(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2022-546985
(P2022-546985A)
(43)公表日　令和4年11月10日(2022.11.10)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*35/768 (2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/768		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｋ	*45/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｐ	*35/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		４Ｃ０８７
Ａ６１Ｋ	*35/28 (2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/28		
Ａ６１Ｋ	*35/15 (2015.01)*	Ａ６１Ｋ	35/15	Ｚ	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全43頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-513552(P2022-513552)
(86)(22)出願日　令和2年9月1日(2020.9.1)
(85)翻訳文提出日　令和4年4月25日(2022.4.25)
(86)国際出願番号　PCT/US2020/048932
(87)国際公開番号　WO2021/046048
(87)国際公開日　令和3年3月11日(2021.3.11)
(31)優先権主張番号　62/894,929
(32)優先日　令和1年9月2日(2019.9.2)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/913,667
(32)優先日　令和1年10月10日(2019.10.10)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　507243142
アリゾナ・ボード・オブ・リージェンツ・オン・ビハーフ・オブ・アリゾナ・ステイト・ユニバーシティー
Ａｒｉｚｏｎａ Ｂｏａｒｄ ｏｆ Ｒｅｇｅｎｔｓ ｏｎ ｂｅｈａｌｆ ｏｆ Ａｒｉｚｏｎａ Ｓｔａｔｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ
アメリカ合衆国、アリゾナ州 ８５２５７－３５３８、スコッツデイル、ノース・スコッツデイル・ロード １４７５、スカイ・ソング－スイート ２００
(74)代理人　100082072
弁理士　清原 義博
(72)発明者　マクファデン，ダグラス グラント
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　非許容性の癌に対する腫瘍溶解性ウイルスの感染を改善する方法および組成物

(57)【要約】
本明細書において、治療有効量の腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とを、癌を抱える対象に投与する工程を含む、癌を処置する方法および組成物が開示される。本明細書において、非許容癌細胞を許容癌細胞に転換する方法、および、癌細胞を治療有効量の腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤に接触させることにより、癌細胞を死滅させる方法が、さらに記載される。
【選択図】図３Ａ

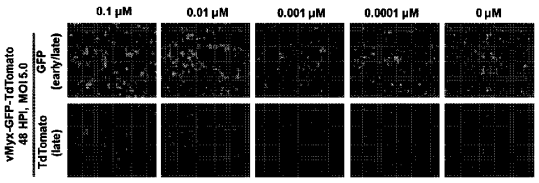


FIG. 3A

【特許請求の範囲】
【請求項１】
治療有効量の腫瘍溶解性ウイルス、および、
核細胞質輸送阻害剤を、対象に投与する工程を含む、癌を処置する方法。
【請求項２】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、ポックスウイルス科ファミリーに由来する、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、コルドポックスウイルス亜科またはエントモポックスウイルス亜科に由来する、請求項１または２に記載の方法。
【請求項４】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス、セルビドポックスウイルス、パラポックスウイルス、アビポックスウイルス、カプリポックスウイルス、レポリポックスウイルス、スイポックスウイルス、モルシポックスウイルス、ヤタポックスウイルス、アルファエントモポックスウイルス、ベータエントモポックスウイルス、または、ガンマエントモポックスのウイルス属に由来する、請求項１から３のいずれか１つに記載の方法。
【請求項５】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、レポリポックスウイルス属に由来する、請求項１から４のいずれか１つに記載の方法。
【請求項６】
前記腫瘍溶解性ウイルスは粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）であることを特徴とする、請求項１から５のいずれか１つに記載の方法。
【請求項７】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス属に由来する、請求項１から４のいずれか１つに記載の方法。
【請求項８】
前記ウイルスは遺伝子組み換えされていることを特徴とする、請求項１から７のいずれか１つに記載の方法。
【請求項９】
前記核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＡ、レプトマイシンＢ、ラトジャドンＡ、ラトジャドンＢ、ラトジャドンＣ、ラトジャドンＤ、アンギノマイシンＡ、ゴニオタラミン、ピペルロングミン、プルムバギン、クルクミン、バルトレート、アセトキシチャビコールアセテート、プレニルクマリンオストール、ＫＯＳ　２４６４、ＰＫＦ０５０－６３８、ＣＢＳ９１０６、および、セリネクソールから成る群から選択される請求項１から８のいずれか１つに記載の方法。
【請求項１０】
前記核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＢであることを特徴とする、請求項１から９のいずれか１つに記載の方法。
【請求項１１】
前記核細胞質輸送阻害剤は、セリネクソールであることを特徴とする、請求項１から９のいずれか１つに記載の方法。
【請求項１２】
前記癌は、固形腫瘍であることを特徴とする、請求項１から１１のいずれか１つに記載の方法。
【請求項１３】
前記固形腫瘍は、肉腫または細胞腫であることを特徴とする、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
前記固形腫瘍は、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫、

平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原生癌、腎細胞癌、肝癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頚癌、子宮癌、精巣癌、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上衣細胞腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫、希突起神経膠腫、シュワン腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽腫、または、網膜芽細胞腫であることを特徴とする、請求項１２に記載の方法。

【請求項１５】

前記固形腫瘍は大腸の腺癌、膵癌または黒色腫であることを特徴とする、請求項１２に記載の方法。

【請求項１６】

前記腫瘍溶解性ウイルスと前記核細胞質輸送阻害剤は、同時に投与されることを特徴とする、請求項１から１５のいずれか１つに記載の方法。

【請求項１７】

前記腫瘍溶解性ウイルスと前記核細胞質輸送阻害剤は、連続して投与されることを特徴とする、請求項１から１５のいずれか１つに記載の方法。

【請求項１８】

前記腫瘍溶解性ウイルスは、前記核細胞質輸送阻害剤を投与する前に投与されることを特徴とする、請求項１７に記載の方法。

【請求項１９】

前記腫瘍溶解性ウイルスは、前記核細胞質輸送阻害剤を投与した後に投与されることを特徴とする、請求項１７に記載の方法。

【請求項２０】

前記方法は、前記腫瘍溶解性ウイルスと前記核細胞質輸送阻害剤とを、少なくとも１日、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも１週、少なくとも２週、少なくとも３週、少なくとも４週、少なくとも１か月、少なくとも３か月、少なくとも６か月、または少なくとも１年の期間、投与する工程を含む、請求項１から１９のいずれか１つに記載の方法。

【請求項２１】

前記方法は、前記対象に、前記腫瘍溶解性ウイルス、前記核細胞質輸送阻害剤、またはその両方を、週に２回、週に１回、２週ごとに１回、３週ごとに１回、４週ごとに１回、月ごとに１回、または２か月ごとに１回、投与する工程を含む、請求項１から２０のいずれか１つに記載の方法。

【請求項２２】

前記腫瘍溶解性ウイルスは、処置される癌組織に、局所的に投与されることを特徴とする、請求項１から２１のいずれか１つに記載の方法。

【請求項２３】

前記腫瘍溶解性ウイルスは、腫瘍内の注射によって投与されることを特徴とする、請求項２２に記載の方法。

【請求項２４】

前記組織に対する前記腫瘍溶解性ウイルスの感染多重度（ＭＯＩ）は、約０．０１から約１０までであることを特徴とする、請求項２２または２３に記載の方法。

【請求項２５】

前記組織に対する前記腫瘍溶解性ウイルスの感染多重度（ＭＯＩ）は、約０．０５から約５までであることを特徴とする、請求項２２から２４のいずれか１つに記載の方法。

【請求項２６】

前記組織における前記核細胞質輸送阻害剤の濃度は、約０．０００１μＭから約１００μＭまでであることを特徴とする、請求項２２から２５のいずれか１つに記載の方法。

【請求項２７】

前記組織における前記核細胞質輸送阻害剤の濃度は、約０．０１μＭから約１μＭまで

であることを特徴とする、請求項２２から２６のいずれか１つに記載の方法。
【請求項２８】
癌細胞を死滅させる方法であって、該方法は、前記癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させ、それにより前記癌細胞を死滅させる工程を含む、方法。
【請求項２９】
腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する癌細胞の感受性を増大させる方法であって、該方法は、前記癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む、方法。
【請求項３０】
腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する感受性をもつように癌細胞を誘導する方法であって、該方法は、前記癌細胞を前記腫瘍溶解性ウイルスと前記核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む、方法。
【請求項３１】
非許容癌細胞を許容癌細胞に転換する方法であって、該方法は、前記非許容癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む、方法。
【請求項３２】
腫瘍溶解性ウイルスの増殖を、前記腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する感受性がない癌細胞において、増大させる方法であって、該方法は、前記癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む、方法。
【請求項３３】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、ポックスウイルス科ファミリーに属するウイルスである、請求項２８から３２のいずれか１つに記載の方法。
【請求項３４】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、コルドポックスウイルス亜科またはエントモポックスウイルス亜科に属するウイルスである、請求項２８から３３のいずれか１つに記載の方法。
【請求項３５】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス、セルビドポックスウイルス、パラポックスウイルス、アビポックスウイルス、カプリポックスウイルス、レポリポックスウイルス、スイポックスウイルス、モルシポックスウイルス、ヤタポックスウイルス、アルファエントモポックスウイルス、ベータエントモポックスウイルス、または、ガンマエントモポックスウイルスであるウイルス属に属する、請求項２８から３４のいずれか１つに記載の方法。
【請求項３６】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、レポリポックスウイルス属に属する、請求項２８から３５のいずれか１つに記載の方法。
【請求項３７】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）であることを特徴とする、請求項２８から３６のいずれか１つに記載の方法。
【請求項３８】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス属に属することを特徴とする、請求項２８から３５のいずれか１つに記載の方法。
【請求項３９】
前記腫瘍溶解性ウイルスは、遺伝子組み換えされていることを特徴とする、請求項２８から３６のいずれか１つに記載の方法。
【請求項４０】
前記核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＡ、レプトマイシンＢ、ラトジャドンＡ、ラトジャドンＢ、ラトジャドンＣ、ラトジャドンＤ、アンギノマイシンＡ、ゴニオタラミン、ピペルロングミン、プルムバギン、クルクミン、バルトレート、アセトキシチャビコールアセテート、プレニルクマリンオストール、ＫＯＳ　２４６４、ＰＫＦ０５０－６３８、ＣＢＳ９１０６、および、セリネクソールから成る群から選択されることを特徴とす

る、請求項２８から３９のいずれか１つに記載の方法。
【請求項４１】
前記核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＢであることを特徴とする、請求項２８から４０のいずれか１つに記載の方法。
【請求項４２】
前記核細胞質輸送阻害剤は、セリネクソールであることを特徴とする、請求項２８から４０のいずれか１つに記載の方法。
【請求項４３】
前記癌細胞は、結腸癌細胞、膵癌細胞、黒色腫性の癌細胞であることを特徴とする、請求項２８から４２のいずれか１つに記載の方法。
【請求項４４】
前記癌細胞は、ヒト癌細胞であることを特徴とする、請求項２８から４３のいずれか１つに記載の方法。
【請求項４５】
前記癌細胞は、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とにインビボで接触させられることを特徴とする、請求項２８から４４のいずれか１つに記載の方法。
【請求項４６】
前記癌細胞は、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とにエクスビボで接触させられることを特徴とする、請求項２８から４４のいずれか１つに記載の方法。
【請求項４７】
前記方法は、前記癌細胞を、前記腫瘍溶解性ウイルスと前記核細胞質輸送阻害剤とに同時に接触させる工程を含む、請求項２８から４６のいずれか１つに記載の方法。
【請求項４８】
前記方法は、前記癌細胞を、前記腫瘍溶解性ウイルスと前記核細胞質輸送阻害剤とに連続して接触させる工程を含む、請求項２８から４６のいずれか１つに記載の方法。
【請求項４９】
前記癌細胞は、前記核細胞質輸送阻害剤に接触させられる前に前記腫瘍溶解性ウイルスに接触させられることを特徴とする、請求項４８に記載の方法。
【請求項５０】
前記癌細胞は、前記腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる前に前記核細胞質輸送阻害剤に接触させられることを特徴とする、請求項４８に記載の方法。
【請求項５１】
前記癌細胞は、約０．０１から約１０までのＭＯＩにて前記腫瘍溶解性ウイルスに接触させられることを特徴とする、請求項２８から５０のいずれか１つに記載の方法。
【請求項５２】
前記癌細胞は、約０．０５から約５までのＭＯＩにて前記腫瘍溶解性ウイルスに接触させられることを特徴とする、請求項２８から５１のいずれか１つに記載の方法。
【請求項５３】
前記方法は、約０．０００１μＭから約１００μＭまでの濃度で前記核細胞質輸送阻害剤を含む培地中で前記癌細胞をインキュベートする工程を含む、請求項２８から５２のいずれか１つに記載の方法。
【請求項５４】
方法は、約０．０１μＭから約１μＭまでの濃度で前記核細胞質輸送阻害剤を含む培地中で前記癌細胞をインキュベートする工程を含む、請求項２８から５３のいずれか１つに記載の方法。
【請求項５５】
前記方法は、約０．０００１μＭから約１００μＭまでの濃度で前記核細胞質輸送阻害剤を含む培地に前記癌細胞を接触させる工程を含む、請求項２８から５４のいずれか１つに記載の方法。
【請求項５６】

前記方法は、約０．０１μＭから約１μＭまでの濃度で前記核細胞質輸送阻害剤を含む培地に前記癌細胞を接触させる工程を含む、請求項２８から５５のいずれか１つに記載の方法。

【請求項５７】

自己由来細胞または異種由来細胞を、前記腫瘍溶解性ウイルスとエクスビボで接触させる工程をさらに含む、請求項２８から５６のいずれか１つに記載の方法。

【請求項５８】

前記自己由来細胞または異種由来細胞は、骨髄細胞またはマクロファージ細胞であることを特徴とする、請求項５７に記載の方法。

【請求項５９】

前記対象に、前記自己由来細胞または異種由来細胞を注入する工程をさらに含む、請求項５７または５８に記載の方法。

【請求項６０】

ａ．腫瘍溶解性ウイルス、および、

ｂ．核細胞質輸送阻害剤を含む、医薬組成物。

【請求項６１】

薬学的に許容可能な賦形剤または担体をさらに含む、請求項６０に記載の医薬組成物。

【請求項６２】

前記腫瘍溶解性ウイルスは、ポックスウイルス科ファミリーに由来する、請求項６０または６１に記載の医薬組成物。

【請求項６３】

前記腫瘍溶解性ウイルスは、コルドポックスウイルス亜科またはエントモポックスウイルス亜科に由来する、請求項６０から６２のいずれか１つに記載の医薬組成物。

【請求項６４】

前記腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス、セルビドポックスウイルス、パラポックスウイルス、アビポックスウイルス、カプリポックスウイルス、レポリポックスウイルス、スイポックスウイルス、モルシポックスウイルス、ヤタポックスウイルス、アルファエントモポックスウイルス、ベータエントモポックスウイルス、または、ガンマエントモポックスウイルスのウイルス属に由来する、請求項６０から６３のいずれか１つに記載の医薬組成物。

【請求項６５】

前記腫瘍溶解性ウイルスは、レポリポックスウイルス属に由来する、請求項６０から６４のいずれか１つに記載の医薬組成物。

【請求項６６】

前記腫瘍溶解性ウイルスは、粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）であることを特徴とする、請求項６０から６５のいずれか１つに記載の医薬組成物。

【請求項６７】

前記腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス属に由来する、請求項６０から６４のいずれか１つに記載の医薬組成物。

【請求項６８】

前記腫瘍溶解性ウイルスは、遺伝子組み換えされていることを特徴とする、請求項６０から６７のいずれか１つに記載の医薬組成物。

【請求項６９】

前記核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＡ、レプトマイシンＢ、ラトジャドンＡ、ラトジャドンＢ、ラトジャドンＣ、ラトジャドンＤ、アンギノマイシンＡ、ゴニオタラミン、ピペルロングミン、プルムバギン、クルクミン、バルトレート、アセトキシチャビコールアセテート、プレニルクマリンオストール、ＫＯＳ　２４６４、ＰＫＦ０５０－６３８、ＣＢＳ９１０６、および、セリネクソールから成る群から選択される、請求項６０から６８のいずれか１つに記載の医薬組成物。

【請求項７０】

前記核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＢであることを特徴とする、請求項６０から６９のいずれか１つに記載の医薬組成物。
【請求項７１】
前記核細胞質輸送阻害剤は、セリネクソールであることを特徴とする、請求項６０から７０のいずれか１つに記載の医薬組成物。
【請求項７２】
前記医薬組成物は、腫瘍内または非経口投与のために適している単位用量剤形にあることを特徴とする、請求項６０から７１のいずれか１つに記載の医薬組成物。
【請求項７３】
前記単位用量は、ｍＬあたり約１ｘ１０^{3}プラーク形成単位（ＰＦＵ）から約１ｘ１０^{10}ＰＦＵまでの前記腫瘍溶解性ウイルスを含むことを特徴とする、請求項７２に記載の医薬組成物。
【請求項７４】
前記単位用量は、ｍＬあたり約１ｘ１０^{5}ＰＦＵから約１ｘ１０^{10}ＰＦＵまでの前記腫瘍溶解性ウイルスを含むことを特徴とする、請求項７２に記載の医薬組成物。
【請求項７５】
前記腫瘍溶解性ウイルスと前記核細胞質輸送阻害剤との間の重量比は、約１ｘ１０^{9}から約１ｘ１０$^{-9}$までであることを特徴とする、請求項６０から７４のいずれか１つに記載の医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
相互参照
本願は、２０１９年１０月１０日に出願された米国仮特許出願第６２／９１３，６６７号および２０１９年９月２日に出願された米国仮特許出願第６２／８９４，９２９号の利益を主張するものであり、上記特許出願の内容全体を参照により本明細書に援用する。
【０００２】
本開示は、腫瘍溶解性ウイルスに関し、および、特に、核細胞質輸送阻害剤と組み合わせた腫瘍溶解性ウイルスの使用法に関する。
【０００３】
政府の支援についての陳述
本発明は、国立衛生研究所によって与えられた、許可番号Ｒ０１　ＡＩ０８０６０７の下、政府支援によってなされた。政府は本発明において一定の権利を有している。
【背景技術】
【０００４】
ポックスウイルス科ファミリーのウイルス由来のものなどの腫瘍溶解性ウイルスは、形質転換された癌細胞に選択的に感染して死滅させるそれらの能力について、およびウイルスに対するだけでなく腫瘍抗原に対するホストの免疫系をも活性化するそれらの能力について設計および／または選択された哺乳類のウイルスである（例えば、Ｌｉｃｈｔｙ　ＢＤ，　Ｂｒｅｉｔｂａｃｈ　ＣＪ，　Ｓｔｏｊｄｌ　ＤＦ，　Ｂｅｌｌ　ＪＣ．　２０１４．　Ｇｏｉｎｇ　ｖｉｒａｌ　ｗｉｔｈ　ｃａｎｃｅｒ　ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ．　Ｎａｔｕｒｅ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　Ｃａｎｃｅｒ　１４：５５９－５６７を参照）。しかしながら、腫瘍溶解性ウイルスの用途は一定の腫瘍細胞では、例えば、非許容性（ｎｏｎｐｅｒｍｉｓｓｉｖｅ）腫瘍細胞では、制限され得る。従って、腫瘍溶解性ウイルスに基づく治療を改善するニーズは残ったままである。
【０００５】
参照による組み込み
本明細書で言及される全ての刊行物、特許、および特許出願は、あたかも個々の刊行物、特許、または特許出願が参照により組み込まれるように具体的かつ個々に指示される程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】
【０００６】
本明細書において、いくつかの態様における、対象に治療有効量の腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とを投与する工程を含む、癌を処置する方法が開示される。
【０００７】
いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ポックスウイルス科に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、コルドポックスウイルス亜科（Ｃｈｏｒｄｏｐｏｘｖｉｒｉｎａｅ）またはエントモポックスウイルス亜科（Ｅｎｔｏｍｏｐｏｘｖｉｒｉｎａｅ）に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス、セルビドポックスウイルス（Ｃｅｒｖｉｄｐｏｘｖｉｒｕｓ）、パラポックスウイルス、アビポックスウイルス、カプリポックスウイルス、レポリポックスウイルス、スイポックスウイルス、モルシポックスウイルス（Ｍｏｌｌｕｓｃｉｐｏｘｖｉｒｕｓ）、ヤタポックスウイルス（Ｙａｔａｐｏｘｖｉｒｕｓ）、アルファエントモポックスウイルス（Ａｌｐｈａｅｎｔｏｍｏｐｏｘｖｉｒｕｓ）、ベータエントモポックスウイルス（Ｂｅｔａｅｎｔｏｍｏｐｏｘｖｉｒｕｓ）、またはガンマエントモポックスウイルス（Ｇａｍｍａｅｎｔｏｐｏｘｖｉｒｕｓ）のウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスはレポリポックスウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、遺伝子組み換えされている。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＡ（Ｌｅｐｔｏｍｙｃｉｎ　Ａ）、レプトマイシンＢ（Ｌｅｐｔｏｍｙｃｉｎ　Ｂ）、ラトジャドンＡ（Ｒａｔｊａｄｏｎｅ　Ａ）、ラトジャドンＢ（Ｒａｔｊａｄｏｎｅ　Ｂ）、ラトジャドンＣ（Ｒａｔｊａｄｏｎｅ　Ｃ）、ラトジャドンＤ（Ｒａｔｊａｄｏｎｅ　Ｄ）、アンギノマイシンＡ（Ａｎｇｕｉｎｏｍｙｃｉｎ　Ａ）、ゴニオタラミン（Ｇｏｎｉｏｔｈａｌａｍｉｎ）、ピペルロングミン（ｐｉｐｅｒｌｏｎｇｕｍｉｎｅ）、プルムバギン、クルクミン、バルトレート（ｖａｌｔｒａｔｅ）、アセトキシチャビコールアセテート（ａｃｅｔｏｘｙｃｈａｖｉｃｏｌａｃｅｔａｔｅ）、プレニルクマリンオストール（ｐｒｅｎｙｌｃｏｕｍａｒｉｎ　ｏｓｔｈｏｌ）、ＫＯＳ　２４６４、ＰＫＦ０５０－６３８、ＣＢＳ９１０６、および、セリネクソール（Ｓｅｌｉｎｅｘｏｒ）から成る群から選択される。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＢである。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤はセリネクソールである。いくつかの実施形態では、癌は固形腫瘍である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は肉腫または細胞腫である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫（ｅｎｄｏｔｈｅｌｉｏｓａｒｃｏｍａ）、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫（ｌｙｍｐｈａｎｇｉｏｅｎｄｏｔｈｅｌｉｏｓａｒｃｏｍａ）、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原生癌、腎細胞癌、肝癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頚癌、子宮癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起神経膠腫、神経鞘腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、または、網膜芽細胞腫である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は大腸の腺癌、膵癌または黒色腫である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤は、同時に投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤は、連続して投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、核細胞質輸送阻害剤を投与する前に投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、核細胞質輸送阻害剤を投与した後に投与される。いくつかの実施形態では、方法は、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とを、少なくとも１日、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも１週、少なくとも２週、少なくとも３週、少なくとも４週、少なくとも１か月、少なくとも３か月、少なくとも

６か月、または少なくとも１年の期間、投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、対象に、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方を、週に２回、週に１回、２週ごとに１回、３週ごとに１回、４週ごとに１回、月ごとに１回、または２か月ごとに１回、投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、処置される癌組織に、局所的に投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、腫瘍内の注射によって投与される。いくつかの実施形態では、組織に対する腫瘍溶解性ウイルスの感染多重度（ＭＯＩ）は、約０．０１から約１０までである。いくつかの実施形態では、組織に対する腫瘍溶解性ウイルスの感染多重度（ＭＯＩ）は、約０．０５から約５までである。いくつかの実施形態では、組織における核細胞質輸送阻害剤の濃度は、約０．０００１μＭから約１００μＭまでである。いくつかの実施形態では、組織における核細胞質輸送阻害剤の濃度は、約０．０１μＭから約１μＭまでである。

【０００８】

本明細書では、いくつかの態様において、癌細胞を死滅させる方法が開示され、該方法は：癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させ、それによって癌細胞を死滅させる工程を含む。

【０００９】

本明細書では、いくつかの態様において、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する癌細胞の感受性を増強する方法が開示され、該方法は、癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む。

【００１０】

本明細書では、いくつかの態様において、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する感受性をもつように癌細胞を誘導する方法が開示され、該方法は、癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む。

【００１１】

本明細書では、いくつかの態様において、非許容性癌細胞を許容性（ｐｅｒｍｉｓｓｉｖｅ）癌細胞に転換させる方法が開示され、該方法は、非許容性癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む。

【００１２】

本明細書では、いくつかの態様において、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対して感受性がない癌細胞において腫瘍溶解性ウイルスの増殖を増大させる方法が開示され、該方法は、癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む。

【００１３】

いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ポックスウイルス科に属するウイルスである。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスはコルドポックスウイルス亜科またはエントモポックスウイルス亜科に属するウイルスである。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス、セルビドポックスウイルス、パラポックスウイルス、アビポックスウイルス、カプリポックスウイルス、レポリポックスウイルス、スイポックスウイルス、モルシポックスウイルス、ヤタポックスウイルス、アルファエントモポックスウイルス、ベータエントモポックスウイルス、または、ガンマエントモポックスであるウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、レポリポックスウイルス属由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス属由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、遺伝子組み換えされている。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＡ、レプトマイシンＢ、ラトジャドンＡ、ラトジャドンＢ、ラトジャドンＣ、ラトジャドンＤ、アンギノマイシンＡ、ゴニオタラミン、ピペルロングミン、プルムバギン、クルクミン、バルトレート、アセトキシチャビコールアセテート、プレニルクマリンオストール、ＫＯＳ　２４６４、ＰＫＦ０５０－６３８、ＣＢＳ９１０６、および、セリネクソールから成る群から選択される。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＢである。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤はセリネ

クソールである。いくつかの実施形態では、癌細胞は、結腸癌細胞、膵癌細胞、黒色腫性の癌細胞である。いくつかの実施形態では、癌細胞は、ヒト癌細胞である。いくつかの実施形態では、癌細胞は、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とにインビボで接触させられる。いくつかの実施形態では、癌細胞は、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とにエクスビボで接触させられる。いくつかの実施形態では、方法は、癌細胞を、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに同時に接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、癌細胞を、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに連続して接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、癌細胞は、核細胞質輸送阻害剤に接触させられる前に腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる。いくつかの実施形態では、癌細胞は、腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる前に核細胞質輸送阻害剤に接触させられる。いくつかの実施形態では、癌細胞は、約０．０１から約１０までのＭＯＩにて腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる。いくつかの実施形態では、癌細胞は、約０．０５から約５までのＭＯＩにて腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる。いくつかの実施形態では、方法は、約０．０００１μＭから約１００μＭまでの濃度で核細胞質輸送阻害剤を含む培地中で癌細胞をインキュベートする工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、約０．０１μＭから約１μＭまでの濃度で核細胞質輸送阻害剤を含む培地中で癌細胞をインキュベートする工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、約０．０００１μＭから約１００μＭまでの濃度で核細胞質輸送阻害剤を含む培地に癌細胞を接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、約０．０１μＭから約１μＭまでの濃度で核細胞質輸送阻害剤を含む培地に癌細胞を接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、腫瘍溶解性ウイルスを、自己由来細胞または異種由来細胞にエクスビボで接触させる工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、自己由来細胞または異種由来細胞は、骨髄細胞またはマクロファージ細胞である。いくつかの実施形態では、方法は、対象に、自己由来細胞または異種由来細胞を注入する工程をさらに含む。

【００１４】

本明細書では、いくつかの態様において、医薬組成物が開示され、該医薬組成物は、腫瘍溶解性ウイルス、および核細胞質輸送阻害剤を含む。

【００１５】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、薬学的に許容可能な賦形剤または担体をさらに含む。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ポックスウイルス科ファミリーに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、コルドポックスウイルス亜科またはエントモポックスウイルス亜科に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス、セルビドポックスウイルス、パラポックスウイルス、アビポックスウイルス、カプリポックスウイルス、レポリポックスウイルス、スイポックスウイルス、モルシポックスウイルス、ヤタポックスウイルス、アルファエントモポックスウイルス、ベータエントモポックスウイルス、または、ガンマエントモポックスのウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、レポリポックスウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは遺伝子組み換えされている。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＡ、レプトマイシンＢ、ラトジャドンＡ、ラトジャドンＢ、ラトジャドンＣ、ラトジャドンＤ、アンギノマイシンＡ、ゴニオタラミン、ピペルロングミン、プルムバギン、クルクミン、バルトレート、アセトキシチャビコールアセテート、プレニルクマリンオストール、ＫＯＳ　２４６４、ＰＫＦ０５０－６３８、ＣＢＳ９１０６、および、セリネクソールから成る群から選択される。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＢである。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤はセリネクソールである。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、腫瘍内または非経口投与のために適している単位用量剤形にある。いくつかの実施形態では、単位用量は、ｍＬあたり約１ｘ１０^{3}プラーク形成単位（ＰＦＵ）から約１ｘ１０^{10}ＰＦＵまでの腫瘍溶解性ウイルスを含む

。いくつかの実施形態では、単位用量は、ｍＬあたり約１ｘ１０^{5}プラーク形成単位（ＰＦＵ）から約１ｘ１０^{10}ＰＦＵまでの腫瘍溶解性ウイルスを含む。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤との間の重量比は、約１ｘ１０^{9}から約１ｘ１０$^{-9}$までである。

【００１６】

いくつかの実施形態は癌を処置する方法に関し、治療有効量の腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とを対象に投与する工程を含む。一態様では、癌細胞を死滅させる方法が本明細書に記載され、該方法は、癌細胞を治療有効量の腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤に接触させ、それによって前記癌細胞を死滅させる工程を含む。一態様では、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する癌細胞の感受性を増強する方法が本明細書に記載され、該方法は、癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む。一態様では、癌細胞に、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する感受性を持たせる方法が本明細書に記載され、癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む。一態様では、非許容性癌細胞を許容性癌細胞に転換する方法が本明細書に記載され、該方法は、非許容性癌細胞を前記治療有効量の腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤に接触させる工程を含む。一態様では、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する感受性がない癌細胞において腫瘍溶解性ウイルスの増殖を増大させる方法が本明細書に記載され、該方法は、癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ポックスウイルス科に属するウイルスである。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスはコルドポックスウイルス亜科またはエントモポックスウイルス亜科に属するウイルスである。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス、セルビドポックスウイルス、パラポックスウイルス、アビポックスウイルス、カプリポックスウイルス、レポリポックスウイルス、スイポックスウイルス、モルシポックスウイルス、ヤタポックスウイルス、アルファエントモポックスウイルス、ベータエントモポックスウイルス、または、ガンマエントモポックスであるウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、レポリポックスウイルス属由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス属由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、遺伝子組み換えされている。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＡ、レプトマイシンＢ、ラトジャドンＡ、ラトジャドンＢ、ラトジャドンＣ、ラトジャドンＤ、アンギノマイシンＡ、ゴニオタラミン、ピペルロングミン、プルムバギン、クルクミン、バルトレート、アセトキシチャビコールアセテート、プレニルクマリンオストール、ＫＯＳ　２４６４、ＰＫＦ０５０－６３８、ＣＢＳ９１０６、および、セリネクソールから成る群から選択される。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＢである。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤はセリネクソールである。いくつかの実施形態では、細胞は、ヒトＡ５４９細胞、ヒーラー細胞、２３９細胞、または霊長類ベロ細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は哺乳動物の細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は、インビボ細胞、インビトロ細胞、またはエクスビボ細胞である。いくつかの実施形態では、癌は固形腫瘍である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は肉腫または細胞腫である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原生癌、腎細胞癌、肝癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頚癌、子宮癌、精巣、癌肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上衣細胞腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫、希突起神経膠腫、シュワン腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽腫、または、網膜芽細胞腫である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は大腸の腺癌、膵癌または黒色腫である。いくつかの実施形態では、腫瘍

溶解性ウイルスと前記核細胞質輸送阻害剤は、同時に、または連続して投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、前記核細胞質輸送阻害剤を投与する前に投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、前記核細胞質輸送阻害剤を投与した後に投与される。いくつかの実施形態では、方法は、前記腫瘍溶解性ウイルスと前記核細胞質輸送阻害剤とを、少なくとも１日、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも１週、少なくとも２週、少なくとも３週、少なくとも４週、少なくとも１か月、少なくとも３か月、少なくとも６か月、または少なくとも１年の期間、投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態では、方法は、前記対象に、前記腫瘍溶解性ウイルス、前記核細胞質輸送阻害剤、またはその両方を、週に２回、週に１回、２週ごとに１回、３週ごとに１回、４週ごとに１回、月ごとに１回、または２か月ごとに１回、投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、処置される癌組織に、局所的に投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、注射によって投与される。いくつかの実施形態では、前記組織に対する前記腫瘍溶解性ウイルスの感染多重度（ＭＯＩ）は、約０．０１から約１０までである。いくつかの実施形態では、前記組織に対する前記腫瘍溶解性ウイルスの感染多重度（ＭＯＩ）は、約０．０５から約５までである。いくつかの実施形態では、前記組織における前記核細胞質輸送阻害剤の濃度は、約０．０００１μＭから約１００μＭまでである。いくつかの実施形態では、前記組織における前記核細胞質輸送阻害剤の濃度は、約０．０１μＭから約１μＭまでである。いくつかの実施形態では、方法は、前記癌細胞を前記腫瘍溶解性ウイルスと前記核細胞質輸送阻害剤とに同時にまたは連続して接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、癌細胞は、前記核細胞質輸送阻害剤に接触させられる前に前記腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる。いくつかの実施形態では、癌細胞は、前記腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる前に前記核細胞質輸送阻害剤に接触させられる。いくつかの実施形態では、方法は、前記癌細胞が前記腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる前に、前記癌細胞を前記核細胞質輸送阻害剤で前処置する工程を含む。いくつかの実施形態では、癌細胞は、約０．０１から約１０までのＭＯＩにて前記腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる。いくつかの実施形態では、癌細胞は、約０．０５から約５までのＭＯＩにて前記腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる。いくつかの実施形態では、方法は、約０．０００１μＭから約１００μＭまでの濃度にある前記核細胞質輸送阻害剤を含む培地中で前記癌細胞をインキュベートする工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、約０．０１μＭから約１μＭまでの濃度にある前記核細胞質輸送阻害剤を含む培地中で前記癌細胞をインキュベートする工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、約０．０００１μＭから約１００μＭまでの濃度にある前記核細胞質輸送阻害剤を含む培地に前記癌細胞を接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、約０．０１μＭから約１μＭまでの濃度にある前記核細胞質輸送阻害剤を含む培地に前記癌細胞を接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、自己由来細胞または異種由来細胞を、前記腫瘍溶解性ウイルスとエクスビボで接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、自己由来細胞または異種由来細胞は、骨髄細胞またはマクロファージ細胞である。いくつかの実施形態では、方法は、前記対象に前記自己由来細胞または異種由来細胞を注入する工程を含む。

【００１７】

一態様では、医薬組成物が本明細書に記載され、該医薬組成物は、腫瘍溶解性ウイルス、および核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、薬学的に許容可能な賦形剤または担体をさらに含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、腫瘍内投与または非経口投与のために適している単位用量剤形にある。いくつかの実施形態では、単位用量は、ｍＬあたり約１ｘ１０^{3}プラーク形成単位（ＰＦＵ）から約１ｘ１０^{10}ＰＦＵまでの腫瘍溶解性ウイルスを含む。いくつかの実施形態では、単位用量は、ｍＬあたり約１ｘ１０^{5}プラーク形成単位（ＰＦＵ）から約１ｘ１０^{10}ＰＦＵまでの腫瘍溶解性ウイルスを含む。いくつかの実施形態では、前記腫瘍溶解性ウイルスと前記核細胞質輸送阻害剤との間の重量比は、約１ｘ１０^{9}から約１ｘ１０$^{-9}$までである。

【図面の簡単な説明】

【００１８】
【図１Ａ】図１Ａと図１Ｂは、核細胞質輸送阻害剤レプトマイシンＢによるヒト大腸の腺癌細胞株ＨＴ２９の処置がＭＹＸＶの初期（ＧＦＰ）および後期（ＴｄＴｏｍａｔｏ）遺伝子発現レベルを増強させたことを例示する。ＨＴ２９細胞は、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置され、および、阻害剤の存在下で、５．０のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－Ｔｄｔｏｍａｔｏに感染させられ、および、蛍光画像は、感染の２４時間後（ＨＰＩ）に、蛍光顕微鏡を使用して撮像された。
【図１Ｂ】図１Ａと図１Ｂは、核細胞質輸送阻害剤レプトマイシンＢによるヒト大腸の腺癌細胞株ＨＴ２９の処置がＭＹＸＶの初期（ＧＦＰ）および後期（ＴｄＴｏｍａｔｏ）遺伝子発現レベルを増強させたことを例示する。ＨＴ２９細胞は、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置され、および、阻害剤の存在下で、０．５のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－Ｔｄｔｏｍａｔｏに感染させられ、および、蛍光画像は、感染（ＨＰＩ）の４８時間後に、蛍光顕微鏡を使用して撮像された。
【図２】図２は、核細胞質輸送阻害剤レプトマイシンＢが、ヒト大腸の腺癌細胞株ＨＴ２９におけるＭＹＸＶ複製を増強したことを例証する。ＨＴ２９細胞は、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置された。その後、細胞は、１時間、０．５または０．０５のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－ＴｄＴｏｍａｔｏに感染させられた。１時間後、吸着されていないウイルスは取り除かれ、細胞は洗浄され、阻害剤の存在下で培地を用いてインキュベートされた。感染細胞は、感染の７２時間後に採取され、そして、ＲＫ１３細胞への階段希釈の後、ウイルス力価が求められた。
【図３Ａ】図３Ａと図３Ｂは、核細胞質輸送阻害剤レプトマイシンＢによるヒト膵癌細胞株ＰＡＮＣ－１の処置が、ＭＹＸＶ遺伝子の発現と複製を増強したことを例証する。図３Ａは、ＰＡＮＣ－１細胞が、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置され、および、阻害剤の存在下で５．０のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－Ｔｄｔｏｍａｔｏに感染させられたことを示し、および、蛍光画像は、蛍光顕微鏡を使用して、感染の４８時間後に撮像された。
【図３Ｂ】図３Ａと図３Ｂは、核細胞質輸送阻害剤レプトマイシンＢによるヒト膵癌細胞株ＰＡＮＣ－１の処置が、ＭＹＸＶ遺伝子の発現と複製を増強したことを例証する。図３Ｂは、ＰＡＮＣ－１細胞が、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置され、および、その後、細胞は、１時間、５．０または０．５のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－ＴｄＴｏｍａｔｏに感染させられたことを示す。１時間後、吸着されていないウイルスは取り除かれ、次に、細胞は洗浄され、阻害剤の存在下で培地を用いてインキュベートされた。感染細胞は、感染の４８時間後または７２時間後に採取され、および、ＲＫ１３細胞への階段希釈の後、ウイルス力価が求められた。
【図４Ａ】図４Ａと図４Ｂは、核細胞質輸送阻害剤レプトマイシンＢによるヒト黒色腫細胞株ＭＤＡ－ＭＢ－４３５の処置が、ＭＹＸＶ遺伝子の発現と複製を増強したことを例証する。図４Ａは、ＭＤＡ－ＭＢ－４３５細胞が、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置され、および、阻害剤の存在下で５．０のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－Ｔｄｔｏｍａｔｏに感染させられたことを示し、および、蛍光画像は、蛍光顕微鏡を使用して、感染の４８時間後に撮像された。
【図４Ｂ】図４Ａと図４Ｂは、核細胞質輸送阻害剤レプトマイシンＢによるヒト黒色腫細胞株細胞株ＭＤＡ－ＭＢ－４３５の処置が、ＭＹＸＶ遺伝子の発現と複製を増強したことを例証する。図４Ｂは、ＭＤＡ－ＭＢ－４３５細胞が、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置され、および、その後、細胞は、１時間、５．０または０．５のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－ＴｄＴｏｍａｔｏに感染させられたことを示す。１時間後、吸着されていないウイルスは取り除かれ、その後、細胞は洗浄され、阻害剤の存在下で培地を用いて培養された。感染細胞は、感染の４８時間後または７２時間後に採取され、そして、ＲＫ１３細胞への階段希釈の後、ウイルス力価が求められた。
【図５Ａ】図５Ａと図５Ｂは、核細胞質輸送阻害剤およびその後のＭＹＸＶへの感染によるヒト癌細胞株の処置が、細胞の生存率を減少させたことを例示する。図５Ａは、ＨＴ２

９細胞（１００ｕｌ培地／ウェル中に２０，０００個の細胞）が、不透明壁の９６ウェルプレートにおいて一晩培養されたことを示す。その後、細胞は、１時間、レプトマイシンＢの様々な濃度で前処置され、および、阻害剤の存在下で５．０のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－Ｔｄｔｏｍａｔｏに感染させられた。細胞の生存率は、感染の６４時間後にＡＴＰのレベルを測定することにより求められた。

【図５Ｂ】図５Ａと図５Ｂは、核細胞質輸送阻害剤およびそれに続くＭＹＸＶによる感染によるヒト癌細胞株の処置が、細胞の生存率を減少させたことを例示する。図５Ｂは、ＰＡＮＣ－１細胞（１００ｕｌ培地／ウェル中に２０，０００細胞）が、不透明壁の９６ウェルプレートにおいて一晩培養されたことを示す。その後、細胞は、１時間、レプトマイシンＢの様々な濃度で前処置され、および、阻害剤の存在下で５．０のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－Ｔｄｔｏｍａｔｏに感染させられた。細胞の生存率は、感染４０時間後にＡＴＰのレベルを測定することにより求められた。

【発明を実施するための形態】

【００１９】

ウイルスは、許容性細胞を感染と複製のために自然に利用するが、すべての腫瘍細胞が腫瘍溶解性ウイルスの感染に対して許容性というわけではない。本開示は、核細胞質輸送阻害剤などの１つ以上の薬剤で非許容性癌細胞を処置することにより、非許容性細胞を許容性細胞に転換し、癌細胞における腫瘍溶解性ウイルスの複製を増進させ、それによって癌細胞の死滅を増強することができるという驚くべき発見を伴う。

【００２０】

核細胞質輸送阻害剤の使用は、本明細書において実証されるとおり、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に通常では感受性のない癌細胞（すなわち、核細胞質輸送阻害剤がない状態で腫瘍溶解性ウイルス感染に感受性がない）において腫瘍溶解性ウイルスの遺伝子発現と複製を支援して増強させることができる。核細胞質輸送阻害剤の添加は、また、腫瘍溶解性ウイルス後代の産生、または感染に通常では感受性がないホスト細胞における腫瘍溶解性ウイルスの産生を増強することができる。非許容性癌細胞に対する核細胞質輸送阻害剤の驚くべき影響は、核細胞質輸送阻害剤が腫瘍溶解性ウイルスと組み合わせて使用されるとき、増強された癌細胞死滅効果として表れ、そのことにより、癌を処置するためのより効果的な方法を提供する。

【００２１】

本開示は、腫瘍溶解性ウイルス、および核細胞質輸送阻害剤を投与することにより、癌、例えば、腫瘍溶解性ウイルス感染に対する感受性がないか、または低い感受性を有している癌を処置する方法を提供する。また、非許容性癌細胞を許容性癌細胞に転換する方法、および、癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させることにより、癌細胞を死滅させる方法が、本明細書において提供される。さらに、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤を含む医薬組成物が、本明細書において提供される。

【００２２】

別段の説明のない限り、本明細書で使用される技術的かつ科学的な用語はすべて、本開示が属する技術分野の当業者によって通常に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載のものと類似または同等の方法および材料を、本開示の実施または試験に用いることができるが、適切な方法および材料が以下に記載される。さらに、材料、方法、および実施例は単なる例示であり、限定を意図したものではない。

【００２３】

以下の用語および方法の説明は、本発明の化合物、組成物、および方法をよりよく説明し、そして本開示の実践において当業者を導くために提供される。また、本開示で使用される用語は、特定の実施形態および例を説明することのみを目的としており、限定的であることを意図されていないことも、理解されたい。

【００２４】

本明細書で使用されるように、単数形「ａ」、「ａｎ」、および「ｔｈｅ」は、文脈が他に明確に示していない限り、同様に複数形を含むように意図される。

【００２５】
本明細書で使用される場合、「および／または（ａｎｄ／ｏｒ）」という用語は、関連する列挙された項目の１以上の、任意のおよびすべての可能な組み合わせ、ならびに代替的な（「または」）で解釈される場合の組み合わせの不在を指し、および包含する。
【００２６】
用語「約（ａｂｏｕｔ）」または「およそ（ａｐｐｒｏｘｉｍａｔｅｌｙ）」は、当業者によって決定されるような特定の値の許容可能な誤差範囲内であることを意味し得、これは、その値がどのように測定または決定されるか、例えば、測定システムの制限に部分的に依存している。例えば、「約」とは、当該技術分野での実行につき１または１を超える標準偏差を意味し得る。代替的に、代替的に、「約」とは所定の値の最大で２０％、最大で１５％、最大で１０％、最大で５％、または最大で１％の範囲内を意味し得る。代替的に、とりわけ生体系または生物学的プロセスに関して、この用語は１桁以内、好ましくはある値の５倍、より好ましくは２倍以内を意味することがある。
【００２７】
本明細書で使用される場合、「１以上（ｏｎｅ　ｏｒ　ｍｏｒｅ）」または少なくとも１つは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、またはそれ以上の任意の数を意味し得る。
【００２８】
本明細書で使用される場合、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」または「含んでいる（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」という用語は、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅｓ）」を意味する。従って、「ＡまたはＢを含む」ことはＡ、ＢまたはＡを含むこととＢを意味する。「含む（Ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」、ならびに「含んでいる（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」、および「含まれる（ｃｏｍｐｒｉｓｅｄ）」などの変化型は、本明細書において使用される場合、様々な付加的要素または工程が結合的に使用され得ることを意味する。
【００２９】
「有効量」は、所望の効果（例えば、ポックスウイルスの産生における増加）を生むのに十分な化合物または組成物の量を指す。この例では、有効量は、細胞と投与された具体的な薬剤のタイプ、処置の継続時間、任意の併用療法の性質などの因子に応じて、当業者の知識と専門性の範囲内で変化することになる。
【００３０】
本明細書に使用される用語「許容性（ｐｅｒｍｉｓｓｉｖｅ）」は、細胞が本出願に記載されるウイルスに感染する傾向があるかどうかを指す。本明細書に使用される用語「感染に対する感受性がある」は、細胞がウイルスまたは細胞内の別の生物に感染させられる能力を指す。そのことは「許容性」感染を包含するが、この用語は、細胞が生物に感染しているが、その生物が感染した細胞から他の細胞へ必ずしも複製および／または拡散するわけではない状況を包含するというように、限定されることを意図したものではない。本明細書に使用される句「ウイルスの増殖」は、許容性細胞型から、許容性または感受性がある性質のどちらかの、さらなる細胞への、感染性のウイルスの広がりまたは経過を説明する。
【００３１】
本明細書に使用される用語「宿主細胞」は、組織、器官、または単離細胞における特定の組織に関するものへのいかなる限定もなく、広く意味すると理解されるべきである。このような細胞は、固有の種類の細胞、または、培養細胞株、初代細胞、分裂中の細胞などの異なる種類の細胞群であってもよい。宿主細胞の例として、限定されないが、原核細胞、酵母などの、より下等な真核細胞、および、昆虫細胞、および哺乳類細胞（ヒト、またはヒト以外）などの他の真核細胞、ならびに、腫瘍溶解性ウイルスを産生する能力がある細胞が挙げられる。宿主細胞は、例えば、生体内の癌細胞であってもよい。
【００３２】
「核細胞質輸送阻害剤」とは、核細胞質輸送経路を介した分子の輸送を阻害する薬剤の

ことである。用語「核細胞質輸送阻害剤」は、「核外移行阻害剤」と交換可能に使用される。核細胞質輸送阻害剤の例は、限定されないが、レプトマイシンＡ、レプトマイシンＢ、ラトジャドンＡ、ラトジャドンＢ、ラトジャドンＣ、ラトジャドンＤ、アンギノマイシンＡ、ゴニオタラミン、ピペルロングミン、プルムバギン、クルクミン、バルトレート、アセトキシチャビコールアセテート、プレニルクマリンオストール、ＫＯＳ　２４６４、ＰＫＦ０５０－６３８、ＣＢＳ９１０６、および、セリネクソールを含む。

【００３３】

「ウイルス」とは、生きた細胞の中で繁殖する微小な感染性生物である。ウイルスは、タンパク膜に囲まれた単一の核酸の核から本質的に成り得、および、生きた細胞の内部でのみ複製する能力を有している。「ウイルス複製」は、少なくとも１つのウイルス生命サイクルが起きることによる、さらなるウイルスの産生である。ウイルスは、宿主細胞の正常な機能を破壊し、細胞をウイルスによって決定された方法で行動させることがある。例えば、ウイルス感染の結果、細胞は、感染していない細胞は通常行わないサイトカインを産生したり、サイトカインへの応答を生じたりすることがある。本明細書で使用する「自律増殖性の（ｒｅｐｌｉｃａｔｉｏｎ－ｃｏｍｐｅｔｅｎｔ）」という用語は、特定の宿主細胞内に感染して複製することが可能なウイルスを指す。

【００３４】

「ポックスウイルス」は、ポックスウイルス科ファミリーに属するウイルスである。ポックスウイルスは、脊椎動物および無脊椎動物の両方を感染させることができる二本鎖ＤＮＡウイルスである。ポックスウイルスは、例えば、オルソモポックスウイルス属、パラポックスウイルス属、アビポックスウイルス属、カプリポックスウイルス属、レポリポックスウイルス属、スイポックスウイルス属、モルシポックスウイルス属、および、ヤタポックスウイルス属などの、コルドポックスウイルス亜科サブファミリー、ならびに、アルファエントモポックスウイルス属、ベータエントモポックスウイルス属、およびガンマエントモポックスウイルス属を含む、エントモポックスウイルス亜科サブファミリーの、一部として分類されるウイルスの種と属とを含む。

【００３５】

「接触（）」とは、直接物理的に関連する場所に配置することを意味する。接触は、阻害剤と細胞などの、分子間の接触を含み、例えば、細胞を有する培養株におけるような細胞に直接物理的に関連に薬剤を配置することによる。いくつかの実施形態では、薬剤を細胞に対してと接触または暴露させることは、細胞の成長培地中に薬剤を配置することを含む。

【００３６】

「阻害する」は、例えば、測定可能な程度になるまで核外移行経路における輸送を抑制することを意味する。「阻害剤」は、例えば、核輸出経路における輸送をある測定可能な程度まで阻害することができる物質である。

【００３７】

用語「処置する（ｔｒｅａｔ）」、「処置された（ｔｒｅａｔｅｄ）」、「処置すること（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」、「処置（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）」などは、予防（例えば、処置されるべき病理学的疾病を有するリスクにある対象における予防的対策）および／または治療（例えば、病理学的疾病を有していると診断された対象における）を包含する意味である。処置の結果は、障害および／またはそれに関連する症状を遅らせる、治す、減らす、制御する、または改善することである。「処置すること」は、「緩和させること」の概念を含み、それは、障害および／または副作用に関連するあらゆる症状および病気の影響の、発生または再発の頻度、あるいは重症度を軽減することを指す。用語「処置すること」は、また、「管理すること（ｍａｎａｇｉｎｇ）」の概念を包含し、それは患者において特定の疾患または障害の重症度を低下させるか、またはその再発を遅らせることを指し、例えば、その病気に患った患者において寛解の期間を延長することを指す。「処置すること（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」という用語は、これまで述べたのと同様に、「予防する（ｐｒｅｖｅｎｔ）」、「予防すること（ｐｒｅｖｅｎｔｉｎｇ）」、「予防（ｐｒｅｖｅ

ｎｔｉｏｎ）」の概念をさらに包含する。障害または疾病を処置することは、障害、疾病、またはそれらに関連する症状を完全に除去することを、除外はしないが、必須ともしないことが理解される。

【００３８】

「薬学的に許容可能な賦形剤または希釈剤」とは、薬剤と共に対象に投与可能であり、およびその薬理活性を破壊せず、かつ、治療量の薬剤を送達するのに十分な投与量で投与される際に無毒である、賦形剤、担体、または希釈剤を指す。

【００３９】

本開示の実施または試験のための適切な方法と材料が以下に記載される。このような方法と材料は、単に例証的であり、および限定するようには意図されない。本明細書に記載されたものと同様または等価である他の方法と材料が使用され得る。例えば、本開示が関係する技術において周知の従来の方法は、様々な一般的で、より具体的な参考文献に記載されており、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，２ｄ ｅｄ．，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，１９８９；Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，３ｄ ｅｄ．，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ，２００１；Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ，１９９２（ａｎｄ Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔｓ ｔｏ ２０００）；Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ：Ａ Ｃｏｍｐｅｎｄｉｕｍ ｏｆ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｒｏｍ Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，４ｔｈ ｅｄ．，Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，１９９９；Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，１９９０、および Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ，Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，１９９９が挙げられる。さらに、材料、方法、および実施例は単なる例示であり、限定を意図したものではない。

【００４０】

腫瘍溶解性ウイルス

本明細書に記載される腫瘍溶解性ウイルスは、分裂する細胞（例えば、癌細胞などの増殖性細胞）において選択的に複製することができるウイルスを包含し、ここでは、インビトロまたはインビボのいずれかにおいて、前記分裂する細胞の増殖を遅くし、および／または、前記分裂する細胞を溶解し、一方で、非分裂細胞における複製を全くあるいは最小限にしか示さないという目標を有する。典型的には、腫瘍溶解性ウイルスは、ウイルス粒子またはビリオンへとパッケージ化されたウイルス－ゲノムを含有しており、および、感染性である（すなわち、宿主細胞または対象に感染して中へと進入することができる）。本明細書で使用される場合、この用語は、ＤＮＡまたはＲＮＡベクター（ウイルスのタイプに依存して）、ならびにそれらで生成されたウイルス粒子を含意する。

【００４１】

いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、トランスフェクトされた癌細胞を選択的に感染して死滅させるそれらの能力について、および、ウイルスに対するだけでなく腫瘍抗原に対する宿主免疫系をも活性化するそれらの能力について、選択および／または設計された、哺乳類ウイルスである。

【００４２】

いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ポックスウイルス科ファミリーに属するウイルス、またはポックスウイルス科ファミリーに由来するウイルスである。ウイルスのポックスウイルス科ファミリーのメンバーは、感染細胞の細胞質中で複製することが

できる、大きく、複雑な、二本鎖ＤＮＡウイルスの多様な群である。ほとんどのポックスウイルスのゲノムは、長さが約１５０，０００～３００，０００塩基対で、およそ１５０～３００のタンパク質をコードする。これらのウイルスタンパク質の約半分は、様々なポックスウイルスのメンバー間で高度に保存され、細胞への結合と侵入、ゲノムの複製、転写、および、ビリオンの組み立てなどの必須機能を実行する。その他のウイルスタンパク質は、多くの宿主防御機能の回避に関与する。ポックスウイルスの遺伝子は、異なる相で発現し得る。例えば、初期の遺伝子産物には、ウイルスのＤＮＡ複製に必須のタンパク質が含まれ得、および、ＤＮＡが複製される前に、発現される。一方、ＤＮＡ複写中、またはＤＮＡ複写後に発現される中間／後期遺伝子産物は、ビリオン成熟のために必要な構造タンパク質を含み得る。この複雑なウイルス複製プロセスのすべての階段（ゲノムを脱コードすることから始まり、初期遺伝子発現、ＤＮＡ複写、後期遺伝子発現、および、さらにより複雑なビリオン成熟の過程）は、感染細胞の細胞質中だけで生じることができる。

【００４３】

ポックスウイルスは、感染細胞の細胞質内だけで複製することができる、大きなＤＮＡウイルスである。それらは、ＤＮＡおよびｍＲＮＡ合成のために必要なタンパク質をすべてコードすることができる。ポックスウイルスの複製に関与するウイルスタンパク質とは別に、ポックスウイルスゲノムの約半分が、細胞質と核において機能する多様な細胞内の抗ウイルスのシグナル経路の阻害または操作のために必要であると示されるタンパク質をコードする。しかしながら、細胞質区画および核区画由来の宿主細胞タンパク質が、ポックスウイルスの複製の少なくともいくつかのステップに関与しているという証拠がある。多くの多様な細胞タンパク質およびシグナル経路が、ポックスウイルスの感染および複製から細胞を守ることに密接に結び付けられてきた。ゲノムにコードされたポックスウイルスのタンパク質の半分以上が、これらの宿主の抗ウイルス経路の特異的な阻害または調節に関与するのは、このためである。場合によっては、ウイルスにコードされたタンパク質は、宿主特異的に機能し、および、所与のポックスウイルスが特定の種の宿主において成功裡に感染および複製することができるかどうかを決定する。ポックスウイルスのメンバー、例えば、粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）、レポリポックスウイルス、およびワクシニアウイルス（ＶＡＣＶ）、オルソポックスウイルスは、ヒト癌の処置のために腫瘍溶解性ウイルスとして開発され得る。

【００４４】

ある実施形態では、目的のポックスウイルスは遺伝子組み換えされている。例えば、目的のポックスウイルスは、治療効果のある遺伝子などの、他の遺伝子も運ぶように、および／または、１つ以上の内部成長的なウイルス遺伝子を削除または妨害するように、改変することができる。癌を処置するために改変されるウイルスの場合、遺伝子は、典型的に、処置の抗癌効果を増強するために選択されることになる。そのような遺伝子は、アポトーシスを引き起こすことに関与する遺伝子、または感染細胞を免疫破壊のための標的とすることに関与する遺伝子であり得、インターフェロンに対する反応の欠乏を修復する遺伝子、または、細菌細胞表面抗原などの抗体産生応答を刺激する細胞表面マーカーの発現を生じさせる遺伝子などが挙げられる。ウイルスはまた、腫瘍形成細胞または癌細胞の増殖および成長を止めることに関与する遺伝子を発現するように改変され、それによって細胞が分裂するのを予防する場合がある。さらに、ウイルスは、化学療法剤の合成に関与する遺伝子などの、治療効果のある遺伝子を含めるように改変される場合もあり、または、例えば、ヒト細胞など、阻害されるか死滅させられる細胞が由来する特定の種の細胞における複製のレベルを増加させるように改変される場合もある。

【００４５】

いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、コルドポックスウイルス亜科またはエントモポックスウイルス亜科に属するウイルスであるか、または、コルドポックスウイルス亜科またはエントモポックスウイルス亜科に由来するウイルスである。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス、セルビドポックスウイルス、パラポックスウイルス、アビポックスウイルス、カプリポックスウイルス、レポリポ

ックスウイルス、スイポックスウイルス、モルシポックスウイルス、ヤタポックスウイルス、アルファエントモポックスウイルス、ベータエントモポックスウイルス、またはガンマエントモポックスウイルスである属のウイルスである。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス、セルビドポックスウイルス、パラポックスウイルス、アビポックスウイルス、カプリポックスウイルス、レポリポックスウイルス、スイポックスウイルス、モルシポックスウイルス、ヤタポックスウイルス、アルファエントモポックスウイルス、ベータエントモポックスウイルス、またはガンマエントモポックスウイルスであるウイルス属に由来するウイルスである。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、オルソポックスウイルス属に属するか、またはオルソポックスウイルス属のウイルスに由来するウイルスである。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ワクシニアウイルスか、またはワクシニアウイルスに由来するウイルスである。いくつかの実施形態では、ワクシニアウイルスは、Ｌｉｓｔｅｒ、Ｗｙｅｔｈ、Ｗｅｓｔｅｒｎ Ｒｅｓｅｒｖｅ、Ｍｏｄｉｆｉｅｄ Ｖａｃｃｉｎｉａ ｖｉｒｕｓ Ａｎｋａｒａ、および、ＬＣ１６ｍシリーズから成る群から選択されるワクシニアウイルス株である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ラクーンポックス（Ｒａｃｃｏｏｎｐｏｘ）ウイルスか、またはラクーンポックスウイルスに由来するウイルスである。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、セルビドポックスウイルス属に属するか、またはセルビドポックスウイルス属のウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、羊痘ウイルスか、または羊痘ウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、パラポックスウイルス属に属するか、またはパラポックスウイルス属のウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、アビポックスウイルス属に属するか、またはアビポックスウイルス属のウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、カプリポックスウイルス属に属するか、またはカプリポックスウイルス属のウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、スイポックスウイルス属に属するか、またはスイポックスウイルス属のウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、モルシポックスウイルス属に属するか、またはモルシポックスウイルス属のウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ヤタポックスウイルス属に属するか、またはヤタポックスポックスウイルス属のウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、アルファエントモポックスウイルス属に属するか、またはアルファエントモポックスウイルス属のウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ベータエントモポックスウイルス属に属するか、またはベータエントモポックス属のウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ガンマエントモポックスウイルス属に属するか、またはガンマエントモポックスウイルス属のウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、レポリポックスウイルス属に属するか、またはレポリポックスウイルス属のウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）か、またはＭＹＸＶに由来する。

【００４６】

ＭＹＸＶは、その固有の生物学のために、骨肉腫などの固形癌に対する治療効果があるウイルスとして潜在的によく適している。ＭＹＸＶは、ポックスウイルス科ファミリーのメンバーであり、およびレポリポックスウイルス属のメンバーである。従って、ある実施形態では、目的のポックスウイルスは、腫瘍溶解性ウイルスの候補である。ある実施形態では、目的のポックスウイルスは、粘液腫ウイルスなどのレポリポックスウイルスである。ある実施形態では、目的のポックスウイルスは、Ｌｉｓｔｅｒ、Ｗｙｅｔｈ、Ｗｅｓｔｅｒｎ Ｒｅｓｅｒｖｅ（ＷＲ）、Ｍｏｄｉｆｉｅｄ Ｖａｃｃｉｎｉａ ｖｉｒｕｓ Ａｎｋａｒａ（ＭＶＡ）、およびＬＣ１６ｍシリーズなどの、ワクシニアウイルスの様々な菌株を含むワクシニアウイルスなどの、オルソポックスウイルスであり、およびラクーンポックスウイルス（ＲＣＮＶ）である。ある実施形態では、目的のポックスウイルスは、タナポックスウイルス（Ｔａｎａｐｏｘｖｉｒｕｓ）（ＴＰＶ）またはヤバ様疾患ウイ

ルス（Ｙａｂａ－ｌｉｋｅ ｄｉｓｅａｓｅ ｖｉｒｕｓ）（ＹＬＤＶ）などの、ヤタポックスウイルスである。ある実施形態では、目的のポックスウイルスは、羊痘ウイルスなどの、カプリポックスウイルスである。

【００４７】

ＭＹＸＶは、ラビットに特異的な病原体である。ＭＹＸＶは、ポックスウイルスのレポリポックスウイルス種に属するあらゆる自律増殖性のウイルスであり得る。いくつかの実施形態では、ＭＹＸＶは、ＭＹＸＶの野生型菌株か、またはＭＹＸＶの野生型菌株に由来する。いくつかの実施形態では、ＭＹＸＶは、ＭＹＸＶの遺伝子組み換えの株か、またはＭＹＸＶの遺伝子組み換えの株に由来する。いくつかの例では、ＭＹＸＶは、ローザンヌ株であるか、またはローザンヌ株に由来する。いくつかの例では、ＭＹＸＶは、モリウサギ（Ｓｙｌｖｉｌａｇｕｓ ｂｒａｓｉｌｉｅｎｓｉｓ）において循環する南アメリカのＭＹＸＶ株であり、または、モリウサギにおいて循環する南アメリカのＭＹＸＶ株に由来する。いくつかの例では、ＭＹＸＶは、ブラシウサギ（Ｓｙｌｖｉｌａｇｕｓ ｂａｃｈｍａｎｉ）において循環するカリフォルニアのＭＹＸＶ株であり、または、ブラシウサギにおいて循環するカリフォルニアのＭＹＸＶ株に由来する。いくつかの例では、ＭＹＸＶは、遺伝子Ｍ００９Ｌ、Ｍ０３６Ｌ、Ｍ１３５Ｒ、およびＭ１４８Ｒにおける改変を含む弱毒化されたスペインの野外株（２０１９年７月２７日、ＧｅｎＢａｎｋによって提供され、参照によって組込まれる、ＧｅｎＢａｎｋ Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ ｎｕｍｂｅｒ ＥＵ５５２５３０）である６９１８であり、または、６９１８に由来する。いくつかの例では、ＭＹＸＶは、６９１８ＶＰ６０－Ｔ２（２０１９年７月２７日、ＧｅｎＢａｎｋによって提供され、参照によって組込まれる、ＧｅｎＢａｎｋ Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ ｎｕｍｂｅｒ ＥＵ５５２５３１）であるか、または、６９１８ＶＰ６０－Ｔ２に由来する。いくつかの例では、ＭＹＸＶは、標準的実験室株（Ｓｔａｎｄａｒｄ ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｓｔｒａｉｎ）（ＳＬＳ）と名付けられた株か、またはＳＬＳに由来する。

【００４８】

いくつかの例では、ＭＹＸＶは、Ｃａｍｅｒｏｎ， ｅｔ ａｌ．，“Ｔｈｅ ｃｏｍｐｌｅｔｅ ＤＮＡ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｏｆ Ｍｙｘｏｍａ Ｖｉｒｕｓ，” Ｖｉｒｏｌｏｇｙ ２６４： ２９８－３１８ （１９９９）に開示される配列（その全体が引用によって本明細書に組み込まれる）に対して、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％を含む、９５％と９８％との間、９５％と９９％との間などの、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の、配列同一性を含む。場合によっては、ＭＹＸＶは、Ｃａｍｅｒｏｎ， ｅｔ ａｌ．，“Ｔｈｅ ｃｏｍｐｌｅｔｅ ＤＮＡ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｏｆ Ｍｙｘｏｍａ Ｖｉｒｕｓ，”Ｖｉｒｏｌｏｇｙ ２６４：２９８－３１８（１９９９）において開示された配列を含む。

【００４９】

いくつかの実施形態では、ＭＹＸＶは、ヒト（例えば、免疫適格のヒト）において非病原性であるが、様々な組織に由来する広範囲のヒト癌細胞に感染して死滅させる能力がある。正常な初代ヒト細胞において、ＭＹＸＶの複製は、例えば、細胞結合決定因子、細胞内の抗ウイルスのシグナル経路、およびＩ型ＩＦＮおよび／他のサイトカイン媒介の細胞抗ウイルス状態などの、複数の因子によって制限され得る。ヒト癌細胞において、これらの自衛細胞経路は、共通して欠陥がある。いくつかのヒト癌細胞におけるＭＹＸＶ複製は、細胞のＲＮＡヘリカーゼファミリータンパク質に依存し得る。理論によって束縛されることを望まないが、細胞の核区画と細胞質区画の間で行き来するＲＮＡヘリカーゼは、ウイルスに感染した細胞におけるＭＹＸＶ複製に影響を及ぼす場合がある。ＲＮＡヘリカーゼ以外にも、他の核タンパク質は、ＭＹＸＶおよび他のポックスウイルスの複製サイクルに寄与する場合がある。例えば、核タンパク質は、形質転換されたヒト宿主細胞株において、ポックスウイルスの複製効率に影響する場合がある。

【００５０】

いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ポックスウイルス科、ヘルペスウイ

ルス科、レオウイルス科、パラミクソウイルス科、レトロウイルス科、アデノウイルス科、ラブドウイルス科、ピコルナウイルス科、パルボウイルス科、およびピコルナウイルス科から成るウイルスファミリーに属するか、または、ポックスウイルス科、ヘルペスウイルス科、レオウイルス科、パラミクソウイルス科、レトロウイルス科、アデノウイルス科、ラブドウイルス科、ピコルナウイルス科、パルボウイルス科、およびピコルナウイルス科から成るウイルスのファミリーに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ヘルペスウイルス科ファミリーに属するか、またはヘルペスウイルス科ファミリー由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、レオウイルス科ファミリーに属するか、またはレオウイルス科ファミリー由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、パラミクソウイルス科ファミリーに属するか、またはパラミクソウイルス科ファミリー由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、レトロウイルス科ファミリーに属するか、またはレトロウイルス科ファミリー由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、アデノウイルス科ファミリーに属するか、またはアデノウイルス科ファミリー由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ラブドウイルス科ファミリーに属するか、またはラブドウイルス科ファミリー由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ピコルナウイルス科ファミリーに属するか、またはピコルナウイルス科ファミリー由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、パルボウイルス科ファミリーに属するか、またはパルボウイルス科ファミリー由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ピコルナウイルス科ファミリーに属する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、シンプレックスウイルス属、ルブラウイルス属、またはセネカウイルス（Ｓｅｎｅｃａｖｉｒｕｓ）属に属するか、または、シンプレックスウイルス属、ルブラウイルス属、またはセネカウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、シンプレックスウイルス属に属するか、またはシンプレックスウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ルブラウイルス属に属するか、またはルブラウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、セネカウイルス属に属するか、またはセネカウイルス属に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、はしか、鶏痘（Ｆｏｗｌｐｏｘ）、および水胞性口炎（Ｖｅｓｉｃｕｌａｒ　Ｓｔｏｍａｔｉｔｉｓ）ウイルス、ムンプスルブラウイルス（Ｍｕｍｐｓ　ｒｕｂｕｌａｖｉｒｕｓ）、コクサッキーウイルス、およびワクシニアであるウイルスの種に属するウイルス、または、はしか、鶏痘、水胞性口炎ウイルス、およびムンプスルブラウイルス、コクサッキーウイルス、およびワクシニアであるウイルスの種に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、はしかウイルスか、または、はしかウイルス由来である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、鶏痘ウイルスか、または鶏痘ウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、水胞性口炎ウイルスか、または水胞性口炎ウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ムンプスルブラウイルスか、またはムンプスルブラウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、コクサッキーウイルスか、またはコクサッキーウイルスに由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ワクシニアウイルスか、またはワクシニアウイルスに由来する。

【００５１】

いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、自律増殖性である。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは野生型菌株に属するか、または野生型菌株に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、遺伝子組み換え株に属するか、または遺伝子組み換え株に由来する。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、遺伝子組み換えされている。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ヒトにおいて非病原性であるが、様々な組織に由来する広範囲のヒト癌細胞に感染し、および死滅させる能力がある。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスの核酸配列は、野生型ウイルス配列の核酸配列に対して、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％を含む、９５％と９８％との間、９５％と９９％との間などの

、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の、配列同一性を含む。

【００５２】

核細胞質輸送阻害剤

本明細書に開示されるとおり、核細胞質輸送阻害剤は、ウイルスの複製を増強することができ、および、非許容性癌細胞などの、癌細胞について細胞の生存率を抑制することができる。ある実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、選択的阻害剤である。ある実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、選択的ではない。いくつかの実施形態では、記載された核細胞質輸送阻害剤は、核細胞質輸送に干渉することができる薬剤である。いくつかの実施形態では、薬剤は、輸送タンパク質に干渉することにより、核細胞質輸送を阻害する。いくつかの実施形態では、薬剤は、塩酸トリフルオペラジン、Ｗ１３、ＥＴＰ－４５６４８、Ｖｉｎｂｌａｓｔｉｎｅ、Ａｋｔ阻害剤Ｘ、ＩＮＣＡ、ＳＭＩＰ００１／００４、Ｒｅｓｖｅｒａｔｒｏｌ、Ｅｌｌｉｔｉｃｉｎｅ、ＷＧＡ、ｃＳＮ５０ペプチド、ｂｉｍａｘ１／２ペプチド、レプトマイシンＢ、アンギノマイシン、ゴニオタラミン、ラトジャドン、Ｖａｌｔｒａｔｅ、アセトキシキャビコールアセテート、１５ｄ－ＰＧＪ２、Ｐｅｕｍｕｓｏｌｉｄｅ Ａ、ＰＫＦ０５０－６３８、ＫＯＳ ２４６４、ＣＢＳ９１０６、またはそれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、小分子化合物を含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ラトジャドン、バルトレート、およびアセトキシチャビコールアセテートなどの、天然の化合物を含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、核外移行（ＳＩＮＥ）の選択的阻害薬を含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ＣＢＳ９１０６などの、可逆的な核外移行阻害剤を含む。

【００５３】

ある実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＡ、レプトマイシンＢ、ラトジャドンＡ、Ｂ、Ｃ、アンギノマイシンＡ、ゴニオタラミン、ピペルロングミン、プルムバギン、クルクミン、バルトレート、アセトキシチャビコールアセテート、プレニルクマリンオストール、またはＫＯＳ ２４６４、ＰＫＦ０５０－６３８（Ｎ－ａｚｏｌｙｌａｃｒｙｌａｔｅアナログ、ＣＢＳ９１０６、セリネクソールなどの合成核細胞質輸送阻害剤、および、参照により本明細書に組み込まれるＭａｔｈｅｗ ａｎｄ Ｇｈｉｌｄｙａｌ，ＣＲＭ１ ｉｎｈｉｂｉｔｏｒｓ ｆｏｒ ａｎｔｉｖｉｒａｌ ｔｈｅｒａｐｙ，Ｆｒｏｎｔｉｅｒｓ ｉｎ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ ２０１７，Ｖｏｌ ８，ａｒｔｉｃｌｅ １１７１に記されるものの１つ以上を含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＡを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＢを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ラトジャドンＡを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ラトジャドンＢを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ラトジャドンＣを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ラトジャドンＤを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、アンギノマイシンＡを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ゴニオタラミンを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ピペルロングミンを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、プルムバギンを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、クルクミンを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、バルトレートを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、アセトキシチャビコールアセテートを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、プレニルクマリンオストールを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ＫＯＳ ２４６４を含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ＰＫＦ０５０－６３８を含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ＣＢＳ９１０６を含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、セリネクソールを含む。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、レプトマイシンＢである。

【００５４】

処置の方法
核細胞質輸送阻害剤の使用は、腫瘍溶解性ウイルス（例えば、ＭＹＸＶ）による感染に対する感受性のない癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する感受性がある癌細胞に変換するのを目ざましく支援し、すなわち、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する癌細胞の感受性を誘導する。核細胞質輸送阻害剤の添加は、癌細胞の腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する感受性を増加させる。核細胞質輸送阻害剤は、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する低い感受性を有する癌細胞を、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する高い感受性を有する癌細胞へと作り変えるために、使用することができる。従って、癌を処置し、および腫瘍細胞を死滅させることにおいて腫瘍溶解性ウイルスの有効性を改善するために、核細胞質輸送阻害剤は、腫瘍溶解性ウイルスと組み合わせて投与することができる。

【００５５】
本明細書において、腫瘍溶解性ウイルスと、腫瘍溶解性ウイルスを含む組成物とを使用する方法が開示される。本明細書では、ある実施形態において、治療有効量の腫瘍溶解性ウイルス（例えば、ＭＹＸＶまたはＶＡＣＶ）と核細胞質輸送阻害剤とを対象に投与することにより、癌を処置する方法が開示される。一態様では、非許容性細胞を許容性細胞に転換する方法が本明細書に開示され、該方法は、腫瘍溶解性ウイルスに対して非許容な癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスおよび核細胞質輸送阻害剤に接触させ、それによって前記癌細胞を変換する工程を含む。他の態様では、癌細胞を死滅させる方法が本明細書に開示され、該方法は、癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させ、それによって前記癌細胞を死滅させる工程を含む。それに応じて、いくつかの実施形態では、本開示は、核細胞質輸送阻害剤で非許容性細胞を処置することによって、非許容性癌細胞におけるウイルス複製を増加させる方法を提供する。

【００５６】
いくつかの実施形態は、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する癌細胞の感受性を増強する方法に関し、該方法は、癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤に接触させる工程を含む。いくつかの実施形態は、癌細胞に、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する感受性をもたせる方法に関連し、前記癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに接触させる工程を含む。

【００５７】
いくつかの実施形態は、腫瘍溶解性ウイルスによる感染に対する感受性がない癌細胞において腫瘍溶解性ウイルスの増殖を増大させる方法に関し、該方法は、癌細胞を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤に接触させる工程を含む。

【００５８】
腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤は、一緒に、または別々に投与され得る。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤は、一緒に投与され得る。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤は、別々に投与され得る。腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤が別々に投与されるとき、腫瘍溶解性ウイルスは核細胞質輸送阻害剤に先立って投与され得る。腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤が別々に投与されるとき、腫瘍溶解性ウイルスは核細胞質輸送阻害剤の後に投与され得る。

【００５９】
いくつかの実施形態では、癌細胞、例えば、非許容性癌細胞は、哺乳動物細胞などの動物細胞である。いくつかの実施形態では、癌細胞、例えば、非許容性癌細胞は、ヒト細胞である。ある実施形態では、細胞は、不死化されたヒト細胞または霊長類細胞である。ある実施形態では、細胞は、癌細胞株に属する。いくつかの実施形態では、細胞は、ヒトＡ５４９細胞、ヒーラー細胞、２３９細胞、または霊長類ベロ細胞である。癌細胞は、インビボ細胞、インビトロ細胞、またはエクスビボ細胞であり得る。いくつかの実施形態では、癌細胞は、処置される対象の癌組織の細胞である。

【００６０】

癌は、固形腫瘍または血腫であり得る。いくつかの実施形態では、癌は、白血病（例えば、急性白血病、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性骨髄芽球白血病、急性前骨髄球性白血病、急性骨髄単球性白血病、急性単球性白血病、急性赤白血病、慢性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ球性白血病）、真性赤血球増加症、リンパ腫（例えば、ホジキン病、非ホジキン病）、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、重鎖病、または固形腫瘍である。いくつかの実施形態では、癌は固形腫瘍である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は肉腫または癌腫である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原生癌、腎細胞癌、肝癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頚癌、子宮癌、精巣、癌肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上衣細胞腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫、希突起神経膠腫、シュワン腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽腫、または、網膜芽細胞腫である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は大腸の腺癌、膵癌または黒色腫である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、および骨肉腫などの、骨癌である。いくつかの実施形態では、固形腫瘍は骨肉腫である。

【００６１】

腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤は、癌を抱える被験者に同時にまたは連続して投与することができる。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤は、対象に同時に投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤は、対象への投与の前に予め混合される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤は、対象に別々に投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、核細胞質輸送阻害剤の前に投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、核細胞質輸送阻害剤の後に投与される。いくつかの実施形態では、方法は、癌細胞または癌組織を腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤に、同時にまたは連続して接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、癌細胞または癌組織は、核細胞質輸送阻害剤に接触させられる前に腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる。いくつかの実施形態では、癌細胞または癌組織は、腫瘍溶解性ウイルスに接触させられる前に核細胞質輸送阻害剤に接触させられる。いくつかの実施形態では、方法は、癌細胞または癌組織を事前に混合された腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤に接触させることを含む。いくつかの実施形態では、癌細胞または癌組織は、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤とに別々に接触させられる。

【００６２】

いくつかの実施形態では、方法は、核細胞質輸送阻害剤で癌細胞または癌組織を前処置する工程を含む。いくつかの実施形態では、癌細胞または癌組織は、細胞または組織を腫瘍溶解性ウイルスに接触させる前に、少なくとも１分間、少なくとも２分間、少なくとも５分間、少なくとも１０分間、少なくとも３０分間、少なくとも１時間、少なくとも２時間、少なくとも６時間、少なくとも１２時間、少なくとも２４時間、または少なくとも１週間、核細胞質輸送阻害剤で前処置される。いくつかの実施形態では、癌細胞または癌組織は、細胞または組織を腫瘍溶解性ウイルスに接触させる前に、最大１分間、最大２分間、最大５分間、最大１０分間、最大３０分間、最大１時間、最大２時間、最大６時間、最大１２時間、最大２４時間、または最大１週間、核細胞質輸送阻害剤で前処置される。いくつかの実施形態では、癌細胞または癌組織は、細胞または組織を腫瘍溶解性ウイルスに接触させる前に、約１分から約１日までの、約５分から約１２時間までの、約１０分から約２時間までの、または約３０分から約９０分までの期間、核細胞質輸送阻害剤で前処置される。いくつかの実施形態では、癌細胞または癌組織は、細胞または組織を腫瘍溶解性ウイルスに接触させる前に、約１時間、核細胞質輸送阻害剤で前処置される。

【００６３】

一態様では、癌細胞を抱える被験者にとって自己由来、同種異系、または異種由来の細胞に腫瘍溶解性ウイルスを投与する工程を含む方法が、本明細書に記載される。腫瘍溶解性ウイルスは、インビボまたはエクスビボで投与され得る。いくつかの実施形態では、方法は、腫瘍溶解性ウイルスを、自己由来の細胞にエクスビボで投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、腫瘍溶解性ウイルスを、同種異系の細胞にエクスビボで投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、腫瘍溶解性ウイルスを、異種由来の細胞にエクスビボで投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、自己由来細胞、同種異系、または異種由来の細胞は、骨髄細胞またはマクロファージ細胞である。いくつかの実施形態では、自己由来、同種異系、または異種由来の細胞は、幹細胞である。いくつかの実施形態では、自己由来、同種異系、または異種由来の細胞は、腫瘍溶解性ウイルスに対して非許容性の、任意の細胞である。いくつかの実施形態では、自己由来、同種異系、または異種由来の細胞は、腫瘍溶解性ウイルスに対して許容性の、任意の細胞である。いくつかの実施形態では、自己由来、同種異系、または異種由来の細胞は、健康な細胞である。いくつかの実施形態では、投与する工程は、腫瘍溶解性ウイルスを、自己由来、同種異系、または異種由来の細胞に接触させることを含む。いくつかの実施形態では、方法は、前記自己由来、同種異系、または異種由来の細胞を対象に投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、前記前記自己由来、同種異系、または異種由来の細胞を対象に注入する工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、自己由来、同種異系、または異種由来の細胞の投与に先立って、核細胞質輸送阻害剤を投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、自己由来、同種異系、または異種由来の細胞の投与の後に、核細胞質輸送阻害剤を投与する工程を含む。

【００６４】

いくつかの実施形態では、方法は、対象に腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方を期間にわたり投与することを含む。いくつかの実施形態では、期間は、少なくとも１日、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも１週、少なくとも２週、少なくとも３週、少なくとも４週、少なくとも１か月、少なくとも３か月、少なくとも６か月、または少なくとも１年である。いくつかの実施形態では、期間は、最大１日、最大２日、最大３日、最大１週、最大２週、最大３週、最大４週、最大１か月、最大３か月、最大６か月、最大１年、または最大１０年である。いくつかの実施形態では、期間は、約１日から約１年まで、約１か月から約１２か月まで、または約１か月から約６か月までである。いくつかの実施形態では、方法は、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方を、週に２回、週に１回、２週ごとに１回、３週ごとに１回、４週ごとに１回、月に１回、または２か月ごとに１回、対象に投与することを含む。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方は、１週から４週まで間をあけて、例えば、約１週間あけて、約２週間あけて、または約３週間あけて対象に投与される。

【００６５】

いくつかの実施形態では、方法は、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方を、初回量スケジュールおよびその後の投与量スケジュールに従って投与することを含む。いくつかの実施形態では、初回量スケジュールは、その後の投与量スケジュールとは異なる投与スケジュールを含む。いくつかの実施形態では、初回量スケジュールは、その後の投与量スケジュールよりも頻繁ではない投与を含む。いくつかの実施形態では、初回量スケジュールは、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方の、１～４処置または２～３処置などの、１～１０処置を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方の各処置は、初回量スケジュールに従って、１週間から約６週間あけて投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方の各処置は、初回量スケジュールに従って、約１週間あけて、約２週間あけて、約３週間あけて、または約４週間あけて、投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方の各処置は、その後の投与量スケジュールに従って、１週間から約６週間あけて

投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方の各処置は、その後の投与量スケジュールに従って、約１週間あけて、約２週間あけて、約３週あけて、または約４週間あけて投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方は、初回量スケジュールにおいて３週間あけて投与され、およびその後の投与量スケジュールにおいて約２週間あけて投与される。

【００６６】

いくつかの実施形態では、方法は、処置される癌組織に対する局所投与を含む。例えば、いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方は、処置される癌組織に、局所的に投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは局所的に投与され、および、核細胞質輸送阻害剤は局所的に投与されるのではない。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方は、非経口的に投与される。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤、または両方は、注射によって投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方は、皮膚の注射、皮下注射、または結節性病変への注射によって投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、またはその両方は、癌組織または癌組織を含有する癌臓器への注射によって投与される。

【００６７】

いくつかの実施形態では、方法は、癌組織に、または癌組織の近くに、治療有効量の核細胞質輸送阻害剤を投与する工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、癌細胞または癌組織を、治療有効量の核細胞質輸送阻害剤を含む培地に接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、治療有効量の核細胞質輸送阻害剤を含む培地で癌細胞または癌組織をインキュベートする工程を含む。

【００６８】

いくつかの実施形態では、治療有効量の核細胞質輸送阻害剤は、所与の癌細胞または癌組織について求められる（例えば、所与の阻害剤、ウイルス株、および宿主細胞株）。核細胞質輸送阻害剤の有効量は、例えば、本明細書に開示されるとおり、阻害剤の量を滴定すること、および、ウイルスの後代の複製および／または細胞の生存率を定量することにより、求められ得る。いくつかの実施形態では、治療有効量の核細胞質輸送阻害剤は、約０．０００００１μＭから約１００μＭまでの、約０．０００００１μｍから約１０μｍまでの、約０．００００１μｍから約１μｍまでの、約０．０１μｍから約１μｍまでの、約０．００００１μｍから約０．１μｍまでの、約０．００００５μｍから約０．０５μｍまでの、または、約０．００００５μｍから約０．００５μｍまでの、濃度を含む。いくつかの実施形態では、治療有効量の核細胞質輸送阻害剤は、約０．０１μＭから約１μＭまでの濃度を含む。いくつかの実施形態では、治療有効量の核細胞質輸送阻害剤は、約０．０００００１μｍ超、約０．０００００５μｍ超、約０．００００１μｍ超、約０．００００５μｍ超、約０．０００１超、０．０００５μｍ超、約０．００１μｍ超、約０．００５μｍ超、約０．０１μｍ超、約０．０５μｍ超、または、約０．１μｍ超の、濃度を含む。いくつかの実施形態では、治療有効量の核細胞質輸送阻害剤は、約０．０００５μＭ未満、約０．００１μＭ未満、約０．００１５μＭ未満、約０．００２μＭ未満、約０．００２５μＭ未満、約０．００３μＭ未満、約０．００３５μＭ未満、約０．００４μＭ未満、約０．００４５μＭ未満、約０．００５μＭ未満、約０．０１μＭ未満、約０．０１５μＭ未満、約０．０２μＭ未満、約０．０２５μＭ未満、約０．０３μＭ未満、約０．０３５μＭ未満、約０．０４μＭ未満、約０．０４５μＭ未満、約０．０５μＭ未満、約０．１μＭ未満、約０．２μＭ未満、約０．２５μＭ未満、約０．３μＭ未満、約０．４μＭ未満、約０．５μＭ未満、約０．７５μＭ未満、約０．９μＭ未満、約１μＭ未満、約１．２５μＭ未満、約１．５μＭ未満、約１．７５μＭ未満、約２μＭ未満、約３μＭ未満、約４μＭ未満、約５μＭ未満、約６μＭ、約７μＭ、約８μＭ、約９μＭ、または約１０μＭ未満の濃度を含む。いくつかの実施形態では、治療有効量の核細胞

質輸送阻害剤は、約０．０００００１μＭと約１０μＭの間にあり、約０．０００５μＭ、約０．００１μＭ、約０．００１５μＭ、約０．００２μＭ、約０．００２５μＭ、約０．００３μＭ、約０．００３５μＭ、約０．００４μＭ、約０．００４５μＭ、約０．００５μＭ、約０．０１μＭ、約０．０１５μＭ、約０．０２μＭ、約０．０２５μＭ、約０．０３μＭ、約０．０３５μＭ、約０．０４μＭ、約０．０４５μＭ、約０．０５μＭ、約０．１μＭ、約０．２μＭ、約０．３μＭ、約０．４μＭ、約０．５μＭ、約０．６μＭ、約０．７μＭ、約０．８μＭ、約０．９μＭ、約１．０μＭ、約１．１μＭ、約１．２μＭ、約１．３μＭ、約１．４μＭ、約１．５μＭ、約１．６μＭ、約１．７μＭ、約１．８μＭ、約１．９μＭ、約２．０μＭ、約３．０μＭ、約４．０μＭ、および、約５．０μＭなどである。

【００６９】

いくつかの実施形態では、方法は、癌組織に、または癌組織の近くに治療有効量の腫瘍溶解性ウイルス（例えば、ＭＹＸＶまたはＶＡＣＶ）を投与することを含む。いくつかの実施形態では、方法は、治療有効量の腫瘍溶解性ウイルスに癌細胞または癌組織を感染させることを含む。いくつかの実施形態では、癌細胞または癌組織が有効な感染多重度（ＭＯＩ）にて感染させられるとき、治療有効量の腫瘍溶解性ウイルスが存在する。いくつかの実施形態では、方法は、癌細胞または癌組織を、腫瘍溶解性ウイルスに、本明細書に記載されるＭＯＩで接触させることを含む。ＭＯＩは、例えば、ウイルスの細胞または組織に対する比を滴定すること、ならびに、本明細書に開示されるとおり、ウイルスの子孫の複製および／または細胞の生存率を定量することによって、所与の細胞または組織について決定することができる。いくつかの実施形態では、有効なＭＯＩは、ウイルスの複製を増強し、および減力の癌細胞生存率を低下させながら、薬物に特異的な細胞の毒性を最小限にすることができる。いくつかの実施形態では、癌細胞は、目的のウイルスが細胞の表面に吸着することが可能であるように、ある期間にわたり、腫瘍溶解性ウイルス（例えば、ＭＹＸＶまたはＶＡＣＶ）とともにインキュベートされ、前記期間は、約２０分から約５時間などであり、例えば、約２０分、約２５分、約３０分、約３５分、約４０分、約４５分、約５０分、約５５分、約６０分、約６５分、約７０分、約７５分、約８０分、約８５分、約９０分、約９５分、約１００分、約１０５分、約１１０分、約１１５分、約２時間、約２．５時間、約３時間、約３．５時間、約４時間、約４．５時間、約５時間、１２時間、１８時間、２０時間、２４時間、３０時間、３６時間であり、またはそれ以上である。

【００７０】

ある実施形態では、癌細胞または癌組織に対する腫瘍溶解性ウイルスのＭＯＩは、約０．００１と２．０との間、または約０．０１と１．０との間にあり、約０．００１、約０．００５、０．０１、約０．０２、約０．０３、約０．０４、約０．０５、約０．０６、約０．０７、約０．０８、約０．０９、約０．１、約０．１５、約０．２、約０．２５、約０．３、約０．３５、約０．４、約０．４５、約０．５、約０．５５、約０．６、約０．６５、約０．７、約０．７５、約０．８、約０．８５、約０．９、約０．９５、約１．０、約１．１、約１．２、約１．３、約１．４、約１．５、約１．６、約１．７、約１．８、約１．９、または約２．０などである。ある実施形態では、癌細胞または癌組織に対する腫瘍溶解性ウイルスのＭＯＩは、約０．０１から約１０まで、約０．０５から約５まで、および／またはその間の範囲である。ある実施形態では、癌細胞または癌組織に対する腫瘍溶解性ウイルスのＭＯＩは、約０．０５、約０．５、または約５である。いくつかの実施形態では、癌細胞または癌組織に対する腫瘍溶解性ウイルスのＭＯＩは、少なくとも約０．００１、少なくとも約０．００５、少なくとも約０．０１、少なくとも約０．０２、少なくとも約０．０３、少なくとも約０．０４、少なくとも約０．０５、少なくとも約０．０６、少なくとも約０．０７、少なくとも約０．０８、少なくとも約０．０９、少なくとも約０．１、少なくとも約０．１５、少なくとも約０．２、少なくとも約０．２５、少なくとも約０．３、少なくとも約０．３５、少なくとも約０．４、少なくとも約０．４５、少なくとも約０．５、少なくとも約０．５５、少なくとも約０．６、少なくとも約

０．６５、少なくとも約０．７、少なくとも約０．７５、少なくとも約０．８、少なくとも約０．８５、少なくとも約０．９、少なくとも約０．９５、少なくとも約１．０、少なくとも約１．１、少なくとも約１．２、少なくとも約１．３、少なくとも約１．４、少なくとも約１．５、少なくとも約１．６、少なくとも約１．７、少なくとも約１．８、少なくとも約１．９、少なくとも約２．０、少なくとも約２．５、少なくとも約３．０、少なくとも約４．０、少なくとも約５．０、少なくとも約６．０である。いくつかの実施形態では、癌細胞または癌組織に対する腫瘍溶解性ウイルスのＭＯＩは、最大０．０１、最大０．０２、最大０．０３、最大０．０４、最大０．０５、最大０．０６、最大０．０７、最大０．０８、最大０．０９、最大０．１、最大０．１５、最大０．２、最大０．２５、最大０．３、最大０．３５、最大０．４、最大０．４５、最大０．５、最大０．５５、最大０．６、最大０．６５、最大０．７、最大０．７５、最大０．８、最大０．８５、最大０．９、最大０．９５、最大１．０、最大１．１、最大１．２、最大１．３、最大１．４、最大１．５、最大１．６、最大１．７、最大１．８、最大１．９、最大２．０、最大２．５、最大３．０、最大４．０、最大５．０、最大６．０、または、最大１０である。

【００７１】

いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤の使用は、癌細胞または癌組織において腫瘍溶解性ウイルス（例えばＭＹＸＶまたはＶＡＣＶ）の複製を増加させる。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、核細胞質輸送阻害剤がない状態における複製速度よりも少なくとも２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％速い速度で複製される。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、核細胞質輸送阻害剤がない状態における複製速度よりも少なくとも１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、または１０倍速い速度で複製される。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、癌細胞または癌組織における腫瘍溶解性ウイルスの複製を、感染から２４時間後、少なくとも３０％、５０％、７０％、９０％、２倍、３倍、５倍、７倍、９倍、１０倍、１２倍、または１５倍だけ、増加させる。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、癌細胞または癌組織における腫瘍溶解性ウイルスの複製を、感染から２４時間後、最大５倍、１０倍、１２倍、１５倍、２０倍、３０倍、５０倍、７０倍、または１００倍だけ、増加させる。

【００７２】

いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスと組み合わせての核細胞質輸送阻害剤の使用は、核細胞質輸送阻害剤がない状態における腫瘍溶解性ウイルスの使用に比較して、癌細胞または癌組織の生存率を低下させる。いくつかの実施形態では、細胞の生存率は、核細胞質輸送阻害剤がない状態において腫瘍溶解性ウイルスを使用する時の細胞の生存率と比較して、癌細胞の少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％で低下される。

【００７３】

送達戦略がさらに開示され、ここで、治療のＭＹＸＶウイルスは、癌を抱える対象の中へと細胞を導入する前に、最初にエクスビボで骨髄または末梢血単核細胞のいずれかに由来する混合白血球とともにインキュベートされる。いくつかの実施形態では、白血球とＭＹＸＶは、エクスビボで、核細胞質輸送阻害剤と一緒にインキュベートされる。この戦略では、ＭＹＸＶは、エクスビボでウイルスに事前感染した白血球の遊走を介して、癌部位に送達され得る。この全身送達方法は、ウイルスが患者への注入前に、単離された白血球にまず送達されるので、「エクスビボウイルス療法」、またはＥＶＶ（ａｋａ　ＥＶ２）と呼ばれることがある。ＭＹＸＶ構築物およびこの送達戦略は、必要とする対象において、全身腫瘍組織量を著しく低下させ、および生存を拡大させ得る。いくつかの実施形態では、ＢＭまたはＰＢＭＣの細胞は、エクスビボで１時間、ＭＹＸＶ構築物とともにインキュベートされ、その後、ＭＹＸＶをもつ白血球が、レシピエントに注入される。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤とのインキュベーションは、白血球によるＭＹＸＶの取込みを増加させ、および／または、ＭＹＸＶの腫瘍部位への送達を増加させる。

【００７４】
ある実施形態では、単核の末梢血液細胞および／または骨髄細胞は、例えば、自己由来の細胞として、対象から得られる。いくつかの実施形態では、単核の末梢血液細胞および／または骨髄細胞は、１以上の同種異系ドナーから得られ、例えば、ドナーは、少なくとも１、少なくとも２、少なくとも３、少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、または少なくとも８のＨＬＡ対立遺伝子について、レシピエントに一致する（ＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ対立遺伝子の１つまたは両方のコピー、ＨＬＡ－Ａ、および／またはＨＬＡ－ＤＲ対立遺伝子など）。ＨＬＡ対立遺伝子は、例えば、ＤＮＡに基づいた方法を使用して、タイプ分けすることができる。いくつかの実施形態では、単核の末梢血液細胞および／または骨髄細胞は、１以上の異種ドナーから得られる。

【００７５】
ウイルス収率を増加させる方法
本明細書では、一態様において、ポックスウイルスなどの腫瘍溶解性ウイルスを複製する方法が開示され、該方法は、腫瘍溶解性ウイルスが宿主細胞の表面に吸着されることが可能となる条件下で、宿主細胞を有効量の核細胞質輸送阻害剤および腫瘍溶解性ウイルスに暴露する工程、および、腫瘍溶解性ウイルスを複製させるために、培養培地中で感染させられた宿主細胞をインキュベートする工程を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ポックスウイルスである。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ＭＹＸＶである。

【００７６】
いくつかの実施形態では、方法は、宿主細胞において産生されたポックスウイルスを採取する工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、方法は、宿主細胞をポックスウイルスに感染させるに先立ち、宿主細胞を核細胞質輸送阻害剤に接触させる工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、方法は、宿主細胞をポックスウイルスに感染させた後で、核細胞質輸送阻害剤に宿主細胞を接触させる工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、方法は、宿主細胞を核細胞質輸送阻害剤とポックスウイルスとに同時に暴露することをさらに含む。いくつかの実施形態では、ポックスウイルスは、核細胞質輸送阻害剤がない状態における複製速度よりも、少なくとも３０％速い速度で複製される。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、ポックスウイルスの複製を、感染から２４時間後、少なくとも３倍だけ増加させる。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、２．０未満の感染多重度（ＭＯＩ）でポックスウイルスに接触させられる。いくつかの実施形態では、有効量の核細胞質輸送阻害剤は、約０．５μＭから約０．０００５μＭの範囲にある。いくつかの実施形態では、培養培地は、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、不死化ヒト細胞または霊長類細胞である。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、ポックスウイルス製造のための優良製造規範（ＧＭＰ）において使用される細胞株に属する。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、ヒトＡ５４９細胞、ヒーラー細胞、２３９細胞、または霊長類ベロ細胞である。いくつかの実施形態では、方法は、吸着されていないポックスウイルスを除去する工程をさらに含む。

【００７７】
本明細書では、いくつかの態様において、細胞内で、増加された成長速度および／または力価で腫瘍溶解性ウイルスを産生する方法が開示され、該方法は：有効量の核細胞質輸送阻害剤に宿主細胞を接触させる工程、目的の腫瘍溶解性ウイルスが宿主細胞の表面に吸着することが可能な条件下で目的の腫瘍溶解性ウイルスに宿主細胞を接触させる工程、および、目的の腫瘍溶解性ウイルスの後代を産生するために宿主細胞を培養する工程を含む。いくつかの実施形態では、方法は、目的の腫瘍溶解性ウイルスの後代を採取する工程をさらに含む。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ポックスウイルスである。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスは、ＭＹＸＶである。

【００７８】
本明細書では、ある実施形態において、核細胞質輸送経路の薬物阻害剤を使用して腫瘍溶解性ウイルスの遺伝子発現および子孫ウイルス形成を増加または増強する方法が開示さ

れる。いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスのＧＭＰ製造のために一般に使用される不死化ヒト細胞における核外移行経路の阻害は、これらの細胞からのウイルス収量を増加させるために使用され得る。従って、本開示は、潜在的に治療効果のある腫瘍溶解性ウイルスを製造する強健な方法を提供し、いくつかの実施形態では、腫瘍溶解性ウイルスはＭＹＸＶなどである。

【００７９】

いくつかの実施形態では、この増強されたウイルス複製は、例えば、第１のウイルス吸着の時間の直前に始めて、細胞が有効量の阻害剤で処置されるとき、最も強力である。いくつかの実施形態では、阻害剤の有効量は、所与の細胞培養システム（例えば、所与の阻害剤、ウイルス株、および宿主細胞株）について決定される。阻害剤の有効量は、本明細書に開示されるとおり、例えば、細胞培養システムにおける阻害剤の量を滴定すること、およびウイルスの後代の収を定量することによって、決定され得る。いくつかの実施形態では、ウイルスの後代の収率を増加させる一方で、有効量の阻害剤は、薬物に特異的な細胞の毒性を最小限にすることができる。いくつかの実施形態では、有効量の核細胞質輸送阻害剤は、約０．０００００１μＭから約１μＭ、約０．０００００１μＭから約０．１μＭ、約０．００００１μＭから約０．１μＭ、約０．００００５μＭから約０．０５μＭ、または、約０．００００５μＭから約０．００５μＭである。いくつかの実施形態では、有効量の核細胞質輸送阻害剤は、約０．０００００１μＭ超、約０．０００００５μＭ超、約０．００００１μＭ超、約０．００００５μＭ超、約０．０００１、約０．０００５μＭ超、約０．００１μＭ超、約０．００５μＭ超、約０．０１μＭ超、約０．０５μＭ超、または約０．１μＭ超である。いくつかの実施形態では、有効量の核細胞質輸送阻害剤は、最大、約０．０００５μＭ、約０．００１μＭ、約０．００１５μＭ、約０．００２μＭ、約０．００２５μＭ、約０．００３μＭ、約０．００３５μＭ、約０．００４μＭ、約０．００４５μＭ、約０．００５μＭ、約０．０１μＭ、約０．０１５μＭ、約０．０２μＭ、約０．０２５μＭ、約０．０３μＭ、約０．０３５μＭ、約０．０４μＭ、約０．０４５μＭ、約０．０５μＭ、約０．１μＭ、約０．２μＭ、約０．２５μＭ、約０．３μＭ、約０．４μＭ、約０．５μＭ、約０．７５μＭ、約０．９μＭ、約１μＭ、約１．２５μＭ、約１．５μＭ、約１．７５μＭ、約２μＭ、約３μＭ、約４μＭ、約５μＭ、約６μＭ、約７μＭ、約８μＭ、約９μＭ、または約１０μＭである。

【００８０】

いくつかの実施形態では、増強されたウイルス複製は、細胞が有効な感染多重度（ＭＯＩ）で感染させられ、および、その後、例えば、核細胞質輸送阻害剤の持続的な存在の中に維持されたときに、生じる。ＭＯＩは、所与の細胞培養システム（例えば、所与の阻害剤、ウイルス株、および宿主細胞株）について、例えば、細胞培養システムにおける、ウイルスの宿主細胞に対する比を滴定すること、およびウイルスの後代の収率を定量することによって、決定され得る。いくつかの実施形態では、有効なＭＯＩは、薬物に特異的な細胞の毒性を最小限にすることができ、一方で、ウイルスの複製を増強し、ウイルスの後代の収率を増加させる。

【００８１】

宿主細胞は、目的のポックスウイルスが宿主細胞の表面に吸着ことが可能となる条件下で、目的のポックスウイルス（例えば、ＭＹＸＶ）に接触され得る。ある実施形態では、細胞は、約０．００１から２．０の間、または約０．０１と１．０との間の感染多重度（ＭＯＩ）で、目的のポックスウイルスに接触され、約０．００１ＭＯＩ、約０．００５ＭＯＩ、０．０１ＭＯＩ、約０．０２ＭＯＩ、約０．０３ＭＯＩ、約０．０４ＭＯＩ、約０．０５ＭＯＩ、約０．０６ＭＯＩ、約０．０７ＭＯＩ、約０．０８ＭＯＩ、約０．０９ＭＯＩ、約０．１ＭＯＩ、約０．１５ＭＯＩ、約０．２ＭＯＩ、約０．２５ＭＯＩ、約０．３ＭＯＩ、約０．３５ＭＯＩ、約０．４ＭＯＩ、約０．４５ＭＯＩ、約０．５ＭＯＩ、約０．５５ＭＯＩ、約０．６ＭＯＩ、約０．６５ＭＯＩ、約０．７ＭＯＩ、約０．７５ＭＯＩ、約０．８ＭＯＩ、約０．８５ＭＯＩ、約０．９ＭＯＩ、約０．９５ＭＯＩ、約１．０ＭＯＩ、約１．１ＭＯＩ、約１．２ＭＯＩ、約１．３ＭＯＩ、約１．４ＭＯＩ、約１．５

ＭＯＩ、約１．６ＭＯＩ、約１．７ＭＯＩ、約１．８ＭＯＩ、約１．９ＭＯＩ、または約２．０ＭＯＩなどである。いくつかの実施形態では、吸着されていない目的のポックスウイルスは、例えば、細胞を洗浄することにより、細胞を培養する前に除去される。核細胞質輸送阻害剤による処置の後、宿主細胞は、目的のポックスウイルスの後代を産生するために、薬物の存在下で培養される。適切な培養条件は、具体的なの細胞型に基づいて選択され得る。いくつかの実施形態では、細胞は、目的のポックスウイルスが宿主細胞の表面に吸着するように、目的のポックスウイルスと一定期間、約２０分～約５時間など、例えば、約２０分、約２５分、約３０分、約３５分、約４０分、約４５分、約５０分、約５５分、約６０分、約６５分、約７０分、約７５分、約８０分、約８５分、約９０分、約９５分、約１００分、約１０５分、約１１０分、約１１５分、約２時間、約２．５時間、約３時間、約３．５時間、約４時間、約４．５時間、約５時間、１２時間、１８時間、２０時間、２４時間、３０時間、３６時間、またはさらに長い時間、インキュベートされる。ある実施形態では、宿主細胞は、有効量の核細胞質輸送阻害剤、例えば、上記の濃度の存在下で培養される。宿主細胞は、子孫ウイルスが収穫される前に、約１日から数日、例えば３日から５日程度培養することができる。いくつかの実施形態では、方法は、目的のポックスウイルスの後代を採取する工程を含む。

【００８２】

本明細書に開示されるとおり、核細胞質輸送阻害剤は、このような細胞における、ウイルス複製および子孫ウイルス収率を増強することができる。この薬剤増強法は、ＭＹＸＶやＶＡＣＶなどのポックスウイルスの収率を上げるための実用的な方法を提供し、これらのウイルスの大規模ＧＭＰ産生および臨床用途に利用され得る。いくつかの実施形態では、本開示は、核細胞質輸送阻害剤が、不死化ヒト細胞または霊長類細胞におけるポックスウイルスＧＭＰ製造に適用された時、ワクシニアウイルス（ＶＡＣＶ）および粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）などの腫瘍溶解性ウイルス候補を含むポックスウイルスの収率を増加させるために使用され得ることを実証する。

【００８３】

本開示は、形質転換されたヒトおよび霊長類細胞、例えば、腫瘍溶解性ウイルスなどのウイルスのＧＭＰ製造のために一般に使用されるものにおける、ポックスウイルス産生収率を増加させる方法を提供する。腫瘍溶解性ウイルス候補として提唱されている他のウイルスと比較して、ＭＹＸＶやＶＡＣＶなどのポックスウイルスは、大規模な製造や精製において、いくつかの固有の課題を提示する。サイズが大きいことが原因で、ワクシニアウイルスは、濾過によって滅菌することができず、このため、いずれの製造工程も典型的に密閉される。宿主細胞細胞質内に生じるその生命サイクル全体では、感染性粒子の大部分は細胞の媒質へ放出されないが、感染細胞内に保持され、従って、精製には、感染細胞の溶解、および細胞デブリからのウイルス粒子の精製が必要である。

【００８４】

本明細書では、ある実施形態において、例えば、ウイルス吸着の時間の直前に添加されたときに、核外移行経路を阻害する小分子などの薬剤により不死化ヒト細胞株を処置する方法が開示される。例えば、後の感染サイクルの全体にわたる、薬剤の存在下における細胞の培養は、感染性のポックスウイルス全体にわたって複製および最終収率を増加させることができる。従って、開示される方法は、ウイルスＧＭＰ製造のために使用される形質転換されたヒトおよび霊長類細胞において、粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）およびワクシニアウイルス（ＶＡＣＶ）などの、ポックスウイルスの全収率を増加させる、洗練された方法を提供する。

【００８５】

核細胞質輸送阻害剤の使用は、ポックスウイルスの複製を増加させる。いくつかの実施形態では、ポックスウイルスは、核細胞質輸送阻害剤がない状態における複製よりも少なくとも２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％速い速度で複製される。いくつかの実施形態では、ポックスウイルスは、核細胞質輸送阻害剤がない状態における複製速度よりも少なくとも１．５倍、２倍、２．５倍、３倍、３．５倍、４倍

、５倍、６倍、７倍、８倍、９倍、または１０倍速い速度で複製される。
【００８６】
いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、癌組織におけるポックスウイルスの複製を、感染から２４時間後、少なくとも３０％、５０％、７０％、９０％、２倍、３倍、５倍、７倍、９倍、１０倍、１２倍、または１５倍だけ、増加させる。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、癌組織におけるポックスウイルスの複製を、感染から２４時間後、最大５倍、１０倍、１２倍、１５倍、２０倍、３０倍、５０倍、７０倍、または１００倍だけ、増加させる。
【００８７】
本開示の態様は、細胞における増加された成長速度および／または力価のポックスウイルスなどを産生する方法に関係する。いくつかの実施形態では、方法は、有効量の核細胞質輸送阻害剤（それはまた、核外移行経路阻害剤と呼ばれる場合がある）に宿主細胞を接触させることを含む。阻害剤の濃度は、細胞毒性または抗ウイルスの効果のいずれかを通常引き起こすもの未満に選択され得るが、それでも、目的のポックスウイルスの産生における増加結果としてもたらすのに十分である。いくつかの実施形態では、治療有効量の核細胞質輸送阻害剤は、約０．０００００１μＭと約０．１μＭの間にあり、約０．０００００１μＭ、約０．００００１μＭ、約０．０００１μＭ、約０．０００５μＭ、および約０．０５μＭなどの間であり、約０．０００５μＭ、約０．００１μＭ、約０．００１５μＭ、約０．００２μＭ、約０．００２５μＭ、約０．００３μＭ、約０．００３５μＭ、約０．００４μＭ、約０．００４５μＭ、約０．００５μＭ、約０．０１μＭ、約０．０１５μＭ、約０．０２μＭ、約０．０２５μＭ、約０．０３μＭ、約０．０３５μＭ、約０．０４μＭ、約０．０４５μＭ、および約０．０５μＭなどである。
【００８８】
医薬組成物
一態様では、腫瘍溶解性ウイルス、核細胞質輸送阻害剤、薬学的に許容可能な賦形剤または担体、あるいはそれらの組み合わせを含む、医薬組成物が、本明細書において開示される。組み合わせとして投与される時、治療剤（すなわち、腫瘍溶解性ウイルスと核細胞質輸送阻害剤）は、同時または異なる時間に与えられる別個の組成物として製剤化され得、あるいは、治療剤は、単一組成物として与えられ得る。
【００８９】
組成物は、毎日１回、毎日２回、２日ごとに１回、３日ごとに１回、４日ごとに１回、５日ごとに１回、６日ごとに１回、７日ごとに１回、２週ごとに１回、３週ごとに１回、４週ごとに１回、２か月ごとに１回、６か月ごとに１回、または１年につき１回、投与され得る。投与間隔は、個々の対象のニーズに従って調節することができる。ある実施形態では、開示の治療剤は、２週超、３週超、１か月超、２か月超、３か月超、４か月超、５か月超、６か月超、１年超、２年超、３年超、４年超、または５年超、１０年超、または１５年超の期間にわたり投与され、あるいは、例えば、１４日と１５年の間の任意の時限を範囲の下限とし、および、１５日と２０年の間の任意の時限を範囲の上限とする、数日、数か月、または年の任意の時限範囲にわたり、投与される。場合によっては、治療剤が患者の余生にわたって投与されることは有利な場合がある。いくつかの実施形態では、患者は、疾患または障害の進行をチェックするために監視され、および、それに従って投与量は調節される。いくつかの実施形態では、本発明による処置は、少なくとも２週、３週、１か月、２か月、３か月、４か月、５か月、６か月、１年、２年、３年、４年、または５年、１０年、１５年、２０年、または対象の余生にわたって有効である。
【００９０】
本開示に従って医薬組成物を調製するために、１つ以上の治療剤の治療有効量は、一投与量を産生する従来の薬学の配合技術に従って、薬学的に許容可能な担体と密接に混合することができる。担体は、投与のための所望の調製形態よって種々様々の形態をとる場合があり、例えば、眼、経口、局所的または非経口の形態があり、他の数多のものと共に、ゲル剤、クリーム剤軟膏、ローション、および時間放出される移植可能な製剤を含む。あ

る実施形態では、薬学的に許容可能な担体は、水溶媒であり、すなわち、水と、随意には付加的な共溶媒とを含む。典型的な薬学的に許容可能な担体は、水、水中の緩衝溶液（燐酸塩緩衝食塩水（ＰＢＳ）など）および、ソルビトールなどの糖アルコールを含む。非経口投与に適した組成物は、ガラスまたはプラスチックで作られたアンプル、使い捨て注射器、または複数投与量バイアルに包まれる場合がある。いくつかの実施形態では、　非経口投与に適した製剤は、製剤を、対象とするレシピエントの血液と等張にする、抗酸化剤、緩衝液、静菌薬および溶質を含有し得る水性および非水性の滅菌した注入液；および、懸濁化剤および増粘剤を含み得る水性および非水性の無菌の懸濁液を含む。製剤は、単一用量または複数用量の容器、例えば、密閉されたアンプルおよびバイアルにおいて与えられ得、および、使用の直前に、無菌の液体担体、例えば、無菌の液体担体、例えば、注入のための水の付加のみを必要とする、粉末形態または冷凍乾燥（凍結乾燥）された状態で貯蔵され得る。即時の注射液および懸濁液は、以前に記載された種類の無菌の粉末、顆粒、および錠剤から調製されてよい。

【００９１】

いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤は、薬学的に許容可能な塩、複合体、またはプロドラッグとして投与される。薬学的に許容可能な塩または複合体は、本開示による活性化合物の適切な塩または複合体のことを指し、それらは親化合物の所望の生物活性を保持し、および、正常細胞に限られた毒物学上の効果を示す。そのような塩の非限定的な例は、（ａ）無機酸を有して形成される酸付加塩（例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、硝酸など）、および、酢酸、シュウ酸、酒石酸、コハク酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、安息香酸、タンニン酸、パモ酸、アルギン酸、ポリグルタミン酸などの、有機酸を有して形成される塩、（ｂ）亜鉛、カルシウム、ナトリウム、カリウムなどの他種々の金属カチオンを有して成形される塩基付加塩が挙げられる。

【００９２】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、単位剤形にある。いくつかの実施形態では、単位剤形は、腫瘍内にまたは非経口的に、例えば、静脈内で、投与されることに適している。単位投与量製剤は、投与される成分の、一日量または単位、毎日のサブ投与量、週投与量または単位、またはそれらの適切な画分を含有している製剤でありえる。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．１ｍＬから約１００ｍＬまでの、および／またはその間の範囲の送達可能体積を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は約０．５ｍＬから約５ｍＬまでの、約０．７５ｍＬから約２．５ｍＬまでの、約１．１ｍＬから約０．９ｍＬまでの、送達可能体積を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．５ｍＬ、約１ｍＬ、約１．５ｍＬ、または２　ｍＬの送達可能体積を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、ｍＬあたり、約1×10^{3}プラーク形成単位（ＰＦＵ）から約1×10^{10}ＰＦＵまでの、および／またはその間の範囲の腫瘍溶解性ウイルスを含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、ｍＬあたり、約約1×10^{4}ＰＦＵから約1×10^{9}ＰＦＵまでの、または、約1×10^{6}ＰＦＵから約1×10^{8}ＰＦＵまでの、および／またはその間の範囲の、腫瘍溶解性ウイルスを含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、ｍＬあたり、約1×10^{5}ＰＦＵから約1×10^{10}ＰＦＵまでの、約1×10^{6}ＰＦＵから約1×10^{10}ＰＦＵまでの、約1×10^{5}ＰＦＵから約1×10^{11}ＰＦＵまでの、約1×10^{5}ＰＦＵから約1×10^{9}ＰＦＵまでの、約1×10^{6}ＰＦＵから約1×10^{9}ＰＦＵまでの、または、約1×10^{7}ＰＦＵから約1×10^{8}ＰＦＵまでの、および／またはその間の範囲の、腫瘍溶解性ウイルスを含む。

【００９３】

いくつかの実施形態では、単位投与量は、約１ピコグラムから約１０００マイクログラムまでの、および／またはその間の範囲の、腫瘍溶解性ウイルス含む。いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態では、単位投与量は、約１０ピコグラムから約１００マイクログラムまでの、および／またはその間の範囲の、腫瘍溶解性ウイルス含む。いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態では、単位投与量は、約１０ピコグラムから約１００マイクログラムまでの、および／またはその間の、範囲の腫瘍溶解性ウイルス含む。いく

つかの実施形態では、単位投与量は、約１０ピコグラムから約１０マイクログラムまでの、約１０ピコグラムから約１マイクログラムまでの、約１０ピコグラムから約１００マイクログラムまでの、約１００ピコグラムから約１００マイクログラムまでの、約１０００ピコグラムから約１００マイクログラムまでの、約１００００ピコグラムから約１００マイクログラムまでの、約１００ピコグラムから約１０マイクログラムまでの、または、約１００ピコグラムから約１マイクログラムまでの、および／または、その間の範囲の、腫瘍溶解性ウイルスを含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約１ピコグラムの、約１０ピコグラムの、約１００ピコグラムの、約１ナノグラムの、約１０ナノグラムの、約１００ナノグラムの、約１マイクログラムの、約１０マイクログラムの、約１００マイクログラムの、または、約１０００マイクログラムの、腫瘍溶解性ウイルスを含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．０１ピコグラムから約５００マイクログラムまでの、および／またはその間の範囲の、腫瘍溶解性含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．０５のピコグラムから約５０マイクログラムまでの、および／またはその間の範囲の、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．１ピコグラムから、約１ピコグラムから、約１０ピコグラムから、約１００ピコグラムから、または、約１ピコグラムから、約０．１マイクログラムまでの、約１マイクログラムまでの、約１０マイクログラムまでの、または、約５０マイクログラムまでの、および／またはその間の範囲の、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約１０ピコグラムから約１０マイクログラムまでの、約１０ピコグラムから約１マイクログラムまでの、約１００ピコグラムから約５０マイクログラムまでの、約１０００ピコグラムから約５０マイクログラムまでの、約１００００ピコグラムから約５０マイクログラムまでの、約１００ピコグラムから約５マイクログラムまでの、または、約１００ピコグラムから約１マイクログラムの、および／またはその間の範囲の、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．０５ピコグラム、約０．５のピコグラム、約５ピコグラム、約５０ピコグラム、約５００ピコグラム、約５ナノグラム、約５０ナノグラム、約５００ナノグラム、約５マイクログラム、約５０マイクログラム、または約５００マイクログラムの、腫瘍溶解性ウイルスを含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．０５ピコグラムから約５０マイクログラムまでの、および／またはその間の範囲の、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．０１ピコグラムから約１００マイクログラムまでの、および／またはその間の範囲の、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．０５ピコグラムから約１００マイクログラムまでの、および／またはその間の範囲の、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．０１ピコグラムから約９０マイクログラムまでの、約０．０１ピコグラムから約８０マイクログラムまでの、約０．０１ピコグラムから約６０マイクログラムまでの、約０．０１ピコグラムから約５０マイクログラムまでの、約０．０５ピコグラムから約８０マイクログラムまでの、約０．０５ピコグラムから約４０マイクログラムまでの、約０．１ピコグラムから約５０マイクログラムまでの、または、約０．１ピコグラムから約３０マイクログラムまでの、および／またはその間の範囲の、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．０１ピコグラムの、約０．０５ピコグラムの、約０．０７５ピコグラムの、約０．１ピコグラムの、約０．５ピコグラムの、約１ピコグラムの、約５ピコグラムの、約１０ピコグラムの、約１００ピコグラムの、約５００ピコグラムの、約１ナノグラムの、約１０ナノグラムの、約１００ナノグラムの、約１マイクログラムの、約１０マイクログラムまでの、または、約１００マイクログラムの、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．０１ピコグラムから約５００マイクログラムまでの、および／またはその間の範囲の、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．０５ピコグラムから約５０マイクログラムまでの、および／またはその間の範囲の、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、核細胞質輸送阻害剤を、約０．１のピコグラムから、約１ピコグラムから、約１０ピコグラムから、

約１００ピコグラムから、または、約１ピコグラムから、約０．１マイクログラムまでの、約１マイクログラムまでの、約１０マイクログラムまでの、または、約５０マイクログラムまでの範囲で、および／またはその間の範囲で含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約１０ピコグラムから約１０マイクログラムまでの、約１０ピコグラムから約１マイクログラムまでの、約１００ピコグラムから約５０マイクログラムまでの、約１０００ピコグラムから約５０マイクログラムまでの、約１００００ピコグラムから約５０マイクログラムまでの、約１００ピコグラムから約５マイクログラムまでの、または、約１００ピコグラムから約１マイクログラムの、および／またはその間の範囲の、核細胞質輸送阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、単位投与量は、約０．０５ピコグラムの、約０．５ピコグラムの、約５ピコグラムの、約５０ピコグラムの、約５００ピコグラムの、約５ナノグラムの、約５０ナノグラムの、約５００ナノグラムの、約５マイクログラムの、約５０マイクログラムの、または約５００マイクログラムの、核細胞質輸送阻害剤を含む。

【００９４】

いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤から腫瘍溶解性ウイルスの重量比は、約1×10^{9}から約1×10^{-9}まで、および／またはその間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤に対する腫瘍溶解性ウイルスの重量比は、約1×10^{8}から約1×10^{-8}まで、約1×10^{7}から約1×10^{-7}まで、約1×10^{6}から約1×10^{-6}まで、約1×10^{5}から約1×10^{-5}まで、約1×10^{4}から約1×10^{-3}まで、約1×10^{2}から約1×10^{-2}まで、または、約１０から約０．１までである。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤に対する腫瘍溶解性ウイルスの重量比は、約１から約1×10^{-9}まで、約１から約1×10^{-8}まで、約１から約1×10^{-7}まで、約１から約1×10^{-6}まで、約１から約1×10^{-5}まで、約１から約1×10^{-4}まで、約１から約1×10^{-3}まで、約１から約1×10^{-2}まで、または、約０．１までである。いくつかの実施形態では、核細胞質輸送阻害剤に対する腫瘍溶解性ウイルスの重量比は、約1×10^{-9}から約１まで、約1×10^{-8}から約１まで、約1×10^{-7}から約１まで、約1×10^{-6}から約１まで、約1×10^{-5}から約１まで、約1×10^{-4}から約１まで、約1×10^{-3}から約１まで、約1×10^{-2}から約１まで、または、約０．１から約１までである。

【実施例】

【００９５】

実施例１：核細胞質輸送阻害薬剤は、非許容性のヒト癌細胞株において、ＭＹＸＶ遺伝子の発現を増強する

あるヒト癌細胞株では、特に、後期遺伝子発現において、ＭＹＸＶ遺伝子の発現は制限される。ＭＹＸＶ遺伝子の発現の阻害は、ウイルス複製が制限される一因となり得る。しかしながら、どの経路および細胞タンパク質がこれらの非許容性のヒト癌細胞株においてＭＹＸＶ複製を制限するかは、明確に文書化されていない。例えば、大腸腺癌細胞株ＨＴ２９、膵癌細胞株ＰＡＮＣ－１、および黒色腫細胞株ＭＤＡ－ＭＢ－４３５などの、一般にＭＹＸＶ遺伝子発現および複製を制限するヒト癌細胞株において、核細胞質輸送阻害剤を試験した。

【００９６】

代表的な核細胞質輸送阻害剤として、レプトマイシンＢを試験した。ヒトＨＴ２９細胞（図１Ａおよび図１Ｂ）、ＰＡＮＣ－１細胞（図３Ａ）およびＭＤＡ－ＭＢ－４３５細胞（図４Ａ）を、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、模擬処置または前処置した。その後、細胞をｖＭｙｘ－ＧＦＰ－ＴｄＴｏｍａｔｏ（ポックスウイルスの合成初期／後期プロモーター下で、ＧＦＰを発現し、および、ポックスウイルスｐ１１後期プロモーター下でＴｄＴｏｍａｔｏを発現する、野生型ＭＹＸＶ）に、５．０または０．５の感染多重度（ＭＯＩ）で感染させた。

【００９７】

ＨＴ２９細胞を様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置し、阻害剤の存在下に

おいて５．０のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－Ｔｄｔｏｍａｔｏに感染させ、および、感染後の２４時間後（図１Ａ）または４８時間後（図１Ｂ）に、蛍光顕微鏡を使用して蛍光画像を撮像した。

【００９８】

ＰＡＮＣ－１細胞を、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置し、阻害剤の存在下において５．０のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－Ｔｄｔｏｍａｔｏに感染させ、および、感染の４８時間後に蛍光画像を撮像した（図３Ａ）。

【００９９】

ＭＤＡ－ＭＢ－４３５細胞を、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置し、阻害剤の存在下において５．０のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－Ｔｄｔｏｍａｔｏに感染させ、および、感染の４８時間後に蛍光画像を撮像した（図４Ａ）。

【０１００】

ウイルス感染の進行を示す発現であるＧＦＰとＴｄＴｏｍａｔｏの発現を監視するために、細胞を蛍光顕微鏡下で観察した。レプトマイシンＢの存在下で（例えば、１ｕＭ、０．１ｕＭ、および０．０１ｕＭ）、すべての試験されたヒト癌細胞株において、増強されたＧＦＰ発現（初期／後期）およびＴｄＴｏｍａｔｏ発現（後期）が観察された（図１Ａ、図１Ｂ、図３Ａ、図４Ａ）。核細胞質輸送阻害剤による処置は、また、これらの制限されたヒト癌細胞株において小さな病巣の形成を可能にした。

【０１０１】

これらの結果は、核細胞質輸送阻害剤による処置が、感染細胞における粘液腫ウイルスの遺伝子発現を増強することを示す。これらの結果は、また、一定の核タンパク質がこれらのヒト癌細胞株におけるＭＹＸＶ複製を直接または間接的に制限することを示唆する。

【０１０２】

実施例２：核細胞質輸送阻害薬物の処置は、非許容性のヒト癌細胞株において、ＭＹＸＶ子孫ウイルスの産生を増強する。

ウイルス遺伝子発現に対する核細胞質輸送阻害剤レプトマイシンＢの観察された影響が、子孫ウイルス形成に反映され得るかどうかを定量的に評価するために、量的ウイルス滴定分析を行なった。ＨＴ２９（図２）、ＰＡＮＣ－１（図３Ｂ）およびＭＤＡ－ＭＢ－４３５（図４Ｂ）ヒト癌細胞株を、異なる濃度のレプトマイシンＢで模擬処置または前処置した。

【０１０３】

ＨＴ２９細胞を、１時間、レプトマイシンＢの様々な濃度で前処置した。その後、細胞を、１時間、０．０５または０．５のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－ＴｄＴｏｍａｔｏに感染させた。１時間後、吸着されていないウイルスは取り除かれ、その後、細胞は洗浄され、阻害剤の存在下で培地を用いて培養された。感染細胞を、感染の７２時間後に採取し、そして、ＲＫ１３細胞への階段希釈の後、ウイルス力価を求めた。レプトマイシンＢ処置は、ウイルス複製を増強した（図２）。

【０１０４】

ＰＡＮＣ－１細胞を、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置した。その後、細胞を、１時間、５．０または０．５のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－ＴｄＴｏｍａｔｏに感染させた。１時間後、吸着されていないウイルスは取り除かれ、次に、細胞は洗浄され、阻害剤の存在下で培地を用いてインキュベートされた。感染細胞を、感染の４８時間後または７２時間後に採取し、そして、ＲＫ１３細胞への階段希釈の後、ウイルス力価を求めた。レプトマイシンＢ処置は、すべての条件において、少なくとも１０倍だけウイルス複製を増強した（図３Ｂ）。

【０１０５】

ＭＤＡ－ＭＢ－４３５細胞を、様々な濃度のレプトマイシンＢで１時間、前処置し、その後、細胞を、１時間、５．０または０．５のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－ＴｄＴｏｍａｔｏに感染させた。１時間後、吸着されていないウイルスを取り除き、その後、細胞を洗浄し、阻害剤の存在下で培地を用いて培養した。感染細胞を、感染の４８時間後または

７２時間後に採取し、そして、ＲＫ１３細胞への階段希釈の後、ウイルス力価を求めた。レプトマイシンＢ処置は、すべての条件において、少なくとも１０倍だけウイルス複製を増強した（図４Ｂ）。

【０１０６】

すべての試験された細胞株において、レプトマイシンＢ処置は、ＭＯＩ５．０または０．５で感染させたとき、子孫ＭＹＸＶ形成を、少なくとも１０～２０倍、著しく増強した（図２、図３Ｂ、図４Ｂ）。これに対して、許容性のＡ５４９細胞株では、レプトマイシンＢは、ＭＯＩが０．１またはそれ以下のときだけウイルス複製を増加させた。

【０１０７】

これらの結果は、核細胞質輸送阻害剤を使用して核外移行経路を遮断することは、非許容性のヒト癌細胞株におけるＭＹＸＶの複製を著しく増強することができることを示す。

【０１０８】

実施例３：核細胞質輸送阻害剤でのヒト癌細胞株の前処理は、ＭＹＸＶを媒介とした癌細胞の死滅を増強する。

核細胞質輸送阻害剤で増強されたＭＹＸＶ複製もまた癌細胞の死滅を増強したかどうかを試験するために、ＡＴＰの測定により感染細胞の生存率を試験した。この場合、ＨＴ２９細胞およびＰＡＮＣ－１細胞を試験した。

【０１０９】

ＨＴ２９細胞およびＰＡＮＣ－１細胞を、１００ｕｌ培地／ウェル中に２０，０００個の細胞を有する不透明壁の９６ウェルプレートに接種し、そして、一晩培養した。その後、細胞を、１時間、レプトマイシンＢの様々な濃度で前処置し、そして、阻害剤の存在下で５．０のＭＯＩにてｖＭｙｘ－ＧＦＰ－Ｔｄｔｏｍａｔｏに感染させた。その後、ＡＴＰ含有量に基づいて、細胞の生存率を測定した。感染の６４時間後（ＨＴ－２９細胞、図５Ａ）または４０時間後（ＰＡＮＣ－１細胞、図５Ｂ）に、１００ｕｌ　ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ（ｒ）試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ）を添加し、およびプレートリーダを使用して発光を記録することによって、ＡＴＰ含有量を測定した。示されたデータは、平均＋／－ＳＤ（ｎ＝３または４）を表わす。

【０１１０】

結果は、表示された時点において、ＨＴ２９細胞とＰＡＮＣ－１細胞の両方は、レプトマイシンＢ処置にだけ感受性があることを示した。レプトマイシンＢの濃度を増加させると、細胞の生存率は減少した。これらの時点（ＨＴ２９については感染の６４時間後およびＰＡＮＣ－１については感染の４０時間後）では、また、ＭＹＸＶだけが、４０～５０％まで細胞の生存率を減少させた。しかしながら、レプトマイシンＢによるＨＴ２９細胞とＰＡＮＣ－１細胞の両方の前処理は、これらのヒト癌細胞株の生存率をさらに低下させた。興味深いことに、ＨＴ２９細胞株において、最小の細胞の生存率に影響したレプトマイシンＢの最低の濃度は、ＭＹＸＶで組み合わせた後、ＭＹＸＶの細胞死滅能力をさらに増強した。総合するとこれらの結果は、核細胞質輸送阻害剤は、非許容性のヒト癌細胞株において、ＭＹＸＶ複製を増強するだけでなく、相乗的にＭＹＸＶの細胞死滅能力を増強することを示す。

【０１１１】

実施例４：粘液腫ウイルス（ＭＹＸＶ）と核細胞質輸送阻害剤による腫瘍崩壊のウイルス療法

対象は、癌（例えば、非許容性の血液の癌または固形腫瘍）を有していると確認される。

【０１１２】

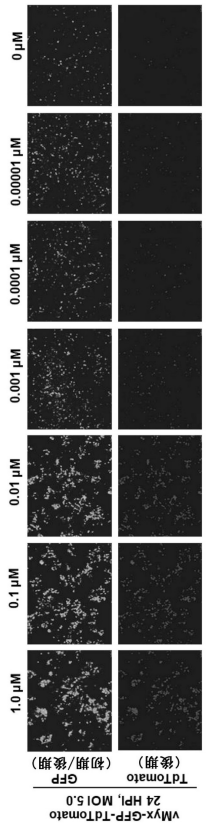
本明細書に開示されるとおり、ヒト癌患者での使用について承認された核細胞質輸送阻害剤であるセリネクソールと組み合わせて、ＭＹＸＶを対象に投与した（例えば、注射または点滴を介して投与）。ＭＹＸＶは、対象における癌細胞に感染し、癌細胞死と抗腫瘍免疫応答の増加に帰結した。核細胞質輸送阻害剤を投与することは、粘液腫ウイルスの癌治療活性を増強し、全身腫瘍組織量の減少とより長い生存に帰結した。

【０１１３】

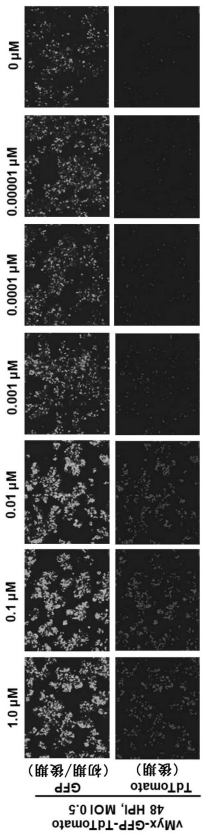
本開示は、特定の実施形態に重点をおいて記載されているが、特定の実施形態の変種が使用されてもよいことは当該技術分野における普通の技術者にとって明白であり、および、特に本明細書に記載されたとおり以外でも、開示が実行され得ることが意図される。特定の態様、実施形態、または実施例とともに記載される本発明の特徴、性質、組成物、または例は、本発明の他の態様、実施形態、または例に適用可能であると理解されるべきである。従って、本開示は、以下の請求項によって定義されるような趣旨と開示の範囲内に包含される改変をすべて含む。従って、本発明はすべて、これらの請求項の範囲および趣旨内にあることを主張する。

【図面】

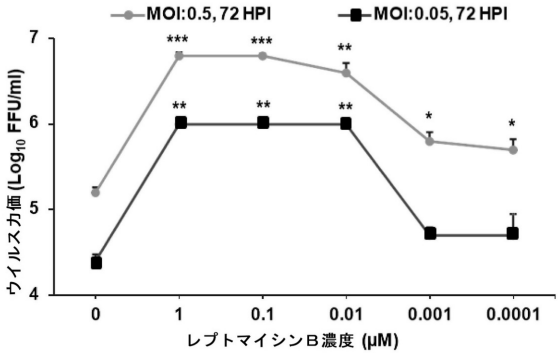
【図１Ａ】



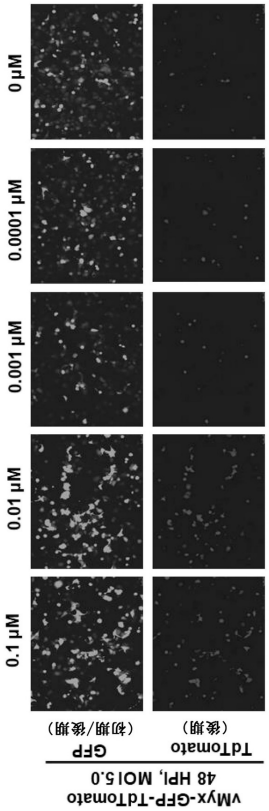
【図１Ｂ】



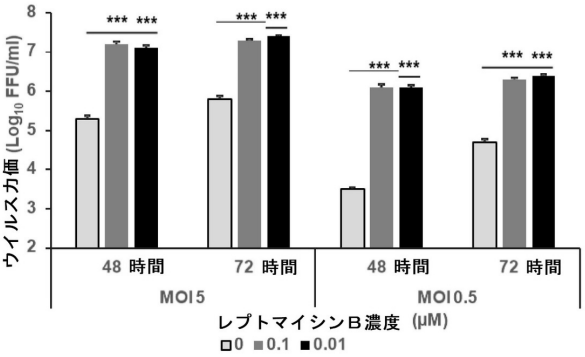
【図２】



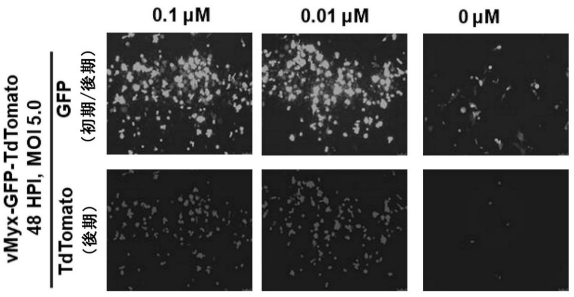
【図３Ａ】



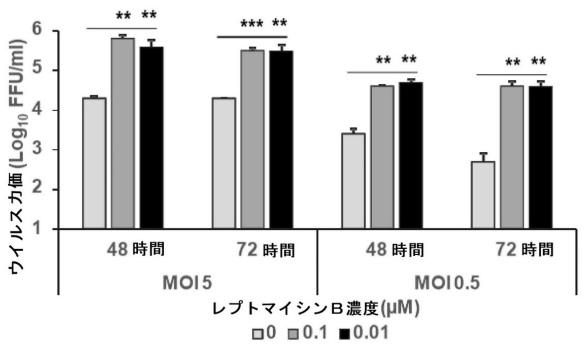
【図３Ｂ】



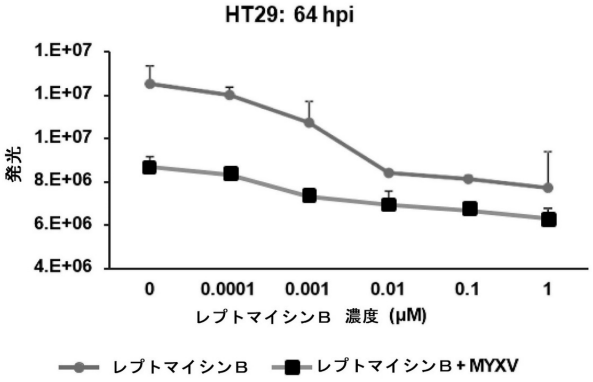
【図４Ａ】



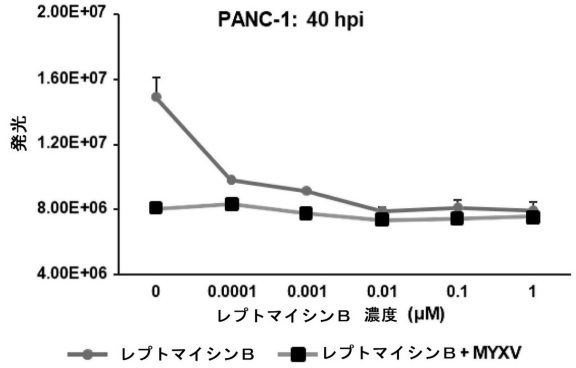
【図４Ｂ】


ウイルス力価 (Log10 FFU/ml)
6
5
4
3
2
1
** **
*** **
** **
** **
48 時間
72 時間
48 時間
72 時間
MOI5
MOI0.5
レプトマイシンB濃度(μM)
0 0.1 0.01

【図５Ａ】


HT29: 64 hpi
発光
1.E+07
1.E+07
1.E+07
8.E+06
6.E+06
4.E+06
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
レプトマイシンB 濃度 (μM)
レプトマイシンB
レプトマイシンB+MYXV

【図５Ｂ】


PANC-1: 40 hpi
発光
2.00E+07
1.60E+07
1.20E+07
8.00E+06
4.00E+06
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
レプトマイシンB 濃度 (μM)
レプトマイシンB
レプトマイシンB+MYXV

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US20/48932

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 35/768; C12N 7/00, A61P 31/00, 35/00 (2020.01)

CPC - A61K 35/768, 2300/00; C12N 7/00, 2710/10032, A61P 31/00, 35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2014/0134134 A1 (ROBARTS RESEARCH INSTITUTE) 15 May 2014;	1-3, 28-33, 60-62
Y	(BACHMANN, RA et al.) A Nuclear Transport Signal in Mammalian Target of Rapamycin Is Critical for Its Cytoplasmic Signaling to S6 Kinase 1. The Journal of Biological Chemistry. Vol. 281, No. 11, pp. 7357–7363, March 17, 2006	1-3, 28-33, 60-62
X	(HOU, J.) Interactions of Vaccinia virus with the host cell. Thesis. The University of Edinburgh. 18 July 2017. Abstract. Retrieved from the Internet: <URL: http://hdl.handle.net/1842/22898>	1-3, 28-33
A	US 10,238,700 B2 (GENELUX CORPORATION) 26 March 2019; entire document	1-3, 28-33, 60-62
A	US 2012/0100109 A1 (ZHANG, X et al.) 26 April 2012; entire document	1-3, 28-33, 60-62

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
11 November 2020 (11.11.2020)	09 DEC 2020
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US20/48932

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 4-27, 34-59, 63-75
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)国際特許分類	FI	テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ　31/366(2006.01)	Ａ６１Ｋ　31/366	

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

アメリカ合衆国 ８５２５７－９９０８ アリゾナ州 スコッツデイル ノース・スコッツデイル・ロード １４７５ スカイソング スイート ２００

(72)発明者 ラフマーン，モハメド マスムズール

アメリカ合衆国 ８５２５７－９９０８ アリゾナ州 スコッツデイル ノース・スコッツデイル・ロード １４７５ スカイソング スイート ２００

Ｆターム（参考） 4C084 AA19 AA20 MA02 MA55 MA66 NA05 ZB26 ZC02
4C086 AA01 AA02 BA17 MA02 MA03 MA04 MA55 MA66 NA05 ZB26 ZC02
4C087 AA01 AA02 BB37 BB44 BB65 BC83 CA04 CA12 MA02 MA55 MA66 NA05 ZB26 ZC02