

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-531728
(P2007-531728A)

(43) 公表日 平成19年11月8日(2007.11.8)

(51) Int.C1.	F 1	テーマコード (参考)
A61K 31/525 (2006.01)	A 61 K 31/525	4 C08 4
A61K 31/513 (2006.01)	A 61 K 31/513	4 C08 5
A61K 45/00 (2006.01)	A 61 K 45/00	4 C08 6
A61K 31/7088 (2006.01)	A 61 K 31/7088	4 C20 6
A61K 39/395 (2006.01)	A 61 K 39/395	D

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 72 頁) 最終頁に続く

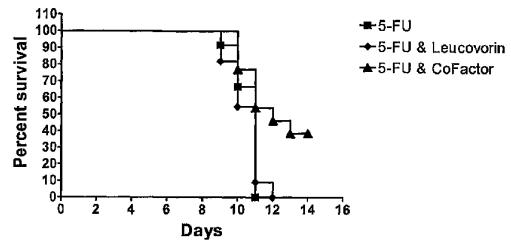
(21) 出願番号	特願2007-506303 (P2007-506303)	(71) 出願人	506329535 アドベントルクス ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド
(86) (22) 出願日	平成17年4月1日 (2005.4.1)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(85) 翻訳文提出日	平成18年11月27日 (2006.11.27)	(74) 代理人	100062409 弁理士 安村 高明
(86) 國際出願番号	PCT/US2005/011046	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(87) 國際公開番号	W02005/097086		
(87) 國際公開日	平成17年10月20日 (2005.10.20)		
(31) 優先権主張番号	60/558,889		
(32) 優先日	平成16年4月2日 (2004.4.2)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/625,479		
(32) 優先日	平成16年11月4日 (2004.11.4)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/658,745		
(32) 優先日	平成17年3月4日 (2005.3.4)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】癌の処置のための5, 10-メチレンテトラヒドロ葉酸の使用

(57) 【要約】

本発明は、癌の処置における5, 10-メチレンテトラヒドロ葉酸（「5, 10-CH₂-THFA」）の新規の使用および組成物を提供する。本発明は、5, 10-CH₂-THFAが、腫瘍増殖の速度を低下させ生存期間を増加させる5-フルオロウラシル（5-FU）の効力を増加させつつ、5-FUの患者に対する毒性を低下させるという驚くべき結果に基づく。本発明は、5-FU、5, 10-CH₂-THFA、および1つ以上の附加的な抗癌薬を含む癌患者の処置のための方法および組成物を提供する。このような方法および組成物は、現在の治療様式と比較して増加した効力および低下した毒性を提供し得る。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

癌の処置のための薬学的組成物の製造における、以下：

- (a) 5,10メチレンテトラヒドロ葉酸；および
- (b) 5-フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグ；および
- (c) 少なくとも1つの付加的な化学療法剤；

の使用であって、該少なくとも1つの付加的な化学療法剤が、以下：

アルキル化剤、代謝拮抗物質、トポイソメラーゼインヒビター、微小管破壊薬、核酸合成インヒビター、キナーゼインヒビター、ホルモン遮断薬、プロテオソームインヒビター、血管新生インヒビター、免疫調節因子、抗炎症薬、サイトカイン、サイトカインインヒビター、レセプター結合薬および5-フルオロウラシル調節因子からなる群より選択される、使用。

10

【請求項 2】

前記処置される癌が、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、子宮頸癌、卵巣癌、脾臓癌、食道癌または頭頸部癌である、請求項1に記載の使用。

【請求項 3】

前記少なくとも1つの付加的な化学療法剤が、特異的結合メンバーまたは核酸分子もしくは核酸アナログ分子または低分子である、請求項1に記載の使用。

【請求項 4】

前記特異的結合メンバーが、増殖因子に結合する抗体を含む、請求項3に記載の使用。

20

【請求項 5】

前記増殖因子に結合する抗体が、VEGFに結合する少なくとも1つの抗体である、請求項4に記載の使用。

【請求項 6】

前記VEGFに結合する抗体がベバシツマブである、請求項5に記載の使用。

【請求項 7】

前記特異的結合メンバーが、増殖因子レセプターに結合する抗体を含む、請求項3に記載の使用。

【請求項 8】

前記増殖因子に結合する抗体が、EGFRに結合する少なくとも1つの抗体である、請求項7に記載の使用。

30

【請求項 9】

前記EGFRに結合する抗体がセツキシマブである、請求項8に記載の使用。

【請求項 10】

前記少なくとも1つの付加的な化学療法剤が、イリノテカン(CPT-11)、ジフルオロデオキシシチジン(ゲムシタビン)、(E)-2'-デオキシ-2'-(フルオロメチレン)シチジン(テザシタビン)、ドキソルビシン、エピルビシン、マイトイマイシンC、シクロホスファミド、シスプラチニン、オキサリプラチニン、パクリタキセル、ドセタキセル、ピンクリスチン、ピンプラスチンおよびビノレルビンを含む群から選択される、請求項1に記載の使用。

40

【請求項 11】

前記薬学的組成物が、注射または静脈内供給により投与されるよう処方される、請求項1に記載の使用。

【請求項 12】

前記薬学的組成物の成分(a)、(b)および(c)が、単一の処方物として処方される、請求項1に記載の使用。

【請求項 13】

前記薬学的組成物の成分(a)、(b)および(c)が、別々に処方される、請求項1に記載の使用。

【請求項 14】

50

癌を有する患者を処置する方法であって、5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグ；5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸；および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を患者に投与する工程を包含する、方法。

【請求項15】

前記5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグが5 - フルオロウラシルである、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

前記5 - フルオロウラシルが注射により投与される、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記5 - フルオロウラシルの投薬量が、1m²当たり約25mgから約5gである、請求項15に記載の方法。 10

【請求項18】

前記5 - フルオロウラシルの投薬量が、1m²当たり約50mgから約2.5gである、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

前記5 - フルオロウラシルの投薬量が、1m²当たり約100mgから約1gである、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

前記5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグがN4 - ペントキシリカルボニル - 5' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン(カペシタビン)である、請求項14に記載の方法。 20

【請求項21】

前記N4 - ペントキシリカルボニル - 5' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン(カペシタビン)の1日投薬量が、1m²当たり約500mgから約7.5gである、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

前記N4 - ペントキシリカルボニル - 5' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン(カペシタビン)の投薬量が、1m²当たり約1000mgから約5gである、請求項21に記載の方法。 30

【請求項23】

前記N4 - ペントキシリカルボニル - 5' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン(カペシタビン)の投薬量が、1m²当たり約1500mgから約3000mgである、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

前記5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸が注射により投与される、請求項14に記載の方法。

【請求項25】

前記5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、1m²当たり約10mgから1gである、請求項14に記載の方法。

【請求項26】

前記5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、1m²当たり約20mgから500mgである、請求項25に記載の方法。 40

【請求項27】

前記5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、1m²当たり約50mgから250mgである、請求項14に記載の方法。

【請求項28】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、以下：アルキル化剤、代謝拮抗物質、トポイソメラーゼインヒビター、微小管破壊薬、核酸合成インヒビター、キナーゼインヒビター、ホルモン遮断薬、プロテオソームインヒビター、血管新生インヒビター、免疫調節因子、抗炎症薬、サイトカイン、サイトカインインヒビター、レセプタ 50

—結合薬または5-フルオロウラシル調節因子のうちの少なくとも1つを含む、請求項14に記載の方法。

【請求項29】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、特異的結合メンバー、核酸分子もしくは核酸アナログ分子または低分子のうちの少なくとも1つを含む、請求項14に記載の方法。

【請求項30】

前記癌が、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、子宮頸癌、卵巣癌、脾臓癌、食道癌または頭頸部癌である、請求項1に記載の方法。

【請求項31】

前記癌が結腸直腸癌である、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

前記癌が乳癌である、請求項30に記載の方法。

【請求項33】

前記癌が脾臓癌である、請求項30に記載の方法。

【請求項34】

前記癌が胃癌である、請求項30に記載の方法。

【請求項35】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが特異的結合メンバーを含む、請求項29に記載の方法。

【請求項36】

前記特異的結合メンバーが、VEGFに結合する抗体を含む、請求項23に記載の方法。

【請求項37】

前記VEGFに結合する抗体がベバシツマブである、請求項36に記載の方法。

【請求項38】

前記特異的結合メンバーが、EGFRに結合する抗体を含む、請求項23に記載の方法。

【請求項39】

前記EGFRに結合する抗体がセツキシマブである、請求項38に記載の方法。

【請求項40】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがトポイソメラーゼインヒビターである、請求項28に記載の方法。

【請求項41】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがイリノテカンである、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが代謝拮抗物質である、請求項28に記載の方法。

【請求項43】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、ジフルオロデオキシチジン(ゲムシタビン)、(E)-2'-デオキシ-2'-(フルオロメチレン)シチジン(テザシタビン)、ドキソルビシンまたはエピルビシンである、請求項42に記載の方法。

【請求項44】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがアルキル化剤である、請求項38に記載の方法。

【請求項45】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、マイトイマイシンC、シクロホスファミド、シスプラチンまたはオキサリプラチンである、請求項44に記載の方法。

【請求項46】

10

20

30

40

50

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがオキサリプラチンである、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがキナーゼインヒビターである、請求項 2 8 に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記キナーゼインヒビターがチロシンキナーゼインヒビターである、請求項 4 7 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記チロシンキナーゼインヒビターが E G F R チロシンキナーゼインヒビターまたは V E 10 G F R チロシンキナーゼインヒビターである、請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが微小管破壊剤である、請求項 2 8 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、パクリタキセル、ドセタキセル、ピンクリスチン、ピンプラスチンまたはビノレルビンである、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 2】

癌と診断された患者に投与される抗癌薬レジメンの毒性を低下させる方法であって、以下 20 :

5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグ；

フォリン酸；および

少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬；

を含む抗癌薬レジメンを入手する工程；ならびに

癌と診断された患者に投与される抗癌薬レジメン中のフォリン酸を 5 , 1 0 メチレンテトラヒドロ葉酸に置換する工程；

を包含する、方法。

【請求項 5 3】

前記 5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグが 5 - フルオロウラシルである、請求項 4 2 に記載の方法。 30

【請求項 5 4】

前記 5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグが N 4 - ペントキシリカルボニル - 5 ' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン（カペシタビン）である、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記 5 , 1 0 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1 m² 当たり約 1 0 m g から 1 g である、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記 5 , 1 0 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1 m² 当たり約 2 0 m g から 5 0 0 40 m g である、請求項 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記 5 , 1 0 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1 m² 当たり約 3 0 m g から 2 5 0 m g である、請求項 5 6 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、以下：アルキル化剤、代謝拮抗物質、トポイソメラーゼインヒビター、微小管破壊薬、核酸合成インヒビター、キナーゼインヒビター、ホルモン遮断薬、プロテオソームインヒビター、血管新生インヒビター、免疫調節因子、抗炎症薬、サイトカイン、サイトカインインヒビター、レセプター結合薬または 5 - フルオロウラシル調節因子のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 5 50

2に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、特異的結合メンバー、核酸分子もしくは核酸アナログ分子または低分子のうちの少なくとも1つを含む、請求項5 2に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記癌が、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、子宮頸癌、卵巣癌、膵臓癌、胃癌または頭頸部癌である、請求項1に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記癌が結腸直腸癌である、請求項6 0に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記癌が乳癌である、請求項6 0に記載の方法。

【請求項 6 3】

前記癌が膵臓癌である、請求項6 0に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記癌が胃癌である、請求項6 0に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが特異的結合メンバーを含む、請求項4 9に記載の方法。

【請求項 6 6】

前記特異的結合メンバーが、増殖因子に結合する抗体を含む、請求項6 5に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記増殖因子に結合する抗体が、VEGFに結合する少なくとも1つの抗体である、請求項6 6に記載の方法。

【請求項 6 8】

前記VEGFに結合する抗体がベバシツマブである、請求項6 7に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記増殖因子に結合する抗体が、EGFRに結合する少なくとも1つの抗体である、請求項6 5に記載の方法。

【請求項 7 0】

前記EGFRに結合する抗体がセツキシマブである、請求項6 9に記載の方法。

【請求項 7 1】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがトポイソメラーゼインヒビターである、請求項5 8に記載の方法。

【請求項 7 2】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがイリノテカンである、請求項7 1に記載の方法。

【請求項 7 3】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが代謝拮抗物質である、請求項5 8に記載の方法。

【請求項 7 4】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、ジフルオロデオキシシチジン(ゲムシタビン)、(E)-2'-デオキシ-2'--(フルオロメチレン)シチジン(テザシタビン)、ドキソルビシンまたはエピルビシンである、請求項7 3に記載の方法。

【請求項 7 5】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがアルキル化剤である、請求項5 8に記載の方法。

【請求項 7 6】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがマイトイシンCまたは

10

20

30

40

50

シクロホスファミドである、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 7】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、シスプラチニまたはオキサリプラチニである、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがオキサリプラチニである、請求項 7 7 に記載の方法。

【請求項 7 9】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがキナーゼインヒビターである、請求項 5 8 に記載の方法。 10

【請求項 8 0】

前記キナーゼインヒビターがチロシンキナーゼインヒビターである、請求項 7 9 に記載の方法。

【請求項 8 1】

前記チロシンキナーゼインヒビターが E G F R チロシンキナーゼインヒビターまたは V E G F R チロシンキナーゼインヒビターである、請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 8 2】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが微小管破壊剤である、請求項 5 8 に記載の方法。 20

【請求項 8 3】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、パクリタキセル、ドセタキセル、ピンクリスチン、ピンプラスチンまたはビノレルビンである、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 4】

癌と診断された患者に投与される抗癌薬の毒性を低下させる方法であって、以下：

5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグ；および
少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬；

を含む抗癌薬レジメン入手する工程；ならびに

癌と診断された患者に投与される抗癌薬レジメンに 5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸を追加する工程； 30

を包含する、方法。

【請求項 8 5】

前記 5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグが 5 - フルオロウラシルである、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記 5 - フルオロウラシルが注射により投与される、請求項 8 5 に記載の方法。

【請求項 8 7】

前記 5 - フルオロウラシルの投薬量が、 1 m^2 当たり約 25 mg から約 5 g である、請求項 8 5 に記載の方法。

【請求項 8 8】

前記 5 - フルオロウラシルの投薬量が、 1 m^2 当たり約 50 mg から約 2 . 5 g である、請求項 8 7 に記載の方法。 40

【請求項 8 9】

前記 5 - フルオロウラシルの投薬量が、 1 m^2 当たり約 100 mg から約 1 g である、請求項 8 8 に記載の方法。

【請求項 9 0】

前記 5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグが N 4 - ペントキシリカルボニル - 5 ' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン（カペシタビン）である、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 9 1】

10

20

30

40

50

前記 N 4 - ペントキシリカルボニル - 5 ' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン (カペシタビン) の 1 日投薬量が、 1m^2 当たり約 500 mg から約 7.5 g である、請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 9 2】

前記 N 4 - ペントキシリカルボニル - 5 ' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン (カペシタビン) の投薬量が、 1m^2 当たり約 1000 mg から約 5 g である、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 3】

前記 N 4 - ペントキシリカルボニル - 5 ' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン (カペシタビン) の投薬量が、 1m^2 当たり約 1500 mg から約 3000 mg である、請求項 8 3 10 に記載の方法。

【請求項 9 4】

前記 5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸が注射により投与され得る、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 9 5】

前記 5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約 10 mg から 1 g である、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 9 6】

前記 5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約 20 mg から 500 mg である、請求項 9 5 20 に記載の方法。

【請求項 9 7】

前記 5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約 30 mg から 250 mg である、請求項 9 6 に記載の方法。

【請求項 9 8】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、以下：アルキル化剤、代謝拮抗物質、トポイソメラーゼインヒビター、微小管破壊薬、核酸合成インヒビター、キナーゼインヒビター、ホルモン遮断薬、プロテオソームインヒビター、血管新生インヒビター、免疫調節因子、抗炎症薬、サイトカイン、サイトカインインヒビター、レセプター結合薬または 5 - フルオロウラシル調節因子のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 8 4 30 に記載の方法。

【請求項 9 9】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、特異的結合メンバー、核酸分子もしくは核酸アナログ分子または低分子のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 7 4 に記載の方法。

【請求項 1 0 0】

前記癌が、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、子宮頸癌、卵巣癌、脾臓癌、食道癌または頭頸部癌である、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 1 0 1】

前記癌が結腸直腸癌である、請求項 1 0 0 に記載の方法。

【請求項 1 0 2】

前記癌が乳癌である、請求項 1 0 0 に記載の方法。

【請求項 1 0 3】

前記癌が脾臓癌である、請求項 1 0 0 に記載の方法。

【請求項 1 0 4】

前記癌が胃癌である、請求項 1 0 0 に記載の方法。

【請求項 1 0 5】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが特異的結合メンバーを含む、請求項 9 9 に記載の方法。

【請求項 1 0 6】

前記特異的結合メンバーが、増殖因子に結合する抗体を含む、請求項 1 0 5 50 に記載の方法

。

【請求項 107】

前記増殖因子に結合する抗体が、VEGFに結合する少なくとも1つの抗体である、請求項106に記載の方法。

【請求項 108】

前記VEGFに結合する抗体がベバシツマブである、請求項107に記載の方法。

【請求項 109】

前記特異的結合メンバーが、増殖因子レセプターに結合する抗体を含む、請求項105に記載の方法。

【請求項 110】

前記増殖因子に結合する抗体がEGFRに結合する少なくとも1つの抗体である、請求項109に記載の方法。

【請求項 111】

前記EGFRに結合する抗体がセツキシマブである、請求項110に記載の方法。

【請求項 112】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがトポイソメラーゼインヒビターである、請求項98に記載の方法。

【請求項 113】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがイリノテカンである、請求項112に記載の方法。

【請求項 114】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが代謝拮抗物質である、請求項98に記載の方法。

【請求項 115】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、ジフルオロデオキシシチジン（ゲムシタビン）、（E）-2'-デオキシ-2'-(フルオロメチレン)シチジン（テザシタビン）、ドキソルビシンまたはエピルビシンである、請求項114に記載の方法。

【請求項 116】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがアルキル化剤である、請求項98に記載の方法。

【請求項 117】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、マイトイシンC、シクロホスファミド、シスプラチンまたはオキサリプラチンである、請求項116に記載の方法。

【請求項 118】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがオキサリプラチンである、請求項117に記載の方法。

【請求項 119】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがキナーゼインヒビターである、請求項98に記載の方法。

【請求項 120】

前記キナーゼインヒビターがチロシンキナーゼインヒビターである、請求項119に記載の方法。

【請求項 121】

前記チロシンキナーゼインヒビターがEGFRチロシンキナーゼインヒビターまたはVEGFRチロシンキナーゼインヒビターである、請求項120に記載の方法。

【請求項 122】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが微小管破壊剤である、請求項98に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 2 3】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、パクリタキセル、ドセタキセル、ピンクリスチン、ピンプラスチンまたはビノレルビンである、請求項 1 2 2 に記載の方法。

【請求項 1 2 4】

癌を有する患者に投与される抗癌薬レジメンの毒性を低下させる方法であって、以下：

5 - フルオロウラシルのアナログまたはプロドラッグおよびフォリン酸：
を含む抗癌薬レジメンを入手する工程；ならびに

癌と診断された患者に投与される抗癌薬レジメン中のフォリン酸を 5 , 1 0 メチレンテ
トラヒドロ葉酸に置換する工程；
を包含する、方法。 10

【請求項 1 2 5】

前記 5 - フルオロウラシルのアナログまたはプロドラッグが N 4 - ペントキシリカルボニル - 5 ' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン（カペシタピン）である、請求項 1 2 4 に記載の方法。

【請求項 1 2 6】

前記 N 4 - ペントキシリカルボニル - 5 ' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン（カペシタピン）の 1 日投薬量が、 1 m² 当たり約 5 0 0 m g から約 7 . 5 g である、請求項 1 2 5 に記載の方法。

【請求項 1 2 7】

前記 N 4 - ペントキシリカルボニル - 5 ' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン（カペシタピン）の投薬量が、 1 m² 当たり約 1 0 0 0 m g から約 5 g である、請求項 1 2 6 に記載の方法。 20

【請求項 1 2 8】

前記 N 4 - ペントキシリカルボニル - 5 ' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン（カペシタピン）の投薬量が、 1 m² 当たり約 2 0 0 m g から約 1 5 0 0 m g である、請求項 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 2 9】

前記 5 , 1 0 メチレンテトラヒドロ葉酸が注射により投与され得る、請求項 1 2 4 に記載の方法。 30

【請求項 1 3 0】

前記 5 , 1 0 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1 m² 当たり約 1 0 m g から 1 g である、請求項 1 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 3 1】

前記 5 , 1 0 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1 m² 当たり約 2 0 m g から 5 0 0 m g である、請求項 1 2 1 に記載の方法。

【請求項 1 3 2】

前記 5 , 1 0 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1 m² 当たり約 3 0 m g から 2 5 0 m g である、請求項 1 2 2 に記載の方法。 40

【請求項 1 3 3】

癌と診断された患者に投与される抗癌薬レジメンの効力を増加させる方法であって、以下：

5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグ；
フォリン酸；および
少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬；

を含む抗癌薬レジメンを入手する工程；ならびに

癌と診断された患者に投与される抗癌薬レジメン中のフォリン酸を 5 , 1 0 メチレンテ
トラヒドロ葉酸に置換する工程；
を包含する、方法。

【請求項 1 3 4】

10

20

30

40

50

前記 5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグが 5 - フルオロウラシルである、請求項 133 に記載の方法。

【請求項 135】

前記 5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグが N4 - ペントキシリカルボニル - 5' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン (カベシタビン) である、請求項 134 に記載の方法。

【請求項 136】

前記 5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約 10 mg から 1 g である、請求項 135 に記載の方法。

【請求項 137】

前記 5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約 20 mg から 500 mg である、請求項 136 に記載の方法。

【請求項 138】

前記 5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約 30 mg から 250 mg である、請求項 137 に記載の方法。

【請求項 139】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、以下：アルキル化剤、代謝拮抗物質、トポイソメラーゼインヒビター、微小管破壊薬、核酸合成インヒビター、キナーゼインヒビター、ホルモン遮断薬、プロテオソームインヒビター、血管新生インヒビター、免疫調節因子、抗炎症薬、サイトカイン、サイトカインインヒビター、レセプター結合薬または 5 - フルオロウラシル調節因子のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 133 に記載の方法。

【請求項 140】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、特異的結合メンバー、核酸分子もしくは核酸アナログ分子または低分子のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 133 に記載の方法。

【請求項 141】

前記癌が、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、子宮頸癌、卵巣癌、脾臓癌、胃癌または頭頸部癌である、請求項 133 に記載の方法。

【請求項 142】

前記癌が結腸直腸癌である、請求項 133 に記載の方法。

【請求項 143】

前記癌が乳癌である、請求項 133 に記載の方法。

【請求項 144】

前記癌が脾臓癌である、請求項 133 に記載の方法。

【請求項 145】

前記癌が胃癌である、請求項 133 に記載の方法。

【請求項 146】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが特異的結合メンバーを含む、請求項 140 に記載の方法。

【請求項 147】

前記特異的結合メンバーが、増殖因子に結合する抗体を含む、請求項 146 に記載の方法。

【請求項 148】

前記増殖因子に結合する抗体が、VEGF に結合する少なくとも 1 つの抗体である、請求項 147 に記載の方法。

【請求項 149】

前記 VEGF に結合する抗体がベバシツマブである、請求項 148 に記載の方法。

【請求項 150】

前記特異的結合メンバーが、EGFR に結合する少なくとも 1 つの抗体である、請求項 1

10

20

30

40

50

4 6 に記載の方法。

【請求項 1 5 1】

前記 E G F R に結合する抗体がセツキシマブである、請求項 1 4 1 に記載の方法。

【請求項 1 5 2】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがトポイソメラーゼインヒビターである、請求項 1 3 9 に記載の方法。

【請求項 1 5 3】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがイリノテカンである、請求項 1 5 2 に記載の方法。

【請求項 1 5 4】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが代謝拮抗物質である、請求項 1 3 9 に記載の方法。

【請求項 1 5 5】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、ジフルオロデオキシシチジン（ゲムシタビン）、(E)-2'-デオキシ-2'-（フルオロメチレン）シチジン（テザシタビン）、ドキソルビシンまたはエピルビシンである、請求項 1 5 4 に記載の方法。

【請求項 1 5 6】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがアルキル化剤である、請求項 1 3 9 に記載の方法。

【請求項 1 5 7】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、マイトマイシン C またはシクロホスファミドである、請求項 1 5 6 に記載の方法。

【請求項 1 5 8】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、シスプラチンまたはオキサリプラチンである、請求項 1 5 6 に記載の方法。

【請求項 1 5 9】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがオキサリプラチンである、請求項 1 5 8 に記載の方法。

【請求項 1 6 0】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがキナーゼインヒビターである、請求項 1 3 9 に記載の方法。

【請求項 1 6 1】

前記キナーゼインヒビターがチロシンキナーゼインヒビターである、請求項 1 6 0 に記載の方法。

【請求項 1 6 2】

前記チロシンキナーゼインヒビターが E G F R チロシンキナーゼインヒビターまたは V E G F R チロシンキナーゼインヒビターである、請求項 1 6 1 に記載の方法。

【請求項 1 6 3】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが微小管破壊剤である、請求項 1 3 9 に記載の方法。

【請求項 1 6 4】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、パクリタキセル、ドセタキセル、ピンクリスチン、ピンプラスチンまたはビノレルビンである、請求項 1 6 3 に記載の方法。

【請求項 1 6 5】

癌と診断された患者に投与される抗癌薬レジメンの効力を増加させる方法であって、以下：

5 - フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグ；および
少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬；

10

20

30

40

50

を含む抗癌薬レジメンを入手する工程；ならびに

癌と診断された患者に投与される抗癌薬レジメンに5，10メチレンテトラヒドロ葉酸を追加する工程；
を包含する、方法。

【請求項166】

前記5-フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグが5-フルオロウラシルである、請求項165に記載の方法。

【請求項167】

前記5-フルオロウラシルが注射により投与され得る、請求項166に記載の方法。

【請求項168】

前記5-フルオロウラシルの投薬量が、1m²当たり約25mgから約5gである、請求項166に記載の方法。
10

【請求項169】

前記5-フルオロウラシルの投薬量が、1m²当たり約50mgから約2.5gである、請求項168に記載の方法。

【請求項170】

前記5-フルオロウラシルの投薬量が、1m²当たり約100mgから約1gである、請求項160に記載の方法。

【請求項171】

前記5-フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグがN4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタビン)である、請求項165に記載の方法。
20

【請求項173】

前記N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタビン)が、1日1~6回、経口処方物中で投与され得る、請求項171に記載の方法。

【請求項174】

前記N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタビン)の1日投薬量が、1m²当たり約500mgから約7.5gである、請求項163に記載の方法。

【請求項175】

前記N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタビン)の1日投薬量が、1m²当たり約1000mgから約5gである、請求項174に記載の方法。
30

【請求項176】

前記N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタビン)の1日投薬量が、1m²当たり約1500mgから約3000mgである、請求項175に記載の方法。

【請求項177】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸が注射により投与され得る、請求項165に記載の方法。
40

【請求項178】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、1m²当たり約10mgから1gである、請求項165に記載の方法。

【請求項179】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、1m²当たり約20mgから500mgである、請求項168に記載の方法。

【請求項180】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、1m²当たり約30mgから250mgである、請求項169に記載の方法。

【請求項181】

10

20

30

40

50

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、以下：アルキル化剤、代謝拮抗物質、トポイソメラーゼインヒビター、微小管破壊薬、核酸合成インヒビター、キナーゼインヒビター、ホルモン遮断薬、プロテオソームインヒビター、血管新生インヒビター、免疫調節因子、抗炎症薬、サイトカイン、サイトカインインヒビター、レセプター結合薬または 5 - フルオロウラシル調節因子のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 165 に記載の方法。

【請求項 182】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、特異的結合メンバー、核酸分子もしくは核酸アナログ分子または低分子のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 165 に記載の方法。

10

【請求項 183】

前記癌が、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、子宮頸癌、卵巣癌、膵臓癌、食道癌または頭頸部癌である、請求項 165 に記載の方法。

【請求項 184】

前記癌が結腸直腸癌である、請求項 183 に記載の方法。

【請求項 185】

前記癌が乳癌である、請求項 183 に記載の方法。

【請求項 186】

前記癌が膵臓癌である、請求項 183 に記載の方法。

20

【請求項 187】

前記癌が胃癌である、請求項 183 に記載の方法。

【請求項 188】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが特異的結合メンバーを含む、請求項 182 に記載の方法。

【請求項 189】

前記特異的結合メンバーが、増殖因子に結合する抗体を含む、請求項 188 に記載の方法。

【請求項 190】

前記増殖因子に結合する抗体が、VEGF に結合する少なくとも 1 つの抗体である、請求項 189 に記載の方法。

30

【請求項 191】

前記 VEGF に結合する抗体がベバシツマブである、請求項 190 に記載の方法。

【請求項 192】

前記特異的結合メンバーが、増殖因子レセプターに結合する抗体を含む、請求項 188 に記載の方法。

【請求項 193】

前記増殖因子に結合する抗体が、EGFR に結合する少なくとも 1 つの抗体である、請求項 192 に記載の方法。

【請求項 194】

前記 EGFR に結合する抗体がセツキシマブである、請求項 193 の方法。

40

【請求項 195】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがトポイソメラーゼインヒビターである、請求項 181 に記載の方法。

【請求項 196】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがイリノテカンである、請求項 195 に記載の方法。

【請求項 197】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが代謝拮抗物質である、請求項 181 に記載の方法。

【請求項 198】

50

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、ジフルオロデオキシシチジン（ゲムシタビン）、(E)-2'- - デオキシ-2'- - (フルオロメチレン)シチジン（テザシタビン）、ドキソルビシンまたはエピルビシンである、請求項 197 に記載の方法。

【請求項 199】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがアルキル化剤である、請求項 181 に記載の方法。

【請求項 200】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、マイトマイシン C、シクロホスファミド、シスプラチニンまたはオキサリプラチニンである、請求項 199 に記載の方法。 10

【請求項 201】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがオキサリプラチニンである、請求項 200 に記載の方法。

【請求項 202】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つがキナーゼインヒビターである、請求項 181 に記載の方法。

【請求項 203】

前記キナーゼインヒビターがチロシンキナーゼインヒビターである、請求項 202 に記載の方法。 20

【請求項 204】

前記チロシンキナーゼインヒビターが E G F R チロシンキナーゼインヒビターまたは V E G F R チロシンキナーゼインヒビターである、請求項 203 に記載の方法。

【請求項 205】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが微小管破壊剤である、請求項 181 に記載の方法。

【請求項 206】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンクリスチン、ビンプラスチンまたはビノレルビンである、請求項 205 に記載の方法。 30

【請求項 207】

癌を有する患者に投与される抗癌薬レジメンの効力を増加させる方法であって、以下：

5 - フルオロウラシルのアナログまたはプロドラッグおよびフォリン酸；
を含む抗癌薬レジメン入手する工程；ならびに

癌と診断された患者に投与される抗癌薬レジメン中のフォリン酸を 5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸に置換する工程；
を包含する、方法。

【請求項 208】

前記 5 - フルオロウラシルのアナログまたはプロドラッグが N 4 - ペントキシリカルボニル - 5' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン（カペシタビン）である、請求項 207 に記載の方法。 40

【請求項 209】

前記 N 4 - ペントキシリカルボニル - 5' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン（カペシタビン）が、1 日 1 ~ 6 回、経口処方物中で投与され得る、請求項 208 に記載の方法。

【請求項 210】

前記 N 4 - ペントキシリカルボニル - 5' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン（カペシタビン）の投薬量が、1 m² 当たり約 500 mg から約 7 . 5 g である、請求項 208 に記載の方法。

【請求項 211】

前記 N 4 - ペントキシリカルボニル - 5' - デオキシ - 5 - フルオロシチジン（カペシタ 50

ビン)の投薬量が、 1m^2 当たり約1000mgから約5gである、請求項200に記載の方法。

【請求項212】

前記N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタビン)の投薬量が、 1m^2 当たり約1500mgから約3000mgである、請求項201に記載の方法。

【請求項213】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸が注射により投与され得る、請求項197に記載の方法。

【請求項214】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約10mgから1gである、請求項197に記載の方法。

【請求項215】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約20mgから500mgである、請求項214に記載の方法。

【請求項216】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約30mgから250mgである、請求項215に記載の方法。

【請求項217】

癌と診断された患者に投与される抗癌薬レジメンの効力を増加させる方法であって、以下：

5-フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグ；

フォリン酸；および

少なくとも1つの付加的な抗癌薬；

を含む抗癌薬レジメンを入手する工程；

抗癌薬レジメン中のフォリン酸を5,10メチレンテトラヒドロ葉酸に置換する工程；ならびに

増加した効力を有する抗癌薬レジメンを入手するため抗癌薬レジメン中の少なくとも1つの付加的な抗癌薬の投薬量を増加させる工程；

を包含する、方法。

【請求項218】

前記5-フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグが5-フルオロウラシルである、請求項217に記載の方法。

【請求項219】

前記5-フルオロウラシルが注射により投与される、請求項218の方法。

【請求項220】

前記5-フルオロウラシルの投薬量が、 1m^2 当たり約25mgから約5gである、請求項208に記載の方法。

【請求項221】

前記5-フルオロウラシルの投薬量が、 1m^2 当たり約50mgから約2.5gである、請求項220に記載の方法。

【請求項222】

前記5-フルオロウラシルの投薬量が、 1m^2 当たり約100mgから約1gである、請求項221に記載の方法。

【請求項223】

前記5-フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグがN4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタビン)である、請求項217に記載の方法。

【請求項224】

前記N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタ

ピン)が、1日1~6回、経口処方物中で投与される、請求項223に記載の方法。

【請求項225】

前記N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタピン)の1日投薬量が、 1m^2 当たり約500mgから約7.5gである、請求項223に記載の方法。

【請求項226】

前記N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタピン)の投薬量が、 1m^2 当たり約1000mgから5gである、請求項225に記載の方法。

【請求項227】

前記N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタピン)の投薬量が、 1m^2 当たり約1500mgから約3000mgである、請求項226に記載の方法。

【請求項228】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸が注射により投与される、請求項227に記載の方法。

【請求項229】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約10mgから1gである、請求項217に記載の方法。

【請求項230】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約25mgから500mgである、請求項229に記載の方法。

【請求項231】

前記5,10メチレンテトラヒドロ葉酸の投薬量が、 1m^2 当たり約50mgから250mgである、請求項220に記載の方法。

【請求項232】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、以下：アルキル化剤、代謝拮抗物質、トポイソメラーゼインヒビター、微小管破壊薬、核酸合成インヒビター、キナーゼインヒビター、ホルモン遮断薬、プロテオソームインヒビター、血管新生インヒビター、免疫調節因子、抗炎症薬、サイトカイン、サイトカインインヒビター、レセプター結合薬または5-フルオロウラシル調節因子のうちの少なくとも1つを含む、請求項217に記載の方法。

【請求項233】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、特異的結合メンバー、核酸分子もしくは核酸アナログ分子または低分子のうちの少なくとも1つを含む、請求項217に記載の方法。

【請求項234】

前記癌が、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、子宮頸癌、卵巣癌、脾臓癌、食道癌または頭頸部癌である、請求項217に記載の方法。

【請求項235】

前記癌が結腸直腸癌である、請求項234に記載の方法。

【請求項236】

前記癌が乳癌である、請求項234に記載の方法。

【請求項237】

前記癌が脾臓癌である、請求項234に記載の方法。

【請求項238】

前記癌が胃癌である、請求項234に記載の方法。

【請求項239】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが特異的結合メンバーを含む、請求項233に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 240】

前記特異的結合メンバーが、増殖因子に結合する抗体を含む、請求項239に記載の方法。

【請求項 241】

前記増殖因子に結合する抗体が、VEGFに結合する少なくとも1つの抗体である、請求項240に記載の方法。

【請求項 242】

前記VEGFに結合する抗体がベバシツマブである、請求項241に記載の方法。

【請求項 243】

前記特異的結合メンバーが、増殖因子レセプターに結合する抗体を含む、請求項239に記載の方法。 10

【請求項 244】

前記増殖因子に結合する抗体が、EGFRに結合する少なくとも1つの抗体である、請求項243に記載の方法。

【請求項 245】

前記EGFRに結合する抗体がセツキシマブである、請求項234に記載の方法。

【請求項 246】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがトポイソメラーゼインヒビターである、請求項232に記載の方法。

【請求項 247】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがイリノテカンである、請求項246に記載の方法。

【請求項 248】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが代謝拮抗物質である、請求項232に記載の方法。

【請求項 249】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、ジフルオロデオキシシチジン（ゲムシタビン）、(E)-2'-デオキシ-2'-(フルオロメチレン)シチジン（テザシタビン）、ドキソルビシンまたはエピルビシンである、請求項248に記載の方法。 30

【請求項 250】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがアルキル化剤である、請求項232に記載の方法。

【請求項 251】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、マイトイマイシンC、シクロホスファミド、シスプラチニンまたはオキサリプラチニンである、請求項250に記載の方法。

【請求項 252】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがオキサリプラチニンである、請求項241に記載の方法。 40

【請求項 253】

前記少なくとも1つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つがキナーゼインヒビターである、請求項232に記載の方法。

【請求項 254】

前記キナーゼインヒビターがチロシンキナーゼインヒビターである、請求項253に記載の方法。

【請求項 255】

前記チロシンキナーゼインヒビターがEGFRチロシンキナーゼインヒビターまたはVEGFRチロシンキナーゼインヒビターである、請求項254に記載の方法。

【請求項 256】

20

30

40

50

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが微小管破壊剤である、請求項 232 に記載の方法。

【請求項 257】

前記少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つが、パクリタキセル、ドセタキセル、ピンクリスチン、ピンプラスチンまたはビノレルビンである、請求項 256 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、米国仮特許出願第 60/558,889 号(2004 年 4 月 2 日出願、発明者 Mark Cantwell および発明者 Joan Robbins により題された「Methods of Using 5,10-Methylene Tetrahydrofolate to Treat Cancer」)および米国仮特許出願第 60/658,745 号(2005 年 3 月 4 日出願、発明者 Mark Cantwell および発明者 Joan Robbins により題された「Methods of using 5,10-methylene hydrofolate in combination therapies to treat cancer」)に対する優先権を主張する。

10

【背景技術】

【0002】

20

(発明の背景)

癌は重要な公衆衛生問題である。結腸直腸癌は、単独で、米国内で 1 年におよそ 50,000 件の死を引き起こす。毎年診断されるおよそ 130,000 の結腸直腸癌例のほぼ半分が、化学療法が唯一の治療法である転移性疾患を伴うかまたは転移性疾患へと進展する。結腸直腸癌のみならず、例えば、乳癌、肺臓癌、胃癌、肝臓癌、膀胱癌、子宮頸癌、頭頸部癌、肺癌、卵巣癌、および前立腺癌のようなその他の癌についても、治療のための新たな有効な薬物に基づく療法が緊急に求められている。

【0003】

抗癌薬 5 - フルオロウラシル (5-FU) は、核酸合成に必要とされる酵素チミジル酸シンターゼ (TS) のインヒビターである FdUMP へと体内で変換される。5-FU は、結腸直腸癌および乳癌、さらに頭頸部癌、肺臓癌、胃癌、および非小細胞肺癌のような癌を治療するために一般的に使用されている。5-FU は、一般的に、チミジル酸シンターゼの補因子である還元型の葉酸 (5,10-メチレンテトラヒドロ葉酸またはポリグルタミン酸型の 5,10-メチレンテトラヒドロ葉酸) へと細胞内で変換されるフォリン酸 (FA、ロイコボリン (leucovorin)) と併用されている。5-FU およびロイコボリンの組み合わせは、5-FU 単独の使用と比較して、増加した抗腫瘍効果を有していることが見出されている。5-FU、およびロイコボリンと組み合わせられた 5-FU は、再発性の結腸直腸癌、乳癌、胃癌、またはその他の癌を有する患者の生存期間 (survivorship) を改善するためにその他の抗癌剤と組み合わせて使用されている。

30

【0004】

5,10-メチレンテトラヒドロ葉酸 (「5,10-CH₂-THFA」) は、直接、またはポリグルタミン酸型への変換の後、チミジル酸シンターゼの補因子として作用することができる還元型葉酸である。

40

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

5-FU に関連した毒性には、口内炎、粘膜炎、胃腸症状、ならびに血液学的毒性、特に、好中球減少、血小板減少、および白血球減少が含まれる。毒性は、抗癌剤の投薬量を制限することにより、または癌患者の治療において医師が利用可能な手段を制限すること

50

により、患者にとって利用可能な治療法を制限する場合がある。従って、患者の生存期間を延長するのに有効な、低下した毒性を有する、改良された抗癌薬レジメンを開発する必要が存在している。

【課題を解決するための手段】

【0006】

(発明の概要)

本発明は、患者に対して現在の様式より低下した毒性および大きい効力を提供する、癌の治療における $5,10$ -メチレンテトラヒドロ葉酸(「 $5,10$ -CH₂-THFA」)の新規の使用を提供する。

【0007】

本発明は、 $5,10$ -CH₂-THFAが、腫瘍増殖の速度を低下させ生存期間を増加させる $5-FU$ の効力を増加させつつ、 $5-FU$ の患者に対する毒性を低下させるという驚くべき結果に基づく。本明細書に開示されるように、 $5,10$ -CH₂-THFAおよび $5-FU$ による治療は、 $5-FU$ 単独またはロイコボリン(フォリン酸; FA)と組み合わせられた $5-FU$ による治療と比べて、腫瘍保持動物の腫瘍増殖速度を低下させ、生存期間を増加させつつ、いずれの治療よりも少ない毒性を示す。

【0008】

本発明は、さらに、 $5,10$ -CH₂-THFAおよび $5-FU$ および付加的な抗癌薬による腫瘍保持動物の治療も、單一様式治療、またはロイコボリンと共に $5-FU$ を使用することを含む別の組み合わせ治療と比べて、結果を改良し得るという発見に基づく。

【0009】

1つの局面において、本発明は、 $5-FU$ または $5-FU$ のアナログもしくはプロドラッグ； $5,10$ -CH₂-THFA；および1つ以上の付加的な抗癌薬を含む組み合わせ化学療法により癌患者を治療する方法を提供する。1つ以上の付加的な抗癌薬は、特異的結合メンバー、タンパク質、核酸、脂質、ステロイド、高分子、低分子、または金属を含む化学療法剤(これらに制限はされない)を含む、任意の型の1つ以上の化学療法剤であり得る。この1つ以上の抗癌薬は、アルキル化剤、代謝拮抗物質、有糸分裂インヒビター、トポイソメラーゼインヒビター、微小管破壊薬、核酸合成インヒビター、キナーゼインヒビター、ホルモン遮断薬、プロテオソームインヒビター、血管新生インヒビター、免疫調節因子、抗炎症薬、サイトカイン、サイトカインインヒビター、レセプター結合薬、または $5-FU$ 調節因子のうちの1つ以上を含み得る。その方法は、 $5-FU$ またはそのアナログもしくはプロドラッグ、 $5,10$ -CH₂-THFA、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を、癌を有する患者に投与することを含む。

【0010】

第二の局面において、本発明は、 $5-FU$ またはそのアナログもしくはプロドラッグ、 $5,10$ -CH₂-THFA、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を含む、癌の治療のための組成物を提供する。1つ以上の付加的な抗癌薬は、特異的結合メンバー、タンパク質、核酸、脂質、ステロイド、高分子、低分子、または金属を含む化学療法剤(これらに制限はされない)を含む、任意の型の1つ以上の化学療法剤であり得る。この1つ以上の抗癌薬は、アルキル化剤、代謝拮抗物質、有糸分裂インヒビター、トポイソメラーゼインヒビター、微小管破壊薬、核酸合成インヒビター、キナーゼインヒビター、ホルモン遮断薬、プロテオソームインヒビター、血管新生インヒビター、免疫調節因子、抗炎症薬、サイトカイン、サイトカインインヒビター、レセプター結合薬、または $5-FU$ 調節因子のうちの1つ以上を含み得る。本発明の多重薬物組成物は、1つの処方物または複数の処方物として提供され得る。

【0011】

本発明の第三の局面は、癌の治療のための組成物の製造における、 $5-FU$ またはそのアナログもしくはプロドラッグおよび少なくとも1つの付加的な化学療法剤と組み合わせられた $5,10$ -CH₂-THFAの使用であり、ここで、少なくとも1つの付加的な化学療法剤は、アルキル化剤、代謝拮抗物質、トポイソメラーゼインヒビター、微小管破壊

10

20

30

40

50

薬、核酸生合成インヒビター、キナーゼインヒビター、ホルモン遮断薬、プロテオソームインヒビター、血管新生インヒビター、免疫調節因子、抗炎症薬、サイトカイン、サイトカインインヒビター、レセプター結合薬、または5-FU調節因子からなる群より選択される。その使用は、単一の処方物としてまたは複数の処方物として薬学的組成物を製造することを含む。

【0012】

第四の局面において、本発明は、5,10-CH₂-THFAを同時投与することにより、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグの癌患者への投与を含む癌薬物治療レジメンの患者に対する毒性を減少させる方法を提供する。

【0013】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、5,10-CH₂-THFAを同時投与することにより、カペシタビン(capcitabine)(これに制限はされない)のような5-FUのアナログもしくはプロドラッグの毒性を減少させる方法を含む。

【0014】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、5,10-CH₂-THFAを同時投与することにより、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグおよび付加的な抗癌薬(5-FUまたはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外)を癌を有する患者へ投与することを含む抗癌治療の毒性を減少させる方法を含む。

【0015】

本発明の第五の局面は、抗癌薬レジメンの中のロイコボリンを5,10-5,10-CH₂-THFAに置換することを含む、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグおよびロイコボリンを含む抗癌薬物治療レジメンの患者に対する毒性を低下させる方法である。

【0016】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、レジメンの中のロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置換することによりレジメンの毒性が減少する、カペシタビン(これに制限はされない)のような5-FUのアナログもしくはプロドラッグおよびロイコボリンを含む抗癌薬レジメンの毒性を減少させる方法を含む。

【0017】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、薬物レジメンの中のロイコボリンを5,10-5,10-CH₂-THFAに置換することにより、癌を有する患者への5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬(5-FUまたはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外)を含む抗癌治療の毒性を減少させる方法を含む。

【0018】

第六の局面において、本発明は、5,10-5,10-CH₂-THFAを同時投与することにより、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグの癌患者への投与を含む癌薬物治療レジメンの効力を増加させる方法を提供する。

【0019】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、5,10-CH₂-THFAを同時投与することにより、カペシタビン(これに制限はされない)のような5-FUのアナログもしくはプロドラッグの効力を増加させる方法を含む。

【0020】

この局面のその他の好ましい実施形態において、本発明は、5,10-CH₂-THFAを同時投与することにより、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグおよび付加的な抗癌薬(5-FUまたはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外)を癌を有する患者へ投与することを含む抗癌治療の効力を増加させる方法を含む。

【0021】

本発明の第七の局面は、抗癌薬レジメンの中のロイコボリンを5,10-5,10-CH₂-THFAに置換することにより、カペシタビン(これに制限はされない)のような5-FUのアナログもしくはプロドラッグの効力を増加させる方法を含む。

10

20

30

40

50

H_2 -THFAに置換することを含む、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグおよびロイコボリンを含む抗癌薬物治療レジメンの患者に対する効力を増加させる方法である。

【0022】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、レジメンの中のロイコボリンを $5,10$ -CH₂-THFAに置換することによりレジメンの効力が増加する、カペシタビン（これに制限はされない）のような5-FUのアナログまたはプロドラッグおよびロイコボリンを含む抗癌薬レジメンの効力を増加させる方法を含む。

【0023】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、薬物レジメンの中のロイコボリンを $5,10$ -CH₂-THFAに置換することにより、癌を有する患者への5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬（5-FUまたはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）を含む抗癌治療の効力を増加させる方法を含む。

【0024】

関連する局面において、本発明は、5-FUおよびロイコボリンを含む抗癌薬レジメンの中の5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグの用量を増加させる方法を提供する。その方法は、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグおよびロイコボリンを含む抗癌薬レジメン入手すること；抗癌薬レジメンの中のロイコボリンを $5,10$ - $5,10$ -CH₂-THFAに置換すること；ならびに抗癌薬レジメンの中の5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグの投薬量を増加させることを含む。この局面において、抗癌薬物の中のロイコボリンを $5,10$ -CH₂-THFAに置換しつつ、5-FUの投薬量を増加させることは、やたらと毒性を増加させることなく、治療の効力を増加させ得る。

【0025】

さらにもう一つの関連する局面において、本発明は、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および付加的な抗癌薬を含む抗癌薬レジメンの中の付加的な抗癌薬の用量を増加させる方法を提供する。その方法は、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬（5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、またはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）を含む抗癌薬レジメン入手すること；抗癌薬レジメンの中のロイコボリンを $5,10$ -CH₂-THFAに置換すること；ならびに抗癌薬レジメンの中の1つ以上の付加的な抗癌薬の投薬量を増加させることを含む。この局面において、抗癌薬物の中のロイコボリンを $5,10$ -CH₂-THFAに置換しつつ、レジメンにおいて使用される付加的な抗癌薬の投薬量を増加させることは、やたらと毒性を増加させることなく、治療の効力を増加させ得る。

【発明を実施するための最良の形態】

【0026】

（発明の詳細な説明）

（定義）

「抗癌薬」とは、癌の治療において使用される任意の薬物である。本発明の方法および組成物において使用され得るいくつかの研究中の抗癌薬のいくつかの非制限的な例は、表1に提供される。

【0027】

「化学療法剤」とは、生物学的活性を有しており、疾患の治療において有用な化学的実体である。癌療法において、化学療法剤は、直接的または間接的に癌細胞の死を引き起こす化学的実体である。化学療法剤は、単一の薬剤として、または1つ以上の他の化学療法剤との組み合わせで抗癌効果を有し得る。

【0028】

抗癌薬または化学療法剤の「アナログ」とは、抗癌薬または化学療法剤と構造的に類似

10

20

30

40

50

しているが、（ある原子の異なる元素の原子への交換、または特定の官能基の付加もしくは置換のように）組成がわずかに異なっている化学化合物である。本明細書において使用されるように、「アナログ」とは、構造的には類似しているかまたは同一であるが、例えば、可溶性を増強するか、分解を遅延させるか、循環系における半減期を増加させるか、膜透過性を賦与するか、または例えば組織もしくは細胞の標的化を指示することができる付加的な部分を含む化学化合物を意味することもできる。好ましくは、化合物、抗癌薬、または化学療法剤のアナログは、治療的に有効な量で患者に投与された場合、化合物、抗癌薬、または化学療法剤と本質的に同一の活性を有している。

【0029】

抗癌薬または化学療法剤の「プロドラッグ」とは、体内で抗癌薬または治療剤へと変換されるが、それ自体は活性を有していないか、または抗癌薬のものとは定量的もしくは定性的に異なる活性を有している分子である。10

【0030】

本明細書において使用されるように、「抗癌薬レジメン」、「化学療法薬物レジメン」、「抗癌薬物プロトコル」、または「化学療法プロトコル」とは、どのような治療を癌患者が受けるか、正確には、いつ、どのような投薬量で各々が与えられるかの正式の概要または計画である。

【0031】

本明細書において使用されるように、「チミジル酸シンターゼの葉酸補因子」または「T S の葉酸補因子」とは、5 - F U によるチミジル酸シンターゼの阻害を増強することができる 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A またはポリグルタミン酸型 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A のような還元型葉酸分子である。本明細書において使用されるように、「チミジル酸シンターゼの葉酸補因子」は、チミジル酸シンターゼの阻害を増強する葉酸分子の前駆体またはプロドラッグであってもよい。例えば、フォリン酸（5 - ホルミル - テトラヒドロ葉酸、ロイコボリン）のような葉酸補因子は、体内で 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A およびポリグルタミン酸型 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A へと変換され得る。20

【0032】

「毒性」とは、身体の細胞、組織、器官、または系に対する実体の有害な効果をさす。毒性効果は、治療を受ける被験体の細胞または組織との実体の生化学的反応に起因し、全身性であるかもしれないし、または特定の系もしくは器官を含む、特異的なものであるかもしれない。毒性には、非制限的な例として、増加した流涙；粘膜炎；食道咽頭炎；感覚異常（parasthesias）、不眠、および眩暈のような神経学的毒性；恶心、嘔吐、および下痢のような胃腸毒性；体重減少毒性；心臓毒性；脱毛、発汗、および発疹を含む皮膚科学的毒性；ならびに好中球減少、血小板減少、リンパ球減少、および白血球減少（これらに制限はされない）のような血液学的毒性が含まれる。毒性パラメータの臨床的な定義は、国立癌研究所の共通毒性基準（National Cancer Institute's Common Toxicity Criteria）（バージョン3）または世界保健機関の毒性基準（World Health Organization Toxicity Criteria）に見出され得る。30

【0033】

抗癌治療または化学療法レジメンの「効力」は、抗腫瘍効果または抗癌細胞効果、ならびに、例えば、寛解、進行までの時間、応答率、および生存期間のような治療の臨床的な結果を改良する能力により決定される。抗癌治療または化学療法レジメンの効力を査定する容認された方法は、癌治療の分野においてよく確立されている。例えば、抗癌効果は、例えば、血清中または血漿中の癌細胞またはマーカーを検出することにより査定され得る。検出され得る腫瘍タンパク質または抗原の例には、結腸癌に関する C E A および膵臓癌に関する C A 1 9 - 9 が含まれる。固形腫瘍の場合、抗腫瘍効果は、腫瘍サイズ、および経時的な腫瘍サイズの変化をモニタリングすることにより測定され得る。臨床研究において、病巣の数、腫瘍サイズ、および腫瘍増殖速度は、ラジオグラフィ、断層撮影法によってモニタリングされ得、可能な場合には、腫瘍量の直接測定によりモニタリングされ得る4050

。抗腫瘍効果は、ELISA、PCR、ウェスタンブロッティング、または免疫細胞化学のような分子生物学および生化学の技術を使用しても測定され得る。

【0034】

【表1】

表1 研究中の結腸直腸癌

カテゴリー	薬物	会社	メカニズム
1	ABT-751	Abbott Laboratories	マイクロチューブリンインヒビター
1	エポチロン(Epothilone)D	Kosan Biosciences	マイクロチューブリンインヒビター
2	105AD7	Onyx	抗イディオタイプワクチン
2	BCG	Intracel	ミコバクテリウム自己ワクチン
2	EP2101	Epimmune	ペプチドワクチン
2	変異 ras + IL-2 ワクチン	NCI	樹状細胞ワクチン
2	SGN-00101	Stressgen	BCGワクチン
3	ABX-EGF (パニツムマブ(panitumumab))	Abgenix	抗 EGFR
3	GW572016	GlaxoSmithKline	EGFR/ERBB2 インヒビター
3	BAY 43-9006	Bayer/Onyx	RAF/VEGF シグナル インヒビター
4	EKB-569	Wyeth-Ayerst	EGF レセプターキナーゼ インヒビター
4	エルロチニブ	Genentech	チロシンキナーゼインヒビター
4	ゲフィチナブ(Gefitinib)(Iressa)	AstraZeneca	EGFR チロシンキナーゼ インヒビター
4	PTK787/ZK 222584	Novartis	VEGFR チロシンキナーゼ インヒビター
4	E7070	Eisai Medical Research	Cdk2 およびサイクリンEの インヒビター
5	セレコキシブ(Celebrex)	Pfizer	非ステロイド性抗炎症薬
5	ロフェコキシブ(Vioxx)	Merck	非ステロイド性抗炎症薬
6	GM-CSF		サイトカイン
6	インターフェロンα		サイトカイン
6	インターフェロンβ		サイトカイン
6	TNFade	Genvec	アデノウイルスTNF サイトカイン
7	DAVANAT	Pro-Pharmaceuticals	5-FUを細胞へと標的化する 炭水化物結合剤
7	エトボシド	Schering Plough	ファルネシルトランスフェラーゼ インヒビター
7	LMB-9	NCI	ルイス Y 抗体
8	イマチニブ(Gleevec)	Novartis	
8	オブリメルシン(Oblimersin)	Genta	BCL-2 インヒビター
9	テザシタビン	Chiron	ヌクレオシドアナログ
10	アンチネオプラスチン	Burzynski Research Inst.	
10	ヤドリギ抽出物 (ヘリキソア(Helixor)A)	NCCAM	
10	N-ホスホニアセチル-L-アスパラギン酸(PALA)		5-FU 調節因子
10	PHY906	PhytoCeutica	抗下痢薬
10	タラボルフィンナトリウム(LS11)	Light Sciences Corp.	光により活性化される薬物
10	サリドマイド	NCI	抗血管薬

¹マイクロチューブリンインヒビター⁶サイトカイン²ワクチン⁷炭水化物／脂質³EGFR/VEGFR 標的⁸アボーシスレギュレーター⁴チロシンキナーゼ／転写因子インヒビター⁹ヌクレオシドアナログ⁵非ステロイド性抗炎症薬¹⁰その他

10

20

30

40

(I . 5 - FU 、 5 , 10 - CH₂ - THFA 、および少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬を含む組み合わせ療法を使用して、癌を有する患者を治療する方法)

本発明は、5 - 5 - FU または 5 - FU のアナログもしくはプロドラッグ ; 5 , 10 - CH₂ - THFA ; および 1 つ以上の付加的な抗癌薬を含む組み合わせ化学療法により癌患者を治療する方法を提供する。1 つ以上の付加的な抗癌薬は、特異的結合メンバー、タンパク質、(アンチセンス分子、リボザイム、および siRNA (これらに制限はされな

50

い)のような)核酸もしくは核酸アナログ、脂質、ステロイド、高分子、低分子、または金属を含む化学療法剤(これらに制限はされない)を含む、任意の型の1つ以上の化学療法剤であり得る。1つ以上の抗癌薬には、トポイソメラーゼインヒビター(例えば、イリノテカン、トポテカン)、代謝拮抗物質(例えば、メトトレキサート、ゲムシタビン(gemcitabine)、テザシタビン)、5-FU調節因子、アルキル化剤(例えば、シクロホスファミド、カルムスチン)、核酸生合成インヒビター(例えば、マイトマイシン、ドキソルビシン、シスプラチニン、オキサリプラチニン)、微小管破壊薬(例えば、パクリタキセル、ドセタキセル、ビノレルビン(vinorelbine)、ビンクリスチン)、ホルモン遮断薬(例えば、タモキシフェン)、レセプターチロシンキナーゼおよび非レセプターチロシンキナーゼ(これらに制限はされない)を含むキナーゼのインヒビター(例えば、Iressa、Tarceva、SU5416、PTK787、Gleevec)、プロテオソームインヒビター(例えば、ボルテゾミブ(bortezomib))、免疫調節因子(例えば、レバミゾール)、抗炎症薬、血管新生インヒビター、サイトカイン(例えば、インターロイキン、腫瘍壊死因子)、ならびにサイトカイン、ホルモン、またはサイトカインもしくはホルモンのレセプターの活性を阻害する薬物(例えば、抗VEGF抗体ベバシツマブ(bevacizumab)または「アバスチン」)(これらに制限はされない)のような1つ以上の化学療法剤が含まれ得る。抗癌薬は、表1に列挙されたもののような抗癌活性の可能性について調査中の薬物であってもよい。抗癌薬には、サイトカイン、ホルモン、またはホルモンレセプターに結合するモノクローナル抗体(例えば、アバスチン、エルビタックス(erbitux)、ハーセプチントーナー(herceptin)のようなEGFまたはVEGF増殖因子の活性化を遮断する抗体)(これらに制限はされない)などのようなモノクローナル抗体が含まれる。

10

20

30

【0035】

その方法は、5-FUまたはそのアナログもしくはプロドラッグ; 5,10-CH₂-THFA; および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を、癌を有する患者に投与することを含む。本明細書において使用されるように、「付加的な」抗癌薬とは、5,10-CH₂-THFA、5-FUもしくは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、またはロイコボリンではない抗癌薬である。

30

【0036】

癌患者は、任意の型の癌を有する患者であり得る。本発明のいくつかの好ましい実施形態において、患者は、例えば、結腸直腸癌、肺腺癌、乳癌、頭頸部癌、食道癌、または胃癌のような現在の実務において5-FUにより一般的に治療されている腫瘍型を有している。本発明のいくつかの好ましい実施形態において、患者は、卵巣癌または子宮頸癌(これらに制限はされない)のような、現在の実務において5-FUにより一般的に治療されていない腫瘍型を有している。また、本発明者らは、5,10-CH₂-THFA、5-FU(またはそのアナログもしくはプロドラッグ)、および1つ以上の付加的な抗癌薬を使用する組み合わせ療法が5-FUにより現在一般的に治療されているもの以外の癌を治療するための可能性を有していることを企図する。

40

【0037】

癌治療および化学療法の分野の当業者は、毒性および効力の評価のためのよく確立されているプロトコルを使用して、5,10-CH₂-THFAおよび5-FUの最適の投薬量およびレジメンを決定することができよう。5-FUおよび5,10-CH₂-THFAによる癌患者のいくつかの好ましい治療は、1m²当たり10mgから1gの5,10-CH₂-THFA、好ましくは1m²当たり20mgから500mgの5,10-CH₂-THFA、より好ましくは1m²当たり約30mgから約250mgの5,10-CH₂-THFAを使用したレジメンである。例えば、5,10-CH₂-THFAの好ましい用量は1m²当たり約30から約120mgであり得る。上記のものは、例えば、癌の型およびグレード、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的および臨床的な所見に基づき、増大または改変させられ得る、一般的な指針に過ぎない。

50

【0038】

5-FUの投薬量は、1m²当たり約25mgから約5gであり得、好ましくは1m²当たり約50mgから2.5g、より好ましくは1m²当たり約100mgから約1gである。例えば、5-FUの好ましい用量は、1m²当たり約250から約700mgであり得る。上記のものは、例えば、癌の型およびグレード、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的および臨床的な所見に基づき、増大または改変させられ得る、一般的な指針に過ぎない。5-FUは、注射またはIV供給を含む任意の実行可能な手段により投与され得る。

【0039】

いくつか的好ましい実施形態において、5-FU自体ではなく5-FUのプロドラッグまたはアナログが、組み合わせ療法において使用される。患者の組織において、5-FUは、チミジル酸シンターゼのインヒビターである5-フルオロ-2'-デオキシリジレート(FdUMP)へと変換される。本願において、「5-FUのアナログまたはプロドラッグ」とは、FdUMPのようなチミジル酸シンターゼのインヒビターへと直接的または間接的に変換され得るアナログまたはプロドラッグを意味するために使用される。本発明の方法において使用され得る5-FUの1つのプロドラッグは、N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタビン)である。1つの好ましい実施形態において、本発明の方法は、N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタビン); 5,10-CH₂-THFA; および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を、癌を有する患者に投与することを含む。カペシタビンの投薬量は、熟練した医師により決定され得、一部分、投与の頻度に依る。例えば、カペシタビンの1日投薬量は、1m²当たり約500mgから約7500mg、好ましくは1m²当たり約1000mgから約5000mg、より好ましくは1m²当たり約1500mgから約3000mgであり得る。用量は、1日1~6(好ましくは2)回の投与へと分割され得る。上記のものは、例えば、癌の型およびグレード、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的および臨床的な所見に基づき、増大または改変させられ得る、一般的な指針に過ぎない。カペシタビンは、注射、IV供給、または経口処方物を含む任意の実行可能な手段によって投与され得る。

【0040】

本発明の方法において使用され得るアナログの組み合わせは、UFTとして公知の1:4の組み合わせで使用されるテガフル(TF)およびウラシル(U)である。1つの好ましい実施形態において、本発明の方法は、UFT; 5,10-CH₂-THFA; および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を、癌を有する患者に投与することを含む。UFTの投薬量は、熟練した医師により決定され得、部分的に、投与の頻度に依る。例えば、UFTの1日投薬量は、1m²当たり約50mgから約3000mg、好ましくは1m²当たり約100mgから約2000mg、より好ましくは1m²当たり約200mgから約1000mgであり得る。UFTを含む抗腫瘍レジメンは、場合により、UFTと共に投与されるフォリン酸カルシウムを含み得る。上記のものは、例えば、癌の型および悪性度、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的および臨床的な所見に基づき、増大または改変され得る、一般的な指針に過ぎない。UFTは、注射、IV注入、または経口処方物を含む任意の実行可能な手段によって投与され得る。

【0041】

本発明の多重薬物レジメンにおいて使用される1つ以上の付加的な抗癌薬の投薬量も、投薬量の上昇ならびに毒性および効力のモニタリングを使用した研究により決定され得る。化学療法レジメンにおいて独立に使用されている組み合わせ療法において使用される抗癌薬の投薬量の決定において、実務者は、確立されている化学療法レジメンにおいて使用されている薬物の投薬量を考慮に入れ得る。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 2 】

5 , 1 0 - C H₂ - T H F A と組み合わせられた場合の 5 - F U (またはそのアナログもしくはプロドラッグ) の低下した毒性は、 C H₂ - T H F A の非存在下においては非常に毒性である 1 つ以上の付加的な抗癌薬と組み合わせて、 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A および 5 - F U (またはそのアナログもしくはプロドラッグ) が使用される薬物レジメンを許容し得る。

【 0 0 4 3 】

薬物は、資格のある医師により決定され得るレジメンに従って、静脈内投与、経口投与、またはその他の任意の実行可能な手段により投与され得る。本発明の組み合わせプロトコルにおいて使用される抗癌薬は、別々に投与されてもよいし、または、組み合わせプロトコルにおいて使用される抗癌薬のうちの 1 つ以上が、一緒に投与されてもよい。 1 つ以上の抗癌薬が別々に投与される場合、各薬物の投与のタイミングおよびスケジュールは、変動し得る。10

【 0 0 4 4 】

例えば、各薬物のボーラス注射が、多くの週にわたり週 1 回与えられ得る。好ましくは、 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A は、 5 - F U または 5 - F U のアナログもしくはプロドラッグの前に投与される。例えば、患者は、 5 - F U の投薬を受ける約 10 分から約 4 時間前に、 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A の投薬を受け得る。組み合わせ療法において使用される付加的な抗癌薬は、 5 - F U (またはそのアナログもしくはプロドラッグ) の投与の前、投与の間、もしくは投与の後に投与されてもよいし、または患者が 5 - F U (またはそのアナログもしくはプロドラッグ) および 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A を受けない期間に投与されてもよい。組み合わせ療法のためのプロトコルは、限定的ではなく、頻度、期間、および投薬量に関する多くの実行可能な投与プロトコルを含み得る。20

【 0 0 4 5 】

本発明のこの局面のいくつかの実施形態において、 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A 、 5 - F U (またはそのアナログもしくはプロドラッグ) および 1 つ以上の付加的な抗癌薬による癌患者の処置は、 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A および 5 - F U (またはそのアナログもしくはプロドラッグ) の非存在下での 1 つ以上の付加的な抗癌薬による患者の処置と比較して、または 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A の非存在下での 5 - F U (またはそのアナログもしくはプロドラッグ) および 1 つ以上の付加的な抗癌薬による患者の処置と比較して、癌患者における腫瘍増殖の速度を低下させ得る。30

【 0 0 4 6 】

本発明のこの局面のいくつかの実施形態において、 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A 、 5 - F U (またはそのアナログもしくはプロドラッグ) 、および 1 つ以上の付加的な抗癌薬による癌患者の処置は、 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A および 5 - F U (またはそのアナログもしくはプロドラッグ) の非存在下での 1 つ以上の付加的な抗癌薬による患者の処置と比較して、または 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A の非存在下での 5 - F U (またはそのアナログもしくはプロドラッグ) および 1 つ以上の付加的な抗癌薬による患者の処置と比較して、癌患者の生存率を増加させ得る。40

【 0 0 4 7 】

(I I . 5 - F U 、 5 , 1 0 - メチレンテトラヒドロ葉酸、および少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬を含む癌の処置のための組成物)

本発明の第 2 の局面は、 5 - F U またはそのアナログもしくはプロドラッグ、 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A 、および少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬 : を含む、癌の処置のための組成物である。 1 つ以上の付加的な抗癌薬は、特異的結合メンバー、タンパク質、(アンチセンス分子、リボザイム、および s i R N A (これらに限定されない) のような) 核酸もしくは核酸アナログ、脂質、ステロイド、高分子、低分子、または金属を含む化学療法剤 (これらに限定されない) を含む、任意の型の 1 つ以上の化学療法剤であり得る。 1 つ以上の抗癌薬には、トポイソメラーゼインヒビター (例えば、イリノテカン、トポテカン) 、代謝拮抗物質 (例えば、メトトレキサート、ゲムシタビン) 、有糸分裂インヒビタ50

一、5-フルオロウラシル調節因子、アルキル化剤（例えば、シクロホスファミド、カルムスチン）、核酸生合成インヒビター（例えば、マイトイシン、ドキソルビシン、シスプラチン、オキサリプラチン）、微小管破壊薬（例えば、パクリタキセル、ドセタキセル、ビノレルビン（vinorelbine）、ピンクリスチン）、ホルモン遮断薬（例えば、タモキシフェン）、レセプターチロシンキナーゼおよび非レセプターチロシンキナーゼ（これらに限定されない）を含むキナーゼのインヒビター（例えば、Iressa、Tarceva、SU5416、PTK787、Gleevec）、プロテオソームインヒビター（例えば、ボルテゾミブ）、免疫調節因子（例えば、レバミゾール）、抗炎症薬、血管新生インヒビター、サイトカイン（例えば、インターロイキン、腫瘍壞死因子）、ならびにサイトカイン、ホルモン、またはサイトカインもしくはホルモンのレセプターの活性を阻害する薬物（例えば、抗VEGF抗体ベバシツマブまたは「Avastin」）（これらに限定されない）：のような1つ以上の化学療法剤が含まれ得る。抗癌薬はまた、表1に列挙されたもののような可能性のある抗癌活性のため調査中の薬物であり得る。抗癌薬には、サイトカイン、ホルモン、またはホルモンレセプターに結合するモノクローナル抗体（例えば、Avastin、エルビタックス（erbitux）、ハーセプチニンのようなEGFまたはVEGF増殖因子の活性化を阻止する抗体）等（これらに限定されない）のようなモノクローナル抗体が含まれる。

10

20

【0048】

本発明は、薬学的組成物として処方された5-FU（またはそのアナログもしくはプロドラッグ）、5，10-CH₂-THFA、および1つ以上の付加的な抗癌薬を含む抗癌薬の組み合わせを包含する。抗癌薬の組み合わせは1つ以上の薬学的処方物を含み得る。例えば、5-FU（またはそのアナログもしくはプロドラッグ）、5，10-CH₂-THFA、および1つ以上の付加的な抗癌薬は、各々、別々の処方物として提供され得る。代替的に、5-FU（またはそのアナログもしくはプロドラッグ）、5，10-CH₂-THFA、および1つ以上の付加的な抗癌薬のうちの2つ以上が、1つの処方物で一緒に提供され得る。本発明の多重薬物抗癌レジメンにおいて使用される別々の処方物は、同一の投与経路または異なる投与経路のために設計され得る。

30

30

【0049】

（III.癌の処置のための薬学的組成物の製造における、5-FU、5，10-メチレンテトラヒドロ葉酸、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬の使用）

本発明はまた、癌の処置のための薬学的組成物の製造における5-FUまたはそのアナログもしくはプロドラッグ、5，10-CH₂-THFA、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬の使用を包含する。少なくとも1つの付加的な抗癌薬は、トボイソメラーゼインヒビター（例えば、イリノテカン、トポテカン）、代謝拮抗物質（例えば、メトトレキサート、ゲムシタビン）、有糸分裂インヒビター、5-Fu調節因子、アルキル化剤（例えば、シクロホスファミド、カルムスチン）、核酸生合成インヒビター（例えば、マイトイシン、ドキソルビシン、シスプラチン、オキサリプラチン）、微小管破壊薬（例えば、パクリタキセル、ドセタキセル、ビノレルビン（vinorelbine）、ピンクリスチン）、ホルモン遮断薬（例えば、タモキシフェン）、レセプターチロシンキナーゼおよび非レセプターチロシンキナーゼ（これらに限定されない）を含むキナーゼのインヒビター（例えば、Iressa、Tarceva、SU5416、PTK787、グリーベック）、プロテオソームインヒビター（例えば、ボルテゾミブ）、免疫調節因子（例えば、レバミゾール）、抗炎症薬、血管新生インヒビター、サイトカイン（例えば、インターロイキン、腫瘍壞死因子）、ならびにサイトカイン、ホルモン、またはサイトカインもしくはホルモンのレセプターの活性を阻害する薬物（例えば、ベバシツマブまたは「Avastin」）：のいずれかであり得る。その使用には、単一の処方物として、または複数の処方物としての薬学的組成物の製造が含まれる。例えば、5-FUが注射可能な一定分量として提供され、5，10-CH₂-THFAおよび少なくとも1つの付加的な抗癌薬が、5-FUの投薬の前に投与される付加的な注射可能な一定分量として提供され得る。代替的に、5-FU、5，10-CH₂-THFA、および少なくとも1つの付加的な抗

40

50

癌薬は、各々が別々に投与され得るように、全て別々の処方物で提供され得、その場合、各薬物の一定分量は、特定の組み合わせ薬物レジメンに適切な用量を有するように製造される。

【0050】

薬学的組成物は、保管および好ましくはその後の投与のために調製された薬学的に受容可能なキャリアを含み、薬学的に受容可能なキャリアまたは希釈剤の中に薬学的に有効な量の化合物を有する。治療的な使用のための受容可能なキャリアまたは希釈剤は、薬学分野において周知であり、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1990) に記載されている。薬学的組成物には、保存剤、安定剤、色素が提供され得、矯味矯臭剤さえも提供され得る。例えば、安息香酸ナトリウム、アスコルビン酸、およびp-ヒドロキシ安息香酸のエステルが、保存剤として添加され得る。さらに、抗酸化剤および懸濁化剤が使用され得る。10

【0051】

標的組織に依って、本発明の薬学的組成物は、経口投与用の錠剤、カプセル、または溶液；局所適用用の軟膏(salve)または軟膏(ointment)；直腸投与用の坐剤；吸入剤または鼻腔用スプレーとして使用するための無菌の溶液、懸濁剤等として処方され使用され得る。注射剤も、液状の溶液もしくは懸濁剤として、注射の前に液体に溶解もしくは懸濁させるのに適している固形の形態として、または乳濁剤として、従来の形態で調製され得る。適当な賦形剤は、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、マンニトール、乳糖、レシチン、アルブミン、グルタミン酸ナトリウム、塩酸システイン等である。20さらに、所望により、注射可能な薬学的組成物は、湿潤剤、pH緩衝剤等のような微量の非毒性の補助物質を含有し得る。20

【0052】

一用量として必要とされる組成物の薬学的に有効な量は、投与経路、処置される癌の型、および患者の身体的特徴に依る。用量は、所望の効果を達成するために調整され得るが、体重、食事、同時の薬物治療、および医学分野の当業者が認識するその他の因子のような因子に依る。本発明の方法の実施において、薬学的組成物は、単独で使用されるか、または他の治療剤もしくは診断剤と組み合わせられて使用され得る。薬学的組成物は、多様な剤形を利用して、局所、非経口、静脈内、皮下、筋肉内、結腸、直腸、経鼻、または腹腔内(intraperitoneally)を含む多様な方式で患者に投与され得る。好ましくは、薬学的組成物は、非経口投与、静脈内投与、または経口投与される。そのような方法は、インビボでの試験化合物の活性の試験においても使用され得る。30

【0053】

懸濁剤として経口投与される場合、本発明の組成物は、薬学的処方の分野において周知の技術に従って調製され、かさを与えるための微晶質セルロース、懸濁剤としてのアルギン酸またはアルギン酸ナトリウム、粘性増強剤としてのメチルセルロース、および当技術分野において公知の甘味剤／矯味矯臭剤を含有し得る。即放型の錠剤としてこれらの組成物は、当技術分野において公知の微晶質セルロース、第二リン酸カルシウム、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、ならびに乳糖および／またはその他の賦形剤、結合剤、增量剤(extender)、崩壊剤、希釈剤、および滑沢剤を含有し得る。マウスウォッシュまたはリンスの処方物の成分には、抗微生物薬、界面活性剤、補助界面活性剤(cosurfactant)、油、水、および当技術分野において公知の甘味剤／矯味矯臭剤のようなその他の添加剤が含まれる。40

【0054】

飲用溶液により投与される場合、組成物は、適切にpHを調整しながら、キャリアを用いて、水に溶解され本発明の化合物のうちの1つ以上を含む。化合物は、蒸留水、生水、湧水等に溶解され得る。pHは、好ましくは、約3.5と約8.5との間に調整され得る。甘味剤、例えば、1% (w/v) ショ糖が添加され得る。

【0055】

10

20

30

40

50

本発明の処方物は、(1) pHを調整するためのその他の酸および塩基；(2)ソルビトル、グリセリン、およびデキストロースのようなその他の張力付与剤；(3)その他のパラヒドロキシ安息香酸エステル、ソルベート、ベンゾエート、プロピオネート、クロルブタノール、フェニルエチルアルコール、塩化ベンザルコニウム、および水銀剤のような他の抗微生物性保存剤；(4)ナトリウムカルボキシメチルセルロース、微晶質セルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、およびその他のゴムのような他の粘性付与剤；(5)適当な吸収増強剤；(6)亜硫酸水素塩およびアスコルベートのような抗酸化剤、エデト酸ナトリウムのような金属キレート化剤、およびポリエチレンリコールのような薬物可溶性増強剤のような安定剤；を含むよう変動し得る。

【0056】

(IV. 5-FUを含む抗癌薬物処置レジメンの患者に対する毒性を減少させる方法)

本発明はまた、薬物レジメンに5,10-CH₂-THFAを追加することにより、癌患者への5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグを含む癌薬物処置レジメンの患者に対する毒性を減少させる方法を提供する。

【0057】

1つの局面において、その方法は、5-FUまたはそのアナログもしくはプロドラッグを含む抗癌薬物プロトコル入手すること、および患者に対する低下した毒性を有する抗癌薬物プロトコル入手するため、抗癌薬物プロトコルに5,10-CH₂-THFAを追加すること：を含む。5-FUまたはそのアナログもしくはプロドラッグの投与を含む、癌薬物処置の毒性を減少させる方法は、5-FUの毒性を低下させるため、5-FUの投与の前、投与後、または投与と同時に5,10-5,10-CH₂-THFAを患者に投与することを含む。好ましくは、5,10-CH₂-THFAの投与は5-FUの投与の前である。本発明のこの局面のいくつかの好ましい実施形態において、5,10-CH₂-THFAは、5-FUの血液学的毒性を低下させるため、5-FUを受容する患者に投与される。本発明のこの局面の好ましい実施形態において、5-FUおよび5,10-CH₂-THFAは、ロイコボリン（フォリン酸、FA）の非存在下で患者に投与される。

【0058】

癌患者は、任意の型の癌を有する患者であり得る。5-FUを受容する癌患者に5,10-CH₂-THFAが投与される本発明のいくつかの好ましい実施形態において、患者は、例えば、結腸直腸癌、肺腺癌、乳癌、頭頸部癌、食道癌、または胃癌のような、5-FUにより現在処置されている腫瘍型を有している。

【0059】

本発明は、5,10-CH₂-THFAが、腫瘍増殖の速度を低下させ、生存率を増加させる5-FUの効力を増加させつつ、非腫瘍細胞に対する5-FUの毒性を低下させるという驚くべき結果に基づく。実施例1および実施例2に開示されるように、5,10-CH₂-THFAおよび5-FUによる処置は、5-FU単独、またはロイコボリン（フォリン酸）と組み合わせられた5-FUによる処置と比べて、腫瘍を有する動物の腫瘍増殖速度を低下させ、生存率を増加させつつ、いずれの処置よりも動物に対して低い毒性を示す。

【0060】

本明細書において使用される場合、「毒性を低下させる」とは、患者に対する全身的な毒性効果または患者の非癌性細胞に対する毒性効果を低下させることをさす。毒性には、非限定的な例として、増加した流涙；粘膜炎；食道咽頭炎；知覚異常（parasthesias）、不眠、および眩暈のような神経学的毒性；恶心、嘔吐、および下痢のような胃腸毒性；体重減少毒性；心臓毒性；脱毛、発汗、および発疹を含む皮膚科学的毒性；ならびに好中球減少、血小板減少、リンパ球減少、および白血球減少（これらに限定されない）のような血液学的毒性が含まれる。

【0061】

本発明のこの局面のいくつかの好ましい実施形態において、5,10-CH₂-THF

10

20

30

40

50

Aは、5-FUによる処置に関連した血液学的毒性の程度を低下させるため、5-FUとの組み合わせ療法において投与される。例えば、5-FUと一緒に5,10-CH₂-THFAの投与は、5-FUおよびロイコボリン(フォリン酸)を含む化学療法レジメン(これに制限はされない)を含む、5-FUを含む化学療法レジメンに関連した好中球減少、血小板減少、リンパ球減少、または白血球減少を低下させ得る。

【0062】

癌処置および化学療法の分野の当業者は、毒性および効力の評価のための十分に確立されているプロトコルを使用して、5,10-CH₂-THFAおよび5-FUの最適な投薬量およびレジメンを決定し得る。5-FUおよび5,10-CH₂-THFAによる癌患者のいくつかの好ましい処置は、1m²当たり10mgから1gの5,10-CH₂-THFA、好ましくは1m²当たり20mgから500mgの5,10-CH₂-THFA、より好ましくは1m²当たり約30mgから約250mgの5,10-CH₂-THFAを使用したレジメンである。例えば、5,10-CH₂-THFA的好ましい用量は、1m²当たり約30mgから約120mgであり得る。上記のものは、例えば、癌の型および悪性度、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的および臨床的な所見に基づき、増大または改変され得る、一般的な指針に過ぎない。

【0063】

5-FUの投薬量は、1m²当たり約25mgから約5gであり得、好ましくは1m²当たり約50mgから2.5g、より好ましくは1m²当たり約100mgから約1gである。例えば、5-FU的好ましい用量は、1m²当たり約250mgから約700mgであり得る。上記のものは、例えば、癌の型および悪性度、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的および臨床的な所見に基づき、増大または改変され得る、一般的な指針に過ぎない。5-FUは、注射またはIV注入を含む任意の実行可能な手段により投与され得る。

【0064】

いくつかの好ましい実施形態において、5-FU自体ではなく5-FUのプロドラッグまたはアナログが、組み合わせ療法において使用される。患者の組織において、5-FUは、チミジル酸シンターゼのインヒビターである5-フルオロ-2'-デオキシリジレート(FdUMP)へと変換される。本出願において、「5-FUのアナログまたはプロドラッグ」とは、FdUMPのようなチミジル酸シンターゼのインヒビターへと直接的または間接的に変換され得るアナログまたはプロドラッグを意味するために使用される。本発明の方法において使用され得る5-FUの1つのプロドラッグは、N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カベシタビン)である。1つの好ましい実施形態において、本発明の方法は、N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カベシタビン); 5,10-CH₂-THFA; および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を、癌を有する患者に投与することを含む。カベシタビンの投薬量は、熟練した医師により決定され得、部分的に、投与の頻度に依る。例えば、カベシタビンの1日投薬量は、1m²当たり約500mgから約7500mg、好ましくは1m²当たり約1000mgから約5000mg、より好ましくは1m²当たり約1500mgから約3000mgであり得る。用量は、1日1~6回(好ましくは2回)の投与へと分割され得る。上記のものは、例えば、癌の型および悪性度、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的および臨床的な所見に基づき、増大または改変され得る、一般的な指針に過ぎない。カベシタビンは、注射、IV注入、または経口処方物を含む任意の実行可能な手段によって投与され得る。

【0065】

本発明の方法において使用され得るアナログの組み合わせは、UFTとして公知の1:4の組み合わせで使用されるテガフル(TF)およびウラシル(U)である。1つの好

10

20

30

40

50

ましい実施形態において、本発明の方法は、UFT；5，10-CH₂-THFA；および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を、癌を有する患者に投与することを含む。UFTの投薬量は、熟練した医師により決定され得、一部分、投与の頻度に依る。例えば、UFTの1日投薬量は、1m²当たり約50mgから約3000mg、好ましくは1m²当たり約1000mgから約2000mg、より好ましくは1m²当たり約200mgから約100mgであり得る。UFTを含む抗癌レジメンは、場合により、UFTと共に投与されるフォリン酸カルシウムを含み得る。上記のものは、例えば、癌の型および悪性度、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的および臨床的な所見に基づき、増大または改変され得る、一般的な指針に過ぎない。UFTは、注射、IV注入、または経口処方物を含む任意の実行可能な手段によって投与され得る。

10

【0066】

カペシタビンを使用する抗癌薬物プロトコルのいくつかの例は、Blum JL, et al. 「Multicenter phase II study of capecitabine in paclitaxel-refractory metastatic breast cancer.」 J Clin Oncol 1999; 17: 485-93; Hoff et al. 「Comparison of oral capecitabine versus intravenous fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment in 605 patients with metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase III study.」 J Clin Oncol 2001; 19(8): 2282-92; およびVan Cutsem E, et al. 「Oral capecitabine compared with intravenous fluorouracil plus leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer: results of a large phase III study.」 J Clin Oncol 2001; 19(21): 4097-106 (全て、特に、カペシタビンを使用した化学療法レジメンの開示のため、参考として本明細書に援用される)に記載されている。本発明は、カペシタビン処置の毒性を低下させるために、カペシタビンを含むプロトコルにおいて5,10-CH₂-THFAを投与することを含む。

20

30

30

【0067】

例えば、1つのプロトコルは、2週間、1日2回カペシタビン(1m²当たり1000～1250mg)を投与した後、1週間の休薬期間を置き、次いでさらなる3週間のサイクルを行うことを含む。5,10-CH₂-THFAは、例えば、これらのようなプロトコルに追加され得、プロトコルは毒性および効力に関する臨床試験に基づき最適化され得る。

40

【0068】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、5,10-5,10-CH₂-THFAを同時投与することにより、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグおよび付加的な抗癌薬(5-FUまたはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外)を癌を有する患者に投与することを含む抗癌処置の毒性を減少させる方法を含む。その方法は、5-フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグおよび少なくとも1つの付加的な抗癌薬を含む抗癌薬物プロトコル入手すること、ならびに患者に対する低下した毒性を有する抗癌薬物プロトコル入手するために、抗癌薬物プロトコルに5,10-CH₂-THFAを追加すること:を含む。

【0069】

付加的な抗癌薬は、非限定的に、トポイソメラーゼインヒビター(例えば、イリノテカン、トポテカン)、代謝拮抗物質(例えば、メトレキサート、ゲムシタビン)、5-フルオロウラシル調節因子、アルキル化剤(例えば、シクロホスファミド、カルムスチン)

50

、核酸生合成インヒビター（例えば、マイトマイシン、ドキソルビシン、シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチン）、微小管破壊薬（例えば、パクリタキセル、ドセタキセル、ビノレルビン（vinorelbine）、ビンクリスチン）、ホルモン遮断薬（例えば、タモキシフェン）、レセプターチロシンキナーゼおよび非レセプターチロシンキナーゼ（これらに限定されない）を含むキナーゼインヒビター（例えば、Iressa、Tarceva、SU5416、PTK787、グリーベック）、プロテオソームインヒビター（例えば、ボルテゾミブ）、免疫調節因子（例えば、レバミゾール）、抗炎症薬、血管新生インヒビター、サイトカイン（例えば、インターロイキン、腫瘍壞死因子）、またはサイトカイン、ホルモン、もしくはサイトカインもしくはホルモンのレセプターの活性を阻害する薬物（例えば、ベバシツマブ（Avastin）、セツキシマブ（cetuximab）（エルビタックス（erbitux））を含む、任意の型の抗癌薬であり得る。抗癌薬は、表1に列挙されたもののような可能性のある抗癌活性のため調査中の薬物であり得る。抗癌薬には、サイトカイン、ホルモン、またはホルモンレセプターに結合するモノクローナル抗体（例えば、Avastin、エルビタックス（erbitux）、ハーセプチニンのようなEGFまたはVEGF増殖因子の活性化を阻止する抗体）等（これらに限定されない）のようなモノクローナル抗体が含まれる。本発明の方法は、複数の付加的な抗癌薬が、5-FUと組み合わせて使用される方法を含む。

10

20

30

40

50

【0070】

5-FUまたはそのアナログもしくはプロドラッグおよび付加的な抗癌薬の投与を含む、癌薬物処置の毒性を減少させる方法は、5-FU（またはそのアナログもしくはプロドラッグ）の投与の前、投与後、または投与と同時に、5,10-5,10-CH₂-THFAを患者に投与することを含む。好ましくは、5,10-CH₂-THFAの投与は5-FUの投与の前である。付加的な抗癌薬は、5-FUの投与の前、投与後、または投与と同時に投与され得る。

【0071】

本発明の多重薬物レジメンにおいて使用される1つ以上の付加的な抗癌薬の投薬量もまた、投薬量の上昇ならびに毒性および効力のモニタリングを使用した研究により決定され得る。化学療法レジメンにおいて独立に使用されている組み合わせ療法において使用される抗癌薬の投薬量の決定において、実務者は、確立されている化学療法レジメンにおいて使用されている薬物の投薬量を考慮に入れ得る。

【0072】

5-FUを1つ以上の抗癌薬（チミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）と組み合わせた多数の化学療法プロトコルが、癌療法の領域において公知である。例えば、1つ以上の付加的な薬物（葉酸補因子以外）と組み合わせて5-FUを含む抗癌プロトコルには、シクロホスファミド、エピルビシン、およびフルオロウラシルを含む乳癌のための療法（これに限定されない）が含まれる（例えば、Levine MN, Bramwell VH, Pritchard KI et al. 「Randomized trial of intensive cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil chemotherapy compared with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in premenopausal women with node-positive breast cancer.」 J Clin Oncol 1998; 16(8): 2651-8（特に、5-FUを使用する抗癌プロトコルの開示のため、参考として本明細書に援用される）を参照のこと）。1つ以上の付加的な抗癌薬（葉酸補因子以外）と組み合わせて5-FUを含む抗癌プロトコルには、シクロホスファミド、ドキソルビシン、およびフルオロウラシルを含む乳癌のための療法も含まれる（例えば、Bennett JM, Muss HB, Doroshow JH, et al. 「A randomized multicenter trial comparing mitoxantrone, cyclophosphamide, and fluorouracil with doxorubicin, cyclophosphamide

e, and fluorouracil in the therapy of metastatic breast cancer.」J Clin Oncol 1988; 6(10): 1611-20 (特に、5-FUを含む抗癌プロトコルの開示のため、参考として本明細書に援用される)を参照のこと)。本発明は、化学療法レジメンの毒性を低下させるための、これらのような化学療法レジメンへの5,10-CH₂-THFAの追加を含む。

【0073】

処置の毒性を低下させるために5,10-CH₂-THFAが追加され得る抗癌プロトコルの別の例は、Keane TJ, Cummings BJ, O'Sullivan B, Payne D, Rawlinson E, Mackenzie R, Danjoux C, Hodson I. 「A randomized trial of radiation therapy compared to split course radiation therapy combined with mitomycin C and 5-fluorouracil as initial treatment for advanced laryngeal and hypopharyngeal squamous carcinoma.」IJ Radiation Oncology Biol Phys, 1993; 25(4): 613-8 (特に、5-FUを使用する抗癌プロトコルに関する開示のため、参考として本明細書に援用される)に開示されたような、マイトイシンCおよびフルオロウラシルの使用を含む頭頸部癌の処置のためのプロトコルである。この場合、抗癌処置プロトコルは、化学療法に加え、放射線療法を含む。

【0074】

処置の毒性を低下させるために5,10-CH₂-THFAが追加され得るさらにその他の型のプロトコルは、Keane TJ, Cummings BJ, O'Sullivan B, Payne D, Rawlinson E, Mackenzie R, Danjoux C, Hodson I. 「A randomized trial of radiation therapy compared to split course radiation therapy combined with mitomycin C and 5-fluorouracil as initial treatment for advanced laryngeal and hypopharyngeal squamous carcinoma.」IJ Radiation Oncology Biol Phys, 1993; 25(4): 613-8 (特に、5-FUを含む抗癌プロトコルに関する開示のため、参考として本明細書に援用される)に開示されたもののような、5-FUをマイトイシンCと組み合わせる抗癌プロトコル、およびCalais G, Alfonsi M, Bardet E, et al. 「Randomized trial of radiation therapy versus concomitant chemotherapy and radiation therapy for advanced-stage oropharynx carcinoma.」J Natl Cancer Inst 1999; 91: 2081-6 (特に、5-FUを含む抗癌プロトコルに関する開示のため、参考として本明細書に援用される)に開示されたような、カルボプラチニンの使用を5-FUと組み合わせるその他のものである。これらの処置において、抗癌処置プロトコルは、化学療法に加え、放射線療法を含む。

【0075】

本発明は、5,10-CH₂-THFAを同時投与することにより、5-FUのアナログまたはプロドラッグおよび付加的な抗癌薬(チミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外)を含むプロトコルの毒性を減少させる方法を含む。カペシタビンおよびドセタキセルを含む抗癌レジメンの例は、O'Shaughnessy J, et al. Superior survival with capecitabine plus docetaxel combination therapy in anthracycline 50

pre-treated patients with advanced breast cancer: phase III trial results. J Clin Oncol 2002; 20: 2812 - 23 (特に、カペシタビンを使用した抗癌プロトコルの開示のため、参考として本明細書に援用される) に開示されている。5 , 10 - CH₂ - THFA は、付加的な癌薬物と組み合わせてテガフル - ウラシル (UFT) を含むプロトコル、例えば、Felieu J. et al. "Phase II study of UFT and oxaliplatin in first-line treatment of advanced colorectal cancer." Br. J. Cancer 2004 91: 1758 - 62 (特に、UFTを使用した抗癌プロトコルの開示のため、参考として本明細書に援用される) に開示されたような、オキサリプラチンを含むプロトコルにも追加され得る。

10

20

30

40

50

【0076】

上記のプロトコルの参照は例にすぎず、決して限定的なものではない。処置の毒性を低下させるために 5 , 10 - CH₂ - THFA が追加され得る抗癌プロトコルは、科学文献および医学文献、ならびに病院、癌センター、および診療所の資源を含む信頼性のある情報源から入手され得る。5 , 10 - CH₂ - THFA の投与を含めることによりプロトコルの毒性を低下させる際、5 - FU、5 , 10 - CH₂ - THFA のいずれかまたは両方、そして妥当である場合には、1つ以上の付加的な抗癌薬の投薬量およびスケジュールを改変することは、本発明の範囲内である。そのような改変は、容認されている医学的実務に従い、処置に対する患者の反応をモニタリングする訓練された医師によってなされ得る。

【0077】

本発明のこの局面のいくつかの好ましい実施形態は、チミジル酸シンターゼの葉酸補因子としてのロイコボリンが 5 , 10 - CH₂ - THFA に置換される、5 - FU (またはそのアナログもしくはプロドラッグ) およびチミジル酸シンターゼの葉酸補因子を含む抗癌薬レジメンの毒性を低下させる方法を含む。その方法は、5 - FU またはそのアナログもしくはプロドラッグおよびロイコボリンを含む抗癌薬物プロトコルを入手すること；ならびに抗癌薬物プロトコルの中のロイコボリンを 5 , 10 - CH₂ - THFA に置き換えること：を含む。

【0078】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、レジメンの中のロイコボリンを 5 , 10 - CH₂ - THFA に置き換えることによりレジメンの毒性が減少する、カペシタビンまたは UFT (これらに限定されない) のような 5 - FU のアナログまたはプロドラッグおよびロイコボリンを含む抗癌薬レジメンの毒性を減少させる方法を含む。

【0079】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、薬物レジメンの中のロイコボリンを 5 , 10 - 5 , 10 - CH₂ - THFA に置き換えることにより、癌を有する患者への 5 - FU または 5 - FU のアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬 (5 - FU またはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外) を含む抗癌処置の毒性を減少させる方法を含む。その方法は、5 - FU またはそのアナログもしくはプロドラッグ；ロイコボリン；および少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬を含む抗癌薬物プロトコルを入手すること；ならびに抗癌薬物プロトコルの中のロイコボリンを 5 , 10 - CH₂ - THFA に置き換えること：を含む。

【0080】

5 , 10 - CH₂ - THFA の抗腫瘍活性およびロイコボリンと比較して減少した全身毒性、ならびにロイコボリンおよび 5 , 10 - CH₂ - THFA の類似した化学的および代謝的な経路のため、本発明者らは、ある範囲の現在の化学療法レジメンの中のロイコボリンを 5 , 10 - CH₂ - THFA に置き換え得ることを企図する。現在、一般的に 5 - FU + ロイコボリンと組み合わせて使用されている薬物の非限定的な例は、イリノテカン (CPT - 11) 、オキサリプラチン、ゲムシタビン、マイトマイシン C 、レバミゾール

、およびビノレルビンである。本発明は、これらのレジメンの中のロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置き換えた処置を含む。ロイコボリンの5,10-CH₂-THFAへの置換は、低下した毒性と共に、等価なまたは増強された処置効果を提供し得る。非限定的な例として、ロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置き換え得る現在の薬物組み合わせレジメンには、結腸直腸癌の処置において使用されている以下のプロトコルが含まれる：

- ・ A I O レジメン (フォリン酸、 5 - FU 、イリノテカン) :
 - ・ 5 2 週毎に、 4 週間、週 1 回、 1 日目に 2 時間かけてイリノテカン (1 0 0 m g / m²) を点滴 ; 1 日目に 2 時間かけてロイコボリン (5 0 0 m g / m²) を点滴 ; その後、 2 4 時間かけて移動式ポンプを介して 5 - FU (2 , 0 0 0 m g / m²) を静脈内 (IV) ボーラス。
 - ・ D o u i l l a r d レジメン (フォリン酸、 5 - FU 、イリノテカン) :
 - ・ 2 週毎に、 1 日目に 2 時間かけてイリノテカン (1 8 0 m g / m²) を点滴 ; 1 日目および 2 日目に 2 時間かけてロイコボリン (2 0 0 m g / m²) を点滴 ; その後、 初回負荷量の 5 - FU (4 0 0 m g / m²) を IV ボーラス、次いで、 1 日目および 2 日目に 2 時間かけて移動式ポンプを介して 5 - FU (6 0 0 m g / m²) 。
 - ・ F O L F O X 4 レジメン (オキサリプラチン、ロイコボリン、 5 - FU) :
 - ・ 2 週毎に、 1 日目に 2 時間かけてオキサリプラチン (8 5 m g / m²) を点滴 ; 1 日目および 2 日目に 2 時間かけてロイコボリン (2 0 0 m g / m²) を点滴 ; その後、 初回負荷量の 5 - FU (4 0 0 m g / m²) を IV ボーラス、次いで、 1 日目および 2 日目に 2 2 時間かけて移動式ポンプを介して 5 - FU (6 0 0 m g / m²) 。
 - ・ F O L F O X 6 レジメン (オキサリプラチン、ロイコボリン、 5 - FU) :
 - ・ 2 週毎に、 1 日目に 2 時間かけてオキサリプラチン (8 5 ~ 1 0 0 m g / m²) を点滴 ; 1 日目に 2 時間かけてロイコボリン (4 0 0 m g / m²) を点滴 ; その後、 1 日目に初回負荷量の 5 - FU (4 0 0 m g / m²) を IV ボーラス、次いで、 4 6 時間かけて移動式ポンプを介して 5 - FU (2 , 4 0 0 ~ 3 , 0 0 0 m g / m²) 。
 - ・ F O L F I R I レジメン (フォリン酸、 5 - FU 、イリノテカン) :
 - ・ 2 週毎に、 1 日目に 2 時間かけてイリノテカン (1 8 0 m g / m²) を点滴 ; 1 日目に 2 時間かけてロイコボリン (4 0 0 m g / m²) を点滴 ; その後、 1 日目に初回負荷量の 5 - FU (4 0 0 m g / m²) を IV ボーラス、次いで、 4 6 時間かけて移動式ポンプを介して 5 - FU (2 , 4 0 0 ~ 3 , 0 0 0 m g / m²) 。
 - ・ I F L (または S a l t z) レジメン (イリノテカン、 5 - FU 、ロイコボリン) :
 - ・ 6 週のうち 4 週間、週 1 回、イリノテカン (1 2 5 m g / m²) 、 5 - FU (5 0 0 m g / m²) IV ボーラス、およびロイコボリン (2 0 m g / m²) IV ボーラス。

【 0 0 8 1 】

ロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置換し得るその他のレジメンには、例えば、(Andre et al.「Phase II study of leucovorin, 5-fluourouracil, and gemcitabine for locally advanced and metastatic pancreatic cancer (FOLFUGEM 2) Gastroenterol Clin Biol; 2004 28: 645-650(特に、5-FUを含む癌処置プロトコルの開示のため、参考として本明細書に援用される)に開示されたような)膵臓癌を処置するために使用されているFOLFUGEM1((5-フルオロウラシル(FU)ボーラス400mg/m²、次いで5-FU 2~3g/m²/46時間およびゲムシタビン1000mg/m²(30分)と組み合わせられたロイコボリン400mg/m²)およびFOLFUGEM2(14日毎のサイクルで、ロイコボリン400mg/m²(2時間)、その後、5-FU 1000mg/m²(22時間)、次いでゲムシタビン800mg/m²(10mg/m²/分))を含む、5-FUおよび少なくとも1つのその他の抗癌薬との組み合わせが含まれる。

[0 0 8 2]

別の例において、(Poplin et al. 「Phase III Southwest Oncology Group 9415 / Intergroup 0153 randomized trial of fluorouracil, leucovorin, and levamisole versus fluorouracil continuous infusion and levamisole for adjuvant treatment of stage III and high-risk stage II colon cancer.」J. Clin Oncol. 2005 23: 1819 - 25 (特に、5-FUを含む癌処置プロトコルの開示のため、参考として本明細書に援用される)に開示されたような) 5-FUおよびレバミゾールも含む組み合わせ療法において、ロイコボリンを 5,10-CH₂-THFA に置き換える。

10

【0083】

さらに別の例において、(Yeh et al. 「Phase II study of weekly vinorelbine and 24-hr infusion of high-dose 5-fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment of advanced breast cancer.」Br. J. Cancer 2005 92: 1013 - 8 (特に、5-FUを含む癌処置プロトコルの開示のため、参考として本明細書に援用される)に開示されたような) 5-FUおよびビノレルビンも含む組み合わせ療法において、ロイコボリンを 5,10-CH₂-THFA に置き換える。

20

【0084】

上記の例は、決して限定的なものであることは意図されない。例えば、投薬量およびレジメンは、患者に対する毒性を最小限に抑えるか、または効力を改良するため、変更または最適化され得る。さらに、本明細書に記載されていない多くの抗癌薬が、5,10-CH₂-THFA および 5-FU と組み合わせられ得る。5-FU およびロイコボリンが、複数の付加的な抗癌薬と組み合わせて使用されるプロトコルにおいても、5,10-CH₂-THFA は、ロイコボリンで置換され得る。本発明者らは、次世代型の 5-FU、特に、経口型の 5-FU (例えば、ゼローダ、カペシタビン) および UFT との組み合わせ療法における 5,10-CH₂-THFA の使用も包含する。

30

【0085】

5,10-CH₂-THFA の他の使用は、抗腫瘍活性を有するモノクローナル抗体のような新たなクラスの生物学的抗腫瘍試薬との組み合わせ療法における使用である。5,10-CH₂-THFA と (好ましくは 5-FU と) 組み合わせられ得る抗体の例には、抗 VEGF 抗体 (例えば、ベバシツマブ (bevacizumab) または「アバスチン」) および抗 EGF レセプター (例えば、エルビタクス (Erbitux)、セツキシマブ、ハーセプチニン) が含まれる。実施例 1 および 2 に示されるように、ヌードマウスにおける結腸直腸癌の組み合わせ 5-FU / 5,10-CH₂-THFA / アバスチンによる処置は、他の薬物組み合わせより大きく腫瘍増殖を阻害する。

【0086】

本明細書に開示された 5,10-CH₂-THFA のより低い毒性プロファイルのため、本発明は、毒性が高すぎて広範囲には使用し得ないと典型的に考えられている薬物と組み合わせた 5,10-CH₂-THFA の使用もまた含む。例えば、5-FU / 5,10-CH₂-THFA / シスプラチニン療法が、そのような組み合わせである。白金ベースの化学療法剤であるシスプラチニンは、高度に毒性である。さらに、5,10-CH₂-THFA のより低い毒性プロファイルは、増加した薬物 (例えば 5-FU) の濃度または延長された投薬期間のいずれかの使用を可能にし得る。次に、これは、薬物の効力を増加させ得る。

40

【0087】

本発明は、5-FU を使用しない療法においてロイコボリン (ロイコボリン) の代わりに 5,10-CH₂-THFA を使用することも含む。例えば、ロイコボリン (ロイコボ

50

リン)と比較して、より低い5,10-CH₂-THFAの毒性プロファイルおよび増加した活性に基づき、5,10-CH₂-THFAは、メトレキサートレスキュー療法のために使用され得る。この療法の様式は、現在、ロイコボリンを使用している。

【0088】

(V.5-FUを含む抗癌薬物治療レジメンの効力を増加させるための方法)

本発明は、5,10-CH₂-THFAを同時投与することにより、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグの癌患者への投与を包含する、抗癌薬物処置レジメンの効力を増加させるための方法も提供する。

【0089】

1つの局面において、その方法は、5-フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグを含む抗癌薬レジメンを得る工程、および抗癌薬レジメンの効力を増加させるため、薬物レジメンに5,10-CH₂-THFAを追加する工程を包含する。本発明のこの局面の好ましい実施形態において、5-FUおよび5,10-CH₂-THFAは、ロイコボリン(フォリン酸、FA)の非存在下で患者に投与される。5-FUまたはそのアナログもしくはプロドラッグの投与を含む癌薬物処置の効力を増加させるための方法は、5-FUの毒性を低下させるため、5-FUの投与の前、後、または同時に、5,10-CH₂-THFAを患者に投与する工程を包含する。好ましくは、5,10-CH₂-THFAの投与は5-FUの投与の前である。

【0090】

関連する局面において、本発明は、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグを含む、患者に投与される抗癌薬レジメンに5,10-CH₂-THFAを追加することにより、癌患者の生存期間を増加させるための方法を提供する。その方法は、5-フルオロウラシルまたはそのアナログもしくはプロドラッグを含む抗癌薬物プロトコルを得る工程、抗癌薬物プロトコルに5,10-CH₂-THFAを追加する工程；および改変された抗癌薬物プロトコルにより癌患者を処置する工程、を包含する。その方法は、5-FUの投与の前、後、または同時に、5,10-CH₂-THFAを患者に投与する工程を包含する。本発明のこの局面の好ましい実施形態において、5-FUおよび5,10-CH₂-THFAは、ロイコボリン(フォリン酸、FA)の非存在下で患者に投与される。

【0091】

癌患者は、任意の型の癌を有する患者であり得る。5-FUを受容する癌患者に5,10-CH₂-THFAが投与される本発明のいくつかの好ましい実施形態において、患者は、例えば、結腸直腸癌、膵臓癌、乳癌、頭頸部癌、または胃癌のような、現在5-FUにより処置されている腫瘍型を有している。

【0092】

抗癌薬レジメンの効力(例えば、処置後の腫瘍サイズ、腫瘍増殖(または退縮)の速度、癌細胞またはマーカーの検出、処置後の寛解期の長さ、およびそのレジメンにより処置された癌患者の生存期間(これらに限定はされない))は、方法によって決定され得る。

【0093】

癌処置および化学療法の分野の当業者は、毒性および効力の評価のためのよく確立されているプロトコルを使用して、5,10-CH₂-THFAおよび5-FUの最適な投薬量およびレジメンを決定することが可能である。5-FUおよび5,10-CH₂-THFAによる癌患者のいくつかの好ましい処置は、1m²当たり10mgから1gの5,10-CH₂-THFA、好ましくは1m²当たり20mgから500mgの5,10-CH₂-THFA、より好ましくは1m²当たり約30mgから約250mgの5,10-CH₂-THFAを使用するレジメンである。例えば、5,10-CH₂-THFAの好ましい用量は、1m²当たり約30mgから約120mgであり得る。上記のものは、例えば、癌の型およびグレード、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的所見および臨床的所見に基づき、増大または改変され得る、一般的な指針に過ぎない。

10

20

30

40

50

【0094】

5-FUの投薬量は、1m²当たり約25mgから約5gであり得、好ましくは1m²当たり約50mgから2.5g、より好ましくは1m²当たり約100mgから約1gである。例えば、5-FUの好ましい用量は、1m²当たり約250mgから約700mgであり得る。上記のものは、例えば、癌の型およびグレード、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的所見および臨床的所見に基づき、増大または改変され得る、一般的な指針に過ぎない。5-FUは、注射またはIV注入を含む任意の実行可能な手段により投与され得る。

【0095】

いくつか的好ましい実施形態において、5-FU自体ではなく5-FUのプロドラッグまたはアナログが、組み合わせ療法において使用される。患者の組織において、5-FUは、チミジル酸シンターゼのインヒビターである5-フルオロ-2'-デオキシリジレート(FdUMP)へと変換される。本願において、「5-FUのアナログまたはプロドラッグ」とは、FdUMPのようなチミジル酸シンターゼのインヒビターへと直接的にもしくは間接的に変換され得るアナログまたはプロドラッグを意味するために使用される。本発明の方法において使用され得る5-FUの1つのプロドラッグは、N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタбин)である。1つの好ましい実施形態において、本発明の方法は、N4-ペントキシリカルボニル-5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(カペシタбин); 5,10-CH₂-THFA; および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を、癌を有する患者に投与する工程を包含する。カペシタбинの投薬量は、熟練した医師により決定され得、部分的には、投与の頻度に依存する。例えば、カペシタбинの1日投薬量は、1m²当たり約500mgから約7500mg、好ましくは1m²当たり約1000mgから約5000mg、より好ましくは1m²当たり約1500mgから約3000mgであり得る。用量は、1日1~6(好ましくは2)回の投与へと分割され得る。上記のものは、例えば、癌の型およびグレード、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的所見および臨床的所見に基づき、増大または改変され得る、一般的な指針に過ぎない。カペシタбинは、注射、IV注入、または経口処方物を含む任意の実行可能な手段によって投与され得る。

【0096】

本発明の方法において使用され得るアナログの組み合わせは、UFTとして既知の1:4の組み合わせで使用されるテガフル(TF)およびウラシル(U)である。1つの好ましい実施形態において、本発明の方法は、UFT; 5,10-CH₂-THFA; および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を、癌を有する患者に投与する工程を包含する。UFTの投薬量は、熟練した医師により決定され得、部分的には、投与の頻度に依存する。例えば、UFTの1日投薬量は、1m²当たり約50mgから約3000mg、好ましくは1m²当たり約100mgから約2000mg、より好ましくは1m²当たり約200mgから約1000mgであり得る。UFTを含む抗癌レジメンはまた、必要に応じて、UFTと共に投与されるフォリン酸カルシウムを含み得る。上記のものは、例えば、癌の型およびグレード、患者の年齢、健康状態、および性別、組み合わせて使用される特定の薬物、投与の経路および頻度、ならびに多重薬物組み合わせを使用した実験的所見および臨床的所見に基づき、増大または改変され得る、一般的な指針に過ぎない。UFTは、注射、IV注入、または経口処方物を含む任意の実行可能な手段によって投与され得る。

【0097】

カペシタбинを使用する抗癌薬物プロトコルのいくつかの例は、Blum JLら、「Multicenter phase II study of capecitabine in paclitaxel-refractory metastatic breast cancer.」J Clin Oncol 1999; 17: 485-93; Hoffら「Comparison of oral capecitabine

10

20

30

40

50

versus intravenous fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment in 605 patients with metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase III study.」J Clin Oncol 2001; 19(8): 2282-92; および Van Cutsem Eら、「Oral capecitabine compared with intravenous fluorouracil plus leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer: results of a large phase III study.」J Clin Oncol 2001; 19(21): 4097-1010
6（これらの全ては、特に、カペシタбинを使用する化学療法レジメンの開示のため、本明細書において参考として援用される）に記載されている。本発明は、処置の効力を改良するため、カペシタбинを含むプロトコルにおいて $5,10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ を投与することを含む。

【0098】

例えば、1つのプロトコルは、2週間、1日2回カペシタбин（ 1m^2 当たり1000～1250mg）を投与し、その後、1週間の休薬期間を置き、次いでさらなる3週間のサイクルを行うことを含む。 $5,10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ は、例えば、これらのようなプロトコルに追加され得、プロトコルは毒性および効力に関する臨床試験に基づき最適化され得る。

【0099】

この局面の他の好ましい実施形態において、本発明は、 $5,10\text{-5},10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ を同時投与することにより、 5-FU または 5-FU のアナログもしくはプロドラッグおよび少なくとも1つの付加的な抗癌薬（ 5-FU またはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）を癌を有する患者へ投与する工程を包含する、抗癌処置の効力を増加させるための方法を含む。その方法は、 5-フルオロウラシル またはそのアナログもしくはプロドラッグおよび少なくとも1つの付加的な抗癌薬を含む抗癌薬物プロトコルを得る工程、ならびに増加した効力を有する抗癌薬物プロトコルを得るために、抗癌薬物プロトコルに $5,10\text{-メチレンテトラヒドロ葉酸}$ を追加する工程、を包含する。

【0100】

5-FU またはそのアナログもしくはプロドラッグおよび付加的な抗癌薬の投与を含む癌薬物処置の効力を増加させるための方法は、 5-FU （またはそのアナログもしくはプロドラッグ）の投与の前、後、または同時に、 $5,10\text{-5},10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ を患者に投与する工程を包含する。好ましくは、 $5,10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ の投与は 5-FU の投与の前である。付加的な抗癌薬は、 5-FU の投与の前、後、または同時に投与され得る。

【0101】

関連する局面において、本発明は、 5-5-FU または 5-FU のアナログもしくはプロドラッグおよび少なくとも1つの付加的な抗癌薬（ 5-FU またはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）を含む、患者に投与される抗癌薬レジメンに $5,10\text{-5},10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ を追加することにより、癌患者の生存期間を増加させるための方法を提供する。その方法は、 5-FU またはそのアナログもしくはプロドラッグおよび少なくとも1つの付加的な抗癌薬を含む抗癌薬物プロトコルを得る工程；抗癌薬物プロトコルに $5,10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ を追加する工程；ならびに改変された抗癌薬物プロトコルにより癌患者を処置することにより癌患者を処置する工程、を包含する。その方法は、 5-FU の投与の前、後、または同時に、 $5,10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ を患者に投与する工程を包含する。本発明のこの局面の好ましい実施形態において、 5-FU および $5,10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ は、ロイコボリン（フォリン酸、FA）の非存在下で患者に投与される。付加的な抗癌薬は、 5-FU の投与の前、後、または同時に投与され得る。

【0102】

10

20

30

40

50

本発明の多重薬物レジメンにおいて使用される1つ以上の付加的な抗癌薬の投薬量も、投薬量の上昇ならびに毒性および効力のモニタリングを使用する研究により決定され得る。化学療法レジメンにおいて独立に使用されている組み合わせ療法において使用される抗癌薬の投薬量の決定において、実務者は、確立されている化学療法レジメンにおいて使用されている薬物の投薬量を考慮に入れることができる。

【0103】

5-FUを1つ以上の抗癌薬（チミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）と組み合わせた多数の化学療法プロトコルが、癌療法の領域において公知である。例えば、1つ以上の付加的な薬物（チミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）と組み合わせた5-FUを含む抗癌プロトコルには、シクロホスファミド、エピルビシン、およびフルオロウラシルを含む乳癌のための療法（これに限定はされない）が含まれる（例えば、Levine MN, Bramwell VH, Pritchard KIら「Randomized trial of intensive cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil chemotherapy compared with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in premenopausal women with node-positive breast cancer.」J Clin Oncol 1998; 16(8): 2651-8（特に、5-FUを使用する抗癌プロトコルの開示のため、本明細書において参考として援用される）を参照のこと）。1つ以上の付加的な薬物（葉酸補因子以外）と組み合わせた5-FUを含む抗癌プロトコルには、シクロホスファミド、ドキソルビシン、およびフルオロウラシルを含む乳癌のための療法も含まれる（例えば、Bennett JM, Müss HB, Doroshow JHら、「A randomized multicenter trial comparing mitoxantrone, cyclophosphamide, and fluorouracil with doxorubicin, cyclophosphamide, and fluorouracil in the therapy of metastatic breast cancer.」J Clin Oncol 1988; 6(10): 1611-20（特に、5-FUを含む抗癌プロトコルの開示のため、本明細書において参考として援用される）を参照のこと）。5,10-CH₂-THFAの追加は、これらの化学療法レジメンの効力を増強し得、改変されたレジメンにより処置された患者の生存期間を改良し得る。

【0104】

処置の効力を増加させるために5,10-CH₂-THFAが追加され得る抗癌プロトコルの別の例は、Keane TJ, Cummings BJ, O'Sullivan B, Payne D, Rawlinson E, Mackenzie R, Danjoux C, Hodson I. 「A randomized trial of radiation therapy compared to split course radiation therapy combined with mitomycin C and 5-fluorouracil as initial treatment for advanced laryngeal and hypopharyngeal squamous carcinoma.」J Radiation Oncology Biol Phys, 1993; 25(4): 613-8（特に、5-FUを使用する抗癌プロトコルに関する開示のため、本明細書において参考として援用される）に開示されたような、マイトマイシンCおよびフルオロウラシルの使用を含む頭頸部癌の処置のためのプロトコルである。この場合、抗癌処置プロトコルは、化学療法に加え、放射線療法を含む。

【0105】

処置の効力を増加させるために5,10-CH₂-THFAが追加され得るさらに他の型のプロトコルは、Keane TJ, Cummings BJ, O'Sullivan B, Payne D, Rawlinson E, Mackenzie R, Danjoux

10

20

30

40

50

ux C, Hodson I. 「A randomized trial of radiation therapy compared to split course radiation therapy combined with mitomycin C and 5-fluorouracil as initial treatment for advanced laryngeal and hypopharyngeal squamous carcinoma.」 *IJ Radiation Oncology Biol Phys*, 1993; 25(4): 613-8 (特に、5-FUを含む抗癌プロトコルに関する開示のため、本明細書において参考として援用される)に開示されたもののような、5-FUをマイトマイシンCと組み合わせる抗癌プロトコル、およびCalais G, Alfonsi M, Bardet Eら、「Randomized trial of radiation therapy versus concomitant chemotherapy and radiation therapy for advanced-stage oropharynx carcinoma.」 *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 2081-6 (特に、5-FUを使用する抗癌レジメンに関する開示のため、本明細書において参考として援用される)に開示されたような、カルボプラチニの使用を5-FUと組み合わせるものである。これらの処置において、抗癌処置プロトコルは、化学療法に加え、放射線療法を含む。

【0106】

本発明は、5,10-CH₂-THFAを同時投与することにより、5-FUのアナログまたはプロドラッグおよび付加的な抗癌薬(チミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外)を含むプロトコルの効力を増加させる方法を含む。カペシタビンおよびドセタキセルを含む抗癌レジメンの例は、O'Shaughnessy Jら、「Superior survival with capecitabine plus docetaxel combination therapy in anthracycline pre-treated patients with advanced breast cancer: phase III trial results.」 *J Clin Oncol* 2002; 20: 2812-23 (特に、カペシタビンを使用した抗癌プロトコルの開示のため、本明細書において参考として援用される)に開示されている。5,10-CH₂-THFAは、付加的な癌薬物と組み合わせてテガフル-ウラシル(UFT)を含むプロトコル、例えば、Feiliu J.ら「Phase II study of UFT and oxaliplatin in first-line treatment of advanced colorectal cancer.」 *Br. J. Cancer* 2004; 91: 1758-62 (特に、UFTを使用した抗癌プロトコルの開示のため、本明細書において参考として援用される)に開示されたような、オキサリプラチニを含むプロトコルにも追加され得る。

【0107】

上記のプロトコルへの参照は、例にすぎず、決して本発明を限定することは意図されない。処置の効力を増加させるために5,10-CH₂-THFAが追加され得る抗癌プロトコルは、科学文献および医学文献、ならびに病院、癌センター、および診療所の供給源を含む任意の信頼性のある情報源から入手され得る。5,10-CH₂-THFAの投与を含めることによりプロトコルの効力を増加させる際、5-FU、5,10-CH₂-THFAのいずれかまたは両方、そして妥当である場合には、1つ以上の付加的な抗癌薬の投薬量およびスケジュールを変更することは、本発明の範囲内である。そのような変更は、容認されている医学的実務に従い、処置に対する患者の反応をモニタリングする訓練された医師によってなされ得る。

【0108】

いくつかの好ましい実施形態において、本発明は、チミジル酸シンターゼの葉酸補因子としてのロイコボリンが5,10-CH₂-THFAに置換される、5-FUおよびチミジル酸シンターゼの葉酸補因子を含む抗癌薬レジメンの効力を増加させる方法を含む。本

発明は、抗癌薬レジメンの効力を増加させる方法を含み、ここで上記抗癌薬レジメンは、5-FUおよびチミジル酸シンターゼの葉酸補因子を含み、そして効力は、チミジル酸シンターゼの葉酸補因子としてのロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置換することによって増加される。

【0109】

本発明のこの局面の好ましい実施形態において、その方法は、5-FUまたはそのアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および付加的な抗癌薬を含む抗癌薬レジメン入手する工程；ならびに改良された効力を有する薬物レジメンを得るため、薬物レジメンの中のロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置換する工程、を包含する。

【0110】

関連する局面において、本発明は、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグを含む、患者に投与される抗癌薬レジメンの中のロイコボリンを5,10-5,10-CH₂-THFAに置換することにより、癌患者の生存期間を増加させるための方法を提供する。その方法は、5-FUまたはそのアナログもしくはプロドラッグおよびロイコボリンを含む抗癌薬物プロトコルを得る工程；抗癌薬物プロトコルの中のロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置換する工程；ならびに改変された抗癌薬物プロトコルにより癌患者を処置する工程、を包含する。その方法は、5-FUの投与の前、後、または同時に、5,10-CH₂-THFAを患者に投与する工程を包含する。

【0111】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、レジメンの中のロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置換することによりレジメンの効力が増加する、カペシタビンまたはUFT（これらに限定されない）のような5-FUのアナログまたはプロドラッグおよびロイコボリンを含む抗癌薬レジメンの効力を増加させるための方法を含む。本発明は、カペシタビンまたはUFT（これらに限定されない）のような5-FUのアナログまたはプロドラッグを含む、患者へ投与される抗癌薬レジメンの中のロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置換することにより、癌患者の生存期間を増加させるための方法も提供する。

【0112】

この局面のいくつかの好ましい実施形態において、本発明は、薬物レジメンの中のロイコボリンを5,10-5,10-CH₂-THFAに置換することにより、癌を有する患者への5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬（5-FUまたはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）を含む抗癌処置の効力を増加させるための方法を含む。その方法は、5-FUまたはそのアナログもしくはプロドラッグ；ロイコボリン；および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を含む抗癌薬物プロトコルを得る工程；ならびに抗癌薬物プロトコルの中のロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置換する工程、を包含する。

【0113】

関連する局面において、本発明は、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグおよび少なくとも1つの付加的な抗癌薬（5-FUまたはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）を含む、患者に投与される抗癌薬レジメンの中のロイコボリンを5,10-5,10-CH₂-THFAに置換することにより、癌患者の生存期間を増加させるための方法を提供する。その方法は、5-FUまたはそのアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を含む抗癌薬物プロトコルを得る工程；抗癌薬物プロトコルの中のロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置換する工程；ならびに改変された抗癌薬物プロトコルにより癌患者を処置する工程、を包含する。その方法は、5-FUの投与の前、後、または同時に、5,10-CH₂-THFAを患者に投与する工程を包含する。付加的な抗癌薬は、5-FUの投与の前、後、または同時に投与され得る。

【0114】

ロイコボリンと比較して、5,10-CH₂-THFAの抗腫瘍活性および減少した全

10

20

30

40

50

身毒性のため、ならびにロイコボリンおよび5, 10 - CH₂ - THFAの類似した化学的経路および代謝的経路のため、本発明者らは、ある範囲の現在の化学療法レジメン中のロイコボリンを5, 10 - CH₂ - THFAに置換し得ることを企図する。現在、一般的に5-FU+ロイコボリンと組み合わせて使用されている薬物の例は、イリノテカン(CPT-11)、オキサリプラチン、ゲムシタビン、レバミゾール、マイトイシンC、およびビノレルビンである。本発明は、これらのレジメンの中のロイコボリンを5, 10 - CH₂ - THFAに置換した処置を含む。ロイコボリンの5, 10 - CH₂ - THFAへの置換は、低下した毒性と共に、増強された治療効果を提供し得る。非限定的な例として、ロイコボリンが5, 10 - CH₂ - THFAに置換され得る現在の薬物組み合わせレジメンには、以下のものが含まれる：

10

- AIOLレジメン(フォリン酸、5-FU、イリノテカン)：

• 52週毎に、4週間に、週1回、1日目に2時間かけてイリノテカン(100mg/m²)を点滴；1日目に2時間かけてロイコボリン(500mg/m²)を点滴；その後、24時間かけて移動式ポンプを介して5-FU(2,000mg/m²)を静脈内(IV)ボーラス

20

- Douillardレジメン(フォリン酸、5-FU、イリノテカン)：

• 2週毎に、1日目に2時間かけてイリノテカン(180mg/m²)を点滴；1日目および2日目に2時間かけてロイコボリン(200mg/m²)を点滴；その後、負荷量の5-FU(400mg/m²)をIVボーラス、次いで、1日目および2日目に22時間かけて移動式ポンプを介して5-FU(600mg/m²)

20

- FOLFFOX4レジメン(オキサリプラチン、ロイコボリン、5-FU)：

• 2週毎に、1日目に2時間かけてオキサリプラチン(85mg/m²)を点滴；1日目および2日目に2時間かけてロイコボリン(200mg/m²)を点滴；その後、負荷量の5-FU(400mg/m²)をIVボーラス、次いで、1日目および2日目に22時間かけて移動式ポンプを介して5-FU(600mg/m²)

30

- FOLFFOX6レジメン(オキサリプラチン、ロイコボリン、5-FU)：

• 2週毎に、1日目に2時間かけてオキサリプラチン(85~100mg/m²)を点滴；1日目に2時間かけてロイコボリン(400mg/m²)を点滴；その後、1日目に負荷量の5-FU(400mg/m²)をIVボーラス、次いで、46時間かけて移動式ポンプを介して5-FU(2,400~3,000mg/m²)

30

- FOLFIRIレジメン(フォリン酸、5-FU、イリノテカン)：

• 2週毎に、1日目に2時間かけてイリノテカン(180mg/m²)を点滴；1日目に2時間かけてロイコボリン(400mg/m²)を点滴；その後、1日目に負荷量の5-FU(400mg/m²)をIVボーラス、次いで、46時間かけて移動式ポンプを介して5-FU(2,400~3,000mg/m²)

40

- IFL(またはSaliz)レジメン(イリノテカン、5-FU、ロイコボリン)：

• 6週のうち4週間に、週1回、イリノテカン(125mg/m²)、5-FU(500mg/m²)IVボーラス、およびロイコボリン(20mg/m²)IVボーラス。

40

【0115】

ロイコボリンを5, 10 - CH₂ - THFAに置換し得る他のレジメンとしては、例えば、(Andreas Phase II study of leucovorin, 5-fluorouracil, and gemcitabine for locally advanced and metastatic pancreatic cancer (FOLFUGEM 2) Gastroenterol Clin Biol; 2004 28: 645-650(特に、5-FUを含む癌処置プロトコルの開示のため、本明細書において参考として援用される)に開示されたような)膵臓癌を処置するために使用されるFOLFUGEM1((5-フルオロウラシル(FU)ボーラス400mg/m²、次いで5-FU 2~3g/m²/46時間およびゲムシタビン1000mg/m²(30分)と組み合わせたロイコボリン400mg/m²)およびFOLFUGEM2(14日毎のサイクルで、ロイコボリン400mg/m²(2時間)、その後、5-FU 50

U 1000 mg / m² (22時間)、次いでゲムシタビン800 mg / m² (10 mg / m² / 分))を含む、5-FUおよび少なくとも1つのその他の抗癌薬との組み合わせが挙げられる。

【0116】

別の例において、(Poplinら「Phase III Southwest Oncology Group 9415 / Intergroup 0153 randomized trials of fluorouracil, leucovorin, and levamisole versus fluorouracil continuous infusion and levamisole for adjuvant treatment of stage III and high-risk stage II colon cancer.」J. Clin Oncol. 2005; 23: 1819-25 (特に、5-FUを使用する癌処置プロトコルの開示のため、本明細書において参考として援用される)に開示されたような) 5-FUおよびレバミゾールも含む組み合わせ療法において、ロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置換することができる。
10

【0117】

さらに別の例において、(Yehら「Phase II study of weekly vinorelbine and 24-hr infusion of high-dose 5-fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment of advanced breast cancer.」Br. J. Cancer 2005; 92: 1013-8 (特に、5-FUを含む癌処置プロトコルの開示のため、本明細書において参考として援用される)に開示されたような) 5-FUおよびビノレルビンも含む組み合わせ療法において、ロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに置換することができる。
20

【0118】

上記の例は、決して限定的なものであることは意図されない。例えば、投薬量およびレジメンは、患者に対する毒性を最小限に抑えるか、または効力を改良するため、変更または最適化され得る。さらに、本明細書に記載されていない多くの抗癌薬が、5,10-CH₂-THFAおよび5-FUと組み合わせられ得る。本発明者らは、次世代型の5-FU、特に、経口型の5-FU(例えば、ゼローダ、カペシタビン)およびUFTとの組み合わせ療法における5,10-CH₂-THFAの使用も提唱する。
30

【0119】

5,10-CH₂-THFAの他の使用は、抗腫瘍活性を有するモノクローナル抗体のような新たなクラスの生物学的抗腫瘍試薬との組み合わせ療法における使用である。5,10-CH₂-THFAと(好ましくは5-FUと)組み合わせられ得る抗体の例には、抗VEGF抗体(例えば、アバスチン、ベバシツマブ(Bevacizumab))および抗EGFレセプター(例えば、エルビタックス(Erbbitux)、セツキシマブ、ハーセブチン)が含まれる。実施例1および2に示されるように、ヌードマウスにおける結腸直腸癌の組み合わせ5-FU/5,10-CH₂-THFA/アバスチンによる処置は、他の薬物組み合わせより大きく腫瘍増殖を阻害する。
40

【0120】

5-FU(またはそのアナログもしくはプロドラッグ)および付加的な抗癌薬を含む処置レジメンに5,10-CH₂-THFAが追加される方法の他の局面において、本発明者らは、1つ以上の付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つが、5-FUを含むレジメンにおいて典型的に使用されている付加的な抗癌薬の投薬量に比べて増加した投薬量で投与されることを企図する。従って、本発明は、薬物レジメンに5,10-CH₂-THFAを追加すること、および1つ以上の付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つの投薬量を増加させることにより、5-FUおよび少なくとも1つの付加的な抗癌薬(5-FUまたはそのアナログもしくはプロドラッグ、またはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外)を含む抗癌薬物プロトコルの効力を増加させる方法を含む。その方法は、5-FUまたは
50

5-FUのアナログもしくはプロドラッグおよび少なくとも1つの付加的な抗癌薬(5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、またはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外)を含む抗癌薬物プロトコルを得る工程;抗癌薬物プロトコルに5,10-CH₂-THFAを追加する工程;ならびに抗癌薬物プロトコルの中の1つ以上の付加的な抗癌薬の投薬量を増加させる工程、を包含する。この局面において、抗癌レジメンに5,10-CH₂-THFAを追加しながら、そのレジメンにおいて使用される付加的な抗癌薬の投薬量を増加させることは、禁制的に毒性を増加させることなく、処置の効力を増加させ得る。

【0121】

関連する局面において、本発明は、5-FUおよび1つ以上の付加的な抗癌薬(5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、またはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外)を含む抗癌レジメンに5,10-CH₂-THFAを追加すること、ならびにレジメンにおいて使用される1つ以上の付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つの投薬量を増加させることにより、癌患者の生存期間を増加させる方法を含む。10

【0122】

5-FUを1つ以上の抗癌薬(チミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外)と組み合わせる多数の化学療法プロトコルが、癌療法の領域において公知である。例えば、この適用において参照されるプロトコルには、5-FUが、シクロホスファミド、エピルビシン、ドコルビシン(docorubicin)、カルボプラチニン、またはマイトイシンCと組み合わせられるプロトコルが含まれる。これらの例は、本発明の範囲を限定するものでは決してない。5-FUと組み合わせてこれらまたは他の抗癌薬を使用する癌療法の領域において公知の、または将来的に使用される他のプロトコルも、5,10-CH₂-THFAを含めること、および1つ以上の付加的な抗癌薬のうちの少なくとも1つの投薬量を増加させることによって改変され得る。20

【0123】

本発明は、5,10-CH₂-THFAを同時投与することにより、5-FUのアナログまたはプロドラッグおよび少なくとも1つの付加的な抗癌薬(チミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外)を含むプロトコルの効力を増加させる方法を含む。5,10-CH₂-THFAを含めること、および付加的な抗癌薬の投薬量を増加させることにより改変され得るプロトコルの非限定的な例としては、カペシタビンおよびドセタキセルを含む抗癌レジメン、ならびにUFTおよびオキサリプラチニンを含む抗癌レジメンが本明細書において参考される。30

【0124】

プロトコルへの上記の参照は、例にすぎず、決して本発明を限定することは意図されない。5,10-CH₂-THFAが追加され得る抗癌プロトコルは、科学文献および医学文献、ならびに病院、癌センター、および診療所の供給源を含む任意の信頼性のある供給源から入手され得る。用量上昇研究は、毒性および効力をモニタリングする確立されたプロトコルに従って実施され得る。抗癌処置プロトコルの最適化において、5-FU、5,10-CH₂-THFAのいずれかまたは両方、および1つ以上の付加的な抗癌薬の投薬量およびスケジュールを改変することは、本発明の範囲内である。そのような改変は、容認された医学的な実務に従い、処置に対する患者の応答をモニタリングする訓練された医師によってなされ得る。40

【0125】

さらに別の関連する局面において、本発明は、プロトコル中のロイコボリンを5,10-CH₂-THFAに交換すること、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬の投薬量を増加させることにより、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬を含む抗癌薬物プロトコルの効力を増加させる方法を提供する。その方法は、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬(5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、またはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外50

) を含む抗癌薬物プロトコルを得る工程；抗癌薬物プロトコルの中のロイコボリンを 5 , 10 - CH₂ - THFA に置換する工程；ならびに抗癌薬物プロトコルの中の少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬の投薬量を増加させる工程、を包含する。この局面において、抗癌の中のロイコボリンを 5 , 10 - CH₂ - THFA に置換しながら、レジメンにおいて使用される付加的な抗癌薬の投薬量を増加させることは、禁制的に毒性を増加させることなく、処置の効力を増加させ得る。

【 0126 】

関連する局面において、本発明は、5 - FU および 1 つ以上の付加的な抗癌薬（5 - FU または 5 - FU のアナログもしくはプロドラッグ、またはチミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）を含む抗癌レジメンの中のロイコボリンを 5 , 10 - CH₂ - THFA に置換すること、ならびにレジメンにおいて使用される 1 つ以上の付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つの投薬量を増加させることにより、癌患者の生存期間を増加させる方法を含む。
10

【 0127 】

5 - FU およびロイコボリンを 1 つ以上の抗癌薬（チミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）と組み合わせる多数の化学療法プロトコルが、癌療法の領域において公知である。例えば、この適用において参照されるプロトコルには、5 - FU が、ゲムシタビン、ビノレルビン、レバミゾール、イリノテカン、オキサリプラチン、またはマイトイシン C と組み合わせられるプロトコルが含まれる。これらの例は、本発明の範囲を限定するものでは決してない。5 - FU およびロイコボリンと組み合わせてこれらまたは他の抗癌薬を使用する癌療法の領域において公知の、または将来的に使用される他のプロトコルも、ロイコボリンを 5 , 10 - CH₂ - THFA に置換すること、および 1 つ以上の付加的な抗癌薬のうちの少なくとも 1 つの投薬量を増加させることによって改変され得る。
20

【 0128 】

本発明は、5 , 10 - CH₂ - THFA に置換すること、および付加的な抗癌薬の投薬量を増加させることにより、5 - FU のアナログまたはプロドラッグ、ロイコボリン、および少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬（チミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）を含むプロトコルの効力を増加させる方法を含む。

【 0129 】

プロトコルへの上記の参照は、例にすぎず、決して本発明を限定することは意図されない。ロイコボリンが 5 , 10 - CH₂ - THFA に置換され得る、複数の抗癌薬を含む抗癌プロトコルは、科学文献および医学文献、ならびに病院、癌センター、および診療所の供給源を含む任意の信頼性のある供給源から入手され得る。用量上昇研究は、毒性および効力をモニタリングする確立されたプロトコルに従って実施され得る。抗癌処置プロトコルの最適化において、5 - FU 、 5 , 10 - CH₂ - THFA のいずれかまたは両方、および 1 つ以上の付加的な抗癌薬の投薬量およびスケジュールを改変することは、本発明の範囲内である。そのような改変は、容認された医学的な実務に従い処置に対する患者の応答をモニタリングする訓練された医師によってなされ得る。
30

【 0130 】

本発明者らは、薬物レジメンに 5 , 10 - CH₂ - THFA が追加された場合、5 - FU が、組み合わせ療法において典型的に使用されている投薬量に比べて増加した投薬量で投与され得ることも企図する。従って、本発明は、薬物レジメンに 5 , 10 - CH₂ - THFA を追加することにより、5 - FU （またはそのアナログもしくはプロドラッグ）および付加的な抗癌薬（チミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）を含む癌を処置するための薬物レジメンにおいて使用される 5 - FU の投薬量を増加させることにより、抗癌薬物プロトコルの効力を増加させる方法を含む。その方法は、5 - FU または 5 - FU のアナログもしくはプロドラッグおよび少なくとも 1 つの付加的な抗癌薬（チミジル酸シンターゼの葉酸補因子以外）を含む抗癌薬物プロトコルを得る工程；抗癌薬物プロトコルに 5 , 10 - CH₂ - THFA を追加する工程；ならびに抗癌薬物プロトコルの中の 5 - FU の投薬量を増加させる工程、を包含する。この局面において、抗癌レジメンに 5 , 10 - C
40

10

20

30

40

50

H_2 -THFAを追加しながら、そのレジメンにおいて使用される5-FUの投薬量を増加させることは、禁制的に毒性を増加させることなく、処置の効力を増加させ得る。

【0131】

さらに別の関連する局面において、本発明は、ロイコボリンを $5,10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ に交換することにより、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および付加的な抗癌薬を含む抗癌薬物プロトコルにおける5-FUの用量を増加させる方法を提供する。その方法は、5-FUまたは5-FUのアナログもしくはプロドラッグ、ロイコボリン、および少なくとも1つの付加的な抗癌薬（チミジル酸シナーゼの葉酸補因子以外）を含む抗癌薬物プロトコルを得る工程；抗癌薬物プロトコルの中のロイコボリンを $5,10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ に置換する工程；ならびに抗癌薬物プロトコルの中の5-FU（またはそのアナログもしくはプロドラッグ）の投薬量を増加させる工程、を包含する。この局面において、抗癌の中のロイコボリンを $5,10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ に置換しながら、レジメンにおいて使用される5-FUの投薬量を増加させることは、禁制的に毒性を増加させることなく、処置の効力を増加させ得る。

10

【実施例】

【0132】

（実施例1：5-FU、 $5,10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ 、ロイコボリン、抗VEGF、およびオキサリプラチンによる結腸直腸腫瘍HT-29の処置に関するヌードマウス研究）
(材料および方法)

20

（マウス）

ヌード(*nude*)マウスはチャールズリバー研究所(Charles River Laboratories)から入手された。マウスは、全ての研究の開始時、6~8週齢であった。マウスは、LABインターナショナル(International)の飼育施設(San Diego, CA)で、1ケージ当たり4匹で、隔離されたヘパフィルター換気ケージにおいて維持された。

20

【0133】

（細胞株）

ヒト結腸癌HT-29は、アメリカンティッシュカルチャーコレクション(American Tissue Culture Collection)(ATCC)から入手された。細胞株は、37%CO₂の加湿インキュベーターにおいて、10%ウシ胎仔血清(FBS)、2 mM L-グルタミン、100単位/mlのベニシリン、および100 μg/mlのストレプトマイシンを含有しているDMEM(DMEM-10)において維持された。細胞株は、インビボ実験の前に2~3日毎に継代された。

30

【0134】

（薬物）

5-フルオロウラシル(5-FU)は、カルバイオケム(Calbiochem)から入手された。ロイコボリン(ロイコボリン)およびオキサリプラチンは、シグマアルドリッヂ(Sigma-Aldrich)から入手された。 $5,10\text{-CH}_2\text{-THFA}$ は、エプロバ(Eprova)AG製であった。血管内皮増殖因子に対するモノクローナル抗体(抗VEGF)は、R&Dシステムズ(Systems)(ヒトVEGFアイソフォーム165を認識するクローン26503)またはジェネンテック(Genentech)(アバスチン)から入手された。

40

【0135】

（HT-29結腸直腸癌ヌードマウス研究#1）

HT-29細胞を、注射のため以下のように調製した。HT-29細胞のコンフルエントな組織培養フラスコを、PBSにより1回洗浄した後、トリプシンにより細胞を剥離した。次いで、剥離された細胞を、DMEM-10で1回洗浄した後、PBSにより1回洗浄した。最後に、細胞をPBSに 2×10^7 細胞/mlで再懸濁させた。ヌードマウス(*nude*)に、28ゲージインスリン針/注射器を使用して、100 μl(2×10^6 細胞)のHT-29細胞を皮下接種した。腫瘍が体積100~300 mm³に達した時点

50

で、マウスを、腹腔内注射により投与された 5 - F U 、 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A 、ロイコボリン、オキサリプラチン、および抗 V E G F (R & D システムズの抗体) の様々な組み合わせにより処置した。抗 V E G F およびオキサリプラチンを除く全ての薬物が、5 日間連続で 1 日 1 回投薬された (0 . 6 m g / マウス / 薬物) 。抗 V E G F は、5 日目に 1 回 (1 0 0 μ g / マウス) 投薬された。オキサリプラチンは、1 日目に 1 回投薬された (0 . 3 m g / マウス) 。さらに、 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A またはロイコボリンは、5 - F U 注射の 2 0 分前に注射された。腫瘍サイズはノギスを使用して 2 ~ 3 日毎に測定された。腫瘍体積は以下の式を使用して計算された：腫瘍体積 = (長さ × 幅²) / 2 。腫瘍が直径 > 2 c m に達するか、または腫瘍が潰瘍化した時点で、マウスを C O₂ により安樂死させた後、頸部脱臼を行った。

10

【 0 1 3 6 】

(データ分析)

腫瘍および血液のデータの統計分析は、グラフパッドプリズム (G r a p h P a d P r i z m) 科学ソフトウェアを使用して実施された。ボンフェロニ (Bonferroni ' s) T 検定が、複数の群の間の腫瘍サイズを比較するために使用された。ログランク (L o g r a n k) 検定は、群生存曲線間の統計的な差を決定するために使用された。2 つの群のみが比較されるいくつかの場合には、スチューデント (S t u d e n t ' s) T 検定が群測定値間の有意性を決定するために使用された。

【 0 1 3 7 】

(結果)

20

ヌードマウスを、表 2 に記載された薬物組み合わせにより処置した。この研究において、本発明者らは、5 - F U / 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A 処置をオキサリプラチンもしくは (R & D システムズから入手された) 抗 V E G F 抗体と組み合わせることにより、他の薬物組み合わせより大きく結腸直腸腫瘍の増殖を阻害し得るか否かを調査することを望んだ。薬物濃度および処置日は、材料および方法のセクションに記載されている。処置後、腫瘍サイズを 2 ~ 3 日毎に測定し、腫瘍体積を計算した。次いで、処置開始からの時間に対して腫瘍体積をプロットした (図 1 および 2) 。グラフを単純化するため、本発明者らは、分析を、抗 V E G F データを含むグラフと、オキサリプラチンデータを含む別のセットを含むグラフとに分割した。各処置群についてのベストフィット曲線を計算し、これらの図中にプロットした。図 1 に見られるように、5 - F U / 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A / 抗 V E G F で処置されたマウスは、最も遅い腫瘍増殖曲線を有しており、5 - F U / 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A または 5 - F U / 抗 V E G F で処置されたマウスがそれに続いた。

30

【 0 1 3 8 】

【表2】

表2. マウス処置群

群 #	処置	マウス/群
1	生理食塩水	8
2	5-FU	8
3	5,10-CH ₂ -THFA	8
4	抗 VEGF	8
5	オキサリプラチニン	8
6	5-FU / ロイコボリン	8
7	5-FU / 5,10-CH ₂ -THFA	8
8	5-FU / 抗 VEGF	8
9	5-FU / オキサリプラチニン	8
10	5-FU / 5,10-CH ₂ -THFA / 抗 VEGF	8
11	5-FU / 5,10-CH ₂ -THFA / オキサリプラチニン	8
合計:		88

10

20

30

40

本発明者らは、処置後の平均腫瘍体積間の差を分析した。抗 VEGF データセットについての様々な処置の組み合わせ（図3）を比較し、本発明者らは、5-FU / 5,10-CH₂-THFA / 抗 VEGF で処置されたマウスの平均腫瘍体積（478.6 ± 102.7、平均値 ± SEM、n = 7）が、5-FU（752.5 ± 104.2、n = 8）、5-FU / ロイコボリン（707.5 ± 93.6、n = 8）、5-FU / 5,10-CH₂-THFA（522.5 ± 78.2、n = 8）、および 5-FU / 抗 VEGF（502.5 ± 64.1、n = 8）で処置されたマウスより小さいことを観察した。オキサリプラチニンで処置されたマウスは、最大の腫瘍を有しており（腫瘍体積 875.0 ± 90.6、平均 + SEM、n = 8）（図4）、このことから、HT-29 腫瘍がこの薬物に対しては応答性がないことが示された（Plasenciaら（2002）American Society for Clinical Oncology Annual Meeting Abstract No. 2188 を参照のこと）。3重組み合わせ 5-FU / 5,10-CH₂-THFA / 抗 VEGF で処置されたマウスが、全ての抗 VEGF 組み合わせの中で最も小さな腫瘍サイズを有していたのに対し（図3）、5-FU / 5,10-CH₂-THFA / オキサリプラチニン（735.0 ± 80.3、n = 8）という 3重薬物組み合わせを受容した処置群には等価な腫瘍阻害が欠けていたのは、おそらく、オキサリプラチニンに対する HT-29 腫瘍の抵抗性のためである（図4）。

【0139】

全ての処置群についてのマウス生存曲線も計算した。明白な全身毒性、腫瘍潰瘍化が見られるか、または腫瘍直径が > 2 cm に達した時点で、マウスを安樂死させた。研究期間の完了時（42日）、5-FU / 5,10-CH₂-THFA により処置されたマウスの 75% がまだ生存していた（図5）。この生存率は、5-FUのみにより処置されたマウス（25%、p < 0.05、Logrank テスト）より有意に長かった。5-FU / 5,10-CH₂-THFA で処置されたマウスに加え、5-FU / 5,10-CH₂-THFA / 抗 VEGF で処置されたマウスも、全ての他の処置群より長く生存した（57%）。他の処置群と比較して、5-FU / 5,10-CH₂-THFA / オキサリプラチニンにより処置されたマウス（25%）（図6）において防御が欠如していたのは、オキサリプラチニンに対する HT-29 腫瘍の明らかな抵抗性が原因である可能性が最も高い（図3）。オキサリプラチニン処置亜群分析について、5-FU / 5,10-CH₂-THFA 処置は、最も大きな生存率上の利益を提供した。

【0140】

（実施例2：5-FU、5,10-CH₂-THFA、FA、および抗 VEGF による

50

結腸直腸腫瘍 HT - 29 の処置に関するヌードマウス研究)

(材料および方法)

(マウス)

ヌード (n u / n u) マウスはチャールズリバー研究所から入手された。マウスは、全ての研究の開始時、 6 ~ 8 週齢であった。マウスは、 L A B インターナショナルの飼育施設 (S a n D i e g o , C A) で、 1 ケージ当たり 4 匹で、隔離されたヘパフィルタ - 換気ケージにおいて維持された。

【 0 1 4 1 】

(細胞株)

ヒト結腸癌 HT - 29 は、アメリカンティッシュカルチャーコレクション (A T C C) 10 から入手された。細胞株は、 3 7 、 5 % C O ₂ の加湿インキュベーターにおいて、 1 0 % ウシ胎仔血清 (F B S) 、 2 m M 1 - グルタミン、 1 0 0 単位 / m l のペニシリン、および 1 0 0 μ g / m l のストレプトマイシンを含有している D M E M (D M E M - 1 0) において維持された。細胞株は、インビボ実験の前に 2 ~ 3 日毎に継代された。

【 0 1 4 2 】

(薬物)

5 - フルオロウラシル (5 - F U) は、カルバイオケムから入手された。ロイコボリン (ロイコボリン) およびオキサリプラチンは、シグマアルドリッヂから入手された。 5 , 1 0 メチレンテトラヒドロ葉酸は、エプロバ A G 製であった。血管内皮増殖因子に対するモノクローナル抗体 (抗 V E G F) は、 R & D システムズ (ヒト V E G F アイソフォーム 1 6 5 を認識するクローニ 2 6 5 0 3) またはジェネンテック (アバスチン) から入手された。

【 0 1 4 3 】

(H T - 29 結腸直腸癌ヌードマウス研究 # 2)

H T - 29 細胞を、注射のため以下のように調製した。 H T - 29 細胞のコンフルエントな組織培養フラスコを、 P B S により 1 回洗浄した後、トリプシンにより細胞を剥離した。次いで、剥離された細胞を、 D M E M - 1 0 で 1 回洗浄した後、 P B S により 1 回洗浄した。最後に、細胞を P B S に 1 × 1 0 ⁷ 細胞 / m l で再懸濁させた。ヌードマウス (n u / n u) に、 2 8 ゲージインスリン針 / 注射器を使用して、 1 0 0 μ l (1 0 ⁶ 細胞) の H T - 29 細胞を皮下接種した。腫瘍が体積 3 0 ~ 1 0 0 m m ³ に達した時点で、マウスを、腹腔内注射により投与された 5 - F U 、 5 , 1 0 - C H ₂ - T H F A 、ロイコボリン、および抗 V E G F (ジェネンテックのアバスチン抗体) の様々な組み合わせにより処置した。 1 日目および 7 日目に 2 回 (1 0 0 μ g / マウス) 投薬された抗 V E G F を除き、全ての薬物が、 7 日間連続で 1 日 1 回投薬された (0 . 6 m g / マウス / 薬物) 。さらに、 5 , 1 0 - C H ₂ - T H F A またはロイコボリンは、 5 - F U 注射の 2 0 分前に注射された。腫瘍サイズはノギスを使用して 2 ~ 3 日毎に測定された。腫瘍体積は以下の式を使用して計算された：腫瘍体積 = (長さ × 幅 ²) / 2 。腫瘍が直径 > 2 c m に達するか、または腫瘍が潰瘍化した時点で、マウスを C O ₂ により安楽死させた後、頸部脱臼を行った。

【 0 1 4 4 】

(データ分析)

腫瘍および血液のデータの統計分析は、グラフパッドプリズム科学ソフトウェアを使用して実施された。ボンフェロニ T 検定が、複数の群の間の腫瘍サイズを比較するために使用された。ログランク検定は、群生存曲線間の統計的な差を決定するために使用された。 2 つの群のみが比較されるいくつかの場合には、スクエア根 T 検定が群測定値間の有意性を決定するために使用された。

【 0 1 4 5 】

(結果)

上記の最初のヌードマウス研究において得られた予備結果に基づき、本発明者らは、研究設計を一部改変して、別の H T - 29 ヌードマウス研究を繰り返した。改変には、より

10

20

30

40

50

大きい群サイズ、R & D システムズの抗体のジェネンティックの抗 V E G F アバスチン抗体への置換、オキサリプラチンの排除、増加した処置日数、および抗 V E G F 抗体の増加した投薬回数が含まれていた。ヌードマウスを、表 3 に記載された薬物組み合わせにより処置した。この研究において、本発明者らは、5 - F U / 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A 処置を抗 V E G F 抗体アバスチンと組み合わせることにより、他の薬物組み合わせより大きく結腸直腸腫瘍の増殖を阻害し得るか否かを調査することを望んだ。薬物濃度および処置日は、材料および方法のセクションに記載されている。処置後、腫瘍サイズを 2 ~ 3 日毎に測定し、腫瘍体積を計算した。次いで、腫瘍体積を、処置開始からの時間に対してプロットした(図 7)。各処置群についてのベストフィット曲線を計算し、この図中にプロットした。ベストフィット曲線分析に基づき、各群についての平均倍化時間を計算した(表 4)。5 - F U / 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A / アバスチンの組み合わせで処置されたマウスは、他の全ての群と比較して、最も遅い増殖速度論を示した(倍化時間 = 9 . 9 日)。これらの結果は、先に記載された 1 回目のヌードマウス腫瘍研究で得られた結果と一致している。

10

【 0 1 4 6 】

【 表 3 】

表 3. マウス処置群

20

群 #	処置	マウス/群
1	生理食塩水	12
2	5-FU	12
3	5-FU/ ロイコボリン	12
4	5-FU/5,10-CH ₂ -THFA	12
5	5-FU/ アバスチン	12
6	5-FU/ ロイコボリン/アバスチン	12
7	5-FU/5,10-CH ₂ -THFA / アバスチン	12
合計		84

30

【 0 1 4 7 】

【表4】

表4. 腫瘍倍化時間

群 #	処置	倍化時間 (日)	
1	生理食塩水	7.6	
2	5-FU	7.4	10
3	5-FU/ ロイコボリン	8.5	
4	5-FU/5,10-CH ₂ -THFA	8.2	
5	5-FU/ アバスチン	8.4	
6	5-FU/ ロイコボリン/アバスチン	8.6	
7	5-FU/5,10-CH ₂ -THFA / アバスチン	9.9	20

本発明者らは、処置開始後19日目に決定した平均腫瘍体積の差も分析した。平均腫瘍体積±SEMは、図8にプロットされている。本発明者らは、5-FU/5,10-CH₂-THFA/アバスチンで処置されたマウスの平均腫瘍体積(94.0±10.2、平均±SEM、n=12)が、5-FU(368.5±63.7、n=10)、5-FU/ロイコボリン(262.0±36.5、n=11)、5-FU/5,10-CH₂-THFA(225.4±32.0、n=12)、5-FU/アバスチン(225.5±28.8、n=12)で処置されたマウスより有意に少ないが(p<0.05、ボンフェロニT検定)、5-FU/ロイコボリン/アバスチンで処置されたマウス(140.8±20.3、n=12)よりは有意に少なくないことを観察した。対照的に、5-FU/ロイコボリン/アバスチンで処置されたマウスの平均腫瘍体積は、5-FUで処置されたマウスにおける腫瘍体積より有意に少ないのであり、他の処置群よりは有意に少なくなかった。

【0148】

全ての処置群についてのマウス生存曲線も計算した。明白な全身毒性、腫瘍潰瘍化が見られるか、または腫瘍直径が>2cmに達した時点で、マウスを安樂死させた。研究完了前(処置開始から38日目)、生理食塩水、5-FU、または5-FU+アバスチンで処置されたマウスの50%がまだ生存していた(図9)。対照的に、5,10-CH₂-THFAまたはロイコボリンのいずれかと組み合わせられた5-FU+アバスチンで処置されたマウスの92%が生存していた。様々な薬物組み合わせについてのこの生存率パターンは、前記の1回目のヌードマウス結腸直腸腫瘍研究において観察された結果と類似している。

【0149】

(実施例3: 5-FU、ロイコボリン、および5,10-CH₂-THFAの組み合わせにより処置されたBalb/cマウスの血液分析)

(材料および方法)

(マウス)

Balb/cマウスはチャールズリバー研究所から入手された。マウスは、全ての研究の開始時、6~8週齢であった。マウスは、LABインターナショナルの飼育施設(San Diego, CA)で、1ケージ当たり4匹で、隔離されたヘパフィルター換気ケ

10

20

30

40

50

ジにおいて維持された。

【0150】

(薬物)

5-フルオロウラシル(5-FU)は、カルバイオケムから入手された。ロイコボリン(フォリン酸)は、シグマアルドリッヂから入手された。5,10メチレンテトラヒドロ葉酸(5,10-CH₂-THFA)は、エプロバAG製であった。

【0151】

(Balb/c血液分析研究)

Balb/cマウス、7週齢の雌マウスに、7日間連続で5-FU、ロイコボリン、および5,10-CH₂-THFAの組み合わせを注射した。全ての薬物が、28ゲージインスリン針/注射器を使用して腹腔内注射された(100μl/マウス、0.6mg/マウス/薬物)。0日目(薬物注射の前)、8日目、および13日目に、200~250μl/マウスの血液を、眼窩静脈叢(retro-orbital)穿刺によりEDTAでコーティングされたマイクロティナー(microtainer)チューブ(VWRインターナショナル(International))へと収集した。全血球算定+血球差は、バイエルアドビア(Bayer Advia)120ヘマトロジー(Hematology)分析装置を使用して、アメリカのラブコープコーポレーション(Labcorp Corporation)により決定された。

【0152】

(結果)

殺腫瘍活性に加え、5-FUは、骨髄抑制効果のため、正常細胞、特に、造血系の細胞に対して細胞障害性である。ロイコボリンおよび5,10-CH₂-THFAの関連した化学的特徴および作用様式のため、本発明者らは、5-FU/5,10-CH₂-THFA組み合わせ療法の類似した毒性プロファイルが存在するか否かを決定することを望んだ。そのため、本発明者らは、5-FU、ロイコボリン、および5,10-CH₂-THFAの様々な組み合わせ(表5)を正常なBalb/cマウスに注射した。処置前、処置後1週間目および2週間目に、本発明者らは、血液パラメータの変化に関して全血球算定+差を分析した。さらに、本発明者らは、薬物毒性の定性的および定量的な測定値を分析した。

【0153】

【表5】

表5. Balb/cマウス処置群

群#	処置	マウス/群
1	5-FU	12
2	5-FU/ ロイコボリン	13
3	5-FU/5,10-CH ₂ -THFA	13
合計		38

薬物の投薬から1週間後、本発明者らは、全てのマウスが、体毛の毛羽立ち(ruffled fur)、瀕死、および脱水症を含む、薬物に関連した毒性を有していることを観察した。薬物処置の開始から12日以内に、5-FUのみおよび5-FU/ロイコボリンの処置群の全てのマウスが死亡した。対照的に、5-FU/5,10-CH₂-THFA処置群においては、38%のマウス(13匹中5匹)が、14日後に生存していた。全ての処置群についてのカプランマイヤー生存曲線をプロットした(図10)。5-FU/5,10-CH₂-THFA処置群 対 5-FU/ロイコボリン処置群のログランク統

10

20

30

40

50

計比較は、生存率の有意な差（ $p < 0.05$ ）を示した。

【0154】

血液分析は、選択血球型の差も明らかにした（図11）。本発明者らは、以下の血液パラメータを測定した：白血球（WBC）、赤血球（RBC）、ヘモグロビン（HGB）、ヘマトクリット（HCT）、平均細胞体積（MCV）、平均細胞ヘモグロビン（MCH）、平均細胞ヘモグロビン含量（MCHC）、好中球、リンパ球、血小板（PLT）、好酸球、好塩基球、および単球。薬物処置後1週間目に、本発明者らは、5-FU/ロイコボリンで処置されたマウスより有意に多い白血球を5-FU/5, 10-CH₂-THFAで処置されたマウスにおいて観察した（ $p < 0.05$ 、スクレーベントt検定）。白血球サブセットの中で、本発明者らは、他の処置群より有意に多い血小板および好中球を、5-FU/5, 10-CH₂-THFAで処置された群において観察した。10

【0155】

5-FU/5, 10-CH₂-THFA処置後に血小板および好中球両方のレベルの差が観察されたため、本発明者らは、これらの細胞型をさらに査定した。NCIの毒性グレード判定基準を使用して、本発明者らは、合わせたグレード1/2の毒性、グレード3の毒性、またはグレード4の毒性のいずれかを有するマウスの割合（%）を計算した。血小板については、本発明者らは、5-FU単独で処置されたマウスの25%が、グレードの4毒性を示すことを観察した（図12）。対照的に、5-FU/ロイコボリンまたは5-FU/5, 10-CH₂-THFAで処置されたマウスについては、グレード4の毒性は認められなかった。しかしながら、グレード3の毒性を有する5-FU/ロイコボリンマウス（45%）とは異なり、5-FU/5, 10-CH₂-THFAで処置されたマウスは15%しかグレード3の血小板毒性を示さなかった。残りの5-FU/5, 10-CH₂-THFAで処置されたマウス（85%）は、グレード1または2の毒性しか示さない。そのため、このデータは、5-FU/5, 10-CH₂-THFAが、5-FU単独または5-FU/ロイコボリンよりも軽度の血小板毒性を誘導することを示唆している。20

【0156】

同様に、本発明者らは、好中球毒性プロファイルを査定した。血小板の差とは対照的に、標準的なNCIグレード決定システムは、処置群間の認めうる程度の好中球の差を明らかにしなかった。例えば、5-FUのみおよび5-FU/ロイコボリンで処置されたマウスの両方の100%は、グレード4の毒性を示し、5-FU/5, 10-CH₂-THFAで処置されたマウスの92%が同じグレード4の毒性を示した。5-FU/5, 10-CH₂-THFAで処置されたマウスの残りの8%は、グレード3の毒性を示した（図13）。しかしながら、グレード4の毒性を示したマウスのより綿密な分析は、定量可能な好中球の差を明らかにした。本発明者らは、グレード4の毒性を有するマウスを、処置後の好中球数の範囲に基づく亜群へと分割した（図14）。この分析は、5-FUのみにより処置されたマウスの100%および5-FU/ロイコボリンで処置されたマウスの80%が、0~99の間の好中球数を有していることを明らかにした。対照的に、5-FU/5, 10-CH₂-THFAで処置されたマウスは、40%しか、この最低レベルの好中球数を示さなかった。グレード4と判定された5-FU/5, 10-CH₂-THFAで処置されたマウスの過半数（50%）が、200~499の範囲の好中球数を有していた。従って、このデータは、5-FU/5, 10-CH₂-THFAが、5-FU単独または5-FU/ロイコボリンよりも軽度の好中球毒性をもたらすことを示唆している。3040

【0157】

（実施例4：5-FU、ロイコボリン、5, 10-CH₂-THFA、およびゲムシタビンの組み合わせにより処置されたBalb/cマウスの体重減少毒性分析）

（材料および方法）

（マウス）

Balb/cマウスはチャールズリバー研究所から入手された。マウスは、研究の開始時、6~8週齢であった。マウスは、LABインターナショナルの飼育施設（San Diego, CA）で、1ケージ当たり4匹で、隔離されたヘパフィルター換気ケージにお50

いて維持された。

【0158】

(薬物)

5 - フルオロウラシル (5 - FU) およびロイコボリン (ロイコボリン) は、シグマアルドリッヂから入手された。5 , 10 メチレンテトラヒドロ葉酸 (5 , 10 - CH₂ - THFA) は、エプロバAG製であった。ゲムシタピンはイーライリリー (Elli Lilly) 製であり、ミオダーム社 (Myoderm Inc.) から購入された。

【0159】

(Babb/c 体重分析研究)

Babb/c 雌マウスに、5 - FU、ロイコボリン、5 , 10 - CH₂ - THFA、およびゲムシタピンの組み合わせを注射した。5 - FU、ロイコボリン、および5 , 10 - CH₂ - THFA は、5 日間連続で (1 ~ 5 日目)、腹腔内注射された (100 μl / マウス、0.6 mg / マウス / 薬物)。ゲムシタピンは、3 日毎 (1 日目、4 日目、および 7 日目) に腹腔内注射された (100 μl / マウス、100 μg / マウス)。全ての薬物が 27 ゲージインスリン針 / 注射器を使用して注射された。薬物投薬の開始前 (処置前) および 8 日目に、分析用天秤を使用してマウスの体重を測定した。

【0160】

(結果)

5 - FU の既知の毒性は、胃腸毒性および関連する体重減少である。ロイコボリンは、胃腸毒性を悪化させる可能性があることが報告されている。さらに、膵臓癌のための現在の標準的な療法であるゲムシタピンは、それ自体の関連する毒性プロファイルを有している。組み合わせ 5 - FU / ゲムシタピンおよび 5 - FU / ロイコボリン / ゲムシタピンによる療法は、診療所において調査されており、増強された臨床活性を有していることが示されているが、これらの組み合わせは、典型的には、ゲムシタピン単独または 5 - FU / ロイコボリン単独より重度の毒性を示す。5 - FU / 5 , 10 - CH₂ - THFA / ゲムシタピン組み合わせ療法は、膵臓癌のための可能性のある処置レジメンであるため、ロイコボリンおよび 5 , 10 - CH₂ - THFA の関連する化学的特徴および作用様式のため、本発明者らは、ゲムシタピンと組み合わせられた 5 - FU / 5 , 10 - CH₂ - THFA の毒性プロファイルを調査することを望んだ。さらに、本発明者らは、組み合わせ 5 - FU / 5 , 10 - CH₂ - THFA の以前の毒性分析を拡張し、この組み合わせ (combo) が、5 - FU / ロイコボリンまたは 5 - FU 単独と比較して、付加的な明白でない毒性プロファイルを有しているか否かを決定することを望んだ。そのため、本発明者らは、5 - FU、ロイコボリン、5 , 10 - CH₂ - THFA、およびゲムシタピンの様々な組み合わせ (表 6) を正常な Babb/c マウスに注射した。処置前および処置開始後 1 週間に、本発明者らは胃腸毒性の測定値として体重の減少 / 増加を調査した。

【0161】

【表6】

表6. B a l b / c マウス処置群

群 #	処置	マウス/群	
1	5-FU	11	
2	5-FU/ロイコボリン	12	
3	5-FU/5,10-CH ₂ -THFA	12	10
4	ゲムシタビン	12	
5	5-FU/ロイコボリン/ゲムシタビン	12	
6	5-FU/5,10-CH ₂ -THFA / ゲムシタビン	12	
合計		71	

薬物投与の開始前（処置前）、無作為化されたマウスの群（1群当たり12匹）は、類似した平均体重を示した。処置後（8日目）、マウスの体重は全ての処置群で減少した。有害事象に関する国立癌研究所（NCI）の共通用語法基準（National Cancer Institute's (NCI) Common Terminology Criteria for Adverse Events）を使用して、体重減少の重度を各処置群についてプロットした（図15）。毒性グレード決定は、出発基線体重からの体重減少率（%）に基づく（表7）。これらの結果は、5-FU/5,10-CH₂-THFAが、5-FU単独または組み合わせ5-FU/ロイコボリンによる処置（いずれの処置群についても100%がグレード2～3の毒性）より有意に低い（p < 0.05、フィッシャーの正確確率検定（Fisher's exact test））グレード2～3の毒性（50%）を誘導したことを見ている。

【0162】

【表7】

表7. 国立癌研究所の体重減少毒性グレード

毒性	グレード0	グレード1	グレード2	グレード3
体重減少	<5%	5-<10%	10-<20%	>20%

ゲムシタビン処置は、単独では、毒性濃度未満の濃度の投与に起因して、グレード1より大きな体重減少毒性を誘導しなかったが、5-FU/ロイコボリンまたは5-FU/5,10-CH₂-THFAによる処置へのゲムシタビンの追加は、グレード3の毒性を有するマウスを100%とした（図15）。しかしながら、これらの処置群の間には体重減少率の定量的な差が検出され得た（図16）。このデータは、5,10-CH₂-THFAが、2重細胞毒性薬物5-FUおよびゲムシタビンと組み合わせて使用された場合、ロイコボリンより効果的に、マウスを体重減少から防御することを示唆している。5-FU/ロイコボリン/ゲムシタビンで処置されたマウスの92%が、>25%の体重減少を有していたが、有意に少ない（p < 0.05、フィッシャーの正確確率検定）5-FU/5,10-CH₂-THFA/ゲムシタビンで処置されたマウスが、この重度の体重減少を有していた（33%のマウス）。

【0163】

20

30

40

50

各処置群についてのマウス生存率も経時的に追跡した(図17)。5-FU/ロイコボリンおよび5-FU/5,10-CH₂-THFAの群は、いずれも、5-FUのみにより処置されたマウス(36%)と比較して、最大14日(各群83%)の有意に大きなマウス生存率(%)を有していた(p<0.05、ログランク検定)。最短の生存時間は、100%のマウスが14日目以前に死亡した5-FU/ロイコボリン/ゲムシタビンまたは5-FU/5,10-CH₂-THFA/ゲムシタビンの3重薬物組み合わせにおいて観察された。しかしながら、5-FU/5,10-CH₂-THFA/ゲムシタビンマウスは、5-FU/ロイコボリン/ゲムシタビンで処置されたマウス(8日)より有意に長く生存した(9日、p<0.05、ログランク検定)。これは、5-FU/5,10-CH₂-THFA/ゲムシタビン組み合わせ群について上に記載されたより体重減少毒性の重度が低いことと相関しており、5,10-CH₂-THFAが、組み合わせ5-FU/ゲムシタビンレジメンと共に使用された場合、ロイコボリンと比較して、より軽度の体重減少を誘導することを再び示唆している。

10

【0164】

(実施例5:5-FU、ロイコボリン、および5,10-CH₂-THFAの組み合わせにより処置されたBalb/cマウスのリンパ球分析)

(材料および方法)

(マウス)

Balb/cマウスはチャールズリバー研究所から入手された。マウスは、全ての研究の開始時、6~8週齢であった。マウスは、LABインターナショナルの飼育施設(San Diego, CA)で、1ケージ当たり4匹で、隔離されたヘパフィルター換気ケージにおいて維持された。

20

【0165】

(薬物)

5-フルオロウラシル(5-FU)は、カルバイオケムから入手された。ロイコボリン(ロイコボリン)は、シグマアルドリッヂから入手された。5,10メチレンテトラヒドロ葉酸(5,10-CH₂-THFA)は、エプロバAG製であった。

【0166】

(Balb/c血液分析研究)

Balb/cマウス、7週齢の雌マウスに、7日間連続で5-FU、ロイコボリン、および5,10-CH₂-THFAの組み合わせを注射した。全ての薬物が、28ゲージインスリン針/注射器を使用して腹腔内注射された(100μl/マウス、0.6mg/マウス/薬物)。0日目(薬物注射の前)、8日目、および13日目に、200~250μl/マウスの血液を、眼窩静脈叢穿刺によりEDTAでコーティングされたマイクロティーチューブ(VWRインターナショナル)へと収集した。全血球算定+血球差は、バイエルアドビア120ヘマトロジー分析装置を使用して、アメリカのラブコープコーポレーションにより決定された。

30

【0167】

(結果)

実施例3に記載された実験の付加的な分析は、処置群間の毒性の差をさらに明らかにした。初めに記載されたように、本発明者らは、5-FU/ロイコボリンおよび5-FU単独と比較した、5-FU/5,10-CH₂-THFA処置群における、血小板および好中球を含む白血球の防御を認めた。基線リンパ球レベルに対する割合(%)に基づくNCI毒性グレード決定(表8)を使用したデータの新たな分析も、他の群と比較して、より大きな5-FU/5,10-CH₂-THFA処置群におけるリンパ球の防御を示している(図18)。5-FUのみおよび5-FU/ロイコボリンによる処置群のマウスの100%が、グレード3~4のリンパ球減少を示したが、5-FU/5,10-CH₂-THFA処置群においては有意に少ない(p<0.05、フィッシャーの正確確率検定)マウスが、このレベルの毒性を示した(62%)。そのため、このデータは、5-FU/5,10-CH₂-THFAが、5-FUのみまたは5-FU/ロイコボリンのいずれよりも

40

50

軽度のリンパ球毒性を誘導することを示唆している。

【0168】

【表8】

表8. 国立癌研究所のリンパ球減少毒性グレード

毒性	グレード1	グレード2	グレード3	グレード4
リンパ球減少	75-<100%LLN	50-<75%LLN	25-<50%LLN	<25%LLN

(実施例6: カペシタビン(ゼローダ)、5,10-メチレンテトラヒドロ葉酸(5,10-CH₂-THFA)、およびロイコボリンによるHT-29結腸直腸腫瘍の処置に関するヌードマウス研究) 10

(材料および方法)

(マウス)

ヌード(nu/nu)マウスはシモンセン研究所(Simonsen Laboratories)から入手された。マウスは、全ての研究の開始時、6~8週齢であった。マウスは、ペリーサイエンティフィック(Perry Scientific)の飼育施設(San Diego, CA)で、1ケージ当たり4匹で、隔離されたヘパフィルター換気ケージにおいて維持された。

【0169】

(細胞株)

ヒト結腸癌HT-29は、アメリカンティッシュカルチャーコレクション(ATCC)から入手された。細胞は、37、10%CO₂の加湿インキュベーターにおいて、10%ウシ胎仔血清(FBS)、2mM L-グルタミン、100単位/mlのペニシリントン、および100μg/mlのストレプトマイシンを含有しているD MEM(DMEM-10)において維持された。細胞は、インビボ実験の前に2~3日毎に継代された。

【0170】

(薬物)

カペシタビン(ゼローダ)は、ロシュラボラトリーズ(Roche Laboratories)(Nutley, New Jersey)製であった。ロイコボリン(ロイコボリン)は、シグマアルドリッヂから入手された。5,10メチレンテトラヒドロ葉酸(5,10-CH₂-THFA)は、エプロバAG製であった。 30

【0171】

(処置)

HT-29細胞を、注射のため以下のように調製した。HT-29細胞のコンフルエントな組織培養フラスコを、PBSにより1回洗浄した後、トリプシンにより細胞を剥離した。次いで、剥離された細胞を、DMEM-10で1回洗浄した後、PBSにより1回洗浄した。最後に、細胞をPBSに10⁷細胞/mlで再懸濁させた。ヌードマウス(nu/nu)に、28ゲージ針/1mlインスリン注射器を使用して、100μlのHT-29細胞(10⁶細胞)を皮下接種した。腫瘍が体積100~300mm³に達した時点で、マウスを、ゼローダ、5,10-CH₂-THFA、ロイコボリン、または水の様々な組み合わせにより処置した。水およびゼローダ(72mg/マウス/日)は経口胃管栄養により投与された。5,10-CH₂-THFAおよびロイコボリンは、ゼローダのおよそ20分前に腹腔内注射により投与された(0.6mg/マウス/薬物/日)。全ての薬物が14日間連続で1日1回投薬された。腫瘍サイズおよびマウスの体重が2~4日毎に測定された。腫瘍体積は以下の式を使用して計算された:腫瘍体積=(長さ×幅²)/2。腫瘍が直径>2cmに達するか、または腫瘍が潰瘍化した時点で、マウスをCO₂により安樂死させた後、頸部脱臼を行った。 40

【0172】

(データ分析)

50

20

30

40

50

腫瘍の増殖、生存率、および重量減少の統計分析および曲線フィッティングは、グラフパッドプリズム科学ソフトウェアを使用して実施された。

【0173】

(結果)

(腫瘍増殖)

腫瘍保持マウスを、表9に示される薬物の組み合わせにより処置した。ゼローダは、ヒトにおける使用について承認されている臨床レジメンと同様に経口投薬された。コントロールで処置されたマウス(水)と比較して、全てのゼローダ含有処置群が、より遅い腫瘍増殖を有していた(図19)。さらに、ロイコボリンおよび5,10-CH₂-THFAの両方が、ゼローダの抗腫瘍活性を増加させた。これらの差は、表10に示される、指指数関数的な腫瘍増殖のベストフィット直線回帰から計算された腫瘍倍化時間に見出され得る。

10

20

【0174】

【表9】

表9. マウス処置群

群	処置
1	水
2	ゼローダ
3	ロイコボリン+ゼローダ
4	5,10-CH ₂ -THFA+ゼローダ

【0175】

【表10】

表10. 腫瘍倍化時間

群	処置	倍化時間(日)
1	水	8.2
2	ゼローダ	10.1
3	ロイコボリン+ゼローダ	13.2
4	5,10-CH ₂ -THFA+ゼローダ	14.2

30

40

(生存率)

実験の間中、マウス生存率を追跡した(図20)。これらの結果は、薬物投薬の最初の日を1日目と定義して、実験の33日目に、5,10-CH₂-THFA+ゼローダが、ロイコボリン+ゼローダ(25%)またはゼローダ単独(38%)と比較して、最も大きな生存率(67%)をもたらすことを示した。さらに、このデータは、全ての他の処置群についての30日と比較して、ロイコボリン+ゼローダにより処置されたマウスが、19日という中央生存率により示されるような、より急速な死亡率を有していたことを示唆する。

【0176】

(薬物毒性)

薬物毒性の代理マーカーとして、本発明者らは、マウスの体重を経時的に調査した。体重減少に関する国立癌研究所の共通毒性判定基準バージョン3グレード決定システム(National Cancer Institute's Common Toxicity Criteria version 3 grading system)(表11)を使用して、最高毒性グレードの体重減少をプロットした(図21)。ゼローダは、

50

単独では、比較的毒性はなく、マウスの 36%においてグレード 1 の毒性を誘導するに過ぎなかつたが、ロイコボリンは、グレード 1 ~ 3 全体の毒性をマウスの 90%にまで増加させた。この増加した毒性は、ロイコボリンが下痢、嘔吐、および粘膜炎症のようなゼローダ毒性パラメータを増加させることを示す第 I I 相ヒト臨床試験結果と一致している (Van Cutsem, E., M. Findlay, B. Osterwelder, W. Kocha, D. Dallely, R. Pazdur, J. Cassidy, L. Dix, C. Twelves, D. Allman, J. F. Seitz, J. Scholmrich, H. U. Burger, および J. Verweij. 2000. Capecitabine, an oral fluoropyrimidine carbamate with substantial activity in advanced colorectal cancer: results of a randomized phase II study. J Clin Oncol 18: 1337)。対照的に、5,10-CH₂-THFA は、ロイコボリンほどマウスにおけるゼローダ毒性を増加させず、マウスの 50%のみがグレード 1 ~ 3 の体重減少を有しており、ロイコボリン処置群と比較して毒性は 40% 低下していた。

【0177】

【表 11】

表 11. 体重減少毒性判定基準

グレード	0	1	2	3
体重減少 (%)	<5%	5 - <10%	10 - <20%	≥20%

10

20

(結論)

総合すると、このデータは、5,10-CH₂-THFA がロイコボリンより少ない毒性でゼローダの抗腫瘍効力を増強することを示唆する。

【0178】

(参考文献)

【0179】

【表 12】

30

米国特許第 5,376,658 号 (1994 年 12 月 27 日発行、Spears ら)

米国特許第 5,534,519 号 (1996 年 7 月 9 日発行、Spears ら)

Carlsson ら (1997) The Cancer Journal 10: 266-273.

Plasencia, Taron, Martinez, McLeod, Rosell, および Abad (2002) Molecular aspects involved in chemotherapy response in sensitive and 5FU resistant colorectal cancer (CRC) cell lines. American Society for Clinical Oncology Annual Meeting Abstract No. 2188.

40

全ての標題は読者の便宜のためのものであり、明示されない限り、標題に続く本文の意味を限定するためには使用されるべきではない。

【0180】

上記参考文献 (bibliography) において引用されたものを含む、本明細書において引用された全ての参考文献は、その全体が本明細書において参考として援用される。

【図面の簡単な説明】

【0181】

【図 1】 5-FU ; 5,10-CH₂-THFA (ここでは「補因子」と表されている) 50

50

; 抗 V E G F (アバスチン (Avastin)) ; およびロイコボリンの組み合わせにより処置されたヌードマウスにおける H T - 2 9 腫瘍の増殖速度論を示すグラフである。H T - 2 9 腫瘍の体積を、示された薬物による処置開始からの時間に対してプロットした。平均腫瘍体積 ± 平均値の標準誤差がプロットされている。曲線はベストフィット (best-fit) 分析により作成された。

【図 2】5 - F U ; 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A (ここでは「補因子」と表されている) ; およびオキサリプラチンの組み合わせにより処置されたヌードマウスにおける H T - 2 9 腫瘍の増殖速度論を示すグラフである。H T - 2 9 腫瘍の体積を、示された薬物による処置開始からの時間に対してプロットした。平均腫瘍体積 ± 平均値の標準誤差がプロットされている。曲線はベストフィット分析により作成された。

【図 3】5 - F U ; 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A (ここでは「補因子」と表されている) ; 抗 V E G F (アバスチン) ; およびロイコボリンの組み合わせによる H T - 2 9 腫瘍を保持しているヌードマウスの処置後の平均腫瘍体積を示すグラフである。処置開始後 2 2 日目の平均腫瘍体積を各処置群についてプロットした。エラーバーは、平均値の標準誤差を表す。

【図 4】5 - F U ; 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A (ここでは「補因子」と表されている) ; およびオキサリプラチンの組み合わせによる H T - 2 9 腫瘍を保持しているヌードマウスの処置後の平均腫瘍体積を示すグラフである。処置開始後 2 2 日目の平均腫瘍体積を各処置群についてプロットした。エラーバーは、平均値の標準誤差を表す。

【図 5】5 - F U ; 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A (ここでは「補因子」と表されている) ; ロイコボリン ; および抗 V E G F (アバスチン) の組み合わせによる処置後の H T - 2 9 腫瘍を保持しているヌードマウスの生存率のカプランマイヤー (Kaplan-Meier) プロットを示す。

【図 6】5 - F U ; 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A (ここでは「補因子」と表されている) ; およびオキサリプラチンの組み合わせによる処置後の H T - 2 9 腫瘍を保持しているヌードマウスの生存率のカプランマイヤープロットを示す。

【図 7】5 - F U ; 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A (ここでは「補因子」と表されている) ; ロイコボリン ; および抗 V E G F (アバスチン) の組み合わせにより処置されたヌードマウスにおける H T - 2 9 腫瘍の増殖速度論を示すグラフである。H T - 2 9 腫瘍の体積を、処置開始からの時間に対してプロットした。平均腫瘍体積 ± 平均値の標準誤差がプロットされている。曲線はベストフィット分析により作成された。

【図 8】5 - F U ; 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A (ここでは「補因子」と表されている) ; ロイコボリン ; および抗 V E G F (アバスチン) の組み合わせによる H T - 2 9 腫瘍を保持しているヌードマウスの処置後の平均腫瘍体積を示すグラフである。処置開始後 1 9 日目の平均腫瘍体積を各処置群についてプロットした。エラーバーは、平均値の標準誤差を表す。

【図 9】5 - F U ; 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A (ここでは「補因子」と表されている) ; および抗 V E G F (アバスチン) の組み合わせによる処置後の H T - 2 9 腫瘍を保持しているヌードマウスの生存率のカプランマイヤープロットである。

【図 10】5 - F U ; 5 - F U / ロイコボリン、および 5 - F U / 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A (5 , 1 0 - C H₂ - T H F A は「補因子」と表記されている) による処置後の B a l b / c マウスの生存率のカプランマイヤープロットである。

【図 11】5 - F U ; 5 - F U / ロイコボリン、および 5 - F U / 5 , 1 0 - C H₂ - T H F A (5 , 1 0 - C H₂ - T H F A は「補因子」と表記されている) による処置後の B a l b / c マウスの血液分析を示すグラフである。グラフにプロットされた基線測定値に対する割合 (%) を計算するため、薬物療法後 1 週間目に採取された血液測定値を、処置前の血液測定値により割った。平均データ値 ± 平均値の標準誤差が、各処置群についてプロットされている。W B C、白血球；R B C、赤血球；H G B、ヘモグロビン；H C T、ヘマトクリット；M C V、平均細胞容積；M C H、平均細胞ヘモグロビン (mean cell hemoglobin)；M C H C、平均細胞ヘモグロビン含量 (mean cell

10

20

30

40

50

ell hemoglobin content) ; PLT、血小板。

【図12】5-FU、5-FU/ロイコボリン、および5-FU/5,10-CH₂-THFA(5,10-CH₂-THFAは「補因子」と表記されている)による処置後のBalb/cマウスの血小板毒性グレード決定を示すグラフである。薬物処置後1週間目に、血小板毒性のグレードを各マウスについて計算した。グレード1または2、グレード3、およびグレード4の毒性を有するマウスの割合(%)が各処置群についてプロットされている。

【図13】5-FU、5-FU/ロイコボリン、および5-FU/5,10-CH₂-THFA(5,10-CH₂-THFAは「補因子」と表記されている)による処置後のBalb/cマウスの好中球毒性グレード決定を示すグラフである。薬物処置後1週間目に、好中球毒性のグレードを各マウスについて計算した。各処置群の中のグレード1または2、グレード3、およびグレード4の毒性を有するマウスの割合(%)がプロットされている。
10

【図14】5-FU、5-FU/ロイコボリン、および5-FU/5,10-CH₂-THFA(5,10-CH₂-THFAは「補因子」と表記されている)による処置後のBalb/cマウスの好中球毒性分析を示すグラフである。薬物処置後1週間目に、グレード4の好中球毒性を有するマウスを、絶対好中球数に基づき細分した。示された好中球数を有するこれらのマウスの割合(%)が各処置群についてプロットされている。

【図15】5-FU；ロイコボリン；10-CH₂-THFA(ここでは「補因子」と表記されている)；およびゲムシタピンの組み合わせによる処置後のBalb/cマウスの体重減少毒性グレード決定を示すグラフである。薬物処置後1週間目に、体重減少毒性のグレードを各マウスについて計算した。グレード0、1、2、および3の毒性を有するマウスの割合(%)が各処置群についてプロットされている。Gem. = ゲムシタピン。
20

【図16】5-FU；ロイコボリン；10-CH₂-THFA(ここでは「補因子」と表記されている)；およびゲムシタピンの組み合わせによる処置後のBalb/cマウスの体重減少率(%)を示すグラフである。薬物処置後1週間目に、出発基線体重からの体重減少率(%)を各マウスについて計算した。次いで、図中に示された体重減少の範囲に属するマウスの割合(%)を、各処置群についてプロットした。Gem. = ゲムシタピン。

【図17】5-FU；ロイコボリン；10-CH₂-THFA(ここでは「補因子」と表記されている)；およびゲムシタピンの組み合わせによる処置後のBalb/cマウスのカプランマイヤー生存率プロットである。Gem. = ゲムシタピン。
30

【図18】5-FU、5-FU/ロイコボリン、および5-FU/5,10-CH₂-THFA(5,10-CH₂-THFAは「補因子」と表記されている)による処置後のBalb/cマウスのリンパ球減少毒性グレード決定を示すグラフである。薬物処置後1週間に、リンパ球減少のグレードを各マウスについて計算した。グレード1/2、グレード3、およびグレード4の毒性を有するマウスの割合(%)が各処置群についてプロットされている。

【図19】カペシタピン(ゼローダ(Xeloda))、ゼローダ/ロイコボリン、およびゼローダ/5,10-CH₂-THFA(5,10-CH₂-THFAは「補因子」と表記されている)により処置されたヌードマウスにおけるHT-29腫瘍の増殖速度論を示すグラフである。HT-29腫瘍の体積を、処置開始からの時間に対してプロットした。平均腫瘍体積±平均値の標準誤差がプロットされている。曲線はベストフィット分析により作成された。
40

【図20】カペシタピン(ゼローダ)、ゼローダ/ロイコボリン、およびゼローダ/5,10-CH₂-THFA(5,10-CH₂-THFAは「補因子」と表記されている)による処置後のBalb/cマウスのカプランマイヤー生存率プロットである。

【図21】カペシタピン(ゼローダ)、ゼローダ/ロイコボリン、およびゼローダ/5,10-CH₂-THFA(5,10-CH₂-THFAは「補因子」と表記されている)による8日間の処置後のBalb/cマウスの体重減少毒性を示すグラフである。

【図1】

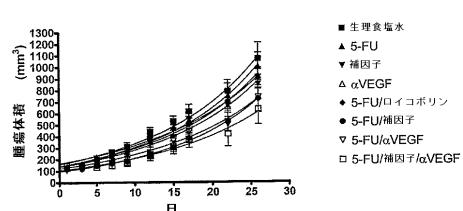


FIG. 1

【図3】

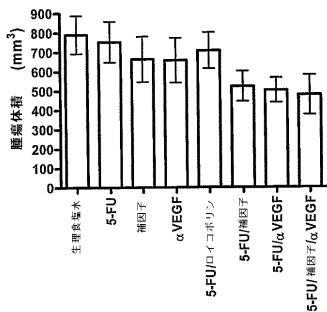


FIG. 3

【図2】

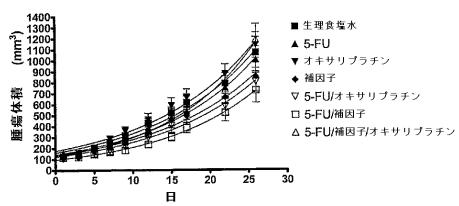


FIG. 2

【図4】

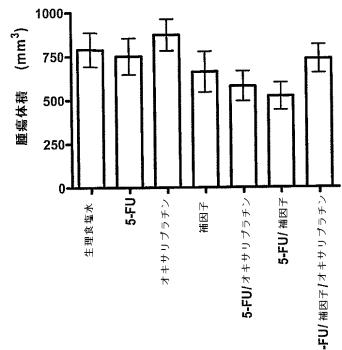


FIG. 4

【図5】

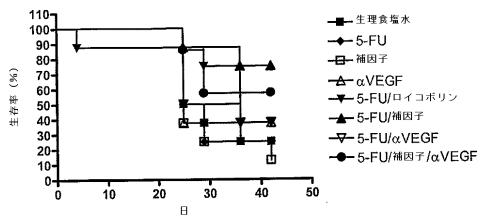


FIG. 5

【図6】

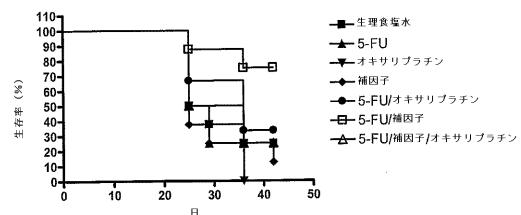


FIG. 6

【図7】

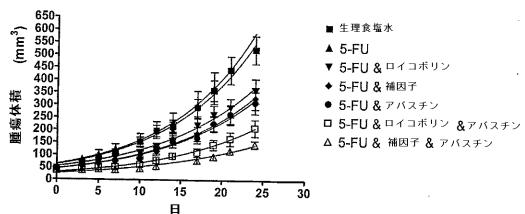


FIG. 7

【図9】

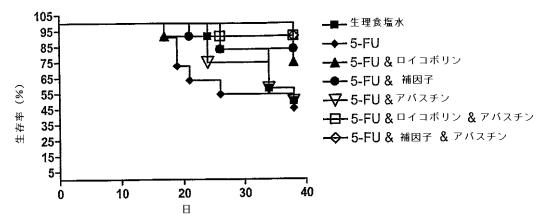


FIG. 9

【図10】

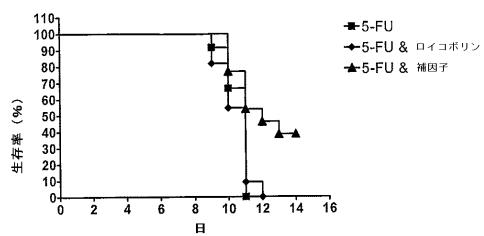


FIG. 10

【図8】

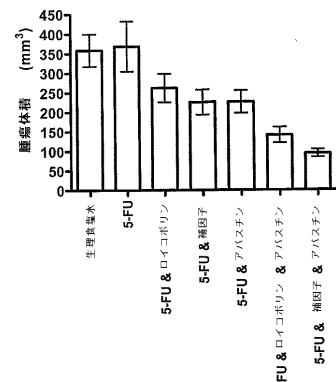


FIG. 8

【図11】

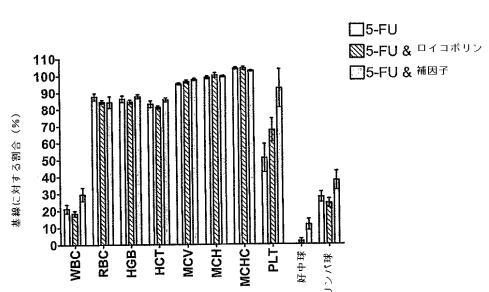


FIG. 11

【図 1 2】

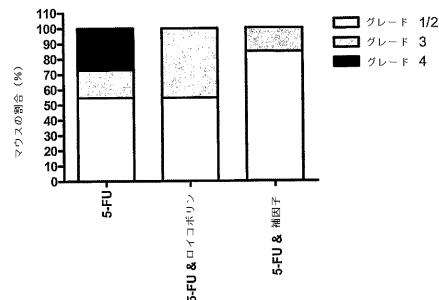


FIG. 12

【図 1 3】

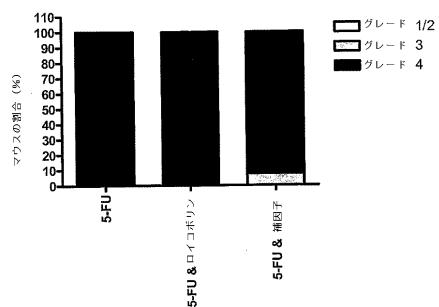


FIG. 13

【図 1 4】

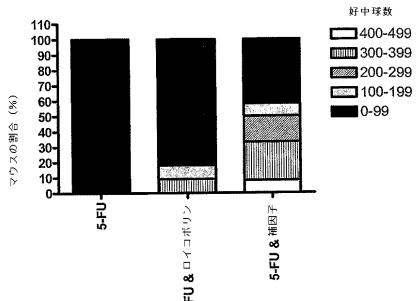
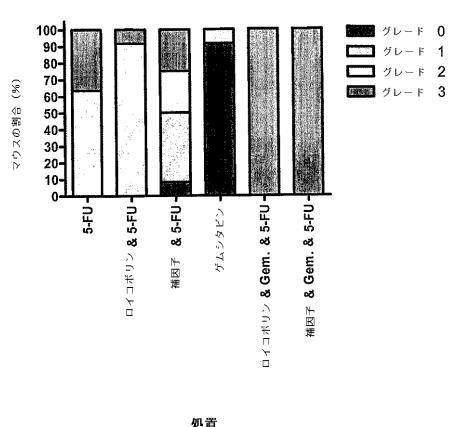


FIG. 14

【図 1 5】



処置

FIG. 15

【図16】

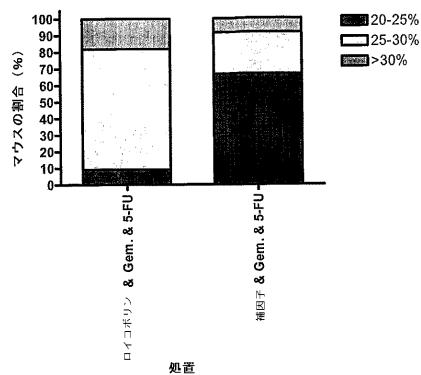


FIG. 16

【図17】

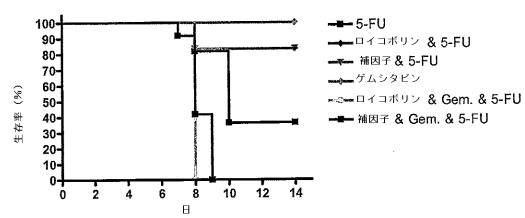


FIG. 17

【図18】

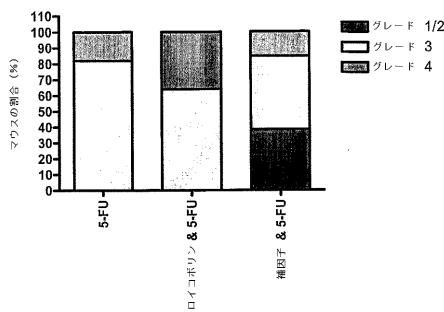


FIG. 18

【図19】

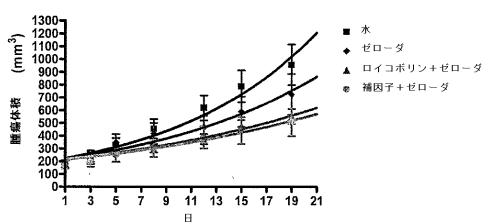


FIG. 19

【図20】

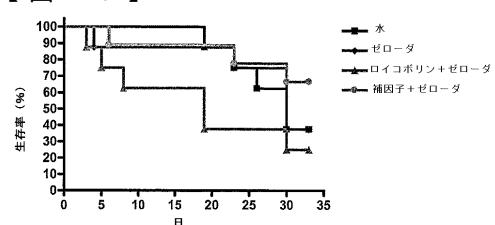


FIG. 20

【図21】

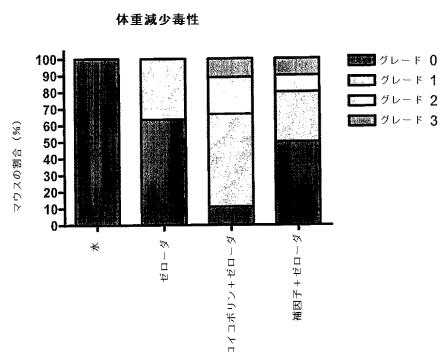


FIG. 21

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2005/011046

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
A61K31/505 A61P35/00

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

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

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

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 534 519 A (UNIVERSITY OF SOUTHERN CLAIFIRNIA) 9 July 1996 (1996-07-09) column 5, lines 46-59 – column 6, lines 53-60	124,207
Y	GOLDBERG R M ET AL: "A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL OF FLUOROURACIL PLUS LEUCOVORIN, IRINOTECAN, AND OXALIPLATIN COMBINATIONS IN PATIENTS WITH PREVIOUSLY UNTREATED METASTATIC COLORECTAL CANCER" JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, GRUNE AND STRATTON, NEW YORK, NY, US, vol. 22, no. 1, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 23-30, XP001203533 ISSN: 0732-183X figure 1; table 4	1-257
		1-257

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the International search report

30 March 2006

06/04/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Cattell, James

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2005/011046

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>CARLSSON ET AL: "Phase II Study of weekly 5-fluorouracil and 5,10-methylenetrathydrofolate in patients with advanced gastrointestinal and breast cancer." <i>THE CANCER JOURNAL</i>, vol. 10, no. 5, 1997, - 1997 pages 266-273, XP009063718 abstract</p> <p>-----</p>	1-257
Y	<p>HURWITZ H ET AL: "Bevacizumab (a monoclonal antibody to vascular endothelial growth factor) prolongs survival in first-line colorectal cancer (CRC): Results of a phase III trial of bevacizumab in combination with bolus IFL (irinotecan, 5-fluoruracil, leucovorin) a first-line therapy in subjects with metastatic CRC" <i>PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY</i>, May 2003 (2003-05), pages 1-2, XP002302471 see "Background"</p> <p>-----</p>	1-257

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2005/011046

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5534519	A 09-07-1996	NONE	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/7068 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	H
A 6 1 K 31/4745 (2006.01)	A 6 1 K 31/7068	
A 6 1 K 31/704 (2006.01)	A 6 1 K 31/4745	
A 6 1 K 31/407 (2006.01)	A 6 1 K 31/704	
A 6 1 K 31/675 (2006.01)	A 6 1 K 31/407	
A 6 1 K 33/24 (2006.01)	A 6 1 K 31/675	
A 6 1 K 31/282 (2006.01)	A 6 1 K 33/24	
A 6 1 K 31/337 (2006.01)	A 6 1 K 31/282	
A 6 1 K 31/475 (2006.01)	A 6 1 K 31/337	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/475	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
	A 6 1 P 43/00	1 2 1

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

(72)発明者 ロビンス , ジョアン エム .

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 1 3 1 , サンディエゴ , パインツリー ドライブ 1
0 2 6 5

(72)発明者 キャントウェル , マーク ジェイ .

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 1 2 6 , サンディエゴ , カミニト ラ バール 1 1
5 2 5 , ナンバー 5 0

F ターム(参考) 4C084 AA22 MA02 MA66 NA05 NA06 NA14 ZB261 ZC751
4C085 AA13 AA14 BB11 DD61 EE03 GG01
4C086 AA01 AA02 BA02 BC43 CB03 CB09 CB21 CB22 DA35 EA10
EA16 EA17 HA12 HA28 MA03 MA04 NA05 NA06 NA14 ZB26
ZC75
4C206 AA01 AA02 JB16 MA03 MA04 NA05 NA06 NA14 ZB26 ZC75