

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第3部門第2区分
 【発行日】平成19年4月5日(2007.4.5)

【公表番号】特表2006-513225(P2006-513225A)
 【公表日】平成18年4月20日(2006.4.20)
 【年通号数】公開・登録公報2006-016
 【出願番号】特願2004-564044(P2004-564044)
 【国際特許分類】

A 6 1 K 45/06 (2006.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 K 31/7068 (2006.01)
A 6 1 K 31/704 (2006.01)
A 6 1 K 31/4745 (2006.01)
A 6 1 K 31/282 (2006.01)
A 6 1 K 33/24 (2006.01)
A 6 1 K 31/122 (2006.01)
A 6 1 K 31/337 (2006.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 45/06
 A 6 1 K 39/395 G
 A 6 1 K 39/395 U
 A 6 1 K 31/7068
 A 6 1 K 31/704
 A 6 1 K 31/4745
 A 6 1 K 31/282
 A 6 1 K 33/24
 A 6 1 K 31/122
 A 6 1 K 31/337
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 43/00 1 2 1
 A 6 1 P 43/00 1 1 1

【誤訳訂正書】
 【提出日】平成19年1月30日(2007.1.30)
 【誤訳訂正1】
 【訂正対象書類名】明細書
 【訂正対象項目名】全文
 【訂正方法】変更
 【訂正の内容】
 【発明の詳細な説明】
 【発明の名称】化学療法剤と組み合わせたリンホトキシン 受容体因子
 【技術分野】
 【0001】

(関連出願)

本願は、2002年12月20日提出の米国仮特許出願番号60/435185号の優先権を主張する。本願は、2002年12月20日提出の米国仮特許出願番号60/435154号にも関連する。これらの各特許および特許出願の内容全体が本明細書中で参考

として援用される。

【0002】

(発明の分野)

本発明は、免疫学ならびに癌の診断および治療分野に属する。より詳細には、本発明は、治療方法における化学療法剤と組み合わせた活性化リンホトキシン 受容体 (LT - R) 薬の使用に関する。

【背景技術】

【0003】

(発明の背景)

リンホトキシン 受容体 (本明細書中で LT - R という) は、多数の免疫系細胞 (濾胞性樹状細胞が含まれる) および多数の幹細胞型の免疫系の発達および機能維持の両方における役割が十分に記載されている腫瘍壊死因子ファミリーのメンバーである (Crowe ら (1994) Science 264:707; Browning ら (1993) 72:847; Browning ら (1995) 154:33; Matsumoto ら (1997) Immunol. Rev. 156:137)。LT - R の活性化により、インビボでの一定の癌細胞のアポトーシス性死を誘導することが示されている (PCT / US 96 / 01386)。したがって、特異的ヒト化抗 LT - R 抗体などのアゴニスト LT - R 活性化因子での処置は、被験体 (例えば、ヒト) の新形成の進行、重症度、または影響の処置または軽減に有用である。癌は、合衆国で5人の個体のうち約1人が罹患する今日の世界で最も一般的な健康上の問題の1つである。したがって、新形成細胞の成長抑制および種々の癌の処置は主要なヘルスニードであり、且つあり続ける可能性が高い。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0004】

(発明の要旨)

本発明は、部分的に、リンホトキシン 受容体 (LT - R) アゴニストおよびリンホトキシン受容体アゴニストではない化学療法剤の使用を含む、腫瘍体積の抑制および癌の処置方法を提供する。アゴニストと薬剤との組み合わせにより、アゴニストおよび薬剤の単独での効果の単純な和によって予想される以上の腫瘍抑制が達成される。このような効果を、本明細書中で「相乗的」抑制といい、相乗的または増強された相互作用に起因し得る。本発明はまた、本発明の方法の実施で使用するための薬学的組成物、送達デバイス、およびキットを提供する。

【0005】

本発明は、有効量のリンホトキシン 受容体 (LT - R) アゴニストおよび有効量の少なくとも1種の化学療法剤を投与する工程と、前記 LT - R アゴニストおよび化学療法剤の投与によって腫瘍が相乗的に抑制されることとを含む、腫瘍体積の抑制方法を提供する。

【0006】

本発明はまた、有効量の抗リンホトキシン 受容体 (LT - R) 抗体および有効量の少なくとも1種の化学療法剤を投与する工程と、前記抗 LT - R 抗体および化学療法剤の投与によって腫瘍が相乗的に抑制されることとを含む、腫瘍体積の抑制方法を提供する。

【0007】

本発明は、有効量の LT - R アゴニスト、有効量の少なくとも1つの化学療法剤、および薬学的に受容可能なキャリアを含み、被験体への投与によって腫瘍が相乗的に抑制される、薬学的組成物を提供する。

【0008】

本発明はまた、被験体に投与した場合に腫瘍が相乗的に抑制される癌処置薬調製用の有効量のリンホトキシン 受容体 (LT - R) アゴニストおよび有効量の化学療法剤の

使用を含む。

【0009】

本発明の1つの実施形態では、腫瘍の相乗的抑制が協力性である。さらなる実施形態では、腫瘍の相乗的抑制の組み合わせ指数 (combination index) が1.00未満である。さらに別の実施形態では、腫瘍の相乗的抑制が増強される。本発明のさらなる実施形態では、腫瘍の相乗的抑制のP値が0.05未満である。

【0010】

本発明の1つの実施形態では、LT - Rアゴニストは、抗LT - R抗体である。別の実施形態では、本発明の抗LT - R抗体はモノクローナル抗体であり、モノクローナル抗体は、BKA11、CDH10、BCG6、AGH1、BDA8、CBE11、およびBHA10からなる群から選択される。本発明のさらに別の実施形態では、抗LT - R抗体は、ヒト化抗体 (例えば、huCBE11およびhuBHA10が含まれる) である。さらに別の実施形態では、本発明の抗LT - R抗体は、多価抗LT - R抗体である。1つの実施形態では、多価抗LT - R抗体構築物は多特異的である。

【0011】

本発明のさらに別の実施形態では、抗体は化学療法剤に結合している。

【0012】

本発明の1つの実施形態では、化学療法剤はDNA合成を妨害する薬剤である。1つの実施形態では、DNA合成を妨害する薬剤は、ヌクレオシドアナログ化合物 (例えば、ゲムシタピンが含まれる) である。さらに別の実施形態では、DNA合成を妨害する薬剤は、アントラサイクリン化合物 (例えば、アドリアマイシンが含まれる) である。

【0013】

本発明のさらに別の実施形態では、化学療法剤は、トポイソメラーゼIインヒビター (例えば、カンプトサルが含まれる) である。さらなる実施形態では、化学療法剤はアルキル化剤 (例えば、白金化合物が含まれる) である。1つの実施形態では、白金化合物は、カルボプラチンおよびシスプラチンのいずれかである。

【0014】

さらに別の実施形態では、本発明の化学療法剤は植物アルカロイドである。1つの実施形態では、植物アルカロイドがタキサン (例えば、タキソールが含まれる) である。

【0015】

1つの実施形態では、腫瘍体積の抑制方法は、有効量のリンホトキシン受容体 (LT - R) アゴニストおよび有効量のリンホトキシン受容体アゴニストではない化学療法剤を投与する工程と、前記LT - Rアゴニストおよび化学療法剤の投与によって腫瘍が相乗的に抑制されることを含む。腫瘍の相乗的抑制は協力性であり得るが、一定の実施形態では、腫瘍の相乗的抑制の組み合わせ指数は1.00未満である。あるいは、組み合わせ指数は、約0.85と約0.90との間、約0.70と約0.85との間、約0.30と約0.70との間、約0.10と約0.30との間である。さらに別の実施形態では、組み合わせ指数は0.10未満である。他の実施形態では、腫瘍の相乗的抑制を増強することができ、一定の実施形態では、腫瘍の相乗的抑制のp値は0.05未満である。あるいは、腫瘍の相乗的抑制のp値は、約0.05と約0.04との間、約0.04と約0.03との間、約0.03と約0.02との間、約0.02と約0.01との間である。さらに別の実施形態では、p値は0.01未満である。

【0016】

任意の種々のLT - Rアゴニストを、本発明の方法で使用するができる。一定の実施形態では、LT - Rアゴニストは抗LT - R抗体であり得る。1つの実施形態では、抗LT - R抗体はモノクローナル抗体である。一定の実施形態では、モノクローナル抗体を、BKA11、CDH10、BCG6、AGH1、BDA8、CBE11、およびBHA10からなる群から選択することができる。他の実施形態では、抗LT - R抗体はヒト化抗体である。一定の実施形態では、ヒト化抗体を、huCBE11

および h u B H A 1 0 からなる群から選択することができる。1つの実施形態では、ヒト化抗体は h u C B E 1 1 である。一定の実施形態では、本発明で使用するためのヒト化抗体を、E 4 6 . 4 (A T C C 特許受託番号 P T A - 3 3 5 7) または細胞株 E 7 7 . 4 (A T C C 特許受託番号 3 7 6 5) からなる群から選択される細胞株によって產生することができる。さらに他の実施形態では、抗 L T - R 抗体は多価抗 L T - R 抗体構築物であり、一定の実施形態では、多特異的であり得る。本発明の1つの実施形態では、抗 L T - R 抗体は化学療法剤に結合している。

【 0 0 1 7 】

同様に、アゴニストと薬剤との組み合わせにより、アゴニストおよび薬剤の単独での効果の単純な和によって予想される以上の腫瘍抑制が達成される場合、任意の種々の化学療法剤を本発明の方法で 사용할 ことができる。一定の実施形態では、化学療法剤は D N A 合成を妨害する薬剤である。1つの実施形態では、D N A 合成を妨害する薬剤は、ヌクレオシドアナログ化合物である。1つの実施形態では、ヌクレオシドアナログ化合物はゲムシタピンである。別の実施形態では、D N A 合成を妨害する薬剤は、アントラサイクリン化合物であり、一定の実施形態では、アントラサイクリン化合物はアドリアマイシンである。他の実施形態では、化学療法剤は、トポイソメラーゼ I インヒビターである。1つの実施形態では、トポイソメラーゼ I インヒビターは、イリノテカン（例えば、カンプトサルが含まれる）である。他の実施形態では、化学療法剤はアルキル化剤であり得る。1つの実施形態では、アルキル化剤は白金化合物であり、一定の実施形態では、カルボプラチンおよびシスプラチンからなる群から選択することができる。1つの実施形態では、白金化合物はシスプラチンである。さらに他の実施形態では、化学療法剤は植物アルカロイドであり得る。1つの実施形態では、植物アルカロイドはタキサンであり、一定の実施形態では、タキソールであり得る。

【 0 0 1 8 】

本発明は、リンホトキシン 受容体 (L T - R) アゴニストと共に投与した場合に腫瘍体積の抑制に相乗効果を示す化学療法剤のスクリーニング方法を提供する。1つの実施形態では、このような方法は、(a) 試験被験体中の第 1 の腫瘍と L T - R アゴニストとを接触させて腫瘍体積の抑制を測定する工程と、(b) 試験被験体中の比較可能な第 2 の腫瘍と候補化学療法剤とを接触させて腫瘍体積の抑制を測定する工程と、(c) 試験被験体中の比較可能な第 3 の腫瘍と L T - R アゴニストおよび候補化学療法剤の両方と接触させて腫瘍体積の抑制を測定する工程を含み、L T - R アゴニストおよび候補化学療法剤の両方の存在下での腫瘍体積の抑制が L T - R アゴニストおよび候補化学療法剤のそれぞれによる腫瘍体積抑制の合計よりも大きい場合、候補化学療法剤は、腫瘍体積抑制に相乗効果を示すと見なされる。

【 0 0 1 9 】

本発明の方法で使用するための薬学的組成物も提供する。1つの実施形態では、薬学的組成物は、有効量の L T - R アゴニスト、有効量の L T - R アゴニストではない化学療法剤、および薬学的に受容可能なキャリアを含み、L T - R アゴニストと化学療法剤との組み合わせ投与によって腫瘍が相乗的に抑制される。一定の実施形態では、化学療法剤は、D N A 合成を妨害する薬剤、ヌクレオシドアナログ化合物、アルキル化剤、および植物アルカロイドからなる群から選択される。一定の実施形態では、L T - R アゴニストは抗 L T - R 抗体であり得るが、いくつかの実施形態では、ヒト化抗体であり得る。1つの実施形態では、ヒト化抗体は h u C B E 1 1 であり得る。他の実施形態では、抗 L T - R 抗体は、多価抗 L T - R 抗体構築物であり得る。

【 0 0 2 0 】

本方法で使用するためのさらなる薬学的送達デバイスを提供する。1つの実施形態では薬学的送達デバイスは、有効量の L T - R アゴニスト、有効量の L T - R アゴニストではない化学療法剤、および薬学的に受容可能なキャリアを含むか、これらを入れることができ、デバイスを使用した L T - R アゴニストおよび化学療法剤の投与によって腫瘍が相乗的に抑制される。一定の実施形態では、デバイスを使用したアゴニストおよ

び化学療法剤の投与は同時である。一定の実施形態では、アゴニストおよび化学療法剤を、デバイスを使用した投与前にデバイス中で混合することができる。さらに他の実施形態では、デバイスを使用したアゴニストおよび化学療法剤の投与は連続的である。

【0021】

本発明の組成物および送達デバイスを使用した癌の処置または腫瘍体積の抑制方法も提供する。1つの実施形態では、被験体の癌の処置方法は、被験体に有効量の本発明の薬学的組成物を投与する工程を含む。一定の実施形態では、被験体はヒトである。一定の実施形態では、癌は充実性腫瘍を含む。組成物を、腫瘍部位に局所的に投与することができる。1つの実施形態では、組成物を腫瘍動脈血供給に直接投与する。別の実施形態では、被験体の癌処置方法は、本発明の薬学的送達デバイスを使用して、有効量のLT - Rアゴニストおよび有効量のLT - Rアゴニストではない化学療法剤を被験体に投与する工程を含む。他の実施形態では、被験体の腫瘍体積の抑制方法は、有効量の本発明の組成物を被験体に投与する工程を含む。さらに別の実施形態では、被験体の腫瘍体積の抑制方法は、本発明の薬学的送達デバイスを使用して、有効量のLT - Rアゴニストおよび有効量のLT - Rアゴニストではない化学療法剤を被験体に投与する工程を含む。

【0022】

本発明は、さらに、本発明の薬学的組成物または薬物送達デバイスおよび任意選択的にその使用説明書を含むキットを提供する。このようなキットの使用には、例えば、治療への適用が含まれる。一定の実施形態では、任意のキット中に含まれる本発明の組成物は凍結乾燥されており、使用前に再水和する必要がある。

【0023】

1つの実施形態では、本発明は、デバイスを使用したLT - Rアゴニストおよび化学療法剤の投与によって腫瘍が相乗的に抑制されるように、(1)有効量のLT - Rアゴニスト、(2)有効量のLT - Rアゴニストではない少なくとも1つの化学療法剤、および(3)薬学的に受容可能なキャリアを含むかこれらを入れることができる薬学的送達デバイスを提供する。1つの実施形態では、デバイスにより、LT - Rアゴニストおよび化学療法剤が同時に投与される。別の実施形態では、デバイスでの同時投与前にLT - Rアゴニストおよび化学療法剤をデバイス中で混合する。個別の実施形態では、デバイスを使用してLT - Rアゴニストおよび化学療法剤を連続的に投与する。

【0024】

他の実施形態では、前述の任意の薬学的送達デバイスを使用した有効量のLT - Rアゴニストおよび有効量のLT - Rアゴニストではない化学療法剤の被験体への投与によって被験体の癌を処置する。

【0025】

本発明の別の実施形態は、特許請求の範囲に記載の任意の薬学的組成物の有効量の薬学的組成物を被験体に投与する工程を含む、患者の癌の処置方法を提供する。1つの実施形態では、被験体はヒトである。別の実施形態では、癌は充実性腫瘍を含む。充実性腫瘍の処置のために、1つの実施形態は、腫瘍部位への薬学的組成物の局所的投与を提供する。充実性腫瘍の処置に関する別の実施形態では、薬学的組成物を、腫瘍の動脈血供給に直接投与する。

【0026】

本発明の別の実施形態では、有効量の任意の上記薬学的組成物の被験体への投与によって、被験体の腫瘍体積を抑制する。個別の実施形態では、任意の上記薬学的送達デバイスを使用した有効量のLT - Rアゴニストおよび有効量のLT - Rアゴニストではない化学療法剤の被験体への投与によって、被験体の腫瘍体積を抑制する。

【0027】

さらに別の実施形態では、本発明は、上記の任意の薬学的組成物を含む、被験体の癌の処置用キットを提供する。別の実施形態では、キットは、さらに、被験体に組成物を投与するための説明書を含む。

【0028】

別の実施形態では、本発明は、有効量の L T - - R アゴニストおよび有効量の L T - - R アゴニストではない化学療法剤ならびに任意選択的に使用説明書を含む、薬学的送達デバイスを使用した被験体の癌の処置用キットを提供する。

【 0 0 2 9 】

最後の実施形態では、本発明は、リンホトキシン 受容体 (L T - - R) アゴニストと一緒に投与した場合に腫瘍体積抑制に相乗効果を示す、化学療法剤のスクリーニング方法を提供する。本方法は、以下：

(a) 試験被験体中の第 1 の腫瘍と L T - - R アゴニストとを接触させて腫瘍体積の抑制を測定する工程；

(b) 試験被験体中の比較可能な第 2 の腫瘍と候補化学療法剤とを接触させて腫瘍体積の抑制を測定する工程；および

(c) 試験被験体中の比較可能な第 3 の腫瘍と L T - - R アゴニストおよび候補化学療法剤の両方とを接触させて腫瘍体積の抑制を測定する工程、を包含し、

ここで、L T - - R アゴニストおよび候補化学療法剤の両方の存在下での腫瘍体積の抑制が L T - - R アゴニストおよび候補化学療法剤のそれぞれによる腫瘍体積抑制の合計よりも大きい場合、この候補化学療法剤は、腫瘍体積抑制に相乗効果を示すと見なされる。

【 0 0 3 0 】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかである。

(発明の詳細な説明)

(1 . 定義)

便宜上、本発明のさらなる説明前に、本明細書、実施例、および添付の特許請求の範囲中の一定の使用用語をここに定義する。

【 0 0 3 1 】

文脈中で別であることが明確に示されていない限り、単数形「一つの」(「a」、「an」)、および「その」(「the」)には複数形が含まれる。

【 0 0 3 2 】

用語「投与する」は、被験体の系または被験体中または被験体上の特定の領域への薬学的組成物または治療薬の任意の送達方法を含む。本明細書中で使用される、句「全身投与」、「全身に投与する」、「末梢投与」、および「末梢に投与する」は、患者の系に侵入し、それにより代謝および他の同様のプロセスを受けるような中枢神経系への化合物、薬剤、または他の材料の直接以外の投与(例えば、皮下投与)を意味する。「非経口投与」および「非経口で投与する」は、通常注射による経腸および局所投与以外の投与様式(静脈内、筋肉内、動脈内、鞘内、包内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、髄腔内、および胸骨内への注射および注入が含まれるが、これらに限定されない)を意味する。

【 0 0 3 3 】

用語「DNA合成を妨害する薬剤」は、DNA合成プロセスを減少または阻害することができる任意の分子または化合物をいう。DNA合成を妨害する薬剤の例には、トポイソメラーゼ I などのDNA合成に影響を与えるか促進する酵素のインヒビターまたはピリミジンまたはプリンアナログなどのヌクレオシドアナログが含まれるが、これらに限定されない。

【 0 0 3 4 】

用語「アルキル化剤」は、(例えば、アミン、アルコール、フェノール、有機酸、および無機酸)の求核基と反応し、それによりタンパク質または核酸などの別の分子にアルキル基(例えば、エチル基またはメチル基)を付加することができる任意の分子または化合物をいう。化学療法剤として使用されるアルキル化剤の例には、ブスルファン、クロラムブシル(c h l o a r m b u c i l)、シクロホスファミド、イフォスファミド、メクロ

レタミン、メルファラン、チオテパ、種々のニトロソ尿素化合物、ならびにシスプラチンおよびカルボプラチンなどの白金化合物が含まれる。

【0035】

用語「抗腫瘍活性」は、物質または組成物と相互作用する腫瘍細胞の増殖を遮断するか腫瘍の細胞死を誘導する物質または組成物の能力をいう。用語「アポトーシス」は、プログラム細胞死のプロセスをいう。

【0036】

用語「癌」または「新形成」は、一般に、任意の悪性新生物または細胞の自然成長または増殖をいう。本明細書中で使用されるこの用語は、完全に発達した悪性新生物および前癌病変を含む。「癌」を有する被験体は、例えば、腫瘍または白血病などの白血球増殖を有し得る。一定の実施形態では、癌を有する被験体は、充実性腫瘍などの腫瘍を有する被験体である。充実性腫瘍を含む癌には、非小細胞肺癌（NSCLC）、精巣癌、肺癌、卵巣癌、子宮癌、子宮頸癌、膵臓癌、結腸直腸癌（CRC）、乳癌、前立腺癌、胃癌、皮膚癌、胃癌、食道癌、および膀胱癌が含まれるが、これらに限定されない。

【0037】

用語「化学療法剤」は、外来細胞または腫瘍細胞などの悪性細胞に起因する疾患の処置に使用される任意の分子または組成物をいう。本明細書で意図される化学療法剤には、本発明の抗体と結合することができる薬剤または抗体と結合することなく本発明の抗体と組み合わせて使用することができる薬剤が含まれる。本発明の1つの実施形態では、本発明の抗体と組み合わせて使用することができる化学療法剤には、以下が含まれるが、これらに限定されない：白金（すなわち、シスプラチン）、アントラサイクリン、ヌクレオシドアナログ（プリンおよびピリミジン）、タキサン、カンプトセシン、エピポドフィロトキシン、DNAアルカリ化剤、葉酸アンタゴニスト、ピンカアルカロイド、リボヌクレオチドレダクターゼインヒビター、エストロゲンインヒビター、プロゲステロンインヒビター、アンドロゲンインヒビター、アロマターゼインヒビター、インターフェロン、インターロイキン、モノクローナル抗体、タキソール、カンプトサル、アドリアマイシン（dox）、5-FU、およびゲムシタビン。このような化学療法剤を、抗体および化学療法剤の同時投与によって本発明の抗体と組み合わせて本発明の実施において使用することができる。1つの実施形態では、本発明の抗体は、化学療法剤と結合していない。本発明の別の実施形態では、化学療法剤と抗LT-Rアゴニスト抗体とは結合している。

【0038】

用語「組み合わせ指数」は、ChouおよびTallalay（1984）Adv. Enz. Regul. 22:27の方法によって決定される少なくとも2つの分子または化合物の組み合わせ用量-効果の基準をいい、発明の詳細な説明および実施例にさらに説明する。用量効果が協力性である場合、組み合わせ指数は1.00未満である。あるいは、相乗効果を示す組み合わせ指数は約0.85と約0.90との間、約0.70と約0.85との間、約0.30と約0.70との間、約0.10と約0.30との間であり得る。

【0039】

用語「有効量」は、所望の効果（例えば、インビトロまたはインビボのいずれかでの腫瘍体積の減少が含まれるが、これに限定されない）に影響を与えるのに十分な本発明の化合物、材料、または化合物を含む組成物の量をいう。本発明の薬学的組成物の有効量は、所望の臨床結果（例えば、患者の癌の改善、安定化、防止、または進行の遅延が含まれるが、これらに限定されない）に影響を与えるのに十分な薬学的組成物の量である。いずれの場合も、有効量の本発明の化合物を、1回または複数回投与することができる。これらの上記指標の検出および測定は当業者に公知であり、例えば、全身腫瘍組織量の減少、腫瘍サイズの抑制、二次腫瘍増殖の減少、腫瘍組織中の遺伝子発現、バイオマーカーの存在、リンパ節転移、組織学的悪性度、および核異型度が含まれるが、これらに限定されない。

【0040】

用語「ヒト化抗体」は、ある種由来の抗体の相補性決定領域（CDR）をヒトの可変領

域のフレームワーク領域に移植した抗体または抗体構築物をいう。

【0041】

用語「腫瘍体積の抑制」は、腫瘍体積の任意の低減または減少をいう。薬学的組成物または治療薬の腫瘍体積を抑制する能力を、「影響率」によって測定することができる。用語「影響率（Fa）」は、処置群の平均腫瘍体積減少をコントロール群の平均腫瘍体積で割ることによって計算した腫瘍抑制率の基準をいう。1.000のFaは、腫瘍の完全な抑制を示す。Faの計算を、発明の詳細な説明にさらに記載する。

【0042】

用語「リンホトキシン 受容体（LT - R）アゴニスト」は、LT - Rへのリガンド結合、細胞表面LT - Rクラスター形成、および/またはLT - Rシグナル伝達を増加させることができる任意の薬剤をいう。

【0043】

用語「抗LT - R抗体」は、LT - R受容体の少なくとも1つのエピトープを認識して結合する任意の分子をいう。抗LT - R抗体の例には、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、および多価抗体が含まれる。「抗体」は、例えば、任意のイソ型の抗体全体（IgG、IgA、IgM、IgEなど）を含むことが意図され、そして脊椎動物（例えば、哺乳動物）のタンパク質とも特異的に反応するそのフラグメントおよび抗体フラグメントを含む融合タンパク質を含有する。従来の技術を使用して抗体を断片化し、フラグメントを上記の抗体全体と同一の様式で有用性についてスクリーニングすることができる。したがって、この用語には、一定のタンパク質と選択的に反応することができる抗体分子のタンパク質分解酵素で切断されたか組換えによって調製された部分のセグメントが含まれる。このようなタンパク質分解および/または組換えフラグメントの非限定的な例には、ペプチドリンカーによって連結されたV[L]および/またはV[H]ドメインを含むFab、F(ab')₂、Fab'、Fv、および一本鎖抗体（sFv）が含まれる。用語「抗体」には、5つのIgクラス（例えば、IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgM）のうちの任意の1つ由来の定常領域に結合した2つまたはそれより多くの可変領域を含み得る「抗体構築物」も含まれる。本発明には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、または抗体および組換え抗体の他の精製調製物が含まれる。

【0044】

用語「モノクローナル抗体」は、特定のエピトープと免疫反応するか結合することができる抗原結合部位をたった1種類だけ含む抗体分子をいう。エピトープに指向するモノクローナル抗体、その誘導体、フラグメント、アナログ、またはホモログの調製のために、連続細胞株培養によって抗体分子の産生を提供する任意の技術を使用することができる。このような技術には、ハイブリドーマ技術（KohlerおよびMilstein（1975）Nature 256:495-497を参照のこと）；トリオーマ技術；ヒトB細胞ハイブリドーマ技術（Kozborら（1983）Immunol. Today 4:72を参照のこと）、およびヒトモノクローナル抗体を産生するためのEBVハイブリドーマ技術（Coleら，1985 In: Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96を参照のこと）が含まれるが、これらに限定されない。ヒトモノクローナル抗体を本発明の実施で使用するができ、ヒトハイブリドーマ（Coteら（1983）. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:2026-2030を参照のこと）またはインビトロでのエプスタイン・バーウイルスでのヒトB細胞の形質転換（Coleら（1985）In: Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96を参照のこと）の使用によって産生することができる。

【0045】

句「多価抗体」または「多価抗体構築物」は、1つを超える抗原認識部位を含む抗体または抗体構築物をいう。例えば、「2価」抗体構築物は、2つの抗原認識部位を有するの

に対し、「４価」抗体構築物は４つの抗原認識部位を有する。用語「単一特異性」、「二重特異性」、「三重特異性」、「四重特異性」などは、本発明の多価抗体構築物中に存在する異なる抗原認識部位の特異性数（抗原認識部位数と対照的）をいう。例えば、「単一特異性」抗体構築物の抗原認識部位は全て同一のエピトープに結合する。「二重特異性」抗体構築物は、第１のエピトープに結合する少なくとも１つの抗原認識部位および第１のエピトープと異なる第２のエピトープに結合する少なくとも１つの抗原認識部位を有する。「多価単一特異性」抗体構築物は、同一のエピトープに全て結合する複数の抗原認識部位を有する。「多価二重特異性」抗体構築物は、複数の抗原認識部位を有し、そのうちのいくつかは第１のエピトープに結合し、いくつかは第１のエピトープと異なる第２のエピトープに結合する。このような多価抗体構築物ならびにその作製および使用方法の例は、２００２年１２月２０日提出の発明の名称が「Anti-LT - - R Multispecific Multivalent Antibody Constructs, and Methods of Making and Using the Same」の仮特許出願（２００２年、１２月２０日提出の米国仮特許出願番号６０／４３５１５４号）（その全体が本明細書中で参考として援用される）に記載されている。

【００４６】

用語「Ｐ値」は、確率値をいう。ｐ値は、試験によって得られた結果が偶然のみにどの程度起因する可能性があるかを示す。本発明の１つの実施形態では、両側１標本Ｔ検定のｐ値である。０．０５未満のｐ値が統計的に有意であると見なされる（すなわち、偶然のみに起因する可能性がない）あるいは、統計的に有意なｐ値は、約０．０５と約０．０４との間、約０．０４と約０．０３との間、約０．０３と約０．０２との間、約０．０２と約０．０１との間であり得る。一定の場合、ｐ値は０．０１未満であり得る。本明細書中で使用される、ｐ値を、リンホトキシン受容体（LT - - R）アゴニストおよびリンホトキシン受容体アゴニストではない化学療法剤を腫瘍または腫瘍を有する被験体に投与した場合に腫瘍体積に対する任意の統計的に有意な相乗的阻害が存在するかどうか測定するために使用する。不定期のある日よりむしろ一連の処置日で統計的有意性が認められる場合にｐ値に生物学的関連性が存在する。

【００４７】

「患者」、「被験体」、または「宿主」は、ヒトまたは非ヒト動物のいずれかをいう。

【００４８】

用語「薬学的送達デバイス」は、被験体への治療薬の投与に使用することができる任意のデバイスをいう。薬学的送達デバイスの非限定的な例には、皮下注射用シリンジ、多室シリンジ、ステント、カテーテル、経皮パッチ、顕微針、マイクロアブレーダー、および移植可能な徐放デバイスが含まれる。１つの実施形態では、用語「薬学的送達デバイス」は、注射前に２つの化合物を混合することができる２室シリンジをいう。

【００４９】

句「薬学的に受容可能な」を、本明細書中で、妥当な利益／リスク比と釣り合っており、過剰な毒性も、過剰な刺激も、過剰なアレルギー反応も、他の問題も合併症も伴うことがない、ヒトおよび動物組織との接触での使用に正常な医学的判断の範囲内で適切な化合物、材料、組成物、および／または投薬形態をいうために使用する。

【００５０】

本明細書中で使用される、句「薬学的に受容可能なキャリア」は、ある器官または身体の一部から別の器官または身体の一部への本発明の化合物の運搬または輸送に關与する液体もしくは固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、または溶媒カプセル化物質などの薬学的に受容可能な材料、組成物、またはビヒクルを意味する。各キャリアは、処方物の他の成分と適合可能であり、且つ患者に有害でないという意味で許容可能でなければならない。薬学的に受容可能なキャリアとして使用することができる材料のいくつかの例には、（１）ラクトース、グルコース、およびスクロースなどの糖、（２）トウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプンなどのデンプン、（３）セルロースならびにカルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、およびセルロースアセテートなどの誘導体、（４）

粉末トラガカント、(5) 麦芽、(6) ゼラチン、(7) タルク、(8) ココアバターおよび座剤用ワックスなどの賦形剤、(9) ピーナツ油、綿実油、ベニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油、およびダイズ油などの油、(10) プロピレングリコールなどのグリコール、(11) グリセリン、ソルビトール、マンニトール、およびポリエチレングリコールなどのポリオール、(12) オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチルなどのエステル、(13) 寒天、(14) 水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムなどの緩衝剤、(15) アルギン酸、(16) 無発熱物質水、(17) 等張生理食塩水、(18) リンゲル液、(19) エチルアルコール、(20) pH緩衝化溶液、(21) ポリエステル、ポリカーボネート、および/またはポリアンヒドライド、ならびに(22) 薬学的処方物で使用される他の無毒の適合可能な物質が含まれる。

【0051】

「薬学的に受容可能な塩」は、化合物の比較的無毒の無機酸付加塩および有機酸付加塩をいう。これらの塩を、投与ビヒクルもしくは投薬形態製造プロセスにおいて *in situ* で調製するか、遊離塩基形態の本発明の精製化合物と適切な有機酸もしくは無機酸との個別の反応、およびその後の精製におけるこのようにして形成された塩の単離によって調製することができる。本発明の化合物の薬学的に受容可能な塩には、例えば、非毒性有機酸または無機酸由来の化合物の従来の非毒性塩または第四級アンモニウム塩が含まれる。

【0052】

用語「植物アルカロイド」は、生物学的に活性であり細胞傷害性を示す、植物由来のアルカリ性窒素含有分子のファミリーに属する化合物をいう。植物アルカロイドの例には、ドセタキセルおよびパクリタキセルなどのタキサンならびにビンブラスチン、ビンクリスチン、およびビノレルビンなどのピンカが含まれるが、これらに限定されない。1つの実施形態では、植物アルカロイドはタキソールである。

【0053】

用語「相乗的」は、薬剤の組み合わせ由来の効果の合計が個別の薬剤による効果の合計よりも高い薬剤の組み合わせ由来の効果の合計をいう。相乗効果の例には、増強および協力作用が含まれる。用語「増強」は、2つまたはそれより多くの薬剤の同時効果が薬剤の個別の効果の合計を超える場合をいう。1つの実施形態では、第1の薬剤を単独で投与した場合に抑制効果を示さないが、組み合わせて投与した場合に第2の薬剤の効果を増強する場合、増強が起こる。本発明の1つの実施形態では、LT - - Rアゴニストまたは化学療法剤の1つのみが個別に腫瘍体積を抑制する能力を有するが、組み合わせると薬剤の効果が増強される。

【0054】

用語「腫瘍の相乗的抑制」は、個別の薬剤に起因する薬剤の組み合わせの効果の合計を超える腫瘍体積の全減少をいう。本発明の1つの実施形態では、腫瘍の相乗的抑制には、LT - - Rアゴニストまたは化学療法剤のいずれかのみで個別の投与によって得られた腫瘍抑制の合計を統計学的に有意に超えるLT - - RアゴニストとLT - - Rアゴニストではない化学療法剤との組み合わせの投与によって得られた平均腫瘍抑制が含まれる。LT - - Rアゴニストと化学療法剤との組み合わせ投与によって得られた腫瘍阻害が予想される各化合物の値の和よりも「統計的に有意に高い」かどうかを、発明の詳細な説明に記載の種々の統計学的方法によって決定することができる。

【0055】

用語「協力性」は、任意の2つまたはそれより多くの単一薬剤の効果の和よりも有効な組み合わせをいう。本発明の1つの実施形態では、用語「協力性」は、LT - - Rアゴニストおよび化学療法剤の両方がそれぞれ腫瘍体積の抑制能力を有する相乗的抑制型を含む。

【0056】

用語「トポイソメラーゼIインヒビター」は、トポイソメラーゼI酵素の生物活性を抑制または低減する分子または化合物をいう。トポイソメラーゼIインヒビターの非限定的

な例には、ダウノルビシン、ドキソラビシン、およびイダムビシンなどのアントラサイクリンならびにエトポシドおよびテニポシドなどのエピポドフィロトキシンが含まれる。

【 0 0 5 7 】

「癌処置」または「癌を有する被験体の処置」は、癌の範囲が減少するか妨げられるような薬学的処置薬を被験体に投与すること（例えば、薬物の投与）をいう。癌処置は、癌細胞の複製の抑制、癌の拡大の抑制、腫瘍サイズの減少、体内の癌細胞数の減少または低減、および／または癌に起因する疾患の症状の改善もしくは緩和を意味する。処置は、死亡率および／または罹患率が減少する場合に、治療と見なされる。本発明の1つの実施形態では、用語「癌処置」は、腫瘍サイズの減少をいう。処置には、薬学的組成物などの組成物の投与が含まれ（これらに限定されない）、予防的または病理学的事象の開始後のいずれかで行うことができる。

【 0 0 5 8 】

用語「腫瘍体積」は、腫瘍自体および適用可能な場合に罹患リンパ節を含む腫瘍の大きさの合計をいう。腫瘍体積を、当該分野で公知の種々の方法（例えば、キャリパーを使用した腫瘍の寸法の測定、コンピュータ断層撮影（CT）スキャンまたは磁気共鳴画像診断（MRI）スキャン、ならびに例えばz軸直径、または球形、楕円、または立方体などの標準的形状に基づいた方程式を使用した体積の計算など）によって決定することができる。

（ 2 . リンホトキシン 受容体（LT - R）アゴニスト）

任意の種々のLT - Rアゴニストを本発明の方法で使用することができる。米国特許第6,312,691号およびWO96/22788号（その内容全体が本明細書中で参考として援用される）は、癌細胞死を誘発するためにLT - Rアゴニストを使用した癌処置のための方法および組成物を記載する。例えば、米国特許第6,312,691号は、本発明で使用するためのLT - Rアゴニスト（膜結合LT - / 複合体、可溶性LT - / 複合体、および抗LT - R抗体が含まれる）ならびに調製および精製のための方法を記載する。

【 0 0 5 9 】

表面LT - / ヘテロマー複合体を、LT - 遺伝子およびLT - 遺伝子の両方の宿主細胞の同時トランスフェクションによって再構築することができる。表面LT複合体を、いずれかのLT遺伝子のみを発現する安定な細胞株では認められない。しかし、通常、宿主細胞が大量のLT - を産生する場合（例えば、RPMI 1788細胞；以下を参照のこと）、所望のLT - ポリペプチドをコードするLT - 遺伝子でのトランスフェクションは、全長LT - サブユニットを含むLT - / 複合体の作製に十分なはずである。

【 0 0 6 0 】

多数の真核生物発現系でのLT - ポリペプチドおよびLT - ポリペプチドの同時発現により、そのアセンブリが得られ、活性リガンドとして搬出される（Croweら, J. Immunol. Methods, 168, 79-89 (1994)）。使用することができる宿主系には、CHO細胞、COS細胞、B細胞（骨髄腫が含まれる）、バキュロウイルス感染昆虫細胞、および酵母が含まれるが、これらに限定されない。本発明のLT - / ヘテロマー複合体のLT - サブユニットを、リンホトキシン、天然のヒトまたは動物リンホトキシン、組換えリンホトキシン、可溶性リンホトキシン、分泌性リンホトキシン、LT - 生物活性を有するリンホトキシン変異タンパク質、またはLT - 生物活性を有する任意の上記のリンホトキシンフラグメントから選択することができる。

【 0 0 6 1 】

可溶性（非膜結合）LT - / ヘテロマー複合体は、膜結合形態から可溶性形態に変化したLT - サブユニットを含む。これらの複合体は、出願人の同時係属国際出願（1992年1月9日にWO94/13808号として公開のPCT/US93/11669）に詳述されている。可溶性LT - ペプチドを、Browningら（1993）Ce

11 72:847の付番方式にしたがって、膜貫通領域の末端（すなわち、およそアミノ酸番号44）と第1のTNF相同領域（すなわち、アミノ酸番号88）との間の任意のポイントで配列が切断されたリンホトキシン のアミノ酸配列によって定義する。

【0062】

可溶性LT- ポリペプチドを、細胞質テールおよび膜貫通領域を除去するためのLT- のN末端の短縮によって產生することができる（Crowら，Science，264，pp.707-710（1994））。あるいは、膜貫通ドメインを、欠失または通常は膜貫通ドメインを含む疎水性アミノ酸残基の親水性の残基への置換によって不活化することができる。いずれの場合も、脂質親和性を減少し、水溶性を改善する実質的に親水性のヒドロパシープロフィールを作成した。潜在的免疫原性エピトープの導入が回避されるので、親水性アミノ酸残基と置換して膜貫通ドメインを欠失させるのが好ましい。

【0063】

可溶性LT- / ヘテロマー複合体を、LT- および可溶性LT- をコードするDNAでの適切な宿主細胞の同時トランスフェクションによって產生することができる（Crowら，（1994）J. Immunol. Methods，168:79）。LT- の非存在下で分泌された可溶性LT- は高度にオリゴマーを形成している。しかし、LT- と同時発現した場合、両タンパク質を含む70kDaの三量体様構造が形成される。可溶性LT- ポリペプチドをコードする遺伝子での通常はLT- のみを発現する細胞株（上記考察のRPMI1788細胞など）へのトランスフェクションによって可溶性LT- 1/2ヘテロマー複合体を產生することも可能である。LT- およびLT- ポリペプチドを個別に合成し、マイルドな界面活性剤を使用して変性させ、共に混合し、界面活性剤の除去によって復元して、混合LTヘテロマー複合体を形成することができ、この複合体は、分離することができる（以下を参照のこと）。

【0064】

一定の実施形態では、LT- - Rアゴニストは抗LT- - R抗体であり得る。一定の実施形態では、抗LT- - R抗体は、ポリクローナル抗体であり得る。免疫化後、LT- - Rと反応性を示す抗血清を得ることができ、所望ならば、血清からポリクローナル抗体を単離することができる。別の実施形態では、抗LT- - R抗体はモノクローナル抗体である。一定の実施形態では、モノクローナル抗体を、BKA11、CDH10、BCG6、AGH1、BDA8、CBE11、およびBHA10からなる群から選択することができる。モノクローナル抗体を產生するために、抗体産生細胞（リンパ球）を、免疫動物から採取し、標準的な体細胞融合手順によって骨髓腫細胞などの不死化細胞と融合してハイブリドーマ細胞を得ることができる。このような技術は当該分野で周知であり、例えば、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術（Kozbarら，（1983）Immunology Today，4:72）のようなハイブリドーマ技術（最初、Kohler and Milstein，（1975）Nature，256:495-497によって開発された）およびヒトモノクローナル抗体を產生するためのEBV ハイブリドーマ技術（Coleら，（1985）Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy，Alan R. Liss，Inc. pp.77-96）が含まれる。ハイブリドーマ細胞を、LT- - Rと特異的な反応性を示す抗体および単離されたモノクローナル抗体の產生について免疫化学的にスクリーニングすることができる。一定の実施形態では、本発明で使用するためのモノクローナル抗体を、表1中の細胞株からなる群から選択される細胞株によって產生することができる。

【0065】

【表 1】

表 1:

| 細胞株 | mAb 名 | 受託番号 |
|----------------|-------|----------|
| a) AG.H1.5.1 | AGH1 | HB 11796 |
| b) BD.A8.AB9 | BDA8 | HB 11798 |
| c) BC.G6.AF5 | BCG6 | B 11794 |
| d) BH.A10 | BHA10 | B 11795 |
| e) BK.A11.AC10 | BKA11 | B 11799 |
| f) CB.E11.1 | CBE11 | B 11793 |
| g) CD.H10.1 | CDH10 | B 11797 |

他の実施形態では、抗 L T - R 抗体はヒト化抗体である。一定の実施形態では、ヒト化抗体を、h u C B E 1 1 および h u B H A 1 0 からなる群から選択することができる。1つの実施形態では、P C T 公開番号 W O 0 2 / 3 0 9 8 6 ; 米国仮特許出願番号 6 0 / 2 4 0 , 2 8 5 号 ; 米国仮特許出願番号 6 0 / 2 7 5 , 2 8 9 号 ; 米国仮特許出願番号 6 0 / 2 9 9 , 9 8 7 号に記載のように、ヒト化抗体は h u C B E 1 1 である。別の実施形態では、P C T 出願番号 P C T U S 0 3 / 2 0 7 6 2 号 ; 米国仮特許出願番号 6 0 / 3 9 2 , 9 9 3 号 ; および米国仮特許出願番号 6 0 / 4 1 7 , 3 7 2 号に記載のように、ヒト化抗体は h u B H A 1 0 である。

【0066】

上記表中の出願人の出願（その内容全体が本明細書中で参考として援用される）は、癌細胞死を誘発するための h u C B E 1 1 および h u B H A 1 0 をそれぞれ使用した癌処置のための方法および組成物を記載する。動物を所望の抗原で免疫化し、対応する抗体を単離し、特異的抗原結合を担う可変領域配列部分を取り出す。次いで、動物由来の抗原結合領域を、抗原結合領域が欠失したヒト抗体遺伝子の適切な位置にクローン化する。例えば、Jones, P. ら (1986), Nature 321, 522-525 または Tempest ら (1991) Biotechnology 9, 266-273 を参照のこと。また、トランスジェニックマウスまたは他の哺乳動物を使用して、ヒト化抗体を発現することができる。このようなヒト化は、部分的であっても完全であってもよい。ヒト化抗体は、ヒト抗体中の異種（種間）配列の使用を最小にし、処置した被験体において免疫応答を誘発する可能性が低い。一定の実施形態では、本発明で使用するためのヒト化抗体を、E 4 6 . 4 (A T C C 特許受託番号 P T A - 3 3 5 7) または細胞株 E 7 7 . 4 (A T C C 特許受託番号 3 7 6 5) からなる群から選択される細胞株によって産生することができる。

【0067】

抗 L T - R 抗体の種々の形態を、標準的な組換え DNA 技術 (Winter および Milstein, Nature, 349, pp. 293-99 (1991)) を使用して作製することもできる。例えば、動物抗体由来の抗原結合ドメインがヒト定常ドメインに連結した「キメラ」抗体を構築することができる（例えば、Cabilly らに付与された米国特許第 4, 816, 567 号 ; Morrison ら, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 81, pp. 6851-55 (1984)）。キメラ抗体は、ヒト臨床治療で使った場合に動物抗体によって誘発される観察される免疫応答を減少させる。異なるクラスの免疫グロブリンから単離された抗 L T - R 可変ドメインおよびヒト定常ドメイン (C H 1、C H 2、C H 3) を含むキメラ抗体またはヒト化抗体の作製によって、組換え抗 L T - R 抗体の異なるクラスを構築することもできる。例え

ば、抗原結合部位の価数が増加した抗 L T - - R I g M 抗体を、ヒト μ 鎖定常領域を保有するベクターへの抗原結合部位のクローニングによって組換え產生することができる (Arulananandam ら, J. Exp. Med., 177, pp. 1439 - 50 (1993); Lane ら, Eur. J. Immunol., 22, pp. 2573 - 78 (1993); Traunecker ら, Nature, 339, pp. 68 - 70 (1989))。さらに、標準的な組換え DNA 技術を使用して、抗原結合部位周囲のアミノ酸残基の変化によって組換え抗体のその抗原に対する結合親和性を変化させることができる。例えば、(Queen ら, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 86, pp. 10029 - 33 (1989); WO 94/04679 号) を参照のこと。
【0068】

当該分野で公知のように、本発明の抗 L T - - R 抗体を架橋することもできる。架橋後の最終結合体は、血液などの生理液に可溶性を示すことが好ましい。ポリマーは結合体形態で高免疫原性であるべきでなく、静脈内注入または注射のいずれかの投与経路を意図する場合、これらに適合可能な粘度を有するべきである。

【0069】

さらに他の実施形態では、抗 L T - - R 抗体は多価抗 L T - - R 抗体構築物であり、一定の実施形態では、多特異性であり得る。このような多価抗体構築物ならびにその作製および使用方法の例は、同日付で発明の名称が「Anti-LT- - R Multispecific Multivalent Antibody Constructs, and Methods of Making and Using the Same」(その全体が本明細書中で参考として援用される)である米国仮特許出願番号 60/435,154 号および PCT 出願番号 _____ 号に記載されている。

【0070】

1つの実施形態では、多価抗体はリンホトキシン 受容体のアゴニストであり、受容体に結合することができる少なくとも2つのドメインを含み、L T - - R シグナル伝達を誘導する。これらの構築物は、L T - 受容体への結合に特異的な抗原認識部位を含む2つまたはそれより多くの可変領域を含む重鎖および1つまたは複数の可変領域を含む軽鎖を含み得るか、L T - 受容体への結合に特異的な C D R を含む2つまたはそれより多くの可変領域を含む重鎖または軽鎖のみを含む様に構築することができる。

【0071】

1つの態様では、本発明は、ヒトリンホトキシン 受容体 (L T - - R) アゴニストである多価抗体構築物を含む。1つの実施形態では、多価抗体構築物は、L T - - R エピトープに特異的な少なくとも1つの抗原認識部位を含む。一定の実施形態では、少なくとも1つの抗原認識部位は s c F v ドメイン内に存在する一方で、他の実施形態では、全ての抗原認識部位は s c F v ドメイン内に存在する。

【0072】

抗体構築物は、2価、3価、4価、または5価であり得る。一定の実施形態では、抗体構築物は単一特異性である。1つの実施形態では、抗体構築物は、C B E 1 1 に結合するエピトープに特異的である。他の実施形態では、本発明の抗体は、4つの C B E 1 1 抗原認識部位を含む単一特異性の4価の L T - - R アゴニスト抗体である。別の実施形態では、抗体構築物は、B H A 1 0 エピトープに特異的であり、いくつかの実施形態では、4価である。任意のこれらの実施形態では、少なくとも1つの抗原認識部位は、s c F v ドメイン上に存在し得るが、一定のこれらの実施形態では、全ての抗原認識部位が s c F v ドメイン上に存在し得る。抗体は、多特異性であり得、ここで、本発明の抗体はヒト L T - 受容体上の異なるエピトープに結合する。

【0073】

一定の実施形態では、抗体構築物は二重特異性である。他の実施形態では、抗体構築物は、以下の抗体の1つが結合するエピトープからなるリンホトキシン 受容体 (L T - - R) エピトープ群の少なくとも2つのメンバーに特異的である：B K A 1 1、C D H 1 0、B C G 6、A G H 1、B D A 8、C B E 1 1、および B H A 1 0。1つの実施形態で

は、抗体構築物は、C B E 1 1 および B H A 1 0 抗体が結合するエピトープに特異的であり、一定の実施形態では、4 価である。1 つの実施形態では、抗体構築物は、2 つの C B E 1 1 特異的抗原認識部位および 2 つの B H A 1 0 特異的認識部位を有し、抗体は二重特異性の 4 価 L T - - R アゴニスト抗体である。任意の多特異性抗体構築物では、少なくとも 1 つの抗原認識部位は、s c F v ドメイン上に存在することができ、一定の実施形態では、全ての抗原認識部位は s c F v ドメイン上に存在する。

【0074】

さらに他の実施形態では、本発明の抗体構築物は、以下のポリヌクレオチド配列を含み、表 2 のポリペプチド配列をコードする。

【0075】

【表 2】

表 2:

| 配列 | 説明 |
|---------|---|
| 配列番号 1 | h C B E 1 1 / h B H A 1 0 二重特異性-1 抗体構築物の成熟重鎖のポリヌクレオチド配列 |
| 配列番号 2 | h C B E 1 1 / h B H A 1 0 二重特異性-1 抗体構築物の成熟重鎖のポリペプチド配列 |
| 配列番号 3 | h C B E 1 1 / h B H A 1 0 二重特異性-1 抗体構築物の成熟軽鎖のポリヌクレオチド配列 |
| 配列番号 4 | h C B E 1 1 / h B H A 1 0 二重特異性-1 抗体構築物の成熟軽鎖のポリペプチド配列 |
| 配列番号 5 | 成熟 h C B E 1 1 / h B H A 1 0 二重特異性-2 抗体構築物のポリヌクレオチド配列 |
| 配列番号 6 | 成熟 h C B E 1 1 / h B H A 1 0 二重特異性-2 抗体構築物のポリペプチド配列 |
| 配列番号 7 | h C B E 1 1 単一特異性-1 抗体構築物の成熟重鎖のポリヌクレオチド配列 |
| 配列番号 8 | h C B E 1 1 単一特異性-1 抗体構築物の成熟重鎖のポリペプチド配列 |
| 配列番号 9 | 成熟 h C B E 1 1 単一特異性-2 抗体構築物のポリヌクレオチド配列 |
| 配列番号 10 | 成熟 h C B E 1 1 単一特異性-2 抗体構築物のポリペプチド配列 |
| 配列番号 11 | 成熟 C B E 1 1 五量体重鎖抗体構築物のポリヌクレオチド配列 |
| 配列番号 12 | 成熟 C B E 1 1 五量体重鎖抗体構築物のポリペプチド配列 |
| 配列番号 13 | 成熟 C B E 1 1 キメラ軽鎖抗体構築物のポリヌクレオチド配列 |
| 配列番号 14 | 成熟 C B E 1 1 キメラ軽鎖抗体構築物のポリペプチド配列 |

配列番号 1 1 ~ 1 4 に記載の重鎖および軽鎖を含む五量体 C B E 1 1 構築物をスクリーニングアッセイで使用して、併用療法を同定することもできる。

【0076】

抗原認識部位または全可変領域は、1 つまたは複数の親抗体に由来し得る。親抗体には

、天然に存在する抗体もしくは抗体フラグメント、天然に存在する抗体を適合させた抗体もしくは抗体フラグメント、LT- 受容体に特異的であることが公知の抗体もしくは抗体フラグメントの配列を使用してデノボで構築した抗体が含まれ得る。親抗体に由来し得る配列には、重鎖および/または軽鎖可変領域および/またはCDR、フレームワーク領域、またはその他の部分が含まれる。

【0077】

多価多特異性抗体は、2つまたはそれより多くの可変領域を含む重鎖および/または1つまたは複数の可変領域を含む軽鎖を含み得るが、可変領域の少なくとも2つがLT- 受容体上の異なるエピトープを認識する。

【0078】

多価多特異性抗体の作製方法は当該分野で公知である。全長二重特異性抗体の伝統的な産生は、2つの鎖が異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の同時発現に基づく(Milsteinら, Nature, 305:537-539(1983))。免疫グロブリン重鎖および軽鎖の無作為な組み合わせにより、これらのハイブリドーマ(クアドローマ(quadroma))は、10個の異なる抗体分子の潜在的混合物を産生し、そのうちのたった1つが正確な二重特異性構造を有する。通常はアフィニティークロマトグラフィ工程によって行われる正確な分子の精製はむしろ扱いにくく、産物の収率は低い。類似の手順は、WO93/08829号およびTraunekerら, EMBO J., 10:3655-3659(1991)に開示されている。

【0079】

多価抗LT- - R抗体を、親抗LT- - R抗体(マウスまたはヒト化BHA10(Browningら, J. Immunol. 154:33(1995); Browningら, J. Exp. Med. 183:867(1996))および/またはマウスまたはヒト化CBE11(米国特許第6,312,691号)が含まれる)由来の種々の異なる配列を使用した種々の異なる方法で構築することができる。

【0080】

異なるアプローチによれば、所望の結合特異性(抗体-抗原組み合わせ部位)を有する抗体可変ドメインを、免疫グロブリン定常ドメイン配列に融合する。融合は、好ましくは、少なくともヒンジの一部、CH2領域、およびCH3領域を含む免疫グロブリン重鎖定常ドメインを使用する。少なくとも1つの融合物中に存在する軽鎖結合に必要な部位を含む第1の重鎖定常領域(CH1)を有することが好ましい。免疫グロブリン重鎖融合物および所望ならば免疫グロブリン軽鎖をコードするDNAを、個別の発現ベクターに挿入し、適切な宿主生物に同時トランスフェクトする。構築で使用される不釣り合いな比の3つのポリペプチド鎖により適切な収率がえられる実施形態では、これにより3つのポリペプチドフラグメントの相互の比率の調整が非常に柔軟になる。しかし、少なくとも2つのポリペプチド鎖の同一の比での発現により収率が高くなるかその比が特に有意でない場合、1つの発現ベクター中の2つまたは3つ全てのポリペプチド鎖のコード配列を挿入することが可能である。

【0081】

本発明の別の実施形態は、非ヒト動物(1つまたは複数のヒト免疫グロブリン導入遺伝子を保有するトランスジェニック動物など)で産生することができるヒト抗LT- - R抗体の使用を含む。米国特許第5,569,825号、WO00076310号、WO00058499号、およびWO00037504号(本明細書中で参考として援用される)に記載のように、このような動物をハイブリドーマ産生用の脾臓細胞供給源として使用することができる。

【0082】

いくつかの実施形態では、所望の効果を得るために、本発明の抗体および抗体フラグメントを化学修飾することができる。例えば、以下の参考文献に記載の当該分野で公知の任意のペグ化反応によって、本発明の抗体および抗体フラグメントをペグ化することができる: Focus on Growth Factors 3:4-10(1992); 欧

州特許第 0154316 号；および欧州特許第 0401384 号（それぞれその全体が本明細書中で参考として援用される）。好ましくは、反応性ポリエチレングリコール分子（または類似の反応性水溶性ポリマー）とのアシル化反応またはアルキル化反応によってペグ化する。本発明の抗体および抗体フラグメントのペグ化のための好ましい水溶性ポリマーは、ポリエチレングリコール（PEG）である。本明細書中で使用される、「ポリエチレングリコール」は、他のタンパク質の誘導で使用されている任意の PEG 形態（モノ（C1 - C10）アルコキシ - またはアリールオキシ - ポリエチレングリコールなど）を含むことを意味する。

【0083】

本発明のペグ化抗体および抗体フラグメントの調製方法は、一般に、（a）抗体または抗体フラグメントが 1 つまたは複数の PEG 基に結合するようになる条件下で、抗体または抗体フラグメントを PEG の反応性エステルまたはアルデヒド誘導体などのポリエチレングリコールと反応させる工程と、（b）反応生成物を得る工程とを含む。公知のパラメーターおよび所望の効果に基づいて至適な反応条件またはアシル化反応を選択することが当業者に明らかである。

【0084】

一般にペグ化抗体およびペグ化抗体フラグメントを使用して、本明細書中に記載の抗体および抗体フラグメントの投与によって緩和するか調整することができる病態を処置することができる。一般に、ペグ化抗体およびペグ化抗体フラグメントは、非ペグ化抗体および抗体フラグメントと比較して半減期が増大した。ペグ化抗体およびペグ化抗体フラグメントを、単独、共に、または他の薬学的組成物と組み合わせて使用することができる。

【0085】

本発明の他の実施形態では、当該分野で認識されている技術を使用して、抗体またはその抗原結合フラグメントを卵白 アルブミン に結合する。

【0086】

本発明の別の実施形態では、潜在的なグリコシル化部位を減少または消失するために抗体またはそのフラグメントを修飾する。このような修飾抗体を、しばしば「無グリコシル化（aglycosylated）」抗体という。抗体またはその抗原結合フラグメントの結合親和性を改良するために、例えば、変異誘発（例えば、部位特異的変異誘発）によって抗体のグリコシル化部位を変化させることができる。「グリコシル化部位」は、糖残基結合のための位置として真核細胞によって認識されるアミノ酸残基をいう。オリゴサッカリドなどの炭水化物が結合するアミノ酸は、典型的には、アスパラギン残基（N 結合）、セリン残基（O 結合）、およびトレオニン残基（O 結合）である。抗体または抗原結合フラグメント内の潜在的なグリコシル化部位を同定するために、抗体の配列を、例えば、Center for Biological Sequence Analysis にによって提供されているウェブサイトなどの公的に利用可能なデータベース（N 結合グリコシル化部位の予想については、<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/> を、そして O 結合グリコシル化部位の予想については <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetOGlyc/> を参照のこと）の使用によって試験する。抗体のグリコシル化部位をさらに変化させる方法は、米国特許第 6,350,861 号および同第 5,714,350 号に記載されている。

【0087】

本発明のさらに別の実施形態では、非修飾抗体と比べて少なくとも 1 つの定常領域媒介生物エフェクター機能を減少させるために抗体の定常領域を修飾して抗体またはそのフラグメントを変化させることができる。Fc 受容体（FcR）への結合が減少するように本発明の抗体を修飾するために、抗体の免疫グロブリン定常領域セグメントを、FcR 相互作用に必要な特定の領域で変異させることができる（例えば、Canfield ら（1991）J. Exp. Med. 173:1483 および Lund, J. ら（1991）J. of Immunol. 147:2657 を参照のこと）。抗体の FcR 結合能力の減少により、オプソニン作用、食作用、および抗原依存性細胞傷害性などの FcR 相互作用に

依存する他のエフェクター機能を減少させることもできる。

【0088】

特定の実施形態では、本発明は、さらに、エフェクター分子（例えば、エフェクター細胞上の補体または受容体）に結合する能力などのエフェクター機能が変化した抗体を特徴とする。特に、本発明のヒト化抗体は、Fc領域中の少なくとも1つのアミノ酸残基が異なる残基または側鎖に置換され、それにより抗体のFcRに結合する能力が減少した、変化した定常領域（例えば、Fc領域）を有する。抗体のFcR結合能力の減少により、オプソニン作用、食作用、および抗原依存性細胞傷害性などのFcR相互作用に依存する他のエフェクター機能を減少させることもできる。1つの実施形態では、修飾ヒト化抗体はIgGクラスであり、ヒト化抗体は、例えば、非修飾ヒト化抗体と比較してエフェクター機能が変化するようにFc領域中で少なくとも1つのアミノ酸残基が置換されている。特定の実施形態では、本発明のヒト化抗体は、免疫原性が低く（例えば、望ましくないエフェクター細胞活性、溶解、または補体結合を誘発しない）、そして/またはより望ましい半減期を有しながらLT-Rまたはそのリガンドに対する特異性を保持するような変化したエフェクター機能を有する。

【0089】

あるいは、本発明は、FcR結合（例えば、FcR3結合）を増強するために定常領域を変化させたヒト化抗体を特徴とする。このような抗体は、エフェクター細胞機能の調整（例えば、ADCC活性の増加）、例えば、特に、本発明の腫瘍学適用での使用に有用である。

【0090】

本明細書中で使用される、「抗体依存性細胞媒介細胞傷害性」および「ADCC」は、FcRを発現する非特異的細胞傷害細胞（例えば、ナチュラルキラー（NK）細胞、好中球、およびマクロファージ）が標的細胞上の結合抗体を認識し、その後標的細胞を溶解させる細胞媒介反応をいう。ADCCを媒介するための一次細胞（NK細胞）は、FcRIIIのみを発現するのに対して、単球は、抗体（例えば、この抗体と別の薬剤または抗体との結合体）のFcRI、FcRII、およびFcRIIIを発現する。

【0091】

さらに別の実施形態では、相乗様式で腫瘍体積を抑制するために、本発明の抗LT-R抗体を化学療法剤に結合することができる。本発明の抗体に結合することができる化学療法剤の例には、放射性結合体（radioconjugate）（⁹⁰Y、¹³¹I、^{99m}Tc、¹¹¹In、¹⁸⁶Rhなど）、腫瘍活性化プロドラッグ（メイタンシノイド、CC-1065アナログ、クリケアミシン（clicheamicin）誘導体、アントラサイクリン、ピンカルカロイドなど）、リシン、ジフテリア毒素、シュードモナス外毒素が含まれるが、これらに限定されない。

【0092】

他のLT-Rアゴニスト（インビトロ腫瘍細胞傷害性アッセイを使用して同定したものが含まれるが、これらに限定されない）は、動物またはヒトに単独で投与するか組み合わせて投与した場合にインビボで類似の抗腫瘍効果を示し得ると考えられる。

【0093】

腫瘍細胞に対するLT-Rアゴニストの細胞傷害効果を、LT-R活性化薬（特に、IFN γ ）の存在によって増強することができる。インターフェロン（好ましくは、IFN γ ）を誘導することができ、且つ腫瘍細胞に対するLT-Rヘテロマー複合体および抗LT-R抗体の細胞傷害効果を強化する任意の薬剤は、本発明のLT-Rアゴニスト群に分類される。例えば、臨床試験によって二本鎖RNA（dsRNA）処理によるインターフェロン誘導が証明されている。したがって、ポリリボグアニル酸/ポリリボシチジル酸（ポリ-rG/rC）およびdsRNAの他の形態は、インターフェロンインデューサーとして有効である（JuraskovaらEur. J. Pharmacol., 221, pp. 107-11 (1992)）。

【0094】

上記のように産生された L T - - R アゴニストを、薬学的組成物として使用するために適切な純度に精製することができる。一般に、精製組成物は、組成物中に存在する全ての種のうちの約 85 % 超、存在する全ての種のうちの約 85 %、90 %、95 %、99 %、またはそれより多くを構成する 1 つの種を有する。本発明の種を、組成物が本質的に単一の種からなるように本質的に均一に精製することができる（従来の検出方法では組成物中に汚染種を検出することができない）。当業者は、本明細書中の教示に照らしてタンパク質精製のための標準的な技術を使用して本発明のポリペプチドを精製することができる。当業者に公知の多数の方法（例えば、アミノ末端アミノ酸配列分析、ゲル電気泳動、および質量分析が含まれる）によって、ポリペプチドの純度を決定することができる。

【0095】

（3．L T - R アゴニストおよび化学療法剤の相乗的抑制）

（3．1 化学療法剤）

本発明は、癌を処置するための化学療法剤と組み合わせたリンホトキシン - 受容体アゴニストの使用を提供する。同様に、アゴニストと薬剤との組み合わせによりアゴニストおよび薬剤のみの効果の単純な和による予想よりも高い腫瘍抑制が達成される場合、任意の種々の化学療法剤を、本発明の方法で使用するか試験することができる。化学療法剤を、どのようにして癌細胞内で特定の化学物質に影響を与えるのか、薬物がどの細胞作用またはプロセスを妨害するのか、および薬物がどの細胞周期の特定の時期に影響を与えるのかに基づいていくつかのカテゴリーに分類する。

【0096】

一定の実施形態では、化学療法剤は DNA 合成を妨害する薬剤である。1 つの実施形態では、DNA 合成を妨害する薬剤はヌクレオシドアナログ化合物である。一定の実施形態では、ヌクレオシドアナログ化合物はゲムシタピンである。別の実施形態では、DNA 合成を妨害する薬剤はアントラサイクリン化合物であり、一定の実施形態では、アントラサイクリン化合物はアドリアマイシンである。

【0097】

他の実施形態では、化学療法剤はトポイソメラーゼ II インヒビターである。一定の実施形態では、トポイソメラーゼ II インヒビターはカンプトサルである。

【0098】

他の実施形態における化学療法剤は、アルキル化剤である。アルキル化剤は、DNA に直接作用して癌細胞の増殖を防止する。1 つの薬物クラスとして、これらの薬剤は周期特異的ではない（言い換えれば、これらは細胞周期の全ての時期で作用する）。アルキル化剤は、一般に、慢性白血病、非ホジキンリンパ腫、ホジキン病、多発性骨髄腫、ならびに肺、乳房、および卵巣の一定の癌に有効である。アルキル化剤の例には、ブスルファン、シスプラチン、カルボプラチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、イフォスファミド、ダカルバジン（DTIC）、メクロレタミン（ナイトロジェンマスタード）、およびメルファランが含まれる。1 つの実施形態では、アルキル化剤は白金化合物であり、一定の実施形態では、カルボプラチンおよびシスプラチンからなる群から選択することができる。一定の実施形態では、白金化合物はシスプラチンである。

【0099】

さらに他の実施形態では、化学療法剤は植物アルカロイドである。1 つの実施形態では、植物アルカロイドはタキサン（例えば、タキソールが含まれる）である。

【0100】

種々の形態の化学療法剤および / または他の生物活性薬を使用することができる。これらには、腫瘍に移植するか、注射するか、挿入した場合に生物学的に活性である、非電荷分子、分子複合体、塩、エーテル、エステル、アミドなどの形態が含まれるが、これらに限定されない。

【0101】

（3．2 相乗的化学療法剤のスクリーニング）

本発明は、リンホトキシン - 受容体（L T - - R）アゴニストを投与した場合に腫

瘍体積抑制に相乗効果を示す化学療法剤のスクリーニング方法を提供する。1つの実施形態では、このような方法は、(a)試験被験体中の第1の腫瘍とLT - Rアゴニストとを接触させて腫瘍体積の抑制を測定する工程と、(b)試験被験体中の比較可能な第2の腫瘍と候補化学療法剤とを接触させて腫瘍体積の抑制を測定する工程と、(c)試験被験体中の比較可能な第3の腫瘍とLT - Rアゴニストおよび候補化学療法剤の両方と接触させて腫瘍体積の抑制を測定する工程とを含み、LT - Rアゴニストおよび候補化学療法剤の両方の存在下での腫瘍体積の抑制がLT - Rアゴニストおよび候補化学療法剤のそれぞれによる腫瘍体積抑制の合計よりも大きい場合、候補化学療法剤は、腫瘍体積抑制に相乗効果を示すと見なされる。

【0102】

本明細書中で使用される「腫瘍の相乗的抑制」は、LT - Rアゴニストのみまたは化学療法剤のみのいずれかの個別の投与によって得られる腫瘍抑制の合計よりも統計的に有意に高いLT - Rアゴニストと化学療法剤との組み合わせの投与によって得られる平均腫瘍抑制をいう。LT - Rアゴニストと化学療法剤との組み合わせ投与によって得られた腫瘍抑制が個別の化合物の予想される値の和よりも「統計的に有意に高い」かどうかを、以下のように決定することができる。上記定義のように、このような相乗的抑制を増強するか、協力性であり得る。

【0103】

一般に、組み合わせ処置によって、処置群における個別の処置によってそれぞれ得られた平均腫瘍体積の減少の合計と比較して処置群で統計的に有意に相乗的に平均腫瘍体積が減少するかどうかの決定によって増強を評価することができる。平均腫瘍体積の減少を、コントロール群と処置群との間の平均腫瘍体積の減少の相違として計算することができる。腫瘍体積の抑制率(影響率(Fa))を、処置群の平均腫瘍体積の減少をコントロール群の平均腫瘍体積で割ることによって計算することができる。1.000のFaは、腫瘍の完全な抑制を示す。統計的に有意な増強の試験には、各処置群のFaの計算が必要である。組み合わせのいずれかの成分を投与した群由来の平均Faの合計となるように、組み合わせ処置についての予想されるFaの和を取った。例えば、両側1標本t検定を使用して、p値によって計算したところ試験によって得られた結果が偶然のみにどの程度起因する可能性があるかを評価することができる。0.05未満のp値が統計的に有意であると見なされ(すなわち、偶然のみに起因する可能性がない)、約0.05と約0.04との間、約0.04と約0.03との間、約0.03と約0.02との間、約0.02と約0.01との間が含まれるが、これらに限定されない。一定の場合、p値は0.01未満であり得る。したがって、組み合わせにより相乗効果が増強されると見なすためには、組み合わせ処置群のFaは、単一成分での処置群についての予想されるFaの和よりも統計的に有意に高くなければならない。

【0104】

相乗効果が組み合わせ処置に起因するかどうかを、半数影響/組み合わせ指数アイソログラム法によって評価することができる(Chou, T., and Talalay, P. (1984) Ad. Enzytne Reg., 22: 27-55)。この方法では、LT - Rアゴニストのみ、化学療法剤のみ、および固定モル比での2つの組み合わせの半数影響プロット由来のパラメーターに基づいて、異なる用量-効果レベルについての組み合わせ指数(CI)値を計算する。1未満のCI値は相乗効果を示し、約0.85と約0.90との間、約0.70と約0.85との間、約0.30と約0.70との間、約0.10と約0.30との間が含まれるが、これらに限定されない。さらに別の実施形態では、組み合わせ指数は0.10未満である。この分析を、CalcuSyn(用量効果分析のためのWindows(登録商標)ソフトウェア(Biosoft, Cambridge UK))を使用して実施することができる。

【0105】

併用療法について相乗効果を示すかどうかを分析するための、当該分野で公知であるか後に開発される任意の方法は、適切な化学療法剤のスクリーニングでの使用が意図される

。

【0106】

本発明の1つの実施形態では、癌処置で組み合わせた相乗効果を示すLT - Rアゴニスト/化学療法剤の組み合わせを、当該分野で公知のスクリーニングアッセイ（腫瘍体積の抑制を試験するアッセイが含まれる）によって同定する。腫瘍体積は、一般に、化合物または化合物の組み合わせの抗癌有効性の評価のための代用物として使用される（例えば、Naundorffら（2002）Int. J. Cancer, 100:101; Goelら（2001）Clin Cancer Res. 7:175; Liaoら（2000）Cancer Res. 60:6805; Prewettら（1999）Cancer Res. 59:5209; Boudreau M. D.ら（2001）Cancer Res. 61:1386を参照のこと）。異種移植片モデルを使用して、腫瘍体積を研究することができる。潜在のアゴニスト/化学療法剤のスクリーニングに使用される異種移植片モデルの例には、WiDrヒト結腸直腸腺癌およびKM-20L2ヒト結腸直腸腺癌が含まれる。抗Erb2抗体ヘルセプチン（米国特許第6,627,196号を参照のこと）および抗VEGF抗体（米国特許第5,955,311号を参照のこと）のマウスモデルを使用した腫瘍体積の減少または抑制についても記載されている。腫瘍サイズ（例えば、腫瘍体積）の評価ガイドラインは、「NCI-cooperative group-industry relationship guidelines, appendix XVII (Status of the NCI preclinical antitumor agent discovery screen, principles and practice of oncology updates)」に記載されている。

【0107】

抗体および/または化学療法化合物の抗癌効果の他の評価方法には、生存率および死亡率の分析ならびに適切な場合の分子マーカー（例えば、前立腺癌のPSA、結腸癌のTPA）の評価が含まれ、このようなマーカーのレベルを化合物の抗癌活性の評価において評価することができる。

【0108】

（4．薬学的組成物および送達デバイス）

（4．1 薬学的組成物）

本発明は、上記LT - Rアゴニストおよび化学療法剤を含む薬学的組成物を提供する。1つの態様では、本発明は、1つまたは複数の薬学的に受容可能なキャリア（添加物）および/または希釈剤とともに処方した治療有効量の1つまたは複数の上記化合物を含む薬学的に受容可能な組成物を提供する。別の態様の一定の実施形態では、本発明の化合物自体または薬学的に受容可能なキャリアとの混合物として投与することができ、他の化学療法剤と組み合わせて投与することもできる。したがって、組み合わせ（併用）療法には、第1の投与物の治療効果がその後の投与で完全に消滅しない方法での活性化合物の連続的、同時、および個別、または同時投与が含まれる。

【0109】

選択された投与経路に無関係に、適切な水和形態で使用する本発明の化合物および/または本発明の薬学的組成物を、当業者に公知の従来の方法によって薬学的に受容可能な投薬形態に処方する。本発明の化合物を単独で投与することが可能であるが、薬学的処方物（組成物）として化合物を投与することが好ましい。本発明の化合物を、ヒトまたは動物の医薬における使用のための任意の従来の方法において他の医薬品との類推によって投与のために処方することができる。

【0110】

以下で詳述するように、本発明の薬学的組成物を、固体または液体形態（以下に適合する形態が含まれる）での投与のために特に処方することができる：（1）経口投与（例えば、飲薬（水性または非水性溶液または懸濁液）、錠剤（例えば、口腔内用、舌下用、および全身吸収用）、ポーラス、粉末、顆粒、舌に塗布するためのペースト）、（2）例え

ば、皮下、筋肉内、静脈内、または硬膜外注射による非経口投与（例えば、滅菌溶液もしくは懸濁液または徐放性処方物）、（３）例えば、クリーム、軟膏、徐放性パッチ、または皮膚に適用するスプレーとしての局所塗布、（４）腔内または直腸内（例えば、ペッサリー、クリーム、またはフォームとして）、（５）舌下、（６）眼内、（７）経皮、または（８）鼻腔内。１つの実施形態では、非経口投与のために薬学的組成物を処方する。別の実施形態では、動脈内注射のために薬学的組成物を処方する。別の実施形態では、全身投与のために薬学的組成物を処方する。

【０１１１】

他の場合、本発明の化合物は、１つまたは複数の酸性官能基を含むことができるので、薬学的に受容可能な塩基と薬学的に受容可能な塩を形成することができる。

【０１１２】

湿潤剤、乳化剤、および滑沢剤（ラウリル硫酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウムなど）、ならびに着色料、遊離薬、コーティング剤、甘味料、香味物質、防腐剤、および抗酸化剤を組成物中に含めることもできる。

【０１１３】

本発明の処方物には、経口、鼻腔内、局所（口腔内および舌下が含まれる）、直腸、腔内、および／または非経口投与に適切な処方物が含まれる。処方物は、単位投薬形態で存在することが都合がよく、薬学分野で周知の任意の方法によって調製することができる。単回投薬形態を得るためにキャリア材料と混合することができる有効成分の量は、処置を受ける宿主、特に投与様式によって変化する。単回投薬形態を得るためにキャリア材料と混合することができる有効成分の量は、一般に、治療効果が得られる化合物量である。

【０１１４】

本発明の化合物の経口投与のための液体投薬形態には、薬学的に受容可能な乳濁液、マイクロエマルジョン、溶液、懸濁液、シロップ、およびエリキシルが含まれる。有効成分に加えて、液体投薬形態は、当該分野で一般的に使用されている不活性希釈剤（例えば、水または他の溶媒など）、可溶化剤および乳化剤（エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、１，３－ブチレングリコールなど）、オイル（特に、綿実油、ラッカセイ油、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、およびゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフルリアルコール、ポリエチレングリコール、およびソルビタンの脂肪酸エステルならびにその混合物を含み得る。不活性希釈剤に加えて、経口組成物は、湿潤剤、乳化剤、および懸濁剤などの佐剤、甘味料、香味物質、着色料、香料、および防腐剤も含み得る。活性化合物に加えて、懸濁液は、懸濁剤（例えば、エトキシル化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトール、ソルビタンエステル、微結晶性セルロース、アルミニウムメタヒドロキシド、ベントナイト、寒天－寒天、およびトラガカントならびにその混合物）を含み得る。

【０１１５】

経口投与に適切な本発明の処方物は、それぞれ有効成分として所定量の本発明の化合物を含む、カプセル、カシェ、丸薬、錠剤、ロゼンジ（香りづけをした基剤（通常スクロースおよびアカシアまたはトラガカント）を使用）、粉末、顆粒、または水性もしくは非水性の溶液または懸濁液、水中油滴型もしくは油中水滴型乳濁液、エリキシルもしくはシロップ、香錠（ゼラチンおよびグリセリンまたはスクロースおよびアカシアなどの不活性基剤を使用）、および／または洗口剤などの形態であり得る。本発明の化合物を、ボーラス、舐剤、またはペーストとして投与することもできる。

【０１１６】

経口投与のための本発明の固体投薬形態（カプセル、錠剤、丸薬、ドラジェ、粉末、および顆粒など）では、有効成分を、１つまたは複数の薬学的に受容可能なキャリア（クエン酸ナトリウムまたは第二リン酸カルシウムなど）および／または任意の以下と混合する：（１）デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、および／またはケイ酸などの充填剤または増量剤、（２）例えば、カルボキシメチルセルロース、アル

ギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロース、および/またはアカシアなどの結合剤、(3)グリセロールなどの保湿剤(4)寒天・寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモまたはタピオカのデンプン、アルギン酸、一定のケイ酸塩、および炭酸ナトリウムなどの崩壊剤、(5)パラフィンなどの溶解遅延剤(solution retarding agent)、(6)第四級アンモニウム化合物などの吸収促進剤、(7)例えば、セチルアルコール、モノステアリン酸グリセロール、および非イオン性界面活性剤などの湿潤剤、(8)カオリンおよびベントナイトクレイなどの吸収剤、(9)タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム、およびその混合物などの滑沢剤、ならびに(10)着色料。カプセル、錠剤、および丸薬の場合、薬学的組成物は緩衝剤も含み得る。ラクトースまたは乳糖などの賦形剤および高分子量のポリエチレングリコールなどを使用して、軟カプセルおよび硬ゼラチンカプセルで類似の型の固体組成物を充填剤として使用することもできる。

【0117】

任意選択的に1つまたは複数の副成分を使用して、圧縮または成形によって錠剤を作製することができる。結合剤(例えば、ゼラチンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース)、滑沢剤、不活性希釈剤、防腐剤、崩壊剤(例えば、デンプングリコール酸ナトリウムまたは架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム)、界面活性剤、または分散剤を使用して、圧縮錠剤を調製することができる。適切な装置での不活性液体希釈剤で湿らせた粉末化合物の混合物の成形によって、成形錠剤を作製することができる。任意選択的に、本発明の薬学的組成物の錠剤または他の固体投薬形態(ドラジェ、カプセル、丸薬、および顆粒など)を、腸溶性コーティングおよび医薬品処方分野で周知の他のコーティングなどのコーティングおよびシェルを使用して得るか調製することができる。例えば、所望の放出プロフィールを得るための種々の比でのヒドロキシプロピルメチルセルロース、他のポリマーマトリクス、リポソーム、および/またはミクロスフィアを使用して有効成分を持続的に放出するか徐放するようにこれらを処方することもできる。急速放出のためにこれらを処方することができる(例えば、凍結乾燥)。例えば、細菌保持フィルターによる濾過または使用直前に滅菌水もしくはいくつかの他の滅菌注射液に溶解することができる滅菌固体組成物の形態での滅菌剤の組み込みによってこれらを滅菌化させることができる。これらの組成物はまた、任意選択的に、乳白剤も含むことができ、有効成分のみを優先的には胃腸管の一定の部分に任意選択的には徐放様式で放出する組成物であり得る。使用することができる包埋組成物の例には、高分子剤およびワックスが含まれる。有効成分はまた、適切な場合、1つまたは複数の上記賦形剤を含むマイクロカプセル化形態であり得る。

【0118】

本発明の化合物の局所投与または経皮投与のための投薬形態には、粉末、スプレー、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、溶液、パッチ、および吸入剤が含まれる。活性化化合物を、滅菌条件下で必要とされ得る薬学的に受容可能なキャリア、任意の防腐剤、緩衝液、または噴射剤と混合することができる。本発明の活性化化合物に加えて、軟膏、ペースト、クリーム、およびゲルは、動物性脂肪および植物性脂肪、オイル、ワックス、パラフィン、デンプン、トラガカント、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコーン、ベントナイト、ケイ酸、タルク、および酸化亜鉛、またはその混合物などの賦形剤を含み得る。本発明の活性化化合物に加えて、粉末およびスプレーは、ラクトース、タルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム、およびポリアミド粉末、またはこれらの物質の混合物などの賦形剤を含み得る。スプレーは、さらに、フロンガスなどの慣習的噴射剤ならびにブタンおよびプロパンなどの揮発性非置換炭化水素を含み得る。

【0119】

非経口投与に適切な本発明の薬学的組成物は、糖、アルコール、抗酸化剤、緩衝液、静菌薬、処方物を意図するレシピエントの血液と等張にする溶質、懸濁剤、または増粘剤を含み得る1つまたは複数の薬学的に受容可能な滅菌等張水溶液または非水溶液、分散液、懸濁液、乳濁液、または使用直前に滅菌注射用溶液または分散液に再構成することができ

る滅菌粉末と組み合わせた1つまたは複数の本発明の化合物を含む。これらの組成物はまた、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、および分散剤などのアジュバントを含み得る。本発明の化合物に対する微生物作用の防止を、種々の抗菌薬および抗真菌薬（例えば、パラベン、クロロブタノール、およびソルビン酸フェノールなど）の封入によって確実にすることができる。等張化剤（糖および塩化ナトリウムなど）などを組成物に含めることも望ましい。さらに、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンなどの吸収を遅延させる薬剤を含むことによって注射可能な薬学的形態の吸収を延長させることができる。

【0120】

いくつかの場合、薬物の効果を延長するために、皮下注射または筋肉内注射からの薬物の吸収を遅延させることが望ましい。水溶性の低い結晶または無定型材料の液体懸濁物の使用によってこれを行うことができる。次いで、薬物の吸収速度は、その溶解速度に依存し、言い換えると、結晶サイズおよび結晶形態に依存し得る。あるいは、非経口投与薬物形態の吸収を、オイル**ビヒクル**中の薬物の溶解または懸濁によって遅延する。

【0121】

ポリラクチド-ポリグリコリドなどの生分解性ポリマー中での本発明の化合物のマイクロカプセルマトリクスの形成によって注射可能な蓄積形態を作製する。薬物：ポリマー比および使用した特定のポリマーの性質に依存して、薬物放出速度を制御することができる。他の生分解性ポリマーの例には、ポリ（オルトエステル）およびポリ（アンヒドライド）が含まれる。蓄積注射処方物を、体内組織に適合可能なリポソームまたはマイクロエマルジョン中での薬物の捕捉によっても調製する。

【0122】

（4.2 送達方法およびデバイス）

種々の薬学的送達デバイス（皮下注射用シリンジ、多室シリンジ、ステント、カテーテル、経皮パッチ、顕微針、マイクロアブレーター、および移植可能な徐放デバイスが含まれ得る）を使用して、本発明の薬学的組成物を投与することもできる。1つの実施形態では、薬学的送達デバイスは、少なくとも有効量のLT- - Rアゴニストおよび有効量の化学療法剤を含むかこれらを入れることができる。いくつかの実施形態では、デバイスは、LT- - Rアゴニストおよび化学療法剤を同時に送達するか投与することができる。デバイスは、デバイスを使用した投与前にアゴニストと化学療法剤を混合する能力を有し得る。さらに他の実施形態では、デバイスは、アゴニストおよび化学療法剤を連続的に投与することができる。

【0123】

1つの潜在的な薬学的送達デバイスは、注射前に2つの化合物を混合するかこれらを連続的に送達することができる多室シリンジである。典型的な2室シリンジおよびこのような前充填シリンジの自動化製造プロセスは、Neue Verpackung, No. 3, 1988, p. 50 - 52; Drugs Made in Germany, Vol. 30, Pag. 136 - 140 (1987); Pharm. Ind. 46, Nr. 10 (1984) p. 1045 - 1048 および Pharm. Ind. 46, Nr. 3 (1984) p. 317 - 318 に開示されている。シリンジ型アンプルは、ニードルを取りつけるためのボトル型の前部開口部、前部チャンバー中の凍結乾燥粉末を後部チャンバー中の再構成液と混合するための2つのピストンおよび外部型バイパスを具備する2室デバイスである。記載のプロセスは、主に、シリンジ外筒の洗浄およびシリコン処理工程、キャリアトレイ中への複数の外筒の挿入工程、滅菌工程、外筒後部を介した中央のピストンの導入工程、トレイを逆さまにする工程、前部開口部による粉体**溶液**の導入工程、乾燥粉末への凍結乾燥工程、前部開口部を閉じて凍結乾燥チャンバーに送達する工程、トレイを回転させる工程、外筒後部による再構成液体の導入工程、後部ピストンの挿入、トレイからの生成物の取出し工程、最後の調節およびパッケージング工程を含む。種々の成分を予め充填したアンプルを、シリンジと共に使用するために製造することができる。

【0124】

別の実施形態では、多室シリンジは、Lyocjectシステム (Vetter Ph

arma Turm, Yardley, PA)である。Ly o - J e c tにより、使用者は薬物を迅速な再構成および注射のための希釈剤をパッケージングしたシリンジ中で直接凍結乾燥させることが可能である。これは、特許第4, 874, 381号および同第5, 080, 649号に記載されている。

【0125】

他の実施形態では、2つの個別のシリンジ、カテーテル、顕微針、または注射することができる他のデバイスを使用して化合物を投与する。

【0126】

罹患組織中、その周囲、もしくはそれと連結して配置されたかまたは血流中に配置されたミクロスフィア、リポソーム、他の微粒子送達系、または徐放処方物を使用して、本発明の薬学的組成物を投与することもできる。徐放キャリアの適切な例には、座剤またはマイクロカプセルなどの成形品の形態の半透性ポリマーマトリクスが含まれる。移植可能かまたはマイクロカプセル状の徐放マトリクスには、ポリラクチド(米国特許第3, 773, 319号; 欧州特許第58, 481号)、L-グルタミン酸とエチル-L-グルタミン酸とのコポリマー(Sidmanら, Biopolymers, 22, pp. 547-56(1985)); ポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)、またはエチレン酢酸ビニル(Langerら, J. Biomed. Mater. Res., 15, pp. 167-277(1981); Langer, Chem. Tech., 12, pp. 98-105(1982))が含まれる。取り込まれる特定の臨床症状の処置に有効な用量で本発明の組成物を投与する。例えば、患者の病態および体重、所望の処置範囲、および患者の処置耐性を考慮した所与の適用のための好ましい薬学的処方物および治療に有効な投与計画の決定は、十分に当業者の範囲内である。

【0127】

経皮パッチは、本発明の化合物の身体への送達の調節にさらなる利点を有する。適切な媒質への化合物の溶解または分散によって、このような投薬形態を作製することができる。吸収増強剤を使用して、皮膚を介した化合物の流動を増加させることもできる。このような流動の速度を、速度調節膜を設けるかポリマーマトリクスまたはゲルへ化合物を分散することによって調節することができる。

【0128】

(5. 治療方法)

本発明は、さらに、任意選択的に上記送達デバイスを使用して被験体に有効量の本発明の薬学的組成物を投与する工程を含む癌処置の新規の治療方法を提供する。

【0129】

本発明の方法を使用して、任意の癌を処置することができる(充実性腫瘍の処置が含まれるがこれに限定されない)。本発明の化合物によって処置することができる充実性腫瘍の例には、乳癌、精巣癌、肺癌、卵巣癌、子宮癌、子宮頸癌、膵臓癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、結腸癌、前立腺癌、胃癌、皮膚癌、胃癌、食道癌、および膀胱癌が含まれるが、これらに限定されない。一定の実施形態では、方法は、有効量の本発明の薬学的組成物の被験体への非経口投与を含む。1つの実施形態では、方法は、本発明の組成物を被験体に動脈内投与する工程を含む。他の実施形態では、方法は、有効量の本発明の組成物を被験体中の腫瘍動脈血供給に直接投与する工程を含む。1つの実施形態では、方法は、カテーテルを使用して有効量の本発明の組成物を癌性腫瘍の動脈血供給へ直接投与する工程を含む。カテーテルを使用して本発明の組成物を投与する実施形態では、蛍光顕微鏡法またはカテーテルの挿入を観察および/もしくは誘導することができる当該分野で公知の他の方法によってカテーテルの挿入を誘導または観察することができる。別の実施形態では、方法は、化学塞栓を含む。例えば、化学塞栓法は、オイル基剤(例えば、ポリビニルアルコールを含むエチオドール)と混合した樹脂様材料および1つまたは複数の化学療法剤から構成される組成物を使用して癌性腫瘍を供給する血管を遮断する工程を含み得る。さらに他の実施形態では、方法は、本発明の組成物を被験体に全身投与する工程を含む。

【0130】

一般に、本発明の薬学的組成物を使用した化学塞栓または直接動脈内もしくは静脈内注射療法を、典型的には、部位に関係なく類似の様式で行う。簡単に述べれば、X線を照射する動脈または静脈（塞栓または注射すべき部位に依存する）に挿入されたカテーテルを介した放射線不透過性造影剤の注射によって、塞栓すべき領域の血管造影法（血管の道筋）または一定の実施形態でより詳細には動脈造影法を最初に行うことができる。経皮的または手術によってカテーテルを挿入することができる。次いで、流れが停止するまでカテーテルによって本発明の薬学的組成物を逆流することによって、血管を塞栓することができる。血管造影の繰り返しによって閉塞を確認することができる。次いで、直接注射を使用する実施形態では、血管に所望の用量の本発明の薬学的組成物を注入する。

【0131】

塞栓療法により、一般に、処置すべき腫瘍または血管塊の隙間の全体にインヒビターを含む組成物が分布する。動脈管腔を詰まらせる物理的な大量の閉塞性粒子により、血液供給が閉塞する。この効果に加えて、抗血管因子の存在により、腫瘍または血管塊に供給される新規の血管形成が防止され、血液供給遮断の喪失効果が増強される。直接動脈内または静脈内投与により、一般に、同様に処置すべき腫瘍または血管塊の隙間全体にインヒビターを含む組成物が分布する。しかし、血液供給は、一般に、この方法を使用して閉塞されるとは予想されない。

【0132】

本発明の1つの態様内で、塞栓または直接動脈内もしくは静脈内注射療法を使用して、肝臓または他の組織の原発性または二次腫瘍を処置することができる。簡単に述べれば、大腿動脈または上腕動脈を介してカテーテルを挿入し、X線透視ガイダンス下での動脈系を介した肝動脈のステアリングによって肝動脈に進める。腫瘍に供給する血管を完全に遮断する必要がある限りカテーテルを肝動脈樹（hepatic arterial tree）に進める一方で、できるだけ多数の正常な構造に供給する動脈枝を損傷させない。理想的には、これは、肝動脈の部分的枝であるが、胃十二指腸動脈の起源から離れた全肝動脈または複数の個別の動脈でさえも腫瘍範囲およびその個別の血液供給に依存して遮断される必要があるということもあり得る。一旦カテーテルが望ましく位置づけられると、遮断すべき動脈の流れが停止するまで（観察から5分後でも好ましい）の動脈カテーテルを介した組成物の注射（上記）によって動脈を塞栓する。カテーテルを介した放射線不透過性造影剤の注入および透視検査またはX線フィルムによって予め造影剤を充填した血管にもはや注入されないことの証明によって動脈閉塞を確認することができる。直接注射を使用する実施形態では、動脈カテーテルによる所望の用量の組成物（上記）の注射によって動脈に注入する。閉塞すべき動脈へのそれぞれの供給を使用して、同一の手順を繰り返すことができる。

【0133】

ほとんどの実施形態では、本発明の薬学的組成物には、予防または治療上の処置の一部として治療有効量の組み込まれた治療薬または他の材料を患者に送達するのに十分な量で送達される物質が組み込まれる。粒子中の所望の濃度の活性化合物は、薬物の吸収速度、不活化速度、および排出速度、ならびに化合物の送達速度に依存する。投薬量は緩和すべき病態の重症度によっても変化し得ることに留意すべきである。任意の特定の被験体のために、個体のニーズおよび組成物を投与する者または投与を監督する者の専門的判断に従って特定の投薬計画を経時的に調整すべきであることをさらに理解すべきである。典型的には、当業者に公知の技術を使用して、投与を決定する。選択された投薬レベルは、種々の要因（使用した本発明の特定の化合物、そのエステル、塩、またはアミドの活性、投与経路、投与時間、使用される特定の化合物の排出または代謝速度、処置の持続時間、使用した特定の化合物と組み合わせて使用される他の薬物、化合物、および/または材料、処置を受ける患者の年齢、性別、体重、病態、一般的な健康状態、および病歴、ならびに医学分野で周知の同様の要因が含まれる）に依存する。

【0134】

投薬量は、患者の体重1kgあたりの組成物の量に基づき得る。他の量は当業者に公知

であり、容易に決定される。あるいは、本発明の投薬量を、組成物の血漿濃度を参照して決定することができる。例えば、最大血漿濃度 (C_{max}) および 0 から無限大までの血漿濃度 - 時間曲線下面積 ($AUC(0 \sim 4)$) を使用することができる。本発明の投薬量には、 C_{max} および $AUC(0 \sim 4)$ についての上記値が得られる投薬量およびこれらのパラメーターについての値よりも高いか低くなる他の投薬量が含まれる。

【0135】

当該分野の通常の技術を有する医師および獣医師は、必要とされる薬学的組成物の有効量を容易に決定および処方することができる。例えば、医師および獣医師は、薬学的組成物中で使用される本発明の化合物の用量を、所望の治療効果を達成するために必要なレベルよりも低いレベルから開始し、所望の効果が得られるまで投薬量を段階的に増加させることができる。

【0136】

一般に、本発明の化合物の適切な1日量は、治療効果を得るために有効な最も低い用量である化合物量である。このような有効用量は、一般に、上記因子に依存する。

【0137】

所与の患者を最も有効に処置する任意の特定の化合物の正確な投与時間および量は、特定の化合物の活性、薬物動態学、および生物学的利用能、患者の生理学的条件（年齢、性別、疾患の型および悪性度、全身的な身体状態、薬物の所与の投薬量および型に対する反応性が含まれる）、ならびに投与経路などに依存する。本明細書中に記載のガイドラインを使用して被験体のモニタリングならびに投薬量および/またはタイミングの調整からなる日常の実験しか必要とせず、処置（例えば、投与の最適な時間および/または量の決定）を至適化することができる。

【0138】

被験体が処置を受ける間、24時間の間の所定の時間に1つまたは複数の関連指標の測定によって患者の健康をモニタリングすることができる。処置（投与および処方の補足、量、時間が含まれる）を、このようなモニタリングの結果にしたがって至適化することができる。同一のパラメーターの測定によって、改善範囲を決定するために患者を定期的に再評価することができる。典型的には、治療開始から4週間後に最初の再評価を行い、その後治療中の4～8週間毎に再評価し、その後3ヶ月ごとに再評価する。治療を数ヶ月または数年継続することができ、ヒトの治療では最低1ヶ月が典型的な期間である。薬剤の投与量およびおそらく投与時間を、これらの再評価に基づいて調整することができる。

【0139】

化合物の至適用量よりも少ない投薬量で処置を開始することができる。その後、至適な治療効果が得られるまで少しずつ増加させながら投薬量を増加させることができる。

【0140】

これを知ることにより、どの薬物が相互に十分に作用する可能性が高いかについて、そして1つを超える薬物を使用する場合には各薬物を（どんな順序でおよびどんな頻度で）いつ投与するべきかを、正確に計画することについての癌専門医の決定が補助される。

【0141】

いくつかの本発明の化合物または他の化学療法剤の組み合わせ使用により、異なる成分の効果の開始および持続時間が相補的 (complementary) であり得るので、任意の各成分に必要な投薬量を減少させることができる。このような併用療法では、異なる活性成分を同時または個別に送達し、且つ1日のうちで同時または異なる時間で送達することができる。本発明の化合物の毒性および治療効果を、例えば、LD50およびED50の決定のための細胞培養物または実験動物における標準的な薬学的手順によって決定することができる。治療指数の高い組成物が好ましい。有毒な副作用を示す化合物を使用することができるが、副作用を減少させるために所望の部位に化合物をターゲティングする送達系をデザインするように配慮すべきである。

【0142】

細胞培養アッセイおよび動物研究から得たデータを、ヒトで使用するための投薬範囲の

処方で使用することができる。任意の補助物質 (s u p p l e m e n t) または補助物質中の任意の成分の投薬量は、好ましくは、ほとんどまたは全く毒性を示さない E D 5 0 値を含む循環濃度範囲内である。投薬量は、使用した投薬形態および使用した投与経路に依存してこの範囲内で変化させることができる。本発明の薬剤のために、治療有効用量を最初に細胞培養アッセイから推定することができる。細胞培養で決定したところ I C 5 0 (すなわち、症状を最大で半分阻害する試験化合物の濃度) を含む循環血漿濃度範囲を達成するために、動物モデルの用量を処方することができる。このような情報を使用して、ヒトの有用な用量をより正確に決定することができる。例えば、高速液体クロマトグラフィーによって血漿レベルを測定することができる。

【 0 1 4 3 】

(6 . キット)

本発明は、種々の癌治療のためのキットを提供する。例えば、キットは、1つまたは複数の上記薬学的組成物および任意選択的にその使用説明書を含み得る。さらに他の実施形態では、本発明は、1つまたは複数の薬学的組成物およびこのような組成物の投与のための1つまたは複数のデバイスを含むキットを提供する。例えば、本発明のキットは、薬学的組成物および癌性腫瘍への組成物の直接動脈内注射のためのカテーテルを含み得る。他の実施形態では、本発明のキットは、任意選択的に医薬品として処方したか凍結乾燥した送達デバイスと共に使用するための L T - R アゴニストおよび化学療法剤を予め充填したアンプルを含み得る。

【 実施例 】

【 0 1 4 4 】

(実施例)

本発明を、以下の実施例によってさらに例示するが、決して本発明を制限すると解釈すべきではない。

【 0 1 4 5 】

(材料と方法)

(W i D r マウスモデル)

h u C B E 1 1 と組み合わせた化学療法剤の効果を研究するために、W i D r 異種移植片モデルを使用した。C B E 1 1 は、重症複合型免疫不全症 (S C I D) マウス中で異種移植片として成長した W i D r 腫瘍に対して抗腫瘍活性を示すことが示されている (B r o w n i n g ら (1 9 9 6) J . E x p . M e d . 1 8 3 : 8 6 7) 。治療薬 (すなわち、L T - R アゴニストおよび化学療法剤) を、W i D r 腫瘍細胞を移植した胸腺欠損ヌードマウスに投与した。抗腫瘍活性 (併用療法の任意の協力効果または効果の増強が含まれる) を、W i D r 異種移植片ヒト結腸直腸腫瘍成長にしたがって研究し、ここで、確立された予備形成腫瘍塊に対して処置を開始した。

【 0 1 4 6 】

W i D r 細胞は、A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n (M a n a s s a s , V A) から入手した。細胞を、抗生物質を含まない 2 m M L - グルタミンならびに 1 . 5 g / L 重炭酸ナトリウム、0 . 1 m M 非必須アミノ酸、および 1 m M ビルビン酸ナトリウムを含むように調整したイーグル平衡塩類溶液 (B S S) を含み、1 0 % ウシ胎児血清 (F B S) を加えた 9 0 % イーグル最少基本培地にてインビトロで成長させた (5 % C O ₂) 。マウスに移植した腫瘍ホモジネート調製物のアリコートに対して細菌培養を行い、移植から 2 4 時間後および 4 8 時間後の両方で全ての培養物が細菌汚染について陰性であることを確認した。

【 0 1 4 7 】

0 日目に、血清を含まない 2 0 0 μ L R P M I 1 6 4 0 中の 2 × 1 0 ⁶ 個の W i D r 細胞の接種物を右側腹部に皮下移植した。3 日目から腫瘍重量および体重の測定値を 1 週間に 2 回記録し、4 日目にカンプトサルを含む研究についても記録した。腫瘍の長さが約 5 m m および幅が 5 m m と測定された場合、マウスを 処置群 およびコントロール群に無作為に分けた。0 日目から開始して、1 週間に 2 回体重を記録した。

【0148】

(KM-20L2マウスモデル)

h u C B E 1 1 と組み合わせた化学療法剤の効果を研究するために、KM-20L2異種移植片モデルを使用した。治療薬(すなわち、LT R アゴニストおよび化学療法剤)を、WiDr腫瘍細胞を移植した胸腺欠損ヌードマウスに投与した。抗腫瘍活性(併用療法の任意の協力効果または効果の増強が含まれる)を、WiDr異種移植片ヒト結腸直腸腫瘍成長にしたがって研究し、ここで、確立された予備形成腫瘍塊に対して処置を開始した。

【0149】

KM-20L2を、NCI tumor repositoryから入手した。細胞を、抗生物質を含まない10%ウシ胎児血清(FBS)を含む90%RPMI-1640で成長させた。マウスに移植した腫瘍細胞ホモジネート調製物のアリコートに対して細菌培養を行い、移植から24時間後および48時間後の両方で全ての培養物が細菌汚染について陰性であることを確認した。

【0150】

0日目に、無血清培地中の 2×10^6 個または 3×10^6 個のKM-20L2細胞接種物をマウスの右側腹部に皮下移植した。腫瘍サイズを定期的に記録した。腫瘍の長さが約5mmおよび幅が5mm(65mg)と測定された場合、マウスを処置群およびコントロール群に無作為に分けた。

【0151】

(腫瘍の測定)

ノギスを使用して腫瘍を測定した。腫瘍サイズの測定値を、研究終了まで研究にしたがって定期的に記録した。長楕円の体積を計算するための以下の式を使用して、二次元腫瘍測定値から腫瘍体積(mm^3)を評価した: 腫瘍体積(mm^3) = (長さ \times 幅² [L \times W²]) \div 2。単位密度を仮定し、体積を重量に変換した(すなわち、 $1\text{mm}^3 = 1\text{mg}$)。腫瘍成長抑制を、T/C率(式中、Tは処置群の平均腫瘍重量であり、Cはコントロール群の平均腫瘍重量である)として評価した。この研究型における42%またはそれ未満のT/C率を、National Cancer Institute (USA)による有意な活性の指標と見なす。その結果、動物を屠殺した。

【0152】

(統計分析)

標準的な統計学的方法にしたがって、腫瘍重量測定値の統計分析を行った。全ての評価における全ての用量群についての体重および腫瘍重量の平均、標準偏差(SD)、および平均の標準誤差(SEM)を決定した。各処置群とビヒクルコントロール群との間および各組み合わせ処置群と各h u C B E 1 1群との間に任意の統計的有意差が存在するかどうかを決定するために、各評価(各研究の終了時が含まれる)における平均腫瘍重量に対してスチューデントt検定を行った。

【0153】

h u C B E 1 1 および化学療法剤を使用した組み合わせ処置時に抗腫瘍活性の協力作用または増強が起こるかどうかを決定するために、分析を行った。化学療法剤のみを使用したWiDr腫瘍を保有するマウスの処置によって用量応答抗腫瘍効果が得られた場合、h u C B E 1 1 と化学療法剤との組み合わせの協力作用を、組み合わせ指数の計算によって正式に評価することができる(ChouおよびTallalay(1984)Adv. Enz. Regu. 22:27)。さらに、いくつかの組み合わせ処置による増強を、組み合わせ処置によって各処置によって得られる有効性の合計と比較して統計的に有意な相乗効果が得られるかどうかの決定によって評価した。

【0154】

各処置群の腫瘍体積とコントロール群の腫瘍体積との比較によって抗腫瘍効果を決定した。コントロール群と処置群との間の平均腫瘍体積の相違として平均腫瘍体積の減少を計算した。腫瘍体積の抑制率(すなわち、影響率(Fa))を、処置群の平均腫瘍体積の減

少をコントロール群の平均腫瘍体積で割ることによって計算した。1.000のFaは、腫瘍の完全な抑制を示した。その結果、さらなる統計分析を行った。

【0155】

(協力性分析)

CIによって示した協力作用または拮抗作用の程度の全解釈(記号で示す)を、以下の表3に記載する。

【0156】

【表3】

表3: 協力作用または拮抗作用を説明するための記号の解釈

| 組み合わせ指数の範囲 | 記号 | 解釈 |
|------------|-------|-----------|
| <0.1 | +++++ | 非常に強い協力作用 |
| 0.1-0.3 | ++++ | 強い協力作用 |
| 0.3-0.7 | +++ | 協力作用 |
| 0.7-0.85 | ++ | 中程度の協力作用 |
| 0.85-0.90 | + | わずかな協力作用 |
| 0.90-1.10 | ± | ほぼ累加的 |
| 1.10-1.20 | - | わずかな拮抗作用 |
| 1.20-1.45 | -- | 中程度の拮抗作用 |
| 1.45-3.3 | --- | 拮抗作用 |
| 3.3-10 | ---- | 強い拮抗作用 |
| >10 | ----- | 非常に強い拮抗作用 |

(実施例1: アルキル化化学療法剤と組み合わせたLT-Rアゴニストの抗腫瘍効果)
hucBE11のシスプラチンとの組み合わせ抗腫瘍効果。hucBE11と組み合わせたアルキル化化学療法剤(例えば、シスプラチン)の投与により相乗的抗腫瘍活性(例えば、協力活性または増強活性)が得られるかどうかを決定するために、Widr異種移植片モデルを使用して、hucBE11と組み合わせてシスプラチンを投与した。

【0157】

シスプラチンおよびhucBE11の抗腫瘍効果の研究のために、適切なシスプラチンおよびhucBE11の用量を決定するための投薬範囲の研究を行った。投与研究により、それぞれの腫瘍成長抑制に対する各薬剤の抗腫瘍効果も試験した。確立されたWidr腫瘍を保有する胸腺欠損ヌードマウスを、生理食塩水(コントロール)、hucBE11(50μgまたは500μg)、シスプラチン(0.25mg/kg~2mg/kgの範囲の用量)のいずれかで処置した(生理食塩水コントロールはn=30/用量、実験群はn=10/用量)。3日目に腫瘍サイズを測定し、その後悪性度分類日まで定期的に測定した。

【0158】

50日目の2mg/kg、1mg/kg、および0.25mg/kgのシスプラチン用量群の腫瘍成長は、生理食塩水コントロール群と有意に異ならなかった。NCI活性基準(T/C率が42%またはそれ未満)に基づいて、2mg/kg~0.25mg/kgのシスプラチンはWidrモデルで不活性であると判断された。50日目に、0.5mg/kg(P<0.05)の用量のみのシスプラチンにより、ヌードマウスにおいてWidrヒト結腸直腸腫瘍成長が有意に抑制された。並行研究では、44日目に、500μg(P<0.001)および50μg(P<0.01)の用量のhucBE11により、腫瘍成長が有意に抑制されると判断された。シスプラチンのみでの処置では、用量反応抗腫瘍効果は得られなかったため、シスプラチンとhucBE11との組み合わせの協力作用を評価することができなかった。

【0159】

シスプラチンとh u C B E 1 1との組み合わせ処置により腫瘍成長の抑制が有意に増加するかどうかを決定するために、上記の確立された腫瘍を有する確立されたW i D r腫瘍細胞を保有する胸腺欠損ヌードマウスに対して組み合わせ研究を行った。有効性、協力作用、および増強を決定するために、本研究により、種々の組み合わせのh u C B E 1 1 (5 0 μ gまたは5 0 0 μ g) およびシスプラチン (1 m g / k gおよび2 m g / k g) の効果を比較した。シスプラチン (1および2 m g / k g) およびh u C B E 1 1 (5 0および5 0 0 μ g) の4つの異なる用量の組み合わせを評価した。

【0160】

組み合わせ研究 (表4 ~ 6および図4および6に示す) の結果は、シスプラチンと組み合わせたh u C B E 1 1は処置マウスの腫瘍体積を有意に減少させることを証明する。全ての腫瘍データを44日目に得た。各処置群の腫瘍体積とコントロール群の腫瘍体積との比較によって抗腫瘍効果を決定した。1 . 0 0 0のF aは、腫瘍の完全な抑制を示す。表4は、h u C B E 1 1およびシスプラチンの個別処置および組み合わせ処置についての用量 - 結果の関係を示す。

【0161】

【表4】

表 4: 用量-効果の関係

| 処置 | 用量 | 単位 | 同時処置 | 用量 | 単位 | 腫瘍体積 | 体積の減少 | Fa |
|---------|-----|-------|--------|----|-------|--------|--------|-------|
| コントロール | | | | | | 1418.6 | 0.0 | 0.000 |
| シスプラチン | 1 | mg/kg | | | | 1300.4 | 118.2 | 0.083 |
| シスプラチン | 2 | mg/kg | | | | 1340.1 | 78.5 | 0.055 |
| huCBE11 | 50 | μg | | | | 869.7 | 548.9 | 0.387 |
| huCBE11 | 500 | μg | | | | 614.7 | 803.9 | 0.567 |
| huCBE11 | 50 | μg | シスプラチン | 1 | mg/kg | 490.4 | 928.2 | 0.654 |
| huCBE11 | 50 | μg | シスプラチン | 2 | mg/kg | 354.5 | 1064.1 | 0.750 |
| huCBE11 | 500 | μg | シスプラチン | 1 | mg/kg | 410.9 | 1007.7 | 0.710 |
| huCBE11 | 500 | μg | シスプラチン | 2 | mg/kg | 275.0 | 1143.6 | 0.806 |

5 0 0 μ gのh u C B E 1 1と2 m g / k gのシスプラチンまたは1 m g / k gのシスプラチンとの組み合わせにより、5 0 0 μ gのh u C B E 1 1のみと比較して統計的に有意に (それぞれP < 0 . 0 1およびP < 0 . 0 5) 低いW i D r腫瘍重量が得られた。5 0 μ gのh u C B E 1 1と2 m g / k gのシスプラチンまたは1 m g / k gのシスプラチンとの組み合わせによっても、5 0 μ gのh u C B E 1 1のみと比較して統計的に有意に (それぞれP < 0 . 0 0 1およびP < 0 . 0 1) 低いW i D r腫瘍重量が得られた。44日目では、h u C B E 1 1 5 0 0 μ gとシスプラチン2 m g / k gとの組み合わせ (P < 0 . 0 1) (図1) またはh u C B E 1 1 5 0 0 μ gとシスプラチン1 m g / k gとの組み合わせ (P < 0 . 0 5) での処置後の腫瘍重量はh u C B E 1 1 5 0 0 μ gのみよりも有意に低かった。さらに、h u C B E 1 1 5 0 μ gとシスプラチン2 m g / k gとの組み合わせ群 (P < 0 . 0 0 1) およびh u C B E 1 1 5 0 μ gとシスプラチン1 m g / k gとの組み合わせ群 (P < 0 . 0 1) での処置後の平均腫瘍重量はh u C B E 1 1 5 0 μ gのみの群よりも有意に低かった。

【0162】

h u C B E 1 1とシスプラチンとの組み合わせは、N C I活性基準 (T / C率が42%

またはそれ未満)に基づいて、試験した全ての用量の組み合わせで、W i D rモデルで活性であると判断された。h u C B E 1 1 5 0 0 μ gおよびシスプラチン2 m g / k gにおいて、2 4日目(3 8 . 4 %)から4 4日目(1 9 . 4 %)までのT / C率は4 2 %未満であった。h u C B E 1 1 5 0 0 μ gおよびシスプラチン1 m g / k gにおいて、3 0日目(3 7 . 3 %)から4 4日目(2 9 . 0 %)までのT / C率は4 2 %未満であった(図2)。h u C B E 1 1 5 0 μ gおよびシスプラチン2 m g / k gにおいて、2 7日目(4 0 . 5 %)から4 4日目(2 5 . 0 %)までのT / C率は4 2 %未満であった(図3)。h u C B E 1 1 5 0 μ gおよびシスプラチン1 m g / k gにおいて、3 4日目(4 0 . 0 %)から4 4日目(3 4 . 6 %)までのT / C率は4 2 %未満であった。

【0 1 6 3】

これらの研究から得た腫瘍重量データを使用して、h u C B E 1 1とシスプラチンとの組み合わせにより増強させるかどうかを決定するための統計学的比較を行った。4 4日目の個別の腫瘍体積(表5)を使用して、各動物の腫瘍体積の抑制率(すなわち、F a)を計算した(表6)。統計的に有意な増強についての試験には、各動物のF aの計算が必要であった。各腫瘍体積(表5)を使用して、各動物の腫瘍体積の抑制率(F a)を計算した(表6)。表4に示すように、(コントロール群の平均腫瘍体積 - 個別の動物の腫瘍体積) \div コントロール群の平均腫瘍体積としてF aを計算した。組み合わせ処置についての予想される累加F aを、組み合わせのいずれかの成分(h u C B E 1 1またはシスプラチン)を投与した群由来の平均F aの合計であると解釈する。組合せ処置の実際の効果と処置が単に累加であると予想される効果との間の相違も計算した(表6)。両側1標本t検定を使用して、組み合わせ処置により予想される累加値と統計的に有意に異なる平均F aが得られるかどうかを決定した(表6)。本研究で使用したh u C B E 1 1およびシスプラチンを使用した全ての組み合わせ処置計画により、予想される累加抗腫瘍効果と比較した場合に抗腫瘍効果が統計的に有意に増強された。

【0 1 6 4】

【表 5】

表 5: 4 4 日目の個々の腫瘍体積

| コントロール | シスプラチン 1 mg/kg | シスプラチン 2 mg/kg | huCBE11 50 µg | huCBE11 500µg | huCBE11 50 µg + シスプラチン 1 mg/kg | huCBE11 50 µg + シスプラチン 2 mg/kg | huCBE11 500 µg + シスプラチン 1 mg/kg | huCBE11 500 µg + シスプラチン 2 mg/kg |
|--------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|---|---|--|--|
| 1503.6 | 1280.0 | 970.2 | 842.6 | 726.2 | 445.5 | 305.8 | 460.1 | 292.7 |
| 1123.2 | 1038.3 | 1204.2 | 686.0 | 645.6 | 638.0 | 632.2 | 388.2 | 159.9 |
| 983.3 | 2096.4 | 1301.9 | 487.5 | 99.1 | 548.5 | 420.8 | 285.4 | 141.6 |
| 1052.2 | 930.1 | 1505.3 | 802.7 | 944.8 | 359.8 | 286.8 | 314.2 | 271.7 |
| 1228.2 | 1383.3 | 1469.5 | 624.9 | 534.1 | 398.7 | 407.0 | 359.3 | 690.3 |
| 1413.9 | 1440.7 | 541.4 | 712.0 | 333.2 | 437.1 | 247.0 | 418.9 | 691.6 |
| 1649.3 | 1220.3 | 1829.8 | 1216.2 | 469.4 | 830.0 | 463.2 | 388.0 | 175.8 |
| 703.0 | 1274.3 | 2160.2 | 580.7 | 655.8 | 639.3 | 318.3 | 427.3 | 28.1 |
| 1626.8 | 1103.9 | 1076.4 | 1866.3 | 1014.0 | 480.0 | 250.4 | 424.8 | 145.4 |
| 1285.5 | 1236.7 | 1342.0 | 878.7 | 725.3 | 126.8 | 213.5 | 642.5 | 152.6 |
| 1215.6 | | | | | | | | |
| 2294.6 | | | | | | | | |
| 2271.9 | | | | | | | | |
| 974.4 | | | | | | | | |
| 2039.3 | | | | | | | | |
| 1713.9 | | | | | | | | |
| 741.1 | | | | | | | | |
| 1467.8 | | | | | | | | |
| 1757.7 | | | | | | | | |
| 1327.3 | | | | | | | | |
| 平均: | 1418.6 | 1300.4 | 1340.1 | 869.7 | 614.7 | 490.4 | 410.9 | 275.0 |

【 0 1 6 5 】

【表 6】

表 6: 腫瘍体積の個々の阻害率

| シスプラチン 1 mg/kg | シスプラチン 2 mg/kg | huCBE11 50 µg | huCBE11 500 µg | huCBE 11 50 µg + シスプラチン 1 mg/kg | huCBE11 50 µg + シスプラチン 2 mg/kg | huCBE11 500 µg + シスプラチン 1 mg/kg | huCBE11 500 µg + シスプラチン 2 mg/kg |
|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|--|---|--|--|
| 0.098 | 0.316 | 0.406 | 0.488 | 0.686 | 0.784 | 0.676 | 0.794 |
| 0.268 | 0.151 | 0.516 | 0.545 | 0.550 | 0.554 | 0.726 | 0.887 |
| -0.478 | 0.082 | 0.656 | 0.930 | 0.613 | 0.703 | 0.799 | 0.900 |
| 0.344 | -0.061 | 0.434 | 0.334 | 0.746 | 0.798 | 0.778 | 0.808 |
| 0.025 | -0.036 | 0.559 | 0.624 | 0.719 | 0.713 | 0.747 | 0.513 |
| -0.016 | 0.618 | 0.498 | 0.765 | 0.692 | 0.826 | 0.705 | 0.512 |
| 0.140 | -0.290 | 0.143 | 0.669 | 0.415 | 0.673 | 0.726 | 0.876 |
| 0.102 | -0.523 | 0.591 | 0.538 | 0.549 | 0.776 | 0.699 | 0.980 |
| 0.222 | 0.241 | -0.316 | 0.285 | 0.662 | 0.824 | 0.701 | 0.898 |
| 0.128 | 0.054 | 0.381 | 0.489 | 0.911 | 0.849 | 0.547 | 0.892 |
| 平均: | 0.083 | 0.055 | 0.387 | 0.567 | 0.654 | 0.750 | 0.710 |
| 累加 : | | | | 0.470 | 0.442 | 0.650 | 0.622 |
| 相違 : | | | | 0.184 | 0.308 | 0.060 | 0.184 |
| 両側一標本 t 検定 | | | | | | | |
| T 値 : | | | | 4.345 | 10.806 | 2.784 | 3.572 |
| DF: | | | | 9 | 9 | 9 | 9 |
| P 値 : | | | | 0.0019 | <0.0001 | 0.0213 | 0.0060 |

huCBE11 / シスプラチン研究で使用した全ての組み合わせにより、腫瘍体積の統計的に有意な相乗的抑制が得られた (表 6)。50 µg または 500 µg の用量の huCBE11 と組み合わせた場合、1 mg / kg および 2 mg / kg の用量のシスプラチンにより、統計的に有意な相乗効果が得られた。これらの組み合わせにより、huCBE11 の抗腫瘍効果が有意に増強された。要するに、WidR ヒト結腸直腸腺癌を皮下移植した胸腺欠損ヌードマウスにおける LT 受容体活性化 mAb である huCBE11 と化学療法剤であるシスプラチンとの組み合わせ処置により、huCBE11 投与のみおよびシスプラチン投与のみと比較して有意に改善された結果を示した (すなわち、増強された)。

【0166】

(実施例 2 : アントラサイクリンアナログである化学療法剤と組み合わせた LT R アゴニストの抗腫瘍効果)

huCBE11 とアドリアマイシンとの組み合わせの抗腫瘍効果。huCBE11 と組み合わせたアントラサイクリンアナログ化学療法剤 (例えば、アドリアマイシン) の投与により相乗的抗腫瘍活性 (例えば、協力作用または増強) が得られるかどうかを決定するために、WidR 異種移植片腫瘍モデルを使用して、アドリアマイシンを huCBE11 と組み合わせで投与した。

【0167】

アドリアマイシンと huCBE11 との組み合わせ抗腫瘍効果の研究のためのアドリアマイシンおよび huCBE11 の適切な用量を決定するためおよび各薬物のみの個別の効果を決定するために、用量範囲決定研究 (dose ranging study) を最初に行った。1 mg / kg から 6 mg / kg までの漸増用量のアドリアマイシンを、WidR 腫瘍細胞を皮下移植した胸腺欠損ヌードマウスへの腹腔内注射によって投与した (0 日目)。全ての試験用量で、アドリアマイシンは、National Cancer Institute (NCI) の活性基準 (42 % またはそれ未満の試験 / コントロール率

(T / C 率)) に基づいて、W i D r モデルにおいて化学療法剤として不活性であると判断された。42日目(研究の終了日)に、アドリアマイシン群とビヒクルコントロール群との間に有意差は認められなかった。個別の研究では、35日目(評価日)で、6 m g / k g または 4 m g / k g のいずれかのアドリアマイシンでも腫瘍成長に対する有意な阻害を示さなかった。したがって、アドリアマイシンはW i D r 腫瘍を有意に抑制せず、アドリアマイシン群と生理食塩水群との間の有意差は存在しなかった。

【 0 1 6 8 】

並行研究では、500 μ g、100 μ g、および50 μ gの用量のh u C B E 1 1は、42日目で腫瘍成長を抑制することが見出され、N C I 活性基準に基づいて、W i D r モデルにおいて化学療法剤として活性であると判断された。W i D r 腫瘍重量は、研究終了時(42日目)にビヒクルコントロール群と比較して全てのh u C B E 1 1 抗体試験群で統計的に有意に低かった。T / C 率は、h u C B E 1 1 500 μ gの群および100 μ gの群において32 ~ 42日目に42%未満であることが認められた(従って、N C I 活性基準を満たす)。

【 0 1 6 9 】

試験したh u C B E 1 1とアドリアマイシンとの全ての組み合わせは、N C I 基準(42%またはそれ未満のT / C 率)に基づいてW i D r モデルで活性であると判断された。h u C B E 1 1 100 μ g / 注射または500 μ g / 注射とアドリアマイシン 6 m g / k g との組み合わせ群(P < 0 . 001) およびh u C B E 1 1 50 μ g / 注射とアドリアマイシン 6 m g / k g または4 m g / k g との組み合わせ群(P < 0 . 05) は、対応するh u C B E 1 1 のみの群よりも腫瘍重量が統計的に有意に低かった。18日目、21日目、または32日目から42日目までの全ての組み合わせ用量群のT / C 率は42%未満であり、42日目のh u C B E 1 1 100 μ gとアドリアマイシン6 m g / k g との群では8 . 4%という低さであった。h u C B E 1 1 500 μ gまたは100 μ gとアドリアマイシン6 m g / k g との組み合わせ群の研究終了時(42日目)の腫瘍重量は、各h u C B E 1 1 のみの群よりも統計的に有意に(P < 0 . 001) 低いことが認められた(図5および図7)。

【 0 1 7 0 】

アドリアマイシンおよびh u C B E 1 1の活性研究後、併用療法の認められた投与効果をより良好に特徴づけるための研究を行った。W i D r ヒト結腸直腸腫瘍成長モデルを使用して、W i D r ヒト結腸直腸腫瘍を異種移植した実験胸腺欠損ヌードマウスに50、100、または500 μ gのh u C B E 1 1のみまたは4または6 m g / k gのアドリアマイシンとの組み合わせを投与した。各処置群の腫瘍体積とコントロール群の腫瘍体積との比較によって抗腫瘍有効性を決定した。コントロール群と処置群との間の平均腫瘍体積の相違として平均腫瘍体積の減少を計算した。腫瘍体積の抑制率(すなわち、影響率(F a))を、処置群の平均腫瘍体積の減少をコントロール群の平均腫瘍体積で割ることによって計算した。1 . 000のF aは、腫瘍の完全な抑制を示した。表7は、個別の処置および組み合わせ処置の用量 - 効果の関係を示す。

【 0 1 7 1 】

【表 7】

表 7: huCBE11 とアドリアマイシンとの組み合わせ処置群についての用量-効果の関係

| 処置 | 用量 | 単位 | 同時処置 | 用量 | 単位 | 腫瘍体積 | 体積の減少 | Fa |
|----------|-----|-------|----------|----|-------|--------|--------|--------|
| コントロール | | | | | | 1124.0 | 0.0 | 0.000 |
| アドリアマイシン | 4 | mg/kg | | | | 1353.0 | -229.0 | -0.204 |
| アドリアマイシン | 6 | mg/kg | | | | 1023.5 | 100.5 | 0.089 |
| huCBE11 | 50 | μg | | | | 633.2 | 490.8 | 0.437 |
| huCBE11 | 100 | μg | | | | 399.5 | 724.5 | 0.645 |
| huCBE11 | 500 | μg | | | | 396.0 | 728.0 | 0.648 |
| huCBE11 | 50 | μg | アドリアマイシン | 4 | mg/kg | 350.3 | 773.7 | 0.688 |
| huCBE11 | 50 | μg | アドリアマイシン | 6 | mg/kg | 258.9 | 865.1 | 0.770 |
| huCBE11 | 100 | μg | アドリアマイシン | 4 | mg/kg | 356.5 | 767.5 | 0.683 |
| huCBE11 | 100 | μg | アドリアマイシン | 6 | mg/kg | 86.5 | 1037.5 | 0.923 |
| huCBE11 | 500 | μg | アドリアマイシン | 4 | mg/kg | 288.9 | 835.1 | 0.743 |
| huCBE11 | 500 | μg | アドリアマイシン | 6 | mg/kg | 118.7 | 1005.3 | 0.894 |

アドリアマイシンのみでの W i D r 腫瘍を保有するマウスの処置により、用量応答抗腫瘍有効性が得られなかった；したがって、huCBE11 + アドリアマイシンの組み合わせの協力作用を、組み合わせ指数の計算によって正式に評価することができなかった（C h o u および T a l a l a y (1 9 8 4) A d v . E n z . R e g u l . 2 2 : 2 7 ）。

【 0 1 7 2 】

組み合わせ処置による増強を、huCBE11 / アドリアマイシンの組み合わせ処置によって各処置によって得られた有効性の合計と比較した場合に統計的に有意な相乗効果が得られるかどうかの決定によって評価した。統計的に有意な増強の試験には、各動物の Fa の計算が必要であった。各腫瘍体積（表 8）を使用して、35 日目の各動物の腫瘍体積の抑制率（Fa）（表 9）を計算した。上記の表 7 に示すように、（コントロール群の平均腫瘍体積 - 個別の動物の腫瘍体積）÷ コントロール群の平均腫瘍体積として Fa を計算した。組み合わせ処置についての予想される累加 Fa を、組み合わせのいずれかの成分（huCBE11 または アドリアマイシン）を投与した群由来の平均 Fa の合計であると解釈する。組み合わせ処置の実際の効果と処置が単に累加であると予想される効果との間の相違も計算した（表 9）。両側 1 標本 t 検定を使用して、組み合わせ処置により予想される累加値と統計的に有意に異なる平均 Fa が得られるかどうかを決定した（表 9）。

【 0 1 7 3 】

【表 8】

表 8 : 35日目の抑制率の計算のための各腫瘍体積および平均腫瘍体積

| コントロール | アドリアマ イシン 4 mg/kg | アドリアマ イシン 6 mg/kg | huCBE11 50 µg | huCBE11 100 µg | huCBE11 500 µg | huCBE11 50 µg + 4 mg/kg アドリアマイシン | huCBE11 50 µg + 6 mg/kg アドリアマイシン | huCBE11 100 µg + 4 mg/kg アドリアマイシン | huCBE11 100 µg + 6 mg/kg アドリアマイシン | huCBE11 500 µg + 4 mg/kg アドリアマイシン | huCBE11 500 µg + 6 mg/kg アドリアマイシン |
|--------|-------------------------|-------------------------|------------------|-------------------|-------------------|---|---|--|--|--|--|
| 975.4 | 842.1 | 537.2 | 289.2 | 990.1 | 778.7 | 205.8 | 70.6 | 65.1 | 57.2 | 432.8 | 81.7 |
| 2233.6 | 548.3 | 1881.7 | 754.4 | 171.4 | 296.8 | 476.1 | 128.7 | 602.9 | 110.3 | 180.7 | 151.9 |
| 909.0 | 1087.2 | 1455.4 | 311.9 | 267.9 | 0.1 | 284.8 | 259.1 | 128.5 | 74.7 | 209.2 | 76.7 |
| 1069.4 | 1582.5 | 1017.1 | 375.4 | 208.9 | 280.9 | 406.8 | 451.8 | 799.1 | 155.9 | 273.4 | 80.0 |
| 879.1 | 2687.5 | 696.6 | 381.9 | 245.8 | 781.0 | 561.2 | 147.0 | 241.3 | 38.9 | 217.4 | 120.1 |
| 610.1 | 528.1 | 605.1 | 409.6 | 293.4 | 272.3 | 281.4 | 135.2 | 426.8 | 38.9 | 248.1 | 117.4 |
| 761.8 | 1865.5 | 901.8 | 766.4 | 281.4 | 537.5 | 191.2 | 281.9 | 601.7 | 131.1 | 277.0 | 164.7 |
| 647.5 | 1277.8 | 889.3 | 1688.6 | 737.5 | 273.7 | 340.8 | 319.0 | 188.2 | 59.8 | 130.9 | 100.2 |
| 2065.7 | 1550.2 | 1059.5 | 762.8 | 457.4 | 368.7 | 369.8 | 112.7 | 202.8 | 126.5 | 758.7 | 117.8 |
| 583.7 | 1560.9 | 1191.2 | 592.2 | 341.5 | 370.6 | 385.1 | 682.7 | 308.3 | 71.3 | 160.7 | 175.9 |
| 1028.3 | | | | | | | | | | | |
| 1024.9 | | | | | | | | | | | |
| 777.8 | | | | | | | | | | | |
| 1795.6 | | | | | | | | | | | |
| 1817.0 | | | | | | | | | | | |
| 1434.7 | | | | | | | | | | | |
| 2087.6 | | | | | | | | | | | |
| 908.0 | | | | | | | | | | | |
| 684.4 | | | | | | | | | | | |
| 187.0 | | | | | | | | | | | |
| 平均 | | | | | | | | | | | |
| 1124.0 | 1353.0 | 1023.5 | 633.2 | 399.5 | 396.0 | 350.3 | 258.9 | 356.5 | 86.5 | 288.9 | 118.7 |

【 0 1 7 4 】

【表 9】

表 9: 腫瘍体積の抑制率

| | アドリアマ イシン 4 mg/kg | アドリアマ イシン 6 mg/kg | huCBE11 50 µg | huCBE11 100 µg | huCBE11 500 µg | huCBE11 50 µg + アドリアマイシン 4 mg/kg | huCBE11 50 µg + アドリアマイシン 6 mg/kg | huCBE11 100 µg + アドリアマイシン 4 mg/kg | huCBE11 100 µg + アドリアマイシン 6 mg/kg | huCBE11 500 µg + アドリアマイシン 4 mg/kg | huCBE11 500 µg + アドリアマイシン 6 mg/kg |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------|-------------------|-------------------|---|---|--|--|--|--|
| | 0.251 | 0.522 | 0.743 | 0.119 | 0.307 | 0.817 | 0.937 | 0.942 | 0.949 | 0.615 | 0.927 |
| | 0.512 | -0.674 | 0.329 | 0.848 | 0.736 | 0.576 | 0.885 | 0.464 | 0.902 | 0.839 | 0.865 |
| | 0.033 | -0.295 | 0.723 | 0.762 | 1.000 | 0.747 | 0.769 | 0.886 | 0.934 | 0.814 | 0.932 |
| | -0.408 | 0.095 | 0.666 | 0.814 | 0.750 | 0.638 | 0.598 | 0.289 | 0.861 | 0.757 | 0.929 |
| | -1.391 | 0.380 | 0.660 | 0.781 | 0.305 | 0.501 | 0.869 | 0.785 | 0.965 | 0.807 | 0.893 |
| | 0.530 | 0.462 | 0.636 | 0.739 | 0.758 | 0.750 | 0.880 | 0.620 | 0.965 | 0.779 | 0.896 |
| | -0.660 | 0.198 | 0.318 | 0.750 | 0.522 | 0.830 | 0.749 | 0.465 | 0.883 | 0.754 | 0.853 |
| | -0.137 | 0.209 | -0.502 | 0.344 | 0.756 | 0.697 | 0.716 | 0.833 | 0.947 | 0.884 | 0.911 |
| | -0.379 | 0.057 | 0.321 | 0.593 | 0.672 | 0.671 | 0.900 | 0.820 | 0.887 | 0.325 | 0.895 |
| | -0.389 | -0.060 | 0.473 | 0.696 | 0.670 | 0.657 | 0.393 | 0.726 | 0.937 | 0.857 | 0.844 |
| 平均: | -0.204 | 0.089 | 0.437 | 0.645 | 0.648 | 0.688 | 0.770 | 0.683 | 0.923 | 0.743 | 0.894 |
| 累加: | - | - | - | - | - | 0.437 | 0.526 | 0.645 | 0.734 | 0.648 | 0.737 |
| 相違: | - | - | - | - | - | 0.252 | 0.244 | 0.038 | 0.189 | 0.095 | 0.157 |
| 両側一標本 t 検定: 累加と有意に異なるか? | | | | | | | | | | | |
| T 値: | - | - | - | - | - | 7.719 | 4.577 | 0.559 | 16.182 | 1.827 | 15.687 |
| DF: | - | - | - | - | - | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 |
| P 値: | - | - | - | - | - | <0.0001 | 0.0013 | 0.5901 | <0.0001 | 0.1010 | <0.0001 |

表 9 に示すように、両側 1 標本 t 検定の使用によって、多数の huCBE11: アドリアマイシンの組み合わせ処置の huCBE11 抗体のみを超える相乗効果が証明された。50 µg の用量の huCBE11 と組み合わせた場合、4 および 6 mg/kg アドリアマイシンの両方の用量により相乗効果が得られた (それぞれ $P < 0.0001$ および $P = 0.0013$)。100 µg または 500 µg の用量の huCBE11 のいずれかと組み合わせた場合、アドリアマイシン 6 mg/kg により、相乗効果が得られた ($P < 0.00$

01)。したがって、これらの組み合わせは、h u C B E 1 1の抗腫瘍効果を有意に増強することが認められた。

【0175】

本研究で使用したh u C B E 1 1およびアドリアマイシンを使用した大多数の組み合わせ処置計画は、抗腫瘍効果の予想される累加と比較して抗腫瘍有効性を統計的に有意に増強した。W i D r ヒト結腸直腸腺癌を皮下移植した胸腺欠損ヌードマウスにおけるL T受容体活性化m A bであるh u C B E 1 1および化学療法剤であるアドリアマイシンの組み合わせ処置により、h u C B E 1 1のみおよびアドリアマイシンのみの投与と比較して有意に改善された結果を示した。これらの組み合わせにより、h u C B E 1 1の抗腫瘍効果が有意に増強された。

【0176】

(実施例3：トポイソメラーゼI化学療法剤と組み合わせたL T R アゴニストの抗腫瘍効果)

(A . W i D r 異種移植片モデルにおけるh u C B E 1 1 / カンプトサル併用療法の抗腫瘍効果)

h u C B E 1 1と組み合わせたトポイソメラーゼI化学療法剤(例えば、カンプトサル(イリノテカンともいわれる))の投与によって相乗的抗腫瘍活性(例えば、協力活性または増強活性)が得られるかどうかを決定するために、癌療法として試験するためのW i D r マウスモデルを使用してh u C B E 1 1と組み合わせてカンプトサルを投与した。

【0177】

適切なカンプトサルおよびh u C B E 1 1の用量を決定するためおよび各薬物のみの個別の活性を決定するために用量範囲決定研究を行った。1 . 8 m g / k g から1 0 m g / k g までの漸増量のカンプトサルをW i D r 腫瘍細胞を皮下移植した胸腺欠損ヌードマウスに投与した(0日目)。1 0 m g / k g (P < 0 . 0 0 1)、6 m g / k g (P < 0 . 0 1)、および3 m g / k g (P < 0 . 0 5)のカンプトサルは、43日目で、ビヒクルコントロールと比較してW i D r 腫瘍成長を統計的に有意に阻害した。24 ~ 31日目にカンプトサル1 0 m g / k g 群で41%に減少したことを除き、全ての用量群における全ての他の評価でのT / C率は45%超であった。投与研究由来の結果により、N a t i o n a l C a n c e r I n s t i t u t eの活性基準(N C I ; 42%またはそれ未満の試験 / コントロール率(T / C率)が活性を構成する)によってW i D r モデルにおいてカンプトサルが不活性であると判断された。

【0178】

並行研究では、5 0 0 μ g (P < 0 . 0 0 1)、5 0 μ g (P < 0 . 0 0 1)、および5 μ g (P < 0 . 0 5)の用量のh u C B E 1 1は、43日目で腫瘍成長を抑制することが見出された。h u C B E 1 1 5 0 0 μ g および5 0 μ g の群では、35日目または38日目 ~ 42日目のT / C率は42%未満であった。ビヒクルコントロールと比較して、5 0 0 μ g (P < 0 . 0 0 1)、5 0 μ g (P < 0 . 0 0 1)、および5 μ g (P < 0 . 0 5)の用量ならびに研究終了時の1 0 m g / k g (P < 0 . 0 1)および6 m g / k g (P < 0 . 0 5)、および3 m g / k g (P < 0 . 0 5)のh u C B E 1 1により、腫瘍成長が統計的に有意に抑制された。h u C B E 1 1 5 0 0 μ g の群および5 0 μ g の群における35日目 / 38日目 ~ 42日目のT / C率は42%未満であった。結果は、h u C B E 1 1は、N C I 活性基準(42%またはそれ未満のT / C率)に基づいたW i D r モデルで活性であることを証明した。

【0179】

h u C B E 1 1およびカンプトサルの組み合わせ活性の分析も行った。42日目に、腫瘍重量は、h u C B E 1 1 5 0 μ g のみ(P < 0 . 0 0 1)での処置後よりもh u C B E 1 1 5 0 μ g とカンプトサル1 0 m g / k g との組み合わせでの処置後に有意に低かった(図1を参照のこと)。さらに、h u C B E 1 1 5 0 μ g とカンプトサル6 m g / k g との組み合わせ群(P < 0 . 0 1)およびh u C B E 1 1 5 0 μ g とカンプ

トサル 3 mg / kg との組み合わせ群 ($P < 0.05$) における平均腫瘍重量は、h u C B E 1 1 5 0 μ g のみの群における平均腫瘍重量と有意に異なった。h u C B E 1 1 5 0 μ g およびカンプトサル 1 0 mg / kg の群における T / C 率は、17 日目で 42 % 未満に下落し、42 日目に 6.2 % であった。さらに、T / C 率は、h u C B E 1 1 5 0 μ g およびカンプトサル 6 mg / kg の群における 17 日目 ~ 42 日目ならびに h u C B E 1 1 5 0 μ g およびカンプトサル 3 mg / kg の群における 24 ~ 42 日目で 42 % 未満であった。

【0180】

42 日目の h u C B E 1 1 1 8 μ g とカンプトサル 1 0 mg / kg、h u C B E 1 1 1 0.5 μ g とカンプトサル 6 mg / kg、または h u C B E 1 1 5.4 μ g とカンプトサル 3 mg / kg との併用療法群と各カンプトサル用量のみとの間での平均腫瘍重量の統計的に有意な差は認められなかった。T / C 率は、h u C B E 1 1 1 8 μ g とカンプトサル 1 0 mg / kg との群のみで 42 % 未満であった (21 ~ 42 日目)

【0181】

要するに、h u C B E 1 1 とカンプトサルとの組み合わせは、N C I 活性基準 (42 % またはそれ未満の T / C 率) に基づいて、W i D r モデルで活性であると判断された。予め確立された W i D r ヒト結腸直腸腫瘍の重量は、h u C B E 1 1 のみよりも h u C B E 1 1 と化学療法剤であるカンプトサルとの組み合わせを使用した処置後で統計的に有意に低かった。

(1) 5 0 μ g h u C B E 1 1 および 1 0 mg / kg カンプトサルを 5 0 μ g h C B E 1 1 のみ ($P < 0.001$) と比較し、17 日目 ~ 42 日目の T / C 率は 42 % 未満であった (6.2 % という低さ)。

【0182】

(2) 5 0 μ g h C B E 1 1 および 6 mg / kg カンプトサルを 5 0 μ g h C B E 1 1 のみ ($P < 0.01$) と比較し、17 日目 ~ 42 日目の T / C 率は 42 % 未満であった。

【0183】

(3) 5 0 μ g h C B E 1 1 および 3 mg / kg カンプトサルを 5 0 μ g h C B E 1 1 のみ ($P < 0.05$) と比較し、24 日目 ~ 42 日目の T / C 率は 42 % 未満であった。

【0184】

h u C B E 1 1 およびカンプトサルが協力性に作用することができるかどうかを決定するために、W i D r ヒト結腸直腸腫瘍成長モデルを移植した胸腺欠損ヌードマウスを使用して相乗作用研究を行った。これらの h u C B E 1 1 / カンプトサル組み合わせ研究のために、1 0 mg / kg、6 mg / kg、または 3 mg / kg の用量のカンプトサルを選択した。F a 値を計算するために使用する全ての腫瘍データを 21 日目にとった。各処置群の腫瘍体積とコントロール群の腫瘍体積との比較によって抗腫瘍有効性を決定した。コントロール群と処置群との間の平均腫瘍体積の相違として平均腫瘍体積の減少を計算した。処置群の平均腫瘍体積の減少をコントロール群の平均腫瘍体積で割ることによって、腫瘍体積の抑制率 (影響率 (F a)) を計算した。1.000 の F a は、腫瘍の完全な抑制を示す。表 10 は、個別の処置および組み合わせ処置の用量 - 効果の関係を示す。次いで、h u C B E 1 1 とカンプトサルとの組み合わせ処置についての協力作用および増強の評価のために、得られた F a 値を使用した。

【0185】

【表 10】

表 10: huCBE11 とカンプトサルとの組み合わせ処置についての用量－効果の関係

| 処置 | 用量 | 単位 | 同時処置 | 用量 | 単位 | 腫瘍体積 | 体積の減少 | Fa |
|---------|------|-------|--------|----|-------|-------|-------|-------|
| コントロール | | | | | | 434.0 | 0.0 | 0.000 |
| カンプトサル | 3 | mg/kg | | | | 330.9 | 103.1 | 0.238 |
| カンプトサル | 6 | mg/kg | | | | 242.8 | 191.2 | 0.441 |
| カンプトサル | 10 | mg/kg | | | | 227.2 | 206.8 | 0.476 |
| huCBE11 | 5 | μg | | | | 319.0 | 115.0 | 0.265 |
| huCBE11 | 50 | μg | | | | 267.8 | 166.2 | 0.383 |
| huCBE11 | 500 | μg | | | | 252.5 | 181.5 | 0.418 |
| huCBE11 | 5.4 | μg | カンプトサル | 3 | mg/kg | 283.1 | 150.9 | 0.348 |
| huCBE11 | 10.5 | μg | カンプトサル | 6 | mg/kg | 237.6 | 196.4 | 0.453 |
| huCBE11 | 18 | μg | カンプトサル | 10 | mg/kg | 135.5 | 298.5 | 0.688 |
| huCBE11 | 50 | μg | カンプトサル | 3 | mg/kg | 188.0 | 246.0 | 0.567 |
| huCBE11 | 50 | μg | カンプトサル | 6 | mg/kg | 103.2 | 330.8 | 0.762 |
| huCBE11 | 50 | μg | カンプトサル | 10 | mg/kg | 78.0 | 356.0 | 0.820 |

本研究で薬物の増強を評価するために使用した用量は、固定された比の組み合わせに制限されなかった。統計的に有意な増強の試験には、各動物の Fa の計算が必要である。各腫瘍体積（表 4 1）を使用して、各動物の腫瘍体積の抑制率（Fa）を計算した（表 4 2）。（コントロール群の平均腫瘍体積 - 個別の動物の腫瘍体積）÷ コントロール群の平均腫瘍体積として Fa を計算した。組み合わせ処置についての予想される累加 Fa を、組み合わせのいずれかの成分を投与した群由来の平均 Fa の合計であると解釈する。組み合わせ処置の実際の効果と処置が単に累加であると予想される効果との間の相違も計算した（表 4 2）。両側 1 標本 t 検定を使用して、組み合わせ処置により予想される累加値と統計的に有意に異なる平均 Fa が得られるかどうかを決定した（表 4 2）。

【0186】

【表 4 1】

表 41: 各腫瘍体積

| コントロール | カンプト サル 3 | カンプト サル 6 | カンプト サル 10 | hCBE 50 | hCBE 50 +カンプト サル 3 | hCBE 50 +カンプト サル 6 | hCBE 50 +カンプト サル 10 | |
|--------|--------------|--------------|---------------|---------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|------|
| 607.4 | 463.6 | 177.9 | 363.3 | 171.3 | 137.9 | 175.0 | 102.2 | |
| 588.4 | 265.8 | 197.8 | 209.9 | 356.5 | 150.7 | 136.3 | 123.1 | |
| 356.7 | 211.5 | 386.4 | 137.2 | 440.3 | 112.9 | 93.0 | 118.8 | |
| 239.1 | 343.5 | 167.6 | 252.0 | 254.0 | 124.4 | 81.7 | 34.3 | |
| 353.0 | 393.6 | 313.8 | 152.8 | 326.6 | 261.7 | 16.7 | 80.3 | |
| 352.7 | 288.0 | 246.9 | 232.5 | 170.5 | 288.5 | 70.8 | 31.8 | |
| 638.2 | 297.6 | 303.1 | 283.6 | 244.3 | 230.1 | 73.3 | 49.2 | |
| 573.4 | 400.1 | 228.8 | 184.4 | 231.8 | 197.0 | 77.0 | 37.4 | |
| 508.8 | 317.4 | 207.9 | 271.4 | 178.1 | 163.6 | 81.5 | 65.2 | |
| 365.5 | 327.6 | 197.8 | 185.4 | 304.5 | 213.3 | 226.8 | 137.6 | |
| 625.5 | | | | | | | | |
| 356.5 | | | | | | | | |
| 394.0 | | | | | | | | |
| 387.8 | | | | | | | | |
| 576.4 | | | | | | | | |
| 350.6 | | | | | | | | |
| 346.0 | | | | | | | | |
| 283.3 | | | | | | | | |
| 351.9 | | | | | | | | |
| 424.8 | | | | | | | | |
| 平均: | 434.0 | 330.9 | 242.8 | 227.2 | 267.8 | 188.0 | 103.2 | 78.0 |

【 0 1 8 7 】

【表 4 2】

表 42: 腫瘍体積の各抑制率

| カンプト サル 3 | カンプト サル 6 | カンプト サル 10 | hCBE 50 | hCBE 50 +カンプト サル 3 | hCBE 50 +カンプト サル 6 | hCBE 50 +カンプト サル 10 |
|--------------|--------------|---------------|---------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| -0.068 | 0.590 | 0.163 | 0.605 | 0.682 | 0.597 | 0.764 |
| 0.388 | 0.544 | 0.516 | 0.179 | 0.653 | 0.686 | 0.716 |
| 0.513 | 0.110 | 0.684 | -0.015 | 0.740 | 0.786 | 0.726 |
| 0.208 | 0.614 | 0.419 | 0.415 | 0.713 | 0.812 | 0.921 |
| 0.093 | 0.277 | 0.648 | 0.247 | 0.397 | 0.962 | 0.815 |
| 0.336 | 0.431 | 0.464 | 0.607 | 0.335 | 0.837 | 0.927 |
| 0.314 | 0.302 | 0.347 | 0.437 | 0.470 | 0.831 | 0.887 |
| 0.078 | 0.473 | 0.575 | 0.466 | 0.546 | 0.823 | 0.914 |
| 0.269 | 0.521 | 0.375 | 0.590 | 0.623 | 0.812 | 0.850 |
| 0.245 | 0.544 | 0.573 | 0.298 | 0.508 | 0.477 | 0.683 |
| 平均: | 0.238 | 0.441 | 0.476 | 0.383 | 0.567 | 0.762 |
| 累加: | | | | 0.621 | 0.824 | 0.859 |
| 相違: | | | | -0.054 | -0.061 | -0.039 |
| 両側一標本 t 検定 | | | | | | |
| T 値: | | | | -1.246 | -1.404 | -1.319 |
| DF: | | | | 9 | 9 | 9 |
| P 値: | | | | 0.2444 | 0.1940 | 0.2197 |

カンプトサルのみでの W i D r 腫瘍を保有するマウスの処置によって用量応答抗腫瘍有効性が得られるので、組み合わせ指数 (C I) の計算によって、h u C B E 1 1 + カンプトサルの組み合わせの協力作用を正式に評価することができた。mg / kg カンプトサル : μ g h u C B E 1 1 の固定された比が 0 . 5 5 5 : 1 である協力性薬物作用の評価のために使用した用量を投与した。この比は、上記研究で決定した 2 つの薬剤の中央値効果用量の比に基づいた。協力作用の正式な評価には、W i n d d o w s ベースの用量効果分析のための C a l c u S y n V 1 . 1 (B i o s o f t , C a m b r i d g e U K) ソフトウェアを使用した組み合わせ指数 (C I) の計算を使用した。上記のように、組み合わせで投与した処置について、C I = 1 は累加有効性を示す。C I < 1 は協力作用を示す。C I > 1 は拮抗作用を示す。C I 計算で使用した用量 - 効果関係 (F a 値) を、表 1 1 に示す。

【 0 1 8 8 】

【表 1 1】

表 11: WiDr 異種移植片モデルにおけるカンプトサルー huCBE11 の

協力作用の計算のための用量-効果関係

| 個別投与 | | | | 組み合わせ (0.555:1) | | |
|-------------------------|-------|-----------------------------|-------|-------------------------|-----------------------------|-------|
| カンプトサル 用量 (mg/kg) | 影響率 | huCBE11 用量 (μ g) | 影響率 | カンプトサル 用量 (mg/kg) | huCBE11 用量 (μ g) | 影響率 |
| 3 | 0.238 | 5 | 0.265 | 3 | 5.4 | 0.348 |
| 6 | 0.441 | 50 | 0.383 | 6 | 10.8 | 0.453 |
| 10 | 0.476 | 500 | 0.418 | 10 | 18.0 | 0.688 |

カンプトサルおよび huCBE11 について計算した CI 値に基づいて、カンプトサル / huCBE11 組み合わせの固定された比の組み合わせ処置 (0.555 mg/kg : 1 μ g) により協力性抗腫瘍有効性を示すと判断した。個別の処置および組み合わせ処置についての用量 - 応答関係の強さおよび形状を、それぞれ表 1 2 および 1 3 に示す。本研究で使用された正確な実験用量レベルについて計算した CI 値を、表 1 4 に示す。本研究は完全に独立した作用様式を有すると考えられる薬物を使用するので、相互に排反しない CI 値を適用した。3 mg/kg カンプトサル + 5.4 μ g huCBE11、6 mg/kg カンプトサル + 10.8 μ g huCBE11、および 10 mg/kg カンプトサル + 18.0 μ g huCBE11 を使用した組み合わせ用量により協力効果が認められた。組み合わせの用量レベル範囲を超える CI のシミュレーションを表 1 5 に示す。3.3 mg/kg カンプトサル + 6 μ g huCBE11 (腫瘍体積が 35% 抑制される) から 31.3 mg/kg カンプトサル + 56.3 μ g huCBE11 (腫瘍体積が 99% 抑制される) までの範囲の組み合わせ用量により、協力効果が認められた。CI によって示した協力作用または拮抗作用の程度の全解釈を表 3 に示す。影響率の関数としての CI を図 8 に示す。要するに、カンプトサルおよび huCBE11 を使用した固定された比の組み合わせ処置 (0.555 : 1) により、21 日目に評価した場合、WiDr ヒト結腸直腸腺癌の確立された異種移植片に対して協力性抗腫瘍有効性が認められた。

【0 1 8 9】

【表 1 2】

表 12: 効果用量の中央値

| 薬剤 | 用量 単位 | 効果用量の中央値 (95% C.L.) | |
|---------|----------|-----------------------|----------------------|
| | | 個別投与 | 組み合わせ (0.555:1) |
| カンプトサル | mg/kg | 9.8 (6.1 - 15.6) | 5.7 (4.2 - 7.7) |
| huCBE11 | μ g | 2933 (157 - 54760) | 10.2 (7.6 - 13.9) |

【0 1 9 0】

【表 1 3】

表 13: 用量－効果曲線の特徴

| 値 | 勾配 | Y- 切片 | R |
|------------------|-------|----------|--------|
| カンプトサル | | | |
| 平均 | 0.913 | -0.903 | 0.9510 |
| SEM | 0.297 | 0.232 | |
| huCBE11 | | | |
| 平均 | 0.150 | -0.519 | 0.9488 |
| SEM | 0.050 | 0.094 | |
| カンプトサル + huCBE11 | | | |
| 平均 | 1.147 | -0.866 | 0.9543 |
| SEM | 0.359 | 0.281 | |

【0 1 9 1】

【表 1 4】

表 14: 実験値について計算した組み合わせ指数 (CI)

| カンプトサル 用量 (mg/kg) | huCBE11 用量 (ug) | 影響率 | 作用機構 | | | |
|-------------------------|-----------------------|-------|-------|------|-------|------|
| | | | 相互排反 | | 排反しない | |
| | | | CI | 協力作用 | CI | 協力作用 |
| 3 | 5.4 | 0.348 | 0.734 | ++ | 0.809 | +++ |
| 6 | 10.8 | 0.453 | 0.769 | +++ | 0.779 | +++ |
| 10 | 18.0 | 0.688 | 0.431 | +++ | 0.431 | +++ |

++ 中程度の協力作用

+++ 協力作用

【0 1 9 2】

【表 15 - 1】

表 15: 組み合わせ指数 (CI) シミュレーション

| Fa | CI | カンプトサル (mg/kg) | huCBE11 (μg) | 記号 |
|---------------------|----------|-------------------|-----------------|-------|
| 相互に排反する作用機構 | | | | |
| 0.02 | 2.31E+07 | 0.191 | 0.344 | ----- |
| 0.05 | 9.40E+04 | 0.44 | 0.79 | ----- |
| 0.10 | 1224.405 | 0.8 | 1.5 | ----- |
| 0.15 | 84.071 | 1.3 | 2.3 | ----- |
| 0.20 | 11.792 | 1.7 | 3.1 | ----- |
| 0.25 | 2.812 | 2.2 | 3.9 | --- |
| 0.30 | 1.185 | 2.7 | 4.9 | - |
| 0.35 | 0.797 | 3.3 | 6.0 | ++ |
| 0.40 | 0.675 | 4.0 | 7.2 | +++ |
| 0.45 | 0.621 | 4.8 | 8.6 | +++ |
| 0.50 | 0.587 | 5.7 | 10.2 | +++ |
| 0.55 | 0.559 | 6.8 | 12.2 | +++ |
| 0.60 | 0.533 | 8.1 | 14.6 | +++ |
| 0.65 | 0.508 | 9.8 | 17.6 | +++ |
| 0.70 | 0.483 | 11.9 | 21.4 | +++ |
| 0.75 | 0.456 | 14.8 | 26.7 | +++ |
| 0.80 | 0.428 | 19.1 | 34.3 | +++ |
| 0.85 | 0.396 | 25.8 | 46.5 | +++ |
| 0.90 | 0.357 | 38.6 | 69.6 | +++ |
| 0.95 | 0.302 | 74.1 | 133.4 | +++ |
| 0.99 | 0.209 | 312.6 | 562.8 | ++++ |
| 排反しない (完全に独立した作用様式) | | | | |
| 0.02 | 5.53E+07 | 1.91E-01 | 0.3 | ----- |

【 0 1 9 3 】

【表 15 - 2】

| | | | | |
|------|----------|---------|-------|-------|
| 0.05 | 2.00E+05 | 0.437 | 0.8 | ----- |
| 0.10 | 2390.925 | 0.837 | 1.5 | ----- |
| 0.15 | 155.609 | 1.254 | 2.3 | ----- |
| 0.20 | 20.537 | 1.698 | 3.1 | ----- |
| 0.25 | 4.354 | 2.183 | 3.9 | ----- |
| 0.30 | 1.523 | 2.717 | 4.9 | --- |
| 0.35 | 0.883 | 3.316 | 6.0 | + |
| 0.40 | 0.699 | 3.994 | 7.2 | +++ |
| 0.45 | 0.628 | 4.775 | 8.6 | +++ |
| 0.50 | 0.589 | 5.688 | 10.2 | +++ |
| 0.55 | 0.559 | 6.776 | 12.2 | +++ |
| 0.60 | 0.533 | 8.101 | 14.6 | +++ |
| 0.65 | 0.508 | 9.759 | 17.6 | +++ |
| 0.70 | 0.483 | 11.908 | 21.4 | +++ |
| 0.75 | 0.456 | 14.825 | 26.7 | +++ |
| 0.80 | 0.428 | 19.052 | 34.3 | +++ |
| 0.85 | 0.396 | 25.813 | 46.5 | +++ |
| 0.90 | 0.357 | 38.639 | 69.6 | +++ |
| 0.95 | 0.302 | 74.127 | 133.4 | +++ |
| 0.99 | 0.209 | 312.642 | 562.8 | ++++ |

要するに、W i D r ヒト結腸直腸腺癌を皮下移植した胸腺欠損ヌードマウスにおける L T 受容体活性化 m A b である h u C B E 1 1 と化学療法剤であるカンプトサルとの組み合わせ処置により、h u C B E 1 1 投与のみおよびカンプトサル投与のみと比較して有意に改善された結果が認められた。特に、h u C B E 1 1 およびカンプトサルを使用した固定された比 (0 . 5 5 5 m g / k g カンプトサル : 1 μ g h u C B E 1 1) での組み合わせ処置の効果は、組み合わせ指数分析によって協力的であると判断された。

【 0 1 9 4 】

(B . K M - 2 0 L 2 異種移植片モデルにおける組み合わせ h u C B E 1 1 / カンプトサル療法の抗腫瘍効果)

カンプトサルを h u C B E 1 1 と組み合わせて投与した場合に h u C B E 1 1 と組み合わせたトポイソメラーゼ I 化学療法剤 (例えば、カンプトサル) の投与によって協力的抗腫瘍活性 (例えば、増強または協力的) を示すかどうかを決定するために、さらなるヒト結腸直腸腺癌マウスモデル系である K M - 2 0 L 2 モデルも使用した。

【 0 1 9 5 】

カンプトサルと h u C B E 1 1 との組み合わせ抗腫瘍効果の研究のための適切なカンプトサルおよび h u C B E 1 1 の用量を決定するために、用量範囲決定研究を行った。1 . 8 m g / k g から 1 0 m g / k g までの漸増用量のカンプトサルを、K M - 2 0 L 2 腫瘍細胞を皮下移植した胸腺欠損ヌードマウスに投与した (0 日目) 。 3 3 日目 (研究終了時) での 1 0 m g / k g ($P < 0 . 0 0 1$) 、 6 m g / k g ($P < 0 . 0 1$) 、および 3 m g / k g ($P < 0 . 0 5$) でのカンプトサル処置によって、K M - 2 0 L 2 腫瘍成長が統計的に有意に抑制された。1 1 ~ 1 4 日目に最初に抑制が認められた。1 0 m g / k g の群における 1 8 日目から 3 3 日目までの T / C 率は 4 2 % またはそれ未満であるので、N C I 活性基準を満たしていた。個別の研究では、生理食塩水コントロール群と比較して、5 5 日目の終了時のカンプトサル群で有意な腫瘍抑制は認められないが、6 m g / k g では 1 3 日目 ~ 5 1 日目 (1 3 日目 ~ 4 4 日目に $P < 0 . 0 0 1$; 4 8 日目に $P < 0 . 0 1$; 5 1 日目に $P < 0 . 0 5$) 、 3 m g / k g では 1 3 日目 ~ 4 8 日目 (1 3 日

目～41日目に $P < 0.001$ ；44日目に $P < 0.01$ ；48日目に $P < 0.05$ ）、 1.8 mg/kg では9日目～44日目（16日目～27日目、41日目に $P < 0.001$ ；13日目、30日目～37日目に $P < 0.01$ ；9日目、44日目に $P < 0.05$ ）に統計的に有意な腫瘍成長の抑制が認められた。 6 mg/kg 群で16日目～30日目および 3 mg/kg 群で20日目に42%またはそれ未満のT/C率であった。したがって、カンプトサルは、National Cancer Institute (NCI)の活性基準（42%またはそれ未満のT/C率）に基づいて、KM-20L2腫瘍モデルにおいて活性であると判断された。

【0196】

KM-20L2異種移植片モデルにおけるhucBE11の抗腫瘍活性を評価するための並行投与研究では、腫瘍成長は、ビヒクルコントロール群と比較して、 $hucBE11$ 2 mg/kg （28日目および33日目）および 4 mg/kg （21日目～28日目）の投与群で有意に（ $P < 0.05$ ）減少することが認められた。並行個別研究では（併用療法の有効性も試験される）、以下の用量のhucBE11によって腫瘍成長が有意に抑制された。

【0197】

（1）16日目～55日目で 20 mg/kg （20日目～48日目で $P < 0.001$ ；16日目、51日目、55日目で $P < 0.01$ ）、

（2）16日目～55日目で 2 mg/kg （16日目～51日目で $P < 0.001$ ；55日目で $P < 0.01$ ）、および

（3）20日目～55日目で 0.2 mg/kg （27日目～30日目で $P < 0.001$ ；20日目～23日目、34日目～37日目、44～48日目で $P < 0.01$ ；51日目～55日目で $P < 0.05$ ）。

hucBE11用量群のT/C率は、一連の両研究を通して42%より高かった。第2の研究群で認められた最も低いT/C率は、27日目の 20 mg/kg 群での42.4%であった。要するに、hucBE11は、NCIの活性基準（42%またはそれ未満のT/C率）に基づいて、KM-20L2腫瘍モデルにおいて不活性であると判断された。33日目の投与研究の終了時に、 2 mg/kg のhucBE11は、ビヒクルコントロールと比較して腫瘍成長を統計的に有意に抑制した。 4 mg/kg 群の21日目～28日目および 2 mg/kg 群の28日目でも抑制が認められた。個別の試験では、ビヒクルコントロールと比較して、16日目～55日目の 20 mg/kg 、16日目～55日目の 2 mg/kg 、および20日目～55日目の 0.2 mg/kg のhucBE11で腫瘍成長の有意な抑制が認められた。27日目の 20 mg/kg 群のhucBE11におけるT/C率は42.4%という低さであった。

【0198】

hucBE11とカンプトサルとの組み合わせ効果も試験した。hucBE11 20 mg/kg とカンプトサル 3 mg/kg との組み合わせにより、hucBE11 20 mg/kg のみと比較して腫瘍成長が統計的に有意に減少した（16日目～41日目、48日目で $P < 0.001$ ；13日目、44日目～55日目で $P < 0.01$ ）（図8）。hucBE11 2 mg/kg と組み合わせた場合、 3 mg/kg （16日目～44日目で $P < 0.001$ ；48日目～55日目で $P < 0.01$ ；13日目で $P < 0.05$ ）または 1.8 mg/kg （20日目で $P < 0.001$ ；23日目で $P < 0.01$ ；16日目、27日目～37日目で $P < 0.05$ ）のカンプトサル用量でもhucBE11 2 mg/kg のみと比較して平均腫瘍重量が有意に低下した。hucBE11 0.2 mg/kg と組み合わせた場合、hucBE11 0.2 mg/kg のみと比較して、カンプトサル 1.8 mg/kg は13日目～23日目で腫瘍成長を統計的に有意に（ $P < 0.05$ ）抑制した。さらに、hucBE11 9.48 mg/kg およびカンプトサル 6 mg/kg （ $P < 0.001$ ）、hucBE11 4.74 mg/kg およびカンプトサル 3 mg/kg （ $P < 0.001$ ）、ならびにhucBE11 2.84 mg/kg およびカンプトサル 1.8 mg/kg （ $P < 0.01$ ）の組み合わせは、研究終了時に腫瘍成

長を統計的に有意に抑制した。これらの h u C B E 1 1 とカンプトサルとの組み合わせ群の大部分の T / C 率は、研究終了時に 1 6 日目または 2 0 日目で 4 2 % 未満であった。したがって、h u C B E 1 1 とカンプトサルとの組み合わせは、N C I の活性基準 (4 2 % またはそれ未満の T / C 率) に基づいて、K M - 2 0 L 2 腫瘍モデルにおいて活性であると判断された。

【 0 1 9 9 】

h u C B E 1 1 およびカンプトサルのいずれかが互いに増強されるか協力性に作用することができるかどうかを試験するために、上記のように腫瘍成長モデルにおいて K M - 2 0 L 2 ヒト結腸直腸腺癌を移植した胸腺欠損ヌードマウスを使用して、相乗作用研究を行った。これらの h u C B E 1 1 / カンプトサル組み合わせ研究のために、6 m g / k g、3 m g / k g、または 1 . 8 m g / k g のカンプトサル用量を選択した。9 日目、1 3 日目、1 6 日目、2 0 日目、2 3 日目、2 7 日目、3 0 日目、3 4 日目、3 7 日目、および 4 1 日目で F a 値の計算のために使用した腫瘍データを取った。各処置群の腫瘍体積とコントロール群の腫瘍体積との比較によって抗腫瘍有効性を決定した。コントロール群と処置群との間の平均腫瘍体積の相違として平均腫瘍体積の減少を計算した。腫瘍体積の抑制率 (すなわち、影響率 (F a)) を、処置群の平均腫瘍体積の減少をコントロール群の平均腫瘍体積で割ることによって計算した。1 . 0 0 0 の F a は、腫瘍の完全な抑制を示す。表 1 5 は、実験の経時変化にわたる個別の処置および組み合わせ処置の用量 - 効果の関係を示す。次いで、h u C B E 1 1 とカンプトサルとの組み合わせ処置についての協力作用および強化の評価で得られた F a 値を使用した。

【 0 2 0 0 】

【表 15 - 3】

表 15: huCBE11 およびカンプトサル: 予想される累加抑制対実際の腫瘍体積抑制

| 処置 | 用量 (mg/kg) | 同時処置 | 用量 (mg/kg) | 日 | | | | | | | | | |
|---------|---------------|--------|---------------|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | | 9 | 13 | 16 | 20 | 23 | 27 | 30 | 34 | 37 | 41 |
| | | | | 腫瘍体積の抑制：平均影響率 (Fa) | | | | | | | | | |
| カンプトサル | 1.8 | | | 0.144 | 0.196 | 0.278 | 0.417 | 0.357 | 0.340 | 0.260 | 0.250 | 0.254 | 0.212 |
| huCBE11 | 0.2 | | | -0.026 | 0.003 | 0.125 | 0.249 | 0.294 | 0.377 | 0.369 | 0.345 | 0.372 | 0.381 |
| huCBE11 | 0.2 | カンプトサル | 1.8 | 0.031 | 0.207 | 0.389 | 0.579 | 0.542 | 0.539 | 0.500 | 0.475 | 0.414 | 0.382 |
| | | | 累加: | 0.118 | 0.199 | 0.403 | 0.666 | 0.651 | 0.718 | 0.629 | 0.595 | 0.626 | 0.592 |
| | | | 相違: | -0.087 | 0.009 | -0.013 | -0.087 | -0.109 | -0.178 | -0.130 | -0.119 | -0.212 | -0.210 |
| | | | t: | -1.383 | 0.151 | -0.300 | -2.968 | -2.916 | -4.077 | -2.570 | -2.290 | -4.262 | -2.853 |
| | | | DF: | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | | | P: | 0.2093 | 0.8846 | 0.7729 | 0.0209 | 0.0225 | 0.0047 | 0.0370 | 0.0558 | 0.0037 | 0.0246 |
| カンプトサル | 1.8 | | | 0.144 | 0.196 | 0.278 | 0.417 | 0.357 | 0.340 | 0.260 | 0.250 | 0.254 | 0.212 |
| huCBE11 | 2 | | | 0.101 | 0.137 | 0.322 | 0.458 | 0.497 | 0.542 | 0.524 | 0.541 | 0.485 | 0.541 |
| huCBE11 | 2 | カンプトサル | 1.8 | 0.092 | 0.287 | 0.530 | 0.748 | 0.793 | 0.791 | 0.775 | 0.776 | 0.715 | 0.699 |
| | | | 累加: | 0.246 | 0.332 | 0.600 | 0.875 | 0.854 | 0.882 | 0.785 | 0.791 | 0.739 | 0.752 |
| | | | 相違: | -0.154 | -0.046 | -0.070 | -0.127 | -0.061 | -0.091 | -0.009 | -0.014 | -0.023 | -0.054 |
| | | | t: | -2.193 | -1.098 | -1.732 | -3.729 | -1.252 | -1.503 | -0.135 | -0.219 | -0.294 | -0.673 |
| | | | DF: | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | | | P: | 0.0644 | 0.3086 | 0.1269 | 0.0074 | 0.2507 | 0.1765 | 0.8961 | 0.8329 | 0.7775 | 0.5224 |

【0201】

表 15: huCBE11およびカンプトサル：予想される累加抑制対実際の腫瘍体積抑制(続き)

| 処置 | 用量 (mg/kg) | 同時処置 | 用量 (mg/kg) | 日 | | | | | | | | | |
|---------|---------------|--------|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | | 9 | 13 | 16 | 20 | 23 | 27 | 30 | 34 | 37 | 41 |
| カンブトサル | 3 | | | 0.098 | 0.327 | 0.466 | 0.593 | 0.521 | 0.463 | 0.406 | 0.381 | 0.368 | 0.335 |
| huCBE11 | 2 | | | 0.101 | 0.137 | 0.322 | 0.458 | 0.497 | 0.542 | 0.524 | 0.541 | 0.485 | 0.541 |
| huCBE11 | 2 | カンブトサル | 3 | 0.108 | 0.377 | 0.682 | 0.852 | 0.883 | 0.897 | 0.888 | 0.886 | 0.859 | 0.852 |
| | | | 累加: | 0.199 | 0.464 | 0.789 | 1.051 | 1.018 | 1.005 | 0.930 | 0.922 | 0.853 | 0.875 |
| | | | 相違: | -0.091 | -0.087 | -0.107 | -0.198 | -0.136 | -0.109 | -0.042 | -0.036 | 0.006 | -0.023 |
| | | | t: | -1.081 | -1.585 | -2.808 | -6.581 | -4.138 | -2.642 | -0.927 | -0.719 | 0.141 | -0.479 |
| | | | DF: | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | | | P: | 0.3156 | 0.1569 | 0.0262 | 0.0003 | 0.0044 | 0.0333 | 0.3847 | 0.4954 | 0.8916 | 0.6466 |
| カンブトサル | 3 | | | 0.098 | 0.327 | 0.466 | 0.593 | 0.521 | 0.463 | 0.406 | 0.381 | 0.368 | 0.335 |
| huCBE11 | 20 | | | 0.053 | 0.087 | 0.263 | 0.435 | 0.504 | 0.576 | 0.539 | 0.543 | 0.525 | 0.538 |
| huCBE11 | 20 | カンブトサル | 3 | 0.043 | 0.376 | 0.714 | 0.892 | 0.943 | 0.959 | 0.957 | 0.953 | 0.927 | 0.909 |
| | | | 累加: | 0.151 | 0.413 | 0.730 | 1.028 | 1.026 | 1.039 | 0.945 | 0.924 | 0.893 | 0.872 |
| | | | 相違: | -0.108 | -0.037 | -0.016 | -0.136 | -0.083 | -0.080 | 0.013 | 0.029 | 0.034 | 0.037 |
| | | | t: | -1.521 | -0.757 | -0.515 | -7.466 | -7.095 | -8.447 | 1.255 | 2.372 | 1.776 | 1.582 |
| | | | DF: | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | | | P: | 0.1720 | 0.4737 | 0.6226 | 0.0001 | 0.0002 | 0.0001 | 0.2497 | 0.0494 | 0.1190 | 0.1576 |

h u C B E 1 1 およびカンプトサールの個別の処置および組み合わせ処置の抗腫瘍活性の観察および F a 値の計算後、協力作用について h u C B E 1 1 およびカンプトサールの間の関係を試験した。カンプトサールのみでの K M - 2 0 L 2 腫瘍を保有するマウスの処置により用量応答腫瘍有効性が得られるので、h u C B E 1 1 + カンプトサールの組み合わせの協力作用を、組み合わせ指数 (C I) の計算によって正式に評価することができた。C I 計算で使用した用量 - 効果関係を表 1 6 に示し、中央値効果用量を表 1 7 にまとめる。固定された比が 1 : 0 . 6 3 (m g / k g h u C B E 1 1 : m g / k g カンプトサール) である。

ール)である本研究で協力性薬物作用を評価するために使用した用量を投与した。この比は、上記研究で決定した2つの薬剤の中央値効果用量の比に基づいた。協力作用の正式な評価には、Windows(登録商標)ベースの用量-効果分析のためのCalcuSyn V1.1(Biosoft, Cambridge UK)ソフトウェアを使用した組み合わせ指数(CI)の計算を使用した。上記のように、組み合わせで投与した処置について、 $CI = 1$ は累加有効性を示す。 $CI < 1$ は協力作用を示す。 $CI > 1$ は拮抗作用を示す。組み合わせで投与した処置について、 $CI = 1$ は累加有効性を示した。1未満のCIは協力作用を示した。1を超えるCIは拮抗作用を示した。カンプトサルおよびhucBE11の組み合わせ指数試験を通して、 $1 : 0.63$ (mg/kg hucBE11 : mg/kg カンプトサル)の固定された比の組み合わせ処置により協力性抗腫瘍有効性を示すことが認められた。カンプトサルおよびhucBE11の個別の処置および組み合わせ処置についての用量-応答関係の強さおよび形状を、それぞれ表18および19に示す。組み合わせ処置研究で使用された正確な実験用量レベルのために計算したCI値を、表19に示す。

【0202】

【表 16】

表 16: 組み合わせ指数計算のための huCBE11 および カンプトサールの用量-効果の関係 (Fa値)

| 処置 | 用量 (mg/kg) | 同時処置 | 用量 (mg/kg) | 日 | | | | | | | | | |
|----------------|------------|--------|------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| | | | | 13 | 16 | 20 | 23 | 27 | 30 | 34 | 37 | 41 | |
| | | | | 影響率 (Fa) | | | | | | | | | |
| 個別投与 | | | | | | | | | | | | | |
| huCBE11 | 0.2 | | | 0.003 | 0.125 | 0.249 | 0.294 | 0.377 | 0.369 | 0.345 | 0.372 | 0.381 | |
| | 2.0 | | | 0.137 | 0.322 | 0.458 | 0.497 | 0.542 | 0.524 | 0.541 | 0.485 | 0.541 | |
| | 20.0 | | | 0.086 | 0.264 | 0.435 | 0.504 | 0.576 | 0.539 | 0.543 | 0.525 | 0.538 | |
| カンプトサル | 1.8 | | | 0.196 | 0.278 | 0.417 | 0.357 | 0.340 | 0.260 | 0.250 | 0.254 | 0.212 | |
| | 3.0 | | | 0.327 | 0.467 | 0.593 | 0.521 | 0.463 | 0.406 | 0.381 | 0.368 | 0.335 | |
| | 6.0 | | | 0.360 | 0.594 | 0.781 | 0.759 | 0.701 | 0.607 | 0.564 | 0.495 | 0.444 | |
| 組み合わせ (1:0.63) | | | | | | | | | | | | | |
| huCBE11 | 2.84 | カンプトサル | 1.8 | 0.082 | 0.459 | 0.775 | 0.841 | 0.859 | 0.855 | 0.830 | 0.796 | 0.779 | |
| | 4.74 | | 3.0 | 0.363 | 0.747 | 0.901 | 0.936 | 0.953 | 0.938 | 0.933 | 0.901 | 0.892 | |
| | 9.48 | | 6.0 | 0.385 | 0.770 | 0.945 | 0.978 | 0.994 | 0.996 | 0.995 | 0.981 | 0.974 | |

【0203】

【表 17】

表 17: huCBE11 およびカンプトサル：組み合わせ指数の計算のための効果用量中央値 (mg/kg)

| 日 | huCBE11 | | カンプトサル | |
|----|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
| | 個別投与 | 組み合わせ (1:0.63) | 個別投与 | 組み合わせ (1:0.63) |
| | 効果用量中央値 (95% 信頼区間) | | | |
| 13 | 174 (0 - 220250) | 10.7 (3.5 - 32.7) | 12.4 (3.2 - 47.7) | 6.7 (2.2 - 20.6) |
| 16 | 981 (0 - 1300300) | 2.6 (1.0 - 6.7) | 4.0 (3.1 - 5.0) | 1.6 (0.6 - 4.2) |
| 20 | 32.7 (0 - 3435) | 1.0 (0.5 - 2.0) | 2.3 (2.2 - 2.4) | 0.6 (0.3 - 1.3) |
| 23 | 9.0 (0.7 - 115) | 1.1 (0.9 - 1.3) | 2.7 (2.6 - 2.9) | 0.7 (0.6 - 0.8) |
| 27 | 2.1 (0.5 - 9) | 1.5 (1.3 - 1.8) | 3.2 (2.9 - 3.5) | 1.0 (0.8 - 1.1) |
| 30 | 3.8 (0.6 - 24) | 1.8 (1.1 - 2.7) | 4.2 (4.0 - 4.3) | 1.1 (0.7 - 1.7) |
| 34 | 3.6 (0.4 - 31) | 1.8 (1.3 - 2.6) | 4.7 (4.5 - 4.9) | 1.1 (0.8 - 1.6) |
| 37 | 6.6 (1.9 - 22) | 1.6 (1.2 - 2.1) | 6.0 (5.1 - 6.9) | 1.0 (0.8 - 1.3) |
| 41 | 3.0 (0.3 - 29) | 1.5 (1.3 - 1.9) | 7.3 (5.2 - 10.3) | 1.0 (0.8 - 1.2) |

【 0 2 0 4 】

【表 18】

表 18: huCBE11 およびカンブトサール (KM-2OL2 異種移植片モデル) の用量-効果曲線の特徴

| 日 | 値 | huCBE11 | | | カンブトサール | | | huCBE11 + カンブトサール | | |
|----|-----|---------|-------|--------|---------|-------|--------|-------------------|-------|--------|
| | | 勾配 | Y-切片 | R | 勾配 | Y-切片 | R | 勾配 | Y-切片 | R |
| 13 | 平均 | 0.75 | -1.67 | 0.7989 | 0.67 | -0.73 | 0.9021 | 1.53 | -1.57 | 0.8434 |
| | SEM | 0.56 | 0.49 | | 0.32 | 0.17 | | 0.98 | 0.72 | |
| 16 | 平均 | 0.20 | -0.60 | 0.7325 | 1.09 | -0.65 | 0.9758 | 1.08 | -0.45 | 0.8642 |
| | SEM | 0.19 | 0.16 | | 0.24 | 0.13 | | 0.63 | 0.46 | |
| 20 | 平均 | 0.18 | -0.28 | 0.8173 | 1.33 | -0.48 | 0.9998 | 1.31 | -0.01 | 0.9787 |
| | SEM | 0.13 | 0.11 | | 0.03 | 0.02 | | 0.27 | 0.20 | |
| 23 | 平均 | 0.19 | -0.18 | 0.8795 | 1.45 | -0.64 | 0.9991 | 1.76 | -0.05 | 0.9982 |
| | SEM | 0.10 | 0.09 | | 0.06 | 0.03 | | 0.11 | 0.08 | |
| 27 | 平均 | 0.18 | -0.06 | 0.9347 | 1.27 | -0.63 | 0.9954 | 2.76 | -0.50 | 0.9976 |
| | SEM | 0.07 | 0.06 | | 0.12 | 0.07 | | 0.19 | 0.14 | |
| 30 | 平均 | 0.15 | -0.09 | 0.9026 | 1.23 | -0.76 | 0.9996 | 3.16 | -0.77 | 0.9815 |
| | SEM | 0.07 | 0.06 | | 0.04 | 0.02 | | 0.62 | 0.45 | |
| 34 | 平均 | 0.18 | -0.10 | 0.8703 | 1.12 | -0.76 | 0.9995 | 3.12 | -0.81 | 0.9873 |
| | SEM | 0.10 | 0.09 | | 0.04 | 0.02 | | 0.50 | 0.37 | |
| 37 | 平均 | 0.14 | -0.11 | 0.9627 | 0.87 | -0.68 | 0.9954 | 2.16 | -0.43 | 0.9940 |
| | SEM | 0.04 | 0.03 | | 0.08 | 0.05 | | 0.24 | 0.17 | |
| 41 | 平均 | 0.14 | -0.07 | 0.8578 | 0.89 | -0.77 | 0.9847 | 1.97 | -0.37 | 0.9973 |
| | SEM | 0.08 | 0.07 | | 0.16 | 0.09 | | 0.15 | 0.11 | |

【0205】

【表 19】

表 19: huCBE11 およびカンプトサル (Cam) : 実験値についての組み合わせ指数 (CI)

| 日 | 用量 (mg/kg) | | 影響率 | 作用機構 | | | |
|----|------------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|
| | huCBE11 | Cam | | 相互排反 | | 排反しない | |
| | | | | CI | 協力作用 | CI | 協力作用 |
| 13 | 2.84 | 1.8 | 0.082 | 5.842 | ---- | 8.090 | ---- |
| | 4.74 | 3.0 | 0.363 | 0.620 | +++ | 0.653 | +++ |
| | 9.48 | 6.0 | 0.385 | 1.078 | ± | 1.178 | - |
| 16 | 2.84 | 1.8 | 0.459 | 0.532 | +++ | 0.536 | +++ |
| | 4.74 | 3.0 | 0.747 | 0.279 | ++++ | 0.279 | ++++ |
| | 9.48 | 6.0 | 0.770 | 0.497 | +++ | 0.497 | +++ |
| 20 | 2.84 | 1.8 | 0.775 | 0.308 | +++ | 0.308 | +++ |
| | 4.74 | 3.0 | 0.901 | 0.248 | ++++ | 0.248 | ++++ |
| | 9.48 | 6.0 | 0.945 | 0.308 | +++ | 0.308 | +++ |
| 23 | 2.84 | 1.8 | 0.841 | 0.206 | ++++ | 0.206 | ++++ |
| | 4.74 | 3.0 | 0.936 | 0.170 | ++++ | 0.170 | ++++ |
| | 9.48 | 6.0 | 0.978 | 0.158 | ++++ | 0.158 | ++++ |
| 27 | 2.84 | 1.8 | 0.859 | 0.137 | ++++ | 0.137 | ++++ |
| | 4.74 | 3.0 | 0.953 | 0.088 | +++++ | 0.088 | +++++ |
| | 9.48 | 6.0 | 0.994 | 0.034 | +++++ | 0.034 | +++++ |
| 30 | 2.84 | 1.8 | 0.855 | 0.101 | ++++ | 0.101 | ++++ |
| | 4.74 | 3.0 | 0.938 | 0.078 | +++++ | 0.078 | +++++ |
| | 9.48 | 6.0 | 0.996 | 0.016 | +++++ | 0.016 | +++++ |
| 34 | 2.84 | 1.8 | 0.830 | 0.092 | +++++ | 0.092 | +++++ |
| | 4.74 | 3.0 | 0.933 | 0.061 | +++++ | 0.061 | +++++ |
| | 9.48 | 6.0 | 0.995 | 0.011 | +++++ | 0.011 | +++++ |
| 37 | 2.84 | 1.8 | 0.796 | 0.063 | +++++ | 0.063 | +++++ |
| | 4.74 | 3.0 | 0.901 | 0.040 | +++++ | 0.040 | +++++ |
| | 9.48 | 6.0 | 0.981 | 0.011 | +++++ | 0.011 | +++++ |
| 41 | 2.84 | 1.8 | 0.779 | 0.059 | +++++ | 0.059 | +++++ |
| | 4.74 | 3.0 | 0.892 | 0.038 | +++++ | 0.038 | +++++ |
| | 9.48 | 6.0 | 0.974 | 0.014 | +++++ | 0.014 | +++++ |

+++++ 非常に強い協力作用

++++ 強い協力作用

+++ 協力作用

± ほぼ累加的

- わずかな拮抗作用

----- 強い拮抗作用

本研究は完全に独立した作用様式を有すると考えられる薬物を使用するので、相互に排反しないCI値をたいてい適用した。2.84mg/kg huCBE11 + 1.8mg/kg カンプトサル、4.74mg/kg huCBE11 + 3mg/kg カンプトサル、および9.48mg/kg huCBE11 + 6mg/kg カンプトサルを用いる組み合わせの用量は、16日目～41日目で協力効果を示した(表19)。組み合わせの用量レベル範囲を超えるCIのシミュレーションを表20におよび21に示し、CIによって示した協力作用または拮抗作用の程度の全解釈を表3に示す。全処置期間を通して協力効果が認められた。腫瘍抑制率の関数としてのCIを図10に示す。50%を超える腫瘍抑制レベルで協力作用が最も顕著であった。組み合わせの協力性効果のピークは、16日目に示された。20%～80%の腫瘍抑制が得られる用量範囲は、1mg/kgと100mg/kgとの間の用量レベルでの2つの薬物の組み合わせであった。要するに、huCBE11およびカンプトサルの固定された比の組み合わせ処置(1:0.63)により、協力性抗腫瘍有効性が認められた。

【0206】

【表 20 - 1】

表 20: 組み合わせ指数のシミュレーション：相互排斥作用様式

| Fa | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 |
|------|---------|------------|------|-------|---------|------------|------|-------|---------|------------|------|-------|
| | | huCBE11 | Cam | | | huCBE11 | Cam | | | huCBE11 | Cam | |
| | | 13 日目 | | | | 16 日目 | | | | 20 日目 | | |
| 0.02 | 16 | 0.8 | 0.5 | ----- | 21000 | 0.07 | 0.05 | ----- | 2.8E+06 | 0.05 | 0.03 | ----- |
| 0.05 | 7 | 1.6 | 1.0 | ----- | 440 | 0.2 | 0.1 | ----- | 32000 | 0.1 | 0.1 | ----- |
| 0.10 | 3.8 | 2.5 | 1.6 | ----- | 21 | 0.3 | 0.2 | ----- | 954 | 0.2 | 0.1 | ----- |
| 0.15 | 2.56 | 3.4 | 2.2 | --- | 3.6 | 0.5 | 0.3 | ----- | 109 | 0.3 | 0.2 | ----- |
| 0.20 | 1.918 | 4.3 | 2.7 | --- | 1.18 | 0.7 | 0.5 | - | 21 | 0.4 | 0.2 | ----- |
| 0.25 | 1.509 | 5.2 | 3.3 | --- | 0.651 | 1.0 | 0.6 | +++ | 5.7 | 0.4 | 0.3 | ---- |
| 0.30 | 1.224 | 6.1 | 3.9 | -- | 0.500 | 1.2 | 0.8 | +++ | 1.94 | 0.5 | 0.3 | --- |
| 0.35 | 1.012 | 7.1 | 4.5 | ± | 0.449 | 1.5 | 0.9 | +++ | 0.847 | 0.6 | 0.4 | ++ |
| 0.40 | 0.848 | 8.2 | 5.2 | ++ | 0.430 | 1.8 | 1.1 | +++ | 0.486 | 0.7 | 0.5 | +++ |
| 0.45 | 0.715 | 9.4 | 5.9 | ++ | 0.423 | 2.2 | 1.4 | +++ | 0.358 | 0.9 | 0.5 | +++ |
| 0.50 | 0.605 | 11 | 7 | +++ | 0.419 | 2.6 | 1.6 | +++ | 0.310 | 1.0 | 0.6 | +++ |
| 0.55 | 0.512 | 12 | 8 | +++ | 0.418 | 3.2 | 2.0 | +++ | 0.292 | 1.2 | 0.7 | ++++ |
| 0.60 | 0.432 | 14 | 9 | +++ | 0.418 | 3.8 | 2.4 | +++ | 0.285 | 1.4 | 0.9 | ++++ |
| 0.65 | 0.362 | 16 | 10 | +++ | 0.418 | 4.6 | 2.9 | +++ | 0.283 | 1.6 | 1.0 | ++++ |
| 0.70 | 0.300 | 19 | 12 | ++++ | 0.418 | 5.7 | 3.6 | +++ | 0.282 | 1.9 | 1.2 | ++++ |
| 0.75 | 0.243 | 22 | 14 | ++++ | 0.418 | 7.2 | 4.5 | +++ | 0.283 | 2.4 | 1.5 | ++++ |
| 0.80 | 0.192 | 26 | 17 | ++++ | 0.418 | 9.4 | 5.9 | +++ | 0.284 | 2.9 | 1.8 | ++++ |
| 0.85 | 0.144 | 33 | 21 | ++++ | 0.419 | 13 | 8 | +++ | 0.285 | 3.8 | 2.4 | ++++ |
| 0.90 | 0.098 | 45 | 28 | +++++ | 0.419 | 20 | 13 | +++ | 0.287 | 5.4 | 3.4 | ++++ |
| 0.95 | 0.053 | 73 | 46 | +++++ | 0.420 | 40 | 25 | +++ | 0.290 | 10 | 6 | ++++ |
| 0.99 | 0.014 | 215 | 135 | +++++ | 0.422 | 181 | 114 | +++ | 0.296 | 34 | 21 | ++++ |
| | | 23 日目 | | | | 27 日目 | | | | 30 日目 | | |
| 0.02 | 7.0E+06 | 0.12 | 0.07 | ----- | 7.4E+08 | 0.4 | 0.2 | ----- | 2.3E+10 | 0.5 | 0.3 | ----- |
| 0.05 | 9.0E+04 | 0.2 | 0.1 | ----- | 4.7E+06 | 0.5 | 0.3 | ----- | 5.8E+07 | 0.7 | 0.4 | ----- |
| 0.10 | 2893 | 0.3 | 0.2 | ----- | 88100 | 0.7 | 0.4 | ----- | 512000 | 0.9 | 0.6 | ----- |
| 0.15 | 346 | 0.4 | 0.3 | ----- | 7477 | 0.8 | 0.5 | ----- | 27400 | 1.0 | 0.6 | ----- |
| 0.20 | 70 | 0.5 | 0.3 | ----- | 1168 | 0.9 | 0.6 | ----- | 3021 | 1.1 | 0.7 | ----- |
| 0.25 | 19 | 0.6 | 0.4 | ----- | 252 | 1.0 | 0.6 | ----- | 489 | 1.2 | 0.8 | ----- |
| 0.30 | 6.1 | 0.7 | 0.4 | ----- | 66 | 1.1 | 0.7 | ----- | 100 | 1.3 | 0.8 | ----- |
| 0.35 | 2.3 | 0.8 | 0.5 | --- | 20 | 1.2 | 0.8 | ----- | 24 | 1.4 | 0.9 | ----- |
| 0.40 | 1.03 | 0.9 | 0.5 | ± | 6.6 | 1.3 | 0.8 | ---- | 6.4 | 1.5 | 1.0 | ---- |
| 0.45 | 0.553 | 1.0 | 0.6 | +++ | 2.4 | 1.4 | 0.9 | --- | 2.0 | 1.6 | 1.0 | --- |
| 0.50 | 0.366 | 1.1 | 0.7 | +++ | 1.02 | 1.5 | 1.0 | ± | 0.73 | 1.8 | 1.1 | ++ |
| 0.55 | 0.288 | 1.2 | 0.8 | ++++ | 0.525 | 1.6 | 1.0 | +++ | 0.370 | 1.9 | 1.2 | +++ |
| 0.60 | 0.253 | 1.4 | 0.9 | ++++ | 0.338 | 1.8 | 1.1 | +++ | 0.252 | 2.0 | 1.3 | ++++ |
| 0.65 | 0.235 | 1.5 | 1.0 | ++++ | 0.259 | 1.9 | 1.2 | ++++ | 0.203 | 2.1 | 1.3 | ++++ |
| 0.70 | 0.224 | 1.7 | 1.1 | ++++ | 0.219 | 2.1 | 1.3 | ++++ | 0.175 | 2.3 | 1.4 | ++++ |
| 0.75 | 0.216 | 2.0 | 1.3 | ++++ | 0.192 | 2.3 | 1.4 | ++++ | 0.153 | 2.5 | 1.6 | ++++ |
| 0.80 | 0.208 | 2.4 | 1.5 | ++++ | 0.168 | 2.5 | 1.6 | ++++ | 0.132 | 2.7 | 1.7 | ++++ |
| 0.85 | 0.199 | 2.9 | 1.8 | ++++ | 0.145 | 2.8 | 1.8 | ++++ | 0.111 | 3.0 | 1.9 | ++++ |
| 0.90 | 0.188 | 3.8 | 2.4 | ++++ | 0.119 | 3.4 | 2.1 | ++++ | 0.088 | 3.5 | 2.2 | ++++ |
| 0.95 | 0.172 | 5.7 | 3.6 | ++++ | 0.087 | 4.4 | 2.8 | ++++ | 0.061 | 4.4 | 2.8 | ++++ |
| 0.99 | 0.141 | 15 | 9 | ++++ | 0.043 | 8.0 | 5.1 | ++++ | 0.027 | 7.5 | 4.7 | ++++ |

【 0 2 0 7 】

【表 20 - 2】

表 20: 組み合わせ指数のシミュレーション: 相互排反作用様式 (続き)

| Fa | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 |
|------|---------|------------|-----|-------|---------|------------|-----|-------|---------|------------|------|-------|
| | | huCBE11 | Cam | | | huCBE11 | Cam | | | huCBE11 | Cam | |
| | 34 日目 | | | | 37 日目 | | | | 41 日目 | | | |
| 0.02 | 5.5E+08 | 0.5 | 0.3 | ----- | 1.2E+11 | 0.3 | 0.2 | ----- | 1.2E+11 | 0.2 | 0.1 | ----- |
| 0.05 | 3.5E+06 | 0.7 | 0.4 | ----- | 1.7E+08 | 0.4 | 0.3 | ----- | 2.0E+08 | 0.3 | 0.2 | ----- |
| 0.10 | 64000 | 0.9 | 0.6 | ----- | 967000 | 0.6 | 0.4 | ----- | 1.3E+06 | 0.5 | 0.3 | ----- |
| 0.15 | 5409 | 1.0 | 0.7 | ----- | 39400 | 0.7 | 0.4 | ----- | 59000 | 0.6 | 0.4 | ----- |
| 0.20 | 842 | 1.2 | 0.7 | ----- | 3533 | 0.8 | 0.5 | ----- | 5687 | 0.8 | 0.5 | ----- |
| 0.25 | 182 | 1.3 | 0.8 | ----- | 483 | 1.0 | 0.6 | ----- | 824 | 0.9 | 0.6 | ----- |
| 0.30 | 48 | 1.4 | 0.9 | ----- | 85 | 1.1 | 0.7 | ----- | 153 | 1.0 | 0.6 | ----- |
| 0.35 | 14 | 1.5 | 0.9 | ----- | 18 | 1.2 | 0.7 | ----- | 33 | 1.1 | 0.7 | ----- |
| 0.40 | 4.8 | 1.6 | 1.0 | ----- | 4.2 | 1.3 | 0.8 | ----- | 8.0 | 1.3 | 0.8 | ----- |
| 0.45 | 1.8 | 1.7 | 1.1 | --- | 1.2 | 1.4 | 0.9 | - | 2.1 | 1.4 | 0.9 | --- |
| 0.50 | 0.76 | 1.8 | 1.1 | ++ | 0.41 | 1.6 | 1.0 | +++ | 0.65 | 1.5 | 1.0 | +++ |
| 0.55 | 0.392 | 1.9 | 1.2 | +++ | 0.205 | 1.7 | 1.1 | ++++ | 0.251 | 1.7 | 1.1 | ++++ |
| 0.60 | 0.252 | 2.1 | 1.3 | ++++ | 0.141 | 1.9 | 1.2 | ++++ | 0.137 | 1.9 | 1.2 | ++++ |
| 0.65 | 0.189 | 2.2 | 1.4 | ++++ | 0.113 | 2.1 | 1.3 | ++++ | 0.099 | 2.1 | 1.3 | ++++ |
| 0.70 | 0.155 | 2.4 | 1.5 | ++++ | 0.094 | 2.3 | 1.5 | ++++ | 0.080 | 2.4 | 1.5 | ++++ |
| 0.75 | 0.131 | 2.6 | 1.6 | ++++ | 0.079 | 2.6 | 1.7 | ++++ | 0.068 | 2.7 | 1.7 | ++++ |
| 0.80 | 0.111 | 2.8 | 1.8 | ++++ | 0.065 | 3.0 | 1.9 | ++++ | 0.056 | 3.1 | 2.0 | ++++ |
| 0.85 | 0.090 | 3.2 | 2.0 | ++++ | 0.051 | 3.5 | 2.2 | ++++ | 0.046 | 3.7 | 2.3 | ++++ |
| 0.90 | 0.069 | 3.7 | 2.3 | ++++ | 0.037 | 4.4 | 2.8 | ++++ | 0.034 | 4.7 | 3.0 | ++++ |
| 0.95 | 0.045 | 4.7 | 2.9 | ++++ | 0.022 | 6.2 | 3.9 | ++++ | 0.022 | 6.9 | 4.3 | ++++ |
| 0.99 | 0.018 | 7.9 | 5.0 | ++++ | 0.007 | 13.2 | 8.3 | ++++ | 0.008 | 15.9 | 10.0 | ++++ |

【 0 2 0 8 】

【表 2 1 - 1】

表 21: huCBE11 およびカンプトサル (Cam) : 組み合わせ指数のシミュレーション:

相互に排反しない(完全に独立した)作用様式

| Fa | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 |
|------|---------|------------|------|-------|---------|------------|------|-------|---------|------------|------|-------|
| | | huCBE11 | Cam | | | huCBE11 | Cam | | | huCBE11 | Cam | |
| | | 13 日目 | | | | 16 日目 | | | | 20 日目 | | |
| 0.02 | 29 | 0.8 | 0.5 | ----- | 29600 | 0.07 | 0.05 | ----- | 3.5E+06 | 0.05 | 0.03 | ----- |
| 0.05 | 10 | 1.6 | 1.0 | ----- | 622 | 0.2 | 0.1 | ----- | 40600 | 0.1 | 0.1 | ----- |
| 0.10 | 4.7 | 2.5 | 1.6 | ----- | 30 | 0.3 | 0.2 | ----- | 1212 | 0.2 | 0.1 | ----- |
| 0.15 | 3.04 | 3.4 | 2.2 | --- | 4.9 | 0.5 | 0.3 | ----- | 138 | 0.3 | 0.2 | ----- |
| 0.20 | 2.20 | 4.3 | 2.7 | --- | 1.50 | 0.7 | 0.5 | --- | 27 | 0.4 | 0.2 | ----- |
| 0.25 | 1.69 | 5.2 | 3.3 | --- | 0.749 | 1.0 | 0.6 | ++ | 7.2 | 0.4 | 0.3 | ----- |
| 0.30 | 1.35 | 6.1 | 3.9 | -- | 0.535 | 1.2 | 0.8 | +++ | 2.41 | 0.5 | 0.3 | --- |
| 0.35 | 1.099 | 7.1 | 4.5 | ± | 0.463 | 1.5 | 0.9 | +++ | 1.005 | 0.6 | 0.4 | ± |
| 0.40 | 0.910 | 8.2 | 5.2 | ± | 0.436 | 1.8 | 1.1 | +++ | 0.544 | 0.7 | 0.5 | +++ |
| 0.45 | 0.760 | 9.4 | 5.9 | ++ | 0.425 | 2.2 | 1.4 | +++ | 0.380 | 0.9 | 0.5 | +++ |
| 0.50 | 0.639 | 11 | 7 | +++ | 0.420 | 2.6 | 1.6 | +++ | 0.318 | 1.0 | 0.6 | +++ |
| 0.55 | 0.537 | 12 | 8 | +++ | 0.419 | 3.2 | 2.0 | +++ | 0.295 | 1.2 | 0.7 | ++++ |
| 0.60 | 0.450 | 14 | 9 | +++ | 0.418 | 3.8 | 2.4 | +++ | 0.286 | 1.4 | 0.9 | ++++ |
| 0.65 | 0.375 | 16 | 10 | +++ | 0.418 | 4.6 | 2.9 | +++ | 0.283 | 1.6 | 1.0 | ++++ |
| 0.70 | 0.309 | 19 | 12 | +++ | 0.418 | 5.7 | 3.6 | +++ | 0.283 | 1.9 | 1.2 | ++++ |
| 0.75 | 0.250 | 22 | 14 | ++++ | 0.418 | 7.2 | 4.5 | +++ | 0.283 | 2.4 | 1.5 | ++++ |
| 0.80 | 0.196 | 26 | 17 | ++++ | 0.418 | 9.4 | 5.9 | +++ | 0.284 | 2.9 | 1.8 | ++++ |
| 0.85 | 0.146 | 33 | 21 | ++++ | 0.419 | 13 | 8 | +++ | 0.285 | 3.8 | 2.4 | ++++ |
| 0.90 | 0.099 | 45 | 28 | ++++ | 0.419 | 20 | 13 | +++ | 0.287 | 5.4 | 3.4 | ++++ |
| 0.95 | 0.053 | 73 | 46 | ++++ | 0.420 | 40 | 25 | +++ | 0.290 | 10 | 6 | ++++ |
| 0.99 | 0.014 | 215 | 135 | ++++ | 0.422 | 181 | 114 | +++ | 0.296 | 34 | 21 | ++++ |
| | | 23 日目 | | | | 27 日目 | | | | 30 日目 | | |
| 0.02 | 9.7E+06 | 0.12 | 0.07 | ----- | 1.9E+09 | 0.4 | 0.2 | ----- | 6.6E+10 | 0.5 | 0.3 | ----- |
| 0.05 | 1.2E+05 | 0.2 | 0.1 | ----- | 9.8E+06 | 0.5 | 0.3 | ----- | 1.3E+08 | 0.7 | 0.4 | ----- |
| 0.10 | 3824 | 0.3 | 0.2 | ----- | 156000 | 0.7 | 0.4 | ----- | 917000 | 0.9 | 0.6 | ----- |
| 0.15 | 451 | 0.4 | 0.3 | ----- | 12200 | 0.8 | 0.5 | ----- | 44600 | 1.0 | 0.6 | ----- |
| 0.20 | 90 | 0.5 | 0.3 | ----- | 1805 | 0.9 | 0.6 | ----- | 4615 | 1.1 | 0.7 | ----- |
| 0.25 | 24 | 0.6 | 0.4 | ----- | 374 | 1.0 | 0.6 | ----- | 713 | 1.2 | 0.8 | ----- |
| 0.30 | 7.7 | 0.7 | 0.4 | ---- | 95 | 1.1 | 0.7 | ----- | 140 | 1.3 | 0.8 | ----- |
| 0.35 | 2.9 | 0.8 | 0.5 | --- | 28 | 1.2 | 0.8 | ----- | 32 | 1.4 | 0.9 | ----- |
| 0.40 | 1.23 | 0.9 | 0.5 | -- | 8.9 | 1.3 | 0.8 | ---- | 8.4 | 1.5 | 1.0 | ---- |
| 0.45 | 0.629 | 1.0 | 0.6 | +++ | 3.1 | 1.4 | 0.9 | --- | 2.4 | 1.6 | 1.0 | --- |
| 0.50 | 0.395 | 1.1 | 0.7 | +++ | 1.24 | 1.5 | 1.0 | -- | 0.85 | 1.8 | 1.1 | ++ |
| 0.55 | 0.299 | 1.2 | 0.8 | ++++ | 0.593 | 1.6 | 1.0 | +++ | 0.401 | 1.9 | 1.2 | +++ |
| 0.60 | 0.257 | 1.4 | 0.9 | ++++ | 0.359 | 1.8 | 1.1 | +++ | 0.259 | 2.0 | 1.3 | ++++ |
| 0.65 | 0.237 | 1.5 | 1.0 | ++++ | 0.265 | 1.9 | 1.2 | ++++ | 0.205 | 2.1 | 1.3 | ++++ |
| 0.70 | 0.225 | 1.7 | 1.1 | ++++ | 0.221 | 2.1 | 1.3 | ++++ | 0.176 | 2.3 | 1.4 | ++++ |
| 0.75 | 0.216 | 2.0 | 1.3 | ++++ | 0.192 | 2.3 | 1.4 | ++++ | 0.153 | 2.5 | 1.6 | ++++ |
| 0.80 | 0.208 | 2.4 | 1.5 | ++++ | 0.168 | 2.5 | 1.6 | ++++ | 0.132 | 2.7 | 1.7 | ++++ |
| 0.85 | 0.199 | 2.9 | 1.8 | ++++ | 0.145 | 2.8 | 1.8 | ++++ | 0.111 | 3.0 | 1.9 | ++++ |
| 0.90 | 0.188 | 3.8 | 2.4 | ++++ | 0.119 | 3.4 | 2.1 | ++++ | 0.088 | 3.5 | 2.2 | ++++ |
| 0.95 | 0.172 | 5.7 | 3.6 | ++++ | 0.087 | 4.4 | 2.8 | ++++ | 0.061 | 4.4 | 2.8 | ++++ |
| 0.99 | 0.141 | 15 | 9 | ++++ | 0.043 | 8.0 | 5.1 | ++++ | 0.027 | 7.5 | 4.7 | ++++ |

【 0 2 0 9 】

【表 2 1 - 2】

表 21: h u C B E 1 1 およびカンプトサル (C a m) : 組み合わせ指数のシミュレーション:

相互に排反しない (完全に独立した) 作用様式 (続き)

| Fa | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 |
|------|---------|------------|-----|-------|---------|------------|-----|-------|---------|------------|------|-------|
| | | huCBE11 | Cam | | | huCBE11 | Cam | | | huCBE11 | Cam | |
| | 34日目 | | | | 37日目 | | | | 41日目 | | | |
| 0.02 | 1.8E+09 | 0.5 | 0.3 | ----- | 4.1E+11 | 0.3 | 0.2 | ----- | 2.9E+11 | 0.2 | 0.1 | ----- |
| 0.05 | 8.0E+06 | 0.7 | 0.4 | ----- | 3.9E+08 | 0.4 | 0.3 | ----- | 3.6E+08 | 0.3 | 0.2 | ----- |
| 0.10 | 1.2E+05 | 0.9 | 0.6 | ----- | 1.7E+06 | 0.6 | 0.4 | ----- | 2.0E+06 | 0.5 | 0.3 | ----- |
| 0.15 | 8938 | 1.0 | 0.7 | ----- | 61000 | 0.7 | 0.4 | ----- | 81800 | 0.6 | 0.4 | ----- |
| 0.20 | 1293 | 1.2 | 0.7 | ----- | 5060 | 0.8 | 0.5 | ----- | 7463 | 0.8 | 0.5 | ----- |
| 0.25 | 264 | 1.3 | 0.8 | ----- | 654 | 1.0 | 0.6 | ----- | 1039 | 0.9 | 0.6 | ----- |
| 0.30 | 66 | 1.4 | 0.9 | ----- | 110 | 1.1 | 0.7 | ----- | 187 | 1.0 | 0.6 | ----- |
| 0.35 | 19 | 1.5 | 0.9 | ----- | 22 | 1.2 | 0.7 | ----- | 39 | 1.1 | 0.7 | ----- |
| 0.40 | 6.1 | 1.6 | 1.0 | ---- | 5.1 | 1.3 | 0.8 | ---- | 9.3 | 1.3 | 0.8 | ---- |
| 0.45 | 2.2 | 1.7 | 1.1 | --- | 1.3 | 1.4 | 0.9 | -- | 2.4 | 1.4 | 0.9 | --- |
| 0.50 | 0.88 | 1.8 | 1.1 | + | 0.45 | 1.6 | 1.0 | +++ | 0.72 | 1.5 | 1.0 | ++ |
| 0.55 | 0.430 | 1.9 | 1.2 | +++ | 0.214 | 1.7 | 1.1 | ++++ | 0.267 | 1.7 | 1.1 | ++++ |
| 0.60 | 0.263 | 2.1 | 1.3 | ++++ | 0.143 | 1.9 | 1.2 | ++++ | 0.141 | 1.9 | 1.2 | ++++ |
| 0.65 | 0.193 | 2.2 | 1.4 | ++++ | 0.113 | 2.1 | 1.3 | ++++ | 0.099 | 2.1 | 1.3 | ++++ |
| 0.70 | 0.156 | 2.4 | 1.5 | ++++ | 0.094 | 2.3 | 1.5 | ++++ | 0.081 | 2.4 | 1.5 | ++++ |
| 0.75 | 0.132 | 2.6 | 1.6 | ++++ | 0.079 | 2.6 | 1.7 | ++++ | 0.068 | 2.7 | 1.7 | ++++ |
| 0.80 | 0.111 | 2.8 | 1.8 | ++++ | 0.065 | 3.0 | 1.9 | ++++ | 0.056 | 3.1 | 2.0 | ++++ |
| 0.85 | 0.090 | 3.2 | 2.0 | ++++ | 0.051 | 3.5 | 2.2 | ++++ | 0.046 | 3.7 | 2.3 | ++++ |
| 0.90 | 0.069 | 3.7 | 2.3 | ++++ | 0.037 | 4.4 | 2.8 | ++++ | 0.034 | 4.7 | 3.0 | ++++ |
| 0.95 | 0.045 | 4.7 | 2.9 | ++++ | 0.022 | 6.2 | 3.9 | ++++ | 0.022 | 6.9 | 4.3 | ++++ |
| 0.99 | 0.018 | 7.9 | 5.0 | ++++ | 0.007 | 13.2 | 8.3 | ++++ | 0.008 | 15.9 | 10.0 | ++++ |

要するに、K M - 2 0 L 2 ヒト結腸直腸腺癌を皮下移植した胸腺欠損ヌードマウスにおける L T 受容体活性化 m A b である h u C B E 1 1 と化学療法剤であるカンプトサルとの組み合わせ処置により、h u C B E 1 1 投与のみおよびカンプトサル投与のみと比較して有意に改善された結果が認められた。特に、h u C B E 1 1 およびカンプトサルを使用した固定された比 1 : 0 . 6 3 (m g / k g h u C B E 1 1 : m g / k g カンプトサル) での組み合わせ処置の効果は、同一の化合物を使用した W i D r マウスモデルについての組み合わせ分析の結果と類似しており、組み合わせ指数分析によって協力性であると判断された。

【0 2 1 0】

(実施例 4 : ヌクレオシドアナログである化学療法剤と組み合わせた L T R アゴニストの抗腫瘍効果)

(A . W i D r 異種移植片マウスモデルにおける h u C B E 1 1 / ゲムシタピン併用療法の抗腫瘍効果)

h u C B E 1 1 と組み合わせたヌクレオシドアナログ化学療法剤 (例えば、ゲムシタピン) の投与によって相乗的 (例えば、協力性) 抗腫瘍活性が得られるかどうかを決定するために、W i D r マウスモデルを使用して h u C B E 1 1 と組み合わせてゲムシタピンを投与した。

【0 2 1 1】

ゲムシタピンおよび h u C B E 1 1 の組み合わせ抗腫瘍効果の研究のための適切なゲムシタピン用量を決定するために、用量範囲決定研究を行った。4 つのゲムシタピン群 (1 4 0、1 0 0、5 0、および 2 5 m g / k g) および生理食塩水コントロール群の平均 (± 平均の標準誤差 (S E M)) 腫瘍重量を、一連の投与研究にわたって測定した (0 ~ 4 2 日目)。移植による腫瘍獲得率 (t u m o r t a k e r a t e) は 9 8 % を超え、処置を開始するために狭いサイズ範囲の 5 6 頭のマウスを選択した。ゲムシタピン 1 4 0 m g / k g 群 (P = 0 . 0 0 1)、1 0 0 m g / k g 群 (P = 0 . 0 0 0 2)、5 0 m g

/ k g 群 ($P = 0.008$)、および 25 m g / k g 群 ($P = 0.006$) において、生理食塩水コントロール群と比較して 42 日目に腫瘍成長の有意な阻害が認められた。これらの用量群において、11 日目 ~ 14 日目までに最初に抑制が明らかとなった。従って、研究したゲムシタピンの全ての用量 (140、100、50、および 25 m g / k g) は、予め確立された W i D r ヒト結腸直腸腫瘍を有する胸腺欠損ヌードマウスにおいて、生理食塩水コントロールと比較して腫瘍成長を有意に ($P = 0.01$) 抑制した。

【0212】

個別の研究では、50、25、12.5、および 6.25 m g / k g のゲムシタピン用量の効果を試験した。移植による腫瘍獲得率は 100% であり、処置を開始するために狭いサイズ範囲の 180 頭のマウスを選択した。ゲムシタピン 50 m g / k g 群 ($P < 0.001$)、25 m g / k g 群 ($P < 0.001$)、および 6.25 m g / k g 群 ($P < 0.05$) において、ビヒクルコントロール群と比較して 41 日目 (研究終了時) に腫瘍成長の有意な阻害が認められた。これらの用量群において、10 日目まで抑制が明らかであった。12.5 m g / k g 群においては、41 日目で有意な抑制は認められなかった。ゲムシタピン 50 m g / k g 群の 17 日目 ~ 28 日目ならびにゲムシタピン 25 m g / k g 群の 21 日目および 28 日目の T / C 率は 42% という低さであった。これらの測定点とは別に、ゲムシタピンのみの投与の応答では、National Cancer Institute (NCI) の活性基準 (42% またはそれ未満の試験 / コントロール率 (T / C 率)) を超えず、試験した全てのゲムシタピン処置は、41 日目 (研究終了時) で NCI ガイドラインによって不活性であると見なされた。要するに、50 m g / k g ~ 6.25 m g / k g のゲムシタピン用量は、NCI 活性基準 (42% またはそれ未満の T / C 率) に基づいて 41 日目の第 2 の研究終了時に W i D r モデルにおいて不活性であると判断された。ゲムシタピン 50 m g / k g 群 ($P < 0.001$)、25 m g / k g 群 ($P < 0.001$)、および 6.25 m g / k g 群 ($P < 0.05$) において、生理食塩水コントロール群と比較して 41 日目に腫瘍成長の有意な阻害が認められた。

【0213】

並行研究では、W i D r ヒト結腸直腸腺癌異種移植片モデルにおいて h u C B E 11 活性も試験した。漸増用量 (5、50、および 100 μ g) のゲムシタピンを投与した 3 つの群および生理食塩水群を、抗腫瘍活性についてアッセイした。腫瘍成長は、ビヒクルコントロール群と比較して h u C B E 11 50 μ g 群および 100 μ g 群で 41 日目で有意に ($P < 0.001$) 減少した。この減少は、14 日目まで明らかであった。h u C B E 11 5 μ g での処置は、腫瘍成長を有意に抑制しなかった。T / C 率は、h u C B E 11 100 μ g では 41 日目に 40.0% に低下し、50 μ g 群では 41 日目に 43.5% という低さであった。従って、NCI 活性基準 (42% またはそれ未満の T / C 率) に基づいて、W i D r モデルにおいて h u C B E 11 100 μ g は活性であると判断された。

【0214】

W i D r ヒト結腸直腸腺癌異種移植片モデルにおける h u C B E 11 とゲムシタピンとの組み合わせ抗腫瘍効果も試験した。h u C B E 11 100 μ g とゲムシタピン 25 m g / k g または 12.5 m g / k g との組み合わせ処置 (図 2) は、h u C B E 11 100 μ g のみと比較して 41 日目に胸腺欠損ヌードマウスにおいて腫瘍成長を有意に ($P < 0.01$) 抑制した。h u C B E 11 50 μ g とゲムシタピン 25 m g / k g または 12.5 m g / k g との組み合わせ処置は、h u C B E 11 50 μ g のみと比較して腫瘍成長を有意に (それぞれ $P < 0.01$ および $P < 0.05$) 抑制した。この抑制は、2 つの用量の h u C B E 11 および全ての用量のゲムシタピンの投与後、17 日目までに全ての群で一貫して明らかであった。この結果は、研究を通して持続した。全てのこれらの h u C B E 11 およびゲムシタピン組み合わせ群における 17 日目または 21 日目から 41 日目までの T / C 率は 42% 未満であった。41 日目に最も低い T / C 率が認められた (全用量群範囲で 20.1 ~ 26.8%)。

【0215】

さらに、 $88 \mu\text{g} / 50 \text{mg} / \text{kg}$ ($P < 0.05$)、 $44 \mu\text{g} / 25 \text{mg} / \text{kg}$ ($P < 0.05$)、 $22 \mu\text{g} / 12.5 \text{mg} / \text{kg}$ ($P < 0.01$)、 $11 \mu\text{g} / 6.25 \text{mg} / \text{kg}$ ($P = 0.01$)のh u C B E 1 1とゲムシタピンの組み合わせ群において、研究終了時に腫瘍成長の有意な阻害が認められた。この阻害は、14日目と17日目との間で明らかとなった。h u C B E 1 1 $88 \mu\text{g}$ とゲムシタピン $50 \text{mg} / \text{kg}$ との群(19.6%という低さ)ならびにh u C B E 1 1 $44 \mu\text{g}$ とゲムシタピン $25 \text{mg} / \text{kg}$ との群(24.5%という低さ)における14日目または17日目から41日目までのT / C率は42%未満であった。h u C B E 1 1 $22 \mu\text{g}$ とゲムシタピン $12.5 \text{mg} / \text{kg}$ との群(37.9%という低さ)における28日目から41日目までのT / C率は42%またはそれ未満であった。h u C B E 1 1 $11 \mu\text{g}$ およびゲムシタピン $6.25 \text{mg} / \text{kg}$ における最も低いT / C率は、41日目の42.6%であった。h u C B E 1 1およびゲムシタピンの最も低い用量の組み合わせのほとんどのT / C率が41日目で42%またはそれ未満であった(用量群の範囲: 20.1% ~ 38.1%)。したがって、h u C B E 1 1およびゲムシタピンの組み合わせ処置は、NCI活性基準(42%またはそれ未満のT / C率)に基づいて、WiDrモデルで活性であると判断された。

【0216】

h u C B E 1 1およびゲムシタピンが協力性に作用することができるかどうかを試験するために、上記のように腫瘍成長モデルにおいてWiDrヒト結腸腺癌を移植した胸腺欠損ヌードマウスを使用して相乗作用研究を行った。これらのh u C B E 1 1 + ゲムシタピン組み合わせ研究のために、50、25、12.5、および $6.25 \text{mg} / \text{kg}$ の用量のゲムシタピンならびに100、88、50、44、22、および $11 \mu\text{g}$ の用量のh u C B E 1 1を選択した。Fa値計算のために使用した全腫瘍データを、28日目にとった。各処置群の腫瘍体積とコントロール群の腫瘍体積との比較によって、抗腫瘍有効性を決定した。コントロール群と処置群との間の平均腫瘍体積の相違として平均腫瘍体積の減少を計算した。腫瘍体積の抑制率(影響率(Fa))を、処置群の平均腫瘍体積の減少をコントロール群の平均腫瘍体積で割ることによって計算した。1.000のFaは、腫瘍の完全な抑制を示す。表22は、個別の処置および組み合わせ処置の用量 - 効果の関係を示す。次いで、得られたFa値を、h u C B E 1 1とゲムシタピンとの組み合わせ処置についての協力作用の評価に使用した。

【0217】

【表22】

表 22: ゲムシタピンおよびh u C B E 1 1の個別処置および組み合わせ処置についての
用量 - 効果の関係

| 処置 | 用量 | 単位 | 同時処置 | 用量 | 単位 | 腫瘍体積 | 体積の減少 | Fa |
|---------|------|---------------|--------|------|-------|-------|-------|-------|
| コントロール | | | | | | 803.2 | 0.0 | 0.000 |
| ゲムシタピン | 6.25 | mg/kg | | | | 545.6 | 257.6 | 0.321 |
| ゲムシタピン | 12.5 | mg/kg | | | | 479.5 | 323.7 | 0.403 |
| ゲムシタピン | 25 | mg/kg | | | | 318.9 | 484.3 | 0.603 |
| ゲムシタピン | 50 | mg/kg | | | | 326.0 | 477.2 | 0.594 |
| huCBE11 | 5 | μg | | | | 688.4 | 114.8 | 0.143 |
| huCBE11 | 50 | μg | | | | 448.0 | 355.2 | 0.442 |
| huCBE11 | 100 | μg | | | | 386.1 | 417.1 | 0.519 |
| huCBE11 | 11 | μg | ゲムシタピン | 6.25 | mg/kg | 342.7 | 460.5 | 0.573 |
| huCBE11 | 22 | μg | ゲムシタピン | 12.5 | mg/kg | 304.5 | 498.7 | 0.621 |
| huCBE11 | 44 | μg | ゲムシタピン | 25 | mg/kg | 196.9 | 606.3 | 0.755 |
| huCBE11 | 88 | μg | ゲムシタピン | 50 | mg/kg | 157.8 | 645.4 | 0.804 |
| huCBE11 | 50 | μg | ゲムシタピン | 12.5 | mg/kg | 206.9 | 596.3 | 0.742 |
| huCBE11 | 50 | μg | ゲムシタピン | 25 | mg/kg | 171.8 | 631.4 | 0.786 |
| huCBE11 | 100 | μg | ゲムシタピン | 12.5 | mg/kg | 217.0 | 586.2 | 0.730 |
| huCBE11 | 100 | μg | ゲムシタピン | 25 | mg/kg | 196.5 | 606.7 | 0.755 |

これらの組み合わせ処置研究から得た腫瘍重量データを使用して、h u C B E 1 1とゲ

ムシタピンとの組み合わせがその作用様式で協力性であるかどうかを決定するために、統計的比較を行った。ゲムシタピンのみでのW i D r腫瘍を保有するマウスの処置により用量応答抗腫瘍有効性が得られるので、組み合わせ指数(C I)の計算によってh u C B E 1 1 + ゲムシタピン組み合わせの協力作用を正式に評価することができた(C h o u , 1 9 8 4)。協力作用の正式な評価には、W i n d d o w sベースの用量 - 効果分析のためのC a l c u S y n V 1 . 1 (B i o s o f t , C a m b r i d g e U K)ソフトウェアを使用した組み合わせ指数(C . I .)の計算を使用した。上記のように、組み合わせで投与した処置について、C . I . = 1は累加有効性を示す。C . I . < 1は協力作用を示す。C . I . > 1は拮抗作用を示す。本研究における協力性薬物作用の評価に使用した用量の固定された比は0 . 5 6 8 : 1 (m g / k g ゲムシタピン : μ g h u C B E 1 1)であった。この比は、以前のパイロット研究で決定した2つの薬剤についての中央値効果用量の比を基本としていた。協力作用の正式な評価には、W i n d d o w sベースの用量効果分析のためのC a l c u S y n V 1 . 1 (B i o s o f t , C a m b r i d g e U K)ソフトウェアを使用した組み合わせ指数(C I)の計算を使用した。組み合わせで投与した処置について、C I = 1は累加有効性を示した。1未満のC Iは協力作用を示した。1を超えるC Iは拮抗作用を示した。C I計算で使用した用量 - 効果関係を、表23に示す。

【0218】

【表23】

表 23: 協力作用計算のためのh u C B E 1 1およびゲムシタピンの用量 - 効果の関係

| 個別投与 | | | | 組み合わせ (0.568:1) | | |
|-------------------------|-------|-----------------------------|-------|-------------------------|-----------------------------|-------|
| ゲムシタピン 用量 (mg/kg) | 影響率 | huCBE11 用量 (μ g) | 影響率 | ゲムシタピン 用量 (mg/kg) | huCBE11 用量 (μ g) | 影響率 |
| 6.25 | 0.321 | 5 | 0.143 | 6.25 | 11 | 0.573 |
| 12.5 | 0.403 | 50 | 0.442 | 12.5 | 22 | 0.621 |
| 25 | 0.603 | 100 | 0.519 | 25 | 44 | 0.755 |
| | | | | 50 | 88 | 0.804 |

ゲムシタピンおよびh u C B E 1 1の個別の処置および組み合わせ処置についての用量 - 応答関係の強さおよび形状を、それぞれ表24および25に示す。この研究で使用された正確な実験用量レベルのために計算したC I値を、表26に示す。

【0219】

本研究は完全に独立した作用様式を有すると考えられる薬物を使用するので、相互に排斥しないC I値をたいてい適用した。6 . 2 5 m g / k g ゲムシタピン + 1 1 . 0 μ g h u C B E 1 1、1 2 . 5 m g / k g ゲムシタピン + 2 2 . 0 μ g h u C B E 1 1、2 5 m g / k g ゲムシタピン + 4 4 μ g h u C B E 1 1、および5 0 m g / k g ゲムシタピン + 8 8 . 0 μ g h u C B E 1 1の組み合わせの用量は、協力効果を示した。組み合わせの用量レベル範囲を超えるC Iのシミュレーションを表27に示し、C Iによって示した協力作用または拮抗作用の程度の全解釈を表3に示す。0 . 0 0 5 m g / k g ゲムシタピン + 0 . 0 0 8 μ g h u C B E 1 1 (腫瘍体積が2%抑制される)から8 5 m g / k g ゲムシタピン + 1 5 0 μ g h u C B E 1 1 (腫瘍体積が85%抑制される)までの範囲の組み合わせ用量が協力効果を示した。したがって、ゲムシタピン : h u C B E 1 1の固定された比が0 . 5 6 8 : 1の組み合わせ処置は協力性抗腫瘍有効性を示した。影響率の関数としてのC Iを、図11に示す。

【0220】

【表 2 4】

表 24: 協力作用の決定: huCBE11 およびゲムシタピンの協力作用についての

効果用量中央値

| 薬剤 | 用量 単位 | 効果用量中央値 (95% 信頼区間) | |
|---------|-------|--------------------|-----------------|
| | | 個別投与 | 組み合わせ (0.568:1) |
| ゲムシタピン | mg/kg | 16.7 | 4.2 |
| | | (12.6 – 22.0) | (2.6 – 6.6) |
| huCBE11 | μg | 81.1 | 7.3 |
| | | (65.2 – 100.8) | (4.6 – 11.6) |

【0 2 2 1】

【表 2 5】

表 25: 協力作用の決定: 個別処置および組み合わせ処置についての用量-応答曲線の特徴

| 値 | 勾配 | Y- 切片 | R |
|-----------------|-------|--------|--------|
| ゲムシタピン | | | |
| 平均 | 0.842 | -1.028 | 0.9756 |
| SEM | 0.189 | 0.213 | |
| huCBE11 | | | |
| 平均 | 0.636 | -1.215 | 0.9977 |
| SEM | 0.043 | 0.068 | |
| ゲムシタピン+ huCBE11 | | | |
| 平均 | 0.575 | -0.356 | 0.9804 |
| SEM | 0.082 | 0.106 | |

【0 2 2 2】

【表 2 6】

表 26: 協力作用の決定: huCBE11 + ゲムシタピン処置から得られた

実験値についての計算された組み合わせ指数

| ゲムシタピン 用量 (mg/kg) | huCBE11 用量 (μg) | 影響率 | 作用機構 | | | |
|-------------------------|-----------------------|-------|-------|------|-------|------|
| | | | 相互排反 | | 排反しない | |
| | | | CI | 協力作用 | CI | 協力作用 |
| 6.25 | 11 | 0.573 | 0.350 | +++ | 0.373 | +++ |
| 12.5 | 22 | 0.621 | 0.543 | +++ | 0.595 | +++ |
| 25 | 44 | 0.755 | 0.487 | +++ | 0.524 | +++ |
| 50 | 88 | 0.804 | 0.680 | +++ | 0.746 | ++ |
| ++ 中程度の協力作用 | | | | | | |
| +++ 協力作用 | | | | | | |

【0 2 2 3】

【表 2 7】

表 27: 協力作用の決定: 組み合わせ指数 (CI) のシミュレーション

| Fa | CI | ゲムシタピン (mg/kg) | huCBE11 (μg) | 記号 |
|---------------------|-------|-------------------|-----------------|-------|
| 相互排反作用機構 | | | | |
| 0.02 | 0.076 | 0.005 | 0.008 | +++++ |
| 0.05 | 0.104 | 0.025 | 0.044 | ++++ |
| 0.10 | 0.137 | 0.091 | 0.160 | ++++ |
| 0.15 | 0.163 | 0.2 | 0.4 | ++++ |
| 0.20 | 0.188 | 0.4 | 0.7 | ++++ |
| 0.25 | 0.211 | 0.6 | 1.1 | ++++ |
| 0.30 | 0.235 | 1.0 | 1.7 | ++++ |
| 0.35 | 0.259 | 1.4 | 2.5 | ++++ |
| 0.40 | 0.284 | 2.1 | 3.6 | ++++ |
| 0.45 | 0.311 | 2.9 | 5.2 | +++ |
| 0.50 | 0.340 | 4.2 | 7.3 | +++ |
| 0.55 | 0.373 | 5.9 | 10.4 | +++ |
| 0.60 | 0.409 | 8.4 | 14.8 | +++ |
| 0.65 | 0.452 | 12.2 | 21.5 | +++ |
| 0.70 | 0.503 | 18.2 | 32.0 | +++ |
| 0.75 | 0.567 | 28.2 | 49.5 | +++ |
| 0.80 | 0.652 | 46.4 | 81.7 | +++ |
| 0.85 | 0.773 | 85.1 | 149.8 | ++ |
| 0.90 | 0.972 | 190.4 | 335.1 | ± |
| 0.95 | 1.419 | 698.6 | 1229.6 | -- |
| 0.99 | 3.357 | 12347.0 | 21731.0 | ---- |
| 排反しない (完全に独立した作用様式) | | | | |
| 0.02 | 0.077 | 0.005 | 0.008 | +++++ |
| 0.05 | 0.107 | 0.025 | 0.044 | ++++ |
| 0.10 | 0.141 | 0.091 | 0.160 | ++++ |
| 0.15 | 0.170 | 0.2 | 0.4 | ++++ |
| 0.20 | 0.196 | 0.4 | 0.7 | ++++ |
| 0.25 | 0.222 | 0.6 | 1.1 | ++++ |
| 0.30 | 0.247 | 1.0 | 1.7 | ++++ |
| 0.35 | 0.273 | 1.4 | 2.5 | ++++ |
| 0.40 | 0.301 | 2.1 | 3.6 | +++ |
| 0.45 | 0.331 | 2.9 | 5.2 | +++ |
| 0.50 | 0.363 | 4.2 | 7.3 | +++ |
| 0.55 | 0.399 | 5.9 | 10.4 | +++ |
| 0.60 | 0.440 | 8.4 | 14.8 | +++ |
| 0.65 | 0.487 | 12.2 | 21.5 | +++ |
| 0.70 | 0.545 | 18.2 | 32.0 | +++ |
| 0.75 | 0.617 | 28.2 | 49.5 | +++ |
| 0.80 | 0.713 | 46.4 | 81.7 | ++ |
| 0.85 | 0.851 | 85.1 | 149.8 | + |
| 0.90 | 1.082 | 190.4 | 335.1 | ± |
| 0.95 | 1.608 | 698.6 | 1229.6 | --- |
| 0.99 | 3.977 | 12347.0 | 21731.0 | ---- |

本研究で薬物の増強を評価するために使用した用量は、固定された比の組み合わせに制限されなかった。統計的に有意な増強の試験には、各動物の Fa の計算が必要であった。各腫瘍体積 (表 4 3) を使用して、各動物の腫瘍体積の抑制率 (Fa) を計算した (表 4 4)。(コントロール群の平均腫瘍体積 - 個別の動物の腫瘍体積) ÷ コントロール群の平均腫瘍体積として Fa を計算した。組み合わせ処置についての予想される累加 Fa を、組み合わせのいずれかの成分を投与した群由来の平均 Fa の合計であると解釈した。組み合わせ処置の実際の効果と処置が単に累加であると予想される効果との間の相違も計算した (表 4 4)。両側 1 標本 t 検定を使用して、組み合わせ処置により予想される累加値と統計的に有意に異なる平均 Fa が得られるかどうかを決定した (表 4 4)。

【0 2 2 4】

本研究は完全に独立した作用様式を有すると考えられる薬物を使用するので、相互に排斥しないC I値をたいてい適用した。6.25mg/kg ゲムシタビン+11μg huCBE11、12.5mg/kg ゲムシタビン+22μg huCBE11、25mg/kg ゲムシタビン+44μg huCBE11、および50mg/kg ゲムシタビン+88μg huCBE11の組み合わせ用量は、協力効果を示した。0.005mg/kg ゲムシタビン+0.008μg huCBE11（腫瘍体積が2%抑制される）から85mg/kg ゲムシタビン+150μg huCBE11（腫瘍体積が85%抑制される）までの範囲の組み合わせ用量が協力効果を示した。C. I.によって示した協合作用または拮抗作用の程度の全解釈を表15に示す。50または100μgの用量のhuCBE11と組み合わせた場合、12.5または25mg/kgのゲムシタビンにより、累加未満の統計的に有意な効果が得られた（表44）。

【0225】

【表 4 3 - 1】

表 43: 各腫瘍体積

| コントロール | ゲムシ タビン 6.25 | ゲムシタ ビン 12.5 | ゲムシ タビン 25 | ゲムシ タビン 50 | hCBE 50 | hCBE 100 | hCBE 50 + ゲムシタ ビン 12.5 | hCBE 50 + ゲムシ タビン 25 | hCBE 100 + ゲムシ タビン 12.5 | hCBE 100 + ゲムシ タビン 25 |
|--------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|------------|-------------|------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 854.1 | 777.9 | 295.5 | 238.8 | 181.8 | 606.1 | 356.8 | 335.7 | 232.2 | 392.7 | 263.8 |
| 1407.4 | 354.4 | 849.7 | 354.3 | 274.1 | 138.7 | 222.4 | 124.5 | 29.9 | 349.0 | 244.8 |
| 596.7 | 415.6 | 367.1 | 288.2 | 468.6 | 352.2 | 310.4 | 227.7 | 95.0 | 140.7 | 200.5 |
| 591.4 | 291.2 | 344.8 | 258.5 | 319.6 | 428.2 | 197.9 | 323.1 | 50.8 | 177.0 | 208.4 |
| 722.9 | 372.2 | 802.2 | 352.8 | 151.2 | 363.5 | 972.2 | 85.2 | 131.3 | 140.0 | 196.2 |
| 660.7 | 354.5 | 382.6 | 275.7 | 203.1 | 350.4 | 449.1 | 217.1 | 323.9 | 250.2 | 211.8 |
| 1084.2 | 460.8 | 409.5 | 450.0 | 400.1 | 431.3 | 329.2 | 194.2 | 275.5 | 198.4 | 167.2 |
| 856.5 | 1251.7 | 459.9 | 397.8 | 446.1 | 437.1 | 324.7 | 222.5 | 160.9 | 223.4 | 100.7 |
| 806.3 | 469.1 | 418.6 | 342.6 | 370.9 | 521.8 | 442.5 | 219.1 | 149.0 | 133.7 | 138.3 |
| 1860.8 | 708.9 | 465.3 | 230.9 | 444.1 | 851.1 | 255.6 | 120.6 | 270.1 | 165.1 | 233.8 |
| 818.6 | | | | | | | | | | |
| 1250.8 | | | | | | | | | | |
| 682.8 | | | | | | | | | | |
| 815.7 | | | | | | | | | | |
| 574.9 | | | | | | | | | | |
| 576.4 | | | | | | | | | | |
| 1034.9 | | | | | | | | | | |
| 612.3 | | | | | | | | | | |
| 829.1 | | | | | | | | | | |
| 835.0 | | | | | | | | | | |
| 511.6 | | | | | | | | | | |
| 503.7 | | | | | | | | | | |
| 613.1 | | | | | | | | | | |

【 0 2 2 6 】

【表 4 3 - 2】

| | | | | | | | | | | | |
|-----|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 686.0 | | | | | | | | | | |
| | 305.0 | | | | | | | | | | |
| | 1004.2 | | | | | | | | | | |
| | 708.0 | | | | | | | | | | |
| | 967.9 | | | | | | | | | | |
| | 600.8 | | | | | | | | | | |
| | 724.3 | | | | | | | | | | |
| 平均: | 803.2 | 545.6 | 479.5 | 319.0 | 326.0 | 448.0 | 386.1 | 207.0 | 171.8 | 217.0 | 196.5 |

【 0 2 2 7 】

【表 4 4】

表 44: 腫瘍体積の各抑制率

| ゲムシ タピン 6.25 | ゲムシ タピン 12.5 | ゲムシ タピン 25 | ゲムシ タピン 50 | hCBE 50 | hCBE 100 | hCBE 50 + ゲムシ タピン 12.5 | hCBE 50 + ゲムシ タピン 25 | hCBE 100 + ゲムシ タピン 12.5 | hCBE 100 + ゲムシ タピン 25 |
|--------------------|--------------------|------------------|------------------|---------|----------|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| 0.032 | 0.632 | 0.703 | 0.774 | 0.245 | 0.556 | 0.582 | 0.711 | 0.511 | 0.672 |
| 0.559 | -0.058 | 0.559 | 0.659 | 0.827 | 0.723 | 0.845 | 0.963 | 0.566 | 0.695 |
| 0.483 | 0.543 | 0.641 | 0.417 | 0.562 | 0.614 | 0.717 | 0.882 | 0.825 | 0.750 |
| 0.637 | 0.571 | 0.678 | 0.602 | 0.467 | 0.754 | 0.598 | 0.937 | 0.780 | 0.741 |
| 0.537 | 0.001 | 0.561 | 0.812 | 0.547 | -0.210 | 0.894 | 0.837 | 0.826 | 0.756 |
| 0.559 | 0.524 | 0.657 | 0.747 | 0.564 | 0.441 | 0.730 | 0.597 | 0.688 | 0.736 |
| 0.426 | 0.490 | 0.440 | 0.502 | 0.463 | 0.590 | 0.758 | 0.657 | 0.753 | 0.792 |
| -0.558 | 0.427 | 0.505 | 0.445 | 0.456 | 0.596 | 0.723 | 0.800 | 0.722 | 0.875 |
| 0.416 | 0.479 | 0.574 | 0.538 | 0.350 | 0.449 | 0.727 | 0.815 | 0.834 | 0.828 |
| 0.117 | 0.421 | 0.712 | 0.447 | -0.060 | 0.682 | 0.850 | 0.664 | 0.794 | 0.709 |
| 平均: | 0.321 | 0.403 | 0.603 | 0.594 | 0.442 | 0.519 | 0.742 | 0.786 | 0.730 |
| 累加: | | | | | | 0.845 | 1.045 | 0.922 | 1.122 |
| 相違: | | | | | | -0.103 | -0.259 | -0.193 | -0.367 |
| 両側一標本 t 検定 | | | | | | | | | |
| T 値 : | | | | | | -3.186 | -6.563 | -5.425 | -18.783 |
| DF: | | | | | | 9 | 9 | 9 | 9 |
| P 値 : | | | | | | 0.0111 | 0.0001 | 0.0004 | <0.0001 |

要するに、W i D r ヒト結腸直腸腺癌を皮下移植した胸腺欠損ヌードマウスにおける L T 受容体活性化 m A b である h u C B E 1 1 と化学療法剤であるゲムシタピンとの組み

合わせ処置により、低濃度のh u C B E 1 1およびゲムシタピンで協力性であると判断されるh u C B E 1 1とゲムシタピンの組み合わせ処置の効果が示された。

【0228】

(B . K M - 2 0 L 2 マウスモデルを使用したh u C B E 1 1とゲムシタピンとの組み合わせの抗腫瘍効果)

h u C B E 1 1と組み合わせたヌクレオシドアナログ化学療法剤 (例えば、ゲムシタピン) の投与によって相乗的 (例えば、増強または協力性) 抗腫瘍活性を示すかどうかを決定するために、さらなるヒト結腸直腸腺癌マウスモデル系であるK M - 2 0 L 2モデルも使用した。

【0229】

ゲムシタピンとh u C B E 1 1との組み合わせ抗腫瘍効果の研究のための適切なゲムシタピンおよびh u C B E 1 1の用量を決定するために、最初に用量範囲決定研究を行った。25 mg / kg から140 mg / kg までの漸増用量のゲムシタピンを、K M - 2 0 L 2 腫瘍細胞を皮下移植した胸腺欠損ヌードマウスに投与した (0 日目) 。移植による腫瘍獲得率は100 % であり、処置を開始するために狭いサイズ範囲の110頭のマウスを選択した。生理食塩水コントロール群と比較して、10日目から研究最終日の41日目までに、140 mg / kg (10日目に $P < 0.05$; 14日目 ~ 41日目に $P < 0.001$) 、100 mg / kg (10日目に $P < 0.05$; 14日目 ~ 41日目に $P < 0.001$) 、50 mg / kg (10日目 ~ 41日目に $P < 0.001$) 、および25 mg / kg (19日目および41日目に $P < 0.01$; 14日目 ~ 37日目に $P < 0.001$) のゲムシタピン群で統計的に有意な腫瘍成長の抑制が認められた。14日目または17日目のT / C率は42 % またはそれ未満であり、140 mg / kg、100 mg / kg、および50 mg / kg のゲムシタピン群での研究期間中この比率を維持した。25 mg / kg のゲムシタピン群のT / C率は17日目に42 % またはそれ未満であり、31日目までこの比率を維持した。個別の研究では、K M - 2 0 L 2 ヒト腺癌異種移植片モデルにおける抗腫瘍活性について、5、10、20 mg / kg のゲムシタピン用量を試験した。移植による腫瘍獲得率は100 % であり、処置を開始するために狭いサイズ範囲の129頭のマウスを選択した。ビヒクルコントロール群における腫瘍成長は、十分にこのモデルを使用して本研究所で認められた典型的な範囲内であった。ビヒクルコントロール群と比較して、ゲムシタピン群 (20 mg / kg では13日目 ~ 55日目 (13日目 ~ 47日目に $P < 0.001$ 、50日目 ~ 55日目に $P < 0.01$) 、10 mg / kg では16日目 ~ 55日目 (16日目 ~ 50日目に $P < 0.01$ 、55日目に $P < 0.05$) 、5 mg / kg では13日目 ~ 43日目 (20日目 ~ 23日目に $P < 0.01$ 、13日目 ~ 16日目および27日目 ~ 43日目に $P < 0.05$)) で有意な腫瘍成長の抑制が認められた。16日目のT / C率は42 % またはそれ未満であり、20 mg / kg のゲムシタピン群で34日間この比率を維持した。したがって、ゲムシタピンは、NCIの活性基準 (42 % またはそれ未満のT / C率) に基づいて、K M - 2 0 L 2 腫瘍モデルにおいて活性であると判断された。

【0230】

並行用量範囲決定研究では、K M - 2 0 L 2 ヒト腺癌異種移植片モデルにおけるh u C B E 1 1の活性を試験した。0.2、2、4、および20 mg / kg のh u C B E 1 1を投与した。移植による腫瘍獲得率は99.5 % であり、処置を開始するために狭いサイズ範囲の110頭のマウスを選択した。ビヒクルコントロール群と比較して、2 mg / kg (28日目 ~ 33日目) および4 mg / kg (21日目 ~ 28日目) の用量のh u C B E 1 1群で腫瘍成長が有意に ($P < 0.05$) 減少した。これらの用量群の最も低いT / C率は42 % を超えた。個別の研究では、0.2、2、および4 mg / kg の用量のゲムシタピン群を、K M - 2 0 L 2 モデルマウスに投与した。これらのマウスのために、ビヒクルコントロール群と比較して、20日目 ~ 55日目に4 mg / kg (20日目 ~ 23日目で $P < 0.01$; 27 ~ 55日目で $P < 0.001$) および2 mg / kg (20日目 ~ 23日目で $P < 0.01$; 27 ~ 55日目で $P < 0.001$) のh u C B E 1 1群で腫瘍成

長が有意に減少した。T / C 率は、4 mg / kg の h u C B E 1 1 群では 5 0 日目および 5 5 日目ならびに 2 mg / kg の h u C B E 1 1 では 4 1 日目 ~ 5 5 日目で 4 2 % またはそれ未満であった。したがって、h u C B E 1 1 は、N C I の活性基準 (4 2 % またはそれ未満の T / C 率) に基づいて、K M - 2 0 L 2 腫瘍モデルにおいて活性であると判断された。

【 0 2 3 1 】

h u C B E 1 1 およびゲムシタピンの組み合わせ効果も試験した。コホート動物を、7 日目から開始する単一の薬剤として以下の同一の投与計画を使用して処置した：生理食塩水コントロール (0 . 9 % 滅菌生理食塩水)、漸減量のゲムシタピン (2 0、1 0、5 mg / kg)、漸減量の h u C B E 1 1 (4、2、および 0 . 2 mg / kg)、または h u C B E 1 1 とゲムシタピンとの組み合わせ用量 (4 mg / kg h u C B E 1 1 + 2 0 mg / kg ゲムシタピン、4 mg / kg h u C B E 1 1 + 1 0 mg / kg ゲムシタピン、0 . 2 mg / kg h u C B E 1 1 + 2 0 mg / kg ゲムシタピン、0 . 2 mg / kg h u C B E 1 1 + 1 0 mg / kg ゲムシタピン、4 mg / kg h u C B E 1 1 + 5 mg / kg ゲムシタピン、8 mg / kg h u C B E 1 1 + 1 0 mg / kg ゲムシタピン、および 2 0 mg / kg h u C B E 1 1 + 2 5 mg / kg ゲムシタピン)。腫瘍の長さが平均して 5 ミリメートル (mm) および幅が 5 mm に到達した場合、全ての処置を開始した。h u C B E 1 1 4 mg / kg とゲムシタピン 2 0 mg / kg との組み合わせ処置は、h u C B E 1 1 4 mg / kg のみと比較して、1 0 日目 ~ 5 5 日目に腫瘍成長を有意に抑制した (1 0 日目に $P < 0 . 0 1$; 1 3 ~ 5 5 日目に $P < 0 . 0 0 1$) (図 1 2)。この用量群の T / C 率は、1 6 日目から 5 5 日目までは 4 2 % またはそれ未満であり、3 7 日目に 1 3 . 6 % という低さであった。h u C B E 1 1 4 mg / kg とゲムシタピン 1 0 mg / kg との組み合わせ処置は、h u C B E 1 1 4 mg / kg のみと比較して、1 3 日目 ~ 5 5 日目に腫瘍成長を有意に抑制した (1 6 日目 ~ 5 0 日目に $P < 0 . 0 0 1$; 1 3 日目および 5 5 日目に $P < 0 . 0 1$)。この用量群の T / C 率は、2 0 日目 ~ 5 5 日目までは 4 2 % またはそれ未満であり、1 5 . 8 % という低さであった。h u C B E 1 1 0 . 2 mg / kg とゲムシタピン 2 0 mg / kg との組み合わせ処置は、ゲムシタピン 2 0 mg / kg のみと比較して、2 7 日目 ~ 5 5 日目に腫瘍成長を有意に抑制した (2 7 日目、3 7 日目、および 4 3 日目に $P < 0 . 0 5$; 3 0 日目 ~ 3 4 日目、4 1 日目、4 7 ~ 5 5 日目に $P < 0 . 0 1$)。この用量群の T / C 率は、1 6 日目から 5 5 日目までは 4 2 % またはそれ未満であり、3 0 日目に 1 9 . 8 % という低さであった。h u C B E 1 1 0 . 2 mg / kg とゲムシタピン 1 0 mg / kg との組み合わせ処置は、ゲムシタピン 1 0 mg / kg のみと比較して、腫瘍成長を有意に抑制せず、T / C 率は、いかなる期間においても 4 2 % またはそれ未満であった。h u C B E 1 1 4 mg / kg とゲムシタピン 5 mg / kg との組み合わせ処置は、h u C B E 1 1 4 mg / kg のみと比較して、9 日目 ~ 4 3 日目、5 5 日目に腫瘍成長を有意に抑制した (9 日目、4 1 日目、4 3 日目、および 5 5 日目に $P < 0 . 0 5$; 1 3 日目、2 0 日目、2 7 日目、3 4 日目、および 3 7 日目に $P < 0 . 0 1$; 1 6 日目、2 3 日目、および 3 0 日目に $P < 0 . 0 0 1$)。この用量群の T / C 率は、2 0 日目 ~ 5 5 日目に 4 2 % またはそれ未満であり、3 7 日目に 2 5 . 6 % という低さであった。腫瘍成長の抑制について h u C B E 1 1 8 mg / kg およびゲムシタピン 1 0 mg / kg と h u C B E 1 1 8 mg / kg との比較または h u C B E 1 1 2 0 mg / kg およびゲムシタピン 2 5 mg / kg と h u C B E 1 1 2 0 mg / kg との比較は不可能であるが、これらの群で認められた T / C 率は、1 6 日目 ~ 5 5 日目で 4 2 % またはそれ未満であった。要するに、h u C B E 1 1 およびゲムシタピンの上記 6 つの組み合わせ処置は、N C I の活性基準 (4 2 % またはそれ未満の T / C 率) に基づいて、K M - 2 0 L 2 腫瘍モデルにおいて活性であると判断された。これらの 6 つの h u C B E 1 1 + ゲムシタピン併用療法はそれぞれ腫瘍成長を統計的に有意に減少させた。

【 0 2 3 2 】

これらの組み合わせ処置研究から得た腫瘍重量データを使用して、h u C B E 1 1 とゲムシタピンとの組み合わせがその作用様式で協力性であるかどうかを決定するための統計

的比較を行った。ゲムシタピンまたはh u C B E 1 1のみでのK M - 2 0 L 2腫瘍保有マウスの処置は用量応答抗腫瘍有効性を示したので、組み合わせ指数(C I) (C h o u , 1 9 8 4) の計算によってh u C B E 1 1 + ゲムシタピン組み合わせの協力作用を正式に評価することができた。

【 0 2 3 3 】

h u C B E 1 1 およびゲムシタピンの組み合わせ投与を使用して相乗効果が得られるかどうかを評価することができるために、各処置群の腫瘍体積とコントロール群の腫瘍体積との比較によって抗腫瘍有効性を最初に決定した。コントロール群と処置群の間の平均腫瘍体積の相違として平均腫瘍体積の減少を計算した。腫瘍体積の抑制率(すなわち、影響率(F a))を、処置群の平均腫瘍体積の減少をコントロール群の平均腫瘍体積で割ることによって計算した。1 . 0 0 0 のF a は、腫瘍の完全な抑制を示した。本研究における協力性薬物作用の評価に使用した用量の固定された比は4 : 5 (m g / k g ゲムシタピン : μ g h u C B E 1 1) であった。この比は、2つの薬剤の中央値効果用量の比に基づく。この比は、以前のパイロット研究で決定した2つの薬剤についての中央値効果用量の比を基本としていた。表2 8 は、個別の処置および組み合わせ処置の用量 - 効果の関係を示す。

【 0 2 3 4 】

【表 28 - 1】

表 28: huCBE11およびゲムシタピン (Gem) ゲムシタピンおよびhuCBE11の個別処置および組み合わせ処置についての処置および日数による平均腫瘍サイズ および計算された抑癌率

| 処置 | 用量 (mg/kg) | 同時治療 | 用量 (mg/kg) | 日 | | | | | | | | | | |
|---------|---------------|------|---------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|
| | | | | 9 | 13 | 16 | 20 | 23 | 27 | 30 | 34 | 37 | 41 | 43 |
| | | | | 平均腫瘍体積 (mm ³) | | | | | | | | | | |
| ピビクル | | | | 111.8 | 172.6 | 265.0 | 401.0 | 527.2 | 668.6 | 816.2 | 1050.3 | 1208.0 | 1439.4 | 1606.7 |
| Gem | 5 | | | 101.0 | 141.8 | 204.1 | 276.8 | 371.6 | 506.7 | 616.2 | 740.4 | 877.5 | 1075.3 | 1244.3 |
| Gem | 10 | | | 102.4 | 140.9 | 169.0 | 231.7 | 311.2 | 417.4 | 499.5 | 642.3 | 723.7 | 865.2 | 975.7 |
| Gem | 20 | | | 105.9 | 111.0 | 99.8 | 101.1 | 147.3 | 225.1 | 322.6 | 443.0 | 522.1 | 674.3 | 753.0 |
| huCBE11 | 0.2 | | | 104.8 | 160.4 | 250.5 | 371.9 | 518.7 | 673.8 | 792.1 | 926.4 | 1048.5 | 1266.0 | 1452.0 |
| huCBE11 | 2 | | | 100.3 | 162.7 | 233.5 | 263.7 | 339.2 | 388.7 | 450.1 | 519.9 | 580.1 | 623.2 | 662.7 |
| huCBE11 | 4 | | | 125.8 | 180.9 | 247.6 | 278.0 | 344.3 | 385.8 | 480.1 | 558.9 | 591.1 | 702.0 | 775.1 |
| huCBE11 | 0.2 | Gem | 10 | 97.2 | 113.6 | 143.0 | 174.5 | 241.5 | 348.4 | 456.2 | 574.9 | 689.4 | 877.3 | 1012.8 |
| huCBE11 | 4 | Gem | 10 | 106.5 | 125.6 | 114.8 | 106.6 | 113.3 | 122.0 | 135.6 | 171.1 | 204.3 | 272.4 | 327.8 |
| huCBE11 | 0.2 | Gem | 20 | 110.8 | 110.7 | 107.4 | 101.7 | 109.6 | 138.1 | 164.5 | 221.7 | 272.9 | 337.6 | 395.0 |
| huCBE11 | 4 | Gem | 20 | 97.7 | 102.2 | 103.2 | 101.5 | 106.4 | 99.4 | 127.0 | 147.4 | 168.5 | 227.3 | 260.5 |
| huCBE11 | 4 | Gem | 5 | 103.7 | 130.7 | 137.4 | 155.0 | 160.9 | 191.7 | 216.2 | 279.0 | 318.0 | 405.3 | 469.8 |
| huCBE11 | 8 | Gem | 10 | 94.8 | 103.6 | 98.4 | 82.0 | 87.9 | 98.7 | 125.3 | 155.0 | 199.7 | 249.1 | 299.7 |
| huCBE11 | 20 | Gem | 25 | 99.5 | 110.9 | 93.3 | 77.0 | 83.5 | 85.1 | 96.7 | 124.2 | 165.4 | 204.8 | 264.0 |

【表 28 - 2】

表 28: huCBE11 およびゲムシタピン (Gem) ゲムシタピンおよびhuCBE11の個別処置および組み合わせ処置についての処置および日数による平均腫瘍サイズ および計算された抑制率
(続き)

| 処置 | 用量 (mg/kg) | 同時治療 | 用量 (mg/kg) | 日 | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------|------|---------------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
| | | | | 9 | 13 | 16 | 20 | 23 | 27 | 30 | 34 | 37 | 41 | 43 |
| 平均腫瘍体積減少 (mm ³) | | | | | | | | | | | | | | |
| ピビクル | | | | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| Gem | 5 | | | 10.8 | 30.8 | 60.9 | 124.2 | 155.6 | 161.9 | 200.0 | 309.9 | 330.5 | 364.1 | 362.4 |
| Gem | 10 | | | 9.4 | 31.7 | 96.0 | 169.3 | 216.0 | 251.2 | 316.7 | 408.0 | 484.3 | 574.2 | 631.0 |
| Gem | 20 | | | 5.9 | 61.6 | 165.2 | 299.9 | 379.9 | 443.5 | 493.6 | 607.3 | 685.9 | 765.1 | 853.7 |
| huCBE11 | 0.2 | | | 7.0 | 12.2 | 14.5 | 29.1 | 8.5 | -5.2 | 24.1 | 123.9 | 159.5 | 173.4 | 154.7 |
| huCBE11 | 2 | | | 11.5 | 9.9 | 31.5 | 137.3 | 188.0 | 279.9 | 366.1 | 530.4 | 627.9 | 816.2 | 944.0 |
| huCBE11 | 4 | | | -14.0 | -8.3 | 17.4 | 123.0 | 182.9 | 282.8 | 336.1 | 491.4 | 616.9 | 737.4 | 831.6 |
| huCBE11 | 0.2 | Gem | 10 | 14.6 | 59.0 | 122.0 | 226.5 | 285.7 | 320.2 | 360.0 | 475.4 | 518.6 | 562.1 | 593.9 |
| huCBE11 | 4 | Gem | 10 | 5.3 | 47.0 | 150.2 | 294.4 | 413.9 | 546.6 | 680.6 | 879.2 | 1003.7 | 1167.0 | 1278.9 |
| huCBE11 | 0.2 | Gem | 20 | 1.0 | 61.9 | 157.6 | 299.3 | 417.6 | 530.5 | 651.7 | 828.6 | 935.1 | 1101.8 | 1211.7 |
| huCBE11 | 4 | Gem | 20 | 14.1 | 70.4 | 161.8 | 299.5 | 420.8 | 569.2 | 689.2 | 902.9 | 1039.5 | 1212.1 | 1346.2 |
| huCBE11 | 4 | Gem | 5 | 8.1 | 41.9 | 127.6 | 246.0 | 366.3 | 476.9 | 600.0 | 771.3 | 890.0 | 1034.1 | 1136.9 |
| huCBE11 | 8 | Gem | 10 | 17.0 | 69.0 | 166.6 | 319.0 | 439.3 | 569.9 | 690.9 | 895.3 | 1008.3 | 1190.3 | 1307.0 |
| huCBE11 | 20 | Gem | 25 | 12.3 | 61.7 | 171.7 | 324.0 | 443.7 | 583.5 | 719.5 | 926.1 | 1042.6 | 1234.6 | 1342.7 |

【0236】

【表 28 - 3】

表 28: huCBE11 およびゲムシタピン (Gem) ゲムシタピンおよびhuCBE11の個別処置および組み合わせ処置についての処置および日数による平均腫瘍サイズ および計算された抑制率 (続き)

| 処置 | 用量 (mg/kg) | 同時治療 | 用量 (mg/kg) | 日 | | | | | | | | | | |
|------------|---------------|------|---------------|--------|--------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | | | 9 | 13 | 16 | 20 | 23 | 27 | 30 | 34 | 37 | 41 | 43 |
| 平均影響率 (Fa) | | | | | | | | | | | | | | |
| ピヒクル | | | | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| Gem | 5 | | | 0.097 | 0.178 | 0.230 | 0.310 | 0.295 | 0.242 | 0.245 | 0.295 | 0.274 | 0.253 | 0.226 |
| Gem | 10 | | | 0.084 | 0.184 | 0.362 | 0.422 | 0.410 | 0.376 | 0.388 | 0.388 | 0.401 | 0.399 | 0.393 |
| Gem | 20 | | | 0.053 | 0.357 | 0.623 | 0.748 | 0.721 | 0.663 | 0.605 | 0.578 | 0.568 | 0.532 | 0.531 |
| huCBE11 | 0.2 | | | 0.063 | 0.071 | 0.055 | 0.073 | 0.016 | -0.008 | 0.030 | 0.118 | 0.132 | 0.120 | 0.096 |
| huCBE11 | 2 | | | 0.103 | 0.057 | 0.119 | 0.342 | 0.357 | 0.419 | 0.449 | 0.505 | 0.520 | 0.567 | 0.588 |
| huCBE11 | 4 | | | -0.125 | -0.048 | 0.066 | 0.307 | 0.347 | 0.423 | 0.412 | 0.468 | 0.511 | 0.512 | 0.518 |
| huCBE11 | 0.2 | Gem | 10 | 0.131 | 0.342 | 0.460 | 0.565 | 0.542 | 0.479 | 0.441 | 0.453 | 0.429 | 0.391 | 0.370 |
| huCBE11 | 4 | Gem | 10 | 0.047 | 0.272 | 0.567 | 0.734 | 0.785 | 0.818 | 0.834 | 0.837 | 0.831 | 0.811 | 0.796 |
| huCBE11 | 0.2 | Gem | 20 | 0.009 | 0.359 | 0.595 | 0.746 | 0.792 | 0.793 | 0.798 | 0.789 | 0.774 | 0.765 | 0.754 |
| huCBE11 | 4 | Gem | 20 | 0.126 | 0.408 | 0.611 | 0.747 | 0.798 | 0.851 | 0.844 | 0.860 | 0.861 | 0.842 | 0.838 |
| huCBE11 | 4 | Gem | 5 | 0.072 | 0.243 | 0.482 | 0.613 | 0.695 | 0.713 | 0.735 | 0.734 | 0.737 | 0.718 | 0.708 |
| huCBE11 | 8 | Gem | 10 | 0.152 | 0.400 | 0.629 | 0.796 | 0.833 | 0.852 | 0.846 | 0.852 | 0.835 | 0.827 | 0.813 |
| huCBE11 | 20 | Gem | 25 | 0.110 | 0.357 | 0.648 | 0.808 | 0.842 | 0.873 | 0.882 | 0.882 | 0.863 | 0.858 | 0.836 |

【表 28 - 4】

表 28: huCBE11およびゲムシタピン (Gem) ゲムシタピンおよびhuCBE11の個別処置および組み合わせ処置についての処置および日数による平均腫瘍サイズ および計算された抑制率 (続き)

| 処置 | 用量 (mg/kg) | 同時治療 | 用量 (mg/kg) | 日 | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|---------------|------|---------------|--------|--------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | | | 9 | 13 | 16 | 20 | 23 | 27 | 30 | 34 | 37 | 41 | 43 | | | |
| 平均影響率/非影響率 (Fa/Fu) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ビヒクル | | | | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| Gem | 5 | | | 0.107 | 0.217 | 0.298 | 0.449 | 0.419 | 0.320 | 0.325 | 0.419 | 0.377 | 0.339 | 0.291 | | | |
| Gem | 10 | | | 0.092 | 0.225 | 0.568 | 0.731 | 0.694 | 0.602 | 0.634 | 0.635 | 0.669 | 0.664 | 0.647 | | | |
| Gem | 20 | | | 0.056 | 0.555 | 1.655 | 2.966 | 2.579 | 1.970 | 1.530 | 1.371 | 1.314 | 1.135 | 1.134 | | | |
| huCBE11 | 0.2 | | | 0.067 | 0.076 | 0.058 | 0.078 | 0.016 | -0.008 | 0.030 | 0.134 | 0.152 | 0.137 | 0.107 | | | |
| huCBE11 | 2 | | | 0.115 | 0.061 | 0.135 | 0.521 | 0.554 | 0.720 | 0.813 | 1.020 | 1.082 | 1.310 | 1.424 | | | |
| huCBE11 | 4 | | | -0.111 | -0.046 | 0.070 | 0.442 | 0.531 | 0.733 | 0.700 | 0.879 | 1.044 | 1.050 | 1.073 | | | |
| huCBE11 | 0.2 | Gem | 10 | 0.150 | 0.519 | 0.853 | 1.298 | 1.183 | 0.919 | 0.789 | 0.827 | 0.752 | 0.641 | 0.586 | | | |
| huCBE11 | 4 | Gem | 10 | 0.050 | 0.374 | 1.308 | 2.762 | 3.653 | 4.480 | 5.019 | 5.139 | 4.913 | 4.284 | 3.901 | | | |
| huCBE11 | 0.2 | Gem | 20 | 0.009 | 0.559 | 1.467 | 2.943 | 3.810 | 3.841 | 3.962 | 3.737 | 3.427 | 3.264 | 3.068 | | | |
| huCBE11 | 4 | Gem | 20 | 0.144 | 0.689 | 1.568 | 2.951 | 3.955 | 5.726 | 5.427 | 6.126 | 6.169 | 5.333 | 5.168 | | | |
| huCBE11 | 4 | Gem | 5 | 0.078 | 0.321 | 0.929 | 1.587 | 2.277 | 2.488 | 2.775 | 2.765 | 2.799 | 2.551 | 2.420 | | | |
| huCBE11 | 8 | Gem | 10 | 0.179 | 0.666 | 1.693 | 3.890 | 4.998 | 5.774 | 5.514 | 5.776 | 5.049 | 4.778 | 4.361 | | | |
| huCBE11 | 20 | Gem | 25 | 0.124 | 0.556 | 1.840 | 4.208 | 5.314 | 6.857 | 7.441 | 7.457 | 6.304 | 6.028 | 5.086 | | | |

Windows (登録商標) ベースの用量効果分析のための CalcuSyn V1.1 (Biosoft, Cambridge UK) ソフトウェアを使用した CI の計算によって、表 28 に示す huCBE11 + ゲムシタピン 組み合わせ療法 の固定された比のデータ によって協力作用を正式に評価した。組み合わせで投与した 処置 について、CI = 1 は累加有効性を示した。1 未満の CI は協力作用を示した。1 を超える CI は拮抗作用を

示した。

C I 計算で使用した用量 - 効果関係を、表 2 9 に示す。

【 0 2 3 8 】

【 表 2 9 】

表 29: 協力作作用計算のための h u C B E 1 1 およびゲムシタピンの用量 - 効果の関係

| 処置 | 用量 (mg/kg) | 同時処置 | 用量 (mg/kg) | 日 | | | | | | | | | |
|-------------|---------------|------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| | | | | 影響率 | | | | | | | | | |
| | | | | 16 | 20 | 23 | 27 | 30 | 34 | 37 | 41 | 43 | |
| 個別投与 | | | | | | | | | | | | | |
| huCBE11 | 0.2 | | | 0.055 | 0.073 | 0.016 | 0.000 | 0.030 | 0.118 | 0.132 | 0.120 | 0.096 | |
| | 2.0 | | | 0.119 | 0.342 | 0.357 | 0.419 | 0.449 | 0.505 | 0.520 | 0.567 | 0.588 | |
| | 4.0 | | | 0.120 | 0.307 | 0.347 | 0.423 | 0.412 | 0.468 | 0.511 | 0.512 | 0.518 | |
| Gem | 5 | | | 0.230 | 0.310 | 0.295 | 0.242 | 0.245 | 0.295 | 0.274 | 0.253 | 0.226 | |
| | 10 | | | 0.362 | 0.422 | 0.410 | 0.376 | 0.388 | 0.388 | 0.401 | 0.399 | 0.393 | |
| | 20 | | | 0.623 | 0.748 | 0.721 | 0.663 | 0.605 | 0.578 | 0.568 | 0.532 | 0.531 | |
| 組み合わせ (4:5) | | | | | | | | | | | | | |
| huCBE11 | 4 | Gem | 5 | 0.482 | 0.613 | 0.695 | 0.713 | 0.735 | 0.734 | 0.737 | 0.718 | 0.708 | |
| | 8 | | 10 | 0.629 | 0.796 | 0.833 | 0.852 | 0.846 | 0.852 | 0.835 | 0.827 | 0.813 | |
| | 20 | | 25 | 0.648 | 0.808 | 0.842 | 0.873 | 0.882 | 0.882 | 0.863 | 0.858 | 0.836 | |

h u C B E 1 1 とゲムシタピンとの個別の処置および組み合わせ処置の中央値効果用量を表 3 0 に示す。ゲムシタピンおよび h u C B E 1 1 の個別の処置および組み合わせ処置についての用量 - 応答関係の強さおよび形状を、それぞれ表 3 1 および 3 2 に示す。この研究で使用された正確な実験用量レベルのために計算した C I 値を、表 3 2 に示す。

【 0 2 3 9 】

本研究は完全に独立した作用様式を有すると考えられる薬物を使用するので、相互に排斥しないC I 値をたいてい適用した(表3および32~34を参照のこと)。4mg/kg huCBE11+5mg/kg ゲムシタビン、8mg/kg huCBE11+10mg/kg ゲムシタビン、および20mg/kg huCBE11+25mg/kg ゲムシタビン(すなわち、4:5の固定された比の組み合わせ)を使用する組み合わせの用量は、34日目~37日目で協力効果を示した。より低いこれらの2用量組み合わせがほとんどの処置日数で協力作用を示した(表32)。組み合わせの用量レベル範囲を超えるC I のシミュレーションを表33におよび34に示し、C I によって示した協力作用または拮抗作用の程度の全解釈を表3に示す。全処置期間を通して協力効果が認められた。腫瘍抑制率の関数としてのC I を、図13に示す。60%未満の腫瘍抑制レベルで協力作用が最も顕著であった。組み合わせの協力性効果のピークは、34日目に示された。有効性に対する協力効果を超える用量範囲を、図14に示す。20%~80%の腫瘍抑制が得られる用量範囲は、0.1mg/kgと10mg/kgとの間の用量レベルでの2つの薬物の組み合わせであった(図14)。この分析結果は、huCBE11+ゲムシタビンを使用した固定された比の組み合わせ処置(4:5)により、協力性抗腫瘍有効性を示すことが証明された。

【 0 2 4 0 】

【 表 3 0 】

表 30: 協力作用の決定: huCBE11 およびゲムシタピンの協力作用についての 効果用量中央値 (mg/kg; 効力)

| 日 | huCBE11 | | ゲムシタピン | |
|----|----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| | 個別投与 | 組み合わせ (4:5) | 個別投与 | 組み合わせ (4:5) |
| | | 効果用量中央値 (95% 信頼区間) | 信頼区間 | |
| 16 | 2077 (83 - 51942) | 3.6 (1.1 - 11.4) | 14.1 (11.7 - 17.0) | 4.5 (1.4 - 14.2) |
| 20 | 9.5 (2.2 - 42.0) | 1.3 (0.1 - 13.2) | 10.1 (7.4 - 13.7) | 1.7 (0.2 - 16.5) |
| 23 | 4.8 (2.0 - 11.7) | 0.6 (0.1 - 4.2) | 10.8 (8.1 - 14.3) | 0.7 (0.1 - 5.3) |
| 27 | 3.3 (1.6 - 6.7) | 0.7 (0.1 - 4.1) | 12.8 (10.4 - 15.8) | 0.9 (0.1 - 5.1) |
| 30 | 3.8 (1.5 - 9.6) | 0.6 (0.2 - 1.8) | 14.1 (12.7 - 15.6) | 0.8 (0.3 - 2.3) |
| 34 | 3.2 (1.3 - 8.4) | 0.6 (0.2 - 2.2) | 14.8 (11.7 - 18.7) | 0.8 (0.2 - 2.7) |
| 37 | 2.7 (1.3 - 5.6) | 0.4 (0.2 - 1.1) | 15.0 (14.1 - 16.0) | 0.5 (0.2 - 1.3) |
| 41 | 2.4 (1.0 - 6.2) | 0.6 (0.2 - 1.8) | 16.8 (15.3 - 18.5) | 0.7 (0.2 - 2.2) |
| 43 | 2.4 (0.9 - 6.1) | 0.4 (0.1 - 1.5) | 16.9 (14.5 - 19.7) | 0.6 (0.2 - 1.9) |

【 0 2 4 1 】

【 表 3 1 】

表 31: 協力作用の決定: huCBE1.1 およびゲムシタピンの個別の処置および組み合わせ処置についての用量-効果曲線の特徴

| 日 | 値 | huCBE1.1 | | | ゲムシタピン | | | huCBE1.1 + ゲムシタピン | | |
|----|-----|----------|-------|--------|--------|-------|--------|-------------------|-------|--------|
| | | 勾配 | Y-切片 | R | 勾配 | Y-切片 | R | 勾配 | Y-切片 | R |
| 16 | 平均 | 0.30 | -1.01 | 0.9774 | 1.23 | -1.42 | 0.9898 | 0.41 | -0.23 | 0.8811 |
| | SEM | 0.07 | 0.04 | | 0.18 | 0.18 | | 0.22 | 0.21 | |
| 20 | 平均 | 0.64 | -0.62 | 0.9556 | 1.36 | -1.37 | 0.9629 | 0.58 | -0.07 | 0.8608 |
| | SEM | 0.20 | 0.11 | | 0.38 | 0.39 | | 0.34 | 0.34 | |
| 23 | 平均 | 1.26 | -0.86 | 0.9728 | 1.31 | -1.35 | 0.9688 | 0.50 | 0.12 | 0.8611 |
| | SEM | 0.30 | 0.17 | | 0.34 | 0.35 | | 0.30 | 0.29 | |
| 27 | 平均 | 3.19 | -1.64 | 0.9756 | 1.31 | -1.45 | 0.9852 | 0.61 | 0.09 | 0.9049 |
| | SEM | 0.72 | 0.40 | | 0.23 | 0.24 | | 0.29 | 0.28 | |
| 30 | 平均 | 1.14 | -0.66 | 0.9654 | 1.12 | -1.29 | 0.9969 | 0.60 | 0.12 | 0.9568 |
| | SEM | 0.31 | 0.17 | | 0.09 | 0.09 | | 0.18 | 0.18 | |
| 34 | 平均 | 0.69 | -0.35 | 0.9587 | 0.86 | -1.00 | 0.9854 | 0.60 | 0.13 | 0.9401 |
| | SEM | 0.21 | 0.12 | | 0.15 | 0.15 | | 0.22 | 0.21 | |
| 37 | 平均 | 0.70 | -0.30 | 0.9716 | 0.90 | -1.06 | 0.9989 | 0.49 | 0.19 | 0.9430 |
| | SEM | 0.17 | 0.09 | | 0.04 | 0.04 | | 0.17 | 0.17 | |
| 41 | 平均 | 0.76 | -0.29 | 0.9518 | 0.87 | -1.07 | 0.9979 | 0.52 | 0.13 | 0.9433 |
| | SEM | 0.24 | 0.14 | | 0.06 | 0.06 | | 0.18 | 0.18 | |
| 43 | 平均 | 0.86 | -0.32 | 0.9484 | 0.98 | -1.20 | 0.9949 | 0.45 | 0.16 | 0.9216 |
| | SEM | 0.29 | 0.16 | | 0.10 | 0.10 | | 0.19 | 0.18 | |

【 0 2 4 2 】

【表 3 2】

表 32: 協力作用の決定: 実験値についての組み合わせ指数 (CI)

| 日 | 用量 (mg/kg) | | 影響率 | 作用機構 | | | |
|----|------------|--------|-------|-------|------|-------|------|
| | huCBE11 | ゲムシタピシ | | 相互排反 | | 排反しない | |
| | | | | CI | 協力作用 | CI | 協力作用 |
| 16 | 4 | 5 | 0.482 | 0.378 | +++ | 0.379 | +++ |
| | 8 | 10 | 0.629 | 0.463 | +++ | 0.463 | +++ |
| | 20 | 25 | 0.648 | 1.082 | ± | 1.084 | ± |
| 20 | 4 | 5 | 0.613 | 0.559 | +++ | 0.631 | +++ |
| | 8 | 10 | 0.796 | 0.465 | +++ | 0.501 | +++ |
| | 20 | 25 | 0.808 | 1.085 | ± | 1.276 | -- |
| 23 | 4 | 5 | 0.695 | 0.679 | +++ | 0.786 | ++ |
| | 8 | 10 | 0.833 | 0.735 | ++ | 0.862 | + |
| | 20 | 25 | 0.842 | 1.746 | --- | 2.458 | --- |
| 27 | 4 | 5 | 0.713 | 1.115 | - | 1.295 | -- |
| | 8 | 10 | 0.852 | 1.620 | --- | 1.911 | --- |
| | 20 | 25 | 0.873 | 3.795 | ---- | 5.297 | ---- |
| 30 | 4 | 5 | 0.735 | 0.569 | +++ | 0.630 | +++ |
| | 8 | 10 | 0.846 | 0.623 | +++ | 0.695 | +++ |
| | 20 | 25 | 0.882 | 1.186 | - | 1.448 | -- |
| 34 | 4 | 5 | 0.734 | 0.387 | +++ | 0.417 | +++ |
| | 8 | 10 | 0.852 | 0.284 | ++++ | 0.301 | +++ |
| | 20 | 25 | 0.882 | 0.498 | +++ | 0.552 | +++ |
| 37 | 4 | 5 | 0.737 | 0.441 | +++ | 0.476 | +++ |
| | 8 | 10 | 0.835 | 0.396 | +++ | 0.428 | +++ |
| | 20 | 25 | 0.863 | 0.738 | ++ | 0.851 | + |
| 41 | 4 | 5 | 0.718 | 0.578 | +++ | 0.626 | +++ |
| | 8 | 10 | 0.827 | 0.513 | +++ | 0.554 | +++ |
| | 20 | 25 | 0.858 | 0.949 | ± | 1.092 | ± |
| 43 | 4 | 5 | 0.708 | 0.726 | ++ | 0.799 | ++ |
| | 8 | 10 | 0.813 | 0.748 | ++ | 0.829 | ++ |
| | 20 | 25 | 0.836 | 1.560 | --- | 1.918 | --- |

++++ 強い協力作用
 +++ 協力作用
 ++ 中程度の協力作用
 + わずかな協力作用
 ± ほぼ累加的
 - わずかな拮抗作用
 -- 中程度の拮抗作用
 --- 拮抗作用
 ---- 強い拮抗作用

【 0 2 4 3 】

【表 3 3 - 1】

表 33: 協力作用の決定: 組み合わせ指数 (CI) のシミュレーション: 相互排反作用様式

| Fa | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 |
|------|---------|------------|---------|-------|--------|------------|---------|-------|--------|------------|---------|-------|
| | | huCBE11 | ゲムシタピン | | | huCBE11 | ゲムシタピン | | | huCBE11 | ゲムシタピン | |
| | 16 日目 | | | | | 20 日目 | | | | 23 日目 | | |
| 0.02 | 0.043 | 0.00025 | 0.00031 | +++++ | 0.079 | 0.00161 | 0.00201 | +++++ | 0.002 | 0.00025 | 0.00032 | +++++ |
| 0.05 | 0.022 | 0.0026 | 0.0032 | +++++ | 0.097 | 0.0082 | 0.0103 | +++++ | 0.005 | 0.0017 | 0.0021 | +++++ |
| 0.10 | 0.019 | 0.0161 | 0.0202 | +++++ | 0.117 | 0.0299 | 0.0374 | ++++ | 0.013 | 0.0073 | 0.0091 | +++++ |
| 0.15 | 0.025 | 0.0504 | 0.0630 | +++++ | 0.135 | 0.0664 | 0.0830 | ++++ | 0.023 | 0.0183 | 0.0229 | +++++ |
| 0.20 | 0.038 | 0.119 | 0.148 | +++++ | 0.154 | 0.121 | 0.151 | ++++ | 0.035 | 0.037 | 0.046 | +++++ |
| 0.25 | 0.056 | 0.241 | 0.301 | +++++ | 0.172 | 0.199 | 0.249 | ++++ | 0.049 | 0.065 | 0.081 | +++++ |
| 0.30 | 0.082 | 0.447 | 0.559 | +++++ | 0.193 | 0.307 | 0.384 | ++++ | 0.067 | 0.106 | 0.133 | +++++ |
| 0.35 | 0.118 | 0.784 | 0.980 | ++++ | 0.215 | 0.455 | 0.569 | ++++ | 0.088 | 0.167 | 0.209 | +++++ |
| 0.40 | 0.166 | 1.33 | 1.66 | ++++ | 0.240 | 0.66 | 0.82 | ++++ | 0.114 | 0.26 | 0.32 | ++++ |
| 0.45 | 0.231 | 2.19 | 2.74 | ++++ | 0.269 | 0.94 | 1.17 | ++++ | 0.145 | 0.38 | 0.48 | ++++ |
| 0.50 | 0.320 | 3.59 | 4.49 | +++ | 0.303 | 1.32 | 1.65 | +++ | 0.185 | 0.57 | 0.71 | ++++ |
| 0.55 | 0.445 | 5.89 | 7.36 | +++ | 0.344 | 1.87 | 2.34 | +++ | 0.235 | 0.85 | 1.06 | +++ |
| 0.60 | 0.623 | 9.75 | 12.18 | +++ | 0.394 | 2.66 | 3.33 | +++ | 0.301 | 1.28 | 1.60 | +++ |
| 0.65 | 0.886 | 16.5 | 20.6 | + | 0.457 | 3.8 | 4.8 | +++ | 0.389 | 2.0 | 2.4 | +++ |
| 0.70 | 1.290 | 28.9 | 36.1 | -- | 0.539 | 5.7 | 7.1 | +++ | 0.511 | 3.1 | 3.8 | +++ |
| 0.75 | 1.953 | 53.6 | 67.1 | --- | 0.653 | 8.8 | 11.0 | +++ | 0.691 | 5.1 | 6.3 | +++ |
| 0.80 | 3.138 | 109 | 136 | --- | 0.822 | 14 | 18 | + | 0.977 | 9 | 11 | ± |
| 0.85 | 5.574 | 256 | 321 | ---- | 1.099 | 26 | 33 | ± | 1.484 | 18 | 22 | --- |
| 0.90 | 11.957 | 800 | 1001 | ----- | 1.646 | 59 | 73 | --- | 2.587 | 45 | 56 | --- |
| 0.95 | 41.022 | 5032 | 6290 | ----- | 3.260 | 213 | 266 | --- | 6.347 | 197 | 246 | ---- |
| 0.99 | 624.821 | 292040 | 365040 | ----- | 15.883 | 3666 | 4583 | ----- | 46.123 | 5200 | 6499 | ----- |

【 0 2 4 4 】

【表 3 3 - 2】

表 33: 協力作用の決定: 組み合わせ指数 (CI) のシミュレーション: 相互排反作用様式 (続き)

| Fa | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 |
|------|--------|------------|---------|-------|-------|------------|---------|-------|-------|------------|---------|------|
| | | huCBE11 | ゲムシタピン | | | huCBE11 | ゲムシタピン | | | huCBE11 | ゲムシタピン | |
| | 27 日目 | | | | | 30 日目 | | | | 34 日目 | | |
| 0.02 | 0.003 | 0.00118 | 0.00148 | +++++ | 0.011 | 0.00097 | 0.00121 | ++++ | 0.088 | 0.00095 | 0.00119 | ++++ |
| 0.05 | 0.009 | 0.0056 | 0.0070 | +++++ | 0.022 | 0.0047 | 0.0058 | +++++ | 0.111 | 0.0046 | 0.0057 | ++++ |
| 0.10 | 0.022 | 0.0190 | 0.0238 | +++++ | 0.039 | 0.0162 | 0.0202 | +++++ | 0.134 | 0.0159 | 0.0198 | ++++ |
| 0.15 | 0.036 | 0.0407 | 0.0509 | +++++ | 0.057 | 0.0349 | 0.0436 | +++++ | 0.151 | 0.0342 | 0.0428 | ++++ |
| 0.20 | 0.054 | 0.072 | 0.090 | +++++ | 0.074 | 0.062 | 0.078 | +++++ | 0.165 | 0.061 | 0.076 | ++++ |
| 0.25 | 0.076 | 0.116 | 0.144 | +++++ | 0.093 | 0.100 | 0.126 | +++++ | 0.178 | 0.098 | 0.123 | ++++ |
| 0.30 | 0.102 | 0.174 | 0.218 | ++++ | 0.113 | 0.153 | 0.191 | ++++ | 0.190 | 0.149 | 0.187 | ++++ |
| 0.35 | 0.134 | 0.254 | 0.317 | ++++ | 0.135 | 0.223 | 0.279 | ++++ | 0.202 | 0.218 | 0.273 | ++++ |
| 0.40 | 0.173 | 0.36 | 0.45 | ++++ | 0.159 | 0.32 | 0.40 | ++++ | 0.215 | 0.31 | 0.39 | ++++ |
| 0.45 | 0.222 | 0.50 | 0.63 | ++++ | 0.187 | 0.45 | 0.56 | ++++ | 0.227 | 0.44 | 0.55 | ++++ |
| 0.50 | 0.283 | 0.70 | 0.88 | ++++ | 0.219 | 0.62 | 0.78 | ++++ | 0.240 | 0.61 | 0.76 | ++++ |
| 0.55 | 0.361 | 0.97 | 1.22 | +++ | 0.256 | 0.87 | 1.09 | +++ | 0.254 | 0.85 | 1.07 | ++++ |
| 0.60 | 0.465 | 1.36 | 1.70 | +++ | 0.300 | 1.23 | 1.53 | +++ | 0.269 | 1.20 | 1.50 | ++++ |
| 0.65 | 0.605 | 1.9 | 2.4 | +++ | 0.355 | 1.7 | 2.2 | +++ | 0.285 | 1.7 | 2.1 | ++++ |
| 0.70 | 0.804 | 2.8 | 3.5 | ++ | 0.424 | 2.6 | 3.2 | +++ | 0.305 | 2.5 | 3.1 | +++ |
| 0.75 | 1.101 | 4.3 | 5.3 | - | 0.515 | 3.9 | 4.9 | +++ | 0.328 | 3.8 | 4.7 | +++ |
| 0.80 | 1.582 | 7 | 9 | --- | 0.645 | 6 | 8 | +++ | 0.357 | 6 | 8 | +++ |
| 0.85 | 2.459 | 12 | 15 | --- | 0.846 | 11 | 14 | ++ | 0.396 | 11 | 14 | +++ |
| 0.90 | 4.435 | 26 | 32 | ---- | 1.214 | 24 | 30 | -- | 0.456 | 24 | 29 | +++ |
| 0.95 | 11.599 | 88 | 110 | ----- | 2.174 | 84 | 104 | --- | 0.577 | 82 | 102 | +++ |
| 0.99 | 99.562 | 1319 | 1648 | ----- | 7.879 | 1301 | 1626 | ---- | 1.008 | 1267 | 1584 | ± |

【 0 2 4 5 】

【 表 3 3 - 3 】

表 33: 協力作用の決定：組み合わせ指数 (C I) のシミュレーション：相互排反作用様式 (続き)

| Fa | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 |
|------|-------|------------|---------|-------|-------|------------|---------|-------|--------|------------|---------|-------|
| | | huCBE11 | ブムシタピン | | | huCBE11 | ブムシタピン | | | huCBE11 | ブムシタピン | |
| | 37日目 | | | | 41日目 | | | | 43日目 | | | |
| 0.02 | 0.015 | 0.00014 | 0.00018 | +++++ | 0.025 | 0.00032 | 0.00040 | +++++ | 0.003 | 0.00007 | 0.00009 | +++++ |
| 0.05 | 0.027 | 0.0010 | 0.0012 | +++++ | 0.044 | 0.0020 | 0.0025 | +++++ | 0.009 | 0.0006 | 0.0008 | +++++ |
| 0.10 | 0.044 | 0.0045 | 0.0057 | +++++ | 0.069 | 0.0083 | 0.0103 | +++++ | 0.020 | 0.0032 | 0.0040 | +++++ |
| 0.15 | 0.059 | 0.0117 | 0.0146 | +++++ | 0.092 | 0.0200 | 0.0250 | +++++ | 0.033 | 0.0091 | 0.0113 | +++++ |
| 0.20 | 0.073 | 0.024 | 0.030 | +++++ | 0.114 | 0.039 | 0.049 | ++++ | 0.048 | 0.020 | 0.025 | +++++ |
| 0.25 | 0.089 | 0.043 | 0.054 | +++++ | 0.136 | 0.068 | 0.085 | ++++ | 0.066 | 0.038 | 0.047 | +++++ |
| 0.30 | 0.104 | 0.072 | 0.090 | ++++ | 0.159 | 0.110 | 0.137 | ++++ | 0.086 | 0.066 | 0.083 | +++++ |
| 0.35 | 0.121 | 0.114 | 0.143 | ++++ | 0.183 | 0.170 | 0.212 | ++++ | 0.111 | 0.110 | 0.138 | ++++ |
| 0.40 | 0.139 | 0.18 | 0.22 | ++++ | 0.208 | 0.26 | 0.32 | ++++ | 0.140 | 0.18 | 0.22 | ++++ |
| 0.45 | 0.160 | 0.27 | 0.34 | ++++ | 0.237 | 0.38 | 0.47 | ++++ | 0.176 | 0.28 | 0.35 | ++++ |
| 0.50 | 0.182 | 0.40 | 0.51 | ++++ | 0.268 | 0.55 | 0.69 | ++++ | 0.219 | 0.44 | 0.55 | ++++ |
| 0.55 | 0.209 | 0.61 | 0.76 | ++++ | 0.304 | 0.81 | 1.02 | +++ | 0.273 | 0.69 | 0.86 | ++++ |
| 0.60 | 0.239 | 0.93 | 1.16 | ++++ | 0.345 | 1.21 | 1.51 | +++ | 0.343 | 1.09 | 1.37 | +++ |
| 0.65 | 0.276 | 1.4 | 1.8 | ++++ | 0.394 | 1.8 | 2.3 | +++ | 0.433 | 1.8 | 2.2 | +++ |
| 0.70 | 0.323 | 2.3 | 2.9 | +++ | 0.454 | 2.8 | 3.5 | +++ | 0.557 | 2.9 | 3.7 | +++ |
| 0.75 | 0.383 | 3.8 | 4.8 | +++ | 0.531 | 4.5 | 5.7 | +++ | 0.735 | 5.2 | 6.4 | ++ |
| 0.80 | 0.467 | 7 | 9 | +++ | 0.636 | 8 | 10 | +++ | 1.009 | 10 | 12 | ± |
| 0.85 | 0.595 | 14 | 17 | +++ | 0.791 | 15 | 19 | ++ | 1.482 | 21 | 27 | --- |
| 0.90 | 0.825 | 36 | 45 | ++ | 1.059 | 37 | 47 | ± | 2.469 | 60 | 75 | --- |
| 0.95 | 1.410 | 166 | 207 | -- | 1.699 | 156 | 195 | --- | 5.643 | 321 | 402 | ---- |
| 0.99 | 4.851 | 4830 | 6037 | ---- | 4.882 | 3675 | 4594 | ---- | 35.251 | 12948 | 16185 | ----- |

【 0 2 4 6 】

【表 3 4 - 1】

表 34: 協力作用の決定: 組み合わせ指数 (CI) のシミュレーション:

相互に排反しない (完全に独立した) 作用様式

| Fa | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | |
|------|---------|------------|---------|-------|--------|------------|---------|-------|--------|------------|---------|-------|-------|
| | | huCBE11 | ゲムシタピン | | | huCBE11 | ゲムシタピン | | | huCBE11 | ゲムシタピン | | |
| | 16日目 | | | | 20日目 | | | | 23日目 | | | | |
| 0.02 | 0.043 | 0.00025 | 0.00031 | +++++ | 0.079 | 0.00161 | 0.00201 | +++++ | 0.002 | 0.00025 | 0.00032 | +++++ | |
| 0.05 | 0.022 | 0.0026 | 0.0032 | +++++ | 0.097 | 0.0082 | 0.0103 | +++++ | 0.005 | 0.0017 | 0.0021 | +++++ | |
| 0.10 | 0.019 | 0.0161 | 0.0202 | +++++ | 0.119 | 0.0299 | 0.0374 | ++++ | 0.013 | 0.0073 | 0.0091 | +++++ | |
| 0.15 | 0.026 | 0.0504 | 0.0630 | +++++ | 0.139 | 0.0664 | 0.0830 | ++++ | 0.023 | 0.0183 | 0.0229 | +++++ | |
| 0.20 | 0.038 | 0.119 | 0.148 | +++++ | 0.158 | 0.121 | 0.151 | ++++ | 0.035 | 0.037 | 0.046 | +++++ | |
| 0.25 | 0.057 | 0.241 | 0.301 | +++++ | 0.179 | 0.199 | 0.249 | ++++ | 0.050 | 0.065 | 0.081 | +++++ | |
| 0.30 | 0.082 | 0.447 | 0.559 | +++++ | 0.201 | 0.307 | 0.384 | ++++ | 0.068 | 0.106 | 0.133 | +++++ | |
| 0.35 | 0.118 | 0.784 | 0.980 | ++++ | 0.226 | 0.455 | 0.569 | ++++ | 0.090 | 0.167 | 0.209 | +++++ | |
| 0.40 | 0.166 | 1.33 | 1.66 | ++++ | 0.255 | 0.66 | 0.82 | ++++ | 0.117 | 0.26 | 0.32 | ++++ | |
| 0.45 | 0.231 | 2.19 | 2.74 | ++++ | 0.288 | 0.94 | 1.17 | ++++ | 0.150 | 0.38 | 0.48 | ++++ | |
| 0.50 | 0.321 | 3.59 | 4.49 | +++ | 0.326 | 1.32 | 1.65 | +++ | 0.193 | 0.57 | 0.71 | +++ | |
| 0.55 | 0.446 | 5.89 | 7.36 | +++ | 0.373 | 1.87 | 2.34 | +++ | 0.248 | 0.85 | 1.06 | +++ | |
| 0.60 | 0.624 | 9.75 | 12.18 | +++ | 0.430 | 2.66 | 3.33 | +++ | 0.322 | 1.28 | 1.60 | +++ | |
| 0.65 | 0.887 | 16.5 | 20.6 | + | 0.503 | 3.8 | 4.8 | +++ | 0.424 | 2.0 | 2.4 | +++ | |
| 0.70 | 1.291 | 28.9 | 36.1 | -- | 0.600 | 5.7 | 7.1 | +++ | 0.572 | 3.1 | 3.8 | +++ | |
| 0.75 | 1.954 | 53.6 | 67.1 | --- | 0.734 | 8.8 | 11.0 | ++ | 0.803 | 5.1 | 6.3 | ++ | |
| 0.80 | 3.140 | 109 | 136 | --- | 0.934 | 14 | 18 | ± | 1.199 | 9 | 11 | - | |
| 0.85 | 5.576 | 256 | 321 | ---- | 1.266 | 26 | 33 | -- | 1.999 | 18 | 22 | --- | |
| 0.90 | 11.961 | 800 | 1001 | ----- | 1.930 | 59 | 73 | --- | 4.158 | 45 | 56 | ---- | |
| 0.95 | 41.028 | 5032 | 6290 | ----- | 3.930 | 213 | 266 | ---- | 15.863 | 197 | 246 | ----- | |
| 0.99 | 624.846 | 292040 | 365040 | ----- | 20.339 | 3666 | 4583 | ----- | 555.03 | 9 | 5200 | 6499 | ----- |

【 0 2 4 7 】

【表 3 4 - 2】

表 34: 協力作用の決定: 組み合わせ指数 (CI) のシミュレーション:

相互に排反しない (完全に独立した) 作用様式 (続き)

| Fa | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 |
|------|---------|------------|---------|-------|--------|------------|---------|-------|-------|------------|---------|-------|
| | | huCBE11 | ブムシタピン | | | huCBE11 | ブムシタピン | | | huCBE11 | ブムシタピン | |
| | 27 日目 | | | | 30 日目 | | | | 34 日目 | | | |
| 0.02 | 0.003 | 0.00118 | 0.00148 | +++++ | 0.011 | 0.00097 | 0.00121 | +++++ | 0.089 | 0.00095 | 0.00119 | +++++ |
| 0.05 | 0.009 | 0.0056 | 0.0070 | +++++ | 0.022 | 0.0047 | 0.0058 | +++++ | 0.112 | 0.0046 | 0.0057 | ++++ |
| 0.10 | 0.022 | 0.0190 | 0.0238 | +++++ | 0.040 | 0.0162 | 0.0202 | +++++ | 0.136 | 0.0159 | 0.0198 | ++++ |
| 0.15 | 0.037 | 0.0407 | 0.0509 | +++++ | 0.057 | 0.0349 | 0.0436 | +++++ | 0.154 | 0.0342 | 0.0428 | ++++ |
| 0.20 | 0.055 | 0.072 | 0.090 | +++++ | 0.075 | 0.062 | 0.078 | +++++ | 0.169 | 0.061 | 0.076 | ++++ |
| 0.25 | 0.077 | 0.116 | 0.144 | +++++ | 0.095 | 0.100 | 0.126 | +++++ | 0.183 | 0.098 | 0.123 | ++++ |
| 0.30 | 0.104 | 0.174 | 0.218 | ++++ | 0.115 | 0.153 | 0.191 | ++++ | 0.196 | 0.149 | 0.187 | ++++ |
| 0.35 | 0.138 | 0.254 | 0.317 | ++++ | 0.138 | 0.223 | 0.279 | ++++ | 0.209 | 0.218 | 0.273 | ++++ |
| 0.40 | 0.179 | 0.36 | 0.45 | ++++ | 0.164 | 0.32 | 0.40 | ++++ | 0.222 | 0.31 | 0.39 | ++++ |
| 0.45 | 0.231 | 0.50 | 0.63 | ++++ | 0.194 | 0.45 | 0.56 | ++++ | 0.235 | 0.44 | 0.55 | ++++ |
| 0.50 | 0.297 | 0.70 | 0.88 | ++++ | 0.228 | 0.62 | 0.78 | ++++ | 0.249 | 0.61 | 0.76 | ++++ |
| 0.55 | 0.384 | 0.97 | 1.22 | +++ | 0.268 | 0.87 | 1.09 | ++++ | 0.265 | 0.85 | 1.07 | ++++ |
| 0.60 | 0.501 | 1.36 | 1.70 | +++ | 0.317 | 1.23 | 1.53 | +++ | 0.281 | 1.20 | 1.50 | ++++ |
| 0.65 | 0.663 | 1.9 | 2.4 | +++ | 0.378 | 1.7 | 2.2 | +++ | 0.300 | 1.7 | 2.1 | ++++ |
| 0.70 | 0.899 | 2.8 | 3.5 | + | 0.457 | 2.6 | 3.2 | +++ | 0.322 | 2.5 | 3.1 | +++ |
| 0.75 | 1.267 | 4.3 | 5.3 | -- | 0.565 | 3.9 | 4.9 | +++ | 0.349 | 3.8 | 4.7 | +++ |
| 0.80 | 1.894 | 7 | 9 | --- | 0.723 | 6 | 8 | ++ | 0.383 | 6 | 8 | +++ |
| 0.85 | 3.132 | 12 | 15 | --- | 0.980 | 11 | 14 | ± | 0.429 | 11 | 14 | +++ |
| 0.90 | 6.304 | 26 | 32 | ---- | 1.488 | 24 | 30 | --- | 0.502 | 24 | 29 | +++ |
| 0.95 | 21.318 | 88 | 110 | ----- | 3.050 | 84 | 104 | --- | 0.656 | 82 | 102 | +++ |
| 0.99 | 470.496 | 1319 | 1648 | ----- | 19.243 | 1301 | 1626 | ----- | 1.262 | 1267 | 1584 | -- |

【 0 2 4 8 】

【表 3 4 - 3】

表 34: 協力作用の決定: 組み合わせ指数 (CI) のシミュレーション:

相互に排反しない (完全に独立した) 作用様式 (続き)

| Fa | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | CI | 用量 (mg/kg) | | 記号 | |
|-------|--------|------------|---------|-------|-------|------------|---------|-------|---------|------------|---------|-------|--|
| | | huCBE11 | ブムシタピン | | | huCBE11 | ブムシタピン | | | huCBE11 | ブムシタピン | | |
| 37 日目 | | | | | 41 日目 | | | | | 43 日目 | | | |
| 0.02 | 0.015 | 0.00014 | 0.00018 | +++++ | 0.025 | 0.00032 | 0.00040 | +++++ | 0.003 | 0.00007 | 0.00009 | +++++ | |
| 0.05 | 0.027 | 0.0010 | 0.0012 | +++++ | 0.044 | 0.0020 | 0.0025 | +++++ | 0.009 | 0.0006 | 0.0008 | +++++ | |
| 0.10 | 0.044 | 0.0045 | 0.0057 | +++++ | 0.070 | 0.0083 | 0.0103 | +++++ | 0.020 | 0.0032 | 0.0040 | +++++ | |
| 0.15 | 0.059 | 0.0117 | 0.0146 | +++++ | 0.093 | 0.0200 | 0.0250 | +++++ | 0.033 | 0.0091 | 0.0113 | +++++ | |
| 0.20 | 0.074 | 0.024 | 0.030 | +++++ | 0.115 | 0.039 | 0.049 | ++++ | 0.048 | 0.020 | 0.025 | +++++ | |
| 0.25 | 0.089 | 0.043 | 0.054 | +++++ | 0.138 | 0.068 | 0.085 | ++++ | 0.066 | 0.038 | 0.047 | +++++ | |
| 0.30 | 0.106 | 0.072 | 0.090 | ++++ | 0.162 | 0.110 | 0.137 | ++++ | 0.087 | 0.066 | 0.083 | +++++ | |
| 0.35 | 0.123 | 0.114 | 0.143 | ++++ | 0.187 | 0.170 | 0.212 | ++++ | 0.113 | 0.110 | 0.138 | ++++ | |
| 0.40 | 0.142 | 0.18 | 0.22 | ++++ | 0.214 | 0.26 | 0.32 | ++++ | 0.143 | 0.18 | 0.22 | ++++ | |
| 0.45 | 0.163 | 0.27 | 0.34 | ++++ | 0.244 | 0.38 | 0.47 | ++++ | 0.180 | 0.28 | 0.35 | ++++ | |
| 0.50 | 0.187 | 0.40 | 0.51 | ++++ | 0.277 | 0.55 | 0.69 | ++++ | 0.225 | 0.44 | 0.55 | ++++ | |
| 0.55 | 0.215 | 0.61 | 0.76 | ++++ | 0.316 | 0.81 | 1.02 | +++ | 0.283 | 0.69 | 0.86 | ++++ | |
| 0.60 | 0.249 | 0.93 | 1.16 | ++++ | 0.361 | 1.21 | 1.51 | +++ | 0.358 | 1.09 | 1.37 | +++ | |
| 0.65 | 0.289 | 1.4 | 1.8 | ++++ | 0.416 | 1.8 | 2.3 | +++ | 0.458 | 1.8 | 2.2 | +++ | |
| 0.70 | 0.341 | 2.3 | 2.9 | +++ | 0.484 | 2.8 | 3.5 | +++ | 0.600 | 2.9 | 3.7 | +++ | |
| 0.75 | 0.410 | 3.8 | 4.8 | +++ | 0.573 | 4.5 | 5.7 | +++ | 0.810 | 5.2 | 6.4 | ++ | |
| 0.80 | 0.509 | 7 | 9 | +++ | 0.698 | 8 | 10 | +++ | 1.155 | 10 | 12 | - | |
| 0.85 | 0.667 | 14 | 17 | +++ | 0.891 | 15 | 19 | ++ | 1.807 | 21 | 27 | --- | |
| 0.90 | 0.972 | 36 | 45 | ± | 1.246 | 37 | 47 | -- | 3.411 | 60 | 75 | ---- | |
| 0.95 | 1.874 | 166 | 207 | --- | 2.216 | 156 | 195 | --- | 10.872 | 321 | 402 | ----- | |
| 0.99 | 10.732 | 4830 | 6037 | ----- | 9.792 | 3675 | 4594 | ---- | 266.201 | 12948 | 16185 | ----- | |

要するに、KM-20L2ヒト結腸直腸腺癌を皮下移植した胸腺欠損ヌードマウスにおけるLT 受容体活性化mAbであるhuCBE11と化学療法剤であるゲムシタビンとの組み合わせ処置により、huCBE11とゲムシタビンとの組み合わせ処置の効果は協力的であると判断された。

【0249】

（実施例5：植物アルカロイドである化学療法剤と組み合わせたLT Rアゴニストの抗腫瘍効果）

（huCBE11とタキソールの組み合わせの抗腫瘍効果）

植物アルカロイド化学療法剤（例えば、タキソール）とLT 受容体活性化mAbであるhuCBE11との組み合わせ処置を使用して癌処置で相乗効果が得られるかどうかを決定するために、Widr異種移植片モデルにおいて抗体/化学療法剤組み合わせを使用して、潜在的な協力的抗腫瘍活性および抗腫瘍活性の増強を試験した。

【0250】

組み合わせ抗腫瘍効果の研究のための適切なタキソールおよびhuCBE11の用量を決定するために、用量範囲決定研究を最初に行った。各薬剤の研究により、腫瘍成長抑制に対する各薬剤の抗腫瘍効果も試験した。確立されたWidr腫瘍を保有する胸腺欠損ヌードマウスを、生理食塩水（コントロール）、huCBE11（5 μ g、50 μ g、100 μ g、または500 μ g）、またはタキソール（3.13mg/kgから25mg/kgまでの用量範囲）のいずれかで処置した（生理食塩水コントロールはn=30/用量、実験群はn=10/用量）。3日目に腫瘍サイズを測定し、その後悪性度分類日まで定期的に測定した。

【0251】

タキソールのみの実験群で腫瘍成長が阻害された。50日目に、25mg/kgの用量のタキソールは、ヌードマウスのWidrヒト結腸直腸腫瘍成長を有意に阻害した（ $P < 0.0001$ ）。25mg/kg群の21日目から50日目までのT/C率は42%またはそれ未満であった。12.5mg/kg、6.25mg/kg、および3.13mg/kgのタキソール用量群の腫瘍成長は、ビヒクルコントロール群と有意に異ならず、これらの用量群における研究を通してT/C率は82%を超えた。さらに、タキソールにより、25mg/kg（ $P < 0.0001$ ）、18.75mg/kg（ $P < 0.001$ ）、および6.25mg/kgの群では39日目および12.5mg/kg（ $P < 0.05$ ）の群では13日目～32日目に腫瘍成長が有意に抑制された。T/C率は、25mg/kg群では13日目～39日目および18.75mg/kg群では21日目～34日目に42%またはそれ未満であった。

【0252】

huCBE11実験群の腫瘍成長も抑制された。45日目に、500 μ g（ $P < 0.001$ ）、100 μ g（ $P < 0.001$ ）、50 μ g（ $P < 0.001$ ）、および5 μ g（ $P < 0.05$ ）の用量のhuCBE11は、腫瘍成長を有意に抑制した。39日目に類似の結果が認められ、500 μ g（ $P < 0.001$ ）および50 μ g（ $P < 0.01$ ）のhuCBE11での処置後の腫瘍重量はビヒクルよりも有意に低かった。500 μ g群における31日目～45日目のT/C率は42%未満であった。

【0253】

タキソールとhuCBE11との組み合わせ処置が腫瘍成長抑制に有効であるかどうかを決定するために、上記のように確立された腫瘍を有する確立されたWidr腫瘍細胞を保有する胸腺欠損ヌードマウスに対して組み合わせ研究を行った。huCBE11とタキソールとの組み合わせは、NCI活性基準に基づいて、Widrモデルにおいて活性であると判断された。（T/C率は42%またはそれ未満であった。）huCBE11 500 μ gとタキソール12.5mg/kgとの組み合わせは、39日目にhuCBE11（500 μ g）のみよりも有意にWidr腫瘍成長を大幅に抑制した（ $P < 0.05$ ）。huCBE11 500 μ gおよびタキソール12.5mg/kgの24日目～39日目、huCBE11 75 μ gおよびタキソール25mg/kgの13日目～39日目、hu

C B E 1 1 5 6 . 2 5 μ g およびタキソール 1 8 . 7 5 m g / k g の 1 8 日 目 ~ 3 4 日 目、および h u C B E 1 1 3 7 . 5 μ g およびタキソール 1 2 . 5 m g / k g の 2 7 日 目、3 4 日 目および 3 9 日 目での T / C 率は 4 2 % 未 満であつた (図 3)。

【 0 2 5 4 】

組み合わせ研究の結果 (表 3 5 ~ 3 9 および 図 3 および 1 5 に示す) は、タキソールと組み合わせた h u C B E 1 1 が 処置 マウスで腫瘍体積を有意に減少させることを証明する。各処置群の腫瘍体積とコントロール群の腫瘍体積との比較によって抗腫瘍有効性を決定した。1 . 0 0 0 の F a は、腫瘍の完全な抑制を示す。表 3 5 は、3 4 日 目の h u C B E 1 1 およびタキソールの個別の 処置 および組み合わせ 処置 の用量 - 効果の関係を示す。

【 0 2 5 5 】

【 表 3 5 】

表 35: h u C B E 1 1 とタキソールとの間の用量効果関係

| 処置 | 用量 | 単位 | 同時処置 | 用量 | 単位 | 腫瘍体積 | 体積の減少 | Fa |
|---------|-------|-------|-------|------|-------|--------|--------|-------|
| コントロール | | | | | | 1376.4 | 0.0 | 0.000 |
| タキソール | 6.25 | mg/kg | | | | 1045.2 | 331.2 | 0.241 |
| タキソール | 18.75 | mg/kg | | | | 567.5 | 808.9 | 0.588 |
| タキソール | 25 | mg/kg | | | | 259.1 | 1117.3 | 0.812 |
| huCBE11 | 5 | ug | | | | 1024.0 | 352.4 | 0.256 |
| huCBE11 | 50 | ug | | | | 880.1 | 496.3 | 0.361 |
| huCBE11 | 500 | ug | | | | 735.6 | 640.8 | 0.466 |
| huCBE11 | 18.75 | ug | タキソール | 6.25 | | 639.9 | 736.5 | 0.535 |
| huCBE11 | 37.5 | ug | タキソール | 12.5 | mg/kg | 539.2 | 837.2 | 0.608 |
| huCBE11 | 75 | ug | タキソール | 25 | mg/kg | 157.7 | 1218.7 | 0.885 |
| huCBE11 | 50 | ug | タキソール | 6.25 | mg/kg | 1019.8 | 356.6 | 0.259 |
| huCBE11 | 50 | ug | タキソール | 12.5 | mg/kg | 689.7 | 686.7 | 0.499 |
| huCBE11 | 500 | ug | タキソール | 6.25 | mg/kg | 652.6 | 723.8 | 0.526 |
| huCBE11 | 500 | ug | タキソール | 12.5 | mg/kg | 555.0 | 821.4 | 0.597 |

タキソールのみでの W i D r 腫瘍を保有するマウスの 処置 が用量応答抗腫瘍有効性を示すので、組み合わせ指数の計算によって h u C B E 1 1 とタキソールとの組み合わせの協力作用を正式に評価することができた。本研究における協力性薬物作用の評価に使用した用量の固定された比は 0 . 3 3 3 : 1 (m g / k g タキソール : μ g h u C B E 1 1) であつた。この比は、以前のパイロット研究で決定した 2 つの薬剤についての中央値効果用量の比を基本としていた。協力作用の正式な評価には、W i n d o w s (登録商標) ベースの用量効果分析のための C a l c u S y n V 1 . 1 (B i o s o f t , C a m b r i d g e U K) ソフトウェアを使用した組み合わせ指数 (C I) の計算を使用した。組み合わせで投与した 処置 について、C I = 1 は累加有効性を示した。1 未 満の C I は協力作用を示した。1 を超える C I は拮抗作用を示した。C I 計算で使用した用量 - 効果関係を、表 3 6 に示す。

【 0 2 5 6 】

【表 3 6】

表 36: 協力作用計算のための huCBE11 の用量 - 効果の関係

| 個別投与 | | | | 組み合わせ (0.333:1) | | |
|------------------------|-------|-----------------------|-------|------------------------|-----------------------|-------|
| タキソール 用量 (mg/kg) | 影響率 | huCBE11 用量 (μg) | 影響率 | タキソール 用量 (mg/kg) | huCBE11 用量 (μg) | 影響率 |
| 6.25 | 0.241 | 5 | 0.256 | 6.25 | 18.8 | 0.535 |
| 18.75 | 0.588 | 50 | 0.361 | 12.5 | 37.5 | 0.608 |
| 25 | 0.812 | 500 | 0.466 | 25 | 75.0 | 0.885 |

34日目の腫瘍体積を使用して、組み合わせ指数の使用にて協力作用を評価した。タキソールおよび huCBE11 の個別の処置および組み合わせ処置についての用量 - 応答関係の可能性および形状を、それぞれ表 37 および 38 に示す。この研究で使用された正確な実験用量レベルのために計算した組み合わせ指数を、表 39 に示す。

【0257】

【表 3 7】

表 37: 協力作用の決定: huCBE11 およびタキソールの協力作用についての 効果用量中央値

| 薬剤 | 用量単位 | 効果用量中央値 (95% 信頼区間) | |
|---------|-------|---------------------------|-----------------------|
| | | 個別投与 | 組み合わせ (0.333:1) |
| タキソール | mg/kg | 12.6 (9.4 - 16.8) | 6.6 (3.4 - 12.8) |
| huCBE11 | μg | 932.9 (720.7 - 1207.6) | 19.8 (10.2 - 38.4) |

【0258】

【表 3 8】

表 38: 個別の処置および組み合わせ処置についての用量 - 応答の形状

| 用量 - 応答曲線の特徴 | | | |
|-----------------|-------|--------|--------|
| 値 | 勾配 | Y-切片 | R |
| タキソール | | | |
| 平均 | 1.740 | -1.914 | 0.9717 |
| SEM | 0.423 | 0.501 | |
| huCBE11 | | | |
| 平均 | 0.202 | -0.600 | 0.9993 |
| SEM | 0.008 | 0.014 | |
| タキソール + huCBE11 | | | |
| 平均 | 1.371 | -1.125 | 0.9298 |
| SEM | 0.542 | 0.610 | |

【0259】

【表 3 9】

表 39: 実験用量について計算した組み合わせ指数

| 実験値についての 組み合わせ指数 (CI) | | | | | | |
|------------------------|-----------------------|-------|-------|------|-------|------|
| タキソール 用量 (mg/kg) | huCBE11 用量 (ug) | 影響率 | 作用機構 | | | |
| | | | 相互排反 | | 排反しない | |
| | | | CI | 協力作用 | CI | 協力作用 |
| 6.25 | 18.75 | 0.535 | 0.468 | +++ | 0.473 | +++ |
| 12.5 | 37.5 | 0.608 | 0.777 | ++ | 0.780 | ++ |
| 25 | 75 | 0.885 | 0.615 | +++ | 0.615 | +++ |

++ 中程度の協力作用

+++ 協力作用

本研究は完全に独立した作用様式を有すると考えられる薬物を使用するので、相互に排反しないCI値をたいてい適用した。6.25mg/kgタキソール+18.75μg huCBE11、12.5mg/kgタキソール+37.5μg huCBE11、および25mg/kgタキソール+75μg huCBE11を使用した組み合わせ用量が協力効果を示した。組み合わせの用量レベル範囲を超えるCIのシミュレーションを表40に示す。4.9mg/kgタキソール+14.7μg huCBE11（腫瘍体積が40%抑制される）から57mg/kgタキソール+170μg huCBE11（腫瘍体積が95%抑制される）までの範囲の組み合わせ用量が協力効果を示した。影響率の関数としての組み合わせ指数を、図12に示す。

【0260】

【表 4 0 - 1】

表 40: 組み合わせ指数 (CI) シミュレーション

| Fa | CI | タキソール (mg/kg) | huCBE11 (μg) | 記号 |
|----------|--------|------------------|-----------------|-------|
| 相互排斥作用機構 | | | | |
| 0.02 | 287000 | 0.39 | 1.16 | ----- |
| 0.05 | 5278 | 0.77 | 2.32 | ----- |
| 0.10 | 226 | 1.33 | 3.99 | ----- |
| 0.15 | 32 | 1.87 | 5.60 | ----- |
| 0.20 | 7.796 | 2.40 | 7.22 | ----- |
| 0.25 | 2.634 | 2.97 | 8.90 | --- |
| 0.30 | 1.219 | 3.56 | 10.69 | -- |
| 0.35 | 0.767 | 4.21 | 12.63 | ++ |
| Fa | CI | タキソール (mg/kg) | huCBE11 (μg) | 記号 |
| 0.40 | 0.611 | 4.92 | 14.76 | +++ |
| 0.45 | 0.559 | 5.71 | 17.13 | +++ |
| 0.50 | 0.547 | 6.61 | 19.83 | +++ |
| 0.55 | 0.551 | 7.65 | 22.96 | +++ |
| 0.60 | 0.563 | 8.89 | 26.66 | +++ |
| 0.65 | 0.580 | 10.38 | 31.16 | +++ |
| 0.70 | 0.600 | 12.27 | 36.80 | +++ |
| 0.75 | 0.623 | 14.73 | 44.20 | +++ |
| 0.80 | 0.651 | 18.17 | 54.53 | +++ |
| 0.85 | 0.687 | 23.43 | 70.30 | +++ |
| 0.90 | 0.738 | 32.84 | 98.52 | ++ |
| 0.95 | 0.829 | 56.63 | 169.91 | ++ |
| 0.99 | 1.070 | 188.80 | 566.46 | ± |
| 0.02 | 370000 | 0.39 | 1.16 | ----- |
| 0.05 | 7036 | 0.77 | 2.32 | ----- |
| 0.10 | 310 | 1.33 | 3.99 | ----- |
| 0.15 | 45 | 1.87 | 5.60 | ----- |
| 0.20 | 10 | 2.40 | 7.22 | ----- |
| 0.25 | 3.604 | 2.97 | 8.90 | ----- |

【表 4 0 - 2】

| | | | | |
|------|-------|--------|--------|-----|
| 0.30 | 1.569 | 3.56 | 10.69 | --- |
| 0.35 | 0.905 | 4.21 | 12.63 | ± |
| 0.40 | 0.669 | 4.92 | 14.76 | +++ |
| 0.45 | 0.584 | 5.71 | 17.13 | +++ |
| 0.50 | 0.558 | 6.61 | 19.83 | +++ |
| 0.55 | 0.556 | 7.65 | 22.96 | +++ |
| 0.60 | 0.565 | 8.89 | 26.66 | +++ |
| 0.65 | 0.581 | 10.38 | 31.16 | +++ |
| 0.70 | 0.600 | 12.27 | 36.80 | +++ |
| 0.75 | 0.623 | 14.73 | 44.20 | +++ |
| 0.80 | 0.651 | 18.17 | 54.53 | +++ |
| 0.85 | 0.687 | 23.43 | 70.30 | +++ |
| 0.90 | 0.738 | 32.84 | 98.52 | ++ |
| 0.95 | 0.829 | 56.63 | 169.91 | ++ |
| 0.99 | 1.070 | 188.80 | 566.46 | ± |

本研究で薬物の増強を評価するために使用した用量は、固定された比の組み合わせを制限しなかった。統計的に有意な増強の試験には、各動物の F_a の計算が必要である。各腫瘍体積（表 4 5）を使用して、各動物の腫瘍体積の抑制率（ F_a ）を計算した（表 4 6）。（コントロール群の平均腫瘍体積 - 個別の動物の腫瘍体積）÷ コントロール群の平均腫瘍体積として F_a を計算した。組み合わせ処置についての予想される累加 F_a を、組み合わせのいずれかの成分を投与した群由来の平均 F_a の合計であると解釈する。組み合わせ処置の実際の効果と処置が単に累加であると予想される効果との間の相違も計算した（表 4 6）。両側 1 標本 t 検定を使用して、組み合わせ処置により予想される累加値と統計的に有意に異なる平均 F_a が得られるかどうかを決定した（表 4 6）。

【 0 2 6 2 】

【表 4 5】

表 45: 各腫瘍体積

| コントロール | タキソール 6.25 | タキソール 12.5 | hCBE 50 | hCBE 500 | hCBE 50 +タキソール 6.25 | hCBE 50 +タキソール 12.5 | hCBE 500 + タキソール 6.25 | hCBE 500 + タキソール 12.5 | |
|--------|---------------|---------------|---------|-------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------|
| 1302.1 | 616.0 | 1112.7 | 794.0 | 832.1 | 995.6 | 697.0 | 553.6 | 464.5 | |
| 2573.3 | 985.1 | 1554.9 | 448.6 | 541.3 | 564.3 | 231.8 | 501.0 | 297.4 | |
| 1410.2 | 1675.4 | 1104.0 | 1698.4 | 1059.8 | 953.2 | 111.8 | 647.5 | 624.6 | |
| 1348.2 | 1144.5 | 914.1 | 531.6 | 751.2 | 1868.1 | 463.3 | 401.3 | 483.8 | |
| 1020.3 | 1058.1 | 201.1 | 1322.2 | 1136.7 | 906.8 | 188.0 | 591.6 | 725.8 | |
| 1268.8 | 1425.5 | 1113.1 | 638.5 | 881.2 | 960.2 | 1271.4 | 923.2 | 494.1 | |
| 1321.9 | 796.7 | 1183.1 | 798.8 | 685.7 | 763.9 | 1221.9 | 613.8 | 664.2 | |
| 1318.2 | 860.4 | 1325.2 | 754.3 | 648.1 | 1801.1 | 983.6 | 726.4 | 488.5 | |
| 1629.6 | 730.5 | 1759.5 | 838.2 | 430.1 | 762.2 | 884.1 | 716.5 | 730.8 | |
| 1458.9 | 1159.9 | 1143.0 | 976.8 | 389.8 | 623.0 | 844.0 | 850.8 | 576.6 | |
| 1165.3 | | | | | | | | | |
| 781.6 | | | | | | | | | |
| 1540.0 | | | | | | | | | |
| 1196.5 | | | | | | | | | |
| 1198.1 | | | | | | | | | |
| 1279.7 | | | | | | | | | |
| 975.4 | | | | | | | | | |
| 1079.5 | | | | | | | | | |
| 1666.2 | | | | | | | | | |
| 1994.8 | | | | | | | | | |
| 平均： | 1376.4 | 1045.2 | 1141.1 | 880.1 | 735.6 | 1019.8 | 689.7 | 652.6 | 555.0 |

【 0 2 6 3 】

【表 4 6】

表 46: 腫瘍体積の各抑制率

| タキソール 6.25 | タキソール 12.5 | hCBE 50 | hCBE 500 | hCBE 50 + タキソール 6.25 | hCBE 50 + タキソール 12.5 | hCBE 500 + タキソール 6.25 | hCBE 500 + タキソール 12.5 |
|---------------|---------------|---------|-------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 0.552 | 0.192 | 0.423 | 0.395 | 0.277 | 0.494 | 0.598 | 0.663 |
| 0.284 | -0.130 | 0.674 | 0.607 | 0.590 | 0.832 | 0.636 | 0.784 |
| -0.217 | 0.198 | -0.234 | 0.230 | 0.307 | 0.919 | 0.530 | 0.546 |
| 0.168 | 0.336 | 0.614 | 0.454 | -0.357 | 0.663 | 0.708 | 0.649 |
| 0.231 | 0.854 | 0.039 | 0.174 | 0.341 | 0.863 | 0.570 | 0.473 |
| -0.036 | 0.191 | 0.536 | 0.360 | 0.302 | 0.076 | 0.329 | 0.641 |
| 0.421 | 0.140 | 0.420 | 0.502 | 0.445 | 0.112 | 0.554 | 0.517 |
| 0.375 | 0.037 | 0.452 | 0.529 | -0.309 | 0.285 | 0.472 | 0.645 |
| 0.469 | -0.278 | 0.391 | 0.688 | 0.446 | 0.358 | 0.479 | 0.469 |
| 0.157 | 0.170 | 0.290 | 0.717 | 0.547 | 0.387 | 0.382 | 0.581 |
| 平均: | 0.241 | 0.171 | 0.361 | 0.466 | 0.259 | 0.499 | 0.526 |
| 累加: | | | | | 0.601 | 0.532 | 0.706 |
| 相違: | | | | | -0.342 | -0.033 | -0.180 |
| 両側一標本 t 検定 | | | | | | | |
| T 値: | | | | | -3.286 | -0.340 | -4.981 |
| DF: | | | | | 9 | 9 | 9 |
| P 値: | | | | | 0.0094 | 0.7418 | 0.0008 |

要するに、タキソールおよび h u C B E 1 1 を使用した固定された比の組み合わせ処置 (0 . 3 3 3 : 1) は、W i D r ヒト結腸直腸腺癌に対して協力的抗腫瘍有効性を示した。

【 0 2 6 4 】

(同 等 物)

本発明は、特に、L T - - R アゴニストを含む組み合わせ治療薬を提供する。本発明の特定の実施形態を考察しているが、上記明細書は例示であり、本発明を制限しない。本発明の多数の変形形態は、本明細書の再検討により、当業者に明らかとなる。本発明の全範囲は、特許請求の範囲およびその等価物の全範囲ならびに明細書およびこのような変形形態を参照して決定すべきである。

【 0 2 6 5 】

以下に列挙した項目を含む本明細書中に記載の全ての刊行物および特許は、各刊行物または特許が具体的且つ個別に参考として援用されるように示されるかのようにその全体が本明細書中で参考として援用される。矛盾する場合、本明細書に記載のすべての定義を含め、本出願が支配する。

【図面の簡単な説明】

【0266】

【図1】図1は、生理食塩水コントロール（クロス）、イリノテカンのみ（円）、および $huCBE11$ のみ（三角）と比較した、一連の処置における $WidR$ ヒト結腸直腸腺腫重量に対する $huCBE11$ と組み合わせたイリノテカン（カンプトサル）（四角）の効果を示すグラフを示す。各薬剤の最初の投与を矢印で示す。

【図2】図2は、生理食塩水コントロール（クロス）、ゲムシタピンのみ（円）、および $huCBE11$ のみ（三角）と比較した、一連の処置における $WidR$ ヒト結腸直腸腺腫重量に対する $huCBE11$ と組み合わせたゲムシタピン（四角）の効果を示すグラフを示す。各薬剤の最初の投与を矢印で示す。

【図3】図3は、生理食塩水コントロール（クロス）、タキソールのみ（円）、および $huCBE11$ のみ（三角）と比較した、一連の処置における $WidR$ ヒト結腸直腸腺腫重量に対する $huCBE11$ と組み合わせたタキソール（四角）の効果を示すグラフを示す。各薬剤の最初の投与を矢印で示す。

【図4】図4は、生理食塩水コントロール（クロス）、シスプラチンのみ（円）、および $huCBE11$ のみ（三角）と比較した、一連の処置における $WidR$ ヒト結腸直腸腺腫重量に対する $huCBE11$ と組み合わせたシスプラチン（ $CDDP$ ）（四角）の効果を示すグラフを示す。各薬剤の最初の投与を矢印で示す。

【図5】図5は、生理食塩水コントロール（クロス）、アドリアマイシンのみ（円）、および $huCBE11$ のみ（三角）と比較した、一連の処置における $WidR$ ヒト結腸直腸腺腫重量に対する $huCBE11$ と組み合わせたアドリアマイシン（四角）の効果を示すグラフを示す。各薬剤の最初の投与を矢印で示す。

【図6】図6は、生理食塩水コントロール（クロス）、シスプラチンのみ（黒塗りの四角）、および $huCBE11$ のみ（白抜きの四角）と比較した、一連の処置における $WidR$ ヒト結腸直腸腺腫重量に対する $huCBE11$ （三角； $500\mu g$ ）と組み合わせたシスプラチン（ $1mg/kg$ ）の効果を示すグラフを示す。各薬剤の投与を矢印で示す。

【図7】図7は、生理食塩水コントロール（黒塗りの三角）、アドリアマイシンのみ（黒塗りの円）、および $huCBE11$ のみ（白抜きの四角）と比較した、一連の処置における $WidR$ ヒト結腸直腸腺腫重量に対する $huCBE11$ （黒塗りの四角； $500\mu g$ ）と組み合わせたアドリアマイシン（ $6mg/kg$ ）の効果を示すグラフを示す。各薬剤の投与を矢印で示す。

【図8】図8は、生理食塩水コントロール（四角）、カンプトサルのみ（三角）、および $huCBE11$ のみ（円）と比較した、一連の処置における $KM-20L2$ ヒト結腸直腸腺腫重量に対する $huCBE11$ （菱形； $20mg/kg$ ）と組み合わせたカンプトサル（ $3mg/kg$ ）の効果を示すグラフを示す。各薬剤の投与を矢印で示す。

【図9】図9は、 $WidR$ 腺癌モデルにおける腫瘍体積の減少に対する $huCBE11$ およびカンプトサルの組み合わせの各効果レベルでの組み合わせ指数のプロットを示す。組み合わせ指数（ CI ）を、影響率（ Fa ）に対してプロットした。1未満の組み合わせ指数が相乗効果を示す。

【図10】図10は、 $KM-20L2$ 腺癌モデルにおける複数の処置時点での腫瘍体積の減少に対する $huCBE11$ およびカンプトサル（固定された投与比は $huCBE11$: カンプトサル = $1 : 0.63$ ）の組み合わせの各効果レベルでの組み合わせ指数のプロットを示す。組み合わせ指数（ CI ）を、認められた腫瘍抑制率に対してプロットした。1未満の組み合わせ指数が相乗効果を示す。

【図11】図11は、 $WidR$ 腺癌モデルにおける腫瘍体積の減少に対する $huCBE11$ およびゲムシタピンの組み合わせの各効果レベルでの組み合わせ指数のプロットを示す。組み合わせ指数（ CI ）を、影響率（ Fa ）に対してプロットした。1未満の組み合わせ指数が相乗効果を示す。

【図12】図12は、生理食塩水コントロール（クロス）、ゲムシタピンのみ（円）、および $huCBE11$ のみ（三角）と比較した、一連の処置における $KM-20L2$ ヒト結

腸直腸腺腫重量に対する $h u C B E 1 1$ (四角; $4 m g / k g$) と組み合わせたゲムシタピン ($20 m g / k g$) の効果を示すグラフを示す。各薬剤の投与を矢印で示す。

【図 1 3】図 1 3 は、 $K M - 20 L 2$ 腺癌モデルにおける複数の処置時点での腫瘍体積の減少に対する $h u C B E 1 1$ およびゲムシタピン (固定投与比は $h u C B E 1 1 : \text{ゲムシタピン} = 4 : 5$) の組み合わせの各効果レベルでの組み合わせ指数のプロットを示す。組み合わせ指数 ($C I$) を、認められた腫瘍抑制率に対してプロットした。1 未満の組み合わせ指数が相乗効果を示す。

【図 1 4】図 1 4 は、 $K M - 20 L 2$ 腺癌モデルマウスに固定された比 $4 : 5$ で投与した場合の $h u C B E 1 1 : \text{ゲムシタピン}$ 組み合わせ処置についての用量 - 応答範囲の三次元グラフを示す。

【図 1 5】図 1 5 は、腫瘍体積の減少に対する $h u C B E 1 1$ およびタキソールの組み合わせの各効果レベルでの組み合わせ指数のプロットを示す。組み合わせ指数 ($C I$) を、影響率 ($F a$) に対してプロットした。1 未満の組み合わせ指数が相乗効果を示す。