことができる。特に、核酸は、限定なしに、DNA、RNA、cDNA、gDNA、ssDNA、dsDNA、又は任意のそれらの組み合わせを含むことができる。

30

【0102】

本明細書で使用する「reverse analog (逆類似体)」又は「reverse sequence (逆配列)」は、他の参照ペプチドとしての逆アミノ酸配列を有するペプチドを指す。例えば、仮に1つのペプチドが、アミノ酸配列ABCDEを有する場合、その逆配列を有するその逆類似体又はペプチドは、EDCBAのようになる。

【0103】

「Inhibit (阻害する)」、「inhibiting (阻害している)」、「inhibition (阻害)」は、活性、応答性、症状、疾患、又はその他の生物学的パラメータを弱める又は減少させることを意味する。これには、非限定的に、その活性、応答性、症状、又は疾患の完全切除を含むことができる。これはまた、例えば、自然又は対照レベルと比較して、その活性、応答性、症状、又は疾患に、10%の阻害又は低減を含んでも良い。したがって、1つの態様において、当該阻害又は低減は、自然又は対照レベルとの比較において、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100パーセント、又は任意の量の低減であり得る。1つの態様において、当該阻害又は低減は、自然又は対照レベルと比較して、10~20、20~30、30~40、40~50、50~60、60~70、70~80、80~90、90~100パーセントである。1つの態様において、当該阻害又は低減は、自然又は対照レベルと比較して、0~25、25~50、50~75、又は75~100パーセントである。

40

【0104】

50

本明細書で使用する「Modulate (調整する)」、「modulating (調整している)」及び「modulation (調整)」は、活性又は機能もしくは数字の変化を意味する。この変化は、活性又は機能もしくは数字の増加又は低下、増進又は阻害であって良い。

【0105】

「Promote (促進する)」、「promotion (促進)」及び「promoting (促進している)」は、活性、応答性、症状、疾患、又はその他の生物学的パラメーターの増加を指す。これは、非限定的に、その活性、応答性、症状、又は疾患の開始を含み得る。これはまた、自然又は対照レベルと比較して、その活性、応答性、症状、又は疾患における、例えば、10%の増加を含んでも良い。したがって、1つの態様において、当該増加又は促進は、自然又は対照レベルと比較して、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100パーセント、又はそれ以上、もしくは任意の量の促進であり得る。1つの態様において、当該増加又は促進は、自然又は対照レベルと比較して、10~20、20~30、30~40、40~50、50~60、60~70、70~80、80~90、90~100パーセントである。1つの態様において、当該増加又は促進は、自然又は対照レベルと比較して、0~25、25~50、50~75、又は75~100パーセント、又は200、300、500、もしくは1000パーセント以上など、それ以上である。1つの態様において、当該増加又は促進は、その自然又は対照レベルと比較して、100、150、200、250、300、350、400、450、500パーセントもしくはそれ以上などの、自然又は対照レベルと比較して、100パーセントを超えて大きいことが可能である。

10

20

【0106】

DNA構築体の「heterologous (異種の)」領域は、自然には、その大きな分子と関連して見出されてはいない、より大きなDNA分子内のDNA識別セグメントである。したがって、その異種領域が、哺乳類遺伝子をコードする場合、その遺伝子は通常、その供給有機体のゲノムでは、哺乳類ゲノムDNAと隣接していないDNAによって、隣接されるであろう。異種コード配列の他の実施例は、それ自身のコード配列が、自然には見出されていない構築体である(例えば、そのゲノムコード配列が、イントロン含むcDNA、又はその天然遺伝子とは異なるコドンをもつ合成配列)。対立遺伝子変異又は自然発生変異事象は、本明細書で定義するようなDNAの異種領域を生じさせない。

30

【0107】

DNA配列は、その発現制御配列が、そのDNA配列の転写及び翻訳を制御及び調整する場合には、発現制御配列に、「operatively linked (動作可能に連結され)」る。用語「operatively linked (動作可能に連結された)」は、発現させるそのDNA配列の前に、適切な開始シグナル(例えば、ATG)を有すること、及びその発現制御配列の制御下で、そのDNA配列の発現を許す正確なリーディングフレームを維持すること、及びそのDNA配列によってコードされた求める産物を産生することを含む。仮に遺伝子組換えDNA分子に挿入を望まれた遺伝子が、適切な開始シグナルを含んでいない場合、そのような開始シグナルが、その遺伝子の前に挿入され得る。

40

【0108】

本明細書で使用する用語「determining (決定すること)」は、活性の数量又は量もしくは変化を測定し又は把握することを指すことができる。例えば、本明細書で使用するサンプル中に、開示されたポリペプチドの量を決定することは、当業者が、そのサンプル中に、ポリペプチドのある定量値を測定又は把握する工程を指すことができる。当分野は、サンプル中に、開示されたポリペプチド及び開示されたヌクレオチドの量を測定する方法に精通している。

【0109】

用語「sample (サンプル)」は、対象者からの組織又は器官、細胞(いずれも対象者内で、対象者から直接取得した、又は培養で維持されたもしくは培養細胞株からの細

50

胞)、細胞溶解物(又は溶解物断片)又は細胞抽出物、もしくは細胞又は細胞物質由来の1つ以上の分子を含む溶液(例えば、ポリペプチド又は核酸)を指すことができる。サンプルはまた、細胞又は細胞成分を含む、任意の体液もしくは排泄物(例えば、非限定的に、血液、尿、便、唾液、涙、胆汁)であっても良い。

【0110】

1つの態様において、本明細書の開示は、前立腺がんであると診断された対象者の体液にAR-V7の存在を検出することを含んで、前立腺がんであると診断された対象者において、治療薬への耐性を評価する方法であって、ここでAR-V7の存在は、治療薬への耐性を示す。1つの態様において、当該前立腺がんは、去勢抵抗性前立腺がんである。1つの態様において、当該体液は、血漿、血清又は末梢血である。1つの態様において、当該血漿、血清又は末梢血には、循環性腫瘍細胞を含む。1つの態様において、AR-V7の存在は、PCRによって決定される。1つの態様において、当該治療薬は、エンザルタミドである。1つの態様において、当該治療薬は、アピラテロンである。

10

【0111】

1つの態様において、本明細書の開示は、PCRを使用して、前立腺がんであると診断された対象者の体液に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんを有する患者が、治療薬に耐性であるかどうかを評価する方法であって、ここでその体液が、循環性腫瘍細胞を含み、ここでAR-V7の検出が、治療薬への耐性を示す独立した因子である。1つの態様において、当該治療薬は、エンザルタミドである。1つの態様において、当該治療薬は、アピラテロンである。

20

【0112】

1つの態様において、本明細書の開示は、PCRを使用して、前立腺がんであると診断された対象者の体液に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんであると診断された対象者に対して治療計画を決定する方法であって、ここでその体液が、循環性腫瘍細胞を含み、ここでPCRによるAR-V7の検出が、その患者が、特定の治療薬による治療に耐性である前立腺がんを有する、との決定をもたらす。1つの態様において、AR-V7の検出は、治療薬としてのエンザルタミドの使用を排除する。1つの態様において、AR-V7の検出は、治療薬としてのアピラテロンの使用を排除する。

【0113】

1つの態様において、本明細書の開示は、前立腺がんであると診断された対象者の体液に、AR-V7の存在を検出することを含んで、前立腺がんであると診断された対象者において治療薬の応答性を評価する方法であって、ここでAR-V7の存在は、治療薬への効果的な応答性を示す。1つの態様において、当該治療薬は、タキサンである。

30

【0114】

本明細書に開示の方法における、1つの態様において、当該体液は、前立腺がんの診断後に、又は一連の治療中に、もしくは基準点で、臨床/生化学的応答の時点で、又は臨床/放射線学的進行の時点での、複数の時点で採取される。1つの態様において、臨床/生化学的応答には、前立腺特異抗原の測定を含む。1つの態様において、臨床/放射線学的進行には、症状の進行、疾患関連症状の悪化、がん関連合併症、放射線学的進行、軟部組織の標的病変の合計直径の拡大、骨病変数の増加、又は死亡を含む。1つの態様において、当該PCRアッセイには、プライマーを含み、ここでそのプライマーには、SEQ ID番号: 1又は2の1つ以上を含んでも良い。1つの態様において、前述の1つ以上の方法において、方法は、AR-FLの量を測定すること、及びAR-FLの量に対してAR-V7の量を比較することを含んでも良い。1つの態様において、AR-FLの存在を測定し又は検出することには、1つ以上のプライマーの使用を含み、ここでそのプライマーは、SEQ ID番号: 3又は4の1つ以上を含んでも良い。

40

【0115】

1つの態様において、本明細書の開示は、PCRを使用して、前立腺がんであると診断された対象者の体液に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんであると診断された対象者に対する治療計画を決定する方法であって、ここでその体液

50

が、循環性腫瘍細胞を含み、ここでPCRによるそのAR-V7の検出が、その患者が、特定の治療薬による治療に耐性である前立腺がんを有する、との決定をもたらす、ここでPCRによるそのAR-V7の検出が、その患者が、代替療法の候補である、との決定をもたらす。

【0116】

1つの態様において、当該代替療法には、実験療法、既存療法の組み合わせ、又は実験療法と既存療法との組み合わせを含む。

【0117】

1つの態様において、本明細書の開示は、PCRを使用して、前立腺がんであると診断された対象者の体液に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんを有する患者が、治療薬に耐性であるかどうかを評価する方法であって、ここでその体液が、循環性腫瘍細胞を含み、また、ここでAR-V7の検出が、治療薬への耐性を示す独立した因子である。1つの態様において、当該治療薬は、エンザルタミドである。1つの態様において、当該治療薬は、アピラテロンである。1つの態様において、当該PCRアッセイには、プライマーを含み、ここでそのプライマーには、SEQ ID番号：1又は2の1つ以上を含んでも良い。1つの態様において、前述の1つ以上の方法は更に、AR-FLの量を測定すること、及びAR-FLの量に対してAR-V7の量を比較することを含む。1つの態様において、AR-FLの量を測定することには、1つ以上のプライマーの使用を含み、ここでそのプライマーは、SEQ ID番号：3又は4の1つ以上を含んでも良い。

10

20

【0118】

1つの態様において、本明細書の開示は、PCRを使用して、前立腺がんであると診断された対象者の体液に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんを有する患者において治療薬の応答性を評価する方法であって、ここでその体液が、循環性腫瘍細胞を含み、また、ここでAR-V7の検出が、治療薬への応答性を示す独立した因子である。1つの態様において、当該治療薬は、タキサンである。

【0119】

1つの態様における、前述の開示の方法において、患者からの当該体液は、前立腺がんの診断後に、又は一連の治療中に、もしくは基準点で、臨床/生化学的応答の時点で、又は臨床/放射線学的進行の時点での、複数の時点で採取される。1つの態様において、当該臨床/生化学的応答には、前立腺特異抗原の測定を含む。1つの態様において、当該臨床/放射線学的進行には、症状の進行、疾患関連症状の悪化、がん関連合併症、放射線学的進行、軟部組織の標的病変の合計直径の拡大、骨病変数の増加、又は死亡を含む。

30

【0120】

1つの態様において、本明細書の開示は、PCRを使用して、前立腺がんであると診断された対象者の体液に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんであると診断された対象者に対する治療計画を決定する方法であって、ここでその体液が、循環性腫瘍細胞を含み、ここでPCRによるそのAR-V7の検出が、1つ以上の治療薬を含んだ又は含まない治療計画をもたらす。1つの態様において、当該AR-V7の検出は、エンザルタミドを使用しない、又はアピラテロンを使用しない、もしくは治療薬として少なくとも1つのタキサンの使用を含む、治療計画をもたらす。1つの態様において、患者からの体液は、前立腺がんの診断後に、又は一連の治療中に、もしくは基準点で、臨床/生化学的応答の時点で、及び/又は臨床/放射線学的進行の時点での、複数の時点で採取される。1つの態様において、臨床/生化学的応答には、前立腺特異抗原の測定を含む。1つの態様において、臨床/放射線学的進行には、症状の進行、疾患関連症状の悪化、がん関連合併症、放射線学的進行、軟部組織の標的病変の合計直径の拡大、骨病変数の増加、又は死亡を含む。1つの態様において、PCRアッセイには、プライマーを含み、ここでそのプライマーには、SEQ ID番号：1又は2の1つ以上を含んでも良い。1つの態様において、前述の方法は更に、AR-FLの量を測定すること、及びAR-FLの量に対してAR-V7の量を比較することを含む。1つの態様において、AR-F

40

50

Lの存在を測定又は検出することには、プライマーの使用を含み、ここでプライマーは、SEQ ID番号：3又は4の1つ以上を含んでも良い。

【0121】

1つの態様において、本明細書の開示は、PCRを使用して、前立腺がんであると診断された対象者の体液に、AR-V7の存在を検出することを含んで、去勢抵抗性前立腺がんであると診断された対象者に対する治療計画を決定する方法であって、ここでその体液が、循環性腫瘍細胞を含み、ここでPCRによるそのAR-V7の検出が、代替療法を含む治療計画をもたらす。1つの態様において、代替療法には、実験療法、既存療法の組み合わせ、又は実験療法と既存療法との組み合わせを含む。

【0122】

本明細書の開示は、前立腺がんの患者からのサンプルに、アンドロゲン受容体変異体のレベルを決定する工程を含み、ここでそのサンプルが、循環性腫瘍細胞に対して濃縮される。1つの態様において、当該アンドロゲン受容体変異体は、AR-V7であるか、又はそれを含む。1つの態様において、当該決定工程は、AR-V7転写産物のレベルを検査することを含む。1つの態様において、当該検査は、ポリメラーゼ連鎖反応(「PCR」)での増幅を関与させる。1つの態様において、当該PCRは、完全長アンドロゲン受容体(「AR-FL」)及びAR-V7転写産物の両方を増幅する、多重化PCRであるか、又はそれを含む。1つの態様において、当該PCRは、その配列が、SEQ ID番号：1~2 (AR-V7 (順方向) 5'-CCATCTTGTCGTCCTTCGGAATA GTTA-3 SEQ ID番号：1、AR-V7 (逆方向) 5'-TTGAA TGAAGGCAAGT CAGC-CTTTCT-3 SEQ ID番号：2)、及び/又はSEQ ID番号：3~4 (AR-FL (順方向) 5'-CAGCCTATTGCGAGAGAGCTG-3 SEQ ID番号：3、AR-FL (逆方向) 5'-GAAAGGATCTTTGGGC ACTTGC-3 SEQ ID番号：4)であるか、又はそれらを含むプライマーを使用する。1つの態様において、当該PCRは、ヌクレオチド類似体又はヌクレオチド置換体を含む1つ以上のプライマーを使用する。1つの態様において、当該患者は、去勢抵抗性前立腺がんの患者(「CRPC」)である。1つの態様において、当該患者は、ARシグナル伝達阻害剤で治療される。1つの態様において、当該患者は、CYP17阻害剤で治療される。1つの態様において、当該患者は、アピラテロン、エンザルタミド、及びそれらの組み合わせから成る群から選ばれる薬剤で治療を開始しているCRPC患者、又はアピラテロン、エンザルタミド、及びそれらの組み合わせから成る群から選ばれる薬剤に耐性であるCRPC患者である。1つの態様において、サンプルは、ARシグナル伝達阻害剤で治療されてきたか、又はされている患者からのものである。1つの態様において、サンプルは、CYP17阻害剤で治療されてきたか、又はされている患者からのものである。

【0123】

1つの態様において、本明細書に開示の方法は更に、サンプルのそれぞれが前立腺がんの診断後の異なる時点で取得された、複数サンプルでの決定を繰り返す工程を含む。1つの態様において、当該一連の治療中に、複数の時点が発生する。1つの態様において、少なくとも1つの時点は、基準点であり、臨床又は生化学的応答の瞬間であり、もしくは臨床又は放射線学的進行の瞬間である。1つの態様において、当該臨床又は生化学的応答は、前立腺特異抗原の測定であり、又はそれを含む。1つの態様において、当該臨床又は放射線学的進行は、疾患関連症状の悪化、がん関連合併症、放射線学的進行、軟部組織の標的病変の合計直径の拡大、骨病変数の増加、死、及びそれらの組み合わせから成る群から選ばれた、症状進行をモニターすることを含む。

【0124】

1つの態様において、本明細書に開示の方法は更に、AR-V7が検出された場合に、アピラテロン又はエンザルタミドでの治療に対して、代替療法を施す工程を含む。1つの態様において、当該代替療法には、アシピシン、アクラルピシン、アコダゾール塩酸塩、アクロニン(AcrQnine)、アドゼレシン、アルデスロイキン、アルトレタミン、

10

20

30

40

50

アンボマイシン、アメタントロン酢酸塩、アミノグルテチミド、アムサクリン、アナストロゾール、アントラマイシン、アスパラギナーゼ、アスペルリン、アザシチジン、アゼテパ、アゾトマイシン、パチマスタット、ベンゾデパ、ビカルタミド、ビスアントレン塩酸塩、メシル酸ビスナフィド、ピセレシン、プレオマイシン硫酸塩、プレキナルナトリウム、プロピリミン、ブスルファン、カクチノマイシン、カルステロン、カラセミド、カルベチマー、カルボプラチン、カルムスチン、カルピシン塩酸塩、カルゼルシン、セデフィンゴール、クロランブシル、シロレマイシン、シスプラチン、クラドリピン、メシル酸クリスナトール、シクロホスファミド、シタラピン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン塩酸塩、デシタピン、デキソルマプラチン、デアザグアニン、メシル酸デアザグアニン(Dezafuanine)、ジアジクオン、ドセタキセル、ドキシソルピシン、ドキシソルピシン塩酸塩、ドロロキシフェン、ドロロキシフェンクエン酸、ドロモスタノロンプロピオン酸塩、デュアゾマイシン、エダトレキサート、エフロミチン塩酸塩、エルサミトルシン、エンロプラチン、エンプロメート、エピプロピジン、エピルピシン塩酸塩、エルプロゾール、エソルピシン塩酸塩、エストラムスチン、リン酸エストラムスチンナトリウム(Estamustine phosphate sodium)、エタニダゾール、ヨード化ケシ油エチルエステル(Ethiodized Oil) I 1 3 1、エトポシド、リン酸エトポシド、エトプリン、ファドロゾール塩酸塩、ファザラピン、フェンレチニド、フロクスウリジン、リン酸フルダラピン、フルオロウラシル、フルロシタピン、ホスキドン、ホストリエシンナトリウム、ゲムシタピン、ゲムシタピン塩酸塩、ゴールド A u 1 9 8、ヒドロキシウレア、イダルピシン塩酸塩、イホスファミド、イルモホシン、インターフェロン アルファ - 2 a、インターフェロン アルファ - 2 b、インターフェロン アルファ - n 1、インターフェロン アルファ - n 3、インターフェロン ベータ - 1 a、インターフェロン ガンマ - 1 b、イプロプラチン、イリノテカン塩酸塩、ランレオチド酢酸塩、レトロゾール、リュープロリド酢酸塩、リアロゾール塩酸塩、ロメテレキソールナトリウム、ロムスチン、ロソキサントロン塩酸塩、マソプロコール、マイタンシン、メクロレタミン塩酸塩、メゲストロール酢酸塩、メレンゲストロール酢酸塩、メルファラン、メノガリル、メルカプトプリン、メトトレキサート、メトトレキサートナトリウム、メトプリン、メツレデパ、ミチンドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトギリン、ミトマルシン、マイトマイシン、ミトスパー、ミトタン、ミトキサントロン塩酸塩、ミコフェノール酸、ノコダゾール、ノガラマイシン、オルマプラチン、オキシスラン、パクリタキセル、ペグアスパルガーゼ、ペリオマイシン、ペンタムスチン、ペプロマイシン硫酸塩、ベルホスファミド、ピボプロマン、ピボスルファン、

10

20

30

## 【 0 1 2 5 】

ピロキサントロン塩酸塩、プリカマイシン、プロメスタン、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、プレドニムスチン、プロカルバジン塩酸塩、ピューロマイシン、ピューロマイシン塩酸塩、ピラゾフリン、リボプリン、ログレチミド、サフムゴール(safmogol)、サフィンゴール塩酸塩、セムスチン、シムトラゼン、スパルホサートナトリウム、スパルソマイシン、スピロゲルマニウム塩酸塩、スピロムスチン、スピロプラチン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、塩化ストロンチウム Sr 8 9、スロフェヌル、タリソマイシン、タキサン、タキソイド、テコガラナトリウム、テガフル、テロキサントロン塩酸塩、テモポルフィン、テニポシド、テロキシロン、テストラクトン、チアミプリン、チオグアニン、チオテパ、チアゾフリン、チラバザミン、トポテカン塩酸塩、トレミフェンクエン酸塩、トレストロン酢酸塩、リン酸トリシリピン、トリメトレキサート、グルクロン酸トリメトレキサート、トリプトレリン、ツプロゾール塩酸塩、ウラシルマスタード、ウレデパ、パブレオチド、ベルテポルフィン、ピンブラスチン硫酸塩、ピンクリスチン硫酸塩、ピンデシン、ピンデシン硫酸塩、ピネピジン硫酸塩、ピングリシナー硫酸塩、ピンロイロシン硫酸塩、ピノレルピン酒石酸塩、ピンロシジン硫酸塩、ピンゾリジン硫酸塩、ポロゾール、ゼニプラチン、ジノスタチン、ゾルピシン塩酸塩、2 0 - エピ - 1 , 2 5 ジヒドロキシビタミン D 3、5 - エチニルウラシル、アビラテロン、アクラルピシン、アシルフルベン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、A L L - T K 拮抗薬、アルトレタミン、アンバムスチン、アミドックス、アミフォスチン、ア

40

50

ミノレブリン酸、アムルピシン、アトラサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アンドログラホリド、血管新生阻害剤、拮抗薬 D、拮抗薬 G、アンタレリックス、抗 - 背側化形態形成タンパク質 - 1、抗アンドロゲン剤、前立腺がん、抗エストロゲン、抗新生物薬、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフイディコリングリシネート、アポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシスレギュレーター、アプリン酸、ara - CDP - DL - PTBA、アルギニン脱アミノ化酵素、アスラクリン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン 1、アキシナスタチン 2、アキシナスタチン 3、アザセトロン、アザトキシシン、アザチロシン、バッカチン III 誘導体、バラノール、バチマスタット、BCR / ABL 拮抗薬、ベンゾクロリンス、ベンゾイルスタウロスポリン、ベータラクタム誘導体、ベータ - アレチン、ベタクラマイシン B、ベツリン酸、bFGF 阻害剤、ピカルタミド、ピスアントレン、ピスアジリジニルスペルミン、ピスナフィド、ピストラテン A、ピゼレシン、プレフラート、プロピリミン、ブドチタン、ブチオニンスルホキシミン、カルシポトリオール、カルホスチン C、カンプトテシン誘導体、カナリア痘 IL - 2、カペシタビン、カルボキサミド - アミノ - トリアゾール、カルボキサミドトリアゾール、CaRest M3、CARN700、軟骨由来阻害剤、カルゼルシン、カゼインキナーゼ阻害剤 (ICOS)、カスタノスペルミン、セクロピン B、セトロレリクス、塩素、クロロキノキサリンスルホンアミド、シカプロスト、シス - ボルフィリン、クラドリピン、クロミフェン類似体、クロトリマゾール、コリスマイシン A、コリスマイシン B、コンプレタスタチン A4、コンプレタスタチン類似体、コナゲニン、クランベシジン 816、クリスナトール、クリプトフィシン 8、クリプトフィシン A 誘導体、キュラシン A、シクロペンタアントラキノン、シクロプラタム、シペマイシン、シタラピンオクホスファート、細胞傷害性因子、シトスタチン、ダクリキシマブ、デシタビン、デヒドロジデムニン B、デスロレリン、デキシホスファミド、デクスラゾキサソ、デクスベラパミル、ジアジクオン、ジデムニン B、ジドックス、ジエチルノルスペルミン、ジヒドロ - 5 - アザシチジン、ジヒドロタキソール、9 - 、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロマスチン、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドロロキシフェン、ドロナビノール、デュオカルマイシン SA、エブセレン、エコムスチン、

10

20

30

40

50

【 0 1 2 6 】

エデルホシン、エドレコロマブ、エフロルニチン、エレメン、エミテフル、エビルピシン、エプリステリド、エストラムスチン類似体、エストロゲン作用薬、エストロゲン拮抗薬、エタニダゾール、リン酸エトボシド、エキセメスタン、ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリドール、フレゼラスチン、フルアステロン、フルダラビン、フルオロダウノルニシン塩酸塩、ホルフェニメックス、ホルメスタン、ホストリエシン、フォテムスチン、ガドリニウムテキサフィリン、ガリウム硝酸塩、ガロシタビン、ガニレリクス、ゼラチナーゼ阻害剤、ゲムシタビン、グルタチオン阻害剤、ヘプスルファミン、ヘレグリン、ヘキサメチレンビスアセトアミド、ヒペリシン、イバンドロン酸、イダルピシン、イドキシフェン、イドラマントン、イルモホシン、イロマスタット、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫刺激剤ペプチド、インスリン様成長因子 - 1 受容体阻害剤、インターフェロン作動薬、インターフェロン、インターロイキン、ヨーベンゲアン、ヨードドキソルピシン、イボメアノール、4 - 、イリノテカン、イロプラクト、イルソグラジン、イソベンガゾール、イソホモハリコンドリノ B、イタセトロン、ジャスプラキノリド、カハラリド F、ラメラリン N アセテート、ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、レンチナン硫酸塩、レプトルスタチン、レトロゾール、白血病抑制因子、白血球アルファインターフェロン、リユープロリド + エストロゲン + プロゲステロン、リユープロレリン、レバミゾール、リアロゾール、線形ポリアミン類似体、脂溶性二糖ペプチド、脂溶性白金化合物、リソクリナミド 7、ロバブラチン、ロンブリシン、ロメテレキサソール、ロニダミン、ロソキサントロン、ロバスタチン、ロキサソリン、ラルトテカン、ルテチウムテキサフィリン、リソフィリン、溶解ペプチド、マイタンシン、マンノスタチン A、マリマスタット、マソプロコール、マスピン、マトリライシン阻害剤、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、メノガリル、メルバロ

ン、メテレリン、メチオニン分解酵素、メトクロプラミド、M I F 阻害剤、ミフェプリストン、ミルテホシン、ミリモスチム、不一致二重鎖RNA、ミトグアゾン、ミトラクトール、マイトマイシン類似体、ミトナフィド、マイトトキシソニ線維芽細胞成長因子 - サボリン、ミトキサントロン、モファロテン、モルグラモスチム、モノクローナル抗体、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、モノホスホリル脂質A + マイコバクテリウム細胞壁s k、モビダモール、複数薬剤耐性遺伝子阻害剤、複数腫瘍サプレッサー1 - に基づく療法、マスタード抗がん剤、ミカベルオキシドB、ミコバクテリア細胞壁抽出物、ミリアポロン、N - アセチルジナリン、N - 置換ベンズアミド、ナファレリン、ナグレスチップ、ナロキソン + ペンタゾシン、ナパビン ( n a p a v i n )、ナフテルピン、ナルトグラスチム、ネダブラチン、ネモルピシン、ネリドロロン酸、中性エンドペプチダーゼ、ニルタミド、ニサマイシン、窒素酸化モジュレーター、ニトロキシド抗酸化剤、ニトルリン、O 6 - ベンジルグアニン、オクトレオチド、オキセノン、オリゴヌクレオチド、オナプリストン、オランダセトロン、オランダセトロン、オラシン、経口サイトカイン誘導物質、オルマブラチン、オサテロン、オキサリプラチン、オキサウノマイシン、バクリタキセル類似体、バクリタキセル誘導体、パラウアミン、パルミトイルリゾキシソニ、パミドロロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン、ペグアスパラガーゼ、ペルデシン、ペントサンポリサルフェートナトリウム、ペントスタチン、ペントロゾール、ペルフルブロン、ペルホスファミド、ペリリルアルコール、フェナジノマイシン、フェニル酢酸塩、ホスファターゼ阻害剤、ピシバニール、ピロカルピン塩酸塩、ピラルピシン、ピリトレキシム、プラセチンA、プラセチンB、プラスミノゲン活性化因子阻害剤、プラチナ複合体、プラチナ化合物、プラチナ - トリアミン複合体、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、プロピルビス - アクリドン、プロスタグランジンJ 2、プロテアソーム阻害剤、タンパク質Aに基づく免疫モジュレーター、プロテインキナーゼC阻害剤、プロテインキナーゼC阻害剤、微細藻類、タンパク質チロシン・ホスファターゼ阻害剤、プリンヌクレオシド・ホスホリラーゼ阻害剤、プルプリン、ピラゾロアクリジン、ピリドキシル化ヘモグロビン・ポリオキシエチレン共役体、r a f 拮抗薬、ラルチトレキセド、ラモセトロン、r a s ファルネシルタンパク質転移酵素阻害剤、r a s 阻害剤、

10

20

30

40

50

【 0 1 2 7 】

r a s - G A P 阻害剤、脱メチル化レテリプチン、レニウムR e 1 8 6 エチドロロン酸塩、リゾキシソニ、リボザイム、R I I テチナミド、ログレチミド、ロヒツキン、ロムルチド、ロキニメックス、ルビジノンB 1、ルボキシソニ、サフィンゴール、サイントピン、S a r C N U、サルコフィトールA、サルグラモスチム、S d i 1 模倣薬、セムスチン、老化細胞由来阻害剤1、センスオリゴヌクレオチド、シグナル伝達阻害剤、シグナル伝達モジュレーター、一本鎖抗原結合タンパク質、シゾフィラン、ソブゾキシソニ、ナトリウムボロカプテイト、フェニル酢酸ナトリウム、ソルベロール、ソマトメジン結合タンパク質、ソネルミン、スパルホス酸、スピカマイシンD、スピロムスチン、スプレノペンチン、スポンギスタチン1、スクアラミン、幹細胞阻害剤、幹細胞分裂阻害剤、スチピアミド、ストロメリシン阻害剤、スルフモシン、超活性血管作動性腸管ペプチド拮抗薬、スラジスタ、スラミン、スワインソニン、合成グリコサミノグリカン、タリムスチン、タモキシフェン・メチオジド、タウロムスチン、タザロテン、テコガランナトリウム、テガフル、テルラピリリウム、テロメラーゼ阻害剤、テモポルフィン、テモゾロミド、テニボシド、テトラクロロデカオキシド、テトラゾミン、タリブラスチン、サリドマイド、チオコラリン、トロンボポエチン、トロンボポエチン模倣薬、サイマルファシン、サイモポエチン受容体作動薬、サイモトリナン、甲状腺刺激ホルモン、エチルエチオプルプリン錫、チラパザミン、二塩化チタノセン、トポテカン、トプセンチン、トレミフェン、全能性幹細胞因子、翻訳阻害剤、トレチノイン、トリアセチルウリジン、トリシリピン、トリメトレキサート、トリプトレリン、トロピセトロン、ツロステリド、チロシンキナーゼ阻害剤、チロホスチン、U B C 阻害剤、ウベニメクス、泌尿生殖器洞由来成長阻害因子、ウロキナーゼ受容体拮抗薬、バプレオチド、パリオリンB、ベクター システム、赤血球遺伝子療法、ベラレソール、ベラミン、バーデン、ベルテポルフィン、ビノレルピン、ピンキサリチン、ピ

タキシン、ボロゾール、ザノテロン、ゼニプラチン、ジラスコルブ、ジノスタチンスチマラー、及びそれらの組み合わせから成る群から選ばれる、抗悪性腫瘍剤の投与を含む。1つの態様において、当該代替療法は、AR - FL及びARVsの両方を阻害する。1つの態様において、当該代替療法は、経口で、非経口で、筋肉内注射によって、腹腔内注入によって、経皮的に、体外で、腔内投与によって、経皮的に、又は局所鼻腔内投与を含んで、局所的に投与される。1つの態様において、当該代替療法は、経口で、非経口で、筋肉内注射によって、腹腔内注入によって、経皮的に、体外で、腔内投与によって、経皮的に、又は局所鼻腔内投与を含んで、局所的に投与されることに対応している。

【0128】

1つの態様において、当該代替療法には、アルキル化剤、代謝拮抗剤、アントラサイクリン、植物アルカロイド、トポイソメラーゼ阻害剤、モノクローナル抗体、及びそれらの組み合わせから成る群から選ばれた薬剤の投与を含む。1つの態様において、当該代替療法には、テルペノイド、ピンカアルカロイド、タキサン、抗腫瘍性抗生物質から成る群から選ばれた薬剤の投与を含む。1つの態様において、当該代替療法には、ホルモン療法の投与を含む。

10

【0129】

1つの態様において、本明細書に開示する決定工程には、ハイブリダイゼーションアッセイの利用を含む。1つの態様において、当該ハイブリダイゼーションアッセイは、新鮮な又は解剖腫瘍サンプルの現場でのハイブリダイゼーションである。1つの態様において、決定工程には、AR - FLの量と比較してAR - V7の量を決定するPCRを含む。1つの態様において、当該前立腺がんの患者は、一連の治療を受け、また、決定工程は、その一連の治療にわたる複数の時点で繰り返される。1つの態様において、当該AR - V7は、第一決定工程においては、初期不検出であり、また、その一連の治療の経過後の時点で行われる、少なくとも1回の後続決定工程においては、1以上である。1つの態様において、各決定工程には、AR - FLに対するAR - V7の絶対複製数比の決定を含む。

20

【0130】

1つの態様において、本明細書に記述の1つ以上の方法は、生体外で行われる方法である。

【0131】

本開示は、以下の実施例を参照して、更に記述されるが、本開示は、そのような実施例に限定されないことは理解されよう。むしろ、この開示を実践するための、現在の最良の形態を記述する本開示の観点からは、本開示の範囲及び精神から逸脱することなく、多数の修正及び変更が、当業者によって示されるであろう。本請求項と等価の意味及び範囲内の、全ての変動、修正、及び変更は、その範囲内として考慮されるであろう。

30

参考文献

【0132】

- 1 Basch E, Loblaw DA, Oliver TK, et al: Systemic therapy in men with metastatic castration-resistant prostate cancer: American Society of Clinical Oncology and Cancer Care Ontario clinical practice guideline. *J Clin Oncol* 32: 3436–3448, 2014
- 2 de Bono JS, Logothetis CJ, Molina A, et al: Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 364: 1995–2005, 2011
- 3 Scher HI, Fizazi K, Saad F, Taplin ME, et al: Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med* 367: 1187–1197, 2012 10
- 4 Tannock IF, de Wit R, Berry WR, et al: Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med* 351: 1502–1512, 2004
- 5 de Bono JS, Oudard S, Ozguroglu M, et al: Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised open-label trial. *Lancet* 376: 1147–1154, 2010
- 6 Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, et al: Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med* 363: 411–422, 2010 20
- 7 Parker C, Nilsson S, Heinrich D, et al: Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 369: 213–223, 2013
- 8 Seruga B, Ocana A, Tannock IF: Drug resistance in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 8: 12–23, 2011
- 9 Karantanos T, Evans CP, Tombal B, et al: Understanding the mechanisms of androgen deprivation resistance in prostate cancer at the molecular level. *Eur Urol*, epub ahead of print (doi: 10.1016/j.eururo.2014.09.049), 2014 30
- 10 Armstrong AJ, Eisenberger MA, Halabi S, et al: Biomarkers in the management and treatment of men with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol* 61: 549–559, 2012
- 11 Antonarakis ES, Lu C, Wang H, et al: AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *N Engl J Med* 371: 1028–1038, 2014
- 12 Dehm SM, Schmidt LJ, Heemers HV, et al: Splicing of a novel androgen receptor exon generates a constitutively active androgen receptor that mediates prostate cancer therapy resistance. *Cancer Res* 68: 5469–5477, 2008 40
- 13 Hu R, Dunn TA, Wei S, et al: Ligand-independent androgen receptor variants derived from splicing of cryptic exons signify hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res* 69: 16–22, 2009

- 14 Hu R, Lu C, Mostaghel EA, et al: Distinct transcriptional programs mediated by the ligand-dependent full-length androgen receptor and its splice variants in castration-resistant prostate cancer. *Cancer Res* 72: 3457–3462, 2012
- 15 Mostaghel EA, Marck BT, Plymate SR, et al: Resistance to CYP17A1 inhibition with abiraterone in castration-resistant prostate cancer: induction of steroidogenesis and androgen receptor splice variants. *Clin Cancer Res* 17: 5913–5925, 2011
- 16 Li Y, Chan SC, Brand LJ, Hwang TH, Silverstein KA, Dehm SM. Androgen receptor splice variants mediate enzalutamide resistance in castration-resistant prostate cancer cell lines. *Cancer Res* 73: 483–489, 2013 10
- 17 Gan L, Chen S, Wang Y, et al: Inhibition of the androgen receptor as a novel mechanism of taxol chemotherapy in prostate cancer. *Cancer Res* 69: 8386–8394, 2009
- 18 Zhu ML, Horbinski CM, Garzotto M, et al: Tubulin-targeting chemotherapy impairs androgen receptor activity in prostate cancer. *Cancer Res* 70: 7992–8002, 2010
- 19 Darshan MS, Loftus MS, Thadani-Mulero M, et al: Taxane-induced blockade to nuclear accumulation of the androgen receptor predicts clinical responses in metastatic prostate cancer. *Cancer Res* 71: 6019–6029, 2011 20
- 20 Thadani-Mulero M, Nanus DM, Giannakakou P: Androgen receptor on the move: boarding the microtubule expressway to the nucleus. *Cancer Res* 72: 4611–4615, 2012
- 21 Kirby BJ, Jodari M, Loftus MS, et al: Functional characterization of circulating tumor cells with a prostate-cancer-specific microfluidic device. *PLoS One* 7: e35976, 2012
- 22 Thadani-Mulero M, Portella L, Sun S, et al: Androgen receptor splice variants determine taxane sensitivity in prostate cancer. *Cancer Res* 74: 2270–82, 2014 30
- 23 Scher HI, Halabi S, Tannock I, et al: Design and end points of clinical trials for patients with progressive prostate cancer and castrate levels of testosterone: recommendations of the Prostate Cancer Clinical Trials Working Group. *J Clin Oncol* 26: 1148–1159, 2008
- 24 Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al: New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 45: 228–247, 2009
- 25 De Leeuw, R., Berman-Booty, LD, Schiewer MJ, et al. Novel actions of next-generation taxanes benefit advanced stages of prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* 2015; 21:795-807.
- 26 Plymate Sr, Bhatt RS, Balk SP. Taxane resistance in prostate cancer mediated by AR-dependent GATA2 regulation of IGF2. *Cancer Cell*, 2015; 27:158-159. 40
- 27 Van Soest RJ, de Morree ES, Kweldam CF, et al. Targeting the androgen receptor confers in vivo cross-resistance between enzalutamide and docetaxel, but not cabazitaxel, in castration-resistant prostate cancer. *Eur. Urol.* 2014; epub ahead of print (10.1016/j.euro.2014.11.033).

実施例 1 : アンドロゲン受容体の検出とエンザルタミド及びアピラテロンの治療効果との相関性

### 1. 実験法

#### a. 患者

エンザルタミド又はアピラテロンを伴う標準治療を開始した、転移性CRPCの男性を、予め登録した。患者は、組織学的に確認された前立腺腺がんを有し、血清のテストステロンが「castration levels (去勢レベル)」であるにもかかわらず (<50 ng/dL、及びアンドロゲン抑制療法を継続する必要があった) 進行性疾患であり、及びコンピューター断層撮影 (CT) 又はテクネチウム99骨スキャン上で、放射線学的転移であることが必要とされた。患者は、前立腺がんワーキング群 (PCWG2) のガイドラインと一致するように、その最後の値が 2.0 ng/mLであった時から、2週間以上離れた時点で採取された血清特異抗原 (PSA) の値が、3に上昇している必要があった (Scher, H. I., et al. (2008) Journal of Clinical Oncology, Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 26, 1148 - 1159)。仮に患者が、追加の同時抗がん療法を受ける予定の場合は、除外した。化学療法以前の、代替AR指向薬での前治療は、認められていた (すなわち、エンザルタミドで治療の患者における、アピラテロンの事前使用、及びその反対)。本研究は、the Johns Hopkins University (ジョンズ・ホプキンス大学) IRBによって承認され、Good Clinical Practice guidelines (医薬品の臨床試験の実施に関するガイドライン) に従って実施された。患者には、書面によるインフォームドコンセントが用意された。

10

20

30

40

50

#### 【0134】

#### b. 研究設計及び評価

本研究は、AR指向薬への応答性又は耐性を予測するために、CTC (循環性腫瘍細胞) からの基準点 (治療前) でのAR-V7状態の能力を評価する予測研究である。エンザルタミド又はアピラテロンの標準治療をまさに開始しようとしていた患者に承諾してもらい、次いで末梢血液CTCサンプルを、1つを基準点として、1つを臨床/生化学的応答の時点で (仮に応答が発生したら)、また、1つを臨床/放射線学的進行の時点での、最大3時点まで提供するように求めた。更に、患者に、基準点及び進行の時点で、転移性コア腫瘍生検を受けるように勧めた。エンザルタミドを、毎日160 mg与え、及びアピラテロンを、毎日1000 mg (日に2回のプレドニゾン5 mgと共に) 与えた。

#### 【0135】

患者は、1~2か月ごとに、PSA測定、及びCT (胸部/腹部/骨盤) ならびに2~4か月ごとのテクネチウム99骨スキャンを行うように、フォローアップ内容を予め決定した。エンザルタミド又はアピラテロンでの治療を、PSA進行、又は臨床/放射線学的進行、もしくは手に負えない薬剤関連毒性まで継続した。

#### 【0136】

#### c. CTC分析

商業的に入手可能な、ALERE (商標) CTC AdnaTestプラットフォーム (AdnaGen, Langenhagen, Germany) を使用して、CTC分析を行った。Prostate Cancer Selectキットを使用して、CTCの単離及び濃縮を実施し、ならびに、CTCの存在を検出するための、多重化逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (qRT-PCR) プライマー、及び完全長AR (AR-FL) ならびにARスプライス変異体7 (AR-V7) を検出するように設計されたカスタムプライマーを伴う、Prostate Cancer Detectキットを使用して、mRNA発現解析を行った (Hu, R., et al. (2009) Cancer Res 69, 16 - 22)。相対的なAR-V7転写産物量を、AR-FLに対するAR-V7の比率を計算し、決定した (Hu, R., et al. (2009) Cancer Res 69, 16 - 22、Watson, P. A., et al. (2010) Proceedings

of the National Academy of Sciences)。

【0137】

d. 臨床結果

第一終点は、任意の治療後の時点で、PSA 応答（基準点からの 50% PSA 減少、4 週間維持）に達した患者の割合であり、エンザルタミド治療の患者とアピラテロン治療の患者を分けて評価した。各患者について、最高 PSA 応答（基準点からの、PSA 減少の最大パーセント）を決定した。

【0138】

第二終点には、無増悪 PSA 進行（PSA - 無増悪期間、PSA - PFS）、無増悪臨床/放射線学的進行（無増悪期間、PFS）、及び全生存期間（OS）を含めた。4 週間後に確認が必要な（PCWG2 基準）、底部から 25% の PSA 増加（及び 2 ng/mL まで）を、PSA 進行と定義した（Scher, H. I., et al. (2008) Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 26, 1148 - 1159）。症状進行（疾患関連症状の悪化、又は新規のがん関連合併症）、もしくは放射線学的進行（CT スキャンで、軟部組織の標的病変の合計直径における 20% 拡大 [RECIST 基準 (Therasse, P., et al. (2000) Journal of the National Cancer Institute 92, 205 - 216)]、骨スキャンで、2 の新規骨病変）、又は死亡の内、どれかが最初に発生した場合を、臨床/放射線学的進行と定義した（Scher, H. I., et al. (2008) Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 26, 1148 - 1159）。OS は、任意の原因によって死亡した時点と定義した。

10

20

【0139】

e. 腫瘍組織の分析

CTC と腫瘍組織間の AR - V7 状態の一致を検討するために、これに同意した患者のサブ集団からの、新鮮な転移性腫瘍生検（又は解剖検体）について、AR - V7 に対する qRT - PCR を実施した。更に、ホルマリン固定パラフィン包埋の転移腫瘍組織において AR - V7 の mRNA を視覚化するために、及び CTCs における AR - V7 検出とこれを関連付けるために、RNA scope プラットフォーム (Advanced Cell Diagnostics, Hayward, CA) を使用し、製造者の指示に従って、RNA の現場でのハイブリダイゼーション (RNA - IISH) を行った。

30

【0140】

f. 循環性腫瘍細胞の分析

ラベンダー色の蓋付き採血管である標準的な BD Vacutainer (登録商標) (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) (製品#: 367862) を使用して、静脈穿刺により採血し、実験室の氷上に持ち込んだ。Aleré (商標) CTC AdnaTest (Aleré Inc., San Diego, CA) から提供された指示に従って、採血の 2 時間以内に検査処理を行った。この AdnaTest は、2 つの成分/キットを伴った、CE マークされた、RNA に基づく、CTC 濃縮及び検出試験である。簡単に説明すると、前立腺がん細胞を認識する抗体の組み合わせで被覆した磁気粒子を利用して、5 mL の血液から CTC を濃縮するために、Prostate Cancer Select (Product No. T - 1 - 520) キットを使用し、一方で多重化ポリメラーゼの連鎖反応 (PCR) を利用して、前立腺がんの RNA 転写の検出に対応した cDNA を作るために、Prostate Cancer Detect (Product No. T - 1 - 521) キットを使用した。Agilent Bioanalyzer (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) による、PSA、PSMA、又は EGFR (非常にまれに検出される) に対する PCR シグナルの検出に基づいて、検査した各サンプルに対して、CTC 細胞

40

50

を作成した。AR - FL (順方向: 5' - CAGCCTATTGCGAGAGAGCTG - 3' SEQ ID番号: 1、逆方向: 5' - GAAAGGATCTTGGGCACTTGCC - 3' SEQ ID番号: 2) 及びAR - V7 (順方向: 5' - CCATCTTGTCTGTCCTTCGGAAATGTTA - 3' SEQ ID番号: 3、逆方向: 5' - TTGAATGAGGCAAGTCAGC - CTTTCT - 3' SEQ ID番号: 4) に特異的なカスタムプライマーを使用して、定量的リアルタイムPCRによって、AR - FL 及びAR - V7の検出及び定量化のための試験を行った。簡単に説明すると、95 × 10秒、58 × 30秒、及び72 × 30秒で39サイクルの最適条件下で、PCR反応を実行し、次いで溶融曲線解析を行った。AR - FL 及びAR - V7に対する絶対転写複製数を計算するために、AR - FL 及びAR - V7の既知量から標準希釈曲線を生み出した。無差別方式で、本研究に登録された各患者に対して、実験データを生み出し、週単位で、マスターデータシートに記録した。偽陽性及び偽陰性の知見を排除するために、陰性及び陽性対照を含んで、CTC検出及びAR定量化の両方に対して複数レベルで、アッセイが実行されるごとに、多数の品質管理基準を適用した。

#### 【0141】

##### g. RNAの現場でのハイブリダイゼーション

ACD (Advanced cell Diagnostics, Hayward, CA) RNA scope 2.0 Brownキットを使用して、アンドロゲン受容体 (AR) 及びAR - V7を検出するために、RNAの現場でのハイブリダイゼーション (RISH) を実施した。簡単に説明すると、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織又は細胞のペレット塊を、切片にし、及びそのスライドを、60 °Cで1時間加熱した。次いでそのスライドを、室温で20分間、キシレンを使用して脱パラフィン化し、次いで100%エタノールを使用して2回リンスした後、空気乾燥した。一連の前処理工程に続いて、その細胞を、プローブがRNA標的にアクセスできるように、プロテアーゼを使用して浸透させた。ヒトARのエクソン1 (ACD401211)、又は隠れたARエクソン3配列 (Hu, R., et al. (2009) Cancer Res 69, 16 - 22、Hu, R., et al. (2011) The Prostate 71, 1656 - 1667) に相応するRNAを検出するように、前置増幅器のために結合部位を形成する一連のオリゴヌクレオチド対である、ACD標的プローブをカスタム設計した。当該プローブのARのRNA標的へのハイブリダイゼーションを、40 °Cで2時間のオープン中の培養によって、実行した。2回の洗浄後、そのスライドを、製造者の指示通りに、標準的なシグナル増幅工程で処理した。

#### 【0142】

##### h. ウェスタンブロット法

1 × のプロテアーゼ阻害剤 (Roche, Indianapolis, IN)、及び1 × のホスファターゼ阻害剤 (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL) を補充したRIPA緩衝液 (放射性免疫沈降分析緩衝液) (Cell Signaling Technology, Danvers, MA) を使用して培養した前立腺がん細胞、又は臨床検体から用意した凍結切片から、全細胞タンパク抽出物を用意した。10%のSDS - PAGEプレキャストゲル (Bio - Rad Laboratories, Hercules, CA) 上での、サンプル当たり40 µgの電気泳動に続いて、標準ブロットを調合し、抗AR - V7 (Hu, R., et al. (2012) Cancer Res 72, 3457 - 3462) (1 µg/mL)、抗AR (N20) (1対2000希釈) (sc - 816, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX)、抗PSA (C - 19) (1対500) (sc - 7638, Santa Cruz Biotechnology)、及び抗 - アクチン (1対5000希釈) (Sigma, St Louis, MO) と共に、一晚培養した。西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) 共役二次抗体との培養に続いて、HyBlot CL膜 (E3022) (Denville Scientific, South Plainfield, NJ) 上で、SuperSignal West Pico Chemilu

10

20

30

40

50

minescent Substrateシステム (I-34080) (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL) を使用して、免疫活性帯を可視化した。

#### 【0143】

##### i. 前立腺がん細胞株

LNCaP細胞 (ATCC, Manassas, VA) を、10%の牛胎児血清 (FBS, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) と共に、RPMI 1640 培地 (Invitrogen, Carlsbad, CA) に保持した。LNCaP95は、前述した親LNCaP細胞 (Hu, R., et al. (2012) Cancer Res 72, 3457-3462) から誘導したAR-V7陽性アンドロゲン非依存性細胞株である。LNCaP95細胞は、10%の活性炭処理FBS (CSS) で補充された、フェノールレッドの無いRPMI 1640培地に保持した。AR-V7におけるアンドロゲン由来の変化を解析するために、LNCaP95細胞を、R1881 (NEN, Waltham, MA) 又は前述の対照となるエタノール担持体 (Hu, R., et al. (2012) Cancer Res 72, 3457-3462) で処理した。これら細胞株を、短い直列繰り返しDNAプロファイリングを使用して認証し (DDC Medical, Fairfield, OH)、マイコプラズマに対する陰性を検査した。

10

#### 【0144】

##### j. 転移性前立腺腫瘍組織検体

エンザルタミドでの治療の経過中に死亡した2人の患者について、研究用死体解剖を実施した。両患者は、治療前後でのCTCアッセイによる決定では、AR-V7陽性であった。前立腺腫瘍を解剖し、及急速冷凍された塊を用意した。組織学的解析に続いて、腫瘍細胞で濃縮された凍結切片を、前述の標準手順 (Luo, J., et al. (2001) Cancer Res 61, 4683-4688) を使用し、その冷凍塊の手動断片化に従って用意した。十分な量の高品質な総RNAを、2つの検体 (各患者から1つ) から抽出し、AR-V7 (+) Met 1及びAR-V7 (+) Met 2として、各々を標識化した。比較用で、関連するAR-V7陰性の転移性CRPCサンプルを特定するために、AR-FL及びAR-V7の発現レベルを、前述した解剖に同意した (エンザルタミド及びアピラテロンの開発以前に) 男性からの、別々のCRPC検体において解析した (Hu, R., et al. (2009) Cancer Res 69, 16-22、Ar yee, M. J., et al. (2013) Science translational medicine 5, 169ra10、Liu, W., et al. (2009) Nature medicine 15, 559-565)。この検体採取から、AR-V7が陰性であるが、その他のmCRPC検体で検出されたものと同じAR-FLレベルである、2つの検体を特定した。これら2つのサンプルを、AR-V7 (-) Met 1及びAR-V7 (-) Met 2として標識化した。両サンプルを、前立腺がん細胞を濃縮するために、同じ方法で組織学的に加工した。

20

30

#### 【0145】

##### k. RNA-SEQ

4つの転移性前立腺組織の検体、AR-V7 (+) Met 1、AR-V7 (+) Met 2、AR-V7 (-) Met 1、及びAR-V7 (-) Met 2を、標準的なTruSeq Stranded Total RNA Sample Prep Kitに従うRNA-Seqに供し、Illumina HiSeq 2000プラットフォーム (Illumina Inc, San Diego, CA) を使用して、配列決定した。平均で、サンプル当たり約6300万読み出しを達成した。配列を、TopHatを使用したUCSC hg19ゲノム構築に対応して並べ、変異ならびにスプライス接合を、Integrated Genome Viewer (IGV) (Robinson, J. T., et al. (2011) Nature biotechnology 29, 24-26) を利用して可視化した。HTSeq (Anders, S., et al. (2014) HTSeq - A Python framework to work with h

40

50

igh-throughput sequencing data. bioRxiv) を使用して、読み出し数 (遺伝子発現レベル) を取得し、1000 当たりの塩基対遺伝子長及び100万当たりの読み出しライブラリーサイズ (RPKM) で正規化した。この2つの条件 (AR-V7 (+) 及び AR-V7 (-)) 間での倍数発現変化 (FC) を計算した。遺伝子を、log FC で事前ランク付けし、Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) に供した (Subramanian, A., et al. (2005) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 102:15545-15550)。生及び加工の両 RNA-Seq データを、Gene Expression Omnibus (受託番号: GSE56701) に蓄積した。 10

#### 【0146】

##### 1. 統計分析

エンザルタミド及びアピラテロンの群について、別々に統計分析を実施した。PSA 応答の第一終点に基づき、サンプルサイズを決定した。AR-V7 は、エンザルタミドで治療の患者の50%及びアピラテロンで治療の患者の50%において、基準点となる CTC サンプルから検出される、と推定した。両群において、PSA 応答率を、AR-V7 陽性患者では10%、AR-V7 陰性患者では60%と、仮定した (Scher, H. I., et al. (2012) New England Journal of Medicine 367, 1187-1197、Ryan, C. J., et al. (2013) New England Journal of Medicine 368, 138-148)。この仮定の下で、 $\alpha = 0.10$  の両側検定を使用した場合、30人の患者 (群当たり) のサンプルサイズが、PSA 応答率が10% (AR-V7 陽性の男性において) から60% (AR-V7 陰性の男性において) における差異を検出するために、検定力85%を生み出すと、推定された。 20

#### 【0147】

各群において、AR-V7 陽性患者と AR-V7 陰性患者の間で、臨床結果を比較した。フィッシャーの正確確率検定を使用して、PSA 応答率を比較した。 Kaplan-Meier 分析法を使用して、事象発生時間結果 (例えば、PSA-PFS、PFS、及び OS) を評価し、ロジック検定を使用して、生存時間の差異を比較した。予測した事象発生時間結果における、AR-V7 状態の影響度を評価するために、単変量及び多変量コックス回帰分析を使用した。小サンプルサイズ及び限定された事象数のため、各多変量モデルは、過剰適合を防ぐために、3変数だけ (AR-V7 状態、AR-FL 発現レベル、及び代替 AR 指向治療の事前使用) を含んでいた。PSA-PFS 及び PFS に対しては、傾向スコア加重多変量解析をまた実施し、その傾向スコア (AR-V7 陽性である確率) を、グリーンスコア、基準点 PSA、事前ホルモン治療の数、内臓転移の有無、ECOG スコア、事前のアピラテロン/エンザルタミド使用、及び AR-FL レベルを含む変数を使用して、ロジスティック回帰分析から計算した。全ての検定を両側で実施し、及び P 値が 0.05 を、有意であると考えた。ソフトウェア R (バージョン 2.15.1) を使用して、統計分析を実施した。 30

#### 【0148】

当該主任臨床研究者は、AR-V7 データに対して盲検化した。当該主任実験研究者は、AR-V7 状態を決定する際には、臨床情報に対して盲検化した。当該第一統計者は、群当たり 30人の患者が登録された後、そのデータに対して盲検化されていない最初の人物であった。

#### 【0149】

##### 2. CTC における AR-V7 の検出

第一に、VCaP 細胞でスパイクされた正常なヒト血液からの AR-V7 転写の検出 (図 1A) は、AR-FL 及び AR-V7 の両方を発現することが知られている前立腺がん細胞であることを示していた (Hu, R., et al. (2009) Cancer R 40

es 69, 16 - 22)。次いで、患者のサンプルを測定した。2人の患者からの血液サンプルにおける、AR - V7の陽性及び陰性検出の実施例を示す(図1B)。その検査の妥当性を検証した後(図示せず)、サイクル数と事前に定量化されたAR - V7の連続希釈の間の関連性によって決定された、AR - V7のcDNAの1複製の検出に対応している、PCRの36サイクルでの、qRT - PCRによる当該AR - V7転写の検出を、AR - V7陽性と定義した。

#### 【0150】

図1Aで参照されるように、正常なヒトボランティアからの5mLの血液にスパイクされた腫瘍細胞における、血液に基づく、完全長アンドロゲン受容体(AR - FL)及びARスプライス変異体7(AR - V7)の検出を示す。CTC補足、溶解、及びcDNA合成に続いて、多重化PCRによるCTC特異のmRNA転写(セット1)、及びAR - FLに対する転写(セット2)ならびにAR - V7に対する転写(セット3)の存在を確認する、3セットの独立したPCR反応を実施した。

10

#### 【0151】

図1Bで参照されるように、2人のエンザルタミド治療の患者からの基準(治療前)血液サンプルにおける、AR - V7の陽性及び陰性検出の実施例を示す。左側パネルの患者は、AR - FL及びAR - V7の両方に対して陽性であったが、一方右側パネルの患者は、AR - FLだけには陽性で、AR - V7には陰性であった。AdnaGen社から提供された製造者の指示に従った、多重化PCRアッセイ(PSMA、PSA、EGFR及びアクチンの検査に基づく)による決定では、両患者とも、CTCには陽性であった。

20

#### 【0152】

図2A及び2Bで参照されるように、AR - FL及びAR - V7の標準的希釈曲線を示す。定量的PCR反応における閾値サイクル数(Y軸)を、各転写産物の図示されている複製数(X軸)を含む6つの希釈で、AR - FL(2A)及びAR - V7(2B)に特異な相補的DNA(cDNA)に対して決定した。数式は、Ct値に基づいて、絶対複製数を定量化するために導かれた。

#### 【0153】

##### 3. 患者の特徴

2012年の12月から2013年の9月の間に、31人のエンザルタミド治療(表1)及び31人のアピラテロン治療(表2)を受けた、62人の患者を、予め登録した。エンザルタミドで治療された患者のフォローアップ期間の中央値は、5.4(1.4~9.9の範囲)ヶ月であり、及びアピラテロンで治療された患者の場合は、4.6(0.9~8.2の範囲)ヶ月であった。エンザルタミドで治療された患者の38.7%(12/31)及びアピラテロンで治療された患者の19.4%(6/31)は、基準CTCサンプル中に、検出可能なAR - V7のmRNAを有していた。全研究群からの検出可能なAR - V7(n=18)を有した男性において、AR - FLに対するAR - V7比率の中央値は、21.0%(1.8~208.0%の範囲)であり(図3A)、AR - V7の検出は、AR - FLの増加した発現と関連していた(P<0.001)(図3B及び3C)。

30

#### 【0154】

図3Aで参照されるように、基準点(すなわち、治療前CTCサンプル)でAR - V7に陽性であった18人の患者からの、循環性腫瘍細胞(CTC)に検出されたAR - FL及びAR - V7の絶対転写複製数を示す。AR - FLに対するAR - V7比率を、パーセンテージで表し、それらは、1.8%から208.0%の範囲である。

40

#### 【0155】

図3Bで参照されるように、アピラテロンで治療された患者における、AR - FL及びAR - V7の転写レベルの定量化を示す。AR - V7陽性及びAR - V7陰性の両サンプルに対する、AR - FLのレベルを示す。AR - FLに陰性の患者(n=8、図示せず)はまた、AR - V7にも陰性であった。(C)エンザルタミドで治療された患者における、AR - FL及びAR - V7の転写レベルの定量化。

#### 【0156】

50

図3Cで参照されるように、AR-V7陽性及びAR-V7陰性の両サンプルに対する、AR-FLのレベルを示す。1人の患者は、AR-FL及びAR-V7の両方に陰性であった(図示せず)。

表 1

基本的特徴	全患者 (N=31)	AR-V7陰性 (N=19)	AR-V7陽性 (N=12)	P値*
年齢(才) 中央値(範囲)	70(56-84)	72(60-84)	69(56-82)	0.223
人種、N(%) 白人 非白人	26(83.9%) 5(16.1%)	16(84.2%) 3(15.8%)	10(83.3%) 2(16.7%)	0.999
診断からの時間(年) 中央値(範囲)	5(1-21)	5(1-21)	7(1-18)	0.760
診断時の腫瘍ステージ、N(%) T1/T2 T3/T4	17(54.8%) 14(45.2%)	10(52.6%) 9(47.4%)	7(58.3%) 5(41.7%)	0.999
診断時のグリーソンスコア合計、N(%) ≤7 ≤8	12(40.0%) 18(60.0%)	9(47.4%) 10(52.6%)	3(27.3%) 8(72.7%)	0.442
局所治療のタイプ、N(%) 外科手術 放射線 無し	13(41.9%) 7(22.6%) 11(35.5%)	8(42.1%) 6(31.6%) 5(26.3%)	5(41.7%) 1(8.3%) 6(50.0%)	0.262
事前のホルモン療法の回数 中央値(範囲)	3.3(2-5)	3.2(2-5)	3.4(3-5)	0.317
アピラテロンの事前使用、N(%) 有り 無し	20(64.5%) 11(35.5%)	9(47.4%) 10(52.6%)	11(91.7%) 1(8.3%)	0.020
ドセタキセルの事前使用、N(%) 有り 無し	20(64.5%) 11(35.5%)	10(52.6%) 9(47.4%)	10(83.3%) 2(16.7%)	0.128
骨転移の存在、N(%) 有り 無し	28(90.3%) 3(9.7%)	17(89.5%) 2(10.5%)	11(91.7%) 1(8.3%)	0.999

10

20

30

40

骨転移の数、 N (%)				
有り	20 (64.5%)	15 (78.9%)	5 (41.7%)	
無し	11 (35.5%)	4 (21.1%)	7 (58.3%)	0.056
内臓転移の存在、 N (%)				
有り	10 (32.3%)	3 (15.8%)	7 (58.3%)	
無し	21 (67.7%)	16 (84.2%)	5 (41.7%)	0.021
ECOGパフォーマンス ステータススコア、N (%)				
0	22 (71.0%)	16 (84.2%)	6 (50.0%)	
1又は2	9 (29.0%)	3 (15.8%)	6 (50.0%)	0.056
基準点PSA (ng/mL) 中央値 (範囲)	44.3 (4.3-3204.2)	29.8 (4.3-452.0)	144.3 (14.5-3204.2)	0.282
基準点アルカリホスファターゼ (U/L) 中央値 (範囲)	108 (58-872)	91 (58-872)	110 (82-744)	0.282
基準点AR-F Lレベル (複製数) 中央値 (範囲)	10 (0-734)	4 (0-121)	26 (3-734)	0.003

10

20

\* P値は、カテゴリー変数及び連続変数の各々に対して、フィッシャーの正確確率検定及びマン・ホイットニーのU検定に基づく。

表 2

基本的特徴	全患者 (N = 31)	AR-V7陰性 (N = 25)	AR-V7陽性 (N = 6)	P値*
年齢 (才) 中央値 (範囲)	69 (48-79)	69 (48-79)	69 (58-79)	0.565
人種、N (%) 白人 非白人	25 (80.6%) 6 (19.4%)	20 (80.0%) 5 (20.0%)	5 (83.3%) 1 (16.7%)	0.999
診断からの時間 (年) 中央値 (範囲)	5 (1-21)	5 (1-13)	4 (1-21)	0.705
診断時の腫瘍ステージ、N (%) T1/T2 T3/T4	12 (38.7%) 19 (61.3%)	10 (40.0%) 15 (60.0%)	2 (33.3%) 4 (66.7%)	0.999
診断時のグリーソンスコア合計、N (%) ≤ 7 ≤ 8	8 (26.7%) 22 (73.3%)	6 (24.0%) 19 (76.0%)	2 (40.0%) 3 (60.0%)	0.589
局所治療のタイプ、N (%) 外科手術 放射線 無し	14 (45.2%) 10 (32.3%) 7 (22.6%)	10 (40.0%) 9 (36.0%) 6 (24.0%)	4 (66.6%) 1 (16.7%) 1 (16.7%)	0.520
事前のホルモン療法の回数 中央値 (範囲)	2.5 (2-6)	2.2 (2-4)	3.7 (2-6)	0.020
エンザルタミドの事前使用、N (%) 有り 無し	4 (12.9%) 27 (87.1%)	2 (8.0%) 23 (92.0%)	2 (33.3%) 4 (66.7%)	0.159
ドセタキセルの事前使用、N (%) 有り 無し	5 (16.1%) 26 (83.9%)	4 (16.0%) 21 (84.0%)	1 (16.7%) 5 (83.3%)	0.999
骨転移の存在、N (%) 有り 無し	24 (77.4%) 7 (22.6%)	19 (76.0%) 6 (24.0%)	5 (83.3%) 1 (16.7%)	0.999

10

20

30

40

骨転移の数、 N (%)				
有り	17 (54.8%)	15 (60.0%)	2 (33.3%)	
無し	14 (45.2%)	10 (40.4%)	4 (66.7%)	0.370
内臓転移の存在、 N (%)				
有り	8 (25.8%)	8 (32.0%)	0 (0%)	
無し	23 (74.2%)	17 (68.0%)	6 (100%)	0.298
ECOGパフォーマンス ステータススコア、 N (%)				
0	25 (80.6%)	22 (88.0%)	3 (50.0%)	
1又は2	6 (19.4%)	3 (12.0%)	3 (50.0%)	0.069
基準点PSA (ng/ mL)				
中央値 (範囲)	37.8 (2.2-2045.0)	31.4 (2.2-262.2)	86.9 (19.4-2045.0)	0.084
基準点アルカリホスフ ァターゼ (U/L)				
中央値 (範囲)	118 (59-1348)	109 (59-524)	263 (71-1348)	0.063
基準点AR-F Lレベ ル (複製数)				
中央値 (範囲)	3 (0-609)	1 (0-173)	216 (8-609)	0.002

10

20

\* P値は、カテゴリ変数及び連続変数の各々に対して、フィッシャーの正確確率検定及びマン・ホイットニーのU検定に基づく。

【0157】

当該エンザルタミド群において、AR-V7陽性の患者は、ドセタキセル治療の前に、及びアピラテロン治療の前に、より高いAR-F Lレベル、より高いPSAレベル、ECOGパフォーマンスステータスが1、内臓転移、6の骨転移を有する可能性があった(表2)。事前にアピラテロンの投与を受けた患者の間では、55%(11/20)が、検出可能なAR-V7を有していたが、対してアピラテロン投与を受けていない男性においては、9%(1/11)であった。表3は、アピラテロンで事前治療された患者とアピラテロンの投与を受けていない患者に対して、別々に臨床結果を報告している。

30

表3

結果	アピラテロンの事前使用無し (n=11)			アピラテロンの事前使用 (n=20)		
	AR-V7 [+] (n=1)	AR-V7 [-] (n=10)	P値	AR-V7 [+] (n=11)	AR-V7 [-] (n=9)	P値
PSA応 答	0% (0/1)	80% (8/10)	0.273	0% (0/11)	22% (2/9)	0.189
PFA-PFS	HR (95%CI) 予測不可能		0.005	HR 3.34 (95%CI, 1.14-9.80)		0.0121
PFS	HR (95%CI) 予測不可能		0.005	HR 2.93 (95%CI, 0.96-8.90)		0.048

40

【0158】

当該アピラテロン群において、AR-V7陽性の患者は、さらなるホルモン療法の前に

50

、及びエンザルタミド治療の前に、より高いAR - FLレベル、より高いPSAレベル、より高いアルカリホスファターゼレベル、ECOG状態が 1を有する可能性があった（表2）。事前にエンザルタミド投薬を受けた患者の間では、50%（2/4）が、検出可能なAR - V7を有していたが、対してエンザルタミドの投薬を受けていない男性においては、14.8%（4/27）であった。表4は、エンザルタミドで事前に治療された患者と、エンザルタミドの投薬を受けていない患者に対して、別々に臨床結果を報告しており、一方表5は、アピラテロン/エンザルタミドへの事前暴露における臨床結果を報告している。

表 4

結果	エンザルタミドの事前使用無し (n=27)			エンザルタミドの事前使用 (n=4)		
	AR-V7 [+] (n=4)	AR-V7 [-] (n=23)	P値	AR-V7 [+] (n=2)	AR-V7 [-] (n=2)	P値
PSA応答	0% (0/4)	74% (17/23)	0.012	0% (0/2)	0% (0/2)	N/A
PFA-PFS	HR 41.0 (95%CI, 4.5-376.8)		<0.001	HR (95%CI) 予測不可能		N/A
PFS	HR 28.2 (95%CI, 3.1-255.8)		<0.001	HR (95%CI) 予測不可能		N/A

10

20

表 5

結果	アピラテロン/エンザルタミドの 事前使用無し (n=38)			アピラテロン/エンザルタミド の事前使用 (n=24)		
	AR-V7 [+] (n=5)	AR-V7 [-] (n=33)	P値	AR-V7 [+] (n=13)	AR-V7 [-] (n=11)	P値
PSA応答	0% (0/5)	76% (25/33)	0.003	0% (0/13)	18% (2/11)	0.199
PFA-PFS	HR 55.9 (95%CI, 6.4-488.5)		<0.001	HR 2.91 (95%CI, 1.10-7.72)		0.023
PFS	HR 45.2 (95%CI, 5.1-398.1)		<0.001	HR 2.65 (95%CI, 0.97-7.25)		0.048

30

50

## 【0159】

## 4. 第一終点

エンザルタミドにおいてPSA応答に達した患者の全割合は、32.3%（10/31人、95%CI、17.1~51.2%）であった。エンザルタミドで治療された男性間で、PSA応答率は、AR - V7陽性患者では0%（0/12人、95%CI、0~26.4%）、及びAR - V7陰性患者では52.6%（10/19人、95%CI、29.3~76.1%）であった。最高PSA応答を、図4Aに描写する。線形回帰モデルにおいて、AR - V7状態は、AR - FL発現への調製後も、PSA応答に予測を示した（ $P < 0.001$ ）。

40

## 【0160】

図4Aで参照されるように、PSA応答に達したエンザルタミドで治療された患者間では、AR - V7陽性が、0%（0/10人、95%CI、0~31.2%）であった一方で、PSA応答がない患者においては、AR - V7陽性が、57.1%（12/21人、

95% CI、34.3~78.1%)であった。「アスタリスク(\*)」印は、短縮したバー表示を示す。図中点線は、PSA 応答を定義する閾値(基準点から50% PSA 減少)を示す。事前にアビラテロンの投与を受けたエンザルタミド群の患者は、「ダガー(†)」印で示している。

【0161】

アビラテロンでPSA 応答に達した患者の全割合は、54.8%(17/31人、95% CI、36.1~73.2%)であった。アビラテロンで治療された男性の間で、PSA 応答率は、AR-V7 陽性患者では0%(0/6人、95% CI、0~46.4%)、及びAR-V7 陰性患者では68.0%(17/25人、95% CI、46.3~85.1%)であった。最高PSA 応答を、図4Bに描写する。線形回帰モデルの使用では、AR-V7 状態は、AR-FL 発現への調製後も、PSA 応答に予測を示した(P=0.018)。

10

【0162】

図4Bで参照されるように、PSA 応答に達したアビラテロンで治療された患者の間(B)では、AR-V7 陽性が、0%(0/17人、95% CI、0~20.2%)であった一方で、PSA 応答がない患者においては、AR-V7 陽性が、42.9%(6/14人、95% CI、18.3~71.2%)であった。「アスタリスク(\*)」印は、短縮したバー表示を示す。図中点線は、PSA 応答を定義する閾値(基準点から50% PSA 減少)を示す。事前にエンザルタミドの投与を受けたアビラテロン群の患者は、「ダガー(†)」印で示している。

20

【0163】

5. 第二終点

a. PSA-PFS

エンザルタミドで治療された男性の間では、PSA 無増悪期間(PSA-PFS)は、基準点で検出可能(対検出不可能)なAR-V7 転写産物(単変量 P<0.001)を持つ男性において、劣っていた(図5A)。AR-FL 発現及び事前のアビラテロン使用に対して調整した、多変量コックスモデルにおいて、AR-V7 の存在が、PSA-PFS(HR 3.1、95% CI 1.0~9.2、P=0.046)の個別予測を示し、AR-FL レベルがまた、PSA-PFS(HR 1.4、95% CI 1.0~1.9、P=0.051)の予測を示したが、事前のアビラテロン使用は、そうした予測を示さなかった(HR 2.5、95% CI 0.4~14.5、P=0.294)。その傾向スコア加重多変量モデルの結果を、表6に示す。

30

【0164】

図5Aで参照されるように、エンザルタミドで治療された患者のPSA-PFS 中央値は、AR-V7 陽性及びAR-V7 陰性患者の各々において、1.4ヶ月(95% CI、0.9~未達)及び6.0ヶ月(95% CI、3.8~未達)であった(HR 7.4、95% CI 2.7~20.6、ログランク検定 P<0.001)。

表 6

変数	危険率 (HR)	95%信頼区間 (95% CI)	P値
AR-V7 陽性	3.40	(1.43-8.08)	0.006
AR-FL レベル (log)	1.33	(1.03-1.72)	0.029
アビラテロンの事前使用	2.66	(0.72-9.86)	0.145

40

50

## 【0165】

アピラテロンで治療された男性の間では、PSA-PFSは、基準点で検出可能（対検出不可能）なAR-V7レベル（単変量  $P < 0.001$ ）を持つ男性において、劣っていた（図5B）。AR-FL発現及び事前のエンザルタミド使用に対して調整した、多変量コックスモデルにおいて、AR-V7の検出が、PSA-PFS（HR 15.7、95%CI 2.1~117.5、 $P = 0.007$ ）の唯一の個別予測因子であったが、AR-FLレベル（HR 1.0、95%CI 0.8~1.2、 $P = 0.817$ ）も事前のエンザルタミド使用（HR 0.9、95%CI 0.1~5.2、 $P = 0.869$ ）も、PSA-PFSの予測を示さなかった。その傾向スコア加重多変量モデルの結果を、表7に示す。

10

## 【0166】

図5Bで参照されるように、アピラテロンで治療された患者のPSA-PFS中央値は、AR-V7陽性及びAR-V7陰性患者の各々において、1.3ヶ月（95%CI、0.9~未達）及び>5.3ヶ月（95%CI、5.3~未達）であった（HR 16.1、95%CI 3.9~66.0、ログランク検定  $P < 0.001$ ）。

表7

変数	危険率 (HR)	95%信頼区間 (95% CI)	P値
AR-V7陽性	17.51	(3.53-87.03)	<0.002
AR-FLレベル (log)	1.05	0.87-1.25)	0.629
アピラテロンの事前 使用	0.61	(0.17-2.19)	0.445

20

## 【0167】

## b. PFS

エンザルタミドで治療された患者の間では、臨床/放射線無増悪期間（PFS）は、基準点で検出可能AR-V7（単変量  $P < 0.001$ ）を持つ男性において、劣っていた（図5C）。AR-FL発現及び事前のアピラテロン使用に対して調整した、多変量コックスモデルにおいて、AR-V7の存在が、PFS（HR 3.0、95%CI 0.9~9.6、 $P = 0.064$ ）の予測を示し、AR-FLレベルがまた、PFS（HR 1.7、95%CI 1.1~2.6、 $P = 0.017$ ）の予測を示したが、事前のアピラテロン使用は、そうした予測を示さなかった（HR 2.6、95%CI 0.2~27.6、 $P = 0.433$ ）。表8は、その傾向スコア加重多変量モデルを示す。

30

## 【0168】

図5Cで参照されるように、エンザルタミドで治療された患者のPFS中央値は、AR-V7陽性及びAR-V7陰性患者の各々において、2.1ヶ月（95%CI、2.0~未達）及び6.1ヶ月（95%CI、4.7~未達）であった（HR 8.5、95%CI 2.8~25.5、ログランク検定  $P < 0.001$ ）。

40

表8

変数	危険率 (HR)	95%信頼区間 (95% CI)	P値
AR-V7陽性	3.38	(1.35-8.46)	0.009
AR-FLレベル (log)	1.64	(1.14-2.35)	0.007
アビラテロンの事前 使用	1.54	(0.31-7.79)	0.602

10

## 【0169】

アビラテロンで治療された患者の間では、PFSは、基準点で検出可能なAR-V7 (単変量  $P < 0.001$ ) を持つ男性において、劣っていた (図5D)。AR-FL発現及び事前のエンザルタミド使用に対して調整した、多変量コックスモデルにおいて、AR-V7の検出が、PFS (HR 7.6、95%CI 1.0~57.6、 $P = 0.050$ ) の個別予測を示した唯一の因子であり、AR-FLレベル (HR 1.1、95%CI 0.9~1.5、 $P = 0.387$ ) 及び事前のエンザルタミド使用 (HR 1.9、95%CI 0.4~10.0、 $P = 0.439$ ) は、PFSの予測を示さなかった。表9は、その傾向スコア加重多変量モデルを示す。

20

## 【0170】

図5Dで参照されるように、アビラテロンで治療された患者のPFS中央値は、AR-V7陽性及びAR-V7陰性患者の各々において、2.3ヶ月 (95%CI、1.4~未達) 及び $> 6.3$ ヶ月 (95%CI、6.3~未達) であった (HR 16.5、95%CI 3.3~82.9、ログランク検定  $P < 0.001$ )。

表9

変数	危険率 (HR)	95%信頼区間 (95% CI)	P値
AR-V7陽性	5.25	(1.09-25.21)	0.038
AR-FLレベル (log)	1.36	(0.97-1.90)	0.075
アビラテロンの事前 使用	1.72	(0.50-5.92)	0.392

30

## 【0171】

## c. OS

当該エンザルタミドで治療された群における10人の死亡 (成人32%、フォローアップ期間の中央値8.4ヶ月)、及び当該アビラテロンで治療された群における5人の死亡 (成人16%、フォローアップ期間の中央値9.3ヶ月) の後に、予備的な生存時間解析を実施した。OSは、当該エンザルタミド群 (HR 6.9、95%CI 1.7~28.1、ログランク検定  $P = 0.002$ ) (図5E) 及び当該アビラテロン群 (HR 12.7、95%CI 1.3~125.3、ログランク検定  $P = 0.006$ ) (図5F) の両方において、基準点で検出可能 (対検出不可能) なAR-V7を持つ男性において、劣っていた。各群で事象が少数のために、多変量モデルは、構築されなかった。

40

## 【0172】

図5Eで参照されるように、エンザルタミドで治療された患者のOS中央値は、AR-

50

V7陽性及びAR-V7陰性患者の各々において、5.5ヶ月(95%CI、3.9~未達)及び未達(95%CI、未達~未達)であった(HR6.9、95%CI 1.7~28.1、ログランク検定  $P=0.002$ )。

#### 【0173】

図5Fで参照されるように、アピラテロンで治療された患者のOS中央値は、AR-V7陽性及びAR-V7陰性患者の各々において、10.6ヶ月(95%CI、8.5~未達)及び $>11.9$ ヶ月(95%CI、11.9~未達)であった(HR12.7、95%CI 1.3~125.3、ログランク検定  $P=0.006$ )。

#### 【0174】

##### 6. 複合解析

探索的データ解析として、全部で62人の対象者を含む組み合わせた患者集団を使用して、PSA-PFS、PFS、及びOSの、PSA応答を評価した。理論に拘束されることを望まないが、これらデータは、これらの結果におけるAR-V7状態の影響は、有意性を残していたことを示す。(図6A~D)。

#### 【0175】

図6Aで参照されるように、62人すべての患者に対するCTCのAR-V7状態において、最高PSA応答を示すウォーターフォールプロットを示す。「アスタリスク(\*)」印は、短縮したバー表示を示す。図中点線は、PSA応答を定義する閾値を示す。事前にアピラテロン及びエンザルタミドの投与を受けた男性(各々、当該エンザルタミド及びアピラテロン群の)は、「ダガー(+)」印で示している。いずれかの療法に対してPSA応答に達した患者の全割合は、44%(27/62人、95%CI、31~57%)であった。PSA応答率は、AR-V7陽性患者において0%(0/18人、95%CI、0~19%)、及びAR-V7陰性患者において61%(27/44人、95%CI、45~76%)であった( $P<0.001$ )。互換的に見た場合、PSA応答に達した患者の間では、AR-V7陽性が0%(0/27人、95%CI、0~13%)であった一方、PSA応答に達しなかった患者においては、AR-V7陽性が51%(18/35人、95%CI、34~69%)であった。線形回帰モデルにおいて、AR-V7状態は、AR-FL発現への調製後も、PSA応答の予測を示した( $P<0.001$ )。

#### 【0176】

図6Bで参照されるように、62人の全ての患者におけるCTCのAR-V7状態によって層別化された、PSA無増悪期間[PSA-PFS]を示す Kaplan-Meier 曲線を示す。PSA-PFS中央値は、AR-V7陽性及びAR-V7陰性患者の各々において、1.4ヶ月(95%CI、0.9~2.6)及び6.1ヶ月(95%CI、5.3~未達)であった(HR10.5、95%CI 4.7~23.6、ログランク検定  $P<0.001$ )。治療タイプによって層別化された多変量コックス回帰分析において、AR-V7の検出は、PSA-PFSを、個別に予測させた(HR8.2、95%CI 2.7~24.9、 $P<0.001$ )。内臓転位の存在( $P=0.033$ )及びさらなる事前ホルモン療法( $P=0.031$ )はまた、PSA-PFSの予測を示し、一方AR-FLレベル( $P=0.120$ )、事前のエンザルタミド/アピラテロンの使用( $P=0.068$ )、及び基準点でのPSAレベル( $P=0.064$ )は、そうした予測を示さなかった。

#### 【0177】

図6Cで参照されるように、62人の全ての患者におけるCTCのAR-V7状態によって層別化された、臨床/放射線-無増悪期間[PFS]を示す Kaplan-Meier 曲線を示す。PFS中央値は、AR-V7陽性及びAR-V7陰性患者の各々において、2.1ヶ月(95%CI、1.9~3.1)及び6.4ヶ月(95%CI、6.1~未達)であった(HR12.7、95%CI 5.1~31.9、ログランク検定  $P<0.001$ )。治療タイプによって層別化された多変量コックス回帰分析において、AR-V7の検出は、PFSの個別予測を示した(HR4.9、95%CI 1.7~13.8、 $P=0.003$ )。AR-FLレベル( $P=0.023$ )、さらなる事前ホルモン療法( $P=0.037$ )、及びエンザルタミド/アピラテロンの事前使用( $P=0.014$ )は、また

10

20

30

40

50

、PFSの予測を示し、一方基準点でのPSAレベル( $P = 0.088$ )、及び内臓転位( $P = 0.422$ )の存在は、そうした予測を示さなかった。

【0178】

図6Dで参照されるように、62人の全ての患者におけるCTCのAR-V7状態によって層別化された、全生存期間[OS]を示す Kaplan-Meier 曲線を示す。OS中央値は、AR-V7陽性及びAR-V7陰性患者の各々において、9.2ヶ月(95%CI、4.5~未達)及び $> 11.9$ ヶ月(95%CI、11.9~未達)であった(HR 8.3、95%CI 2.5~27.4、ログランク検定  $P < 0.001$ )。治療タイプによって層別化された多変量コックス回帰分析において、AR-V7の検出は、OSの個別予測を示した(HR 5.0、95%CI 1.3~19.8、 $P = 0.021$ )。エンザルタミド/アピラテロンの事前使用は、また、OS( $P = 0.027$ )の予測を示し、一方AR-FLレベルは、予測を示さなかった( $P = 0.524$ )。

10

【0179】

7. AR-V7の「CONVERSIONS (転換)」

初期にAR-V7非検出であり、1の追加フォローアップサンプル( $n = 42$ )を伴った男性の間において、6人の患者(エンザルタミドについて4、アピラテロンについて2)はその後、一連の治療中にAR-V7陽性に転換した一方で、初期にAR-V7検出(1の追加フォローアップサンプルを伴う)の16人の患者全てにおいて、治療の間、AR-V7陽性を維持した。これら患者の臨床結果を、表10にまとめる。一連の治療中でのAR-V7発現レベルの変化を、図7A及び7Bにまとめる。

20

【0180】

その後のサンプル採取のタイミングは考慮されず、時間依存性共変量解析又はランダム解析は、この調整に対して実施はしなかった、ことに留意すべきである。したがって、各群における当該臨床結果は、正式にはその他各々を比較できず、説明目的のために提供する。

【0181】

図7Aで参照されるように、エンザルタミド/アピラテロン治療の前後での、AR-FL及びAR-V7の転写複製数の変化を、基準点で検出可能なAR-V7を有した患者( $n = 16$ 、利用可能な対サンプルを伴う)(左パネル)、及び初期には検出不可能で、後に検出可能AR-V7( $n = 6$ )(右パネル)に転換した患者について示す。基準点(治療前)サンプルに比べて、治療後(治療に耐性の時点で)に採取されたCTCサンプルにおいて、AR-FL及びAR-V7の両方に対して、より高い複製数が検出された。AR-V7/AR-FL比率は、基準点で検出可能なAR-V7を有する患者(約21%)において、治療前後で採取されたサンプル間では、類似しており、初期に検出不可能で後に検出可能なAR-V7に転換した患者においては、AR-V7/AR-FL比率の平均が、15.7%であったことに留意のこと。初期に検出不可能で後に検出可能なAR-V7に転換した患者において、AR-V7の複製数の値が、最後のフォローアップCTCサンプルに生み出された(下記図7Bを参照)。

30

【0182】

図7Bで参照されるように、AR-V7状態が、基準点で陰性であったが治療中に陽性に転換した、6人の患者に検出されたAR転写複製数を示す。AR-FL及びAR-V7に対する絶対転写複製数を、エンザルタミド又はアピラテロンでの治療の前、その間、及びその後で、6人の患者の各自に対して示す(1番目:治療前、2番目:治療中、3番目:進行時に)。そのパーセンテージの値は、CTCにおける、AR-FLに対するAR-V7の絶対複製数の比率を表す。図に示すように、絶対AR-V7レベル(及びAR-V7/AR-FL比)は、6つの症例全てにおいて、時間と共に増加した。患者P18、P21、P49及びP87は、エンザルタミドで治療した。患者P84、及びP91は、アピラテロンで治療した。

40

結果	AR-V7[-] → AR-V7[-] (n=36)	AR-V7[-] → AR-V7[+] (n=6)	AR-V7[+] → AR-V7[+] (n=16)
PSA応答	68% (95%CI, 52-81%)	17% (95%CI, 4-58%)	0% (95%CI, 0-19%)
PFA-PFS	6. 1ヶ月 (95%CI、 5. 9ヶ月～未達)	3. 0ヶ月 (95%CI、 2. 3ヶ月～未達)	1. 4ヶ月 (95%CI、 0. 9～2. 6ヶ月)
PFS	6. 5ヶ月 (95%CI、 6. 1ヶ月～未達)	3. 2ヶ月 (95%CI、 3. 1ヶ月～未達)	2. 1ヶ月 (95%CI、 1. 9～3. 1ヶ月)

10

<sup>a</sup>基準点で、AR-V7陰性であった44患者の内、42人は、少なくとも1つのフォローアップサンプルを採取され、これら男性の36人(86%)は、フォローアップでAR-V7陰性を残し(A R - V 7 [ - ] A R - V 7 [ - ])、一方これら男性の6人(14%)は、フォローアップでAR-V7陽性に転換した(A R - V 7 [ - ] A R - V 7 [ + ])。基準点で、AR-V7陽性であった18患者の内、16人は、少なくとも1つのフォローアップサンプルを採取され、これら男性の全ては、フォローアップでAR-V7陽性を残していた(A R - V 7 [ + ] A R - V 7 [ + ])。これら患者の臨床結果もまた、示す。

20

## 【0183】

## 8. 組織に基づく分析

7人の患者が、追加の組織に基づく研究に同意した。5人は、転移性腫瘍生検を受け、及び2人は、彼らの死後の研究遺体解剖を許諾した。この7人の患者の内3人は、CTCに検出可能なAR-V7を有しており、これら3人の患者はまた、qRT-PCR及びRNA-ISH解析を使用した転移性腫瘍組織に、検出可能なAR-V7を有していた(図8)。更に、これら患者において、ウェスタンブロット解析を使用して、そのタンパク質レベルに、AR-V7(及びAR-FL)を検出した。反対に、CTCにAR-V7が検出不可能であった4人の患者は、良好な一致を示して、転移性組織におけるRNA-ISHによって検出可能なAR-V7を有していなかった。最後に、2人のAR-V7陽性患者(解剖検体)からの転移巣において、RNA-Seqを使用した、そのAR転写産物の配列解析は、耐性を説明するAR変異を特定しなかったが、両患者において、AR-V7スプライス接合の存在を確認した(図10A及び10B)。

30

## 【0184】

図8で参照されるように、AR-FL及びAR-V7の既知の発現を有する細胞株(左パネル)における、及び前立腺がんの腫瘍検体(右パネル)における、AR-FL及びAR-V7のmRNAの現場検出を示す。RNA-ISH解析を使用して可視化した、そこに示される3つの前立腺がん細胞株(LNCaP95、VCaP及びCWR22Rv1)は、AR-FL及びAR-V7を発現した一方で、LAPC-4株は、AR-FLだけに陽性で、AR-V7には陰性である。ここに示される腫瘍組織検体には、AR-V7の発現を欠いた、ホルモン療法を受けていない前立腺全摘検体(HNPC、本研究に登録された患者の1人ではない)、CTC(解剖)においてAR-V7陽性の患者からの、解剖由来の肝転移がん、及びCTCにおいてAR-V7陰性(生検1)及び陽性(生検2)の患者からのコア針生検材料を含む。右パネルに示される全ての腫瘍検体は、AR-FLの発現を示している。

40

## 【0185】

図9で参照されるように、AR-V7の陽性患者からの肝転移がんのケース(下線を引いた表示)において、代表的な組織サンプルにおけるAR-V7のタンパク質発現の検出を示す。プロテアーゼ阻害剤及びホスファターゼ阻害剤を伴うRIPA緩衝液を使用して、凍結切片から全タンパク質抽出物を用意した。10%SDS-PAGEプレキャストゲ

50

ル上で、抗AR-V7、抗AR(N20)(AR-FL及びAR-Vの両方を検出するために)、抗PSA、及び抗アクチン抗体でプロットして、各サンプルから40µgのタンパク質を分離した。当該LNCaP細胞株は、AR-V7に対する陰性対照としての役割を果たし、当該LNCaP95細胞株は(合成アンドロゲン、R1881の有無における)、AR-V7に対する陽性対照としての役割を果たした。また、ホルモン療法を受けていない前立腺全摘検体(RRP)からのサンプル、及びAR-V7陰性患者(CRPC#1及びCRPC#2)からの2つの転位組織サンプルを、比較して示す。分子量の表記を、そのプロットの左側に示す。

#### 【0186】

図10Aで参照されるように、エクソン1における新規AR変異(A236D)(有意性は未知)を持つが、先に去勢抵抗性及びエンザルタミド耐性に関連していた既知のARリガンド結合ドメイン(LBD)変異F876L及びT877Aの欠如を示す拡大表示を伴った、読み出し範囲をAR遺伝子に沿って示す。

10

#### 【0187】

図10Bで参照されるように、標準的な及び隠れたARエクソンと繋がる配列の読み出しを描写している、ARのRNAスプライス接合のトラッキングを示す(少なくとも20の深部読み出しによって支持される接合が、図に示されている)。エクソン3からイントロン3までの範囲の拡大領域は、2人のAR-V7陽性患者からの組織サンプルにおいて、陽性として特定されたAR-V7変異体(AR-V1及びAR-V9と共に)を示す。括弧内の数字は、AR-FL特異読み出し数における、変異体特異の読み出し数を示す。このAR-V7/AR-FL比率は、AR-V7(+)Met1及びAR-V7(+)Met2の各々に対して、26.8%及び12.1%であった。

20

#### 【0188】

##### 9. ARシグナル伝達変化

検出可能なAR-V7を有する全ての患者において、AR-FLもまた、より高いレベルで発現され(1患者を除く)、AR-V7の増加発現は一般に、AR-FLと一体である(ただし常にではない)(図3A~C)。一方PSA(標準的ARシグナル伝達の指標)発現は一般に、エンザルタミド/アピラテロンで治療中のAR-V7陰性患者においては、抑制され、PSA発現は、基準点で検出可能なAR-V7を有する男性からの治療後CTCサンプルにおいて、減少しなかった(図11)。理論に拘束されることを望まないが、これらのデータは、AR-FLの耐性機構の独立性、意図した薬剤標的を示唆している。更に、Gene Set Enrichment Analysis of RNA-Seqデータ(図10A、10B、及び12)による、又は一連の標準的AR制御遺伝子の標的解析(表11)による、2つのAR-V7陰性及び2つのAR-V7陽性の転移性腫瘍サンプルの全ゲノム比較では、両比較が、AR-V7陽性サンプルにおける、AR-V7駆動の転写へのシフトと一致した変化を明らかにした。

30

#### 【0189】

図11で参照されるように、PSA発現は、qRT-PCRによる評価で示されたように、エンザルタミド/アピラテロンでの治療(n=14)前後のAR-V7陽性患者からのCTCサンプルにおいて変化する。その結果を、EPCAM及びPSA発現間のCt値(Ct<sub>EPCAM</sub>-Ct<sub>PSA</sub>)における差異として示す。描かれているように、PSA発現は一般に、AR-V7陽性患者においては、エンザルタミド/アピラテロンでの治療中に増加し、AR-V7の存在下では、標準的ARシグナル伝達(PSA mRNAのレベルの、EPCAMのそれら値への正規化によって示される)が、エンザルタミド/アピラテロンによって阻害されなかったことを示唆している。

40

#### 【0190】

図12で参照されるように、AR-V7陽性及びAR-V7陰性の転移性前立腺がん組織の間で、異なって発現された遺伝子において高まった、重要度の高い「生物学的プロセス」を示す。遺伝子は、倍数発現変化に基づいて、予備的にランク付けしている。先に報告した「AR-V7上昇」及び「AR-FL上昇」遺伝子特性(Hu, R., et al

50

．(2012) *Cancer Res* 72, 3457-3462)に一貫しているのは、AR-V7陽性サンプルにおいて増加した発現に対して、細胞周期遺伝子が高められ、ゴルジ活性に関与している遺伝子が、下方制御されていることである。

#### 【0191】

図13、表11で参照されるように、AR-V7陰性の転移性腫瘍における、AR制御された遺伝子に対応した発現プロファイルを提供する。34の標準的AR制御遺伝子の全体は、公開された2つの研究(Hu, R., et al. 2009) *Cancer Res* 69, 16-22、Norris, J.D., et al. (2009) *Molecular Cell* 36, 405-416)において報告された発現データをダウンロードし、複合解析によって特定した。当該AR遺伝子は、選択されてはいなかったが、参照に加えた。35遺伝子の各々に対して、当該4腫瘍サンプルの各々における、生のRNA-Seq読み出し数及び「Reads Per Kilo Gene Size Per Million of Total Reads」(RPKM = 生の計数 / (遺伝子長 / 1000) / (総読み出し数 / 1,000,000))によって正規化された配列読み出しの数、同様にRPKM正規化データから計算した、AR-V7陽性及びAR-V7陰性腫瘍の間でのログ倍数発現変化を示す。書き加えられたこのRNA-Seqデータは、AR-FL駆動の転写プログラムに対するAR-V7を特徴づけている、これまでに公開された発現マイクロアレイのデータである(Hu, R., et al. (2012) *Cancer Res* 72, 3457-3462)。AR-V7陰性腫瘍と比較したとき、AR-V7陽性サンプルにおける倍数発現変化(log FC)は、AR-FLの活性化が無い条件下で、AR-V7によって誘発された倍数発現変化(ARV7によるlog FC)と、0.68の相関係数に基づき非常によく相関しているが( $P < 0.001$ )、AR-FLの活性化によって誘発された倍数発現変化(ARFLによるlog FC)とは、著しい相関はない( $p > 0.05$ 、相関係数は0.23)。

#### 【0192】

##### 考察

エンザルタミド及びアピラテロン、2つの新しいAR指向の療法は、CRPCの管理において有意な進歩を表す(Scher, H.I., et al (2010) *Lancet* 375, 1437-1446、Scher, H.I., et al (2012) *New England Journal of Medicine* 367, 1187-1197、Ryan, C.J. et al. (2013) *New England Journal of Medicine* 368, 138-148、de Bono, J.S., et al. (2011) *New England Journal of Medicine* 364, 1995-2005)。しかしながら、ある割合の男性は、これら薬剤の恩恵を受けておらず、これら薬剤への耐性に横たわる機構のより明確な理解が、そのような患者に対する代替療法(例えば、化学療法)の選択を促進するであろう。理論に拘束されることを望まないが、本明細書に提示するデータは、AR-V7が、CTCから確実に検出され、腫瘍細胞におけるAR-V7の検出が、エンザルタミド及びアピラテロンの両方への耐性に関連している可能性がある、ことを示唆している。この概念的に単純なモデルは、AR-V7が、そのARリガンド結合ドメイン(エンザルタミドの直接標的及びアピラテロンの間接標的)を欠いている一方で、リガンド非依存様式において、転写因子としての恒常活性を残しているため、生物学的に妥当性がある(Hu, R., et al. (2009) *Cancer Res* 69, 16-22、Guo, Z., et al. (2009) *Cancer Research* 69, 2305-2313)。驚くことに、本研究において、AR-V7陽性患者は、エンザルタミド又はアピラテロンに対して、いかなる大きな臨床的恩恵をも受けなかった。更に、一方でAR-V7の検出は、より高いAR-FL発現と関連しており、AR-V7の予後への影響は、AR-FLレベルの調製後も維持されていた。最終的に、アピラテロン/エンザルタミドでの事前治療が、AR-V7陽性の発生率を上げたが、AR-V7状態は、この因子の調整後の予後にも維持された。

10

20

30

40

50

## 【0193】

5年前に、ARスプライス変異体が発見されて以来、前立腺がんの生物学において、それらの役割に対する見解が進化し続けている。前臨床研究は、AR-Vが、ホルモン感受性前立腺がんにおいて、CRPCに、より普遍的に見出され(Hu, R., et al. (2009) *Cancer Res* 69, 16-22)、それらが、その去勢抵抗性表現型の出現を加速している1つの潜在的機構を表しており(Nadiminty, N., et al. (2013) *Molecular cancer therapeutics* 12, 1629-1637)、それらが、CRPC進行に対して、応答性である可能性がある(Hu, R., et al. (2012) *Cancer Res* 72, 3457-3462)ことを示した。CRPCの患者において、AR-Vは、頻りに転移で発現し(Hornberg, E., et al. (2011) *PLoS ONE* 6, e19059、Zhang, X., et al. (2011) *PLoS ONE* 6, e27970)、転移組織における高いAR-Vレベルが、より早期の疾患進行及びより短期のがん特異生存性に関連している(Hu, R., et al. (2009) *Cancer Res* 69, 16-22、Guo, Z., et al. (2009) *Cancer Research* 69, 2305-2313、Hornberg, E., et al. (2011) *PLoS ONE* 6, e19059)。とりわけ、このような研究のすべてが、本質的に、過去に遡っており、時間を横断して一連の検体を採取したり、又はエンザルタミドもしくはアピラテロンの投与を受けた患者において、AR-Vの臨床的有意性を検討したりしたものは無い。重要な点は、複数の研究が、その概念も大胆なものであったが、たとえAR-Vが、恒常活性であったとしても、それらの機能が、完全長ARの活性に依存している可能性がある(Watson, P. A., et al. (2010) *Proceedings of the National Academy of Sciences*)、ことを示したことである(Nadiminty, N., et al. (2013) *Molecular cancer therapeutics* 12, 1629-1637、Hu, R., et al. (2012) *Cancer Res* 72, 3457-3462)。したがって、AR-Vが、現在利用可能な薬剤によって、直接的にはなり得ていないという事実にもかかわらず、エンザルタミド又はアピラテロンによるAR-FLの阻害が、AR-V媒介の耐性を部分的に逆転させる可能性がある、と仮定されてきた。しかしながら、理論に拘束されることを望まないが、これらのデータは、AR-V7を内在している男性において、いかなるPSA応答をも示さなかった(これら患者の全てがまた、AR-FLを発現していたにもかかわらず)。AR-V7陽性患者への代替療法のアプローチは、理論的には、AR-FL及びAR-Vの両方を阻害する、そのARのN末端ドメインを標的化する薬剤の設計であると考えられる(Sadar, M. D. (2011) *Cancer Res* 71, 1208-1213、Ravindranathan, P., et al. (2013) *Nat Commun.* 4, 1923、Andersen, R. J., et al. (2010) *Cancer cell* 17, 535-546)。実際に、そのようなN末端でのAR阻害剤が、薬剤開発の初期段階にある(Ravindranathan, P., et al. (2013) *Nat Commun* 4, 1923、Andersen, R. J., et al. (2010) *Cancer cell* 17, 535-546)。

## 【0194】

AR-Vの存在に加えて、エンザルタミド及びアピラテロンへの初期の耐性又は後天的な耐性に関する追加の説明があっても良い。例えば、増加したイントラクリン/パラクリンのアンドロゲン合成に繋がるCYP17(又はその他のステロイド合成酵素)の過剰発現が、これら薬剤の投与を受ける患者に発生することが、示されている(Mitsiades, N., et al. (2012) *Cancer Res* 72, 6142-6152、Efsthathiou, E., et al. (2011) *ASCO Meeting Abstracts* 29, 4501、Efsthathiou, E., et al. (2012) *Journal of clinical oncology: offici*

al journal of the American Society of Clinical Oncology 30, 637 - 643、Chang, K. H., et al. (2013) Cell 154, 1074 - 1084)。更に、エンザルタミドにアゴニスト活性を付与するARリガンド結合ドメインにおける点変異が、記述されている (Balbas, M. D., et al. (2013) eLife 2、Joseph, J. D., et al. A (2013) Cancer Discovery)。更に、アンドロゲン制御された遺伝子の発現は、グルココルチコイド又はプロゲステロン受容体などの、代替ステロイド受容体によって、加速される可能性がある (Yu, Y., et al. (2013) The Journal of clinical endocrinology and metabolism 98, 2887 - 2896、Sahu, B., et al. (2013) Cancer Res 73, 1570 - 1580、Aroora, V. K., et al. (2013) Cell 155, 1309 - 1322)。最終的に、AR阻害が、PI3K - AKT経路などの、その他の発がん経路の相互上昇制御に繋がる可能性がある (Carver, B. S., et al. (2011) Cancer cell 19, 575 - 586)。理論に拘束されることを望まないが、これらのデータは、AR - V7検出とエンザルタミド/アピラテロン耐性の間の強い関係性を示唆しており、将来の研究で実証される必要がある、AR - V7に対する潜在的な原因機構の役割への洞察力を与える。

10

## 【0195】

理論に拘束されることを望まないが、これらのデータは、CRPCの患者からのCTCにおけるAR - V7の検出が、エンザルタミド及びアピラテロンの両方に対する耐性を示し、直近の臨床的意義を有する可能性があることを示唆している。したがって、AR - V7状態は、エンザルタミド及びアピラテロンへの耐性を予測するバイオマーカーとしての役割を果たし、治療選択を容易にし、当該AR末端ドメインを標的化する新規薬剤の開発を促進させる可能性がある。

20

## 【0196】

実施例2：転移性去勢抵抗性前立腺がんの患者における、アンドロゲン受容体酢ブライズ変異体 - 7、AR - V7、及びタキサン化学療法の有効性

この実施例は、タキサンへの感受性を保持しているAR - V7陽性の患者、及びAR - V7状態が、タキサンで治療された男性対エンザルタミド/アピラテロンで治療された男性において、異なる影響力を有する可能性があることを示す。

30

## 【0197】

方法。予め登録した、タキサンで化学療法を開始している転移性CRPCの患者において、AR - V7について、CTC (循環性腫瘍細胞) を検査した。事前に定めた統計計画では、サンプルサイズとして36人のタキサン治療の男性が必要であった。AR - V7状態とPSA応答率、PSA無増悪期間 (PSA - PFS)、及び臨床/放射線無増悪期間 (PFS) との間の関係を評価した。62人のエンザルタミド/アピラテロン治療の患者における、実施例1からの更新データを組み入れた後、AR - V7状態と治療タイプとの間の相互作用を評価した。

40

## 【0198】

結果。37人のタキサンで治療された患者を登録した。17/37人 (45.9%) は、検出可能なAR - V7を有していた。AR - V7陽性及びAR - V7陰性の両男性 (41%対65%、 $P = 0.194$ ) において、PSA応答に達した。同様に、AR - V7陽性及びAR - V7陰性の患者において、PSA - PFS及びPFSの中央値を比較可能であった。AR - V7状態と治療タイプの間、著しい相互作用が観察された ( $P < 0.001$ )。AR - V7陽性の患者において、PSA応答は、エンザルタミド/アピラテロン治療に対してタキサン治療の男性 (41%対0%、 $P < 0.001$ ) により高く、PSA - PFS及びPFSの中央値は、タキサン治療の男性がより長かった (PSA - PFSに対してはHR 0.19,  $P = 0.001$ 、PFSに対してはHR 0.21,  $P = 0.003$ )。

50

## 【0199】

結論。CRPCの男性における、CTC由来のAR-V7の検出は、タキサンへの初期の耐性とは、関連していなかった。AR-V7陽性の男性において、タキサンは、エンザルタミド/アピラテロンに比べてより効果的に思われるが、AR-V7陰性の男性においては、そうではない。AR-V7は、CRPCにおける治療選択バイオマーカーを代表する可能性がある。

## 【0200】

現在、去勢抵抗性前立腺がん(CRPC)の治療に対応する、利用可能な6つの療法があり、その全てが、生存期間の改善を生み出している<sup>1</sup>。これらの療法は、アンドロゲン受容体(AR)指向療法(アピラテロン<sup>2</sup>、エンザルタミド<sup>3</sup>)、タキサン化学療法(ドセタキセル<sup>4</sup>、カバジタキセル<sup>5</sup>)、免疫療法(シプロイセル-T<sup>6</sup>)、及び骨標的化放射性医薬品(ラジウム-233)<sup>7</sup>の、4つに分類される。これらの中で最も幅広く利用されているのは、AR標的化療法及び化学療法である。しかしながら、これら療法に対する応答性及び耐性の機構は、不十分な理解のままになっている<sup>8,9</sup>。更に、療法選択(すなわち、特定療法に対応した、又は対抗した選択)を補助する効果予測バイオマーカーは、予後マーカーが豊富な一方で、依然として欠如している<sup>10</sup>。

10

## 【0201】

ARスプライス変異体は、特にAR変異体7(AR-V7)においては、CRPCの男性におけるアピラテロン及びエンザルタミドへの初期耐性と、強く関連している<sup>11</sup>。AR変異体(AR-V)は、そのC末端リガンド結合ドメインを欠き、しかし転写促進N末端ドメインを保持している、断ち切られたARタンパク質をコードする、互換的にスプライスされたそのARのアイソフォームである<sup>12-14</sup>。これらのAR-Vは、リガンド(例えば、ジヒドロテストステロン)を結合できないが、それらは、恒常活性的であり、標的遺伝子の転写を促進できる<sup>14-16</sup>。CRPCにおける、AR-Vの臨床的関連性を検討するために、アピラテロン(アンドロゲン合成阻害剤)又はエンザルタミド(AR拮抗薬)で治療中の男性において、AR-V7を検索する、循環性腫瘍細胞(CTC)に基づくアッセイを開発した。そのような患者からのCTCにおけるAR-V7の検出は、PSA応答の欠如と関連し、AR-V7陽性患者が、AR-V7陰性の男性に比べて、より短い無増悪期間及び全生存期間を有していた事と、関連していた<sup>11</sup>。

20

## 【0202】

最近の前臨床データは、タキサン化学療法は、微小管ネットワークに沿ったARシグナル伝達を弱め、それによってその細胞質にARを隔離することによって、CRPCにおける抗腫瘍活性を(少なくとも部分的に)発揮させる可能性がある、という示唆を浮上させた<sup>17-20</sup>。更に、タキサンに感受性の患者において、治療が、その核からのAR排除をもたらす、微小管の構築を生み出すことが、示された。反対に、タキサン耐性の患者における治療であっても、ARはしばしば、その核酸に入り込む能力を保持している<sup>19,21</sup>。更に、特定の異種移植マウスモデルにおいて、特定のARスプライス変異体は、タキサン化学療法への耐性を促進する可能性がある一方で、その他は、タキサン感受性と相性が良い可能性がある、ということが示唆された<sup>22</sup>。しかしながら、タキサンの投与を受けた患者におけるAR-Vの臨床的意義は、不明である。

30

40

## 【0203】

この実施例は、タキサン化学療法中のCRPCの男性における、AR-Vの予測的影響を、初めに予め評価することを目的とした。検出可能なCTC由来のAR-V7を有する男性は、タキサンに感受性を保持しており、AR-V7状態は、エンザルタミド/アピラテロン治療の男性に対して、タキサン治療の男性には、異なる効果を発揮する、と仮定した。この実施例は、AR-V7の検出は、タキサン化学療法への初期耐性とは関連しておらず、タキサンは、AR-V7陽性の男性において、AR標的薬と比べて、優れた有効性を持っている可能性があることを示す。

## 【0204】

方法

50

## 患者

本研究では、ドセタキセル又はカバジタキセルでの標準治療を開始していた、転移性CRPCの男性を登録した。患者は、組織学的に確認された前立腺腺がんを有し、血清のテストステロンが「castration levels (去勢レベル)」であるにもかかわらず ( $< 50 \text{ ng/dL}$ ) 進行性疾患であり、コンピューター断層撮影 (CT) 又はテクネチウム99骨スキャン上で、放射線転移性であることが必要とされた。患者は、前立腺がんワーキング群 (PCWG2) のガイドラインに一致するように、その最後の値が  $2.0 \text{ ng/mL}$  であった時から、2週間以上離れた時点で採取された血清PSA値が、3に上昇している必要があった<sup>23</sup>。仮に患者が、一連のタキサン治療中に、追加の同時抗がん療法 (標準の又は治験的な) を受ける予定の場合は、除外した。カバジタキセルでの治療を開始している (そのラベルの指示に従って<sup>5</sup>) 男性の間で、ドセタキセルで事前治療したように、アピラテロン及び/又はエンザルタミドでの事前治療は許容された。

10

### 【0205】

本研究は、Johns Hopkins University (ジョンズ・ホプキンス大学) IRBによって承認され、Good Clinical Practice guidelines (医薬品の臨床試験の実施に関するガイドライン) に従って実施された。患者には、書面によるインフォームドコンセントが用意された。

### 【0206】

#### 研究設計

本研究は、タキサン薬への感受性又は耐性を予測するために、基準点AR-V7状態の能力を評価する予測研究である。ドセタキセル又はカバジタキセルでの化学治療をまさに開始しようとしていた患者を登録し、基準点、臨床/生化学的応答の時点 (仮に応答が発生したら)、ならびに臨床/放射線学的進行の時点での、最大3時点までの末梢血液CTCサンプル採取を受けた。ドセタキセルは、3週間ごとに、静脈内へ  $75 \text{ mg/m}^2$  の用量で投与し、カバジタキセルは、3週間ごとに、静脈内へ  $25 \text{ mg/m}^2$  の用量で投与した (プレドニゾンの  $5 \text{ mg}$  を、日に2回、両方に与えた)。

20

### 【0207】

予め、フォローアップ内容を定めた。患者は、1~2ヶ月ごとに、PSA測定を受けると共に、2~4ヶ月ごとに、CT (胸部/腹部/骨盤) 及びテクネチウム99骨スキャンを受けた。ドセタキセル又はカバジタキセルでの治療を、PSA進行、又は臨床/放射線学的進行、もしくは患者が、手に負えない薬剤関連毒性を発達させるまで、継続した。

30

### 【0208】

#### AR-V7に対応するCTC分析

先に記述した、商業的に入手可能な、Aleré (商標) AdnaTest platform (Aleré Inc, Waltham, MA) の修正版を使用して、CTC分析を行った<sup>11</sup>。簡単に説明すると、Prostate Cancer Selectキットを使用して、CTCの単離及び濃縮を実施し、ならびにCTCの有無を確かめるために、多重化逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (qRT-PCR) のプライマーを伴う、Prostate Cancer Detectキットを使用して、mRNA発現解析を行った (このプラットフォームは、CTC列挙型とは、互換性ではない)。次いで、前述のように、そのmRNAレベルでの完全長AR (AR-FL) 及びAR-V7を検出するために、カスタムプライマーを使用した<sup>11</sup>。AR-FL転写に対するAR-V7転写の比率を計算して、AR-V7の相対存在量を決定した。

40

### 【0209】

#### 臨床結果

第一終点は、PSA応答率であり、治療後の任意の時点で、基準点から50%のPSA減少に達した (及び3週間維持された) 患者の割合である。第二終点には、PSA無増悪期間 (PSA-PFS) 及び臨床/放射線無増悪期間 (PFS) を含む。全生存期間 (OS) は、予備的な終点とした。PSA進行は、3週間後に確認が必要な (PCWG2基準)、底部から25%のPSA増加 (及び  $2 \text{ ng/mL}$  まで) と定義した<sup>23</sup>。臨

50

床 / 放射線学的進行は、症状進行（疾患関連症状の悪化、又は新規のがん関連合併症）、もしくは放射線学的進行（CT スキャンで、軟部組織の標的病変の合計直径における 20% 拡大 [RECIST 基準<sup>24</sup> ]、骨スキャンで、2 の新規骨病変）、又は死亡の内、どれかが最初に発生した時点と定義した<sup>23</sup>。OS は、任意の原因によって死亡した時と定義した。

#### 【0210】

##### 統計分析

サンプルサイズは、PSA 応答の第一終点に基づいて決定し、基準点で AR - V7 陽性であった男性の 30% であると考えられた。これまでの研究において<sup>11</sup>、エンザルタミド / アピラテロンで治療された患者は、AR - V7 陽性及び AR - V7 陰性患者の 61% (95% CI、43% ~ 80%) において、PSA 応答率に差異を示した。AR - V7 状態の影響度は、エンザルタミド / アピラテロンで治療された患者に比べて、タキサンで治療された患者の文脈においては、より少ないと仮定されたので、PSA 応答率での更に少ない差異を使用し、そのためその差異に対して 95% CI の上限値が、< 61% であった（これまでの研究から推定した点）。したがって、36 人の患者のサンプルサイズは、観察される絶対差異が、30% の場合（AR - V7 陰性の男性における 45% PSA 応答率及び AR - V7 陽性の男性における 15% PSA 応答率）、60% 上限値を有する AR - V7 陽性及び AR - V7 陰性患者の間の PSA 応答率における差異に対して、両側で 95% CI を持っていた。

10

#### 【0211】

タキサンで治療された男性における臨床結果を、AR - V7 陽性及び AR - V7 陰性の患者間で比較した。フィッシャーの正確確率検定を使用して、PSA 応答率を比較した。 Kaplan-Meier 分析法を使用して、事象発生時間結果（PSA - PFS、PFS、OS）を評価し、ロジック検定を使用して、生存時間の差異を比較した。予測した臨床結果における、AR - V7 状態の影響度を評価するために、単変量及び多変量のロジスティック回帰分析（PSA 応答に対して）及びコックス回帰分析（事象発生時間終点に対して）を使用した。小サンプルサイズ及び限定された事象数のため、各多変量モデルは、3 つの共変量だけ（AR - V7 状態、AR - FL 発現レベル、及びアピラテロン及び / 又はエンザルタミドの事前使用）を含んでいた。これら 3 変数は、我々の AR - V7 のこれまでの研究における臨床結果と強く関連していた<sup>11</sup>。

20

30

#### 【0212】

タキサン化学療法対 AR 指向療法の文脈内で、AR - V7 状態の影響度（すなわち、予後良好から予後不良までの患者を区別する能力）を比較するために、エンザルタミド / アピラテロンで治療された患者（n = 62）についての我々のこれまでの研究から、PSA 応答性、PSA - PFS、PFS 及び OS における更新データを組み込んだ。特に評価したのは、AR - V7 状態（陽性又は陰性）と PSA 応答性、PSA - PFS、PFS 及び OS に関連する治療タイプ（タキサン又はエンザルタミド / アピラテロン）の間の相互作用であった。AR - V7 状態と事象発生時間結果に関連する治療タイプとの相互作用を評価するために、単変量及び多変量コックス回帰分析を使用した。各多変量モデルには、6 つの共変量（AR - V7 状態、治療タイプ、AR - FL 発現レベル、化学療法の事前使用、エンザルタミド / アピラテロンの事前使用、及び AR - V7 状態と治療タイプの相互作用）を含んでいた。

40

#### 【0213】

この相互作用評価からの有意性のある結果を観察後に、AR - V7 陽性及び AR - V7 陰性の男性の各々における、異なる治療タイプ（タキサン対アピラテロン / エンザルタミド）の有効性を評価するために、サブ群解析を実施した。各 AR - V7 サブ群内での治療タイプの個々の影響を評価するために、単変量及び多変量コックス回帰分析を利用した。多変量モデル（各 AR - V7 サブ群に対して個別に構築された）は、治療タイプ、AR - FL 発現レベル、及びエンザルタミド / アピラテロンの事前使用の、3 共変量を含んでいた。

50

## 【0214】

すべての統計的検定は両側で実施し、P値 0.05を、有意であると考えた。ソフトウェアR（バージョン2.15.1）を使用して、統計分析を実施した。

## 【0215】

当該臨床研究者は、AR-V7データに対して盲検化した。当該実験研究者は、AR-V7状態を決定する際には、臨床情報に対して盲検化した。当該研究統計者は、36患者が登録された後、そのデータに対して盲検化されていない最初の人物であった。

## 【0216】

## 結果

## 患者特性

10

37人のCTC陽性患者を登録した。30人は、ドセタキセルの投与を受け、7人はカバジタキセルの投与を受けていた。検出可能なCTCを持つ37人の男性を特定するために、43人の患者を選別した（産出率86%、CTC陰性患者は、さらなる解析から除外した）。データ締切日（2014年、9月1日）で、全てのタキサンで治療された患者のフォローアップ期間の中央値は、7.7ヶ月（範囲、0.7~19.0）であった。男性の45.9%（17/37）は、彼らの基準点CTCサンプルに、検出可能なAR-V7のmRNAを有していた。これらの患者において、AR-V7/AR-FL比率の中央値は、22.9%（範囲、2.6~69.2%）であった（図14）。

## 【0217】

AR-V7の有病率は、エンザルタミド/アピラテロンの事前使用の影響を受けていた。事前にエンザルタミド又はアピラテロンの投与を受けていない男性において、AR-V7は、50%のケースに検出され（7/14）、エンザルタミド及びアピラテロンの両方の投与を受けていた男性において、AR-V7は、53%のケースに検出された（8/15）。

20

## 【0218】

表11は、当該タキサンで治療された集団を、その全体、及びAR-V7状態によって分けて、基本的な特徴を示した。AR-V7陽性の男性は、より若い年齢、グリーソンスコアが8、事前のアピラテロン/エンザルタミド治療、6の骨転移、より高いPSAレベル、より高いアルカリホスファターゼレベル、及びより高いAR-FLレベル（これら差異のほとんどは、統計的に有意ではなかったが）の人が多かった。

30

表11. タキサンで治療された37患者の基本的特徴

基本的特徴	全患者 (N=37)	AR-V7陰 性 (N=20)	AR-V7陽 性 (N=17)	P値*
年齢 (才) 中央値 (範囲)	67 (46-82)	68 (46-82)	64 (50-77)	0.106
人種、N (%)				
白人	32 (86.5%)	16 (80.0%)	16 (94.1%)	0.348
非白人	5 (13.5%)	4 (20.0%)	1 (5.9%)	
診断からの時間 (年) 中央値 (範囲)	5 (1-12)	5 (1-12)	4 (1-11)	0.602
診断時の腫瘍ステージ、 N (%)				
T1/T2	14 (37.8%)	7 (35.0%)	7 (41.2%)	0.745
T3/T4	23 (62.2%)	13 (65.0%)	10 (58.8%)	
診断時のグリーソンスコア合 計、N (%)				
≤7	6 (17.1%)	4 (22.2%)	2 (11.8%)	0.658
≥8	29 (82.9%)	14 (77.8%)	15 (88.2%)	
局所治療のタイプ、N (%)				
外科手術	14 (37.8%)	7 (35.0%)	7 (41.2%)	0.999
放射線	9 (24.4%)	5 (25.0%)	4 (23.5%)	
無し	14 (37.8%)	8 (40.0%)	6 (35.3%)	
現在のタキサン療法、N (%)				
ドセタキセル	30 (81.1%)	15 (75.0%)	15 (88.2%)	0.416
カバジタキセル	7 (18.9%)	5 (25.0%)	2 (11.8%)	
事前のホルモン療法の回数 中央値 (範囲)	4 (2-7)	4 (2-7)	4 (2-6)	0.924
アピラテロンの事前使用、N (%)				
有り	29 (78.4%)	14 (70.0%)	15 (88.2%)	0.246
無し	8 (21.6%)	6 (30.0%)	2 (11.8%)	
エンザルタミドの事前使用、 N (%)				
有り	15 (40.5%)	7 (35.0%)	8 (47.1%)	0.516
無し	22 (59.5%)	13 (65.0%)	9 (52.9%)	
ドセタキセルの事前使用、N (%)				
有り	7 (18.9%)	5 (25.0%)	2 (11.8%)	0.416
無し	30 (81.1%)	15 (75.0%)	15 (88.2%)	

10

20

30

40

骨転移の存在、N (%)				
有り	35 (94.6%)	18 (90.0%)	17 (100.0%)	
無し	2 (5.4%)	2 (10.0%)	0 (0.0%)	0.489
骨転移の数、N (%)				
≤5	6 (16.2%)	5 (25.0%)	1 (5.9%)	
≥6	31 (83.8%)	15 (75.0%)	16 (94.1%)	0.189
内臓転移の存在、N (%)				
有り	13 (35.1%)	7 (35.0%)	6 (35.3%)	
無し	24 (64.9%)	13 (65.0%)	11 (64.7%)	0.999
ECOGパフォーマンスステータス、N (%)				
0	20 (54.1%)	8 (40.0%)	12 (70.6%)	
1又は2	17 (45.9%)	12 (60.0%)	5 (29.4%)	0.099
基準点PSA (ng/mL)				
中央値 (範囲)	126 (0.1-2270)	102 (5-534)	189 (0.1-2270)	0.074
基準点アルカリホスファターゼ (U/L)				
中央値 (範囲)	161 (53-1243)	111 (53-930)	291 (53-1243)	0.070
基準点AR-FLレベル (複製数)				
中央値 (範囲)	16 (0-4567)	4 (0-55)	88 (4-4567)	<0.001

10

20

\* P値は、カテゴリー及び連続の各々の変数に対しての、フィッシャーの正確確率検定及びマン・ホイットニーのU検定に基づいている。

【0219】

表12は、これまでの研究から、当該タキサンで治療された37人の患者及びエンザルタミド/アピラテロンで治療された62人の患者の基本的な特徴を比較した。<sup>11</sup>この更新された解析において、全てのエンザルタミド/アピラテロンで治療された患者の、フォローアップ期間の中央値は、13.0(範囲、1.4~19.8)ヶ月であった。これら男性の29.0%(18/62)は、基準点で検出可能なAR-V7を有していた。タキサンで治療された患者との比較では、エンザルタミド/アピラテロンで治療された男性は、グリーンスコアが7、少ない事前ホルモン療法、5の骨転移、ECOGパフォーマンスステータスは0、より低いPSAレベル、より低いアルカリホスファターゼレベル、及びより低いAR-FLレベル(これら差異のほとんどは、統計的に有意ではなかったが)の人が多かった。

30

表12. タキサンで治療された37患者及びエンザルタミド/アピラテロンで治療された62患者の基本的特徴の比較

40

基本的特徴	タキサンで治療された患者 (N = 37)	エンザルタミド/ア ピラテロンで治療された患者 (N = 62)	P値*
年齢 (才) 中央値 (範囲)	67 (46-82)	69 (48-84)	0.321
人種、 N (%) 白人 非白人	32 (86.5%) 5 (13.5%)	51 (82.3%) 11 (17.7%)	0.779
診断からの時間 (年) 中央値 (範囲)	5 (1-12)	5 (1-21)	0.593
診断時の腫瘍ステージ、 N (%) T1/T2 T3/T4	14 (37.8%) 23 (62.2%)	29 (46.8%) 33 (53.2%)	0.410
診断時のグリーソンスコア合計、 N (%) ≤ 7 ≥ 8	6 (17.1%) 29 (82.9%)	20 (33.3%) 40 (66.7%)	0.101
局所治療のタイプ、 N (%) 外科手術 放射線 無し	14 (37.8%) 9 (24.4%) 14 (37.8%)	27 (43.5%) 17 (27.4%) 18 (29.1%)	0.675
事前のホルモン療法の回数 中央値 (範囲)	4 (2-7)	3 (2-6)	0.001
エンザルタミド/アピラテロンの 事前使用、 N (%) 有り 無し	29 (78.4%) 8 (21.6%)	24 (38.7%) 38 (61.3%)	<0.001
ドセタキセルの事前使用、 N (%) 有り 無し	7 (18.9%) 30 (81.1%)	25 (40.3%) 37 (59.7%)	0.045
骨転移の存在、 N (%) 有り 無し	35 (94.6%) 2 (5.4%)	52 (83.9%) 10 (16.1%)	0.201
骨転移の数、 N (%) ≤ 5 ≥ 6	6 (16.2%) 31 (83.8%)	37 (59.7%) 25 (40.3%)	<0.001

10

20

30

40

内臓転移の存在、N (%)			
有り	13 (35.1%)	18 (29.0%)	
無し	24 (64.9%)	44 (71.0%)	0.655
ECOGパフォーマンスステータス、N (%)			
0	20 (54.1%)	47 (75.8%)	
1又は2	17 (45.9%)	15 (24.2%)	0.029
基準点PSA (ng/mL)			
中央値 (範囲)	126 (0.1-2270)	42 (2.2-3204)	0.008
基準点アルカリホスファターゼ (U/L)			
中央値 (範囲)	161 (53-1243)	111 (58-1348)	0.038
基準点AR-F Lレベル (複製数)			
中央値 (範囲)	16 (0-4567)	7 (0-734)	0.051

\* P値は、カテゴリー及び連続の各々の変数に対しての、フィッシャーの正確確率検定及びマン・ホイットニーのU検定に基づいている。

#### 【0220】

AR-V7状態による、タキサンで治療された患者における臨床結果  
PSA 応答

タキサン治療でPSA 応答に達した患者の全割合は、54% (20/37人、95% CI、37~71%)であり、AR-V7状態による有意差は無かった。AR-V7陽性患者における、PSA 応答率は、41% (7/17人、95% CI、18~67%)であり、AR-V7陰性患者においては、65% (13/20人、95% CI、41~85%)であり、24%の非有意差 (P=0.194、その差異に対して95% CI、-13~60%)であった。AR-V7状態による最高PSA 応答を、図15に描写する。多変量ロジスティック回帰モデルにおいて、AR-F L発現及びエンザルタミド/アピラテロンの事前使用に対する調整後、AR-V7状態は、PSA 応答に対して非予測的なままであった (OR 0.39、95% CI 0.06~2.32、P=0.307)。

#### 【0221】

PSA - PFS

PSA 無増悪期間 (PSA - PFS) は、AR-V7状態によって著しく異なっていた。PSA - PFSの中央値は、AR-V7陽性の男性で4.5ヶ月、及びAR-V7陰性の男性で6.2ヶ月 (HR 2.1、95% CI 0.9~4.9、P=0.064)であった (図16A、実線)。AR-F L発現及びエンザルタミド/アピラテロンの事前使用に対して調整した、多変量コックスモデルにおいて、AR-V7状態は、PSA - PFSを予測する能力に非有意性を残しており (HR 1.7、95% CI 0.6~5.0、P=0.324)、AR-F Lレベル (HR 1.0、95% CI 0.9~1.2) 及びエンザルタミド/アピラテロンの事前使用 (HR 1.4、95% CI 0.4~4.2) は、この多変量解析においても、PSA - PFSに非予測的であった。

#### 【0222】

PFS

臨床/放射線無増悪期間 (PFS) は、AR-V7状態によって著しく異なっていた。PFSの中央値は、AR-V7陽性の男性で5.1ヶ月、及びAR-V7陰性の男性で6.9ヶ月 (HR 2.8、95% CI 1.2~6.9、P=0.017)であった (図16B、実線)。この差異は、有意に思えたが、AR-F L発現及びエンザルタミド/アピラテロンの事前使用に対して調整した、多変量コックスモデルにおいて、AR-V7状態は、PFSを予測する能力を欠いており (HR 2.7、95% CI 0.8~8

10

20

30

40

50

． 8、 $P = 0.110$ ）、AR - FL レベル（HR 1.0、95%CI 0.9 ~ 1.1）及びエンザルタミド / アピラテロンの事前使用（HR 1.7、95%CI 0.5 ~ 6.2）もまた、PFS に非予測的であった。

#### 【0223】

OS（予備的）

全生存期間（OS）もまた、AR - V7 状態によって著しく異なっていた。OS の中央値は、AR - V7 陽性の男性で 9.2 ヶ月、及び AR - V7 陰性の男性で 14.7 ヶ月（HR 2.5、95%CI 0.8 ~ 8.1、 $P = 0.113$ ）であった（図 16 C、実線）。AR - FL 発現に対して調整した、多変量コックスモデルにおいて、AR - V7 状態は、OS を予測する能力に非有意性を残しており（HR 0.7、95%CI 0.1 ~ 3.8、 $P = 0.657$ ）、AR - FL レベルもまた、OS に非予測的であった（HR 1.3、95%CI 0.9 ~ 1.8）。

10

#### 【0224】

タキサン対 AR 指向療法で治療された男性における、AR - V7 の特異的な効果

PSA 応答

未調整線形モデルにおいて、AR - V7 状態と治療タイプの間、著しい相互作用が観察された（ $P = 0.002$ ）。AR - FL レベル、化学療法の事前使用、及びエンザルタミド / アピラテロンの事前使用から成る調整モデルにおいても、その相互作用は、著しいままであった（ $P = 0.006$ ）。

#### 【0225】

PSA - PFS

未調整コックスモデルにおいて、AR - V7 状態と治療タイプの間、著しい相互作用が観察された（ $P < 0.001$ ）（図 16 A）。AR - FL レベル、化学療法の事前使用、及びエンザルタミド / アピラテロンの事前使用から成る調整モデルにおいても、その相互作用は、著しいままであった（ $P = 0.001$ ）。

20

#### 【0226】

PFS

未調整コックスモデルにおいて、AR - V7 状態と治療タイプの間、著しい相互作用が観察された（ $P < 0.001$ ）（図 16 B）。その調整モデルにおいて、その相互作用は、著しいままであった（ $P = 0.003$ ）。

30

#### 【0227】

OS（予備的）

未調整のコックスモデル（ $P = 0.176$ ）（図 16 C）又はその調整モデル（ $P = 0.157$ ）のいずれにおいても、AR - V7 状態と治療タイプの間、著しい相互作用は観察されなかった。

#### 【0228】

AR - V7 状態による、タキサン対 AR 指向療法での臨床結果

AR - V7 陽性患者

AR - V7 陽性の男性においては、タキサンでの治療が、AR 指向療法より優れていると思われた。PSA 応答は、タキサン治療の患者で 41%（7 / 17）及びエンザルタミド / アピラテロン治療の患者で 0%（0 / 18）であった（ $P < 0.001$ ）。AR - FL レベル、事前の化学療法、及びエンザルタミド / アピラテロンの事前使用に対して調整した、多変量線形モデルにおいて、タキサンでの治療は、エンザルタミド / アピラテロンよりも優位性を残していた（ $P < 0.001$ ）。更に、PSA - PFS の中央値は、エンザルタミド / アピラテロン治療の男性に比べて、タキサン治療の男性の方がより長期であった（HR 0.22、95%CI 0.09 ~ 0.53、 $P < 0.001$ ）（図 16 A、# / # #）。AR - FL レベル及びエンザルタミド / アピラテロンの事前使用に対して調整した、多変量コックスモデルにおいて、タキサン療法は、AR 指向療法よりも優位性を残していた（HR 0.19、95%CI 0.07 ~ 0.52、 $P = 0.001$ ）。同様に、PFS 中央値は、エンザルタミド / アピラテロン治療の男性に比べて、タキサン治療

40

50

の方がより長期であった (HR 0.26、95%CI 0.11~0.59、P=0.001) (図16B、#/#)。AR-FLレベル及びエンザルタミド/アピラテロンの事前使用に対して調整した、多変量コックスモデルにおいて、タキサン療法は、優位性を残していた (HR 0.21、95%CI 0.07~0.59、P=0.003)。最終的に、OS (予備的) 中央値は、エンザルタミド/アピラテロンで治療された患者に比べて、タキサン治療の方が、数字的に優れていた (HR 0.83、95%CI 0.34~2.00、P=0.764) (図16C、#/#)。AR-FLレベル及びエンザルタミド/アピラテロンの事前使用に対して調整した、多変量コックスモデルにおいて、タキサン療法で生存期間が良好になる傾向があった (HR 0.28、95%CI 0.07~1.00、P=0.059)。

10

【0229】

AR-V7陰性患者

AR-V7陰性の男性におけるいずれの臨床結果に関しても、タキサン治療とAR指向療法の間有意差は無かった。PSA応答は、タキサン治療の患者で65% (13/20) 及びエンザルタミド/アピラテロン治療の患者で64% (28/44) であった (P=0.604)。多変量線形モデルにおいて、AR-FLレベル、事前の化学療法、及びエンザルタミド/アピラテロンの事前使用に対して調整後、この差異は、有意ではなかった (P=0.361)。PSA-PFSの中央値は、多変量コックスモデルにおいて、AR-FLレベル及びエンザルタミド/アピラテロンの事前使用に対して調整後でさえ (HR 1.09、95%CI 0.51~2.31、P=0.828)、エンザルタミド/アピラテロン治療の患者に比べて、タキサン治療の患者の方が、有意差が無かった (HR 1.61、95%CI 0.84~3.06、P=0.149) (図16A、\*/\*\*)。同様に、PFS中央値は、多変量コックス解析において、AR-FL及びエンザルタミド/アピラテロンの事前使用に対して調整後でさえ (HR 1.02、95%CI 0.46~2.25、P=0.959)、エンザルタミド/アピラテロン治療の患者に比べて、タキサン治療の方が、有意差が無かった (HR 1.68、95%CI 0.84~3.33、P=0.142) (図16B、\*/\*\*)。最終的に、OS (予備的) 中央値は、単変量 (HR 2.26、95%CI 0.78~6.62、P=0.134) (図16C、\*/\*\*) 又は多変量 (HR 1.55、95%CI 0.49~4.95、P=0.459) 解析のいずれにおいても、当該2つの治療群間で、有意差が無かった。

20

30

【0230】

タキサン進行でのAR-V7転換

21人のタキサンで治療された患者について、AR-V7に対して評価可能な基準点及び進行の時点で採取したCTCサンプルを組み合わせた。初期にAR-V7が検出不可能な男性の間で (n=9)、1人の患者がその後、一連のタキサン治療中にAR-V7陽性に転換し、一方8人の患者が、進行時点でAR-V7陰性を残していた。反対に、基準点で検出可能なAR-V7を持つ男性の間で (n=12)、7人の患者 (58%) が、タキサン治療中にAR-V7陰性に転換し、一方5人の患者 (42%) が、進行時点でAR-V7陽性を残していた。AR-V7状態における、これら転換の臨床的意義は、現在も不明である。

40

【0231】

考察

転移性CRPCの男性に対して、複数の利用可能な療法が存在する一方で、これらの患者に最適な治療を導くための分子バイオマーカーは、現在も無い。我々は、低いPSA応答、より短いPFS、及びより短いOSによって明らかになったように、AR-V7の検出が、アピラテロン及びエンザルタミドへの初期耐性に関連していることを、これまでに示してきた<sup>11</sup>。ここで、我々は、検出可能なAR-V7を持つ男性が、タキサンの化学療法に感受性を保持しており、そのAR-V7の影響は、化学療法によるよりも、AR指向療法の文脈において、より著しく、タキサンは、AR-V7陽性の男性において (しかしAR-V7陰性の男性にではなく)、エンザルタミド/アピラテロンよりも、優れた効能

50

を有している可能性がある、ことを示している。現在の研究は、タキサン化学療法を受けている患者における、AR - V7の最初の予測分析を示し、我々のデータの総和は、AR - V7が、CRPCにおける治療選択マーカーになる可能性があることを示唆している。

#### 【0232】

タキサン薬剤の原理的な機構 - 作用は、細胞分裂の停止を誘導する微小管の破壊であるが、タキサンはまた、微小管ネットワークに沿った、ARの細胞質から核間の往来を破壊することによって、CRPCに、それらの抗腫瘍効果を媒介する可能性があることがますます理解されているが<sup>17-20</sup>、その一方で、その他の機構もまた、主張されてきた<sup>25, 26</sup>。したがって、AR標的化療法とタキサン化学療法の間、ある程度の交差耐性が、示唆されてきたが、この交差耐性は、ドセタキセルによるよりも、カバジタキセルによるほうがより有意ではない可能性がある<sup>27</sup>。最近、特定のマウスモデルを使用したCRPCの研究がまた、特定のAR - V7は、タキサンへの感受性に関連している可能性があり、一方での他が、タキサン耐性を媒介している場合があることを示唆した<sup>22</sup>。これらを受けて、AR - V7は、微小管結合に対して必要であると考えられる、ARのヒンジ領域の欠失のために、少なくとも1つの前臨床モデルにおいて、タキサン耐性をもたらすことが示された<sup>22</sup>。しかしながら、この臨床データは、このマウスモデルからの知見を要約してはいない。事実、本明細書で、AR - V7陽性の患者において、PSA応答率が41%であり、PFS中央値が、5.1ヶ月であることを示した。一方で、タキサンへの臨床結果は、AR - V7陰性の男性に比べて、AR - V7陽性において劣っているように見えた可能性があり、これらの差異は、多変量調整後も、統計的に有意ではなかった。より重要なことに、我々は、AR - V7の検出は、タキサン薬剤への初期耐性と関連していない(アビラテロン及びエンザルタミドでも観察されたように<sup>11</sup>)ことを証明した。

10

20

#### 【0233】

本実施例からの知見は、タキサン療法は、AR - V7陽性のCRPCを持つ男性に対して、AR指向療法よりも、より効果的である場合があるという示唆であった。反対に、臨床結果は、AR - V7陰性の患者間で、使用された療法のタイプに基づいた著しい差異を示さなかった。仮にこれらの結果が、さらなる予測的なバイオマーカーにより層別化された臨床試験によって確認されるならば、この見解は、AR - V7陽性の男性は、AR標的化療法よりむしろ、タキサン化学療法でより良くなる場合があり、一方でAR - V7陰性の男性においては、両方の治療アプローチが、合理的であるかもしれない、ということの示唆であっても良い。制約はあるであろう。小さなサンプルサイズであるために、予後におけるAR - V7状態の独立した寄与を決定する、包括的な多変量解析は実施せず、サブ集団を、当該バイオマーカーの有用性が最大になり得るようには、定義しなかった。AR - V7は、より進んだ疾患又はより高い疾患負担のマーカーになり得る。二番目に、タキサンで治療された及びエンザルタミド/アビラテロンで治療された患者間での、臨床結果の比較は、治療選定は、無差別には割り当てられず、基本的な患者の特徴(事前に受けた療法の数及びタイプを含む)は、当該2群では、異なっていたという事実によって、達成され得る。これら知見の確認は、タキサン化学療法対AR指向療法に対して、患者を無作為化した、バイオマーカーに起因するより大きな研究で決定することが可能である。この点は、PRIMCAB study (NCT02379390)において、事前使用したエンザルタミド/アビラテロンへの初期耐性を持つ男性における、アビラテロン/エンザルタミド対カバジタキセルの、多角的に無作為化したフェーズ2試験で、追求されるであろう。

30

40

#### 【0234】

1つの知見は、基準点で検出可能なAR - V7をもつ特定の患者が、一連のタキサン療法中に、AR - V7陰性へと転換した、という事実である。エンザルタミド/アビラテロンで治療された患者におけるAR - V7、基準点で検出可能なAR - V7をもつ全ての男性は、アビラテロン及びエンザルタミドでの治療を通して、AR - V7陽性を残している<sup>11</sup>。生物学的には、AR - V7陽性から陰性への転換は、タキサンによって発揮されたAR軸上での減少した選択圧力を意味するかもしれず、標準的ARシグナル伝達の再開及び

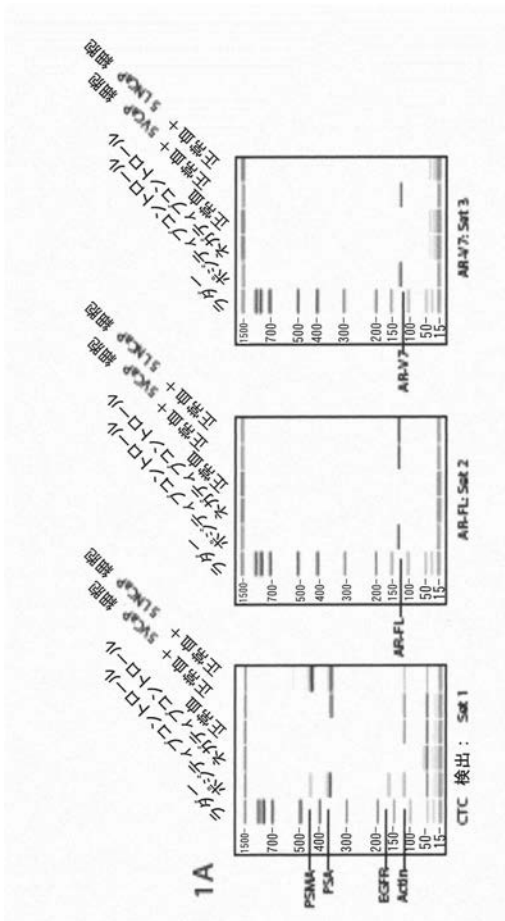
50

異常な A R - V 媒介のシグナル伝達に対する要求の欠如を可能にするかもしれない。1つの代替仮説は、効果的なタキサン療法は、循環性腫瘍細胞の負荷を減らし、それによって低存在量における A R - V 7 の存在検出をより困難にした場合がある、というものであった。これら A R - V 7 転換の臨床的意義は、今後の検討課題である。

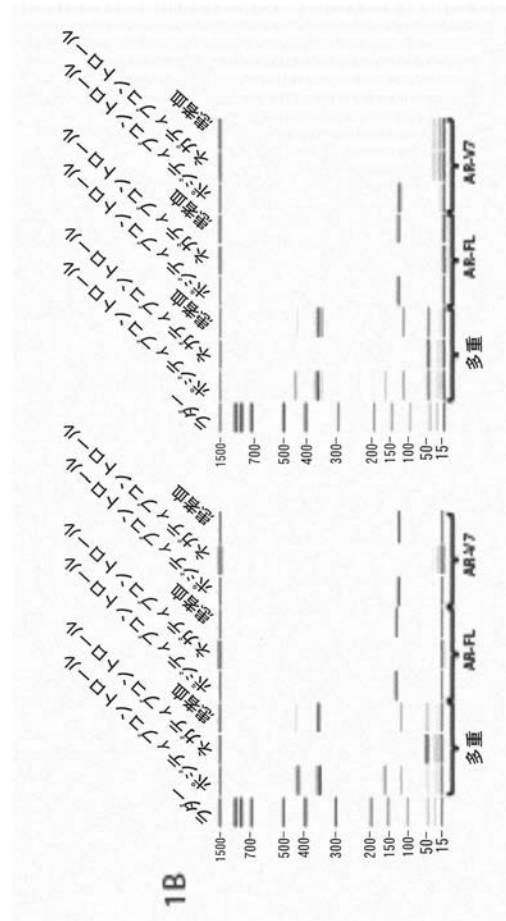
【 0 2 3 5 】

本明細書の知見は、C R P C の患者からの C T C における A R - V 7 の検出は、タキサン化学療法への初期耐性とは関連しておらず、A R - V 7 陽性患者は、A R 標的化薬剤よりもタキサンに対して良好に応答する場合がある、ことを示唆している。A R - V 7 状態は、C R P C に対する、初期治療選択のバイオマーカーを与える。

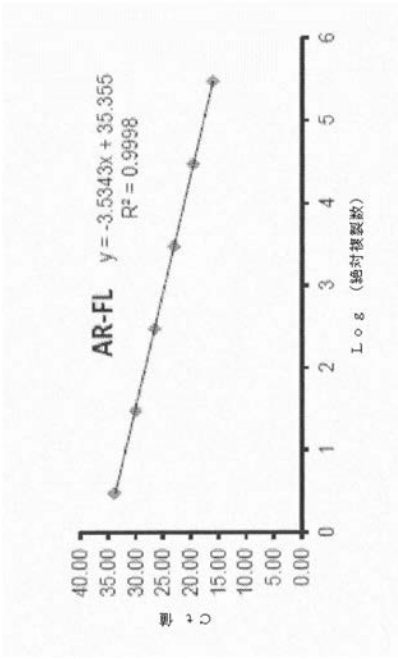
【 図 1 A 】



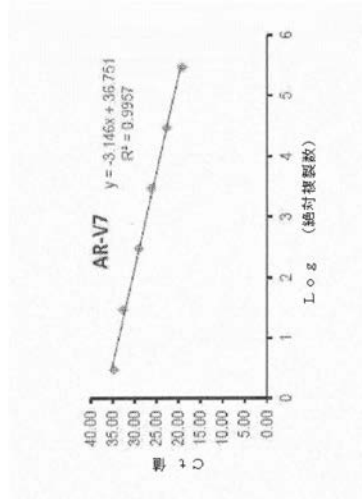
【 図 1 B 】



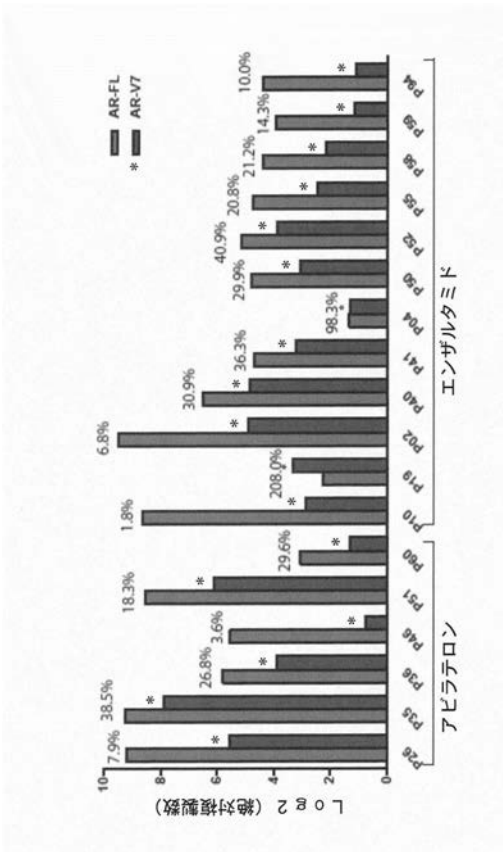
【 図 2 A 】



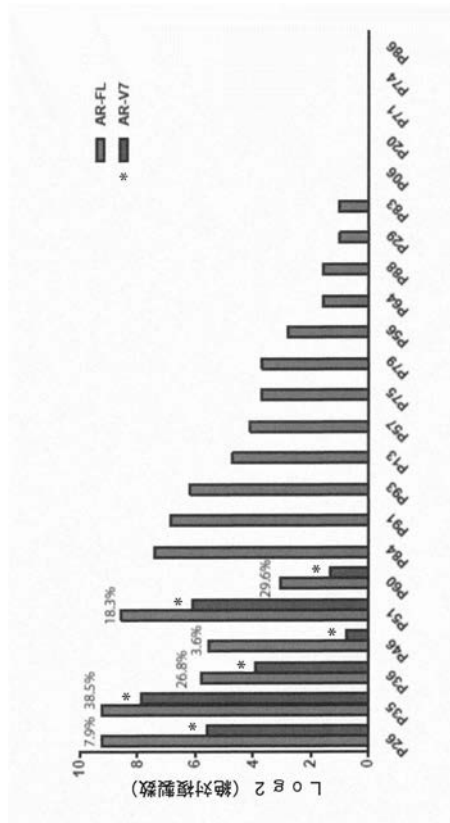
【 図 2 B 】



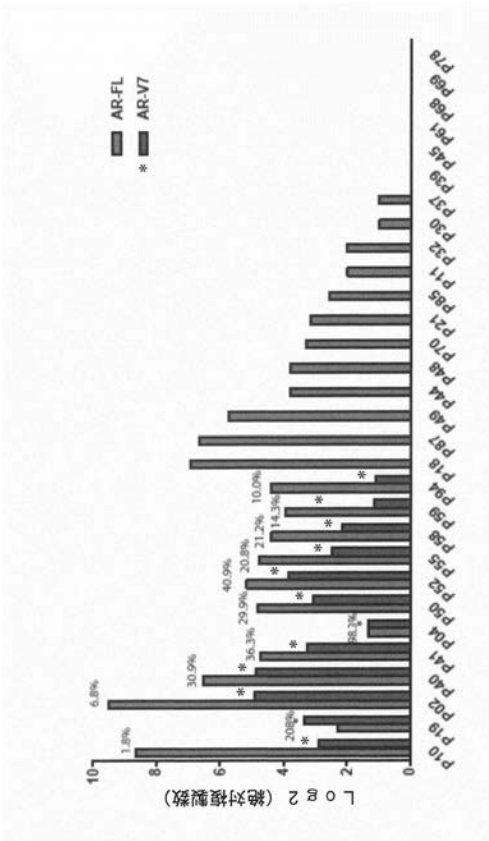
【 図 3 A 】



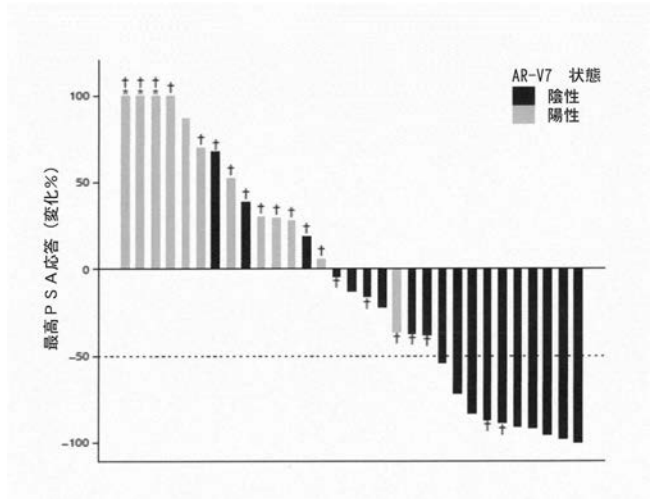
【 図 3 B 】



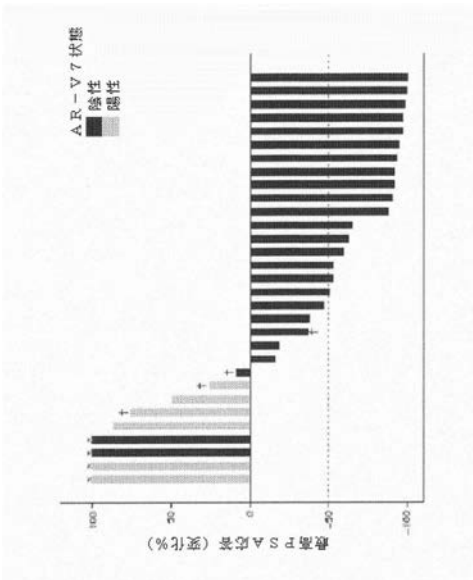
【 図 3 C 】



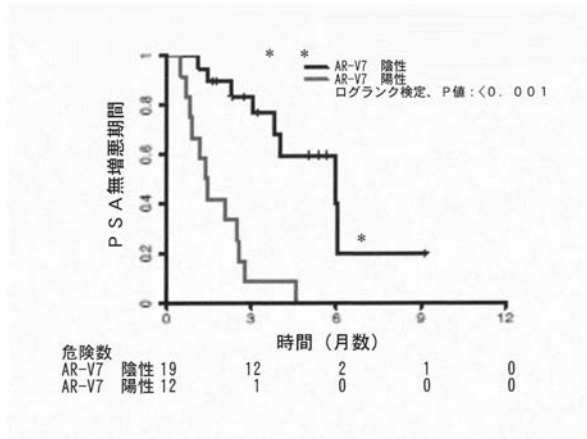
【 図 4 A 】



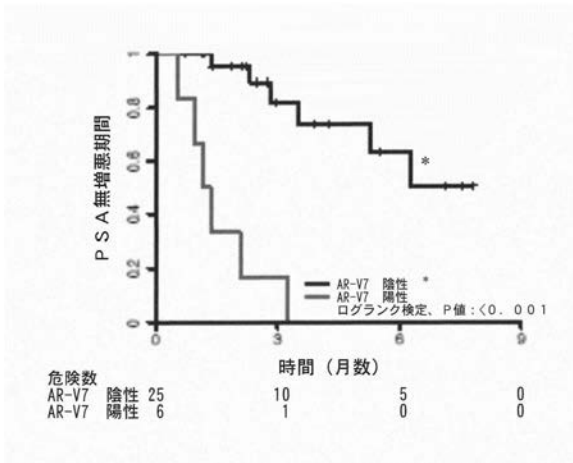
【 図 4 B 】



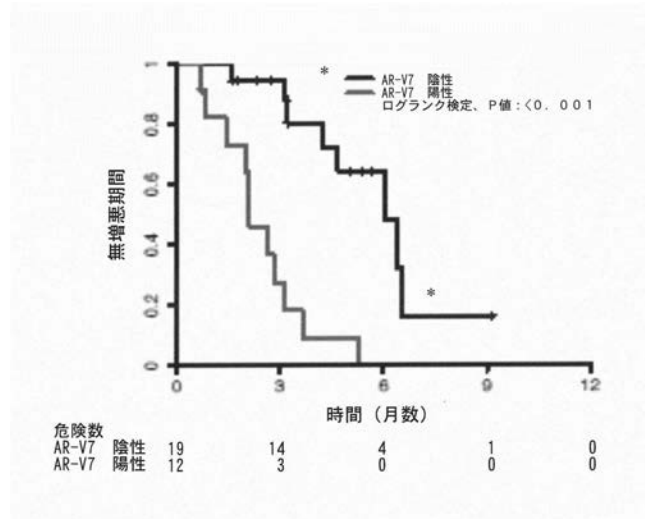
【 図 5 A 】



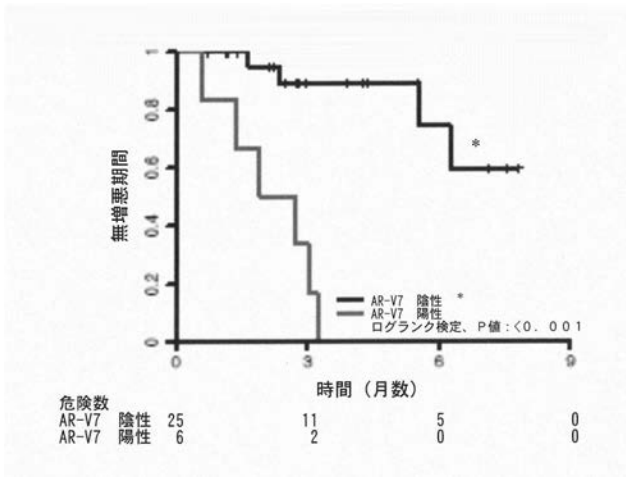
【図 5 B】



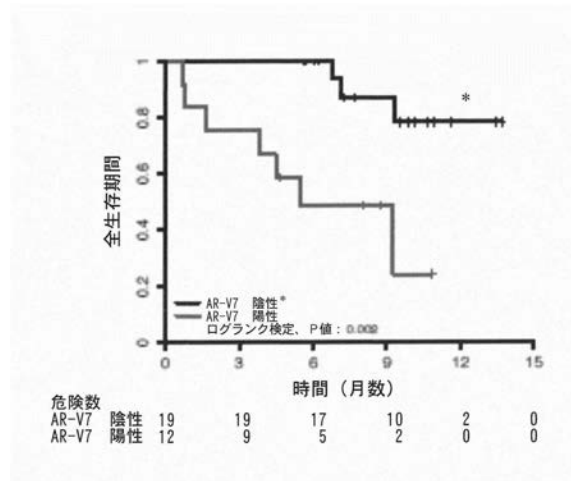
【図 5 C】



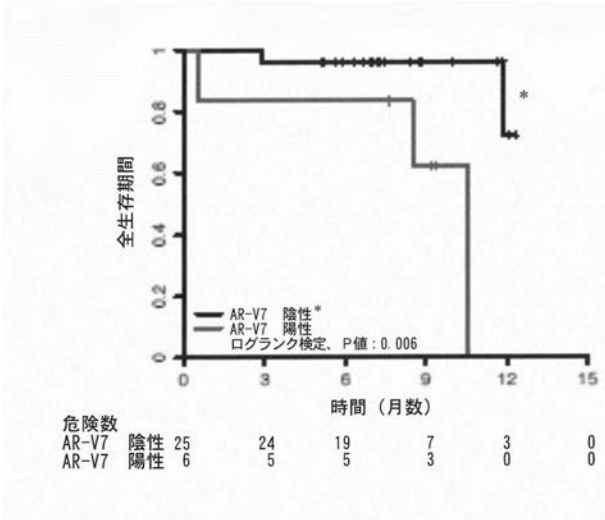
【図 5 D】



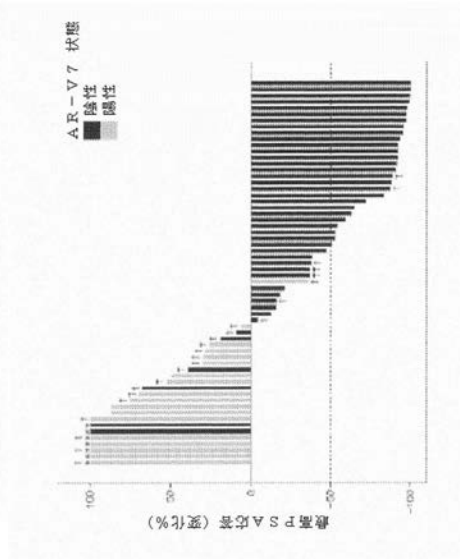
【図 5 E】



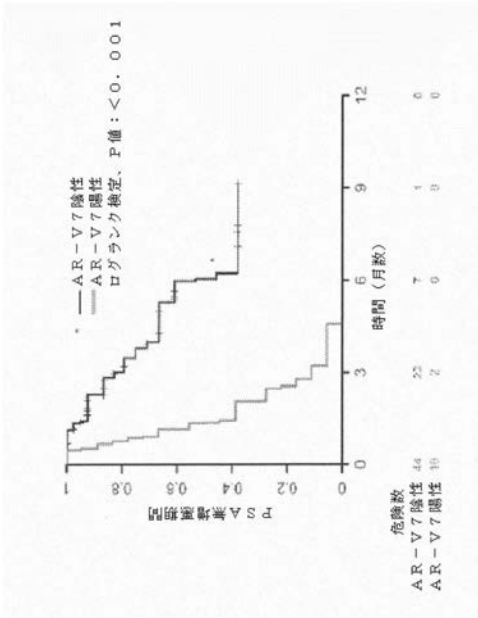
【 図 5 F 】



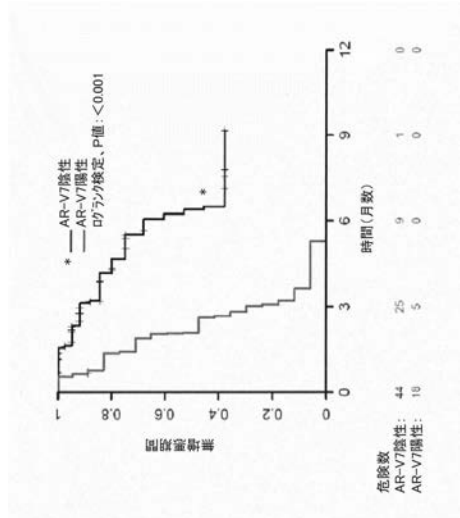
【 図 6 A 】



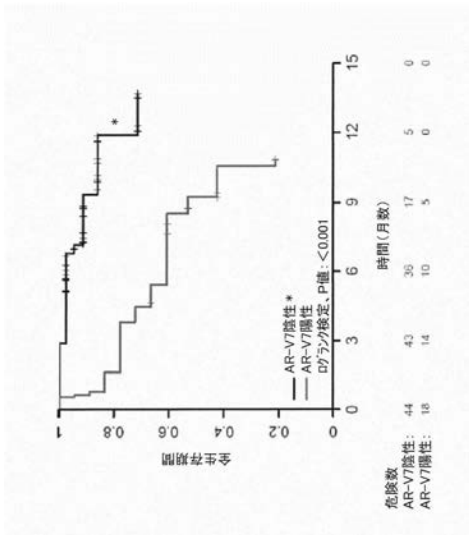
【 図 6 B 】



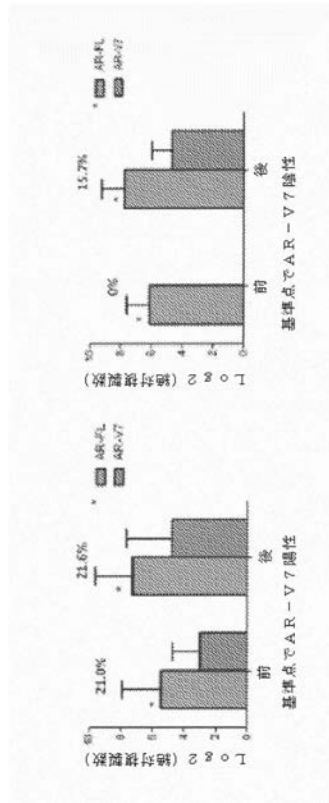
【 図 6 C 】



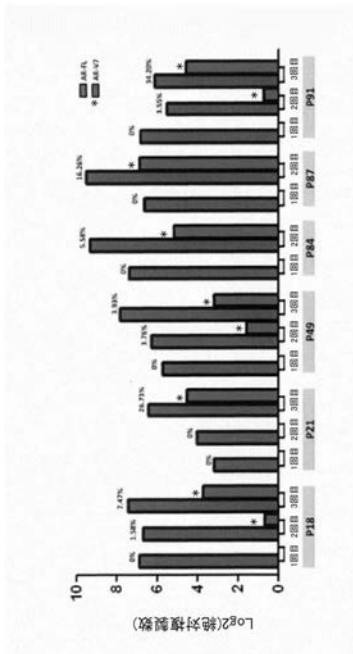
【 図 6 D 】



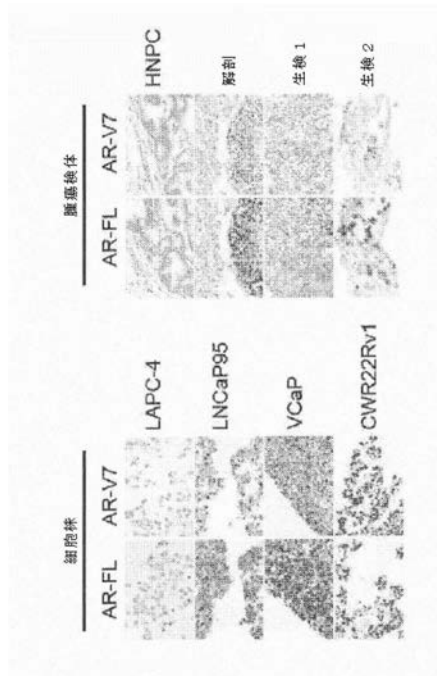
【 図 7 A 】



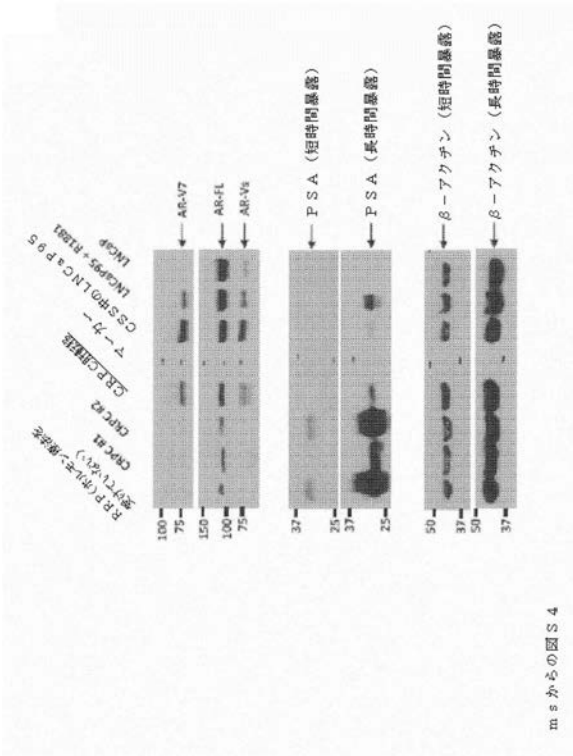
【 図 7 B 】



【 図 8 】

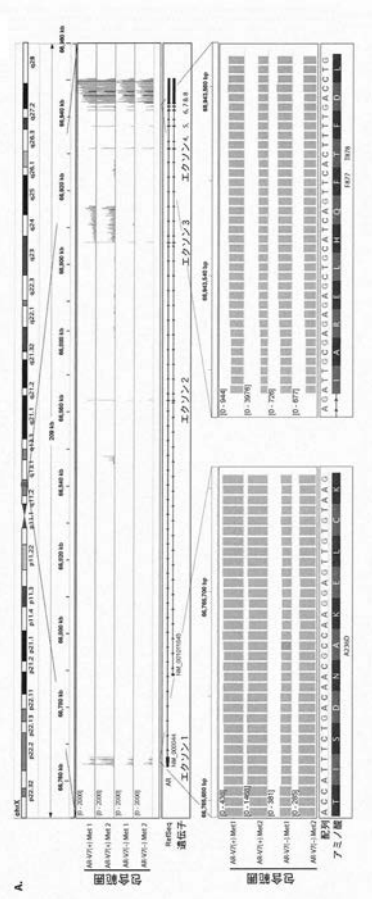


【 図 9 】

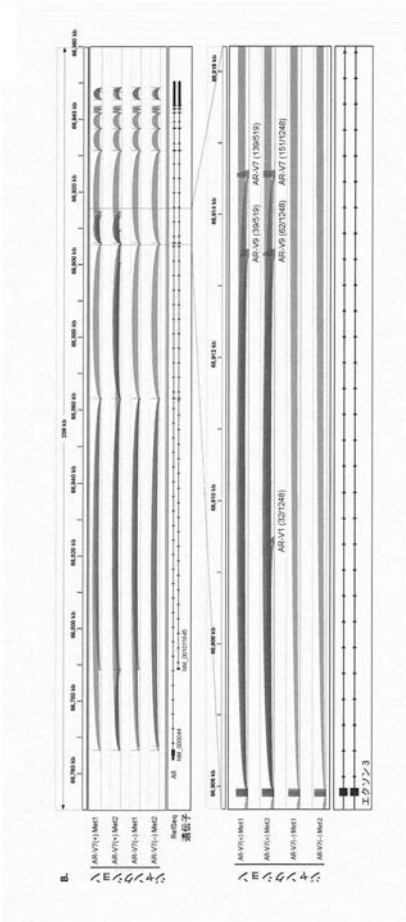


m s からの図 S 4

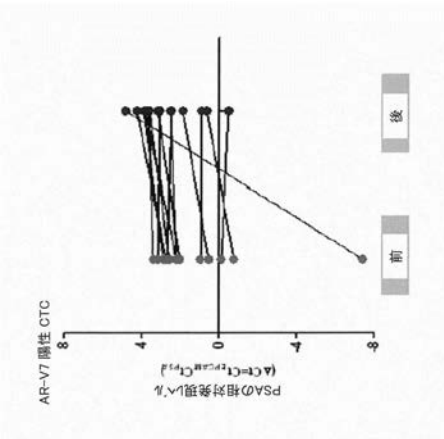
【 図 1 0 A 】



【 図 1 0 B 】



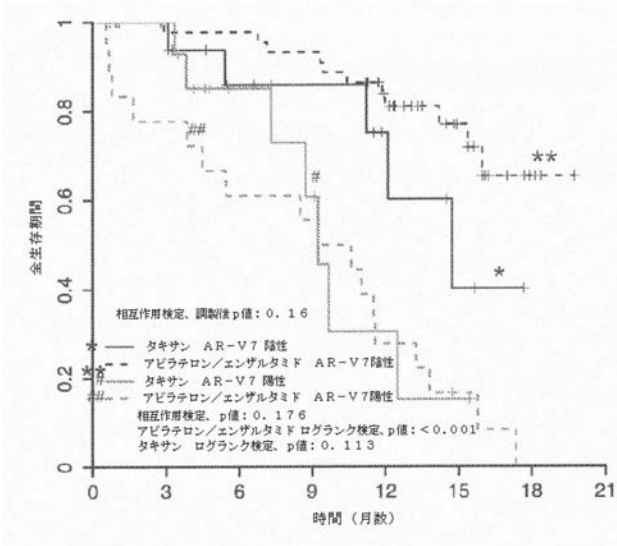
【 図 1 1 】



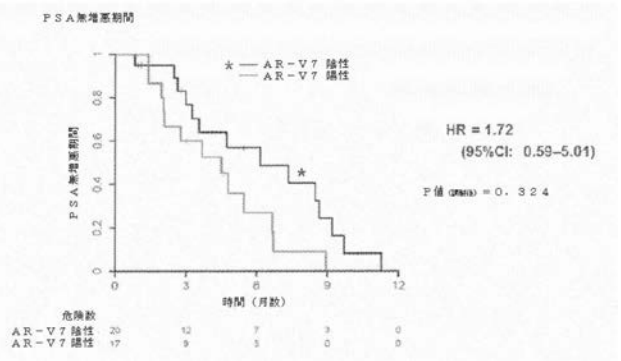




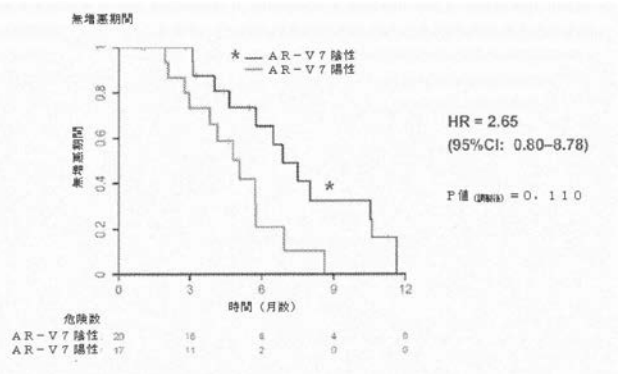
【図 16C】



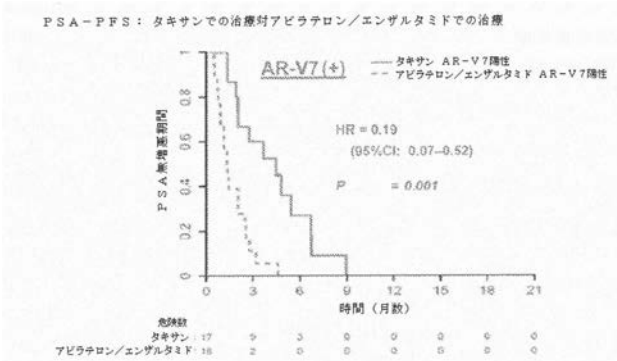
【図 17】



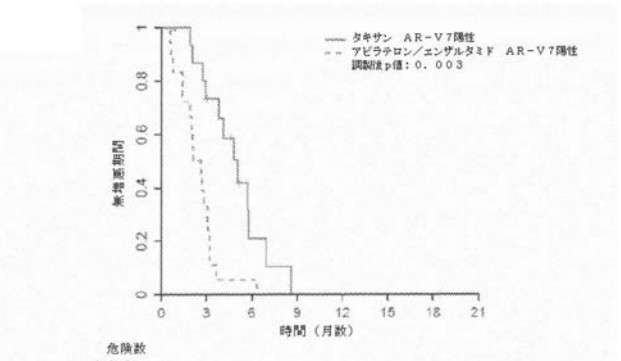
【図 18】



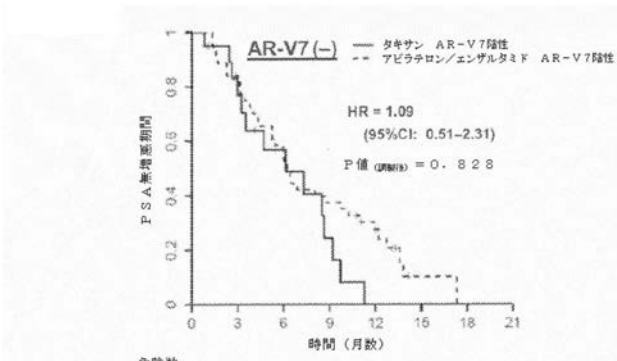
【図 19A】



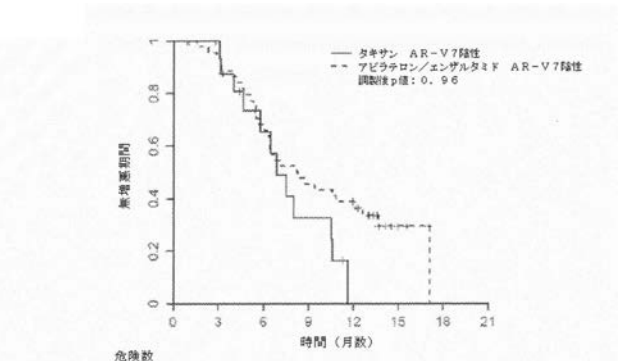
【図 20A】



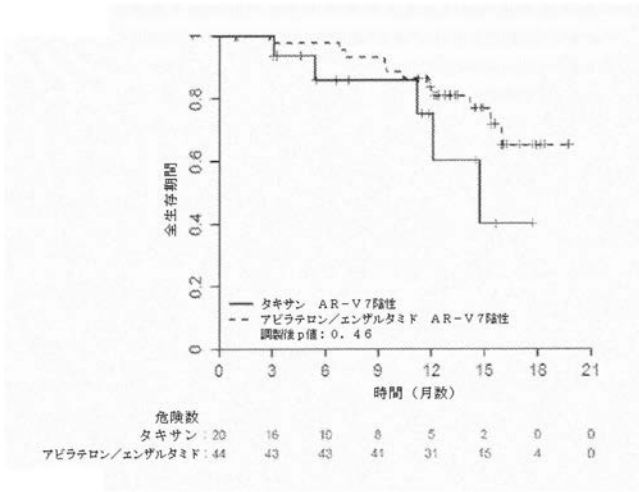
【図 19B】



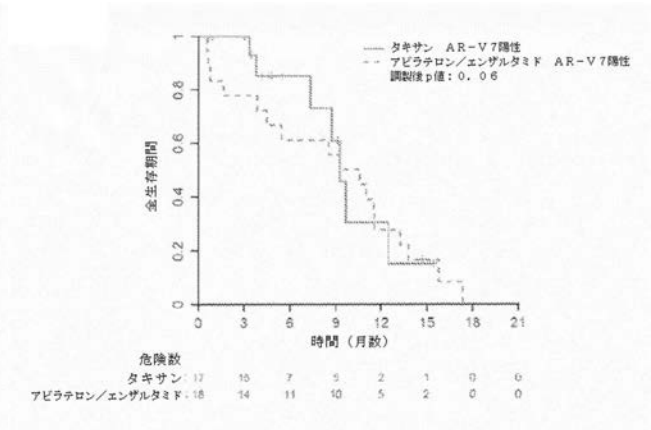
【図 20B】



【図20C】



【図20D】



【配列表】

2017534248000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US15/46806

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - C12Q 1/68 (2015.01) CPC - C12Q 2600/158, 1/6876, 2600/16, 1/6886 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC (8): C12Q 1/68 (2015.01) CP: C12Q 2600/158, 1/6876, 2600/16, 1/6886 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatSear (US, EP, WO, JP, DE, GB, CN, FR, KR, ES, AU, IN, CA, INPADOC Data); Dialog ProQuest; PubMed; Google; Google Scholar; 'androgen receptor variant,' prostate, tumour, tumor, modulate, determine, express, vitro, sample, 'AR-V7,' 'AR-FL,' 'polymerase chain reaction,' 'quantitative reverse-transcription,' 'polymerase chain reaction,' 'RTPCR,' 'PCR'		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	WO 2014/018926 A1 (ARAGON PHARMACEUTICALS, INC.), January 30, 2014; paragraphs [0018], [0019], [0084], [0157], [0166]	1 ----- 2-11, 13-28, 30, 34
Y	WO 2009/128936 (THE JOHN HOPKINS UNIVERSITY) October 22, 2009; abstract; page 3 lines 20-25; Table 3; Examples 1, 3; figure 4; page 6; page 8, lines 25-30; page 41, lines 1-15; page 75, lines 30-32; pages 25-27; page 27, line 15; page 67, lines 1-5; page 67, lines 10-15; page 65; pages 75-76; page 44, lines 30-35; page 45, lines 1-2; page 44, lines 30-35; page 45, lines 1-2; page 2, lines 10-15; pages 43-46; page 65; page 66, lines 1-5; page 73, lines 20-30; Claims 36, 37; figure 4	2-28, 29/4, 29/27, 30, 34
Y	YU et al. Rapid Induction of Androgen Receptor Splice Variants by Androgen Deprivation in Prostate Cancer. Clin Cancer Res. Vol. 20, No. 6, March 15, 2014; pages 1590-1600. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1863.	5, 12, 29/4, 29/27, 31-34
Y	WO 2012/006241 A2 (DICERNA PHARMACEUTICALS, INC.) January 12, 2002; abstract; SEQ ID NOs: 1815, 3487; Claims 11, 157	7
Y	WO 2002/017904 A1 (GOVERNMENT OF MALAYSIA et al). March 7, 2002; abstract; page 6	23
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E"	earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"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
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
04 January 2016 (04.01.2016)	12 JAN 2016	
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US15/46806

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
- 2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
- 3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

\*\*\*-Please See Supplemental Page-\*\*\*

- 1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- 4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

\*\*\*-Please See Supplemental Page-\*\*\*

- Remark on Protest
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
  - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
  - No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/US15/46806

-\*\*\*-Continued from Box No. III: Observations Where Unity of Invention is Lacking:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+: Claims 1-34 are directed toward a method comprising steps of: determining level of an androgen receptor variant in a sample from a prostate cancer patient, wherein the sample is enriched for circulating tumor cells.

The method will be searched to the extent that it encompasses a primer pair encompassing SEQ ID NOs: 1 (synthetic primer DNA sequence), 2 (synthetic primer DNA sequence) an dacivicin (antineoplastic agent). Applicant is invited to elect additional primer pair(s) with specified set(s) of SEQ ID NOs: for each pair and/or additional antineoplastic agent(s) to be searched. It is believed that Claims 1-6, 7 (in-part), 8-22, 23 (in-part) and 24-34 encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NOs: 1 (synthetic primer DNA sequence), 2 (synthetic primer DNA sequence) an dacivicin (antineoplastic agent). Additional primer pair set sequences and/or antineoplastic agent(s) will be searched upon the payment of additional fees. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An Exemplary Election would be: SEQ ID NOs: 3 (synthetic primer DNA sequence), 4 (synthetic primer DNA sequence), and aclarubicin (antineoplastic agent).

Groups I+ share the technical features including: a method comprising steps of: determining level of an androgen receptor variant in a sample from a prostate cancer patient, wherein the sample is enriched for circulating tumor cells.

However, these shared technical features are previously disclosed by WO 2014/018926 A1 (ARAGON PHARMACEUTICALS, INC.) (hereinafter 'Aragon').

Aragon discloses a method comprising steps of: determining level of an androgen receptor variant (determining expression of a level of a mutant androgen receptor; paragraphs [0018], [0019], [0084], [0166]) in a sample (paragraphs [00157]) from a prostate cancer patient (paragraph [0005]), wherein the sample is enriched for circulating tumor cells (wherein the sample comprises (is enriched for) circulating tumor cells; paragraph [00157]).

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Aragon reference, unity of invention is lacking.

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/42 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/704 (2006.01)	A 6 1 K 31/42	
A 6 1 K 31/4745 (2006.01)	A 6 1 K 31/704	
A 6 1 K 31/4741 (2006.01)	A 6 1 K 31/4745	
A 6 1 K 31/407 (2006.01)	A 6 1 K 31/4741	
A 6 1 K 38/20 (2006.01)	A 6 1 K 31/407	
A 6 1 K 31/53 (2006.01)	A 6 1 K 38/20	
A 6 1 K 31/136 (2006.01)	A 6 1 K 31/53	
A 6 1 K 31/4418 (2006.01)	A 6 1 K 31/136	
A 6 1 K 31/472 (2006.01)	A 6 1 K 31/4418	
A 6 1 K 31/4196 (2006.01)	A 6 1 K 31/472	
A 6 1 K 31/366 (2006.01)	A 6 1 K 31/4196	
A 6 1 K 31/396 (2006.01)	A 6 1 K 31/366	
A 6 1 K 31/381 (2006.01)	A 6 1 K 31/396	
A 6 1 K 31/473 (2006.01)	A 6 1 K 31/381	
A 6 1 K 31/47 (2006.01)	A 6 1 K 31/473	
A 6 1 K 31/505 (2006.01)	A 6 1 K 31/47	
A 6 1 K 31/569 (2006.01)	A 6 1 K 31/505	
A 6 1 K 31/4164 (2006.01)	A 6 1 K 31/569	
A 6 1 K 31/337 (2006.01)	A 6 1 K 31/4164	
A 6 1 K 31/365 (2006.01)	A 6 1 K 31/337	
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/365	
A 6 1 K 35/74 (2015.01)	A 6 1 K 31/519	
A 6 1 K 9/72 (2006.01)	A 6 1 K 35/74	C
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K 9/72	
A 6 1 K 9/10 (2006.01)	A 6 1 K 9/08	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	A 6 1 K 9/10	
	C 1 2 N 15/00	A

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, T J, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, R O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, 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, H N, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG , NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74)代理人 100093300  
弁理士 浅井 賢治

(74)代理人 100119013  
弁理士 山崎 一夫

(74)代理人 100123777  
弁理士 市川 さつき

(74)代理人 100111796  
弁理士 服部 博信

(72)発明者 ルオ ジュン  
アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 2 8 7 クラークスヴィル シニック ヒルズ コート

1 1 8 0 7

(72)発明者 アントナラキス エマニュエル エス  
 アメリカ合衆国 メリーランド州 2 0 9 1 0 シルヴァー スプリングス クラーク プレイス  
 2 1 2 5

(72)発明者 ル チャンシュエ  
 アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 0 4 3 エリコット シティ クエーカー ブラザーズ  
 ドライヴ 8 6 2 6

(72)発明者 アイザックス ウィリアム  
 アメリカ合衆国 メリーランド州 2 1 1 3 6 ライスターズタウン パトラー ロード 2 6 1  
 8

F ターム(参考) 4B063 QA07 QA19 QQ02 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR35 QS34 QX02  
 4C076 AA11 AA16 AA24 BB01 BB11 BB13 BB15 BB16 BB25 BB30  
 BB31 CC27 FF11  
 4C084 AA02 BA44 DA14 MA13 MA17 MA21 MA52 MA55 MA59 MA66  
 NA14 ZA81 ZB26  
 4C086 AA01 AA02 BA02 BA17 BB02 BC22 BC27 BC29 BC34 BC38  
 BC42 BC60 BC64 BC67 CB03 CB05 CB09 CB22 DA09 EA10  
 GA02 MA01 MA04 MA13 MA17 MA21 MA52 MA55 MA59 MA66  
 NA14 ZA81 ZB26  
 4C087 AA01 AA02 BC55 MA13 MA17 MA21 MA52 MA55 MA59 MA66  
 NA14 ZA81 ZB26  
 4C206 AA01 AA02 FA31 MA01 MA04 MA33 MA37 MA41 MA72 MA75  
 MA79 MA86 NA14 ZA81 ZB26

专利名称(译)	与前列腺癌治疗有关的方法和组合物		
公开(公告)号	<a href="#">JP2017534248A</a>	公开(公告)日	2017-11-24
申请号	JP2017511236	申请日	2015-08-25
[标]申请(专利权)人(译)	约翰霍普金斯大学		
申请(专利权)人(译)	约翰·霍普金斯盐湖城大学		
[标]发明人	ルオジュン アントナラキスエマニュエルエス ルチャンシュエ アイザックスウィリアム		
发明人	ルオ ジュン アントナラキス エマニュエル エス ル チャンシュエ アイザックス ウィリアム		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/574 A61P13/08 A61P35/00 A61K31/42 A61K31/704 A61K31/4745 A61K31/4741 A61K31/407 A61K38/20 A61K31/53 A61K31/136 A61K31/4418 A61K31/472 A61K31 /4196 A61K31/366 A61K31/396 A61K31/381 A61K31/473 A61K31/47 A61K31/505 A61K31/569 A61K31/4164 A61K31/337 A61K31/365 A61K31/519 A61K35/74 A61K9/72 A61K9/08 A61K9/10 C12N15/09		
CPC分类号	A61P13/08 A61P35/00 C12Q1/686 C12Q2521/107 C12Q2539/103 C12Q2545/114 A61K31/00 A61K39 /00 A61K39/0011 A61K39/001102 A61K45/06 A61K2039/6056 A61K2300/00 C12Q1/6853		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A G01N33/53.D G01N33/574 G01N33/53.M A61P13/08 A61P35/00 A61K31/42 A61K31 /704 A61K31/4745 A61K31/4741 A61K31/407 A61K38/20 A61K31/53 A61K31/136 A61K31/4418 A61K31/472 A61K31/4196 A61K31/366 A61K31/396 A61K31/381 A61K31/473 A61K31/47 A61K31 /505 A61K31/569 A61K31/4164 A61K31/337 A61K31/365 A61K31/519 A61K35/74.C A61K9/72 A61K9 /08 A61K9/10 C12N15/00.A		
F-TERM分类号	4B063/QA07 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063 /QR35 4B063/QS34 4B063/QX02 4C076/AA11 4C076/AA16 4C076/AA24 4C076/BB01 4C076/BB11 4C076/BB13 4C076/BB15 4C076/BB16 4C076/BB25 4C076/BB30 4C076/BB31 4C076/CC27 4C076 /FF11 4C084/AA02 4C084/BA44 4C084/DA14 4C084/MA13 4C084/MA17 4C084/MA21 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/MA59 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA81 4C084/ZB26 4C086/AA01 4C086 /AA02 4C086/BA02 4C086/BA17 4C086/BB02 4C086/BC22 4C086/BC27 4C086/BC29 4C086/BC34 4C086/BC38 4C086/BC42 4C086/BC60 4C086/BC64 4C086/BC67 4C086/CB03 4C086/CB05 4C086 /CB09 4C086/CB22 4C086/DA09 4C086/EA10 4C086/GA02 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/MA13 4C086/MA17 4C086/MA21 4C086/MA52 4C086/MA55 4C086/MA59 4C086/MA66 4C086/NA14 4C086 /ZA81 4C086/ZB26 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BC55 4C087/MA13 4C087/MA17 4C087/MA21 4C087/MA52 4C087/MA55 4C087/MA59 4C087/MA66 4C087/NA14 4C087/ZA81 4C087/ZB26 4C206 /AA01 4C206/AA02 4C206/FA31 4C206/MA01 4C206/MA04 4C206/MA33 4C206/MA37 4C206/MA41 4C206/MA72 4C206/MA75 4C206/MA79 4C206/MA86 4C206/NA14 4C206/ZA81 4C206/ZB26		
代理人(译)	田中真一郎 ▲▼吉尔场和彦 山崎 一夫 服部博信		
优先权	62/041368 2014-08-25 US 62/149408 2015-04-17 US 62/120877 2015-02-26 US		

摘要(译)

本文公开了用于检测与前列腺癌有关的生物分子和生物标志物的组合物和方法。本文公开了用于检测与去势抵抗性前列腺癌相关的生物分子和生物标志物的组合物和方法，其中这些生物分子和生物标志物是前列腺癌。它包括雄激素受体剪接变体，可用于为患者开发有效的治疗方案。本文的公开内容是使用与雄激素受体剪接变体相关的生物分子和生物标志物来评估对诸如恩杂鲁胺和阿比特龙等药物的治疗抗性的方法。 [选型图]图1A

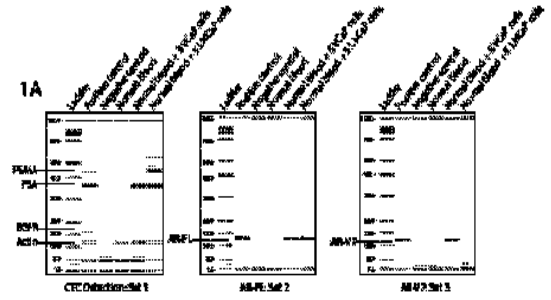


FIG. 1A