

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-501038

(P2023-501038A)

(43)公表日 令和5年1月18日(2023.1.18)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	Z N A 4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	4 C 0 8 6
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全54頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号 特願2022-507857(P2022-507857)
 (86)(22)出願日 令和1年8月9日(2019.8.9)
 (85)翻訳文提出日 令和4年4月6日(2022.4.6)
 (86)国際出願番号 PCT/GB2019/052243
 (87)国際公開番号 WO2021/028644
 (87)国際公開日 令和3年2月18日(2021.2.18)
 (81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, RW,SD,SL,ST,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,RS,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,B

最終頁に続く

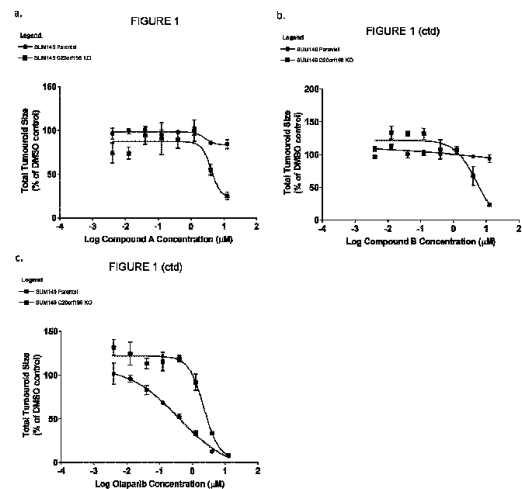
(71)出願人 522000809
 アルティオス ファーマ リミテッド
 イギリス国 シービー２２ ３エーティー
 ケンブリッジ ベイブラハム リサーチ
 キャンパス ベイブラハム ホール
 (74)代理人 100097456
 弁理士 石川 徹
 (72)発明者 ヘレン マリー ルース ロビンソン
 イギリス国 シービー２２ ３エーティー
 ケンブリッジ ベイブラハム リサーチ
 キャンパス ベイブラハム ホール シー
 /オー アルティオス ファーマ リミテ
 ッド
 (72)発明者 グラエメ キャメロン ムレイ スミス
 イギリス国 シービー２２ ３エーティー
 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規の治療的使用

(57)【要約】

本発明は、シールディン欠損に関連するがんの治療における使用のためのPol θ 阻害剤及び該Pol θ 阻害剤を含む医薬組成物に関する。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

シールディン欠損に関連するがんの治療における使用のための Pol θ 阻害剤。

【請求項 2】

前記シールディン欠損に関連するがんが、PARP阻害剤に抵抗性のがんでもある、請求項1記載の使用のための Pol θ 阻害剤。

【請求項 3】

前記がんが、以前はPARP阻害剤に対して感受性があったがん細胞を含む、請求項2記載の使用のための Pol θ 阻害剤。

【請求項 4】

前記がんが、初めは相同組換え修復経路欠損であると確認されたがん細胞を含む、請求項1～3のいずれか1項記載の使用のための Pol θ 阻害剤。

【請求項 5】

前記欠損が、以下の遺伝子: ATM、ATR、BRCA1、BRCA2、BARD1、RAD51C、RAD50、CHEK1、CHEK2、FANCA、FANCB、FANCC、FANCD2、FANCE、FANCF、FANCG、FANCI、FANCL、FANCM、PALB2(FANCN)、FANCP(BTBD12)、ERCC4(FANQC)、PTEN、CDK12、MRE11、NBS1、NBN、CLASPIN、BLM、WRN、SMARCA2、SMARCA4、LIG1、RPA1、RPA2、BRIP1、及びPTENのうちのいずれか1つ以上、又は該遺伝子によってコードされるタンパク質の欠損から選択される、請求項4記載の使用のための Pol θ 阻害剤。

【請求項 6】

前記がんが、相同組換え修復経路を後に再活性化しているがん細胞を含む、請求項1～5のいずれか1項記載の使用のための Pol θ 阻害剤。

【請求項 7】

前記シールディン欠損が、以下の遺伝子: C20orf196(SHLD1)、FAM35A(SHLD2)、及びCTC-534A2.2(SHLD3)のうちのいずれか1つ以上、又は該遺伝子によってコードされるタンパク質の欠損である、請求項1～6のいずれか1項記載の使用のための Pol θ 阻害剤。

【請求項 8】

前記シールディン欠損が、53BP1複合体の欠損である、請求項1～6のいずれか1項記載の使用のための Pol θ 阻害剤。

【請求項 9】

前記53BP1複合体の前記欠損が、以下の遺伝子: TP53BP1(53BP1)、RIF1、及びMAD2L2(REV7)のうちのいずれか1つ以上、又は該遺伝子によってコードされるタンパク質の欠損である、請求項8記載の使用のための Pol θ 阻害剤。

【請求項 10】

前記がんが、生存に関してマイクロホモロジー媒介末端結合(MMEJ)に依存性となっているがん細胞を含む、請求項1～9のいずれか1項記載の使用のための Pol θ 阻害剤。

【請求項 11】

請求項1～10のいずれか1項記載の使用のための Pol θ 阻害剤を、医薬として許容し得る担体と共に含む、シールディン欠損に関連するがんの治療における使用のための医薬組成物。

【請求項 12】

1種以上の治療薬剤をさらに含む、請求項11記載の医薬組成物。

【請求項 13】

1種以上の抗癌剤をさらに含む、請求項11記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

10

20

30

40

50

本発明は、シールドイン(Shieldin)欠損に関連するがんの治療における使用のための Pol θ 阻害剤及び該 Pol θ 阻害剤を含む医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

(発明の背景)

体細胞は、外来性及び内在性の原因によって引き起こされる絶え間ないDNA損傷にさらされている。細胞がDNA損傷を感知し、それをシグナル伝達し、修復する一連のプロセスは、DNA損傷応答(DDR)と名付けられている。ミスマッチ、塩基損傷、一本鎖ニック、及び二本鎖切断(DSB)を含むがこれらに限定されない多くの異なる種類のDNA損傷付加体(DNA damage adduct)が存在する。DSBは、細胞が生存するため及びゲノムの完全性(genomic integrity)を保存するために正確に修復されなければならないDNA病変の最も有毒な形態であることが広く認められている。そうできないと、細胞死をもたらすこと又は腫瘍形成に繋がる突然変異誘発率の増加をもたらすことがある。

10

【0003】

DSBは、3種の主要経路:相同組換え(HR)、非相同末端結合(NHEJ)、及び代替的NHEJ(alt-NHEJ)のうちの一つによって修復することができる。マイクロホモロジー媒介末端結合(MMEJ)は、最もよく特性が明らかにされているalt-NHEJ機構である。HR媒介修復は、正確な修復に欠くことのできない高忠実度の機構であり、がんになりやすくするゲノム不安定性を防いでいる(Wood及びDoublieの文献、DNA Repair(2016)、44、22-32、Wyattらの文献、Mol. Cell(2016)63、662-673)。逆に、NHEJ及びMMEJは、変異の痕跡を修復の部位に残す可能性がある誤りが起り易い経路である。MMEJは、HR経路及びNHEJ経路の双方と平行して機能することができる(Truongらの文献、PNAS 2013、110(19)、7720-7725)。正常細胞は、一般に、DSBを修復するのに誤りの起こらないHR経路による修復を指示する。細胞がHR欠損となった場合には、細胞は、細胞死を防ぐために末端結合法を用いることができるが、これは、突然変異誘発性であり、最終的には、腫瘍形成を招くことがある。

20

【0004】

がん細胞の発生は、上述のようなHRの喪失を介するものなどのDNA損傷応答(DDR)の誤制御又は抑制に依存的である。これは、残された、多くの場合突然変異誘発性である経路に対する、生存に関する依存性の増加を引き起こす。がん細胞は、予定外のDNAの二倍化(duplication)及び複製(replication)ストレスを引き起こすがん遺伝子の活性化を原因として、正常細胞と比較して上昇したDNA損傷負荷を有する。このことにより、がん細胞は、その残っているDDR経路の阻害に特に影響されやすくなる。従って、欠陥のあるDDRを活用して標的化がん療法を開発することができる。例えば、DNA修復タンパク質PARP1(DNA一本鎖切断検出及び修復のプロセスに関与する)の阻害が、HRの成分(例えば、BRCA1、BRCA2、ATM、PALB1など)が欠損したがん細胞にとって選択的に致死的事であることが示されている。この知見が、HR欠損(HRD)卵巣がん及び乳がんの治療のための3種のPARP阻害剤(オラパリブ、ニラパリブ、及びルカパリブ)の承認につながっている。

30

【0005】

近年、シールドイン複合体が、生理学的環境においてDSBR経路選択の重要なレギュレーターとして発見された。シールドイン成分は、DSB末端に結合して、DSB末端をHR媒介修復に必要とされる切除機構から保護し、NHEJを介する修復を促進する。シールドイン成分の喪失が、BRCA1ヌル細胞において部分的にHRを回復することによってPARP阻害剤に対する抵抗性を誘導することが示された。

40

【0006】

明らかに、損傷に応答して利用されるDSBR経路の選択は、腫瘍形成能及びがんの療法への反応の観点での細胞の運命に影響を及ぼす。このことは、PARP阻害に反応する患者が、抵抗性の疾患を最終的に再発するために、クリニックで反映される。PARP阻害剤に対する抵抗性の機構は、よく理解されていないままであり、従って、PARP阻害剤抵抗性

50

のがん、特に、同じくPARP阻害剤に抵抗性であるシールドイン欠損に関連するがんの効果的な治療を提供することが必要である。

【発明の概要】

【0007】

(発明の概要)

本発明の第1の態様により、シールドイン欠損に関連するがんの治療における使用のためのPolθ阻害剤が提供される。

【図面の簡単な説明】

【0008】

(図面の簡単な説明)

【図1】図1: 親株及びC20orf196ノックアウト(KO)SUM149チューモロイドの大きさに対する、2種のDNAポリメラーゼθ(Polθ)阻害剤(化合物A(a)及び化合物B(b))、並びにPARP阻害剤であるオラパリブ(c)の作用を示すグラフ。データは、n=4の平均±SEMを表す。

【図2】図2: チューモロイド1つあたりの核の数の平均によって測定された親株及びC20orf196ノックアウト(KO)SUM149チューモロイドの成長に対する、2種のPolθ阻害剤(化合物A(a)及び化合物B(b))並びにPARP阻害剤であるオラパリブ(c)の作用を示すグラフ。データは、n=4の平均±SEMを表す。

【図3】図3: 親株及びC20orf196ノックアウト(KO)SUM149チューモロイド培養物における死細胞の分率に対する、2種のPolθ阻害剤(化合物A及び化合物B)並びにPARP阻害剤であるオラパリブの作用を示すグラフ。データは、n≥3の平均+SEMを表す;p=***≤0.001、****≤0.0001、ns=非有意。

【図4】図4: HCC1937細胞は、古典的なNHEJ(cNHEJ)が非欠損(proficient)である。染色体外のDNA基質を、細胞中にトランスフェクションさせ、NHEJ媒介修復を、PCRによって確認した(a)。発光NHEJレポーター基質を、古典的なNHEJ機構による非付着DSBの細胞修復を検出するように設計した。qPCRを用いて確認したところ、HCC1937細胞は、SHLD2を欠失していた(c)。さまざまなcNHEJ遺伝子(LIG4、XRCC4、及びXLF)を欠失させたHCT116細胞の同質遺伝子パネルが、ウェスタンブロットによってそれぞれのタンパク質に関して欠損している(null)と確認された(d)。HCC1937細胞を、(b)に概略が示されている基質及びFireflyルシフェラーゼプラスミド(トランスフェクション対照)でトランスフェクションした。cNHEJ修復効率を、(e)にFireFly発光に対して規格化されたNanoLuciferase発光として表し(任意単位)、これは、HCC1937細胞において堅牢であった。対照として、cNHEJ欠損HCT116細胞を、双方の基質の修復に関して欠損していた。データは、n=4の平均+SEMを表す(技術的反復)。

【図5】図5: 集中的CRISPR-Cas9 KOスクリーニングにより示されるDLD1結腸がん細胞の生存率に対する、Polθ阻害と組み合わせたREV7ノックアウト(KO)の作用を示すグラフ。(a)1935個の遺伝子についてのCRISPR-Cas9 KO合成致死性スクリーニング結果のサマリープロット(X軸)。遺伝子を、負の選択についての最小のFDRから始めて最高のFDRまでランク付けした(Y軸; Polθ阻害剤感受性をもたらずノックアウト作用は、値<1として示される)。REV7及びBRCA2 KOの位置に、グラフ上で印をつけた。(b)CRISPR-Cas9 KO SLスクリーニングからのPolθ阻害と組み合わせた10種の個々のREV7 gRNAの成績のサマリープロット。

【図6】図6: (a)低分子干渉(si)RNAスクリーニングを、CAL51乳がん細胞株で行って、サイレンシングされた場合に、化合物Aに対する感受性をもたらず遺伝子を特定した。1280個のsiRNAスマートプールを、このスクリーニングに用いた。各スマートプールは、異なる遺伝子をサイレンシングするものであった。化合物A感受性に対する作用を、薬物作用Zスコアとして(a)に示す。負のZスコアは、化合物A感受性をもたらししたsiRNAを示す。-2のDE Zスコア閾値(点線)を、合成致死的相互作用を規定するのに用いた;本スクリーニングにおける3種の異なる対照非標的siRNAのDE Zスコアは、1.0(Allstar対照)、0.8(siCON1)、及び1.0(siCON2)であった。本図に示される値は、三連スクリー

10

20

30

40

50

ニングからの中央値である。(b) siRNAが増加した化合物Aに対する感受性($DE < -2$)をもたらした遺伝子のうちで、REV7を標的とするsiRNAプールが、感受性(-2.88 のDE Zスコア)をもたらした。本図に示される値は、三連スクリーニングからの中央値である。

【図7】図7: 親株及びREV7ノックアウト(KO) 22Rv1細胞のクローン原性生存(Y軸)に対する、Pol θ 阻害剤である化合物A(a)、及びPARP阻害剤であるオラパリブ(b)の作用を示すグラフ。(c)のヒストグラムは、 $12\mu\text{M}$ の化合物A又は $0.44\mu\text{M}$ のオラパリブで処理された細胞の相対生存率を比較している。データは、技術的三連の平均 $\pm$ SEMを表す。実験は、生物学的三連の代表である。独立t検定によるP値: $* = P \leq 0.05$ 、 $** = P \leq 0.01$ 、 $*** = P \leq 0.001$ 。

【図8】図8: (a) siRNAスクリーニングで得た化合物A薬物作用(DE) Zスコアの散布図。ここでは、1418個のsiRNAのそれぞれの、化合物A感受性に対する作用を、BRCA1欠損RPE1細胞において評価した。スクリーニングは、CAL51 siRNAスクリーニングに対して上で説明したように行われた。(b) siRNAが化合物Aに対する感受性の増加($DE < -2$)をもたらした遺伝子のうち、FAM35A又はREV7のいずれかを標的とする複数の異なるsiRNAが、感受性をもたらした。比較すると、本スクリーニングにおいて3つの異なる対照非標的siRNAのDE Zスコアは、 1.3 (Allstar対照)、 -0.8 (siCON1)、及び -0.6 (siCON2)であった。本図に示される値は、三連スクリーニングからの中央値である。

【図9】図9: 増加する濃度の化合物A(a)又はオラパリブ(b)に14日間曝露させた、SUM149親株(C20ORF196/SHLD1野生型、BRCA1変異体)及びCRISPR-Cas9で作製されたC20ORF196有害変異を有する2つの異なるSUM149娘クローン(KO細胞株A及びD)の用量反応クローン原性生存曲線。クローンAにおけるC20ORF196変異は、NM_001303477 c.85del5 + 92insTであり;クローンDにおけるC20ORF196変異は、NM_001303477 c.371del62である。

【図10】図10: 増加する濃度の化合物A(a)又はオラパリブ(b)に14日間曝露させた、SUM149親株及び3つの異なるREV7 KO細胞株の用量反応クローン原性生存曲線。SUM149親クローンと比較して、3つのREV7 KOクローンは全て、化合物Aに対する増加した感受性及びPARP阻害剤であるオラパリブに対する抵抗性を示した。クローン1におけるREV7変異は、

【化1】

NM_001127325 1:g.11680401_11680415del GTAGACCTCGCGCAC (配列番号 3)

であり;クローン2におけるREV7変異は、NM_001127325 1:g.11680393delCであり;クローン3におけるREV7変異は、タンパク質コード配列を切断する3bp欠失である。

【図11】図11: 親株(a)、及びREV7ノックアウト(KO)(b) SUM149チューモロイドにおける死細胞の分率に対する、DNAポリメラーゼ θ (Pol θ)阻害剤である化合物A、PARP阻害剤であるオラパリブ、及び対照化合物であるスタウロスポリンの作用を示すグラフ。データは、 $n \geq 3$ の平均 $\pm$ SEMを表す; $p = ** \leq 0.01$ 、 $**** \leq 0.0001$ 、 ns = 非有意)。

【図12】図12: HCC1395細胞の親株及び3つのSHLD2 KOクローンのクローン原性生存(Y軸)に対する、DNAポリメラーゼ θ (Pol θ)阻害剤である化合物A(a)、及びPARP阻害剤であるオラパリブ(b)の作用を示すグラフ。(c)のヒストグラムは、 $1.3\mu\text{M}$ の化合物A又は $0.03\mu\text{M}$ のオラパリブで処理された細胞の相対生存率を含む。データは、技術的三連の平均 $\pm$ SEMを表す。実験は、生物学的2連の代表である。独立t検定によるP値: $* = P \leq 0.05$ 、 $** = P \leq 0.01$ 、 $*** = P \leq 0.001$ 。

【図13】図13: MDA-MB-436細胞の親株及び3つのSHLD2 KOクローンのクローン原性生存(Y軸)に対する、DNAポリメラーゼ θ (Pol θ)阻害剤である化合物A(a)、及びPARP阻害剤であるオラパリブ(b)の作用を示すグラフ。(c)のヒストグラムは、 $0.75\mu\text{M}$ の化合物A又は $0.01\mu\text{M}$ のオラパリブで処理された細胞の相対生存率を含む。データは、技術的三連の平均 $\pm$ SEMを表し、Artios CFAプロトコルを用いて作成された。独立t検定によるP値: $* = P \leq 0.05$ 、 $** = P \leq 0.01$ 、 $*** = P \leq 0.001$ 。

【図14】図14: 化合物Aに48時間曝露後の、シールディン欠損PARPi抵抗性細胞のオラパリブへの再感作。親株SUM149細胞、又はBRCA1回復(SUM149復帰変異株)派生株もしくはC20orf196(SUM149 C20orf196)又は53BP1(SUM149 53BP1)いずれかの遺伝子欠失の派生株を、DMSO又は化合物A(10 μ M)のいずれかで48時間処理し、その後、DMSO又はオラパリブ(1 μ M)のいずれかを含有する培地中に再プレーティングし、さらに10日間インキュベートした。C20orf196又は53BP1の欠失、及びBRCA1の発現は、オラパリブに対する顕著な抵抗性をもたらした。細胞を化合物Aで48時間処理しても、生存に対する作用はなかったが、SUM149 C20orf196及びSUM149PT 53BP1細胞の双方において感受性を誘導し、しかしながら、BRCA1復帰変異株では誘導しなかった。データは、技術的三連の平均 $\pm$ SDを表す。独立t検定によるP値: * = $P \leq 0.05$ 、** = $P \leq 0.01$ 、*** = $P \leq 0.001$ 、**** = $P \leq 0.0001$ 。

10

【発明を実施するための形態】

【0009】

(発明の詳細な説明)

本発明の第1の態様により、シールディン欠損に関連するがんの治療における使用のためのPol θ 阻害剤が提供される。

【0010】

言及され得る本発明の一態様により、PARP阻害剤抵抗性のがんの治療における使用のためのPol θ 阻害剤が提供される。従って、一実施態様において、当該シールディン欠損に関連するがんは、PARP阻害剤に抵抗性のがんでもある。

20

【0011】

前臨床的に描写されているPARP阻害剤に対する抵抗性の分子機構は:(i)第二の変異を得ることによるBRCA1又はBRCA2変異アレルの復帰変異によるHRの再活性化;(ii)NHEJ成分の喪失;(iii)53BP1、rev7、SHLD1、SHLD2、SHLD3などのシールディンタンパク質複合体成分の喪失;(iv)PARP1発現の喪失;(v)PARP1変異;(vi)MDR1薬物排出の上方制御;(vii)PARGタンパク質発現の喪失;(viii)複製フォーク安定化;(ix)MET又はPI3Kキナーゼシグナル伝達の上方制御;及び(x)DNA修復経路選択を方向づけるマイクロRNAの発現を含む(Noordeemeerらの文献、Nature(2018)、560(7716)、117-121、Devらの文献、Nature Cell Biology(2018)、20(8)、954-965、Ghezraouiらの文献、Nature(2018) 560 (7716)、122-127、Mirmanらの文献、Nature(2018) 560 (7716)、112-116、Pettittらの文献、Nat Commun (2018) 9(1)、1849、及びCurtinらの総説、(2013) 34(6)、1217-56)。現在までのところ、PARP阻害剤に対する抵抗性の臨床的に検証済みの唯一の機構は、BRCA1又はBRCA2遺伝子復帰変異のものであり、HRの再活性化が、PARP阻害剤療法の細胞死滅作用を克服する主要な駆動因子であることを意味している。近年、シールディン成分の喪失が、患者由来の腫瘍外植片で生じることが示されている(Devらの文献、Nature Cell Biology(2018)、20(8)、954-965)。さらに、シールディン成分の喪失が、有毒なNHEJ機構の活性化を防ぐことによって、HRを再活性化することが示されている(Noordeemeerらの文献、Nature(2018)、560(7716)、117-121)。

30

【0012】

HRの障害又は不活性化を有するがん細胞は、NHEJが不活性化されたマウス胎仔線維芽細胞がそうであるように(Wyattらの文献、Mol. Cell(2016)63、662-673、Zelenskyらの文献、Nat. Comms(2017)8、66)、生存をMMEJ媒介DNA修復に強く依存するようになる(Mateos-Gomezらの文献、Nature(2015)、518(7538)、254-257、Ceccaldiらの文献、Nature(2015)、518(7358)、258-262)。遺伝学的、細胞生物学的、及び生化学的データにより、Pol θ (UniProtKB - O75417 (DPOLQ_HUMAN))がMMEJにおける重要なタンパク質として確認されている(Kentらの文献、Nature Structural & Molecular Biology(2015)、22(3)、230-237、Mateos-Gomezらの文献、Nature(2015)、518(7538)、254-257)。Pol θ は、多機能性の酵素であり、これは、N-末端ヘリカーゼドメイン(SF2 HEL308タイプ)及びC-末端低忠実度DNA

40

50

ポリメラーゼドメイン(Aタイプ)を含む(Wood及びDoublieの文献、DNA Repair(2016)、44、22-32)。双方のドメインが、MMEJにおいて、協奏的な機能的機能を有していることが示されている。ヘリカーゼドメインは、ssDNA末端からのRPAタンパク質の除去を媒介し、アニーリングを刺激する。ポリメラーゼドメインは、ssDNA末端を伸張させ、残っているギャップを埋める。従って、Pol θの治療的不活性化は、細胞のMMEJを行う能力を無効化し、多くの明確とされた腫瘍の文脈で新規の標的化戦略を提供するであろう。

【0013】

第一に、Pol θは、HRD細胞の生存に欠くことができないことが示されており(例えば、FA/BRCA欠損と合成致死的)、HRD腫瘍細胞株において上方制御されている(Ceccaldiらの文献、Nature(2015)、518(7538)、258-262)。また、インビボでの研究によって、Pol θが、関連する予後不良のHRD卵巣、子宮、及び乳がんのサブセットにおいて顕著に過剰発現されていることが示されている(Higginsらの文献、Oncotarget(2010)、1、175-184、Lemeeらの文献、PNAS(2010)、107(30)、13390-13395、Ceccaldiらの文献、(2015)、上記を参照)。重要なことに、Pol θは、正常組織にはほとんど存在しないが、マッチさせたがん試料においては上方調節されていることが示されており、従って、上昇した発現と疾患との相互関係を示している(Kawamuraらの文献、International Journal of Cancer(2004)、109(1)、9-16)。第2に、その抑制又は阻害は、腫瘍細胞における放射線感受性を付与する。最後に、恐らく、Pol θ阻害は、腫瘍におけるシスプラチン及びPARP阻害剤抵抗性の出現の根底にあるBRCA2変異のMMEJ-依存性機能復帰変異となるであろうものを防ぐことができるであろう(Dhillonらの文献、Cancer Sci(2011)102、663-669)。

【0014】

Pol θの治療標的としての妥当性の理解は進んでいるものの、MMEJにおけるPol θの機能は、つい最近発見されたばかりであることに留意すべきである(Wood及びDoublieの文献、DNA Repair(2016)、44、22-32に総説されている)。

【0015】

本発明者らは、Pol θの阻害が、シールドイン成分の喪失を介してPARP阻害に抵抗性のがん細胞に選択的に致死的であることを発見した。このことは、PARP阻害剤ベースの療法に抵抗性の腫瘍を有するがん患者の治療に重要な意味をもつ。

【0016】

シールドインは、HRによる修復に必要とされる非常に重要な工程である切除からDNA DSBの末端を「保護(shield)」し、NHEJを介する修復を指揮するタンパク質複合体である(Noordeemeerらの文献、Nature(2018)、560(7716)、117-121、Devらの文献、Nature Cell Biology(2018)、20(8)、954-965、Ghezraouiらの文献、Nature(2018) 560 (7716)、122-127、Mirmanらの文献、Nature(2018) 560 (7716)、112-116)。構成部分のうちのいずれかの欠乏又は欠失によるシールドイン複合体の喪失が、DNA末端切除、従って、HRによる修復を回復させることが報告されている。PARP阻害と同様に、さまざまな文献による報告で、HRDとPol θ阻害との間の合成致死的相互作用が強調されている。従って、シールドインの喪失によるHR回復が、HRD SUM149T細胞をPARP阻害に抵抗性とするが、同じ細胞が、Pol θ阻害剤に対して選択的に感受性があることを発見したのは驚くべきであった。

【0017】

一実施態様において、前記がんは、以前はPARP阻害剤に対して感受性があったがん細胞を含む。従って、がんは、初めはPARP阻害剤ベースの療法に対して感受性があったかもしれないが、その後、続いて、PARP阻害剤ベースの療法に抵抗性となり、患者に抵抗性の疾患を再発させたかもしれない。

【0018】

一実施態様において、前記がんは、初めは相同組換え修復経路欠損であると確認されたがん細胞を含む。従って、初めはPARP阻害剤ベースの療法に対して感受性があったがん

10

20

30

40

50

は、HRのプロセスによってそのDNAを修復する能力が欠損し、低下し、又は抑制されていた可能性がある。HR経路の成分は、よく特性が明らかにされており、以下に列記されている。

【0019】

例えば、一実施態様において、前記欠損は、以下の遺伝子:ATM、ATR、BRCA1、BRCA2、BARD1、RAD51C、RAD50、CHEK1、CHEK2、FANCA、FANCB、FANCC、FANCD2、FANCE、FANCF、FANCG、FANCI、FANCL、FANCM、PALB2(FANCN)、FANCP(BTBD12)、ERCC4(FANCQ)、PTEN、CDK12、MRE11、NBS1、NBN、CLASPIN、BLM、WRN、SMARCA2、SMARCA4、LIG1、RPA1、RPA2、BRIP1、及びPTENのうちのいずれか1つ以上、又は該遺伝子によってコードされるタンパク質の欠損から選択される。

10

【0020】

本明細書における「相同組換え修復経路欠損」又は「相同組換えの欠損(HRD)」への言及が、結果としての相同組換え修復経路の機能の欠損又は喪失をもたらす任意の遺伝子又は遺伝子産物の非存在、欠陥のある発現、又は任意の変異を指すことが認識されるであろう。当該遺伝的変異の例としては、変異(例えば、点変異)、置換、欠失、一塩基多型(SNP)、ハプロタイプ、染色体異常、コピー数多型(CNV)、エピジェネティクス、DNA反転、発現及び誤局在化の減少が挙げられる。

【0021】

一実施態様において、前記がんは、相同組換え修復経路を後に再活性化しているがん細胞を含む。

20

【0022】

一実施態様において、前記相同組換え修復経路の欠損は、シールディン欠損を含む。

【0023】

本実施態様において、個体は、シールディン複合体の成分の発現の喪失、又は変異、又はエピジェネティックなサイレンシングを含む任意の手段によってシールディン複合体の活性を失ってしまっているであろう。シールディン複合体の成員は、当業者に周知であり、現在のところ、C20orf196(SHLD1)、FAM35A(SHLD2)、及びCTC-534A2.2(SHLD3)が挙げられるが、これらに限定されない。従って、さらなる実施態様において、前記シールディン欠損は、以下の遺伝子:C20orf196(SHLD1)、FAM35A(SHLD2)、及びCTC-534A2.2(SHLD3)のうちのいずれか1つ以上、又は該遺伝子によってコードされるタンパク質の欠損である。

30

【0024】

また、シールディン複合体の活性も、シールディンの上流にある53BP1複合体の成分の発現の喪失、又は変異、又はエピジェネティックなサイレンシングによりそのDNA損傷部位への動員を欠くことによって抑制され得る。従って、別の実施態様において、前記シールディン欠損は、53BP1複合体の欠損である。53BP1複合体は、NHEJ促進複合体として作用し、TP53BP1(53BP1)、RIF1、及びMAD2L2(REV7)を含む。従って、さらなる実施態様において、53BP1複合体の欠損は、以下の遺伝子:TP53BP1(53BP1)、RIF1、及びMAD2L2(REV7)のうちのいずれか1つ以上、又は該遺伝子によってコードされるタンパク質の欠損を含む。

40

【0025】

一実施態様において、前記がんは、生存をマイクロホモロジー媒介末端結合(MMEJ)に依存するようになったがん細胞を含む。

【0026】

シールディン(SHLD)の喪失が、生理学的環境におけるDSBR経路選択に影響を及ぼすことが示されている。平滑DNA末端を脱保護することによって、シールディン複合体の攪乱が、DNAの切除を引き起こし、相同組換えによる修復が優勢となり、標準的NHEJ(cNHEJ)による修復が減少する。しかしながら、シールディン成分欠損がある細胞は、HRによってDSBを優先的に修復するものの、NHEJ経路は、LIG4及びXRCC4などのコア

50

NHEJ遺伝子が欠失している細胞においてのように完全に欠損しているわけではない。例えば、コアNHEJ遺伝子に欠失がある細胞とは異なって、SHLD2欠失がん細胞は、トランスフェクションされた染色体外DSB基質を、NHEJによって効率的に修復することができる(図4)。従って、シールディン遺伝子が欠損しているが、NHEJやHRに関してその他の点では非欠損の細胞が、Polθ阻害剤に対して感受性があったことは驚くべきであった。従って、シールディン成分を欠失した細胞は、NHEJ欠損ではない。

【0027】

(Polθ阻害剤)

本明細書における「Polθ阻害剤」への言及は、Polθの機能活性の低減、例えば、部分的又は完全なものであり得る酵素活性の低下をもたらすことができる薬剤を含む。また、「Polθ阻害剤」は、Polθの固有の活性には影響を及ぼさないが、Polθがその基質又は補助因子に結合する能力を損なう薬剤も指す。Polθの機能活性の部分的又は完全な低減は、シールディン経路の1つ以上の成分が欠損しているがん細胞の成長停止の致死性を誘導し得る。

10

【0028】

Polθの機能活性の阻害は、そのポリメラーゼ又はヘリカーゼドメインの酵素的な阻害によるものであり得る。一実施態様において、Polθ機能活性の阻害は、ポリメラーゼドメインの阻害によるものである。

【0029】

本発明において有用なPolθ阻害剤は、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、抗体、ペプチド、低分子化合物、阻害性低分子干渉RNA分子、又は任意の他の適当な化学物質であり得る。一実施態様において、Polθ阻害剤は、低分子化合物である。さらなる実施態様において、Polθ阻害剤は、ヘテロ環式アミド部位を含む低分子化合物である。

20

【0030】

適当なPolθ阻害剤の例は、英国特許出願第1813049.2号、第1813060.9号、第1813065.8号、第1817921.8号、及び第1821000.5号に記載されている。

【0031】

さらなる実施態様において、Polθ阻害剤は、化合物A又はBのいずれかから選択される。

【0032】

化合物A((2S,3R)-1-(3-シアノ-6-メチル-4-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-イル)-3-ヒドロキシ-N-メチル-N-(m-トリル)ピロリジン-2-カルボキサミド)は、英国特許出願第1813049.2号に実施例24として記載されている。

30

【0033】

化合物B((2S,4S)-1-(3-シアノ-6-メチル-4-(トリフルオロメチル)ピリジン-2-イル)-4-ヒドロキシ-N-メチル-N-(m-トリル)ピロリジン-2-カルボキサミド)は、英国特許出願第1813049.2号に実施例3として記載されている。

【0034】

化合物A及びBの双方が、PARP阻害剤(オラパリブ)と比較した場合に、チューモロイドの大きさのより大きな減少(実施例1及び図1を参照されたい)、チューモロイド1つあたりの核の数のより大きな減少(実施例2及び図2を参照されたい)、並びにC20orf196 KO細胞におけるかなりより多い細胞死(実施例3及び図3を参照されたい)をもたらしたことを示すデータを本明細書に提示する。

40

【0035】

(がん)

治療(又は阻害)され得るがん(及びその良性の対応物)の例としては、上皮起源の腫瘍(腺癌、扁平上皮癌、移行上皮癌、及び他の癌腫を含むさまざまなタイプの腺腫及び癌腫)、例えば、膀胱及び尿路、乳房、胃腸管(食道、胃(stomach)(胃(gastric))、小腸、結腸、直腸、及び肛門を含む)、肝臓(肝細胞癌)、胆嚢及び胆管系、膵外分泌部、腎臓、肺(例えば、腺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、細気管支肺胞上皮癌、及び中皮腫)、頭頸部(

50

例えば、舌、頬側口腔、喉頭、咽頭、上咽頭、扁桃、唾液腺、鼻腔、及び副鼻腔のがん)、
、卵巣、ファロピウス管、腹膜、膈、外陰部、陰茎、子宮頸部、子宮筋、子宮内膜、甲状腺
(例えば、甲状腺濾胞癌)、副腎、前立腺、皮膚、及び付属器(例えば、黒色腫、基底細胞
癌、扁平上皮細胞癌、角化棘細胞腫、異形成母斑)の癌腫など;リンパ細胞系の血液悪性
腫瘍及び関連する状態(例えば、急性リンパ球性白血病[ALL]、慢性リンパ球性白血病
[CLL]、B細胞リンパ腫、例えば、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫[DLBCL]など、
濾胞性リンパ腫、バーキットリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、MALTリンパ腫、T細胞
リンパ腫、及び白血病、ナチュラルキラー[NK]細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、ヘ
アリー細胞白血病、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症、形質細胞腫、多発性
骨髄腫、及び移植後リンパ増殖性障害)、及び骨髄細胞系の血液悪性腫瘍及び関連する状
態(例えば、急性骨髄性白血病[AML]、慢性骨髄性白血病[CML]、慢性骨髄単球性
白血病[CMML]、好酸球増加症候群、骨髄増殖性障害、例えば、真性赤血球増加症、
本態性血小板血症、及び原発性骨髄線維症など、骨髄増殖症候群、骨髄異形成症候群、及
び前骨髄球性白血病)を含む、血液悪性腫瘍(すなわち、白血病、リンパ腫)及び前癌性血
液障害及び境界悪性腫瘍の障害;間葉系起源の腫瘍、例えば、軟部組織、骨、又は軟骨の
肉腫、例えば、骨肉腫、線維肉腫、軟骨肉腫、横紋筋肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、血管
肉腫、カボジ肉腫、ユーイング肉腫、滑膜肉腫、類上皮肉腫、消化管間質腫瘍、良性及び
悪性の組織球腫、及び隆起性皮膚線維肉腫など;中枢又は末梢神経系の腫瘍(例えば、星細
胞腫、神経膠腫及び膠芽腫、髄膜腫、上衣腫、松果体腫瘍、及びシュワン腫);内分泌腫瘍
(例えば、下垂体腫瘍、副腎腫瘍、膵島細胞腫瘍、副甲状腺腫瘍、カルチノイド腫瘍、及び
甲状腺の髄様癌);眼部及び付属器腫瘍(例えば、網膜芽細胞腫);生殖細胞及び絨毛性腫
瘍(例えば、奇形腫、精上皮腫、未分化胚細胞腫、胞状奇胎、及び絨毛癌);並びに小児及
び胚芽腫(例えば、髄芽腫、神経芽腫、ウィルムス腫瘍、及び原始神経外胚葉性腫瘍);又
は患者を悪性腫瘍になりやすくする先天性であるか又はそうではない症候群(例えば、色
素性乾皮症)が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0036】

多くの疾患が、持続的な制御されていない血管新生を特徴とする。慢性増殖性疾患は、
多くの場合、炎症性及び/又は増殖性の状態に寄与し得る又はそれを維持することができ
るか、又は血管の浸潤性増殖を介して組織破壊を招く著明な血管新生を伴う。腫瘍増殖及
び転移が、血管新生依存的であることが分かっている。従って、本発明の化合物は、腫瘍
血管新生のイニシエーションを予防及び妨害するのに有用であり得る。特に、本発明の化
合物は、転移及び転移性のがんの治療に有用であり得る。

【0037】

転移又は転移性の疾患は、ある器官又は部分から別の隣接していない器官又は部分への
疾患の伝播である。本発明の化合物によって治療することができるがんには、原発性腫瘍
(すなわち、発生した部位のがん細胞)、局所的浸潤(局所領域内の周囲の正常組織に侵入
しそれを浸潤するがん細胞)、及び転移性(又は続発性)腫瘍、すなわち、血流を通して(血
行性伝播)、又はリンパ管を経て、又は体腔を横切って(経体腔)体内の別の部位及び組織
に循環した悪性細胞から生じた腫瘍が含まれる。

【0038】

特定のがんとしては、肝細胞癌、黒色腫、食道、腎臓、結腸、結腸直腸、肺、例えば、
中皮腫又は肺腺癌、乳房、膀胱、胃腸管、卵巣、及び前立腺のがんが挙げられる。

【0039】

一実施態様において、前記初めはPARP阻害剤ベースの療法に対して感受性があったが
んは、白金ベースの化学療法で完全奏効又は部分奏効であった、再発性の上皮性卵巣、フ
ァロピウス管、又は原発性腹膜がんであった可能性がある。

【0040】

(医薬組成物)

活性化合物が、単独で投与されることは可能であるが、それを、医薬組成物(例えば、
製剤)として提供することが好ましい。一実施態様において、これは、無菌の医薬組成物

である。

【0041】

従って、本発明は、上で定義されるような医薬組成物、並びに少なくとも1つの化合物を、本明細書に記載されるような1つ以上の医薬として許容し得る賦形剤及び任意に他の治療剤又は予防剤と共に含む医薬組成物を作製する(例えば、混ぜ合わせる)方法をさらに提供する。

【0042】

医薬として許容し得る賦形剤(複数可)は、例えば、担体(例えば、固体、液体、又は半固体の担体)、アジュバント、希釈剤、充填剤もしくは増量剤、造粒剤、コーティング剤、放出制御剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、防腐剤、抗酸化剤、緩衝剤、懸濁化剤、増粘剤、香料、甘味料、矯味剤、安定化剤、又は医薬組成物において慣用の任意の他の賦形剤から選択することができる。さまざまな種類の医薬組成物用の賦形剤の例を、以下により詳細に記載する。

【0043】

本明細書で使用される「医薬として許容し得る」という用語は、健全な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー応答、又は他の問題もしくは合併症を伴わずに、妥当なベネフィット／リスク比に見合う、対象(例えば、ヒト)の組織と接触させる使用に適した化合物、材料、組成物、及び/又は剤形に関係する。各担体、賦形剤なども、製剤の他の成分と適合性であるという意味で「許容し得る」ものでなければならない。

【0044】

化合物を含有する医薬組成物は、公知技術に従って製剤化することができる、例えば、Remingtonの薬科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)、Mack Publishing Company、Easton、PA、USAを参照されたい。

【0045】

医薬組成物は、経口、非経口、局所、鼻腔内、気管支内、舌下、点眼、耳内、直腸、膣内、又は経皮投与に適した任意の形態とすることができる。組成物が、非経口投与用に意図される場合、それを、静脈内、筋肉内、腹腔内、皮下投与用に、又は注射又は他の送達手段による標的器官又は組織内への直接送達用に製剤化することができる。送達は、ボラス注入、短期輸液、又はより長い期間の輸液によるものとすることができ、受動送達によるもの又は適当な輸液ポンプ又はシリンジ駆動装置を利用するものとすることができる。

【0046】

非経口投与に適した医薬製剤としては、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、共溶媒、界面活性剤、有機溶媒混合物、シクロデキストリン複合体形成剤、乳化剤(乳濁製剤を形成及び安定化するため)、リポソームを形成するためのリポソーム成分、ポリマーゲルを形成するためのゲル化可能なポリマー、凍結乾燥保護剤、並びに、特に、可溶性形態の活性成分を安定化させるため及び製剤を意図されるレシピエントの血液と等張とするための薬剤の組合せを含有してもよい水性及び非水性の滅菌注射液が挙げられる。非経口投与用の医薬製剤も、懸濁化剤及び増粘剤を含んでもよい水性及び非水性の滅菌懸濁液の形態を採り得る(R. G. Stricklyの文献、「経口及び注射用製剤における可溶化賦形剤(Solubilizing Excipients in oral and injectable formulations)」、Pharmaceutical Research、Vol 21(2) 2004、201～230頁)。

【0047】

本製剤は、単回用量又は複数回用量容器、例えば、密閉されたアンプル、バイアル、及びあらかじめ充填されたシリンジで提供され得、使用直前に滅菌液体担体、例えば、注射用水の添加のみを必要とする凍結乾燥された(freeze-dried)(凍結乾燥された(lyophilised))状態で保管され得る。一実施態様において、製剤は、適当な希釈剤を用いる後続の再構成のために、瓶の中に活性医薬成分として提供される。

【0048】

医薬製剤は、前記化合物又はそのサブグループを凍結乾燥することによって調製するこ

とができる。凍結乾燥(lyophilisation)は、組成物を凍結乾燥する手順を指す。従って、凍結乾燥(freeze-drying)及び凍結乾燥(lyophilisation)は、本明細書において同意語として使用される。

【0049】

要時調製注射液及び懸濁液は、滅菌の粉末、顆粒、及び錠剤から調製され得る。

【0050】

非経口注射用の本発明の医薬組成物は、医薬として許容し得る滅菌の水性又は非水性溶液、分散液、懸濁液、又は乳濁液、及び使用直前の無菌の注射可能な溶液又は分散液への再構成用の滅菌粉末も含み得る。

【0051】

適当な水性及び非水性の担体、希釈剤、溶媒、又はビヒクルの例としては、水、エタノール、ポリオール(例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど)、カルボキシメチルセルロース、及びそれらの適当な混合物、植物油(例えば、ヒマワリ油、ベニバナ油、トウモロコシ油、又はオリーブ油など)、並びに注射用有機エステル、例えば、オレイン酸エチルなどが挙げられる。適切な流動性を、例えば、レシチンなどの増粘又は被覆材料の使用によって、分散剤の場合には必要とされる粒度の維持によって、及び界面活性剤の使用によって維持することができる。

【0052】

また、本発明の組成物も、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、及び分散剤などのアジュバントを含有し得る。微生物の作用の阻止が、さまざまな抗細菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸などを含めることによって確実にされ得る。また、糖類、塩化ナトリウムなどの浸透圧を調節する薬剤を含むことが望ましいこともある。注射用医薬形態の長期吸収は、アルミニウムモノステアレート及びゼラチンなどの吸収を遅らせる薬剤を含めることによってもたらされてもよい。

【0053】

本発明の特定の一実施態様において、医薬組成物は、例えば、注射又は輸液による静脈内投与に適した形態である。静脈内投与には、溶液を、そのまま投与することができ、又は投与前に輸液バッグ(医薬として許容し得る賦形剤、例えば、0.9%生理食塩水又は5%ブドウ糖などを含有)内に注入することができる。

【0054】

別の特定の実施態様において、医薬組成物は、皮下(s.c.)投与に適した形態である。

【0055】

経口投与に適した医薬剤形は、錠剤(コーティングされた又はコーティングされていないもの)、カプセル剤(硬質又は軟質シェル)、カプレット、丸剤、ロゼンジ錠、シロップ剤、液剤、散剤、顆粒剤、エリキシル剤、及び懸濁剤、舌下錠剤、オブラート剤、又はパッチ、例えば、頬側パッチなどを含む。

【0056】

従って、錠剤組成物は、単位投薬量の活性化合物を、不活性な希釈剤又は担体、例えば、糖又は糖アルコールなど、例えば、ラクトース、スクロース、ソルビトール、又はマンニトール;及び/又は非糖由来希釈剤、例えば、炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、炭酸カルシウムなど、もしくはセルロースもしくはその誘導体、例えば、微結晶性セルロース(MCC)、メチルセルロース、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など、及びデンプン、例えば、トウモロコシデンプンなどと共に含有することができる。錠剤も、ポリビニルピロリドンなどの結合及び造粒剤、崩壊剤(例えば、架橋カルボキシメチルセルロースなどの膨潤可能な架橋ポリマー)、滑沢剤(例えば、ステアリン酸塩)、防腐剤(例えば、パラベン)、抗酸化剤(例えば、BHT)、緩衝剤(例えば、リン酸又はクエン酸緩衝剤)、及びクエン酸塩/重炭酸塩混合物などの発泡剤などの標準的な成分を含有し得る。そのような賦形剤は周知であり、ここで詳細に述べる必要はない。

【0057】

錠剤は、胃液(即時放出錠剤)又は胃腸管の特定の領域のいずれかとの接触時に薬物を放

10

20

30

40

50

出するように、又は制御された様式で長期にわたって薬物を放出するように(制御放出錠剤)設計され得る。カプセル製剤は、硬質ゼラチン又は軟質ゼラチンの種類のものであってよく、固体、半固体、又は液体形態の活性成分を含有することができる。ゼラチンカプセル剤は、動物ゼラチン又はその合成もしくは植物由来の等価物から作製することができる。

【0058】

固体剤形(例えば;錠剤、カプセル剤など)は、コーティングされているもの又はコーティングされていないものとすることができる。コーティングは、保護的フィルム(例えば、ポリマー、ワックス、又はワニス)として、又は薬物放出を制御するためもしくは美観もしくは識別目的の機構としてのいずれかで作用し得る。コーティング(例えば、Eudragit(商標)タイプのポリマー)は、胃腸管内の所望の部位で活性成分を放出するように設計することができる。従って、コーティングは、胃腸管内のあるpH条件下で分解して、それにより、胃内又は回腸、十二指腸、空腸、又は結腸内で化合物を選択的に放出するように選択することができる。

【0059】

コーティングの代わりに又はそれに加えて、薬物は、放出制御剤、例えば、制御された様式で胃腸管内で化合物を放出するように適合され得る放出遅延化剤を含む固体マトリックス中に提供され得る。あるいは、薬物は、ポリマーコーティング、例えば、化合物を様々な酸性度又はアルカリ度の条件下で胃腸管内で選択的に放出するように適合され得るポリメタクリレートポリマーコーティング中に提供され得る。あるいは、マトリックス材料又は放出遅延化コーティングは、剤形が胃腸管を通過するにつれて実質的に連続的に浸食される浸食可能ポリマー(例えば、無水マレイン酸ポリマー)の形態を取ることができる。別の選択肢において、コーティングは、消化管内での微生物の作用下で崩壊するように設計することができる。さらなる選択肢として、活性化合物は、化合物の放出の浸透圧制御を提供する送達系に製剤化することができる。浸透圧放出及び他の遅延放出又は持続放出製剤(例えば、イオン交換樹脂に基づく製剤)は、当業者に周知の方法に従って調製され得る。

【0060】

化合物は、担体と共に製剤化され得、ナノ粒子の形態で投与され得、ナノ粒子の増加した表面積が、その吸収を支援する。加えて、ナノ粒子は、細胞内への直接的な浸透の可能性を提供する。ナノ粒子薬物送達系は、「薬物送達のためのナノ粒子技術(Nanoparticle Technology for Drug Delivery)」(Ram B Gupta及びUday B. Kompella編、Informa Healthcare、ISBN 9781574448573、2006年3月13日発行)に記載されている。また、薬物送達用のナノ粒子は、J. Control. Release、2003、91(1-2)、167-172及びSinhaらの文献、Mol. Cancer Ther. 8月1日、(2006)5、1909にも記載されている。

【0061】

医薬組成物は、通常、約1%(w/w)～約95%(w/w)の活性成分及び99%(w/w)～5%(w/w)の医薬として許容し得る賦形剤又は賦形剤の組合せを含む。特に、組成物は、約20%(w/w)～約90%、(w/w)の活性成分及び80%(w/w)～10%の医薬として許容し得る賦形剤又は賦形剤の組合せを含む。医薬組成物は、約1%～約95%、特に、約20%～約90%の活性成分を含む。本発明による医薬組成物は、例えば、アンプル、バイアル、坐剤、充填済シリンジ、ドラジェ、錠剤、又はカプセル剤の形態などの単位用量形態であり得る。

【0062】

医薬として許容し得る賦形剤(複数可)は、製剤の所望の物理的形態に従い選択することができ、例えば、希釈剤(例えば、充填剤又は増量剤などの固体希釈剤;及び溶媒及び共溶媒などの液体希釈剤)、崩壊剤、緩衝剤、滑沢化剤、流動助剤、放出制御(例えば、放出遅延化(retarding)又は遅延化(delaying)ポリマー又はワックス)剤、結合剤、造粒剤、色素、可塑剤、抗酸化剤、防腐剤、香味料、矯味剤、浸透圧調整剤、及びコーティング剤

から選択することができる。

【0063】

当業者は、製剤における使用のための成分の適切な量を選択する専門知識を有するであろう。例えば、錠剤及びカプセル剤は、通常、0～20%の崩壊剤、0～5%の滑沢化剤、0～5%の流動助剤、及び/又は0～99%(w/w)の充填剤/又は増量剤を(薬物用量に応じて)含有する。また、これらは、0～10%(w/w)のポリマー結合剤、0～5%(w/w)の抗酸化剤、0～5%(w/w)の色素も含有し得る。加えて、徐放錠剤は、0～99%(w/w)の放出制御(例えば、遅延化)ポリマーを(用量に応じて)含有するであろう。錠剤又はカプセル剤のフィルムコーティングは、通常、0～10%(w/w)のポリマー、0～3%(w/w)の色素、及び/又は0～2%(w/w)の可塑剤を含有する。

10

【0064】

非経口製剤は、通常、0～20%(w/w)の緩衝剤、0～50%(w/w)の共溶媒、及び/又は0～99%(w/w)の注射用水(WFI)を(用量に応じて、かつ凍結乾燥された場合に)含有する。また、筋肉内デポ用の製剤は、0～99%(w/w)の油も含有する。

【0065】

経口投与用の医薬組成物は、活性成分を、固体の担体を合わせ、望ましい場合、得られた混合物を造粒し、かつ混合物を、望ましい又は必要な場合に、適切な賦形剤の添加後に、錠剤、糖衣錠コア、又はカプセル剤へと加工することにより得ることができる。また、これらを、活性成分が測定された量で拡散すること又は放出されることを可能とするポリマー又はワックスのマトリックスに組み込むことも可能である。

20

【0066】

本発明の化合物を、固体分散体として製剤化することもできる。固体分散体は、2種以上の固体の均質な極めて微細な分散相である。固体分散体の一種である固溶体(分子分散系)は、医薬技術における使用に周知であり(Chiou及びRiegelmanの文献、J. Pharm. Sci., 60, 1281-1300(1971)を参照されたい)、溶解速度を増加させ、水に難溶性の薬物のバイオアベイラビリティを増加させるのに有用である。

【0067】

また、本発明は、上述の固溶体を含む固体剤形も提供する。固体剤形には、錠剤、カプセル剤、チュワブル錠剤、及び分散可能又は発泡性の錠剤が含まれる。公知賦形剤を、固溶体と混合して、所望の剤形を得ることができる。例えば、カプセル剤は、(a)崩壊剤及び滑沢化剤、又は(b)崩壊剤、滑沢化剤、及び界面活性剤と混合された固溶体を含有することができる。加えて、カプセル剤は、ラクトース又は微結晶性セルロースなどの増量剤を含有することができる。錠剤は、少なくとも1種の崩壊剤、滑沢化剤、界面活性剤、増量剤、及び流動化剤と混合された固溶体を含有することができる。チュワブル錠剤は、増量剤、滑沢化剤、並びに望ましい場合追加の甘味剤(例えば、人工の甘味料など)、及び適当な香料と混合された固溶体を含有することができる。また、固溶体は、薬物及び適当なポリマーの溶液を、糖ビーズなどの不活性な担体の表面上に噴霧すること(「ノンパレイユ」)によって形成され得る。それに続き、これらのビーズを、カプセルに充填するか又は圧縮して錠剤とすることができる。

30

【0068】

医薬製剤は、単一の包装、通常、ブリスターパック内に治療の全過程が入った「患者パック」で患者に提供され得る。患者パックは、バルク供給から医薬品の患者への供給分を薬剤師が分配する従来型処方と比較して、通常は患者の処方には含まれていない、患者パックに含まれる添付文書に患者が常にアクセス可能であるという点で利点を有する。添付文書を含めることが、医師の指示に対する患者のコンプライアンスを向上させることが示されている。

40

【0069】

局所及び経鼻送達用の組成物には、軟膏剤、クリーム剤、スプレー剤、パッチ、ゲル、点液(liquid drop)、及びインサート(例えば、眼球内インサート)が含まれる。そのような組成物は、公知の方法に従って製剤化することができる。

50

【0070】

直腸又は膣内投与用の製剤の例としては、例えば、活性化合物を含有する成形された型で成形可能な又はワックス状の材料から形成され得るペッサリー及び坐剤が挙げられる。活性化合物の溶液も、直腸内投与のために使用され得る。

【0071】

吸入による投与用の組成物は、吸入可能な粉末組成物又は液体もしくは粉末のスプレー剤の形態を採り得、粉末吸入装置又はエアロゾル分注装置を用いる標準的な形態で投与することができる。そのような装置は、周知である。吸入による投与には、粉末化製剤は、通常、活性化合物を、ラクトースなどの不活性固体粉末化希釈剤と共に含む。

【0072】

前記化合物は、一般的に、単位剤形で提供されるものであり、従って、通常、所望のレベルの生物活性を提供するのに十分な化合物を含有するものである。例えば、製剤は、1 ng～2 gの活性成分、例えば、1 ng～2 mgの活性成分を含有していてもよい。これらの範囲内で、化合物の特定の部分範囲は、0.1 mg～2 gの活性成分(より普通には、10 mg～1 g、例えば、50 mg～500 mg)、又は1 µg～20 mg(例えば、1 µg～10 mg、例えば、0.1 mg～2 mgの活性成分)である。

【0073】

経口組成物の場合、単位剤形は、1 mg～2 g、より典型的には、10 mg～1 g、例えば、50 mg～1 g、例えば、100 mg～1 gの活性化合物を含有していてもよい。

【0074】

活性化合物は、それを必要としている患者(例えば、ヒト患者又は動物患者)に、所望の治療効果を達成するのに十分な量で投与されるであろう。

【0075】

(治療の方法)

本発明のさらなる態様により、Pol θ阻害剤をそれを必要としている患者に投与することを含む、シールドイン欠損に関連するがん(特に、PARP阻害剤に抵抗性でもあるもの)を治療する方法が提供される。

【0076】

化合物は、一般に、そのような投与を必要とする対象、例えば、ヒト患者又は動物患者、特に、ヒトに投与される。

【0077】

化合物は、通常、治療的又は予防的に有用でありかつ概して無毒性である量で投与されるものである。しかしながら、特定の状況では(例えば、生命の危険がある疾患の場合には)、該化合物を投与することの利益が、何らかの有毒な作用又は副作用の不利な点を上回ることがあり、その場合、ある程度の毒性と関連する量で化合物を投与することが望ましいとみなされ得る。

【0078】

化合物は、有益な治療効果を維持するために長期にわたって投与され得、又は短い期間のみ投与され得る。あるいは、これは、連続的な様式で又は断続的な投薬を提供する様式(例えば、パルス状の様式)で投与され得る。

【0079】

体重1 kgあたりの化合物の典型的な一日量は、体重1 kgあたり100 pg～100 mg、より典型的には、体重1 kgあたり5 ng～25 mg、より普通には、1 kgあたり10 ng～15 mg(例えば、10 ng～10 mg、より典型的には、1 kgあたり1 µg～1 kgあたり20 mg、例えば、1 kgあたり1 µg～10 mg)の範囲とすることができるが、必要とされる場合にはより高い又はより低い用量が、投与され得る。化合物は、毎日又は、例えば、2日、もしくは3日、もしくは4日、もしくは5日、もしくは6日、もしくは7日、もしくは10日、もしくは14日、もしくは21日、もしくは28日毎の繰り返しで投与することができる。

【0080】

化合物は、例えば、1～1500 mg、2～800 mg、又は5～500 mg、例えば、2～200

10

20

30

40

50

mg又は10～1000mgの用量範囲で経口的に投与され得、用量の特定の例としては、10、20、50、及び80mgが挙げられる。化合物は、各日に1回又は2回以上投与され得る。化合物は、連続的に投与することができる(すなわち、治療レジメン期間全体にわたり休みなく毎日摂取される)。あるいは、化合物は、断続的に投与することができる(すなわち、治療レジメン期間の全体にわたって1週間などの所与の期間連続的に摂取され、次いで、1週間などの期間中断され、次いで、別の1週間などの期間連続的に摂取されるなどである)。断続的な投与を伴う治療レジメンの例としては、投与が、1周期以上、例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10周期、又はそれを超える周期にわたって、1週間の投与、1週間の休薬;又は2週間の投与、1週間の休薬;又は3週間の投与、1週間の休薬;又は2週間の投与、2週間の休薬;又は4週間の投与、2週間の休薬;又は1週間の投与、3週間の休薬の周期で繰り返されるレジメンが挙げられる。

10

【0081】

特定の一投薬スケジュールにおいて、患者は、最長で10日間、特に、最長で5日間にわたり、1週間にわたり毎日1時間の期間、化合物の輸液を受け、治療は、2～4週間などの所望の間隔で、特に、3週間毎に繰り返される。

【0082】

より特定のには、患者は、5日間にわたり毎日1時間の期間、化合物の輸液を受け、治療は、3週間毎に繰り返されるであろう。

【0083】

別の特定の投薬スケジュールにおいて、患者は、30分～1時間にわたる輸液を受け、それに続き、可変の期間、例えば、1～5時間、例えば、3時間の維持輸液を受ける。

20

【0084】

さらに特定の投薬スケジュールにおいて、患者は、12時間～5日間の期間の連続的な輸液、特に、24時間～72時間の連続的な輸液を受ける。

【0085】

別の特定の投薬スケジュールにおいて、患者は、化合物を経口的に週1回与えられる。

【0086】

別の特定の投薬スケジュールにおいて、患者は、化合物を経口的に7～28日、例えば、7、14、又は28日にわたり1日1回与えられる。

【0087】

別の特定の投薬スケジュールにおいて、患者は、化合物を経口的に1日、2日、3日、5日、又は1週間にわたり1日1回与えられ、それに必要な日数の休薬を続けて、1又は2週間の周期を完了する。

30

【0088】

別の特定の投薬スケジュールにおいて、患者は、化合物を経口的に2週間にわたり1日1回与えられ、2週間の休薬がそれに続く。

【0089】

別の特定の投薬スケジュールにおいて、患者は、化合物を経口的に2週間にわたり1日1回与えられ、1週間の休薬がそれに続く。

【0090】

別の特定の投薬スケジュールにおいて、患者は、化合物を経口的に1週間にわたり1日1回与えられ、1週間の休薬がそれに続く。

40

【0091】

しかしながら、最終的には、投与される化合物の量及び用いられる組成物の種類は、疾患の性質又は治療中の生理的条件に対応するものであり、医師の裁量によるものである。

【0092】

Pol θ 阻害剤を、単一の薬剤として又は他の抗癌剤と組み合わせて用いることができることが認識されるであろう。組合せの実験は、例えば、Chou TC, Talalay P.の文献、「用量効果関係の定量分析:複数薬物又は酵素阻害剤の併用効果(Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs

50

or enzyme inhibitors)」、Adv Enzyme Regulat 1984;22: 27-55に記載されるように行い得る。

【0093】

本明細書で定義される化合物は、唯一の治療薬剤として投与することができ、又はそれは、特定の疾患状態、例えば、本明細書において既に規定されたがんなどの腫瘍性疾患の治療のための1種以上の他の化合物(又は療法)との併用療法で投与することができる。上記の病態の治療には、有利には、本発明の化合物は、1種以上の他の薬剤と、より特定のには、がんの療法において他の抗がん剤又はアジュバント(療法における支援剤)と組み合わせて採用され得る。化合物と(同時にであろうと異なる時間間隔であろうと)共に投与され得る他の治療薬剤又は処置の例としては:

- ・トポイソメラーゼI阻害剤;
- ・代謝拮抗薬;
- ・チューブリン標的剤;
- ・DNA結合剤及びトポイソメラーゼII阻害剤;
- ・アルキル化剤;
- ・モノクローナル抗体;
- ・抗ホルモン;
- ・シグナル伝達阻害剤;
- ・プロテアソーム阻害剤;
- ・DNAメチルトランスフェラーゼ阻害剤;
- ・サイトカイン及びレチノイド;
- ・クロマチン標的療法;
- ・放射線療法;及び
- ・他の治療剤又は予防剤

が挙げられるが、これらに限定されない。

【0094】

抗がん剤又はアジュバント(又はその塩)の特定の例としては以下の群(i)~群(xlvii)、及び任意に群(xlviii):

- (i)白金化合物、例えば、シスプラチン(任意に、アミホスチンと併用)、カルボプラチン、又はオキサリプラチン;
- (ii)タキサン化合物、例えば、パクリタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子(Abraxane(商標))、ドセタキセル、カバジタキセル、又はラロタキセル;
- (iii)トポイソメラーゼI阻害剤、例えば、カンプトテシン化合物、例えば、カンプトテシン、イリノテカン(CPT11)、SN-38、又はトポテカン;
- (iv)トポイソメラーゼII阻害剤、例えば、抗腫瘍エポドフィロトキシン又はポドフィロトキシン誘導体、例えば、エトポシド、又はテニポシド;
- (v)ビンカアルカロイド、例えば、ビンブラスチン、ビンクリスチン、リポソームビンクリスチン(Onco-TCS)、ビノレルビン、ビンデシン、ビンフルニン、又はビンベシル(ビンベシル(vinvesir));
- (vi)ヌクレオシド誘導体、例えば、5-フルオロウラシル(5-FU、任意に、ロイコボリンと併用)、ゲムシタビン、カベシタビン、テガフル、UFT、S1、クラドリビン、シタラビン(Ara-C、シトシンアラビノシド)、フルダラビン、クロファラビン、又はネララビン;
- (vii)代謝拮抗薬、例えば、クロファラビン、アミノプテリン、又はメトトレキサート、アザシチジン、シタラビン、フロクスウリジン、ペントスタチン、チオグアニン、チオプリン、6-メルカプトプリン、又はヒドロキシ尿素(ヒドロキシカルバミド);
- (viii)アルキル化剤、例えば、ナイトロジェンマスタード又はニトロソウレアなど、例えば、シクロホスファミド、クロラムブシル、カルムスチン(BCNU)、ベンダムスチン、チオテパ、メルファラン、トレオスルファン、ロムスチン(CCNU)、アルトレタミン、ブスルファン、ダカルバジン、エストラムスチン、フォテムスチン、イホスファミド(任意にメスナと併用)、ピポブロマン、プロカルバジン、ストレプトゾシン、テモゾロミド、ウ

10

20

30

40

50

ラシル、メクロレタミン、メチルシクロヘキシルクロロエチルニトロスレア(methylcyclohexylchloroethylnitrosurea)、又はニムスチン(ACNU);

(ix)アントラサイクリン、アントラセンジオン、及び関連薬物、例えば、ダウノルビシン、ドキシソルビシン(任意にデクスラゾキサンと併用)、ドキシソルビシンのリポソーム製剤(例えば、Caelyx(商標)、Myocet(商標)、Doxil(商標))、イダルビシン、ミトキサントロン、エピルビシン、アムサクリン、又はバルルビシン;

(x)エポチロン、例えば、イクサベピロン、パツピロン、BMS-310705、KOS-862及びZK-EPO、エポチロンA、エポチロンB、デスオキシエポチロンB(別名:エポチロンD又はKOS-862)、アザエポチロンB(別名:BMS-247550)、アウリマリド(aulimalide)、イソラウリマリド、又はルエテロビン(luetherobin);

(xi)DNAメチルトランスフェラーゼ阻害剤、例えば、テモゾロミド、アザシチジンもしくはデシタビン、又はSGI-110;

(xii)葉酸代謝拮抗薬、例えば、メトトレキサート、ペメトレキセドニナトリウム、又はラルチトレキセド;

(xiii)細胞傷害性抗生物質、例えば、アンチノマイシンD、ブレオマイシン、マイトマイシンC、ダクチノマイシン、カルミノマイシン、ダウノマイシン、レバミソール、プリカマイシン、又はミスラマイシン;

(xiv)チューブリン結合剤、例えば、コンブレスタチン(combrestatin)、コルヒチン、又はノコダゾール;

(xv)シグナル伝達阻害剤、例えば、キナーゼ阻害剤など(例えば、EGFR(上皮成長因子受容体)阻害剤、VEGFR(血管内皮増殖因子受容体)阻害剤、PDGFR(血小板由来成長因子受容体)阻害剤、MTKI(マルチターゲットキナーゼ阻害剤)、Raf阻害剤、mTOR阻害剤、例えば、メシル酸イマチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、ダサチニブ、ラパチニブ、ドボチニブ(dovotinib)、アキシチニブ、ニロチニブ、バンデタニブ、バタリニブ(vatalinib)、パゾパニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、テムシロリムス、エベロリムス(RAD 001)、ベムラフェニブ(PLX4032/RG7204)、ダブラフェニブ、エンコラフェニブ、又はIKKキナーゼ阻害剤、例えば、SAR-113945、バルドキソロン、BMS-066、BMS-345541、IMD-0354、IMD-2560、もしくはIMD-1041など、又はMEK阻害剤、例えば、セルメチニブ(AZD6244)、及びトラメチニブ(GSK121120212)など);

(xvi)オーロラキナーゼ阻害剤、例えば、AT9283、バラセルチブ(barasertib)(AZD1152)、TAK-901、MK0457(VX680)、セニセルチブ(cenisertib)(R-763)、ダヌセルチブ(danuserib)(PHA-739358)、アリセルチブ(MLN-8237)、又はMP-470;

(xvii)CDK阻害剤、例えば、AT7519、ロスコビチン、セリシクリブ(seliciclib)、アルボシジブ(フラボピリドール)、ディナシクリブ(SCH-727965)、7-ヒドロキシ-スタウロスポリン(UCN-01)、JNJ-7706621、BMS-387032(別名:SNS-032)、PHA533533、PD332991、ZK-304709、又はAZD-5438;

(xviii)PKA/B阻害剤及びPKB(akt)経路阻害剤、例えば、AKT阻害剤、例えば、KRX-0401(ペリフォシン/NSC 639966)、イパタセルチブ(GDC-0068;RG-7440)、アフレセルチブ(GSK-2110183;2110183)、MK-2206、MK-8156、AT13148、AZD-5363、リン酸トリシリピン(VQD-002;リン酸トリシリピン-水和物(API-2;TCN-P;TCN-PM;VD-0002)、RX-0201、NL-71-101、SR-13668、PX-316、AT13148、AZ-5363、セマフォア(semaphore)、SF1126、もしくはエンザスタウリンHCl(LY317615)など、又はMTOR阻害剤、例えば、ラパマイシン類似物など、例えば、RAD 001(エベロリムス)、CCI 779(テムシロレムス(temsirolemus))、AP23573及びリダフォロリムス、シロリムス(もとはラパマイシンとして知られる)、AP23841及びAP23573など、カルモジュリン阻害剤、例えば、CBP-501(フォークヘッドトランスロケーション阻害剤)、エンザスタウリンHCl(LY317615)、又はPI3K阻害剤、例えば、ダクトリシブ(BEZ235)、ブパリシブ(BKM-120;NVP-BKM-120)、BYL719、コパンリシブ(BAY-80-6946)、ZSTK-474、CUDC-907、アピトリシブ(GDC-0980;RG-7422)、ピクトリシブ(ピクトレリシブ、GDC-0941、RG-7321)、GDC-0032、GDC-0068、G

10

20

30

40

50

SK-2636771、イデラリシブ(かつてのCAL-101、GS 1101、GS-1101)、MLN1117(INK1117)、MLN0128(INK128)、IPI-145(INK1197)、LY-3023414、イパタセルチブ、アフレセルチブ、MK-2206、MK-8156、LY-3023414、LY294002、SF1126もしくはPI-103、もしくはソノリシブ(sonolisib)(PX-866)など;

(xix)Hsp90阻害剤、例えば、AT13387、ハービマイシン、ゲルダナマイシン(GA)、17-アリルアミノ-17-デスメトキシゲルダナマイシン(17-AAG)、例えば、NSC-330507、Kos-953、及びCNF-1010、17-ジメチルアミノエチルアミノ-17-デスメトキシゲルダナマイシン塩酸塩(17-DMAG)、例えば、NSC-707545及びKos-1022、NVP-AUY922(VER-52296)、NVP-BEP800、CNF-2024(BIIB-021、経口プリン)、ガネテスピブ(STA-9090)、SNX-5422(SC-102112)、又はIPI-504;

(xx)モノクローナル抗体(放射性同位元素、毒素、又は他の薬剤にコンジュゲートしていないもの又はコンジュゲートしたもの)、抗体誘導体及び関連薬剤、例えば、抗CD、抗VEGFR、抗HER2、抗CTLA4、抗PD-1、又は抗EGFR抗体など、例えば、リツキシマブ(CD20)、オフアツムマブ(CD20)、イブリツモマブチウキセタン(CD20)、GA101(CD20)、トシツモマブ(CD20)、エブラツズマブ(CD22)、リンツズマブ(CD33)、ゲムツズマブオゾガマイシン(CD33)、アレムツズマブ(CD52)、ガリキシマブ(CD80)、トラスツズマブ(HER2抗体)、ペルツズマブ(HER2)、トラスツズマブ-DM1(HER2)、エルツマキシマブ(ertumaxomab)(HER2及びCD3)、セツキシマブ(EGFR)、パニツムマブ(EGFR)、ネシツムマブ(EGFR)、ニモツズマブ(EGFR)、ベバシズマブ(VEGF)、カツマクソマブ(EpCAM及びCD3)、アバゴボマブ(abagovomab)(CA125)、ファーレッツズマブ(葉酸受容体)、エロツズマブ(CS1)、デノスマブ(RANKリガンド)、フィギツムマブ(IGF1R)、CP751,871(IGF1R)、マバツズマブ(TRAIL受容体)、metMAB(met)、ミツモマブ(GD3ガングリオシド)、ナプツモマブ・エスタフェナトクス(5T4)、シルツキシマブ(IL6)、又は免疫調節剤、例えば、CTLA-4遮断抗体及び/もしくはPD-1もしくはPD-L1及び/もしくはPD-L2に対する抗体など、例えば、イピリムマブ(CTLA4)、MK-3475(ペンブロリズマブ、かつてのランブロリズマブ、抗PD-1)、ニボルマブ(抗PD-1)、BMS-936559(抗PD-L1)、MPDL320A、AMP-514もしくはMEDI4736(抗PD-L1)、もしくはトレメリムマブ(かつてのチシリムマブ(ticilimumab)、CP-675,206、抗CTLA-4);

(xxi)エストロゲン受容体アンタゴニスト又は選択的エストロゲン受容体調節薬(SERM)又はエストロゲン合成の阻害剤、例えば、タモキシフェン、フルベストラント、トレミフェン、ドロロキシフェン、フェソロデックス、又はラロキシフェン;

(xxii)アロマターゼ阻害剤及び関連薬、例えば、エキセメスタン、アナストロゾール、レトラゾール(letrozole)、テストラクトンアミノグルテチミド、ミトタン、又はボロゾールなど;

(xxiii)抗アンドロゲン薬(すなわち、アンドロゲン受容体アンタゴニスト)及び関連薬剤、例えば、ビカルタミド、ニルタミド、フルタミド、シプロテロン、又はケトコナゾール;

(xxiv)ホルモン及びその類似物、例えば、メドロキシプロゲステロン、ジエチルスチルベストロール(別名:ジエチルスチルポエストロール)又はオクトレオチドなど;

(xxv)ステロイド、例えば、プロピオン酸ドロモスタノロン、酢酸メゲストロール、ナンドロロン(デカノエート、フェンプロピオネート)、フルオキシメストロン(fluxymestron)、又はゴシポール、

(xxvi)ステロイド性シトクロムP450 17 α -ヒドロキシラーゼ-17,20-リアーゼ阻害剤(CYP17)、例えば、アビラテロン;

(xxvii)ゴナドトロピン放出ホルモンアゴニスト又はアンタゴニスト(GnRAs)、例えば、アバレリックス、酢酸ゴセレリン、酢酸ヒストレリン、酢酸ロイプロリド、トリプトレリン、ブセレリン、又はデスロレリン;

(xxviii)グルココルチコイド、例えば、プレドニゾン、プレドニゾロン、デキサメタゾン;

(xxix)分化誘導薬(differentiating agent)、例えば、レチノイド、レキシノイド、ビタミンD、又はレチノイン酸など、及びレチノイン酸代謝遮断剤(RAMBA)、例えば、ア

10

20

30

40

50

キュテイン、アリトレチノイン、ベキサロテン、又はトレチノイン；
(xxx)ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、例えば、ティピファニブ；
(xxxi)クロマチン標的療法、例えば、ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤など、例えば、パノビノスタット、レスミノスタット、アベキシノスタット、ボリノスタット、ロミデプシン、ベリノスタット、エンチノスタット、キシノスタット、プラシノスタット、テフィノスタット、モセチノスタット、ギビノスタット、CUDC-907、CUDC-101、ACY-1215、MGCD-290、EVP-0334、RG-2833、4SC-202、ロミデプシン、AR-42 (Ohio State University)、CG-200745、バルプロ酸、CKD-581、酪酸ナトリウム、スベロイルアニリドヒドロキサム酸(SAHA)、デプシペプチド(FR 901228)、ダシノスタット(NVP-LAQ824)、R306465/JNJ-16241199、JNJ-26481585、トリコスタチンA、クラミドシン、A-173、JNJ-MGCD-0103、PXD-101、又はアピシジン；
(xxxii)プロテアソーム阻害剤、例えば、ボルテゾミブ、カルフィルゾミブ、デランゾミブ(CEP-18770)、イキサゾミブ(MLN-9708)、オプロゾミブ(ONX-0912)、又はマリゾミブ；
(xxxiii)光線力学薬、例えば、ポルフィマーナトリウム又はテモポルフィン；
(xxxiv)海洋生物由来の抗癌剤、例えば、トラベクチジン(trabectedin)など；
(xxxv)例えば、ベータ粒子放出同位体(例えば、ヨウ素-131、イットリウム(Yttrium)-90)又はアルファ粒子放出同位体(例えば、ビスマス-213又はアクチンイウム-225)を用いる放射免疫療法のための放射標識薬物、例えば、イブリツモマブ又はヨウ素トシツモマブ；
(xxxvi)テロメラーゼ阻害剤、例えば、テロメスタチン；
(xxxvii)マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤、例えば、バチマスタット、マリマスタット、プリノスタット(prinostat)、又はメタスタット(metastat)；
(xxxviii)組換えインターフェロン(例えば、インターフェロン- γ 及びインターフェロン α など)及びインターロイキン(例えば、インターロイキン2)、例えば、アルデスロイキン、デニロイキンジフチトクス、インターフェロン α 2a、インターフェロン α 2b、又はペグインターフェロン α 2b；
(xxxix)選択的免疫応答モジュレーター、例えば、サリドマイド、又はレナリドミド；
(xl)治療型ワクチン、例えば、シプロイセル-T(プロベンジ)又はOncoVexなど；
(xli)サイトカイン活性化剤、ピシバニール、ロムルチド、シゾフィラン、ビルリジン、又はサイモシンなど；
(xlii)三酸化ヒ素；
(xliii)Gタンパク質共役型受容体(GPCR)の阻害剤、例えば、アトラセンタン；
(xliv)酵素、例えば、L-アスパラギナーゼ、ペグアスパルガーゼ、ラスブリカーゼ、又はペガデマーゼなど；
(xlv)DNA修復阻害剤、例えば、PARP阻害剤など、例えば、オラパリブ、ベラパリブ(velaparib)、イニパリブ、ルカパリブ(AG-014699もしくはPF-01367338)、タラゾパリブ、又はAG-014699；
(xlvi)DNA損傷応答阻害剤、例えば、ATM阻害剤AZD0156 MS3541、ATR阻害剤AZD6738、M4344、M6620 wee1阻害剤AZD1775など；
(xlvii)デスレセプター(例えば、TNF関連アポトーシス誘導リガンド(TRAIL)受容体)のアゴニスト、例えば、マパツズマブ(かつてのHGS-ETR1)、コナツムマブ(かつてのAMG 655)、PRO95780、レクサツムマブ、デュラネルミン、CS-1008、アポマブなど、又は組換えTRAILリガンド、例えば、組換えヒトTRAIL/Apo2リガンドなど；
(xlviii)予防剤(補助剤)；すなわち、化学療法剤に関連する副作用の一部を低減又は軽減させる薬剤、例えば
-制吐剤、
-化学療法関連好中球減少症を予防又はその期間を低減し、かつ減少したレベルの血小板、赤血球、又は白血球細胞から生じる合併症を予防する薬剤、例えば、インターロイキン-11(例えば、オプレルベキン)、エリスロポエチン(EPO)及びその類似物(例えば、ダル

10

20

30

40

50

ベポエチンアルファ)、コロニー刺激因子類似体、例えば、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)(例えば、サルグラモスチム)など、及び顆粒球-コロニー刺激因子(G-CSF)及びその類似物(例えば、フィルグラスチム、ペグフィルグラスチム)、

- 骨吸収を阻害する薬剤、例えば、デノスマブ又はビスホスホネートなど、例えば、ゾレドロネート、ゾレドロン酸、パミドロネート、及びイバンドロネート、
- 炎症反応を抑制する薬剤、例えば、デキサメタゾン、プレドニゾン、及びプレドニゾロンなど、
- 先端巨大症又は他のまれなホルモン産生腫瘍の患者において成長ホルモン並びにIGF-I(及び他のホルモン)の血中レベルを減少させるのに用いられる薬剤、例えば、ホルモンソマトスタチンの合形成態など、例えば、酢酸オクトレオチド、
- 葉酸のレベルを低減させる薬物に対する解毒薬、例えば、ロイコボリン又はフォリン酸など、
- 疼痛のための薬剤、例えば、オピエート、例えば、モルヒネ、ジアモルヒネ、及びフェンタニルなど、
- 非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、例えば、COX-2阻害剤など、例えば、セレコキシブ、エトリコキシブ、及びルミラコキシブ、
- 粘膜炎のための薬剤、例えば、パリフェルミン、
- 食欲不振、悪液質、浮腫、又はスロモエンボリックエピソード(thromboembolic episode)を含む副作用の治療のための薬剤、例えば、酢酸メゲストロールなど

から選択される薬剤のいずれかが挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

【0095】

一実施態様において、抗がん剤は、組換えインターフェロン(例えば、インターフェロン- γ 及びインターフェロン α など)及びインターロイキン(例えば、インターロイキン2)、例えば、アルデスロイキン、デニロイキンジフチトクス、インターフェロン α 2a、インターフェロン α 2b、又はペグインターフェロン α 2b;インターフェロン- α 2(500 μ /ml)、特に、インターフェロン- β ;並びにシグナル伝達阻害剤、例えば、キナーゼ阻害剤(例えば、EGFR(上皮成長因子受容体)阻害剤、VEGFR(血管内皮増殖因子受容体)阻害剤、PDGFR(血小板由来成長因子受容体)阻害剤、MTKI(マルチターゲットキナーゼ阻害剤)、Raf阻害剤、mTOR阻害剤、例えば、メシル酸イマチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、ダサチニブ、ラパチニブ、ドボチニブ(dovotinib)、アキシチニブ、ニロチニブ、バンデタニブ、バタリニブ(vatalinib)、パゾパニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、テムシロリムス、エベロリムス(RAD 001)、ベムラフェニブ(PLX4032/RG7204)、ダブラフェニブ、エンコラフェニブ、又はI κ Bキナーゼ阻害剤、例えば、SAR-113945、バルドキシロン、BMS-066、BMS-345541、IMD-0354、IMD-2560、もしくはIMD-1041など、又はMEK阻害剤、例えば、セルメチニブ(AZD6244)及びトラメチニブ(GSK121120212)など、特に、Raf阻害剤(例えば、ベムラフェニブ)又はMEK阻害剤(例えば、トラメチニブ)などから選択される。

30

【0096】

本発明の組合せ中に存在するは化合物のそれぞれは、個々に変化する投薬スケジュールで種々の経路によって投与され得る。従って、2つ以上薬剤のそれぞれの用法・用量は、異なってもよく;それぞれは、同時に又は異なる時点に投与され得る。当業者は、その一般常識によって、用いるべき投薬計画及び組合せ療法を知っているであろう。例えば、本発明の化合物は、それらの既存の組合せレジメンにより投与される1種以上の他の薬剤と組み合わせて用いられ得る。標準的な組合せレジメンの例を、以下に示す。

40

【0097】

タキサン化合物は、有利には、治療過程ごとに、体表面積1平方メートルあたり50~400mg(mg/m²)、例えば、75~250mg/m²の投薬量で、特に、パクリタキセルについては、約175~250mg/m²の投薬量で、ドセタキセルについては約75~150mg/m²で投与される。

【0098】

50

カンプトテシン化合物は、有利には、治療過程ごとに、体表面積1平方メートルあたり0.1~400mg(mg/m^2)の投薬量で、例えば、1~300mg/ m^2 、特に、イリノテカンについては、約100~350mg/ m^2 の投薬量で、トポテカンについては、約1~2mg/ m^2 で投与される。

【0099】

抗腫瘍ポドフィロトキシン誘導体は、有利には、治療過程ごとに、体表面積1平方メートルあたり30~300mg(mg/m^2)、例えば、50~250mg/ m^2 の投薬量で、特に、エトポシドについては、約35~100mg/ m^2 の投薬量で、テニポシドについては、約50~250mg/ m^2 で投与される。

【0100】

抗腫瘍ビンカルカロイドは、有利には、治療過程ごとに、体表面積1平方メートルあたり2~30mg(mg/m^2)の投薬量で、特に、ピンブラスチンについては、約3~12mg/ m^2 の投薬量で、ピンクリスチンについては、約1~2mg/ m^2 の投薬量で、ビノレルビンについては、約10~30mg/ m^2 の投薬量で投与される。

【0101】

抗腫瘍ヌクレオシド誘導体は、有利には、治療過程ごとに、体表面積1平方メートルあたり200~2500mg(mg/m^2)の投薬量で、例えば、700~1500mg/ m^2 、特に、5-FUについては、200~500mg/ m^2 の投薬量で、ゲムシタビンについては、約800~1200mg/ m^2 の投薬量で、カペシタビンについては、約1000~2500mg/ m^2 で投与される。

【0102】

ナイトロジェンマスタード又はニトロソウレアなどのアルキル化剤は、有利には、治療過程ごとに、体表面積1平方メートルあたり100~500mg(mg/m^2)、例えば、120~200mg/ m^2 の投薬量で、特に、シクロホスファミドについては、約100~500mg/ m^2 の投薬量で、クロラムブシルについては、約0.1~0.2mg/kgの投薬量で、カルムスチンについては、約150~200mg/ m^2 の投薬量で、ロムスチンについては、約100~150mg/ m^2 の投薬量で投与される。

【0103】

抗腫瘍アントラサイクリン誘導体は、有利には、治療過程ごとに、体表面積1平方メートルあたり10~75mg(mg/m^2)、例えば、15~60mg/ m^2 の投薬量で、特に、ドキソルビシンについては、約40~75mg/ m^2 の投薬量で、ダウノルビシンについては、約25~45mg/ m^2 の投薬量で、イダルビシンについては、約10~15mg/ m^2 の投薬量で投与される。

【0104】

抗エストロゲン剤は、有利には、個々の薬剤及び治療中の病態に応じて1日あたり約1~100mgの投薬量で投与される。タモキシフェンは、有利には、1日2回、5~50mg、特に、10~20mgの投薬量で経口投与され、治療効果を達成し維持するのに十分な時間この療法が継続される。トレミフェンは、有利には、1日1回、約60mgの投薬量で経口投与され、治療効果を達成し維持するのに十分な時間この療法が継続される。アナストロゾールは、有利には、1日1回、約1mgの投薬量で経口投与される。ドロロキシフェンは、有利には、1日1回、約20~100mgの投薬量で経口投与される。ラロキシフェンは、有利には、1日1回、約60mgの投薬量で経口投与される。エキセメスタン、有利には、1日1回、約25mgの投薬量で経口投与される。

【0105】

抗体は、有利には、体表面積1平方メートルあたり約1~5mg(mg/m^2)の投薬量で、又は異なる場合には当技術分野において公知の投薬量で投与される。トラスツズマブは、有利には、治療過程ごとに、体表面積1平方メートルあたり1~5mg(mg/m^2)、特に、2~4mg/ m^2 の投薬量で投与される。

【0106】

化合物が、1、2、3、4種、又はそれを超える他の治療薬剤(特に、1種又は2種、より特定のには、1種)との併用療法で投与される場合、該化合物は、同時に又は順次投与す

10

20

30

40

50

ることができる。後者の場合、該2つ以上の化合物は、有利な効果又は相乗効果を達成することを確実にするのに十分な期間の範囲内かつ量及び様式で投与される。順次投与される場合、それらは、短い間隔で(at closely spaced intervals)(例えば、5～10分の期間で)又はより長い間隔で(例えば、1、2、3、4時間又はそれを超える時間あけて、もしくはは必要とされる場合にはさらに長い期間あけて)投与することができ、厳密な投薬計画は、治療薬剤(複数可)の性質に相応するものである。これらの投薬は、例えば、治療過程ごとに1回、2回、又はそれを超えて実施され得、これは、例えば、7、14、21、又は28日毎に繰り返され得る。

【0107】

一実施態様において、療法における使用のための医薬品の生産のための化合物であって、1、2、3、又は4種の他の治療薬剤と組み合わせて用いられる、前記化合物が提供される。別の実施態様において、化合物を含むがんを治療するための医薬品であって、1、2、3、又は4種の他の治療薬剤と組み合わせて用いられる、前記医薬品が提供される。本発明は、がんを患う患者における奏効率を高める又は増すための医薬品の生産のための化合物の使用であって、該患者が、1、2、3、又は4種の他の治療薬剤で治療中である、前記使用をさらに提供する。

10

【0108】

詳細な投与の方法及び順序並びに組合せの各成分のそれぞれの投薬の量及び治療計画は、投与されている個々の他の薬剤及び本発明の化合物、それらの投与経路、治療中の個々の腫瘍、並びに治療中の個々の宿主次第であることが認識されるであろう。最適な投与の方法及び順序並びに投薬の量及び治療計画は、当業者によって、従来の方法を用いて本明細書に記載される情報を考慮して容易に決定されることができる。

20

【0109】

組合せとして投与される場合の、本発明による化合物と前記1つ以上の他の抗癌剤(複数可)との重量比は、当業者によって決定され得る。当該比並びに厳密な投薬量及び投与頻度は、当業者にとって周知であるように、用いられる個々の本発明による化合物及び他の抗癌剤(複数可)、治療中の個々の病態、治療中の病態の重症度、年齢、体重、性別、食事、投与の時間、及び個々の患者の全身健康状態、投与様式、並びに当該個体が摂取している可能性のある他の薬物次第である。さらに、有効な1日量が、治療される対象の反応次第でかつ/又は本発明の化合物を処方する医師の評価次第で減少又は増加され得ることが明らかである。本化合物と別の抗癌剤の特定の重量比は、1/10～10/1、より特定のには、1/5～5/1、さらにより特定のには、1/3～3/1の範囲であり得る。

30

【0110】

また、本発明の化合物は、放射線療法、光線力学的療法、遺伝子療法;外科手術、及び制限食などの非化学療法治療と併用して投与される。

【0111】

また、本発明の化合物は、放射線療法化学療法のために腫瘍細胞を感作させるという治療的応用を有する。従って、本発明の化合物を、「放射線増感剤」及び/又は「化学療法増感剤」として用いることができ、又は別の「放射線増感剤」及び/又は「化学療法増感剤」と組み合わせて投与することができる。一実施態様において、本発明の化合物は、化学療法増感剤としての使用のためのものである。

40

【0112】

「放射線増感剤」という用語は、細胞の電離放射線に対する感受性を増加させるためかつ/又は電離放射線で治療可能な疾患の治療を促進するために治療有効量で患者に投与される分子として定義される。

【0113】

「化学療法増感剤」という用語は、細胞の化学療法に対する感受性を増加させるためかつ/又は化学療法剤で治療可能な疾患の治療を促進するために治療有効量で患者に投与される分子として定義される。

【0114】

50

一実施態様において、本発明の化合物は、「放射線増感剤」及び/又は「化学療法増感剤」と共に投与される。一実施態様において、本発明の化合物は、「免疫増感剤」と共に投与される。

【0115】

「免疫増感剤」という用語は、細胞のPolθ阻害剤に対する感受性を増加させるために治療有効量で患者に投与される分子と定義される。

【0116】

多くのがん治療プロトコールが、X線の放射と併用して放射線増感剤を現在採用している。X線活性化放射線増感剤の例としては、以下:メトロニダゾール、ミソニダゾール、デスメチルミソニダゾール、ピモニダゾール、エタニダゾール、ニモラゾール、マイトマイシンC、RSU 1069、SR 4233、EO9、RB 6145、ニコチンアミド、5-プロモデオキシウリジン(BUdR)、5-ヨードデオキシウリジン(IUdR)、プロモデオキシシチジン、フルオロデオキシウリジン(FudR)、ヒドロキシ尿素、シスプラチン、並びにこれらの治療上有効な類似体及び誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0117】

がんの光線力学的療法(PDT)は、増感剤の放射線活性化因子として可視光を採用している。光線力学的放射線増感剤の例としては、以下:ヘマトポルフィリン誘導体、フォトフリン、ベンゾポルフィリン誘導体、スズエチオポルフィリン、フェオボルビド-a(pheoborbide-a)、バクテリオクロロフィル-a、ナフタロシアニン、フタロシアニン、亜鉛フタロシアニン、並びにこれらの治療上有効な類似体及び誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0118】

放射線増感剤は、これらに限定されないが:本発明の化合物;放射線増感剤の標的細胞への組み込みを促進する化合物;標的細胞への治療用物質、栄養素、及び/又は酸素の流れを制御する化合物;追加の放射線を伴って又は伴わずに腫瘍に対して作用する化学療法剤;又はがん又は他の疾患を治療するための他の治療上有効な化合物などの治療的有效量の1つ以上の他の化合物と併用して投与され得る。

【0119】

化学療法増感剤は、これらに限定されないが:本発明の化合物;化学療法増感剤の標的細胞への組み込みを促進する化合物;標的細胞への治療用物質、栄養素、及び/又は酸素の流れを制御する化合物;腫瘍に対して作用する化学療法剤、又はがん又は他の疾患を治療するための他の治療上有効な化合物などの治療的有效量の1つ以上の他の化合物と併用して投与され得る。カルシウムアンタゴニスト、例えば、ベラパミルは、抗悪性腫瘍剤との組み合わせで、受け入れられている化学療法剤に抵抗性の腫瘍細胞における化学療法感受性を確立すること及び薬物感受性悪性腫瘍においてそのような化合物の有効性を増強することに有用であることが分かっている。

【0120】

免疫増感剤の例としては、以下:免疫調節剤、例えば、モノクローナル抗体、例えば、免疫チェックポイント抗体など[例えば、CTLA-4遮断抗体並びに/又はPD-1及びPD-L1及び/もしくはPD-L2に対する抗体、例えば、イピリムマブ(CTLA4)、MK-3475(ペンブロリズマブ、かつてのランブロリズマブ、抗PD-1)、ニボルマブ(抗PD-1)、BMS-936559(抗PD-L1)、MPDL320A、AMP-514、もしくはMEDI4736(抗PD-L1)、又はトレメリムマブ(かつてのチシリムマブ(ticilimumab)、CP-675,206、抗CTLA-4)];又はシグナル伝達阻害剤;又はサイトカイン(例えば、組換えインターフェロンなど);又は腫瘍溶解性ウイルス;又は免疫アジュバント(例えば、BCG)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0121】

免疫増感剤は、これらに限定されないが:本発明の化合物;免疫増感剤の標的細胞への組み込みを促進する化合物;標的細胞への治療用物質、栄養素、及び/又は酸素の流れを制御する化合物;腫瘍に作用する治療薬剤、又はがん又は他の疾患を治療するための他の治療

上有効な化合物などの治療的有効量の1つ以上の他の化合物と併用して投与され得る。

【0122】

別の化学療法剤との併用療法における使用には、化合物及び1、2、3、4種、又はそれを超える他の治療薬剤を、例えば、2、3、4種、又はそれを超える治療薬剤を含有する剤形中に、すなわち、全ての薬剤を含有する単一の医薬組成物中に一緒に製剤化することができる。別の実施態様において、個々の治療薬剤は、個別に製剤化され、任意に、それらの使用のための説明書を含むキットの形態で、一緒に提供され得る。

【0123】

一実施態様において、化合物と1種以上(例えば、1又は2種)の他の治療薬剤(例えば、上述のような抗癌剤)との組合せが提供される。さらなる実施態様において、本明細書に記載されるPolθ阻害剤と:アピトリシブ、ブパリシブ、コパンリシブ、ピクチリシブ、ZSTK-474、CUDC-907、GSK-2636771、LY-3023414、イパタセルチブ、アフレセルチブ、MK-2206、MK-8156、イデラリシブ、BEZ235(ダクトリシブ)、BYL719、GDC-0980、GDC-0941、GDC-0032、及びGDC-0068から選択されるPI3K/AKT経路阻害剤との組合せが提供される。

【0124】

別の実施態様において、療法における、例えば、がんの予防又は治療における使用のための1種以上(例えば、1又は2種)の他の治療薬剤(例えば、抗癌剤)との組み合わせで化合物が提供される。

【0125】

一実施態様において、医薬組成物は、化合物を、医薬として許容し得る担体及び、任意に、1種以上の治療薬剤(複数可)と共に含む。

【0126】

別の実施態様において、本発明は、腫瘍細胞の成長を阻害するための医薬組成物の生産における本発明による組合せの使用に関する。

【0127】

さらなる実施態様において、本発明は、化合物及び1種以上の抗癌剤を、がんを患う患者の治療における同時、別々、又は逐次の使用のための組み合わせ調製物として含有する製品に関する。

【0128】

シールディン喪失が、HR非欠損状況(HR-proficient setting)において有効なPolθ阻害剤患者選択バイオマーカーとなることを示す証拠が本明細書で提供される(実施例5～7及び図5～7を参照されたい)。

【0129】

シールディン喪失が、HR欠損かつPARP抵抗性の状況において有効なPolθ阻害剤患者選択バイオマーカーとなることを示す証拠も本明細書で提供される(実施例8～12及び図8～12を参照されたい)。

【0130】

シールディン喪失が、HR欠損かつPARP感受性の状況において有効なPolθ阻害剤患者選択バイオマーカーとなることを示す証拠も本明細書で提供される(実施例13及び図13を参照されたい)。

【0131】

シールディン喪失が、Polθ阻害剤とPARP阻害剤との組合せでの治療に有効なバイオマーカーとなることを示す証拠も本明細書で提供される(実施例14及び図14を参照されたい)。

【実施例】

【0132】

(実施例)

ここで、本発明を、以下の非限定的な例を参照して説明する:

【0133】

10

20

30

40

50

(材料及び方法)

【0134】

(細胞株及び細胞培養)

細胞を、通常の増殖条件(37℃、5% CO₂)下で培養し、80%コンフルエントで継代した。全ての細胞株を、それらの組織起源、相同組換え(HR)状態、培養培地、及び供給源とともに表1に示す。

(表1:細胞株情報)

【表1】

細胞株	組織	HR 状態	培養培地	供給源
SUM149 (親株、 REV7 KO, 及び C20orf196 KO)	乳房	BRCA1 遺伝子の 機能喪失型 変異を原因として 欠陥あり	ハムのF-12培地(Gibco)、 5%熱失活FBS (Sigma- Aldrich)、10 µg/mL インスリン (Sigma- Aldrich)、0.5 µg/mL ヒドロコルチゾン(Sigma- Aldrich)、及びペニシリン /ストレプトマイシン(Gibco)。	Noordermeer らの文献、 Nature (2018) 560, 117-121/ Asterand
MDA-MB- 436	乳房	BRCA1 遺伝子の 喪失を原因として 欠陥あり	RPMI1640 培地 (PAN- Biotech)、10% FBS (PAN- Biotech)。	ATCC
HCC1935	乳房	BRCA1 遺伝子の 喪失を原因として 欠陥あり	RPMI1640 培地 (PAN- Biotech)、10% FBS (PAN- Biotech)。	ATCC
22Rv1	前立腺	非欠損	RPMI1640 培地 (PAN- Biotech)、10% FBS (PAN- Biotech)。	ATCC
HEK293	胎児腎臓	非欠損	MEM Eagle 培地 (PAN-Biotech)、10% FBS (PAN-Biotech)。	ATCC
HCT116 (野生型、 LIG4 ^{-/-} ,	結腸	非欠損	RPMI1640 培地 (PAN- Biotech)、10% FBS (PAN- Biotech)。	Horizon Discovery

10

20

30

40

<i>XRCC4^{-/-}</i> , 及び <i>XLF^{-/-}</i>)				
HCC1937	乳房	BRCA1の機能 喪失型変異を 原因として欠陥 あり	RPMI1640 培地 (PAN- Biotech)、10% FBS (PAN- Biotech)。	ATCC
CAL51	乳房	非欠損	高グルコース及び GlutaMAX 補完 DMEM (Gibco、Thermo Fisher Scientific)、1% ペニシリン-ストレプトマイシン (Thermo Fisher Scientific)、 10% 熱不活化 FBS (Gibco)	DSMZ
RPE TP53-/- BRCA1 -/-	網膜上皮	BRCA1の遺伝子 欠失を原因として 欠陥あり	高グルコース及び GlutaMAX 補完 DMEM (Gibco、Thermo Fisher Scientific)、1% ペニシリン-ストレプトマイシン (Thermo Fisher Scientific)、 10% 熱不活化 FBS (Gibco)	Noordermeer らの文献、 Nature (2018) 560、 117-121、 D. Durocher から提供 されたもの

10

20

30

略語:HR:相同組換え、FBS:ウシ胎仔血清

【0135】

親株SUM149乳がん細胞は、BRCA1遺伝子の機能喪失型変異を原因として相同組換え修復を自然に欠損している。C20orf196 SUM149細胞は、シールドイン成分であるC20orf196(SHLD1)の遺伝子欠失を有するSUM149の派生株である(Noordermeerらの文献、Nature(2018)560、117-121/Asterand)。

【0136】

SUM149乳がん細胞及び派生株SUM149細胞株であるC20orf196 SUM149を、通常の増殖条件(37℃、5% CO₂)下で培養し、80%コンフルエントで継代した。増殖培地は、5%熱失活胎仔ウシ血清(FBS)(Sigma-Aldrich)、10 µg/mLインスリン(Sigma-Aldrich)、0.5 µg/mLヒドロコルチゾン(Sigma-Aldrich)、及びペニシリン/ストレプトマイシン(Gibco)を補完したハムのF-12培地(Gibco)からなっていた。

【0137】

MDA-MB-436、HCC1395、及び22Rv1細胞株におけるREV7 KO及びSHLD2 KOクローンは、Oxford Geneticsによってそのパイプラインに記載されているように作製された。簡単に述べると、CRISPR/Cas9用の合成ガイドRNA(sgRNA)を、目的遺伝子の重要な翻訳領域エクソンを特異的に標的とするように設計した。編集された遺伝子を有

40

50

する細胞のプールを、sgRNA複合体のCRISPR/Cas9タンパク質との一過性コトランスフェクションによって作製した。個々の細胞を単離し、標的エクソンを、Sangerシーケンシングによって配列決定した。全てのアレルにアウトオブフレーム挿入/欠失を有する選択されたクローンを増殖させ、PCR及びそれに続くハイスループットシーケンシングによって検証した。また、REV7タンパク質の喪失も、ウエスタンブロットによって検証した。1つのREV7 KO 22Rv1クローン及び3つのSHLD2 KO HCC1395及びMDA-MB-436クローンが作製された。

【0138】

(チューモロイド(tumouroid)アッセイ)

細胞を、384ウェルハイコンテントイメージングマイクロプレート内の10%ラット尾コラーゲン(OcellO)を含有するヒドロゲル中に、示差的増殖特性を補償するための様々な密度で播種した(表2)。

【0139】

(表2:細胞播種密度)

【表2】

SUM149 細胞株	1ウェルあたりに播種された細胞の数
親株	2250
C20orf196 KO	3000
REV7 KO	2250

【0140】

播種から24時間後、試験化合物及びオラパリブ(Selleckchem)を、1/3段階希釈を用いて8点の用量範囲で添加した(REV7 KO細胞実験の30 μ Mの化合物Aを除き、全ての化合物について最高濃度12 μ M)。ジメチルスルホキシド(DMSO)処置及び1 μ Mスタウロスポリン(Med Chem Express)処置を、それぞれ、陰性対照及び陽性対照として含めた。すべての処置は、四連で行われた。

【0141】

20orf196 KO及びREV7 KOの実験についてそれぞれ7又は14日間の処置の後に、細胞を、5×Fix & Stain溶液(OcellO)で16時間4°Cで固定して、Hoechst 33258を用いて核及びローダミン・ファロイジンを用いてアクチン細胞骨格の双方を染色した。細胞を、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)で4回洗浄し、プレートを画像化し、OcellOの三次元的画像解析ソフトウェア(Ominer)を用いて解析した。各ウェルについて、2チャンネルの16ビット画像スタックを、4倍/0.2NA PlanApo対物レンズを取り付けた自動顕微鏡システム:Molecular Devices ImageXpress Micro XLSを用いて集めた。各画像スライス(n=47)について、ピクセルサイズは、0.324 μ mであり、z-方向のステップ幅は、50 μ mであった。

【0142】

(DNA修復基質作製)

染色体外MMEJ/NHEJアッセイDNA基質を、Wyattらの文献(Mol. Cell(2016)63、662-673)に記載されているように作製して、両側に末端の相補的な4ntマイクロホモロジーを有する45ヌクレオチドのssDNAオーバーハングがある中央dsDNA領域を含むDNA分子を作製した。

【0143】

非付着DSBのcNHEJ媒介修復を検出するレポーター(図4)は、Bennardoらの文献、PLoS Genet、(2008)4(6):e1000110に記載されている「EJ5」レポーターベースのものである。この変形では、GFPオープンリーディングフレームが、NanoLuciferase(Promega)によって置き換えられており、かつDSBに隣接するI-SceI認識部位が、これらが相補的ではなく、かつライゲーションされるのに細胞内プロセスを必要とすることを

確実にするように反対の極性を有している。この構築体は、GeneWizによって合成され、既存の5' KpnI及び3' XhoI制限部位を用いてpcDNA5/FRT内にサブクローニングされた。このトランスフェクションの準備ができた基質を、I-SceI消化及びゲル精製によって作製した(Qiagen)。

【0144】

平滑DSB(blunt DSB)のcNHEJ媒介修復を検出するレポーターは、英国特許出願第1909439.0号(その内容は、引用により本明細書に組み込まれている)に記載されている。簡単に述べると、トランスフェクションの準備ができた基質は、アガロースゲル電気泳動によってベクター骨格から分離され、ゲル抽出(Qiagen)によって精製されたEcoRV切断平滑末端断片を含む。EcoRV部位は、NanoLuciferaseオープンリーディングフレーム内にあり、従って、細胞修復後にインタクトなORFを維持するのに、末端処理を伴わないcNHEJ-媒介ライゲーションを必要とする。

【0145】

(染色体外MMEJ/NHEJアッセイ)

本アッセイは、DNA基質の脂質媒介トランスフェクションを用いるように変更して、Wyattらの文献(Mol. Cell(2016)63、662-673)に記載のように行われた。500,000個のHCC1937細胞を、ゆるく蓋をした15mlチューブ内で0.1% DMSOと37℃でインキュベートした。その後、細胞を、500ngのFireFlyルシフェラーゼプラスミド及び2.5µgのMMEJ/NHEJ DNA基質でトランスフェクションした。トランスフェクションは、JetPRIME(Polyplus)を製造業者の説明書に従い用いるリポフェクションによって行われた。簡単に述べると、DNA及びトランスフェクション試薬を、200µLトランスフェクションバッファー中1µg:2µLの比率で混合し、室温で10分インキュベートしてから、細胞に添加した。トランスフェクションを行った細胞を、6ウェルプレート内の0.1% DMSOを含有する最終体積が2mLの培地中に播種し、37℃で24時間インキュベートした。細胞を、トリプシン処理によって回収し、PBSで1回洗浄した。その後、細胞を、HBSS中12.5U/mLのベンゾナーゼ中で15分間37℃でインキュベートした。細胞を、PBS中で2回洗浄した。ゲノムDNAを、DNA Mini Kit(Qiagen)を製造業者の説明書の通りに用いて抽出した。MMEJを検出するために、PCRを、KOD Hotstart Polymerase Kit (Merck)を製造業者の説明書のとおり用いて行った。1反応あたり100ngのゲノムDNAを添加した。プライマー配列

【化2】

(順方向 5' CTTACGTTTGATTTCCCTGACTATACAG-3' (配列番号 1),

逆方向 5'-AGCAGGGTAGCCAGTCTGAGATGGG-3' (配列番号 2))

。MMEJ及びNHEJの産物をコードするプラスミドを、対照として含めた。PCR反応は、以下のプログラム:95℃で2分、[95℃で20秒、64℃で10秒、70℃で10秒]×35サイクル、70℃で1分、4℃で保持を用いてエッペンドルフサーモサイクラー内で行われた。試料は、6% TBEゲル(Invitrogen)上で分離させた。ゲルを、TBE中の1×SYBR Safe (Invitrogen)中で5分間室温でインキュベートし、Amersham AI600撮像装置を用いて画像化した。

【0146】

(染色体外NanoLuciferase NHEJレポーターアッセイ)

細胞を、トリプシン処理によって回収し、DPBS(PAN Biotech)で洗浄し、新鮮な培地中に再懸濁させ、計数した。200,000個の細胞を、400×gで5分間遠心分離し、NanoLuciferase DNA基質及びFireFlyルシフェラーゼプラスミド(Promega)を含有する20µLの補完SEヌクレオフェクション溶液(Lonza)中に再懸濁させた。

【0147】

HCT116細胞(野生型及びNHEJ欠損)に対しては、レポーター基質の対照プラスミドに対する比は、1µg NanoLuciferase基質:400ng FireFlyプラスミドであった。HCC

1937細胞に対しては、この比は、103.9ng NanoLuciferase基質:400ng FireFlyプラスミドであった。

【0148】

細胞を、キュベットに移し、4Dヌクレオフェクター(nucleofector)Xユニット(Lonza)でプログラムEN-113(HCT116)又はEN-138(HCC1937)を用いて電気穿孔を行い、新鮮な培地中に回収して、250,000細胞/mLの最終密度とした。1ウェルあたり20,000個の細胞(80μLの懸濁液)を、白色96ウェルマイクロプレート(Costar 3610)中に播種し、24時間37℃でインキュベートした。

【0149】

FireFly及びNanoLuciferaseレベルを、Nano-Glo(登録商標)Dual-Luciferase(登録商標) Reporter Assay系(Promega)を製造業者の説明書のとおりを用いて検出し、発光を、製造業者のプロトコル「FireFly」及び「NanoLuciferase」を用いてClariostarプレートリーダー(BMG Labtech)で測定した。各ウェルにおいて、NanoLuciferaseシグナルを、細胞密度及びトランスフェクション効率双方の尺度として役立つFireFlyシグナルに対して規格化した。

【0150】

(ウエスタンブロット)

HCT116細胞を、標準的なLaemmliバッファーに溶解させ、100℃で10分間煮沸し、27Gの針で機械的に剪断した。タンパク質濃度を、BCAアッセイ(Thermo)を用いて測定した。溶解物を、β-メルカプトエタノールを含有するタンパク質ローディング色素(Life Technologies)と合わせ、4~12%のビス-Trisタンパク質ゲル(Thermo)上で150Vで70分間電気泳動させた。タンパク質を、iBlot 2 Gel Transfer Device(Thermo)及び予め設定されているプログラムP3を用いて0.2μmニトロセルロースメンブレン(Thermo)上に移した。総蛋白を、ポンソーS(Sigma)中での短時間のインキュベーションによって可視化し、Amersham AI600撮像装置で画像化した。膜を、5% BSAを含有する0.1% Tween 20 (TBST)を含有するTBSバッファー中で2時間室温でインキュベートし、その後、一次抗体と共に1晩4℃でインキュベートした。膜をTBST中で2回洗浄し、その後、二次抗体中で1時間室温でインキュベートした。膜をTBST中で4回洗浄し、ECL検出試薬(GE Healthcare)を重ね、Amersham AI600撮像装置内で露光させた。以下の抗体を、ウエスタンブロットに用いた:LIG4(Abcam ab193353)、XLF(Abcam ab33499)、XRCC4(SCBT sc-271087)、ヤギ抗マウスIgG-HRP(Thermo 31430)、ヤギ抗ウサギIgG-HRP(Thermo 31460)。一次抗体及び二次抗体は、それぞれ、5% BSA中に1:1000及び1:2000で希釈した。

【0151】

(CRISPR KOスクリーニング)

CRISPR KOスクリーニング、試料調製、及びデータ解析は、1965遺伝子に対するCRISPRライブラリーを用いて1遺伝子あたり10個のgRNAでHorizon Discoveryによって行った。DLD-1結腸がん細胞を、10% FBSを含んだRPMI培地内で成長させ、レンチウイルスライブラリー(各ウイルスの粒子がCas9及びsgRNAを含有する)に感染させ、ピューロマイシンを用いて2週間選択し、化合物B(EC17.1%)又はDMSOで15日間処理した。合成致死性スコアを、化合物処理細胞由来のsgRNA数をDMSO処理対照に対して規格化することによって計算した。

【0152】

(Q-PCR)

リアルタイムQ-PCRを、ViiA7 Real-Time PCRシステムにおいて製造業者のプロトコルに従いApplied Biosystemsのアッセイを用いて行った。簡単に述べると、細胞ペレットを集め、RNAを、RNeasy Plus Miniキット(Qiagen)を製造業者の説明書に従って用いて抽出した。逆転写及びPCR増幅反応は、30ngのRNAを384ウェルプレート内の10μlの反応液中に含有しており、Universal Probe One-Step RT-qPCRキット(NEB)及び表3に列挙した遺伝子特異的Taqman Q-PCR増幅プローブセット(Applied

10

20

30

40

50

Biosystems)を用いた。PCR反応は、表4に概略が示されているプロトコルを用いて行った。FAM(試験遺伝子)及びVIC(ハウスキーピング)標識化アッセイを、同じウェルにおいて多重化した。

(表3: Taqmanプローブセット)

【表3】

遺伝子	フルオロフォア	アッセイ ID
GAPDH	VIC	Hs99999905_m1
ACTB	VIC	Hs99999903_m1
FAM35A N1	FAM	Hs00414285_m1
FAM35A N2	FAM	Hs04189036_m1

10

(表4: RT-PCRプロトコル)

【表4】

サイクル	温度	時間	反復回数
逆転写	55°C	10 分	1
初回変性	95°C	1 分	1
変性	95°C	10 秒	40
伸長及びプレート読み取り	60°C	60 秒	

20

【0153】

データを、QuantStudio Real Time PCRソフトウェアで解析し、各遺伝子についてCT(サイクル閾値)値を算出した。デルタCTを、(試験遺伝子のCT) - (ハウスキーピング遺伝子のCT)として計算した。相対発現を、 $2^{(-\text{デルタCT})} \times 100$ として計算し、試験遺伝子の発現を、ハウスキーピング遺伝子の発現の百分率として表した。

【0154】

(siRNAスクリーニング)

30

siRNAライブラリーは、Dharmaconから購入した。各ウェルは、標的転写産物の異なる配列を標的とする4つの別個のsiRNA種のSMARTプール及びシールディン複合体の成分を標的とする個々のsiRNAを含有していた。各プレートに、陰性siCONTROL(12ウェル; Dharmacon)及び陽性対照(4ウェル、siPLK1、Dharmacon)を追加した。RNAiスクリーニング条件を最適化し、未加工のCellTitre-Glo(Promega)発光生存性読み取り値を、既に述べられているように(Lordらの文献、DNA Repair(2008)7、2010-2019)生成させた。化合物A又はビヒクル(DMSO)を、培地中5 μ M(CAL51)又は10 μ M(RPE TP53-/- BRCA1欠損)濃度でのトランスフェクションの24時間後に添加し、細胞を5日間曝露させた。siRNAスクリーニングの統計学的解析を、どこか別の場所で記載されるように(Lordらの文献、DNA Repair(2008)7、2010-2019)行った。手短にいうと、化合物A及びDMSO曝露細胞におけるCellTitre-Gloアッセイ由来の発光値を、log2変換し、その後、プレート中央値(PM)効果に対して規格化した。薬物作用(DE)スコアを、方程式: $DE = (\text{化合物Aの存在下でのsiRNAのlog2 PM規格化シグナル}) - (\text{化合物Aの非存在下でのsiRNAのlog2 PM規格化シグナル})$ を用いて、PM規格化データから計算した。その後、DE値を、スクリーニング中央値及び中央絶対偏差値によりZスコアで規格化した。

40

【0155】

(コロニー形成アッセイ)

対数増殖期の細胞を、トリプシンを用いて剥離し、計数し、表5に示される密度で培地中に再懸濁させた。1ウェルあたり1mLの細胞を、24ウェルプレート中に三連で播種し

50

、37℃で1晩インキュベートした。細胞を、表5に列記された時点で化合物の1/3段階希釈を用いて7点の用量反応曲線で処理した。MDA-MB-436細胞については、培地を、5日毎に補充した。

(表5:コロニー形成アッセイの播種密度及びエンドポイント)

【表5】

細胞株	集団	密度 (細胞の個数/mL)	実験的 エンドポイント(日)
22Rv1	親株	400	14
22Rv1	REV7 KO クローン	3200	14
MDA-MB-436	親株	1000	14
MDA-MB-436	SHLD2 KOクローン D1	3000	14
MDA-MB-436	SHLD2 KOクローン G4	1500	14
MDA-MB-436	SHLD2 KOクローン G1	3000	14
HCC1395	親株	2500	15
HCC1395	SHLD2 KOクローン E6	2500	15
HCC1395	SHLD2 KOクローン G2	5000	15
HCC1395	SHLD2 KOクローン E5	5000	15

10

20

【0156】

細胞を、振盪しながら70%エタノールで20分間室温で固定した。その後、細胞を、振盪しながら0.04%クリスタルバイオレット(Sigma Aldrich)で20分間室温で染色した。細胞を、水で6回洗浄し、一晩風乾した。

【0157】

プレートに、Gelcount(Oxford Optronix)を用いて画像化し、コロニーを、各細胞株に対して最適化されたパラメーターを用いて計数した。22Rv1生存曲線を、コロニー数のみから作成した。MDA-MB-436及びHCC1395生存曲線を、可溶化コロニーから作成した。コロニーを、10%酢酸(VWR)を用いて30分間可溶化し、595nmの吸光度を、Clariostarプレートリーダー(BMG Labtech)を用いて読み取り、ブランク補正を適用した。相対生存率を、化合物処理ウェルのDMSO処理ウェルに対する規格化によって計算した。

30

【0158】

(コロニー形成アッセイ(ICR))

クローン原性生存アッセイを、以前に記載されているように行った(Edwardsらの文献、Nature(2008)451、1111-1115; Farmerらの文献、Nature(2005)434、917-921)。化合物A阻害剤に対する感受性の測定のために、対数成長している細胞を、6ウェルプレート内に1ウェルあたり1000~2000個の細胞の濃度で播種した。化合物Aについては、細胞を、培地と該薬物に連続的に曝露させた、薬物は、72時間毎に置き換えた。14日後、細胞を、固定し、スルホローダミン-B(Sigma)で染色し、コロニーを計数した。SFを計算し、薬物感受性曲線を、以前に記載されているようにプロットした(Farmerらの文献、Nature(2005)434、917-921)。

40

【0159】

(オラパリブへの再感作)

オラパリブへの再感作の測定のために、対数成長している細胞を、化合物Aに48時間曝露させた。後に、細胞を、96ウェルプレート内に1ウェルあたり1000~2000個の細胞の濃度で播種した。播種の24時間後、オラパリブ処理を開始し、細胞を、薬物にと培地に連続的に曝露させ、薬物は、72時間毎に補充した。10日後、細胞生存度を、Cell -

50

Titre Glo (Promega)を用いて推定した。SFを計算し、薬物感受性曲線を、以前に記載されているようにプロットした(Farmerらの文献、Nature(2005)434、917-921)。

【0160】

(実施例1):

(親株及びC20orf196 KO SUM149チューモロイドの大きさに対するPolθ阻害剤及びPARP阻害剤の作用)

2種のDNAポリメラーゼθ(Polθ)阻害剤(化合物A及び化合物B)並びにPARP阻害剤であるオラパリブの、親株及びC20orf196欠失(C20orf196 KO)SUM149チューモロイドの大きさに対する作用を調査した。

10

【0161】

親株又はC20orf196 KO SUM149細胞を、384ウェルプレート内のコラーゲン含有ヒドロゲル中に播種し、1晩インキュベートした。得られたチューモロイドを、Polθ阻害剤又はオラパリブの段階希釈物で7日間処理し、固定し、染色して、DNA及びF-アクチンを可視化した。プレートを画像化し、チューモロイドの大きさを、OcellOの三次元的画像解析ソフトウェアを用いて測定した。

【0162】

結果を、図1に示す。チューモロイドの大きさのより大きな減少によって証拠が示されるように、図1は、C20orf196 KO細胞が、親株細胞よりも双方のPolθ阻害剤に対する感受性が高かったことを示している。対照的に、チューモロイドの大きさのより少ない減少によって証拠が示されるように、C20orf196 KO細胞は、親株細胞よりも、オラパリブに対する感受性が低かった。

20

【0163】

(実施例2)

(親株及びC20orf196 KO SUM149チューモロイドの成長に対するPolθ阻害剤及びPARP阻害剤の作用)

2種のDNAポリメラーゼθ(Polθ)阻害剤(化合物A及び化合物B)並びにPARP阻害剤であるオラパリブの、親株及びC20orf196 KO SUM149チューモロイドの成長に対する作用を調査した。

【0164】

親株又はC20orf196 KO SUM149細胞を、384-ウェルプレート内のコラーゲン含有ヒドロゲル中に播種し、1晩インキュベートした。得られたチューモロイドを、Polθ阻害剤又はオラパリブの段階希釈物で7日間処理し、固定し、染色して、DNA及びF-アクチンを可視化した。プレートを画像化し、チューモロイド1つあたりの核の数を、OcellOの三次元的画像解析ソフトウェアを用いて計数した。

30

【0165】

結果を、図2に示す。チューモロイド1つあたりの核の数のより大きな減少によって証拠が示されるように、図2は、C20orf196 KO細胞が、親株細胞よりも双方のPolθ阻害剤に対する感受性が高かったことを示している。対照的に、チューモロイド1つあたりの核の数のより少ない減少によって証拠が示されるように、C20orf196 KO細胞は、親株細胞よりも、オラパリブに対する感受性が低かった。

40

【0166】

(実施例3)

(親株及びC20orf196 KO SUM149チューモロイド培養物における死細胞の分率に対するPolθ阻害剤及びPARP阻害剤の作用)

2種のPolθ阻害剤(化合物A及び化合物B)並びにPARP阻害剤であるオラパリブの、親株及びC20orf196 KO SUM149チューモロイド培養物における死細胞の分率に対する作用を調査した。

【0167】

親株又はC20orf196 KO SUM149細胞を、384-ウェルプレート内のコラーゲン含

50

有ヒドロゲル中に播種し、1晩インキュベートした。得られたチューモロイドを、Polθ阻害剤、オラパリブ、又は対照化合物で(示された濃度で)7日間処理し、固定し、染色して、DNA及びF-アクチンを可視化した。プレートを画像化し、関連するアクチン細胞骨格がない核の分率を、OcellOの三次元的画像解析ソフトウェアを用いて計算した。

【0168】

結果を、図3に示す。図3は、双方のPolθ阻害剤が、親株細胞と比較して、C20orf196KO細胞において顕著により多くの細胞死を誘導したことを示している。対照的に、オラパリブは、親株細胞と比較して、C20orf196 KO細胞において顕著により少ない細胞死を誘導した。

【0169】

(実施例4)

(染色体外基質の古典的NHEJ修復は、SHLD2欠失HCC1937細胞において損なわれていない)

SHLD2遺伝子欠失を有しているHCC1937細胞におけるcNHEJ媒介修復の能力(proficiency)を、細胞内にトランスフェクションさせること及び細胞内機構によって修復することができる染色体外のDNA基質を用いてDSBの修復を検出するアッセイを用いて調査した。

【0170】

図4に示される結果は、(a)におけるPCRによって検出されるcNHEJ産物の形成及び非付着末端(これは、部分的な末端処理及びライゲーションを必要とする)のcNHEJ媒介修復を検出するように設計された細胞レポーターアッセイにおける発光タンパク質の生成によって証拠が示されるように、HCC1937細胞が、堅牢なcNHEJを行うことができることを示す。それと比較して、コアNHEJ機械装置成分(リガーゼIV、XLF、及びXRCC4)が欠損した細胞は、これらの基質の修復がほとんど完全に除去されている((e)の右のパネル)。

【0171】

(実施例5)

(DLD1がん細胞におけるREV7KOとPolθ阻害との合成致死性)

Polθ阻害剤(化合物B)とDLD1結腸がん細胞株における1965個の遺伝子のいずれかのノックアウトとの合成致死的作用を評価した。CRISPR KOスクリーニングを、DLD1細胞において、約EC₂₀で化合物Bを用いて、DMSO曝露細胞(化合物ビヒクル)を対照として用いて行った。各sgRNAを含有する細胞の量を、次世代シーケンシングによって測定した。(図5(a))REV7は、FDRスコア及び検証済みの合成致死性パートナーBRCA2との比較に基づいて、スクリーニングされた1935個の遺伝子のうちの上位50個に入っていた。(b)log倍数変化に基づいて、REV7は、上位25個に入っていた。図5のパネルbは、本KOスクリーニングにおける10種の異なるCRISPR-Cas9ガイドRNA(gRNA)の性能を示している。10種のgRNAのうちの7種は、Polθ阻害と合成致死性であった。

【0172】

(実施例6)

(CAL51細胞におけるPolθ阻害とREV7喪失との合成致死性)

Polθ阻害剤と合成致死性である遺伝子を発見するために、1280個のsiRNAを用いるsiRNAスクリーニングを、CAL51乳がん細胞を用いて行った。細胞を、384ウェルプレートレイ形式でsiRNAスマートプールでトランスフェクションし、その後、24時間後に、DMSO又は化合物Aのいずれかに曝露させた。その後、細胞を、化合物A又はDMSOの存在下でさらに5日間連続的培養し、その時点で、細胞の生存率を、CellTiter-Glo試薬(細胞のATPレベルを測定する発光アッセイ)を用いて測定した。384ウェルプレートの各ウェルからの発光値を、log₂変換し、その後、各プレート上の中央値シグナルに対して規格化した(プレート間での変動を考慮に入れるため)。DMSO及び化合物A曝露細胞中の各siRNAスマートプールについての規格化した値を比較することによって、各siRNAの化合物A感受性に対する作用を計算し、薬物作用(DE)Zスコアとして表した。<-2.

10

20

30

40

50

0のZスコアは、当該siRNAと化合物Aとの著しい合成致死的作用を示していた。図6に示されるように、REV7は、-2.88のZスコアを有する上位ヒットの一つであり、REV7の遺伝子サイレンシングが、化合物Aに対する感受性を引き起こすことを示している。

【0173】

(実施例7)

(親株及びREV7 KO 22Rv1細胞の生存に対するPolθ阻害剤及びPARP阻害剤の作用)

親株(REV7野生型)又はREV7欠失(REV7 KO)22Rv1細胞の生存に対するDNAポリメラーゼθ(Polθ)阻害剤(化合物A)又はPARP阻害剤であるオラパリブの作用を、コロニー形成アッセイ(CFA-上記プロトコルを参照されたい)において調査した。簡単に述べると、各細胞集団(親株又はREV7欠失)を、インビトロ培養液中に低密度で播種し、種々の濃度の化合物に2週週間曝露させ、この時点の後の生存コロニーの数を、実験的エンドポイントとして計数し、薬物ビヒクル(DMSO)曝露細胞と比較したPolθ阻害剤又はPARP阻害剤曝露細胞の相対生存率を算出した。22Rv1は、PARP阻害剤抵抗性前立腺がん細胞株である。図7に示される結果は、REV7 KO細胞における低下した相対生存率によって証拠が示されるように、REV7 KO 22Rv1細胞が、REV7野生型22Rv1親株細胞と比較して、Polθ阻害剤に対して顕著により感受性が高いことを示している(化合物A、a及びcの左のパネル)。REV7 KO 22Rv1細胞は、REV7野生型及びREV7 KO細胞における類似の生存分率によって証拠が示されるように、PARP阻害剤(オラパリブ、b及びcの右のパネル)に対する抵抗性を依然保持している。

【0174】

(実施例8)

(RPE1 TP53-/- BRCA1-/-細胞におけるPolθ阻害とシールドイン遺伝子との合成致死性)

相同組換えによるDSBRを欠く細胞においてPolθ阻害剤と合成致死性である遺伝子を発見するために、1418個のsiRNAを用いるsiRNAスクリーニングを、BRCA1欠損RPE1 TP53-/- BRCA1-/-細胞を用いて行った。このスクリーニングは、CAL51スクリーニングに関して図8に記載されているように行われ解析された。REV7及びSHLD2(FAM35A)は、上位ヒットのうちの2つであり(図8(a))、SHLD成分欠損とPolθ阻害剤感受性との関連が確認された。

【0175】

(実施例9)

(SUM149親株(C20ORF196/SHLD1野生型、BRCA1変異体)及びCRISPR-Cas9で作製されたC20ORF196有害変異を有するSUM149娘クローンの成長に対するPolθ阻害剤及びPARP阻害剤の作用)

SUM149親株(C20ORF196/SHLD1野生型、BRCA1変異体)及びCRISPR-Cas9で作製されたC20ORF196有害変異を有する2つの異なるSUM149娘クローン(KO細胞株A及びD)の成長に対する化合物A又はPARP阻害剤であるオラパリブの作用を調査した。

【0176】

親株又はC20orf196 KO SUM149細胞を、6ウェルプレート内に播種し、1晩インキュベートした。その後、細胞を、Polθ阻害剤又はオラパリブの段階希釈物に14日間曝露させ、固定し、スルホローダミンBで染色した。各ウェル内のコロニーを計数し、規格化した生存データをプロットして、前述のように用量反応曲線を作成した。

【0177】

結果を、図9に示す。コロニーの数のより大きな減少によって証拠が示されるように、図9は、C20orf196 KO細胞が、親株細胞よりもPolθ阻害剤に対して感受性が高いことを示している。対照的かつ予想通りに、親株SUM149細胞は、PARP阻害剤であるオラパリブに対して高感受性であった(そのBRCA1変異を原因とする)が、C20orf196 KOクローンは、薬物とのインキュベーション後のコロニーの減少がより少ないことによって証拠が示されるように、親株細胞よりも、オラパリブに対する抵抗性がより高かった。

【0178】

(実施例10)

(親株及びREV7 KO SUM149コロニーの成長に対するPolθ阻害剤及びPARP阻害剤の作用)

親株及びREV7 KO SUM149細胞の成長に対する化合物A又はPARP阻害剤であるオラパリブの作用を調査した。

【0179】

親株又はREV7 KO SUM149細胞を、6ウェルプレート内に播種し、1晩インキュベートした。その後、細胞を、Polθ阻害剤又はオラパリブの段階希釈物で14日間処理し、固定し、スルホローダミンBで染色した。各ウェル内のコロニーを計数し、規格化生存データを、プロットして、用量反応曲線を作成した。

10

【0180】

結果を、図10に示す。図10は、コロニーの数のより大きな減少によって証拠が示されるように、REV7 KO細胞が、親株細胞よりもPolθ阻害剤に対して感受性が高いことを示している。対照的に、薬物とのインキュベーション後のコロニーのより少ない減少によって証拠が示されるように、REV7 KOクローンの3つ全ては、親株細胞よりも、オラパリブに対する抵抗性が高かった。

【0181】

(実施例11)

(親株及びREV7 KO SUM149チューモロイド培養物中の死細胞の分率に対するPolθ阻害剤及びPARP阻害剤の作用)

20

親株及びREV7欠失(REV7 KO)SUM149チューモロイドにおける死細胞の分率に対するDNAポリメラーゼθ(Polθ)阻害剤(化合物A)及びPARP阻害剤であるオラパリブの作用を調査した。

【0182】

親株又はREV7 KO SUM149細胞を384-ウェルプレート内のコラーゲン含有ヒドロゲル中に播種し、1晩インキュベートした。得られたチューモロイドを、Polθ阻害剤、オラパリブ、又は対照化合物(示された濃度で)で14日間処理し、固定し、染色して、DNA及びF-アクチンを可視化した。プレートを画像化し、関連するアクチン細胞骨格がない核の分率を、Ocellの三次元的画像解析ソフトウェアを用いて計算した。

30

【0183】

結果を、図11に示す。図11は、Polθ阻害剤が、親株細胞と比較して、REV7 KO細胞においてかなりより多い細胞死を誘導したことを示している。対照的に、オラパリブは、親株細胞と比較して、REV7 KO細胞においてより少ない細胞死を誘導した。

【0184】

(実施例12)

(親株及びSHLD2 KO HCC1395細胞の生存に対するPolθ阻害剤及びPARP阻害剤の作用)

親株及びSHLD2欠失(SHLD2 KO)HCC1395細胞の生存に対するDNAポリメラーゼθ(Polθ)阻害剤(化合物A)及びPARP阻害剤であるオラパリブの作用を、コロニー形成アッセイによって調査した。簡単に述べると、各集団を、低密度で播種し、種々の濃度の化合物と共にインキュベートし、未処理の細胞に対して規格化した相対生存率を、コロニー可溶化プロトコルを用いて測定した。

40

【0185】

HCC1395は、BRCA1欠損乳がん細胞株である。図12に示される結果は、低下した相対生存率によって証拠が示されるように、SHLD2 KO HCC1395細胞が、親株HCC1395細胞よりも、Polθ阻害剤である化合物Aに対する感受性が顕著高い(a及びcの左側のパネル)ことを示している。さらに、増加した相対生存率によって証拠が示されるように、SHLD2 KO HCC1395細胞は、親株HCC1395細胞よりも、PARP阻害剤であるオラパリブに対する抵抗性がかなり高い(b及びcの右側のパネル)。

50

【0186】

(実施例13)

(親株及びSHLD2 KO MDA-MB-436細胞の生存に対するPol θ阻害剤及びPARP阻害剤の作用)

親株及びSHLD2欠失(SHLD2 KO)MDA-MB-436細胞の生存に対するDNAポリメラーゼθ(Pol θ)阻害剤(化合物A)及びPARP阻害剤であるオラパリブの作用を、コロニー形成アッセイによって調査した。簡単に述べると、各集団を、低密度で播種し、種々の濃度の化合物と共にインキュベートし、未処理の細胞に対して規格化した相対生存率を、コロニー可溶化プロトコルを用いて測定した。

【0187】

MDA-MB-436は、BRCA1欠損乳がん細胞株である。図13に示される結果は、低下した相対生存率によって証拠が示されるように、SHLD2 KO MDA-MB-436細胞が、親株MDA-MB-436細胞よりも、Pol θ阻害剤に対する感受性が顕著により高い(化合物A、a及びcの左側のパネル)ことを示している。増加した相対生存率によって証拠が示されるように、SHLD2 KO MDA-MB-436のPARP阻害剤(オラパリブ、b及びcの右側のパネル)に対する抵抗性の増加の傾向も認められている。

【0188】

(実施例14)

(シールディン欠損PARPi抵抗性細胞におけるPol θ阻害のオラパリブに対する感受性を回復させる能力)

シールディン欠損PARPi抵抗性のSUM149細胞におけるDNA Pol θ阻害剤である化合物Aのオラパリブに対する感受性を回復させる能力を決定した。

【0189】

簡単に述べると、親株SUM149細胞又はBRCA1回復又はC20orf196もしくは53BP1のいずれかの遺伝子欠失のいずれかの誘導体を、組織培養フラスコ中化合物Aで48時間処理した。その後、細胞を洗浄してから、96ウェルプレート内に低密度で播種した。播種から24時間後に、細胞を、オラパリブ又はDMSOのいずれかと共にさらに10日間インキュベートした。未処理細胞に対して規格化した相対生存率を、Cell-Titre Glo Gloを用いて測定した。

【0190】

図14に示される結果により、シールディン成分の欠失が、HRD設定においてオラパリブに対する抵抗性を誘導することが確認され、Pol θ阻害剤での処理により、感受性を回復させることができることが示されている。

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1 a】

a.

凡例
 ● SUM149 親株
 ■ SUM149 C20orf196 KO

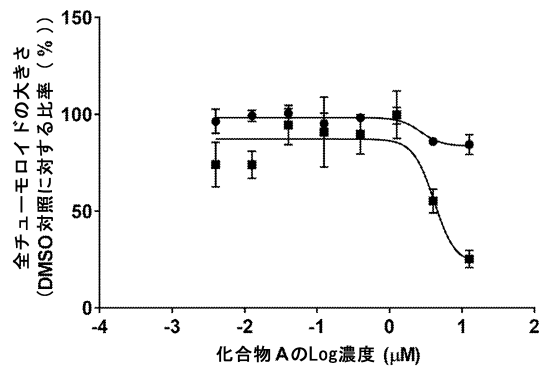


図 1

【図 1 b】

b.

凡例
 ● SUM149 親株
 ■ SUM149 C20orf196 KO

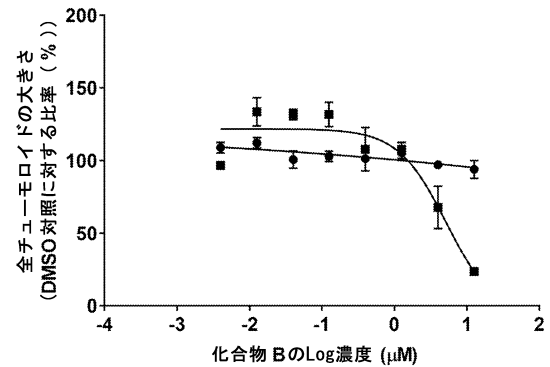


図 1 (続き)

【図 1 c】

c.

凡例
 ● SUM149 親株
 ■ SUM149 C20orf196 KO

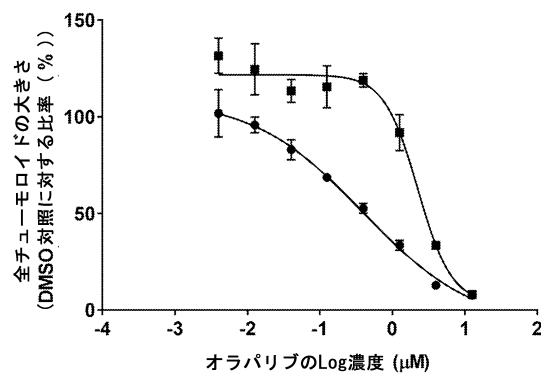


図 1 (続き)

【図 2 a】

a.

凡例
 ● SUM149 親株
 ■ SUM149 C20orf196 KO

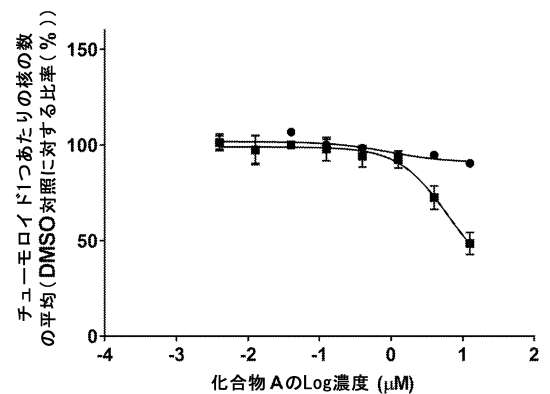


図 2

10

20

30

40

50

【図 2 b】

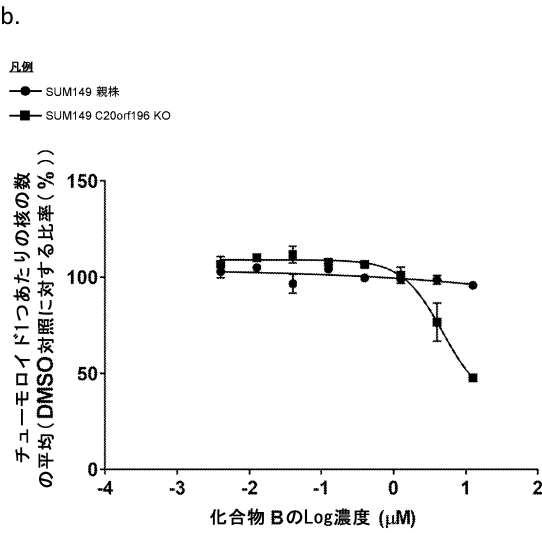


図 2 (続き)

【図 2 c】

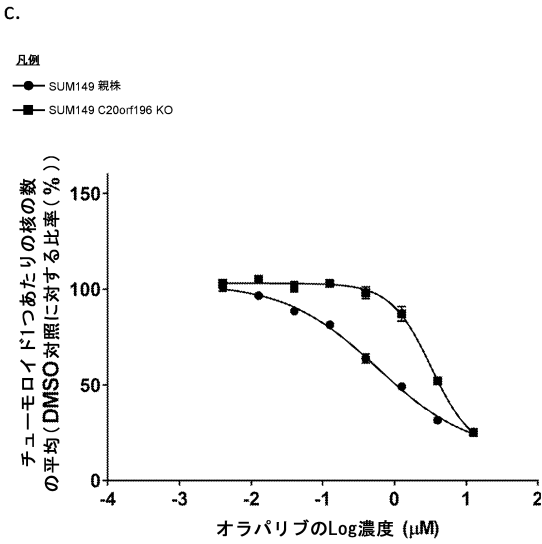


図 2 (続き)

【図 3】

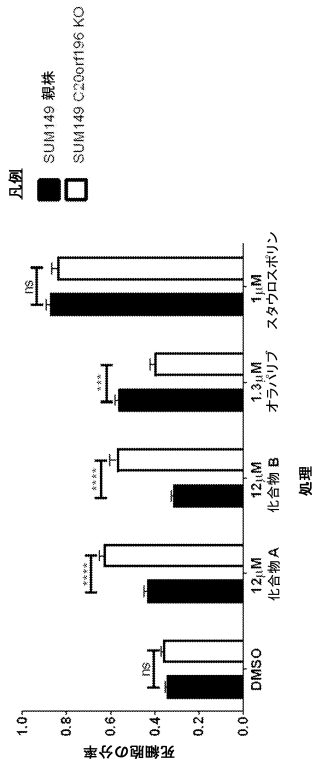


図 3

【図 4 a】

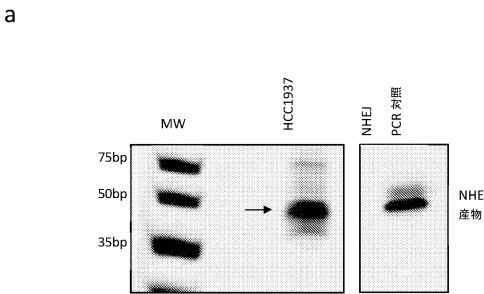


図 4

10

20

30

40

50

【図 4 b】
b

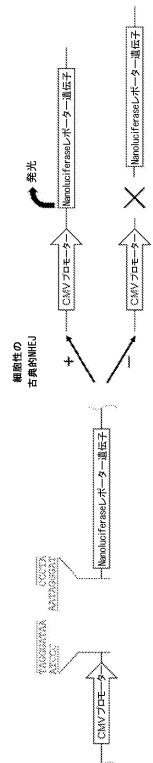


図 4 (続き)

【図 4 c】
c

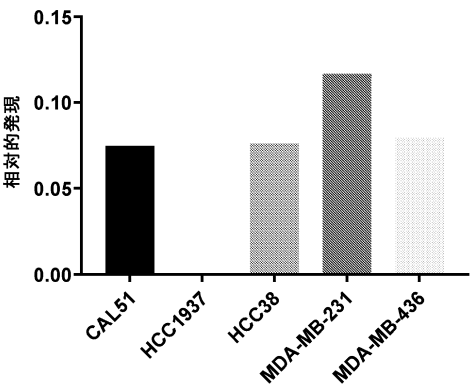


図 4 (続き)

【図 4 d】
d

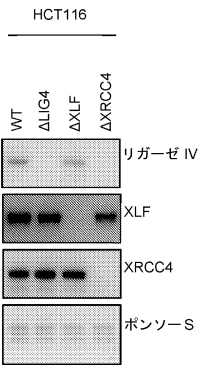


図 4 (続き)

【図 4 e】
e

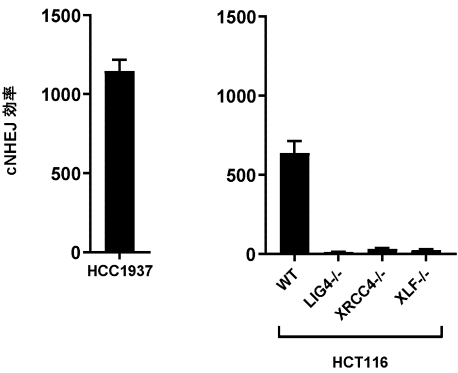


図 4 (続き)

10

20

30

40

50

【図 5 a】

a

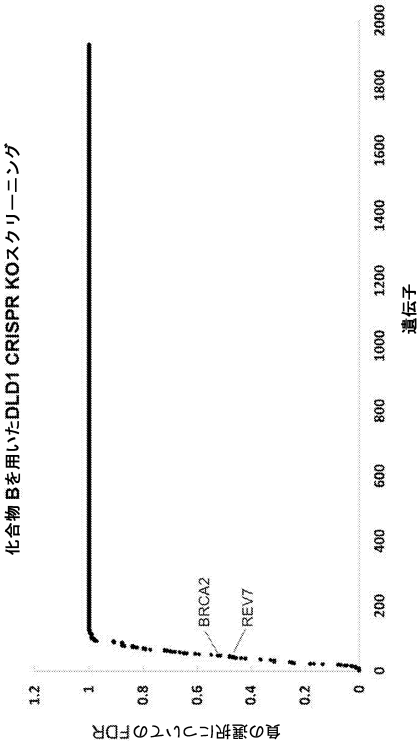


図 5

【図 5 b】

b

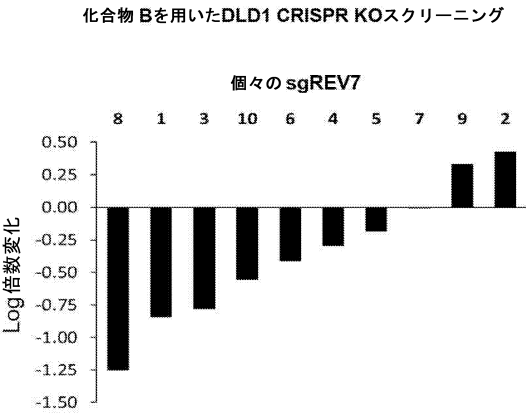


図 5 (続き)

【図 6 a】

a

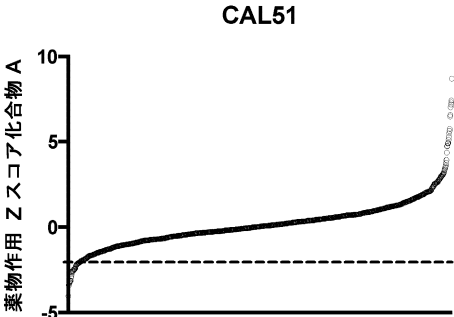


図 6

【図 6 b】

b

名称	DE Zスコア
GMPS	-3.21
REV7	-2.88
CHIC2	-2.74
EME2	-2.64
EZR	-2.54
DICER1	-2.47
SSX4	-2.46
REV1	-2.46
BAP1	-2.44
AXIN1	-2.43
BCI10	-2.37
MUTYH	-2.28
STAT3	-2.14
TERT	-2.13
RAD23A	-2.11
REV3L	-2.08
MAML2	-2.05
NSD1	-2.01
SLX4	-2.01

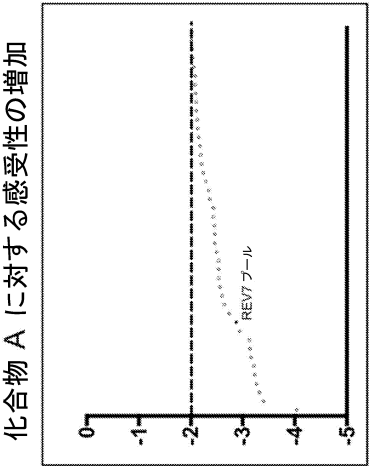


図 6 (続き)

10

20

30

40

50

【図 7 a】

a

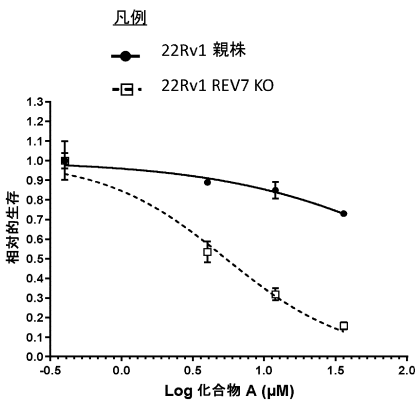


図 7

【図 7 b】

b

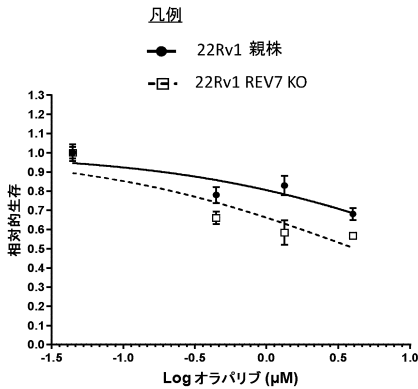


図 7 (続き)

【図 7 c】

c

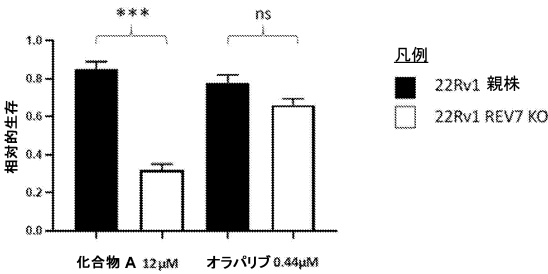


図 7 (続き)

【図 8 a】

a

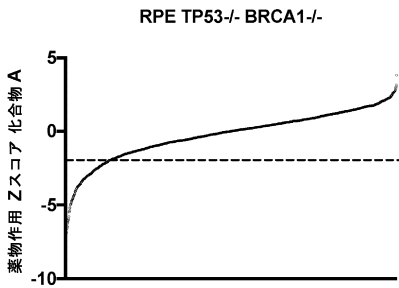


図 8

10

20

30

40

50

【図 8 b】

b

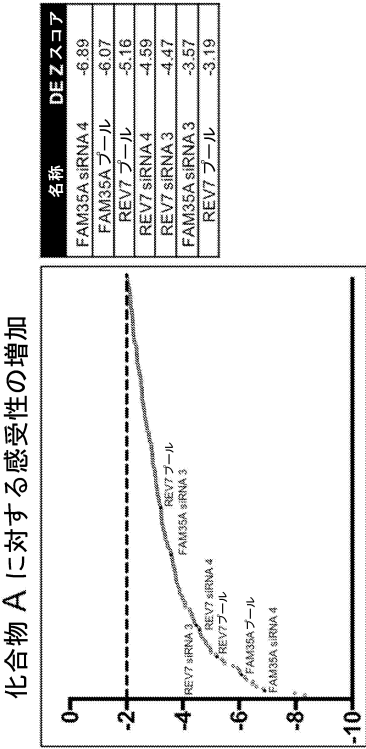


図 8 (続き)

【図 9 a】

a

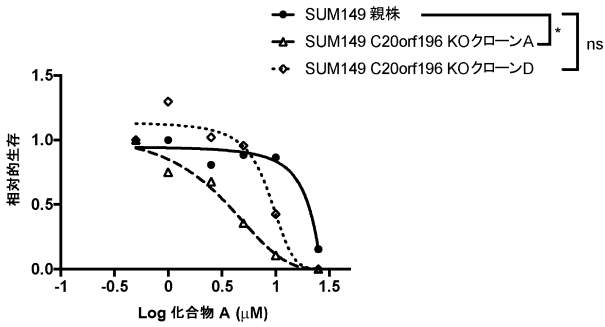


図 9

【図 9 b】

b

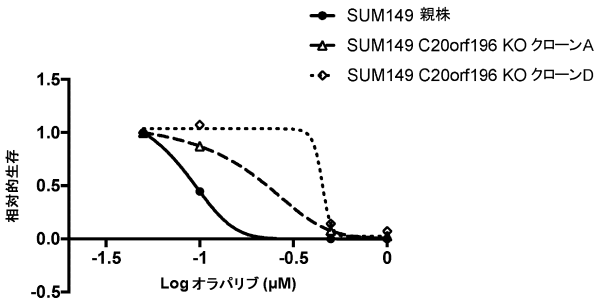


図 9 (続き)

【図 10 a】

a

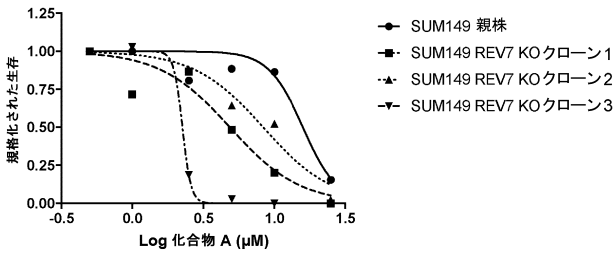


図 10

10

20

30

40

50

【図 10 b】

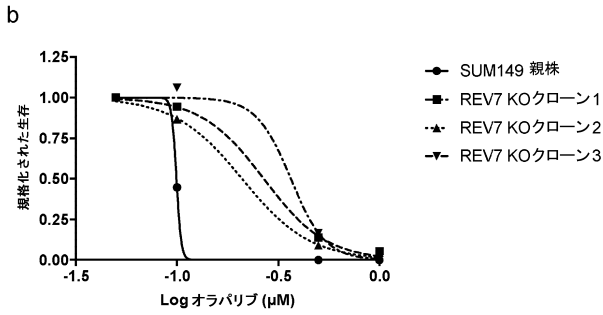


図 10 (続き)

【図 11 a】

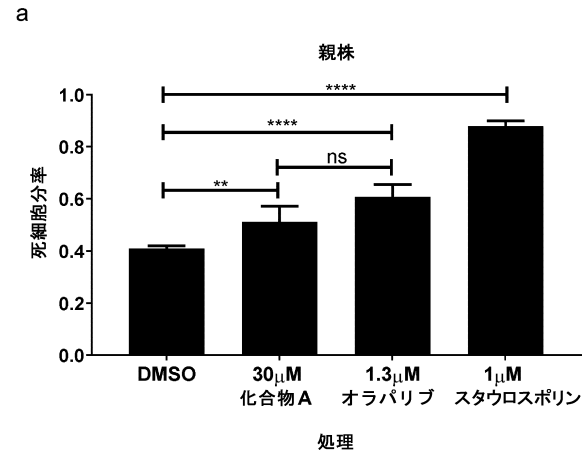


図 11

【図 11 b】

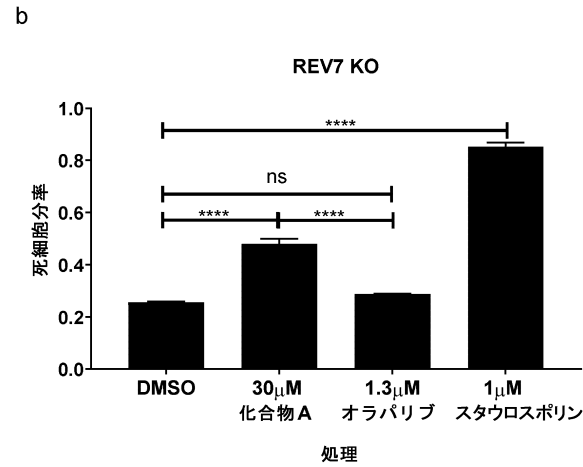


図 11 (続き)

【図 12 a】

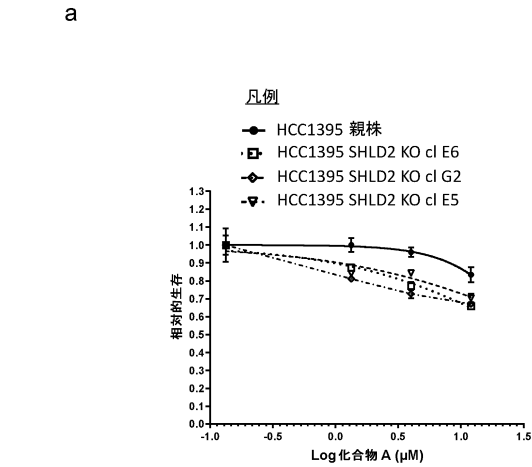


図 12

10

20

30

40

50

【図 1 2 b】

b

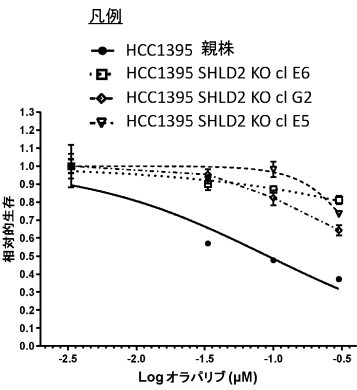


図 12 (続き)

【図 1 2 c】

c

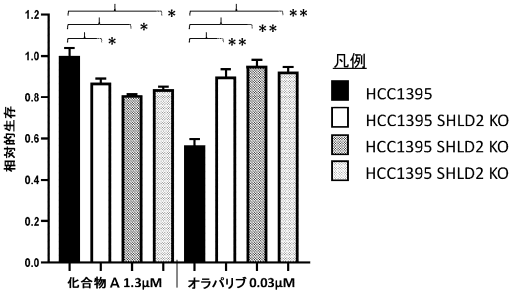


図 12 (続き)

【図 1 3 a】

a

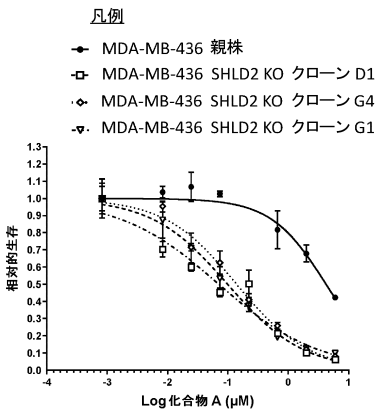


図 13

【図 1 3 b】

b

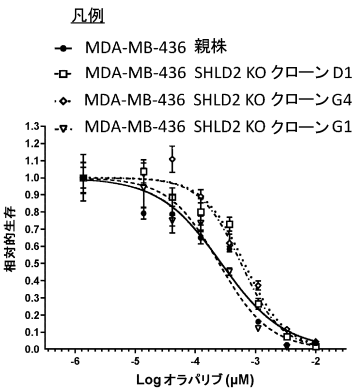


図 13 (続き)

10

20

30

40

50

【図 13 c】

c

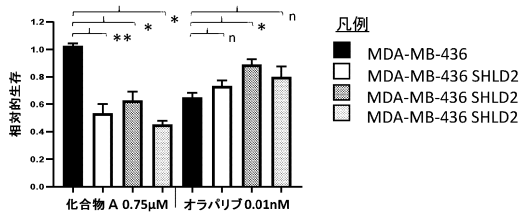


図 13 (続き)

【図 14】

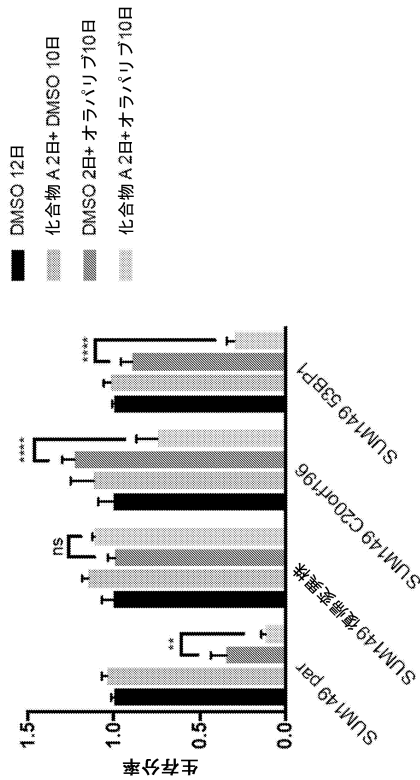


図 14

【配列表】

2023501038000001.app

【手続補正書】

【提出日】令和4年4月28日(2022.4.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2023501038000001.app

10

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】令和4年7月21日(2022.7.21)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0190

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0190】

図14に示される結果により、シールディン成分の欠失が、HRD設定においてオラパリブに対する抵抗性を誘導することが確認され、Polθ阻害剤での処理により、感受性を回復させることができることが示されている。

10

本件出願は、以下の態様の発明を提供する。

(態様1)

シールディン欠損に関連するがんの治療における使用のためのPolθ阻害剤。

(態様2)

前記シールディン欠損に関連するがんが、PARP阻害剤に抵抗性のがんでもある、態様1記載の使用のためのPolθ阻害剤。

(態様3)

前記がんが、以前はPARP阻害剤に対して感受性があったがん細胞を含む、態様2記載の使用のためのPolθ阻害剤。

20

(態様4)

前記がんが、初めは相同組換え修復経路欠損であると確認されたがん細胞を含む、態様1～3のいずれか1項記載の使用のためのPolθ阻害剤。

(態様5)

前記欠損が、以下の遺伝子:ATM、ATR、BRCA1、BRCA2、BARD1、RAD51C、RAD50、CHEK1、CHEK2、FANCA、FANCB、FANCC、FANCD2、FANCE、FANCF、FANCG、FANCI、FANCL、FANCM、PALB2(FANCN)、FANCP(BTBD12)、ERCC4(FANCO)、PTEN、CDK12、MRE11、NBS1、NBN、CLASPIN、BLM、WRN、SMARCA2、SMARCA4、LIG1、RPA1、RPA2、BRIP1、及びPTENのうちのいずれか1つ以上、又は該遺伝子によってコードされるタンパク質の欠損から選択される、態様4記載の使用のためのPolθ阻害剤。

30

(態様6)

前記がんが、相同組換え修復経路を後に再活性化しているがん細胞を含む、態様1～5のいずれか1項記載の使用のためのPolθ阻害剤。

(態様7)

前記シールディン欠損が、以下の遺伝子:C20orf196(SHLD1)、FAM35A(SHLD2)、及びCTC-534A2.2(SHLD3)のうちのいずれか1つ以上、又は該遺伝子によってコードされるタンパク質の欠損である、態様1～6のいずれか1項記載の使用のためのPolθ阻害剤。

(態様8)

前記シールディン欠損が、53BP1複合体の欠損である、態様1～6のいずれか1項記載の使用のためのPolθ阻害剤。

40

(態様9)

前記53BP1複合体の前記欠損が、以下の遺伝子:TP53BP1(53BP1)、RIF1、及びMAD2L2(REV7)のうちのいずれか1つ以上、又は該遺伝子によってコードされるタンパク質の欠損である、態様8記載の使用のためのPolθ阻害剤。

(態様10)

前記がんが、生存に関してマイクロホモロジー媒介末端結合(MMEJ)に依存性となっているがん細胞を含む、態様1～9のいずれか1項記載の使用のためのPolθ阻害剤。

(態様11)

50

態様1～10のいずれか1項記載の使用のためのPolθ阻害剤を、医薬として許容し得る担体と共に含む、シールディン欠損に関連するがんの治療における使用のための医薬組成物。

(態様12)

1種以上の治療薬剤をさらに含む、態様11記載の医薬組成物。

(態様13)

1種以上の抗癌剤をさらに含む、態様11記載の医薬組成物。

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2019/052243

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K38/00 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		
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		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GEOFF HIGGINS ET AL: "Beyond PARP-POLtheta as an anticancer target", SCIENCE, vol. 359, no. 6381, 15 March 2018 (2018-03-15), pages 1217-1218, XP055529688, ISSN: 0036-8075 the whole document p1218 left col page 1218	1-13
T	----- WO 2017/070198 A1 (DANA-FARBER CANCER INST INC [US]) 27 April 2017 (2017-04-27) ----- -/--	
☒ 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		Date of mailing of the international search report
2 October 2019		14/10/2019
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Rosin, Oliver

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2019/052243

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	DEV HARVEER ET AL: "Shieldin complex promotes DNA end-joining and counters homologous recombination in BRCA1-null cells", NATURE CELL BIOLOGY, MACMILLAN MAGAZINES LTD, GB, vol. 20, no. 8, 18 July 2018 (2018-07-18), pages 954-965, XP036553422, ISSN: 1465-7392, DOI: 10.1038/S41556-018-0140-1 [retrieved on 2018-07-18] -----	10
T	RICHARD T POMERANTZ: "Abstract A107: Development of polymerase theta inhibitors for precision medicine in BRCA-deficient cancers", AACR-NCI-EORTC INTERNATIONAL CONFERENCE: MOLECULAR TARGETS AND CANCER THERAPEUTICS, 1 October 2017 (2017-10-01), XP055529908, DOI: 10.1158/1535-7163.TARG-17-A107 abstract -----	20
T	RAPHAEL CECCALDI ET AL: "Homologous-recombination-deficient tumours are dependent on Pol θ -mediated repair", NATURE, vol. 518, no. 7538, 2 February 2015 (2015-02-02), pages 258-262, XP055374850, London ISSN: 0028-0836, DOI: 10.1038/nature14184 the whole document -----	30
T	RAJAT GUPTA ET AL: "DNA Repair Network Analysis Reveals Shieldin as a Key Regulator of NHEJ and PARP Inhibitor Sensitivity", CELL, vol. 173, no. 4, 1 May 2018 (2018-05-01), pages 972-988.e23, XP055530007, AMSTERDAM, NL ISSN: 0092-8674, DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.050 the whole document -----	40
T	WO 2013/133876 A1 (UNIV CALIFORNIA [US]; DAEMEN ANNELEEN [US]; WOLF DENISE M [US]; VAN T) 12 September 2013 (2013-09-12) tables, c.f. tab 3 ----- -/--	

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2019/052243

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	ALAN D D 'ANDREA: "Abstract IA20: Targeting DNA repair in cancer therapy", AACR INTERNATIONAL CONFERENCE HELD IN COOPERATION WITH THE LATIN AMERICAN COOPERATIVE ONCOLOGY GROUP (LACOG) ON TRANSLATIONAL CANCER MEDICINE, 1 May 2017 (2017-05-01), XP055530238, DOI: 10.1158/1557-3265.TCM17-IA20Published abstract -----	

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No
PCT/GB2019/052243

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017070198 A1	27-04-2017	AU 2016340878 A1	10-05-2018
		CA 3002541 A1	27-04-2017
		EP 3365468 A1	29-08-2018
		US 2019055563 A1	21-02-2019
		WO 2017070198 A1	27-04-2017

WO 2013133876 A1	12-09-2013	US 2014364434 A1	11-12-2014
		WO 2013133876 A1	12-09-2013

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 K 31/4439(2006.01)

F I

A 6 1 K 31/4439

テーマコード (参考)

G,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE
,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,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,R
W,SA,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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

ケンブリッジ ベイブラハム リサーチ キャンパス ベイブラハム ホール シー／オー アルティオ
ス ファーマ リミテッド

(72)発明者

クリストファー ジェームズ ロード

イギリス国 シービー２２ ３エーティー ケンブリッジ ベイブラハム リサーチ キャンパス ベイ
ブラハム ホール シー／オー アルティオス ファーマ リミテッド

(72)発明者

ダイアナ ザトレアヌ

イギリス国 シービー２２ ３エーティー ケンブリッジ ベイブラハム リサーチ キャンパス ベイ
ブラハム ホール シー／オー アルティオス ファーマ リミテッド

F ターム (参考)

4C084 AA17 NA14 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272 ZC201 ZC752

4C086 AA01 AA02 BC17 GA07 GA08 MA01 MA04 NA14 ZB26 ZB27
ZC20