

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7015237号

(P7015237)

(45)発行日 令和4年2月2日(2022.2.2)

(24)登録日 令和4年1月25日(2022.1.25)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 31/357(2006.01)

A 6 1 K 31/357

A 6 1 K 9/127(2006.01)

A 6 1 K 9/127

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 1/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/00

請求項の数 4 (全17頁)

(21)出願番号 特願2018-514683(P2018-514683)

(86)(22)出願日 平成29年4月26日(2017.4.26)

(86)国際出願番号 PCT/JP2017/016633

(87)国際公開番号 WO2017/188350

(87)国際公開日 平成29年11月2日(2017.11.2)

審査請求日 令和2年4月17日(2020.4.17)

(31)優先権主張番号 特願2016-91919(P2016-91919)

(32)優先日 平成28年4月28日(2016.4.28)

(33)優先権主張国・地域又は機関

日本国(JP)

前置審査

(73)特許権者 506137147

エーザイ・アール・アンド・ディー・マ

ネジメント株式会社

東京都文京区小石川四丁目6番10号

(74)代理人 100079108

弁理士 稲葉 良幸

(74)代理人 100080953

弁理士 田中 克郎

(74)代理人 100109346

弁理士 大貫 敏史

(74)代理人 100134120

弁理士 内藤 和彦

(72)発明者 浅野 誠

茨城県つくば市東光台5丁目1番地3

エーザイ株式会社筑波研究所内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 腫瘍の成長を抑制する方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩を含むリポソーム組成物を含み、患者において、胃がんの腫瘍の成長を抑制するための医薬組成物。

【請求項2】

エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩がメシル酸エリブリンである、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項3】

エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩を含むリポソーム組成物を含み、胃がんの腫瘍に対する治療剤。

【請求項4】

エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩がメシル酸エリブリンである、請求項3に記載の治療剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩を含むリポソーム組成物を投与することにより、腫瘍の成長を抑制する方法に関する。

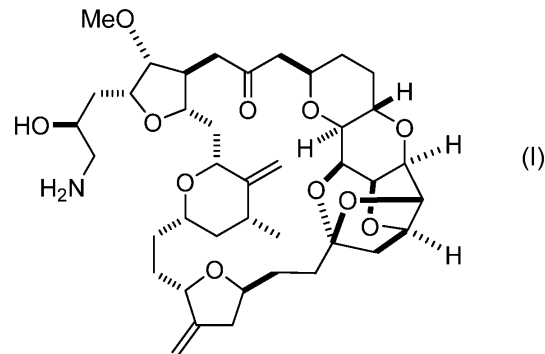
【背景技術】

【0002】

下記式 (I) で表されるエリブリンは、微小管の伸長を阻害することにより細胞周期を停止させる微小管ダイナミクス阻害剤であり、乳癌の治療において、医薬品として利用されている。

【 0 0 0 3 】

【 化 1 】



10

【 0 0 0 4 】

特許文献 1 には、エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩およびその製造方法が開示されている。

特許文献 2 および 3 には、エリブリンおよびそのメシル酸（メタンスルホン酸）塩であるメシル酸エリブリンの製造方法が開示されている。

20

特許文献 4 には、エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩を患者に投与することによる患者のがんの成長を抑制する方法が開示されている。

また、特許文献 5 には、特定の第二の抗がん剤と併用してエリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩を患者に投与することによる患者のがんの治療方法が開示されている。

さらに、特許文献 6 には、第二の治療手段と併用してエリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩を患者に投与することによる患者のがんの治療方法が開示されている。

特許文献 7 には、メシル酸エリブリンを含むリボソーム組成物が開示されている。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 0 5 】

30

【 文献 】 国際公開第 9 9 / 6 5 8 9 4 号

国際公開第 2 0 0 5 / 1 1 8 5 6 5 号

国際公開第 2 0 1 1 / 0 9 4 3 3 9 号

米国特許第 6 4 6 9 1 8 2 号明細書

米国公開 2 0 0 6 / 1 0 4 9 8 4 号明細書

米国特許第 6 6 5 3 3 4 1 号明細書

国際公開第 2 0 1 0 / 1 1 3 9 8 4 号

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 6 】

40

本発明が解決しようとする課題は、患者のある種の腫瘍の成長を抑制する方法を提供することである。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 7 】

本発明者らは鋭意検討を行った結果、エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩を含むリボソーム組成物を患者に投与することにより、上記課題を解決することができることを見出し、本発明を完成した。

【 0 0 0 8 】

すなわち、本発明は、以下のとおりである。

[1]

50

エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩を含むリポソーム組成物を患者に投与することにより、患者において、子宮がん（子宮内膜がん、子宮頸がん）、食道がん、すい臓がん、肝臓がん（肝細胞がん、胆管がん）、胆道がん、十二指腸がん、肺がん（中皮腫）、腎臓がん（副腎皮質がん）、肉腫（脂肪肉腫、悪性線維性組織球腫、平滑筋肉腫、ユーイング肉腫）、脳腫瘍（神経膠芽腫）、尿路上皮がん（膀胱がん）、甲状腺がん、胃がんおよびリンパ腫からなる群から選ばれる少なくとも一つの腫瘍の成長を抑制する方法。

[2]

エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩がメシル酸エリブリンである、[1]に記載の方法。

[3]

エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩を含むリポソーム組成物を含み、患者において、子宮がん（子宮内膜がん、子宮頸がん）、食道がん、すい臓がん、肝臓がん（肝細胞がん、胆管がん）、胆道がん、十二指腸がん、肺がん（中皮腫）、腎臓がん（副腎皮質がん）、肉腫（脂肪肉腫、悪性線維性組織球腫、平滑筋肉腫、ユーイング肉腫）、脳腫瘍（神経膠芽腫）、尿路上皮がん（膀胱がん）、甲状腺がん、胃がんおよびリンパ腫からなる群から選ばれる少なくとも一つの腫瘍の成長を抑制するための医薬組成物。

[4]

エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩がメシル酸エリブリンである、[3]に記載の医薬組成物。

[5]

エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩を含むリポソーム組成物を含み、子宮がん（子宮内膜がん、子宮頸がん）、食道がん、すい臓がん、肝臓がん（肝細胞がん、胆管がん）、胆道がん、十二指腸がん、肺がん（中皮腫）、腎臓がん（副腎皮質がん）、肉腫（脂肪肉腫、悪性線維性組織球腫、平滑筋肉腫、ユーイング肉腫）、脳腫瘍（神経膠芽腫）、尿路上皮がん（膀胱がん）、甲状腺がん、胃がんおよびリンパ腫からなる群から選ばれる少なくとも一つの腫瘍に対する治療剤。

[6]

エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩がメシル酸エリブリンである、[5]に記載の治療剤。

【発明の効果】

【 0 0 0 9 】

本発明によれば、エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩を含むリポソーム組成物を患者に投与することにより、患者において、ある種の腫瘍の成長を抑制する新規な方法を提供することが可能である。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 0 】

【図 1 A】各種腫瘍発生ヌードマウスにおけるメシル酸エリブリンを含むリポソーム組成物のin vivo 抗腫瘍活性を示す。

【図 1 B】各種腫瘍発生ヌードマウスにおけるメシル酸エリブリンを含むリポソーム組成物のin vivo 抗腫瘍活性を示す。

【図 1 C】各種腫瘍発生ヌードマウスにおけるメシル酸エリブリンを含むリポソーム組成物のin vivo 抗腫瘍活性を示す。

【図 1 D】各種腫瘍発生ヌードマウスにおけるメシル酸エリブリンを含むリポソーム組成物のin vivo 抗腫瘍活性を示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 1 】

本発明を、発明を実施するための形態により具体的に説明するが、本発明は、以下の発明を実施するための形態に限定されるものではなく、種々変形して実施することができる。本発明において参照される文献に開示されている内容は、本発明に参照として取り込まれる。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 2 】

本発明におけるリポソーム組成物は、エリブリンまたはその薬剤学的に許容される塩（以下、「エリブリン等」と記載する）を含む。

本発明において、「薬剤学的に許容される塩」は、無機酸塩、有機酸塩のいずれであってもエリブリンと塩を形成するものであれば特に限定されないが、例えば、塩酸塩、硫酸塩、クエン酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、過リン酸塩、イソニコチン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酒石酸塩、パントテン酸塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、サッカリン酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メシル酸（メタンスルホン酸）塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩およびパモ酸塩（pamoate）等が挙げられ、好ましくは、塩酸塩、硫酸塩、酢酸塩、リン酸塩、クエン酸塩およびメシル酸塩であり、より好ましくはメシル酸塩である。

エリブリンの薬剤学的に許容される塩としては、エリブリンと、アルミニウム、カルシウム、リチウム、マグネシウム、カルシウム、ナトリウム、亜鉛またはジエタノールアミンとの塩であってもよい。

本発明において、エリブリン等として、メシル酸エリブリンが好ましい。

エリブリン等は、特許文献 1 または米国特許第 6 2 1 4 8 6 5 号公報に記載される化合物またはその塩であり、抗腫瘍および抗有糸分裂活性を含めて薬理学的活性を有する。特許文献 1 は、エリブリン等が、抗腫瘍剤として、メラノーマ、線維肉腫、単球性白血病、結腸ガン、卵巣ガン、乳ガン、骨肉腫、前立腺ガン、肺ガンおよび r a s - 転換繊維芽細胞等に抗腫瘍活性を有することを開示する。エリブリン等は、特許文献 1 - 3 に記載の製造法で得られる。

【 0 0 1 3 】

本発明において、「リポソーム」とは、脂質二重層により包囲された内相を有する微細閉鎖小胞を意味する。リポソームは、小さな 1 枚膜リポソーム（SUV : small unilamellar vesicle）、大きな 1 枚膜リポソーム（LUV : large unilamellar vesicle）、さらに大きな 1 枚膜リポソーム（GUV : giant unilamellar vesicle）、同心円状の複数の膜を有する多重層リポソーム（MLV : multilamellar vesicle）、同心円状でなく不規則に複数の膜を有するリポソーム（MVV : Multivesicular vesicle）等を含む。

【 0 0 1 4 】

本発明において、「リポソーム内相」とは、リポソームの脂質二重層に包囲された水性領域を意味し、「内水相」および「リポソーム内水相」と同義で用いる。「リポソーム外相」とは、リポソームが液体中に分散している場合に、リポソームの脂質二重層に包囲されていない領域（すなわち、内相および脂質二重層以外の領域）を意味する。

【 0 0 1 5 】

本発明において、「リポソーム組成物」とは、リポソームを含み、リポソーム内相にエリブリン等をさらに含む組成物を意味する。本発明において、リポソーム組成物は、固体状および液体状のものを含む。

【 0 0 1 6 】

本発明において、「リポソーム分散液」とは、リポソームを含む組成物であって、リポソーム内相にエリブリン等が封入される前の組成物を意味する。

【 0 0 1 7 】

本発明において、「リポソーム準備液」とは、リポソームを含む組成物であって、リポソーム内相にエリブリン等を封入するために、リポソーム外相を調整する前の組成物を意味する。

【 0 0 1 8 】

〔 脂 質 〕

本発明において、リポソームは、膜構成成分として、リン脂質および/またはリン脂質誘導体を含むことが好ましい。

リン脂質およびリン脂質誘導体としては、例えば、ホスファチジルエタノールアミン、ホ

10

20

30

40

50

スファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジリンイノシトール、ホスファチジルグリセロール、カルジオリピン、スフィンゴミエリン、セラミドホスホリルエタノールアミン、セラミドホスホリルグリセロール、セラミドホスホリルグリセロールホスファート、1, 2 - ジミリスチル - 1, 2 - デオキシホスファチジルコリン、プラスマロゲンおよびホスファチジン酸等が挙げられる。

リン脂質およびリン脂質誘導体は、これらのうち1種または2種以上の組み合わせであってもよい。

リン脂質およびリン脂質誘導体における脂肪酸残基は特に限定されないが、例えば、炭素数12 ~ 20の飽和または不飽和の脂肪酸残基等が挙げられ、具体的には、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸およびリノール酸等の脂肪酸由来のアシル基が挙げられる。また、リン脂質およびリン脂質誘導体として、卵黄レシチンおよび大豆レシチン等の天然物由来のリン脂質ならびに不飽和脂肪酸残基に部分的にまたは完全に水素添加した部分水素添加卵黄レシチン、(完全)水素添加卵黄レシチン、部分水素添加大豆レシチンおよび(完全)水素添加大豆レシチン等を用いることもできる。

リポソームを調製する際に用いるリン脂質および/またはリン脂質誘導体の配合量(モル分率)は、特に限定されないが、リポソーム膜成分全体に対して、10 ~ 80%が好ましく、30 ~ 60%がより好ましい。

【0019】

本発明において、リポソームは、膜構成成分として、リン脂質および/またはリン脂質誘導体以外に、膜安定化剤として、コレステロールおよびコレスタノール等のステロール類、炭素数8 ~ 22の飽和または不飽和のアシル基を有する脂肪酸類、ならびに α -トコフェロール等の酸化防止剤を含んでもよい。

リポソームを調製する際に用いるステロール類の配合量(モル分率)は、特に限定されないが、リポソーム膜成分全体に対して、1 ~ 60%が好ましく、10 ~ 50%がより好ましく、30 ~ 50%がさらに好ましい。

脂肪酸類の配合量(モル分率)は、特に限定されないが、リポソーム膜成分全体に対して、0 ~ 30%が好ましく、0 ~ 20%がより好ましく、0 ~ 10%がさらに好ましい。

酸化防止剤の配合量(モル分率)は酸化防止効果が得られる量が添加されれば特に限定されないが、リポソーム膜成分全体に対して、0 ~ 15%が好ましく、0 ~ 10%がより好ましく、0 ~ 5%がさらに好ましい。

【0020】

本発明において、リポソームは、膜構成成分として、機能性脂質または修飾脂質を含んでもよい。

機能性脂質として、例えば、血中滞留性脂質誘導体、温度変化感受性脂質誘導体およびpH感受性脂質誘導体等が挙げられる。

修飾脂質として、例えば、PEG化脂質、糖脂質、抗体修飾脂質およびペプチド修飾脂質等が挙げられる。

【0021】

血中滞留性脂質誘導体としては、例えば、ホスフォエタノールアミンとメトキシポリエチレングリコールの縮合体である、N - {カルボニル - メトキシポリエチレングリコール - 2000} - 1, 2 - ジパルミトイル - sn - グリセロ - 3 - ホスフォエタノールアミン、N - {カルボニル - メトキシポリエチレングリコール - 5000} - 1, 2 - ジパルミトイル - sn - グリセロ - 3 - ホスフォエタノールアミン、N - {カルボニル - メトキシポリエチレングリコール - 750} - 1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスフォエタノールアミン、N - {カルボニル - メトキシポリエチレングリコール - 2000} - 1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスフォエタノールアミン(MPEG2000 - ジステアロイルホスファチジルエタノールアミン)およびN - {カルボニル - メトキシポリエチレングリコール - 5000} - 1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスフォエタノールアミン等のポリエチレングリコール誘導体(メトキシポリエチレングリコール縮合体など)等が挙げられる。

【 0 0 2 2 】

リポソームを調製する際に用いる血中滞留性脂質誘導体の配合量（モル分率）は、特に限定されないが、リポソーム膜成分全体の 0 ～ 5 0 % が好ましく、0 ～ 3 0 % がより好ましく、0 ～ 2 0 % がさらに好ましい。

【 0 0 2 3 】

温度変化感受性脂質誘導体としては、例えば、ジパルミトイルホスファチジルコリン等が挙げられる。リポソームが温度変化感受性脂質誘導体を含有することにより、特定の温度においてリポソームを崩壊させる、リポソームの表面特性を変化させるなどが可能となる。さらに腫瘍等の標的部位の加温と組み合わせることで、標的部位でリポソームが崩壊し、標的部位に活性化化合物を放出させることなどが可能となる。

10

【 0 0 2 4 】

pH 感受性脂質誘導体としては、例えば、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン等が挙げられる。リポソームが pH 感受性脂質誘導体を含有することにより、エンドサイトーシスによりリポソームが細胞へ取り込まれる際にリポソームとエンドソームとの膜融合を促し、活性化化合物の細胞質への送達を改良することなどが可能となる。

【 0 0 2 5 】

糖脂質、抗体修飾脂質およびペプチド修飾脂質としては、標的細胞または標的組織に親和性のある糖、抗体またはペプチドを結合した脂質が挙げられる。修飾脂質を用いることで、能動的にリポソームを標的細胞または標的組織に送達することができる。

【 0 0 2 6 】

実用可能なレベルで膜透過性を有するリポソームのための膜構成成分の組成は、当業者であれば、必要に応じて後述する実施例を参照することで、活性化化合物や標的組織などに応じて適宜設定することができる（菊池寛他、「リポソーム I - 調製法と検定法 - 」、細胞工学、(1983) 2(9) : pp.1136-1149 および当該文献に引用される文献等参照）。また、リポソーム組成物は、固形癌などの標的組織へのターゲティングばかりでなく、血液癌などへの活性化化合物の送達にも用いることができる。

20

リポソームの膜構成成分は、好ましくは、リン脂質、コレステロールおよびメトキシポリエチレングリコール縮合体を含む。

【 0 0 2 7 】

[リポソーム組成物]

本発明におけるリポソーム組成物において、エリブリン等は脂質膜を有するリポソームに封入されている。リポソーム組成物において、エリブリン等は脂質二重層に分配されていてもよい。

30

本発明のリポソーム組成物は、特許文献 7 に記載された方法によって得ることが可能である。

リポソーム組成物が固体状である場合、後述するように所定の溶媒に溶解または懸濁することで、液体状のリポソーム組成物とすることができる。また、リポソーム組成物が凍結した固体の場合には室温放置等により融解させることで、液体状のリポソーム組成物とすることができる。

【 0 0 2 8 】

本発明におけるリポソーム組成物は、(1) エリブリン等を含む限り、限定されるものではない。本発明におけるリポソーム組成物は、さらに、(2) 少なくとも一つのアンモニウム塩ならびに(3) 少なくとも一つの酸、塩、塩基および/またはアミノ酸を含んでいてもよい。

40

【 0 0 2 9 】

(2) の少なくとも一つのアンモニウム塩として、例えば、塩化アンモニウム、ホウ酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、ギ酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、クエン酸アンモニウム、酒石酸アンモニウム、コハク酸アンモニウムおよびリン酸アンモニウム等が挙げられ、好ましくは硫酸アンモニウム、クエン酸アンモニウムおよび酒石酸アンモニウムである。

50

【 0 0 3 0 】

(3) の酸、塩、塩基および / またはアミノ酸は、酸として、例えば、アスコルビン酸、安息香酸、コハク酸、クエン酸、グルタミン酸、リン酸、酢酸、プロピオン酸、酒石酸、炭酸、乳酸、ホウ酸、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、アジピン酸、塩酸および硫酸、塩として、例えば、前記酸のナトリウム塩、前記酸のカリウム塩および前記酸のアンモニウム塩、塩基として、例えば、トリスヒドロキシメチルアミノメタン、アンモニア、水酸化ナトリウムおよび水酸化カリウム、ならびにアミノ酸として、例えば、アルギニン、ヒスチジンおよびグリシン等が挙げられる。

好ましくは、リポソーム内相の (3) の酸、塩、塩基および / またはアミノ酸が、塩酸、酢酸、乳酸、酒石酸、コハク酸、クエン酸およびリン酸、前記酸のナトリウム塩、ならびに水酸化ナトリウムおよびアンモニアであり、より好ましくは、酢酸、乳酸、酒石酸、クエン酸およびリン酸、前記酸のナトリウム塩、ならびに水酸化ナトリウムおよびアンモニアである。

【 0 0 3 1 】

リポソーム組成物の各成分の一例は、表 1 に記載される。別の具体例では、9 mg / mL 塩化ナトリウムの代わりに、96 mg / mL シュクロースを浸透圧剤 (リポソーム外相) として使用することができる。

【 0 0 3 2 】

【表 1】

成分	濃度	配合目的
メシル酸エリブリン	0.2mg/mL	薬物
HSPC ^[1]	7.1 mg/mL	脂質膜成分
コレステロール	2.3 mg/mL	脂質膜成分
MPEG2000-DSPE ^[2]	2.7 mg/mL	脂質膜成分
硫酸アンモニウム	100mM	リポソーム内相成分
クエン酸一水和物	30mM	リポソーム内相成分
塩化ナトリウム	9mg/mL	リポソーム外相成分
L-ヒスチジン	1.6mg/mL	リポソーム外相成分
水酸化ナトリウム／塩酸	適量	pH調整剤

[1] 水素添加大豆ホスファチジルコリン (Hydrogenated soy phosphatidylcholine)

[2] N- {カルボニル-メトキシポリエチレングリコール-2000} -1, 2-ジステアロイル-s n-グリセロール-3-ホスフォエタノールアミン (MPEG2000-ジステアロイルホスファチジルエタノールアミン)

【 0 0 3 3 】

〔医薬組成物〕

本発明のリポソーム組成物は、抗腫瘍剤の医薬組成物として用いることができる。

【 0 0 3 4 】

本発明のリポソーム組成物を医薬組成物として用いる場合、リポソーム組成物は、注射 (静注、動注、局所注射) 、経口、経鼻、経皮、経肺および点眼等により投与することができ、特に静脈注射、皮下注射、皮内注射、動脈内注射の他、標的とする細胞や臓器に対しての局所注射等の注射が好ましい。経口投与する場合のリポソーム組成物の剤形としては

、例えば、錠剤、散剤、顆粒剤、シロップ剤、カプセル剤および内服液剤等が挙げられる。非経口投与する場合のリポソーム組成物の剤形としては、例えば、注射剤、点滴剤、点眼剤、軟膏剤、座剤、懸濁剤、パップ剤、ローション剤、エアゾール剤およびブラスター剤等が挙げられ、中でも、注射剤および点滴剤が好ましい。

【0035】

リポソーム組成物が液剤である場合、そのまま使用に供することができる。リポソーム組成物を医薬として用いる場合、医者や患者により、例えば固形製剤を封入したバイアルに溶媒を注入することで、このような用時調製を行うことができる。また、液体状のリポソーム組成物を凍結させた固形製剤の場合、凍結状態で保存し、使用時に室温で放置融解または加温による急速融解により液体状に戻すことで液剤として使用に供することができる。

10

【0036】

医薬組成物の投与量は、対象となる疾患の種類、患者の年齢、性別、体重、症状の程度等により著しく異なる。エリブリン等の投与量は、特に限定されないが、例えば、好適な塩であるメシル酸エリブリンは、通常、成人1日当たり、 $0.1 \sim 10 \text{ mg/m}^2$ （体表面積）である。メシル酸エリブリンは、1週間、2週間または3週間に1回、 $0.5 \sim 3 \text{ mg/m}^2$ （体表面積）の用量で投与されることが好ましい。メシル酸エリブリンは、1週間、2週間または3週間に1回、 $0.5 \sim 2 \text{ mg/m}^2$ （体表面積）の用量で投与されることがより好ましい。

別の態様としては、メシル酸エリブリンは、1週間、2週間または3週間に1回、約 1.5 mg/m^2 （体表面積）の用量で投与されることが好ましい。

20

より具体的には、リポソーム組成物に含まれるメシル酸エリブリンの投与用量は、21日サイクルで1日目に $0.5 \sim 1.4 \text{ mg/m}^2$ の静脈投与、あるいは28日サイクルで1日目および15日目に、 $0.5 \sim 1.5 \text{ mg/m}^2$ の静脈投与である。

【0037】

リポソーム組成物に含まれるエリブリン等は、1日1回で、あるいは1日用量を数回にわけて投与することができる。

【0038】

本発明の医薬組成物として、例えば、リポソーム内相にエリブリン等を、 $0.01 \sim 300 \text{ mg/mL}$ 含むリポソーム組成物を投与することができる。

【0039】

30

本発明の注射剤の医薬組成物の具体例の1つは、HSPC、コレステロールおよびMPEG2000-DSPCからなる脂質膜を有するリポソームに取り込まれた 0.20 mg/mL メシル酸エリブリン（ 0.18 mg/mL エリブリン）を含み、注射剤として製剤化される。また、その医薬組成物は、等張化剤としてのシュクロースまたは塩化ナトリウム、硫酸アンモニウム、クエン酸およびL-ヒスチジン、pHを調整するための水酸化ナトリウムおよび塩酸を含む。その医薬組成物は、患者に直接投与するか、あるいは、患者への投与前に、 0.0035 mg/mL 以上から 0.2 mg/mL 未満の濃度範囲に生理食塩水で希釈される。

【0040】

〔腫瘍の種類〕

40

本発明の腫瘍の成長を阻害する方法の対象となる腫瘍のタイプは、子宮がん（子宮内膜がん、子宮頸がん）、食道がん、すい臓がん、肝臓がん（肝細胞がん、胆管がん）、胆道がん、十二指腸がん、肺がん（中皮腫）、腎臓がん（副腎皮質がん）、肉腫（脂肪肉腫、悪性線維性組織球腫、平滑筋肉腫、ユーイング肉腫）、脳腫瘍（神経膠芽腫）、尿路上皮がん（膀胱がん）、甲状腺がん、胃がんおよびリンパ腫からなる群から少なくとも一つの腫瘍が選択される。

好ましい腫瘍のタイプは、子宮がん（子宮内膜がん、子宮頸がん）、すい臓がん、肝臓がん（肝細胞がん、胆管がん）、胆道がん、肉腫（脂肪肉腫、平滑筋肉腫、ユーイング肉腫）、脳腫瘍（神経膠芽腫）、尿路上皮がん（膀胱がん）、甲状腺がんおよび胃がんである。より好ましい腫瘍のタイプは、子宮がん（子宮内膜がん、子宮頸がん）、すい臓がん、肝

50

細胞がん、平滑筋肉腫、ユーイング肉腫、神経膠芽腫、尿路上皮がん（膀胱がん）、甲状腺がんおよび胃がんである。

さらに好ましい腫瘍のタイプは、子宮がん（子宮内膜がん、子宮頸がん）、すい臓がん、平滑筋肉腫、尿路上皮がん（膀胱がん）および胃がんである。

【実施例】

【0041】

本発明を実施例および比較例を挙げて具体的に説明するが、本発明は、以下の実施例に限定されるものではない。

【0042】

[実施例1]

メシル酸エリブリンを含有するリポソーム組成物（以下、「E7389-LF」と記載する場合がある）は、表1に記載された成分で、以下の方法に従って製造した。得られたE7389-LFの抗腫瘍活性を評価した。

【0043】

<リポソーム内相用水溶液の調製>

硫酸アンモニウムおよびクエン酸一水和物を純水で溶解し、希釈して、200mM 硫酸アンモニウム / 60mM クエン酸水溶液を作成した。200mM 硫酸アンモニウム / 60mM クエン酸水溶液のpHをアンモニア水でpH5.5に調整後、純水を用いて希釈し、100mM 硫酸アンモニウム / 30mM クエン酸水溶液を得た。

【0044】

<リポソーム準備液の調製>

水素添加大豆ホスファチジルコリンおよびコレステロールおよびMPEG2000-ジステアロイルホスファチジリエタノールアミンを71:23:27の重量比に従い、それぞれ秤量した。それぞれクロロホルムに溶解し、これらの溶液を混合した後にロータリーエバポレーターでクロロホルムを減圧留去し、リピッドフィルムを作成した。得られたリピッドフィルムに、作成したリポソーム内相用水溶液を約80℃に加温して添加し、攪拌してリポソーム準備液を調製した。約80℃に加温したエクストルuder（Lipex Biomembranes社製）を用いて整粒し、整粒したリポソーム準備液を得た。

【0045】

<リポソーム分散液の調製>

Sephadex G-50カラムを用い、得られたリポソーム準備液を0.9%塩化ナトリウム / 10mM ヒスチジン水溶液（pH=7.6）で溶出することで、リポソーム外相を0.9%塩化ナトリウム / 10mM ヒスチジン水溶液へと置換した。リポソーム外相を置換した後、400,000×gで30分間遠心した。遠心後、再分散し、0.9%塩化ナトリウム / 10mM ヒスチジン水溶液を用いて液量を調整し、リポソーム分散液を得た。

【0046】

<メシル酸エリブリン溶液の調製>

メシル酸エリブリンを0.9%塩化ナトリウム / 10mM ヒスチジン水溶液で溶解し、メシル酸エリブリン溶液を得た。

【0047】

<リポソーム組成物の調製>

ガラス容器中、リポソーム分散液とメシル酸エリブリン溶液をそれぞれ混合し、60℃の水浴中で3分間インキュベートすることにより、リポソーム内相にメシル酸エリブリンが導入されたリポソーム組成物を得た。リポソーム組成物に0.9%塩化ナトリウム / 10mM ヒスチジン水溶液を添加し、0.22μmのポリフッ化ビニリデン（PVDF）フィルターを用いて濾過滅菌することで、0.1mg/mLから0.5mg/mLのメシル酸エリブリンの目標濃度（例えば、0.24mg/mL、0.3mg/mL、0.5mg/mL）のリポソーム組成物を得た。

【0048】

10

20

30

40

50

< メシル酸エリブリン水溶液の調製 >

5 m g / m L または 3 . 5 m g / m L のメシル酸エリブリン水溶液 (以下、「 E 7 3 8 9 」と記載する場合がある) を得るため、メシル酸エリブリンを、 0 . 9 % 塩化ナトリウム / 1 0 m M ヒスチジン水溶液に溶解した。

【 0 0 4 9 】

< 抗腫瘍活性の測定 >

がん細胞株は、理研バイオリソースセンター (Riken Bioresource Center: R B C 、日本 (茨城)) 、 American Type Culture Collection (A T C C 、アメリカ合衆国 (Manassas, VA)) 、 Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH : D S M Z 、ドイツ (Braunschweig)) 、 ヒューマンサイエンス研究資源バンク (ヒューマンサイエンス振興財団 : H S R R B 、日本 (大阪)) または D S ファーマバイオメディカル株式会社 (D S - P h a r m a 、日本 (大阪)) から購入、あるいは九州がんセンター、鹿児島大学または東北大学加齢医学研究所医用細胞資源センターからご厚意で譲り受けた。

各がん細胞株における培養条件および移植条件を表 2 および表 3 に示す。表中の「馴化」において。として記載するがん細胞株については、各がん細胞株を事前にマウス皮下に接種し、成長した腫瘍から得た。

表 2 においてがん細胞株として示す K B 細胞は、当初口腔上皮がん由来とされてきていたが、近年 H e L a 細胞 (子宮頸がん) のコンタミネーションであることが明らかとなった (<http://www.atcc.org/products/all/CCL-17.aspx#characteristics>) 。また、 I T S はとして、 ITS-G supplement (和光純薬 , # 0 9 0 - 0 6 7 4 1) を用いた。

【 0 0 5 0 】

10

20

30

40

50

【表 2】

がん細胞株	由来	入手先	馴化	培養培地	移植細胞数 x10 ⁶ cells/spot	細胞移植時の GelTrexの 使用の有無	治療開始時の腫 瘍体積 (mm ³)
OMC9	肉腫(平滑筋肉腫)	RBC		HamF12/10%FBS	8.7	+	150
MES-SA	肉腫(平滑筋肉腫)	ATCC		McCoy5A/10%FBS	6.3	+	190
SK-UT-1	肉腫(平滑筋肉腫)	ATCC	○	EMEM/10%FBS, Pyruvate, NEAA	10	-	260
SK-LMS-1	肉腫(平滑筋肉腫)	ATCC	○	EMEM/10%FBS, Pyruvate, NEAA	4.5	-	290
A673	肉腫(ユークイング肉腫)	ATCC		DMEM(High glucose)/10%FBS, Pyruvate	10	-	220
MFE-280	子宮がん(子宮内膜がん)	DSMZ		RPMI1640:EMEM=1:1/20%FBS, ITS	10	+	200
MFE-296	子宮がん(子宮内膜がん)	DSMZ		RPMI1640:EMEM=1:1/20%FBS, ITS	5	+	200
HEC-151	子宮がん(子宮内膜がん)	HSRRB		EMEM/15%FBS	5	+	220
ECC-1	子宮がん(子宮内膜がん)	ATCC		EMEM/15%FBS	10	+	160
KB(HeLa)	子宮がん(子宮頸がん)	鹿児島大学、秋山		RPMI1640/10%FBS	5	-	150
AsPC-1	すい臓がん	ATCC		RPMI1640/10%FBS	10	-	380
BXPC-3	すい臓がん	ATCC		DMEM(High glucose)/10%FBS, Pyruvate	10	-	120
KP-1	すい臓がん	九州がんセンター、船越		RPMI1640/10%FBS	9	+	200
K1	甲状腺がん	DS-Pharma		DMEM F12=1:1/10%FBS	5	+	390
U251MG	脳腫瘍(神経膠芽腫)	RBC	○	RPMI1640/10%FBS	11	+	150
PLC/PRF/5	肝臓がん(肝細胞がん)	東北大学加齢医学研究所 医用細胞資源センター		DMEM(High glucose)/10%FBS, Pyruvate	10	+	180
Hs746T	胃がん	ATCC		DMEM(High glucose)/10%FBS, Pyruvate	10	+	180
UM-UC-3	尿路上皮がん(膀胱がん)	DS-Pharma		EMEM/10%FBS, Pyruvate, NEAA	10	+	230

10

20

30

40

50

【表 3】

がん細胞株	由来	入手先	馴化	培養培地	移植細胞数 x10 ⁶ cells/spot	細胞移植時の GelTrexの 使用の有無	治療開始時の腫瘍 体積 (mm ³)
MES-SA	肉腫(平滑筋肉腫)	ATCC		McCoy5A/10%FBS	10	+	420
SK-UT-1	肉腫(平滑筋肉腫)	ATCC	○	EMEM/10%FBS, Pyruvate, NEAA	10	-	290
UM-UC-3	尿路上皮がん(膀胱がん)	DS-Pharma		EMEM/10%FBS, Pyruvate, NEAA	5	+	190

【0051】

接種の初日に、がん細胞はトリプシン処理で採取し、各々の培地で洗浄および懸濁した。次に、採取したがん細胞のいくつかは、GelTrex (Gibco, #12760-021またはA14132-02)と1:1で混合した。これらのがん細胞は、26ゲージの注射針を使用して、0.1 mL容量で、マウス(BALB/c nu/nu)の右腋窩部の近くに接種した。

【0052】

腫瘍体積が120 mm³から420 mm³に達した後、腫瘍体積およびマウス体重が、試験群間(試験グループあたり、5-9マウス)で、実質的に等しくなるように、マウスを

10

20

30

40

50

群分けした（0日）。各々のモデルでの初期の平均腫瘍体積（0日でのTV）を表2および表3に治療開始時の腫瘍体積（mm³）として示した。

【0053】

群分け後投与直前に、E7389-LFまたはE7389を、生理食塩水で希釈して、投与検体を調製した。投与検体は、群分け後（0日）および群分け7日後に、体重10gあたり0.1mLの投与容量で静脈内に投与した。

【0054】

ノギスを使って、経時的に腫瘍サイズを測定し、以下の計算式に基づいて、腫瘍体積を決定した。

$$\text{腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = \text{長さ (mm)} \times \text{幅の2乗 (mm}^2\text{)} \times 1/2$$

10

長さ：腫瘍の最長径

幅：長さに対する垂直径

$$\text{相対的腫瘍体積 (RTV)} = \text{腫瘍体積 (X日)} / \text{腫瘍体積 (0日)}$$

各試験群の腫瘍体積の平均±SDを計算した。

結果を図1A～図1Dに示す。

【0055】

<統計解析>

各々投与群の統計処理は、log RTVを使って、two-way RM-ANOVAで行った。有意確率P値が、 $P < 0.05$ （5%）の時、統計的に有意差があるとした。統計解析には、Prism 6ソフトウェア（Graphpad Software, Inc.）を使用した。

20

【0056】

<結果>

【0057】

表4および表5に、各種ヒト腫瘍移植モデルにおけるE7389-LFとE7389の抗腫瘍活性に関して、Log RTVの値を使ったRM-ANOVA法による統計解析結果を示した。18のヒト異種移植モデルのすべてにおいて、E7389-LFおよびE7389の抗腫瘍活性は、vehicle群よりも統計的に有意に強かった。また、11モデルにおいて、E7389-LFの抗腫瘍活性が、E7389の抗腫瘍活性よりも統計的に有意に強かった。

表中、「Yes1」は、E7389-LFまたはE7389の腫瘍体積変化をvehicle群の腫瘍体積変化と比較して、統計的に有意な差があることを示す。また、「Yes2」は、E7389-LFの腫瘍体積変化をE7389の腫瘍体積変化と比較して、統計的に有意な差があることを示す。一方、「NS」は、E7389-LFの腫瘍体積変化をE7389の腫瘍体積変化と比較して、統計的に有意な差がないことを示す。

30

「day○」との記載は、RM-ANOVAにて検定を行った実験期間を示す。

【0058】

40

【表 4】

		RM-ANOVA					
		E7389-LF vs vehicle			E7389 vs vehicle		
		Yes1	day7 - day35	day7 - day35	Yes1	day7 - day35	E7389-LF vs E7389
OMC9	肉腫(平滑筋肉腫)	Yes1	day7 - day35	day7 - day35	Yes1	day7 - day35	NS day7 - day49
MES-SA	肉腫(平滑筋肉腫)	Yes1	day4 - day18	day4 - day18	Yes1	day4 - day18	Yes2 day4 - day46
SK-UT-1	肉腫(平滑筋肉腫)	Yes1	day3 - day10	day3 - day10	Yes1	day3 - day10	NS day3 - day48
SK-LMS-1	肉腫(平滑筋肉腫)	Yes1	day2 - day7	day2 - day7	Yes1	day2 - day7	Yes2 day2 - day31
A673	肉腫(ユークイング肉腫)	Yes1	day4 - day18	day4 - day18	Yes1	day4 - day18	NS day4 - day25
MFE-280	子宮がん(子宮内膜がん)	Yes1	day4 - day14	day4 - day14	Yes1	day4 - day14	Yes2 day4 - day71
MFE-296	子宮がん(子宮内膜がん)	Yes1	day4 - day14	day4 - day14	Yes1	day4 - day14	Yes2 day4 - day68
HEC-151	子宮がん(子宮内膜がん)	Yes1	day3 - day14	day3 - day14	Yes1	day3 - day14	NS day3 - day49
ECC-1	子宮がん(子宮内膜がん)	Yes1	day4 - day19	day4 - day19	Yes1	day4 - day19	Yes2 day4 - day39
KB(HeLa)	子宮がん(子宮頸がん)	Yes1	day7 - day14	day7 - day14	Yes1	day7 - day14	Yes2 day7 - day21
AsPC-1	すい臓がん	Yes1	day3 - day35	day3 - day35	Yes1	day3 - day35	Yes2 day3 - day35
BXPC-3	すい臓がん	Yes1	day7 - day21	day7 - day21	Yes1	day7 - day21	Yes2 day7 - day49
KP-1	すい臓がん	Yes1	day3 - day14	day3 - day14	Yes1	day3 - day14	Yes2 day3 - day49
K1	甲状腺がん	Yes1	day3 - day17	day3 - day17	Yes1	day3 - day17	NS day3 - day24
U251MG	脳腫瘍(神経膠芽腫)	Yes1	day5 - day23	day5 - day23	Yes1	day5 - day23	NS day5 - day40
PLC/PRF/5	肝臓がん(肝細胞がん)	Yes1	day4 - day18	day4 - day18	Yes1	day4 - day18	NS day4 - day56
Hs746T	胃がん	Yes1	day4 - day11	day4 - day11	Yes1	day4 - day11	Yes2 day4 - day63
UM-UC-3	尿路上皮がん(膀胱がん)	Yes1	day3 - day10	day3 - day10	Yes1	day3 - day10	NS day3 - day21

10

20

30

40

50

【表 5】

		RM-ANOVA					
		E7389-LF vs vehicle			E7389 vs vehicle		
MES-SA	肉腫(平滑筋肉腫)	Yes1	day3 - day7	day3 - day7	Yes1	day3 - day7	E7389-LF vs E7389 Yes2
SK-UT-1	肉腫(平滑筋肉腫)	Yes1	day3 - day10	day3 - day10	Yes1	day3 - day10	day3 - day35 NS
UM-UC-3	尿路上皮がん(膀胱がん)	Yes1	day3 - day14	day3 - day14	Yes1	day3 - day14	day3 - day45 day3 - day21 Yes2

10

20

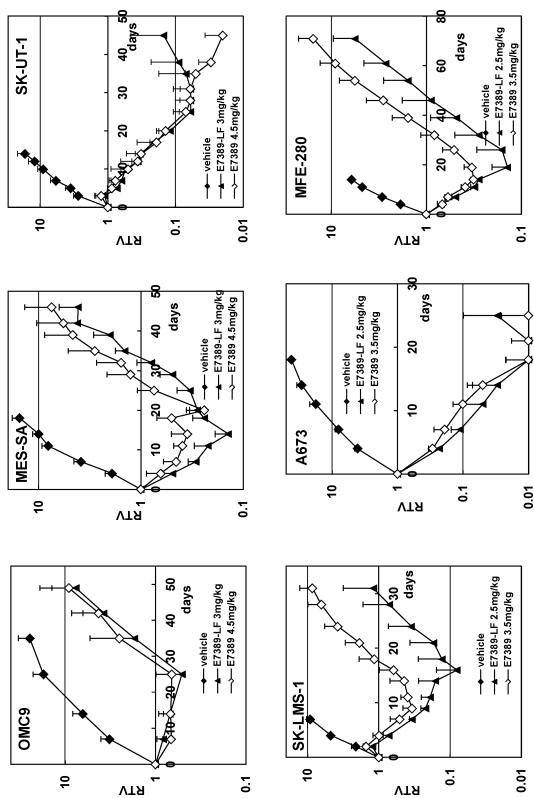
30

40

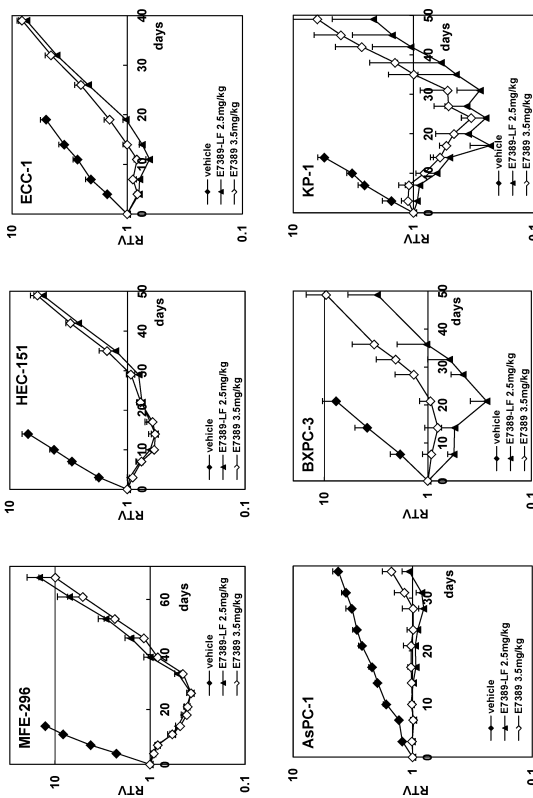
50

【図面】

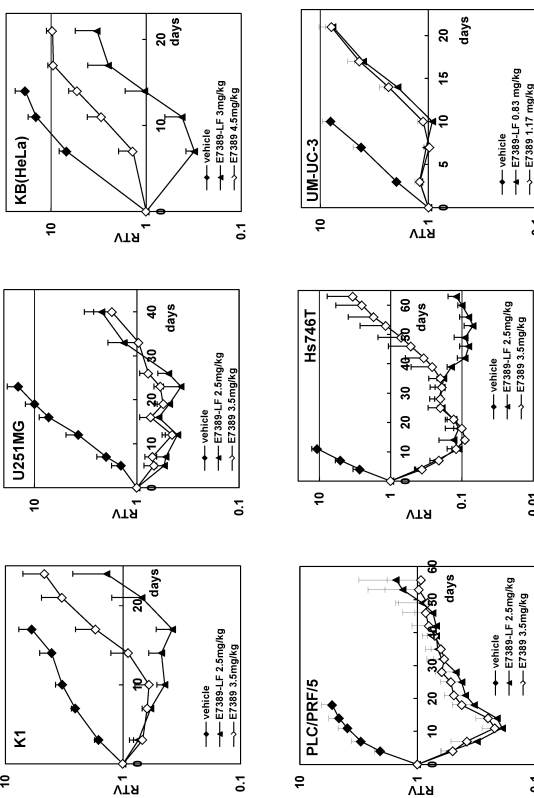
【図 1 A】



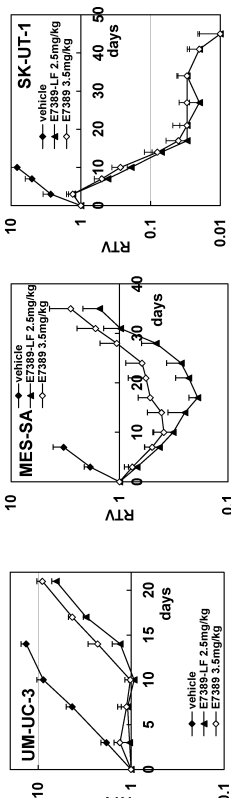
【図 1 B】



【図 1 C】



【図 1 D】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(72)発明者 松井 順二

茨城県つくば市東光台5丁目1番地3 エーザイ株式会社筑波研究所内

審査官 新熊 忠信

(56)参考文献 国際公開第2010/113984(WO, A1)

国際公開第2014/208774(WO, A1)

国際公開第2015/134399(WO, A1)

Eisai Inc., An Open-label Multicenter Multiple Dose Phase 1 Study to Establish the Maximum Tolerated Dose of E78, ClinicalTrials.gov [online], National Library of Medicine, 2016年04月19日, https://clinicaltrials.gov/archive/NCT01945710/2016_04_19, ClinicalTrials Identifier NCT01945710エーザイ株式会社, 2011年度(平成24年3月期)決算説明会資料, エーザイ株式会社IR情報[online], エーザイ株式会社, 2012年05月15日, http://www.eisai.co.jp/pdf/ir/mat/4523_120515.pdf

前田 浩, EPR効果, 高分子, 2000年, Vol.49, No.3, p.129

YIN H. et al., Enhanced Permeability and Retention(EPR) Effect Based Tumor Targeting: The Concept, Application and, JSM Clinical Oncology and Research, 2014年, Vol.2, No.1, 1010

DANHIER F. et al., Strategies to improve the EPR effect for the delivery of anti-cancer nano medicines, Cancer Cell & Microenvironment, 2015年, Vol.2, No.8

RAJORA A.K. et al., Impact of the Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect and Cathepsins Levels on the Activity, Polymers, 2014年, Vol.6, p.2186-2220

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A61K 31/00 - 33/44

A61P 35/00

A61P 1/00

A61K 9/00 - 9/72

A61K 47/00 - 47/69

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)