

(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2018-512401

(P2018-512401A)

(43) 公表日 平成30年5月17日(2018.5.17)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16 Z N A	4 B 0 5 0
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	4 C 0 7 6
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 6
A 6 1 K 33/24 (2006.01)	A 6 1 K 33/24	4 H 0 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 125 頁) 最終頁に続く		

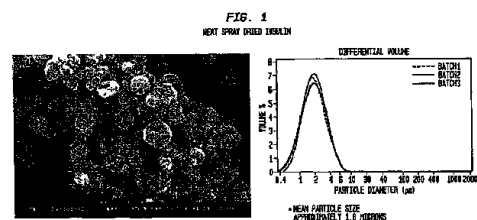
(21) 出願番号	特願2017-548089 (P2017-548089)	(71) 出願人	515065589 モイライ マトリックス インコーポレイ テッド アメリカ合衆国 ニュージャージー州 O 7 9 6 0 モリスタウン マディソン ア ベニュー 5 5 スイート 4 0 0
(86) (22) 出願日	平成28年3月10日 (2016.3.10)		
(85) 翻訳文提出日	平成29年10月13日 (2017.10.13)		
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/021843		
(87) 国際公開番号	W02016/145234	(74) 代理人	100094569 弁理士 田中 伸一郎
(87) 国際公開日	平成28年9月15日 (2016.9.15)	(74) 代理人	100088694 弁理士 弟子丸 健
(31) 優先権主張番号	62/132, 374	(74) 代理人	100103610 弁理士 ▲吉▼田 和彦
(32) 優先日	平成27年3月12日 (2015.3.12)	(74) 代理人	100084663 弁理士 箱田 篤
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 MK 2阻害剤ペプチド含有組成物を用いた非小細胞肺癌の治療を目的とするその使用

(57) 【要約】

記載の発明は、腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌 (N S C L C) 固形腫瘍の治療を目的とする医薬組成物、システム、及び方法を提供する。方法は、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列識別番号 1) を有するポリペプチドまたはその機能的同等形態の治療量、及び医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物の投与を含み、ポリペプチドの治療量は、腫瘍細胞集団におけるキナーゼ活性の阻害、及び癌細胞の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、腫瘍細胞死の誘導、腫瘍の化学療法抵抗性の克服、腫瘍の化学療法感受性の増進、またはそれらの組み合わせに有効である。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌（NSCLC）固形腫瘍の治療における使用を目的とする医薬組成物であって、

前記医薬組成物が、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列番号 1）を有するポリペプチドまたはその機能的同等形態の治療量、及びその医薬的に許容可能な担体を含み、ならびに

治療量が、前記腫瘍細胞集団における、表 1 に記載の群から選択されるキナーゼのキナーゼ活性の阻害、及び癌細胞の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、腫瘍細胞死の誘導、腫瘍の化学療法抵抗性の克服、腫瘍の化学療法感受性の増進、前記腫瘍細胞集団の進行遅延、またはそれらの組み合わせに有効である、前記医薬組成物。

10

【請求項 2】

前記腫瘍が、原発腫瘍、二次腫瘍、再発腫瘍、難治性腫瘍、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

前記原発腫瘍が、扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

前記二次腫瘍が、転移腫瘍である、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記転移腫瘍が、副腎の転移腫瘍、骨の転移腫瘍、肝臓の転移腫瘍、脳の転移腫瘍、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 4 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 6】

前記医薬組成物が、少なくとも 1 つの追加の治療薬剤をさらに含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記追加の治療薬剤が、A b i t r e x a t e（メトトレキサート）、A b r a x a n e（パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤）、アファチニブマレイン酸塩、A l i m t a（ペメトレキセド二ナトリウム）、A v a s t i n（ベバシズマブ）、ベバシズマブ（B v a c i z u m a b）、カルボプラチン、セリチニブ、シスプラチン、クリゾチニブ、C y r a m z a（ラムシルマブ）、ドセタキセル、エルロチニブ塩酸塩、F o l e x P F S（メトトレキサート）、ゲフィチニブ、G i l o t r i f（アファチニブマレイン酸塩）、ゲムシタビン塩酸塩、G e m z a r（ゲムシタビン塩酸塩）、I r e s s a（ゲフィチニブ）、メクロレタミン塩酸塩、メトトレキサート、メトトレキサート L P F（メトトレキサート）、M e x a t e（メトトレキサート）、M e x a t e - A Q（メトトレキサート）、M u s t a r g e n（メクロレタミン塩酸塩）、N a v e l b i n e（ピノレルビン酒石酸塩）、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤、P a r a p l a t（カルボプラチン）、P a r a p l a t i n（カルボプラチン）、ペメトレキセド二ナトリウム、P l a t i n o l（シスプラチン）、P l a t i n o l - A Q（シスプラチン）、ラムシルマブ、T a r c e v a（エルロチニブ塩酸塩）、タキソール（パクリタキセル）、タキソテル（ドセタキセル）、ピノレルビン酒石酸塩、X a l k o r i（クリゾチニブ）、Z y k a d i a（セリチニブ）、カルボプラチン-タキソール、ゲムシタビン-シスプラチン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される化学療法薬剤である、請求項 6 に記載の医薬組成物。

30

40

【請求項 8】

前記追加の治療薬剤が、プレドニゾン、ブデソニド、フランカルボン酸モメタゾン、プロピオン酸フルチカゾン、フランカルボン酸フルチカゾン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される糖質コルチコイドである、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記追加の治療薬剤が、ロイコトリエンモディファイヤー、抗コリン気管支拡張剤、短

50

期作用型 β 2-アゴニスト、及び長期作用型 β 2-アゴニスト、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される気管支拡張剤である、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

前記追加の治療薬剤が、鎮痛剤である、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

前記追加の治療薬剤が、抗感染症剤である、請求項 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A (配列番号 3) を有する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 13】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 K A F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A (配列番号 4) を有する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L A V A (配列番号 5) を有する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A (配列番号 6) を有する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 16】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 H R R I K A W L K K I K A L A R Q L G V A A (配列番号 7) を有する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態の治療ドメイン (TD) が、治療ドメイン (TD) である第 2 のポリペプチドに対して、細胞透過性ペプチド (CPP) である第 1 のポリペプチドが機能可能なように連結融合して生じ、前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A (配列番号 2) に対する実質的相同性を有する配列を有するポリペプチドである、請求項 1 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 18】

前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L A V A (配列番号 8) を有するポリペプチドである、請求項 17 に記載の医薬組成物。

【請求項 19】

前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A (配列番号 9) を有するポリペプチドである、請求項 17 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A (配列番号 10) を有するポリペプチドである、請求項 17 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 21】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、第 2 のポリペプチドに機能可能なように連結された第 1 のポリペプチドを含む融合タンパク質であり、前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I K A (配列番号 12) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 W L R R I K A (配列番号 13) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 Y G R K K R R Q R R R (配列番号 14) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I (配列番号 15) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 F A K L A A R L Y R (配列番号 16) を有す

50

るポリペプチド、アミノ酸配列 K A F A K L A A R L Y R（配列番号 17）を有するポリペプチド、及びアミノ酸配列 H R R I K A W L K K I（配列番号 18）を有するポリペプチドからなる群から選択される、Y A R A A A R Q A R A（配列番号 11）と機能的に同等の細胞透過性ペプチドであり、前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A（配列番号 2）を有する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I K A（配列番号 12）を有するポリペプチドである、請求項 21 に記載の医薬組成物。

【請求項 23】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 W L R R I K A（配列番号 13）を有するポリペプチドである、請求項 21 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 24】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 Y G R K K R R Q R R R（配列番号 14）を有するポリペプチドである、請求項 21 に記載の医薬組成物。

【請求項 25】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I（配列番号 15）を有するポリペプチドである、請求項 21 に記載の医薬組成物。

【請求項 26】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 F A K L A A R L Y R（配列番号 16）を有するポリペプチドである、請求項 21 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 27】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A F A K L A A R L Y R（配列番号 17）を有するポリペプチドである、請求項 21 に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 H R R I K A W L K K I（配列番号 18）を有するポリペプチドである、請求項 121 に記載の医薬組成物。

【請求項 29】

前記担体が、制御放出担体、遅延放出担体、持続放出担体、及び長期放出担体からなる群から選択される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 30】

前記医薬組成物が、乾燥粉末の形態である、請求項 1 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 31】

前記乾燥粉末が、空気動力学的中央粒子径（MMA D）が 1～5 ミクロンであるマイクロ粒子を含む、請求項 30 に記載の医薬組成物。

【請求項 32】

前記医薬組成物が、吸入機器を介して投与される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 33】

前記吸入機器が、噴霧器である、請求項 32 に記載の医薬組成物。

【請求項 34】

前記吸入機器が、定量噴霧式吸入器（M D I）である、請求項 32 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 35】

前記吸入機器が、乾燥粉末吸入器（D P I）である、請求項 32 に記載の医薬組成物。

【請求項 36】

前記吸入機器が、乾燥粉末噴霧器である、請求項 32 に記載の医薬組成物。

【請求項 37】

腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌固形腫瘍の治療方法であって、

それを必要とする対象に対する、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列番号 1）を有するポリペプチドまたはその機能的同等形態の治療量、及びその医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物の投与を含み、

50

前記ポリペプチドの治療量が、前記腫瘍細胞集団のキナーゼ活性の阻害、癌細胞の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、癌細胞死の誘導、腫瘍の化学療法抵抗性の克服、腫瘍の化学療法感受性の増進、前記腫瘍細胞集団の進行遅延、またはそれらの組み合わせに有効である、前記治療方法。

【請求項 38】

前記腫瘍が、原発腫瘍、二次腫瘍、再発腫瘍、難治性腫瘍、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

前記原発腫瘍が、扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 38 に記載の方法。

10

【請求項 40】

前記二次腫瘍が、転移腫瘍である、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 41】

前記転移腫瘍が、副腎の転移腫瘍、骨の転移腫瘍、肝臓の転移腫瘍、脳の転移腫瘍、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記投与段階が、気管内に、非経口的に、静脈内に、腹腔内に、または肺への投与によって実施される、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 43】

前記投与段階が、肺への投与によって実施される、請求項 42 に記載の方法。

20

【請求項 44】

前記肺への投与が、吸入である、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 45】

前記医薬組成物が、少なくとも 1 つの追加の治療薬剤をさらに含む、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 46】

前記追加の治療薬剤が、A b i t r e x a t e (メトトレキサート)、A b r a x a n e (パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤)、アファチニブマレイン酸塩、A l i m t a (ペメトレキセド二ナトリウム)、A v a s t i n (ベバシズマブ)、ベバシズマブ (B v a c i z u m a b)、カルボプラチン、セリチニブ、シスプラチン、クリゾチニブ、C y r a m z a (ラムシルマブ)、ドセタキセル、エルロチニブ塩酸塩、F o l e x P F S (メトトレキサート)、ゲフィチニブ、G i l o t r i f (アファチニブマレイン酸塩)、ゲムシタビン塩酸塩、G e m z a r (ゲムシタビン塩酸塩)、I r e s s a (ゲフィチニブ)、メクロレタミン塩酸塩、メトトレキサート、メトトレキサート L P F (メトトレキサート)、M e x a t e (メトトレキサート)、M e x a t e - A Q (メトトレキサート)、M u s t a r g e n (メクロレタミン塩酸塩)、N a v e l b i n e (ピノレルビン酒石酸塩)、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤、P a r a p l a t (カルボプラチン)、P a r a p l a t i n (カルボプラチン)、ペメトレキセド二ナトリウム、P l a t i n o l (シスプラチン)、P l a t i n o l - A Q (シスプラチン)、ラムシルマブ、T a r c e v a (エルロチニブ塩酸塩)、タキソール (パクリタキセル)、タキソテル (ドセタキセル)、ピノレルビン酒石酸塩、X a l k o r i (クリゾチニブ)、Z y k a d i a (セリチニブ)、カルボプラチン-タキソール、ゲムシタビン-シスプラチン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される化学療法薬剤である、請求項 45 に記載の方法。

30

40

【請求項 47】

前記追加の治療薬剤が、プレドニゾン、ブデソニド、フランカルボン酸モメタゾン、プロピオン酸フルチカゾン、フランカルボン酸フルチカゾン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される糖質コルチコイドである、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 48】

前記追加の治療薬剤が、ロイコトリエンモディファイヤー、抗コリン気管支拡張剤、短

50

期作用型 β 2-アゴニスト、及び長期作用型 β 2-アゴニスト、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される気管支拡張剤である、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 49】

前記追加の治療薬剤が、鎮痛剤である、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 50】

前記追加の治療薬剤が、抗感染症剤である、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 51】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A (配列番号 3) を有する、請求項 37 に記載の方法。

10

【請求項 52】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 K A F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A (配列番号 4) を有する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 53】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L A V A (配列番号 5) を有する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 54】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A (配列番号 6) を有する、請求項 37 に記載の方法。

20

【請求項 55】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 H R R I K A W L K K I K A L A R Q L G V A A (配列番号 7) を有する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 56】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態の治療ドメイン (TD) が、治療ドメイン (TD) である第 2 のポリペプチドに対して、細胞透過性ペプチド (CPP) である第 1 のポリペプチドが機能可能なように連結融合して生じ、前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A (配列番号 2) に対する実質的相同性を有する配列を有するポリペプチドである、請求項 37 に記載の方法。

30

【請求項 57】

前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L A V A (配列番号 8) を有するポリペプチドである、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 58】

前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A (配列番号 9) を有するポリペプチドである、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 59】

前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A (配列番号 10) を有するポリペプチドである、請求項 56 に記載の方法。

40

【請求項 60】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、第 2 のポリペプチドに機能可能なように連結された第 1 のポリペプチドを含む融合タンパク質であり、前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I K A (配列番号 12) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 W L R R I K A (配列番号 13) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 Y G R K K R R Q R R R (配列番号 14) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I (配列番号 15) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 F A K L A A R L Y R (配列番号 16) を有す

50

るポリペプチド、アミノ酸配列 K A F A K L A A R L Y R（配列番号 17）を有するポリペプチド、及びアミノ酸配列 H R R I K A W L K K I（配列番号 18）を有するポリペプチドからなる群から選択される、Y A R A A A R Q A R A（配列番号 11）と機能的に同等の細胞透過性ペプチドであり、前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A（配列番号 2）を有する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 61】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I K A（配列番号 12）を有するポリペプチドである、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 62】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 W L R R I K A（配列番号 13）を有するポリペプチドである、請求項 60 に記載の方法。

10

【請求項 63】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 Y G R K K R R Q R R R（配列番号 14）を有するポリペプチドである、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 64】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I（配列番号 15）を有するポリペプチドである、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 65】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 F A K L A A R L Y R（配列番号 16）を有するポリペプチドである、請求項 60 に記載の方法。

20

【請求項 66】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A F A K L A A R L Y R（配列番号 17）を有するポリペプチドである、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 67】

前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 H R R I K A W L K K I（配列番号 18）を有するポリペプチドである、請求項 60 に記載の方法。

【請求項 68】

前記担体が、制御放出担体、遅延放出担体、持続放出担体、及び長期放出担体からなる群から選択される、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 69】

前記医薬組成物が、乾燥粉末の形態である、請求項 37 に記載の方法。

30

【請求項 70】

前記乾燥粉末が、空気動学的中央粒子径（MMA D）が 1～5 ミクロンであるマイクロ粒子を含む、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 71】

前記医薬組成物が、吸入機器を介して投与される、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 72】

前記吸入機器が、噴霧器である、請求項 71 に記載の方法。

【請求項 73】

前記吸入機器が、定量噴霧式吸入器（M D I）である、請求項 71 に記載の方法。

40

【請求項 74】

前記吸入機器が、乾燥粉末吸入器（D P I）である、請求項 71 に記載の方法。

【請求項 75】

前記吸入機器が、乾燥粉末噴霧器である、請求項 71 に記載の方法。

【請求項 76】

腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌（N S C L C）腫瘍の治療システムであって、

（a）アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列番号 1）を有するポリペプチドまたはその機能的同等形態の治療量、及びその医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物であって、

治療量が、前記腫瘍細胞集団における、表 1 に記載の群から選択されるキナーゼのキナ

50

ーゼ活性の阻害、及び前記腫瘍細胞集団の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、腫瘍細胞死の誘導、腫瘍の化学療法抵抗性の克服、腫瘍の化学療法感受性の増進、前記腫瘍細胞集団の進行遅延、またはそれらの組み合わせに有効であり得る前記医薬組成物と、

(b) 肺への送達のための吸入機器とを含む、前記治療システム。

【請求項 77】

前記腫瘍が、原発腫瘍、二次腫瘍、再発腫瘍、難治性腫瘍、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 76 に記載のシステム。

【請求項 78】

前記原発腫瘍が、扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 77 に記載のシステム。

【請求項 79】

前記二次腫瘍が、転移腫瘍である、請求項 77 に記載のシステム。

【請求項 80】

前記転移腫瘍が、副腎の転移腫瘍、骨の転移腫瘍、肝臓の転移腫瘍、脳の転移腫瘍、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 79 に記載のシステム。

【請求項 81】

前記医薬組成物が、少なくとも 1 つの追加の治療薬剤をさらに含む、請求項 76 に記載のシステム。

【請求項 82】

前記追加の治療薬剤が、A b i t r e x a t e (メトトレキサート)、A b r a x a n e (パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤)、アフアチニブマレイン酸塩、A l i m t a (ペメトレキセド二ナトリウム)、A v a s t i n (ベバシズマブ)、ベバシズマブ (B v a c i z u m a b)、カルボプラチン、セリチニブ、シスプラチン、クリゾチニブ、C y r a m z a (ラムシルマブ)、ドセタキセル、エルロチニブ塩酸塩、F o l e x P F S (メトトレキサート)、ゲフィチニブ、G i l o t r i f (アフアチニブマレイン酸塩)、ゲムシタビン塩酸塩、G e m z a r (ゲムシタビン塩酸塩)、I r e s s a (ゲフィチニブ)、メクロレタミン塩酸塩、メトトレキサート、メトトレキサート L P F (メトトレキサート)、M e x a t e (メトトレキサート)、M e x a t e - A Q (メトトレキサート)、M u s t a r g e n (メクロレタミン塩酸塩)、N a v e l b i n e (ビノレルビン酒石酸塩)、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤、P a r a p l a t (カルボプラチン)、P a r a p l a t i n (カルボプラチン)、ペメトレキセド二ナトリウム、P l a t i n o l (シスプラチン)、P l a t i n o l - A Q (シスプラチン)、ラムシルマブ、T a r c e v a (エルロチニブ塩酸塩)、タキソール (パクリタキセル)、タキソテル (ドセタキセル)、ビノレルビン酒石酸塩、X a l k o r i (クリゾチニブ)、Z y k a d i a (セリチニブ)、カルボプラチン-タキソール、ゲムシタビン-シスプラチン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される化学療法薬剤である、請求項 81 に記載のシステム。

【請求項 83】

前記追加の治療薬剤が、プレドニゾン、ブデソニド、フランカルボン酸モメタゾン、プロピオン酸フルチカゾン、フランカルボン酸フルチカゾン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される糖質コルチコイドである、請求項 81 に記載のシステム。

【請求項 84】

前記追加の治療薬剤が、ロイコトリエンモディファイヤー、抗コリン気管支拡張剤、短期作用型 β 2-アゴニスト、及び長期作用型 β 2-アゴニスト、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される気管支拡張剤である、請求項 81 に記載のシステム。

【請求項 85】

前記追加の治療薬剤が、鎮痛剤である、請求項 81 に記載のシステム。

【請求項 86】

前記追加の治療薬剤が、抗感染症剤である、請求項 8 1 に記載のシステム。

【請求項 8 7】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A (配列番号 3) を有する、請求項 7 6 に記載のシステム。

【請求項 8 8】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 K A F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A (配列番号 4) を有する、請求項 7 6 に記載のシステム。

【請求項 8 9】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L A V A (配列番号 5) を有する、請求項 7 6 に記載のシステム。

【請求項 9 0】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A (配列番号 6) を有する、請求項 7 6 に記載のシステム。

【請求項 9 1】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、アミノ酸配列 H R R I K A W L K K I K A L A R Q L G V A A (配列番号 7) を有する、請求項 7 6 に記載のシステム。

【請求項 9 2】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態の治療ドメイン (T D) が、治療ドメイン (T D) である第 2 のポリペプチドに対して、細胞透過性ペプチド (C P P) である第 1 のポリペプチドが機能可能なように連結融合して生じ、前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A (配列番号 2) に対する実質的相同性を有する配列を有するポリペプチドである、請求項 7 6 に記載のシステム。

【請求項 9 3】

前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L A V A (配列番号 8) を有するポリペプチドである、請求項 9 2 に記載のシステム。

【請求項 9 4】

前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A (配列番号 9) を有するポリペプチドである、請求項 9 2 に記載のシステム。

【請求項 9 5】

前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A (配列番号 1 0) を有するポリペプチドである、請求項 9 2 に記載のシステム。

【請求項 9 6】

前記ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列番号 1) の前記機能的同等形態が、第 2 のポリペプチドに機能可能なように連結された第 1 のポリペプチドを含む融合タンパク質であり、前記第 1 のポリペプチドが、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I K A (配列番号 1 2) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 W L R R I K A (配列番号 1 3) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 Y G R K K R R Q R R R (配列番号 1 4) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I (配列番号 1 5) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 F A K L A A R L Y R (配列番号 1 6) を有するポリペプチド、アミノ酸配列 K A F A K L A A R L Y R (配列番号 1 7) を有するポリペプチド、及びアミノ酸配列 H R R I K A W L K K I (配列番号 1 8) を有するポリペプチドからなる群から選択される、Y A R A A A R Q A R A (配列番号 1 1) と機能的に同等の細胞透過性ペプチドであり、前記第 2 のポリペプチドが、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A (配列番号 2) を有する、請求項 7 6 に記載のシステム。

10

20

30

40

50

【請求項 97】

前記第1のポリペプチドが、アミノ酸配列WLRRIKAWLRRIKA（配列番号12）を有するポリペプチドである、請求項96に記載のシステム。

【請求項 98】

前記第1のポリペプチドが、アミノ酸配列WLRRIKA（配列番号13）を有するポリペプチドである、請求項96に記載のシステム。

【請求項 99】

前記第1のポリペプチドが、アミノ酸配列YGRKKRRQRRR（配列番号14）を有するポリペプチドである、請求項96に記載のシステム。

【請求項 100】

前記第1のポリペプチドが、アミノ酸配列WLRRIKAWLRRI（配列番号15）を有するポリペプチドである、請求項96に記載のシステム。

【請求項 101】

前記第1のポリペプチドが、アミノ酸配列FAKLAARLYR（配列番号16）を有するポリペプチドである、請求項96に記載のシステム。

【請求項 102】

前記第1のポリペプチドが、アミノ酸配列KAFAKLAARLYR（配列番号17）を有するポリペプチドである、請求項96に記載のシステム。

【請求項 103】

前記第1のポリペプチドが、アミノ酸配列HRRIKAWLKKI（配列番号18）を有するポリペプチドである、請求項96に記載のシステム。

【請求項 104】

前記担体が、制御放出担体、遅延放出担体、持続放出担体、及び長期放出担体からなる群から選択される、請求項76に記載のシステム。

【請求項 105】

前記医薬組成物が、乾燥粉末の形態である、請求項76に記載のシステム。

【請求項 106】

前記乾燥粉末が、空気動力学的中央粒子径（MMAD）が1～5ミクロンであるマイクロ粒子を含む、請求項105に記載のシステム。

【請求項 107】

前記吸入機器が、噴霧器である、請求項76に記載のシステム。

【請求項 108】

前記吸入機器が、定量噴霧式吸入器（MDI）である、請求項76に記載のシステム。

【請求項 109】

前記吸入機器が、乾燥粉末吸入器（DPI）である、請求項76に記載のシステム。

【請求項 110】

前記吸入機器が、乾燥粉末噴霧器である、請求項76に記載のシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2015年3月12日出願の米国仮出願第62／132,374号に対する優先権の利益を主張し、当該文献の内容は、参照によってその全体が本明細書に援用される。

【0002】

本発明は、細胞分子生物学、ポリペプチド、及び治療的な使用方法の分野に属する。

【背景技術】

【0003】

非小細胞肺癌（NSCLC）

癌の中で、肺癌は世界的に死因の第1位となっている（Molina, J. R. et

10

20

30

40

50

al., Mayo Clin Proc. 2008 May; 83 (5) : 584-594)。診断後に5年以上生存する肺癌患者は、全体の15%にすぎない (E t t i n g e r, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8: 740-801)。肺癌の主な型は、小細胞肺癌 (SCLC) 及び非小細胞肺癌 (NSCLC) の2つであり、後者は、肺癌の全症例の約85%に相当する (M o l i n a, J. R. et al., Mayo Clin Proc. 2008 May; 83 (5) : 584-594、N a v a d a, S. et al., J Clin Oncol. 2006; 24 (18S) suppl: 384S、S h e r, T. et al., Mayo Clin Proc. 2008; 83 (3) : 355-367)。

【0004】

NSCLCの危険因子

肺癌の第1の危険因子は喫煙であり、これは、すべての肺癌関連死の85%超に相当する (E t t i n g e r, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8: 740-801、D o l l, R. et al., Br Med J 1976; 2: 1525-1536)。肺癌の危険性は、1日に喫煙するタバコの本数及び喫煙年数に応じて高まる。一次喫煙の危険性に加えて、曝露される非喫煙者が肺癌を発症する危険性も相対的に高まる (E t t i n g e r, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8: 740-801、W a l d N. J. et al., Br Med J 1986; 293: 1217-1222)。ラドンガスは、ラジウム226の崩壊によって生成する放射性ガスであり、これが肺癌の第2の主因である。この同位体が崩壊すると、アルファ粒子を放出する物質の生成につながり、これによって細胞損傷が生じ得、それ故に、癌化の可能性が高まる (E t t i n g e r, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8: 740-801、S c h r u m p, D. S. et al., DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology, 8th Edition. Vol. 1. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008: 896-946)。

【0005】

アスベストは、崩壊して大気中へと小断片化する無機化合物であり、この大気飛散線維に曝露される人々、特に喫煙者において肺癌の危険性を高める発癌物質として知られる (E t t i n g e r, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8: 740-801)。肺癌の3%~4%は、アスベストへの曝露によって引き起こされると推定される (O m e n n, G. S. et al., Environ Health Perspect 1986; 70: 51-56)。可能性を有する他の危険因子としては、再発性の肺炎症、結核に続発する肺の瘢痕化、家族歴、ならびにビス(クロロメチル)エーテル、多環式芳香族炭化水素、クロム、ニッケル、及び有機ヒ素化合物などの、他の発癌物質に対する曝露が含まれる (F r a u m e n i, J. F., J Natl Cancer Inst 1975; 55: 1039-1046、J a n e r i c h D. T. et al., N Engl J Med 1990; 323: 632-636)。

【0006】

肺癌の家族的な集積性 (c l u s t e r i n g) または集積性 (a g g r e g a t i o n) が過去60年にわたって報告されており、これによって、疾患発症が遺伝性に基くことが示唆されている (E t t i n g e r, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8: 740-801; S e l l e r s, T. A. and Yang P., King RA, Rotter JI, Motulsky AG, editors. The Genetic Basis of Common Diseases. 2nd ed. New York, NY: Oxford University Press; 2002. pp. 700-712、H w a n g, S. J. et

10

20

30

40

50

al., Hum Genet. 2003 Aug; 113 (3) : 238-243、Bailey-Wilson, J. E. et al., Am J Human Genet. 2004 Sep; 75 (3) : 460-474、Hung, R. J. et al., Nature. 2008; 452 (7178) : 633-637)。腫瘍タンパク質 p53 (TP53) の生殖系配列の変異保有者では、肺癌の危険性が高まることが明らかとなった (Hwang, S. J. et al., Hum Genet. 2003 Aug; 113 (3) : 238-243)。NSCLC の症例を複数有する家族では、生殖系列の上皮増殖因子受容体 (EGFR) に T790M という配列変異が存在することが報告された (Lie, X. and Hemminki, K., Int J Cancer. 2004; 112 (3) : 451-457)。家族数を 52 に増やして実施された全ゲノム相関解析によって、肺癌の危険性に影響を与える主要な感受性遺伝子座が 6q23-25p において同定された (Bailey-Wilson, J. E. et al., Am J Human Genet. 2004 Sep; 75 (3) : 460-474)。

【0007】

3つの独立した遺伝子研究によって、肺癌と関連するマーカーが15番染色体に存在することが明らかとなった (Ettlinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8 : 740-801)。3つの研究のすべてにおいて、危険性は、マーカーコピーを1つ有する人では約30%高く、コピー数が2つの人では70~80%高かった。マーカーが存在する領域は、ニコチン性アセチルコリン受容体のサブユニットをコードする3つの遺伝子を含む。ニコチン性アセチルコリン受容体は、ニコチン分子が結合することで細胞変化を引きこす細胞表面タンパク質である (Ettlinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8 : 740-801、Thorgerirsson, T. E. et al., Nature. 2008; 452 (7178) : 638-642、Hung, R. J. et al., Nature. 2008; 452 (7187) : 633-637)。

【0008】

NSCLCのステージ分類

NSCLCには、5つのステージ (ステージ0~ステージIV) が存在する。ステージI、ステージII、及びステージIIIは、サブタイプA及びサブタイプBへとさらに細分類される。こうしたステージは、腫瘍、結節、及び転移 (TMN) ステージ分類システム (癌ステージ分類ガイドライン、www. NCCN. orgを参照のこと。) に基づいて割り当てられる。NSCLCのTMNステージ分類システムは、表1に要約される。

表1. NSCLCのステージ0~ステージIV

ステージ	TMN (腫瘍、結節、及び転移)	定義
原因不明の癌	T X、N 0、M 0	T X＝原発腫瘍が評価不可能、または喀痰もしくは気管支洗浄において悪性細胞が存在することによって証明されたが、イメージングもしくは気管支鏡検査によって視覚化されない腫瘍。 N 0＝所属リンパ節転移なし。 M 0＝遠隔転移なし。
0	T i s、N 0、M 0	T i s＝上皮内癌。 N 0＝所属リンパ節転移なし。 M 0＝遠隔転移なし。
I A	T 1 a、N 0、M 0 T 1 b、N 0、M 0	T 1 a＝最大径 2 c m の腫瘍。 T 1 b＝2 c m を超えるが、最大径が 3 c m の腫瘍。 N 0＝所属リンパ節転移なし。 M 0＝遠隔転移なし。
I B	T 2 a、N 0、M 0	T 2 a＝3 c m を超えるが、最大径が 5 c m の腫瘍。 N 0＝所属リンパ節転移なし。 M 0＝遠隔転移なし。
I I A	T 1 a、N 1、M 0 T 1 b、N 1、M 0 T 2 a、N 1、M 0 T 2 b、N 0、M 0	T 1 a＝最大径が 2 c m の腫瘍。 T 1 b＝2 c m を超えるが、最大径が 3 c m の腫瘍。 T 2 a＝3 c m を超えるが、最大径が 5 c m の腫瘍。 T 2 b＝5 c m を超えるが、最大径が 7 c m の腫瘍。 N 0＝所属リンパ節転移なし。 N 1＝直接拡張によって生じるものを含み、同側性の気管支周囲ならびに／または同側性の肺門リンパ節及び肺内節 (i n t r a p u l m o n a r y n o d e) における転移。 M 0＝遠隔転移なし。
I I B	T 2 b、N 1、M 0 T 3、N 0、M 0	T 2 b＝5 c m を超えるが、最大径が 7 c m の腫瘍。 T 3＝7 c m を超える腫瘍、または下記のいずれかに直接浸潤するもの：壁側胸膜 (P L 3) 胸壁 (肺尖部腫瘍を含む)、横隔膜、横隔神経、縦隔胸膜、または壁側心膜。 主気管支における腫瘍 (気管分岐部より遠位側 2 c m 未満であるが、気管分岐部の関与なし)。 肺全体の関連する無気肺もしくは閉塞性肺炎または同一肺葉における別々の腫瘍小結節 (複数可)。 N 0＝所属リンパ節転移なし。

10

20

30

40

50

		N 1 = 直接拡張によって生じるものを 含む、同側性の気管支周囲ならびに/ または同側性の肺門リンパ節及び肺内 節における転移。 M 0 = 遠隔転移なし。
I I I A	T 1 a、N 2、M 0 T 1 b、N 2、M 0 T 2 a、N 2、M 0 T 2 b、N 2、M 0 T 3、N 1、M 0 T 3、N 2、M 0 T 4、N 0、M 0 T 4、N 1、M 0	T 1 a = 最大径が 2 c m の腫瘍。 T 1 b = 2 c m を超えるが、最大径が 3 c m の腫瘍。 T 2 a = 3 c m を超えるが、最大径が 5 c m の腫瘍。 T 2 b = 5 c m を超えるが、最大径が 7 c m の腫瘍。 T 3 = 7 c m を超える腫瘍、または下 記のいずれかに直接浸潤するもの：壁 側胸膜（P L 3）胸壁（肺尖部腫瘍を 含む）、横隔膜、横隔神経、縦隔胸膜 、または壁側心膜。 主気管支における腫瘍（気管分岐部よ り遠位側 2 c m 未満であるが、気管分 岐部の関与なし）。 肺全体の関連する無気肺もしくは閉塞 性肺炎または同一肺葉における別々の 腫瘍小結節（複数可）。 T 4 = 下記のいずれかに浸潤する任意 のサイズの腫瘍：縦隔、心臓、大血管 、気管、反回神経、食道、椎体、気管 分岐部、または異なる同側性肺葉にお ける別々の腫瘍小結節（複数可）。 N 0 = 所属リンパ節転移なし。 N 1 = 直接拡張によって生じるものを 含む、同側性の気管支周囲ならびに/ または同側性の肺門リンパ節及び肺内 節における転移。 N 2 = 同側性の縦隔及び／または気管 分岐部リンパ節（複数可）における転 移。 M 0 = 遠隔転移なし。
I I I B	T 1 a、N 3、M 0 T 1 b、N 3、M 0 T 2 a、N 3、M 0 T 2 b、N 3、M 0 T 3、N 3、M 0 T 4、N 2、M 0 T 4、N 3、M 0	T 1 a = 最大径が 2 c m の腫瘍。 T 1 b = 2 c m を超えるが、最大径が 3 c m の腫瘍。 T 2 a = 3 c m を超えるが、最大径が 5 c m の腫瘍。 T 2 b = 5 c m を超えるが、最大径が 7 c m の腫瘍。 T 3 = 7 c m を超える腫瘍、または下 記のいずれかに直接浸潤するもの：壁 側胸膜（P L 3）胸壁（肺尖部腫瘍を 含む）、横隔膜、横隔神経、縦隔胸膜 、または壁側心膜。

10

20

30

40

50

		主気管支における腫瘍（気管分岐部より遠位側2 cm未満であるが、気管分岐部の関与なし）。 肺全体の関連する無気肺もしくは閉塞性肺炎または同一肺葉における別々の腫瘍小結節（複数可）。 T 4 = 下記のいずれかに浸潤する任意のサイズの腫瘍：縦隔、心臓、大血管、気管、反回神経、食道、椎体、気管分岐部、または異なる同側性肺葉における別々の腫瘍小結節（複数可）。 N 2 = 同側性の縦隔及び／または気管分岐部リンパ節（複数可）における転移。 N 3 = 対側性の縦隔、対側性の肺門、同側性もしくは対側性の斜角筋、または鎖骨上リンパ節（複数可）における転移。 M 0 = 遠隔転移なし。	10
I V	任意のT、任意のN、M 1 A 任意のT、任意のN、M 1 b	T X = 原発腫瘍が評価不可能、または喀痰もしくは気管支洗浄において悪性細胞が存在することによって証明されたが、イメージングもしくは気管支鏡検査によって視覚化されない腫瘍。 T 0 = 原発腫瘍の証拠なし。 T i s = 上皮内癌。 T 1 = 最大径が3 cmの腫瘍であり、肺胸膜または臓側胸膜に囲まれており、気管支鏡検査で葉気管支より基部側に浸潤の証拠のないもの（すなわち、主気管支には存在しない）。 T 1 a = 最大径が2 cmの腫瘍。 T 1 b = 2 cmを超えるが、最大径が3 cmの腫瘍。 T 2 = 3 cmを超えるが、7 cmの腫瘍、または下記の特徴のいずれかを有する腫瘍（こうした特徴を有するT 2 腫瘍は、5 cmであればT 2 a と分類される）：主気管支が関与し、気管分岐部より遠位側2 cmであり、臓側胸膜に浸潤（P L 1 もしくはP L 2）するか、または肺門領域に拡張するが、肺全体が関与することはない無気肺もしくは閉塞性肺炎と関連する。 T 2 a = 3 cmを超えるが、最大径が5 cmの腫瘍。 T 2 b = 5 cmを超えるが、最大径が7 cmの腫瘍。 T 3 = 7 cmを超える腫瘍、または下	20 30 40

		記のいずれかに直接浸潤するもの：壁側胸膜（P L 3）胸壁（肺尖部腫瘍を含む）、横隔膜、横隔神経、縦隔胸膜、または壁側心膜。 主気管支における腫瘍（気管分岐部より遠位側2 c m未満であるが、気管分岐部の関与なし）。 肺全体の関連する無気肺もしくは閉塞性肺炎または同一肺葉における別々の腫瘍小結節（複数可）。 T 4 = 下記のいずれかに浸潤する任意のサイズの腫瘍：縦隔、心臓、大血管、気管、反回神経、食道、椎体、気管分岐部、または異なる同側性肺葉における別々の腫瘍小結節（複数可）。 N X = 所属リンパ節が評価不可能。 N 0 = 所属リンパ節転移なし。 N 1 = 直接拡張によって生じるものを含む、同側性の気管支周囲ならびに／または同側性の肺門リンパ節及び肺内節における転移。 N 2 = 同側性の縦隔及び／または気管分岐部リンパ節（複数可）における転移。 N 3 = 対側性の縦隔、対側性の肺門、同側性もしくは対側性の斜角筋、または鎖骨上リンパ節（複数可）における転移。 M 0 = 遠隔転移なし。 M 1 = 遠隔転移。 M 1 a = 胸膜小結節または悪性の胸水（もしくは心膜液）貯留を伴う、対側性の肺葉腫瘍における別々の腫瘍小結節（複数可）。 M 1 b = 遠隔転移。	10
			20
			30

【0009】

NSCLCの検診

コンピュータ断層撮影（CT）

コンピュータ断層撮影（CT）は、小さな病巣（3 c mの領域におけるもの）の検出を可能にするものである（Read, C. et al., Primary Care Respiratory Journal (2006) 15, 332-336）。CTは、走査時間が長く、放射線への曝露が多いことから、最近まで検診には適さないツールであった。しかしながら、スパイラルCTの開発及び改良に伴って、走査時間及び放射線への曝露を大幅に減らすことが可能となった。CT検診の結果を受けることが奨励されてきており、CT検診で検出された気管支癌の80～90%が、初期のステージ1腫瘍であると診断される（Kaneko, M. et al., Radiology 1996; 201: 798-802、Swensen, S. J. et al., Am J Respir C

10

20

30

40

50

rit Care Med 2002;165:508-513、Henschke, C. I. et al., Radiology 2006;239(2):586-590)。

【0010】

喀痰サイトメトリ (Sputum Cytometry)

喀痰細胞診の診断率は、腫瘍位置と関連して変化することが知られている (Read, C. et al., Primary Care Respiratory Journal (2006) 15, 332-336)。喀痰細胞診は、中心型の腫瘍 (central tumor) の同定には大いに役立つが、末梢型の癌 (peripheral cancer) の同定には、ほとんど役立たないか、または全く役立たない (Thunnissen F. B. J. M., J Clin Pathol 2003;56:805-810)。しかしながら、悪性腫瘍の分子遺伝子マーカー及び免疫細胞化学マーカーを使用することで、喀痰細胞診の感度を改善できることが示唆された (Marek, W. et al., Eur Respir J 2001;18:942-950、Xing, S. et al., Eur Respir J 2005;25:956-963)。

10

【0011】

自家蛍光気管支鏡検査

自家蛍光気管支鏡検査は、異常細胞の高い検出感度を有する (Read, C. et al., Primary Care Respiratory Journal (2006) 15, 332-336)。この手法は、前浸潤性疾患及び浸潤性疾患の粘膜と、気管支粘膜とを比較し、それらの蛍光特性の差異を利用するものである。

20

【0012】

自家蛍光気管支鏡検査の最も知られた機器は、肺イメージング蛍光内視鏡検査 (Lung Imaging Fluorescence Endoscopy) (LIFE) システムである (Lam, S. et al., J Thorac Cardiovasc Surg 1993;105:1035-1040)。この機器は、気管支粘膜の照射に青色 (442nm) ヘリウムカドミウムレーザーを使用し、その後、得られた蛍光をデジタル化してリアルタイムのビデオ画像とするものである。D-ライト自家蛍光 (D-light autofluorescence) システムなどの他の機器は、画像増感カメラを必要としないが、気管支鏡に組み込まれた光学フィルターを使用する (Leonhard, M., Diagn Therap Endosc 1999;5:71-75)。

30

【0013】

自家蛍光気管支鏡検査に関する研究報告の大部分で、生体内原位置での検出における、異形成及び癌の診断感度が顕著に高いことが示された (Read, C. et al., Primary Care Respiratory Journal (2006) 15, 332-336、Lam, S. et al., Chest 1998;113:696-702、Vermylen, P. et al., Lung Cancer 1999;25:161-168、Venmans B. J. et al., Diagn Therap Endosc 1999;5:77-84、Ikeda, N. et al., Diagn Therap Endosc 1997;3:197-201、Yokomise, H. et al., J Bronchol 1997;4:205-208、Hirsch, F. R. et al., J Natl Cancer Inst 2001;93:1385-1391)。

40

【0014】

バイオマーカー

いくつかのバイオマーカーは、NSCLCの予後マーカー及び予測マーカーとして登場した (Ettlinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010;8:740-801)。予後バイオマーカーは、先天性の腫瘍悪性度の指標であり、受ける治療とは無関係に患者の生存を示す生体分子である。予測バイ

50

オマーカーは、治療有効性を示す生体分子であり、すなわち、当該生体分子と治療との間には、患者の予後に影響する相互作用が存在する。こうしたバイオマーカーの中でも、EGFR、5'エンドヌクレアーゼのヌクレオチド除去修復複合体（ERCC1）、カーステン（Kirsten）ラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ（K-ras）、及びリボヌクレオチド還元酵素の制御サブユニット（RRM1）については、最も確固たる証拠が存在する。

【0015】

上皮増殖因子受容体（EGFR）のエクソン19における欠失またはエクソン21におけるL858R変異の存在は、NSCLCを有する患者にとっては、治療とは無関係な生存予後ではないように思われる（Tsao, M. S. et al., *N Engl J Med* 2005; 353:133-144）。しかしながら、EGFRのエクソン19における欠失またはエクソン21におけるL858R変異の存在は、EGFR-TKI治療から得られる治療効果の予測となる（Sequist, L. V. et al., *J Clin Oncol* 2008; 26:2442-2449、Miller, V. A., *J Clin Oncol* 2008; 26:1472-1478）。ERCC1の発現レベルが低いNSCLC患者と比較すると、ERCC1レベルが高いNSCLC患者の生存予後は、治療とは無関係に良好である（Simon, G. R. et al., *Chest* 2005; 127:978-983、Olaussen K. A. et al., *N Engl J Med* 2006; 355:983-991）。ERCC1の発現レベルが高いことは、プラチナに基づく化学療法に対する応答が不良であることの予測にもなる（Olaussen K. A. et al., *N Engl J Med* 2006; 355:983-991、Bepler, G. et al., *J Clin Oncol* 2006; 24:4731-4737）。K-ras変異が存在するNSCLC患者の生存予後は、こうした変異が存在しないNSCLC患者と比較すると、治療とは無関係に不良である（Slebos, R. J. et al., *N Engl J Med* 1990; 323:561-565）。K-ras変異の存在は、プラチナ/ビノレルビンに基づく化学療法またはEGFR-TKI治療から得られる効果がないことの予測にもなる（Miller, V. A., *J Clin Oncol* 2008; 26:1472-1478、Tsao, M. S. et al., *J Clin Oncol* 2007; 25:5240-5247）。RRM1レベルが高いNSCLC患者の生存予後は、RRM1の発現レベルが低いNSCLC患者と比較すると、治療とは無関係に良好である（Bepler, G. et al., *J Clin Oncol* 2004; 22:1878-1885、Zheng, Z. et al., *N Engl J Med* 2007; 356:800-808）。RRM1の発現レベルが高いことは、ゲムシタビンに基づく化学療法に対する応答が不良であることの予測にもなる（Bepler, G. et al., *J Clin Oncol* 2008; 26 (Suppl 1): Abstract 8033、Reynolds, C. et al., *J Clin Oncol* 2009; 27:5808-5815）。

【0016】

NSCLCの治療
手術

一般に、ステージIまたはステージIIの疾患を有する患者については、手術が治癒の可能性を最も高めるものである（Ettinger, D. S. et al., *J Natl Compr Canc Netw* 2010; 8:740-801）。使用される外科的な手順は、疾患の程度及び患者の心肺予備力に依存する。解剖学的に適切であり、断端陰性の切除が達成可能であれば、肺切除術ではなく、肺を温存する解剖学的切除（管状肺葉切除術）が実施される。あるいは、生理学的に可能であれば、肺葉切除術または肺切除術が実施される（Boffa, D. J. et al., *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135:247-254、Scott, W. J. et al., *Chest* 2007; 132:234S-242S）。焼灼（すなわち、ラ

ジオ波焼灼療法〔RFA〕、寒冷療法、定位放射線療法〕と比較して、切除（楔状切除を含む）が好ましい（Scott, W. J. et al., Chest 2007; 132: 234S-242S）。しかしながら、区域切除及び楔状切除などの、肺を温存する手術（すなわち、小葉下切除（sublobular resection））が、肺機能が重度に低下しており、そうでなければ手術候補とはならない患者において有用であるかということについては議論の余地がある（Scott, W. J. et al., Chest 2007; 132: 234S-242S、Ginsberg, R. J. et al., Ann Thorac Surg 1995; 60: 615-622; Koike, T. et al., J Thorac Cardiovasc Surg 2003; 125: 924-928）。

10

【0017】

放射線療法（RT）

RTは、1）切除可能なNSCLCを有し、手術に禁忌を有さない患者の補助治療、2）医学的に手術不可能もしくは切除不可能なNSCLCを有する患者の一次的な局所治療（すなわち、根治的RT）、及び／または3）不治のNSCLCを有する患者の重要な対症モダリティとして使用することができる（Ettlinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8: 740-801）。しかしながら、通常のRTの単独使用からもたらされる生存期間中央値は10ヶ月であり、5年生存率は5%にすぎない（Ettlinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8: 740-801）。

20

【0018】

化学療法

ステージIVのNSCLCに対して活性を有する薬物は多い。こうした薬物には、タキサン（パクリタキセル、ドセタキセル）、ビノレルビン、エトポシド、ペメトレキセド、カンプトテシンアナログ（イリノテカン）、及びゲムシタビンが含まれる。こうした薬物の多くを使用して組み合わせることで、30%～40%の1年生存率が得られ、単一薬剤に勝るものである。レジメンには、カルボプラチン／パクリタキセル、シスプラチン／パクリタキセル、シスプラチン／ビノレルビン、ゲムシタビン／シスプラチン、シスプラチン／ペメトレキセド、及びドセタキセル／シスプラチンが含まれる（Ettlinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8: 740-801、Ohe, Y. et al., Ann Oncol 2007; 18: 317-323、Fossella, F. et al., J Clin Oncol 2003; 21: 3016-3024、Smit, E. F. et al., J Clin Oncol 2003; 21: 3909-3917、Zatloukal, P. et al., Lung Cancer 2004; 46: 87-98、Scagliotti, G. V. et al., J Clin Oncol 2008; 26: 3543-3551）。

30

【0019】

化学療法は、肺癌を有する患者の多くに適切なものであるが、NSCLCの治療に伝統的な化学療法薬剤を使用することは、治療的に頭打ちの状態に達したという共通認識が存在する（Molina, J. R. et al., Mayo Clin Proc 2008 May; 83(5): 584-594）。

40

【0020】

標的治療

特定の標的治療が、進行肺癌を標的とするために開発された（Sandler, A. B. et al., Clin Cancer Res 2004; 10: 4258s-4262s; Giaccone, G. et al., J Clin Oncol 2005; 23: 3235-3242）。ベバシズマブは、血管内皮増殖因子（VEGF）を遮断する組換えモノクローナル抗体である。エルロチニブは、EGFRの小分子阻害剤である。セツキシマブは、EGFRを標的とするモノクローナル抗体である。

50

【0021】

2006年には、切除不可能、局所進行性、再発性、または転移性の非扁平上皮NSCLCを有する患者を対象として、ベバシズマブがFDAに承認された(Ettinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8:740-801)。ベバシズマブは、進行非扁平上皮NSCLCを有する選択患者に対して、パクリタキセル及びカルボプラチンと組み合わせて使用することが推奨されてきた(Sandler, A. et al., N Engl J Med 2006; 355:2542-2550)。ベバシズマブ及び化学療法を用いた治療を受けるためには、患者は非扁平上皮NSCLCを有していなくてはならず、喀血歴があってはならない。血小板減少症の危険性(すなわち、出血の可能性)が高いレジメンは、どのようなものであれ、ベバシズマブと組み合わせるときは、注意して使用されるべきである(Ettinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8:740-801)。

10

【0022】

2004年には、局所進行性または転移性のNSCLCを有し、少なくとも1つの化学療法レジメンの失敗前歴を有する患者の治療を対象として、エルロチニブがFDAに承認された(Ettinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8:740-801)。しかしながら、進行性または転移性のNSCLCを有し、EGFRの既知の活性変異または遺伝子増幅を有する患者においては、エルロチニブを第1選択治療として投与することもできる(Sequist, L. V. et al., Oncologist 2007; 12:90-98; N Engl J Med 2009; 361:947-957、Inoue, A. et al., J Clin Oncol 2009; 27:1394-1400)。

20

【0023】

進行NSCLCを有する患者を対象として、セツキシマブと組み合わせて、またはセツキシマブを使用せずに、シスプラチン／ビノレルビンを評価した第III相無作為試験が最近実施された(Pirker, R. et al., Lancet 2009; 373:1525-1531)。セツキシマブを追加すると、全生存期間が僅かに増加することが結果によって示された(11.3ヶ月対10.1ヶ月; $P=.04$) (Pirker, R. et al., Lancet 2009; 373:1525-1531、Ettinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8:740-801)。

30

【0024】

しかしながら、NSCLCは、こうした特定の標的治療(例えば、エルロチニブ及びゲフィチニブ)に対する抵抗性を獲得するものであり、NSCLCなどの癌が、例えば、EGFR阻害剤に対する抵抗性をどのように得るのかという知見が蓄積しつつある(Ettinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8:740-801)。最も一般に知られる機構は、T790Mとして知られる、EGFRの二次的変異の獲得であり、この変異獲得によって、エルロチニブ及びゲフィチニブに対してキナーゼ抵抗性が付与される(Nguyen, K. S. et al., Clin Lung Cancer 2009; 10:281-289、Gazdar, A. F., Oncogene 2009; 28(Suppl 1):S24-S31)。MET癌遺伝子の増幅は、別に確認された抵抗性機構である(Ettinger, D. S. et al., J Natl Compr Canc Netw 2010; 8:740-801)。

40

【0025】

ヒト腫瘍におけるDNA損傷シグナル伝達

DNA損傷シグナル伝達及びチェックポイント制御経路は、ヒト腫瘍において最も一般に変異が生じるネットワークである(Morandell, S. et al., Cell Reports 5, 868-877, November 27, 2013、Negr

50

ini, S. et al., Nat Rev Mol Cell Biol 2010; 11: 220-228)。DNA損傷応答性の細胞周期チェックポイントの主要な3つは、G1/Sチェックポイント、S期チェックポイント、及びG2/Mチェックポイントである。DNA損傷に応答し、真核細胞では、DNA修復及び細胞周期停止を媒介する複雑なシグナル伝達ネットワークが活性化し、損傷が広範にわたるのであれば、アポトーシスが引き起こされる (Ciccio, A. and Elledge, S. J., Mol Cell 2010; 40: 179-204)。DNA損傷に応答して細胞周期を停止する古典的タンパク質キナーゼ経路は、正常細胞及び癌細胞の両方で3つ存在する：毛細血管拡張性運動失調症及びRad-3関連Chk1経路 (Ataxia-Telangiectasia and Rad-3 related through Chk1) (ATR-Chk1) 経路、毛細血管拡張性運動失調症変異Chk2経路 (Ataxia-Telangiectasia mutated through Chk2) (ATM-Chk2) 経路、ならびにストレス活性化タンパク質キナーゼp38分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) 及びその基質であるMAPKAPキナーゼ-2 (MK2) (Morandell, S. et al., Cell Reports 5, 868-877, November 27, 2013)。ATM/Chk2経路は、DNA二本鎖の切断に第1に応答する一方で、ATR pChk1経路は、大きなDNA損傷によって活性化し、こうしたことは、S期の間に生じる複製フォーク崩壊に続いて起きるものである。Chk1及びChk2が、DNA損傷特異的に活性化するのは対照的に、p38MAPK経路は、さまざまな細胞刺激に応答する一般的なストレス活性化キナーゼ経路であり、こうした細胞刺激には、サイトカイン、高浸透圧、及びUV照射が含まれる。

【0026】

腫瘍抑制タンパク質であるp53は、前述のDNA損傷キナーゼ経路の主要な下流エフェクターである。正常細胞では、p53依存性シグナル伝達は、G1停止を引き起こし、これは、p21の転写上方制御によって主に媒介される。p21は、ガンマ線照射後の、G2チェックポイントの維持においても一定の役割を担っているように思われる。しかしながら、DNA損傷が広範にわたるのであれば、p53依存性経路は、損傷細胞を標的として、アポトーシスによる細胞死へと向かわせる。遺伝毒性ストレスが生じた後に細胞周期を停止するためには、MK2経路はなくてはならないものである。こうした遺伝毒性ストレスには、機能性p53を欠いた腫瘍細胞のみで生じる、シスプラチン誘導性のDNA架橋及びトポイソメラーゼ阻害剤誘導性のDNA鎖切断が含まれる (Manke, I. A. et al., Mol Cell 2005; 17: 37-48, Reinhardt, H. C. et al., Cancer Cell 2007; 11: 175-189)。p53非存在下で細胞周期チェックポイントが有効に機能するには、ATRChk1経路及びp38-MK2経路の両方が必要である (Reinhardt, H. C. et al., Mol Cell 2010; 40: 34-49)。

【0027】

遺伝毒性の化学治療に対する応答では、機能性p53を欠いたNSCLC腫瘍細胞の生存にはMK2が必須であるが、p53能力を有する細胞では不要であることが、Morandell et al. (Cell Reports 5, 868-877, November 27, 2013) によって最近示された。MK2は、DNA損傷性薬剤であるシスプラチンに対して、p53欠損腫瘍を特異的に増感させることが明らかとなったが、p53能力を有する癌細胞の治療応答に対する作用は有さなかった。このことは、p53とMK2との合成致死を介して、DNA損傷性の化学療法に対するp53欠損腫瘍の化学的増感がインビボで進む可能性を示唆している (Morandell, S. et al., Cell Reports 5, 868-877, November 27, 2013)。

【0028】

キナーゼ

キナーゼは、リン酸 (phosphate) ドナー (通常、アデノシン-5'-三リン

10

20

30

40

50

酸 (ATP)) から受容体基質へのホスホリル転移反応を触媒する遍在性の酵素群である。利用可能なキナーゼ配列 (約 60, 000 配列) のすべての分類は、キナーゼが、相同 (共通祖先由来であることを意味する) タンパク質を有する 25 ファミリーへと群化できることを示している。こうしたキナーゼファミリーは、構造的なフォールドの類似性に基づいて、12 のフォールド群へと集約される。さらに、25 ファミリーのうちの 22 ファミリー (すべての配列の約 98.8%) は、構造フォールドが知られている 10 のフォールド群に属する。その他の 3 ファミリーについては、ポリリン酸キナーゼが特有のフォールド群を形成し、残りの 2 ファミリーは共に膜内在性キナーゼであり、最後のフォールド群を構成する。こうしたフォールド群は、ロスマン様 (Rossmann-like) フォールド (β - α - β - α - β の位相幾何学順序において 2 つの α -ヘリックスによって連結された 3 つ以上の平衡 β ストランド)、フェレドキシン様フォールド (一般的な $\alpha + \beta$ タンパク質フォールドであり、その骨格と共にシグネチャー $\beta\alpha\beta\beta\alpha\beta$ という二次構造特性を有する)、TIM バレルフォールド (ペプチド骨格に沿って交互に生じる 8 つの α -ヘリックスと 8 つの平衡 β -ストランドとからなる保存されたタンパク質フォールドを意味する)、及び逆平行 β -バレルフォールド (ベータバレルは、ねじれてコイル状となり、最初のストランドが最後のストランドに水素結合した閉構造を形成する大型のベータシートである) などの、最も広く分布したタンパク質フォールドのいくつかを含むだけではなく、主要なクラス (すべて α 、すべて β 、 $\alpha + \beta$ 、 α / β) のタンパク質構造もすべて含む。フォールド群内では、各ファミリーのヌクレオチド結合ドメインのコアは同一の構造を有し、タンパク質コアの位相幾何学は、同一であるか、または円順列変異によって関連している。フォールド群内のファミリー間に相同性は暗示されない。

【0029】

I 群 (23, 124 配列) のキナーゼには、タンパク質 S/T-Y キナーゼ、非定型タンパク質キナーゼ、脂質キナーゼ、及び ATP グラスプ (grasp) 酵素が含まれると共に、タンパク質 S/T-Y キナーゼ及び非定型タンパク質キナーゼファミリー (22, 074 配列) がさらに含まれる。こうしたキナーゼには、コリンキナーゼ (EC 2.7.1.32)、タンパク質キナーゼ (EC 2.7.1.37)、ホスホリラーゼキナーゼ (EC 2.7.1.38)、ホモセリンキナーゼ (EC 2.7.1.39)、I-ホスファチジルイノシトール 4-キナーゼ (EC 2.7.1.67)、ストレプトマイシン 6-キナーゼ (EC 2.7.1.72)、エタノールアミンキナーゼ (EC 2.7.1.82)、ストレプトマイシン 3'-キナーゼ (EC 2.7.1.87)、カナマイシンキナーゼ (EC 2.7.1.95)、5-メチルチオリボースキナーゼ (EC 2.7.1.100)、バイオマイシンキナーゼ (EC 2.7.1.103)、[ヒドロキシメチルグルタリル-CoA 還元酵素 (NADPH2)] キナーゼ (EC 2.7.1.109)、タンパク質-チロシンキナーゼ (EC 2.7.1.112)、[イソクエン酸脱水素酵素 (NADP+)] キナーゼ (EC 2.7.1.116)、[ミオシン軽鎖] キナーゼ (EC 2.7.1.117)、ハイグロマイシン-B キナーゼ (EC 2.7.1.119)、カルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ (EC 2.7.1.123)、ロドプシンキナーゼ (EC 2.7.1.125)、[ベータ-アドレナリン受容体] キナーゼ (EC 2.7.1.126)、[ミオシン重鎖] キナーゼ (EC 2.7.1.129)、[タウタンパク質] キナーゼ (EC 2.7.1.135)、マクロライド 2'-キナーゼ (EC 2.7.1.136)、I-ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (EC 2.7.1.137)、[RNA-ポリメラーゼ] サブユニットキナーゼ (EC 2.7.1.141)、ホスファチジルイノシトール-4, 5-二リン酸 3-キナーゼ (EC 2.7.1.153)、及びホスファチジルイノシトール-4-リン酸 3-キナーゼ (EC 2.7.1.154) が含まれる。I 群は、脂質キナーゼファミリー (321 配列) をさらに含む。こうしたキナーゼには、I-ホスファチジルイノシトール-4-リン酸 5-キナーゼ (EC 2.7.1.68)、ID-ミオ-イノシトール-三リン酸 3-キナーゼ (EC 2.7.1.127)、イノシトール-四リン酸 5-キナーゼ (EC 2.7.1.140)、I-ホスファチジルイノシトール-5-リン酸 4-キナーゼ (EC 2.7.1.149)、I

ーホスファチジルイノシトールー3ーリン酸5ーキナーゼ (EC 2. 7. 1. 150)、イノシトールーポリリン酸多種キナーゼ (EC 2. 7. 1. 151)、及びイノシトールー六リン酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 21) が含まれる。I 群は、ATPーグラスプ (g r a s p) キナーゼ (729 配列) をさらに含み、こうしたキナーゼには、イノシトールー四リン酸Iーキナーゼ (EC 2. 7. 1. 134)、ピルビン酸リン酸ジキナーゼ (EC 2. 7. 9. 1)、及びピルビン酸水ジキナーゼ (EC 2. 7. 9. 2) が含まれる。

【0030】

II 群 (17, 071 配列) のキナーゼには、ロスマン様キナーゼが含まれる。II 群は、Pールーブキナーゼファミリー (7, 732 配列) を含む。こうしたものには、グルコノキナーゼ (EC 2. 7. 1. 12)、ホスホリブプロキナーゼ (EC 2. 7. 1. 19)、チミジンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 21)、リボシルニコチンアミドキナーゼ (EC 2. 7. 1. 22)、デホスホーCoAキナーゼ (EC 2. 7. 1. 24)、アデニリル硫酸キナーゼ (EC 2. 7. 1. 25)、パントテン酸キナーゼ (EC 2. 7. 1. 33)、タンパク質キナーゼ (細菌のもの) (EC 2. 7. 1. 37)、ウリジンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 48)、シキミ酸キナーゼ (EC 2. 7. 1. 71)、デオキシシチジンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 74)、デオキシアデノシンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 76)、ポリヌクレオチド5'ーヒドロキシルーキナーゼ (EC 2. 7. 1. 78)、6ーホスホフルクトー2ーキナーゼ (EC 2. 7. 1. 105)、デオキシグアノシンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 113)、テトラアシル化二糖 (t e t r a a c y l d i s a c c h a r i d e) 4'ーキナーゼ (EC 2. 7. 1. 130)、デオキシヌクレオシドキナーゼ (EC 2. 7. 1. 145)、アデノシルコビナミド (a d e n o s y l c o b i n a m i d e) キナーゼ (EC 2. 7. 1. 156)、ポリリン酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 1)、ホスホメバロン酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 2)、アデニル酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 3)、ヌクレオシドーリン酸キナーゼキナーゼ (EC 2. 7. 4. 4)、グアニル酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 8)、チミジル酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 9)、ヌクレオシドー三リン酸ーアデニル酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 10)、(デオキシ)ヌクレオシドーリン酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 13)、シチジル酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 14)、及びウリジル酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 22) が含まれる。II 群は、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼファミリー (815 配列) をさらに含む。こうした酵素には、タンパク質キナーゼ (H P r キナーゼ/ホスファターゼ) (EC 2. 7. 1. 37)、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (G T P) (EC 4. 1. 1. 32)、及びホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (A T P) (EC 4. 1. 1. 49) が含まれる。II 群は、ホスホグリセリン酸キナーゼ (1, 351 配列) ファミリーをさらに含む。こうした酵素には、ホスホグリセリン酸キナーゼ (EC 2. 7. 2. 3) 及びホスホグリセリン酸キナーゼ (G T P) (EC 2. 7. 2. 10) が含まれる。II 群は、アスパルトキナーゼファミリー (2, 171 配列) をさらに含む。こうした酵素には、カルバミン酸キナーゼ (EC 2. 7. 2. 2)、アスパラギン酸キナーゼ (EC 2. 7. 2. 4)、アセチルグルタミン酸キナーゼ (EC 2. 7. 2. 81)、グルタミン酸5ーキナーゼ (EC 2. 7. 2. 1)、及びウリジル酸キナーゼ (EC 2. 7. 4.) が含まれる。II 群は、ホスホフルクトキナーゼ様キナーゼファミリー (1, 998 配列) をさらに含む。こうした酵素には、6ーホスホフルクトキナーゼ (EC 2. 7. 1. 11)、NAD (+) キナーゼ (EC 2. 7. 1. 23)、Iーホスホフルクトキナーゼ (EC 2. 7. 1. 56)、二リン酸ーフルクトースー6ーリン酸Iーホスホトランスフェラーゼ (EC 2. 7. 1. 90)、スフィンガニンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 91)、ジアシルグリセロールキナーゼ (EC 2. 7. 1. 107)、及びセラミドキナーゼ (EC 2. 7. 1. 138) が含まれる。II 群は、リボキナーゼ様ファミリー (2, 722 配列) をさらに含む。こうした酵素には、グルコキナーゼ (EC 2. 7. 1. 2)、ケトヘキソキナーゼ (EC 2. 7. 1. 3)、フルクトキナーゼ (EC 2. 7. 1. 4)、6ーホスホフルクトキナーゼ (EC 2. 7. 1. 11)、リボキナ

ーゼ (EC 2. 7. 1. 15)、アデノシンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 20)、ピリドキサルキナーゼ (EC 2. 7. 1. 35)、2-デヒドロ-3-デオキシグルコノキナーゼ (EC 2. 7. 1. 45)、ヒドロキシメチルピリミジンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 49)、ヒドロキシエチルチアゾールキナーゼ (EC 2. 7. 1. 50)、I-ホスホフルクトキナーゼ (EC 2. 7. 1. 56)、イノシンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 73)、5-デヒドロ-2-デオキシグルコノキナーゼ (EC 2. 7. 1. 92)、タガトース-6-リン酸キナーゼ (EC 2. 7. 1. 144)、ADP依存性ホスホフルクトキナーゼ (EC 2. 7. 1. 146)、ADP依存性グルコキナーゼ (EC 2. 7. 1. 147)、及びホスホメチルピリミジンキナーゼ (EC 2. 7. 4. 7)が含まれる。II群は、チアミンピロホスホキナーゼファミリー (175配列)をさらに含み、このファミリーは、チアミンピロホスホキナーゼ (EC 2. 7. 6. 2)を含む。II群は、グリセリン酸キナーゼファミリー (107配列)をさらに含み、このファミリーは、グリセリン酸キナーゼ (EC 2. 7. 1. 31)を含む。

【0031】

III群のキナーゼ (10, 973配列)には、フェレドキシン様フォールドキナーゼが含まれる。III群は、ヌクレオシド-ニリン酸キナーゼファミリー (923配列)をさらに含む。こうした酵素には、ヌクレオシド-ニリン酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 6)が含まれる。III群は、HPPKキナーゼファミリー (609配列)をさらに含む。こうした酵素には、2-アミノ-4-ヒドロキシ-6-ヒドロキシメチルジヒドロプテリジニルピロホスホキナーゼ (EC 2. 7. 6. 3)が含まれる。III群は、グアニドキナーゼファミリー (324配列)をさらに含む。こうした酵素には、グアニド酢酸 (guanidoacetate)キナーゼ (EC 2. 7. 3. 1)、クレアチンキナーゼ (EC 2. 7. 3. 2)、アルギニンキナーゼ (EC 2. 7. 3. 3)、及びロンブリシンキナーゼ (EC 2. 7. 3. 5)が含まれる。III群は、ヒスチジンキナーゼファミリー (9, 117配列)をさらに含む。こうした酵素には、タンパク質キナーゼ (ヒスチジンキナーゼ) (EC 2. 7. 1. 37)、[ビルビン酸脱水素酵素 (リポアミド)]キナーゼ (EC 2. 7. 1. 99)、及び[3-メチル-2-オキシブタン酸脱水素酵素 (リポアミド)]キナーゼ (EC 2. 7. 1. 115)が含まれる。

【0032】

IV群のキナーゼ (2, 768配列)には、リボヌクレアーゼH様キナーゼが含まれる。こうした酵素には、ヘキソキナーゼ (EC 2. 7. 1. 1)、グルコキナーゼ (EC 2. 7. 1. 2)、フルクトキナーゼ (EC 2. 7. 1. 4)、ラムヌロキナーゼ (EC 2. 7. 1. 5)、マンノキナーゼ (EC 2. 7. 1. 7)、グルコノキナーゼ (EC 2. 7. 1. 12)、L-リブロキナーゼ (EC 2. 7. 1. 16)、キシロキナーゼ (EC 2. 7. 1. 17)、エリスリトールキナーゼ (EC 2. 7. 1. 27)、グリセロールキナーゼ (EC 2. 7. 1. 30)、パントテン酸キナーゼ (EC 2. 7. 1. 33)、D-リブロキナーゼ (EC 2. 7. 1. 47)、L-フクロキナーゼ (L-fucokinase) (EC 2. 7. 1. 51)、L-キシロキナーゼ (EC 2. 7. 1. 53)、アロースキナーゼ (EC 2. 7. 1. 55)、2-デヒドロ-3-デオキシガラクトノキナーゼ (EC 2. 7. 1. 58)、N-アセチルグルコサミンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 59)、N-アシルマンノサミンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 60)、ポリリン酸-グルコースホスホトランスフェラーゼ (EC 2. 7. 1. 63)、ベーターグルコシドキナーゼ (EC 2. 7. 1. 85)、酢酸キナーゼ (EC 2. 7. 2. 1)、ブタン酸キナーゼ (EC 2. 7. 2. 7)、分岐鎖脂肪酸キナーゼ (EC 2. 7. 2. 14)、及びプロピオン酸キナーゼ (EC 2. 7. 2. 15)が含まれる。

【0033】

V群のキナーゼ (1, 119配列)には、TIMβ-バレルキナーゼが含まれる。こうした酵素には、ビルビン酸キナーゼ (EC 2. 7. 1. 40)が含まれる。

【0034】

VI群のキナーゼ (885配列)には、GHMPキナーゼが含まれる。こうした酵素に

10

20

30

40

50

は、ガラクトキナーゼ (EC 2. 7. 1. 6)、メバロン酸キナーゼ (EC 2. 7. 1. 36)、ホモセリンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 39)、L-アラビノキナーゼ (EC 2. 7. 1. 46)、フコキナーゼ (EC 2. 7. 1. 52)、シキミ酸キナーゼ (EC 2. 7. 1. 71)、4-(シチジン5'-ジホスホ)-2-C-メチル-D-エリスリオール (erythrithiol) キナーゼ (EC 2. 7. 1. 148)、及びホスホメバロン酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 2) が含まれる。

【0035】

VII群のキナーゼ (1, 843 配列) には、AIR合成酵素様キナーゼが含まれる。こうした酵素には、チアミン-リン酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 16) 及びセレニド水ジキナーゼ (EC 2. 7. 9. 3) が含まれる。

10

【0036】

VIII群のキナーゼ (565 配列) には、リボフラビンキナーゼ (565 配列) が含まれる。こうした酵素には、リボフラビンキナーゼ (EC 2. 7. 1. 26) が含まれる。

【0037】

IX群のキナーゼ (197 配列) には、ジヒドロキシアセトンキナーゼが含まれる。こうした酵素には、グリセロン (glycerone) キナーゼ (EC 2. 7. 1. 29) が含まれる。

【0038】

X群のキナーゼ (148 配列) には、推定グリセリン酸キナーゼが含まれる。こうした酵素には、グリセリン酸キナーゼ (EC 2. 7. 1. 31) が含まれる。

20

【0039】

XI群のキナーゼ (446 配列) には、ポリリン酸キナーゼが含まれる。こうした酵素には、ポリリン酸キナーゼ (EC 2. 7. 4. 1) が含まれる。

【0040】

XII群のキナーゼ (263 配列) には、膜内在性キナーゼが含まれる。XII群は、ドリコールキナーゼファミリーを含む。こうした酵素には、ドリコールキナーゼ (EC 2. 7. 1. 108) が含まれる。XII群は、ウンデカプレノールキナーゼファミリーをさらに含む。こうした酵素には、ウンデカプレノールキナーゼ (EC 2. 7. 1. 66) が含まれる。

30

【0041】

キナーゼは、細胞の代謝経路及びシグナル伝達経路の多くにおいて不可欠な役割を担っており、構造レベル、生化学レベル、及び細胞レベルで最も研究された酵素である。キナーゼのすべてが同一のリン酸ドナー (多くの場合、ATP) を使用し、見かけ上は同一のホスホリル転移反応を触媒するという事実が存在するにもかかわらず、その構造フォールド及び基質認識機構には著しい多様性が存在する。このことはおそらく、その大部分が、多様な構造性質及びその基質特性に起因するものと思われる。

【0042】

分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) 活性化タンパク質キナーゼ (MK2 及びMK3)

40

MAPK活性化タンパク質キナーゼ (MAP-KAPK) の異なる群が、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) の下流において定義されてきた。こうした酵素は、MAPKの直接的な基質ではない標的タンパク質にシグナルを伝達し、それ故に、MAPKカスケードによるリン酸化依存性のシグナル伝達を中継する役割を担い、その結果、多様な細胞機能が生じる。こうした群の1つは、MK2、MK3 (3pKとしても知られる)、及びMK5 (PRAKとも命名される) という、3つのMAPKAPKによって形成される。分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2) (「MAPKAPK2」、「MAPKAP-K2」、「MK2」とも称される) は、セリン/スレオニン (Ser/Thr) タンパク質キナ

50

ーゼファミリーのキナーゼである。MK 2は、MK 3に対する相同性が高い（約75%のアミノ酸相同性）。MK 2及びMK 3のキナーゼドメインは、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ（CaMK）、ホスホリラーゼbキナーゼ、及びリボソームS6キナーゼ（RSK）アイソフォームのC末端キナーゼドメイン（CTKD）に対して最も高い類似性を有する（約35%～40%の相同性）。MK 2遺伝子は、370残基のアミノ酸（MK 2 A）及び400残基のアミノ酸（MK 2 B）に相当し、代替的にスプライシングを受ける2つの転写物をコードする。MK 3遺伝子は、382残基のアミノ酸に相当する1つの転写物をコードする。MK 2タンパク質及びMK 3タンパク質の相同性は高いが、MK 2 Aの有するC末端領域は短い。MK 2 BのC末端は、機能性の二分（b i p a r t i t e）核局在化配列（NLS）（L y s - L y s - X a a - X a a - X a a - X a a - X a a - X a a - X a a - X a a - L y s - A r g - A r g - L y s - L y s ; 配列識別番号21）を含み、この配列は、短いMK 2 Aアイソフォームには存在しない。このことは、代替スプライシングが、MK 2アイソフォームの細胞内局在化を決定することを示している。MK 3は、類似の核局在化配列を有している。MK 2 B及びMK 3の両方で見出された核局在化配列は、Dドメイン（L e u - L e u - L y s - A r g - A r g - L y s - L y s ; 配列識別番号22）を含み、この配列は、MK 2 B及びMK 3と、p 3 8 α及びp 3 8 βとの特異的相互作用を媒介することが示された。MK 2 B及びMK 3は、NLS及びDドメインに対してN末端側に位置する機能性核外輸送シグナル（NES）も有する。MK 2 BにおけるNESは、刺激後に核外輸送を引き起こすには十分なものであり、この核外輸送は、レプトマイシンBによって阻害され得るプロセスである。MK 2及びMK 3において、触媒ドメインに対してN末端側に位置する配列はプロリン含量が高く、推定のS r c 相同性3（SH3）ドメイン結合部位を1つ（MK 3）または2つ（MK 2）含む。MK 2を対象とした当該ドメイン結合部位の研究によって、当該ドメイン結合部位がc - A b lのSH3ドメインに対する結合を媒介することがインビトロで示された。このドメインは、MK 2媒介性の細胞遊走に関与することが最近の研究によって示唆されている。

【0043】

MK 2 B及びMK 3は、静止細胞の核に主に局在化する一方で、MK 2 Aは、細胞質に存在する。MK 2 B及びMK 3は両方共、ストレス刺激時に、染色体領域維持タンパク質（c h r o m o s o m e r e g i o n m a i n t e n a n c e p r o t e i n）（CRM1）依存性の機構を介して細胞質に迅速に輸送される。MK 2 Bの核外輸送は、キナーゼ活性化によって媒介されるように思われる。この理由は、キナーゼの活性化ループ内のT h r 3 3 4にリン酸模倣変異（p h o s p h o m i m e t i c m u t a t i o n）が生じると、MK 2 Bの細胞質局在化が増進するためである。理論に拘束されるものではないが、MK 2 B及びMK 3は、恒常的に活性な核局在化シグナル（NLS）と、リン酸化に制御される核外輸送シグナル（NES）と、を含み得ると考えられる。

【0044】

MK 2及びMK 3は、遍在性に発現していると思われ、心臓、肺、腎臓、生殖器（乳腺及び精巣）、皮膚、ならびに骨格筋の組織、ならびに白血球（w h i t e b l o o d c e l l）／白血球（l e u k o c y t e）及び樹状細胞などの免疫関連細胞において相対的に高い発現を示す。

【0045】

MK 2活性及びMK 3活性の活性化

p 3 8 α及びp 3 8 βのさまざまな活性化因子が、MK 2及びMK 3の活性を強力に刺激する。p 3 8は、プロリンによって方向付けられた4つ部位で生じるMK 2のリン酸化をインビトロ及びインビボで媒介する。当該4つの部位は、T h r 2 5、T h r 2 2 2、S e r 2 7 2、及びT h r 3 3 4である。こうした部位の中で、T h r 2 5のみがMK 3において保存されていない。理論に拘束されるものではないが、リン酸化されたT h r 2 5の機能が不明である一方で、T h r 2 5が2つのSH3ドメイン結合部位の間に位置するということは、それがタンパク質－タンパク質相互作用を制御し得ることを示唆してい

る。MK 2 における Thr 2 2 2 (MK 3 では Thr 2 0 1) は、キナーゼドメインの活性化ループに位置しており、MK 2 及び MK 3 のキナーゼ活性に必須であることが示された。MK 2 における Thr 3 3 4 (MK 3 では、Thr 3 1 3) は、触媒ドメインに対して C 末端側に位置しており、キナーゼ活性に必須である。理論に拘束されるものではないが、MK 2 の結晶構造が解明されたことで、Thr 3 3 4 のリン酸化は、MK 2 の核内輸送及び核外輸送のスイッチとして働き得ることが示唆されている。Thr 3 3 4 がリン酸化されると、触媒ドメインに対する MK 2 の C 末端の結合性の低下または妨害も生じ得、その結果、NES が露出し、核外輸送が促進される。

【0046】

p 3 8 は、核において MK 2 及び MK 3 を活性化する能力を有することが研究によって示された一方で、MK 2 及び MK 3 の活性化及び核外輸送は、p 3 8 の安定化及び局在化も決定するリン酸化依存性の立体構造的なスイッチによって関連しており、p 3 8 自体の細胞位置は、MK 2 によって、及びおそらく MK 3 によっても制御されるということを実験的な証拠は示唆している。MK 2 がリン酸化されて活性化すると、その後、核の p 3 8 は MK 2 との複合体として細胞質に輸送されることが、追加の研究によって示された。p 3 8 と MK 2 との相互作用は、p 3 8 の安定化に重要であり得、この理由は、MK 2 欠損細胞では p 3 8 のレベルは低く、触媒的に不活性な MK 2 タンパク質を発現させると p 3 8 のレベルが回復することが研究によって示されたためである。

【0047】

基質及び機能

MK 2 は、基質の多くを MK 3 と共有している。両方の酵素が同等の基質特異性及びリン酸ペプチド基質を有しており、動力学的な定数は類似している。MK 2 による効率的なリン酸化に必要な最小配列は、Hyd-Xaa-Arg-Xaa-Xaa-pSer/pThr (配列識別番号 2 2) であることが明らかとなり、配列中、Hyd は大型の疎水性残基である。

【0048】

MK 2 は、さまざまなタンパク質をリン酸化することが、証拠の蓄積によって示されており、こうしたタンパク質には、限定はされないが、5-リボキシゲナーゼ (ALOX 5)、細胞分裂周期 2 5 ホモログ B (CDC 2 5 B)、細胞分裂周期 2 5 ホモログ C (CDC 2 5 C)、ショウジョウバエにおける胎生致死視覚異常様 1 (Embryonic Lethal, Abnormal Vision, Drosophila-Like 1) (ELAVL 1)、不均一核内リボ核タンパク質 A 0 (HNRNPA 0)、熱ショック因子タンパク質 1 (HSF 1)、熱ショックタンパク質ベーター 1 (HSPB 1)、ケラチン 1 8 (KRT 1 8)、ケラチン 2 0 (KRT 2 0)、LIM ドメインキナーゼ 1 (LIMK 1)、リンパ球特異的タンパク質 1 (LSP 1)、ポリアデニル酸結合タンパク質 1 (PABPC 1)、ポリ (A) 特異的リボヌクレアーゼ (PARN)、CAMP 特異的 3', 5'-サイクリックホスホジエステラーゼ 4 A (PDE 4 A)、RCSD ドメイン含有 1 (RCSD domain containing 1) (RCSD 1)、90 kDa のリボソームタンパク質 S 6 キナーゼポリペプチド 3 (Ribosomal protein S 6 kinase, 90 kDa, polypeptide 3) (RPS 6 K A 3)、TGF-ベータ活性化キナーゼ 1 / MAP 3 K 7 結合タンパク質 3 (TAB 3)、及びトリステトラプロリン (TTP / ZFP 3 6) が含まれる。

【0049】

熱ショックタンパク質ベーター 1 (HSPB 1 または HSP 2 7 とともに命名される) は、正常細胞に遍在性に存在するストレス誘導性の細胞質タンパク質であり、小型熱ショックタンパク質ファミリーのメンバーである。HSPB 1 の合成は、熱ショック、または UV 照射、低酸素、及び虚血などの、他の環境ストレスもしくは病態生理学的ストレスによって誘導される。熱耐性における HSPB 1 の役割が推定されることに加えて、HSPB 1 は、ストレス性条件に曝露された細胞の生存及び回復に関与する。

【0050】

実験的な証拠は、サイトカイン生合成及び細胞遊走の制御において p 3 8 が一定の役割を担うことを支持している。マウスにおいて、mk 2 遺伝子を標的として欠失させたところ、p 3 8 は多くの類似キナーゼの活性化を媒介するものの、MK 2 はこうした p 3 8 依存性の生物学的プロセスを担う重要なキナーゼらしいことが示唆された。MK 2 が消失すると、(i) 腫瘍壊死因子アルファ (T N F - α)、インターロイキン-6 (I L - 6)、及びガンマインターフェロン (I F N - γ) などのサイトカインのリポ多糖 (L P S) 誘導性の合成が損なわれ、(i i) マウス胎仔線維芽細胞、平滑筋細胞、及び好中球の遊走に変化が生じる。

【 0 0 5 1 】

炎症性応答及び免疫応答における MK 2 の役割と一致して、MK 2 欠損マウスでは、L i s t e r i a m o n o c y t o g e n e s による感染に対する感受性が増加し、局所虚血後に生じる炎症媒介性の神経細胞死が減少することが示された。MK 2 欠損細胞では、p 3 8 のタンパク質レベルも顕著に減少するため、こうした表現型が、MK 2 の消失単独に起因するものであるかということを区別する必要がある。このことを達成するために、MK 2 欠損細胞において MK 2 変異体を発現した。その結果、MK 2 の触媒活性は、p 3 8 レベルの回復には必要なかったが、サイトカイン生合成の制御には必要なものであることが示された。

【 0 0 5 2 】

I L - 6 の m R N A に存在し、A U 含量が高い 3 ' 非翻訳領域と相互作用するタンパク質を活性化 MK 2 がリン酸化することによって、I L - 6 の m R N A の安定化が増進するということが、MK 2 をノックアウトまたはノックダウンした研究によって強く支持されている。具体的には、I L - 6 の R N A を安定化する m R N A 結合タンパク質である h n R N P A 0 をリン酸化する役割を主に担うのは MK 2 であるということが示された。さらに、安定した慢性閉塞性肺疾患 (C O P D) を有する患者に由来する誘発喀痰において、または紙巻タバコ喫煙者の肺胞マクロファージに由来して、I L - 6、I L - 1 β 、T N F - α 、及び I L - 8 などの、炎症促進性のサイトカインのレベルが上昇していることが、さまざまな炎症性疾患を調べたいくつかの追加研究によって明らかとなった (K e a t i n g s V. e t a l, A m J R e s p C r i t C a r e M e d, 1 9 9 6, 1 5 3 : 5 3 0 - 5 3 4, L i m, S. e t a l., J R e s p i r C r i t C a r e M e d, 2 0 0 0, 1 6 2 : 1 3 5 5 - 1 3 6 0)。

【 0 0 5 3 】

m R N A の翻訳制御

MK 2 は、その m R N A の翻訳速度を上昇させることによって、T N F - α 、I L - 1、及び I L - 6 を含む、炎症性サイトカインの産生を増加させることが、MK 2 のノックアウトマウスまたは MK 2 欠損細胞を使用した以前の研究によって示された。MK 2 欠損マウスでは、T N F - α の転写、プロセッシング、及び分断において、顕著な減少は検出され得なかった。p 3 8 経路は、m R N A の安定性制御において重要な役割を担うことが知られており、MK 2 は、p 3 8 がこの機能を媒介するための標的に相当する可能性がある。MK 2 の触媒活性は、サイトカイン産生及び遊走に対してそれが作用するために必要であることが、MK 2 欠損マウスを利用した研究によって示され、理論に拘束されるものではないが、このことは、m R N A の安定性に関与する標的を MK 2 がリン酸化することを示唆している。このことと一致して、不均一核内リボ核タンパク質 (h n R N P) A 0、トリステトラプロリン (T T P)、ポリ (A) - 結合タンパク質である P A B P 1、及び R N A 結合タンパク質の E L A V (D r o s o p h i l a m e l a n o g a s t e r における胎生致死視覚異常)ファミリーのメンバーであり、遍在性に発現する Hu R に対して、MK 2 が結合及び／またはそれらをリン酸化することが示された。こうした基質は、3 ' 非転写領域に A U 含量が高い配列を含む m R N A に結合またはそれらと共に同時精製されることが知られており、このことは、MK 2 が、T N F - α などの、A U 含量が高い m R N A の安定性を制御し得ることを示唆している。現在のところ、MK 3 が類似の役割を担うかどうかは不明であるが、MK 2 欠損線維芽細胞を L P S で処理しても、h n R N

P A 0 のリン酸化は完全に消失しており、このことは、MK 3 が、MK 2 の消失を補う能力を有していないことを示唆している。

【0054】

MK 3 は、真核生物伸長因子 2 (e E F 2) キナーゼのリン酸化に、MK 2 と共に関与する。e E F 2 キナーゼは、e E F 2 をリン酸化し、不活性化する。e E F 2 活性は、翻訳の間の m R N A 伸長に非常に重要であり、e E F 2 が T h r 5 6 でリン酸化されると、m R N A の翻訳が終結する。MK 2 及び MK 3 が、e E F 2 キナーゼの S e r 3 7 7 をリン酸化するということは、こうした酵素が、e E F 2 キナーゼの活性を調節し得、それによって、m R N A の翻訳伸長を制御していることを示唆している。

【0055】

MK 2 及び MK 3 による転写制御

核の MK 2 は、多くの MK と類似して、c A M P 応答配列結合 (c A M P r e s p o n s e e l e m e n t b i n d i n g) (C R E B)、活性化転写因子-1 (A T F-1)、血清応答因子 (S R F)、及び転写因子 E R 8 1 のリン酸化に寄与する。野生型と MK 2 欠損細胞との比較によって、MK 2 が、ストレスによって誘導される主要な S R F キナーゼであることが明らかとなっており、このことは、MK 2 が、ストレス媒介性の迅速初期応答を生じさせる役割を担っていることを示唆している。MK 2 及び MK 3 は両方共、塩基性ヘリックス・ループ・ヘリックス転写因子 E 4 7 とインビボで相互作用し、E 4 7 をインビトロでリン酸化する。E 4 7 に生じる MK 2 媒介性のリン酸化は、E 4 7 の転写活性を抑制し、それによって、E 4 7 依存性の遺伝子発現が阻害されることが明らかとなり、このことは、MK 2 及び MK 3 が、組織特異的な遺伝子発現及び細胞分化を制御し得ることを示唆している。

【0056】

MK 2 及び MK 3 の他の標的

MK 2 及び MK 3 の他の基質もいくつか同定され、そうした基質は、いくつかの生物学的プロセスにおける MK 2 及び MK 3 のさまざまな機能を反映するものであった。骨格タンパク質である 1 4-3-3 ζ は、生理学的な MK 2 基質である。1 4-3-3 ζ は、タンパク質キナーゼ、ホスファターゼ、及び転写因子を含む、細胞シグナル伝達経路の多くの構成要素と相互作用することが研究によって示されている。MK 2 媒介性に 1 4-3-3 ζ が S e r 5 8 でリン酸化されると、その結合活性が損なわれることが追加の研究によって示され、このことは、1 4-3-3 ζ によって通常は制御されるいくつかのシグナル伝達分子の制御に MK 2 が影響を与え得ることを示唆している。

【0057】

MK 2 は、A r p 2 と A r p 3 との 7 員複合体 (p 1 6-A r c) の p 1 6 サブユニットと相互作用し、その S e r 7 7 をリン酸化することも、追加の研究によって示された。p 1 6-A r c は、アクチン細胞骨格を制御する役割を担っており、このことは、MK 2 が、このプロセスに関与し得ることを示唆している。小型熱ショックタンパク質である H S P B 1、リンパ球特異的タンパク質である L S P-1、及びビメンチンは、MK 2 によってリン酸化されることが追加の研究によって示された。H S P B 1 は、大型のオリゴマーを形成し、この大型オリゴマーは、分子シャペロンとして働き、熱ショック及び酸化ストレスから細胞を保護し得るものである。リン酸化が生じると、H S P B 1 は、大型オリゴマーの形成能力を失い、アクチン重合を遮断する能力を有さない。このことは、H S P B 1 の MK 2 媒介性のリン酸化が、アクチン動力学的の制御を目的とするホメオスタシス機能を担うことを示唆しており、このアクチン動力学は、制御しなければストレス下で不安定化するであろうものである。MK 3 もまた、インビトロ及びインビボにおいて H S P B 1 をリン酸化することが示されたが、ストレス性条件下でのその役割は未だ解明されていない。

【0058】

H S P B 1 は、ポリユビキチン鎖及び 2 6 S プロテアソームにインビトロ及びインビボで結合することも示された。ユビキチン-プロテアソーム経路は、転写因子である N F-

10

20

30

40

50

カップバーB (NF- κ B) の活性化に関与しており、この関与は、その主な阻害剤である I カップバーB-アルファ (I κ B-アルファ) を分解することによってなされる。エトポシド、TNF-アルファ、及びインターロイキン-1 ベータ (IL-1 β) によって誘導される、NF-カップバーB (NF- κ B) の核再局在化、DNA 結合、及び転写活性は、HSPB1 の過剰発現によって増加することが示された。さらに、HSPB1 は、ストレス条件下では、リン酸化された I カップバーB-アルファ (I κ B-アルファ) などのユビキチン化タンパク質の分解に有利に働き、HSPB1 のこの機能は、NF-カップバーB (NF- κ B) 活性の増進を介する、HSPB1 の抗アポトーシス特性を説明するものであることが以前の研究によって示唆された。(Parcellier, A. et al., Mol Cell Biol, 23 (16) : 5790-5802, 2003)。

10

【0059】

MK2 及びMK3 は、5-リボキシゲナーゼもまたリン酸化し得る。5-リボキシゲナーゼは、炎症性メディエーターであるロイコトリエンの形成の初期段階を触媒する。チロシン水酸化酵素、グリコーゲン合成酵素、及びAkt もまた、MK2 によってリン酸化されることが示された。

【0060】

MK2 は、腫瘍抑制タンパク質であるツベリンをSer1210 でリン酸化することで、14-3-3 ζ のドッキング部位を創出する。ツベリンとハマルチンとは、通常、mTOR 依存性のシグナル伝達と拮抗することによって、細胞増殖を負に制御する機能性複合体を形成する。このことは、MK2 のp38 媒介性の活性化が、14-3-3 ζ のツベリンに対する結合性を増加させることによって細胞増殖を制御し得ることを示している。

20

【0061】

p38 MAPK 経路と、シグナル伝達兼転写活性化因子3 (STAT3) 媒介性のシグナル伝達と、の相互クロストークは、リポ多糖 (LPS) 負荷モデルにおいて連続的に活性化する非常に重要な軸を形成することが証拠の蓄積によって示唆された。炎症性のマクロファージ応答の誘導及び伝播の両方、ならびにその大部分がIL-10 及びSTAT3 の活性化維持によって推進される消散局面の制御には、この軸のバランスのとれた活性化が必須であることが示された(Bode, J. et al., Cellular Signaling, 24 : 1185-1194, 2012) 。さらに、MK2 は、LPS 誘導性のp65 及びIRF3 媒介性のシグナル伝達に対するMK3 の負の制御作用を中和することによって、LPS 誘導性のIFN β 遺伝子発現、及びそれに続くSTAT3 のIFN β 媒介性の活性化を制御するということが、別の研究によって示された。mk2/3 をノックアウトしたマクロファージでは、IFN β 依存性のSTAT3 の活性化はIL-10 とは独立して生じる。この理由は、IFN β とは対照的に、mk2/3 をノックアウトしたマクロファージでは、MK3 が追加欠失していてもIL-10 の発現欠損は回復しないためである(Ehltting, C. et al., J. Biol. Chem. 285 (27) : 24113-24124) 。

30

【0062】

キナーゼ阻害

真核生物タンパク質キナーゼは、その触媒ドメインに基づいて関連する相同性タンパク質の最も大きなスーパーファミリーの1つを構成する。最も関連するタンパク質キナーゼは、セリン/スレオニンまたはチロシンのリン酸化のいずれかに特異的である。タンパク質キナーゼは、細胞外刺激に対する細胞応答において複合的な役割を担う。したがって、タンパク質キナーゼの刺激は、シグナル伝達系における最も一般的な活性化機構の1つであると考えられる。基質の多くは、複数のタンパク質キナーゼによってリン酸化されることが知られており、さまざまなタンパク質キナーゼの触媒ドメインの一次配列に関して、かなりの量の情報が報告されてきた。こうした配列では、ATP 結合、触媒、及び構造統合性の維持に関与する残基の多くが共有されている。ほとんどのタンパク質キナーゼは、よく保存された30~32 kDa の触媒ドメインを有する。

40

【0063】

50

タンパク質キナーゼの制御要素を同定及び利用しようと試みる研究がなされてきた。こうした制御要素には、阻害剤、抗体、及び遮断性ペプチドが含まれる。

【0064】

阻害剤

酵素阻害剤は、酵素に結合することによって酵素活性を低減する分子である。阻害剤が結合すると、酵素活性部位への基質侵入の停止、及び／または酵素触媒反応の妨害（キナーゼのATP結合部位を標的とする阻害剤において見られるようなもの）が生じ得る。阻害剤の結合は、可逆的または不可逆的のいずれかである。不可逆的阻害剤は、通常、酵素と反応し、（例えば、酵素活性に必要な重要アミノ酸残基を改変することによって）酵素がもはや反応触媒能力を有さないように酵素を化学的に変化させる。対照的に、可逆的阻害剤は、非共有結合的に結合し、こうした阻害剤が、酵素、酵素-基質複合体、またはそれらの両方に結合するかということに応じて、異なる型の阻害が生じる。

10

【0065】

酵素阻害剤は、その特異性及び効力によって評価されることが多い。この関連において使用される「特異性」という用語は、阻害剤が選択的に結合するか、または阻害剤が他のタンパク質に結合しないことを指す。本明細書では、「効力」という用語は、阻害剤の解離定数を指し、解離定数は、酵素阻害に必要な阻害剤濃度を示す。

【0066】

タンパク質キナーゼの阻害剤は、タンパク質キナーゼ活性の制御ツールとしての使用を目的として研究されてきた。阻害剤は、例えば、サイクリン依存性（Cdk）キナーゼ、MAPキナーゼ、セリン／スレオニンキナーゼ、Srcファミリーのタンパク質チロシンキナーゼ、チロシンキナーゼ、カルモジュリン（CaM）キナーゼ、カゼインキナーゼ、チェックポイントキナーゼ（Chk1）、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3（GSK-3）、c-JunN末端キナーゼ（JNK）、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ1（MEK）、ミオシン軽鎖キナーゼ（MLCK）、タンパク質キナーゼA、Akt（タンパク質キナーゼB）、タンパク質キナーゼC、タンパク質キナーゼG、タンパク質チロシンキナーゼ、Rafキナーゼ、及びRhoキナーゼとの使用を目的に研究されてきた。

20

【0067】

小分子MK2阻害剤

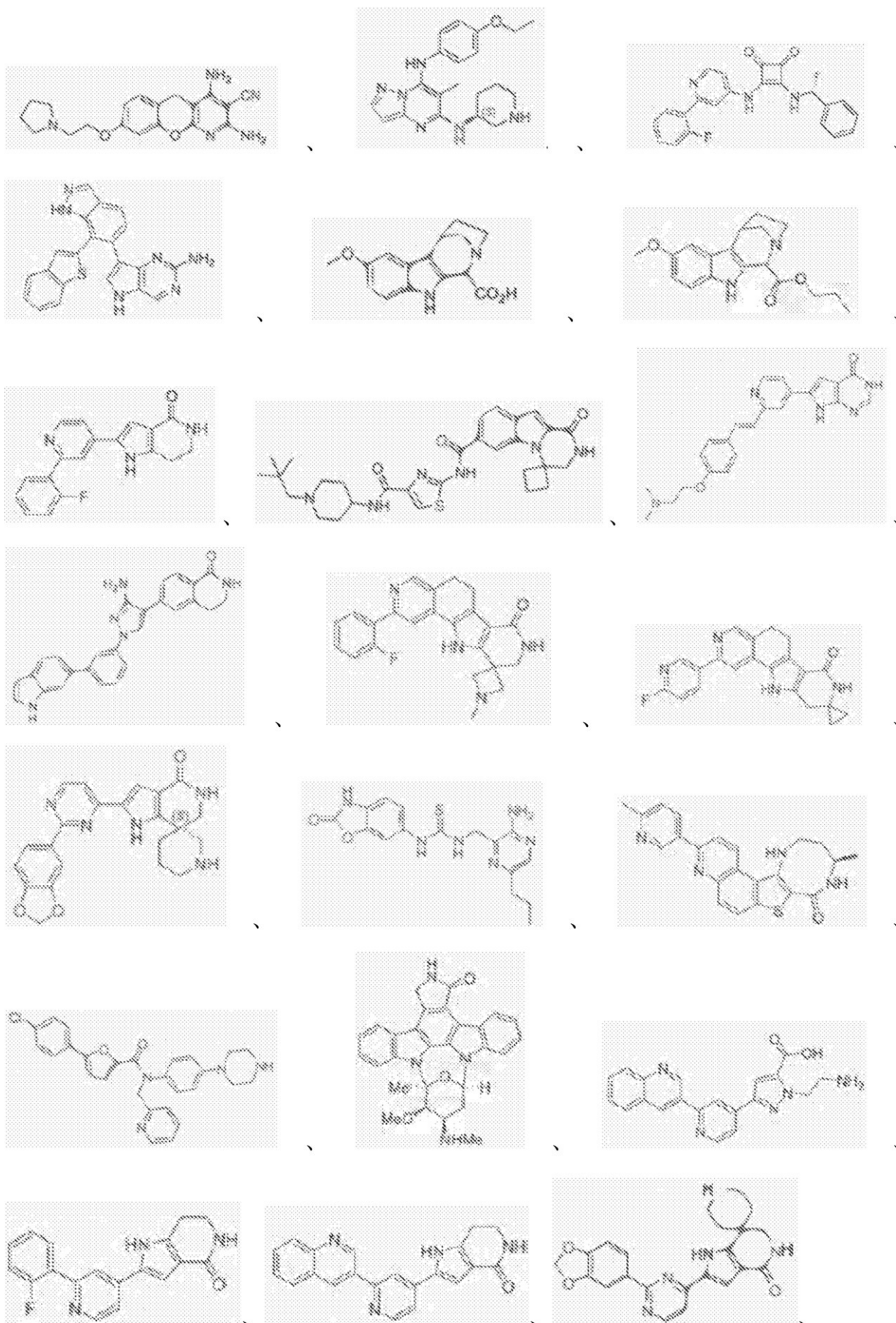
MK2を標的としており、他のキナーゼに対する選択性が少なくとも中程度である阻害剤が個々に設計されてきたが、好ましい溶解性及び透過性を有した化合物の創出は困難であった。結果として、生化学的に効率的であり、インビボの前臨床試験まで進んだMK2阻害剤は相対的にほとんどない（Edmunds, J. and Talanian, M. A. PKA/P Kinase 2 (MK2) as a Target for Anti-inflammatory Drug Discovery. In Levin, J. and Laufer, S. (Ed.), RSC Drug Discovery Series No. 26, p158-175, the Royal Society of Chemistry, 2012; 当該文献は、参照によってその全体が援用される）。

30

【0068】

開示されたMK2阻害剤の大部分が、古典的なI型阻害剤であることが、結晶学的及び生化学的な研究によって明らかにされた。したがって、そうした阻害剤は、キナーゼのATP部位に結合することによって、細胞内ATP（推定濃度1mM～5mM）と競合し、その結果、キナーゼのリン酸化及び活性化が阻害される。そのような小分子MK2阻害剤の代表的な例には、限定はされないが、

40

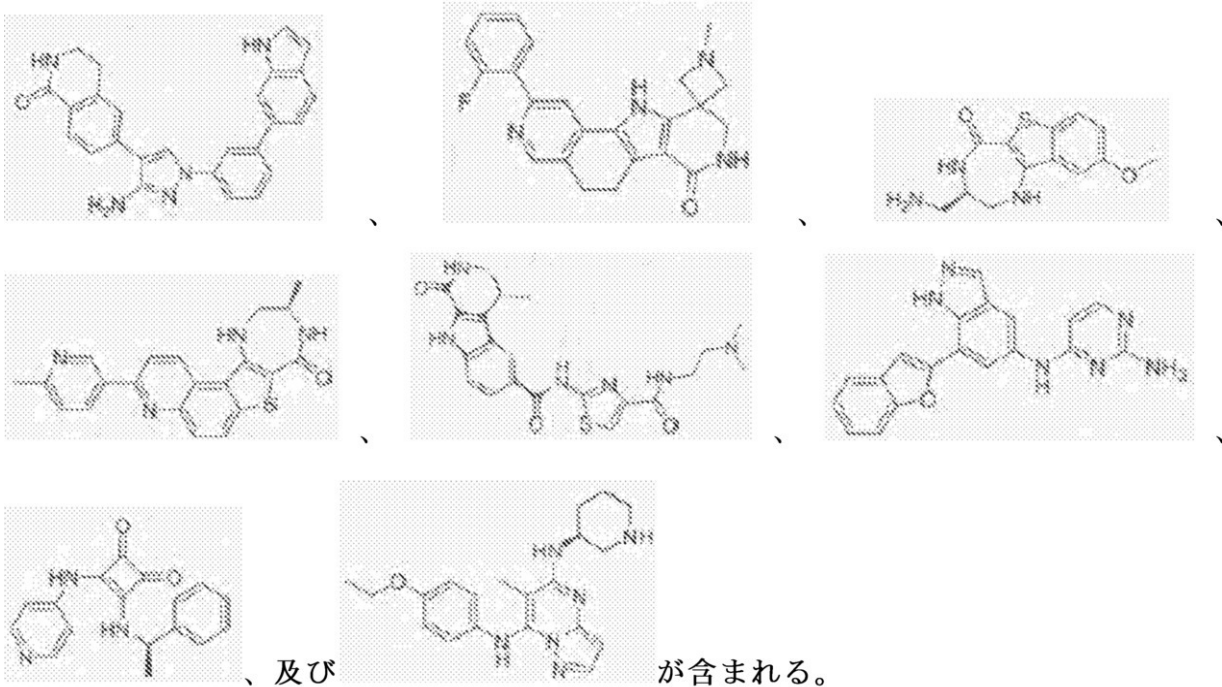


10

20

30

40



【 0 0 6 9 】

遮断性ペプチド

ペプチドは、鎖中の一方のアミノ酸のカルボキシル基がペプチド結合を介してもう一方のアミノ酸のアミノ基に連結された2つ以上のアミノ酸の鎖からなる化学的な化合物である。ペプチドは、中でも特に、タンパク質の構造及び機能の研究において使用されてきた。合成ペプチドは、中でも特に、タンパク質-ペプチド相互作用がどこで生じるかを理解するためのプローブとして使用され得る。阻害性ペプチドは、中でも特に、タンパク質キナーゼ、癌タンパク質、及び他の障害の阻害に対するペプチドの効果を調べるために臨床試験において使用され得る。

【 0 0 7 0 】

いくつかの遮断性ペプチドの使用について研究がなされてきた。例えば、MAPKタンパク質キナーゼである細胞外シグナル制御キナーゼ（ERK）は、細胞の増殖及び分化に必須である。MAPKの活性化には、カスケード機構が必要であり、当該カスケード機構によって、MAPKは上流のMAPKK（MEK）によってリン酸化され、次いでMAPKK（MEK）は、第3のキナーゼであるMAPKKK（MEKK）によってリン酸化される。ERK阻害性ペプチドは、ERKに結合することによってMEKデコイとして機能する。

【 0 0 7 1 】

合成ペプチドであるオートカムチド-2 関連阻害性ペプチド (autocamtide-2 related inhibitory peptide) (AIP) は、 Ca^{2+} /カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ II (CaMKII) の高度に特異的かつ強力な阻害剤である。AIP は、CaMKII の高度選択的ペプチド基質であるオートカムチド-2 のリン酸化不可能なアナログである。AIP は、100 nM の IC50 (IC50 は、50 % 阻害を得るために必要な阻害剤濃度である) で CaMKII を阻害する。AIP による阻害は、シンチド-2 (CaMKII のペプチド基質) 及び ATP に対しては非競合的であるが、オートカムチド-2 に対しては競合的である。この阻害は、 Ca^{2+} /カルモジュリンの存在有無によって影響を受けない。CaMKII 活性は、AIP (1 μ M) によって完全に阻害される一方で、PKA、PKC、及び CaMKIV は影響を受けない。

【 0 0 7 2 】

細胞分裂タンパク質キナーゼ 5 (Cdk5) 阻害性ペプチド (CIP) は、別の遮断性

ペプチドである。Cdk 5は、p 25と会合すると、微小管タンパク質であるタウを、アルツハイマー病特異的リン酸エピトープ (phospho-e p i t o p e) でリン酸化する。p 25は、切断型活性化因子であり、アミロイドβペプチドに曝露されると、生理学的なCdk 5活性化因子であるp 35から産生する。神経細胞にCIPを感染導入すると、CIPは、p 25/Cdk 5活性を選択的に阻害し、皮質神経細胞におけるタウの異常なリン酸化を抑制する。CIPが特異性を示す理由は、完全には理解されていない。

【0073】

細胞外制御キナーゼ2 (extracellular-regulated kinase 2) (ERK2)、ERK3、p 38/HOG1、タンパク質キナーゼC、カゼインキナーゼII、Ca²⁺/カルモジュリンキナーゼIV、カゼインキナーゼII、Cdk 4、Cdk 5、DNA依存性タンパク質キナーゼ (DNA-PK)、セリン/スレオニンタンパク質キナーゼPAK3、ホスホイノシチド (PI) -3キナーゼ、PI-5キナーゼ、PSTAIR (cdkの高度保存配列)、リボソームS6キナーゼ、GSK-4、胚中心キナーゼ (GCK)、SA PK (ストレス活性化タンパク質キナーゼ)、SEK1 (ストレスシグナル伝達キナーゼ)、及び接着斑キナーゼ (FAK) の阻害を目的として、遮断性ペプチドはさらに研究された。

【0074】

タンパク質基質競合阻害剤

今日までに開発されたタンパク質キナーゼ阻害剤の大部分がATP競合物質である。この型の分子は、キナーゼのATP結合部位を対象として競合するものであり、その特異性には深刻な限界があるため、非特異的な作用を示すことが多い。こうした阻害剤の特異性の低さは、ATP結合部位が、さまざまなタンパク質キナーゼ間で高度に保存されているという事実に起因する。その一方で、基質競合阻害剤などの非ATP競合阻害剤は、より特異的であることが予測され、この理由は、さまざまなタンパク質キナーゼ間で、基質結合部位がある程度の可変性を有しているためである。

【0075】

基質競合阻害剤は、通常、インビトロでは標的酵素との結合相互作用は弱い、化学的に改変することで、特異的結合親和性及びインビボでの基質阻害剤の有効性を改善できることが研究によって示された (Eldar-Finkelmann, H. et al., Biochim, Biophys. Acta, 1804 (3): 598-603, 2010)。さらに、基質競合阻害剤は、多くの場合、無細胞条件と比較して、細胞では良好な有効性を示す (van Es, J. et al., Curr. Opin. Gent. Dev. 13: 28-33, 2003)。

【0076】

タンパク質キナーゼの阻害における特異性及び効力を増進させるための試みにおいて、二基質阻害剤もまた開発された。二基質阻害剤は、2つの複合化断片からなり、それぞれの断片が二基質酵素の異なる結合部位を標的とするものであり、2つの天然基質/リガンドを模倣し、所与のキナーゼの2つの領域と同時に会合するという特殊なタンパク質キナーゼ阻害剤群を形成する。二基質阻害剤の原理優位性は、単一部位を標的とする阻害剤と比較して、二基質阻害剤が標的酵素との強い相互作用を生じさせる能力を有していることにあり、この強い相互作用の結果として、複合体の親和性及び選択性が改善し得る。二基質阻害剤の例には、限定はされないが、ヌクレオチド-ペプチド複合体、アデノシン誘導体-ペプチド複合体、及び強力なATP競合阻害剤とのペプチド複合体が含まれる。

【0077】

タンパク質形質導入ドメイン (PTD) /細胞透過性タンパク質 (CPP)

細胞膜は、巨大分子を細胞へ導入するには厄介な障壁となる。その効果を発揮するためには、治療のほとんどすべてで、少なくとも1つの細胞膜を通り抜けなくてはならない。伝統的な小分子医薬の開発は、タンパク質機能を調節する能力を有する膜透過性分子の発見可能性に依存するものである。小分子は、依然として支配的な治療パラダイムではあるものの、こうした分子の多くでは、特異性の欠如、副作用、及び毒性がつきまとう。情報

量が豊富な巨大分子は、小分子のものと比較してはるかに優れたタンパク質調節機能を有しており、分子、細胞、及び構造のデータに基づく合理的な薬物設計を使用して創出することができる。しかしながら、細胞膜は、サイズが500Da超の分子のほとんどに対して不透過性を示す。それ故に、細胞膜を横切り、積荷巨大分子をインビボで送達する、転写トランス活性化因子（Tat）の塩基性ドメインなどの、細胞透過性ペプチドが有する能力は、治療用のタンパク質、ペプチド、及び核酸の合理的な設計を大きく促進し得るのである。

【0078】

タンパク質形質導入ドメイン（PTD）は、哺乳類細胞の細胞膜透過能力と、多くの型及び分子量の化合物を、膜を横切って輸送する能力と、を有するペプチドの1つのクラスである。こうした化合物には、タンパク質などのエフェクター分子、DNA、複合化ペプチド、オリゴヌクレオチド、及びリボソームなどの小粒子が含まれる。PTDが、他のタンパク質と化学的に連結または融合されると、得られる融合ペプチドは、依然として細胞への侵入能力を有する。詳細な形質導入機構は不明であるものの、こうしたタンパク質の内部移行は、受容体媒介性またはトランスポーター媒介性であるとは考えられていない。PTDは、一般に、長さが10～16残基のアミノ酸であり、例えば、アルギニン含量及び／またはリジン含量が高いペプチドなどの、それが有する組成に応じて群化し得る。

【0079】

エフェクター分子を細胞に輸送する能力を有するPTDを使用することは、積荷分子の細胞への取り込みが促進されるため、薬物設計において魅力が高まっている。こうした細胞透過性ペプチドは、一般に、その配列に応じて、両親媒性（極性末端及び非極性末端の両方を有することを意味する）または陽イオン性（正味の正荷電原子の含有を意味するか、もしくはそれに関する）として分類され、巨大分子を対象として非浸潤性の送達技術を与えるものである。PTDは、「トロイペプチド（Trojan peptide）」、「膜転位配列」、または「細胞透過性タンパク質」（CPP）と称されることが多い。PTDは、細胞膜透過のために、新規のHSPB1キナーゼ阻害剤の支援にも使用され得る（例えば、米国特許第8,536,303号及び米国特許第8,741,849号を参照のこと。こうした文献のそれぞれの内容は、その全体が参照によって本明細書に援用される）。

【0080】

ウイルス性のPTDを含有するペプチド

形質導入特性を有することが最初に報告されることになったペプチドは、ウイルス起源のものであった。こうしたタンパク質は、依然として、PTD作用で最も一般に受け入れられたモデルである。HIV-1の転写トランス活性化因子（Tat）及びHSV-1のVP22タンパク質は、最も特徴付けられたウイルス性のPTD含有タンパク質である。

【0081】

Tat（HIV-1のトランス活性化因子の遺伝子産物）は、86アミノ酸残基のポリペプチドであり、組み込まれたHIV-1ゲノムの強力な転写因子として働く。Tatは、ウイルスゲノムで働くことで、潜伏感染細胞におけるウイルス複製を刺激する。Tatタンパク質は、その転位特性によって、静止状態の感染細胞を活性化することが可能であり、Tatタンパク質は、サイトカインを含む、多くの細胞遺伝子を制御することによって、次の感染に向けた非感染細胞の準備刺激に関与し得る。Tatの最小PTDは、RKRRRQRRR（TAT49-57；配列識別番号20）という9アミノ酸残基のタンパク質配列である。Tatの長い断片を利用した研究によって、最大で120kDaの融合タンパク質の形質導入に成功することが示された。複数のTat-PTDならびに合成Tat誘導体を追加することで、膜転位の媒介が示された。癌、デスタンパク質（death-protein）の細胞への輸送、及び神経変性障害の疾患モデルに関わる実験における治療部分として、TatのPTDを含有する融合タンパク質が使用された。

【0082】

細胞膜を透過するために形質導入ペプチドが使用する機構は、近年における相当な関心

対象であり、これは、研究者らが形質導入の背後に存在する生物学を理解しようと努力してきたためである。T a t 形質導入が、エンドサイトーシスではない機構によって生じるとした初期の報告は、他の細胞透過性ペプチドを介して生じた人為的結果であるとしてその大部分が見過ごされてきたが、そうしたものは、直接的な膜破壊によって取り込まれたものである可能性がある。T a t 及び他の P T D による形質導入は、エンドサイトーシスの特殊形態であるマクロピノサイトーシスによって生じるものであるという最近の知見は、こうしたペプチドの研究において新たなパラダイムを創出した。形質導入機構に関する知識が増えたことは、臨床的な成功という究極的な目標を伴う形質導入効率の改善に役立つものであった (S n y d e r E. a n d D o w d y, S., P h a r m R e s., 21 (3) : 389-393, 2004)。

10

【0083】

T a t 媒介性のタンパク質形質導入の現在のモデルは、細胞表面への T a t の結合、マクロピノサイトーシスの刺激、T a t 及び積み荷のマクロピノソームへの取り込み、ならびにエンドソームから細胞質への離脱を伴う多段階プロセスである。第1の段階である細胞表面への結合は、細胞表面の遍在性糖鎖を介すると考えられる。T a t によるマクロピノサイトーシスの刺激は、細胞表面タンパク質への結合を含むか、またはプロテオグリカンもしくは糖脂質によって生じる可能性がある未知の機構によって生じる。すべての細胞型が使用する流動相エンドサイトーシスの1形態であるマクロピノサイトーシスによる取り込みは、T a t 及びポリアルギニンによる形質導入に必要なものである。T a t による形質導入の最終段階は、マクロピノソームから細胞質への離脱である。このプロセスは、他の因子と並んで、エンドソームにおける pH 低下に依存する可能性があり、この pH 低下によって、T a t による膜の攪乱と、T a t 及び T a t の積荷 (すなわち、ペプチド、タンパク質、または薬物等) の細胞質への放出と、が促進される (S n y d e r E. a n d D o w d y, S., P h a r m R e s., 21 (3) : 389-393, 2004)。

20

【0084】

V P 2 2 は、H S V - 1 の外被タンパク質であり、H S V ウイルス粒子の構造部分である。V P 2 2 は、受容体非依存性の転位能力を有しており、核に蓄積する。V P 2 2 のこの特性によって、このタンパク質は P T D 含有ペプチドとして分類される。全長の V P 2 2 を含む融合タンパク質は、細胞膜を効率的に横切って転位した。

30

【0085】

細胞間転位特性を有するホメオタンパク質

ホメオタンパク質は、形態学的なプロセスに関与する、高度に保存されたトランス活性化転写因子である。ホメオタンパク質は、60 アミノ酸残基の特異的配列を介して D N A に結合する。D N A 結合性ホメオドメインは、ホメオタンパク質の最も高度に保存された配列である。ホメオタンパク質のいくつかは、P T D 様活性を示すことが報告されており、こうしたホメオタンパク質は、細胞型に特異性を示すことなく、エネルギー非依存性かつエンドサイトーシス非依存性の様式で細胞膜を横切って効率的に転位する能力を有している。

【0086】

アンテナペディアタンパク質 (A n t p) は、細胞膜を横切る転位能力を有するトランス活性化因子である。転位能力を有する最小配列は、このタンパク質のホメオドメイン (H D) の第3ヘリックスに相当する16 アミノ酸残基のペプチドである。このヘリックスの内部移行は4℃で生じ、このことは、このプロセスがエンドサイトーシスに依存しないことを示唆している。最大で100 アミノ酸残基のペプチドが A n t p H D との融合タンパク質として産生され、こうしたペプチドは細胞膜を透過するものである。

40

【0087】

転位能力を有する他のホメオドメインには、フシタラズ (F t z) 及びエングレイルド (E n) のホメオドメインが含まれる。ホメオドメインの多くが、高度に保存された第3ヘリックスを共有する。

50

【0088】

ヒトPTD

ヒトPTDは、ヒト患者への導入の際に免疫原性が潜在的に生じるという問題を回避し得るものである。PTD配列を有するペプチドには、Hoxa-5、Hox-A4、Hox-B5、Hox-B6、Hox-B7、HOX-D3、GAX、MOX-2、及びFtz PTDが含まれる。こうしたタンパク質のすべてが、Antp PTDにおいて見出された配列を共有する。他のPTDには、アイスレット-1 (Islet-1)、インターロイキン-1 (IL-1)、腫瘍壊死因子 (TNF)、及びカポジ線維芽細胞増殖因子または線維芽細胞増殖因子-4 (FGF-4) のシグナルペプチドに由来する疎水性配列が含まれ、当該疎水性配列は、エネルギー非依存性、受容体非依存性、及びエンドサイトーシス非依存性の転位能力を有する。未確定のPTDには、線維芽細胞増殖因子 (FGF) ファミリーのメンバーが含まれる。FGFは、多種多様な細胞の増殖及び分化を制御するポリペプチド増殖因子である。塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) は、VP-22、Tat、及びホメオドメインのものと類似した、通常とは異なる内部移行を生じさせることが、いくつかの刊行物によって報告された。酸性FGF (FGF-1) は、最低4℃の温度で細胞膜を横切る転位を生じさせることも報告された。しかしながら、融合タンパク質が有する内部移行特性または転位特性を担うドメインについての決定的な証拠は存在しない。(Beeren, A. et al., Curr Gene Ther., 3 (5) : 486-494, 2003)。

10

【0089】

20

合成PTD

より強力なPTDの創出試行、及びPTD輸送タンパク質が細胞膜を横切る機構の解明試行において、いくつかのペプチドが合成された。こうした合成PTDの多くは、知見の多い現存ペプチドに基づくものである一方で、他のものは、その塩基性残基及び／または陽性電荷を対象として選択されており、こうしたものは、PTD機能に非常に重要であると考えられている。こうした合成PTDの少数では、現存のものと比較して転位特性が向上した (Beeren, A. et al., Curr Gene Ther., 3 (5) : 486-494, 2003)。Tatに由来する合成PTDの例には、限定はされないが、例えば、WLRRIRKAWLRRIRKA (配列識別番号12)、WLRRIRKA (配列識別番号13)、YGRKKRRQRRR (配列識別番号14)、WLRRIRKAWLRRIR (配列識別番号15)、FAKLAAARLYR (配列識別番号16)、KAFAKLAAARLYR (配列識別番号17)、及びHRRIRKAWLKKI (配列識別番号18) が含まれる。

30

【0090】

MK2阻害剤ペプチド治療ドメイン (TD) に融合したPTDを含む組成物

いくつかのMK2阻害剤ペプチド (TD) が合成され、合成PTDと融合されて、こうした融合ポリペプチドを含む組成物の使用が研究された。こうしたポリペプチドには、限定はされないが、YARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1; MMI-0100)、YARAAARQARAKALNRQLGVAA (配列識別番号19; MMI-0200)、FAKLAAARLYRKALARQLGVAA (配列識別番号3; MMI-0300)、KAFAKLAAARLYRKALARQLGVAA (配列識別番号4; MMI-0400)、HRRIRKAWLKKIKALARQLGVAA (配列識別番号7; MMI-0500)、YARAAARDARAKALNRQLAVAA (配列識別番号23; MMI-0600)、及びYARAAARQARAKALNRQLAVA (配列識別番号24; MMI-0600-2) が含まれる。こうしたペプチドは、さまざまな疾患、障害、及び病状の治療において有用であり得ることが、インビトロの研究及びインビボの研究の両方で示された。こうしたものには、限定はされないが、過形成及び新生物 (米国特許第8, 536, 303号及び第8, 741, 849号)、炎症性障害 (米国出願第12/634, 476号及び米国出願第13/934, 933号)、癒着 (米国出願第12/582516号)、血管攣縮に起因する移植血管の不全 (米国出願第13/1

40

50

14, 872号)、神経突起伸長の改善(米国出願第12, 844, 815号)、皮膚瘢痕(米国出願第13/829, 876号)、冠動脈バイパス移植血管の不全(米国出願第13/700, 087号)、ならびに間質性肺疾患及び肺線維症(米国出願第13/445, 759号)が含まれる。

【0091】

ペプチド組成物では、多くの特別な課題が製剤科学者に提示される(R. W. Payne and M. C. Manning, "Peptide formulation: challenges and strategies," *Innovations in Pharmaceutical Technology*, 64-68 (2009))。第1に、ペプチドは、反応基を隔離し得る球状構造を有していないため、ペプチドにおけるほとんどすべての残基の側鎖が完全に溶媒に曝露されており、加水分解反応を介して、例えば、酸化及び脱アミドといった化学的分解が生じ得る。第2に、水性溶液における立体構造は、受容体結合時に見られる構造とはほとんど類似し得ない。第3に、ペプチドの多くは、濃度が非常に低いと単量体である傾向を有するが、濃度上昇に伴って自己会合し得、あたかも高度会合状態であるかのような挙動をとるが、こうした構造は非常に一過性または流動的であるため、長期安定性が増加することは全くない。第4に、ペプチドの自己会合傾向は、その物理的不安定性と関連しており、このことは、それが凝集体を形成する可能性を有していることを意味する。さらに、ペプチド製剤に存在する賦形剤には、化学的分解、製造中におけるさまざまな表面との相互作用、容器もしくは閉包物(closure)との相互作用、またはペプチド自体との相互作用が生じ得るものであり、それらは、製剤が有する非常に重要な特性に負の影響を及ぼすものである(Lars Hovgaard, and Sven Frokjaer, "Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins, 2nd Ed., CRC Press (2012) pp. 212-213)。

【0092】

TrkBは、NSCLCにおいて高度に発現する

癌細胞の浸潤における異常制御は、その転移潜在力と密接に関連する(Zhang, S. et al., "TrkB is highly expressed in NSCLC and mediates BDNF-induced activation of Pyk2 signaling and the invasion of A549 cells," *BMC Cancer* 2010, 10:43)。トロポミシン関連キナーゼB(Tropomyosin-related kinase B)(TrkB)は、Trkファミリーのメンバーであり、受容体型チロシンキナーゼとして機能し、腫瘍転移を促進すると考えられている(前出の引用文献)。脳由来神経栄養因子(BDNF)は、TrkBに結合する主要リガンドであり、神経芽細胞腫において、細胞の分化、アポトーシス、及び浸潤などの、さまざまな細胞活性の制御を生じさせる(前出の引用文献)。TrkBは、神経芽細胞腫及び卵巣癌を含む、さまざまな原発ヒト腫瘍において上方制御される(前出の引用文献)。TrkBのシグナル伝達が増進すると、足場依存性の様式において細胞の生存が促進される(前出の引用文献)。BDNFによって活性化すると、TrkBは、ホスホイノシチド-3キナーゼ/タンパク質キナーゼB(PI3K/Akt)などの、下流のシグナル伝達分子を活性化し、これによって、アポトーシス及び転移のさまざまな制御が誘導される(前出の引用文献)。

【0093】

プロリンリッチチロシンキナーゼ2(Pyk2)は、広範に発現する非受容体型チロシンキナーゼであり、このチロシンキナーゼは、細胞の分化、増殖、及び遊走などの必須細胞プロセスにおいて、受容体型チロシンキナーゼ及び細胞内シグナル伝達分子に由来するシグナルを統合するものである(前出の引用文献)。Pyk2は、さまざまな細胞外シグナルに応答して迅速にチロシンリン酸化を受け、Pyk2シグナル伝達が活性化することで、足場非依存性の様式において細胞の生存及び遊走が促進される(前出の引用文献)。

P y k 2 のチロシン 4 0 2 (T y r 4 0 2) は、P y k 2 の活性及び機能に必須となる主要な自己リン酸化部位として働く (前出の引用文献) 。浸潤性及び転移性が高い表現型を有する腫瘍細胞では、高い T y r 4 0 2 活性が観測される (前出の引用文献) 。

【 0 0 9 4 】

T r k B の発現は、N S C L C で高いことが報告されており、リンパ節転移及び T N M ステージと特に関連する (前出の引用文献) 。T r k B - s i R N A は、B D N F が促進する P y k 2 及び細胞外制御キナーゼ (E R K) の活性化ならびに肺腺癌 A 5 4 9 細胞の浸潤を妨害した (前出の引用文献) 。さらに、P y k 2 - s i R N A は、B D N F 関連の E R K リン酸化及び細胞浸潤を阻害した (前出の引用文献) 。こうしたデータは、T r k B / P y k 2 / E R K シグナル伝達が、B D N F 誘導性の A 5 4 9 細胞の浸潤を媒介する証拠であると研究者らは考えており、T r k B の抑制は、N S C L C 転移の阻害治療に役立つ標的となり得ることが示唆された (前出の引用文献) 。

10

【 0 0 9 5 】

記載の発明は、細胞透過性であり、ペプチドに基づく M K 2 阻害剤を使用した、非小細胞肺癌の治療手法を提供し、当該手法は、腫瘍の化学療法抵抗性の克服と、腫瘍の化学療法感受性の増進と、腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌固形腫瘍の進行遅延と、に有効であり得る。

【発明の概要】

【 0 0 9 6 】

1 つの態様によれば、記載の発明は、腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌 (N S C L C) 固形腫瘍の治療における使用を目的とする医薬組成物を提供し、医薬組成物は、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列識別番号 1) を有するポリペプチドまたはその機能的同等形態の治療量、及びその医薬的に許容可能な担体を含み、ならびに治療量は、腫瘍細胞集団における、表 1 に記載の群から選択されるキナーゼのキナーゼ活性の阻害、及び癌細胞の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、腫瘍細胞死の誘導、腫瘍の化学療法抵抗性の克服、腫瘍の化学療法感受性の増進、腫瘍細胞集団の進行遅延、またはそれらの組み合わせに有効である。

20

【 0 0 9 7 】

別の態様によれば、記載の発明は、腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌固形腫瘍の治療方法を提供し、方法は、それを必要とする対象に対する、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列識別番号 1) を有するポリペプチドまたはその機能的同等形態の治療量、及びその医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物の投与を含み、ポリペプチドの治療量は、腫瘍細胞集団のキナーゼ活性の阻害、癌細胞の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、癌細胞死の誘導、腫瘍の化学療法抵抗性の克服、腫瘍の化学療法感受性の増進、腫瘍細胞集団の進行遅延、またはそれらの組み合わせに有効である。

30

【 0 0 9 8 】

別の態様によれば、記載の発明は、腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌 (N S C L C) 腫瘍の治療システムを提供し、当該システムは、(a) アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列識別番号 1) を有するポリペプチドまたはその機能的同等形態の治療量、及びその医薬的に許容可能な担体を含み、ならびに治療量が、腫瘍細胞集団における、表 1 に記載の群から選択されるキナーゼのキナーゼ活性の阻害、及び腫瘍細胞集団の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、腫瘍細胞死の誘導、腫瘍の化学療法抵抗性の克服、腫瘍の化学療法感受性の増進、腫瘍細胞集団の進行遅延、またはそれらの組み合わせに有効であり得る医薬組成物と、(b) 肺への送達のための吸入機器と、を含む。

40

【 0 0 9 9 】

1 つの実施形態によれば、腫瘍は、原発腫瘍、二次腫瘍、再発腫瘍、抵抗性腫瘍、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。別の実施形態によれば、原発腫瘍は、扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。別の実

50

施形態によれば、二次腫瘍は、転移腫瘍である。別の実施形態によれば、転移腫瘍は、副腎の転移腫瘍、骨の転移腫瘍、肝臓の転移腫瘍、脳の転移腫瘍、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される。

【0100】

いくつかの実施形態によれば、投与段階は、気管内、（例えば、吸入によって）、非経口的、静脈内、または腹腔内に実施される。いくつかの実施形態によれば、投与段階は、肺への投与によって実施される。

【0101】

1つの実施形態によれば、医薬組成物は、少なくとも1つの追加の治療薬剤をさらに含む。別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、Abitrexate（メトトレキサート）、Abraxane（パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤）、アフアチニブマレイン酸塩（Afatinib Dimaleate）、Alimta（ペメトレキセド二ナトリウム）、Avastin（ベバシズマブ）、ベバシズマブ（Bvacizumab）、カルボプラチン、セリチニブ、シスプラチン、クリゾチニブ、Cycramza（ラムシルマブ）、ドセタキセル、エルロチニブ塩酸塩、Folex PFS（メトトレキサート）、ゲフィチニブ、Gilotrif（アフアチニブマレイン酸塩）、ゲムシタビン塩酸塩、Gemzar（ゲムシタビン塩酸塩）、Iressa（ゲフィチニブ）、メクロレタミン塩酸塩、メトトレキサート、メトトレキサートLPF（メトトレキサート）、Mexate（メトトレキサート）、Mexate-AQ（メトトレキサート）、Mustargen（メクロレタミン塩酸塩）、Navelbine（ビノレルビン酒石酸塩）、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤、Paraplat（カルボプラチン）、Paraplatin（カルボプラチン）、ペメトレキセド二ナトリウム、Platinol（シスプラチン）、Platinol-AQ（シスプラチン）、ラムシルマブ、Tarceva（エルロチニブ塩酸塩）、タキソール（パクリタキセル）、タキソテール（ドセタキセル）、ビノレルビン酒石酸塩、Xalkori（クリゾチニブ）、Zykadia（セリチニブ）、カルボプラチン-タキソール、ゲムシタビン-シスプラチン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される化学療法薬剤である。別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、プレドニゾン、ブデソニド、フランカルボン酸モメタゾン、プロピオン酸フルチカゾン、フランカルボン酸フルチカゾン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される糖質コルチコイドである。別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、ロイコトリエンモディファイヤー、抗コリン気管支拡張剤、短期作用型 β 2-アゴニスト、及び長期作用型 β 2-アゴニスト、ならびにそれらの組み合わせからなる群から選択される気管支拡張剤である。別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、鎮痛剤である。別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、抗感染症剤である。

【0102】

1つの実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVA A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列FAKLAA RLYRKAL A RQLGVA A（配列識別番号3）を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVA A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列KAFKLAA RLYRKAL A RQLGVA A（配列識別番号4）を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVA A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKAL A RQLA V A（配列識別番号5）を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVA A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVA（配列識別番号6）を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVA A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列HRR I KAWLKK I KAL A RQLGVA A（配列識別番号7）を有する。

【0103】

1つの実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVA

10

20

30

40

50

A（配列識別番号1）の機能的同等形態の治療ドメイン（TD）は、治療ドメイン（TD）である第2のポリペプチドに対して、細胞透過性ペプチド（CPP）である第1のポリペプチドが機能可能なように連結融合して生じ、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A（配列識別番号2）に対する実質的相同性を有する配列を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L A V A（配列識別番号8）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A（配列識別番号9）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A（配列識別番号10）を有するポリペプチドである。

【0104】

1つの実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、第2のポリペプチドに機能可能なように連結された第1のポリペプチドを含む融合タンパク質であり、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列W L R R I K A W L R R I K A（配列識別番号12）を有するポリペプチド、アミノ酸配列W L R R I K A（配列識別番号13）を有するポリペプチド、アミノ酸配列Y G R K K R R Q R R R（配列識別番号14）を有するポリペプチド、アミノ酸配列W L R R I K A W L R R I（配列識別番号15）を有するポリペプチド、アミノ酸配列F A K L A A R L Y R（配列識別番号16）を有するポリペプチド、アミノ酸配列K A F A K L A A R L Y R（配列識別番号17）を有するポリペプチド、及びアミノ酸配列H R R I K A W L K K I（配列識別番号18）を有するポリペプチドからなる群から選択される、Y A R A A A R Q A R A（配列識別番号11）と機能的に同等の細胞透過性ペプチドであり、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A（配列識別番号2）を有する。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列W L R R I K A W L R R I K A（配列識別番号12）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列W L R R I K A（配列識別番号13）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列Y G R K K R R Q R R R（配列識別番号14）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列W L R R I K A W L R R I（配列識別番号15）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列F A K L A A R L Y R（配列識別番号16）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列K A F A K L A A R L Y R（配列識別番号17）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列H R R I K A W L K K I（配列識別番号18）を有するポリペプチドである。

【0105】

1つの実施形態によれば、担体は、制御放出担体、遅延放出担体、持続放出担体、及び長期放出担体からなる群から選択される。

【0106】

1つの実施形態によれば、医薬組成物は、乾燥粉末の形態である。別の実施形態によれば、乾燥粉末は、空気動学的中央粒子径（Mass Median Aerodynamic Diameter）（MMAD）が1～5ミクロンであるマイクロ粒子を含む。

【0107】

1つの実施形態によれば、医薬組成物は、吸入機器を介して投与される。別の実施形態によれば、吸入機器は、噴霧器である。別の実施形態によれば、吸入機器は、定量噴霧式吸入器（metered-dose inhaler）（MDI）である。別の実施形態によれば、吸入機器は、乾燥粉末吸入器（dry powder inhaler）（DPI）である。別の実施形態によれば、吸入機器は、乾燥粉末噴霧器である。

【図面の簡単な説明】

【0108】

【図1】無溶媒の噴霧乾燥インスリンの送達能力を示す。

10

20

30

40

50

【図2】噴霧乾燥インスリンの粒度分布を示し、アンダーソンカスケードインパクション（Anderson Cascade Impaction）（ACI）によって決定したものである。

【図3】マイクロ用量（MicroDose）乾燥粉末吸入器（DPI）と、2つの市販の「受動的」乾燥粉末吸入器（DPI）と、の効率及び流量の比較を示す。

【図4】無溶媒の噴霧乾燥ペプチドの流量非依存性を示す。

【図5】噴霧乾燥ペプチド（非インスリン）の代表的な顕微鏡写真を示す。

【図6】噴霧乾燥ペプチド（非インスリン）の粒度分布を示す。

【図7】微粒子化／ラクトース混合物の粒度分布を示し、次世代インパクター（Next Generation Impactor）（NGI）によって決定したものである。

【図8】微粒子化小分子（長期作用型ムスカリン性薬剤（LAMA）／ラクトース混合物）の送達能力を示す。

【発明を実施するための形態】

【0109】

発明の詳細な説明

記載の発明は、それを必要とする対象における非小細胞肺癌の治療を目的とする組成物及び方法を提供し、方法は、アミノ酸配列YARAARQARAKALARQLGVA（MMI-0100；配列識別番号1）を有するポリペプチドまたはその機能的同等形態を含む組成物の治療量の投与を含む。

【0110】

用語説明

本明細書では、「追加」という用語は、1つもしくは複数の塩基、または1つもしくは複数のアミノ酸の、配列への挿入を指す。

【0111】

本明細書では、「投与（administer）」という用語は、分与、供給、適用、付与、分配、または寄与を指す。「投与（administering）」または「投与（administration）」という用語は、互換的に使用され、インビボでの投与、ならびにエクスピボでの組織への直接投与を含む。一般に、組成物は、必要に応じて、無毒の医薬的に許容可能な従来の担体、補助剤、及び媒体を含む投与単位製剤において、経口的、頬側、非経口的、局所的、吸入もしくは送気（すなわち、経口もしくは経鼻）によって、または経直腸的のいずれかで全身性に投与してよく、あるいは限定はされないが、注射、移植（implantation）、移植（grafting）、局所適用、または非経口的なものなどの手段によって局所的に投与してよい。追加の投与は、例えば、静脈内、心膜的、経口的、移植を介して、経粘膜的、経皮的、局所的、筋肉内、皮下、腹腔内、髄腔内、リンパ管内（intralymphatically）、病巣内、または硬膜外に実施してよい。投与は、例えば、1回、複数回、及び／または1つもしくは複数の長期間にわたって実施してよい。

【0112】

本明細書では、「補助治療（adjunct therapy）」という用語は、一次治療と共に使用される別の治療を指す。

【0113】

本明細書では、「気道」という用語は、それを介して空気が体内に出入りする通路を指す。肺気道は、呼吸の間に、それを介して空気が通る、そうした気道部分を構成する。

【0114】

本明細書では、「気道閉塞」という用語は、気流の任意の異常減少を指す。気流に対する抵抗は、上気道から終末細気管支までの気道における任意の場所に生じ得る。

【0115】

本明細書では、「肺泡（alveolus）」または「肺泡（alveoli）」という用語は、空洞形態を有する解剖学的な構造を指す。肺泡は、肺に見られ、血液とのガス交換を行う呼吸器部の球状突出部である。肺泡は、何らかのコラーゲン及び弾性の線維を

10

20

30

40

50

含む。弾性線維によって、息を吸うときに生じる肺胞への空気流入に伴う肺胞の伸長が可能となる。その後、肺胞は、二酸化炭素含量が高い空気を排出するために、息を吐く間に弾性によって元に戻る。

【0116】

「アミノ酸残基」または「アミノ酸」または「残基」という用語は、互換的に使用され、タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドに組み込まれたアミノ酸を指し、こうしたアミノ酸には、限定はされないが、天然起源のアミノ酸、及び天然起源のアミノ酸と類似した様式で機能し得る既知の天然アミノ酸アナログが含まれる。アミノ酸は、L-アミノ酸またはD-アミノ酸であり得る。アミノ酸は、合成アミノ酸によって置き換えてよく、アミノ酸は、ペプチドの半減期増加、ペプチドの効力増加、またはペプチドの生物学的利用性の増加が生じるように変更される。

10

【0117】

本明細書では、アミノ酸の一文字表記が主に使用される。当業者にはよく知られていることであるが、そのような一文字表記は下記のとおりである：

【0118】

Aは、アラニン、Cは、システイン、Dは、アスパラギン酸、Eは、グルタミン酸、Fは、フェニルアラニン、Gは、グリシン、Hは、ヒスチジン、Iは、イソロイシン、Kは、リジン、Lは、ロイシン、Mは、メチオニン、Nは、アスパラギン、Pは、プロリン、Qは、グルタミン、Rは、アルギニン、Sは、セリン、Tは、スレオニン、Vは、バリン、Wは、トリプトファン、及びYは、チロシンである。

20

【0119】

下記は、お互いに保存性の置換となるアミノ酸群を示す：1) アラニン (A)、セリン (S)、スレオニン (T)；2) アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)；3) アスパラギン (N)、グルタミン (Q)；4) アルギニン (R)、リジン (K)；5) イソロイシン (I)、ロイシン (L)、メチオニン (M)、バリン (V)；及び6) フェニルアラニン (F)、チロシン (Y)、トリプトファン (W)。

【0120】

「アポトーシス」または「プログラム細胞死」という用語は、さまざまな形態学的変化につながる一連の生化学的事象から構成される生物学的ホメオスタシスに寄与する、高度に制御された活性プロセスを指し、こうした形態学的変化には、小胞形成、膜の非対称性及び付着の消失などの、細胞膜に対する変化、細胞の縮小、核の断片化、クロマチンの凝集、ならびに染色体DNAの断片化が含まれ、これらは、生物体に損傷を与えないものである。

30

【0121】

アポトーシス細胞死は、多くの異なる因子によって誘導され、多数のシグナル伝達経路が関与するものであり、カスパーゼプロテアーゼ（システインプロテアーゼの1つのクラス）依存性のものもあれば、カスパーゼに依存しないものもある。アポトーシスシグナル細胞死は、多くの異なる細胞刺激によって引き起こされ得るものであり、その結果、アポトーシスシグナル伝達経路が活性化される。こうした細胞刺激には、細胞表面受容体、ストレスに対するミトコンドリア応答、及び細胞傷害性T細胞が含まれる。

40

【0122】

アポトーシスに関与するカスパーゼは、タンパク分解性カスケードにおいてアポトーシスシグナルを伝達するものであり、その際、カスパーゼは他のカスパーゼを切断及び活性化し、それに続いて、こうした他のカスパーゼが他の細胞標的を分解し、こうした他の細胞標的が細胞死を引き起こす。このカスケードの上流に位置するカスパーゼには、カスパーゼ-8及びカスパーゼ-9が含まれる。カスパーゼ-8は、Fasのような、デスドメイン (DD) を有する受容体に対する応答に関与する初期カスパーゼである。

【0123】

TNF受容体ファミリーの受容体は、アポトーシスの誘導ならびに炎症性シグナル伝達と関連する。Fas受容体 (CD95) は、他の細胞表面に発現するFasリガンドによ

50

ってアポトーシスシグナル伝達を媒介する。F a s - F a s L 相互作用は、免疫系において重要な役割を担っており、この系が失われると自己免疫につながる。このことは、F a s 媒介性のアポトーシスが、自己反応性のリンパ球を除去することを示している。F a s シグナル伝達は、癌化細胞及びウイルス感染細胞を除去するための免疫監視にも関与する。F a s が、別の細胞に存在するオリゴマー化 F a s L に結合すると、シグナル伝達アダプターと相互作用する、デスドメイン (D D) と命名された細胞質ドメインを介して、アポトーシスシグナル伝達が活性化し、その結果、カスパーゼのタンパク質分解性カスケードが活性化する。こうしたシグナル伝達アダプターには、F A F、F A D D、及び D A X が含まれる。カスパーゼ-8 及びカスパーゼ-10 は、最初に活性化され、それに続いて、下流のカスパーゼ及びさまざまな細胞基質を切断及び活性化し、こうしたカスパーゼ及び細胞基質が細胞死を引き起こす。

【0124】

ミトコンドリアは、細胞質へとミトコンドリアタンパク質を放出することによってアポトーシスシグナル伝達経路に関与する。電子伝達における重要タンパク質であるチトクロム c は、アポトーシスシグナルに応答してミトコンドリアから放出され、ミトコンドリアから放出されるプロテアーゼである A p a f - 1 を活性化する。活性化した A p a f - 1 は、カスパーゼ-9 及びカスパーゼ経路の残部を活性化する。S m a c / D I A B L O は、ミトコンドリアから放出され、通常はカスパーゼ9 と相互作用する I A P タンパク質を阻害することでアポトーシスを阻害する。B c l - 2 ファミリーのタンパク質によるアポトーシスの制御は、ファミリーのメンバーがミトコンドリア膜に侵入する複合体を形成し、チトクロム c 及び他のタンパク質の放出を制御することによって生じる。アポトーシスを引き起こす、T N F ファミリーの受容体は、カスパーゼカスケードを直接活性化するだけではなく、B c l - 2 ファミリーのメンバーである B i d もまた活性化し得、B i d は、ミトコンドリア媒介性のアポトーシスを活性化する。B c l 2 ファミリーの別のメンバーである B a x は、この経路によって活性化されてミトコンドリア膜に局在化し、その透過性を増加させることで、チトクロム c 及び他のミトコンドリアタンパク質の放出を引き起こす。B c l - 2 及び B c l - x L は、ポア形成を阻止することでアポトーシスを遮断する。チトクロム c のように、A I F (アポトーシス誘導因子) は、ミトコンドリアにおいて見られるタンパク質であり、このタンパク質は、アポトーシス刺激によってミトコンドリアから放出される。チトクロム C は、カスパーゼ依存性アポトーシスシグナル伝達と関連する一方で、A I F は、放出されると核へと移行し、そこで D N A と結合することで、カスパーゼ非依存性のアポトーシスを刺激する。A I F が D N A に結合すると、クロマチン凝集、及び D N A 断片化が刺激され、こうしたことはおそらく、ヌクレアーゼの動員を介して生じるものである。

【0125】

ミトコンドリアストレス経路は、ミトコンドリアからチトクロム c が放出されることで開始し、その後、放出されたチトクロム c は A p a f - 1 と相互作用し、これによってカスパーゼ-9 の自己切断及び活性化が引き起こされる。カスパーゼ-3、カスパーゼ-6、及びカスパーゼ-7 は、上流のプロテアーゼによって活性化する下流のカスパーゼであり、細胞標的を切断するよう自体に作用する。

【0126】

細胞傷害性 T 細胞によって放出されるグランザイム B 及びパーフォリンタンパク質は、膜貫通ポアを形成することによって標的細胞においてアポトーシスを誘導し、グランザイム B 媒介性のアポトーシスはカスパーゼ非依存性機構であることが示唆されているものの、おそらく、カスパーゼの切断を介してアポトーシスを引き起こすものである。

【0127】

アポトーシスシグナル伝達経路が複数のヌクレアーゼを活性化することによって核ゲノムが断片化してヌクレオソーム由来のラダーが生じることが、アポトーシスに特徴的な細胞応答である。アポトーシスに関与するヌクレアーゼの1つは、D N A 断片化因子 (D F F) であるカスパーゼ活性化 D N A s e (C A D) である。D F F / C A D は、アポトー

シスの間に、それと関連する阻害剤である I C A D がカスパーゼプロテアーゼによって切断されることによって活性化する。D F F / C A D は、トポイソメラーゼ I I 及びヒストン H 1 などのクロマチン構成成分と相互作用することでクロマチン構造を凝集させ、おそらく C A D をクロマチンに動員する。アポトーシスで活性化する別のプロテアーゼは、エンドヌクレアーゼ G (E n d o G) である。E n d o G は、核ゲノムにコードされるが、正常細胞ではミトコンドリアに局在化する。E n d o G は、ミトコンドリアゲノムの複製ならびにアポトーシスにおいて一定の役割を担い得る。アポトーシスシグナル伝達では、ミトコンドリアから E n d o G の放出が引き起こされる。E n d o G 経路は、D F F が存在しない細胞においても依然として生じるため、E n d o G 経路及び D F F / C A D 経路は独立している。

10

【0128】

低酸素ならびに低酸素後の再酸素負荷は、チトクロム c の放出及びアポトーシスを引き起こし得る。グリコーゲン合成酵素キナーゼ (G S K - 3) は、ほとんどの細胞型において遍在性に発現するセリン-スレオニンキナーゼであり、ミトコンドリアの細胞死経路を活性化する多くの刺激に起因して、アポトーシスを媒介または増強すると思われる。L o b e r g , R D , e t a l . , J . B i o l . C h e m . 2 7 7 (4 4) : 4 1 6 6 7 - 6 7 3 (2 0 0 2) 。グリコーゲン合成酵素キナーゼは、カスパーゼ 3 の活性化を誘導すると共に、アポトーシス促進性の腫瘍抑制遺伝子である p 5 3 を活性化することが示された。G S K - 3 は、アポトーシス促進性であり B c l - 2 ファミリーのメンバーである B a x の活性化及び転位を促進することも示唆された。B a x は、凝集してミトコンドリアに局在化すると、チトクロム c の放出を誘導する。A k t は、G S K - 3 の非常に重要な制御因子であり、G S K - 3 がリン酸化されて不活性化すると、A k t の抗アポトーシス作用のいくつかが媒介され得る。

20

【0129】

本明細書では、「ボディ・コンディション・スコアリング (B o d y C o n d i t i o n S c o r i n g) 」または「B C S」という用語は、非侵襲的な健康評価法及び評価項目確立方法を指し、当該方法は、動物の腫瘍モデル、動物の腹水生成、及び動物の妊娠などに関して、体重が実行可能な監視ツールにならない成体動物、または成長過程にある幼若動物を対象とする。B C S は、それぞれの動物の視覚的及び実地的な試験を高頻度で実施することによって決定される。B C 1 スコア = マウスが衰弱している：骨格構造が極度に目立ち、肉付きの少ないか、または皆無であって、椎骨が明確に分節化している。B C 2 スコア = マウスが健康不良 (u n d e r c o n d i t i o n e d) である：脊柱の分節化が明らかであり、背側の骨盤が容易に触知可能である。B C 3 スコア = マウスが健康である：椎骨及び背側の骨盤が目立たず、少し押さえると触知可能である。B C 4 スコア = マウスが肥満気味 (o v e r c o n d i t i o n e d) である：脊椎が連続柱状であり、しっかり押さえないと椎骨が触知不可能である。スコア B C 5 = マウスが肥満である：マウスは起伏が少なく大型であり、骨構造は肉及び皮下脂肪に埋もれていて見えない。

30

【0130】

本明細書では、「気管支肺胞洗浄」または「B A L」という用語は、口または鼻を介して気管支鏡を肺に通し、肺の狭い範囲に液体を噴出した後、検査のために再収集する医療手順を指す。B A L は、典型的には、肺疾患の診断のために実施される。B A L は、一般に、免疫系に問題を抱える人における感染、人工呼吸器を付けた人における肺炎、何らかの型の肺癌、及び肺の瘢痕 (間質性肺疾患) の診断に使用される。B A L は、肺上皮層液 (e p i t h e l i a l l i n i n g f l u i d) (E L F) 成分の試料採取、及び肺気道のタンパク質組成の決定のための最も一般的な様式であり、肺における細胞の試料採取手段または病原体レベルを知る手段として、免疫学的な研究において使用されることが多い。

40

【0131】

本明細書では、「癌」または「悪性腫瘍 (m a l i g n a n c y) 」という用語は、異常細胞が制御されることなく分裂し、近くの組織に浸潤し得る疾患を指す。癌細胞は、血

50

液系またはリンパ系を介して体の他の部分にも広がり得る。

【0132】

本明細書では、「担体」及び「医薬担体」という用語は、1つまたは複数の活性薬剤を対象に送達するための不活性な薬剤または媒体であって、医薬的に許容可能なものを指し、「賦形剤 (excipient)」と称されることが多い。(医薬)担体は、それが治療中の対象への投与に適切なものとなるように、純度が十分に高く、毒性が十分に低くなくてはならない。さらに、(医薬)担体は、例えば、記載の発明のポリペプチドといった活性薬剤の安定性及び生物学的利用性を維持するべきである。(医薬)担体は、液体または固体であり得、活性薬剤及び所与の組成物の他の構成成分と組み合わせるときは、計画される投与様式を考慮し、所望の体積、整合性等が得られるように選択される。(医薬)担体は、限定はされないが、結合剤(例えば、アルファ化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン、もしくはヒドロキシプロピルメチルセルロース等)、増量剤(例えば、ラクトース及び他の糖、微結晶性セルロース、ペクチン、ゼラチン、硫酸カルシウム、エチルセルロース、ポリアクリレート、リン酸水素カルシウム等)、潤滑剤(例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、シリカ、コロイド状二酸化ケイ素、ステアリン酸、ステアリン酸金属塩、水添植物油、コーンスターチ、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等)、崩壊剤(例えば、デンプン、デンプングリコール酸ナトリウム等)、または湿潤剤(例えば、ラウリル硫酸ナトリウム等)であり得る。記載の発明の組成物に適した他の(医薬)担体には、限定はされないが、水、塩溶液、アルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、アミロース、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、及び同様のものが含まれる。記載の発明のポリペプチドの非経口投与のための組成物は、無菌水性溶液、アルコールなどの一般溶媒における非水性溶液、または液体油基材におけるポリペプチド溶液などの(医薬)担体を含み得る。

10

20

【0133】

本明細書では、「細胞」という用語は、生物の構造単位及び機能単位を指し、生存していると分類される最小生物単位である。

【0134】

本明細書では、「細胞株」という用語は、癌化しており、培養において無制限に継代することができる不死化細胞を指すために使用される。

30

【0135】

本明細書では、「細胞透過性ペプチド」(「CPP」、「タンパク質形質導入ドメイン」、「PTD」、「トロイペプチド」、「膜転位性配列」、及び「細胞透過性タンパク質」とも称される)という用語は、一般に、哺乳類細胞の細胞膜を透過する能力を有するペプチドの1つのクラスを指す。当該用語は、ペプチドYARAARQARA(配列識別番号11)に対する実質的相同性を有するペプチド、ペプチドセグメント、またはそれらの変異体もしくは誘導体、あるいはそれらの機能性セグメントと、配列識別番号11と機能的に同等のペプチド、ペプチドセグメント、またはそれらの変異体もしくは誘導体と、も指す。CPPは、一般に、長さが10~16残基のアミノ酸であり、哺乳類細胞を横切って多くの型及び分子量の化合物を輸送する能力を有する。そのような化合物には、限定はされないが、タンパク質などのエフェクター分子、DNA、複合化ペプチド、オリゴヌクレオチド、及びリポソームなどの小粒子が含まれる。他のタンパク質に化学的に連結または融合したCPP(「融合タンパク質」)は、依然として、細胞膜を透過し、細胞に侵入する能力を有する。

40

【0136】

本明細書では、「化学療法抵抗性」という用語は、さまざまな構造的及び機能的に異なる薬剤に対する抵抗性を有する細胞表現型が生じることを指す。腫瘍は、化学療法の前から本質的に抵抗性であり得るか、または化学療法に対して初期には感受性であった腫瘍が、治療の間に抵抗性を獲得し得る。薬物抵抗性は、複数の相関機構または独立機構が関与する多因子性の現象である。同一型の腫瘍または同一腫瘍の細胞における関与機構の不均

50

一発現が特徴であり得、少なくともその一部が腫瘍の進行を反映し得る。細胞の抵抗性に寄与し得る機構の例には、細胞内薬物濃度の低減に關与する防衛因子の発現増加、薬物－標的相互作用の変化、細胞応答の変化、具体的には、細胞におけるDNA損傷修復能力またはストレス条件耐容能力の増加、及びアポトーシス経路の欠損が含まれる。

【0137】

本明細書では、「化学療法感受性 (chemosensitive)」、「化学療法感受性 (chemosensitivity)」、または「化学療法感受性腫瘍 (chemosensitive tumor)」という用語は、化学療法または化学療法薬剤に应答性である腫瘍を指す。化学療法感受性腫瘍の特徴には、限定はされないが、腫瘍細胞集団の増殖減少、腫瘍サイズの減少、腫瘍負荷の減少、腫瘍細胞死、及び腫瘍細胞集団の進行遅延／阻害が含まれる。

10

【0138】

本明細書では、「化学療法薬剤」という用語は、疾患の治療または制御において有用な化学物質を指す。

【0139】

本明細書では、「化学療法」という用語は、1つまたは複数の化学療法薬剤を用いた治療過程を指す。

【0140】

「化学療法レジメン」（「組み合わせ化学療法」）という用語は、複数の薬物の異なる毒性から利益を得るために、複数の薬物を用いる化学療法を意味する。組み合わせ癌治療の原理は、異なる薬物が異なる細胞傷害性機構を介して働くということである。異なる薬物は、異なる用量規制有害作用を有しているため、それらを完全用量で組み合わせる投与することができる。

20

【0141】

本明細書では、「病状 (condition)」という用語は、さまざまな健康状態を指し、根底に存在する任意の機構、障害、または損傷によって引き起こされる障害または疾患を含むことを意味する。

【0142】

本明細書では、「接触」という用語及びその文法形態はすべて、接触状態もしくは接触条件、または直接的もしくは局所的な近接状態もしくは近接条件を指す。

30

【0143】

本明細書では、「制御放出」という用語は、製剤からの薬物放出の様式及び特性が制御される、任意の薬物を含む製剤を指す。この用語は、即時放出製剤ならびに非即時放出製剤を指し、非即時放出製剤には、限定はされないが、持続放出製剤及び遅延放出製剤が含まれる。

【0144】

「サイトカイン」という用語は、他の細胞に対するさまざまな作用を有し、細胞によって分泌される小型の可溶性タンパク質物質を指し、限定はされないが、リンホカイン、インターロイキン、及びケモカインを含む、多くのシグナル伝達分子を指すために、一般的に使用される。サイトカインは、増殖、発生、損傷治癒、及び免疫応答を含む、多くの重要な生理学的機能を媒介する。サイトカインは、細胞において特有のシグナル伝達カスケードを開始させる、細胞膜に位置するその細胞特異的受容体に結合することによって作用し、これによって、最終的に、標的細胞において生化学的な変化及び表現型の変化が生じることになる。一般に、サイトカインは局所的に作用するが、サイトカインによっては、ホルモンと類似した多面的なオートクリン作用、パラクリン作用、及びエンドクリン作用を伴う全身性の免疫調節作用を有することが明らかとなっている。そうしたものには、インターロイキンの多くを含むI型サイトカインと、いくつかの造血成長因子と、インターフェロン及びインターロイキン-10を含むII型サイトカインと、TNF- α 及びリントキシンを含む腫瘍壊死因子（「TNF」）関連分子と、インターロイキン1（「IL-1」）を含む、免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーと、多種多様な免疫機能

40

50

及び炎症機能において非常に重要な役割を担う分子ファミリーであるケモカインと、が含まれる。細胞に対する作用は、その細胞の状態に応じて、同一のサイトカインでも異なり得る。サイトカインは、他のサイトカインの発現を制御し、他のサイトカインのカスケードを引き起こすことが多い。

【0145】

本明細書では、「遅延放出」という用語は、その通常の意味において使用され、製剤投与と、そこからの薬物放出と、の間に遅延時間が存在する薬物製剤を指す。「遅延放出」は、長期間にわたる徐放を伴っても伴わなくてもよく、したがって、「持続放出」であってもなくてもよい。

【0146】

本明細書では、「誘導体」という用語は、類似構造を有する別の化合物から、1つまたは複数の段階を経て生成し得る化合物を意味する。ペプチドまたは化合物の「誘導体」または「誘導体（複数）」は、そのペプチドまたは化合物の所望の機能を少なくとも一定程度は保持する。したがって、「誘導体」に代わる用語は、「機能性誘導体」であり得る。誘導体は、アルキル化、アシル化、カルバミル化、ヨウ素化、またはペプチドを誘導体化する任意の改変などの、ペプチドの化学的改変を含み得る。そのような誘導体化分子には、例えば、遊離アミノ基がアミンの塩酸塩、p-トルエンスルホン基、カルボベンゾキシ基、t-ブチルオキシカルボニル基、クロロアセチル基、またはホルマール基（formal group）を形成するように誘導体化された分子が含まれる。遊離カルボキシ基は、塩、エステル、アミド、またはヒドラジドを形成するように誘導体化することができる。遊離のヒドロキシ基は、O-アシル誘導体またはO-アルキル誘導体を形成するように誘導体化することができる。ヒスチジンのイミダゾール窒素は、N-イミベンジルヒスチジンを形成するように誘導体化することができる。20の標準アミノ酸の天然起源のアミノ酸誘導体を1つまたは複数含むペプチドである誘導体またはアナログもまた含まれる。こうした天然起源のアミノ酸誘導体は、例えば、4-ヒドロキシプロリン、5-ヒドロキシリジン、3-メチルヒスチジン、ホモセリン、オルニチン、またはカルボキシグルタミエートであり、上記のペプチド誘導体またはペプチドアナログは、ペプチド結合によって連結されないアミノ酸を含み得る。そのようなペプチド誘導体は、ペプチド合成の間に組み込むことができるか、またはよく知られる化学的な改変方法によってペプチドを改変することができる（例えば、Glazer et al., Chemical Modification of Proteins, Selected Methods and Analytical Procedures, Elsevier Biomedical Press, New York (1975)を参照のこと）。

【0147】

本明細書では、「疾患」または「障害」という用語は、原因を問わず（遺伝性、環境性、食事性、感染性、外傷起因性、またはその他のものであるかを問わず）、健康機能障害または機能異常状態を指す。

【0148】

本明細書では、「ドメイン」という用語は、特徴的な三次構造及び機能を有するタンパク質領域を指すと共に、その直線的ペプチド鎖の折り畳みによって形成されるその三次構造を共に構成する三次元タンパク質サブユニットのいずれかを指す。本明細書では、「治療ドメイン」（「TD」とも称される）という用語は、ペプチドKALARQLGVA（配列識別番号2）に対する実質的相同性を有するペプチド、ペプチドセグメントもしくは変異体、またはそれらの誘導体、あるいはそれらのセグメントを指す。治療ドメインは、一般に、それ自体が哺乳類細胞の細胞膜を透過する能力を有することはない。細胞内に入ると、治療ドメインは特定群のキナーゼのキナーゼ活性を阻害し得る。

【0149】

本明細書では、「乾燥粉末吸入器」または「DPI」という用語は、定量噴霧式吸入器と類似するが、薬物が粉末形態である機器を指す。患者は、完全に息を吐き出し、唇でマウスピースを覆ってから、素早く息を吸って粉末を吸い込む。定量噴霧式吸入器ではタイ

ミング調整が必要となるが、乾燥粉末吸入器はそれを必要としない。

【0150】

本明細書では、「有効量」という用語は、所望の生物学的作用の実現に必要な量または十分な量を指す。

【0151】

本明細書では、「内在性」という用語は、内部に由来するか、もしくは内部的に得られる増殖、または内部から生じるか、もしくは内部的に生じるものを指す。

【0152】

本明細書では、「血管内皮 (endothelium)」という用語は、血管の内側表面を覆い、管腔を循環する血液と、血管壁の残部との界面を形成する細胞薄層を指す。血管内皮細胞は、心臓から最小毛細血管に至るまで、循環系全体を覆うことになる。こうした細胞は、血流の乱れを低減し、血液の流れを向上させるものである。

【0153】

本明細書では、「好酸球 (eosinophils)」または「好酸性顆粒球 (eosinophil granulocyte)」という用語は、脊椎動物において多細胞性寄生虫及びある特定の感染の駆除を担う白血球を指す。好酸球は、骨髄において造血発生の間に発生した後、血液へと遊走する顆粒球である。好酸球は、マスト細胞と共に、アレルギー及び喘息と関連する機構も制御する。好酸球は、活性化した後、さまざまな機能を発揮するものであり、こうした機能には、(1)陽イオン性の顆粒タンパク質の産生及び脱顆粒によるその放出、(2)スーパーオキシド、過氧化物、及び次亜臭素酸塩(好酸球のペルオキシダーゼによって優先的に産生する次亜臭素酸)などの活性酸素種の産生、(3)ロイコトリエンファミリー及びプロスタグランジンファミリーに由来するエイコサノイドなどの脂質メディエーターの産生、(4)トランスフォーミング増殖因子(TGF- β)、血管内皮増殖因子(VEGF)、及び血小板由来増殖因子(PDGF)などの増殖因子の産生、ならびに(5)IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-13、及びTNF- α などのサイトカインの産生が含まれる。

【0154】

本明細書では、「上皮」という用語は、体全体にわたって構造の腔及び表面を覆う細胞からなる組織を指す。上皮の基底面は、根底に存在する結合組織と面しており、これら2層は、基底膜によって分離されている。

【0155】

本明細書では、「血管外漏出 (extravasation)」という用語は、毛細血管からその周囲組織への、血液細胞成分の移動(血管外漏出(diapedesis))を指す。悪性癌の転移の場合、当該用語は、癌細胞が毛細血管を出て臓器に侵入することを指す。

【0156】

本明細書では、「滲出 (exudation)」という用語は、血管壁を介して病巣または炎症領域へと、循環系から体液が通り抜けるプロセスを指す。血液滲出液は、血漿タンパク質、白血球細胞、血小板、及び赤血球細胞のいくつか、またはすべてを含む。

【0157】

本明細書では、「機能的同等形態 (functional equivalent)」または「機能的に同等の (functionally equivalent)」という用語は、互換的に使用され、作用または使用が類似または同一である物質、分子、ポリヌクレオチド、タンパク質、ペプチド、またはポリペプチドを指す。ポリペプチドYARAARQARAKALARQLGVAA(配列識別番号1)と機能的に同等のポリペプチドは、例えば、配列識別番号1の発現ポリペプチドと実質的に類似または同一の生物学的活性を有し得る。こうした生物学的活性は、例えば、阻害活性、動力学的パラメーター、塩阻害(salt inhibition)、補助因子依存活性、及び／または機能性単位サイズである。

【0158】

Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号１）と機能的に同等のポリペプチドの例には、限定はされないが、アミノ酸配列 F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A（配列識別番号３）を有するポリペプチド、アミノ酸配列 K A F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A（配列識別番号４）を有するポリペプチド、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L A V A（配列識別番号５）を有するポリペプチド、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A（配列識別番号６）を有するポリペプチド、及びアミノ酸配列 H R R I K A W L K K I K A L A R Q L G V A A（配列識別番号７）を有するポリペプチドが含まれる。

【０１５９】

本発明に記載のアミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号１）を有する M M I - 0 1 0 0（Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A；配列識別番号１）ペプチドは、治療有効性の増進のために、治療ドメイン（K A L A R Q L G V A A；配列識別番号２）に対して細胞透過性ペプチド（C P P；Y A R A A A R Q A R A；配列識別番号１１）が機能可能のように連結された融合タンパク質を含む。

【０１６０】

ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号１）の治療ドメイン（T D；K A L A R Q L G V A A；配列識別番号２）と機能的に同等のポリペプチドの例には、限定はされないが、アミノ酸配列 K A L A R Q L A V A（配列識別番号８）を有するポリペプチド、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A（配列識別番号９）を有するポリペプチド、及びアミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A（配列識別番号１０）を有するポリペプチドが含まれる。

【０１６１】

ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号１）の細胞透過性ペプチド（C P P；Y A R A A A R Q A R A；配列識別番号１１）と機能的に同等のポリペプチドの例には、限定はされないが、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I K A（配列識別番号１２）を有するポリペプチド、アミノ酸配列 W L R R I K A（配列識別番号１３）を有するポリペプチド、アミノ酸配列 Y G R K K R R Q R R R（配列識別番号１４）を有するポリペプチド、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I（配列識別番号１５）を有するポリペプチド、アミノ酸配列 F A K L A A R L Y R（配列識別番号１６）を有するポリペプチド、アミノ酸配列 K A F A K L A A R L Y R（配列識別番号１７）を有するポリペプチド、及びアミノ酸配列 H R R I K A W L K K I（配列識別番号１８）を有するポリペプチドが含まれる。

【０１６２】

本明細書では、「融合タンパク質」という用語は、元々のタンパク質またはポリペプチドのそれぞれに由来する機能特性を有する単一のポリペプチドまたはタンパク質の創出を目的として、複数のタンパク質ドメインまたはポリペプチドを組み合わせることによって構築されたタンパク質またはポリペプチドを指す。組換えDNA技術を介して、タンパク質ドメインまたはポリペプチドのそれぞれをコードする２つの異なるヌクレオチド配列を機能可能のように連結（l i g a t i n g）または連結（l i n k i n g）し、それによって、所望の融合タンパク質をコードする新しいポリヌクレオチド配列を創出して、融合タンパク質の創出を達成してよい。あるいは、融合タンパク質は、所望のタンパク質ドメインを化学的に連結することによって創出してよい。

【０１６３】

本明細書では、「増殖（g r o w t h）」という用語は、大きさ、長さ、もしくは数の多さが増すプロセス、またはサイズ、数、もしくは体積の増加を指す。

【０１６４】

本明細書では、「炎症」という用語は、損傷に応答した血管組織による生理学的なプロセスを指す。例えば、FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY, 4th Ed., William E. Paul, ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia (1999) at 1051-1053を参照

のこと。当該文献は、参照によって本明細書に援用される。炎症性プロセスの間、解毒及び修復に關与する細胞が炎症性メディエーターによって損傷部位に動員される。炎症は、炎症部位における白血球、特に好中球（多形核細胞）の強力な浸潤によって特徴付けられることが多い。こうした細胞は、血管壁または非損傷組織において毒性物質を放出することによって組織損傷を促進する。伝統的に、炎症は急性応答及び慢性応答に分類されてきた。

【0165】

本明細書では、「急性炎症」という用語は、急性損傷に対する、迅速かつ短命（数分～数日）で相対的に均一な応答であり、体液、血漿タンパク質、及び好中性白血球の蓄積によって特徴づけられる応答を指す。急性炎症を引き起こす傷害性物質の例には、限定はされないが、病原体（例えば、細菌、ウイルス、寄生虫）、外来性供給源に由来する異物（例えば、アスベスト）、または内在性供給源に由来する異物（例えば、尿酸結晶、免疫複合体）、及び物理的物質（例えば、熱物質（burn））または化学的物質（例えば、腐食剤）が含まれる。

【0166】

本明細書では、「慢性炎症」という用語は、長期の炎症であり、終結が曖昧かつ不確定である炎症を指す。初期炎症物質（例えば、喫煙）の不完全な排出によってか、または同一位置に生じる複数の急性事象の結果として、急性炎症が持続すると、それに代わって慢性炎症が生じる。慢性炎症は、リンパ球及びマクロファージの流入ならびに線維芽細胞の増殖を含み、その結果、長期的または反復的な炎症活性部位において組織が癒痕化し得る。

【0167】

本明細書では、「炎症性メディエーター」という用語は、炎症性及び免疫性のプロセスの分子メディエーターを指す。こうした可溶性の拡散性分子は、組織の損傷部位及び感染部位で局所的に作用すると共に、より離れた部位でも作用する。炎症性メディエーターによっては、炎症プロセスによって活性化する一方で、急性炎症に応答して、または他の可溶性の炎症性メディエーターによって、細胞供給源から合成及び／または放出されるものもある。また、その他として、抗炎症特性を示すものもある。炎症性応答の炎症性メディエーターの例には、限定はされないが、血漿プロテアーゼ、補体、キニン、凝固タンパク質及び線維素溶解性タンパク質、脂質メディエーター、プロスタグランジン、ロイコトリエン、血小板活性化因子（PAF）、ペプチド、ホルモン（糖質コルチコイドなどのステロイドホルモンを含む）、ならびに限定はされないが、ヒスタミン、セロトニンを含むアミン、ならびに神経ペプチド、ならびに限定はされないが、インターロイキン-1 β （IL-1 β ）、インターロイキン-4（IL-4）、インターロイキン-6（IL-6）、インターロイキン-8（IL-8）、腫瘍壊死因子- α （TNF- α ）、インターフェロン- γ （IF- γ ）、インターロイキン-12（IL-12）、及びインターロイキン-17（IL-17）を含む炎症促進性サイトカインが含まれる。

【0168】

炎症促進性メディエーターの中で、IL-1、IL-6、及びTNF- α は、急性期応答において肝細胞を活性化して、補体を活性化する急性期タンパク質を合成することが知られている。補体は、病原体と相互作用することで、貪食細胞によって病原体が破壊されるように病原体に標識をつける血漿タンパク質の系である。補体タンパク質は、病原体によって直接的に活性化し得るか、または病原体に結合した抗体によって間接的に活性化し得ることで、病原体表面で生じる反応カスケードを引き起こし、さまざまなエフェクター機能を有する活性成分を生成させる。IL-1、IL-6、及びTNF- α もまた、骨髓血管内皮を活性化して好中球を動員すると共に、内在性の発熱物質として機能することで体温を上昇させる。このことは、体からの感染排除に役立つ。サイトカインの主な作用は、視床下部に作用して体の温度制御を変更すると共に、筋肉及び脂肪の細胞に作用し、筋肉及び脂肪の細胞の代謝を刺激して体温を上昇させることである。温度が上昇すると、細菌及びウイルスの複製が減少する一方で、適応免疫系は、より効率的に機能する。

【0169】

本明細書では、「吸入」という用語は、息を用いて薬用蒸気を引き込む行為を指す。

【0170】

本明細書では、「吸入送達機器」という用語は、液体または乾燥粉末のエアロゾル製剤に由来して小さな液滴またはエアロゾルを生成する機械／器具または成分を指し、例えば、溶液、粉末、及び同様のものに含まれる薬剤の肺への投与を達成するために、口を介した投与に使用される。吸入送達機器の例には、限定はされないが、噴霧器、定量噴霧式吸入器、及び乾燥粉末吸入器（DPI）が含まれる。

【0171】

本明細書では、「阻害（inhibiting）」、「阻害する（inhibit）」、及び「阻害（inhibition）」という用語は、プロセスの量もしくは速度の低減、プロセス全体の停止、またはその作用もしくは機能の低減、制限、もしくは遮断を指すために使用される。阻害には、物質の量、速度、作用機能、またはプロセスの少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、または少なくとも99%の低減（reduction）または低減（decrease）が含まれ得る。

【0172】

本明細書では、「阻害剤」という用語は、第1の分子に結合することによって第1の分子の活性を低減する第2の分子を指す。酵素阻害剤は、酵素に結合することによって酵素活性を低減する分子である。阻害剤が結合すると、酵素活性部位への基質侵入の停止、及び／または酵素触媒反応の妨害が生じ得る。阻害剤の結合は、可逆的または不可逆的のいずれかである。不可逆的阻害剤は、通常、酵素と反応し、例えば、酵素活性に必要な重要アミノ酸残基を改変することによって、酵素を化学的に変化させる。対照的に、可逆的阻害剤は、非共有結合的に結合し、こうした阻害剤が酵素、酵素－基質複合体、またはそれらの両方に結合するかということに依拠して、異なる型の阻害を生じさせる。酵素阻害剤は、その特異性及び効力によって評価されることが多い。

【0173】

本明細書では、「損傷」という用語は、外部の物質または力によって引き起こされる体の構造または機能に対する損傷または害を指し、こうした外部の物質または力は、物理的または化学的なものである。

【0174】

本明細書では、「送気（insufflation）」という用語は、空気、ガス、または粉末を圧力下で体の腔（cavity）または室（chamber）へと送達する行為を指す。例えば、経鼻送気は、空気、ガス、または粉末を圧力下で鼻を介して送達する行為に関する。

【0175】

本明細書では、「インターロイキン（IL）」という用語は、白血球によって分泌及び白血球に作用することが最初に観測された、相同的に関連するタンパク質の1つのクラスに由来するサイトカインを指す。以後、インターロイキンは多種多様な体細胞によって産生されることが明らかとなってきた。インターロイキンは、細胞増殖、分化、及び運動性を制御し、炎症などの免疫応答を刺激する。インターロイキンの例には、インターロイキン-1（IL-1）、インターロイキン-1 β （IL-1 β ）、インターロイキン-6（IL-6）、インターロイキン-8（IL-8）、インターロイキン-12（IL-12）、及びインターロイキン-17（IL-17）が含まれる。

【0176】

本明細書では、「浸潤（invasion）」または「浸潤性（invasiveness）」という用語は、周囲組織の透過及び周囲組織を介す移動を含む、悪性細胞におけ

10

20

30

40

50

るプロセスを指す。

【0177】

本明細書では、「単離された」という用語は、限定はされないが、核酸、ペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質などの材料であって、(1)それが天然に生じる環境において見られるように、通常、それに伴うか、またはそれと相互作用する成分を実質的または本質的に含まない材料を指すために使用される。本明細書では、「実質的に含まない」または「本質的に含まない」という用語は、そのような成分をかなり、もしくは顕著に含まないか、または約95%超含まないか、または約99%超含まないことを指すために使用される。単離された材料は、その天然環境ではその材料と共には見られない材料を任意選択で含むか、または(2)材料がその天然環境にあるのであれば、計画的なヒト介入によって材料が合成的に(非天然的に)変更されることで組成物となり、及び／もしくはその環境において見られる材料に対して非天然となる細胞位置(例えばゲノムもしくは細胞内小器官)に配置される。合成材料を得るための変更は、その天然状態に由来してその中にある材料またはその天然状態から取り出された材料に対して実施してよい。例えば、天然起源の核酸は、その起源である細胞の中で実施されたヒト介入手段によって、変更されたか、または変更されたDNAから転写されるのであれば、単離された核酸となる。例えば、Compounds and Methods for Site Directed Mutagenesis in Eukaryotic Cells, Kmiec, 米国特許第5,565,350号、In Vivo Homologous Sequence Targeting in Eukaryotic Cells; Zarling et al., PCT/US93/03868を参照のこと。こうした文献はそれぞれ、参照によってその全体が本明細書に援用される。同様に、天然起源の核酸(例えば、プロモーター)は、非天然起源の手段によってその核酸に対して非天然となるゲノム遺伝子座へと導入されるのであれば、単離された状態となる。本明細書に定義される「単離された」核酸は、「異種性」核酸とも称される。

【0178】

本明細書では、「カプラン・マイヤープロット(Kaplan Meier plot)」または「カプラン・マイヤー生存曲線(Kaplan Meier survival curve)」という用語は、多くの小間隔を考慮しつつ、所与の長さの期間において、臨床試験対象の生存確率のプロットしたものを指す。カプラン・マイヤープロットでは、(i)任意の時点で打ち切った対象(すなわち、脱落)は、追跡を継続する対象と同一の生存見通しを有し、(ii)生存確率は、試験の早期及び後期に補充された対象と同一であり、及び(iii)事象(例えば、死)は、特定の時点で起こることが想定される。事象発生確率は、任意の早期にコンピュータ処理した確率を乗じた連続的な確率を用いて、ある特定の時点でコンピュータ処理することで、最終的な見込みが得られる。任意の特定時点の生存確率は、危険を有する対象の数で生存対象数を割って計算される。死亡、脱落、または試験を打ち切った対象は、リスクを有する対象の数には入らない。

【0179】

本明細書では、「キナーゼ」という用語は、高エネルギードナー分子から特定の標的分子または基質へとリン酸基を転移する酵素の1つの型を指す。高エネルギードナー群には、限定はされないが、ATPが含まれ得る。

【0180】

本明細書では、「白血球(leukocyte)」または「白血球(white blood cell)(WBC)」という用語は、免疫細胞の1つの型を指す。白血球のほとんどが骨髄で生じ、血液及びリンパの組織において見られる。白血球は、体における感染及び他の疾患との戦いに役立つものである。顆粒球、単球、及びリンパ球は、白血球である。

【0181】

本明細書では、「長期」放出という用語は、少なくとも7日間、可能性としては最大で約30～約60日間、治療レベルの活性成分を送達することを指す。「長期作用型」、「

持続放出」、または「制御放出」などの用語は、一般に、例えば、当該技術分野において、対象に対する生理活性薬剤の放出または生物学的利用性の延長または長期化の達成などのために使用される製剤、投与量形態、機器、または他の型の技術を説明するために使用される。当該用語は、一般的な体循環または対象または（限定はされないが）、細胞、組織、臓器、関節、領域、及び同様のものを含む、対象における局所作用部位に対する生理活性薬剤の放出または生物学的利用性を延長または長期化する技術を指し得る。さらに、こうした用語は、製剤もしくは投与量形態からの生理活性薬剤放出の延長もしくは長期化に使用される技術を指し得るか、または対象に対する生理活性薬剤の生物学的利用性もしくは薬物動態学もしくは作用持続期間の長期化もしくは延長に使用される技術を指し得るか、または製剤によって誘発される薬力学的作用の長期化または延長に使用される技術を指し得る。「長期作用型製剤」、「持続放出製剤」、または「制御放出製剤」、（及び同様のもの）は、対象に対する生理活性薬剤の長期作用型放出の付与に使用される医薬製剤、投与量形態、または他の技術である。

10

【0182】

本明細書では、「肺間質（lung interstitium）」または「肺間質（pulmonary interstitium）」という用語は、互換的に使用され、肺において気腔上皮（airspace epithelium）と胸膜中皮との間に位置する領域を指す。マトリックスタンパク質の線維、コラーゲン、及びエラスチンは、肺間質の主要構成成分である。こうした線維の一次機能は、呼吸の間に構造統合性を維持する機械的骨格を形成することである。

20

【0183】

本明細書では、「リンパ球」という用語は、疾患に対する体の防衛において大きな役割を担う小型白血球（白血球）を指す。リンパ球には、B細胞及びT細胞という2つの主要な型が存在する。B細胞は、細菌及び毒素を攻撃する抗体を産生する一方で、T細胞では、体細胞がウイルスに乗っ取られるか、または癌性になると、T細胞自体が体細胞を攻撃する。リンパ球は、多くの他の型の細胞の機能活性を調節する産物（リンホカイン）を分泌し、慢性炎症部位に存在することが多い。

【0184】

本明細書では、「マクロファージ」という用語は、微生物の包囲及び殺傷、死細胞の除去、ならびに他の免疫系細胞の作用の刺激を行う白血球の1つの型を指す。病原体の消化後、マクロファージは病原体の抗原（病原体表面に見られるタンパク質であることが最も多い分子であり、免疫システムによる同定に使用される）を、対応するヘルパーT細胞に提示する。提示は、抗原を細胞膜に組み込み、MHCクラスII分子に結合するように抗原をディスプレイすることによって行われ、これによって、その表面に抗原を有しているが、そのマクロファージは病原体ではないということが他の白血球に示される。最終的に、抗原提示の結果、病原体の抗原に結合する抗体産生が生じることによって、マクロファージが病原体の細胞膜に接着し、それを貪食することが容易となる。

30

【0185】

本明細書では、「マーカー」及び「細胞表面マーカー」という用語は、互換的に使用され、細胞表面に存在し、他の種類の細胞と細胞型の区別が可能となる受容体、受容体の組み合わせ、または抗原決定基もしくはエピトープを指す。体に存在するあらゆる細胞の表面が、他のシグナル伝達分子に選択的に結合または接着する能力を有する特定のタンパク質受容体（マーカー）で覆われている。他の細胞との情報交換の手段として、及び体においてその適切な機能を発揮するために、細胞はこうした受容体及びそれに結合する分子を使用する。細胞選別手法は、細胞バイオマーカーに基づいており、細胞集団の陽性選択または陰性選択、すなわち、含めるか、または除外するかということに、細胞表面マーカー（複数可）が使用され得る。

40

【0186】

本明細書では、「最大耐量（maximum tolerated dose）」という用語は、許容不可能な毒性を与えない最大薬物用量を指す。

50

【0187】

本明細書では、「生存期間中央値 (median survival)」という用語は、経過後に、特定の病状を有する個体の50%が依然として生存しており、50%が死亡した期間を指す。例えば、生存期間中央値が6ヶ月であれば、6ヶ月後に、非小細胞肺癌を有する個体の50%が生存することになり、50%が死亡したことになることを示す。生存期間中央値は、肺癌などを対象として、平均生存率が相対的に低いときに、病状の予後（すなわち、生存可能性）を説明するために使用されることが多い。生存期間中央値は、薬物または治療が評価されるとき、臨床試験においても使用され、その薬物または治療が余命を延長することになるかどうかが決定的である。

【0188】

本明細書では、「間葉系細胞 (mesenchymal cell)」または「間葉 (mesenchyme)」という用語は、3つの胚葉のすべてに由来する細胞を指し、当該細胞は、結合組織、骨、軟骨、リンパ系、及び循環系へと発生し得る。

【0189】

本明細書では、「定量噴霧式吸入器」、「MDI」、または「噴出器 (puffer)」という用語は、特定量の薬剤（「定量」）を患者の肺に送達するために噴霧剤を使用する加圧式の携帯機器を指す。本明細書では、「噴霧剤」という用語は、通常、先細末広ノズルを介してガス圧力によって物質を排出するために使用される材料を指す。圧力は、圧縮ガスまたは化学反応によって生成するガスに由来し得る。排出用材料は、ガス、液体、プラズマ、または化学反応前は固体、液体、もしくはゲルであり得る。加圧された定量噴霧式吸入器において使用される噴霧剤は、液化ガス、伝統的にはクロロフルオロカーボン (CFC)、及び普及しつつあるものとしてはヒドロフルオロアルカン (HFA) である。適した噴霧剤には、例えば、トリクロロフルオロメタン（噴霧剤11とも称される）、ジクロロジフルオロメタン（噴霧剤12とも称される）、及び1, 2-ジクロロ-1, 1, 2, 2-テトラフルオロエタン（噴霧剤114とも称される）などのクロロフルオロカーボン (CFC)、ヒドロクロロフルオロカーボン、1, 1, 1, 2-テトラフルオロエタン（噴霧剤134a、HFC-134a、もしくはHFA-134aとも称される）、及び1, 1, 1, 2, 3, 3, 3-ヘプタフルオロプロパン（噴霧剤227、HFC-227、もしくはHFA-227とも称される）などのヒドロフルオロカーボン (HFC)、二酸化炭素、ジメチルエーテル、ブタン、プロパン、またはそれらの混合物が含まれる。他の実施形態では、噴霧剤には、クロロフルオロカーボン、ヒドロクロロフルオロカーボン、ヒドロフルオロカーボン、またはそれらの混合物が含まれる。他の実施形態では、ヒドロフルオロカーボンが噴霧剤として使用される。他の実施形態では、HFC-227及び/またはHFC-134aが噴霧剤として使用される。

【0190】

本明細書では、「遊走」という用語は、1つの場所から別の場所への細胞集団の移動を指す。

【0191】

本明細書では、「MK2キナーゼ」または「MK2」という用語は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2を指し（「MAPKAPK2」、「MAPKAP-K2」、「MK2」とも称される）、当該キナーゼは、セリン/スレオニン (Ser/Thr) タンパク質キナーゼファミリーのメンバーである。

【0192】

本明細書では、「調節する」という用語は、ある特定の尺度または比率に対する制御、変更、適応、または補正を意味する。

【0193】

本明細書では、「単球」という用語は、骨髄において生じ、血液を介して体の組織へと移動し、そこでマクロファージとなる免疫細胞の1つの型を指す。単球は、白血球の1つの型であり、貪食細胞の1つの型である。

【0194】

本明細書では、「噴霧器」という用語は、肺へと吸入されるミストの形態にある液体薬剤の投与に使用される機器を指す。

【0195】

本明細書では、「好中球」または「多形核好中球（PMN）」という用語は、哺乳類において最も大量に存在する型の白血球を指し、当該白血球は、自然免疫系の必須部分を形成する。好中球は、好塩基球及び好酸球と共に多形核細胞ファミリー（PMN）の一部を形成する。好中球は、通常、血流において見られる。炎症の（急性）期が開始する間、特に細菌感染及び何らかの癌の結果として、好中球は、炎症部位に向かって遊走する炎症性細胞の最初のレスポnderの1つである。好中球は、血管を介した後、走化性と呼ばれるプロセスにおいて、インターロイキン-8（IL-8）及びC5aなどの化学シグナルに従って間質組織を介して遊走する。走化性は、運動性の細胞または部分の方向性を伴う動きであり、それが誘因性であると思なす環境条件に向かう、化学的な濃度勾配に沿った動き、及び／またはそれが忌避すべきであると判断する環境から離れる動きである。

【0196】

本明細書では、「非小細胞肺癌」という用語は、癌において見られる細胞の種類、及びその細胞が顕微鏡的にどのような外観を有しているかということを対象に命名された、肺癌の1つの群を指す。非小細胞肺癌は、最も一般的な型の肺癌である。扁平上皮癌、大細胞癌、及び腺癌が、3つの主要な型の非小細胞肺癌である。本明細書では、「扁平上皮癌」という用語は、扁平細胞で生じる非小細胞肺癌を指し、扁平細胞は、気道の内膜を形成する組織において見られる薄く平らな細胞である。扁平上皮癌は、気管支に隣接する肺の中心において見られる。「大細胞癌」という用語は、顕微鏡的に観察すると細胞が大型であり、異常な外観を有している肺癌を指す。大細胞癌は、肺のどのような部分にも生じ得るものであり、残りの2つの型と比較して増殖及び伝播する速度が速い傾向を有する。本明細書では、「腺癌」という用語は、腺（分泌性）細胞において生じる癌を指し、腺癌は、肺の外側領域において見られる。本明細書では、「上皮内腺癌（adenocarcinoma in situ）」という用語は、異常細胞が腺組織において見られる病状を指し、当該異常細胞は、癌となり、近くの正常組織へと広がり得る。

【0197】

本明細書では、「正常な健康対照の対象（normal healthy control subject）」という用語は、気道または肺組織の疾患の症状または他の臨床的証拠を有さない対象を指す。

【0198】

本明細書では、「核酸」という用語は、一本鎖形態または二本鎖形態のいずれかのデオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチドのポリマーを指すために使用され、別段の限定がない限り、天然起源のヌクレオチドと類似した様式でそれが一本鎖核酸とハイブリッド形成するという点において、天然のヌクレオチドに必須な性質を有する既知のアナログ（例えば、ペプチド核酸）を包含する。

【0199】

本明細書では、「ヌクレオチド」という用語は、ヘテロ環式塩基、糖、及び1つまたは複数のリン酸基からなる化学化合物を指すために使用される。最も一般的なヌクレオチドでは、塩基は、プリンまたはピリミジンの誘導体であり、糖は、ペントースであるデオキシリボースまたはリボースである。ヌクレオチドは、核酸のモノマーであり、核酸を形成するために3つ以上が共に結合する。ヌクレオチドは、RNA、DNA、ならびに限定はされないが、CoA、FAD、DMN、NAD、及びNADPを含む、いくつかの補助因子の構造単位である。プリンには、アデニン（A）及びグアニン（G）が含まれ、ピリミジンには、シトシン（C）、チミン（T）、及びウラシル（U）が含まれる。

【0200】

本明細書では、2つ以上の核酸またはポリヌクレオチドの間の配列関係性を説明するために下記の用語が使用される：（a）「参照配列」、（b）「比較窓（comparison window）」、（c）「配列相同性」、（d）「配列相同性割合」、及び（e

10

20

30

40

50

) 「実質的相同性」。

【0201】

(a) 「参照配列」という用語は、配列比較の基礎として使用される配列を指す。参照配列は、例えば、全長cDNAもしくは遺伝子配列のセグメント、または完全cDNAもしくは遺伝子配列としての特定配列の一部または全体であり得る。

【0202】

(b) 「比較窓」という用語は、ポリヌクレオチド配列の近接した特定のセグメントを指し、ポリヌクレオチド配列は、参照配列と比較され得、比較窓におけるポリヌクレオチド配列部分は、2つの配列のアライメントが最適となるように参照配列（追加または欠失を含まない）と比較すると、追加または欠失（すなわち、ギャップ）を含み得る。一般に、比較窓の長さは、少なくとも近接ヌクレオチド20残基であり、任意選択で、長さが少なくとも近接ヌクレオチド30残基、長さが少なくとも近接ヌクレオチド40残基、長さが少なくとも近接ヌクレオチド50残基、長さが少なくとも近接ヌクレオチド残基100残基、またはそれよりも長いものであり得る。ポリヌクレオチド配列に含まれるギャップに起因して参照配列との類似性が高くなることを避けるために、典型的には、ギャップペナルティが導入され、これが一致数から差し引かれることを当業者であれば理解している。

【0203】

比較のための配列アライメント法は、当該技術分野においてよく知られている。比較のための最適な配列アライメントは、Smith and Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)の局所相同性アルゴリズムによって、Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)の相同性アライメントアルゴリズムによって、Pearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. 85:2444 (1988)の類似性検索方法によって、こうしたアルゴリズムをコンピュータ化して実装することによって実施してよく、こうしたアルゴリズムをコンピュータ化して実装したものには、限定はされないが、Intelligenetics, Mountain View, CalifによるPC/GeneプログラムにおけるCLUSTALと、Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group (GCG), 575 Science Dr., Madison, Wis., USAにおけるGAP、BESTFIT、BLAST、FASTA、及びTFASTAと、が含まれ、CLUSTALプログラムは、Higgins and Sharp, Gene 73:237-244 (1988)、Higgins and Sharp, CABIOS 5:151-153 (1989)、Corpet, et al., Nucleic Acids Research 16:10881-90 (1988)、Huang, et al., Computer Applications in the Biosciences, 8:155-65 (1992)、及びPearson, et al., Methods in Molecular Biology, 24:307-331 (1994)によって詳しく説明されている。BLASTファミリーのプログラムは、データベースにおける類似性検索に使用することができ、こうしたプログラムには、ヌクレオチドデータベース配列に対するヌクレオチド問い合わせ配列のためのBLASTN、タンパク質データベース配列に対するヌクレオチド問い合わせ配列のためのBLASTX、タンパク質データベース配列に対するタンパク質問い合わせ配列のためのBLASTP、ヌクレオチドデータベース配列に対するタンパク質問い合わせ配列のためのTBLASTN、及びヌクレオチドデータベース配列に対するヌクレオチド問い合わせ配列のためのTBLASTXが含まれる。Current Protocols in Molecular Biology, Chapter 19, Ausubel, et al., Eds., Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York (1995)を参照のこと。

【0204】

別段の記載がない限り、本明細書で提供される配列相同性／類似性値は、BLAST 2.0スイートのプログラムを使用し、デフォルトのパラメーターを使用して得られた値を指す。Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402 (1997)。BLAST解析を実施するためのソフトウェアは、例えば、National Center for Biotechnology Informationを通して公的に利用可能である。このアルゴリズムは、データベース配列中に存在する同一の長さの文字列とアライメントすると、一致するか、またはある正値の限界スコアTを満たす、問い合わせ配列中の長さがWの短い文字列を同定することによって、高スコアリング配列対(HSP)を最初に特定することを含むものである。Tは、近隣文字列スコア限界(neighborhood word score threshold)と称される(前出のAltschul et al.)。こうした最初の近隣文字列ヒットは、それを含む、より長いHSPの検索を開始するための足掛かり(seed)として働く。その後、文字列ヒットは、それぞれの配列に沿って、累積アライメントスコアが増加し得る限り、両方向に拡張される。ヌクレオチド配列については、累積スコアは、パラメーターM(一致残基対に対する報酬(reward)スコア、常に>0)及びパラメーターN(不一致残基に対するペナルティスコア、常に<0)を使用して計算される。アミノ酸配列については、スコアリングマトリックスを使用して累積スコアが計算される。各方向への文字列ヒットの拡張は、累積アライメントスコアが、その最大達成値から数にしてX低下した場合、累積スコアが1つもしくは複数の負のスコアリング残基アライメントの蓄積に起因してゼロ以下に達した場合、またはいずれかの配列の末端に到達した場合に停止される。BLASTアルゴリズムパラメーターであるW、T、及びXは、アライメントの感度及び速度を決定するものである。BLASTNプログラム(ヌクレオチド配列が対象)は、初期設定として、11の文字列長(W)、10の期待値(E)、100のカットオフ、M=5、N=-4、及び両鎖比較を使用する。アミノ酸配列については、BLASTPプログラムは、初期設定として、3の文字列長(W)、10の期待値(E)、及びBLOSUM62スコアリングマトリックスを使用する(Henikoff & Henikoff (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915を参照のこと)。

【0205】

配列相同性割合の計算に加えて、BLASTアルゴリズムは、2つの配列間の類似性の統計解析も実施する(例えば、Karlin & Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5787 (1993)を参照のこと)。BLASTアルゴリズムによって提供される類似性尺度の1つは、最小確率和(smallest sum probability)(P(N))であり、これは、2つのヌクレオチド配列またはアミノ酸配列の間に偶然一致が生じることになる確率の指標を提供するものである。BLAST検索では、タンパク質は無作為配列として形づくられ得るものであると想定している。しかしながら、実際のタンパク質の多くは、非無作為配列の領域を含み、当該領域は、ホモポリマートラクト(homopolymeric tract)、短配列の反復配列(short-period repeat)、または1つもしくは複数のアミノ酸が高頻度で出現する配列であり得る。そのような低複雑性領域では、他のタンパク質領域が完全に異なっているにもかかわらず、関連しないタンパク質間でアライメントが生じ得る。そのように低複雑性領域でアライメントが生じることを減らすために、多くの低複雑性フィルタープログラムを用いてよい。例えば、SEG(Wooten and Federhen, Comput. Chem., 17: 149-163 (1993))及びXNU(Claverie and States, Comput. Chem., 17: 191-201 (1993))の低複雑性フィルターを、単独または組み合わせて用いてよい。

【0206】

(c) 本明細書では、2つの核酸配列またはポリペプチド配列との関連における「配列相同性」または「相同性」という用語は、特定の比較窓にわたって最大一致となるように

アライメントすると、2つの配列において同一となる残基を指すために使用される。配列相同性割合がタンパク質に対する参照において使用されるとき、同一ではない残基位置は、保存性のアミノ酸置換によって異なることが多いと認識され、すなわち、保存性のアミノ酸置換では、アミノ酸残基が、類似の化学特性（例えば、電荷または疎水性）を有する他のアミノ酸残基と置換され、それ故に、分子の機能特性は変化しない。保存性の置換で配列が異なる場合は、配列相同性割合を上方補正することで、置換の保存性を修正してよい。そのような保存性の置換によって異なる配列は、「配列類似性」または「類似性」を有していると言われる。この補正の実施手段は、当業者によく知られている。この場合、典型的には、保存性の置換は、完全不一致ではなく部分不一致としてスコアリングされ、それによって、配列相同性割合は増加する。したがって、例えば、同一アミノ酸に1のスコアが付与される場合、非保存性の置換にはゼロのスコアが付与され、保存性の置換にはゼロ～1の間のスコアが付与される。保存性の置換のスコアリングは、例えば、Meyers and Miller, Computer Applic. Biol. Sci., 4:11-17 (1988) のアルゴリズムに従って計算され、例えば、プログラム PC/GENE (Intelligenetics, Mountain View, Calif., USA) において実施される。

10

【0207】

(d) 本明細書では、「配列相同性割合」という用語は、比較窓にわたって最適にアライメントされた2つの配列を比較することによって決定された値を意味し、比較窓におけるポリヌクレオチド配列部分は、2つの配列のアライメントが最適となるように参照配列（追加または欠失を含まない）と比較すると、追加または欠失（すなわち、ギャップ）を含み得る。割合は、同一の核酸塩基またはアミノ酸残基が両方の配列に生じる位置の数を決定して一致位置数を出し、この一致位置数を、比較窓における総位置数で割り、その結果に100を乗じて配列相同性割合を出すことによって計算される。

20

【0208】

(e) ポリヌクレオチド配列の「実質的相同性」という用語は、標準パラメーターを使用し、記載のアライメントプログラムの1つを使用して参照配列と比較すると、ポリヌクレオチドが、少なくとも70%の配列相同性、少なくとも80%の配列相同性、少なくとも90%の配列相同性、及び少なくとも95%の配列相同性を有する配列を含むことを意味する。こうした値は、コドン縮重度、アミノ酸類似性、リーディングフレームの位置決め、及び同様のものを考慮して適切に補正することで、2つのヌクレオチド配列がコードするタンパク質の対応相同性を決定してよいと当業者であれば認識するであろう。こうした目的のための、アミノ酸配列の実質的相同性は、通常、少なくとも60%、または少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、もしくは少なくとも95%の配列相同性を意味する。ヌクレオチド配列が実質的に同一であるかということの別の指標は、厳密条件下で2つの分子がお互いにハイブリッド形成するかということである。しかしながら、厳密条件下でお互いがハイブリッド形成しない核酸でも、それらがコードするポリペプチドが実質的に同一であれば、依然として実質的に同一である。このことは、例えば、遺伝コードによって可能となるコドン縮重度が最大となるようにして核酸のコピーが創出されるときに起こり得る。2つの核酸配列が実質的に同一であるということの指標の1つは、第1の核酸がコードするポリペプチドが、第2の核酸がコードするポリペプチドとの免疫学的な交差反応性を有するということである。

30

40

【0209】

本明細書では、「機能可能なように連結された (operatively linked)」という語句は、組換えDNA技術または化学反応を介して2つ以上のタンパク質ドメインまたはポリペプチドが連結または結合され、その結果、得られた融合タンパク質のタンパク質ドメインまたはポリペプチドのそれぞれが、その元々の機能を保持する結合を指す。例えば、配列識別番号1は、細胞透過性ペプチド（配列識別番号11）と、治療ドメイン（配列識別番号2）と、が機能可能なように連結され、それによって、配列識別番号11の細胞透過機能と、配列識別番号2のキナーゼ阻害機能と、の両方を有する融合タ

50

ンパク質が創出されることによって構築される。

【0210】

本明細書では、「予後 (outcome)」という用語は、測定可能な特定の結果または効果を指す。予後の例には、限定はされないが、痛みの減少、腫瘍サイズの減少、及び疾患の改善が含まれる。

【0211】

本明細書では、「全生存期間 (overall survival)」または「OS」という用語は、癌などの疾患の診断日または治療開始日のいずれかを起点とし、その疾患の診断を受けた患者が依然として生存している期間の長さを指す。

【0212】

本明細書では、「実質 (parenchyma)」という用語は、結合組織または血管とは対照的に、臓器の必須部分を構成する動物組織を指す。「実質性 (parenchymal)」という用語は、臓器の実質に関することを意味する。

【0213】

本明細書では、「非経口」という用語は、注射の手段による体への導入（すなわち、注射による投与）を指し、当該導入には、例えば、皮下（すなわち、皮下への注射）、筋肉内（すなわち、筋肉への注射）、静脈内（すなわち、静脈への注射）、髄腔内（脊髄周囲の空間への注射または脳のくも膜下への注射）、胸骨内への注射手法または注入手法が含まれると共に、体腔（例えば、腹膜）への腹腔内注射または腹腔内注入が含まれる。非経口的に投与される組成物は、例えば、外科用針といった針、または他の身体アクセス機器を使用して送達される。本明細書では、「外科用針 (surgical needle)」という用語は、選択される解剖学的構造への、液体（すなわち、流動能力を有する）組成物の送達に適応する任意のアクセス器具を指す。無菌であり注射用の水性懸濁液または油性懸濁液などの注射用製剤は、適した分散剤または湿潤剤及び懸濁剤を使用して、既知の技術に従って製剤化してよい。

【0214】

本明細書では、「微粒子 (particulate)」という用語は、ガスまたは液体に懸濁された固体物質または液体物質の微粒子 (fine particle) を指す。

【0215】

本明細書では、「粒子」という用語は、本明細書に記載の組成物をその中または表面に含む極度に小さな構成物（例えば、フェムト粒子 (10^{-15}m)、ピコ粒子 (10^{-12})、ナノ粒子 (10^{-9}m)、マイクロ粒子 (10^{-6}m)、ミリ粒子 (10^{-3}m)）を指す。粒子は、任意の次数の放出動力学を有し得、こうしたものには、ゼロ次放出、一次放出、二次放出、遅延放出、持続放出、即時放出等、及びそれらの任意の組み合わせが含まれる。粒子は、治療薬剤（複数可）に加えて、薬学及び医学の分野において日常的に使用される任意の材料を含み得、こうした材料には、限定はされないが、受食性材料、非受食性材料、生分解性材料、もしくは非生分解性材料、またはそれらの組み合わせが含まれる。

【0216】

本明細書では、「医薬的に許容可能な担体」という用語は、本発明の単離ポリペプチドが安定性及び生物学的利用性を保持するであろう、医薬製剤の投与に従来通り使用可能な実質的に非毒性の任意の担体を指す。医薬的に許容可能な担体は、それが治療中の哺乳類への投与に適切なものとなるように、純度が十分に高く、毒性が十分に低くなくてはならない。さらに、医薬的に許容可能な担体は、活性薬剤の安定性及び生物学的利用性を維持すべきである。医薬的に許容可能な担体は、液体または固体であり得、活性薬剤及び所与の組成物の他の構成成分と組み合わせるときは、計画される投与様式を考慮し、所望の体積、整合性等が得られるように選択される。

【0217】

「医薬的に許容可能な塩」という用語は、過度の毒性、刺激作用、アレルギー応答、及び同様のものを伴うことなく、健全な医学的判断の範囲内で、ヒト及び下等動物の組織との接触使用に適しており、合理的な利益／危険比に見合う塩を意味する。

【0218】

本明細書では、「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、互換的に使用され、アミノ酸残基のポリマーを指す。用語は、天然起源のアミノ酸ポリマーに対してだけではなく、1つまたは複数のアミノ酸残基が、対応する天然起源のアミノ酸の人工的な化学アナログであるアミノ酸ポリマーに対しても適用される。天然起源のアミノ酸のそのようなアナログに必須となる性質は、タンパク質に組み込まれたとき、そのタンパク質が、同一ではあるが完全に天然起源のアミノ酸からなるタンパク質に結合する抗体と特異的に反応するというものである。

【0219】

本明細書では、「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語は、それが有する最も広い意味においても使用され、サブユニットアミノ酸、アミノ酸アナログ、またはペプチド模倣物の配列を指す。別段の記載がある場合は除き、サブユニットは、ペプチド結合によって連結される。本明細書に記載のポリペプチドは、化学的に合成されてよく、または組換え的に合成されてよい。記載の発明のポリペプチドは、化学的に合成することもできる。合成ポリペプチドは、よく知られる固相手法、液相手法、もしくはペプチド縮合手法、またはそれらの任意の組み合わせを使用して調製され、天然アミノ酸及び非天然アミノ酸を含み得る。ペプチド合成に使用されるアミノ酸は、Merrifield (1963, J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-2154) の元々の固相手順である標準的な脱保護、中和、カップリング、及び洗浄のプロトコルを用いる標準的なBoc (N- α -アミノ保護されたN- α -t-ブチルオキシカルボニル) アミノ酸樹脂であり得るか、またはCarpino and Han (1972, J. Org. Chem. 37: 3403-3409) によって最初に報告された、塩基切断性であり、N- α -アミノ保護された9-フルオレニルメトキシカルボニル (Fmoc) アミノ酸であり得る。FmocでN- α -アミノ保護されたアミノ酸と、BocでN- α -アミノ保護されたアミノ酸とは両方共、Sigma, Cambridge Research Biochemical、または当業者に知られる他の化学会社から入手することができる。さらに、ポリペプチドは、当業者に知られる他のN- α -保護基を用いて合成することができる。固相ペプチド合成は、当業者に知られる手法によって達成してよく、例えば、Stewart and Young, 1984, Solid Phase Synthesis, Second Edition, Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.; Fields and Noble, 1990, Int. J. Pept. Protein Res. 35: 161-214において報告されており、または自動化合成機を使用して達成してよい。本発明のポリペプチドは、D-アミノ酸 (インビボでL-アミノ酸特異的プロテアーゼに対する抵抗性を有する)、D-アミノ酸及びL-アミノ酸の組み合わせ、ならびにさまざまな「デザイナー (designer)」アミノ酸 (例えば、 β -メチルアミノ酸、C- α -メチルアミノ酸、及びN- α -メチルアミノ酸等) を含むことで、特殊な特性を備えてよい。合成アミノ酸には、リジンについてはオルニチン、及びロイシンまたはイソロイシンについてはノルロイシンが含まれる。さらに、ポリペプチドは、新規の特性を有するペプチドを調製するために、エステル結合などのペプチド模倣結合を有し得る。例えば、還元型ペプチド結合、すなわち、R1-CH₂-NH-R2を含むペプチドを生成させてよく、式中、R1及びR2は、アミノ酸残基またはアミノ酸配列である。還元型ペプチド結合は、ジペプチドサブユニットとして導入してよい。そのようなポリペプチドであれば、プロテアーゼ活性に対して抵抗性であろうし、インビボでの半減期は長期化するであろう。したがって、こうした用語は、天然起源のアミノ酸ポリマーに対してだけではなく、1つまたは複数のアミノ酸残基が、対応する天然起源のアミノ酸の人工的な化学アナログであるアミノ酸ポリマーに対しても適用される。天然起源のアミノ酸のそのようなアナログに必須となる性質は、タンパク質に組み込まれたとき、そのタンパク質が、同一ではあるが完全に天然起源のアミノ酸からなるタンパク質に結合する抗体と特異的に反応するというものである。

【0220】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、修飾も含み、こうした修飾には、限定はされないが、糖鎖付加、脂質付加、硫酸化、グルタミン酸残基のガンマーカルボキシル化、水酸化、及びADP-リボシル化が含まれる。よく知られており、上にも記載したことであるが、ポリペプチドは完全に直線的とはなり得ないことを理解されるであろう。例えば、ポリペプチドは、ユビキチン化の結果として分岐し得るものであり、一般に、天然のプロセシング事象を含む、翻訳後に生じる事象の結果として、及び天然には生じない、ヒトが操作することによってもたらされる事象の結果として、分岐の有無を問わず、ポリペプチドは環状となり得る。環状、分岐、及び分岐環状のポリペプチドは、非翻訳天然プロセスによって合成され得ると共に、完全に合成の方法によっても合成され得る。いくつかの実施形態では、ペプチドは、任意の長さまたはサイズを有する。

10

【0221】

「原発腫瘍」または「原発癌」という用語は、互換的に使用され、体における元々の腫瘍または最初の腫瘍を指す。原発癌に由来する癌細胞は、体の他の部分に伝播し、新たな腫瘍または二次腫瘍を形成し得る。これは、転移と呼ばれる。二次腫瘍は、原発癌と同一型の癌である。

【0222】

本明細書では、「酵素前駆体 (proenzyme)」または「酵素前駆体 (zymogen)」という用語は、不活性な酵素前駆体を指す。酵素前駆体は、それが活性酵素となるには、生化学的変化 (活性部位を露出させる加水分解反応または活性部位を露出するための立体配置変化など) が必要である。生化学的変化は、通常、リソソームにおいて生じるものであり、そこでは、前駆体酵素を活性化するために前駆体酵素の特定部位が切断される。活性化に際して遊離するアミノ酸鎖は、活性化ペプチドと呼ばれる。

20

【0223】

本明細書では、「進行 (progression)」という用語は、癌などの疾患の過程であり、体においてその疾患が悪化または伝播する過程を指す。

【0224】

本明細書では、「無進行生存期間 (progression-free survival)」またはPFSという用語は、癌などの疾患の治療の間またはその後の期間の長さであって、疾患を有するが、悪化することなく患者が生存する期間の長さを指す。

30

【0225】

本明細書では、「増殖」という用語は、単一細胞が連続的に分裂して同一の娘細胞となることによって細胞集団が増殖することを指す。

【0226】

本明細書では、「肺間質」という用語は、肺の空気嚢の周囲の組織及び空間を指す。

【0227】

本明細書では、「肺胞 (pulmonary alveolus)」という用語は、空洞形態を有する解剖学的な構造を指す。肺胞は、肺の呼吸領域に位置し、肺胞管及び心房の遠位終結において、気道の終結点を形成している。肺胞は、血液とのガス交換を行う呼吸器部の球状突出部であり、哺乳類の肺においてのみ見られる。肺胞膜は、ガス交換面である。血液は、肺胞へと放出するために体の残部から二酸化炭素を運び、肺胞中の酸素は、肺胞血管中の血液によって取り込まれることで、体の細胞すべてに輸送される。肺胞は、何らかのコラーゲン及び弾性の線維を含む。弾性線維によって、息を吸うときに生じる肺胞への空気流入に伴う肺胞の伸長が可能となる。その後、肺胞は、二酸化炭素含量が高い空気を排出するために、息を吐く間に弾性によって元に戻る。肺胞壁には、下記の3つの主要な肺胞細胞型が存在する。(1) 肺胞壁構造を形成する扁平肺胞細胞、(2) 肺サーファクタントを分泌して水の表面張力を低下させ、膜の離散を可能にすることによってガス交換能力を高める大肺胞細胞、(3) 細菌などの外来病原体を破壊するマクロファージ。

40

【0228】

50

本明細書では、「再発癌」または「再発」という用語は、通常、癌が検出不可能であった期間の後に再発（再現）することである。癌は、元々の（原発）腫瘍と同一の場所または体の別の場所に再現し得る。

【0229】

本明細書では、「低減する（reduce）」または「低減（reducing）」という用語は、障害発症リスクを有する個体における障害の度合い、強度、程度、サイズ、量、密度、数、または発症の減少（diminution）、減少（decrease）、減弱、限定、または寛解を指す。

【0230】

本明細書では、「抵抗性（refractory）」という用語は、治療に応答しない癌を指す。

10

【0231】

本明細書では、「寛解」という用語は、癌の徴候及び症状の減少または消失を指す。部分寛解では、癌の徴候及び症状が、すべてではないが幾分か消失している。完全寛解では、癌の徴候及び症状のすべてが消失しているが、癌は依然として体に存在し得る。

【0232】

本明細書では、固形癌効果判定基準（または「RECIST」）という用語は、治療に対して癌患者がどの程度の応答を示すかを測定する標準方法を指す。これは、腫瘍が縮小、現状維持、または巨大化するかということに基づく。RECISTを使用するには、x線、CT走査、またはMRI走査で測定可能な腫瘍が少なくとも1つ存在しなくてはならない。患者が有し得る応答型は、完全奏功（CR）、部分奏功（PR）、進行疾患（PD）、及び安定疾患（SD）である。

20

【0233】

本明細書では、「徴候」という用語は、身体検査または臨床検査で見つかり、人が病状または疾患を有し得ることを示す何かを指す。

【0234】

「類似の（similar）」という用語は、類似の（analogous）、同等の、または類似している（resembling）という用語と互換的に使用され、共通した形質または特徴を有することを意味する。

【0235】

本明細書では、「溶液」という用語は、2つ以上の物質の均一な混合物を指す。溶液は、必ずしも必要ではないが、液体であることが多い。溶液では、溶質分子（または溶解物質）は、溶媒中で均一に分布する。

30

【0236】

「可溶性」及び「溶解度」という用語は、特定の液体（溶媒）に溶解し易い特性を指す。「不溶性」という用語は、特定の溶媒への溶解度が最小であるか、または限定される材料の特性を指す。溶液では、溶質分子（または溶解物質）は、溶媒中で均一に分布する。

【0237】

本明細書では、「ストレス線維（stress fiber）」という用語は、アクチンフィラメント、架橋タンパク質（2つ以上のフィラメントを共に結合するタンパク質）、及びミオシンIIモーターからなる、細胞における高次構造を指す。アクチンは、球状タンパク質（約43kDa）であり、これが重合して、お互いが巻き付いた2つのプロトフィラメントを有する規則正しいフィラメント構造を形成し、その結果、「マイクロフィラメント」としも知られる単一の「アクチンフィラメント」が形成される。ストレス線維では、ミオシンモーターが動き、アクチンフィラメントをお互いがすれ違うように滑らせることで線維が収縮し得る。収縮が力を生み出すためには、線維は何かに固定されなくてはならない。ストレス線維は、細胞膜に固定され得るものであり、この固定が生じる部位は、細胞の外側の構造（マトリックスまたは何らかの他の基質）にも結合していることが多い。こうした結合部位は、接着斑と呼ばれる。タンパク質の多くは、接着斑の適切な生成及び維持を必要とする。こうした固定外部基質に対する収縮は、ミオシンモーターによ

40

50

る力の産生、ならびにフィラメント成長、ならびに細胞を移動及び再成形するための再編成を可能にするものである。

【0238】

「対象」または「個体」または「患者」という用語は、互換的に使用され、哺乳類起源の動物種のメンバーを指す。こうしたメンバーには、限定はされないが、マウス、ラット、ネコ、ヤギ、ヒツジ、ウマ、ハムスター、ケナガイタチ、カモノハシ、ブタ、イヌ、モルモット、ウサギ、及び例えば、サル、類人猿、またはヒトなどの霊長類が含まれる。

【0239】

本明細書では、「そのような治療を必要とする対象」という語句は、疾患、障害、病状、または病理学的プロセスに苦しむ患者を指す。いくつかの実施形態では、「そのような治療を必要とする対象」という用語は、語句の関連及び用法が示されない限りは、(i) 本発明のペプチドの少なくとも1つを投与されることになる患者、(ii) 本発明のポリペプチドの少なくとも1つを投与されている患者、または(iii) 本発明のポリペプチドの少なくとも1つを投与されたことがある患者を指すためにも使用される。

【0240】

本明細書では、「実質的阻害」、「実質的に阻害された」という用語及び同様のものは、少なくとも50%の阻害、少なくとも55%の阻害、少なくとも60%の阻害、少なくとも65%の阻害、少なくとも70%の阻害、少なくとも75%の阻害、少なくとも80%の阻害、少なくとも85%の阻害、少なくとも90%の阻害、少なくとも95%の阻害、または少なくとも99%の阻害を指す。

【0241】

本明細書では、「置換」という用語は、DNA配列において、1つまたは複数の塩基が別の1つまたは複数の塩基と交換される状況を指すために使用される。置換は、同義置換または非同義置換であり得る。本明細書では、「同義置換」は、産生するアミノ酸配列に改変が生じないように、タンパク質コード遺伝子のエクソンにおける1つの塩基を別の塩基で置換することを指す。本明細書では、「非同義置換」という用語は、産生するアミノ酸配列に改変が生じるように、タンパク質コード遺伝子のエクソンにおける1つの塩基を別の塩基で置換することを指す。

【0242】

本明細書では、「生存率」という用語は、特定の期間で疾患（例えば、癌）から生存する個体の割合を指す。例えば、特定の癌の5年生存率が34%であるならば、その癌を有すると最初に診断された100個体のうち、34個体が5年後に生存しているであろうことを意味する。

【0243】

本明細書では、「懸濁液(suspension)」という用語は、精細に分割された種が別の種と混合された分散液(混合物)を指し、前者の種は精細に分割及び混合されるため、すぐに沈降することはない。日常生活における、最も一般的な懸濁液は、液体における固体懸濁液である。

【0244】

本明細書では、「持続放出(sustained release)」、「長期放出(extended release)」とも称される)という用語は、その通常の意味において使用され、長期間にわたって薬物徐放を提供し、その結果、長期間にわたって薬物レベルを実質的に一定とし得る薬物製剤を指す。

【0245】

本明細書では、「症状」という用語は、徴候または疾患または病状を指す。本明細書では、「症状管理」、「緩和療法」、または「支持療法」という用語は、互換的に使用され、重篤な疾患または生命を脅かす疾患を有する患者の生活の質(QOL)を改善するために実施される治療を指す。

【0246】

活性薬剤の「治療量」、「有効量」、または「医薬的に有効な量」という用語は、互換

10

20

30

40

50

的に使用され、意図される治療利益の提供に十分な量を指す。例えば、記載の発明のキナーゼ阻害性組成物の「治療量」には、限定はされないが、癌細胞の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、癌細胞死の誘導、腫瘍の化学療法抵抗性の克服、腫瘍の化学療法感受性の増進、またはそれらの組み合わせに十分な量が含まれる。用語は、非小細胞肺癌患者の少なくとも1つの症状の抑制または軽減に十分な量も包含し、症状には、限定はされないが、胸痛、咳、咯血、疲労、食欲不振、意図しない体重減少、息切れ、喘鳴、気管支炎及び肺炎などの再発性感染、骨痛（例えば、背部または臀部のもの）、神経系の異変（例えば、頭痛、腕または脚の脱力または痺れ、眩暈、平衡障害、発作）、皮膚及び目の黄変（すなわち、黄疸）、体表付近のしこり、片方の眼瞼の下垂または脱力であり、同一の眼の瞳孔縮小、及び顔の同側の発汗の減少または消失を伴うもの（ホルネル症候群）、皮膚色が青みを帯びた赤色となることによって生じることが多い、顔、首、腕、及び上胸部の腫れ（上大静脈症候群）、腎臓による水貯留の結果として生じる疲労、食欲不振、筋力低下、筋痙攣、嘔気、嘔吐、不穏状態、及び錯乱（抗利尿ホルモン不適合症候群（*syndrome of inappropriate anti-diuretic hormone*））、副腎によるコルチゾール分泌の結果として生じる体重増加、あざの出来やすさ、脱力、眠気、及び体液貯留（クッシング症候群）、臀部周囲筋肉の脱力（ランバート・イートン（*Lambert-Eaton*）症候群）、平衡感覚の減少と腕及び脚の動作の不安定性（傍腫瘍性小脳変性症）、高血中カルシウムレベル（高カルシウム血症）、ある特定の骨の過剰成長（例えば、指先の骨）、血餅、ならびに男性における乳房の過剰成長（女性化乳房）が含まれる。

10

20

【0247】

記載の発明によれば、用いることのできる活性薬剤の有効量範囲は、一般に、約0.001mg/体重kg～約10g/体重kgである。しかしながら、投与量レベルは、損傷の型、患者の年齢、体重、性別、医学的病状、病状の重症度、投与の経路及び頻度、ならびに用いる特定の活性薬剤を含む、さまざまな因子に基づくものである。したがって、投与量レジメンは、大きく変わってよいが、医師であれば標準的な方法を使用して日常的に決定することができる。

【0248】

「治療（*treat*）」または「治療（*treating*）」という用語には、疾患、病状、または障害の進行の抑止、実質的な阻害、遅延、または回復と、病状の臨床的または外観的（*esthetic*）な症状の実質的な寛解と、疾患、病状、または障害の臨床的または外観的な症状の実質的な出現予防と、有害または不快な症状からの保護と、が含まれる。さらに、治療は、下記の1つまたは複数の達成を指す：（a）障害重症度の低減、（b）治療中の障害（複数可）に特徴的な症状の発症制限、（c）治療中の障害（複数可）に特徴的な症状の悪化制限、（d）障害（複数可）を以前に経験したことがある患者における障害（複数可）の再発制限、及び（e）障害（複数可）の症状が以前はなかった患者における症状の再発制限。

30

【0249】

本明細書では、「腫瘍」という用語は、体の他の部分に浸潤または伝播する潜在力（転移）を伴って、細胞の数（増殖）またはサイズが異常に増加する疾患を指す。

40

【0250】

本明細書では、「腫瘍負荷（*tumor burden*）」または「腫瘍負荷（*tumor load*）」という用語は、互換的に使用され、体における癌細胞の数、腫瘍のサイズ、または癌の量を指す。

【0251】

本明細書では、「腫瘍壊死因子」という用語は、抗原または感染に応答して、白血球によって生じるサイトカインであり、腫瘍細胞の壊死（死）を誘導し、幅広い範囲の炎症促進性作用を有するものを指す。腫瘍壊死因子は、脂質代謝、凝固、インスリン抵抗性、及び血管内皮細胞の機能に対する作用を有する多機能性サイトカインでもある。

【0252】

50

本明細書では、「変異体 (variant)」、「変異体 (mutant)」、及び「誘導体 (derivative)」という用語は、参照するヌクレオチド配列またはポリペプチド配列に対する実質的相同性を有するヌクレオチド配列またはポリペプチド配列を指すために使用される。配列における差異は、配列または構造が天然に変化したか、または設計によって変化した結果であり得る。天然の変化は、特定核酸配列本来の正常な複製 (replication) または複製 (duplication) の過程で生じ得る。設計による変化は、特定の目的のために特異的に設計され、配列に導入され得る。そのような特異的变化は、さまざまな変異誘発手法を使用することで、インビトロで生じ得る。特異的に生じたそのような配列変異体は、元々の配列の「変異体」または「誘導体」と称され得る。

10

【0253】

同様に、当業者は、ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列識別番号1) にアミノ酸の単一または複数の置換、欠失、付加、または交換を有するが、配列識別番号1と機能的に同等のポリペプチド変異体を産生させることができる。こうした変異体には、数ある中でも特に、(a) 1つまたは複数のアミノ酸残基が保存性または非保存性のアミノ酸で置換された変異体、(b) 1つまたは複数のアミノ酸が付加された変異体、(c) 少なくとも1つのアミノ酸が置換基を含む変異体、(d) 保存位置または非保存位置のいずれかで、1つの種に由来するアミノ酸残基が別の種の対応残基で置換された変異体、及び(d) 標的タンパク質が、例えば、抗体のエピトープといった標的タンパク質に対する有用な特性を付与し得る、融合パートナー、タンパク質タグ、または他の化学部分などの、別のペプチドまたはポリペプチドと融合した変異体が含まれ得る。そのような変異体の取得手法には、限定はされないが、遺伝子的 (抑制、欠失、変異等)、化学的、及び酵素的な手法が含まれ、こうした手法は、当業者に知られている。本明細書では、「変異」という用語は、生物の遺伝子中または染色体中のDNA配列の変化であって、その変化の結果として、親型には見られない新たな特徴もしくは形質が創出される変化を指すか、またはそのような変化が、遺伝子をコードするDNAのヌクレオチド配列の変更、もしくは染色体の物理的な配置の変化のいずれかを介して染色体に生じるプロセスを指す。変異機構には、置換 (1つの塩基対と別の塩基対との交換)、付加 (1つまたは複数の塩基の配列への挿入)、及び欠失 (1つまたは複数の塩基対の消失) という3つが含まれる。

20

30

【0254】

本明細書では、「媒体」という用語は、薬物、または薬物と共に混合される他の材料の使用を促進する物質を指す。

【0255】

I. 組成物：非小細胞肺癌 (NSCLC) の徴候または症状の治療を目的とする治療ペプチド

1つの態様によれば、記載の発明は、腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌 (NSCLC) 固形腫瘍の治療における使用を目的とする医薬組成物を提供し、

【0256】

医薬組成物は、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列識別番号1) を有するポリペプチドまたはその機能的同等形態の治療量、及びその医薬的に許容可能な担体を含み、ならびに治療量は、腫瘍細胞集団における、表1に記載の群から選択されるキナーゼのキナーゼ活性の阻害、及び癌細胞の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、腫瘍細胞死の誘導、腫瘍の化学療法抵抗性の克服、腫瘍の化学療法感受性の増進、またはそれらの組み合わせに有効であり得る。

40

【0257】

1つの実施形態によれば、腫瘍は、原発腫瘍である。別の実施形態によれば、腫瘍は、二次腫瘍である。別の実施形態によれば、腫瘍は、再発腫瘍である。別の実施形態によれば、腫瘍は、化学療法に対する抵抗性を有する腫瘍である。

【0258】

50

いくつかの実施形態によれば、原発腫瘍は、扁平上皮癌、腺癌、または大細胞癌である。

【0259】

いくつかの実施形態によれば、二次腫瘍または転移部位は、肺組織、副腎組織、骨組織、肝臓組織、または脳組織のうちの1つまたは複数である。

【0260】

いくつかの実施形態によれば、癌細胞死は、限定はされないが、アポトーシスを含み得る。

【0261】

いくつかの実施形態によれば、インビボでのMMI阻害剤の阻害プロファイルは、投与量、投与経路、及び阻害剤に応答する細胞型に依存する。

【0262】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも50%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも65%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、そのキナーゼのキナーゼ活性を少なくとも75%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、そのキナーゼのキナーゼ活性を少なくとも80%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、そのキナーゼのキナーゼ活性を少なくとも85%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、そのキナーゼのキナーゼ活性を少なくとも90%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、そのキナーゼのキナーゼ活性を少なくとも95%阻害する。

【0263】

いくつかの実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2キナーゼ) のキナーゼ活性の阻害に有効である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物は、MK2キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも50%阻害する。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物は、MK2キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも65%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK2キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも75%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK2キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも80%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK2キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも85%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK2キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも90%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK2キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも95%阻害する。

【0264】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3 (MK3キナーゼ) のキナーゼ活性の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK3キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも50%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK3キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも65%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK3キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも70%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK3キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも75%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK3キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも80%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK3キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも85%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK3キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも90%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK3キナーゼのキナーゼ活性を少なくとも95%阻害する。

【0265】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI (CaMKI) のキナーゼ活性の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、さらに、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI (CaMKI) のキナーゼ活性を少なくとも50%阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は

、さらに、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMKI) のキナーゼ活性を少なくとも 65 % 阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、さらに、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMKI) のキナーゼ活性を少なくとも 70 % 阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、さらに、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMKI) のキナーゼ活性を少なくとも 75 % 阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、さらに、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMKI) のキナーゼ活性を少なくとも 80 % 阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、さらに、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMKI) のキナーゼ活性を少なくとも 85 % 阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、さらに、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMKI) のキナーゼ活性を少なくとも 90 % 阻害する。別の実施形態によれば、医薬組成物は、さらに、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMKI) のキナーゼ活性を少なくとも 95 % 阻害する。

【0266】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬物 (pharmaceutical) は、さらに、BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性を少なくとも 50 % 阻害する。別の実施形態によれば、医薬物は、さらに、BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性を少なくとも 65 % 阻害する。別の実施形態によれば、医薬物は、さらに、BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性を少なくとも 70 % 阻害する。別の実施形態によれば、医薬物は、さらに、BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性を少なくとも 75 % 阻害する。

【0267】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK2) のキナーゼ活性、及び分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 3 (MK3) のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0268】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK2) のキナーゼ活性、及びカルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMKI) のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0269】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK2) のキナーゼ活性、及び BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0270】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK2) のキナーゼ活性、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 3 (MK3) のキナーゼ活性、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMKI) のキナーゼ活性、及び BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0271】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK2) のキナーゼ活性、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMKI) のキナーゼ活性、及び BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0272】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK2) のキナーゼ活性の少なくとも 65 % の阻害に有効である。

。

【0273】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3 (MK3) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0274】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI (CaMKI) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0275】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、BDNF／NT-3成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

10

【0276】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、及び分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3 (MK3) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0277】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、及びカルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI (CaMKI) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

20

【0278】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、及びBDNF／NT-3成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0279】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3 (MK3) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI (CaMKI) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、及びBDNF／NT-3成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

30

【0280】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、MK2、MK3、CaMKI、TrkBの群から選択される少なくとも1つのキナーゼのキナーゼ活性の阻害に有効であり、本明細書の表1に記載の残りの群から選択される1つまたは複数の他のキナーゼの活性を実質的に阻害しない。

【0281】

いくつかの実施形態によれば、インビボでのMMI阻害剤の阻害プロファイルは、投与量、投与経路、及び阻害剤に応答する細胞型に依存する。

40

【0282】

そのような実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の50%未満の阻害に有効である。そのような実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の65%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の50%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の40%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の20%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の15%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、

50

医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の10%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の5%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼのキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0283】

直前のパラグラフの実施形態によれば、実質的に阻害されない1つまたは複数の他に選択されるキナーゼは、 Ca^{2+} /カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼII（CaMKII）であり、そのCaMKIIδサブユニットが含まれる）、癌原遺伝子セリン/スレオニン-タンパク質キナーゼ（PIM-1）、細胞内-肉腫（c-SRC）、脾臓チロシンキナーゼ（SYK）、C-srcチロシンキナーゼ（CSK）、及びインスリン様増殖因子1受容体（IGF-1R）の群から選択されるキナーゼである。

10

【0284】

いくつかの実施形態によれば、医薬組成物は、少なくとも1つの追加の治療薬剤をさらに含む。

【0285】

いくつかのそのような実施形態によれば、追加の治療薬剤は、化学療法薬剤である。化学療法薬剤の例には、限定はされないが、Abiraterone（メトトレキサート）、Abraxane（パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤）、アファチニブマレイン酸塩、Alimta（ペメトレキセド二ナトリウム）、Avastin（ベバシズマブ）、ベバシズマブ（Bvacizumab）、カルボプラチン、セリチニブ、シスプラチン、クリゾチニブ、Cyramza（ラムシルマブ）、ドセタキセル、エルロチニブ塩酸塩、Folex PFS（メトトレキサート）、ゲフィチニブ、Gilotrif（アファチニブマレイン酸塩）、ゲムシタビン塩酸塩、Gemzar（ゲムシタビン塩酸塩）、Iressa（ゲフィチニブ）、メクロレタミン塩酸塩、メトトレキサート、メトトレキサートLPF（メトトレキサート）、Mexate（メトトレキサート）、Mexate-AQ（メトトレキサート）、Mustargen（メクロレタミン塩酸塩）、Navelbine（ビノレルビン酒石酸塩）、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤、Paraplat（カルボプラチン）、Paraplatin（カルボプラチン）、ペメトレキセド二ナトリウム、Platinol（シスプラチン）、Platinol-AQ（シスプラチン）、ラムシルマブ、Tarceva（エルロチニブ塩酸塩）、タキソール（パクリタキセル）、タキソテル（ドセタキセル）、ビノレルビン酒石酸塩、Xalkori（クリゾチニブ）、Zykadia（セリチニブ）、カルボプラチン-タキソール、及びゲムシタビン-シスプラチンが含まれる。

20

30

【0286】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、鎮痛剤である。いくつかの実施形態によれば、鎮痛剤は、知覚の攪乱または他の感覚様相の変更を伴わずに痛みの閾値を上昇させることによって痛みを軽減する。いくつかのそのような実施形態によれば、鎮痛剤は、非オピオイド鎮痛剤である。「非オピオイド鎮痛剤」は、痛みを低減するが、オピオイド鎮痛剤ではない天然物質または合成物質である。非オピオイド鎮痛剤の例には、限定はされないが、エトドラク、インドメタシン、スリンダク、トルメチン、ナブメトン、ピロキシカム、アセトアミノフェン、フェノプロフェン、フルルビプロフェン、イブプロフェン、ケトプロフェン、ナプロキセン、ナプロキセンナトリウム、オキサプロジン、アスピリン、トリサリチル酸コリンマグネシウム、ジフルニサル、メクロフェナム酸、メフェナム酸、及びフェニルブタゾンが含まれる。いくつかの他の実施形態によれば、鎮痛剤は、オピオイド鎮痛剤である。「オピオイド鎮痛剤」、「オピオイド」、または「麻薬性鎮痛剤」は、中枢神経系においてオピオイド受容体に結合し、アゴニスト作用を生成する天然物質または合成物質である。オピオイド鎮痛剤の例には、限定はされないが、コデイン、フェンタニル、ヒドロモルホン、レボルファノール、メペリジン、メサドン、モルヒネ、オキシコドン、オキシモルフォン、プロボキシフェン、ブプレノルフィン、ブトルファノール、デゾシン、ナルブフィン、及びペンタゾシンが含まれる。

40

50

【0287】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、抗感染症剤である。別の実施形態によれば、抗感染症剤は、抗生物質薬剤である。本明細書では、「抗生物質薬剤 (antibiotic agent)」という用語は、主に感染性疾患の治療において使用され、細菌及び他の微生物の増殖阻害能力または破壊能力を有する、任意の群の化学物質を意味する。抗生物質薬剤の例には、限定はされないが、ペニシリンG、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、アンピシリン、アモキシシリン、チカルシリン、カルベニシリン、メズロシリン、アズロシリン、ピペラシリン、イミペネム、アズトレオナム、セファロチン、セファクロル、セフォキシチン、セフロキシム、セフォニシド、セフメタゾール、セフォテタン、セフプロジル、ロラカルベフ、セフェタメト、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セフトジジム、セフェピム、セフィキシム、セフボドキシム、セフスロジン、フレロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、シプロフロキサシン、オフロキサシン、エノキサシン、ロメフロキサシン、シノキサシン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、テトラサイクリン、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネチルマイシン、トブラマイシン、ストレプトマイシン、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、エリスロマイシン、エリスロマイシンエステル、エチルコハク酸エリスロマイシン、グルコヘプトン酸エリスロマイシン、ラク Tobio ン酸エリスロマイシン、ステアリン酸エリスロマイシン、バンコマイシン、テイコプラニン、クロラムフェニコール、クリンダマイシン、トリメトプリム、スルファメトキサゾール、ニトロフラントイン、リファンピン、ムピロシン、メトロニダゾール、セファレキシン、ロキシスロマイシン、コーアモキシクラブアネート (Co-amoxiclavulanate)、ピペラシリン及びタゾバクタムの組み合わせ、ならびにそれらのさまざまな塩、酸、塩基、及び他の誘導体が含まれる。抗菌抗生物質薬剤には、限定はされないが、ペニシリン、セファロスポリン、カルバセフェム、セファマイシン、カルバペネム、モノバクタム、アミノ配糖体、糖ペプチド、キノロン、テトラサイクリン、マクロライド、及びフルオロキノロンが含まれる。

10

20

【0288】

いくつかの他の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、気管支拡張剤を含み、当該気管支拡張剤には、限定はされないが、ロイコトリエンモディファイヤー (leukotriene modifie r)、抗コリン気管支拡張剤、 β 2-アゴニスト、またはそれらの組み合わせが含まれる、

30

【0289】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、副腎皮質ステロイドを含み、当該副腎皮質ステロイドには、限定はされないが、プレドニゾン、ブデソニド、モメタゾン、ベクレメタゾン (beclemethasone)、またはそれらの組み合わせが含まれる。

【0290】

いくつかの他の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、気管支拡張剤を含み、当該気管支拡張剤には、限定はされないが、ロイコトリエンモディファイヤー、抗コリン気管支拡張剤、 β 2-アゴニスト、またはそれらの組み合わせが含まれる、

40

【0291】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、副腎皮質ステロイドを含み、当該副腎皮質ステロイドには、限定はされないが、プレドニゾン、ブデソニド、モメタゾン、ベクレメタゾン (beclemethasone)、またはそれらの組み合わせが含まれる。

【0292】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、抗炎症剤である。

【0293】

別の実施形態によれば、抗炎症剤は、非ステロイド性抗炎症剤である。非ステロイド性抗炎症剤の混合物を用いてもよい。

【0294】

別の実施形態によれば、非ステロイド性抗炎症剤は、トランスフォーミング増殖因子-

50

$\beta 3$ (TGF- $\beta 3$)、抗腫瘍壊死因子-アルファ (TNF- α) 薬剤、またはそれらの組み合わせを含む。

【0295】

別の実施形態によれば、抗炎症剤は、ステロイド性抗炎症剤である。別の実施形態によれば、ステロイド性抗炎症剤は、プレドニゾン、ブデソニド、モメタゾン、ベクレメタゾン (beclemethasone)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される副腎皮質ステロイドを少なくとも1つ含む。

【0296】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、メチルキサンチンを含む。

【0297】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、好中球エラスターゼ阻害剤を含む。

【0298】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、少なくとも1つの好中球エラスターゼ阻害剤を含み、当該好中球エラスターゼ阻害剤には、限定はされないが、ICI200355、ONO-5046、MR-889、L-694、458、CE-1037、GW-311616、TEI-8362、ONO-6818、AE-3763、FK-706、ICI-200、880、ZD-0892、ZD-8321、及びそれらの組み合わせが含まれる。

【0299】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、少なくとも1つのホスホジエステラーゼ阻害剤を含み、当該ホスホジエステラーゼ阻害剤には、限定はされないが、ホスホジエステラーゼ4阻害剤が含まれる。ホスホジエステラーゼ4阻害剤の例には、限定はされないが、ロフルミラスト、シロミラスト、またはそれらの組み合わせが含まれる。

【0300】

いくつかの実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) に対する実質的な配列相同性を有する。

【0301】

別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) に対して、少なくとも70パーセントの配列相同性を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) に対して、少なくとも80パーセントの配列相同性を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) に対して、少なくとも90パーセントの配列相同性を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) に対して、少なくとも95パーセントの配列相同性を有する。

【0302】

別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) の機能的同等形態は、アミノ酸配列FAKLAAARLYRKALARQLGVAA (配列識別番号3) を有する。

【0303】

別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1) の機能的同等形態は、アミノ酸配列KAFAKLAAARLYRKALARQLGVAA (配列識別番号4) を有する。

【0304】

10

20

30

40

50

別の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L A V A（配列識別番号5）を有する。

【0305】

別の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A（配列識別番号6）を有する。

【0306】

別の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列H R R I K A W L K K I K A L A R Q L G V A A（配列識別番号7）を有する。

10

【0307】

いくつかの他の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、第2のポリペプチドに機能可能なように連結された第1のポリペプチドを含む融合タンパク質であり、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A（配列識別番号11）を有し、第2のポリペプチドは、治療ドメインを含み、当該治療ドメインの配列は、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A（配列識別番号2）に対する実質的同一性を有する。

【0308】

いくつかのそのような実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A（配列識別番号2）に対して、少なくとも70パーセントの配列同一性を有する。いくつかの他の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A（配列識別番号2）に対して、少なくとも80パーセントの配列同一性を有する。いくつかの他の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A（配列識別番号2）に対して、少なくとも90パーセントの配列同一性を有する。いくつかの他の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A（配列識別番号2）に対して、少なくとも95パーセントの配列同一性を有する。

20

【0309】

いくつかの実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L A V A（配列識別番号8）を有するポリペプチドである。

30

【0310】

別の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A（配列識別番号9）を有するポリペプチドである。

【0311】

別の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A（配列識別番号10）を有するポリペプチドである。

【0312】

いくつかの他の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、第2のポリペプチドに機能可能なように連結された第1のポリペプチドを含む融合タンパク質であり、第1のポリペプチドは、Y A R A A A R Q A R A（配列識別番号11）と機能的に同等の細胞透過性ペプチドを含み、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A（配列識別番号2）を有する。

40

【0313】

別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列W L R R I K A W L R R I K A（配列識別番号12）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列W L R R I K A（配列識別番号13）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列Y G R K K R R Q R R R（配列識別番号14）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、

50

第1のポリペプチドは、アミノ酸配列W L R R I K A W L R R I（配列識別番号15）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列F A K L A A R L Y R（配列識別番号16）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列K A F A K L A A R L Y R（配列識別番号17）を有するポリペプチドである。別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列H R R I K A W L K K I（配列識別番号18）を有するポリペプチドである。

【0314】

別の態様によれば、記載の発明は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）に対して、少なくとも70%のアミノ酸配列相同性を有するタンパク質配列をコードする単離された核酸も提供する。いくつかの実施形態によれば、単離された核酸は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）に対して、少なくとも80%のアミノ酸配列相同性を有するタンパク質配列をコードする。いくつかの他の実施形態によれば、単離された核酸は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）に対して、少なくとも90%のアミノ酸配列相同性を有するタンパク質配列をコードする。いくつかの他の実施形態によれば、単離された核酸は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）に対して、少なくとも95%のアミノ酸配列相同性を有するタンパク質配列をコードする。

【0315】

いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチド（therapeutic inhibitor peptide）の治療量は、約0.000001mg/体重kg～約100mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチド（therapeutic inhibitory peptide）の治療量は、約0.00001mg/体重kg～約100mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約0.0001mg/体重kg～約10mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約0.001mg/体重kg～約10mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約0.01mg/体重kg～約10mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約0.1mg/体重kg（または100μg/kg）～約10mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約1mg/体重kg～約10mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約10mg/体重kg～約100mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約2mg/体重kg～約10mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約3mg/体重kg～約10mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約4mg/体重kg～約10mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約5mg/体重kg～約10mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約60mg/体重kg～約100mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約70mg/体重kg～約100mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約80mg/体重kg～約100mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療量は、約0.000001mg/体重kg～約90mg/体重kgの量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療量は、約0.000001mg/体重kg～約80mg/体重kgの量である。別の

20

30

40

る。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $35 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 40 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $40 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 45 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $45 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 50 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $50 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 55 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $55 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 60 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $60 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 65 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $65 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 70 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $70 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 75 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $80 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 85 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $85 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 90 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $90 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 95 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $95 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日} \sim 100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。

10

20

【0317】

別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量は、 $1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。

【0318】

別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量は、 $2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。

【0319】

別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量は、 $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。

【0320】

別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量は、 $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。

30

【0321】

いくつかの実施形態によれば、本発明のポリペプチドは、D-アミノ酸（インビボでL-アミノ酸特異的プロテアーゼに対する抵抗性を有する）、D-アミノ酸及びL-アミノ酸の組み合わせ、ならびにさまざまな「デザイナー（designer）」アミノ酸（例えば、 β -メチルアミノ酸、C- α -メチルアミノ酸、及びN- α -メチルアミノ酸等）を含むことで、特殊な特性を備える。合成アミノ酸置換の例には、リジンについてはオルニチン、及びロイシンまたはイソロイシンについてはノルロイシンが含まれる。

【0322】

40

いくつかの実施形態によれば、インビボでの半減期増加を促進するために、ポリペプチドは、ポリエチレングリコールまたはデキストランなどの他の化合物に連結してよい。当業者は理解していることであるが、そのような結合は、共有結合または非共有結合であり得る。いくつかの他の実施形態によれば、ポリペプチドは、ポリ（エチレングリコール）-ブロッカーポリ（ポリプロピレングリコール）またはポリ（エチレングリコール）-ブロッカーポリ乳酸からなるミセルなどのミセルに封入してよい。いくつかの他の実施形態によれば、ポリペプチドは、分解性ポリエステルからなる分解性のナノ粒子またはマイクロ粒子に封入してよく、当該分解性ポリエステルには、限定はされないが、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、及びポリカプロラクトンが含まれる。

【0323】

50

別の実施形態によれば、ポリペプチドは、固体形態（顆粒、粉末、もしくは坐薬が含まれる）、または液体形態（例えば、溶液、懸濁液、もしくは乳濁液）において調製してよい。

【0324】

別の実施形態によれば、記載の発明の組成物は、吸入または送気（それぞれ口または鼻のいずれかを介す）による送達を目的とする分散性の乾燥粉末の形態であり得る。乾燥粉末組成物は、国際特許公開第WO 91 / 16038号に開示、及び米国特許第6,921,527号に開示のように、凍結乾燥及びジェットミル粉碎などの、当該技術分野において知られるプロセスによって調製してよい。こうした開示は、参照によって援用される。記載の発明の組成物は、単位投与量での治療を対象に提供するために十分な量で、適した投与量容器に入れてよい。投与量容器は、適した吸入機器内に適合するものであり、その結果、分散によって乾燥粉末組成物がガス流へとエアロゾル化してエアロゾルが形成され、その後、エアロゾルが捕集され、治療を必要とする対象が続いて吸入するために取り付けられたマウスピースを有する空間におけるエアロゾルの生成が可能となる。そのような投与量容器には、ガス流（例えば、空気）を容器に導き入れて乾燥粉末組成物の分散を可能にする可動部分を備えた、ゼラチンまたはプラスチックのカプセルなどの、当該技術分野において知られる組成物封入用の任意の容器が含まれる。そのような容器は、米国特許第4,227,522号、米国特許第4,192,309号、及び米国特許第4,105,027号に示されるものによって例示される。適した容器には、GlaxoのVentolin（登録商標）Rotohalerブランドの粉末吸入器、またはFisonのSpinhaler（登録商標）ブランドの粉末吸入器と共に使用されるものも含まれる。湿気の遮断に優れた別の適した単位用量容器は、積層アルミホイルプラスチックから形成される。医薬に基づく粉末は、重量または体積で、形成可能なホイルのくぼみに充填され、被覆用積層ホイルプラスチックで密封される。粉末吸入機器と共に使用するためのそのような容器は、米国特許第4,778,054号において説明されており、GlaxoのDiskhaler（登録商標）（米国特許第4,627,432号、第4,811,731号、及び第5,035,237号）と共に使用される。こうした参考文献はすべて、それらの全体が参照によって本明細書に援用される。

【0325】

別の実施形態によれば、記載の発明の組成物の担体は、持続放出担体または遅延放出担体などの放出薬剤を含む。そのような実施形態では、担体は、ポリペプチドを持続放出または遅延放出する能力を有する任意の材料であり得ることで投与効率が向上し、例えば、その結果として、ポリペプチドの頻度低下及び／または投与量減少と、取り扱いやすさの改善と、治療、予防、または進行している疾患、障害、病状、症状、及び同様のものに対する作用の長期化及び遅延と、が生じる。そのような担体の例には、限定はされないが、天然及び合成のポリマーならびに同様のもののリボソーム、マイクロスポンジ、マイクロスフェア、またはマイクロカプセルが含まれる。リボソームは、さまざまなリン脂質から形成され得るものであり、こうしたリン脂質には、限定はされないが、コレステロール、ステアリルアミン、またはホスファチジルコリンが含まれる。

【0326】

小ペプチドの合成方法及び調製方法は、当該技術分野においてよく知られており、例えば、米国特許第5,352,461号、第5,503,852号、第6,071,497号、第6,331,318号、第6,428,771号、及び米国公開第20060040953号において開示されている。米国特許第6,444,226号、及び第6,652,885号では、粒子に活性薬剤を結合するために活性薬剤溶液を添加した水性懸濁液におけるジケトピペラジンのマイクロ粒子の調製及び提供について説明されている。こうした特許では、凍結乾燥によって液体媒体を除去して、活性薬剤を含むマイクロ粒子を得る方法についてさらに説明されている。活性薬剤の粒子への結合を促進するための、そのような懸濁液の溶媒条件の変更については、米国出願第60 / 717,524号、第11 / 532,063号、及び第11 / 532,065号、米国特許第6,440,463号

、ならびに米国出願第 11/210,709 号及び第 11/208,087 号において開示されている。こうした特許及び特許出願はそれぞれ、参照によって本明細書に援用される。

【0327】

いくつかの実施形態によれば、本発明の MMI-0100 (Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A ; 配列識別番号 1) 及びその機能的同等形態は、例えば、米国出願第 11/678,046 号 (参照によって本明細書に援用される) において開示される噴霧乾燥方法によって乾燥させることができる。

【0328】

別の実施形態によれば、本発明のポリペプチドは、さまざまな溶液に適用してよい。適した製剤は、無菌であり、十分量のポリペプチドを溶解し、計画用途に有害ではないものである。例えば、記載の発明の組成物は、水性懸濁液として製剤化してよく、活性成分 (複数可) は、水性懸濁液の製造に適した賦形剤と混合される。

【0329】

そのような賦形剤には、限定はされないが、懸濁剤 (例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガントガム、及びアカシアガム)、分散剤、または湿潤剤が含まれ、こうしたものには、天然起源のホスファチド (例えば、レシチン)、またはアルキレンオキシドと脂肪酸との縮合物 (例えば、ステアリン酸ポリオキシエチレン)、またはエチレンオキシドと長鎖脂肪族アルコールとの縮合物 (例えば、ヘプタデカエチルーエネオキシセタノール (heptadecaethyl-eneoxy cetanol))、またはエチレンオキシドと、脂肪酸及びヘキシトールから得られた部分エステルとの縮合物 (例えば、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビトール)、またはエチレンオキシドと、脂肪酸及びヘキシトール無水物から得られた部分エステルとの縮合物 (例えば、モノオレイン酸ポリエチレンソルビタン) が含まれる。

【0330】

記載の発明の組成物は、活性成分を植物油 (例えば、ラッカセイ油、オリーブ油、ゴマ油、もしくはヤシ油) または鉱物油 (例えば、流動パラフィン) に懸濁することによって油性懸濁液として製剤化してもよい。油性懸濁液は、増粘剤 (例えば、蜜ろう、固形パラフィン、またはセチルアルコール) を含み得る。

【0331】

記載の発明の組成物は、水の添加による水性懸濁液の調製に適した分散性の粉末形態及び顆粒形態において製剤化してもよい。そのような粉末及び顆粒における活性成分は、分散剤または湿潤剤、懸濁剤、及び 1 つまたは複数の保存剤との混合物において提供される。適した分散剤または湿潤剤、及び懸濁剤は、上で既に言及したものによって例示される。追加の賦形剤もまた存在し得る。

【0332】

いくつかの実施形態によれば、乾燥粉末は、噴霧乾燥プロセスによって得られる。

【0333】

いくつかの他の実施形態によれば、乾燥粉末は、微粒子化によって得られる。

【0334】

別の実施形態によれば、乾燥粉末は、空気動力学的中央粒子径 (MMAD) が 1 ~ 5 ミクロンであるマイクロ粒子を含む。

【0335】

別の実施形態によれば、乾燥粉末は、空気動力学的中央粒子径 (MMAD) が約 2 ミクロンであるマイクロ粒子を含む。

【0336】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、吸入機器に包装され、当該吸入機器には、限定はされないが、例えば、噴霧器、定量噴霧式吸入器 (MDI)、及び乾燥粉末吸入器 (DPI) が含まれる。

10

20

30

40

50

【0337】

いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物は、噴霧器を使用したエアロゾル化送達を目的とする液体である。いくつかのそのような実施形態によれば、医薬組成物の流量は、少なくとも0.3ml/分であり、医薬組成物は、2mmの粒子として送達され、肺胞最深部へと分布する。

【0338】

記載の発明の組成物は、乳濁液の形態であってもよい。乳濁液は、2つの非混合性の液体担体を組み合わせることによって調製される2相系であり、そのうちの一方は、もう一方の全体にわたって均一に分布し、最大コロイド状粒子のものと同等以上の直径を有する小球からなる。小球のサイズは非常に重要であり、系によって安定性が最大化されなくてはならない。通常、2相の分離は、第3の物質である乳化剤を含めない限り起こることはない。したがって、基礎乳濁液は、活性成分に加えて、少なくとも3つの構成成分、すなわち、2つの非混合性の液体担体と、乳化剤とを含む。ほとんどの乳濁液では、水性相が非水性相に組み込まれている（または逆の場合もある）。しかしながら、基本的に非水性である乳濁液を調製することが可能であり、例えば、グリセリン及びオリーブ油を含む非水性であり非混合性の系に陰イオン性及び陽イオン性の界面活性剤を含めたものである。したがって、本発明の組成物は、水中油型乳濁液の形態であり得る。油相は、例えば、オリーブ油もしくはラッカセイ油といった植物油、または例えば、流動パラフィンといった鉱物油、あるいはそれらの混合物であり得る。適した乳化剤は、例えば、アカシアガムまたはトラガントガムといった天然起源のガム、例えば、ダイズ、レシチンといった天然起源のホスファチド、ならびに例えば、モノオレイン酸ソルビタンといった、脂肪酸及びヘキシトール無水物から得られたエステルまたは部分エステル、ならびに例えば、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタンといった、部分エステルとエチレンオキシドとの縮合物であり得る。

【0339】

記載の発明の組成物は、マンニトールを用いて、または用いずに製剤化してもよい。

【0340】

いくつかの実施形態によれば、記載の発明のポリペプチドは、化学的に合成される。そのような合成ポリペプチドは、よく知られる固相手法、液相手法、もしくはペプチド縮合手法、またはそれらの任意の組み合わせを使用して調製され、天然アミノ酸及び非天然アミノ酸を含み得る。ペプチド合成に使用されるアミノ酸は、Merrifield (1963, J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-2154) の元々の固相手順である標準的な脱保護、中和、カップリング、及び洗浄のプロトコルを用いる標準的なBoc (N- α -アミノ保護されたN- α -tert-ブチルオキシカルボニル) アミノ酸樹脂であり得るか、またはCarpino and Han (1972, J. Org. Chem. 37: 3403-3409) によって最初に報告された、塩基不安定性であり、N- α -アミノ保護された9-フルオレニルメトキシカルボニル (Fmoc) アミノ酸であり得る。FmocでN- α -アミノ保護されたアミノ酸と、BocでN- α -アミノ保護されたアミノ酸とは両方共、Sigma, Cambridge Research Biochemical、または当業者に知られる他の化学会社から入手することができる。さらに、ポリペプチドは、当業者に知られる他のN- α -保護基を用いて合成してよい。固相ペプチド合成は、当業者に知られる手法によって達成してよく、例えば、Stewart and Young, 1984, Solid Phase Synthesis, Second Edition, Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.; Fields and Noble, 1990, Int. J. Pept. Protein Res. 35: 161-214において報告されており、または自動化合成機を使用して達成してよい。こうした文献はそれぞれ、参照によってその全体が本明細書に援用される。

【0341】

II. 非小細胞肺癌 (NSCLC) の治療方法

10

20

30

40

50

別の態様によれば、記載の発明は、腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌固形腫瘍の治療方法を提供し、当該方法は：

【0342】

アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）を有するポリペプチドまたはその機能的同等形態の治療量、及びその医薬的に許容可能な担体を含む組成物の、対象への投与を含み、

【0343】

治療量は、腫瘍細胞集団のキナーゼ活性の阻害、腫瘍細胞集団の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、腫瘍細胞死の誘導、またはそれらの組み合わせに有効である。

【0344】

いくつかの実施形態によれば、治療量は、腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌固形腫瘍の進行遅延に有効であり得る。

【0345】

1つの実施形態によれば、腫瘍は、原発腫瘍である。別の実施形態によれば、腫瘍は、二次腫瘍である。別の実施形態によれば、腫瘍は、再発腫瘍である。別の実施形態によれば、腫瘍は、化学療法に対する抵抗性を有する腫瘍である。

【0346】

いくつかの実施形態によれば、原発腫瘍は、扁平上皮癌、腺癌、または大細胞癌である。

【0347】

いくつかの実施形態によれば、二次腫瘍または転移部位は、肺組織、副腎組織、骨組織、肝臓組織、または脳組織のうちの1つまたは複数である。

【0348】

いくつかの実施形態によれば、癌細胞死は、限定はされないが、アポトーシスを含み得る。

【0349】

1つの実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2（MK2キナーゼ）のキナーゼ活性の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK2キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも50%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK2キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK2キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも75%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK2キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも80%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK2キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも85%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK2キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも90%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK2キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも95%の阻害に有効である。

【0350】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3（MK3キナーゼ）のキナーゼ活性の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK3キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも50%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK3キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK3キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも70%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK3キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも75%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK3キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも80%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団

10

20

30

40

50

における、MK 3 キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも 85 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK 3 キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも 90 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK 3 キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも 95 % の阻害に有効である。

【0351】

別の実施形態によれば、方法は、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の少なくとも 50 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の少なくとも 65 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の少なくとも 70 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の少なくとも 75 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の少なくとも 80 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の少なくとも 85 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の少なくとも 90 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、 Ca^{2+} ／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の少なくとも 95 % の阻害に有効である。

【0352】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0353】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも 50 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも 65 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも 70 % の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも 75 % の阻害に有効である。

【0354】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK 2) のキナーゼ活性、及び分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 3 (MK 3) のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0355】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK 2) のキナーゼ活性、及びカルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0356】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK 2) のキナーゼ活性、及び BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0357】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2) のキナーゼ活性、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3 (MK3) のキナーゼ活性、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI (CaMKI) のキナーゼ活性、及びBDNF／NT-3成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0358】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2) のキナーゼ活性、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI (CaMKI) のキナーゼ活性、及びBDNF／NT-3成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の阻害に有効である。

10

【0359】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0360】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3 (MK3) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0361】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI (CaMKI) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

20

【0362】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、BDNF／NT-3成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0363】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、及び分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3 (MK3) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

30

【0364】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、及びカルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI (CaMKI) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0365】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、及びBDNF／NT-3成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

40

【0366】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3 (MK3) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI (CaMKI) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害、及びBDNF／NT-3成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0367】

50

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、MK 2、MK 3、CaMK I、TrkBの群から選択される少なくとも1つのキナーゼのキナーゼ活性の阻害に有効であり、腫瘍細胞集団における、本明細書の表1に記載の残りの群から選択される1つまたは複数の他のキナーゼの活性を実質的に阻害しない。

【0368】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、本明細書の表1に記載の群から選択されるキナーゼのキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0369】

別の実施形態によれば、この阻害は、例えば、腫瘍細胞集団の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、腫瘍細胞死の誘導、またはそれらの組み合わせに有効であり得る。

10

【0370】

別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌固形腫瘍の進行遅延に有効であり得る。

【0371】

別の実施形態によれば、腫瘍細胞死は、限定はされないが、アポトーシスを含み得る。

【0372】

いくつかの実施形態によれば、インビボでのMMI阻害剤の阻害プロファイルは、投与量、投与経路、及び阻害剤に応答する細胞型に依存する。

【0373】

そのような実施形態によれば、方法は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の50%未満の阻害に有効である。そのような実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の65%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の50%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の40%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の20%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の15%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の10%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の5%未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、方法は、腫瘍細胞集団における、1つまたは複数の他に選択されるキナーゼのキナーゼ活性の上昇に有効である。直前のパラグラフの実施形態によれば、実質的に阻害されない1つまたは複数の他に選択されるキナーゼは、Ca²⁺/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼII（CaMKIIであり、そのCaMKIIδサブユニットが含まれる）、癌原遺伝子セリン/スレオニン-タンパク質キナーゼ（PI3K）、細胞内肉腫（c-SRC）、脾臓チロシンキナーゼ（SYK）、C-srcチロシンキナーゼ（CSK）、及びインスリン様増殖因子1受容体（IGF-1R）の群から選択される。

20

30

40

【0374】

いくつかの実施形態によれば、医薬組成物は、少なくとも1つの追加の治療薬剤をさらに含む。

【0375】

いくつかのそのような実施形態によれば、追加の治療薬剤は、化学療法薬剤である。化学療法薬剤の例には、限定はされないが、Abiraterone（メトトレキサート）、Abraxane（パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤）、アフアチニブマレイン酸塩、Alectinib（ペメトレキセド二ナトリウム）、Avasitinib（ベバシズマブ）、ベバシズマブ（Bvacizumab）、カルボプラチン、セリチニブ、シスプラチン、クリゾチニブ、Cyclophosphamide（ラムシルマブ）、ドセタキセル、エルロチニブ

50

塩酸塩、F o l e x P F S (メトトレキサート)、ゲフィチニブ、G i l o t r i f (アファチニブマレイン酸塩)、ゲムシタビン塩酸塩、G e m z a r (ゲムシタビン塩酸塩)、I r e s s a (ゲフィチニブ)、メクロレタミン塩酸塩、メトトレキサート、メトトレキサート L P F (メトトレキサート)、M e x a t e (メトトレキサート)、M e x a t e - A Q (メトトレキサート)、M u s t a r g e n (メクロレタミン塩酸塩)、N a v e l b i n e (ビノレルビン酒石酸塩)、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤、P a r a p l a t (カルボプラチン)、P a r a p l a t i n (カルボプラチン)、ペメトレキセド二ナトリウム、P l a t i n o l (シスプラチン)、P l a t i n o l - A Q (シスプラチン)、ラムシルマブ、T a r c e v a (エルロチニブ塩酸塩)、タキソール (パクリタキセル)、タキソテール (ドセタキセル)、ビノレルビン酒石酸塩、X a l k o r i (クリゾチニブ)、Z y k a d i a (セリチニブ)、カルボプラチン-タキソール、及びゲムシタビン-シスプラチンが含まれる。

10

【0376】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、鎮痛剤である。いくつかの実施形態によれば、鎮痛剤は、知覚の攪乱または他の感覚様相の変更を伴わずに痛みの閾値を上昇させることによって痛みを軽減する。いくつかのそのような実施形態によれば、鎮痛剤は、非オピオイド鎮痛剤である。「非オピオイド鎮痛剤」は、痛みを低減するが、オピオイド鎮痛剤ではない天然物質または合成物質である。非オピオイド鎮痛剤の例には、限定はされないが、エトドラク、インドメタシン、スリンダク、トルメチン、ナブメトン、ピロキシカム、アセトアミノフェン、フェノプロフェン、フルルビプロフェン、イブプロフェン、ケトプロフェン、ナプロキセン、ナプロキセンナトリウム、オキサプロジン、アスピリン、トリサリチル酸コリンマグネシウム、ジフルニサル、メクロフェナム酸、メフェナム酸、及びフェニルブタゾンが含まれる。いくつかの他の実施形態によれば、鎮痛剤は、オピオイド鎮痛剤である。「オピオイド鎮痛剤」、「オピオイド」、または「麻薬性鎮痛剤」は、中枢神経系においてオピオイド受容体に結合し、アゴニスト作用を生成する天然物質または合成物質である。オピオイド鎮痛剤の例には、限定はされないが、コデイン、フェンタニル、ヒドロモルホン、レボルファノール、メペリジン、メサドン、モルヒネ、オキシコドン、オキシモルフォン、プロボキシフェン、ブプレノルフィン、ブトルファノール、デゾシン、ナルブフィン、及びペンタゾシンが含まれる。

20

【0377】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、抗感染症剤である。別の実施形態によれば、抗感染症剤は、抗生物質薬剤である。本明細書では、「抗生物質薬剤」という用語は、主に感染性疾患の治療において使用され、細菌及び他の微生物の増殖阻害能力または破壊能力を有する、任意の群の化学物質を意味する。抗生物質薬剤の例には、限定はされないが、ペニシリンG、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、アンピシリン、アモキシシリン、チカルシリン、カルベニシリン、メズロシリン、アズロシリン、ピペラシリン、イミペネム、アズトレオナム、セファロチン、セファクロル、セフォキシチン、セフロキシム、セフォニシド、セフメタゾール、セフォテタン、セフプロジル、ロラカルベフ、セフェタメト、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セフトジジム、セフェピム、セフィキシム、セフポドキシム、セフスロジン、フレロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、シプロフロキサシン、オフロキサシン、エノキサシン、ロメフロキサシン、シノキサシン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、テトラサイクリン、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネチルマイシン、トブラマイシン、ストレプトマイシン、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、エリスロマイシン、エリスロマイシンエステル、エチルコハク酸エリスロマイシン、グルコヘプトン酸エリスロマイシン、ラクトビオン酸エリスロマイシン、ステアリン酸エリスロマイシン、バンコマイシン、テイコプラニン、クロラムフェニコール、クリンダマイシン、トリメトプリム、スルファメトキサゾール、ニトロフラントイン、リファンピン、ムピロシン、メトロニダゾール、セファレキシン、ロキシスロマイシン、コアモキシクラブアネート (C o - a m o x i c l a v u a n a t e)、ピペラシリ

30

40

50

ン及びタゾバクタムの組み合わせ、ならびにそれらのさまざまな塩、酸、塩基、及び他の誘導体が含まれる。抗菌抗生物質薬剤には、限定はされないが、ペニシリン、セファロスポリン、カルバセフェム、セファマイシン、カルバペネム、モノバクタム、アミノ配糖体、糖ペプチド、キノロン、テトラサイクリン、マクロライド、及びフルオロキノロンが含まれる。

【0378】

いくつかの他の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、気管支拡張剤を含み、当該気管支拡張剤には、限定はされないが、ロイコトリエンモディファイヤー、抗コリン気管支拡張剤、 β 2-アゴニスト、またはそれらの組み合わせが含まれる、

【0379】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、副腎皮質ステロイドを含み、当該副腎皮質ステロイドには、限定はされないが、プレドニゾン、ブデソニド、モメタゾン、ベクレメタゾン (beclo methasone)、またはそれらの組み合わせが含まれる。

【0380】

いくつかの他の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、気管支拡張剤を含み、当該気管支拡張剤には、限定はされないが、ロイコトリエンモディファイヤー、抗コリン気管支拡張剤、 β 2-アゴニスト、またはそれらの組み合わせが含まれる、

【0381】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、副腎皮質ステロイドを含み、当該副腎皮質ステロイドには、限定はされないが、プレドニゾン、ブデソニド、モメタゾン、ベクレメタゾン (beclo methasone)、またはそれらの組み合わせが含まれる。

【0382】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、抗炎症剤である。

【0383】

別の実施形態によれば、抗炎症剤は、非ステロイド性抗炎症剤である。こうした薬剤の皮膚科学的に許容可能な塩及びエステルに加えて、非ステロイド性抗炎症剤の混合物を用いてもよい。例えば、局所適用には、フルフェナム酸誘導体であるエトフェナメートが特に有用である。

【0384】

別の実施形態によれば、非ステロイド性抗炎症剤は、トランスフォーミング増殖因子- β 3 (TGF- β 3)、抗腫瘍壊死因子-アルファ (TNF- α) 薬剤、またはそれらの組み合わせを含む。

【0385】

別の実施形態によれば、抗炎症剤は、ステロイド性抗炎症剤である。別の実施形態によれば、ステロイド性抗炎症剤は、プレドニゾン、ブデソニド、モメタゾン、ベクレメタゾン (beclo methasone)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される副腎皮質ステロイドを少なくとも1つ含む。

【0386】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、メチルキサンチンを含む。

【0387】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、好中球エラスターゼ阻害剤を含む。

【0388】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、少なくとも1つの好中球エラスターゼ阻害剤を含み、当該好中球エラスターゼ阻害剤には、限定はされないが、ICI200355、ONO-5046、MR-889、L-694、458、CE-1037、GW-311616、TEI-8362、ONO-6818、AE-3763、FK-706、ICI-200、880、ZD-0892、ZD-8321、及びそれらの組み合わせが含まれる。

【0389】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、少なくとも1つのホスホジエステラーゼ阻

10

20

30

40

50

害剤を含み、当該ホスホジエステラーゼ阻害剤には、限定はされないが、ホスホジエステラーゼ4阻害剤が含まれる。ホスホジエステラーゼ4阻害剤の例には、限定はされないが、ロフルミラスト、シロミラスト、またはそれらの組み合わせが含まれる。

【0390】

いくつかの実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）に対する実質的な配列相同性を有する。

【0391】

いくつかのそのような実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）に対して、少なくとも70パーセントの配列相同性を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）に対して、少なくとも80パーセントの配列相同性を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）に対して、少なくとも90パーセントの配列相同性を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）に対して、少なくとも95パーセントの配列相同性を有する。

【0392】

別の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A（配列識別番号3）を有する。

【0393】

別の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列K A F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A（配列識別番号4）を有する。

【0394】

別の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L A V A（配列識別番号5）を有する。

【0395】

別の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A（配列識別番号6）を有する。

【0396】

別の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列H R R I K A W L K K I K A L A R Q L G V A A（配列識別番号7）を有する。

【0397】

いくつかの他の実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）の機能的同等形態は、第2のポリペプチドに機能可能なように連結された第1のポリペプチドを含む融合タンパク質であり、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A（配列識別番号11）を有し、第2のポリペプチドは、治療ドメインを含み、当該治療ドメインの配列は、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A（配列識別番号2）に対する実質的な相同性を有する。

【0398】

別の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A

(配列識別番号2)に対して、少なくとも70パーセントの配列相同性を有する。いくつかの他の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A (配列識別番号2)に対して、少なくとも80パーセントの配列相同性を有する。いくつかの他の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A (配列識別番号2)に対して、少なくとも90パーセントの配列相同性を有する。いくつかの他の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A (配列識別番号2)に対して、少なくとも95パーセントの配列相同性を有する。

【0399】

別の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L A V A (配列識別番号8)を有するポリペプチドである。

10

【0400】

別の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A (配列識別番号9)を有するポリペプチドである。

【0401】

別の実施形態によれば、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A (配列識別番号10)を有するポリペプチドである。

【0402】

いくつかの実施形態によれば、ポリペプチドY A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列識別番号1)の機能的同等形態は、第2のポリペプチドに機能可能なように連結された第1のポリペプチドを含む融合タンパク質であり、第1のポリペプチドは、Y A R A A A R Q A R A (配列識別番号11)と機能的に同等の細胞透過性ペプチドを含み、第2のポリペプチドは、アミノ酸配列K A L A R Q L G V A A (配列識別番号2)を有し、医薬組成物は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2 (MK2)のキナーゼ活性の両方を阻害する。

20

【0403】

別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列W L R R I K A W L R R I K A (配列識別番号12)を有するポリペプチドである。

【0404】

別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列W L R R I K A (配列識別番号13)を有するポリペプチドである。

30

【0405】

別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列Y G R K K R R Q R R R (配列識別番号14)を有するポリペプチドである。

【0406】

別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列W L R R I K A W L R R I (配列識別番号15)を有するポリペプチドである。

【0407】

別の実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列F A K L A A R L Y R (配列識別番号16)を有するポリペプチドである。いくつかのそのような実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列K A F A K L A A R L Y R (配列識別番号17)を有するポリペプチドである。いくつかのそのような実施形態によれば、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列H R R I K A W L K K I (配列識別番号18)を有するポリペプチドである。

40

【0408】

別の態様によれば、記載の発明は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列識別番号1)に対して、少なくとも70%のアミノ酸配列相同性を有するタンパク質配列をコードする単離された核酸も提供する。

【0409】

いくつかのそのような実施形態によれば、単離された核酸は、アミノ酸配列Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列識別番号1)に対して、少なくとも80%の

50

アミノ酸配列相同性を有するタンパク質配列をコードする。いくつかの他の実施形態によれば、単離された核酸は、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号 1）に対して、少なくとも 90% のアミノ酸配列相同性を有するタンパク質配列をコードする。いくつかの他の実施形態によれば、単離された核酸は、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号 1）に対して、少なくとも 95% のアミノ酸配列相同性を有するタンパク質配列をコードする。

【0410】

別の実施形態によれば、投与段階は、肺への送達によって実施される。いくつかの実施形態によれば、投与段階は、経口的、頬側、非経口的、局所的、吸入によって、送気によって、もしくは経直腸的のいずれかで全身性に実施してよく、または限定はされないが、注射、移植（implantation）、移植（grafting）、局所適用、もしくは非経口的なものなどの手段によって局所的に実施してよい。追加の投与は、例えば、静脈内、経粘膜的、経皮的、筋肉内、皮下、気管内（肺への吸入を含む）、腹腔内、髄腔内、リンパ管内、病巣内、または硬膜外に実施してよい。投与は、例えば、個々の単位用量として、または複数の薬物及び／もしくは物質の複数の単位用量を含む治療レジメンの形態において、1回、複数回、及び／または1つもしくは複数の長期間にわたって実施することができる。

【0411】

いくつかの他の実施形態によれば、投与段階は、単一用量として1回実施される。いくつかの他の実施形態によれば、投与段階は、一定期間にわたって、複数回の用量として実施される。いくつかのそのような実施形態によれば、期間は、1日、1週間、1ヶ月、1ヶ月、1年、またはそれらの倍数である。いくつかの実施形態によれば、投与段階は、少なくとも1週間の期間、1日に1回実施される。いくつかの実施形態によれば、投与段階は、少なくとも1ヶ月の期間、1週間に1回実施される。いくつかの実施形態によれば、投与段階は、少なくとも2ヶ月の期間、1ヶ月に1回実施される。別の実施形態によれば、投与段階は、少なくとも1年の期間にわたって繰り返し実施される。別の実施形態によれば、投与段階は、少なくとも1ヶ月に1回実施される。別の実施形態によれば、投与段階は、少なくとも1週間に1回実施される。別の実施形態によれば、投与段階は、少なくとも1日に1回実施される。

【0412】

いくつかの他の実施形態によれば、治療量の医薬組成物は、吸入機器を介して投与される。医薬組成物の投与に使用することができる吸入機器の例には、限定はされないが、噴霧器、定量噴霧式吸入器（MDI）、乾燥粉末吸入器（DPI）、及び乾燥粉末噴霧器が含まれる。

【0413】

別の実施形態によれば、乾燥粉末は、空気動学的中央粒子径（MMAD）が1～5ミクロンであるマイクロ粒子を含む。別の実施形態によれば、乾燥粉末は、空気動学的中央粒子径（MMAD）が約2ミクロンであるマイクロ粒子を含む。

【0414】

いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ～ 約 100 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ～ 約 100 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約 0.0001 mg / 体重 kg ～ 約 100 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約 0.001 mg / 体重 kg ～ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約 0.01 mg / 体重 kg ～ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約 0.1 mg / 体重 kg（または 100 μg / kg）～ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害性ペプチドの治療量は、約 1 mg

40

50

30

40

50

50

50

50

50

50

50

50

別の実施形態によれば、治療は、補助治療をさらに含む。いくつかのそのような実施形態によれば、補助治療は、1回または複数回の外科的な腫瘍切除、放射線療法、または拡張可能な金属ステントの挿入を含む。

【0421】

III. 非小細胞肺癌（NSCLC）の徴候及び症状の治療システム

別の態様によれば、記載の発明は、腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌（NSCLC）腫瘍の治療システムを提供し、当該治療システムは、

【0422】

（a）アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号1）を有するポリペプチドまたはその機能的同等形態の治療量、及びその医薬的に許容可能な担体を含み、ならびに治療量が、腫瘍細胞集団における、表1に記載の群から選択されるキナーゼのキナーゼ活性の阻害、及び腫瘍細胞集団の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、腫瘍細胞死の誘導、腫瘍の化学療法抵抗性の克服、腫瘍の化学療法感受性の増進、またはそれらの組み合わせに有効であり得る医薬組成物

【0423】

と、

【0424】

（b）肺への送達のための吸入機器と、を含む

【0425】

1つの実施形態によれば、腫瘍は、原発腫瘍である。別の実施形態によれば、腫瘍は、二次腫瘍である。別の実施形態によれば、腫瘍は、再発腫瘍である。別の実施形態によれば、腫瘍は、化学療法に対する抵抗性を有する腫瘍である。

【0426】

いくつかの実施形態によれば、原発腫瘍は、扁平上皮癌、腺癌、または大細胞癌である。

【0427】

いくつかの実施形態によれば、二次腫瘍または転移部位は、肺組織、副腎組織、骨組織、肝臓組織、または脳組織のうちの1つまたは複数である。

【0428】

別の実施形態によれば、腫瘍細胞死は、限定はされないが、アポトーシスを含み得る。

【0429】

別の実施形態によれば、医薬的に許容可能な担体には、限定はされないが、制御放出担体、遅延放出担体、持続放出担体、及び長期放出担体が含まれる。

【0430】

別の実施形態によれば、吸入機器は、噴霧器である。

【0431】

別の実施形態によれば、吸入機器は、定量噴霧式吸入器（MDI）である。

【0432】

別の実施形態によれば、吸入機器は、乾燥粉末吸入器（DPI）である。

【0433】

別の実施形態によれば、吸入機器は、乾燥粉末噴霧器である。

【0434】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、乾燥粉末の形態である。

【0435】

別の実施形態によれば、乾燥粉末は、空気動力学的中央粒子径（MMAD）が1～5ミクロンであるマイクロ粒子を含む。

【0436】

別の実施形態によれば、乾燥粉末は、空気動力学的中央粒子径（MMAD）が約2ミクロンであるマイクロ粒子を含む。

【0437】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態によれば、医薬組成物は、少なくとも1つの追加の治療薬剤をさらに含む。

【0438】

いくつかのそのような実施形態によれば、追加の治療薬剤は、化学療法薬剤である。化学療法薬剤の例には、限定はされないが、Abitrexate（メトトレキサート）、Abraxane（パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤）、アフアチニブマレイン酸塩、Alimta（ペメトレキセド二ナトリウム）、Avastin（ベバシズマブ）、ベバシズマブ（Bvacizumab）、カルボプラチン、セリチニブ、シスプラチン、クリゾチニブ、Cyramza（ラムシルマブ）、ドセタキセル、エルロチニブ塩酸塩、Follex PFS（メトトレキサート）、ゲフィチニブ、Gilotrif（アフアチニブマレイン酸塩）、ゲムシタビン塩酸塩、Gemzar（ゲムシタビン塩酸塩）、Iressa（ゲフィチニブ）、メクロレタミン塩酸塩、メトトレキサート、メトトレキサートLPF（メトトレキサート）、Mexate（メトトレキサート）、Mexate-AQ（メトトレキサート）、Mustargen（メクロレタミン塩酸塩）、Navelbine（ビノレルビン酒石酸塩）、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤、Paraplat（カルボプラチン）、Paraplatin（カルボプラチン）、ペメトレキセド二ナトリウム、Platinol（シスプラチン）、Platinol-AQ（シスプラチン）、ラムシルマブ、Tarceva（エルロチニブ塩酸塩）、タキソール（パクリタキセル）、タキソテル（ドセタキセル）、ビノレルビン酒石酸塩、Xalkori（クリゾチニブ）、Zykadia（セリチニブ）、カルボプラチン-タキソール、及びゲムシタビン-シスプラチンが含まれる。

10

20

【0439】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、鎮痛剤である。いくつかの実施形態によれば、鎮痛剤は、知覚の攪乱または他の感覚様相の変更を伴わずに痛みの閾値を上昇させることによって痛みを軽減する。いくつかのそのような実施形態によれば、鎮痛剤は、非オピオイド鎮痛剤である。「非オピオイド鎮痛剤」は、痛みを低減するが、オピオイド鎮痛剤ではない天然物質または合成物質である。非オピオイド鎮痛剤の例には、限定はされないが、エトドラク、インドメタシン、スリンダク、トルメチン、ナブメトン、ピロキシカム、アセトアミノフェン、フェノプロフェン、フルルビプロフェン、イブプロフェン、ケトプロフェン、ナプロキセン、ナプロキセンナトリウム、オキサプロジン、アスピリン、トリサリチル酸コリンマグネシウム、ジフルニサル、メクロフェナム酸、メフェナム酸、及びフェニルブタゾンが含まれる。いくつかの他の実施形態によれば、鎮痛剤は、オピオイド鎮痛剤である。「オピオイド鎮痛剤」、「オピオイド」、または「麻薬性鎮痛剤」は、中枢神経系においてオピオイド受容体に結合し、アゴニスト作用を生成する天然物質または合成物質である。オピオイド鎮痛剤の例には、限定はされないが、コデイン、フェンタニル、ヒドロモルホン、レボルファノール、メペリジン、メサドン、モルヒネ、オキシコドン、オキシモルフォン、プロボキシフェン、ブプレノルフィン、ブトルファノール、デゾシン、ナルブフィン、及びペンタゾシンが含まれる。

30

【0440】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、抗感染症剤である。別の実施形態によれば、抗感染症剤は、抗生物質薬剤である。本明細書では、「抗生物質薬剤」という用語は、主に感染性疾患の治療において使用され、細菌及び他の微生物の増殖阻害能力または破壊能力を有する、任意の群の化学物質を意味する。抗生物質薬剤の例には、限定はされないが、ペニシリンG、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、アンピシリン、アモキシシリン、チカルシリン、カルベニシリン、メズロシリン、アズロシリン、ピペラシリン、イミペネム、アズトレオナム、セファロチン、セファクロル、セフォキシチン、セフロキシム、セフォニシド、セフメタゾール、セフォテタン、セフプロジル、ロラカルベフ、セフェタメト、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セフトジジム、セフェピム、セフィキシム、セフポドキシム、セフスロジン、フレロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、シプロフロキ

40

50

サシン、オフロキサシン、エノキサシン、ロメフロキサシン、シノキサシン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、テトラサイクリン、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネチルマイシン、トブラマイシン、ストレプトマイシン、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、エリスロマイシン、エリスロマイシンエステル、エチルコハク酸エリスロマイシン、グルコヘプトン酸エリスロマイシン、ラクトビオン酸エリスロマイシン、ステアリン酸エリスロマイシン、バンコマイシン、テイコプラニン、クロラムフェニコール、クリンダマイシン、トリメトプリム、スルファメトキサゾール、ニトロフラントイン、リファンピン、ムピロシン、メトロニダゾール、セファレキシン、ロキシスロマイシン、コアモキシクラブアネート (Co-amoxiclavuanate)、ピペラシリン及びタゾバクタムの組み合わせ、ならびにそれらのさまざまな塩、酸、塩基、及び他の誘導体が含まれる。抗菌抗生物質薬剤には、限定はされないが、ペニシリン、セファロスポリン、カルバセフェム、セファマイシン、カルバペネム、モノバクタム、アミノ配糖体、糖ペプチド、キノロン、テトラサイクリン、マクロライド、及びフルオロキノロンが含まれる。

10

【0441】

いくつかの他の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、気管支拡張剤を含み、当該気管支拡張剤には、限定はされないが、ロイコトリエンモディファイヤー、抗コリン気管支拡張剤、 β 2-アゴニスト、またはそれらの組み合わせが含まれる、

【0442】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、副腎皮質ステロイドを含み、当該副腎皮質ステロイドには、限定はされないが、プレドニゾン、ブデソニド、モメタゾン、ベクレメタゾン (beclemethasone)、またはそれらの組み合わせが含まれる。

20

【0443】

いくつかの他の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、気管支拡張剤を含み、当該気管支拡張剤には、限定はされないが、ロイコトリエンモディファイヤー、抗コリン気管支拡張剤、 β 2-アゴニスト、またはそれらの組み合わせが含まれる、

【0444】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、副腎皮質ステロイドを含み、当該副腎皮質ステロイドには、限定はされないが、プレドニゾン、ブデソニド、モメタゾン、ベクレメタゾン (beclemethasone)、またはそれらの組み合わせが含まれる。

30

【0445】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、抗炎症剤である。

【0446】

別の実施形態によれば、抗炎症剤は、非ステロイド性抗炎症剤である。こうした薬剤の皮膚科学的に許容可能な塩及びエステルに加えて、非ステロイド性抗炎症剤の混合物を用いてもよい。例えば、局所適用には、フルフェナム酸誘導体であるエトフェナメートが特に有用である。

【0447】

別の実施形態によれば、非ステロイド性抗炎症剤は、トランスフォーミング増殖因子- β 3 (TGF- β 3)、抗腫瘍壊死因子-アルファ (TNF- α) 薬剤、またはそれらの組み合わせを含む。

40

【0448】

別の実施形態によれば、抗炎症剤は、ステロイド性抗炎症剤である。別の実施形態によれば、ステロイド性抗炎症剤は、プレドニゾン、ブデソニド、モメタゾン、ベクレメタゾン (beclemethasone)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される副腎皮質ステロイドを少なくとも1つ含む。

【0449】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、メチルキサンチンを含む。

【0450】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、好中球エラスターゼ阻害剤を含む。

50

【0451】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、少なくとも1つの好中球エラスターゼ阻害剤を含み、当該好中球エラスターゼ阻害剤には、限定はされないが、ICI200355、ONO-5046、MR-889、L-694、458、CE-1037、GW-311616、TEI-8362、ONO-6818、AE-3763、FK-706、ICI-200、880、ZD-0892、ZD-8321、及びそれらの組み合わせが含まれる。

【0452】

別の実施形態によれば、追加の治療薬剤は、少なくとも1つのホスホジエステラーゼ阻害剤を含み、当該ホスホジエステラーゼ阻害剤には、限定はされないが、ホスホジエステラーゼ4阻害剤が含まれる。ホスホジエステラーゼ4阻害剤の例には、限定はされないが、ロフルミラスト、シロミラスト、またはそれらの組み合わせが含まれる。

10

【0453】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、本明細書の表1に記載の群から選択されるキナーゼのキナーゼ活性を阻害する。

【0454】

別の実施形態によれば、阻害は、腫瘍細胞集団を含む非小細胞肺癌固形腫瘍の進行遅延に有効であり得る。

【0455】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも50%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、そのキナーゼのキナーゼ活性の少なくとも75%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、そのキナーゼのキナーゼ活性の少なくとも80%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、そのキナーゼのキナーゼ活性の少なくとも85%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、そのキナーゼのキナーゼ活性の少なくとも90%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、そのキナーゼのキナーゼ活性の少なくとも95%の阻害に有効である。

20

30

【0456】

いくつかの実施形態によれば、インビボでのMMI阻害剤の阻害プロファイルは、投与量、投与経路、及び阻害剤に応答する細胞型に依存する。

【0457】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも50%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、そのキナーゼのキナーゼ活性の少なくとも75%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、そのキナーゼのキナーゼ活性の少なくとも80%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、そのキナーゼのキナーゼ活性の少なくとも85%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、そのキナーゼのキナーゼ活性の少なくとも90%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、そのキナーゼのキナーゼ活性の少なくとも95%の阻害に有効である。

40

【0458】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2（MK2キナーゼ）のキナーゼ活性の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、MK2キナーゼのキナーゼ活性の少なくとも50%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、

50

10

20

30

40

50

50

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、BDNF/NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬物は、腫瘍細胞集団における、BDNF/NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキ

ナーゼ活性の少なくとも50%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬物は、腫瘍細胞集団における、BDNF/NT-3成長因子受容体(TrkB)のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬物は、腫瘍細胞集団における、BDNF/NT-3成長因子受容体(TrkB)のキナーゼ活性の少なくとも70%の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬物は、腫瘍細胞集団における、BDNF/NT-3成長因子受容体(TrkB)のキナーゼ活性の少なくとも75%の阻害に有効である。

【0462】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2(MK2)のキナーゼ活性、及び分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3(MK3)のキナーゼ活性の阻害に有効である。

10

【0463】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2(MK2)のキナーゼ活性、及びカルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI(CaMKI)のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0464】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2(MK2)のキナーゼ活性、及びBDNF/NT-3成長因子受容体(TrkB)のキナーゼ活性の阻害に有効である。

20

【0465】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2(MK2)のキナーゼ活性、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3(MK3)のキナーゼ活性、カルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI(CaMKI)のキナーゼ活性、及びBDNF/NT-3成長因子受容体(TrkB)のキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0466】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2(MK2)のキナーゼ活性、カルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI(CaMKI)のキナーゼ活性、及びBDNF/NT-3成長因子受容体(TrkB)のキナーゼ活性の阻害に有効である。

30

【0467】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2(MK2)のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0468】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ3(MK3)のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

40

【0469】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、カルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼI(CaMKI)のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0470】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、BDNF/NT-3成長因子受容体(TrkB)のキナーゼ活性の少なくとも65%の阻害に有効である。

【0471】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ2(MK2)のキナーゼ活性の少なくとも6

50

5 %の阻害、及び分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 3 (MK 3) のキナーゼ活性の少なくとも 65 %の阻害に有効である。

【0472】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK 2) のキナーゼ活性の少なくとも 65 %の阻害、及びカルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の少なくとも 65 %の阻害に有効である。

【0473】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK 2) のキナーゼ活性の少なくとも 65 %の阻害、及び BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも 65 %の阻害に有効である。

【0474】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK 2) のキナーゼ活性の少なくとも 65 %の阻害、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 3 (MK 3) のキナーゼ活性の少なくとも 65 %の阻害、カルシウム／カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMK I) のキナーゼ活性の少なくとも 65 %の阻害、及び BDNF／NT-3 成長因子受容体 (TrkB) のキナーゼ活性の少なくとも 65 %の阻害に有効である。

【0475】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、MK 2、MK 3、CaMK I、TrkB の群から選択される少なくとも 1 つのキナーゼのキナーゼ活性の阻害に有効であり、腫瘍細胞集団における、本明細書の表 1 に記載の残りの群から選択される 1 つまたは複数の他のキナーゼの活性を実質的に阻害しない。

【0476】

別の実施形態によれば、医薬組成物は、腫瘍細胞集団における、本明細書の表 1 に記載の群から選択されるキナーゼのキナーゼ活性の阻害に有効である。

【0477】

別の実施形態によれば、この阻害は、例えば、腫瘍細胞集団の増殖低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍負荷の低減、腫瘍細胞死の誘導、またはそれらの組み合わせに有効であり得る。

【0478】

いくつかの実施形態によれば、インビボでの MMI 阻害剤の阻害プロファイルは、投与量、投与経路、及び阻害剤に応答する細胞型に依存する。

【0479】

そのような実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の 50 %未満の阻害に有効である。そのような実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の 65 %未満の阻害に有効である。そのような実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の 50 %未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の 40 %未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の 20 %未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の 15 %未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼ（複数可）のキナーゼ活性の 10 %未満の阻害に有効である。別の実施形態によれば、医薬組成物は、他に選択されるキナーゼのキナーゼ活性の上昇に有効である。

【0480】

直前のパラグラフの実施形態によれば、実質的に阻害されない1つまたは複数の他を選択されるキナーゼは、Ca²⁺/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼII（CaMKII）であり、そのCaMKIIδサブユニットが含まれる）、癌原遺伝子セリン/スレオニン-タンパク質キナーゼ（PIM-1）、細胞内-肉腫（c-SRC）、脾臓チロシンキナーゼ（SYK）、C-srcチロシンキナーゼ（CSK）、及びインスリン様増殖因子1受容体（IGF-1R）の群から選択される。

【0481】

いくつかの実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）に対する実質的な配列相同性を有する。

10

【0482】

別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）に対して、少なくとも70パーセントの配列相同性を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）に対して、少なくとも80パーセントの配列相同性を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）に対して、少なくとも90パーセントの配列相同性を有する。別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）に対して、少なくとも95パーセントの配列相同性を有する。

20

【0483】

別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列FAKLAAARLYRKALARQLGVAA（配列識別番号3）を有する。

【0484】

別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列KAFAKLAAARLYRKALARQLGVAA（配列識別番号4）を有する。

30

【0485】

別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLAVA（配列識別番号5）を有する。

【0486】

別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列YARAAARQARAKALARQLGVA（配列識別番号6）を有する。

40

【0487】

別の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）の機能的同等形態は、アミノ酸配列HRRIKAWLKKIKALARQLGVAA（配列識別番号7）を有する。

【0488】

いくつかの他の実施形態によれば、ポリペプチドYARAAARQARAKALARQLGVAA（配列識別番号1）の機能的同等形態は、第2のポリペプチドに機能可能なように連結された第1のポリペプチドを含む融合タンパク質であり、第1のポリペプチドは、アミノ酸配列YARAAARQARA（配列識別番号11）を有し、第2のポリペプチドは、治療ドメインを含み、当該治療ドメインの配列は、アミノ酸配列KALARQLG

50

V A A（配列識別番号２）に対する実質的相同性を有する。

【０４８９】

別の実施形態によれば、第２のポリペプチドは、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A（配列識別番号２）に対して、少なくとも７０パーセントの配列相同性を有する。いくつかの他の実施形態によれば、第２のポリペプチドは、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A（配列識別番号２）に対して、少なくとも８０パーセントの配列相同性を有する。いくつかの他の実施形態によれば、第２のポリペプチドは、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A（配列識別番号２）に対して、少なくとも９０パーセントの配列相同性を有する。いくつかの他の実施形態によれば、第２のポリペプチドは、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A（配列識別番号２）に対して、少なくとも９５パーセントの配列相同性を有する。

10

【０４９０】

別の実施形態によれば、第２のポリペプチドは、アミノ酸配列 K A L A R Q L A V A（配列識別番号８）を有するポリペプチドである。

【０４９１】

別の実施形態によれば、第２のポリペプチドは、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A（配列識別番号９）を有するポリペプチドである。

【０４９２】

別の実施形態によれば、第２のポリペプチドは、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A（配列識別番号１０）を有するポリペプチドである。

【０４９３】

20

いくつかの他の実施形態によれば、ポリペプチド Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号１）の機能的同等形態は、第２のポリペプチドに機能可能のように連結された第１のポリペプチドを含む融合タンパク質であり、第１のポリペプチドは、Y A R A A A R Q A R A（配列識別番号１１）と機能的に同等の細胞透過性ペプチドを含み、第２のポリペプチドは、アミノ酸配列 K A L A R Q L G V A A（配列識別番号２）を有する。

【０４９４】

追加の実施形態によれば、第１のポリペプチドは、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I K A（配列識別番号１２）を有するポリペプチドである。

【０４９５】

30

別の実施形態によれば、第１のポリペプチドは、アミノ酸配列 W L R R I K A（配列識別番号１３）を有するポリペプチドである。

【０４９６】

別の実施形態によれば、第１のポリペプチドは、アミノ酸配列 Y G R K K R R Q R R R（配列識別番号１４）を有するポリペプチドである。

【０４９７】

別の実施形態によれば、第１のポリペプチドは、アミノ酸配列 W L R R I K A W L R R I（配列識別番号１５）を有するポリペプチドである。

【０４９８】

別の実施形態によれば、第１のポリペプチドは、アミノ酸配列 F A K L A A R L Y R（配列識別番号１６）を有するポリペプチドである。

40

【０４９９】

別の実施形態によれば、第１のポリペプチドは、アミノ酸配列 K A F A K L A A R L Y R（配列識別番号１７）を有するポリペプチドである。

【０５００】

別の実施形態によれば、第１のポリペプチドは、アミノ酸配列 H R R I K A W L K K I（配列識別番号１８）を有するポリペプチドである。

【０５０１】

別の態様によれば、記載の発明は、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号１）に対して、少なくとも７０％のアミノ酸配列相同性を有す

50

るタンパク質配列をコードする単離された核酸も提供する。いくつかのそのような実施形態によれば、単離された核酸は、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号 1）に対して、少なくとも 80% のアミノ酸配列相同性を有するタンパク質配列をコードする。いくつかのそのような実施形態によれば、単離された核酸は、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号 1）に対して、少なくとも 90% のアミノ酸配列相同性を有するタンパク質配列をコードする。いくつかのそのような実施形態によれば、単離された核酸は、アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A（配列識別番号 1）に対して、少なくとも 95% のアミノ酸配列相同性を有するタンパク質配列をコードする。

【0502】

いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害剤ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ~ 約 100 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 0.00001 mg / 体重 kg ~ 約 100 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 0.0001 mg / 体重 kg ~ 約 100 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 0.001 mg / 体重 kg ~ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 0.01 mg / 体重 kg ~ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 0.1 mg / kg（100 μg / kg）体重 ~ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 1 mg / 体重 kg ~ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 10 mg / 体重 kg ~ 約 100 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 2 mg / 体重 kg ~ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 3 mg / 体重 kg ~ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 4 mg / 体重 kg ~ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 5 mg / 体重 kg ~ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 60 mg / 体重 kg ~ 約 100 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 70 mg / 体重 kg ~ 約 100 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 80 mg / 体重 kg ~ 約 100 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害性ペプチドの治療量は、約 90 mg / 体重 kg ~ 約 100 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害剤ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ~ 約 90 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害剤ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ~ 約 80 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害剤ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ~ 約 70 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害剤ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ~ 約 60 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害剤ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ~ 約 50 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害剤ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ~ 約 40 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、治療的障害剤ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ~ 約 30 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害剤ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ~ 約 20 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的障害剤ペプチドの治療量は、約 0.000001 mg / 体重 kg ~ 約 10 mg / 体重 kg の量である。別の実施形態によれば、医

10

20

30

40

50

10

20

30

40

療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $70 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ～ $75 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $80 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ～ $85 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $85 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ～ $90 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $90 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ～ $95 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。いくつかの他の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量範囲は、 $95 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ～ $100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。

【0504】

別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量は、 $1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。

10

【0505】

別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量は、 $2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。

【0506】

別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量は、 $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。

【0507】

別の実施形態によれば、医薬組成物の治療的阻害剤ペプチドの治療用量は、 $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ である。

20

【0508】

別段の記載がない限り、本出願の中で利用される手法は、Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Sambrook, et al., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press)、Gene Expression Technology (Methods in Enzymology, Vol. 185, edited by D. Goeddel, 1991. Academic Press, San Diego, CA)、“Guide to Protein Purification” in Methods in Enzymology (M. P. Deutscher, ed., (1990) Academic Press, Inc.)、PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Innis, et al. 1990. Academic Press, San Diego, CA)、Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 2nd Ed. (R. I. Freshney. 1987. Liss, Inc. New York, NY)、及びGene Transfer and Expression Protocols, pp. 109–128, ed. E. J. Murray, The Humana Press Inc., Clifton, N. J.)などの、いくつかのよく知られる参考文献のいずれかにおいて見つかり得るものである。こうした文献はすべて、参照によって本明細書に援用される。

30

【0509】

別段の定義がない限り、本明細書で使用される技術用語及び科学用語はすべて、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解される意味と同一の意味を有する。記載の発明の実施または試験においては、本明細書に記載のものと類似または同等の任意の方法及び材料を使用することもできるが、ここでは好ましい方法及び材料が記載される。引用される刊行物と関連付けて方法及び／または材料を開示及び説明するために本明細書で言及される刊行物はすべて、参照によって本明細書に援用される。

40

【0510】

値の範囲が提供される場合、別段の記載がない限り、下限の10分の1の位に介在する各値、その範囲の上限及び下限の間に介在する各値、ならびにその記載範囲における任意の他の記載値または介在値が本発明に包含されると理解される。こうした小範囲の上限及

50

び下限は、小範囲に独立して含まれ得るものであり、それらもまた本発明に包含されると共に、記載範囲における任意の特定除外限界の対象である。記載範囲が、限界の一方または両方を含む場合は、含まれる限界のいずれかまたは両方を除外する範囲もまた本明細書に含まれる。

【0511】

本明細書及び添付の特許請求の範囲では、別段の記載がない限り、「a」、「及び (and)」、「及び the」という単数形は、複数の参照対象を含むことにも留意されなくてはならない。本明細書で使用される技術用語及び科学用語はすべて、同一の意味を有する。

【0512】

本明細書で議論される刊行物は、その全体が参照によって本明細書に援用され、本出願の出願日より前の開示のみを対象として提供される。発明が先行するという理由によって、本明細書の構成が、記載の発明がそのような刊行物に先行する権利は有さないということの承認となることはない。さらに、提供される刊行物の日付は、実際の公開日付とは異なり得るものであり、個別に確認する必要がある。

【0513】

本発明の真の趣旨及び範囲から逸脱することなく、さまざまな変更を実施してよく、同等形態を置き換えてよいと当業者は理解するべきである。さらに、特定の状況、材料、物質の組成物、プロセス、1つのプロセス段階、または複数のプロセス段階が、記載の発明の目的、趣旨、及び範囲に適応するように多くの改変を実施してよい。そのような改変はすべて、本明細書に添付の特許請求の範囲内であると意図される。

【実施例】

【0514】

下記の実施例は、記載の発明をどのように構成及び使用するかということについて、当業者に対して完全な開示及び説明となるように示されるものであり、発明者らが自身の発明であると見なすものの範囲の限定を意図するものではなく、下記の実験が実施した実験のすべてであるか、または下記の実験のみが実施した実験であるということを示すことを意図するものではない。使用される数（例えば、量、温度等）に関して正確性を確保するための努力はなされているが、何らかの実験的な誤差及び逸脱は考慮されるべきである。別段の記載がない限り、部は、重量部であり、分子量は、重量平均分子量であり、温度は、セ氏温度であり、及び圧力は大気圧または大気圧付近である。

【0515】

I. 材料及び方法

MMI-0100 製剤

MMI-0100 (YARAAARQARAKALARQLGVAA; 配列識別番号1) の乾燥粉末製剤

MMI-0100 (YARAAARQARAKALARQLGVAA; 配列識別番号1) の凍結乾燥物 (American Peptide, Inc., Sunnyvale CA) ロット番号100429、製造日2010年6月29日、500mg。

【0516】

MMI-0100 (YARAAARQARAKALARQLGVAA; 配列識別番号1) の無溶媒噴霧乾燥物、5% w/w の固体 (Bend Research, Bend OR) ロット番号BREC00708-003A、製造日2012年7月27日、1g。

【0517】

MMI-0100 (YARAAARQARAKALARQLGVAA; 配列識別番号1) の無溶媒噴霧乾燥物、1% w/w の固体 (Bend Research, Bend OR) ロット番号BREC00708-003B、製造日2012年7月27日、1g。

【0518】

MMI-0100 (YARAAARQARAKALARQLGVAA; 配列識別番号1) /トレハロースが80/20の噴霧乾燥物 (Santa Cruz Biotechn

10

20

30

40

50

ology, Inc. Dallas TX)、1%w/wの固体(Bend Research, Bend OR)ロット番号BREC00708-011C、製造日2012年9月10日の週、500mg。

【0519】

MMI-0100(YARAAARQARAKALARQLGVAA;配列識別番号1)／トレハロースが92.5/7.5の噴霧乾燥物(Santa Cruz Biotechnology, Inc. Dallas TX)、1%w/wの固体(Bend Research, Bend OR)ロット番号BREC00708-011F、製造日2012年9月10日の週、500mg。

【0520】

MMI-0100(YARAAARQARAKALARQLGVAA;配列識別番号1)の噴霧器用製剤(Nebulizer Formulation)

製剤A:7mg/mL;メスフラスコへ1.8gの凍結乾燥ペプチドを量り入れ、200mLの0.9%生理食塩水に含めたもの。

【0521】

製剤B:0.7mg/mL;メスフラスコへ0.18gの凍結乾燥ペプチドを量り入れ、200mLの0.9%生理食塩水に含めたもの。

【0522】

MMI-0100(YARAAARQARAKALARQLGVAA;配列識別番号1)のナノポリプレックス製剤

細胞透過性MK2阻害性ペプチドの合成

【0523】

MK2阻害性ペプチド(MK2i)MMI-0100(YARAAARQARAKALARQLGVAA;配列識別番号1)は、標準的なFmoc化学を利用し、PS3ペプチド合成機(Protein Technologies, Inc. Tucson, AZ)で合成した。ペプチド合成のすべてにおいて、N-メチルピロリドン(NMP, Fischer Scientific)を溶媒として利用した。N-メチルモルホリンの存在下で、HCTU(1H-ベンゾトリアゾリウム1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-5クロロ-,ヘキサフルオロホスフェート(1-),3-オキシド)(Chempep, Wellington, FL)を活性化物質として使用した。収率及び純度を最大化するために、アミノ酸のすべてでダブルカップリングを実施した。ペプチドの切断/脱保護は、トリフルオロ酢酸(TFA)/フェノール/H₂O/トリイソプロピルシラン(88/5/5/2)において実施した。その後、流量拡張キット(extended flow kit)を取り付けたWaters 1525バイナリーHPLCポンプ、Waters 2489 UV/可視検出器、及びphenomenex Luna C18(2)AXIA充填カラム(100Å、250x21.2mm、5ミクロン)を用いた逆相HPLCによって、ペプチドをさらに精製した。移動相として、A)0.05%のギ酸を含むHPLCグレードの水、及びB)HPLCグレードのアセトニトリルを使用し、A含量90%からB含量90%へと25分かけて変化させる濃度勾配(16mL/分)を利用してペプチドを精製した。ロータリーエバポレーターを用いて精製画分からアセトニトリルを除去した後、精製画分を凍結乾燥した。ペプチドの純度は、Waters Synapt ESI-MSでエレクトロスプレーイオン化質量分析(ESI-MS)を実施して確認した。

【0524】

モノマー及びポリマーの合成

【0525】

別段の記載がない限り、試薬はすべてSigmaから購入し、分析グレードのものを用いた。プロピルマロン酸ジエチル(Alfa Aesar)を前駆体として利用し、Ferrito et al.(Macromolecular Syntheses 11, 59-62(1992))によって要約された手順に従って、2-プロピルアクリル酸

10

20

30

40

50

を合成した。Convertine et al. (J. Control Release 133, 221-229 (2009)) による報告のように、4-シアノ-4-(エチルスルファニルチオカルボニル)スルファニルペンタン酸(ECT)連鎖移動剤(CTA)を合成した。ポリ(プロピルアクリル酸)(PPAA)ホモポリマーの可逆的付加-開裂連鎖移動(Reversible addition-fragmentation chain transfer)(RAFT)重合は、2,2'-アゾビスイソブチリルニトリル(AIBN)をフリーラジカル開始剤として使用し、窒素雰囲気下、70℃で48時間、塊状で実施した。反応混合物は、重合前に、凍結-減圧-解凍のサイクルに3回供してから、窒素を30分間通気した。連鎖移動剤(CTA)とAIBNとのモル比は1:1とし、モノマーとCTAとの比は、190の重合度に変換率100%で達成されるように設定した。重合の後、得られたポリマーをジメチルホルムアミド(DMF)に溶解してからエーテル中で沈降させ、この処理を5回実施した後、減圧下で一晩乾燥させた。ポリ(アクリル酸)(PAA)ホモポリマーのRAFT重合は、AIBNをフリーラジカル開始剤として使用し、窒素雰囲気下、70℃で18時間、蒸留ジオキサンにおいて実施した。重合前に、反応混合物に窒素を30分間通気した。CTAとAIBNとのモル比は5対1とし、モノマーとCTAとの比は、150の重合度に変換率100%で達成されるように設定した。重合の後、得られたポリマーをジオキサンに溶解してからエーテル中で沈降させ、この処理を5回実施した後、減圧下で一晩乾燥させた。HPLCグレードのDMFに0.1%のLiBrを含め、これを移動相として60℃で使用し、ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC、Agilent)を実施することで、PPAAホモポリマー及びPAAホモポリマーの分子量及び多分散(M_w/M_n 、PDI)を決定した。分子量の計算は、ASTRA Vソフトウェア(Wyatt Technology)を用いて実施したものであり、ポリマーをオフライン注入(off-line injection)し、示差屈折率検出器を用いて決定した dn/dc 実験決定値に基づいたものである(PPAAの dn/dc 計算値=0.087 mL/g、PAAの dn/dc の計算値=0.09 mL/g)。

10

20

【0526】

MMI-0100ナノポリプレックス(MK2i-NP)の合成及び特徴付け

【0527】

PPAAを1MのNaOHに溶解し、リン酸緩衝液(pH8)で希釈して保存溶液を得た。精製したMMI-0100ペプチドをリン酸緩衝液(pH8)に溶解した。電荷比(CR)の範囲を $[NH_3^+]:[COO^-]=10:1\sim1:10$ として、MMI-0100ペプチドとPPAAポリマーとを混合することで、MK2i-NPを形成させた。得られたポリプレックスを、シリンジを用いて0.45 μ mのポリテトラフルオロエチレン(PTFE)フィルターに通して濾過し、水力学的直径及び ζ -電位の特徴付けを、再利用可能なディップセルキット(dip cell kit)を用いてMalvern Zetasizer Nano-ZS(Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, U.K.)で実施した。

30

【0528】

IC₅₀の放射測定による決定

40

IC₅₀値は、10点の2分の1対数希釈(one-half log dilution)曲線から推定した。ペプチドは、ジメチルスルホキシド(DMSO)に含めたものを添加した。具体的には、50mMの3-グリセロリン酸ナトリウム(sodium 3-glycerophosphate)(pH=7.5)、0.1mMのEGTA、30 μ Mの基質ペプチド(KKLNRTLVA;配列識別番号21)、10mMの酢酸マグネシウム、及び90 μ Mの γ -³³P-ATPと共に、ヒト組換えMK2(h)(5~10mU)を室温で40分間インキュベートした(最終体積25 μ L)。その後、反応は、3%のリン酸で停止した。この混合物をp30濾過マット(filter mat)に10 μ Lスポットし、75mMのリン酸による3回の洗浄を5分間実施した後、メタノールで1回洗浄した。最終的に、膜を乾燥させてから、シンチレーションカウンターを使用した。A

50

ATP濃度は、ATPの見かけのKmが15 μ M以内となるように選択した。この理由は、Hayess and Benndorf (Biochem Pharmacol, 1997, 53(9): 1239-47)によって、その元々の阻害剤ペプチド（すなわち、ペプチドKKKALNRQLGVAA；配列識別番号22）の機構がATP結合と競合的ではないことが示されたためである。

【0529】

MMI-0100 (YARAAARQARAKALARQLGVAA；配列識別番号1)のIC₅₀値の決定に加えて、MilliporeのIC₅₀ Profiler Expressサービス (Millipore, Billerica, MA)を使用して、266のヒトキナーゼに対する阻害活性を試験した。

10

【0530】

特異性解析については、ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解したMMI-0100 (YARAAARQARAKALARQLGVAA；配列識別番号1)、MMI-0200 (YARAAARQARAKALNRQLGVAA；配列識別番号19)、MMI-0300 (FAKLAAARLYRKALARQLGVAA；配列識別番号3)、MMI-0400 (KAFKLAAARLYRKALARQLGVAA；配列識別番号4)、及びMMI-0500 (HRRIKAWLKKIKALARQLGVAA；配列識別番号7)をそれぞれ100 μ Mで使用した。キナーゼ活性の測定はすべて2連で実施した。

【0531】

細胞株

20

NSCLC (NCI-H520、A549、NCI-H1993、NCI-H460、及びNCI-H1299)細胞株はすべて、American Tissue and Cell Collection (ATCC) から入手することができる。こうした細胞は、異なる病理学的サブタイプ（例えば、扁平上皮、腺癌、癌腫）に相当するものである。さまざまな分子特徴も示すものであり、こうした分子特徴には、p53野生型 (A549、H460)、p53の低減型または欠失型 (H520、H1299)、KRAS野生型 (H1299)、KRAS変異型 (A549、H460)、EGFR野生型 (A549)、EGFR変異型 (H1993、H460)、及びc-met増幅型 (H1993)が含まれる。細胞はすべて、10%のウシ胎仔血清 (FBS)、1mMのピルビン酸ナトリウム、及び10mMのHEPESを含むRPMI 1640 (Cellgro)において、5%のCO₂雰囲気下、37°Cで、加湿した組織培養インキュベーターにおいて培養することができる。細胞のマイクプラズマ汚染については、MycAlertマイクプラズマ検出キット (Lonza, Rockland, ME) を使用して日常的に試験することができる。

30

【0532】

II. 結果

実施例1. MMI-0100 (YARAAARQARAKALARQLGVAA；配列識別番号1)のIC₅₀及び特異性

下記のMK2阻害剤ペプチドについてのIC₅₀ (50%阻害濃度 (half maximal inhibitory concentration))値は、MilliporeのIC₅₀ Profiler Expressサービスを使用して決定したものである。この定量アッセイは、所与の生物学的プロセスまたはプロセス構成成分（すなわち、酵素、細胞、もしくは細胞受容体）を50%阻害するためには、阻害剤がどのくらい必要となるかを測定するものである [IC₅₀]。具体的には、こうしたアッセイでは、キナーゼが阻害剤ペプチドによって阻害されなければ、陽性荷電基質が、ATPに由来する放射標識リン酸基でリン酸化される。その後、陽性荷電基質は、陰性荷電フィルター膜に誘引結合され、シンチレーションカウンターで定量化されて、100%活性の対照と比較される。

40

【0533】

ATP濃度は、ATPの見かけのKmが15 μ M以内となるように選択した。この理由

50

は、近い K_m を有する ATP 濃度とすることで、キナーゼのリン酸化活性量を相対的に同一とし得るためである。アミノ酸配列 Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A ; 配列識別番号 1 (MMI-0100) を有するポリペプチドの IC_{50} は、 $22 \mu M$ と決定した。

【0534】

MMI-0100 の IC_{50} の決定に加えて、Millipore のキナーゼプロファイリングサービスの試験で利用可能な 266 のヒトキナーゼのすべての活性を調べることによって、MK2 阻害性ペプチドの特異性を評価した (表 1)。解析については、MMI-0100 (Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A ; 配列識別番号 1)、MMI-0200 (Y A R A A A R Q A R A K A L N R Q L G V A ; 配列識別番号 19)、MMI-0300 (F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A ; 配列識別番号 3)、MMI-0400 (K A F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A ; 配列識別番号 4)、及び MMI-0500 (H R R I K A W L K K I K A L A R Q L G V A A ; 配列識別番号 7) によって 65% 超の阻害が生じたキナーゼを決定した。

【0535】

表 1 に示されるとおり、MK2 阻害性ペプチドである MMI-0100 (配列識別番号 1)、MMI-0200 (配列識別番号 19)、MMI-0300 (配列識別番号 3)、MMI-0400 (配列識別番号 4)、及び MMI-0500 (配列識別番号 5) は、 $100 \mu M$ において、特定のキナーゼ群を阻害し、非特異的なキナーゼ阻害は非常に限定的であった。より具体的には、MK2 阻害性ペプチドである MMI-0100 (配列識別番号 1)、MMI-0200 (配列識別番号 19)、MMI-0300 (配列識別番号 3)、MMI-0400 (配列識別番号 4)、及び MMI-0500 (配列識別番号 5) を使用したところ、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 2 (MK2)、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ活性化タンパク質キナーゼ 3 (MK3)、カルシウム/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ I (CaMKI、セリン/スレオニン特異的タンパク質キナーゼ)、及び BDNF/NT-3 成長因子受容体 (TrkB、チロシンキナーゼ) のキナーゼ活性にインビトロで 65% 超の阻害が生じた。

【0536】

表 1. キナーゼプロファイリングアッセイ

	MMI-0100 (配列識別 番号1) ($100 \mu M$)	MMI-0200 (配列識別 番号19) ($100 \mu M$)	MMI-0300 (配列識別 番号3) ($100 \mu M$)	MMI-0400 (配列識別 番号4) ($100 \mu M$)	MMI-0500 (配列識別 番号7) ($100 \mu M$)
Abl (h)	136	107	69	84	16
Abl (H396P) (h)	130	121	101	105	51
Abl (M351T) (h)	128	119	90	121	61
Abl (Q252H) (h)	105	107	82	98	40
Abl (T315I) (h)	98	108	97	105	16
Abl (Y253F) (h)	104	102	86	78	29
ACK1 (h)	106	97	104	95	64
ALK (h)	118	95	19	16	12
ALK4 (h)	124	152	140	130	81
Arg (h)	89	82	72	84	22
AMPK α 1 (h)	107	108	71	87	35
AMPK α 2 (h)	121	88	54	58	9

10

20

30

40

50

ARK5 (h)	108	93	78	69	20
ASK1 (h)	100	101	80	69	-4
オーロラ-A (h)	120	107	92	119	110
オーロラ-B (h)	94	166	128	150	5
Axl (h)	81	99	52	41	12
Bmx (h)	62	76	N/D	26	45
BRK (h)	70	127	35	18	41
BrSK1 (h)	100	93	67	76	72
BrSK2 (h)	129	102	83	86	84
BTK (h)	112	100	102	94	18
BTK (R28H) (h)	91	104	74	24	10
CaMKI (h)	13	21	1	0	-1
CaMKII β (h)	58	53	2	11	3
CaMKII γ (h)	106	94	5	3	3
CaMKI δ (h)	59	47	10	17	0
CaMKII δ (h)	89	2	1	2	1
CaMKIV (h)	87	71	17	18	-1
CDK1/サイクリンB (h)	96	115	73	74	57
CDK2/サイクリンA (h)	97	114	86	92	87
CDK2/サイクリンE (h)	106	112	94	83	19
CDK3/サイクリンE (h)	106	104	94	92	8
CDK5/p25 (h)	114	97	89	92	66
CDK5/p35 (h)	94	92	79	76	59
CDK6/サイクリンD3 (h)	103	100	86	85	23
CDK7/サイクリンH/MAT1 (h)	89	67	65	47	15
CDK9/サイクリンT1 (h)	228	103	91	235	6
CHK1 (h)	97	115	91	87	65
CHK2 (h)	104	105	66	54	13
CHK2 (I157T) (h)	97	85	43	41	3
CHK2 (R145W) (h)	97	81	33	31	3
CK1 γ 1 (h)	110	98	111	116	109
CK1 γ 2 (h)	119	104	123	114	119
CK1 γ 3 (h)	105	96	125	115	114
CK1 δ (h)	115	92	92	93	78
CK2 (h)	90	83	90	101	93
CK2 α 2 (h)	104	88	105	96	103

10

20

30

40

50

CLK2 (h)	88	97	103	116	116
CLK3 (h)	108	76	61	84	76
cKit (h)	95	110	53	43	45
cKit (D816V) (h)	117	118	60	35	30
cKit (D816H) (h)	79	106	126	143	194
cKit (V560G) (h)	94	115	102	124	198
cKit (V654A) (h)	69	113	134	150	223
CSK (h)	70	33	49	16	2
c-RAF (h)	97	115	107	102	19
cSRC (h)	70	32	26	14	30
DAPK1 (h)	97	113	46	36	0
DAPK2 (h)	41	92	32	16	3
DCAMKL2 (h)	146	131	81	70	56
DDR2 (h)	105	104	94	95	79
DMPK (h)	60	66	59	54	12
DRAK1 (h)	47	34	14	14	8
DYRK2 (h)	99	142	155	195	127
eEF-2K (h)	113	136	91	43	43
EGFR (h)	95	83	21	16	-1
EGFR (L858R) (h)	76	120	N/D	52	26
EGFR (L861Q) (h)	53	74	25	22	15
EGFR (T790M) (h)	106	113	100	106	70
EGFR (T790M, L858R) (h)	93	108	85	78	53
EphA1 (h)	114	136	73	61	40
EphA2 (h)	58	95	31	17	N/D
EphA3 (h)	107	117	6	12	33
EphA4 (h)	110	127	88	65	48
EphA5 (h)	110	123	18	24	42
EphA7 (h)	193	220	159	222	189
EphA8 (h)	181	133	93	146	337
EphB2 (h)	68	128	18	22	70
EphB1 (h)	99	95	44	58	37
EphB3 (h)	109	128	62	47	79
EphB4 (h)	62	131	44	28	38
ErbB4 (h)	73	82	40	0	2
FAK (h)	98	110	111	96	94
Fer (h)	117	101	130	108	196
Fes (h)	44	74	20	16	23
FGFR1 (h)	120	97	55	59	18
FGFR1 (V561M) (h)	108	72	74	74	113
FGFR2 (h)	49	73	14	18	12
FGFR2 (N549H) (h)	95	104	116	112	105

10

20

30

40

50

FGFR3 (h)	73	208	102	0	10
FGFR4 (h)	67	75	28	19	3
Fgr (h)	54	71	60	47	109
Flt1 (h)	109	96	69	48	27
Flt3 (D835Y) (h)	120	115	80	71	65
Flt3 (h)	104	99	84	18	17
Flt4 (h)	135	105	83	89	73
Fms (h)	89	92	45	37	14
Fms (Y969C) (h)	126	88	72	91	N/D
Fyn (h)	71	75	74	54	83
GCK (h)	98	99	70	66	30
GRK5 (h)	117	135	136	131	116
GRK6 (h)	131	132	147	141	174
GRK7 (h)	111	124	122	100	93
GSK3 α (h)	183	119	157	164	175
GSK3 β (h)	113	132	205	202	238
ハスピン (Haspin) (h)	127	71	48	36	25
Hck (h)	354	107	72	72	78
活性型Hck (h)	58	100	82	81	67
HIPK1 (h)	94	115	74	91	47
HIPK2 (h)	98	102	73	90	38
HIPK3 (h)	105	105	93	105	85
IGF-1R (h)	102	49	119	90	117
活性型IGF-1R (h)	126	94	80	77	45
IKK α (h)	108	104	93	87	50
IKK β (h)	105	109	84	84	71
IR (h)	112	90	96	85	95
活性型IR (h)	127	105	79	59	90
IRR (h)	85	69	8	8	10
IRAK1 (h)	97	101	95	93	5
IRAK4 (h)	100	110	59	59	3
Itk (h)	99	98	77	63	7
JAK2 (h)	89	131	133	119	49
JAK3 (h)	150	117	121	122	95
JNK1 α 1 (h)	91	106	97	98	109
JNK2 α 2 (h)	114	109	98	96	81
JNK3 (h)	104	90	89	70	171
KDR (h)	100	110	101	94	15
Lck (h)	346	113	-2	228	359
活性型Lck (h)	106	90	243	216	76
LIMK1 (h)	103	109	88	92	87
LKB1 (h)	111	99	101	89	51

10

20

30

40

50

LOK (h)	37	67	37	18	7
Lyn (h)	113	98	69	3	31
MAPK1 (h)	108	97	107	100	102
MAPK2 (h)	98	105	98	93	60
MAPKAP-K2 (h)	19	35	5	5	9
MAPKAP-K3 (h)	27	39	3	7	9
MEK1 (h)	86	116	77	77	21
MARK1 (h)	109	102	132	120	110
MELK (h)	74	59	16	17	0
Mer (h)	47	90	52	50	17
Met (h)	104	71	65	62	27
Met (D1246H) (h)	99	139	125	68	150
Met (D1246N) (h)	114	149	82	31	90
Met (M1268T) (h)	114	143	255	265	239
Met (Y1248C) (h)	77	141	84	36	73
Met (Y1248D) (h)	87	118	102	31	218
Met (Y1248H) (h)	88	153	117	63	126
MINK (h)	96	103	48	52	5
MKK6 (h)	74	98	48	44	18
MKK7 β (h)	137	117	100	94	102
MLCK (h)	85	103	2	1	0
MLK1 (h)	77	84	40	33	43
Mnk2 (h)	94	106	89	86	6
MRCK α (h)	98	103	104	97	5
MRCK β (h)	103	102	83	71	-10
MSK1 (h)	52	50	32	28	8
MSK2 (h)	105	88	56	52	14
MSSK1 (h)	82	100	77	75	22
MST1 (h)	85	72	14	6	3
MST2 (h)	98	104	19	11	2
MST3 (h)	104	95	45	36	4
mTOR (h)	102	110	91	93	135
mTOR/FKBP12 (h)	117	118	145	125	140
MuSK (h)	85	106	93	93	27
NEK2 (h)	102	97	78	61	0
NEK3 (h)	100	100	92	85	20
NEK6 (h)	109	98	82	85	49
NEK7 (h)	97	96	84	87	89
NEK11 (h)	102	95	53	33	2
NLK (h)	100	106	87	90	19
p70S6K (h)	89	84	35	33	3
PAK2 (h)	71	69	65	59	44
PAK4 (h)	92	98	94	89	86

10

20

30

40

50

PAK3 (h)	N/D	50	140	121	102
PAK5 (h)	97	100	110	117	125
PAK6 (h)	121	105	104	100	107
PAR-1B α (h)	62	110	113	109	97
PASK (h)	81	60	29	28	9
PDGFR α (h)	104	108	65	40	40
PDGFR α (D842V) (h)	103	107	114	118	170
PDGFR α (V561D) (h)	58	106	82	100	146
PDGFR β (h)	116	137	81	53	40
PDK1 (h)	144	143	135	159	178
PhK γ 2 (h)	62	86	46	38	16
Pim-1 (h)	44	18	8	7	0
Pim-2 (h)	117	74	76	92	46
Pim-3 (h)	98	94	80	80	37
PKA (h)	138	110	119	119	118
PKB α (h)	140	110	57	67	30
PKB β (h)	284	250	84	98	21
PKB γ (h)	105	103	20	41	20
PKC α (h)	94	100	89	86	3
PKC β I (h)	88	98	78	78	1
PKC β II (h)	102	100	82	75	3
PKC γ (h)	94	101	89	79	6
PKC δ (h)	100	101	101	90	61
PKC ε (h)	102	98	79	59	23
PKC η (h)	105	101	103	98	45
PKC ι (h)	110	97	68	46	7
PKC μ (h)	79	73	22	14	10
PKC θ (h)	102	101	88	76	62
PKC ζ (h)	82	98	81	75	7
PKD2 (h)	84	78	33	25	10
PKG1 α (h)	82	70	64	58	25
PKG1 β (h)	71	57	50	53	24
PIk1 (h)	109	128	115	119	104
PIk3 (h)	107	107	127	129	122
PRAK (h)	159	115	128	118	95
PRK2 (h)	72	74	33	27	7
PrKX (h)	84	112	61	76	57
PTK5 (h)	135	108	132	129	96
Pyk2 (h)	113	127	47	34	46
Ret (h)	108	96	140	145	174
Ret (V804L) (h)	113	100	79	73	20

10

20

30

40

Ret (V804M) (h)	92	105	95	87	36
RIPK2 (h)	92	98	97	98	30
ROCK-I (h)	99	117	79	73	17
ROCK-II (h)	102	85	74	77	2
Ron (h)	117	120	93	79	46
Ros (h)	107	86	95	99	150
Rse (h)	109	88	88	89	63
Rsk1 (h)	86	102	46	54	34
Rsk2 (h)	65	101	51	38	14
Rsk3 (h)	76	109	76	71	23
Rsk4 (h)	99	125	90	91	29
SAPK2a (h)	110	107	90	85	52
SAPK2a (T106M) (h)	101	100	97	99	32
SAPK2b (h)	99	95	81	82	42
SAPK3 (h)	106	97	84	79	24
SAPK4 (h)	98	106	96	91	48
SGK (h)	128	115	48	54	2
SGK2 (h)	103	119	56	98	-1
SGK3 (h)	95	58	10	8	-3
SIK (h)	113	102	66	68	40
Snk (h)	94	109	114	131	122
Src (1-530) (h)	95	75	23	19	21
Src (T341M) (h)	98	56	70	76	59
SRPK1 (h)	69	93	90	96	80
SRPK2 (h)	92	100	106	97	80
STK33 (h)	99	98	45	52	16
Syk (h)	45	36	24	9	5
TAK1 (h)	116	124	122	177	N/D
TA01 (h)	99	105	82	73	24
TA02 (h)	95	93	70	74	15
TA03 (h)	45	102	77	67	12
TBK1 (h)	106	98	37	39	16
活性型Tec (h)	100	77	56	29	33
Tie2 (h)	28	53	26	21	22
Tie2 (R849W) (h)	102	89	117	108	106
Tie2 (Y897S) (h)	99	85	83	87	80
TLK2 (h)	113	129	114	151	133
TrkA (h)	74	N/D	25	17	24
TrkB (h)	4	7	5	8	12
TSSK1 (h)	99	98	79	79	46
TSSK2 (h)	107	91	98	94	92
Txk (h)	87	98	48	37	10
ULK2 (h)	123	132	122	131	124

10

20

30

40

50

ULK3 (h)	142	164	167	147	177
WNK2 (h)	95	94	64	54	8
WNK3 (h)	100	97	77	74	9
VRK2 (h)	112	109	161	185	169
Yes (h)	49	93	67	14	N/D
ZAP-70 (h)	79	58	75	33	1
ZIPK (h)	80	67	28	13	1

N/D：活性%が2連として決定不可能であった。

MMI-0100: YARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1)

MMI-0200: YARAAARQARAKALNRQLGVA (配列識別番号19)

MMI-0300: FAKLAARLYRKALARQLGVAA (配列識別番号3)

MMI-0400: KAFAKLAARLYRKALARQLGVAA (配列識別番号4)

MMI-0500: HRRIKAWLKKIKALARQLGVAA (配列識別番号7)

10

20

【0537】

実施例2. MK2阻害剤ペプチドによるNSCLC細胞の増殖阻害

MK2阻害剤ペプチドによるNSCLC細胞の増殖阻害の決定には、細胞増殖アッセイを用いることができる。例えば、NCI-H520細胞、A549細胞、NCI-H1975細胞、NCI-H460細胞、及びNCI-H1299細胞(ATCC)を96ウェルプレートに播種し、一晚培養することができる。細胞培養物は、特定の処理間隔で、さまざまな濃度のYARAAARQARAKALARQLGVAA (配列識別番号1; MMI-0100)、YARAAARQARAKALNRQLGVA (配列識別番号19; MMI-0200)、FAKLAARLYRKALARQLGVAA (配列識別番号3; MMI-0300)、KAFAKLAARLYRKALARQLGVAA (配列識別番号4; MMI-0400)、HRRIKAWLKKIKALARQLGVAA (配列識別番号7; MMI-0500)、YARAAARDARAKALNRQLAVAA (配列識別番号23; MMI-0600)、及びYARAAARQARAKALNRQLAVA (配列識別番号24; MMI-0600-2)に曝露することができる。NSCLC細胞の増殖は、3-[4,5-ジメチルチアゾール-2-イル]-2,5-ジフェニルテトラゾリウムプロミド(MTT)アッセイ(Life Technologies, Grand Island, NY)によって決定することができる。簡潔に記載すると、接着細胞については、培地を除去し、100μLの新鮮な培養培地と交換する。非接着細胞については、マイクロプレートを送心してNSCLC細胞をペレットとし、培地を除去して100μLの新鮮な培地と交換する。MTT色素(2mg/ml)を添加し、細胞を37℃で4時間インキュベートする。次に、培地を除去し、得られたホルマザンの結晶をDMSO(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)に5分間溶解する。分光光度計を用いてマイクロプレートを540nmで読み取る。用量応答曲線は、GraphPad Prismのバージョン5.01(GraphPad Software Inc, La Jolla, CA)を使用して作成することができる。IC₅₀値は、CalcuSyn(Biosoft, Great Shelford, Cambridge, UK)を使用して計算することができる。

30

40

【0538】

実施例3. MK2阻害剤ペプチドの細胞傷害性

50

NSCLC細胞に対するMK2阻害剤ペプチドの細胞傷害性作用を決定することができる。例えば、NCI-H520細胞、A549細胞、NCI-H1993細胞、NCI-H460細胞、及びNCI-H1299細胞(ATCC)を6ウェルプレートに播種し、一晚培養することができる。NSCLC細胞培養物は、未処理のままとするか、または事前に決定したIC₅₀用量のYARAAARQARAKALARQLGVAA(配列識別番号1;MMI-0100)、YARAAARQARAKALNRQLGVAA(配列識別番号19;MMI-0200)、FAKLAAARLYRKALARQLGVAA(配列識別番号3;MMI-0300)、KAFAKLAAARLYRKALARQLGVAA(配列識別番号4;MMI-0400)、HRRIKAWLKKIKALARQLGVAA(配列識別番号7;MMI-0500)、YARAAARDARAKALNRQLAVAA(配列識別番号23;MMI-0600)、及びYARAAARQARAKALNRQLAVAA(配列識別番号24;MMI-0600-2)で処理し、48時間、72時間、または96時間インキュベートすることができる。各時点の後、任意の非接着細胞を含む培地を収集することができる。接着細胞は、トリプシン(Life Technologies, Grand Island, NY)を使用して剥がし、培養培地に懸濁した後、手作業のピペッティングによって脱凝集させることができる。収集したNSCLC細胞はすべて、トリパンブルー色素(Life Technologies)と混合することができる。色素で染色されない生細胞、及び青色に染まる死細胞の数を、血球計数器を使用して数えることができる。

10

【0539】

20

実施例4. MK2阻害剤ペプチドによるNSCLC細胞のアポトーシス

カスパーゼ酵素の活性化は、アポトーシスの早期段階に特有の特徴である。MK2阻害剤ペプチドによるNSCLC細胞のアポトーシスの決定には、カスパーゼ活性を対象とするマイクロプレートアッセイを実施することができる。例えば、NCI-H520細胞、A549細胞、NCI-H1993細胞、NCI-H460細胞、及びNCI-H1299細胞(ATCC)を96ウェルプレートに播種し、一晚培養することができる。NSCLC細胞培養物は、未処理のままとするか、または事前に決定したIC₅₀用量のYARAAARQARAKALARQLGVAA(配列識別番号1;MMI-0100)、YARAAARQARAKALNRQLGVAA(配列識別番号19;MMI-0200)、FAKLAAARLYRKALARQLGVAA(配列識別番号3;MMI-0300)、KAFAKLAAARLYRKALARQLGVAA(配列識別番号4;MMI-0400)、HRRIKAWLKKIKALARQLGVAA(配列識別番号7;MMI-0500)、YARAAARDARAKALNRQLAVAA(配列識別番号23;MMI-0600)、及びYARAAARQARAKALNRQLAVAA(配列識別番号24;MMI-0600-2)で処理し、48時間、72時間、または96時間インキュベートすることができる。各時点の後、CellEvent(商標)カスパーゼ3/7緑色検出試薬(Life Technologies)を各ウェルに添加し、最終濃度を2~8 µMとして、37℃で30分間インキュベートすることができる。インキュベーションの後、502/530 nmの励起/発光極大の検出が可能なフィルターセットを備えたマイクロプレートリーダー(例えば、Gemini XPS Microplate Reader, Molecular Devices, Sunnyvale, CA)を使用し、細胞を蛍光検出して画像化することができる。

30

40

【0540】

実施例5. MK2阻害剤ペプチドによるNSCLC細胞のインビボでの治療

非小細胞肺癌(NSCLC)腫瘍に対するMK2阻害剤ペプチドの作用評価には、同所性肺腫瘍移植を使用することができる。例えば、同所性肺腫瘍の確立には、Peng et al. (Nanomedicine. 2014 Oct;10(7):1497-1506)による報告のように、4~6週齢の雌性スプラグドローリー(Sprague Dawley)ヌードマウス(Harlan Laboratories)を使用することができる。簡潔に記載すると、マウスに麻酔をかけた後、左肺上の背側を5 mm切開す

50

る。脂肪及び筋肉を分離して肺の動きが見えるようにする。40 μ LのPBS／マトリゲル (matrigel) (BD Biosciences) に懸濁した5百万 (5 x 10⁶) 個のA549ヒト肺腺癌上皮細胞 (ATCC) を、深さ3mmで左肺実質に直接注射する (0日目)。マウスを8群に無作為化する：未治療対照群、Y A R A A A R Q A R A K A L A R Q L G V A A (配列識別番号1；MMI-0100) 群、Y A R A A A R Q A R A K A L N R Q L G V A (配列識別番号19；MMI-0200) 群、F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A (配列識別番号3；MMI-0300) 群、K A F A K L A A R L Y R K A L A R Q L G V A A (配列識別番号4；MMI-0400) 群、H R R I K A W L K K I K A L A R Q L G V A A (配列識別番号7；MMI-0500) 群、Y A R A A A R D A R A K A L N R Q L A V A A (配列識別番号23；MMI-0600) 群、及びY A R A A A R Q A R A K A L N R Q L A V A (配列識別番号24；MMI-0600-2) 群。治療は、16日目に静脈内 (IV) 注射として開始し、7日ごとに1日1回の治療スケジュールで6回用量を投与する (Q7d x 6)。試験期間の任意の時点で、ボディ・コンディション・スコアリング (BCS) が2以下のとき、または総減少体重が20%に達したときに、マウスを屠殺する。

10

【0541】

治療有効性は、生存期間中央値によって評価することができる。治療有効性は、肉眼による画像化 (gross imaging) によっても評価することができる。例えば、肺を回収し、固形腫瘍小結節のあり、なし、またはサイズに関して、治療群間の比較、及び治療群と未治療対照群との比較を実施することができる。

20

【0542】

実施例6. K r a s 推進型及びK r a s / p 5 3 推進型の肺癌に対するMK2阻害剤の影響の決定

K r a s 推進型、K r a s / p 5 3 推進型、及びK r a s / L k b 1 推進型のマウス肺癌に対するMK2阻害剤の影響を理解するためには、マウスモデルを使用してインビボ試験を実施することができる。K r a s 肺癌、K r a s / p 5 3 肺癌、及びK r a s / L k b 1 肺癌の中に存在する免疫細胞に対する全身性のMK2阻害の影響は、(i) プラセボ、(i i) シスプラチン、(i i i) MK2阻害剤、または(i v) シスプラチン+MK2阻害剤のいずれかを用いる2週間の短期間治療の後に調べることができる。

30

【0543】

M R I 検診によって決定した肺癌を有する3~5匹の各遺伝子型 (K r a s 及びK r a s / p 5 3) マウスを、上記の関心薬剤 ((i) プラセボ、(i i) シスプラチン、(i i i) MK2阻害剤、または(i v) シスプラチン+MK2阻害剤) で2週間治療することができる。サイトカインプロファイリング (例えば、I L-6、T G F b 1、P G R N、V E G F、G M C S G、及びC C L 2) を目的として、こうしたマウスから気管支肺胞洗浄液 (B A L F) を得ることができる。こうしたマウスから肺腫瘍小結節を単離して処理し、単一細胞浮遊液とすることができる。次に、癌上皮細胞及びさまざまな免疫細胞集団 (例えば、マクロファージ、N K細胞、T r e g細胞、B細胞等) を対象として、浮遊液をF A C Sによって選別することができる。

40

【0544】

実施例7. 有効性試験

【0545】

2週間後、MK2阻害剤が、免疫系の再活性化及び腫瘍サイズの縮小に劇的な影響を有していることが明らかとなれば、長期有効性試験を実施することができる。

【0546】

肺癌を有する10~15匹の各遺伝子型 (K r a s 及びK r a s / p 5 3) マウスを、上記の関心薬剤 ((i) プラセボ、(i i) シスプラチン、(i i i) MK2阻害剤、または(i v) シスプラチン+MK2阻害剤) で長期的に治療することができる。応答及び腫瘍進行を記録するために、マウスをM R I によって連続画像化することができる。応答の深度、応答の持続期間、応答率、無進行生存期間、及び全生存期間を測定することがで

50

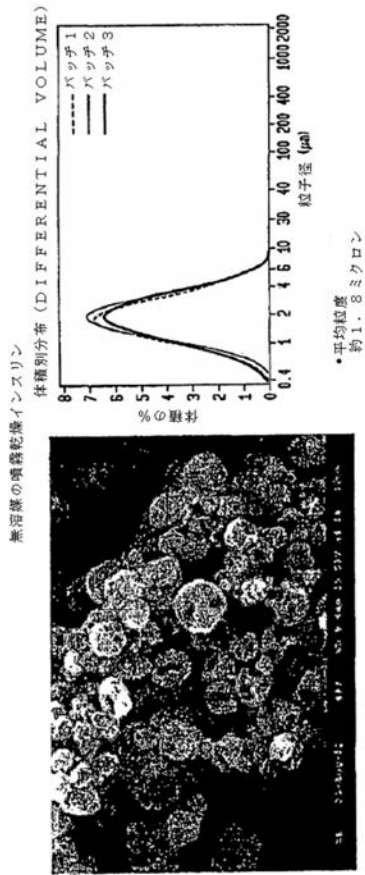
きる。試験終了時点で、一次抵抗性及び獲得抵抗性の機構を決定するために、さまざまなコホートに由来するマウスを安楽死させて、そのBALF及び腫瘍小結節を収集することができる。

【0547】

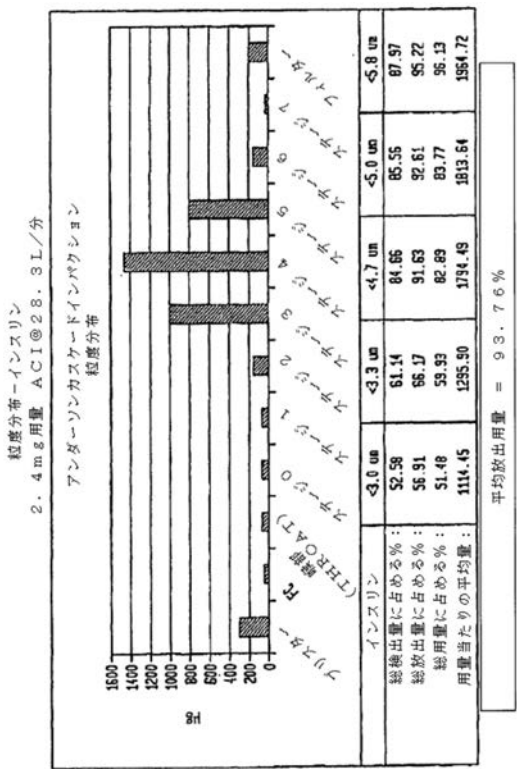
記載の発明は、その特定の実施形態に関して説明されているが、本発明の真の趣旨及び範囲から逸脱することなく、さまざまな変更を実施してよく、同等形態を置き換えてよいと当業者は理解するべきである。さらに、特定の状況、材料、物質の組成物、プロセス、1つのプロセス段階、または複数のプロセス段階が、記載の発明の目的、趣旨、及び範囲に適応するように多くの改変を実施してよい。そのような改変はすべて、本明細書に添付の特許請求の範囲内であると意図される。

10

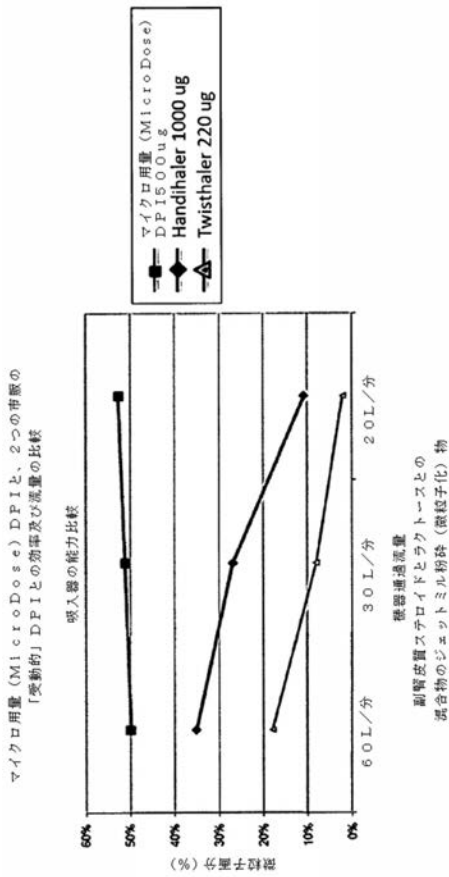
【図1】



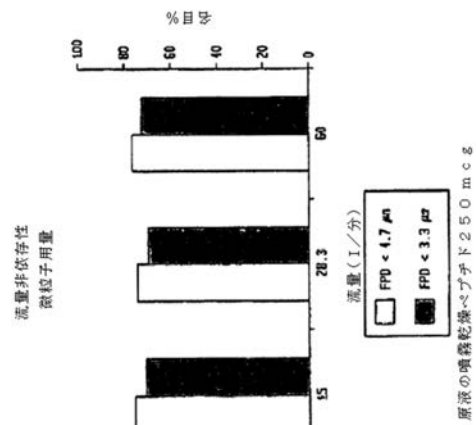
【図2】



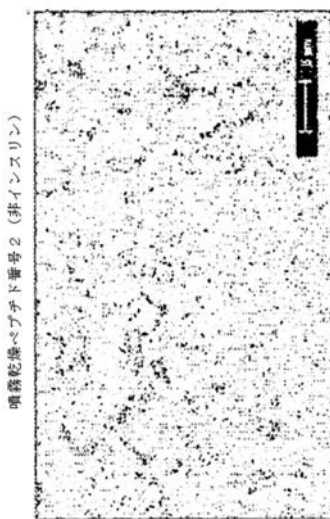
【 図 3 】



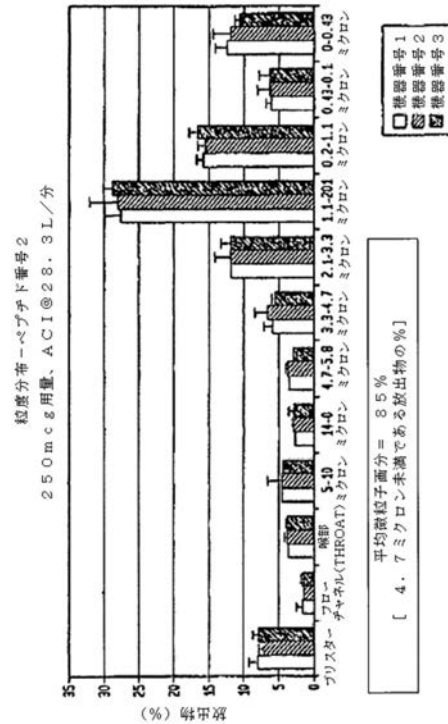
【圖 4】



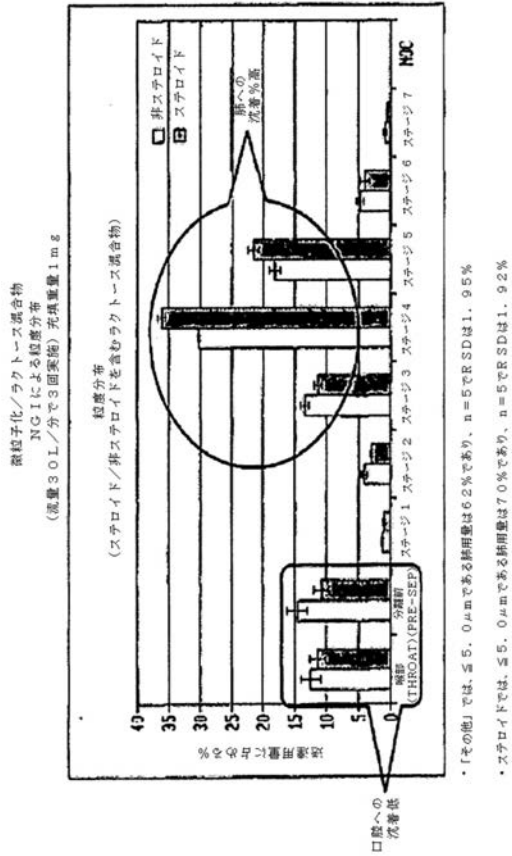
【図 5】



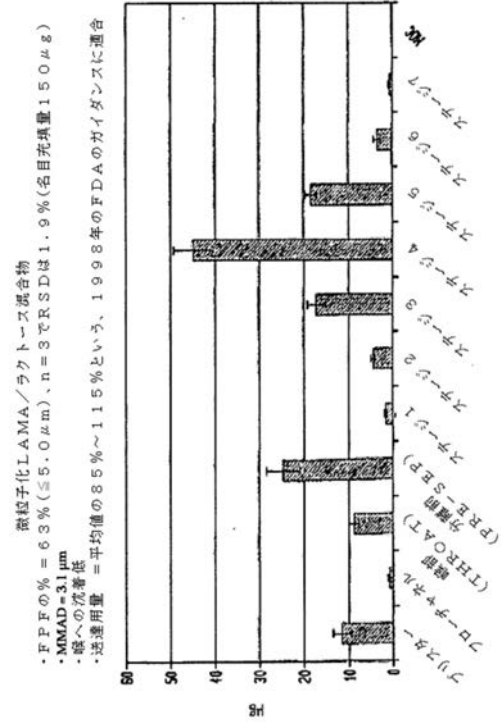
【図 6】



【図 7】



【図 8】



【配列表】

2018512401000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US16/21843
Box No. 1	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)	
1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☐ forming part of the international application as filed: ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file. ☐ on paper or in the form of an image file. b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file. c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only: ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)). ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713). 2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished. 3. Additional comments:		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US16/21843

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

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

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

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

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Claims 1-110 and SEQ ID NOs: 1, 2 and 11

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US16/21843

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 38/00, 38/04, 38/16 (2016.01) CPC - A61K 38/00, 38/04, 38/16 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) IC: A01N 37/18; A61K 38/00, 38/04, 38/16 (2016.01) CPC: A01N 37/18; A61K 38/00, 38/04, 38/16 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) PatSeer (US, EP, WO, JP, DE, GB, CN, FR, KR, ES, AU, IN, CA, INPADOC Data); EBSCO Discovery; PubMed; Google; Google Scholar; Google Patents; KEYWORDS: NSCLC, solid, tumor, YARAAARQARAKALARQLGVAA, inhaler		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2010/068692 A1 (PURDUE RESEARCH FOUNDATION) June 17, 2010; abstract; paragraphs [0024], [00105]-[00107], [00199], [00212], [00265], [00270], [00271]	1-11, 17, 21, 29-50, 56, 60, 68-86, 92, 96, 104-110
Y	WO 2013/182912 A2 (FUNDACIO PRIVADA INSTITUT DE RECERCA BIOMEDICA) December 12, 2013; abstract; paragraphs [0029], [0049], [0112], [0114]-[0116], [0122], [0239]	1-11, 17, 21, 29-50, 56, 60, 68-86, 92, 96, 104-110
Y	US 2007/0281906 A1 (DALTON, J et al.) December 6, 2007; abstract; paragraphs [0280], [0300], [0309], [0334], [0335], [0390]	8-11, 47-50, 83-86
Y	US 2008/0039985 A1 (BENNETT, D et al.) February 23, 2006; abstract; paragraphs [0020], [0041], [0043], [0098]	31-36, 43-44, 70-75, 106-110
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ 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 16 August 2016 (16.08.2016)		Date of mailing of the international search report 14 SEP 2016
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US16/21843

---Continued from Box III ---

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

Groups I+, Claims 1-110 and SEQ ID NOs: 1, 2 and 11 are directed toward methods for treating non-small cell lung cancer solid tumor comprising a population of tumor cells, the method comprising: administering to a subject in need thereof a pharmaceutical composition comprising a therapeutic amount of a polypeptide of the amino acid sequence YARAAARQARAKALARQLGVAA or a functional equivalent thereof, effective to inhibit a kinase activity of a kinase selected from the group listed in Table 1; and a system and composition for said method.

The method, system and composition will be searched to the extent that they comprise a peptide encompassing SEQ ID NO: 1 (first exemplary peptide sequence), encompassing a cell penetrating portion encompassing SEQ ID NO: 11 (first exemplary cell penetrating fragment) and a kinase inhibiting portion encompassing SEQ ID NO: 2 (first exemplary kinase inhibiting fragment). Applicant is invited to elect additional peptide(s) with specified SEQ ID NO: for each, optionally encompassing indicated cell penetrating fragment(s) and/or kinase inhibiting fragment(s), to be searched. Additional peptide and optional fragment sequence(s) will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1-11, 17, 21 (in-part), 29-50, 56, 60 (in-part), 68-86, 92, 96 (in-part) and 104-110 encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NO: 1 (peptide sequence), SEQ ID NO: 11 (cell penetrating fragment) and SEQ ID NO: 2 (kinase inhibiting fragment). Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected peptide and optional fragment sequence(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be a peptide encompassing SEQ ID NO: 3 (first exemplary elected peptide sequence) and encompassing cell penetrating fragment encompassing SEQ ID NO: 16 (first exemplary elected cell penetrating fragment).

No technical features are shared between the peptide sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Groups I+ share the technical features including: a pharmaceutical composition for use in treating a non-small cell lung cancer (NSCLC) solid tumor comprising a population of tumor cells, wherein the pharmaceutical composition comprises a therapeutic amount of a polypeptide of the amino acid sequence YARAAARQARAKALARQLGVAA (SEQ ID NO: 1) or a functional equivalent thereof, and a pharmaceutically acceptable carrier thereof, and wherein therapeutic amount is effective to inhibit a kinase activity of a kinase selected from the group listed in Table 1 in the population of tumor cells and to reduce cancer cell proliferation, to reduce tumor size, to reduce tumor burden, to induce tumor cell death, to overcome tumor chemoresistance, to enhance tumor chemosensitivity, to slow progression of the population of tumor cells, or a combination thereof; a method for treating non-small cell lung cancer solid tumor comprising a population of tumor cells, the method comprising: administering to a subject in need thereof a pharmaceutical composition comprising a therapeutic amount of a polypeptide of the amino acid sequence YARAAARQARAKALARQLGVAA (SEQ ID NO: 1) or a functional equivalent thereof, and a pharmaceutically acceptable carrier thereof, wherein therapeutic amount of the polypeptide is effective to inhibit kinase activity of the population of tumor cells, to reduce cancer cell proliferation, to reduce tumor size, to reduce tumor burden, to induce cancer cell death, to overcome tumor chemoresistance, to enhance tumor chemosensitivity, to slow progression of the population of tumor cells, or a combination thereof; and a system for the treatment of a non-small cell lung cancer (NSCLC) tumor comprising a population of tumor cells comprising: (a) a pharmaceutical composition, wherein the pharmaceutical composition comprises a therapeutic amount of a polypeptide of the amino acid sequence YARAAARQARAKALARQLGVAA (SEQ ID NO: 1) or a functional equivalent thereof, and a pharmaceutically acceptable carrier thereof, and wherein therapeutic amount may be effective to inhibit a kinase activity of a kinase selected from the group listed in Table 1 in the population of tumor cells and to reduce proliferation of the population of tumor cells, to reduce tumor size, to reduce tumor burden, to induce tumor cell death, to overcome tumor chemoresistance, to enhance tumor chemosensitivity, to slow progression of the population of tumor cells, or a combination thereof; and (b) an inhalation device for pulmonary delivery.

---Continued Within the Next Supplemental Box---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US16/21843

-***-Continued from Box III-***-

However, these shared technical features are previously disclosed by WO 2010/068692 A1 to Purdue Research Foundation (hereinafter 'Purdue') in view of the article 'A Reversible Gene-Targeting Strategy Identifies Synthetic Lethal Interactions between MK2 and p53 in the DNA Damage Response in Vivo' by Morandell et al. (hereinafter 'Morandell').

Purdue discloses a pharmaceutical composition (a pharmaceutical composition; paragraph [00106]) for use in treating a solid tumor comprising a population of tumor cells (for use in treating breast or prostate cancer (a solid tumor); paragraph [00106]), wherein the pharmaceutical composition comprises a therapeutic amount of a polypeptide of the amino acid sequence YARAAARQARAKALARQLGVAA (SEQ ID NO: 1) (wherein the pharmaceutical composition comprises a therapeutic amount of a polypeptide of the amino acid sequence YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEQ ID NO: 11] (SEQ ID NO: 1); paragraph [00106]), and a pharmaceutically acceptable carrier (and a pharmaceutically acceptable carrier; paragraph [00106]), and wherein therapeutic amount is effective to inhibit a kinase activity of a kinase selected from the group listed in Table 1 (wherein the therapeutic amount is effective to inhibit mitogen-activated protein kinase activated protein kinase 2 (MK2) (wherein therapeutic amount is effective to inhibit a kinase activity of a kinase selected from the group listed in Table 1); paragraph [00106]) in the population of tumor cells (in the tumor (in the population of tumor cells); paragraphs [00106], [00129]) and to slow progression of the population of tumor cells (to slow progression of the tumor (population of tumor cells); paragraphs [00106], [00183]); a method for treating a cancer solid tumor comprising a population of tumor cells (a method for treating a cancer solid tumor comprising a population of tumor cells; paragraph [00107]), the method comprising: administering to a subject in need thereof a pharmaceutical composition (the method comprising: providing (administering) to a subject in need thereof a pharmaceutical composition; paragraph [00107]) comprising a therapeutic amount of a polypeptide of the amino acid sequence YARAAARQARAKALARQLGVAA (SEQ ID NO: 1) (comprising a therapeutic amount of a polypeptide of the amino acid sequence YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEQ ID NO: 11] (SEQ ID NO: 1); paragraph [00107]), and a pharmaceutically acceptable carrier (and a pharmaceutically acceptable carrier; paragraph [00107]), wherein therapeutic amount of the polypeptide is effective to inhibit kinase activity (wherein the therapeutic amount of the polypeptide is effective to inhibit mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 (MK2) (wherein therapeutic amount of the polypeptide is effective to inhibit kinase activity); paragraph [00107]) of the population of tumor cells (of the tumor (population of tumor cells); paragraphs [00107], [00129]), to slow progression of the population of tumor cells (to slow progression of the tumor (of the population of tumor cells); paragraphs [00107], [00129], [00183]); and a system for the treatment of a tumor comprising a population of tumor cells (a biomedical device for administration of peptides for the treatment of cancers (a system for the treatment of a tumor comprising a population of tumor cells); paragraphs [00106], [00121]) comprising: (a) a pharmaceutical composition (comprising: (a) a pharmaceutical composition; paragraph [00106]), wherein the pharmaceutical composition comprises a therapeutic amount of a polypeptide of the amino acid sequence YARAAARQARAKALARQLGVAA (SEQ ID NO: 1) (wherein the pharmaceutical composition comprises a therapeutic amount of a polypeptide of the amino acid sequence YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEQ ID NO: 11] (SEQ ID NO: 1); paragraph [00106]), and a pharmaceutically acceptable carrier (and a pharmaceutically acceptable carrier; paragraph [00106]), and wherein therapeutic amount may be effective to inhibit a kinase activity of a kinase selected from the group listed in Table 1 wherein the therapeutic amount is effective to inhibit mitogen-activated protein kinase activated protein kinase 2 (MK2) (wherein therapeutic amount is effective to inhibit a kinase activity of a kinase selected from the group listed in Table 1); paragraph [00106]) in the population of tumor cells (in the tumor (in the population of tumor cells); paragraphs [00106], [00129]) and to slow progression of the population of tumor cells (to slow progression of the tumor (population of tumor cells); paragraphs [00106], [00183]); and (b) an inhalation device for pulmonary delivery (and an inhalation device for pulmonary delivery; paragraphs [00106], [00121]).

Purdue does not disclose a non-small cell lung cancer (NSCLC) solid tumor.

Morandell discloses wherein MK2 is responsible for resistance of p53-deficient NSCLC tumors to cisplatin (wherein MK2 is responsible for resistance of p53-deficient NSCLC tumors to cisplatin; abstract); and wherein MK2 is a target for enhancing sensitization of tumors to DNA-damaging chemotherapeutics (wherein MK2 is a target for enhancing sensitization of tumors to DNA-damaging chemotherapeutics; abstract).

It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time of the invention was made to have modified the disclosure of Purdue to have included the use of the peptide disclosed by Purdue to inhibit MK2, as disclosed by Purdue, in order to sensitize NSCLC cells with mutated p53 to DNA damaging agents, thereby overcoming tumor chemoresistance and enhancing tumor chemosensitivity, as disclosed by Morandell, and thereby enable a medical practitioner to subsequently provide effective treatment for NSCLC with mutated p53 to a patient in need thereof, such as cisplatin treatment, in order to treat the NSCLC.

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

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K	9/14	(2006.01)	A 6 1 K	9/14
A 6 1 K	9/72	(2006.01)	A 6 1 K	9/72
C 0 7 K	14/00	(2006.01)	C 0 7 K	14/00
C 1 2 N	9/12	(2006.01)	C 1 2 N	9/12
C 1 2 N	9/99	(2006.01)	C 1 2 N	9/99

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, 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, 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, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74)代理人 100093300
弁理士 浅井 賢治

(74)代理人 100119013
弁理士 山崎 一夫

(74)代理人 100123777
弁理士 市川 さつき

(74)代理人 100111796
弁理士 服部 博信

(74)代理人 100183379
弁理士 藤代 昌彦

(72)発明者 ランダー シンシア
アメリカ合衆国 ニュージャージー州 07945 メンダム ヒルトップ ロード 30

(72)発明者 プロフィー コリーン
アメリカ合衆国 テネシー州 37209 ナッシュヴィル アイヴィー ストリート 6385

(72)発明者 ピーターソン キャリン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92024 エンシニタス ネプチューン アベニュー 710

(72)発明者 ルバー アンドリュウ
アメリカ合衆国 ニュージャージー州 08043 ブアヒーズ コートランド ドライヴ 4

Fターム(参考) 4B050 DD11 LL01

4C076 AA29 BB22 CC27

4C084 AA02 AA19 BA01 BA02 BA08 BA18 BA19 BA23 CA59 MA02

MA43 MA57 NA14 ZB26

4C086 AA01 AA02 HA12 MA02 MA04 NA05 ZB26

4H045 AA10 AA20 AA30 BA17 DA55 EA28 FA34 FA59