(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2022-507218
(P2022-507218A)
(43)公表日　令和4年1月18日(2022.1.18)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*45/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ	*35/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｐ	*43/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	
Ａ６１Ｋ	*45/06 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/06		
Ａ６１Ｋ	*31/4439(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全16頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-525682(P2021-525682)
(86)(22)出願日　令和1年11月13日(2019.11.13)
(85)翻訳文提出日　令和3年5月26日(2021.5.26)
(86)国際出願番号　PCT/EP2019/081145
(87)国際公開番号　WO2020/099470
(87)国際公開日　令和2年5月22日(2020.5.22)
(31)優先権主張番号　62/767,215
(32)優先日　平成30年11月14日(2018.11.14)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　391008951
アストラゼネカ・アクチエボラーグ
ＡＳＴＲＡＺＥＮＥＣＡ　ＡＫＴＩＥＢＯＬＡＧ
スウェーデン国エスエー－１５１　８５　セーデルテイエ
(74)代理人　100106518
弁理士　松谷　道子
(74)代理人　100156144
弁理士　落合　康
(72)発明者　シダード，ジャスティン
アメリカ合衆国１５４３７デラウェア州　ウィルミントン、コンコード・パイク１８００
(72)発明者　ボイコ，スコット
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　癌を治療する方法

(57)【要約】
Ｍｃｌ－１依存性癌を治療する方法が本明細書に記載される。この方法は、癌がＢｆｌ－１ポジティブであるか否かを決定する工程と、癌がＢｆｌ－１ポジティブである場合、患者にＣＤＫ９の阻害剤を投与する工程とを含み得る。

C

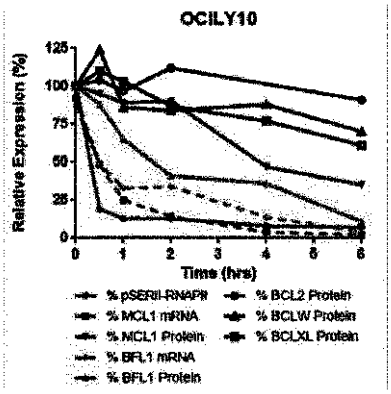


FIG. 3

【特許請求の範囲】
【請求項１】
患者におけるＭｃｌ－１依存性癌を治療する方法であって、
前記患者から生体試料を得るか又は得ていること；及び
Ｂｆｌ－１の発現レベルを測定するためにアッセイを実施するか又は実施していることにより、前記癌がＢｆｌ－１ポジティブであるか否かを決定する工程と；
前記癌がＢｆｌ－１ポジティブである場合、次いで前記患者にＣＤＫ９の阻害剤を投与し、それにより癌アポトーシスを増加させる工程と
を含み、ＣＤＫ９の阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブな癌に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブな癌におけるであろうものよりも大きく、及び／又はＭｃｌ－１阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブな癌に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブな癌におけるであろうものよりも小さい、方法。
【請求項２】
前記癌がＢｆｌ－１ネガティブである場合、Ｍｃｌ－１阻害剤を前記患者に投与する工程をさらに含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記ＣＤＫ９の阻害剤は、ＣＤＫ９の選択的阻害剤である、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
前記ＣＤＫ９の阻害剤は、ＡＺＤ４５７３である、請求項１～３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５】
前記癌は、リンパ腫である、請求項１～４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６】
前記癌は、びまん性大Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）である、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記癌は、活性化Ｂ細胞びまん性大Ｂ細胞リンパ腫（ＡＢＣ－ＤＬＢＣＬ）である、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記Ｍｃｌ－１阻害剤は、ＡＺＤ５９９１である、請求項２～７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項９】
Ｍｃｌ－１依存性癌の治療におけるＣＤＫ９の阻害剤の使用であって、前記癌は、Ｂｆｌ－１ポジティブであると決定されている、使用。
【請求項１０】
前記ＣＤＫ９の阻害剤は、ＣＤＫ９の選択的阻害剤である、請求項９に記載の使用。
【請求項１１】
前記ＣＤＫ９の阻害剤は、ＡＺＤ４５７３である、請求項９又は１０に記載の使用。
【請求項１２】
Ｍｃｌ－１依存性癌の治療におけるＭｃｌ－１阻害剤の使用であって、前記癌は、Ｂｆｌ－１ネガティブであると決定されている、使用。
【請求項１３】
前記Ｍｃｌ－１阻害剤は、ＡＺＤ５９９１である、請求項１３に記載の使用。
【発明の詳細な説明】
【背景技術】
【０００１】
骨髄細胞白血病１（Ｍｃｌ－１）は、ＢＣＬ－２ファミリーのタンパク質の重要な抗アポトーシスメンバーであり、細胞生存のマスターレギュレータである。ＭＣＬ１遺伝子の増幅及び／又はＭｃｌ－１タンパク質の過剰発現は、複数の癌タイプにおいて観察されており、腫瘍発生に一般に関係している。実際に、ＭＣＬ１は、ヒト癌で最も頻繁に増幅され

る遺伝子である。多くの悪性腫瘍において、Ｍｃｌ－１は、極めて重要な生存因子であり、様々な抗癌剤に対して薬剤耐性を仲介することがわかっている。

【０００２】

Ｍｃｌ－１は、Ｂｉｍ、Ｎｏｘａ、Ｂａｋ及びＢａｘなどのアポトーシス促進性タンパク質に結合し、それらの細胞死誘導活性を中和することにより、細胞生存を促進する。それにより、Ｍｃｌ－１の阻害によってこれらのアポトーシス促進性タンパク質が放出され、多くの場合、生存のためにＭｃｌ－１に依存性の腫瘍細胞にアポトーシスが誘発される。

【０００３】

Ｍｃｌ－１のように、Ｂｆｌ－１も抗アポトーシスタンパク質のＢＣＬ－２ファミリーに属する。

【０００４】

サイクリン依存性タンパク質キナーゼ（ＣＤＫ）は、サイクリン調節パートナーに結合すると活性となるセリン／トレオニンタンパク質キナーゼのファミリーである。最初に、ＣＤＫ／サイクリン複合体が細胞周期進行の調節因子として同定された。ＣＤＫ／サイクリン複合体は、転写及びｍＲＮＡプロセッシングにも関与している。ＣＤＫ９／ＰＴＥＦｂ（正の転写伸長因子ｂ）は、ＲＮＡポリメラーゼＩＩ（ＲＮＡＰ　ＩＩ）の大型サブユニットのカルボキシル末端ドメイン（ＣＴＤ）、主にＳｅｒ－２をリン酸化し、転写の伸長を調節する。ＣＤＫ９の阻害及び転写抑制は、短寿命ｍＲＮＡ転写物及び関連タンパク質、例としてＭｃｌ－１及びｃ－ｍｙｃの急速な枯渇をもたらし、それらの生存タンパク質に対して過剰依存性である癌細胞におけるアポトーシスの誘導をもたらす。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００５】

例えば、Ｍｃｌ－１及びＢｆｌ－１などの抗アポトーシスタンパク質のレベルを変える治療に対して、いずれの癌及びそれによりいずれの患者が高感受性であるかを決定する方法が必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【０００６】

一態様において、患者におけるＭｃｌ－１依存性の癌を治療する方法であって、患者から生体試料を得るか又は得ていること；及びＢｆｌ－１の発現レベルを測定するためにアッセイを実施するか又は実施していることにより、癌がＢｆｌ－１ポジティブであるか否かを決定する工程と；癌がＢｆｌ－１ポジティブである場合、次いで患者にＣＤＫ９の阻害剤を投与し、それにより癌アポトーシスを増加させる工程と含み、ＣＤＫ９の阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブな癌に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブな癌におけるであろうものよりも大きく、及び／又はＭｃｌ－１阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブな癌に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブな癌におけるであろうものよりも小さい、方法が提供される。

【０００７】

他の態様において、Ｍｃｌ－１依存性癌の治療におけるＣＤＫ９の阻害剤の使用であって、癌は、Ｂｆｌ－１ポジティブであることが決定されている、使用が提供される。

【０００８】

他の態様において、Ｍｃｌ－１依存性癌の治療におけるＭｃｌ－１阻害剤の使用であって、癌は、Ｂｆｌ－１ネガティブであることが決定されている、使用が提供される。

【０００９】

他の特徴、目的及び利点は、説明及び図面から且つ特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【００１０】

【図１】図１Ａ－１Ｂは、一部のリンパ腫細胞株に対するＭｃｌ－１阻害と比較したＣＤＫ９阻害間の差次的応答を例示する。

【図２】図２は、Ｂｆｌ－１発現が、Ｍｃｌ－１阻害に対する感受性と比較してＣＤＫ９阻害に対する比較的高い感受性と関連することを示す。
【図３】図３Ａ－３Ｄは、Ｂｆｌ－１が不安定なタンパク質であり、且つその発現が一時的なＣＤＫ９阻害によって調節されることを示す。
【図４】図４Ａ－４Ｂは、リンパ腫細胞株を発現するＢｆｌ－１が生存のために複数のＢｃｌ－２ファミリータンパク質に依存することを示す。
【図５】図５Ａ－５Ｃは、ＡＺＤ４５７３がＡＢＣ－ＤＬＢＣＬ細胞株における強い抗腫瘍活性を発揮することを示す。
【発明を実施するための形態】
【００１１】
Ｍｃｌ－１依存性癌を治療する方法が本明細書に記載される。その方法は、一般に、他のＭｃｌ－１依存性癌と比較して、ＣＤＫ９阻害に対する高い感受性及び／又はＭｃｌ－１阻害に対する低い感受性を有するＭｃｌ－１依存性癌を同定することを含む。
【００１２】
一部のＭｃｌ－１依存性癌における特定のメカニズムによって束縛されることを意図することなく、完全なアポトーシス応答には、複数の抗アポトーシスタンパク質の阻害及び／又は枯渇が必要とされ得る。ＤＫ９の阻害により、Ｍｃｌ－１の他に他の抗アポトーシスタンパク質（例えば、Ｂｆｌ－１など）の発現が低減されるため、一部のＭｃｌ－１依存性癌は、Ｍｃｌ－１阻害剤に対してよりも、ＣＤＫ９の阻害剤に対してより感受性であり得る。
【００１３】
「治療する」、「治療すること」及び「治療」という用語は、癌などの病状、障害又は疾患を少なくとも一部軽減し、抑制し、予防し、且つ／又は回復させることを意味する。「癌の治療」又は「癌細胞の治療」という用語は、ヒトなどの温血動物などの生体外及び生体内治療の両方を含む。癌細胞の治療の有効性は、限定されないが、癌細胞増殖の抑制（癌増殖の逆転を含む）；癌細胞死の促進（例えば、アポトーシスの促進又は他の細胞死メカニズムによる）；症状の改善；治療に対する応答期間；疾患進行の遅延；及び生存の延長を含む様々な方法で評価することができる。
【００１４】
治療に伴う副作用の性質及び程度に関しても治療が評価される。さらに、特定の生物学的現象と関連することが公知のタンパク質の発現又はリン酸化のレベルなど、バイオマーカーに関しても有効性が評価され得る。有効性の他の評価は、当業者に公知である。
【００１５】
本明細書で使用される場合、「Ｍｃｌ－１依存性癌」とは、Ｍｃｌ－１が枯渇又は阻害された結果、臨床的に有益な効果を発揮するのに十分な癌細胞のアポトーシスが増加する癌を意味する。細胞死、切断型カスパーゼの増加などの様々な手段又は当技術分野で公知の方法により、アポトーシスを評価することができる。
【００１６】
本明細書で使用される場合、「Ｂｆｌ－１ポジティブ」とは、Ｂｆｌ－１タンパク質を発現する癌、癌細胞又は癌細胞株を意味する。対照的に、「Ｂｆｌ－１ネガティブ」とは、Ｂｆｌ－１タンパク質を発現しない癌、癌細胞又は癌細胞株を意味する。所定の癌、癌細胞又は癌細胞株のＢｆｌ－１発現の状況は、例えば、ウェスタンブロットによって決定することができる。
【００１７】
本明細書で使用される場合、「ＣＤＫ９の阻害剤」という用語は、ＣＤＫ９を阻害することができ、任意選択的に１種又は複数の他のＣＤＫを阻害することができる化合物を意味する。化合物の一次標的がＣＤＫ９ではないとしても、ＣＤＫ９の他に１種又は複数の他のＣＤＫを阻害する化合物は、ＣＤＫ９の非選択的阻害剤である。例えば、ジナシクリブは、ＣＤＫ９などの複数のＣＤＫを阻害する。したがって、ジナシクリブは、本明細書においてその用語が用いられる場合、ＣＤＫ９の非選択的阻害剤である。ＣＤＫ９の選択的

阻害剤は、ＣＤＫ９を阻害し、且つ他のＣＤＫに対する阻害活性をほとんど又は全く有さない化合物である。したがって、本明細書で使用される場合、「ＣＤＫ９の阻害剤」は、ＣＤＫ９の非選択的及び選択的阻害剤の両方を含む。

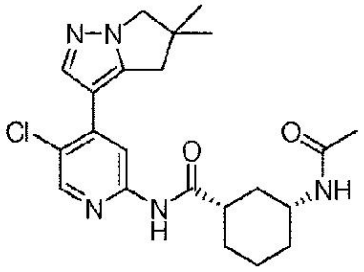
【００１８】

ＣＤＫ９の阻害剤としては、例えば、ＡＺＤ４５７３、ＢＡＹ－１２５１１５２、ＢＡＹ－１１４３５７２、ＣＹＣ０６５、アルボシジブ、ＡＴ７５１９、ボルシクリブ、ロニシクリブ及びジナシクリブが挙げられる。ＣＤＫ９の選択的阻害剤としては、ＡＺＤ４５７３、ＢＡＹ－１２５１１５２及びＢＡＹ－１１４３５７２が挙げられる。ＣＤＫ９の非選択的阻害剤としては、ＣＹＣ０６５、アルボシジブ、ＡＴ７５１９、ボルシクリブ、ロニシクリブ及びジナシクリブが挙げられる。

【００１９】

（１Ｓ，３Ｒ）－３－アセトアミド－Ｎ－（５－クロロ－４－（５，５－ジメチル－５，６－ジヒドロ－４Ｈ－ピロロ［１，２－ｂ］ピラゾール－３－イル）ピリジン－２－イル）シクロヘキサンカルボキサミドとも呼ばれるＡＺＤ４５７３、選択的ＣＤＫ９阻害剤は、式：

【化１】

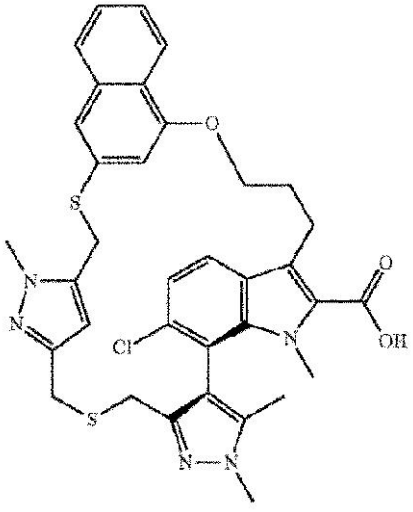


を有し、その全体が参照により組み込まれる国際公開第２０１７／００１３５４号パンフレットに記載されている。

【００２０】

本明細書で使用される場合、「Ｍｃｌ－１阻害剤」という用語は、Ｍｃｌ－１への結合によってＭｃｌ－１を阻害することができる化合物を意味する。本明細書で使用される場合、「Ｍｃｌ－１阻害剤」という用語は、例えば、Ｍｃｌ－１タンパク質の発現を制限することによってＭｃｌ－１に間接的に影響する化合物を除外する。したがって、この用語が本明細書で使用される場合、ＣＤＫ９の阻害剤は、Ｍｃｌ－１阻害剤とみなされない。Ｍｃｌ－１阻害剤の例示的な一例は、ＡＺＤ５９９１：

【化２】



であり、その全体が参照により組み込まれる米国特許第９，８４０，５１８号明細書に記

載されている。
【００２１】
Ｍｃｌ－１依存性である癌細胞株は、Ｍｃｌ－１阻害剤及びＣＤＫ９の阻害剤などの治療に対するその感受性が異なる。Ｍｃｌ－１依存性癌細胞株のパネルにおいて、意外なことに、Ｂｆｌ－１ポジティブ細胞株は、Ｂｆｌ－１ネガティブ細胞株と比較して、Ｍｃｌ－１阻害に対して低い感受性、ＣＤＫ９阻害に対して高い感受性又はその両方を示す傾向があることが判明した。したがって、Ｂｆｌ－１ポジティブ細胞株は、Ｍｃｌ－１の阻害剤と比較して、ＣＤＫ９の阻害剤に対するより高い相対的感受性と関連付けられた。このように、Ｂｆｌ－１を使用して、Ｍｃｌ－１依存性癌を区別し、Ｍｃｌ－１阻害剤に対して非感受性であるとしても、ＣＤＫ９の阻害剤に対して感受性である可能性のある癌を同定することができる。
【００２２】
一実施形態において、患者におけるＭｃｌ－１依存性癌を治療する方法であって、患者から生体試料を得るか又は得ていること；及びＢｆｌ－１の発現レベルを測定するためにアッセイを実施するか又は実施していることにより、癌がＢｆｌ－１ポジティブであるか否かを決定する工程と；癌がＢｆｌ－１ポジティブである場合、次いで患者にＣＤＫ９の阻害剤を投与し、それにより癌アポトーシスを増加させる工程とを含み、ＣＤＫ９の阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブな癌に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブな癌におけるであろうものよりも大きく、及び／又はＭｃｌ－１阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブな癌に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブな癌におけるであろうものよりも小さい、方法が提供される。
【００２３】
一実施形態において、Ｍｃｌ－１依存性癌において癌アポトーシスを増加させる方法であって、患者から生体試料を得るか又は得ていること；及びＢｆｌ－１の発現レベルを測定するためにアッセイを実施するか又は実施していることにより、癌がＢｆｌ－１ポジティブであるか否かを決定する工程と；癌がＢｆｌ－１ポジティブである場合、次いで患者にＣＤＫ９の阻害剤を投与し、それにより癌アポトーシスを増加させる工程とを含み、ＣＤＫ９の阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブな癌に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブな癌におけるであろうものよりも大きく、及び／又はＭｃｌ－１阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブな癌に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブな癌におけるであろうものよりも小さい、方法が提供される。
【００２４】
一実施形態において、Ｍｃｌ－１依存性癌において１種又は複数の抗アポトーシスタンパク質のレベルを低減する方法であって、患者から生体試料を得るか又は得ていること；及びＢｆｌ－１の発現レベルを測定するためにアッセイを実施するか又は実施していることにより、癌がＢｆｌ－１ポジティブであるか否かを決定する工程と；癌がＢｆｌ－１ポジティブである場合、次いで患者にＣＤＫ９の阻害剤を投与し、それにより癌アポトーシスを増加させる工程とを含み、ＣＤＫ９の阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブな癌に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブな癌におけるであろうものよりも大きく、及び／又はＭｃｌ－１阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブな癌に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブな癌におけるであろうものよりも小さい、方法が提供される。
【００２５】
上記の実施形態のそれぞれにおいて、この方法は、癌がＢｆｌ－１ネガティブである場合、患者にＭｃｌ－１阻害剤を投与することをさらに含み得る。ＣＤＫ９の阻害剤は、ＣＤＫ９の選択的阻害剤であり得る。ＣＤＫ９の阻害剤は、ＡＺＤ４５７３であり得る。癌は、びまん性大Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、マントル細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病、慢性小リンパ球性白血病、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、辺縁帯リンパ腫、慢性移植片対宿主疾患、濾胞性リンパ腫及び急性リンパ性白血病から選択され得る。本明細書で使用される場合、ＤＬＢＣＬとしては、活性化Ｂ細胞ＤＬＢＣＬ（ＡＢＣ－

ＤＬＢＣＬ）及び胚中心Ｂ細胞ＤＬＢＣＬ（ＧＣＢ－ＤＬＢＣＬ）が挙げられる。癌は、リンパ腫であり得る。癌は、びまん性大Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）であり得る。癌は、活性化Ｂ細胞びまん性大Ｂ細胞リンパ腫（ＡＢＣ－ＤＬＢＣＬ）であり得る。Ｍｃｌ－１阻害剤は、ＡＺＤ５９９１であり得る。

【００２６】

一実施形態において、Ｍｃｌ－１依存性癌の治療におけるＣＤＫ９阻害剤の使用であって、癌は、Ｂｆｌ－１ポジティブであることが決定されている、使用が提供される。ＣＤＫ９の阻害剤は、ＣＤＫ９の選択的阻害剤であり得る。ＣＤＫ９の阻害剤は、ＡＺＤ４５７３であり得る。

【００２７】

一実施形態において、Ｍｃｌ－１依存性癌の治療におけるＭｃｌ－１阻害剤の使用であって、癌は、Ｂｆｌ－１ネガティブであることが決定されている、使用が提供される。Ｍｃｌ－１阻害剤は、ＡＺＤ５９９１であり得る。

【００２８】

一実施形態において、患者におけるリンパ腫を治療する方法であって、患者から生体試料を得るか又は得ていること；及びＢｆｌ－１の発現レベルを測定するためにアッセイを実施するか又は実施していることにより、リンパ腫がＢｆｌ－１ポジティブであるか否かを決定する工程と；リンパ腫がＢｆｌ－１ポジティブである場合、次いで患者にＣＤＫ９の阻害剤を投与し、それにより癌アポトーシスを増加させる工程とを含み、ＣＤＫ９の阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブなリンパ腫に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブなリンパ腫におけるであろうものよりも大きく、及び／又はＭｃｌ－１阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブなリンパ腫に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブなリンパ腫におけるであろうものよりも小さい、方法が提供される。

【００２９】

一実施形態において、患者における活性化Ｂ細胞びまん性大Ｂ細胞リンパ腫（ＡＢＣ－ＤＬＢＣＬ）を治療する方法であって、患者から生体試料を得るか又は得ていること；及びＢｆｌ－１の発現レベルを測定するためにアッセイを実施するか又は実施していることにより、リンパ腫がＢｆｌ－１ポジティブであるか否かを決定する工程と；リンパ腫がＢｆｌ－１ポジティブである場合、次いで患者にＣＤＫ９の阻害剤を投与し、それにより癌アポトーシスを増加させる工程とを含み、ＣＤＫ９の阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブなリンパ腫に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブなリンパ腫におけるであろうものよりも大きく、及び／又はＭｃｌ－１阻害剤の投与時のＢｆｌ－１ポジティブなリンパ腫に対する癌アポトーシスの増加は、Ｂｆｌ－１ネガティブなリンパ腫におけるであろうものよりも小さい、方法が提供される。

【実施例】

【００３０】

実施例１：リンパ腫の腫瘍モデルのサブセットは、Ｍｃｌ－１阻害と比較してＣＤＫ９阻害に対して向上した感受性を示す

リンパ腫細胞株のサブセットは、Ｍｃｌ－１阻害と比較してＣＤＫ９阻害に対して向上した感受性を示す。６時間のカスパーゼ活性化アッセイにおいて、３３個のリンパ腫細胞株（図２Ａに示す）を選択的ＣＤＫ９阻害剤、ＡＺＤ４５７３又は選択的Ｍｃｌ－１阻害剤、ＡＺＤ５９９１で処置した。３３個の細胞株のうちの７個は、カスパーゼＥＣ５０に基づいて、ＡＺＤ５９９１と比較して、ＡＺＤ４５７３処理でのＣＤＫ９阻害に対して２０倍を超える高い感受性を示した。さらに、これらのモデルのサブセットにおけるカスパーゼ活性化の規模は、Ｍｃｌ－１阻害に比べて、ＣＤＫ９阻害に応答して有意に高かった。

【００３１】

方法：３３個のびまん性大Ｂ細胞（ＤＬＢＣＬ）及びマントル細胞（ＭＣＬ）リンパ腫細胞株を、ＡＺＤ４５７３又はＡＺＤ５９９１の１０ポイント、１／２ｌｏｇ滴定で前投与された３８４ウェルプレートに接種し、６時間インキュベートした。インキュベーションに続いて、製造元プロトコルに従ってカスパーゼ－Ｇｌｏ　３／７（Ｐｒｏｍｅｇａ）を

使用して、切断型カスパーゼを測定した。ＧｅｎｅＤａｔａ　Ｓｃｒｅｅｎｅｒ及びＳｐｏｔｆｉｒｅを使用して、データを解析した。

【００３２】

結果を図１Ａ～１Ｂに示す。ＣＤＫ９及びＭｃｌ－１阻害剤に対するリンパ腫腫瘍モデルの薬理学的応答。図１Ａは、３３個の細胞株パネル全体のＡＺＤ４５７３及びＡＺＤ５９９１カスパーゼｐＥＣ５０値を比較する散布図である。実線及び破線は、１：１又は１：１０のｙ＝ｘ軸の一致（ｕｎｉｔｙ）をそれぞれ示す。赤で強調され／矢印によって示される細胞株は、ＡＺＤ５９９１処理と比べて、ＡＺＤ４５７３処理を受けて、２０倍を超えるカスパーゼＥＣ５０の強力なシフトを有する。図１Ｂは、６時間の化合物のインキュベーション後にＡＺＤ４５７３及びＡＺＤ５９９１カスパーゼ最大効果と相関する散布図である。赤で強調され／矢印によって示される細胞株は、ＡＺＤ４５７３処理に応答して最大効果＞５０％及びＡＺＤ５９９１処理に応答して最大効果＜５０％の基準に適合する。

【００３３】

実施例２：リンパ腫腫瘍モデルを発現するＢｆｌ－１は、ＣＤＫ９阻害に対して感受性が高いが、Ｍｃｌ－１阻害に対する感受性が低い

リンパ腫モデルのサブセットがＭｃｌ－１阻害と比較してＣＤＫ９阻害に対する高い感受性を有する理由の理解を促進するために、Ｂｃｌ２ファミリーメンバーのタンパク質発現が評価された。評価されたリンパ腫細胞株（ｎ＝３３）の２０％を超える株においてＢｆｌ－１発現が同定され、発現細胞株の大部分がＡＢＣ－ＤＬＢＣＬリンパ腫サブタイプに属した。Ｂｆｌ－１の発現がないことに基づいて、細胞株（ｎ＝２５）がクラスター化された場合、ＡＺＤ５９９１及びＡＺＤ４５７３のカスパーゼＥＣ５０幾何平均値の差は、わずか４倍であった。興味深いことに、Ｂｆｌ－１発現細胞株（ｎ＝８）におけるＡＺＤ５９９１とＡＺＤ４５７３カスパーゼＥＣ５０との間に劇的に大きい２２倍の差があった。カスパーゼＥＣ５０中央値を当てはめた場合にも同様の傾向が確認された。

【００３４】

方法：３３個のリンパ腫細胞株からの細胞溶解液を並行して作製し、生存促進性Ｂｃｌ２ファミリーメンバーのタンパク質発現を評価した。ＢＣＡタンパク質アッセイキットを使用して、タンパク質濃度に対して細胞溶解液を基準化し、標準プロトコルに従ってウェスタンブロットを実施した。Ｂｆｌ－１、ＴＭＤ８の発現に対するポジティブ細胞株コントロールをパネルにおける他の細胞株に対する基準化に用いた。高及び低Ｂｆｌ－１発現それぞれに基づいてクラスター化された細胞株から、ＡＺＤ４５７３及びＡＺＤ５９９１それぞれのカスパーゼＥＣ５０中央値及び幾何平均値を計算した。

【００３５】

結果を図２Ａ～２Ｂに示す。リンパ腫腫瘍モデル全体にわたるＢｆｌ－１タンパク質発現。図２Ａは、３３個のリンパ腫細胞株におけるＢｆｌ－１タンパク質発現の評価を示す。棒の色は、リンパ腫のサブタイプを表す。破線を横切る棒は、ウェスタンブロットによってＢｆｌ－１発現に対してポジティブであった。スケールは、ＴＭＤ８細胞株コントロールの発現に対するものである。図２Ｂは、３３個のリンパ腫腫瘍モデルにわたるＡＺＤ４５７３及びＡＺＤ５９９１に対するカスパーゼ幾何平均値及び中央値ＥＣ５０を示す。ジティブ又はネガティブＢｆｌ－１発現に基づいて、表は、クラスターにグループ化される。ＡＺＤ５９９１とＡＺＤ４５７３のＥＣ５０との倍率差を、それぞれの細胞株カテゴリーについて列記する。

【００３６】

実施例３：Ｂｆｌ－１は、リンパ腫細胞株における一時的なＡＺＤ４５７３処置によって調節される不安定なタンパク質である

Ｂｆｌ－１発現と、ＣＤＫ９阻害に対する高い感受性との間にポジティブな相関性が見出されることから、ＣＤＫ９阻害は、リンパ腫細胞株において、Ｍｃｌ－１に加えてＢｆｌ－１を標的化し得ると仮定された。ＡＢＣ－ＤＬＢＣＬ細胞株ＯＣＩＬＹ１０をＡＺＤ４５７３の段階稀釈で処理し、下流の標的タンパク質に対してイムノブロットした。近位の

ＣＤＫ９バイオマーカー、ｐＳｅｒ２－ＲＮＡＰ２は、ＡＺＤ４５７３を用いた用量依存的な様式で阻害された。Ｍｃｌ－１及びＢｆｌ－１タンパク質における等効力の減少は、近位のＣＤＫ９バイオマーカーを阻害するＡＺＤ４５７３の濃度で確認された。ＯＣＩＬＹ１０細胞をシクロヘキシミドで処理し、Ｍｃｌ－１と同様にＢｆｌ－１が１時間未満の半減期を有することを明らかにすることにより、Ｂｆｌ－１は、不安定なタンパク質であることが確認された。他のＢｃｌ２ファミリータンパク質の半減期は、すべて９時間を超えた。

【００３７】

１００ｎＭ　ＡＺＤ４５７３で処理されたＯＣＩＬＹ１０細胞において、ＣＤＫ９阻害に対する時間依存性応答も確認された。ｐＳｅｒ２－ＲＮＡＰ２の発現は、細胞に投薬して３０分後に＞８０％阻害されたのに対して、Ｍｃｌ１及びＢｆｌ１　ｍＲＮＡ発現は、２時間までに等しいレベルに低減され、続いて４時間でＭｃｌ－１及びＢｆｌ－１タンパク質が低減された。切断型カスパーゼを６時間で検出した。寿命が長いタンパク質Ｂｃｌ２、Ｂｃｌ－ｘＬ及びＢｃｌ－Ｗの発現は、ＡＺＤ４５７３で処置して６時間後でも比較的変化しないままであった。本発明者らは、さらなるＡＢＣ－ＤＬＢＣＬ細胞株、ＴＭＤ８におけるＡＺＤ４５７３処理後にＢｆｌ－１及びＭｃｌ－１の同様の結果を確認した。

【００３８】

方法：ＡＺＤ４５７３の９ポイント、１／２ｌｏｇ用量反応で６時間、ＡＢＣ－ＤＬＢＣＬ細胞株ＯＣＩＬＹ１０を処理し、タンパク質溶解液のために細胞を収集した。６時間までの様々な時点について、これらの細胞もＡＺＤ４５７３で１００ｎＭにおいて処理した。それぞれの時点（０、０．５、１、２、４、６時間）において、ｍＲＮＡ単離又はタンパク質溶解液のそれぞれのために細胞を収集した。ｍＲＮＡをｃＤＮＡに変換し、標準プロトコルに従ってＭｃｌ１及びＢｃｌ２ａ１プライマーでＰＣＲ配列増幅を実施した。ＢＣＡタンパク質アッセイキットを使用して、タンパク質濃度に対してタンパク質溶解液を基準化し、標準プロトコルに従ってウェスタンブロットを実施した。期待される標的結合が達成されたことを裏付けるために、Ｍｃｌ－１及びＢｆｌ－１と共にＣＤＫ９の近位バイオマーカー（ｐＳｅｒ２－ＲＮＡＰｏｌＩＩ）に対してブロットをプローブした。アポトーシスの誘導までの時間を正確に測定するために、切断型カスパーゼ－３も評価した。正規化のためにローディングコントロール（ビンキュリン）も使用した。

【００３９】

３３個のＤＬＢＣＬ及びＭＣＬリンパ腫細胞株からの細胞溶解液を並行して作製して、生存促進性Ｂｃｌ２ファミリーメンバーのタンパク質発現を評価した。ＣＡタンパク質アッセイキットを使用して、タンパク質濃度に対して細胞溶解液を基準化し、標準プロトコルに従ってウェスタンブロットを実施した。タンパク質（ＧＡＰＤＨ）の等しいローディング及びＴＭＤ８細胞からのポジティブコントロール細胞溶解液を用いたウェスタンブロットアッセイ全体にわたる等しい発現を裏付けるために、コントロールを用いた。

【００４０】

Ｂｃｌ２ファミリータンパク質の半減期を推定するために、ＯＣＩＬＹ１０細胞をシクロヘキシミド１０μｇ／ｍＬで処理して、新たなタンパク質合成を阻止した。シクロヘキシミド処理後の様々な時点（０、１、３、６、９、２４時間）において、タンパク質溶解液の作製のために１ｅ^{6}細胞を収集した。

【００４１】

結果を図３Ａ～３Ｄに示す。リンパ腫細胞株におけるＡＺＤ４５７３処置によるＢｆｌ－１の阻害：図３Ａ：ＡＺＤ４５７３の用量反応で６時間処置され、且つウェスタンブロットによって評価されたＯＣＩＬＹ１０。図３Ｂ：ＯＣＩＬＹ１０細胞を示される時点において１０μｇ／ｍＬシクロヘキシミドで処理し、Ｂｃｌ２ファミリータンパク質発現に対してイムノブロットした。図３Ｃ：ＡＺＤ４５７３　１００ｎＭで処置した後の、ＯＣＩＬＹ１０細胞における時間の経過によるＢｆｌ－１転写物のキネティクス及びタンパク質モジュレーション。図３Ｄ：示される時点においてＡＺＤ４５７３　１００ｎＭで処置され、且つＭｃｌ－１、Ｂｆｌ－１及び切断型カスパーゼのタンパク質モジュレーションに

対して評価された、ＴＭＤ８細胞からの免疫ブロットデータ。
【００４２】
実施例４：Ｂｆｌ－１発現性リンパ腫細胞株は、生存のために複数のＢｃｌ－２ファミリータンパク質に依存する
ｓｉＲＮＡを用いたＢｆｌ－１へのリンパ腫細胞の単一遺伝子依存性が以下の記載のように決定された。ＯＣＩＬＹ１０及びＴＭＤ８細胞株におけるＢｆｌ－１を標的化するｓｉＲＮＡで＞８０％ノックダウンした場合、内因性アポトーシスバイオマーカー切断ＰＡＲＰの発現は、スクランブルコントロールに対して増加しなかった。しかしながら、Ｂｆｌ－１ノックダウン細胞をＡＺＤ５９９１で処理し、切断型カスパーゼに関して再評価した場合、ＯＣＩＬＹ１０とＴＭＤ８細胞株との両方で達成されたアポトーシスの最大レベルが平均で４５％から９０％超に増加し、ＡＺＤ４５７３による一時的ＣＤＫ９阻害に応答して達成された同様の規模の最大カスパーゼ活性化が表現型模写された。
【００４３】
方法：ＯＣＩＬＹ１０及びＴＭＤ８細胞を対数期で増殖させ、１２ウェルプレート（Ｄｈａｒｍａｃｏｎ　Ｂ－００５０００）で１×１０^{6}細胞／ｍＬにおいて血清不含ｓｉＲＮＡ送達培地中でプレーティングした。Ｂｆｌ－１を標的化するｓｉＲＮＡ　ＳＭＡＲＴｐｏｏｌ又はスクランブルネガティブコントロール（ＮＴＣ）を各ウェルに０．１又は０．５μＭにおいて２４時間添加した（Ｄｈａｒｍａｃｏｎ　Ｂｃｌ２ａ１－５９７，ＴＣ－Ｄ－００１９１０－０１）。トランスフェクトされたウェルすべてに細胞培地２ｍＬを添加し、６ウェルプレートにさらに４８時間移した。トランスフェクト細胞を回収し、Ｂｆｌ－１タンパク質ノックダウン及び切断型カスパーゼ－３をウェスタンブロットによって評価した。ＡＺＤ４５７３又はＡＺＤ５９９１の８ポイント滴定で前投与された３８４ウェルプレートにもトランスフェクト細胞を接種し、６時間インキュベートした。製造元のプロトコルに従い、カスパーゼ－Ｇｌｏ　３／７（Ｐｒｏｍｅｇａ）を使用して、切断型カスパーゼの活性化についてプレートを測定した。
【００４４】
結果を図４Ａ～４Ｂに示す。リンパ腫モデルにおけるＢｆｌ－１依存性：図４Ａ：Ｂｆｌ－１　ｓｉＲＮＡのトランスフェクト後、ＯＣＩＬＹ１０及びＴＭＤ８細胞溶解液中のＢｆｌ－１及び切断ＰＡＲＰ発現を示す免疫ブロット。図４Ｂ：Ｂｆｌ－１ノックダウン条件下でのＡＺＤ５９９１処理に関する、ＯＣＩＬＹ１０及びＴＭＤ８細胞株におけるカスパーゼ活性化の用量依存性増加を示すグラフ。
【００４５】
実施例５：ＡＢＣ－ＤＬＢＣＬ細胞株におけるＡＺＤ４５７３は、強い抗腫瘍活性を実証する
生体内でのＢｆｌ－１発現に対するＣＤＫ９阻害の効果を評価した。ＡＢＣ－ＤＬＢＣＬ異種移植片ＯＣＩＬＹ１０及びＴＭＤ８にＡＺＤ４５７３を間欠的に投与することにより、Ｍｃｌ－１阻害と比較して強い腫瘍退縮（それぞれＴＧＩ　１９８％及び１８４％）を生じた。ＡＺＤ４５７３仲介抗腫瘍活性は、ｐＳｅｒ２－ＲＮＡＰＩＩ、Ｍｃｌ－１及びＢｆｌ－１の薬力学的減少、続いてカスパーゼ活性化と関連した。
【００４６】
方法：ジメチルアセトアミド（ＤＭＡ）／ポリエチレングリコール４００（ＰＥＧ４００）／１％（ｗ／ｖ）Ｔｗｅｅｎ８０溶液（２／３０／６８）中にＡＺＤ４５７３を配合し、１日目及び２日目に２時間分割で１日２回、５日間の休薬期間で１５ｍｇ／ｋｇにおいて腹腔内に（ｉｐ）に投与した。
【００４７】
ｐＨ９．０～９．５に調整された、注射のための水中の３０％ＨＰＢＣＤ（ヒドロキシ－プロピル－β－シクロデキストリン）中にＡＺＤ５９９１を静脈内投与のために濃度２０ｍｇ／ｍＬまで配合した（元の形態をベースとする）。ＡＺＤ５９９１を６０ｍｇ／ｋｇにおいて尾静脈内注入によって週に１回投与した。
【００４８】

５×１０^{6}個のＯＣＩＬｙ１０腫瘍細胞又は１０×１０^{6}個のＴＭＤ８腫瘍細胞を、Ｃ．Ｂ－１７　ＳＣＩＤ雌性マウスの右脇腹に、マトリゲル５０％を含有する０．１ｍＬの体積で皮下注射した。

【００４９】

腫瘍体積（キャリパーにより測定）、動物の体重及び腫瘍状態を試験期間中週２回記録した。腫瘍体積は、式：長さ（ｍｍ）×幅（ｍｍ）^{2}×０．５２を用いて計算した。有効性試験のために、コントロールと処置群との間の腫瘍体積の差の比較により、処置の開始からの増殖阻害を評価した。平均腫瘍サイズが約１５０～１８０ｍｍ^{3}に達したとき、投与を開始した。ＣＲ＝完全奏効。

【００５０】

腫瘍分離についての標準プロトコルに従って薬力学的測定を行った。ＢＣＡタンパク質アッセイキットを使用して、分離された腫瘍からのタンパク質溶解液を基準化した。イムノブロットを実施し、ｐＳＥＲＩＩ－ＲＮＡＰＩＩ及びＢｃｌ２ファミリータンパク質の発現に対してプローブした。ローディングコントロール（ＧＡＰＤＨ）を使用して、等しいタンパク質ローディングを確認した。

【００５１】

結果を図５Ａ～５Ｂに示す：Ｂｆｌ－１発現リンパ腫異種移植片におけるＡＺＤ４５７３の生体内抗腫瘍活性。図５Ａ：ＡＺＤ４５７３処置により、ＯＣＩＬＹ１０及びＴＭＤ８ＡＢＣ－ＤＬＢＣＬ異種移植片モデルにおいて完全な腫瘍退縮が生じる。図５Ｂ：３回の投与サイクル後にそれぞれ達成されたＡＺＤ４５７３及びＡＺＤ５９９１有効性の一覧表。図５Ｃ：ＯＣＩＬＹ１０及びＴＭＤ８モデルにおける短期間ＡＺＤ４５７３処置後のＢｆｌ－１の薬力学的モジュレーション。

【００５２】

他の実施形態は、以下の特許請求の範囲内に含まれる。

【図面】

【図１】

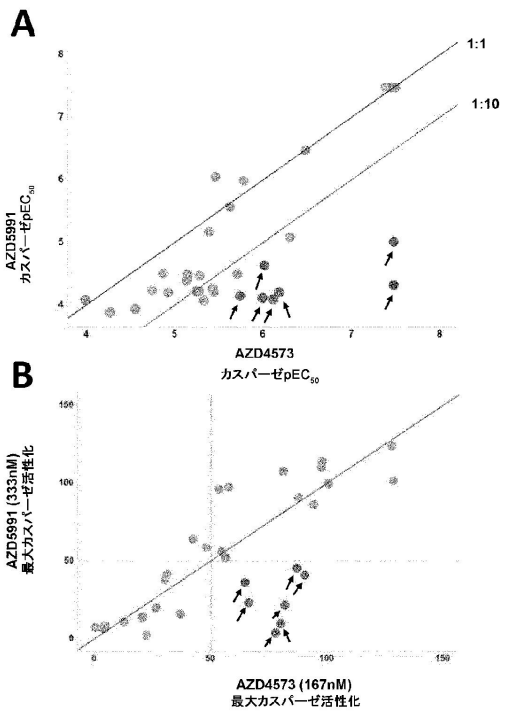
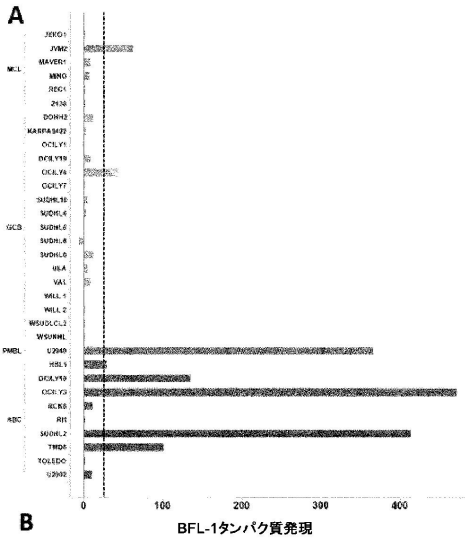


図 1

【図２】



基準	カスパーゼEC50幾何平均値(μM) AZD4573	AZD5991	倍率の差
すべての細胞株(n=33)	0.08	0.42	6
Bfl-1ネガティブ(n=25)	0.09	0.32	4
Bfl-1ポジティブ(n=8)	0.04	0.99	22

基準	カスパーゼEC50中央値(μM) AZD4573	AZD5991	倍率の差
すべての細胞株(n=33)	0.03	0.42	14
Bfl-1ネガティブ(n=25)	0.03	0.27	9
Bfl-1ポジティブ(n=8)	0.02	1.27	69

図 2

【図３】

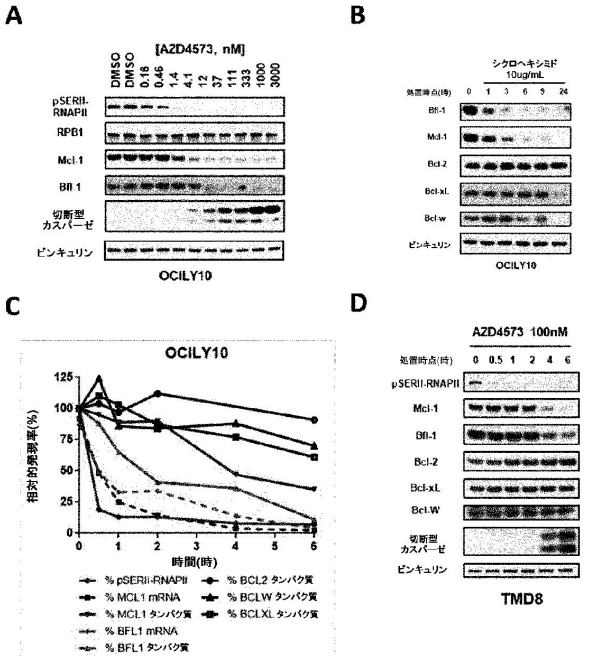


図 3

【図４】

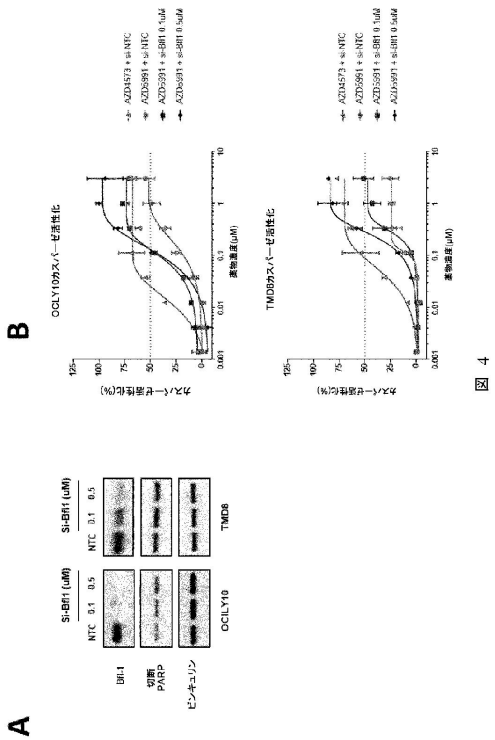
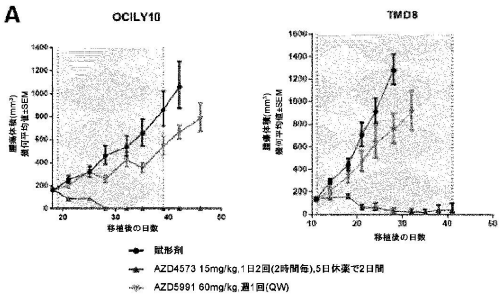


図 4

【図５】



B

細胞株	AZD4573 15/15mpk(TGI/投与サイクル数)での生体内有効性	AZD5991 60mpk(TGI/投与サイクル数)での生体内有効性
OCILY10	198% / 3	44%/3
TMD8	184% / 3	38%/3

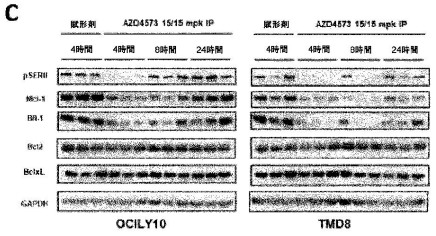


図 5

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/081145

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N33/574 A61K45/00
ADD.

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)
G01N A61K

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 practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JUSTIN CIDADO ET AL: "Abstract 4295: AZ'5576, a selective CDK9 inhibitor, demonstrates in vitro and in vivo activity in diverse preclinical models of non-Hodgkin lymphoma", CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 77, no. 13 sup, 1 July 2017 (2017-07-01), XP002787012, ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/1538-7445.AM2017-4295	9,10
Y	abstract	11
	----- -/--	

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [ ] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
30 January 2020	12/02/2020

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, Fax: (+31-70) 340-3016	Vadot-Van Geldre, E

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/081145

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JOYOTI DEY ET AL: "Voruciclib, a clinical stage oral CDK9 inhibitor, represses MCL-1 and sensitizes high-risk Diffuse Large B-cell Lymphoma to BCL2 inhibition", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 7, no. 1, 1 December 2017 (2017-12-01), XP055635369, DOI: 10.1038/s41598-017-18368-w	9,10
Y	abstract ; Fig 2, 4-5	11
X	DEREK YECIES ET AL: "Abstract", BLOOD, vol. 115, no. 16, 22 April 2010 (2010-04-22), pages 3304-3313, XP055662757, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2009-07-233304	9,10
Y	abstract ; pg 3305, col 1, para 1 ; pg 3309, col 2, para bridging pg 3310 ; Fig 1-2, 5	11
X	WEIGUO XIANG ET AL: "MCL-1 inhibition in cancer treatment", ONCOTARGETS AND THERAPY, vol. Volume 11, 1 October 2018 (2018-10-01), pages 7301-7314, XP055663495, ISSN: 1178-6930, DOI: 10.2147/OTT.S146228 Table 1 ; Fig 4 ; pg 4, para bridging pg 5	12,13
Y	BOIKO ET AL: "A MECHANISTIC RATIONALE FOR COMBINING ACALABRUTINIB WITH CDK9 INHIBITOR, AZD4573 IN ABC-DLBCL", CANCER RESEARCH,, vol. 78, no. 13 sup, 1 July 2018 (2018-07-01), XP002787013, DOI: 10.1158/1538-7445.AM2018-306 abstract	11
A	W J PLACZEK ET AL: "A survey of the anti-apoptotic Bcl-2 subfamily expression in cancer types provides a platform to predict the efficacy of Bcl-2 antagonists in cancer therapy", CELL DEATH & DISEASE, vol. 1, no. 5, 1 May 2010 (2010-05-01), pages e40-e40, XP055663394, DOI: 10.1038/cddis.2010.18 pg 5, col 1, par bridging pg 6 ; fig 6	1-13

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/081145

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	R. HAQ ET AL: "BCL2A1 is a lineage-specific antiapoptotic melanoma oncogene that confers resistance to BRAF inhibition", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 110, no. 11, 27 February 2013 (2013-02-27), pages 4321-4326, XP055145809, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.1205575110 abstract ; Fig 1-4 -----	1-13

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*7/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4439	
Ａ６１Ｋ	*31/4162(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/00	
		Ａ６１Ｋ	31/4162	

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

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＷＥＥＮ

アメリカ合衆国１５４３７デラウェア州ウィルミントン、コンコード・パイク１８００

(72)発明者　ドゥルー，リサ

アメリカ合衆国１５４３７デラウェア州ウィルミントン、コンコード・パイク１８００

Ｆターム（参考）　4C084　AA17 AA20 MA02 NA05 NA06 NA14 ZA511 ZA512 ZB261 ZB262 ZC201 ZC202 ZC411 ZC412 ZC75

4C086　AA01 AA02 CB03 CB31 GA16 MA01 MA02 MA04 NA05 NA06 NA14 ZA51 ZB26 ZC20 ZC41 ZC75