

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6469877号
(P6469877)

(45) 発行日 平成31年2月13日 (2019.2.13)

(24) 登録日 平成31年1月25日 (2019.1.25)

(51) Int. Cl.		F I	
A 6 1 K	31/155	(2006.01)	A 6 1 K 31/155
A 6 1 K	31/11	(2006.01)	A 6 1 K 31/11
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00

請求項の数 6 (全 12 頁)

(21) 出願番号	特願2017-540723 (P2017-540723)	(73) 特許権者	513184264
(86) (22) 出願日	平成28年2月2日 (2016.2.2)		インダストリー-アカデミック コオペレ
(65) 公表番号	特表2018-507196 (P2018-507196A)		イション ファウンデーション、ヨンセイ
(43) 公表日	平成30年3月15日 (2018.3.15)		ユニバーシティ
(86) 国際出願番号	PCT/KR2016/001111		大韓民国 120-749 ソウル ソデ
(87) 国際公開番号	W02016/126073		ムン-グ ヨンセイ-ロ 50 ヨンセイ
(87) 国際公開日	平成28年8月11日 (2016.8.11)		ユニバーシティ
審査請求日	平成29年8月1日 (2017.8.1)	(73) 特許権者	514039912
(31) 優先権主張番号	10-2015-0016295		ナショナル キャンサー センター
(32) 優先日	平成27年2月2日 (2015.2.2)		大韓民国 キョンギ-ド 410-769
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		コヤン-シ イルサンドン-グ イルサ
(31) 優先権主張番号	10-2016-0010118		ン-ロ 323 (マドゥ-ドン)
(32) 優先日	平成28年1月27日 (2016.1.27)	(74) 代理人	110000729
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		特許業務法人 ユニアス国際特許事務所

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アルデヒド抑制剤およびビグアナイド系化合物を含む癌幹細胞の成長抑制用薬学的組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ゴシポール及びフェンホルミンを含む、膠芽腫の治療用薬学的組成物。

【請求項 2】

ゴシポールとフェンホルミンが、1 : 1 ~ 100の重量比で含まれる、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 3】

ゴシポールとフェンホルミンが、1 : 2 ~ 20の重量比で含まれる、請求項 1 又は 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 4】

ゴシポールが、0.5 ~ 50 μMの量で含まれる、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 5】

フェンホルミンが、10 ~ 1000 μMの量で含まれる、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 6】

前記膠芽腫の成長抑制は、脳癌幹細胞の維持の抑制、脳癌幹細胞の悪性化の抑制、または脳癌幹細胞の浸潤活性の抑制を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

10

20

【技術分野】

【0001】

本発明は、アルデヒド抑制剤およびピグアライド系化合物を含む癌幹細胞の成長抑制用薬学的組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

癌は全世界的に最も普遍的な死亡原因の一つである。約千万件の新しいケースが毎年発生し、全体死亡原因の約12%を占めて3番目に多い死亡の原因となっている。

【0003】

様々な種類の癌のうち、特に脳癌は年齢にかかわらず発生し、小児への発生頻度が他の癌に比べて高い特徴がある。脳癌は、脳組織と脳を囲んでいる脳膜で発生する原発性脳癌と、頭蓋骨や身体の他の部位で発生した癌から転移した二次性脳癌を通称するものである。このような脳癌は、他の臓器で発生する癌と区別される点が多い。まず、肺、胃、乳房などに生じる癌は、臓器ごとに1、2種類に限られ、その性質が同一、類似の傾向にある。しかし、脳には非常に多様な種類の癌が発生する。例えば、多形膠芽細胞腫、悪性神経膠腫、リンパ腺腫、胚細胞腫、転移性腫瘍など多様である。

10

【0004】

なかでも、神経膠腫 (glioma)、特に多形膠芽細胞腫 (glioblastoma multiforme、GBM) は、最も悪性で攻撃的であるので予後が非常に良くなく、診断後、平均生存期間が約1年を超えないという非常に致命的な疾患である。脳細胞と腫瘍細胞との間の境界が明らかでないため、GBMを外科的に完全に除去することはほぼ不可能である。

20

【0005】

癌治療分野における発展にもかかわらず、現在、先頭にある治療は手術、放射線および化学療法などが主流をなす。化学療法的なアプローチは、転移性であるか、特に攻撃的な癌を治療するのに主に用いられる。現在、臨床的に用いられるほとんどの癌化学療法の薬剤は細胞毒素 (cytotoxins) である。細胞毒性剤は急速な成長を示す細胞に害を及ぼしたり、殺すことで作用する。

【0006】

理想的な細胞毒性剤は、癌および腫瘍細胞に特異性を有しているのに対し、正常細胞には影響を及ぼしてはならない。しかし、このような理想的な細胞毒性剤は今のところ発見されておらず、その代わりに特に急速に分化する細胞 (腫瘍細胞および正常細胞のすべて) をターゲットとする薬剤が使用されているだけである。したがって、正常細胞には単に軽い効果を及ぼしながら、癌細胞には細胞毒性のある物質が非常に好ましい。実際、最近の多くの研究は腫瘍細胞 (tumor cells) の増殖を特に抑制可能な代案的な抗癌物質を開発するのに焦点が当てられてきた。

30

【0007】

したがって、外科的治療以外の化学的治療剤の開発が至急であるのが現状であるが、まだ効果的な治療法が開発されていないため、それに対する研究と開発が求められる。

【発明の概要】

40

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明の一つの目的は、癌幹細胞の成長を効果的に抑制して癌細胞の増殖、浸潤および転移を抑制することにより、最終的には癌を予防および/または治療できる薬学的組成物を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは、研究の結果、アルデヒド抑制剤 (aldehyde inhibitor) およびピグアライド (biguanide) 系化合物を併用投与する場合、癌幹細胞 (cancer stem cell) の成長を抑制することで癌細胞の増殖、浸潤およ

50

び転移を抑制して、癌を予防および/または治療できることを確認して、本発明を完成するに至った。

【0010】

ただし、本発明において、「癌幹細胞(cancer stem cell)」とは、幹細胞特有の能力である自己再生や分化能力を有している包括的な意味の癌細胞を意味し、例えば、脳の中枢神経系幹細胞である神経球(neurosphere)を含むことができる。前記癌幹細胞の正常な腫瘍生長条件(前記「正常な腫瘍の生長条件」とは、細胞成長に必要な栄養分(ブドウ糖)が十分に腫瘍微細環境の生長条件が豊かで細胞ストレスのない状態を指し示す。)で一般的な癌細胞と異なって遅い速度で増殖したり、休止期(dormant state)状態を維持して抗癌剤に対する抵抗性を有し、例えば、P
GC-1aなどの転写調節因子の発現が正常な腫瘍細胞と異なって統制され、主要代謝調節物質の機能が一般的な癌細胞と比較して異なり得る。このような異なる代謝調節能力とそれに機序的に関連する細胞信号伝達系の調節により、栄養欠乏状態で細胞死滅(apoptosis)に対する抵抗性を獲得し、浸潤および/または転移能がある細胞を包括的に指し示す。しかし、一般的な癌細胞に分化可能な細胞であれば、これに制限されない。

10

【0011】

また、本発明において、前記「癌幹細胞の成長抑制」とは、癌幹細胞の維持(maintenance)抑制、癌幹細胞の悪性化(malignance)抑制、および癌幹細胞の浸潤活性(invasive)抑制を含む意味である。

【0012】

具体的には、本発明は、アルデヒド抑制剤(aldehyde inhibitor)およびビグアナイド(biguanide)系化合物を含む癌幹細胞の成長抑制用薬学的組成物に関し、好ましくは、前記アルデヒド抑制剤は、ゴシポール(Gossypol)であってもよく、前記ビグアナイド系化合物は、フェンホルミン(phenformin)であってもよい。

20

【0013】

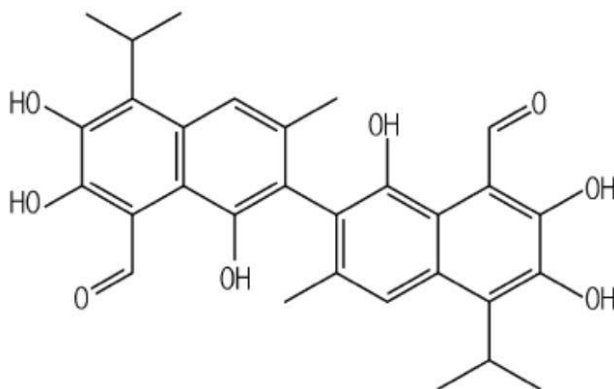
ここで、前記「ゴシポール(Gossypol)」は、綿実(cotton plant)に多量含まれたフェノール誘導体に相当するもので、中国では、このようなゴシポールが男性の精子機能を抑制することを発見して、男性の経口避妊薬として研究されている。また、前記「フェンホルミン(phenformin)」は、一般的に炭水化物代謝と脂質代謝を生理的に調節する糖尿病治療剤として知られている。

30

【0014】

本発明では、前記ゴシポールとフェンホルミンとの組み合わせが癌幹細胞の成長抑制に非常に高いシナジー効果を付与するので好ましい。ここで、前記ゴシポールは、下記化学式1で表される化合物またはその誘導体であることが好ましいが、これに限定されず、前記フェンホルミンは、下記化学式2で表される化合物またはその誘導体であることが好ましいが、これに限定されない：

【化1】

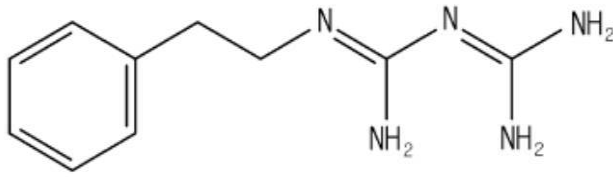


40

50

[化学式 1]

【化 2】



10

[化学式 2]

【 0 0 1 5 】

また、本発明の薬学的組成物において、前記アルデヒド抑制剤とピグアナイド系化合物は、1 : 1 ~ 100の重量比で含まれ、好ましくは1 : 2 ~ 20の重量比で含まれる。

【 0 0 1 6 】

さらに、本発明の薬学的組成物において、前記アルデヒド抑制剤は、0.5 ~ 50 μMの量で含まれる。

【 0 0 1 7 】

また、本発明の薬学的組成物において、前記ピグアナイド系化合物は、10 ~ 1000 μMの量で含まれる。

20

【 0 0 1 8 】

前記のように、本発明の組成物は、癌幹細胞の成長を抑制して、子宮癌、乳癌、胃癌、脳癌、直腸癌、大腸癌、皮膚癌、血液癌および肝臓癌からなる群より選択される癌を予防および/または治療することができ、好ましくは、神経球(neurosphere)の増殖、維持、悪性化および浸潤能を抑制して、脳癌、特に膠芽腫(glioblastoma)を効果的に予防および/または治療することができることを特徴とする。

【 0 0 1 9 】

ただし、本発明の薬学的組成物は、追加的に他の抗癌剤と併用投与することができ、これによって、癌幹細胞だけでなく、一般的な癌細胞まで効果的に治療するのに使用可能である。

30

【 0 0 2 0 】

ここで、前記抗癌剤としては、ナイトロジェンマスタード、イマチニブ、オキサリプラチン、リツキシマブ、エルロチニブ、ネラチニブ、ラパチニブ、ゲフィチニブ、パニダニブ、ニロチニブ、セマサニブ、ボスチニブ、アキシチニブ、セジラニブ、レスタウルチニブ、トラスツズマブ、ゲフィチニブ、ボルテゾミブ、スニチニブ、カルボプラチン、ソラフェニブ、ベバシズマブ、シスプラチン、セツキシマブ、ビスカムアルバム、アスパラギナーゼ、トレチノイン、ヒドロキシカルバミド、ダサチニブ、エストラムスチン、ゲムツズマブオゾガマイシン、イブリツモマブチウキセタン、ヘプタプラチン、メチルアミノレプリン酸、アムサクリン、アレムツズマブ、プロカルバジン、アルプロスタジル、硝酸ホルミウムキトサン、ゲムシタピン、ドキシフルリジン、ペメトレキセド、テガフル、カベシタピン、ギメラシン、オテラシル、アザシチジン、メトトレキサート、ウラシル、シタラピン、フルオロウラシル、フルダラピン、エノシタピン、フルタミド、デシタピン、メルカプトプリン、チオグアニン、クラドリピン、カルモフル、ラルチトレキセド、ドセタキセル、パクリタキセル、イリノテカン、ベロテカン、トポテカン、ビノレルピン、エトポシド、ピンクリスチン、ピンブラスチン、テニポシド、ドキシソルピシン、イダルピシン、エピルピシン、ミトキサントロン、マイトマイシン、プレオマイシン、ダウノルピシン、ダクチノマイシン、ピラルピシン、アクラルピシン、ペプロマイシン、テムシロリムス、テモゾロミド、ブスルファン、イホスファミド、シクロホスファミド、メルファラン、アルトレタミン、ダカルバジン、チオテパ、ニムスチン、クロラムブシル、ミトラクトール、ロイコボリン、トレトニン、エキセメスタン、アミノグルテチミド、アナグレ

40

50

リド、ナベルピン、ファドロゾール、タモキシフェン、トレミフェン、テストラクトン、アナストロゾール、レトロゾール、ポロゾール、ピカルタミド、ロムスチン、およびカルムスチンからなる群より選択された1種以上を使用することができるが、これに限定されるものではない。

【0021】

本発明において、前記薬学的組成物は、カプセル、錠剤、顆粒、注射剤、軟膏剤、粉末、または飲料形態であることを特徴とし、前記薬学的組成物は、ヒトを対象にすることを特徴とすることができる。

【0022】

本発明の薬学的組成物は、これらに限定されるものではないが、それぞれ、通常の方法により、散剤、顆粒剤、カプセル、錠剤、水性懸濁液などの経口型剤形、外用剤、坐剤、および滅菌注射溶液の形態に剤形化して使用可能である。本発明の薬学的組成物は、薬剤的に許容可能な担体を含むことができる。薬剤学的に許容される担体は、経口投与時には、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、賦形剤、可溶化剤、分散剤、安定化剤、懸濁化剤、色素、香料などを使用することができ、注射剤の場合には、緩衝剤、保存剤、無痛化剤、可溶化剤、等張剤、安定化剤などを混合して使用することができ、局所投与用の場合には、基剤、賦形剤、潤滑剤、保存剤などを使用することができる。本発明の薬剤学的組成物の剤形は、上述のような薬剤学的に許容される担体と混合して多様に製造される。例えば、経口投与時には、錠剤、トローチ、カプセル、エリクサー (elixir)、サスペンション、シロップ、ウエハーなどの形態で製造することができ、注射剤の場合には、単位投薬アンブルまたは複数回投薬の形態で製造することができる。その他、溶液、懸濁液、錠剤、カプセル、徐放型製剤などに剤形することができる。

【0023】

一方、製剤化に適した担体、賦形剤、および希釈剤の例としては、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、マルチトール、デンプン、アカシアガム、アルギネート、ゼラチン、カルシウムホスフェート、カルシウムシリケート、セルロース、メチルセルロース、微晶質セルロース、ポリビニルピロリドン、水、メチルヒドロキシベンゾエート、プロピルヒドロキシベンゾエート、タルク、マグネシウムステアレート、または鉱物油などが使用できる。また、充填剤、抗凝集剤、潤滑剤、湿潤剤、香料、乳化剤、防腐剤などを追加的に含んでもよい。

【0024】

本発明に係る薬学的組成物の投与経路はこれらに限定されるものではないが、口腔、静脈内、筋肉内、動脈内、骨髄内、硬膜内、心臓内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、腸管、局所、泄下、または直腸が含まれる。経口または非経口投下が好ましい。本願に使用された用語「非経口」は、皮下、皮内、静脈内、筋肉内、関節内、滑液嚢内、胸骨内、硬膜内、病巣内、および頭蓋骨内注射または注入技術を含む。本発明の薬学的組成物はさらに、直腸投与のための坐剤の形態で投与されてもよい。

【0025】

本発明の薬学的組成物は、使用された特定化合物の活性、年齢、体重、一般的な健康、性別、定式、投与時間、投与経路、排出率、薬物配合、および予防または治療される特定疾患の重症度を含む様々な要因により多様に变化可能であり、前記薬学的組成物の投与量は、患者の状態、体重、疾病の程度、薬物形態、投与経路、および期間によって異なるが、当業者によって適切に選択され、1日0.0001~50mg/kg、または0.001~50mg/kgで投与することができる。投与は、1日1回投与してもよく、数回に分けて投与してもよい。前記投与量は、いかなる面でも本発明の範囲を限定するものではない。本発明に係る医薬組成物は、丸剤、糖衣錠、カプセル、液剤、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁剤に剤形されてもよい。

【発明の効果】

【0026】

本発明に係る薬学的組成物は、アルデヒド抑制剤とピグアナイド系化合物を共に用いて

10

20

30

40

50

神経球などの癌幹細胞の成長を効果的に阻害することにより、癌細胞の増殖、浸潤および転移も抑制して、脳癌などの癌を予防および/または治療することができる。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】参考例1でゴシポールの濃度に応じたMTT assayの分析結果をグラフで示すものである。

【図2】実験例1で実施例および比較例の組成物の処理によるU87細胞の生存率の変化をグラフで示すものである。

【図3】実験例2で各処理によるU87神経球細胞の写真を示すものである。

【図4】実験例2で各処理によるU87神経球細胞の半径の変化をグラフで示すものである。

10

【図5】実験例2で各処理によるU87神経球細胞の形成程度をグラフで示すものである。

【図6】実験例3で各処理によるU87浸潤細胞の写真を示すものである。

【図7】実験例4で各処理による同素異種移植モデルマウスの脳癌の発生程度を示すものである。

【図8】実験例4で各処理による同素異種移植モデルマウスの生存率を示すものである。

【発明を実施するための形態】

【0028】

本発明は、アルデヒド抑制剤 (aldehyde inhibitor) およびビグアナイド (biguanide) 系化合物を併用投与して癌幹細胞 (cancer stem cell) の成長を抑制することにより、癌細胞の増殖、浸潤および転移を抑制して、癌を予防および/または治療できる癌幹細胞の成長抑制用薬学的組成物を提供する。

20

【実施例】

【0029】

以下、実施例によって本発明をより詳細に説明する。これらの実施例は単に本発明をより具体的に説明するためのものであって、本発明の要旨によって本発明の範囲がこれらの実施例によって制限されないことは当業界における通常の知識を有する者にとって自明であろう。

【0030】

30

(参考例1:ゴシポール処理による細胞生存率の確認)

U87細胞株 (GBM cell) にゴシポール (Gossypol) を0.5、1、5、10および50 μMの濃度で72時間処理した。(図1)

【0031】

図1に示されるように、ゴシポールを濃度別に72時間処理した時、細胞成長が抑制されたことが分かる。

【0032】

(実験例1:ゴシポールおよびフェンホルミンの混合処理による細胞生存率の確認)

U87細胞株を96ウェルプレートに接種し、37℃で24時間培養した後、下記表1に記載の実施例および比較例の薬学的組成物を処理し、MTS薬剤を20 μl / ウェルの濃度で処理した後、37℃で4時間培養した。以後、490 nmで吸光度を測定して、何らかの処理を施していない対照群対比の吸光度の変化を細胞生存率で計算して、その結果を図2にグラフで示した。

40

【0033】

【表 1】

区分	組成
比較例 1	-
比較例 2	Gossypol 0.5 μ M
比較例 3	3 Gossypol 1 μ M
比較例 4	Phenformin 10 μ M
実施例 1	Phenformin 10 μ M + Gossypol 0.5 μ M
実施例 2	Phenformin 10 μ M + Gossypol 1 μ M

10

【0034】

図 2 に示されるように、ゴシポールとフェンホルミンを単独処理した場合より、ゴシポールとフェンホルミンを共に処理した場合、細胞生存率が著しく減少することが分かる。

【0035】

(実験例 2 : 神経球形成能の確認)

U87細胞株を 2 重量% 1 x B27、0.02 重量%の bFGF 20 ng/ml、0.02 重量%の EGF 20 ng/ml、および 50 U/ml ペニシリン - 50 mg/ml ストレプトマイシン (100x、Gibco、Invitrogen Korea、Seoul、South Korea) が添加された DMEM/F-12 培地で腫瘍球 (tumor sphere) 培養した。以後、細胞を 96 ウェルプレートに 10 細胞/セルで接種し、ゴシポール 1 μ M、フェンホルミン 10 μ M、ゴシポール 1 μ M およびフェンホルミン 10 μ M の混合物を処理した後、37 °C で 3 週間培養した。U87細胞の形状とサイズを確認するために、得られた細胞培養物を倒立位相差顕微鏡 (inverted phase-contrast microscope) (1x71 Inverted Microscope; Olympus、Tokyo、Japan) で観察し、デジタルカメラ (DP70 Digital Microscope Camera; Olympus) で撮影して、その写真を図 3 に示した。また、各処理ごとに神経球の半径の変化を図 4 にグラフで示し、神経球の形成程度を図 5 にグラフで示した。

20

【0036】

ただし、図 4 で、神経球の半径の変化率は、96 ウェルプレートに接種される神経球細胞の平均半径対比の各処理後の神経球細胞の平均半径の変化を百分率で表したものであり、図 5 で、神経球の形成程度は、96 ウェルプレートに接種される神経球細胞数対比の各処理後の神経球細胞数の変化を百分率で表したものである。

30

【0037】

図 3 の細胞撮影写真に示されるように、ゴシポールとフェンホルミンを単独処理した場合にも神経球細胞の大きさが減少したが、これらを混合処理した場合には、神経球が全く観察されないことが分かる。

【0038】

さらに、図 4 および図 5 に示されるように、ゴシポールとフェンホルミンを単独処理した場合より、これらを混合処理した場合、神経球細胞の半径が著しく減少し、神経球細胞数も著しく減少したことが分かる。

40

【0039】

(実験例 3 : トランスウェル (transwell) 浸潤能の確認)

U87細胞 (2 x 10⁵ 細胞/ウェル) を成長培地 0.1 ml に浮遊させた後、ゴシポール 1 μ M、フェンホルミン 10 μ M、ゴシポール 1 μ M およびフェンホルミン 10 μ M の混合物を処理し、トランスウェルチャンバ (8mmポアサイズ; Corning Glass) の上部ウェルに細胞をローディングした。ただし、前記トランスウェルチャンバの下部は成長培地 0.5 ml で満たされており、上部は成長因子の減少したマトリゲル (Matrigel) (Corning Matrigel Matrix) 8.4 mg/ml で前処理コーティングされた。細胞を前記チャンバ内で 37 °C で 48 時間培養した後

50

、フィルタの上面で非浸潤細胞は綿棒で除去し、フィルタの下面に移動した細胞を固定した後、Diff-Quick kit (Fisher) で染色した後、得られた細胞培養物を位相差顕微鏡 (phase-contrast microscope) (Olympus) で観察して、その写真を図6に示した。浸潤能は、ウェルあたり10顕微鏡フィールド (microscopic field) で細胞数を測定した。

【0040】

図6に示されるように、ゴシポールとフェンホルミンを単独処理した場合より、これらを混合処理した場合、神経球細胞の半径が著しく減少し、神経球細胞数も著しく減少したことが分かる。

【0041】

これによって、本発明において、ゴシポールとフェンホルミンを共に処理した場合、これらのそれぞれを単独処理した場合より、脳癌幹細胞の増殖および転移などを効果的に抑制して、脳癌の治療効果を著しく高められることが分かる。

【0042】

(実験例4：同素異種移植モデル (Orthotopic xenograft model) におけるゴシポール効果の確認)

動物実験に使用されるゴシポールおよびフェンホルミンはそれぞれ、DMSOとPBSに溶解して準備した。ゴシポールおよびフェンホルミン併用投与用組成物は、10重量% DMSOと10重量%クレモフォール (cremophor) - PBSが混合した溶液に溶解して準備した。

【0043】

同素異種移植モデルの製造のために、4 - 8週齢の雄ヌードマウス (Male athymic nude mice, Central Lab. 大韓民国) を使用した。マウスは、安定化のために、実験に使用する前の最小1週間の期間に滅菌された環境で十分な餌が供給されたまま維持された。動物実験に対するすべての事柄は、延世大学動物実験委員会の規定を守った。まず、30 mg / kg のゾレチルと10 mg / kg のキシラジンを腹腔内接種で麻酔し、 2×10^5 のU87-ルシフェラーゼ細胞 (U87-Luc cells) をハミルトン注射器を用いて4.5 mmの深さに大脳の右前頭葉に移植した。U87-ルシフェラーゼ細胞は、微細注入注射器ポンプ (micro-infusion syringe pump) を用いて同じグループの5匹のマウスに0.5 μ l / 分の速度で同時に注入した。その後、ゴシポール (40 mg / kg) または / およびフェンホルミン (100 mg / kg) を毎日経口投与した。投与する薬物の種類によるマウスのグループは下記表2に示した。

【0044】

【表2】

区分	投与薬物の種類
比較例6	U87-ルシフェラーゼ細胞移植後、蒸留水投与
実施例4	U87-ルシフェラーゼ細胞移植後、ゴシポール単独投与
実施例5	U87-ルシフェラーゼ細胞移植後、フェンホルミン単独投与
実施例6	U87-ルシフェラーゼ細胞移植後、ゴシポールとフェンホルミンの併用投与

【0045】

体重の増減は毎日確認し、体重が実験開始前の体重に比べて15重量%以上減少する場合には、承認されたプロトコルによってマウスを安楽死させた。

【0046】

生物発光 (Bioluminescence) 収集および分析は、IVISイメージングシステム (IVIS Imaging System) およびイメージ分析プログラム (Living Image V4.2 software) で行った。このために、信号測定15分前に、2.5%イソフルラン (isoflurane) 麻酔下、マウスにd-ル

10

20

30

40

50

シフェリン (d-luciferin、30 mg/mL PBS) 100 μ l を腹腔注射した。信号の測定は、U87-ルシフェラーゼ細胞移植後、1週、3週、および5週経過時に5秒間行った。その結果を図7に示した。

【0047】

前記同素異種移植モデルを用いた実験の結果、図7のように、細胞移植5週経過の時点で比較例6、実施例4 (ゴシポール単独投与) および実施例5 (フェンホルミン単独投与) は蛍光発現が測定され、U87-ルシフェラーゼ細胞による脳癌が発生したことが明らかになったが、実施例6 (ゴシポールとフェンホルミンの併用投与) は、比較例6、実施例4および実施例5に比べて非常にわずかな水準の脳癌が発生したことが明らかになった。また、前記マウスの生存率を測定した結果からも (図8)、実施例6グループのマウスが、比較例6、実施例4および実施例5グループのマウスに比べて生存率が高いことが分かった。

10

【0048】

以上、本発明の実施例について詳細に説明したが、本発明の権利範囲はこれに限定されるものではなく、請求の範囲に記載の本発明の技術的思想を逸脱しない範囲内で多様な修正および変形が可能であることは当技術分野における通常の知識を有する者にとっては自明であろう。

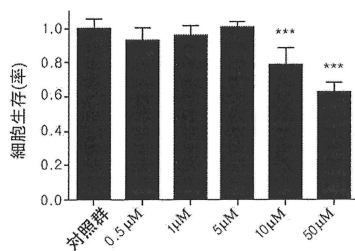
【産業上の利用可能性】

【0049】

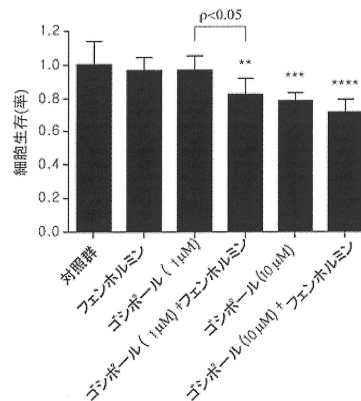
本発明に係る薬学的組成物は、アルデヒド抑制剤とビグアナイド系化合物を共に用いて神経球などの癌幹細胞の成長を効果的に阻害することにより、癌細胞の増殖、浸潤および転移も抑制して、脳癌などの癌を予防および/または治療することができる。

20

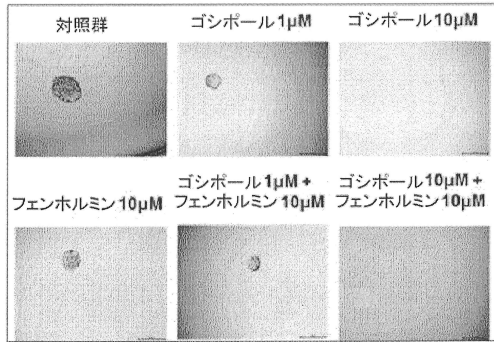
【図1】



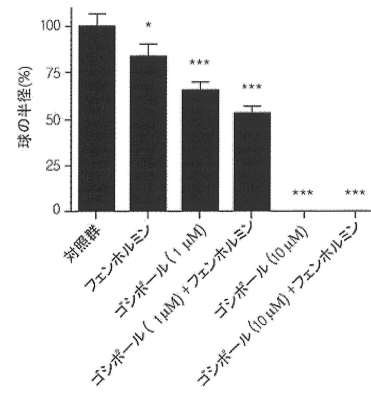
【図2】



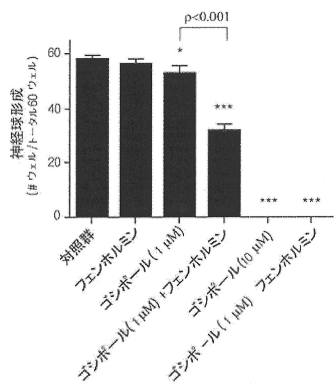
【 図 3 】



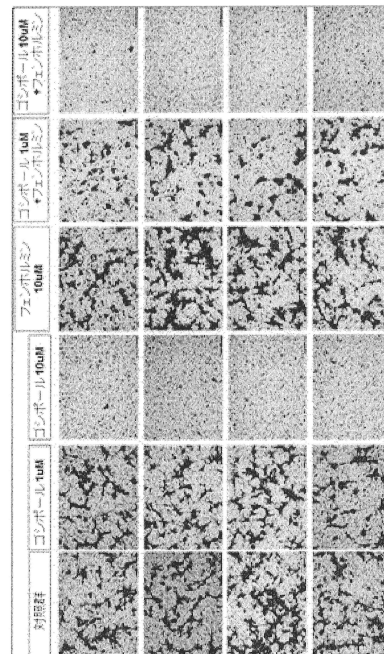
【 図 4 】



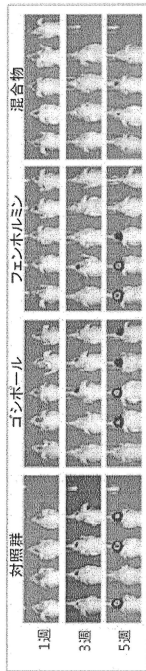
【 図 5 】



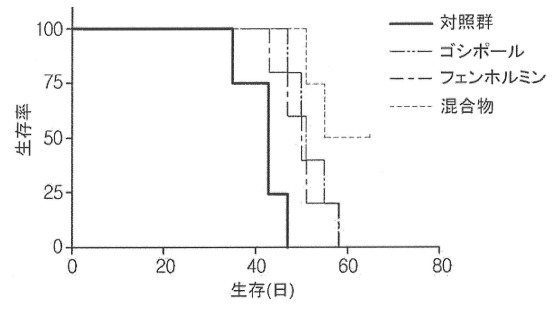
【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】



フロントページの続き

- (72)発明者 カン、ソク ク
大韓民国 キョンギ - ド 16505、スウォン - シ、ヨントン - グ、セントラル タウン - 口、
76、#6114 - 601
- (72)発明者 チャン、チョン ヒ
大韓民国 ソウル 04139、マポ - グ、ペクポム - 口 25 - ギル、63、#105 - 160
1
- (72)発明者 キム、ウイ ヒョン
大韓民国 ソウル 06003、カンナム - グ、アプクチョン - 口 39 - ギル、58、#64 -
404
- (72)発明者 イ、チ ヒョン
大韓民国 キョンギ - ド 10378、コヤン - シ、イルサンソ - グ、テサン - 口、183、#6
07 - 506
- (72)発明者 チョ、ユン ヒ
大韓民国 ソウル 03991、マポ - グ、トンキョ - 口 25 - ギル、54 - 5、#401
- (72)発明者 パク、チュンソン
大韓民国 ソウル 05243、カントン - グ、チョンチュン - 口 5 - ギル、47、#203 -
403
- (72)発明者 シム、チン キョン
大韓民国 ソウル 02196、チュンナン - グ、サカチョン - 口 71 - ギル、19、#2 - 9
06
- (72)発明者 キム、ス ヨル
大韓民国 キョンギ - ド 10382、コヤン - シ、イルサンソ - グ、チュファ - 口、211、#
103 - 1304

審査官 伊藤 清子

- (56)参考文献 特開2013 - 100268 (JP, A)
国際公開第2015 / 130109 (WO, A1)
特表2017 - 506655 (JP, A)
Gynecol. Oncol., 2012, Vol.127, No.2, pp.390-397
Adv. Exp. Med. Biol., 1997, Vol.414, pp.133-146
Oncotarget, 2011, Vol.2, No.12, pp.896-917
Cancer Lett., 2013, Vol.333, No.1, pp.18-31
Plos One, 2013, Vol.8, No.10, e78130, pp.1-11

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31 / 155

A61K 31 / 11

A61P 35 / 00

A61P 43 / 00

CAplus / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)