(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第6340006号
(P6340006)

(45)発行日　平成30年6月6日(2018.6.6)　(24)登録日　平成30年5月18日(2018.5.18)

(51)Int.Cl.		F I		
A61K 47/68	(2017.01)	A61K	47/68	ZNA
A61K 45/00	(2006.01)	A61K	45/00	ZMD
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00	
A61P 13/08	(2006.01)	A61P	13/08	
A61K 51/10	(2006.01)	A61K	51/10	100

請求項の数 7　(全 15 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2015-535644 (P2015-535644)
(86)(22)出願日　平成25年3月14日 (2013.3.14)
(65)公表番号　特表2016-500053 (P2016-500053A)
(43)公表日　平成28年1月7日 (2016.1.7)
(86)国際出願番号　PCT/US2013/000069
(87)国際公開番号　WO2014/055097
(87)国際公開日　平成26年4月10日 (2014.4.10)
審査請求日　平成28年3月11日 (2016.3.11)
(31)優先権主張番号　61/744,928
(32)優先日　平成24年10月5日 (2012.10.5)
(33)優先権主張国　米国(US)

前置審査

(73)特許権者　508298488
コーネル　ユニヴァーシティー
アメリカ合衆国ニューヨーク州１４８５０，　イサカ，　パイン　ツリー　ロード　３９５，　スイート　３１０，　センター　フォー　テクノロジー　ライセンシング，　アット　コーネル　ユニヴァーシティー
(74)代理人　100140109
弁理士　小野　新次郎
(74)代理人　100118902
弁理士　山本　修
(74)代理人　100106208
弁理士　宮前　徹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】アンドロゲン抑制、前立腺特異的膜抗原、および条件的に増大した脆弱性の概念

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＰＳＭＡの細胞外ドメインに結合できる抗体またはその抗原結合性フラグメントと細胞毒とのコンジュゲートを含む、去勢抵抗性前立腺癌を処置するための医薬であって、抗アンドロゲン療法の適用後２～４週間後に対象に投与されることを特徴とする医薬。
【請求項２】
ＰＳＭＡの細胞外ドメインに結合できる抗体はＪ５９１である、請求項１に記載の医薬。
【請求項３】
細胞毒はルテチウム－１７７である、請求項１に記載の医薬。
【請求項４】
抗アンドロゲン療法はホルモン療法である、請求項１に記載の医薬。
【請求項５】
前立腺癌は初期の非転移性癌である、請求項１に記載の医薬。
【請求項６】
ホルモン療法が少なくとも３～４週間さらに継続している、請求項４に記載の医薬。
【請求項７】
抗アンドロゲン療法が外科的去勢である、請求項１に記載の医薬。
【発明の詳細な説明】
【背景技術】

【０００１】
[0001] 本出願は、U.S. Provisional Patent Application No. 61/744,928, 2012年10月5日出願に基づく優先権を主張し、それの全体を本明細書に援用する。
[0002] アンドロゲン受容体（ＡＲ）は前立腺の発達および分化の鍵となるレギュレーターであり、アンドロゲン抑制は進行した前立腺癌（ＰＣ）の治療の主力である。最近、より有効な新世代のアンドロゲン抑制薬が有意義な臨床効果を示した(Danila et al. (2010); Scher et al. (2010))。しかし、これらの療法に対するデノボ抵抗性または獲得抵抗性は、さらに他の相補的な療法の開発が引き続き必要であることを示唆する。
【０００２】
[0003] 前立腺特異的膜抗原(prostate specific membrane antigen)（ＰＳＭＡ）／葉酸ヒドロラーゼ１（ＦＯＬＨ１）は、それを潜在的に価値ある標的にする多数の特性をもつ原形質膜受容体である：（１）それの発現は前立腺上皮に高特異的である；（２）それはＰＣにおいて有意にアップレギュレートされる(Israeli et al. (1994); Wright et al. (1995); Troyer et al. (1995);およびSokoloff et al. (2000))；（３）それは実質的にすべてのＰＣにより発現する(Wright et al. (1995); Sweat et al. (1998); Bostwick et al. (1998); Mannweiler et al. (2009); Kusumi et al. (2008);およびAnanias et al. (2009)；（４）発現は腫瘍のグレード、ステージと共に直接的に、かつホルモン非依存的に増大する(Wright et al. (1995))；および（５）ＰＳＭＡはインターナリゼーション作用性の細胞表面受容体として機能する(Liu et al. (1997))。
【０００３】
[0004] データはアンドロゲン抑制がＰＳＭＡ発現をアップレギュレートすることを示唆するが、公開された文献には若干の不一致がある。一方で、Israeliら(Israeli et al. (1994))はＬＮＣａＰ細胞系においてアンドロゲンがＰＳＭＡをダウンレギュレートすることを報告し、Wrightら(Wright et al. (1996))はほぼ半数の原発性ＰＣ検体がより高いレベルのＰＳＭＡをホルモン療法後に発現したことを見出した。他方で、Changらは、３か月間のネオアジュバント(neo-adjuvant)アンドロゲン抑制後の患者からの前立腺切除検体をホルモン療法を受けなかった患者のものと対比した際にＰＳＭＡ発現の増大がなかったと報告し(Chang et al. (2000))、Kusumiら(Kusumi et al. (2008))は、ホルモン療法によってＰＳＭＡ発現が低下したと報告した。より最近になって、Evansら(Evans et al. (2011))は、ＰＳＭＡ発現がインビボおよび動物異種移植モデルの両方においてアンドロゲンによって逆調節されることを報告した。
【０００４】
[0005] このように、アンドロゲン抑制は依然としてほぼ確実にあらゆるＰＣ療法の重要な要素であると思われ、アンドロゲン活性とＰＳＭＡ発現の関係がこれまで示唆されてきた。それにもかかわらず、アンドロゲンとＰＳＭＡ発現の関係はほとんど分からないままであり、抗アンドロゲン療法と抗ＰＳＭＡ療法の組合わせの有効性もほとんど分からないままである。
【先行技術文献】
【非特許文献】
【０００５】
【非特許文献１】Danila et al. (2010)
【非特許文献２】Scher et al. (2010)
【非特許文献３】Israeli et al. (1994)
【非特許文献４】Wright et al. (1995)
【非特許文献５】Troyer et al. (1995)
【非特許文献６】Sokoloff et al. (2000))
【非特許文献７】Sweat et al. (1998)
【非特許文献８】Bostwick et al. (1998)
【非特許文献９】Mannweiler et al. (2009)
【非特許文献１０】Kusumi et al. (2008)

【非特許文献１１】Ananias et al. (2009)
【非特許文献１２】Liu et al. (1997)
【非特許文献１３】Wright et al. (1996)
【非特許文献１４】Chang et al. (2000)
【非特許文献１５】Evans et al. (2011)
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００６】
[0006] 本発明は、６種類のヒトＰＣ細胞系のパネルにおける縦方向の管理された様式での試験に基づくものであり、これによりアンドロゲン抑制はすべての細胞系で一貫してＰＳＭＡアップレギュレーションをもたらしたことが見出され、最近発表されたEvansらの所見(Evan et al. (2011))が確認された。先に述べた文献においてＰＳＭＡの抗アンドロゲンアップレギュレーションを立証できなかった試験(Kusumi et al. (2008); Wright et al. (1996);およびChang et al. (2000))は、独立した患者グループ間でＰＳＭＡ発現を比較しており、患者間のＰＳＭＡ発現の変動性によって混乱したと思われる。
【０００７】
[0007] ＰＣ細胞系をアンドロゲン抑制処理すると、ＰＳＭＡ発現が生理的ＤＨＴ濃度におけるそれの濃度と対比して８０倍も増大した。アンドロゲン軸活性の変化に関連するＰＳＭＡ発現の指向性変化はすべての細胞系の間で質的には同一であったが、それにもかかわらず、個々の細胞系は同一のＤＨＴ濃度下ですら広範に異なる量的レベルのＰＳＭＡを発現した；これは、ＰＳＭＡ発現が単なるアンドロゲン濃度の関数ではないことを示唆する。ＰＳＭＡレベルの変動性にもかかわらず、ＰＳＭＡはＡＲ機能活性をモニターまたは測定するための有用な細胞バイオマーカーである；ただし、静的なＰＳＭＡレベルの読みは患者内の連続的な（たとえば、介入の前と後）読みの比較より情報価値が低いであろう。さらに、アンドロゲン無傷状態とアンドロゲン抑制状態のＰＳＭＡ発現の変化が細胞系のＡＲ発現レベルと相関することが試験により示された－すなわち、より低い絶対ＡＲレベルはアンドロゲン流出(flux)の結果としてより狭い動的ＰＳＭＡ発現範囲と関連し、逆も成り立つ。そのような評価はインビボでのＡＲ発現レベルを測定する手段を提供できる。
【０００８】
[0008] アンドロゲン調節性遺伝子(androgen-regulated gene)の時間的応答に関して、Nelson,ら(Nelson et al. (2002))は最高４８時間の時間枠内で４つの時間的パターンを報告した。興味深いことに、アンドロゲン離脱(withdrawal)後のＰＳＭＡ発現増大には遅れがあり、ピークに達するまでに約２週間かかることが本発明者らの試験により見出された。この所見により、アンドロゲン曝露／離脱間隔≦４８時間を用いたアンドロゲン調節性遺伝子の発現プロフィール試験(Nelson et al. (2002); Wang et al. (2009);およびHendriksen et al. (2006))がアンドロゲンのＰＳＭＡ／ＦＯＬＨ１調節を見落とし、これに対しそのようなプロフィール変化をより長いアンドロゲン離脱間隔にわたって評価した試験(Mostaghel et al. (2007))がＰＳＭＡ／ＦＯＬＨ１を最も高度にアップレギュレートされる遺伝子／タンパク質のひとつでありかつ唯一の最高にアップレギュレートされる原形質膜タンパク質であると同定した理由が説明される。本発明者らの時間的所見に基づけば、１～２週間より短い間隔の採用はＰＳＭＡ／ＦＯＬＨ１および潜在的に他のＡＲ抑止性遺伝子(AR-repressed gene)のアップレギュレーションを見落とす可能性がある。ＰＳＭＡ抑止解除の遅れは、ＡＲがＰＳＭＡ調節エレメントに緊密に結合し、遅い解離速度または半減期をもつことを示唆する。抗アンドロゲン介入の性質およびそれがこれらの調節エレメントからＡＲを排除するそれぞれの能力は、ＰＳＭＡ発現の動態に影響を及ぼす可能性がある。
【０００９】
[0009] ＰＳＡおよびＰＳＭＡは、両方ともアンドロゲン活性のバイオマーカーであるが、前者はアンドロゲンにより誘導され、後者は抑止される。さらに、ＰＳＡは血漿また

は血清中でサンプリングされ、すべての病変部の平均出力を表わすが、ＰＳＭＡ発現は個々の細胞または病変部レベルでのアンドロゲン活性の薬力学的バイオマーカーとして使用できる。たとえば、捕獲した血中循環腫瘍細胞(circulating tumor cell)（ＣＴＣ；Miyamato et al. (2012)）のエクスビボ分析、またはＰＳＭＡ標的剤を用いるインビボ患者イメージングにより、アンドロゲン軸活性の変化の指標となるＰＳＭＡ変化を同定できる(Evans et al. (2011))。本発明者らは、共同研究者らと一緒に、^{89}ジルコニウム－Ｊ５９１、すなわちインビボＰＳＭＡレベルを定量レポートできるＰＳＭＡ標的ＰＥＴ剤を用いる臨床試験（ＮＣＴ０１５４３６５９）を最近開始した(Holland et al. (2010);およびEvans et al. (2011))。

【００１０】

[0010] 最終的に、本発明は、アンドロゲン抑制とＰＳＭＡ発現の関係を利用して“条件的に増大した脆弱性(conditionally enhanced vulnerability)”の状態を作り出すのが可能であることを立証する。すなわち、アンドロゲン抑制の状態は標的（ＰＳＭＡ）発現の増大を推進し、その結果、これにより（ＰＳＭＡ）標的療法薬に対する腫瘍細胞脆弱性が増大する。これを試験するために、ＣＷＲ２２Ｒｖ１の例は特に高いハードルを示すのでこれを選択した：それは去勢抵抗性であり、最低ＰＳＭＡ発現ＰＣ細胞系のひとつであり、ＰＳＭＡを不均一発現し、低レベルのＡＲを発現し、かつアンドロゲン抑制した際に最も低くＰＳＭＡをアップレギュレートする細胞系に含まれる。興味深いことに、ＣＷＲ２２Ｒｖ１モデルで立証された去勢誘導によるＰＳＭＡ標的薬の抗腫瘍効力の倍増は、インビボでＰＥＴイメージングにより測定したＪ５９１標的抗体量の去勢後増加とほぼ等しい(Evans et al. (2011))。より高い倍数のＰＳＭＡアップレギュレーションを示す腫瘍では、ＰＳＭＡ標的療法効力のより大きな増大すら予想されるであろう。そして、去勢感受性腫瘍では、各薬剤の独立した効果およびそれらの相互作用に由来する有益性から生じる、よりさらに大きな効力が予測されるであろう。

【００１１】

[0011] 本発明は、協調標的療法薬を増強するために標的を薬理学的に調節する最初の例である。標的抗体－またはリガンド－薬物コンジュゲートの段階で、標的アップレギュレーションおよび条件的に増大した脆弱性をもたらす作用剤を同定できるスクリーニングを容易に設定できる。条件的脆弱性の他の例が見出される可能性はあるが、ＰＣ処置におけるアンドロゲン抑制の中心的役割、ＰＳＭＡの特異性、および得られるＰＳＭＡ受容体発現の増大からみて、ＡＲ－ＰＳＭＡの例は特に予想外である－これらのすべてが組み合わさって、これら２種類の受容体を共同標的化(co-targeting)することにより達成できるユニークな療法の好機が作り出される。この場合、アンドロゲン調節性癌細胞による標的発現を増大させることによって治療指数と同様に効力が直接的に増大するが、ＡＲ陰性の非標的／正常細胞によって増大することはない。

【００１２】

[0012] ＰＳＭＡの生物学的特徴は、ＰＣにおける抗アンドロゲン療法をテコ入れおよび構築する重要な好機を提供する。本発明者らは、抗アンドロゲン法とＰＳＭＡ標的細胞毒を組み合わせ、それらの時間的関係を本発明者らのＰＳＭＡ標的抗体療法試験に含めることにより、この共同標的化の好機を臨床的に説明することを開始した（たとえば、ＮＣＴ００８５９７８１）。抗アンドロゲン法に対する抵抗性の機序を推定する試みは進行中であるが、抗アンドロゲン法によって誘導された腫瘍感受性増大により得られる好機を見逃すべきではない。

【００１３】

[0013] したがって本発明は、一部は前記の知見－アンドロゲンレベルとＰＳＭＡ発現の間には逆相関性があるということ－に基づく。適切なＰＳＭＡ発現レベルをもつ患者はいずれも抗ＰＳＭＡ標的薬による処置の標的となる可能性がある。アンドロゲンレベルとＰＳＭＡ発現の間には逆相関性があるので、したがって低いレベルのアンドロゲンをもつ患者も増大したＰＳＭＡ発現を伴なう可能性があり、これにより彼らはＰＳＭＡ標的抗体療法のための理想的候補になる。

【００１４】
[0014] 本発明は、一部は下記の知見にも基づく：アンドロゲンレベルとＰＳＭＡ発現の間には逆相関性があるので、抗アンドロゲン療法と抗ＰＳＭＡ抗体療法の組合わせは前立腺癌の処置において相乗効果をもつ；抗アンドロゲン処置はＰＳＭＡ標的の発現をアップレギュレートし、これにより抗ＰＳＭＡ標的薬の送達量が増加する。多数の抗アンドロゲン療法があり、これにはホルモン療法（すなわち、医薬または化学薬品による去勢）または外科的去勢療法が含まれるが、これらに限定されない。予想外の所見のひとつは、いわゆる“去勢抵抗性”である患者－彼らについては去勢療法が療法応答を誘発することもＰＳＭＡ発現に対する何らかの効果をもつことも予想されなかった－ですら、それにもかかわらず去勢がＰＳＭＡ発現を実際にアップレギュレートし、したがってよりいっそう良好な抗ＰＳＭＡ療法応答が生じることである。すなわち、抗ＰＳＭＡ標的療法は去勢感受性（すなわち、アンドロゲン感受性／アンドロゲン応答性）患者の処置に有用であるだけでなく、去勢抵抗性患者、すなわち抗アンドロゲン療法が通常は有益であるとは予想されない患者の処置にも有用である。したがって、本発明の予想外の所見は、定義上は抗アンドロゲン療法に応答しない去勢抵抗性前立腺癌患者であるにもかかわらず、抗ＰＳＭＡ抗体処置と組み合わせた場合に抗アンドロゲン療法が有益であることである。

【００１５】
[0015] 特許請求の範囲に示す本発明はまた、前立腺癌においてＰＳＭＡ発現レベルを増大させる被験薬を同定する方法に関する。そのような被験薬は、アンドロゲンレベルを低下させる薬剤でもある可能性がある。

本発明の態様

態様１
対象に有効量の抗－前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与することによりその対象において前立腺癌を処置する医薬組成物の調製のための、抗－ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合性フラグメントの使用。

態様２
抗－ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合性フラグメントは抗癌剤にコンジュゲートしている、態様１に記載の使用。

態様３
抗癌剤は細胞毒である、態様２に記載の使用。

態様４
対象は去勢抵抗性である、態様３に記載の使用。

態様５
対象はアンドロゲン感受性またはアンドロゲン応答性である、態様３に記載の使用。

態様６
５０ｎｇ／ｍｌ以下の血清テストステロンレベルが測定された後に、抗体またはその抗原結合性フラグメントを対象に投与する、態様１～５のいずれか１項に記載の使用。

態様７
医薬および／または外科処置による抗アンドロゲン／去勢療法の開始後４週間以内に、抗体またはその抗原結合性フラグメントを対象に投与する、態様１～５のいずれか１項に記載の使用。

態様８
前立腺癌の処置方法であって、抗癌剤にコンジュゲートした抗－ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合性フラグメントを対象に投与することを含む方法。

態様９
抗癌剤は細胞毒である、態様８に記載の方法。

態様１０
対象は去勢抵抗性である、態様９に記載の方法。

態様１１
対象はアンドロゲン感受性またはアンドロゲン応答性である、態様９に記載の方法。

態様１２
５０ｎｇ／ｍｌ以下の血清テストステロンレベルが測定された後に、初回量の抗体またはその抗原結合性フラグメントを対象に投与する、態様８～１１のいずれか１項に記載の方法。
態様１３
医薬および／または外科処置による抗アンドロゲン／去勢療法の開始後４週間以内に、初回量の抗体またはその抗原結合性フラグメントを対象に投与する、態様８～１１のいずれか１項に記載の方法。
態様１４
前立腺癌の処置方法であって、
（ａ）前立腺癌を伴なう対象に医薬および／または外科処置による抗アンドロゲン／去勢療法を施し；そして
（ｂ）ＰＳＭＡの細胞外ドメインに結合できる抗体またはその抗原結合性フラグメントをその対象に投与する
工程を含む方法。
態様１５
抗体またはその抗原結合性フラグメントは抗癌剤にコンジュゲートしている、態様１４に記載の方法。
態様１６
抗癌剤は細胞毒である、態様１５に記載の方法。
態様１７
細胞毒はルテチウム－１７７である、態様１６に記載の方法。
態様１８
前立腺癌は去勢抵抗性である、態様１７に記載の方法。
態様１９
前立腺癌はアンドロゲン感受性またはアンドロゲン応答性である、態様１７に記載の方法。
態様２０
医薬および／または外科処置による抗アンドロゲン／去勢療法はホルモン療法を含む、態様１４～１９のいずれか１項に記載の方法。
態様２１
ホルモン療法の適用により、ＰＳＭＡの細胞外ドメインに結合できる抗体またはその抗原結合性フラグメントの投与効果が増強される、態様２０に記載の方法。
態様２２
ホルモン療法の結果、前立腺細胞によるＰＳＭＡの発現が増大する、態様２１に記載の方法。
態様２３
対象は初期の非転移性癌を伴なうと診断されている、態様２２に記載の方法。
態様２４
対象はホルモン療法を少なくとも３～４週間継続している、態様２３に記載の方法。
態様２５
医薬および／または外科処置による抗アンドロゲン／去勢療法は外科的去勢を含む、態様１４～１９のいずれか１項に記載の方法。
態様２６
前立腺癌におけるＰＳＭＡ発現レベルを増大させる被験薬を同定するための方法であって、
（ａ）前立腺癌のＰＳＭＡ発現レベルを評価し；
（ｂ）ある用量の被験薬をその前立腺癌に投与し；
（ｃ）被験薬を投与した後のその前立腺癌のＰＳＭＡ発現レベルを評価し；そして
（ｄ）被験薬投与の前と後のその前立腺癌のＰＳＭＡ発現レベルを比較する

工程を含む方法。
態様２７
被験薬はアンドロゲンを減少させる薬物である、態様２６に記載の方法。
【図面の簡単な説明】
【００１６】
【図１】[0016] 図１は、ＤＨＴの存在下および非存在下でのＰＳＭＡ発現の比較を示す。Ｌｉ－ｃｏｒ法を用いる定量イムノブロット。図１Ａは、１０ｎＭ ＤＨＴの存在下（上パネル）またはＤＨＴの非存在下（ＦＣＳのチャコールストリッピング後；下パネル）で増殖させた細胞を表わすゲル示す。ＰＳＭＡバンドの光学濃度を各列のβ－アクチンバンドに対して検定した。図１Ｂは、ＤＨＴの存在下および非存在下でのＰＳＭＡ／β－アクチンの比を示し、各細胞系についてプロットする。アンドロゲン離脱から生じる相対的なＰＳＭＡ発現増大が示される。細胞系をパネル１Ｂの下に示す。この図において、ＭＤＡ＝ＭＤＡ－Ｐｃａ２ｂ；およびＣＷＲ＝ＣＷＲ２２Ｒｖ１。
【図２Ａ】[0017] 図２は、アンドロゲン離脱がＰＳＭＡ発現をアップレギュレートすることを示す。図２Ａは、ＡＲが変異したＬＮＣａＰはＦＣＳを補充した標準培地においてベースラインで高いＰＳＭＡレベルをもつことをＦＡＣＳ分析が立証することを示す。チャコールストリッピングしたＦＣＳの使用はさらにＰＳＭＡを７～９倍アップレギュレートし、２週目にピークに達する。３週目のより少ない細胞数は、ステロイド欠乏による細胞損失を反映する。平均蛍光強度(mean florescence intensity)（ＭＦＩ）の読みを各ヒストグラムの上方に示す。
【図２Ｂ】図２は、アンドロゲン離脱がＰＳＭＡ発現をアップレギュレートすることを示す。図２Ｂは、種々のアンドロゲンレベルで２週間増殖させたＬＮＣａＰ細胞によるＰＳＭＡ発現の用量応答を示す。この実験におけるステロイド濃度の漸減によりＰＳＭＡが５．４倍の最大増大を生じた。
【図３Ａ】[0018] 図３は、ＰＳＭＡ発現がＡＲレベルに逆相関することを示す。パネル３Ａは、ＬＮＣａＰへのＡＲトランスフェクション（ＬＮＣａＰ－ＡＲ）が、ＦＡＣＳにより測定してＰＳＭＡ発現の約８０％ダウンレギュレーションをもたらすことを示す。逆に、ＡＲ－ｓｉＲＮＡ処理は、ＡＲをサイレンシングし、ＰＳＭＡ発現をアップレギュレートする：ＬＮＣａＰおよびＣＷＲ２２Ｒｖ１において４８時間目に（図３Ｂ）、ＭＤＡ－Ｐｃａ－２ｂおよびＬＡＰＣ－４細胞において４日目に（図３Ｃ）。
【図３Ｂ】図３は、ＰＳＭＡ発現がＡＲレベルに逆相関することを示す。パネル３Ａは、ＬＮＣａＰへのＡＲトランスフェクション（ＬＮＣａＰ－ＡＲ）が、ＦＡＣＳにより測定してＰＳＭＡ発現の約８０％ダウンレギュレーションをもたらすことを示す。逆に、ＡＲ－ｓｉＲＮＡ処理は、ＡＲをサイレンシングし、ＰＳＭＡ発現をアップレギュレートする：ＬＮＣａＰおよびＣＷＲ２２Ｒｖ１において４８時間目に（図３Ｂ）、ＭＤＡ－Ｐｃａ－２ｂおよびＬＡＰＣ－４細胞において４日目に（図３Ｃ）。
【図３Ｃ】図３は、ＰＳＭＡ発現がＡＲレベルに逆相関することを示す。パネル３Ａは、ＬＮＣａＰへのＡＲトランスフェクション（ＬＮＣａＰ－ＡＲ）が、ＦＡＣＳにより測定してＰＳＭＡ発現の約８０％ダウンレギュレーションをもたらすことを示す。逆に、ＡＲ－ｓｉＲＮＡ処理は、ＡＲをサイレンシングし、ＰＳＭＡ発現をアップレギュレートする：ＬＮＣａＰおよびＣＷＲ２２Ｒｖ１において４８時間目に（図３Ｂ）、ＭＤＡ－Ｐｃａ－２ｂおよびＬＡＰＣ－４細胞において４日目に（図３Ｃ）。
【図４】[0019] 図４は、去勢の前と後のＰＳＭＡ発現の免疫組織化学的(immunohistochemical)（ＩＨＣ）評価を示す。図４Ａは、去勢前のＣＷＲ２２Ｒｖ１異種移植体のベースラインＰＳＭＡ発現を示す。図４Ｂ～４Ｄは、去勢後、１週目（図４Ｂ）、２週目（図４Ｃ）、および４週目（図４Ｄ）のＰＳＭＡ発現を示す。
【図５Ａ】[0021] 図５は、ＡＲサイレンシングがＰＳＭＡをアップレギュレートすることを示す。ＡＲ－ｓｉＲＮＡ処理（青線）、非標的化ｓｉＲＮＡ処理（赤線）および非処理対照（緑線）のＬＮＣａＰ細胞（図５Ａ）、ＭＤＡ－Ｐｃａ－２ｂ細胞（図５Ｂ）、およびＬＡＰＣ－４細胞（図５Ｃ）のＦＡＣＳ分析。灰色ヒストグラムは二次抗体のみの陰

性対照である。すべての場合、ＡＲ－ｓｉＲＮＡはＡＲをサイレンシングし、かつＰＳＭＡをアップレギュレートした；非標的化ｓｉＲＮＡ対照はＡＲまたはＰＳＭＡのいずれにも影響を及ぼさなかった。

【図５Ｂ】図５は、ＡＲサイレンシングがＰＳＭＡをアップレギュレートすることを示す。ＡＲ－ｓｉＲＮＡ処理（青線）、非標的化ｓｉＲＮＡ処理（赤線）および非処理対照（緑線）のＬＮＣａＰ細胞（図５Ａ）、ＭＤＡ－Ｐｃａ－２ｂ細胞（図５Ｂ）、およびＬＡＰＣ－４細胞（図５Ｃ）のＦＡＣＳ分析。灰色ヒストグラムは二次抗体のみの陰性対照である。すべての場合、ＡＲ－ｓｉＲＮＡはＡＲをサイレンシングし、かつＰＳＭＡをアップレギュレートした；非標的化ｓｉＲＮＡ対照はＡＲまたはＰＳＭＡのいずれにも影響を及ぼさなかった。

【図５Ｃ】図５は、ＡＲサイレンシングがＰＳＭＡをアップレギュレートすることを示す。ＡＲ－ｓｉＲＮＡ処理（青線）、非標的化ｓｉＲＮＡ処理（赤線）および非処理対照（緑線）のＬＮＣａＰ細胞（図５Ａ）、ＭＤＡ－Ｐｃａ－２ｂ細胞（図５Ｂ）、およびＬＡＰＣ－４細胞（図５Ｃ）のＦＡＣＳ分析。灰色ヒストグラムは二次抗体のみの陰性対照である。すべての場合、ＡＲ－ｓｉＲＮＡはＡＲをサイレンシングし、かつＰＳＭＡをアップレギュレートした；非標的化ｓｉＲＮＡ対照はＡＲまたはＰＳＭＡのいずれにも影響を及ぼさなかった。

【００１７】

実施例

[0023] 先に述べたように、アンドロゲン剥奪(ablation)は進行した前立腺癌（ＰＣ）治療の基本である。ＰＣにおいて着目されるもうひとつの標的である前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）は、アンドロゲンにより調節されることがさまざまに報告されてきた。これらの実施例はこの関係を明らかにし、ＡＲとＰＳＭＡの組合わせ標的化の潜在的有用性を探索する。一般に、７種類の樹立ＰＣ細胞系および異種移植モデルによるＰＳＭＡ発現を、ＦＡＣＳ、ウェスタンブロット法、および免疫組織化学（ＩＨＣ）により、アンドロゲン無傷、アンドロゲン枯渇(deprived)、およびＡＲサイレンシング状態で調べた。去勢とＰＳＭＡ標的抗体－薬物コンジュゲート(antibody-drug conjugate)（ＡＤＣ）の組合わせの効果を、去勢抵抗性異種移植モデルにおいて調べた。

【００１８】

ＰＳＭＡ発現を逆調節するアンドロゲン軸活性

[0024] ６種類のＰＣ細胞系の増殖培地をチャコールストリッピングすると、ＰＳＭＡが生理的レベルのＤＨＴのものと対比して４．６～８１．６倍アップレギュレートされた（図１）。アップレギュレーションのタイムコースの評価により、開始が数日ないし１週間遅れて２週目にピーク発現が見られることが明らかになった（図２）。培地のステロイド濃度に対比したＰＳＭＡ発現の用量応答を図２（ｂ）に示す。ＦＡＣＳ平均蛍光強度（ＭＦＩ）により測定されたように、ＰＳＭＡ発現は増殖培地中のステロイド濃度の低下に対比してほぼ直線的に増大する。

【００１９】

[0025] ウェスタンブロット法のために、１ｍＭフェニルメチルスルホニルフルオリド（ＥＭＤ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，ニュージャージー州ギブスタウン）を含有する細胞溶解用緩衝液（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，マサチュセッツ州ダンバース）で細胞を溶解した。等量のタンパク質を各ウェルの１０％ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌゲル（Ｂｉｏ－Ｒａｄ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，カリフォルニア州ハーキュリーズ）上に付与した。タンパク質をＩｍｍｏｂｉｌｏｎ－Ｐメンブレン（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ，マサチュセッツ州ビレリカ）へ転写し、その後、これらのフィルターを下記の試薬で検査した：ネズミ抗－ＰＳＭＡ ｍＡｂ Ｊ５９１、ネズミｍＡｂ 抗－ＡＲ（ＡＲ４４１）、ウサギ抗－ヒトＡＲ、ネズミｍＡｂ 抗－ヒト ベーターアクチン、および／またはヤギ ポリクローナル 抗－ＧＡＰＤＨ。定量ウェスタンブロット法のために、Ｌｉ－ｃｏｒ Ｏｄｙｓｓｅｙ赤外イメージングシステム（Ｌｉｎｃｏｌｎ，ネブラスカ）を用いた。このシステムで、同じ分子量の２種類の異なるタンパク質（たとえば、ＰＳＭＡおよび

ＡＲ）を同じブロット上で、２つの異なる種（マウスおよびウサギ）からの２種類の異なる抗体を用い、続いて２種類のＩＲＤｙｅ標識二次抗体で検出することにより、同時に検出および定量できる。抗－ベーター－アクチンを装填基準として用いる。Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ Ｉｍｍｏｂｉｌｏｎ－ＦＬ ＰＶＤＦメンブレンをＬｉｃｏｒの推奨に従って用いた。ｍｕＪ５９１ 抗－ＰＳＭＡ １ｕｇ／ｍｌ、ウサギ 抗－ヒトＡＲ １：５００、およびマウス 抗－ヒト ベーター－アクチン １：１０，０００を５％粉乳／ＰＢＳＴ中で混和し、メンブレンと同時にインキュベートした。洗浄後、ＩＲＤｙｅ ８００ＣＷ－ヤギ 抗－マウス二次抗体（１：１０，０００）およびＩＲＤｙｅ ６８０ＬＴ－ヤギ 抗－ウサギ二次抗体（１：２０，０００）を５％粉乳／ＰＢＳＴ中で混和し、メンブレンと同時にインキュベートした。洗浄後、メンブレンをスキャンし、バンドをＯｄｙｓｓｅｙ赤外イメージングシステムで定量した。

【００２０】

[0026] 多数の細胞系をこれらの実施例に用いた。ヒト前立腺癌細胞系ＬＮＣａＰ、ＣＷＲ２２Ｒｖ１、ＭＤＡ－ＰＣａ－２ｂ、ＶＣａＰおよびＬＡＰＣ－４をＡｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（バージニア州マナッサス）から購入した。ＬＮＣａＰ／ＡＲおよびＰＣ３－ＰＳＭＡは、それぞれＣｈａｒｌｅｓ ＳａｗｙｅｒｓおよびＭｉｃｈｅｌ Ｓａｄｅｌａｉｎからの寄贈であった（ＭＳＫＣＣ，ニューヨーク）。ＬＮＣａＰ、ＬＮＣａＰ／ＡＲおよびＣＷＲ２２Ｒｖ１細胞を、下記のものを補充したＲＰＭＩ１６４０培地中に維持した：２ｍＭのＬ－グルタミン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，カリフォルニア州カールズバッド）、１％のペニシリン－ストレプトマイシン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、および１０％の熱不活化したウシ胎仔血清（ＦＣＳ）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）。ＭＤＡ－ＰＣａ－２ｂ細胞を、下記のものを含有するＦ１２Ｋ培地中で増殖させた：２ｍＭのＬ－グルタミン、１％のペニシリン－ストレプトマイシン、２０％の熱不活化ＦＣＳ、２５ｎｇ／ｍＬのコレラ毒素（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，ミズーリ州セントルイス）、１０ｎｇ／ｍＬの上皮増殖因子（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、カリフォルニア州サンノゼ）、５μＭのホスホエタノールアミン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）、１００ｐｇ／ｍＬのヒドロコルチゾン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）、４５ｎＭの亜セレン酸（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）および５μｇ／ｍＬのインスリン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）。ＶＣＡＰ細胞を、下記のものを補充したＤＭＥＭ培地中に維持した：２ｍＭのＬ－グルタミン、１％のペニシリン－ストレプトマイシン、および１０％の熱不活化していないＦＣＳ。ＬＡＰＣ－４細胞を、下記のものを補充したＩＭＤＭ培地中に維持した：２ｍＭのＬ－グルタミン、１％のペニシリン－ストレプトマイシン、および１５％の熱不活化ＦＣＳ。すべての細胞系を３７℃で５％ CO_2 の雰囲気に保持した。５α－ジヒドロテストステロン（ＤＨＴ）を、Ｗａｋｏ Ｃｈｅｍｉｃａｌ ＵＳＡ（バージニア州リッチモンド）から購入した。

【００２１】

[0027] 多数の抗体をこれらの実施例に用いた。モノクローナル抗体（ｍＡｂ）抗－ＰＳＭＡ Ｊ５９１を作製した(Evans et al. (2011))。さらに他の抗体試薬には下記のものが含まれる：ｍＡｂ 抗－ＡＲ（ＡＲ４４１）、ウサギ 抗－ヒトＡＲ、およびヤギ ポリクローナル 抗－ＧＡＰＤＨ（Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，カリフォルニア州サンタクルーズ）、およびｍＡｂ 抗－ＰＳＡ（Ｄａｋｏ，デンマーク、グロストルップ）。マウスｍＡｂ 抗－ヒト ベーター－アクチンをＴｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ（イリノイ州ロックフォード）から購入した。

【００２２】

[0028] 蛍光活性化セルソーティング（ＦＡＣＳ）分析もこれらの実施例に用いた。ＬＮＣａＰ、ＭＤＡ－ＰＣａ－２ｂおよびＬＡＰＣ－４細胞を６ウェルプレートに播種し（1×10^5／ウェル）、一夜増殖させ、トリプシン処理後に採集した。２％のパラホルムアルデヒドを含有するＰＢＳで３０分間固定した直後に、細胞をネズミ 抗－ＡＲまたは抗－ＰＳＭＡ ｍＡｂと共に、１％のウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）および０．１％のサポニン（Ｓｉｇｍａ）を含有するリン酸緩衝化生理食塩水（ＰＢＳ）中で１時間インキュ

ベートし、次いで細胞をフルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）コンジュゲートしたヒツジ　抗－マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ，Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ，ペンシルベニア州ウェストグローブ）抗体で１時間処理した。１％　ＢＳＡ＋０．１％サポニンを含有するＰＢＳで洗浄した後、細胞をフローサイトメトリー分析した（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ，ニュージャージー州フランクリンレイクス）。

【００２３】

[0029]　免疫組織化学的試験をこれらの実施例に用いた。ＩＡＣＵＣ承認プロトコルの下で、ＣＷＲ２２Ｒｖ１異種移植体をＢＡＬＢ／ｃヌードマウスにおいて樹立した。去勢後の種々の時点、０日目（未去勢）、１、２および４週目に、腫瘍を収穫し、液体窒素中で予冷し、ＯＣＴコンパウンド（Ｓａｋｕｒａ　Ｆｉｎｅｔｅｋ　Ｕ．Ｓ．Ａ．，ｉｎｃ．，カリフォルニア州トランス）中においてドライアイスで瞬間凍結し、－８００℃に保存した。クライオスタット（低温槽）組織切片を冷アセトン（４０℃）中で１０分間固定した。切片をＰＢＳ中で洗浄した。ペルオキシダーゼブロック（０．０３％　H_2O_2）を５分間インキュベートした。ＰＢＳ中で洗浄した後、ヒト化Ｊ５９１（１０μｇ／ｍｌ，１％ウシ血清アルブミン中）を切片に乗せて室温で１時間、インキュベートした。希釈剤（１％　ＢＳＡ）を陰性対照として用いた。ウサギ　抗－ヒトＩｇ－ペルオキシダーゼ（Ｄａｋｏ，カリフォルニア州カーピンテリア）、続いて色素原としてのジアミノベンジジン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ　Ｃｏ．，ミズーリ州セントルイス）を用いて、抗体結合を検出した。切片を１０％ヘマトキシリンで対比染色した。

【００２４】

ＡＲの過剰発現またはサイレンシング

[0030]　ＡＲを過剰発現させるためにＡＲ遺伝子をＬＮＣａＰにトランスフェクションすると（すなわち、ＬＮＣａＰ－ＡＲ）、ＰＳＭＡが約８０％ダウンレギュレートされた（図３（ａ））。逆に、ＡＲをｓｉＲＮＡでサイレンシングすると、４種類すべての被験細胞系でＰＳＭＡが用量依存的にアップレギュレートされた（ＬＮＣａＰ、ＣＷＲ２２Ｒｖ１、ＭＤＡ－Ｐｃａ－２ｂおよびＬＡＰＣ－４；（図３（ｂ）および（ｃ）；図５）。予想どおり、ＡＲのサイレンシングはＰＳＡ分泌の有意な低減をもたらした（データを示していない）。

【００２５】

[0031]　ＲＮＡ干渉を下記に従って実施した。ＡＲに対して特異的な低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）二本鎖および非標的化ｓｉＲＮＡ（ＮＴ－ｓｉＲＮＡ）をＤｈａｒｍａｃｏｎ（コロラド州ラファイエット）から購入した。ＡＲ特異的ｓｉＲＮＡ（ＡＲ－ｓｉＲＮＡ）配列はヒトＡＲ部位５’－ＧＡＣＵＣＡＧＣＵＧＣＣＣＣＡＵＣＣＡ－３’に対応していた。ＮＴ－ｓｉＲＮＡ（５’－ＣＣＵＡＣＧＣＣＡＣＣＡＡＵＵＵＣＧＵ－３’）をｓｉＲＮＡ実験のための対照として用いた。種々の量のＮＴ－ｓｉＲＮＡまたはＡＲ－ｓｉＲＮＡでＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　ＲＮＡｉＭＡＸ試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を用いて製造業者の指示に従ってトランスフェクションした懸濁細胞を一夜インキュベートした後、培地を新鮮な培地と交換し、結果および／または図面の凡例に指示した時間、細胞をインキュベートした。

【００２６】

インビボ去勢の効果

[0032]　ホルモン無傷の雄ｎｕ／ｎｕマウスにおいて増殖しているＣＷＲ２２Ｒｖ１異種移植体はＰＳＭＡ発現が低レベルであることを示し（図４（ａ））、これはインビトロ所見（図１，列５）と一致した。外科的去勢の後、ＰＳＭＡ発現レベルは４週間の観察期間にわたって漸増した（図４（ｂ）～（ｄ））。

【００２７】

去勢　＋　抗－ＰＳＭＡ　Ｊ５９１モノクローナル抗体－薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）の抗腫瘍活性

[0033]　この試験は、去勢により誘発されたＰＳＭＡアップレギュレーションがＰＳＭＡ標的細胞毒に対する抗腫瘍応答に及ぼす効果を判定するためのものであった。ＣＷＲ２

２Ｒｖ１を選択したのは、それがアンドロゲン非依存性、去勢抵抗性の異種移植体から樹立されたからである(Sramkoski et al. (1999);およびDagvadorj et al. (2008))；これにより、標的薬　＋　去勢により誘発されたＰＳＭＡアップレギュレーション　に対して観察された抗腫瘍活性を切り離すことができ、一方でホルモンによる直接的な抗腫瘍作用を除外できる。さらに、ＣＷＲ２２Ｒｖ１は急速に増殖し、生理的レベルのアンドロゲン下では比較的低いレベルのＰＳＭＡを発現し（図１および４）、ＰＳＭＡを不均一発現し、他のＰＣ細胞系と対比してＰＳＭＡを中程度にアップレギュレートするにすぎない（図１）ので、それはＰＳＭＡ標的薬に対してほぼ最悪例の挑戦を提起する。

【００２８】

Ｊ５９１にコンジュゲートした細胞毒のＡＤＣを用いた実験は、２倍の抗腫瘍応答増大を示した（データを示していない）。

【００２９】

[0035]　去勢後にみられたＰＳＭＡ発現増大（図４）およびＰＥＴによりレポートされた標的抗体の腫瘍局在化増大(Evans et al. (2011))と合わせて考えると、この改善された抗腫瘍効力は、標的細胞毒のより大きな標的化／インターナリゼーションを推進する、より高いＰＳＭＡ発現から生じると思われる。

【００３０】

実施例のまとめ

[0036]　これらの結果は、試験した６種類すべてのＰＳＭＡ陽性ＰＣ細胞系においてアンドロゲン枯渇がＰＳＭＡ発現の増大をもたらしたことを示す。同様なＰＳＭＡアップレギュレーションがＡＲのｓｉＲＮＡサイレンシングから生じ、これはその作用がＡＲにより仲介されたことを示唆する。ピークＰＳＭＡ発現は、インビトロでアンドロゲン枯渇後ほぼ２週目に起きた。アンドロゲンレベルとＰＳＭＡ発現の間に逆の線形用量応答関係がみられた。異なる細胞系の間で、去勢により推進されたＰＳＭＡアップレギュレーションは４～８０倍の範囲であった。ＣＷＲ２２Ｒｖ１異種移植体を用いて、有意のＰＳＭＡアップレギュレーションが免疫組織化学的分析により去勢後４週間の期間にわたってみられた。去勢　＋　ｍＡｂ　Ｊ５９１（抗－ＰＳＭＡ）標的ＡＤＣの組合わせは、去勢抵抗性動物モデルにおいてすら相乗的な抗腫瘍応答をもたらした。したがって、ＰＳＭＡは、免疫組織化学的分析および／またはインビボイメージングによって容易に同定およびモニターできるアンドロゲン活性の細胞表面バイオマーカーである。ホルモン操作は去勢抵抗性ＰＣモデルにおいてすらＰＳＭＡアップレギュレーションを誘発し、その結果、抗腫瘍応答を増大させる。ＡＲとＰＳＭＡの相互関係により、それらはＰＣにおける注目すべき標的組合わせとなる。

【発明を実施するための形態】

【００３１】

[0037]　本技術の１観点は、対象に有効量の抗－前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与することによりその対象において前立腺癌を処置する医薬組成物の調製のための、抗－ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合性フラグメントの使用である。１観点において、抗－ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合性フラグメントは抗癌剤にコンジュゲートしている。他の観点において、抗癌剤は細胞毒である。他の観点において、対象は去勢抵抗性であるか、あるいはアンドロゲン感受性またはアンドロゲン応答性である。１観点において、５０ｎｇ／ｍｌ以下の血清テストステロンレベルが測定された後に、抗体またはその抗原結合性フラグメントを対象に投与する。他の観点において、医薬および／または外科処置による抗アンドロゲン／去勢療法の開始後４週間以内に、抗体またはその抗原結合性フラグメントを対象に投与する。

【００３２】

[0038]　本技術の他の観点は、前立腺癌の処置方法であって、抗癌剤にコンジュゲートした抗－ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合性フラグメントを対象に投与することを含む方法である。関連する観点において、抗癌剤は細胞毒である。他の観点において、対象は去勢抵抗性であるか、あるいはアンドロゲン感受性またはアンドロゲン応答性である。関連

する観点において、５０ｎｇ／ｍｌ以下の血清テストステロンレベルが測定された後に、初回量の抗体またはその抗原結合性フラグメントを対象に投与する。他の観点において、医薬および／または外科処置による抗アンドロゲン／去勢療法の開始後４週間以内に、初回量の抗体またはその抗原結合性フラグメントを対象に投与する。

【００３３】

[0039] 他の観点において、本技術は、下記の工程を含む前立腺癌の処置方法に関する：（ａ）前立腺癌を伴なう対象に医薬および／または外科処置による抗アンドロゲン／去勢療法を施し；そして（ｂ）ＰＳＭＡの細胞外ドメインに結合できる抗体またはその抗原結合性フラグメントをその対象に投与する。他の観点において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは抗癌剤にコンジュゲートしている。他の観点において、抗癌剤は細胞毒である。さらに他の観点において、細胞毒はルテチウム－１７７である。関連する観点において、前立腺癌は去勢抵抗性であるか、あるいはアンドロゲン感受性またはアンドロゲン応答性である。他の観点において、医薬および／または外科処置による抗アンドロゲン／去勢療法はホルモン療法を含む。関連する観点において、ホルモン療法の適用により、ＰＳＭＡの細胞外ドメインに結合できる抗体またはその抗原結合性フラグメントの投与効果が増強される。他の観点において、ホルモン療法の結果、前立腺細胞によるＰＳＭＡの発現が増大する。他の観点において、対象は初期の非転移性癌を伴なうと診断されている。１観点において、対象はホルモン療法を少なくとも３～４週間継続している。他の観点において、医薬および／または外科処置による抗アンドロゲン／去勢療法は外科的去勢を含む。

【００３４】

[0040] 他の観点において、本技術は、下記の工程を含む、前立腺癌におけるＰＳＭＡ発現レベルを増大させる被験薬を同定するための方法に関する：（ａ）前立腺癌のＰＳＭＡ発現レベルを評価し；（ｂ）ある用量の被験薬をその前立腺癌に投与し；（ｃ）被験薬を投与した後のその前立腺癌のＰＳＭＡ発現レベルを評価し；そして（ｄ）被験薬投与の前と後のその前立腺癌のＰＳＭＡ発現レベルを比較する。関連する観点において、被験薬はアンドロゲンを減少させる薬物である。

【図１】

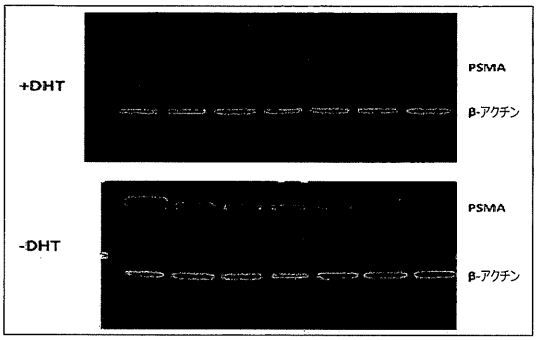


Figure 1A

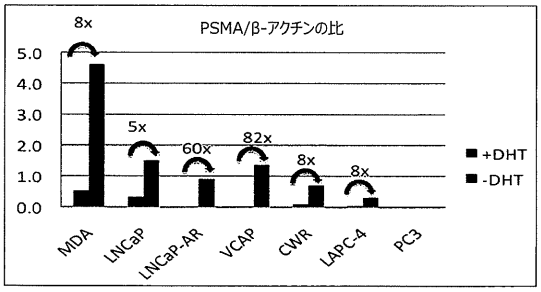


Figure 1B

【図２Ａ】

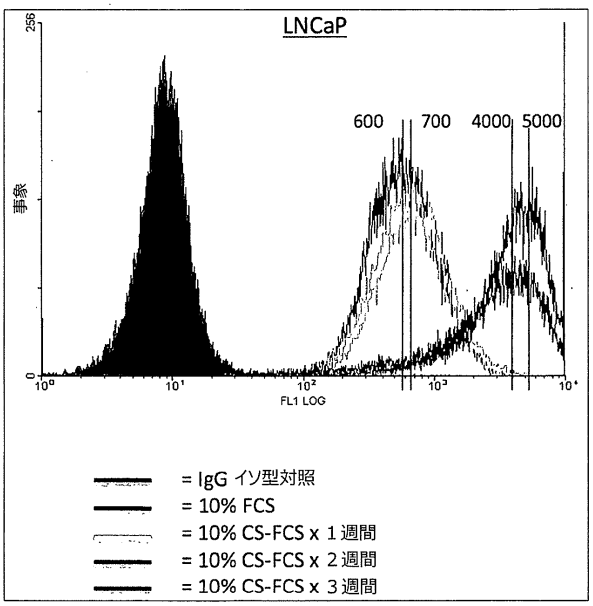
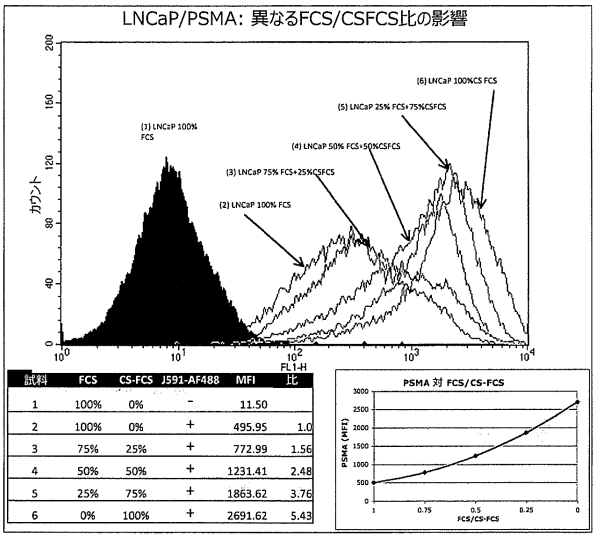


Figure 2A

【図２Ｂ】



試料	FCS	CS-FCS	J591-AF488	MFI	比
1	100%	0%	-	11.50	
2	100%	0%	+	495.95	1.0
3	75%	25%	+	772.99	1.56
4	50%	50%	+	1231.41	2.48
5	25%	75%	+	1863.62	3.76
6	0%	100%	+	2691.62	5.43

Figure 2B

【図３Ａ】

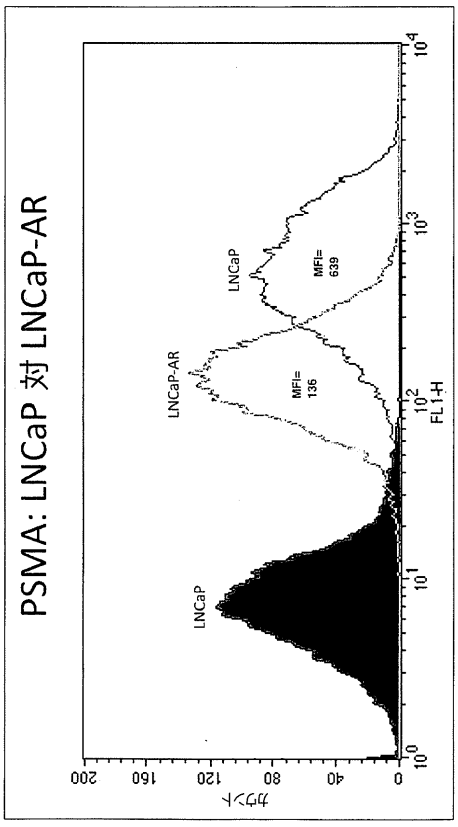


Figure 3A

【図３Ｂ】

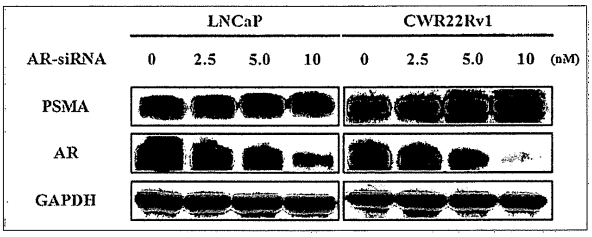


Figure 3B

【図３Ｃ】

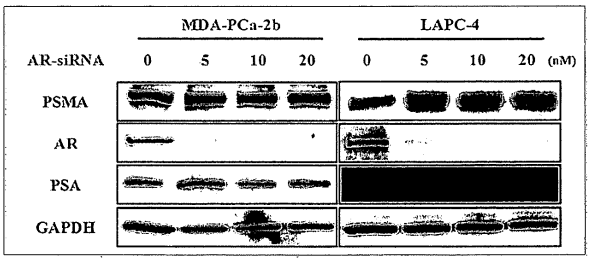


Figure 3C

【図４】

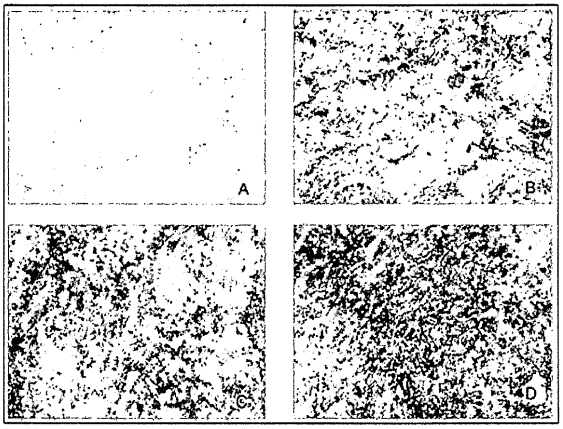


Figure 4

【図５Ａ】

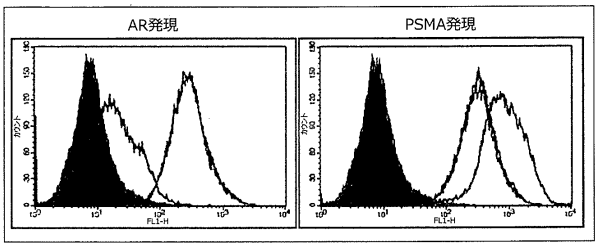


Figure 5A

【図５Ｂ】

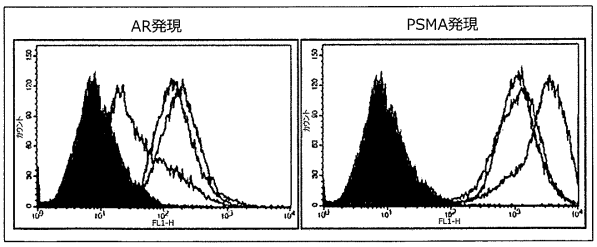
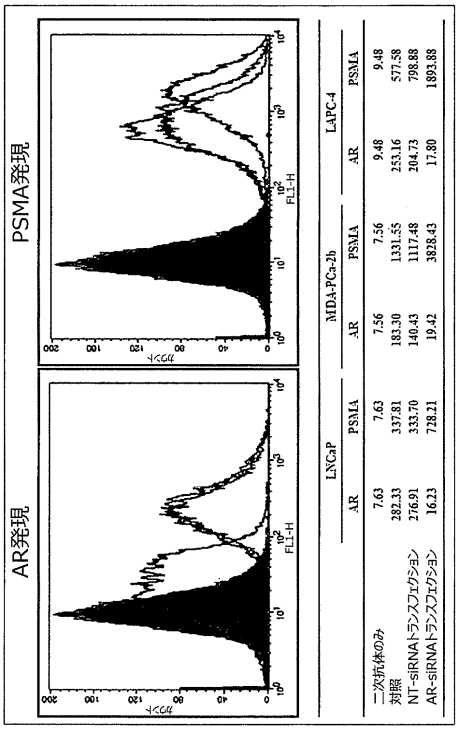


Figure 5B

【図５Ｃ】



	LNCaP		MDA-PCa-2b		LAPC-4	
	AR	PSMA	AR	PSMA	AR	PSMA
二次抗体のみ	7.63	7.63	7.56	7.56	9.48	9.48
対照	282.33	337.81	183.30	1331.55	253.16	577.58
NT-siRNAトランスフェクション	276.91	333.70	140.43	1117.48	204.73	798.88
AR-siRNAトランスフェクション	16.23	728.21	19.42	3828.43	17.80	1893.88

Figure 5C

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
Ｃ０７Ｋ 16/28 (2006.01) Ｃ０７Ｋ 16/28

(74)代理人 100120112
弁理士 中西 基晴
(74)代理人 100106080
弁理士 山口 晶子
(72)発明者 バンダー，ニール・エイチ
アメリカ合衆国ニューヨーク州１０５１４，チャパクア，ヘムロック・ヒルズ 2

審査官 菊池 美香

(56)参考文献 特表２０１０－５４０６５７（ＪＰ，Ａ）
PNAS, 2011, Vol.108, No.23, p.9578-9582

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ ４７／６８
Ａ６１Ｋ ４５／００
Ａ６１Ｋ ５１／１０
Ａ６１Ｐ １３／０８
Ａ６１Ｐ ３５／００
Ｃ０７Ｋ １６／２８
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）