

(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2014-510102

(P2014-510102A)

(43) 公表日 平成26年4月24日(2014.4.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/56 (2006.01)	A 6 1 K 31/56	4 C 0 7 6
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/167 (2006.01)	A 6 1 K 31/167	4 C 0 8 5
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/19 (2006.01)	A 6 1 K 31/19	4 C 2 0 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求		(全 26 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-501039 (P2014-501039)	(71) 出願人	513235533
(86) (22) 出願日	平成24年3月20日 (2012. 3. 20)		ヴァルキュリア アクチアボラダ
(85) 翻訳文提出日	平成25年9月18日 (2013. 9. 18)		Valcuria AB
(86) 国際出願番号	PCT/SE2012/050306		スウェーデン王国 エス-223 81
(87) 国際公開番号	W02012/128709		ルンド, シューレヴェーゲン 2, セー
(87) 国際公開日	平成24年9月27日 (2012. 9. 27)		ノオー レスピラトリウス アクチアボラ
(31) 優先権主張番号	61/454, 751	(74) 代理人	110001302
(32) 優先日	平成23年3月21日 (2011. 3. 21)		特許業務法人北青山インターナショナル
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	ドロッティ, クリスティナ
(31) 優先権主張番号	1151196-1		スウェーデン王国 エス-226 50
(32) 優先日	平成23年12月15日 (2011. 12. 15)		ルンド, ヴァルケラトルンス ビューガー
(33) 優先権主張国	スウェーデン (SE)		タ 11
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 HDAC阻害剤及びステロイドを含む医薬組成物及びその使用

(57) 【要約】

本発明は、HDAC阻害剤、その薬学的に許容される酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物、並びに他の処置に先んずる前処置としてがんを処置するための前記医薬組成物の使用に関する。前記HDAC阻害剤又はステロイドは、選択肢として、追加の処置の前に別々に投与することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- a . H D A C 阻害剤、その薬学的に許容される酸若しくは塩又はその混合物、及び
- b . ステロイド又はその薬学的に許容される塩

を含むことを特徴とする医薬組成物。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の医薬組成物において、前記 H D A C 阻害剤がヒドロキサムノカルバミン酸、環状ペプチド、脂肪族系酸又はベンズアミド化合物であることを特徴とする医薬組成物。

【請求項 3】

請求項 2 に記載の組成物において、前記 H D A C 阻害剤が、ポリノスタット、ロミデプシン、バルプロ酸、アスパノピノスタット、パノピノスタット、ベリノスタット、エンチノスタット及びレスミノスタットからなる群から選択されることを特徴とする組成物。

【請求項 4】

請求項 3 に記載の組成物において、前記 H D A C 阻害剤が、バルプロ酸又はバルプロ酸セミナトリウム、バルプロ酸ナトリウム若しくはバルプロ酸マグネシウムからなる群から選択されることを特徴とする組成物。

【請求項 5】

請求項 1 乃至 4 の何れか 1 項に記載の組成物において、前記ステロイドが、プレドニゾン、プレドニゾロン、デキサメタゾン又はベタメタゾンからなる群から選択されることを特徴とする組成物。

【請求項 6】

請求項 5 に記載の組成物において、前記ステロイドがプレドニゾンであることを特徴とする組成物。

【請求項 7】

請求項 1 乃至 6 の何れか 1 項に記載の組成物において、前記 H D A C 阻害剤がバルプロ酸であり、前記ステロイドがプレドニゾンであることを特徴とする組成物。

【請求項 8】

請求項 1 乃至 7 の何れか 1 項に記載の組成物において、薬学的に許容される添加物、希釈剤、担体、添加剤又は緩衝剤を更に含むことを特徴とする組成物。

【請求項 9】

請求項 1 乃至 8 の何れか 1 項に記載の組成物において、粒剤、散剤、錠剤、被覆錠剤、マイクロカプセル剤、微粒剤又は発泡性の各形態からなる群から選択されることを特徴とする組成物。

【請求項 10】

請求項 1 乃至 9 の何れか 1 項に記載の組成物において、前記エフェヴァセント (e f f e v e r s c e n t) 形態が、錠剤又は散剤からなる群から選択されることを特徴とする組成物。

【請求項 11】

請求項 1 乃至 10 の何れか 1 項に記載の組成物を含むことを特徴とする、バイアル、アンプル、パウチ又は注入バッグからなる群から選択される器具、又は H D A C 阻害剤、その薬学的に許容される酸若しくは塩又はその混合物を含むことを特徴とする 1 つの器具及びステロイド又はその薬学的に許容される塩を含むことを特徴とする 1 つの器具。

【請求項 12】

がんの前処置のためであることを特徴とする、H D A C 阻害剤、その薬学的に許容される酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 13】

肉腫、悪性黒色腫、皮膚がん、エストロゲン受容体依存性及び非依存性乳がん、卵巣がん、前立腺がん、腎がん、結腸及び結腸直腸がん、膵がん、頭頸部がん、小細胞及び非小細胞肺癌、及び血液細胞のがんの前処置のためであることを特徴とする、H D A C 阻害剤

10

20

30

40

50

、その薬学的に許容される酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 14】

びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL)、濾胞性リンパ腫、慢性リンパ性白血病、T 細胞リンパ腫、骨髄腫及びホジキンリンパ腫からなる群から選択される疾患の前処置のためであることを特徴とする、HDAC 阻害剤、その薬学的に許容される酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 15】

好適な容器に入れて、且つ / 又は好適な包装及び使用説明書とともに提供される、請求項 1 乃至 10 の何れか 1 項に記載の医薬組成物を含むことを特徴とするキット。

10

【請求項 16】

好適な容器に入れて、且つ / 又は好適な包装及び使用説明書、例えば HDAC 阻害剤又はその薬学的に許容される酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその薬学的に許容される塩の投与の仕方とともに提供される、前記化合物を含むことを特徴とするキット。

【請求項 17】

請求項 16 に記載のキットにおいて、前記 2 種の活性化合物が、個別の容器及び / 又は異なるパッケージに保管されていることを特徴とするキット。

【請求項 18】

請求項 15 乃至 17 の何れか 1 項に記載のキットにおいて、前記キットが CD20 に結合する抗体、モノクローナル抗体又はその機能性断片を更に含むことを特徴とするキット。

20

【請求項 19】

請求項 15 乃至 18 の何れか 1 項に記載のキットにおいて、前記容器がバイアル、アンプル、パウチ又は注入バッグであることを特徴とするキット。

【請求項 20】

請求項 1 乃至 10 の何れか 1 項に記載の医薬合成を投与することによることを特徴とする、がん罹患しているヒトの前処置方法。

【請求項 21】

がんの前処置のための HDAC 阻害剤、その薬学的に許容される酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその薬学的に許容される塩を、同時に又は順次に投与することによることを特徴とする、がん罹患しているヒトの前処置方法。

30

【請求項 22】

請求項 20 又は 21 に記載の方法において、前記前処置の後に化学治療及び / 又は免疫治療がなされることを特徴とする方法。

【請求項 23】

請求項 20 乃至 22 の何れか 1 項に記載の方法において、肉腫、悪性黒色腫、皮膚がん、エストロゲン受容体依存性及び非依存性乳がん、卵巣がん、前立腺がん、腎がん、結腸及び結腸直腸がん、膵がん、頭頸部がん、小細胞及び非小細胞肺癌、及び血液細胞のがんの処置のためであることを特徴とする方法。

40

【請求項 24】

請求項 23 に記載の疾患の処置方法において、前記疾患が、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL)、濾胞性リンパ腫、慢性リンパ性白血病、T 細胞リンパ腫、骨髄腫及びホジキンリンパ腫からなる群から選択されることを特徴とする方法。

【請求項 25】

a. WSU-NHL、Karpas-422、ULA、SU-DHL-5 及び SU-DHL-8 からなる群から選択される細胞株を用意するステップと、

b. シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ビンクリスチン及びプレドニゾロンの組合せを添加するステップと、

c. 評価対象の物質を各細胞株に添加するステップと、

50

d. 前記細胞の生存率を評価するステップと、
を含むことを特徴とする、細胞株のCHOP感受性に対する物質の効果の評価方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、HDAC阻害剤、その薬学的に許容される酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物、並びに他の処置に先んずる前処置としてがんを処置するための前記医薬組成物の使用に関する。前記HDAC阻害剤又はステロイドは、選択肢として、追加の処置の前に別々に投与することができる。

【背景技術】

【0002】

がんとは、細胞の異常な成長と定義することができ、増殖の抑制が効かず、プログラム細胞死が妨害されるという徴候を呈する。伝統的な見解によると、一連の遺伝的事象が悪性転換を引き起こし、他の細胞及び組織の統合性を尊重しない細胞クローンが生じ、ついには転移することがある。がんは身体のいずれの組織にも発生し、各身体領域に多くの異なる形態がありうる。

【0003】

悪性リンパ腫とは、造血系のリンパ細胞の悪性転換と定義することができる。リンパ腫は侵襲性リンパ腫と緩慢性リンパ腫とに分類することができる。侵襲性リンパ腫は迅速な成長パターンを特徴とし、その臨床像は劇的でありうる。しかし、侵襲性リンパ腫は、化学治療、放射線治療及びモノクローナル抗体での処置によって完全治癒に至らせることができる。対照的に、緩慢性リンパ腫（例えば濾胞性リンパ腫）の成長パターンは緩慢で、通常、臨床症状はより控えめである。なお、緩慢性リンパ腫は、標準的なリンパ腫処置では完全治癒に至らせることができないが、同種幹細胞移植によって治癒する場合があります。濾胞性リンパ腫の生存期間中央値は8～10年である。びまん性大細胞型B細胞リンパ腫及びホジキンリンパ腫は侵襲性リンパ腫の群に属し、一方、濾胞性リンパ腫及び慢性リンパ性白血病は緩慢性リンパ腫である。骨髄腫は悪性転換した形質細胞からなる。これは緩慢性リンパ腫に関係しているが、通常、それ自体の独自体と考えられている。生存期間中央値は5～7年で、予後は悲観的である。

【0004】

びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（Diffuse Large B-cell Lymphoma: DLBCL）は、スウェーデンにおける発生率が約500症例/年で、最も多い悪性リンパ腫の亜型である。DLBCLは侵襲性リンパ腫の群の60～70%を占める。診断時の年齢中央値は70歳であり、DLBCLは女性より男性にやや多い。DLBCLの標準的な一次処置はシクロホスファミド、ドキシソルピシン、ビンクリスチン及びプレドニゾン（cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone: CHOP）の組合せからなる化学治療である。近年、CD20抗体リツキシマブの追加が国際的な臨床基準となり（R-CHOP）、無増悪、無再発、無病の全生存期間が向上している（Morrison, Expert Rev Anticancer Ther, 2008; 8(10): pp. 1651-1658）。しかしなお、45%もの患者がこの疾患で死亡しているため、DLBCL患者における無増悪生存期間を増加させる臨床的な必要性が際立っている。

【0005】

DNA転写の制御は複雑で、これに関わる機序は部分的にしか知られていない。ヒストン脱アセチル化酵素（Histone Deacetylases: HDAC）は腫瘍抑制遺伝子の発現及びがんの開始と進行の双方に関与する転写因子の活動を制御することができる。HDACはヒストン脱アセチル化によるDNA又はクロマチンの構造成分の変質によって作用し、従って、DNAの配列を変化させたり分断したりせず、その3次元構造に影響を及ぼす（後成的修飾）。HDACはクロマチン構造の調節によってDNA損傷化学治療に対する感受性を変化させる場合があることが示唆されてもいる。この線に沿っ

10

20

30

40

50

て、いくつかの *in vitro* 試験により、HDAC 阻害剤が化学治療と協同可能であることが示唆されている。

【0006】

近年、多数の HDAC 阻害剤が開発されている。これらは4つの種類、ヒドロキサム酸/カルバミン酸、環状ペプチド、脂肪族系酸及びベンズアミドに分類される。例えば、ボリノスタット及びロミデプシンは、皮膚T細胞リンパ腫リンパ腫の処置用として米国食品医薬品局 (FDA) に承認され、目下、他の悪性腫瘍の処置において評価中である。

【0007】

臨床的に最もよく知られている阻害剤は抗痙攣パルプロ酸であり、1970年代からてんかんの処置において利用されている。パルプロ酸は阻害剤の脂肪族系酸の種類に属する。

10

【0008】

欧州特許第1427403号明細書は、照射処置と組み合わせてヒトのがんを処置するための薬剤の製造にパルプロ酸 (valproic acid: VPA) 及びその薬学的に許容される塩を使用することを開示しており、この場合、ヒトのがんとは、乳がん、結腸がん、頭頸部がん、小細胞肺癌及び血液細胞のがんからなる群から選択される。欧州特許第1602371号明細書によると、VPAは、互いに著しく異なる機序を標的とする1つ又は複数の他の抗がん処置との組合せ治療において使用することも可能である。他の抗がん処置とは、化学治療試薬及び細胞傷害性試薬、分化誘導試薬 (例えばレチノイン酸、ビタミンD、サイトカイン)、ホルモン治療、免疫学的な手法、並びに最近では、抗血管新生の手法及び遺伝子治療の開発などである。

20

【0009】

米国特許出願公開第2008/0194690号明細書は、がんを含む複数の疾患の処置のために、HDAC 阻害剤、即ちペリノスタット (PXD101) などの特定のカルバミン酸化合物を、シクロデキストリン、アルギニン又はメグルミンと組み合わせて使用することを開示しており、HDAC 阻害剤の溶解性は、シクロデキストリン、アルギニン又はメグルミンのうち1つ又は複数を追加することによって高められる。

【発明の概要】

【0010】

本発明は、HDAC 阻害剤をステロイドと一緒にした組合せによって、リンパ腫などのがん罹患している患者の生存期間が向上するという独自の発見に関する。この化合物は薬学的に許容される化合物であり、少なくとも前処置としてさらなる処置に先んじて投与されることになる。物質は一緒に又は別々に投与され、薬学的に許容される化合物として投与される。

30

【0011】

ステロイドを利用すると、HDAC 阻害剤で処置したときの患者の反応を高め、傾眠などの副作用を低減することができることがわかった。

【0012】

第1の態様において、本発明は、HDAC 阻害剤、その酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその塩を含む医薬組成物に関する。

40

【0013】

第2の態様において、本発明は、がんの処置のための上記で定義した組成物の使用に関する。

【0014】

従って、かかる医薬組成物又はかかる組成物の使用を提供することによって、リンパ腫などのがん罹患している人の生存率が向上し、更に、有効性を維持しながら低用量の化学治療を必要とする高齢者を処置することが初めて可能になる。

【0015】

第3の態様において、本発明は、HDAC 阻害剤、その酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその塩を含む、少なくとも1つの医薬組成物を含むキットに関する。

50

【0016】

第4の態様において、本発明は、HDAC阻害剤、その酸若しくは塩又はその混合物を含む少なくとも1つの好適な容器又は好適な包装と、ステロイド又はその塩を含む少なくとも1つの好適な容器又は好適な包装とを含むキットに関する。

【0017】

かかるキットを提供することによって、がん罹患しているヒトが、病院での追加の処置に先んずる前処置をすることが容易になるであろう。

【0018】

第5の態様において、本発明は、

a. WSU-NHL、Karpas-422、ULA、SU-DHL-5及びSU-DHL-8からなる群から選択される細胞株を用意するステップと、

b. シクロホスファミド、ドキシソルビシン、ビンクリスチン及びプレドニゾロンの組合せを添加するステップと、

c. 評価対象の物質を各細胞株に添加するステップと、

d. 細胞の生存率を評価するステップと、

を含む、細胞株のCHOP感受性に対する物質の効果の評価方法に関する。

【0019】

最後の態様における、HDAC阻害剤、その酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその塩を含む医薬合成を投与することによるがん罹患しているヒトの処置方法。この医薬組成物は、化学治療、免疫セラフィー (immunotherapy) を含む1種又は複数種の他の処置と組み合わせて使用することができる。化学治療は、例えばCHOP (シクロホスファミド、ドキシソルビシン、ビンクリスチン及びプレドニゾン (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone)) とすることができ、免疫治療はCD20抗体とすることができる。

【発明を実施するための形態】

【0020】

HDAC及びステロイド

第1の態様において、本発明は、HDAC阻害剤、その酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその塩を含む医薬組成物に関する。HDAC阻害剤は、ヒドロキサム酸/カルバミン酸、環状ペプチド、脂肪族系酸又はベンズアミド化合物、例えば、ポリノスタット、ロミデプシン、バルプロ酸、アspanobinostat)、ベリノスタット、エンチノスタット及びレスミノスタットとすることができ、これらのうち一部には商標が使用されている。更に、HDAC阻害剤は、バルプロ酸、例えばバルプロ酸ナトリウム若しくはバルプロ酸マグネシウム又はその混合物とすることができる。例として、ポリノスタット (米国にて商標Zolinza (登録商標) で上市)、ロミデプシン (米国にて商標Istodax (登録商標) で上市)、パノビノスタットが含まれる。バルプロ酸の1つの形態は、バルプロ酸ナトリウムと混合され、即ち、酸及び塩の混合物 (バルプロ酸セミナトリウム) の形態で、種々の商標名、Depakote、Depakote ER、Depakene、Depacon、Depakine、Valparin、Stavzor及びErgenylで上市される場合である。バルプロ酸ナトリウムは、スウェーデンにおいてAbsenor、Depakine、Orfirilとして上市されている。バルプロ酸は、スウェーデンにおいてErgenyl及びDepakineとして上市されている。

【0021】

本発明において使用されることになるステロイドは、グルココルチコイドの中から選択することができ、プレドニゾン、プレドニゾロン、デキサメタゾン及びベタメタゾンを含む。1つの例では、HDAC阻害剤は、バルプロ酸であり、ステロイドはプレドニゾンである。

【0022】

10

20

30

40

50

追加の成分

上記で定義した医薬組成物は、1種又は複数種の他の薬学的に許容される薬剤成分、例えば薬学的に許容される希釈剤、担体、添加剤及び緩衝剤を更に含むことができる。「薬学的に許容される」とは、活性成分の生物学的活性の効力を減少させない無毒性の化合物を意味する。かかる薬学的に許容される添加物、希釈剤、緩衝剤、担体又は添加剤は当該技術分野において周知である(Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. R. Gennaro, Ed., Mack Publishing Company (1990)及びhandbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd edition, A. Kibbe, Ed., Pharmaceutical Press (2000)を参照されたい。

10

【0023】

用語「緩衝剤」とは、pHを安定させるための、酸-塩基の混合物を含有する水溶液を意味するものである。緩衝剤の例には、水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウム、アルギン酸、発熱性物質除去水、等張食塩水、リンガー液、エチルアルコール、pH緩衝溶液、ポリエステル、ポリカーボネート及び/又はポリ無水物、並びに医薬製剤に使用される他の無毒性の適合性物質がある。

【0024】

用語「希釈剤」とは、医薬製剤において化合物を希釈するための水溶液又は非水溶液を意味するものである。希釈剤は、生理食塩水、水、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール又はエタノールのうち1つ又は複数とすることができる。

20

【0025】

添加剤は、炭水化物、界面活性剤、ポリマー、脂質及びミネラルのうち1つ又は複数とすることができる。炭水化物の例には、ラクトース、スクロース、マンニトール及びシクロデキストリンが含まれ、これらは、例えば凍結乾燥を容易にするために組成物に添加される。ポリマーの例は、デンプン、セルロースエーテル、セルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、アルギネート、カラゲナン、ヒアルロン酸及びその誘導体、ポリアクリル酸、ポリスルホネート、ポリエチレングリコール/ポリエチレンオキシド、ポリエチレンオキシド/ポリプロピレンオキシドコポリマー、加水分解度の異なるポリビニルアルコール/ポリビニルアセテート、及びポリビニルピロリドンであり、全て分子量が異なり、これらは、例えば粘度を制御するため、生体付着を実現するため、又は化学分解及びタンパク質分解から脂質を保護するために、組成物に添加される。脂質の例は、脂肪酸、リン脂質、モノ-、ジ-、及びトリグリセリド、セラミド、スフィンゴ脂質及び糖脂質、全てアシル鎖長が異なり、飽和であり、卵レシチン、ダイズレシチン、水素添加卵レシチン並びに水素添加ダイズレシチンであり、これらは、ポリマーと同じ理由で組成物に添加される。ミネラルの例は、タルク、酸化マグネシウム、酸化亜鉛及び酸化チタンであり、これらは、液体蓄積の低減又は好都合な顔料特性などの有益性を得るために、組成物に添加される。

30

【0026】

本発明の医薬組成物に使用することができる好適な水性担体及び非水性担体の例には、水、エタノール、ポリオール(例えばグリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど)及びこれらの好適な混合物、オリーブ油などの植物油、並びにオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステルが含まれる。適切な流動性は、例えば、レシチンなどの被覆材料の使用、分散系の場合は必要とされる粒径の維持、及び界面活性剤の使用によって維持することができる。

40

【0027】

これらの組成物は、防腐剤、湿潤剤、乳化剤及び分散剤などの補助剤を含有することもできる。主題の化合物に対する微生物の作用の防止は、種々の抗菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸などを含めることによって確實

50

なものにすることができる。糖、塩化ナトリウムなどの等張剤を組成物中に含めることも望ましい場合がある。更に、注射可能な医薬形態の吸収を長時間化することは、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンなどの、吸収を遅延させる作用剤を含めることによって実現することができる。

【0028】

投与形態

本発明による医薬製剤は、局所的にも全身的にも投与することができる。投与経路には、局所、経眼、経鼻、プルモナー（pulmonar）、頬側、非経腸（静脈内、皮下及び筋肉内）、経口、経膈及び経直腸が含まれる。最も広く使用されるのは経口投与である。

10

【0029】

医薬組成物は患者に薬学的有効量で投与されることになる。「薬学的有効量」とは、投与される状態に関して所望の効果を生むのに十分な用量を意味する。正確な用量は、投与方法、障害の性質及び重症度に依拠する。患者の総体的な健康、性別、年齢及び体重によって、異なる用量が必要となる場合がある。用量の投与は、個別の用量単位又は複数のより少ない用量単位の形態での単回投与と、特定の間隔を置いた、細分した用量の複数回投与の両方によって実施することができる。活性化化合物又は活性物質は、投与形態によって、一緒に、又は別々に投与することもできる。

【0030】

好適な製剤形態は、例えば顆粒剤、散剤、錠剤、被覆錠剤、（マイクロ）カプセル剤、微粒剤、発泡性の散剤若しくは顆粒剤、坐剤、アンプル形態の注射可能な溶液剤及び活性化化合物の遅延性放出製剤でもあり、その製剤中で、添加剤、希釈剤又は担体が、通常上記の通り使用される。他の製剤は、当業者に周知の活性成分の種々の放出特性を生じさせるものとすることができる。その例には、持続放出、持続作用、徐放、時間放出若しくは持効性放出、制御放出、調節放出、又は継続的放出が含まれる。持続放出錠剤又はカプセル剤の利点は、同一の薬物の速放性製剤より少ない頻度で投与すればよい場合が多いこと、及び血流中に維持される薬物レベルがより安定していることである。今日では、ほとんどの時間放出薬物は、活性成分が不溶性の物質のマトリックス（いくつかのアクリル、キチンまでもなど様々であり、これらの物質は特許を取得していることが多い）中に埋め込まれるように製剤され、このため、溶解している薬物はマトリックスの孔を通過して出口を見つけなければならない。1つの側にレーザードリル孔、もう一方の側に多孔性膜のあるポリマーベースの錠剤に収められている薬物もある。胃酸が多孔性膜を突き抜け、それによって薬物をレーザードリル孔から外に押し出す。経時で薬物用量の全体が系内に放出され、一方ポリマーの容器はそのまま残るが、後に通常の消化によって排出されることになる。一部の製剤では、薬物はマトリックス中に溶解し、マトリックスが物理的に膨潤してゲルを形成し、薬物がゲルの外表面から外に出られるようにする。マイクロカプセル化は、複雑な溶解特性を生み出すためのより完全な技術と考えられてもいる。不活性コアの周囲に活性医薬成分を被覆し、それを不溶性の物質で層にしてマイクロスフェアを形成することによって、より堅実で再現可能な溶解速度を得ることが可能である。これらは皆、当業者に周知である。

20

30

40

【0031】

製剤形態の1つの例は発泡性生成物である。

発泡とは、二酸化炭素を生成する酸と塩基の反応（水中）である。この反応において使用される酸の例は、クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、フマル酸、アジピン酸、酸シトレート（acid citrate）、コハク酸及びこれらの混合物である。クエン酸が最も広く使用され、生成物に柑橘類様の風味を付与する。発泡反応において使用される塩基の例は、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム、炭酸水素カルシウム、炭酸マグネシウム、ナトリウムグリコカーボネート（sodium glyco carbonate）、カルボキシリシン及びこれらの混合物である。炭酸水素ナトリウムが発泡性の処方においてきわめてよく使用される。

50

【 0 0 3 2 】

化合物は発泡性生成物中に一緒に混合しても、或いは互いに分離してもよい。1つの例は、2つの活性物質が互いに別々にカプセル化され、得られた発泡性生成物が、2つの活性物質 / 成分について異なる放出特性を生じる場合である。

【 0 0 3 3 】

エフェヴァヴェセント (e f f e v e r v e s c e n t) 生成物は、散剤形態でも錠剤としてもよい。

生成物が錠剤の場合、以下を含む群から選択される少なくとも1つの添加物を含めることができる。結合剤、滑沢剤、乳化剤、充填剤、界面活性剤 (例えばポリソルベート80及びラウリル硫酸ナトリウム)、香味剤、香気剤 (風味を付与する成分の例) (例えばオレンジ、レモン、ベルガモン (b e r g a m o n)、グレープフルーツ、バナナ、アプリコット及びイチゴ) 及び天然又は合成のものを含む着色剤、ビタミン、甘味料 (風味を付与する成分の例) (アセスルファムカリウム、サッカリンナトリウム、アスパルテーム、ステビア (s t e v i a) 及びスルカロース (s u r c a l o s e))、栄養添加物 (例えば酸化防止剤、ペプチド)、並びにこれらの混合物。

10

【 0 0 3 4 】

発泡性組成物に、風味、色又は抗酸化特性を付与する物質は、ブルーベリー、クランベリー、ブドウ及び茶の葉など、天然源由来の植物ポリフェノールとすることができる。

【 0 0 3 5 】

更に、錠剤は、組成物中に使用するのに好適な、水分散性、水溶性、水不溶性の滑沢剤及びこれらの組合せを含む種々の滑沢剤を含有することができる。有用な水溶性の滑沢剤の例には、安息香酸ナトリウム、ポリエチレングリコール、L-ロイシン、アジピン酸及びこれらの組合せが含まれる。

20

【 0 0 3 6 】

錠剤には、例えば、ステアリン酸塩 (例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム及びステアリン酸亜鉛)、油 (例えば、ミネラル油、水素添加及び部分水素添加植物油、及び綿実油) 及びこれらの組合せを含む、水不溶性の滑沢剤を含めることもできる。発泡剤にはビタミン及びミネラルを含めることもできる。

【 0 0 3 7 】

発泡性生成物の生成のための製造プロセスは、当業者に周知の製剤中及び製造中に慎重に取り込まれる必要のあるいくつかの重大なステップを伴う。発泡性生成物の生成は、きわめて湿度の低い場所では実施されなければならない。発泡性生成物を生成する最良の方法は、湿度が厳密に制御されている環境で行うことである。

30

【 0 0 3 8 】

「打錠」又は「圧縮」として知られる錠剤の製造プロセスには、混合、造粒及び打錠のように、当業者に周知の粉末の医薬添加剤の添加が必要である。錠剤の製造において、造粒後に滑沢剤を添加することは常識であり、最も広く使用されている物質はステアリン酸マグネシウムである。発泡生成中に、ステアリン酸マグネシウムなどの物質は、水に不溶性であるために問題を発生させる恐れがあり、そうすると、錠剤が溶解した後、水の表面にフィルムが形成される。この問題を克服する方策は、水溶性の他の滑沢剤、例えば噴霧乾燥したL-ロイシンとポリエチレングリコールとの混合物を使用することである。或いは、滑沢剤を一切使用しなければ、ブレンドするステップを回避するという利点があるが、製造には特別な要求であるという不利点がある。

40

【 0 0 3 9 】

量及び用量

H D A C 阻害剤は、H D A C 阻害剤が使用されることになる場合に依拠する種々の量で投与されることになる。これは当業者に周知である。同様のことがステロイドに適用される。活性成分の投与は、一緒にでも、別々にでも可能である。しかし、以下に、利用することが可能な量のいくつかの例を挙げる。

【 0 0 4 0 】

50

投与の例は、1日当たり20～200mg、例えば50～200、100～150、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190又は200mgの量でのプレドニゾン又はプレドニゾロンの投与を含む。ベタメタゾンは、1日当たり4～32mg、例えば10～25、10～20、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31又は32mgの量で投与することができる。デキサメタゾンは、1日当たり10～80mg、例えば20～70、10、20、30、40、50、60、70又は80mgの量で投与することができる。プレドニゾンは、単回投与又は必要な場合複数回投与として投与することができる。

10

【0041】

バルプロ酸などのHDAC阻害剤は、1日当たり約500mg～約15000mg、例えば1日当たり約4000mg～約15000mg、例えば1日当たり約400mg～約3000mgの範囲で、経口投与又は静脈内投与することができる。例えば、経口投与量は、1日当たり約800、約1600、約2400、約3000、約6000、約9000、約15000mgとすることができる。1日当たりの合計量は単回投与で投与ことができ、又は複数回投与で、例えば1日につき2回、3回、4回又は5回投与することができることが理解される。

【0042】

ベリノスタットなどのHDAC阻害剤は、1日当たり約6mg～約3000mg、例えば1日当たり約40mg～約3000mg、例えば1日当たり約400mg～約3000mgの範囲で経口投与することができる。例えば、経口投与量は、1日当たり約4、約40、約400、約800、約1600、約2400、約2800又は約3000mgとすることができる。1日当たりの合計量は単回投与で投与ことができ、又は複数回投与で、例えば1日につき2回、3回又は4回投与することができることが理解される。

20

【0043】

HDAC阻害剤又はその薬学的に許容される塩、ステロイド又はその薬学的に許容される塩の投与の1つの例は、これらを単独で、又は組み合わせで、少なくとも1日1回を例えば午前中に、約5～8回を午前に投与するものとしてすることができる。しかし、これらの物質のうち何れかを、毎日1回、2回、3回、4回又は5回まですらも投与することができる。投与の例には、HDAC阻害剤の投与を1日3回及びプレドニゾンを1日1回というものが含まれる。通常、ステロイドは、製剤の特性及び活性薬の放出特性によって、1日1～2回投与される。HDAC阻害剤及びステロイドの投与は、前記免疫及び/又は化学治療の少なくとも24～72時間前、例えば免疫及び/又は化学治療の30～60時間前、40～50時間前又は48時間前とすることができる。ステロイド及びHDAC阻害剤は、同時又は順次に投与することができる。なお、投与は、化学治療及び又は免疫治療での処置の前に行うことができるが、処置中又は処置後にも投与することができる。しかし、処置前の投与は必須である。

30

【0044】

キット

1つの態様において、本発明は、好適な容器又は包装に入れた上記の医薬組成物を含むキットに関する。

40

【0045】

別の態様において、本発明は、HDAC阻害剤又はその薬学的に許容される酸若しくは塩又はその混合物、及びステロイド又はその薬学的に許容される塩若しくはその混合物を含むキットに関する。

【0046】

キットは、HDAC阻害剤及びステロイドの個別の容器を含有することができる。キットはCD20に結合する抗体、モノクローナル抗体又はその機能性断片を更に含むことができる。キットは、使用説明書、例えば化合物又は組成物をいつどのように投与するか

50

ついて書面にした説明書も含有することができる。

【0047】

例えば、キットは、複数の錠剤又は粒剤を含有する1つ又は複数のプリスターを含有することができる。活性化合物は、錠剤又は粒剤中に混合する、又は異なる錠剤又は粒剤中に分離する、更に、錠剤又は粒剤中に、被覆されるなどの遮断物によって分離することができる。化合物又は医薬組成物は、キット中の同一の又は別々の異なるパウチの中に保管することもできる。

【0048】

キットは、例えば、適切な希釈用溶液（例えば生理的食塩水、グルコース溶液など）、試薬（例えばpH調整用）、及びアSEMBリー及び使用（例えば製剤の調製及びそれに続く投与での）のための器具（例えばバッグ、チューブ、シリンジ、針、移送セット）を含む、追加のパーツを含むことができる。

10

【0049】

書面にした説明書には、1種又は複数種の化合物の投与の仕方とともに、製剤（例えばその中のHDACi）の処置が好適な適応症のリストも含めることができる。

【0050】

処置及び使用の方法

本発明は処置方法にも関し、上記で定義した組成物又は化合物が、ヒトのがんの処置、例えば肉腫、悪性黒色腫、皮膚がん、エストロゲン受容体依存性及び非依存性乳がん、卵巣がん、前立腺がん、腎がん、結腸及び結腸直腸がん、膵がん、頭頸部がん、小細胞及び非小細胞肺癌、及び血液細胞のがんからなる群からの疾患の処置に利用される。例として、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、濾胞性リンパ腫、慢性リンパ性白血病、骨髄腫、T細胞リンパ腫及びホジキンリンパ腫からなる群から選択される疾患の処置が含まれる。

20

【0051】

用語「処置」は、状態を処置する文脈で使用され、所望の治療効果がいくらか達成されるヒトの処置及び治療に、一般的に関係がある。

【0052】

処置という用語には、2種以上の処置が、例えば同時に又は順次に組み合わせられる、他の種類の処置又は治療も含まれる。例えばステロイド及びHDAC阻害剤を同時に又は順次に投与することができる。例えば、本明細書に記載する化合物は、単独で、又は組み合わせて、且つ例えば細胞傷害性薬などの他の薬剤と一緒に使用することができる。例として、化学治療（開示する化合物又はCHOPなどの活性薬の投与）が含まれる。CHOPはシクロホスファミド、ドキシソルピシン、ピンクリスチン及びプレドニゾンの組合せであり、 $750 + / - 10\% \text{ mg / m}^2$ のシクロホスファミド、 $50 + / - 10\% \text{ mg / m}^2$ のドキシソルピシン、 $1.4 + / - 10\% \text{ mg / m}^2$ のピンクリスチン及び $50 + / - 10\% \text{ mg / m}^2$ のプレドニゾンという量で投与することができる。免疫治療は、抗体、モノクローナル抗体又はその機能性断片、例えばリツキシマブ、オファツムマブ、GA101、トシツムマブ（*tositumumab*）、イブリツムマブ（*ibratumumab*）、オクラルズマブ（*ocraluzumab*）、ベルツズマブ、エブラツズマブ、FTBA05、AME-133V又はR603を含む。上記の抗体は全て、B細胞に存在するCD20に結合する。抗体は、 $375 + / - 10\% \text{ mg / m}^2$ の量で投与することができる。他の例は、プロドラッグ、手術、照射及び遺伝子治療である。

30

40

【0053】

抗体は本発明の方法において治療薬として含まれ、その機能性断片を含む。本明細書で使用する「抗体」とは、ポリクローナル及びモノクローナル抗体、キメラ、一本鎖及びヒト化抗体、並びにFabフラグメントを含み、Fab又は他の免疫グロブリン発現ライブラリーの生成物を含む。本発明において使用する抗体という用語は、目的のタンパク質のエピトープの決定基に結合することができる、無傷の分子及びその断片、例えばFab及びF(ab')₂、Fv及びSCAフラグメントを含むことが意図されている

50

。一本鎖抗体（「SCA」）とは、好適な可動性ポリペプチドリンカーで連結したL鎖の可変領域及びH鎖の可変領域を含有する、遺伝子操作した一本鎖分子である。

【0054】

本発明はヒトに関係する。従って、方法はヒトの治療に適用される。

【0055】

次の実施例は本発明を説明することを意図するものであるが、いかなる流儀、形状、形態でも、明示的にも黙示的にも本発明を限定することを意図するものではない。

【実施例】

【0056】

生物学的評価

本発明の発明者らは、CD20抗体-CHOP誘導細胞死に対する感受性の異なる5種のDLBCL細胞株に基づいて(Ageberg, Rydstroem, Linden, Linderoth, Jerkeman and Drott; Exp Cell Research; May 1; 317(8): 1179-91)、CD20抗体-CHOP抵抗性(CD20抗体をリツキシマブとして)の細胞株*in vitro*モデルを樹立した。このモデルにおいて、薬理的な濃度のバルプロ酸で処置すると、CHOP仲介の細胞死に対して高い感作効果を示す。これは、ウエスタンブロット解析で測定したヒストンH3のアセチル化における増加と相関している。また、DLBCL細胞株にバルプロ酸とプレドニゾンとの組合せで48時間の前処置をすると、CHOP誘導細胞死に対する細胞株の感受性を更に増加させた。加えて、ヒドロキサム酸/カルバミン酸HDAC阻害剤トリコスタチンA及びペリノスタットでの前処置でも、DLBCL細胞株をCHOP誘導細胞死に対して感作し、効果はプレドニゾンの添加によって増強された。更に、ステロイドのデキサメタゾンも、バルプロ酸単独で誘導するCHOP誘導細胞死に対する感作効果を増強した。まとめると、この結果は、HDAC阻害剤とステロイドとの組合せが、B細胞リンパ腫細胞株をCHOP誘導細胞死に対して感作することを示している。これは、HDAC阻害剤及びステロイドの組合せ治療が、リンパ腫処置における化学治療又は免疫化学治療に対する反応を高めるであろうということを示す。

【0057】

実施例1

バルプロ酸(VPA)はDLBCL細胞株をCHOP処置に対して感作する。

DLBCL細胞株WSU-NHL、Karpas-422、ULA、SU-DHL-5及びSU-DHL-8細胞を、3種の異なる濃度(それぞれ0.1mM、2mM及び10mM)のバルプロ酸(VPA)単独で、又はCHOPと組み合わせて72時間処置した。全ての実施例において使用するCHOPレジメンは、10 μ Mのシクロホスファミド水合物、20nMのドキシソルピシン塩酸塩、2nMの硫酸ピンクリスチン及び20 μ g/mlのプレドニゾンからなる(Ageberg, Rydstroem, Linden, Linderoth, Jerkeman and Drott; Exp Cell Research; May 1; 317(8): 1179-91)。

【0058】

細胞生存率を72時間後にトリパンプルー排除によって評価し、0日目(播種)の未処置の対照細胞を標準とした。データを平均 \pm SEM、n=3で示す。

【0059】

表1に示す通り、バルプロ酸を添加すると、全てのリンパ腫細胞株においてCHOP処置に反応した細胞死が増加し、バルプロ酸とCHOPとの組合せはリンパ腫患者に対して有益である可能性があることを示している。

10

20

30

40

表1A: ULA細胞

VPA濃度	-CHOP			+CHOP		
	平均	SEM	N	平均	SEM	N
対照	100	1	3	66	6	3
0.1 mM	105	1	3	73	3e-001	3
2 mM	52	4	3	52	1	3
10 mM	50	4	3	42	6	3

10

表1B: Karpas-422細胞

VPA濃度	-CHOP			+CHOP		
	平均	SEM	N	平均	SEM	N
対照	101	1	3	81	3	3
0.1 mM	100	2	3	80	1	3
2 mM	102	1	3	67	8	3
10 mM	21	4	3	21	19	3

20

表1C: WSU-NHL細胞

VPA濃度	-CHOP			+CHOP		
	平均	SEM	N	平均	SEM	N
対照	100	2	3	91	4	3
0.1 mM	99	1	3	63	9	3
2 mM	29	4	3	6	3	3
10 mM	1	1	3	0	0	3

30

表1D: SU-DHL-8細胞

VPA濃度	-CHOP			+CHOP		
	平均	SEM	N	平均	SEM	N
対照	102	2	3	64	1	3
0.1 mM	105	2	3	55	5	3
2 mM	67	11	3	0	0	3
10 mM	0	0	3	0	0	3

40

表1E: SU-DHL-5細胞

VPA濃度	-CHOP			+CHOP		
	平均	SEM	N	平均	SEM	N
対照	105	5	3	32	1	3
0.1 mM	124	11	3	26	5	3
2 mM	53	2	3	1	1	3
10 mM	0	0	3	0	0	3

10

【 0 0 6 0 】

実施例 2

生理学的に適切な濃度のバルプロ酸 (VPA) は DLBCL 細胞株を CHOP 処置に対して感作する。

DLBCL 細胞株 SU-DHL-8 (表 2 A) 及び WSU-NHL (表 2 B) を 0.5 mM 又は 1.5 mM の VPA 単独で、又は CHOP と組み合わせて 72 時間処置した。0.5 mM の VPA 濃度を選択した理由は、これがてんかんの患者における継続的 VPA 処置中の正常な血清濃度であるからである。1.5 mM の VPA 濃度を選択した理由は、これが発明者によって認められたコンパッションネートユースでの 5 日間の VPA 処置中の最大耐血清濃度であるからである。

20

【 0 0 6 1 】

細胞生存率を 0 時間後 (1 日目)、24 時間後 (2 日目)、48 時間後 (3 日目) 及び 72 時間後 (4 日目) にそれぞれトリプブルー排除によって評価し、未処置の対照細胞を標準とした。データを平均、n = 3 で示す。

【 0 0 6 2 】

生存率に対する処置効果を、CHOP 処置単独での効果に対して試験した。有意差を、スチューデントの対応のない t 検定を使用して評価した。全ての検定を両側とした。効果は、 $P < 0.05$ (*) 及び $P < 0.01$ (**) で統計学的に有意であると考えられるものであった。

30

【 0 0 6 3 】

生存率 (1 日目の対照細胞に対する%) を表 2 A (SU-DHL-8) 及び表 2 B (WSU-NHL、n = 3) にそれぞれ示す。

【 0 0 6 4 】

表 2 に示す通り、生理学的に適切な濃度の VPA は、リンパ腫細胞株において CHOP 処置に反応した細胞死を増加させ、生理学的に適切な用量のバルプロ酸と CHOP との組合せは、リンパ腫患者に対して有益である可能性があることを示している。

表2A

SU-DHL-8	1日目	2日目	3日目	4日目
対照	100	101	103	97
CHOP	100	96	87	69
0.5 mM VPA	100	102	101	94
1.5 mM VPA	100	97	64	59
0.5 mM VPA + CHOP	100	89	82	49
1.5 mM VPA + CHOP	100	86	35	16

10

表2B

WSU-NHL	1日目	2日目	3日目	4日目
対照	100	99	100	101
CHOP	100	98	94	86
0.5 mM VPA	100	97	99	98
1.5 mM VPA	100	95	68	36 (**)
0.5 mM VPA + CHOP	100	53	84	57 (*)
1.5 mM VPA + CHOP	100	87	39	27 (*)

20

【 0 0 6 5 】

実施例 3

バルプロ酸 (VPA) はリツキシマブ仲介の細胞傷害性に干渉しない。

CD20抗体のリツキシマブによって誘導される抗体依存性細胞障害 (antibody-dependent-cellular cytotoxicity: ADCC) に対するVPAの影響を評価する為。

WSU-NHL細胞 (表3A及び3B) 又はSU-DHL-8細胞 (表3C及び3D) をPKH26で標識し、未処置のまま、又は1.5mMのVPAで24時間インキュベートしてから、0、0、1、又は10µg/mlでリツキシマブを添加した。

【 0 0 6 6 】

NK細胞をエフェクターとして標的細胞に10:1の比で添加し、次いで、細胞を更に20時間インキュベートした。死滅標的細胞を、PKH26及び7-AADに二重陽性であるとして特定し、アッセイの読み取り値として使用した。示したデータは死滅細胞のパーセンテージを表し、2種の別個の実験を表すものである。日付はVPAがリツキシマブによって誘導されるADCCに悪影響を及ぼさず、リンパ腫の患者においてCD20抗体と一緒にVPAを使用しても問題がないことを示している。

30

40

表3A: WSU-NHL細胞

リツキシマブ の量 ($\mu\text{g/ml}$)	+NK細胞			+NK細胞 + 1.5 mM VPA		
	平均	SEM	N	平均	SEM	N
0	16	1	6	27	4	7
0.1	35	5	6	40	6	7
1	45	5	6	50	5	7
10	54	2	6	56	3	7

10

表3B: WSU-NHL細胞

リツキシマブ の量 ($\mu\text{g/ml}$)	+NK細胞 + CHOP			+NK細胞 + 1.5 mM VPA + CHOP		
	平均	SEM	N	平均	SEM	N
0	22	2	5	51	5	5
0.1	45	7	5	60	4	5
1	54	6	5	60	6	5
10	61	5	5	66	3	5

20

表3C: SU-DHL-8細胞

リツキシマブ の量 ($\mu\text{g/ml}$)	+NK細胞			+NK細胞 + 1.5 mM VPA		
	平均	SEM	N	平均	SEM	N
0	30	7	3	34	6	3
0.1	38	4	3	43	8	3
1	50	4	3	49	4	3
10	60	3	3	58	4	3

30

表3D: SU-DHL-8細胞

リツキシマブ の量 ($\mu\text{g/ml}$)	+NK細胞 + CHOP			+NK細胞 + 1.5 mM VPA + CHOP		
	平均	SEM	N	平均	SEM	N
0	23	2	3	45	2	4
0.1	38	6	3	50	4	4
1	49	7	3	63	2	4
10	59	2	3	66	2	4

40

50

【 0 0 6 7 】

実施例 4 : バルプロ酸 (V P A) 単独での前処置は、 D L B C L 細胞株を C H O P 処置に対して感作する。 V P A とプレドニゾンとの組合せでの前処置は、 V P A 単独での前処置と比較して、細胞死を有意に増加させる。

C H O P に先んじた V P A での前処置は、 D N A 損傷の誘導によって、 C H O P 治療に対する反応性を理論的に高めることができる。しかし V P A 処置によって、患者に傾眠などの症状が出る可能性がある。このような症状は、プレドニゾンとの同時処置によって抑制できる可能性がある。 C H O P に先んじた V P A 及びプレドニゾンでの前処置の効果を試験するために、 W S U - N H L 細胞を、下に例示した通りの V P A 、プレドニゾン (P 、 2 0 μ g / m l)) 及び C H O P の種々の組合せで処置した。生存率を、示した時点で (n = 3) トリパンプルー排除によって評価した。有意差を、スチューデントの対応のない t 検定を使用して評価した。全ての検定を両側とした。効果は、 * P < 0 . 0 5 、 * * P < 0 . 0 1 、 * * * P < 0 . 0 0 1 で、統計学的に有意と考えられるものであった。

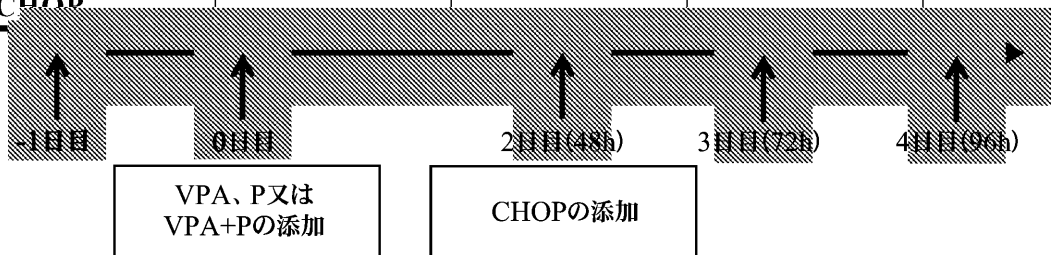
10

【 0 0 6 8 】

表 4 に示す通り、 V P A 単独での前処置は、リンパ腫細胞株を C H O P 処置に対して感作する。更に、プレドニゾンを添加すると、 V P A 単独での前処置と比較して、 C H O P 誘導細胞死を更に有意に増加させる。これらのデータは、 C H O P 治療に先んじた V P A とプレドニゾンとの組合せでの前処置が、リンパ腫患者にとって有益となるであろうことを示している。

20

WSU-NHL	48 h (平均生存率/ SEM)	72 h (平均生存率/ SEM)	96 h (平均生存率/ SEM)	P値(96 hに CHOP単独と 比較)
対照	99/2	101/1	99/0	0.0213*
0.5 mM VPA	99/1	98/2	97/2	0.0164*
1.5 mM VPA	76/1	65/6	52/7	0.0347*
プレドニゾン (P)	97/1	90/3	82/2	0.3143
0.5 mM VPA+P	92/1	78/8	65/8	0.1053
1.5 mM VPA+P	45/10	31/7	18/7	0.0056**
CHOP	99/2	95/2	86/2	-
0.5 mM VPA+CHOP	99/1	97/2	81/1	0.1093
1.5 mM VPA +CHOP	76/1	55/5	40/7	0.0172*
P+CHOP	97/1	85/3	69/6	0.0936
0.5 mM VPA+P+ CHOP	92/1	73/3	55/8	0.0568
1.5 mM VPA+P+ CHOP	45/10	24/4	16/6	0.0034*



【 0 0 6 9 】

実施例 5 : V P A とステロイドのデキサメタゾンとの組合せでの前処置は、V P A 単独での前処置と比較して、C H O P 誘導細胞死を有意に増加させる。

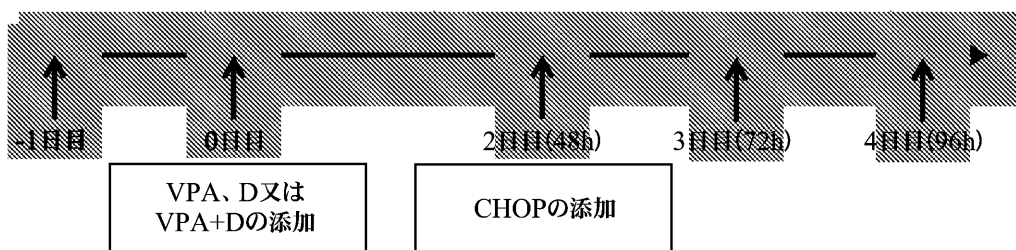
プレドニゾン以外のステロイドが V P A 及び C H O P によって誘導される細胞死に対して感作しうるかどうかを試験するために、W S U - N H L 細胞を、下に例示した通りの V P A、ステロイドのデキサメタゾン (D、 $1 \mu M$) 及び C H O P の種々の組合せで処置した。生存率を、示した時点で (n = 3) トリプル排除によって評価した。有意差を、スチューデントの対応のない t 検定を使用して評価した。全ての検定を両側とした。効果は、* P < 0 . 0 5、** P < 0 . 0 1、*** P < 0 . 0 0 1 で、統計学的に有意と考えられるものであった。

【 0 0 7 0 】

表 5 に示す通り、デキサメタゾンでのプレトリートメント (p r e t r e a t m e n t) は、V P A 単独での前処置と比較して、V P A - C H O P 誘導細胞死を更に増加させる。こ

これらのデータは、CHOP治療に先んじたVPAとデキサメタゾンなどの他のステロイドとの組合せでの前処置が、リンパ腫患者にとって有益となるであろうことを示している。

WSU-NHL	48 h (平均生存率/ SEM)	72 h (平均生存率/ SEM)	96 h (平均生存率/ SEM)	P値(96 hに CHOP単独と 比較)
対照	99/2	101/1	99/0	0.0213*
0.5 mM VPA	99/1	98/2	97/2	0.0164*
1.5 mM VPA	76/1	65/6	52/7	0.0347*
デキサメタゾン (D)	92/1	92/3	86/4	0.9507
0.5 mM VPA + D	87/3	79/1	65/6	0.0543
1.5 mM VPA + D	50/7	25/4	18/6	0.0039**
CHOP	99/2	95/2	86/2	-
0.5 mM VPA+CHOP	99/1	97/2	81/1	0.1093
1.5 mM VPA +CHOP	76/1	55/5	40/7	0.0172*
デキサメタゾン (D) + CHOP	92/1	85/4	64/3	0.0047**
0.5 mM VPA + D + CHOP	87/3	78/1	58/5	0.0127*
1.5 mM VPA + D + CHOP	50/7	30/6	21/4	0.0003***



【0071】

実施例6：HDAC阻害剤トリコスタチン(Tricostatin)A又はベリノスタットでの前処置は、DLBCL細胞株をCHOP処置に対して感作する。トリコスタチンAとプレドニゾンとの組合せでの前処置は、トリコスタチンA又はベリノスタット単独での前処置と比較して、CHOP誘導細胞死を有意に増加させる。

HDAC阻害剤の他の亜群からのHDAC阻害剤での前処置もCHOP誘導細胞死に対する感作効果があったかどうかを試験するために、WSU-NHL細胞を、下に例示した通りのヒドロキサム/カルバミン酸HDAC阻害剤トリコスタチンA(TSA)及びベリノスタット、プレドニゾン(P、20µg/ml)及びCHOPの種々の組合せで処置した。生存率を、示した時点で(n=3)トリンプルー排除によって評価した。有意差を、スチューデントの対応のないt検定を使用して評価した。全ての検定を両側とした。

効果は、* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$ で、統計学的に有意と考えられるものであった。

【0072】

表6に示す通り、トリコスタチンA単独での前処置は、リンパ腫細胞株をCHOP処置に対して感作する。更に、プレドニゾロンを添加すると、VPA単独での前処置と比較して、CHOP誘導細胞死を有意に増加させる。これらのデータは、ヒドロキサム/カルバミン酸群からのHDAC阻害剤も、CHOP治療に先んじてプレドニゾロンと一緒に組み合わせると、リンパ腫患者にとって有益となるであろうことを示している。

10

WSU-NHL	48 h (平均生存率/ SEM)	72 h (平均生存率/ SEM)	96 h (平均生存率/ SEM)	P値(96 hに CHOP単独と 比較)
対照	100/0	100/1	100/0	0.053455053
150 nM TSA	93/2	94/1	97/1	1
300 nM TSA	59/3	42/2	49/1	3.56367E-05***
プレドニゾロン (P)	99/1	98/0	98/1	0.42039602
150 nM TSA+P	89/5	87/2	87/4	0.121321131
300 nM TSA+P	60/5	36/4	32/4	0.002160384**
CHOP	100/0	101/0	97/1	-
150 nM TSA+CHOP	93/2	86/3	87/3	0.015277572*
300 nM TSA+CHOP	59/3	45/2	37/7	0.06838847
P+CHOP	99/1	99/2	91/1	0.01151857*
150 nM TSA+P+ CHOP	89/5	78/1	74/2	0.00535689**
300 nM TSA+P+ CHOP	60/5	36/3	24/4	0.001812973**

20

30

【0073】

ベリノスタットは類似の結果を示した(データは示さず)。

40

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/SE2012/050306
--

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: see extra sheet 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) IPC: A61K, A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched SE, DK, FI, NO classes as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, PAJ, WPI data, CHEM ABS Data, EMBASE, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007054719 A2 (TOPOTARGET UK LTD ET AL), 18 May 2007 (2007-05-18); page 34, line 25 - page 34, line 40; claims 1, 17, 26; See p. 30 and example 4 --	1-11, 15-19
X	WO 2008083290 A1 (GLOUCESTER PHARMACEUTICALS ET AL), 10 July 2008 (2008-07-10); claims 1, 11, 41 --	1-11
X	WO 0215921 A2 (GOVERNEMENT OF THE UNITED STATES ET AL), 28 February 2002 (2002-02-28); claims 1, 8 --	1-11
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17-07-2012		Date of mailing of the international search report 17-07-2012
Name and mailing address of the ISA/SE Patent- och registreringsverket Box 5055 S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. + 46 8 668 02 86		Authorized officer Carolina Gomez Lagerlöf Telephone No. + 46 8 782 25 00

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/SE2012/050306
--

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 20-24
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 20-24 relate to a method for treatment of the human or animal body by therapy, see PCT rule 39.1 (iv). Nevertheless, a search has been made for these claims. The search has been directed to the technical content of the claims.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The following separate inventions were identified:

1: Claims 1-24 directed to a pharmaceutical composition comprising a HDAC inhibitor and a steroid, a kit comprising the composition and the use of the composition in the pretreatment of cancer.

2: Claim 25 directed to a method of evaluating a substance effect on the CHOP-sensitivity of cell lines.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-24

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/SE2012/050306
--

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Petra S Bachmann et al, Epigenic silencing of BIM in glucocorticoid poor-responsive pediatric acute lymphoblastic leukemia, and its reversal by histone deacetylase inhibition, Blood, 2010, 116(16),3013-3022; abstract --	1-11
A	K Ted Thurn et al, Rational therapeutic combinations with histone deacetylase inhibitors for the treatment of cancer, Future oncology, 2011, 7(2),263-283; abstract --	1-24
A	WO 2009062054 A1 (NOVARTIS AG ET AL), 14 May 2009 (2009-05-14); abstract; claims -- -----	1-24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/SE2012/050306
--

Continuation of: second sheet

International Patent Classification (IPC)

A61K 31/573 (2006.01)

A61K 31/167 (2006.01)

A61K 31/18 (2006.01)

A61K 31/19 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61K 31/4402 (2006.01)

A61K 38/07 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

Download your patent documents at www.prv.se

The cited patent documents can be downloaded:

- From "Cited documents" found under our online services at www.prv.se
(English version)
- From "Anförda dokument" found under "e-tjänster" at www.prv.se
(Swedish version)

Use the application number as username. The password is **ITMPDZXCJY**.

Paper copies can be ordered at a cost of 50 SEK per copy from PRV InterPat (telephone number 08-782 28 85).

Cited literature, if any, will be enclosed in paper form.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/SE2012/050306

WO	2007054719 A2	18/05/2007	AU	2006313517 A1	18/05/2007
			CA	2627923 A1	18/05/2007
			EP	2361619 A1	31/08/2011
			EP	1957056 A2	20/08/2008
			JP	2009515861 A	16/04/2009
			US	20080274120 A1	06/11/2008
WO	2008083290 A1	10/07/2008	AU	2007342030 A1	10/07/2008
			CA	2674313 A1	10/07/2008
			CN	101687010 A	31/03/2010
			EP	2124990 A1	02/12/2009
			EP	2450049 A1	09/05/2012
			JP	2010514802 A	06/05/2010
			MX	2009006966 A	09/12/2009
			US	20100093610 A1	15/04/2010
WO	0215921 A2	28/02/2002	AU	8504201 A	04/03/2002
WO	2009062054 A1	14/05/2009	AU	2008323815 A1	14/05/2009
			CA	2705263 A1	14/05/2009
			CN	101970003 A	09/02/2011
			EP	2211902 A1	04/08/2010
			JP	2011503098 A	27/01/2011
			KR	20100088621 A	09/08/2010
			MX	2010005099 A	27/05/2010
			RU	2010123363 A	20/12/2011
			US	20110002934 A1	06/01/2011

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 31/4045 (2006.01)	A 6 1 K 31/4045	
A 6 1 K 31/18 (2006.01)	A 6 1 K 31/18	
A 6 1 K 31/4406 (2006.01)	A 6 1 K 31/4406	
A 6 1 K 31/573 (2006.01)	A 6 1 K 31/573	
A 6 1 K 9/20 (2006.01)	A 6 1 K 9/20	
A 6 1 K 9/14 (2006.01)	A 6 1 K 9/14	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
	A 6 1 K 39/395	N

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

(72) 発明者 レランデル, トマス

スウェーデン王国 エス - 2 2 7 6 0 ルンド, レーストレーツガータン 4 4

F ターム(参考) 4C076 AA30 AA31 AA36 AA42 AA48 AA61 BB01 CC03 CC04 CC27
 4C084 AA02 AA19 BA01 BA08 BA16 BA27 MA02 MA35 MA38 MA41
 MA43 MA52 NA05 NA14 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272 ZC201 ZC202
 4C085 AA13 AA14 CC23 EE03
 4C086 AA01 AA02 BC13 BC17 DA08 DA10 MA02 MA04 MA35 MA38
 MA41 MA43 NA05 NA14 ZB26 ZB27 ZC20
 4C206 AA01 AA02 DA03 HA16 JA13 MA02 MA04 MA14 MA21 MA55
 MA58 MA61 MA63 NA05 NA14 ZB26 ZB27 ZC20