

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5623016号
(P5623016)

(45) 発行日 平成26年11月12日 (2014.11.12)

(24) 登録日 平成26年10月3日 (2014.10.3)

(51) Int. Cl.

F 1

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 Z N A

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 31/519 (2006.01)

A 6 1 K 31/519

A 6 1 K 31/513 (2006.01)

A 6 1 K 31/513

A 6 1 K 31/7068 (2006.01)

A 6 1 K 31/7068

請求項の数 43 (全 65 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2008-543513 (P2008-543513)
 (86) (22) 出願日 平成18年12月1日 (2006.12.1)
 (65) 公表番号 特表2009-519242 (P2009-519242A)
 (43) 公表日 平成21年5月14日 (2009.5.14)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2006/046111
 (87) 国際公開番号 W02007/064945
 (87) 国際公開日 平成19年6月7日 (2007.6.7)
 審査請求日 平成21年12月1日 (2009.12.1)
 (31) 優先権主張番号 60/741, 229
 (32) 優先日 平成17年12月1日 (2005.12.1)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 60/778, 304
 (32) 優先日 平成18年3月2日 (2006.3.2)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 506400683
 プロネイ・セラピューティクス・インコー
 ポレイテッド
 PRONAI THERAPEUTICS
 , INC.
 アメリカ合衆国49008-5605ミシ
 ガン州カラマズー、スウィート1100、
 キャンパス・ドライブ4717番
 (74) 代理人 100081422
 弁理士 田中 光雄
 (74) 代理人 100084146
 弁理士 山崎 宏
 (74) 代理人 100106518
 弁理士 松谷 道子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌治療法およびそれに用いる医薬組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

オリゴヌクレオチド化合物および化学療法薬を含む癌の治療用医薬組成物、ここで、オリゴヌクレオチド化合物は、配列番号1250または1251からなるオリゴマーであり、化学療法薬は、代謝拮抗薬、アントラサイクリン、カンプトテシン、パクリタキセル、タキソテール、タキソール、上皮増殖因子受容体 (EGFR) 阻害剤、免疫治療薬、キナーゼ阻害剤、アルキル化剤、およびプレドニゾンから選択される。

【請求項 2】

化学療法薬が代謝拮抗薬を含む請求項 1の組成物。

【請求項 3】

代謝拮抗薬が、メトトレキサート、5-フルオロウラシル、ゲムシタビン、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、フルダラビン、クラドリビン、シタラビン、またはそれらの組合せを含む請求項 2の組成物。

【請求項 4】

化学療法薬がアントラサイクリンを含む請求項 1の組成物。

【請求項 5】

アントラサイクリンが、ダウノルビシン、ドキソルビシン、イダルビシン、エピルビシン、ミトキサントロン またはそれらの組合せを含む請求項 4の組成物。

【請求項 6】

化学療法薬が、パクリタキセル、タキソテール、タキソールまたはそれらの組合せを含

む請求項 1の組成物。

【請求項 7】

化学療法薬がカンプトテシンを含む請求項 1の組成物。

【請求項 8】

カンプトテシンが、イリノテカン、トポテカン、エトポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビン、またはそれらの組合せを含む請求項 7の組成物。

【請求項 9】

化学療法薬がEGFR 阻害剤を含む請求項 1の組成物。

【請求項 10】

EGFR 阻害剤が、ゲフィチニブ、エルロチニブ、セツキシマブまたはそれらの組合せを含む請求項 9の組成物。 10

【請求項 11】

化学療法薬が1以上の免疫治療薬を含む請求項 1の組成物。

【請求項 12】

免疫治療薬が、リツキシマブ、トシツモマブ、イブリツモマブ、ベバシズマブまたはそれらの組合せを含む請求項 11の組成物。

【請求項 13】

化学療法薬が1以上のキナーゼ阻害剤を含む請求項 1の組成物。

【請求項 14】

キナーゼ阻害剤がメシル酸イマチニブ、レフルノミド、ミドスタウリンまたはそれらの組合せを含む請求項 13の組成物。 20

【請求項 15】

化学療法薬が免疫治療薬、アルキル化剤、アントラサイクリン、カンプトテシンおよびプレドニゾンを含む混合物を含む請求項 1の組成物。

【請求項 16】

化学療法薬がリツキシマブ、アルキル化剤、アントラサイクリン、カンプトテシンおよびプレドニゾンを含む混合物を含む請求項 15の組成物。

【請求項 17】

化学療法薬がリツキシマブ、シクロフォスファミド、アントラサイクリン、カンプトテシンおよびプレドニゾンを含む混合物を含む請求項 16の組成物。 30

【請求項 18】

化学療法薬がリツキシマブ、シクロフォスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチンおよびプレドニゾンを含む混合物である請求項 17の組成物。

【請求項 19】

オリゴマーが配列番号1251からなる請求項 1-18のいずれかの組成物。

【請求項 20】

さらなるオリゴマーをさらに含む請求項 1-19のいずれかの組成物。

【請求項 21】

さらなるオリゴマーが、第一のオリゴマーとは異なり、かつ配列番号1250-1253および1267-1477のいずれかからなる、請求項 20の組成物。 40

【請求項 22】

さらなるオリゴマーが配列番号940または配列番号943からなる請求項 20の組成物。

【請求項 23】

さらなるオリゴマーが配列番号2-281、283-461、463-935、937-1080、および1082-1248からなる群から選択される請求項 20の組成物。

【請求項 24】

オリゴヌクレオチドが15～35 塩基対の長さである請求項 1-23のいずれかの組成物。

【請求項 25】

オリゴヌクレオチドがホスホロチオラートバックボーンを有する請求項 1-24のいずれかの組成物。 50

【請求項 26】

化学療法薬がリツキシマブ、シクロフォスファミド、アントラサイクリン、カンプトテシン、およびプレドニゾンから選択される請求項 1の医薬組成物。

【請求項 27】

化学療法薬がリツキシマブを含む請求項 26の医薬組成物。

【請求項 28】

放射線療法と組み合わせられる請求項 1-27のいずれかの組成物。

【請求項 29】

癌組織の摘出と組み合わせられる請求項 1-27のいずれかの組成物。

【請求項 30】

配列番号1250または1251からなるオリゴマーであるオリゴヌクレオチド化合物を含む癌の治療用医薬組成物であって、代謝拮抗薬、アントラサイクリン、カンプトテシン、パクリタキセル、タキソテール、タキソール、上皮増殖因子受容体 (EGFR) 阻害剤、免疫治療薬、キナーゼ阻害剤、アルキル化剤、およびプレドニゾンから選択される化学療法薬と併用される、医薬組成物。

10

【請求項 31】

化学療法薬が、リツキシマブ、シクロフォスファミド、アントラサイクリン、カンプトテシン、およびプレドニゾンから選択される、請求項 30の医薬組成物。

【請求項 32】

化学療法薬がリツキシマブ、シクロフォスファミド、アントラサイクリン、カンプトテシンおよびプレドニゾンを含む混合物を含む請求項 30の医薬組成物。

20

【請求項 33】

化学療法薬がリツキシマブを含む請求項 30の医薬組成物。

【請求項 34】

放射線療法と組み合わせられる請求項 30-33のいずれかの医薬組成物。

【請求項 35】

癌組織の摘出と組み合わせられる請求項 30-33のいずれかの医薬組成物。

【請求項 36】

オリゴマーが配列番号1251からなる請求項 30-35のいずれかの医薬組成物。

【請求項 37】

さらなるオリゴマーをさらに含む請求項 30-36のいずれかの医薬組成物。

30

【請求項 38】

さらなるオリゴマーが、第一のオリゴマーとは異なり、かつ配列番号1250-1253および1267-1477のいずれかからなる、請求項 37の医薬組成物。

【請求項 39】

さらなるオリゴマーが配列番号940 または943からなる請求項 37の医薬組成物。

【請求項 40】

さらなるオリゴマーが配列番号2-281、283-461、463-935、937-1080、および1082-1248からなる群から選択される請求項 37の医薬組成物。

【請求項 41】

オリゴヌクレオチドが15 ～ 35 塩基対の長さである請求項 30-40のいずれかの医薬組成物。

40

【請求項 42】

オリゴヌクレオチドがホスホロチオラートバックボーンを有する請求項 30-41のいずれかの医薬組成物。

【請求項 43】

有効量の配列番号1251からなるオリゴヌクレオチド化合物および有効量のリツキシマブを含む、癌の治療用医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

50

【0001】

本出願は2005年12月1日出願の米国仮出願第60/741,229号および2006年3月2日出願の米国仮出願第60/778,304からの優先権を主張し、その両方は引用により本明細書に含める。

【0002】

発明の技術分野

本発明は癌治療法およびそれに用いる方法に関する。具体的には、本発明はオリゴマーと別の治療薬を含む癌の組合せ治療法およびそれに用いる方法を提供する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

癌遺伝子は癌生物学の理解における中心概念となっており、治療薬のための価値ある標的を提供しうる。多くのタイプのヒト腫瘍、例えば、リンパ腫および白血病において、癌遺伝子が過剰発現しており、腫瘍形成能と関連しうる(Tsujimoto et al., Science 228:1440-1443 [1985])。例えば、高レベルのヒトbcl-2遺伝子の発現がt(14; 18) 染色体転座を伴うすべてのリンパ腫においてみられており、ほとんどのろ胞性の B細胞リンパ腫および多くの大細胞型非ホジキンリンパ腫が含まれる。高レベルの bcl-2 遺伝子発現はt(14; 18) 染色体転座を有さない特定の白血病においてもみられており、例えば、多くの場合の慢性リンパ球性白血病急性、多くのプレB細胞型リンパ球性白血病、神経芽細胞腫、上咽頭癌、多くの前立腺、乳房および結腸腺癌が含まれる (Reed et al., Cancer Res. 51:6529 [1991]; Yunis et al., New England J. Med. 320:1047; Campos et al., Blood 81:3091-3096 [1993]; McDonnell et al., Cancer Res. 52:6940-6944 [1992]; Lu et al., Int. J Cancer 53:29-35 [1993]; Bonner et al., Lab Invest. 68:43A [1993]。その他の癌遺伝子としてはTGF- α 、c-k-ras、ras、her-2 およびc-mycが挙げられる。

【0004】

癌遺伝子発現を含む遺伝子発現は、プロモーター機能に干渉する分子によって阻害することが出来る。したがって、癌遺伝子の発現は一本鎖オリゴヌクレオチドによって阻害しうる。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

癌の治療には典型的には、化学治療薬およびしばしば放射線療法が含まれる。しかし多くの場合において、現存の治療は有効ではなく、即ち、癌を治癒させない。したがって、より有効な癌の治療が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0006】

発明の概要

概して、本発明は癌を治療するための共治療法およびそれを用いる方法に関する。一つの側面において、本発明は、配列番号1249 またはその相補鎖にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド化合物およびもう一つの癌療法 (例えば、化学療法薬、放射線、外科手術等)を含む共治療法を提供する。

【0007】

別の側面において、本発明は、オリゴヌクレオチド化合物および化学療法薬を含む医薬組成物を提供し、ここでオリゴヌクレオチド化合物は、生理条件下で、配列番号1249、配列番号936 またはそれらの相補鎖にハイブリダイズするオリゴマーである。一つの態様において、化学療法薬は代謝拮抗薬を含む。代謝拮抗薬は、メトトレキサート(methotrexate)、5-フルオロウラシル、ゲムシタビン、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、フルダラビン、クラドリビン、シタラビン またはそれらの組合せを含みうる。

【0008】

別の態様において、化学療法薬はアントラサイクリンを含む。アントラサイクリンには

、ダウノルビシン、ドキソルビシン、イダルビシン、エピルビシン、ミトキサントロンまたはそれらの組合せが含まれうる。

【0009】

さらに別の態様において、化学療法薬はタキサンを含む。タキサンは、パクリタキセル、ドセタキセル、タキソテール（商標）、タキソールまたはそれらの組合せを含みうる。

【0010】

さらに別の態様において、化学療法薬はカンプトテシンを含む。カンプトテシンは、イリノテカン、トポテカン、エトポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビンまたはそれらの組合せを含みうる。

【0011】

さらに別の態様において、化学療法薬はEGFR 阻害剤を含む。EGFR 阻害剤はゲフィチニブ、エルロチニブ、セツキシマブまたはそれらの組合せを含みうる。

【0012】

別の態様において、化学療法薬は1以上の免疫治療薬を含む。免疫治療薬には、リツキシマブ、トシツモマブ、イブリツモマブ、ベバシズマブまたはそれらの組合せが含まれうる。

【0013】

さらなる態様において、化学療法薬は1以上のキナーゼ阻害剤を含む。チロシンキナーゼ阻害剤には、メシル酸イマチニブ、レフルノミドおよびミドスタウリンが含まれうる。

【0014】

さらなる態様において、化学療法薬は、免疫治療薬、アルキル化剤、アントラサイクリン、カンプトテシンおよびプレドニゾンを含む混合物を含む。免疫治療薬はリツキシマブを含み得、アルキル化剤はシクロフォスファミドを含み得、アントラサイクリンはドキソルビシンを含み得、カンプトテシンはビンクリスチンを含みうる。

【0015】

別の態様において、オリゴマーは、生理条件下で配列番号1249のヌクレオチド500-2026、500-1525、800-1225、900-1125、950-1075または970-1045またはそれらの相補鎖にハイブリダイズするオリゴマーを含みうる。さらに別の態様において、オリゴマーは配列番号1250、1251、1252、1253、1267-1477 またはそれらの相補鎖を含みうる。さらなる態様において、オリゴマーは配列番号936のヌクレオチド 1-650またはその相補鎖に生理条件下でハイブリダイズするオリゴマーを含む。別の態様において、オリゴマーは配列番号940、943 またはそれらの相補鎖を含む。

【0016】

別の態様において、オリゴマーはさらなるオリゴマーを含む。さらなるオリゴマーは配列番号1250-1253、1267-1477、2-281、283-461、463-935、937-1080、1082-1248 およびそれらの相補鎖のいずれかを含みうる。

【0017】

さらに別の態様において、オリゴヌクレオチドは 15 ～35 塩基対の長さである。さらに別の態様において、オリゴヌクレオチドはホスホロチオエートバックボーンを有する。

【0018】

別の側面において、本発明は、患者に有効量のオリゴヌクレオチド化合物を投与することおよび患者に有効量の化学療法薬を投与することを含む癌の治療方法を提供する。

【0019】

この側面の一つの態様は、リツキシマブ、シクロフォスファミド、アントラサイクリン、カンプトテシンおよびプレドニゾンを含む混合物を含む化学療法薬を含む。別の態様において、化学療法薬はリツキシマブを含む。別の態様はさらに患者に放射線療法を投与することを含む。また別の態様はさらに癌組織を患者から切り出すことを含む。

【0020】

この側面の他の態様は、生理条件下で、配列番号1249、配列番号936 またはそれらの相

10

20

30

40

50

補鎖とハイブリダイズするオリゴマーを含みうるオリゴヌクレオチド化合物を含む。別の態様は、生理条件下で配列番号1249のヌクレオチド 500-2026、500-1525、800-1225、900-1125、950-1075 または970-1045またはそれらの相補鎖とハイブリダイズするオリゴマーを含む。さらに別の態様は、配列番号1250、1251、1252、1253、1267-1477、2-281、283-461、463-935、937-1080、1082-1248 およびそれらの相補鎖から選択されるオリゴマーを含む。

【0021】

別の態様において、方法はさらにさらなるオリゴマーを投与することを含む。さらなるオリゴマーは配列番号1250-1253、1267-1477、2-281、283-461、463-935、937-1080、1082-1248 およびそれらの相補鎖のいずれかを含みうる。

10

【0022】

さらに別の態様において、オリゴヌクレオチドは15 ～35 塩基対の長さである。さらに別の態様において、オリゴヌクレオチドはホスホロチオエートバックボーンを有する。

【0023】

第三の側面において、本発明は患者に有効量の配列番号1251を含むオリゴヌクレオチド化合物を投与することおよび患者に有効量のリツキシマブを投与することを含む癌の治療方法を提供する。

【0024】

図面の簡単な説明

図 1は、配列番号1251およびタキソテール（商標）による治療の後のPC-3 GFP 前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均腫瘍体積を示す。

20

【0025】

図 2は、配列番号1251およびタキソテール（商標）による治療の後のPC-3 GFP 前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均最終腫瘍体積を示す。

【0026】

図 3は、配列番号1251およびタキソテール（商標）による治療の後のPC-3 異種移植片における腫瘍サイズのパーセンテージ上昇を示す。

【0027】

図 4は、リポソーム PNT-100およびドセタキセルに対するマウスにおけるPC-3 腫瘍の応答を示す。

30

【0028】

図 5は、静脈内ボラス投与により送達されたりポソーム PNT-100 およびドセタキセルに対するマウスにおけるPC-3 腫瘍の応答を示す。

【0029】

図 6は、静脈内ボラス投与およびゆっくりとした注入により送達されたりポソーム PNT-100およびドセタキセルに対するマウスにおけるPC-3 腫瘍の応答を示す。

【0030】

図 7は、PNT-100およびリツキシマブに対するダウディ 異種移植片の応答を示す。

【0031】

図 8は、ダウディ 異種移植片の PNT-100およびリツキシマブに対する応答のカプラン・マイヤープロットを示す。

40

【0032】

図 9は、PNT-100および/またはリツキシマブにより治療されたダウディ 異種移植片担持マウスの体重変化を示す。

【0033】

詳細な説明

I. 定義

本明細書において用いる場合、「化学療法薬」は、悪性細胞および組織を破壊または阻害する目的の非オリゴヌクレオチドに基づく細胞傷害性薬物または非オリゴヌクレオチドに基づく細胞傷害性薬物の混合物である。

50

【0034】

本明細書において用いる場合、「患者」はヒトを含む哺乳類をいう。

【0035】

本明細書において用いる場合、「対象」という用語はあらゆる動物(例えば、哺乳類)をいい、これらに限定されないが、ヒト、非ヒト霊長類、げっ歯類等を含み、特定の治療のレシピエントとなるべきものである。典型的には、「対象」および「患者」という用語はヒト対象に関する場合本明細書において互換的に用いられる。

【0036】

本明細書において用いる場合、「非ヒト動物」という用語はすべての非ヒト動物をいい、これらに限定されないが、脊椎動物、例えば、げっ歯類、非ヒト霊長類、ヒツジ、ウシ、反芻動物、ウサギ目、ブタ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコ、鳥類等および非脊椎動物、例えば、ショウジョウバエおよび線虫が挙げられる。

【0037】

本明細書において用いる場合、有効量とは、処置された患者に対して治療効果を付与するのに必要な量と定義され、典型的には患者の年齢、表面積、体重および症状に基づいて決定される。動物およびヒトのための用量の相互関係(体表面積1平方メートル当たりmgに基づく)はFreireich et al., Cancer Chemother. Rep., 50: 219 (1966)に記載されている。体表面積は患者の身長および体重から概算できる。例えば、Scientific Tables、Geigy Pharmaceuticals、Ardsley、New York、537 (1970)参照。

【0038】

本明細書において用いる場合、「ここで該化学療法薬は標準用量の半分未満にて存在する」という用語は、ヒトへの投与に用いられる標準用量範囲の最小値の半分未満の用量をいう(例えば、50%未満、40%未満、10%未満または1%未満)。ある態様において、標準用量範囲は製造業者によって推奨される用量範囲である。別の態様において、標準用量範囲は当該分野の医者によって用いられる範囲である。さらに別の態様において、標準用量範囲は当該分野のケアの正常標準とされている範囲である。用量範囲内の特定の用量は、例えば対象の年齢、体重および健康ならびに治療される癌のタイプによって決定される。

【0039】

本明細書において用いる場合、「該遺伝子の発現が阻害される条件下」という用語は、本発明のオリゴヌクレオチドが遺伝子(例えば、遺伝子の調節領域)にハイブリダイズし、遺伝子の転写をオリゴヌクレオチドの非存在下での転写レベルと比較して少なくとも10%、少なくとも25%、少なくとも50%、または少なくとも90%阻害する条件をいう。本発明は特定の遺伝子の発現の阻害に限定されない。例示的な遺伝子としては、これらに限定されないが、c-ki-ras、c-Ha-ras、c-myc、her-2、TGF- α 、および bcl-2が挙げられる。

【0040】

本明細書において用いる場合、「該細胞の成長が低下する条件下」という用語は、本発明のオリゴヌクレオチドを細胞(例えば、癌)に投与した場合に細胞の成長速度をオリゴヌクレオチドの非存在下での細胞の成長速度と比較して少なくとも10%、少なくとも25%、少なくとも50%または少なくとも90%低下させる条件をいう。

【0041】

本明細書において用いる場合、「核酸分子」という用語はあらゆる核酸含有分子をいい、これらに限定されないが、DNA または RNAが含まれる。この用語はDNAおよび RNAのあらゆる既知の塩基アナログを含む配列も含む。

【0042】

「遺伝子」という用語は、ポリペプチド、前駆体 またはRNA(例えば、rRNA、tRNA)の産生に必要なコード配列を含む核酸(例えば、DNA) 配列をいう。ポリペプチドは全長コード配列によってコードされてもよいし、全長または断片の所望の活性または機能的性質(例えば、酵素活性、リガンド結合、シグナル伝達、免疫原性等)が保持される限りコード配列のいずれかの部分によってコードされてもよい。この用語はまた構造遺伝子のコード領域および、遺伝子が全長 mRNAの長さに対応するように5' および 3' 末端の両方でコー

10

20

30

40

50

ド領域に隣接して位置する各末端で約 1 kb以上の距離にわたる配列を含む。コード領域の5'に位置し、mRNAの上に存在する配列は5' 非翻訳配列と称される。コード領域の3'または下流に位置しmRNAの上に存在する配列は3' 非翻訳配列と称される。「遺伝子」という用語は遺伝子のcDNAとゲノム形態の両方を含む。遺伝子のゲノム形態またはクローンは「イントロン」または「介在領域」または「介在配列」と称される非コード配列に分断されたコード領域を含む。イントロンは核内RNA (hnRNA)に転写される遺伝子のセグメントである；イントロンは調節要素、例えば、エンハンサーを含みうる。イントロンは核内または一次転写産物から除去または「スプライスアウト」される；イントロンはそれゆえメッセンジャー RNA (mRNA) 転写産物には存在しない。翻訳の際にmRNAは新生ポリペプチドにおける配列即ちアミノ酸の順序を特定するよう機能する。

10

【0043】

本明細書において用いる場合、遺伝子の「調節領域」は遺伝子の発現を調節する遺伝子のあらゆる部分であり、これらに限定されないが、転写調節および翻訳調節が含まれる。かかる領域にはこれらに限定されないが、遺伝子の5'および3'領域、調節因子の結合部位、例えば、これらに限定されないが転写因子結合部位が含まれる。かかる領域にはまた、領域が遺伝子発現の調節になんらかの様式で関与する限り、翻訳開始部位の上流または下流の20,000以上の塩基対である領域が含まれる。かかる領域は20 塩基対といった短いものでありうるし、数千塩基対といった長いものであることもある。

【0044】

本明細書において用いる場合、「異種遺伝子」という用語は、その天然環境にはない遺伝子をいう。例えば、異種遺伝子はある種由来の別の種に導入された遺伝子を含む。異種遺伝子はなんらかの様式で変化した生物にネイティブな遺伝子も含む（例えば、突然変異した、複数コピー追加された、ネイティブでない調節配列に連結した等）。異種遺伝子は、異種遺伝子配列は典型的には染色体における遺伝子配列には天然には付随していない、または天然にみられない染色体の部分(例えば、遺伝子が通常発現していない座位で発現する遺伝子)に付随しているDNA 配列に結合している点で内在遺伝子とは区別される。

20

【0045】

本明細書において用いる場合、「遺伝子発現」という用語は、遺伝子にコードされる遺伝情報をRNA（例えば、mRNA、rRNA、tRNA、または snRNA)に遺伝子の「転写」を介して(即ち、RNA ポリメラーゼの酵素作用を介して)、および、タンパク質をコードする遺伝子を、mRNAの「翻訳」を介してタンパク質に変換する過程をいう。遺伝子発現はかかる過程の多くの段階で調節されうる。「上方制御」または「活性化」は遺伝子発現産物(即ち、RNA またはタンパク質)の産生を上昇させる調節をいい、「下方制御」または「抑制」は産生を低下させる調節をいう。上方制御または下方制御に関与する分子(例えば、転写因子)はしばしば「活性化因子」および「抑制因子」とそれぞれ称される。

30

【0046】

イントロンを含むのに加えて、ゲノム形態の遺伝子は、RNA 転写産物に存在する配列の5'および3'末端の両方の上に位置する配列を含みうる。かかる配列は「隣接」配列または領域と称される(これら隣接配列はmRNA 転写産物の上に存在する非翻訳配列に対して5'または3'に位置する)。5' 隣接領域は遺伝子の転写を制御または影響する調節配列、例えば、プロモーターおよびエンハンサーを含みうる。3' 隣接領域は、転写終結、転写後切断およびポリアデニル化を導く配列を含みうる。

40

【0047】

「野生型」という用語は、天然源から単離された遺伝子または遺伝子産物をいう。野生型遺伝子は集団においてもっとも高頻度に観察されるものであり、所望により遺伝子の「正常」または「野生型」形態と称される。一方、「修飾」または「突然変異」という用語は、野生型遺伝子または遺伝子産物と比較して配列および/または機能的性質に修飾を示す(即ち特徴が変化している)遺伝子または遺伝子産物をいう。天然の突然変異も単離されうることに注意されたい；これらは野生型遺伝子または遺伝子産物と比較して変化した特徴を有するという事実により同定される（例えば、核酸配列の変化）。

50

【0048】

本明細書において用いる場合、「遺伝子をコードするヌクレオチド配列を有するオリゴヌクレオチド」および「遺伝子をコードするヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチド」という用語は、遺伝子のコード領域を含む核酸配列あるいは別の言葉では遺伝子産物をコードする核酸配列を意味する。コード領域はcDNA、ゲノム DNAまたはRNA形態にて存在しうる。DNA形態で存在する場合、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドは、一本鎖（即ち、センス鎖）または二本鎖であり得る。好適な制御要素、例えば、エンハンサー/プロモーター、スプライスジャンクション、ポリアデニル化シグナル等は、正しい転写開始および/または一次RNA 転写産物の正しいプロセッシングに必要な場合、遺伝子のコード領域に近接して配置されうる。あるいは、本発明の発現ベクターに利用されるコード領域は内在性エンハンサー/プロモーター、スプライスジャンクション、介在配列、ポリアデニル化シグナル等または内在性および異種制御要素の両方の組合せを含みうる。

10

【0049】

本明細書において用いる場合、「オリゴヌクレオチド」という用語は短い長さの一本鎖ポリヌクレオチド鎖をいう。オリゴヌクレオチドは典型的には 200 残基未満の長さであるが(例えば、8~100)、本明細書において用いる場合、この用語はより長いポリヌクレオチド鎖（例えば、5000 残基程度）も含む意図である。オリゴヌクレオチドはしばしばその長さによって称される。例えば、24 残基 オリゴヌクレオチドは「24-mer」と称される。オリゴヌクレオチドは自己ハイブリダイズまたはその他のポリヌクレオチドとのハイブリダイズによって二次および三次構造を形成しうる。かかる構造には、これらに限定されないが、二本鎖、ヘアピン、十字型、ベンドおよび三本鎖が含まれる。

20

【0050】

ある態様において、オリゴヌクレオチドは「アンチジーン」である。本明細書において用いる場合、「アンチジーン」という用語は、遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドをいう。ある態様において、アンチジーンのプロモーターへのハイブリダイゼーションは遺伝子の発現を阻害する。

【0051】

本明細書において用いる場合、「相補的」または「相補性」という用語は塩基対形成則によって関連するポリヌクレオチド（即ちヌクレオチド配列）に言及する場合に用いられる。例えば、配列「A-G-T」は配列「T-C-A」に相補的である。相補性は「部分的」であってもよく、この場合、核酸塩基のいくつかのみが塩基対形成則にしたがってマッチする。あるいはそれは核酸間の「完全」または「トータル」な相補性であってもよい。核酸鎖の間の相補性の程度は核酸鎖の間のハイブリダイゼーションの効率および強度に顕著な影響を有する。これは増幅反応ならびに核酸の間の結合に依存する検出方法において特に重要である。

30

【0052】

本明細書において用いる場合、「完全に相補的」という用語は、例えば本発明のオリゴヌクレオチドについて用いる場合、ヌクレオチドのすべてが標的配列(例えば、遺伝子)に相補的であるオリゴヌクレオチドをいう。

【0053】

本明細書において用いる場合、「部分的に相補的」という用語は、例えば本発明のオリゴヌクレオチドについて用いる場合、少なくとも1つのヌクレオチドが標的配列に相補的ではないオリゴヌクレオチドをいう。例示的な部分的に相補的なオリゴヌクレオチドは生理条件下で標的配列にハイブリダイズすることができるものである。「部分的に相補的」という用語はオリゴヌクレオチドの内部またはいずれかの末端に1以上の非相補的ヌクレオチドの領域を有するオリゴヌクレオチドをいう。末端にミスマッチを有するオリゴヌクレオチドは標的配列にハイブリダイズすることが可能である。

40

【0054】

「相同性」という用語は相補性の程度を言う。部分的相同性または完全相同性（即ち、同一性）があり得る。部分的に相補的な配列は完全に相補的な核酸分子が標的核酸へハイ

50

ブリダイズするのを少なくとも部分的に阻害する核酸分子であって、「実質的に相同的」である。完全に相補的な配列の標的配列へのハイブリダイゼーションの阻害はハイブリダイゼーションアッセイ（サザンまたはノザンブロット、溶液ハイブリダイゼーション等）を用いて低いストリンジェンシーの条件下で調べることが出来る。実質的に相同的な配列またはプローブは完全に相同的な核酸分子の標的への結合（即ちハイブリダイゼーション）について低いストリンジェンシーの条件下で競合および阻害する。これは低いストリンジェンシーの条件が非特異的結合を許容するという意味ではな；低いストリンジェンシーの条件は2つの配列の互いへの結合が特異的（即ち、選択的）相互作用であることを必要とする。非特異的結合の非存在は実質的に非相補的（例えば、約 30%未満の同一性）である第二の標的の使用により試験できる；非特異的結合の非存在下では、プローブは第二の非相補的標的にハイブリダイズしない。

10

【0055】

二本鎖核酸配列、例えば、cDNAまたはゲノムクローンについて用いる場合、「実質的に相同的」という用語は、上記のように低いストリンジェンシーの条件下で二本鎖核酸配列の一方または両方の鎖にハイブリダイズすることができるプローブをいう。

【0056】

一本鎖核酸配列について用いる場合、「実質的に相同的」という用語は、上記のように低いストリンジェンシーの条件下で一本鎖核酸配列にハイブリダイズできる（即ちそれが相補鎖である）プローブをいう。

【0057】

20

本明細書において用いる場合、「ハイブリダイゼーション」という用語は相補的核酸の対形成について用いられる。ハイブリダイゼーションおよびハイブリダイゼーションの強度（即ち、核酸の間の結合強度）は核酸間の相補性の程度、関与する条件のストリンジェンシー、形成されるハイブリッドの T_m 、および核酸内の G:C比などの因子に影響される。その構造内に相補的核酸の対形成を含む一分子は「自己ハイブリダイズしている」といわれる。

【0058】

本明細書において用いる場合、「 T_m 」という用語は「融解温度」について用いられる。融解温度は二本鎖核酸分子の集団の半分が解離して一本鎖となる温度である。核酸の T_m の計算式は当該技術分野で周知である。標準的参考文献に示されるように、 T_m 値の簡単な評価は $T_m = 81.5 + 0.41(\% G + C)$ という式により計算でき、ここで核酸は1 M NaCl水溶液中にある（例えば、Anderson and Young, Quantitative Filter Hybridization, in Nucleic Acid Hybridization [1985]参照）。その他の参考文献は T_m の計算に構造および配列特性を考慮するより洗練された式を含む。

30

【0059】

本明細書において用いる場合、「ストリンジェンシー」という用語は、核酸ハイブリダイゼーションが行われる、温度、イオン強度、およびその他の化合物、例えば、有機溶媒の存在といった条件について用いられる。「低いストリンジェンシーの条件」下では、目的核酸配列はその正確な相補鎖、一塩基ミスマッチを有する配列、非常に近い配列（例えば、90% またはそれ以上の同一性を有する配列）、および部分的同一性のみを有する配列（例えば、50-90% 同一性の配列）にハイブリダイズする。「中程度にストリンジェントな条件」下では、目的核酸配列は、その正確な相補鎖、一塩基ミスマッチを有する配列、および非常に近い配列（例えば、90% またはそれ以上の同一性）にのみハイブリダイズする。「高度にストリンジェントな条件」下では、目的核酸配列はその正確な相補鎖および（温度などの条件に応じて）一塩基ミスマッチを有する配列のみにハイブリダイズする。換言すると、高度にストリンジェントな条件下では一塩基ミスマッチを有する配列へのハイブリダイゼーションを避けるために温度を上げるとよい。

40

【0060】

核酸ハイブリダイゼーションについて用いる場合、「高度にストリンジェントな条件」は、約 500 ヌクレオチドの長さのプローブを用いる場合、5X SSPE (43.8 g/l NaCl, 6.9

50

g/l NaH₂PO₄ H₂Oおよび1.85 g/l EDTA、pHをNaOHにより7.4に調整)、0.5% SDS、5X デンハルト試薬および100 μg/ml 変性サケ精子 DNA からなる溶液中の42℃での結合またはハイブリダイゼーション、次いで0.1X SSPE、1.0% SDSを含む溶液中での42℃での洗浄に匹敵する条件を含む。

【0061】

核酸ハイブリダイゼーションについて用いる場合「中程度にストリンジェントな条件」は、約 500 ヌクレオチドの長さのプローブを用いる場合、5X SSPE (43.8 g/l NaCl、6.9 g/l NaH₂PO₄ H₂O および 1.85 g/l EDTA、pHをNaOHにより7.4に調整)、0.5% SDS、5X デンハルト試薬および100 μg/ml 変性サケ精子 DNA からなる溶液中42℃での結合またはハイブリダイゼーション、次いで1.0X SSPE、1.0% SDSを含む溶液中の42℃での洗浄に匹敵する条件を含む。

10

【0062】

「低いストリンジェンシーの条件」は、約 500 ヌクレオチドの長さのプローブを用いる場合、5X SSPE (43.8 g/l NaCl、6.9 g/l NaH₂PO₄ H₂O および 1.85 g/l EDTA、pHをNaOHにより7.4に調整)、0.1% SDS、5X デンハルト試薬 [50X デンハルトは500 ml当たり以下を含む: 5 g Ficoll (Type 400、Pharmacia)、5 g BSA (Fraction V; Sigma)] および 100 μg/ml 変性サケ精子 DNAからなる溶液中42℃での結合またはハイブリダイゼーション、次いで5X SSPE、0.1% SDS を含む溶液中42℃での洗浄 に匹敵する条件を含む。

【0063】

本発明は約 500 ヌクレオチドの長さのプローブのハイブリダイゼーションに限定されない。本発明はおよそ 8 ヌクレオチドから数千 (例えば、少なくとも 5000) ヌクレオチドの長さのプローブの使用を考慮する。当業者であればストリンジェントな条件をその他のサイズのプローブについて変更できることを理解している (例えば、Anderson and Young, Quantitative Filter Hybridization, in Nucleic Acid Hybridization [1985] and Sambrook et al., Molecular CloningA Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001, and Current Protocols in Molecular Biology, M. Ausubel et al., eds., (Current Protocols, a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., and supplements through 2006参照)。

20

【0064】

多数の同等の条件が低いストリンジェンシーの条件の構成に用いることが出来ることが当該技術分野で周知である; 因子、例えば、プローブの長さおよび性質 (DNA、RNA、塩基組成)および標的の性質 (DNA、RNA、塩基組成、溶液に存在するか固定されているか等) および塩その他の成分の濃度(例えば、ホルムアミド、デキストラン硫酸、ポリエチレングリコールの存在または非存在) が考慮され、ハイブリダイゼーション溶液は上記条件とは異なるが同等の低いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件を作るよう変動しうる。さらに、当該技術分野では高度にストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーションを促進する条件が知られている(例えば、ハイブリダイゼーションおよび/または洗浄工程の温度の上昇、ハイブリダイゼーション溶液におけるホルムアミドの使用など) (「ストリンジェンシー」についての定義参照)。

30

40

【0065】

本明細書において用いる場合、「生理的条件」という用語は動物(例えば、ヒト)の内部に近いまたは同じの特定のストリンジェンシーの条件をいう。インビトロに使用する例示的な生理的条件としては、これらに限定されないが、37℃、95% 空気、5% CO₂、哺乳類細胞培養のための市販培地(例えば、Gibco、MD から入手可能なDMEM 培地)、5-10% 血清 (例えば、ウシ血清またはウマ血清)、さらなるバッファーそして所望により、ホルモン(例えば、インスリンおよび上皮増殖因子)が挙げられる。

【0066】

本明細書において用いる場合、「単離」という用語は、「単離オリゴヌクレオチド」または「単離ポリヌクレオチド」というように核酸について用いる場合、その天然源におい

50

ては通常付随している少なくとも1つの成分または汚染物質から同定および分離されている核酸配列をいう。単離核酸はそれが天然でみられるものとは異なる形態または設定において存在する。一方、例えば、DNAやRNA等の核酸といった非単離核酸はそれが天然に存在する状態でみられる。例えば、所与のDNA配列（例えば、遺伝子）は宿主細胞染色体上に隣接遺伝子に近接してみられ；RNA配列、例えば、特定のタンパク質をコードする特定のmRNA配列は多数のタンパク質をコードする多数のその他のmRNAとの混合物として細胞中にみられる。しかし、所与のタンパク質をコードする単離核酸には、例えば、所与のタンパク質を通常発現する細胞中の核酸であって、その核酸が天然細胞とは異なる染色体位置にある、または天然に見られるものとは異なる核酸配列に隣接されているものが含まれる。単離核酸、オリゴヌクレオチド、またはポリヌクレオチドは一本鎖または二本鎖形態で存在しうる。単離核酸、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドをタンパク質の発現に用いる場合、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドは最小限センスまたはコード鎖（即ちオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドは一本鎖であり得る）を含むが、センスおよびアンチセンス鎖の両方を含み得る（即ち、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドは二本鎖であり得る）。

10

【0067】

本明細書において用いる場合、「精製」または「精製する」という用語はサンプルからの成分（例えば、汚染物質）の除去をいう。例えば、組換えポリペプチドは細菌宿主細胞で発現され、ポリペプチドは宿主細胞タンパク質の除去により精製される；組換えポリペプチドのパーセントはそれゆえサンプルにおいて上昇する。

20

【0068】

本明細書において用いる場合、「エピトープ」という用語は、特定の抗体と接触する抗原の部分をいう。

【0069】

タンパク質またはタンパク質の断片を用いて宿主動物を免疫する場合、タンパク質の多数の領域がタンパク質上の所与の領域または三次元構造に特異的に結合する抗体の産生を誘導しうる；これらの領域または構造は「抗原決定基」と称される。抗原決定基は、インタクトな抗原（即ち、免疫応答の誘発に用いた「免疫原」）と抗体への結合について競合しうる。

【0070】

30

本明細書において用いる場合、「ウェスタンブロット」という用語は、支持体、例えば、ニトロセルロースまたはメンブレンに固定化されたタンパク質（またはポリペプチド）の分析をいう。タンパク質はアクリルアミドゲルで泳動されてタンパク質が分離され、次いでタンパク質はゲルから固体支持体、例えば、ニトロセルロースまたはナイロンメンブレンに転写される。固定化されたタンパク質は目的の抗原に対する反応性を有する抗体に曝露される。抗体の結合は、様々な方法、例えば放射標識抗体の使用により検出できる。

【0071】

本明細書において用いる場合、「細胞培養」という用語はあらゆるインビトロ細胞培養をいう。この用語には、連続細胞株（例えば、不死表現型のもの）、初代細胞培養、形質転換細胞株、有限細胞株（例えば、非形質転換細胞）、およびあらゆるその他のインビトロで維持されている細胞集団が含まれる。

40

【0072】

本明細書で用いる場合、「真核生物」という用語は「原核生物」と区別される生物をいう。この用語は真核生物の通常の特徴、例えば、核膜によって結合された真の核の存在、その中に存在する染色体、膜結合オルガネラの存在、およびその他の真核生物に通常観察される特徴を示す細胞を有するあらゆる生物を含む意図である。したがってこの用語は、これらに限定されないが、真菌、原生動物、および動物（例えば、ヒト）などの生物を含む。

【0073】

50

本明細書において用いる場合、「インビトロ」という用語は、人工環境および人工環境内で起こる過程または反応をいう。インビトロ環境は、これらに限定されないが、試験管および細胞培養からなりうる。「インビボ」という用語は天然環境（例えば、動物または細胞）および天然環境内で起こる過程または反応をいう。

【0074】

「被験化合物」および「候補化合物」という用語は疾患、病気、不調、または身体機能の障害（例えば、癌）の治療または予防に使用するための候補であるあらゆる化学的実体、医薬、薬物等をいう。被験化合物は既知のおよび潜在的な治療化合物の両方を含む。被験化合物は本発明のスクリーニング方法を用いてスクリーニングにより治療薬であるかどうか判定されうる。本発明のある態様において、被験化合物はアンチセンス化合物を含む。

10

【0075】

本明細書において用いる場合、「化学治療薬」という用語は、疾患(例えば、癌)の治療に有用な化合物をいう。癌に対して有効な例示的な化学治療薬としては、これらに限定されないが、ダウノルビシン、ダクチノマイシン、ドキシソルビシン、ブレオマイシン、マイトマイシン、ナイトロジェンマスタード、クロラムブシル、メルファラン、シクロフォスファミド、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン (CA)、5-フルオロウラシル (5-FU)、フロクスウリジン (5-FUdR)、メトトレキサート (MTX)、コルヒチン、ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド、テニポシド、シスプラチンおよびジエチルスチルベストロール (DES)が挙げられる。

20

【0076】

本明細書において用いる場合、「サンプル」という用語はその最も広い意味で用いられる。一つの意味においてなんらかの源から得た標本または培養物ならびに生物学のおよび環境サンプルを含む意味である。生物学的サンプルは動物（ヒトを含む）から得ることが出来、液体、固体、組織および気体を含む。生物学的サンプルとしては血液産物、例えば、血漿、血清等が挙げられる。環境サンプルとしては、環境物質、例えば、表面物質、土壌、水、結晶および産業サンプルが挙げられる。かかる例はしかし本発明に適用できるサンプルのタイプを限定する意図ではない。

【0077】

本発明の目的では、化学元素は、Periodic Table of the Elements、CAS version、Handbook of Chemistry and Physics、75th Edにしたがって同定される。さらに、有機化学の一般原理は、"Organic Chemistry"、Thomas Sorrell、University Science Books、Sausalito: 1999、および"March's Advanced Organic Chemistry"、5th Ed.、Ed.: Smith, M.B. and March, J.、John Wiley & Sons、New York: 2001に記載されている。

30

【0078】

本明細書において用いる場合、「脂肪族」という用語は、アルキル、アルケニル、アルキニルという用語を含み、そのそれぞれは以下に記載のように置換されていてもよい。

【0079】

本明細書において用いる場合、「アルキル」基は、1-8（例えば、1-6または1-4）の炭素原子を含む飽和脂肪族炭化水素基をいう。アルキル基は直鎖状であっても分枝状であってもよい。アルキル基の例としては、これらに限定されないが、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、n-ヘプチルまたは2-エチルヘキシルが挙げられる。アルキル基は1以上の例えば以下のような置換基によって置換されていてもよい(即ち、任意に置換されている)：ハロ、シクロ脂肪族、ヘテロシクロ脂肪族、アリール、ヘテロアリール、アルコキシ、アロイル、ヘテロアロイル、シクロ脂肪族カルボニル、(ヘテロシクロ脂肪族)カルボニル、ニトロ、シアノ、アミノ、アミド、アシル、スルホニル、スルフィニル、スルファニル、スルフォキシ、ウレア、チオウレア、スルファモイル、スルファミド、オキソ、カルボキシ、カルバモイル、シクロ脂肪族オキシ、ヘテロシクロ脂肪族オキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アラルキルオキシ、ヘテロアリールアルコキシ、またはヒドロキシ。これらに限定

40

50

されないが、置換アルキルの例としては、カルボキシアルキル（例えば、HOOC-アルキル、アルコキシカルボニルアルキルおよびアルキルカルボニルオキシアルキル）、シアノアルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル、アシルアルキル、ヒドロキシアルキル、アラールキル、(アルコキシアリール)アルキル、(スルホニルアミノ)アルキル（例えば、(アルキルスルホニルアミノ)アルキル）、アミノアルキル、アミドアルキル、(シクロ脂肪族)アルキル、シアノアルキル、またはハロアルキルが挙げられる。

【0080】

本明細書において用いる場合、「アルケニル」基とは、2-8(例えば、2-6 または2-4)の炭素原子を含み、少なくとも1つの二重結合を含む脂肪族炭素基をいう。アルキル基と同様に、アルケニル基は直鎖状であっても分枝状であってもよい。アルケニル基の例としては、これらに限定されないが、アリル、イソプレニル、2-ブテニルおよび2-ヘキセニルが挙げられる。アルケニル基は例えば、以下のような1以上の置換基によって置換されていてもよい：ハロ、シクロ脂肪族、ヘテロシクロ脂肪族、アリール、ヘテロアリール、アルコキシ、アロイル、ヘテロアロイル、(シクロ脂肪族)カルボニル、(ヘテロシクロ脂肪族)カルボニル、ニトロ、シアノ、アミノ、アミド、アシル、スルホニル、スルフィニル、スルファニル、スルフォキシ、ウレア、チオウレア、スルファモイル、スルファミド、オキソ、カルボキシ、カルバモイル、(シクロ脂肪族)オキシ、(ヘテロシクロ脂肪族)オキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アラールキルオキシ、(ヘテロアリール)アルコキシ、またはヒドロキシ。

【0081】

本明細書において用いる場合、「アルキニル」基は、2-8（例えば、2-6または2-4）の炭素原子を含み、少なくとも1つの三重結合を有する脂肪族炭素基をいう。アルキニル基は直鎖状であっても分枝状であってもよい。アルキニル基の例としては、これらに限定されないが、プロパルギルおよびブチニルが挙げられる。アルキニル基は例えば、以下のような1以上の置換基によって置換されていてもよい：ハロ、シクロ脂肪族、ヘテロシクロ脂肪族、アリール、ヘテロアリール、アルコキシ、アロイル、ヘテロアロイル、(シクロ脂肪族)カルボニル、(ヘテロシクロ脂肪族)カルボニル、ニトロ、シアノ、アミノ、アミド、アシル、スルホニル、スルフィニル、スルファニル、スルフォキシ、ウレア、チオウレア、スルファモイル、スルファミド、オキソ、カルボキシ、カルバモイル、(シクロ脂肪族)オキシ、(ヘテロシクロ脂肪族)オキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アラールキルオキシ、(ヘテロアリール)アルコキシ、またはヒドロキシ。

【0082】

本明細書において用いる場合、「アミド」には「アミノカルボニル」と「カルボニルアミノ」の両方が含まれる。これらの用語は単独でまたは別の基と組み合わせて用いられて、末端に用いられる場合、アミド基、例えば、 $N(R^X)_2-C(O)-$ または $R^Y C(O)-N(R^X)_2-$ を意味し、内部に用いられる場合 $-C(O)-N(R^X)-$ または $-N(R^X)-C(O)-$ を意味し、ここで R^X および R^Y は以下に定義する。アミド基の例としては、アルキルアミド（例えば、アルキルカルボニルアミノおよびアルキルカルボニルアミノ）、(ヘテロシクロ脂肪族)アミド、(ヘテロアラールキル)アミド、(ヘテロアリール)アミド、(ヘテロシクロアルキル)アルキルアミド、アリールアミド、アラールキルアミド、(シクロアルキル)アルキルアミド、およびシクロアルキルアミドが挙げられる。

【0083】

本明細書において用いる場合、「アミノ」基は $-NR^X R^Y$ をいい、ここで R^X および R^Y のそれぞれは独立に、水素、アルキル、シクロ脂肪族、(シクロ脂肪族)脂肪族、アリール、アラリファティック、ヘテロシクロ脂肪族、(ヘテロシクロ脂肪族)脂肪族、ヘテロアリール、カルボキシ、スルファニル、スルフィニル、スルホニル、(脂肪族)カルボニル、(シクロ脂肪族)カルボニル、((シクロ脂肪族)脂肪族)カルボニル、アリールカルボニル、(アラリファティック)カルボニル、(ヘテロシクロ脂肪族)カルボニル、((ヘテロシクロ脂肪族)脂肪族)カルボニル、(ヘテロアリール)カルボニル、または(ヘテロアラリファティック)カルボニルを意味し、これらはそれぞれ本明細書に定義される通りであり、置換され

ていてもよい。アミノ基の例としては、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、およびアリールアミノが挙げられる。

【0084】

「アミノ」という用語が末端基(例えば、アルキルカルボニルアミノ)ではない場合、それは-NR^X-によって表される。R^Xは上記と同義である。

【0085】

本明細書において用いる場合、「アリアル」基は単独でまたはより大きな部分、例えば「アラルキル」、「アラルコキシ」または「アリアルオキシアルキル」の一部として用いられて、単環式(例えば、フェニル);二環式(例えば、インデニル、ナフタレニル、テトラヒドロナフチル、テトラヒドロインデニル);および三環式(例えば、フルオレニル、テトラヒドロフルオレニル、またはテトラヒドロアントラセニル、アントラセニル)を意味する。二環式 および三環式基には、ベンゾ縮合 2-3 員環炭素環が含まれる。例えば、ベンゾ縮合基には、2 以上の C₄₋₈ 炭素環部分と縮合したフェニルが含まれる。アリアルは 以下を含む 1 以上の置換基により置換されていてもよい：脂肪族 [例えば、アルキル、アルケニルまたはアルキニル];シクロ脂肪族;(シクロ脂肪族)脂肪族;ヘテロシクロ脂肪族;(ヘテロシクロ脂肪族)脂肪族;アリアル;ヘテロアリアル;アルコキシ;(シクロ脂肪族)オキシ;(ヘテロシクロ脂肪族)オキシ;アリアルオキシ;ヘテロアリアルオキシ;(アラリファティック)オキシ;(ヘテロアラリファティック)オキシ;アロイル;ヘテロアロイル;アミノ;オキソ(ベンゾ縮合二環式または三環式アリアルの非芳香族炭素環上);ニトロ;カルボキシ;アミド;アシル [例えば、脂肪族カルボニル;(シクロ脂肪族)カルボニル;((シクロ脂肪族)脂肪族)カルボニル;(アラリファティック)カルボニル;(ヘテロシクロ脂肪族)カルボニル;((ヘテロシクロ脂肪族)脂肪族)カルボニル;および(ヘテロアラリファティック)カルボニル];スルホニル [例えば、脂肪族スルホニルおよびアミノスルホニル];スルフィニル [例えば、脂肪族スルフィニル];スルファニル [例えば、脂肪族スルファニル];ニトロ;シアノ;ハロ;ヒドロキシル;メルカプト;スルフォキシ;ウレア;チオウレア;スルファモイル;スルファミド;およびカルバモイル。あるいは アリアルは非置換でもよい。

【0086】

置換アリアルの非限定的な例としては、以下が挙げられる：ハロアリアル [例えば、モノ-,ジ(例えば、p,m-ジハロアリアル)、および(トリハロ)アリアル];(カルボキシ)アリアル [例えば、(アルコキシカルボニル)アリアル、((アリアルアルキル)カルボニルオキシ)アリアル、および(アルコキシカルボニル)アリアル];(アミド)アリアル [例えば、(アミノカルボニル)アリアル、(((アルキルアミノ)アルキル)アミノカルボニル)アリアル、(アルキルカルボニル)アミノアリアル、(アリアルアミノカルボニル)アリアル、および(((ヘテロアリアル)アミノ)カルボニル)アリアル];アミノアリアル [例えば、((アルキルスルホニル)アミノ)アリアルおよび ((ジアルキル)アミノ)アリアル];(シアノアルキル)アリアル;(アルコキシ)アリアル;(スルファモイル)アリアル [例えば、(アミノスルホニル)アリアル];(アルキルスルホニル)アリアル;(シアノ)アリアル;(ヒドロキシアルキル)アリアル;((アルコキシ)アルキル)アリアル;(ヒドロキシル)アリアル、((カルボキシ)アルキル)アリアル;(((ジアルキル)アミノ)アルキル)アリアル;(ニトロアルキル)アリアル;(((アルキルスルホニル)アミノ)アルキル)アリアル;((ヘテロシクロ脂肪族)カルボニル)アリアル;((アルキルスルホニル)アルキル)アリアル;(シアノアルキル)アリアル;(ヒドロキシアルキル)アリアル;(アルキルカルボニル)アリアル;アルキルアリアル;(トリハロアルキル)アリアル;p-アミノ-m-アルコキシカルボニルアリアル;p-アミノ-m-シアノアリアル;p-ハロ-m-アミノアリアル;および(m-(ヘテロシクロ脂肪族)-o-(アルキル))アリアル。

【0087】

本明細書において用いる場合、「アラリファティック」、例えば、「アラルキル」基は、アリアル基で置換された脂肪族基(例えば、C₁₋₄ アルキル 基)をいう。「脂肪族」、「アルキル」および「アリアル」は上記定義の通りである。アラリファティック、例えば、

アラルキル基の例は、ベンジルである。

【0088】

本明細書において用いる場合、「二環系」は、2つの環を形成する8-12(例えば、9、10、または11)員環構造を含み、ここで2つの環は少なくとも1原子を共有する(例えば、2原子を共有する)。二環系にはビシクロ脂肪族(例えば、ビシクロアルキルまたはビシクロアルケニル)、ビシクロヘテロ脂肪族、二環式アリールおよび二環式ヘテロアリールが含まれる。

【0089】

本明細書において用いる場合、「シクロ脂肪族」基には、「シクロアルキル」基と「シクロアルケニル」基が含まれ、そのそれぞれは以下に示すように置換されていてもよい。

【0090】

本明細書において用いる場合、「シクロアルキル」基は3-10(例えば、5-10)炭素原子の飽和炭素環単環または二環式(縮合または架橋)環をいう。シクロアルキル基の例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、アダマンチル、ノルボニル、キュビル、オクタヒドロ-インデニル、デカヒドロ-ナフチル、ビシクロ[3.2.1]オクチル、ビシクロ[2.2.2]オクチル、ビシクロ[3.3.1]ノニル、ビシクロ[3.3.2.]デシル、ビシクロ[2.2.2]オクチル、アダマンチル、アザシクロアルキル、または((アミノカルボニル)シクロアルキル)シクロアルキルが挙げられる。本明細書において用いる場合、「シクロアルケニル」基は、1以上の二重結合を有する3-10(例えば、4-8)炭素原子の非芳香族炭素環をいう。シクロアルケニル基の例としては、シクロペンテニル、1,4-シクロヘキサ-ジ-エニル、シクロヘプテニル、シクロオクテニル、ヘキサヒドロ-インデニル、オクタヒドロ-ナフチル、シクロヘキセニル、シクロペンテニル、ビシクロ[2.2.2]オクテニル、およびビシクロ[3.3.1]ノネニルが挙げられる。

【0091】

シクロアルキルまたはシクロアルケニル基は1以上の置換基によって置換されていてもよく、置換基としては、例えば、以下が挙げられる：脂肪族[例えば、アルキル、アルケニル、またはアルキニル]、シクロ脂肪族、(シクロ脂肪族)脂肪族、ヘテロシクロ脂肪族、(ヘテロシクロ脂肪族)脂肪族、アリール、ヘテロアリール、アルコキシ、(シクロ脂肪族)オキシ、(ヘテロシクロ脂肪族)オキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、(アラリファティック)オキシ、(ヘテロアラリファティック)オキシ、アロイル、ヘテロアロイル、アミノ、アミド[例えば、(脂肪族)カルボニルアミノ、(シクロ脂肪族)カルボニルアミノ、((シクロ脂肪族)脂肪族)カルボニルアミノ、(アリール)カルボニルアミノ、(アラリファティック)カルボニルアミノ、(ヘテロシクロ脂肪族)カルボニルアミノ、((ヘテロシクロ脂肪族)脂肪族)カルボニルアミノ、(ヘテロアリール)カルボニルアミノ、および(ヘテロアラリファティック)カルボニルアミノ]、ニトロ、カルボキシ[例えば、HOOC-、アルコキシカルボニル、およびアルキルカルボニルオキシ]、アシル[例えば、(シクロ脂肪族)カルボニル、((シクロ脂肪族)脂肪族)カルボニル、(アラリファティック)カルボニル、(ヘテロシクロ脂肪族)カルボニル、((ヘテロシクロ脂肪族)脂肪族)カルボニル、および(ヘテロアラリファティック)カルボニル]、ニトロ、シアノ、ハロ、ヒドロキシ、メルカプト、スルホニル[例えば、アルキルスルホニルおよびアリールスルホニル]、スルフィニル[例えば、アルキルスルフィニル]、スルファニル[例えば、アルキルスルファニル]、スルフォキシ、ウレア、チオウレア、スルファモイル、スルファミド、オキソ、またはカルバモイル。

【0092】

本明細書において用いる場合、「環状部分」には、シクロ脂肪族、ヘテロシクロ脂肪族、アリール、またはヘテロアリールが含まれ、そのそれぞれは上記の通りである。

【0093】

本明細書において用いる場合、「ヘテロシクロ脂肪族」という用語は、ヘテロシクロアルキル基とヘテロシクロアルケニル基とを含み、そのそれぞれは以下に示すように置換されていてもよい。

【0094】

本明細書において用いる場合、「ヘテロシクロアルキル」基は、3-10 員環の単環または二環(縮合または架橋)(例えば、5-10-員環単環式または二環式) 飽和環構造であって、1 以上の環原子がヘテロ原子(例えば、N、O、S、またはそれらの組合せ)である構造をいう。ヘテロシクロアルキル基の例としては、ピペリジル、ピペラジル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフリル、1,4-ジオキサニル、1,4-ジチアニル、1,3-ジオキサニル、オキサゾリジル、イソキサゾリジル、モルホリニル、チオモルホリル、オクタヒドロベンゾフリル、オクタヒドロ-クロメニル、オクタヒドロ-チオクロメニル、オクタヒドロ-インドリル、オクタヒドロ-ピリジニル、デカヒドロ-キノリニル、オクタヒドロ-ベンゾ[b]チオフェネイル、2-オキサ-ビシクロ[2.2.2]オクチル、1-アザ-ビシクロ[2.2.2]オクチル、3-アザ-ビシクロ[3.2.1]オクチル、および2,6-ジオキサ-トリシクロ[3.3.1.0^{3,7}]ノニルが挙げられる。単環式ヘテロシクロアルキル基はフェニル部分、例えば、テトラヒドロイソキノリンと縮合していてもよい。本明細書において用いる場合、「ヘテロシクロアルケニル」基は、1 以上の二重結合を有する単環または二環(例えば、5- 10-員環単環式または二環式) 非芳香族環構造であって、1 以上の環原子がヘテロ原子(例えば、N、O、またはS)である構造をいう。単環式およびビシクロヘテロ脂肪族は標準化学命名法にしたがって番号付けする。

10

【0095】

ヘテロシクロアルキルまたはヘテロシクロアルケニル基は例えば、以下のような1 以上の置換基によって置換されていてもよい：脂肪族 [例えば、アルキル、アルケニル、またはアルキニル]、シクロ脂肪族、(シクロ脂肪族) 脂肪族、ヘテロシクロ脂肪族、(ヘテロシクロ脂肪族) 脂肪族、アリール、ヘテロアリール、アルコキシ、(シクロ脂肪族)オキシ、(ヘテロシクロ脂肪族)オキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、(アラリファティック)オキシ、(ヘテロアラリファティック)オキシ、アロイル、ヘテロアロイル、アミノ、アミド [例えば、(脂肪族)カルボニルアミノ、(シクロ脂肪族)カルボニルアミノ、((シクロ脂肪族) 脂肪族)カルボニルアミノ、(アリール)カルボニルアミノ、(アラリファティック)カルボニルアミノ、(ヘテロシクロ脂肪族)カルボニルアミノ、((ヘテロシクロ脂肪族) 脂肪族)カルボニルアミノ、(ヘテロアリール)カルボニルアミノ、および(ヘテロアラリファティック)カルボニルアミノ]、ニトロ、カルボキシ [例えば、HOOC-、アルコキシカルボニル、およびアルキルカルボニルオキシ]、アシル [例えば、(シクロ脂肪族)カルボニル、((シクロ脂肪族) 脂肪族)カルボニル、(アラリファティック)カルボニル、(ヘテロシクロ脂肪族)カルボニル、((ヘテロシクロ脂肪族)脂肪族)カルボニル、および(ヘテロアラリファティック)カルボニル]、ニトロ、シアノ、ハロ、ヒドロキシ、メルカプト、スルホニル [例えば、アルキルスルホニルおよび アリールスルホニル]、スルフィニル[例えば、アルキルスルフィニル]、スルファニル [例えば、アルキルスルファニル]、スルフォキシ、ウレア、チオウレア、スルファモイル、スルファミド、オキソ、またはカルバモイル。

20

30

【0096】

本明細書において用いる場合、「ヘテロアリール」基は、4-15の環原子を有する単環式、二環式、または三環式環構造であって、1 以上の環原子がヘテロ原子(例えば、N、O、S、またはそれらの組合せ)であり、二環式または三環式環構造の1 以上の環が芳香族である構造をいう。ヘテロアリール基には2~3の環を有するベンゾ縮合環系が含まれる。例えば、ベンゾ縮合基としては、1または2の 4~ 8 員環ヘテロシクロ脂肪族部分(例えば、インドリジル、インドリル、イソインドリル、3H-インドリル、インドリニル、ベンゾ[b]フリル、ベンゾ[b]チオフェニル、キノリニル、またはイソキノリニル)とのベンゾ縮合が挙げられる。ヘテロアリールの例としては、アゼチジニル、ピリジル、1H-インダゾリル、フリル、ピロリル、チエニル、チアゾリル、オキサゾリル、イミダゾリル、 テトラゾリル、ベンゾフリル、イソキノリニル、ベンズチアゾリル、キサンテン、チオキサンテン、フェノチアジン、ジヒドロインドール、ベンゾ[1,3]ジオキサール、ベンゾ[b]フリル、ベンゾ[b]チオフェニル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンズチアゾリル、 プリ

40

50

ル、シンノリル、キノリル、キナゾリル、シンノリル、フタラジル、キナゾリル、キノキサリル、イソキノリル、4H-キノリジル、ベンゾ-1,2,5-チアジアゾリルまたは1,8-ナフチリジルが挙げられる。

【0097】

これらに限定されないが、単環式ヘテロアリールとしては、フリル、チオフェニル、2H-ピロリル、ピロリル、オキサゾリル、チアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、イソキサゾリル、イソチアゾリル、1,3,4-チアジアゾリル、2H-ピラニル、4-H-プラニル、ピリジル、ピリダジル、ピリミジル、ピラゾリル、ピラジル、または1,3,5-トリアジルが挙げられる。単環式ヘテロアリールは標準化学命名法にしたがって番号付けされる。

【0098】

これらに限定されないが、二環式ヘテロアリールとしては、インドリジル、インドリル、イソインドリル、3H-インドリル、インドリニル、ベンゾ[b]フリル、ベンゾ[b]チオフェニル、キノリニル、イソキノリニル、インダゾリル、ベンズイミダジル、ベンズチアゾリル、プリニル、4H-キノリジル、キノリル、イソキノリル、シンノリル、フタラジル、キナゾリル、キノキサリル、1,8-ナフチリジル、またはプテリジルが挙げられる。二環式ヘテロアリールは標準化学命名法にしたがって番号付けされる。

【0099】

ヘテロアリールは例えば以下のような1以上の置換基によって置換されていてもよい：脂肪族 [例えば、アルキル、アルケニル、またはアルキニル]；シクロ脂肪族；(シクロ脂肪族)脂肪族；ヘテロシクロ脂肪族；(ヘテロシクロ脂肪族)脂肪族；アリール；ヘテロアリール；アルコキシ；(シクロ脂肪族)オキシ；(ヘテロシクロ脂肪族)オキシ；アリールオキシ；ヘテロアリールオキシ；(アラリファティック)オキシ；(ヘテロアラリファティック)オキシ；アロイル；ヘテロアロイル；アミノ；オキソ (二環式または三環式ヘテロアリールの非芳香族炭素環または複素環上)；ニトロ；カルボキシ；アミド；アシル [例えば、脂肪族カルボニル；(シクロ脂肪族)カルボニル；((シクロ脂肪族)脂肪族)カルボニル；(アラリファティック)カルボニル；(ヘテロシクロ脂肪族)カルボニル；((ヘテロシクロ脂肪族)脂肪族)カルボニル；および(ヘテロアラリファティック)カルボニル]；スルホニル [例えば、脂肪族スルホニルおよびアミノスルホニル]；スルフィニル [例えば、脂肪族スルフィニル]；スルファニル [例えば、脂肪族スルファニル]；ニトロ；シアノ；ハロ；ヒドロキシル；メルカプト；スルフォキシ；ウレア；チオウレア；スルファモイル；スルファミド；またはカルバモイル。あるいは、ヘテロアリールは非置換であってもよい。

【0100】

置換ヘテロアリールの非限定的な例としては、(ハロ)ヘテロアリール [例えば、モノ-およびジ-(ハロ)ヘテロアリール]；(カルボキシ)ヘテロアリール [例えば、(アルコキシカルボニル)ヘテロアリール]；シアノヘテロアリール；アミノヘテロアリール [例えば、((アルキルスルホニル)アミノ)ヘテロアリールおよび((ジアルキル)アミノ)ヘテロアリール]；(アミド)ヘテロアリール [例えば、(アミノカルボニル)ヘテロアリール、((アルキルカルボニル)アミノ)ヘテロアリール、(((アルキル)アミノ)アルキル)アミノカルボニル)ヘテロアリール、(((ヘテロアリール)アミノ)カルボニル)ヘテロアリール、((ヘテロシクロ脂肪族)カルボニル)ヘテロアリール、および ((アルキルカルボニル)アミノ)ヘテロアリール]；(シアノアルキル)ヘテロアリール；(アルコキシ)ヘテロアリール；(スルファモイル)ヘテロアリール [例えば、(アミノスルホニル)ヘテロアリール]；(スルホニル)ヘテロアリール [例えば、(アルキルスルホニル)ヘテロアリール]；(ヒドロキシアルキル)ヘテロアリール；(アルコキシアルキル)ヘテロアリール；(ヒドロキシル)ヘテロアリール；((カルボキシ)アルキル)ヘテロアリール；[((ジアルキル)アミノ)アルキル]ヘテロアリール；(ヘテロシクロ脂肪族)ヘテロアリール；(シクロ脂肪族)ヘテロアリール；(ニトロアルキル)ヘテロアリール；(((アルキルスルホニル)アミノ)アルキル)ヘテロアリール；((アルキルスルホニル)アルキル)ヘテロアリール；(シアノアルキル)ヘテロアリール；(アシル)ヘテロアリール [例えば、(アルキルカルボニル)ヘテロアリール]；(アルキル)ヘテロアリール、および (ハロアルキル)ヘテロアリール [例えば、トリハロアルキルヘテロ

10

20

30

40

50

アリール]が挙げられる。

【0101】

本明細書において用いる場合、「ヘテロアラリファティック」(例えば、ヘテロアラルキル基)とは、ヘテロアリール基で置換された脂肪族基(例えば、 C_{1-4} アルキル 基)をいう。「脂肪族」、「アルキル」および「ヘテロアリール」は、上記の通りである。

【0102】

本明細書において用いる場合、「アシル」基とは、ホルミル基または $R^X-C(O)-$ (例えば、 $-アルキル-C(O)-$ 、「アルキルカルボニル」とも称される)をいい、ここで R^X および「アルキル」は上記の通りである。アセチルおよびピバロイルはアシル基の例である。

【0103】

本明細書において用いる場合、「アルコキシ」基は、アルキル- $O-$ 基をいい、ここで「アルキル」は上記の通りである。

【0104】

本明細書において用いる場合、「カルバモイル」基は構造 $-O-CO-NR^X R^Y$ または $-NR^X-CO-O-R^Z$ を有する基であり、ここで R^X および R^Y は上記の通りであり、 R^Z は脂肪族、アリール、アラリファティック、ヘテロシクロ脂肪族、ヘテロアリール、またはヘテロアラリファティックであり得る。

【0105】

本明細書において用いる場合、「カルボキシ」基とは、末端基として用いる場合、 $-COOH$ 、 $-COOR^X$ 、 $-OC(O)H$ 、 $-OC(O)R^X$ をいい、内部基として用いる場合、 $-OC(O)-$ または $-C(O)O-$ をいう。

【0106】

本明細書において用いる場合、「ハロ脂肪族」基は1-3のハロゲンにより置換された脂肪族基をいう。例えば、ハロアルキルという用語には、基 $-CF_3$ が含まれる。

【0107】

本明細書において用いる場合、「メルカプト」基は $-SH$ をいう。

【0108】

本明細書において用いる場合、「スルホ」基は末端に用いられる場合 $-SO_3H$ または $-SO_3R^X$ をいい、内部に用いられる場合、 $-S(O)_3-$ をいう。

【0109】

本明細書において用いる場合、「スルファミド」基とは、末端に用いられる場合、構造 $-NR^X-S(O)_2-NR^Y R^Z$ をいい、内部に用いられる場合 $-NR^X-S(O)_2-NR^Y-$ をいい、ここで R^X 、 R^Y および R^Z は上記の通りである。

【0110】

本明細書において用いる場合、「スルファモイル」基は末端に用いられる場合、構造 $-S(O)_2-NR^X R^Y$ または $-NR^X-S(O)_2-R^Z$ をいい、内部に用いられる場合、 $-S(O)_2-NR^X-$ または $-NR^X-S(O)_2-$ をいい、ここで R^X 、 R^Y 、および R^Z は上記の通りである。

【0111】

本明細書において用いる場合、「スルファニル」基は末端に用いられる場合 $-S-R^X$ をいい、内部に用いられる場合 $-S-$ をいい、ここで R^X は上記の通りである。スルファニルの例としては、アルキルスルファニルが挙げられる。

【0112】

本明細書において用いる場合、「スルフィニル」基は末端に用いられる場合 $-S(O)-R^X$ をいい、内部に用いられる場合 $-S(O)-$ をいい、ここで R^X は上記の通りである。

【0113】

本明細書において用いる場合、「スルホニル」基は末端に用いられる場合 $-S(O)_2-R^X$ をいい、内部に用いられる場合、 $-S(O)_2-$ をいい、ここで R^X は上記の通りである。

【0114】

本明細書において用いる場合、「スルフォキシ」基は末端に用いられる場合 $-O-SO-R^X$ または $-SO-O-R^X$ をいい、内部に用いられる場合 $-O-S(O)-$ または $-S(O)-O-$ をいい、ここで R^X

10

20

30

40

50

は上記の通りである。

【0115】

本明細書において用いる場合、「ハロゲン」または「ハロ」基は、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素をいう。

【0116】

本明細書において用いる場合、「アルコキシカルボニル」は、カルボキシの用語に含まれるが、単独でまたは他の基と組み合わせて用いられて、例えば、アルキル-O-C(O)-といった基をいう。

【0117】

本明細書において用いる場合、「アルコシアルキル」は、例えば、アルキル-O-アルキル-といったアルキル基であり、ここでアルキルは上記の通りである。

10

【0118】

本明細書において用いる場合、「カルボニル」は-C(O)-をいう。

【0119】

本明細書において用いる場合、「オキソ」は=Oをいう。

【0120】

本明細書において用いる場合、「アミノアルキル」とは、構造 $(R^X)_2N$ -アルキル-をいう。

【0121】

本明細書において用いる場合、「シアノアルキル」とは、構造 (NC)-アルキル-をいう。

20

【0122】

本明細書において用いる場合、「ウレア」基とは構造 $-NR^X-CO-NR^YR^Z$ をいい、「チオウレア」基とは末端に用いられる場合構造 $-NR^X-CS-NR^YR^Z$ をいい、内部に用いられる場合 $-NR^X-CO-NR^Y$ - または $-NR^X-CS-NR^Y$ -をいい、ここで R^X 、 R^Y 、および R^Z は上記の通りである。

【0123】

本明細書において用いる場合、「グアニジノ」基は構造 $-N=C(N(R^X R^Y))N(R^X R^Y)$ をいい、ここで、 R^X および R^Y は上記の通りである。

【0124】

本明細書において用いる場合、「アミジノ」基という用語は、構造 $-C=(NR^X)N(R^X R^Y)$ をいい、ここで R^X および R^Y は上記の通りである。

30

【0125】

「末端」および「内部」という用語は置換基内にある基の位置をさす。基が置換基の末端に存在し、残りの化学構造にさらに結合していない場合、その基は末端基である。カルボシアルキル、即ち、 $R^X O(O)C$ -アルキルは末端に用いられるカルボキシ基の例である。基が残りの化学構造に結合する置換基の末端に対して置換基の中央部に存在する場合、その基は内部基である。アルキルカルボキシ(例えば、アルキル-C(O)O- またはアルキル-OC(O)-)およびアルキルカルボシアリール(例えば、アルキル-C(O)O-アリール-またはアルキル-O(CO)-アリール-)は内部に用いられるカルボキシ基の例である。

40

【0126】

「置換されていてもよい」という表現は「置換または非置換」という表現と互換的に用いられる。本明細書に記載する場合、本発明の化合物は例えば、上に一般に示したような、または本発明の特定のクラス、サブクラス、および種によって例示されるような1以上の置換基によって置換されていてもよい。本明細書に記載する場合、本明細書に含まれる可変基は、特定の基、例えば、アルキルおよびアリールを包含する。特に断りのない限り、本明細書に含まれる可変基についての具体的な基のそれぞれは、本明細書に記載する1以上の置換基によって置換されていてもよい。具体的な基の各置換基はさらにハロ、シアノ、オキソアルコキシ、ヒドロキシル、アミノ、ニトロ、アリール、ハロアルキル、およびアルキルから選ばれる1から3つの置換基によって置換されていてもよい。例えば、

50

アルキル基はアルキルスルファニルによって置換されていてもよく、そのアルキルスルファニルはハロ、シアノ、オキソアルコキシ、ヒドロキシル、アミノ、ニトロ、アリール、ハロアルキル、およびアルキルから選ばれる1から3つの置換基によって置換されていてもよい。さらなる例として、(シクロアルキル)カルボニルアミノのシクロアルキル部分は、ハロ、シアノ、アルコキシ、ヒドロキシル、ニトロ、ハロアルキルおよびアルキルから選ばれる1から3つの置換基によって置換されていてもよい。2つのアルコキシ基が同じ原子または隣接原子に結合している場合、その2つのアルコキシ基はそれらが結合している原子と共に環を形成していてもよい。

【0127】

一般に、「置換されて」という用語は「いてもよい」という用語と共に用いられるか否かに拘わらず、所与の構造における水素ラジカルの、特定の置換基のラジカルによる交換をいう。特定の置換基は上記の定義、下記の化合物の説明およびその実施例に記載したとおりである。特に断りのない限り、置換されていてもよい基は、基の置換可能な位置のそれぞれに置換基を有し得、所与の構造における2以上の位置が特定の基から選択される2以上の置換基によって置換されていてもよい場合、置換基は各位置について同じであっても異なってもよい。環置換基、例えば、ヘテロシクロアルキルは別の環、例えば、シクロアルキルに結合して、例えば、両方の環が共通の1つの原子を共有するスピロ-二環系を形成していてもよい。当業者が認識するように、本発明で考えられる置換基の組合せは安定または化学的に可能な化合物の形成を導く組合せである。

【0128】

本明細書において用いる場合、「安定または化学的に可能な」という表現は、生成、検出、および好ましくはその回収、精製、および本明細書に開示する1以上の目的のための使用を可能とする条件に供された場合、実質的に変化しない化合物をいう。

【0129】

特に断りのない限り、本明細書中に示す構造はその構造のすべての異性体(例えば、エナンチオマー、ジアステレオマー、および幾何異性体(または配座異性体))形態;例えば、各不斉中心のRおよびS配置、(Z)および(E)二重結合異性体および(Z)および(E)配座異性体を含む意図である。それゆえ本発明の化合物の一つの立体化学的異性体ならびにエナンチオマー、ジアステレオマー、および幾何(または配座)混合物は本発明の範囲に含まれる。特に断りのない限り、本発明の化合物のすべての互変異性体形態が本発明の範囲に含まれる。さらに、特に断りのない限り、本明細書中に示す構造は1以上の同位体的に富んだ原子の存在においてのみ異なる化合物も含む意図である。例えば、水素が重水素またはトリチウムによって置換されている以外は同一の構造を有する化合物または炭素が ^{13}C -または ^{14}C -に富む炭素で置換されている以外は同一の構造を有する化合物は本発明に含まれる。かかる化合物は例えば、生物学的アッセイにおいて、分析ツールまたはプローブとして有用である。

【0130】

本明細書において用いる場合、共治療法は単独でまたはその他の癌治療法と組み合わせて用いることが出来る癌の治療のためのあらゆるオリゴヌクレオチド化合物を含む。

【0131】

II. 癌治療法

本発明の癌治療法は、オリゴヌクレオチド化合物、化学療法薬、放射線療法、外科手術、またはそれらの組合せを含む。

【0132】

A. オリゴヌクレオチド化合物

1. 癌遺伝子標的

ある態様において、本発明は癌遺伝子のアンチジーン阻害剤を提供する。本発明は特定の癌遺伝子の阻害に限定されない。実際、本発明は多数の癌遺伝子、例えばこれらに限定されないが以下に記載するものを含むものに対するアンチジーン阻害剤を包含する。

【0133】

a. Ras

多くの科学者に注目された1つの遺伝子は、ヒト癌原遺伝子、c-Ha-rasである。この遺伝子は中心的司令塔として作用し、化学シグナルを細胞に伝え、細胞分裂を制御する。Ras 遺伝子変化は遺伝子を「オン」位置に置かせうる。ras 癌遺伝子は30%の癌の基礎となっていると考えられ、結腸癌、肺癌、膀胱癌および乳癌 (Bos、Cancer Res. 49:4682-4689 [1989])が含まれる。ras 癌遺伝子はそれゆえ治療薬の標的となっている。

【0134】

ras mRNAの様々な部位に相補的なオリゴヌクレオチドがras タンパク質 (p21)の合成を阻害し得、細胞培養における細胞増殖速度を低下させるということを示す報告がいくつかある(米国特許第5,576,208号; 米国特許第5,582,986号; Daska et al., Oncogene Res. 5:267-275 [1990]; Brown et al., Oncogene Res. 4:243-252 [1989]; Saison-Behmoaras et al., EMBO J. 10:1111-1116 [1991])。c-Ha-ras RNA 転写産物の5' 隣接領域に相補的なオリゴヌクレオチドがヌードマウスにおける腫瘍増殖を14日間阻害したことが示されている (Gray et al., Cancer Res. 53:577-580 [1993])。c-Ha-ras mRNAのコドン 12における点突然変異 (G>C)に向けたアンチセンスオリゴヌクレオチドが皮下に注入した場合ヌードマウスにおける細胞増殖ならびに腫瘍増殖を阻害したことが最近報告されている (米国特許第5,576,208号; 米国特許第5,582,986号; Schwab et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:10460-10464 [1994]; これらはそれぞれ引用により本明細書にその内容を含める)。研究者らはアンチセンス薬が小規模臨床試験において卵巢腫瘍を収縮させたことを報告している (Roush et al., Science 276:1192-1194 [1997])。

【0135】

b. her-2

her-2 (neu 癌遺伝子またはerbB-2としても知られる) 癌遺伝子はいくつかのヒト癌(Hynes and Stern、Biochim. et Biophys. Acta 1198:165-184 [1994]; Dougall et al., Oncogene 9:2109-2123 [1994])および哺乳類発生(Lee et al., Nature 378:394-398 [1995])におけるその役割のためによく調べられている受容体-様チロシンキナーゼ (RTK) をコードする。HER-2 タンパク質配列は上皮増殖因子受容体 (EGFR) mRNAに対する相同性により胎盤(Coussens et al., Science 230:1132-1139 [1985])および胃癌細胞株 (Yamamoto et al., Nature 319:230-234 [1986]) からクローニングされたcDNA から決定された。her-2 mRNA は約 4.5 kbであり (Coussens et al., Science 230:1132-1139 [1985]; Yamamoto et al., Nature 319:230-234 [1986])、正常および悪性ヒト組織において185 kDaの膜貫通糖タンパク質(p185HER-2)をコードすることが示された (Hynes and Steen、Biochim. et Biophys. Acta 1198:165-184 [1994]; Dougall et al., Oncogene 9:2109-2123 [1994])。HER-2の過剰発現は培養細胞の表現型形質転換を導き(DiFiore et al., Science 237:178-182 [1987]; Hudziak et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7159-7163 [1987])、乳癌および卵巢癌の活発な臨床的進行と関連していた(Slamon et al., Science 235:177-182 [1987]; Slamon et al., Science 244:707-712 [1989])。

【0136】

Her-2 は癌においてもっとも頻繁に変化している遺伝子の1つである。それはチロシンキナーゼ活性を有する膜貫通受容体 (p185としても知られる)をコードし、上皮増殖因子(EGF) ファミリーのメンバーであるため、上皮増殖因子受容体(EGFRまたは HER-1)と関連している。異常な her-2 遺伝子発現は多種多様な癌でみられ乳癌、卵巢癌および胃癌でもっとも一般的である。HER-2はすべてのヒト乳癌および卵巢癌の25-30%で過剰発現している。HER-2過剰発現のレベルは乳癌の臨床段階、予後および転移能とよく相関している。HER-2の過剰発現はより低い生存率、高い再発率および高い転移能と相関している。Tan et al., (Cancer Res., 57:1199 [1997]) は、HER-2遺伝子の過剰発現は形質転換能を上昇させることなく乳癌細胞の転移能を上昇させることを示している。

【0137】

HER-2の異常な発現は正常 HER-2の発現上昇および突然変異 HER-2発現の両方を含む。her-2 癌原遺伝子の活性化は点突然変異、遺伝子増幅および過剰発現の3つの機構のい

れによっても起こりうる。遺伝子増幅はもっとも一般的な機構である。リガンド活性化が形質転換の促進に必要であるEGF ファミリーのその他のメンバーと異なり、HER-2のみの過剰発現が形質転換に十分である(Cohen、et al.、J. Biol. Chem.、271:30897 [1996])。

【0138】

いくつかの治療アプローチがHER-2 遺伝子産物のレベルの低下に用いられてきた。アデノウイルス5型遺伝子産物 E1Aがヌードマウスにおける乳癌モデルを用いて潜在的治療薬として研究された。この遺伝子産物はHER-2/neu過剰発現をher-2/neu プロモーター活性を抑制することによって抑制し得、HER-2/neu-過剰発現の卵巢癌細胞の腫瘍形成能を抑制する。HER-2/neu過剰発現乳癌異種移植片を担持するマウスにおいて、アデノウイルスまたはリポソームによって送達されたE1Aは対照と比較して顕著に腫瘍増殖を阻害し、マウスの生存を延長した (Chang et al.、Oncogene 14:561 [1997])。

10

【0139】

HER-2/neu タンパク質産物とFc ガンマ RIII (CD16)との両方の細胞外ドメインを標的とする二重特異性抗体を評価するための臨床試験が行われ、Fc ガンマ 受容体はヒトナチュラルキラー細胞、好中球および分化した単核食細胞によって発現される(Weiner et al.、J. Hematotherapy、4:471 [1995])。

【0140】

HER-2の過剰発現は化学療法に対する耐性の上昇とも関連していることが見いだされた。したがって、HER-2レベルが上昇した患者は多くの薬剤に対する応答が乏しい。HER-2 発現の阻害に用いた方法を一般的に用いられている化学治療薬とが組み合わせられた (Ueno et al.、Oncogene 15:953 [1997])。アデノウイルス5型 遺伝子産物、E1Aとタキソールとを組み合わせることにより、ヒト乳癌細胞において相乗効果が示された。Zhang et al.、(Oncogene、12:571 [1996])は、チロシン特異的阻害剤であるエモジンが、非小細胞肺癌 (NSCLC) 細胞を様々な化学治療薬、例えば、シスプラチン、ドキソルビシンおよびエトポシドに対して感作したことを示した。HER-2 抗体はヒト乳癌細胞においてタモキシフェンの効力を上昇させることが見いだされた (Witters et al.、Breast Cancer Res. and Treatment、42:1 [1997])。

20

【0141】

オリゴヌクレオチドはまた、HER-2機能の研究にも用いられてきた。mRNA 転写開始部位の42~69 ヌクレオチド上流のHER-2 プロモーターを標的とした三重鎖形成オリゴヌクレオチドはHER-2 発現をインビトロで阻害することが見いだされた (Ebbinghaus et al.、J. Clin. Invest.、92:2433 [1993])。Porumb et al. (Cancer Res.、56:515 [1996]) も、同じHER-2 プロモーター領域を標的とした三重鎖形成オリゴヌクレオチドを用いた。HER-2 mRNAおよびタンパク質レベルの低下が培養細胞においてみられた。Juhl et al. (J. Biol. Chem.、272:29482 [1997])はタンパク質の膜貫通領域のすぐ下流のHER-2 RNAの中心領域を標的とした抗-HER-2 リボザイムを用いてヒト卵巢癌細胞におけるHER-2 mRNAおよびタンパク質レベルの低下を示した。ヌードマウスにおける腫瘍増殖の低下もみられた。

30

【0142】

アンチセンスアプローチがHER-2を過剰発現する癌の潜在的治療薬として用いられてきた。Pegues et al. (Cancer Lett.、117:73 [1997])は、発現ベクターにアンチセンス方向にてHER-2の1.5 kb 断片をクローニングし; このコンストラクトを卵巢癌細胞にトランスフェクトした結果、足場非依存増殖が低下した。Casalini et al. (Int. J. Cancer 72:631 [1997])は、151 bp~415 bp の長さのHER-2 断片を含むいくつかのヒト HER-2 アンチセンスベクターコンストラクトを用いて、肺腺癌細胞におけるHER-2 タンパク質レベルおよび足場非依存増殖の低下を示した。Colomer et al. (Br. J. Cancer、70:819 [1994])は翻訳開始コドンまたはそのすぐに下流を標的としたホスホジエステルアンチセンスオリゴヌクレオチドがヒト乳癌細胞増殖を60%も阻害することを示した。Wiechen et al. (Int. J. Cancer 63:604 [1995])は、HER-2の翻訳開始コドンの33 ヌクレオチド下流のコー

40

50

ド領域を標的とした18-ヌクレオチドホスホロチオエートオリゴヌクレオチドが、卵巣癌細胞の足場非依存増殖を低下させることを示した。Bertram et al. (Biochem. Biophys. Res. Commun., 200:661 [1994])は、翻訳開始領域およびチロシンキナーゼコンセンサス配列と高い相同性を示すmRNAの翻訳領域の3'部分の配列を標的としたアンチセンスホスホロチオエートオリゴヌクレオチドを用い、ヒト乳癌細胞におけるHER-2タンパク質レベルが75%低下することを示した。Liu et al., (Antisense and Nucleic Acid Drug Develop., 6:9 [1996])は5'キャップ部位およびコード領域を標的としたアンチセンスホスホロチオエートオリゴヌクレオチドを用いた。5'キャップ部位を標的としたもっとも有効なオリゴヌクレオチドは、HER-2タンパク質発現を90%低下させた。細胞増殖もそれに匹敵する量低下した。Vaughn et al. (Nuc. Acids. Res., 24:4558 [1996])は、HER-2の翻訳開始領域、またはそれに隣接した領域を(いずれの側も)標的としたホスホロチオエート、ホスホロジチオエートおよびキメラアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いた。翻訳開始領域を標的としたジチオエート/ジエステルが交互に並ぶオリゴヌクレオチドは、すべてがホスホロチオエートであるオリゴヌクレオチドよりもわずかに良好に作用した。Brysch et al. (Cancer Gene Ther., 1: 99 [1994])はHER-2の翻訳開始コドンを標的とした化学修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いてタンパク質レベルを低下させ、ヒト乳癌細胞株の増殖停止を導いた。

【0143】

c.C-Myc

c-myc 遺伝子産物は最初期応答遺伝子によってコードされ、その発現は様々な分裂促進因子によって誘導されうる。C-myc 発現は細胞分裂を導くシグナル伝達経路に関与している。研究により、増殖中の細胞は静止状態の細胞よりも高いレベルのc-myc mRNA およびc-myc タンパク質を有することが示された。ヒト c-myc タンパク質に対して作成された抗体はヒト細胞から単離された核におけるDNA合成を阻害することが知られている。逆に、遺伝子導入により生じるc-mycの構成的発現はいくつかの細胞株の誘導性の分化を阻害する。c-mycの構成的発現はトランスジェニックマウスの腫瘍の発達の素因になる。

【0144】

いくつかの研究によりc-myc 遺伝子産物がSMCにおいて増殖の役割を果たしている可能性があることが示唆された。ラット大動脈のバルーン脱上皮化(de-endothelialization)および損傷は、続いて起こる増殖および遊走に先だって血管 SMCのc-myc mRNA 発現を上昇させることが知られている。また、培養中のSMCはいくつかの分裂促進因子、例えばPDGF、FGF、EGF、IGF-1、および血清に曝されると増殖する。これら分裂促進因子のそれぞれはc-myc タンパク質、c-myc mRNAのいずれかまたはその両方のその他の細胞株における発現を上昇させることができるが見いだされている。さらに、血清はSMCにおけるc-myc mRNA レベルを上昇させることが見いだされた。

【0145】

Harel-Bellan et al. (J. Immun. 140; 2431-2435 (1988))はc-myc mRNAに相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドが有効にヒトT細胞におけるその翻訳を阻害することを示した。これらT細胞は細胞分裂のS期に入ることを阻害された。c-myc 癌原遺伝子配列はMarcu et al., Ann. Rev. Biochem., 61:809-860 [1992]; Watt et al., Nature, 303:725-728 [1983]; Battey et al., Cell, 34:779-787 (1983);および Epstein et al., NTIS publication PB93-100576に記載されている。

【0146】

d.Bcl2

多くのタイプのヒト腫瘍、例えば、リンパ腫および白血病において、ヒト bcl-2 遺伝子が過剰発現しており、腫瘍形成能と関連している可能性がある (Tsujiimoto et al., Science 228:1440-1443 [1985])。ヒト bcl-2 遺伝子の高レベルの発現がt(14; 18)染色体転座を伴うすべてのリンパ腫、例えば、ほとんどのろ癌性 B細胞 リンパ腫および多くの大細胞型 非ホジキンリンパ腫において見いだされた。bcl-2 遺伝子の高レベルの発現は、t(14; 18)染色体転座を有さない特定の白血病、例えばほとんどのケースの慢性リ

ンパ球性白血病急性、多くのプレB細胞型リンパ球性白血病、神経芽細胞腫、上咽頭癌および多くの前立腺、乳房および結腸の腺癌においても見いだされた(Reed et al., Cancer Res. 51:6529 [1991]; Yunis et al., New England J. Med. 320:1047; Campos et al., Blood 81:3091-3096 [1993]; McDonnell et al., Cancer Res. 52:6940-6944 [1992]; Lu et al., Int. J Cancer 53:29-35 [1993]; Bonner et al., Lab Invest. 68:43A [1993])。

【0147】

e.TGF- α

トランスフォーミング増殖因子アルファ (TGF- α) は、50 アミノ酸のポリペプチドである。それは最初、レトロウイルス-形質転換マウス細胞株から単離され、次いで、ヒト腫瘍細胞、初期ラット胚細胞およびヒト脳下垂体由来細胞培養において同定された。TGF- α は構造および機能の両方で上皮増殖因子(EGF) に密接に関連しており、両者は同じ受容体、即ち、上皮増殖因子受容体(EGFR) に結合する。

【0148】

EGFおよびTGF- α の両方の配列および三次元構造が決定されている(Campbell et al., Prog. Growth Factor Res. 1:13 [1989])。TGF- α はEGFと残基の約 40%の相同性を有する50 アミノ酸ポリペプチドである。両ペプチドは3つのよく規定されたループ(A、BおよびCと称される) を特徴とし、3つの分子内ジスルフィド結合を有する。

【0149】

いくつかの増殖因子、例えば、TGF- α およびEGFは、上皮増殖因子受容体(EGF 受容体) との相互作用を介してその生物学的効果を発揮すると考えられている。EGF 受容体は1型受容体チロシンキナーゼである。EGF 受容体およびそのリガンドは正常生理的過程ならびに増殖過剰および腫瘍性疾患におけるその役割が興味深い。

【0150】

TGF- α のインビボ前駆体は160 アミノ酸残基の膜結合型タンパク質 (プロ-TGF-アルファ) であり、切断されると可溶性化合物を生じる(Massague, J. Biol. Chem., 265:21393-21396 [1990])。この切断により50アミノ酸からなる分子量6 Kdの細胞外部分が切り離され、タンパク質キナーゼ Cを介して作用するホルボールエステルによって刺激されうる(Pandiella et al., J. Biol. Chem., 266:5769-5773 [1991])重要な調節現象であると考えられている(Pandiella et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:1726-1730 [1990])。

【0151】

培養ヒト前立腺腫瘍株ではTGF- α mRNAレベルが上昇しており、TGF- α に応答して増殖する(Wilding et al., The Prostate, 15:1-12 [1989])。TGF- α は自己分泌と傍分泌機能との両方を有しているようであり、生理活性、例えば、細胞分裂および血管新生を刺激する。トランスジェニックマウスにおいて誘導されると、TGF- α はインサイチュで癌と類似した上皮過形成および異形成変化をもたらす(Sandgren et al., Cell, 61:1121-1135 [1990])。

【0152】

f.c-ki-Ras

c-Ki-ras (KRAS) 癌遺伝子は普遍的に発現している。30 kbを超える長さであるKRASは、HRASまたはNRASよりもかなり大きい。3つのRas 遺伝子、HRAS、KRAS、およびNRASは異なる遺伝子構造を有するが、それらすべては189 アミノ酸残基のp21と総称されるタンパク質をコードする。これら遺伝子是对応するp21の第12または第61アミノ酸残基の組み込みに影響する単一の点突然変異により悪性特性を獲得する。KRASはHRASよりもかなり高頻度に悪性腫瘍に関与している。NIH 3T3 形質転換系における96のヒト腫瘍または腫瘍細胞株の研究において、Pulciani et al.(Nature 300: 539 (1982))は T24 膀胱癌細胞においてのみ突然変異したHRAS座を見いだしたが、形質転換KRas 遺伝子は8種類の癌および肉腫において同定された。

【0153】

卵巣の重篤な嚢胞腺癌において、Feig et al. (Science 223: 698 (1984))は同じ患者

の正常細胞において活性化されていない活性化 KRAS 癌遺伝子の存在を示した。形質転換遺伝子産物は、その他の腫瘍におけるKRAS 形質転換タンパク質の移動度とは異なる電気泳動移動度をSDS-ポリアクリルアミドゲルにおいて示した。したがって、以前には記載されていない突然変異がこの卵巣癌におけるKRASの活性化の原因であった。肺癌における癌遺伝子の役割を研究するために、Rodenhuis et al. (New Eng. J. Med. 317: 929 (1987))はインビトロ増幅工程の後にオリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションが行われることに基づくアッセイを用いた。ゲノム DNAを開胸において得られた39の腫瘍標本から調べた。KRAS 遺伝子は10のうち5の腺癌におけるコドン 12の点突然変異によって活性化することが見いだされた。これら腫瘍のうち2つは2 cm未満の大きさであり、転移していなかった。HRAS、KRAS またはNRAS 突然変異は15の扁平上皮細胞癌、10の大細胞型癌、1のカルチノイド、肺の外側の原発腫瘍からの2の転移腺癌および 1の小細胞癌においては観察されなかった。非突然変異 KRAS 遺伝子のおよそ 20-倍の増幅が直腸癌の孤立性肺転移であることが判明した腫瘍において観察された。Yanez et al. (Oncogene 1:315 (1987))は16のうち4の結腸癌、27のうち2の肺癌および8のうち1の乳癌におけるKRAS遺伝子のコドン 12の突然変異を見だし;位置 61には突然変異はみられなかった。コドン 12における6の可能性のあるアミノ酸置換のうち、1つ以外が同定された7つの突然変異において表されていた。

【0154】

g. その他の癌遺伝子標的

本発明は上記の癌遺伝子に限定されない。本発明の方法は既知のプロモーター領域を有するあらゆる癌遺伝子との使用に好適なものである。例示的な癌遺伝子としては、これらに限定されないが、BCR/ABL、ABL1/BCR、ABL、BCL1、CD24、CDK4、EGFR/ERBB-1、HSTF1、INT1/WNT1、INT2、MDM2、MET、MYB、MYC、MYCN、MYCL1、RAF1、NRAS、REL、AKT2、APC、BCL2-ALPHA、BCL2-BETA、BCL3、BCR、BRCA1、BRCA2、CBL、CCND1、CDKN1A、CDKN1C、CDKN2A、CDKN2B、CRK、CRK-II、CSF1R/FMS、DBL、DDOST、DCC、DPC4/SMAD4、E-CAD、E2F1/RBAP、ELK1、ELK3、EPH、EPA1、E2F1、EPA3、ERG、ETS1、ETS2、FER、FGR、FLI1/ERBB2、FOS、FPS/FES、FRA1、FRA2、FYN、HCK、HEK、HER3/ERBB-2、ERBB-3、HER4/ERBB-4、HST2、INK4A、INK4B、JUN、JUNB、JUND、KIP2、KIT、KRAS2A、KRAS2B、LCK、LYN、MAS、MAX、MCC、MLH1、MOS、MSH2、MYBA、MYBB、NF1、NF2、P53、PDGFB、PIM1、PTC、RB1、RET、ROS1、SKI、SRC1、TAL1、TGFB2、THRA1、THRB、TIAM1、TRK、VAV、VHL、WAF1、WNT2、WT1、YES1、ALK/NPM1、AMI1、AXL、FMS、GIP、GLI、GSP、HOX11、HST、IL3、INT2、KS3、K-SAM、LBC、LMO-1、LMO-2、L-MYC、LYL1、LYT-10、MDM-2、MLH1、MLL、MLM、N-MYC、OST、PAX-5、PMS-1、PMS-2、PRAD-1、RAF、RHOM-1、RHOM-2、SIS、TAL2、TAN1、TIAM1、TSC2、TRK、TSC1、STK11、PTCH、MEN1、MEN2、P57/KIP2、PTEN、HPC1、ATM、XPA/XPG、BCL6、DEK、AKAP13、CDH1、BLM、EWSR1/FLI1、FES、FGF3、FGF4、FGF6、FANCA、FLI1/ERBB2、FOSL1、FOSL2、GLI、HRAS1、HRX/MLLT1、HRX/MLLT2、KRAS2、MADH4、MAS1、MCF2、MLLT1/MLL、MLLT2/HRX、MTG8/RUNX1、MYCL1、MYH11/CBFB、NFKB2、NOTCH1、NPM1/ALK、NRG/REL、NTRK1、PBX1/TCF3、PML/RARA、PRCA1、RUNX1、RUNX1/CBFA2T1、SET、TCF3/PBX1、TGFB1、TLX1、P53、WNT1、WNT2、WT1、 α v- β 3、PKC α 、TNF α 、クラスタリン、サバイビン、TGF β 、c-fos、c-SRC、およびINT-1が挙げられる。

【0155】

2. 非癌遺伝子標的

本発明は癌遺伝子の標的化に限定されない。本発明の方法および組成物はその発現の下方制御が望ましいあらゆる遺伝子の標的化に有用である。例えば、ある態様において、標的とすべき遺伝子としては、これらに限定されないが、免疫グロブリンまたは抗体遺伝子、凝固因子遺伝子、プロテアーゼ、下垂体ホルモン、プロテアーゼ阻害剤、増殖因子、ソマトメジン、ゴナドトロピン、走化性因子(chemotactin)、ケモカイン、血漿タンパク質、血漿プロテアーゼ阻害剤、インターロイキン、インターフェロン、サイトカイン、転写因子、または病原体標的 (例えば、ウイルス遺伝子、細菌遺伝子、微生物遺伝子、真菌遺伝子)が挙げられる。

【0156】

具体的な遺伝子の例としては、これらに限定されないが、ADAMTS4、ADAMTS5、APOA1、APOE、APP、B2M、COX2、CRP、DDX25、DMC1、FKBP8、GH1、GHR、IAPP、IFNA1、IFNG、IL1、IL10、IL12、IL13、IL2、IL4、IL7、IL8、IPW、MAPK14、Mei1、MMP13、MYD88、NDN、PACE4、PRNP、PSEN1、PSEN2、RAD51、RAD51C、SAP、SNRPN、TLR4、TLR9、TTR、UBE3A、VLA-4、およびPTP-1B、c-RAF、m-TOR、LDL、VLDL、ApoB-100、HDL、VEGF、rhPDGF-BB、NAD、ICAM-1、MUC1、2-dG、CTL、PSGL-1、E2F、NF-kB、HIFおよびGCPRが挙げられる。

【0157】

別の態様において病原体由来の遺伝子が標的とされる。例示的な病原体としては、これらに限定されないが、ヒト免疫不全ウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、A型肝炎ウイルス、呼吸器多核体ウイルス、重篤な急性呼吸器症候群に關与する病原体、西ナイルウイルスおよび食物由来病原体(例えば、大腸菌)が挙げられる。

【0158】

3.オリゴヌクレオチド

ある態様において、本発明は、癌遺伝子発現の阻害のためのアンチジーンオリゴヌクレオチドを提供する。例示的なアンチジーン的设计および作成戦略を以下に記載する。以下の記載は本発明における使用に好適なアンチジーン化合物の範囲を限定する意図ではなく、その他のアンチジーンも本発明の範囲に含まれる。

【0159】

a. 癌遺伝子の調節領域

bcl-2 遺伝子はP1およびP2と称される2つのプロモーターを有する。ほとんどのbcl-2 mRNAがそこから転写されるP1は翻訳開始部位のおよそ 1.4 kb 上流に位置し、P2はP1の1.3 kb 下流である (Seto, M. et al. EMBO J. 7, 123-131 (1988)参照)。P1はGC-リッチであり、TATAボックスを欠き、多くの転写開始部位を有し、SP1 転写因子についての7つのコンセンサス結合部位を含む。P2は CCAAT ボックスおよびTATA ボックスを含み、2種類の転写開始部位を有する。複数のNF-KB 認識部位および1つのSV40 エンハンサー-様オクタマーモチーフがP2内に存在する(Heckman, C.A., et al. Oncogene 21, 3898-3908 (2002)を参照)(配列番号1254を参照)。ほとんどのヒト胞性リンパ腫はt(14;18) 染色体転座を含み、それは3' -bcl-2 遺伝子領域限界点に起因する(Tsujimoto, Y. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 84, 1329-1331 (1987)を参照)。これらの転座は bcl-2 発現を免疫グロブリン重鎖 (IgH) 座位エンハンサーの制御下に置き、その結果、BCL2 発現の上方制御が起こる。あるいは、IgH 座位またはいくつかのDLCL リンパ腫患者単離株においてみられる2種類の免疫グロブリン軽鎖 (IgL) 座位との融合に起因する5' -bcl-2 限界点 領域が存在する(Yonetani, N. et al. Jpn. J. Cancer Res. 92, 933-940 (2001)を参照)。これら5' -bcl-2 限界点は翻訳開始部位の378~2312 bp 上流に広がる領域に対して異なる異種患者単離株においてマッピングされている (配列番号1255-1266を参照)。限界点付近の領域は bcl-2 オリゴヌクレオチド設計について使用できる配列でありうる。

【0160】

TGF- α 、c-ki-ras、c-myc、c-erb-2 (Her-2)、およびc-Ha-rasの上流領域も好ましい設計基準に基づきオリゴヌクレオチドが結合する領域を見いだすために調べることが出来る。

【0161】

b.オリゴヌクレオチド設計

オリゴヌクレオチドは、c-ki-ras、c-Ha-ras、c-myc、her-2、TGF- α 、またはbcl-2 遺伝子上流領域にハイブリダイズするあらゆるオリゴマーを含みうる。本発明の目的のため、これら上流領域は、配列番号1 (her-2、またはc-erb-2について)、配列番号282 (c-ki-rasについて)、配列番号462 (c-Ha-rasについて)、配列番号936 (c-mycについて)、配列番号1081 (TGF- α について) および配列番号1249 および1254 (bcl-2について)として規定される。

【0162】

ある態様において、オリゴヌクレオチドは好ましい設計基準に基づいて設計される。かかるオリゴヌクレオチドは、本明細書に開示する方法を用いて効力について試験できる。例えば、ある態様において、オリゴヌクレオチドは少なくとも1、2またはすべてのCpG島においてメチル化されている。別の態様において、オリゴヌクレオチドはメチル化を含まない。本発明は特定の機構に限定されない。実際、機構の理解は本発明の実施に必須ではない。にもかかわらず、オリゴヌクレオチドは、ある態様において、少なくとも50% GC含量を有し、少なくとも2つのGCジヌクレオチドを有するものであると考えられる。また、ある態様において、オリゴヌクレオチドは自己ハイブリダイズしない。さらなる態様において、オリゴヌクレオチドは自己ハイブリダイゼーションを最小化するために少なくとも1のAまたはTを有するよう設計される。さらに別の態様において、オリゴヌクレオチドが自己ハイブリダイズする能力について調査するのに市販のコンピュータプログラムが用いられる。さらに別の態様において、オリゴヌクレオチドは少なくとも10、または15ヌクレオチドであって100ヌクレオチドを超えない長さである。さらなる態様において、オリゴヌクレオチドは18-26ヌクレオチドの長さである。さらなる態様において、オリゴヌクレオチドは普遍的タンパク質結合配列であるCGCCCおよびCGCGまたはそれらの相補鎖を含む。

10

【0163】

ある態様において、オリゴヌクレオチドはプロモーターのTATAボックスの上流の遺伝子のプロモーター領域にハイブリダイズする。さらなる態様において、オリゴヌクレオチドはタンパク質（例えば、転写因子）が結合することが知られている癌遺伝子のプロモーター領域の領域にハイブリダイズするように設計される。ある態様において、オリゴヌクレオチド化合物はヒトゲノムのその他の領域に対して完全に相同的ではない。本発明のオリゴヌクレオチド化合物のゲノムのその他の領域との相同性は利用可能な検索ツール（例えば、BLAST、NCBIのインターネットサイトにて利用可能）を用いて決定できる。

20

【0164】

本発明は本明細書に記載するオリゴヌクレオチドに限定されない。その他の好適なオリゴヌクレオチドを（例えば、上記の基準またはその他の基準を用いて）同定することができる。候補オリゴヌクレオチドはいずれかの好適な方法を用いて効力について試験される。例えば、候補オリゴヌクレオチドは様々な濃度で細胞増殖を阻止する能力について評価される。ある態様において、オリゴヌクレオチドは遺伝子発現または細胞増殖を低濃度にて阻害する（例えば、インビトロアッセイにおいて20 μ M、または10 μ M未満）。

30

【0165】

c. オリゴヌクレオチドゾーン

ある態様において、癌遺伝子のプロモーター領域内にある領域がオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションのための領域としてさらに規定される。ある態様において、これら領域は「ホットゾーン」と称される。

【0166】

ある態様において、ホットゾーンは、上記のオリゴヌクレオチドについての基準に基づいて有効であると考えられる、有効であることが示されたオリゴヌクレオチド化合物に基づいて規定される（オリゴヌクレオチドについての上記のセクションを参照）。ある態様において、ホットゾーンは各ホットゾーンに含まれる各化合物の上流および下流10 bpを含み、各化合物の上流または下流さらに40 bp内に少なくとも1またはそれ以上のCGを有する。さらなる態様において、ホットゾーンはホットゾーンに含まれる各オリゴヌクレオチド化合物の上流および下流の最大100 bpを含む。さらなる態様において、ホットゾーンは各プロモーターの開始領域にて規定される。これらホットゾーンは有効配列または予測(contemplated)配列に基づき規定され、好ましい最大長さ200 bpを有する。上記の基準に基づいて、例示的なホットゾーンを設計した。これらホットゾーンを表1に示す。

40

【0167】

表1

50

例示的なホットゾーン

【表 1】

遺伝子	ホットゾーン
Bcl-2	679-720、930-1050、1070-1280、1420-1760
c-erbB-2	206-346、384-437
c-K-ras	1-290、433-659
c-Ha-ras	21-220、233-866、1417-1536、1637-1728
c-myc	71-263、299-770
TGF- α	1-90、175-219、264-370、434-934、968-1183

10

【0168】

d. 説明

一つの側面において、オリゴヌクレオチドは生理条件下で以下の配列にハイブリダイズするあらゆるオリゴマーであり得る：配列番号1、配列番号282、配列番号462、配列番号936、配列番号1081、配列番号1249または配列番号1254。別の側面において、オリゴヌクレオチドは、配列番号1、配列番号282、配列番号462、配列番号936、配列番号1081および配列番号1249における例示的なホットゾーンに生理条件下でハイブリダイズするあらゆるオリゴマーであり得る。オリゴマーの例としては、これらに限定されないが、配列番号 2-281、283-461、463-935、937-1080、1082-1248、1250-1253および1267-1477に示すオリゴマーおよびそれらの相補鎖が挙げられる。別の側面において、オリゴヌクレオチドは配列番号 2-22、283-301、463-503、937-958、1082-1109、1250-1254 および1270-1477 およびそれらの相補鎖である。これらの側面の1つの態様において、オリゴヌクレオチドは15-35 塩基対の長さである。

20

【0169】

bcl-2 遺伝子について、オリゴマーは配列番号1249 または1254にハイブリダイズするあらゆるオリゴマーであり得る。別の側面において、オリゴマーは配列番号1249のヌクレオチド500-2026、ヌクレオチド500-1525、ヌクレオチド800-1225、ヌクレオチド 900-1125、ヌクレオチド950-1075 またはヌクレオチド970-1045またはそれらの相補鎖にハイブリダイズするあらゆるオリゴマーであり得る。

30

【0170】

一つの態様において、オリゴマーは、配列番号1250、1251、1252、1253、1267-1477 またはそれらの相補鎖でありうる。別の態様において、オリゴマーは、配列番号1250、1251、1267、1268、1276、1277、1285、1286 またはそれらの相補鎖であり得る。さらに別の態様において、オリゴマーは配列番号1250、1251、1289-1358 またはそれらの相補鎖であり得る。さらに別の態様において、オリゴマーは配列番号1250 または1251であり得る。

【0171】

かかる側面のさらなる態様において、オリゴマーはbcl-2 配列の正の鎖の配列を有し、したがって、その配列の負の鎖に結合する。

【0172】

40

その他の側面において、オリゴマーはbcl-2 オリゴヌクレオチドの混合物を含みうる。例えば、オリゴマーはそのそれぞれが配列番号1249および1254の異なる部分にハイブリダイズする複数のオリゴヌクレオチドを含みうる。オリゴマーはこれらの配列のオーバーラップ領域にハイブリダイズすることができるか、または、オリゴマーは非オーバーラップ領域にハイブリダイズしうる。別の態様において、オリゴマーは配列番号1250、1251、1252、1253、1267-1477 またはそれらの相補鎖であり得、ここでbcl-2 オリゴマーの混合物は、少なくとも2つの異なる配列のオリゴマーを含む。

【0173】

別の態様において、オリゴマーは、そのそれぞれが異なる遺伝子の調節領域にハイブリダイズするオリゴマーの混合物を含みうる。例えば、オリゴマーは、配列番号1249または

50

1254にハイブリダイズする第一のオリゴマーおよび第二の遺伝子の調節領域にハイブリダイズする第二のオリゴマーを含みうる。ある態様において、オリゴマーは、配列番号1250-1254および1267-1477のオリゴマーまたはそれらの相補鎖、および配列番号1、配列番号282、配列番号462、配列番号936、または配列番号1081 またはそれらの相補鎖にハイブリダイズするオリゴマーを含む。別の態様において、オリゴマーは、配列番号 1250 または 1251 またはそれらの相補鎖および、配列番号1、配列番号282、配列番号462、配列番号936、または配列番号1081 またはそれらの相補鎖にハイブリダイズするオリゴマーを含む。さらに他の態様において、オリゴマーは、配列番号1250 または1251 またはそれらの相補鎖および、配列番号2-281、283-461、463-935、937-1080 および1082-1248、またはそれらの相補鎖のいずれかを含む。

10

【0174】

ある態様において、本発明は、特定の部位でメチル化されたオリゴヌクレオチド治療薬を提供する。本発明は特定の機構に限定されない。実際、機構の理解は本発明の実施に必須ではない。にもかかわらず、遺伝子活性の調節の1つの機構はDNA におけるシトシン残基のメチル化であると考えられる。5-メチルシトシン (5-MeC)はDNAにおいて検出される唯一の天然の修飾塩基である (Ehrlick et al., Science 212:1350-1357 (1981))。すべての遺伝子がメチル化によって調節されているわけではないが、多数の遺伝子の特定の部位または特定の領域での低メチル化が活動的な転写と関連している (Doerfler, Annu. Rev. Biochem. 52:93-124 [1984]; Christman, Curr. Top. Microbiol. Immunol. 108:49-78 [1988]; Cedar, Cell 34:5503-5513 [1988])。DNA メチル化はインビトロでは無細胞系における遺伝子の効率的な転写またはトランスフェクトされた遺伝子の一過性発現を防止しうる。いくつかの特定のシス調節領域におけるC 残基のメチル化はまた、転写因子または抑制因子の結合を阻害または促進しうる (Doerfler, 前掲; Christman, 前掲; Cedar, Cell 34:5503-5513 (1988); Tate et al., Curr. Opin. Genet. Dev. 3:225-231 [1993]; Christman et al., Virus Strategies, eds. Doerfler, W. & Bohm, P. (VCH, Weinheim, N.Y.) pp. 319-333 [1993])。

20

【0175】

DNA メチル化の正常パターンの破壊は癌の発症と関連づけられてきた(Christman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:7347-7351 [1995])。腫瘍および腫瘍由来細胞株からのDNAの5-MeC含量は一般に正常組織よりも低い (Jones et al., Adv. Cancer Res 40:1-30 [1983])。特定の癌遺伝子、例えば、 c-myc、c-Ki-ras およびc-Ha-rasの低メチル化が様々なヒトおよび動物腫瘍において検出されてきた (Nambu et al., Jpn. J. Cancer (Gann) 78:696-704 [1987]; Feinberg et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 111:47-54 [1983]; Cheah et al., JNCI73:1057-1063 [1984]; Bhavé et al., Carcinogenesis (Lond) 9:343-348 [1988]。ヒト腫瘍進行のもっともよく研究された例の一つでは、DNAの低メチル化が結腸癌の発症における初期現象であることが示されている (Goetz et al., Science 228:187-290 [1985])。メチル化による干渉はインビボで腫瘍形成を導きうる。メチル化阻害剤、例えば、 L-メチオニンまたは5-アザシトジンの供給、あるいはリポトロプ (lipotrope) を枯渇した食餌の供給による5-アデノシンメチオニンの重篤な欠損はラットにおいて肝臓腫瘍の形成を誘導することが報告されている (Wainfan et al., Cancer Res. 52:2071s-2077s [1992])。研究により極端なりポトロプ欠損食は、遺伝子、例えば、 c-myc、ras およびc-fosの特定の部位におけるメチル基の欠失を導きうることが示されている (Dizik et al., Carcinogenesis 12:1307-1312 [1991])。低メチル化はDNA MTase 活性の高いレベルの存在にもかかわらず起こる (Wainfan et al., Cancer Res. 49:4094-4097 [1989])。持続的に活性の増殖に必要な遺伝子は分化の際にメチル化されると不活性になり、組織特異的遺伝子は低メチル化されて活性となる。低メチル化は2つの段階の間の均衡をシフトさせうる。ある態様において、本発明はしたがってこの天然の現象を利用して、特定の遺伝子プロモーターの部位特異的メチル化のための組成物および方法を提供し、それによって特定の遺伝子の転写、そして翻訳を妨げる。別の態様において、本発明は、目的遺伝子 (例えば、 腫瘍抑制遺伝子) の発現を遺伝子のメチル化パターンを変化

30

40

50

させることによって上方制御するための方法および組成物を提供する。

【0176】

本発明はメチル化オリゴヌクレオチドの使用に限定されない。実際、非メチル化オリゴヌクレオチドの遺伝子発現阻害のための使用が本発明により具体的に考慮される。本発明の開発段階で行われた実験（例えば、実施例 8を参照）は、Bcl-2を標的とした非メチル化オリゴヌクレオチドがリンパ腫細胞の増殖をメチル化オリゴヌクレオチドに匹敵するレベルで阻害したことを示している。

【0177】

4.オリゴヌクレオチドの調製および処方

オリゴヌクレオチド合成の既知のあらゆる方法を本発明の修飾オリゴヌクレオチドの調製に用いることが出来る。ある態様において本発明の教示に従い、メチル化オリゴヌクレオチドを用いて、ヌクレオチド、dCが適宜5-メチル-dCに置換される。本発明の修飾または非修飾オリゴヌクレオチドはもっとも便宜にはいずれかの市販の自動核酸合成機を用いて調製される。それらは顧客の指示にしたがってオリゴヌクレオチドを注文合成する市販源から得ることが出来る。

【0178】

オリゴヌクレオチドは化合物の一形態であるが、本発明はその他のオリゴマー性オリゴヌクレオチド化合物を含み、例えば、これらに限定されないが以下に記載のようなオリゴヌクレオチド模倣体が含まれる。本発明によるオリゴヌクレオチド化合物は典型的には約 18～ 約 30の核酸塩基を含むが（即ち、約 18 ～ 約 30の連結した塩基）、より長い、また短い配列も本発明に利用できる。

【0179】

本発明に有用な化合物の具体例としては、修飾バックボーンまたは非天然ヌクレオシド間結合(internucleoside linkage)を含むオリゴヌクレオチドが挙げられる。本明細書に規定されるように、修飾バックボーンを有するオリゴヌクレオチドには、バックボーンにリン原子を保持するものとバックボーンにリン原子を有さないものが含まれる。本明細書の目的のために、ヌクレオシド間バックボーンにリン原子を有さない修飾オリゴヌクレオチドもオリゴヌクレオシドであるとみなすことができる。

【0180】

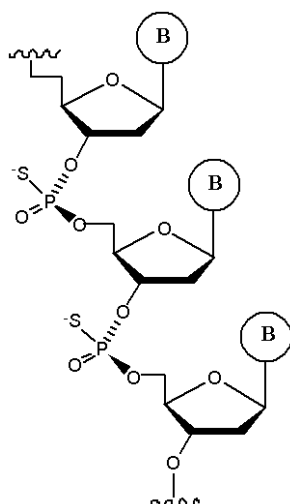
修飾オリゴヌクレオチドバックボーンとしては、例えば、ホスホロチオエート、キラルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、メチルおよびその他のアルキルホスホネート、例えば、3'-アルキレンホスホネートおよびキラルホスホネート、ホスフィネート、ホスホラミデート、例えば、3'-アミノホスホラミデートおよびアミノアルキルホスホラミデート、チオノホスホラミデート、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、および正常3'-5'結合を有するボラノホスホネート、これらの2'-5'結合アナログ、および逆の極性を有するものであって、ヌクレオシド単位の隣接する対が3'-5'から5'-3'または2'-5'から5'-2'に連結しているものが挙げられる。さまざまな塩、混合塩および遊離酸形態も含まれる。

【0181】

ある態様においてオリゴヌクレオチドは下記一般構造を有するホスホロチオエートバックボーンを有する。

【0182】

【化 1】



10

【0183】

リン原子を含まない修飾オリゴヌクレオチドバックボーンは、短鎖アルキルまたはシクロアルキルヌクレオシド間結合、混合ヘテロ原子およびアルキルまたはシクロアルキルヌクレオシド間結合、あるいは1以上の短鎖ヘテロ原子またはヘテロ環ヌクレオシド間結合によって形成されるバックボーンを有する。これらには、モルホリノ結合（ヌクレオシドの糖部分から一部形成される）；シロキサンのバックボーン；スルフィド、スルホキシドおよびスルホンバックボーン；ホルムアセチルおよびチオホルムアセチルバックボーン；メチレンホルムアセチルおよびチオホルムアセチルバックボーン；アルケン含有バックボーン；スルファメートバックボーン；メチレンイミノおよびメチレンヒドラジノバックボーン；スルホネートおよびスルホンアミドバックボーン；アミドバックボーン；および混合N、O、S およびCH₂ 構成部分を有するその他のものが含まれる。

20

【0184】

その他のオリゴヌクレオチド模倣体において、ヌクレオチド単位の糖およびヌクレオシド間結合の両方（即ちバックボーン）が新しい基と置換される。塩基単位は適当な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのために維持される。1つのそのようなオリゴマー性化合物であって、優れたハイブリダイゼーション特性を示すオリゴヌクレオチド模倣体は、ペプチド核酸（PNA）と称される。PNA 化合物において、オリゴヌクレオチドの糖バックボーンは、アミド含有バックボーン、具体的には、アミノエチルグリシンバックボーンに置換されている。核酸塩基は保持されており、バックボーンのアミド部分のアザ窒素原子に直接または間接的に結合している。PNA 化合物の調製を教示する代表的な特許としては、これらに限定されないが、米国特許第5,539,082；5,714,331；および 5,719,262号が挙げられ、これらはそれぞれ引用により本明細書にその内容を含める。PNA 化合物のさらなる教示は、Nielsen et al., Science 254:1497 (1991) および Neilsen, Methods in Enzymology, 313, 156-164 (1999)に見ることが出来る。PNA 化合物は市販源、例えば、Applied Biosystems (Foster City, CA, USA)から入手できる。

30

40

【0185】

ある態様において、本発明のオリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエートバックボーンを有するオリゴヌクレオチドおよび、ヘテロ原子バックボーン、具体的には、上記引用米国特許第5,489,677号の、-CH₂、-NH-O-CH₂-、-CH₂-N(CH₃)-O-CH₂- [メチレン（メチルイミノ）または MMI バックボーンとして知られる]、-CH₂-O-N(CH₃)-CH₂-、-CH₂-N(CH₃)-N(CH₃)-CH₂、および -O-N(CH₃)-CH₂-CH₂- [ここでネイティブなホスホジエステルバックボーンは-O-P-O-CH₂-として表される]、および上記引用 米国特許第5,602,240号のアミドバックボーンを有するオリゴヌクレオチドである。また、上記引用米国特許第5,034,506号のモルホリノバックボーン構造を有するオリゴヌクレオチドも例示される。

【0186】

50

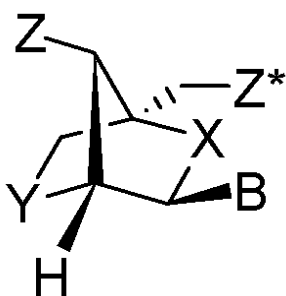
オリゴヌクレオチドは、リボースおよびデオキシリボース以外の糖を有し得、例えば、アラビノフラノース（国際公表第WO 99/67378号に記載、これは引用により本明細書に含める）、キシロアラビノフラノース（米国特許第6,316,612 および 6,489,465号に記載、これらは引用により本明細書に含める）、 α -スレオフラノース（Schoening, et al. (2000) Science, 290, 1347-51、これは引用により本明細書に含める）および L-リボフラノースが挙げられる。糖模倣体はヌクレオチド中の糖と置換できる。これらには、ペントフラノシル糖の代わりに、シクロヘキサン（Wang et al. (2000) J. Am. Chem. Soc. 122, 859 5-8602; Vebeure et al. Nucl. Acids Res. (2001) 29, 4941-4947、これらは引用により本明細書に含める）、トリシクロ基（Steffens, et al. J. Am. Chem. Soc. (1997) 119, 11548-11549、これは引用により本明細書に含める）、シクロブチル基、ヘキシトール基（Maurinsh, et al. (1997) J. Org. Chem, 62, 2861-71; J. Am. Chem. Soc. (1998) 120, 5381-94、これらは引用により本明細書に含める）、アルトリトール基（Allart, et al. Tetrahedron (1999) 6527-46、これは引用により本明細書に含める）、ピロリジン基（Scharer, et al., J. Am. Chem. Soc., 117, 6623-24、これは引用により本明細書に含める）、フラノース環の酸素をメチレン基に置換することにより得られる炭素環基（Froehler and Ricca, J. Am. Chem. Soc. 114, 8230-32、これは引用により本明細書に含める）またはSと置換することにより得られる4'-チオフラノース（Hancock, et al., Nucl. Acid s Res. 21, 3485-91、これは引用により本明細書に含める）、および/またはモルホリノ基（Heasman, (2002) Dev. Biol., 243, 209-214、これは引用により本明細書に含める）が含まれる。モルホリノオリゴヌクレオチドはGene Tools, LLC (Corvallis Oregon, USA) から市販されている。

【0187】

オリゴヌクレオチドは「ロックされた(locked)核酸」または「LNA」も含みうる。LNAは二環式、三環式または多環式でありうる。LNAには多数の種類のモノマーが含まれ、その1つを式 Iに示す。

【0188】

【化2】



I

[式中:]

Bは核酸塩基を構成する;

Z* はヌクレオシド間結合および末端基から選択される;

Z は先行するヌクレオチド/ヌクレオシドのヌクレオシド間結合に対する結合および末端基から選択され、ただし、Zと Z*との一方のみが末端基であり得る;

Xおよび Yは独立に、-O-、-S-、-N(H)-、-N(R)-、-CH₂-または-C(H)=、CH₂-O-、-CH₂-S-、-CH₂-N(H)-、-CH₂-N(R)-、-CH₂-CH₂- または-CH₂-C(H)=、-CH=CH- から選択される; ただし、XおよびYは両方がOであることはない]。

【0189】

式 I で示すLNA [2'-Y,4'-C-メチレン- β -D-リボフラノシル] モノマー ([2,2,1] ビシクロヌクレオシド)に加えて、LNA ヌクレオチドには、その他のフラノースまたはその他の 5 または6-員環および/または異なるモノマー処方、例えば、2'-Y,3' 結合および 3'-Y,4' 結合、1'-Y,3結合、1'-Y,4' 結合、3'-Y,5' 結合、2'-Y、5' 結合、1'-Y,2' 結合ビシクロヌクレオシドおよびその他により「ロックされた核酸」も含ま

れうる。上記LNAはすべて異なる不斉中心を用いて得ることが出来、その結果、例えば、LNA [3'-Y-4'-C-メチレン (またはエチレン)-β (またはα)-アラビノ-キシロ-またはL-リボ-フラノシル] モノマーが生じる。LNA オリゴヌクレオチドおよびLNA ヌクレオチドは国際公開第WO 99/14226号および以下の出願に一般に記載されている；国際公開第WO 00/56746、WO 00/56748、WO 00/66604、WO 01/25248、WO 02/28875、WO 02/094250、WO 03/006475号；米国特許第6,043,060、6268490、6770748、6639051号、および 米国特許公開第2002/0125241、2003/0105309、2003/0125241、2002/0147332、2004/0244840 および 2005/0203042号、これらはすべて引用により本明細書に含める。LNA オリゴヌクレオチドおよび LNA アナログオリゴヌクレオチドは、例えば、Proligo LLC、6200 Lookout Road、Boulder、CO 80301 USAから市販されている。

10

【0190】

オリゴヌクレオチドは1以上の置換糖部分も含みうる。オリゴヌクレオチドは2' 糖位置に以下のいずれかを含みうる：OH；F；O-、S-、または N アルキル；O-、S-、またはN-アルケニル；O-、S- またはN-アルキニル；または O-アルキル-O-アルキル、ここで、アルキル、アルケニルおよびアルキニルは置換または非置換 C1~C10 アルキルまたはC2~C10 アルケニルおよびアルキニル、 $O[(CH_2)_nO]_mCH_3$ 、 $O(CH_2)_nOCH_3$ 、 $O(CH_2)_nNH_2$ 、 $O(CH_2)_nCH_3$ 、 $O(CH_2)_nONH_2$ 、および $O(CH_2)_nON[(CH_2)_nCH_3]_2$ であり得、ここでnおよびm は1から約 10である。さらにその他のオリゴヌクレオチドは2' 位置に以下のいずれかを含む：C1~C10低級アルキル、置換低級アルキル、アルカリル、アラルキル、O-アルカリルまたはO-アラルキル、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ONO₂、NO₂、N₃、NH₂、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリル、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換シリル、RNA 切断基、レポーター基、インターカレーター、オリゴヌクレオチドの薬物動態特性を改良する基またはオリゴヌクレオチドの薬物動力学特性を改良する基および同様の性質を有するその他の置換基。1つの修飾は2'-メトキシエトキシ (2'-O-CH₂CH₂OCH₃、2'-O-(2 メトキシエチル)または2'-MOEとも称される) (Martin et al., *Helv. Chim. Acta* 78:486 [1995]) 即ち、アルコキシアルコキシ基を含む。さらなる修飾は、2'-DMAOEとも称される 2'-ジメチルアミノオキシエトキシ (即ち、 $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ 基)、および2'-ジメチルアミノエトキシエトキシ (当該技術分野において2'-O-ジメチルアミノエトキシエチル または2'-DMAEOEとしても知られる)、即ち、2'-O-CH₂-O-CH₂-N(CH₂)₂を含む。

20

30

【0191】

その他の修飾には、2'-メトキシ (2'-O-CH₃)、2'-アミノプロポキシ (2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂) および2'-フルオロ (2'-F)が含まれる。同様の修飾はオリゴヌクレオチドのその他の位置、特に、3' 末端ヌクレオチドの糖の3' 位置または2'-5' 連結オリゴヌクレオチドおよび5' 末端ヌクレオチドの5' 位置にも行うことが出来る。オリゴヌクレオチドは糖模倣体、例えば、ペントフラノシル 糖の代わりにシクロブチル部分を有しうる。

【0192】

オリゴヌクレオチドは、核酸塩基 (当該技術分野において単に「塩基」としばしば称される) 修飾または置換も含みうる。本明細書において用いる場合、「非修飾」または「天然」核酸塩基には、プリン塩基であるアデニン (A)およびグアニン (G)、およびピリミジン塩基であるチミン (T)、シトシン (C)およびウラシル (U)が含まれる。修飾核酸塩基には、その他の合成および天然核酸塩基、例えば、5-メチルシトシン、イソシトシン、シュードイソシトシン、5-ブロモウラシル、5-プロピニルウラシル、5-プロピニルシトシン、5-プロピニ-6-フルオロウラシル、5-メチルチアゾールウラシル、6-アミノプリン、2-アミノプリン、イノシン、ジアミノプリン、7-デアザグアニン、7-デアザデニン、3-デアザグアニン、3-デアザアデニン、8-アザグアニン、8-アザアデニン、7-プロピン-7-デアザデニン、7-プロピン-7-デアザグアニン、2-クロロ-6-アミノプリン、4-アセチルシトシン、5-ヒドロキシメチルシトシン、8-ヒドロキシ-N6-メチルアデノシン、アジリジニルシトシン、5-(カルボキシヒドロキシル-メチル) ウラシル、5-フルオロウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジ

40

50

ヒドロウラシル、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルアデニン、1-メチルシュードウラシル、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、N6-メチルアデニン、7-メチルグアニン およびアデニンおよびグアニンのその他のアルキル誘導体、2-プロピルアデニンおよびアデニンおよびグアニンのその他のアルキル誘導体、2-アミノアデニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、ベータ-D-マンノシルクエオシン(queosine)、5'-メトキシカルボニルメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸、オキシブトキソシン、シュードウラシル、クエオシン、2-チオシトシン、2-チオチミン、5-ハロウラシル、5-ハロシトシン、6-アゾウラシル、シトシンおよびチミン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-ヒドロキシルおよびその他の 8-置換アデニンおよびグアニン、5-トリフルオロメチルウラシルおよびシトシン、N-ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸、クエオシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-チオシトシンおよび2,6-ジアミノプリンが挙げられる。さらなる核酸塩基としては米国特許第3,687,808号に開示のものが含まれる。特定のかかる核酸塩基は本発明のオリゴマー化合物の結合親和性の上昇に特に有用である。これらには、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジンおよび N-2、N-6 および O-6 置換プリン、例えば、2-アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシルおよび5-プロピニルシトシンが含まれる。5-メチルシトシン置換は核酸の二本鎖安定性を0.6-1.2°C上昇させることが示されている。それらは2'-O-メトキシエチル糖修飾と組み合わせた場合に特に有効である。

【0193】

本発明のオリゴヌクレオチドのその他の修飾には、オリゴヌクレオチドの1以上の部分への化学結合またはオリゴヌクレオチドの活性、細胞内分布または細胞の取り込みを増強するコンジュゲートが含まれる。かかる部分としては、これらに限定されないが、脂質部分、例えば、コレステロール部分、コール酸、チオエーテル、(例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール)、チオコレステロール、脂肪族鎖、(例えば、ドデカンジオールまたはウンデシル残基)、リン脂質、(例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールまたはトリエチルアンモニウム-1,2-ジ-O-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート)、ポリアミンまたはポリエチレングリコール鎖またはアダマンタン酢酸、パルミチル部分、またはオクタデシルアミンまたはヘキシルアミノカルボニルオキシコレステロール部分が挙げられる。

【0194】

当業者であれば上記の修飾を含むオリゴヌクレオチドの作成方法には精通している。本発明は上記のオリゴヌクレオチドに限定されない。あらゆる好適な修飾または置換を利用できる。

【0195】

所与の化合物のすべての位置が均一に修飾される必要はなく、実際2以上の上記修飾を単一の化合物に組み込むことが出来るし、オリゴヌクレオチド内の単一のヌクレオチドに組み込むことも出来る。本発明は下記のように本発明のオリゴマー化合物を含む医薬組成物および製剤を含む。

【0196】

5. 混合物

ある態様において、本発明は、遺伝子(例えば、癌遺伝子)の調節領域に向けられた2以上のオリゴヌクレオチドを含む混合物を提供する。ある態様において、2以上のオリゴヌクレオチドは同じ遺伝子の調節領域の異なる領域にハイブリダイズする。別の態様において、2以上のオリゴヌクレオチドは2種類の遺伝子の調節領域にハイブリダイズする。本発明は特定の機構に限定されない。実際、機構の理解は本発明の実施に必須ではない。しかし、2以上の本発明の化合物の組合せは、別々に投与された化合物のそれぞれの相加的阻害よりも大きな癌細胞増殖の阻害を提供すると考えられる。

【0197】

6. 配列番号のインデックス

配列番号1: c-erb-2 (her-2) 上流領域

配列番号2-281: c-erb-2 (her-2) オリゴヌクレオチド

配列番号282: c-ki-ras 上流領域

配列番号283-461: c-ki-ras オリゴヌクレオチド

配列番号462: c-Ha-ras 上流領域

配列番号463-935: c-Ha-ras オリゴヌクレオチド

配列番号936: c-myc 上流領域

配列番号937-1080: c-myc オリゴヌクレオチド

配列番号1081: TGF- α 上流領域

10

配列番号1082-1248: TGF- α オリゴヌクレオチド

配列番号1249: bcl-2 上流領域

配列番号1250: PNT-100 オリゴヌクレオチドメチル化

配列番号1251: PNT-100 オリゴヌクレオチド 非メチル化

配列番号1252: bcl-2 オリゴヌクレオチド メチル化

配列番号1253: bcl-2 オリゴヌクレオチド 非メチル化

配列番号1254: bcl-2 二次 プロモーター配列

配列番号1255-1266: bcl-2 配列

配列番号1250-1254および1267-1477; bcl-2 オリゴヌクレオチド

配列番号1448-1461: bcl-2 コントロールオリゴヌクレオチド

20

【0198】

本発明のオリゴヌクレオチド化合物は、単独でまたは化学療法薬、放射線療法または外科手術と組み合わせて利用できる。

【0199】

B. 化学療法薬

本発明の化学療法薬は、あらゆる好適な化学療法薬剤または化学療法薬剤の組合せ(例えば、混合物)を含みうる。例示的な化学療法薬としては、これらに限定されないが、アルキル化剤、白金、代謝拮抗薬、アントラサイクリン、タキサン、カンプトテシン、ニトロソウレア、EGFR 阻害剤、抗生物質、HER2/neu 阻害剤、血管新生阻害剤、キナーゼ阻害剤、プロテアソーム阻害剤、免疫治療薬、ホルモン治療薬、光線力学的治療薬、癌ワクチン、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、スフィンゴ脂質調節物質、オリゴマー、その他の未分類の化学療法薬剤およびそれらの組合せが挙げられる。

30

【0200】

1. アルキル化剤

アルキル化剤はDNA上の負に荷電した部位(例えば、酸素、窒素、リンおよび硫黄原子)に攻撃し、DNAに結合して、複製、転写および塩基対形成を変化させると考えられる化学療法薬である。DNAのアルキル化はまた、DNA 鎖破壊およびDNA 鎖架橋も導くと考えられている。このようにDNAを変化させることにより、細胞活性は有効に停止され、癌細胞が死滅する。一般的なアルキル化剤としては、これらに限定されないが、プロカルバジン、イフォスファミド、シクロフォスファミド、メルファラン、クロラムブシル、ダカルバジン (Decarbazine)、ブスルファン、チオテパ等が挙げられる。アルキル化剤、例えば、上記のものは、1以上のその他のアルキル化剤および/または異なるクラスの1以上の化学療法薬と組合せて利用できる。

40

【0201】

2. 白金

白金化学療法薬はDNA 合成、転写および機能をDNA サブユニットを架橋することにより阻害すると考えられている(架橋はDNAの2鎖の間または1つの鎖内に起こりうる)。一般的な白金化学療法薬としては、これらに限定されないが、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、エロキサチン等が挙げられる。白金化学療法薬、例えば、上記のものは1以上のその他の白金および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて

50

利用できる。

【0202】

3.代謝拮抗薬

代謝拮抗薬である化学療法薬は、新しいDNAを作るのに必要なものなどの正常代謝経路に干渉すると考えられている。一般的な代謝拮抗薬としては、これらに限定されないが、メトトレキサート、5-フルオロウラシル(例えば、カペシタビン)、ゲムシタビン(2'-デオキシ-2',2'-ジフルオロシチジンモノヒドロクロリド(β -異性体)、Eli Lilly)、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、フルダラビン、クラドリビン、シタラビン、テガフルール、ラルチトレキセド、シトシンアラビノシド等が挙げられる。硝酸ガリウムはリボヌクレオチドレダクターゼを阻害するさらなる代謝拮抗薬である。代謝拮抗薬、例えば、上記のものは1以上のその他の代謝拮抗薬および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

10

【0203】

4.アントラサイクリン

アントラサイクリンは、遊離酸素ラジカルの形成を促進すると考えられている。かかるラジカルの結果、DNA鎖が破壊され、次いでDNA合成および機能が阻害される。アントラサイクリンはまた、酵素トポイソメラーゼを、酵素とDNAとの複合体の形成により阻害すると考えられている。一般的なアントラサイクリンとしては、これらに限定されないが、ダウノルビシン、ドキソルビシン、イダルビシン、エピルビシン、ミトキサントロン、アドリアマイシン、ブレオマイシン、マイトマイシン-C、ダクチノマイシン、ミトラマイシン等が挙げられる。アントラサイクリン、例えば、上記のものは、1以上のその他のアントラサイクリンおよび/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

20

【0204】

5.タキサン

タキサンは、細胞周期のM期に微小管に高い親和性にて結合し、その正常機能を阻害すると考えられている。一般的なタキサンとしては、これらに限定されないが、パクリタキセル、ドセタキセル、タキソテール、タキソール、タキサズム、7-エピパクリタキセル、t-アセチルパクリタキセル、10-デスアセチル-パクリタキセル、10-デスアセチル-7-エピパクリタキセル、7-キシロシルパクリタキセル、10-デスアセチル-7-エピパクリタキセル、7-N-N-ジメチルグリシルパクリタキセル、7-L-アラニルパクリタキセル等が挙げられる。タキサン、例えば、上記のものは、1以上のその他のタキサンおよび/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

30

【0205】

6.カンプトテシン

カンプトテシンはトポイソメラーゼおよびDNAと複合体を形成し、その結果この酵素の機能の阻害を導くと考えられている。さらにトポイソメラーゼの存在は進行中のDNA合成に必要であると考えられている。一般的なカンプトテシンとしては、これらに限定されないが、イリノテカン、トポテカン、エトポシド、ビンカアルカロイド(例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチンまたはビノレルビン)、アムサクリン、テニポシド等が挙げられる。カンプトテシン、例えば、上記のものは、1以上のその他のカンプトテシンおよび/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

40

【0206】

7.ニトロソウレア

ニトロソウレアは、DNA修復に必要な変化を阻害すると考えられている。一般的なニトロソウレアとしては、これらに限定されないが、カルムスチン(BCNU)、ロムスチン(CCNu)、セムスチン等が挙げられる。ニトロソウレア、例えば、上記のものは1以上のその他のニトロソウレアおよび/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

【0207】

50

8. EGFR 阻害剤

EGFR (即ち、上皮増殖因子受容体) 阻害剤は、EGFRを阻害し、細胞増殖および分化を含む細胞応答を干渉すると考えられている。EGFR 阻害剤には1以上のEGFRの機能または産生を阻害する分子が含まれる。それらにはEGFRの低分子阻害剤、EGFRに対する抗体、アンチセンスオリゴマー、RNAi 阻害剤およびEGFRの発現を低下させるその他のオリゴマーが含まれる。一般的なEGFR 阻害剤としては、これらに限定されないが、ゲフィチニブ、エルロチニブ(Tarceva (登録商標))、セツキシマブ(Erbitux (登録商標))、パニツムマブ(Vectibix (商標)、Amgen) ラパチニブ (GlaxoSmithKline)、CI1033またはPD183805またはカンテルニブ (6-アクリルアミド-N-(3-クロロ-4-フルオロフェニル)-7-(3-モルホリノプロボキシ)キナゾリン-4-アミン、Pfizer)等が挙げられる。その他の阻害剤としては、PKI-166 (4-[(1R)-1-フェニルエチルアミノ]-6-(4-ヒドロキシフェニル)-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン、Novartis)、CL-387785 (N-[4-(3-ブロモアニリノ)キナゾリン-6-イル]ブト-2-インアミド)、EKB-569 (4-(3-クロロ-4-フルオロアニリノ)-3-シアノ-6-(4-ジメチルアミノブト2(E)-エンアミド)-7-エトキシキノリン、Wyeth)、ラパチニブ (GW2016、GlaxoSmithKline)、EKB509 (Wyeth)、パニツムマブ (ABX-EGF、Abgenix)、マツズマブ (EMD 72000、Merck)、およびモノクローナル抗体 RH3 (New York Medical)が挙げられる。EGFR 阻害剤、例えば、上記のものは、1以上のその他のEGFR 阻害剤および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

【0208】

9. 抗生物質

抗生物質は、遊離酸素ラジカルの形成を促進する結果、DNAを破壊し、癌細胞死を導くと考えられている。一般的な抗生物質としては、これらに限定されないが、ブレオマイシンおよびラパマイシン等が挙げられる。マクロライド殺真菌薬であるラパマイシン (RAP、Rapamune および Sirolimusとも称される)は細胞内でイムノフィリン FK506 結合タンパク質 12 (FKBP12)と結合し、その結果生じる複合体がラパマイシンの哺乳類標的(mTOR)のセリタンパク質キナーゼ活性を阻害する。ラパマイシンマクロライドには、ラパマイシンの天然形態ならびに mTORを標的化および阻害するラパマイシンアナログおよび誘導体が含まれる。その他のラパマイシンマクロライドとしては、これらに限定されないが、テムシロリムス(CCI-779、Wyeth))、エベロリムスおよびABT-578が挙げられる。抗生物質、例えば、上記のものは、1以上のその他の抗生物質および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

【0209】

10. HER2/neu 阻害剤

HER2/neu 阻害剤は、HER2 受容体を遮断し、腫瘍生存に必要な反応カスケードを阻止すると考えられている。Her2 阻害剤としては、Her2の機能または産生を阻害する分子が含まれる。それらにはHer2の低分子阻害剤、Her2に対する抗体、アンチセンスオリゴマー、RNAi 阻害剤およびチロシンキナーゼ発現を低下させるその他のオリゴマーが含まれる。一般的なHER2/neu 阻害剤としては、これらに限定されないが、トラスツズマブ (Herceptin (登録商標)、Genentech) 等が挙げられる。その他のHer2/neu 阻害剤としては、二重特異性抗体 MDX-210(FCγR1-Her2/neu) およびMDX-447 (Medarex)、パーツズマブ (rhu MAb 2C4、Genentech)が挙げられる。HER2/neu 阻害剤、例えば、上記のものは1以上のその他のHER2/neu 阻害剤および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

【0210】

11. 血管新生阻害剤

血管新生阻害剤は、血管内皮増殖因子、即ちVEGFを阻害し、それによって腫瘍の生存に必要な新しい血管の形成を阻害すると考えられている。VEGF 阻害剤には、1以上のVEGFの機能または産生を阻害する分子が含まれる。それらにはVEGFの低分子阻害剤、VEGFに対する抗体、アンチセンスオリゴマー、RNAi 阻害剤およびチロシンキナーゼ発現を低下させるその他のオリゴマーが含まれる。一般的な血管新生阻害剤としては、これらに限定

されないが、ベバシズマブ (Avastin (登録商標)、Genentech) が挙げられる。その他の血管新生阻害剤としては、これらに限定されないが、ZD6474 (AstraZeneca)、Bay-43-9006、ソラフェニブ (Nexavar、Bayer)、セマキサミブ (SU5416、Pharmacia)、SU6668 (Pharmacia)、ZD4190 (N-(4-ブromo-2-フルオロフェニル)-6-メトキシ-7-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)エトキシ]キナゾリン-4-アミン、Astra Zeneca)、ザクチマ (商標) (ZD6474、N-(4-ブromo-2-フルオロフェニル)-6-メトキシ-7-[2-(1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)エトキシ]キナゾリン-4-アミン、Astra Zeneca)、パタラニブ、(PTK787、Novartis)、モノクローナル抗体 IMC-1C11 (Imclone) 等が挙げられる。血管新生阻害剤、例えば、上記のものは、1以上のその他の血管新生阻害剤および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

10

【0211】

12. その他のキナーゼ阻害剤

EGFR、HER2 および VEGF 阻害剤に加えて、その他のキナーゼ阻害剤が化学治療薬として使用される。オーロラキナーゼ阻害剤としては、これらに限定されないが、例えば以下の化合物、4-(4-N ベンゾイルアミノ)アニリン)-6-メトキシ-7-(3-(1-モルホリノ)プロポキシ)キナゾリン (ZM447439、Ditchfield et al., J. Cell. Biol., 161:267-80 (2003)) およびヘスペリジン (Haaf et al., J. Cell Biol., 161: 281-94 (2003)) が挙げられる。オーロラキナーゼ阻害剤としての使用に好適なその他の化合物は Vankayalapati H, et al., Mol. Cancer Ther. 2:283-9 (2003) に記載されている。SRC/Abl キナーゼ阻害剤としては、これらに限定されないが、AZD0530 (4-(6-クロロ-2,3-メチレンジオキシアニリノ)-7-[2-(4-メチルピペラジン-1-イル)エトキシ]-5-テトラシクロピラン-4-イルオキシキナゾリン) が挙げられる。チロシンキナーゼ阻害剤には1以上のチロシンキナーゼの機能または産生を阻害する分子が含まれる。それらには、チロシンキナーゼの低分子阻害剤、チロシンキナーゼに対する抗体およびアンチセンスオリゴマー、RNAi 阻害剤およびチロシンキナーゼ発現を低下させるその他のオリゴマーが含まれる。CEP-701 および CEP-751 (Cephalon) はチロシンキナーゼ阻害剤として作用する。メシル酸イマチニブは bcr-abl の ATP 結合部位への結合により bcr-abl を阻害し、タンパク質の酵素活性を競合阻害するチロシンキナーゼ阻害剤である。イマチニブ は bcr-abl に非常に選択的であるが、その他の標的、例えば、c-kit および PDGF-R も阻害する。FLT-3 阻害剤としては、これらに限定されないが、タンツチニブ (MLN518、Millenium)、スーテント (SU11248、5-[5-フルオロ-2-オキソ-1,2-ジヒドロインドール-(3Z)-イリデンメチル]-2,4-ジメチル-1H-ピロール-3-カルボン酸 [2-ジエチルアミノエチル]アミド、Pfizer)、ミドスタウリン (4'-N-ベンゾイルスタウロスポリン、Novartis)、レフルノミド (SU101) 等が挙げられる。MEK 阻害剤としては、これらに限定されないが、2-(2-クロロ-4-ヨード-フェニルアミノ)-N-シクロプロピルメトキシ-3,4-ジフルオロ-ベンズアミド (PD184352/CI-1044、Pfizer)、PD198306 (Pfizer)、PD98059 (2'-アミノ-3'-メトキシフラボン)、U0126 (Promega)、発酵微生物抽出物由来の Ro092210 (Roche)、レゾルシクリック酸 ラクトン、微生物抽出物から単離された L783277 (Merck) 等が挙げられる。チロシンキナーゼ阻害剤、例えば、上記のものは、1以上のその他のチロシンキナーゼ阻害剤および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

20

30

40

【0212】

13. プロテアソーム阻害剤

プロテアソーム阻害剤は、破壊のための印のつけられたタンパク質のいくつかの分解を阻害すると考えられている。この結果、増殖停止または細胞死が起こる。一般的なプロテアソーム阻害剤としては、これらに限定されないが、ボルテゾミブ、オルテゾミブ等が挙げられる。プロテアソーム阻害剤、例えば、上記のものは1以上のその他のプロテアソーム阻害剤および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

【0213】

14. 免疫治療薬

免疫治療薬は、特異的標的に結合およびブロックし、腫瘍細胞増殖に必要な一連の現象

50

を破壊させると考えられている。一般的な免疫治療薬としては、これらに限定されないが、リツキシマブおよびCD20に対するその他の抗体、Campath-1HおよびCD-50に対するその他の抗体、エピラツズマブおよびCD-22に対するその他の抗体、ガリキシマブおよびCD-80に対するその他の抗体、アポリズマブ HU1D10およびHLA-DRに対するその他の抗体等が挙げられる。放射性同位体を抗体とコンジュゲートさせて放射免疫治療薬としてもよい。2つのかかる抗-CD20製品はトシツモマブ (Bexxar) およびイブリツモマブ (Zevalin)である。免疫治療薬、例えば、上記のものは、1以上のその他の免疫治療薬および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

【0214】

15. ホルモン治療薬

ホルモン治療薬は、細胞受容体を遮断し、ホルモンのインビボ産生を阻害し、および/または、細胞上のホルモン受容体を排除または修飾し、それらの結果、腫瘍増殖が遅延または停止され则认为されている。一般的なホルモン治療薬としては、これらに限定されないが、抗エストロゲン(例えば、タモキシフェン、トレミフェン、フルベストラント、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、イドキシフェン等)、プロゲステロゲン(例えば、メゲストロール酢酸エステル等)、アロマターゼ阻害剤(例えば、アナストロゾール、レトロゾール、エキセメスタン、ボロゾール、エキセメスタン、ファドロゾール、アミノグルテチミド、エキセメスタン、1-メチル-1,4-アンドロスタジエン-3,17-ジオン等)、抗-アンドロゲン(例えば、ビカルタミド、ニルタミド、フルタミド、シプロテロン酢酸エステル等)、黄体ホルモン放出ホルモンアゴニスト (LHRH アゴニスト)(例えば、ゴセレリン、リュープロリド、ブセレリン等); 5- α -レダクターゼ阻害剤、例えば、フィナステリド、等が挙げられる。ホルモン治療薬、例えば、上記のものは1以上のその他のホルモン治療薬および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

【0215】

16. 光線力学的治療薬

光線力学的治療薬は光感作薬を特定の波長の光に曝して癌細胞を死滅させる。一般的な光線力学的治療薬としては、例えば、ポルフィマーナトリウム(例えば、Photofrin^(登録商標))等が挙げられる。光線力学的治療薬、例えば、上記のものは、1以上のその他の光線力学的治療薬および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

【0216】

17. 癌ワクチン

癌ワクチンは、全不活化腫瘍細胞、全タンパク質、ペプチド断片、ウイルスベクター等を用いて癌細胞を標的とする免疫応答を生じさせると考えられている。一般的な癌ワクチンとしては、これらに限定されないが、修飾腫瘍細胞、ペプチドワクチン、樹状ワクチン、ウイルスベクターワクチン、熱ショックタンパク質ワクチン等が挙げられる。

【0217】

18. ヒストンデアセチラーゼ阻害剤

ヒストンデアセチラーゼ阻害剤は転写活性を調節することができ、したがって、血管新生および細胞周期をブロックし、アポトーシスおよび分化を促進することが出来る。ヒストンデアセチラーゼ阻害剤としては、これらに限定されないが、SAHA (スベロイルアニリドヒドロキサム酸)、デブシペプチド (FK288)およびアナログ、Pivanex (Titan)、CI994 (Pfizer)、MS275 PXD101 (CuraGen、TopoTarget) MGCD0103 (MethylGene)、LBH589、NVP-LAQ824 (Novartis) 等が挙げられ、化学療法薬として用いられてきた。ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、例えば、上記のものは、1以上のその他のヒストンデアセチラーゼ阻害剤および/または1以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

【0218】

19. スフィンゴ脂質調節物質

スフィンゴ脂質代謝の調節物質はアポトーシスを誘導することが示されている。概説として、N.S. Radin、Biochem J、371:243-56 (2003); D.E. Modrak、et al.、Mol. Cancer

10

20

30

40

50

Ther, 5:200-208 (2006)、K. Desai, et al., Biochim Biophys Acta, 1585:188-92 (2002) および C.P. Reynolds, et al. and Cancer Lett, 206, 169-80 (2004)を参照されたい。これらはすべて引用により本明細書に含める。スフィンゴ脂質代謝に関与する様々な酵素の調節物質および阻害剤は化学治療薬として利用できる。

【0219】

(a) セラミドはアポトーシスを誘導することが示されており、したがって、異種セラミドまたは短鎖セラミドアナログ、例えば、N-アセチルスフィンゴシン (C₂-Cer)、C₆-Cerまたは C₈-Cerが用いられている。その他のアナログとしては、これらに限定されないが、Cer 1-グルクロニド、ポリ(エチレン グリコール)-由来セラミドおよびペグ化セラミドが挙げられる。

10

【0220】

(b)セラミド合成を刺激する調節物質はセラミドレベルの上昇に用いられている。セラミド合成に関与する酵素であるセリン パルミトイルトランスフェラーゼを刺激する化合物としては、これらに限定されないが、テトラヒドロカンナビノール (THC) および合成アナログおよびアナンダミド、天然の哺乳類カンナビノイドが挙げられる。 ゲムシタビン、レチノイン酸および誘導体、フェンレチニド [N-(4-ヒドロキシフェニル)レチナミド、(4-HPR)]、カンプトテシン、ホモカンプトテシン、エトポシド、パクリタキセル、ダウノルビシンおよびフルダラビンもセラミドレベルを上昇させることが示されている。さらに、バルスポダール (PSC833, Novartis)、シクロスポリンの非免疫抑制性非腎毒性アナログおよびp-糖タンパク質の阻害剤もセラミドレベルを上昇させる。

20

【0221】

(c)スフィンゴミエリナーゼの調節物質はセラミドレベルを上昇させる。それらには、GSH レベルを低下させる化合物が含まれる。というのはGSHはスフィンゴミエリナーゼを阻害するからである。例えば、ベータシン (β-アラニルシステアミンジスルフィド)は、GSHを酸化し、骨髄腫、黒色腫および乳癌患者において良好な効果をもたらした。COX-2 阻害剤、例えば、セレコキシブ、ケトコナゾール、抗真菌薬、ドキソルビシン、ミトキサントロン、D609 (トリシクロデカン-9-イル-キサントゲネート)、デキサメタゾン、およびAra-C (1-β-D-アラビノフラノシルシトシン)もスフィンゴミエリナーゼを刺激する。

【0222】

(d)グルコシルセラミドの加水分解を刺激する分子も、セラミドレベルを上昇させる。ゴーシェ病における使用に利用できる酵素、GlcCer グルコシダーゼは、特にグルコースアクセプターおよび/または酵素の活性化因子としてのレチノールまたはペンタノールとともに治療薬として利用できる。サポシン C およびそのアナログならびに抗精神病薬、クロロプロマジンのアナログも有用であり得る。

30

【0223】

(e)グルコシルセラミド合成阻害剤としては、これらに限定されないが、PDMP (N-[2-ヒドロキシ-1-(4-モルホリニルメチル)-2-フェニルエチルデカンアミド])、PMPP (D,L-スレオ-(1-フェニル-2-ヘキサデカノイルアミノ-3-モルホリノ-1-プロパノール)、P4またはPPPP (D-スレオ-1-フェニル-2-パルミトイルアミノ-3-ピロリジノ-1-プロパノール)、エチレンジオキシ-P4、2-デカノイルアミン-3-モルホリノプロフェノン、タモキシフェン、ラロキシフェン、ミフェプリストン (RU486)、N-ブチル デオキシノジリマイシンおよび抗アンドロゲン化学療法薬(ビカルタミド + リュープロリドアセテート)が挙げられる。ゴーシェ病の治療に通常用いられるザベスカ、(1,5-(ブチルイミノ)-1,5-ジデオキシ-D-グルシトール)は、グルコシルセラミド 合成のその他の阻害剤である。

40

【0224】

(f)セラミダーゼ阻害剤としては、これらに限定されないが、N-オレオイルエタノールアミン、セラミド切断形態、D-MAPP (D-エリスロ-2-テトラデカノイルアミノ-1-フェニル-1-プロパノール)および関連阻害剤 B13 (p-ニトロ-D-MAPP)が挙げられる。

【0225】

(g)スフィンゴシンキナーゼ阻害剤もセラミドレベルの上昇をもたらす。阻害剤としては

50

、これらに限定されないが、サフィンゴール (L-スレオ-ジヒドロスフィンゴシン)、N,N-ジメチル スフィンゴシン、トリメチルスフィンゴシンおよびスフィンゴシンのアナログおよび誘導体、例えば、ジヒドロスフィンゴシン、およびミリオシンが挙げられる。

【0226】

(h) フモニシンおよびフモニシンアナログは、セラミドシンターゼを阻害するが、デノボスフィンゴ脂質生合成阻害によりスフィンガニンレベルを上昇させ、アポトーシスを導く。

【0227】

(i) セラミドレベルを上昇させるその他の分子としては、これらに限定されないが、ミルテホシン (ヘキサデシルホスホコリン) が挙げられる。スフィンゴ脂質調節物質、例えば、上記のものは、1 以上のその他のスフィンゴ脂質調節物質および/または 1 以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

10

【0228】

20. オリゴマー

本発明のオリゴヌクレオチドに加えて、その他のオリゴヌクレオチドが癌治療薬として用いられている。それらには、ジェナセンス (オブリメルセン、G3139、Genta)、bcl-2 および G4460 を標的とする アンチセンスオリゴヌクレオチド (LR3001、Genta)、c-myc を標的とするその他のアンチセンスオリゴヌクレオチドが含まれる。その他のオリゴマーとしては、これらに限定されないが、siRNA、デコイ、RNAi オリゴヌクレオチド等が挙げられる。オリゴヌクレオチド、例えば、上記のものは、1 以上のその他のオリゴヌクレオチド阻害剤および/または 1 以上の異なるクラスの化学療法薬と組合せて利用できる。

20

【0229】

21. その他の化学療法薬剤

さらなる未分類の化学療法薬を以下の表2に記載する。

表 2 さらに未分類の化学療法薬

【0230】

【表 2 - 1】

一般名	商品名	製造元
アルデスロイキン (デス-アラニル-1, セリン-125 ヒト インターロイキン-2)	プロリュウキン	Chiron Corp., Emeryville, CA
アレムツズマブ (IgG1κ 抗 CD52 抗体)	キャンパス	Millennium and ILEX Partners, LP, Cambridge, MA
アリトレチノイン (9-シス-レチノイン酸)	パンレチン	Ligand Pharmaceuticals, Inc., San Diego CA
アロプリノール (1,5-ジヒドロ-4 H-ピラゾロ[3,4-d]ピリミジン-4-オン-ナトリウム塩)	ザイロプリム	GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, NC
アルトレタミン (N,N,N',N',N'',N''-,ヘキサメチル-1,3,5-トリアジン-2, 4, 6-トリアミン)	ヘキサレン	US Bioscience, West Conshohocken, PA
アミホスチン (エタンチオール, 2-[(3-アミノプロピル)アミノ]-, リン酸二水素 (エステル))	エチヨル	US Bioscience
アナストロゾール (1,3-ベンゼンジアセトニトリル, a, a, a', a'-テトラメチル-5-(1H-1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル))	アリミデックス	AstraZeneca Pharmaceuticals, LP, Wilmington, DE
三酸化二ヒ素	トリセノックス	Cell Therapeutic, Inc., Seattle, WA
アスパラギナーゼ (L-アスパラギン アミドヒドロラーゼ, タイプ EC-2)	エスルパル	Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ
BCG 生 <i>Mycobacterium bovis</i> (<i>Bacillus Calmette-Guérin</i> [BCG], 亜株 Montreal)の弱毒化株の凍結乾燥調製物	TICE BCG	Organon Teknika, Corp., Durham, NC
ベキサロテン カプセル (4-[1-(5,6,7,8-テトラヒドロ-3,5,5,8,8-ペンタメチル-2-ナフタレニル) エテニル] 安息香酸)	ターグレチン	Ligand Pharmaceuticals
ベキサロテングル	ターグレチン	Ligand Pharmaceuticals

【 0 2 3 1 】

【表 2 - 2】

一般名	商品名	製造元
ポリフェプロサン 20 インプラントとカルムスチン	グリアデール ウェハ	Guilford Pharmaceuticals, Inc., Baltimore, MD
セレコキシブ (4-[5-(4-メチルフェニル)-3-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-1-イル] ベンゼンスルホンアミド)	セレブレックス	Searle Pharmaceuticals, England
クロラムブシル (4-[ビス(2クロロエチル)アミノ]ベンゼンブタン酸)	リユーケラン	GlaxoSmithKline
クラドリビン (2-クロロ-2'-デオキシ-b-D-アデノシン)	ロイスタチン, 2-CdA	R.W. Johnson Pharmaceutical Research Institute, Raritan, NJ
ダカルバジン (5-(3,3-ジメチル-1-トリアゼノ)-イミダゾール-4-カルボキサミド (DTIC))	DTIC-Dome	Bayer AG, Leverkusen, Germany
ダクチノマイシン, アクチノマイシン D (<i>Streptomyces parvullus</i> により産生されるアクチノマイシン C ₆₂ H ₈₆ N ₁₂ O ₁₆)	コスメゲン	Merck
ダルベポエチンアルファ (組換えペプチド)	アラネスブ	Amgen, Inc., Thousand Oaks, CA
デニロイキンジフチトクス (組換えペプチド)	オンタック	Seragen, Inc., Hopkinton, MA
デクスラゾキサラン (<i>(S)</i> -4,4'-(1-メチル-1,2-エタンジイル)ビス-2,6- ピペラジンジオン)	ザインカード	Pharmacia & Upjohn Company
ドロモスタノロンプロピオネート (17b-ヒドロキシ-2a-メチル-5a-アンドロスタン-3-オンプロピオネート)	ドロモスタノロン	Eli Lilly & Company, Indianapolis, IN
ドロモスタノロンプロピオネート	マステロン 注射	Syntex, Corp., Palo Alto, CA
エリオット B 溶液	エリオット B 溶液	Orphan Medical, Inc
エポエチンアルファ (組換えペプチド)	エポジェン	Amgen, Inc

【表 2 - 3】

一般名	商品名	製造元
エストラムスチン (エストラ-1,3,5(10)-トリエン-3,17-ジオール (17(ベータ))-3-[ビス(2-クロロエチル)カルバ メート] 17-(リン酸二水素), 二ナトリウム塩, 一水和物, またはエストラジオール 3-[ビス(2- クロロエチル)カルバメート] 17-(リン酸二水 素), 二ナトリウム塩, 一水和物)	エムシット	Pharmacia & Upjohn Company
エキセメスタン (6-メチレンアンドロスタ-1,4-ジエン-3, 17-ジ オン)	アロマシン	Pharmacia & Upjohn Company
フィルグラスチム (r-metHuG-CSF)	ニューボジェ ン	Amgen, Inc
フロクスウリジン (動脈内) (2'-デオキシ-5-フルオロウリジン)	FUDR	Roche
フルベストラント (7-アルファ-[9-(4,4,5,5,5-ペンタ フルオロペン チルスルフィニル) ノニル] エストラ-1,3,5- (10)- トリエン-3,17-ベータ-ジオール)	ファスロデッ クス	IPR Pharmaceuticals, Guayama, Puerto Rico
ゲムツズマブオゾガマイシン (抗-CD33 hP67.6)	マイロターグ	Wyeth Ayerst
ヒドロキシウレア	ハイドレア	Bristol-Myers Squibb
イホスファミド (3-(2-クロロエチル)-2-[(2-クロロエチル)アミ ノ]テトラヒドロ-2H-1,3,2-オキサザホスホリ ン 2-オキシド)	IFEX	Bristol-Myers Squibb
イマチニブメシル酸塩 (4-[(4-メチル-1-ピペラジニル)メチル]-N-[4-メ チル-3-[[4-(3-ピリジニル)-2-ピリミジニル]ア ミノ]-フェニル]ベンザミド メタンスルホナ ート)	グリベック	Novartis AG, Basel, Switzerland
インターフェロンアルファ-2a (組換えペプチド)	ロフェロン-A	Hoffmann-La Roche, Inc., Nutley, NJ
インターフェロンアルファ-2b (組換えペプチド)	イントロン A (凍結乾燥 ベ タセロン)	Schering AG, Berlin, Germany

10

20

30

40

【表 2 - 4】

一般名	商品名	製造元
イリノテカン HCl ((4S)-4,11-ジエチル-4-ヒドロキシ-9-[(4-ピペリジノ)カルボニルオキシ]-1H-ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-3,14(4H,12H)ジオン 塩酸塩 三水和物)	カンプトサー	Pharmacia & Upjohn Company
レトロゾール (4,4'-(1H-1,2,4-トリアゾール-1-イルメチレン)ジベンゾニトリル)	フェマーラ	Novartis
ロイコボリン (L-グルタミン酸, N[4[(2-アミノ-5-ホルミル-1,4,5,6,7,8-ヘキサヒドロ-4-オキソ-6-プテリジニル)メチル]アミノ]ベンゾイル], カルシウム塩 (1:1))	ウェルコボリン, ロイコボリン	Immunex, Corp., Seattle, WA
レバミソール HCl ((-)-(S)-2,3,5,6-テトラヒドロ-6-フェニルイミダゾ [2,1-b]チアゾール-塩酸塩 C ₁₁ H ₁₂ N ₂ S·HCl)	エルガミゾール	Janssen Research Foundation, Titusville, NJ
ロムスチン (1-(2-クロロ-エチル)-3-シクロヘキシル-1-ニトロソウレア)	CeeNU	Bristol-Myers Squibb
メクロレタミン, ナイトロジェンマスタード (2-クロロ-N-(2-クロロエチル)-N-メチルエタナミン 塩酸塩)	マスタルゲン	Merck
メゲストロール酢酸エステル 17α(アセチルオキシ)-6-メチルプレグナ-4,6-ジエン-3,20-ジオン	メゲース	Bristol-Myers Squibb
メルファラン, L-PAM (4-[ビス(2-クロロエチル)アミノ]-L-フェニルアラニン)	アルケラン	GlaxoSmithKline
メルカプトプリン, 6-MP (1,7-ジヒドロ-6H-プリン-6-チオン 一水和物)	プリネトール	GlaxoSmithKline
メスナ (ナトリウム 2-メルカプトエタン スルホナート)	メスネックス	Asta Medica
メトトレキサート (N-[4-[(2,4-ジアミノ-6-プテリジニル)メチル]メチルアミノ]ベンゾイル]-L-グルタミン酸)	メトトレキサート	Lederle Laboratories

10

20

30

40

【表 2 - 5】

一般名	商品名	製造元
メトキサレン (9-メトキシ-7H-フロ[3,2-g][1]-ベンゾピラン-7-オン)	ウヴァデックス	Therakos, Inc., Way Exton, Pa
マイトマイシン C	ムタマイシン	Bristol-Myers Squibb
マイトマイシン C	マイトジトレ ックス	SuperGen, Inc., Dublin, CA
ミトタン (1,1-ジクロロ-2-(o-クロロフェニル)-2-(p-クロ ロフェニル) エタン)	リソドレン	Bristol-Myers Squibb
ミトキサントロン (1,4-ジヒドロキシ-5,8-ビス[[2- [(2-ヒドロキシ エチル)アミノ]エチル]アミノ]-9,10-アントラ センジオン ジ塩酸塩)	ノバントロン	Immunex Corporation
ナンドロロンフェンプロピオン酸エステル	デュラボリ ン-50	Organon, Inc., West Orange, NJ
ノフェツモマブ	ベルルマ	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Germany
オブレルベキン (IL-11)	ニューメガ	Genetics Institute, Inc., Alexandria, VA
パミドロン酸 (ホスホン酸 (3-アミノ-1-ヒドロキシプロピ リデン) ビス-, 二ナトリウム塩, 五水和物, (APD))	アレディア	Novartis
ペガデマーゼ (モノメトキシポリエチレングリコール スク シニミジル) 11 - 17 - アデノシン デアミナー ゼ)	アダジェン (ペガデマー ゼ ウシ)	Enzon Pharmaceuticals, Inc., Bridgewater, NJ
ペガスパルガーゼ (モノメトキシポリエチレングリコール スク シニミジル L-アスパラギナーゼ)	オンキャスパ ー	Enzon
ペグフィルグラスチム (組換え メチオニルヒト G-CSF (フィルグラ スチム)とモノメトキシポリエチレングリコ ールの共有結合体)	ニューラスタ	Amgen, Inc

10

20

30

40

【表 2 - 6】

一般名	商品名	製造元
ペントスタチン	ニペント	Parke-Davis Pharmaceutical Co., Rockville, MD
ピポブロマン	バーサイト	Abbott Laboratories, Abbott Park, IL
プリカマイシン, ミトラマイシン (<i>Streptomyces plicatus</i> に産生される抗生物質)	ミトラシン	Pfizer, Inc., NY, NY
キナクリン (6-クロロ-9-(1-メチル-4-ジエチル-アミン) ブチルアミノ-2-メトキシアクリジン)	アタブリン	Abbott Labs
ラスブリカーゼ (組換えペプチド)	エリテック	Sanofi-Synthelabo, Inc.,
サルグラモスチム (組換えペプチド)	プロキン	Immunex Corp
ストレプトゾシン (ストレプトゾシン 2-デオキシ-2-[[[(メチル ニトロソアミノ)カルボニル]アミノ]-a(およ び b)-D-グルコピラノース および 220 mg 無水クエン酸)	ザノサール	Pharmacia & Upjohn Company
タルク ($Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$)	スクレロゾー ル	Bryan, Corp., Woburn, MA
テモゾロミド (3,4-ジヒドロ-3-メチル-4-オキソイミダゾ [5,1-d]-アス-テトラジン-8-カルボキサミド)	テモダール	Schering
テニポシド, VM-26 (4'-デメチレピポドフィロトキシシン 9-[4,6-0- (R)-2- テニリデン-(ベータ)-D-グルコピラノ シド])	ブモン	Bristol-Myers Squibb
テストラクトン (13-ヒドロキシ-3-オキソ-13,17-セコアンドロ スタ-1,4-ジエン-17-オイック酸 [dgr]-ラクト ン)	テスラック	Bristol-Myers Squibb
チオグアニン, 6-TG (2-アミノ-1,7-ジヒドロ-6H-プリン-6-チオ ン)	チオグアニン	GlaxoSmithKline

10

20

30

40

【 0 2 3 6 】

【表 2-7】

一般名	商品名	製造元
チオテパ (アジリジン, 1,1',1"-ホスフィノチオイリジン トリス-, またはトリス (1-アジリジニル) ホス フィンスルフィド)	チオブレック ス	Immunex Corporation
トポテカン HCl ((S)-10-[(ジメチルアミノ) メチル]-4-エチル- 4,9-ジヒドロキシ-1H-ピラノ [3', 4': 6,7] インド リジノ [1,2-b] キノリン-3,14-(4H,12H)-ジオン モノ塩酸塩)	ハイカムチン	GlaxoSmithKline
トレミフェン (2-(p-[(Z)-4-クロロ-1,2-ジフェニル-1-ブテニ ル]-フェノキシ)-N,N-ジメチルエチルアミン シトラート (1:1))	フェアストン	Roberts Pharmaceutical Corp., Eatontown, NJ
トシツモマブ, I 131 トシツモマブ (組換え マウス 免疫療法 モノクローナル IgG _{2a} ラムダ 抗-CD20 抗体 (I 131 は放射線免 疫療法抗体))	ベクスキサー ル	Corixa Corp., Seattle, WA
トレチノイン, ATRA (全トランス レチノイン酸)	ベサノイド	Roche
ウラシルマスタード	ウラシルマス タード カプ セル	Roberts Labs
バルルビシン, N-トリフルオロアセチルアド リアマイシン-14-バレレート ((2S-シス)-2-[1,2,3,4,6,11-ヘキサヒドロ- 2,5,12-トリヒドロキシ-7メトキシ-6,11-ジオ キソ-[[4,2,3,6-トリデオキシ-3-[(トリフルオ ロアセチル)-アミノ- α -L-lyxo-ヘキソピラノシ ル]オキシル]-2-ナフタセニル]-2-オキソエチ ルペンタノアート)	ヴァルスター	Anthra --> Medeva
ゾレドロネート, ゾレドロン酸 ((1-ヒドロキシ-2-イミダゾール-1-イル-ホス ホノエチル) ホスホン酸 一水和物)	ゾメタ	Novartis

【0237】

22. 混合物

化学療法薬は上記の 2 以上の化学療法薬剤の混合物を含みうる。ある態様において、化学療法薬は、アルキル化剤、白金、代謝拮抗薬、アントラサイクリン、タキサン、カンプトテシン、ニトロソウレア、EGFR 阻害剤、抗生物質、HER2/neu 阻害剤、血管新生阻害剤、キナーゼ阻害剤、プロテアソーム阻害剤、免疫治療薬、ホルモン治療薬、光線力学的治療薬、癌ワクチン、スフィンゴ脂質調節物質、オリゴマーまたはそれらの組合せの 2 以上を含む混合物である。

【0238】

10

20

30

40

50

一つの態様において、化学療法薬は、免疫療法薬、アルキル化剤、アントラサイクリン、カンプトテシンおよびプレドニゾンを含む混合物である。別の態様において、化学療法薬は、リツキシマブ、アルキル化剤、アントラサイクリン、カンプトテシンおよびプレドニゾンを含む混合物である。別の態様において、化学療法薬は、リツキシマブ、シクロフォスファミド、アントラサイクリン、カンプトテシンおよびプレドニゾンを含む混合物である。さらに別の態様において、化学療法薬は、リツキシマブ、シクロフォスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチンおよびプレドニゾンを含む混合物(例えば、R-CHOPS)である。

【0239】

別の態様において、化学療法薬はドキソルビシン、イホスファミドおよびメスナを含む混合物である。

10

【0240】

別の態様において、化学療法薬は、代謝拮抗薬およびタキサンを含む混合物である。例えば、化学療法薬は、ゲムシタビンおよびタキソテールを含む。

【0241】

別の態様において、化学療法薬は、ダカルバジン、マイトマイシン、ドキソルビシンおよびシスプラチンを含む混合物である。

【0242】

別の態様において、化学療法薬は、ドキソルビシンおよびダカルバジンを含む混合物である。

20

【0243】

別の態様において、化学療法薬は、アルキル化剤、カンプトテシン、アントラサイクリンおよびダカルバジンを含む混合物である。その他の例において、化学療法薬は、シクロフォスファミド、ビンクリスチン、ドキソルビシンおよびダカルバジンを含む。

【0244】

さらに別の態様において、化学療法薬は、アルキル化剤、メトトレキサート、代謝拮抗薬および1以上のアントラサイクリンを含む混合物である。例えば、化学療法薬は、5-フルオロウラシル、メトトレキサート、シクロフォスファミド、ドキソルビシンおよびエピルビシンを含む。

【0245】

さらに別の態様において、化学療法薬は、タキサンおよびプレドニゾンまたはエストラムスチンを含む混合物である。例えば、化学療法薬は、プレドニゾンまたはエストラムスチンと組み合わせてドセタキセルを含みうる。

30

【0246】

さらに別の態様において、化学療法薬は、アントラサイクリンおよびプレドニゾンを含む。例えば、化学療法薬は、ミトキサントロンおよびプレドニゾンを含みうる。

【0247】

別の態様において、化学療法薬は、ラパマイシンマクロライドおよびキナーゼ阻害剤を含む。キナーゼ阻害剤は、EGFR、Her2/neu、VEGF、オーロラキナーゼ、SRC/Abl キナーゼ、チロシンキナーゼおよび/またはMEK 阻害剤であり得る。

40

【0248】

別の態様において、化学療法薬は2以上のスフィンゴ脂質調節物質を含む。

【0249】

さらに別の態様において、化学療法薬は、オリゴマー、例えば、ゲナセンス(Genasense)およびアルキル化剤、白金、代謝拮抗薬、アントラサイクリン、タキサン、カンプトテシン、ニトロソウレア、EGFR 阻害剤、抗生物質、HER2/neu 阻害剤、血管新生阻害剤、キナーゼ阻害剤、プロテアソーム阻害剤、免疫治療薬、ホルモン治療薬、光線力学的治療薬、癌ワクチン、スフィンゴ脂質調節物質またはそれらの組合せの1以上を含む。

【0250】

さらに、化学療法薬剤または化学療法薬を構成する薬剤はその他の薬剤との組合せ治療

50

法において投与してもよいし、順次または同時に患者に投与してもよい。

【0251】

C. 放射線療法

本発明のある態様において、放射線療法がオリゴヌクレオチド化合物の投与に加えて施される。放射線療法は外部および内部放射線治療法の両方を含む。

【0252】

1. 外部放射線療法

外部放射線治療法は高エネルギー線（例えば、x-線、ガンマ線等）または粒子（アルファ粒子、ベータ粒子、プロトン、中性子等）を癌およびその周囲の正常組織に向けることを含む。放射線は直線加速器と称される装置内で患者の体の外側で生じる。外部放射線治療法は化学療法、外科手術またはオリゴヌクレオチド化合物と組み合わせることが出来る。

10

【0253】

2. 内部放射線療法

内部放射線治療法には癌細胞に可能な限り近くで体内に高エネルギー線源を配置することを含む。内部放射線治療法は、外部放射線治療法、化学療法または外科手術と組み合わせることが出来る。

【0254】

放射線療法は化学療法と同時にまたは別々に施すことが出来る。さらに放射線療法は外科手術と同時にまたは別々に施すことが出来る。

20

【0255】

D. 外科手術

本発明の別の態様において、外科手術が患者から癌組織を除くのに用いられる。癌組織はあらゆる好適な外科手順、例えば、腹腔鏡検査、メス、レーザー、ハサミ等を用いて患者から摘出することが出来る。ある態様において、外科手術は化学療法と組み合わせられる。別の態様において、外科手術は放射線療法と組み合わせられる。さらに別の態様において、外科手術は化学療法と放射線療法との両方と組み合わせられる。

【0256】

III. 医薬組成物

本発明の一つの側面において、医薬組成物は1以上のオリゴヌクレオチド化合物および化学療法薬を含む。例えば、医薬組成物は、配列番号1250、1251、1252、または1253を有するオリゴヌクレオチド化合物;およびアルキル化剤、白金、代謝拮抗薬、アントラサイクリン、タキサン、カンプトテシン、ニトロソウレア、EGFR 阻害剤、抗生物質、HER2/neu 阻害剤、血管新生阻害剤、プロテアソーム阻害剤、免疫療法薬、ホルモン療法薬、光線力学的療法薬、癌ワクチン、その他の化学療法薬、例えば、表1に示すもの、またはそれらの組合せの1以上を含む。

30

【0257】

一つの態様において、医薬組成物は、オリゴヌクレオチド化合物および、化学療法薬、例えば、免疫療法薬、アルキル化剤、アントラサイクリン、カンプトテシンおよびプレドニゾンを含む。例えば、医薬組成物は、配列番号2-281、283-461、463-935、937-1080、1082-1248、1250-1254 および 1267-1477ならびにそれらの相補鎖を含む1以上のオリゴヌクレオチド化合物;および、化学療法薬、例えば、免疫療法薬、アルキル化剤、アントラサイクリン、カンプトテシン、およびプレドニゾンを含む。別の態様において、医薬組成物は、オリゴヌクレオチド化合物、および化学療法薬、例えば、リツキシマブ、シクロフォスファミド、アントラサイクリン、カンプトテシンおよびプレドニゾンを含む。さらに別の態様において、医薬組成物は、オリゴヌクレオチドおよび化学療法薬、例えば、リツキシマブ、シクロフォスファミド、ドキソルピシン、ビンクリスチンおよびプレドニゾンを含む(例えば、R-CHOPS)。

40

【0258】

本発明の他の態様は、(a) 1以上のオリゴヌクレオチド化合物、および(b)化学療法薬

50

を含む医薬組成物を提供する。かかる化学治療薬の例としては、これらに限定されないが、上記のものが挙げられる。抗炎症薬、例えば、これらに限定されないが、非ステロイド性抗炎症薬およびコルチコステロイド、ならびに抗ウイルス剤、例えば、これらに限定されないが、リバビリン、ピダラビン、アシクロビルおよびガンシクロビルが、本発明の組成物に組み合わされうる。その他の非オリゴヌクレオチド化学治療薬も本発明の範囲に含まれる。2以上の組合せ化合物も同時または順次に用いることが出来る。

【0259】

本発明の医薬組成物は所望により、薬物、例えば、麻酔、栄養補助剤(例えば、ビタミン、ミネラル、タンパク質等)、発色団、それらの組合せ等を含んでいてもよい。

【0260】

A. 製剤、投与および使用

本発明の組成物は、経口的に、非経口的に、吸入スプレーにより、局所的に、直腸に、経鼻的に、眼内に、頬側に、経腔的に、または埋め込みリザーバを介して投与することができる。「非経口」という用語は、本明細書において用いる場合、皮下、静脈内、筋肉内、関節内、滑膜内、頬骨内、髄腔内、肝臓内、病巣内および頭蓋内注射または注入技術を含む。好ましくは、組成物は、経口的に、腹腔内または静脈内に投与される。本発明の組成物の無菌注射可能形態は水性または油性懸濁液であり得る。かかる懸濁液は、好適な分散剤または湿潤剤および懸濁剤を用いて当該技術分野に知られた技術にしたがって製剤できる。無菌注射可能調製物は非毒性の非経口的に許容される希釈剤または溶媒における無菌注射可能溶液または懸濁液、例えば1,3-ブタンジオール注の溶液であり得る。使用できる許容される媒体および溶媒は特に、水、リンゲル液および等張塩化ナトリウム溶液である。さらに、無菌の固定油は溶媒または懸濁媒として常套的に用いられる。

【0261】

この目的のために、あらゆる無刺激性固定油を使用でき、合成モノまたはジグリセリドが含まれる。脂肪酸、例えば、オレイン酸およびそのグリセリド誘導体は注射可能剤の調製に有用であり、天然の医薬上許容される油、例えば、オリーブ油またはヒマシ油、特にそれらのポリオキシエチル化誘導体も同様に有用である。かかる油性溶液または懸濁液は、長鎖アルコール希釈剤または分散剤、例えば、カルボキシメチルセルロースまたは乳濁液および懸濁液などの薬学的に許容される用量形態における製剤において一般的に用いられている類似の分散剤を含んでいてもよい。その他の一般的に用いられている界面活性剤、例えば、Tween、Span およびその他の乳化剤または医薬上許容される固体、液体、またはその他の用量形態の製造において一般的に用いられているバイオアベイラビリティエンハンサーも製剤の目的で使用することができる。

【0262】

医薬上許容される本発明の組成物はあらゆる経口的に許容される用量形態、例えば、これらに限定されないが、カプセル、錠剤、水性懸濁液または溶液として経口的に投与することができる。経口使用のための錠剤の場合には、一般的に用いられている担体には、ラクトースおよびコーンスターチが含まれる。滑沢剤、例えば、ステアリン酸マグネシウムも典型的には添加される。カプセル形態での経口投与のために、有用な希釈剤としては、ラクトースおよび乾燥コーンスターチが挙げられる。経口使用のために水性懸濁液が必要とされる場合、活性成分は乳化剤および懸濁剤と混合される。所望の場合、特定の甘味料、香味料または着色料を添加してもよい。

【0263】

あるいは、本発明の医薬上許容される組成物は直腸投与のために坐薬形態で投与してもよい。これらは室温では固体であるが直腸温度では液体であり、それゆえ融解して直腸中で薬剤を放出する好適な非刺激性賦形剤と薬剤を混合することにより調製できる。かかる材料としては、カカオバター、蜜蝋およびポリエチレングリコールが挙げられる。

【0264】

本発明の医薬上許容される組成物は、特に治療標的が局所適用により容易に到達可能な領域または器官を含む場合、例えば、眼、皮膚または下部腸管の疾患の場合、局所的に投

10

20

30

40

50

与してもよい。好適な局所製剤はかかる領域または器官のそれぞれのために容易に調製される。

【0265】

下部腸管のための局所適用は、直腸坐薬製剤(上記を参照)または好適な浣腸製剤において効果を発揮しうる。局所的経皮パッチも用いることが出来る。

【0266】

局所適用のために、医薬上許容される組成物は活性成分が1以上の担体に懸濁または溶解されて含まれている好適な軟膏において製剤してもよい。本発明の化合物の局所投与のための担体としては、これらに限定されないが、ミネラルオイル、液体ワセリン、白色ワセリン、プロピレングリコール、ポリオキシエチレン、ポリオキシプロピレン化合物、乳化蠟および水が挙げられる。あるいは、医薬上許容される組成物は活性成分が1以上の医薬上許容される担体に懸濁または溶解されて含まれる好適なローションまたはクリームに製剤することも出来る。好適な担体としては、これらに限定されないが、ミネラルオイル、モノステアリン酸ソルビタン、ポリソルベート 60、セチルエステルワックス、セテアリルアルコール、2-オクチルドデカノール、ベンジルアルコールおよび水が挙げられる。

10

【0267】

眼使用のために、医薬上許容される組成物は、等張のpH 調整した無菌生理食塩水における微粒子化した懸濁液として、または好ましくは、等張のpH 調整した無菌生理食塩水中の溶液として、保存料、例えば、塩化ベンザルコニウムを使用してまたは使用せずに製剤することが出来る。あるいは、眼使用のために、医薬上許容される組成物は、軟膏、例えば、ワセリン中に製剤してもよい。

20

【0268】

本発明の医薬上許容される組成物は経鼻エアロゾルまたは吸入によって投与することもできる。かかる組成物は医薬製剤分野で周知の技術にしたがって調製され、また、ベンジルアルコールまたはその他の好適な保存料、バイオアベイラビリティを高める吸収促進剤、フルオロカーボン、および/またはその他の常套の溶解剤または分散剤を用いて生理食塩水中の溶液として調製されうる。

【0269】

ある態様において、本発明の医薬上許容される組成物は経口投与のために製剤される。

【0270】

単回用量形態における組成物を作るために担体材料と混合されうる本発明の化合物の量は、治療される主、投与の特定の様式に応じて異なる。好ましくは、組成物は0.01-100 mg/kg 体重/日の用量の調節物質がかかる組成物を受け取る患者に投与されうるように製剤すべきである。

30

【0271】

特定の患者のための特定の用量および治療計画は様々な因子に応じて変動することを理解すべきであり、かかる因子としては、用いる特定の化合物の活性、年齢、体重、全体的健康状態、性別、食事、投与時期、排泄頻度、薬剤の組合せ、および治療する医師の判断ならびに治療すべき特定の疾患の重篤度が挙げられる。組成物における本発明の化合物の量も組成物中の特定の化合物に応じて変動する。

40

【0272】

治療または予防すべき特定の症状または疾患に応じて、かかる症状を治療または予防するために通常投与されるさらなる治療薬も、本発明の組成物中に存在していてもよい。本明細書において用いる場合、特定の疾患または症状の治療または予防のために通常投与されるさらなる治療薬は、「治療される疾患または症状のために適当」として知られている。

【0273】

B. 送達

本発明のオリゴヌクレオチド化合物は、あらゆる好適な方法を用いて送達することができる。ある態様において、裸のDNA が投与される。別の態様において、リポフェクション

50

が対象への核酸の送達に用いられる。さらなる態様において、オリゴヌクレオチドは送達のためにホスホチオラートで修飾される(例えば、引用により本明細書に含まれる米国特許第6,169,177号を参照)。

【0274】

ある態様において、送達のための核酸はその取り込みを助けるためにコンパクトにされる(例えば、引用により本明細書に含まれる米国特許第6,008,366、6,383,811を号参照)。ある態様において、コンパクトにされた核酸は特定の細胞タイプ(例えば、癌細胞)に、標的細胞結合部分を介して(例えば、米国特許第5,844,107、6,077,835号を参照、これらはそれぞれ引用により本明細書にその内容を含める)、標的化される。

【0275】

ある態様において、オリゴヌクレオチドはその送達を助けるためにその他の化合物とコンジュゲートされる。例えば、ある態様において、核酸は送達を助けるためにポリエチレングリコールにコンジュゲートされる(例えば、米国特許第6,177,274、6,287,591、6,447,752、6,447,753、および 6,440,743号を参照、これらはそれぞれ引用により本明細書にその内容を含める)。さらに別の態様において、オリゴヌクレオチドは、荷電可能な薬剤ナノ担体(PharmaIn)である保護されたグラフト共重合体にコンジュゲートされる。これは米国特許第7,138,105号および米国特許出願公開第2006/093660 および2006/0239924号に記載され、これらは引用により本明細書に含まれる。さらなる態様において、オリゴヌクレオチドの細胞への輸送はビタミンとのコンジュゲーションによって促進される(Endocyte, Inc, West Lafayette, IN; 例えば、米国特許第5,108,921、5,416,016、5,635,382、6,291,673号 および WO 02/085908を参照; これらはそれぞれ引用により本明細書にその内容を含める)。別の態様において、オリゴヌクレオチドはナノ粒子にコンジュゲートされる(例えば、NanoMed Pharmaceuticals; Kalamazoo, MI)。

【0276】

さらに別の態様において、オリゴヌクレオチドはデンドリマーと結合される。デンドリマーは高度に分岐した分子構造を有する合成巨大分子である。代表的なデンドリマー構造は、カチオン性ポリマー、例えば、星形のポリアミドアミン (PAMAM)であり、その1つである、SuperFect^(登録商標)は Qiagen (Valencia, CA)から入手できる。その他のデンドリマーとしては、Gillies, et al., Mol. Pharm., 2:129-38, 2005(これは引用により本明細書に含める)に記載のポリエステルデンドリマー; Janssen and Meijer, eds, Synthesis of Polymers, Materials science and technology series, Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GMBH, Chapter 12, 1999(これは引用により本明細書に含める)に記載のフェニルアセチレンデンドリマー; Choi, et al., J. Am. Chem. Soc. 122, 474-80, 2000(これは引用により本明細書に含める)に記載のポリ(L-リジン) デンドリマー-ブロック-ポリ(エチレングリコール)-ブロック-ポリ(L-リジン) デンドリマー; Joester, et al., Angew Chem Int. Ed. Engl., 42:1486-90, 2003 (これは引用により本明細書に含める)に記載の両親媒性 デンドリマー; Liu et al., Polym Chem, 37:3492-3503, 1999 (これは引用により本明細書に含める)に記載のポリエチレングリコール星様コンジュゲート; Loup, et al., Chem Eur J, 5:3644-50, 1999 (これは引用により本明細書に含める)に記載のカチオン性リン含有 デンドリマー; Ohasaki, et al., Bioconj Chem, 13:510-17, 2002 (これは引用により本明細書に含める)に記載のポリ(L-リジン) デンドリマー および Shah, et al., Int. J. Pharm, 208:41-48, 2000 (これは引用により本明細書に含める)に記載の両親媒性非対称デンドリマーが挙げられる。Tack, et al., J. Drug Target, 14:69-86, 2006 (これは引用により本明細書に含める)に記載のポリプロピレン イミンデンドリマー; およびその他の上記のデンドリマーは例えば、Tack, et al. に記載のように、毒性を低下させるために化学的に修飾することが出来る。

【0277】

デンドリマーは、その他の高い電荷密度を有するカチオン性ポリマーと同様に核酸と複合体形成する。一般に、デンドリマー-核酸相互作用は静電相互作用に基づく。デンドリマーはその他の分子、例えば、シクロデキストリンともコンジュゲートして、デンドリマ

10

20

30

40

50

ー-核酸複合体の全身 送達効率を上昇せしめる (Dufes, et al., Adv. Drug Del. Rev., 57, 2177-2202, 2005、および Svenson and Tomalia, Adv. Drug Del. Rev., 57, 2106-29, 2005を参照、これらはともに引用により本明細書に含まれる)。いくつかのデンドリマーは柔軟な開いた構造を有し、内側に低分子を捕獲でき、いくつかのデンドリマーは接近不可能な内部を有する (Svenson and Tomalia, Adv. Drug Del. Rev., 57, 2106-29, 2005を参照)。

【0278】

さらなる態様において、オリゴヌクレオチドはポリマーベシクルに捕捉される。ポリマーベシクルは多数の異なる材料から出来うるが、一般に、ブロックコポリマー、例えば、ポリスチレン₄₀-ポリ(イソシアノ-L-アラニン-L-アラニン)_mから形成される(例えば、Discher, et al., Science, 297:967-73, 2002; Torchilin, Cell. Mol. Life Sci, 61:2549-59, 2004; Taubert, et al., Curr Opin Chem Biol, 8:598-603, 2004; Lee, et al, Pharm. Res., 22:1-10, 2005;およびGaucher, et al., J. Control. Rel, 109:169-88, 2005を参照、これらはそれぞれ引用により本明細書に含める)。コポリマーベシクルは多数の分子から形成され、例えば、これらに限定されないが、ポリアクリル酸-ポリスチレン、非イオン性ポリエチレンオキシド-ポリブタジエン、トリブロック (ポリエチレンオキシド)₅-(ポリ[プロピレンオキシド])₆₈-(ポリエチレンオキシド)₅、ポリエチレンオキシド-ポリ(プロピレンスルフィド)、ポリエチレンオキシド-ポリラクチド、およびポリエチレングリコール-ポリリジンが挙げられる。多くのコポリマー、特に両親媒性または逆に荷電したコポリマーのもの、例えば、ポリスチレン₄₀-ポリ(イソシアノ-L-アラニン-L-アラニン)_m、は水性条件下でセルフアセンブリーしてベシクルとなる。

【0279】

オリゴヌクレオチドはいくつかの方法を用いてポリマーベシクルに搭載できる。第一に、ブロックコポリマーは水性溶媒中でオリゴヌクレオチドとともに溶解され得る。この方法は中程度に疎水性のコポリマーの場合うまくいく。第二に、水に容易に溶けない両親媒性コポリマーであって、オリゴヌクレオチドとコポリマーとの両方を溶解できる溶媒が入手可能な場合、オリゴヌクレオチドとコポリマーとは溶媒に溶解され、混合物が水に対して透析される。第三の方法はオリゴヌクレオチドとコポリマーとの両方を水/tert-ブタノール混合物に溶解すること、および次いで溶媒を凍結乾燥することを含む。オリゴヌクレオチドを搭載したベシクルは、凍結乾燥オリゴヌクレオチド-コポリマーを注射可能媒体中で再構成すると自然に形成される (Dufresne, et al., in Gurny, (ed.), B.T. Gattefosse, vol. 96, Gattefosse, Saint-Priest, p. 87-102, 2003、これは引用により本明細書に含める)。

【0280】

ポリマーベシクルはコポリマーの二官能性スパーサー分子による後修飾またはヘテロ二官能性ブロックコポリマーの直接合成によってリガンドをベシクルの外殻に係留することによって、特定の細胞に標的化することができる。

【0281】

ある態様において、オリゴヌクレオチドは送達を助けるために脂質(例えば、リポソームまたはミセル)に封入される (例えば、米国特許第6,458,382、6,429,200号; 米国特許公開第2003/0099697、2004/0120997、2004/0131666、2005/0164963号、および国際出願 WO 06/048329を参照、これらはそれぞれ引用により本明細書にその内容を含める)。リポソームとしては、これらに限定されないが、カルジオリピンに基づくカチオン性リポソーム(例えば、NeoPhectin、NeoPharm、Forest Lake、IL)および pH感受性リポソームが含まれる。

【0282】

本発明のある態様において、NeoPhectinがリポソーム送達媒体として用いられる。ある態様において、NeoPhectinはオリゴヌクレオチドとともに製剤されて遊離のNeoPhectinが低下される。別の態様において、NeoPhectin はNeoPhectinとオリゴヌクレオチドとの電荷比 6:1またはそれ未満(例えば、5:1および4:1)にて存在する。

【0283】

さらに別の態様において、脂質、特にいくつかのリポソームを含むリン脂質を、ポリエチレングリコールまたはその誘導体とコンジュゲートさせ、静脈内注射後に血中をリポソームが循環する時間を延ばす(例えば、Moghimi, S.M. and Szebeni, J., Prog. Lipid Res., 42:463-78, 2003 および Li, W., et al., J. Gene Med., 7:67-79, 2005を参照、これらは引用により本明細書に含まれる)。かかる「ステルス(stealth) リポソーム」と称されるリポソームは細網内皮系(RES)を回避できることが出来、その結果、場合によっては半減期が 24 時間を超えることとなる。一つの態様において、リポソーム中のリン脂質は、Li, W., et al., J. Gene Med., 7:67-79, 2005に記載のようにポリエチレングリコール-ジオルトエステル分子とコンジュゲートされる。別の態様において、PEG-リポソームは特定の細胞受容体に標的化される。例えば、カチオン性リポソームにおけるPEG-結合リン脂質の遠位末端にコンジュゲートされたハロペリドールは、Mukherjee, et al., J. Biol. Chem., 280, 15619-27, 2005(これは引用により本明細書に含める)に記載のように癌細胞のいくつかにおいて過剰発現しているシグマ受容体を標的化した。リポソーム中のPEG-結合リン脂質にコンジュゲートされたアニスアミドもまた、シグマ受容体を標的とする(Banerjee, et al., Int. J. Cancer, 112, 693-700, 2004, これは引用により本明細書に含める)。

10

【0284】

さらに別の態様において、オリゴヌクレオチドはRuysschaert, et.al., J. Am. Chem. Soc., 127, 6242-47, 2005 (これは引用により本明細書に含める)に記載のようにハイブリッド リポソーム-コポリマーベシクル中に捕捉されうる。例えば両親媒性トリブロックコポリマー、例えば、ポリ(2-メチルオキサゾリン)-ブロック-ポリ(ジメチルシロキサン)-ブロック-ポリ(2-メチルオキサゾリン)はリン脂質を含む脂質と相互作用してハイブリッドリポソーム-コポリマーベシクルを形成することが出来る。

20

【0285】

さらなる態様において、オリゴヌクレオチドは送達を助けるためさらなるポリマーと複合体形成される(例えば、米国特許第6,379,966、6,339,067、5,744,335号を参照;これらはそれぞれ引用により本明細書にその内容を含める)。例えば、N-2-ヒドロキシプロピルメチルアクリルアミドのポリマーが米国特許公開第2006/0014695号に記載されており、これは引用により本明細書に含める。同様のカチオン性ポリマーが国際公報 WO 03/06605 4および米国特許公開第2006/0051315号に記載されており、これらは両方が引用により本明細書に含まれる。その他のポリマーは Intradigm Corp., Rockville, MDに記載されている。

30

【0286】

さらなる態様においてMirus (Madison, WI)により開発された制御された高圧送達システムがオリゴヌクレオチドの送達に用いられる。送達システムは米国特許第6,379,966号に記載されており、これは引用により本明細書に含める。

【0287】

V. 癌治療法の例

以下の実施例は、本発明の特定の好ましい態様および側面を示し、さらに例示するために提供され、その範囲を限定するよう解釈してはならない。

40

【0288】

実施例 1.

患者へのオリゴヌクレオチド化合物;リツキシマブ、シクロフォスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン、およびプレドニゾンを含む化学療法薬;および、放射線療法の投与。

【0289】

実施例 2.

患者へのオリゴヌクレオチド化合物、放射線療法および外科手術の投与。

【0290】

50

実施例 3.

患者へのオリゴヌクレオチド化合物、化学療法薬および放射線の投与。

【0291】

実施例 4.

患者へのオリゴヌクレオチド化合物および化学療法薬の投与。

実施例 5.

【0292】

患者へのオリゴヌクレオチド化合物、化学療法薬、放射線療法および外科手術の投与。

【0293】

実施例 6. PNT-100およびタキソテール^(商標)によるPC-3 異種移植片における腫瘍増殖の阻害

10

PNT-100 (配列番号1251)による腫瘍増殖の阻害をヒト PC-3 GFP 前立腺癌皮下モデルを用いて調べた(例えば、Yang et al., Cancer Research 59, 781786, [1999]; Glinskii et al., Cancer Research 63, 42394243, [2003]; および Kalikin et al., Cancer Biology and Therapy 2:6, 17-21 [2003] を参照)。

【0294】

PC-3 細胞にまず緑色蛍光タンパク質 (GFP) 遺伝子を形質導入した。GFP 発現ベクターである、pLEINは、Clontech (Palo Alto, CA)から購入した。このベクターは内部リボソーム侵入部位を含む同じ2シストロン性メッセンジャー上に増強GFPおよびネオマイシン耐性遺伝子を発現する。パッケージングされた GFP ウイルス粒子、PT67を産生するために、10 AI ウイルス外被を発現するNIH3T3 由来パッケージング細胞株 (Clontech)を用いた。PT67 細胞を10% 胎仔ウシ血清を追加したDMEMで培養した。70% コンフルエンスのPT67 細胞を、N-[1-(2,3-ジオレオイルオキシリ)プロピル]-N,N'-トリメチルアンモニウムメチルサルフェート試薬と飽和量の pLEIN プラスミドの沈殿混合物と18時間インキュベートした。選抜のために、細胞を200-1000 μg/ml G418の存在下で7日間培養した。GFP 遺伝子形質導入のために、20% コンフルエント PC-3 細胞(ATCC, CRL 1435)をPT67 細胞のレトロウイルス上清および7% 胎仔ウシ血清を含むHam's F-12 Kの1:1 沈殿混合物と72時間インキュベートした。新しい培地をこの時点で補充した。PC-3 細胞を形質導入の72時間後に回収し、G-418を含む選抜培地に1:15 の比で継代培養した。GFPを発現する最も明るいPC-3 細胞クローンを選択し、合わせて、常套の培養方法により増幅させ移した。

20

30

【0295】

腫瘍ストックをヌードマウス (5 ~ 6 週齢の雄性胸腺欠損 NCrヌードマウス(Taconic Quality Laboratory Animals and Services for Research (Germantown, NY))の側腹部に 5×10^6 細胞 /200 μlの濃度でPC-3-GFP 細胞を皮下注射することにより調製した。マウスの皮下組織で増殖した腫瘍の強いGFP 発現を回収前に確認した。ヌードマウスで増殖した皮下から回収した腫瘍組織を調べ、全体的に壊死性または壊死性であると疑われる、あるいは非GFP 腫瘍組織を除いた。腫瘍組織を次いでおよそ 2 mm³の小断片に切断した。前立腺癌 PC-3 GFPの腫瘍ストックを、ヌードマウスの側腹部にPC-3 GFP 細胞を皮下注射することにより確立した。腫瘍をヌードマウス中皮下に腫瘍ストックとして使用時まで維持した。移植の前に、PC-3 GFP 腫瘍組織の強いGFP 発現を蛍光により確認した。移植の日に、腫瘍を皮下部位から回収し、RPMI-1640 培地に入れた。壊死性組織を除き、生きた組織を2 mm³の小片に切断した。組織断片を次いでヌードマウスの右側腹部の皮下に移植した。腫瘍サイズをノギスでモニターして測定した。およそその腫瘍体積を式：

40

(幅 x 長さ) x 1/2

にしたがって算出した。

【0296】

PNT100 (配列番号1251)およびPNT-1 (配列番号1488)を以下のようにNeoPhectin-ATとともに製剤した。NeoPhectin-AT (NeoPharm, IL) ボトルからなる25 ml リボソーム送達媒体 (LDV)を室温で15分間放置した。ボトルを穏やかに30 秒間回旋させて混合した。1000

50

μl LDVをDay # PNT100というラベルを備えた50 ml 無菌ポリプロピレンチューブに移した。PNT100 ストックチューブをボルテックスに供し、すばやく遠心分離した。75 μl PNT100 (ストック)をDay # PNT100 チューブに移し、混合物を 2 分間はげしくボルテックスした。5000 μl dH2Oを 5000 μl 20% スクロースと無菌 50 ml チューブ中で混合した。2150 μl の希釈したスクロースをPNT100/Neophectin-AT 溶液に添加し、混合した。適当な薬剤注射体積を1.5 ml ポリプロピレンチューブに移した。LDV 対照をPNT100 の代わりに75 μl RNase/DNase 非含有水と1000 μl LDVとを混合して作り、2150 10% スクロースを添加して混合物を注射した。

【0297】

50-100 mm³と評価される体積の腫瘍を担持するマウスの皮下の腫瘍にNeoPhectin-AT-PNT-100 (配列番号1251)または PNT-1 (配列番号1488)を2.5-5.0 mg/kg 日の用量で5日間注射した。第2群のマウスには5-10 mg/kgのタキソテール (商標) を静脈内に2および5日目に与えた。第3群のマウスには5 mg/kgのNeoPhectin-AT-PNT-100 (配列番号1251) を腫瘍に皮下に5日間毎日注射し、5-10 mg/kg のタキソテール (商標) を静脈内に 2および5日目に注射して与えた。

【0298】

研究計画を表 3に示す。

【0299】

表3

【表 3】

亜群番号	説明	用量 (mg/kg)	スケジュール	経路	N
A	PBS 対照	200 μl	qd X 5	s.c	10
B	PNT-C (5' -NNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN- 3' ; 配列番号1448) + LD V	5	qd X 5	s.c.	10
C	PNT-100 (PhoMab12; 配 列番号1251) + LDV	2.5	qd X 5	s.c.	10
D	PNT-100 + LDV	5	qd X 5	s.c.	10
E	タキソテール (商標)	10および5	2 および5日目	i.v.	10
F	タキソテール (商標) + PN T-100/LDV	10 および 5 + 5	2 および5日目 + qd X 5	i.v. + s.c .	10

【0300】

腫瘍増殖を40 日間モニターした。移植の1 2日後、GFP-発現腫瘍の全身の光学画像診断を蛍光顕微鏡を用いて週に1 回行った。最終腫瘍重量を研究の4 6日目に動物を屠殺した後に計測した。

【0301】

結果を図 1および 2に示す。図 1は、PNT-100 および/または タキソテール (商標) での治療の後のPC-3 GFP 前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均腫瘍体積を示す。図 2は、腫瘍の平均最終体積を示す。結果はPNT-100 + タキソテール (商標) がPNT-100 またはタキソテール (商標) のみと比べてより有効であることを示す。

【0302】

実施例 7 PNT-100およびビンクリスチンによる非ホジキンモデルにおける腫瘍増殖の阻害

非ホジキン-リンパ腫モデル (NHL)を用いた。WSU-DLCL₂ (Wayne State University 散在性大細胞型リンパ腫) モデルは化学物質耐性の高悪性度のヒト散在性大細胞型リンパ腫の非常にしっかりとしたモデルである。それは Karmanos Cancer Institute at Wayne St

ate UniversityのDr. Ramzi Mohammad およびDr. Al-Katibおよび同僚から得た(Al-Katib、AM、et al., Clin. Cancer Res. 4、1305-1314 (1998); Mohammad、R、et al., Clin. Cancer Res. 8、1277-1283 (2002); Mohammad、RM、et al., Mol. Cancer Ther., 4、13-21 (2005); Mohammad、RM、et al., Clin. Cancer Res. 6、4950-4956、(2000) を参照)。研究を一日用量の5 mg/kg PNT-100 (配列番号1251)を5回投与するよう設計し、および特定の cohorts においてはビンクリスチンとの組合せ療法とした。1 用量のPNT-100の後、注目すべき重量低下が PNT100およびPNT-1 (配列番号1488)を注射された動物において観察された。データは、WSU-DLCL2 移植の20 日後にPNT-100および PNT-1による組合せ療法によって腫瘍負荷が低下したことを示した。結果は、PNT-100は単独で、およびビンクリスチンと組合せてマウスにおける腫瘍の増殖を低下させることを示す。

10

【0303】

実施例 8、PC-3 異種移植片モデルにおけるPNT-100およびタキソテール (商標) 静脈内送達の効力

異種移植片をヌードマウスにおける 2×10^6 PC-3 細胞の皮下注射により作成した。6:1 PNT100:NeoPhectin AT 電荷比を実施例 6に記載のように調製した。50-100 mm³ 異種移植片を担持するマウスの静脈内に1 mg/kg PNT-100 + NeoPhectin ATを5 日間毎日投与し、また、2 日目に10 mg/kg 5 日目に 5 mg/kg のタキソテール (商標) も投与した。腫瘍応答をノギスでのモニターによって測定した。結果を図 3に示し、これはPNT-100 とタキソテール (商標) が、PNT-100 またはタキソテール (商標) のみよりもより有効であることを示す。

20

【0304】

実施例 9、PC-3 異種移植片におけるリポソーム PNT-100およびドセタキセルの効力

異種移植片をヌードマウスにおける 2×10^6 PC-3 細胞の皮下注射により作成した。PNT-100をモル比 6/24/47/23のPOPC/DOPE/MoChol/CHEMSの脂質製剤中に製剤した(米国特許出願第2003/0099697、2004/40120997、2004/0131666号 および国際公開W0/05/094783を参照、これらはすべて引用により本明細書に含める)。リポソームの平均サイズは160 nm未満であり、リポソーム混合物中のPNT-100濃度は約 2 mg/mlである。2 種類のバッチのリポソーム PNT-100を用い、それらは340.8および340.9であった。50-200 mm³ 異種移植片を担持するマウスに1日目に PNT-100 (配列番号1251) またはPNT100R (配列番号1288)を投与した。用量は1、2、および5日目に10 mg/kg であり3 および 4日目は7.5 mg/kgであった。ドセタキセル用量は2 日目に10 mg/kgであり、5 日目に5 mg/kgであった。スチューデントのt検定を用いるマンホイットニー分析を95% 信頼度にて行った。340.8 + ドセタキセル以外ではN = 5であり、340.8 + ドセタキセルではN = 4であった。結果を図 4に示し、これはPNT-100またはドセタキセルのみと比較してPNT-100 + ドセタキセルによる方が、腫瘍サイズが低下したことを示す。

30

【0305】

実験を繰り返したところ同様の結果が得られた。PNT-2253と称する1つのバッチのリポソーム-PNT-100を上記と同じ性質を有するよう調製した。異種移植片担持マウスに10 mg/kg のリポソーム PNT-100 (PNT2253) またはリポソーム PNT-100R (PNT2253R)を静脈内ボラス投与により5 日間毎日投与した。静脈内ボラス投与によるドセタキセル用量は2 日目に10 mg/kgであり5 日目に5 mg/kgであった。腫瘍体積をノギスで測定した。研究は対照動物の異種移植片が2000 mm³に達した時に完了した。結果を図5 および 6に示し、これらはPNT-100 + ドセタキセルについて80% 腫瘍増殖阻害を示す。第2のバッチのリポソーム PNT-100 (PNT2252) を静脈内にゆっくりとした注入により投与した。用量は5 日間毎日20 mg/kgであり、ドセタキセルを2 日目に 10 mg/kg、5 日目に5 mg/kg静脈内ボラス投与により投与した。図 6の結果は薬剤治療の17 日後のPNT2252 + ドセタキセルについての49% 腫瘍増殖阻害を示す。

40

【0306】

実施例 10、WSU-DLCL2 異種移植片におけるリポソーム PNT-100およびリツキシマブの効力

50

WSU-DLCL2 細胞による異種移植片を4-6 週齢のC.B-17 SCID マウスにおいて先の実施例に記載のように作成した。リポソーム PNT-100を実施例 9のように製剤し、これは類似の性質を有し、ml当たり2 mg PNT-100 の濃度であった。ヒト医薬等級のリツキシマブ (Bio gen Idec-Genentech) はKarmanos Cancer Instituteにより提供された。マウスを表4のように処理した。

【0307】

表4

【表4】

群番号	説明	リポソーム PNT-100 用量体積 (25 gマウス 当たり)	スケジュール	経路	n
A	10% スクロース対照	125 μ l	qd X 5	i.v.	8
B	10 mg/kg リポソーム PNT-100	125 μ l	qd X 5	i.v.	7*
C	20 mg/kg リツキシマブ	NA	2日目& 5日目	i.v.	8
D	10 mg/kg リポソーム PNT-100 20 mg/kg リツキシマブ	125 μ l	qd X 5 2日目& 5日目	i.v.	8

注意：用量は mg/ml PNT100として示す。

*1匹の動物は触知出来る腫瘍を発症しなかった。

【0308】

動物を週に3回ノギス測定によって腫瘍増殖についてチェックした。おおよその腫瘍体積を

式 $1/2(a \times b^2)$

を用いて計算し、ここでbは2つの垂直の直径のうち小さい方である。動物を個々の動物の腫瘍負荷が2000 mm³ に達するか、または研究を腫瘍外套針の後、81 日にて完了した場合に、屠殺した。

【0309】

リツキシマブを20 mg/kgにて、2および5日目に投与した結果、完全に腫瘍が退縮した。即ち、8つの腫瘍のうち7つにおいて3つの連続する時点について腫瘍は測定可能な大きさより小さく縮み、8つのうち4つにおいて81日のエンドポイントの時点で完全な退縮を示した。10 mg/mlのリポソーム PNT-100を、5日間毎日投与した結果、7つの腫瘍のうち1つで腫瘍が完全に退縮し、いずれの腫瘍も81日のエンドポイントの経過時には完全な退縮を示さなかった。7つの腫瘍のうち1つは部分的に退縮し、3つの連続する時点について最初の腫瘍サイズから50%未満の低下であった。リポソーム PNT-100の投与の結果、スクロース対照と比較して腫瘍増殖速度が遅くなった。リツキシマブとともにリポソーム PNT-100 を投与した結果(群 D)、8つの腫瘍のうち6つにおいて完全に腫瘍退縮し、8つの腫瘍のうち5つにおいて81日のエンドポイントの通過時に完全な退縮が示された。8つのすべての腫瘍は部分的退縮を有していた。これらの結果は、おそらく投与したリツキシマブレベルが高かったため、WSU-DLCL₂ 異種移植片においてリツキシマブ + PNT-100の相乗作用を確立しなかった。

【0310】

実施例 11、ダウディ異種移植片におけるリポソーム PNT-100およびリツキシマブの効力

ダウディ細胞はバーキットリンパ腫のモデルである。ダウディ細胞による異種移植片を先の実施例に記載のようにマウスにおいて作成した。リポソーム PNT-100 を実施例 9 のように製剤し、類似の性質を有しており、ml 当たり 2.4 mg PNT-100 の濃度であった。マウスを 10 群に分け、表 5 のように処理した。

【0311】

表 5

【表 5】

群番号	説明	用量 (mg/kg)	スケジュール	経路	N
1	PBS 対照	200 μ l	qd X 5	i.v.	10
2	リツキシマブ	20 mg/kg	スケジュール 2	i.v.	10
3	リポソーム PNT-100	30 mg/kg	スケジュール 1	i.v.	10
4	リポソーム PNT-100	20 mg/kg	スケジュール 1	i.v.	10
5	リポソーム PNT-100	13.3 mg/kg	スケジュール 1	i.v.	10
6	リポソーム PNT-100	8.89 mg/kg	スケジュール 1	i.v.	10
7	リポソーム PNT-100	5.92 mg/kg	スケジュール 1	i.v.	10
8	リツキシマブ + リポソーム PNT-100	20 mg/kg RT X、20 mg/kg PNT-100	スケジュール 1-リツキシマブ、スケジュール 2-PNT-100	i.v.	10
9	リツキシマブ + リポソーム PNT-100	20 mg/kg RT X、13.3 mg/kg PNT-100	スケジュール 1-リツキシマブ、スケジュール 2-PNT-100	i.v.	10

スケジュール 1 は 5 の一日用量であり、2 日間開けた後、5 の一日用量、2 日間開けた後、3 の一日用量である。

スケジュール 2 は、2.5 週間、1 週間に 2 回のリツキシマブの静脈内送達であり全部で 5 回の注射である。

【0312】

腫瘍体積をノギスで測定した。研究は対照動物異種移植片が 2000 mm³ に達したところで完了した。結果を図 8-10 に示す。図 7 は 50 日までの平均腫瘍体積を示す。図 8 はそれぞれの日に、腫瘍が 2000 mm³ に達していないマウスのパーセントを示す Kaplan-Meier プロットである。図 9 は各群におけるマウスの体重変化を示す。結果はリツキシマブまたは PNT-100 のみでは効果はわずかであるが、PNT-100 およびリツキシマブを共に与えた場合劇的な効果があることを示す。実際、ダウディ異種移植片において、それを担持するマウスを PNT-100 およびリツキシマブで処理した場合に、腫瘍は縮んで消失した。

【0313】

VI. その他の態様

本発明をその詳細な説明によって記載してきたが、上記の記載は本発明を説明する目的

10

20

30

40

50

であって範囲を限定する意図ではなく、発明の範囲は添付の請求の範囲によって規定されることを理解されたい。その他の側面、利点および修飾は請求の範囲の範囲内である。

【0314】

本明細書で引用するすべての文献は、その内容を引用により本明細書に含める。

【図面の簡単な説明】

【0315】

【図1】図1は、配列番号1251およびタキソテル（商標）による治療の後のPC-3 GFP 前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均腫瘍体積を示す。

【図2】図2は、配列番号1251およびタキソテル（商標）による治療の後のPC-3 GFP 前立腺癌皮下モデルにおける腫瘍の平均最終腫瘍体積を示す。

10

【図3】図3は、配列番号1251およびタキソテル（商標）による治療の後のPC-3 異種移植片における腫瘍サイズのパーセンテージ上昇を示す。

【図4】図4は、リポソーム PNT-100およびドセタキセルに対するマウスにおけるPC-3 腫瘍の応答を示す。

【図5】図5は、静脈内ボラス投与により送達されたりポソーム PNT-100 およびドセタキセルに対するマウスにおけるPC-3 腫瘍の応答を示す。

【図6】図6は、静脈内ボラス投与およびゆっくりとした注入により送達されたりポソーム PNT-100およびドセタキセルに対するマウスにおけるPC-3 腫瘍の応答を示す。

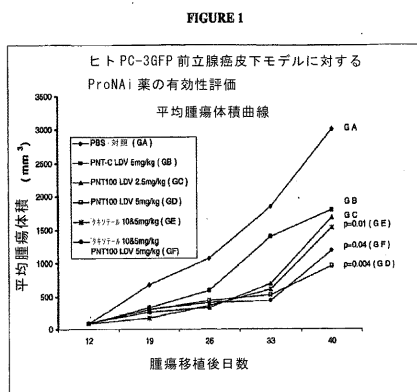
【図7】図7は、PNT-100およびリツキシマブに対するダウディ 異種移植片の応答を示す。

20

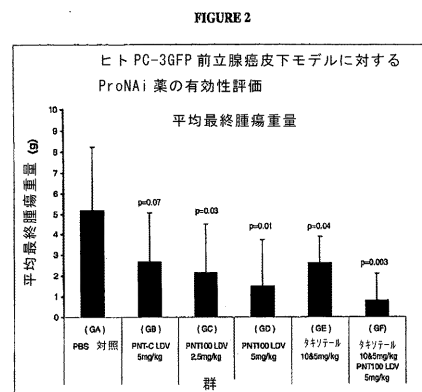
【図8】図8は、ダウディ 異種移植片の PNT-100およびリツキシマブに対する応答のカプラン・マイヤープロットを示す。

【図9】図9は、PNT-100および/またはリツキシマブにより治療されたダウディ 異種移植片担持マウスの体重変化を示す。

【図1】



【図2】



【図 3】

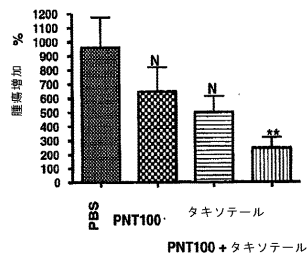


Figure 3,

【図 4】

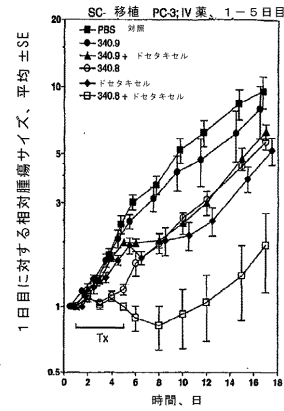


FIGURE 4

【図 5】

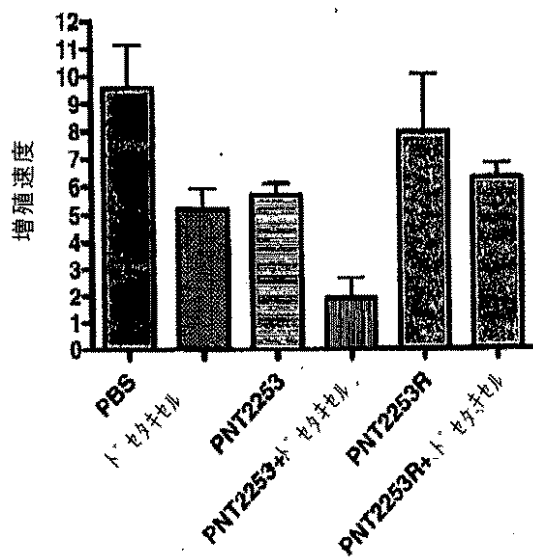


FIGURE 5

【図 6】

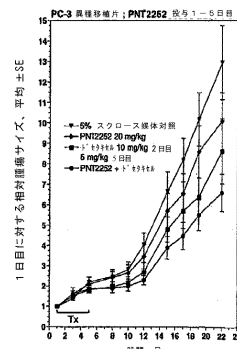
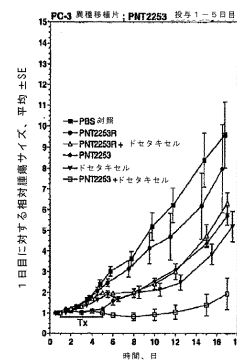
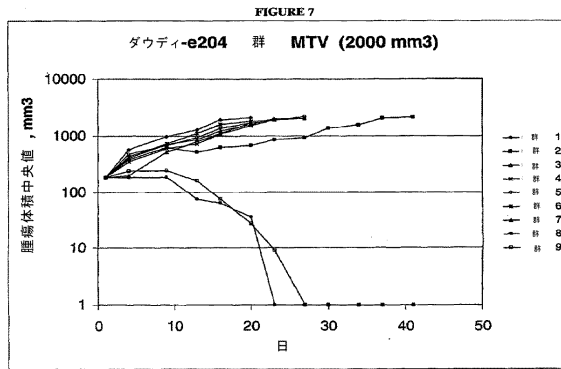
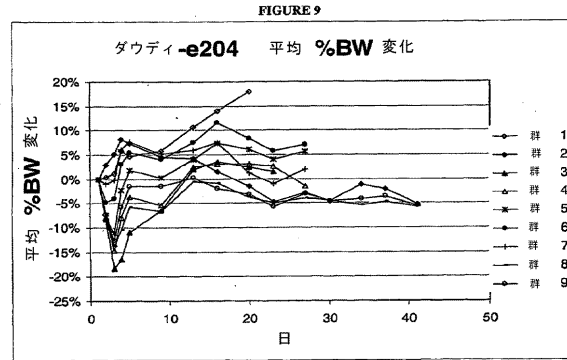


FIGURE 6

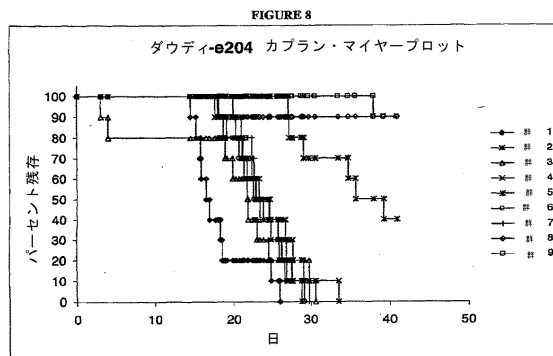
【図 7】



【図 9】



【図 8】



【配列表】

0005623016000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

A 6 1 K 31/52 (2006.01)	A 6 1 K 31/52	
A 6 1 K 31/522 (2006.01)	A 6 1 K 31/522	
A 6 1 K 31/7076 (2006.01)	A 6 1 K 31/7076	
A 6 1 K 31/704 (2006.01)	A 6 1 K 31/704	
A 6 1 K 31/136 (2006.01)	A 6 1 K 31/136	
A 6 1 K 31/337 (2006.01)	A 6 1 K 31/337	
A 6 1 K 31/7125 (2006.01)	A 6 1 K 31/7125	
A 6 1 K 31/4745 (2006.01)	A 6 1 K 31/4745	
A 6 1 K 31/7048 (2006.01)	A 6 1 K 31/7048	
A 6 1 K 31/475 (2006.01)	A 6 1 K 31/475	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 31/42 (2006.01)	A 6 1 K 31/42	
A 6 1 K 31/573 (2006.01)	A 6 1 K 31/573	
A 6 1 K 31/675 (2006.01)	A 6 1 K 31/675	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 K 31/706 (2006.01)	A 6 1 K 31/706	
A 6 1 K 31/5377 (2006.01)	A 6 1 K 31/5377	
A 6 1 K 31/517 (2006.01)	A 6 1 K 31/517	
A 6 1 K 31/506 (2006.01)	A 6 1 K 31/506	
A 6 1 K 31/015 (2006.01)	A 6 1 K 31/015	
A 6 1 K 31/553 (2006.01)	A 6 1 K 31/553	

(74)代理人 100138911

弁理士 櫻井 陽子

(74)代理人 100146259

弁理士 橋本 諭志

(72)発明者 ニール・クリフォード・グッドウィン

アメリカ合衆国49080ミシガン州ブレインウェル、ワンハンドレッドナインス・アベニュー120番

(72)発明者 ジェイムズ・パトリック・マック・ゴブレン

アメリカ合衆国49009ミシガン州カラマズー、モーニングスター・ウェイ6586番

審査官 深草 亜子

(56)参考文献 特表2001-502172 (JP, A)

特許第4906717 (JP, B2)

特許第5122474 (JP, B1)

特表2004-537517 (JP, A)

米国特許第5792608 (US, A)

Cancer Biother. Radiopharm., 2003, Vol.18, No.1, p.17-26

Nucleic Acids Res., 2001, Vol.29, No.3, p.622-628

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 31/7088