

(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2021-521812

(P2021-521812A)

(43) 公表日 令和3年8月30日(2021.8.30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)	C 1 2 Q 1/68	4 B O 6 3
C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6869	Z 5 L O 9 9
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53	M
G 1 6 H 50/20 (2018.01)	G 1 6 H 50/20	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 31 頁)

(21) 出願番号 特願2020-558884 (P2020-558884)
 (86) (22) 出願日 平成31年4月16日 (2019. 4. 16)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年12月17日 (2020. 12. 17)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2019/059717
 (87) 国際公開番号 W02019/206725
 (87) 国際公開日 令和1年10月31日 (2019. 10. 31)
 (31) 優先権主張番号 62/662, 357
 (32) 優先日 平成30年4月25日 (2018. 4. 25)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(71) 出願人 590000248
 コーニンクレッカ フィリップス エヌ
 ヴェ
 KONINKLIJKE PHILIPS
 N. V.
 オランダ国 5656 アーヘー アイン
 ドーフェン ハイテック キャンパス 5
 2
 (74) 代理人 100107766
 弁理士 伊東 忠重
 (74) 代理人 100070150
 弁理士 伊東 忠彦
 (74) 代理人 100135079
 弁理士 宮崎 修

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫療法反応の改善予測バイオマーカーとしての腫瘍機能変異及びエピトープ負荷

(57) 【要約】

免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法(100、200、400)であって、以下の：患者の腫瘍由来の腫瘍試料の分析工程(120)；前記患者由来の非腫瘍試料の分析工程(130)；1又はそれ以上の腫瘍特異的変異の同定工程(140)；前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析により、前記同定された1又はそれ以上の腫瘍特異的変異の変異体対立遺伝子頻度の決定工程(150)；前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析により、前記患者の腫瘍の腫瘍純度の決定工程(160)；前記同定された腫瘍特異的変異の病原性の決定工程(210)；(i)前記決定された変異体対立遺伝子頻度、及び/又は決定された1又はそれ以上の腫瘍特異的変異の対立遺伝子特異的発現、エクソン発現、又は遺伝子発現；(ii)前記決定された病原性、腫瘍機能的変異の負荷スコア；並びに、(iii)前記決定された病原性、前記同定された1又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうちの少なくとも1つに対する腫瘍機能的変異負荷スコア、からの算出工程(220)；前記腫瘍機能的変異負荷スコアに基づく、前記患者の腫瘍の免疫療法に対する反応の予測工程(410)；かつ、前記予測に基づく、前記患者の治療の決定工程(420)；を含む、方法。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法であって、以下の：

患者の腫瘍由来の腫瘍試料の分析工程であって、前記腫瘍試料の遺伝情報の少なくとも部分の配列決定工程を含み、ここで、前記腫瘍試料は、1又はそれ以上の変異により識別される複数の異なるゲノムを含み、前記変異の少なくとも部分は、前記腫瘍試料内に可変量で存在し；

前記患者由来の非腫瘍試料の分析工程であって、前記非腫瘍試料の遺伝情報の少なくとも部分の配列決定工程を含み；

前記腫瘍試料由来の遺伝情報を、前記非腫瘍試料由来の遺伝情報と比較して、前記腫瘍試料においてのみ見出される1又はそれ以上の腫瘍特異的変異の同定工程；

前記同定された1又はそれ以上の腫瘍特異的変異の変異体対立遺伝子頻度を決定するための、前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析工程；

前記患者の腫瘍の腫瘍純度を決定するための、前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析工程；

前記同定された1又はそれ以上の腫瘍特異的変異の少なくとも1つに対する病原性の決定工程；

(i) 前記決定された変異体対立遺伝子頻度、及び / 又は決定された1又はそれ以上の腫瘍特異的変異の対立遺伝子特異的発現、エクソン発現、又は遺伝子発現； (i i) 前記決定された腫瘍純度；並びに、 (i i i) 前記決定された病原性、前記同定された1又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうちの少なくとも1つに対する腫瘍機能的変異負荷スコア、からの算出工程；

前記腫瘍機能的変異負荷スコアに基づき、前記患者の腫瘍の免疫療法に対する反応の予測工程；かつ、

前記予測に基づき、前記患者の治療の決定工程；

を含む、方法。

【請求項 2】

前記腫瘍機能的変異負荷スコア (L_m) の算出工程は、以下の：

【数 1】

$$L_m = \sum_i [f(v_i, a_i, e_i) \cdot s_i]$$

(式中、

i は、腫瘍特異的変異であり；

f は、測定値 v_i 、 a_i 及び e_i に基づき、変異体の存在又は発現を測定する関数であり

；

v_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する決定された変異体対立遺伝子頻度であり；

a_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された対立遺伝子特異的発現であり

；

e_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された遺伝子又はエクソンの発現であり；かつ、

s_i は、前記腫瘍特異的変異 i の決定された病原性である)

の式を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記式の1又はそれ以上の測定値が、前記腫瘍試料の決定された腫瘍純度によって調整される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記分析工程が各々、前記患者の腫瘍由来試料及び非腫瘍試料を含む、前記患者から複数の試料の取得工程を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

10

20

30

40

50

前記腫瘍特異的変異に対する病原性の決定工程が、病原性データベースへの照合工程を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】

免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法であって、以下の：

患者の腫瘍由来の腫瘍試料の分析工程であって、前記腫瘍試料の遺伝情報の少なくとも部分の配列決定工程を含み、ここで、前記腫瘍試料は、1 又はそれ以上の変異により識別される複数の異なるゲノムを含み、前記変異の少なくとも部分は、前記腫瘍試料内に可変量で存在し；

前記患者由来の非腫瘍試料の分析工程であって、前記非腫瘍試料の遺伝情報の少なくとも部分の配列決定工程を含み；

前記腫瘍試料由来の遺伝情報を、前記非腫瘍試料由来の遺伝情報と比較して、前記腫瘍試料においてのみ見出される 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の同定工程；

前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の変異体対立遺伝子頻度を決定するための、前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析工程；

前記患者の腫瘍の腫瘍純度を決定するための、前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析工程；

以下の：(i) 変異が新生 (neo) 抗原として提示される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうちの少なくとも 1 つに対する新生抗原スコア；

(ii) 前記変異が患者の T 細胞によって認識される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうちの少なくとも 1 つに対する T 細胞反応性スコア；及び

(iii) 前記変異が患者の B 細胞受容体によって認識される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうちの少なくとも 1 つに対する B 細胞エピトープスコア；の 1 又はそれ以上の決定工程；

(i) 前記新生抗原スコア、前記 T 細胞反応性スコア、及び / 又は前記 B 細胞エピトープスコア；(ii) 前記決定された腫瘍純度、及び (iii) 前記決定された変異体対立遺伝子頻度、及び / 又は前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の決定された対立遺伝子特異的発現、エクソン発現、又は遺伝子発現、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうちの少なくとも 1 つに対する腫瘍新生 (neo) エピトープ負荷スコアからの算出工程；

前記腫瘍新生エピトープ負荷スコアに基づく、前記患者の腫瘍の免疫療法に対する反応の予測工程；かつ、

前記予測に基づく、前記患者の治療の決定工程；

を含む、方法。

【請求項 7】

前記腫瘍新生エピトープ負荷スコア (Ln) の算出工程は、以下の式：

【数 2】

$$L_n = \sum_i [f(v_i, a_i, e_i) \cdot (n_i \cdot r_i + b_i)]$$

(式中、

i は、腫瘍特異的変異であり；

f は、測定値 v_i 、 a_i 及び e_i に基づき、変異体の存在又は発現を測定する関数であり；

v_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する決定された変異体対立遺伝子頻度であり；

a_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された対立遺伝子特異的発現であり；

e_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された遺伝子又はエクソンの発現であり；

n_i は、新生抗原スコアであり；

10

20

30

40

50

r_i は、T細胞反応性スコアであり；かつ、
 b_i は、B細胞反応性スコアである）
 を含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記式の 1 又はそれ以上の測定値が、前記腫瘍試料の決定された腫瘍純度によって調整される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

さらに、T細胞免疫応答重量を産生するための、前記腫瘍に対するT細胞免疫応答の重み付け工程を含み、前記腫瘍新生エピトープ負荷スコアの算出工程は、さらに、前記T細胞免疫応答重量を含む、請求項 6 に記載の方法。

10

【請求項 10】

さらに、B細胞免疫応答重量を産生するための、前記腫瘍に対するB細胞免疫応答の重み付け工程を含み、前記腫瘍新生エピトープ負荷スコアの算出工程は、さらに、前記B細胞免疫応答重量を含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 11】

前記腫瘍新生エピトープ負荷スコア (L_n) の算出工程は、以下の式：

【数 3】

$$L_n = \sum_i [f(v_i, a_i, e_i) \cdot (w_t \cdot n_i \cdot r_i + w_b \cdot b_i)]$$

20

(式中、

i は、腫瘍特異的変異であり；

f は、測定値 v_i 、 a_i 及び e_i に基づき、変異体の存在又は発現を測定する関数であり；

v_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する決定された変異体対立遺伝子頻度であり；

a_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された対立遺伝子特異的発現であり；

e_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された遺伝子又はエクソンの発現であり；

n_i は、新生抗原スコアであり；

30

r_i は、T細胞反応性スコアであり；

b_i は、B細胞反応性スコアであり；

w_t は、T細胞の免疫応答重量であり；かつ、

w_b は、B細胞免疫応答の重量である）

を含む、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記式の 1 又はそれ以上の測定値が、前記腫瘍試料の決定された腫瘍純度によって調整される、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

免疫療法に対する腫瘍の反応を予測するように構成されたシステムであって、以下の：
 プロセッサであって、以下の：(i) 腫瘍試料由来の遺伝情報を、非腫瘍試料由来の遺伝情報と比較して、前記腫瘍試料においてのみ見出される 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異を同定すること；(ii) 前記腫瘍試料由来の遺伝情報を分析して、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の変異体対立遺伝子頻度を決定すること；(iii) 前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析により、前記患者の腫瘍の腫瘍純度を決定すること；(iv) 前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する病原性を決定すること；(v) (i) 前記決定された変異体対立遺伝子頻度、及び / 又は決定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の対立遺伝子特異的発現、エクソン発現、又は遺伝子発現；(ii) 前記決定された腫瘍純度；並びに、(iii) 前記決定された病原性、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する腫

40

50

瘍機能的変異負荷スコア、から算出すること；かつ、(v i)前記腫瘍機能的変異負荷スコアに基づく、前記患者の腫瘍の免疫療法に対する反応を予測すること；を実装するように構成されたプロセッサ；かつ、

前記予測をユーザに提供するように構成されたユーザインタフェース；を含む、システム。

【請求項 14】

前記プロセッサは、前記以下の式：

【数 4】

$$L_m = \sum_i [f(v_i, a_i, e_i) \cdot s_i]$$

10

(式中、

i は、腫瘍特異的変異であり；

f は、測定値 v_i 、 a_i 及び e_i に基づき、変異体の存在又は発現を測定する関数であり

；

v_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する決定された変異体対立遺伝子頻度であり；

a_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された対立遺伝子特異的発現であり

；

e_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された遺伝子又はエクソンの発現であり；かつ、

20

s_i は、前記腫瘍特異的変異 i の決定された病原性である)

を用いて前記腫瘍機能的変異負荷スコア(Lm)を計算するように構成される、請求項 13 に記載のシステム。

【請求項 15】

前記式の 1 又はそれ以上の測定値は、前記腫瘍試料の決定された腫瘍純度によって調整される、請求項 14 に記載のシステム。

【請求項 16】

さらに、病原性データベースを含み、かつ、ここで、前記プロセッサは、前記病原性データベース由来のデータを用いて、病原性を決定するように構成される、請求項 13 に記載のシステム。

30

【請求項 17】

免疫療法に対する腫瘍の反応を予測するように構成されたシステムであって、以下の：

プロセッサであって、以下の：(i)腫瘍試料由来の遺伝情報を、非腫瘍試料由来の遺伝情報と比較して、前記腫瘍試料においてのみ見出される 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異を同定すること；(ii)前記腫瘍試料由来の遺伝情報を分析して、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の変異体対立遺伝子頻度を決定すること；(iii)前記腫瘍試料由来の遺伝情報を分析して、前記患者の腫瘍の腫瘍純度を決定すること；(iv)変異が新生抗原として提示される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する新生抗原スコアを決定すること；(v)前記変異が患者の T 細胞によって認識される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する T 細胞反応性スコアを決定すること；(vi)前記変異が患者の B 細胞受容体によって認識される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する B 細胞エピトープスコアを決定すること；(vii)以下の：(i)前記新生抗原スコア、前記 T 細胞反応性スコア、及び / 又は前記 B 細胞エピトープスコア；(ii)前記決定された腫瘍純度、及び (iii)前記決定された変異体対立遺伝子頻度、及び / 又は前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の決定された対立遺伝子特異的発現、エクソン発現、又は遺伝子発現、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する腫瘍新生エピトープ負荷スコアから算出すること；かつ、(viii)前記腫瘍新生エピトープ負荷スコアに基づく、前記患者の腫瘍の免疫療法に対する反応を予測すること；を実

40

50

装するように構成されたプロセッサ；かつ、

前記予測をユーザに提供するように構成されたユーザインタフェース；
を含む、システム。

【請求項 18】

前記腫瘍新生エピトープ負荷スコア (Ln) の算出工程は、以下の式：

【数 5】

$$L_n = \sum_i [f(v_i, a_i, e_i) \cdot (n_i \cdot r_i + b_i)]$$

(式中、

i は、腫瘍特異的変異であり；

f は、測定値 v_i 、 a_i 及び e_i に基づき、変異体の存在又は発現を測定する関数であり；

v_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する決定された変異体対立遺伝子頻度であり；

a_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された対立遺伝子特異的発現であり；

e_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された遺伝子又はエクソンの発現であり；

n_i は、新生抗原スコアであり；

r_i は、T細胞反応性スコアであり；かつ、

b_i は、B細胞反応性スコアである)

を含む、請求項 17 に記載のシステム。

【請求項 19】

前記式の 1 又はそれ以上の測定値が、前記腫瘍試料の決定された腫瘍純度によって調整される、請求項 18 に記載のシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、一般に、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法及びシステムに関する

。

【背景技術】

【0002】

免疫療法は、がん細胞が特異的免疫療法治療に反応する場合、がんの有効な治療法となりうる。がん細胞が特異的免疫療法治療に反応しない場合、当該治療は、何の利益も提供せず、患者に毒性及び望ましくない副作用を導入しうる。従って、特定の免疫療法治療に対する腫瘍の反応性を決定又は推定することは、患者を治療する場合に極めて有益でありうる。

【0003】

腫瘍変異負荷 (load) 及び腫瘍新生 (neo) 抗原負荷は、免疫療法に対する反応の予測バイオマーカーの例である。腫瘍変異負荷量 (TML) は、腫瘍変異負荷 (burden) (TMB) ともいい、腫瘍ゲノムにおける体細胞性、非同義性 (non-synonymous)、エクソン系変異の総数として定義できる。当該情報は、例えば、全エクソーム配列決定 (WES) 等の配列決定によって導出することができ、又は標的配列決定パネルを用いて推定することができる。

【0004】

腫瘍新生抗原量は、試料中の予測新生抗原の総数として定義されうる。腫瘍特異的な体細胞変異の中には、腫瘍細胞の表面に存在する主要組織適合性複合体 (MHC) 分子上に提示され、免疫系による認識されうる変異ペプチド又は抗原を生じるものがある。新生抗原という当該腫瘍特異的抗原は、例えば、計算分析により予測することができる。

【0005】

10

20

30

40

50

一般に、腫瘍変異負荷量と腫瘍新生抗原負荷量との間には直線的な正の相関がある。より多くの新生抗原は抗腫瘍免疫応答を誘導する可能性が高いため、腫瘍新生抗原量は免疫チェックポイント遮断免疫療法等の免疫療法の反応の予測の有用なバイオマーカーである。腫瘍変異負荷もまた、免疫療法の反応を予測する有用なバイオマーカーであり、ある症例では、腫瘍新生抗原負荷のかわりに機能しうる。

【0006】

しかしながら、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する現在の方法及びシステムは、利用可能な情報の完全な補足を考慮しておらず、従って、提供される予測は不完全である。例えば、腫瘍変異負荷量及び腫瘍新生抗原負荷量は、免疫療法の反応の有効なバイオマーカーであることが知られているが、変異は各々、腫瘍内で異なった比率で、様々な機能的影響を及ぼす事実にもかかわらず、当該方法論では全ての変異を等しく扱う。

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

腫瘍内で発見された特異的な変異を考慮しつつ、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法及びシステムが未だに必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本開示は、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する創造的な方法及びシステムに関する。本明細書の様々な実施形態及び実施形態は、高精度の免疫療法予測を作成する腫瘍特異的変異に関する情報を利用する2つの関連する方法に関する。両方法では、患者由来の腫瘍試料及び非腫瘍試料に関する遺伝情報が得られ、分析される。腫瘍特異的変異は、腫瘍試料由来のゲノム情報と非腫瘍試料由来のゲノム情報を比較して同定され、腫瘍内の腫瘍特異的変異の頻度が決定又は推定される。腫瘍試料はまた、患者の腫瘍の腫瘍純度の決定のために分析される。

20

【0009】

第一の方法論では、各腫瘍特異的変異に対する病原性を決定又は推定する。次いで、腫瘍機能的変異負荷スコアは、決定された腫瘍純度、決定された変異体対立遺伝子頻度、決定された対立遺伝子/エクソン/遺伝子発現、及び/又は決定された腫瘍特異的変異の各々に対する病原性を調整しながら組み合わせた変異体系測定値の総和を用いて算出される。腫瘍機能的変異負荷スコアは、免疫療法治療に対する患者の腫瘍の反応の予測に用いられ、治療コースは、この予測に基づいて選択又は計画される。

30

【0010】

第二の方法では、腫瘍特異的変異が新生抗原として提示される可能性を含む新生抗原スコア、患者のT細胞によって変異が認識される可能性を含むT細胞反応性スコア、及び/又は患者のB細胞受容体によって変異が認識される可能性を含むB細胞エピトープスコアを計算する。次いで、腫瘍エピトープ負荷スコアは、決定された腫瘍純度、決定された変異体対立遺伝子頻度、決定された対立遺伝子/エクソン/遺伝子発現、新生抗原スコア、T細胞反応性スコア、及び/又は腫瘍特異的変異の各々についてのB細胞エピトープスコアを調整しながら組み合わせた変異体系測定値の総和を用いて計算される。腫瘍新生エピトープ負荷スコアは、免疫療法に対する患者の腫瘍の反応の予測に用いられ、治療コースは、この予測に基づいて選択又は設計される。

40

【0011】

一般に、一態様では、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法が提供される。当該方法は、以下の；(i)患者の腫瘍由来の腫瘍試料の分析工程であって、前記腫瘍試料の遺伝情報の少なくとも部分の配列決定工程を含み、ここで、前記腫瘍試料は、1又はそれ以上の変異により識別される複数の異なるゲノムを含み、前記変異の少なくとも部分は、前記腫瘍試料内に可変量で存在し；(ii)前記患者由来の非腫瘍試料の分析工程であって、前記非腫瘍試料の遺伝情報の少なくとも部分の配列決定工程を含み；(iii)前記腫瘍試料由来の遺伝情報を、前記非腫瘍試料由来の遺伝情報と比較して、前記腫瘍試料に

50

においてのみ見出される 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の同定工程；(i v) 前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の変異体対立遺伝子頻度を決定するための、前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析工程；(v) 前記患者の腫瘍の腫瘍純度を決定するための、前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析工程；(v i) 前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の少なくとも 1 つに対する病原性の決定工程；(v i i) (1) 前記決定された変異体対立遺伝子頻度、及び / 又は決定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の対立遺伝子特異的発現、エクソン発現、又は遺伝子発現；(2) 前記決定された腫瘍純度；並びに、(3) 前記決定された病原性、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する腫瘍機能的変異負荷スコア、からの算出工程；(v i i i) 前記腫瘍機能的変異負荷スコアに基づく、前記患者の腫瘍の免疫療法に対する反応の予測工程；かつ、(i x) 前記予測に基づく、前記患者の治療の決定工程；を含む。

10

【 0 0 1 2 】

一実施形態では、前記腫瘍機能的変異負荷スコア (L_m) の算出工程は、以下の：

【 数 1 】

$$L_m = \sum_i [f(v_i, a_i, e_i) \cdot s_i]$$

(式中、i は、腫瘍特異的変異であり；f は、測定値 v_i、a_i 及び e_i に基づき、変異体の存在又は発現を測定する関数であり；v_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する決定された変異体対立遺伝子頻度 (V A F) であり；a_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された対立遺伝子特異的発現であり；e_i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された遺伝子又はエクソンの発現であり；かつ、s_i は、前記腫瘍特異的変異 i の決定された病原性である) の式を含む。

20

【 0 0 1 3 】

一実施形態では、変異 i に対して適用されうる病原性がない場合、s_i = 1 である。

【 0 0 1 4 】

一実施形態では、本方法は、さらに、前記患者の腫瘍由来試料及び非腫瘍試料を含む、前記患者から複数の試料の取得工程を含む。

【 0 0 1 5 】

一実施形態では、前記腫瘍特異的変異に対する病原性の決定工程が、病原性データベースへの照合工程を含む。

30

【 0 0 1 6 】

他の態様では、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法である。当該方法は、以下の：(i) 患者の腫瘍由来の腫瘍試料の分析工程であって、前記腫瘍試料の遺伝情報の少なくとも部分の配列決定工程を含み、ここで、前記腫瘍試料は、1 又はそれ以上の変異により識別される複数の異なるゲノムを含み、前記変異の少なくとも部分は、前記腫瘍試料内に可変量で存在し；(i i) 前記患者由来の非腫瘍試料の分析工程であって、前記非腫瘍試料の遺伝情報の少なくとも部分の配列決定工程を含み；(i i i) 前記腫瘍試料由来の遺伝情報を、前記非腫瘍試料由来の遺伝情報と比較して、前記腫瘍試料においてのみ見出される 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の同定工程；(i v) 前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の変異体対立遺伝子頻度を決定するための、前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析工程；(v) 前記患者の腫瘍の腫瘍純度を決定するための、前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析工程；(v i) 以下の：(1) 変異が新生 (n e o) 抗原として提示される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する新生抗原スコア；(2) 前記変異が患者の T 細胞によって認識される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する T 細胞反応性スコア；及び (3) 前記変異が患者の B 細胞受容体によって認識される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する B 細胞エピトープスコア；の 1 又はそれ以上の決定工程；(v i i) (1) 前

40

50

記新生抗原スコア、前記 T 細胞反応性スコア、及び / 又は前記 B 細胞エピトープスコア ; (2) 前記決定された腫瘍純度、及び (3) 前記決定された変異体対立遺伝子頻度、及び / 又は前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の決定された対立遺伝子特異的発現、エクソン発現、又は遺伝子発現、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する腫瘍新生 (neo) エピトープ負荷スコアからの算出工程 ; (v i i i) 前記腫瘍新生エピトープ負荷スコアに基づく、前記患者の腫瘍の免疫療法に対する反応の予測工程 ; かつ、(i x) 前記予測に基づく、前記患者の治療の決定工程 ; を含む。

【 0 0 1 7 】

一実施形態では、前記腫瘍新生エピトープ負荷スコア (Ln) の算出工程は、以下の式 :
【数 2】

$$L_n = \sum_i [f(v_i, a_i, e_i) \cdot (n_i \cdot r_i + b_i)]$$

(式中、i は、腫瘍特異的変異であり ; f は、測定値 v i、a i 及び e i に基づき、変異体の存在又は発現を測定する関数であり ; v i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する決定された変異体対立遺伝子頻度 (V A F) であり ; a i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された対立遺伝子特異的発現であり ; e i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された遺伝子又はエクソンの発現であり ; n i は、新生抗原スコアであり ; r i は、T 細胞反応性スコアであり ; かつ、b i は、B 細胞反応性スコアである) を含む。

【 0 0 1 8 】

一実施形態では、本方法は、さらに、T 細胞免疫応答重量を産生するための、前記腫瘍に対する T 細胞免疫応答の重み付け工程を含み、前記腫瘍新生エピトープ負荷スコアの算出工程は、さらに、前記 T 細胞免疫応答重量を含む。一実施形態では、本方法は、さらに、B 細胞免疫応答重量を産生するための、前記腫瘍に対する B 細胞免疫応答の重み付け工程を含み、前記腫瘍新生エピトープ負荷スコアの算出工程は、さらに、前記 B 細胞免疫応答重量を含む。一実施形態では、前記腫瘍新生エピトープ負荷スコア (Ln) の算出工程は、以下の式 :

【数 3】

$$L_n = \sum_i [f(v_i, a_i, e_i) \cdot (w_t \cdot n_i \cdot r_i + w_b \cdot b_i)]$$

(式中、i は、腫瘍特異的変異であり ; f は、測定値 v i、a i 及び e i に基づき、変異体の存在又は発現を測定する関数であり ; v i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する決定された変異体対立遺伝子頻度 (V A F) であり ; a i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された対立遺伝子特異的発現であり ; e i は、前記腫瘍特異的変異 i に対する変異 i の決定された遺伝子又はエクソンの発現であり ; n i は、新生抗原スコアであり ; r i は、T 細胞反応性スコアであり ; b i は、B 細胞反応性スコアであり ; W t は、T 細胞の免疫応答重量であり ; かつ、W b は、B 細胞免疫応答の重量である) を含む。

【 0 0 1 9 】

一実施形態によると、本方法は、さらに、腫瘍試料又は非腫瘍試料を分析して、患者の H L A 型を特徴付ける工程を含み、ここで、新生抗原スコアは、少なくとも部分的に、患者の H L A 型に基づく。

【 0 0 2 0 】

一態様では、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測するように構成されたシステムである。当該システムは、以下の : プロセッサであって、以下の : (i) 腫瘍試料由来の遺伝情報を、非腫瘍試料由来の遺伝情報と比較して、前記腫瘍試料においてのみ見出される 1 又

10

20

30

40

50

はそれ以上の腫瘍特異的変異を同定すること；(i i) 前記腫瘍試料由来の遺伝情報を分析して、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の変異体対立遺伝子頻度を決定すること；(i i i) 前記腫瘍試料由来の遺伝情報の分析により、前記患者の腫瘍の腫瘍純度を決定すること；(i v) 前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する病原性を決定すること；(v) (1) 前記決定された変異体対立遺伝子頻度、及び / 又は決定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の対立遺伝子特異的発現、エクソン発現、又は遺伝子発現；(2) 前記決定された腫瘍純度；並びに、(3) 前記決定された病原性、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する腫瘍機能的変異負荷スコア、から算出すること；かつ、(v i) 前記腫瘍機能的変異負荷スコアに基づく、前記患者の腫瘍の免疫療法に対する反応を予測すること；を実装するように構成されたプロセッサ；かつ、前記予測をユーザに提供するように構成されたユーザインタフェース；を含む。

10

【 0 0 2 1 】

一態様では、当該システムは、さらに、病原性データベースを含み、かつ、ここで、前記プロセッサは、前記病原性データベース由来のデータを用いて、病原性を決定するように構成される。

【 0 0 2 2 】

一態様では、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測するように構成されたシステムである。当該システムは、以下の：プロセッサであって、以下の：(i) 腫瘍試料由来の遺伝情報を、非腫瘍試料由来の遺伝情報と比較して、前記腫瘍試料においてのみ見出される 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異を同定すること；(i i) 前記腫瘍試料由来の遺伝情報を分析して、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の変異体対立遺伝子頻度を決定すること；(i i i) 前記腫瘍試料由来の遺伝情報を分析して、前記患者の腫瘍の腫瘍純度を決定すること；(i v) 変異が新生抗原として提示される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する新生抗原スコアを決定すること；(v) 前記変異が患者の T 細胞によって認識される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する T 細胞反応性スコアを決定すること；(v i) 前記変異が患者の B 細胞受容体によって認識される可能性を含む、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する B 細胞エピトープスコアを決定すること；(v i i) 以下の：(1) 前記新生抗原スコア、前記 T 細胞反応性スコア、及び / 又は前記 B 細胞エピトープスコア；(2) 前記決定された腫瘍純度、及び (3) 前記決定された変異体対立遺伝子頻度、及び / 又は前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の決定された対立遺伝子特異的発現、エクソン発現、又は遺伝子発現、前記同定された 1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異のうち少なくとも 1 つに対する腫瘍新生エピトープ負荷スコアから算出すること；かつ、(v i i i) 前記腫瘍新生エピトープ負荷スコアに基づく、前記患者の腫瘍の免疫療法に対する反応を予測すること；を実装するように構成されたプロセッサ；かつ、前記予測をユーザに提供するように構成されたユーザインタフェース；を含む。

20

30

【 0 0 2 3 】

上記の概念の全ての組み合わせ及び以下により詳細に議論される追加の概念（当該概念が相互に矛盾しない限り）は、本明細書に開示される本発明の主題の部分であると考えられることが理解されるべきである。特に、本開示の特許請求の範囲の対象は、本明細書に開示される発明対象の部分であることが意図される。同様に当然のことながら、本明細書に明示的に用いられ、参照として援用されるいかなる開示にも現れるであろう専門用語は、本明細書に開示された特定の概念と最も整合する意味である。

40

【 0 0 2 4 】

様々な実施形態の当該及び他の態様は、以下に記載される実施形態を参照して明らかになり、かつ説明される。

【 0 0 2 5 】

図面では、文献のように、同様の参照符号は概して異なる図面を通じて同一の部分を示

50

す。また、図面は必ずしも正確な縮尺ではなく、代わりに、様々な実施形態の原理を図示することに概ね重点が置かれる。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】一実施形態に関する、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法のフローチャートである。

【0027】

【図2】一実施形態に関する、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法のフローチャートである。

【0028】

【図3】一実施形態に関する、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法のフローチャートである。

【0029】

【図4】一実施形態に関する、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法のフローチャートである。

【0030】

【図5】一実施形態に関する、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法のフローチャートである。

【0031】

【図6】一実施形態に関する、腫瘍純度を決定する方法のフローチャートである。

【0032】

【図7】一実施形態に関する、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法の概略図である。

【0033】

【図8】一実施形態に関する、腫瘍純度の概略図である。

【発明を実施するための形態】

【0034】

本開示は、腫瘍特異的変異に関する情報を免疫療法の決定に組み込むシステム及び方法の様々な実施形態を記載する。より一般的には、本出願人は、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測するシステムを提供することが有益であることを認識し、評価する。当該システムを用いて、患者由来の腫瘍試料及び非腫瘍試料に関する遺伝情報が得られ、分析される。腫瘍特異的変異は、腫瘍試料由来のゲノム情報と非腫瘍試料由来のゲノム情報を比較することにより同定され、腫瘍内の腫瘍特異的変異の頻度が決定又は推定される。腫瘍試料はまた、分析されて、患者の腫瘍の腫瘍純度を決定する。

【0035】

第一実施形態では、各腫瘍特異的変異に対する病原性が決定又は推定される。次いで、腫瘍機能的変異負荷スコアは、決定された頻度、決定された腫瘍純度、及び決定された腫瘍特異的変異の各々に対する病原性の合計を用いて算出される。当該腫瘍機能的変異負荷スコアは、免疫療法治療に対する患者の腫瘍の反応の予測に利用され、治療コースは、当該予測に基づいて選択又は計画される。

【0036】

第二実施形態では、腫瘍特異的変異が新生抗原として提示される可能性を含む新生抗原スコア、患者のT細胞によって変異が認識される可能性を含むT細胞反応性スコア、及び患者のB細胞受容体によって変異が認識される可能性を含むB細胞エピトープスコアを算出する。次に、決定された腫瘍純度、決定された変異体対立遺伝子頻度、及び/又は決定された対立遺伝子/エクソン/遺伝子発現、新生抗原スコア、T細胞反応性スコア、及び/又は腫瘍特異的変異の各々に関するB細胞エピトープスコアを調整するとともに、変異型に基づく測定値の総和を用いて腫瘍エピトープ負荷スコアを計算する。腫瘍新生エピトープ負荷スコアは、免疫療法に対する患者の腫瘍の反応の予測に利用され、治療コースは、この予測に基づいて選択又は設計される。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 7 】

図 1 を参照すると、一実施形態では、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法 1 0 0 のフローチャートである。図面に関連して記載された方法は、例示としてのみ提供され、本開示の範囲を限定するものではない。方法の工程 1 1 0 では、腫瘍免疫療法反応予測又は推定を提供するように構成又は設計されたシステムが提供される。腫瘍免疫療法反応予測又は推定システムは、本明細書に記載又は他の方法で想定されるいずれのシステムであってよい。

【 0 0 3 8 】

方法の工程 1 1 2 では、腫瘍試料が患者から得られる。当該腫瘍試料は、患者の腫瘍から、又は腫瘍であると疑われるか又は腫瘍を含む組織又は場所から得られたいかなる試料でありうる。腫瘍は、例えば、複数のがん細胞として定義することができ、濃縮又は拡散することができる。腫瘍試料は、細胞採取のいかなる方法又はシステムを用いて、例えば、生検又は他の腫瘍収集方法を介して採取されうる。

10

【 0 0 3 9 】

方法の工程 1 1 4 では、非腫瘍試料が患者から得られる。当該非腫瘍試料は、患者のいかなる場所又は組織、好ましくは腫瘍細胞を含有しえないいかなる位置又は組織から提供されうる。例えば、非腫瘍試料は、皮膚細胞、血液細胞、唾液細胞、又はいかなる他のタイプの細胞でありうる。非腫瘍試料は、細胞採取のいかなる方法又はシステムを用いて収集されうる。

20

【 0 0 4 0 】

方法の工程 1 2 0 では、患者から得られた腫瘍試料は、腫瘍試料のゲノム情報の少なくとも部分を配列決定することによって分析される。腫瘍から得られたがん細胞から DNA や RNA 等の遺伝物質を抽出し、その遺伝物質の塩基配列を決定する。配列決定は、全ゲノム配列決定、全エクソーム配列決定、標的エクソーム配列決定、標的 SNP 分析、及び/又はいかなる他のタイプの配列決定でありうる。配列決定は、変異体対立遺伝子頻度の検出及び/又は例えば、変異体対立遺伝子があるリードの画分に基づいて定量しうるように設計することができる。このようにして、配列決定は、腫瘍試料内で発見された変異を同定し、同時に、腫瘍試料内での当該変異の有病率を定量することができる。

【 0 0 4 1 】

一実施形態では、腫瘍試料は、1 又はそれ以上の変異によって区別される複数の異なるゲノムを含み、ここで、変異の少なくともいくつかは、腫瘍試料内に可変量で存在する。がんの発生が遺伝子変異によって促進されることは、当該分野において周知である。さらに、疾患が進行するにつれてがん細胞により多くの変異が生じることは、当該技術分野において周知である。細胞の急速な増殖は、疾患の進行を促進する変異をもたらす。当該変異はまた、がんのマーカー又は同定物として役立ち、がん治療の標的として有用でありうる。

30

【 0 0 4 2 】

配列決定によって得られた遺伝情報は、直ちに利用することができ、及び/又は下流分析のために保存することができる。当該遺伝情報は、腫瘍免疫療法反応予測又は推定システムの部分としてシーケンサによって得られうるか、又は別個のシーケンサによって得られ、腫瘍免疫療法反応予測又は推定システムに伝達されうる。

40

【 0 0 4 3 】

方法の工程 1 3 0 では、患者から得られた非腫瘍試料は、非腫瘍試料のゲノム情報の少なくとも部分を配列決定することによって分析される。患者から得られた非がん性細胞から DNA 及び RNA 等の遺伝物質を抽出し、遺伝物質の配列を決定する。配列決定は、全ゲノム配列決定、全エクソーム配列決定、標的エクソーム配列決定、標的 SNP 分析、及び/又はいかなる他のタイプの配列決定でありうる。配列決定によって得られた遺伝情報は、直ちに利用することができ、及び/又は下流分析のために保存することができる。一実施形態では、非腫瘍試料は、腫瘍試料及び非腫瘍試料のより包括的な比較を可能にするために、腫瘍試料に用いられるのと同じプラットフォーム又は配列決定方法を用いて配列

50

決定される。当該遺伝情報は、腫瘍免疫療法反応予測又は推定システムの部分としてシーケンサによって得られうるか、又は別個のシーケンサによって得られ、腫瘍免疫療法反応予測又は推定システムに伝達されうる。

【0044】

方法の工程140では、腫瘍試料から得られた遺伝情報が、非腫瘍試料からの遺伝情報と比較される。これは、遺伝情報を比較するいかなる方法を用いて行うことができる。2つの試料からの遺伝情報を直接比較することができ、及び/又は参照配列と比較することができる。当該比較により、腫瘍試料内のみで見出される1又はそれ以上の変異が同定される。当該変異は、エクソン変異であってよく、非エクソン変異であってよい。

【0045】

方法の工程150では、腫瘍試料から得られた遺伝情報を分析して、腫瘍試料内のみで見出される同定された変異の頻度を決定する。例えば、同定された変異の変異体対立遺伝子頻度(VAF)は、腫瘍試料から得られた配列決定情報からうることができる。当該情報は、腫瘍試料から遺伝物質の配列決定中に得られうるか、又は保存された配列決定情報を分析することによって配列決定後に得られうる。1つの実施形態では、対立遺伝子頻度は、変異の位置を包含し、かつ変異体対立遺伝子を含まないリードの比率に対して、変異の位置を包含し、かつ変異体対立遺伝子を包含するリードの比率を定量、追跡、又は他の方法で計数することによって決定又は推定される。対立遺伝子頻度を決定、推定、又は他の方法で定量するための多くの他の方法が可能である。

【0046】

方法の工程160では、腫瘍試料から得られた遺伝情報を分析して、患者の腫瘍の腫瘍純度を決定又は特徴付ける。当該腫瘍純度は、例えば、腫瘍内不均一性、又はがん性対がん性細胞の混合物、及び/又は腫瘍内不均一性、又はがん性細胞の亜集団の混合物として定義することができる。当該亜集団は、例えば、異なる変異によって特徴付けられうる。腫瘍純度は、病理学者によるゲノムデータの分析及び/又は1又はそれ以上のアルゴリズムによって推定、計算、又は他の方法で特徴付けることができる。例えば、アルゴリズムは、変異、コピー数異常、及び/又は亜集団を識別する他のマーカーを用いて、試料中のゲノムの最も可能性の高いコレクション及びそれらの比率を計算するように、プログラムされ、訓練され、又は設計されうる。腫瘍純度の考慮は、免疫療法の重要な要素となりうる。腫瘍試料が多数の亜集団を含む場合、1又は部分の集団しか考慮しないと、免疫療法の結果から得られる情報は錯誤となりうる。

【0047】

従って、方法100は、患者由来の腫瘍及び非腫瘍試料由来の遺伝情報をもたらし、(1)腫瘍純度の特徴付け、(2)1又はそれ以上の腫瘍特異的変異の同定、及び(3)同定された腫瘍特異的変異の頻度情報を提供する。当該情報は、以下に記載される方法200及び300で利用される。

【0048】

図2を参照すると、一実施形態では、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法200のフローチャートである。この方法は、腫瘍純度の特徴付け、1又はそれ以上の腫瘍特異的変異の同定、及び同定された腫瘍特異的変異の頻度情報を含む、方法100を介して得られた情報等の入力情報から始まる。方法200は、可能なシステムの中でも、本明細書に記載されているか又は他の方法で想定されている腫瘍免疫療法反応予測又は推定システムを利用することができる。

【0049】

方法の工程210では、システムは、同定された1又はそれ以上の腫瘍特異的変異に対する病原性を決定する。病原性は、可能な定義の中でも、例えば、がんの維持、がんの進行、又はがんの治療抵抗性に対する変異の影響の測定又は特徴づけとして定義されうる。病原性は、変異に関して入手可能な情報に基づいてよい。病原性はまた、変異の解析及び類似の変異との比較に基づいてよい。例えば、変異は、病原性情報を利用できない場合もあれば、十分な病原性情報がない場合もあるが、モデラー、分類器、又はアルゴリズムは

10

20

30

40

50

、その変異が、病原性も同様であるような、他の変異と十分に類似すると決定することができる。したがって、病原性は変異の分類に基づきうる。

【0050】

一実施形態では、システムは、病原性情報に関連する変異に関する情報のデータベースに照合するか、又は通信しうる。例えば、システムは、遠隔データベースに接続するか、照会するか、遠隔データベースから情報を取得しうる。さらに、他の態様では、システムは、当該データベースを含んでよい。当該データベースは、変異のリスト及びこれらの変異の各々の病原性に関する情報を含むことができる。特に、データベースは特定の変異に関連する既知の病原性がないことを示しうる。変異の病原性に関する情報を検索、派生、又は生成する他の多くの方法が可能である。

10

【0051】

例えば、病原性は、SIFT、PolyPhen2、GERP、PhyloP等の既知の病原性分析方法を用いて決定することができる。当該方法のうち1又はそれ以上の病原性スコアは、1のスコアを作成するために重み付け及び/又は結合することができる。病原性スコアも正規化することができる。

【0052】

方法の工程220では、システムは、(i)決定された腫瘍純度；(ii)同定された腫瘍特異的変異及び/又は同定された腫瘍特異的変異に対する対立遺伝子、エクソン、及び/又は遺伝子発現について、決定された変異体対立遺伝子頻度情報；及び/又は(iii)決定された腫瘍特異的変異の病原性に関する情報の合計として、腫瘍機能的変異負荷スコアを算出する。例えば、一実施形態では、腫瘍機能的変異負荷スコア(Lm)は以下の式：

20

【数4】

$$L_m = \sum_i [f(v_i, a_i, e_i) \cdot s_i]$$

(式中、iは、腫瘍試料中で同定された腫瘍特異的変異の指標であり；fは、測定値のいかなる組み合わせに基づき、かつ、それらの利用可能性及びユーザの選択により、変異体の存在又は発現を測定する関数であり；変異体対立遺伝子頻度(VAF)は、変異体iの対立遺伝子特異的発現であり、遺伝子/エクソン発現である)

30

(式1)を用いて算出される。一実施形態では、以下は、関数fのいくつかの例である。たとえば、発現データが利用できない場合、 $f = v_i$ である。他の例では、対立遺伝子特異的発現が利用可能である場合は、 $f = a_i$ である。さらに他の例では、対立遺伝子特異的発現が利用できず、かつ、当該対立遺伝子の発現は、選択的対立遺伝子を保有する細胞の比率及び遺伝子/エクソンの全体的な発現に比例すると仮定する場合、 $f = v_i \cdot e_i$ である。

【0053】

一実施形態では、当該測定値は全て、試料の腫瘍純度について調整されるべきであり、 s_i は正規化された病原性/保存スコアである。スコアが高いほど、変異の機能的影響又は損傷作用が強いことを示すはずである。 s_i 値を、利用可能でない場合に、1と設定しうる。式(1)に示されるように、腫瘍機能的変異負荷スコア(Lm)は、腫瘍試料で同定された1又はそれ以上の腫瘍特異的変異に関する関連情報の総和である。

40

【0054】

したがって、腫瘍機能的変異負荷スコアは、個々の変異の影響を、それらの存在の比率と予測される機能的影響の積によって測定する。すべての変異の集合的な効果は、それらの積の合計によってもたらされる。

【0055】

一実施形態では、従って、方法200は、下記の方法400に関連して記載されるように、免疫療法に対する患者の採取された腫瘍の反応の予測又は推定に利用されうる、腫瘍

50

機能的変異負荷スコア (L m) をもたらず。

【 0 0 5 6 】

図 3 を参照すると、一実施形態では、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法 3 0 0 のフローチャートである。当該方法は、腫瘍純度の特徴付け、1 又はそれ以上の腫瘍特異的変異の同定、及び同定された腫瘍特異的変異の頻度情報を含む、方法 1 0 0 を介して得られた情報等の入力情報から始まる。方法 3 0 0 は、可能なシステムの中でも、本明細書に記載されているか又は他の方法で想定されている腫瘍免疫療法反応予測又は推定システムを利用することができる。

【 0 0 5 7 】

方法の工程 3 1 0 では、システムは、同定された腫瘍特異的変異に対する新生抗原スコアを決定し、ここで、当該新生抗原スコアは、変異が新生抗原として腫瘍細胞に表面提示される可能性を含む。一実施形態では、新生抗原スコアは、予測される新生抗原変異 (変異が腫瘍細胞に表面提示されることである) を示す値 1、及び変異が新生抗原変異ではないこと (変異が腫瘍細胞に表面提示されないことである) を示す値 0 の 2 値である。一実施形態では、新生抗原スコアは、他のツール又はアルゴリズムの中でも、患者の H L A タイプ及び / 又は E p i J e n、W A P P、N e t C T L、及び / 又は N e t C T L p a n 等のバイオインフォマティクスツールを用いて、計算により推定することができる。一実施形態では、情報が利用できないか、さもなければ決定できない場合、新生抗原スコアを値 1 に設定するか、又は無視することができる。

10

【 0 0 5 8 】

いかなる実施形態でも、本方法の工程 3 1 2 では、システムは、腫瘍試料及び / 又は非腫瘍試料由来の患者の H L A 型を特徴付ける。患者の H L A タイプは、他のツール又はアルゴリズムの中でも、O p t i T y p e、P o l y s o l v e r、P H L A T、及び / 又は H L A f o r e s t 等のツールを用いて、N G S データから自動的に決定することができる。次いで、当該情報は、腫瘍特異的変異に対する新生抗原スコアを計算する場合に、この方法の工程 3 1 0 で利用されうる。

20

【 0 0 5 9 】

当該方法の工程 3 2 0 では、当該システムは、同定された腫瘍特異的変異に関する T 細胞反応性スコアを決定し、ここで、当該 T 細胞反応性スコアは、変異が患者の T 細胞によって認識されて抗腫瘍免疫応答を誘導する可能性を含む。一実施形態では、T 細胞反応性スコアは、2 値であり、値 1 は、変異が免疫応答を生じると予測されることを示し、値 0 は、変異が免疫応答を生じないと予測されることを示す。他の多くの方法の中で、T 細胞反応性スコアは、P O P I 及び / 又は P O P I S K 等のバイオインフォマティクスツール又はアルゴリズムを用いて計算又は推測することができる。一実施形態では、T 細胞反応性スコアは、1 に設定することができ、又は、情報が入手できないか、さもなければ決定できない場合には、無視することができる。

30

【 0 0 6 0 】

方法の工程 3 3 0 では、システムは、同定された腫瘍特異的変異に対する B 細胞エピトープスコアを決定し、ここで、当該 B 細胞エピトープスコアは、変異が患者の B 細胞受容体によって認識される可能性を含む。B 細胞受容体は広範囲の抗原特異性をもつ膜結合型免疫グロブリンであり、各 B 細胞は単一の特異性をもつ免疫グロブリンを産生する。一実施形態では、B 細胞エピトープスコアは、患者の B 細胞受容体により認識されると予測される変異を示す値 1、及び患者の B 細胞受容体により認識されないと予測される変異を示す値 0 の 2 値である。他の多くの方法の中で、B 細胞エピトープスコアは、バイオインフォマティクスツール又はアルゴリズム、例えば、連続配列エピトープ (報告されている B 細胞エピトープの約 8 5 %) については C O B E p r o、B C P R E D、及び / 又は F B C P r e d、及び、不連続配列エピトープについては E P M e t a、を用いて計算又は推測することができる。一実施形態では、B 細胞エピトープスコアは、情報が利用できないか、さもなければ決定できない場合には、値 1 に設定するか、又は無視することができる。

40

50

【 0 0 6 1 】

本方法の工程 3 4 0 では、本システムは、本明細書に記載されるか又は他の方法で想定されるように、決定された腫瘍純度、同定された腫瘍特異的変異に関する頻度及び発現情報、算出された新生抗原スコア、T細胞反応性スコア、及び/又はB細胞エピトープスコアに関する情報の総和として、腫瘍新生エピトープ負荷スコアを算出する。

【 0 0 6 2 】

一実施形態では、腫瘍新生エピトープ負荷スコア (L_n) は、以下の式

【 数 5 】

$$L_n = \sum_i [f(v_i, a_i, e_i) \cdot (n_i \cdot r_i + b_i)]$$

10

(式中、 i は腫瘍標本で同定された腫瘍特異的変異の指標であり、 f は測定値の任意の組み合わせに基づいて変異体の存在又は発現を測定する機能であり、利用可能性及び使用者の選択に依存しており、ここで変異体対立遺伝子頻度 (VAF) は対立遺伝子特異的発現であり、変異 i の遺伝子/エクソン発現である；新生抗原スコア；T細胞反応性スコア；及びB細胞エピトープスコアである)

(式 2) を使用して計算される。これらの測定値は全て、試料の腫瘍純度について調整することができる。一実施形態では、以下は、関数 f のいくつかの例である。たとえば、発現データが利用できない場合、 $f = v_i$ である。他の例では、対立遺伝子特異的発現が利用可能である場合は、 $f = a_i$ である。さらに他の例では、対立遺伝子特異的発現が利用できず、かつ、当該対立遺伝子の発現は、選択的対立遺伝子を保有する細胞の比率及び遺伝子/エクソンの全体的な発現に比例すると仮定する場合、 $f = v_i \cdot e_i$ である。

20

【 0 0 6 3 】

従って、腫瘍新生エピトープ負荷スコアは、T細胞 ($n_i \cdot r_i$) 及びB細胞 (b_i) の免疫原性の加重平均でありうる、その分画存在及びエピトープ予測スコアの積によって、個々の変異の免疫応答の誘導能を測定する。T細胞免疫応答では、HLA経路による抗原の統合的プロセッシングとT細胞の認識・応答が主である。T細胞とは異なり、B細胞はB細胞受容体の特異的な可溶性抗原を認識し、MHCクラスII分子を用いて抗原を処理し、ペプチドを提示することができる。すべての変異の集合的な効果は、それらの積の合計によってもたらされる。一実施形態では、エピトープ予測スコアに関する式は、変異によって誘導されると予測される免疫応答を効果的に測定することができるいかなる他の式によって置き換えることができる。

30

【 0 0 6 4 】

一実施形態では、腫瘍新生エピトープ負荷スコアは、さらに、T細胞及びB細胞免疫応答各々についてユーザ定義の重み付けを含んでよい。当該重み付けの値は、特定の疾患におけるT細胞及びB細胞の相対的重要性、分析の仮定及び仮説、予測スコアの頑健性、及びその他の因子等の因子に依存しうる。例えば、試験における免疫応答がT細胞の反応性だけに依存し、B細胞の関与が無視できると仮定すれば、ユーザはT細胞の重み付けを1に、B細胞の重み付けを0に設定することができる。

40

【 0 0 6 5 】

従って、本方法の場合による工程 3 5 0 では、システムは、腫瘍に対するT細胞免疫応答の重み付け係数を決定し、それにより、T細胞免疫応答重量を生成する。これは、他の方法の中でも、例えば、腫瘍特異的変異の同一性に基づいて、ユーザによって定義される。

【 0 0 6 6 】

同様に、本方法の場合による工程 3 6 0 では、システムは、腫瘍に対するB細胞免疫応答の重み付け係数を決定し、それにより、B細胞免疫応答重量を生成する。これは、他の方法の中でも、例えば、腫瘍特異的変異の同一性に基づいて、ユーザによって定義される。

50

【0067】

一実施形態では、本方法の工程340における腫瘍新生エピトープ負荷スコアの計算は、T細胞免疫応答重量及びB細胞免疫応答重量をさらに含む。従って、腫瘍新生エピトープ負荷スコア(Ln)は、以下の式

【数6】

$$L_n = \sum_i [f(v_i, a_i, e_i) \cdot (w_t \cdot n_i \cdot r_i + w_b \cdot b_i)]$$

(式3)を用いて計算される。

10

ここで、 W_t は、T細胞免疫応答重量、 W_b は、B細胞免疫応答重量である。研究における免疫応答がT細胞の反応性だけに依存し、B細胞の関与が無視できる場合、ユーザは $W_t = 1$ 及び $W_b = 0$ と設定し、同様に、研究における免疫応答がB細胞の関与だけに依存し、T細胞の関与が無視できる場合には、ユーザは $W_t = 0$ 、 $W_b = 1$ と設定することができる。したがって、 W_t 及び W_b は、0と1を含むいかなる値に設定しうる。

【0068】

一実施形態では、従って、方法300は、下記の方法400に関連して記載されるように、免疫療法に対する患者の採取された腫瘍の反応の予測又は推定に利用することができる腫瘍新生エピトープ負荷スコア(Ln)をもたらす。

【0069】

20

図4を参照すると、一実施形態では、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測する方法400のフローチャートである。この方法は、方法200で計算された腫瘍機能的変異負荷スコア(Lm)及び/又は方法300で計算された腫瘍新生エピトープ負荷スコア(Ln)等の入力情報から始まる。方法400は、可能なシステムの中でも、本明細書に記載されるか又は他の方法で想定される腫瘍免疫療法反応予測又は推定システムを利用することができる。

【0070】

方法の工程410では、システムは、腫瘍機能的変異負荷スコア及び/又は腫瘍新生エピトープ負荷スコアに基づいて、免疫療法治療に対する患者の腫瘍の反応を予測する。一実施形態では、腫瘍機能的変異負荷スコア及び/又は腫瘍新生エピトープ負荷スコアの出力は、免疫療法治療に対する患者の腫瘍の反応予測に直接変換される数又は他の値である。さらに他の実施形態では、腫瘍機能的変異負荷スコア及び/又は腫瘍新生エピトープ負荷スコアの出力は、免疫療法治療に対する患者の腫瘍の反応予測を提供する、追加の分析又は解釈される数又は他の値である。

30

【0071】

方法の工程420では、医師、臨床医、又は他のユーザは、工程410からの予測を利用して、患者の治療を作成するか、又は他の方法で通知する。例えば、当該予測は、治療Xが腫瘍で十分な免疫応答を誘導する可能性が低いことを示しうる。同様に、当該予測は、治療Yが腫瘍で十分な免疫応答を誘導する可能性が高いことを示しうる。したがって、医師又は臨床医は、治療Xよりも治療Yを選択するために、予測をもちいえる。

40

【0072】

本明細書に記載される、又は本明細書で想定される方法の一の実施例では、臨床医は、がん患者に対して抗PD1免疫療法を用いる計画をするが、初めに腫瘍新生エピトープ負荷スコアを用いて治療反応を予測することを望む。患者から、腫瘍バルク及び血液試料から組織生検を採取し、腫瘍試料及び血液試料の全エクソーム配列決定(WES)を実施する。生成された配列決定データを要求するリードアラインメント及びバリエーションを実行して、体細胞変異は、一致させた参照試料としての血液試料をそれらのバリエーション対立遺伝子頻度(VAF)と共に同定することができる。生検の腫瘍純度はWESデータを用いて算出される。各体細胞変異の免疫原性をさらに計算的に評価し、免疫情報学的ツールと組み合わせ、 n_i 及び r_i の値を取得する。抗PD1療法の有効性は主にT細胞の免疫応

50

答に依存するため、 W_t は 0 に、 W_b は 0 に設定する。患者の腫瘍新生エピトープ負荷スコアは、式 2 又は 3 を用いて計算される。得られた腫瘍新生エピトープ負荷スコアは、同じ診断、臨床病期、及び年齢範囲で患者コホートの 75% より高く、患者における抗 PD 1 療法に対する陽性反応の可能性が高いことを示す。次に、臨床医は患者に抗 PD 1 免疫療法を実施することを決定する。

【0073】

本明細書に記載される、又は本明細書で想定される方法の他の実施例では、治療有効性は、T 細胞及び B 細胞が協調された免疫応答を要しうる。同種造血幹細胞移植 (allo SCT) の場合、患者は化学療法と放射線療法を受け、その後、患者は適合ドナーの造血幹細胞の注入を受ける。この注入の利点は、移植片対白血病 (GvL) 効果であり、ドナー細胞は残存悪性細胞に対して免疫応答を示す。複数の研究により、当該効果は、常染色体抗原 PTK2B に対する協調的な CD4+ T 細胞及び B 細胞の反応によって部分的に説明できることが、示されている。この場合、腫瘍新生エピトープ負荷スコアをより良く推定するために、 W_t は 0.5 に設定することができ、 W_b は 0 に 0.5 に設定することができる。

10

【0074】

図 5 を参照すると、一実施形態では、腫瘍機能的変異負荷スコア (TFML) 550 及び腫瘍新生エピトープ負荷スコア (TNL) 560 を計算するフローチャート 500 である。一実施形態では、腫瘍免疫療法反応予測又は推定システムは、フローチャート 500 のワークフロー、入力、及び / 又は構成要素を利用して、腫瘍機能的変異負荷スコア又は腫瘍新生エピトープ負荷スコアを生成する。一実施形態では、システムは、腫瘍試料及び非腫瘍試料、及び / 又は腫瘍試料及び非腫瘍試料から得られた遺伝情報 510 を入力として受け取る。システムはまた、入力として病原性情報 520 を受け取ることもでき、病原性情報を含むデータベースを含むこともできる。このシステムは、図示された入力及び式 1 (530) を利用して、腫瘍機能的変異負荷スコア 550 を生成する。このシステムは、図示された入力及び式 2 又は式 3 (540) を利用して、腫瘍新生エピトープ負荷スコア 560 を生成する。注目すべきことに、フローチャート 500 に含まれるすべての要素 / 工程 / 要因が、腫瘍機能的変異負荷スコア (TFML) 又は腫瘍新生エピトープ負荷スコア (TNL) のいずれかに必要であるわけではない。

20

【0075】

図 6 を参照すると、一実施形態では、一実施形態による、腫瘍純度の決定のフローチャート 600 である。ゲノム (例えば、変異負荷又は VAF)、転写産物 (例えば、遺伝子発現)、エピジェネティック (例えば、メチル化)、プロテオミクス又は他の定量的データにおいて、正常細胞によって導入されたノイズシグナルを迅速かつ効果的に抑制する方法により、腫瘍細胞における当該存在 / 存在量をより正確に決定することができ、その後のデータ分析における腫瘍純度の交絡効果を緩和する。

30

【0076】

一実施形態では、図 8 に概略的に示されるように、腫瘍試料 / 生検は、画分 p 、すなわち、腫瘍純度及び正常細胞 ($1 - p$) を有する腫瘍細胞を含む。特定の変異体対立遺伝子をもつ腫瘍細胞の比率は f である。腫瘍純度を計算することを目的とする実施形態では、特定の変数を決定し、定義することができる。腫瘍細胞とは、腫瘍細胞と正常細胞との混合物からなる腫瘍組織由来の異常細胞の画分を指すことに留意すべきである。

40

【0077】

一実施形態では、例えば、腫瘍純度計算は、各体細胞変異についての以下の： v = 腫瘍組織における変異体対立遺伝子の観察された変異体対立遺伝子の変異体対立遺伝子頻度；及び v_t = 腫瘍細胞における変異体対立遺伝子の調整された変異体対立遺伝子頻度；各遺伝子について： e_n = 正常細胞における正規化された発現レベル、すなわち一致した正常組織； e = 腫瘍組織における観察された正規化された発現レベル； e_{a_1} = 腫瘍組織における観察された正規化された対立遺伝子特異的発現レベル； e_t = 腫瘍細胞における調整された正規化された発現レベル； $e_{a_1 t}$ = 腫瘍細胞における調整された正規化さ

50

れた変異体 - 対立遺伝子特異的発現レベル；及び $e_{a \ 1 \ t}$ (a に上線) = 腫瘍細胞における調整された正規化された基準対立遺伝子特異的発現レベル；変数を含むことができる。

【 0 0 7 8 】

一実施形態では、腫瘍純度計算の目的のため、腫瘍純度 p は既知であり、病理学者又はゲノムデータの計算分析により推定することができ； e_n は、同一患者の適合した正常組織から得られた正常細胞の発現、又は個体のコホートの正常組織にわたり平均すること；及び、 v 、 e 、 $e_{a \ 1}$ は、DNA及びRNA/プロテオミクスデータからバイオインフォマティクスツールによって生成された観察された組織平均化データであると仮定することができる。腫瘍細胞における変異体対立遺伝子の VAF は以下の式：

【数 7】

$$v_t = v_o / p \quad (\text{式4})$$

$$e_o = (1-p)e_n + pe_t \Rightarrow e_t = \frac{1}{p} \cdot [e_o - (1-p)e_n] \quad (\text{式5})$$

によって算出できる。

【 0 0 7 9 】

さらに、腫瘍純度計算の目的のために、各細胞には変異のコピーが 1 のみと仮定することができ、その場合、特異的変異を保有している試料中の細胞の比率は、以下の式 6：

【数 8】

$$f = 2v_o$$

の通りである。

【 0 0 8 0 】

さらに、腫瘍純度計算の目的のため、 $e_{a \ 1 \ t} = e_{a \ 1}$ の場合、体細胞変異体対立遺伝子は腫瘍細胞にのみ存在すると仮定することができる。 e_t はまた、式 (5) に基づいて、以下の：

【数 9】

$$e_t = \frac{f}{p} \cdot e_{a \ /o} + \frac{p-f}{p} \cdot e_{\bar{a} \ /t}$$

によりもたらされるため、以下の (式 7)：

【数 1 0】

$$\begin{aligned} e_t &= \frac{1}{p} \cdot [e_o - (1-p)e_n] = \frac{f}{p} \cdot e_{a \ /o} + \frac{p-f}{p} \cdot e_{\bar{a} \ /t} \\ \Rightarrow e_{\bar{a} \ /t} &= \frac{1}{p-f} \cdot [e_o - (1-p)e_n - f e_{a \ /o}] \end{aligned}$$

となる。

【 0 0 8 1 】

式 4 - 7 を適用して、ゲノムデータ及び転写産物データの腫瘍純度を調整し、その後のデータ分析におけるその混同作用を緩和することができる。

【 0 0 8 2 】

当該分析は、主に腫瘍純度の調整に焦点をあてるものであるが、式 (5) は、複数の細胞亜集団の調整を支持するために以下の (式 8) のように：

10

20

30

40

【数 1 1】

$$e_o = \sum_{i=1}^k (q_i \cdot e_i) \Rightarrow e_t = \frac{1}{q_t} \left[e_o - \sum_{i \neq t} (q_i \cdot e_i) \right]$$

(式中、細胞の比率及び亜集団 i における遺伝子発現であり、 k は亜集団の総数であり、 t は発現プロファイルを推定する必要がある標的の亜集団の指数であり、以下の：

【数 1 2】

$$q_i e_i \sum_{i=1}^k q_i = 1$$

10

である)

容易に一般化することができる。

【0083】

一実施形態では、当該プロセスは、腫瘍純度を調整するために、又は腫瘍純度に基づいて調整するために利用されうる。最初の工程は、組織試料の腫瘍純度 p を推定することである。ゲノム及び転写産物データのデコンポリューションに基づく当該目的のための多くの既存の計算ツール及び方法がある。対応する正常な試料が利用可能であれば、体細胞変異は、DNA 配列決定データ上で GATK 等の変異体コールを実行することにより同定することができる。その観察された変異体対立遺伝子頻度 (VAF) は、以下の式 (9)：

20

【数 1 3】

$$v_o = \frac{t_alt_count}{t_ref_count + t_alt_count}$$

(式中、ここで、 t_ref_count は参照対立遺伝子をもつリードの数、 t_alt_count は腫瘍試料中の代替 / 変異体対立遺伝子をもつリードの数である) を用いて簡易に算出される。次いで、式 (4) を適用して、腫瘍細胞中のそれらの VAF を見出しうる。これらの純度調整 VAF 値は、変異負荷及び腫瘍進行の研究及び評価に有用である。

30

【0084】

マイクロアレイ又は RNA 配列決定により、各々腫瘍及び適合する正常組織について、遺伝子又はタンパク質の発現値 e 及び e_n を取得することができる。適合する正常組織が利用できない場合、他の個体の正常組織の平均発現を用いて推定することもできる。公知の腫瘍純度により、次いで、式 (5) を用いて腫瘍細胞における遺伝子 / タンパク質発現を計算することができる。当該純度調整発現データは、腫瘍純度の交絡効果を除去することで、下流分析のロバスト性を改善することができる。

【0085】

RNA 配列決定データについて、GATK、AlleSeq 及び Allim から ASE Read Counter 等のツールを用いて、腫瘍組織における対立遺伝子特異的発現 (ASE) をさらに計算することができる。次いで、式 (6) 及び (7) を適用することによって、腫瘍細胞における基準対立遺伝子特異的発現を計算することができる。これは、腫瘍細胞と正常細胞の間の差異によるいかなる差異的発現も排除することで、腫瘍細胞における変異のシス作用効果がより効果的な研究が可能となる。ゲノム及び転写産物データにおける腫瘍純度の調整のフローチャートを図 6 に示す。

40

【0086】

一実施形態では、プロセスは、新たな細胞亜集団の遺伝子発現を計算又は他の方法で分析するために利用されうる。例えば、2つの組織生検は、2つの異なる時点で、患者の同じ部位から獲得でき、この期間に出現した新しい細胞亜集団の遺伝子発現プロファイルを調査する必要がある。新たな体細胞変異は、VAF が v である 2 番目の試料におい

50

て同定され、かつ、さらに当該変異が新たな亜集団のみと結びついていると仮定する。この場合、新しい亜集団の細胞の比率は式(6)によって $2v$ と推定されるが、各細胞には変異体対立遺伝子のコピーが1のみあると仮定する。次いで、以下の(式9)：

【数14】

$$e = \frac{1}{2v_0} \cdot [e_2 - (1 - 2v_0)e_1]$$

(式中、 e_1 及び e_2 は各々、第1及び第2時点での遺伝子発現値である)のように式(5)を適用することにより、新しい亜集団の遺伝子発現プロファイルを獲得しうる。

10

【0087】

一実施形態では、本方法は、既知の細胞型の遺伝子発現プロファイルの調整に利用される。例えば、標的細胞亜集団 t は、各々が明確な遺伝子発現兆候がある k 個の他の細胞型によって汚染されていることが知られてよい。デコンボリューションによって、各細胞型 i の比率を推定することができる。他の方法として、組織学的画像分析によって推定することもできる。平均発現プロファイルは各細胞型 i について既知であるため、以下の(式10)：

【数15】

$$e_t = \frac{1}{q_t} \left[e_o - \sum_{i \neq t} (q_i \cdot e_i) \right] = \frac{1}{1 - \sum_{i \neq t} q_i} \left[e_o - \sum_{i \neq t} (q_i \cdot e_i) \right]$$

20

のように式(8)を適用することにより、目的の細胞亜集団の遺伝子発現プロファイルを計算することができる。

【0088】

図7を参照すると、一実施形態では、免疫療法に対する腫瘍の反応を予測するシステム700の概略図である。システム700は、1又はそれ以上のシステムバス710を介して相互接続されたプロセッサ720、メモリ727、ユーザインタフェース740、通信インタフェース750、及び記憶装置760のうち1又はそれ以上を含む。いくつかの実施形態、例えば、当該システムが配列決定装置又はシーケンシングプラットフォームを含むか又は実装するものにおいて、ハードウェアは、いかなる配列決定装置又はシーケンシングプラットフォームでありうる追加のシーケンシングハードウェア715を含みうる。図7は、いくつかの点で、抽象化され、システム700の構成要素の実際の構成は、図示よりも異なるものであり、より複雑でありうるということが理解されるであろう。

30

【0089】

一実施形態では、システム700は、メモリ727又は記憶装置760に記憶された命令を実行することができるプロセッサ720、又は他の方法でデータを処理することができるプロセッサ720を備える。プロセッサ720は、本方法の1又はそれ以上の工程を実行し、本明細書に記載又は他の方法で想定される1又はそれ以上のモジュールを含んでよい。プロセッサ720は、1つ又は複数のモジュールから構成されることができ、例えば、メモリ727を備えることができる。プロセッサ720は、マイクロプロセッサ、マイクロコントローラ、複数のマイクロコントローラ、回路、フィールドプログラマブルゲートアレイ、特定用途向け集積回路、単一プロセッサ、又は複数プロセッサを含むが、これらに限定されない、いかなる好適な形態をとることができる。

40

【0090】

メモリ727は、不揮発性メモリ及び/又はRAMを含むいかなる好適な形態でありうる。メモリ727は、例えば、キャッシュ又はシステムメモリ等のメモリを含んでよい。このように、メモリ727は、スタティックランダムアクセスメモリ、ダイナミックRAM、フラッシュメモリ、リードオンリーメモリ、又は他の類似のメモリ装置を含んでよい。メモリは、とりわけ、処理システムを記憶することができる。RAMは、データの一時

50

記憶のためにプロセッサによって使用される。一実施形態では、処理システムは、プロセッサによって実行されると、システム 700 の 1 又はそれ以上の構成要素の動作を制御するコードを含んでよい。プロセッサが本明細書に記載の機能の 1 又はそれ以上をハードウェアで実装する実施形態では、他の実施形態では、当該機能に対応するものとして記載されたソフトウェアを省略してよいことは明らかであろう。

【0091】

ユーザインタフェース 740 は、管理者等のユーザと通信可能にされうる 1 又はそれ以上の装置を含んでよい。ユーザインタフェースは、情報が伝達及び/又は受信されうるいかなる装置又はシステムであり得、ディスプレイ、マウス、及び/又はユーザコマンドを受信するキーボードを含みうる。いくつかの実施形態では、ユーザインタフェース 740 は、通信インタフェース 750 を介して遠隔端末に提示されうるコマンドラインインタフェース又はグラフィカルユーザインタフェースを含んでよい。ユーザインタフェースは、システムの 1 又はそれ以上の他の構成要素と共に配置されてよく、又はシステムから離れて有線及び/又は無線通信ネットワークを介して通信中に配置されてよい。

10

【0092】

通信インタフェース 750 は、他のハードウェア装置と通信可能にされうる 1 又はそれ以上の装置を含んでよい。例えば、通信インタフェース 750 は、イーサネットプロトコルに従って通信するように構成されたネットワークインタフェースカードを含んでよい。さらに、通信インタフェース 750 は、TCP/IP プロトコルに従って通信用の TCP/IP スタックを実装してよい。通信インタフェース 750 のための様々な代替又は追加のハードウェア又は構成が明らかであろう。

20

【0093】

記憶装置 760 は、リードオンリーメモリ、ランダムアクセスメモリ、磁気ディスク記憶媒体、光記憶媒体、フラッシュメモリ装置、又は類似の記憶媒体等の 1 又はそれ以上の機械読取可能記憶媒体を含んでよい。様々な実施形態では、記憶装置 760 は、プロセッサ 720 又はプロセッサ 720 が動作しうるデータによる実行命令を記憶することができる。例えば、記憶装置 760 は、システム 700 の様々な動作を制御する処理システム 761 を記憶することができる。システム 700 が配列決定装置を実装し、シーケンシングハードウェア 715 を含む場合、記憶装置 760 は、シーケンシングハードウェア 715 を操作するシーケンシング命令 762 を含むことができる。一実施形態では、記憶装置 760 は、本明細書に記載されるか又は他の方法で想定される病原性データベース 764 を含んでよい。

30

【0094】

記憶装置 760 に記憶されているように記載された様々な情報が、メモリ 727 に追加的又は代替的に記憶されてよいことは明らかであろう。この点で、メモリ 727 は、記憶装置を構成するとみなすことができ、記憶装置 760 はメモリとみなすことができる。様々な他の構成が明らかであろう。さらに、メモリ 727 及び記憶装置 760 は、ともに非一時的な機械読取可能媒体とみなすことができる。本明細書で用いられる、非一時的という用語は、一時的な信号を除外するが、揮発性メモリ及び不揮発性メモリの両方を含む全ての形態の記憶を含むと理解されるであろう。

40

【0095】

システム 700 は、記載された各構成要素の 1 つを含むように示されているが、様々な実施形態では、様々な構成要素を複製することができる。例えば、プロセッサ 720 は、本明細書に記載される方法を独立して実行するように構成されるか、又は本明細書に記載される方法の工程又はサブルーチンを実行するように構成される複数のマイクロプロセッサを含むことができ、その結果、複数のプロセッサが協働して本明細書に記載される機能を達成する。さらに、システム 700 がクラウドコンピューティングシステムに実装される場合、様々なハードウェア要素は、別々の物理システムに属してよい。例えば、プロセッサ 720 は、第 1 サーバ内の第 1 プロセッサと、第 2 サーバ内の第 2 プロセッサとを含んでよい。多くの他のバリエーション及び構成が可能である。

50

【0096】

一実施形態では、プロセッサ720は、本明細書に記載されるか又は他の方法で想定される方法の1又はそれ以上の機能又は工程を実行する1又はそれ以上のモジュールを備える。例えば、プロセッサ720は、腫瘍特異的変異モジュール722（同定及び変異体頻度）、腫瘍純度モジュール723、病原性モジュール724、新生抗原モジュール725、及び/又はT細胞/B細胞モジュール726、他の可能なモジュールを含むことができる。

【0097】

一実施形態では、腫瘍特異的変異モジュール722は、1又はそれ以上の腫瘍特異的変異を同定し、及び/又は腫瘍特異的変異の頻度を決定する。腫瘍特異的変異モジュール722は、腫瘍試料から得られた遺伝情報を非腫瘍試料から得られた遺伝情報と比較して、腫瘍試料内のみで見出される1又はそれ以上の変異を同定することができる。腫瘍特異的変異モジュール722はまた、腫瘍試料から得られた遺伝情報を分析して、腫瘍試料内のみで見出される同定された変異の頻度を決定することができる。この情報は、腫瘍試料から遺伝物質の配列決定中に得られうるか、又は保存された配列決定情報を分析することによって配列決定後に得られうる。1つの実施形態では、対立遺伝子頻度は、変異の位置を包含し、かつ変異体対立遺伝子を含まないリードの比率に対して、変異の位置を包含し、かつ変異体対立遺伝子を包含するリードの比率を定量、追跡、又は他の方法で計数することによって決定又は推定される。対立遺伝子頻度を決定、推定、又は他の方法で定量するための多くの他の方法が可能である。

【0098】

一実施形態では、プロセッサ720は、腫瘍純度モジュール723を含む。腫瘍純度モジュール723は、腫瘍試料から得られた遺伝情報を分析し、患者の腫瘍の腫瘍純度を決定又は特徴付ける。一実施形態では、1又はそれ以上のアルゴリズムによるゲノムデータの分析によって、腫瘍純度を推定、計算、又は他の方法で特徴付けることができる。例えば、アルゴリズムは、変異、コピー数異常、及び/又は亜集団を区別する他のマーカーを用いて、試料中のゲノムの最も可能性の高いコレクション及びそれらの比率を計算するように、プログラムされ、訓練され、又は設計されうる。

【0099】

一実施形態では、プロセッサ720は、病原性モジュール724を含む。一実施形態では、病原性モジュール724は、同定された1又はそれ以上の腫瘍特異的変異に対する病原性を計算又は検索することができる。例えば、病原性は、変異に関して利用可能な情報に基づく場合がある。従って、病原性モジュール724は、病原性データベース764等の病原性データベースと通信してよく、これは、システム700の構成要素であってよく、又はシステム700から離れていてよい。病原性はまた、病原性モジュール724による変異の分析に基づいてよく、代替的に基づいてよい。例えば、変異が、病原性情報を利用できないか、又は十分な病原性情報を利用できない場合でも、病原性モジュール724は、その変異が、病原性も同様であるように、他の変異と十分に類似していると決定しうる。

【0100】

一実施形態では、プロセッサ720は、新生抗原モジュール725を含む。一実施形態では、新生抗原モジュール725は、同定された腫瘍特異的変異についての新生抗原スコアを決定し、ここで、新生抗原スコアは、変異が新生抗原として腫瘍細胞の表面に提示される可能性を含む。新生抗原モジュール725は、他のツール又はアルゴリズムの中でも、患者のHLAタイプ及び/又はEpiJen、WAPP、NetCTL、及び/又はNetCTLpan等のバイオインフォマティクスツールを利用して、新生抗原スコアを計算することができる。

【0101】

一実施形態では、プロセッサ720は、T細胞/B細胞モジュール726を含む。一実施形態では、T細胞/B細胞モジュール726は、同定された腫瘍特異的変異に関するT

10

20

30

40

50

細胞反応性スコアを決定し、ここで、T細胞反応性スコアは、変異が患者のT細胞によって認識されて抗腫瘍免疫応答を誘導する可能性を含む。他の多くの方法のうち、T細胞反応性スコアは、特に、バイオインフォマティクスツール又はPOP I及び/又はPOP I S K等のアルゴリズムを用いて、T細胞/B細胞モジュール726によって計算又は推測することができる。

【0102】

一実施形態では、T細胞/B細胞モジュール726は、同定された腫瘍特異的変異に関するB細胞エピトープスコアを決定し、ここで、B細胞エピトープスコアは、変異が患者のB細胞受容体によって認識される可能性を含む。他の多くの方法のうち、B細胞エピトープスコアは、バイオインフォマティクスツール又はアルゴリズム、例えば、連続配列エピトープ(記録されたB細胞エピトープの約85%)についてはCOBEpro、BCPRE D、及び/又はFBCPred、及び/又は不連続配列エピトープについてはEPM eta、などを用いて、T細胞/B細胞モジュール726によって計算又は推測することができる。

10

【0103】

全ての定義は、本明細書中で定義されかつ用いられるように、辞書的定義、引用により援用された書類中の定義、及び/又は定義された用語の通常の意味を支配すると理解されるべきである。

【0104】

不定冠詞「a」及び「an」(原文)は、明細書及び特許請求の範囲において、ここに用いられるように、明らかに反対のことが示されるのでなければ、「少なくとも1つ」を意味すると理解されるべきである。

20

【0105】

本明細書及び特許請求の範囲において、本明細書中で用いられる用語「及び/又は」は、そのように結合された要素、すなわち、ある場合には結合して存在し、他の場合には非結合的に存在する要素の「いずれか又は両方」を意味すると理解されるべきである。「及び/又は」と共に列挙された複数の要素は、同じ様式、すなわち、そのように結合された要素の「1又はそれ以上」で解釈されるべきである。他の要素は、場合によっては、「及び/又は」の項により具体的に識別される要素以外に、具体的に識別される要素に関連するか否かを問わず、存在してよい。

30

【0106】

本明細書及び特許請求の範囲で用いられる「又は」は、上記の「及び/又は」と同一の意味であると理解されるべきである。例えば、リスト中の項目を分離する場合、「又は」又は「及び/又は」は、包括的である、すなわち、少なくとも1つの要素又は要素のリストを含むが、複数の要素を含む、及び、場合によっては、追加の非掲載項目を包含すると解釈される。その一方で、明確に示される用語「の1のみの」又は「の正確に1のみ」等の用語、又は、特許請求の範囲で用いられる用語「からなる」等は、数又は要素のリストの正確に1の要素の包含に言及するにすぎない。一般的に、本明細書で用いられる用語「又は」は、「いずれか」、「の1つ」又は「の1つのみ」又は「正確に~の1つ」等の排他的選択肢(すなわち、1つ又は他のものであるが両方ではない)を示すものとしてのみ解釈されるべきである。

40

【0107】

本明細書及び特許請求の範囲で用いられる用語「少なくとも1つ」は、1又はそれ以上の要素のリストを参照する場合、要素のリスト中のいかなる1又はそれ以上の要素から選択された少なくとも1つの要素を意味すると理解されるべきであるが、必ずしも要素のリスト中に具体的に列挙された各要素及び全ての要素の少なくとも1つを含まず、要素のリスト中の要素のいかなる組み合わせを排除しない。この定義は、フレーズ「少なくとも1つ」が言及する「少なくとも1つ」が、具体的に特定された要素に関連するか否かを問わず、場合によっては、要素のリスト内で具体的に特定された要素以外の要素が存在してよい。

50

【 0 1 0 8 】

また、その一方で、明示されなければ、1を超える工程又は行為を含む、請求されたいずれの方法においても、当該方法の工程又は行為の順序は、当該方法の工程又は行為が引用される順番に必ずしも限定されないことも理解されるべきである。

【 0 1 0 9 】

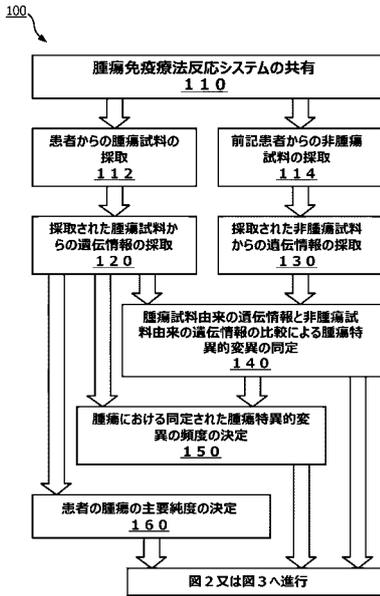
本明細書及び特許請求の範囲の移行句「含むcomprising」、「含むincluding」、「実行する」、「有する」、「包含する」、「関する」、「保持する」、「構成される」等はすべて、オープンエンドであると理解されるべきである。すなわち、限定されるものではないが、移行句「からなる」及び「本質的にからなる」のみが各々、閉鎖又は半閉鎖された移行句でなければならない。

いくつかの発明的実施形態を記載し、説明してきたが、当業者であれば、機能を実施し、及び/又は結果及び/又は本明細書中で記載された、1又はそれ以上の利益をえるため、様々な他の手段及び/又は構造に容易に想到し、当該変形及び/又は修飾は各々、本明細書中で記載された発明的実施形態の範囲内にあるとみなされる。より一般的には、当業者であれば、本明細書中で記載された全てのパラメータ、寸法、材料、及び構成は、例示的であることを意図し、及び現実のパラメータ、寸法、材料、及び/又は構成は、具体的な適用、又は発明の教示が用いられる適用に依存するであろうことを容易に認識するであろう。当業者であれば、常套的実験にすぎないものを用いて、本明細書中で記載された具体的な発明的実施形態に対する多くの同等物を認識し、又はそれを確認することができよう。従って、これまでの実施形態は例示のみにより提示され、添付の特許請求の範囲及びその同等物内で、発明的実施形態は、具体的に記載され、及び特許請求されるものとは異なるように実施することができるものと理解されるべきである。本開示の発明的実施形態は、本明細書中で記載された各個々の特徴、系、製品、材料、キット及び/又は方法に向けられる。加えて、2又はそれ以上の当該特徴、系、製品、材料、キット、及び/又は方法のいずれの組合せも、当該特徴、系、製品、材料、キット、及び/又は方法と相互に矛盾しないならば、本開示の発明的範囲内に含まれる。

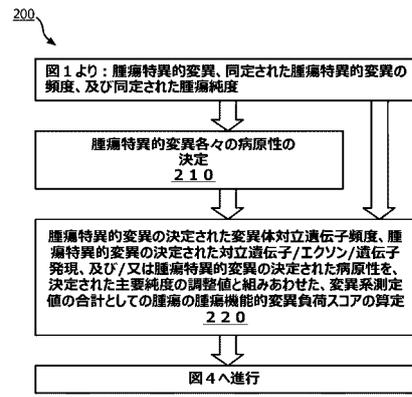
10

20

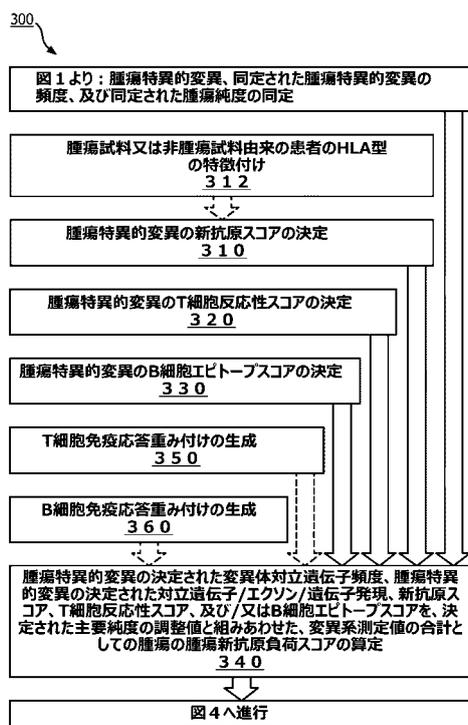
【 図 1 】



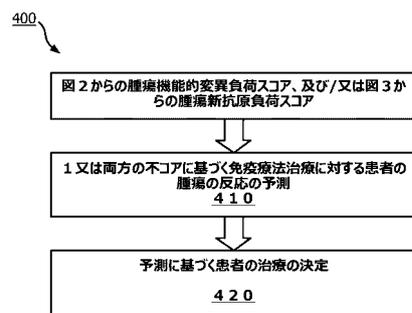
【 図 2 】



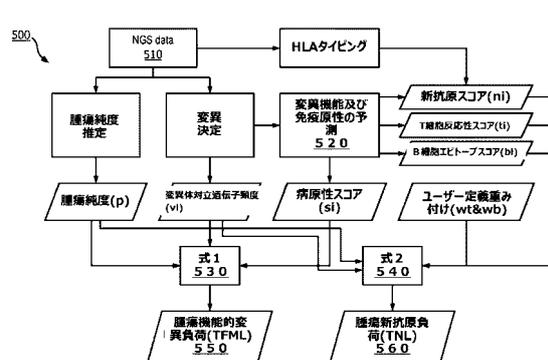
【 図 3 】



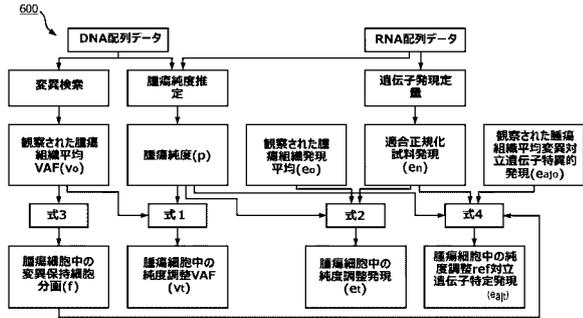
【 図 4 】



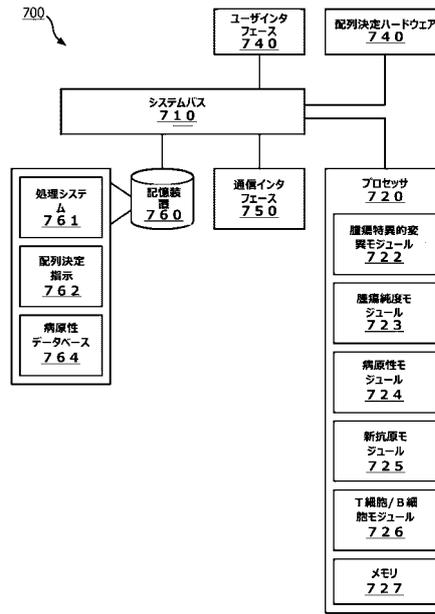
【 図 5 】



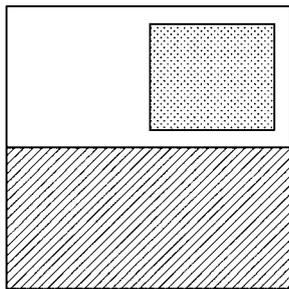
【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】



- 正常細胞の分画 (1-p)
- 腫瘍細胞の分画 (p)
- 変異対立遺伝子を含む腫瘍細胞の分画 (f)

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2019/059717

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12Q1/6886 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) 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		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/066357 A1 (NANTOMICS LLC [US]) 20 April 2017 (2017-04-20) the whole document	1-19
A	----- US 2017/321285 A1 (KOBAYASHI KOICHI [US]) 9 November 2017 (2017-11-09)	1-19
X	----- CN 107 704 727 A (HANGZHOU FENGQI INTELLIGENT TECH CO LTD) 16 February 2018 (2018-02-16) the whole document	1-19
	----- -/--	
<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
17 July 2019		26/07/2019
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
		Cornelis, Karen

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/059717

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A,P	MICHAEL ALLGÄUER ET AL: "Implementing tumor mutational burden (TMB) analysis in routine diagnostics-a primer for molecular pathologists and clinicians", TRANSLATIONAL LUNG CANCER RESEARCH, vol. 7, no. 5, 1 December 2018 (2018-12-01), pages 703-715, XP55605883, ISSN: 2218-6751, DOI: 10.21037/tlcr.2018.08.14 -----	1-19
A	WO 2016/100975 A1 (MASSACHSETTS INST OT TECHNOLOGY [US]; GEN HOSPITAL CORP [US]) 23 June 2016 (2016-06-23) -----	1-19

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2019/059717

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017066357	A1	20-04-2017	
		AU 2016339035 A1	10-05-2018
		CA 3003251 A1	20-04-2017
		CN 108701173 A	23-10-2018
		EP 3362930 A1	22-08-2018
		JP 2018532736 A	08-11-2018
		KR 20180087244 A	01-08-2018
		US 2017032082 A1	02-02-2017
		WO 2017066357 A1	20-04-2017

US 2017321285	A1	09-11-2017	NONE

CN 107704727	A	16-02-2018	NONE

WO 2016100975	A1	23-06-2016	
		EP 3234193 A1	25-10-2017
		US 2019127803 A1	02-05-2019
		WO 2016100975 A1	23-06-2016

フロントページの続き

(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, JO, 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

(72)発明者 チャン, イー ヒム

オランダ国 5 6 5 6 アーエー アインドーフエン ハイテック キャンパス 5

(72)発明者 マンコヴィチ, アレクサンダー ライアン

オランダ国 5 6 5 6 アーエー アインドーフエン ハイテック キャンパス 5

(72)発明者 ウー, ジエ

オランダ国 5 6 5 6 アーエー アインドーフエン ハイテック キャンパス 5

(72)発明者 ディミトロワ, ネヴェンカ

オランダ国 5 6 5 6 アーエー アインドーフエン ハイテック キャンパス 5

Fターム(参考) 4B063 QA01 QA13 QA17 QA19 QQ02 QQ08 QQ42 QQ52 QR32 QR35

QR72 QR77 QS36 QS39 QX01

5L099 AA04