

(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2012-519671

(P2012-519671A)

(43) 公表日 平成24年8月30日(2012.8.30)

(51) Int.Cl.

C07K 7/08 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)

F 1

C07K 7/08
A61P 35/00
A61P 17/00
A61K 38/00

Z N A
A61P 17/00
A61K 37/02

テーマコード(参考)

4C084
4H045

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 15 頁)

(21) 出願番号 特願2011-552477 (P2011-552477)
(86) (22) 出願日 平成22年3月4日 (2010.3.4)
(85) 翻訳文提出日 平成23年10月31日 (2011.10.31)
(86) 國際出願番号 PCT/ES2010/070121
(87) 國際公開番号 WO2010/100310
(87) 國際公開日 平成22年9月10日 (2010.9.10)
(31) 優先権主張番号 P200900694
(32) 優先日 平成21年3月6日 (2009.3.6)
(33) 優先権主張国 スペイン(ES)

(71) 出願人 507397009
イスディン, エセ, ア.
スペイン国 エ-08006 バルセロナ
, アベ, ディアゴナル 520
(74) 代理人 100109726
弁理士 園田 吉隆
(74) 代理人 100101199
弁理士 小林 義教
(72) 発明者 インサ ボロナト, ラウル
スペイン国 エ-08005 バルセロナ
, 27 ベ 1番, セ/ ロサ セン
サ

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置のためのペプチド

(57) 【要約】

本発明は、初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置に使用するための TGF-1 阻害ペプチドであって、ジシターチド又はその誘導体であるペプチドに関し、また上記使用のために治療上有効な量の該ペプチドを含む薬学的組成物にも関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置における使用のための TGF - 1 阻害ペプチドであって、ジシターチド又はその誘導体であるペプチド。

【請求項 2】

初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置におけるその使用のためのジシターチド。

【請求項 3】

皮膚乳頭腫の発生及びその癌への進行の阻害剤として使用される請求項 1 又は 2 に記載のペプチド。

【請求項 4】

日光性角化症の予防的又は治療的処置に使用される請求項 1 又は 2 に記載のペプチド。

【請求項 5】

請求項 1 又は 2 に記載の治療上有効な量のペプチドを、少なくとも一の薬学的に許容される賦形剤、希釈剤又は担体と一緒に含有する、初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置における使用のための薬学的組成物。

【請求項 6】

ヒトを含む哺乳類の初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置のための医薬の製造における請求項 1 又は 2 に記載のペプチドの使用。

【請求項 7】

皮膚乳頭腫の発生及びそれらの癌への進行を阻害する医薬の製造のための請求項 1 又は 2 に記載のペプチドの使用。

【請求項 8】

日光性角化症の予防的又は治療的処置のための医薬の製造における請求項 1 又は 2 に記載のペプチドの使用。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置に関する。より具体的には、本発明は初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置のために、好ましくは局所適用による TGF - 1 阻害ペプチドの使用に関する。

【背景技術】**【0002】**

皮膚癌は皮膚の確定した細胞型の悪性腫瘍であり、太陽の放射は最も良く知られた原因の一つであるが、多くの原因を持ちうる。皮膚癌は一般的に皮膚の最外層である上皮に発生するが、真皮にもまた局在しうる。皮膚癌の最も良く起こる種類は、基底細胞癌 (BCC)、扁平上皮癌 (SCC) 及びメラノーマである。基底細胞癌はゆっくり成長する傾向があり、めったに広がらない。扁平上皮癌は通常は基底細胞癌より侵襲性が強く、体の他の部位へより広がりやすい。最も危険な種の皮膚癌はメラノーマであり、とりわけ悪性メラノーマは早期に治療しないと命に關わりうる。皮膚癌は最も早く成長する癌の一つであり、肺、乳房、結腸直腸又は前立腺の癌の症例数を超えている。

【0003】

トランスフォーミング増殖因子 1 (TGF - 1) は、細胞増殖、分化、アポトーシス、組織リモデリング及び血管新生などの、様々な細胞プロセスを制御する多機能サイトカインである。

【0004】

遺伝子改変マウスの様々な実験モデル (W. Cui 等, "TGFbeta1 inhibits the formation of benign skin tumors, but enhances progression to invasive spindle carcinomas in transgenic mice", Cell 1996, vol. 86, pp. 531-542) は、培養角化細胞のインビトロ研究にて補完され (G. Portella 等, "Transforming growth factor beta is essential for spindle cell conversion of mouse skin carcinoma in vivo: implications for tum

10

20

30

40

50

or invasion", Cell. Growth. Differ. 1998, vol. 9, pp. 393-404)、TGF-1が皮膚の発癌において2つの機能を有していることを示唆している。腫瘍発生の初期段階において良性腫瘍の形成の抑制因子として、また発癌の最終段階での悪性進行のトリガーとして双方に働き、浸潤及び転移を促進する(R.J.Akhurst等, "Genetic events and the role of TGF beta in epithelial tumour progression", J. Pathol. 1999, vol. 187, pp. 82-90)。従って、発癌の最終段階における本因子の阻害は、悪性進行に対する抑制効果を有していると期待されるべきであり、一方腫瘍増殖の初期段階でのその阻害は良性腫瘍の形成及びそれらの悪性癌への進行を刺激する効果を有しているはずである。

【0005】

国際公開第00/31135号公報はP144ペプチド(その国際一般的名称はジシターチド(disitertide), 配列番号: 1である)を最初に記述している。それはこのペプチドが肝臓疾患、より具体的には肝線維症の治療にどのように使用されうるかをも記述している。

【0006】

国際公開第07048857号公報は、免疫応答の調節剤としての、及び癌の治療におけるジシターチドの使用を記載している。癌治療におけるジシターチドの使用は上記研究に沿っており、発癌の最終段階における悪性進行に対する該因子の刺激効果を示唆している。

【0007】

しかしながら、現時点では、癌への進行を避けるために、早期段階にて皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置のために局所的に適用することができ、効果的で耐容性が良好である別の治療法が必要であり続けている。

【発明の概要】

【0008】

驚くべきことに、決定されたTGF-1阻害ペプチドは初期段階で皮膚腫瘍の形成を阻害し、続く癌への進行もまた阻害することが見出された。とりわけ、ジシターチドはマウスにおいて乳頭腫の形成を阻害し、それらの癌への進行を遅延させることが見出された。

【0009】

ジシターチドは進行した段階の癌の治療において有用であることが知られているが、従来技術では、早期段階での皮膚腫瘍の治療のためのジシターチドの使用に関しては何も言及されていないし示唆もされていない。

【0010】

よって、本発明の一態様は、初期状態での皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置における使用のためのTGF-1阻害ペプチドに関し、ここでペプチドはジシターチド又はその誘導体である。

【0011】

本発明の他の態様は、初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置での使用のための、少なくとも一種の薬学的に許容される担体、添加剤又は希釈剤と共に、上に定義されたペプチドの治療に効果的な量を含有する薬学的組成物に関する。

【0012】

最後に、本発明の他の態様は、ヒトを含む哺乳類において初期段階での皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置のための医薬の製造のための、上に定義されたペプチドの使用に関する。

【0013】

本発明の最後の態様は、ヒトを含む哺乳類において初期段階での皮膚腫瘍、とりわけ乳頭腫又は日光性角化症を予防し又は治療する方法において、薬学的に許容される担体又は希釈剤と共に、上に定義されたペプチドの治療的効果的な量を含有する組成物の哺乳類の皮膚への適用を含む方法に関する。好ましい実施態様では、哺乳類は初期段階の皮膚腫瘍を提示し、その方法は腫瘍を治療し癌への進行を防ぐために、組成物を哺乳類の皮膚へ

10

20

30

40

50

適用することを含む。他の好ましい実施態様では、哺乳類は皮膚腫瘍を提示せず、その方法は腫瘍を予防するために組成物を哺乳類の皮膚へ適用することを含む。

【発明を実施するための形態】

【0014】

実施例が示すように、動物モデルとして使用されるマウスの皮膚に対して本発明に係るペプチドを局所適用すると、D M B A / T P A により誘導される良性乳頭腫及びS C E 双方の発生を防ぐ。従って、これらの結果は、本発明のペプチドが初期段階の乳頭腫又は日光性角化症のような皮膚腫瘍の予防又は治療に有用であることを示している。本発明のペプチドは必要であれば一般的に哺乳類の皮膚にも適用できるが、優先的に人間の皮膚に適用される。

10

【0015】

この発明のT G F - 1 阻害ペプチドの中で、配列番号：1の配列（ジシターチド）又はその誘導体が含まれる。ジシターチド（ペプチドの国際一般的な名称はP 1 4 4）は、国際公開第00/31135号公報において最初に記述された。この公報に記載の通り、T G F - 1 のタイプI I I 受容体（受入番号Q 0 3 1 6 7, S w i s s P r o t）のアミノ酸730 - 743を含有する。

20

【0016】

「初期段階の腫瘍」という用語は、周囲の組織を侵襲していない発生場所に限定された腫瘍、及び他の組織を侵しているが浸潤の範囲は局所に限定された腫瘍を意味する。この定義は皮膚癌を含む大部分の癌に適用できる。紫外線又は日光性角化症は皮膚癌の発生の最初期段階と考えられている。より具体的には、日光性角化症は前癌状態であり、S C C の主要な前駆体である。皮膚乳頭腫は初期段階のその他の種類の腫瘍と考えられる：それらは良性の非癌性腫瘍である。

20

【0017】

「誘導体又はジシターチド」という用語は、T G F - 1 の生物学的活性を阻害する能力を維持することを条件とし、配列番号：1の配列の哺乳類のフラグメント、アナログ又はホモログを含む。T G F - 1 の生物学的活性を阻害する本発明のペプチドの能力は評価することができ、必要があればM v - 1 - L u 細胞株の増殖を阻害するアッセイ法によって定量化できる。国際公開第00/31135号に記述されたように、これはバイソン肺上皮由来の細胞株で、その増殖はT G F - 1 により阻害される。

30

【0018】

「フラグメント」という用語はもとの配列番号：1の配列より少なくとも一アミノ酸は短く、もとの配列から、ある連続アミノ酸長、好ましくは少なくとも6残基長を含有する任意のアミノ酸配列を意味する。

【0019】

「アナログ」という用語は、配列番号：1の一又はそれ以上のアミノ酸が異なるアミノ酸に置換されたペプチドを含む。アミノ酸の保存的置換が望ましい。保存的置換とはアミノ酸がその他の生物学的に似た残基により置換される置換である。保存的置換の例は、イソロイシン、バリン、ロイシン又はメチオニンのような疎水性残基を別の疎水性残基への置換、又はアルギニンとリジンの間、グルタミン酸とアスパラギン酸の間のように極性残基を別の極性残基に置換することを含む。T G F - 1 の生物学的活性を阻害するペプチドの能力が維持されている条件で、保存的置換はまた非置換アミノ酸の代わりに置換アミノ酸の使用を含む。また、配列番号：1の一又はそれ以上のアミノ酸の挿入又は欠損を有するペプチドをアナログとして含む。これらの修飾（置換、欠失又は挿入）は配列番号：1に関する特定のペプチドの相同性の度合いにより表されうる。従って、今回の発明のT G F - 1 阻害ペプチドの中で、T G F - 1 の生物学的活性を阻害する能力が維持されるかぎり、ジシターチドのアミノ酸配列と少なくとも75%相同性、好ましくは少なくとも85%の相同性、更に好ましくはこのペプチドと少なくとも90%の相同性を有するペプチドも含まれる。更に、本発明のペプチドは、アミノ酸の化学修飾を示しうる。配列番号：1の配列又はそのフラグメントを含有するハイブリッド又はダイマーの融合ペプチド

40

50

もまたアナログとして含まれる。

【0020】

「哺乳類のホモログ」という用語はヒト以外の種由来の同じ生物学的機能を持つペプチドを含む。従って、ジシターチドの哺乳類のホモログペプチドは、ラットのタイプI I I のTGF-1受容体（受付番号P 2 6 3 4 2, Swiss Prot）のアミノ酸731-742を含む、配列番号：2のペプチドP 5 4である。国際公開第00/31135号によれば、ジシターチドはP 5 4ペプチドと同等である。ジシターチドとP 5 4双方のTGF-1阻害剤としての能力は、国際公開第00/31135号に記述されたとおり以前に示されている。

【0021】

好ましい実施態様では、初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置に使用されるペプチドはジシターチド（配列番号：1）である。

【0022】

好ましくは、今回の発明のペプチドは、皮膚乳頭腫の発生及び癌への進行の阻害剤として有用である。さらにより好ましくは、今回の発明のペプチドは日光性角化症の予防又は治療的処置に有用である。

【0023】

本発明のペプチドは、国際公開第00/31135号に記述されるように、例えば固相化学合成技術による従来法で得られ、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により精製できる。もし必要あらば、それらは配列決定及び質量分析、アミノ酸分析、核磁気共鳴等により分析できる。別の方法として、本発明のペプチドは組換えDNA技術により得ることができる。

【0024】

この発明の範囲内で、本発明のペプチドの薬学的に許容される塩が見いだされる。「薬学的に許容される塩」という用語は、金属塩又は酸添加塩を形成することに常に使用される塩を含む。塩の特質は薬学的に許容される限り重要ではない。本発明のペプチドの薬学的に許容される塩は、有機又は無機の酸又は塩基から得られる。これらの塩は当業者には良く知られた一般的な方法で得ることができる。

【0025】

ペプチドは任意の投与経路により投与することができる。好ましくは、本発明のペプチドは局所的に投与される。

【0026】

従って、その他の態様では、本発明は、初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置における使用のための、少なくとも一種の薬学的に許容される添加剤、希釈剤、担体と共に、治療に効果的な量の本発明のペプチドを含有する薬学的組成物に関する。本発明の薬学的組成物は、一又はそれ以上の本発明のペプチドを、場合によっては一又はそれ以上の別のTGF-1阻害剤と共に含有しうる。この薬学的組成物は哺乳類の体、好ましくはヒトの体への投与に有用である。本発明の薬学的組成物は、好ましくは局所用組成物であり、例えば、ローション、ポマード、ゲル、クリーム、パッチ又はスプレーの形態を採りうる。

【0027】

本発明の薬学的組成物に存在するペプチド又はペプチドの薬学的に許容される塩の量は幅広い範囲で変わりうる。本発明のペプチド及び/又は薬学的組成物による初期段階の皮膚腫瘍の予防的又は治療的処置のための投与量は、年齢、患者の状態、疾患又は病理学的障害の重症度、投与の経路及び頻度及びまた投与される本発明のペプチドを含む数多くの要因に依存するであろう。

【0028】

この薬学的組成物の製造における本発明のペプチドの使用はこの発明の更なる態様である。

【0029】

10

20

30

40

50

好ましい実施態様では、本発明は乳頭腫の発生及びそれらの癌への進行を阻害する医薬の製造のための本発明のペプチドの使用に関する。その他の好ましい実施態様では、本発明は日光性角化症の予防的又は治療的処置のための医薬の製造のための本発明のペプチドの使用に関する。

【0030】

明細書及び特許請求の範囲を通じて、「含有する」という単語及びその変形は、他の技術的特徴、添加剤、成分又は工程をあえて排除しないものである。

【0031】

当業者にとって、他の目的、利益及び発明の特徴は、部分的には明細書から、また部分的には本発明の実施から得られる。

10

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】図1は実施例に記述したように、異なる群を代表する処置マウスの背面皮膚の画像を示す。

【実施例】

【0033】

次の実施例は例証のために与えられるもので、それらが本発明の範囲を限定することを示唆するものではない。

【0034】

実施例1. 局所製剤の調製

一つのビヒクル局所製剤とジシターチド(300 μg/g)を含むものを調製した。賦形剤製剤は次の成分を混合して調製した：10%ジメチコン、43.5%流動パラフィン、0.02%メチルパラベン、0.01%プロピルパラベン、0.5%セトリミド及び1.5%セトステアリルアルコール。この混合物は50-60に加熱し、100%精製水(もまた50-60に)で乳化した。ジシターチド製剤は、事前に0.2mlのジメチルスルホキシド(0.22%p/p)に溶解した0.33%ジシターチドを水に加えた混合物に水を置換した点を除いて、同様にして調製した。

20

【0035】

実施例2. 乳頭腫の形成及び既に確定した乳頭腫の成長及び進行へのジシターチドの影響
材料及び方法

30

動物

Harlan S. L. (バルセロナ、スペイン)から入手した雌のスイスアルビノマウス(4-6週齢)を使用した。処置前に、動物は1-2週間の間、通常温度及び湿気の条件下にて1-2週間の間、適応させられた。滅菌水及び標準食餌が自由に与えられた。全ての動物実験は学会の実験動物に対する配慮と使用のためのガイドラインに沿って承認され実施された。

【0036】

化学発癌

2段階のマウス皮膚の化学発癌のプロトコールを適用した。マウス皮膚は、新生物発生に関連した変化を研究するための実験モデルとして特定の利点を持つ上皮組織である。このプロトコールは単一用量の発癌イニシエータ、具体的には7,12-ジメチルベンズ()アントラセン(DMBA)によるマウスの処理を含み、その後腫瘍プロモーター、12-O-テトラデカノイルホルボール-13-アセテート(TPA)を反復適用した。この処理は良性腫瘍の発生を引き起こす(乳頭腫)。たいていの良性乳頭腫は消滅し又は再発するが、それらのごく一部(5-10%)は悪性扁平上皮癌(SCC)に進行し、基底膜を貫通して下層の真皮、皮下組織及び筋肉を着実に侵す。

40

【0037】

腫瘍は6-8週齢のマウスの剃毛背面皮膚に、DMBA(200 μlのアセトン中に32 μg)の単一局所適用により誘導させた後、12週間にわたり200 μlのアセトン(10⁻⁴ M)中の12.5 μgのTPAにより週に2回処理した。加えて、マウスの群は

50

、下に明記した通りに、ジシターチドを含むか又は含まないクリーム形態の局所製剤により処理した。各週、直径 2 mm より大きい腫瘍の数が各マウスにおいて記録された。実験の終了時には、動物は麻酔をかけて死なせ (D M B A によるイニシエーションから 3 2 週間後) 、腫瘍を 1 0 % ホルムアルデヒドで固定し、組織学研究のためにパラフィン包埋した。

【 0 0 3 8 】

ジシターチドによる処理のための実験計画

ジシターチドの可能性のある腫瘍促進効果を試験するために、化学発癌の促進段階の間、T P A を、ジシターチドを含む局所製剤クリーム (群 2 、 5 匹の動物からなる) 、又は賦形剤のみ (群 1 、 5 匹のマウスからなる) による処理に置き換えた。同様にジシターチドの可能性のある発癌活性を、2 3 週間の間 2 日ごとにジシターチドを反復適用することで、5 匹のマウスの群において分析した。乳頭腫はイニシエーション後 7 - 8 週間あたりで発生するので、D M B A でイニシエートされ T P A で促進されたマウスを、ジシターチドが皮膚癌発生を妨ぐことができるかを試験するために、更に 4 及び 1 2 週間 2 日ごとに (それぞれ群 5 及び 6 、各々 1 0 匹の動物) ジシターチドで処理した。ジシターチドによる処理は、マウスが D M B A (0 週) によりイニシエートされたのと同じ週に開始し、これ及び T P A の適用は 1 日おきに実施した。コントロールとして、マウスの一群 (群 4 , 5 匹の動物からなる) は賦形剤のみ (コントロールクリーム) で 1 2 週間処理した。最後に、腫瘍を持つ動物の一群 (群 7 , 1 0 匹の動物からなる) は D M B A によるイニシエーション後 1 2 週から 3 2 週の 2 0 週間 2 日ごとにジシターチドで処理した。この群のマウスは本ペプチドによる可能性のある抗腫瘍効果を試験するために含めた。ジシターチドは、ジシターチドの用量を 1 2 0 μ g (クリーム 4 0 0 μ l 中) まで増加させた群 7 のマウスを除いて、クリームとして局所製剤 2 0 0 μ l 中 6 0 μ g の用量で適用した。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 9 】

結果

マウスの群は単一用量の D M B A でのイニシエーションによる化学皮膚発癌にさらされた後、1 2 週間にわたり T P A で週 2 回促進した。この処理は D M B A によるイニシエーション後 8 週間から複数の乳頭腫の発生を引き起こした。加えて、動物の二つの群は D M B A が開始されたのと同じ日に開始し (それぞれ群 5 及び 6) 、ジシターチドを含有する皮膚クリームで 4 及び 1 2 週間 2 日ごとに処理した。双方の場合、イニシエーション後 1 0 及び 1 4 週後に見られたように (表 1 , 図 1) 、未処理のマウス (群 3) 又は賦形剤のみで処理されたマウス (群 4) よりも、3 0 - 6 0 % 少ない良性乳頭腫が発生した。興味深いことに、ジシターチドによるより短期間の処理 (4 週間) は乳頭腫の数及び大きさを阻害することに対してより大きな効果があった。

【 0 0 4 0 】

我々はまたジシターチドが発癌プロモーターとして T P A と置換できるかを試験した。この目的のために、D M B A でイニシエートされたマウスはジシターチドを含有するクリーム又は賦形剤のみで 1 2 週間 (それぞれ群 1 及び 2) 促進された。期待された通り、これらの群では、イニシエーション後 3 0 週で双方とも自発的に小さな腫瘍 (< 直径 5 mm) を発生した賦形剤のみで促進された群 1 の 2 匹のマウスを除いて、腫瘍は誘導されなかった (表 1) 。ジシターチドは 2 0 週間以上 2 日ごとの反復適用後、正常な皮膚に対して悪影響を示さなかった (データ示さず) 。これらの結果はジシターチドの局所クリーム製剤としての皮膚への適用は、発癌をイニシエート又は促進できないことを示している。反対にジシターチドの局所適用は化学皮膚発癌に対する保護効果を有している。

【 0 0 4 1 】

既に確定した乳頭腫の発生及び進行に対するジシターチドの影響を分析するために、マウスの一群 (群 7)) を含めて、P 1 4 4 の適用を、個々のマウスが平均 7 - 8 乳頭腫を持っていた時であって (表 1) 、D M B A でイニシエーション後 1 2 週に開始し、2 0 週間続けた。この群では、乳頭腫の数又は大きさに有意な減少は観察されなかった。実はイニシエーション後 1 4 週は、マウスあたりの直径 > 2 mm の腫瘍の平均数が、全ての群に

おいて均等傾向であった（表1）。同じことが直径 > 5 mm の腫瘍の平均数について起こった（表2）。しかしながら、イニシエーション後32週は、直径 > 2 mm 及び > 5 mm 双方の腫瘍の数は、一般的にジシターチドで処理した群においてより低かった。再び、最も著しい減少はイニシエーション後4週間処理された群に観察された（表1及び2）。

【0042】

初期の乳頭腫は一般に小さく（図1参照）、しかし大きくなるにつれて狭い又は広い底のどちらかを持つカリフラワー様の構造をとる。SSCは、一方通常は潰瘍面を持つ平板として存在する内生腫瘍である。これらの特徴に基づいて、我々は毎週おののマウスに癌の存在を調べた。表3に示したように、コントロールマウス（群3及び4）及びジシターチドで4週間処理したマウス（群5）において最初に観察可能な癌は、イニシエーション後17-18週に起こった。特記すべきは、処理開始時点で乳頭腫をもつていて、12-32週の間ジシターチドで処理したマウス（群7）は、癌の最初の発生に14週間の遅延を示した。イニシエーション後ジシターチドで12週間処理したマウスは（群6）、より短い約6週間の遅延を有した。これらの結果は皮膚へのジシターチドの局所適用は、腫瘍形成を妨げるだけでなく悪性転換を延期することを示している。

10

20

30

表1. 2段階の発癌後のマウス皮膚腫瘍発生へのジシターチドの効果

群	マウス の数	発癌 (イニシエータ ー: DMBA)	処理		イニシエーション後の表 示週でのマウスあたりの 腫瘍の平均数			
			プロモーター	クリーム	期間 (週)	10	14	25
1	5	コントロール クリーム	-	-	0.0	0.0	0.0	0.4
2	5	ジシターチド クリーム	-	-	0.0	0.0	0.0	0.0
3	10	TPA	-	-	6.4	11.9	9.4	10.7
4	5	TPA	コントロール	0-12	8.4	11.8	12.6	13.5
5	10	TPA	ジシターチド	0-4	2.3	7.0	10.3	7.8
6	10	TPA	ジシターチド	0-12	4.7	8.1	8.1	8.7
7	10	TPA	ジシターチド	12-32	6.8	12.6	10.2	8.8

表 2. DMBA/TPA で発癌にさらされ、逆にジシターチドで処理されたマウスの腫瘍の大きさの進化

群	マウスの数	処理		イニシエーション後の表示週での直径>5mm の腫瘍の平均数		
		クリーム	期間(週)	14	25	32
3	10	-	-	1.6	4.2	3.9
4	5	コントロール	0-12	0.0	3.8	5.0
5	10	ジシターチド	0-4	0.1	3.3	2.3
6	10	ジシターチド	0-12	0.2	3.3	3.7
7	10	ジシターチド	12-32	0.7	3.1	3.8

表 3. DMBA/TPA で発癌にさらされ、逆にジシターチドで処理されたマウスの最初の癌の発生

群	マウスの数	処理		イニシエーション後の週*
		クリーム	期間(週)	
3	10	-	-	17
4	5	コントロール	0-12	18
5	10	ジシターチド	0-4	18
6	10	ジシターチド	0-12	24
7	10	ジシターチド	12-32	32

*癌の発生時期は目視観察により計算された。

10

20

30

【 0 0 4 3 】

マウスにおける上記結果は、ジシターチドが化学的な皮膚発癌を保護することができる事を示している。TPAでの腫瘍の促進中にジシターチドを皮膚へ局所適用すると、良性乳頭腫の早期出現を減じた。加えて、ジシターチドを含有する局所製剤を腫瘍の表面に直接適用した場合には、乳頭腫から悪性癌へのその転換が遅延した。これらの結果は、皮膚癌の出現に対するジシターチドの保護効果を示している。

【図 1】

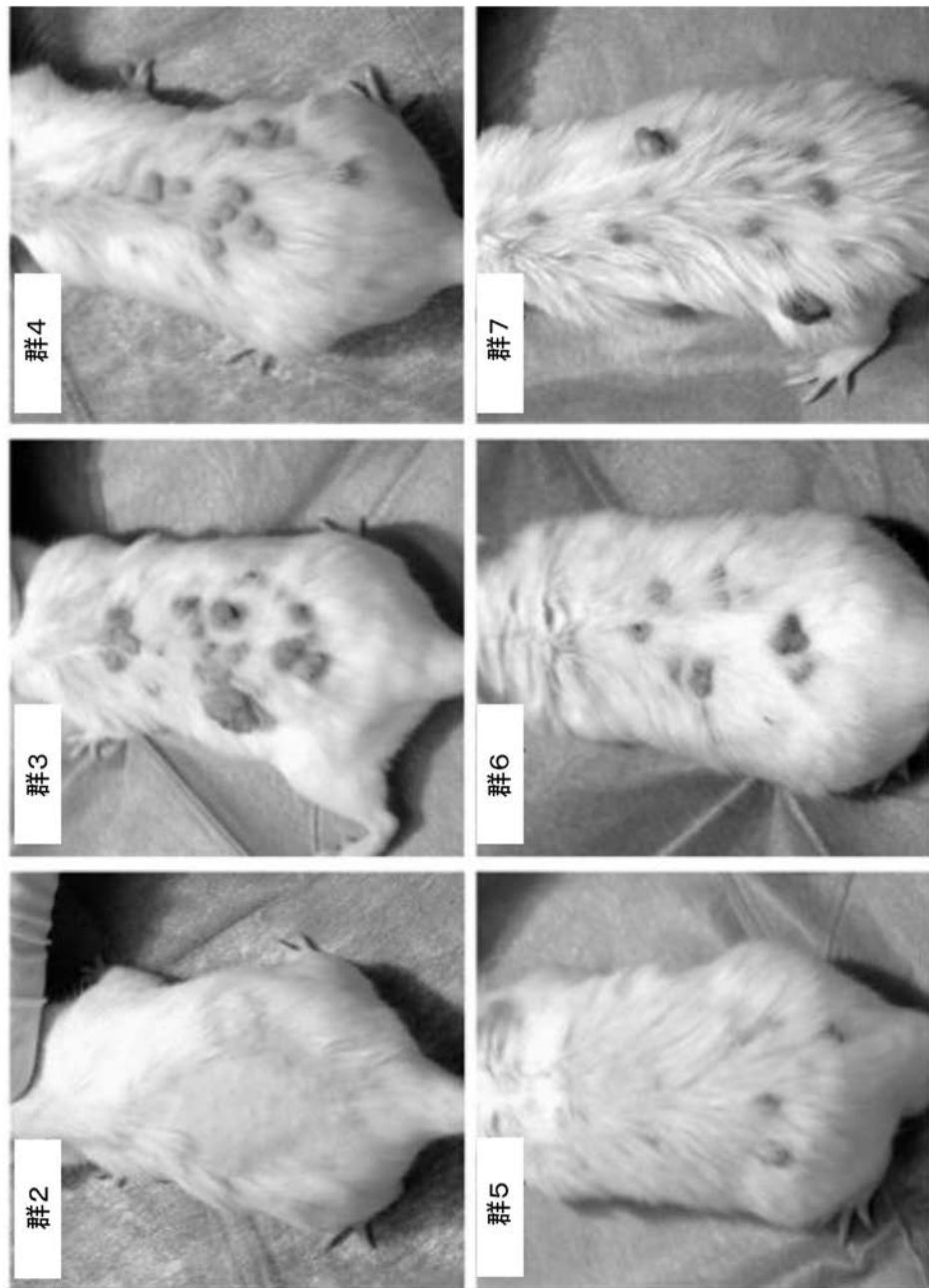


図. 1

【配列表】

2012519671000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ ES 2010/070121

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<p>see extra sheet</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>		
B. FIELDS SEARCHED		
<p>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)</p> <p>A61K, A61P</p>		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
INVENES, EPODOC, WPI, REGISTRY, HCAPLUS, BIOSIS, GOOGLE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CUI, W. et al. "TGF β 1 inhibits the formation of benign skin tumors, but enhances progression to invasive spindle carcinomas in transgenic mice". CELL. 23.08.1996. Vol. 86, N°. 4, pages 531-542; the whole document.	1-8
A	SANTIAGO, B. et al. "Topical application of a peptide inhibitor of transforming growth factor- β 1 ameliorates bleomycin-induced skin fibrosis". J.INVEST.DERMATOL. 01.09.2005. Vol. 125, N°. 3, pages 450-455; the whole document.	1-8
A	SERRATI, S. et al. "TGF β 1 antagonistic peptides inhibit TGF β 1-dependent angiogenesis". BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY. 01.03.2009. Vol. 77, N°. 5, pages 813-825; the whole document.	1-8
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition, or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 28.May.2010 (28.05.2010)	Date of mailing of the international search report (09/06/2010)	
Name and mailing address of the ISA/ O.E.P.M. Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España. Facsimile No. 34 91 3495304	Authorized officer M. Novoa Sanjurjo Telephone No. +34 91 349 84 66	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES 2010/070121

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**A61K 38/10** (2006.01)**A61P 17/00** (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°
PCT/ ES 2010/070121

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver hoja adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)
A61K, A61P

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, REGISTRY, HCAPLUS, BIOSIS, GOOGLE

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
A	CUI, W. et al. "TGF β 1 inhibits the formation of benign skin tumors, but enhances progression to invasive spindle carcinomas in transgenic mice". CELL. 23.08.1996. Vol. 86, N°. 4, páginas 531-542; todo el documento.	1-8
A	SANTIAGO, B. et al. "Topical application of a peptide inhibitor of transforming growth factor- β 1 ameliorates bleomycin-induced skin fibrosis". J.INVEST.DERMATOL. 01.09.2005. Vol. 125, N°. 3, páginas 450-455; todo el documento.	1-8
A	SERRATI, S. et al. "TGF β 1 antagonistic peptides inhibit TGF β 1-dependent angiogenesis". BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY. 01.03.2009. Vol. 77, N°. 5, páginas 813-825; todo el documento.	1-8

 En la continuación del Recuadro C se relacionan otros documentos Los documentos de familias de patentes se indican en el Anexo

- * Categorías especiales de documentos citados:
- "A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.
- "E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.
- "L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).
- "O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.
- "P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.
- "T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
- "X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
- "Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
- "&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional. 28.Mayo.2010 (28.05.2010)	Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional 09-JUNIO-2010 (09/06/2010)
Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M. Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España. Nº de fax 34 91 3495304	Funcionario autorizado M. Novoa Sanjurjo Nº de teléfono +34 91 349 84 66

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ ES 2010/070121

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD**A61K 38/10** (2006.01)**A61P 17/00** (2006.01)

フロントページの続き

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

(72)発明者 キンタニーヤ アビラ, ミゲル

スペイン国 工-28029 マドリッド, 4, セ/ アルトゥーロ デュピエール, イン
スティチュート デ インベスティガシオネス ビオメディカス アルベルト ソルス セエセイ
セ ウアエメ

(72)発明者 ドトール デ ラス エレリアス, ハビエル

スペイン国 工-31180 シスル マヨール, セ/ エクセサカン, エディフィシオ ア
シサ, エセ.エレ., ディグナ ビオテック

F ターム(参考) 4C084 AA01 AA02 AA07 BA08 BA18 BA23 NA14 ZA892 ZB262 ZC022

4H045 AA10 AA30 BA16 EA20