

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2012 年 3 月 15 日(15.03.2012)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2012/033016 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 45/00 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 36/06 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2011/070022
- (22) 国際出願日: 2011 年 9 月 2 日(02.09.2011)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2010-203058 2010 年 9 月 10 日(10.09.2010) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社クレハ(KUREHA CORPORATION) [JP/JP]; 〒1038552 東京都中央区日本橋浜町三丁目 3 番 2 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 和田 勉 (WADA Tsutomu) [JP/JP]; 〒1038552 東京都中央区日本橋浜町三丁目 3 番 2 号 株式会社クレハ内 Tokyo (JP). 藤岡 正樹 (FUJIOKA Masaki) [JP/JP]; 〒1038552 東京都中央区日本橋浜町三丁目 3 番 2 号 株式会社クレハ内 Tokyo (JP). 小長井 文乃 (KONAGAI Ayano) [JP/JP]; 〒1038552 東京都中央区日本橋浜町三丁目 3 番 2 号 株式会社クレハ内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 森田 憲一, 外(MORITA Kenichi et al.); 〒1730004 東京都板橋区板橋二丁目 6 7 番 8 号 板橋中央ビル 5 階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: DRUG FOR TREATING TUMOR, ANTITUMOR AGENT, METHOD FOR TREATING TUMOR AND KIT FOR TREATING TUMOR

(54) 発明の名称: 腫瘍治療用薬剤、抗腫瘍剤、腫瘍治療方法および腫瘍治療用キット

(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide a drug for treating tumor which is capable of exhibiting a therapeutic effect on non-responders, from among patients with gastric cancer, colorectal cancer and small cell lung cancer, said non-responders showing little response (sensitivity) to an antitumor agent containing, as the active ingredient, protein polysaccharides derived from *Trametes versicolor*. The purpose can be achieved by a drug for treating tumor comprising an antitumor agent, which contains protein polysaccharides derived from *Trametes versicolor* as the active ingredient, together with an inhibitor of immunosuppressive cells which contains a compound having an activity of inhibiting immunosuppressive cells.

(57) 要約: 本発明の目的は、胃癌患者、結腸・直腸癌患者、及び小細胞肺癌患者のうち、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤に対して反応性(感受性)が低いノンレスポonderに対して治療効果を示す腫瘍治療用薬剤を提供することである。前記課題は、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤とを併用することとを特徴とする腫瘍治療用薬剤によって解決することができる。

WO 2012/033016 A1

明 細 書

発明の名称：

腫瘍治療用薬剤、抗腫瘍剤、腫瘍治療方法および腫瘍治療用キット

技術分野

[0001] 本発明は、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤を用いた腫瘍治療用薬剤などに関する。

背景技術

[0002] カワラタケから抽出される蛋白多糖体は、抗腫瘍活性などを示す。例えば、特開昭60-45533号公報（特許文献1）には、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分とする抗腫瘍剤などが記載されている。このような蛋白多糖体のなかで、カワラタケ由来の蛋白多糖体の一種であるPSK（登録商標）（商品名「クレスチン」（登録商標））は、皮内投与や静脈内投与だけでなく、経口投与によっても抗腫瘍活性を示すことが特長であり、臨床的にも経口投与製剤として用いられている。

[0003] PSKは、約18～38%の蛋白質を含む蛋白多糖体であり、5000以上（ゲル濾過法）の分子量、例えば5000～300000（ゲル濾過法）の分子量を有するものである。主要画分の糖部分は β -D-グルカンで、このグルカン部分の構造は、1→3、1→4及び1→6結合を含む分枝構造である。

[0004] カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤（例えば、PSK）は、胃癌（手術例）患者、及び結腸・直腸癌（治癒切除例）患者における化学療法との併用による生存期間の延長、並びに小細胞肺癌に対する化学療法等との併用による奏功期間の延長の効果が確認されており、胃癌患者、結腸・直腸癌患者、及び小細胞肺癌患者への適用が認可されている。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特開昭60-45533号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] しかしながら、胃癌患者、結腸・直腸癌患者、及び小細胞肺癌患者において、P S Kの投与の効果が低いノンレスポnderが存在する。すなわち、胃癌患者、結腸・直腸癌患者、及び小細胞肺癌患者には、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤に対して反応性（感受性）が低いノンレスポnderが存在している。したがって、本発明の目的は、これらのノンレスポnderに対しても治療効果を示す腫瘍治療用薬剤、又は抗腫瘍剤を提供することである。

[0007] また、胃癌患者、結腸・直腸癌患者、及び小細胞肺癌患者以外の癌患者へのP S Kの適用は、現在のところ認められていない。本発明のさらなる目的は、P S Kの適用が認められていない癌患者に対して、副作用の少ないカワラタケ由来の蛋白多糖体を用いた腫瘍治療用薬剤、又は抗腫瘍剤を提供することである。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、カワラタケ由来の蛋白多糖体の、悪性腫瘍に対する治療効果を増強することのできる化合物について、鋭意研究した結果、免疫抑制性細胞に対する阻害活性を有する化合物を、カワラタケ由来の蛋白多糖体と組み合わせて併用投与することにより、カワラタケ由来の蛋白多糖体の癌細胞の増殖に対する抑制効果が増強し、多くの癌に対する優れた腫瘍治療用薬剤となり得ることを見出した。本発明は、こうした知見に基づくものであり、以下の発明を包含する。

[0009] 本発明は、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤とを併用することを特徴とする腫瘍治療用薬剤に関する。本発明に係る腫瘍治療用薬剤では、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤に対して反応性が低いノンレスポnderに対しても、高い治療効果を奏する。

[0010] 本発明の腫瘍治療用薬剤では、前記化合物が、更に抗腫瘍活性を有してい

ることが好ましい。免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物が、抗腫瘍活性を有することにより、腫瘍の治療において相乗効果が得られる。

[0011] また、本発明の腫瘍治療用薬剤では、前記免疫抑制性細胞が、ミエロイド由来サプレッサー細胞（M D S C）であることが好ましい。前記化合物が、M D S Cの阻害活性を有することによって、M D S Cによるカワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤の作用の抑制を解消し、腫瘍治療用薬剤治療効果を向上させることが可能である。

[0012] また、本発明の腫瘍治療用薬剤では、前記免疫抑制性細胞が、制御性T細胞（T r e g）であることが好ましい。前記化合物が、T r e gの阻害活性を有することによって、T r e gによるカワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤の作用の抑制を解消し、腫瘍治療用薬剤治療効果を向上させることが可能である。

[0013] 本発明の腫瘍治療用薬剤では、前記化合物が、ゲムシタビン、ホスホジエステラーゼ5（P D E - 5）阻害化合物、オールトランスレチノイン酸（all-trans-retinoic acid: A T R A）、アルギナーゼ阻害化合物、スニチニブ、シクロホスファミド、デニロイキンジフチトックス（Denileukin diftitox）、C T L A - 4 阻害化合物、C D 2 5 阻害化合物、及びI L - 2 R 阻害化合物からなる群から選択される化合物であることが好ましい。

[0014] また、本発明は、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤であって、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤と併用されることを特徴とする抗腫瘍剤に関する。本発明に係る抗腫瘍剤では、特にカワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤に対して反応性が低いノンレスポnderに対して、高い治療効果を奏する。

[0015] また、本発明は、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤とを併用することを特徴とする腫瘍治療方法に関する。

[0016] また、本発明は、複数の活性成分を組み合わせる含む腫瘍治療用キットで

あって、前記活性成分として、カワラタケ由来の蛋白質多糖体および免疫抑制細胞の阻害活性を有する化合物を含む腫瘍治療用キットに関する。

発明の効果

[0017] 本発明の腫瘍治療用薬剤によれば、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤とを併用して投与することにより、癌細胞の増殖を抑制し、高い治療効果を得ることができる。すなわち、本発明の腫瘍治療用薬剤は、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤に対して反応性（感受性）が低いノンレスポonderに対して、高い治療効果を奏する。

[0018] また、本発明の腫瘍治療用薬剤は、PSKなどのカワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤の適用が認可されていない腫瘍に対しても癌細胞の増殖を抑え、更には退縮させることができる効果も併せて奏する。

[0019] 例えば、現在、乳癌はPSKなどのカワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤の適用が認可されていないが、本発明の腫瘍治療用薬剤では、癌細胞の増殖を抑え、更には退縮させることもできる。さらに、本発明に用いる免疫抑制細胞阻害剤が、免疫抑制性細胞の阻害活性及び（直接的）細胞傷害（障害）活性を有している場合には、本発明の腫瘍治療用薬剤は、互いの化合物が本来有する効果を相乗した効果を示す。

図面の簡単な説明

[0020] [図1]実施例1に関するデータを示すものであり、（A）は抗腫瘍剤及び免疫抑制細胞阻害剤の投与スケジュールを示した図であり、（B）は腫瘍体積の抑制効果を示すグラフであり、（C）は腫瘍重量の抑制効果を示すグラフである。

[図2]実施例2に関するデータを示すものであり、（A）は抗腫瘍剤及び免疫抑制細胞阻害剤の投与スケジュールを示した図であり、（B）は腫瘍体積の抑制効果を示すグラフであり、（C）は腫瘍重量の抑制効果を示すグラフであ

る。

[図3]実施例3における腫瘍治療用薬剤の腫瘍体積の抑制効果を示したグラフである。

[図4]実施例4における腫瘍治療用薬剤の腫瘍体積の抑制効果を示したグラフである。

[図5]実施例5に関するデータを示すものであり、(A)は腫瘍体積の抑制効果を示すグラフであり、(B)は腫瘍重量の抑制効果を示すグラフである。

[図6]実施例6における腫瘍治療用薬剤の腫瘍体積の抑制効果を示したグラフである。

発明を実施するための形態

[0021] [1]腫瘍治療用薬剤

本発明の腫瘍治療用薬剤は、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤とを併用するものである。本発明に係る腫瘍治療用薬剤における抗腫瘍剤および免疫抑制細胞阻害剤の詳細について、以下に記載する。

[0022] なお、本明細書等における「併用」とは、カワラタケ由来の蛋白多糖体と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物とを含む腫瘍治療用薬剤を1剤として投与することを意味する。更に、それぞれ単独製剤の形態であるカワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤とを、同時に又は時間差をおいて、2剤で投与することも併せて意味する。後者の場合、抗腫瘍剤と免疫抑制細胞阻害剤との投与回数は同じであってもよいし、異なってもよい。

[0023] (カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤)

カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤としては、例えばPSKを挙げることができる。PSKは、商品名「クレスチン」の名称で販売されており、カワラタケ菌CM101株〔FERM-P2412 (ATCC20547)〕の菌糸体を水系溶媒、例えば、熱水又はアルカリ溶液

(例えば、アルカリ金属の水酸化物、特に水酸化ナトリウムの水溶液)で抽出し、精製した後に乾燥して得ることができる。主要画分の糖部分は β -D-グルカンで、このグルカン部分の構造は β 1 $\rightarrow$ 3、 β 1 $\rightarrow$ 4 及び β 1 $\rightarrow$ 6 結合を含む分枝構造である。主な構成単糖はグルコースやマンノースであり、約18~38%のタンパク質を含む。タンパク質の構成アミノ酸は、アスパラギン酸やグルタミン酸等の酸性アミノ酸と、バリンやロイシン等の中性アミノ酸が多く、リジンやアルギニン等の塩基性アミノ酸は少ない。

[0024] 本明細書等において、カワラタケはCM101株に限定されるものではなく、抗腫瘍活性を有する蛋白多糖体を含むものであればよい。また、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤は、抗腫瘍活性を有するものであれば、限定されるものではない。例えば、PSK、並びにPSKのジェネリック医薬品であるアスクレ(日医工)、クレチール末(沢井製薬)、チオレスチン散(長生堂)、チオレスチン散(田辺製薬販売)、カルボクリン末(大洋薬品工業)、及びカルボクリン末(日本ケミファ)であってもよい。

[0025] カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤は、胃癌(手術例)患者、及び結腸・直腸癌(治癒切除例)患者における化学療法との併用による生存期間の延長、並びに小細胞肺癌に対する化学療法等との併用による奏功期間の延長の効果が確認されており、胃癌患者、結腸・直腸癌患者、及び小細胞肺癌患者への適用が認可されている。

[0026] (免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤)

本発明の腫瘍治療用薬剤に用いられる免疫抑制細胞阻害剤は、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む。免疫抑制性細胞は、生体の免疫反応を抑制する機能を有する細胞であれば、特に限定されるものではない。免疫抑制性細胞としては、例えば、ミエロイド由来サプレッサー細胞(以下、MDS Cと称することがある)、及び制御性T細胞(以下、Tregと称することがある)を挙げることができる。ミエロイド由来サプレッサー細胞及び制御性T細胞について以下に説明する。

[0027] (ミエロイド由来サプレッサー細胞)

MDSCは、免疫抑制能を有する骨髓系細胞の総称である。MDSCは、不均一な細胞群であり、T細胞、マクロファージ、及びNK細胞と相互作用する。また、癌患者の末梢血及び腫瘍組織において増加していることが報告されている。マウスのMDSCの表面マーカーとしては、特に限定されるものではないが、CD11b⁺、Gr1⁺を挙げることができる。また、CD31⁺及びIL-4 α をマーカーとしてもよい。また、ヒトのMDSCの表面マーカーはCD11b⁺、Gr1⁺、CD14^{+/+}、及びHLA-DR^{low}とされているが、特異的なマーカーは同定されていない。したがって、ヒトのMDSCは、後述の免疫抑制機能のいずれか1つを有するものであれば、前記のマーカーを有する細胞に限定されるものではない。

[0028] MDSCの免疫抑制機能は、MDSCに発現している誘導性一酸化窒素シンターゼ (inducible nitric-oxide synthase 2: 以下、NOS2と称する)、及びアルギナーゼ1 (arginase-1: 以下、ARG1と称する) の2つの酵素に関連している。NOS2は、NOの産生を介してT細胞のIL-2レセプターシグナル伝達を抑制しアポトーシスを誘導する。一方、ARG1は、アルギニンの代謝酵素で、アルギニンを周囲の環境から消費することにより、T細胞の機能を抑制する。更に、MDSCの免疫抑制機能としては、MDSCが分泌しているTGF- β 及びIL-10による免疫抑制、及びMDSC存在によるシステイン欠乏も報告されている。

[0029] (制御性T細胞)

Tregは、T細胞又は樹状細胞などの免疫担当細胞に抑制的に働くT細胞であり、ヒト腫瘍組織又は末梢血中でTregの増加が認められている。ヒトのTregの表面マーカーは限定されるものではないが、CD4⁺、CD25⁺ (IL-2レセプター α 鎖) とされており、健常人の末梢血のCD4⁺細胞の5~10%を占めている。また、Tregは、グルココルチコイド誘導性TNF受容体 (glucocorticoid-induced TNF receptor: GITR)、細胞傷害性Tリンパ球抗原4 (Cytotoxic T lymphocyte antigen 4: CTLA-4)、及びF

OXP3を恒常的に発現している。CD4⁺Tregには、IL-10産生性Tr1、TGF- β 産生性Th3、自然発生Treg(nTreg)及び誘導性Treg(iTreg)が報告されている。nTregは、生理的には、胸線において中枢性免疫寛容を逃れた自己反応性T細胞を末梢で抑制することにより、自己免疫疾患の発症を予防している。

[0030] (免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物)

免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物としては、例えばMDSCの機能を阻害する化合物、Tregの機能を阻害する化合物、並びにMDSC及びTregの機能を阻害する化合物を挙げることができる。

[0031] 本明細書等において、「MDSCの機能を阻害する」とは、MDSCの細胞を減少させること、MDSCから分泌された免疫抑制物質を阻害すること、MDSCの免疫抑制物質の分泌を阻害すること、又はMDSCによる抗原提示能およびエフェクター能の阻害を抑制することなどを含む。なお、本明細書等における「Tregの機能を阻害する」とは、上述したMDSCに関する記載におけるMDSCをTregに読み換えればよい。また、ここでの「減少」とは、MDSC又はTregの誘導抑制及び排除を意味する。

[0032] MDSCの機能を阻害する化合物としては、ゲムシタビン、ホスホジエステラーゼ5(PDE-5)阻害化合物(例えば、sildenafil、tadalafil、及びvardenafil)、オールトランスレチノイン酸(all-trans-retinoic acid:以下、ATRAと称する)、又はアルギナーゼ阻害化合物(例えば、boronic-acid derivative 2(S)-amino-6-boronohexanoic acid(ABH)、S-(2boronoethyl)-L-cystein(BEC))、COX-2阻害剤(SC58236)、KIT-specific antibody、Nitroaspirin、VitaminD3、avastin、VEGF-trap、Doxorubicin、5-FU、cyclophosphamideを挙げることができる。例えば、ATRAは、MDSCを分化誘導し、MDSCの免疫抑制活性を阻害する。また、boronic-acid derivative 2(S)-amino-6-boronohexanoic acid(ABH)、及びS-(2boronoethyl)-L-cystein(BEC)は、アルギニンのアナログである。

[0033] Tregの機能を阻害する化合物としては、シクロホスファミド、デニロ

イキンジフチトックス (Denileukin diftitox)、C T L A-4 阻害化合物 (例えば、抗C T L A-4 抗体)、C D 2 5 阻害化合物 (例えば、抗C D 2 5 抗体)、及びI L-2 R 阻害化合物 (例えば、抗I L-2 R 抗体) を挙げることができる。デニロイキンジフチトックスは、I L-2 とジフテリアとの融合タンパクであり、C D 2 5 陽性細胞を傷害する。

[0034] M D S C 及びT r e g の機能を阻害する化合物としては、スニチニブ (Sunitinib) を挙げることができる。

[0035] 免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物は、免疫抑制性細胞の阻害活性に加えて、抗腫瘍活性 (直接的細胞傷害活性) を有することが好ましい。これによって、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物は、免疫抑制性細胞を阻害することにより、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤の抗腫瘍効果を増強すると共に、自身が腫瘍細胞を抑制することができる。

[0036] したがって、免疫抑制性細胞の阻害活性に加えて、抗腫瘍活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤を用いた腫瘍治療用薬剤では、腫瘍細胞の増殖抑制に対して相乗効果が得られることになる。

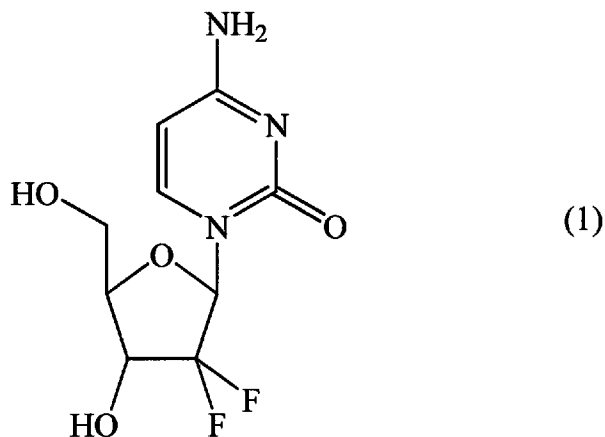
[0037] 免疫抑制性細胞の阻害活性を有し、かつ、抗腫瘍活性 (直接的細胞傷害活性) を有する化合物としては、ゲムシタビン、シクロホスファミド、及びスニチニブを挙げることができる。免疫抑制性細胞の阻害活性を有し、かつ、抗腫瘍活性を有する化合物において、免疫抑制性細胞の阻害活性を示す有効量と、抗腫瘍活性を示す有効量とが異なる場合は、少なくとも免疫抑制性細胞の阻害活性を示す量の当該化合物を投与する。

[0038] (ゲムシタビン)

ゲムシタビンは、下記式 (1) で表わされる化合物であり、ゲムシタビン塩酸塩を含む医薬組成物が、非小細胞癌、膵癌、胆道癌、尿路上皮癌、及び手術不能又は再発乳癌に適用される抗腫瘍剤 (商品名: ジェムザール) として認可され、販売されている。また、ゲムシタビンは、乳癌、膀胱癌、及び卵巣癌などにも有効であると報告されている。なお、ゲムシタビンの作用は

、DNA合成阻害、アポトーシスの誘導、及びMDS Cの減少である。

[0039] [化1]

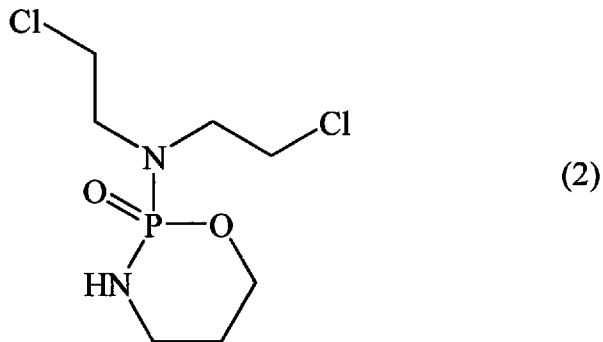


[0040] ゲムシタビンの抗腫瘍剤としての投与は、非小細胞肺癌、膵癌、胆道癌、尿路上皮癌の場合、1回あたり1000mg/m²のゲムシタビンを30分かけて点滴静注することで行う。週1回投与を3週連続し、4週目は休薬する。これを1コースとして投与を繰り返す。なお、患者の状態により適宜減量する。また、手術不能又は再発乳癌の場合、ゲムシタビンとして1回あたり1250mg/m²のゲムシタビンを30分かけて点滴静注する。この場合は、週1回投与を2週連続し、3週目は休薬する。これを1コースとして投与を繰り返す。

[0041] (シクロホスファミド)

シクロホスファミドは、下記式(2)で表わされる化合物であり、多発性骨髄腫、悪性リンパ腫(ホジキン病、リンパ肉腫、細網肉腫)、肺癌、乳癌、急性白血病、真性多血症、子宮頸癌、子宮体癌、卵巣癌、神経腫瘍(神経芽腫、網膜芽腫)、及び骨腫瘍への適用が認可されている。また、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、咽頭癌、胃癌、膵癌、肝癌、結腸癌、睾丸腫瘍、絨毛性疾患(絨毛癌、破壊胞状奇胎、胞状奇胎)、横紋筋肉腫、及び悪性黒色腫には、他の抗悪性腫瘍剤と併用で認可されている。更に、乳癌(手術可能例における術前、あるいは術後化学療法)では、他の抗悪性腫瘍剤との併用療法で、認可されている。シクロホスファミドは、少量投与により、Tregの機能を阻害する化合物である。

[0042] [化2]



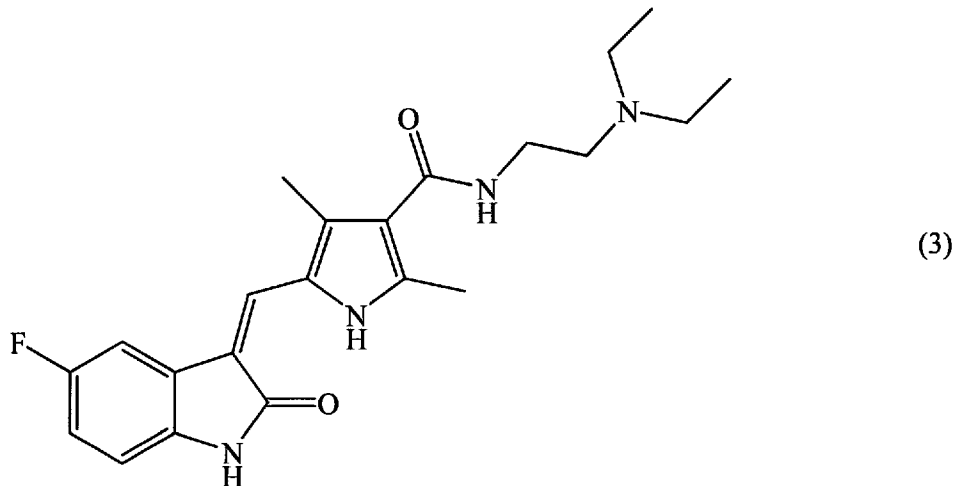
[0043] シクロホスファミドの抗腫瘍剤としての投与は、単独で投与する場合、成人には1日1回100mgのシクロホスファミド（無水物換算）を静脈内に注射することで行う。患者が耐えられる場合には、1日あたりの投与量を200mgに増量する。シクロホスファミドは、総量3000～8000mgを投与するが、効果が認められたときは、できる限り長期間持続する。

[0044] (スニチニブ)

スニチニブは、下記式(3)で表される化合物であり、イマチニブ抵抗性の消化管間質腫瘍(GIST)、及び根治切除不能又は転移性の腎細胞がんへの適用が認可されており、商品名スーテントとして販売されている。スニチニブは、Treg及びMDSCの機能を阻害する化合物であり、主な機能は、血管新生に関与するVEGF(血管内皮細胞増殖因子)受容体と、腫瘍増殖に関与するPDGF(血小板由来増殖因子)受容体など複数の受容体を標的としている。

[0045]

[化3]



[0046] スニチニブの抗腫瘍剤としての投与は、成人には1日1回50mgのスニチニブを4週間連日経口投与することで行う。その後2週間は休薬する。これを1コースとして投与を繰り返す。なお、患者の状態により適宜減量する。

[0047] (腫瘍治療用薬剤の利点)

カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤は、癌患者の生体防御機能、具体的には免疫機能を回復及び増強させることにより、抗腫瘍効果を発揮すると考えられている。従って、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤を、癌患者に投与することによって、癌患者の免疫抑制細胞（例えば、MDSC又はTreg）が阻害される。このように、免疫抑制細胞の阻害により免疫機能の抑制が解除されることによって、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤の免疫賦活作用が、更に増強されることになる。

[0048] したがって、ワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤とを併用することにより、これまでカワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤の免疫賦活作用が免疫抑制性細胞により阻害されていた対象（例えば、カワラタケ由来の蛋白多糖体を用いた抗腫瘍剤の治療に対して、反応性の低いノンレスポンドー、及びカワラタケ由来の蛋白多糖体を用いた

抗腫瘍剤の適用が認可されていない癌の患者）に対して治療効果を高めることができる。

[0049] また、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤が抗腫瘍活性を有する場合には、カワラタケ由来の蛋白多糖体を用いた抗腫瘍剤の抗腫瘍活性との相乗効果を期待することができる。

[0050] なお、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤は、現在、胃癌患者、結腸・直腸癌患者、及び小細胞肺癌患者以外の癌患者への適用は現在認められていない。したがって、本発明では、胃癌患者、結腸・直腸癌患者、及び小細胞肺癌患者以外の癌患者にも、癌患者に対して副作用の少ないカワラタケ由来の蛋白多糖体を用いた薬剤であって、高い治療効果が得られる腫瘍治療用薬剤を提供することも目的としている。

[0051] ここで、免疫抑制細胞阻害剤の有する抗腫瘍活性が胃癌、結腸・直腸癌、及び小細胞肺癌以外の腫瘍に対する活性の場合には、胃癌、結腸・直腸癌、及び小細胞肺癌以外の腫瘍に対してもカワラタケ由来の蛋白多糖体を用いた抗腫瘍剤の治療効果が得られることになる。すなわち、免疫抑制細胞阻害剤が胃癌、結腸・直腸癌、及び小細胞肺癌以外の腫瘍に対しても抗腫瘍活性（直接的細胞傷害活性）を有する場合に、本発明に係る腫瘍治療用薬剤を用いることによって、胃癌、結腸・直腸癌、及び小細胞肺癌以外の癌患者に対する治療に、副作用の小さいカワラタケ由来の蛋白多糖体を用いた抗腫瘍剤を提供することができる。

[0052] 更に、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤の適用が認められていない腫瘍、及び抗腫瘍活性を有する免疫抑制細胞阻害剤が抗腫瘍剤として適用が認められていない腫瘍に対しても、本発明の腫瘍治療用薬剤は有効である。

[0053] （腫瘍治療用薬剤の剤形について）

本発明の腫瘍治療用薬剤の剤形は、抗腫瘍剤と免疫抑制細胞阻害剤とが、それぞれ単独製剤として分離している2剤でもよく、抗腫瘍剤（カワラタケ由来の蛋白多糖体）と免疫抑制細胞阻害剤（免疫抑制性細胞の阻害活性を有

する化合物)とが混合している1剤でもよい。

[0054] カワラタケ由来の蛋白多糖体と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物の組み合わせ比率(1剤における配合比率、又は2剤における使用比率)は、癌治療に有効な量であれば、特に限定されるものではない。

[0055] (腫瘍治療用薬剤が1剤の場合)

腫瘍治療用薬剤が1剤の場合、カワラタケ由来の蛋白多糖体及び免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物の配合比率は、腫瘍の治療に有効であれば特に限定されるものではない。また、腫瘍治療用薬剤の剤形も、特に限定されるものではなく、例えばカプセル剤、マイクロカプセル剤、錠剤、顆粒剤、細粒剤、粉末等、慣用の医薬製剤の形で経口投与することができる。また、静注、筋注等の注射剤等、慣用の医薬製剤の形で非経口(例えば、静注、筋注、皮下投与、腹腔内投与、直腸投与、経皮投与)投与することもできる。

[0056] 各種製剤は、通常用いられている賦形剤、増量剤、結合剤、湿潤化剤、崩壊剤、表面活性剤、滑沢剤、分散剤、緩衝剤、保存剤、溶解補助剤、防腐剤、矯味矯臭剤、無痛化剤、安定化剤などを用いて常法により製造することができる。使用可能な無毒性の上記添加剤としては、例えば、乳糖、果糖、ブドウ糖、でん粉、ゼラチン、炭酸マグネシウム、合成ケイ酸マグネシウム、タルク、ステアリン酸マグネシウム、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース又はその塩、アラビアゴム、ポリエチレングリコール、シロップ、ワセリン、グレセリン、エタノール、プロピレングリコール、クエン酸、塩化ナトリウム、亜硫酸ソーダ、リン酸ナトリウムなどが挙げられる。

[0057] また、腫瘍治療用薬剤の投与方法、投与量、投与期間、投与間隔は、例えば患者の体重、年齢、症状の程度などによって適宜設定することができる。

[0058] なお、腫瘍治療用薬剤が1剤の場合、カワラタケ由来の蛋白多糖体及び免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を有効成分として含み、更に薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物として提供されてもよい。この医薬組成物は新規の医薬組成物である。

[0059] (腫瘍治療用薬剤が1剤の場合の利点)

腫瘍治療用薬剤を1剤とすることにより、患者に対して複数の薬剤を投与することを避けることができる。すなわち、これまでと同様に1剤を投与することで癌細胞の増殖が抑制され、高い治療効果が得られるため、薬剤投与に対する患者の負担の増加を避けることができる。

[0060] (腫瘍治療用薬剤が2剤の場合)

腫瘍治療用薬剤が、抗腫瘍剤と免疫抑制細胞阻害剤とに分離している2剤の場合、抗腫瘍剤と免疫抑制細胞阻害剤との使用比率は、悪性腫瘍の治療に有効であれば特に限定されるものではない。また、抗腫瘍剤及び免疫抑制細胞阻害剤の剤形も特に限定されるものではなく、前記の1剤の腫瘍治療用薬剤の剤形と同様の剤形を用いることができる。また、投与方法、投与量、及び投与期間、投与間隔も、例えば患者の体重、年齢、症状の程度などによって適宜設定することができる。

[0061] 例えば、抗腫瘍剤としてPSKを用い、免疫抑制細胞阻害剤としてゲムシタビンを用いる場合、1コースの投与量として、ゲムシタビンは1回あたり1000mg/m²の週1回の静脈内投与を2週連続し、PSKは1日3gを2週目から3週間にかけて、連日経口投与するようにすればよい。あるいは、1コースの投与量として、ゲムシタビンは1回あたり1000mg/m²の週1回の静脈内投与を3週連続し、PSKは1日3gを2週目から3週間にかけて、連日経口投与するようにしてもよい。

[0062] もちろん、上記の投与法は一例であり、他の投与法であってもよい。ヒトへの抗腫瘍剤と免疫抑制細胞阻害剤の投与方法、投与量、投与期間、及び投与間隔等は、管理された臨床試験によって決定されることが望ましい。

[0063] なお、抗腫瘍剤は、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含み、更に薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物として提供されてもよい。また、免疫抑制細胞阻害剤も、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を有効成分として含み、更に薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物として提供されてもよい。

[0064] (腫瘍治療用薬剤が2剤の場合の利点)

抗腫瘍活性を有している免疫抑制細胞阻害剤を用いる場合、腫瘍治療用薬剤を2剤とすることにより、一方の薬剤を休薬している間であってももう一方の薬剤を投与し続けることができる。例えば、一方の薬剤の副作用が大きく、もう一方の薬剤の副作用が小さい場合、副作用の大きい薬剤を投与する必要がない場合であっても副作用の大きい薬剤を投与しなければならないため、患者にとって負担が大きくなる虞がある。腫瘍治療用薬剤を2剤とすることで、副作用の大きい薬剤を休薬させている間であっても、副作用の小さいもう一方の薬剤を投与することができるようになる。

[0065] このように、腫瘍治療用薬剤を2剤とすることにより、癌細胞の増殖が抑制することで高い治療効果が得つつ、副作用に対する患者の負担の増加を避けることができる。

[0066] 本発明の腫瘍治療用薬剤における、抗腫瘍剤及び免疫抑制細胞阻害剤のそれぞれの適切な組み合わせ比率（配合比率、又は使用比率）投与量、及び投与期間、投与間隔を設定するに当たっては、制御された臨床試験により決定されることが好ましい。抗腫瘍剤及び免疫抑制細胞阻害剤の併用のための、投与方法、投与量、投与期間、及び投与間隔については、本発明の腫瘍治療用薬剤の添付文書又はパンフレットに記載すればよい。

[0067] (腫瘍治療用薬剤の治療対象となる腫瘍)

本発明の腫瘍治療用薬剤の治療対象となる腫瘍は、特に限定されるものではなく、以下のものを挙げることができる。具体的には、乳癌、扁平上皮癌、肺癌（例えば小細胞または非小細胞肺癌）、膵臓癌、膠芽腫、卵巣癌、外陰癌、肝臓癌、肝細胞癌、結腸直腸癌、子宮癌（例えば、子宮内膜細胞腫、子宮頸癌、子宮内膜癌）唾液腺癌、腎臓癌、甲状腺癌、膀胱癌、腎臓癌、頭頸部癌、胃癌、食道癌、前立腺癌、胆道癌、神経系の癌（例えば神経芽細胞種）、網膜癌、皮膚癌、白血病、尿路上皮癌、脳腫瘍、骨肉種又は移行上皮癌を挙げることができる。より具体的には、PSK、ゲムシタビン、シクロホスファミド、又はスニチニブの適用のある癌、及びその他の癌として以下

のものを挙げることができる。

(1) P S Kの適用がある癌（胃癌、結腸・直腸癌、及び小細胞肺癌）

(2) ゲムシタビンの適用がある癌（非小細胞癌、膵癌、胆道癌、尿路上皮癌、及び手術不能又は再発乳癌）

(3) シクロホスファミドの適用がある癌（多発性骨髄腫、悪性リンパ腫（ホジキン病、リンパ肉腫、細網肉腫）、肺癌、乳癌、急性白血病、真性多血症、子宮頸癌、子宮体癌、卵巣癌、神経腫瘍（神経芽腫、網膜芽腫）、骨腫瘍、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、咽頭癌、胃癌、膵癌、肝癌、結腸癌、睾丸腫瘍、絨毛性疾患（絨毛癌、破壊胞状奇胎、胞状奇胎）、横紋筋肉腫、悪性黒色腫、乳癌（手術可能例における術前、あるいは術後化学療法））

(4) スニチニブの適用がある癌（イマチニブ抵抗性の消化管間質腫瘍（GIST）、及び根治切除不能又は転移性の腎細胞がん）

(5) その他の癌（扁平上皮癌、膠芽腫、外陰癌、肝臓癌、肝細胞癌、結腸直腸癌、子宮癌（例えば、子宮内膜細胞腫、子宮頸癌、又は子宮内膜癌）、唾液腺癌、腎臓癌、甲状腺癌、膀胱癌、頭頸部癌、食道癌、前立腺癌、神経系の癌（例えば神経芽細胞種）、網膜癌、皮膚癌、白血病、脳腫瘍、骨肉種、移行上皮癌）

腫瘍治療用薬剤の治療対象となる腫瘍は、これらの中でも、非小細胞肺癌、膵癌、胆道癌、尿路上皮癌、胃癌、結腸・直腸癌、小細胞肺癌であることが好ましい。

[0068] [2] カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤

本発明のカワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤は、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤と併用される。

[0069] カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤は、上述した腫瘍治療用薬剤における抗腫瘍剤と同様のものであるため、詳細な説明については省略する。また、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む

抗腫瘍剤と併用投与する免疫抑制細胞阻害剤としては、上述した腫瘍治療用薬剤における免疫抑制細胞阻害剤と同様のものを用いることができる。

[0070] 抗腫瘍剤を免疫抑制細胞阻害剤と併用するにあたってのそれぞれの適切な使用比率、投与量、及び投与期間、投与間隔は、制御された臨床試験により決定されることが好ましい。抗腫瘍剤を免疫抑制細胞阻害剤と併用するための、投与方法、投与量、投与期間、及び投与間隔等については、抗腫瘍剤の添付文書又はパンフレットに記載すればよい。

[0071] 抗腫瘍剤の治療対象となる腫瘍は、特に限定されるものではないが、前記の腫瘍治療用薬剤の治療対象となる腫瘍を挙げることができ、好ましくは、非小細胞肺癌、膵癌、胆道癌、尿路上皮癌、胃癌、結腸・直腸癌、小細胞肺癌である。

[0072] 本発明の抗腫瘍剤では、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物が、更に抗腫瘍活性を有していることが好ましい。免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物が、抗腫瘍活性を有することにより、腫瘍の治療において相乗効果が得られ、更に本発明の抗腫瘍剤が認可されていない腫瘍に対しても、治療効果が得られる。

[0073] また、本発明の抗腫瘍剤では、免疫抑制性細胞が、ミエロイド由来サプレッサー細胞（M D S C）であることが好ましい。免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物が、M D S Cの阻害活性を有することによって、M D S Cによるカワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤の作用の抑制を解消し、本発明の抗腫瘍剤の治療効果を向上させることが可能である。

[0074] また、本発明の抗腫瘍剤では、免疫抑制性細胞が、制御性T細胞（T r e g）であることが好ましい。免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物が、T r e gの阻害活性を有することによって、T r e gによるカワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤の作用の抑制を解消し、本発明の抗腫瘍剤の治療効果を向上させることが可能である。

[0075] また、本発明の抗腫瘍剤では、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物が、ゲムシタビン、ホスホジエステラーゼ5（P D E - 5）阻害化合物、

オールトランスレチノイン酸 (all-trans-retinoic acid: A T R A) 、アルギニン阻害化合物、スニチニブ、シクロホスファミド、デニロイキンジフクトックス (Denileukin diftitox) 、 C T L A - 4 阻害化合物、 C D 2 5 阻害化合物、及び I L - 2 R 阻害化合物からなる群から選択される化合物であることが好ましい。

[0076] [3] 免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤

本明細書等に記載の免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤は、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤と併用される。

[0077] 免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤は、前記腫瘍治療用薬剤における免疫抑制細胞阻害剤である。また、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤と併用投与する抗腫瘍剤は、前記腫瘍治療用薬剤におけるカワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤を用いることができる。

[0078] 本明細書の免疫抑制細胞阻害剤における、免疫抑制細胞阻害剤と抗腫瘍剤とのそれぞれの適切な使用比率、投与量、及び投与期間、投与間隔を設定するに当たっては、制御された臨床試験により決定される。本発明の免疫抑制細胞阻害剤の添付文書又はパンフレットには、免疫抑制細胞阻害剤と抗腫瘍剤とを併用するための、投与方法、投与量、投与期間、及び投与間隔等が記載される。

[0079] [4] 腫瘍治療方法

本明細書は、カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤とを、腫瘍の治療が必要な対象に、有効量で投与することを含む、腫瘍治療方法を開示する。

[0080] 本治療方法において用いられる免疫抑制細胞阻害剤は、更に抗腫瘍活性を有することが好ましい。また、本治療方法において用いられる免疫抑制細胞阻害剤が阻害活性を有する免疫抑制性細胞は、例えばミエロイド由来サプレ

ッサー細胞（M D S C）及び制御性T細胞（T r e g）である。免疫抑制細胞阻害剤は、M D S CおよびT r e gの双方に阻害活性を有していてもよいし、いずれか一方に対してのみ阻害活性を有していてもよい。

[0081] 免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物としては、ゲムシタビン、ホスホジエステラーゼ5（P D E - 5）阻害化合物、オールトランスレチノイン酸（all-trans-retinoic acid: A T R A）、アルギナーゼ阻害化合物、スニチニブ、シクロホスファミド、デニロイキンジフチトックス（Denileukin diftitox）、C T L A - 4 阻害化合物、C D 2 5 阻害化合物、及びI L - 2 R 阻害化合物を挙げることができる。

[0082] 本発明の腫瘍治療方法では、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物が、更に抗腫瘍活性を有していることが好ましい。

[0083] また、本発明の腫瘍治療方法では、免疫抑制性細胞が、ミエロイド由来サプレッサー細胞（M D S C）であることが好ましい。

[0084] また、本発明の腫瘍治療方法では、免疫抑制性細胞が、制御性T細胞（T r e g）であることが好ましい。

[0085] また、本発明の腫瘍治療方法では、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物が、ゲムシタビン、ホスホジエステラーゼ5（P D E - 5）阻害化合物、オールトランスレチノイン酸（all-trans-retinoic acid: A T R A）、アルギナーゼ阻害化合物、スニチニブ、シクロホスファミド、デニロイキンジフチトックス（Denileukin diftitox）、C T L A - 4 阻害化合物、C D 2 5 阻害化合物、及びI L - 2 R 阻害化合物からなる群から選択される化合物であることが好ましい。

[0086] [5]腫瘍治療用キット

本発明の腫瘍治療用キットは、複数の活性成分を組み合わせる含む腫瘍治療用キットであって、前記活性成分として、カワラタケ由来の蛋白質多糖体および免疫抑制細胞の阻害活性を有する化合物を含む。カワラタケ由来の蛋白質多糖体及び免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物は、前記腫瘍治療用薬剤におけるカワラタケ由来の蛋白質多糖体及び免疫抑制性細胞の阻害活性を有

する化合物を用いることができる。

[0087] 本発明の腫瘍治療用キットは、複数の活性成分を組み合わせる含む腫瘍治療用キットであって、前記活性成分として、カワラタケ由来の蛋白質多糖体および免疫抑制細胞の阻害活性を有する化合物を含み、更に患者へ薬剤を同時に、連続的にまたは個別に投与するための説明書を含んでもよい。また、腫瘍治療用薬剤と同じように、カワラタケ由来の蛋白質多糖体及び免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を1剤として含んでもよく、カワラタケ由来の蛋白質多糖体及び免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を2剤として含んでもよい。更に投与方法、投与量、投与期間、及び投与間隔等も特に限定されるものではない。

[0088] 本発明の腫瘍治療用キットでは、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物が、更に抗腫瘍活性を有していることが好ましい。

[0089] また本発明の腫瘍治療用キットでは、免疫抑制性細胞が、ミエロイド由来サプレッサー細胞（M D S C）であることが好ましい。

[0090] また本発明の腫瘍治療用キットでは、免疫抑制性細胞が、制御性T細胞（T r e g）であることが好ましい。

[0091] また本発明の腫瘍治療用キットでは、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物が、ゲムシタビン、ホスホジエステラーゼ5（P D E - 5）阻害化合物、オールトランスレチノイン酸（all-trans-retinoic acid: A T R A）、アルギニン阻害化合物、スニチニブ、シクロホスファミド、デニロイキンジフチトックス（Denileukin diftitox）、C T L A - 4 阻害化合物、C D 2 5 阻害化合物、及びI L - 2 R 阻害化合物からなる群から選択される化合物であることが好ましい。

[0092] [6]カワラタケ由来の蛋白質多糖体

抗腫瘍剤の有効成分であるカワラタケ由来の蛋白質多糖体は、腫瘍の治療方法での使用において、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物と併用されるものである。

[0093] 腫瘍の治療方法での蛋白質多糖体の使用において、免疫抑制性細胞の阻害活

性を有する化合物は、更に抗腫瘍活性を有していることが好ましい。

[0094] 腫瘍の治療方法での蛋白多糖体の使用において、免疫抑制性細胞は、ミエロイド由来サプレッサー細胞（M D S C）であることが好ましい。

[0095] 腫瘍の治療方法での蛋白多糖体の使用において、免疫抑制性細胞は、制御性T細胞（T r e g）であることが好ましい。

[0096] 腫瘍の治療方法での蛋白多糖体の使用において、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物は、ゲムシタビン、ホスホジエステラーゼ5（P D E - 5）阻害化合物、オールトランスレチノイン酸（all-trans-retinoic acid: A T R A）、アルギニン阻害化合物、スニチニブ、シクロホスファミド、デニロキンジフチトックス（Denileukin diftitox）、C T L A - 4 阻害化合物、C D 2 5 阻害化合物、及び I L - 2 R 阻害化合物からなる群から選択される化合物であることが好ましい。

[0097] 本発明は上述した実施形態に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、実施形態に開示された技術的手段を適宜組み合わせ得られる形態についても本発明の技術的範囲に含まれる。また、本明細書中に記載された文献の全てが参考として援用される。

実施例

[0098] 以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

[0099] 《実施例1》

本実施例では、乳癌細胞を移植したマウスにおける本発明の腫瘍治療用薬剤の効果を検討するために、P S K及びゲムシタビン（ジェムザール注射液）の併用投与の効果を検討した。雌のB A L B / cマウスに、マウス乳癌細胞株4 T 1を、1匹あたり 1×10^5 個皮下に移植した。乳癌細胞が 200 mm^3 に増殖した時点で、8匹ずつ4群（P S K及びゲムシタビン投与群、P S K単独投与群、ゲムシタビン単独投与群、及び非投与群）に分けた。ゲムシタビンは、群分け直後及び7日後に、 120 mg/kg の用量で、腹腔内に投与した。ゲムシタビンを2回投与後、翌日よりP S Kを週に3回、 50 mg/kg の用量で腹腔内に投与した。

g / k g の用量で、腹腔内に投与した。非投与群においては、ゲムシタビン又は P S K のコントロールとして、生理食塩水を腹腔内に投与した。群分け後、7 日、1 4 日、2 1 日の腫瘍体積を測定した。P S K 最終投与の翌日、剖検し腫瘍重量を測定した。

[0100] 投与スケジュール及び結果を図 1 に示す。図 1 は、腫瘍治療用薬剤の乳癌移植マウスにおける腫瘍体積（図 1 B）および腫瘍重量（図 1 C）の抑制効果を示したグラフ、並びに抗腫瘍剤及び免疫抑制細胞阻害剤の投与スケジュール（図 1 A）を示した図である。

[0101] 図 1 に示す投与スケジュールは、P S K 及びゲムシタビン投与群における各薬剤の投与スケジュールである。なお、投与スケジュールの「G」はゲムシタビンを、「P」は P S K を示す。すなわち、ゲムシタビン単独投与群では、投与スケジュールにおいて P S K の投与を行わないスケジュールであり、P S K の代わりに生理食塩水を投与した。一方、P S K 単独投与群は、投与スケジュールにおいてゲムシタビンの投与を行わないスケジュールであり、ゲムシタビンの代わりに、生理食塩水を投与したスケジュールとなる。

[0102] 図 1 に示すように、P S K 単独投与群では抗腫瘍傾向を示すものの有意差は認められなかったが、一方で、ゲムシタビンは単独で抗腫瘍効果を示した。

[0103] さらに、ゲムシタビンと P S K とを併用することにより有意に腫瘍体積、及び腫瘍重量に対し併用効果が認められた。また、図 1 におけるゲムシタビン単独投与群では 1 4 日以降に腫瘍体積が増加しているように、ゲムシタビンの休薬により腫瘍の増殖は促進されるが、P S K 及びゲムシタビン投与群においてゲムシタビンの休薬中に P S K のみを投与することにより、その増殖促進（回復）を抑制した。より具体的には、ゲムシタビン単独投与群では、腫瘍体積が約 6 0 0 m m³ 増加しているのに対し、P S K 及びゲムシタビン投与群では、わずかに約 1 0 0 m m³ 程度の増加に抑制していた。すなわち、ゲムシタビンを休薬している際に P S K を投与することにより、腫瘍体積の増殖を約 1 / 6 に抑制することができた。

[0104] また、P S K 及びゲムシタビン投与群、P S K 単独投与群、ゲムシタビン単独投与群、及び非投与群の剖検時の腫瘍重量を比較すると、P S K 及びゲムシタビン投与群の非投与群に対する腫瘍重量の減少量は、P S K 単独投与群、及びゲムシタビン単独投与群の減少量を加えたものより多く、P S K 及びゲムシタビン投与群における併用効果は、相乗効果があると考えられる。

[0105] なお、図 1 中の白三角 (△) は P S K 及びゲムシタビン投与群、黒三角 (▲) はゲムシタビン単独投与群、白菱形 (◇) は P S K 単独投与群、及び黒菱形 (◆) は非投与群を示す。

[0106] 《実施例 2》

本実施例では、実施例 1 におけるゲムシタビンの投与回数を増加させ、P S K 及びゲムシタビンの併用投与の効果を検討した。ゲムシタビンの投与を、群分け直後、7 日後、14 日後、及び 21 日後に変更したことを除いては、実施例 1 の操作を繰り返した。

[0107] 投与スケジュール及び結果を図 2 に示す。図 2 は、腫瘍治療用薬剤の乳癌移植マウスにおける腫瘍体積 (図 2 B) および腫瘍重量 (図 2 C) の抑制効果を示したグラフ、並びに抗腫瘍剤及び免疫抑制細胞阻害剤の投与スケジュール (図 2 A) を示した図である。

[0108] 図 2 に示す投与スケジュールは、P S K 及びゲムシタビン投与群における各薬剤の投与スケジュールである。なお、投与スケジュールの「G」はゲムシタビンを、「P」は P S K を示す。すなわち、ゲムシタビン単独投与群では、投与スケジュールにおいて P S K の投与を行わないスケジュールとなる。一方、P S K 単独投与群は、投与スケジュールにおいてゲムシタビンの投与を行わないスケジュールであり、ゲムシタビンの代わりに、生理食塩水を投与したスケジュールとなる。

[0109] 本投与スケジュールにおいても、4 T 1 細胞に対し、P S K 単独投与では抗腫瘍傾向を示すものの有意差は認められないが、ゲムシタビンは単独で抗腫瘍効果を示した。

[0110] さらに、ゲムシタビンと P S K との併用することにより有意に腫瘍体積、

及び腫瘍重量に対し併用効果が認められた。図2に示すように、ゲムシタビン単独投与群において7日～21日目で腫瘍体積が増加しているものの、本実施例におけるPSK及びゲムシタビン投与群では、腫瘍体積の増加抑制に留まらず7日～21日目で腫瘍体積を減少させることができた。より具体的には、ゲムシタビン単独投与群では、7日～21日目の間に腫瘍体積が約200mm³増加しているのに対し、PSK及びゲムシタビン投与群では、腫瘍体積を0近くまで減少させることができた。

[0111] また、7日目以降、PSKの投与開始と共に腫瘍体積の減少が始まっていることから腫瘍体積の減少にPSKが大きく影響を与えていることが示された。

[0112] なお、図2中の白三角(△)はPSK及びゲムシタビン投与群、黒三角(▲)はゲムシタビン単独投与群、白菱形(◇)はPSK単独投与群、及び黒菱形(◆)は非投与群を示す。

[0113] 《実施例3》

本実施例では、ゲムシタビンの投与量を減少させた場合の、PSK及びゲムシタビン(ジェムザール注射液)の併用投与の効果を検討した。ゲムシタビンの投与量を、120mg/kgの用量に代えて、60mg/kgの用量を用いたことを除いては、実施例1の操作を繰り返した。

[0114] 結果を、図3に示す。図3は、腫瘍治療用薬剤の乳癌移植マウスにおける腫瘍体積の抑制効果を示したグラフである。図3に示すように、PSK単独投与群では抗腫瘍傾向を示すものの有意差は認められなかったが、一方で、ゲムシタビンは単独で抗腫瘍効果を示した。

[0115] さらに、ゲムシタビンとPSKとを併用することにより有意に腫瘍体積に対し併用効果が認められた。また、図3におけるゲムシタビン単独投与群では14日以降に腫瘍体積が増加しているように、ゲムシタビンの休薬により腫瘍の増殖は促進されるが、PSK及びゲムシタビン投与群においてゲムシタビンの休薬中にPSKのみを投与することにより、その増殖促進(回復)を抑制した。より具体的には、ゲムシタビン単独投与群では、腫瘍体積が約

500 mm³増加しているのに対し、PSK及びゲムシタビン投与群では、ほとんど増加しなかった。

[0116] PSK及びゲムシタビン投与群、PSK単独投与群、ゲムシタビン単独投与群、及び非投与群の剖検日の前日の腫瘍体積を比較すると、PSK及びゲムシタビン投与群の非投与群に対する腫瘍体積の減少量は、PSK単独投与群、及びゲムシタビン単独投与群の減少量を加えたものより多く、PSK及びゲムシタビン投与群における併用効果は、相乗効果があると考えられる。また、ゲムシタビンの60 mg/kgの用量であっても、十分な抗腫瘍効果が得られた。

[0117] なお、図3中の白四角(□)はPSK及びゲムシタビン(60 mg/kg)投与群、黒四角(■)はゲムシタビン(60 mg/kg)単独投与群、白菱形(◇)はPSK単独投与群、及び黒菱形(◆)は非投与群を示す。

[0118] 《実施例4》

本実施例では、ゲムシタビンの投与量を減少させた場合の、PSK及びゲムシタビン(ジェムザール注射液)の併用投与の効果を検討した。ゲムシタビンの投与量を、120 mg/kgの用量に代えて、60 mg/kgの用量を用いたことを除いては、実施例2の操作を繰り返した。

[0119] 結果を、図4に示す。図4は、腫瘍治療用薬剤の乳癌移植マウスにおける腫瘍体積の抑制効果を示したグラフである。図4に示すように、4T1細胞に対し、PSK単独投与では抗腫瘍傾向を示すものの有意差は認められないが、ゲムシタビンは単独で抗腫瘍効果を示した。

[0120] さらに、ゲムシタビンとPSKとの併用することにより有意に腫瘍体積に対し併用効果が認められた。図4に示すように、ゲムシタビン単独投与群において7日～21日目で腫瘍体積が増加しているものの、本実施例におけるPSK及びゲムシタビン投与群では、7日～21日目で腫瘍体積はほとんど増加しなかった。より具体的には、ゲムシタビン単独投与群では、7日～21日目の間に腫瘍体積が約200 mm³増加しているのに対し、PSK及びゲムシタビン投与群では、腫瘍体積の増加は見られなかった。ゲムシタビンの

投与量を 120 mg/kg から 60 mg/kg に減少させても、十分な抗腫瘍効果が得られた。

[0121] なお、図4中の腫瘍体積のグラフにおいて、白四角(□)はPSK及びゲムシタビン(60 mg/kg)投与群、黒四角(■)はゲムシタビン(60 mg/kg)単独投与群、白菱形(◇)はPSK単独投与群、及び黒菱形(◆)は非投与群を示す。

[0122] 《実施例5》

本実施例では、膵臓癌細胞を移植したマウスにおける本発明の腫瘍治療用薬剤の効果を検討するために、PSK及びゲムシタビン(ジェムザール注射液)の併用投与の効果を検討した。雌のBALB/cマウスに、マウス膵臓癌細胞株PAN-02を、1匹あたり 1×10^6 個皮下に移植した。移植9日後に、7匹ずつ4群(PSK及びゲムシタビン投与群、PSK単独投与群、ゲムシタビン単独投与群、及び非投与群)に分けた。ゲムシタビンは、群分け直後及び7日後に、 60 mg/kg の用量で、腹腔内に投与した。ゲムシタビンを2回投与後、翌日よりPSKを週に3回、 50 mg/kg の用量で、腹腔内に投与した。非投与群においては、ゲムシタビン又はPSKのコントロールとして、生理食塩水を腹腔内に投与した。群分け後(移植後9日)、移植後13日、17日、20日、24日、27日、31日、34日、38日、41日、45日、及び48日の腫瘍体積を測定した。腫瘍移植後48日後に、剖検し腫瘍重量を測定した。

[0123] 投与スケジュール及び結果を図5に示す。図5は、腫瘍治療用薬剤の膵臓癌移植マウスにおける腫瘍体積(図5A)および腫瘍重量(図5B)の抑制効果を示したグラフである。

[0124] 抗腫瘍剤(PSK)及び免疫抑制細胞阻害剤(ゲムシタビン)の投与スケジュールは、図5Aに示す。なお、投与スケジュールの「G」はゲムシタビンを、「P」はPSKを示す。ゲムシタビン単独投与群は、投与スケジュールにおいてPSKの投与を行わないスケジュールであり、PSKの代わりに生理食塩水を投与した。一方、PSK単独投与群は、投与スケジュールにお

いてゲムシタビンの投与を行わないスケジュールであり、ゲムシタビンの代わりに、生理食塩水を投与したスケジュールとなる。

[0125] 図5に示すように、腫瘍体積はコントロールに対して、P S K単独投与群は $p = 0.288$ 、及びゲムシタビン単独投与群は $p = 0.292$ を示し、抗腫瘍傾向を示すものの有意差は認められなかった。また、腫瘍重量についてもP S K単独投与群及びゲムシタビン単独投与群は、抗腫瘍傾向を示したが有意差は認められなかった。

[0126] 一方、ゲムシタビンとP S Kとを併用することにより有意に腫瘍体積、及び腫瘍重量に対し併用効果があり、具体的には、腫瘍重量で $p = 0.034$ 、及び腫瘍体積で $p = 0.075$ であり、ゲムシタビンとP S Kとの併用の効果が認められた。

[0127] なお、図5 A中の白三角 (Δ) はP S K及びゲムシタビン投与群、黒三角 ($\blacktriangle$) はゲムシタビン単独投与群、白丸 ($\circ$) はP S K単独投与群、及び黒丸 ($\bullet$) は非投与群を示す。

[0128] 《実施例6》

本実施例では、実施例5における本発明の腫瘍治療用薬剤の投与開始時期を遅らせても、P S K及びゲムシタビンの併用投与の効果が得られることを検討した。ゲムシタビンの投与開始を、移植34日後に変更したことを除いては、実施例5の操作を繰り返した。群分け後（移植以後34日）、移植後36日、40日、43日、47日、50日、及び54日の腫瘍体積を測定した。腫瘍移植54日後に、非投与群及びP S K単独投与群のマウスそれぞれ1匹が死亡した。

[0129] 腫瘍治療用薬剤の膵臓癌移植マウスにおける腫瘍体積の抑制効果を示したグラフを図6に示す。

[0130] 図6に示すように、P S K及びゲムシタビン単独投与群では抗腫瘍傾向を示すものの有意差は認められなかった。

[0131] さらに、ゲムシタビンとP S Kとを併用することにより有意に腫瘍体積に対し併用効果が認められた。すなわち、移植後54日後のゲムシタビンとP

S Kとを併用されたマウスの腫瘍体積は、コントロールと比較して $p = 0.055$ であり、有意な傾向が見られ、移植後50日後のムシタビンとP S Kとを併用されたマウスの腫瘍体積は、コントロールと比較して $p = 0.023$ であり、有意差が確認された。また、図6におけるゲムシタビン単独投与群では43日以降に腫瘍体積が増加しているように、ゲムシタビンの休薬により腫瘍の増殖は促進されるが、P S K及びゲムシタビン投与群においてゲムシタビンの休薬中にP S Kのみを投与することにより、その増殖促進（回復）を抑制した。より具体的には、ゲムシタビン単独投与群では、腫瘍体積が約350 mm³増加しているのに対し、P S K及びゲムシタビン投与群では、わずかに約200 mm³程度の増加に抑制された。すなわち、ゲムシタビンを休薬している際にP S Kを投与することにより、腫瘍体積の増殖を抑制することができた。このP S K及びゲムシタビン投与群における併用効果は、相乗効果であると考えられる。

[0132] なお、図2中の白三角（△）はP S K及びゲムシタビン投与群、黒三角（▲）はゲムシタビン単独投与群、白丸（○）はP S K単独投与群、及び黒丸（●）は非投与群を示す。

産業上の利用可能性

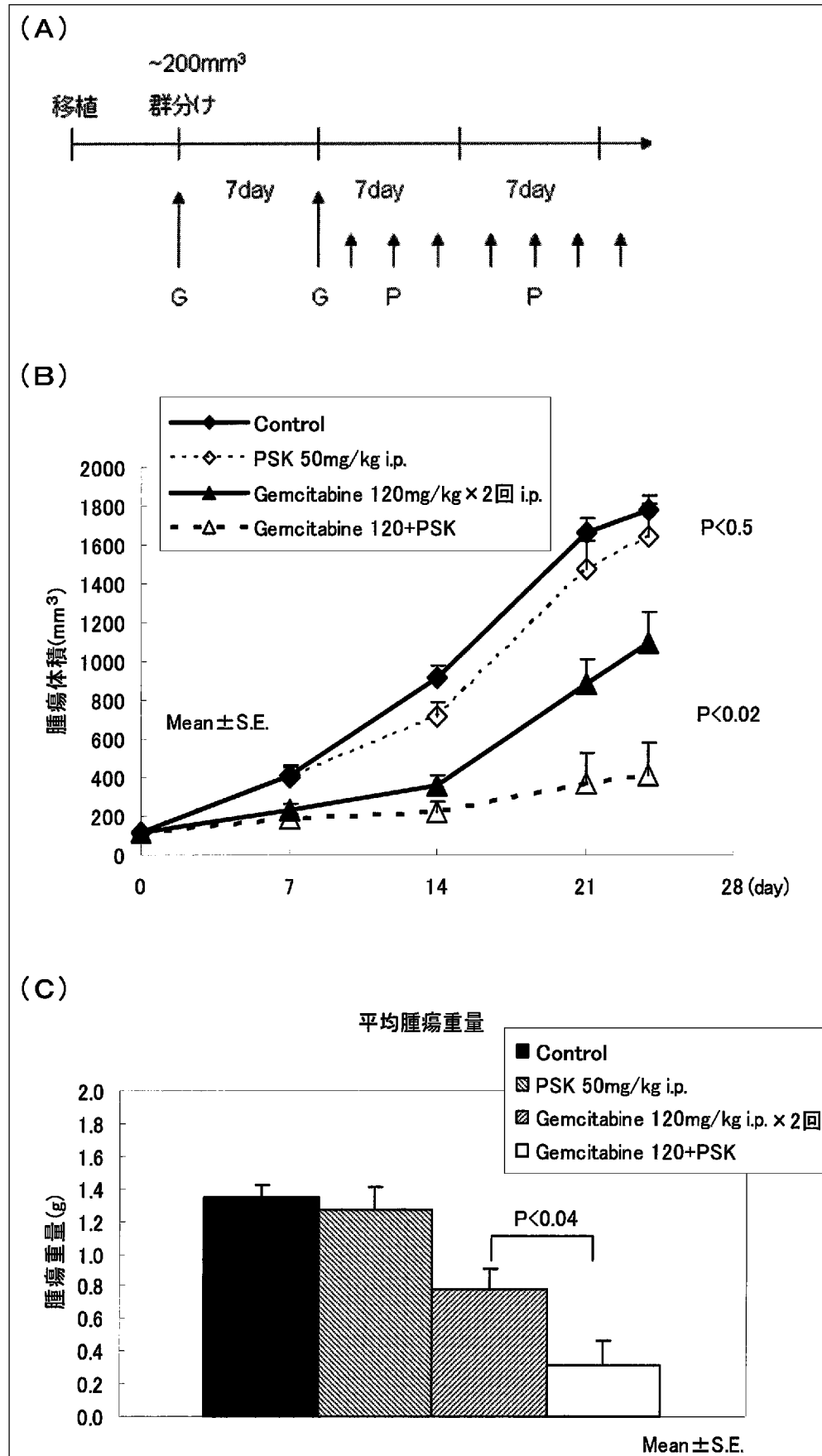
[0133] 本発明の腫瘍治療用薬剤は、P S Kを有効成分として含む抗腫瘍剤に対して反応性（感受性）の低いノンレスポonderに対する治療効果を高める薬剤として好適に利用することができると共に、現時点でP S Kを有効成分として含む抗腫瘍剤の適用が認められていない癌患者に対しても高い治療効果を有する薬剤として利用することができる。

以上、本発明を特定の態様に沿って説明したが、当業者に自明の変形や改良は本発明の範囲に含まれる。

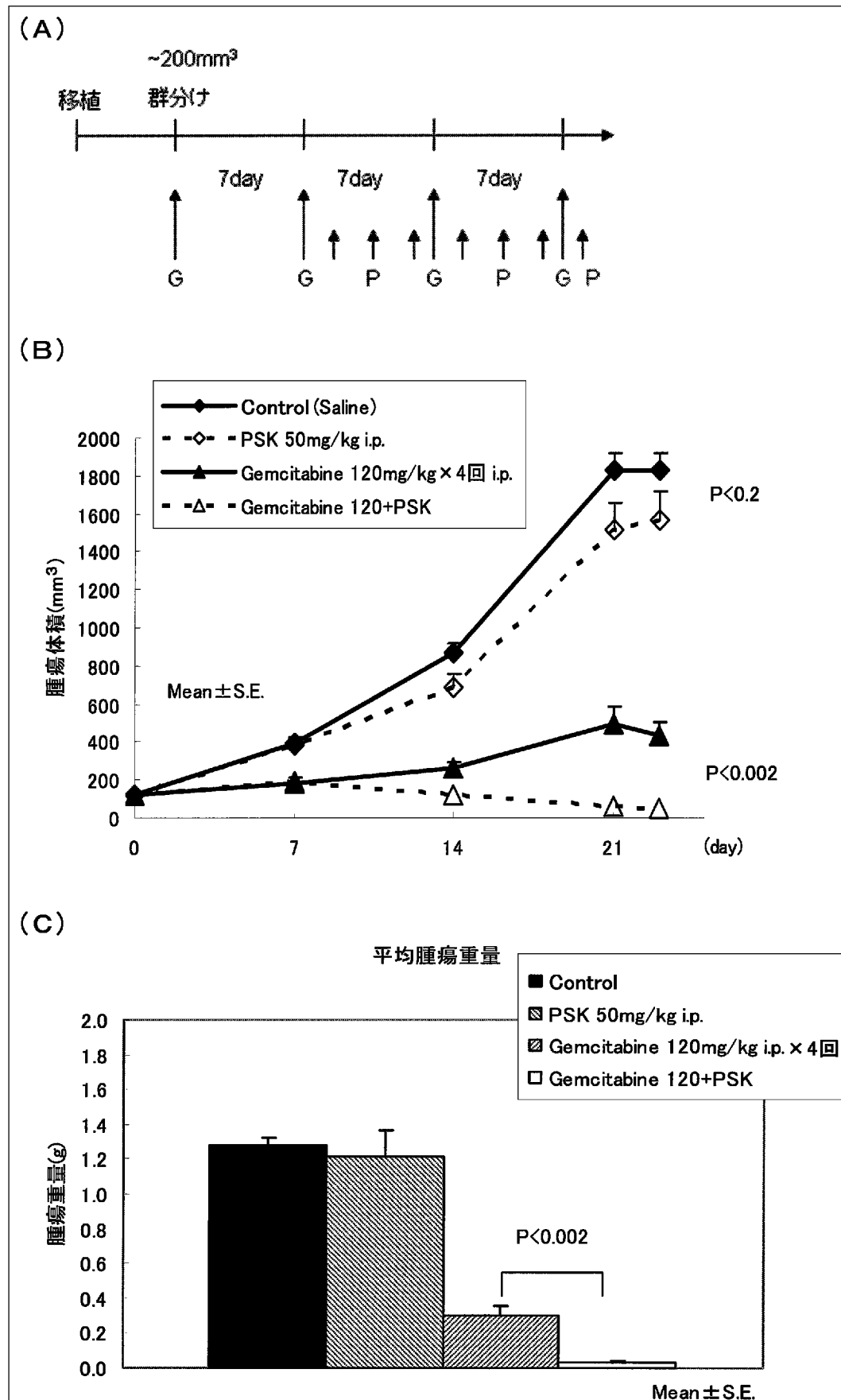
請求の範囲

- [請求項1] カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤とを併用することを特徴とする腫瘍治療用薬剤。
- [請求項2] 前記化合物が、更に抗腫瘍活性を有している、請求項1に記載の腫瘍治療用薬剤。
- [請求項3] 前記免疫抑制性細胞が、ミエロイド由来サプレッサー細胞（MDS C）である、請求項1又は2に記載の腫瘍治療用薬剤。
- [請求項4] 前記免疫抑制性細胞が、制御性T細胞（Treg）である、請求項1又は2に記載の腫瘍治療用薬剤。
- [請求項5] 前記化合物が、ゲムシタビン、ホスホジエステラーゼ5（PDE-5）阻害化合物、オールトランスレチノイン酸（all-trans-retinoic acid: ATRA）、アルギナーゼ阻害化合物、スニチニブ、シクロホスファミド、デニロイキンジフチトックス（Denileukin diftitox）、CTLA-4阻害化合物、CD25阻害化合物、及びIL-2R阻害化合物からなる群から選択される化合物である、請求項1に記載の腫瘍治療用薬剤。
- [請求項6] カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤であって、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤と併用されることを特徴とする抗腫瘍剤。
- [請求項7] カワラタケ由来の蛋白多糖体を有効成分として含む抗腫瘍剤と、免疫抑制性細胞の阻害活性を有する化合物を含む免疫抑制細胞阻害剤とを併用することを特徴とする腫瘍治療方法。
- [請求項8] 複数の活性成分を組み合わせて含む腫瘍治療用キットであって、前記活性成分として、カワラタケ由来の蛋白質多糖体および免疫抑制細胞の阻害活性を有する化合物を含む腫瘍治療用キット。

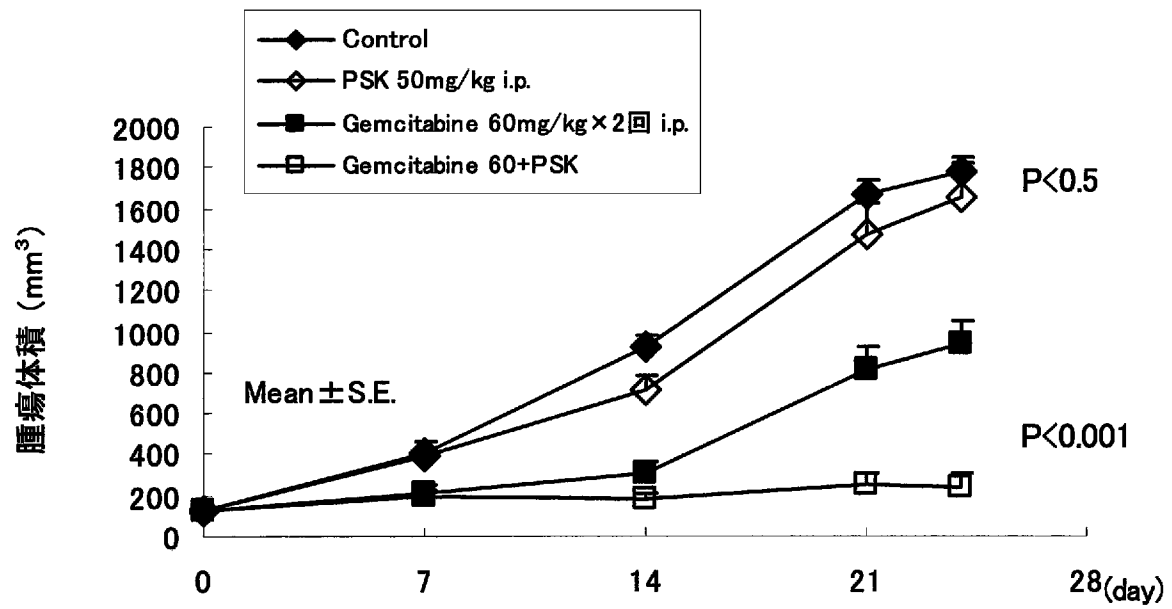
[図1]



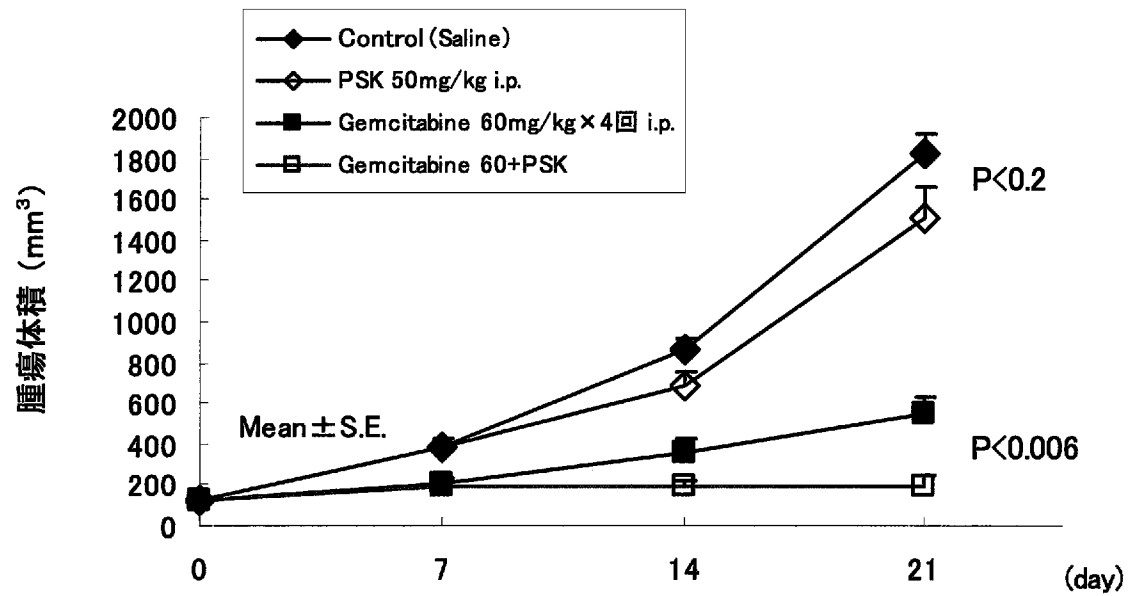
[図2]



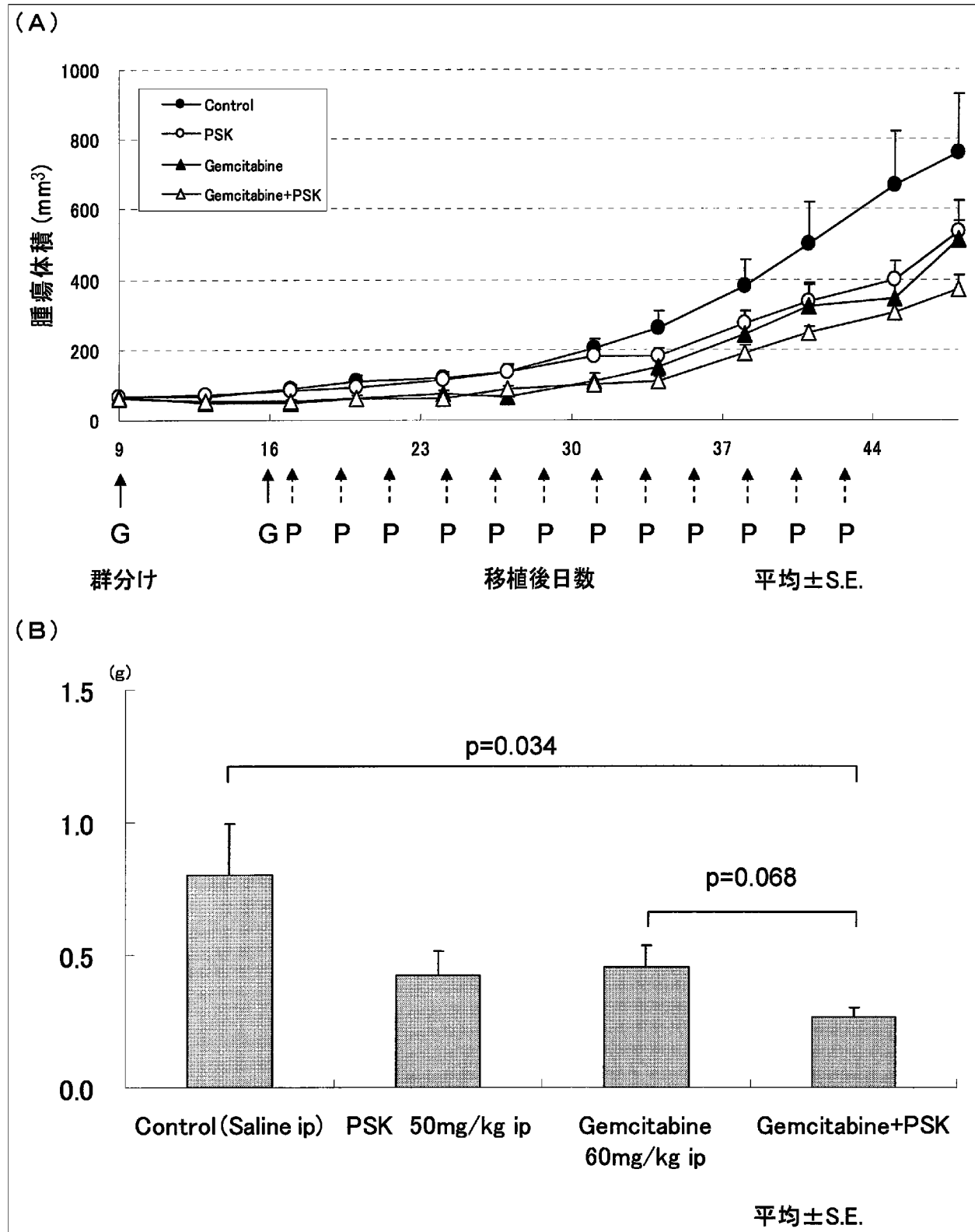
[図3]



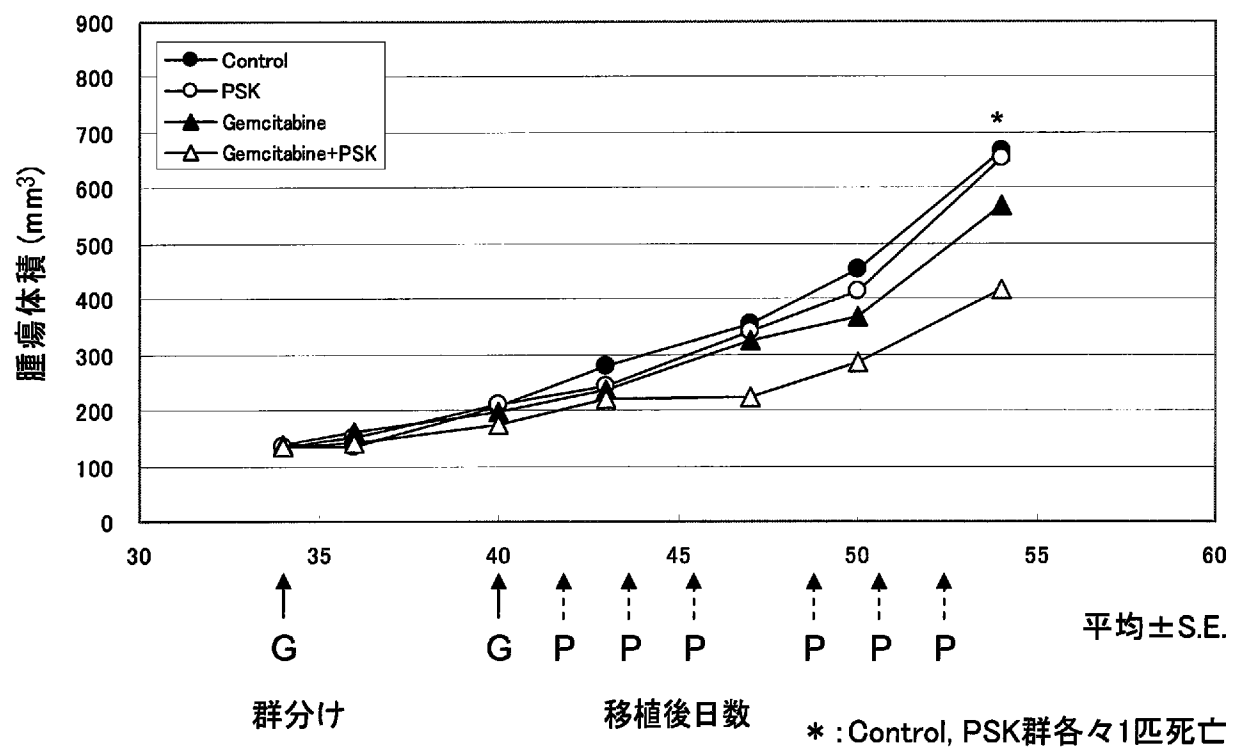
[図4]



[図5]



[図6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/070022

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K45/00(2006.01)i, A61K31/7068(2006.01)i, A61K36/06(2006.01)i,
A61K38/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

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)

A61K45/00, A61K31/7068, A61K36/06, A61K38/00, A61P35/00, A61P43/00

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2011
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2011	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2011

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

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN),
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Hiroyuki ONO et al., "IL-2, Cyclophosphamide Heiyo Ryoho ni Taisuru Tangan Mouse deno Jikkenteki Koka", Biotherapy, 1990, vol.4(12), pages 1865 to 1870, summary, column of 'Hajimeni', table 1, fig. 1 to 3	1-6, 8
X	Yutaka KOGO et al., "Shinko Gan Kanja ni Taisuru BRM, IL-2 Heiyo Zenshin Men'eki Kagaku Ryoho", Biotherapy, 1995, vol.9(2), pages 181 to 187, summary, column of 'Hajimeni', fig. 1, 2, table 3	1-6, 8



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
04 October, 2011 (04.10.11)

Date of mailing of the international search report
18 October, 2011 (18.10.11)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/070022

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Masuo HOSOKAWA, "Antitumor chemotherapy as a strategy for augmentation of the therapeutic effects of biological response modifiers", Biotherapy, 1991, vol.5(13), pages 1960 to 1968, summary, page 1961, right column, 2nd paragraph to page 1962, right column, 1st paragraph, table 2, page 1963, right column, the last paragraph	1-6, 8
X	Seiji UMEHARA et al., "PSK-Mediated Growth Suppression and Enhancement of 5-FU/Docetaxel-Induced Cytotoxicity in Human Esophageal Cancer Cell Lines", Jpn. J. Cancer Chemother., 2009, vol.36(12), pages 1972 to 1974, summary, fig. 4	1-3, 6, 8
X	JP 11-71297 A (Kureha Chemical Industry Co., Ltd.), 16 March 1999 (16.03.1999), claims; paragraph [0020] (Family: none)	1-6, 8
A	Takeo SHIMAZAKI et al., "Apoptosis-related gene expression profile is changed by gemcitabine in pancreatic cancer cell line (PANC-1)", The Journal of Japan Pancreas Society, 2007, vol.22, pages 14 to 20, entire text	5
A	SUZUKI, E. et al., Gemcitabine Selectively Eliminates Splenic Gr-1+/CD11b+ Myeloid Suppressor Cells in Tumor-Bearing Animals and Enhances Antitumor Immune Activity, Clinical Cancer Research, 2005, Vol.11(18), pp.6713-6721 Abstract	5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/070022

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

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

1. ☒ Claims Nos.: 7
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The invention set forth in claim 7 pertains to a method for treatment of the human body by therapy.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

Remark on Protest

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

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K45/00(2006.01)i, A61K31/7068(2006.01)i, A61K36/06(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i,
A61P35/00(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K45/00, A61K31/7068, A61K36/06, A61K38/00, A61P35/00, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 1 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 1 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 1 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	小野 裕之 他, IL-2, Cyclophosphamide 併用療法に対する担癌マウスでの実験的効果, Biotherapy, 1990, Vol.4(12), pp.1865-1870 要旨, 「はじめに」欄, Table 1, Figures.1-3	1-6, 8
X	高後 裕 他, 進行癌患者に対する BRM, IL-2 併用全身免疫化学療法, Biotherapy, 1995, Vol.9(2), pp.181-187 要旨, 「はじめに」欄, 図 1, 2, 表 3	1-6, 8

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

0 4 . 1 0 . 2 0 1 1

国際調査報告の発送日

1 8 . 1 0 . 2 0 1 1

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

安居 拓哉

4 C

3 4 3 7

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	細川 真澄男, BRM 治療効果増強の戦略としての癌化学療法, Biotherapy, 1991, Vol.5(13), pp.1960-1968 要旨, 第 1961 頁右欄第 2 段落-1962 頁右欄第 1 段落, 表 2, 第 1963 頁右欄最終段落	1-6, 8
X	梅原 誠司 他, 食道癌細胞株に対する PSK 単剤および抗癌剤併用に よる増殖抑制効果, Jpn. J. Cancer Chemother., 2009, Vol.36(12), pp.1972-1974 Summary, Fig.4	1-3, 6, , 8
X	JP 11-71297 A (呉羽化学工業株式会社) 1999.03.16, 特許請求の範囲, [0020] (ファミリーなし)	1-6, 8
A	島崎 猛夫 他, 脾癌細胞における塩酸ゲムシタビンによるアポトー シス関連遺伝子発現の変化, 脾臓, 2007, Vol.22, pp.14-20 全文	5
A	SUZUKI, E. et al., Gemcitabine Selectively Eliminates Splenic Gr-1+/CD11b+ Myeloid Suppressor Cells in Tumor-Bearing Animals and Enhances Antitumor Immune Activity, Clinical Cancer Research, 2005, Vol.11(18), pp.6713-6721 Abstract	5

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 7 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求項7に係る発明は、治療による人体の処置方法に該当する。
2. ☐ 請求項 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。