

评估表皮生长因子受体抑制剂引发皮肤药物不良反应风险的方法、其检测套组及其用途

5 技术领域

本发明提供一种评估表皮生长因子受体抑制剂(Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitor, EGFRi)引发皮肤药物不良反应(Cutaneous Adverse Drug Reactions)风险的方法, 尤指抗表皮生长因子受体单克隆抗体(monoclonal Antibody, mAb)及表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, EGFR-TKI)等引发皮肤药物不良反应风险的方法。

背景技术

皮肤药物不良反应 (Cutaneous Adverse Drug Reactions, CADRs)一直以来为临床重大问题, 其表现非常多样化, 从轻微的斑丘疹(maculopapular eruption, MPE)、多型性红斑(erythema multiforme, EM)至严重皮肤药物不良反应(severe cutaneous adverse drug reactions, SCARs), 包含: 药物疹合并嗜伊红血症及全身症状(drug rash with eosinophilia and systemic symptoms, DRESS)、史蒂文斯-琼森症候群(Stevens Johnson Syndrome, SJS)及毒性表皮坏死症(toxic epidermal necrolysis, TEN)等。史蒂文斯-琼森症候群(SJS)及毒性表皮坏死症(TEN)在发病前期常常出现一些类似感冒的症状, 包括发烧、喉咙痛、唇部肿胀等症状, 接着急速发展出全身性红斑、水泡、眼睛、口腔、生殖器黏膜发炎及溃烂, 严重时有如全身烫伤的病人。两者最大分别只是在表皮分离的范围若低于体表面积10%时称为SJS, 超过30%则为TEN。药物疹合并嗜伊红血症及全身症状(DRESS)临床上主要特征包括发烧、皮肤疹、血中嗜伊红性白血球增加、淋巴结肿大和内部器官的侵犯。最常见且最严重侵犯的器官是肝脏, 可能会并发爆发性肝炎, 而成为病人最常见的死因, 其他的还有肾炎、心肌炎、肺炎、甲状腺发炎等。

药物不良反应常和免疫反应有关, 然而免疫机制非常复杂, 如: HLA-A

约有300多种基因型；HLA-B约有600多种基因型。因此找出造成药物不良反应之免疫机制困难重重。

表皮生长因子受体(Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR)被视为发展抗肿瘤治疗之有效目标物，EGFR标靶治疗距离初次登场已经有超过15年的历史，帮助了无数的癌症病患延长生命。表皮生长因子受体抑制剂包含有抗表皮生长因子受体单克隆抗体(mAb)及表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)。其中，抗表皮生长因子受体单克隆抗体作用机制为特异性地与表皮生长因子受体结合，竞争性的抑制表皮生长因子功能，使得癌细胞无法增生。目前临床上常用的单克隆抗体药物为Cetuximab、Zalutumumab、Nimotuzumab、Matuzumab及Panitumumab。EGFR-TKI是抑制酪氨酸激酶活性的药物，由于酪氨酸激酶在细胞内担任许多信号传递的开关，在细胞生长、增殖及分化中具有重要作用，其突变常常引起癌症。因此酪氨酸激酶抑制剂可做为癌症药物使用，其除了可抑制癌细胞增生之外，还可阻止新的血管生成，阻断癌细胞养分及氧气的供给。目前临床上常用的酪氨酸激酶抑制剂包括有Erlotinib、Gefitinib、Lapatinib、Afatinib、Brigatinib等。

表皮生长因子受体抑制剂虽然可应用于治疗多种癌症，然而在临床上仍常见以下不良反应，包括：肠胃道毒性、肺部毒性、肝毒性及皮肤药物不良反应(Cutaneous Adverse Drug Reactions, CADRs)等。由于在表皮基底有高表现量的EGFR，因此使用表皮生长因子受体抑制剂常会出现皮肤药物不良反应，因此对于表皮生长因子受体抑制剂引起皮肤药物不良反应的风险评估的需求仍然存在。本发明解决此需要及其他需求。

发明内容

本发明提供一种评估患者发展出表皮生长因子受体抑制剂引发皮肤药物不良反应风险的方法，其中皮肤药物不良反应包括：斑丘疹(maculopapular eruption, MPE)、多型性红斑(erythema multiforme, EM)、史蒂文斯-琼森症候群(Stevens Johnson Syndrome, SJS)、毒性表皮坏死症(toxic epidermal necrolysis, TEN)或药物疹合并嗜伊红血症及全身症状(drug rash with eosinophilia and systemic symptoms, DRESS)。HLA-B*5101及/或HLA-B*5102

等位基因与表皮生长因子受体抑制剂所引发的皮肤药物不良反应有关。

明确言之，本发明提供一种评估患者因表皮生长因子受体抑制剂而发展出皮肤药物不良反应的风险的方法，包括测定HLA-B*5101及/或HLA-B*5102等位基因的存在，其中该HLA-B*5101及/或HLA-B*5102等位基因的存在为皮肤药物不良反应风险的指标。在一具体实例中，该表皮生长因子受体抑制剂包括(但不限于)Cetuximab、Zalutumumab、Nimotuzumab、Matuzumab、Panitumumab、Erlotinib、Gefitinib、Lapatinib、Afatinib或Brigatinib。皮肤药物不良反应包括至少一种选自以下的不良反应：斑丘疹(maculopapular eruption, MPE)、多型性红斑(erythema multiforme, EM)、史蒂文斯-琼森症候群(Stevens Johnson Syndrome, SJS)、毒性表皮坏死症(toxic epidermal necrolysis, TEN)或药物疹合并嗜伊红血症及全身症状(drug rash with eosinophilia and systemic symptoms, DRESS)。在一具体实例中，患者带有HLA-B*5101等位基因。在一具体实例中，患者带有HLA-B*5102等位基因。在一具体实例中，患者带有HLA-B*5101与HLA-B*5102等位基因。

15 本发明提供一种检测HLA-B*5101及/或HLA-B*5102等位基因的试剂在制备用于评估表皮生长因子受体抑制剂引发皮肤药物不良反应的风险的套组中用途，该套组包括用于侦测选自以下之至少一种等位基因之试剂：HLA-B*5101或HLA-B*5102。

HLA-B*5101，HLA-B*5102，或HLA-B*5101与HLA-B* 5102等位基因的存在代表该患者比HLA-B*5101，HLA-B*5102，或HLA-B*5101与HLA-B* 5102等位基因不存在的患者具有高于一倍以上、高于二倍以上、高于三倍以上、高于四倍以上、高于五倍以上、高于六倍以上、高于七倍以上、高于八倍以上、高于九倍以上、高于十倍以上、高于二十倍以上、高于三十倍以上、高于四十倍以上、高于五十倍以上、高于六十倍以上、高于七十倍以上、高于八十倍以上、高于九十倍以上、高于一百倍以上、高于一百一十倍以上、高于一百二十倍以上、高于一百三十倍以上、高于一百四十倍以上、高于一百五十倍以上、高于一百六十倍以上、高于一倍至高于三十倍药物过敏反应的风险。

等位基因的存在可采用相关技术上已知任何方法检测，例如(但不限于)：使用与编码该等位基因的核酸特异性杂交的寡核苷酸测定，血清定型法或显

微细胞毒性法来测定等位基因的cDNA、RNA或蛋白质产物[Kenneth D. McClatchey. Clinical Laboratory Medicine. 2002]。在一具体实例中，核酸特异性杂交的寡核苷酸测定使用来自患者外周血所制成的DNA进行测定。其中具特异性的寡核苷酸可针对HLA-B*5101及/或HLA-B*5102等位基因中最具变异的序列进行设计。在一具体实例中，检测HLA-B*5101或HLA-B*5102存在所使用的正向引物1 (forward primer 1) 寡核苷酸序列为5'-CGCTTCATTGCAGTGGGC -3'(序列1); 反向引物1 (reverse primer 1)为5'-TGGTCTTGAAGATCTGT GTGTTCC-3' (序列2); 探针1 (probe 1)序列为5'-AGAGAGGAGCCGCG-3'(序列3); 探针2 (probe 2)序列为5'-GACGGAGCCCCGG-3'(序列4); 正向引物2 (forward primer 2)寡核苷酸序列为5'-ACACTTGGCAGACGATGTATGG-3'(序列5), 反向引物2(reverse primer 2)为5'-GGTCCAGGAGCTCAGGTCC-3'(序列6), 探针3(probe3)序列为5'-CGGCAAGGATTACAT-3'(序列7)及探针4 (probe 4)序列为5'-ACGGCAAAGATTACAT-3'(序列8)。

本发明提供用于评估表皮生长因子受体抑制剂引发皮肤药物不良反应的风险的检测套组，此检测套组包含一试剂可检测选自以下的至少一种等位基因的试剂:HLA-B*5101或HLA-B*5102, 其中所述至少一种等位基因的存在代表该患者比所述至少一种等位基因不存在的患者具有较高表皮生长因子受体抑制剂造成的皮肤药物不良反应的风险。在一具体实例中，所述皮肤药物不良反应包括至少一种选自以下的不良反应：斑丘疹、多型性红斑、史蒂文斯-琼森症候群、毒性表皮坏死症或药物疹合并嗜伊红血症及全身症状。

本发明提供降低表皮生长因子受体抑制剂引发皮肤药物不良反应的发生率或是治疗的方法。

本发明亦提供一种评估表皮生长因子受体抑制剂引发皮肤药物不良反应的风险和治疗此皮肤药物不良反应的方法，包括以下步骤：(a)检测一患者样本中选自以下至少一种等位基因：HLA-B*5101或HLA-B*5102, (b)若该样本中存在以下至少一种等位基因:HLA-B*5101或HLA-B*5102,可鉴定出该患者具有增加发生皮肤药物不良反应的风险及(c)给药以治疗此皮肤药物不良反应。

在一具体实例中，治疗皮肤药物不良反应的方法为施予一种药物包括(但

不限于)液体,类固醇、免疫球蛋白、环孢素、抗肿瘤坏死因子制剂(anti-TNF- α agent)或血浆置换。

本发明还涉及一种评估表皮生长因子受体抑制剂引发皮肤药物不良反应的风险和降低此皮肤药物不良反应发生率的方法,包括以下步骤: (a)检测
5 一患者样本中选自以下的至少一种等位基因: HLA-B*5101或HLA-B*5102的存在, (b)若该样本中存在以下至少一种等位基因: HLA-B*5101或HLA-B*5102,可鉴定出该患者具有增加发生皮肤药物不良反应的风险及(c)不给予该患者表皮生长因子受体抑制剂。

本发明进一步提供一种治疗可以表皮生长因子受体抑制剂治疗之疾病
10 之方法,包括以下步骤: (a)检测一患者样本中选自以下的至少一种等位基因: HLA-B*5101或HLA-B*5102的存在, (b)若该样本中存在以下至少一种等位基因: HLA-B*5101或HLA-B*5102,可鉴定出该患者具有增加发生皮肤药物不良反应的风险及(c)避免以表皮生长因子受体抑制剂治疗此疾病,以减少皮肤药物不良反应的风险。

15 使用于本发明的用语“发明”及“本发明”旨在广泛地指本发明的所有申请目标,以及权利要求书。含有这些术语的陈述应被理解为不限于本文所述的申请目标或限于发明的权利要求书的含义或范畴。被本发明所涵盖的发明之实施例藉由权利要求书而非本发明内容所定义。本发明内容为本发明的各种态样的高层次概述,并介绍在下面的实施方式部分中进一步描述的一些
20 概念。本发明内容并不旨在确认所要求保护的申请目标之关键或必要特征,也不旨在单独地使用以决定所要求保护的申请目标之范畴。申请目标应藉由参照整份说明书任何或所有图式及每项权利要求的适当部分而理解。

具体实施方式

25 在以下实施例中,我们收集11位使用表皮生长因子受体抑制剂引发皮肤药物不良反应(包括MPE、EM、SJS/TEN和DRESS)的患者,以核酸测序法(Sequencing-Based Typing)进行HLA测序并与2038位一般健康人对照组进行比较分析。结果显示 HLA-B*5101、HLA-B*5102或HLA-B*5101与HLA-B*5102等位基因与表皮生长因子受体抑制剂引起的皮肤药物不良反应

具有相关性(如表1)。在HLA-B*5101等位基因分布情形中, 11位皮肤药物不良患者中有5位带有此基因型(45.45%), 2038位一般健康人对照组中只有170位带有此基因型 (8.34%), 显示HLA-B*5101与表皮生长因子受体抑制剂引起之皮肤药物不良反应具有关联性(皮肤药物不良反应 vs. 健康人对照组:

- 5 P=1.30x 10⁻³, 胜算比(Odds Ratio或OR)=9.16 (2.77-30.32), 敏感度: 45.45%, 特异性: 91.66%)。在HLA-B*5102等位基因分布情形中, 11位皮肤药物不良患者中有4位带有此基因型(36.36%), 2038位一般健康人对照组中只有64位带有此基因型 (3.14%), 显示HLA-B*5102与表皮生长因子受体抑制剂引起的皮肤药物不良反应具有关联性(皮肤药物不良反应 vs. 健康人对照组:
- 10 P=3.07x10⁻⁴, 胜算比(Odds Ratio或OR)=17.63 (5.03-61.73), 敏感度: 36.36%, 特异性: 96.86%)。若进一步将HLA-B*5101及HLA-B*5102合并分析, 结果显示HLA-B*5101与HLA-B*5102的结合显著提高评估表皮生长因子受体抑制剂引起皮肤药物不良反应的相关性及敏感性(皮肤药物不良反应 vs.健康人对照组: P=1.80x10⁻⁷, 胜算比(Odds Ratio或OR)=34.69 (7.45-161.54), 敏感
- 15 度: 81.81%, 特异性: 88.52%)。由以上结果得知检测HLA-B*1501及/或HLA-B*5102等位基因的存在可以评估表皮生长因子受体抑制剂引发皮肤药物不良反应的风险。

表一、12位表皮生长因子受体抑制剂引发皮肤药物不良反应患者与2038位一般健康人对照组的HLA-B*5101及/或HLA-B*5102基因型分析比较。

HLA 等位基因型	皮肤药物 不良反应 N (%)	健康人 对照 N (%)	胜算比 (95% CI)	P 值	敏感度 (%)	特异性 (%)
HLA-B*51:0 1	5/11 (45.45%)	170/2038 (8.34%)	9.16 (2.77-30.32)	1.30x 10 ⁻³	45.45%	91.66%
HLA-B*51:0 2	4/11 (36.36%)	64/2038 (3.14%)	17.63 (5.03-61.73)	3.07x 10 ⁻⁴	36.36%	96.86%
HLA-B*51:0 1 / B*5102	9/11 (81.81%)	234/2038 (11.48%)	34.69 (7.45-161.54)	1.80x 10 ⁻⁷	81.81%	88.52%

前文针对本发明的较佳实施例为本发明的技术特征进行具体说明；惟，熟悉此项技术之人士当可在不脱离本发明之精神与原则下对本发明进行变更与修改，而该等变更与修改，皆应涵盖于如下申请专利范围所界定之范畴中。

权利要求书

1. 一种评估患者发展出皮肤药物不良反应风险的方法，该方法包括测定该患者中选自以下的等位基因：

- 5 (a) HLA-B*5101；或
 (b) HLA-B*5101；或
 (c) HLA-B*5101与HLA-B*5102，

其中所述等位基因的存在代表该患者比所述等位基因不存在的患者具有较高表皮生长因子受体抑制剂造成的皮肤药物不良反应的风险。

- 10 2. 如权利要求 1 所述的方法，其中该皮肤药物不良反应包括至少一种选自以下的不良反应：斑丘疹(maculopapular eruption , MPE)、多型性红斑(erythema multiforme, EM)、史蒂文生-琼森症候群(Stevens Johnson Syndrome, SJS)、毒性表皮坏死症(toxic epidermal necrolysis, TEN)或药物疹合并嗜伊红血症及全身症状(drug rash with eosinophilia and systemic symptoms, DRESS)。

3. 如权利要求 1 所述的方法，其中 HLA-B*5101 或 HLA-B*5102 等位基因的测定采用来自患者外周血的 DNA、RNA、蛋白质、细胞或血清制备的样品进行测定。

- 20 4. 如权利要求 1 所述的方法，其中该表皮生长因子受体抑制剂为抗表皮生长因子受体单克隆抗体(monoclonal Antibody, mAb)或表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, EGFR-TKI)。

- 25 5. 一种评估患者发展表皮生长因子受体抑制剂造成的皮肤药物不良反应风险的检测套组，该套组包括用于检测患者的检测样本中选自以下的至少一种等位基因的试剂：

- (a) HLA-B*5101；或
 (b) HLA-B*5102。

6. 如权利要求 5 所述的检测套组，其中该套组为与等位基因的核酸特异性杂交的寡核苷酸。

- 30 7. 一种检测 HLA-B*5101 或 HLA-B*5102 的等位基因的试剂在制备用于评估表皮生长因子受体抑制剂引发皮肤药物不良反应的风险的套组中用

途。

8. 如权利要求 7 所述的用途, 其中该皮肤药物不良反应包括至少一种选自以下的不良反应: 斑丘疹、多型性红斑、史蒂文生-琼森症候群、毒性表皮坏死症、药物疹合并嗜伊红血症全身症状。

- 5 9. 如权利要求 7 所述的用途, 其中该套组为与等位基因的核酸特异性杂交的寡核苷酸。

10. 如权利要求 7 所述的用途, 其中该表皮生长因子受体抑制剂为抗表皮生长因子受体单克隆抗体或表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂。