

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5435946号
(P5435946)

(45) 発行日 平成26年3月5日(2014.3.5)

(24) 登録日 平成25年12月20日(2013.12.20)

(51) Int.Cl.

F 1

A 61 K 31/496	(2006.01)	A 61 K 31/496
A 61 P 43/00	(2006.01)	A 61 P 43/00
A 61 P 35/00	(2006.01)	A 61 P 35/00

1 1 1

請求項の数 10 (全 30 頁)

(21) 出願番号	特願2008-528124 (P2008-528124)
(86) (22) 出願日	平成18年8月22日 (2006.8.22)
(65) 公表番号	特表2009-506054 (P2009-506054A)
(43) 公表日	平成21年2月12日 (2009.2.12)
(86) 國際出願番号	PCT/US2006/032952
(87) 國際公開番号	W02007/024971
(87) 國際公開日	平成19年3月1日 (2007.3.1)
審査請求日	平成21年8月24日 (2009.8.24)
(31) 優先権主張番号	60/710,117
(32) 優先日	平成17年8月22日 (2005.8.22)
(33) 優先権主張国	米国(US)

前置審査

(73) 特許権者	301059640 ジョンズ ホブキンス ユニバーシティ アメリカ合衆国 メリーランド州 ボルティモア ノース チャーチルズ ストリート 3400
(74) 代理人	100102842 弁理士 葛和 清司
(72) 発明者	ビーチー, フィリップ, アーテン アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94305、スタンフォード、ビーター クーツ サークル 33
(72) 発明者	リュー, ジュン アメリカ合衆国 メリーランド州 21029、クラークスヴィル、サンディ クリック コート 6909

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】疾患を処置するためのヘッジホッグ経路アンタゴニスト

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

イトラコナゾールであるヘッジホッグアンタゴニスト、またはその薬学的に許容しうる塩を含む、対象においてヘッジホッグ経路活性を阻害する、または低下させるための組成物。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の組成物を含み、内胚葉癌腫、前立腺癌、転移性前立腺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、食道、胃、脾臓、胆道、前立腺または膀胱の癌腫、基底細胞癌、髄芽腫、横紋筋肉腫、乳癌または卵巣癌を処置するための組成物。

【請求項 3】

抗アンドロゲン治療、放射線治療、外科的介入および対新生物化学療法からなる群から選択される治療の第二の形態と組み合わせて用いる、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

ヘッジホッグアンタゴニストを、1日あたり体重 1 kg あたり 0.0001 から 100 mg の範囲で対象に投与する、請求項 2 または 3 に記載の組成物。

【請求項 5】

経口、局所、非経口および全身からなる群から選択される方法により対象に投与される、請求項 2 ~ 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

細胞においてヘッジホッグ経路活性を阻害する *in vitro* 方法であって、イトラコナゾー

ルである化合物、またはその薬学的に許容しうる塩を細胞に投与するか、もしくは細胞と接触させ、それにより細胞においてヘッジホッグ経路活性を阻害することを含む、前記方法。

【請求項 7】

細胞が新生細胞ではない、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

単位投薬形態のヘッジホッグアンタゴニスト化合物、ここで、ヘッジホッグアンタゴニスト化合物がイトラコナゾールである、と、前記化合物を使用する際の説明書とを共に含む、内胚葉癌腫、前立腺癌、転移性前立腺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、食道、胃、胰臓、胆道、前立腺または膀胱の癌腫、基底細胞癌、髄芽腫、横紋筋肉腫、乳癌または卵巣癌を処置するためのキット。

10

【請求項 9】

イトラコナゾールであるヘッジホッグアンタゴニスト、またはその薬学的に許容しうる塩の、請求項 1 に記載の組成物の製造のための使用。

【請求項 10】

ヘッジホッグアンタゴニストの、請求項 2 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物の製造のための使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

20

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2005年8月22日に出願された米国仮出願第60/710,117号の利益を主張し、それらの内容は、参照することにより全体として組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

ヘッジホッグ (Hh) シグナル経路は、動物の発生において重要であり、進化を通じて高度に保存されている。さらに、異常 Hh シグナリングは、多くのヒトの癌の発生および成長に関連している。その結果、Hh シグナル経路は、新規の、無毒性の癌処置を開発するためのバイオテクノロジーおよび製薬会社の研究および開発の努力のターゲットであった。この取組みに大規模な資源が捧げられたにもかかわらず、癌治療に使用するために臨床的に試験することができる Hh 経路アンタゴニストが、未だ達成されていない。したがって、Hh 経路アンタゴニストとして作用する薬剤の同定および開発の必要性が残っている。

30

【0003】

第一に、Hh 経路アンタゴニストとしても作用する既存の薬剤を同定すること、そしてそれらの既存の毒性プロフィールを使用することによって、Hh アンタゴニストの同定が容易になり、実験と臨床との間のギャップをより迅速に埋めるだろう。したがって、本発明は、Hh 経路活性を阻害するための化合物として使用することができる、既存の毒性プロフィールおよび薬物動態プロフィールを有する薬剤の同定を提供することによって、当該技術分野における Hh 経路アンタゴニストの必要性を満たし、癌などの異常 Hh シグナリングに関連する障害または疾患を処置する。

40

【発明の開示】

【0004】

発明の概要

本発明は、対象においてヘッジホッグ経路活性を阻害する方法であり、有効量のヘッジホッグアンタゴニスト、またはその薬学的に許容しうる塩を対象に投与し、それにより対象においてヘッジホッグ経路活性を阻害することを含む、前記方法を提供する。本発明の対象の化合物を、薬学的に許容しうる賦形剤を含む医薬製剤として処方してもよい。本発

50

明は、神経組織、骨および軟骨形成および修復の調節、精子形成の調節、平滑筋の調節、肺、肝臓および原腸から生じる他の器官の調節、造血機能の調節、皮膚および毛の成長の調節などにわたる治療および化粧用途がある。さらに、対象の方法は、培養により提供された細胞 (*in vitro*) で、または動物全体の細胞 (*in vivo*) で行うことができる。例えば、PCT公開公報WO 95/18856およびWO 96117924 (これらの明細書は、参照することにより本明細書に明示的に組み込まれる) 参照。本発明の他の特徴および利点は、詳細な説明および特許請求の範囲から明らかである。

【0005】

一面において、本発明は、対象においてヘッジホッグ経路活性を阻害する方法を提供する。同方法は、有効量の表1の化合物から選択されるヘッジホッグアンタゴニスト、またはその薬学的に許容しうる塩を対象に投与し、それにより対象においてヘッジホッグ経路活性を阻害するステップを含む。 10

【0006】

ある態様において、ヘッジホッグアンタゴニストは、イトラコナゾール、スルフィソマジン(sulfisomadine)、ポドフィルム樹脂、コルヒチン、およびコルヒセイン(colchicine)からなる群から選択される。本発明の好ましい態様において、ヘッジホッグアンタゴニストは、イトラコナゾールである。ある態様において、対象は、Hh経路活性関連障害に罹患しているまたは罹患しやすい。

【0007】

別的一面において、本発明は、対象においてヘッジホッグ経路活性関連障害を処置する方法を提供する。同方法は、(a) Hhシグナリング関連障害の処置が必要な対象を同定すること; および(b) 表1の化合物から選択される化合物、またはその薬学的に許容しうる塩を対象に投与し、それにより対象においてヘッジホッグ経路活性関連障害を処置することを含む。 20

【0008】

ある態様において、化合物は、イトラコナゾールである。ある態様において、化合物を投与するステップは、薬学的に許容しうる組成物で化合物を投与することを含む。ある態様において、方法は、(c) 処置の有効性を決定するために対象をモニタリングするさらなるステップを含む。ある態様において、モニタリングのステップは、腫瘍のサイズを検出することを伴い、腫瘍のサイズの縮小は、処置の指標となる。ある態様において、モニタリングは、処置後の血清試料中の前立腺特異抗原(PSA)レベルを処置前の前立腺特異抗原レベルと比較することを伴う。ある態様において、ヘッジホッグ経路活性関連障害は、癌、乾癬、または多毛症(hirsutism)である。ある態様において、障害は癌であり、癌は、内胚葉癌である。ある態様において、障害は癌であり、癌は前立腺癌、転移性前立腺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、食道、胃、脾臓、胆道、前立腺または膀胱の癌腫、基底細胞癌、髄芽腫、横紋筋肉腫、乳癌および卵巣癌からなる群から選択される。 30

【0009】

別的一面において、本発明は、癌を処置する方法であり、かかる処置が必要な対象におけるものであり、癌を処置するよう、有効量のイトラコナゾール、またはその薬学的に許容しうる塩を対象に投与することを含む、前記方法を提供する。 40

【0010】

ある態様において、癌は、前立腺癌、転移性前立腺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、食道、胃、脾臓、胆道、前立腺または膀胱の癌腫、基底細胞癌、髄芽腫、横紋筋肉腫、乳癌および卵巣癌からなる群から選択される。ある態様において、癌は、前立腺癌であり、前立腺癌は、転移性前立腺癌である。

【0011】

別的一面において、本発明は、異常ヘッジホッグシグナリング障害に罹患しているまたは罹患しやすい対象において異常ヘッジホッグシグナリング障害を処置する方法を提供する。同方法は、異常ヘッジホッグシグナリング障害を処置するよう、治療上有効量のイトラコナゾール、またはその薬学的に許容しうる塩を対象に投与することを含む。 50

【0012】

別の一面向において、本発明は、対象においてヘッジホッグ経路活性を低下させる方法であり、有効量の表1の化合物から選択されるヘッジホッグアンタゴニスト、またはその薬学的に許容しうる塩をかかる処置が必要な対象に投与することを含む、前記方法を提供する。ある態様において、ヘッジホッグアンタゴニストは、イトラコナゾールである。

【0013】

別の一面向において、本発明は、対象においてヘッジホッグ経路活性を低下させる方法を提供する。同方法は、治療の第二の形態と組み合わせて、有効量の表1の化合物から選択されるヘッジホッグアンタゴニスト、またはその薬学的に許容しうる塩をかかる処置が必要な対象に投与することを含む。ある態様において、ヘッジホッグアンタゴニストは、イトラコナゾールである。ある態様において、治療の第二の形態は、抗アンドロゲン治療、放射線治療、外科的介入および対新生物化学療法からなる群から選択される。

10

【0014】

別の一面向において、本発明は、対象において前立腺癌を処置する方法を提供する。同方法は、有効量のイトラコナゾール、またはその薬学的に許容しうる塩を対象に投与し、それにより対象において前立腺癌を処置するステップを含む。

ある態様において、前立腺癌は、転移性前立腺癌である。

【0015】

別の一面向において、本発明は、対象においてヘッジホッグ経路活性に関連する状態を処置する方法を提供する。同発明は、ヘッジホッグ経路活性に関連する状態を処置するよう、有効量の表1に列挙された化合物から選択されるヘッジホッグアンタゴニストを対象に投与するステップを含む。

20

ある態様において、ヘッジホッグ経路活性に関連する状態は、癌ではない。

上記一面のある態様において、対象は、哺乳動物である。ある態様において、対象は、ヒトである。

【0016】

上記一面のある態様において、有効量の表1の化合物から選択されるヘッジホッグアンタゴニストを、1日あたり体重1kgあたり0.0001から約100mgの範囲で対象に投与する。ある態様において、化合物を、経口、局所、非経口および全身からなる群から選択される方法により対象に投与する。

30

【0017】

別の一面向において、本発明は、細胞においてヘッジホッグシグナリング活性を阻害する方法を提供する。本方法は、細胞を有効量の表1の化合物のいずれか、またはその薬学的に許容しうる塩と接触させ（例えば、細胞に投与し）、それにより細胞においてヘッジホッグシグナリング活性を阻害するステップを含む。

ある態様において、細胞は、新生細胞ではない。

【0018】

別の一面向において、本発明は、細胞においてヘッジホッグ経路活性を阻害する方法を提供する。同方法は、有効量の表1の化合物から選択される化合物、またはその薬学的に許容しうる塩を細胞に投与し（細胞を化合物と接触させ）、それにより細胞においてヘッジホッグ経路活性を阻害するステップを含む。

40

上記一面のある態様において、細胞は、哺乳動物細胞、より好ましくはヒト細胞である。

【0019】

また別の一面向において、本発明は、キットを提供する。同キットは、ヘッジホッグ経路活性関連状態を処置するために化合物を使用する際の説明書と共に、単位投薬形態の表1の化合物から選択されるヘッジホッグアンタゴニスト化合物を含む。

【0020】

定義

用語「異常シグナリング」とは、似たような条件下の正常な細胞における受容体活性に

50

対する、細胞における異常な受容体活性を示すことを意図する。例えば、異常な活性は、非悪性の細胞と比較して、細胞、例えば悪性の細胞における過度または望ましくないレベルのヘッジホッグ経路活性であり得る。

【0021】

用語「癌腫」とは、周囲の組織へ浸潤するおよび転移を引き起こす傾向がある上皮細胞で構成されている悪性の新生物を示す。例となる癌腫は、以下のものを含む。「基底細胞癌」は、皮膚の上皮腫瘍であり、ほとんど転移しないものの、局所侵入および破壊の潜在的 possibility を有する。「前立腺癌」は、前立腺管の腺房内に発生する腺癌から生じる癌腫を示し、高転移能を有する。「転移性前立腺癌」は、リンパ管、血管、または椎骨静脈系と接觸してまたはそれらを介して、前立腺の外の組織、例えば、骨、肝臓、および／または肺に広がった前立腺癌を示す。「扁平上皮細胞癌」は、扁平上皮から生じる癌腫を示し、立方細胞を有する。

10

【0022】

「癌肉腫」は、癌性および肉腫組織から構成される悪性の腫瘍を含む。「腺囊癌腫」は、小上皮細胞のネスト(nest)またはコード(cord)により隔てられるまたは囲われるヒアリンまたは粘液間質のシリンダー(cylinder)またはバンド(band)によりマーキングされた癌腫であり、乳腺および唾液腺、および気道の粘液腺に生じる「類表皮癌」は、表皮のものと同様に分化する傾向がある癌性細胞を示し、すなわち、それらは有棘細胞を形成する傾向があり、角化を起こす。「上咽頭癌」は、鼻の後ろの空間の上皮層に生じる悪性の腫瘍を示す。「腎細胞癌」は、さまざまな配置の尿細管細胞から構成される腎実質の癌腫に関連する。

20

【0023】

他の癌性上皮成長物は、以下のものを含む。「乳頭腫」は、上皮由来の良性の腫瘍を示し、原因物質としてパピローマウィルスを有する。「類表皮腫」は、神経溝の閉鎖時に外胚葉要素の包含により形成された脳または髄膜腫瘍を示す。

【0024】

用語「低下する」とは、Hh経路活性を阻害、抑制、減弱、減少、抑止、または安定化することを意味する。

「Hhシグナリングの障害」とは、過度なまたは望ましくないレベルのヘッジホッグ経路活性、例えば異常Hhシグナリング活性に関連する障害を意味する。ある態様において、異常Hh経路活性の障害は、過剰増殖の障害、例えば、癌または乾癬である。他の態様において、異常Hh活性シグナリングの障害は癌ではない。

30

【0025】

語句「ヘッジホッグ活性アッセイ」とは、ヘッジホッグ経路活性をモジュレート(例えば、阻害)するための試験化合物の能力を決定するためのin vitroまたはin vivoアッセイを示すことを意味する。

用語「ヘッジホッグアンタゴニスト」とは、smoothenedの活性を低減させ、Hh経路標的である、patchedおよびG1i1の活性を低減させる剤を示すことを意味する。Hh経路が活性であるとき、標的遺伝子の転写はより高く、Hh経路が不活性であるとき、標的遺伝子の転写はより低い。好ましいヘッジホッグアンタゴニストを、ptc機能喪失型および／またはsmoothened機能獲得型を克服するために使用することができ、後者はまた、smoothenedアンタゴニストと示される。本明細書において、用語「ヘッジホッグアンタゴニスト」は、ヘッジホッグタンパク質の正常な機能を直接阻害することにより作用し得るあらゆる剤のみならず、ヘッジホッグ経路活性を阻害する、したがってptcの機能を回復するあらゆる剤を示す。

40

【0026】

本明細書において、語句「ヘッジホッグ経路活性」は、ヘッジホッグポリペプチド(Hh)またはおよそ19kDであるHhポリペプチド(Hh-N)のN末端フラグメントにより活性化されるシグナル経路の活性を示す。HhポリペプチドまたはHh-Nポリペプチドは、多くの種由来でもよく、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、アフリカツメガ

50

エル、ニワトリ、マウスまたはヒトを含むが、これらに限定されない。Hhポリペプチドは、例えば、ソニックヘッジホッグポリペプチド (Shh)、インディアンヘッジホッグポリペプチド (Ihh)、デザートヘッジホッグ (Dhh) またはそれらのアミノ末端フラグメント、それぞれShh-N、Ihh-N、およびDhh-Nであってもよい（本明細書中に参照として組み込まれる、Porter et al., *Nature* 374:363, 1995; Porter et al., *Science* 274:255, 1996参照）。したがって、Hh介在シグナル経路は、Shh介在シグナル経路、Ihh介在シグナル経路、Dhh介在シグナル経路、Shh-N介在シグナル経路、Ihh-N介在シグナル経路、またはDhh-N介在シグナル経路であってもよい。内因的に產生されたHhNは主に、パルミテートおよびコレテリル(choleteryl)部分がN末端およびC末端それぞれで共有結合した二重に脂質修飾された形態で見つかる（Mann and Beachy, *Ann Review Biochem.* 2004）。

10

【0027】

Hh介在シグナル経路は、ペプチドおよび/または核酸などの1つまたは2つ以上の分子を含むことができる。シグナル経路内の分子を、Hhポリペプチドに応じて多くの方法で変えてよい。例えば、分子を、リン酸化または脱リン酸化してもよい。分子はまた、構造変化を受けてもよく、および/または他の分子に結合してもよい。したがって、さまざまなシグナルが、Hhポリペプチドの存在により作られてもよい。

【0028】

Hh介在シグナル経路に関するポリペプチドは、キナーゼ類、フォスファターゼ類、および核酸配列と相互作用するポリペプチド（例えば、転写因子）を含んでもよいが、これらに限定されない。Hh介在シグナル経路に関する核酸分子は、例えば、ポリペプチド結合核酸分子を含んでもよい。ヘッジホッグシグナル経路は、あらゆる種のヘッジホッグシグナル経路でもよく、ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、アフリカツメガエル、ニワトリ、マウスまたはヒトヘッジホッグシグナル経路を含む。ヘッジホッグシグナル経路は、脊椎動物のヘッジホッグシグナル経路、さらに具体的には、ヒトヘッジホッグシグナル経路でもよい。ヘッジホッグシグナリングに関連する転写因子については、本明細書中に参照として組み込まれる米国特許第6,733,971号に記載されている。

20

【0029】

用語「（複数の対象を）阻害する」または「（単数の対象を）阻害する」は、疾患または障害の発生または進行、または生理学的経路の活性を、例えば、非処理の対照である対象、細胞、または生理学的経路と比較して、少なくとも10、20、30、40、50、60、70、80、90、95、98、または99%、低下、抑制、減弱、減少、抑止、または安定化させることを意味する。

30

用語「IC₅₀」は、最大阻害濃度の半分の薬剤の用量を意味する。

【0030】

用語「新生物」とは、不適切に高レベルの細胞分裂、不適切に低レベルのアポトーシス、または両方が原因のまたは結果となるあらゆる疾患を意味する。例えば、癌は、新生物の一例である。癌の例は、白血病（例えば、急性白血病、急性リンパ性白血病、急性骨髓性白血病、急性骨髓芽球性白血病、急性前骨髓性白血病、急性骨髓单球性白血病、急性单球性白血病、急性赤白血病、慢性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性リンパ性白血病）、真性赤血球增加症、リンパ腫（ホジキン病、非ホジキン病）、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、重鎖病、および肉腫および癌腫などの固形腫瘍（例えば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌腫、皮脂腺癌腫、乳頭癌腫、乳頭腺癌、囊胞腺癌、髄様癌腫、気管支原生肺癌、腎細胞癌、肝細胞腫、胆管癌腫、絨毛癌、精上皮腫、胚性癌腫、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、子宮癌、精巣癌、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌腫、グリア細胞腫、星細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫瘍、乏突起膠腫、シュワン腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、および網膜芽細胞腫）を含むが、これらに限定されない。リンパ増殖

40

50

性障害もまた、増殖性疾患であると考えられる。

【0031】

用語「対象」とは、ヒトまたは非ヒト動物、典型的には哺乳動物、例えば靈長類（ヒト、類人猿、テナガザル、チンパンジー、オラウータン、マカク）、家庭用動物（イヌおよびネコ）、家畜（ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ）および実験動物（マウス、ラット、ウサギ、モルモット）を示す。対象は、動物疾患モデル（例えば、担癌マウス）を含む。

【0032】

本明細書において、語句「非経口投与」および「非経口投与する」は、経腸および局所投与以外の投与方法を意味し、通常は注射によるものであり、静脈内、筋肉内、動脈内、10
髄腔内、囊内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、囊下、くも膜下、脊髄内および胸骨内注射および注入を含むが、これらに限定されない。

本明細書において、「増殖する」および「増殖」は、有糸分裂している細胞を示す。

【0033】

本明細書全体にわたって、用語「増殖性皮膚障害」とは、皮膚組織の不要または異常増殖を特徴とする皮膚のあらゆる疾患／障害を示す。これらの状態は典型的には、表皮細胞の増殖または不完全な細胞の分化により特徴付けられ、例えば、伴性遺伝性魚鱗癬、乾癬、アトピー性皮膚炎、アレルギー性接触皮膚炎、表皮剥離性角質増殖症、および脂漏性皮膚炎を含む。例えば、表皮異形成は、表皮の不完全な発生の形態である。別の例は、「表皮剥離」であり、自然発生的なまたは損傷部位の小泡および水泡の形成を伴う表皮の緩んだ状態を示す。20

【0034】

用語「乾癬」とは、皮膚の調節機構を変化させる過剰増殖性皮膚障害を示す。特に、病変部は、表皮増殖における一次および二次変化、皮膚の炎症反応、およびリンホカインおよび炎症因子などの調節分子の発現を伴い形成される。乾癬皮膚は形態学的に、表皮細胞の代謝回転の増加、表皮厚の増加、異常な角化、真皮層内への炎症細胞の浸潤および基底細胞周期の増加をもたらす表皮層内への多形核白血球の浸潤により特徴付けられる。さらに、角化細胞およびパラ角化細胞が存在する。

【0035】

用語「皮膚」とは、真皮および表皮からなる身体の外側の保護被覆材を示し、汗腺および皮脂腺、ならびに毛包構造を含むと理解される。本明細書全体にわたって、形容詞「皮膚の」を使用してもよく、それらが使用される文脈に応じて適切に、一般的に皮膚の属性を示すと理解されるべきである。30

【0036】

本明細書において、語句「全身投与」、「全身に投与する」、「末梢投与」および「末梢血管から投与する」は、患者の系に入るような、中枢神経系への化合物、薬剤または他の材料の直接以外の投与を意味し、したがって、代謝および他の同様の過程の対象となり、例えば、皮下投与がある。

【0037】

用語「治療的有効量」とは、所望の効果を得るのに、例えば、疾患、状態、または障害（例えば、ヘッジホッグ経路活性関連疾患、状態、または障害）、またはそれらの1つまたは2つ以上の症状の重篤度、期間、進行、または発病を低減させるまたは改善するために；疾患、状態、または障害の前進を予防するために；疾患、状態、または障害の退行の原因となるために；疾患、状態、または障害に関連する症状の再発、発生、発病または進行を予防するために；または別の治療の予防効果または治療効果を高めるまたは改善するために、十分な量を示す。本発明の有効量の化合物は、例えば、約0.001mg/Kg～約1000mg/Kg、または約0.1mg/kg～約100mg/kgの範囲であり得る。有効用量はまた、当業者によって認識されるように、さまざまであり、処置する障害、投薬ルート、賦形剤の使用、対象の年齢および性別、および他の剤の使用などの他の治療的処置との共用の可能性に依存する。当然のことながら、例えば、ヘッジホッグアンタゴニスト活性を達成するのに必要な化合物の量は、別の目的（例えば、抗真菌活性）に40

効果的な化合物の量と異なってもよい。

【0038】

用語「ED₅₀」は、その最大反応または効果の50%を引き起こす薬剤の用量を意味する。代わりに、これは、試験の対象または製剤の50%の所定の反応を引き起こす用量である。

用語「LD₅₀」は、試験の対象の50%の致死的な薬剤の用量を意味する。

用語「治療指数」とは、LD₅₀ / ED₅₀と定義された薬剤の治療指数を示す。

用語「処置」は、予防、治療および治癒もまた包含することを意図する。

【0039】

本明細書において、「(単数または複数の)形質転換細胞」とは、無制限の成長の状態に自然発生的に転換している細胞、すなわち、それらが培養下で無限数の分裂を通して成長する能力を得たことを示す。形質転換細胞を、それらの成長制御の欠損に関して、新生、未分化および/または過形成などの用語により特徴付けてもよい。

10

【0040】

図面の簡単な説明

図1(A & B)は、前立腺癌モデルにおけるイトラコナゾール処置を示す2つのグラフである。A) 2回用量(T x 37.5およびT x 25 mg / kg)での連日イトラコナゾール処置は、AT6.3転移モデルにおいてシクロパミンと同じくらい効果的に生存期間を延長する。B) 無胸腺マウスにおける22RV1ヒト癌細胞からの既存の腫瘍のイトラコナゾール処置は、成長を遅くするか(T x 25 mg / kg)、または完全な退行の原因となる(-100容量% ; 37.5 mg / kg)。

20

【0041】

発明の詳細な説明

本発明は、ヘッジホッグ(Hh)、patched(ptc)、またはsmoothed(smo)により調節されるシグナル伝達経路を、イトラコナゾールを含む選択された化合物により阻害することができるという発見に関するものである。いかなる特定の理論にしばられることも望まないが、これらの剤は、Hhシグナリング活性を阻害することにより、例えば、ヘッジホッグ、ptc、および/またはsmoothed介在シグナル伝達経路を活性化させるヘッジホッグ(Hh)、patched(ptc)、および/またはsmoothed(smo)の能力を妨害することにより、作用する。

30

【0042】

ヘッジホッグ(Hh)

ヘッジホッグ(Hh)遺伝子は最初に、ショウジョウバエにおける正常な分節パターン形成のためのその必要条件に基づき同定された(Nusslein-Volhard, C. and Wieschaus, E., *Nature* 287:795-801, 1980)。その機能は、初期胚セグメント内で隣接する細胞の同一性を調整するための局所シグナリング(Hooper, J. E., and Scott, M. P. *Early Embryonic Development of Animals*, pp. 1-48, 1992)、および多くの細胞の直径を横切って広がる角皮パターン形成における後の機能(Heernskerk, J. and DiNardo, S., *Cell*, 76:449-460, 1994)を含む。Hh遺伝子はまた、付属器および眼を含む成体構造の成虫(imaginal)前駆体のパターン形成において機能する(Mohler, J. *Genetics*, 120:1061-1072, 1988; Ma, et al., *Cell*, 75:927-938, 1993; Heberlein, et al., *Cell*, 75:913-926, 1993; Tabata, T. & Kornberg, T. D., *Cell*, 76:89-102, 1992; Basler, K. & Struhl, G., *Nature*, 368:208-214, 1994)。遺伝的および分子的証拠は、ヘッジホッグタンパク質が分泌され、細胞外シグナリングにおいて機能することを示している(Mohler, J., supra; Lee, et al., *Cell*, 71:33-50, 1992; Taylor, et al., *Mech. Dev.*, 42:89-96, 1993)。

40

【0043】

脊椎動物において、Hhホモログによりコードされた活性は、肢の前部/後部パターン形成(Riddle, et al., *Cell*, 75:1401-1416, 1993; Chang, et al., *Development*, 120:3339, 1994)、および神経管の背部/腹部パターン形成(Echelard, et al., *Cell*, 75:1

50

417 1430, 1993; Krauss, et al., Cell, 75:1431 1444, 1993; Roelink, et al., Cell, 76:761 775, 1994) に関与してきた。

【0044】

ヘッジホッギングシグナリングがパターン形成の効果をもたらす胚組織のほとんどにおいて、ヘッジホッギング経路の活性化は、標的細胞における増殖性反応に関連する。かかる胚組織は、発生中の神経管、前体節中胚葉および発生中の肢芽の中胚葉を含むが、これらに限定されない。加えて、ヘッジホッギングシグナル経路の不適切な活性化による無制御の細胞増殖は、基底細胞癌、前立腺癌、転移性前立腺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、食道、胃、胰臓、胆道、前立腺、または膀胱の癌腫、基底細胞癌、髄芽腫、横紋筋肉腫、乳癌および卵巣癌、髄芽腫を含む内胚葉腫瘍、および白血病および多発性骨髄腫を含む造血障害を含むが、これらに限定されないいくつかの腫瘍の種類の形成に関連する。

10

【0045】

これらの腫瘍における無制御の増殖はおそらく、ヘッジホッギングシグナル経路における正常な役割を有する G1i1 などの転写因子の異常な活性化によるものである。例えば、基底細胞癌の場合、すべてまたはほとんど全ての場合は、基底ケラチノサイトにおける不適切に高いレベルの G1i1 転写因子の発現に関連する (Dahmane et al., Nature 1997, 389(6653): 876-881)。かかる G1i1 の不適切な活性化は、基底細胞癌に関連する無制御の細胞増殖において原因となる役割を果たすと考えられる。したがって、Hh 経路活性をモジュレートする能力は、いくつかの臨床的に重要な癌に対する可能な治療的アプローチを表す。

20

【0046】

ヘッジホッギングポリペプチド (Hh) は、アミノ末端フラグメント (Hh-N) およびカルボキシ末端フラグメント (Hh-C) を作るためにオートプロセシングを経験する前駆体として合成される。Lee et al. Science, 266:1528 37, 1994. Hh-N は、Hh のシグナリング活性のすべてを含有するのに対し、Hh-C は、オートプロセシングに関与し、その空間分布を調節するためにコレステロール分子を Hh-N のカルボキシ末端に結合させる (Porter, J. A., et al. Nature, 374:363 366, 1995. Porter, J. A., et al. Science, 274:255 259, 1996. Porter, J. A. et. al. Cell, 86:21 34, 1996)。

【0047】

Hh シグナル経路における多数の遺伝子の異常調節は、Hh 活性化に似た表現型へと至り得る。ヘッジホッギング機能獲得型は、ptc 遺伝子、ヘッジホッギング遺伝子、またはsmoothened 遺伝子の異常修飾または突然変異、またはかかる遺伝子の発現レベルでの低下（または欠損）を示し、これは、細胞のヘッジホッギングタンパク質との接触に似た表現型、例えば、ヘッジホッギング経路の異常活性化をもたらす。機能獲得型は、Ci 遺伝子、例えば、G1i1、G1i2、および G1i3 の発現レベルを調節するための ptc 遺伝子産生物の能力の欠損を含んでもよい。用語「ヘッジホッギング機能獲得型」はまた、ヘッジホッギングシグナル伝達経路のどこかでの交代により生じる類似の細胞表現型（例えば、過剰増殖を示す）を示すことができ、ヘッジホッギング自体の修飾または突然変異を含むがこれらに限定されない。例えば、ヘッジホッギング経路活性の活性化により異常に高い増殖率を有する腫瘍細胞は、ヘッジホッギングがその細胞において突然変異しないとしても、「ヘッジホッギング機能獲得型」表現型を有するだろう。

30

【0048】

Smoothened機能獲得型は、smo 遺伝子の異常修飾または突然変異、または遺伝子の発現レベルの上昇を示し、これは、細胞のヘッジホッギングタンパク質との接触に似た表現型、例えば、ヘッジホッギング経路の異常活性化をもたらす。いかなる特定の理論にしばられることも望まないが、直接細胞内にシグナル伝達しないかもしれないがむしろヘッジホッギングシグナリングにおいて ptc の下流に位置するsmoothenedである、別の膜結合タンパク質と相互作用することに注目する (Marigo et al., (1996) Nature 384: 177-179)。

40

【0049】

遺伝子 smo は、ショウジョウバエにおけるすべてのセグメントの正しいパターン形成

50

に必要なセグメント極性遺伝子である (Alcedo et al., (1996) *Cell* 86: 221-232)。 Smo のヒト相同体は、同定されている。例えば、Stone et al. (1996) *Nature* 384:129-134、およびGenBankアクセスU84401参照。Smoothened遺伝子は、ヘテロ三量体 G - タンパク質共役受容体の特徴を有する内在性膜タンパク質をコードする。すなわち、7膜貫通領域である。このタンパク質は、無翅経路の一員である、ショウジョウバエ *F r i z z l e d* (*Fz*) タンパク質への相同性を示す。Smo は、*Hh*シグナルの受容体をコードすると当初は考えられていた。しかしながら、この提案は、*ptc* が *Hh*受容体である証拠が得られたことから、後に覆された。Smo を発現する細胞は、*Hh*に結合しないが、これは、Smo が *Hh* と直接相互作用しないことを示している (Nusse, (1996) *Nature* 384: 119-120)。むしろ、ソニックヘッジホッグ (*SHH*) のその受容体、PTCHへの結合は、smoothened (SMO)、膜7回貫通型タンパク質 (seven-span transmembrane protein) の PTCH による正常な阻害を予防すると考えられる。米国特許第6,867,216号 (参照することにより本明細書に全体として組み込まれる) は、smoothened 依存性経路活性化を阻害するための方法および試薬を教示する。

[0 0 5 0]

Patched機能喪失型は、p t c 遺伝子の異常修飾または突然変異、または遺伝子の発現レベルの低下を示し、これは、細胞のヘッジホッグタンパク質との接触に似た表現をもたらし、例えば、ヘッジホッグ経路の異常活性化である。用語「p t c 機能喪失型」もまた、ヘッジホッグシグナル伝達経路のどこかでの交代により生じるあらゆる類似の細胞表現型（例えば、過剰増殖を示す）を示すために本明細書において使用され、p t c 自体の修飾または突然変異を含むがこれらに限定されない。例えば、ヘッジホッグ経路活性の活性化により異常に高い増殖率を有する腫瘍細胞は、ヘッジホッグがその細胞において突然変異しないとしても、「p t c 機能喪失型」表現型を有するだろう。

【 0 0 5 1 】

Hhシグナル経路は、胚発生中のパターン形成を導く役割により最も知られているが、また、さまざまな成体組織内の幹細胞または前駆細胞の活性化および増加において、特に組織損傷への反応において、後胚期に機能する。Hhシグナリングのこの幹細胞調節の役割は、癌に関連性のある大きな可能性であり、それは、幹細胞様の性質を有する少数の細胞によるその繁殖および正常な組織幹細胞からのその可能な誘導の両方において、ますます幹細胞疾患とみなされる。

【 0 0 5 2 】

米国特許第6,432,970号は、参照することにより本明細書に全体として組み込まれるものであり、ヘッジホッグタンパク質に対する細胞の感受性を低減させるのに十分な量のステロイド性アルカロイドを有するヘッジホッグタンパク質、または他の小分子に対して感受性のある細胞に接触することを含むヘッジホッグタンパク質により生じるパラクリンおよび/またはオートクリンシグナルを阻害するためのアッセイおよび試薬について記載がある。

【 0 0 5 3 】

イトラコナゾール

イトラコナゾールまたは(±)-ciss-4-[4-[4-[4-[2-(2,4-ジクロロフェニル)-2-(1H-1,2,4-トリアゾール-1-イル-メチル)-1,3-ジオキソラン-4-イル]メトキシ]フェニル]-1-ピペラジニル]フェニル]-2,4-ジヒドロ-2-(1-メチルプロピル)-3H-1,2,4-トリアゾール-3-オン、または代わりに2-ブタン-2-イル-4-[4-[4-[4-[2R,4S)-2-(2,4-ジクロロフェニル)-2-(1,2,4-トリアゾール-1-イルメチル)-1,3-ジオキソラン-4-イル]メトキシ]フェニル]ピペラジン-1-イル]フェニル]-1,2,4-トリアゾール-3-オンは、経口、非経口および局所使用のために開発された広範囲の抗真菌化合物であり、米国特許第4,267,179号に開示されており、これは、参照により、全体として組み込まれる。ジフルオロ類似体、サベルコナゾールまたは(±)-ciss-4-[4-[4-[4-[2-(2,4-ジフルオロ

フェニル) - 1 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 1 - イルメチル) - 1 , 3 - ジオキソラン - 4 - イル] メトキシ] フェニル] - 1 - ピペラジニル] フェニル] - 2 , 4 - ジヒドロ - 2 - (- 1 - メトキシプロピル) - 3 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 3 - オンは、Aspergillus種に対して改善された活性を有し、米国特許第4,916,134号に開示されており、これは、参照により、全体として組み込まれる。イトラコナゾールおよびサベルコナゾールの両方は、4つのジアステレオ異性体の混合物からなり、その調製および有用性は、WO 93/19061に開示されている。イトラコナゾールおよびサベルコナゾールのジアステレオ異性体は、[2 R - [2 - , 4 - , 4 (R *)]]、[2 R - [2 . . , 4 . . , 4 (S *)]]、[2 S - [2 . . , 4 . . , 4 (S *)]] および [2 S - [2 . . , 4 . . , 4 (R *)]] に指定される。 10

【 0 0 5 4 】

以下用いられる用語「イトラコナゾール」は広く解釈され、イトラコナゾールの遊離塩基の形態および薬学的に許容しうる付加塩、またはその立体異性体のうちの1つ、または2つまたは3つまたは4つのその立体異性体の混合物を含む。好ましいイトラコナゾール化合物は、遊離塩基の形態の(±) - (2 R * , 4 S *)または(cis)形態であり、Chemical Abstracts Registry Number [84625-61-6]を有する。酸付加形態は、塩基形態の適切な酸との反応により得てもよい。適切な酸は、例えば、ハロゲン化水素酸、例えば塩酸または臭化水素酸；硫酸；硝酸；リン酸などの無機酸；または、例えば、酢酸、プロパン酸、ヒドロキシ酢酸、2 - ヒドロキシプロパン酸、2 - オキソプロパン酸、エタン二酸、プロパン二酸、ブタン二酸、(Z) - ブテン二酸、(E) - ブテン二酸、2 - ヒドロキシブタン二酸、2 , 3 - ジヒドロキシブタン二酸、2 - ヒドロキシ - 1 , 2 , 3 - プロパントリカルボン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、4 - メチルベンゼンスルホン酸、シクロヘキサンスルファミン酸、2 - ヒドロキシ安息香酸、4 - アミノ - 2 - ヒドロキシ安息香酸および同様の酸などの有機酸を含む。 20

【 0 0 5 5 】

イトラコナゾールは、ヘッジホッグ阻害活性を有し (in vitroアッセイにおいて測定されたように)、転移および癌成長を抑制する能力を有する前立腺癌のマウスモデルにおいて明らかな有効性を示す (例えば、以下に例において示すように) ことが見出されている F D A 承認薬である。いかなる特定の理論にしばられることも望まないが、イトラコナゾールのヘッジホッグ阻害活性は、イトラコナゾールがステロール生合成を阻害し、それによりsmoothenedを阻害する能力に (少なくとも一部) 関連し得ると信じられている。例えば、コレステロールの1つの役割は、内部の切断を伴うオートプロセシング反応の産生物として形成されるヘッジホッグタンパク質 (Hh) の生物活性形態のための共有結合付加体としてである。 30

【 0 0 5 6 】

コレステロールの付着は、Hhシグナルの空間的展開を制限し、したがって、発生中の組織における細胞反応のパターンに影響を及ぼす。タンパク質のコレステロール修飾のレビューがMannおよびBeachy(Ann. Rev. Biochem., Vol. 73: 891-923 (2004))に示されており、それは、参照により、全体として組み込まれる。Hhシグナル発生におけるその役割に加えて、コレステロールは、標的細胞内で反応をHhシグナルに媒介する重要な役割を有し、この役割は、標的組織をHhシグナルに無応答の状態にするコレステロール恒常性の遺伝的または薬剤に誘発された摂動によって明らかになる。そのようにして、ヘッジホッグシグナリングに対する反応不全は、コレステロール生合成の最終段階における欠陥が原因となるヒトの症候群である、デスマステロロシス(desmosterolosis)およびラトステロロシス(lathosterolosis)などのコレステロール生合成のある障害において見られる。 40

【 0 0 5 7 】

スクリーニングアッセイ

本発明はまた、ヘッジホッグ (Hg) シグナリングを拮抗する剤を同定するためのスクリーニングアッセイに関する。スクリーニング方法はまた、物理的に (例えば、立体的に 50

)でない場合は機能的に、要望どおり、アンタゴニストまたはアゴニストとして作用する変異形、結合剤または遮断剤などを同定するのに有用である。

【0058】

医薬組成物

本発明の医薬組成物および処方物は、本明細書に開示されているヘッジホッグアンタゴニスト化合物の医薬組成物を含み(例えば、イトラコナゾールなどの表1の化合物)、哺乳動物に投与することができ、また、動物用組成物、例えば、動物用の使用、例えば、家畜または家庭用動物、例えば、イヌの処置に好適な対象の化合物の医薬製剤をも含み得る。以下に詳細に示すように、対象の方法は、それらのIC₅₀値により直ちに同定することができるさまざまな異なるヘッジホッグアンタゴニストを使って行うことができるこ10とを意図する。

【0059】

対象の方法において使用する例となるヘッジホッグアンタゴニストは、イトラコナゾールおよび表1の化合物を含み、以下のとおりである。サリノマイシンナトリウム、オリゴマイシン、コルヒチン、ポドフィルム樹脂、クロトン油、吐根シロップ、ビンデシン、硫酸ビンクリスチン、デメコルチン、酒石酸ビノレルピン、コハク酸ロキサピン、シプロヘプタジン、イトラコナゾール、コルヒセイン、マレイン酸ピメチキセン、ジアジコン、スルフィソミジン、シクロヘキサミド、シクロパミン、肝油、メトキシポン、塩酸プロメタジン、スルファキノキサリンナトリウム、硫酸ビンプラスチン、ヒドロキシジン、オイカリプトール、ロテノン、塩酸フェノキシベンザミン、5-アザシチジン、W-7塩酸、ジヒドロアルテミシニン、クロミプラミン、塩酸ラロキシフェン、ドキサゾシンメシル酸塩、ジヒドロアルテミシニン、クロミプラミン、塩酸ラロキシフェン、ドキサゾシンメシル酸塩、クロロキンニリン酸塩、イミプラミン、チオリダジン、クロチアピン、ゾランチジン、酢酸クラシン(Crassin)、エストリオールベンジルエーテル、フルフェナジンN-マスター(5SKF-7171A)、アーモンドオイル、塩酸プロマジン、酢酸エストラジオール、マレイン酸トリミプラミン、酢酸銅(II)、エストラジオール3-ベンゾエート、アミトリプチリン、クロルキナルドール(5,7-ジクロロ-2-メチル-8-キノリノール)。

【0060】

一態様において、本発明の方法および組成物は、イトラコナゾールおよびその薬学的に許容しうる塩を利用する。本発明の方法および組成物において有用な他の化合物は、スルフィソミジン(抗菌剤として既知)、およびその薬学的に許容しうる塩；ポドフィルム樹脂(疣瘍または鷄眼処置として既知)、およびその薬学的に許容しうる塩；およびコルヒチン(癌治療における微小管阻害剤として既知)、およびその薬学的に許容しうる塩を含む。

【0061】

米国特許第6,485,743号には、イトラコナゾールの経口製剤の記載がある。米国特許第7,081,255号には、哺乳動物に投与することができるイトラコナゾールの医薬組成物、それにより単回のかかる剤形を毎日1回投与、さらに前記哺乳動物により摂取する食物に独立して1日のいつでも投与することができるこの記載があり、それは、参照することにより本明細書に全体として組み込まれる。米国特許第6,946,137号は、長期にわたるイトラコナゾールなどの薬理学的に活性な化合物の制御による送達方法を提供し、それは、参照することにより本明細書に全体として組み込まれる。米国特許第6,407,079号(本明細書中に参照として組み込まれる)には、シクロデキストリン誘導体が不水溶性または難水溶性であるイトラコナゾールを含む化合物を可溶化するために使われる医薬組成物の記載がある。

【0062】

本発明は、生理学的に適合する担体と混和した本発明の化合物、例えばイトラコナゾールを含む組成物を提供する。本明細書において、「生理学的に適合する担体」とは、水、リン酸緩衝食塩水、または生理食塩水などの生理学的に許容しうる希釈剤を示し、さらに

10

20

30

40

50

アジュバントを含んでもよい。不完全なフロイントのアジュバント、リン酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、またはミヨウバンなどのアジュバントが、当該技術分野で周知の材料である。

【0063】

導入方法を、充電式または生分解性デバイスにより提供してもよい。さまざまな徐放性高分子デバイスについて、タンパク性生物医薬品を含む薬剤の制御による送達のために、近年 *in vivo* で開発および試験が行われてきた。生分解性および非分解性ポリマーの両方を含むさまざまな生体適合性ポリマー（ハイドロゲルを含む）は、特定の標的部位での対象の化合物の持続放出のためのインプラントを形成するために使用することができる。

【0064】

本発明の製剤は、経口、非経口、局所または直腸投与してもよい。それらはもちろん、各投与ルートに好適な形態で投与される。例えば、それらを、錠剤またはカプセルの形態で、注射、吸入、目薬、軟膏、坐薬、制御放出パッチなどの投与により、注射、注入または吸入により；水薬または軟膏により局所的に；および坐薬により直腸へ投与する。例えば、ある態様において、スルフィソミジンは、局所処方物の形で投与するが、全身に投与することもできる。

10

【0065】

経口投与用の医薬組成物を、経口投与に好適な用量の当該技術分野で周知の薬学的に許容しうる担体を使って処方することができる。かかる担体によって、対象による経口摂取のために、医薬組成物を錠剤、ピル、ドラジェ、カプセル、液体、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液などに処方することができる。米国特許第6,737,082号には、イトラコナゾール組成物の医薬経口製剤の記載があり、それは、参照することにより本明細書に全体として組み込まれる。

20

【0066】

経口用の医薬製剤は、活性化合物を固形賦形剤と組み合わせ、任意に得られる混合物を粉碎し、好適な補助剤を添加した後、所望の場合、錠剤またはドラジェの核を得るために顆粒の混合物を処理することを通じて得ることができる。好適な賦形剤は、ラクトース、ショ糖、マンニトール、またはソルビトールを含む糖類；トウモロコシ、小麦、米、ジャガイモ、または他の植物由来のデンプン；メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチル-セルロース、またはカルボキシメチルセルロースナトリウムなどのセルロース；およびアラビアゴムおよびトラガカントガムを含むゴム類；およびゼラチンおよびコラーゲンなどのタンパク質などの炭水化物またはタンパク質充填剤である。所望の場合、錠剤分解剤または可溶化剤を添加してもよく、架橋ポリビニルピロリドン、寒天、アルギン酸、またはアルギン酸ナトリウムなどのその塩などがある。

30

【0067】

ドラジェの核に、アラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、carbopolゲル、ポリエチレングリコール、および／または二酸化チタンも含有してもよい濃縮砂糖水、ラッカーリー液、および好適な有機溶剤または溶剤混合物などの好適なコーティングを付する。染料または色素を、製品の同定用に、または活性化合物の量、すなわち、用量を特徴付けるために、錠剤またはドラジェコーティングに添加してもよい。

40

【0068】

経口使用が可能な医薬製剤は、ゼラチン製の押し込み式のカプセル、ならびにゼラチン製のソフトな密封カプセルおよびグリセロールまたはソルビトールなどのコーティングを含む。押し込み式のカプセルは、ラクトースまたはデンプンなどの充填剤または結合剤、タルクまたはステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤、および、任意に、安定化剤と混合した活性成分を含有することができる。ソフトカプセル中、活性化合物を、油脂類、流動パラフィン、または液体ポリエチレングリコールなどの好適な液体に、安定化剤と共にまたは安定化剤なしで溶解または懸濁してもよい。

【0069】

追加の成分は、薬学的に許容しうるもので、上皮細胞またはそれらの機能に有害ではなく

50

い限り、局所組成物に添加してもよい。さらには、組成物の上皮透過率に対して悪影響を及ぼすべきではなく、組成物の安定性の面で劣化の原因となるべきではない。例えば、フレグランス、乳白剤、抗酸化剤、ゲル化剤、安定化剤、界面活性剤、軟化剤、着色剤、保存剤、緩衝剤などがあつてもよい。本発明の局所組成物のpHを、組成物を皮膚に生理学的に適合させるために、それに緩衝剤を添加することによって、約6.0～約9.0の生理学的に許容しうる範囲に調整してもよい。一態様において、ポドフィルム樹脂は特に、例えば皮膚上の癌性病変部の処置用の局所処方物に適している。

【0070】

非経口投与用の医薬処方物は、活性化合物の水溶液を含む。注射用に、本発明の医薬組成物を、水溶液、好ましくはハンクス液、リンガー液、または生理学的緩衝生理食塩水などの生理学的に適合する緩衝液中に処方してもよい。水性注射懸濁液は、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、またはデキストランなどの懸濁液の粘度を増加させる物質を含有してもよい。加えて、活性溶剤またはビヒクルの懸濁液は、ごま油などの油脂類、またはオレイン酸エチルまたはトリグリセリド、またはリポソームなどの合成脂肪酸エステル類を含む。任意に、懸濁液はまた、高濃縮溶液の製剤を可能にするために好適な安定化剤または化合物の溶解度を増加させる剤を含有してもよい。

経鼻投与用に、透過する特定のバリアとして適切な浸透剤を処方物において使用する。かかる浸透剤は、一般的に当業者に知られている。

【0071】

本発明の医薬組成物は、当業者に知られている方法で、例えば従来の混合、溶解、顆粒化、ドラジェ作成、浮上、乳化、封入、捕捉または凍結乾燥の過程によって、製造してもよい。

医薬組成物を、塩として提供してもよく、塩酸、硫酸、酢酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸などを含むが、これらに限定されない多くの酸と形成することができる。塩は、遊離塩基の形態に対応する水性のまたは他のプロトン性溶剤により溶けやすい傾向がある。他の場合、好ましい製剤は、pHの範囲が4.5～5.5である1mM～50mMのヒスチジン、0.1%～2%のショ糖、2%～7%のマンニトールの凍結乾燥粉末であつてもよく、それは、使用前に緩衝液と組み合わせる。

【0072】

許容しうる担体中に処方した本発明の化合物を含む医薬組成物を調製した後、適切な容器に入れ、示された状態の処置のために投与の量、頻度および方法を含む情報のラベルを付すことができる。

本発明はまた、ヘッジホッグ経路活性を阻害するための医薬品の製造における化合物の使用を含み、ここで化合物は、表1に列挙した化合物から選択される。

【0073】

併用治療

ある態様において、本発明は、併用治療を意図した。例えば、イトラコナゾールは、治療において他の化合物と組み合わせて使用することができる。例えば、イトラコナゾールは、他の化合物と、例えば、1:1～1:5～5:1、1:1～1:10～10:1、1:1～1:25～25:1、1:1～1:100～100:1、1:1～1:1000～1000:1または1:1～1:10,000～10,000:1の範囲の比率で組み合わせて同時投与することができる。イトラコナゾールとの併用治療に使用することを意図した化合物は、抗アンドロゲン剤(フルタミド、ビカルタミド、およびニルタミドを含む)、LHRHアゴニスト、黄体形成ホルモン放出ホルモン(LHRH)アンタゴニスト、およびゲムシタビン(特に膵臓癌処置において)、プラチナ化合物(肺癌処置に用いられるシスプラチニンなど)、ミトキサントロン、ドキソルビシン、ビンプラスチニン、パクリタキセル、ドセタキセル、リン酸エストラムスチニン、およびエトポシドなどの化学療法剤を含む。本発明により意図した他の併用治療は、手術、例えば、腫瘍および/または周囲の組織の外科的除去、例えば、腫瘍のデバルキングと組み合わせたイトラコナゾールによる処置を含む。ある特定の例において、併用治療を、髄芽腫の処置に使用することができる

10

20

30

40

50

。従来の髄芽腫などのある癌の処置は、放射線治療である。したがって、本発明の方法は、必要とする放射線の用量を低下させるおよび／または放射線単独と比較して処置の有効性を改善するために、放射線治療と共にイトラコナゾールを使用することを意図する。

【0074】

投与の用量および方法

既述のように、これらの化合物を、経口、経鼻投与を含む、例えばスプレー剤として、直腸、腔内、非経口、囊内および局所投与、粉末剤、軟膏またはドロップとして、口腔および舌下投与を含むあらゆる好適な投薬ルートを含む治療のために、ヒトおよび他の動物に投与してもよい。

選択する投薬ルートに関係なく、好適な水和物の形で使用してもよい本発明の化合物、および／または本発明の医薬組成物を、以下に記載の薬学的に許容しうる剤形にまたは当業者に既知の他の従来の方法によって処方する。

【0075】

本発明の医薬組成物における活性成分の実際の用量レベルは、患者に対して毒性がなく、特定の患者に対する所望の治療反応を達成するために効果的である活性成分の量、組成物、および投与方法が得られるよう、変化してもよい。

選択された用量レベルは、用いられる本発明の特定の化合物、またはそのエステル、塩またはアミドの活性、投薬ルート、投与時間、用いられる特定の化合物の排せつ率、処置期間、用いられる特定の化合物と組み合わせて使われる他の薬剤、化合物および／または材料、処置する患者の年齢、性別、体重、状態、全身状態および過去の病歴、および医療分野で周知の同様の因子を含むさまざまな因子に依存するだろう。

【0076】

当然のことながら、本発明の化合物のいくつか（すなわち、表1に列挙された化合物）は直ちに入手可能であり、ヒトおよび／または動物でのある使用が認可されている一方、ヘッジホッグ経路活性を阻害するのに必要な化合物の量または用量は、化合物の認可された使用による結果を達成するために必要な化合物の量とは異なっても（例えば、多くても少なくとも）よい。

【0077】

当該技術分野における通常の技術を有する医師または獣医師は、必要とする医薬組成物の有効量を直ちに決定および処方することができる。例えば、医師または獣医師は、医薬組成物において用いられる本発明の化合物の用量を、所望の治療効果を達成するために必要な用量よりも低いレベルから始め、所望の効果が達成されるまで用量を徐々に増やすことができる。

一般的に、本発明の化合物の好適な日用量は、治療効果を生じさせるのに効果的な最も低い用量である化合物の量である。かかる有効用量は一般的に、上記の因子に依存する。一般的に、患者のための本発明の化合物の用量は、1日あたり体重1kgあたり約0.0001～約100mgの範囲である。ある態様において、用量は、約1mg/kgおよび約500mg/kgの間、より好ましくは約5mg/kgおよび約50mg/kgの間である。

【0078】

所望の場合、活性化合物の効果的な日用量は、1日を通して適切な間隔で別々に投与する2、3、4、5、6または7以上の部分用量(sub-dose)として、任意に、単位投薬形態で、投与してもよい。

この処置を受ける患者は、必要とするあらゆる動物であり、靈長類、特にヒト、およびウマ科の動物、ウシ、ブタおよびヒツジなどの他の哺乳動物；および家禽および一般的なペットを含む。必要とする動物は、好ましい態様において、Hhシグナリングの障害に罹患しているまたは罹患しやすい対象である。

【0079】

本発明の化合物を、そのまままたは薬学的に許容しうるおよび／または無菌の担体との混和して投与することができ、ペニシリン、セファロスボリン(cephalosporin)、アミノ

10

20

30

40

50

グリコシドおよびグリコペプチドなどの他の抗菌剤と併せて投与することができる。したがって、連結治療は、最初に投与したものの治療効果が、次を投与するときに完全に消えないような、活性化合物の連続、同時および別個の投与を含む。

投与のための用量の範囲は、少なくとも従来の抗真菌治療に必要な量が必要である。量は、必要に応じて、医師が調整する。

【0080】

治療方法

本発明の治療方法で使用される好ましい化合物は、シグナリングアッセイにおいて、かかる標準のアッセイにおいて試験化合物なしで測定したHhシグナリングに対して少なくとも約10%～15%のHhシグナリングの低下、より好ましくは対照に対して少なくとも約20%または25%のHhシグナリングの低下をもたらし（例えば、本明細書中の例を参照）、さらにより好ましくはかかる標準のアッセイにおける試験化合物なしのHhシグナリングに対して、少なくとも約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%または100%の低下を誘導する。

10

【0081】

本発明の方法は、対象へ投与する阻害化合物または有効量のイトラコナゾールを含む医薬組成物の使用を通じて対象においてヘッジホッグ経路活性を阻害することを含み、それによりヘッジホッグシグナリングをモジュレートする。例となる態様において、阻害化合物はイトラコナゾールである。本発明の方法は、正常な細胞、組織、および器官、ならびにptc機能喪失型、ヘッジホッグ機能獲得型、またはsmoothened機能獲得型の表現型を有するものを含む、広範にわたる細胞、組織および器官の悪性の成長の調節に使うことができる。例えば、対象の方法は、腫瘍形成、転移、神経組織、骨および軟骨の形成および修復の調節、精子形成の調節、平滑筋の調節、肺、肝臓および原腸から生じる他の器官の調節、造血機能の調節、皮膚および毛の成長の調節などにわたる治療および化粧用途である。さらに、対象の方法は、培養により提供された細胞（*in vitro*）で、または動物全体の細胞（*in vivo*）で行うことができる。

20

【0082】

この方法は、不適切なまたは異常ヘッジホッグ経路活性を伴うあらゆる障害の処置に使用することができる。好ましい態様において、該方法は、小細胞肺癌、および食道、胃、脾臓、胆道、前立腺、および膀胱の癌腫を含む内胚葉由来の器官の上皮に生じる癌の処置に使用することができる。この方法により処置するのが適切な他の兆候は、基底細胞癌、髄芽腫、横紋筋肉腫、卵巣癌および多発性骨髄腫を含む。他の態様において、本発明は、乾癬および多毛症などの他の状態の処置における適用を見出してもよい。

30

【0083】

対象の方法は、癌の処置において使用することができる。例えば、対象の化合物および組成物は、前立腺癌、または転移性前立腺癌を処置するのに使用することができる。本発明の方法の一例となる使用は、侵襲性の、Hh経路依存性前立腺癌である患者の集団におけるものである。本発明の化合物および方法は、手術を拒否するこれらの同定された高悪性度の患者において使用することができる。

【0084】

40

さらに別の態様において、対象の方法は、ヒトの癌、特に基底細胞癌および皮膚などの上皮組織の他の腫瘍の処置において使うことができる。例えば、対象の化合物を、対象の方法において、基底細胞母斑症候群（BCNS）、および他のヒトの癌腫、腺癌、肉腫などの処置の一部として用いることができる。

【0085】

該方法は、中枢神経系で生じ得るものなどの新生または過形成形質転換の処置において使用することができる。例えば、対象の化合物は、ptc突然変異が原因となる、かかる形質転換細胞を分裂終了またはアポトーシスのいずれかにするために利用することができる。したがって、本発明の方法を、例えば、悪性の膠腫、髄膜腫、髄芽腫、神経外胚葉腫瘍、および上衣腫の処置の一部として使用してもよい。

50

【0086】

好ましい態様において、対象の方法は、基底細胞癌を処置するための処置計画の一部として使用する。ヘッジホッグシグナル経路の調節解除は、p t c 突然変異が原因となる基底細胞癌の一般的な特徴であってもよい。ヒト p t c mRNAの一貫した過剰発現は、in situハイブリダイゼーションにより決定される家族性および孤発性BCCの腫瘍において表現されてきた。p t c を不活性化する突然変異が、突然変異体 P t c の過剰発現をもたらすと予想され得るが、これは、p t c が負の自己調節を表すからである。以前の研究は、ヘッジホッグタンパク質の過剰発現がまた、腫瘍形成をもたらし得ることを実証している。ソニックヘッジホッグ (S h h) がマウスにおける腫瘍形成の役割を有することは、皮膚において S h h を過剰発現するトランスジェニックマウスが皮膚発生からたった数日後に皮膚の表面全体にわたる多発性BCC様の表皮増殖を含むBNSの特徴を発現した研究によって示唆されている。BCCからのS h h ヒト遺伝子における突然変異もまた、記載されていた。そこでは、ヒトのS h h または他のH h 遺伝子が、ヒトにおいて優性の癌遺伝子として作用し得ることが示唆されていた。孤発性 p t c 突然変異は、その他の点では正常な個人からのBCCにおいても確認されていて、そのうちのいくつかは、UVシグナチャ型(signature)突然変異である。孤発性BCCの最近の研究において、C T またはC C T T の変化のいずれかである、5つのUVシグナチャ型突然変異が、突然変異を含有すると決定された15の腫瘍の中から見つかった。BCCおよび神経外胚葉腫瘍における孤発性 p t c 突然変異の別の最近の分析は、BCCにおいて見出される3つのp t c 突然変異の1つにおける1つのC T の変化を明らかにした。例えば、Goodrich et al. (1997) Science 277:1109-13; Xie et al. (1997) Cancer Res 57:2369-72; Oro et al. (1997) Science 276:817-21; Xie et al. (1997) Genes Chromosomes Cancer 18:305-9; Stone et al. (1996) Nature 384:129-34; およびJohnson et al. (1996) Science 272:1668-71 参照。

【0087】

対象の方法はまた、BNSである患者を処置するために、例えば、BCCまたはp t c 機能喪失型、ヘッジホッグ機能獲得型、またはsmoothened機能獲得型の結果であり得る疾患の他の効果を予防するために、使用することができる。基底細胞母斑症候群は、多発性BCCにより特徴付けられる、若年で現れるまれな常染色体優性障害である。BNS患者は、これらの腫瘍の発生に非常にかかりやすい；10歳代に、主に皮膚の日光に曝露された部分に、多数が現れる。この疾患はまた、肋骨、頭および顔の変化や、しばしば多指症、合指症、および二分脊椎を含む多くの発達異常を引き起こす。それらはまた、BCCに加えて多くの腫瘍の種類を発生する：卵巣および心臓の線維腫、皮膚および頸の囊胞、および中枢神経系において、髄芽腫および髄膜腫。対象の方法は、BNSおよび非BNS患者におけるかかる腫瘍の種類を予防または処置するために使用することができる。BNS患者の研究は、それらがp t c 遺伝子においてゲノムおよび孤発性突然変異の両方を有することを示し、これらの突然変異が、この疾患の最大の原因であることを示唆している。

【0088】

別の一面において、本発明は、巨核球由来の細胞の形成を制御するおよび/または巨核球由来の細胞の機能的性能を制御するための医薬製剤および方法を提供する。例えば、本明細書に開示されている組成物のいくつかは、血小板に影響を及ぼす多様な過形成または新生物状態の処置または予防に適用してもよい。

【0089】

本発明の別の一面は、対象の方法により上に説明したようにおよび状況が保証するのに応じて、細胞を化合物と接触させることにより、正常な細胞またはp t c 機能喪失型、ヘッジホッグ機能獲得型、またはsmoothened機能獲得型を有する細胞などの細胞の分化した状態、生存、および/または増殖をモジュレートする方法に関する。

【0090】

例えば、ヘッジホッグ、p t c 、およびsmoothenedが、脊椎動物において分化した組

織の秩序空間配置の形成に関与するようであるので、対象の方法は、*in vitro*および*in vivo*両方で一連の異なる、脊椎動物の組織を作るおよび／または維持する過程の一部として使用することができる。化合物は、ある組織の増殖または分化に関して誘導性または反誘導性にからわず、適切に、本明細書に記載の製剤のいずれでもあり得る。

【0091】

本発明はまた、細胞においてヘッジホッグシグナリング活性を阻害する方法を提供する。同方法は、細胞を有効量の表1の化合物のいずれか、またはその薬学的に許容しうる塩と接触させ（例えば、細胞へ投与し）、それにより細胞においてヘッジホッグシグナリング活性を阻害するステップを含む。

ある態様において、細胞は、新生細胞ではない。

10

【0092】

別の一面向において、本発明は、細胞においてヘッジホッグ経路活性を阻害する方法を提供する。同方法は、有効量の表1の化合物から選択される化合物、またはその薬学的に許容しうる塩を細胞に投与し（細胞を化合物と接触させ）、それにより細胞においてヘッジホッグ経路活性を阻害するステップを含む。

上記一面のある態様において、細胞は、哺乳動物細胞、より好ましくはヒト細胞である。

【0093】

例えば、対象の化合物を用いる本発明の方法は、細胞の増殖または分化を制御することが望ましい細胞培養技術に適用することができる。対象の化合物を、*p t c*機能喪失型、ヘッジホッグ機能獲得型、またはsmoothened機能獲得型表現型を有する細胞に対して行われる方法で用いてもよい。*In vitro*神経培養系は、神経発生の研究、ならびに神経成長因子（NGF）、毛様体栄養因子（CNTF）、および脳由来神経栄養因子（BDNF）などの神経栄養因子の同定に基本的で不可欠なツールであることを証明した。本発明の方法の一使用は、新しいニューロンおよびグリアの生成のためのかかる培養の使用において等、神経幹細胞の培養における使用であってもよい。対象の方法のかかる態様において、培養細胞を、培養内の神経幹細胞の増殖率を変化させるおよび／または分化率を変化させるために、またはある高分化した神経細胞の培養の完全性を維持するために、本発明の化合物と接触させることができる。例となる態様において、対象の方法は、例えば、感覚ニューロンまたは、代わりに、運動ニューロンを培養するために使用することができる。かかる神経培養を、従来のアッセイ系ならびに治療処置のための埋め込み式の細胞源として使用することができる。

20

【0094】

対象の化合物の使用方法は、細胞の増殖または分化を制御することが望ましい細胞培養技術に適用することができる。対象の化合物を、異常Hhシグナリングの原因となる*p t c*機能喪失型、ヘッジホッグ機能獲得型、またはsmoothened機能獲得型表現型を有する細胞に対して行われる方法で用いてもよい。*In vitro*神経培養系は、神経発生の研究、ならびに神経成長因子（NGF）、毛様体栄養因子（CNTF）、および脳由来神経栄養因子（BDNF）などの神経栄養因子の同定に基本的で不可欠なツールであることを証明した。GLOBAL：発明者は、標的遺伝子を示す「*p t c*機能喪失型、ヘッジホッグ機能獲得型、またはsmoothened機能獲得型表現型」なる言葉に満足しているわけではなく、経路活性化は、これらの上記のものすべてを意味する。

40

【0095】

本発明のまた別の一面では、*p t c*、ヘッジホッグ、および／またはsmoothenedが他の内胚葉パターン形成における明らかな役割を有する、上記の神経分化に加えて、他の脊椎動物の器官形成経路に関与する形態形成シグナル、ならびに中胚葉および内胚葉分化過程の両方に関与するという当該技術分野における見解も考慮する。したがって、本発明は、1つまたは2つ以上の対象の化合物を含む組成物を、組織の生成および維持を伴う細胞培養および治療方法の両方に利用することができるこことを意図する。

【0096】

50

Levine et al. (1997) J Neurosci 17:6277は、ヘッジホッグタンパク質が、脊椎動物の網膜における有糸分裂誘発および光受容体分化を調節することができ、Ihhが、網膜前駆増殖および光受容体分化を促進するための色素上皮からの候補因子であることを示している。同様に、Jensen et al. (1997) Development 124:363は、ソニックヘッジホッグのアミノ末端フラグメントを有する周産期のマウス網膜細胞の培養の処置が、プロモティオキシウリジン(bromodeoxuridine)を取り込む細胞の比率において、総細胞数において、および桿体光受容体、アマクリン細胞およびミューラーグリア細胞において、増加をもたらすことを実証し、これは、ニックヘッジホッグが網膜前駆体細胞の増殖を促進することを示唆している。したがって、対象の方法は、網膜細胞の増殖性疾患の処置において使用することができ、光受容体分化を調節することができる。

10

【0097】

本発明は、毛の成長を制御するために使用することができる。毛は、強靭な不溶性タンパク質であるケラチンから基本的に構成される。その根本的な強さは、シスチンのジスルフィド結合にある。それぞれの個々の毛は、円筒状の毛幹および毛根を含み、皮膚におけるフラスコ状のくぼみである濾胞内に含まれている。濾胞の底は、毛が成長する結合組織からなる毛乳頭と呼ばれる指状の突起を含み、そこを通して血管が細胞に栄養素を供給する。毛幹は、皮膚表面から外側に伸びている部分であり、一方、毛根は、毛の埋もれた部分と表現される。毛根の基は毛球へと拡がり、毛乳頭の上に載る。毛が作られる細胞は、濾胞の毛球に成長する。それらは、濾胞において細胞が増殖するにつれて纖維の形に押し出される。毛の「成長」とは、分裂細胞による毛髪纖維の形成および伸長を示す。

20

【0098】

当該技術分野で周知であるように、一般的な毛周期は、成長期、退行期および休止期の3段階に分けられる。活動期（成長期）中、皮膚の毛乳頭の表皮幹細胞は、急速に分裂する。娘細胞は上方へ移動し、毛自体の同心円層を形成するために分化する。移行段階である、退行期は、濾胞における幹細胞の有糸分裂の停止を特徴とする。休眠段階は、休止期として知られ、ここで毛を、その下で発生して現れる新しい毛が休止期の毛幹をその濾胞から除去する前に数週間頭皮内で保持する。このモデルから、有毛細胞にする分裂幹細胞のプールが大きいほど、毛の成長がより生じることが明らかになった。したがって、毛の成長を増加または低減させる方法を、これらの幹細胞の増殖をそれぞれ強化するまたは阻害することによって行うことができる。

30

【0099】

対象の方法は、切断、剃毛、または脱毛によるその従来の除去とは対照的にヒトの毛の成長を低減させる方法として用いることができる。例えば、本発明の方法は、異常に急速なまたは密集した毛の成長、例えば多毛症(hypertrichosis)により特徴付けられる、多毛症(trichosis)の処置において使用することができる。例となる態様において、対象の化合物は、異常な多毛を特徴とする障害である多毛症を管理するのに使用することができる。対象の方法はまた、脱毛の期間を延長するプロセスを提供する。

【0100】

さらに、対象の化合物はしばしば、上皮細胞に対して細胞毒性というよりもむしろ細胞増殖抑制であろうことから、かかる剤は、毛包細胞を、有効性、例えば放射線誘発死のために、細胞周期のS期への進行を必要とする細胞毒性剤から保護するために使用することができる。対象の方法による処置は、毛包細胞が静止することを引き起こすことによる、例えば、細胞がS期に入るのを阻害することによる、保護を提供することができ、それにより濾胞細胞が有糸分裂のカタストロフまたはプログラム細胞死を経験するのを予防する。例えば、対象の化合物は、通常抜け毛をもたらす化学療法または放射線治療を経験する患者に使用することができる。かかる治療中に細胞周期の進行を阻害することにより、対象の処置は、毛包細胞をさもなければ細胞死プログラムの活性化からもたらされ得る死から保護することができる。治療完了後、本発明の方法は、濾胞細胞増殖の阻害の軽減を伴って除去することができる。

40

【0101】

50

Hhシグナリング活性を阻害する対象の方法はまた、脱毛性毛包炎、網状瘢痕紅斑性毛包炎またはケロイド性毛包炎などの毛包炎の処置に使用することができる。例えば、対象の化合物の化粧製剤は、首の頸下腺領域に最も頻繁に生じる慢性障害であり、剃毛に関連する擬毛包炎の処置において局所的に適用することができ、その特徴的な病変部は、埋没毛を含有する紅斑性丘疹および膿疱である。

【0102】

本発明の別の一面において、Hhシグナリングを阻害する対象の方法は、上皮組織誘導体の増殖の分化および/または阻害を誘発するために使用することができる。これらの分子のかかる形態は、上皮組織に関する過形成および/または新生物状態の処置のための分化治療の基礎を提供することができる。例えば、かかる製剤は、皮膚の細胞の異常な増殖または成長がある皮膚疾患の処置に使用することができる。

10

【0103】

例えば、本発明の医薬製剤は、角化症などの過形成表皮状態の処置、ならびに例えば基底細胞癌または扁平上皮細胞癌などのさまざまな皮膚癌の高い増殖率により特徴付けられるものなどの新生表皮状態の処置を意図する。対象の方法はまた、皮膚に影響を及ぼす自己免疫疾患、特に、例えば、乾癬またはアトピー性皮膚疾患が原因となるものなどの、表皮の病的増殖および/または角化を伴う皮膚科疾患の処置に使用することができる。

【0104】

乾癬、扁平上皮細胞癌、角化棘細胞腫および光線性角化症などの皮膚の多くの一般的な疾患は、局所的な異常な増殖および成長により特徴付けられる。例えば、皮膚上のうろこ状の、赤色の、隆起斑により特徴付けられる乾癬において、ケラチノサイトは、通常よりもはるかに急速に増殖し、より不完全に分化することが知られている。

20

【0105】

一態様において、本発明の製剤は、皮膚細胞の異常な増殖の原因となる角化障害と関連がある皮膚科の病気の処置に好適であり、同障害は、炎症または非炎症のいずれかの構成成分を特徴としてもよい。例えば、対象の化合物の治療製剤、例えば、静止または分化を促進するものは、さまざまな形態の乾癬を処置するために使用することができ、それらは、皮膚の、粘膜のまたは爪の乾癬である。乾癬は、上記のように、典型的には「再生」経路に沿って際立った増殖性活性化および分化を示す表皮ケラチノサイトにより特徴付けられる。対象の方法の抗増殖性態様を有する処置は、病理学的表皮活性化を食い止めるために使用することができ、疾患の持続的寛解の根拠を提供することができる。

30

【0106】

さまざまな他の角化性病変部は、対象の方法による処置の候補である。光線性角化症は、例えば、日光露光および照射皮膚に生じる表面の炎症状の前癌腫瘍である。病変部は、紅斑性から茶色であり、可変の落屑を伴う。現在の治療は、切除および凍結手術を含む。これらの処置は痛みを伴い、しかしながら、しばしば外見上許容できない傷を生じる。したがって、光線性角化症などの角化症の処置は、病変部の表皮/類表皮細胞の過剰増殖を阻害するのに十分な量の対象の化合物の組成物の、好ましくは局所的な適用を含み得る。

【0107】

座瘡は、対象の方法により処置してもよいまた別の皮膚科の病気を表す。尋常性座瘡は、例えば、ティーンエイジャーおよび若年成人に最も一般的に生じる多因子疾患であり、顔および上幹の炎症および非炎症病変部の外観により特徴付けられる。尋常性座瘡を引き起こす基本的欠陥は、活動が亢進した皮脂腺の管の過剰な角質化である。過剰な角質化は、皮膚および濾胞微生物の正常な移動を阻止し、そうすることで、*Propionibacterium acnes*および*Staphylococcus epidermidis*バクテリアおよび酵母である*Pityrosporum ovale*によるリバーゼの遊離を刺激する。抗増殖性のある対象の化合物、特に局所製剤による処置は、管の移行の特徴、例えば病変部の形成へと至らしめる過剰な角質化を予防するのに有用であり得る。対象の処置は、例えば、抗菌剤、レチノイドおよび抗アンドロゲン剤をさらに含んでもよい。

40

【0108】

50

本発明はまた、さまざまな形態の皮膚炎を処置する方法を提供する。皮膚炎は、搔痒性、紅斑状、うろこ状、水腫れ状、滲出状、亀裂状のまたは痂皮形成のいずれかである、境界の不明瞭な病変部を示す、記述用語である。これらの病変部は、広範の原因のいずれかから生じる。最も一般的な種類の皮膚炎は、アトピー性、接触性およびおむつ皮膚炎である。例えば、脂漏性皮膚炎は、さまざまな領域、特に過度な量の乾燥した鱗屑の剥離を伴う頭皮上の、紅斑、乾燥した、湿った、または脂っぽい落屑、および黄色痂皮を形成する斑点を伴う慢性の、通常は搔痒性の、皮膚炎である。対象の方法はまた、うっ滯性皮膚炎、そしてしばしば慢性の、通常は湿疹様の皮膚炎の処置に使用することができる。光線性皮膚炎は、日光、紫外線またはX線またはガンマ線などのからの光線性放射線への曝露による皮膚炎である。本発明によると、対象の方法は、上皮細胞の不要な増殖が原因となる皮膚炎のある症状の処置および/または予防において使用することができる。これらのさまざまな形態の皮膚炎に対するかかる治療はまた、局所および全身用のコルチコステロイド、鎮痒薬、および抗菌剤を含むことができる。

対象の方法により処置してもよい病気は、疥癬などの非ヒトに特異的な障害である。

【0109】

Ptc、ヘッジホッグ、およびsmoothedは、明らかに消化管、肝臓、肺、および原腸由来の他の器官の形成に関与する幹細胞の発生の制御に関与する。Shhは、内胚葉から中胚葉への誘導性シグナルとして働くが、これは腸の形態形成にとって重大である。したがって、例えば、本発明の方法の化合物は、正常な肝臓の多発性代謝機能を有することができる人工の肝臓の発生の調節および維持に用いることができる。例となる態様において、対象の方法は、細胞外基質を生息させるために使用することができる肝細胞培養物を形成するために消化管幹細胞の増殖および分化を調節するために使用することができ、または、埋め込み式のおよび体外の人工肝臓の両方を形成するために生体適合性ポリマーに封入することができる。

【0110】

モニタリング方法

本方法のある態様において、前立腺特異抗原（PSA）レベルをモニタリングする。PSAスクリーニングは、前立腺癌の数人は正常なPSAレベルを有し得るが、現在前立腺癌にとってたった一つの最良の試験である。PSAは、既存の前立腺癌の患者のフォローアップに優れたマーカーである。

PSAは、分子量34,000Daの一本鎖の糖タンパク質である。それは、前立腺導管上皮で産生され、前立腺管内に分泌され、そして精漿で濃縮される。血清中で、PSAは、前立腺間質を通して拡散することにより、循環に至る。

【0111】

血清PSAレベルは年齢と共に上昇する。参考範囲レベルのPSAの従来の上限は、4ng/mLであるが、Oesterlingらにより考案された年齢特異的PSA参考範囲レベルを使用することができる。年齢に関連したPSA参考範囲レベルは、以下のとおりである。

患者、年齢40～49歳、0～2.5ng/mL

患者、年齢50～59歳、0～3.5ng/mL

患者、年齢60～69歳、0～4.5ng/mL

患者、年齢70～79歳、0～6.5ng/mL

【0112】

PSAは、異常および正常な前立腺組織の両方により産生される。PSAレベルの穏やかな上昇（4～10ng/mL）は、前立腺癌への特異性が低い。前立腺癌の数人は、PSAレベルが参考範囲内にあった。上昇したPSAレベルは、前立腺癌への特異性が無く、上昇した血清PSAレベルは、前立腺炎、前立腺梗塞、PIN、前立腺生検、経尿道的前立腺切除、および導尿に関連し得る。

【0113】

キットまたは医薬系

本発明の化合物および組成物は、ヘッジホッグ経路活性の阻害を必要とする状態の処置

10

20

30

40

50

に使用するために、キットまたは医薬系に組み立ててもよい。本発明のこの一面によるキットまたは医薬系は、本発明のヘッジホッグアンタゴニスト化合物（例えば、イトラコナゾールなどの表1の化合物）を、好ましくは単位投薬形態で含む。化合物は、本明細書に記載したように、薬学的に許容しうる溶剤、担体、賦形剤などと一緒に存在してもよい。

【0114】

本発明のキットまたは医薬系は、異常なまたは異常ヘッジホッグ経路活性関連状態の処置のために本発明の化合物を使用する際の関連説明書を含んでもよい。説明書は一般的に、血管形成に関連する疾患または障害またはその症状の処置のための化合物の使用についての情報を含み、好ましい態様において、説明書は、血管形成阻害化合物の説明；異常なまたは異常ヘッジホッグ経路活性に関連する疾患または障害またはその症状の処置のための投薬計画および投与；注意；警告；兆候；逆の兆候；過量の情報；拒絶反応；動物薬理学；臨床研究；および／または参考文献の少なくとも1つを含む。説明書は、容器（存在する場合）に直接、または容器に付するラベルとして、または容器内にまたは容器と共に提供する別個の紙、パンフレット、カード、または折り畳み印刷物として印刷してもよい。

10

【0115】

キットはまた、化合物を含有させるために、バイアル、管、アンプル、ボトルなどの1つまたは2つ以上の容器の手段を含んでも（そして任意に、箱、カートン、管などの担体手段内に入れても）よい。かかる容器は、プラスチック製、ガラス製、ラミネート紙製、金属箔製、または医薬を保持するのに好適な他の材料製であり得る。

20

【0116】

例

例1：前立腺癌モデルにおけるイトラコナゾール処置

癌成長における連続Hh経路活性の重大な役割の証拠は、肺、脾臓、胆道、前立腺、皮膚、および脳などの組織に生じている悪性腫瘍の動物モデルにおける癌成長を阻害するための[2, 3, 9, 15, 17]ヘッジホッグ(Hh)シグナル経路の強力なアンタゴニストであるシクロパミンの能力[4, 7, 13]から来る。

【0117】

薬剤のライプラリを、ヘッジホッグシグナリングを拮抗する剤についてヒトにおいて以前試験した。このライプラリは現在、人体試験において少なくとも第2相試験まで行った約2400の化合物を含有し、多くのFDA承認薬を含み、学術研究者が利用可能であるあらゆる他の既知のライプラリより数倍大きい（例えば、本明細書中に参照として組み込まれるPCT公開公報第WO2006/004795号参照）。過去の作業で、40,000の合成小分子のライプラリがまとめられ、検査され、Hh経路阻害におけるマイクロモル以下の効能を有する約15系統の化合物が同定された[5]。Hh経路アンタゴニストの検査に使われるアッセイを、本質的に参考文献5に記載されているように行った。簡潔には、各候補化合物を、高スループット形式で培養細胞ベースのソニックヘッジホッグ(Shh)シグナリングアッセイに10μM添加した。このアッセイは、ShhNシグナリングに反応性の安定に取り込まれたホタルルシフェラーゼレポーターを有する細胞を利用した。これらの細胞はまた、Shhへの反応の正常化のために、また、細胞の健康をモニタリングするためには使用することができる、安定に取り込まれた、構造的に発現したウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子を含有する。ウミシイタケルシフェラーゼのレベルは若干異なり、ライプラリの数種の薬剤は細胞毒性があるが、ほとんどの薬剤は、細胞の健康に有意な影響を及ぼさない。最初の10μMヒットが確認されたら、候補薬剤の追加の滴定を行い、経路阻害におけるそれらのIC₅₀値を決定した。以下の表1は、これらのヒットおよびそれらのIC₅₀値を示す。

30

【0118】

40

【表1】

番号	薬剤名	I C ₅₀	FDA 承認?
1	サリノマイシン、ナトリウム <i>Streptomyces albus</i> から J Antibiotics 27: 814 (1954)	< 0. 1 μM	
2	オリゴマイシン (A shown) 薬効分類: 抗菌、抗真菌	< 0. 1 μM	
3	コルヒチン	< 0. 1 μM	Y
4	ポドフィルム樹脂	< 0. 1 μM	Y
5	アニソマイシン	< 0. 1 μM	Y
6	クロトン油	< 0. 1 μM	Y
7	吐根シロップ	< 0. 1 μM	Y
8	ビンデシン	< 0. 1 μM	INN、BAN
9	硫酸ビンクリスチン	< 0. 1 μM	Y
10	10		
10	デメコルチジン	< 0. 1 μM	INN; BAN; DCF; MI.
11	酒石酸ビノレルビン	< 0. 1 μM	Y
12	コハク酸ロキサピン 薬効分類: 抗精神病	0. 1 μM~0. 3 μM	
13	シプロヘプタジン	0. 1 μM~0. 3 μM	Y
14	イトラコナゾール	0. 3 μM	Y
15	コルヒセイン 有糸分裂阻害 <i>Colchicum autumnale</i> から Col Czech Chem Commun 19: 805 (1954)	0. 3 μM~1 μM	
16	マレイン酸ビメチキサン 薬効分類: H1-抗ヒスタミン	0. 3 μM~1 μM	
17	ジアジコン	0. 3 μM~1 μM	INN
18	スルフィソミジン	0. 3 μM~1 μM	Y
19	シクロヘキシミド	0. 3 μM~1 μM	INN
20	シクロパミン	0. 3 μM~1 μM	N
21	肝油	0. 3 μM~1 μM、 0. 3 μMに近い	Y
22	メトキシボン 薬効分類: 同化	0. 3 μM~1 μM、 1 μMに近い	
23	塩酸プロメタジン 薬効分類: 抗ヒスタミン	0. 3 μM~1 μM、 1 μMに近い	
24	スルファキノキサリンナトリウム 薬効分類: 抗菌	0. 3 μM~1 μM、 1 μMに近い	
25	硫酸ビンプラスチン AND1545	0. 3 μM~1 μM、 1 μMに近い	Y
26	ヒドロキシジン	0. 3 μM~1 μM、 1 μMに近い	Y
27	オイカリブトール (シネオール)	0. 3 μM~1 μM、 1 μMに近い	Y
28	ロテノン 薬効分類: ダニ駆除、外部寄生虫撲滅 NADH2 の NAD への酸化を阻害	1 μM~3 μM	
40	40		

【表2】

29	塩酸フェノキシベンザミン 薬効分類: α アドレナリン遮断	1 μ M~3 μ M	
30	5-アザシチジン 薬効分類: 抗悪性腫瘍 ピリミジン代謝拮抗: 核酸複製を阻害	1 μ M~3 μ M	
31	W-7 塩酸 薬効分類: カルモジュリンアンタゴニスト	1 μ M~3 μ M	
32	ジヒドロアルテミシン 薬効分類: 抗マラリア、抗炎症 Med Res Rev 7: 29 (1987)	1 μ M~3 μ M	
33	クロミプラミン	1 μ M~3 μ M	Y
34	塩酸ラロキシフェン	1 μ M~3 μ M	Y
35	ドキサゾシンメシル酸塩	1 μ M~3 μ M	Y
36	クロロキンニリン酸塩	1 μ M~3 μ M	Y
37	イミプラミン	1 μ M~3 μ M	Y
38	チオリダジン	1 μ M~3 μ M	Y
39	クロチアピン	1 μ M~3 μ M	INN、BAN、JAN
40	ゾランチジン	1 μ M~3 μ M	N
41	酢酸クラシン 抗ウイルス薬、多くのゴルゴニド (gorgonids) からなる: imp 123-125 Rec Trav Chem 88: 1413	1 μ M~3 μ M、 1 μ Mに近い	
42	エストリオールベンジルエーテル 薬効分類: エストロゲン	1 μ M~3 μ M、 1 μ Mに近い	
43		1 μ M~3 μ M、 1 μ Mに近い	
44	塩化マンガン	1 μ M~3 μ M、 1 μ Mに近い	Y
45	フルフェナジンN-マスター (SKF-7171A)	1 μ M~3 μ M、 1 μ Mに近い	類似体
46	アーモンドオイル	1 μ M~3 μ M、 1 μ Mに近い	Y
47	塩酸プロマジン 薬効分類: 抗精神病	1 μ M~3 μ M、 3 μ Mに近い	
48	酢酸エストラジオール 薬効分類: エストロゲン	1 μ M~3 μ M、 3 μ Mに近い	
49	トリミプラミン マレイン 酸薬効分類: 抗うつ	1 μ M~3 μ M、 3 μ Mに近い	
50	β -エストラジオール3-ベンゾエート	1 μ M~3 μ M、 3 μ Mに近い	Y
51	酢酸銅(II)	1 μ M~3 μ M、 3 μ Mに近い	
52	アミトリプチリン	1 μ M~3 μ M、 3 μ Mに近い	Y
53	クロルキナルドール (5,7-ジクロロ-2-メチル-8-キノリノール)	3 μ M	Y

10

20

30

40

図1Aに示すように、2回のイトラコナゾール処置(25および37.5mg/kg)は、1ヶ月の実験期間を通してAT6.3 Dunningモデルにおいて生存期間の延長においてシクロパミンと同じくらい効果的であったのに対し、対照の処置を施したマウスは、およそ2週間以内に死亡した。37.5mg/kgでのイトラコナゾール処置も同様に、22RV1異種移植片の完全なおおよび恒久的な退行をもたらし、シクロパミンと同じくらい効果的であったのに対し、より低用量(25mg/kg)では、対照の処置と比較して腫瘍の成長を減速させたのみであった(図1B)。したがって、イトラコナゾールおよびヘッジホッグ、ptc、smoothened、または他の経路の構成成分のヘッジホッグシグナル伝達活性を妨害する他の医薬剤も同様に、正常な細胞および/またはpatched機能喪失型表現型、ヘッジホッグ機能獲得型表現型、またはsmoothened機能獲得型表現型を有する細胞において増殖(または他の生理学的結果)を阻害する能力の可能性がある。 10

【0121】

他の態様

前述の記載から、本明細書中に記載の発明をさまざまな使用および状態に採用するためには、変形または変更形を作ってもよいことは、明らかである。かかる態様もまた、特許請求の範囲の記載内である。

本明細書の可変のあらゆる定義における要素のリストの詳述は、いずれか単独の要素または列挙した要素の併用(または小結合)としてのその可変の定義を含む。本明細書の態様の詳述は、いずれか単独の態様またはあらゆるほかの態様またはその部分と組み合わせたものとしてのその態様を含む。 20

本明細書において記載されたすべての特許および公報は、互いに独立した特許および公報が具体的に個別に示され、参照により取り込まれるかのようなものと同程度に本明細書中に参照として組み込まれる。

【0122】

【表3】

参考文献

1. Beachy, P. A., Karhadkar, S. S. & Berman, D. M. (2004). Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis. *Nature* **432**, 324-31.
2. Berman, D. M., Karhadkar, S. S., Hallahan, A. R., Pritchard, J. I., Eberhart, C. G., Watkins, D. N., Chen, J. K., Cooper, M. K., Taipale, J., Olson, J. M. & Beachy, P. A. (2002). Medulloblastoma growth inhibition by hedgehog pathway blockade. *Science* **297**, 1559-61.
3. Berman, D. M., Karhadkar, S. S., Maitra, A., Montes De Oca, R., Gerstenblith, M. R., Briggs, K., Parker, A. R., Shimada, Y., Eshleman, J. R., Watkins, D. N. & Beachy, P. A. (2003). Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. *Nature* **425**, 846-51.
4. Chen, J. K., Taipale, J., Cooper, M. K. & Beachy, P. A. (2002). Inhibition of Hedgehog signaling by direct binding of cyclopamine to Smoothened. *Genes Dev* **16**, 2743-8.
5. Chen, J. K., Taipale, J., Young, K. E., Maiti, T. & Beachy, P. A. (2002). Small molecule modulation of Smoothened activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 14071-6.
6. Cherny, R. A., Atwood, C. S., Xilinas, M. E., Gray, D. N., Jones, W. D., McLean, C. A., Barnham, K. J., Volitakis, I., Fraser, F. W., Kim, Y., Huang, X., Goldstein, L. E., Moir, R. D., Lim, J. T. et al. (2001). Treatment with a copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits beta-amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice. *Neuron* **30**, 665-76.
7. Cooper, M. K., Porter, J. A., Young, K. E. & Beachy, P. A. (1998). Plant-derived and synthetic teratogens inhibit the ability of target tissues to respond to Sonic hedgehog signaling. *Science* **280**, 1603-1607.
8. Fan, L., Pepicelli, C. V., Dibble, C. C., Catbagan, W., Zarycki, J. L., Laciak, R., Gipp, J., Shaw, A., Lamm, M. L., Munoz, A., Lipinski, R., Thrasher, J. B. & Bushman, W. (2004). Hedgehog signaling promotes prostate xenograft tumor growth. *Endocrinology* **145**, 3961-70.

【表4】

9. Karhadkar, S. S., Bova, G. S., Abdallah, N., Dhara, S., Gardner, D., Maitra, A., Isaacs, J. T., Berman, D. M. & Beachy, P. A. (2004). Hedgehog signaling in prostate regeneration, neoplasia and metastasis. *Nature* **431**, 707-12. 10
10. Romer, J. T., Kimura, H., Magdaleno, S., Sasai, K., Fuller, C., Baines, H., Connelly, M., Stewart, C. F., Gould, S., Rubin, L. L. & Curran, T. (2004). Suppression of the Shh pathway using a small molecule inhibitor eliminates medulloblastoma in *Ptcl*^{+/−}*p53*^{−/−} mice. *Cancer Cell* **6**, 229-240. 20
11. Sanchez, P., Hernandez, A. M., Stecca, B., Kahler, A. J., DeGueme, A. M., Barrett, A., Beyna, M., Datta, M. W., Datta, S. & Ruiz i Altaba, A. (2004). Inhibition of prostate cancer proliferation by interference with SONIC HEDGEHOG-GLI1 signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**, 12561-6. 20
12. Sheng, T., Li, C., Zhang, X., Chi, S., He, N., Chen, K., McCormick, F., Gatalica, Z. & Xie, J. (2004). Activation of the hedgehog pathway in advanced prostate cancer. *Mol Cancer* **3**, 29.
13. Taipale, J., Chen, J. K., Cooper, M. K., Wang, B., Mann, R. K., Milenkovic, L., Scott, M. P. & Beachy, P. A. (2000). Effects of oncogenic mutations in Smoothened and Patched can be reversed by cyclospamine. *Nature* **406**, 1005-9. 30
14. Taipale, J. & Beachy, P. A. (2001). The Hedgehog and Wnt signaling pathways in cancer. *Nature* **411**, 349-54.
15. Thayer, S. P., Di Magliano, M. P., Heiser, P. W., Nielsen, C. M., Roberts, D. J., Lauwers, G. Y., Qi, Y. P., Gysin, S., Fernandez-Del Castillo, C., Yajnik, V., Antoniu, B., McMahon, M., Warshaw, A. L. & Hebrok, M. (2003). Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis. *Nature* **425**, 851-6. 40

【表5】

16. Tiffert, T., Ginsburg, H., Krugliak, M., Elford, B. C. & Lew, V. L. (2000). Potent antimalarial activity of clotrimazole in in vitro cultures of *Plasmodium falciparum*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**, 331-6.

17. Watkins, D. N., Berman, D. M., Burkholder, S. G., Wang, B., Beachy, P. A. & Baylin, S. B. (2003). Hedgehog signaling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer. *Nature* **422**, 313-7. 10

18. Williams, J. A., Guicherit, O. M., Zaharian, B. I., Xu, Y., Chai, L., Wichterle, H., Kon, C., Gatchalian, C., Porter, J. A., Rubin, L. L. & Wang, F. Y. (2003).

Identification of a small molecule inhibitor of the hedgehog signaling pathway: Effects on basal cell carcinoma-like lesions. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 4616-21. 20

19. Zhu, S., Stavrovskaya, I. G., Drozda, M., Kim, B. Y., Ona, V., Li, M., Sarang, S., Liu, A. S., Hartley, D. M., Wu du, C., Gullans, S., Ferrante, R. J., Przedborski, S., Kristal, B. S. et al. (2002). Minocycline inhibits cytochrome c release and delays progression of amyotrophic lateral sclerosis in mice. *Nature* **417**, 74-8.

20. Dahmane et al.(1997) *Nature* **389**(6653):876-881.

21. Mann RK and Beachy PA. (2004) *Ann Rev Biochem* (73): 891-923. 30

22. Cooper MK, Wassif CA, Krakowiak PA, Taipale J, Gong R, Kelley RI, Porter FD, Beachy PA. (2003) *Nature Genetics*. **33**: 508-513.

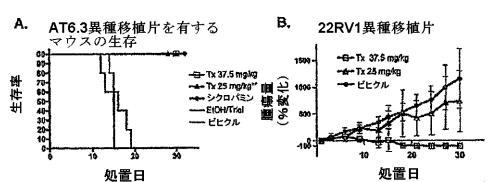
【図面の簡単な説明】

【0 1 2 5】

【図1】前立腺癌モデルにおけるイトラコナゾール処置を示す2つのグラフである。 40

【図1】

図1



フロントページの続き

審査官 中尾 忍

(56)参考文献 特開平07-082162(JP, A)

特開平07-082163(JP, A)

特表平11-509238(JP, A)

特表2004-529067(JP, A)

特表2002-511415(JP, A)

Kubo, M. et al., Hedgehog signaling pathway is a new therapeutic target for patients with breast cancer, Cancer Res., 2004年 9月 1日, Vol.64, No.17, P.6071-6074

有吉範高 外1名, 特集 抗がん剤の適正使用へのポイント “抗がん剤の薬物間相互作用”, , 薬局, 日本, 2004年 3月 5日, Vol.55, No.3, P.1468-1480

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 61 K 31 / 496

A 61 K 45 / 00

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I)