

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-503063

(P2016-503063A)

(43) 公表日 平成28年2月1日(2016.2.1)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A61K 31/7135 (2006.01)	A 61 K 31/7135	4 C057
A61K 39/395 (2006.01)	A 61 K 39/395	N 4 C085
A61P 43/00 (2006.01)	A 61 P 43/00	121 4 C086
A61P 35/00 (2006.01)	A 61 P 35/00	
C07H 5/08 (2006.01)	C07H 5/08	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 61 頁)

(21) 出願番号	特願2015-549772 (P2015-549772)
(86) (22) 出願日	平成25年12月20日 (2013.12.20)
(85) 翻訳文提出日	平成27年8月12日 (2015.8.12)
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/076869
(87) 国際公開番号	W02014/100565
(87) 国際公開日	平成26年6月26日 (2014.6.26)
(31) 優先権主張番号	61/740,126
(32) 優先日	平成24年12月20日 (2012.12.20)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(71) 出願人	501139858 ザ ペン ステイト リサーチ ファンデーション アメリカ合衆国 ペンシルベニア 16802, ユニバーシティ パーク, オールド メイン 304
(74) 代理人	110000774 特許業務法人 もえぎ特許事務所
(72) 発明者	アレン, ジョシュア イー. アメリカ ペンシルヴェニア州 19146, フィラデルフィア, ユニット 103, クリスチャン ストリート 2501

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】がんの治療に関する方法及び組成物

(57) 【要約】

本開示の側面によれば、セツキシマブとISC-4の両方を複合製剤として又は別個の製剤として投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する組成物及び方法が提供される。本開示の側面によれば、がん治療を必要とする患者のがんを治療する方法が提供され、この患者が野生型KRASを特徴とするがんを有し、この方法が、セツキシマブとISC-4の組合せを複合製剤として又は別個の製剤として投与することを含み、セツキシマブとISC-4の組合せの投与が相乗的な抗がん効果を有してこのがんを治療する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

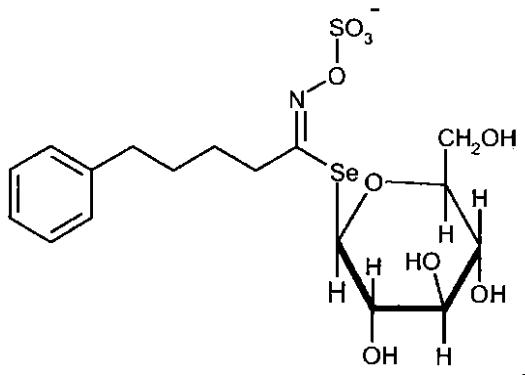
【請求項 1】

セツキシマブ及び I S C - 4 ; 又は
セツキシマブ及び I S C - 4 プロドラッグ
を含む医薬組成物。

【請求項 2】

前記 I S C - 4 プロドラッグが、以下の構造式：

【化 1】



10

を有する I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩である、請求項 1 の医薬組成物。

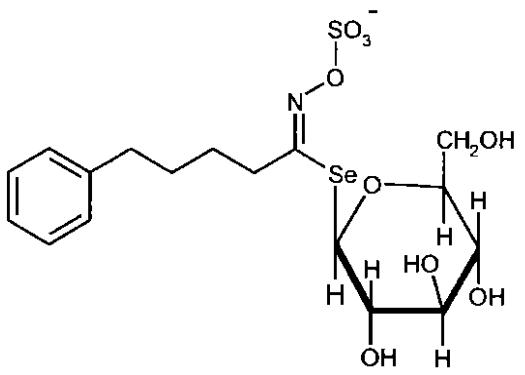
【請求項 3】

セツキシマブ及び I S C - 4 ; 又は
セツキシマブ及び I S C - 4 プロドラッグを含む市販用セット。

【請求項 4】

前記 I S C - 4 プロドラッグが、以下の構造式：

【化 2】



30

を有する I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩である、請求項 3 の市販用セット。

【請求項 5】

前記セツキシマブ及び I S C - 4 が単一の医薬製剤として提供される、請求項 3 の市販用セット。

【請求項 6】

前記セツキシマブ及び I S C - 4 が別個の医薬製剤として提供される、請求項 3 の市販用セット。

【請求項 7】

前記セツキシマブ及び I S C - 4 プロドラッグが単一の医薬製剤として提供される、請

40

50

求項 3 又は 4 の市販用セット。

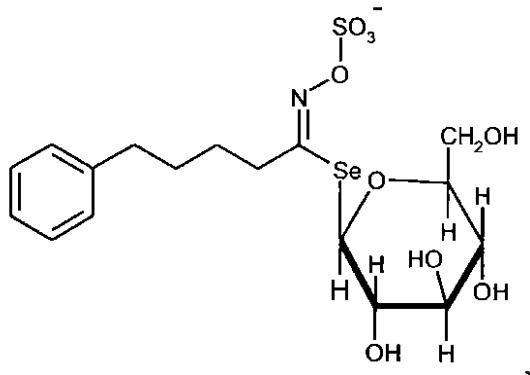
【請求項 8】

前記セツキシマブ及び I S C - 4 プロドラッグが別個の医薬製剤として提供される、請求項 3 又は 4 の市販用セット。

【請求項 9】

以下の構造式：

【化 3】



10

20

30

40

50

を有する I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩を含む組成物。

【請求項 10】

セツキシマブと I S C - 4 の組合せを複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法。

【請求項 11】

前記組合せの投与が相乗効果を提供する、請求項 10 の方法。

【請求項 12】

前記がんが、野生型 K R A S を特徴とする、請求項 10 又は 11 のがんを治療する方法。

【請求項 13】

前記がんが、野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである、請求項 10 ~ 12 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 14】

更に、セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；

セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及び

アポトーシスの 1 種以上のマーカーについて前記第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与することの有効性を監視する、請求項 10 ~ 13 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 15】

更に、セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；

セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及び

リン酸化 A k t について前記第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与することの有効性を監視する、請求項 10 ~ 14 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 16】

前記セツキシマブと I S C - 4 を同時に投与する、請求項 10 ~ 15 いずれか1項に記

載のがんを治療する方法。

【請求項 17】

前記セツキシマブと I S C - 4 を逐次的に投与する、請求項 10 ~ 15 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 18】

前記セツキシマブと I S C - 4 を、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、及び24時間から選択される時間内で逐次的に投与する、請求項 10 ~ 15 及び 17 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 19】

セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの組合せを複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法。 10

【請求項 20】

前記組合せの投与が相乗効果を提供する、請求項 19 のがんを治療する方法。

【請求項 21】

前記がんが野生型 K R A S を特徴とする、請求項 19 又は 20 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 22】

前記がんが野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである、請求項 19 ~ 21 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 23】

更に、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第1の試料を得ること；

セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第2の試料を得ること；及び

アポトーシスの1種以上のマーカーについて前記第1及び第2の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与することの有効性を監視する、請求項 19 ~ 22 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 24】

更に、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第1の試料を得ること；

セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第2の試料を得ること；及び

リン酸化 A k t について前記第1及び第2の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与することの有効性を監視する、請求項 19 ~ 23 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 25】

前記セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグを同時に投与する、請求項 19 ~ 24 いずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 26】

前記セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグを逐次的に投与する、請求項 19 ~ 24 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。 40

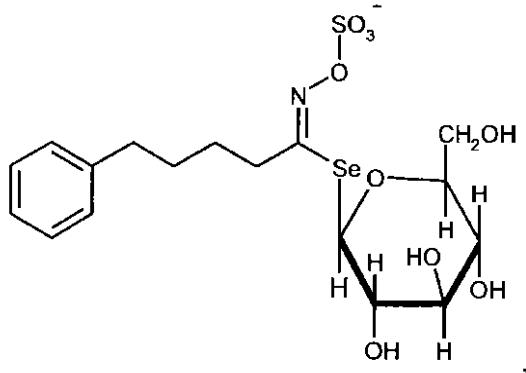
【請求項 27】

前記セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグを、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、及び24時間から選択される時間内で逐次的に投与する、請求項 19 ~ 24 及び 26 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 28】

前記 I S C - 4 プロドラッグが、以下の構造式：

【化4】



10

を有する I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩である、請求項 19 ~ 27 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 29】

前記がんが 5 - フルオロウラシルに抵抗性である、請求項 10 ~ 28 のいずれか1項に記載のがんを治療する方法。

【請求項 30】

前記がんが、5 - フルオロウラシルに抵抗性であり、かつ野生型 K R A S を特徴とする、請求項 10 ~ 29 のいずれのがんを治療する方法。

20

【請求項 31】

前記がんが、5 - フルオロウラシルに抵抗性であり、かつ前記野生型 K R A S がヒト K R A S を基準として、コドン 12、13 又は 61 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする、請求項 10 ~ 30 のいずれのがんを治療する方法。

【請求項 32】

前記がんが、5 - フルオロウラシルに抵抗性であり、かつ前記野生型 K R A S がヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 61 H、G 12 S、G 12 V、G 12 A 又は G 13 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする、請求項 10 ~ 31 のいずれのがんを治療する方法。

【請求項 33】

30

がんの治療に使用される
セツキシマブ及び I S C - 4、又は
セツキシマブ及び I S C - 4 プロドラッグ。

【請求項 34】

医薬として使用するための
セツキシマブ及び I S C - 4、又は
セツキシマブ及び I S C - 4 プロドラッグ、の組合せ。

40

【請求項 35】

実質的に本明細書に記載されている被験体のがんを治療する方法。

【請求項 36】

実質的に本明細書に記載されている医薬組成物。

【請求項 37】

実質的に本明細書に記載されている市販用セット。

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

【0001】

本出願は、2012年12月20日に出願された米国仮特許出願第 61 / 740,126 号の優先権を主張し、その内容の全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【政府支援】

【0002】

50

本発明は、国立衛生研究所によって授与された助成金番号 C A 1 4 3 9 9 の下で、政府支援で行われた。政府は本発明において一定の権利を有する。

【技術分野】

【0003】

本発明の一般的側面によれば、がん治療を必要とする被験体のがんを治療するための方法及び組成物が提供される。本発明の一般的側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の両方を、複合製剤として又は別個の製剤として投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療するための方法及び組成物が提供される。

【背景技術】

【0004】

がん治療を必要とする被験体のがんを治療するための方法及び組成物は求められ続けている。本発明によれば、そのような方法及び組成物が提供される。

【発明の概要】

【0005】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の両方を、複合製剤として又は別個の製剤として投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法が提供される。

【0006】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の組合せを複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんが野生型 K R A S を特徴とする、がんを治療する方法が提供される。

【0007】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんが活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする、がんを治療する方法が提供される。

【0008】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんがヒト K R A S を基準として、コドン 12、13 又は 61 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする、がんを治療する方法が提供される。

【0009】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんがヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 61 H、G 12 S、G 12 V、G 12 A 又は G 13 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする、がんを治療する方法が提供される。

【0010】

本発明によって、セツキシマブと I S C - 4 の組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんが野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである、がんを治療する方法が提供される。

【0011】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体の大腸がんを治療する方法であって、前記大腸がんが活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする、がんを治療する方法が提供される。

【0012】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんがヒト K R A S を基準として、コドン 12、13 又は 61 に活性化 K R A S 変異を

10

20

30

40

50

有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである、がんを治療する方法が提供される。

【 0 0 1 3 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんがヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A 又は G 1 3 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである、がんを治療する方法が提供される。

【 0 0 1 4 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の組合せを投与する前に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；セツキシマブと I S C - 4 の組合せを、複合製剤として又は別個に投与すること；セツキシマブと I S C - 4 の組合せを投与した後に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及びアポトーシスの 1 種以上のマーカーについて第 1 及び第 2 の試料を分析することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、第 1 の試料に比較して第 2 の試料におけるアポトーシスの増加は、セツキシマブ及び I S C - 4 の治療活性を示し、それによってセツキシマブと I S C - 4 の組合せを投与することの有効性を監視する、がんを治療する方法が提供される。そのような方法の側面によれば、がんは、活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、コドン 1 2、1 3 又は 6 1 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A 又は G 1 3 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、コドン 1 2、1 3 又は 6 1 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A 又は G 1 3 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。

【 0 0 1 5 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の組合せを投与する前に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；セツキシマブと I S C - 4 の組合せを、複合製剤として又は別個に投与すること；セツキシマブと I S C - 4 の組合せを投与した後に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及びリン酸化 A k t について第 1 及び第 2 の試料を分析することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、第 1 の試料との比較での第 2 の試料におけるリン酸化 A k t の減少は、セツキシマブ及び I S C - 4 の治療活性を示し、それによってセツキシマブと I S C - 4 の組合せを投与することの有効性を監視する、がんを治療する方法が提供される。そのような方法の側面によれば、がんは、活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、コドン 1 2、1 3 又は 6 1 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A 又は G 1 3 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、コドン 1 2、1 3 又は 6 1 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A 又は G 1 3 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 6 】

本発明のがんを治療する方法の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 を同時に又は逐次的に投与する。非限定的な例において、セツキシマブと I S C - 4 を、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、及び24時間から選択される時間内で逐次的に投与する。

【 0 0 1 7 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の両方を含む医薬組成物が提供される。

【 0 0 1 8 】

本発明の側面によれば、セツキシマブ及び I S C - 4 は単一の医薬製剤として又は別個の医薬製剤として提供される、セツキシマブと I S C - 4 の両方を含む市販用セットが提供される。

10

【 0 0 1 9 】

本発明によって、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの両方を組合せてあるいは別々に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法が提供される。

【 0 0 2 0 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの両方を組合せてあるいは別々に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんが野生型 K R A S を特徴とする、がんを治療する方法が提供される。

20

【 0 0 2 1 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんが活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする、がんを治療する方法が提供される。

【 0 0 2 2 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんがヒト K R A S を基準として、コドン 12、13、又は 61 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする、がんを治療する方法が提供される。

30

【 0 0 2 3 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんがヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 61 H、G 12 S、G 12 V、G 12 A 又は G 13 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする、がんを治療する方法が提供される。

【 0 0 2 4 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの両方を組合せてあるいは別々に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体の大腸がんを治療する方法であって、前記がんが野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである、がんを治療する方法が提供される。

40

【 0 0 2 5 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体の大腸がんを治療する方法であって、前記大腸がんが活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする、大腸がんを治療する方法が提供される。

【 0 0 2 6 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグ組合せを複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんがヒト K R A S を基準として、コドン 12、13 又は 61 に活性化 K R A

50

S変異を有さない野生型K R A Sを特徴とする大腸がんである、がんを治療する方法が提供される。

【0027】

本発明の側面によれば、セツキシマブとI S C - 4プロドラッグの組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんがヒトK R A Sを基準として、活性化K R A S変異Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A又はG 1 3 Dを有さない野生型K R A Sを特徴とする大腸がんである、がんを治療する方法が提供される。

【0028】

本発明の側面によれば、セツキシマブとI S C - 4プロドラッグの組合せを投与する前に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第1の試料を得ること；セツキシマブとI S C - 4プロドラッグの両方を組合せてあるいは別々に投与すること；セツキシマブとI S C - 4プロドラッグの組合せを投与した後に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第2の試料を得ること；及びアポトーシスの1種以上のマーカーについて第1及び第2の試料を分析することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、第1の試料に比較して第2の試料におけるアポトーシスの増加は、セツキシマブ及びI S C - 4プロドラッグの治療活性を示し、それによってセツキシマブとI S C - 4プロドラッグの組合せを投与することの有効性を監視する、がんを治療する方法が提供される。そのような方法の側面によれば、がんは、活性化K R A S変異を有さない野生型K R A Sを特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒトK R A Sを基準として、コドン1 2、1 3又は6 1に活性化K R A S変異を有さない野生型K R A Sを特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒトK R A Sを基準として、活性化K R A S変異Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A又はG 1 3 Dを有さない野生型K R A Sを特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、活性化K R A S変異を有さない野生型K R A Sを特徴とする大腸がんである。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒトK R A Sを基準として、コドン1 2、1 3又は6 1に活性化K R A S変異を有さない野生型K R A Sを特徴とする大腸がんである。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒトK R A Sを基準として、活性化K R A S変異Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A又はG 1 3 Dを有さない野生型K R A Sを特徴とする大腸がんである。

。

【0029】

本発明の側面によれば、セツキシマブとI S C - 4プロドラッグの組合せを投与する前に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第1の試料を得ること；セツキシマブとI S C - 4プロドラッグの両方を組合せてあるいは別々に投与すること；セツキシマブとI S C - 4プロドラッグの組合せを投与した後に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第2の試料を得ること；及びリン酸化A k tについて第1及び第2の試料を分析することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、第1の試料との比較での第2の試料におけるリン酸化A k tの減少は、セツキシマブ及びI S C - 4プロドラッグの治療活性を示し、それによってセツキシマブとI S C - 4プロドラッグの組合せを投与することの有効性を監視する、がんを治療する方法が提供される。そのような方法の側面によれば、がんは活性化K R A S変異を有さない野生型K R A Sを特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒトK R A Sを基準として、コドン1 2、1 3又は6 1に活性化K R A S変異を有さない野生型K R A Sを特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒトK R A Sを基準として、活性化K R A S変異Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A又はG 1 3 Dを有さない野生型K R A Sを特徴とする。そのような方法の側面によれば、大腸がんは、活性化K R A S変異を有さない野生型K R A Sを特徴とする。そのような方法の側面によれば、大腸がんは、ヒトK R A Sを基準として、コドン1 2、1 3又は6 1に活性化K R A S変異を有さない野生型K R A Sを特徴とする。そのような方法の側面によれば、大腸がんは、ヒトK R A Sを基準として、活性化K R A S変異Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A又はG 1 3 Dを

10

20

30

40

50

有さない野生型 K R A S を特徴とする。

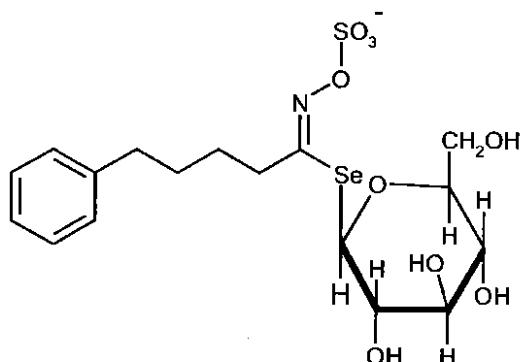
【 0 0 3 0 】

本発明のがんを治療する方法の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグを同時に又は逐次的に投与する。非限定的な例において、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグを、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、及び24時間から選択される時間内で逐次的に投与する。

【 0 0 3 1 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの両方を組合せてあるいは別々に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記 I S C - 4 プロドラッグが I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩である、がんを治療する方法が提供される。前記 I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグは、以下の構造式を有する。

【 化 1 】



10

20

30

40

50

【 0 0 3 2 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの両方を組合せてあるいは別々に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんが野生型 K R A S を特徴付けられ、I S C - 4 プロドラッグが I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩である、がんを治療する方法が提供される。そのような方法の側面によれば、がんは活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、コドン 12、13 又は 61 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 61 H、G 12 S、G 12 V、G 12 A 又は G 13 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする。

【 0 0 3 3 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの両方を組合せてあるいは別々に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記がんが野生型 K R A S を特徴とする大腸がんであり、I S C - 4 プロドラッグが I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩である、がんを治療する方法が提供される。そのような方法の側面によれば、大腸がんは活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、大腸がんは、ヒト K R A S を基準として、コドン 12、13 又は 61 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、大腸がんは、ヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 61 H、G 12 S、G 12 V、G 12 A 又は G 13 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする。

【 0 0 3 4 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩である I S C - 4 プロドラッグの組合せを投与する前に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；セツキシマブと

I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩の両方を組合せてあるいは別々に投与すること；セツキシマブと I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩の組合せを投与した後に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及びアポトーシスの 1 種以上のマーカーについて第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩の組合せを投与することの有効性を監視することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法が提供される。そのような方法の側面によれば、がんは、活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、コドン 1 2、1 3 又は 6 1 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A 又は G 1 3 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、コドン 1 2、1 3 又は 6 1 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A 又は G 1 3 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。

10

20

30

40

【 0 0 3 5 】

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩である I S C - 4 プロドラッグの組合せを投与する前に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；セツキシマブと I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩の両方を組合せてあるいは別々に投与すること；セツキシマブと I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩の組合せを投与した後に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及びリン酸化 A k t について第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩の組合せを投与することの有効性を監視することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法が提供される。そのような方法の側面によれば、がんは、活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、コドン 1 2、1 3 又は 6 1 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A 又は G 1 3 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする。そのような方法の側面によれば、がんは、活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、コドン 1 2、1 3 又は 6 1 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。そのような方法の側面によれば、がんは、ヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A 又は G 1 3 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである。

40

【 0 0 3 6 】

本発明のがんを治療する方法の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩の組合せを、同時に又は逐次的に投与する。

【 0 0 3 7 】

非限定的な例において、セツキシマブと I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩を、1 時間、2 時間、4 時間、8 時間、1 2 時間、及び 2 4 時間から選択される時間内で逐次的に投与する。

【 0 0 3 8 】

本発明の側面による医薬組成物は、セツキシマブ及び I S C - 4 のグルコシノラートプロ

50

ドラッグ又はその薬学的に許容される塩を含む。

【0039】

本発明の側面による市販用セットは、セツキシマブ及びISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩を含む。

【0040】

本発明の側面による市販用セットは、セツキシマブ及びISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩の両方を含む単一の医薬製剤を含む。

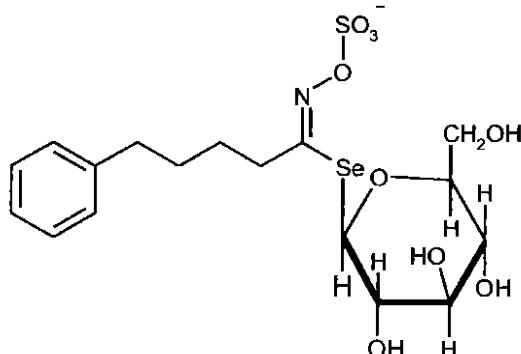
【0041】

本発明の側面による市販用セットは、セツキシマブ及びISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩を含み、前記セツキシマブは第1の医薬製剤として提供され、ISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩は市販用セット中の別個の第2の医薬製剤として提供される。10

【0042】

本発明の側面による組成物は、以下の構造式：

【化2】



20

を有するISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩を含む。

【0043】

本発明の側面によれば、セツキシマブとISC-4と一緒に又は別々に投与する前に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第1の試料を得ること；セツキシマブとISC-4を投与した後に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第2の試料を得ること；及びアポトーシスの1種以上のマーカーについて第1及び第2の試料を分析すること、及び／又はリン酸化Aktについて第1及び第2の試料を分析することを含む、がんの治療の有効性を評価する方法であって、アポトーシスの1種以上のマーカーの増加及びリン酸化Aktの減少が、組合せて、一緒に、又は別々に、セツキシマブ及びISC-4の両方を投与する治療活性の指標であって、それによってセツキシマブとISC-4の組合せを投与することの有効性を監視する、がんの治療の有効性を評価する方法が提供される。30

【0044】

本発明の側面によれば、セツキシマブとISC-4と一緒に又は別々に投与する前に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第1の試料を得ること；セツキシマブとISC-4プロドラッグを投与した後に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第2の試料を得ること；及びアポトーシスの1種以上のマーカーについて第1及び第2の試料を分析すること、及び／又はリン酸化Aktについて第1及び第2の試料を分析することを含む、がんの治療の有効性を評価する方法であって、アポトーシスの1種以上のマーカーの増加及びリン酸化Aktの減少が、組合せて、一緒に、又は別々に、セツキシマブとISC-4プロドラッグの両方を投与する治療活性の指標であって、それによってセツキシマブとISC-4プロドラッグの組合せを投与することの有効性を監視する、がんの治療の有効性を評価する方法が提供される。40

50

【0045】

本発明の側面によれば、セツキシマブとISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩と一緒に又は別々に投与する前に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第1の試料を得ること；セツキシマブとISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩を投与した後に被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第2の試料を得ること；及びアポトーシスの1種以上のマーカーについて第1及び第2の試料を分析すること、及び／又はリン酸化Aktについて第1及び第2の試料を分析することを含む、がんの治療の有効性を評価する方法であって、アポトーシスの1種以上のマーカーの増加及びリン酸化Aktの減少が、複合化して、一緒に、又は別々に、セツキシマブとISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩の両方を投与する治療活性の指標であって、それによってセツキシマブとISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩の組合せを投与することの有効性を監視する、がんの治療の有効性を評価する方法が提供される。

10

【図面の簡単な説明】

【0046】

【図1A】図1Aは、ISC-4又はDMSOで処理した、表示された細胞株の細胞生存率試験の結果及び算出したEC50値を示すグラフである。

20

【0047】

【図1B】図1Bは、同期及び非同期HCT116細胞の細胞周期プロファイルに対するISC-4処理の効果を示すグラフである。

20

【0048】

【図1C】図1Cは、同期及び非同期HT-29細胞の細胞周期プロファイルに対するISC-4処理の効果を示すグラフである。

【0049】

【図1D】図1Dは、0、1、2、4、8、又は16μMのISC-4によるISC-4処理後の表示された大腸がんのsub-G1含有量を示すグラフである。

30

【0050】

【図2】図2は、ISC-4(1、2、又は4μM)及び表示された治療法の推定EC12.5、EC25、及びEC50で、単独及び組合せで処理した大腸がん細胞株SW480及びRKOにおける細胞生存率分析の結果を示す。

30

【0051】

【図3A】図3Aは、表示の用量のISC-4及びセツキシマブで72時間処理されたヒト大腸がん細胞株HT-29の細胞生存率分析の結果を示す。

【0052】

【図3B】図3Bは、表示の用量のISC-4セツキシマブで72時間処理されたヒト大腸がん細胞株RKOの細胞生存率分析の結果を示す。

40

【0053】

【図3C】図3Cは、表示の用量のISC-4及びセツキシマブで72時間処理されたヒト大腸がん細胞株HCT116の細胞生存率分析の結果を示す。

【0054】

【図3D】図3Dは、表示の用量のISC-4及びセツキシマブで72時間処理されたヒト大腸がん細胞株DLB-1の細胞生存率分析の結果を示す。

40

【0055】

【図3E】図3Eは、24時間、表示のように5-FUで処理した野生型RKO細胞及び5-FU耐性RKO細胞の細胞生存率試験の結果を示すグラフである。

【0056】

【図3F】図3Fは、24時間、ISC-4(2μM)及びセツキシマブ(1μg/ml)で処理した5-FU耐性RKO細胞の結果を示すグラフである。

50

【0057】

【図4A】図4Aは、表示の期間、I S C - 4 (2 μM)とセツキシマブ (1 μg / m L)を単独又は組合せて処理したR K O細胞の結果を示している。

【0058】

【図4B】図4Bは、12時間、図4Aと同様にして処理したR K O細胞のD A P I染色の結果を示している。

【0059】

【図4C】図4Cは、12時間、I S C - 4 (2 μM)とセツキシマブ (1 μg / m L)を単独又は組合せて処理したR K O細胞のs u b - G 1含有量を示している。

【0060】

【図4D】図4Dは、処理後24時間での、セツキシマブ (0、0.25、0.5、又は1 g / m L)と組み合わせたI S C - 4 (2 μM)で処理したR K O細胞のカスパーゼグ口分析の結果(上図)、及びI S C - 4 (2 μM)及びセツキシマブ (1 μg / m L)の定量化の結果(下図)を示している。
10

【0061】

【図5A】図5Aは、I S C - 4 (2 μM)とセツキシマブ (1 μg / 1 m L)を単独又は組み合わせて24時間処理したR K O細胞のウェスタンプロット分析の結果を示している。

【0062】

【図5B】図5Bは、表示の期間、I S C - 4 (2 μM)とセツキシマブ (1 μg / 1 m L)を単独又は組み合わせて処理したR K O細胞のウェスタンプロット分析の結果を示す図である。
20

【0063】

【図5C】図5Cは、I S C - 4 (2 μM)とセツキシマブ (1 μg / m L)の組合せ(R x)で8時間処理した後の、表示のヒト大腸がん細胞のウェスタンプロット分析の結果である。対照との比較で^{*} P < 0.05である。

【0064】

【図6A】図6Aは、I S C - 4 (3 m g / k g、腹腔内)、セツキシマブ (10 m g / k g、静脈内)、又はそれらの組合せ(「コンボ」)の単回投与で治療後4日での、5 - F U - 耐性R K O異種移植片の相対的な腫瘍サイズを示すグラフである。

【0065】

【図6B】図6Bは、治療後24時間に採取した異種移植片腫瘍のヘマトキシリントン及びエオシン(H & E)染色並びにT U N E L染色の結果である。
30

【0066】

【図6C】図6Cは、定着H T - 29異種移植腫瘍を有する無胸腺雌ヌードマウスを、I S C - 4 (3 m g / k g、静脈内)、セツキシマブ (10 m g / k g、静脈内)、その組合せ、又はセツキシマブ及び5 - F U (25 m g / k g、静脈内)で、1週間に1回の0日目から始まる治療の結果である。

【0067】

【図7A】図7Aは、I S C - 4 (2 μM)とセツキシマブ (1 μg / m L)を単独又は組合せて12時間処理したR K O細胞の位相差顕微鏡像である。
40

【0068】

【図7B】図7Bは、I S C - 4 (2 μM)とセツキシマブ (1 μg / m L)を単独又は組合せて処理したR K O細胞におけるK i - 6 7発現の流動細胞計画法(flow cytometry)解析の結果である。

【0069】

【図7C】図7Cは、I S C - 4 (2 μM)とセツキシマブ (1 μg / m L)を単独又は組合せて処理したR K O細胞におけるK i - 6 7発現のウェスタンプロット分析である。

【0070】

【図7D】図7Dは、I S C - 4 (2 μM)とセツキシマブ (1 μg / m L)で24時間処理されたR K O細胞のウェスタンプロット分析結果がある。
50

【0071】

【図8A】図8Aは、ISC-4(3mg/kg、腹腔内)、セツキシマブ(10mg/kg、静脈内)、又はこれらの組合せ(n=5)を週2回、2週間にわたって投与したマウスの体重変化を示すグラフである。

【0072】

【図8B】図8Bは、ISC-4(3mg/kg、腹腔内)、セツキシマブ(10mg/kg、静脈内)、又はこれらの組合せでの治療後24時間にマウスから採取された肝臓組織のH&E染色の結果である。

【0073】

【図8C】図8Cは、図6Cに記載のHT-29異種移植片の最終の腫瘍体積及び腫瘍重量を示すグラフである。 10

【0074】

【図8D】図8Dは、最終投与3日後の終点でのマウスの体重である(n=8)。誤差バーは繰り返しの標準誤差を示している。

【発明の詳細な説明】

【0075】

本明細書中で使用される科学用語及び専門用語は、当業者が通常理解している意味を有すると意図されている。そのような用語は、様々な標準的な参考文献中の文脈において定義され、使用されており、その参考文献としては、例えば、J. Sambrook and D.W. Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual(分子クローニング:実験便覧), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3rd Ed., 2001; F.M. Ausubel, Ed., Short Protocols in Molecular Biology, Current Protocols(分子生物学における簡易プロトコル、最新プロトコル), 5th Ed., 2002; B. Albertsら, Molecular Biology of the Cell(細胞の分子生物学), 4th Ed., Garland, 2002; D.L. Nelson and M.M. Cox, Lehninger Principles of Biochemistry(レーニンジャーの生化学の原理), 4th Ed., W.H. Freeman & Company, 2004; Engelke, D.R., RNA Interference(RNAi): Nuts and Bolts of RNAi Technology(RNA干渉(RNAi):RNAi技術の基本), DNA Press LLC, Eagleville, PA, 2003; Hrdewijn, P. (Ed.), Oligonucleotide Synthesis: Methods and Applications, Methods in Molecular Biology(オリゴヌクレオチド合成:方法と応用、分子生物学の方法), Humana Press, 2004; A. Nagy, M. Gertsenstein, K. Vintersten, R. Behringer, Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual(マウス胚の操作:実験便覧), 3rd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, December 15, 2002, ISBN-10: 0879695919; 及びKursad Turksen (Ed.), Embryonic stem cells: methods and protocols in Methods Mol Biol.(胚性幹細胞:方法及びプロトコル(分子生物学の方法)) 2002, 185, Humana Press; Current Protocols in Stem Cell Biology(幹細胞生物学における最新プロトコル), ISBN: 9780470151808が挙げられる。 20

【0076】

単数形の用語「a」、「an」及び「the」は、限定的であると意図されておらず、単数であることが明示的に述べられていない限り、あるいは文脈が明らかに単数であることを示していない限り、複数の指示対象を含む。 30

【0077】

ISC-4とセツキシマブの投与を含む組合せ処置の相乗効果は、本明細書に記載のように予想外に見出されものである。

【0078】

本発明によれば、セツキシマブとISC-4の組合せを複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記組合せの投与が相乗作用を提供する、がんを治療する方法が提供される。

【0079】

用語「ISC-4」は構造式:

【化3】



を有する化合物を指す。

【0080】

10

化合物 I S C - 4 は、例えば Sharma, A.K., et al, J. of Med. Chem., 2008, 51(24):7 820-7826等の標準的化学合成法を用いて合成することができる。

【0081】

本明細書に記載される方法及び組成物を用いて治療されるがんは、限定されないが、前新生物過増殖、その場のがん (cancer in-situ)、新生物及び転移がんを含む異常な細胞増殖を特徴とする。

【0082】

20

本発明の側面によれば、セツキシマブと I S C - 4 の組合せを複合製剤として又は別個に投与することを含む、野生型 K R A S を特徴とするがんを患う又は患うリスクがある被験体を治療する方法であって、前記組合せの投与が相乗作用を提供する、被験体を治療する方法が提供される。

【0083】

30

K R A S (GTPアーゼKRas又はV-Ki-ras2 Kirstenラット肉腫ウイルスがん遺伝子相同体としても知られる)は、過剰活性化 K R A S 及びがんに関連した K R A S の変異と共に、当技術分野でよく知られている (S.M. Anderson, Expert Review of Molecular Diagnostics, 2011, 11(6):635-642; Schimanski et al, Cancer Res, 1999, 59:5169-5175; Chang et al, BMC Cancer 9: 179, 2009; 及び Jancikら, Clinical Relevance of KRAS in Human Cancers, Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010, Article ID 150960, Epub Jun 7, 2010を参照)。

【0084】

40

活性化 K R A S 変異は、よく知られており、ヒト K R A S を基準として、コドン 1 2 及び 1 3、及びコドン 6 1 のものが含まれるが、限定されるものではない。周知の活性化 K R A S 変異の例としては、限定されるものではないが、ヒト K R A S を基準として、Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A 及び G 1 3 D が挙げられる。これら及び他の周知の活性化 K R A S 変異は、S.M. Anderson, Expert Review of Molecular Diagnostics, 2011, 11(6):635-642; Schimanski et al, Cancer Res, 1999, 59:5169-5175; Chang et al, BMC Cancer 9: 179, 2009; and Jancik et al, Clinical Relevance of KRAS in Human Cancers, Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010, Article ID 150960, Epub Jun 7, 2010に記載されている。

【0085】

K R A S の変異状態は、被験体から得られる試験試料において分析することができる。

【0086】

試験試料は、がん細胞又はがん細胞由来の循環 D N A を含む又は含む疑いのある、被験体のいかなる体液、細胞、又は組織であってもよく、例えば、血液、血漿、血清、尿、唾液、腹水、脳脊髄液、脳室液、胸水、肺及び気管支洗浄試料、粘液、汗、涙、精液、膀胱洗浄試料、羊水、リンパ液、腹水、滑液、骨髄穿刺液、腫瘍細胞又は組織、生検材料等の臓器の細胞又は組織等が挙げられる。

【0087】

50

K R A S の変異状態は、限定されるものではないが、タンパク質又はペプチドの配列決定、核酸分析、及び免疫測定を含む様々な方法のいずれによっても分析することができる。

K R A S の変異状態を決定する方法の例は、S.M. Anderson, Expert Review of Molecular Diagnostics, 2011, 11(6):635-642; Schimanskiら、Cancer Res, 1999, 59:5169-5175; Chang et al, BMC Cancer 9: 179, 2009; and Jancikら、Clinical Relevance of K R A S in Human Cancers, Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010, Article ID 1 50960, Epub Jun 7, 2010に記載されている。

【 0 0 8 8 】

K R A S 核酸、特にm R N A 又はc D N A を検出するための分析は、配列決定、R T - P C R 等のポリメラーゼ連鎖反応 (P C R) 、ドットプロット、その場ハイブリッド形成 (in situ hybridization) 、ノーザンプロット、及びR N A ゼ保護が挙げられるが、それらに限定されるものではない。

10

【 0 0 8 9 】

酵素結合免疫吸着分析 (E L I S A) 、酵素結合免疫濾過分析 (E L I F A) 、フローサイトメトリー、免疫プロット、免疫沈降、免疫組織化学、免疫細胞化学、発光免疫測定 (L I A) 、蛍光免疫測定 (F L A) 、及び放射免疫測定等の免疫測定法が試料のK R A S 変異の状態を分析するのに使用されるが、これらに限定されない。

【 0 0 9 0 】

本発明の側面によれば、セツキシマブとI S C - 4 の組合せを複合製剤として又は別個に投与することを含む、5 - フルオロウラシルに対する耐性を特徴とするがんを患う又は患うリスクがある被験体を治療する方法であって、前記組合せの投与が相乗作用を提供する、被験体を治療する方法が提供される。

20

【 0 0 9 1 】

本発明の側面によれば、セツキシマブとI S C - 4 の組合せを複合製剤として又は別個に投与することを含む、野生型K R A S を特徴とする大腸がんを患う又は患うリスクがある被験体を治療する方法であって、前記組合せの投与が相乗作用を提供する、被験体を治療する方法が提供される。

【 0 0 9 2 】

本発明の方法又は組成物は、がんの徵候及び／又は症状の予防並びに改善のために使用することができる。被験体の治療を指すために使用される用語「治療」及び「処置」は、がんの進行を遅らせる、及び／又はがんの徵候又は症状を軽減又は改善する等の被験体のがんを予防、抑制、又は改善することを含む。

30

【 0 0 9 3 】

本発明の組合せ治療として投与するセツキシマブとI S C - 4 の治療有効量は、治療される被験体において有益な効果を有する量である。限定されないが、前新生物過増殖、その場のがん、新生物、転移がん、腫瘍、良性増殖、又は本発明の組成物に応答する疾患を含む異常な細胞増殖を特徴とする疾患等のがんを患う又は患うリスクがある被験体において、本発明の組成物の治療有効量は、疾患の1つ以上の徵候及び／又は症状を改善又は予防するのに有効である。

【 0 0 9 4 】

本発明の組合せ治療として投与するセツキシマブとI S C - 4 の治療有効量は、がんのアポトーシス及び／又は細胞増殖を検出可能なレベルに増加させるのに有効である。本発明の組合せ治療として投与するセツキシマブとI S C - 4 の治療有効量は、がんの細胞中のリン酸化A k t を減少させるのに有効である。

40

【 0 0 9 5 】

本発明の方法に従って及び本発明の組成物を用いて治療される被験体は、哺乳動物又は非哺乳動物であってもよい。哺乳動物被験体は、任意の哺乳動物であってよく、ヒト、非ヒト霊長類、げっ歯類（例えば、マウス、ラット又はモルモット）；飼い慣らされたペット（例えば、ネコ又はイヌ）；ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ又はウサギが挙げられるがこれらに限定されない。非哺乳動物被験体は、任意の非哺乳動物であってよく、鳥類（例えば、アヒル、ガチョウ、ニワトリ又はシチメンチョウ）が挙げられるがこれらに限定されない。被験体の性別及び年齢は問わない。本発明の医薬組成物を被験体に投与すること

50

を含む方法の側面において、その被験体は、ヒトである。用語「被験体」及び「患者」は、本明細書中で交換可能に使用される。

【0096】

本発明の側面によれば、セツキシマブ、ISC-4及び1つ以上の追加の治療薬の組合せを投与する。

【0097】

用語「追加の治療薬」は本明細書で使用され、化学物質、化学物質の混合物、生物学的高分子（例えば、核酸、抗体、タンパク質又はその一部、例えば、ペプチド）、又は被験体において局所的にもしくは全身的に作用する生物学的、生理的もしくは薬理学的に活性な1種以上の物質である生物学的材料（例えば、細菌、植物、真菌又は動物（特に哺乳動物）の細胞もしくは組織）から調製される抽出物のことを指す。10

【0098】

本発明の方法及び組成物の側面によれば、追加の治療薬としては、抗生物質、抗ウイルス薬、抗新生物剤、鎮痛薬、解熱薬、抗うつ薬、抗精神病薬、抗癌剤、抗ヒスタミン剤、抗骨粗鬆症剤、抗骨壊死剤、抗炎症剤、抗不安薬、化学療法剤、利尿薬、成長因子、ホルモン、非ステロイド系抗炎症剤、ステロイド剤及び血管作用薬が挙げられるが、これらに限定されない。

【0099】

ISC-4とセツキシマブを含む組合せ療法は相乗効果を示す。

【0100】

本発明の側面によれば、組合せ療法は、（1）单一医薬組成物として共に製剤化するISC-4とセツキシマブを含む医薬複合組成物を含む医薬組成物；及び／又は（2）ISC-4とセツキシマブの共投与（ここでISC-4とセツキシマブは、同一組成物中に製剤化されていない）を含む。別個に製剤を用いる時には、ISC-4は、セツキシマブに対して、同時に、断続的に、時差的に、セツキシマブの投与前に、セツキシマブの投与後に、又はそれらを組み合わせて投与してもよい。20

【0101】

本発明の側面によれば、組合せ療法は、（1）单一医薬組成物として、1種以上の追加の治療薬と共に製剤化するISC-4とセツキシマブを含む医薬複合組成物を含む医薬組成物；（2）ISC-4、セツキシマブと1種以上の追加の医薬の共投与（ここで、ISC-4、セツキシマブと1種以上の追加の医薬を同一組成物に製剤化していない）；及び／又は（3）ISC-4、セツキシマブと1種以上の追加の医薬の共投与（ここで、ISC-4、セツキシマブと1種以上の追加の医薬（但し、ISC-4、セツキシマブと1種以上の追加の医薬の全てではない）は、同一組成物に製剤化している）を含む。別個に製剤を用いる時には、ISC-4、セツキシマブと1種以上の追加の医薬の各々は、他の各成分に対して、同時に、断続に、時間をずらして、他の各成分の投与前に、他の各成分の投与後に、又はそれらを組み合わせて投与してもよい。30

【0102】

組合せ治療により、ISC-4とセツキシマブを含む医薬組成物の有効投与量を減少させ、治療指数を増加させることができる。

【0103】

本発明の側面によれば、追加の医薬は抗がん剤である。

【0104】

抗がん剤は、例えば、Goodmanら、Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics（グッドマンとギルマンの治療薬の薬理学的基礎），8th Ed., Macmillan Publishing Co., 1990に記載されている。

【0105】

抗がん剤の例としては、アシビシン、アクラルビシン、アコダゾール、アクロニン、アドゼレシン、アルデスロイキン、アリトレチノイン、アロプリノール、アルトレタミン、アンボマイシン、アメタントロン、アミホスチン、アミノグルテチミド、アムサクリン、ア50

ナストロゾール、アントラマイシン、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、アスペルリン、アザシチジン、アゼテバ、アゾトマイシン、バチマスタッフ、ベンゾデバ、ベバシズマブ、ビカルタミド、ビサントレン、ビスナフィドジメシラート、ビゼレシン、ブレオマイシン、ブレキナル、プロピリミン、ブルファン、カクチノマイシン、カルステロン、カペシタピン、カラセミド、カルベチマー、カルボプラチン、カルムスチン、カルビシン、カルゼレシン、セデフィンゴール、セレコキシブ、クロラムブシル、シロレマイシン、シスプラチン、クラドリビン、メシル酸クリスナトール、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デシタピン、デキソルマプラチン、デザグアニン、メシル酸デザグアニン、ジアジコン、ドセタキセル、ドキソルビシン、ドロキシフェン、ドロモスタノロン、ズアゾマイシン、エダトレキセート、エフロミチン、エルサミトルシン、エンロプラチン、エンプロメート、エピプロビジン、エビルビシン、エルブロゾール、エソルビシン、エストラムスチン、エタニダゾール、エトポシド、エトブリニン、ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フロクスウリジン、フルダラビン、フルオロウラシル、フルロシタピン、ホスキドン、ホストリエシン、フルベストラント、ゲムシタピン、ヒドロキシ尿素、イダルビシン、イホスファミド、イルモホシン、インターロイキンⅡ (組換えインターロイキンⅡ又はrIL-2を含むIL-2)、インターフェロンアルファ-2a、インターフェロンアルファ-2b、インターフェロンアルファ-n1、インターフェロンアルファ-n3、インターフェロンベータ-Ia、インターフェロンガンマ-Ib、イプロプラチン、イリノテカン、ランレオチド、レトロゾール、ロイプロリド、リアロゾール、ロメトレキソール、ロムスチン、ロソキサントロン、マソプロコール、メイタンシン、塩酸メクロレタミン、メゲストロール、酢酸メレンゲストロール、メルファラン、メノガリル、メルカプトブリン、メトトレキサート、メトブリニン、メツレデバ、ミチンドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトギリン、ミトマルシン、マイトイシン、ミトスペル、ミトタン、ミトキサントロン、ミコフェノール酸、ネララビン、ノコダゾール、ノガラマイシン、オルムナプラチン、オキシスラン、パクリタキセル、ペガスパルガーゼ、ペリオマイシン、ペタムスチン、ペプロマイシン、ペルホスファミド、ピポブロマン、ピポスルファン、ピロキサントロン塩酸塩、プリカマイシン、プロメスタン、ポルフィマー、ポルフィロマイシン、プレドニムスチン、プロカルバジン、ピューロマイシン、ピラゾフリン、リボブリニン、ログレチミド、サフィンゴール、セムスチン、シムトラゼン、スバルホセート、スバルソマイシン、スピロゲルマニウム、スピロムスチン、スピロプラチン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、スロフェヌル、タリソマイシン、タモキシフェン、テコガラン、テガフル、テロキサントロン、テモポルフィン、テニポシド、テロキシロン、テストラクトン、チアミブリニン、チオグアニン、チオテバ、チアゾフリン、チラバザミン、トポテカン、トレミフェン、トレストロン、トリシリビン、トリメトレキサート、トリブトレリン、ツブロゾール、ウラシルマスター、ウレデバ、バブレオチド、ベルテポルフィン、ビンプラスチン、硫酸ビンクリスチン、ビンデシン、ビネピジン、ビングリシナート、ビンロイロシン、ビノレルビン、ビンロシジン、ビンゾリジン、ボロゾール、ゼニプラチン、ジノスタチン、ゾレドロネット及びゾルビシンが挙げられる。

【0106】

本発明の側面によれば、がん治療を必要とする被験体のがんを治療するための本発明の組合せ治療として投与するセツキシマブとISC-4の治療活性の1種以上の相関性バイオマーカーを分析し、被験体のガンの治療を評価する。従って、例えば、リン酸化AKtのレベルは、がん治療を必要とする被験体を治療する本発明の組合せ治療として投与するセツキシマブとISC-4の治療活性の相関性バイオマーカーであり、がん細胞のリン酸化AKtの減少は、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する本発明の組合せ治療として投与するセツキシマブとISC-4の有効性の指標である。リン酸化AKtのレベルは、例えば、本明細書に記載の、標準的な方法に従って測定される。アポトーシスのバイオマーカーは、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する本発明の組合せ治療として投与するセツキシマブとISC-4の治療活性の相関性バイオマーカーであり、がん細胞の

10

20

30

40

50

アポトーシス 1 種以上のバイオマーカーの増加は、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する本発明の組合せ治療として投与するセツキシマブと I S C - 4 の有効性の指標である。アポトーシスのバイオマーカーとしては、DNA 断片化、壊死とは区別される特徴的な形態学的变化、及びカスパーゼ 3 の活性化が挙げられるが、これらに限定されない。アポトーシスのバイオマーカーは、例えば、本明細書に記載の、標準的な方法に従って測定される。

【 0 1 0 7 】

本発明の側面によれば、被験体の監視には、セツキシマブと I S C - 4 の組合せ治療の効果についての分析が用いられる。従って、例えば、試験試料は、治療の有効性を評価するために、本発明の方法による治療の前に、並びに治療中及び / 又は治療後に 1 回以上、被験体から採取される。更なる例では、試験試料は、疾患の経過もしくは進行又は治癒を評価するために、様々な時点において被験体から採取される。

10

【 0 1 0 8 】

特定の側面によれば、1 種以上のバイオマーカーを、被験体から採取された試験試料で分析し、本発明の医薬組成物による治療の監視を助ける。例えば、1 種以上のリン酸化 Akt 及び / 又はがん細胞のアポトーシスの検出を、被験体から採取された試験試料で分析し、本発明の医薬組成物による治療の監視を助ける。

【 0 1 0 9 】

所望により、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法は、補助的な抗がん治療を更に含む。補助的な抗がん治療は、被験体又は被験体の身体の患部の放射線治療であつてもよい。

20

【 0 1 1 0 】

セツキシマブ、I S C - 4 及び任意の所望の追加治療薬の投与量は、限定されないが、例えば、投与経路；組成物が投与する被験体の年齢、健康状態、性別、及び体重；被験体に症状があれば、その性質及び程度；並びに所望の効果等の要因に依って変動する。投与量は治療が短期間か長期間であるかに応じて調節してもよい。当業者は、医療行為に特有のこれら及び他の考慮すべき点に照らして薬学的有効量を決定できる。

【 0 1 1 1 】

一般に、セツキシマブ、I S C - 4 及び任意の所望の追加治療薬の 1 日投与量は、被験体の体重 1 K gあたり約 0 . 0 0 1 ~ 1 0 0 m g の範囲であるものとする。1 日投与量は所望の効果を得るために 2 回以上の分割用量として投与されてもよい。セツキシマブ、I S C - 4 及び任意の所望の追加治療薬を 1 種以上含む医薬組成物は、所望の結果を得るためにまた徐放用に製剤化してもよい。

30

【 0 1 1 2 】

本発明の方法の特定の側面において、補助的な抗がん治療量及び / 又は投与する抗がん剂量は、I S C - 4 とセツキシマブの投与を含む本発明の組合せ治療をせずに投与する場合に治療効果を達成するのに必要な補助的な抗がん治療量及び / 又は投与する抗がん剂量より少ない。従って、本発明の特定の側面において、抗がん治療量及び / 又は投与する抗がん剂量は、I S C - 4 とセツキシマブの投与を含む本発明の組合せ治療をせずに投与する場合に治療効果を達成するのに必要な補助的な抗がん治療量及び / 又は抗がん剂量より少なくとも 5 %、少なくとも 1 0 %、少なくとも 1 5 %、少なくとも 2 0 %、少なくとも 2 5 %、少なくとも 3 0 %、少なくとも 3 5 %、少なくとも 4 0 %、少なくとも 5 0 %、少なくとも 5 5 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 6 5 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 % または少なくとも 9 0 % である。

40

【 0 1 1 3 】

本発明の方法は、経口、直腸、鼻、肺、硬膜外、眼球、耳、動脈内、心臓内、脳室内、皮内、静脈内、筋肉内、腹腔内、骨内、髄腔内、膀胱内、皮下、局所的、経皮的及び経粘膜的（例えば、舌下、頬側、腫瘍及び吸入）の投与経路を含むがこれらに限定されない投与経路による本発明の医薬組成物の投与を包含する。

【 0 1 1 4 】

50

プロドラッグ

【0115】

本発明の側面によれば、ISC-4の1つ以上のプロドラッグは、セツキシマブとの組合せで投与され、セツキシマブとの組合せでのISC-4投与の利点を達成する。ISC-4プロドラッグは、所望により、ISC-4とセツキシマブの組合せで投与する。ISC-4プロドラッグは、本明細書に記載の治療の方法又は組成物において、ISC-4に置き換える、あるいは、本明細書に記載の治療の方法又は組成物において、ISC-4に追加して用いてもよい。

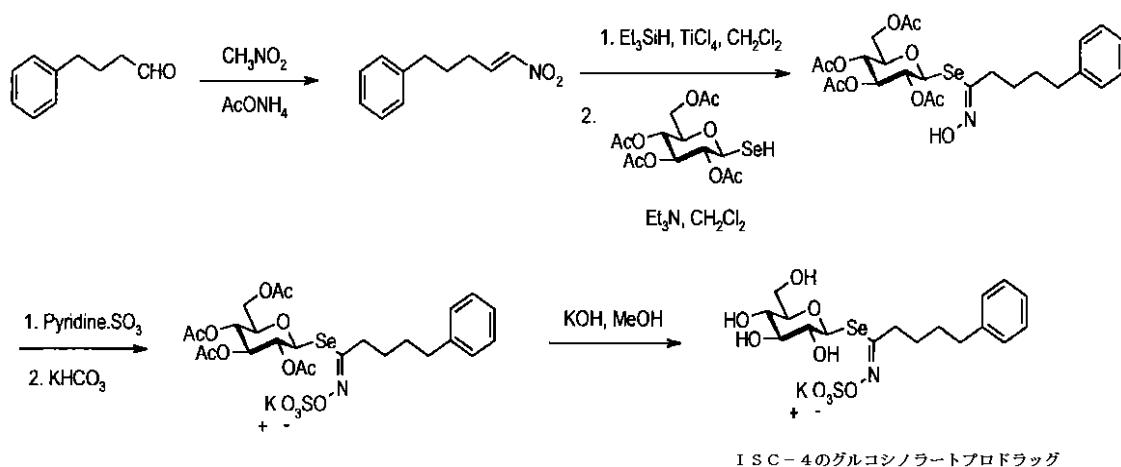
【0116】

ISC-4プロドラッグは、ISC-4プロドラッグから放出され、ISC-4を生成する1つ以上の部分に共有結合したISC-4の一形態である。プロドラッグの形態の例は、Sloan, K. B., Prodrugs, M. Dekker, New York, 1992; 及び Testa, B. and Mayer, J. M., Hydrolysis in drug and prodrug metabolism: chemistry, biochemistry,及びenzymology(薬物及びプロドラッグ代謝の加水分解: 化学、生化学、及び酵素学), Wiley-VCH, Zurich, 2003に記載されている。

【0117】

特定のISC-4プロドラッグは、ISC-4のグルコシノラートプロドラッグである。ISC-4のグルコシノラートプロドラッグは、以下の反応図式に概説されるように合成される。ISC-4のこのグルコシノラートプロドラッグは、生体外で(*in vitro*)、又は生体内で(*in vivo*)ミロシナーゼ酵素と相互作用すると、活性なISC-4を放出する。ISC-4のグルコシノラートプロドラッグは水溶性であることが予想される。

【化4】



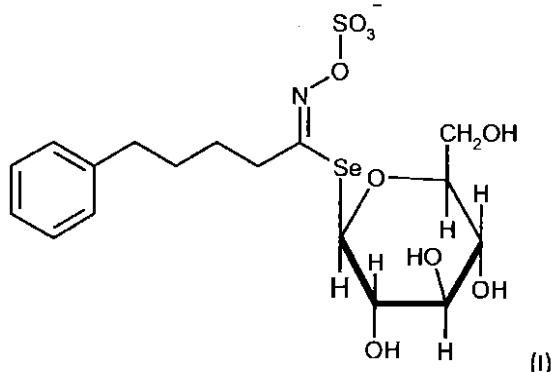
【0118】

本発明の側面によれば、ISC-4のグルコシノラートプロドラッグ(I)は、セツキシマブとの組合せで投与され、セツキシマブとの組合せでのISC-4投与の利点を達成する。ISC-4のグルコシノラートプロドラッグ(I)は、所望により、ISC-4及びセツキシマブと組み合わせて投与する。

【0119】

(I)によるISC-4のグルコシノラートプロドラッグは、所望により薬学的に許容される塩として提供される。

【化5】



10

【0120】

構造(I)のISC-4プロドラッグの薬学的に許容される塩の製剤は、一般に、目的の受容体に対して非毒性で、かつ組成物に含まれる構造式(I)のISC-4プロドラッグ及び他の活性薬剤の活性を阻害しなければ、構造式(I)のISC-4プロドラッグの任意の塩の形態をとることができる。例えば、構造式(I)のISC-4プロドラッグのカリウム塩の形態は、上記の合成反応図式に示されている。

【0121】

複合医薬組成物

20

【0122】

本発明によれば、ISC-4とセツキシマブの両方を含む複合医薬組成物は、一般に約0.1~99%のISC-4、約0.1~99%のセツキシマブ、及び薬学的に許容される担体を含む。

【0123】

本発明によれば、セツキシマブとISC-4及び/又はISC-4のプロドラッグを含む複合医薬組成物は、一般に約0.1~99%のISC-4及び/又は約0.1~99%のISC-4のプロドラッグ、約0.1~99%のセツキシマブ、及び薬学的に許容される担体を含む。

【0124】

本発明によれば、セツキシマブとISC-4及び/又はISC-4のグルコシノラートプロドラッグ(I)を含む複合医薬組成物は、一般に約0.1~99%のISC-4及び/又は約0.1~99%のISC-4のグルコシノラートプロドラッグ(I)、約0.1~99%のセツキシマブ、及び薬学的に許容される担体を含む。

30

【0125】

本発明の医薬組成物は、被験体への投与に適した任意の剤形でよく、例えば、錠剤、カプセル、散剤、顆粒剤、坐剤、丸剤、溶液、懸濁液、軟膏、ローション、クリーム、ゲル、ペースト、噴霧剤及びエアロゾル等の固体、半固体及び液体の剤形が含まれる。リポソーム及びエマルジョンは、医薬品、特に疎水性医薬品を送達するために使用できるよく知られた種類の医薬製剤である。本発明の医薬組成物は、一般に、薬学的に許容される担体(例えば、賦形剤、希釈剤及び/又は媒体)を含む。組成物の遅延放出製剤及び遅延放出システム(例えば、固体疎水性高分子の半透性マトリックス)が使用できる。

40

【0126】

本発明の組成物の医薬製剤は、薬学的に許容される担体を含むことができる。用語「薬学的に許容される担体」とは、被験体に対する不当な毒性又は刺激を伴うことなく被験体に使用するのに適しており、医薬組成物中に含まれている他の成分と適合性である、担体のことを指す。

【0127】

薬学的に許容される担体、医薬組成物及び様々な剤形を調製するための方法、並びに投与の様式は、例えば、Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets (医薬品剤形: 錠剤), eds.

50

H. A. Liebermanら、New York: Marcel Dekker, Inc., 1989 ; L.V. Allen, Jr.ら、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (アンセルの医薬品剤形及びドラッグ送達システム), 8th Ed., Philadelphia, PA: Lippincott, Williams & Wilkins, 2004 ; A. R. Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (薬学の科学と実践), Lippincott Williams & Wilkins, 21st ed., 2005, 特に chapter 89 ; 及び J. G. Hardmanら、Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (グッドマンとギルマンの治療薬の薬理学的基礎), McGraw-Hill Professional, 10th ed., 2001に詳述されているように当技術分野で周知である。

【0128】

投与用の固体剤形又は投与前に液体で懸濁するための固体剤形の例としては、カプセル、錠剤、散剤及び顆粒剤が挙げられる。そのような固体の剤形において、1種以上の活性薬剤は、少なくとも1つの担体（例えば、緩衝剤（クエン酸ナトリウム又はアルカリ金属リン酸塩（例えば、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム及びリン酸カルシウム）等）；充填剤（例えば、デンブン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール及びケイ酸等）；結合剤（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、スクロース及びアカシア等）；吸湿剤（例えば、グリセロール等）；崩壊剤（例えば、寒天、炭酸カルシウム、植物デンブン（ジャガイモ又はタピオカデンブン等）、アルギン酸、ある特定の複合珪酸塩及び炭酸ナトリウム等）；溶解遅延剤（例えば、パラフィン等）；吸収促進剤（例えば、四級アンモニウム化合物等）；潤滑剤（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及びグリコール等）；吸着剤（例えば、カオリン及びベントナイト等）；滑沢剤（例えば、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又はラウリル硫酸ナトリウム等）；保存剤（例えば、抗菌剤及び抗真菌剤（例えば、ソルビン酸、ゲンタマイシン及びフェノール）等）；及び安定剤（例えば、スクロース、EDTA、EGTA及び酸化防止剤等）と混和される。

10

20

30

40

50

【0129】

固体の剤形は、所望により、腸溶性被膜等の被膜を含む。腸溶性被膜は、代表的には、高分子材料である。好ましい腸溶性被膜材料は、生体内分解性、徐々に加水分解される、及び／又は徐々に水に溶解する高分子であるという特徴を有する。固体の投薬に使用される被膜材料の量は、一般に、摂取と薬物放出との間の時間間隔を決定する。被膜全体が、胃酸に関連する3未満のpHの胃腸液に溶解しないが、小腸の環境のpH3超では溶解するような厚さを有する被膜が用いられる。pH依存性の溶解性プロファイルを示す任意のアニオン性高分子は、下部消化管に活性薬剤を送達するために本発明の実施において、腸溶性被膜として容易に使用されることが予想される。特定の腸溶性被膜材料の選択は、例えば、胃での崩壊に対する抵抗性；胃液に対する不透過程及び胃に存在する間の活性薬剤の拡散；標的の腸部位において放散する能力；保管中の物理的及び化学安定性；無毒性；並びに使用の容易さ等の特性によって決まる。

【0130】

適切な腸溶性被膜材料の例としては、セルロース高分子（例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、酢酸セルロース、酢酸フタル酸セルロース、トリメリト酸酢酸セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルローススクシナート及びカルボキシメチルセルロースナトリウム等）；アクリル酸重合体及びアクリル酸共重合体（好ましくは、アクリル酸、メタクリル酸、アクリル酸メチル、メタクリル酸アンモニウム、アクリル酸エチル、メタクリル酸メチル及び／又はエチルから形成されるもの）；ビニル重合体及びビニル共重合体（例えば、ポリビニルピロリドン、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアセートフタラート、酢酸ビニルクロトン酸共重合体及びエチレン-酢酸ビニル共重合体等）；シェラック；並びにそれらの組合せが挙げられる。特定の腸溶性被膜材料としては、例えば、米国特許第6,136,345号に記載されているアクリル酸重合体及びアクリル酸共重合体が挙げられる。

【0131】

腸溶性被膜は、所望により、胃液が固体の剤形の中に侵入することを可能にする細孔及び亀裂の形成を防止する可塑剤を含む。適切な可塑剤としては、例えば、クエン酸トリエチル (Citroflex 2)、トリアセチン (三酢酸グリセリル)、クエン酸アセチルトリエチル (Citroflec A2)、Carbowax 400 (ポリエチレングリコール 400)、フタル酸ジエチル、クエン酸トリプチル、アセチル化モノグリセリド、グリセロール、脂肪酸エステル、プロピレングリコール及びフタル酸ジブチルが挙げられる。特に、アニオン性カルボキシカルリル重合体からなる被膜は、典型的には、約 10 重量 % ~ 25 重量 % の可塑剤、特に、フタル酸ジブチル、ポリエチレングリコール、クエン酸トリエチル及びトリアセチンを含む。被膜は、被膜材料を可溶化するため又は分散するために、また被膜性能及び被覆された生成物を改善するために、他の被覆賦形剤、例えば、粘着防止剤、消泡剤、滑沢剤 (ステアリン酸マグネシウム等) 及び安定剤 (ヒドロキシプロピルセルロース、酸又は塩基等) も含むことができる。

10

【0132】

経口投与用の液体剤形は、乳化物、溶液、懸濁液、シロップ剤又はエリキシル剤として製剤化する 1 種以上の活性薬剤及び薬学的に許容される担体を含む。本発明の組成物の液体の剤形は、着色剤、安定剤、湿潤剤、乳化剤、懸濁剤、甘味料、香味料又は芳香剤を含んでもよい。

20

【0133】

例えば、非経口投与用の組成物を注射可能な液体として製剤化してもよい。適切な水性及び非水性の担体の例としては、水、エタノール、ポリオール (例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、グリセロール等)、それらの適切な混合物；植物油 (オリーブ油等)；及びオレイン酸エチル等の注射可能な有機エステルが挙げられる。適切な流動性は、例えば、レシチン等の被膜を使用することによって、分散液の場合は望ましい粒径を維持することによって、及び / 又はラウリル硫酸ナトリウム等の界面活性剤を使用することによって維持することができる。所望により、例えば、スクロース、EDTA、EGTA 及び酸化防止剤等の安定剤が含められる。

20

【0134】

局所投与のため、組成物を、局所的効果等のため皮膚への投与用に、かつ / 又は経皮送達用の「パッチ」製剤として製剤化することができる。局所投与に適した医薬製剤としては、例えば、軟膏、ローション、クリーム、ゲル、ペースト、噴霧剤及び粉末が挙げられる。軟膏、ローション、クリーム、ゲル及びペーストは、1 種以上の活性薬剤に加えて、更に基剤 (例えば、吸収基剤、水で除去可能な基剤、水溶性基剤又は油性基剤) 及び賦形剤 (例えば、増粘剤、ゲル化剤、着色剤、安定剤、乳化剤、懸濁剤、甘味料、香味料又は芳香剤) を含むことができる。

30

【0135】

経皮製剤は、経皮吸収促進剤 (例えば、アセトン、アゾン、ジメチルアセトアミド、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、エタノール、オレイン酸、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール及びラウリル硫酸ナトリウム) を含むことができる。イオン導入及び / 又は超音波導入を使用して、経皮送達を促進することができる。

40

【0136】

1 種以上の活性薬剤の局所的投与用の粉末及び噴霧剤は、賦形剤 (例えば、タルク、ラクトース及び 1 種以上のケイ酸) を含むことができる。噴霧剤は、薬学的噴射剤 (例えば、フッ素化炭化水素噴射剤、二酸化炭素又は適切な気体) を含むことができる。あるいは、噴霧剤は、噴射剤を必要としないポンプ式噴霧装置から送達してもよい。噴霧装置は、例えば、送達量調節用バルブを使用して、その中に含まれている組成物の計量用量を送達する。

【0137】

1 種以上の活性薬剤の眼科用製剤は、保存剤、緩衝剤及び増粘剤等の成分を含むことができる。

50

【0138】

本発明の医薬組成物において薬学的に許容される担体又は賦形剤として有用な適切な界面活性剤としては、良好な乳化、分散及び／又は湿潤特性を有する非イオン性、陽イオン性及び／又陰イオン性界面活性剤が挙げられる。適切なアニオン性界面活性剤としては、水溶性石鹼及び水溶性合成界面活性剤の両方が挙げられる。適切な石鹼は、高級脂肪酸（C10～C22）のアルカリ金属塩又はアルカリ土類金属塩、非置換もしくは置換アンモニウム塩、例えば、オレイン酸もしくはステアリン酸のナトリウム塩もしくはカリウム塩、又はやし油もしくはタロー油から得られる天然脂肪酸混合物のナトリウム塩もしくはカリウム塩である。合成界面活性剤としては、ポリアクリル酸のナトリウム塩又はカルシウム塩；脂肪スルホン酸塩及び硫酸塩；スルホン化ベンズイミダゾール誘導体及びアルキルアリールスルホン酸塩が挙げられる。脂肪スルホン酸塩及び硫酸塩は、通常、アルカリ金属塩もしくはアルカリ土類金属塩、非置換アンモニウム塩、又は8～22個の炭素原子を有するアルキルもしくはアシル基で置換されたアンモニウム塩、例えば、リグノスルホン酸もしくはドデシルスルホン酸のナトリウム塩もしくはカルシウム塩、または天然の脂肪酸から得られる脂肪アルコール硫酸塩の混合物、硫酸エステルもしくはスルホン酸エステルのアルカリ金属塩もしくはアルカリ土類金属塩（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）及び脂肪アルコール／エチレンオキシド付加物のスルホン酸の形態である。適切なスルホン化ベンズイミダゾール誘導体は、好ましくは、8～22個の炭素原子を含む。アルキルアリールスルホン酸塩の例は、ドデシルベンゼンスルホン酸またはジブチル-ナフタレンスルホン酸またはナフタレン-スルホン酸／ホルムアルデヒド縮合物のナトリウム塩、カルシウム塩またはアルカノールアミン塩である。また、対応するリン酸塩、例えば、リン酸エステルの塩、並びにp-ノニルフェノールとエチレン及び／もしくはプロピレンオキシドとの付加物又はリン脂質も好適である。この目的のための適切なリン脂質は、天然の（動物又は植物細胞を起源とする）リン脂質又はケファリンもしくはレシチンタイプの合成のリン脂質（例えば、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセリン、リゾレシチン、カルジオリピン、ジオクタニルホスファチジルコリン、ジパルミトイロホスファチジル-コリン及びそれらの混合物）である。

【0139】

本発明の医薬組成物において薬学的に許容される担体又は賦形剤として有用な適切な非イオン性界面活性剤としては、アルキルフェノール、脂肪アルコール、脂肪酸、分子内に少なくとも12個の炭素原子を含む脂肪族アミン又はアミド、アルキルアレンスルホン酸塩及びジアルキルスルホコハク酸塩のポリエトキシ化及びポリプロポキシ化された誘導体（例えば、脂肪族及び脂環式アルコール、飽和及び不飽和脂肪酸並びにアルキルフェノールのポリグリコールエーテル誘導体）（前記誘導体は、好ましくは、（脂肪族）炭化水素部分に3～10個のグリコールエーテル基及び8～20個の炭素原子並びにアルキルフェノールのアルキル部分に6～18個の炭素原子を含む）が挙げられる。更に適切な非イオン性界面活性剤は、ポリエチレンオキシドと、ポリプロピレングリコール、アルキル鎖に1～10個の炭素原子を含むエチレンジアミノポリプロピレングリコールとの水溶性付加物（それらの付加物は、20～250個のエチレングリコールエーテル基及び／又は10～100個のプロピレングリコールエーテル基を含む）である。そのような化合物は、通常、プロピレングリコール1単位あたり1～5個のエチレングリコール単位を含む。非イオン性界面活性剤の代表的な例は、ノニルフェノール-ポリエトキシエタノール、ひまし油ポリグリコールエーテル類、ポリプロピレン／ポリエチレンオキシド付加物、トリブチルフェノキシポリエトキシエタノール、ポリエチレングリコール及びオクチルフェノキシポリエトキシエタノールである。ポリエチレンソルビタンの脂肪酸エステル（例えば、トリオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン）、グリセロール、ソルビタン、スクロース及びペンタエリトリトールもまた、適切な非イオン性界面活性剤である。

【0140】

本発明の医薬組成物において薬学的に許容される担体又は賦形剤として有用な適切な陽イオン性界面活性剤としては、第四アンモニウム塩、好ましくは、所望によりハロ、フェニ

10

20

30

40

50

ル、置換フェニル又はヒドロキシで置換される4個の炭化水素基を有するハロゲン化物；例えば、N-置換基として少なくとも1つのC8～C22アルキル基（例えば、セチル、ラウリル、パルミチル、ミリスチル、オレイル等）、及び更なる置換基として、非置換又はハロゲン化低級アルキル基、ベンジル基、及び/又はヒドロキシ-低級アルキル基を含む第四アンモニウム塩が挙げられる。

【0141】

この目的に適した表面活性剤のより詳細な説明は、例えば、“McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual (マカッチャンの洗剤及び乳化剤年鑑)”(MC Publishing Corp., Ridgewood, New Jersey, 1981)、“Tensid-Taschenbuch (界面活性剤手引き書)”, 2nd ed. (Hanser Verlag, Vienna, 1981)、及び“Encyclopaedia of Surfactants (界面活性剤百科事典)”(Chemical Publishing Co., New York, 1981)に見られる。10

【0142】

構造形成剤、増粘剤又はゲル形成剤を、本発明の医薬組成物及び組合せ調剤に含めてよい。適切なそのような薬剤は、具体的には、高度に分散されたケイ酸（例えば、商品名Aerosilとして市販されている製品）、ベントナイト、モンモリロナイトのテトラアルキルアンモニウム塩（例えば、商品名Bentoneとして市販されている製品）（アルキル基の各々は、1～20個の炭素原子を含んでもよい）、セトステアリルアルコール、及び加工ひまし油生成物（例えば、商品名Antisettleとして市販されている製品）である。

【0143】

特定の側面において、薬学的に許容される担体は、粒状の担体であり、例えば、リポソーム、ミセル、単層もしくは多層小胞等の脂質粒子；重合体粒子（例えば、ヒドログエル粒子、ポリグリコール酸粒子又はポリ乳酸粒子）；無機粒子（例えば、米国特許第5,648,097号に記載されているような、例えば、リン酸カルシウム粒子）；及び無機/有機の粒状担体（例えば、米国特許第6,630,486号に記載されているようなもの）等である。20

【0144】

粒状の薬学的に許容される担体は、脂質粒子、ポリマー粒子、無機粒子、及び無機/有機粒子の中から選択することができる。粒子タイプの混合物もまた、粒状の薬学的に許容される担体として含めることができる。

【0145】

粒状の担体は、典型的には、粒子が約1nm～10μmの範囲の平均粒径を有するように製剤化する。特定の側面において、粒状の担体は、粒子が約1nm～100nmの範囲の平均粒径を有するように製剤化する。30

【0146】

剤形を調製するための通例の材料、機器及びプロセスに関する詳細な情報は、Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets (医薬品剤形：錠剤), H. A. Liebermanら編、New York: Marcel Dekker, Inc., 1989; L.V. Allen, Jr.ら、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (アンセルの医薬品剤形とドラッグ送達システム), 8th Ed., Philadelphia, PA: Lippincott, Williams & Wilkins, 2004; A. R. Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (薬学の科学と実践), Lippincott Williams & Wilkins, 21st ed., 2005, 特にchapter 89; 及び J. G. Hardmanら、Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (グッドマンとギルマンの治療薬の薬理学的基礎), McGraw-Hill Professional, 10th ed., 2001に見られる。40

【0147】

本発明の側面による市販用セットは、組み合わされて、又は別々に製剤化された、セツキシマブとISC-4を含む。本発明の側面によると、セツキシマブとISC-4を投与するための指示書を含める。1種以上の補助的な構成要素（例えば、緩衝剤又は希釈剤）を、所望により本発明の市販用セットに含める。

【0148】

本発明の組成物及び方法の側面を、以下の実施例において説明する。これらの実施例は、50

説明目的のために提供されるものであり、本発明の組成物及び方法の範囲に対して限定とは見なされない。

【0149】

実施例

【0150】

細胞培養、細胞生存率分析、及び試薬

【0151】

細胞株をATCCから入手し、37°の5%CO₂の加湿培養器中のATCC推奨培地で培養した。細胞生存率分析のために、細胞を新鮮培地に1×10⁵/mL濃度、1ウェルあたり100μLの体積で96ウェル黒色壁プレートに播種する。細胞を一晩付着させ、指示通りに翌日処理をする。終点で、CellTiter-Glo (Promega) 分析を製造業者の手順書に従って実施し、生物発光の読み取りをIVIS画像化装置 (Xenogen) に記録する。セル同期のために、細胞を処理前に16時間、200ng/mLのノコダゾールと共に恒温放置した。クロロキンをSigma社から入手する。zVAD-fmkをPromega社から入手し、25μMの作用濃度で使用する。ISC-4を、Sharma, A.K.,ら、J. of Med. Chem., 2008, 51(24):7820-7826の記載に従って合成する。

10

【0152】

流動細胞計画法

【0153】

sub-G1のDNA含量分析のため、細胞を指示されている時点でのトリプシン処理し、最低30分間、4°の80%エタノールで固定する。固定した細胞は、次いでRNアーゼの存在下、ヨウ化プロピジウムで染色し、Epics Elite 流動細胞計測器 (flow cytometer) (Beckman Coulter) で分析する。Ki-67の発現のために、上記の通り、細胞をエタノール固定し、30分間、1:500希釈の抗Ki-67抗体 (Sigma) で免疫染色する。次いで、細胞を30分間、PBSに1:500希釈のAlexafluor 488結合抗体と共に恒温放置し、分析のためにPBSに再懸濁する。

20

【0154】

ウェスタンプロット分析

【0155】

細胞を対数繁殖期に処理し、細胞搔き取りによって回収し、遠心分離し、次いで細胞溶解緩衝液で2時間、氷表面で溶解させた。上清を遠心分離後に収集し、次いでタンパク質濃度をBio-Radタンパク質分析 (Bio-Rad Laboratories) を用いて決定する。試料を、還元条件下、NuPAGE4-12% Bis-Trisゲル (Invitrogen) で電気泳動にかけ、PVDF膜に移し、1時間、10%脱脂乳含有TBS中でブロッキングした。次いで膜を、2%無脂肪乳を含有するTBS中に細胞シグナル伝達から得られた一次抗体 (1:1000希釈)と共に、4°で一晩恒温保存する。膜をTBSで洗浄し、1時間、適切なHRP結合二次抗体 (Thermo-Scientific)と共に恒温保存し、TBSで洗浄し、ECL-Plus (Amersham) 及びX線フィルム (Thermo-Scientific) を用いて可視化する。

30

【0156】

生体内 (in vivo) 研究

40

【0157】

無胸腺雌ヌードマウス (Charles River Laboratories) の各後部脇腹に、1×10⁶個の5-FU-耐性RKO又はHT-29細胞をMatrigel (BD) : PBS (1:1) の200μL懸濁液として接種する。腫瘍が約1650mm³の平均体積に到達すると、処置を開始し、DMSOに含有させ総体積200μLで腹腔内又は静脈内注射で投与する。組織分析のため、組織を安樂死させたマウスから採取し、PBS中で48時間、4%パラホルムアルデヒドで固定する。組織をパラフィン包埋し、切断する。H&E染色 (Daiko) 及びTUNEL染色 (Millipore) を製造者の手順書に従って実施する。血清化学分析のために、麻酔したマウスから1mLの血液を左心室の末端心臓穿刺により採取する。血清化学のために、500μLを微量遠心管に入れ、室温で30分間凝固させ、続いて、遠心分離する

50

。血清を除去し、再び遠心分離して分析前に全ての新たな残屑を除去する。

【0158】

統計

【0159】

一対比較は、マイクロソフトのエクセルでのスチュードントの両側t検定によって評価する。組合せ指数(Combination index)は、Chou, T.C., Pharmacological Reviews, 2006, 58(3):621-681に記載されたChou-Talalay法を用いて、CalcuSynソフトウェア(BioSoft)によって計算する。

【0160】

I S C - 4 生体外(*in vitro*)活性プロファイルの定義

10

【0161】

I S C - 4 の生体外(*in vitro*)活性を、ヒトがん細胞株パネルで試験を行い、その抗菌スペクトルを決定する。

【0162】

図1Aは、I S C - 4 又はD M S Oで処理(72時間、n = 3)された、表示の細胞株の細胞生存率分析及びE C₅₀の計算値を示す。図1Aに示すように、E C₅₀値の観点では、試験した細胞株の中で、ヒトリンパ腫細胞株ダウディ及びグラントが最も感受性が高く、ヒト前立腺がん細胞株P C 3 及びD U 1 4 5 が最も感受性が低い。H T - 2 9 を除いては、ヒト大腸がん細胞株はI S C - 4 処理に適度に感受性である。同質遺伝子H C T 1 1 6 細胞株は、I S C - 4 活性がp 5 3 非依存性及びB a x 非依存性である可能性が高いことを示している。

20

【0163】

同期及び非同期のH C T 1 1 6(図1B)及びH T - 2 9(図1C)の細胞株の細胞周期プロファイルに対するI S C - 4 処理の効果を示す。図1Bに示すように、I S C - 4 処理した同期されたH C T 1 1 6 及びH T - 2 9 ヒト大腸がん細胞株の細胞周期分析から、s u b - G 1 含有量の軽度の増加及び細胞周期進行の速度低下が明らかである。図1Cに示すように、I S C - 4 によって誘導されるs u b - G 1 含有量は用量依存性であり、一般に、> 8 μMで明確になる。従って、I S C - 4 は、細胞死及び増殖減少を引き起こし、ヒト大腸がん細胞に対する適度な単剤活性を有する。0、1、2、4、8、又は16 μMのI S C - 4 によるI S C - 4 処理後の、表示の大腸がん細胞株のs u b - G 1 含有量を図1Dに示す。

30

【0164】

相乗的な薬物組合せの同定

【0165】

S W 4 8 0 及びR K Oヒト大腸がん細胞株は、それらの異種の発がん遺伝子変質に基づいて初期のプロファイル作成のために使用される。S W 4 8 0 は、変異p 5 3、変異K R A S、及び野生型B R A F を有し、一方、R K O は、野生型p 5 3、野生型K R A S、及び変異B R A F の遺伝子を持っている。(Ikedaobi, O.N.ら、Molecular Cancer Therapeutics, 2006, 5(11):2606-2612を参照)。図2に、推定E C_{1 2 . 5}、E C_{2 5}、及びE C_{5 0}で、I S C - 4 (1、2、又は4 μM)及び表示の治療法の単独及び組合せによって処理されたS W 4 8 0 及びR K O 大腸がん細胞株の細胞生存率分析結果(n = 3)を示す。使用された用量を表Iに示す。図2、表I及び表I Iに示されるように、化学療法及び標的的薬の試験パネルの中で、I S C - 4 をソラフェニブ、ゲフィチニブ、ゲムシタビン、シスプラチン、ボルテゾミブ、イマチニブ、又はセツキシマブと組み合わせた場合、組合せ活性が少なくとも1つの細胞株で観察される。

40

【0166】

表I：I S C - 4 と組み合わされる認可済抗がん剤の選択用量。E C_{1 2 . 5} 値、E C_{2 5} 値及びE C_{5 0} 値は、文献から推定され、用量を図2に結果を示した実験に用いた。

【表1】

治療剤	EC _{12.5}	EC ₂₅	EC ₅₀
ラパチニブ	1.75 uM	3.5 uM	7 uM
シスプラチン	1.125 uM	2.25 uM	4.5 uM
パニツムマブ	0.75 ug/mL	1.5 ug/mL	3 ug/mL
セツキシマブ	0.25 ug/mL	0.5 ug/mL	1 ug/mL
ソラフェニブ	8 uM	16 uM	32 uM
トラスツズマブ	62.5 ng/mL	125 ng/mL	250 ng/mL
ゲフィチニブ	5.75 uM	11.5 uM	23 uM
イマチニブ	1.25 uM	2.5 uM	5 uM
ビンクリスチン	.035 nM	.07 nM	.14 nM
ペメトレキセド	0.25 ug/mL	0.5 ug/mL	1 ug/mL
ドキソルビシン	16.25 uM	32.5 uM	65 uM
クラドリビン	25 nM	50 nM	100 nM
ドセタキセル	2.5 uM	5 uM	10 uM
パクリタキセル	2.5 nM	5 nM	10 nM
エトポシド	1.25 uM	2.5 uM	5 uM
オキサリプラチン	75 nM	150 nM	300 nM
イリノテカン	3.38 uM	6.75 uM	13 uM
5-FU	4.5 uM	9 uM	18 uM
ゲムシタビン	0.5 uM	1 uM	2 uM

【0167】

表ⅠⅠは、ISC-4の認可済抗がん剤との組合せの効果をまとめたものである。ISC-4及び記載されている各々の薬剤の組合せ効果を、細胞生存率分析によって各薬剤単独の単剤活性と比較し、非共同的（-）、共同的（+）、相乗的（*）、又は不明瞭（?）であるかを決定する。少なくとも1つの細胞株でISC-4と共同的活性を示す薬剤の組合せは、ソラフェニブ、ゲフィチニブ、ゲムシタビン、シスプラチン、ボルテゾミブ、イマチニブであり、一方、セツキシマブとISC-4の組合せは、相乗効果を示している。

10

20

30

40

【表2】

種類	治療剤	SW480	RKO
小分子	ソラフェニブ	+	+
	ゲフィチニブ	+	+
	ゲムシタビン	-	+
	シスプラチン	+	-
	ボルテゾミブ	?	+
	イマチニブ	-	+
	ビンクリスチン	-	-
	ペメトレキセド	-	-
	ドキソルビシン	-	?
	クラドリビン	-	-
	ドセタキセル	-	-
	パクリタキセル	-	-
	エトポシド	-	-
	オキサリプラチン	-	-
	イリノテカン	-	-
	5-FU	-	-
抗体	ラパチニブ	-	-
	セツキシマブ	-	*
	パニツムマブ	-	-
	トラスツズマブ	-	-

10

20

30

【0168】

I S C - 4 とセツキシマブとの組合せは、試験した条件下で観察された唯一の相乗的組合せの治療である。更に、この相乗効果は、R K O (野生型K R A Sを保有する)で観察され、K R A S G 1 2 V を保有するS W 4 8 0 では観察されない。この観察は、Lievre, A.ら、Cancer Res, 2006, 66(8):3992-3995；及びKarapetis, C.S.ら、New England Journal of Medicine, 2008, 359(17): 1757-1765に記載されている大腸がんにおけるセツキシマブの臨床的有効性に対する野生型K R A S の要件に一致する。

【0169】

I S C - 4 とセツキシマブは相乗的に、野生型K R A S 腫瘍細胞の増殖を阻害する。

【0170】

本実施例では、I S C - 4 とセツキシマブの相乗活性を、いくつかのヒト大腸がん細胞株において評価する。I S C - 4 とセツキシマブが、5 - F U 感受性とは独立に、野生型K R A S 遺伝子を有するヒト大腸がん細胞において相乗効果を示すことを図3A～3D、3E及び3Fに示す。I S C - 4 とセツキシマブによって、72時間、表示の用量で処理されたヒト大腸がん細胞株の細胞生存率分析の結果 (n = 3) を図3A～3Dに示す。

【0171】

図3A～3D、及び表I I I に示すように、相乗活性は、野生型K R A S 遺伝子を有するH T - 2 9 及びR K O 細胞株で観察され、変異K R A S 遺伝子を有するH C T 1 1 6 、D

40

50

L D - 1 及び他の大腸がん細胞株では観察されない。

【 0 1 7 2 】

表 I I I : 野生型 K R A S ヒト大腸がん細胞株における I S C - 4 とセツキシマブの組合せ指標。定量化して図 3 A ~ 3 D に示した R K O 細胞株及び H T - 2 9 細胞株での組合せ活性を Chou-Talalay 法によって評価し、結果を表 I I I に示す。

【 表 3 】

		セツキシマブ(ug/mL)						
		0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4
HT-29	1	0.245	0.251	0.312	0.298	0.268	0.234	0.29
	2	0.566	0.569	0.652	0.557	0.517	0.522	0.492
	4	1.005	0.944	1.048	1.006	0.942	0.893	0.908
RKO	セツキシマブ(ug/mL)							
	1	0.235	0.265	0.265	0.37	0.31	0.294	0.258
	2	0.47	0.508	0.513	0.442	0.487	0.464	0.44
	4	0.639	0.668	0.667	0.64	0.634	0.607	0.646

【 0 1 7 3 】

臨床的に関連する設定の一種でこの組合せ活性を評価するために、 I S C - 4 とセツキシマブの相乗効果を、 5 - F U に対して進化した耐性を有する R K O クローンで試験する。図 3 E 及び図 3 F に示すように、大腸がん細胞の後天性 5 - F U 耐性にも関わらず、 I S C - 4 とセツキシマブの相乗活性は保持される。示されているように、 5 - F U で 2 4 時間処理された野生型及び 5 - F U - 耐性 R K O 細胞の細胞生存率分析の結果を図 3 E に示す (n = 3)。 I S C - 4 (2 μ M) とセツキシマブ (1 μ g / m L) で 2 4 時間処理された 5 - F U - 耐性 R K O 細胞の結果を図 3 F に示す。

【 0 1 7 4 】

I S C - 4 とセツキシマブの処理の相乗効果の速度論が決定され、その活性は、図 4 A に示すように、処理後 8 時間で早くも見られ、 1 2 時間でより大きな相乗効果が見られる。表示時間期間、 I S C - 4 (2 μ M) 及びセツキシマブ (1 μ g / m L) の単独又は組合せで処理した R K O 細胞の細胞生存率分析の結果を図 4 A に示す (n = 3)。この観察結果は、 I S C - 4 とセツキシマブの相乗活性が、おそらく細胞増殖抑制性ではなく、細胞障害性であることを示唆している。図 4 B 及び図 7 A に示すように、処理済のがん細胞の細胞形態の変化及び D N A の蛍光標識から、 I S C - 4 とセツキシマブの組合せ処理が、明らかな D N A 断片化を引き起こすことが分かる。図 4 B には、図 4 A の場合と同様にして 1 2 時間処理された R K O 細胞の D A P I 染色の結果を示す。白い矢印は、断片化 D N A を有する細胞を示す。図 7 A には、 I S C - 4 (2 μ M) とセツキシマブ (1 μ g / m L) を単独又は組合せて 1 2 時間処理した R K O 細胞の位相差顕微鏡像を示す。

【 0 1 7 5 】

更なる解析から、 I S C - 4 とセツキシマブを組合せると、 I S C - 4 単独又はセツキシマブ単独と比較して s u b - G 1 含有量を共同的に有意に増加させるが、組合せによる s u b - G 1 含有量は、図 4 C に示す観察された相乗効果を完全に説明するには十分ではない。図 4 C に、 I S C - 4 (2 μ M) 及びセツキシマブ (1 μ g / m L) の単独又は組合せで 1 2 時間処理された R K O 細胞の s u b - G 1 含有量を示す (n = 3)。スチュードントの両側 t 検定による全ての処理群との比較で * P < 0 . 0 5 である。 I S C - 4 によって誘導される s u b - G 1 含有量は、汎カスパーーゼ阻害剤 z V A D - f m k と共に共恒温保存することによって有意に抑制され、 I S C - 4 とセツキシマブの組合せが、カスパーーゼ依存性アポトーシスを誘導することを示唆している。この観察を支持して、図 4 D に示すように、 I S C - 4 とセツキシマブの組合せは、相乘的にカスパーーゼ - 3 活性化を誘導する。図 4 D に、セツキシマブ (0 . 0 . 2 5 、 0 . 5 、 又は 1 μ g / m L) と組み合わせて I S C - 4 (2 μ M) で処理した R K O 細胞のカスパーーゼ - グロ分析の処理後 2 4 時間の結果を示す。図 4 D の下の図は、 I S C - 4 (2 μ M) 及びセツキシマブ (1 μ g / m L) の定量化を示す (n = 3)。

10

20

30

40

50

【0176】

ウェスタンプロット分析により、図5Aから、ISC-4はセツキシマブと共同して、処理後24時間でのリン酸化Aktレベルを低下させる（しかし、リン酸化ERKは低下させない）ことは明らかである。図5Aには、24時間、ISC-4（2μM）及びセツキシマブ（1μg/ml）の単独又は組合せて処理されたRKO細胞のウェスタンプロット分析の結果を示す。図5Bに示すように、経時的分析から、処理後4時間には、その組み合わせは、共同的にリン酸化Aktレベルを無くすことが分かる。図5Bに、表示の期間、ISC-4（2μM）及びセツキシマブ（1μg/ml）の単独又は組合せて処理されたRKO細胞のウェスタンプロット分析の結果を示す。Ranを負荷対照として示す。図5Cに示すように、ISC-4及びセツキシマブに対して相乗的応答を示すヒト大腸がん細胞株は、またリン酸化Aktの有意な減少で応答する。図5Cに、ISC-4（2μM）とセツキシマブ（1μg/ml）の組合せ（Rx）で処理後8時間での、表示のヒト大腸がん細胞のウェスタンプロット分析の結果を示す。対照との比較で^{*}P<0.05である。

10

【0177】

組合せ療法に相乗的に応答しなかった変異KRASを有するヒト大腸がん細胞株は、また処理に応答するリン酸化Aktレベルの変化も示さなかった。このように、リン酸化Aktレベルは、ISC-4及びセツキシマブの抗腫瘍応答と相關する。

20

【0178】

図7B、7C、及び7Dに示すように、Ki-67発現又はLC3B切断、即ち自食作用（autophagy）のマーカーに対する影響は観察されなかった。図7Bに、ISC-4（2μM）とセツキシマブ（1μg/ml）を単独又は組合せて処理したRKO細胞におけるKi-67発現の流動細胞計画法解析の結果を示す。図7Cに、ISC-4（2μM）とセツキシマブ（1μg/ml）を単独又は組合せて処理したRKO細胞におけるKi-67発現のウェスタンプロット分析を示す。図7Dに、ISC-4（2μM）とセツキシマブ（1μg/ml）で24時間処理されたRKO細胞のウェスタンプロット分析結果を示す。クロロキン（C；10μ）が、自食作用のための陽性対照として含まれている。

20

-アクチンを負荷対照として示している。

【0179】

これらの観察は、ISC-4をセツキシマブと組み合わせることがアポトーシスの増加を伴うリン酸化Akt及び細胞生存率を共同的に減少させることを示している。

30

【0180】

ISC-4とセツキシマブは、生体内で毒性を示すことなく相乗的な抗腫瘍効果を発揮する。

【0181】

この例では、ISC-4の抗腫瘍効果を、セツキシマブと組み合わせて、進行した5-FU耐性RKO皮下異種移植片において試験する。ISC-4とセツキシマブの組合せ療法は、図6Aに示すように、腫瘍進行に対して初期に相乗効果を示し、治療の最初の週に腫瘍静止状態を引き起こす。図6Aに、ISC-4（3mg/kg、腹腔内）、セツキシマブ（10mg/kg、静脈内）、又はそれらの組合せ（「コンボ」）の単回投与で治療後4日における、5-FU-耐性RKO異種移植片の相対的な腫瘍サイズを示す（n=5）。個々の腫瘍を0日目に測定した基準サイズに正規化し、スチューデントの両側t検定によって、全ての処置群との比較で、^{*}P<0.05であった。図6Bに示すようにISC-4とセツキシマブの組合せ療法を受けた異種移植片は、ISC-4単独又はセツキシマブ単独のいずれかを投与された異種移植片よりも、組織学による壞死及びTUNEL染色によるアポトーシスが高いレベルにあることが組織分析により明らかである。図6Bに、処置24時間後に採取した異種移植片腫瘍のヘマトキシリントラスカルミン及びエオシン（H&E）染色並びにTUNEL染色の結果を示す。図8A及び図8Bに示すように、これらの研究に用いられる治療投与計画は忍容性が良好であり、マウスの体重、或いは肝組織像の変化等を変えない。図8Aに、ISC-4（3mg/kg、腹腔内）、セツキシマブ（10mg/kg、静脈内）、

40

50

kg 、静脈内)、又はこれらの組合せ($n=5$)を週2回、2週間にわたって投与されたマウスの体重変化を示す。体重変化は、0日目の治療前の各個別のマウスの体重に対して表される($n=3$)。図8Bに、ISC-4(3mg/kg、腹腔内)、セツキシマブ(10mg/kg、静脈内)、又はこれらの組合せでの治療後24時間にマウスから採取された肝臓組織のH&E染色の結果を示す。

【0182】

マウスのHT-29異種移植片におけるISC-4とセツキシマブの組合せを、ISC-4単独、セツキシマブ単独、及びセツキシマブと5-FUの組合せと比較して調べる。図6C及び図8Cに示すように、ISC-4単独又はセツキシマブ単独とは異なり、ISC-4とセツキシマブを組合せた治療は、毎週、静脈内投与で与えられた場合には、腫瘍体積と腫瘍重量の測定によって極めてはっきり分かるように、腫瘍進行を著しく抑制する。図6Cに、定着HT-29異種移植腫瘍を有する無胸腺雌ヌードマウスを、ISC-4(3mg/kg、静脈内)、セツキシマブ(10mg/kg、静脈内)、その組み合わせ、又はセツキシマブと5-FU(25mg/kg、静脈内)で、0日目から始まる1週間に1回の治療の結果を示す($n=8$)。誤差バーは、繰り返しの標準誤差を示し、対照との比較で $^*P < 0.05$ である。図8Cは、図6Cに記載のHT-29異種移植片の最終の腫瘍体積及び腫瘍重量を示す。処置群(cohort)には、ISC-4(3mg/kg、静脈内)、セツキシマブ(10mg/kg、静脈内)、その組み合わせ、又はセツキシマブと5-FU(25mg/kg、静脈内)の1週間に一回の投与が含まれた($n=8$)。

10

【0183】

ISC-4とセツキシマブの組合せは、5-FUとセツキシマブの組合せと比較して、優れた抗腫瘍活性を示す。ISC-4とセツキシマブの組合せ治療は、図8Dに示すように忍容性が良好である。図8Dに、最終投与3日後の終点でのマウスの体重を示す($n=8$)。誤差バーは、繰り返しの標準誤差を示す。表IVに示すように、血清化学分析は、慢性投与に伴う腎毒性又は心毒性に関連する、電解質、肝機能、又はその他のマーカーの有意な変化を示していない。

20

【0184】

表IVに、ISC-4とセツキシマブの組合せ療法を受けたマウスの血清活性化学プロファイルを示す。8週齢の無胸腺雌ヌードマウスをISC-4(3mg/kg、腹腔内)、セツキシマブ(10mg/kg、静脈内)、又はその組み合わせ($n=5$)を1週間に2回、2週間投与された。血清は、最終投与後2日目に収集した。

30

【表4】

処置群	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	T.Bil mg/dl	クレアチニン mg/dl	BUN mg/dl	グルコース mg/dl	アルカリ フォスター U/L	LDH U/L	AST U/L	ALT U/L
対照	151±0	5.1±0	105±0	0.85± 0.21	0.1±0	23±0	303±1	49±1	1183± 116	253±11	29±0
ISC-4	155±2	4.8±1	107±3	0.65± 0.07	0.1±0	22±1	309±8	35±10	1074± 531	221± 136	29±2
セツキシマブ	154±2	5.8±4	104±5	0.06	0.1±0	21±6	201±48	56±20	1183± 488	219±22	27±2
ISC-4+ セツキシマブ	156±0	6.5±1	106±1	0.95± 0.35	0.1±0	29±2	248±19	53±6	1240± 35	174±28	21±0

40

T.BIL(全ピルビン)；BUN(血中尿素窒素)；Alk.Phos.(アルカリフォスター)；LDH(乳酸脱水素酵素)；AST(アスパラギン酸トランスアミナーゼ)；ALT(アラニントランスアミナーゼ)

【0185】

この明細書において言及されたいずれの特許又は刊行物も、あたかも各個別の刊行物が参照により組み込まれると明確かつ個別に示されたかのように、同程度に本明細書中に参照により組み込まれる。

【0186】

50

特徴事項一覧 1**【 0 1 8 7 】**

特徴事項 1 : セツキシマブと I S C - 4 の組合せを複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法であって、前記組合せの投与が相乗作用を提供する、被験体を治療する方法。

【 0 1 8 8 】

特徴事項 2 : 前記がんが野生型 K R A S を特徴とする、特徴事項 1 の癌を治療する方法。

【 0 1 8 9 】

特徴事項 3 : 前記がんが野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである、特徴事項 1 又は特徴事項 2 のがんを治療する方法。

10

【 0 1 9 0 】

特徴事項 4 : 更に、セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること ; セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること ; 及びアポトーシスの 1 種以上のマーカーについて前記第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与することの有効性を監視する、特徴事項 1 ~ 3 のいずれかのがんを治療する方法。

【 0 1 9 1 】

特徴事項 5 : 更に、セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること ; セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること ; 及びリン酸化 A k t について前記第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与することの有効性を監視する、特徴事項 1 ~ 3 のいずれかのがんを治療する方法。

20

【 0 1 9 2 】

特徴事項 6 : 前記セツキシマブと I S C - 4 を同時に投与する、特徴事項 1 ~ 5 のいずれかのがんを治療する方法。

【 0 1 9 3 】

特徴事項 7 : 前記セツキシマブと I S C - 4 を逐次的に投与する、特徴事項 1 ~ 5 のいずれかのがんを治療する方法。

30

【 0 1 9 4 】

特徴事項 8 : 前記セツキシマブと I S C - 4 を、1 時間、2 時間、4 時間、8 時間、12 時間、及び 24 時間から選択される時間内で逐次的に投与する、特徴事項 7 のがんを治療する方法。

【 0 1 9 5 】

特徴事項 9 : セツキシマブと I S C - 4 を含む医薬組成物。

【 0 1 9 6 】

特徴事項 10 : セツキシマブと I S C - 4 を含む市販用セット。

【 0 1 9 7 】

特徴事項 11 : 前記セツキシマブと I S C - 4 が単一の医薬製剤として提供される、特徴事項 10 の市販用セット。

40

【 0 1 9 8 】

特徴事項 12 : 前記セツキシマブと I S C - 4 が別個の医薬製剤として提供される、特徴事項 10 の市販用セット。

【 0 1 9 9 】

特徴事項 13 : 実質的に本明細書に記載されている被験体のがんを治療する方法。

【 0 2 0 0 】

特徴事項 14 : 実質的に本明細書に記載されている医薬組成物。

【 0 2 0 1 】

特徴事項 15 : 実質的に本明細書に記載されている市販用セット。

50

【 0 2 0 2 】

特徴事項 1 6 : セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの組合せを、複合製剤として又は別個に投与することを含み、前記組合せの投与が相乗的効果を提供する、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法。

【 0 2 0 3 】

特徴事項 1 7 : 前記がんが野生型 K R A S を特徴とする、特徴事項 1 6 のがんを治療する方法。

【 0 2 0 4 】

特徴事項 1 8 : 前記がんが野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである、特徴事項 1 6 又は 1 7 のがんを治療する方法。 10

【 0 2 0 5 】

特徴事項 1 9 : 更に、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及びアポトーシスの 1 種以上のマーカーについて前記第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与することの有効性を監視する、特徴事項 1 6 ~ 1 8 のいずれかのがんを治療する方法。

【 0 2 0 6 】

特徴事項 2 0 : 更に、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及びリン酸化 A k t について前記第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与することの有効性を監視する、特徴事項 1 6 ~ 1 8 のいずれかのがんを治療する方法。 20

【 0 2 0 7 】

特徴事項 2 1 : 前記セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグを同時に投与する、特徴事項 1 6 ~ 2 0 のいずれかのがんを治療する方法。

【 0 2 0 8 】

特徴事項 2 2 : 前記セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグを逐次的に投与する、特徴事項 1 6 ~ 2 0 のいずれかのがんを治療する方法。 30

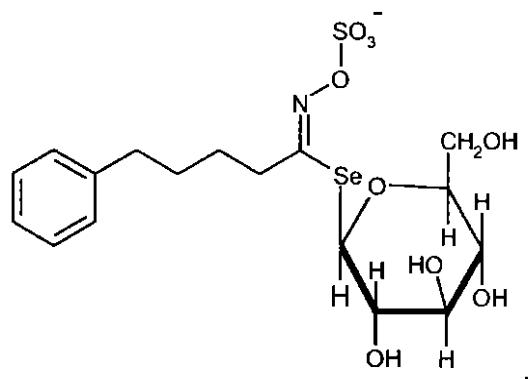
【 0 2 0 9 】

特徴事項 2 3 : 前記セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグを、1 時間、2 時間、4 時間、8 時間、12 時間、及び 24 時間から選択される時間内で逐次的に投与する、特徴事項 2 2 のがんを治療する方法。

【 0 2 1 0 】

特徴事項 2 4 : 前記 I S C - 4 プロドラッグが、以下の構造式：

【化6】



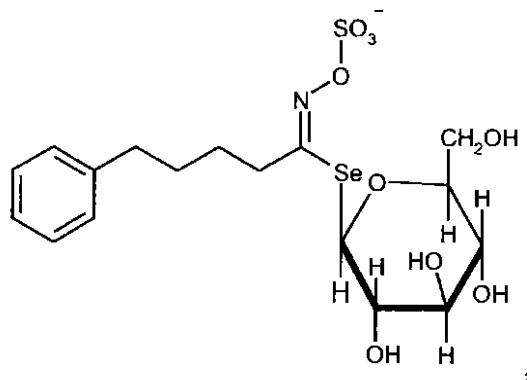
10

を有するISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩である、特徴事項16～23のいずれかのがんを治療する方法。

【0211】

特徴事項25：セツキシマブ及び以下の構造式：

【化7】



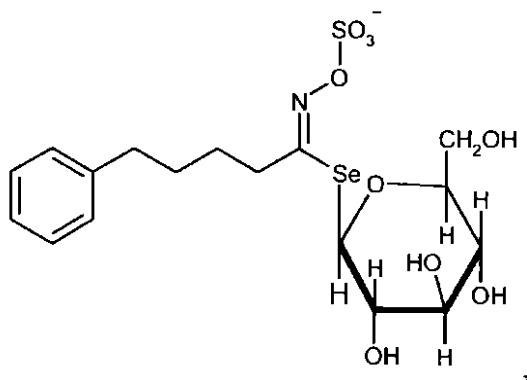
20

を有するISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【0212】

特徴事項26：セツキシマブ及び以下の構造式：

【化8】



30

を有するISC-4のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩を含む市販用セット。

【0213】

40

特徴事項 27：前記セツキシマブ及び前記 I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩が、単一の医薬製剤として提供される、特徴事項 26 の市販用セット。

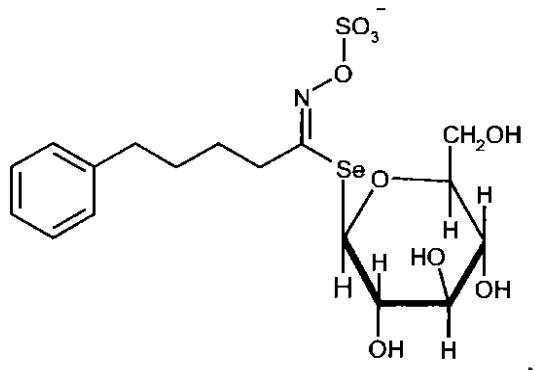
【0214】

特徴事項 28：前記セツキシマブ及び前記 I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩が、別個の医薬製剤として提供される、特徴事項 27 の市販用セット。

【0215】

特徴事項 29：以下の構造式：

【化9】



10

20

を有する I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩を含む組成物。

【0216】

特徴事項一覧 2

【0217】

特徴事項 30：セツキシマブと I S C - 4 の組合せを複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法。

【0218】

特徴事項 31：前記組合せの投与が相乗効果を提供する、請求項 30 の方法。

【0219】

特徴事項 32：前記がんが野生型 K R A S を特徴とする、請求項 30 又は 31 のがんを治療する方法。

【0220】

特徴事項 33：前記がんが野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである、請求項 30 ~ 32 のいずれかのがんを治療する方法。

【0221】

特徴事項 34：更に、セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及びアポトーシスの 1 種以上のマーカーについて前記第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与することの有効性を監視する、請求項 30 ~ 33 のいずれかのがんを治療する方法。

【0222】

特徴事項 35：更に、セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；セツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及びリン酸化 A k t について前記第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 の前記組合せを投与することの有効性

30

40

50

を監視する、請求項 30～34 のいずれかのがんを治療する方法。

【0223】

特徴事項 36：前記セツキシマブと I S C - 4 を同時に投与する、請求項 30～35 いずれかのがんを治療する方法。

【0224】

特徴事項 37：前記セツキシマブと I S C - 4 を逐次的に投与する、請求項 30～35 のいずれかのがんを治療する方法。

【0225】

特徴事項 38：前記セツキシマブと I S C - 4 を、1 時間、2 時間、4 時間、8 時間、12 時間、及び 24 時間から選択される時間内で逐次的に投与する、請求項 30～35 及び 37 のいずれかのがんを治療する方法。 10

【0226】

特徴事項 39：セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの組合せを複合製剤として又は別個に投与することを含む、がん治療を必要とする被験体のがんを治療する方法。

【0227】

特徴事項 40：前記組合せの投与が相乗効果を提供する、請求項 39 のいずれかのがんを治療する方法。

【0228】

特徴事項 41：前記がんが野生型 K R A S を特徴とする、請求項 39 又は 40 のいずれかのがんを治療する方法。 20

【0229】

特徴事項 42：前記がんが野生型 K R A S を特徴とする大腸がんである、請求項 39～41 のいずれかのがんを治療する方法。

【0230】

特徴事項 43：更に、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及びアポトーシスの 1 種以上のマーカーについて前記第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与することの有効性を監視する、請求項 39～42 のいずれかのがんを治療する方法。 30

【0231】

特徴事項 44：更に、セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与する前に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 1 の試料を得ること；セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与した後に前記被験体からがん細胞を含有する又は含有する疑いのある第 2 の試料を得ること；及びリン酸化 A k t について前記第 1 及び第 2 の試料を分析し、それによってセツキシマブと I S C - 4 プロドラッグの前記組合せを投与することの有効性を監視する、請求項 39～43 のいずれかのがんを治療する方法。

【0232】

特徴事項 45：前記セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグを同時に投与する、請求項 39～44 いずれかのがんを治療する方法。 40

【0233】

特徴事項 46：前記セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグを逐次的に投与する、請求項 39～44 のいずれかのがんを治療する方法。

【0234】

特徴事項 47：前記セツキシマブと I S C - 4 プロドラッグを、1 時間、2 時間、4 時間、8 時間、12 時間、及び 24 時間から選択される時間内で逐次的に投与する、請求項 39～44 及び 46 のいずれかのがんを治療する方法。

【0235】

10

20

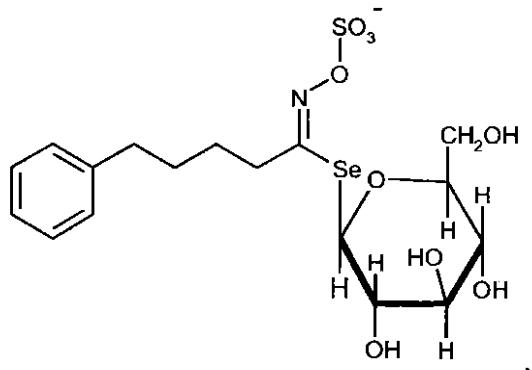
30

40

50

特徴事項 4 8 : 前記 I S C - 4 プロドラッグが、以下の構造式：

【化 1 0】



10

を有する I S C - 4 のグルコシノラートプロドラッグ又はその薬学的に許容される塩である、請求項 3 9 ~ 4 7 のいずれかのがんを治療する方法。

【0 2 3 6】

特徴事項 4 9 : 前記がんが 5 - フルオロウラシルに抵抗性である、請求項 3 0 ~ 4 8 のいずれかのがんを治療する方法。

【0 2 3 7】

特徴事項 5 0 : 前記がんが 5 - フルオロウラシルに抵抗性である大腸がんである、請求項 3 0 ~ 4 9 のいずれのがんを治療する方法。 20

【0 2 3 8】

特徴事項 5 1 : 前記がんが 5 - フルオロウラシルに抵抗性であり、かつ野生型 K R A S を特徴とする、請求項 3 0 ~ 5 0 のいずれのがんを治療する方法。

【0 2 3 9】

特徴事項 5 2 : 前記がんが 5 - フルオロウラシルに抵抗性であり、前記野生型 K R A S が、ヒト K R A S を基準として、コドン 1 2、1 3 又は 6 1 に活性化 K R A S 変異を有さない野生型 K R A S を特徴とする、請求項 3 0 ~ 5 1 のいずれのがんを治療する方法。

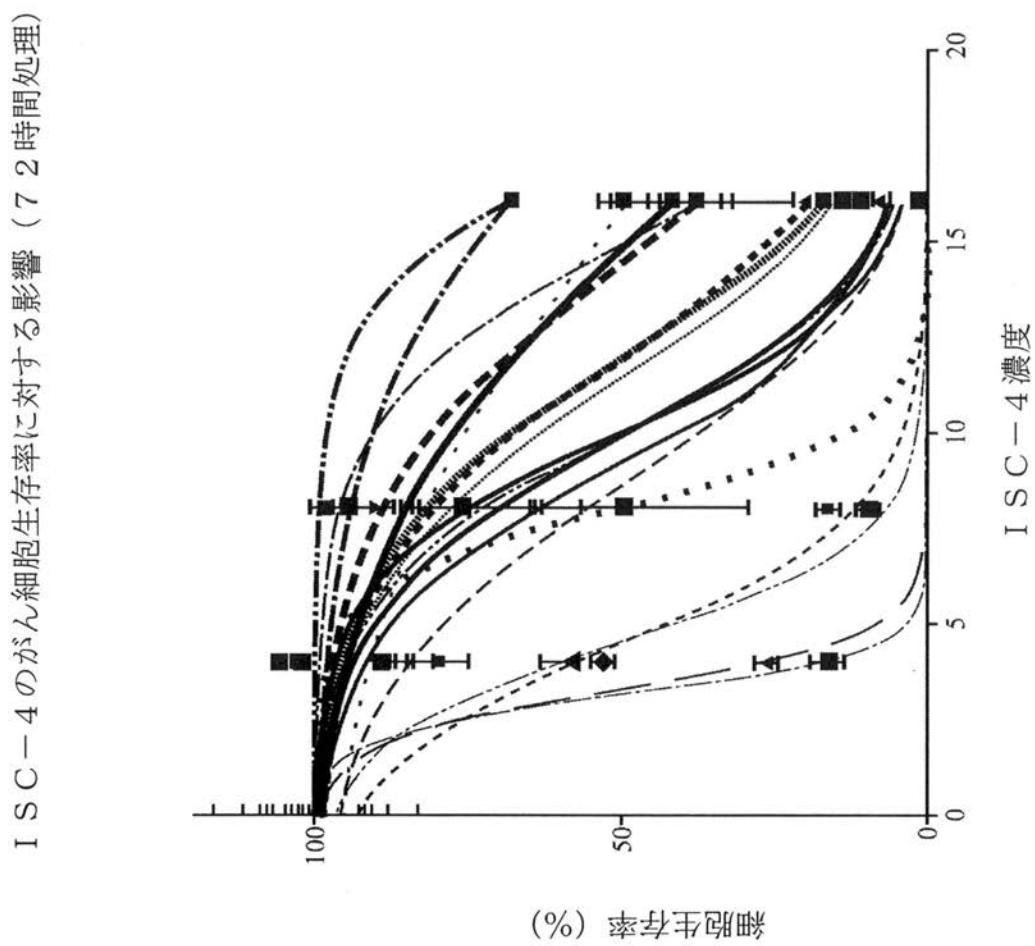
【0 2 4 0】

特徴事項 5 3 : 前記がんが 5 - フルオロウラシルに抵抗性であり、前記野生型 K R A S が、ヒト K R A S を基準として、活性化 K R A S 変異 Q 6 1 H、G 1 2 S、G 1 2 V、G 1 2 A 又は G 1 3 D を有さない野生型 K R A S を特徴とする、請求項 3 0 ~ 5 2 のいずれのがんを治療する方法。 30

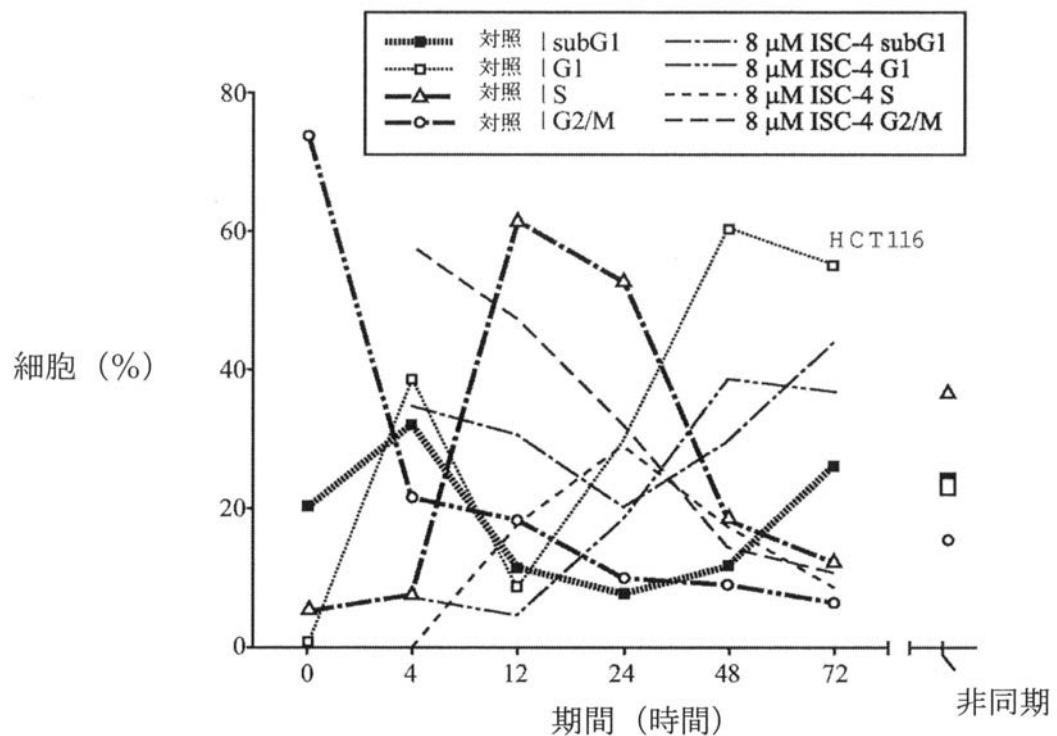
【0 2 4 1】

本明細書中に記載される組成物及び方法は、現在のところ好ましい態様の典型的なもので、例示的であり、本発明の範囲に対する限定として意図されていない。当業者は本明細書における変更や他の使用を思い付くであろう。そのような変更や他の使用は、請求項に記載される本発明の範囲から逸脱することなく行うことができる。

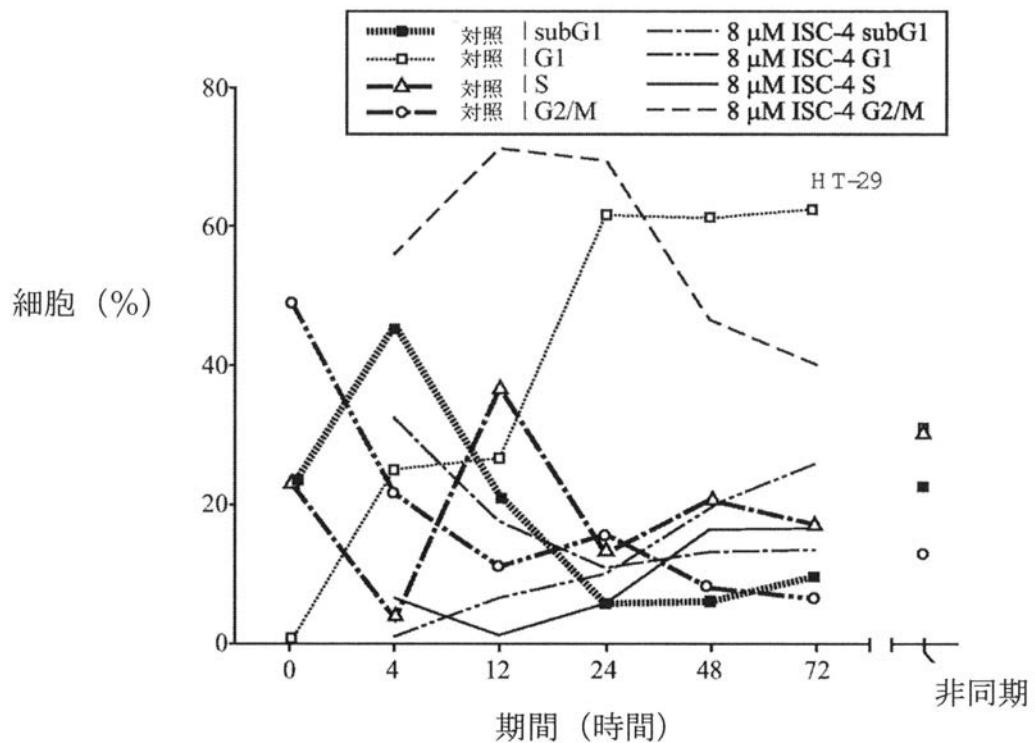
【図 1 A】



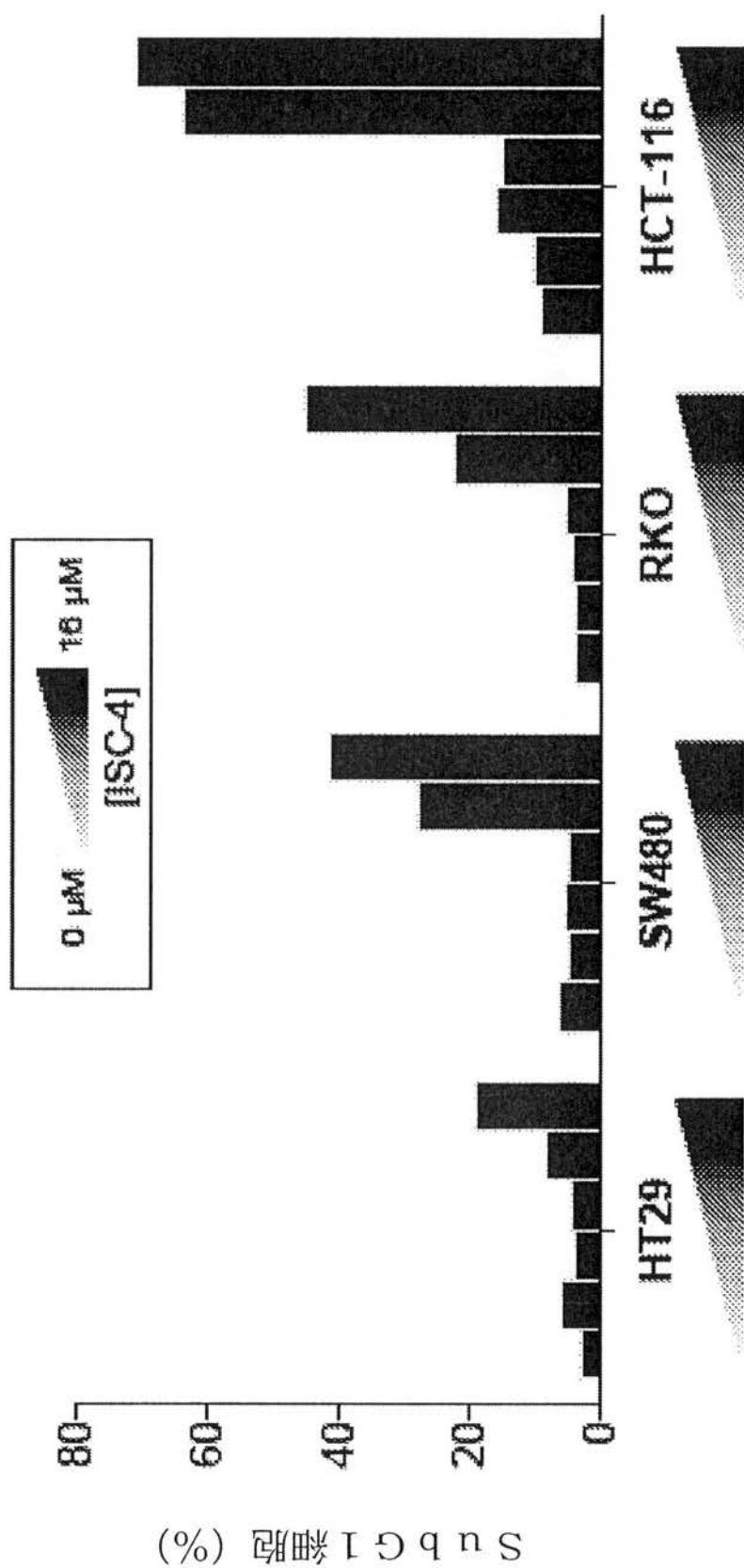
【図 1 B】



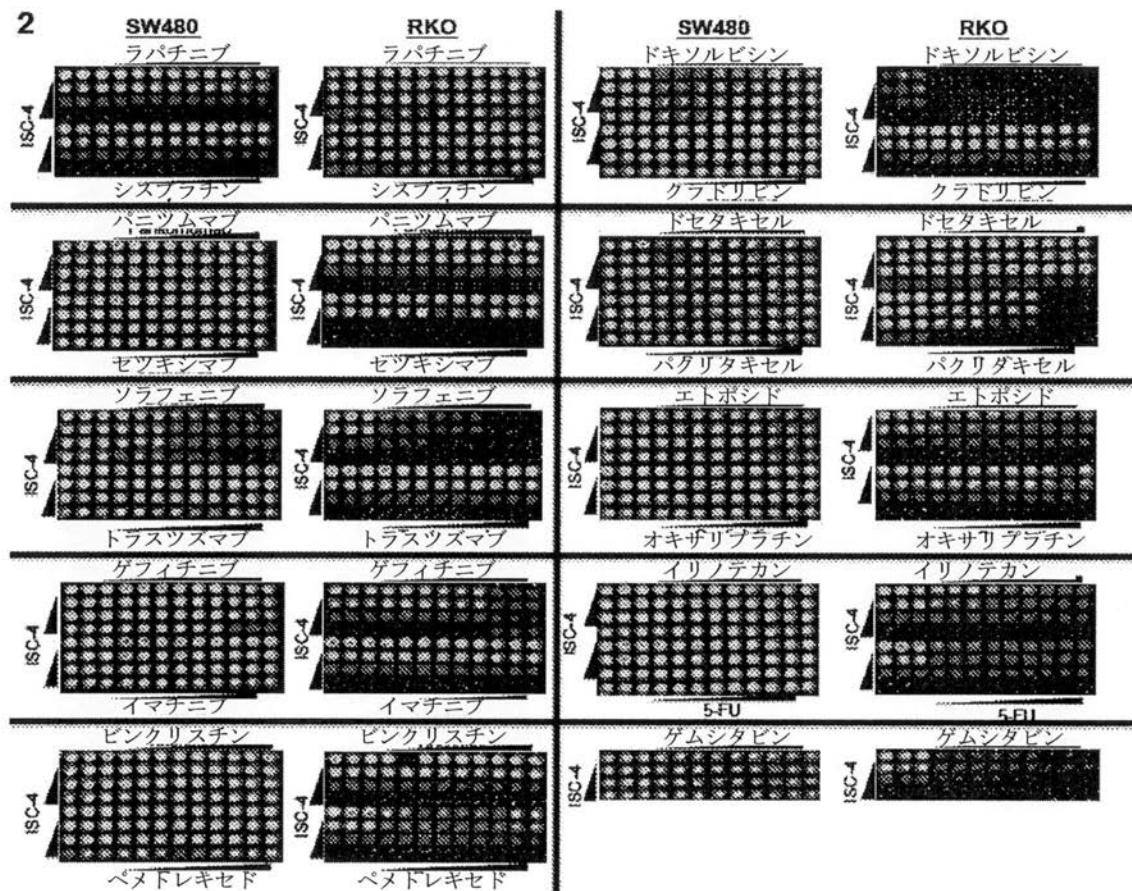
【図 1 C】



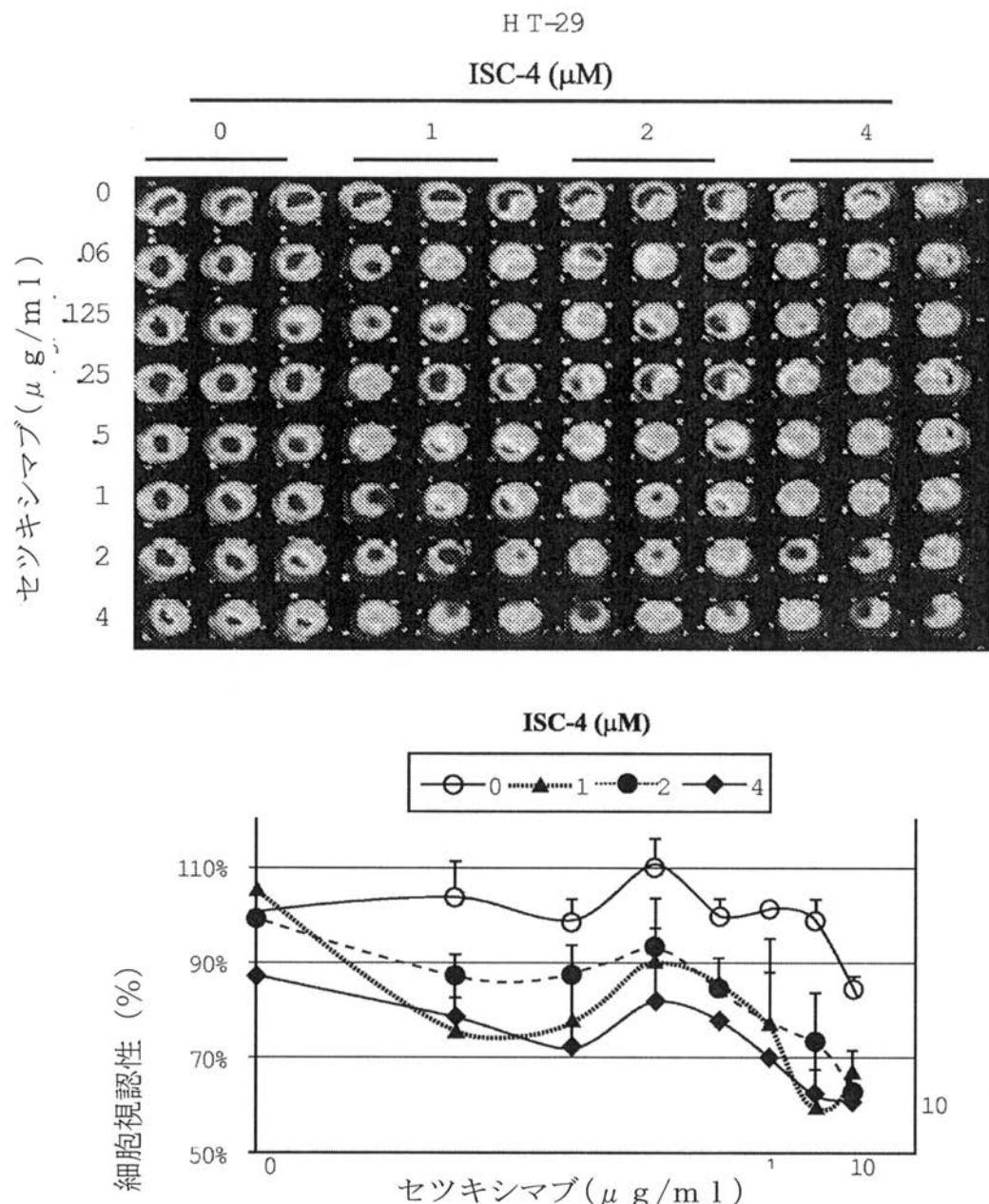
【図 1 D】



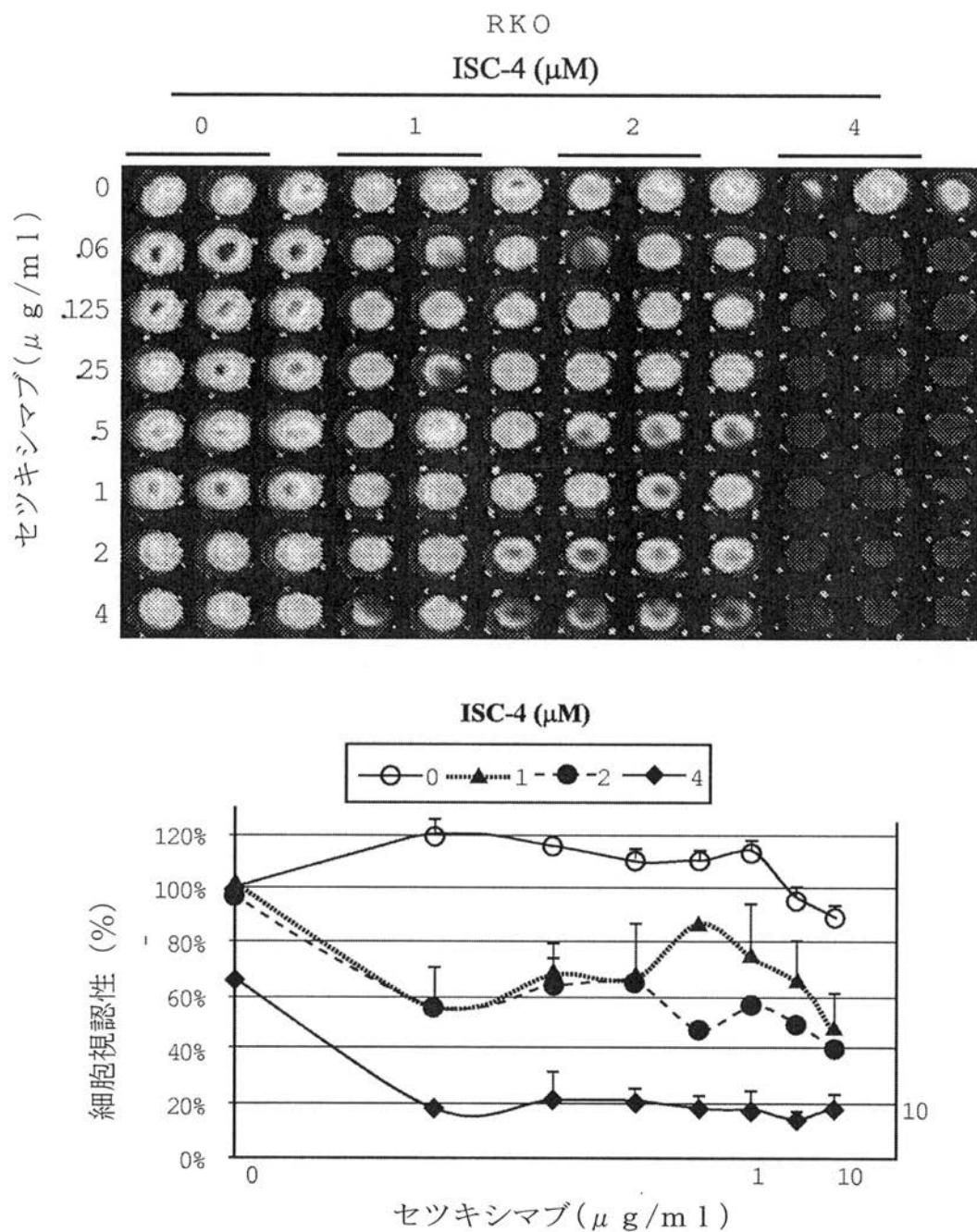
【図2】



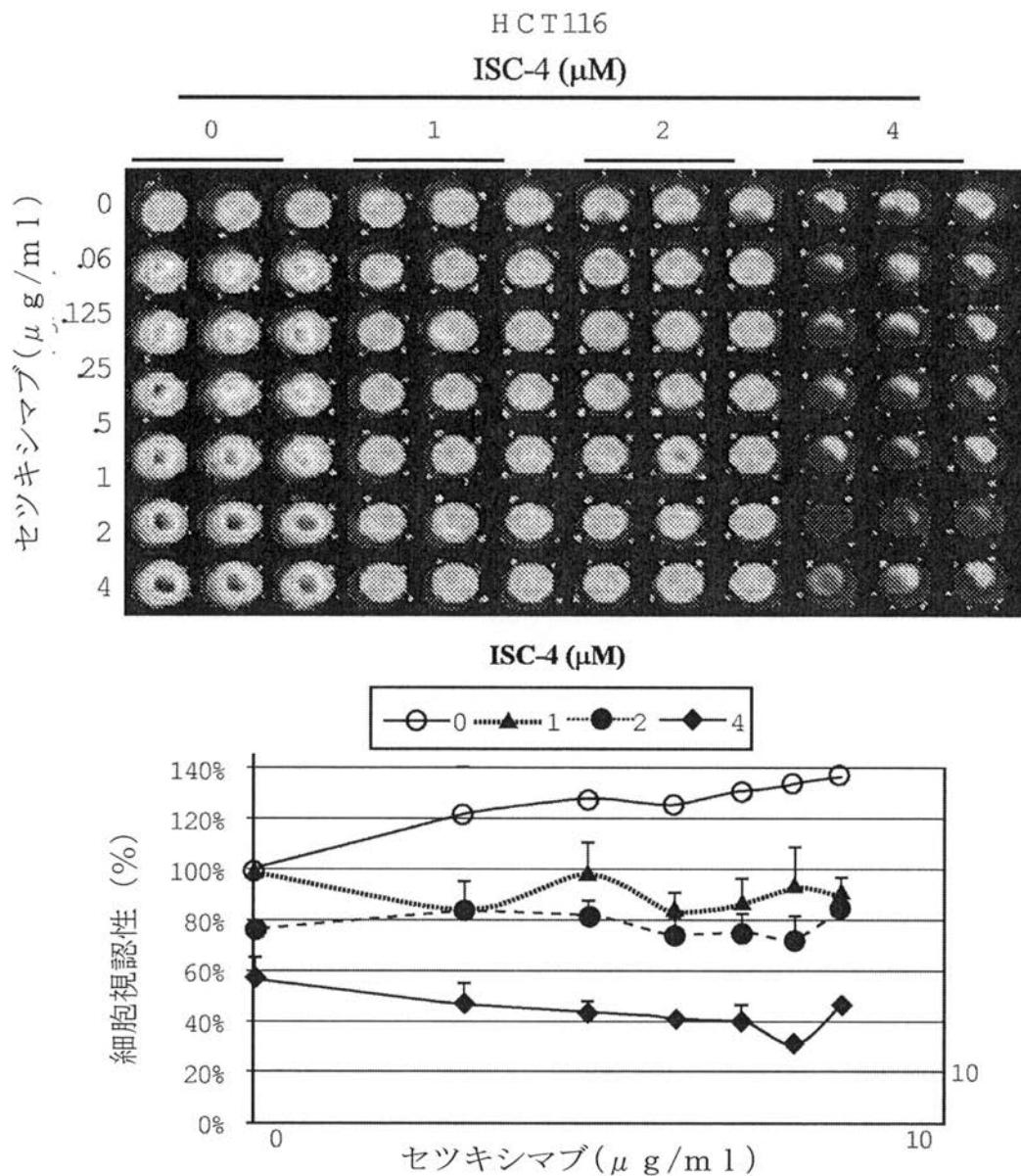
【図 3 A】



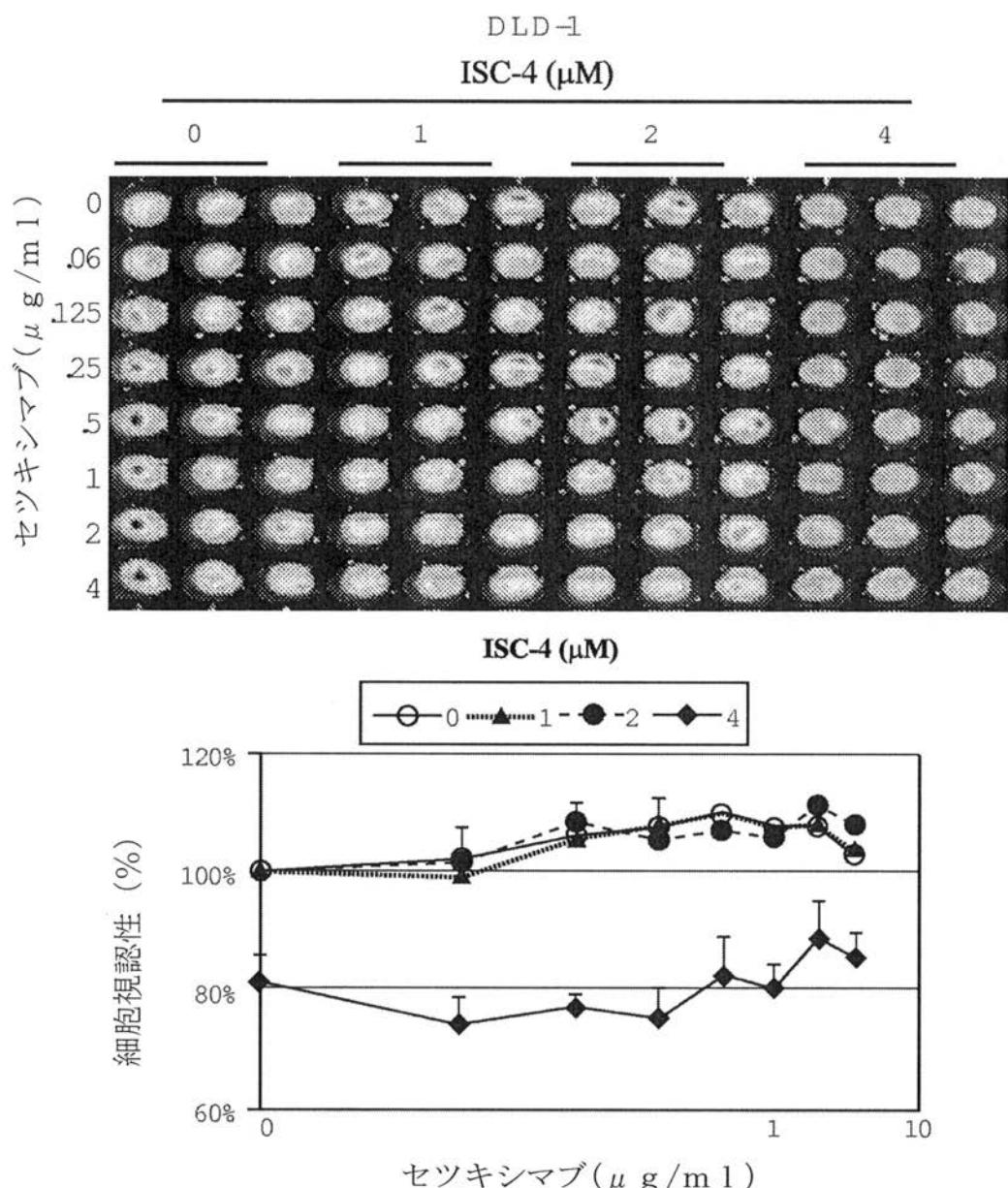
【図 3 B】



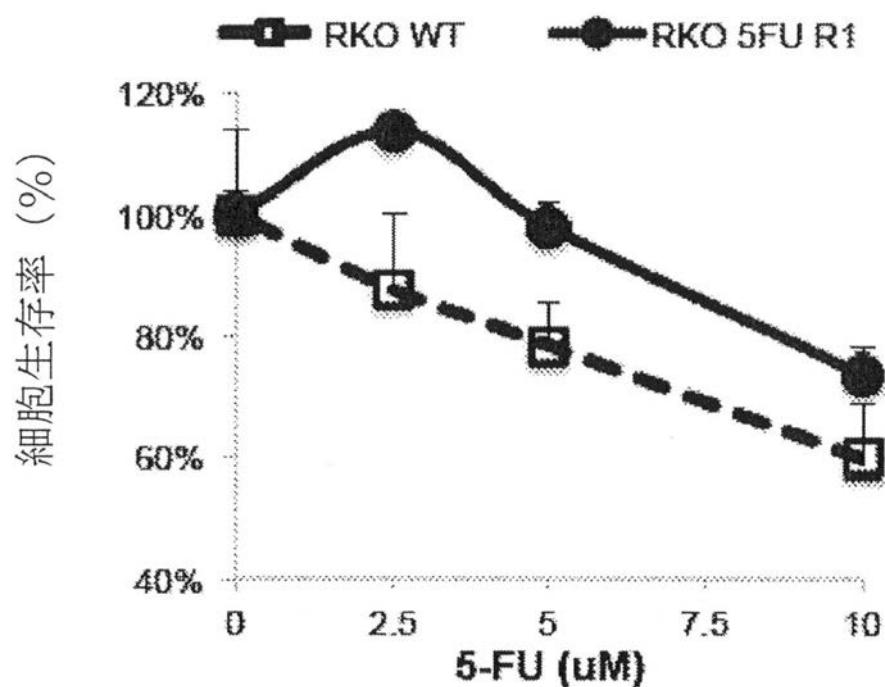
【図3C】



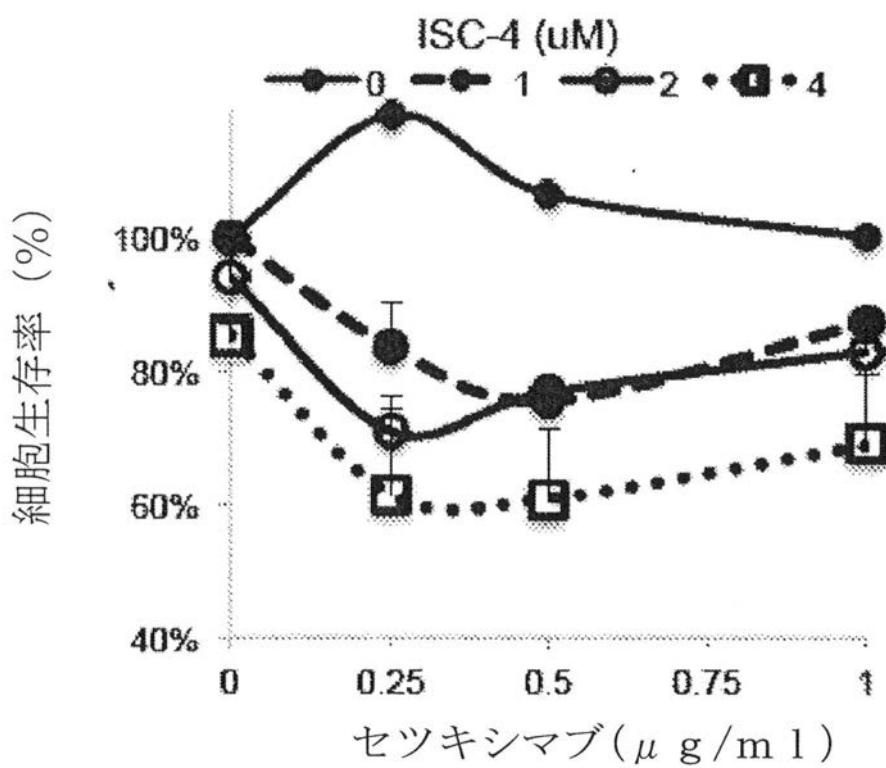
【図3D】



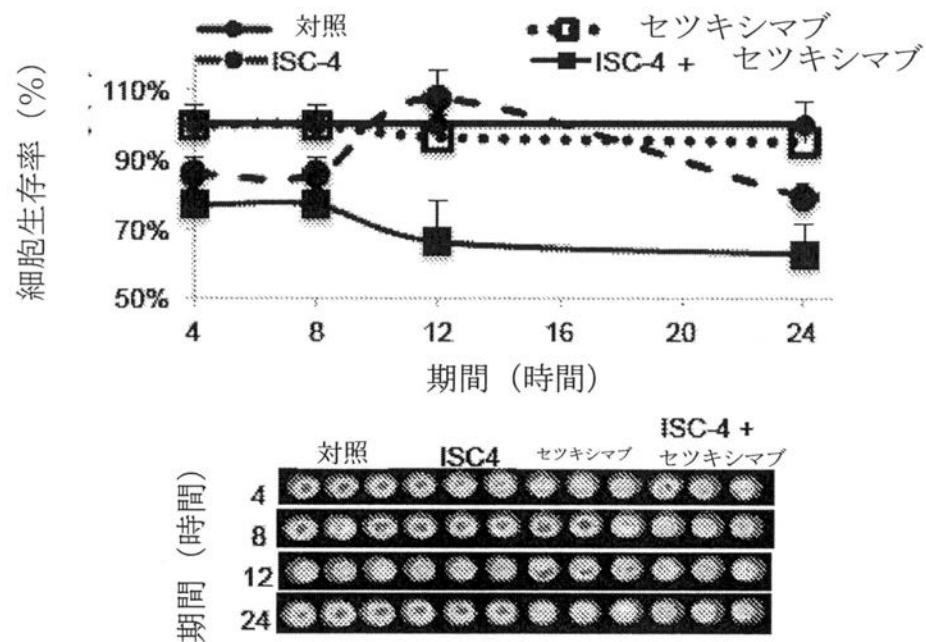
【図 3 E】



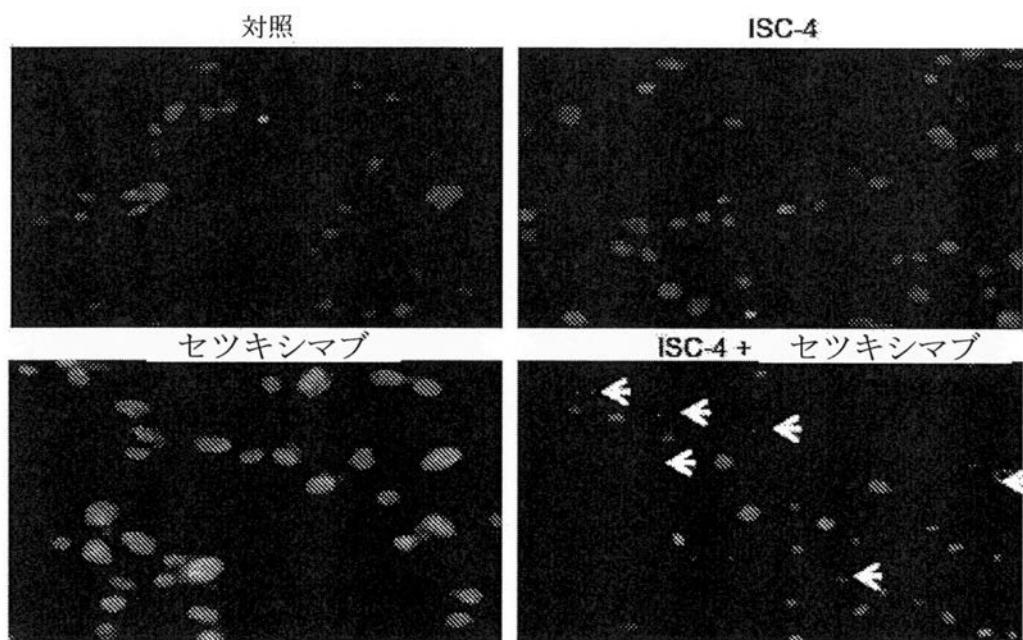
【図 3 F】



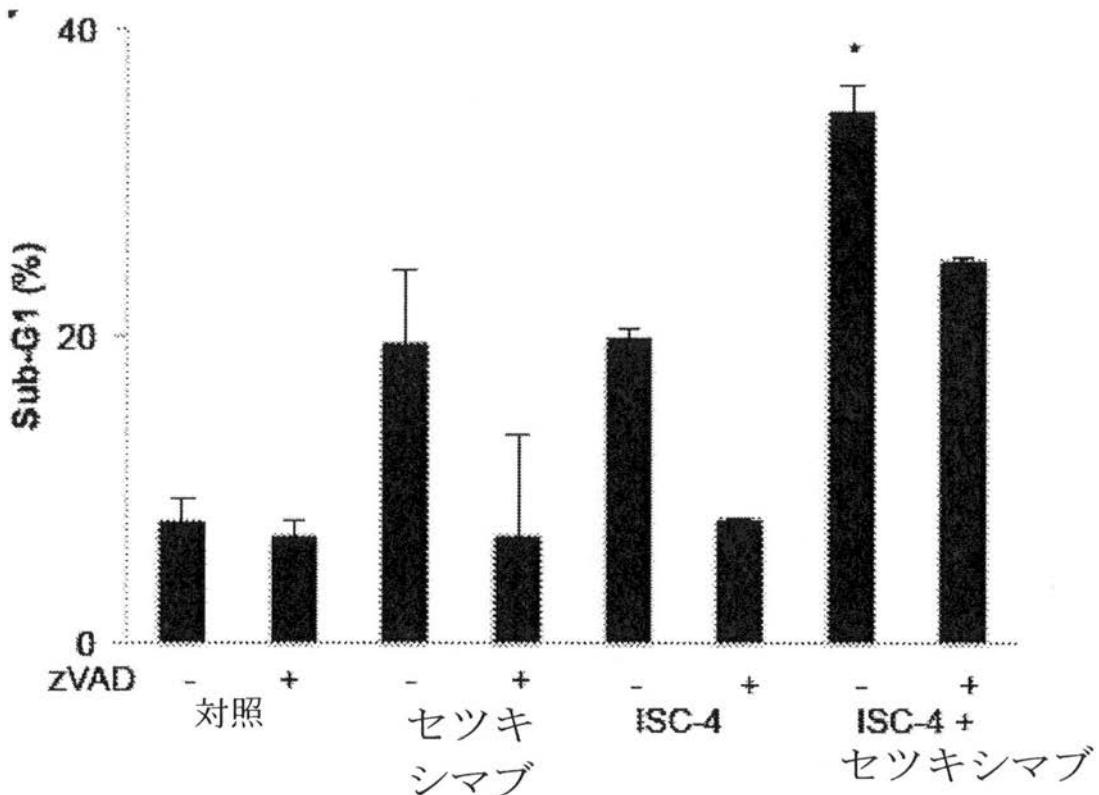
【図 4 A】



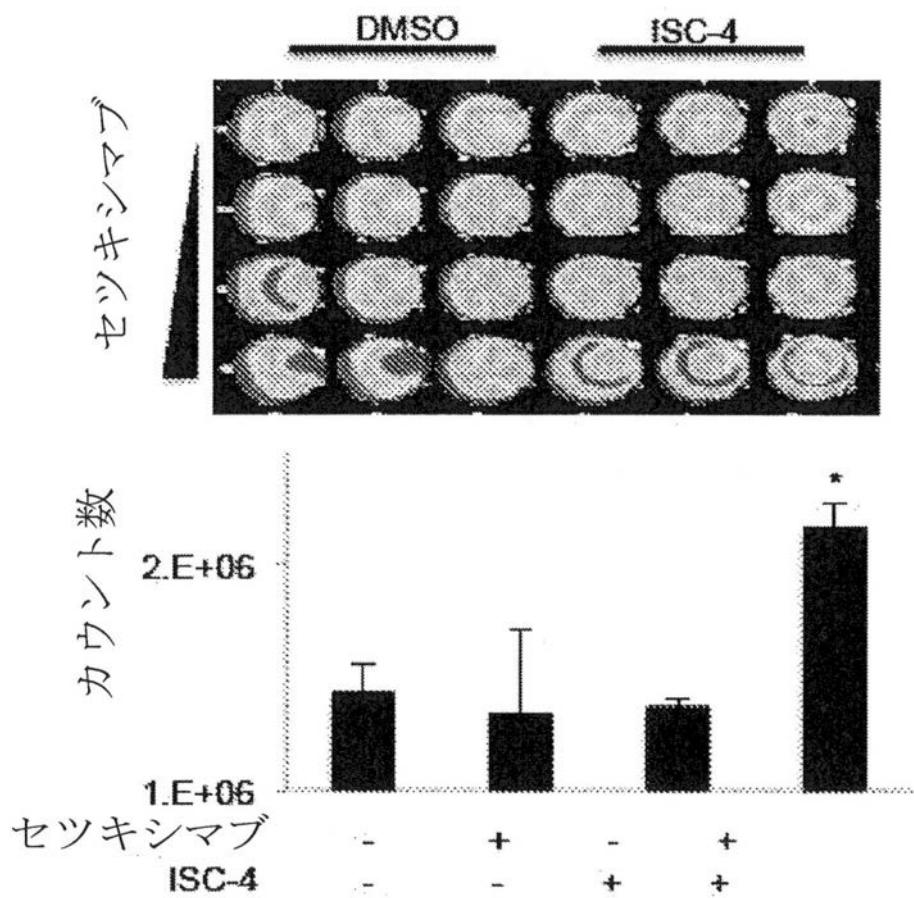
【図 4 B】



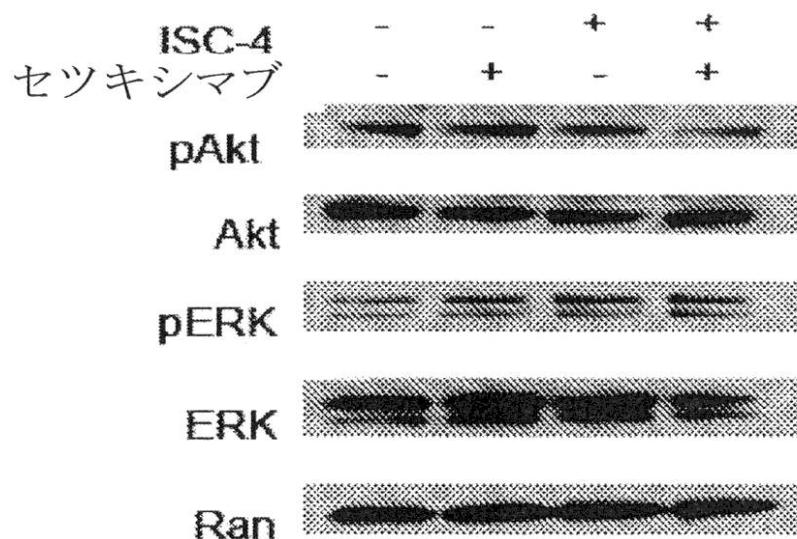
【図 4 C】



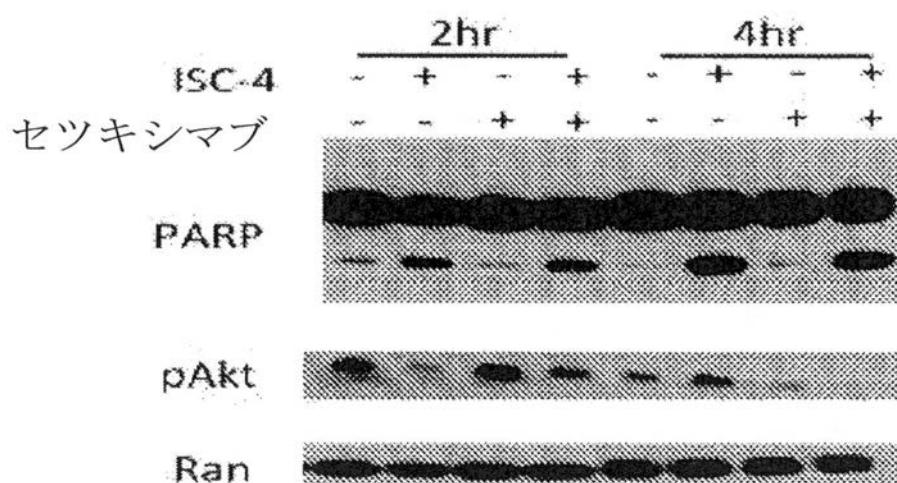
【図 4 D】



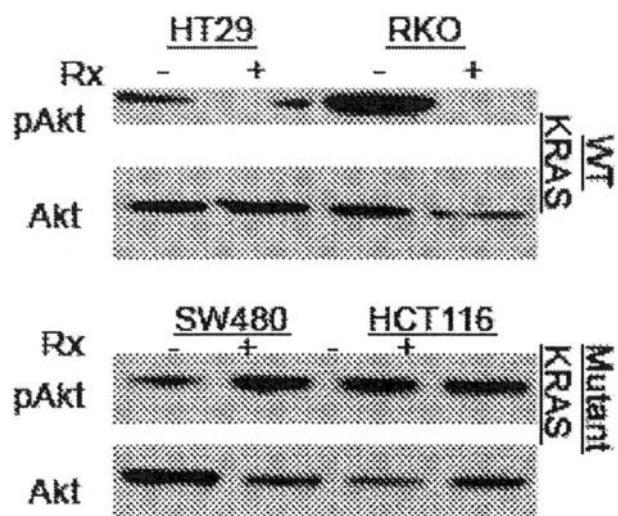
【図 5 A】



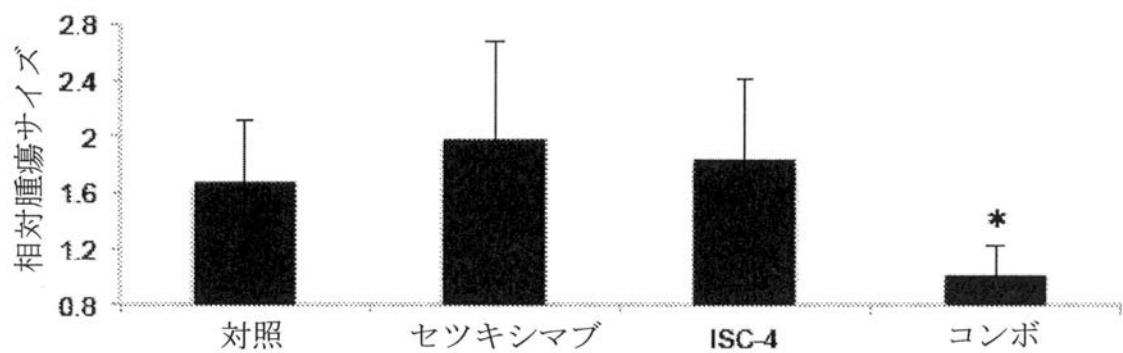
【図 5 B】



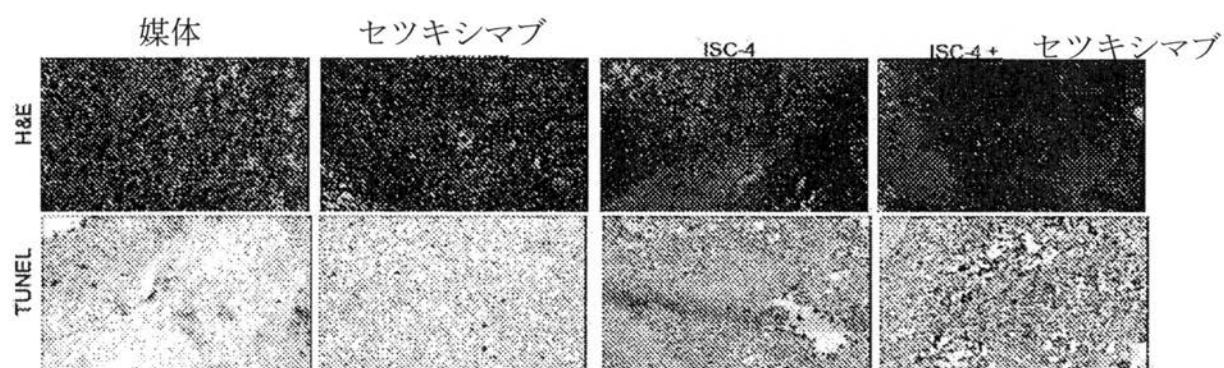
【図 5 C】



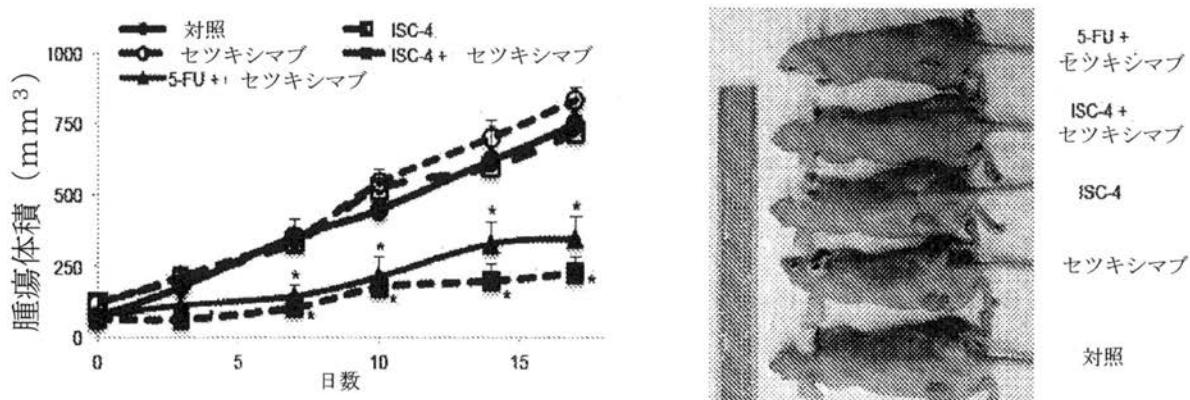
【図 6 A】



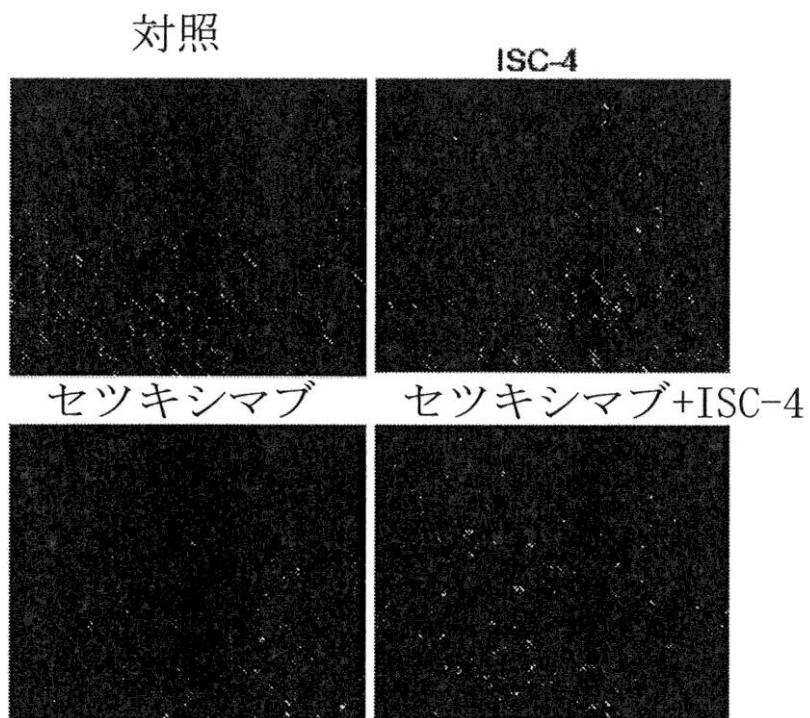
【図 6 B】



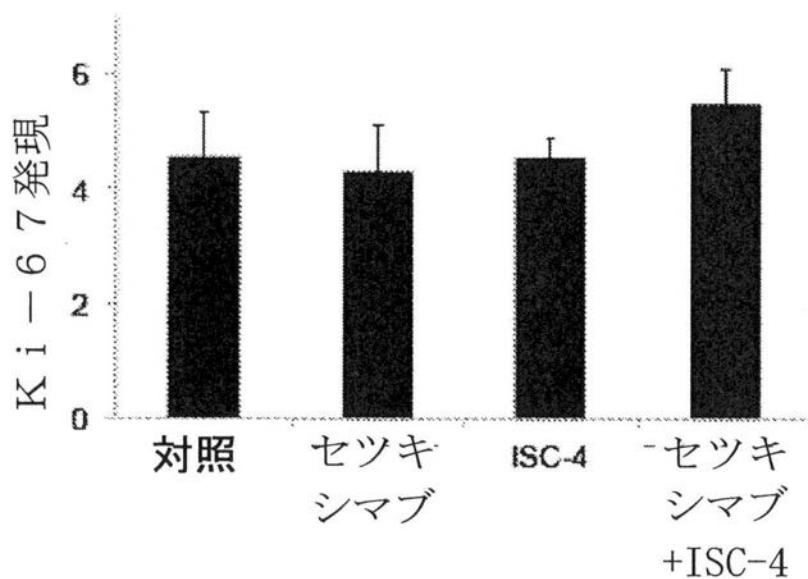
【図 6 C】



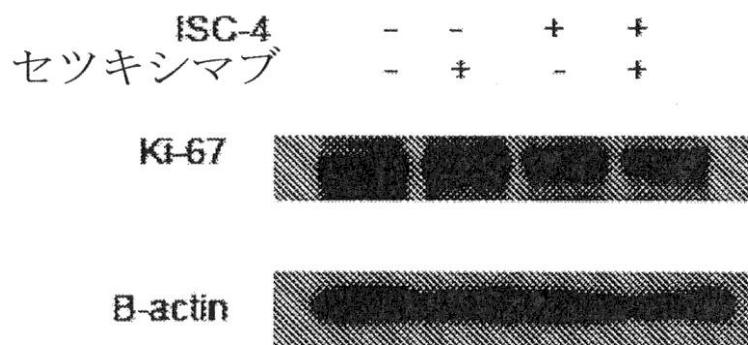
【図 7 A】



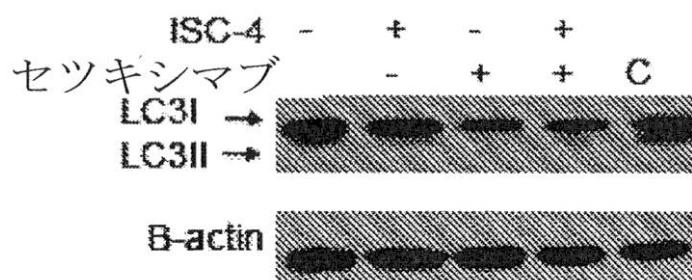
【図 7 B】



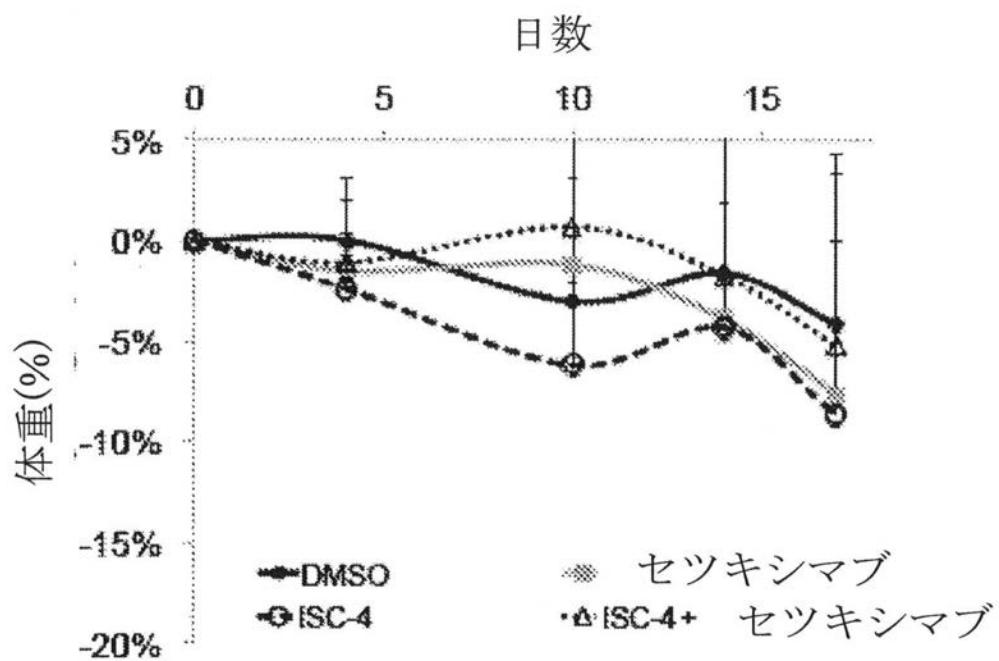
【図 7 C】



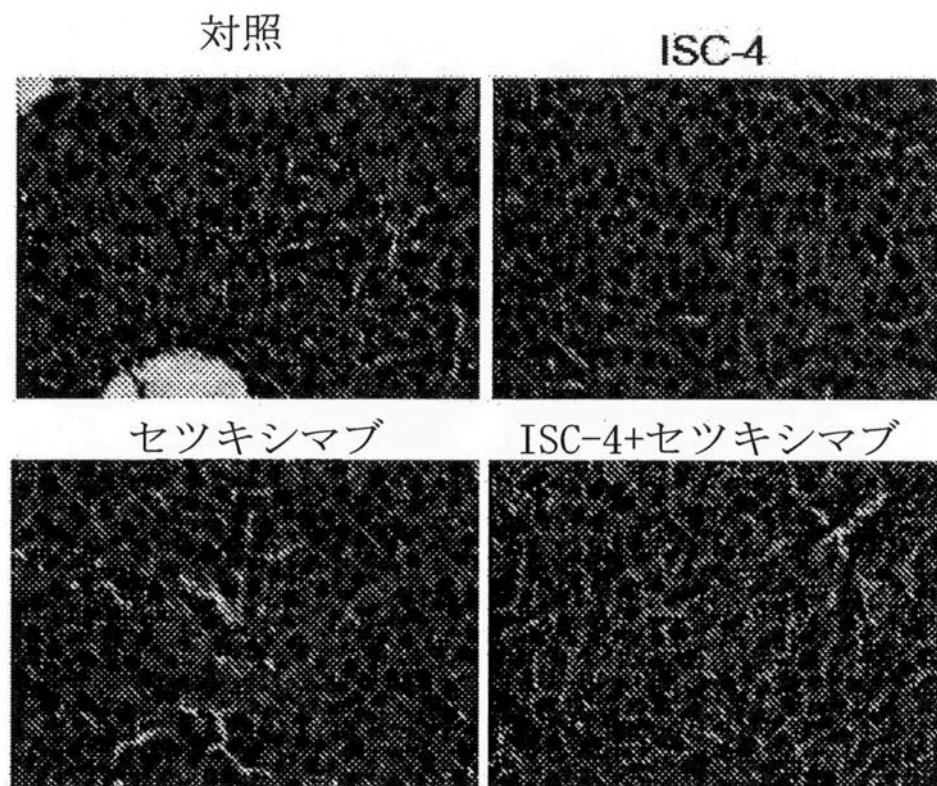
【図 7 D】



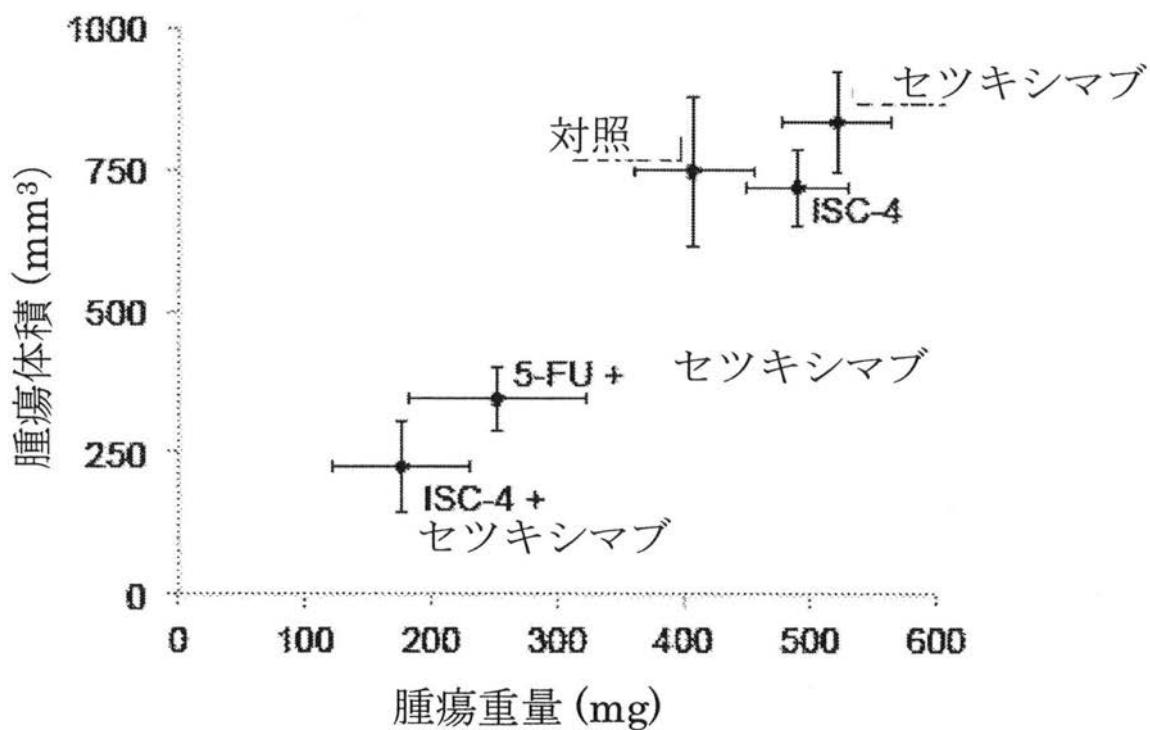
【図 8 A】



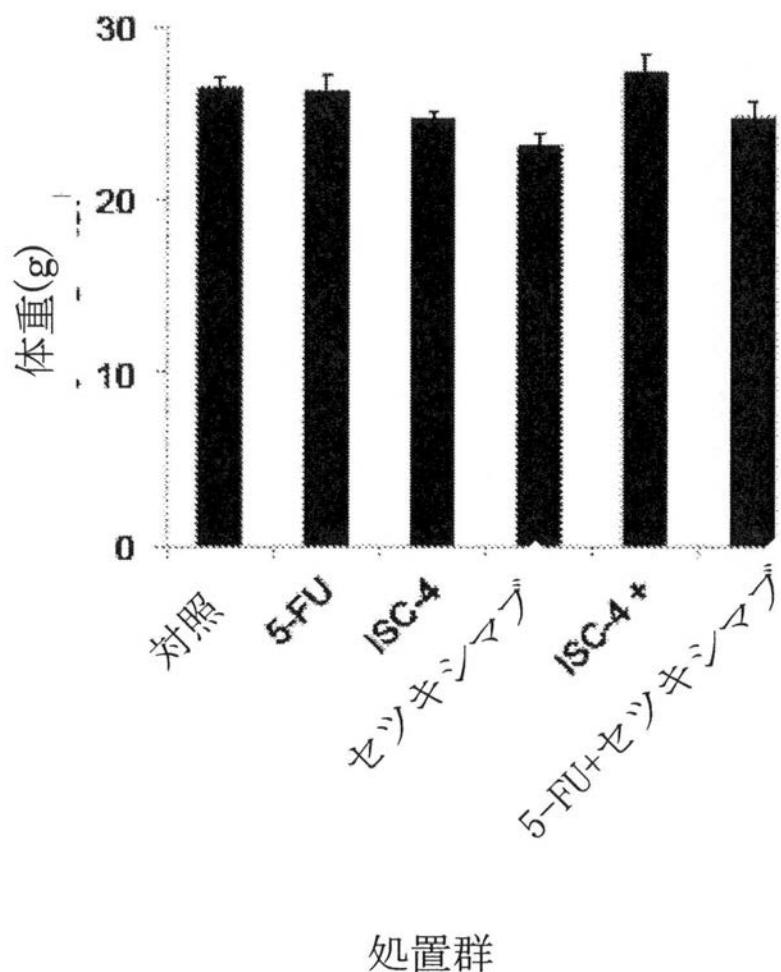
【図 8 B】



【図 8 C】



【図 8 D】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		
		International application No PCT/US2013/076869
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/395 C07K16/28 A61P35/00 A61K31/095 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Anonymous: "Bevacizumab and Cetuximab with or without Irinotecan in treating patients with Irinotecan-refractory metastatic colon cancer", ClinicalTrials.gov INTERNET CITATION, 10 February 2004 (2004-02-10), XP002424711, Retrieved from the Internet: URL: http://clinicaltrials.gov/ct/show/NCT0077298?order=4 [retrieved on 2007-03-13] the whole document ----- -/-/	1-8, 10-34
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 6 February 2014		Date of mailing of the international search report 19/02/2014
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.O. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Siaterli, Maria

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2013/076869

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	P. LAURENT-PUIG ET AL: "Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR Status in Determining Benefit From Cetuximab Therapy in Wild-Type KRAS Metastatic Colon Cancer", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 27, no. 35, 2 November 2009 (2009-11-02), pages 5924-5930, XP055013587, ISSN: 0732-183X, DOI: 10.1200/JCO.2008.21.6796	35-37
A	page 5925, left-hand column, paragraph 3 paragraph [introduction] -----	1-8, 10-34
X	SHARMA ARUN K ET AL: "The Akt inhibitor ISC-4 activates prostate apoptosis response protein-4 and reduces colon tumor growth in a nude mouse model.", CLINICAL CANCER RESEARCH : AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, vol. 17, no. 13, 1 July 2011 (2011-07-01), pages 4474-4483, XP002719841, ISSN: 1078-0432	35-37
A	the whole document page 4476, last paragraph - page 4479, paragraph 1 -----	1-8, 10-34
X	ARUN K. SHARMA ET AL: "Synthesis and Anticancer Activity Comparison of Phenylalkyl Isolelenocyanates with Corresponding Naturally Occurring and Synthetic Isothiocyanates", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 51, no. 24, 25 December 2008 (2008-12-25), pages 7820-7826, XP055100199, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/jm800993r	9,35-37
A	page 7821, right-hand column, last paragraph; tables 1,2 -----	1-8, 10-34
X	WO 2008/128189 A1 (PENN STATE RES FOUND [US]; ROBERTSON GAVIN P [US]; SHARMA ARATI K [US]) 23 October 2008 (2008-10-23)	9,35-37
A	page 12 paragraph [0087] - paragraph [0089]; examples 4,12-19; table II paragraph [scheme5] -----	1-8, 10-34
		-/-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2013/076869

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	ALLEN JOSHUA E ET AL: "The Akt inhibitor ISC-4 synergizes with cetuximab in 5-FU-resistant colon cancer.", PLOS ONE, vol. 8, no. 3, E59380, March 2013 (2013-03), pages 1-8, XP002719842, ISSN: 1932-6203 the whole document -----	1-8, 10-37

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2013/076869

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008128189	A1	23-10-2008	US 2008306148 A1 11-12-2008
		US 2013178523 A1	11-07-2013
		US 2013184339 A1	18-07-2013
		US 2013184340 A1	18-07-2013
		US 2013253052 A1	26-09-2013
		WO 2008128189 A1	23-10-2008

フロントページの続き

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

(72)発明者 エル - デイーリー , ウィック エス .

アメリカ ペンシルヴァニア州 19010 , ブリン マー , ダービー パオリ ロード 793

(72)発明者 シャーマ , アルン ケ .

アメリカ ペンシルヴァニア州 17036 , フンメルタウン , ジェルダー パーク ドライブ 2
152

(72)発明者 アミン , シャントゥー ジー .

アメリカ ニュージャージー州 07087 , ユニオン シティ , サード ストリート 310

(72)発明者 イルビー , ロザリン

アメリカ ペンシルヴァニア州 17036 , フンメルタウン , チャドウィック サークル 111
9

F ターム(参考) 4C057 CC06

4C085 AA14 EE03

4C086 AA01 AA02 EA02 MA02 MA04 MA07 NA05 ZB26 ZC75