

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6473152号
(P6473152)

(45) 発行日 平成31年2月20日 (2019. 2. 20)

(24) 登録日 平成31年2月1日 (2019. 2. 1)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 31/167 (2006. 01)	A 6 1 K 31/167
A 6 1 P 3/00 (2006. 01)	A 6 1 P 3/00
A 6 1 P 43/00 (2006. 01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5

請求項の数 15 (全 36 頁)

(21) 出願番号	特願2016-530241 (P2016-530241)	(73) 特許権者	514137997
(86) (22) 出願日	平成26年11月19日 (2014. 11. 19)		オハイオ・ステイト・イノベーション・フ ァウンデーション
(65) 公表番号	特表2016-537356 (P2016-537356A)		アメリカ合衆国オハイオ州4 3 2 0 1, コ ロンバス, ノース・ハイ・ストリート 1 5 2 4
(43) 公表日	平成28年12月1日 (2016. 12. 1)		
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/066435	(74) 代理人	100147485
(87) 国際公開番号	W02015/077353		弁理士 杉村 憲司
(87) 国際公開日	平成27年5月28日 (2015. 5. 28)	(74) 代理人	100181272
審査請求日	平成29年11月6日 (2017. 11. 6)		弁理士 神 紘一郎
(31) 優先権主張番号	61/906, 738	(74) 代理人	100193437
(32) 優先日	平成25年11月20日 (2013. 11. 20)		弁理士 高木 義和
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	14/547, 771		
(32) 優先日	平成26年11月19日 (2014. 11. 19)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 がん関連悪液質を抑制するためのHDAC阻害剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

がん哺乳動物の重量を、HDAC阻害剤AR-42を与えない哺乳動物と比較し実質的に維持するのに効果的な量の、がん哺乳動物の悪液質を抑制する医薬の製造のためのHDAC阻害剤AR-42の使用。

【請求項 2】

前記哺乳動物の重量が、AR-42での処置後最初の約15日後に約6%超減少することはない、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 3】

前記がんが、脾臓、結腸、頭部、頸部、胃、および食道からなる群より選択される、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 4】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 5】

AR-42を前記哺乳動物の約1mg/kg～約100mg/kgの量で投与する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 6】

AR-42を一日に少なくとも1回投与する、請求項 5 に記載の使用。

【請求項 7】

AR-42を前記哺乳動物の約50mg/kgの量で一日に2回投与する、請求項 6 に記載の使用。

10

20

【請求項 8】

IL-6レベルがAR-42を与えない哺乳動物と比較し約56%低減する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 9】

LIFレベルがAR-42を与えない哺乳動物と比較し約88%低減する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 10】

Atrogin-1 mRNAの発現がAR-42を与えない哺乳動物と比較し基礎値まで回復する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 11】

MuRF1 mRNAの発現がAR-42を与えない哺乳動物と比較し基礎レベルまで回復する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 12】

悪液質が誘発するIL-6Ra mRNAレベルの増加が、AR-42を与えない哺乳動物と比較し約85%減少する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 13】

悪液質が誘発する脂肪組織の減少が、AR-42を与えない哺乳動物と比較し実質的に回復する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 14】

悪液質が誘発する骨格筋線維サイズの縮小が、AR-42を与えない哺乳動物と比較し実質的に回復する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 15】

少なくとも15日という期間で、HDAC阻害剤AR-42を与えない哺乳動物と比較しがん哺乳動物の骨格筋重量の少なくとも約90%を維持するのに効果的な量の、がん哺乳動物の骨格筋重量を維持する医薬の製造のためのHDAC阻害剤AR-42の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2013年11月20日出願の米国仮特許出願第61/906,738号の優先権を主張する。上記参考出願は、全体を再記述するかのようにより、参考として本明細書に組み込まれる。特許および特許出願を含むが、それに限定されない本明細書で引用する全ての参考文献は、その全体が本明細書に参考として組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

がん関連悪液質とは、がん患者における筋量の低下、疲労、衰弱、および食欲の低下に関連した消耗状態のことである。悪液質は筋衰弱を含む重篤な臨床結果にも関連し、これは歩行困難および肺合併症を招き得る。悪液質はがん患者の死の主要因である。

【0003】

悪液質は骨格筋量の減少を特徴とし、これは標準的な栄養補給で食い止めることはできず、患者の罹患率および死亡率に深刻な影響を与える、顕著な体重低下につながる。それは、胃がん、膵臓がん、および食道がんの患者の80%に、頭頸部がんの患者の70%に、ならびに、肺がん、大腸がん、および前立腺がんの60%に起きる。例えば、Muscle (2012) 3, 245-51を参照のこと。悪液質のがん患者の死亡率への影響力をよそに、悪液質の進行を防ぐ、または、遅らせる効果的な治療は開発されてこなかった。例えば、初期段階の患者を含む膵臓がん患者の85%超は、病前の体重の平均14%が減ると推測されている。例えば、BMC Cancer. 2010 Jul 8;10:363を参照のこと。悪液質の膵臓がん患者はしばしば衰弱し、疲れ、治療に対する耐性はより低く、手術に対する転帰はより悪い。その結果として、悪液質は膵臓がんにおける死の主要なドライバとなる。悲しいことに、膵臓がんの5年生存率はここ40年の間6%のままであり、これは全ての悪性腫瘍のうち最も低い。

【0004】

10

20

30

40

50

悪液質の要因およびその骨格筋に対する影響を特定するための新しいツールの出現で、悪液質の分野は最近、がんおよび他の慢性疾患での筋萎縮を調節する発症機序を理解することにおいて大きく進歩した。結果として、我々は現在、サイトカインおよび全身性炎症が、筋原線維の内部から機能する主要なシグナル伝達経路に作用することにより、如何にして筋萎縮を調節するかについて理解している。しかしながら、これらの発見を効果的な療法に変換することは難しく、本明細書に記載の態様以前に悪液質に対する効果的な処置はなかった。

【0005】

骨格筋量は部分的に、タンパク質調節に対するタンパク質合成の相対比率により調節される。Alamdari, Nら (Acetylation and deacetylation - novel factors in muscle wasting, Metabolism. Jan 2013; 62(1): 1-11) を参照のこと。骨格筋量の減少は、タンパク質分解の速度がタンパク質合成より速い場合に起きる (同書)。タンパク質のアセチル化およびデアセチル化は転写因子と遺伝子転写を調整し、これはタンパク質を分解しやすくする、または、分解しにくくすることにより、筋量に影響を及ぼし得る (同書)。ヒストンアセチラーゼ (HAT) およびヒストンデアセチラーゼ (HDAC) は、タンパク質のアセチル化およびデアセチル化の調節において役割を果たす。

【0006】

しかしながら、筋消耗および悪液質に対するこれらの分子の影響は、相反することが分かっている。証拠が、例えば、HDAC阻害剤 (例えば、トリコスタチンA (TSA)) の使用は、筋消耗および悪液質の増大につながるタンパク質分解を増大し得る、高アセチル化をまねくことを示唆する。相反する結果がNarverら (Sustained improvement of spinal muscular atrophy mice treated with trichostatin A plus nutrition. Ann Neurol. 2008;64:465-70) により発見されたが、これらの結果は、TSAでの処置は積極的な栄養補給も伴うことから疑問がもたれている。[0005]のAlamdariらを参照のこと。したがって、HDAC阻害剤は、悪液質を低減するより増大すると考えられていたか、または、その使用は矛盾し相反する結果をもたらしていた。

【0007】

がん悪液質の発症と進行は、筋組織の腫瘍に対する複雑で多元的な病態生理学的反応により引き起こされる。これまで、悪液質の患者における筋消耗の進行を防ぐ、または、阻むのに使用可能であるFDAに認証された治療はない。これまで、悪液質の病因の種々の態様を標的にしたいいくつかの被験薬が人体試験を受けたが、臨床転帰は異なった。例えば、Novartis社のBYM38 (bimagrumab)、つまり、ミオスタチンとアクチビンがタイプIIアクチビン受容体へ結合することをブロックするmAbは、FDAの画期的治療薬指定を受けたが、GTx社の筋消耗薬であるenobosarm、つまり、選択的アンドロゲン受容体モジュレータは後期臨床試験で落ちた。

【0008】

コアヒストンのアセチル化は、DNAのヌクレオソームパッケージングを制御することで、遺伝子転写の調節において重要な役割を果たす。ヒストンのデアセチル化は、転写因子のDNA標的に対するアクセスを制限することにより、ヌクレオソームの密なパッケージングおよび転写抑制をもたらす。ヒストンのアセチル化はヌクレオソーム構造を緩和し、転写因子へのより多量のアクセスを可能にする。ヒストンのデアセチル化とアセチル化のバランスは、ヒストンデアセチルトランスフェラーゼ (HDAC) およびヒストンアセチルトランスフェラーゼ (HAT) により調節される。これらの要因の異常なバランスは、本明細書にその全体が参考に組み込まれる米国特許第8,318,808号明細書に記載のように、異常な細胞成長およびいくつかのがん形態と相関性がある。HDAC阻害剤は特に、アセチル化とデアセチル化のバランスを変え、多くの腫瘍細胞タイプで成長停止、分化、およびアポトーシスをまねく。例えば、前掲米国特許第8,318,808号明細書を参照のこと。

【0009】

18個のHDACがヒトで確認されており、亜鉛依存性またはニコチンアミド・アデニン・ジヌクレオチド (NAD) 依存性であることを特徴とし (Discov Med 10(54):462-470, Novemb

10

20

30

40

50

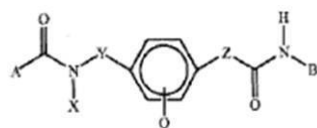
er 2010)、以下のclass、つまりclass I (HDAC 1、2、3、および8) ; class II (HDAC 4、5、6、7、9、および10) ; class III (サーチュイン1-7 (SIRT)) ; ならびにclass IV (HDAC 11) に関連付けられている (同書)。

【0010】

本明細書で特に関係するのは、HDAC阻害剤であり、これは、米国特許第8,318,808号明細書に記載され、例えば、芳香族Ω-アミノ酸リンカーを介して Zn^{2+} -キレートモチーフと結合した脂肪酸を基にする。種々の態様において、HDAC阻害剤は以下の化学式であり得る。

【0011】

【化1】

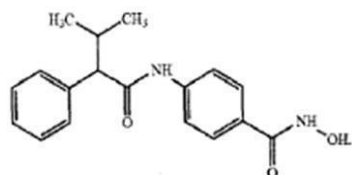


【0012】

式中、XはHおよびCH₃から選択し、Yはnが0~2である(CH₂)_nであり、Zはmが0~3である(CH₂)_mおよび(CH)₂から選択し、Aはヒドロカルビル基であり、Bはo-アミノフェニル基またはヒドロキシル基であり、Qはハロゲン、水素、またはメチルである。特定の(N-ヒドロキシ-4-(3-メチル-2-フェニル-ブチルアミノ)-ベンズアミド)というHDAC阻害剤は、AR-42としても知られている。一態様において、AR-42の構造は以下である。

【0013】

【化2】



【0014】

AR-42は、ポリノスタット (つまり、SAHA) と比較すると、固形腫瘍および血液悪性腫瘍においてより高い効力と活性を示す、ヒストンタンパク質および非ヒストンタンパク質の両方の広域デアセチラーゼ阻害剤である。例えば、Lu YSら (Efficacy of a novel histone deacetylase inhibitor in murine models of hepatocellular carcinoma, *Hepatology*. 2007 Oct;46(4):1119-30)、Kulp SKら (Antitumor effects of a novel phenylbutyrate-based histone deacetylase inhibitor, (S)-HDAC-42, in prostate cancer, *Clin Cancer Res*. 2006 Sep 1;12(17):5199-206) を参照のこと。

【0015】

AR-42は追加のヒストン独立機構も有し、これはその治療プロファイルに寄与する。例えば、Chen MCら (Novel mechanism by which histone deacetylase inhibitors facilitate topoisomerase IIα degradation in hepatocellular carcinoma cells, *Hepatology*. 2011 Jan;53(1):148-59)、Chen CSら (Histone acetylation-independent effect of histone deacetylase inhibitors on Akt through the reshuffling of protein phosphatase 1 complexes, *J Biol Chem*. 2005 Nov 18;280(46):38879-87)、Yoo CBら (Epigenetic therapy of cancer: past, present and future, *Nat Rev Drug Discov*. 2006 Jan;5(1):37-50) を参照のこと。

【0016】

AR-42は腫瘍において阻害効果を示し、該腫瘍には乳房、前立腺、卵巣、血液細胞 (例えば、リンパ腫、骨髄腫、および白血病)、肝臓、ならびに脳を含むが、これらに限定されるものではない。例えば、Mims Aら (Increased anti-leukemic activity of decitabine via AR-42-induced upregulation of miR-29b: a novel epigenetic-targeting approach in acute myeloid leukemia, *Leukemia*. 2012 Nov 26. doi: 10.1038/leu.2012.342.

10

20

30

40

50

[Epub ahead of print])、Burns SSら (Histone deacetylase inhibitor AR-42 differentially affects cell-cycle transit in meningeal and meningioma cells, potently inhibiting NF2-deficient meningioma growth, *Cancer Res.* 2013 Jan 15;73(2):792-803)、Lu YSら (Radiosensitizing effect of a phenylbutyrate-derived histone deacetylase inhibitor in hepatocellular carcinoma, *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012 Jun 1;83(2))、Zimmerman Bら (Efficacy of novel histone deacetylase inhibitor, AR-42, in a mouse model of, human T-lymphotropic virus type 1 adult T cell lymphoma, *Leuk Res.* 2011 Nov;35(11):1491-7)、Zhang Sら (The novel histone deacetylase inhibitor, AR-42, inhibits gp130/Stat3 pathway and induces apoptosis and cell cycle arrest in multiple myeloma cells, *Int J Cancer.* 2011 Jul 1;129(1):204-13) を参照のこと。

10

【発明の概要】

【0017】

本明細書に記載の態様は、HDAC class 1およびclass 2b阻害剤をがん哺乳動物に投与するステップを含む、がん哺乳動物の悪液質を抑制する方法を提供する。一態様は、HDAC class 1およびclass 2b阻害剤を効果的な量でがん哺乳動物に投与して、該がん哺乳動物の重量を、HDAC class 1およびclass 2b阻害剤を与えない哺乳動物と比較し実質的に維持することにより、がん哺乳動物の悪液質を抑制する方法を提供する。別の態様では、HDAC class 1およびclass 2b阻害剤を効果的な量でがん哺乳動物に投与し、少なくとも15日という期間で前記哺乳動物の重量の少なくとも約90%を実質的に維持する。別の態様では、HDAC class 1およびclass 2b阻害剤はAR-42である。さらに別の態様では、がん哺乳動物は少なくとも1つの腫瘍があり、該腫瘍体積はAR-42での処置後最初の約15日間で6%超減少することはない。

20

【0018】

本明細書に記載の他の態様は、AR-42をがん哺乳動物に投与することにより悪液質を抑制する方法を提供し、がん悪液質での筋萎縮の複数のメディエータ（例えば、IL-6、IL-6R α 、LIF、MuRF1、Atrogin-1などの悪液質促進ドライバ）の発現を、AR-42で処置していないがん哺乳動物と比較し減少させる。

【0019】

さらなる態様は、AR-42をがん哺乳動物に投与することにより悪液質を抑制する方法を提供し、悪液質が誘発する脂肪組織の減少および骨格筋線維サイズの縮小を、AR-42を与えない哺乳動物と比較し実質的に回復させる。

30

【0020】

本明細書に記載の態様は、HDAC class 1およびclass 2b阻害剤を効果的な量でがん哺乳動物に投与し、少なくとも15日という期間で、HDAC class 1およびclass 2b阻害剤を与えない哺乳動物と比較し、前記がん哺乳動物の骨格筋重量の少なくとも約90%を維持することによりがん哺乳動物の骨格筋重量を維持する方法を提供する。

【0021】

さらなる態様は、HDAC class 1およびclass 2b阻害剤を効果的な量でがん哺乳動物に投与し、がん哺乳動物の生存期間を、HDAC class 1およびclass 2b阻害剤を与えない哺乳動物と比較し実質的に延長することにより、がん哺乳動物の生存期間を延長する方法を提供する。

40

【0022】

本明細書に記載するように、AR-42は、筋消耗を抑制、低減、またはブロックし、がん悪液質の動物モデルの生存期間を延長することに対し、in vivoで有効性を示す。加えて、AR-42のがん関連悪液質に対する効果は、AR-42の腫瘍負荷を低減することに対する効果とは無関係である。

【図面の簡単な説明】

【0023】

【図1A】媒体処置腫瘍なしマウス（対照）と、媒体（媒体）または一日おきに50mg/kg

50

の経口AR-42 (AR-42) で処置する腫瘍ありマウスを比較した15日間の研究における、C-26腫瘍ありマウスでがんが誘発する悪液質の典型的な抑制を示す図であり、総重量 (左、腫瘍含む) および体重 (中央、腫瘍含まず) の変化を描く。矢印はAR-42の処置時点を示す。右は、C-26腫瘍ありマウスにおいて、腫瘍成長に対するAR-42の抑制効果はないことを示す。データは平均±標準偏差で示す。P値: a, 0.045; b, 0.0027; c, 0.049; d, 0.0048

【図1 B】腫瘍量を有する、各群の代表マウスの写真であり、がん悪液質に対するAR-42の治療効果を示す。

【図1 C】研究過程における、3つの処置群の典型的な一日の平均摂餌量を示す図である。データは平均±標準偏差 (n = 8) で示す。

【図1 D】腫瘍なしマウスおよび腫瘍ありマウスの両方における、腓腹筋、前脛骨筋、および大腿四頭筋 (P値: a, < 0.001; b, 0.0042; c, 0.0046) を含む後肢筋の重量に対するAR-42の典型的な効果を、媒体処置腫瘍ありマウスおよび媒体処置腫瘍なしマウスのそれと比較して示す図である (n = 8)。

【図1 E】腫瘍なしマウスおよび腫瘍ありマウスの両方における、心臓、脂肪組織、および脾臓 (P値: a, < 0.001; b, 0.0059; c, 0.001; d, 0.009) に対するAR-42の典型的な効果を、媒体処置腫瘍ありマウスおよび媒体処置腫瘍なしマウスのそれと比較した図である (n = 8)。

【図2 A】C-26腫瘍ありマウスの筋線維サイズの典型的な維持を示す図である。左には、媒体またはAR-42で処置した、腫瘍なし対照マウスと腫瘍ありマウスの腓腹筋の、H&E染色セクションの顕微鏡写真を示す。スケールバーは100 μmである。右には、腓腹筋の筋線維の断面積を、有意性が (P < 0.001) である頻度ヒストグラムで表す。データは平均±標準偏差で示す。

【図2 B】媒体、ポリノスタット (50mg/kg、経口投与、毎日)、ロミデプシン (0.6mg/kg、腹腔内投与、週2回)、またはAR-42 (50mg/kg、経口投与、一日おき) で処置した腫瘍ありマウスの、典型的なカプラン・マイヤー生存率曲線を示す図である。生存期間は、体重減少 (腫瘍を除く) が開始時の体重の20%に達した時点と定義し、これは研究から除く人道的な終点となる (*, P < 0.001、媒体対AR-42; n = 8)。

【図2 C】各群の代表マウスの典型的な写真であり、姿勢、被毛、および身体状態により明らかな、腫瘍ありマウスのがん悪液質に対するAR-42の治療効果を、ポリノスタットおよびロミデプシンと比較して示す。

【図2 D】腫瘍細胞注入後15日目に、媒体処置腫瘍なしマウス (n = 6)、および、AR-42 (n = 8)、ポリノスタット (n = 8)、またはロミデプシン (n = 5) で処置した腫瘍ありマウスの骨格筋における、Atrogin-1/MuRF1およびMuRF1の典型的なmRNA相対発現レベルを、媒体処置腫瘍ありマウス (n = 8) のそれと比較して示す図である。データは平均±標準偏差で示す。P値: a, < 0.001; b, 0.016; c, 0.0063

【図3 A】グルコース代謝の解糖および代替経路と関連する中間体レベルに対する、典型的な効果を示す図である。

【図3 B】腫瘍なしマウスおよび腫瘍ありマウス (各群につきn = 8) の腓腹筋における、グリコーゲン代謝に対するAR-42の典型的な効果を示す図である。腫瘍ありマウスの媒体またはAR-42での処置 (50mg/kg、経口投与、一日おき) を、腫瘍細胞注入後6日目で開始し、17日目で終えた。腫瘍なし対照マウスを、並行して媒体またはAR-42で処置した。データは箱髭図で示す。箱の上下はそれぞれ第一四分位および第三四分位を表し、箱内の「+」記号および帯はそれぞれ平均値と中央値を意味する。髭の終端は各群の最大値および最小値を表す。

【図4】C-26腫瘍ありマウスの筋において、悪液質が誘発する、神経伝達に関わる遊離アミノ酸およびアミノ酸の代謝物のレベルと、インスリン抵抗性バイオマーカのレベルの変化を、AR-42がブロックすることを示す図である。分析用試料は図3 Aおよび3 Bに関して記載した実験より生成した。データは図3 Aおよび3 Bに関して記載した箱髭図で示す。

10

20

30

40

50

【図5 A】腫瘍なしマウスの血清における、悪液質促進サイトカインであるIL-6レベル（左）およびLIFレベル（右）に対するAR-42の典型的な効果を、C-26腫瘍ありマウスと比較して示す図（上側）と、腫瘍なしマウスの骨格筋におけるIL-6RaのmRNA発現に対するAR-42の効果、C-26腫瘍ありマウスと比較したqPCR分析を示す図（下側）である。データは平均±標準偏差で示す。P値：a, < 0.001; b, 0.006; c, 0.012 (n = 3)。マウスは図3に関連して記載したように処置した。

【図5 B】RNA-seqデータの典型的な主成分分析を示す図（左）と、4つの処置群の間で異なって発現する遺伝子を示すベン図（右）である。TFは腫瘍なし、Tは腫瘍あり、vehは媒体での処置、ARはAR-42での処置である。マウスは図3に関して記載したように処置した。

【図5 C】6つの主要な悪液質促進ドライバの転写レベルに対するAR-42の効果についての、RNA-seqによる典型的な分析を示す図である。（P値：a, 0.024; b, 0.028; c, 0.015; d, 0.007; e, 0.024; f, 0.026; g, 0.01; h, 0.012; i, < 0.001; j, 0.014; n = 3）マウスは図3に関して記載したように処置した。

【図5 D】4つの処置群のマウスの骨格筋における、6つの主要な悪液質促進ドライバの転写レベルに対するAR-42の効果についての、qPCRによる典型的な分析を示す図である（*, P < 0.001; n = 6）。データは平均±標準偏差で示す。マウスは図3に関して記載したように処置した。

【図6 A】AR-42での処置を腫瘍および悪液質の後期まで遅らせることによる、C-26腫瘍ありマウスにおけるがん悪液質の抑制を示す図である。媒体処置腫瘍なし対照マウス（T/F、Veh）および媒体処置腫瘍ありマウス（T、Veh）の、18日間の研究過程における体重（腫瘍を除く）の変化を、経口AR-42での処置を6日目（T、AR42/D6）、10日目（T、AR42/D10）、または12日目（T、AR42/D12）で開始したマウスと比較する（左に示す）。P値：a, 0.0015; b, 0.023 (n = 8)。矢印はAR-42処置を開始した時点を示す。データは平均を示す。明確に表示するため、各データ点の標準偏差バーは示していない。右には、処置を遅らせた実験において、C-26腫瘍ありマウスの腫瘍成長に対するAR-42の抑制効果はないことを示す結果がある。データは平均±標準偏差で示す（n = 8）。

【図6 B】処置が遅いにも関わらず、AR-42は腫瘍ありマウスのがん悪液質に対し治療効果があることを示す典型的な写真である。これは、大きい腫瘍量にも関わらず、正常な姿勢、滑らかな被毛、および、より良い身体状態を有することから明らかである。

【図6 C】図6 Aに記載のように疾患進行の異なるステージで開始したAR-42処置の、C-26腫瘍ありマウスの腓腹筋、前脛骨筋、および大腿四頭筋を含む後肢筋の重量に対する典型的な効果を示す図である。データは平均±標準偏差で示す（n = 8; *, P < 0.001）。

【図6 D】15日目と16日目において、媒体処置腫瘍なし対照および媒体処置腫瘍あり対照と比較した、腫瘍ありマウスの握力に対するAR-42の効果を示す図である。データは平均±標準偏差で示す（n = 8; P値：a, 0.01; b, 0.022; c, < 0.001; d, 0.0019）。Nはニュートンである。

【図7】AR-42は、LLCマウス悪液質モデルにおけるがん誘発筋消耗を防ぐことを示す図である。腫瘍なしマウスと腫瘍ありマウス両方の、腓腹筋、前脛骨筋、および大腿四頭筋を含む後肢筋の質量を、媒体処置腫瘍ありマウスのそれと比較し、媒体と比較したAR-42の典型的な効果を示す。マウスは、腫瘍細胞注入後20日目で殺処分した点を除き、図1 Aで記載したのと同じ方法で処置した。データは平均±標準偏差で示す（n = 8）。

【図8】リアルタイムRT-PCRに使用するプライマーの典型的なシーケンスを示す図である。

【図9】AR-42処置C-26腫瘍ありマウスと媒体処置C-26腫瘍ありマウスの間で異なって（≥4倍）発現する筋疾患または筋機能に関連した遺伝子についての、典型的なIngenuity Pathway Analysis (IPA) (QIAGEN社)を示す図である（n = 6）。

【図10】媒体又はAR-42で処置した、腫瘍なしマウスおよびC-26腫瘍ありマウスの血清試料についての、典型的なサイトカインプロファイル分析を示す図である（平均±標準偏差、各群につきn = 3）。

10

20

30

40

50

【図 1 1】AR-42処置C-26腫瘍ありマウスの筋において、媒体処置C-26腫瘍ありマウスと比較し異なって（ ≥ 4 倍）発現する遺伝子についての、典型的なRNA-seq分析を示す図である（ $n = 3$ ）。

【発明を実施するための形態】

【0024】

本明細書に記載のいくつかの典型的な態様を記載する前に、本発明は以下の記載に明記した構成またはプロセス段階の詳細に限定されるものではないことを理解すべきである。本明細書に記載の態様は、種々の方法で実践または実行することが可能である。

【0025】

本明細書に記載の態様は、がん悪液質のCD2F₁マウス結腸（colon）26（C-26）腫瘍モデルにおいて、悪液質が誘発する体重減少および骨格筋の委縮を減じ、生存期間を延長する経口AR-42の効果を開示する。マウスCD2F₁悪液質モデルは、例えば、その全体が本明細書に参考として組み込まれるBMC Cancer. 2010 Jul 8;10:363に記載されている。観察された抗悪液質効果は、細胞代謝を再プログラムする、ならびに、罹患筋組織においてIL-6レベルを下方制御して筋消耗および他の悪液質に関連する影響を抑制するという、腫瘍負荷を減少させることに対するAR-42の効果とは無関係のAR-42の機能に関連するものであった。

【0026】

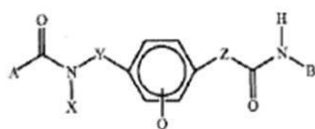
本明細書に記載の態様は、がん悪液質のルイス肺がん（Lewis Lung Carcinoma, LLC）腫瘍モデルにおいて、悪液質が誘発する体重減少および骨格筋の委縮を減じ、生存期間を延長する経口AR-42の効果を開示する。例えば、Expert Opin Drug Discov. Nov 1, 2009; 4(11): 1145-1155を参照のこと。

【0027】

米国特許第8,318,808号明細書に記載のHDAC阻害剤は、本明細書に記載の種々の方法で使用することが可能である。このHDAC阻害剤は、例えば、芳香族Ω-アミノ酸リンカーを介してZn²⁺-キレートモチーフと結合した脂肪酸を基にする。種々の態様において、HDAC阻害剤は以下の化学式であり得る。

【0028】

【化 3】



【0029】

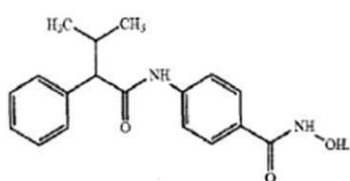
式中、XはHおよびCH₃から選択し、Yはnが0～2である(CH₂)_nであり、Zはmが0～3である(CH₂)_mおよび(CH)₂から選択し、Aはヒドロカルビル基であり、Bはo-アミノフェニル基またはヒドロキシル基であり、Qはハロゲン、水素、またはメチルである。

【0030】

別の態様では、本明細書に記載の方法は、以下の化学構造を持つ、(S)-N-ヒドロキシ-4-(3-メチル-2-フェニルブタンアミド)ベンズアミドとしても知られる、AR-42を利用する。

【0031】

【化 4】



【0032】

さらに別の態様では、AR-42は塩、溶媒化合物、水和物、無水物、共結晶、および他の

結晶形および組み合わせを含む。AR-42は、安定性を増した、バイオアベイラビリティ、徐放性、および他の特性を増した種々の剤形に配合することが可能である。

【0033】

一態様において、HDAC阻害剤は亜鉛依存性またはニコチンアミド・アデニン・ジヌクレオチド (NAD) 依存性であること (Discov Med 10(54):462-470, November 2010) を特徴として分類し、そのHDAC基質に基づいて18個のファミリーサブタイプを持つ4つのclassに分ける。つまり、class I (HDAC 1、2、3、および8)、class II (HDAC 4、5、6、7、9、および10)、class III (サーチュイン1-7 (SIRT))、ならびにclass IV (HDAC 11) である (同書)。別の態様では、HDAC阻害剤は、ポリノスタット (SAHA) (class Iおよびclass II阻害剤)、デブシペプチドclass I阻害剤、およびAR-42 (class Iおよびclass II阻害剤) を含むが、これらに限定されるものではない。例えば、Strahl, B.D.およびAllis, C.D.(2000) (Nature 403:41-45) を参照のこと。他のHDAC阻害剤 (例えば、トリコスタチンA、つまりTSA) はclass 1およびclass 2のHDACを阻害する。HDAC阻害剤用基質は、classおよびサブタイプで異なる。

10

【0034】

別の態様では、HDAC阻害剤はclass 1およびclass 2bのHDACを阻害する。さらに別の態様では、HDAC阻害剤はAR-42である。

【0035】

がん悪液質の結腸26 (C-26) 腫瘍モデルにおいて、C26腫瘍の断片を同質遺伝子型のBAL B/cマウスに移植すると、該マウスは未分化がんを発症する。骨格筋委縮 (筋力および疲労に対する抵抗性により測定する) は観察される生化学的変化と相関性があり、該モデルは「がん悪液質についての研究用に、十分に標準化された実験用モデル」と呼ぶ。BMC Cancer. 2010 Jul 8;10:363

20

【0036】

一態様において、HDACのclass 1およびclass 2b阻害剤を効果的な量でがん哺乳動物に投与し、該哺乳動物の重量を、HDACのclass 1およびclass 2b阻害剤を与えない哺乳動物と比較して実質的に維持することにより該哺乳動物の悪液質を抑制する方法を提供する。別の態様では、HDAC阻害剤はAR-42である。

【0037】

さらに別の態様では、哺乳動物の重量は、AR-42での処置後最初の約15日後に6%超減少することはない。

30

【0038】

別の態様では、がんは、脾臓、結腸、頭部、頸部、胃、および食道からなる群より選択する。別の態様では、哺乳動物はヒトである。

【0039】

AR-42は哺乳動物の約1mg/kg～約100mg/kgの量で投与することが可能であり、少なくとも一日に1回投与することが可能である。別の態様では、AR-42は哺乳動物の重量の約50mg/kgの量で一日に2回投与する。

【0040】

さらに別の態様では、IL-6レベルは、AR-42を与えない哺乳動物と比較し約56%低減する。別の態様では、白血病抑制因子 (LIF) レベルは、AR-42を与えない哺乳動物と比較し約88%低減する。別の態様では、Atrogin-1のmRNA発現は、AR-42を与えない哺乳動物と比較し基礎値まで回復する。

40

【0041】

一態様において、MuRF1のmRNA発現は、AR-42を与えない哺乳動物と比較し基礎レベルまで回復する。別の態様では、悪液質が誘発するIL-6R α のmRNAレベルの増加は、AR-42を与えない哺乳動物と比較し約85%減少する。

【0042】

さらに別の態様では、悪液質が誘発する脂肪組織の減少は、AR-42を与えない哺乳動物と比較し実質的に回復する。別の態様では、悪液質が誘発する骨格筋線維サイズの縮小は

50

、AR-42を与えない哺乳動物と比較し、AR-42により回復する。

【0043】

HDACのclass 1およびclass 2b阻害剤を効果的な量でがん哺乳動物に投与して、少なくとも15日という期間で、HDACのclass 1およびclass 2b阻害剤を与えない哺乳動物と比較し前記哺乳動物の骨格筋重量の少なくとも約90%を維持するステップを含む、がん哺乳動物の骨格筋重量維持方法も提供する。

【0044】

別の態様では、HDACのclass 1およびclass 2b阻害剤を効果的な量でがん哺乳動物に投与して、HDACのclass 1およびclass 2b阻害剤を与えない哺乳動物と比較し前記哺乳動物の生存期間を実質的に延長するステップを含む、がん哺乳動物の生存期間延長方法を提供する。さらに別の態様では、哺乳動物は該哺乳動物にAR-42を投与後、少なくとも約21日間は生存する。

10

【0045】

別の態様では、AR-42の投与は哺乳動物において悪液質が誘発する体重減少および骨格筋萎縮を減じ、生存期間を延長した。理論に縛られることなく、抗悪液質効果は、細胞代謝を再プログラムする、ならびに、罹患筋組織におけるIL-6レベルを下方制御して筋消耗および他の悪液質に関連する影響を抑制するという、腫瘍負荷を減少させることに対するAR-42の効果とは無関係のAR-42の機能と関連すると考えられる。

【0046】

一態様において、AR-42の抗悪液質効果は種々の技法により測定され、該技法には、がんの筋萎縮について実証されたメディエータの発現に関するqRT-PCT分析（例えば、Cancer Cell. 2008 Nov 4;14(5):369-81）、血清および腓腹筋組織における抗炎症サイトカインレベルの測定（Am J Pathol. 2011 Mar;178(3):1059-68）、メタボロームプロファイリング分析（J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2013 Jun;4(2):145-55）、筋組織における遊離アミノ酸レベル測定（J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2013 Jun;4(2):145-55; Am J Physiol Endocrinol Metab. 2007 Feb;292(2):E501-12）、解糖経路に関連した生化学レベル測定による悪液質筋の「糖分解特徴」測定（Cachexia Sarcopenia Muscle. 2013 Jun;4(2):145-55）、悪液質筋組織におけるグリコーゲン貯蔵レベル測定（Cell Death Differ. 2012 Oct;19(10):1698-708）、悪液質筋における分枝鎖アミノ酸代謝分析（Int J Biochem Cell Biol. 2013 Oct;45(10):2163-72）、ならびに、悪液質性筋における2-ヒドロキシシブチレートおよびオフタルミン酸のレベル測定（PLoS One. 2010 May 28;5(5):e10883; Int J Cancer. 2010 Feb 1;126(3):756-63）が含まれる。

20

30

【0047】

本明細書に記載のHDAC阻害剤は、処置を必要とする患者（例えば、がんがあり、悪液質の症状を呈する患者）に投与することが可能である。一態様において、ある特定のがんは特に悪液質に関連し、該がんには脾臓、胃、頭部、頸部、および食道を含むが、これらに限定されるものではない（「悪液質関連がん」）。別の態様では、class 1、class 2bのHDAC阻害剤（例えば、AR-42）を、処置を必要とする患者に投与する。

【0048】

本明細書で使用する「実質的」という用語は、例えばがんのない哺乳動物の重量または総量の「多く」、「大部分」、つまり、少なくとも50%、60%、70%、80%、および90%を意味する。

40

【0049】

本明細書で使用する「処置する」、「低減する」、「抑制する」、「阻害する」、「防止する」、または同様の用語は、100%の、または、完全な、処置または防止を必ずしも意味するわけではない。むしろこれらの用語は、当技術分野で有益であると認められる、特定の疾患の種々の程度の処置または防止（例えば、100%、90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%、5%、または1%）を意味する。

【0050】

「処置」または「防止」という用語はまた、しばらくの間疾患の開始を遅らせること、

50

または、無期限に開始を遅らせることを意味する。「処置 (treatment)」または「処置すること (treating)」という用語は、患者に薬物または処置を施すこと、もしくは、薬物を（例えば、医師、看護師、または他の医療専門家が）患者に処方し、該患者または第三者（例えば、介護者、家族、またはヘルスケア専門家）が該薬物または処置を施すことを意味する。「効果的な量」という用語は、疾患または病気（例えば悪液質）を処置し、低減し、抑制し、阻害し、防止する薬物または処置の量、もしくは、疾患または病気の哺乳動物の生存期間を延長する薬物または処置の量を意味する。

【0051】

本明細書で使用する「延長する (prolong)」または「延長すること (prolonging)」という用語は、処置を受けない哺乳動物と比較して、処置を受けた哺乳動物の生存期間の時間が延びることを意味する。この面において、「延長された生存期間」は、哺乳動物の寿命が、例えば、がんのない哺乳動物の寿命の1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%延びることを意味し得る。

10

【0052】

本明細書に記載のHDAC阻害剤のいずれも、経口的に、非経口的に (IV、IM、デポ-IM、SQ、およびデポ-SQ)、舌下に、鼻腔内に (吸入)、髄腔内に、局所的に、または直腸に、投与することが可能である。当業者に知られた剤形は、本明細書に記載のHDAC阻害剤の送達に適切である。

【0053】

一態様において、典型的なHDAC阻害剤を経口剤形 (ピル、カプセル、カプレット、または錠剤など) で悪液質に関連するがん (例えば、膵臓、膀胱、胃、頭頸部) と診断された患者に投与する。

20

【0054】

HDAC阻害剤は、経口投与に適切な、錠剤、カプセル、もしくはエリキシル剤などの医薬品、または、非経口投与に適切な、滅菌溶液または懸濁液に配合することが可能である。本明細書に記載のHDAC阻害剤は、当技術分野で周知の技法および手順を用いて医薬組成物に配合することが可能である。

【0055】

一態様において、約0.1~1000mg、約5~約100mg、もしくは約10~約50mgのHDAC阻害剤 (例えば、AR-42)、または、生理学的に容認可能な塩、もしくはエステルは、生理学的に容認可能な媒体、担体、賦形剤、結合剤、防腐剤、安定剤、着香料などと共に、容認された薬務により要求される単位剤形に混合することが可能である。HDAC阻害剤を含む組成物または製剤における有効成分の量は、指示範囲の適切な投薬量が得られる量である。

30

【0056】

別の態様では、組成物は単位剤形に配合し、各投薬量は約1~約500mg、または、約10~約100mgの有効成分を含むことが可能である。「単位剤形」という用語は、ヒト対象または他の哺乳動物の単位投薬量として適切な、物理的に分離した単位を意味し、各単位は、適切な医薬品賦形剤と共同して望ましい治療効果を生むように計算された所定量の活物質を含む。

【0057】

一態様において、1つ以上のHDAC阻害剤を、適切で医薬的に容認可能な担体と混ぜて組成物を形成する。化合物を混ぜる、または、追加して結果として生じる混合物は、溶液、懸濁液等であってよい。リボソーム懸濁液またはその他のナノ粒子送達システムも、医薬的に容認可能な担体として使用することができる。これらは、当業者に知られている方法により調製することができる。結果として生じる混合物の形態は、意図する投与方式、および、選択した担体または媒体における化合物の溶解度などの因子の数に左右される。一態様において、有効濃度は、処置する疾患、不調、病気の少なくとも1つの症状を軽くする、または、改善するのに十分であり、経験的に決めることができる。

40

【0058】

さらに別の態様において、AR-42はC-26およびLLC腫瘍の悪液質モデルで見られるような

50

、悪液質での筋消耗を抑制する。炎症性サイトカインであるIL-6およびTNFは、2つのモデルにおける悪液質促進因子を表す(31、32)。サイトカインプロファイル分析は、AR-42はC-26腫瘍ありマウスの血清TNFレベルに対しては効果がないが、血清IL-6レベルおよび筋内IL-6R α のmRNA発現レベルを減らすことを示した。それでもなお、AR-42で処置したこれらのC-26腫瘍ありマウスはまだ、腫瘍なしマウスと比較して血清IL-6レベルおよびIL-6R α のmRNA発現の上昇を示し、これは、IL-6シグナル伝達の減少が、AR-42が媒介する筋消耗抑制の唯一の原因ではないことを示唆する。

【0059】

機構的に、AR-42の抗悪液質効果は独特である。これは、HDAC阻害剤であるバルプロ酸およびトリコスタチン-Aが、ミオスタチン／フォリスタチン軸を調節する機能を持つにも関わらず、C-26腫瘍ありマウスの筋力低下を食い止めることができなかったためである(33)。同様に当社の発見は、ポリノスタットおよびロミデプシンは、AR-42と異なり、C-26モデルで悪液質が誘発する体重減少を減じることに無効であったことを示す。この相違は、腫瘍ありマウスの筋においてE3リガーゼであるAtrogin-1およびMuRF1のmRNA発現を抑制するという、AR-42のより優れた機能に起因するものであり、これは、骨格筋における全遺伝子発現を調節する各々の機能の違いを反映する。最新の知見は、悪液質関連遺伝子の機能不全発現をまねく、罹患筋での異常なアセチル化／転写因子の発現と筋消耗の間の機構的関連性を示唆する[レビュー：(34)]。p300/CBPのヒストンアセチルトランスフェラーゼ活性が骨格筋においてFoxoファミリー転写因子の転写活性および核局在性を異なっており調節すること(35)、および、class IのHDAC類、特にHDAC1は、Foxoおよびその標的であるAtrogin-1およびMuRF1の発現を調節することにより、栄養枯渇または筋の不使用が誘発する筋萎縮の媒介に重要な役割を果たすこと(22)が報告された。

【0060】

RNA-seq分析により、遺伝子発現において腫瘍が誘発するシフトを食い止めるというAR-42の機能が明らかになった。合計677個の遺伝子が、AR-42処置腫瘍ありマウスと媒体処置腫瘍ありマウスの間で4倍以上異なっており発現することが確認された。この多数の、異なっており発現する遺伝子は、転写活性、および／または、複数の転写因子／制御因子の発現に対するAR-42の効果から生じると考えられる。Foxo1に加え、AR-42はまた、C/EBP δ 、Fos、Jun-b、DAXX、ERN1、HIF3 α 、MAFF、MAFK、およびMef2cなど他の多くの転写因子／制御の発現を調節する(図11)。これらの転写因子のうち、骨格筋、心筋、および平滑筋の発達におけるMef2cの重要性は十分に裏付けられており(36)、AP-1シグナル伝達カスケードはがんに関連した筋消耗に関与している(37)。

【0061】

C-26腫瘍ありマウスの悪液質筋は、高い解糖率を特徴とするワールブルグ腫瘍生理機能を示すことが提案された(38)。当社のメタボロームデータは、C-26腫瘍ありマウスにおける骨格筋代謝の明白な再プログラミングを明らかにし、これはAR-42により完全に食い止められた。さらに、インスリン抵抗性用バイオマーカ(17)および酸化ストレス用バイオマーカ(18)である、2-ヒドロキシブチレートおよびオクタラム酸の生成に対するAR-42の抑制効果は、注目に値する。これは、実質的証拠により、インスリン抵抗性(39、40)と酸化ストレス(41)が悪液質と関連付けられたからである。

【0062】

機構的に、腫瘍ありマウスにおいて骨格筋の完全性を維持するというAR-42の機能は、複数の転写プログラムおよび代謝表現型において腫瘍が誘発する変化に対する、その様々な累積的効果より生じる。腫瘍成長末期でのAR-42の経口投与が、依然として、C-26腫瘍ありマウスの筋消耗の進行を減速するのに効果的であることは治療的に重要である。総合すると、これらの発見は、HDAC阻害剤(例えば、AR-42)は、本明細書に記載するようにがん悪液質の包括的治療方針の一部として使用することが可能であることを示す。

【0063】

本明細書に記載の、HDAC阻害剤の投与に適切な医薬担体または媒体には、特定の投与方式に適切な担体を含む。加えて、活物質は、望ましい作用を弱めない他の活物質と、また

10

20

30

40

50

は、望ましい作用を補う、もしくは、他の作用を有する物質と混ぜることも可能である。化合物は、単独の医薬的有効成分として組成物に配合するか、または、他の有効成分と組み合わせることができる。

【0064】

別の態様では、HDAC阻害剤が十分な溶解度を示さない場合、溶解する方法を用いることができる。該方法は既知であり、ジメチルスルホキシド（DMSO）などの共溶媒を用いること、TWEENなどの界面活性剤を用いること、および、含水重炭酸ナトリウムに溶解することを含むが、これらに限定されるものではない。塩またはプロドラッグなど、化合物の誘導体も、効力のある医薬組成物を配合するのに用いることができる。

【0065】

化合物の濃縮は、化合物を投与する不調の少なくとも1つの症状を軽くする、または、改善する投与量を送達するのに有効である。典型的に、組成物は、1回の用量投薬向けに配合する。

【0066】

別の態様では、本明細書に記載のHDAC阻害剤は、時限放出製剤またはコーティングなど、それが身体から迅速に除去されることを防ぐ担体と共に調製することができる。該担体には、マイクロカプセル化送達システムなどの制御放出製剤を含むが、これらに限定されるものではない。活性化合物は、処置する患者において望ましくない副作用がない場合、治療的に有用な効果を示すのに十分な量で、医薬的に容認可能な担体に含めることが可能である。治療的に効果的な濃度は、処置する不調について既知のin vitroおよびin vivoモデルシステムで該化合物をテストすることにより、経験的に求めることができる。

【0067】

別の態様では、本明細書に記載のHDAC阻害剤および組成物は、複数回投与用容器または一回投与用容器に封入することが可能である。封入した化合物および組成物は、例えば、使用のために組み立てることが可能な成分を含むキットで提供することが可能である。例えば、凍結乾燥形状のAR-42および適切な希釈剤を、使用前に組み合わせる別個の成分として提供することができる。キットは、同時投与用に、AR-42と第2の治療薬を含むことができる。AR-42および第2の治療薬は、別個の成分として提供することが可能である。キットは複数の容器を含み得、各容器は本明細書に記載の化合物を1以上の単位容量で収容する。一態様では、該容器は望ましい投与方式に適応させることが可能である。該投与方式には、経口投与向けの、錠剤、ゲルカプセル、徐放性カプセル剤等、および、非経口投与向けの、デポ製品、プレフィルドシリンジ、アンプル、バイアル等、および、局所投与向けの、パッチ、メディパッド、クリーム等を含むが、これらに限定されるものではない。

【0068】

医薬組成物における典型的なHDAC阻害剤の濃度は、当業者に既知の要因のみならず、活性化合物の吸収、不活化、および排出速度、投与スケジュール、ならびに投与量に左右されよう。

【0069】

別の態様では、有効成分は一度で投与するか、または、多くの、より小さい用量に分けて、間隔を空けて投与することができる。正確な投薬量および処置期間は処置する疾患に応じて異なり、既知のテストプロトコルを用いて、または、in vivoまたはin vitroのテストデータからの推測により経験的に求めることができると理解される。濃度値および投薬量値はまた、軽減すべき病気の重症度により異なることに注意すべきである。さらに、任意の特定の対象に対し、個別の投薬計画は、個々の要求、および、組成物を投与する、または、組成物の投与を管理する人間の専門的な判断に応じて経時的に調節すべきであること、ならびに、本明細書で述べる濃度範囲はただの例示であり、特許請求する組成物の範囲または実施を限定することを意図しているわけではないことを理解すべきである。

【0070】

経口投与を望む場合、化合物は、胃の酸性環境からそれを守る組成物で提供することが可能である。例えば、組成物は、胃においてその完全性を維持し、活性化合物を腸に放出

10

20

30

40

50

する腸溶性コーティングに配合することが可能である。組成物はまた、制酸剤または他のそのような成分と組み合わせて配合してよい。

【0071】

経口組成物は、概して不活性希釈剤または食用担体を含み、錠剤に圧縮する、または、ゼラチンカプセルに封入することができる。経口治療投与を目的に、活性化合物または化合物を賦形剤と組み合わせ、錠剤、カプセル、またはトローチ剤の形態で 사용할ことが可能である。医薬的に相溶性のある結合剤および補助物質を組成物の一部として含むことが可能である。

【0072】

錠剤、ピル、カプセル、トローチ剤等は、同様の性質を持つ以下の成分または化合物、つまり、結合剤、賦形剤、崩壊剤、潤滑剤、流動促進剤、甘味剤、着香剤のいずれかを含むことが可能である。該結合剤は、トラガカントゴム、アカシア、コーンスターチ、またはゼラチンなどであるが、これらに限定されるものではない。該賦形剤は微結晶性セルロース、デンプン、または乳糖などである。該崩壊剤はアルギン酸およびコーンスターチなどであるが、これらに限定されるものではない。該潤滑剤はステアリン酸マグネシウムなどであるが、これに限定されるものではない。該流動促進剤はコロイド状二酸化ケイ素などであるが、これに限定されるものではない。該甘味剤はスクロースまたはサッカリンなどである。該着香剤はペパーミント、サリチル酸メチル、またはフルーツ香料などである。

10

【0073】

投薬量単位の形態がカプセルである場合、それは、上記のタイプの物質に加え、脂肪油などの液体担体を含むことが可能である。加えて、投薬量単位形態は、種々の他の物質を含むことが可能であり、これは投薬量単位の物理的形態、例えば、糖衣および他の腸溶性コーティングを調整する。化合物はまた、エリキシル剤、懸濁液、シロップ、ウエハ、チューインガム等の成分として投与することが可能である。シロップは、活性化合物に加え、甘味剤およびある程度の防腐剤としてのスクロース、染料および着色剤、ならびに、香料を含んでよい。

20

【0074】

活物質はまた、望ましい作用を損ねない他の活物質と、または、望ましい作用を補う物質と混ぜることが可能である。HDAC阻害剤は、例えば、抗腫瘍剤、ホルモン、ステロイド、またはレチノイドと組み合わせて使用することが可能である。抗腫瘍剤は、アルキル化剤、代謝拮抗剤、ホルモン剤、抗生物質、コルヒチン、ビンカアルカロイド、L-アスパラギナーゼ、プロカルバジン、ヒドロキシウレア、ミトタン、ニトロソウレアまたはイミダゾールカルボキサミドなど多数の化学療法剤の1つであってよい。適切な薬剤には、チューブリンの脱分極を促進する薬剤を含む。例には、ビンブラスチンおよびビンクリスチンなどのコルヒチンおよびビンカアルカロイドが含まれる。

30

【0075】

別の態様では、本明細書に記載のHDAC阻害剤をワクチンと共に投与する、または、ワクチンを予防接種する前後で投与して、ワクチンに対する免疫反応を高めることが可能である。一態様において、該ワクチンはDNAワクチン、例えば、HPVワクチンである。

40

【0076】

一態様において、非経口適用、皮内適用、皮下適用、または局所適用向けに使用する溶液または懸濁液は、以下の成分のいずれかを含むことが可能である。該成分とは、注射用水などの殺菌希釈剤か、食塩液か、固定油か、ごま油、ココナッツ油、ピーナッツ油、および綿実油等などの天然由来の植物油か、オレイン酸エチル等などの合成脂肪媒体か、ポリエチレングリコールか、グリセリンか、プロピレングリコールか、または他の合成溶媒；ベンジルアルコールおよびメチルパラベンなどの抗菌剤；アスコルビン酸および亜硫酸水素ナトリウムなどの抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸（EDTA）などのキレート剤；酢酸塩、硝酸塩、およびリン酸塩などの緩衝液；ならびに、塩化ナトリウムおよびデキストロースなどの張性を調整するための薬剤である。非経口製剤は、ガラス、プラスチック、

50

または他の適切な物質でできた、アンプル、使い捨てシリンジ、または複数回投与バイアルに封入することが可能である。緩衝液、防腐剤、抗酸化剤等は必要に応じて組み込むことが可能である。

【0077】

静脈内に投与する場合、適切な担体には、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）、ならびに、グルコース、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールなどの増粘剤および可溶化剤を含む溶液と、その混合物を含むが、これらに限定されるものではない。組織標的化リポソームを含む、リポソーム懸濁液またはその他のナノ粒子送達システムも、医薬的に容認可能な担体として適切である。これらは当技術分野で既知の方法で調製することができる。

10

【0078】

別の態様では、HDAC阻害剤は、時限放出製剤またはコーティングなど、化合物が身体から迅速に除去されることを防ぐ担体と共に調製することができる。そのような担体は制御放出製剤および生分解可能で生体適合性のあるポリマーを含む。該制御放出製剤は、インプラント送達システムおよびマイクロカプセル化送達システムなどであるが、これらに限定されるものではなく、該生分解可能で生体適合性のあるポリマーは、コラーゲン、エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸等である。そのような製剤の調製方法は当業者に既知である。

【0079】

さらに別の態様では、開示の方法で用いる化合物は経腸的に、または、非経口的に投与することができる。経口的に投与する場合、開示の方法で用いる化合物は、当業者には周知である経口投与向けの通常剤形で投与することが可能である。これらの剤形には、溶液、懸濁液、およびエリキシル剤などの液体剤形ばかりでなく、タブレット錠およびカプセルという通常の固形単位剤形が含まれる。固形剤形を用いる場合、それらは、本明細書に記載の方法で使用する化合物が毎日1度か2度投与する必要があるように、徐放性タイプとすることが可能である。

20

【0080】

経口剤形は、毎日1回、2回、3回、または4回、患者に投与することが可能である。本明細書に記載のHDAC阻害剤は、3回またはより少ない回数で、つまり毎日1回または2回のいずれかで投与することさえ可能である。従って、開示の方法で用いるHDAC阻害剤化合物は、経口剤形で投与する。いかなる経口剤形を用いても、それは、本明細書に記載の方法で用いる化合物を胃の酸性環境から守るように設計することが可能である。腸溶性コーティングタブレット錠は当業者に周知である。加えて、小さい小球を充填したカプセルで、各々コーティングして酸性胃から守るようにしたものも、当業者には周知である。

30

【0081】

「治療的に効果のある量」および「治療的に効果のある期間」という用語は、腫瘍性細胞の成長を低減するのに効果のある投薬量および期間での処置を意味するのに使用する。上述したように、このような投与は、非経口、経口、舌下、経皮、局所、鼻腔内、または直腸内とすることが可能である。一態様において、全身的に投与する場合、治療組成物は、約0.1 μM ～約100mMという血中化合物濃度を達成するのに十分な投薬量で投与することが可能である。局所投与の場合、これよりはるかに低い濃度で効果的であり得、はるかに高い濃度も許容し得る。当業者は、このような、HDAC阻害剤またはAR-42の有効濃度がより低い治療の効果は、処置する組織、器官、または、特定の動物もしくは患者に応じてかなり異なり得ることを理解しよう。また、患者は1回分の用量で開始してよいが、該用量は患者の病気の変化につれ変わり得ることも理解されよう。

40

【0082】

正確な投与量および投与の頻度が、開示した投与方法で用いる特定の化合物、処置する特定の病気、処置する病気の重症度、年齢、体重、特定の患者の通常の体調、および、個人が服用している場合がある、当業者である投与する医師は周知の他の薬物に左右されることは、当業者に明らかなはずである。

50

【実施例】

【0083】

以下の非限定実施例は本明細書に記載の態様を示すものである。

【0084】

(実施例1)

がん悪液質モデルC-26モデル

一態様において、腫瘍を、C-26細胞（0.1mL中 0.5×10^6 細胞）をオスのCD2F1マウス（生後約6週間、Harlan Laboratories社、インディアナ州インディアナポリス）の右脇腹に皮下注入することにより設けた（11）。非悪液質対照となる腫瘍なしマウスと同様に、腫瘍ありマウスを無作為にグループに分け、AR-42（50mg/kg、胃管栄養法による経口投与、一日おき、Arno Therapeutics社、ニュージャージー州フレミントン）、または、媒体（滅菌水に溶解した0.5%メチルセルロース（w/v）および0.1%Tween-80（v/v））のいずれかでの処置を、細胞注入後6日目に開始した。遅延処置の効果を調べるため、薬物および／または媒体での処置をがん細胞注入後6日目、10日目、および12日目に開始した。

10

【0085】

別の態様では、AR-42の効果を他のHDAC阻害剤と比較した。この態様では、C-26腫瘍ありマウスの追加グループをポリノスタット（50 mg/kg、経口投与、毎日1回）とロミデプシン（0.6 mg/kg、腹腔内投与、週2回）で処置した（ChemieTek社（インディアナ州インディアナポリス））。

20

【0086】

LLCモデル

別の態様では、皮下腫瘍を、 0.5×10^6 LLC細胞を右脇腹に注入することによりオスのC57BL/6マウス（生後約6週間、Harlan社）に設けた。AR-42および媒体での処置をC-26モデルについて行い、該処置は細胞注入後6日目に開始した。両モデルにおいて、体重および摂餌量を毎日監視し、腫瘍のサイズを2日ごと以上の頻度で測定した。マウスは殺処分する前の2時間は絶食させ、殺処分時に後肢筋、心臓、脾臓、精巣上体脂肪、および血液を回収し、固形組織の重量を測定した。筋試料は、液体窒素で冷却した2-メチルブタンで凍らせ、それから分析まで -80°C で保管した。

【0087】

(実施例2)

握力測定

マウスの前肢の握力を、デジタル握力メータ（Digital Grip Strength Meter）（Columbus Instruments社、オハイオ州コロンバス）を用いて測定した。各マウスから5個の測定値をとり、その平均を該マウスの握力とした。

30

【0088】

筋線維サイズの形態学的分析

10mMのセクションを凍結した骨格筋試料よりcryostat（Leica社）を用いて切り取り、その後、H&Eで染色した。画像を、オリンパスBX51顕微鏡（Olympus America社）を用いて撮り、筋線維の断面積をオリンパスCellSens 1.11ソフトウェアを用いて求めた。測定値は、各グループの5匹のマウスそれぞれの筋の、5つの異なるセクションより得た。

40

【0089】

(RNA分離、qRT-PCRおよびRNA-seq分析)

全RNAを均質化腓腹筋（ $n = 3$ /群）よりTRIzol（登録商標）reagent（Life Technologies社、カリフォルニア州カールスバッド）を用いて分離し、その後RNAeasy Mini Kit（Qiagen社、カリフォルニア州バレンシア）を用いて精製した。qRT-PCRを、上述のように、iQ SYBR（登録商標）Green Supermix付きBio-Rad CFX96リアルタイムPCR解析システム（Bio-Rad社、カリフォルニア州ハーキュリーズ）を用いることで行った（42）。プライマーシーケンスを図8に列記する。RNA-seqライブラリの生成とデータ分析を、オハイオ州立大学総合がんセンター（The Ohio State University Comprehensive Cancer Center, OSU

50

CCC) Nucleic Acid Shared Resourceで行った。

【0090】

メタボロームファイリングおよびサイトカインプロファイリング

腓腹筋および血清を、細胞注入後17日目に各処置グループ (n = 8/群) より回収した。筋は、270個の代謝中間体を専用の質量分析プラットフォームによりメタボローム解析するため、Metabolon社 (ノースカロライナ州ダーラム) に提出した。血清は、32個のサイトカインをマウスサイトカインアレイ (mouse cytokine array) (32-plexパネル) を用いて分析するため、Eve Technologies社 (カナダ国アルバータ州) に提出した。

【0091】

統計分析

データ分析を、SAS 9.3ソフトウェア (SAS社、ノースカロライナ州ケリー) を用いて行った。複数の測定を行った実験については、データを混合効果モデルにより分析し、各対象に観測依存性を組み込んだ。独立群を含む他の実験については、データをANOVAにより分析した。時間事象実験 (図2B) では、生存期間関数における違いをログランク検定により比較した。多重性をホルムの方法により調整し、全体のファミリーワイズエラー率を0.05に制御した。RNA-seqデータをIngenuity Pathway Analysis (IPA) ソフトウェア (Ingenuity Systems社、カリフォルニア州レッドウッドシティ) を用いて分析した。>4倍変化およびP<0.05の遺伝子のみ経路解析 (pathway analysis) 用を選択した。

【0092】

(実施例3)

AR-42はC-26結腸がんモデルにおけるがん悪液質を抑制する

一態様において、マウスは、C-26細胞を注入し触診できる腫瘍が形成された6日後より、胃管栄養法により、一日おきに、AR-42 (50mg/kg) または媒体で経口処置した。媒体群は、体重の大幅な減少が12日目に始まったが、AR-42処置マウスは腫瘍なし対照と同等のレベルで体重を維持した (図1A、左)。研究終点 (15日目) までに、腫瘍の質量を差し引いた後の体重減少の大きさ (体積1cm³= 質量1グラム) は、媒体処置群で>20%、AR-42処置マウスで6%に達した (中)。この効果が腫瘍量の減少に起因するはずはない。これは、一日の平均摂餌量はAR-42処置群と媒体処置群で同等かつ腫瘍なしマウスの一日の平均摂餌量未満であったことから (図1C)、AR-42は、媒体 (右) または摂餌量増と相関して腫瘍成長を変えることはなかったためである。AR-42処置マウスはその大きな腫瘍量にも関わらず機敏で反応が速く、活発で、この研究の終点までに媒体処置対照で観察された猫背の姿勢および荒れた被毛は見られなかった (図1B)。

【0093】

(実施例4)

AR-42は悪液質が誘発する委縮に対し筋を保護する

体重の維持と同じく、AR-42処置腫瘍ありマウスにおいて骨格筋量は維持された。媒体処置腫瘍あり (腫瘍あり/媒体) マウスは悪液質の兆候を示し、その腓腹筋、前脛骨筋、および大腿四頭筋の重量は、腫瘍なし対照マウスの対応する筋と比較して各々20.6%、10.5%、および18.1%減少したが、AR-42処置腫瘍ありマウス (腫瘍あり/AR-42) のそれらは各々9.6%、0.8%、および5.8%減少した (図1D)。

【0094】

腫瘍あり/媒体マウスは、心臓、および、特に脂肪組織の質量の著しい減少 (腫瘍なし対照の29.3±6.0%) など、悪液質の他の際立った特徴を示したが、これは、AR-42の処置により改善した (図1E、上)。興味深いことに、AR-42は、腫瘍なしマウスにおいて脂肪組織の質量を約50%減少させたが、腫瘍ありマウスの脂肪組織質量の減少は腫瘍なし/AR-42マウスのそれと同等のレベルまで回復させた。二分された結果は、脂質ホメオスタシスを維持するというその機能を示唆する。

【0095】

別の態様では、C-26腫瘍ありマウスは、腫瘍なし対照マウスと比較し著しく肥大した脾臓を呈したが (11)、これはAR-42で改善されなかった (図1E、下)。C-26腫瘍ありマ

10

20

30

40

50

ウスにおける脾腫は、脾臓にある骨髄由来抑制細胞および他の免疫細胞の増殖に起因することから(12)、この発見は、AR-42は免疫学的機序を介してというより主に筋に作用していることを示唆する。

【0096】

筋消耗に対するAR-42の予防効果は、悪液質が誘発する骨格筋線維サイズの減少の抑止により明らかになった。腫瘍あり／媒体マウスの筋線維の平均断面積は、15日目に腫瘍なし対照と比較して48.2%の減少を示し(1297.6 ± 638.8 対 $2503.5 \pm 917.5 \mu\text{m}^2$)、これはAR-42により回復した($2146.3 \pm 923.4 \mu\text{m}^2$) (図2A、左)。腫瘍あり／媒体マウスの悪液質筋における、線維サイズ分布のより小さい断面積への顕著な移行は、AR-42により食い止められた(図2A、右)。

10

【0097】

AR-42はC-26腫瘍ありマウスの生存期間を延長する

AR-42の効果を、C-26腫瘍ありマウスにおいて他のHDAC阻害剤(つまり、ボリノスタットおよびロミデプシン)と比較した。腫瘍細胞注入後6日目に開始し、毎日の体重測定および腫瘍質量の減算により求める体重減少が開始時の重量の20%に達するまで、マウスを、AR-42(50mg/kg、一日おき、経口投与)、ボリノスタット[50mg/kg、一日に1回、経口(13)]、ロミデプシン[0.6mg/kg、週2回、腹腔内投与(14)]、または媒体で継続して処置した。図のように、経口AR-42はこれらのマウスを腫瘍関連消耗から守るのに効果的で、腫瘍体積が安楽死のしきい値に達した21日目の累積生存率は100%だった(図2B)。対照的に、ボリノスタットおよびロミデプシンは、体重に対する防止効果が限定的だったか、または、目に見えるほどの防止効果を見せなかった。さらに、腫瘍あり／AR-42マウスは、腫瘍細胞注入後21日目に、媒体(15日目)、ロミデプシン(16日目)、およびヴォリノスタット(18日目)で処置したマウスとは対照的に機敏で反応が速く、活発で、健康そうに見えた(図2C)。

20

【0098】

(実施例3)

骨格筋タンパク質代謝回転の調節における異なる効果

骨格筋量は、タンパク質の合成と分解の間のバランスにより調節される。理論に縛られることなく、ボリノスタットおよびロミデプシンに対し異なるAR-42の抗悪液質効果は、タンパク質代謝回転を支配する経路を調節する機能の差に起因し得る。これは、Atrogin-1/MAFbxおよびMuRF1という、ユビキチンが媒介する骨格筋タンパク質分解に関与する、2つのE3リガーゼのmRNA発現に対するAR-42の抑制効果により立証される(15、16)(図2D)。

30

【0099】

腓腹筋のqPCR分析により、悪液質筋(腫瘍あり／媒体; $n = 8$)において、腫瘍なし／媒体対照($n = 6$)と比較し、Atrogin-1およびMuRF1のmRNAレベルが著しく増加することが明らかになった(それぞれ、 29.4 ± 3.5 倍および 25.8 ± 3.9 倍)。AR-42は、Atrogin-1(2.7 ± 0.7 倍)およびMuRF1(1.1 ± 0.2 倍)のmRNA発現を基礎レベルまで回復させることができた($n = 8$)。ボリノスタット($n = 8$)およびロミデプシン($n = 5$)も悪液質筋においてこれら2つのE3リガーゼのmRNA発現を著しく減少させたが、AR-42よりも小幅だった(Atrogin-1/MuRF1: ボリノスタット、 $9.6 \pm 1.8/5.5 \pm 1.1$ 倍; ロミデプシン、 $19.6 \pm 3.1/14.6 \pm 3.3$ 倍)(図2D)。

40

【0100】

AR-42の抗悪液質活性はC-26モデルに限定されるものではないことを確認するため、LLCモデルにおいても評価した。皮下にLLC腫瘍のあるC57BL/6マウスをAR-42で処置した(50mg/kg、経口投与、一日おき)。該処置は腫瘍細胞注入後6日目に開始し、後肢筋を殺処分時に摘出する20日目まで続けた。図7に示すように、AR-42はLLC腫瘍ありC57BL/6マウスを、筋量の減少から守った(腓腹筋: 媒体、非悪液質対照の $81.7 \pm 3.7\%$; AR-42、 $92.2 \pm 3.5\%$; 前脛骨筋: 媒体、 $80.3 \pm 4.0\%$; AR-42、 $93.4 \pm 3.9\%$; 大腿四頭筋: 媒体、 $84.4 \pm 4.6\%$; AR-42、 $93.4 \pm 4.8\%$; 全P値 <0.05 、 $n = 8$)。

50

【0101】

(実施例4)

AR-42は腫瘍ありマウスの筋の代謝完全性を維持する

悪液質がある場合、骨格筋は、腫瘍／宿主に由来する炎症ストレスおよび神経内分泌ストレスに反応して複雑な代謝変化を起こす(1)。従って、当社は代謝プロファイリング分析を行い、骨格筋の代謝表現型で悪液質が誘発する、移行に対するAR-42の効果を調べた。腫瘍なしマウスおよびC-26腫瘍ありマウスを、上述のように媒体またはAr-42で処置し、腓腹筋を17日目にメタボローム解析用に回収した。4群(n = 8/群)間の筋の生化学的プロファイル比較は、骨格筋で悪液質が誘発する代謝変化を回復させるというAR-42の機能を明らかにした。これを以下のようにまとめる。

10

【0102】

解糖

腫瘍あり／媒体マウスの悪液質筋は、グルコースレベルと主要な糖分解中間体のレベルが、腫瘍なし対照より著しく低いことを示した(図3A)。AR-42はこれらの代謝変化を食い止め、筋内のグルコースレベルおよび中間体レベルを腫瘍なし／媒体マウスで見られる基礎線レベルまで、または、該基礎線レベルを上回るまで回復させた。さらに、増加したグルコースは、ソルビトールフルクトース生合成およびペントースリン酸経路に分流し、ソルビトール、フルクトース、および、ペントースリン酸経路に由来する代謝物であるリボースの生成の増加につながった。

20

【0103】

グリコーゲン貯蔵

腫瘍あり／媒体マウスの筋は、短鎖マルトオリゴ糖およびグルコース-1-リン酸における著しい減少を示し(図3B)、悪液質筋におけるグリコーゲン貯蔵の枯渇を示唆した。AR-42処置は、これらのグリコーゲン代謝中間体を著しく補充した。

【0104】

遊離アミノ酸

筋消耗の特徴であるタンパク質分解の増加に合わせ、多くの遊離アミノ酸が、腫瘍あり／媒体マウスの悪液質筋において腫瘍なし／媒体マウスのそれと比較して著しく上昇し(図4)、悪液質の表現型であることを示した。同様に、神経伝達物質として機能する、キヌレニン、N-アセチル-アスパルチル-グルタメート、及びγ-アミノブチレートなどのいくつかのアミノ酸誘導体／代謝物が上昇した。対照的に、筋から放出され肝臓の糖新生を補助するアラニンは、悪液質筋では減少した。この悪液質表現型はAR-42処置により食い止められ、筋のタンパク質分解をブロックするというその機能を示した。

30

【0105】

有機酸

アミノ酸代謝物である2-ヒドロキシブチレートおよびオフタルム酸は、それぞれインスリン抵抗性用バイオマーカー(17)および酸化ストレス(18)用バイオマーカーである。腫瘍あり／媒体マウスの筋におけるこれら2つの有機酸の増加(図4)は、悪液質はインスリン抵抗性と酸化ストレスを促進することを示唆し、これは次に、筋消耗を悪化させる。AR-42は2つのバイオマーカーを、腫瘍なしマウスで測定されたのと同等のレベルまで劇的に減少させた。

40

【0106】

(実施例5)

AR-42は、複数の悪液質促進ドライバを標的にすることによりがん悪液質を抑制する

AR-42がその抗悪液質効果を媒介する機序を明らかにするため、媒体処置の、または、AR-42処置の、腫瘍なしマウスおよびC-26腫瘍ありマウスの血清および腓腹筋を、サイトカインプロファイリング分析およびホールショットガン配列決定法(RNA-seq)でそれぞれ使用した。

【0107】

サイトカインプロファイル

50

調べた32個のサイトカインのうち（図10）、2つのよく知られた悪液質ドライバであるIL-6および白血病阻止因子（LIF）（19）は、腫瘍あり／媒体マウスの血清において腫瘍なし／媒体マウスのそれと比較し著しく増加したが（IL-6； 230 ± 105 対 2.9 ± 1.3 pg/ml；LIF、 19.7 ± 9.3 対 1.7 ± 1.5 pg/ml）（図5A、上）、他のサイトカインについて著しい差は見られなかった。AR-42は、腫瘍ありマウス（IL-6、 102 ± 38 pg/ml；LIF、 3.8 ± 1.6 pg/ml）において、媒体処置対照と比較しIL-6レベルおよびLIFレベルをそれぞれ56%、88%低減した。悪液質に関連したIL-6の増加を鈍くするという、AR-42の機能を鑑みて、当社は、AR-42の、IL-6受容体 α 鎖（IL-6R α ）の筋内mRNAレベルに対する効果を調べた。IL-6R α のmRNAは、腫瘍あり／媒体マウス（ $n = 9$ ）の筋において、腫瘍なしマウス（ $n = 6$ ）のそれと比較し著しく上昇した（ 13 ± 1.4 倍）。AR-42は、この、悪液質が誘発する増加を85%低減した（ 2.0 ± 0.2 倍； $n = 10$ ）（図5、下）。これらの発見は、AR-42は、IL-6シグナル伝達をブロックすることにより筋消耗をある程度抑えることを示唆する。

10

【0108】

RNA-seq分析

RNA-seqデータの主成分分析により、腫瘍なし／媒体対照と比較した、腫瘍あり／媒体マウスの筋の全般的遺伝子発現パターンに対するC-26腫瘍の顕著な効果が明らかになった（図5B、左）。AR-42は、腫瘍なしマウスの非悪液質筋における遺伝子発現パターンに対しては目に見えるほどの効果はなかったが、悪液質筋の遺伝子発現で腫瘍が誘発する移行は、腫瘍なしマウスのそれに近い状態まで食い止めた。これに従い、当社は、腫瘍あり／媒体マウスと他の3つの処置群の間で異なって発現する遺伝子を一对分析し、この結果をベン図に表した（図5B、右）。対にした分析間で大きく重なる領域は、AR-42は、全般的遺伝子発現で腫瘍が誘発する変化をかなり回復することを示唆する。

20

【0109】

媒体処置腫瘍ありマウスおよびAR-42処置腫瘍ありマウスの筋における遺伝子発現の一对比較により、全部で677個の遺伝子の発現は4倍以上異なることが明らかになった（376個は上方制御され、301個は下方制御された）（図10）。Ingenuity Pathway Analysis（IPA）を用いた、これらの遺伝子データの機能および疾病関連性についての分析は、異なって発現するこれらの遺伝子のうち66個は、委縮、収縮、発達、および筋形態、および骨格筋細胞サイズ、筋細胞死、およびタンパク質異化のカテゴリーに注釈を付けることを明らかにした（図11）。

30

【0110】

これらの筋機能—および疾病関連遺伝子のうち以下の6つの遺伝子に対するAR-42の効果は、これらが示すがん誘発悪液質との関連を鑑みると注目に値する。これらには、（Fork head box protein 01をコード化する）Foxo1（20～23）ならびにその標的遺伝子であるTrim63（MuRF1）およびFbxo32（Atrogin-1）（24、25）と、PNPLA2〔脂肪組織トリグリセリドリパーゼ（adipose triglyceride lipase、ATGL）〕（26、27）と、UCP3（脱共役タンパク質3）（28、29）と、Mef2c〔筋原性転写因子（myogenic transcription factor）筋細胞増強因子（myocyte enhancer factor）〕（30）が含まれる（図5C）。これら6つの遺伝子に関するRNA-seqデータのqRT-PCRによる検証は、4つの処置群において、相対的mRNA発現レベルについてのデータセット間に相関関係があることを示した（図5D）。

40

【0111】

（実施例6）

AR-42での遅延処理は、筋消耗を抑制するのに依然として効果的である

上述の発見は、骨格筋の代謝プロファイルおよび遺伝子発現プロファイルを回復させることによりがん関連筋消耗を抑制する際、経口AR-42が有効であることを示す。これらの実験において、処置は、消耗の明らかな兆候が見られない場合は悪液質の進行初期に開始した。AR-42処置をより遅く開始することが悪液質を依然として防ぐか否かを調べるため、AR-42でのC-26腫瘍ありマウスの処置（50mg/kg、経口投与、一日おき）を腫瘍細胞注入後6日目、10日目、および12日目に開始した。

【0112】

50

当社の先のデータ（図1）と同じく、腫瘍あり／媒体マウスは17日目までに体重を19%減少させた（腫瘍を除く）。対照的に、6日目（D6）、10日目（D10）、または12日目（D12）で開始したAR-42での処置は、腫瘍成長に目に見えるほどの影響を与えることなく（図6A、右）、重量減少をそれぞれ6%、11%、および12%に抑えた（ $n = 8$ ）（図6A、左）。さらに、AR-42処置マウスは、その媒体処置対照よりより健康であるという兆候を示した（図6B）。AR-42のこの予防効果は腓腹筋重量の維持に反映され、前脛骨筋および大腿四頭筋の重量の維持には、より少ない程度で反映された（図6C）。筋量に対する予防効果と同じく、握力測定は、AR-42は15日目と16日目において、全ての薬物処置群で媒体処置対照と比較し前肢の筋力維持に役立つことを示した（図6D）。

【0113】

（実施例7）

腫瘍あり／媒体マウスは、心臓、および、特に脂肪組織の質量の著しい減少（腫瘍なし対照の $29.3 \pm 6.0\%$ ）などの、悪液質の他の際立った特徴を示したが、これは、AR-42の処置により改善した（図1E、上）。興味深いことに、AR-42は腫瘍なしマウスにおいて脂肪組織の質量を約50%減少させたが、腫瘍ありマウスの脂肪組織質量の減少は腫瘍なし／AR-42マウスのそれと同等のレベルまで回復させた。二分された結果は、脂質ホメオスタシスを維持するというAR-42の機能を示す。

【0114】

C-26腫瘍ありマウスは、腫瘍なし対照マウスと比較し著しく肥大した脾臓を呈したが（11）、これはAR-42で改善されなかった（図1E、下）。C-26腫瘍ありマウスにおける脾腫は、脾臓にある骨髄由来抑制細胞および他の免疫細胞の増殖に起因することから（12）、この発見は、AR-42は免疫学的機序を介してというより主に筋に作用していることを示唆する。

【0115】

筋消耗に対するAR-42の予防効果は、悪液質が誘発する骨格筋線維サイズの減少の抑止により明らかになった。腫瘍あり／媒体マウスの筋線維の平均断面積は、15日目に腫瘍なし対照と比較して48.2%の減少を示し（ 1297.6 ± 638.8 対 $2503.5 \pm 917.5 \mu\text{m}^2$ ）、これはAR-42により回復した（ $2146.3 \pm 923.4 \mu\text{m}^2$ ）（図2A、左）。腫瘍あり／媒体マウスの悪液質筋における、線維サイズ分布のより小さい断面積への顕著な移行は、AR-42により食い止められた（図2A、右）。

【0116】

（実施例8）

骨格筋タンパク質代謝回転の調節における異なる効果

骨格筋量は、タンパク質の合成と分解の間のバランスにより調節されるため、ポリノスタットおよびロミデプシンに対するAR-42の特異的な抗悪液質効果は、タンパク質代謝回転を支配する経路を調節する機能の差に起因し得る。これは、Atrogin-1/MAFbxおよびMuRF1という、ユビキチンが媒介する骨格筋タンパク質分解に関与する2つのE3リガーゼの、mRNA発現に対するAR-42の抑制効果により立証される（15、16）（図2D）。予想通り、腓腹筋のqPCR分析により、悪液質筋（腫瘍あり／媒体； $n = 8$ ）において、腫瘍なし／媒体対照（ $n = 6$ ）と比較し、Atrogin-1およびMuRF1のmRNAレベルが著しく増加すること（それぞれ、 29.4 ± 3.5 倍および 25.8 ± 3.9 倍）が明らかになった。AR-42は、Atrogin-1（ 2.7 ± 0.7 倍）およびMuRF1（ 1.1 ± 0.2 倍）のmRNA発現を基礎レベルまで回復させることができた（ $n = 8$ ）。ポリノスタット（ $n = 8$ ）およびロミデプシン（ $n = 5$ ）も、悪液質筋においてこれら2つのE3リガーゼのmRNA発現を著しく減少させたが、AR-42よりも小幅だった（Atrogin-1/MuRF1：ポリノスタット、 $9.6 \pm 1.8/5.5 \pm 1.1$ 倍；ロミデプシン、 $19.6 \pm 3.1/14.6 \pm 3.3$ 倍）（図2D）。

【0117】

（実施例9）

細胞

培養したC-26細胞およびLLC細胞を、 37°C 、5% CO_2 の加湿インキュベータ内で、ウシ胎

10

20

30

40

50

児血清 (FBS) - 追加 (10%) RPMI1640培地およびDMEM培地 (Invitrogen社、カリフォルニア州カールスバッド) それぞれに維持した。がん悪液質モデル用マウスに注入するため、細胞をトリプシン処理し、FBS-追加培養基においてペレット状にし、その後、 5×10^6 細胞/mLの濃度で無菌PBSに再懸濁することにより収集した。

【0118】

マウス

CD2F1マウスおよびC57BL/6マウスを、光周期 (12時間明/12時間暗)、温度、および湿度が一定という条件下で、水と通常の食餌には自由にアクセスできるようにして集団飼育した。マウスは、経口胃管栄養法により薬物 (AR-42、ポリノスタット、媒体) を投与する間、一時的に麻酔した。摂餌量は、各ケージの餌を毎日検量し、ケージにいるマウスの数で毎日の餌の減少を除算することにより推定した。腫瘍体積は、キャリパー測定により基準式 ($\text{長さ} \times \text{幅}^2 \times \pi / 6$) を用いて算出した。

10

【0119】

握力測定

前肢の握力を測定するため、各マウスをその尾の付け根でつかみ、その前肢でプルバーをつかむまで装置の上で下降させた。マウスをその後、該マウスがバーを放すまで握力計から真っ直ぐ並行にそっと引き離し、得られる最大力を記録した。5回の測定を各マウスで行い、その平均をマウスの握力と指定した。

【0120】

RNA-seqライブラリ作成およびデータ分析パイプライン

20

RNAの質を、ピコRNAチップを用いてAgilent 2100 Bバイオアナライザで評価し、RNAの総投入量をAgilent社のQubit (登録商標) RNAアッセイを用いて評価した。トランスクリプトームライブラリをIllumina社のTruSeq RNA Sample Preparation Kit V2を用いて作成した。結果として生じるライブラリの量と質を、Agilent社のQubit (登録商標) DNAアッセイおよびPerkinElmer社のLabchip (登録商標) DNA GX分析をそれぞれ用いて評価した。全ライブラリを均等な割合で混ぜ合わせ、Illumina社のHiSeq 2500シーケンサで配列決定する際、約4000万個のフィルタ通過リードを生む試料のプールを生成した。Illumina社のHiSeq CASAVAパイプラインの生シーケンスデータの質を、FastQC、RNASeQC、およびRSeQCソフトウェアを用いて評価した。それに続く分析は次の通りだった。デマルチプレックスした (demultiplexed) フィルタ通過シーケンスリードをTopHat 2 (v2.0.7) RNAseqアラ

30

【0121】

(実施例10)

AR-42の抗悪液質活性はC-26モデルに特異的なものではないことを確認するため、LLCモデルにおいても評価した。皮下に11個のLLC腫瘍があるC57BL/6マウスを、AR-42で処置した (50mg/kg、経口投与、一日おき)。該処置は腫瘍細胞注入後6日目に開始し、後肢筋を殺処分時に摘出する20日目まで続けた。

40

【0122】

図7に示すように、AR-42はLLCマウス悪液質モデルでがんが誘発する筋消耗を防ぐ。腫瘍なしマウスと腫瘍ありマウス両方の、腓腹筋、前脛骨筋、および大腿四頭筋を含む後肢筋の質量を、媒体処置腫瘍ありマウスのそれと比較し、媒体と比較したAR-42の効果。マウスは、腫瘍細胞注入後20日目で殺処分した点を除き、図1Aで記載したのと同じ方法で処置した。データは平均±標準偏差で示す ($n = 8$) (腓腹筋: 媒体、非悪液質対照の $81.7 \pm 3.7\%$; AR-42、 $92.2 \pm 3.5\%$; 前脛骨筋: 媒体、 $80.3 \pm 4.0\%$; AR-42、 $93.4 \pm 3.9\%$; 大腿四頭筋: 媒体、 $84.4 \pm 4.6\%$; AR-42、 $93.4 \pm 4.8\%$; 全P値 <0.05 , $n = 8$)。

【0123】

50

〔参考文献〕

1. Fearon KC, Glass DJ, Guttridge DC. Cancer cachexia: mediators, signaling, and metabolic pathways. *Cell Metab* 2012; 16: 153-66.
2. Tisdale MJ. Cachexia in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 862-71.
3. von Haehling S, Anker SD. Cachexia as a major underestimated and unmet medical need: facts and numbers. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2010; 1: 1-5.
4. Tisdale MJ. Mechanisms of cancer cachexia. *Physiol Rev* 2009; 89: 381-410.
5. Lee SJ, Glass DJ. Treating cancer cachexia to treat cancer. *Skelet Muscle* 2011; 1: 2.
6. Maccio A, Madeddu C, Mantovani G. Current pharmacotherapy options for cancer anorexia and cachexia. *Expert Opin Pharmacother* 2012; 13: 2453-72. 10
7. Kulp SK, Chen CS, Wang DS, Chen CY, Chen CS. Antitumor effects of a novel phenylbutyrate-based histone deacetylase inhibitor, (S)-HDAC-42, in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 5199-206.
8. Lu YS, Kashida Y, Kulp SK, Wang YC, Wang D, Hung JH, et al. Efficacy of a novel histone deacetylase inhibitor in murine models of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2007; 46: 1119-30.
9. Sargeant AM, Rengel RC, Kulp SK, Klein RD, Clinton SK, Wang YC, et al. OSU-HDAC42, a histone deacetylase inhibitor, blocks prostate tumor progression in the transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate model. *Cancer Res* 2008; 68: 3 20
999-4009.
10. Yang YT, Balch C, Kulp SK, Mand MR, Nephew KP, Chen CS. A rationally designed histone deacetylase inhibitor with distinct antitumor activity against ovarian cancer. *Neoplasia* 2009; 11: 552-63, 3 p following 63.
11. Acharyya S, Ladner KJ, Nelsen LL, Damrauer J, Reiser PJ, Swoap S, et al. Cancer cachexia is regulated by selective targeting of skeletal muscle gene products. *J Clin Invest* 2004; 114: 370-8.
12. Mundy-Bosse BL, Lesinski GB, Jaime-Ramirez AC, Benninger K, Khan M, Kuppusamy P, et al. Myeloid-derived suppressor cell inhibition of the IFN response in tumor-bearing mice. *Cancer Res* 2011; 71: 5101-10. 30
13. Lucas DM, Alinari L, West DA, Davis ME, Edwards RB, Johnson AJ, et al. The novel deacetylase inhibitor AR-42 demonstrates pre-clinical activity in B-cell malignancies in vitro and in vivo. *PLoS One* 2010; 5: e10941.
14. Sasakawa Y, Naoe Y, Inoue T, Sasakawa T, Matsuo M, Manda T, et al. Effects of FK228, a novel histone deacetylase inhibitor, on human lymphoma U-937 cells in vitro and in vivo. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 1079-90.
15. Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VK, Nunez L, Clarke BA, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 2001; 294: 1704-8.
16. Lecker SH, Jagoe RT, Gilbert A, Gomes M, Baracos V, Bailey J, et al. Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression. *FASEB J* 2004; 18: 39-51. 40
17. Gall WE, Beebe K, Lawton KA, Adam KP, Mitchell MW, Nakhle PJ, et al. alpha-hydroxybutyrate is an early biomarker of insulin resistance and glucose intolerance in a nondiabetic population. *PLoS One* 2010; 5: e10883.
18. Soga T, Baran R, Suematsu M, Ueno Y, Ikeda S, Sakurakawa T, et al. Differential metabolomics reveals ophthalmic acid as an oxidative stress biomarker indicating hepatic glutathione consumption. *J Biol Chem* 2006; 281: 16768-76.
19. Tisdale MJ. Biology of cachexia. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 1763-73.
20. Kamei Y, Miura S, Suzuki M, Kai Y, Mizukami J, Taniguchi T, et al. Skeleta 50

- l muscle FOXO1 (FKHR) transgenic mice have less skeletal muscle mass, down-regulated Type I (slow twitch/red muscle) fiber genes, and impaired glycemic control. *J Biol Chem* 2004; 279: 41114-23.
21. Reed SA, Sandesara PB, Senf SM, Judge AR. Inhibition of FoxO transcriptional activity prevents muscle fiber atrophy during cachexia and induces hypertrophy. *FASEB J* 2012; 26: 987-1000.
 22. Beharry AW, Sandesara PB, Roberts BM, Ferreira LF, Senf SM, Judge AR. HDAC 1 activates FoxO and is both sufficient and required for skeletal muscle atrophy. *J Cell Sci* 2014; 127: 1441-53.
 23. Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A, et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell* 2004; 117: 399-412. 10
 24. Gumucio JP, Mendias CL. Atrogin-1, MuRF-1, and sarcopenia. *Endocrine* 2013; 43: 12-21.
 25. Bonaldo P, Sandri M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Dis Model Mech* 2013; 6: 25-39.
 26. Das SK, Hoefler G. The role of triglyceride lipases in cancer associated cachexia. *Trends Mol Med* 2013; 19: 292-301.
 27. Young SG, Zechner R. Biochemistry and pathophysiology of intravascular and intracellular lipolysis. *Genes Dev* 2013; 27: 459-84. 20
 28. Collins P, Bing C, McCulloch P, Williams G. Muscle UCP-3 mRNA levels are elevated in weight loss associated with gastrointestinal adenocarcinoma in humans. *Br J Cancer* 2002; 86: 372-5.
 29. Constantinou C, Fontes de Oliveira CC, Mintzopoulos D, Busquets S, He J, Kesarwani M, et al. Nuclear magnetic resonance in conjunction with functional genomics suggests mitochondrial dysfunction in a murine model of cancer cachexia. *Int J Mol Med* 2011; 27: 15-24.
 30. Shum AM, Mahendradatta T, Taylor RJ, Painter AB, Moore MM, Tsoli M, et al. Disruption of MEF2C signaling and loss of sarcomeric and mitochondrial integrity in cancer-induced skeletal muscle wasting. *Aging (Albany NY)* 2012; 4: 133-43. 30
 31. Sherry BA, Gelin J, Fong Y, Marano M, Wei H, Cerami A, et al. Anticachectic/tumor necrosis factor-alpha antibodies attenuate development of cachexia in tumor models. *FASEB J* 1989; 3: 1956-62.
 32. Strassmann G, Fong M, Kenney JS, Jacob CO. Evidence for the involvement of interleukin 6 in experimental cancer cachexia. *J Clin Invest* 1992; 89: 1681-4.
 33. Bonetto A, Penna F, Minero VG, Reffo P, Bonelli G, Baccino FM, et al. Deacetylase inhibitors modulate the myostatin/follistatin axis without improving cachexia in tumor-bearing mice. *Curr Cancer Drug Targets* 2009; 9: 608-16.
 34. Alamdari N, Aversa Z, Castellero E, Hasselgren PO. Acetylation and deacetylation--novel factors in muscle wasting. *Metabolism* 2013; 62: 1-11. 40
 35. Senf SM, Sandesara PB, Reed SA, Judge AR. p300 Acetyltransferase activity differentially regulates the localization and activity of the FOXO homologues in skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2011; 300: C1490-501.
 36. Black BL, Olson EN. Transcriptional control of muscle development by myocyte enhancer factor-2 (MEF2) proteins. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1998; 14: 167-96.
 37. Moore-Carrasco R, Garcia-Martinez C, Busquets S, Ametller E, Barreiro E, Lopez-Soriano FJ, et al. The AP-1/CJUN signaling cascade is involved in muscle differentiation: implications in muscle wasting during cancer cachexia. *FEBS Lett* 2006; 580: 691-6.
 38. Der-Torossian H, Wysong A, Shadfar S, Willis MS, McDunn J, Couch ME. Metab 50

olic derangements in the gastrocnemius and the effect of Compound A therapy in a murine model of cancer cachexia. J Cachexia Sarcopenia Muscle 2013; 4: 145-55.

39. Asp ML, Tian M, Wendel AA, Belury MA. Evidence for the contribution of insulin resistance to the development of cachexia in tumor-bearing mice. Int J Cancer 2010; 126: 756-63.

40. Honors MA, Kinzig KP. The role of insulin resistance in the development of muscle wasting during cancer cachexia. J Cachexia Sarcopenia Muscle 2012; 3: 5-11.

41. Moylan JS, Reid MB. Oxidative stress, chronic disease, and muscle wasting. Muscle Nerve 2007; 35: 411-29.

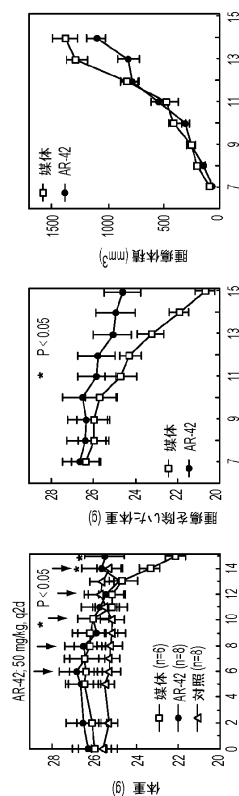
42. Chu PC, Kulp SK, Chen CS. Insulin-like growth factor-I receptor is suppressed through transcriptional repression and mRNA destabilization by a novel energy restriction-mimetic agent. Carcinogenesis 2013; 34: 2694-705.

【0124】

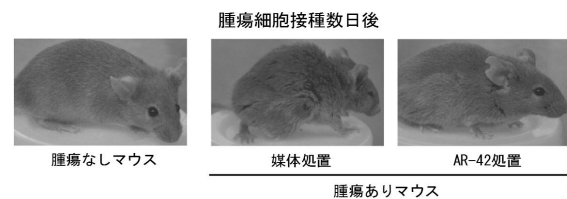
上記記載は特定の態様について言及するが、これらの態様は単に例示であることを理解すべきである。種々の修正および変形を本明細書に記載の方法に施すことが可能であることは、当業者には明白であろう。従って、本明細書は、添付の特許請求の範囲およびその同等物の範囲内の修正および変形を含むことが意図される。

10

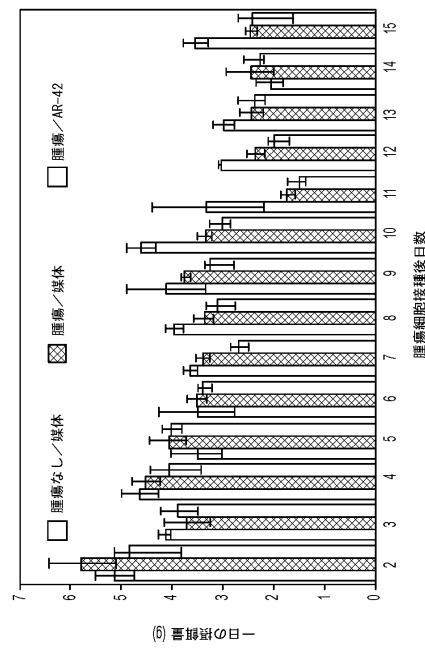
【図1A】



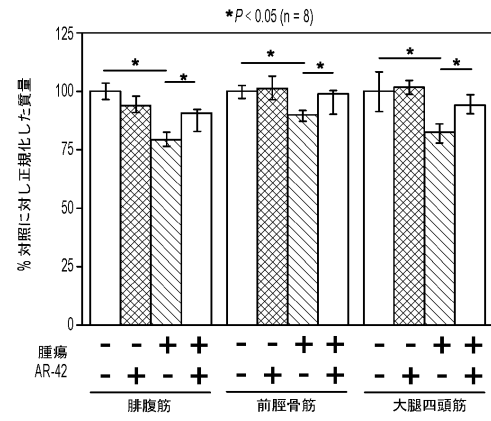
【図1B】



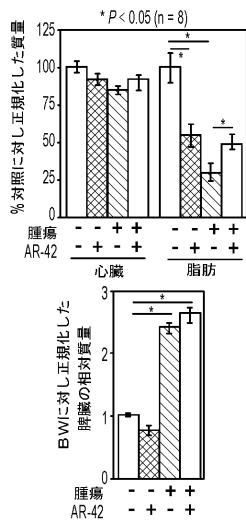
【図 1 C】



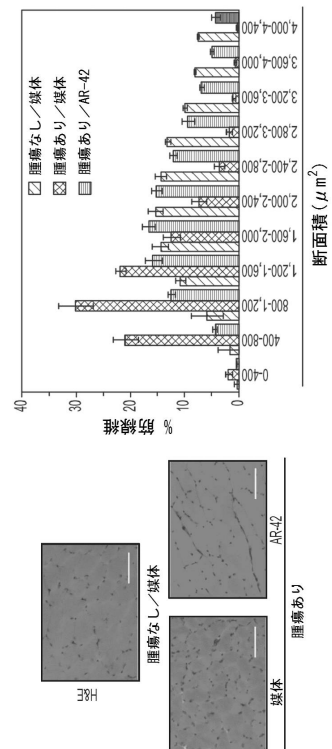
【図 1 D】



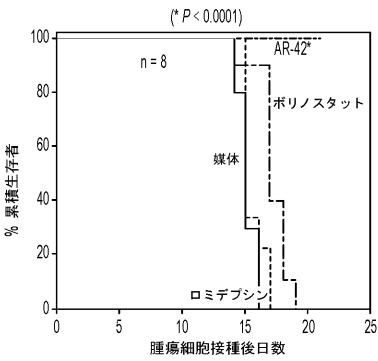
【図 1 E】



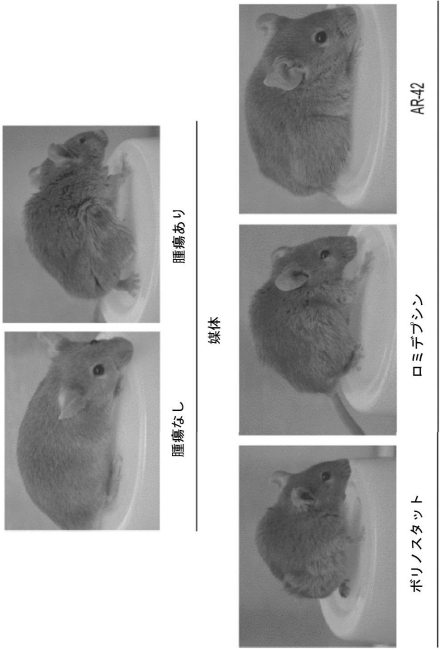
【図 2 A】



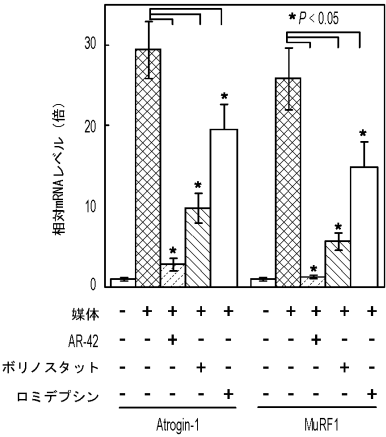
【図 2 B】



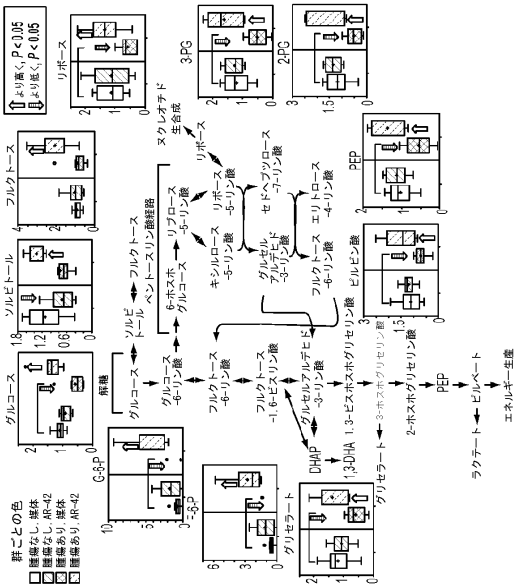
【図 2 C】



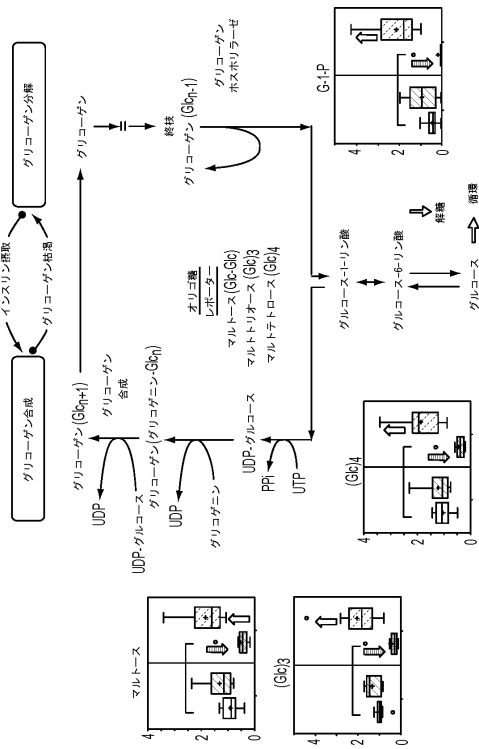
【図 2 D】



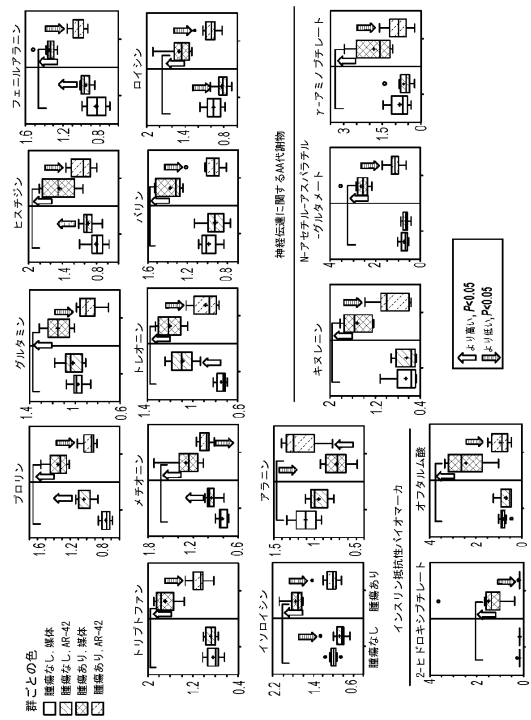
【図 3 A】



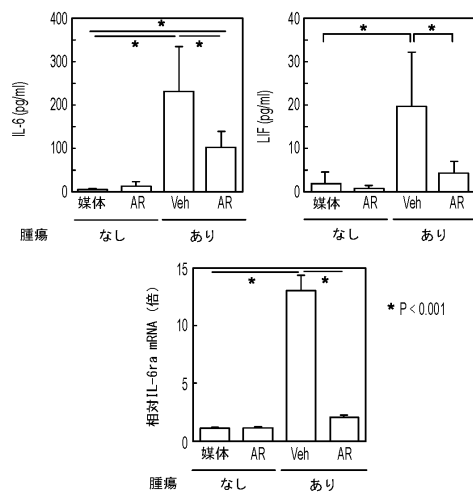
【図 3 B】



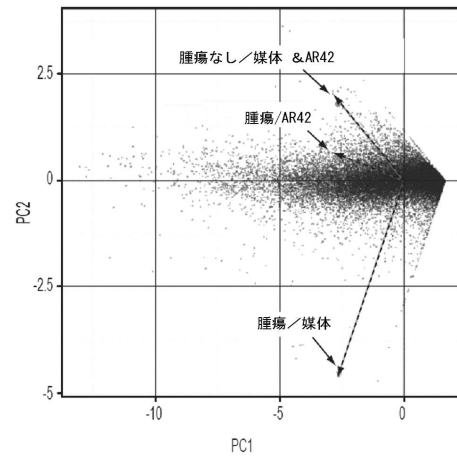
【図 4】



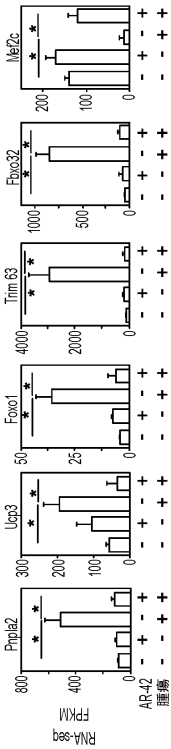
【図 5 A】



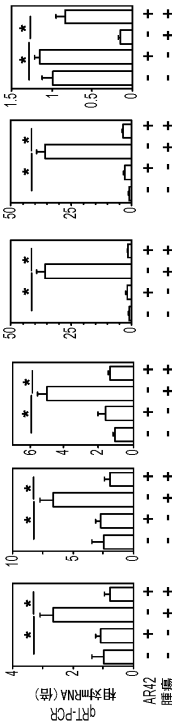
【図 5 B】



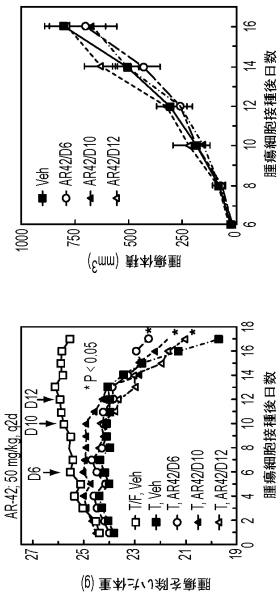
【図 5 C】



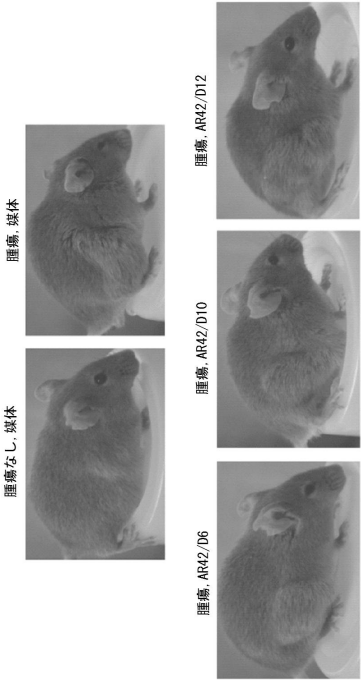
【図 5 D】



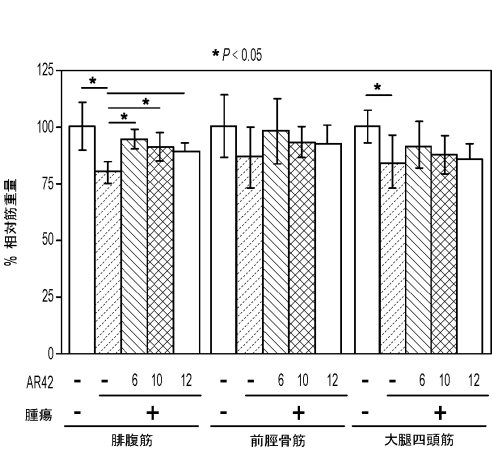
【図 6 A】



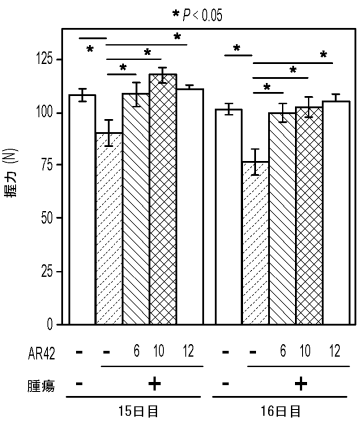
【図 6 B】



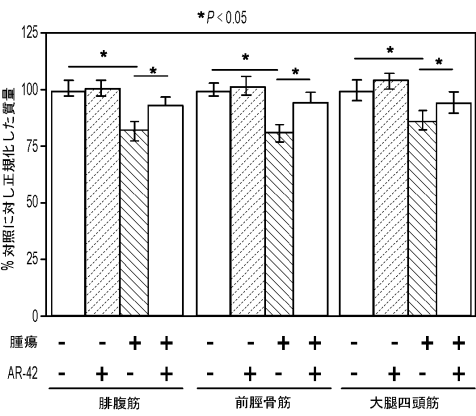
【図 6 C】



【図 6 D】



【図 7】



【図 8】

捕捉表 1. リアルタイムRT-PCRに用いるプライマーのシーケンス

標的	プライマーペア (5'→3')	
ATGL (PNPLA2)	AACACCAGCATCCAGTTCAA	GGTTCAGTAGGCCATTCCTC
Atrogin-1 (Fbxo32)	CACATTCTCTCCTGGAAGGGC	TTGATAAAGTCTTGAGGGGAAAGTG
Foxo1	TTCAATTCGCCAATCTGTCC	GGGTGATTTTCGCTCTTGC
GAPDH	CATGGCCITCCGTGTTCTTA	GCGGCACGTGATCCA
IL-6Rα	CTCCCGGTGGCCAGTACCA	TGCACTGGGGCGAGGACACT
MeF2c	GCTGTTCCAGTACGCCAGCAC	AGTGCGTGGGTGAGTGCATAA
MuRF1 (Trim63)	CACGAAGACGAGAAGATCAACATC	AGCCCCAAACACTTGCA
UCP3	CCAAATCACAGAAATGC	TACAAACATCATCAGTTCC

【図 9 - 1】

表 1. AR-42処置C-26腫瘍ありマウスおよび媒体処置C-26腫瘍ありマウスの間で
で異なっている(≧4倍)発現する、筋疾患または筋機能に関連した遺伝子のIPA(n=6)

参照 シーケンス ID	遺伝子 ID	Log2 倍率 変化	P値	記述	疾患または 機能の注記
AR-42による上方制御					
NM_024291	Ky	4.3	0.0004	Kyphoscoliosis peptidase Ganglioside-induced differentiation-associated- protein 1	筋発達
NM_010267	Gdapl	4.2	0.0004	Potassium voltage-gated channel, subfamily H, member 2	筋萎縮； ミオパシー
NM_013569	Kcnh2	4.1	0.0004	Actin, alpha, cardiac	筋萎縮； ミオパシー
NM_009608	Actc1	3.9	0.0004	Phosphodiesterase 4A, cAMP specific	筋の発達および 形態；ミオパシー； 筋細胞死
NM_183408	Pde4a	3.7	0.0004	Tenomodulin	筋細胞死 ミオパシー
NM_022322	Tnmd	3.5	0.0004	Calcium-sensing receptor	筋形態
NM_013803	Casr	3.5	0.0004	Synaptophysin-like 2	筋細胞死
NM_008596	Sypl2	3.5	0.0004	Insulin-like growth factor binding protein 5	筋の収縮性、 発達、および 形態；骨格 筋細胞サイズ
NM_010518	Igf1p5	3.3	0.0004	Phospholipase D2	筋発達； 骨格筋質量
NM_008876	Pld2	3.2	0.0191	Solute carrier family 8 (sodium/calcium exchanger), member 3	筋細胞死
NM_080440	Skba3	3.2	0.0004	Neurotrophin 5	筋細胞死
NM_198190	Ntf5	3.2	0.0004	Myocyte enhancer factor 2C	筋発達
NM_001170537	Mezf2c	2.9	0.0004	F-box protein 2	筋の収縮性および 発達
NM_176848	Fbxo2	2.8	0.0004	Synaptic nuclear envelope 1	タンパク質異変 筋の発達機能 および形態； ミオパシー
NM_022027	Synel	2.7	0.0004	Serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade F, member 2	タンパク質異変
NM_009255	Serpine2	2.6	0.0004	Wingless-related MMTV/ integration site 5A	タンパク質異変
NM_01256224	Wnt5a	2.6	0.0011	Tubulin, gamma 2	ミオパシー
NM_134028	Tubg2	2.6	0.0004		

【図 9 - 3】

AR-42による下方制御

NM_138677	Edeml	-2.0	0.0004	ER degradation enhancer, mannosidase alpha-like 1	タンパク質異変
NM_001163704	Fbxo6	-2.0	0.0004	F-box protein 6	タンパク質異変
NM_011724	Xirpl	-2.1	0.0004	Xin actin-binding repeat containing 1	筋肉の収縮性、発達、 および形態
NM_001111099	Cdkn1a	-2.1	0.0004	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (P21)	筋の発達および形態 骨格筋の質量 および細胞サイズ； 筋細胞死
NM_001199733	Daxx	-2.1	0.0004	Fas death domain-associated protein	筋細胞死
NM_001081044	Myk2	-2.1	0.0004	Myosin, light polypeptide kinase 2, skeletal muscle	筋発達； ミオパシー
NM_016736	Nub1	-2.1	0.0004	Negative regulator of ubiquitin-like proteins 1	タンパク質異変
NM_007582	Cacng1	-2.2	0.0004	Calcium channel, voltage- dependent, gamma subunit 1	筋発達； タンパク質異変
NM_020033	Ankrd2	-2.2	0.0004	Ankyrin repeat domain 2 (stretch responsive muscle)	筋の機能および 形態
NM_172845	Adams4	-2.2	0.0004	A disintegrin-like and metallopeptidase (repolyisin type) with thrombospondin type 1 motif, 4	筋発達； タンパク質異変
NM_009464	Upd3	-2.2	0.0004	Uncoupling protein 3	骨格筋質量
NM_028142	Pupla2	-2.2	0.0004	Patatin-like phospholipase domain containing 2	筋形態、 筋細胞死
NM_104580	Slc8a1	-2.3	0.0004	Solute carrier family 8 (sodium/calcium exchanger), member 1	筋の発達および 形態；筋細胞死； ミオパシー
NM_008871	Serpine1	-2.3	0.0004	Serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade E, member 1	筋発達
NM_001081185	Finc	-2.3	0.0004	Flamin C, gamma (actin binding protein 280)	筋の発達および形態； ミオパシー
NM_009238	Sox4	-2.3	0.0004	SRY-box containing gene 4	筋の発達および 形態
NM_001289716	Bcl2l1	-2.4	0.0004	Bcl2-like 1	筋細胞死； ミオパシー
NM_001165894	Akt1	-2.4	0.0004	Thymoma viral proto- oncogene 1	筋の萎縮、 発達、および 機能；骨格筋

【図 9 - 2】

NM_021508	Myx1	2.5	0.0004	Myosin 1	筋の発達および 形態、骨格筋の質量 および細胞サイズ 筋形態
NM_110361	Cfar	2.5	0.0004	CASP8 and FADD-like apoptosis regulator Receptor accessory protein 1	筋形態
NM_178608	Reep1	2.3	0.0004	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, S	ミオパシー
NM_001252465	Ptpns	2.3	0.0004	Chloride channel 1	筋形態、 ミオパシー
NM_013491	Cten1	2.3	0.0004	Perlecan (heparan sulfate proteoglycan 2)	筋機能
NM_008305	Hspg2	2.3	0.0004	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex 9	筋の発達および 形態
NM_025358	Ndrfa8	2.3	0.0004	Sortin-related receptor, LDLR class A repeats- containing	筋細胞死
NM_011436	Sort1	2.3	0.0004	Collagen, type VI, alpha 3	筋形態
NM_001243009	Col6a3	2.3	0.0004	Required for meiotic nuclear division 1 homolog (S. cerevisiae)	筋発達； ミオパシー
NM_025343	Rmnd1	2.3	0.0200	Retinoic acid receptor, beta	筋細胞死
NM_001289762	Rarb	2.2	0.0004	Fibromodulin	筋形態
NM_021355	Fmod	2.1	0.0004	Parvalbumin	筋の収縮性および 発達
NM_013645	Pvalb	2.1	0.0004	Myosin, light polypeptide 68	筋発達
NM_172259	Myf6b	2.1	0.0004	MAP kinase-activated protein kinase 2	筋細胞死
NM_008551	Mapkapk2	2.1	0.0004	Integrin beta 1 binding protein 2	筋発達
NM_013712	Ilgfbp2	2.1	0.0004	Junctophilin 2	筋の発達および 形態、ミオパシー
NM_021566	Jph2	2.1	0.0004	Prenylcysteine oxidase 1	タンパク質異変
NM_025823	Pcyox1	2.0	0.0004	Protein kinase, cGMP- dependent, type 1	筋の収縮性および 機能
NM_001013833	Ptkg1	2.0	0.0004	APAF1 interacting protein	筋細胞死
NM_019735	Apip	2.0	0.0004	Aldehyde dehydrogenase family 1, subfamily A2	筋の発達および 形態
NM_008022	Aldha2	2.0	0.0004	Lumican	筋形態
NM_008524	Lum	2.0	0.0004		

【図 9 - 4】

NM_007428	Agt	-2.5	0.0004	Angiotensinogen (serpin peptidase inhibitor, clade A, member 8)	細胞サイズ；ミオパシー； タンパク質異変
NM_019739	Foxo1	-2.5	0.0004	Forkhead box O1	筋萎縮；平滑 筋質量；筋細胞死； ミオパシー； タンパク質異変
NM_013560	Hspbl	-2.5	0.0004	Heat shock protein 1	筋の萎縮および 発達；骨格筋質量； 筋細胞死；ミオパシー
NM_026346	Fbxo32	-3.0	0.0004	F-box protein 32	筋萎縮；筋細胞死； ミオパシー
NM_001159324	Gaa	-3.0	0.0004	Glucosidase, alpha, acid	筋萎縮；筋細胞死； ミオパシー
NM_008244	Hgs	-3.3	0.0004	HGF-regulated tyrosine kinase substrate	筋の萎縮、発達、 機能、および形態； ミオパシー
NM_013468	Ankrd1	-3.6	0.0004	Ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)	タンパク質異変
NM_001039048	Trim63	-3.9	0.0004	Tripartite motif-containing 63	筋の発達、機能、 および形態、筋細胞死
NM_008491	Lcn2	-4.9	0.0004	Lipocalin 2	筋の収縮および形態； 骨格筋の質量および 細胞サイズ；筋萎縮； ミオパシー

【図 10】

補足表 2. 媒体またはAR-42で処置した、腫瘍なしマウスおよびC-26腫瘍ありマウスの血清試料の、サイトカインプロファイル分析 (平均±標準偏差; 各群につきn=3)

pg/ml	腫瘍なしマウス		C-26腫瘍ありマウス	
	媒体	AR-42 (n=3)	媒体	AR-42
Eotaxin	677.2 ± 34.2	633.9 ± 84.8	766.8 ± 191.7	636.2 ± 146.0
G-CSF	145.4 ± 27.5	1215 ± 291	2520 ± 1533	2284 ± 989
GM-CSF	31.9 ± 18.3	44.7 ± 14.8	36.4 ± 21.1	41.1 ± 23.7
IFN γ	4.7 ± 2.9	1.2 ± 1.7	0.39 ± 0.76	0.89 ± 1.34
IL-1 α	293.0 ± 184.7	169.5 ± 130.2	78.7 ± 50.7	25.1 ± 15.7
IL-1 β	11.1 ± 17.0	4.7 ± 2.7	2.9 ± 2.3	2.2 ± 1.8
IL-2	3.6 ± 1.1	4.0 ± 1.6	3.8 ± 1.7	1.7 ± 1.3
IL-3	3.0 ± 1.9	1.2 ± 1.4	0.5 ± 0.7	1.7 ± 2.6
IL-4	0.02 ± 0.05	0	0	0.5 ± 0.9
IL-5	3.4 ± 0.6	4.3 ± 1.1	0.76 ± 1.09	25.2 ± 40.6
IL-6	3.0 ± 1.3	5.1 ± 3.6	216.6 ± 108.8	100.6 ± 43.1
IL-7	8.8 ± 2.5	13.0 ± 10.2	10.9 ± 5.2	5.8 ± 2.2
IL-9	38.8 ± 8.7	34.0 ± 13.0	54.4 ± 42.0	11.4 ± 21.2
IL-10	5.6 ± 2.0	6.8 ± 1.0	8.2 ± 3.6	14.9 ± 9.8
IL-12 (p40)	57.7 ± 33.1	42.8 ± 44.6	7.3 ± 1.8	7.4 ± 2.8
IL-12 (p70)	4.6 ± 1.5	5.0 ± 1.9	3.8 ± 2.2	15.3 ± 32.0
IL-13	109.9 ± 20.7	63.0 ± 27.6	88.0 ± 24.8	68.3 ± 26.8
EL-15	36.2 ± 13.0	70.7 ± 88.1	94.1 ± 161.3	18.6 ± 8.7
IL-17	5.1 ± 1.1	6.838 ± 3.010	3.293 ± 2.925	3.277 ± 2.774
IP-10	166.2 ± 53.3	135.6 ± 42.4	180.5 ± 59.9	311.5 ± 140.4
KC	89.7 ± 38.2	156.4 ± 62.1	115.1 ± 43.9	1070 ± 1072
LIF	1.7 ± 2.7	5.1 ± 10.247	20.8 ± 13.1	4.7 ± 3.0
LIX	677.8 ± 2835	5625 ± 2760	4917 ± 3165	1197 ± 1376
MCP-1	41.8 ± 12.1	24.8 ± 5.9	35.5 ± 27.3	63.1 ± 17.8
M-CSF	9.5 ± 4.3	5.9 ± 1.7	4.2 ± 2.3	6.6 ± 2.4
MIG	136.5 ± 94.3	66.0 ± 35.1	30.2 ± 18.0	77.4 ± 33.0
MIP-1 α	51.3 ± 17.7	42.0 ± 25.0	40.2 ± 24.1	22.9 ± 19.3
MIP-1 β	103.7 ± 8.8	89.7 ± 14.7	63.6 ± 17.9	70.2 ± 8.8
MIP-2	81.1 ± 20.9	68.1 ± 20.4	57.4 ± 21.9	49.8 ± 4.0
RANTES	27.9 ± 4.5	21.8 ± 7.3	21.2 ± 7.5	20.2 ± 5.5
TNF α	5.5 ± 3.5	0.23 ± 0.52	2.8 ± 3.7	3.2 ± 3.5
VEGF	1.7 ± 0.36	1.5 ± 0.6	1.4 ± 0.5	1.1 ± 0.3

【図 11-2】

NM_001164223	Rpa1	4.1	0.0102	Replication protein A1
NM_008508	Loricin	4.1	0.0004	Loricin
NM_001114116	Syb3	4.0	0.0004	Synaptotagmin III
NM_013530	Gnb3	4.0	0.0004	Guanine nucleotide binding protein, beta 3
NM_020036	Calm4	3.9	0.0004	Calmodulin 4
NM_145128	Mgat5	3.9	0.0319	Mannoside acetylglucosaminyltransferase 5
NM_008974	Ptp4a2	3.9	0.0004	Protein tyrosine phosphatase 4a2
NM_148941	E3ov4	3.9	0.0004	Elongation of very long chain fatty acids (FEN1/Eio2, SUR4/Eio3, yeast)-like 4
NM_001333	Srbd1	3.9	0.0011	S1 RNA binding domain 1
NM_009608	Actc1	3.9	0.0004	Actin, alpha, cardiac
NM_198196.3	Uts2d	3.9	0.0004	Urotensin 2 domain containing
NM_001003667	Krt77	3.8	0.0004	Keratin 77
NM_001291129	Nnat	3.8	0.0480	Neurotatin
NM_025771	Cntnap2	3.8	0.0004	Contactin associated protein-like 2
NM_001138084	Tph1	3.8	0.0004	Tryptophan hydroxylase 1
NM_026278	Lrp2b	3.8	0.0004	Lrp2 binding protein
NM_001091052	Nhs	3.8	0.0004	Nance-Horan syndrome (human)
NM_001295219	Sorts2	3.7	0.0242	Sortin and SH3 domain containing 2
NM_001199224	Agh11	3.7	0.0004	ATP/GTP binding protein-like 1
NM_027011	Krt5	3.7	0.0004	Keratin 5
NM_183408	Pde4a	3.7	0.0004	Phosphodiesterase 4A, cAMP specific
NM_175486	643057L13Rik	3.7	0.0004	RIKEN cDNA 643057L13 gene
NM_021359	Ilg6b	3.7	0.0004	Integrin beta 6
NM_016958	Krt14	3.6	0.0004	Keratin 14
NM_001013826	Dupc1	3.6	0.0004	Dual specificity phosphatase and pro isomerase domain containing 1
NM_001244200	Pav6	3.6	0.0014	Paired box gene 6
NM_198112	Osn	3.6	0.0004	Osteonin
NM_182993	Slc17a7	3.6	0.0004	Solute carrier family 17 (sodium-dependent inorganic phosphate cotransporter), member 7
NM_001146275	Ilgp1	3.6	0.0004	Interferon inducible GTPase 1
NM_007975	F2h3	3.6	0.0078	Coagulation factor II (thrombin) receptor-like 3
NM_023695	Crybb1	3.5	0.0004	Crystallin, beta B1
NM_010057	Troint1	3.5	0.0492	TRNA aspartic acid methyltransferase 1
NM_022322	Tnmd	3.5	0.0004	Tenomodulin
NM_016867	Snb1	3.5	0.0004	Synaptrophin, basic 1
NM_013803	Casr	3.5	0.0004	Calcium-sensing receptor
NM_008596	Syp2	3.5	0.0004	Synaptophysin-like 2
NM_027258	Rrf157	3.5	0.0308	Ring finger protein 157
NM_021443	Ccl8	3.4	0.0004	Chemokine (C-C motif) ligand 8
NM_011356	Frbz	3.4	0.0004	Frizled-related protein
NM_009813	Casq1	3.4	0.0004	Calcineurin 1
NR_015523	A730017L22Rik	3.4	0.0017	RIKEN cDNA A730017L22 gene
NM_010518	Ilgtp5	3.3	0.0004	Insulin-like growth factor binding protein 5
NM_198390	Cpeb3	3.3	0.0029	Cytoplasmic polyadenylation element binding protein 3
NM_001081160	Mdga1	3.3	0.0004	MAM domain containing glycosyl-phosphatidylinositol anchor 1
NM_020509	Retnla	3.3	0.0004	Resistin like alpha

【図 11-1】

補足表 3. AR-42処置C-26腫瘍ありマウスの筋において、媒体処置C-26腫瘍ありマウスと比較し異なっている(>4倍)発現する遺伝子のRNA-seq分析 (n=3)

参照配列 ID (UCSC)	遺伝子 ID	log2 倍率 変化	P値	記述
AR-42による上方制御				
NM_008700	Aqp4	5.7	0.0004	Aquaporin 4
NM_008867	Cdh4	5.2	0.0004	Cadherin 4
NR_002870	Dnm3os	5.1	0.0004	Dynamin 3, opposite strand
NM_207281.3	4832428D23Rik	5.0	0.0004	RIKEN cDNA 4832428D23 gene
NM_001081116	Athgf17	5.8	0.0083	Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 17
NM_008438	Kera	5.8	0.0004	Keratocan
NM_008393	Irx 3	5.6	0.0004	Iroquois related homeobox 3 (Drosophila)
NM_008473	Krt1	5.5	0.0004	Keratin 1
NM_001198886	Dpp6	5.4	0.0004	Dipeptidylpeptidase 6
NM_016749	Myoph	5.1	0.0004	Myosin binding protein H
NM_001162893	Lrrc38	5.0	0.0004	Leucine rich repeat containing 38
NM_001109888.1	D04S114	4.9	0.0004	DNA segment, human D4S114
NM_001101475	F830016B08Rik	4.9	0.0382	RIKEN cDNA F830016B08 gene
NR_045431	4933401D09Rik	4.9	0.0004	RIKEN cDNA 4933401D09 gene
NM_001205219	Sorts2	4.9	0.0436	Sortin and SH3 domain containing 2
NM_010254	Gair2	4.9	0.0004	Galanin receptor 2
NM_011825	Grem2	4.9	0.0004	Gremlin 2 homolog, cysteine knot superfamily (Xenopus laevis)
NM_001081456	Ploc4	4.8	0.0004	Phospholipase C, delta 4
NM_181664	Crip3	4.7	0.0004	Cysteine-rich protein 3
NM_027948	1700003E16Rik	4.7	0.0004	RIKEN cDNA 1700003E16 gene
NM_028639	Tct7	4.7	0.0317	Tetrapeptide repeat domain 7
NR_045491	2310016D03Rik	4.7	0.0004	RIKEN cDNA 2310016D03 gene
NM_025734	Kcng4	4.6	0.0004	Potassium voltage-gated channel, subfamily G, member 4
NM_025290	Rspn1	4.6	0.0004	Radial spoke head 1 homolog (Chlamydomonas)
NM_011506	Sula2	4.5	0.0014	Succinate-Coenzyme A ligase, ADP-forming beta subunit
NM_001101475	F830016B08Rik	4.5	0.0021	RIKEN cDNA F830016B08 gene
NM_001081052	Nhs	4.5	0.0004	Nance-Horan syndrome (human)
NM_001008533	Adoral	4.4	0.0004	Adenosine A1 receptor
NM_029932	Spns3	4.4	0.0004	Spinster homolog 3 (Drosophila)
NM_001013013	Dhrs7c	4.4	0.0008	Dehydrogenase/reductase (SDR family) member 7C
NM_024291	Ky	4.3	0.0004	Kyphoscoliosis peptidase
NM_010742	Ltyd	4.2	0.0065	Lymphocyte antigen 5 complex, locus D
NM_010267	Gdap1	4.2	0.0004	Ganglioside-induced differentiation-associated protein 1
NM_013569	Kcnh2	4.1	0.0004	Potassium voltage-gated channel, subfamily I (eag related), member 2
NM_176916	Ptd5	4.1	0.0004	Phospholipase D family, member 5

【図 11-3】

NM_175541	Mum111	2.8	0.0004	Melanoma associated antigen (mutated) 1-like 1
NM_175486	643057L13Rik	2.8	0.0080	RIKEN cDNA 643057L13 gene
NM_001025577	Maf	2.8	0.0004	Avian musculoaponeurotic fibrosarcoma (v-maf) A542 oncogene homolog
NM_133226	Pcdz3	2.8	0.0004	PDZ domain containing 3
NM_008469	Krt15	2.8	0.0004	Keratin 15
NM_029037.4	4930444A02Rik	2.8	0.0004	RIKEN cDNA 4930444A02 gene
NM_029297	Dyntb2	2.8	0.1112	Dynein light chain roadblock-type 2
rfa	Eroc2.Mr343	2.8	0.0004	Excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 2
NM_176848	Fbxo2	2.8	0.0004	F-box protein 2
NM_007670	Cdkn2b	2.8	0.0004	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2B (p15, inhibits CDK4)
NM_001081416	Fndc1	2.7	0.0336	Fibronectin type III domain containing 1
NM_172794	Zfp454	2.7	0.0004	Zinc finger protein 454
NM_026794	Deb1	2.7	0.0004	Differentially expressed in B16F10 1
NM_177784	Klhl23	1.7	0.0004	Klhl-like 23 (Drosophila)
NM_022027	Syne1	2.7	0.0004	Synaptic nuclear envelope 1
NM_028798	Ctcf1	2.7	0.0208	Cysteine-rich C-terminal 1
NM_00100955.1	BC088983	2.7	0.0214	CDNA sequence BC088983
NM_001289450	Kcnab1	2.7	0.0004	Potassium voltage-gated channel shaker-related subfamily, beta member 1
NM_001290825	Co117a1	2.7	0.0004	Collagen type XVII, alpha 1
NM_016885	Comp	2.7	0.0004	Cartilage oligomeric matrix protein
NM_177222	Casc1	2.7	0.166	Cancer susceptibility candidate 1
NM_001290579	Tmem14a	2.7	0.0004	Transmembrane protein 14A
NM_198111	Akap6	2.7	0.0004	A kinase (PRKA) anchor protein 6
NM_020278	Lgi1	2.7	0.0004	Leucine-rich repeat LGI family, member 1
NM_008496	Lgals7	2.7	0.0004	Lectin, galactose binding, soluble 7
NM_025500	Mip137	2.6	0.0004	Mitochondrial ribosomal protein L37
NM_001290708	Smarcal	2.6	0.0004	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin subfamily a, member 1
NM_053166	Trim7	2.6	0.0004	Tripartite motif protein 7
NM_139152	Asb18	2.6	0.0004	Ankyrin repeat and SOCS box-containing 18
NM_009255	Serpine2	2.6	0.0004	Serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade E, member 2
NM_207205	Igfb3	2.6	0.0004	Immunoglobulin superfamily, member 3
NM_023734	Pt16	2.6	0.0206	Peptidase inhibitor 16
NR_045837	9130227L01Rik	2.6	0.0083	RIKEN cDNA 9130227L01 gene
NM_011638	Tfrc	2.6	0.0004	Transferrin receptor
NM_001265224	Wnt5e	2.6	0.0011	Wntless-related MMTV integration site 5A
NM_181541	Caprin2	2.6	0.0004	Caprin family member 2
NM_001077202	Hsfst2	2.6	0.0004	Heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 2
NM_010271	Gpd1	2.6	0.0004	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 (soluble)
NM_017392	Celsr2	2.6	0.0004	Cadherin EGF LAG seven-pass G-type receptor 2
NM_010576	Ilg4a	2.6	0.0004	Integrin alpha 4

【図 11-4】

NM_011994	Abcd2	2.6	0.0004	ATP-binding cassette, sub-family D(ALD), member 2
n/a	Fabp9	2.6	0.0004	Fatty acid binding protein 9, testis
NM_001030305.2	Pmp2	2.6	0.0004	Peripheral myelin protein 2
NM_001289468	Egflam	2.6	0.0004	Tubulin, gamma 2
NM_134028	Tubg2	2.6	0.0004	EGF-like, fibronectin type III and laminin G domains
n/a	Snora31	2.6	0.0035	Tumor protein, translationally controlled 1
n/a	Tpi1	2.6	0.0035	Tumor protein, translationally controlled 1
NM_001198765	Postn	2.6	0.0004	Periostin, osteoblast specific factor
NM_025998	Nkain1	2.5	0.0004	Na ⁺ /K ⁺ transporting ATPase interacting 1
NM_007988	Fasn	2.5	0.0004	Fatty acid synthase
NM_016788	Tnfr2	2.5	0.0004	Tyrosine kinase, non-receptor, 2
NM_025781	Dok5	2.5	0.0004	Docking protein 5
NM_133729	2610018G03Rik	2.5	0.0004	RIKEN cDNA 2610018G03 gene
NM_001145887	Tiam1	2.5	0.0004	T-cell lymphoma invasion and metastasis 1
NM_025420	Lce1m	2.5	0.0008	Late cornified envelope 1M
NM_145134	Spasb4	2.5	0.0004	Sp1/tyrosinase receptor domain and SOCS box containing 4
NR_040577	1700123M08Rik	2.5	0.0004	RIKEN cDNA 1700123M08 gene
NM_023047	Dpyd5	2.5	0.0004	Dihydropyrimidinase-like 5
NM_136152	Asi18	2.5	0.0004	Ankyrin repeat and SOCS box-containing 18
NM_008409	Itrn2	2.5	0.0004	Integral membrane protein 2A
NM_021508	Myoz1	2.5	0.0004	Myozenin 1
NM_025668	Mbp4	2.5	0.0004	Microtubular-associated protein 4
NM_026626	Efcab2	2.5	0.0011	EF-hand calcium binding domain 2
NM_172784	Lrp11	2.5	0.0004	CASP8 and FADD-like apoptosis regulator
NR_110361	Ctfr	2.5	0.0004	Low density lipoprotein receptor-related protein 11
NM_001291104	Fgf11	2.5	0.0004	Fibroblast growth factor 11
NM_027756	Mbp31	2.5	0.0004	Microtubular-associated protein 3-like
NM_001111145	Gm514	2.5	0.0004	Gene model 514, (NCBI)
NM_005469	Ulk1	2.5	0.0212	Unc-51 like kinase 1 (C. elegans)
NM_026956	CD209f	2.5	0.0004	CD209f antigen
NM_015718	An3	2.5	0.0004	ADP-ribosylation factor-like 3
NM_026617	Tbrim4	2.4	0.0092	Dopa decarboxylase
NM_016672	Ddc	2.4	0.0004	Transmembrane BAX inhibitor motif containing 4
NM_172899	Dmkn	2.4	0.0004	Demokine
NM_015563	Citec4	2.4	0.0004	Glu/Asp-rich carboxy-terminal domain, 4
NM_013803	Casr	2.4	0.0119	Cbpb300-interacting transactivator, with Calcium-sensing receptor
NM_194350	Mefa	2.4	0.0004	Y-mat muscicaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein A (avian)
NM_013933	Vapa	2.4	0.0004	Vesicle-associated membrane protein, associated protein A
NM_025384	Dnajp15	2.4	0.0287	DnaJ (grp40) homolog, subfamily C, member 15
NM_005873	Cdk6	2.4	0.0004	Cyclin-dependent kinase 6
NR_030764	2700097O09Rik	2.4	0.0021	RIKEN cDNA 2700097O09 gene

【図 11-6】

NM_017394	Slc7a10	2.1	0.0321	Solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y ⁺ system), member 10
NM_001271758	Wnt5b	2.1	0.0393	Wingless-related MMTV integration site 5B
NM_011035	Pak1	2.1	0.0004	P21 (CDKN1A)-activated kinase 1
NM_058212	Dp3	2.1	0.0014	D4, zinc and double PHD fingers family 3
NM_008522	Phka1	2.1	0.0004	Phosphorylase kinase alpha 1
NM_008551	Mekkap2	2.1	0.0004	NAP kinase-activated protein kinase 2
NM_013712	Igfbp2	2.1	0.0004	Integrin beta 1 binding protein 2
NM_016873	Ctfr	2.1	0.0004	Ciliary neurotrophic factor receptor
NM_021566	Juph2	2.1	0.0004	Juncophilin 2
NM_013415	Atplb2	2.1	0.0004	ATPase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, beta 2 polypeptide
NM_133687	Cxhc5	2.1	0.0004	CXXC finger 5
NM_011932	Dapp1	2.0	0.0004	Dual adaptor for phosphotyrosine and 3-phosphonotides 1
NM_153554	Aldh1a2	2.0	0.0004	Aldehyde dehydrogenase 18 family, member A1
NM_001290761	Nmr1a1	2.0	0.0004	NmrA-like family domain containing 1
NM_146030	Plekht3	2.0	0.0004	Pleckstrin homology domain containing, family H (with MyTH4 domain) member 3
NM_025823	Pcyox1	2.0	0.0004	Prenylcytostine oxidase 1
NM_176920	Lrtm1	2.0	0.0004	Leucine-rich repeats and transmembrane domains 1
NM_001013833	Prkg1	2.0	0.0004	Protein kinase, cGMP-dependent, type 1
NM_019735	Api2	2.0	0.0004	APAF1 interacting protein
NM_011734	Ndr4	2.0	0.0004	Sialic acid acetyltransferase
NM_009022	Aldh1a2	2.0	0.0004	Aldehyde dehydrogenase family 1, subfamily A2
NM_008524	Lum	2.0	0.0004	Lumican
NM_001198790	Ak1	2.0	0.0216	Adenylate kinase 1
NM_178401	Ramp1	2.0	0.0004	Receptor (calcitonin) activity modifying protein 1
NM_172752	Sorbs2	2.0	0.0004	Sorbin and SH3 domain containing 2
NM_013737	Pla2g7	2.0	0.0004	Phospholipase A2, group VII (platelet-activating factor acetylhydrolase, plasma)
NR_027236	A1854703	2.0	0.0004	Expressed sequence A1854703
NM_145602	Ndr4	2.0	0.0004	N-myc downstream regulated gene 4
NM_011759	Zfp41	2.0	0.0004	Zinc finger protein 41
NM_007506	Atp5g1	2.0	0.0004	ATP synthase, H ⁺ -transporting, mitochondrial F0 complex, subunit c (subunit 9), isoform 1
NM_019573	Wwxx	2.0	0.0004	WW domain-containing oxidoreductase
NM_009073	Rom1	2.0	0.0004	Rod outer segment membrane protein 1
NM_027269	Ntsdc2	2.0	0.0130	5-nucleotidase domain containing 2
AR-42による下方制御				
NM_025994	Ehd2	-2.0	0.0004	Ef hand domain containing 2
NM_016868	Hif3a	-2.0	0.0004	Hypoxia inducible factor 3, alpha subunit

【図 11-5】

NM_153546	Mboat1	2.2	0.0004	Membrane bound O-acyltransferase domain containing 1
NM_001289762	Rarb	2.2	0.0004	Retinoic acid receptor, beta
NM_134079	Adk	2.2	0.0026	Adenosine kinase
NM_010357	Gsta4	2.2	0.0004	Glutathione S-transferase, alpha 4
NM_177073	Relt	2.2	0.0004	REL1 tumor necrosis factor receptor
NM_001033131	Krt1ap	2.2	0.0011	Keratinoocyte differentiation associated protein
NM_175645	Xylt1	2.2	0.0004	Xylosyltransferase 1
NM_007742	Colla1	2.2	0.0004	Collagen, type I, alpha 1
NR_040577	1700123M08Rik	2.2	0.0004	RIKEN cDNA 1700123M08 gene
NM_016785	Tpmt	2.2	0.0004	Thiopurine methyltransferase
NM_001013771	Gm973	2.2	0.0008	Gene model 973, (NCBI)
NM_021717	Nrip2	2.2	0.0210	Nuclear receptor interaction protein 2
NM_001012450	Ankr6	2.2	0.0004	Ankyrin repeat domain 6
NM_172600	6720456H20Rik	2.2	0.0057	RIKEN cDNA 6720456H20 gene
NM_145623	Gsa	2.2	0.0218	Grancalcin
NM_017378	Pcdh12	2.2	0.0004	Protocadherin 12
NM_153801	Tacr1	2.2	0.0260	n/a
NM_027865	Tmem25	2.2	0.0004	Transmembrane protein 25
NM_177698	Fsd3	2.2	0.0218	Pleckstrin and Sec7 domain containing 3
NM_010924	Nnmt	2.2	0.0004	Nicotinamide N-methyltransferase
NM_007849	Mps21	2.2	0.0112	Mitochondrial ribosomal protein S21
NM_001265849	Pagr7	2.2	0.0004	Progesterin and adiponQ receptor family member VII
NM_028132	Pgm2	2.1	0.0004	Phosphoglucomutase 2
NM_172527	Nudt15	2.1	0.0004	Nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type motif 15
NM_026732	Mpl14	2.1	0.0248	Mitochondrial ribosomal protein L14
NM_194060	Foxo6	2.1	0.0004	Forkhead box O6
NR_024169	2610001J05Rik	2.1	0.0216	RIKEN cDNA 2610001J05 gene
NM_021355	Fmod	2.1	0.0004	Fibromodulin
NM_011775	Zp2	2.1	0.0004	Zona pellucida glycoprotein 2
NM_146188	Kctd15	2.1	0.0008	Potassium channel tetramerisation domain containing 15
NM_008571	Mcp2	2.1	0.0004	Mast cell protease 2
NM_013845	Pvalb	2.1	0.0004	Parvalbumin
NM_001076881	1810012P15Rik	2.1	0.0070	RIKEN cDNA 1810012P15 gene
NM_172259	Myb6	2.1	0.0004	Myosin, light polypeptide 6B
NR_040577	1700123M08Rik	2.1	0.0470	RIKEN cDNA 1700123M08 gene
NM_012048	Fok	2.1	0.0004	Polymerase (DNA directed), kappa
NM_001168476	Tic23	2.1	0.0004	Tetratricopeptide repeat domain 23
NM_172522	Megf11	2.1	0.0004	Multiple EGF-like-domains 11
NM_017382	Rab11a	2.1	0.0004	RAB11a, member RAS oncogene family
NM_008609	Mmp15	2.1	0.0004	Matrix metalloproteinase 15
NM_054088	Pnpla3	2.1	0.0004	Patatin-like phospholipase domain containing 3
NM_007590	Caim3	2.1	0.0004	Calmodulin 3
NM_001168471	Dynl12	2.1	0.0365	Dynem light chain LC8-type 2
NM_080856	Asb4	2.1	0.0004	Ankyrin repeat and SOCS box-containing protein 14
NM_198414	Pagr9	2.1	0.0004	Progesterin and adiponQ receptor family member IX

【図 11-7】

NM_029936	Ddx10	2.4	0.0008	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 10
NM_133769	Cyfp2	2.4	0.0004	Cytoplasmic FMR1 interacting protein 2
NM_153546	Mboat1	2.4	0.0004	Membrane bound O-acyltransferase domain containing 1
NM_173431	Rpgrip1	2.4	0.0032	Rpgrip1-like
NM_138953	Elc2	2.4	0.0107	Elongation factor RNA polymerase II 2
NM_010264	Nr6a1	2.4	0.0420	Nuclear receptor subfamily 6, group A, member 1
NM_001127725	Sec14b	2.4	0.0004	SEC14-like 5 (S. cerevisiae)
NM_182930	Plekha6	2.4	0.0004	Pleckstrin homology domain containing family A member 6
NM_011331	Col12	2.4	0.0116	Chemokine (C-C motif) ligand 12
NM_207278	Tigd4	2.4	0.0004	Tigger transposable element derived 4
NM_177039	A530016L24Rik	2.4	0.0004	RIKEN cDNA A530016L24 gene
NM_178929	Kazal1	2.3	0.0004	Kazal-type serine peptidase inhibitor domain 1
NM_178608	Recp1	2.3	0.0004	Receptor accessory protein 1
NM_001252455	Ptpr	2.3	0.0004	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, S
NM_028639	Tic7	2.3	0.0004	Tetratricopeptide repeat domain 7
NM_013491	Cln1	2.3	0.0004	Chloride channel 1
NM_025474	Mps14	2.3	0.0004	Mitochondrial ribosomal protein S14
NM_008305	Hspg2	2.3	0.0004	Perlecan (heparan sulfate proteoglycan 2)
NM_009533	Xroc5	2.3	0.0353	X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 5
NM_019573	Wwox	2.3	0.0314	WW domain-containing oxidoreductase
NM_025358	Ndufa9	2.3	0.0004	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 9
NM_011923	Angptl2	2.3	0.0004	Angiopoietin-like 2
NM_026728	Echdc2	2.3	0.0004	Enchyl Coenzyme A hydratase domain containing 2
NM_177471	Ccd89	2.3	0.0004	Colic-coli domain containing 59
NM_001291282	Tm6sf1	2.3	0.0004	Transmembrane 6 superfamily member 1
NM_009396	Tnfrsf2	2.3	0.0004	Tumor necrosis factor, alpha-induced protein 2
NM_001007578	Armcx6	2.3	0.0004	Armado repeat containing, X-linked 6
NM_133804	Tmem132a	2.3	0.0004	Transmembrane protein 132A
NM_011436	Sor1	2.3	0.0004	Sorilin-related receptor, LDLR class A repeats-containing
NM_001164225	Fox116	2.3	0.0004	F-box and leucine-rich repeat protein 16
NM_001007583	Best3	2.3	0.0004	Bestrophin 3
NM_133903	Spon2	2.3	0.0004	Spondin 2, extracellular matrix protein
NM_001243009	Col6a3	2.3	0.0004	Collagen, type VI, alpha 3
NM_025343	Rmnd1	2.3	0.0200	Required for meiotic nuclear division 1
NM_00272	Gdf11	2.3	0.0004	homolog (S. cerevisiae)
NM_026219	Uqrb	2.3	0.0008	Growth differentiation factor 11
NM_00139562	Ankr37	2.2	0.0004	Ankyrin repeat domain 37
NM_146188	Kctd15	2.2	0.0004	Potassium channel tetramerisation domain containing 15

【図 11-8】

NM_012065	Pdebg	-2.0	0.0004	Phosphodiesterase 6G, cGMP-specific, rod, gamma
NM_023476	Tinag11	-2.0	0.0488	n/a
NM_01042655	Tbcd17	-2.0	0.0004	TBC1 domain family, member 17
NM_007695	Ch311	-2.0	0.0004	Chitinase 3-like 1
NM_026677	Aspsr1	-2.0	0.0004	Alveolar soft part sarcoma chromosome region, candidate 1 (human)
NM_138677	Edcm1	-2.0	0.0004	ER degradation enhancer, mannosidase alpha-like 1
NM_026220	Mfapla	-2.0	0.0004	Microtubular-associated protein 1A
NM_010133411	Gm826	-2.0	0.0004	Gene model b26, (NCBI)
NM_153075	Caliper2	-2.0	0.0004	Cation channel sperm associated 2
NM_01162704	Foxo6	-2.0	0.0004	F-box protein 6
NM_01162465	Ditro	-2.0	0.0004	Dystrobrevin, beta
NM_011690	Vars	-2.0	0.0004	Valyl-tRNA synthetase
NM_01081349	Slc43a1	-2.0	0.0004	Solute carrier family 43 member 1
NM_133765	Foxo31	-2.1	0.0004	F-box protein 31
NM_029008	4833403115Rik	-2.1	0.0004	RIKEN cDNA 4833403115 gene
NM_01286498	Tex264	-2.1	0.0004	Testis expressed gene 264
NM_001289917	Rora	-2.1	0.0004	RAR-related orphan receptor alpha
NM_010220	Fxlup3	-2.1	0.0004	FK506 binding protein 5
NM_011724	Xirp1	-2.1	0.0004	Xin actin-binding repeat containing 1
NM_01145658	Sh3bp2	-2.1	0.0004	SH3-domain binding protein 2
NM_01037129	Musk	-2.1	0.0004	Muscle, skeletal receptor tyrosine kinase
NM_025341	Achd6	-2.1	0.0004	Abhydriase domain containing 6
NM_010175	Fah	-2.1	0.0004	Fumarylacetoacetate hydrolase
NM_007923	Ek4	-2.1	0.0004	ELF4, member of ETS oncogene family
NM_153135	Nudt18	-2.1	0.0004	Nudix (nucleoside diphosphate linked moiety X)-type motif 18
NM_019684	Zscan12	-2.1	0.0004	Zinc finger and SCAN domain containing 12
NM_001291014	Zscan17	-2.1	0.0004	Zinc finger with KRAB and SCAN domains 17
NM_019972	Slc7a8	-2.1	0.0004	Solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, +/- system), member 8
NM_057172	Fubp1	-2.1	0.0112	Far upstream element (FUSE) binding protein 1
NM_022882	Lpin2	-2.1	0.0004	Lipin 2
NM_011663	Zrsr1	-2.1	0.0004	Zinc finger (CCCH type), RNA binding motif and serine/arginine rich 11
NM_015695	Map3k14	-2.1	0.0004	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 14
NM_133950	Wdr81	-2.1	0.0004	WD repeat domain 81
NR_104298	Cn13	-2.1	0.0004	Guanine, nucleotide binding protein-like 3 (nucleolar)
NM_019661	Ahcy	-2.1	0.0004	S-adenosyl thiochocysteine hydrolase
NM_010757	Matk	-2.1	0.0004	V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family
NM_021897	Trp53inp1	-2.1	0.0004	protein K (avian)
				Transformation related protein 53 inducible nuclear protein 1

【図 11-9】

NM_009025	Rasa3	-2.1	0.0004	RAS p21 protein activator 3
NM_133895	Sc15a4	-2.1	0.0004	Solute carrier family 15, member 4
NM_053098	Lmod2	-2.1	0.0004	Leiomodin 2 (cardiac)
NM_052994	Spock2	-2.1	0.0021	Sparc/osteonectin, cwcv and kazal-like domains proteoglycan 2
NM_176968	Nt5dc1	-2.1	0.0004	5'-nucleotidase domain containing 1
NM_027493	Actr6	-2.1	0.0004	ARP8 actin-related protein 8 homolog (S. cerevisiae)
NM_001111095	Cdkn1a	-2.1	0.0004	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (P21)
NM_01256042	Hsf4	-2.1	0.0004	Heat shock transcription factor 4
NM_010100	Edar	-2.1	0.0062	Ectodysplasin-A receptor
NM_007746	Map3k8	-2.1	0.0004	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 8
NM_023913	Em1	-2.1	0.0004	Endoplasmic reticulum (ER) to nucleus signalling 1
NM_00199733	Daxx	-2.1	0.0004	Death domain-associated protein 6
NR_007570	Btg2	-2.1	0.0004	B-cell translocation gene 2, anti-proliferative
NM_019822	Adrm1	-2.1	0.0004	Adhesion regulating molecule 1
NM_029415	Slc10a6	-2.1	0.0004	Solute carrier family 10 (sodium/bile acid cotransporter family), member 6
NM_001081044	Myk2	-2.1	0.0004	Myosin, light polypeptide kinase 2, skeletal muscle
NM_175133	1110038D17Rik	-2.1	0.0004	RIKEN cDNA 1110038D17 gene
NM_029083	Ddit4	-2.1	0.0004	DNA-damage-inducible transcript 4
NM_145135	Rnh1	-2.1	0.0004	Ribonuclease/angiogenin inhibitor 1
NM_016736	Nub1	-2.1	0.0004	Negative regulator of ubiquitin-like proteins 1
NM_027560	Arnd2	-2.1	0.0004	Arrestin domain containing 2
NM_025514	Anapc16	-2.1	0.0004	n/a
NR_044966	4833406C10Rik	-2.2	0.0004	RIKEN cDNA 4833406C10 gene
NM_008407	Ith3	-2.2	0.0004	Inter-alpha trypsin inhibitor, heavy chain 3
NM_010813	Mnt	-2.2	0.0004	Max binding protein
NM_026483	Mphosph10	-2.2	0.0004	M-phase phosphoprotein 10 (U3 small nucleolar ribonucleoprotein)
NM_001081044	Myk2	-2.2	0.0004	Myosin, light polypeptide kinase 2, skeletal muscle
NM_001290727	And5a	-2.2	0.0004	AT rich interactive domain 5A (Mf1 like)
NM_010115	Klk1c26	-2.2	0.0121	Kallikrein 1-related peptidase b26
NM_015818	Hs6t1	-2.2	0.0240	Heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 1
NM_015787	Hist1h1e	-2.2	0.0004	Histone cluster 1, H1e
NM_023422	Hist1h2be	-2.2	0.0004	Histone cluster 1, H2be
NM_177362	Zfp71	-2.2	0.0004	Zinc finger protein 771
NM_172713	Sdad1	-2.2	0.0004	SDA 1 domain containing 1
NM_007582	Cacng1	-2.2	0.0004	Calcium channel, voltage-dependent, gamma subunit 1
NM_020033	Ankrd2	-2.2	0.0004	Ankyrin repeat domain 2 (stretch responsive muscle)
NM_011874	Psmc4	-2.2	0.0004	Proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, ATPase 4
NM_172845	Adams4	-2.2	0.0004	A disintegrin-like and metalloproteinase

【図 11-10】

NM_025635	Zwint	-2.2	0.0004	(repolysin type) with thrombospondin type 1 motif, 4
NM_009464	Ucp3	-2.2	0.0004	ZW10 interactor
NM_026853	Ast11	-2.2	0.0004	Uncoupling protein 3 (mitochondrial, proton carrier)
NM_001290727	And5a	-2.2	0.0060	Ankyrin repeat and SOCS box-containing protein 11
NM_183270	Chchd8	-2.2	0.0004	AT rich interactive domain 5A (Mf1 like)
NM_153065	Ddk27	-2.2	0.0004	Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 8
NR_027965	2310061J03Rik	-2.2	0.0155	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 27
NM_133218	Zfp704	-2.2	0.0004	RIKEN cDNA 2310061J03 gene
NM_008694	Ngp	-2.2	0.0004	Zinc finger protein 704
NM_001272031	Anef	-2.2	0.0024	Neutrophilic granule protein
NM_001164560	Trmt1	-2.2	0.0004	Armadillo repeat gene deleted in velo-cardio-facial syndrome
NR_028142	Pnp1a2	-2.2	0.0004	TRMT1 tRNA methyltransferase 1 homolog (S. cerevisiae)
NM_023248	Stds	-2.2	0.0004	Paratin-like phospholipase domain containing 2
NM_027460	Slc25a33	-2.2	0.0004	Shwachman-Bodian-Diamond syndrome homolog (human)
NM_025706	Tbcd15	-2.2	0.0004	Solute carrier family 25, member 33
NM_175456	Abra	-2.2	0.0004	TBC1 domain family, member 15
NM_019930	Ranbp9	-2.2	0.0004	Actin-binding Rho activating protein
NM_025324	Zfp524	-2.2	0.0004	RAN-binding protein 9
NM_177325	Tsr1	-2.2	0.0004	Zinc finger protein 524
NM_001290698	Synj2	-2.2	0.0004	TSR1, 20S rRNA accumulation, homolog (yeast)
NR_033450	Serpina3h	-2.2	0.0316	Synaptotagmin 2
NM_199469	Np1oc4	-2.2	0.0004	Serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A, member 3H
NM_026674	Aph1c	-2.2	0.0004	Nuclear protein localization 4 homolog (S. cerevisiae)
NM_010234	Fos	-2.3	0.0004	Anterior pharynx defective 1c homolog (C. elegans)
NR_010908	Nfib	-2.3	0.0004	FBJ osteosarcoma oncogene
NM_045702	AW549542	-2.3	0.0004	Nuclear factor of kappa light chain gene enhancer in B-cells inhibitor, beta
NM_011377	Sim2	-2.3	0.0004	Expressed sequence AW549542
NM_008349	Inmt	-2.3	0.0004	Single-minded homolog 2 (Drosophila)
NM_026545	Psm8	-2.3	0.0004	Indolethylamine N-methyltransferase
NM_008272	Srm	-2.3	0.0004	Proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 8
NR_104560	Slc8a1	-2.3	0.0004	Spermidine synthase
NM_001146707	Nap111	-2.3	0.0004	Solute carrier family 8 (sodium/calcium exchanger), member 1
NM_008871	Serpine1	-2.3	0.0004	Nucleosome assembly protein 1-like 1
				Serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade

【図 11-11】

NM_009663	Cry2	-2.3	0.0004	E, member 1
NM_001081185	Fhc	-2.3	0.0004	Cryptochrome 2 (photolyase-like)
NM_009238	Sov4	-2.3	0.0004	Filamin C, gamma (actin binding protein 280)
NM_172546	Cnrk3	-2.3	0.0049	SRF-box containing gene 4
NM_008951	Psm4	-2.3	0.0004	Cnrk family member 3
NM_146251	Phpl7	-2.3	0.0004	Proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase 4
NM_010321	Gnmt	-2.3	0.0004	Palatin-like phospholipase domain containing 7
NM_001012322	Scr	-2.3	0.0004	Glycine N-methyltransferase
NM_178646	Tigd5	-2.3	0.0004	Serotonin receptor
NM_021462	Mknk2	-2.3	0.0004	Tigger transposable element derived 5
NM_133753	Erfi1	-2.3	0.0004	MAP kinase-interacting serine/threonine kinase 2
NM_145604	D230025D16Rik	-2.4	0.0004	ERBB receptor feedback inhibitor 1
NM_017407	Spag5	-2.4	0.0004	RIKEN cDNA D230025D16 gene
NM_001159367	Per1	-2.4	0.0062	Sperm associated antigen 5
NM_178045	Rass4	-2.4	0.0004	Period homolog 1 (Drosophila)
NM_001135152	Slc39a4	-2.4	0.0301	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family 4
NM_011227	Rab20	-2.4	0.0004	Solute carrier family 39 (zinc transporter), member 14
NM_011752	Zfp259	-2.4	0.0004	RAB20, member RAS oncogene family
NM_019873	Fkbp1	-2.4	0.0004	Zinc finger protein 259
NM_027154	Tmbim1	-2.4	0.0004	FK506 binding protein-like
NM_007970	Ezh1	-2.4	0.0004	Transmembrane BAX inhibitor motif containing 1
NM_001289716	Bo211	-2.4	0.0004	Enhancer of zeste homolog 1 (Drosophila)
NM_008655	Gadd45b	-2.4	0.0004	Bo2-like 1
NM_175164	Arhgap26	-2.4	0.0004	Growth arrest and DNA-damage-inducible 45 beta
NM_001033335	Serpina3f	-2.4	0.0384	Rho GTPase activating protein 26
NM_009251	Serpina3g	-2.4	0.0384	Serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A, member 3F
NM_001165894	Akt1	-2.4	0.0004	Serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A, member 3G
NM_011728	Xpa	-2.4	0.0004	Thymoma viral proto-oncogene 1
NM_028133	Egln3	-2.4	0.0004	Xeroderma pigmentosum, complementation group A
NM_080575	Acsc1	-2.4	0.0004	EGln3 homolog 3 (C. elegans)
NM_019482	Panx1	-2.4	0.0004	Acyl-CoA synthetase short-chain family member 1
NM_007428	Agt	-2.5	0.0004	Pannexin 1
NM_030063	Acad7	-2.5	0.0281	Angiotensinogen (serpin peptidase inhibitor, clade A, member 8)
NM_019739	Foxo1	-2.5	0.0004	Acyl-Coenzyme A binding domain containing 7
NM_029836	Tspyl2	-2.5	0.0004	Forkhead box O1
NM_001161827	Tmem116	-2.5	0.0004	TSPY-like 2
NM_013560	Hspb1	-2.5	0.0004	Transmembrane protein 116
				Heat shock protein 1

【図 1 1 - 1 2】

NM_001081212	Ins2	-2.5	0.0004	Insulin receptor substrate 2
NM_025525	Rnf113a2	-2.5	0.0052	Ring finger protein 113A2
NM_008416	Junb	-2.5	0.0004	Jun-B oncogene
NM_011969	Psmal7	-2.5	0.0004	Proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type 7
NM_001001446	Cyp2c44	-2.5	0.0026	Cytochrome P450, family 2, subfamily c, polypeptide 44
NM_001081024	Setdb2	-2.5	0.0004	SET domain, bifurcated 2
NR_027943	1110038B12Rik	-2.5	0.0004	RIKEN cDNA 1110038B12 gene
NR_027893	BB123696	-2.5	0.0011	Expressed sequence BB123696
NM_016693	Map3k6	-2.6	0.0004	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 6
NM_026538	Ddx58	-2.6	0.0004	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 56
NM_001135520	Samhd1	-2.6	0.0004	SAM domain and HD domain, 1
NM_020042	Mocs1	-2.6	0.0004	Molybdenum cofactor synthesis 1
NM_173027	Ipak3	-2.6	0.0004	n/a
NM_133661	Stb6a12	-2.6	0.0004	Solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, betaine/GABA), member 12
NM_025404	Ar14d	-2.6	0.0004	ADP-ribosylation factor-like 4D
NM_028638	Gad11	-2.6	0.0004	Glutamate decarboxylase-like 1
NR_015530	9530026P05Rik	-2.6	0.0276	RIKEN cDNA 9530026P05 gene
NM_013681	Syn2	-2.6	0.0325	Synapsin II
NM_019432	Tmem37	-2.7	0.0004	Transmembrane protein 37
NM_018737	Cyp2c2	-2.7	0.0393	Cytochrome 2C2
NM_028697	Ampd3	-2.7	0.0004	AMP deaminase 3
NM_001033302	Gnt129	-2.7	0.0014	Gene model 129 (NCBI)
NM_028774	Ttll11	-2.7	0.0004	Tubulin tyrosine ligase-like family, member 11
NM_001081005	1500012F01Rik	-2.7	0.0004	RIKEN cDNA 1500012F01 gene
NM_001081432	Ptpnq	-2.7	0.0174	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, Q
NM_001282071	Stfbp	-2.7	0.0008	Surfactant associated protein B
NM_030210	Aacs	-2.7	0.0004	Acetyl-CoA synthetase
NM_183257	Hamp2	-2.7	0.0004	Hepcidin antimicrobial peptide 2
NM_001164075	Tgfr1	-2.8	0.0004	TG interacting factor 1
NM_178909	Wdr92	-2.8	0.0004	WD repeat domain 92
NM_020590	Gabarap11	-2.8	0.0004	Gamma-aminobutyric acid (GABA)A receptor-associated protein-like 1
NR_024067	Snhg6	-2.8	0.0004	Small nuclear RNA host gene (non-protein coding) 6
NM_001166394	4931428F04Rik	-2.8	0.0004	RIKEN cDNA 4931428F04
NM_012017	Zfp346	-2.8	0.0004	Zinc finger protein 346
NM_174989	Ticam1	-2.8	0.0004	Toll-like receptor adaptor molecule 1
NM_001013370	Sesn1	-2.9	0.0004	Sestrin 1
NM_134247	Aco14	-2.9	0.0204	Acyl-CoA thioesterase 4
NM_009052	Bex1	-2.9	0.0004	Brain expressed gene 1
NM_001184710	Tldp2	-2.9	0.0004	Transcription factor Dp 2
NM_008720	Npc1	-2.9	0.0004	Niemann Pick type C1
NM_009252	Serpina3n	-2.9	0.0004	Serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A, member 3N
NM_144536	Cdk11	-2.9	0.0004	CDK5 regulatory subunit associated protein

【図 1 1 - 1 3】

NM_007679	Cetpd	-2.9	0.0004	1-like 1 CCAA T/enhancer binding protein (C/EBP), delta
NM_020581	Angpt14	-3.0	0.0004	Angiotensin-like 4
NM_026346	Fbxo32	-3.0	0.0004	F-box protein 32
NM_028770	Krt80	-3.0	0.0004	Keratin 80
NM_001158324	Gaa	-3.0	0.0004	Glucosidase, alpha, acid
NM_011510	Abcc8	-3.0	0.0004	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 8
NM_001289632	Itih4	-3.0	0.0004	Inter alpha-trypsin inhibitor, heavy chain 4
NR_038151	2410004N09Rik	-3.1	0.0004	RIKEN cDNA 2410004N09 gene
NM_181593	Itpkc	-3.1	0.0004	Inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase C
NM_010755	Maff	-3.1	0.0004	V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein F (avian)
NM_007918	Eif4ebp1	-3.2	0.0155	Eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1
NM_029799	Armd5	-3.2	0.0004	Aristin domain containing 5
NM_177755	Klhl38	-3.2	0.0126	n/a
NM_001282006	Tekt1	-3.2	0.0004	Tektin 1
NM_008252	Hmgb2	-3.2	0.0004	High mobility group box 2
NM_201610	Nel2	-3.2	0.0004	Nel like 2 (E. coli)
NM_029035	Spsb1	-3.2	0.0004	SolA/hyandine receptor domain and SOCS box containing 1
NM_025427	1190002H23Rik	-3.3	0.0004	RIKEN cDNA 1190002H23 gene
NM_001081219	Myo1a	-3.3	0.0449	Myosin 1A
NM_009117	Saa1	-3.3	0.0004	Serum amyloid A 1
NM_001287386	Cck	-3.3	0.0004	Glucokinase
NM_008244	Hgs	-3.3	0.0004	HGF-regulated tyrosine kinase substrate
NM_021542	Kcnk5	-3.3	0.0004	Potassium channel, subfamily k, member 5
NM_197980	Cox19	-3.3	0.0004	COX 19 cytochrome c oxidase assembly homolog (S. cerevisiae)
NM_007918	Eif4ebp1	-3.3	0.0004	Eukaryotic translation initiation factor 4E
NM_145980	8430408G22Rik	-3.3	0.0004	RIKEN cDNA 8430408G22 gene
NM_033596	Irist2h4	-3.4	0.0004	Histone cluster 2, H4
NM_145165	Wdr62	-3.4	0.0004	WD repeat domain 62
NM_053110	Gpmb	-3.4	0.0004	Glycoprotein (transmembrane) nmb
NM_011314	Saa2	-3.4	0.0004	Serum amyloid A 2
NM_001291058	Cd86	-3.4	0.0004	CD86 antigen
NM_012005	Aco11	-3.4	0.0004	Acyl-CoA thioesterase 1
NM_134188	Aco12	-3.4	0.0004	Acyl-CoA thioesterase 2
NM_177093	Lrrc58	-3.4	0.0004	Leucine rich repeat containing 58
NM_028779	Mocs3	-3.4	0.0004	Molybdenum cofactor sulfuryase
NM_009154	Sema5a	-3.4	0.0004	Sema domain, seven thrombospondin repeats (type 1 and type 1-like), transmembrane domain
NM_148578	Olfir1033	-3.4	0.0004	Olfactory receptor 1033
NM_029290	170001103Rik	-3.4	0.0176	RIKEN cDNA 1700011103
NM_013468	Ankrd1	-3.5	0.0004	Ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)
NM_029774	Ttll11	-3.5	0.0198	Tubulin tyrosine ligase-like family, member 11

【図 1 1 - 1 4】

NM_010559	I16ra	-3.6	0.0004	Interleukin 6 receptor, alpha
NM_010559	I16ra	-3.6	0.0004	Interleukin 6 receptor, alpha
NM_001135152	S1c39a14	-3.7	0.0004	Solute carrier family 39 (zinc transporter), member 14
NM_146578	Olfir1033	-3.8	0.0329	Olfactory receptor 1033
NM_015803	Atb2a2	-3.8	0.0470	ATPase, aminophospholipid transporter-like, class 1, type 8A, member 2
NM_019701	Clcnkb	-3.8	0.0004	Chloride channel Kb
NM_144821	A1317395	-3.9	0.0004	Expressed sequence A1317395
NM_001039048	Trim63	-3.9	0.0004	Tripartite motif-containing 63
NM_181390	Mustn1	-3.9	0.0004	Musculoskeletal, embryonic nuclear protein 1
NM_011315	Saa3	-4.0	0.0004	Serum amyloid A 3
NM_203492	Mrgprg	-4.0	0.0004	MAS-related GPR, member G
NM_177028	5330437102Rik	-4.1	0.0004	RIKEN cDNA 5330437102 gene
NM_023065	Ifi30	-4.1	0.0004	Interferon gamma inducible protein 30
NM_001081219	Myo1a	-4.1	0.0004	Myosin 1A
NM_001081047	Cnkr1	-4.1	0.0004	Connector enhancer of kinase suppressor of Ras 1
NM_008796	Pcp1	-4.1	0.0085	Phosphatidylcholine transfer protein
NM_010100	Edar	-4.2	0.0340	Ectodysplasin-A receptor
NM_001256489	9030624G23Rik	-4.2	0.0004	RIKEN cDNA 9030624G23 gene
NR_030738	2410006H16Rik	-4.2	0.0004	RIKEN cDNA 2410006H16 gene
NM_023557	Stb44a4	-4.3	0.0004	Solute carrier family 44, member 4
NM_011366	Sorbs3	-4.3	0.0004	Sorbin and SH3 domain containing 3
NM_175643	Adams2	-4.4	0.0004	A distal grn-like and metalloproteinase (repolysin type) with thrombospondin type 1 motif, 2
NM_007873	Doc2b	-4.7	0.0004	Double C2, beta
NM_175681	Glp2r	-4.7	0.0004	Glucagon-like peptide 2 receptor
NM_008630	Mt2	-4.8	0.0004	Metallothionein 2
NM_008491	Lon2	-4.9	0.0004	Lipocalin 2
NM_177028	5330437102Rik	-4.9	0.0004	RIKEN cDNA 5330437102 gene
NM_007873	Doc2b	-5.1	0.0004	Double C2, beta
NR_038011	C730036E19Rik	-5.2	0.0004	RIKEN cDNA C730036E19 gene
NM_013602	Mt1	-5.2	0.0004	Metallothionein 1
NM_027211	Anxa13	-5.4	0.0008	Annexin A13
NM_011104	Ptkce	-7.0	0.0004	Protein kinase C, epsilon

フロントページの続き

- (72)発明者 チン シー チェン
アメリカ合衆国 オハイオ州 43221 アッパー アーリントン サフォーク ロード 18
40
- (72)発明者 タニオス ベカイー サープ
アメリカ合衆国 オハイオ州 43221 アッパー アーリントン トウックズベリー ロード
1927
- (72)発明者 デニス ガットリッジ
アメリカ合衆国 オハイオ州 43220 アッパー アーリントン ダーカン ドライブ 13
06
- (72)発明者 グイド マルクッチ
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 91702 アズーサ デザード ウィロー 604
- (72)発明者 サミュエル カルプ
アメリカ合衆国 オハイオ州 43026 ヒリアード オールドウィン ロード 5555
- (72)発明者 ユ チョウ ツェン
アメリカ合衆国 オハイオ州 43210 コロンバス ウェスト レーン アヴェニュー 28
1 ザ オハイオ ステイト ユニバーシティ カレッジ オブ ファーマシー パークス ホー
ル ルーム 323

審査官 高橋 樹理

- (56)参考文献 国際公開第2007/147868 (WO, A1)
特開2006-290863 (JP, A)
Plos ONE, 2010年, Vol.5, No.6, e10941, p.1-10
Journal of Clinical Oncology, 2009年, Vol.27, No.32, p.5459-5468
- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61K 31/167
A61K 45/00
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)