(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2004-507469
(P2004-507469A)
(43)公表日　平成16年3月11日(2004.3.11)

(51)Int.Cl.[7]	F I		テーマコード（参考）
A61K 48/00	A61K 48/00	ZNA	4B024
A61P 9/10	A61P 9/10		4C084
A61P 25/00	A61P 25/00		4C085
A61P 29/00	A61P 29/00		
A61P 31/00	A61P 31/00		

審査請求 未請求　予備審査請求 有　（全 57 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2002-522500(P2002-522500)
(86)(22)出願日　平成13年6月12日(2001.6.12)
(85)翻訳文提出日　平成15年2月28日(2003.2.28)
(86)国際出願番号　PCT/CA2001/000845
(87)国際公開番号　WO2002/018593
(87)国際公開日　平成14年3月7日(2002.3.7)
(31)優先権主張番号　60/228,925
(32)優先日　平成12年8月29日(2000.8.29)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　PCT/CA00/01467
(32)優先日　平成12年12月12日(2000.12.12)
(33)優先権主張国　カナダ(CA)
(31)優先権主張番号　09/735,363
(32)優先日　平成12年12月12日(2000.12.12)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　503082723
バイオニケ　ライフ　サイエンシーズ　インコーポレイテッド
カナダ　ケー８エヌ　５ジェイ２　オンタリオ　ベルビール　ピー．オー．ボックス　１５７０
(74)代理人　100089244
弁理士　遠山　勉
(74)代理人　100090516
弁理士　松倉　秀実
(74)代理人　100100549
弁理士　川口　嘉之
(74)代理人　100098268
弁理士　永田　豊

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＦＡＳおよびＦＡＳＬ発現の調整

(57)【要約】
ＦａｓおよびＦａｓＬ発現の調整のための、または治療剤の効力の調整のための、（ＧＧ）$_n$、（ＧＴ）$_n$、ａ（ＧＴ）$_n$ｂ、ａ（ＧＡ）$_n$ｂおよびａ（ＧＣ）$_n$ｂ（式中、ｎは１と３の間の整数であり、ａおよびｂは別々に０個、１個またはそれ以上のＡ、Ｃ、Ｇもしくは Ｔまたはそれらの組合わせである）からなる群から選択される２～１０塩基の合成オリゴヌクレオチド配列を含む組成物を使用する方法。組成物は、ＦａｓおよびＦａｓＬ発現を調整するため、疾患を治療するため、あるいは治療剤の効力を調整するために有効な量で、薬学的に許容可能な担体とともに、かつ任意に治療剤とともに動物またはヒトに投与される。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
（ＧＧ）$_n$、（ＧＴ）$_n$、ａ（ＧＴ）$_n$ｂ、ａ（ＧＡ）$_n$ｂおよびａ（ＧＣ）$_n$ｂ（ここで、ｎは１と３の間の整数であり、ａおよびｂは別々に０個、１個またはそれ以上のＡ、Ｃ、ＧもしくはＴまたはそれらの組合わせである）からなる群から選択される２～１０塩基の合成オリゴヌクレオチド配列を含む組成物。
【請求項２】
前記配列は、４～８塩基である請求項１に記載の組成物。
【請求項３】
前記配列は、５～７塩基である請求項１に記載の組成物。
【請求項４】
前記配列は、６塩基である請求項１に記載の組成物。
【請求項５】
前記配列は、配列番号１～配列番号１８のいずれかである請求項１に記載の組成物。
【請求項６】
薬学的に許容可能な担体をさらに含む請求項１～５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項７】
治療剤をさらに含む請求項１～５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項８】
動物またはヒトにおけるＦａｓまたはＦａｓＬ発現を調整する方法であって、動物またはヒトにおけるＦａｓまたはＦａｓＬ発現を調整するのに有効な量の請求項１～５のいずれか一項に記載の組成物および薬学的に許容可能な担体を動物またはヒトへ投与することを含む方法。
【請求項９】
動物またはヒトにおける治療剤の効力を調整する方法であって、前記治療剤の投与の前、同時または後において、有効量の請求項１～７のいずれか一項に記載の組成物を投与することを含み、前記量は、前記治療剤の効力を調整するのに有効である方法。
【請求項１０】
前記動物またはヒトは、疾患を有する請求項８または９に記載の方法。
【請求項１１】
前記疾患は、癌である請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
前記癌は、卵巣癌、前立腺癌、乳癌、膀胱癌および白血病からなる群から選択される請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
前記疾患は、自己免疫性である請求項１０に記載の方法。
【請求項１４】
前記動物またはヒトは、炎症、感染、移植片拒絶、組織拒絶または細胞拒絶を有する請求項８または９に記載の方法。
【請求項１５】
薬剤の製造における請求項１～５のいずれか一項に記載の組成物の使用。
【請求項１６】
動物またはヒトの細胞中においてＦａｓまたはＦａｓＬ発現を調整するための請求項１～７のいずれか一項に記載の組成物の使用であって、前記動物またはヒトの細胞中でのＦａｓまたはＦａｓＬ発現を調整するのに有効な量の請求項１～７のいずれか一項に記載の組成物を前記動物またはヒトへ投与することを含む使用。
【請求項１７】
治療剤の効力を調整するための請求項１～６のいずれか一項に記載の組成物の使用であって、前記治療剤の効力を調整するのに有効な量の請求項１～６のいずれか一項に記載の組成物を前記動物またはヒトへ投与することを含む使用。

【発明の詳細な説明】
【０００１】
［発明の分野］
本発明は、細胞におけるＦａｓおよびＦａｓリガンド発現を調整するために有用な組成物、および治療剤の効力を調整するために有用な組成物に関する。
【０００２】
［発明の背景］
Ｆａｓ（Ａｐｏ－１、ＣＤ９５）およびＦａｓリガンド（ＦａｓＬ、ＣＤ９５Ｌ）系は、最もよく研究される細胞死系の１つである。Ｆａｓは、種々の組織中の細胞により、特に活性化Ｔ細胞、心細胞、腎細胞および肝細胞で豊富に発現されるＩ型細胞膜タンパク質である。ＦａｓＬは、特に活性化Ｔ細胞およびナチュラルキラー細胞で発現されるＩＩ型細胞膜貫通タンパク質であり（Ｎａｇａｔａ，Ｓ．Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｇｅｎｅｔ．３３：２９，１９９９）、免疫特権部位、例えば眼および精巣において構成的に発現される（Ｇｒｉｆｆｉｔｈ ｅｔ ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ ２７０：６３０，１９９５）。
【０００３】
ＦａｓおよびＦａｓＬ相互作用（Ｆａｓ／ＦａｓＬ）は、免疫細胞の調節において、および自己反応性細胞の排除において不可欠な役割を果たす（Ｓａｂｅｌｋｏ－Ｄｏｗｎｅｓ ｅｔ ａｌ．Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１２：３３０，２０００）。さらに、Ｆａｓ／ＦａｓＬは、癌細胞およびウイルス感染細胞の細胞死を媒介する（Ｆａｍｕｌａｒｏ ｅｔ ａｌ．Ｍｅｄ．Ｈｙｐｏｔｈ．５３：５０，１９９９；Ｏｗｅｎ－Ｓｃｈａｕｂ ｅｔ ａｌ．Ｉｎｔ．Ｊ．Ｏｎｃｏｌ．１７：５，２０００）。対照的に、癌細胞で発現されるＦａｓＬは、免疫系の細胞を攻撃し得るか、（Ｏ’Ｃｏｎｎｅｌｌ，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８４：１０７５，１９９６）、あるいは周囲組織を損傷することにより局所的腫瘍侵襲を促進しうる（Ｙｏｏｎｇ ｅｔ ａｌ．Ａｍ．Ｊ．Ｐａｔｈｏｌ．１５４：６９３，１９９９）。活性化Ｔ細胞で発現されるＦａｓＬは、劇症肝炎および移植片対宿主疾患における組織損傷にも関与し得る（Ｋｏｎｄｏ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄ．３：４０９，１９９７；Ｂｒａｕｎ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８３：６５７，１９９６）。
【０００４】
ＦａｓＬがＦａｓと結合すること、またはアゴニスト抗体によるＦａｓの架橋は、アポトーシスを誘導し（Ｎａｇａｔａ，Ｓ．Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｇｅｎｅｔ．３３：２９，１９９９）、細胞死を生じさせる。アポトーシスは、核クロマチンの凝集、細胞萎縮、核断片化、原形質膜小気胞化および膜結合アポトーシス体の形成を含めた独特の形態学的変化により特徴付けられる能動的細胞死過程である（Ｗｙｌｌｉｅ ｅｔ ａｌ．Ｉｎｔ．Ｒｅｖ．Ｃｙｔｏｌ．６８：２５１，１９８０）。アポトーシスの分子的特質は、内因性エンドヌクレアーゼが活性化される結果、オリゴヌクレオソーム長断片への細胞核ＤＮＡの断片化である（Ｗｙｌｌｉｅ Ａ．Ｎａｔｕｒｅ ２８４：５５５，１９８０）。カスパーゼ（システイン－アスパルチル特異的プロテアーゼ）は、アポトーシスの後期段階の実行における重要な酵素であるとされてきた。ＦａｓＬがＦａｓと結合すると、ＦＡＤＤアダプター（死亡ドメインを伴うＦａｓ関連タンパク質）によりカスパーゼのカスケードを活性化し、これにより種々の細胞性基質の切断およびＤＮＡ断片化がもたらされる（Ｎａｇａｔａ，Ｓ．Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｇｅｎｅｔ．３３：２９，１９９９）。
【０００５】
合成オリゴヌクレオチドは、細胞によりインターナライズされ（Ｖｌａｓｓｏｖ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ １１９７：９５，１９９４）、核酸（Ｗａｇｎｅｒ，Ｒ．Ｎａｔｕｒｅ：３７２：３３３，１９９４）、特定の細胞タンパク質（Ｂａｔｅｓ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７４：２６３６９，１９９９）、および特定の核タンパク質（Ｓｃａｇｇｉａｎｔｅ ｅｔ ａｌ．Ｅｕｒ．Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２５２：２０７，１９９８）と選択的に結合し、細胞増殖を抑制し得る多陰イオン性配列である。増殖は細胞周期を通しての細胞の進行のカルミネーシ

ョン（ｃｕｌｍｉｎａｔｉｏｎ）であり、１個の細胞が２個の細胞に分裂する。細胞周期進行の変更はすべての癌において起こり、遺伝子の過剰発現、調節遺伝子の突然変異、またはＤＮＡ損傷チェックポイントの無効の原因になりうる（Ｈｏｃｈｈａｕｓｅｒ Ｄ．Ａｎｔｉ－Ｃａｎｃｅｒ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ａｇｅｎｔｓ ８：９０３，１９９７）。

【０００６】

２つの５’プリンおよび２つの３’ピリミジンが隣接する非メチル化ＣｐＧジヌクレオチドを含有する合成ホスホロチオエートオリゴヌクレオチド（ＣｐＧモチーフ）は、マクロファージおよびＢ細胞によりサイトカインの合成を誘導し、ＮＫ細胞および細胞傷害性Ｔリンパ球の活性を増大し、かつ、Ｔ－を強化することが報告されている（Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９３：２８７９，１９９６；Ｌｉｐｆｏｒｄ ｅｔ ａｌ．Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２７：２３４０，１９９７）。２０塩基合成ＣｐＧモチーフは、活性化Ｂ細胞でのＦａｓ発現を遮断し、抗Ｆａｓモノクローナル抗体により誘導されるアポトーシスを遮断することが報告されている（Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．Ｃｅｌｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８０：１６２，１９９７）。光照射すると、癌細胞におけるＦａｓの発現をアップレギュレートすることが報告されている（Ｓｈｅａｒｄ ｅｔ ａｌ．Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ７３：７５７，１９９７；Ｎｉｓｈｉｏｋａ ｅｔ ａｌ．Ｉｎｔ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｍｅｄ．３：２７５，１９９９）。

【０００７】

Ｆａｓ／ＦａｓＬ系を調整する能力は、腫瘍性自己免疫疾患、変性疾患および心臓血管性疾患（これらに限定されない）を含めた疾患に用いるための多数の臨床的用途を有する。しかしながら、従来のＦａｓ／ＦａｓＬ調整剤のほとんどは、臨床用途にあまり適切でないことが立証されている。さらに、これらの薬剤の多くは、非能率的であり、有毒であり、あるいは有意の副作用を有する。

【０００８】

したがって、細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの発現を調整する新規の組成物および方法が引き続き必要とされている。疾患においてＦａｓおよびＦａｓＬ調整剤の効力を調整する新規の組成物および方法も必要とされている。細胞におけるＦａｓまたはＦａｓＬの発現変更に関連した、動物またはヒトにおける疾患を治療するための、細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの発現を調整する新規の組成物および方法も必要とされている。

【０００９】

［発明の概要］

本発明は、（ＧＧ）$_n$、（ＧＴ）$_n$、ａ（ＧＴ）$_n$ｂ、ａ（ＧＡ）$_n$ｂおよびａ（ＧＣ）$_n$ｂ（ここで、ｎは１と３の間の整数であり、ａおよびｂは別々に０個、１個またはそれ以上のＡ、Ｃ、ＧもしくはＴまたはそれらの組合わせである）からなる群から選択される合成ホスホジエステルオリゴデオキシヌクレオチド（以後「配列」という）を含む新しい組成物であって、組成物中の塩基の総数が２～１０個、好ましくは４～８個、より好ましくは５～７個、最も好ましくは６個である組成物を用いる新規の方法を提供することにより、上記の要求を満たす。

【００１０】

本発明は、これらの組成物に関する新規の使用を提供する。この組成物は薬学的に許容可能な担体と組合わされ、動物またはヒトにおけるＦａｓおよびＦａｓＬ発現を調整するための方法に用いられる。この組成物はまた、薬学的に許容可能な担体と組合せられ、動物またはヒトにおける疾患を治療するために、ＦａｓおよびＦａｓＬ発現を調整するのに有効な量で、疾患を有する動物またはヒトに投与される。この組成物はまた、ＦａｓおよびＦａｓＬ調整剤の効力を調整するために、動物またはヒトに投与され、該投与には、ＦａｓおよびＦａｓＬを調節するためのＦａｓおよびＦａｓＬ調節剤、または疾患を有する動物またはヒトを治療するためのＦａｓおよびＦａｓＬ調節剤の効力を調節するのに有効な量の上記組成物を投与することを含む。本発明に係る組成物に関する別の新規の使用は、疾患を治療するための治療剤の効力を調整し、好ましくは増強することであって、薬学的

に許容可能な担体中で、任意の治療剤と組合せて、動物またはヒトに投与される治療剤の効力を調整するのに有効な量の組成物を投与することを含む。本発明の組成物は、治療剤の効力を調整するために、治療剤を投与する前、同時または後の任意の時点で投与することができる。本発明の組成物はさらに、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで、例えば動物またはヒトの細胞または組織に投与することができる。

【００１１】

好ましい実施形態では、本発明の組成物は、（ＧＧ）$_n$、（ＧＴ）$_n$、ａ（ＧＴ）$_n$ｂ、ａ（ＧＡ）$_n$ｂおよびａ（ＧＣ）$_n$ｂ（ここで、ｎは１と３の間の整数であり、ａおよびｂは別々に０個、１個またはそれ以上のＡ、Ｃ、ＧもしくはＴまたはそれらの組合わせである）からなる群から選択される配列を含むが、ただし、組成物中の塩基の総数は６個である。別の好ましい実施形態では、本発明の組成物は、薬学的に許容可能な担体と組合せられたこの６塩基の配列を含む。さらに別の好ましい実施形態では、本発明の組成物は、治療剤および薬学的に許容可能な担体と組合せられたこの６塩基の配列を含む。これらの組成物は、前述の段落に記載されたいずれかの方法において、かつ本明細書を通して用いられ得る。

【００１２】

本発明の配列の予期せぬ意外な能力は、医療業界における要求を、かつヒトを含めた動物に重要な利益を提供する。

【００１３】

したがって、本発明の目的は、（ＧＧ）$_n$、（ＧＴ）$_n$、ａ（ＧＴ）$_n$ｂ、ａ（ＧＡ）$_n$ｂおよびａ（ＧＣ）$_n$ｂ（ここで、ｎは１と３の間の整数であり、ａおよびｂは別々に０個、１個またはそれ以上のＡ、Ｃ、ＧもしくはＴまたはそれらの組合わせである）からなる群から選択される合成ホスホジエステルオリゴデオキシヌクレオチド（以後、「配列」ともいう）を含む新しい組成物を提供することであるが、この場合、組成物中の塩基の総数は２～１０である。

【００１４】

本発明の別の目的は、（ＧＧ）$_n$、（ＧＴ）$_n$、ａ（ＧＴ）$_n$ｂ、ａ（ＧＡ）$_n$ｂおよびａ（ＧＣ）$_n$ｂ（ここで、ｎは１と３の間の整数であり、ａおよびｂは別々に０個、１個またはそれ以上のＡ、Ｃ、ＧもしくはＴまたはそれらの組合わせである）からなる群から選択される合成ホスホジエステルオリゴデオキシヌクレオチド（以後、「配列」ともいう）を含む新組成物を提供することであるが、この場合、組成物中の塩基の総数は４～８個である。

【００１５】

本発明のさらに別の目的は、（ＧＧ）$_n$、（ＧＴ）$_n$、ａ（ＧＴ）$_n$ｂ、ａ（ＧＡ）$_n$ｂおよびａ（ＧＣ）$_n$ｂ（ここで、ｎは１と３の間の整数であり、ａおよびｂは別々に０個、１個またはそれ以上のＡ、Ｃ、ＧもしくはＴまたはそれらの組合わせである）からなる群から選択される合成ホスホジエステルオリゴデオキシヌクレオチド（以後、「配列」ともいう）を含む新組成物を提供することであるが、この場合、組成物中の塩基の総数は５～７個である。

【００１６】

本発明の別の目的は、（ＧＧ）$_n$、（ＧＴ）$_n$、ａ（ＧＴ）$_n$ｂ、ａ（ＧＡ）$_n$ｂおよびａ（ＧＣ）$_n$ｂ（ここで、ｎは１と３の間の整数であり、ａおよびｂは別々に０個、１個またはそれ以上のＡ、Ｃ、ＧもしくはＴまたはそれらの組合わせである）からなる群から選択される合成ホスホジエステルオリゴデオキシヌクレオチド（以後、「配列」ともいう）を含む新組成物を提供することであるが、この場合、組成物中の塩基の総数は６個である。

【００１７】

本発明のさらに別の目的は、薬学的に許容可能な担体と組合されている、本明細書中に記載された配列のいずれかを含む新規の組成物を提供することである。

【００１８】

本発明の別の目的は、治療剤および薬学的に許容可能な担体と組合されている、本明細書中に記載された配列のいずれかを含む新規の組成物を提供することである。

【００１９】

本発明のさらに別の目的は、薬剤を製造するための、本明細書中に記載された新規の組成物のいずれかの使用を提供することである。

【００２０】

本発明のさらに別の目的は、本発明の組成物に関する新規の使用を提供することである。

【００２１】

本発明のさらに別の目的は、細胞におけるＦａｓ発現を調整する方法を提供することである。

【００２２】

本発明の別の目的は、細胞におけるＦａｓＬ発現を調整する方法を提供することである。

【００２３】

本発明のさらに別の目的は、免疫細胞におけるＦａｓ発現を調整する方法を提供することである。

【００２４】

本発明の別の目的は、免疫細胞におけるＦａｓＬ発現を調整する方法を提供することである。

【００２５】

本発明のさらに別の目的は、癌細胞におけるＦａｓ発現を調整する方法を提供することである。

【００２６】

本発明の別の目的は、癌細胞におけるＦａｓＬ発現を調整する方法を提供することである。

【００２７】

本発明の別の目的は、ヒトを含めた動物における疾患の治療方法を提供することである。

【００２８】

本発明のさらに別の目的は、腫瘍性疾患の治療方法を提供することである。

【００２９】

本発明のさらに別の目的は、自己免疫疾患の治療方法を提供することである。

【００３０】

本発明の別の目的は、炎症性疾患の治療方法を提供することである。

【００３１】

本発明のさらに別の目的は、増殖性疾患の治療方法を提供することである。

【００３２】

本発明の別の目的は、リンパ増殖性疾患の治療方法を提供することである。

【００３３】

本発明のさらに別の目的は、変性疾患の治療方法を提供することである。

【００３４】

本発明のさらに別の目的は、神経変性疾患の治療方法を提供することである。

【００３５】

本発明の別の目的は、心臓血管疾性患の治療方法を提供することである。

【００３６】

本発明のさらに別の目的は、移植片拒絶の治療方法を提供することである。

【００３７】

本発明の別の目的は、感染を治療するのに有効な方法を提供することである。

【００３８】

本発明のさらに別の目的は、疾患を治療するための治療剤の効果を調整する方法を提供することである。

【００３９】

本発明のさらに別の目的は、疾患を治療するための治療剤の効果を増強する方法を提供することである。

【００４０】

本発明のさらに別の目的は、Ｆａｓ調整剤の効果を増強する方法を提供することである。

【００４１】

本発明の別の目的は、ＦａｓＬ調整剤の効果を増強する方法を提供することである。

【００４２】

本発明のさらに別の目的は、抗腫瘍剤の効果を増強する方法を提供することである。

【００４３】

本発明の別の目的は、免疫賦活剤の効果を増強する方法を提供することである。

【００４４】

本発明のさらに別の目的は、免疫抑制剤の効果を増強する方法を提供することである。

【００４５】

本発明の別の目的は、抗炎症剤の効果を増強する方法を提供することである。

【００４６】

容易に調製することができる組成物を提供することが、本発明の別の目的である。

【００４７】

本発明の別の目的は、レシピエントに対する毒性が最小限である組成物を提供することである。

【００４８】

本発明のこれらのおよびその他の目的、特徴および利点は、開示された実施形態の以下の詳細な説明および特許請求の範囲の検討後に明らかになるであろう。

【００４９】

［詳細な説明］

本発明は、新しい組成物およびこれらの組成物を用いる新しい方法を提供することにより、上記の必要性を満たす。本発明の組成物は、（ＧＧ）$_n$、（ＧＴ）$_n$、ａ（ＧＴ）$_n$ｂ、ａ（ＧＡ）$_n$ｂおよびａ（ＧＣ）$_n$ｂ（ここで、ｎは１と３の間の整数であり、ａおよびｂは別々に０個、１個またはそれ以上のＡ、Ｃ、Ｇもしくは Ｔまたはそれらの組合わせである）からなる群から選択される合成ホスホジエステルオリゴデオキシヌクレオチド（以後「配列」ともいう）を含むが、この場合、組成物中の塩基の総数は２～１０、好ましくは４～８、さらに好ましくは５～７、最も好ましくは６である。本発明の組成物はさらに、薬学的に許容可能な担体と組み合わされた本明細書中に記載された配列のいずれかを含む。本発明の組成物はさらに、治療剤および薬学的に許容可能な担体と組合わされた本明細書中に記載された配列のいずれかを含む。

【００５０】

本発明は、これらの新規の組成物に関する新しい使用を提供する。この組成物は、薬学的に許容可能な担体と組合わされ、動物またはヒトにおけるＦａｓおよびＦａｓＬ発現を調整するのに有効な量が、動物またはヒトに投与される。この組成物はさらに、薬学的に許容可能な担体と組合わせられ、動物またはヒトにおける疾患を治療するために、ＦａｓおよびｆａｓＬ発現を調整するのに有効な量が、疾患を有する動物またはヒトに投与される。この組成物はまた、ＦａｓおよびＦａｓＬ調整剤の効力を調整するために、動物またはヒトに投与され、該投与は、ＦａｓおよびＦａｓＬを調節するためのＦａｓおよびＦａｓＬ調節剤、または疾患を有する動物またはヒトを治療するためのＦａｓおよびＦａｓＬ調節剤の効力を調節するのに有効な量の上記組成物を投与することを含む。本発明の組成物に関する別の新規の使用は、疾患を治療するための治療剤の効力を調整し、かつ好ましくは増強するために、薬学的に許容可能な担体中で、任意に治療剤と組合わせて、動物またはヒトに投与される治療剤の効力を調整するのに有効な量の組成物を投与することを含む。本発明の組成物は、治療剤の効力を調整するために、治療剤を投与する前、投与中または投与した後の任意の時点で投与することができる。

【００５１】

好ましい実施形態では、本発明の組成物は、（ＧＧ）$_{n}$、（ＧＴ）$_{n}$、ａ（ＧＴ）$_{n}$ｂ、ａ（ＧＡ）$_{n}$ｂ、およびａ（ＧＣ）$_{n}$ｂ（ここで、ｎは１と３の間の整数であり、ａおよびｂは別々に０個、１個またはそれ以上のＡ、Ｃ、ＧもしくはＴまたはそれらの組合わせである）からなる群から選択される配列を含むが、ただし、組成物中の塩基の総数は６である。別の好ましい実施形態では、本発明の組成物は、薬学的に許容可能な担体と組合わせられたこの６塩基の配列を含む。さらに別の好ましい実施形態では、本発明の組成物は、治療剤および薬学的に許容可能な担体と組合わせられたこの６塩基の配列を含む。これらの組成物は、本特許出願に記載された方法のいずれかにおいて用いられ得る。

【００５２】

本明細書中で用いる場合、「配列」という語は、塩基総数が２～１０、好ましくは４～８、さらに好ましくは５～７、最も好ましくは６である、アデニン（Ａ）、シトシン（Ｃ）、グアニン（Ｇ）およびチミン（Ｔ）からなる合成ホスホジエステルオリゴデオキシヌクレオチドを意味する。

【００５３】

本明細書中で用いる場合、「発現」という語は、ＦａｓまたはＦａｓＬの細胞表面濃度を意味する。

【００５４】

本明細書中で用いる場合、「応答」という語は、ＦａｓまたはＦａｓＬ発現のアップレギュレート（増大）またはダウンレギュレート（低減）を意味する。

【００５５】

本明細書中で用いる場合、「調整する」という語は、ＦａｓまたはＦａｓＬの発現における変化を意味する。このような変化は、ＦａｓまたはＦａｓＬ発現のアップレギュレートおよびダウンレギュレートを含む。調整するという語は、疾患を治療するためのＦａｓおよびＦａｓＬ調整剤、またはＦａｓまたはＦａｓＬ発現を調整するためのＦａｓおよびＦａｓＬ調整剤を含む治療剤の効力を調整する本発明の新規の配列の能力を説明するためにも使用される。

【００５６】

本明細書中で用いる場合、「治療的に有効な」、「有効量」および「に有効な量」という語句は、ＦａｓまたはＦａｓＬの発現を調整するのに有効な配列の量を意味する。

【００５７】

本明細書中で用いる場合、「疾患」という語は、身体的健康が損なわれている状態を意味する。

【００５８】

本明細書中で用いる場合、「治療剤」という語句は、ヒトを含めた動物における疾患を治療するのに用いるための、郡または州政府の管理機関により認可された、あるいは米国薬局方またはその他の一般的に認められた薬局方に列挙された任意の薬剤である。

【００５９】

本明細書中で用いる場合、「抗腫瘍性の」という語は、癌細胞の発生、成熟、増殖または蔓延を防止することを意味する。

【００６０】

本明細書中で用いる場合、「増強する」という語は、添加分以上のより大きい相乗作用の程度を意味する。

【００６１】

本明細書中で用いる場合、「相乗作用」という語は、２つまたはそれ以上の薬剤の協調作用を意味する。

【００６２】

ヒトを含めた動物に有効量の本発明の配列を投与することは、例えば腫瘍性、自己免疫、増殖性、リンパ増殖性、変性、および心臓血管性疾患（これらに限定されない）などの疾患、感染、炎症、ならびに移植片、組織および細胞拒絶を防止、治療、または排除する治療的処置である。

【００６３】
１つまたはそれ以上の配列および薬学的に許容可能な担体を含む組成物は、配列および薬学的に許容可能な担体を均一にかつ密接に会合させることにより調製される。１つまたはそれ以上の配列、治療剤および薬学的に許容可能な担体を含む組成物は、配列、治療剤および薬学的に許容可能な担体を均一にかつ密接に会合させることにより調製される。薬学的に許容可能な担体としては、液体担体、固体担体またはその両方が挙げられる。液体担体は、水性担体、非水性担体またはその両方であり、例としては、溶液、懸濁液および乳濁液が挙げられるが、これらに限定されない。乳濁液としては、油乳濁液、油中水型乳濁液、油中水型乳濁液、部位特異的乳濁液が挙げられるがこれらに限定されない。担体は、生物学的担体、化学的担体またはその両方であり、その例としては、配列を持続的に放出することを可能にするウイルスベクター系、プラスミド、粒子、微小粒子、ナノ粒子、微小球、ナノ球、細菌細胞壁、ミニポンプ、および生分解性または非生分解性天然または合成ポリマーが挙げられるが、これらに限定されない。

【００６４】
好ましい水性担体としては、水、生理食塩水および薬学的に許容可能な緩衝液が挙げられるが、これらに限定されない。好ましい非水性担体としては、鉱油または中性油、例えばジグリセリド、トリグリセリド、リン脂質、脂質、油およびそれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されず、この場合、油は、多不飽和脂肪酸および飽和脂肪酸の適切な混合物を含む。任意に、細胞に配列を提供するために用いられる薬学的に許容可能な担体と関係なく、安定剤および賦形剤が含まれていてもよい。

【００６５】
配列の治療的有効性は、例えば塩基、糖またはホスフェート主鎖の化学的修飾、適切な配列を含む細菌プラスミドを用いた配列の化学的補充またはバイオテクノロジー的増幅、配列の生物学的担体または化学的担体との複合、あるいは配列および組織型もしくは細胞型特異的リガンドまたは抗体とのカップリングといった方法（これらに限定されない）により増大され得る。

【００６６】
本発明の組成物はさらに、配列および治療剤を含む組成物を含むが、この場合、配列および治療剤が薬学的に許容可能な担体と組合わされ、疾患を有する動物またはヒトに投与される。配列は、疾患に及ぼす治療剤の効果を調整し、好ましくは増強する。

【００６７】
治療剤としては、抗腫瘍剤、抗炎症薬、抗自己免疫薬、抗変性薬、Ｆａｓ調整およびＦａｓＬ調整剤あるいはそれらの任意の組合わせ、ならびに放射線療法、または放射線療法と治療剤の組合せが挙げられるが、これらに限定されない。これらの治療剤としては、生物学的物質、薬剤、化学療法薬、免疫賦活剤、免疫調整剤、免疫療法剤、抗ウイルス剤、抗感染剤、抗生物質、サイトカイン、抗原、抗体、核酸、ワクチン、アプタベース、核酸、アンチセンス核酸、テロメラーゼ阻害剤、カスパーゼ、生物学的操作および化学的合成薬剤、ならびに活性化または不活性化のために細胞死分子を標的にする薬剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【００６８】
化学療法薬としては、ＤＮＡ損傷剤、ＤＮＡアルキル化剤、ＤＮＡ架橋剤、抗腫瘍性抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤、プリン阻害剤、ピリミジン阻害剤、微小管安定化剤、微小管不安定化剤、抗代謝剤、ホルモンアンタゴニスト、プロテインキナーゼ阻害剤、ＨＭＧ－ＣｏＡ阻害剤、メタロプロテイナーゼ阻害剤、ＣＤＫ阻害剤、サイクリン阻害剤、血管新生阻害剤、分化強化剤、ならびに分子生物学的修飾化ウイルス、細菌および外毒素剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【００６９】
投与経路としては、経口、局所、皮下、経皮、真皮下、筋内、腹腔内、膀胱内、関節内、前立腺内、動脈内、静脈内、皮内、頭蓋内、病変内、腫瘍内、眼内、肺内、脊椎内、体腔内配置、鼻吸入および皮膚への塗布（ｉｍｐｒｅｓｓｉｏｎ）が挙げられるが、これらに

限定されない。本発明の組成物は、ｉｎ ｖｉｖｏ、ｅｘ ｖｉｖｏまたはｉｎ ｖｉｔｒｏで投与することができると理解されるべきである。例えば本発明の組成物は、ｉｎ ｖｉｔｒｏで動物またはヒトの細胞または組織に投与され得る。ｉｎ ｖｉｔｒｏ投与のための適切な用量は、約１ｎＭ～１ｍＭ、好ましくは約１０ｎＭ～１００μＭ、さらに好ましくは約１００ｎＭ～１０μＭである。

【００７０】

投与経路に応じて、１用量あたりの容積は、好ましくは約０．００１～１００ｍｌ、さらに好ましくは約０．０１～５０ｍｌ、もっとも好ましくは約０．１～３０ｍｌである。薬学的に許容可能な担体中の配列、または薬学的に許容可能な担体中の配列および治療剤の組合わせは、および治療される疾患、レシピエントの状態および投与経路に適した期間にわたって、計画に従って単一用量処置もしくは多数回用量処置で投与されるか、または連続的注入される。さらに治療剤は、配列を投与する前に、同時に、または後に投与してもよい。

【００７１】

好ましくは投与される配列の１用量あたりの量は、約０．００１～１００ｍｇ／ｋｇ、さらに好ましくは約０．０１～１０ｍｇ／ｍｌ、もっとも好ましくは約０．１～５ｍｇ／ｋｇである。配列および化学療法剤の組合わせは、治療剤の作用を好ましくは増強する。好ましくは投与される治療剤の１用量あたりの量は、約０．００１～１０００ｍｇ／m^2または約０．０１～１０００ｍｇ／ｋｇ、さらに好ましくは０．０１～５００ｍｇ／m^2または約０．０１～５００ｍｇ／ｋｇ、もっとも好ましくは約０．１～１００ｍｇ／m^2または約０．１～１００ｍｇ／ｋｇである。治療剤の一実施形態では、抗Ｆａｓ抗体が使用され、約０．００３～約０．３ｍｇ／ｋｇ、好ましくは０．０１～約０．１ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。

【００７２】

投与される特定の配列および特定の治療剤、１用量あたりの量、投与計画ならびに投与経路は、当業者に既知の方法を用いる専門医師により決定されるべきであり、疾患の種類、疾患の重篤度、疾患の位置、ならびにその他の臨床的因子、例えばレシピエントのサイズ、体重および身体症状により異なる。さらに、ｉｎ ｖｉｔｒｏアッセイを任意に用いることにより、配列に関する最適範囲、および配列＋治療剤投与に関する最適範囲を同定するのに役立ち得る。

【００７３】

以下の実施例は、本発明をさらに例示するのに役立つが、しかしながら、同時に本発明を限定するものではない。これに反して、種々のその他の実施形態、修正物およびそれらの等価物に対して、本発明の精神を逸脱することなく当業者に示唆し得る方策が、本明細書中の記載内容を読了後に示され得ると明白に理解されるべきである。

【００７４】

実施例１

配列の調製

Ａｂａｃｕｓセグメント合成技術（Ａｂａｃｕｓ Ｓｅｇｍｅｎｔｅｄ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）を用いてＳｉｇｍａ－Ｇｅｎｏｓｙｓ（Ｗｏｏｄｌａｎｄｓ，ＴＸ）により、ホスホジエステル配列を調製した。別記しない限り、オートクレーブ処理脱イオン水中に、または生理食塩水（これに限定されない）を含む薬学的に許容可能な緩衝液中に、使用する直前に配列を分散させた。

【００７５】

実施例２

細胞

細胞株はすべて、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ，Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，ＭＤ）から入手し、ＡＴＣＣ推奨の培地中で培養した。表１は、細胞株、それらの起源およびそれらの特性を示す。

【００７６】

【表１】

細胞株

細胞株	起源	特性
JURKAT	ヒトＴ細胞白血病	浮遊腫瘍モデル ｐ１９０－ＭＲＰタンパク質 に関連した非定型的多剤耐性
UMUC-3	ヒト膀胱癌	Ｐ－糖タンパク質過剰発現
T-24	ヒト膀胱癌	ｐ５３突然変異
LNCaP	ヒト前立腺癌	固形腫瘍モデル； 転移性ＴＧＦ－β１受容体－陰性； アンドロゲン依存性
OVCAR-3	ヒト卵巣癌	固形腫瘍モデル；転移性ｐ５３突然変異； ｐ２１／ｗａｆ－１／Ｃｉｐ－１欠失
SK-OV-3	ヒト卵巣癌	固形腫瘍モデル； 転移性ＴＧＦ－β１受容体－陰性； アンドロゲン依存性
MCF-7	ヒト乳癌	固形腫瘍モデル；非転移性カスパーゼ３ －陰性；エストロゲン依存性

【００７７】
Ｆｉｃｏｌｌ－Ｈｙｐａｑｕｅ（Ａｍｅｒｓｈａｍ Ｐｈａｒｍａｃｉａ Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｂａｉｅ ｄ’Ｕｒｆｅｅ，Ｑｕｅｂｅｃ，Ｃａｎａｄａ）密度勾配遠心分離により、ヒト血液から末梢血単核細胞（以後、「ＰＢＭＣ」という）を単離した。
【００７８】
癌細胞およびＰＢＭＣを６ウエル平底微小プレート中に播種し、５％CO_2雰囲気下で３７℃で保持した。別記しない限り、１ｍｌあたり２×10^5の細胞を、０μｇ／ｍｌ（対照）または１００μｇ／ｍｌ（５．５μＭ）（処理）の配列とともに、４８時間インキュベートした。
【００７９】
実施例３
細胞表面でのＦａｓおよびＦａｓＬの測定
ＣＥＬＬＱｕｅｓｔプログラム（Ｂｅｃｔｏｎ Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）を用いて、ＦＡＣＳｃａｌｉｂｕｒフローサイトメーター（Ｂｅｃｔｏｎ Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ，Ｓａｎ Ｊｏｓｅ，ＣＡ，ＵＳＡ）で、抗ＦａｓＦＩＴＣ－接合モノクローナル抗体および抗ＦａｓＬ ＰＥ－接合モノクローナル抗体を用いてフローサイトメトリーにより、ＦａｓおよびＦａｓＬ発現を測定した。
【００８０】
結果は、Ｆａｓの発現における増大パーセンテージ（％）として表される。
【００８１】
実施例４
ジャーカット白血病Ｔ細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの調整
ジャーカットヒト白血病Ｔ細胞は、非定型多剤耐性ヒト浮遊腫瘍細胞モデルである。表２に示した６塩基配列とともに、ジャーカットＴ細胞をインキュベートした。
【００８２】
【表２】

ジャーカットヒト白血病Ｔ細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの増大パーセンテージ

配列	増大％	
	Fas	FasL
TGTGTG 配列番号１（６塩基）	52	93
GTGTGT 配列番号２（６塩基）	52	43
TTTGTT 配列番号３（６塩基）	258	497
GGTGGG 配列番号４（６塩基）	61	22
GGGTGG 配列番号５（６塩基）	150	145
TTGTTT 配列番号６（６塩基）	126	140
AAGTAA 配列番号７（６塩基）	-4	-21
CCGTCC 配列番号８（６塩基）	107	151
TGGTTG 配列番号９（６塩基）	362	952
ATGTAT 配列番号１０（６塩基）	246	393
CTGTCT 配列番号１１（６塩基）	203	413
TCGTTC 配列番号１２（６塩基）	121	75
GGTTGG 配列番号１３（６塩基）	99	86
GGAAGG 配列番号１４（６塩基）	67	88
GGCCGG 配列番号１５（６塩基）	75	41
GGGGGG 配列番号１６（６塩基）	118	49
GGGAGG 配列番号１７（６塩基）	77	91
GGGCGG 配列番号１８（６塩基）	208	356

【００８３】

実施例５

ＰＢＭＣにおけるＦａｓおよびＦａｓＬの調整

表３に示した６塩基配列とともに、ＰＢＭＣをインキュベートした。

【００８４】

【表３】

ＰＢＭＣにおけるＦａｓおよびＦａｓＬの増大パーセンテージ

配列		増大％	
		Fas	FasL
TGTGTG	配列番号１（６塩基）	126	260
GTGTGT	配列番号２（６塩基）	94	99
TTTGTT	配列番号３（６塩基）	1165	1528
GGTGGG	配列番号４（６塩基）	57	59
GGGTGG	配列番号５（６塩基）	3	-20
TTGTTT	配列番号６（６塩基）	338	441
AAGTAA	配列番号７（６塩基）	13	-26
CCGTCC	配列番号８（６塩基）	1046	1147
TGGTTG	配列番号９（６塩基）	1043	1322
ATGTAT	配列番号１０（６塩基）	377	457
CTGTCT	配列番号１１（６塩基）	310	476
TCGTTC	配列番号１２（６塩基）	597	847
GGTTGG	配列番号１３（６塩基）	-3	-32
GGAAGG	配列番号１４（６塩基）	112	162
GGCCGG	配列番号１５（６塩基）	6	-29
GGGGGG	配列番号１６（６塩基）	38	42
GGGAGG	配列番号１７（６塩基）	266	356
GGGCGG	配列番号１８（６塩基）	523	850

【００８５】

実施例６

Ｔ－２４膀胱癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの調整

Ｔ－２４膀胱癌細胞は、ｐ５３突然変異ヒト細胞株である。表４に示した６塩基配列とともに、Ｔ－２４細胞（１．０×１０^{5}細胞／ｍｌ）をインキュベートした。

【００８６】

【表４】

Ｔ－２４膀胱癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの増大パーセンテージ

配列		増大％	
		Fas	FasL
TGTGTG	配列番号１(６塩基)	84	213
GTGTGT	配列番号２(６塩基)	93	77
TTTGTT	配列番号３(６塩基)	279	549
GGTGGG	配列番号４(６塩基)	106	29
GGGTGG	配列番号５(６塩基)	80	13
TTGTTT	配列番号６(６塩基)	116	152
AAGTAA	配列番号７(６塩基)	16	-10
CCGTCC	配列番号８(６塩基)	282	459
TGGTTG	配列番号９(６塩基)	180	397
ATGTAT	配列番号１０(６塩基)	90	150
CTGTCT	配列番号１１(６塩基)	107	165
TCGTTC	配列番号１２(６塩基)	105	74
GGTTGG	配列番号１３(６塩基)	75	25
GGAAGG	配列番号１４(６塩基)	46	14
GGCCGG	配列番号１５(６塩基)	56	18
GGGGGG	配列番号１６(６塩基)	35	-14
GGGAGG	配列番号１７(６塩基)	124	75
GGGCGG	配列番号１８(６塩基)	139	205

【００８７】

実施例７

ＵＭＵＣ－３膀胱癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの調整

ＵＭＵＣ－３膀胱癌細胞は、Ｐ－糖タンパク質過剰発現性ヒト細胞株である。表５に示した６塩基配列とともに、ＵＭＵＣ－３細胞（１．０×１０^{5}細胞／ｍｌ）をインキュベートした。

【００８８】

【表５】

ＵＭＵＣ－３膀胱癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの増大パーセンテージ

配列	増大％	
	Fas	FasL
TGTGTG 配列番号１（６塩基）	72	112
GTGTGT 配列番号２（６塩基）	72	154
TTTGTT 配列番号３（６塩基）	108	231
GGTGGG 配列番号４（６塩基）	62	113
GGGTGG 配列番号５（６塩基）	67	143
TTGTTT 配列番号６（６塩基）	57	132
AAGTAA 配列番号７（６塩基）	6	-1
CCGTCC 配列番号８（６塩基）	55	149
TGGTTG 配列番号９（６塩基）	143	300
ATGTAT 配列番号１０（６塩基）	42	95
CTGTCT 配列番号１１（６塩基）	45	156
TCGTTC 配列番号１２（６塩基）	47	112
GGTTGG 配列番号１３（６塩基）	47	98
GGAAGG 配列番号１４（６塩基）	1	8
GGCCGG 配列番号１５（６塩基）	23	58
GGGGGG 配列番号１６（６塩基）	-5	10
GGGAGG 配列番号１７（６塩基）	39	106
GGGCGG 配列番号１８（６塩基）	72	250

【００８９】

実施例８

ＯＶＣＡＲ－３卵巣癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの調整

ＯＶＣＡＲ－３卵巣癌細胞は、ｐ５３突然変異、ｐ２１／ｗａｆ－１／Ｃｉｐ欠失転移性ヒト固形腫瘍モデルである。表６に示した６塩基配列とともに、ＯＶＣＡＲ－３細胞をインキュベートした。

【００９０】

【表６】

ＯＶＣＡＲ－３卵巣癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの増大パーセンテージ

配列		増大％	
		Fas	FasL
TGTGTG	配列番号１(６塩基)	64	70
GTGTGT	配列番号２(６塩基)	77	69
TTTGTT	配列番号３(６塩基)	193	341
GGTGGG	配列番号４(６塩基)	41	14
GGGTGG	配列番号５(６塩基)	43	9
TTGTTT	配列番号６(６塩基)	65	98
AAGTAA	配列番号７(６塩基)	16	-2
CCGTCC	配列番号８(６塩基)	83	95
TGGTTG	配列番号９(６塩基)	221	270
ATGTAT	配列番号１０(６塩基)	93	114
CTGTCT	配列番号１１(６塩基)	52	93
TCGTTC	配列番号１２(６塩基)	126	224
GGTTGG	配列番号１３(６塩基)	22	10
GGAAGG	配列番号１４(６塩基)	15	1
GGCCGG	配列番号１５(６塩基)	19	-2
GGGGGG	配列番号１６(６塩基)	-1	7
GGGAGG	配列番号１７(６塩基)	49	59
GGGCGG	配列番号１８(６塩基)	65	142

【００９１】

実施例９

ＳＫ－ＯＶ３卵巣癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの調整

ＳＫ－ＯＶ－３卵巣癌細胞は、ｐ５３突然変異，ｐ２１／ｗａｆ－１／Ｃｉｐ欠失ｐ１５^{ink4B}，ｐ１６^{ink4}欠失転移性ヒト固形腫瘍モデルである。表７に示した６塩基配列とともに、ＳＫ－ＯＶ３細胞（１．０×１０^{5}細胞／ｍｌ）をインキュベートした。

【００９２】

【表７】

ＳＫ－ＯＶ－３卵巣癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの増大パーセンテージ

配列	増大％	
	Fas	FasL
TGTGTG 配列番号１(６塩基)	49	37
GTGTGT 配列番号２(６塩基)	60	24
TTTGTT 配列番号３(６塩基)	108	103
GGTGGG 配列番号４(６塩基)	-1	-17
GGGTGG 配列番号５(６塩基)	3	-31
TTGTTT 配列番号６(６塩基)	41	24
AAGTAA 配列番号７(６塩基)	-12	-22
CCGTCC 配列番号８(６塩基)	58	32
TGGTTG 配列番号９(６塩基)	63	53
ATGTAT 配列番号１０(６塩基)	34	33
CTGTCT 配列番号１１(６塩基)	15	26
TCGTTC 配列番号１２(６塩基)	9	-3
GGTTGG 配列番号１３(６塩基)	16	-3
GGAAGG 配列番号１４(６塩基)	-15	-31
GGCCGG 配列番号１５(６塩基)	0	-27
GGGGGG 配列番号１６(６塩基)	-14	-28
GGGAGG 配列番号１７(６塩基)	-6	-16
GGGCGG 配列番号１８(６塩基)	29	42

【００９３】

実施例１０

ＬＮＣａＰ前立腺癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの調整

ＬＮＣａＰ前立腺癌細胞は、ＴＧＦ－β１受容体陰性、アンドロゲン非依存性、転移性ヒト固形腫瘍モデルである。表８に示した６塩基配列とともに、ＬＮＣａＰ細胞をインキュベートした。

【００９４】

【表８】

ＬＮＣａＰ前立腺癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの増大パーセンテージ

配列		増大％	
		Fas	FasL
TGTGTG	配列番号１(６塩基)	29	40
GTGTGT	配列番号２(６塩基)	34	5
TTTGTT	配列番号３(６塩基)	199	344
GGTGGG	配列番号４(６塩基)	21	8
GGGTGG	配列番号５(６塩基)	15	-1
TTGTTT	配列番号６(６塩基)	40	73
AAGTAA	配列番号７(６塩基)	0	-16
CCGTCC	配列番号８(６塩基)	0	311
TGGTTG	配列番号９(６塩基)	184	241
ATGTAT	配列番号１０(６塩基)	44	68
CTGTCT	配列番号１１(６塩基)	17	55
TCGTTC	配列番号１２(６塩基)	111	171
GGTTGG	配列番号１３(６塩基)	23	-3
GGAAGG	配列番号１４(６塩基)	26	-4
GGCCGG	配列番号１５(６塩基)	12	-4
GGGGGG	配列番号１６(６塩基)	6	13
GGGAGG	配列番号１７(６塩基)	48	55
GGGCGG	配列番号１８(６塩基)	55	126

【００９５】

実施例１１

ＭＣＦ－７乳癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの調整

ＭＣＦ－７ヒト乳癌細胞は、カスパーゼ－３陰性、エストロゲン依存性ヒト固形腫瘍モデルである。表９に示した６塩基配列とともに、ＭＣＦ－７細胞（１×１０^{5}細胞／ｍｌ）をインキュベートした。

【００９６】

【表９】

ＭＣＦ－７乳癌細胞におけるＦａｓおよびＦａｓＬの増大パーセンテージ

配列	増大％	
	Fas	FasL
TGTGTG 配列番号１(６塩基)	122	121
GTGTGT 配列番号２(６塩基)	155	135
TTTGTT 配列番号３(６塩基)	361	528
GGTGGG 配列番号４(６塩基)	106	110
GGGTGG 配列番号５(６塩基)	93	81
TTGTTT 配列番号６(６塩基)	143	159
AAGTAA 配列番号７(６塩基)	12	21
CCGTCC 配列番号８(６塩基)	200	322
TGGTTG 配列番号９(６塩基)	255	481
ATGTAT 配列番号１０(６塩基)	129	214
CTGTCT 配列番号１１(６塩基)	73	128
TCGTTC 配列番号１２(６塩基)	56	98
GGTTGG 配列番号１３(６塩基)	99	83
GGAAGG 配列番号１４(６塩基)	62	84
GGCCGG 配列番号１５(６塩基)	63	78
GGGGGG 配列番号１６(６塩基)	-7	18
GGGAGG 配列番号１７(６塩基)	127	194
GGGCGG 配列番号１８(６塩基)	165	322

【００９７】

実施例１２

シクロヘキシミドによるジャーカットヒト白血病Ｔ細胞におけるＦａｓ発現の抑制

ジャーカットヒト白血病Ｔ細胞を、０．０μｇ／ｍｌ（－ＣＨＸ）のシクロヘキシミドまたは０．１μｇ／ｍｌのシクロヘキシミド（＋ＣＨＸ）とともに１時間、プレインキュベートした。１０μｇ／ｍｌまたは１００μｇ／ｍｌの配列番号５の６塩基配列（ＧＧＧＴＧＧ）を、－ＣＨＸおよび＋ＣＨＸ細胞の両方に添加し、２４時間および４８時間継続してインキュベートした（表１０）。

【００９８】

【表１０】

ジャーカットヒト白血病Ｔ細胞におけるＦａｓの増大パーセンテージ

配列	増大％			
	24 h		48 h	
	- CHX	+ CHX	- CHX	+ CHX
GGGTGG 配列番号５(６塩基) 10 μg/ml	63	5	91	51
GGGTGG 配列番号５(６塩基) 100 μg/ml	62	22	150	115

【００９９】

表１０に示すように、配列番号５は、ジャーカットＴ細胞におけるＦａｓ発現をアップレギュレートした。１０μｇ／ｍｌの配列番号５を用いた場合、シクロヘキシミドは、Ｆａｓ発現を、２４時間後には９２％、４８時間後には４４％低減した。１００μｇ／ｍｌの配列番号５を用いた場合、シクロヘキシミドは、Ｆａｓ発現を、２４時間後には６５％、４８時間後には２３％低減した。これらのデータは、配列番号５の６塩基配列がＦａｓのｄｅ　ｎｏｖｏ合成を刺激することを示唆する。

【０１００】

実施例１３

ＵＭＵＣ－３膀胱癌細胞増殖の抑制に及ぼす配列番号５（ＧＧＧＴＧＧ）およびアゴニスト性抗Ｆａｓ抗体の相乗効果

０．００、０．０２および０．２０μｇ／ｍｌのアゴニスト性抗Ｆａｓモノクローナル抗体（クローンＣＨ－１１：Ｃｏｕｌｔｅｒ－Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈ，Ｍａｒｓｅｉｌｌｅ，Ｆｒａｎｃｅ）それぞれに加えて、０または１０μｇ／ｍｌの配列番号５とともに、ＵＭＵＣ－３膀胱癌細胞を４８時間インキュベートした。ジメチルチアゾール－ジフェニルテトラゾリウム（ＭＴＴ）還元を用いて、細胞増殖を測定した（Ｍｏｓｍａｎ ｅｔａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ６５：５５，１９８３）。マルチプレート分光光度計読取器（ＥＬＸ８００、Ｂｉｏ－ＴＥＫ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ Ｉｎｃ．，Ｗｉｎｏｏｓｋｉ，ＶＴ）を用いて、５７０ｎｍの波長でＭＴＴを測定した。

【０１０１】

【表１１】

ＵＭＵＣ－３膀胱癌細胞増殖の抑制

配列	抑制％		
	抗Ｆａｓ抗体		
	0.0 μg/ml	0.02 μg/ml	0.2 μg/ml
配列なし	0	7	17
GGGTGG 配列番号５（６塩基） 10 μg/ml	23	38	44

【０１０２】

表１１に示すように、配列番号５の６塩基配列は、ＵＭＵＣ－３細胞増殖に及ぼす０．０２および０．２μｇ／ｍｌのアゴニスト性抗Ｆａｓ抗体の抑制活性を増強した。

【０１０３】

実施例１４

ジャーカット白血病Ｔ細胞増殖の抑制に及ぼす配列番号５（ＧＧＧＴＧＧ）およびアゴニスト性抗Ｆａｓ抗体の付加的効果

ジャーカット白血病Ｔ細胞を、０．００、０．０２及び０．２０μｇ／ｍｌのアゴニスト性抗Ｆａｓモノクローナル抗体（クローンＣＨ－１１）それぞれに加えて、０および１０μｇ／ｍｌの配列番号５とともに、４８時間インキュベートした。実施例１３の場合と同様に、細胞増殖を測定した。

【０１０４】

【表１２】

ジャーカットヒト白血病Ｔ細胞増殖の抑制

配列	抑制％		
	抗Ｆａｓ抗体		
	0.0 μg/ml	0.02 μg/ml	0.2 μg/ml
配列なし	0	16	33
GGGTGG 配列番号５（６塩基） 10 μg/ml	16	28	48

【０１０５】
表１２に示すように、ジャーカットＴ細胞増殖に及ぼす配列番号５の６塩基配列ならびに０．０２および０．２μｇ／ｍｌのアゴニスト性抗Ｆａｓ抗体の作用は、付加的であった。

【０１０６】
実施例１５
ＥＬ－４ネズミＴに及ぼす６塩基配列およびアゴニスト性抗Ｆａｓ抗体の効果
ＥＬ－４ネズミＴリンパ腫細胞を、Ｃ５７／ＢＬ６ｌｐｒ／ｌｐｒ（Ｆａｓ陰性マウス）中に移植する。マウスを各１０匹づつの３０グループに分ける。０日目に、第１群マウスに生理食塩水を、第２群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号５を、第３群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１６を、第４群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１７を、第５群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１８を、第６群マウスには抗Ｆａｓ抗体を、第７群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号５および抗Ｆａｓ抗体を、第８群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１６および抗Ｆａｓ抗体を、第９群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１７および抗Ｆａｓ抗体を、第１０群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１８＋抗Ｆａｓ抗体を投与する。これらの種々の群において、約０．００３～約０．３ｍｇ／ｋｇの範囲の任意の用量で、抗Ｆａｓ抗体を投与する。第１群マウスは最大量腫瘍質量を有し、第２、３、４、５および６群マウスは第１群マウスより腫瘍質量が少なく、第７、８、９および１０群マウスは最小の腫瘍質量を有する。配列番号５、配列番号１６および配列番号１７の効力は、用量依存性である。

【０１０７】
実施例１６
完全フロイントアジュバントと混合した０．５ｍｇのミエリン塩基性タンパク質（ＭＢＰ）を含有する乳濁液を、雌（ＳＪＬ／ＪｘＰＬ／Ｊ）Ｆ１マウスの両方の大腿領域に皮下注射する。２４時間後、４００ｎｇの百日咳菌（Ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ ｐｅｒｔｕｓｓｉｓ）毒素を腹腔内投与する。開始日（０日目）に、第１群マウスに生理食塩水を、第２群マウスに１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号５を、第３群マウスに１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１６を、第４群マウスに１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１７を、第５群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１８を、第６群マウスには抗Ｆａｓ抗体を、第７群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号５および抗Ｆａｓ抗体を、第８群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１６および抗Ｆａｓ抗体を、第９群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１７および抗Ｆａｓ抗体を、第１０群マウスには１、１０または１００ｍｇ／ｋｇの配列番号１８および抗Ｆａｓ抗体を、３日間、槽内投与により与える（２０μｇ／日）。これらの種々の群では、約０．００３～の範囲の任意の用量で、抗Ｆａｓ抗体を投与する。第１、２、３、４および５群マウス。群７、８、９および１０マウスはＥＡＥの最小進行を示す。配列番号５、配列番号１６および配列番号１７の効力は、用量依存

性である。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
7 March 2002 (07.03.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/18593 A2

(51) International Patent Classification⁷: C12N 15/11, A61K 31/7088 // A61P 35/00, 37/06

(21) International Application Number: PCT/CA01/00845

(22) International Filing Date: 12 June 2001 (12.06.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/228,925 29 August 2000 (29.08.2000) US
PCT/CA00/01467
12 December 2000 (12.12.2000) CA
09/735,363 12 December 2000 (12.12.2000) US
60/266,229 2 February 2001 (02.02.2001) US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **BIONICHE LIFE SCIENCES INC.** [CA/CA]; P.O. Box 1570, Belleville, Ontario K8N 5J2 (CA).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **PHILLIPS, Nigel, C.** [CA/CA]; 101 Seigniory Avenue, Pointe-Claire, Quebec H9R 1J6 (CA). **FILION, Mario, C.** [CA/CA]; 1145 Jean de Brebeuf, Laval, Quebec H4P 2R2 (CA).

(74) Agent: **BERESKIN & PARR**; 40 King Street West, 40th Floor, Toronto, Ontario M5H 3Y2 (CA).

(81) Designated States *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *without international search report and to be republished upon receipt of that report*

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/18593 A2

(54) Title: MODULATION OF FAS AND FASL EXPRESSION

(57) Abstract: A method employing a compositon comprising a 2 to 10 base synthetic oligonucleotide sequence selected from the group consisting of $(GG)_n$, $(GT)_n$, at $(GT)_n$b, a $(GA)_n$b, and a $(GC)_n$b, wherein n is an integer between 1 and 3, and a and b are independently either none or one or more As, Cs, Gs, or Ts, or combinations thereof, for modulation of Fas and FasL expression or for modulation of the efficacy of therapeutic agents. The composition is administered to an animal or human with a pharmaceutically acceptable carrier, and optionally with a therapeutic agent, in an amount effective to modulate Fas and FasL expression, to treat the disease, or to modulate efficacy of the therapeutic agent.

MODULATION OF FAS AND FASL EXPRESSION

FIELD OF THE INVENTION

The present invention relates compositions useful for modulating Fas and Fas ligand expression on cells and for modulating efficacy of therapeutic agents.

BACKGROUND OF THE INVENTION

The Fas (Apo-1, CD95) and Fas ligand (FasL, CD95L) system is one of the best-studied cell death systems. Fas is a type-I membrane protein abundantly expressed by cells in various tissues and particularly on activated T cells, heart cells, kidney cells and hepatocytes. FasL is a type-II transmembrane protein expressed particularly on activated T cells and natural killer cells (Nagata, S. Ann. Rev. Genet. 33:29, 1999), and is expressed constitutively in immune-privileged sites as, for example, the eye and testis (Griffith et al. Science 270:630, 1995).

Fas and FasL interactions (Fas/FasL) play an essential role in the regulation of immune cells and in the elimination of autoreactive cells (Sabelko-Downes et al. Curr. Opin. Immunol. 12:330, 2000). In addition, Fas/FasL mediates the killing of cancer cells and of virus-infected cells (Famularo et al. Med. Hypoth. 53:50, 1999; Owen-Schaub et al. Int. J. Oncol. 17:5, 2000). In contrast, FasL, expressed on cancer cells, may attack cells of the immune system (O'Connell, J. Exp. Med. 184:1075, 1996) or facilitate local tumor invasion by killing surrounding tissue (Yoong et al. Am. J. Pathol. 154:693, 1999). FasL, expressed on activated T cells, may also participate in tissue damage in fulminant

hepatitis and in graft-versus-host disease (Kondo et al. Nature Med. 3:409, 1997; Braun et al. J. Exp. Med. 183:657, 1996).

Binding of FasL to Fas, or cross-linking of Fas with agonistic antibodies, induces apoptosis (Nagata, S. Ann. Rev. Genet. 33:29, 1999) that results in cell death. Apoptosis is an active cellular death process characterized by distinctive morphological changes that include condensation of nuclear chromatin, cell shrinkage, nuclear disintegration, plasma membrane blebbing, and the formation of membrane-bound apoptotic bodies (Wyllie et al. Int. Rev. Cytol. 68:251, 1980). A molecular hallmark of apoptosis is degradation of cellular nuclear DNA into oligonucleosomal-length fragments as the result of activation of endogenous endonucleases (Wyllie A. Nature 284:555, 1980). Caspases (cysteine-aspartyl-specific proteases) have been implicated as key enzymes in the execution of the late stage of apoptosis. The binding of FasL to Fas activates a cascade of caspases via a FADD adaptor (Fas-associated protein with death domain), which leads to the cleavage of various cellular substrates and to DNA fragmentation (Nagata, S. Ann. Rev. Genet. 33:29, 1999).

Synthetic oligonucleotides are polyanionic sequences that can be internalized by cells (Vlassov et al. Biochim. Biophys. Acta 1197:95, 1994) and bind selectively to nucleic acids (Wagner, R. Nature: 372:333, 1994), to specific cellular proteins (Bates et al. J. Biol. Chem. 274:26369, 1999) and to specific nuclear proteins (Scaggiante et al. Eur. J. Biochem. 252:207, 1998), and inhibit cell proliferation. Proliferation is the culmination of the progression of a cell through the cell cycle, resulting in the division of one cell into two cells. Alterations in cell cycle progression occur in all cancers and may result from over-expression of genes, mutation of regulatory genes, or abrogation of DNA damage checkpoints (Hochhauser D. Anti-Cancer Chemotherapeutic Agents 8:903, 1997).

Synthetic phosphorothioate oligonucleotides containing unmethylated CpG dinucleotides flanked by two 5' purine and two 3' pyrimidine (CpG motifs) are reported to induce the synthesis of cytokines by macrophages and B cells, to increase the activity of NK cells and cytotoxic T lymphocytes, and to enhance T-

Natl. Acad. Sci. USA93:2879, 1996; Lipford et al. Eur. J. Immunol. 27:2340, 1997). A 20 base synthetic CpG motif is reported to block Fas expression on activated B cells and to block apoptosis induced by anti-Fas monoclonal antibodies (Wang et al. Cell. Immunol. 180:162, 1997). Irradiation is reported to upregulate the expression of Fas on cancer cells (Sheard et al. Int. J. Cancer 73:757, 1997; Nishioka et al. Int. J. Mol. Med. 3:275, 1999).

The ability to modulate the Fas/FasL system has many clinical applications for use in diseases including, but not limited to, neoplastic autoimmune, degenerative and cardiovascular diseases. However, most prior Fas/FasL modulating agents have proven to be less than adequate in clinical applications. Moreover, many of these agents are inefficient, toxic or have significant adverse effects.

Therefore, there is a continuing need for novel compositions and methods that modulate the expression of Fas and FasL on cells. There is also a need for novel compositions and methods that modulate the efficacy of Fas and FasL modulatory agents on disease. There is also a need for novel compositions and methods that modulate the expression of Fas and FasL on cells in order to treat diseases in animals or humans associated with altered expression of Fas or FasL on cells.

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention fulfills these needs by providing a novel method, employing new compositions comprising a synthetic phosphodiester oligodeoxynucleotide (hereinafter, "sequence") selected from the group consisting of $(GG)_n$, $(GT)_n$, $a(GT)_nb$, $a(GA)_nb$, and $a(GC)_nb$, wherein n is an integer between 1 and 3, and a and b are independently either none or one or more As, Cs, Gs, or Ts, or combinations thereof, wherein the total number of bases in the composition is between 2 and 10, preferably 4 to 8, more preferably 5 to 7, and most preferably 6.

The present invention provides new uses for these compositions. This composition is combined with a pharmaceutically acceptable carrier, and is

FasL expression in the animal or the human. This composition is also combined with a pharmaceutically acceptable carrier, and is administered to an animal or a human having a disease in an amount effective to modulate Fas and FasL expression in order to treat the disease in the animal or the human. This composition is also administered to an animal or human to modulate the efficacy of Fas and FasL modulatory agents, comprising administration of the composition in an amount effective to modulate efficacy of Fas and FasL modulatory agents to modulate Fas and FasL, or to treat an animal or a human having a disease. Another new use for this composition of the present invention is to modulate, and preferentially potentiate, the efficacy of a therapeutic agent to treat a disease, comprising administration of the composition in a pharmaceutically acceptable carrier, optionally in combination with a therapeutic agent, in an amount effective to modulate efficacy of the therapeutic agent administered to an animal or a human. The compositions of the present invention may be administered at any time before, during, or after administration of the therapeutic agent, in order to modulate the efficacy of the therapeutic agent. The compositions of the present invention may also be administered *in vitro*, for example to animal or human cells or tissues.

In a preferred embodiment, the composition of the present invention comprises a sequence selected from the group consisting of $(GG)_n$, $(GT)_n$, $a(GT)_nb$, $a(GA)_nb$, and $a(GC)_nb$, wherein n is an integer between 1 and 3, and a and b are independently either none or one or more As, Cs, Gs, or Ts, or combinations thereof provided the total number of bases in the composition is 6. In another preferred embodiment, the composition of the present invention comprises this sequence of 6 bases in combination with a pharmaceutically acceptable carrier. In yet another preferred embodiment, the composition of the present invention comprises this sequence of 6 bases in combination with a therapeutic agent and a pharmaceutically acceptable carrier. These compositions may be used in any of the methods described in the preceding paragraphs and throughout the specification.

The unexpected and surprising ability of the sequences of the present

unfulfilled need in the medical arts and provides an important benefit for animals, including humans.

Accordingly, an object of the present invention is to provide a new composition comprising a synthetic phosphodiester oligodeoxynucleotide (hereinafter, "sequence") selected from the group consisting of $(GG)_n$, $(GT)_n$, $a(GT)_nb$, $a(GA)_nb$, and $a(GC)_nb$, wherein n is an integer between 1 and 3, and a and b are independently either none or one or more As, Cs, Gs, or Ts, or combinations thereof, wherein the total number of bases in the composition is 2 to 10.

Another object of the present invention is to provide a new composition comprising a synthetic phosphodiester oligodeoxynucleotide (hereinafter, "sequence") selected from the group consisting of $(GG)_n$, $(GT)_n$, $a(GT)_nb$, $a(GA)_nb$, and $a(GC)_nb$, wherein n is an integer between 1 and 3, and a and b are independently either none or one or more As, Cs, Gs, or Ts, or combinations thereof, wherein the total number of bases in the composition is 4 to 8.

Yet another object of the present invention is to provide a new composition comprising a synthetic phosphodiester oligodeoxynucleotide (hereinafter, "sequence") selected from the group consisting of $(GG)_n$, $(GT)_n$, $a(GT)_nb$, $a(GA)_nb$, and $a(GC)_nb$, wherein n is an integer between 1 and 3, and a and b are independently either none or one or more As, Cs, Gs, or Ts, or combinations thereof, wherein the total number of bases in the composition is 5 to 7.

Another object of the present invention is to provide a new composition comprising a synthetic phosphodiester oligodeoxynucleotide (hereinafter, "sequence") selected from the group consisting of $(GG)_n$, $(GT)_n$, $a(GT)_nb$, $a(GA)_nb$, and $a(GC)_nb$, wherein n is an integer between 1 and 3, and a and b are independently either none or one or more As, Cs, Gs, or Ts, or combinations thereof, wherein the total number of bases in the composition is 6.

Yet another object of the present invention is to provide novel compositions comprising any of the sequences described herein, in combination with a pharmaceutically acceptable carrier.

Another object of the present invention is to provide novel compositions comprising any of the sequences described herein, in combination with a therapeutic agent and a pharmaceutically acceptable carrier.

Yet another object of the present invention is to provide for the use of any of the novel compositions described herein for the manufacture of a medicament.

Still another object of the present invention is to provide new uses for the compositions of the present invention.

Yet another object of the present invention is to provide a method to modulate the Fas expression on cells.

Another object of the present invention is to provide a method to modulate FasL expression on cells.

Still another object of the present invention is to provide a method to modulate the Fas expression on immune cells.

Another object of the present invention is to provide a method to modulate FasL expression on immune cells.

Yet another object of the present invention is to provide a method to modulate Fas expression on cancer cells.

Another object of the present invention is to provide a method to modulate FasL expression on cancer cells.

Another object of the present invention is to provide a method to treat a disease in an animal, including a human.

Yet another object of the present invention is to provide a method to treat a neoplastic disease.

Still another object of the present invention is to provide a method to treat an autoimmune disease.

Another object of the present invention is to provide a method to treat an inflammatory disease.

Yet another object of the present invention is to provide a method to treat a proliferative disease

Another object of the present invention is to provide a method to treat a lymphoproliferative disease.

Yet another object of the present invention is to provide a method to treat a degenerative disease.

Still another object of the present invention is to provide a method to treat a neurodegenerative disease.

Another object of the present invention is to provide a method to treat a cardiovascular disease

Yet another object of the present invention is to provide a method to treat a graft rejection.

Another object of the present invention is to provide a method effective to treat an infection.

Yet another object of the present invention is to provide a method that modulates the effect of a therapeutic agent to treat disease.

Yet another object of the present invention is to provide a method that potentiates the effect of a therapeutic agent to treat disease.

Still another object of the present invention is to provide a method that potentiates the effect of a Fas modulating agent.

Another object of the present invention is to provide a method that potentiates the effect of a FasL modulating agent.

Yet another object of the present invention is to provide a method that potentiates the effect of an anti-neoplastic agent.

Another object of the present invention is to provide a method that potentiates the effect of an immunostimulatory agent.

Still another object of the present invention is to provide a method that potentiates the effect of an immunosuppressive agent.

Another object of the present invention is to provide a method that potentiates the effect of an anti-inflammatory agent.

It is another object of the present invention to provide a composition that is simple to prepare.

Another object of the present invention is to provide a composition that is minimally toxic to the recipient.

These and other objects, features and advantages of the present invention will become apparent after a review of the following detailed description of the disclosed embodiment and the appended claims.

DETAILED DESCRIPTION

The present invention fulfills these needs by providing new compositions and new methods of using these compositions. The present compositions comprise a synthetic phosphodiester oligodeoxynucleotide (hereinafter, "sequence") selected from the group consisting of $(GG)_n$, $(GT)_n$, $a(GT)_nb$, $a(GA)_nb$, and $a(GC)_nb$, wherein n is an integer between 1 and 3, and a and b are independently either none or one or more As, Cs, Gs, or Ts, or combinations thereof, wherein the total number of bases in the composition is between 2 and 10, preferably 4 to 8, more preferably 5 to 7, and most preferably 6. The compositions of the present invention further comprise any of the sequences described herein in combination with a pharmaceutically acceptable carrier. The compositions of the present invention further comprise any of the sequences described herein in combination with a therapeutic agent and a pharmaceutically acceptable carrier.

The present invention provides new uses for these novel compositions. This composition is combined with a pharmaceutically acceptable carrier, and is administered to an animal or a human an amount effective to modulate Fas and FasL expression in the animal or the human. This composition is also combined with a pharmaceutically acceptable carrier, and is administered to an animal or a human having a disease in an amount effective to modulate Fas and FasL expression in order to treat the disease in the animal or the human. This composition is also administered to an animal or human to modulate the efficacy of Fas and FasL modulatory agents, comprising administration of the composition in an amount effective to modulate efficacy of Fas and FasL modulatory agents to modulate Fas and FasL, or to treat an animal or a human having a disease. Another new use for this composition of the present invention is to modulate, and preferentially potentiate, the efficacy of a therapeutic agent to treat a disease,

carrier, optionally in combination with a therapeutic agent, in an amount effective to modulate efficacy of the therapeutic agent administered to an animal or a human. The composition of the present invention may be administered at any time before, during, or after administration of the therapeutic agent, in order to modulate the efficacy of the therapeutic agent.

In a preferred embodiment the composition of the present invention comprises a sequence selected from the group consisting of $(GG)_n$, $(GT)_n$, $a(GT)_nb$, $a(GA)_nb$, and $a(GC)_nb$, wherein n is an integer between 1 and 3, and a and b are independently either none or one or more As, Cs, Gs, or Ts, or combinations thereof provided the total number of bases in the composition is 6. In another preferred embodiment, the composition of the present invention comprises this sequence of 6 bases in combination with a pharmaceutically acceptable carrier. In yet another preferred embodiment, the composition of the present invention comprises this sequence of 6 bases in combination with a therapeutic agent and a pharmaceutically acceptable carrier. These compositions may be used in any of the methods described in this patent application.

As used herein the word "sequence" refers to a synthetic phosphodiester oligodeoxynucleotide comprised of adenine (A), cytosine (C), guanine (G) and thymine (T), with a total number of bases of 2 to 10, preferably 4 to 8, more preferably 5 to 7 and most preferably 6.

As used herein, the word "expression" refers to the cell surface concentration of Fas or of FasL.

As used herein, the words "response" refers to upregulation (increase) or downregulation (decrease) of Fas or of Fas L expression.

As used herein, the word "modulates" refers to changes in the expression of Fas or of FasL. Such changes include upregulation and downregulation of Fas or of FasL expression. The word modulate is also employed to describe the ability of the novel sequences of the present invention to modulate the efficacy of therapeutic agents, including Fas and FasL modulating agents, to treat disease or to modulate Fas or FasL expression.

As used herein, the phrases "therapeutically effective", "effective amount" and "amount effective to" refer to an amount of a sequence effective to modulate the expression of Fas or of FasL.

As used herein, the word "disease" refers to a condition wherein bodily health is impaired.

As used herein, the phrase "therapeutic agent" is any agent approved by a regulatory agency of a country or a state government or listed in the U.S. Pharmacopoeia or other generally recognized pharmacopoeia for use to treat a disease in an animal, including a human.

As used herein, the word "antineoplastic" refers to preventing the development, maturation, proliferation or spread of cancer cells

As used herein, the word "potentiates" refers to a degree of synergism that is greater than additive.

As used herein, the word "synergism" refers to the coordinated action of two or more agents.

Administration of an effective amount of a sequence of the present invention to an animal, including a human, is a therapeutic treatment that prevents, treats or eliminates a disease including, but not limited to, neoplastic, autoimmune, proliferative, lymphoproliferative, degenerative, and cardiovascular disease; infection; inflammation; and, graft, tissue and cell rejection.

Compositions comprising one or more sequences and a pharmaceutically acceptable carrier are prepared by uniformly and intimately bringing into association the sequence and the pharmaceutically acceptable carrier. Compositions comprising one or more sequences, a therapeutic agent and a pharmaceutically acceptable carrier are prepared by uniformly and intimately bringing into association the sequence, the therapeutic agent and the pharmaceutically acceptable carrier. Pharmaceutically acceptable carriers include liquid carriers, solid carriers or both. Liquid carriers are aqueous carriers, non-aqueous carriers or both and include, but are not limited to, solutions, suspensions and emulsions. Emulsions include, but are not limited to, oil emulsions, water in oil emulsions, water-in-oil-in-water emulsions, site-specific emulsions, long-

carriers are biological carriers, chemical carriers or both and include, but are not limited to, viral vector systems, plasmids, particles, microparticles, nanoparticles, microspheres, nanospheres, bacterial cell walls, minipumps, and biodegradable or non-biodegradable natural or synthetic polymers that allow for sustained release of the sequences.

Preferred aqueous carriers include, but are not limited to, water, saline and pharmaceutically acceptable buffers. Preferred non-aqueous carriers include, but are not limited to, a mineral oil or a neutral oil including, but not limited to, a diglyceride, a triglyceride, a phospholipid, a lipid, an oil and mixtures thereof, wherein the oil contains an appropriate mix of polyunsaturated and saturated fatty acids. Optionally, stabilizing agents and excipients may be included regardless of the pharmaceutically acceptable carrier used to present the sequence to the cells.

The therapeutic effectiveness of a sequence may be increased by methods including, but not limited to, chemically modifying the base, sugar or phosphate backbone, chemically supplementing or biotechnologically amplifying the sequences using bacterial plasmids containing the appropriate sequences, complexing the sequences to biological or chemical carriers or coupling the sequences to tissue-type or cell-type directed ligands or antibodies.

The composition of the present invention further comprises a composition comprising a sequence and a therapeutic agent, wherein, when the sequence and the therapeutic agent are combined with a pharmaceutically acceptable carrier and administered to an animal or human having a disease. The sequence modulates and preferentially potentiates the effect of the therapeutic agent on the disease.

Therapeutic agents include, but not limited to, anti-neoplastic, anti-inflammatory, anti-autoimmune, anti-degenerative, Fas modulating and FasL modulating agents, or any combination thereof, and radiation therapy, or a combination of radiation therapy with therapeutic agents. These therapeutic agents include, but are not limited to, biologicals, drugs, chemotherapeutic drugs, immunostimulants, immunomodulators, immunotherapeutics, anti-virals, anti-infectives, antibiotics, cytokines, antigens, antibodies, nucleic acids, vaccines, aptabases, nucleic acids, antisense nucleic acids, telomerase inhibitors, caspase

biologically engineered and chemically synthesized agents, and agents that target cell death molecules for activation or inactivation.

Chemotherapeutic drugs include, but are not limited to, DNA damaging, DNA-alkylating, DNA-cross-linking, anti-tumor antibiotic, topoisomerase inhibiting, purine inhibiting, pyrimidine inhibiting, microtubule stabilizing, microtubule destabilizing, anti-metabolic, hormone antagonist, protein kinase inhibiting, HMG-CoA inhibiting, metaloproteinase inhibiting, CDK inhibiting, cyclin inhibiting, angiogenesis inhibiting, differentiation enhancing and molecular biologically modified viral, bacterial and extotoxic agents.

Routes of administration include, but are not limited to, oral, topical, subcutaneous, transdermal, subdermal, intra-muscular, intra-peritoneal, intra-vesical, intra-articular, intra-prostatic, intra-arterial, intra-venous, intra-dermal, intra-cranial, intra-lesional, intra-tumoral, intra-ocular, intra-pulmonary, intra-spinal, placement within cavities of the body, nasal inhalation and impression into skin. It is to be understood that administration of the compositions of the present invention may occur *in vivo*, *ex vivo* or *in vitro*. For example, the compositions of the present invention may be administered to animal or human cells or tissues *in vitro*. Appropriate doses for in vitro administration are about 1 nM to 1 mM, preferably about 10 nM to 100 μM, and more preferably about 100 nM to 10 μM.

Depending on the route of administration, the volume per dose is preferably about 0.001 to 100 ml per dose, more preferably about 0.01 to 50 ml per dose and most preferably about 0.1 to 30 ml per dose. A sequence in a pharmaceutically acceptable carrier, or sequence plus therapeutic agent in a pharmaceutically acceptable carrier, can be administered in a single dose treatment, in multiple dose treatments or continuously infused on a schedule and over a period of time appropriate to the disease being treated, the condition of the recipient and the route of administration. Moreover, the therapeutic agent can be administered before, concurrently with, or after administration of the sequence.

Preferably, the amount of sequence administered per dose is from about 0.001 to 100 mg/kg, more preferably from about 0.01 to 10 mg/ml and most preferably from about 0.1 to 5 mg/kg. A sequence plus a chemotherapeutic agent

and preferentially potentiate, the effect of the therapeutic agent. Preferably, the amount of therapeutic agent administered per dose is from about 0.001 to 1000 mg/m^2 or from about 0.01 to 1000 mg/kg, more preferably from about 0.01 to 500 mg/m^2 or about 0.01 to 500 mg/kg and most preferably from about 0.1 to 100 mg/m^2 or about 0.1 to 100 mg/kg. In one embodiment of a therapeutic agent, anti-Fas antibodies are employed and are administered in a dose of from about 0.003 to about 0.3 mg/kg, preferably 0.01 to about 0.1 mg/kg.

The particular sequence and the particular therapeutic agent administered, the amount per dose, the dose schedule and the route of administration should be decided by the practitioner using methods known to those skilled in the art and will depend on the type of disease, the severity of the disease, the location of the disease and other clinical factors such as the size, weight and physical condition of the recipient. In addition, *in vitro* assays may optionally be employed to help identify optimal ranges for sequence and for sequence plus therapeutic agent administration.

The following examples will serve to further illustrate the present invention without, at the same time, however, constituting any limitation thereof. On the contrary, it is to be clearly understood that resort may be had to various other embodiments, modifications, and equivalents thereof which, after reading the description herein, may suggest themselves to those skilled in the art without departing from the spirit of the invention.

Example 1

Preparation of sequences

Phosphodiester sequences were prepared by Sigma-Genosys (Woodlands, TX) using Abacus Segmented Synthesis Technology. Unless stated otherwise, the sequences were dispersed in autoclaved deionized water or in a pharmaceutically acceptable buffer such as, but not limited to, saline immediately prior to use.

Example 2

Cells

All cell lines were obtained from the American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD) and were cultured in the medium recommended by the ATCC. Table 1 shows the cell lines, their origins and their properties.

Table 1

Cell lines

CELL LINE	ORIGIN	PROPERTIES
JURKAT	Human T cell leukemia	Suspension tumor model Atypical multi-drug resistance associated with p190-MRP protein
UMUC-3	Human bladder cancer	P-glycoprotein overexpression
T-24	Human bladder cancer	p53 mutated
LNCaP	Human prostate cancer	Solid tumor model; metastatic TGF-beta 1 receptor-negative; androgen-dependent
OVCAR-3	Human ovarian cancer	Solid tumor model; metastatic p53 mutated; p21/waf-1/Cip-1 deleted
SK-OV-3	Human ovarian cancer	Solid tumor model; metastatic TGF-beta 1 receptor-negative; androgen-dependent
MCF-7	Human breast cancer	Solid tumor model; non-metastatic Caspase 3-negative; estrogen-depend

Peripheral blood mononuclear cells (hereinafter, "PBMCs") were isolated from human blood by Ficoll-Hypaque (Amersham Pharmacia Biotech, Baie d'Urfée, Québec, Canada) density gradient centrifugation.

Cancer cells and PBMCs were seeded in 6 well flat-bottom microplates and were maintained at 37°C in a 5% CO_2 atmosphere. Unless stated otherwise, 2 X 10^5 cells/ml were incubated for 48 h with 0 µg/ml (control) or 100 µg/ml (5.5 µM) (treated) of the sequences.

Example 3

Measurement of Fas and of FasL at the cell surface

Fas and FasL expression were measured by flow cytometry using anti-Fas FITC-conjugated monoclonal antibodies and anti-FasL PE-conjugated monoclonal antibodies in a FACScalibur Flow Cytometer (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) using the CELLQuest program (Becton Dickinson).

Results are expressed as percentage (%) increase in the expression of Fas

Example 4

Modulation of Fas and FasL on Jurkat leukemia T cells

Jurkat human leukemia T cells are an atypical multi-drug resistant human suspension tumor cell model. Jurkat T cells were incubated with the 6 base sequences shown in Table 2.

Table 2

Percentage increase of Fas and of FasL on Jurkat human leukemia T cells

SEQUENCE	% INCREASE	
	Fas	FasL
TGTGTG SEQ ID NO:1 - (6 bases)	52	93
GTGTGT SEQ ID NO:2 - (6 bases)	52	43
TTTGTT SEQ ID NO:3 - (6 bases)	258	497
GGTGGG SEQ ID NO:4 - (6 bases)	61	22
GGGTGG SEQ ID NO:5 - (6 bases)	150	145
TTGTTT SEQ ID NO:6 - (6 bases)	126	140
AAGTAA SEQ ID NO:7 - (6 bases)	-4	-21
CCGTCC SEQ ID NO:8 - (6 bases)	107	151
TGGTTG SEQ ID NO:9 - (6 bases)	362	952
ATGTAT SEQ ID NO:10 - (6 bases)	246	393
CTGTCT SEQ ID NO:11 - (6 bases)	203	413
TCGTTC SEQ ID NO:12 - (6 bases)	121	75
GGTTGG SEQ ID NO:13 - (6 bases)	99	86
GGAAGG SEQ ID NO:14 - (6 bases)	67	88
GGCCGG SEQ ID NO:15 - (6 bases)	75	41
GGGGGG SEQ ID NO:16 - (6 bases)	118	49
GGGAGG SEQ ID NO:17 - (6 bases)	77	91
GGGCGG SEQ ID NO:18 - (6 bases)	208	356

Example 5

Modulation of Fas and of FasL on PBMCs

PBMCs were incubated with the 6 base sequences shown in Table 3.

Table 3

Percentage increase of Fas and of FasL on PBMCs

SEQUENCE	% INCREASE	
	Fas	FasL
TGTGTG SEQ ID NO:1 - (6 bases)	126	260
GTGTGT SEQ ID NO:2 - (6 bases)	94	99
TTTGTT SEQ ID NO:3 - (6 bases)	1165	1528
GGTGGG SEQ ID NO:4 - (6 bases)	57	59
GGGTGG SEQ ID NO:5 - (6 bases)	3	-20
TTGTTT SEQ ID NO:6 - (6 bases)	338	441
AAGTAA SEQ ID NO:7 - (6 bases)	13	-26
CCGTCC SEQ ID NO:28 - (6 bases)	1046	1147
TGGTTG SEQ ID NO:9 - (6 bases)	1043	1322
ATGTAT SEQ ID NO:10 - (6 bases)	377	457
CTGTCT SEQ ID NO:11 - (6 bases)	310	476
TCGTTC SEQ ID NO:12 - (6 bases)	597	847
GGTTGG SEQ ID NO:13 - (6 bases)	-3	-32
GGAAGG SEQ ID NO:14 - (6 bases)	112	162
GGCCGG SEQ ID NO:15 - (6 bases)	6	-29
GGGGGG SEQ ID NO:16 - (6 bases)	38	42
GGGAGG SEQ ID NO:17 - (6 bases)	266	356
GGGCGG SEQ ID NO:18 - (6 bases)	523	850

Example 6

Modulation of Fas and of FasL on T-24 bladder cancer cells

T-24 bladder cancer cells are a p53 mutated human cell line T-24 cells (1.0×10^5 cells/ml) were incubated with the 6 base sequences shown in Table 4.

Table 4

Percentage increase of Fas and of FasL on T-24 bladder cancer cells

SEQUENCE	% INCREASE	
	Fas	FasL
TGTGTG SEQ ID NO:1 - (6 bases)	84	213
GTGTGT SEQ ID NO:2 - (6 bases)	93	77
TTTGTT SEQ ID NO:3 - (6 bases)	279	549
GGTGGG SEQ ID NO:4 - (6 bases)	106	29
GGGTGG SEQ ID NO:5 - (6 bases)	80	13
TTGTTT SEQ ID NO:6 - (6 bases)	116	152
AAGTAA SEQ ID NO:7 - (6 bases)	16	-10
CCGTCC SEQ ID NO:8 - (6 bases)	282	459
TGGTTG SEQ ID NO:9 - (6 bases)	180	397
ATGTAT SEQ ID NO:10 - (6 bases)	90	150
CTGTCT SEQ ID NO:11 - (6 bases)	107	165
TCGTTC SEQ ID NO:12 - (6 bases)	105	74
GGTTGG SEQ ID NO:13 - (6 bases)	75	25
GGAAGG SEQ ID NO:14 - (6 bases)	46	14
GGCCGG SEQ ID NO:15 - (6 bases)	56	18
GGGGGG SEQ ID NO:16 - (6 bases)	35	-14
GGGAGG SEQ ID NO:17 - (6 bases)	124	75
GGGCGG SEQ ID NO:18 - (6 bases)	139	205

Example 7

Modulation of Fas and of FasL on UMUC-3 bladder cancer cells

UMUC-3 bladder cancer cells are a P-glycoprotein overexpressing human cell line. UMUC-3 cells (1.0 X 10^5 cells/ml) were incubated with the 6 base sequences shown in Table 5.

Table 5

Percentage increase of Fas and of FasL on UMUC-3 bladder cancer cells

SEQUENCE	% INCREASE	
	Fas	FasL
TGTGTG SEQ ID NO:1 - (6 bases)	72	112
GTGTGT SEQ ID NO:2 - (6 bases)	72	154
TTTGTT SEQ ID NO:3 - (6 bases)	108	231
GGTGGG SEQ ID NO:4 - (6 bases)	62	113
GGGTGG SEQ ID NO:5 - (6 bases)	67	143
TTGTTT SEQ ID NO:6 - (6 bases)	57	132
AAGTAA SEQ ID NO:7 - (6 bases)	6	-1
CCGTCC SEQ ID NO:8 - (6 bases)	55	149
TGGTTG SEQ ID NO:9 - (6 bases)	143	300
ATGTAT SEQ ID NO:10 - (6 bases)	42	95
CTGTCT SEQ ID NO:11 - (6 bases)	45	156
TCGTTC SEQ ID NO:12 - (6 bases)	47	112
GGTTGG SEQ ID NO:13 - (6 bases)	47	98
GGAAGG SEQ ID NO:14 - (6 bases)	1	8
GGCCGG SEQ ID NO:15 - (6 bases)	23	58
GGGGGG SEQ ID NO:16 - (6 bases)	-5	10
GGGAGG SEQ ID NO:17 - (6 bases)	39	106
GGGCGG SEQ ID NO:18 - (6 bases)	72	250

Example 8

Modulation of Fas and of FasL on OVCAR-3 ovarian cancer cells

OVCAR-3 ovarian cancer cells are a p53 mutated, p21/waf-1/Cip deleted, metastatic human solid tumor model. OVCAR-3 cells were incubated with the 6 base sequences shown in Table 6.

Table 6

Percentage increase of Fas and of FasL on OVCAR-3 ovarian cancer cells

SEQUENCE	% INCREASE	
	Fas	FasL
TGTGTG SEQ ID NO:1 - (6 bases)	64	70
GTGTGT SEQ ID NO:2 - (6 bases)	77	69
TTTGTT SEQ ID NO:3 - (6 bases)	193	341
GGTGGG SEQ ID NO:4 - (6 bases)	41	14
GGGTGG SEQ ID NO:5 - (6 bases)	43	9
TTGTTT SEQ ID NO:6 - (6 bases)	65	98
AAGTAA SEQ ID NO:7 - (6 bases)	16	-2
CCGTCC SEQ ID NO:8 - (6 bases)	83	95
TGGTTG SEQ ID NO:9 - (6 bases)	221	270
ATGTAT SEQ ID NO:10 - (6 bases)	93	114
CTGTCT SEQ ID NO:11 - (6 bases)	52	93
TCGTTC SEQ ID NO:12 - (6 bases)	126	224
GGTTGG SEQ ID NO:13 - (6 bases)	22	10
GGAAGG SEQ ID NO:14 - (6 bases)	15	1
GGCCGG SEQ ID NO:15 - (6 bases)	19	-2
GGGGGG SEQ ID NO:16 - (6 bases)	-1	7
GGGAGG SEQ ID NO:17 - (6 bases)	49	59
GGGCGG SEQ ID NO:18 - (6 bases)	65	142

Example 9

Modulation of Fas and of FasL on SK-OV 3 ovarian cancer cells

SK-OV-3 ovarian cancer cells are a p53 mutated, p21/waf-1/Cip deleted, $p15^{ink4B}$,$p16^{ink4}$ deleted metastatic human solid tumor model. SK-OV 3 cells (1.0×10^5 cells/ml) were incubated with the 6 base sequences shown in Table 7.

Table 7

Percentage increase of Fas and FasL on SK-OV-3 ovarian cancer cells

SEQUENCE	% INCREASE	
	Fas	FasL
TGTGTG SEQ ID NO:1 - (6 bases)	49	37
GTGTGT SEQ ID NO:2 - (6 bases)	60	24
TTTGTT SEQ ID NO:3 - (6 bases)	108	103
GGTGGG SEQ ID NO:4 - (6 bases)	-1	-17
GGGTGG SEQ ID NO:5 - (6 bases)	3	-31
TTGTTT SEQ ID NO:6 - (6 bases)	41	24
AAGTAA SEQ ID NO:7 - (6 bases)	-12	-22
CCGTCC SEQ ID NO:8 - (6 bases)	58	32
TGGTTG SEQ ID NO:9 - (6 bases)	63	53
ATGTAT SEQ ID NO:10 - (6 bases)	34	33
CTGTCT SEQ ID NO:11 - (6 bases)	15	26
TCGTTC SEQ ID NO:12 - (6 bases)	9	-3
GGTTGG SEQ ID NO:13 - (6 bases)	16	-3
GGAAGG SEQ ID NO:14 - (6 bases)	-15	-31
GGCCGG SEQ ID NO:15 - (6 bases)	0	-27
GGGGGG SEQ ID NO:16 - (6 bases)	-14	-28
GGGAGG SEQ ID NO:17 - (6 bases)	-6	-16
GGGCGG SEQ ID NO:18 - (6 bases)	29	42

Example 10

Modulation of Fas and of FasL on LNCaP prostate cancer cells

LNCaP prostate cancer cells are a TGF-beta 1 receptor negative, androgen-independent, metastatic human solid tumor model. LNCaP cells were incubated with the 6 base sequences shown in Table 8.

Table 8

Percentage increase of Fas and of FasL on LNCaP prostate cancer cells

SEQUENCE	% INCREASE	
	Fas	FasL
TGTGTG SEQ ID NO:1 - (6 bases)	29	40
GTGTGT SEQ ID NO:2 - (6 bases)	34	5
TTTGTT SEQ ID NO:3 - (6 bases)	199	344
GGTGGG SEQ ID NO:4 - (6 bases)	21	8
GGGTGG SEQ ID NO:5 - (6 bases)	15	-1
TTGTTT SEQ ID NO:6 - (6 bases)	40	73
AAGTAA SEQ ID NO:7 - (6 bases)	0	-16
CCGTCC SEQ ID NO:8 - (6 bases)	0	311
TGGTTG SEQ ID NO:9 - (6 bases)	184	241
ATGTAT SEQ ID NO:10 - (6 bases)	44	68
CTGTCT SEQ ID NO:11 - (6 bases)	17	55
TCGTTC SEQ ID NO:12 - (6 bases)	111	171
GGTTGG SEQ ID NO:13 - (6 bases)	23	-3
GGAAGG SEQ ID NO:14 - (6 bases)	26	-4
GGCCGG SEQ ID NO:15 - (6 bases)	12	-4
GGGGGG SEQ ID NO:16 - (6 bases)	6	13
GGGAGG SEQ ID NO:17 - (6 bases)	48	55
GGGCGG SEQ ID NO:18 - (6 bases)	55	126

Example 11

Modulation of Fas and of FasL on MCF-7 breast cancer cells

MCF-7 human breast cancer cells are a caspase-3 negative, estrogen-dependent human solid tumor model. MCF-7 cells (1 x 10^5 cells/ml) were incubated with the 6 base sequences shown in Table 9.

Table 9

Percentage increase of Fas and of FasL on MCF-7 breast cancer cells

SEQUENCE	% INCREASE	
	Fas	FasL
TGTGTG SEQ ID NO:1 - (6 bases)	122	121
GTGTGT SEQ ID NO:2 - (6 bases)	155	135
TTTGTT SEQ ID NO:3 - (6 bases)	361	528
GGTGGG SEQ ID NO:4 - (6 bases)	106	110
GGGTGG SEQ ID NO:5 - (6 bases)	93	81
TTGTTT SEQ ID NO:6 - (6 bases)	143	159
AAGTAA SEQ ID NO:7 - (6 bases)	12	21
CCGTCC SEQ ID NO:8 - (6 bases)	200	322
TGGTTG SEQ ID NO:9 - (6 bases)	255	481
ATGTAT SEQ ID NO:10 - (6 bases)	129	214
CTGTCT SEQ ID NO:11 - (6 bases)	73	128
TCGTTC SEQ ID NO:12 - (6 bases)	56	98
GGTTGG SEQ ID NO:13 - (6 bases)	99	83
GGAAGG SEQ ID NO:14 - (6 bases)	62	84
GGCCGG SEQ ID NO:15 - (6 bases)	63	78
GGGGGG SEQ ID NO:16 - (6 bases)	-7	18
GGGAGG SEQ ID NO:17 - (6 bases)	127	194
GGGCGG SEQ ID NO:18 - (6 bases)	165	322

Example 12

Inhibition of Fas expression on Jurkat human leukemia T cells by cycloheximide

Jurkat human leukemia T cells were pre-incubated with 0.0 μg/ml (- CHX) or with 0.1 μg/ml of cycloheximide (+ CHX) for 1 h. Ten μg/ml or 100 μg/ml of 6 base SEQ ID NO:5 (GGGTGG) was added to both the - CHX and + CHX cells and the incubation was continued for 24 hours and for 48 hours (Table 10).

Table 10

Percentage increase of Fas on Jurkat human leukemia T cells

SEQUENCE	% INCREASE			
	24 h		48 h	
	- CHX	+ CHX	- CHX	+ CHX
GGGTGG SEQ ID NO:5 - (6 bases) 10 µg/ml	63	5	91	51
GGGTGG SEQ ID NO:5 -(6 bases) 100 µg/ml	62	22	150	115

As shown in Table 10, SEQ ID NO:5 upregulated Fas expression on Jurkat T cells. With 10 µg/ml of SEQ ID NO:5, cycloheximide decreased Fas expression 92% after 24 h and 44% after 48 h. With 100 µg/ml of SEQ ID NO:5 cycloheximide decreased Fas expression 65% after 24 h and 23% after 48 h. These data suggest that 6 base SEQ ID NO:5 stimulates de novo synthesis of Fas.

Example 13

Synergistic effect of SEQ ID No:5 (GGGTGG) and agonistic anti-Fas antibodies on inhibition of UMUC-3 bladder cancer cell proliferation

UMUC-3 bladder cancer cells were incubated for 48 hours with 0.00, 0.02 and 0.20 µg/ml of agonistic anti-Fas monoclonal antibodies (clone CH-11: Coulter-Immunotech, Marseille, France) + 0 or 10 µg/ml of SEQ ID NO:5. Cell proliferation was measured using dimethylthiazol-diphenyltetrazolium (MTT) reduction (Mosman et al. J. Immunol. Methods 65:55, 1983). MTT was measured at a wavelength of 570 nm using a multiplate spectrophotometer reader (ELX800, Bio-TEK Instruments Inc., Winooski, VT).

Table 11

Inhibition of UMUC-3 bladder cancer cell proliferation

SEQUENCE	% INHIBITION		
	Anti-Fas antibodies		
	0.0 µg/ml	0.02 µg/ml	0.2 µg/ml
No sequence	0	7	17
GGGTGG SEQ ID NO:5 - (6 bases) 10 µg/ml	23	38	44

As shown in Table 11, 6 base SEQ ID NO:5 potentiated the inhibitory activity of 0.02 and 0.2 µg/ml of agonistic anti-Fas antibodies on UMUC-3 cell proliferation.

Example 14

Additive effect of SEQ ID NO:5 (GGGTGG) and agonistic anti-Fas antibodies on inhibition of Jurkat leukemia T cell proliferation.

Jurkat T leukemia cells were incubated for 48 hours with 0.00, 0.02 and 0.20 µg/ml of agonistic anti-Fas monoclonal antibodies (clone CH-11) + 0 and 10 µg/ml of SEQ ID NO:5. Cell proliferation was measured as in Example 13.

Table 12

Inhibition of Jurkat human leukemia T cell proliferation

SEQUENCE	% INHIBITION		
	Anti-Fas antibodies		
	0.0 µg/ml	0.02 µg/ml	0.2 µg/ml
No sequence	0	16	33
GGGTGG SEQ ID NO:5 - (6 bases) 10 µg/ml	16	28	48

As shown in Table 12, the effects of 6 base SEQ ID NO:5 and of 0.02 and 0.2 µg/ml of agonistic anti-Fas antibodies on Jurkat T cell proliferation were additive.

Example 15

Effect of 6 base sequences and agonistic anti-Fas antibodies on EL-4 murine T

EL-4 murine T lymphoma cells are implanted into C57/BL6 lpr/lpr (Fas negative mice). The mice are divided into 30 groups of 10 mice. On day 0, group 1 mice receive saline, group 2 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:5, group 3 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:16, group 4 receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:17, group 5 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:18, group 6 mice receive anti-Fas antibodies, group 7 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:5 + anti-Fas antibodies, group 8 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:16 + anti-Fas antibodies, group 9 receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:17 + anti-Fas antibodies, group 10 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:18 + anti-Fas antibodies. In these different groups, anti-Fas antibodies are administered at any dose in the range of about 0.003 to about 0.3 mg/kg. Group 1 mice have the most tumor mass, groups 2, 3, 4, 5 and 6 mice have less tumor mass than group 1 mice, and group 7, 8, 9 and 10 mice have the least tumor mass. The efficacy of the SEQ. ID NO:5, the SEQ. ID NO:16 and the SEQ. ID NO:17 is dose-dependent.

Example 16

Female (SJL/J x PL/J) F1 mice are injected subcutaneously in both femoral regions with an emulsion containing 0.5 mg of myelin basic protein (MBP) mixed with complete Freund's adjuvant. After 24 h, 400 ng of *Bordetella pertussis* toxin is administered intraperitoneally. On the day of onset (day 0), group 1 mice receive saline, group 2 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:5, group 3 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:16, group 4 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:17, group 5 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:18, group 6 mice receive anti-Fas antibodies, group 7 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:5 + anti-Fas antibodies, group 8 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:16 + anti-Fas antibodies, group 9 receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:17 + anti-Fas antibodies, group 10 mice receive 1, 10 or 100 mg/kg of SEQ. ID NO:18 + anti-Fas antibodies for 3 days by intracisternal administration (20 μg/day). In these different groups, anti-Fas antibodies are administered at any dose in the range of about 0.003 to about

group 1, 2, 3, 4 and 5 mice. Group 7, 8, 9 and 10 mice show the least progression of EAE. The efficacy of the SEQ. ID NO:5, the SEQ. ID NO:16 and the SEQ. ID NO:17 is dose-dependent.

CLAIMS

We claim:

1. A composition comprising a synthetic oligonucleotide sequence of 2 to 10 bases, selected from the group consisting of $(GG)_n$, $(GT)_n$, $a(GT)_nb$, $a(GA)_nb$, and $a(GC)_nb$, wherein n is an integer between 1 and 3, and a and b are independently either none or one or more As, Cs, Gs, or Ts, or combinations thereof.

2. The composition of Claim 1, wherein the sequence is 4 to 8 bases.

3. The composition of Claim 1, wherein the sequence is 5 to 7 bases.

4. The composition of Claim 1, wherein the sequence is 6 bases.

5. The composition of Claim 1, wherein the sequence is any one of SEQ ID NO: 1 to SEQ ID NO:18.

6. The composition of any one of Claims 1 to 5, further comprising a pharmaceutically acceptable carrier.

7. The composition of any one of Claims 1 to 5, further comprising a therapeutic agent.

8. A method of modulating Fas or FasL expression in an animal or a human comprising administration of any one of Claims 1 to 5 and a pharmaceutically acceptable carrier to the animal or the human in an amount effective to modulate Fas or FasL expression in the animal or the human.

9. A method of modulating efficacy of a therapeutic agent in an animal or human comprising administration of an effective amount of the composition of any one of Claims 1 to 7, before, concurrently with, or after administration of the therapeutic agent, wherein the amount is effective to modulate efficacy of the therapeutic agent.

10. The method of Claims 8 or 9, wherein the animal or human has a disease.

11. The method of Claim 10, wherein the disease is cancer.

12. The method of Claim 11, wherein the cancer is selected from the group consisting of ovarian, prostate, breast, bladder, and leukemia.

13. The method of Claim 10, wherein the disease is autoimmune

14. The method of Claim 8 or 9, wherein the animal or human has inflammation, infection, graft rejection, tissue rejection or cell rejection.

15. Use of any one of the compositions of Claims 1 to 5 in the manufacture of a medicament.

16. Use of any one of the compositions of Claims 1 to 7 for modulation of Fas or FasL expression in cells of an animal or a human, comprising administration to the animal or the human of any one of the compositions of Claims 1 to 7 in an amount effective to modulate Fas or FasL expression in the cells of the animal or the human.

17. Use of any one of the compositions of Claims 1 to 6 for modulation of efficacy of a therapeutic agent comprising administration to the animal or the human of any one of the compositions of Claims 1 to 6 in an amount effective to modulate efficacy of the therapeutic agent.

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
7 March 2002 (07.03.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/018593 A3

(51) International Patent Classification⁷: C12N 15/11, A61K 31/7088 // A61P 35/00, 37/06

(21) International Application Number: PCT/CA01/00845

(22) International Filing Date: 12 June 2001 (12.06.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/228,925	29 August 2000 (29.08.2000)	US
PCT/CA00/01467	12 December 2000 (12.12.2000)	CA
09/735,363	12 December 2000 (12.12.2000)	US
60/266,229	2 February 2001 (02.02.2001)	US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **BIONICHE LIFE SCIENCES INC.** [CA/CA]; P.O. Box 1570, Belleville, Ontario K8N 5J2 (CA).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **PHILLIPS, Nigel, C.** [CA/CA]; 101 Seigniory Avenue, Pointe-Claire, Quebec H9R 1J6 (CA). **FILION, Mario, C.** [CA/CA]; 1145 Jean de Brebeuf, Laval, Quebec H4P 2R2 (CA).

(74) Agent: **BERESKIN & PARR**; 40 King Street West, 40th Floor, Toronto, Ontario M5H 3Y2 (CA).

(81) Designated States *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
with international search report
before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

(88) Date of publication of the international search report: 12 December 2002

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/018593 A3

(54) Title: MODULATION OF FAS AND FASL EXPRESSION

(57) Abstract: A method employing a compositon comprising a 2 to 10 base synthetic oligonucleotide sequence selected from the group consisting of $(GG)_n$, $(GT)_n$, at $(GT)_n$b, a $(GA)_n$b, and a $(GC)_n$b, wherein n is an integer between 1 and 3, and a and b are independently either none or one or more As, Cs, Gs, or Ts, or combinations thereof, for modulation of Fas and FasL expression or for modulation of the efficacy of therapeutic agents. The composition is administered to an animal or human with a pharmaceutically acceptable carrier, and optionally with a therapeutic agent, in an amount effective to modulate Fas and FasL expression, to treat the disease, or to modulate efficacy of the therapeutic agent.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/CA 01/00845

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12N15/11 A61K31/7088 //A61P35/00,37/06

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07K C12N

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 97 20924 A (QUADRIFOGLIO FRANCO ;SAICOM S R L (IT); SCAGGIANTE BRUNA (IT)) 12 June 1997 (1997-06-12) abstract; claims ---	1-4,6
X	WO 96 23508 A (UNIV NEBRASKA) 8 August 1996 (1996-08-08) the whole document ---	1-4,6,7
X	WO 94 08053 A (IMBACH JEAN LOUIS ;BROWN DRIVER VICKIE L (US); VICKERS TIMOTHY A ()) 14 April 1994 (1994-04-14) tables 1,3,6,14,16 ---	1-4,6

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of box C. [X] Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
10 October 2002	18/10/2002

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Andres, S

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int ional Application No
PCT/CA 01/00845

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SCAGGIANTE BRUNA ET AL: "Human cancer cell lines growth inhibition by GTn oligodeoxyribonucleotides recognizing single-stranded DNA-binding proteins" EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, vol. 252, no. 2, 1 March 1998 (1998-03-01), pages 207-215, XP002168739 ISSN: 0014-2956 cited in the application	
A	SOLARY ERIC ET AL: "Role of the Fas/Fas-L system in the immune response to tumors and the resistance to cytotoxic drugs." BULLETIN DU CANCER (PARIS), vol. 85, no. 8, August 1998 (1998-08), pages 685-694, XP008008873 ISSN: 0007-4551	
A	READER S ET AL: "IDENTIFICATION OF NON-ANTISENSE PHOSPHODIESTER OLIGONUCLEOTIDES THAT INDUCE CELL CYCLE ARREST AND APOPTOSIS IN CANCER CELLS" CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 6, no. SUPPL, 2000, page 526 XP001002269 ISSN: 1078-0432	
A	MORASSUTTI C ET AL: "CORRELATION BETWEEN CYTOTOXIC EFFECT AND BINDING TO NUCLEAR PROTEINS OF OLIGOMERIC D(GT)N SEQUENCES IN HUMAN CANCER CCRF-CEM CELL LINE" MINERVA BIOTECNOLOGICA, vol. 7, no. 2, 1 June 1995 (1995-06-01), pages 176-181, XP000671788 ISSN: 1120-4826	
A	WO 99 03998 A (UNIV MICHIGAN ;NABEL GARY J (US)) 28 January 1999 (1999-01-28)	
E	WO 01 44465 A (FILION MARIO C ;BIONICHE LIFE SCIENCES INC (CA); PHILLIPS NIGEL C) 21 June 2001 (2001-06-21) the whole document	1-17

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA 01/00845

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

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

Although claims 8-17 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

2. [ ] Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No PCT/CA 01/00845

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 9720924	A	12-06-1997	IT	MI952539	A1	04-06-1997
			AU	1175497	A	27-06-1997
			WO	9720924	A1	12-06-1997
WO 9623508	A	08-08-1996	US	5643890	A	01-07-1997
			AU	4908096	A	21-08-1996
			WO	9623508	A1	08-08-1996
WO 9408053	A	14-04-1994	AT	222290	T	15-08-2002
			AU	668604	B2	09-05-1996
			AU	5167393	A	26-04-1994
			BR	1100614	A3	11-04-2000
			CA	2145664	A1	14-04-1994
			DE	69332206	D1	19-09-2002
			EP	0672193	A1	20-09-1995
			EP	1016715	A1	05-07-2000
			FI	951467	A	28-03-1995
			HU	70965	A2	28-11-1995
			JP	2818031	B2	30-10-1998
			JP	8500738	T	30-01-1996
			KR	172153	B1	01-02-1999
			NO	951191	A	28-03-1995
			NZ	256787	A	24-04-1997
			NZ	314251	A	28-05-1999
			US	5514577	A	07-05-1996
			WO	9408053	A1	14-04-1994
			US	5523389	A	04-06-1996
			US	5952490	A	14-09-1999
WO 9903998	A	28-01-1999	AU	8408798	A	10-02-1999
			AU	8492598	A	10-02-1999
			WO	9903998	A1	28-01-1999
			WO	9903999	A1	28-01-1999
WO 0144465	A	21-06-2001	AU	1847901	A	25-06-2001
			WO	0144465	A2	21-06-2001
			EP	1238070	A2	11-09-2002
			NO	20022820	A	08-08-2002
			US	2001041681	A1	15-11-2001
			US	2002091095	A1	11-07-2002
			AU	6886301	A	13-03-2002
			WO	0218593	A2	07-03-2002

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ 35/00	Ａ６１Ｐ 35/00		
Ａ６１Ｐ 37/02	Ａ６１Ｐ 37/02		
Ａ６１Ｐ 43/00	Ａ６１Ｐ 43/00	１０５	
Ｃ１２Ｎ 15/09	Ｃ１２Ｎ 15/00	Ａ	
// Ａ６１Ｋ 39/395	Ａ６１Ｋ 39/395	Ｎ	

(31)優先権主張番号 60/266,229
(32)優先日 平成13年2月2日(2001.2.2)
(33)優先権主張国 米国(US)

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 フィリップス，ニゲル シー.
カナダ エイチ９アール １ジェイ６ ケベック ポイントークレア セグニオリィ アベニュー １０１
(72)発明者 フィリオン，マリオ シー.
カナダ エイチ４ピー ２アール２ ケベック ラバル ジャン ド ブレビューフ １１４５

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 CA05 GA18 HA20
4C084 AA02 AA13 BA44 MA01 NA14 ZA012 ZA402 ZB022 ZB072 ZB112
ZB212 ZB262 ZB272 ZB322
4C085 AA14 CC32 EE01 GG01