

(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2019-523641  
(P2019-523641A)

(43) 公表日 令和1年8月29日(2019.8.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/6851 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6851 Z N A Z	2 G O 4 5
G O 1 N 33/50 (2006.01)	G O 1 N 33/50 P	4 B O 6 3
G O 1 N 33/574 (2006.01)	G O 1 N 33/574 A	4 C O 8 4
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 Y	4 C O 8 5
C 1 2 Q 1/6841 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6841 Z	4 C O 8 6

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 82 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-561228 (P2018-561228)  
 (86) (22) 出願日 平成29年5月25日 (2017.5.25)  
 (85) 翻訳文提出日 平成31年1月16日 (2019.1.16)  
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2017/053094  
 (87) 国際公開番号 W02017/203468  
 (87) 国際公開日 平成29年11月30日 (2017.11.30)  
 (31) 優先権主張番号 62/341, 333  
 (32) 優先日 平成28年5月25日 (2016.5.25)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 62/344, 836  
 (32) 優先日 平成28年6月2日 (2016.6.2)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 515097535  
 インバイオモーション エセ. エレ.  
 スペイン国 08028 バルセロナ,  
 アベニーダ ディアゴナル 601.8  
 (74) 代理人 100078282  
 弁理士 山本 秀策  
 (74) 代理人 100113413  
 弁理士 森下 夏樹  
 (74) 代理人 100181674  
 弁理士 飯田 貴敏  
 (74) 代理人 100181641  
 弁理士 石川 大輔  
 (74) 代理人 230113332  
 弁護士 山本 健策

最終頁に続く

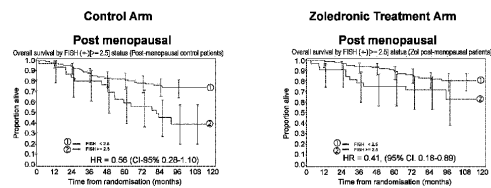
(54) 【発明の名称】 c - M A F の状態に基づく乳がんの治療的処置

(57) 【要約】

本発明は、乳がんを有する被験体の c - M A F 発現レベルおよび閉経状態に基づく該被験体のためのカスタマイズ治療の設計に関する。いくつかの実施形態において、カスタマイズ治療は、骨分解を回避または予防するための薬剤を含む。いくつかの実施形態において、骨分解を回避または予防するための薬剤は、ゾレドロン酸である。一局面において、乳がんを有する被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインビトロ方法が提供され、この方法は、i) 被験体のサンプル中の c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、および ii) i) で得られた発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較することを含む。

Figure 31

Impact of Zoledronic Ac. treatment on OS according to MAF FISH in post menopausal patients



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

乳がんを有する被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインビトロ方法であって、

i) 前記被験体のサンプル中の c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、および

ii) i) で得られた前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較すること

を含み、

前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが前記基準値に対して増加していない場合、前記被験体が、骨リモデリングを予防および/または処置し、無病生存または全生存を改善することを目的とする治療を受けることを許容される、インビトロ方法。

10

## 【請求項 2】

前記被験体が非閉経後である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記被験体が閉経後である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 4】

乳がんを有する非閉経後被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインビトロ方法であって、

i) 前記被験体のサンプル中の c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、および

ii) i) で得られた前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較すること

を含み、

前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが前記基準値に対して増加している場合、前記被験体が、骨リモデリングを予防および/または処置し、無病生存または全生存を改善することを目的とする治療を受けることは許容されない、インビトロ方法。

20

## 【請求項 5】

乳がんを有する閉経後被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインビトロ方法であって、

i) 前記被験体のサンプル中の c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、および

ii) i) で得られた前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較すること

を含み、

前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが前記基準値に対して増加している場合、前記被験体が、骨リモデリングを予防および/または処置し、無病生存または全生存を改善することを目的とする治療を受けることを許容される、インビトロ方法。

30

## 【請求項 6】

骨リモデリングを予防および/または処置し、無病生存または全生存を改善することを目的とする治療を前記被験体に施す、請求項 1 ~ 3 または 5 のいずれか一項に記載の方法。

40

## 【請求項 7】

骨リモデリングを予防および/または処置し、無病生存または全生存を改善することを目的とする治療を前記被験体に施さない、請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 8】

骨リモデリング(限定されないが、分解を含む)を予防および/もしくは処置し、または無病生存もしくは全生存を改善することを目的とする前記治療が、骨リモデリングを予防もしくは阻害し、または無病生存もしくは全生存を改善することを意図とする薬剤であって、ビスホスホネート、RANKL 阻害剤、PTH、PTHrP 阻害剤(

50

中和抗体およびペプチドを含む)、PRG類似体、ラネル酸ストロンチウム、DKK-1インヒビター、二重METおよびVEGFR2インヒビター、エストロゲン受容体モジュレーター、カルシトニン、ラジウム-223、CCR5アンタゴニスト、Srcキナーゼインヒビター、COX-2インヒビター、mTORインヒビターおよびカテプシンKインヒビターからなる群より選択される薬剤である、請求項1~7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

前記RANKLインヒビターが、RANKL特異的抗体、RANKL特異的ナノボディおよびオステオプロテゲリンからなる群より選択される、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

前記RANKL特異的抗体がデノスマブである、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記ビスホスホネートがゾレドロン酸である、請求項8に記載の方法。

【請求項12】

前記RANKL特異的ナノボディがALX-0141である、請求項9に記載の方法。

【請求項13】

前記二重METおよびVEGFR2インヒビターがCabozantinibである、請求項8に記載の方法。

【請求項14】

前記c-MAF遺伝子発現レベルの定量が、前記遺伝子のメッセンジャーRNA(mRNA)もしくは前記mRNAのフラグメント、前記遺伝子の相補的DNA(cDNA)もしくは前記cDNAのフラグメントを定量すること、または前記遺伝子によってコードされるタンパク質のレベルを定量することを含む、請求項1~13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項15】

定量的ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)またはDNAもしくはRNAアレイ、FISHまたはヌクレオチドハイブリダイゼーション技術によって、前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量する、請求項1~14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項16】

ウエスタンブロット、ELISA、免疫組織化学またはタンパク質アレイによって、前記タンパク質のレベルを定量する、請求項1~14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項17】

配列番号21の重鎖CDR1および/もしくは配列番号22の重鎖CDR2および/もしくは配列番号23の重鎖CDR3を含み;ならびに/または配列番号18の軽鎖CDR1および/もしくは配列番号19の軽鎖CDR2および/もしくは配列番号20の軽鎖CDR3を含む抗体を使用して、前記タンパク質のレベルを定量する、請求項1~14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項18】

c-MAF遺伝子特異的プローブを使用することによって、前記c-MAF遺伝子の前記増幅またはゲインを決定する、請求項1~14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

前記c-MAF遺伝子特異的プローブがVysis LSI/IGH MAF二色二重融合プローブである、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

前記基準値が、転移を患っていない被験体由来の乳がんの腫瘍組織サンプルのものである、請求項1~19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項21】

インサイチュウハイブリダイゼーションまたはPCRによって、前記増幅またはゲインを決定する、請求項1~15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項22】

10

20

30

40

50

乳がんを有する被験体であって、転移性腫瘍サンプル中の c - M A F 発現レベルが対照サンプルに対して増加しているまたは増加していない被験体における骨転移を処置するための方法であって、骨リモデリングを予防もしくは阻害することができ、または無病生存もしくは全生存を改善することができる薬剤を投与することを含み、骨分解を回避もしくは予防することができ、または無病生存もしくは全生存を改善することができる前記薬剤が、ビスホスホネート、RANKL 阻害剤、PTH、PTHrP 阻害剤（中和抗体およびペプチドを含む）、PRG 類似体、ラネル酸ストロンチウム、DKK-1 阻害剤、二重 MET および VEGFR2 阻害剤、エストロゲン受容体モジュレーター、EGFR 阻害剤、カルシトニン、ラジウム-223、CCR5 アンタゴニスト、Src キナーゼ阻害剤、COX-2 阻害剤、mTOR 阻害剤およびカテプシン K 阻害剤からなる群より選択される、方法。

10

【請求項 23】

前記被験体が非閉経後である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記被験体が閉経後である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 25】

乳がんを有する閉経後被験体であって、転移性腫瘍サンプル中の c - M A F 発現レベルが対照サンプルに対して増加している被験体における骨転移を処置するための方法であって、骨リモデリングを予防もしくは阻害することができ、または無病生存もしくは全生存を改善することができる薬剤を投与することを含み、骨リモデリングを回避もしくは予防することができ、または無病生存もしくは全生存を改善することができる前記薬剤が、ビスホスホネート、RANKL 阻害剤、PTH、PTHrP 阻害剤（中和抗体およびペプチドを含む）、PRG 類似体、ラネル酸ストロンチウム、DKK-1 阻害剤、二重 MET および VEGFR2 阻害剤、エストロゲン受容体モジュレーター、EGFR 阻害剤、カルシトニン、ラジウム-223、CCR5 アンタゴニスト、Src キナーゼ阻害剤、COX-2 阻害剤、mTOR 阻害剤およびカテプシン K 阻害剤からなる群より選択される、方法。

20

【請求項 26】

前記 RANKL 阻害剤が、RANKL 特異的抗体、RANKL 特異的ナノボディおよびオステオプロテゲリンからなる群より選択される、請求項 22 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 27】

前記 RANKL 特異的抗体がデノスマブである、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記ビスホスホネートがゾレドロン酸である、請求項 22 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

前記 RANKL 特異的ナノボディが ALX-9141 である、請求項 26 に記載の使用。

【請求項 30】

前記二重 MET および VEGFR2 阻害剤が Cabozantinib である、請求項 22 ~ 25 のいずれか一項に記載の使用。

40

【請求項 31】

乳がんを患っている被験体をコホートに分類する方法であって、a) 前記被験体の乳房腫瘍サンプル中の c - M A F の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを決定すること；b) 前記サンプル中の c - M A F の前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを c - M A F 発現の所定の基準レベルと比較すること；および c) 前記サンプル中の c - M A F の前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲインと、閉経後または非閉経後としての前記被験体の状態とに基づいて、前記被験体をコホートに分類することを含む、方法。

【請求項 32】

50

c - M A F 発現レベルおよび / または閉経後もしくは非閉経後状態に基づいて、異なる処置を前記被験体に施す、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記 c - M A F 発現レベルの定量が、前記遺伝子のメッセンジャー R N A ( m R N A ) もしくは前記 m R N A のフラグメント、前記遺伝子の相補的 D N A ( c D N A ) もしくは前記 c D N A のフラグメントを定量すること、または前記遺伝子によってコードされるタンパク質のレベルを定量することを含む、請求項 2 2 ~ 3 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 4】

配列番号 2 1 の重鎖 C D R 1 および / もしくは配列番号 2 2 の重鎖 C D R 2 および / もしくは配列番号 2 3 の重鎖 C D R 3 を含み ; ならびに / または配列番号 1 8 の軽鎖 C D R 1 および / もしくは配列番号 1 9 の軽鎖 C D R 2 および / もしくは配列番号 2 0 の軽鎖 C D R 3 を含む抗体を使用して、前記タンパク質のレベルを定量する、請求項 2 2 ~ 3 3 に記載の方法。

10

【請求項 3 5】

インサイチュウハイブリダイゼーションまたは P C R によって、前記増幅を決定する、請求項 1 ~ 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記インサイチュウハイブリダイゼーションが、蛍光インサイチュウハイブリダイゼーション ( F I S H )、発色インサイチュウハイブリダイゼーション ( C I S H ) または銀インサイチュウハイブリダイゼーション ( S I S H ) である、請求項 3 5 に記載の方法。

20

【請求項 3 7】

前記インサイチュウハイブリダイゼーションが蛍光インサイチュウハイブリダイゼーション ( F I S H ) である、請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 3 8】

F I S H を使用して測定した場合の c - M A F の前記コピー数が、 2 . 1、2 . 2、2 . 3、2 . 4、2 . 5、2 . 6、2 . 7、2 . 8、2 . 9 または 3 . 0 である、請求項 1 ~ 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

F I S H を使用して測定した場合の c - M A F の前記コピー数が 2 . 2 である、請求項 1 ~ 3 8 に記載の方法。

30

【請求項 4 0】

F I S H を使用して測定した場合の c - M A F の前記コピー数が 2 . 3 である、請求項 1 ~ 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

F I S H を使用して測定した場合の c - M A F の前記コピー数が 2 . 4 である、請求項 1 ~ 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 2】

F I S H を使用して測定した場合の c - M A F の前記コピー数が 2 . 5 である、請求項 1 ~ 4 1 に記載の方法。

40

【請求項 4 3】

F I S H を使用して測定した場合の c - M A F の前記コピー数が、 < 2 . 1、2 . 2、2 . 3、2 . 4、2 . 5、2 . 6、2 . 7、2 . 8、2 . 9 または 3 . 0 である、請求項 1 ~ 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 4】

細胞当たりの平均コピー数として前記コピー数を決定する、請求項 1 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 5】

乳がんを有する患者の I D F S を予測するためのインビトロ方法であって、  
i ) 前記被験体のサンプル中の c - M A F 遺伝子の発現レベル、コピー数、増幅またはゲ

50

インを定量すること、および

i i) 工程 i) で得られた前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲイン 1 を基準値と比較すること

を含み、

前記基準値に対する前記遺伝子の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加が、不良な I D F S を示す、インピトロ方法。

【請求項 4 6】

乳がんを有する患者の I D F S を予測するためのインピトロ方法であって、基準と比べた、前記被験体のサンプル中の c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを決定することを含み、前記基準に対する前記 c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加が、不良な I D F S を示す、インピトロ方法。

10

【請求項 4 7】

乳がんを有する患者の骨再発を除く I D F S を予測するためのインピトロ方法であって、基準と比べた、前記被験体のサンプル中の c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを決定することを含み、前記基準に対する前記 c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加が、骨再発を除く不良な I D F S を示す、インピトロ方法。

【請求項 4 8】

前記 c - M A F 発現レベルの定量が、前記遺伝子のメッセンジャー R N A ( m R N A ) もしくは前記 m R N A のフラグメント、前記遺伝子の相補的 D N A ( c D N A ) もしくは前記 c D N A のフラグメントを定量すること、または前記遺伝子によってコードされるタンパク質のレベルを定量することを含む、請求項 4 5 ~ 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 4 9】

配列番号 2 1 の重鎖 C D R 1 および / もしくは配列番号 2 2 の重鎖 C D R 2 および / もしくは配列番号 2 3 の重鎖 C D R 3 を含み ; ならびに / または配列番号 1 8 の軽鎖 C D R 1 および / もしくは配列番号 1 9 の軽鎖 C D R 2 および / もしくは配列番号 2 0 の軽鎖 C D R 3 を含む抗体を使用して、前記タンパク質のレベルを定量する、請求項 4 5 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 0】

インサイチュールハイブリダイゼーションまたは P C R によって、前記増幅を決定する、請求項 4 5 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 5 1】

前記インサイチュールハイブリダイゼーションが、蛍光インサイチュールハイブリダイゼーション ( F I S H ) 、発色インサイチュールハイブリダイゼーション ( C I S H ) または銀インサイチュールハイブリダイゼーション ( S I S H ) である、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記インサイチュールハイブリダイゼーションが蛍光インサイチュールハイブリダイゼーション ( F I S H ) である、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

F I S H を使用して測定した場合の c - M A F の前記コピー数が、 2 . 1 、 2 . 2 、 2 . 3 、 2 . 4 、 2 . 5 、 2 . 6 、 2 . 7 、 2 . 8 、 2 . 9 または 3 . 0 である、請求項 4 5 ~ 5 2 に記載の方法。

40

【請求項 5 4】

F I S H を使用して測定した場合の c - M A F の前記コピー数が 2 . 2 である、請求項 4 5 ~ 5 3 に記載の方法。

【請求項 5 5】

F I S H を使用して測定した場合の c - M A F の前記コピー数が 2 . 3 である、請求項 4 5 ~ 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 6】

50

F I S Hを使用して測定した場合の c - M A F の前記コピー数が 2 . 4 である、請求項 4 5 ~ 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 7】

F I S Hを使用して測定した場合の c - M A F の前記コピー数が 2 . 5 である、請求項 4 5 ~ 5 6 に記載の方法。

【請求項 5 8】

細胞当たりの平均コピー数として前記コピー数を決定する、請求項 4 5 ~ 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記乳がんが E R + 乳がんである、請求項 1 ~ 5 8 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 6 0】

前記乳がんが E R - 乳がんである、請求項 1 ~ 5 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記乳がんがトリプルネガティブ乳がんである、請求項 1 ~ 5 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記乳がんが基底様サブタイプのものである、請求項 1 ~ 5 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 3】

前記乳がんが H E R 2 + 乳がんである、請求項 1 ~ 5 8 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 6 4】

骨リモデリングを予防または阻害することができる前記薬剤が、骨分解を予防または阻害することができる薬剤である、請求項 1 ~ 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 5】

遺伝子座 1 6 q 2 3 または 1 6 q 2 2 - q 2 4 の発現レベル ( r e s s i o n l e v e l )、コピー数、増幅またはゲインを決定することによって、前記 c - M A F 遺伝子の前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを決定する、請求項 1 ~ 6 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 6】

無病生存または全生存を改善する前記治療が、m T O R インヒビターまたは C D K 4 / 6 インヒビターである、請求項 1 ~ 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 6 7】

無病生存または全生存を改善する前記治療が、標準治療を超えて延長されたホルモン療法である、請求項 1 ~ 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 8】

乳がんを有する被験体であって、転移性腫瘍サンプル中の c - M A F 発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが対照サンプルに対して増加している被験体を処置するための方法であって、m T O R インヒビターまたは C D K 4 / 6 インヒビターを投与することを含む、方法。

【請求項 6 9】

乳がんを有する被験体であって、転移性腫瘍サンプル中の c - M A F 発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが対照サンプルに対して増加している被験体を処置するための方法であって、標準治療を超えて延長されたホルモン療法を施すことを含む、方法。

40

【請求項 7 0】

乳がんを有する被験体であって、転移性腫瘍サンプル中の c - M A F 発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが対照サンプルに対して増加していない被験体を処置するための方法であって、m T O R インヒビターまたは C D K 4 / 6 インヒビターを投与しないことを含む、方法。

【請求項 7 1】

乳がんを有する被験体であって、転移性腫瘍サンプル中の c - M A F 発現レベル、コピ

50

一数、増幅またはゲインが対照サンプルに対して増加していない被験体を処置するための方法であって、標準治療を超えて延長されたホルモン療法を施さないことを含む、方法。

【請求項 7 2】

患者の無病生存状態を予測するための方法であって、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを測定すること、および前記 c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを使用して前記患者の全生存を予測することを含む、方法。

【請求項 7 3】

基準に対する前記 c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加が、c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが基準に対して増加していない患者よりも短い無病生存を予測する、請求項 7 2 に記載の方法。

10

【請求項 7 4】

患者の全生存状態を予測するための方法であって、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを測定すること、および前記 c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを使用して前記患者の全生存を予測することを含む、方法。

【請求項 7 5】

基準に対する前記 c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加が、c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが基準に対して増加していない患者よりも短い全生存を予測する、請求項 7 4 に記載の方法。

20

【請求項 7 6】

前記被験体が非閉経後である、請求項 6 8 ~ 7 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 7】

前記被験体が閉経前である、請求項 6 8 ~ 7 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記被験体が閉経後である、請求項 6 8 ~ 7 3 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表の参照

30

本出願と共に提出された電子的に提出された配列表（「3190\_\_015PC02\_\_SeqListing.txt」、58,739 バイト、2017年5月18日作成）の内容は、その全体が参照により本明細書中に援用される。

【0002】

発明の背景

発明の分野

本発明は、乳がんを有する被験体のためのカスタマイズ治療の設計に関し、前記カスタマイズ治療は、前記被験体の c - M A F 発現レベル、コピー数、増幅、ゲインまたは転座および閉経状態に基づいて選択される。いくつかの実施形態において、カスタマイズ治療は、骨リモデリングを回避または予防するための薬剤を含む。いくつかの実施形態において、骨リモデリングを回避または予防するための薬剤は、ゾレドロン酸である。

40

【背景技術】

【0003】

乳がんは、世界中で 2 番目に多いタイプのがん（10.4%；肺がんに次ぐ）および 5 番目に多いがんによる死亡原因（肺がん、胃がん、肝臓がんおよび結腸がんに次ぐ）である。女性の中では、乳がんは、最も多いがんによる死亡原因である。2005年に、乳がんは、世界中で 502,000 件の死亡を引き起こした（がんによる死亡の 7%；全死亡のほぼ 1%）。世界中の症例数は、1970年代から有意に増加しているが、この現象は、西側世界における現代的な生活様式に部分的に起因する。

【0004】

50

乳がんは、TNMシステムにしたがってステージに分類される(American Joint Committee on Cancer, AJCC Cancer Staging Manual, 6th ed, New York, NY: Springer, 2002(これは、その全体が参照により本明細書中に援用される)を参照のこと)。予後は、ステージ分類の結果に密接に関連し、ステージ分類はまた、臨床試験および医療上の実施の両方において患者を処置に割り当てるために使用される。ステージに分類するための情報は、以下のとおりである：

【0005】

TX：原発性腫瘍を評価することができない。T0：腫瘍の証拠がない。Tis：無浸潤の上皮内がん腫。T1：腫瘍は、2cmまたはそれ未満である。T2：腫瘍は、2cmを超えるが5cm未満である。T3：腫瘍は、5cmを超える。T4：胸壁もしくは皮膚において成長している任意のサイズの腫瘍、または炎症性乳がん。

10

【0006】

NX：隣接リンパ節を評価することができない。N0：がんは、所属リンパ節に拡散していない。N1：がんは、1～3個の腋窩リンパ節または1個の内胸リンパ節に拡散している。N2：がんは、4～9個の腋窩リンパ節または複数の内胸リンパ節に拡散している。N3：以下の1つに該当する：

【0007】

がんは、10個もしくはそれを超える腋窩リンパ節に拡散しているか、またはがんは、鎖骨下リンパ節に拡散しているか、またはがんは、鎖骨上リンパ節に拡散しているか、またはがんは、腋窩リンパ節を冒しており、内胸リンパ節に拡散しているか、またはがんは、4個もしくはそれを超える腋窩リンパ節を冒しており、最小量のがんが、内胸リンパ節もしくはセンチネルリンパ節生検中にある。

20

【0008】

MX：遠隔拡散(転移)の存在を評価することができない。M0：遠隔拡散がない。M1：鎖骨上リンパ節を含まない遠隔器官への拡散が生じている。

【0009】

固形腫瘍がんを有する患者のほとんどが転移後に死亡するという事実は、腫瘍の転移を可能にする分子機構および細胞機構を理解することが重要であることを意味する。最近の刊行物では、まだほとんど不明の複雑な機構によって転移が引き起こされる仕組み、および異なる転移細胞型が特定の器官に対する指向性を有する仕組みが実証されている。これらの組織特異的転移細胞は、それらが特定の器官に定着することを可能にする一連の後天性機能を有する。

30

【0010】

細胞はすべて、それらの表面上に、それらの細胞質中におよび細胞核中に受容体を有する。特定の化学メッセンジャー、例えばホルモンが前記受容体に結合し、これが細胞の変化を引き起こす。乳がん細胞に影響を及ぼし得る3つの重要な受容体がある：エストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PR)およびHER2/neu。これらの受容体のいずれかを有する細胞を命名するために、受容体が存在する場合にはプラス記号をそれに付し、存在しない場合にはマイナス記号をそれに付す：ER陽性(ER+)、ER陰性(ER-)、PR陽性(PR+)、PR陰性(PR-)、HER2陽性(HER2+)およびHER2陰性(HER2-)。受容体状態は、特定の処置、例えばタモキシフェンまたはトラスツズマブを使用することの適切性を決定するので、すべての乳がんに関する重要な評価になっている。

40

【0011】

無監督の遺伝子発現アレイプロファイリングにより、内因性サブタイプ、例えばルミナルA、ルミナルB、HER2+/ER-および基底様(basal-like)サブタイプの同定によって、乳がんの不均一性に関する生物学的証拠を提供されている。

【0012】

トリプルネガティブがんは、エストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(P

50

R) およびHER2に関する遺伝子を発現しない腫瘍と定義される。このサブグループは、乳がんの全タイプの15%を占めており、閉経前のアフリカ人女性およびアフリカ系アメリカ人女性において生じる乳がんのより高い割合を占めている。トリプルネガティブ乳がんは、エストロゲン受容体陽性乳がんとは非常に異なる再燃パターンを有する：再燃のリスクは、最初の3～5年間ではかなり高いが、その後、急激に低下し、エストロゲン受容体陽性乳がんのものよりも実質的に低い。

#### 【0013】

基底様サブタイプは、ERおよびHER2クラスターの両方の遺伝子の低発現を特徴とするので、典型的には、臨床試験ではER陰性、PR陰性およびHER2陰性である；この理由により、それは、「トリプルネガティブ」乳がんと呼ばれることが多い(Breast Cancer Research 2007, 9 (Suppl 1): S13)。基底様がんは、高分子量サイトケラチン(5/6、14および17)、P-カドヘリン、カベオリン1および2、ネスチン、Bクリスタリンならびに上皮成長因子受容体を含む正常乳房の「基底」/筋上皮細胞に通常見られる遺伝子を発現する(Reis-Fiho Jら、<http://www.uscap.org/site~/98th/pdf/companion03h03.pdf>)。

10

#### 【0014】

基底様乳がんについては国際的に認められた定義がないことを考慮すると、トリプルネガティブ乳がんおよび基底様乳がんが同義であるかに関して、大きな混乱があることは驚くべきことではない。いくつかのグループは、これらの用語を互換的に使用しているが、すべての基底様がんがER、PRおよびHER2を欠くとは限らず、すべてのトリプルネガティブがんが基底様表現型を示すとは限らないことに留意すべきである。トリプルネガティブがんの大部分は、基底様表現型である。同様に、「基底」マーカーを発現する腫瘍の大部分は、トリプルネガティブである。しかしながら、基底マーカーを発現しない有意な数のトリプルネガティブがん、ホルモン受容体またはHER2のいずれかを発現する基底様がんの小さいが依然として有意なサブグループとがあることに留意すべきである。Bertucciら、(Int J Cancer, 2008 Jul 1; 123(1): 236-40)はこの問題に直接取り組み、遺伝子発現プロファイリングによって分析した場合、すべてのトリプルネガティブ腫瘍が基底様がんとして分類されるとは限らず(すなわち、71%のみが基底様表現型であった)、発現アレイによって分類したすべての基底様乳がん腫がトリプルネガティブ表現型を示すとは限らない(すなわち、77%)ことを確認した。

20

30

#### 【0015】

乳がんの処置に関する重要事項は、腫瘍が限局性である場合、可能なアジュバントホルモン療法(タモキシフェンまたはアロマターゼインヒビターによる)、化学療法および/または放射線療法を用いた手術である。現在、術後処置の提案(アジュバント療法)は、パターンに従う。世界的な多施設研究の実際の結果を議論するために、2年ごとにSt. Gallen, Switzerlandにおいて世界会議が開催されるので、このパターンは変更される。同様に、前記パターンはまた、国立衛生研究所(NIH)のコンセンサス基準にしたがって再検討される。これらの基準に基づくと、リンパ節において転移を有しない患者の85～90%超は、アジュバント全身療法を受ける候補であろう。

40

#### 【0016】

現在、PCRアッセイ、例えばOncotype DXまたはマイクロアレイアッセイ、例えばMammaPrintは、特定の遺伝子の発現に基づいて、乳がん再燃のリスクを予測し得る。2007年2月に、MammaPrintアッセイは、食品医薬品局の公的認可を獲得した最初の乳がん指標になった。

#### 【0017】

欧州特許出願公開第1961825号には、骨、肺、肝臓または脳への乳がん転移の発生を予測するための方法であって、対照サンプル中の対応する発現レベルに対する、腫瘍組織サンプル中の1つまたはそれを超えるマーカー(c-MAFを含む)の発現レベルを

50

決定することを含む方法が記載されている。しかしながら、この文献では、乳がん患者の生存の決定を可能にするためにいくつかの遺伝子を同時に決定することが必要とされており、骨転移なしの生存可能性の予測に関する遺伝子シグネチャの能力間の相関関係は、統計学的に有意ではなかった。

【0018】

米国特許出願公開第2011/0150979号には、基底様乳がんの予後を予測するための方法であって、FOX C1のレベルを検出することを含む方法が記載されている。

【0019】

米国特許出願公開第2010/0210738号は、トリプルネガティブ乳がんを有する被験体におけるがんを予後予測するための方法であって、サンプル中のランダムにアップレギュレートまたはダウンレギュレートされている一連の遺伝子の発現レベルを検出することを含む方法に関する。

米国特許出願公開第2011/0130296号は、トリプルネガティブ乳がんの診断および予後において有用なマーカー遺伝子の同定に関する。

特定の処置から利益を受ける乳がん患者のサブセットと、逆に、特定の処置から利益を受けないかまたは特定の処置によって害される可能性のある乳がん患者のサブセットとを特定する必要がある。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0020】

【特許文献1】欧州特許出願公開第1961825号明細書

【特許文献2】米国特許出願公開第2011/0150979号明細書

【特許文献3】米国特許出願公開第2010/0210738号明細書

【特許文献4】米国特許出願公開第2011/0130296号明細書

【非特許文献】

【0021】

【非特許文献1】American Joint Committee on Cancer. AJCC Cancer Staging Manual. 6th ed. New York, NY: Springer, 2002

【非特許文献2】Breast Cancer Research 2007, 9 (Suppl 1): S13

【非特許文献3】Bertucciら、Int J Cancer. 2008 Jul 1; 123 (1): 236 - 40

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0022】

一実施形態において、本発明は、乳がんを有する被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインピトロ方法であって、i) 前記被験体のサンプル中のc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、およびii) i) で得られた該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較することを含み、該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが前記基準値に対して増加していない場合、前記被験体が、骨リモデリングを予防および/または処置し、無病生存または全生存を改善することを目的とする治療を受けることを許容される、インピトロ方法に関する。

【0023】

いくつかの実施形態において、被験体は、非閉経後である。他の実施形態において、被験体は、閉経後である。

【0024】

一実施形態において、本発明は、乳がんを有する非閉経後被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインピトロ方法であって、i) 前記被験体のサンプル中のc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、およびii) i) で

10

20

30

40

50

得られた該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較することを含み、該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが前記基準値に対して増加している場合、前記被験体が、骨リモデリングを予防および/または処置し、無病生存または全生存を改善することを目的とする治療を受けることは許容されない、インビトロ方法に関する。

【0025】

一実施形態において、本発明は、乳がんを有する閉経後被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインビトロ方法であって、

i) 前記被験体のサンプル中の c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、および

i i) i) で得られた該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較すること

を含み、

該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが前記基準値に対して増加している場合、前記被験体が、骨リモデリングを予防および/または処置し、無病生存または全生存を改善することを目的とする治療を受けることを許容される、インビトロ方法に関する。

【0026】

いくつかの実施形態において、骨リモデリングを予防および/または処置し、無病生存または全生存を改善することを目的とする治療を被験体に施す。他の実施形態において、骨リモデリングを予防および/または処置し、無病生存または全生存を改善することを目的とする治療を被験体に施さない。

【0027】

特定の実施形態において、骨リモデリングを予防および/もしくは処置し、または無病生存もしくは全生存を改善することを目的とする治療は、骨分解を予防もしくは阻害し、無病生存もしくは全生存を改善することを意図とする薬剤であって、ビスホスホネート、RANKL 阻害剤、PTH、PTHrP 阻害剤（中和抗体およびペプチドを含む）、PRG 類似体、ランゲルマニド、DKK-1 阻害剤、二重 MET および VEGFR2 阻害剤、エストロゲン受容体モジュレーター、カルシトニン、ラジウム-223、CCR5 アンタゴニスト、Src キナーゼ阻害剤、COX-2 阻害剤、mTOR 阻害剤およびカテプシン K 阻害剤からなる群より選択される薬剤である。いくつかの実施形態において、RANKL 阻害剤は、RANKL 特異的抗体、RANKL 特異的ナノボディおよびオステオプロテゲリンからなる群より選択される。特定の実施形態において、RANKL 特異的抗体は、デノスマブである。いくつかの実施形態において、ビスホスホネートは、ゾレドロン酸である。他の実施形態において、RANKL 特異的ナノボディは、ALX-0141 である。特定の実施形態において、二重 MET および VEGFR2 阻害剤は、Cabozantinib である。

【0028】

いくつかの実施形態において、c - M A F 遺伝子発現レベルの定量は、前記遺伝子のメッセンジャー RNA (mRNA) もしくは前記 mRNA のフラグメント、前記遺伝子の相補的 DNA (cDNA) もしくは前記 cDNA のフラグメントを定量すること、または前記遺伝子によってコードされるタンパク質のレベルを定量することを含む。特定の実施形態において、定量的ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) または DNA もしくは RNA アレイ、またはヌクレオチドハイブリダイゼーション技術によって、発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量する。実施形態において、ウエスタンブロット、ELISA、免疫組織化学またはタンパク質アレイによって、タンパク質のレベルを定量する。特定の実施形態において、配列番号 21 の重鎖 CDR1 および/もしくは配列番号 22 の重鎖 CDR2 および/もしくは配列番号 23 の重鎖 CDR3 を含み; ならびに/または配列番号 18 の軽鎖 CDR1 および/もしくは配列番号 19 の軽鎖 CDR2 および/もしくは配列番号 20 の軽鎖 CDR3 を含む抗体を使用して、タンパク質のレベルを定量する。いくつかの実施形態において、c - M A F 遺伝子特異的プローブを使用することによって、c - M A

10

20

30

40

50

F 遺伝子の増幅またはゲインを決定する。特定の実施形態において、c - M A F 遺伝子特異的プローブは、V y s i s L S I / I G H M A F 二色二重融合プローブである。他の実施形態において、インサイチューハイブリダイゼーションまたは P C R によって、増幅またはゲインを決定する。

【 0 0 2 9 】

特定の実施形態において、基準値は、転移を患っていない被験体由来の乳がんの腫瘍組織サンプルのものである。

【 0 0 3 0 】

一実施形態において、本発明は、乳がんを有する被験体であって、転移性腫瘍サンプル中の c - M A F 発現レベルが対照サンプルに対して増加していない被験体における骨転移を処置するための方法であって、骨リモデリングを予防もしくは阻害することができ、または無病生存もしくは全生存を改善することができる薬剤を投与することを含み、骨リモデリングを回避もしくは予防することができ、または無病生存もしくは全生存を改善することができる該薬剤が、ビスホスホネート、R A N K L インヒビター、P T H、P T H L H インヒビター（中和抗体およびペプチドを含む）、P R G 類似体、ラネル酸ストロンチウム、D K K - 1 インヒビター、二重 M E T および V E G F R 2 インヒビター、エストロゲン受容体モジュレーター、E G F R インヒビター、カルシトニン、ラジウム - 2 2 3、C C R 5 アンタゴニスト、S r c キナーゼインヒビター、C O X - 2 インヒビター、m T o r インヒビターおよびカテプシン K インヒビターからなる群より選択される方法に関する。

10

20

【 0 0 3 1 】

特定の実施形態において、被験体は、非閉経後である。他の実施形態において、被験体は、閉経後である。

【 0 0 3 2 】

一実施形態において、本発明は、乳がんを有する閉経後被験体であって、転移性腫瘍サンプル中の c - M A F 発現レベルが対照サンプルに対して増加している被験体における骨転移を処置するための方法であって、骨リモデリングを予防もしくは阻害することができ、または無病生存もしくは全生存を改善することができる薬剤を投与することを含み、骨リモデリングを回避または予防することができる該薬剤が、ビスホスホネート、R A N K L インヒビター、P T H、P T H L H インヒビター（中和抗体およびペプチドを含む）、P R G 類似体、ラネル酸ストロンチウム、D K K - 1 インヒビター、二重 M E T および V E G F R 2 インヒビター、エストロゲン受容体モジュレーター、E G F R インヒビター、カルシトニン、ラジウム - 2 2 3、C C R 5 アンタゴニスト、S r c キナーゼインヒビター、C O X - 2 インヒビター、m T o r インヒビターおよびカテプシン K インヒビターからなる群より選択される、方法に関する。

30

【 0 0 3 3 】

特定の実施形態において、R A N K L インヒビターは、R A N K L 特異的抗体、R A N K L 特異的ナノボディおよびオステオプロテゲリンからなる群より選択される。さらなる実施形態において、R A N K L 特異的抗体は、デノスマブである。他の実施形態において、ビスホスホネートは、ゾレドロン酸である。さらに他の実施形態において、R A N K L 特異的ナノボディは、A L X - 9 1 4 1 である。特定の実施形態において、二重 M E T および V E G F R 2 インヒビターは、C a b o z a n t i n i b である。

40

【 0 0 3 4 】

一実施形態において、本発明は、乳がんを患っている被験体をコホートに分類する方法であって、a) 前記被験体の乳房腫瘍サンプル中の c - M A F の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを決定すること；b) 前記サンプル中の c - M A F の該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを c - M A F 発現の所定の基準レベルと比較すること；および c) 該サンプル中の c - M A F の前記発現レベル、コピー数、増幅またはゲインと、閉経後または非閉経後としての該被験体の状態とに基づいて、前記被験体をコホートに分類することを含む方法に関する。

50

## 【0035】

特定の実施形態において、c-MAF発現レベルおよび/または閉経後もしくは非閉経後状態に基づいて、異なる処置を被験体に施す。

## 【0036】

いくつかの実施形態において、c-MAF発現レベルの定量は、前記遺伝子のメッセンジャーRNA(mRNA)もしくは前記mRNAのフラグメント、前記遺伝子の相補的DNA(cDNA)もしくは前記cDNAのフラグメントを定量すること、または前記遺伝子によってコードされるタンパク質のレベルを定量することを含む。特定の実施形態において、配列番号21の重鎖CDR1および/もしくは配列番号22の重鎖CDR2および/もしくは配列番号23の重鎖CDR3を含み;ならびに/または配列番号18の軽鎖CDR1および/もしくは配列番号19の軽鎖CDR2および/もしくは配列番号20の軽鎖CDR3を含む抗体を使用して、タンパク質のレベルを定量する。特定の実施形態において、インサイチューハイブリダイゼーションまたはPCRによって、増幅を決定する。さらなる実施形態において、インサイチューハイブリダイゼーションは、蛍光インサイチューハイブリダイゼーション(FISH)、発色インサイチューハイブリダイゼーション(CISH)または銀インサイチューハイブリダイゼーション(SISH)である。またさらなる実施形態において、インサイチューハイブリダイゼーションは、蛍光インサイチューハイブリダイゼーション(FISH)である。

10

## 【0037】

いくつかの実施形態において、FISHを使用して測定した場合のc-MAFのコピー数は、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9または3.0である。特定の実施形態において、FISHを使用して測定した場合のc-MAFのコピー数は、2.2である。さらなる実施形態において、FISHを使用して測定した場合のc-MAFのコピー数は、2.3である。またさらなる実施形態において、FISHを使用して測定した場合のc-MAFのコピー数は、2.4である。特定の実施形態において、FISHを使用して測定した場合のc-MAFのコピー数は、2.5である。他の実施形態において、FISHを使用して測定した場合のc-MAFのコピー数は、<2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9または3.0である。

20

## 【0038】

一実施形態において、本発明は、乳がんを有する患者のIDFSを予測するためのインビトロ方法であって、i)前記被験体のサンプル中のc-MAF遺伝子の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、およびii)工程i)で得られた該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインIを基準値と比較することを含み、前記基準値に対する前記遺伝子の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加が、不良なIDFSを示す、インビトロ方法に関する。

30

## 【0039】

一実施形態において、本発明は、乳がんを有する患者のIDFSを予測するためのインビトロ方法であって、基準と比べた、前記被験体のサンプル中のc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを決定することを含み、前記基準に対する該c-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加が、不良なIDFSを示す、インビトロ方法に関する。

40

## 【0040】

一実施形態において、本発明は、乳がんを有する患者のIDFS(骨再発を除く)を予測するためのインビトロ方法であって、基準と比べた、前記被験体のサンプル中のc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを決定することを含み、前記基準に対する該c-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加が、不良なIDFS(骨再発を除く)を示す、インビトロ方法に関する。

## 【0041】

いくつかの実施形態において、骨リモデリングを予防または阻害することができる薬剤

50

は、骨分解を予防または阻害することができる薬剤である

【0042】

いくつかの実施形態において、c-MAF発現レベルの定量は、前記遺伝子のメッセンジャーRNA(mRNA)もしくは前記mRNAのフラグメント、前記遺伝子の相補的DNA(cDNA)もしくは前記cDNAのフラグメントを定量すること、または前記遺伝子によってコードされるタンパク質のレベルを定量することを含む。特定の実施形態において、配列番号21の重鎖CDR1および/もしくは配列番号22の重鎖CDR2および/もしくは配列番号23の重鎖CDR3を含み;ならびに/または配列番号18の軽鎖CDR1および/もしくは配列番号19の軽鎖CDR2および/もしくは配列番号20の軽鎖CDR3を含む抗体を使用して、タンパク質のレベルを定量する。他の実施形態において、インサイチューハイブリダイゼーションまたはPCRによって、増幅を決定する。さらなる実施形態において、インサイチューハイブリダイゼーションは、蛍光インサイチューハイブリダイゼーション(FISH)、発色インサイチューハイブリダイゼーション(CISH)または銀インサイチューハイブリダイゼーション(SISH)である。またさらなる実施形態において、インサイチューハイブリダイゼーションは、蛍光インサイチューハイブリダイゼーション(FISH)である。

10

【0043】

いくつかの実施形態において、FISHを使用して測定した場合のc-MAFのコピー数は、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9または3.0である。特定の実施形態において、FISHを使用して測定した場合のc-MAFのコピー数は、2.2である。他の実施形態において、FISHを使用して測定した場合のc-MAFのコピー数は、2.3である。さらなる実施形態において、FISHを使用して測定した場合のc-MAFのコピー数は、2.4である。またさらなる実施形態において、FISHを使用して測定した場合のc-MAFのコピー数は、2.5である。いくつかの実施形態において、細胞当たりの平均コピー数としてコピー数を決定する。

20

【0044】

いくつかの実施形態において、乳がんは、ER+乳がんである。特定の実施形態において、乳がんは、ER-乳がんである。他の実施形態において、乳がんは、トリプルネガティブ乳がんである。異なる実施形態において、乳がんは、基底様サブタイプである。いくつかの実施形態において、乳がんは、HER2+乳がんである。

30

【0045】

いくつかの実施形態において、遺伝子座16q23または16q22-q24の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを決定することによって、c-MAF遺伝子の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを決定する。

【0046】

いくつかの実施形態において、処置は、mTORインヒビターまたはCDK4/6インヒビターである。他の実施形態において、処置は、標準治療を超えて延長されたホルモン療法である。

【0047】

いくつかの実施形態において、本発明は、乳がんを有する被験体であって、転移性腫瘍サンプル中のc-MAF発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが対照サンプルに対して増加している被験体を処置するための方法であって、mTORインヒビターまたはCDK4/6インヒビターを投与することを含む方法に関する。いくつかの実施形態において、本発明は、乳がんを有する被験体であって、転移性腫瘍サンプル中のc-MAF発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが対照サンプルに対して増加している被験体を処置するための方法であって、標準治療を超えて延長されたホルモン療法を施すことを含む方法に関する。いくつかの実施形態において、本発明は、乳がんを有する被験体であって、転移性腫瘍サンプル中のc-MAF発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが対照サンプルに対して増加していない被験体を処置するための方法であって、mTORインヒビター

40

50

またはCDK4/6インヒビターを投与しないことを含む方法に関する。いくつかの実施形態において、本発明は、乳がんを有する被験体であって、転移性腫瘍サンプル中のc-MAF発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが対照サンプルに対して増加していない被験体を処置するための方法であって、標準治療を超えて延長されたホルモン療法を施さないことを含む方法に関する。

【0048】

一実施形態において、本発明は、患者の無病生存状態を予測するための方法であって、基準サンプルレベルに対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを測定すること、および該c-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを使用して該患者の全生存を予測することを含む方法に関する。いくつかの実施形態において、基準サンプルレベルに対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加は、c-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが基準サンプルレベルに対して増加していない患者よりも短い無病生存を予測する。

10

【0049】

一実施形態において、本発明は、患者の全生存状態を予測するための方法であって、基準サンプルレベルに対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを測定すること、および該c-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを使用して該患者の全生存を予測することを含む方法に関する。別の実施形態において、基準サンプルレベルに対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加は、c-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが基準サンプルレベルに対して増加していない患者よりも短い全生存を予測する。

20

【0050】

いくつかの実施形態において、患者の閉経状態はまた、患者の生存状態を予測するために使用される。いくつかの実施形態において、被験体は、非閉経後である。特定の実施形態において、被験体は、閉経前である。特定の実施形態において、被験体は、閉経後である。

【図面の簡単な説明】

【0051】

【図1】図1は、アッセイパラメータの概要である。

【0052】

【図2】図2は、AZURE研究設計である。

30

【0053】

【図3】図3は、AZUREサンプルのH&E分析である。評価可能なサンプルおよび評価不能なサンプルが示されている。

【0054】

【図4A】図4Aおよび図4Bは、MAF陽性率である。

【図4B】図4Aおよび図4Bは、MAF陽性率である。

【0055】

【図5】図5は、MAFカットオフ最適化FISHデータである。カットポイントグラフ上の急激な増加は、MAF FISH値が真に閾値事象であることを示す。加えて、規定のカットオフは、最適化カットオフに近い。

40

【0056】

【図6】図6は、MAF FISH値に基づく骨再発のリスクである。

【0057】

【図7】図7は、2.3の骨最適化カットオフを使用した、MAF FISH値による骨再発までの時間である。

【0058】

【図8】図8は、FISHによる%IDFSである。2.2の最適カットオフを使用した。

【0059】

50

【図 9】図 9 は、F I S H による全生存である。2 . 2 の最適カットオフを使用した。

【0060】

【図 10】図 10 は、A Z U R E 対照患者のみにおける F I S H による骨再発までの時間である。2 . 3 の骨最適化カットオフを使用した。

【0061】

【図 11】図 11 は、A Z U R E 対照患者のみにおける F I S H による I D F S である。2 . 2 の最適化カットオフを使用した。

【0062】

【図 12】図 12 は、A Z U R E 対照患者のみにおける F I S H による I D F S (骨再発を除く)までの時間である。2 . 2 の最適化カットオフを使用した。

10

【0063】

【図 13】図 13 A および B は、対照アームおよびゾレドロン酸処置アームの患者における骨転移までの時間である。(A)最初の事象としての、および(B)経過観察中の任意の時点における骨転移の累積発生率。分析は、処置意図によるものであった。HR - ハザード比。

【0064】

【図 14】図 14 は、A Z U R E 対照患者およびゾレドロン酸処置患者における最初の事象としての骨転移までの時間の評価である。2 . 3 の骨最適化カットオフを使用した。

【0065】

【図 15】図 15 A および B は、対照アームとゾレドロン酸処置患者との間の無病生存 (D F S) および無浸潤疾患生存 (I D F S) である。(A)無病生存および(B)無浸潤疾患生存のカプラン・マイヤー曲線。分析は、処置意図によるものであった。HR = ハザード比。

20

【0066】

【図 16】図 16 は、対照アームとゾレドロン酸処置患者との間の遠隔再発までの時間である。

【0067】

【図 17】図 17 は、処置に応じた骨転移事象(任意の時点)までの時間である。骨転移(任意の時点)までの時間において、競合事象として死亡を使用する。

【0068】

【図 18】図 18 は、M A F コピー数に応じた(2 . 5 の事前に指定した M A F カットオフに応じた)骨転移事象(任意の時点)までの時間である。

30

【0069】

【図 19】図 19 A および B は、A Z U R E 試験の閉経状態による I D F S である。閉経状態による無浸潤疾患生存のカプラン・マイヤー曲線。(A)閉経前、閉経周辺期および閉経状態不明ならびに(B)閉経後 5 年超。閉経状態による異質性検定  $\chi^2_{1, 4} = 7.1$ ;  $p = 0.03$ 。

【0070】

【図 20】図 20 は、閉経後患者における M A F コピー数に応じた骨転移事象(任意の時点)までの時間(2 . 5 の事前に指定したカットオフに応じたデータ)である。

40

【0071】

【図 21】図 21 は、非閉経後患者における M A F コピー数に応じた骨転移事象(任意の時点)までの時間(2 . 5 の事前に指定したカットオフに応じたデータ)である。

【0072】

【図 22】図 22 は、ゾレドロン酸処置アームおよび対照アームの I D F S (閉経後女性の骨転移を除く)である。

【0073】

【図 23】図 23 は、ゾレドロン酸処置アームおよび対照アームの I D F S (非閉経後女性の骨転移を除く)である。

【0074】

50

【図24】図24は、処置アームによる全生存(OS)である。ゾレドロン酸によるMAFFISH陽性患者の処置は、OSに有意な影響を与えた。

【0075】

【図25】図25は、Azure対照アームにおける無病生存(DFS)に関するMAFFISHの予後値である。

【0076】

【図26】図26は、Azure対照アームにおける全生存(OS)に関するMAFFISHの予後値である。

【0077】

【図27】図27は、無病生存(DFS)転帰に対するゾレドロン酸処置の効果に関するMAFFISHの予測値である。

【0078】

【図28】図28は、閉経後患者の無病生存(DFS)転帰に対するゾレドロン酸処置の効果に関するMAFFISHの予測値である。

【0079】

【図29】図29は、非閉経後患者の無病生存(DFS)転帰に対するゾレドロン酸処置の効果に関するMAFFISHの予測値である。

【0080】

【図30】図30は、OS転帰に対するゾレドロン酸処置の効果に関するMAFFISHの予測値である。

【0081】

【図31】図31は、閉経後患者のOS転帰に対するゾレドロン酸処置の効果に関するMAFFISHの予測値である。

【0082】

【図32】図32は、非閉経後患者のOS転帰に対するゾレドロン酸処置の効果に関するMAFFISHの予測値である。

【発明を実施するための形態】

【0083】

発明の詳細な説明

一般的な用語および表現の定義

本明細書中で使用されるとき、「および/または」は、他のものの有無にかかわらず、2つの指定の特徴または構成要素のそれぞれの具体的な開示としてみなされるべきである。例えば、「Aおよび/またはB」は、それぞれが本明細書に個別に示されているかのように、(i)A、(ii)Bならびに(iii)AおよびBのそれぞれの具体的な開示としてみなされるべきである。

【0084】

c-MAF遺伝子(MAFまたはMGC71685としても公知のvmaf筋腱膜性線維肉腫がん遺伝子ホモログ(鳥類))は、ホモ二量体またはヘテロ二量体のように作用するロイシンジッパーを含有する転写因子である。DNA結合部位に応じて、コードされるタンパク質は、転写活性化因子または転写抑制因子であり得る。c-MAFをコードするDNA配列は、アクセッション番号NG\_016440(配列番号1)(コード)でNCBIデータベースに記載されている。c-MAFのゲノム配列は、配列番号13に示されている。本発明の方法は、コード配列またはゲノムDNA配列のいずれかを利用し得る。前記DNA配列から2つのメッセンジャーRNAが転写され、これらはそれぞれ、2つのc-MAFタンパク質アイソフォーム(アイソフォームおよびアイソフォーム)の1つを生じさせる。前記各アイソフォームの相補的DNA配列は、アクセッション番号NM\_005360.4(配列番号2)およびNM\_001031804.2(配列番号3)でNCBIデータベースにそれぞれ記載されている。ER+乳がんの予後を予測するためのc-MAF遺伝子の使用は、米国特許出願第13/878,114号(これは、その全体が参照により本明細書中に援用される)に見られ得る。トリプルネガティブおよびE

10

20

30

40

50

R + 乳がんの予後を予測するための c - M A F 遺伝子の使用は、米国特許出願第 1 4 / 3 9 1 , 0 8 5 号 (これは、その全体が参照により本明細書中に援用される) に記載されている。甲状腺がんの予後を予測するための c - M A F 遺伝子の使用は、米国仮出願第 6 1 / 8 0 1 , 7 6 9 号 (これは、その全体が参照により本明細書中に援用される) に記載されている。腎細胞がん腫の予後を予測するための c - M A F 遺伝子の使用は、米国仮出願第 1 4 / 7 7 6 , 3 9 0 号 (これは、その全体が参照により本明細書中に援用される) に記載されている。乳がんを有する個体の予後を決定するための目的の遺伝子 ( c - M A F および c - M A F 遺伝子座、ならびに前記遺伝子座に対するプローブを含む) の使用は、米国特許出願第 1 4 / 7 7 6 , 4 1 2 号 (これは、その全体が参照により本明細書中に援用される) に記載されている。肺がんの予後を予測するための c - M A F 遺伝子の使用は、米国特許出願第 1 4 / 4 0 5 , 7 2 4 号 (これは、その全体が参照により本明細書中に援用される) に見られる。前立腺がんの予後を予測するための c - M A F 遺伝子の使用は、米国特許出願第 1 4 / 0 5 0 , 2 6 2 号および米国特許出願第 1 4 / 4 3 5 , 1 2 8 号 (これらは、その全体が参照により本明細書中に援用される) に見られる。HER2 + がんの予後を予測するための c - M A F 遺伝子の使用は、米国特許出願第 1 5 / 0 2 7 , 9 4 6 号 (これは、その全体が参照により本明細書中に援用される) に見られる。がんの予後を予測するための c - M A F の下流遺伝子の使用は、米国特許出願第 1 5 / 0 1 4 , 9 1 6 号および米国特許出願第 1 4 / 7 7 6 , 4 5 3 号 (これらは、その全体が参照により本明細書中に援用される) に見られる。

10

20

30

40

50

#### 【0085】

本明細書中で使用されるとき、「基底様」「基底様サブタイプ」、「基底様サブタイプの乳がん」などの用語は、本明細書中で使用されるとき、2つの陰性受容体 ER および HER2 と、CK5 / 6、CK14、CK17 および EGFR からなる群の少なくとも1つの陽性受容体とを特徴とする特定のサブタイプの乳がんを指す。したがって、トリプルネガティブ乳がん (ER、HER-2、PgR) を引用および言及する本出願中の文章はすべて、ER および HER2 が陰性である基底様乳がんであって、CK5 / 6、CK14、CK17 および EGFR の少なくとも1つが陽性である基底様乳がんも引用および言及し得る。あるいは、「基底様」はまた、以下の10個の遺伝子のアップレギュレーションおよび/またはダウンレギュレーションに基づく遺伝子発現プロファイルの特徴とする乳がんを指す：(1) フォークヘッドボックス C I (FOX C 1)；(2) メラノーマ阻害活性 (M I A)；(3) N D C 8 0 ホモログ，キネトコア複合体構成要素 (K N T C 2)；(4) 中心体タンパク質 5 5 k D a (C E P 5 5)；(5) アニリン，アクチン結合タンパク質 (A N L N)；(6) 母性胚性ロイシンジッパーキナーゼ (M E L K)；(7) G タンパク質共役受容体 1 6 0 (G P R 1 6 0)；(8) 膜貫通タンパク質 4 5 B (T M E M 4 5 B)；(9) エストロゲン受容体 1 (E S R 1)；(10) フォークヘッドボックス A 1 (F O X A 1)。乳がん腫瘍を基底様サブタイプとして分類するために使用される遺伝子発現プロファイルは、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体または Her 2 を含まないので、トリプルネガティブ乳がんおよび非トリプルネガティブ乳がんは両方とも、基底様サブタイプとして分類され得る。

#### 【0086】

本明細書中で使用されるとき、「トリプルネガティブ乳がん」は、(好ましくは、M . E l i z a b e t h H 氏、J o u r n a l o f C l i n i c a l O n c o l o g y , 2 8 ( 1 6 ) : 2 7 8 4 - 2 7 9 5 , 2 0 1 0 に開示されている方法によって、ER および PR の発現の測定を行った場合に) ER および PR の両方の検出可能な発現の欠如を特徴とする乳がんを指し、腫瘍細胞は、細胞表面上に通常位置する受容体である上皮成長因子受容体タイプ 2 (HER2 または Erb B 2) が増幅されていない。標準的な免疫組織化学的技術を使用して、ER および PR 発現について染色される腫瘍細胞核が 5 % 未満である場合、腫瘍細胞は、ER および PR の発現について陰性であるとみなされる。本明細書中で使用されるとき、ポリクローナル抗 HER2 一次抗体を使用した半定量的免疫組織化学アッセイである Hercep Test (商標) Kit (Code K 5 2 0 4 ,

Dako North America, Inc., Carpinteria, CA) を用いて試験した場合に 0 もしくは 1 + もしくは 2 + の試験結果スコアをもたらす場合、または HER2 FISH 陰性である場合、腫瘍細胞は、HER2 過剰発現について陰性であるとみなされる。

【0087】

本明細書中で使用されるとき、「ER+乳がん」は、その腫瘍細胞がエストロゲン受容体 (ER) を発現する乳がんとして理解される。これは、前記腫瘍をエストロゲンに対して感受性にするが、これは、エストロゲンががん性乳房腫瘍を成長させることを意味する。対照的に、「ER-乳がん」は、その腫瘍細胞がエストロゲン受容体 (ER) を発現しない乳がんとして理解される。ER+乳がんには、ルミナル A および B サブタイプが含まれる。

10

【0088】

本明細書中で使用されるとき、「HER2+」は、上皮成長因子受容体タイプ 2 (HER2 または ErbB2) の検出可能な発現および/または HER2 遺伝子の増幅を有する腫瘍細胞を特徴とする乳がんを指し、通常は細胞表面上に位置する受容体である。本明細書中で使用されるとき、腫瘍細胞は、Hercept Test (商標) Kit (Code K5204, Dako North America, Inc., Carpinteria, CA) (ポリクローナル抗 HER2 一次抗体を使用した半定量的免疫組織化学アッセイ) を用いて試験した際にそれらが 0 もしくは 1 + もしくは 2 + の試験結果スコアをもたらす場合、またはそれらが HER2 FISH 陰性である場合、HER2 過剰発現について陰性であるとみなされる。

20

【0089】

本発明の文脈において、「閉経後」被験体は、閉経を経た女性であって、60カ月連続して月経がないことを経験した女性であると理解される。Colemanら、Lancet Oncol 2014; 15: 997-1006 を参照のこと。特定の実施形態において、女性は、卵胞刺激ホルモン (FSH) の測定を通じて、閉経後状態を確認し得る。

【0090】

本発明の文脈において、「非閉経後」被験体は、閉経を経っていない任意の被験体であって、60カ月連続して月経がないことを経験した任意の被験体である。「非閉経後」被験体は、閉経前、閉経周辺期および閉経状態不明の女性を含む。

【0091】

本発明の文脈において、「転移」は、それが開始した器官から異なる器官へのがんの伝播として理解される。それは、一般に、血液またはリンパ系を介して生じる。がん細胞が拡散して新たな腫瘍を形成する場合、後者は、二次性または転移性腫瘍と称される。二次性腫瘍を形成するがん細胞は、元の腫瘍のものと同様である。例えば、乳がんが骨に拡散する (転移する) 場合、二次性腫瘍は、悪性乳がん細胞から形成される。骨における疾患は転移性乳がんであり、骨がんではない。本発明の方法の特定の実施形態において、転移は、骨に拡散した (転移した) 乳がんである。

30

【0092】

本発明の文脈において、「再発」は、がんが検出されなかった期間後に乳がんがぶり返すことを指す。乳がんは、乳房または乳房周辺組織に局所的において再び生じ得る。乳がんはまた、リンパ節近傍または非周辺領域のリンパ節において再び生じ得る。乳がんが他の組織に拡散することによって再び生じるか、または血流を介して移動して骨もしくは他の器官において再発する場合、それは、転移とも称される。本明細書中で使用されるとき、再発はまた、再発のリスクを包含する。

40

【0093】

本発明の文脈において、「再燃」は、症状が低減したが被験体のがんではない場合に、がんがぶり返す状況を指す。乳がんは、乳房または乳房周辺組織において局所的に再燃し得る。乳がんはまた、リンパ節近傍または非周辺領域のリンパ節において再燃し得る。乳がんが他の組織に拡散することによって再燃するか、または血流を介して移動して骨もしくは他の器官において再発する場合、それは、転移とも称される。本明細書中で使用され

50

るとき、再燃はまた、再燃のリスクを包含する。

【0094】

本明細書中で使用されるとき、「無病生存」という用語は、がんの一次処置が終了した後の時間の長さであって、そのがんのいかなる兆候または症状も伴わずに、患者が生存している時間の長さを指す。いくつかの実施形態において、無病生存は、DFS、無再燃生存またはRFSと称される。

【0095】

本明細書中で使用されるとき、「全生存」または「OS」という用語は、がんの診断日またはがんの処置開始日のいずれかからの時間の長さであって、疾患と診断された患者が依然として生きている時間の長さを指す。

10

【0096】

本明細書中で使用されるとき、「被験体」または「患者」という用語は、哺乳動物として分類されるすべての動物を指し、家畜および農場動物、霊長類およびヒト、例えば人間、非ヒト霊長類、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコまたは齧歯類が挙げられるが、これらに限定されない。好ましくは、被験体は、任意の年齢または人種のヒト男性または女性である。

【0097】

「不良」または「良好」という用語は、臨床転帰を指すために本明細書中で使用されるとき、被験体が好ましい転帰または好ましくない転帰を示すことを意味する。当業者によって理解されるように、このような確率の評価は、診断される被験体の100%について正確であることが好ましいが、正確でなくてもよい。しかしながら、この用語は、被験体の統計学的に有意な部分が、所定の転帰についての素因を有すると同定され得ることを必要とする。当業者であれば、様々な周知の統計評価ツール、例えば信頼区間の決定、p値の決定、スチューデントt検定、マン・ホイットニー検定などを使用して、ある部分が統計学的に有意であるかを容易に決定し得る。詳細は、Dowdy and Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, New York 1983に見られる。好ましい信頼区間は、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%である。p値は、好ましくは、0.05、0.01、0.005もしくは0.0001またはそれ未満である。より好ましくは、集団の被験体の少なくとも約60パーセント、少なくとも約70パーセント、少なくとも約80パーセントまたは少なくとも約90パーセントは、本発明の方法によって適切に同定され得る。

20

30

【0098】

本発明において、「腫瘍サンプル」は、原発性乳がん腫瘍に由来するサンプル（例えば、腫瘍組織、循環腫瘍細胞、循環腫瘍DNA）と理解される。前記サンプルは、関連医療技術の当業者に周知の方法を使用して、従来の方法、例えば生検によって得られ得る。生検サンプルを得るための方法は、大きな片への腫瘍の分割、または顕微解剖、または当該分野で公知の他の細胞分離方法を含む。加えて、腫瘍細胞は、小ゲージ針を用いた吸引による細胞診によって得られ得る。サンプルの保存および取扱いを簡便にするために、サンプルをホルマリンで固定してパラフィンに浸し得るか、または最初に凍結し、次いで、急速凍結を可能にする極低温媒体への浸漬によって、OCT化合物などの組織凍結媒体に浸し得る。

40

【0099】

本発明の文脈において、「c-MAFタンパク質の機能的に等価なバリエーション」は、(i) アミノ酸残基の1つもしくはそれより多くが、保存的または非保存的アミノ酸残基（好ましくは、保存的アミノ酸残基）によって置換されたc-MAFタンパク質（配列番号4または配列番号5）のバリエーション（このような置換アミノ酸残基は、遺伝暗号によってコードされるものでもよいし、または遺伝暗号によってコードされるものでなくてもよい）、または(ii) 1つもしくはそれを超えるアミノ酸の挿入もしくは欠失を含むバリエーションであって、c-MAFタンパク質と同じ機能を有する（すなわち、DNA結合転写因

50

子として作用する)バリエーションと理解される。c-MAFタンパク質のバリエーションは、国際特許出願WO2005/046731号(これは、その全体が参照により本明細書中に援用される)に示されているように、インビトロ細胞増殖を促進するc-MAFの能力に基づく方法、国際公開第2008098351号(これは、その全体が参照により本明細書中に援用される)に記載されているように、c-MAFを発現する細胞において、サイクリンD2プロモーターもしくはc-MAF応答領域(MAREまたはc-MAF応答エレメント)を含有するプロモーターの制御下のレポーター遺伝子の転写能力を遮断するいわゆるインヒビターの能力に基づく方法、またはUS2009048117号(これは、その全体が参照により本明細書中に援用される)に記載されているように、NFATc2およびc-MAFを発現する細胞において、PMA/イオノマイシンによる刺激に応じたIL-4プロモーターの制御下のレポーター遺伝子の発現を遮断するいわゆるインヒビターの能力に基づく方法を使用して同定され得る。

10

20

30

40

50

#### 【0100】

本発明のバリエーションは、好ましくは、c-MAFタンパク質アイソフォーム(配列番号4または配列番号5)のいずれかのアミノ酸配列と少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%または少なくとも約99%の配列類似性を有する。バリエーションと先に定義された特定のc-MAFタンパク質配列との間の類似性の程度は、当業者に広く公知のアルゴリズムおよびコンピュータプロセスを使用して決定される。2つのアミノ酸配列間の類似性は、好ましくは、BLASTPアルゴリズム[BLAST Manual, Altschul, Sら、NCBI NLM NIH Bethesda, Md. 20894, Altschul, Sら、J. Mol. Biol. 215:403-410(1990)]を使用して決定される。

#### 【0101】

本明細書中で使用されるとき、「骨リモデリングを回避または予防するための薬剤」は、骨芽細胞増殖を刺激するか、または破骨細胞増殖を阻害するか、または骨構造を固定することによって、骨分解を予防、阻害、処置、軽減または停止することができる任意の分子を指す。骨リモデリングを回避または予防するための薬剤としては、骨分解を回避または予防するための薬剤が挙げられ、骨合成を回避または予防するための薬剤が挙げられる。

#### 【0102】

本明細書中で使用されるとき、「c-MAF阻害剤」は、c-MAF遺伝子の発現産物の生成を防止する(c-MAF遺伝子転写を妨害し、および/またはc-MAF遺伝子発現に起因するmRNAの翻訳を遮断することによって、およびc-MAFタンパク質活性を直接阻害することによって、c-MAF遺伝子発現を完全にまたは部分的に阻害することができる任意の分子を指す。c-MAF遺伝子発現インヒビターは、例えば国際特許出願WO2005/046731号(この全内容は、参照により本明細書中に援用される)に示されているように、インビトロ細胞増殖を促進するc-MAFの能力を遮断するいわゆるインヒビターの能力に基づく方法、例えば国際公開第2008098351号(この全内容は、参照により本明細書中に援用される)に記載されているように、c-MAFを発現する細胞において、サイクリンD2プロモーターもしくはc-MAF応答領域(MAREまたはc-MAF応答エレメント)を含有するプロモーターの制御下のレポーター遺伝子の転写能力を遮断するいわゆるインヒビターの能力に基づく方法、または例えばUS2009048117号(この全内容は、参照により本明細書中に援用される)に記載されているように、NFATc2およびc-MAFを発現する細胞において、PMA/イオノマイシンによる刺激に応じたIL-4プロモーターの制御下のレポーター遺伝子の発現を遮断するいわゆるインヒビターの能力に基づく方法を使用して同定され得る。

#### 【0103】

本明細書中で使用されるとき、ラパマイシンの哺乳類標的(mTOR)または「mTo

r」は、EC2.7.11.1に対応するタンパク質を指す。mTOr酵素はセリン/トレオニンタンパク質キナーゼであり、細胞増殖、細胞運動性、細胞成長、細胞生存および転写を調節する。

【0104】

本明細書中で使用されるとき、「mTOrインヒビター」は、mTOr遺伝子の発現産物の生成を防止する(mTOr遺伝子転写を妨害し、および/またはmTOr遺伝子発現に起因するmRNAの翻訳を遮断する)ことによって、およびmTOrタンパク質活性を直接阻害することによって、mTOr遺伝子発現を完全にまたは部分的に阻害することができる任意の分子を指す。二重またはそれより多くの標的、特にmTOrタンパク質活性を有するインヒビターを含む。

10

【0105】

本明細書中で使用されるとき、「Src」は、EC2.7.10.2に対応するタンパク質を指す。Srcは、非受容体チロシンキナーゼおよびがん原遺伝子である。Srcは、細胞成長および胚発生において役割を果たし得る。

【0106】

本明細書中で使用されるとき、「Srcインヒビター」は、Src遺伝子の発現産物の生成を防止する(Src遺伝子転写を妨害し、および/またはSrc遺伝子発現に起因するmRNAの翻訳を遮断する)ことによって、およびSrcタンパク質活性を直接阻害することによって、Src遺伝子発現を完全にまたは部分的に阻害することができる任意の分子を指す。

20

【0107】

本明細書中で使用されるとき、「プロスタグランジン-エンドペルオキシドシンターゼ2」、「シクロオキシゲナーゼ-2」または「COX-2」は、EC1.14.99.1に対応するタンパク質を指す。COX-2は、アラキドン酸からプロスタグランジンエンドペルオキシドH<sub>2</sub>への変換に関与する。

【0108】

本明細書中で使用されるとき、「COX-2インヒビター」は、COX-2遺伝子の発現産物の生成を防止する(COX-2遺伝子転写を妨害し、および/またはCOX-2遺伝子発現に起因するmRNAの翻訳を遮断する)ことによって、およびCOX-2タンパク質活性を直接阻害することによって、COX-2遺伝子発現を完全にまたは部分的に阻害することができる任意の分子を指す。

30

【0109】

本明細書中で使用されるとき、「転帰」または「臨床転帰」は、結果として起こる疾患の経過および/または疾患の進行を指し、例えば、再発、再発までの期間、再燃、転移、転移までの期間、転移の数、転移部位の数および/または疾患による死亡によって特徴付けられ得る。例えば、良好な臨床転帰としては、治癒、再発の予防、転移の予防および/または一定期間内の生存(再発なし)が挙げられ、不良な臨床転帰としては、疾患の進行、転移および/または一定期間内の死亡が挙げられる。

【0110】

本明細書中で使用されるとき、「無浸潤疾患生存」または「IDFS」は、がんにおいて、がんの一次処置が終了した後の時間の長さであって、元の原因性腫瘍と同じ乳房実質または他の組織に浸潤するそのがんのいかなる兆候または症状も伴わずに、患者が生存している時間の長さを指す。いくつかの実施形態において、IDFSは、同側浸潤性乳房腫瘍再発、局所または局部浸潤性乳がん再発、転移または遠隔再発、乳がん、対側浸潤性乳がんおよび第二の原因性浸潤性がん(非乳がん(ただし基底細胞がんまたは扁平上皮がんを除く))を含む任意の原因に起因する死亡を含む。Colemanら、Lancet Oncol 2014; 15: 997-1006を参照のこと。

40

【0111】

本発明において、「乳がんを有する被験体における転移の診断」は、その兆候の研究によって、すなわち本発明の文脈においては、対照サンプルに対する乳がん腫瘍組織中のc

50

- M A F 遺伝子発現レベルの増加（すなわち、過剰発現）によって、疾患（転移）を同定することと理解される。

【0112】

本発明において、「乳がんを有する被験体において転移を発症する傾向の予後」は、兆候に基づいて、前記被験体が有する乳がんが将来転移するかを知ることと理解される。本発明の文脈において、兆候は、腫瘍組織における c - M A F 遺伝子過剰発現である。

【0113】

本発明の文脈において、被験体が患っている乳がんが身体の他の器官、特定の実施形態においては骨に転移した場合、「前記被験体は、転移の陽性診断を有する」と理解される。この用語は、再発および再燃について同様に使用される。

10

【0114】

当業者であれば、原発性腫瘍が転移、再燃または再発する傾向の予測は、同定すべきすべての被験体（すなわち、被験体の100%）について正確であることを意図しないことを理解するであろう。それにもかかわらず、この用語は、被験体の統計学的に有意な一部（例えば、コホート研究におけるコホート）の同定を可能にすることを必要とする。当業者であれば、様々な周知の統計評価ツール、例えば信頼区間の決定、p値の決定、スチューデントt検定、マン・ホイットニー検定などを使用して、ある一部が統計学的に有意であるかを簡単に決定し得る。詳細は、Dowdy and Wearden, Statistics for Research, John Wiley and Sons, New York 1983に提供されている。好ましい信頼区間は、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%または少なくとも約99%である。p値は、好ましくは、0.1、0.05、0.01、0.005または0.001である。より好ましくは、集団の被験体の少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%または少なくとも約90%は、本発明の方法によって適切に同定され得る。

20

【0115】

本明細書中で使用されるとき、「予後不良」は、被験体が、所定の期間内において生存せずおよび/もしくは再発、再燃もしくは遠隔転移を有すると予想される（例えば、予測される）か、またはそれらを有する高いリスクがあることを示す。「高い」という用語は相対的な用語であり、本出願の文脈において、臨床転帰（再発、遠隔転移など）に関して、「高」発現グループのリスクを指す。「高い」リスクは、不均一ながん患者集団の平均リスクよりも高いリスクとみなされ得る。Paikら（2004）の研究では、再発の全体的に「高い」リスクは、15パーセントよりも高いとみなされた。リスクはまた、期間に応じて変動するであろう。期間は、例えば、がんの初期診断のまたは予後の実施後の5年間、10年間、15年間またはさらに20年間であり得る。

30

【0116】

「基準値」は、本明細書中で使用されるとき、患者または患者から回収されたサンプルの臨床検査によって得られた値/データの基準として使用される検査値を指す。基準値または基準レベルは、絶対値；相対値；上限および/もしくは下限を有する値；一定範囲の値；標準値（average value）；中央値、平均値、または特定の対照値もしくはベースライン値と比較される値であり得る。基準値は、個々のサンプル値、例えば、試験されている被験体由来のサンプルから得られた値であって、ただしより早期の時点において得られた値に基づくものであり得る。基準値は、例えば、実年齢一致群の被験体の集団由来の多数のサンプルに基づくものであり得るか、または試験すべきサンプルを含むもしくは除くサンプルのプールに基づくものであり得る。

40

【0117】

「処置」という用語は、本明細書中で使用されるとき、本明細書に記載されるような臨床状態を終結させ、予防し、改善し、またはそれに対する感受性を減少させることを目的とする任意のタイプの治療を指す。実施形態において、処置という用語は、本明細書で定義される障害または状態の予防的処置（すなわち、臨床状態に対する感受性を減少させる

50

ための治療)に関する。したがって、「処置」、「処置する」およびそれらの等価な用語は、ヒトを含む哺乳動物における病理学的な状態または障害の任意の処置を網羅する所望の薬理的または生理学的な効果を得ることを指す。効果は、障害もしくはその症状の完全なもしくは部分的な予防の点で予防的であり得、ならびに/または障害および/もしくはその障害に起因する有害作用の部分的なもしくは完全な治癒の点で治療的であり得る。すなわち、「処置」は、(1)被験体における障害の発生もしくは再発を予防すること、(2)障害を阻害すること、例えば、その発症を停止させること、(3)例えば、機能の喪失、不足もしくは欠損を復元もしくは修復するか、もしくは非効率なプロセスを刺激することによって、宿主が障害もしくはその症状をもちや患わないように、障害もしくはそれに関連する少なくとも症状を停止もしくは終結させること、例えば、障害もしくはその症状の退縮を引き起こすこと、または(4)障害もしくはそれに関連する症状を軽減、緩和もしくは改善すること(改善は、広義の意味では、少なくともパラメータ、例えば炎症、疼痛または免疫不全の規模の減少を指すために使用される)を含む。

【0118】

本明細書中で使用されるとき、「サンプル」または「生物学的サンプル」は、被験体から単離された生物学的材料を意味する。生物学的サンプルは、c-MAF遺伝子の発現レベルを決定するために適切な任意の生物学的材料を含有し得る。サンプルは、任意の適切な生物学的組織または液体、例えば腫瘍組織、血液、血漿、血清、尿または脳脊髄液(CSF)などから単離され得る。

【0119】

本明細書中で使用されるとき、遺伝子の「発現レベル」という用語は、本明細書中で使用されるとき、被験体のサンプル中の遺伝子によって生成される遺伝子産物の測定可能な量を指し、遺伝子産物は、転写産物または翻訳産物であり得る。したがって、発現レベルは、核酸遺伝子産物、例えばmRNAもしくはcDNAまたはポリペプチド遺伝子産物に関係し得る。発現レベルは、被験体のサンプルおよび/または基準サンプルに由来し、例えば、デノボで検出され得るか、または以前の決定に対応し得る。発現レベルは、例えば、当業者に公知であるように、マイクロアレイ法、PCR法(例えば、qPCR)および/または抗体ベースの方法を使用して決定または測定され得る。

【0120】

「増加している発現レベル」は、基準サンプルまたは対照サンプル中のものを超えるc-MAF遺伝子レベルを指す場合の発現レベルと理解される。これらの増加しているレベルは、他の機構を排除するものではないが、遺伝子または16q23もしくは16q22-24染色体遺伝子座の増幅、コピーゲインまたは転座によって引き起こされ得る。特に、患者から単離されたサンプル中の発現レベルが、基準または対照に対して少なくとも約1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.1倍、2.2倍、2.3倍、2.4倍、2.5倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍またはなおそれを超える場合、サンプルは、高いc-MAF発現レベルを有するとみなされ得る。実施形態において、「増加している発現レベル」は、「高い」発現レベルである。「増加していない(not increased)」または「増加していない(non increased)」発現レベルは、「増加している」発現レベルの定義に含まれない任意の値(基準もしくは対照レベルに等しい値、または基準もしくは対照レベルと比較して減少している発現レベルを含む)である。

【0121】

「減少している発現レベル」は、基準サンプルまたは対照サンプル中のもの未満のc-MAF遺伝子レベルを指す場合の発現レベルと理解される。この減少しているレベルは、他の機構を排除するものではないが、遺伝子または16q23もしくは16q22-24染色体遺伝子座の欠失によって引き起こされ得る。特に、患者から単離されたサンプル中の発現レベルが、基準または対照に対して少なくとも約1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.1倍、2.2倍、2.3倍、2.4倍、2.5倍、3倍

10

20

30

40

50

、4倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍またはなおそれ未満である場合、サンプルは、減少しているc-MAF発現レベルを有するとみなされ得る。実施形態において、「減少している発現レベル」は、「低い」発現レベルである。

【0122】

本明細書中で使用されるとき、「遺伝子コピー数」という用語は、細胞における核酸分子のコピー数を指す。遺伝子コピー数は、細胞のゲノム(染色体)DNAにおける遺伝子コピー数を含む。正常細胞(非腫瘍細胞)では、遺伝子コピー数は、通常、2コピー(染色体対の各メンバーにおいて1コピー)である。遺伝子コピー数は、細胞集団のサンプルから採取された遺伝子コピー数の半数を含むこともある。

10

【0123】

本発明において、「増加している遺伝子コピー数」は、c-MAF遺伝子コピー数が、基準サンプルまたは対照サンプルが有するコピー数を超える場合と理解される。これらの増加している遺伝子コピー数は、他の機構を排除するものではないが、遺伝子または16q23もしくは16q22-24染色体遺伝子座の増幅、コピーゲインまたは転座によって引き起こされ得る。特に、コピー数が2コピー超、例えば2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、4、5、6、7、8、9または10コピー、さらには10コピー超のc-MAF遺伝子である場合、サンプルは、増加しているc-MAFコピー数を有するとみなされ得る。実施形態において、「増加している遺伝子コピー数」は、カウントされた細胞当たりの平均コピー数に基づいて決定される。実施形態において、カウントされた細胞当たりのコピーの平均が2コピー超、例えば2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、4、5、6、7、8、9または10コピー、さらには10コピー超のc-MAF遺伝子である場合、サンプルは、増加しているc-MAFコピー数を有するとみなされ得る。

20

【0124】

本発明において、「減少している遺伝子コピー数」は、c-MAF遺伝子コピー数が、基準サンプルまたは対照サンプルが有するコピー数未満である場合と理解される。これらの減少している遺伝子コピー数は、他の機構を排除するものではないが、遺伝子または16q23もしくは16q22-24染色体遺伝子座の欠失によって引き起こされ得る。特に、コピー数が2コピー未満のc-MAF遺伝子である場合、サンプルは、減少しているc-MAFコピー数を有するとみなされ得る。

30

【0125】

本発明において、「増加していない遺伝子コピー数」は、c-MAF遺伝子コピー数または平均c-MAF遺伝子コピー数が、基準サンプルまたは増加陽性サンプルが有するコピー数未満である場合と理解される。増加していない遺伝子コピー数は、他の機構を排除するものではないが、遺伝子または16q23もしくは16q22-24染色体遺伝子座の増幅、コピーゲインまたは転座の非増加によって引き起こされ得る。特に、コピー数が2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9コピー未満のc-MAF遺伝子である場合、サンプルは、増加していないc-MAFコピー数またはc-MAF平均コピー数を有するとみなされ得る。

40

【0126】

本明細書中で理解される場合、「遺伝子の増幅」という用語は、遺伝子または遺伝子フラグメントの様々なコピーが、個々の細胞または細胞株において形成されるプロセスを指す。遺伝子のコピーは、必ずしも同じ染色体に位置しない。重複領域は、「アンプリコン」と称されることが多い。通常、生成されるmRNAの量、すなわち遺伝子発現レベルもまた、特定の遺伝子のコピー数に比例して増加する。

【0127】

「ゲイン」という用語は、標準からの任意の染色体コピー数増加を指す(すなわち、二倍体生物においては、細胞中の3コピーの遺伝子はゲインである)。いくつかの実施形態において、「ゲイン」は、「コピーゲイン」という用語を含み、「コピー数」と同義的に

50

使用される。

【0128】

「プローブ」は、本明細書中で使用されるとき、目的の特定の核酸配列に相補的なオリゴヌクレオチド配列を指す。いくつかの実施形態において、プローブは、転座を受けることが公知の染色体の領域に特異的であり得る。いくつかの実施形態において、プローブは、特異的な標識またはタグを有する。いくつかの実施形態において、タグは、フルオロフォアである。いくつかの実施形態において、プローブは、その標識化が、核酸およびタンパク質に対する白金の安定な配位結合に基づくDNAインサイチュハイブリダイゼーションプローブである。いくつかの実施形態において、プローブは、米国特許第9,127,302号および米国特許第9,134,237号（これらは、その全体が参照により援用される）に記載されているか、またはSwennenhuisら、“Construction of repeat-free fluorescence in situ hybridization probes” *Nucleic Acids Research* 40(3): e20(2012)に記載されている。

10

【0129】

「タグ」または「標識」は、本明細書中で使用されるとき、プローブと直接的または間接的に会合する任意の物理的分子であって、プローブまたはプローブの位置の可視化、マーキングまたは他の方法による捕捉を可能にする物理的分子を指す。

【0130】

「転座」は、本明細書中で使用されるとき、染色体間における不等量または等量の染色体材料の交換を指す。いくつかの場合において、転座は、同じ染色体上のものである。いくつかの場合において、転座は、異なる染色体間のものである。転座は、乳がんおよび白血病を含む多くのタイプのがんにおいて高頻度で起こる。転座は、一次相互転座またはより複雑な二次転座であり得る。多くのがんにおける開始事象を構成すると考えられる免疫グロブリン重鎖(IgH)遺伝子座が関与するいくつかの一次転座がある(Eychenne, A., Rocques, N., and Puoponnnot, C., A new MAFia in cancer. 2008. *Nature Reviews: Cancer*. 8: 683 - 693.)。

20

【0131】

「倍数体」または「倍数性」は、本明細書中で使用されるとき、細胞が、2コピーを超える目的の遺伝子を含有することを示す。いくつかの場合において、目的の遺伝子は、MAFである。いくつかの実施形態において、倍数性は、目的の遺伝子の発現の蓄積に関連する。いくつかの実施形態において、倍数性は、ゲノム不安定性に関連する。いくつかの実施形態において、ゲノム不安定性は、染色体転座につながり得る。

30

【0132】

「ホールゲノムシーケンシング」は、本明細書中で使用されるとき、生物のゲノム全体を1回で配列決定するプロセスである。例えば、Ng., P. C. and Kirkness, E. F., Whole Genome Sequencing. 2010. *Methods in Molecular Biology*. 628: 215 - 226を参照のこと。

40

【0133】

「エクソームシーケンシング」は、本明細書中で使用されるとき、生物のDNAのコード領域全体を配列決定するプロセスである。エクソームシーケンシングでは、mRNAが配列決定される。エクソームシーケンシングでは、ゲノムの非翻訳領域は含まれない。例えば、Choi, Mら、Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. 2009. *PNAS*. 106(45): 19096 - 19101を参照のこと。

【0134】

本明細書中で使用されるとき、「結合メンバー」は、互いに結合する1組の分子の一方

50

のメンバーを表す。結合ペアのメンバーは、天然由来のものであり得るか、または全体的もしくは部分的に合成で生成されたものであり得る。1組の分子の一方のメンバーは、1組の分子の他方のメンバーに結合し、したがって該他方のメンバーの特定の空間および極性構成に相補的な表面上領域または空洞を有する。結合ペアのタイプの例は、抗原 - 抗体、受容体 - リガンドおよび酵素 - 基質である。いくつかの実施形態において、結合メンバーは、抗体である。いくつかの実施形態において、結合メンバーは、c - M A F 抗原に結合する抗体である。

【0135】

本明細書中で使用されるとき、「CDR領域」または「CDR」は、Kabataら、(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition. US Department of Health and Human Services, Public Service, NIH, Washingtonによって定義される免疫グロブリンの重鎖および軽鎖の超可変領域を示すことを意図する。抗体は、典型的には、HCDR1、HCDR2、およびHCDR3と称される3つの重鎖CDRならびにLCDR1、LCDR2、およびLCDR3と称される3つの軽鎖CDRを含有する。用語CDR(単数または複数)は、それが認識する抗原またはエピトープに対する抗体の親和性によって、結合に関与するアミノ酸残基のほとんどを含有するこれらの領域のうちの一つまたはこれらの領域のいくつかもしくはさらに全体を示すために本明細書中で使用される。6つのCDR配列の中では、重鎖の第3のCDR(HCDR3)は、生殖系列免疫グロブリン重鎖遺伝子座のV、D、およびJ遺伝子セグメントのV(D)J再構成として当技術分野で公知の機序に本質的に起因して、最大規模の可変性(すなわち、より大きな多様性)を有する。HCDR3は、2アミノ酸ほどの短いものであり得るか、もしくは26アミノ酸ほどの長いものであり得るか、またはこれら2つの両極端の間の任意の長さを有し得る。CDRの長さはまた、特定の基礎フレームワークによって適合され得る長さにしたがって変動し得る。機能的には、HCDR3は、抗体の特異性の決定において重要な役割を果たし得る(Segalら、(1974) Proc Natl Acad Sci USA. 71(11): 4298-302; Amitら、(1986) Science 233(4765): 747-53; Chothiaら、(1987) J. Mol. Biol. 196(4): 901-17; Chothiaら、(1989) Nature 342(6252): 877-83; Catonら、(1990) J. Immunol. 144(5): 1965-8; Sharon(1990a) PNAS USA. 87(12): 4814-7, Sharon(1990b) J. Immunol. 144: 4863-4869, Kabataら、(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition. US Department of Health and Human Services, Public Service, NIH, Washington)。

【0136】

本明細書中で使用されるとき、「抗体(antibody)」、「抗体分子」または「抗体(antibodies)」は、天然に産生されるかまたは部分的もしくは全体的に合成で生成されるかにかかわらず、免疫グロブリンを表す。該用語はまた、抗体の抗原結合部位(antibody antigen-binding site)を含む任意のポリペプチドまたはタンパク質を包含する。本発明は、天然形態の抗体に関するものではない(言い換えれば、それらは、それらの天然環境中にないが、それらは、天然供給源から精製によって単離もしくは取得され得るか、または遺伝子組換えによってもしくは化学合成によって取得され得る)こと、およびしたがってそれらは、天然に存在しないアミノ酸を含有し得ることを本明細書で理解すべきである。抗体の抗原結合部位を含む抗体フラグメントとしては、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fab'-SH、scFv、Fv、dAb、およびFdなどの分子が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Fab2、Fab3、ダイアボディ(diabody)、トリアボディ(triabody)

)、テトラボディ (tetra body)、キャメルボディ (camel body)、ナノボディ (nanobody) およびミニボディ (minibody) を含む、1 またはそれより多くの抗体の抗原結合部位を含む様々な他の抗体分子が工学的に作製されている。抗体分子ならびにそれらの構築および使用のための方法は、Hollinger & Hudson (2005) Nature Biotech. 23(9): 1126 - 1136 に記載されている。

【0137】

本明細書中で使用されるとき、「抗体分子」は、抗原に対する必要な特異性および/または結合性を有する抗体の抗原結合部位を有する任意の結合メンバーまたは物質を包含すると解釈されるべきである。したがって、この用語は、天然または全体的にもしくは部分的に合成であるかにかかわらず、抗体の抗原結合部位を含む任意のポリペプチドを含む機能的抗体フラグメントおよび誘導体を包含する。したがって、(例えば、別の種に由来し、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する) 別のポリペプチドに融合されている、抗体の抗原結合部位を含むキメラ分子または等価物が含まれる。キメラ抗体のクローニングおよび発現は、例えば、欧州特許出願公開第0120694A号 (Bossら) および欧州特許出願公開第0125023A号 (Cabillyら) (これらは、その全体が参照により本明細書中に援用される) に記載されている。

10

【0138】

本明細書中で使用されるとき、例えば本発明の結合メンバーの「機能的フラグメントまたはバリエーション」は、完全な結合メンバーの少なくともいくつかの機能 (例えば、Mafなどの抗原に特異的に結合する能力) を保持する結合メンバーのフラグメントまたはバリエーションを意味する。

20

【0139】

「腫瘍組織サンプル」は、乳がん腫瘍に由来する組織サンプル (限定されないが、循環腫瘍細胞および循環腫瘍DNAを含む) と理解される。前記サンプルは、関連医療技術の当業者に周知の方法を使用して、従来の方法、例えば生検によって得られ得る。

【0140】

「溶骨性骨転移」とは、腫瘍細胞による破骨細胞活性の刺激に起因する骨吸収 (骨密度の進行性消失) が、転移の近くにおいて生じる転移のタイプのことを指し、重篤な疼痛、病学的骨折、高カルシウム血症、脊髄圧迫、および神経圧迫に起因する他の症候群を特徴とする。

30

【0141】

乳房腫瘍を有する患者における本発明のカスタマイズ治療を設計するための方法

本発明は、乳がんを患っている被験体であって、特定の薬剤および/または治療による処置から利益を受けるであろう被験体を同定することを対象とする。いくつかの実施形態において、本発明は、乳がんを患っている被験体であって、特定の薬剤および治療による処置から利益を受けないであろう被験体を同定することを対象とする。いくつかの実施形態において、被験体は、c-MAFの高い発現レベル、コピー数、増幅、ゲインおよび/または転座を有する。特定の実施形態において、被験体は、c-MAFの低い発現レベル、コピー数、増幅、ゲインおよび/または転座を有する。特定の実施形態において、がんは、トリプルネガティブ乳がんである。他の実施形態において、がんは、ER+乳がんである。さらなる実施形態において、がんは、ER-乳がんである。なおさらなる実施形態において、がんは、HER2+乳がんである。いくつかの実施形態において、がんは、基底様乳がんである。一実施形態において、被験体は、閉経後である。実施形態において、被験体は、非閉経後である。米国特許出願第14/391,085号、米国仮出願第61/801,769号、米国仮出願第14/776,390号、米国特許出願第14/776,412号、米国特許出願第14/405,724号、米国特許出願第14/050,262号、米国特許出願第14/435,128号、米国特許出願第15/027,946号、米国特許出願第15/014,916号および米国特許出願第14/776,453号 (これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書中に援用される) に記載されて

40

50

いるように、c - M A F のレベルは、転移、再燃もしくは再発を診断するために、または腫瘍が転移、再燃もしくは再発を受ける傾向を予測するために使用され得る。したがって、本発明に記載されるように、乳がん細胞におけるc - M A F 遺伝子過剰発現が転移、再燃または再発の存在に関連することを考慮すると、c - M A F 遺伝子発現レベルは、前記がんを患っている被験体のための最も適切な治療に関する判断を可能にする。実施形態において、本発明は、単一マーカーとしてc - M A F 遺伝子発現レベルのみを定量することを含む(すなわち、該方法は、いかなるさらなるマーカーの発現レベルを決定することも伴わない)。

#### 【0142】

したがって、一実施形態において、本発明は、乳がんを有する被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインビトロ方法であって、a) 前記被験体の腫瘍サンプル中のc - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、およびb) 得られた該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを、対照サンプル中の前記遺伝子の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインと比較することを含み、該被験体におけるc - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインに基づいて、治療を決定するインビトロ方法に関する。いくつかの実施形態において、被験体は、高いc - M A F 遺伝子発現レベルを有する。他の実施形態において、被験体は、低いc - M A F 遺伝子発現レベルを有する。特定の実施形態において、骨リモデリングを回避および/または予防する薬剤(骨分解を回避または予防する薬剤を含む)を被験体に投与する。実施形態において、がんを処置する薬剤を被験体に投与する。さらなる実施形態において、c - M A F 阻害剤を被験体に投与する。特定の実施形態において、骨リモデリングを回避および/もしくは予防する薬剤またはc - M A F 阻害剤は、米国特許出願公開第2014/0057796号および同第2015/0293100号ならびに米国特許出願第15/027,946号(これらは、その全体が参照により本明細書中に援用される)に開示されている任意の薬剤である。

#### 【0143】

一実施形態において、本発明は、乳がんを有する被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインビトロ方法であって、i) 前記被験体のサンプル中のc - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、およびii) i) で得られた該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較することを含み、該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが前記基準値に対して増加していない場合、前記被験体が、骨リモデリングを予防および/もしくは処置し、または無病生存もしくは全生存を改善することを目的とする治療を受けることを許容される、インビトロ方法に関する。いくつかの実施形態において、被験体は、非閉経後である。他の実施形態において、被験体は、閉経後である。実施形態において、骨リモデリングを予防および/または処置することを目的とする薬剤を被験体に投与する。実施形態において、無病生存または全生存を改善する薬剤を被験体に投与する。さらなる実施形態において、c - M A F 阻害剤を被験体に投与する。

#### 【0144】

別の実施形態において、本発明は、乳がんを有する非閉経後被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインビトロ方法であって、i) 前記被験体のサンプル中のc - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、およびii) i) で得られた該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較することを含み、該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが前記基準値に対して増加している場合、前記被験体が、骨リモデリングを予防および/もしくは処置し、ならびに/または無病生存または全生存を改善することを目的とする治療を受けることは許容されない、インビトロ方法に関する。いくつかの実施形態において、骨リモデリングを予防および/もしくは処置し、ならびに/または無病生存もしくは全生存を改善することを目的とする薬剤を被験体に投与しない。

#### 【0145】

別の実施形態において、本発明は、乳がんを有する閉経後被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインビトロ方法であって、i) 前記被験体のサンプル中のc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、およびii) i) で得られた該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較することを含み、該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが前記基準値に対して増加している場合、前記被験体が、骨リモデリングを予防および/もしくは処置し、ならびに/または無病生存もしくは全生存を改善することを目的とする治療を受けることを許容される、インビトロ方法に関する。いくつかの実施形態において、骨リモデリングを予防および/もしくは処置することを目的とする薬剤、ならびに/または無病生存もしくは全生存を改善するための治療を被験体に投与する。

10

## 【0146】

別の実施形態において、本発明は、乳がんを有する閉経後被験体のためのカスタマイズ治療を設計するためのインビトロ方法であって、i) 前記被験体のサンプル中のc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、およびii) i) で得られた該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較することを含み、該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインが前記基準値に対して増加していない場合、前記被験体が、骨リモデリングを予防および/もしくは処置し、ならびに/または無病生存もしくは全生存を改善することを目的とする治療を受けることは許容されない、インビトロ方法に関する。いくつかの実施形態において、骨リモデリングを予防および/もしくは処置し、ならびに/または無病生存もしくは全生存を改善することを目的とする薬剤を被験体に投与しない。

20

## 【0147】

一実施形態において、本発明は、乳がんを有する被験体であって、転移性腫瘍サンプル中のc-MAFレベルが対照サンプルに対して減少している被験体における骨転移を処置するための方法であって、骨リモデリングを予防もしくは阻害することができ、およびまたは無病生存もしくは全生存を改善することができる薬剤を投与することを含み、骨リモデリングを回避もしくは予防することができ、または無病生存もしくは全生存を改善することができる該薬剤が、ビスホスホネート、RANKLインヒビター、PTH、PTHrPインヒビター(中和抗体およびペプチドを含む)、PRG類似体、ラネル酸ストロンチウム、DKK-1インヒビター、二重METおよびVEGFR2インヒビター、エストロゲン受容体モジュレーター、EGFRインヒビター、カルシトニン、ラジウム-223、CCR5アンタゴニスト、Srcキナーゼインヒビター、COX-2インヒビター、mTORインヒビターおよびカテプシンKインヒビターからなる群より選択される方法に関する。いくつかの実施形態において、被験体は、非閉経後である。他の実施形態において、被験体は、閉経後である。

30

## 【0148】

別の実施形態において、本発明は、乳がんを有する閉経後被験体であって、転移性腫瘍サンプル中のc-MAFレベルが対照サンプルに対して増加している被験体における骨転移を処置するための方法であって、骨リモデリングを予防もしくは阻害することができる薬剤、および/または無病生存もしくは全生存を改善する薬剤を投与することを含み、骨リモデリングを回避もしくは予防することができ、および/または無病生存もしくは全生存を改善することができる該薬剤が、ビスホスホネート、RANKLインヒビター、PTH、PTHrPインヒビター(中和抗体およびペプチドを含む)、PRG類似体、ラネル酸ストロンチウム、DKK-1インヒビター、二重METおよびVEGFR2インヒビター、エストロゲン受容体モジュレーター、EGFRインヒビター、カルシトニン、ラジウム-223、CCR5アンタゴニスト、Srcキナーゼインヒビター、COX-2インヒビター、mTORインヒビターおよびカテプシンKインヒビターからなる群より選択される方法に関する。

40

## 【0149】

特定の実施形態において、骨リモデリングを回避および/または予防する薬剤(骨分解

50

を回避または予防する薬剤を含む)を被験体に投与する。実施形態において、骨分解を回避または予防する薬剤を被験体に投与する。

【0150】

サンプル中の c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを測定し、対照サンプルと比較したら、被験体の閉経状態と組み合わせた前記遺伝子の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインは、被験体が、転移、再燃もしくは再発を予防(被験体が転移をまだ経ていない場合)および/もしくは処置(被験体が転移を既に経験している場合)することを目的とする治療、ならびにまたは骨リモデリングを回避もしくは予防することを意図する治療もしくは薬剤を受けることを許容されるかを示す。

【0151】

いくつかの実施形態において、F I S Hを使用して測定した場合の細胞当たりのM A Fのコピー数またはM A Fの平均コピー数 2 . 1、2 . 2、2 . 3、2 . 4、2 . 5、2 . 6、2 . 7、2 . 8、2 . 9または3 . 0は、高い値とみなされる。実施形態において、M A F F I S H値は、2 . 2である。特定の実施形態において、M A F F I S H値は、2 . 3である。他の実施形態において、M A F F I S H値は、2 . 4である。さらなる実施形態において、M A F F I S H値は、2 . 5である。他の実施形態において、F I S Hを使用して測定した場合のc - M A Fのコピー数は、< 2 . 1、2 . 2、2 . 3、2 . 4、2 . 5、2 . 6、2 . 7、2 . 8、2 . 9コピーのc - M A F遺伝子である。

10

【0152】

特定の実施形態において、被験体は転移を有するか、または転移を経験する予後を有する。いくつかの実施形態において、転移は、骨転移である。さらなる実施形態において、骨転移は、溶骨性転移である。

20

【0153】

いくつかの実施形態において、前記方法は、第1の工程において、乳がんを患っている被験体の腫瘍サンプル中のc - M A F遺伝子発現レベル、コピー数、ゲインまたは増幅を定量することを含む。

【0154】

いくつかの実施形態において、サンプルは、被験体の原発性腫瘍組織サンプルである。第2の工程において、被験体の腫瘍サンプル中の得られたc - M A F遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを、対照サンプル中の前記遺伝子の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインと比較する。c - M A F遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの決定は、対照サンプルまたは基準サンプルの値に関連していなければならない。分析すべき腫瘍のタイプに応じて、対照サンプルの正確な性質は変動し得る。したがって、いくつかの実施形態において、基準サンプルは、転移、再燃もしくは再発していない乳がんを有する被験体の腫瘍組織サンプル、または転移、再燃もしくは再発していない乳がんを有する被験体の生検サンプル中の腫瘍組織コレクションにおいて測定されたc - M A F遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの中央値に対応する乳がんを有する被験体の腫瘍組織サンプルである。

30

【0155】

一実施形態において、本発明の方法は、第2の工程において、被験体由来の腫瘍サンプル(限定されないが、原発性腫瘍生検、循環腫瘍細胞および循環腫瘍D N Aを含む)中の得られたc - M A F遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを、対照サンプル中の前記遺伝子の発現レベルと比較することを含む。

40

【0156】

c - M A F遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの決定は、対照サンプルまたは基準サンプルの値に相関させなければならない。分析すべき腫瘍のタイプに応じて、対照サンプルの正確な性質は変動し得る。したがって、診断を評価すべき場合において、基準サンプルは、転移していない乳がんを有する被験体由来の腫瘍組織サンプル、または転移していない乳がんを有する被験体由来の生検サンプル中の腫瘍組織コレクションにお

50

いて測定された c - M A F 遺伝子発現レベルの中央値に対応する乳がんを有する被験体由来の腫瘍組織サンプルである。

【 0 1 5 7 】

前記基準サンプルは、典型的には、被験体集団由来の等量のサンプルを合わせることで得られる。一般に、典型的な基準サンプルは、臨床的に十分に記録されており、かつ転移の非存在が十分に特徴付けられている被験体から得られるであろう。このようなサンプルでは、バイオマーカー（c - M A F 遺伝子）の正常濃度（基準濃度）は、例えば、基準集団の平均濃度を提供することによって決定され得る。マーカーの基準濃度を決定する場合、様々な検討事項が考慮に入れられる。このような検討事項は、患者の年齢、体重、性別、全般的な身体状態などである。例えば、前記検討事項にしたがって、例えば、様々な年齢カテゴリーにしたがって分類された等量の少なくとも約 2、少なくとも約 10、少なくとも約 20、少なくとも約 25、少なくとも約 50、少なくとも約 75、少なくとも約 100、少なくとも約 250、少なくとも約 500 から約 1000 超の被験体の群を参照群とする。基準レベルが由来するサンプルコレクションは、好ましくは、研究の患者対象と同じタイプのがん（例えば、乳がん）を患っている被験体によって形成されるであろう。同様に、患者のコホート内の基準値は、受信者動作曲線（ROC）を使用し、すべての感度（all de sensitivity）および特異性ペアについて曲線下面積を測定して、どのペアが最良値を提供するか、および対応する基準値が何であるかを決定することによって確立され得る。ROC は、標準的な統計的概念である。説明は、Stuart G. Baker “The Central Role of Receiver Operating Characteristic (ROC) curves in Evaluating Tests for the Early Detection of Cancer” Journal of The National Cancer Institute (2003) Vol 95, No. 7, 511 - 515 に見られ得る。

10

20

【 0 1 5 8 】

この中央値または基準値を確立したら、この中央値を有する患者由来の腫瘍組織において発現されるこのマーカーのレベルを比較して、例えば「増加している」発現レベルに割り当て得る。被験体間の変動性（例えば、年齢、人種などに関する態様）により、c - M A F 発現の絶対基準値を確立することは（事実上不可能ではないが）非常に困難である。したがって、特定の実施形態において、c - M A F 発現の「増加している」または「減少している」発現の基準値は、上記方法のいずれかによって c - M A F 発現レベルについてその疾患が十分に記録されている被験体から単離された 1 つまたは複数のサンプルにおいてアッセイを実施することを伴う従来手段によって、パーセンタイルを計算することによって決定される。次いで、好ましくは、「減少している」c - M A F レベルを、c - M A F 発現レベルが正常集団の 50 パーセンタイルに等しいかまたはそれ未満である（例えば、正常集団の 60 パーセンタイルに等しいかまたはそれ未満である発現レベル、正常集団の 70 パーセンタイルに等しいかまたはそれ未満である発現レベル、正常集団の 80 パーセンタイルに等しいかまたはそれ未満である発現レベル、および正常集団の 95 パーセンタイルに等しいかまたはそれ未満である発現レベルを含む）サンプルに割り当て得る。次いで、好ましくは、「増加している」c - M A F 遺伝子発現レベルを、c - M A F 遺伝子発現レベルが正常集団の 50 パーセンタイルに等しいかまたはそれを超える（例えば、正常集団の 60 パーセンタイルに等しいかまたはそれを超える発現レベル、正常集団の 70 パーセンタイルに等しいかまたはそれを超える発現レベル、正常集団の 80 パーセンタイルに等しいかまたはそれを超える発現レベル、正常集団の 90 パーセンタイルに等しいかまたはそれを超える発現レベル、および正常集団の 95 パーセンタイルに等しいかまたはそれを超える発現レベルを含む）サンプルに割り当て得る。

30

40

【 0 1 5 9 】

特定の実施形態において、c - M A F 遺伝子の増幅またはゲインの程度は、前記遺伝子

50

を含有する染色体領域の増幅またはゲインを決定することによって決定され得る。好ましくは、その増幅またはゲインが c - M A F 遺伝子の増幅またはゲインの存在を示す染色体領域は、c - M A F 遺伝子を含む遺伝子座 1 6 q 2 2 - q 2 4 である。遺伝子座 1 6 q 2 2 - q 2 4 は、1 6 番染色体、前記染色体の長腕、およびバンド 2 2 とバンド 2 4 の間の範囲に位置する。この領域は、N C B I データベースにおいて、コンティグ N T \_ 0 1 0 4 9 8 . 1 5 および N T \_ 0 1 0 5 4 2 . 1 5 に対応する。別の好ましい実施形態において、c - M A F 遺伝子の増幅またはゲインの程度は、前記遺伝子に特異的なプローブを使用して決定され得る。

#### 【 0 1 6 0 】

いくつかの実施形態において、増幅またはゲインは、1 6 q 2 3 遺伝子座の領域にある。いくつかの実施形態において、増幅またはゲインは、1 6 番染色体 7 9 , 3 9 2 , 9 5 9 b p ~ 7 9 , 6 6 3 , 8 0 6 b p ( セントロメアからテロメアまで ) の染色体領域の任意の部分にある。いくつかの実施形態において、増幅またはゲインは、1 6 番染色体 7 9 , 3 9 2 , 9 5 9 b p ~ 7 9 , 6 6 3 , 8 0 6 b p のゲノム領域 ( ただし、DNA 反復エレメントを除く ) にある。いくつかの実施形態において、増幅またはゲインは、その領域に特異的なプローブを使用して測定される。

10

#### 【 0 1 6 1 】

実施形態において、c - M A F 遺伝子コピー数が、基準サンプルまたは対照サンプルが有するコピー数よりも多い場合、c - M A F 遺伝子は、基準遺伝子コピー数に対して増幅されている。一例において、c - M A F 遺伝子のゲノムコピー数または平均ゲノムコピー数が、試験サンプルにおいて、対照サンプルと比べて少なくとも約 2 - ( すなわち、6 コピー )、3 - ( すなわち、8 コピー )、4 -、5 -、6 -、7 -、8 -、9 -、1 0 -、1 5 -、2 0 -、2 5 -、3 0 -、3 5 -、4 0 -、4 5 - または 5 0 倍増加している場合、c - M A F 遺伝子は、「増幅されている」といわれる。別の例において、細胞当たりの c - M A F 遺伝子のゲノムコピー数または平均ゲノムコピー数が、少なくとも約 2 . 1、2 . 2、2 . 3、2 . 4、2 5 .、2 . 6、2 . 7、2 . 8、2 . 9、3、4、5、6、7、8、9、1 0、1 1、1 2、1 3、1 4、1 5、1 6、1 7、1 8、1 9、2 0、2 1、2 2、2 3、2 4、2 5、2 6、2 7、2 8、2 9、3 0 などである場合、c - M A F 遺伝子は、「増幅されている」といわれる。

20

#### 【 0 1 6 2 】

いくつかの実施形態において、コピー数を測定する場合、対照サンプルは、乳がんを有する被験体であって、転移を患っていない被験体の腫瘍サンプル、または乳がんを有する被験体であって、転移を患っていない被験体の生検サンプル中の腫瘍組織コレクションにおいて測定された c - M A F 遺伝子コピー数の中央値に対応する乳がんを有する被験体の腫瘍サンプルを指す。前記基準サンプルは、典型的には、被験体集団由来の等量のサンプルを合わせるによって得られる。c - M A F 遺伝子コピー数が、対照サンプル中の前記遺伝子のコピー数に対して増加している場合、被験体は、転移の陽性診断を有するか、または転移を発症するより強い傾向を有する。別の実施形態において、基準遺伝子コピー数は、骨転移を患っていない被験体由来の乳がんのサンプル中の遺伝子コピー数である。

30

#### 【 0 1 6 3 】

別の実施形態において、増幅またはゲインは、インサイチュールハイブリダイゼーションまたは P C R によって決定される。

40

#### 【 0 1 6 4 】

別の実施形態において、また本発明に記載されるように、c - M A F 遺伝子を含む c h r 1 6 q 2 2 - 2 4 が乳がん細胞において増幅されており、転移、再燃または再発の存在に関連することを考慮すると、c - M A F 遺伝子を含む c h r 1 6 q 2 2 - 2 4 の増幅またはゲインは、前記がんを患っている被験体のための最も適切な治療に関する判断を可能にする。

#### 【 0 1 6 5 】

c - M A F 遺伝子の増幅の決定は、乳がんを有する被験体であって、転移を患っていない

50

い被験体の腫瘍組織サンプルにおいて測定された c - M A F 遺伝子の増幅のレベルに対応する対照サンプルもしくは基準サンプル、または乳がんを有する被験体であって、転移を患っていない被験体の生検サンプル中の腫瘍組織コレクションにおいて測定された c - M A F 遺伝子の増幅の中央値に対応する対照サンプルもしくは基準サンプルの値と相関させることを必要とする。前記基準サンプルは、典型的には、被験体集団由来の等量のサンプルを合わせることによって得られる。

【 0 1 6 6 】

一般に、典型的な基準サンプルは、臨床的に十分に記録されており、かつ転移の非存在が十分に特徴付けられている被験体から得られるであろう。基準レベルが由来するサンプルコレクションは、好ましくは、研究の患者対象と同じタイプのがんを患っている被験体

10

【 0 1 6 7 】

別の態様において、本発明は、乳がんを患っている患者のためのカスタマイズ治療を設計するためのインビトロ方法であって、前記被験体のサンプル中で c - M A F 遺伝子が転座しているかを決定することを含むインビトロ方法に関する。

【 0 1 6 8 】

いくつかの実施形態において、転座遺伝子は、16q23 遺伝子座の領域に由来する。いくつかの実施形態において、転座遺伝子は、16番染色体79, 392, 959bp ~ 79, 663, 806bp (セントロメアからテロメアまで)の染色体領域の任意の部分に由来する。いくつかの実施形態において、転座遺伝子は、16番染色体79, 392, 959bp ~ 79, 663, 806bpのゲノム領域(ただし、DNA反復エレメントを除く)に由来する。いくつかの実施形態において、転座は、その領域に特異的なプローブを使用して測定される。

20

【 0 1 6 9 】

特定の実施形態において、c - M A F 遺伝子の転座は、前記遺伝子を含有する染色体領域の転座を決定することによって決定され得る。一実施形態において、転座は、t(14, 16)転座である。別の実施形態において、転座している染色体領域は、遺伝子座16q22 - q24に由来する。遺伝子座16q22 - q24は、16番染色体、前記染色体の長腕、およびバンド22とバンド24の間の範囲に位置する。この領域は、NCBIデータベースにおいて、コンティグNT\_010498.15およびNT\_010542.15に対応する。c - M A F 遺伝子は、14番染色体の遺伝子座14q32に転座し、転座t(14, 16)(q32, q23)が生じる。この転座は、I g H 遺伝子座における強力なエンハンサーの隣にM A F 遺伝子を配置し、これは、いくつかの場合において、M A F の過剰発現をもたらす(Eychene, A., Rocques, N., and Puoponnnot, C., A new MAFia in cancer. 2008. Nature Reviews: Cancer. 8: 683 - 693.)。

30

【 0 1 7 0 】

実施形態において、c - M A F 遺伝子の転座は、前記転座に特異的なプローブを使用することによって決定され得る。

40

【 0 1 7 1 】

本発明の一実施形態は、第1の工程において、被験体のサンプル中でc - M A F 遺伝子が転座しているかを決定する方法を含む。実施形態において、サンプルは、腫瘍組織サンプルである。

【 0 1 7 2 】

特定の実施形態において、乳がんを有する被験体において骨転移を発症する傾向の予後のための本発明の方法は、c - M A F 遺伝子が転座している前記被験体のサンプル中のc - M A F 遺伝子コピー数を決定すること、および前記コピー数を対照または基準サンプルのコピー数と比較することを含み、c - M A F コピー数が、対照サンプルのc - M A F コ

50

ピー数に対して多い場合、被験体は、骨転移を発症するより強い傾向を有する。

【0173】

いくつかの実施形態において、c - M A F 遺伝子の増幅、ゲインおよびコピー数は、c - M A F 遺伝子の転座が決定された後に決定される。いくつかの実施形態において、プローブは、細胞がc - M A F 遺伝子について倍数体であるかを決定するために使用される。いくつかの実施形態において、倍数性の決定は、目的の遺伝子からの2つを超えるシグナルがあるかを決定することによって行われる。いくつかの実施形態において、倍数性は、目的の遺伝子に特異的なプローブからのシグナルを測定し、それをセントロメアプローブまたは他のプローブと比較することによって決定される。

【0174】

c - M A F を使用して、I D F S を含む生存を予測する方法

本発明は、乳がんを患っている被験体のI D F S を予測することを対象とする。特定の実施形態において、被験体は、c - M A F の高い発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを有する。他の実施形態において、被験体は、c - M A F の低い発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを有する。いくつかの実施形態において、がんは、トリプルネガティブ乳がんである。他の実施形態において、がんは、E R + 乳がんである。さらなる実施形態において、がんは、E R - 乳がんである。特定の実施形態において、がんは、基底様乳がんである。なおさらなる実施形態において、がんは、H E R 2 + 乳がんである。いくつかの実施形態において、被験体は、閉経後である。他の実施形態において、被験体は、非閉経後である。

【0175】

いくつかの実施形態において、本発明は、乳がんを有する患者のI D F S を予測するためのインビトロ方法であって、i ) 前記被験体のサンプル中のc - M A F 遺伝子の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを定量すること、およびi i ) 工程i ) で得られた該発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを基準値と比較することを含み、前記基準値に対する前記遺伝子の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加が、不良なI D F S 予後を示す、インビトロ方法を対象とする。

【0176】

一実施形態において、本発明は、乳がんを有する患者のI D F S を予測するためのインビトロ方法であって、基準と比べた、前記被験体のサンプル中のc - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを決定することを含み、前記基準に対する該c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加が、不良なI D F S 予後を示す、インビトロ方法を対象とする。

【0177】

さらなる実施形態において、本発明は、乳がんを有する患者のI D F S (骨再発を除く) を予測するためのインビトロ方法であって、基準と比べた、前記被験体のサンプル中のc - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを決定することを含み、前記基準に対する該c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加が、不良なI D F S 予後(骨再発を除く)を示す、インビトロ方法を対象とする。

【0178】

いくつかの実施形態において、F I S H を使用して測定した場合の細胞当たりのM A F のコピー数またはM A F の平均コピー数 2 . 1、2 . 2、2 . 3、2 . 4、2 . 5、2 . 6、2 . 7、2 . 8、2 . 9または3 . 0は、高い値とみなされる。特定の実施形態において、M A F F I S H 値は、2 . 2である。他の実施形態において、M A F F I S H 値は、2 . 3である。さらなる実施形態において、M A F F I S H 値は、2 . 4である。なおさらなる実施形態において、M A F F I S H 値は、2 . 5である。

【0179】

いくつかの実施形態において、被験体のc - M A F 状態は、被験体の全生存または無病生存の持続期間を予測する。特定の実施形態において、本明細書の実施形態のいずれかにおけるc - M A F 状態は、1 6 q 2 3 もしくは1 6 q 2 2 - 2 4 染色体遺伝子座の増幅、

10

20

30

40

50

コピーゲインもしくは転座もしくはそれらの欠如、または16q23もしくは16q22-24染色体遺伝子座の欠失を含む。特定の実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体は、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体よりも短い無病生存を有する。実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の無病生存は、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の無病生存よりも少なくとも約1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間、7カ月間、8カ月間、9カ月間、10カ月間、11カ月間、12カ月間、1年間、18カ月間、3年間、4年間、5年間、6年間、7年間、8年間、9年間、10年間または10年間を超えて短い。特定の実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体は、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体よりも短い全生存を有する。実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の全生存は、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の無病生存よりも少なくとも約1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間、7カ月間、8カ月間、9カ月間、10カ月間、11カ月間、12カ月間、1年間、18カ月間、3年間、4年間、5年間、6年間、7年間、8年間、9年間、10年間または10年間を超えて短い。実施形態において、被験体は、閉経後である。他の実施形態において、被験体は、非閉経後である。いくつかの実施形態において、被験体は、閉経前である。

#### 【0180】

実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の無病生存は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の無病生存よりも長い。実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の無病生存は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の無病生存よりも、ゾレドロン酸による処置後において、少なくとも約1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間、7カ月間、8カ月間、9カ月間、10カ月間、11カ月間、12カ月間、1年間、18カ月間、3年間、4年間、5年間、6年間、7年間、8年間、9年間、10年間またはそれを超えて長い。実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の全生存は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の全生存よりも長い。実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の全生存は、ゾレドロン酸による処置後において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の全生存よりも、ゾレドロン酸による処置後において、少なくとも約1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間、5カ月間、6カ月間、7カ月間、8カ月間、9カ月間、10カ月間、11カ月間、12カ月間、1年間、18カ月間、3年間、4年間、5年間、6年間、7年間、8年間、9年間、10年間またはそれを超えて長い。実施形態において、被験体は、閉経後である。他の実施形態において、被験体は、非閉経後である。いくつかの実施形態において、被験体は、閉経前である。

#### 【0181】

実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の無病生存は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは

は予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の無病生存よりも短い。実施形態において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の無病生存は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の無病生存よりも、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、少なくとも約 1 カ月間、2 カ月間、3 カ月間、4 カ月間、5 カ月間、6 カ月間、7 カ月間、8 カ月間、9 カ月間、10 カ月間、11 カ月間、12 カ月間、1 年間、18 カ月間、3 年間、4 年間、5 年間、6 年間、7 年間、8 年間、9 年間、10 年間または 10 年間を超えて短い。実施形態において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の全生存は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の全生存よりも短い。実施形態において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の全生存は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の全生存よりも、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、少なくとも約 1 カ月間、2 カ月間、3 カ月間、4 カ月間、5 カ月間、6 カ月間、7 カ月間、8 カ月間、9 カ月間、10 カ月間、11 カ月間、12 カ月間、1 年間、18 カ月間、3 年間、4 年間、5 年間、6 年間、7 年間、8 年間、9 年間、10 年間または 10 年間を超えて短い。実施形態において、被験体は、閉経後である。他の実施形態において、被験体は、非閉経後である。いくつかの実施形態において、被験体は、閉経前である。

10

20

30

40

50

**【 0 1 8 2 】**

実施形態において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する非閉経後被験体の無病生存は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の無病生存よりも短い。実施形態において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する非閉経後被験体の無病生存は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の無病生存よりも、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、少なくとも約 1 カ月間、2 カ月間、3 カ月間、4 カ月間、5 カ月間、6 カ月間、7 カ月間、8 カ月間、9 カ月間、10 カ月間、11 カ月間、12 カ月間、1 年間、18 カ月間、3 年間、4 年間、5 年間、6 年間、7 年間、8 年間、9 年間、10 年間または 10 年間を超えて短い。

**【 0 1 8 3 】**

実施形態において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の全生存は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の無病生存よりも短い。実施形態において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する被験体の全生存は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない被験体の全生存よりも、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤（すなわち、ゾレドロン酸）による処置後において、少なくとも約 1 カ月間、2 カ月間、3 カ月間、4 カ

月間、5カ月間、6カ月間、7カ月間、8カ月間、9カ月間、10カ月間、11カ月間、12カ月間、1年間、18カ月間、3年間、4年間、5年間、6年間、7年間、8年間、9年間、10年間またはそれを超えて短い。実施形態において、被験体は、閉経後である。他の実施形態において、被験体は、非閉経後である。いくつかの実施形態において、被験体は、閉経前である。

#### 【0184】

実施形態において、被験体のOSまたはDFSに関するMAFの予測力は、被験体の閉経状態に基づく。いくつかの実施形態において、MAFは、より短いDFSまたは最も悪いOSのリスクがある閉経後、不明および閉経周辺期被験体において予測的である。他の実施形態において、閉経前被験体では、MAF陽性被験体はより低リスクの被験体であり、より長いDFSおよびより良好なOSを有する可能性が高い。

10

#### 【0185】

実施形態において、被験体のMAF状態は、被験体が受けるべき処置を予測する。実施形態において、本明細書の実施形態のいずれかにおけるc-MAF状態は、16q23もしくは16q22-24染色体遺伝子座の増幅、コピーゲインもしくは転座もしくはそれらの欠如、または16q23もしくは16q22-24染色体遺伝子座の欠失を含む。実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する（したがって、悪いDFSまたはOS転帰の高いリスクがある）閉経後患者は、本明細書に開示される任意の処置を施され得る。いくつかの実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する（したがって、悪いDFSまたはOS転帰の高いリスクがある）閉経後患者は、標準治療としてのホルモン処置の使用によって処方される5年間を超えてそれらのホルモン処置を延長することによって処置され得る。特定の実施形態において、ホルモン処置は、タモキシフェンおよび/またはアロマターゼインヒビターである。基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない患者は、本明細書に開示される処置を施されるべきではない。

20

#### 【0186】

特定の実施形態において、被験体は転移を有するか、または転移を経験する予後を有する。いくつかの実施形態において、転移は、骨転移である。さらなる実施形態において、骨転移は、溶骨性転移である。

30

#### 【0187】

いくつかの実施形態において、サンプルは、被験体の原発性腫瘍組織サンプルである。第2の工程において、被験体の腫瘍サンプル中の得られたc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを、対照サンプル中の前記遺伝子の発現レベル、コピー数、増幅またはゲインと比較する。c-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの決定は、対照サンプルまたは基準サンプルの値に関連していなければならない。分析すべき腫瘍のタイプに応じて、対照サンプルの正確な性質は変動し得る。したがって、いくつかの実施形態において、基準サンプルは、転移、再燃もしくは再発していない乳がんを有する被験体の腫瘍組織サンプル、または転移、再燃もしくは再発していない乳がんを有する被験体の生検サンプル中の腫瘍組織コレクションにおいて測定されたc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの中央値に対応する乳がんを有する被験体の腫瘍組織サンプルである。

40

#### 【0188】

一実施形態において、本発明の方法は、第2の工程において、被験体由来の腫瘍サンプル（限定されないが、原発性腫瘍生検、循環腫瘍細胞および循環腫瘍DNAを含む）中の得られたc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを、対照サンプル中の前記遺伝子の発現レベルと比較することを含む。

#### 【0189】

乳がんを有する被験体由来の腫瘍組織サンプル、循環腫瘍細胞または循環腫瘍DNA中のc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインを測定し、対照サンプルと

50

比較した後、前記遺伝子の発現レベルが対照サンプル中のその発現レベルに対して増加している場合、前記被験体は、転移の陽性診断を有するか、または転移を発症するより強い傾向を有すると結論され得る。

【0190】

c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの決定は、対照サンプルまたは基準サンプルの値に相関させなければならない。分析すべき腫瘍のタイプに依存して、対照サンプルの正確な性質は変動し得る。したがって、診断を評価すべき場合において、基準サンプルは、転移していない乳がんを有する被験体由来の腫瘍組織サンプル、または転移していない乳がんを有する被験体由来の生検サンプル中の腫瘍組織コレクションにおいて測定された c - M A F 遺伝子発現レベルの中央値に対応する乳がんを有する被験体由来の腫瘍組織サンプルである。

10

【0191】

前記基準サンプルは、典型的には、被験体集団由来の等量のサンプルを合わせることで得られる。一般に、典型的な基準サンプルは、臨床的に十分に記録されており、かつ転移の非存在が十分に特徴付けられている被験体から得られるであろう。このようなサンプルでは、バイオマーカー（c - M A F 遺伝子）の正常濃度（基準濃度）は、例えば、基準集団の平均濃度を提供することによって決定され得る。マーカーの基準濃度を決定する場合、様々な検討事項が考慮に入れられる。このような検討事項は、患者の年齢、体重、性別、全般的な身体状態などである。例えば、前記検討事項にしたがって、例えば、様々な年齢カテゴリーにしたがって分類された等量の少なくとも約 2、少なくとも約 10、少なくとも約 20、少なくとも約 25、少なくとも約 50、少なくとも約 75、少なくとも約 100、少なくとも約 250、少なくとも約 500 から約 1000 超の被験体の群を参照群とする。基準レベルが由来するサンプルコレクションは、好ましくは、研究の患者対象と同じタイプのがん（例えば、乳がん）を患っている被験体によって形成されるであろう。同様に、患者のコホート内の基準値は、受信者動作曲線（ROC）を使用し、すべての感度（all de sensitivity）および特異性ペアについて曲線下面積を測定して、どのペアが最良値を提供するか、および対応する基準値が何であるかを決定することによって確立され得る。ROC は、標準的な統計的概念である。説明は、Stuart G. Baker "The Central Role of Receiver Operating Characteristic (ROC) curves in Evaluating Tests for the Early Detection of Cancer" Journal of The National Cancer Institute (2003) Vol 95, No. 7, 511 - 515 に見られ得る。

20

30

【0192】

この中央値または基準値を確立したら、この中央値を有する患者由来の腫瘍組織において発現されるこのマーカーのレベルを比較して、例えば「増加している」発現レベルに割り当て得る。被験体間の変動性（例えば、年齢、人種などに関する態様）により、c - M A F 発現の絶対基準値を確立することは（事実上不可能ではないが）非常に困難である。したがって、特定の実施形態において、c - M A F 発現の「増加している」または「減少している」発現の基準値は、上記方法のいずれかによって c - M A F 発現レベルについてその疾患が十分に記録されている被験体から単離された 1 つまたは複数のサンプルにおいてアッセイを実施することを伴う従来手段によって、パーセンタイルを計算することによって決定される。次いで、好ましくは、「減少している」c - M A F レベルを、c - M A F 発現レベルが正常集団の 50 パーセンタイルに等しいかまたはそれ未満である（例えば、正常集団の 60 パーセンタイルに等しいかまたはそれ未満である発現レベル、正常集団の 70 パーセンタイルに等しいかまたはそれ未満である発現レベル、正常集団の 80 パーセンタイルに等しいかまたはそれ未満である発現レベル、正常集団の 90 パーセンタイルに等しいかまたはそれ未満である発現レベル、および正常集団の 95 パーセンタイルに等しいかまたはそれ未満である発現レベルを含む）サンプルに割り当て得る。次いで、好

40

50

ましくは、「増加している」c-MAF遺伝子発現レベルを、c-MAF遺伝子発現レベルが正常集団の50パーセントに等しいかまたはそれを超える（例えば、正常集団の60パーセントに等しいかまたはそれを超える発現レベル、正常集団の70パーセントに等しいかまたはそれを超える発現レベル、正常集団の80パーセントに等しいかまたはそれを超える発現レベル、正常集団の90パーセントに等しいかまたはそれを超える発現レベル、および正常集団の95パーセントに等しいかまたはそれを超える発現レベルを含む）サンプルに割り当て得る。

#### 【0193】

特定の実施形態において、c-MAF遺伝子の増幅またはゲインの程度は、前記遺伝子を含む染色体領域の増幅またはゲインを決定することによって決定され得る。好ましくは、その増幅またはゲインがc-MAF遺伝子の増幅またはゲインの存在を示す染色体領域は、c-MAF遺伝子を含む遺伝子座16q22-q24である。遺伝子座16q22-q24は、16番染色体、前記染色体の長腕、およびバンド22とバンド24の間の範囲に位置する。この領域は、NCBIデータベースにおいて、コンティグNT\_010498.15およびNT\_010542.15に対応する。実施形態において、c-MAF遺伝子の増幅またはゲインの程度は、前記遺伝子に特異的なプローブを使用して決定され得る。

10

#### 【0194】

コピー数を測定する場合、対照サンプルは、乳がんを有する被験体であって、転移を患っていない被験体の腫瘍サンプル、または乳がんを有する被験体であって、転移を患っていない被験体の生検サンプル中の腫瘍組織コレクションにおいて測定されたc-MAF遺伝子コピー数の中央値に対応する乳がんを有する被験体の腫瘍サンプルを指す。前記基準サンプルは、典型的には、被験体集団由来の等量のサンプルを合わせることによって得られる。c-MAF遺伝子コピー数が、対照サンプル中の前記遺伝子のコピー数に対して増加している場合、被験体は、転移の陽性診断を有するか、または転移を発症するより強い傾向を有する。実施形態において、細胞当たりの平均コピー数としてコピー数を決定する。

20

#### 【0195】

いくつかの実施形態において、増幅またはゲインは、16q23遺伝子座の領域にある。いくつかの実施形態において、増幅またはゲインは、16番染色体79,392,959bp~79,663,806bp（セントロメアからテロメアまで）の染色体領域の任意の部分にある。いくつかの実施形態において、増幅またはゲインは、16番染色体79,392,959bp~79,663,806bpのゲノム領域（ただし、DNA反復エレメントを除く）にある。いくつかの実施形態において、増幅またはゲインは、その領域に特異的なプローブを使用して測定される。

30

#### 【0196】

実施形態において、c-MAF遺伝子コピー数が、基準サンプルまたは対照サンプルが有するコピー数よりも多い場合、c-MAF遺伝子は、基準遺伝子コピー数に対して増幅されている。一例において、c-MAF遺伝子のゲノムコピー数または平均ゲノムコピー数が、試験サンプルにおいて、対照サンプルと比べて少なくとも約2-、3-、4-、5-、6-、7-、8-、9-、10-、15-、20-、25-、30-、35-、40-、45-または50倍増加している場合、c-MAF遺伝子は、「増幅されている」といわれる。別の例において、細胞当たりのc-MAF遺伝子のゲノムコピー数または平均ゲノムコピー数が、少なくとも約2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30などである場合、c-MAF遺伝子は、「増幅されている」といわれる。

40

#### 【0197】

別の実施形態において、基準遺伝子コピー数は、骨転移を患っていない被験体由来の乳がんのサンプル中の遺伝子コピー数である。

50

## 【0198】

別の実施形態において、増幅またはゲインは、インサイチュールハイブリダイゼーションまたはPCRによって決定される。

## 【0199】

別の実施形態において、また本発明に記載されるように、c-MAF遺伝子を含むchr16q22-24が乳がん細胞において増幅されており、転移、再燃または再発の存在に関連することを考慮すると、c-MAF遺伝子を含むchr16q22-24の増幅またはゲインは、前記がんを患っている被験体のための最も適切な治療に関する判断を可能にする。

## 【0200】

c-MAF遺伝子の増幅の決定は、乳がんを有する被験体であって、転移を患っていない被験体の腫瘍組織サンプルにおいて測定されたc-MAF遺伝子の増幅のレベルに対応する対照サンプルもしくは基準サンプル、または乳がんを有する被験体であって、転移を患っていない被験体の生検サンプル中の腫瘍組織コレクションにおいて測定されたc-MAF遺伝子の増幅の中央値に対応する対照サンプルもしくは基準サンプルの値と相関させることを必要とする。前記基準サンプルは、典型的には、被験体集団由来の等量のサンプルを合わせることで得られる。

## 【0201】

一般に、典型的な基準サンプルは、臨床的に十分に記録されており、かつ転移の非存在が十分に特徴付けられている被験体から得られるであろう。基準レベルが由来するサンプルコレクションは、好ましくは、研究の患者対象と同じタイプのがんを患っている被験体で構成されるであろう。この中央値を確立したら、患者の腫瘍組織中のc-MAFの増幅のレベルをこの中央値と比較し得、増幅がある場合、被験体は、転移の陽性診断を有するか、または転移を発症するより強い傾向を有する。

## 【0202】

別の態様において、本発明は、前記被験体のサンプル中でc-MAF遺伝子が転座しているかを決定することに関する。

## 【0203】

いくつかの実施形態において、転座遺伝子は、16q23遺伝子座の領域に由来する。いくつかの実施形態において、転座遺伝子は、16番染色体79,392,959bp~79,663,806bp(セントロメアからテロメアまで)の染色体領域の任意の部分に由来する。いくつかの実施形態において、転座遺伝子は、16番染色体79,392,959bp~79,663,806bpのゲノム領域(ただし、DNA反復エレメントを除く)に由来する。いくつかの実施形態において、転座は、その領域に特異的なプローブを使用して測定される。

## 【0204】

特定の実施形態において、c-MAF遺伝子の転座は、前記遺伝子を含有する染色体領域の転座を決定することによって決定され得る。一実施形態において、転座は、t(14,16)転座である。別の実施形態において、転座している染色体領域は、遺伝子座16q22-q24に由来する。遺伝子座16q22-q24は、16番染色体、前記染色体の長腕、およびバンド22とバンド24の間の範囲に位置する。この領域は、NCBIデータベースにおいて、コンティグNT\_010498.15およびNT\_010542.15に対応する。いくつかの実施形態において、c-MAF遺伝子は、14番染色体の遺伝子座14q32に転座し、転座t(14,16)(q32,q23)が生じる。この転座は、IgH遺伝子座における強力なエンハンサーの隣にMAF遺伝子を配置し、これは、いくつかの場合において、MAFの過剰発現をもたらす(Eychene, A., Rocques, N., and Puoponnot, C., A new MAFia in cancer. 2008. Nature Reviews: Cancer. 8: 683-693.)。

## 【0205】

10

20

30

40

50

実施形態において、c - M A F 遺伝子の転座は、前記転座に特異的なプローブを使用することによって決定され得る。

【0206】

本発明の一実施形態は、第1の工程において、被験体のサンプル中でc - M A F 遺伝子が転座しているかを決定する方法を含む。実施形態において、サンプルは、腫瘍組織サンプルである。

【0207】

特定の実施形態において、乳がんを有する被験体において骨転移を発症する傾向の予後のための本発明の方法は、c - M A F 遺伝子が転座している前記被験体のサンプル中のc - M A F 遺伝子コピー数を決定すること、および前記コピー数を対照または基準サンプルのコピー数と比較することを含み、c - M A F コピー数が、対照サンプルのc - M A F コピー数に対して多い場合、被験体は、骨転移を発症するより強い傾向を有する。

10

【0208】

c - M A F 遺伝子または染色体領域16q22 - q24が転座しているかを決定するための方法は当該分野の技術水準において広く公知であり、c - M A F の増幅について先に記載されているものが挙げられる。前記方法としては、インサイチューハイブリダイゼーション(I S H) (例えば、蛍光インサイチューハイブリダイゼーション(F I S H)、発色インサイチューハイブリダイゼーション(C I S H)または銀インサイチューハイブリダイゼーション(S I S H))、ゲノム比較ハイブリダイゼーションまたはポリメラーゼ連鎖反応(例えば、リアルタイム定量的P C R)が挙げられるが、これらに限定されない。任意のI S H法について、増幅、ゲイン、コピー数または転座は、染色体または核における蛍光の点、有色の点または銀を有する点の数をカウントすることによって決定され得る。他の実施形態において、コピー数変化および転座の検出は、ホールゲノムシーケンシング、エクソームシーケンシングの使用によって、または任意のP C R 派生技術の使用によって検出され得る。例えば、P C R は、転座を検出するために、ゲノムD N A のサンプルにおいて実施され得る。一実施形態において、定量的P C R が使用される。一実施形態において、P C R は、c - M A F 遺伝子に特異的なプライマーと、I G H プロモーター領域に特異的なプライマーとを用いて実施される；産物が生成される場合、転座が起こっている。

20

【0209】

いくつかの実施形態において、c - M A F 遺伝子の増幅、ゲインおよびコピー数は、c - M A F 遺伝子の転座が決定された後に決定される。いくつかの実施形態において、プローブは、細胞がc - M A F 遺伝子について倍数体であるかを決定するために使用される。いくつかの実施形態において、倍数性の決定は、目的の遺伝子からの2つを超えるシグナルがあるかを決定することによって行われる。いくつかの実施形態において、倍数性は、目的の遺伝子に特異的なプローブからのシグナルを測定し、それをセントロメアプローブまたは他のプローブと比較することによって決定される。

30

【0210】

c - M A F 発現、コピー数、増幅、ゲインおよび転座を測定する方法

いくつかの実施形態において、c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅、ゲインまたは転座は、当該分野で公知のまたは本明細書に記載される任意の方法を使用して測定される。

40

【0211】

c - M A F タンパク質発現レベルは、被験体由来のサンプル中の前記タンパク質を検出および定量することを可能にする任意の従来の方法によって定量され得る。非限定的な例示として、前記タンパク質レベルは、例えば、c - M A F 結合能力を有する抗体(または、抗原決定基を含有するそのフラグメント)を使用し、続いて、形成された複合体を定量することによって定量され得る。これらのアッセイにおいて使用される抗体は、標識されていてもよいし、または標識されていなくてもよい。使用され得るマーカーの実例としては、放射性同位体、酵素、フルオロフォア、化学発光試薬、酵素基質または補因子、酵素

50

インヒビター、粒子、色素などが挙げられる。本発明において使用され得る広範な公知の  
 アッセイであって、非標識抗体（一次抗体）および標識抗体（二次抗体）を使用するアッ  
 セイがある；これらの技術としては、ウエスタンブロットまたはウエスタントランスファ  
 ー、E L I S A（酵素結合免疫吸着測定法）、R I A（ラジオイムノアッセイ）、競合E  
 I A（競合酵素免疫測定法）、D A S - E L I S A（二重抗体サンドイッチE L I S A）  
 、免疫細胞化学的および免疫組織化学的技術、特異的抗体を含むタンパク質マイクロアレ  
 イもしくはバイオチップの使用に基づく技術、またはディップスティックなどの形式での  
 コロイド沈殿に基づくアッセイが挙げられる。前記c - M A Fタンパク質を検出および定  
 量するための他の方法としては、アフィニティークロマトグラフィー技術、リガンド結合  
 アッセイなどが挙げられる。免疫学的方法が使用される場合、高い親和性でc - M A F  
 タンパク質に結合することが公知の任意の抗体または試薬が、その量を検出するために使用  
 され得る。これとしては、抗体、例えばポリクローナル血清、ハイブリドーマの上清また  
 はモノクローナル抗体、抗体フラグメント、F v、F a b、F a b'およびF ( a b' )  
 2、s c F v、ヒト化ダイアボディ ( d i a b o d y )、トリアボディ ( t r i a b o d  
 y )、テトラボディ ( t e t r a b o d y )、抗体、ナノボディ ( n a n o b o d y )、  
 アルファボディ ( a l p h a b o d y )、ステーブルドペプチド ( s t a p l e d p e  
 p t i d e ) およびシクロペプチドの使用が挙げられるが、これらに限定されない。本発  
 明の文脈において使用され得る市販の抗c - M A Fタンパク質抗体、例えば抗体a b 4 2  
 7、a b 5 5 5 0 2、a b 5 5 5 0 2、a b 7 2 5 8 4、a b 7 6 8 1 7、a b 7 7 0 7  
 1 ( A b c a m p l c , 3 3 0 S c i e n c e P a r k , C a m b r i d g e C  
 B 4 0 F L , U n i t e d K i n g d o m )、A b D S e r o t e c の O 7 5 4 4  
 4モノクローナル抗体 ( M o u s e A n t i - H u m a n M A F A z i d e f r  
 e e M o n o c l o n a l a n t i b o d y , U n c o n j u g a t e d , C l o n  
 e 6 b 8 ) などがある。抗c - M A F抗体を提供する多くの営利会社、例えばA b n o  
 v a C o r p o r a t i o n、B e t h y l L a b o r a t o r i e s、B i o w o  
 r l d T e c h n o l o g y、G e n e T e x などがある。

#### 【0212】

いくつかの実施形態において、c - M A Fタンパク質レベルは、抗原結合メンバーまた  
 はそのフラグメントによって検出される。いくつかの実施形態において、結合メンバーは  
 、ヒトc - M A Fに結合する抗原結合分子またはそのフラグメントであり、抗体結合分子  
 またはそのフラグメントは、配列番号21のアミノ酸配列と少なくとも約70%、約75  
 %、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%もしくは約100%同一の重鎖  
 C D R 1、および/もしくは配列番号22のアミノ酸配列と少なくとも約70%、約75  
 %、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%もしくは約100%同一の重鎖  
 C D R 2、および/もしくは配列番号23のアミノ酸配列と少なくとも約70%、約75  
 %、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%もしくは約100%同一の重鎖  
 C D R 3を含み、ならびに/または配列番号18のアミノ酸配列と少なくとも約70%、  
 約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%または約100%同一の  
 軽鎖C D R 1、および/もしくは配列番号19のアミノ酸配列と少なくとも約70%、約  
 75%、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%または約100%同一の軽  
 鎖C D R 2、および/もしくは配列番号20のアミノ酸配列と少なくとも約70%、約7  
 5%、約80%、約85%、約90%、約95%、約99%または約100%同一の軽鎖  
 C D R 3を含む。

#### 【0213】

いくつかの態様において、抗体またはそのフラグメントは、配列番号15のアミノ酸配  
 列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85  
 %、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約99%、少なくとも約99  
 %、または少なくとも約100%同一の配列を有するV<sub>H</sub>ドメインを含む。

#### 【0214】

いくつかの実施形態において、抗原結合分子またはそのフラグメントは、配列番号17

のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約99%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%同一の配列を有するV<sub>L</sub>ドメインを含む。

【0215】

いくつかの実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、配列番号14のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約99%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%同一の重鎖配列を含む。

【0216】

いくつかの実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、配列番号16のアミノ酸配列と少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約99%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%同一の軽鎖配列を含む。

10

【0217】

いくつかの実施形態において、抗原結合分子またはそのフラグメントは、抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、ウサギ抗体、マウス抗体、キメラ抗体またはヒト化抗体である。一態様において、本発明は、配列番号24によってコードされるエピトープに特異的に結合する結合メンバー、機能的フラグメント、抗体またはそのバリエーションを対象とする。いくつかの実施形態において、抗体は、国際特許出願第PCT/IB2015/059562号（これは、その全体が参照により本明細書中に援用される）に記載されている任意の抗体である。

20

【0218】

特定の実施形態において、c-MAFタンパク質レベルは、ウエスタンブロット、免疫組織化学、ELISAまたはタンパク質アレイによって定量される。

【0219】

当業者によって理解されているように、遺伝子発現レベルは、前記遺伝子の、または前記遺伝子によってコードされるタンパク質のメッセンジャーRNAレベルを測定することによって定量され得る。いくつかの実施形態において、遺伝子発現レベルは、当該分野で公知の任意の手段によって定量され得る。

【0220】

この目的のために、生物学的サンプルを処置して、組織または細胞構造を物理的または機械的に破壊し、細胞内構成要素を核酸調製用の水溶液または有機溶液中に放出させ得る。核酸は、当業者に公知の市販の方法によって抽出される（Sambroock, Jら、"Molecular cloning: a Laboratory Manual", 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y., Vol. 1-3.）。

30

【0221】

したがって、c-MAF遺伝子発現レベルは、前記遺伝子の転写から生じるRNA（メッセンジャーRNAまたはmRNA）から、またはあるいは前記遺伝子の相補的DNA（cDNA）から定量され得る。したがって、本発明の特定の実施形態において、c-MAF遺伝子発現レベルの定量は、c-MAF遺伝子のメッセンジャーRNAもしくは前記mRNAのフラグメント、c-MAF遺伝子の相補的DNAもしくは前記cDNAのフラグメントまたはそれらの混合物の定量を含む。

40

【0222】

c-MAF遺伝子によってコードされるmRNAレベルまたはその対応するcDNAのmRNAレベルを検出および定量するために、実質的に任意の従来の方法が本発明の範囲内で使用され得る。非限定的な例示として、前記遺伝子によってコードされるmRNAレベルは、従来の方法、例えば、mRNA増幅および前記mRNA増幅産物の定量を含む方法、例えば電気泳動および染色を使用して、またはあるいはサザンブロットおよび適切なプローブの使用、ノーザンブロットおよび目的の遺伝子（c-MAF）のmRNAまたは

50

その対応する cDNA の特異的プローブの使用、S1ヌクレアーゼを用いたマッピング、RT-PCR、ハイブリダイゼーション、マイクロアレイなどによって、好ましくは、適切なマーカーを使用したリアルタイム定量的PCRによって定量され得る。同様に、c-MAF 遺伝子によってコードされる mRNA に対応する cDNA レベルもまた、従来の技術を使用することによって定量され得る；この場合、本発明の方法は、対応する mRNA の逆転写 (RT) によって対応する cDNA を合成し、続いて増幅し、前記 cDNA 増幅産物を定量するための工程を含む。発現レベルを定量するための従来の方法は、例えば、Sambrookら、2001 (前掲) に見られ得る。これらの方法は当該分野で公知であり、当業者であれば、各技術に必要な正規化に精通している。例えば、多重PCRを使用して生成された発現測定値は、測定された遺伝子の発現をいわゆる「ハウスキーピング」遺伝子 (その発現は、すべてのサンプルで一定であるので、比較のためのベースライン発現を提供するはずである) または発現ががんによってモジュレートされることが公知の他の対照遺伝子と比較することによって正規化されるべきである。

10

**【0223】**

特定の実施形態において、c-MAF 遺伝子発現レベルは、定量的ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) または DNA、RNA アレイまたはヌクレオチドハイブリダイゼーション技術によって定量される。

**【0224】**

加えて、c-MAF 遺伝子発現レベルはまた、前記遺伝子によってコードされるタンパク質 (すなわち、c-MAF タンパク質 (c-MAF) [NCBI, アクセション番号 O75444]) または c-MAF タンパク質の任意の機能的に等価なバリエーションの発現レベルを定量することによって定量され得る。2つの c-MAF タンパク質アイソフォーム (403 アミノ酸で構成される アイソフォーム (NCBI, NP\_005351.2) (配列番号4) および 373 アミノ酸で構成される アイソフォーム (NP\_001026974.1) (配列番号5)) がある。c-MAF 遺伝子発現レベルは、c-MAF タンパク質アイソフォームのいずれかの発現レベルを定量することによって定量され得る。したがって、特定の実施形態において、c-MAF 遺伝子によってコードされるタンパク質のレベルの定量は、c-MAF タンパク質の定量を含む。

20

**【0225】**

c-MAF 遺伝子または染色体領域 16q22-q24 が増幅されているかを決定するための方法は、当該分野の技術水準において広く公知である。前記方法としては、インサイチュハイブリダイゼーション (ISH) (例えば、蛍光インサイチュハイブリダイゼーション (FISH)、発色インサイチュハイブリダイゼーション (CISH) または銀インサイチュハイブリダイゼーション (SISH))、ゲノム比較ハイブリダイゼーションまたはポリメラーゼ連鎖反応 (例えば、リアルタイム定量的PCR) が挙げられるが、これらに限定されない。任意の ISH 法について、増幅、ゲインまたはコピー数は、染色体または核における蛍光の点、有色の点または銀を有する点の数をカウントすることによって決定され得る。

30

**【0226】**

蛍光インサイチュハイブリダイゼーション (FISH) は、染色体における特定の DNA 配列の存在または非存在を検出および位置決定するために使用される細胞遺伝学的技術である。FISH は、高度な配列類似性を示す染色体の一部にのみ結合する蛍光プローブを使用する。典型的な FISH 法では、DNA プローブは、典型的には、fluor-dUTP、ジゴキシゲニン-dUTP、ピオチン-dUTP または ハプテン-dUTP (これは、ニックトランスレーションまたは PCR などの酵素反応を使用して DNA に組み込まれる) の形態の蛍光分子またはハプテンで標識される。遺伝物質 (染色体) を含有するサンプルをスライドガラス上に置き、ホルムアミド処理によって変性させる。次いで、当業者によって決定される適切な条件下で、標識プローブを、遺伝物質を含有するサンプルとハイブリダイズさせる。ハイブリダイゼーションの後、サンプルを直接的 (フッ素で標識されたプローブの場合) または間接的に (ハプテンを検出するための蛍光標識抗体を使用

40

50

) 観察する。

【0227】

CISHの場合、ジゴキシゲニン、ビオチンまたはフルオレセインでプローブを標識し、適切な条件で、遺伝物質を含有するサンプルとハイブリダイズさせる。

【0228】

c-MAF遺伝子または染色体領域16q22-q24が転座しているかを決定するための方法は当該分野の技術水準において広く公知であり、c-MAFの増幅について先に記載されているものが挙げられる。前記方法としては、インサイチュウハイブリダイゼーション(IISH)(例えば、蛍光インサイチュウハイブリダイゼーション(FISH)、発色インサイチュウハイブリダイゼーション(CISH)または銀インサイチュウハイブリダイゼーション(SISH))、ゲノム比較ハイブリダイゼーションまたはポリメラーゼ連鎖反応(例えば、リアルタイム定量的PCR)が挙げられるが、これらに限定されない。任意のIISH法について、増幅、ゲイン、コピー数または転座は、染色体または核における蛍光の点、有色の点または銀を有する点の数をカウントすることによって決定され得る。他の実施形態において、コピー数変化および転座の検出は、ホールゲノムシーケンシング、エクソームシーケンシングの使用によって、または任意のPCR派生技術の使用によって検出され得る。例えば、PCRは、転座を検出するために、ゲノムDNAのサンプルにおいて実施され得る。一実施形態において、定量的PCRが使用される。一実施形態において、PCRは、c-MAF遺伝子に特異的なプライマーと、IGHプロモーター領域に特異的なプライマーとを用いて実施される；産物が生成される場合、転座が起こっている。

10

20

【0229】

本発明の方法において使用されるプローブを標識するために、DNAに結合し得る任意のマーキング分子または標識分子を使用して、核酸分子の検出を可能にし得る。標識するための標識の例としては、放射性同位体、酵素基質、補因子、リガンド、化学発光剤、フルオロフォア、ハプテン、酵素およびそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。標識するための方法および異なる目的のための適切な標識を選択するためのガイドラインは、例えば、Sambrookら、(Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York, 1989)およびAusubelら、(In Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, New York, 1998)に見られ得る。

30

【0230】

いくつかの実施形態において、本発明のプローブは、二色プローブである。いくつかの実施形態において、本発明のプローブは、二重融合プローブである。いくつかの実施形態において、本発明のプローブは、二色二重融合プローブである。いくつかの実施形態において、2つの別個のプローブが使用される。

【0231】

別の実施形態において、c-MAF遺伝子(c-MAF遺伝子の翻訳を含む)を測定するために、以下のプローブの1つが使用される: Vysis LSI IGH/MAF二色二重融合プローブ(<http://www.abbottmolecular.com/us/products/analyte-specific-reagent/fish/vysis-lsi-igh-maf-dual-color-dual-fusion-probe.html>;最終アクセス11/5/2012)(これは、14q32および16q23に対するプローブを含む); Kreatech diagnostics MAF/IGH gt(14;16)融合プローブ([https://www.leicabiosystems.com/fileadmin/img\\_uploads/kreatech/ifu/PI-KI-10610\\_D2.1.pdf](https://www.leicabiosystems.com/fileadmin/img_uploads/kreatech/ifu/PI-KI-10610_D2.1.pdf);最終アクセス05/18/2017)、Abnova MAF FISHプローブ([http://www.abnova.com/products/products\\_detail](http://www.abnova.com/products/products_detail)。

40

50

asp?Catalog\_\_id=FA0375;最終アクセス11/5/2012)、Cancer Genetics Italia IGH/MAF二色二融合転座プローブ(<http://www.cancergeneticsitalia.com/dna-fish-probe/ighmaf/>;最終アクセス11/5/2012)、Creative Bioarray IGH/MAF-t(14;16)(q32;q23) FISHプローブ(<http://www.creative-bioarray.com/products.asp?cid=35&page=10>;最終アクセス11/5/2012)、FISHによるArup Laboratories多発性骨髄腫パネル(<http://www.aruplab.com/files/technical-bulletins/Multiple%20Myeloma%20%28MM%29%20by%20FISH.pdf>;最終アクセス11/5/2012)、16q23もしくは14q32に特異的なAgilentプローブ(<http://www.genomics.agilent.com/ProductSearch.aspx?chr=16&start=79483700&end=79754340>;最終アクセス11/5/2012;<http://www.genomics.agilent.com/ProductSearch.aspx?Pageid=3000&ProductID=637>;最終アクセス11/5/2012)、16q23もしくは14q32に特異的なDakoプローブ([http://www.dako.com/us/ar42/psg42806000/baseproducts\\_\\_surefish.htm?setCountry=true&purl=ar42/psg42806000/baseproducts\\_\\_surefish.htm?undefined&submit=Accept%20country](http://www.dako.com/us/ar42/psg42806000/baseproducts__surefish.htm?setCountry=true&purl=ar42/psg42806000/baseproducts__surefish.htm?undefined&submit=Accept%20country);最終アクセス11/5/2012)、Cytocell IGH/MAF転座、二重融合プローブ([http://www.zentech.be/uploads/docs/products\\_\\_info/prenatalogy/cytocell%202012-2013%20catalogue%5B3%5D.pdf](http://www.zentech.be/uploads/docs/products__info/prenatalogy/cytocell%202012-2013%20catalogue%5B3%5D.pdf);最終アクセス11/5/2012)、Metasystems XL IGH/MAF転座 - 二重融合プローブ([http://www.metasystems-international.com/index.php?option=com\\_joob&view=article&joobase=5&id=12%3Ad-5029-100-og&Itemid=272](http://www.metasystems-international.com/index.php?option=com_joob&view=article&joobase=5&id=12%3Ad-5029-100-og&Itemid=272);最終アクセス11/5/2012)、Zeiss FISHプローブXL, 100µl, IGH/MAFB(<https://www.micro-shop.zeiss.com/?s=440675675dedc6&l=en&p=uk&f=r&i=5000&o=&h=25&n=1&sd=000000-0528-231-uk>;最終アクセス11/5/2012)またはGenycell Biotech IGH/MAF二重融合プローブ([http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCQQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.genycell.es%2Fimages%2Fproductos%2Fbrochures%2F1phmie6\\_\\_86.ppt&ei=MhGYUOi3GKWH0QGl4DoDw&usg=AFQjCNEqQMbT8vQGjJbi9riEf3lVgoFTFQ&sig2=V5IS8juEMVHB18Mv2Xx\\_\\_Ww](http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCQQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.genycell.es%2Fimages%2Fproductos%2Fbrochures%2F1phmie6__86.ppt&ei=MhGYUOi3GKWH0QGl4DoDw&usg=AFQjCNEqQMbT8vQGjJbi9riEf3lVgoFTFQ&sig2=V5IS8juEMVHB18Mv2Xx__Ww);最終アクセス11/5/2012)

【0232】

いくつかの実施形態において、プローブ上の標識は、フルオロフォアである。いくつかの実施形態において、プローブ上のフルオロフォアは、橙色である。いくつかの実施形態において、プローブ上のフルオロフォアは、緑色である。いくつかの実施形態において、プローブ上のフルオロフォアは、赤色である。いくつかの場合において、プローブ上のフルオロフォアは、黄色である。いくつかの実施形態において、1つのプローブは赤色フルオロフォアで標識され、1つは緑色フルオロフォアで標識される。いくつかの実施形態において、1つのプローブは緑色フルオロフォアで標識され、1つは橙色フルオロフォアで

10

20

30

40

50

標識される。いくつかの場合において、プローブ上のフルオロフォアは、黄色である。例えば、MAF特異的プローブが赤色フルオロフォアで標識され、IGH特異的プローブが緑色フルオロフォアで標識される場合、白色が見られるならば、それは、シグナルが重なり合っており、転座が起こっていることを示す。

#### 【0233】

いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、SpectrumOrangeである。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、SpectrumGreenである。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、DAPIである。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、PlatinumBright405である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、PlatinumBright415である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、PlatinumBright495である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、PlatinumBright505である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、PlatinumBright550である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、PlatinumBright547である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、PlatinumBright570である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、PlatinumBright590である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、PlatinumBright647である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、PlatinumBright495/550である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、PlatinumBright415/495/550である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、DAPI/PlatinumBright495/550である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、FITCである。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、Texas Redである。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、DEACである。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、RG6である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、Cy5である。いくつかの実施形態において、フルオロフォアは、FITC、Texas RedおよびDAPIである。いくつかの実施形態において、DAPI対比染色は、転座、増幅、ゲインまたはコピー数の変化を視覚化するために使用される。

10

20

30

#### 【0234】

乳がんの処置または予防のための方法において使用するための薬剤および治療

いくつかの実施形態において、本明細書の本発明の方法は、骨リモデリングを回避または予防するための薬剤で被験体を処置することを含む。本明細書中で使用されるとき、「骨リモデリングを回避または予防するための薬剤」は、骨芽細胞増殖を刺激するか、または破骨細胞増殖を阻害することによって、骨分解を処置または停止することができる任意の分子（骨分解を回避または予防するための薬剤を含む）を指す。実施形態において、骨リモデリングを回避または予防するための薬剤は、骨改変剤および/または骨分解を回避もしくは予防する薬剤である。骨分解を回避および/または予防するために使用される薬剤の実例としては、以下のものが挙げられるが、これらに限定されない：

- 副甲状腺ホルモン（PTH）インヒビターおよび副甲状腺様ホルモン（PTHrP）インヒビター（遮断抗体を含む）またはそれらの組換え型（PTHのアミノ酸7～34に対応するテリパラチド）。このホルモンは、破骨細胞を刺激してそれらの活性を増加させることによって作用する。

40

- ラネル酸ストロンチウムは代替経口処置であり、骨芽細胞の増殖を刺激し、破骨細胞の増殖を阻害するので、「二重作用骨薬剤」（DABA）と称される薬物の群の一部を形成する。

- 「エストロゲン受容体モジュレーター」（SERM）は、機構にかかわらず、受容体に対するエストロゲンの結合を妨害または阻害する化合物を指す。エストロゲン受容体モジュレーターの例としては、とりわけ、エストロゲンプロゲステルゲン、エストラジオール、ドロキシフェン、ラロキシフェン、ラソホキシフェン、TSE-424、タモキシフ

50

エン、イドキシフェン、LY353381、LY117081、トレミフェン、フルベストラント、4-[7-(2,2-ジメチル-1-オキソプロポキシ-4-メチル-2-[4-[2-(1-ピペリジニル)エトキシ]フェニル]-2H-1-ベンゾピラン-3-イル]-フェニル-2,2-ジメチルプロパノエート4,4'-ジヒドロキシベンゾフェノン-2,4-ジニトロフェニル-ヒドラゾンおよびSH646が挙げられる。

- カルシトニンは、カルシトニン受容体を介して破骨細胞の活性を直接阻害する。カルシトニン受容体は、破骨細胞の表面上で同定されている。

- ビスホスホネートは、骨吸収および再吸収を伴う疾患、例えば骨粗鬆症および骨転移を伴うがん（後者は、高カルシウム血症の有無にかかわらず、乳がんに関連する）の予防および処置のために使用される医薬品の群である。本発明の第5の方法によって設計される治療において使用され得るビスホスホネートの例としては、窒素含有ビスホスホネート（例えば、パミドロネート、ネリドロネート、オルパドロネート、アレンドロネート、イバンドロネート、リセドロネート、インカドロネート、ゾレドロネートまたはゾレドロン酸など）および窒素非含有ビスホスホネート（例えば、エチドロネート、クロドロネート、チルドロネートなど）が挙げられるが、これらに限定されない。

- 「カテプシンKインヒビター」は、カテプシンKシステインプロテアーゼ活性を妨害する化合物を指す。カテプシンKインヒビターの非限定的な例としては、4-アミノ-ピリミジン-2-カルボニトリル誘導体（Novartis Pharma GmbHの名称における国際特許出願WO03/020278号に記載されている）、公報国際公開第03/020721号（Novartis Pharma GmbH）および公報国際公開第04/000843号（ASTRAZENECA AB）に記載されているピロロ-ピリミジン、ならびにAxy's Pharmaceuticalsの公報国際公開第00/55126号、Merck Frosst Canada & Co.およびAxy's Pharmaceuticalsの国際公開第01/49288号に記載されているインヒビターが挙げられる。

- 本明細書中で使用されるとき、「DKK-1 (Dickkopf-1) インヒビター」は、DKK-1活性を減少させることができる任意の化合物を指す。DKK-1は、主に成体の骨において発現され、溶骨性病変を有する骨髄腫患者においてアップレギュレートされる可溶性Wnt経路アンタゴニストである。DKK-1を標的化する薬剤は、多発性骨髄腫患者における溶骨性骨疾患の予防において役割を果たし得る。Novartis製のBHQ880は、ファースト・イン・クラスの完全ヒト抗DKK-1中和抗体である。前臨床研究は、BHQ880が骨形成を促進し、それにより、腫瘍が誘導する溶骨性病変を阻害するという仮説を裏付けている（Ettenberg Sら、American Association for Cancer Research Annual Meeting, April 12-16, 2008; San Diego, Calif. Abstract）。

- 本明細書中で使用されるとき、「二重METおよびVEGFR2インヒビター」は、MET経路およびVEGF経路の強力な二重インヒビターである任意の化合物であって、METによって駆動される腫瘍エスケープを遮断するように設計された化合物を指す。METは、腫瘍細胞および内皮細胞だけではなく、骨芽細胞（骨を形成する細胞）および破骨細胞（骨を除去する細胞）においても発現される。HGFは、これらの細胞型のすべてにおけるMETに結合し、複数のオートクラインループおよびパラクラインループにおいて重要な役割をMET経路に与える。腫瘍細胞におけるMETの活性化は、転移性の骨病変の確立において重要であると思われる。同時に、骨芽細胞および破骨細胞におけるMET経路の活性化は、異常骨成長（すなわち、芽細胞性病変）または破壊（すなわち、溶解性病変）を含む骨転移の病理学的特徴をもたらし得る。したがって、MET経路の標的化は、転移性骨病変の確立および進行の予防における実行可能な戦略であり得る。以前はXL184 (CAS 849217-68-1) として公知のCabozantinib (Exelixis, Inc) は、MET経路およびVEGF経路の強力な二重インヒビターであって、METによって駆動される腫瘍エスケープを遮断するように設計された二重インヒ

10

20

30

40

50

ピターである。複数の前臨床研究において、cabozantinibは、腫瘍細胞を殺傷し、転移を減少させ、血管新生（腫瘍の成長を支えるために必要な新たな血管の形成）を阻害することが示されている。別の適切な二重インヒビターは、E7050（N-[2-フルオロ-4-（{2-[4-（4-メチルピペラジン-1-イル）ピペリジン-1-イル]カルボニルアミノピリジン-4-イル}オキシ）フェニル]-N'-（4-フルオロフェニル）シクロプロパン-1,1-ジカルボキサミド（2R,3R）-タルトレート）（CAS928037-13-2）またはフォレチニブ（GSK1363089、XL880、CAS849217-64-7としても公知である）である。

- 本明細書中で使用されるとき、「RANKLインヒビター」は、RANK活性を減少させることができる任意の化合物を指す。RANKLは、支質およびT-リンパ球細胞の骨芽細胞膜の表面上に見られ、これらのT-リンパ球細胞は、それを分泌する能力が証明されている唯一の細胞である。その主要な機能は、骨吸収に関与する細胞である破骨細胞の活性化である。RANKLインヒビターは、その受容体（RANK）に対するRANKLの結合を遮断すること、RANK媒介性シグナル伝達を遮断すること、またはRANKLの転写もしくは翻訳を遮断することによってRANKLの発現を減少させることによって作用し得る。本発明において使用するために適切なRANKLアンタゴニストまたはインヒビターとしては、以下のものが挙げられるが、これらに限定されない：

RANKLに結合することができ、RANKタンパク質の細胞外ドメインの全体またはフラグメントを含む適切なRANKタンパク質。可溶性RANKは、マウスもしくはヒトRANKポリペプチドのシグナルペプチドおよび細胞外ドメインを含み得るか、またはあるいはシグナルペプチドが除去されたタンパク質の成熟型が使用され得る。

オステオプロテゲリンまたはRANKL結合能力を有するそのバリエーション。

RANKL特異的アンチセンス分子。

RANKLの転写産物をプロセッシングすることができるリボザイム。

特異的抗RANKL抗体。「抗RANKL抗体またはRANKLに対する抗体」は、本明細書では、1つまたはそれを超えるRANKLの機能を阻害する核因子Bの活性化受容体のリガンド（RANKL）に特異的に結合することができるすべての抗体と理解される。抗体は、当業者に公知の任意の方法を使用して調製され得る。したがって、ポリクローナル抗体は、阻害すべきタンパク質で動物を免疫化することによって調製される。モノクローナル抗体は、Kohler, Milsteinら、(Nature, 1975, 256:495)に記載されている方法を使用して調製される。本発明の文脈において適切な抗体としては、可変抗原結合領域および定常領域を含むインタクトな抗体、フラグメント「Fab」、「F(ab')<sub>2</sub>」および「Fab'」、Fv、scFv、ダイアボディおよび二重特異性抗体が挙げられる。

特異的抗RANKLナノボディ。ナノボディは、天然に存在する重鎖抗体のユニークな構造および機能的特性を含有する抗体由来の治療的タンパク質である。元々、ナノボディ技術は、ラクダ科動物（ラクダおよびラマ）が軽鎖を欠く完全に機能的な抗体を有するという発見にしたがって開発された。ナノボディの一般構造は、

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4であり、

FR1~FR4は、フレームワーク領域1~4であり、CDR1~CDR3は、相補性決定領域1~3である。これらの重鎖抗体は、1つの可変ドメイン（VHH）および2つの定常ドメイン（CH2およびCH3）を含有する。重要なことに、クロニングおよび単離されたVHHドメインは、元の重鎖抗体の完全な抗原結合能力を有する完全に安定なポリペプチドである。ユニークな構造および機能的特性を有するこれらの新たに発見されたVHHドメインは、Ablynxがナノボディと命名した新世代の治療用抗体の基礎を形成する。

【0235】

一実施形態において、RANKLインヒビターは、RANKL特異的抗体、RANKL特異的ナノボディおよびオステオプロテゲリンからなる群より選択される。具体的な実施形態において、抗RANKL抗体は、モノクローナル抗体である。さらにより具体的な実

10

20

30

40

50

施形態において、抗RANKL抗体は、デノスマブ(Pageau, Steven C. (2009). mAbs 1(3): 210-215, CAS number 615258-40-7)(この全内容は、参照により本明細書中に援用される)である。デノスマブは、RANKLに結合してその活性化を防止する完全ヒトモノクローナル抗体である(それは、RANK受容体に結合しない)。デノスマブの様々な態様は、米国特許第6,740,522号;米国特許第7,411,050号;米国特許第7,097,834号;米国特許第7,364,736号(これらの全内容はそれぞれ、参照により本明細書中に援用される)によって網羅される。別の実施形態において、RANKLインヒビターは、デノスマブと同じエピトープに結合する抗体、抗体フラグメントまたは融合構築物である。

10

#### 【0236】

実施形態において、抗RANKLナノボディは、国際公開第2008142164号(この内容は、参照により本出願に援用される)に記載されているナノボディのいずれかである。実施形態において、抗RANKL抗体は、ALX-0141(Ablynx)である。ALX-0141は、閉経後骨粗鬆症、関節リウマチ、がんおよび特定の薬物適用に関連する骨減少を阻害するように、ならびに健全な骨代謝のバランスを復元するように設計されている。

#### 【0237】

実施形態において、骨分解を予防する薬剤は、ビスホスホネート、RANKLインヒビター、PTHおよびPTHrPインヒビターまたはPRG類似体、ラネル酸ストロンチウム、DKK-1インヒビター、二重METおよびVEGFR2インヒビター、エストロゲン受容体モジュレーター、ラジウム-223、カルシトニンならびにカテプシンKインヒビターからなる群より選択される。実施形態において、骨分解を予防する薬剤は、ビスホスホネートである。実施形態において、ビスホスホネートは、ゾレドロン酸である。

20

#### 【0238】

一実施形態において、CCR5アンタゴニストは、骨への原発性乳がん腫瘍の転移または再燃または再発を予防または阻害するために投与される。一実施形態において、CCR5アンタゴニストは、大分子である。別の実施形態において、CCR5アンタゴニストは、小分子である。いくつかの実施形態において、CCR5アンタゴニストは、Maravirocである。いくつかの実施形態において、CCR5アンタゴニストは、Vicrivirocである。いくつかの態様において、CCR5アンタゴニストは、Aplavirocである。いくつかの態様において、CCR5アンタゴニストは、スピロピペリジンCCR5アンタゴニスト(Rotstein D.Mら、2009. Spiropiperidine CCR5 antagonists. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 19(18): 5401-5406)である。いくつかの実施形態において、CCR5アンタゴニストは、INCBO09471(Kuritzkes, D.R. 2009. HIV-1 entry inhibitors: an overview. Curr. Opin. HIV AIDS. 4(2): 82-7)である。

30

#### 【0239】

実施形態において、二重METおよびVEGFR2インヒビターは、Cabozantinib、フォレチニブおよびE7050からなる群より選択される。

40

#### 【0240】

実施形態において、MAF状態は、被験体が受けるべき処置を予測する。実施形態において、本明細書の実施形態のいずれかにおけるc-MAF状態は、16q23もしくは16q22-24染色体遺伝子座の増幅、コピーゲインもしくは転座もしくはそれらの欠如、または16q23もしくは16q22-24染色体遺伝子座の欠失を含む。実施形態において、基準に対するc-MAF遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する(したがって、悪いDFSまたはOS転帰の高いリスクがある)閉経後患者は、本明細書に開示される任意の処置を施され得る。いくつかの実施形態において、基準に対

50

する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有する（したがって、悪い D F S または O S 転帰の高いリスクがある）閉経後患者は、標準治療としてのホルモン処置の使用によって処方される 5 年間を超えてそれらのホルモン処置を延長することによって処置され得る。特定の実施形態において、ホルモン処置は、タモキシフェンおよび/またはアロマターゼインヒビターである。基準に対する c - M A F 遺伝子発現レベル、コピー数、増幅またはゲインの増加を有しない患者は、本明細書に開示される処置を施されるべきではない。

【 0 2 4 1 】

別の態様において、処置は、mT o r インヒビターである。いくつかの態様において、mT o r インヒビターは、二重 mT o r / P I 3 キナーゼインヒビターである。いくつかの態様において、mT o r インヒビターは、転移、再燃または再発を予防または阻害するために使用される。いくつかの態様において、mT o r インヒビターは：A B I 0 0 9（シロリムス）、ラパマイシン（シロリムス）、A b r a x a n e（パクリタキセル）、A b s o r b（エベロリムス）、A f i n i t o r（エベロリムス）、G l e e v e c と併用の A f i n i t o r、A S 7 0 3 0 2 6（ピマセルチブ（p i m a s e r t i b））、A x x e s s（ウミロリムス（u m i r o l i m u s））、A Z D 2 0 1 4、B E Z 2 3 5、B i o f r e e d o m（ウミロリムス）、B i o M a t r i x（ウミロリムス）、B i o M a t r i x f l e x（ウミロリムス）、C C 1 1 5、C C 2 2 3、C o m b o B i o - e n g i n e e r e d S i r o l i m u s E l u t i n g S t e n t O R B U S N E I C H（シロリムス）、C u r a x i n C B L C 1 0 2（メパクリン）、D E 1 0 9（シロリムス）、D S 3 0 7 8、E n d e a v o r D E S（ゾタロリムス）、E n d e a v o r R e s o l u t e（ゾタロリムス）、F e m a r a（レトロゾール）、H o c e n a（アントロキノール（a n t r o q u i n o n o l））、I N K 1 2 8、I n s p i r o n（シロリムス）、I P I 5 0 4（レタスピマイシン（r e t a s p i m y c i n）塩酸塩）、K R N 9 5 1（チボザニブ（t i v o z a n i b））、M E 3 4 4、M G A 0 3 1（テプリズマブ（t e p l i z u m a b））、M i S t e n t S E S（シロリムス）、M K C 1、N o b o r i（ウミロリムス）、O S I 0 2 7、O V I 1 2 3（コルジセピン）、P a l o m i d 5 2 9、P F 0 4 6 9 1 5 0 2、P r o m u s E l e m e n t（エベロリムス）、P W T 3 3 5 9 7、R a p a m u n e（シロリムス）、R e s o l u t e D E S（ゾタロリムス）、R G 7 4 2 2、S A R 2 4 5 4 0 9、S F 1 1 2 6、S G N 7 5（ボルセツズマブマホドチン（v o r s e t u z u m a b m a f o d o t i n））、S y n e r g y（エベロリムス）、T a l t o r v i c（リダフォロリムス（r i d a f o r o l i m u s））、T a r c e v a（エルロチニブ）、T o r i s e l（テムシロリムス）、X i e n c e P r i m e（エベロリムス）、X i e n c e V（エベロリムス）、Z o m a x x（ゾタロリムス）、Z o r t r e s s（エベロリムス）、ゾタロリムス溶出性末梢ステント（P e r i p h e r a l S t e n t）M E D T R O N I C（ゾタロリムス）、A P 2 3 8 4 1、A P 2 4 1 7 0、A R m T O R 2 6、B N 1 0 7、B N 1 0 8、C a n s t a t i n G E N Z Y M E（カンスタチン（c a n s t a t i n））、C U 9 0 6、E C 0 3 7 1、E C 0 5 6 5、K I 1 0 0 4、L O R 2 2 0、N V 1 2 8、R a p a m y c i n O N C O I M M U N E（シロリムス）、S B 2 6 0 2、S i r o l i m u s P N P S A M Y A N G B I O P H A R M A C E U T I C A L S（シロリムス）、T O P 2 1 6、V L I 2 7、V S 5 5 8 4、W Y E 1 2 5 1 3 2、X L 3 8 8、A d v a c a n（エベロリムス）、A Z D 8 0 5 5、C y p h e r S e l e c t P l u s シロリムス溶出性冠動脈ステント（シロリムス）、C y p h e r シロリムス溶出性冠動脈ステント（シロリムス）、薬物コーティングされたバルーン（シロリムス）、E - M a g i c P l u s（シロリムス）、E m t o r（シロリムス）、E s p r i t（エベロリムス）、E v e r t o r（エベロリムス）、H B F 0 0 7 9、L C P - S i r o（シロリムス）、L i m u s C L A R I S（シロリムス）、m T O R インヒビター C E L L Z O M E、N e v o シロリムス溶出性冠動脈ステント（シロリムス）、n P T - m T O R、R a p a c a n（シロリムス）、R e n a c e p t（シロリ

10

20

30

40

50

ムス)、ReZolve(シロリムス)、Rocas(シロリムス)、SF1126、Sirolim(シロリムス)、Sirolimus NORTH CHINA(シロリムス)、Sirolimus RANBAXY(シロリムス)、Sirolimus WATSON(シロリムス) Siropan(シロリムス)、Sirova(シロリムス)、Supralimus(シロリムス)、Supralimus-Core(シロリムス)、Tacrolimus WATSON(タクロリムス)、TAF A93、Temsirolimus ACCORD(テムシロリムス)、Temsirolimus SANDOZ(テムシロリムス)、TOP216、Xience Prime(エベロリムス)、Xience V(エベロリムス)からなる群より選択される。具体的な態様において、mTorインヒビターは、Afinitor(エベロリムス)([http://www.afinitor.com/index.jsp?usertrack.filter\\_applied=true&NovaId=4029462064338207963](http://www.afinitor.com/index.jsp?usertrack.filter_applied=true&NovaId=4029462064338207963); 最終アクセス日2012年11月28日)である。別の態様において、mTorインヒビターは、当該分野で公知の方法によって同定され得る。(例えば、Zhou, Hら、Updates of mTor inhibitors. 2010. Anticancer Agents Med. Chem. 10(7): 571-81(これは、参照により本明細書中に援用される)を参照のこと)。別の態様において、mTorインヒビターは、当該分野で公知の方法によって同定され得る。(例えば、Zhou, Hら、Updates of mTor inhibitors. 2010. Anticancer Agents Med. Chem. 10(7): 571-81(これは、参照により本明細書中に援用される)を参照のこと)。いくつかの態様において、mTorインヒビターは、ホルモン受容体について陽性の患者における転移を処置または予防または阻害するために使用される。(例えば、Baselga, J., et al., Everolimus in Postmenopausal Hormone-Receptor Positive Advanced Breast Cancer. 2012. N. Engl. J. Med. 366(6): 520-529を参照のこと)。いくつかの態様において、mTorインヒビターは、進行乳がんを有する患者における転移を処置または予防または阻害するために使用される。いくつかの態様において、mTorインヒビターは、第2の処置と組み合わせて使用される。いくつかの態様において、第2の処置は、本明細書に記載される任意の処置である。

#### 【0242】

別の態様において、処置は、Srcキナーゼインヒビターである。いくつかの態様において、Srcインヒビターは、転移、再燃または再発を予防または阻害するために使用される。いくつかの態様において、Srcキナーゼインヒビターは、以下の群：AZD0530(サラカチニブ(saracatinib))、Bosulif(ボスチニブ)、ENMD981693、KD020、KX01、Sprycel(ダサチニブ)、Yervoy(イピリムマブ)、AP23464、AP23485、AP23588、AZD0424、c-Srcキナーゼインヒビター KISSEI、CU201、KX2361、SKS927、SRN004、SUNK706、TG100435、TG100948、AP23451、Dasatinib HETERO(ダサチニブ)、Dasatinib VALEANT(ダサチニブ)、Fontrax(ダサチニブ)、Srcキナーゼインヒビター KINEX、VX680(トザセルチブ(tozasertib)乳酸塩)、XL228およびSUNK706から選択される。いくつかの実施形態において、Srcキナーゼインヒビターは、ダサチニブである。別の態様において、Srcキナーゼインヒビターは、当該分野で公知の方法によって同定され得る(例えば、Sen, B. and Johnson, F.M. Regulation of Src Family Kinases in Human Cancers. 2011. J. Signal Transduction. 2011: 14 pages(これは、参照により本明細書中に援用される)を参照のこと)。いくつかの態様において、Srcキナーゼインヒビターは、SRC応答性シグネチャ(SRS)について陽性の患者における転移、再燃または再

発を処置または予防または阻害するために使用される。いくつかの態様において、患者は、SR S + および ER - である（例えば、Zhang, CH. - F5、Latent Bone Metastasis in Breast Cancer Tied to Src-Dependent survival signals. 2009. Cancer Cell. 16: 67 - 78（これは、参照により本明細書中に援用される）を参照のこと）。いくつかの態様において、Srcキナーゼインヒビターは、進行乳がんを有する患者における転移を処置または予防または阻害するために使用される。いくつかの態様において、Srcキナーゼインヒビターは、第2の処置と組み合わせて使用される。いくつかの態様において、第2の処置は、本明細書に記載される任意の処置である。

【0243】

別の態様において、処置は、COX - 2インヒビターである。いくつかの態様において、COX - 2インヒビターは、転移、再燃または再発を予防または阻害するために使用される。いくつかの態様において、COX - 2インヒビターは、以下の群：ABT963、Acetaminophen ER JOHNSON（アセトアミノフェン）、Acular X（ケトロラクトロメタミン）、BAY1019036（アスピリン）、BAY987111（ジフェンヒドラミン、ナプロキセンナトリウム）、BAY11902（ピロキシカム）、BCIBUCH001（イブプロフェン）、Capoxigem（アプリコキシブ（apricoxib））、CS502、CS670（ペルピプロフェン（pelubiprofen））、Diclofenac HPBCD（ジクロフェナク）、Diractin（ケトプロフェン）、GW406381、HCT1026（ニトロフルビプロフェン（nitroflurbiprofen））、Hyanalgesic - D（ジクロフェナク）、Hydrocodex（アセトアミノフェン、デキストロメトルファン、ヒドロコドン）、Ibuprofen Sodium PFIZER（イブプロフェンナトリウム）、Ibuprofen with Acetaminophen PFIZER（アセトアミノフェン、イブプロフェン）、Impracor（ケトプロフェン）、IP880（ジクロフェナク）、IP940（インドメタシン）、ISV205（ジクロフェナクナトリウム）、JNS013（アセトアミノフェン、トラマドール塩酸塩）、Ketoprofen TDS（ケトプロフェン）、LTNS001（ナプロキセンエテメシル（naproxen etemesil））、Mesalamine SALIX（メサラミン）、Mesalamine SOFAR（メサラミン）、Mesalazine（メサラミン）、ML3000（リコフェロン（licofelone））、MRX7EAT（エトドラク）、Naproxen IROKO（ナプロキセン）、NCX4016（ニトロアスピリン）、NCX701（ニトロアセトアミノフェン）、Nuprin SCOLR（イブプロフェン）、OMS103HP（アミトリプチリン塩酸塩、ケトプロフェン、オキシメタゾリン塩酸塩）、Oralease（ジクロフェナク）、Oxycodex（デキストロメトルファン、オキシコドン）、P54、Percodex（アセトアミノフェン、デキストロメトルファン、オキシコドン）、PL3100（ナプロキセン、ホスファチジルコリン）、PSD508、R - Ketoprofen（ケトプロフェン）、Remura（プロムフェナクナトリウム）、ROX828（ケトロラクトロメタミン）、RP19583（ケトプロフェンリジン）、RQ00317076、SDX101（R - エトドラク）、TDS943（ジクロフェナクナトリウム）、TDT070（ケトプロフェン）、TPR100、TQ1011（ケトプロフェン）、TT063（S - フルビプロフェン）、UR8880（シニコキシブ（cimicoxib））、V0498TA01A（イブプロフェン）、VT122（エトドラク、プロプラノロール）、XP20B（アセトアミノフェン、デキストロプロボキシフェン）、XP21B（ジクロフェナクカリウム）、XP21L（ジクロフェナクカリウム）、Zoensasa（アセチルシステイン、メサラミン）、Acephen、Actifed Plus、Actifed - P、Acular、Acular LS、Acular PF、Acular X、Acuvail、Advil、Advil Allergy Sinus、Advil Cold and Sinus、Advil Congestion Relief、Adv

10

20

30

40

50

il PM, Advil PM Capsule, Air Salonpas, Airtal, Alcohol-Free NyQuil Cold & Flu Relief, Aleve, Aleve ABDI IBRAHIM, Aleve-D, Alka-Seltzer, Alka-Seltzer BAYER, Alka-Seltzer Extra Strength, Alka-Seltzer Lemon-Lime, Alka-Seltzer Original, Alka-Seltzer Plus, Alka-Seltzer plus Cold and Cough, Alka-Seltzer plus Cold and Cough Formula, Alka-Seltzer Plus Day and Night Cold Formula, Alka-Seltzer Plus Day Non-Drowsy Cold Formula, Alka-Seltzer Plus Flu Formula, Alka-Seltzer Plus Night Cold Formula, Alka-Seltzer Plus Sinus Formula, Alka-Seltzer Plus Sparkling Original Cold Formula, Alka-Seltzer PM, Alka-Seltzer Wake-Up Call, Anacin, Anaprox, Anaprox MINERVA, Ansaid, Apitoxin, Apranax, Apranax abdi, Arcoxia, Arthritis Formula Bengay, Arthrotec, Asacol, Asacol HD, Asacol MEDUNA ARZNEIMITTEL, Asacol ORIFARM, Aspirin BAYER, Aspirin Complex, Aspirin Migran, AZD3582, Azulfidine, Baralgan M, BAY1019036, BAY987111, BAY11902, BCIBUCH001, Benadryl Allergy, Benadryl Day and Night, Benylin 4 Flu, Benylin Cold and Flu, Benylin Cold and Flu Day and Night, Benylin Cold and Sinus Day and Night, Benylin Cold and Sinus Plus, Benylin Day and Night Cold and Flu Relief, Benylin1 All-In-One, Brexin, Brexin ANGELINI, Bromday, Bufferin, Buscopan Plus, Caldolor, Calmatel, Cambia, Canasa, Capoxigem, Cataflam, Celebrex, Celebrex ORIFARM, Children's Advil Allergy Sinus, Children's Tylenol, Children's Tylenol Cough and Runny Nose, Children's Tylenol plus cold, Children's Tylenol plus Cold and Cough, Children's Tylenol plus cold and stuffy nose, Children's Tylenol plus Flu, Children's Tylenol plus cold & allergy, Children's Tylenol plus Cough & Runny Nose, Children's Tylenol plus Cough & Sore Throat, Children's Tylenol plus multi symptom cold, Clinoril, Codral Cold and Flu, Codral Day and Night Day Tablets, Codral Day and Night Night Tablets, Codral Nighttime, Colazal, Combunox, Contac Cold plus Flu, Contac Cold plus Flu Non-Drowsy, Coricidin D, Coricidin HBP Cold and Flu, Coricidin HBP Day and Night Multi-Symptom Cold, Coricidin HBP Maximum Strength Flu, Coricidin HBP Nighttime Multi-Symptom Cold, Coric

10

20

30

40

50

idin II Extra Strength Cold and Flu, CS50  
 2, CS670, Daypro, Daypro Alta, DDS06C, Demazin  
 Cold and Flu, Demazin Cough, Cold and Flu,  
 Demazin day/night Cold and Flu, Demazin  
 PE Cold and Flu, Demazin PE day/night Co  
 ld and Flu, Diclofenac HPBCD, Dimetapp Day  
 Relief, Dimetapp Multi-Symptom Cold and  
 Flu, Dimetapp Night Relief, Dimetapp Pain  
 and Fever Relief, Dimetapp PE Sinus Pain,  
 Dimetapp PE Sinus Pain plus Allergy, Dipe  
 ntum, Diractin, Disprin Cold 'n' Fever, Dis  
 prin Extra, Disprin Forte, Disprin Plus, Dr  
 istan Cold, Dristan Junior, Drixoral Plus,  
 Duexis, Dynastat, Efferalgan, Efferalgan Pl  
 us Vitamin C, Efferalgan Vitamin C, Elixsu  
 re IB, Excedrin Back and Body, Excedrin Mi  
 graine, Excedrin PM, Excedrin Sinus Headac  
 he, Excedrin Tension Headache, Falcol, Fans  
 amac, Feldene, FeverAll, Fiorinal, Fiorinal  
 with Codeine, Flanax, Flector Patch, Flucam  
 , Fortagesic, Gerbin, Giazol, Gladio, Goody's  
 Back and Body Pain, Goody's Cool Orange, G  
 oody's Extra Strength, Goody's PM, Greasel  
 ess Bengay, GW406381, HCT1026, He Xing Yi, H  
 yanalgese-D, Hydrocortex, Ibuprofen Sodium  
 PFIZER, Ibuprofen with, Acetaminophen PFIZ  
 ER, Icy Hot SANOFI AVENTIS, Impracor, Indoc  
 in, Indomethacin APP PHARMA, Indomethacin  
 MYLAN, Infants' Tylenol, IP880, IP940, Iremo  
 d, ISV205, JNS013, Jr. Tylenol, Junifen, Junio  
 r Strength Advil, Junior Strength Motrin,  
 Ketoprofen TDS, Lemsip Max, Lemsip Max All  
 in One, Lemsip Max All Night, Lemsip Max  
 Cold and Flu, Lialda, Listerine Mouth Wash  
 , Lloyds Cream, Lodine, Lorfit P, Loxonin, LT  
 NS001, Mersyndol, Mesalamine SALIX, Mesalam  
 ine SOFAR, Mesalazine, Mesasal GLAXO, Mesas  
 al SANOFI, Mesulid, Metsal Heat Rub, Midol  
 C  
 omplete, Midol Extended Relief, Midol Liqu  
 id Gels, Midol PM, Midol Teen Formula, Migr  
 anin COATED TABLETS, ML3000, Mobic, Mohrus,  
 Motrin, Motrin Cold and Sinus Pain, Motrin  
 PM, Movalis ASPEN, MRX7EAT, Nalfon, Nalfon  
 PEDINOL, Naprelan, Naprosyn, Naprosyn RPG L  
 IFE SCIENCE, Naproxen IROKO, NCX4016, NCX70  
 1, NeoProfen LUNDBECK, Nevanac, Nexcede, Nif  
 lan, Norgesic MEDICIS, Novalgin, Nuprin SCO  
 LR, Nurofen, Nurofen Cold and Flu, Nurofen  
 Max Strength Migraine, Nurofen Plus, Nurom

10

20

30

40

50

ol, NyQuil with Vitamin C, Ocufer, OMS103HP  
 , Oralease, Orudis ABBOTT JAPAN, Oruvail, Os  
 teluc, Oxycodex, P54, Panadol, Panadol Actif  
 ast, Paradine, Paramax, Parfenac, Pedeia, Penn  
 said, Pentasa, Pentasa ORIFARM, Peon, Percod  
 an, Percodan - Demi, Percodex, Percogesic, Per  
 falgan, PL2200, PL3100, Ponstel, Prexige, Pro  
 lensa, PSD508, R - Ketoprofen, Rantudil, Relaf  
 en, Remura, Robaxisal, Rotec, Rowasa, ROX828,  
 RP19583, RQ00317076, Rubor, Salofalk, Salonp  
 as, Saridon, SDX101, Seltouch, sfRowasa, Shin  
 baro, Sinumax, Sinutab, Sinutab, sinus, Spalt  
 , Sprix, Strefen, Sudafed Cold and Cough, Su  
 dafed Head Cold and Sinus, Sudafed PE Col  
 d plus Cough, Sudafed PE Pressure plus Pa  
 in, Sudafed PE, Severe Cold, Sudafed PE Sin  
 us Day plus Night Relief Day Tablets, Sud  
 afed PE Sinus Day plus Night Relief Nigh  
 t Tablets, Sudafed PE Sinus plus Anti - inf  
 lammatory Pain Relief, Sudafed Sinus Adva  
 nce, Surgam, Synalgos - DC, Synflex, Tavist al  
 lergy / sinus / headache, TDS943, TDT070, Thera  
 flu Cold and Sore Throat, Theraflu Daytim  
 e Severe Cold and Cough, Theraflu Daytime  
 Warming Relief, Theraflu Warming Relief  
 Caplets Daytime Multi - Symptom Cold, Thera  
 flu Warming Relief Cold and Chest Conges  
 tion, Thomapyrin, Thomapyrin C, Thomapyrin  
 Effervescent, Thomapyrin Medium, Tilcotil,  
 Tispol, Tolectin, Toradol, TPR100, TQ1011, Tr  
 auma - Salbe, Trauma - Salbe Kwizda, Treo, Trex  
 imet, Trovex, TT063, Tylenol, Tylenol Allerg  
 y Multi - Symptom, Tylenol Back Pain, Tyleno  
 l Cold & Cough Daytime, Tylenol Cold & Co  
 ugh Nighttime, Tylenol Cold and Sinus Day  
 time, Tylenol Cold and Sinus Nighttime, Ty  
 lenol Cold Head Congestion Severe, Tyleno  
 l Cold Multi Symptom Daytime, Tylenol Col  
 d Multi Symptom Nighttime Liquid, Tylenol  
 Cold Multi Symptom Severe, Tylenol Cold  
 Non - Drowsiness Formula, Tylenol Cold Seve  
 re Congestion Daytime, Tylenol Complete C  
 old, Cough and Flu Night time, Tylenol Flu  
 Nighttime, Tylenol Menstrual, Tylenol PM,  
 Tylenol Sinus Congestion & Pain Daytime,  
 Tylenol Sinus Congestion & Pain Nighttim  
 e, Tylenol Sinus Congestion & Pain Severe  
 , Tylenol Sinus Severe Congestion Daytime  
 , Tylenol Ultra Relief, Tylenol with Caffee  
 ine and Codeine phosphate, Tylenol with C

10

20

30

40

50

odeine phosphate、Ultra Strength Bengay Cream、Ultracet、UR8880、V0498TA01A、Vicks Nyquil Cold and Flu Relief、Vicoprofen、Vimovo、Voltaren Emulgel、Voltaren GEL、Voltaren NOVARTIS CONSUMER HEALTH GMBH、Voltaren XR、VT122、Xefo、Xefo Rapid、Xefocam、Xibrom、XL3、Xodol、XP20B、XP21B、XP21L、ZipsorおよびZonasanaから選択される。別の態様において、COX-2インヒビターは、当該分野で公知の方法によって同定され得る（例えば、Dannhardt, G. and Kiefer, W. Cyclooxygenase inhibitors - current status and future prospects. 2001. Eur. J. Med. Chem. 36: 109 - 126（これは本明細書中で参照により援用される）を参照のこと）。いくつかの態様において、COX-2インヒビターは、進行した乳がんを有する患者において転移を処置するためまたは予防するためまたは阻害するために使用される。いくつかの態様において、COX-2インヒビターは、第2の処置と組み合わせて使用される。いくつかの態様において、第2の処置は、本明細書中に記載される任意の処置である。いくつかの態様において、COX-2インヒビターは、デノスマブ、Zomet a ([http://www.us.zomet a.com/index.jsp?usertrack.filter\\_applied=true&NovaId=2935376934467633633](http://www.us.zomet a.com/index.jsp?usertrack.filter_applied=true&NovaId=2935376934467633633); 最終アクセス日2012年12月2日)、Carbozantina または Cabozantinib、PTHrP（副甲状腺ホルモン様ホルモン）またはPTHrP（副甲状腺ホルモン関連タンパク質）を阻止する抗体またはペプチドからなる群より選択される第2の処置と組み合わせて使用される。

#### 【0244】

一実施形態において、処置は、ラジウム223である。実施形態において、ラジウム223治療は、アルファラジン（Alpharadin）（別名、ゾーフイゴ）（二塩化ラジウム-223）である。アルファラジンは、ラジウム-223崩壊からのアルファ線を使用して、がん細胞を殺傷する。ラジウム-223は、カルシウム模倣物としての特性によって、骨転移に自然に自己標的化する。アルファ線は、2~10個の細胞という非常に短い範囲（ベータまたはガンマ線に基づく現行の放射線療法と比べて）を有するので、周囲の健全な組織（特に、骨髄）にもたらす損傷はより少ない。カルシウムと同様の特性により、ラジウム-223は、身体内の骨を構築するためにカルシウムが使用されている位置（より速い異常な骨成長の部位を含む）に引き込まれる。ラジウム-223は、注射後、異常に骨が成長している部位に血流によって運ばれる。体内でがんが開始する場所は、原発性腫瘍として公知である。これらの細胞のいくつかは、離脱して、血流によって身体の別の部位に運ばれ得る。次いで、それらのがん細胞は、身体のその位置に定着して、新たな腫瘍を形成し得る。これが起こる場合、それは、二次性がんまたは転移と称される。ラジウム-223を用いる目的は、この二次性がんを選択的に標的化することである。骨に取り込まれない任意のラジウム-223は、腸に迅速に送られて排泄される。

#### 【0245】

いくつかの実施形態において、処置は、CDK4/6インヒビターである。特定の実施形態において、CDK4/6インヒビターは、任意の公知のCDK4/6インヒビターから選択される。なおさらなる実施形態において、CDK4/6インヒビターは、バルボシクリブ（PD-0332991）、リボシクリブ（LEE011）またはアベマシクリブ（LY2835219）である。CDK4/6インヒビターの使用は、Finnら、Breast Cancer Research 18: 17（2016）に記載されている。

#### 【0246】

あるいは、上記のものの1つを超える薬剤を合わせて転移、再燃もしくは再発を処置および/もしくは予防する併用処置が行われ得るか、または前記薬剤は、他のサプリメント

、例えばカルシウムもしくはビタミンDと、もしくはホルモン処置と組み合わせられ得る。

【0247】

実施形態において、DFSまたは悪いOS転帰の高いリスクがあるMAF陽性閉経後患者は、患者の転帰を改善するために、アジュバント設定において任意の治療で処置される。これらの治療としては、骨リモデリングを回避もしくは予防するための薬剤、無病生存もしくは全生存を改善するための薬剤、c-MAF阻害剤、化学療法、ホルモン療法、m-Torインヒビター、CDK4/6インヒビター、ラジウム-223、CCR5アンタゴニスト、SrcキナーゼインヒビターまたはCOX-2インヒビターおよびそれらの組み合わせを含む本明細書に開示される任意の治療が挙げられる。MAF陽性ではない患者は、このような薬剤または治療を投与されるべきではない。

10

【0248】

がんが転移している場合、化学療法、ホルモン処置、免疫療法またはそれらの組み合わせを含むがこれらに限定されない全身処置が使用される。加えて、放射線療法および/または手術が使用され得る。処置の選択は、通常、原発性がんのタイプ、サイズ、転移の位置、患者の年齢、全般的な健康、および以前に使用された処置のタイプに依存する。

【0249】

全身処置は、体全体に達するものである：

- 化学療法は、医薬を使用してがん細胞を破壊するものである。医薬は、一般に、経口または静脈内経路によって投与される。他の実施形態において、処置は、化学療法である。いくつかの実施形態において、化学療法は、当該分野で公知の任意の化学療法である。特定の実施形態において、化学療法は、アジュバント化学療法である。特定の実施形態において、化学療法は、タキサンである。さらなる実施形態において、タキサンは、パクリタキセル(タキソール)、ドセタキセル(タキソテル)またはカバジタキセルである。医薬は、一般に、経口または静脈内経路によって投与される。化学療法は、放射線処置と一緒に使用されることがある。ホルモン療法は、いくつかのホルモンががん成長を促進するという事実に基づく。例えば、女性では、卵巣によって産生されるエストロゲンは、乳がん成長を促進することがある。これらのホルモンの産生を停止させるためのいくつかの方法がある。1つの方法は、それらを産生する器官(女性の場合には卵巣、男性の場合には睾丸)を除去することである。より頻繁には、これらの器官がホルモンを産生することを防止するための医薬、またはホルモンががん細胞に作用することを防止するための医薬が使用され得る。実施形態において、処置は、ホルモン療法である。特定の実施形態において、ホルモン療法は、タモキシフェンおよび/またはアロマターゼインヒビターである。

- 免疫療法は、患者の免疫系それ自体を支援してがんと闘う処置である。転移性患者を処置するために使用されるいくつかのタイプの免疫療法がある。これらとしては、サイトカイン、モノクローナル抗体および抗腫瘍ワクチンが挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

【0250】

骨リモデリングを回避または予防するための薬剤は、典型的には、薬学的に許容され得る担体と組み合わせて投与される。

【0251】

「担体」という用語は、それにより有効成分が投与される希釈剤または賦形剤を指す。このような医薬担体は、滅菌液体、例えば水および油、例えば石油、動物、植物または合成起源のもの、例えば落花生油、大豆油、鉱油、ゴマ油などであり得る。特に注射溶液のための水または食塩水溶液ならびにデキストロス水溶液およびグリセロール水溶液は、好ましくは、担体として使用される。適切な医薬担体は、“Remington's Pharmaceutical Sciences” by E.W. Martin, 1995に記載されている。好ましくは、本発明の担体は、州政府もしくは連邦政府の規制当局によって承認されたものであるか、または米国薬局方、もしくは動物、より具体的には人間におけるその使用について一般に認識されている他の薬局方に列挙されているものである。

40

50

## 【0252】

本発明の医薬組成物の所望の医薬剤形を製造するために必要な担体および補助物質は、とりわけ、選択される医薬剤形に依存する。医薬組成物の前記医薬剤形は、当業者に公知の従来の方法にしたがって製造されるであろう。有効成分を投与するための様々な方法、使用すべき賦形剤およびそれらを生成するためのプロセスの概説は、“*Tratado de Farmacia Galenica*”, C. Fauli i Trillo, Luzan 5, S. A. 1993 Editionに見られる。医薬組成物の例としては、経口投与、局所投与または非経口投与のための任意の固体組成物（錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤など）または液体組成物（溶液、懸濁物またはエマルジョン）が挙げられる。さらに、医薬組成物は、必要であるとみなされる場合、安定剤、懸濁剤、保存剤、界面活性剤などを含有し得る。

10

## 【0253】

医薬における使用では、骨リモデリング剤は、単独でまたはさらなる活性剤との組み合わせのいずれかで、プロドラッグ、塩、溶媒和物もしくは包接物の形態で見られ得、薬学的に許容され得る賦形剤と共に製剤化され得る。本発明におけるその使用に好ましい賦形剤としては、糖、デンプン、セルロース、ゴムおよびタンパク質が挙げられる。特定の実施形態において、本発明の医薬組成物は、固体の医薬剤形（例えば、錠剤、カプセル剤、丸剤、顆粒剤、坐剤、液体の形態を得るために再構成され得る滅菌結晶または非晶質固体など）、液体の医薬剤形（例えば、溶液、懸濁物、エマルジョン、エリキシル剤、ローション、軟膏など）または半固体の医薬剤形（ゲル、軟膏、クリームなど）として製剤化されるであろう。本発明の医薬組成物は、経口経路、静脈内経路、筋肉内経路、動脈内経路、髄内経路、髄腔内経路、心室内（intraventricular）経路、経皮的経路、皮下経路、腹腔内経路、鼻腔内経路、腸管経路、局所経路、舌下経路または直腸経路が挙げられるが、これらに限定されない任意の経路によって投与され得る。有効成分を投与するための様々な方法、使用すべき賦形剤およびそれらの製造プロセスの概説は、*Tratado de Farmacia Galenica*, C. Fauli i Trillo, Luzan 5, S. A., 1993 EditionおよびRemington's Pharmaceutical Sciences (A. R. Gennaro, Ed.), 20<sup>th</sup> edition, Williams & Wilkins PA, USA (2000)に見られ得る。薬学的に許容され得る担体の例は、当該分野の技術水準において公知であり、リン酸緩衝食塩溶液、水、エマルジョン（例えば、油/水エマルジョン）、様々なタイプの湿潤剤、滅菌溶液などが挙げられる。前記担体を含む組成物は、当該分野の技術水準において公知の従来プロセスによって製剤化され得る。

20

30

## 【0254】

骨リモデリングを回避および予防する薬剤またはそれらを含有する医薬組成物は、体重1キログラム当たり10mg未満、好ましくは、体重1kg当たり少なくとも約50、40、30、20、10、5、2、1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005、0.001、0.0005、0.0001、0.00005または0.00001mg未満の用量で投与され得る。単位用量は、注射、吸入または局所投与によって投与される。特定の実施形態において、薬剤は、その承認用量で投与される。

40

## 【0255】

用量は、処置される状態の重症度および応答に依存し、数日間～数カ月間または状態が鎮静するまで変動し得る。最適な投与量は、患者の身体における薬剤の濃度を定期的に測定することによって決定され得る。最適な用量は、動物モデルにおける事前のインビトロまたはインビボアッセイによって得られるEC50値から決定され得る。単位用量は、日に1回または日に1回未満、好ましくは、2、4、8または30日ごとに1回未満で投与され得る。あるいは、開始用量の後、1回または数回の維持用量（通常、開始用量よりも少ない量）を投与することが可能である。維持レジメンは、0.01μg～1.4mg/kg体重/日、例えば、10、1、0.1、0.01、0.001または0.00001mg/kg体重/日の用量範囲で患者を処置することを伴い得る。維持用量は、好ま

50

しくは、5、10または30日ごとに多くても1回投与される。処置は、患者が罹患している障害のタイプ、その重症度および患者の状態にしたがって変動する時間にわたって継続されなければならない。処置の後、患者の進行をモニタリングして、疾患が処置に応答しない場合には用量を増加すべきかを決定し、または疾患の改善が観察される場合、もしくは望ましくない副作用が観察される場合には、用量を減少させるかを決定しなければならない。

#### 【0256】

##### 本発明のキット

別の態様において、本発明は、乳がんを患っている被験体のための治療を決定するためのキットであって、a)前記被験体のサンプル中のc-MAFの発現レベル、コピー数、増幅、ゲインまたは転座を定量するための手段；b)前記サンプル中のc-MAFの定量した発現レベル、コピー数、増幅、ゲインまたは転座を基準c-MAF発現レベルと比較するための手段；c)定量した発現レベルと基準発現レベルとの比較に基づいて、治療を決定するか、または前記被験体に関する検討事項から治療を除外するための手段を含むキットに関する。

10

#### 【0257】

前記被験体のサンプル中のc-MAFの発現レベルを定量するための手段は、16q23および16q22-24遺伝子座の増幅、ゲインおよび/または転座を含め、以前に詳細に記載されている。いくつかの実施形態において、c-MAF発現を定量するための手段は、本明細書に記載される任意の抗体、抗原結合分子またはフラグメントである。いくつかの実施形態において、抗体は、国際特許出願第PCT/IB2015/059562号(これは、その全体が参照により本明細書中に援用される)に記載されている任意の抗体である。

20

#### 【0258】

好ましい実施形態において、発現を定量するための手段は、特異的にc-MAF遺伝子に結合しおよび/またはそれを増幅するプローブおよび/またはプライマーのセットを含む。

#### 【0259】

本発明の方法の特定の実施形態はすべて、本発明のキットおよびそれらの使用に適用可能である。

30

#### 【0260】

##### 乳がんを患っている被験体を分類するための方法。

別の態様において、本発明は、乳がんを患っている被験体をコホートに分類する方法であって、a)前記被験体のサンプル中のc-MAFの発現レベル、コピー数、増幅、ゲインまたは転座を決定すること；b)前記サンプル中のc-MAFの該発現レベル、コピー数、増幅、ゲインまたは転座をc-MAF発現の所定の基準レベルと比較すること；およびc)該サンプル中のc-MAFの前記発現レベル、コピー数、増幅、ゲインまたは転座に基づいて、前記被験体をコホートに分類することを含む方法に関する。

#### 【0261】

いくつかの実施形態において、c-MAF遺伝子発現レベルは、c-MAF発現レベルに基づいて、患者を処置群に階層化するために使用される。実施形態において、高いc-MAF発現レベルを有する患者は、低いc-MAF発現レベルを有する患者とは異なる処置を受ける。実施形態において、患者は、閉経状態に基づいてさらに階層化される。実施形態において、患者は、閉経後または非閉経後であるかに基づいて階層化される。特定の実施形態において、被験体は、c-MAF発現レベルおよび/または閉経後もしくは非閉経後状態に基づいて、異なる処置を施される。いくつかの実施形態において、階層化された患者は、骨リモデリングを回避または予防する薬剤を投与される。実施形態において、骨リモデリングを回避または予防する薬剤は、骨分解を回避または予防する薬剤である。さらなる実施形態において、骨分解を回避または予防する薬剤は、ゾレドロン酸である。他の実施形態において、c-MAF遺伝子発現レベルは、処置のための患者を選択するた

40

50

めに使用される。いくつかの実施形態において、患者は、臨床試験のためにグループに階層化される。

【0262】

前記被験体のサンプル中のc-MAFの発現レベルを定量するための手段は、16q23および16q22-24遺伝子座の増幅、ゲインおよび/または転座を含め、以前に詳細に記載されている。

【0263】

別の好ましい実施形態において、前記コホートは、臨床試験を行うためのものである。

【0264】

好ましい実施形態において、サンプルは、腫瘍組織サンプルである。

10

【0265】

以下の実施例は本発明を例証するものであり、その範囲を限定しない。

【実施例】

【0266】

実施例1：転移マーカーとしてのc-MAFの検証。

AZUREサンプル中のc-MAFを試験するために使用したIHCおよびFISHアッセイを分析的に検証した。アッセイの検証パラメータの概要は、図1に見ることができる。

【0267】

KREATECH独自のFISH技術に基づき、InbionotionのためにKreatechによって、MAF FISHアッセイを作製した。プローブセットは、16番染色体動原体領域の対照として2つのプローブ(MAF 16q23プローブ+D16Z3プローブ)を含有する。16q23/D16Z3プローブ(Inbionotion)およびKreatechのPoseidon組織消化キットを使用して、アッセイを検証した。ファクトシートにおいて、スコア化基準を以下のように定義した：評価可能なFISH結果は患者1人当たり2つであり、最高値を選択した。スコア化アルゴリズムは、以下のとおりであった：標的増幅およびセントロメア増幅について、20個の細胞をカウントし、遺伝子カウントが>2かつ3である場合、50個の細胞をカウントした。

20

【0268】

MAF IHCアッセイは、(国際特許出願第PCT/IB2015/059562号(これは、その全体が参照により本明細書中に援用される)に記載されている)組換えモノクローナル抗体に基づくものであった。IHCに基づいて、抗体を選択した。DAKO AS LINKプラットフォームによるMAF RecMab(Inbionotion)と、Inbionotionによって提供される対照標本のプロトコールとを使用して、アッセイを検証した。ファクトシートにおいて、スコア化基準を予め定義し、単一IHC Hスコアは患者1人当たり1つであった。スコア化アルゴリズムは、H-スコアであった。

30

【0269】

患者をMAFの検証に使用したAZURE臨床試験(Colemanら、N Engl J Med 2011; 365:1396-1405およびAZURE Current Controlled Trials number, ISRCTN79831382およびClinicalTrials.gov identifier NCT00072020)研究設計の概要は、図2に提供されている。規制準拠条件下において前向き研究で収集された患者の腫瘍サンプルを使用して、AZURE試験の後ろ向き分析において、MAFを検証した。リクルートした3360人の患者のうち、1,769人が腫瘍組織を供与した(52.4%)。13個のTMA(組織マイクロアレイ)(それぞれ150個の患者サンプル)(1,769人の患者)があった。異なる組織コアを使用した各TMAの4個のレプリカがあった(6,326個(4×患者))。1個のTMAは1個のレプリカのみを有し、2個のTMAは3個のレプリカを有していた。H&E分析(ヘマトキシリンおよびエオシン)(図3)(6,326個)に基づいて、3978個のコアが評価可能

40

50

であり(63%)、2348個は評価不能であった。

【0270】

FISHアッセイでは、2,067個の評価可能なFISHコアがあった(56%)。865人の患者(49%)は2個の評価可能なFISHコアを有し(AZURE患者の26%)、1,202人の患者は単一のFISHスコアを有していた(68%)。4個のレプリカのいずれにおいても、567人の患者は、FISHによって評価不能であった(32%)。

【0271】

IHCアッセイでは、病理学者評価およびVisioPharmコンピュータ支援評価を実施した。病理学者評価では、2,232個のコアを評価した(Hスコアでは59%が評価可能)。1390人の患者がIHC Hスコアを有していた(74%)(全AZURE患者の39%に相当)。4個のレプリカのいずれにおいても、460人の患者は、IHCによって評価不能であった。VisioPharmコンピュータ支援IHC染色評価では、Hスコアおよび平均染色/核について病理学者がスコア化した1309人のうち、1299人のIHC患者を評価した。MAF陽性率は、図4Aおよび4Bに見ることができる。

10

【0272】

カットオフ最適化FISHデータは図5に見ることができ、Viperlyら、JCO 2014 DOI:10.1200/JCO.2013.53.3604に記載されているように計算した。

20

【0273】

FISH分析の分子変数に関して:MAFコピー数:数値およびカテゴリー(+/-カットオフ $\geq 2.5$ )変数;増幅された核MAFの%(MAFCN $> 2$ ):数値+カテゴリー(カットオフTBD)。IHC分析については:IHC H-スコア:数値+カテゴリー(カットオフ $\geq 200$ )、IHC OD:数値+カテゴリー(カットオフtBD)。以下の臨床変数を分析した:無病生存(DFS)、無浸潤疾患生存(IDFS)、全生存(OS)、骨における最初の再発、任意の時点における骨再発、骨における最初のDFS事象までの時間、骨以外における最初のDFS事象までの時間、ゾレドロン酸処置に対する反応。

【0274】

MAF FISH予後値の分析では、対照アームおよび処置アームの患者を初期分析のためにプールした。示されている場合には、分析すべき各変数の最適化カットオフを使用した。骨転移(任意の時点)までの時間において、競合事象として死亡を使用した。以下の臨床変数を分析した:骨転移(任意の時点)までの時間、骨転移(最初の事象として)までの時間、IDFS(同側浸潤性乳房腫瘍再発、局部浸潤性乳がん再発、転移性疾患-乳がん、乳がん、対側浸潤性乳がん、第二の原発性非乳房浸潤性乳がんを含む任意の原因に起因する死亡を含む)および全生存。

30

【0275】

図6は、全患者を分析したところ、MAF FISH陽性患者では、骨転移のリスクが40%高かったことを示している( $\geq 2.3$ )( $p = 0.007$ )(骨転移(任意の時点)までの時間において、競合事象として死亡を使用する)。図7は、MAF FISH陽性患者では、最初の転移部位としての骨のリスクが42%高かったことを示している( $\geq 2.3$ )( $p = 0.02$ 、多変量分析)。図8に見られるように、MAF FISH陽性患者では、IDFSのリスクが38%高かった( $\geq 2.2$ )( $p = 0.0002$ 、多変量分析)(2年までに非常に早期に分離した後、曲線は平行になる)。図9は、MAF FISH陽性患者では、全生存が33%低かったことを示している( $\geq 2.2$ )( $p = 0.02$ 、多変量分析)(全生存については、3年までに早期に分離する)。

40

【0276】

図10に見られるように、対照アームのMAF FISH陽性患者では、最初の再発としての骨までの時間がより短く( $\geq 2.3$ )、多変量分析では有意差があった(HR =

50

0.47、 $p = 0.013$  )。

【0277】

図11に示されているように、未処置MAF陽性患者では、未処置MAF非陽性患者と比較して、再発までの時間がより短い傾向があった ( $> = 2.2$ ) ( $HR = 0.72$ 、 $p = 0.08$ 、多変量分析)。図12は、AZURE対照患者のみにおけるFISHによるIDFS (骨再発を除く) までの時間を示す。2.2の最適化カットオフを使用した。

【0278】

要約すれば、MAF FISHレベルに応じて患者を階層化するための事前に規定したカットオフは、コンピュータベースの規定の最適化カットオフに非常に近かった。閾値効果は、適切な (関連する) 処置 (または処置の回避) について、明確な群の描写を可能にする。対照アームのMAF FISH陽性患者の予後に基づいて、本発明者らは、最初の転移としての骨までの時間がより短く ( $HR = 0.53$ 、多変量  $p = 0.03$ )、再発 (浸潤疾患) までの時間がより短い傾向がある ( $HR = 0.72$ 、 $p = 0.08$ ) ことを見出した。

【0279】

実施例2: MAF FISH階層化によるゾレドロン酸処置効果の評価。

実施例1に記載されているAZURE研究の対照アームおよびゾレドロン酸処置アームを評価して、MAF階層化患者に対するゾレドロン酸処置の効果を決定した。

【0280】

図13 (Colemanら、Lancet Oncol 2014; 15: 997-1006、図3) は、Azure試験の対照アームおよびゾレドロン酸処置アームの患者における骨転移までの時間を示す。図14は、最初の事象としての骨転移までの時間の評価を示す。図14に見ることができるよう、対照アームのMAF FISH陽性 ( $> = 2.3$ ) 患者では、最初の再発としての骨までの時間がより短く、多変量分析では有意差があった ( $HR = 0.47$ 、 $p = 0.013$ 、多変量分析)。ゾレドロン酸処置は、MAF陽性および非陽性患者間における最初の再発部位としての骨の発生率の差を減少させ、ゾレドロン酸で処置したMAF陽性患者では、MAF非陽性患者と比較して、いかなる時点においても骨転移のリスクに有意差がなかった。

【0281】

図15 (Colemanら、Lancet Oncol 2014; 15: 997-1006、図2) は、AZURE試験における対照アームおよびゾレドロン酸処置患者間の無病生存 (DFS) および無浸潤疾患生存 (IDFS) の分析を示す。

【0282】

図16は、対照アームおよびゾレドロン酸処置患者間の遠隔再発までの時間を示す。未処置MAF陽性患者では、遠隔再発までの時間がより短い傾向があった ( $> = 2.2$ ) ( $HR = 0.72$ 、 $p = 0.08$ 、多変量分析)。ゾレドロン酸処置アームのMAF陽性患者では、再発 (浸潤疾患) までの時間が有意により短かった ( $HR = 0.52$ 、 $p < 0.001$ 、多変量分析)。ゾレドロン酸による処置は、未処置MAF陽性患者と比較して、IDFSを悪化させた。

【0283】

図17は、処置に応じた骨転移事象 (任意の時点) までの時間を示す。骨転移 (任意の時点) までの時間において、競合事象として死亡を使用する。対照アームのMAF FISH陽性患者 ( $> = 2.3$ ) では、骨転移のリスクの増加は有意ではなかった ( $HR = 0.72$ 、 $p = 0.18$ )。MAF FISH非陽性患者では、MAF FISH陽性患者と比較して、ゾレドロン酸処置は、いかなる時点においても骨転移のリスクを有意に減少させた ( $< 2.3$ ) ( $HR = 0.52$ 、 $p = 0.01$ )。

【0284】

図18は、MAFコピー数に応じた (2.5の事前に指定したMAFカットオフに応じた) 骨転移事象 (任意の時点) までの時間を示す。骨転移 (任意の時点) までの時間において、競合事象として死亡を使用する。MAF FISH非陽性患者では、ゾレドロン酸

10

20

30

40

50

処置は、骨転移のリスクを有意に減少させた ( $HR = 0.65$ 、 $p = 0.03$ )。MAF陽性患者では、ゾレドロン酸処置は、骨転移のリスクの増加傾向を示した。差は有意ではなかった ( $HR = 1.54$ 、 $p = 0.22$ )。

【0285】

図19は、MAF (Colemanら、Lancet Oncol 2014; 15: 997-1006、図5) に応じて患者を階層化していない場合の、AZURE試験の閉経状態によるIDFSを示す。

【0286】

図20は、閉経後患者におけるMAFコピー数に応じた骨転移事象 (任意の時点) までの時間 (2.5の事前に指定したカットオフに応じたデータ) を示す (競合事象として死亡を使用)。MAF陽性閉経後患者 ( $> 2.5$ ) における処置転帰は、骨転移事象の数を減少させる傾向を示した ( $HR = 0.46$ 、 $p = 0.26$ 、事象数は限定的)。ゾレドロン酸で処置したMAF非陽性閉経後患者における処置転帰は、MAF陽性閉経後患者よりも有効ではなかったが ( $HR = 0.63$  対  $HR = 0.46$ 、事象数は限定的)、これは、MAF陽性閉経後患者では、骨転移を予防するためのゾレドロン酸処置の明確な利益を示唆している。

10

【0287】

図21は、非閉経後患者におけるMAFコピー数に応じた骨転移事象 (任意の時点) までの時間 (2.5の事前に指定したカットオフに応じたデータ) を示す。MAF陽性非閉経後患者では、ゾレドロン酸処置転帰が有意に悪く、骨転移事象の増加を引き起こした ( $HR = 2.44$ 、 $p = 0.045$ )。MAF非陽性非閉経後患者では、より良好なゾレドロン酸処置転帰の傾向があった ( $HR = 0.66$ 、 $p = 0.08$ )。

20

【0288】

図22は、ゾレドロン酸処置アームおよび対照アームのIDFS (閉経後女性の骨転移を除く) を示す。図22に見られるように、ゾレドロン酸による閉経後患者の処置は、MAF FISH陽性患者 ( $\geq 2.2$ ) のIDFS (骨を除く) を有意に改善して、浸潤疾患事象の数を減少させ、MAF非陽性患者のIDFS (骨を除く) に差はなかった。

【0289】

図23は、ゾレドロン酸処置アームおよび対照アームのIDFS (非閉経後女性の骨転移を除く) を示す。図23に見られるように、ゾレドロン酸による非閉経後女性の処置は、MAF FISH陽性患者 ( $\geq 2.2$ ) のIDFS (骨を除く) を有意に悪化させ、MAF FISH非陽性患者のIDFS (骨を除く) に差は見られなかった。

30

【0290】

図24は、処置アームによる全生存 (OS) を示す。ゾレドロン酸によるMAF FISH陽性患者の処置は、OSに有意な影響を与えた。

【0291】

図25は、AZURE対照アームにおける無病生存 (DFS) の予後を示す。図25に見ることができるように、未処置MAF陽性閉経後患者では、無病生存が有意に低い。無病生存に関して: (対照患者における) 多変量分析におけるFISH状態および閉経状態相互作用共変量の有意性;  $\chi^2 = 6.23$ 、 $p$  値 =  $0.013$ 。図26は、AZURE対照アーム患者における全生存の予後を示す。未処置MAF陽性閉経後患者では、より短いOSの傾向がある。OSに関して: (対照患者における) 多変量分析におけるFISH状態および閉経状態相互作用共変量の有意性;  $\chi^2 = 3.62$ 、 $p$  値 =  $0.057$ 。図27は、MAF FISH値に応じた、DFSに対するゾレドロン酸処置の影響を示す。図27に見ることができるように、ゾレドロン酸処置は、MAF FISH陽性および陰性患者間の差次的なDFS転帰をもたらし、これらの差は、閉経後および非閉経後女性において生じる。

40

【0292】

図28は、閉経後患者のMAF FISH値に応じた、DFSに対するゾレドロン酸処置の影響を示す。図28に見ることができるように、MAF陰性閉経後患者では、ゾレド

50



。この効果は閉経状態によって駆動され、非閉経後群において最大効果を示す。ゾレドロンは、MAF FISH陽性閉経後患者の転帰を有意に改善する。しかしながら、ゾレドロン酸は、MAF FISH陽性非閉経後患者の転帰を悪化させる。この効果は、ゾレドロン酸で処置した際の浸潤疾患の増加（IDFSの減少）に依存する（これは、非閉経後患者では、骨への転移の予防が他の場所の転移を促進し、最終的には二次事象としての骨への転移につながり得ることを示唆している）。

【0296】

ゾレドロン酸で処置していないMAF FISH陽性患者は、骨転移および浸潤疾患（骨事象の包含および除外にかかわらずIDFSの減少）のより高いリスクを有する。ゾレドロン酸で処置した患者では、任意の時点での骨転移、IDFS（骨事象の包含および除外にかかわらず）および全生存に関して、MAF陽性患者は、未処置患者と比較して悪い転帰を有する。任意の時点での骨転移に関して、ゾレドロン酸で処置したMAF陰性患者は、未処置患者と比較して良好な転帰を有する。閉経後女性に関して、ゾレドロン酸で処置したMAF陽性患者では、IDFS（骨を除く）に関する転帰がより良好である。非閉経後女性において、ゾレドロン酸で処置したMAF陽性患者では、IDFS（骨を除く）に関する転帰がより悪い。

【0297】

本明細書に引用されたすべての刊行物、特許、特許出願、インターネットサイトおよびアクセッション番号/データベース配列（ポリヌクレオチド配列およびポリペプチド配列の両方を含む）は、各個別の刊行物、特許、特許出願、インターネットサイトまたはアクセッション番号/データベース配列が、参照により援用されると具体的および個別に示されたのと同程度にすべての目的のためにそれらの全体が本明細書に参照により援用される。

【図1】

MAF-FISH アッセイ検証パラメータ	MAF-IHC アッセイ検証パラメータ
分析した異なるプロトタイプ	Dako Autostainer Link 対 Ventana Benchmark Ultra
	ロット間の変動
	アッセイ内の併行精度(同じ試行、同一人物による評価)
	アッセイ内の併行精度(別の試行、同一人物による評価)
	バイオマーカーの安定性/保存
室内精度(2人の別の技術者がアッセイを実施する)	室内精度(2つの異なるデバイスによって染色を実施した)
プロトタイプ濃度、ハイブリダイゼーション温度	抗体濃度

Figure 1

【図2】

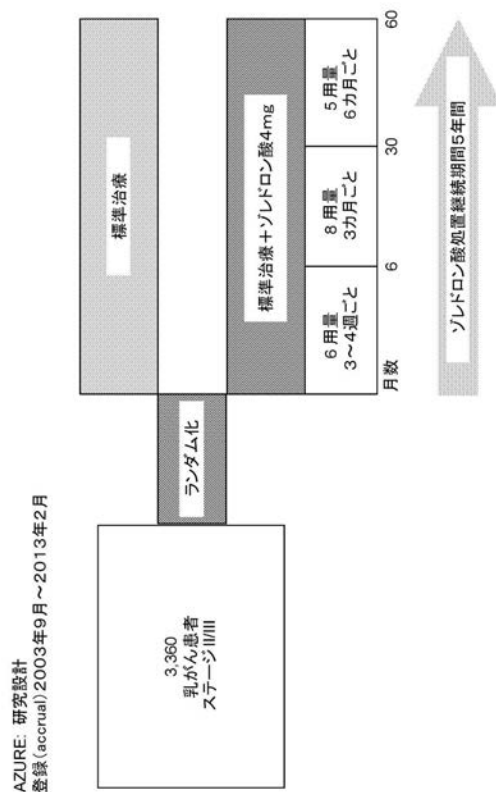


Figure 2

10

20

【 図 3 】

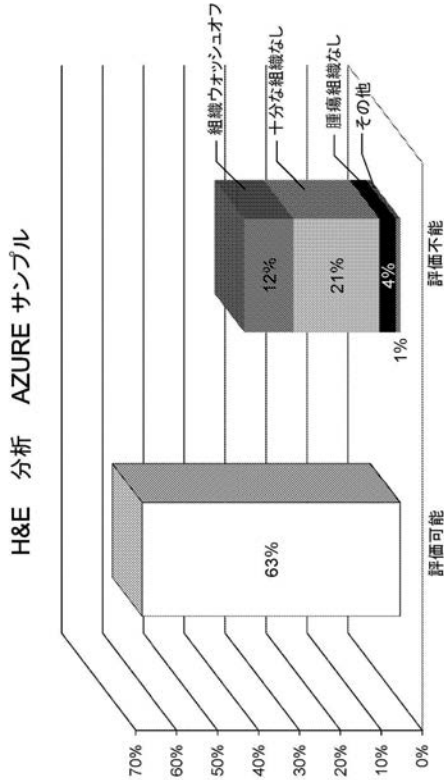


Figure 3

【 図 4 B 】

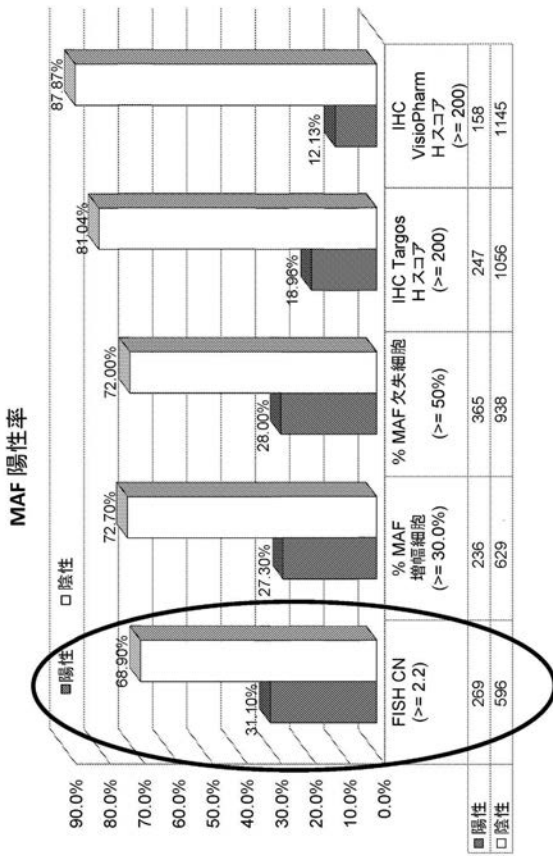


Figure 4B

【 図 4 A 】

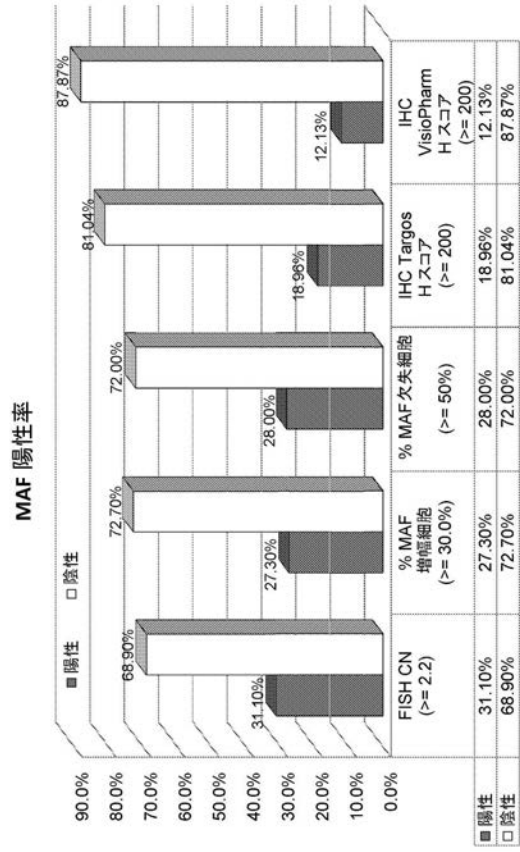


Figure 4A

【 図 5 】

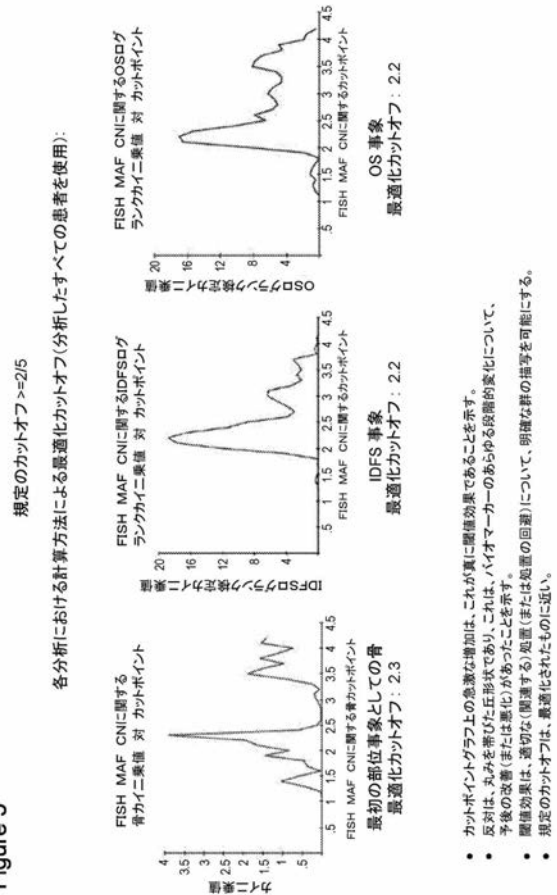


Figure 5

【 図 6 】

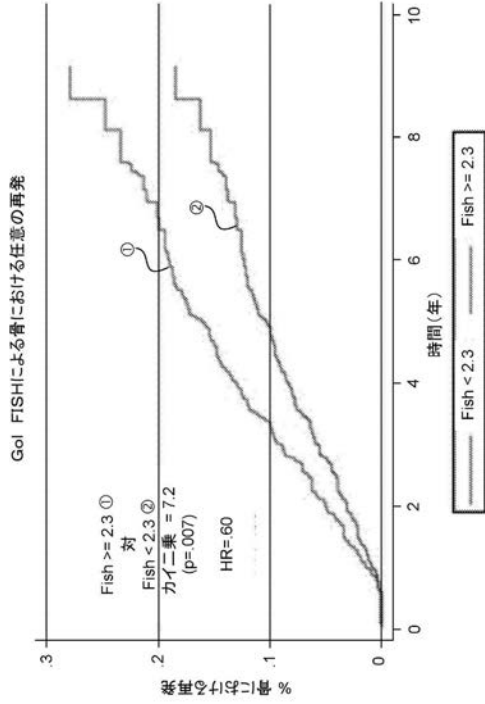


Figure 6

【 図 8 】

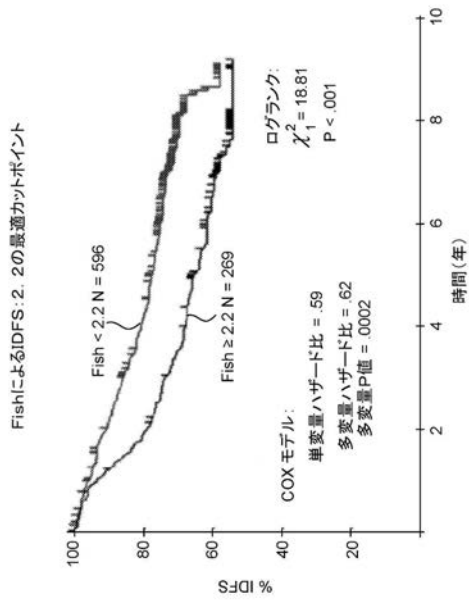


Figure 8

【 図 7 】

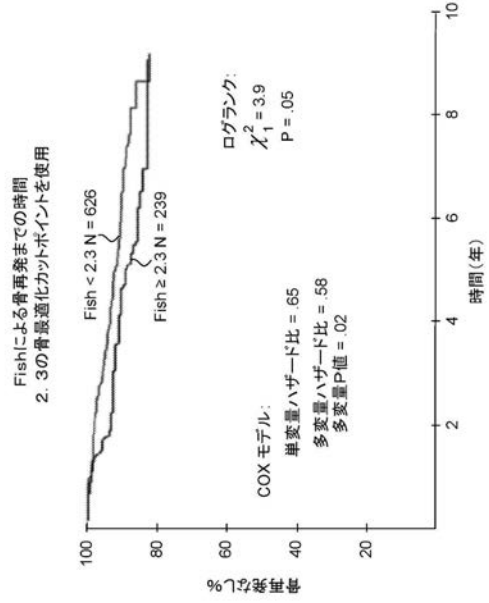


Figure 7

【 図 9 】

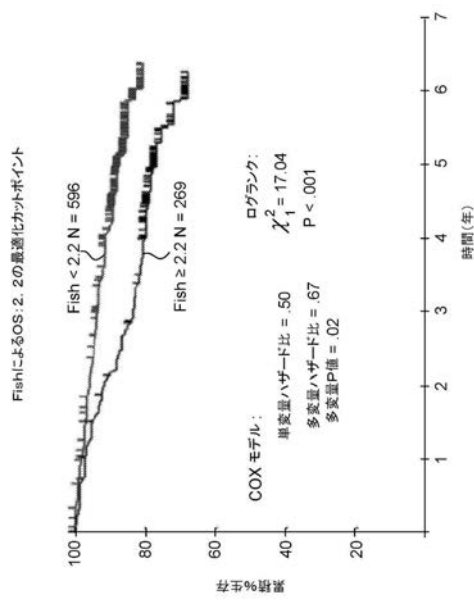


Figure 9



【 図 1 4 】

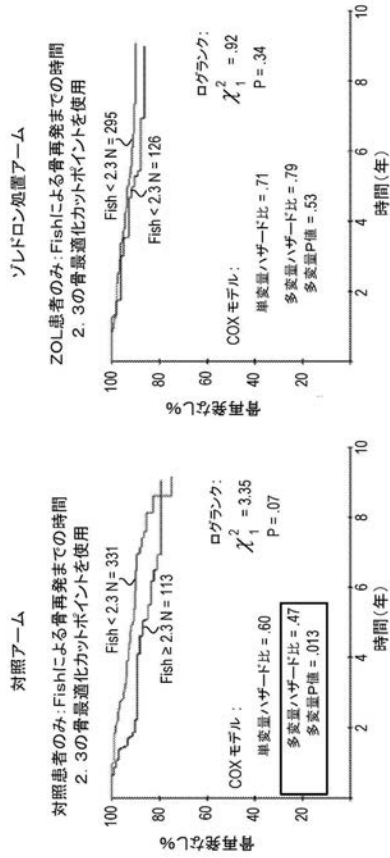


Figure 14

【 図 1 6 】

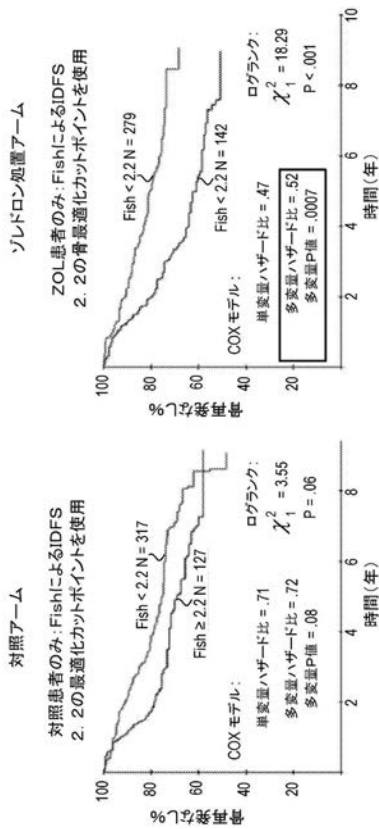
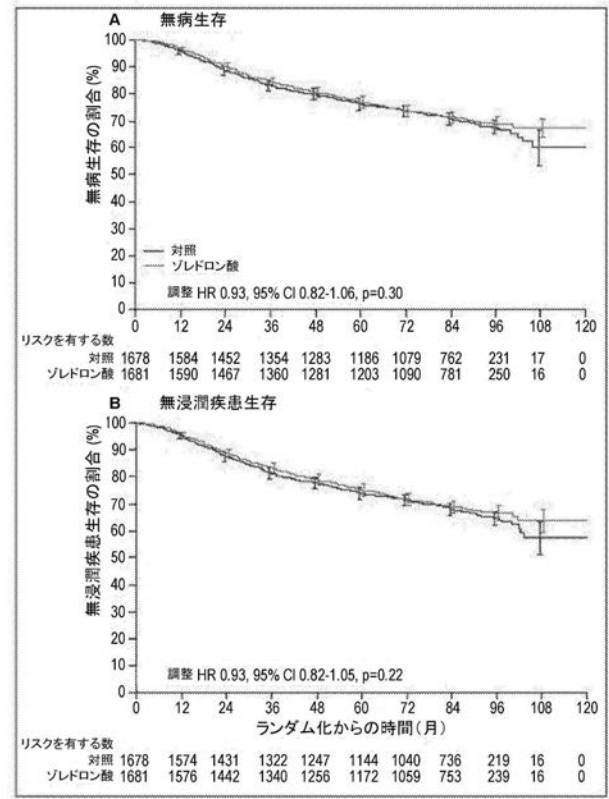


Figure 16

【 図 1 5 】

Figure 15



【 図 1 7 】

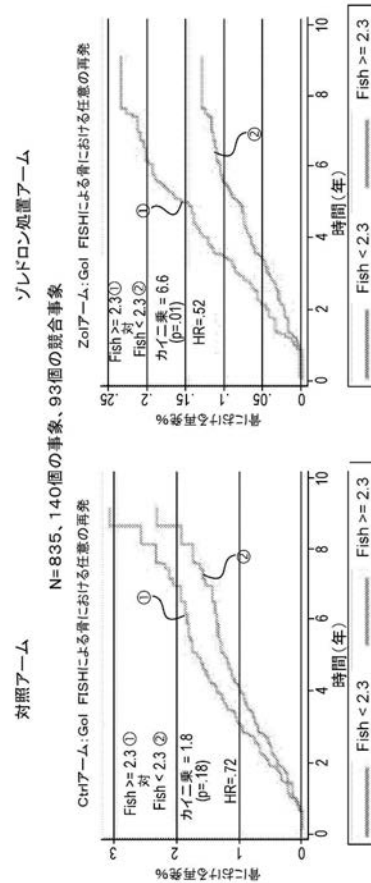


Figure 17

【 図 1 8 】

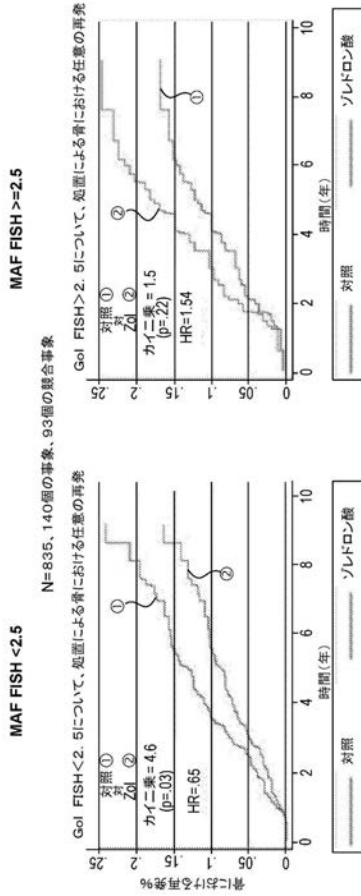


Figure 18

【 図 2 0 】

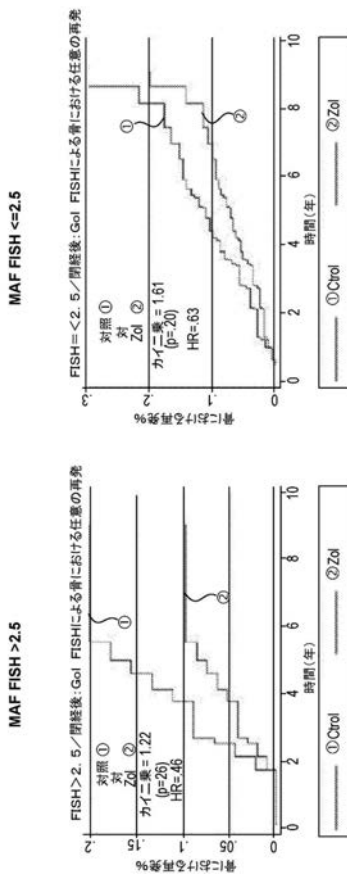
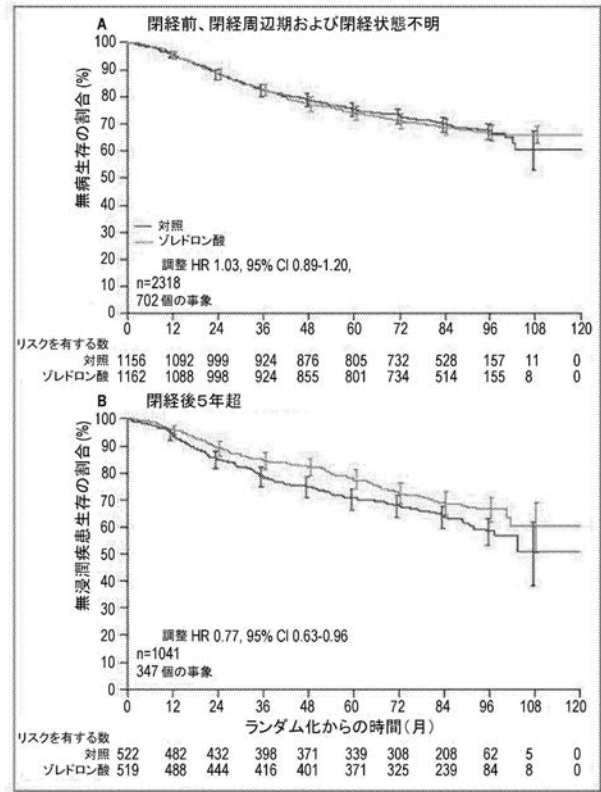


Figure 20

【 図 1 9 】

Figure 19



【 図 2 1 】

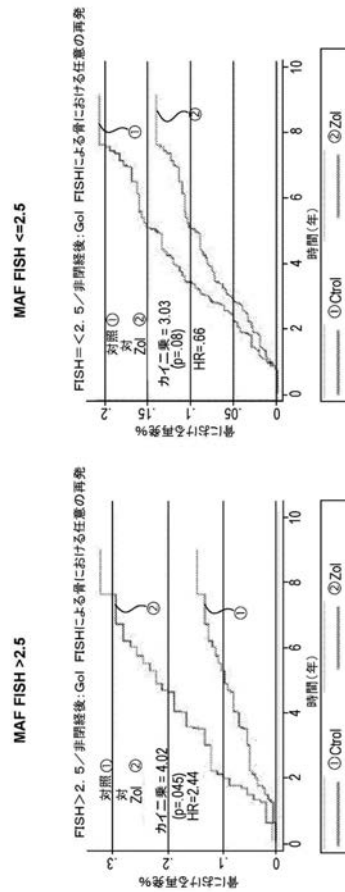
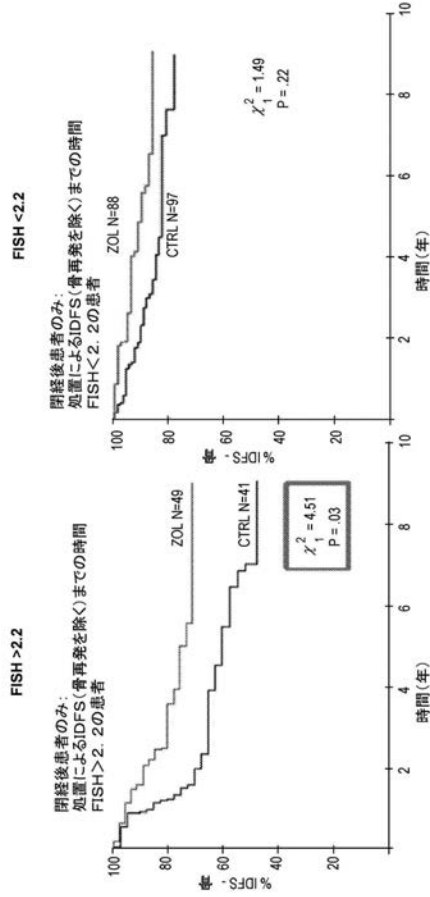


Figure 21

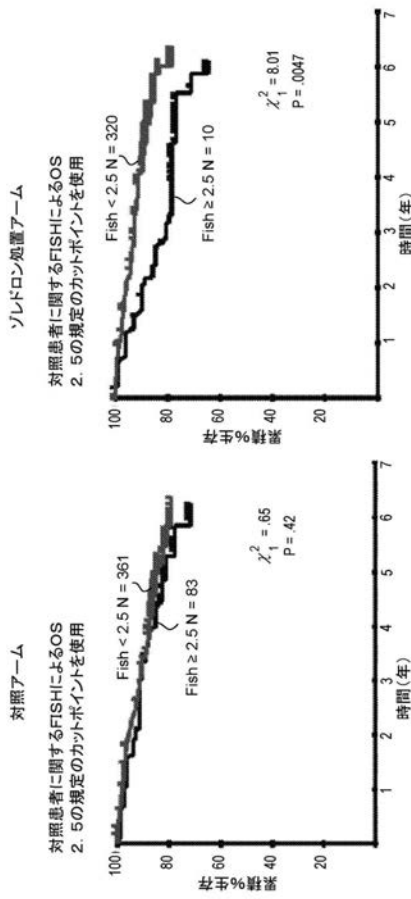
【 図 2 2 】

Figure 22



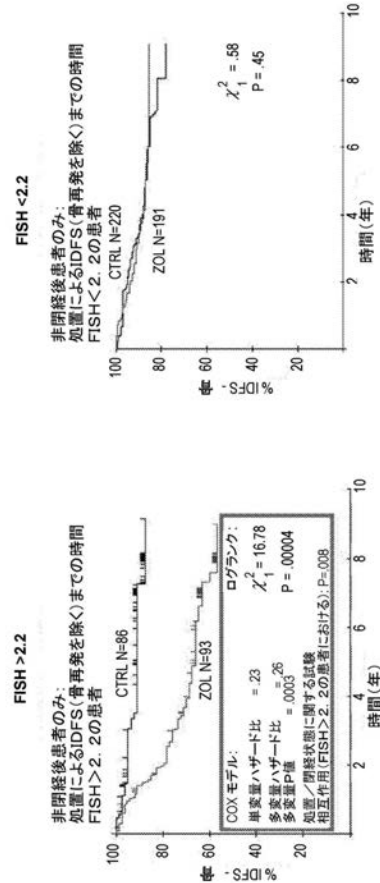
【 図 2 4 】

Figure 24



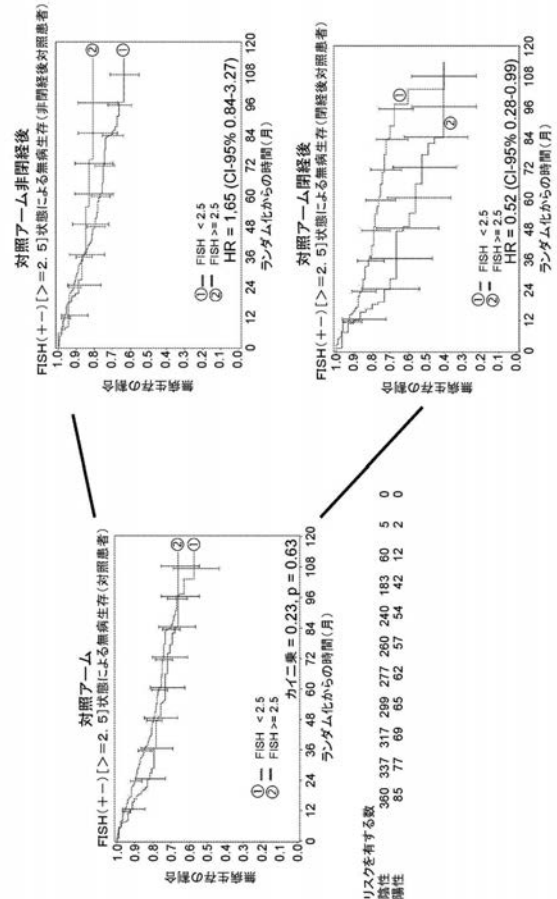
【 図 2 3 】

Figure 23



【 図 2 5 】

Figure 25



【 図 2 6 】

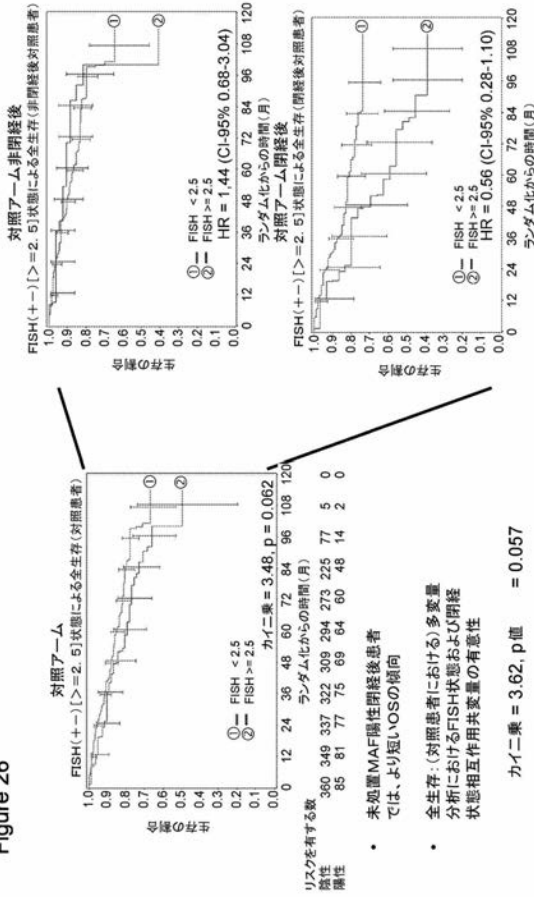


Figure 26

【 図 2 8 】

閉経後患者における、MAF FISHに応じた、DFSに対するゾレドロン酸処置の影響

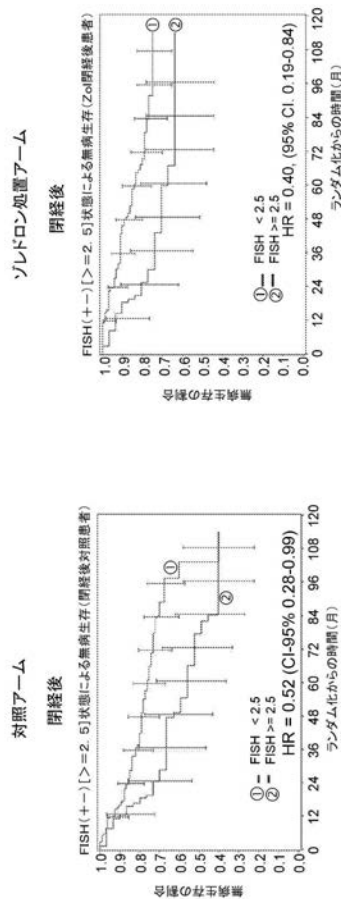


Figure 28

【 図 2 7 】

MAF FISHに応じた、DFSに対するゾレドロン酸処置の影響

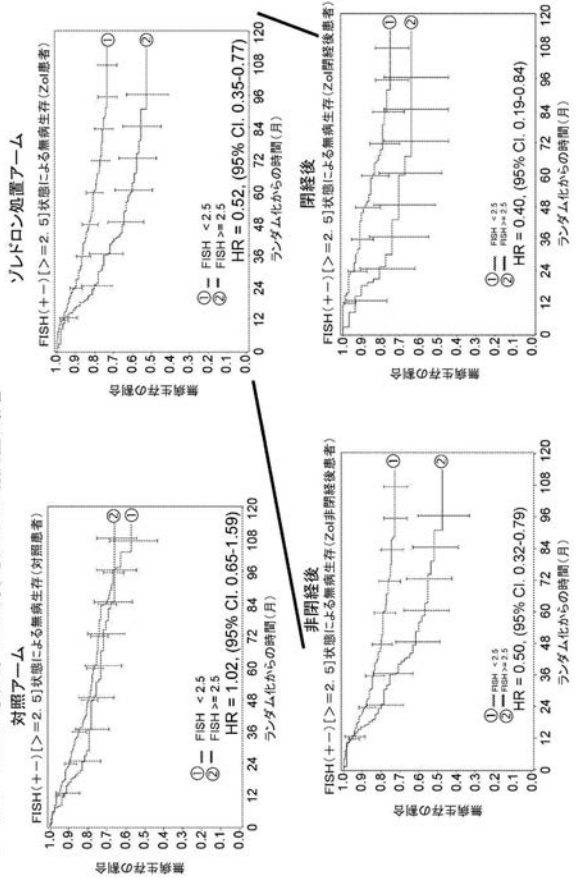


Figure 27

【 図 2 9 】

MAF FISHに応じた、非閉経女性のDFSに対するゾレドロン酸処置の影響

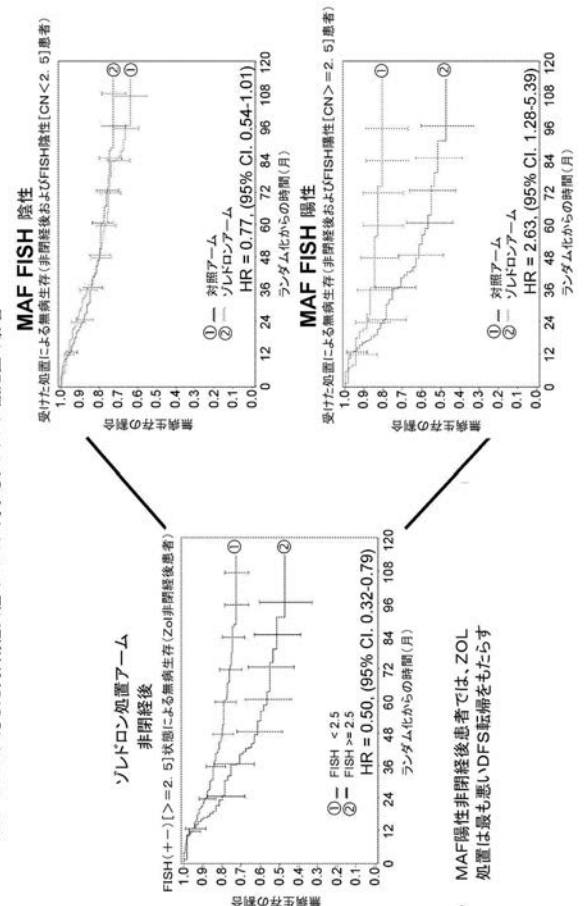
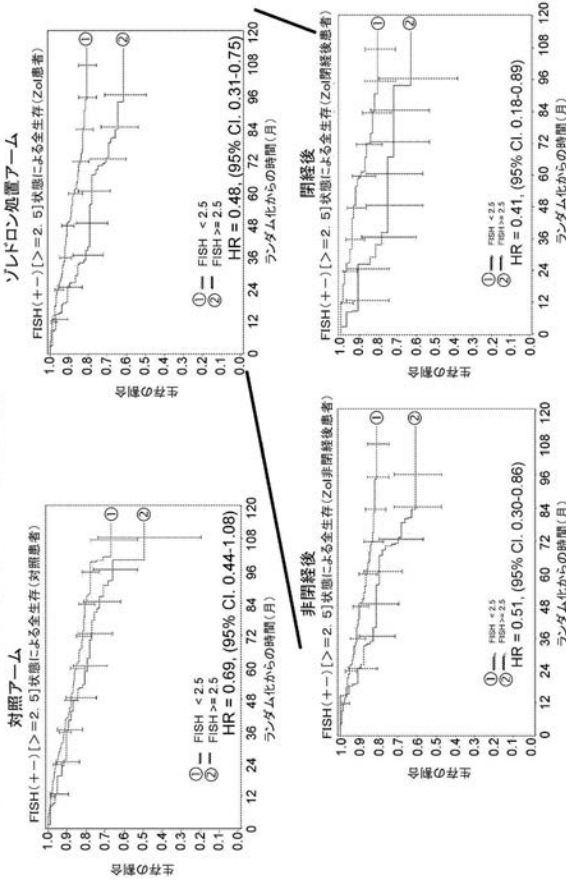


Figure 29

MAF陽性非閉経後患者では、ZOL処置は最も悪いDFS転帰をもたらす

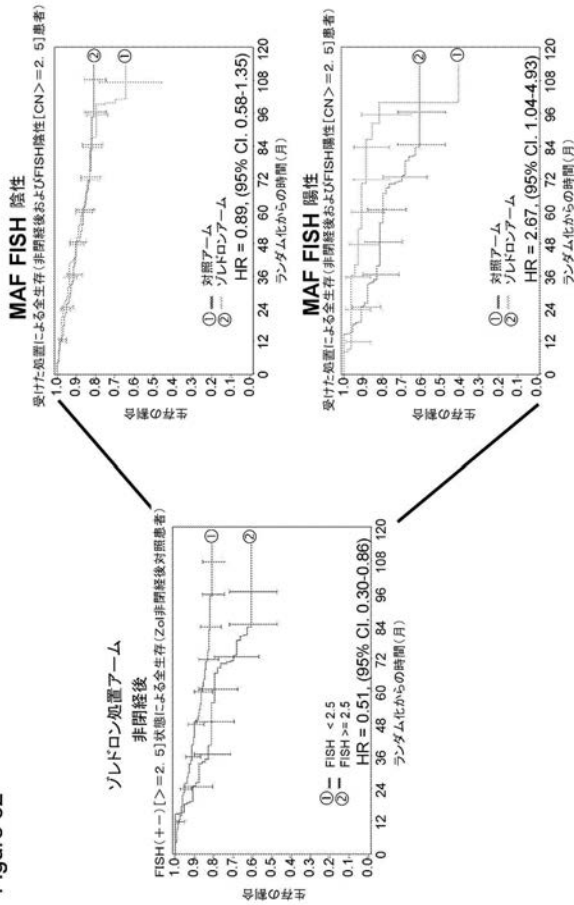
【 図 3 0 】

Figure 30  
MAF FISHに応じた、OSに対するゾレドロン酸処置の影響



【 図 3 2 】

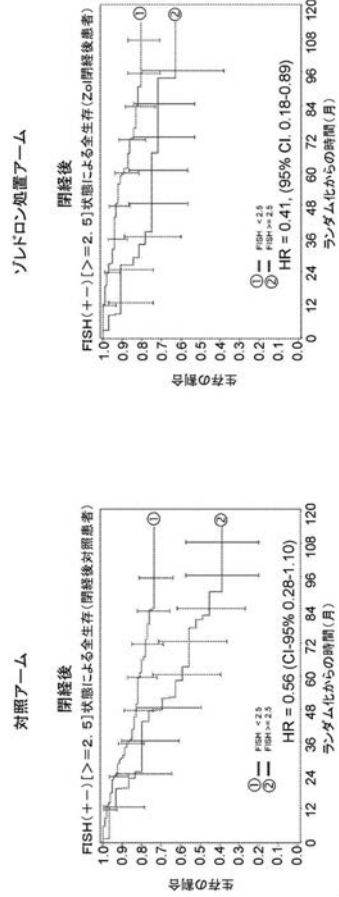
Figure 32



【 図 3 1 】

Figure 31

閉経後患者における、MAF FISHに依じた、OSに対するゾレドロン酸処置の影響



【配列表】

2019523641000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成31年2月19日(2019.2.19)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2019523641000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2017/053094
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. C12Q1/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q		
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) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
<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	WO 2015/052583 A2 (FUNDACIO INST DE RECERCA BIOMEDICA IRB BARCELONA [ES]; ICREA [ES]) 16 April 2015 (2015-04-16)	9,10,12, 13,22, 23,26, 27,29, 30, 33-44, 59-71, 76-78
Y	claims 3, 4, 11, 39, 41, 57	5-8,11, 14-21, 24,25, 28, 33-44, 59-67
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
4 August 2017		14/08/2017
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Santagati, Fabio

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2017/053094
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 2 650 682 A1 (FUNDACIO PRIVADA INST DE RECERCA BIOMEDICA [ES]; FUNDACIO PRIVADA INST) 16 October 2013 (2013-10-16)	9,10,12, 13,22, 23,26, 27,29, 30, 33-44, 59-71, 76-78
Y	paragraph [0124]; claims 3, 30, 32, 47	5-8,11, 14-21, 24,25, 28, 33-44, 59,67
Y	----- ROBERT COLEMAN ET AL: "Adjuvant zoledronic acid in patients with early breast cancer: final efficacy analysis of the AZURE (BIG 01/04) randomised open-label phase 3 trial", THE LANCET ONCOLOGY, vol. 15, 15 July 2014 (2014-07-15), pages 997-1006, XP055395289, DOI: <a href="https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70302-X">https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70302-X</a> figure 4	5-8,11, 14-21, 24,25, 28, 33-44, 59-67
X	----- MILICA PAVLOVIC ET AL: "Enhanced MAF Oncogene Expression and Breast Cancer Bone Metastasis", JOURNAL OF THE NATIONAL CANCER INSTITUTE, vol. 107, no. 12, 15 September 2015 (2015-09-15), page djv256, XP055395590, GB ISSN: 0027-8874, DOI: 10.1093/jnci/djv256 figures 1F, 2C; tables 1, 2, 1S, 3S -& M Pavlovic: "Enhanced MAF Oncogene Expression and Breast Cancer Bone Metastasis -Supplementary Materials", 15 September 2015 (2015-09-15), XP055396329, Retrieved from the Internet: URL: <a href="https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/djv256#supplementary-data">https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/djv256#supplementary-data</a> [retrieved on 2017-08-04]	31,45, 46, 48-63,65
X	EP 2 626 431 A2 (FUNDACIO PRIVADA INST DE RECERCA BIOMEDICA [ES]; FUNDACIO PRIVADA INST) 14 August 2013 (2013-08-14) figure 1C; example 2 ----- -----	45,46, 48-63,65
	-/--	

1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2017/053094

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/140933 A2 (FUNDACIO PRIVADA INST DE RECERCA BIOMEDICA [ES]; FUNDACIO PRIVADA INST) 18 September 2014 (2014-09-18) figures 2A-C -----	45,46, 48,63, 65,72-78
X,P	R COLEMAN ET AL: "Abstract P1-09-01: Impact of MAF gene amplification on disease recurrence and effects of adjuvant zoledronic acid in early breast cancer", CANCER RESEARCH, vol. 77, no. 4 Supplement, 15 February 2017 (2017-02-15), pages P1-09-01-P1-09-01, XP055396234, & 103RD ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-ASSOCIATION-FOR-CANCER-RESEARCH; CHICAGO, IL, USA; MARCH 31 -APRIL 04, 2012 ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/1538-7445.SABCS16-P1-09-01 the whole document -----	1
A	Prof M Gnant ET AL: "Adjuvant endocrine therapy plus zoledronic acid in premenopausal women with early-stage breast cancer: 62-month follow-up from the ABCSG-12 randomised trial", oncology Articles Lancet Oncol, 1 January 2011 (2011-01-01), pages 631-41, XP055396207, DOI: 10.1016/S1470- Retrieved from the Internet: URL:http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S147020451170122X?via%3Dihub the whole document -----	1-30
A	KIM HOON ET AL: "Multi-cancer computational analysis reveals invasion-associated variant of desmoplastic reaction involving INHBA, THBS2 and COL11A1", BMC MEDICAL GENOMICS, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON UK, vol. 3, no. 1, 3 November 2010 (2010-11-03), page 51, XP021082988, ISSN: 1755-8794, DOI: 10.1186/1755-8794-3-51 page 7 -----	1-30

1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2017/053094

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2015052583 A2	16-04-2015	AU 2014333513 A1	28-04-2016
		CA 2926894 A1	16-04-2015
		CN 105980576 A	28-09-2016
		EP 3055429 A2	17-08-2016
		JP 2016539625 A	22-12-2016
		KR 20160061424 A	31-05-2016
		US 2017101683 A1	13-04-2017
		WO 2015052583 A2	16-04-2015
EP 2650682 A1	16-10-2013	AU 2013246618 A1	06-11-2014
		CA 2891609 A1	17-10-2013
		CN 104797935 A	22-07-2015
		EP 2650682 A1	16-10-2013
		EP 2836837 A2	18-02-2015
		HK 1206431 A1	08-01-2016
		JP 2015520606 A	23-07-2015
		KR 20150014919 A	09-02-2015
		US 2015293100 A1	15-10-2015
		WO 2013153458 A2	17-10-2013
EP 2626431 A2	14-08-2013	AR 083357 A1	21-02-2013
		AU 2011311452 A1	09-05-2013
		AU 2016266009 A1	15-12-2016
		BR 112013008505 A2	05-07-2016
		CA 2813674 A1	12-04-2012
		CN 103339265 A	02-10-2013
		DK 2626431 T3	21-12-2015
		EP 2626431 A2	14-08-2013
		EP 3091085 A1	09-11-2016
		ES 2562274 T3	03-03-2016
		HK 1187377 A1	15-09-2016
		JP 6159254 B2	12-07-2017
		JP 2013541339 A	14-11-2013
		JP 2017104115 A	15-06-2017
		KR 20140071946 A	12-06-2014
		MX 344315 B	13-12-2016
		US 2014057796 A1	27-02-2014
WO 2012045905 A2	12-04-2012		
WO 2014140933 A2	18-09-2014	AU 2014229505 A1	03-09-2015
		CA 2906394 A1	18-09-2014
		CN 105324491 A	10-02-2016
		EP 2971113 A2	20-01-2016
		JP 2016516403 A	09-06-2016
		KR 20150122731 A	02-11-2015
		US 2016032400 A1	04-02-2016
		WO 2014140933 A2	18-09-2014

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 Q 1/686 (2018.01)	C 1 2 Q 1/686	Z
C 1 2 Q 1/6837 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6837	Z
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 31/675 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 31/47 (2006.01)	A 6 1 K 31/675	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/47	
A 6 1 P 19/08 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/08	
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
C 1 2 Q 1/6886 (2018.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
	C 1 2 Q 1/6886	Z

(81)指定国・地域 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, TJ, 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, RO, 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, 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

(72)発明者 グレゴリー, ウォルター マーティン  
イギリス国 エルエス 2 9 9 エヌディー ウェスト ヨークシャー, イルクリー, パリシュ  
ギル ドライブ 2, アッシュバーン ハウス 3

(72)発明者 テルセロ, フアン カルロス  
スペイン国 2 8 0 2 8 マドリッド, セノフランシスコ ナバセラダ, 3 1, 2 オデチャ

(72)発明者 ゴミス, ロジェル  
スペイン国 0 8 0 2 9 バルセロナ, セノアベニル 3 5, 1 - 2

(72)発明者 コールマン, ロバート イー.  
イギリス国 エス 1 0 3 エルゼット シェフィールド, カーサイック ビュー ロード, 8

Fターム(参考) 2G045 AA26 CB02 DA13 DA14 DA36 FB02 FB03  
4B063 QA19 QQ03 QQ08 QQ42 QQ52 QR08 QR55 QR62 QS25 QS34  
QX02  
4C084 AA17 NA10 ZA811 ZA961 ZB261 ZC411  
4C085 AA13 AA14 CC23 EE01  
4C086 AA01 BC28 DA38 MA01 MA04 NA10 ZA81 ZA96 ZB26 ZC41

专利名称(译)	基于c-MAF状态的乳腺癌治疗方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2019523641A</a>	公开(公告)日	2019-08-29
申请号	JP2018561228	申请日	2017-05-25
申请(专利权)人(译)	在生物运动Essey耶.		
[标]发明人	テルセロフアンカルロス ゴミスロジェル		
发明人	グレゴリー, ウォルター マーティン テルセロ, フアン カルロス ゴミス, ロジェル コールマン, ロバート イー.		
IPC分类号	C12Q1/6851 G01N33/50 G01N33/574 G01N33/53 C12Q1/6841 C12Q1/686 C12Q1/6837 A61K45/00 A61K39/395 A61K31/675 A61K31/47 A61P15/00 A61P19/08 A61P35/00 A61P35/04 A61P43/00 C12Q1 /6886		
CPC分类号	A61P15/00 A61P19/08 C12Q1/6886 C12Q2600/106 C12Q2600/118 C12Q2600/158 A61K9/0019 A61K9/0053 A61K31/47 A61K31/663 A61P35/04 C07K16/2878 C12Q1/6841 C12Q1/686 C12Q1/6874 C12Q2563/107		
FI分类号	C12Q1/6851.ZNA.Z G01N33/50.P G01N33/574.A G01N33/53.Y C12Q1/6841.Z C12Q1/686.Z C12Q1 /6837.Z A61K45/00 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K31/675 A61K31/47 A61P15/00 A61P19/08 A61P35/00 A61P35/04 A61P43/00.111 C12Q1/6886.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/CB02 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B063 /QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/NA10 4C084/ZA811 4C084/ZA961 4C084 /ZB261 4C084/ZC411 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/CC23 4C085/EE01 4C086/AA01 4C086/BC28 4C086/DA38 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA10 4C086/ZA81 4C086/ZA96 4C086/ZB26 4C086 /ZC41		
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
优先权	62/341333 2016-05-25 US 62/344836 2016-06-02 US		
其他公开文献	JP2019523641A5		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及基于c-MAF表达水平和患有乳腺癌的受试者的绝经状态的受试者的定制疗法的设计。在一些实施方案中，定制治疗包括用于避免或预防骨质降解的药剂。在一些实施方案中，用于避免或预防骨降解的药剂是唑来膦酸。在一个方面，提供了用于设计针对患有乳腺癌的受试者的定制治疗的体外方法，该方法包括：i) 受试者样品中的c-MAF基因表达水平，拷贝数，扩增或增益ii) 将i) 中获得的表达水平，拷贝数，扩增或增益与参考值进行比较。

Figure 31

• Impact of Zoledronic Ac. treatment on OS according to MAF FISH in post menopausal patients

