

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-517477

(P2019-517477A)

(43) 公表日 令和1年6月24日(2019.6.24)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>A61K 45/00</b> (2006.01)	A 61 K 45/00	4 C 076
<b>A61K 9/51</b> (2006.01)	A 61 K 9/51	4 C 084
<b>A61K 47/26</b> (2006.01)	A 61 K 47/26	4 C 086
<b>A61K 47/42</b> (2017.01)	A 61 K 47/42	4 H 045
<b>A61K 47/59</b> (2017.01)	A 61 K 47/59	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 68 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-562097 (P2018-562097)	(71) 出願人	513268380 シーダーズーシナイ メディカル センタ ー
(86) (22) 出願日	平成29年5月26日 (2017.5.26)		アメリカ合衆国、カリフォルニア州 90 048, ロサンゼルス, 8700 ベバリ ー ブールバード
(85) 翻訳文提出日	平成31年1月22日 (2019.1.22)	(74) 代理人	100114775
(86) 國際出願番号	PCT/US2017/034719		弁理士 高岡 亮一
(87) 國際公開番号	W02017/205764	(74) 代理人	100121511 弁理士 小田 直
(87) 國際公開日	平成29年11月30日 (2017.11.30)	(74) 代理人	100202751 弁理士 岩堀 明代
(31) 優先権主張番号	62/342,829	(74) 代理人	100191086 弁理士 高橋 香元
(32) 優先日	平成28年5月27日 (2016.5.27)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

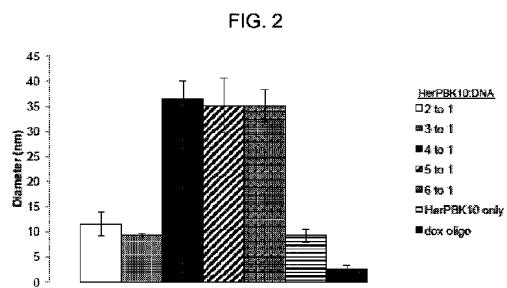
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】薬物抵抗性癌のための薬物送達ナノ粒子および治療

## (57) 【要約】

キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が約6:1未満である、組成物と、当該ナノ粒子を作製する方法および使用する方法とが、本明細書中で開示されている。さらに、化学療法薬抵抗性癌などの癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含む組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬を含む、方法が記載されている。また、記載されるナノ粒子を含む医薬組成物、製造品、およびキットも記載されている。

【選択図】図2



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを含むナノ粒子を含む組成物であって、前記キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、

前記ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が約6:1未満である、

組成物。

**【請求項 2】**

前記ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約4:1から約6:1未満である、請求項1に記載の組成物。 10

**【請求項 3】**

前記組成物中のナノ粒子の大きさの平均が、約50nm以下である、請求項1または2に記載の組成物。

**【請求項 4】**

前記ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満である、請求項1~3のいずれか1項に記載の組成物。

**【請求項 5】**

前記ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約4:1から約6:1未満である、請求項1~4のいずれか1項に記載の組成物。 20

**【請求項 6】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドがDNAである、請求項1~5のいずれか1項に記載の組成物。

**【請求項 7】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドがRNAである、請求項1~5のいずれか1項に記載の組成物。

**【請求項 8】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドが、約10塩基対~約100塩基対の長さである、請求項1~7のいずれか1項に記載の組成物。

**【請求項 9】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドが、小分子薬物に結合している、請求項1~8のいずれか1項に記載の組成物。 30

**【請求項 10】**

前記小分子薬物が、前記二本鎖オリゴヌクレオチドにインターラートしている、請求項9に記載の組成物。

**【請求項 11】**

前記ナノ粒子組成物中の二本鎖オリゴヌクレオチドの小分子薬物に対するモル比が、約1:1~約1:60である、請求項9または10に記載の組成物。

**【請求項 12】**

前記小分子薬物が化学療法剤である、請求項9~11のいずれか1項に記載の組成物。 40

**【請求項 13】**

前記小分子薬物が、アントラサイクリンまたはタキサンである、請求項9~12のいずれか1項に記載の組成物。

**【請求項 14】**

前記小分子薬物がドキソルビシンである、請求項9~13のいずれか1項に記載の組成物。

**【請求項 15】**

前記細胞標的化セグメントが、癌細胞に結合する、請求項1~14のいずれか1項に記載の組成物。

**【請求項 16】**

50

前記細胞標的化セグメントが、細胞表面に発現した H E R 3 に結合する、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 17】

前記細胞標的化セグメントが、ヘレグリン配列またはそのバリアントを含む、請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 18】

前記細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む、請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 19】

前記ペントンベースセグメントが、変異体のペントンベースポリペプチドを含む、請求項 18 に記載の組成物。 10

【請求項 20】

前記ペントンベースセグメントが、切断型のペントンベースポリペプチドを含む、請求項 18 または 19 に記載の組成物。

【請求項 21】

前記オリゴスクレオチド結合セグメントが、正に荷電している、請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 22】

前記オリゴスクレオチド結合セグメントが、ポリリジンを含む、請求項 1 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の組成物。 20

【請求項 23】

前記オリゴスクレオチド結合セグメントが、デカリジン (d e c a l y s i n e) を含む、請求項 1 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 24】

請求項 1 ~ 23 のいずれか 1 項に記載の組成物と、使用説明書とを含むキット。

【請求項 25】

対象の癌を治療する方法であって、請求項 12 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

【請求項 26】

前記癌が、H E R 3 + 癌である、請求項 25 に記載の方法。 30

【請求項 27】

前記癌が、薬物抵抗性癌である、請求項 25 または 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記癌が、乳癌、グリアの癌、卵巣癌、または前立腺癌である、請求項 25 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 29】

前記癌が、トリプルネガティブ乳癌である、請求項 25 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

前記癌が転移性である、請求項 25 ~ 29 のいずれか 1 項に記載の方法。 40

【請求項 31】

前記癌が、H E R 2 + 抗体化学療法剤、ラパチニブ、タキサン、またはアントラサイクリンに抵抗性である、請求項 25 ~ 30 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 32】

前記癌が、ドキソルビシンまたはリポソーマルドキソルビシンに抵抗性である、請求項 25 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 33】

前記癌が、トラスツズマブまたはペルツズマブに抵抗性である、請求項 25 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 34】

50

前記癌が、ラパチニブに抵抗性である、請求項 25～31 のいずれか 1 項に記載の方法。  
。

【請求項 35】

化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅する方法であって、前記化学療法薬抵抗性癌細胞を、複数のナノ粒子と接触させることを含み、前記ナノ粒子が、

細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；

前記オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに

前記二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬  
を含む、方法。

【請求項 36】

化学療法薬抵抗性癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含む組成物を前記対象に投与することを含み、前記ナノ粒子が、

細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；

前記オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに

前記二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬  
を含む、方法。

【請求項 37】

前記化学療法薬が、前記二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、  
請求項 35 または 36 に記載の方法。

【請求項 38】

前記化学療法薬抵抗性癌が、HER3+癌である、請求項 35～37 のいずれか 1 項に  
記載の方法。

【請求項 39】

前記化学療法薬抵抗性癌が、乳癌、グリアの癌、卵巣癌、または前立腺癌である、請求  
項 35～38 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 40】

前記化学療法薬抵抗性癌が、トリプルネガティブ乳癌である、請求項 35～39 のい  
ずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 41】

前記化学療法薬抵抗性癌が転移性である、請求項 35～40 のいずれか 1 項に記載の  
方法。

【請求項 42】

前記化学療法薬抵抗性癌が、HER2+抗体化学療法剤、ラパチニブ、タキサン、または  
アントラサイクリンに抵抗性である、請求項 35～41 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 43】

前記化学療法薬抵抗性癌が、ドキソルビシンまたはリポソーマルドキソルビシンに抵抗  
性である、請求項 35～42 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 44】

前記化学療法薬抵抗性癌細胞が、トラスツズマブまたはペルツズマブに抵抗性である、  
請求項 35～42 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 45】

前記化学療法薬抵抗性癌細胞が、ラパチニブに抵抗性である、請求項 35～42 のい  
ずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 46】

前記ナノ粒子の大きさの平均が、約 50 nm 以下である、請求項 35～45 のい  
ずれか 1 項に記載の方法。

10

20

30

40

50

**【請求項 4 7】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドがDNAである、請求項35～46のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 4 8】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドがRNAである、請求項35～46のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 4 9】**

ナノ粒子組成物を作製する方法であって、  
キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを約6：1未満のモル比で組み合わせることにより、複数のナノ粒子を形成すること  
を含み、

前記キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含む、  
方法。

**【請求項 5 0】**

前記キャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約4：1から約6：1未満である、請求項49に記載の方法。

**【請求項 5 1】**

前記キャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約4：1である、請求項49または50に記載の方法。

**【請求項 5 2】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドおよび前記キャリアポリペプチドを組み合わせる前に、前記二本鎖オリゴヌクレオチドおよび小分子薬物を組み合わせることをさらに含む、請求項49～51のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 5 3】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドおよび前記小分子薬物を、約1：1～約1：60のモル比で組み合わせる、請求項52に記載の方法。

**【請求項 5 4】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドおよび前記小分子薬物を、約1：10または約1：40のモル比で組み合わせる、請求項52または53に記載の方法。

**【請求項 5 5】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドおよび前記キャリアポリペプチドを組み合わせる前に、前記二本鎖オリゴヌクレオチドから未結合の小分子薬物を分離することをさらに含む、請求項52～54のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 5 6】**

前記複数のナノ粒子から、未結合のキャリアポリペプチドまたは未結合の二本鎖オリゴヌクレオチドを分離することをさらに含む、請求項49～55のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 5 7】**

前記ナノ粒子組成物を濃縮することをさらに含む、請求項49～56のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 5 8】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドがDNAである、請求項49～57のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 5 9】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドがRNAである、請求項49～58のいずれか1項に記載の方法。

**【請求項 6 0】**

前記二本鎖オリゴヌクレオチドが、約10塩基対～約100塩基対の長さである、請求項49～59のいずれか1項に記載の方法。

10

20

30

40

50

**【請求項 6 1】**

前記小分子薬物が化学療法剤である、請求項 4 9 ~ 6 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 6 2】**

前記小分子薬物が、アントラサイクリンまたはタキサンである、請求項 4 9 ~ 6 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 6 3】**

前記小分子薬物がドキソルビシンである、請求項 4 9 ~ 6 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 6 4】**

前記細胞標的化セグメントが、ヘレグリン配列またはそのバリアントを含む、請求項 4 9 ~ 6 3 のいずれか 1 項に記載の方法。 10

**【請求項 6 5】**

前記細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む、請求項 4 9 ~ 6 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 6 6】**

前記ペントンベースセグメントが、変異体のペントンベースを含む、請求項 4 9 ~ 6 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 6 7】**

前記ペントンベースセグメントが、切断型のペントンベースを含む、請求項 4 9 ~ 6 6 のいずれか 1 項に記載の方法。 20

**【請求項 6 8】**

前記オリゴヌクレオチド結合セグメントが、正に荷電している、請求項 4 9 ~ 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 6 9】**

前記オリゴヌクレオチド結合セグメントが、ポリリジンを含む、請求項 4 9 ~ 6 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 7 0】**

前記オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含む、請求項 4 9 ~ 6 9 のいずれか 1 項に記載の方法。 30

**【請求項 7 1】**

請求項 4 9 ~ 7 0 のいずれか 1 項に記載の方法により作製したナノ粒子組成物。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0 0 0 1】****関連出願の相互参照**

本願は、2016年5月27日に出願した、表題「DRUG - DELIVERY NANOPARTICLES AND TREATMENTS FOR DRUG - RESISTANT CANCER」の米国仮特許出願第62/342,829号に対する優先権を主張するものであり、これはすべての目的のため本明細書中参照として援用されている。 40

**【0 0 0 2】****連邦政府助成研究に関する声明**

本発明は、米国国立衛生研究所により与えられた助成金番号第C A 1 2 9 8 2 2号の下、政府の支援を受けてなされたものである。米国政府は、本発明に特定の権利を有している。

**【0 0 0 3】****ASCIIテキストファイルとしての配列表の提出**

以下のASCIIテキストファイルでの提出物の内容全体は、本明細書中参照として援用されている：コンピュータ可読形態（CRF）の配列表（ファイル名：761542000740SEQLIST.txt、記録日：2017年5月26日、大きさ：19KB

)。

【0004】

技術分野

本発明は、化学療法薬抵抗性癌を含む癌の治療のための方法および組成物に関する。

【背景技術】

【0005】

小分子化学療法剤または抗体化学療法剤などの化学療法薬治療に対する癌の抵抗性は、癌のタイプにより起こり得るか、または薬物への曝露後に生じ得る。薬物抵抗性は、たとえば、薬物代謝の変化または細胞表面受容体などの薬物標的の発現の多様性により生じ得る。薬物の用量の増大は、ある程度有効であるに過ぎず、多くの場合では、薬物の望ましくない副作用を高める。よって、多くの場合、薬物療法は、特定の期間でのみ有効であるとしても、薬物がその有効性を失う前の患者または特定の癌のタイプに限られる。

10

【0006】

ドキソルビシンは、複製している細胞のDNAにインターラートし、それらの分裂を防止することにより治療効果を発揮する、例示的な小分子化学療法薬である。しかしながらドキソルビシンは、いくつかの有害事象を有し、そのうち最も顕著な事象は、心毒性(cardiac nature)および手足症候群であり、ヒトへの投与に関するその使用および/または用量の上限が限定されている。ドキソルビシンを患者にとってより好ましいものにするためにいくつかの試みがなされてきた。最も成功したドキソルビシンの製剤の1つは、リポソーマル製剤であり、DOXIL(登録商標)、または「Liposomal Dox」としてのジェネリックのリポソーマルドキソルビシンとして商品化されている。しかしながら、この製剤は、この投与に応答すべき疾患の治療においてドキソルビシンの使用を限定する欠点を有する。

20

【0007】

トラスツズマブは、Herceptin(登録商標)として販売されており、多くの(全てではない)乳癌細胞タイプの表面に存在するHER2に結合する抗体化学療法剤である。しかしながらまた、トラスツズマブ抵抗性癌が治療開始後に生じ得ることから、治療の有効性が限定される。

30

【0008】

本明細書中参照されるすべての刊行物、特許、および特許出願の開示の全体は、本明細書中参照として援用されている。

【発明の概要】

【0009】

本明細書中、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを含むナノ粒子を含む組成物であって、上記キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、上記ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が約6:1未満である、組成物を記載する。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約4:1から約6:1未満である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約4:1である。

40

【0010】

一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

40

【0011】

一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約4:1から約6:1未満である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約4:1または約5:1である。一部の実施形態では、ナノ粒子

50

中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約4:1である。

#### 【0012】

一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドはDNAである。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドはRNAである。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約10塩基対～約100塩基対の長さである。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基対の長さである。

#### 【0013】

一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは小分子薬物に結合している。一部の実施形態では、小分子薬物は、二本鎖オリゴヌクレオチドにインターラートしている。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中の二本鎖オリゴヌクレオチドの小分子薬物に対するモル比は、約1:1～約1:60である。一部の実施形態では、小分子薬物は化学療法剤である。一部の実施形態では、小分子薬物はアントラサイクリンである。一部の実施形態では、小分子薬物はドキソルビシンである。

10

#### 【0014】

一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、哺乳類細胞に結合する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、疾患細胞に結合する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは癌細胞に結合する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、細胞の表面に発現したHER3に結合する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、ヘレグリン配列またはそのバリエントを含む。

20

#### 【0015】

一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリエントを含む。一部の実施形態では、ペントンベースセグメントは、変異体のペントンベースポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ペントンベースセグメントは、切断型のペントンベースポリペプチドを含む。

30

#### 【0016】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合セグメントは、正に荷電している。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合セグメントは、ポリリジンを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合セグメントは、デカリジン(decalysine)を含む。

#### 【0017】

一部の実施形態では、本組成物は無菌性である。一部の実施形態では、本組成物は液体の組成物である。一部の実施形態では、本組成物は、乾燥した組成物である。一部の実施形態では、本組成物は凍結乾燥されている。

#### 【0018】

一部の実施形態では、記載の組成物のいずれか1つをバイアル中に含む製造品を提供する。一部の実施形態では、このバイアルは密閉されている。

#### 【0019】

一部の実施形態では、記載の組成物のいずれか1つと、使用説明書とを含むキットを提供する。

40

#### 【0020】

一部の実施形態では、対象の癌を治療する方法であって、本明細書中記載の組成物を対象に投与することを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は薬物抵抗性癌である。一部の実施形態では、この癌は、乳癌、グリアの癌、卵巣癌、または前立腺癌である。一部の実施形態では、この癌はトリプルネガティブ乳癌である。一部の実施形態では、この癌は転移性である。一部の実施形態では、この癌は、HER2+抗体化学療法剤、ラパチニブ、またはアントラサイクリンに抵抗性である。一部の実施形態では、この癌は、ドキソルビシンまたはリポソーマルドキソルビシンに抵抗性である。一部の実施形態では、この癌は、トラスツズマブまたはペルツズマブに抵抗性である。一部の実施形態では、この癌は、ラパチニブに抵抗性

50

である。

【0021】

また本明細書中、化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅する方法であって、上記化学療法薬抵抗性癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬を含む、方法を提供する。

【0022】

別の態様では、本明細書中、化学療法薬抵抗性癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含む組成物を上記対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬を含む、方法を提供する。  
。

10

【0023】

一部の実施形態では、化学療法薬は、二本鎖オリゴヌクレオチドにインターラートしている。

【0024】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、乳癌、グリアの癌、卵巣癌、または前立腺癌である。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌はトリプルネガティブ乳癌である。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は転移性である。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、アントラサイクリンまたはラバチニブに抵抗性である。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、ドキソルビシンまたはリポソーマルドキソルビシンに抵抗性である。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌細胞は、HER2+抗体化学療法剤に抵抗性である。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌細胞は、トラスツズマブまたはペルツズマブに抵抗性である。

20

【0025】

一部の実施形態では、化学療法剤はアントラサイクリンである。一部の実施形態では、化学療法剤はドキソルビシンである。

30

【0026】

一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

【0027】

一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドはDNAである。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドはRNAである。

【0028】

別の態様では、ナノ粒子組成物を作製する方法であって、約6:1未満のモル比でキャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを組み合わせることにより、複数のナノ粒子を形成することを含み、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、キャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約4:1から約6:1未満である。一部の実施形態では、キャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約4:1である。

40

【0029】

一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

【0030】

一部の実施形態では、本方法は、二本鎖オリゴヌクレオチドおよびキャリアポリペプチドを組み合わせる前に、二本鎖オリゴヌクレオチドおよび小分子薬物を組み合わせることをさらに含む。一部の実施形態では、小分子薬物は、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートする。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドおよび小分子薬物

50

を、約 1 : 1 ~ 約 1 : 60 のモル比で組み合わせる。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドおよび小分子薬物を、約 1 : 10 または約 1 : 40 のモル比で組み合わせる。

#### 【0031】

一部の実施形態では、本方法は、二本鎖オリゴヌクレオチドおよびキャリアポリペプチドを組み合わせる前に、二本鎖オリゴヌクレオチドから未結合の小分子薬物を分離することをさらに含む。

#### 【0032】

一部の実施形態では、本方法は、複数のナノ粒子から、未結合のキャリアポリペプチドまたは未結合の二本鎖オリゴヌクレオチドを分離することをさらに含む。

10

#### 【0033】

一部の実施形態では、本方法は、ナノ粒子組成物を濃縮することをさらに含む。

#### 【0034】

一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドはDNAである。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドはRNAである。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約10塩基対 ~ 約100塩基対の長さである。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20 ~ 約50塩基対の長さである。

#### 【0035】

一部の実施形態では、小分子薬物は化学療法剤である。一部の実施形態では、小分子薬物はアントラサイクリンである。一部の実施形態では、小分子薬物はドキソルビシンである。

20

#### 【0036】

一部の実施形態では、細胞標的化セグメントはヘレグリン配列またはそのバリアントを含む。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む。一部の実施形態では、ペントンベースセグメントは、変異体ペントンベースを含む。一部の実施形態では、ペントンベースセグメントは、切断型のペントンベースを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合セグメントは、正に荷電している。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合セグメントは、ポリリジンを含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合セグメントは、デカリジンを含む。

#### 【0037】

さらに、本明細書中記載の方法のいずれか1つにより作製したナノ粒子組成物を提供する。

30

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0038】

【図1】細胞標的化ドメイン、細胞貫通ドメイン、およびオリゴヌクレオチド結合ドメインを含むキャリアポリペプチドの図を例示する。キャリアポリペプチドを二本鎖オリゴヌクレオチドと組み合わせると、ナノ粒子が形成される。任意選択で、二本鎖オリゴヌクレオチドは、小分子薬物とあらかじめ結合している。

【図2】例示的なHerrPBK10キャリアポリペプチドを二本鎖DNAオリゴヌクレオチド（ドキソルビシンと結合）と、2:1、3:1、4:1、5:1、または6:1のモル比で組み合わせた後の平均粒径（動的光散乱法により決定）を表している。HerrPBK10単独およびドキソルビシンに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド単独を、比較として示す。

40

【図3】例示的なHerrPBK10キャリアポリペプチドと、ドキソルビシンと結合した二本鎖DNAオリゴヌクレオチドを、4:1:10、4:1:40、および6:1:10（HerrPBK10対dsDNA対ドキソルビシン）のモル比で組み合わせた後に形成されたナノ粒子の低温電子顕微鏡（「cryoEM」）の画像を示している。形成された粒子は、ほぼ等しい大きさおよび形態である。

【図4】ドキソルビシンを有さないナノ粒子（HerrPBK10:dsDNAのモル比が4:1であり、「Empty Eosomes」と呼ぶ）、HerrPBK10:dsDN

50

A : ドキソルビシンのモル比が 4 : 1 : 4 0 であるナノ粒子（「Eos - 001 (4 : 1 : 4 0 )」と呼ぶ）、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が 6 : 1 : 1 0 であるナノ粒子（「Eos - 001 (6 : 1 : 1 0 )」と呼ぶ）、または L i p o D o x に曝露した後の、M D A - M B - 4 3 5 ヒト癌細胞の生存に及ぼす効果を示す。薬物の濃度は、ドキソルビシンの濃度を表す。「Empty Eosomes」の投入量は、様々なEOS - 001 処置濃度でのEOS - 001 (4 : 1 : 4 0 ) の相対的なタンパク質含有量に基づき正規化した。挿入図は、M D A - M B - 4 3 5 細胞の表面のH E R 1 、H E R 2 、H E R 3 、およびH E R 4 の相対量を表している。

【図5 A】ドキソルビシンを有さないナノ粒子（Her P B K 1 0 : d s D N A のモル比が 4 : 1 であり、「Empty Eosomes」と呼ぶ）、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が 4 : 1 : 4 0 であるナノ粒子「Eos - 001 (4 : 1 : 4 0 )」と呼ぶ）、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が 6 : 1 : 1 0 であるナノ粒子（「Eos - 001 (6 : 1 : 1 0 )」と呼ぶ）、または L i p o D o x に曝露した後の、B T 4 7 4 ヒト乳癌細胞の生存に及ぼす効果を示す。薬物の濃度は、ドキソルビシンの濃度（または「Empty Eosomes」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0 キャリアポリペプチドに関してEos - 001 (4 : 1 : 4 0 ) に存在するドキソルビシンの当量）を表す。挿入図は、B T 4 7 4 細胞の表面のH E R 1 、H E R 2 、H E R 3 、およびH E R 4 の相対量を表している。

【図5 B】ドキソルビシンを有さないナノ粒子（Her P B K 1 0 : d s D N A のモル比が 4 : 1 であり、「Empty Eosomes (4 : 1 )」と呼ぶ；もしくはHer P B K 1 0 : d s D N A のモル比が 6 : 1 、「Empty Eosomes (6 : 1 )」と呼ぶ）、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が 4 : 1 : 4 0 であるナノ粒子（「Eos - 001 (4 : 1 : 4 0 )」と呼ぶ）、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が 6 : 1 : 1 0 であるナノ粒子（「Eos - 001 (6 : 1 : 1 0 )」と呼ぶ）、または L i p o D o x に曝露した後の、B T 4 7 4 - R ト拉斯ツズマブ抵抗性ヒト乳癌細胞の生存に及ぼす効果を示す。薬物の濃度は、ドキソルビシンの濃度（または「Empty Eosomes (4 : 1 )」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0 キャリアポリペプチドに関してEos - 001 (4 : 1 : 4 0 ) に存在するドキソルビシンの当量、および、「Empty Eosomes (6 : 1 )」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0 キャリアポリペプチドに関して「Eos - 001 (6 : 1 : 1 0 )」に存在するドキソルビシンの当量）を表す。挿入図は、B T 4 7 4 細胞およびB T 4 7 4 - R 細胞の表面のH E R 1 、H E R 2 、H E R 3 、およびH E R 4 の相対量を表している。

【図6】ドキソルビシンを有さないナノ粒子（Her P B K 1 0 : d s D N A のモル比が 4 : 1 であり、「Empty Eosomes (4 : 1 )」と呼ぶ；もしくはHer P B K 1 0 : d s D N A のモル比が 6 : 1 であり、「Empty Eosomes (6 : 1 )」と呼ぶ）、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が 4 : 1 : 4 0 であるナノ粒子（「Eos - 001 (4 : 1 : 4 0 )」と呼ぶ）、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が 6 : 1 : 1 0 であるナノ粒子（「Eos - 001 (6 : 1 : 1 0 )」と呼ぶ）、または L i p o D o x に曝露した後の、J I M T 1 ヒト乳癌細胞の生存に及ぼす効果を示す。薬物の濃度は、ドキソルビシンの濃度（または「Empty Eosomes (4 : 1 )」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0 キャリアポリペプチドに関してEos - 001 (4 : 1 : 4 0 ) に存在するドキソルビシンの当量、および、「Empty Eosomes (6 : 1 )」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0 キャリアポリペプチドに関してEos - 001 (6 : 1 : 1 0 ) に存在するドキソルビシンの当量）を表す。挿入図は、J I M T 1 細胞の表面のH E R 1 、H E R 2 、H E R 3 、およびH E R 4 の相対量を表している。

【図7】ドキソルビシンを有さないナノ粒子（Her P B K 1 0 : d s D N A のモル比が 4 : 1 であり、「Empty Eosomes (4 : 1 )」と呼ぶ；もしくはHer P B K 1 0 : d s D N A のモル比が 6 : 1 であり、「Empty Eosomes (6 : 1 )」と呼ぶ）

10

20

30

40

50

」と呼ぶ)、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が4 : 1 : 4 0であるナノ粒子(「E o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)」と呼ぶ)、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が6 : 1 : 1 0であるナノ粒子(「E o s - 0 0 1 (6 : 1 : 1 0)」と呼ぶ)、またはL i p o D o xに曝露した後の、U 2 5 1ヒトグリオーマ細胞の生存に及ぼす効果を示す。薬物の濃度は、ドキソルビシンの濃度(または「Empty E osomes (4 : 1)」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0キャリアアポリペプチドに関してE o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)に存在するドキソルビシンの当量、および、「Empty E osomes (6 : 1)」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0キャリアアポリペプチドに関してE o s - 0 0 1 (6 : 1 : 1 0)に存在するドキソルビシンの当量)を表す。挿入図は、U 2 5 1細胞の表面のH E R 1、H E R 2、H E R 3、およびH E R 4の相対量を表している。  
10

【図8】ドキソルビシンを有さないナノ粒子(Her P B K 1 0 : d s D N Aのモル比が4 : 1であり、「Empty E osomes」と呼ぶ)、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が4 : 1 : 4 0であるナノ粒子(「E o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)」と呼ぶ)、またはL i p o D o xに曝露した後の、A 2 7 8 0 - A D Rドキソルビシン抵抗性ヒト卵巣癌細胞の生存に及ぼす効果を示す。薬物の濃度は、ドキソルビシンの濃度(または「Empty E osomes」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0キャリアアポリペプチドに関してE o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)に存在するドキソルビシンの当量)を表す。

【図9】ドキソルビシンを有さないナノ粒子(Her P B K 1 0 : d s D N Aのモル比が4 : 1であり、「Empty E osomes」と呼ぶ)、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が4 : 1 : 4 0であるナノ粒子(「E o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)」と呼ぶ)、またはL i p o D o xに曝露した後の、4 T 1マウストリプルネガティブ乳癌細胞の生存に及ぼす効果を示す。薬物の濃度は、ドキソルビシンの濃度(または「Empty E osomes」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0キャリアアポリペプチドに関してE o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)に存在するドキソルビシンの当量)を表す。  
20

【図10】ドキソルビシンを有さないナノ粒子(Her P B K 1 0 : d s D N Aのモル比が4 : 1であり、「Empty E osomes」と呼ぶ)、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が4 : 1 : 4 0であるナノ粒子(「E o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)」と呼ぶ)、またはL i p o D o xに曝露した後の、S K O V 3ヒト卵巣癌細胞の生存に及ぼす効果を示す。薬物の濃度は、ドキソルビシンの濃度(または「Empty E osomes」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0キャリアアポリペプチドに関してE o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)に存在するドキソルビシンの当量)を表す。  
30

【図11A】ドキソルビシンを有さないナノ粒子(Her P B K 1 0 : d s D N Aのモル比が4 : 1であり、「Empty E osomes」と呼ぶ)、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が4 : 1 : 4 0であるナノ粒子(「E o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)」と呼ぶ)、またはL i p o D o xに曝露した後の、L N C a P - G F Pヒト前立腺癌細胞の生存に及ぼす効果を示す。薬物の濃度は、ドキソルビシンの濃度(または「Empty E osomes」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0キャリアアポリペプチドに関してE o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)に存在するドキソルビシンの当量)を表す。  
40

【図11B】ドキソルビシンを有さないナノ粒子(Her P B K 1 0 : d s D N Aのモル比が4 : 1であり、「Empty E osomes」と呼ぶ)、Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシンのモル比が4 : 1 : 4 0であるナノ粒子(「E o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)」と呼ぶ)、またはL i p o D o xに曝露した後の、R A N K Lヒト骨転移性前立腺癌細胞の生存に及ぼす効果を示す。薬物の濃度は、ドキソルビシンの濃度(または「Empty E osomes」の場合では、同じ量のHer P B K 1 0キャリアアポリペプチドに関してE o s - 0 0 1 (4 : 1 : 4 0)に存在するドキソルビシンの同等量)を表す。  
50

【図11C】LNCaP - GFPヒト前立腺癌細胞およびRANKLヒト骨転移性前立腺癌細胞の表面に発現したHER1、HER2、HER3、およびHER4の相対量を示す。

【図12A】ドキソルビシンを有さないナノ粒子(HerP BK10 : dsDNAのモル比が4:1であり、「Empty Eosomes」と呼ぶ)、Eos-001のナノ粒子(HerP BK10 : dsDNA : ドキソルビシンが4:1:40)、またはLipo Doxに曝露した後の、BT549ヒトトリプルネガティブ乳癌細胞の生存に及ぼす効果を示す。薬物の濃度は、ドキソルビシンの濃度を表す(または「Empty Eosomes」の場合では、投入量は、様々なEos-001処置でのEos-001(4:1:40)の相対的なタンパク質含有量に基づき正規化した)。

【図12B】BT549細胞におけるHER1、HER2、HER3、およびHER4の相対的な発現を示す。

【図13】BT474細胞またはBT474-TR細胞に及ぼす、Eos-001ナノ粒子(HerP BK10、dsDNA、およびドキソルビシン)、トラスツズマブ、またはトラスツズマブおよびペルツズマブの組み合わせの効果を示す。

【図14】ペルツズマブ、トラスツズマブ、Eos-001ナノ粒子(HerP BK10、dsDNA、およびドキソルビシン)、Eos-001ナノ粒子およびペルツズマブの組み合わせ、またはペルツズマブでの4時間の前処置の後のEos-001ナノ粒子による処置の後の、トラスツズマブ抵抗性BT474-TR細胞の相対的な細胞生存を示す。

【図15A】BT474細胞株およびSKBR3細胞株に関する親(すなわち非トラスツズマブ抵抗性)細胞およびトラスツズマブ抵抗性細胞における細胞表面での相対的なHER3のレベルを示す。HER3は、親細胞株と比較してトラスツズマブ抵抗性細胞株で過剰発現している。

【図15B】Eos-001ナノ粒子(HerP BK10、dsDNA、およびドキソルビシン)の、標的化の毒性に対するHER3の寄与を示す。トラスツズマブ抵抗性または非トラスツズマブ抵抗性のBT474細胞またはSKBR3細胞を、ヒトHER3プロッキングペプチド(Prospec)の存在下または非存在下で、Eos-001によって処置した。

【図16】トラスツズマブ、Eos-001ナノ粒子(HerP BK10、dsDNA、およびドキソルビシン)、または、4時間もしくは24時間のトラスツズマブでの前処置の後のEos-001ナノ粒子による処置に応答した、非トラスツズマブ抵抗性細胞株(SKBR3(図16A)、BT474(図16B)、またはMDA-MB-435(図16C))、ならびにトラスツズマブ抵抗性細胞株(SKBR3-TR(図16D)およびBT474-TR(図16Eおよび図16F))の相対的な細胞生存を例示する。

【図17】ラバチニブまたはEos-001ナノ粒子(HerP BK10、dsDNA、およびドキソルビシン)による処置に応答した、BT-474細胞もしくはSKBR3細胞、またはトラスツズマブ抵抗性のBT474-TR細胞、SKBR3-TR細胞、もしくはJIMT-1細胞の相対的な細胞生存を示す。

【発明を実施するための形態】

【0039】

本明細書中、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを含むナノ粒子を含むナノ粒子組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含む、ナノ粒子組成物を記載する。

【0040】

一態様では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを含むナノ粒子を含むナノ粒子組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が約6:1未満である、ナノ粒子組成物を提供する。任意選択で、化学療法薬などの小分子薬物が、二本鎖オリゴ

10

20

30

40

50

ヌクレオチドに結合している。キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを組み合わせることにより、安定したナノ粒子の形成がもたらされる。本明細書中さらに記載されるように、これら安定したナノ粒子が、本組成物（および／またはナノ粒子）中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が6：1未満である場合であっても形成できることが、見いだされている。ナノ粒子組成物は、たとえば、化学療法薬抵抗性癌を含む癌の治療において有用であり得る。

#### 【0041】

別の態様では、化学療法薬抵抗性癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含む組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬を含む、方法を提供する。多くのタイプの癌は、特定の化学療法薬、たとえばドキソルビシン、ラパチニブ、またはHER2+抗体（トラスツズマブもしくはペルツズマブなど）に抵抗性である。薬物の濃度の増大は、多くの場合、有効ではなく、有意な望ましくない副作用をもたらし得る。本明細書中さらに記載されるように、本ナノ粒子組成物は、化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅するため、および化学療法薬抵抗性癌を有する患者を治療するために使用することができる。

10

#### 【0042】

ドキソルビシンは、様々な悪性腫瘍を治療するために使用できる例示的な化学療法薬である。しかしながらその有用性は、細胞における薬物排出機構により限定されている。細胞の排出の課題を克服するためにドキソルビシンを高用量にすることは、心筋症を含む有意な副作用のため一般的には得策ではない。また、リポソーマルドキソルビシン（「LipoDox」とも呼ばれている）は、細胞の取り込みを高めるために使用されているが、投与を続いていると有意な副作用がある。

20

#### 【0043】

本明細書中記載のナノ粒子を含む組成物が、リポソーマルドキソルビシンよりも標的とする癌細胞の殺滅に有効であることが、見いだされた。このナノ粒子はまた、抗体化学療法剤（抗HER2抗体、すなわちトラスツズマブなど）、または小分子化学療法剤、たとえばドキソルビシン（たとえばLipoDox）を含む化学療法薬に抵抗性がある癌細胞の殺滅にも有効である。よって、本明細書中記載のナノ粒子および組成物は、化学療法薬抵抗性癌を含む癌の治療に特に有用である。

30

#### 【0044】

##### 定義

本明細書中使用される単数形「a」、「an」、および「the」は、特段文脈で明記されない限り複数形を含む。

#### 【0045】

本明細書中の「約」値またはパラメータへの言及は、この値またはパラメータ自体に対する変動を含む（および記載する）。たとえば、「約X」と表されている記載は、「X」の記載を含む。

40

#### 【0046】

用語「有効な」は、特段他の記載がない限り、これを使用する文脈の中で使用する場合に、意図した結果が、感染症もしくは疾患状態の治療、または本明細書中記載の別のものに関連するかどうかに関わらず、この結果をもたらすまたは生じさせる、ある量の化合物または構成要素を説明するために本明細書中で使用されている。

#### 【0047】

基準のポリペプチド配列に関する「パーセント（%）アミノ酸配列同一性」は、最大のパーセント配列同一性が得られるように配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入した後に、いかなる保存的置換も配列同一性の一部として考慮しない場合の、基準のポリペプチド配列のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義されている。パーセントアミノ酸配列同一性を決定することを目的とするアライメ

50

ントは、当該分野の技能の範囲内にある様々な方法で、たとえば公開されているペアワイズシークエンスのコンピュータソフトウェアを使用して、達成することができる。当業者は、比較される配列の完全長にわたり最大のアライメントを達成するために必要とされるいずれかのアルゴリズムを含む、配列を整列させるための適切なパラメータを決定することができる。所定のアミノ酸配列 B に対する (t o、w i t h、または a g a i n s t)、所定のアミノ酸配列 A のアミノ酸配列同一性 (%) (あるいは、所定のアミノ酸配列 B に対して (t o、w i t h、または a g a i n s t) 特定の %アミノ酸配列同一性を有するまたは含む所定のアミノ酸配列 A と表現することができる) を、以下のように計算する：

$$100 \times \text{分数} X / Y$$

10

(式中、X は、配列アライメントプログラムによる A および B のそのプログラムのアライメントにおける同一のマッチとしてスコア付けされたアミノ酸残基の数であり、Y は、B のアミノ酸残基の総数である)。アミノ酸配列 A の長さがアミノ酸配列 B の長さと等しくない場合、A の B に対する %アミノ酸配列同一性は、B の A に対する %アミノ酸配列同一性と等しくないことが認識されている。

#### 【0048】

本明細書中使用される用語「薬学的に許容される」は、化合物または組成物が、疾患の重症度および治療の必要性の観点から、過度に有害な副作用を伴うことなく本明細書中記載の治療を達成するために、ヒトを含む対象への投与に適していることを意味している。

#### 【0049】

用語「対象」または「患者」は、哺乳類を説明するために本明細書中同義で使用されている。対象の例として、ヒト、または動物（限定するものではないが、イヌ、ネコ、げっ歯類（マウス、ラット、もしくはハムスターなど）、ウマ、ヒツジ、ウシ、ブタ、ヤギ、ロバ、ウサギ、もしくは霊長類（サル、チンパンジー、オランウータン、ヒヒ、もしくはマカクザルなど）を含む）が、挙げられる。

#### 【0050】

用語「治療する (t r e a t)」、「治療すること (t r e a t i n g)」、および「治療 (t r e a t m e n t)」は、少なくとも 1 つの症状の緩和、阻害、抑制、もしくは除去を介した病態の改善、疾患進行の遅延、疾患の再発の遅延、または疾患の阻害を含む、疾患状態または病態を罹患した対象に利益を提供するいずれかの作用を表すように本明細書中同義で使用されている。

30

#### 【0051】

本明細書中記載の本発明の態様および多様性は、態様および多様性「からなる」および「または「から本質的になる」ことを含むことが、理解されている。

#### 【0052】

本明細書中記載の様々な実施形態の特性のうちの 1 つ、一部、またはすべてが、本発明の他の実施形態を形成するために組み合わせてもよいことを、理解すべきである。

#### 【0053】

本明細書中使用される節の見出しへは、単に構成を目的とするものであり、記載の主題を限定するように解釈すべきではない。

40

#### 【0054】

##### ナノ粒子組成物

本明細書中記載のナノ粒子組成物は、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチドセグメントを含む、キャリアポリペプチドを含む。このナノ粒子はさらに二本鎖オリゴヌクレオチドを含む。二本鎖オリゴヌクレオチドはオリゴヌクレオチド結合セグメントに結合することができる。一部の実施形態では、小分子薬物が、二本鎖オリゴヌクレオチドに結合している。一部の実施形態では、本組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対する比は、約 6 : 1 未満である。

未満である。

#### 【0055】

50

細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントは、単一のキャリアポリペプチドにおいて共に融合している。本明細書中記載のこれらセグメントはモジュール状であり、様々な組み合わせで組み合わせることができる。すなわち、キャリアポリペプチドは、記載の細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、またはオリゴヌクレオチド結合セグメントのいずれかを含むことができる。図1は、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを有するキャリアポリペプチドを例示している。図1にさらに示されているように、二本鎖オリゴヌクレオチドとキャリアポリペプチドを組みわせることにより、ナノ粒子が形成される。任意選択で、ナノ粒子を形成する前に、二本鎖オリゴヌクレオチドを、小分子薬物とあらかじめ結合させる。

10

## 【0056】

ナノ粒子は、二本鎖オリゴヌクレオチドとキャリアポリペプチドを組み合わせることにより、形成できる。一部の実施形態では、キャリアポリペプチドを二本鎖オリゴヌクレオチドと、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、たとえば約4:1~約4.5:1、約4.5:1~約5:1、約5:1~約5.5:1、約5.5:1から約6:1未満、約4:1、約4.5:1、約5:1、または約5.5)のモル比で組み合わせることにより、ナノ粒子組成物を形成する。よって、一部の実施形態では、ナノ粒子組成物は、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、たとえば約4:1~約4.5:1、約4.5:1~約5:1、約5:1~約5.5:1、約5.5:1から約6:1未満、約4:1、約4.5:1、約5:1、または約5.5:1)のモル比で含む。ナノ粒子組成物における構成要素の比は、これら構成要素がナノ粒子に集合するかどうかに関わらず、組成物中の構成要素の全体的な比を表す。

20

## 【0057】

一部の実施形態では、ナノ粒子組成物は、キャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対する相同的なモル比を有するナノ粒子を含む。一部の実施形態では、ナノ粒子は、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを、約6:1、約5:1、または約4:1のモル比で含む。ナノ粒子中の構成要素の比は、組成物の残りからナノ粒子を分離(たとえば組成物を遠心分離し、上清をデカントする)し、単離したナノ粒子中の構成要素を測定することにより、決定することができる。

30

## 【0058】

細胞標的化セグメントは、細胞の表面に存在する分子と結合することができる。細胞標的化セグメントによるこの分子との結合により、ナノ粒子を、この細胞に標的化することができる。よって、細胞に存在する標的化した分子は、標的化した細胞に依存し得る。一部の実施形態では、標的化した分子は、癌抗原などの抗原である。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、抗体、抗体フラグメント、サイトカイン、または受容体のリガンドである。

## 【0059】

一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、標的とする細胞の表面の標的に結合する。たとえば一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、受容体などの細胞表面タンパク質と結合する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、4-I B B、5 T 4、腺癌抗原、-フェトプロテイン、B A F F、C 2 4 2 抗原、C A - 1 2 5、炭酸脱水酵素9(C A - I X)、c - M E T、C C R 4、C D 1 5 2、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 0 0、C D 2 2、C D 2 2 1、C D 2 3(I g E 受容体)、C D 2 8、C D 3 0(T N F R S F 8)、C D 3 3、C D 4、C D 4 0、C D 4 4 v 6、C D 5 1、C D 5 2、C D 5 6、C D 7 4、C D 8 0、C E A、C N T 0 8 8 8、C T L A - 4、D R 5、E G F R、E p C A M、C D 3、F A P、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、葉酸受容体1、G D 2、G D 3 ガングリオシド、糖タンパク質75、G P N M B、肝細胞増殖因子(H G F)、ヒト細胞分散因子受容体キナーゼ、I G F - 1 受容体、I G F - I、I g G 1、L 1 - C A M、I L - 1 3、I L - 6、インスリン様成長因子I受容体、インテグリン

40

50

5 1、インテグリン 3、MORAb-009、MS4A1、MUC1、ムチン  
 CanAg、N-グリコリルノイラミン酸、NPC-1C、PDGF-Ra、PDL  
 192、ホスファチジルセリン、前立腺癌細胞、RANKL、RON、ROR1、SCH  
 900105、SDC1、SLAMF7、TAG-72、テネイシンC、TGF-2、  
 TGF-、TRAIL-R1、TRAIL-R2、腫瘍抗原CTAA16.88、VE  
 GF-A、VEGFR-1、VEGFR2、ビメンチン、インターナリンB、細菌のイン  
 ベイシン(Inv)タンパク質、またはそれらのフラグメントに結合する。

## 【0060】

一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、ヘレグリンまたはその受容体結合フラグメントであり、「Her」と呼ぶことができる。ヘレグリンは、たとえばヘレグリンであり得る。配列番号2は、例示的な野生型のHer配列である。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、配列番号2、または配列番号2と約80%以上、約85%以上、約90%以上、約92%以上、約93%以上、約94%以上、約95%以上、約96%以上、約97%以上、約98%以上、もしくは約99%以上のアミノ酸配列同一性を有するポリペプチドである。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、ヘレグリン受容体、たとえばHER3と結合する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、たとえば配列番号2の約50%以下、約60%以下、約70%以下、約80%以下、約90%以下、または約95%以下の長さを有する、配列番号2の切断型である。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、配列番号1の約50%～約100%（配列番号1の約60%～約95%または約70%～約90%など）の長さを有する。細胞標的化セグメントの切断型は、HER3標的化特性を保持している。

## 【0061】

一部の実施形態では、細胞標的化セグメントにより標的化された細胞は、ヒト細胞などの哺乳類の細胞である。一部の実施形態では、この細胞は、癌細胞などの疾患細胞である。一部の実施形態では、この細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、この細胞は乳癌細胞（たとえばトリプルネガティブ乳癌細胞）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞である。細胞標的化セグメントは、ナノ粒子を標的細胞に標的化する、標的化細胞の表面に存在する分子と結合することができる。

## 【0062】

キャリアポリペプチドの細胞貫通セグメントは、細胞標的化セグメントにより標的化される細胞へのナノ粒子の流入を促進する。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、ペントンベース（「PB」）タンパク質またはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ペントンベース（「PB」）タンパク質またはそのバリアントである）。例として、一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、アデノウイルス血清型5（Ad5）のペントンベースタンパク質を含む（および一部の実施形態では、アデノウイルス血清型5（Ad5）のペントンベースタンパク質である）。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、アミノ酸の多様性または欠失を伴うペントンベースタンパク質を含む（および一部の実施形態では、アミノ酸の多様性または欠失を伴うペントンベースタンパク質である）。アミノ酸の多様性は、保存的変異であり得る。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、切断型のペントンベースタンパク質である。配列番号1は、例示的なペントンベースタンパク質である。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、配列番号1、または配列番号1と約80%以上、約85%以上、約90%以上、約92%以上、約93%以上、約94%以上、約95%以上、約96%以上、約97%以上、約98%以上、もしくは約99%以上のアミノ酸配列同一性を有するポリペプチドである。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、たとえば配列番号1の約50%以下、約60%以下、約70%以下、約80%以下、約90%以下、または約95%以下の長さを有する、配列番号1の切断型である。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、配列番号1の約50%～約100%（たとえば配列番号1の約60%～約95%、または約70%～約90%）の長さを有する。

## 【0063】

10

20

30

40

50

細胞貫通セグメントは、キャリアポリペプチドの細胞内局在を高める1つまたは複数のバリアントを含むことができる。たとえば、一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、キャリアポリペプチドを細胞質または核に優先的に局在化させる1つまたは複数のバリアントを含む。キャリアポリペプチドが（それ自体が小分子薬物に結合し得る）オリゴヌクレオチドと結合している実施形態では、バリアントの細胞貫通セグメントは、オリゴヌクレオチドおよび／または小分子薬物を細胞質または核に優先的に局在化させる。優先的な細胞下局在は、特定の小分子薬物に特に有益であり得る。たとえば、多くの化学療法剤は、癌細胞の核に局在化するDNAに結合することにより、機能する。核を優先的に標的とすることにより、結合した薬物は、機能する位置で濃縮される。他の小分子薬物は、細胞質で機能することができ、細胞質を優先的に標的とすることにより、薬物の効力を高めることができる。

10

## 【0064】

細胞下局在を高める例示的な細胞貫通セグメントの変異は、国際特許公開公報第2014/022811号に論述されている。ペントンベーススタンパク質におけるLeu60Trp変異は、細胞の細胞質に優先的に局在することが示されている。よって、一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、Leu60Trp変異を含むペントンベーススタンパク質である。Lys375Glu、Val449Met、およびPro469Ser変異は、細胞の核に優先的に局在することが示されている。よって、一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、Lys375Glu、Val449Met、およびPro469Ser変異を含む、ペントンベーススタンパク質である。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、Lys375Glu、Val449Met、およびPro469Ser変異を含む、ペントンベーススタンパク質である。アミノ酸の番号付けは、配列番号1の野生型のペントンベースポリペプチドを参照して行う。

20

## 【0065】

オリゴヌクレオチド結合セグメントは、本ナノ粒子の二本鎖オリゴヌクレオチド構成要素と結合する。オリゴヌクレオチド結合セグメントは、たとえば静電結合、水素結合、またはイオン結合を介して、二本鎖オリゴヌクレオチドと結合する。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合セグメントは、DNA結合ドメインまたは二本鎖RNA結合ドメインである。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合セグメントは、カチオン性ドメインである。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合ドメインは、ポリリジン配列を含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合セグメントは、約3～約30アミノ酸長、たとえば約3～約10、約5～約15、約10～約20、約15～約25、または約20～約30アミノ酸長である。1つの例示的な実施形態では、オリゴヌクレオチド結合セグメントは、デカリジン（すなわち、配列番号4に示されている、10個の連続したリジンアミノ酸、または「K10」）を含む（および一部の実施形態では、デカリジンである）。

30

## 【0066】

例示的なキャリアポリペプチドは、Her、ペントンベース（またはそのバリアント）、および正に荷電したオリゴヌクレオチド結合セグメントを含む。一部の実施形態では、キャリアポリペプチドは、Her、ペントンベースセグメント、およびポリリジンオリゴヌクレオチド結合セグメントを含む。一部の実施形態では、キャリアポリペプチドは、Her、ペントンベースセグメント、およびデカリジンオリゴヌクレオチド結合セグメント、たとえばHerPBK10（配列番号3）を含む。一部の実施形態では、キャリアポリペプチドは、配列番号3と約80%以上、約85%以上、約90%以上、約92%以上、約93%以上、約94%以上、約95%以上、約96%以上、約97%以上、約98%以上、または約99%以上のアミノ酸配列同一性を有するポリペプチドである。

40

## 【0067】

キャリアポリペプチドは、二本鎖オリゴヌクレオチドと結合してナノ粒子を形成する。二本鎖オリゴヌクレオチドは、RNAまたはDNAであり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、siRNA、shRNA、またはmicroRNAを含む。

50

二本鎖オリゴヌクレオチドは、たとえば、ステムループ構造を含み得るか、または2つの別々のRNA鎖を含み得る。二本鎖オリゴヌクレオチドは、完全に塩基対を形成する必要はなく、一部の実施形態では、1つまたは複数のバルジ、ループ、ミスマッチ、または他の二次構造を含む。一部の実施形態では、塩基のうち約80%以上が対形成しており、塩基のうち約85%以上が対形成しており、塩基のうち約90%以上が対形成しており、または塩基のうち約95%が対形成しており、または塩基のうち約100%が対形成している。一部の実施形態では、RNAは、T7-転写RNAなどの、三リン酸塩の5'末端を含む。一部の実施形態では、RNAは合成により生産されている。

## 【0068】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、約10塩基長～約1000塩基長、たとえば約10塩基長～約30塩基長、約20塩基長～約40塩基長、約30塩基長～約50塩基長、約40塩基長～約60塩基長、約50塩基長～約70塩基長、約60塩基長～約80塩基長、約70塩基長～約90塩基長、約80塩基長～約100塩基長、約100塩基長～約200塩基長、約200塩基長～約300塩基長、約300塩基長～約400塩基長、約400塩基長～約500塩基長、約500塩基長～約700塩基長、または約700塩基長～約1000塩基長である。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、約25塩基長～約35塩基長、たとえば約25塩基長、約26塩基長、約27塩基長、約28塩基長、約29塩基長、約30塩基長、約31塩基長、約32塩基長、約33塩基長、約34塩基長、または約35塩基長である。

## 【0069】

一部の実施形態では、小分子化合物（小分子薬物など）は、たとえば静電相互作用により、または二本鎖オリゴヌクレオチドにインターラートすることにより、二本鎖オリゴヌクレオチドに結合している。小分子薬物は、ドキソルビシンなどの化学療法剤であり得る。他の小分子化学療法剤として、他のアントラサイクリン（ダウノルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ミトキサントロン、バルルビシンなど）、アルキル化剤もしくはアルキル化様作用剤（カルボプラチニン、カルムスチニン、シスプラチニン、シクロホスファミド、メルファラン、プロカルバジン、もしくはチオテバなど）、またはタキサン（パクリタキセル、ドセタキセル、もしくはタキソテールなど）を挙げることができる。一部の実施形態では、小分子化合物は、約1000ダルトン以下、約900ダルトン以下、約800ダルトン以下、約700ダルトン以下、約600ダルトン以下、約500ダルトン以下、約400ダルトン以下、または約300ダルトン以下である。

## 【0070】

一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中の小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約60:1以下、たとえば約50:1以下、約40:1以下、約30:1以下、約20:1以下、約10:1以下、約5:1以下、約4:1以下、約3:1以下、約2:1以下、または約1:1以下である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中の小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1、たとえば約1:1～約10:1、約5:1～約20:1、約10:1～約30:1、約20:1～約40:1、約30:1～約50:1、または約40:1～約60:1、約1:1、約1:10、約1:20、約1:30、約1:40、約1:50、または約1:60である。

## 【0071】

一部の実施形態では、本ナノ粒子は、動的光散乱法によって測定した場合、一般的に直径50nm以下（たとえば、直径約45nm以下、約40nm以下、約35nm以下、約30nm以下、約25nm～約50nm、約25nm～約30nm、約30nm～約35nm、約35nm～約40nm、または約45nm～約50nm）である。小分子薬物は、存在する場合には、それ自体がオリゴヌクレオチド結合セグメントに結合している二本鎖オリゴヌクレオチドに結合している。

## 【0072】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA

10

20

30

40

50

など)を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1)である、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、HER3+癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、アントラサイクリン(たとえばドキソルビシン)などの小分子薬物と結合している。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

10

#### 【0073】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)である、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、HER3+癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、アントラサイクリン(たとえばドキソルビシン)などの小分子薬物と結合している。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

20

#### 【0074】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリエントを含む(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリエントである)、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、HER3+癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、アントラサイクリン(たとえばドキソルビシン)などの小分子薬物と結合している(たとえば小分子薬物がインターラートしている)。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

30

#### 【0075】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリエントを含む(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリエントである)、組成物を提

40

50

供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、HER3+癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、アントラサイクリン（たとえばドキソルビシン）などの小分子薬物と結合している（たとえば小分子薬物がインターラートしている）。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1（たとえば約10：1または約40：1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0076】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6：1未満（たとえば4：1から約6：1未満、または約4：1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが正に荷電している、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、HER3+癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、アントラサイクリン（たとえばドキソルビシン）などの小分子薬物と結合している（たとえば小分子薬物がインターラートしている）。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1（たとえば約10：1または約40：1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0077】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6：1未満（たとえば約4：1から約6：1未満、約5：1、または約4：1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが正に荷電している、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、HER3+癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、アントラサイクリン（たとえばドキソルビシン）などの小分子薬物と結合している（たとえば小分子薬物がインターラートしている）。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1（たとえば約10：1または約40：1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0078】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6：1未満（たとえば4：1から約6：1未満、または約4：1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチ

10

20

30

40

50

ド結合セグメントが正に荷電しており、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態ではヘレグリンまたはそのバリアントである）、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、H E R 3 + 癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、アントラサイクリン（たとえばドキソルビシン）などの小分子薬物と結合している（たとえば小分子薬物がインターラートしている）。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

10

#### 【 0 0 7 9 】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA など）を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが正に荷電しており、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態ではヘレグリンまたはそのバリアントである）、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、H E R 3 + 癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、アントラサイクリン（たとえばドキソルビシン）などの小分子薬物と結合している（たとえば小分子薬物がインターラートしている）。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

20

#### 【 0 0 8 0 】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA など）を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み（および一部の実施形態ではデカリジンであり）、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態ではヘレグリンまたはそのバリアントである）、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、H E R 3 + 癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、アントラサイクリン（たとえばドキソルビシン）などの小分子薬物と結合している（たとえば小分子薬物がインターラートしている）。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

30

#### 【 0 0 8 1 】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA

40

50

など)を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み(および一部の実施形態ではデカリジンであり)、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態ではヘレグリンまたはそのバリアントである)、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、HER3+癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、アントラサイクリン(たとえばドキソルビシン)などの小分子薬物と結合している(たとえば小分子薬物がインターラートしている)。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

10

#### 【0082】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み(および一部の実施形態ではデカリジンであり)、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態ではヘレグリンまたはそのバリアントであり)、化学療法薬(ドキソルビシンなど)が、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、HER3+癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、化学療法薬:二本鎖オリゴヌクレオチドのモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

20

#### 【0083】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)を含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり、オリゴヌクレオチド結合セグメントがデカリジンであり、細胞標的化セグメントがヘレグリンまたはそのバリアントであり、化学療法薬(ドキソルビシンなど)が、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、HER3+癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、化学療法薬:二本鎖オリゴヌクレオチドのモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下

30

40

50

である。

#### 【0084】

一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖DNAオリゴヌクレオチドを含むナノ粒子を含む組成物であって、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約4:1であり、キャリアポリペプチドがHerP BK10であり、ドキソルビシンが、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、組成物を提供する。一部の実施形態では、細胞標的化セグメントは、HER3+癌細胞などの癌細胞と結合する。一部の実施形態では、この癌細胞は、化学療法薬抵抗性癌細胞である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、化学療法薬：二本鎖オリゴヌクレオチドのモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

10

#### 【0085】

##### ナノ粒子の生産

本明細書中記載のナノ粒子は、複数の二本鎖オリゴヌクレオチドと複数のキャリアポリペプチドを組み合わせることにより、生産することができる。一部の実施形態では、キャリアポリペプチド、二本鎖オリゴヌクレオチド、および任意選択で小分子薬物をインキュベートして、ナノ粒子を形成する。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドを、キャリアポリペプチドと組み合わせる前に、小分子薬物とブレインキュベートする。キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを組み合わせると、ナノ粒子は自然に集合する。

20

#### 【0086】

一部の実施形態では、ナノ粒子組成物を作製する方法であって、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを約6:1未満のモル比で組み合わせることにより、複数のナノ粒子を形成することを含み、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを組み合わせる前に、二本鎖オリゴヌクレオチドおよび小分子薬物を組み合わせることをさらに含む。

30

#### 【0087】

一部の実施形態では、一本鎖の相補的（または部分的に相補的）なオリゴヌクレオチドをアニールして、二本鎖オリゴヌクレオチドを形成する。オリゴヌクレオチドのアニーリングは、たとえば、おおよそ等モル量の一本鎖オリゴヌクレオチドそれぞれを組み合わせ、オリゴヌクレオチドを（たとえば約90以上に）加熱し、この混合物を（たとえばおよそ室温に）冷却することにより、起こり得る。

#### 【0088】

小分子薬物（化学療法剤、たとえばドキソルビシンなど）は、小分子薬物および二本鎖オリゴヌクレオチドを組み合わせることにより、二本鎖オリゴヌクレオチドに結合することができる。一部の実施形態では、小分子薬物および二本鎖オリゴヌクレオチドは、約60:1以下、約50:1以下、約40:1以下、約30:1以下、約20:1以下、約10:1以下、約5:1以下、約4:1以下、約3:1以下、約2:1以下、または約1:1以下のモル比で組み合わせる。一部の実施形態では、小分子薬物および二本鎖オリゴヌクレオチドは、約1:1～約60:1、たとえば約1:1～約10:1、約5:1～約20:1、約10:1～約30:1、約20:1～約40:1、約30:1～約50:1、または約40:1～約60:1、約1:1、約1:10、約1:20、約1:30、約1:40、約1:50、または約1:60のモル比で組み合わせる。小分子薬物および二本鎖オリゴヌクレオチドを組み合わせると、小分子薬物は、たとえば二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートすることにより、二本鎖オリゴヌクレオチドに結合する。

40

50

## 【0089】

任意選択で小分子薬物と結合している二本鎖オリゴヌクレオチドを、キャリアポリペプチドと組み合わせてナノ粒子を形成する。一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドは、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、たとえば約4:1～約4.5:1、約4.5:1～約5:1、約5:1～約5.5:1、約5.5:1から約6:1未満、約4:1、約4.5:1、約5:1、または約5.5)のモル比で組み合わせる。一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを、約4～約22、たとえば約4～約15、または約4～約10でインキュベートする。一部の実施形態では、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを、約30分未満、約30分以上、約1時間以上、または約2時間以上、インキュベートする。二本鎖オリゴヌクレオチドとキャリアポリペプチドを組み合わせた後、ナノ粒子が自然に形成する。

10

## 【0090】

一部の実施形態では、過剰量のオリゴヌクレオチド、小分子薬物、またはキャリアポリペプチドは、ナノ粒子を含む本組成物から除去される。たとえば、一部の実施形態では、ナノ粒子組成物を、サイズ排除クロマトグラフィーなどの精製ステップに供する。一部の実施形態では、未結合の構成要素を、超遠心分離によりナノ粒子から分離する。たとえば、一部の実施形態では、本組成物を、約100kD以下、約80kD以下、約70kD以下、約60kD以下、約50kD以下、約40kD以下、約30kD以下、または約20kD以下の分子量カットオフの遠心分離フィルターに加える。

20

## 【0091】

任意選択で、得られたナノ粒子組成物を、透析、超遠心分離、またはタンジェンシャルフロー・フィルトレーションにより、バッファー交換に供する。一部の実施形態では、ナノ粒子は、たとえば超遠心分子により濃縮される。

## 【0092】

一部の実施形態では、ナノ粒子組成物を作製する方法であって、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)を約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、または約4:1)のモル比で組み合わせることにより、複数のナノ粒子を形成することを含み、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントである)。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合ドメインは、正に荷電している(デカリジンなど)。一部の実施形態では、細胞標的化ドメインは、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである)。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり、オリゴヌクレオチド結合ドメインは、正に荷電しており(デカリジンなど)、細胞標的化ドメインは、ヘレグリンまたはそのバリアントである。一部の実施形態では、得られた本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

30

## 【0093】

一部の実施形態では、ナノ粒子組成物を作製する方法であって、二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)および小分子薬物(化学療法薬、たとえばドキソルビシンなど)を組み合わせることと、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、または約4:1)のモル比で組み合わせることにより、複数のナノ粒子を形成することとを含み、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントである)。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合ドメインは、正に荷電している(デカリジンなど)。一部の実施形態では、細胞標的化ドメインは、ヘレグリンまたはそのバリアントである。

40

50

は、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントはペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり、オリゴヌクレオチド結合ドメインは正に荷電しており（デカリジンなど）、細胞標的化ドメインは、ヘレグリンまたはそのバリアントである。一部の実施形態では、得られた本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0094】

一部の実施形態では、ナノ粒子組成物を作製する方法であって、二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）および小分子薬物（化学療法薬、たとえばドキソルビシンなど）を組み合わせることと、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを約6:1未満（たとえば約4:1から6:1未満、または約4:1）のモル比で組み合わせることにより、複数のナノ粒子を形成することと、上記複数のナノ粒子から、未結合のキャリアポリペプチドまたは二本鎖オリゴヌクレオチドを分離することとを含み、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントである）。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合ドメインは、正に荷電している（デカリジンなど）。一部の実施形態では、細胞標的化ドメインは、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントはペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり、オリゴヌクレオチド結合ドメインは正に荷電しており（デカリジンなど）、細胞標的化ドメインは、ヘレグリンまたはそのバリアントである。一部の実施形態では、得られた本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

10

20

30

40

#### 【0095】

一部の実施形態では、ナノ粒子組成物を作製する方法であって、二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）および小分子薬物（化学療法薬、たとえばドキソルビシンなど）を組み合わせることと、二本鎖オリゴヌクレオチドから未結合の小分子薬物を分離することと、約6:1未満（たとえば約4:1から約6:1未満、または約4:1）のモル比でキャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを組み合わせることにより、複数のナノ粒子を形成することと、上記複数のナノ粒子から、未結合のキャリアポリペプチドまたは二本鎖オリゴヌクレオチドを分離することとを含み、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントである）。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド結合ドメインは、正に荷電している（デカリジンなど）。一部の実施形態では、細胞標的化ドメインは、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）。一部の実施形態では、細胞貫通セグメントは、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり、オリゴヌクレオチド結合ドメインは正に荷電しており（デカリジンなど）、細胞標的化ドメインはヘレグリンまたはそのバリアントである。一部の実施形態では、得られた本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0096】

##### 癌治療

ナノ粒子組成物は、ナノ粒子を含む組成物の有効量を対象に投与することによって癌細胞を殺滅することにより、対象の癌の治療に有用であり得る。キャリアポリペプチドの細胞標的化セグメントは、癌細胞の表面の分子を標的とすることにより、化学療法剤（二本鎖オリゴヌクレオチドに結合できる）を癌細胞に送達することができる。一部の実施形態では、この癌は転移性である。一部の実施形態では、この癌は、本明細書中さらに記載さ

50

れているように、化学療法薬抵抗性癌である。

【0097】

一態様では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満である、方法を提供する。

【0098】

別の態様では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬を含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が約6:1未満である、方法を提供する。

【0099】

別の態様では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が約6:1未満である、方法を提供する。

【0100】

一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。HER細胞標的化セグメントは、たとえば、ナノ粒子を癌細胞に標的化するために、HER3+癌細胞の表面に存在するHER3に結合することができる。

【0101】

一部の実施形態では、ナノ粒子を含む組成物の有効量を、グリオーマ、乳癌、卵巣癌、または前立腺癌を治療するために対象に投与する。一部の実施形態では、これら癌のいずれか1つはHER3+である。一部の実施形態では、癌は、プロゲステロン受容体(PR)、エストロゲン受容体(ER)、またはHER2のうちの1つまたは複数に対してネガティブ(たとえばPR-、ER-、HER2-、PR-/ER-など)である。一部の実施形態では、この癌はトリプルネガティブ乳癌である。

【0102】

一部の実施形態では、ナノ粒子を含む組成物は、グリオーマ細胞、乳癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞などの癌細胞を殺滅するために使用する。一部の実施形態では、これら癌細胞のうちのいずれか1つはHER3+である。一部の実施形態では、癌細胞は、プロゲステロン受容体(PR)、エストロゲン受容体(ER)、またはHER2のうちの1つまたは複数に対してネガティブ(たとえばPR-、ER-、HER2-、PR-/ER-など)である。一部の実施形態では、この癌細胞はトリプルネガティブ乳癌細胞である。

【0103】

一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、リポソーマルドキソルビシン(または「LipoDox」、たとえば商標名Doxil(登録商標)として販売される組成物)よりも効力が高い。例示的なナノ粒子は、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを、平均4:1から約6:1未満のモル比(キャリアポリペプチド対二本鎖オリゴヌクレオチド)で含み、小分子薬物(ドキソルビシンなど)を、平均約1:1～約60:1のモル比(小分子薬物対オリゴヌクレオチド)で含む。たとえば、一部の実施形態では、ナノ粒子は、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを、平均約4:1のモル比(キャリアポリペプチド対二本鎖オリゴヌクレオチド)で含み、かつ、小

10

20

30

40

50

分子薬物（ドキソルビシンなど）を、平均約10：1のモル比（小分子薬物：オリゴヌクレオチド）で含む。別の例では、一部の実施形態では、ナノ粒子は、キャリアポリペプチドおよび二本鎖オリゴヌクレオチドを、平均約4：1のモル比（キャリアポリペプチド：二本鎖オリゴヌクレオチド）で含み、かつ、小分子薬物（ドキソルビシンなど）を、平均約40：1のモル比（小分子薬物：オリゴヌクレオチド）で含む。

#### 【0104】

一部の実施形態では、癌細胞は、薬物の存在下で増殖する。一部の実施形態では、癌細胞の培養物は、薬物の存在下で縮小しない。一部の実施形態では、癌細胞は、薬物の存在下で殺滅されない。一部の実施形態では、癌細胞株の相対的な細胞の生存は、同じ癌細胞タイプの非薬物抵抗性細胞株が約0.5以下（たとえば約0.4以下、約0.3以下、または約0.2以下）の相対的な細胞生存を有する用量および時間の長さで、約0.7以上（たとえば約0.8以上、または約0.9以上）である。

10

#### 【0105】

一部の実施形態では、治療または殺滅すべき癌または癌細胞は、小分子薬物または抗体などの化学療法薬に非応答性である。一部の実施形態では、治療または殺滅すべき癌または癌細胞は、リポソーマルアントラサイクリンなどの化学療法薬のリポソーム製剤に非応答性である。一部の実施形態では、治療または殺滅すべき癌または癌細胞は、HER2+抗体化学療法剤、ラバチニブ、またはアントラサイクリンに対して非応答性である。一部の実施形態では、治療または殺滅すべき癌または癌細胞は、ドキソルビシン（ナノ粒子ドキソルビシンの形態、たとえばリポソーマルドキソルビシン、または非ナノ粒子製剤のドキソルビシンであり得る）に対して非応答性である。一部の実施形態では、治療または殺滅すべき癌または癌細胞は、ラバチニブに対して非応答性である。一部の実施形態では、治療または殺滅すべき癌または癌細胞は、トラスツズマブおよび/またはペルツズマブに対して非応答性である。

20

#### 【0106】

一部の実施形態では、記載の方法は、化学療法剤に対して非応答性である癌を有する対象を同定することと、本明細書中記載のナノ粒子を含む組成物の有効量を投与することとを含む。一部の実施形態では、癌または癌細胞は、抗HER2治療（抗HER2抗体、またはHER2の小分子阻害剤（たとえばラバチニブ））に対して非応答性である。一部の実施形態では、癌または癌細胞は、トラスツズマブおよび/またはペルツズマブなどの抗HER2抗体の治療に対して非応答性である。一部の実施形態では、癌または癌細胞は、ドキソルビシン（ドキソルビシンのリポソーム製剤、またはドキソルビシンの非ナノ粒子製剤など）に対して非応答性である。

30

#### 【0107】

一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、HER3+癌細胞、たとえばMDA-MB-435細胞の殺滅において、リポソーマルドキソルビシンよりも有効である。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、HER3+癌細胞（MDA-MB-435細胞など）の殺滅に関して約10μM未満、たとえば約5μM未満のIC50を有する。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、HER3+癌細胞（MDA-MB-435細胞など）の殺滅に関して、約2μM～約10μMのIC50を有する。

40

#### 【0108】

一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、乳癌細胞、たとえばBT474乳癌細胞またはJIMT1乳癌細胞の殺滅において、リポソーマルドキソルビシンよりも有効である。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、乳癌細胞（BT474乳癌細胞またはJIMT1乳癌細胞など）の殺滅に関して約10μM未満、たとえば約5μM未満、約1μM未満、または約0.5μM未満のIC50を有する。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、乳癌細胞（BT474乳癌細胞またはJIMT1乳癌細胞など）の殺滅に関して約0.1μM～約10μM、たとえば約0.5μM～約10μM、または約0.5μM～約1μMのIC50を有する。

#### 【0109】

50

一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、トリプルネガティブ乳癌細胞、たとえば4T1トリプルネガティブ乳癌細胞の殺滅において、リポソーマルドキソルビシンよりも有効である。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、トリプルネガティブ乳癌細胞(4T1トリプルネガティブ乳癌細胞など)の殺滅に関して約10μM未満、たとえば約5μM未満、約1μM未満、または約0.5μM未満のIC50を有する。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、トリプルネガティブ乳癌細胞(4T1トリプルネガティブ乳癌細胞など)の殺滅に関して約0.1μM～約10μM、たとえば約0.5μM～約10μM、または約0.5μM～約1μMのIC50を有する。

#### 【0110】

一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、グリオーマ細胞、たとえばU251グリオーマ細胞の殺滅において、リポソーマルドキソルビシンよりも有効である。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、グリオーマ細胞(U251グリオーマ細胞など)の殺滅に関して約10μM未満、たとえば約5μM未満、約1μM未満、または約0.5μM未満のIC50を有する。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、グリオーマ細胞(U251グリオーマ細胞など)の殺滅に関して約0.1μM～約10μM、たとえば約0.5μM～約10μM、または約0.5μM～約1μMのIC50を有する。

#### 【0111】

一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、卵巣癌細胞、たとえばSKOV3卵巣癌細胞の殺滅において、リポソーマルドキソルビシンよりも有効である。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、卵巣癌細胞(SKOV3卵巣癌細胞など)の殺滅に関して約10μM未満、たとえば約5μM未満、または約1μM未満のIC50を有する。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、卵巣癌細胞(SKOV3卵巣癌細胞など)の殺滅に関して約0.1μM～約10μM、たとえば約0.5μM～約10μM、または約0.5μM～約1μMのIC50を有する。

#### 【0112】

一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、前立腺癌細胞、たとえばLNCaP-GFP前立腺癌細胞の殺滅において、リポソーマルドキソルビシンよりも有効である。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、前立腺癌細胞(LNCaP-GFP前立腺癌細胞など)の殺滅に関して約10μM未満、たとえば約5μM未満、約1μM未満、または約0.5μM未満のIC50を有する。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、前立腺癌細胞(LNCaP-GFP前立腺癌細胞など)の殺滅に関して約0.1μM～約10μM、たとえば約0.5μM～約10μM、または約0.5μM～約1μMのIC50を有する。

#### 【0113】

一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、転移性癌細胞、たとえば骨転移性前立腺癌細胞(たとえばRANKLヒト骨転移性前立腺癌細胞)の殺滅において、リポソーマルドキソルビシンよりも有効である。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、転移性癌細胞、たとえば骨転移性前立腺癌細胞(たとえばRANKLヒト骨転移性前立腺癌細胞)の殺滅に関して約10μM未満、たとえば約5μM未満、約1μM未満、または約0.5μM未満のIC50を有する。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、転移性癌細胞、たとえば骨転移性前立腺癌細胞(たとえばRANKLヒト骨転移性前立腺癌細胞)の殺滅に関して約0.1μM～約10μM、たとえば約0.5μM～約10μM、または約0.5μM～約1μMのIC50を有する。

#### 【0114】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法は、放射線療法または外科手術などの二次的な治療をさらに含む。よって、一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子を含む組成物は、ネオアジュバント療法および/またはアジュバント療法として、癌を有する対象に投与される。たとえば、一部の実施形態では、トラスツズマブおよび/またはペルツズマブを、本明細書中記載のナノ粒子組成物を投与することを含む抗癌療法に対

10

20

30

40

50

するアジュバントとして、使用する。

【0115】

一部の実施形態では、対象は、本明細書中記載のナノ粒子の投与の前に、化学療法または放射線療法を経験していない。一部の実施形態では、対象は、化学療法または放射線療法を経験している。

【0116】

一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子組成物を対象に投与する。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物を、標的とする細胞へ *in vivo* で送達するために、対象に投与する。一般的に、ナノ粒子組成物の用量および投与経路は、標準的な医薬の実務に従い、対象の体格状態によって決定される。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物を、経口投与、経皮投与、吸入による投与、静脈内投与、動脈内投与、筋肉内投与、創傷部位への直接的な適用、外科施術部位への適用、腹腔内投与、坐薬による投与、皮下投与、皮内投与、経皮投与、吸入投与、胸膜内投与、脳室内投与、関節内投与、眼内投与、または脊髄内投与を含むいずれかの経路を介して、対象に投与する。一部の実施形態では、本組成物を、対象に静脈内投与する。

10

【0117】

一部の実施形態では、本ナノ粒子組成物の投与量は、単回用量または反復用量である。一部の実施形態では、用量を、1日1回、1日2回、1日3回、または1日4回以上対象に提供する。一部の実施形態では、約1回以上(たとえば約2回以上、約3回以上、約4回以上、約5回以上、約6回以上、または約7回以上)の用量を1週間で提供する。一部の実施形態では、本組成物を、1週間に1回、2週間ごとに1回、3週間ごとに1回、4週間ごとに1回、3週間のうち2週間の間週1回、または4週間のうち3週間の間週1回、投与する。一部の実施形態では、複数回の用量を、数日、数週間、数ヶ月、または数年にわたり提供する。一部の実施形態では、一連の治療は、約1回以上の投与(たとえば約2回以上の投与、約3回以上の投与、約4回以上の投与、約5回以上の投与、約7回以上の投与、約10回以上の投与、約15回以上の投与、約25回以上の投与、約40回以上の投与、約50回以上の投与、または約100回以上の投与)である。

20

【0118】

一部の実施形態では、投与されるナノ粒子組成物の用量は、約200mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約150mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約100mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約80mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約70mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約60mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約50mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約40mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約30mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約20mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約15mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約10mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、約5mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)、または約1mg/m<sup>2</sup>以下の小分子薬物(ドキソルビシンなど)である。一部の実施形態では、投与される本ナノ粒子組成物の用量は、おおよそ同じ治療効果に関してリポソーマルドキソルビシンの用量よりも低い。一部の実施形態では、本ナノ粒子組成物の投与用量は、ほぼ同じ用量のリポソーマルドキソルビシンの治療効果と比較して、増大した治療効果を提供する。

30

【0119】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖才

40

50

リゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1）である、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌は H E R 3 + 癌である。一部の実施形態では、この癌は、乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

#### 【 0 1 2 0 】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA など）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1、または約 4 : 1）である、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌は H E R 3 + 癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

#### 【 0 1 2 1 】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA など）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリエントを含む（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリエントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌は H E R 3 + 癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

#### 【 0 1 2 2 】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA など）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリエントを含む（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドま

10

20

30

40

50

たはそのバリアントである)、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌(トリプルネガティブ乳癌など)、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0123】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが正に荷電している、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌(トリプルネガティブ乳癌など)、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0124】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが正に荷電している、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌(トリプルネガティブ乳癌など)、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0125】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オ

10

20

30

40

50

リゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが正に荷電しており、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌は H E R 3 + 癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

#### 【 0 1 2 6 】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA など）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが正に荷電しており、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌は H E R 3 + 癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

#### 【 0 1 2 7 】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA など）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントがデカリジンを含み（および一部の実施形態ではデカリジンであり）、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌は H E R 3 + 癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の

10

20

30

40

50

大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

#### 【0128】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントがデカリジンを含み（および一部の実施形態ではデカリジンであり）、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌は HER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか 1 つが HER3+ であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。  
10 20 30

#### 【0129】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントがデカリジンを含み（および一部の実施形態ではデカリジンであり）、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントであり）、化学療法薬（ドキソルビシンなど）が、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌は HER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか 1 つが HER3+ であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。  
30 40

#### 【0130】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5

：1、または約4：1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントがデカリジンを含み(および一部の実施形態ではデカリジンであり)、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントであり)、化学療法薬(ドキソルビシンなど)が、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインタークレートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌(トリプルネガティブ乳癌など)、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1(たとえば約10：1または約40：1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

10

20

30

40

50

### 【0131】

一部の実施形態では、癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、キャリアポリペプチドおよび二本鎖DNAオリゴヌクレオチドを含み、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が約4：1であり、キャリアポリペプチドがHerPbK10であり、ドキソルビシンが二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインタークレートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌(トリプルネガティブ乳癌など)、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1(たとえば約10：1または約40：1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

### 【0132】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6：1未満(たとえば4：1から約6：1未満、または約4：1)である、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1(たとえば約10：1または約40：1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

### 【0133】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6：1未満(たとえば約4：1から約6：1未満、約5：1、または約4：

1) である、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞は H E R 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1 (たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1) である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

#### 【 0 1 3 4 】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満(たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1) であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントである)、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞は H E R 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1 (たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1) である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

10

20

30

40

#### 【 0 1 3 5 】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満(たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1、または約 4 : 1) であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントである)、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞は H E R 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1 (たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1) である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

#### 【 0 1 3 6 】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満(たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1) であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み

50

(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、正に荷電している、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はH E R 3 +癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがH E R 3 +であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1(たとえば約10：1または約40：1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

## 【0137】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6：1未満(たとえば約4：1から約6：1未満、約5：1、または約4：1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、正に荷電している、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はH E R 3 +癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがH E R 3 +であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1(たとえば約10：1または約40：1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

## 【0138】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6：1未満(たとえば4：1から約6：1未満、または約4：1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、正に荷電しており、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである)、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はH E R 3 +癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがH E R 3 +であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1(たとえば約10：1または約40：1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

## 【0139】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド

10

20

30

40

50

結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、正に荷電しており、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである)、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0140】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み(および一部の実施形態ではデカリジンであり)、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである)、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0141】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み(および一部の実施形態ではデカリジンであり)、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである)、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌

10

20

30

40

50

細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0142】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み(および一部の実施形態ではデカリジンであり)、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントであり)、化学療法薬(ドキソルビシンなど)が、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0143】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み(および一部の実施形態ではデカリジンであり)、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントであり)、化学療法薬(ドキソルビシンなど)が、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0144】

一部の実施形態では、癌細胞を殺滅する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、キャリアポリペプチドおよび二本鎖DNAオリゴヌ

10

20

30

40

50

クレオチドを含み、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が約4:1であり、キャリアポリペプチドがH e r P B K 1 0であり、ドキソルビシンが、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインタークレートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はH E R 3 +癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがH E R 3 +であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

10

20

30

40

50

#### 【0145】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満（たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1）である、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はH E R 3 +癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがH E R 3 +であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0146】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満（たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1）である、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はH E R 3 +癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがH E R 3 +であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0147】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満（たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリ

アントを含む（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はH E R 3 +癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがH E R 3 +であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1（たとえば約10：1または約40：1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0148】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6：1未満（たとえば約4：1から約6：1未満、約5：1、または約4：1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はH E R 3 +癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがH E R 3 +であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1（たとえば約10：1または約40：1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0149】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6：1未満（たとえば4：1から約6：1未満、または約4：1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、正に荷電している、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はH E R 3 +癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがH E R 3 +であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1：1～約60：1（たとえば約10：1または約40：1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0150】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオ

10

20

30

40

50

チドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、正に荷電している、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞は H E R 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

10

20

30

40

50

### 【 0 1 5 1 】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA など）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、正に荷電しており、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞は H E R 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

### 【 0 1 5 2 】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA など）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、正に荷電しており、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞は H E R 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以

下である。

#### 【0153】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満（たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み（および一部の実施形態では、デカリジンであり）、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。  
10

#### 【0154】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満（たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み（および一部の実施形態では、デカリジンであり）、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。  
20

#### 【0155】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、複数のナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約6:1未満（たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリ  
30  
40  
50

アントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み（および一部の実施形態では、デカリジンであり）、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントであり）、化学療法薬（ドキソルビシンなど）が、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞は H E R 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

10

20

30

40

#### 【 0 1 5 6 】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（D N A など）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1、または約 4 : 1）であり、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み（および一部の実施形態では、デカリジンであり）、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントであり）、化学療法薬（ドキソルビシンなど）が、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞は H E R 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

30

#### 【 0 1 5 7 】

一部の実施形態では、癌細胞に化学療法剤を送達する方法であって、癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、キャリアポリペプチドおよび二本鎖 D N A オリゴヌクレオチドを含み、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が約 4 : 1 であり、キャリアアポリペプチドが H e r P B K 1 0 であり、ドキソルビシンが、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞は H E R 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

40

#### 【 0 1 5 8 】

薬物抵抗性癌を治療する方法

また、ナノ粒子組成物は、化学療法薬抵抗性癌の殺滅および化学療法薬抵抗性癌を有す

50

る対象の治療に有用であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅する方法であって、化学療法薬抵抗性癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬を含む、方法を提供する。

【0159】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌を有する対象を治療する方法であって、複数のナノ粒子を含む組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬を含む、方法を提供する。

10

【0160】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌に化学療法剤を送達する方法であって、化学療法薬抵抗性癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬を含む、方法を提供する。

20

【0161】

また本明細書中記載の方法は、薬物（化学療法剤など）による前治療によって治療時に病状が進行している対象の治療にも有用である。たとえば、対象は、前治療による治療からおよそ1ヶ月以内、2ヶ月以内、3ヶ月以内、4ヶ月以内、5ヶ月以内、6ヶ月以内、7ヶ月以内、8ヶ月以内、9ヶ月以内、10ヶ月以内、11ヶ月以内、または12ヶ月以内に、病状が進行している。一部の実施形態では、癌を有する対象は、前治療による治療に対して、当初応答性であったが、前治療の休止からおよそ6ヶ月後、7ヶ月後、8ヶ月後、9ヶ月後、10ヶ月後、11ヶ月後、12ヶ月後、24ヶ月後、または36ヶ月後に、再発癌を発症する。

【0162】

以下の説明は、例示的な実施形態として、前治療（ドキソルビシンベースの治療など）に対して抵抗性のある対象を説明しているが、本明細書中の説明は、前治療によって病状が進行している対象（たとえば応答できなかつたため、および／または毒性のために）、前治療を続行することが適切ではない対象、前治療後に再発癌を有する対象、前治療に対して非応答性の対象、望ましい応答性の度合いが低い対象、および／または増強された応答性を呈する対象にも当てはまると理解される。本明細書中記載の方法は、本明細書中記載のナノ粒子組成物の投与を含む、癌を治療するためのすべての二次治療を含む。

30

【0163】

本ナノ粒子は、*in vivo*または*vitro*のいずれかで、化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅することができる。また、本ナノ粒子は、たとえば本ナノ粒子を含む組成物を薬物抵抗性癌細胞と混合することにより、*in vitro*で薬物抵抗性癌細胞を殺滅することができる。キャリアポリペプチドの細胞標的化セグメントは、癌細胞の表面に存在する分子に結合することができる。たとえば、一部の実施形態では、薬物抵抗性癌細胞は、HER3+細胞であり、細胞標的化セグメントは、HER3に結合する。また、本ナノ粒子は、たとえば薬物抵抗性癌を有する対象に本ナノ粒子を含む組成物を投与することにより、化学療法薬抵抗性癌を*in vivo*で殺滅するために使用することもできる。一部の実施形態では、本ナノ粒子を、たとえば薬物抵抗性癌を有する対象に本ナノ粒子を含む組成物の有効量を投与することにより、上記対象を治療するために使用する。

40

【0164】

一部の実施形態では、薬物抵抗性癌は、抗体に対して抵抗性である。たとえば、一部の実施形態では、薬物抵抗性癌は、抗HER2抗体、たとえばトラスツズマブ（商標名He

50

reception (登録商標) でも知られている) に対して抵抗性である。一部の実施形態では、薬物抵抗性癌は、ペルツズマブに対して抵抗性である。多くの場合、トラスツズマブまたはペルツズマブは、治療過程の間に、特定の癌のタイプにおいてその有効性を喪失する。このことは、乳癌の治療中に頻繁に起こる。しかしながら、記載のナノ粒子は、トラスツズマブ抵抗性癌細胞またはペルツズマブ抵抗性癌細胞をなおも標的とすることができる、よって、これら癌細胞の殺滅、またはトラスツズマブ抵抗性癌もしくはペルツズマブ抵抗性癌を有する患者の治療に有効である。

#### 【0165】

一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、リポソーマルドキソルビシンに抵抗性がある癌の治療に有効である。一部の実施形態では、本ナノ粒子は、HER2抗体(たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ)抵抗性癌の殺滅に有効である。一部の実施形態では、本ナノ粒子は、HER2抗体(たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ)抵抗性癌細胞、たとえばトラスツズマブ抵抗性BT474-TR乳癌細胞の殺滅に、リポソーマルドキソルビシンよりも有効である。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、HER2抗体(たとえばトラスツズマブ)抵抗性乳癌細胞(たとえばトラスツズマブ抵抗性BT474-TR乳癌細胞)の殺滅に関して約10μM未満、たとえば約5μM未満、約1μM未満、または約0.5μM未満のIC50を有する。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、HER2抗体(たとえばトラスツズマブ)抵抗性乳癌細胞(たとえばトラスツズマブ抵抗性BT474-TR乳癌細胞)の殺滅に関して約0.01μM~約10μM、たとえば約0.1μM~約1μM、または約0.5μM~約1μMのIC50を有する。

10

20

30

40

50

#### 【0166】

一部の実施形態では、薬物抵抗性癌は、小分子化学療法剤、たとえばアントラサイクリン(たとえば、商標名Adriamycin(登録商標)でも知られている、ドキソルビシン)、またはチロシンキナーゼ阻害剤(たとえばラパチニブ)に抵抗性である。一部の実施形態では、薬物抵抗性癌は、Lipodoxにに対して抵抗性である。

#### 【0167】

本明細書中記載のナノ粒子は、リポソーマルドキソルビシンとしてのドキソルビシンの当量で、ドキソルビシン抵抗性細胞株の細胞死を増大させ、このことは、本ナノ粒子が、ドキソルビシンに抵抗性を呈する患者の治療においてリポソーマルドキソルビシンよりも有効であることを表している。一部の実施形態では、本明細書中記載のナノ粒子は、小分子化学療法剤、たとえばドキソルビシンに対して抵抗性がある癌細胞(たとえば、A2780-ADRアドリアマイシン抵抗性のヒト卵巣癌細胞)の殺滅に、リポソーマルドキソルビシンよりも有効である。

#### 【0168】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含む、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌(トリプルネガティブ乳癌など)、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER2+抗体(たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ)、アントラサイクリン(ドキソルビシンなど)、またはチロシンキナーゼ阻害剤(ラパチニブなど)に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満(たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1

、または約4:1)である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

### 【0169】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントである)、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌(トリプルネガティブ乳癌など)、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER2+抗体(たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ)、アントラサイクリン(ドキソルビシンなど)、またはチロシンキナーゼ阻害剤(ラバチニブなど)に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満(たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

### 【0170】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、正に荷電している、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER2+抗体(たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ)、アントラサイクリン(ドキソルビシンなど)、またはチロシンキナーゼ阻害剤(ラバチニブなど)に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満(たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)である。一部の実施形態では、この癌は乳癌(トリプルネガティブ乳癌など)、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

10

20

30

40

50

## 【0171】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、正に荷電しており、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER2+抗体（たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ）、アントラサイクリン（ドキソルビシンなど）、またはチロシンキナーゼ阻害剤（ラバチニブなど）に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1）である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

10

20

30

40

50

## 【0172】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み（および一部の実施形態では、デカリジンであり）、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER2+抗体（たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ）、アントラサイクリン（ドキソルビシンなど）、またはチロシンキナーゼ阻害剤（ラバチニブなど）に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1）である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

## 【0173】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリエントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリエントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み（および一部の実施形態では、デカリジンであり）、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリエントを含み（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリエントであり）、化学療法薬（ドキソルビシンなど）が、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER2+抗体（たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ）、アントラサイクリン（ドキソルビシンなど）、またはチロシンキナーゼ阻害剤（ラバチニブなど）に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1）である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

## 【0174】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌を有する対象を治療する方法であって、ナノ粒子を含むナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、上記ナノ粒子が、キャリアアポリペプチドおよび二本鎖DNAオリゴヌクレオチドを含み、キャリアアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が、約4:1であり、キャリアアポリペプチドがHerP BK10であり、ドキソルビシンが、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、この癌はHER3+癌である。一部の実施形態では、この癌は乳癌（トリプルネガティブ乳癌など）、グリオーマ、卵巣癌、または前立腺癌であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER2+抗体（たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ）、アントラサイクリン（ドキソルビシンなど）、またはチロシンキナーゼ阻害剤（ラバチニブなど）に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1）である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、本ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

## 【0175】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅する方法であって、化学療法薬抵抗性癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグ

10

20

30

40

50

メント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含む、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER2+抗体（たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ）、アントラサイクリン（ドキソルビシンなど）、またはチロシンキナーゼ阻害剤（ラパチニブなど）に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1）である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、本組成物中のナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。一部の実施形態では、本ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

10

20

## 【0176】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅する方法であって、化学療法薬抵抗性癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER2+抗体（たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ）、アントラサイクリン（ドキソルビシンなど）、またはチロシンキナーゼ阻害剤（ラパチニブなど）に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1）である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満（たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1）である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20～約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1～約60:1（たとえば約10:1または約40:1）である。一部の実施形態では、本ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

30

40

50

## 【0177】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅する方法であって、化学療法薬抵抗性癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNAなど）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベ-

50

スボリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが正に荷電している、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞(トリプルネガティブ乳癌細胞など)、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか1つがHER3+であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER2+抗体(たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ)、アントラサイクリン(ドキソルビシンなど)、またはチロシンキナーゼ阻害剤(ラバチニブなど)に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満(たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0178】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅する方法であって、化学療法薬抵抗性癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが正に荷電しており、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む(および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである)、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞はHER3+癌細胞である。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER+2抗体(たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ)、アントラサイクリン(ドキソルビシンなど)、またはチロシンキナーゼ阻害剤(ラバチニブなど)に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満(たとえば4:1から約6:1未満、または約4:1)である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約6:1未満(たとえば約4:1から約6:1未満、約5:1、または約4:1)である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約20~約50塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約1:1~約60:1(たとえば約10:1または約40:1)である。一部の実施形態では、本ナノ粒子の大きさの平均は、約50nm以下である。

#### 【0179】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅する方法であって、化学療法薬抵抗性癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド(DNAなど)；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬(アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど)を含み、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み(および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり)、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み(および一部の実施形態ではデカリジンであり)、細胞標的化セグメン

10

20

30

40

50

トが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含む（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントである）、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞は HER 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか 1 つが HER 3 + であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER 2 + 抗体（たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ）、アントラサイクリン（ドキソルビシンなど）、またはチロシンキナーゼ阻害剤（ラバチニブなど）に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 6 : 1 未満（たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1 ）である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1、または約 4 : 1 ）である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1 ）である。一部の実施形態では、本ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

#### 【 0180 】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅する方法であって、化学療法薬抵抗性癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド；オリゴヌクレオチド結合セグメントに結合した二本鎖オリゴヌクレオチド（DNA など）；ならびに二本鎖オリゴヌクレオチドに結合した化学療法薬（アントラサイクリン、たとえばドキソルビシンなど）を含み、細胞貫通セグメントが、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ペントンベースポリペプチドまたはそのバリアントであり）、オリゴヌクレオチド結合セグメントが、デカリジンを含み（および一部の実施形態ではデカリジンであり）、細胞標的化セグメントが、ヘレグリンまたはそのバリアントを含み（および一部の実施形態では、ヘレグリンまたはそのバリアントであり）、化学療法薬（ドキソルビシンなど）が、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、方法を提供する。一部の実施形態では、癌細胞は HER 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか 1 つが HER 3 + であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、HER 2 + 抗体（たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ）、アントラサイクリン（ドキソルビシンなど）、またはチロシンキナーゼ阻害剤（ラバチニブなど）に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 6 : 1 未満（たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1 ）である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1、または約 4 : 1 ）である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1（たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1 ）である。一部の実施形態では、本ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

#### 【 0181 】

一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅する方法であって、化学療法薬抵抗性癌細胞を複数のナノ粒子と接触させることを含み、上記ナノ粒子が、キャリアポリペプチドおよび二本鎖 DNA オリゴヌクレオチドを含み、キャリアポリペプチドが、細胞標的化セグメント、細胞貫通セグメント、およびオリゴヌクレオチド結合セグメントを含み、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比が約 4 : 1 であり、キャリアポリペプチドが Her P B K 10 であり、ドキソルビシンが、二本鎖オリゴヌクレオチドの中にインターラートしている、方法を提供する。一部の実施形

10

20

30

40

50

態では、癌細胞は H E R 3 + 癌細胞である。一部の実施形態では、癌細胞は、乳癌細胞（トリプルネガティブ乳癌細胞など）、グリアの癌細胞、卵巣癌細胞、または前立腺癌細胞であり、このうちのいずれか 1 つが H E R 3 + であり得る。一部の実施形態では、化学療法薬抵抗性癌は、H E R 2 + 抗体（たとえばトラスツズマブまたはペルツズマブ）、アントラサイクリン（ドキソルビシンなど）、またはチロシンキナーゼ阻害剤（ラバチニブなど）に対して抵抗性である。一部の実施形態では、ナノ粒子組成物中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 6 : 1 未満（たとえば 4 : 1 から約 6 : 1 未満、または約 4 : 1 ）である。一部の実施形態では、ナノ粒子中のキャリアポリペプチドの二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 6 : 1 未満（たとえば約 4 : 1 から約 6 : 1 未満、約 5 : 1 、または約 4 : 1 ）である。一部の実施形態では、二本鎖オリゴヌクレオチドは、約 20 ~ 約 50 塩基長である。一部の実施形態では、小分子薬物の二本鎖オリゴヌクレオチドに対するモル比は、約 1 : 1 ~ 約 60 : 1 (たとえば約 10 : 1 または約 40 : 1 ) である。一部の実施形態では、本ナノ粒子の大きさの平均は、約 50 nm 以下である。

10

#### 【 0 1 8 2 】

##### 医薬組成物

一部の実施形態では、本明細書中記載の組成物は、本明細書中記載の複数のナノ粒子および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物として、製剤化されている。

20

#### 【 0 1 8 3 】

一部の実施形態では、本医薬組成物は、散剤などの固体である。散剤は、たとえばナノ粒子を含む溶液を凍結乾燥することにより、形成することができる。散剤は、たとえば散剤を水系の液体（たとえば水またはバッファー）と混合することにより、再構成することができる。一部の実施形態では、本医薬組成物は、液体、たとえば水溶液（生理食塩水またはリンガー溶液など）に懸濁したナノ粒子である。一部の実施形態では、本医薬組成物は、薬学的に許容される賦形剤、たとえば充填剤、結合剤、コーティング剤、保存剤、潤沢剤、香料、甘味料、着色剤、溶媒、緩衝剤、キレート剤、または安定剤を含む。

20

#### 【 0 1 8 4 】

薬学的に許容される充填剤の例として、セルロース、二塩基性リン酸カルシウム、炭酸カルシウム、結晶セルロース、スクロース、ラクトース、グルコース、マンニトール、ソルビトール、マルトール、アルファ化デンプン、コーンスターク、またはポテトスタークが挙げられる。薬学的に許容される結合剤の例として、ポリビニルピロリドン、スターク、ラクトース、キシリトール、ソルビトール、マルチトール、ゼラチン、スクロース、ポリエチレングリコール、メチルセルロース、またはセルロースが挙げられる。薬学的に許容されるコーティング剤の例として、ヒドロキシルプロピルメチルセルロース（ H P M C ）、シェラック、コーンタンパク質ゼイン、またはゼラチンが挙げられる。薬学的に許容される崩壊剤の例として、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロース、またはデンブングリコール酸ナトリウムが挙げられる。薬学的に許容される潤沢剤の例として、ポリエチレングリコール、ステアリン酸マグネシウム、またはステアリン酸が挙げられる。薬学的に許容される保存剤の例として、メチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸、またはソルビン酸が挙げられる。薬学的に許容される甘味料の例として、スクロース、サッカリン、アスパルテーム、またはソルビトールが挙げられる。薬学的に許容される緩衝剤の例として、炭酸塩、クエン酸塩、グルコン酸塩、酢酸塩、リン酸塩、または酒石酸塩が挙げられる。

30

#### 【 0 1 8 5 】

##### 製造品およびキット

同様に、適切なパッケージにある本明細書中記載の組成物を含む製造品を、提供する。本明細書中記載の組成物に適したパッケージは、当該分野で知られており、たとえば、バイアル（密閉したバイアルなど）、容器、アンプル、ビン、ジャー、可撓性パッケージ（たとえば密閉したマイラーバッグまたはプラスチックバッグ）などが挙げられる。これら製造品は、さらに滅菌かつ / または密閉されていてもよい。

40

50

## 【0186】

本発明はまた、本明細書中記載の組成物（または製造物品）を含むキットを提供し、本明細書中記載される使用などの、本組成物を使用する方法に関する説明書（複数可）をさらに含んでもよい。本明細書中記載されるキットは、他のバッファー、希釈剤、フィルター、ニードル、シリソジ、および本明細書中記載のいずれかの方法を行うための説明書を含む添付文書を含む、商業上の観点および使用者の観点から望ましい他の材料をさらに含んでもよい。

## 【0187】

## 実施例

本明細書中提供される実施例は、単に例示の目的のために含まれてあり、本発明の範囲の範囲を限定するようには意図されていない。

10

## 【0188】

## 実施例1：ナノ粒子の作製

キャリアポリペプチド、二本鎖DNAオリゴヌクレオチド、およびドキソルビシン（「Her Do x」粒子と呼ぶ）を含むナノ粒子を、以下の方法を使用して作製した。

20

## 【0189】

一本鎖の相補的DNAオリゴヌクレオチド（Eurofins Operon；配列は以下の通りである：5'-CGCCCTGAGCAACGCGGCGGGC ATCCGCAAG-3'（配列番号5）および5'-GCGGACCTCGTTGCGCCGCCGTAAGGCGTTT-5'（配列番号6））を、等モル比の各オリゴヌクレオチドを沸騰水で5分間インキュベートすることにより、アニールした。次に、オリゴヌクレオチドを、室温で30分間冷却した。

20

## 【0190】

次に、アニールした二本鎖のDNAオリゴヌクレオチドを、ドキソルビシンHC1と1:40（DNA:Do x）のモル比で、室温で30分間インキュベートした。

30

## 【0191】

次に、ドキソルビシンと結合した二本鎖DNAオリゴヌクレオチドを、Her細胞標的化セグメント、PB細胞貫通セグメント、およびデカリジン（「K10」）オリゴヌクレオチド結合セグメントを含むキャリアポリペプチド（「Her P B K 1 0」）と、HEPES緩衝生理食塩水（HBS）中4:1（Her P B K 1 0:DNA-ドキソルビシン）のモル比（よって、4:1:40（Her P B K 1 0:DNA:ドキソルビシン）のモル比）でインキュベートした。キャリアポリペプチドおよびドキソルビシンと結合した二本鎖DNAオリゴヌクレオチドの混合物を、氷中で2時間揺動することにより、Her Do x粒子を形成した。

30

## 【0192】

次に、得られたナノ粒子に、超遠心分離を行った。具体的には、滅菌HBS 12mlを、滅菌の10%グリセロールで24時間プレインキュベートした50kDカットオフの遠心フィルター（Centrifugal Filter）（Amicon Ultra-15）に添加した。Her Do x混合物を、遠心フィルター中の冷却したHBSに添加した。次に、フィルターチューブを、最終的な体積が200μL～500μLとなるまで、Beckman J6-HC遠心分離機で、2500RPM（5000×g）で10～20分間回転させた。次に、濃縮したHer Do xを、1.7mLのマイクロチューブに移した。

40

## 【0193】

空のナノ粒子を、Her Do xナノ粒子で記載されている通りではあるが、二本鎖オリゴヌクレオチドをドキソルビシンとインキュベートしていない二本鎖DNAオリゴヌクレオチド（ドキソルビシンなし）と、Her P B K 1 0をインキュベートすることにより、調製した。同様の混合物を、Her P B K 1 0対DNAのモル比2:1、3:1、4:1、5:1、および6:1を使用し、および/またはdsDNA対ドキソルビシンのモル比約1:10または約1:40を使用して作製することができる。

50

## 【0194】

以下に記載の実施例に関する治療用量は、HerDox中のドキソルビシンの濃度を反映しており、これは、測定された吸光度(A480)をDoxの吸光度の検量線に対して外挿することにより決定した(SpectraMax MA; Molecular Devices, CA, USA)。空のナノ粒子(HerPBK10-DNA)に関する治療濃度の正規化は、HerDoxと比較したHerPBK10の含有量に基づいた。

## 【0195】

## 実施例2：ナノ粒子の大きさ

HerPBK10キャリアポリペプチドを、ドキソルビシンをインターラートした二本鎖DNA(dsDNA)対ドキソルビシンのモル比1:10と、2:1、3:1、4:1、5:1、または6:1のモル比で組み合わせた。次に、この混合物を動的光散乱法(DLS)に供し、得られたナノ粒子の直径を決定した。HerPBK10(オリゴヌクレオチドまたはドキソルビシンを含まない)およびドキソルビシンをインターラートした二本鎖DNA(HerPBK10を含まない)の溶液も、同様にDLSにより測定した。結果を、図2に提示する。図2でわかるように、4:1、5:1、および6:1(HerPBK10対dsDNA)のモル比で組み合わせた場合に、約35nmのナノ粒子が形成された。

10

## 【0196】

## 実施例3：ナノ粒子のCryoEM

ドキソルビシンを、二本鎖DNAと組み合わせた後、この混合物をHerPBK10キャリアポリペプチドと、4:1:10、4:1:40、または6:1:10(HerPBK10対dsDNA対ドキソルビシン)のモル比で組み合わせた。次に、この混合物を、CryoEMを使用してイメージングし、図3に提示した。図3に示されているように3つ全ての混合物が、同様の大きさおよび形態のナノ粒子を生産する。

20

## 【0197】

## 実施例4：癌細胞および化学療法薬抵抗性癌細胞を殺滅するためのナノ粒子の使用

ドキソルビシンを含まないナノ粒子(HerPBK10対dsDNAのモル比が4:1、この実施例では「Empty Eosomes」と呼ぶ)、HerPBK10:dsDNA:ドキソルビシンのモル比が4:1;40のナノ粒子(この実施例では、Eos-001(4:1:40)と呼ぶ)、またはHerPBK10:dsDNA:ドキソルビシンのモル比が6:1;10であるナノ粒子(この実施例ではEos-001(6:1:10)と呼ぶ)を、様々なタイプの癌細胞を殺滅する能力に関して、Lipodoxと比較した。

30

## 【0198】

様々な用量のナノ粒子を、MDA-MB-435(ヒト癌)細胞、BT474(ヒト乳癌)細胞、BT474-R(トラスツズマブ抵抗性ヒト乳癌)細胞、JIMT1(トラスツズマブに生来抵抗性である患者由来のヒト乳癌細胞)、U251(ヒトグリオーマ)細胞、A2780-ADR(ドキソルビシン抵抗性ヒト卵巣癌)細胞、4T1(マウストリプルネガティブ乳癌)細胞、SKOV3(ヒト卵巣癌)細胞、LNCaP-GFP(ヒト前立腺癌)細胞、RANKL(ヒト骨転移性前立腺癌細胞)、またはBT-549(ヒトトリプルネガティブ乳癌)細胞のいずれかと、インキュベートした。

40

## 【0199】

## 細胞

SKBR3細胞およびMDA-MB-435細胞を、ATCCから得た。BT-474細胞およびJIMT1細胞を、シダーズ・サイナイ医療センター(Cedars-Sinai Medical Center)から得た。JIMT1細胞を除くすべての細胞を、完全培地DMEM(ダルベッコ変形イーグル培地)、10%熱失活ウシ胎児血清および100U/mLペニシリン/100μg/mLストレプトマイシン中、5%CO<sub>2</sub>下、37°Cで維持した。JIMT1細胞を、RPMI(ロズウェルパーク記念研究所培地)、10%熱失活ウシ胎児血清、100U/mLペニシリン/100μg/mLストレプトマイ

50

シン、および 1 mM ピルビン酸ナトリウム中、5% CO<sub>2</sub> 下で維持した。

【0200】

細胞表面の E L I S A アッセイ

様々な細胞株の表面に存在する HER 1、HER 2、HER 3、または HER 4 の相対量を、E L I S A アッセイを使用して決定した。ウェルあたり 8,000 または 10,000 個の細胞を、壁が黒で底が透明な 96 ウェルプレートに播種し、5% CO<sub>2</sub> 下 37 度 48 時間生育させた。細胞を、P B S + (1% M g C l<sub>2</sub> および 1% C a C l<sub>2</sub> を含む 1 × リン酸緩衝生理食塩水 (P B S)) で 1 回洗浄し、P B S 中 4% パラホルムアルデヒド (P F A) で 12 分間揺動させながら固定し、次に、P B S 中 3% ウシ血清アルブミン (B S A) と共に軽く攪拌しながら 3 時間プロックした。プロッキング溶液を除去し、表記の一次抗体 (HER 1、HER 2、HER 3、または HER 4 の抗体) を、P B S 中 3% B S A で希釈した 1:500 の希釈でプレートに添加し、揺動させながら 4 度一晩インキュベートした。プレートを P B S で 3 回洗浄し、この洗浄間に軽く攪拌しながら 5 分間インキュベートを行った。適切な二次抗体を、P B S 中 3% B S A で希釈した 1:100 の希釈で添加し、プレートを軽く攪拌しながら室温で 1 時間インキュベートした。細胞を P B S で 3 回洗浄し、洗浄間に軽く攪拌しながら 5 分間インキュベートを行い、次に d i H<sub>2</sub>O で 1 回洗浄した。すべての液体をウェルから除去し、テトラメチルベンジジン (T M B) 基質 (e B i o s c i e n c e) 100 μL を各ウェルに添加し、プレートを、暗所で軽く攪拌しながら約 30 分発色させた。十分青い色が発色した後、反応を、プレートリーダーを使用して 650 nm で吸光度を測定することにより、定量化した。1 N H C l 100 μL をプレートの各ウェルに添加して反応を停止させ、再度プレートを 450 nm で読み取った。T M B / H C l 溶液を除去し、プレートを、1 × P B S で 2 回洗浄した。100% エタノール中 0.1% クリスタルバイオレット 50 μL を各ウェルに添加した。プレートを、軽く揺動させながら暗所で 30 分間インキュベートした。プレートを P B S で十分に洗浄し、95% エタノール 100 μL を各ウェルに添加して、細胞からクリスタルバイオレットを放出させた。次にプレートを 590 nm で読み取った。クリスタルバイオレットは、ウェルあたりの細胞数に近似しており、各アッセイの正規化およびプレート間の比較を可能にする。

【0201】

細胞生存率アッセイ

記載の組成物へ曝露した後の相対的な細胞生存を、細胞生存率アッセイを使用して測定した。ウェルあたり 15,000、10,000、または 8,000 個の細胞を、壁が黒く底が透明な 96 ウェルプレートに播種した。48 時間後に、培地を吸引し、完全培地、および表記の濃度の E m p t y E o s o m e s、E o s - 0 0 1 (4:1:40)、E o s - 0 0 1 (6:1:10)、または L i p o D o x と全量 40 μL で交換した。プレートを 5% CO<sub>2</sub> 下、37 度 4 時間揺動させ、次に、完全培地 60 μL を各ウェルに添加し、全量を 100 μL にし、揺動させることなく、5% CO<sub>2</sub> 下、37 度インキュベーションを 44 時間継続した。インキュベーションの終了時に、相対的な細胞生存率を、製造社の説明の通りの M T S アッセイ (P r o m e g a) を介して、決定した。具体的には、培地をウェルから除去し、新鮮な完全培地 100 μL を各ウェルに添加した。調製した M T S 試薬 20 μL を各ウェルに添加した。次に、プレートを、5% CO<sub>2</sub> 下、37 度揺動させながらインキュベートし、1 時間目、2 時間目、および 3 時間目に、分光光度計を使用して 490 nm で読み取りを行った。この結果を、以下の比に関して示す：無処置のグループの生存細胞数により除算した処置グループの生存細胞数。よって、細胞生存 1.0 は、処置した細胞および無処置の細胞が同じ度合で生存したことを表している。対して、0.2 の比は、無処置の細胞のグループと比較して、処置した細胞のうち 20% のみが生存したことを意味している。

【0202】

結果

この結果を、図面に示す。図面を通して、「E m p t y E o s o m e s (4:1)」

10

20

30

40

50

は、Her P B K 1 0 キャリアポリペプチドおよび二本鎖DNAオリゴヌクレオチドを4:1 (Her P B K 1 0 : d s D N A) のモル比で含むが、ドキソルビシンを含まないナノ粒子を表し；「Empty Eosomes (6:1)」は、Her P B K 1 0 キャリアポリペプチドおよび二本鎖DNAオリゴヌクレオチドを6:1 (Her P B K 1 0 : d s D N A) のモル比で含むが、ドキソルビシンを含まないナノ粒子を表し；「Eos - 0 0 1 (4:1:40)」は、Her P B K 1 0 キャリアポリペプチド、二本鎖DNAオリゴヌクレオチド、およびドキソルビシンを、4:1:40 (Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシン) のモル比で含むナノ粒子を表し；「Eos - 0 0 1 (6:1:10)」は、Her P B K 1 0 キャリアポリペプチド、二本鎖DNAオリゴヌクレオチド、およびドキソルビシンを、6:1:10 (Her P B K 1 0 : d s D N A : ドキソルビシン) のモル比で含むナノ粒子を表し；「LipoDox」は、市販のリポソーマルドキソルビシンを表す。各図面の挿入図は、各細胞タイプの表面に存在するHER1、HER2、HER3、またはHER4の相対量である。  
10

#### 【0203】

図4を見ると、LipoDoxおよびEmpty Eosomes (4:1) は、MDA-MB-435細胞の生存において特筆すべき効果を有していないことが示されている。対照的に、Eos - 0 0 1 (6:1:10) 粒子は、1 μM超のドキソルビシンの濃度で、MDA-MB-435細胞生存のさらにより有意な減少を実証している。Eos - 0 0 1 (4:1:40) 粒子は、1 μM超のドキソルビシンの濃度で、MDA-MB-435細胞生存のさらにより有意な減少を実証し、約10 μMのドキソルビシンの濃度で生存しているのは細胞の20%未満である。挿入されたグラフは、様々なHER受容体の細胞表面のレベルを比較しており、HER3が、最も量が多い受容体であることが示されている。  
20

#### 【0204】

図5Aを見ると、Empty Eosomes (4:1) が、BT474ヒト乳癌細胞の生存において特筆すべき効果を有していないことが示されている。LipoDox、Eos - 0 0 1 (6:1:10)、およびEos - 0 0 1 (4:1:40) は、それぞれ、BT474細胞の生存を減少させたが、Eos - 0 0 1 (4:1:40) がBT-474細胞の生存を最も有意に減少させた。図5Bを見ると、Empty Eosomes (4:1) またはEmpty Eosomes (6:1) のいずれも、BT474-Rトラスツズマブ抵抗性ヒト乳癌細胞の生存において特筆すべき効果を有していないことが示されている。LipoDoxは、約1 μMドキソルビシンの投与後に、部分的に細胞生存を減少させた。しかしながら、Eos - 0 0 1 (4:1:40) またはEos - 0 0 1 (6:1:10) の投与は、およそ同じ濃度で、相対的な細胞生存をさらに大きく減少させた。  
30

#### 【0205】

図6を見ると、JIMT1細胞に及ぼすLipoDoxの効果は、薬物濃度を約10倍増加させたにも関わらず、約40%生存で定常に達することが示されている。しかしながら、Eos - 0 0 1 (4:1:40) およびEos - 0 0 1 (6:1:10) は、より低い濃度でJIMT1細胞の生存を低減し、10%未満の生存率を達成した。挿入されたグラフは、様々なHER受容体の細胞表面でのレベルを比較している。  
40

#### 【0206】

図7を見ると、LipoDoxが、Eos - 0 0 1 (4:1:40) またはEos - 0 0 1 (6:1:10) よりも有意に高い濃度のドキソルビシンで、U251ヒトグリオーマ細胞の生存を低減させることが示されている。Eos - 0 0 1 (4:1:40) またはEos - 0 0 1 (6:1:10) はいずれも、約10 μMドキソルビシンの濃度で、約20%未満の生存をもたらしている。対照的に、LipoDoxの投与は、同じ濃度で約40%細胞生存をもたらしている。挿入されたグラフは、様々なHER受容体の細胞表面でのレベルを比較しており、HER3が最も量の多い受容体であることが示されている。

#### 【0207】

図8を見ると、Eos - 0 0 1 (4:1:40) が、LipoDoxよりもA2780

10

20

30

40

50

- A D R ドキソルビシン抵抗性ヒト卵巣癌細胞の細胞生存の減少に有意に高い効果を有することが示されている。

【0208】

図9を見ると、Eos-001(4:1:40)が、LipoDoxよりも4T1マウストリプルネガティブ乳癌細胞の細胞生存の減少に有意に高い効果を有することが示されている。

【0209】

図10を見ると、Eos-001(4:1:40)が、LipoDoxよりもSKOV3ヒト卵巣癌細胞の細胞生存の減少に有意に高い効果を有することが示されている。

【0210】

図11Aを見ると、Eos-001(4:1:40)が、LipoDoxよりもLNCaP-GFPヒト前立腺癌細胞の細胞生存の減少に有意に高い効果を有することが示されている。図11Bを見ると、Eos-001(4:1:40)が、LipoDoxよりもRANKLヒト骨転移性前立腺癌細胞の細胞生存の減少に有意に高い効果を有することが示されている。図11Cは、LNCaP-GFP細胞およびRANKL細胞におけるHER1、HER2、HER3、およびHER4の相対的な発現を示している。

【0211】

図12Aは、Eos-001(4:1:40)が、LipoDoxよりも、BT549トリプルネガティブ乳癌細胞の生存の減少に有意に高い効果を有することを示している。図12Bは、BT549細胞におけるHER1、HER2、HER3、およびHER4の相対的な発現を示している。

【0212】

実施例5：化学療法薬抵抗性癌細胞の殺滅における抗HER2抗体の治療とナノ粒子の比較

BT474(ヒト乳癌)細胞、BT474-TR(トラスツズマブ抵抗性ヒト乳癌)細胞、SKBR3(ヒト乳癌)細胞、およびSKBR3-TR(トラスツズマブ抵抗性乳癌)細胞を、様々な濃度のEos-001、トラスツズマブ、またはトラスツズマブおよびペルツズマブの組み合わせとインキュベートした。Eos-001の濃度は、 $\mu$ Mドキソルビシンで報告し、トラスツズマブまたはペルツズマブの濃度は、 $\mu$ M抗体で報告する。ウェルあたりの細胞を、壁が黒く底が透明な96ウェルプレートに播種した。48時間後に、培地を吸引し、完全培地、および表記の濃度のEos-001、トラスツズマブ(Tz)、もしくはトラスツズマブとペルツズマブとの組み合わせ(Tz+Pz)、または未処置の対照と全量40 $\mu$ Lで交換した。プレートを、5%CO<sub>2</sub>下、37℃で4時間振動させ、次に完全培地60 $\mu$ Lを各ウェルに添加して全量を100 $\mu$ Lにし、振動させることなく、5%CO<sub>2</sub>下、37℃で44時間インキュベーションを継続した。インキュベートの終了時に、相対的な細胞生存率を、製造社の説明の通りのMTSアッセイ(Promegaea)を介して、決定した。具体的には、培地をウェルから除去し、新鮮な完全培地100 $\mu$ Lを各ウェルに添加した。調製したMTS試薬20 $\mu$ Lを各ウェルに添加した。次に、プレートを、5%CO<sub>2</sub>下、37℃で振動させながらインキュベートし、1時間目、2時間目、および3時間目に、分光光度計を使用して490nmで読み取りを行った。この結果を、以下の比に関して示す：無処置のグループの生存細胞数により除算した処置グループの生存細胞数。

【0213】

結果を、図13に示す。トラスツズマブ、ならびにトラスツズマブおよびペルツズマブの組み合わせによる処置はBT-474細胞の殺滅に有効であったがBT-474-TR細胞には有効ではなかった。Eos-001は、BT474細胞およびBT474-TR細胞の両方の殺滅に有効であり、Eos-001ナノ粒子が、トラスツズマブ、ならびにトラスツズマブおよびペルツズマブの組み合わせに抵抗性のある細胞の殺滅に有効であることを実証している。トラスツズマブもトラスツズマブおよびペルツズマブの組み合わせも、SKBR3細胞またはSKBR3-TR細胞の殺滅に有効ではなかった。しかしながら

10

20

30

40

50

ら、Eos-001ナノ粒子は、SKBR3細胞株およびSKBR3-TR細胞株の殺滅に有効であった。

#### 【0214】

実施例6：トラスツズマブ、ペルツズマブ、およびEos-001ナノ粒子に対するBT474-TR細胞の感受性

BT-474-TR細胞のトラスツズマブまたはペルツズマブによる処置を、Eos-001による処置、Eos-001およびペルツズマブでの併用処置、または4時間のペルツズマブでの前処置後のEos-001による処置と比較した。ウェルあたりの細胞を、壁が黒く底が透明な96ウェルプレートにプレーティングした。48時間後に、培地を吸引し、完全培地、および表記の濃度のトラスツズマブ(Tz)、ペルツズマブ(Pz)、Eos-001、またはEos-001およびペルツズマブの組み合わせと、全量40μLで交換した。プレートを、5%CO<sub>2</sub>下、37℃で4時間振動させ、次に完全培地60μLを各ウェルに添加して、全量を100μLにし、振動させることなく、5%CO<sub>2</sub>下、37℃で44時間インキュベーションを継続した。Eos-001への曝露の前にペルツズマブで前処置した試料では、細胞を、表記の量のペルツズマブに全量40μLで4時間曝露し、細胞を、5%CO<sub>2</sub>下、37℃で4時間振動させ、次に完全培地60μLおよび表記の量のEos-001を添加して全量を100μLにした。インキュベーションの終了時に、相対的な細胞生存率を、製造社の説明の通りのMTSアッセイ(Promegaea)を介して、決定した。具体的には、培地をウェルから除去し、新鮮な完全培地100μLを各ウェルに添加した。調製したMTS試薬20μLを各ウェルに添加した。次に、プレートを、5%CO<sub>2</sub>下、37℃で振動させながらインキュベートし、分光光度計を使用して490nmで読み取りを行った。これらの結果を図14に示し、Eos-001が、トラスツズマブまたはペルツズマブよりも有効であることを表している。Eos-001とペルツズマブを組み合わせても、Eos-001の作用の競合阻害が起こらず、このことはEos-001の抗癌作用が、HER3への結合を介して仲介されるが、ペルツズマブが妨害するHER-2-HER3相互作用に依存していないことを示唆している。

#### 【0215】

実施例7：Eos-001ナノ粒子は、トラスツズマブ抵抗性細胞においてアップレギュレートしているHER3を標的とする。

トラスツズマブ抵抗性BT-474-TR細胞およびトラスツズマブ抵抗性SKBR3-TR細胞は、非抵抗性親細胞株と比較して、表面のHER3が増加している(図15A参照)。Eos-001ナノ粒子の、HER標的化の毒性の寄与を検証するために、HER3ペプチドを、競合阻害剤として使用した。HER3ペプチドを、ヘレグリン標的化ドメインと結合している、Eos-001粒子とブレインキュベートした。BT-474細胞、BT-474-TR細胞、SKBR3細胞、またはSKBR3-TR細胞を、Eos-001ナノ粒子の存在下、およびHER3ブロッキングペプチドの存在下または非存在下で、インキュベートした。HER3ブロッキングペプチドと共にEos-001によって処置した試料では、ナノ粒子およびHER3ブロッキングペプチドを、等モル比のHER3:HEPBK10で、冷却PBS中で1時間、組み合わせた。Eos-001ナノ粒子またはHER3ブロッキングペプチドによって処置したEos-001ナノ粒子を使用して、0.125μM(BT474細胞またはBT-474-TR細胞)または1μM(BSKBR3細胞またはSKBR3-TR細胞)の最終濃度で細胞を処置した。細胞の生存を、48時間後に測定し、偽処置生理食塩水によって処置した細胞と比較した。これらの結果を、図16Bに示す(N=3、\*は、偽処置と比較してp<0.05を表す)。図15Bに示されているように、Eos-001ナノ粒子は単独で、4つすべての細胞タイプを殺滅した。驚くべきことに、Eos-001は、BT-474細胞よりもBT-474-TR細胞の殺滅に有効であった。HER3ペプチドの存在は、全ての細胞タイプの殺滅において、Eos-001の有効性を限定しており、Eos-001粒子のHER3の標的化を示している。

#### 【0216】

10

20

30

40

50

実施例8：トラスツズマブとのプレインキュベーションは、Eos-001ナノ粒子の活性を増強する。

HER3は、HER2阻害のわずか4時間後に、転写および翻訳によって増加する。非抵抗性細胞と比較してトラスツズマブ抵抗性細胞におけるEos-001ナノ粒子の高い効力は、トラスツズマブが、Eos-001ナノ粒子のアジュバントとして作用し、Her3の増加を誘導して抵抗性細胞に対するEos-001の標的化を増大させ得ることを示唆している。このことを試験するために、非トラスツズマブ抵抗性のSKBR3細胞、BT-474細胞、およびMDA-MB-435細胞、ならびにトラスツズマブ抵抗性のSKBR3-TR細胞およびBT-447-TR細胞を、トラスツズマブにより4時間または24時間前処置した後に、Eos-001による処置を行った。Eos-001は、トラスツズマブと比較してすべての細胞株において細胞の殺滅の改善を示したが、トラスツズマブによる4時間または12時間の前処置により、非抵抗性細胞株においてもEos-001の有効性が増大した。結果を、図16に示す。非トラスツズマブ抵抗性SKBR3細胞では、Eos-001単独では、最高投与濃度でも中程度の細胞死であったが、トラスツズマブによる4時間または24時間の前処置により、有効性が50%増加した。同様に、非トラスツズマブ抵抗性BT-474細胞は、トラスツズマブと比較して、Eos-001ナノ粒子により細胞死の中程度の増加を示したが、トラスツズマブによる処置と比較して、トラスツズマブによって4時間前処置した後では50%近く増加し、またはトラスツズマブによって24時間前処置した後では75%増加した。同様の結果が、MDA-MB-435細胞で見られた。トラスツズマブ抵抗性細胞株(SKBR3-TRおよびBT474-TR)では、トラスツズマブによる前処置によって、Eos-001に関して有効性の中程度の増加をもたらした。しかしながら、トラスツズマブ抵抗性BR3-TR細胞株およびBT-474-TR細胞株は、トラスツズマブによる前処置がなくともEos-001により効率的に殺滅される。これらの結果は、トラスツズマブなどのHER2阻害剤またはHER2抗体が、特に非トラスツズマブ抵抗性細胞株において、Eos-001による処置にとって有用なアジュバントとして作用できることを表している。  
10  
20  
30

#### 【0217】

実施例9：化学療法薬抵抗性癌細胞の殺滅におけるラパチニブによる処置とナノ粒子の比較

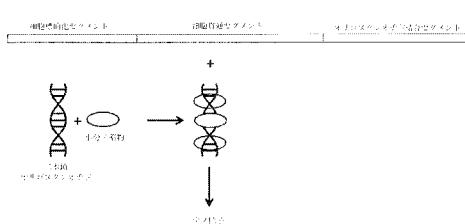
BT474(ヒト乳癌)細胞、BT474-TR(トラスツズマブ抵抗性ヒト乳癌)細胞、SKBR3(ヒト乳癌)細胞、SKBR3-TR(トラスツズマブ抵抗性乳癌)細胞、およびJIMT-1(トラスツズマブ抵抗性、ペルツズマブ抵抗性ヒト乳癌)細胞を、様々な濃度のEos-001またはラパチニブとインキュベートした。Eos-001の濃度は、 $\mu$ Mドキソルビシンで報告し、ラパチニブの濃度は、 $\mu$ Mラパチニブで報告する。ウェルあたりの細胞を、壁が黒く底が透明な96ウェルプレートに播種した。48時間後に、培地を吸引し、完全培地、および表記の濃度のEos-001、ラパチニブ、または無処置の対照と、全量が40 $\mu$ Lとなるように交換した。プレートを、5%CO<sub>2</sub>下、37で4時間振動させ、次に、完全培地60 $\mu$ Lを各ウェルに添加し、全量100 $\mu$ Lにし、振動させることなく、5%CO<sub>2</sub>下、37で44時間インキュベーションを継続した。インキュベーションの終了時に、相対的な細胞生存率を、製造社の説明の通りのMTSアッセイ(Promega)を介して、決定した。具体的には、培地をウェルから除去し、新鮮な完全培地100 $\mu$ Lを各ウェルに添加した。調製したMTS試薬20 $\mu$ Lを各ウェルに添加した。次に、プレートを、5%CO<sub>2</sub>下、37で振動させながらインキュベートし、1時間目、2時間目、および3時間目に、分光光度計で、読み取りを490nmで行った。この結果を、以下の比に関して示す：無処置のグループの生存細胞数により除算した処置グループの生存細胞数。  
40  
40

#### 【0218】

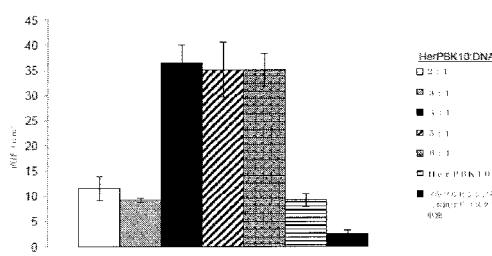
結果を、図17に示す。Eos-001(破線、白丸)およびラパチニブ(実線)は、BT-474細胞およびSKBR3細胞の処置に同様に有効であった。ラパチニブは、トラスツズマブ抵抗性細胞株BT-474-TRおよびSKBR3-TRの殺滅にわずかに有  
50

効であったが、Eos-001は、BT-474-TR細胞株およびSKBR3-TR細胞株の殺滅に有意により有効であった。Eos-001は、非抵抗性細胞株よりもトラスツズマブ抵抗性細胞株の殺滅に有効であった。さらに、ラパチニブは、トラスツズマブ抵抗性JIMT-1細胞株を殺滅することができなかったが、対してEos-001は、これら細胞の殺滅に有効であった。

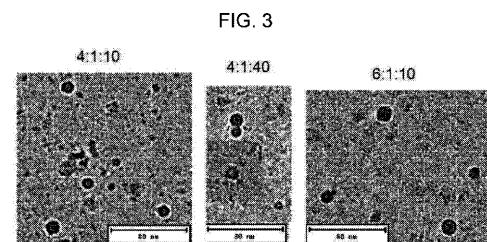
【図1】



【図2】

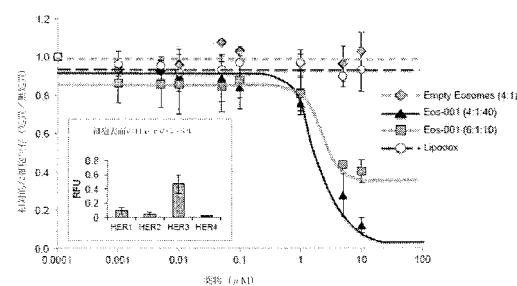


【図3】

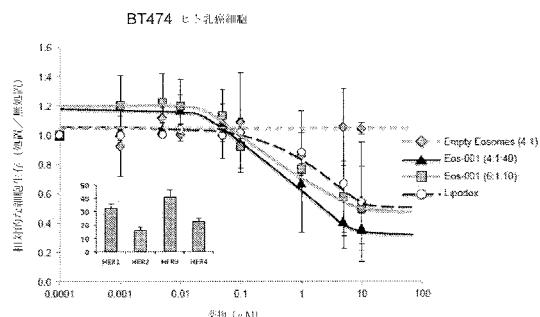


【図4】

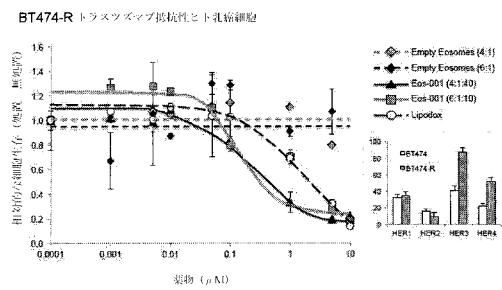
MDA-MB-435 ヒト癌細胞



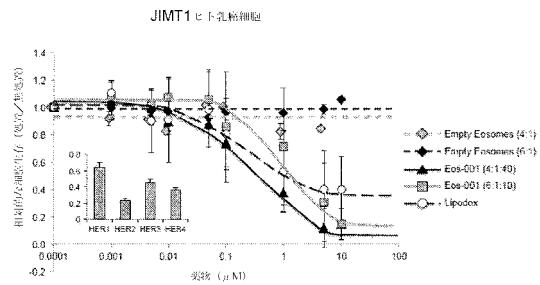
【図 5 A】



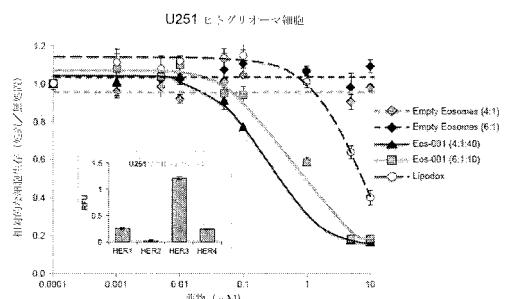
【図 5 B】



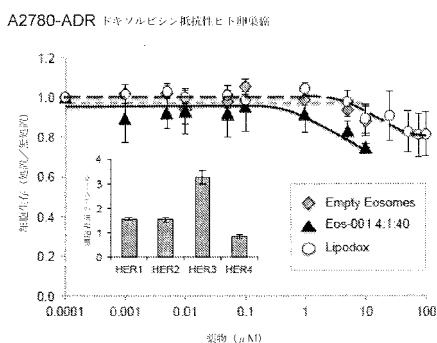
【図 6】



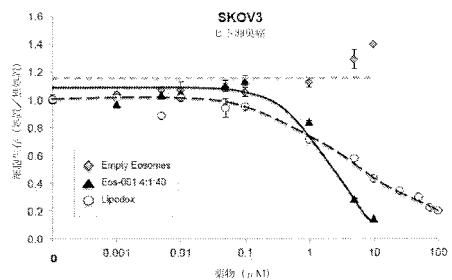
【図 7】



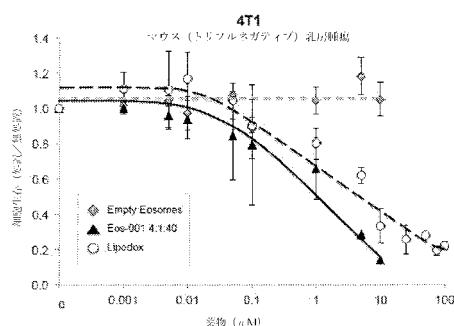
【図 8】



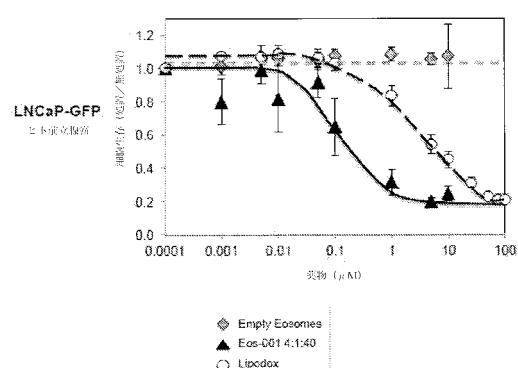
【図 10】



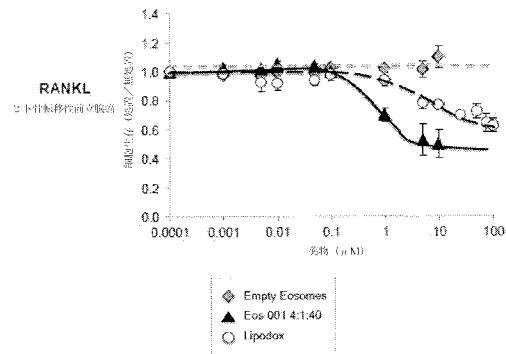
【図 9】



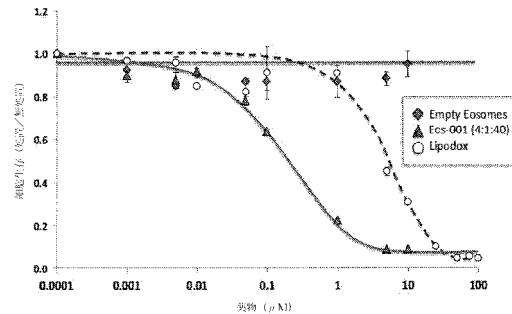
【図 11 A】



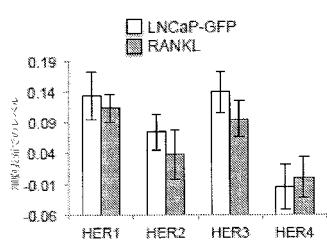
【図 1 1 B】



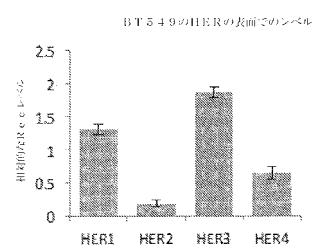
【図 1 2 A】



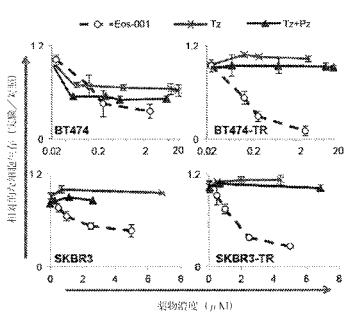
【図 1 1 C】



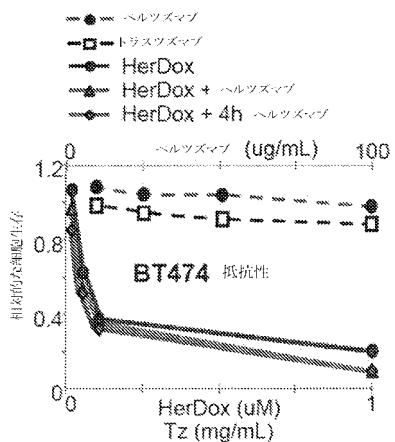
【図 1 2 B】



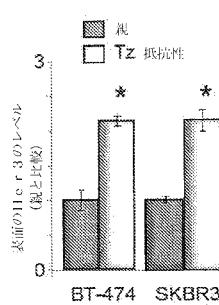
【図 1 3】



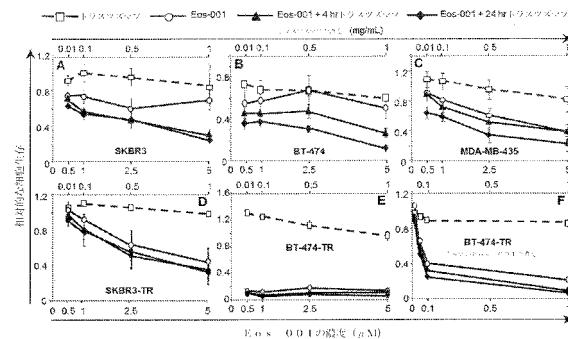
【図 1 4】



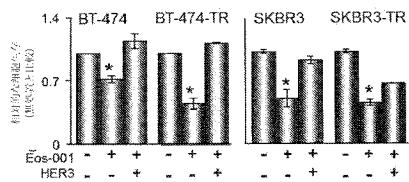
【図 15 A】



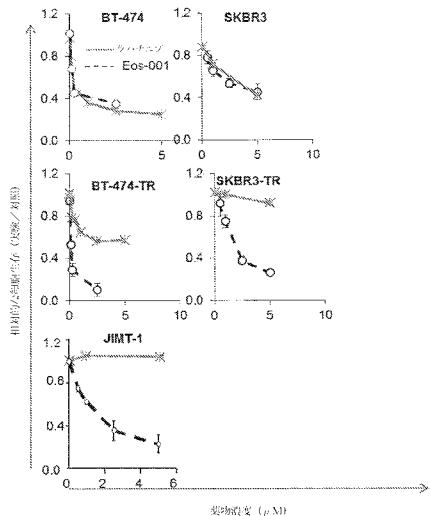
【図 16】



【図 15 B】



【図 17】



【手続補正書】

【提出日】平成31年1月28日(2019.1.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2019517477000001.app

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2017/034719
<b>Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)</b>		
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
<p>1. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:</p>		
<p>2. <input type="checkbox"/> 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:</p>		
<p>3. <input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 4-34, 38-48, 52-71 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).</p>		
<b>Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)</b>		
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:		
<p>1. <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.</p>		
<p>2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.</p>		
<p>3. <input type="checkbox"/> 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.:</p>		
<p>4. <input type="checkbox"/> 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.:</p>		
<p><b>Remark on Protest</b></p> <p><input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.</p> <p><input type="checkbox"/> 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.</p> <p><input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.</p>		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2017/034719
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - A61K 45/00; A61K 47/48; A61P 35/00; B82Y 5/00 (2017.01) CPC - A61K 47/48238; A61K 47/48246; C07K 2319/74; C07K 2319/80 (2017.02)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 435/375; 435/69.7; 514/44R; 514/19.3; 977/915 (keyword delimited)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2016/0060316 A1 (CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER) 02 March 2016 (03.03.2016) entire document	1-3, 35-37, 49-51
A	US 2012/0004181 A1 (MEDINA-KAUWE) 05 January 2012 (05.01.2012) entire document	1-3, 35-37, 49-51
A	WO 2011/028850 A1 (NORTHWESTERN UNIVERSITY et al) 10 March 2011 (10.03.2011) entire document	1-3, 35-37, 49-51
A	WO 2016/032595 A1 (PEPTIMED, INC.) 03 March 2016 (03.03.2016) entire document	1-3, 35-37, 49-51
A	US 5,391,723 A (PRIEST) 21 February 1995 (21.02.1995) entire document	1-3, 35-37, 49-51
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "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		
Date of the actual completion of the international search 26 July 2017		Date of mailing of the international search report <b>14 AUG 2017</b>
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer <b>Blaine R. Copenheaver</b> <small>PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774</small>

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
<b>A 6 1 K 9/19 (2006.01)</b>	A 6 1 K 9/19	
<b>A 6 1 K 31/704 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/704	
<b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	
<b>A 6 1 P 35/04 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/04	
<b>C 0 7 K 14/00 (2006.01)</b>	C 0 7 K 14/00	Z N A
<b>C 1 2 N 15/11 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/11	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, T J, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, R 0, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, G T, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, , MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ

(72)発明者 メディナ - カウエ , ラリ , ケー .

アメリカ合衆国 , カリフォルニア州 9 1 3 2 6 , ポーター ランチ , 1 1 8 1 6 ステュワート  
ン ドライブ

F ターム(参考) 4C076 AA16 AA29 AA65 AA95 BB01 BB11 BB13 BB14 BB15 BB16  
BB21 BB24 BB27 BB31 CC27 EE17 EE26 EE41 EE59 FF34  
FF70 GG06 GG47  
4C084 AA17 MA21 MA31 MA44 MA52 MA57 MA58 MA63 MA66 NA13  
NA20 ZB26  
4C086 AA01 AA02 AA10 EA10 NA13 NA20 ZB26  
4H045 AA10 AA30 BA60 BA72 EA20