

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成 18 年 1 月 5 日 (2006.1.5)

【公表番号】特表 2005-515967 (P2005-515967A)

【公表日】平成 17 年 6 月 2 日 (2005.6.2)

【年通号数】公開・登録公報 2005-021

【出願番号】特願 2003-511865 (P2003-511865)

【国際特許分類】

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 P 35/00

【誤訳訂正書】

【提出日】平成 17 年 7 月 12 日 (2005.7.12)

【誤訳訂正 1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

哺乳動物の腫瘍細胞、好ましくはヒト腫瘍細胞で発現された V E G F - 1 レセプター (V E G F R - 1) のアンタゴニスト。

【請求項 2】

下記：

・小分子、

・ V E G F R - 1、好ましくは細胞外 V E G F R - 1 ドメインに結合する、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体および完全ヒト抗体、好ましくは中和抗体、

・好ましくは F a b フラグメントまたは F (a b ') 2 フラグメントの一方または両方を含む、抗体の機能的断片および機能的等価物、

・抗腫瘍剤または検出可能なシグナル生成剤に化学的に又は生合成により結合された抗体、

・標的またはレポーター部分が結合された抗体、

・好ましくは V E G F R - 1 活性化を阻止する、タンパク質、ペプチド、核酸分子 (アンチセンスオリゴヌクレオチドを含む) のような生物学的アンタゴニスト、

・免疫系に対して抗体を自己のように認識させるように、表面で曝された残基を置換することによって免疫原性を少なくした抗体、

から成る群より選択される、請求項 1 に記載の V E G F R - 1 のアンタゴニスト。

【請求項 3】

V E G F R - 1 の活性を阻止する低分子である、請求項 1 または 2 に記載の V E G F R - 1 のアンタゴニスト。

【請求項 4】

受託番号 A T C C P T A - 3 3 4 4 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ細胞

系により産生されたヒトモノクローナル抗体 M a b 6 . 1 2 である、請求項 1 または 2 に記載の V E G F R - 1 のアンタゴニスト。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の V E G F R - 1 のアンタゴニストと、内皮細胞で発現された V E G F レセプター (V E G F R) または腫瘍血管系、好ましくはヒト内皮細胞で発現された他の増殖因子レセプターに対する第 2 アンタゴニストとの組合せ。

【請求項 6】

前記第 2 アンタゴニストが、V E G F R - 2、V E G F R - 3、ニューロピリンおよび F L K - 1 のようなそれらの非ヒト相同体より選択される V E G F R に対するものである、請求項 5 に記載の組合せ。

【請求項 7】

前記第 2 アンタゴニストが、下記：

- ・小分子、
 - ・V E G F R - 2、V E G F R - 3、ニューロピリンまたはそれらの非ヒト相同体、好ましくはそれらの細胞外ドメインに結合する、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体および完全ヒト抗体、好ましくは中和抗体、
 - ・好ましくは F a b フラグメントまたは F (a b ') 2 フラグメントの一方または両方を含む、抗体の機能的断片および機能的等価物、
 - ・抗腫瘍剤または検出可能なシグナル生成剤に化学的に又は生合成により結合された抗体、
 - ・標的またはレポーター部分が結合された抗体、
 - ・好ましくは V E G F R - 2、V E G F R - 3、ニューロピリンまたはそれらの非ヒト相同体の活性化を阻止する、タンパク質、ペプチド、核酸分子 (アンチセンスオリゴヌクレオチドを含む) のような生物学的アンタゴニスト、
- から成る群より選択される、請求項 5 または 6 に記載の組合せ。

【請求項 8】

前記第 2 アンタゴニストが、V E G F R - 2、V E G F R - 3、ニューロピリンまたはそれらの非ヒト相同体の活性を阻止する小分子である、請求項 5 ~ 7 のいずれか一項に記載の組合せ。

【請求項 9】

前記第 2 アンタゴニストが血管新生を阻害する、請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の組合せ。

【請求項 10】

前記第 2 アンタゴニストが V E G F R - 2 に対するものである、請求項 5 ~ 9 のいずれか一項に記載の組合せ。

【請求項 11】

前記第 2 アンタゴニストが D C 1 0 1、好ましくは受託番号 A T C C H B 1 1 5 3 4 として A T C C に寄託されたハイブリドーマ細胞系により産生された D C 1 0 1 である、請求項 5 ~ 7 , 9 および 10 のいずれか一項に記載の組合せ。

【請求項 12】

前記 V E G F R - 1 のアンタゴニストが抗体 M F - 1 である、請求項 5 ~ 7 および 9 のいずれか一項に記載の組合せ。

【請求項 13】

- ・請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のアンタゴニストと、
 - ・請求項 5 ~ 12 のいずれか一項に記載の組合せと、
- 抗腫瘍剤または放射性同位体との組合せ。

【請求項 14】

前記抗腫瘍剤が、アントラサイクリン、メトトレキサート、ビンデシン、ネオカルチノスタチン、シス - プラチン、クロラムブシル、シトシンアラビノシド、イリノテカン、5 - フルオロウリジン、メルファラン、リシン、カリケアマイシン、タクソール、ゲムシチ

ビン、フルオロウラシル、パクリタキセル、ドセタキセル、ロイコボリンおよびノベルピンからなる群より選択される化学療法剤である、請求項 13 に記載の組合せ。

【請求項 15】

有効成分として請求項 1～4 のいずれか一項に記載のアンタゴニストまたは請求項 5～14 のいずれか一項に記載のアンタゴニストの組合せと、医薬として許容される担体とを含んで成る医薬組成物。

【請求項 16】

経口、静脈内、腹膜内、脳脊髄内、皮下、くも膜下、筋肉内、吸入または局所投与のために製剤化された、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

注射可能または不溶解性の液剤の形態で存在する、請求項 15 または 16 に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

哺乳動物、特にヒトの乳癌、卵巣癌、脳腫瘍、腎臓癌、膀胱癌、腺癌、悪性グリオーマおよび白血病の治療用の医薬品の製造のための、請求項 1～4 のいずれか一項に記載のアンタゴニストまたは請求項 5～14 のいずれか一項に記載の組合せの使用。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0037

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0037】

ヒトを含む哺乳動物に対する投与方法としては、限定されることなく、経口、静脈、腹膜内、脳脊髄内、皮下、くも膜下、筋肉内、吸入、または局所投与が挙げられる。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0046

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0046】

RNA 抽出、cDNA 合成および RT-PCR

製造業者の指示に従い、トリゾール (Gibco BRL, Rockville, MD, USA) を用いて、全 RNA を分離した。次に、製造業者のプロトコル (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, New Jersey, USA) に従い、スーパースクリプト II 逆転写酵素を用いて、第 1 鎖 (first-strand) cDNA を合成した。アドバンテージ 2 ポリメラーゼ・ミックス (Advantage 2 polymerase mix) (Clontech Laboratories Inc., Palo Alto, California, USA) を用いて、PCR を行った。増幅条件は次の通りである：94 で 5 分間、94 で 1 分間、63 で 45 秒間、72 で 2 分間および 72 で 7 分間を 35 サイクル。PCR に用いたプライマーは次の通りである：VEGFR-1 (順方向：A T T T G T G A T T T T G G C C T T G C 配列番号：1；逆方向：C A G G C T C A T G A A C T T G A A A G C 配列番号：2)；ヒト VEGFR-2 (順方向：G T G A C C A A C A T G G A G T C G T G 配列番号：3；逆方向：C C A G A G A T T C C A T G C C A C T T 配列番号：4)；VEGF (順方向：C G A A G T G G T G A A G T T C A T G G A T G 配列番号：5；逆方向：T T C T G T A T C A G T C T T T C C T G G T G A G 配列番号：6)；PLGF (順方向：C G C T G G A G A G G C T G G T G G 配列番号：7；逆方向：G A A C G G A T C T T T A G G A G C T G 配列番号：8) および - アクチン (順方向：T C A T G T T T G A G A C C T T C A A 配列番号：9；逆方向：G T C T T T G C G G A T G T C C A C G 配列番号：10)。

【誤訳訂正 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】 0 0 5 0

【訂正方法】 変更

【訂正の内容】

【 0 0 5 0 】

VEGFR - 1 リン酸化アッセイ

レセプターリン酸化アッセイのために、DU4475細胞を12穴プレート内に播種して(5×10^5 細胞/穴) RPMI 無血清培地中で18時間保った。培地を取り換えた後に、その細胞を、37℃で、VEGF (50 ng/ml)、PLGF (100 ng/ml)により10分間処理するか、又はヒトVEGFR - 1およびヒトVEGFR - 2に対するmAb (それぞれクローン6.12およびIMC - 1C11)で1時間、そしてPLGFで10分間、同時インキュベートした。刺激の後に、冷RIPA緩衝液(50 mM Tris、5 mM EDTA、1% Triton X - 114、0.4% カコジル酸ナトリウムおよび150 mM NaCl)中で、プロテアーゼインヒビター(1 mg/ml アプロチニン、10 mg/ml ロイペプチン、1 mM グリセロリン酸、1 mM オルトバナジン酸ナトリウムおよび1 mM PMSF)の存在下、4℃で30分間、細胞を溶解させることによって全タンパク質抽出物を得た。タンパク質抽出物からの上清を、抗ホスホチロシン抗体(PY20)およびプロテインGアガロースビーズ(Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA)の存在下、4℃で終夜、免疫沈降して、リン酸化されたタンパク質を沈殿させた。この免疫沈降物を添加液に再懸濁させ、そして還元性条件下(-メルカプトエタノールの存在下)、7.5% ポリアクリルアミドゲルを用いたSDS - PAGEによって分画した。次に、タンパク質をニトロセルロース膜上にエレクトロブロットした。ブロットを1% BSA/PBS - 1% TWEEN - 20中で室温において1時間ブロックし、次に第1抗体および第2抗体とともにインキュベートした。マウスモノクローナル抗体である抗VEGFR - 1(R&D Systems Inc., Minneapolis, Minnesota, USA)を1 µg/mlの濃度で使用し、第2の抗マウスIgG - HRP(Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, California, USA)を1:6000で使用した。ECL化学ルミネッセンス検出システムおよびECLフィルム(Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, New Jersey, USA)を用いて、該ニトロセルロースブロット上のタンパク質の検出を行った。