

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-541141

(P2023-541141A)

(43)公表日 令和5年9月28日(2023.9.28)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	4 C 0 8 4
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1 4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/202 (2006.01)	A 6 1 K 31/202	4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/5377(2006.01)	A 6 1 K 31/5377	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全80頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号 特願2023-515306(P2023-515306)
 (86)(22)出願日 令和3年9月7日(2021.9.7)
 (85)翻訳文提出日 令和5年4月27日(2023.4.27)
 (86)国際出願番号 PCT/US2021/049297
 (87)国際公開番号 WO2022/051721
 (87)国際公開日 令和4年3月10日(2022.3.10)
 (31)優先権主張番号 63/074,968
 (32)優先日 令和2年9月4日(2020.9.4)
 (33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)
 (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, 最終頁に続く

(71)出願人 520061826
 ザ ボード オブ スーパーバイザーズ オ
 ブ ルイジアナ ステート ユニバーシティ
 アンド アグリカルチュラル アンド メ
 カニカル カレッジ
 アメリカ合衆国 7 0 8 0 8 ルイジアナ
 州 バトン ルージュ ウェスト レイクシ
 ョア ドライブ 3 8 1 0
 (71)出願人 523081155
 アウストラル ユニバーシティ
 アルゼンチン共和国 ブエノス アイレス
 デリキ ビラルル マリアノ アコスタ 1
 6 1 1
 (74)代理人 100102978
 弁理士 清水 初志 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 がんを治療するための組み合わせ組成物及び方法

(57)【要約】

本発明は、脳がんを含むがん及びその転移を治療するための組み合わせ組成物及び方法を対象とする。

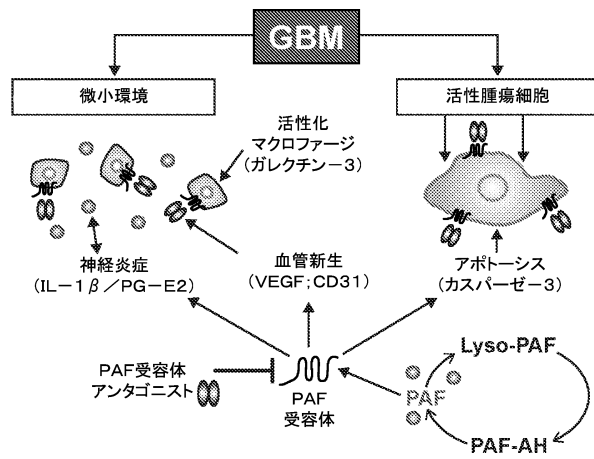
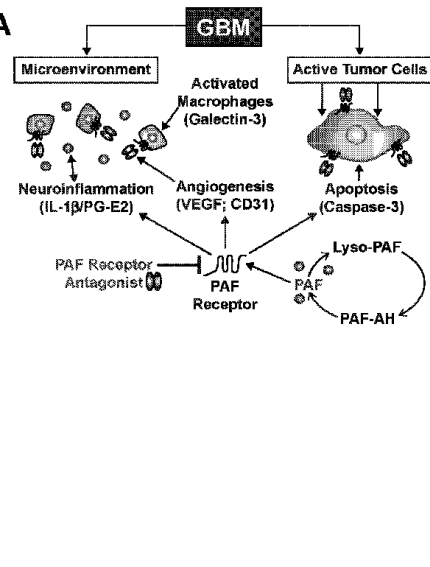


FIG. 1A



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

がんを治療又は予防する方法であって、対象に 2 つ以上の抗がん剤を投与することを含み、前記 2 つ以上の抗がん剤が、エロバノイド、P A F 受容体アンタゴニスト；抗 V E G F 抗体；及びスラムブからなる群から選択される、方法。

【請求項 2】

腫瘍サイズを縮小させる方法であって、対象に 2 つ以上の抗がん剤を投与することを含み、前記 2 つ以上の抗がん剤が、エロバノイド、P A F 受容体アンタゴニスト；抗 V E G F 抗体；及びスラムブからなる群から選択される、方法。

【請求項 3】

前記がん又は腫瘍が、固形腫瘍又は液性がんを含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記固形腫瘍が、多形性膠芽腫（G B M）、結腸がん、前立腺がん又は肺がんを含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

がんの治療又は予防が、腫瘍浸潤、血管新生、腫瘍サイズ、又はそれらの任意の組み合わせの阻害又は遅延によって示される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記 2 つ以上の抗がん剤が、逐次的に、並行して、又は同時に投与される、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 7】

前記 2 つ以上の抗がん剤が、全身投与される、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 8】

前記 2 つ以上の抗がん剤が、非経口投与される、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 9】

前記エロバノイドが、E L V - N 3 2 及び E L V - N 3 4 を含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 10】

E L V - N 3 2 及び E L V - N 3 4 が、

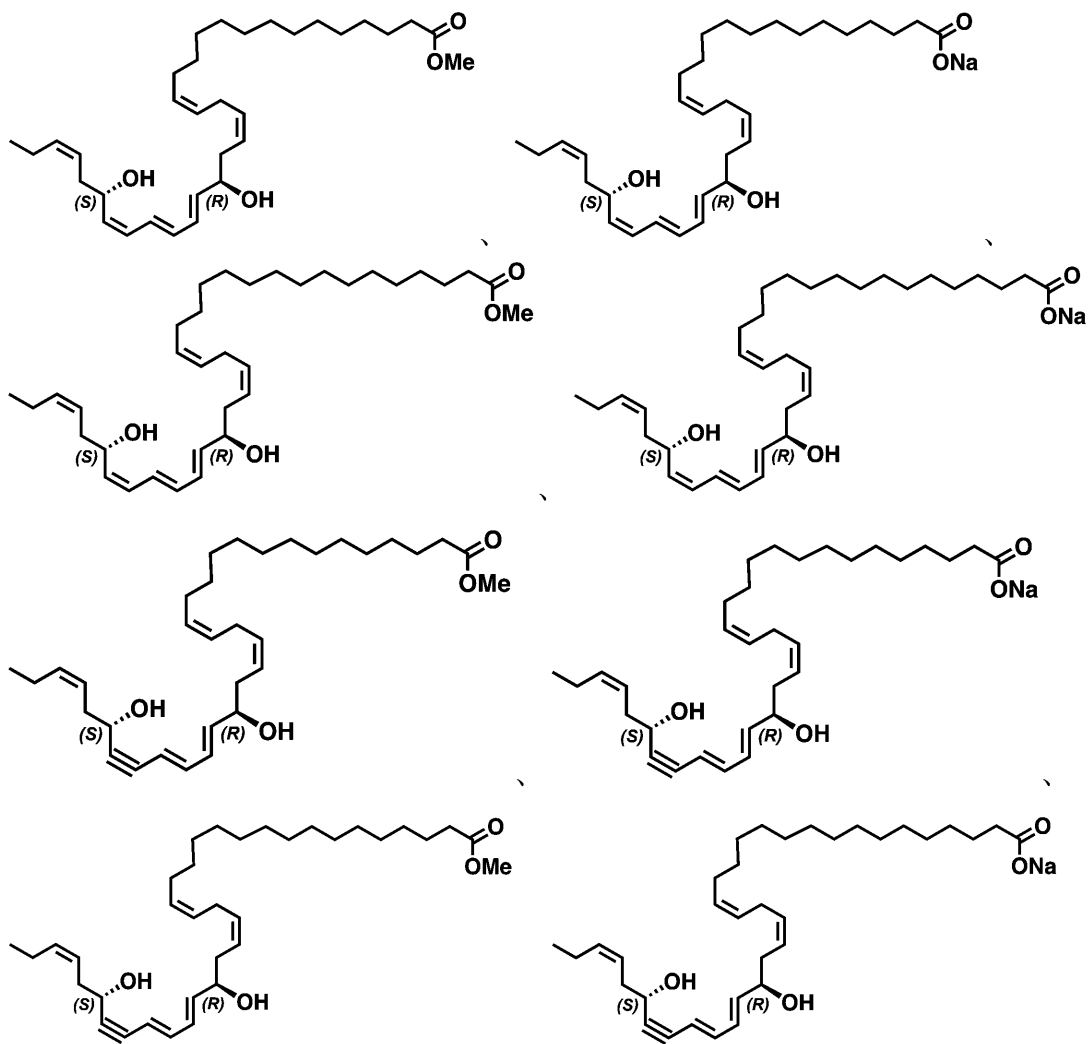
10

20

30

40

50



10

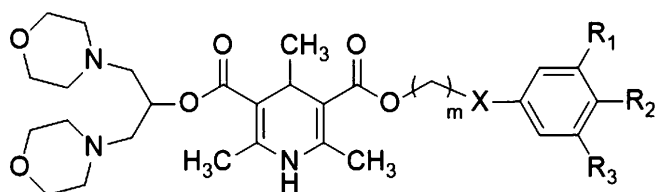
20

30

それらの異性体、又はそれらの組み合わせを含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記 PAF 受容体アンタゴニストが、式 I：



式 I

40

による化合物を含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 12】

m が、1～4 であり、X が、O 又は S であり、R₁ が、H 又は Cl であり、R₃ が、H 又は Cl であり、R₂ が、H、ブトキシ、又は Cl であり、ここで、

R₂ がブトキシである場合、m が、1 若しくは 4 であり、又は

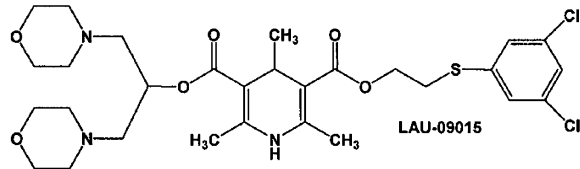
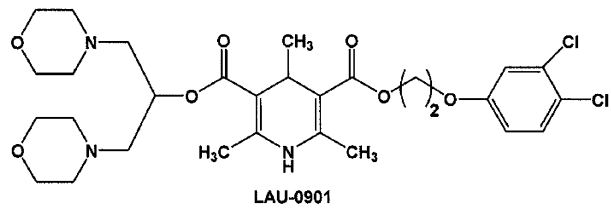
R₁ 及び R₂ が両方とも Cl でありかつ X が O である場合、m が、3 若しくは 4 である

、請求項 11 に記載の方法。

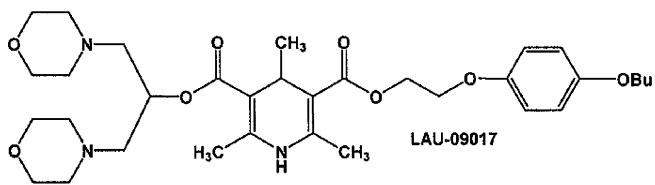
【請求項 13】

50

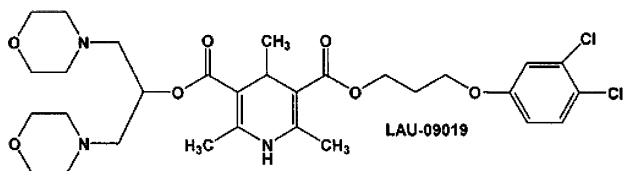
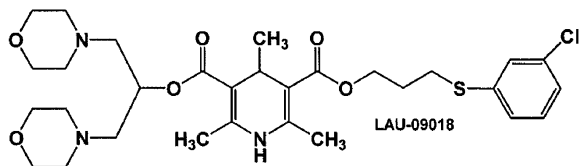
前記式 I の化合物が、



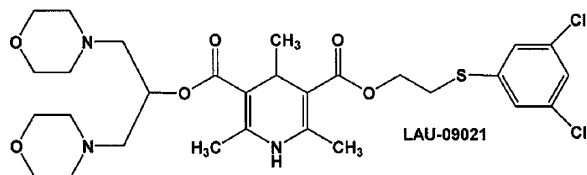
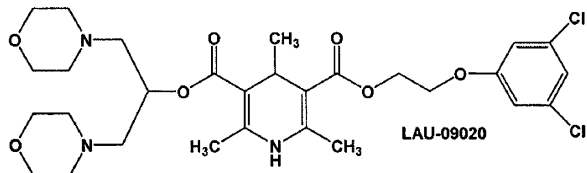
10



20

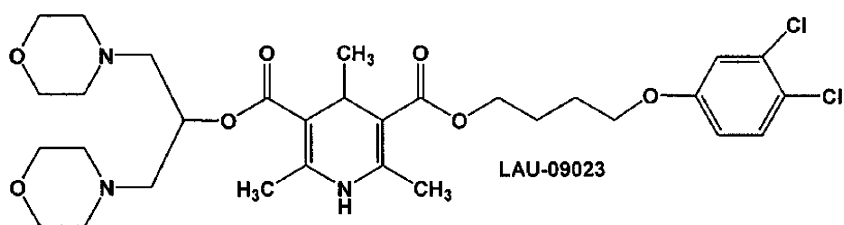


30

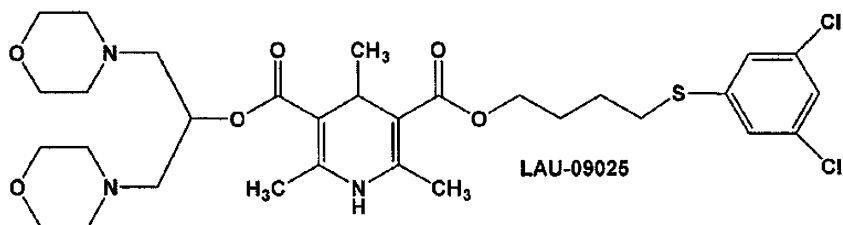


40

50



、若しくは



10

、又はその薬学的に許容される塩を含む、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記抗 V E G T 抗体が、ペバシズマブを含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 1 5】

a . 治療有効量のエロバノイド及び治療有効量の P A F 受容体アンタゴニスト、

b . 治療有効量のエロバノイド及び治療有効量の抗 V E G F 抗体、

20

c . 治療有効量のエロバノイド及び治療有効量のスラマブ、

d . 治療有効量の P A F 受容体アンタゴニスト及び治療有効量の抗 V E G F 抗体、又は

e . 治療有効量の P A F 受容体アンタゴニスト及び治療有効量のスラマブ

を含む、抗がん組成物。

【請求項 1 6】

前記エロバノイドが、E L V - N 3 2 及び E L V - N 3 4 を含む、請求項 1 5 に記載の抗がん組成物。

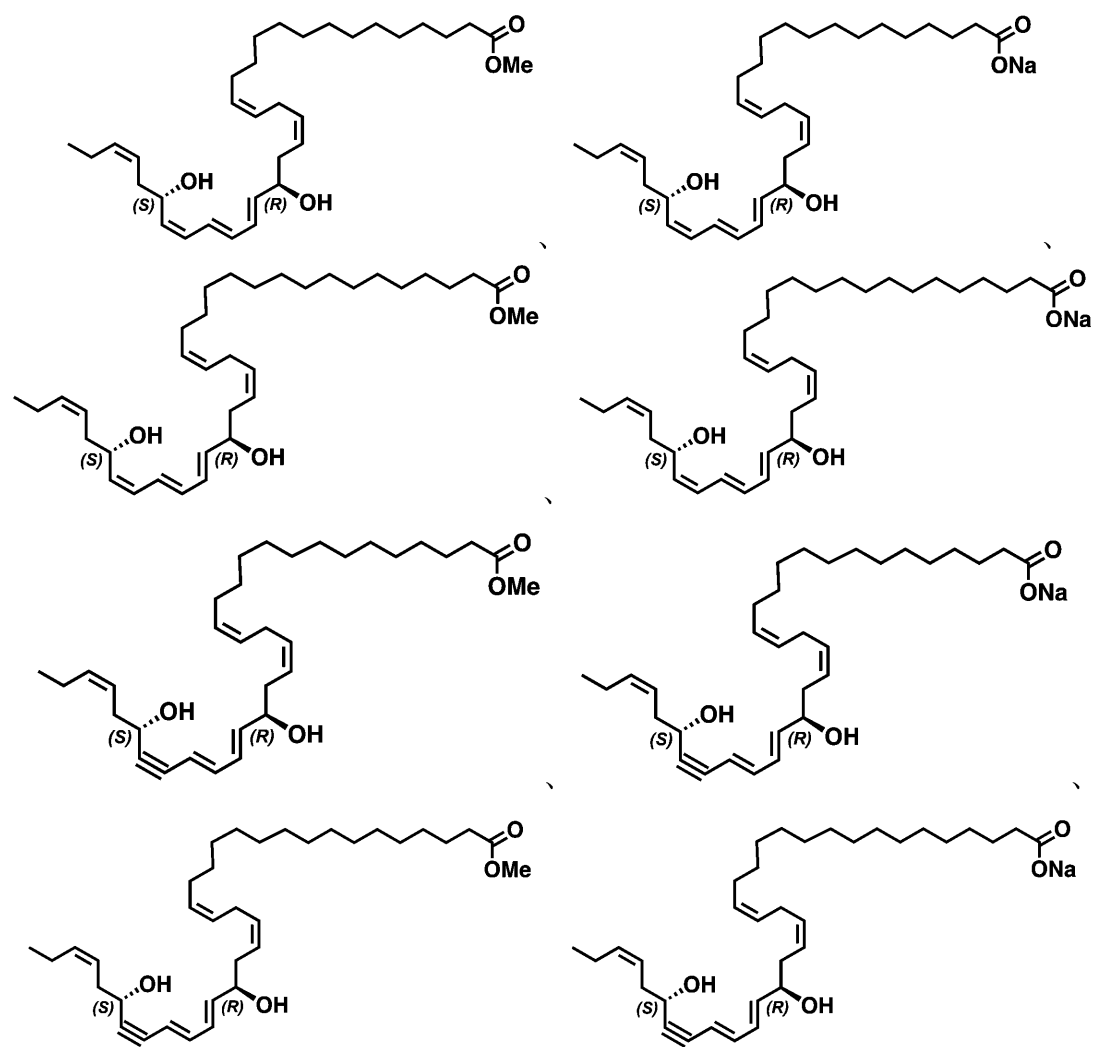
【請求項 1 7】

E L V - N 3 2 及び E L V - N 3 4 が、

30

40

50



10

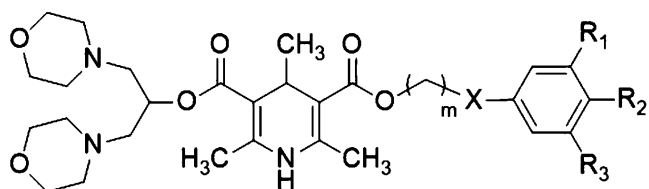
20

30

それらの異性体、又はそれらの組み合わせを含む、請求項 16 に記載の抗がん組成物。

【請求項 18】

前記 PAF 受容体アンタゴニストが、式 I：



40

の化合物を含む、請求項 15 に記載の抗がん組成物。

【請求項 19】

m が、1～4であり、 X が、O又はSであり、 R_1 が、H又はClであり、 R_3 が、H又はClであり、 R_2 が、H、ブトキシ、又はClであり、ここで、

R_2 がブトキシである場合、 m が、1若しくは4であり、又は

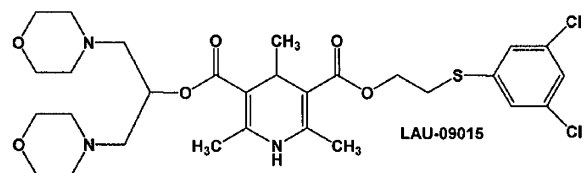
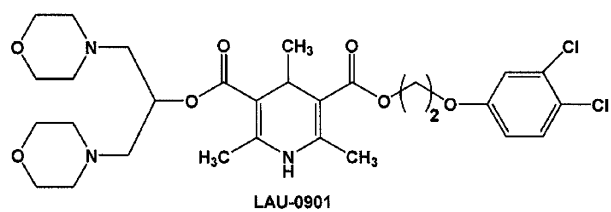
R_1 及び R_2 が両方ともClでありかつ X がOである場合、 m が、3若しくは4である、

請求項 18 に記載の抗がん組成物。

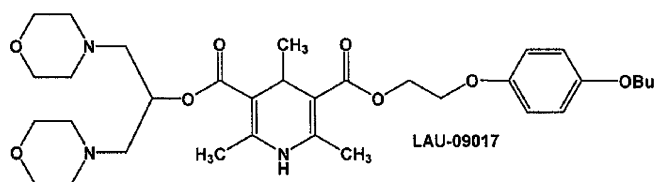
【請求項 20】

前記式 I の化合物が、

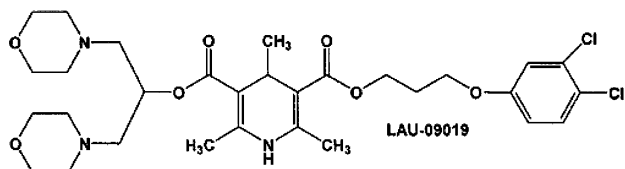
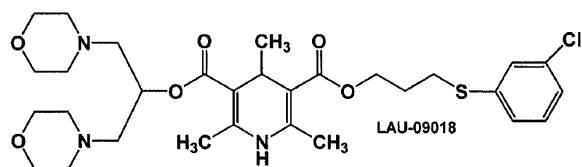
50



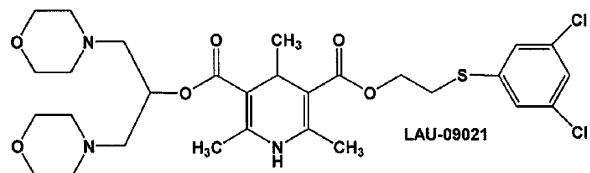
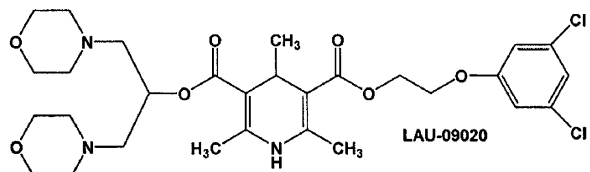
10



20

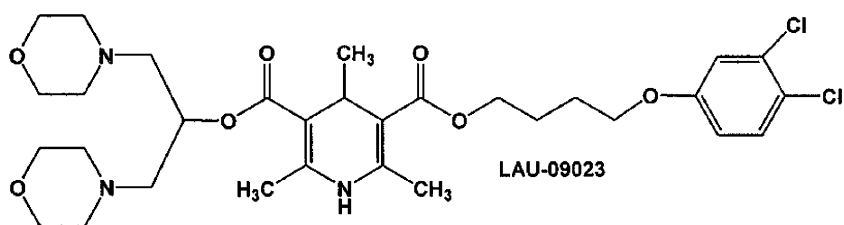


30

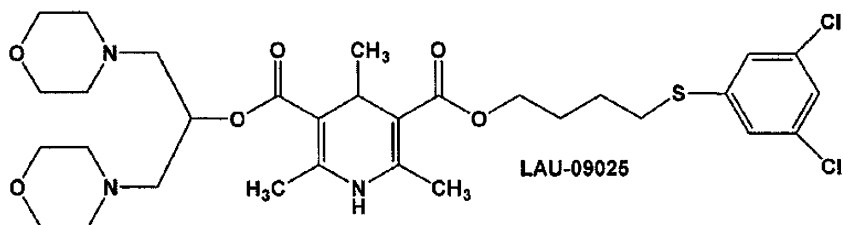


40

50



、若しくは



10

、又はその薬学的に許容される塩を含む、請求項 18 に記載の抗がん組成物。

【請求項 21】

前記抗 VEGF 抗体が、ペバシズマブを含む、請求項 15 に記載の抗がん組成物。

【請求項 22】

前記抗がん組成物が、医薬組成物として提供される、請求項 15 に記載の抗がん組成物

20

。

【請求項 23】

前記医薬組成物が、賦形剤、薬学的に許容される担体、又は希釈剤を更に含む、請求項 22 に記載の抗がん組成物。

【請求項 24】

がんを治療又は予防する方法であって、対象に治療有効量の請求項 15 に記載の組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 25】

腫瘍サイズを縮小させる方法であって、対象に治療有効量の請求項 15 に記載の組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 26】

前記がん又は腫瘍が、固形腫瘍又は液性がんを含む、請求項 24 又は 25 に記載の方法

30

。

【請求項 27】

前記固形腫瘍が、多形性膠芽腫（GBM）、結腸がん、前立腺がん又は肺がんを含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

がんの治療が、腫瘍浸潤、血管新生、腫瘍サイズ、又はそれらの任意の組み合わせの阻害又は遅延によって示される、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 29】

前記組成物が、全身投与される、請求項 24 又は 25 に記載の方法。

40

【請求項 30】

前記組成物が、非経口投与される、請求項 24 又は 25 に記載の方法。

【請求項 31】

非経口投与が、注射を含む、請求項 30 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2020年9月4日に出願された米国仮特許出願第63／074,968号からの優先権の利益を主張する国際出願であり、その内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

50

【 0 0 0 2 】

本明細書に引用される全ての特許、特許出願、及び刊行物は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。本明細書に記載され特許請求される本発明の日付時点での当業者に既知の最新技術をより完全に記載するために、これらの刊行物の開示は、参照により本出願に組み込まれる。

【 0 0 0 3 】

本特許開示は、著作権保護の対象となる、材料を含む。著作権所有者は、米国特許商標局の特許ファイル又は記録に表れているような特許文書又は特許開示をいかなる者がファクシミリ複製することにも異議はないが、それ以外では、あらゆる全ての著作権を留保する。

10

【 0 0 0 4 】

(政府の権益)

本発明は、米国国立衛生研究所によって授与された助成金番号 P 3 0 G M 1 0 3 3 4 0 に基づく政府の支援を受けて行われた。政府は、本発明に一定の権利を有する。

【 0 0 0 5 】

(発明の分野)

本発明は、脳がんを含むがん及び転移を治療するための組み合わせ組成物及び方法を対象とする。

【背景技術】

【 0 0 0 6 】

多形性膠芽腫 (Glioblastoma multiforme、G B M) は、成人において最も一般的かつ侵襲性の原発性悪性脳腫瘍であり、外科的切除、化学療法、及び放射線療法にもかかわらず、平均生存率は 1 3 ~ 1 6 ヶ月である。G B M は、中枢神経系のグリア細胞に由来する高悪性度の神経膠腫であり、全ての悪性脳腫瘍の 8 0 . 7 % を占める。最大外科的切除及びアジュバント化学放射線療法を含む現在の標準治療は、患者の生存に対してほとんど有効性を示しておらず、生存期間中央値は再発後 6 ヶ月未満である。新たに診断された G B M の治療のための唯一の承認された薬物はテモゾロマイド (temozolomide、T M Z) であり、再発性 G B M のためのものはベバシズマブ又はアバスチンである。

20

【発明の概要】

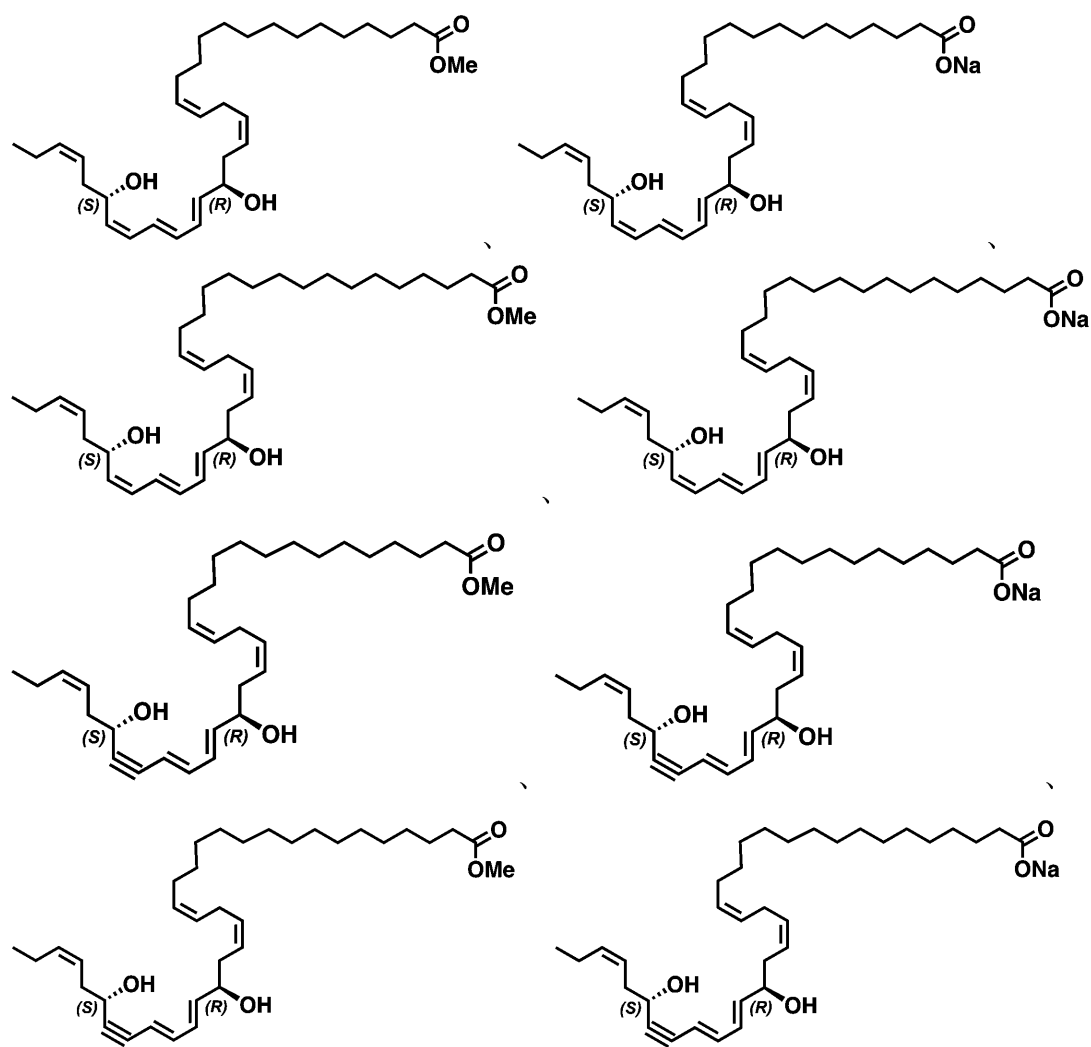
【 0 0 0 7 】

本発明は、抗がん組成物及びその使用方法を提供する。例えば、本発明の態様は、がんを治療又は予防する方法であって、対象に 2 つ以上の抗がん剤を投与することを含み、2 つ以上の抗がん剤が、エロバノイド、P A F 受容体アンタゴニスト；抗 V E G F 抗体；及びスラマブ (Suramab) からなる群から選択される、方法に向けられる。実施形態において、がん又は腫瘍は、固形腫瘍又は液性がんを含む。実施形態において、固形腫瘍は、多形性膠芽腫 (G B M)、結腸がん、前立腺がん又は肺がんを含む。ある実施形態において、がんの治療又は予防は、腫瘍浸潤、血管新生、腫瘍サイズ、又はそれらの任意の組み合わせの阻害又は遅延によって示される。実施形態において、2 つ以上の抗がん剤は、逐次的に、並行して、又は同時に投与される。実施形態において、2 つ以上の抗がん剤は、全身投与される。実施形態において、2 つ以上の抗がん剤は、非経口投与される。実施形態において、エロバノイドは、E L V - N 3 2 及び E L V - N 3 4 を含む。実施形態において、E L V - N 3 2 及び E L V - N 3 4 は、

30

40

50

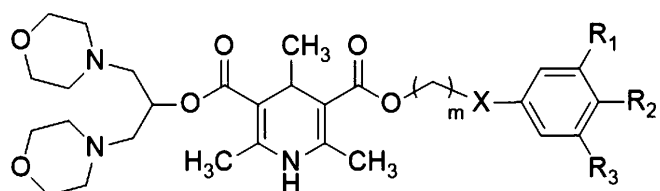


10

20

それらの異性体、又はそれらの組み合わせを含む。実施形態において、P A F 受容体アンタゴニストは、式 I による化合物を含む：

30

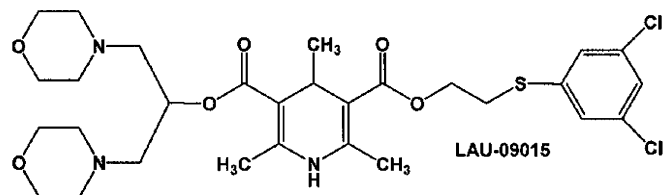
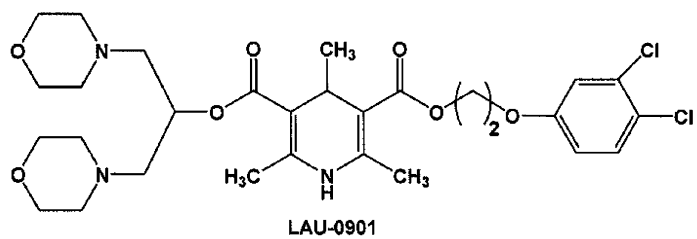


(式 I)。

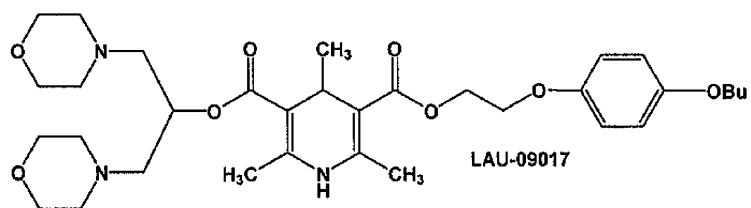
40

実施形態において、 m は、1～4であり、 X は、O又はSであり、 R_1 は、H又はClであり、 R_3 は、H又はClであり、 R_2 は、H、ブトキシ、又はClであり、ここで、 R_2 がブトキシである場合、 m は、1若しくは4であり、又は、 R_1 及び R_2 が両方ともClでありかつ X がOである場合、 m は、3若しくは4である。実施形態において、式 I の化合物は、

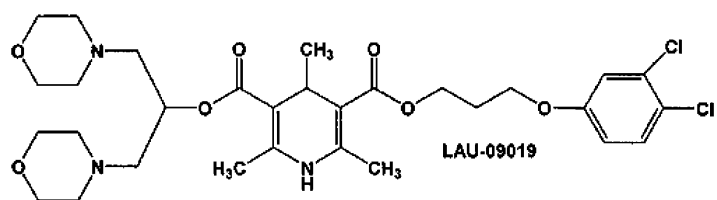
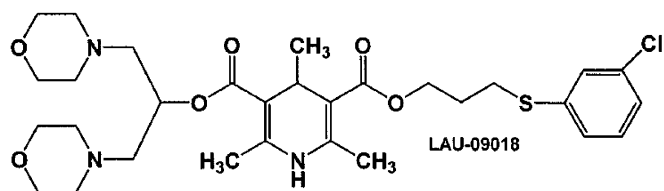
50



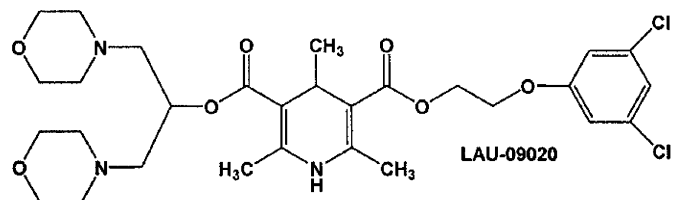
10



20

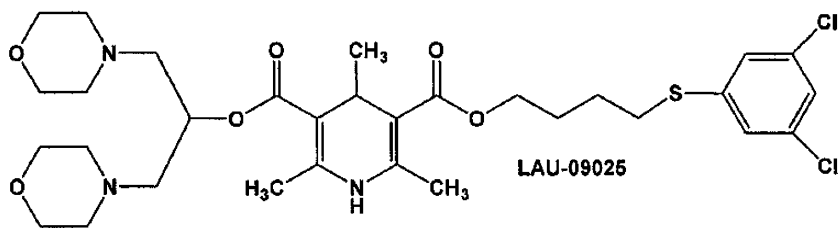
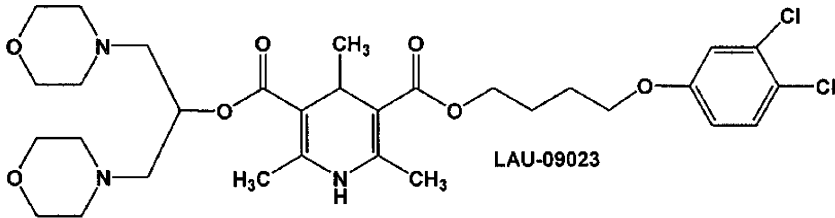
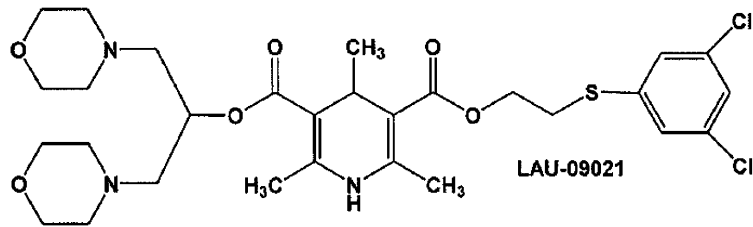


30



40

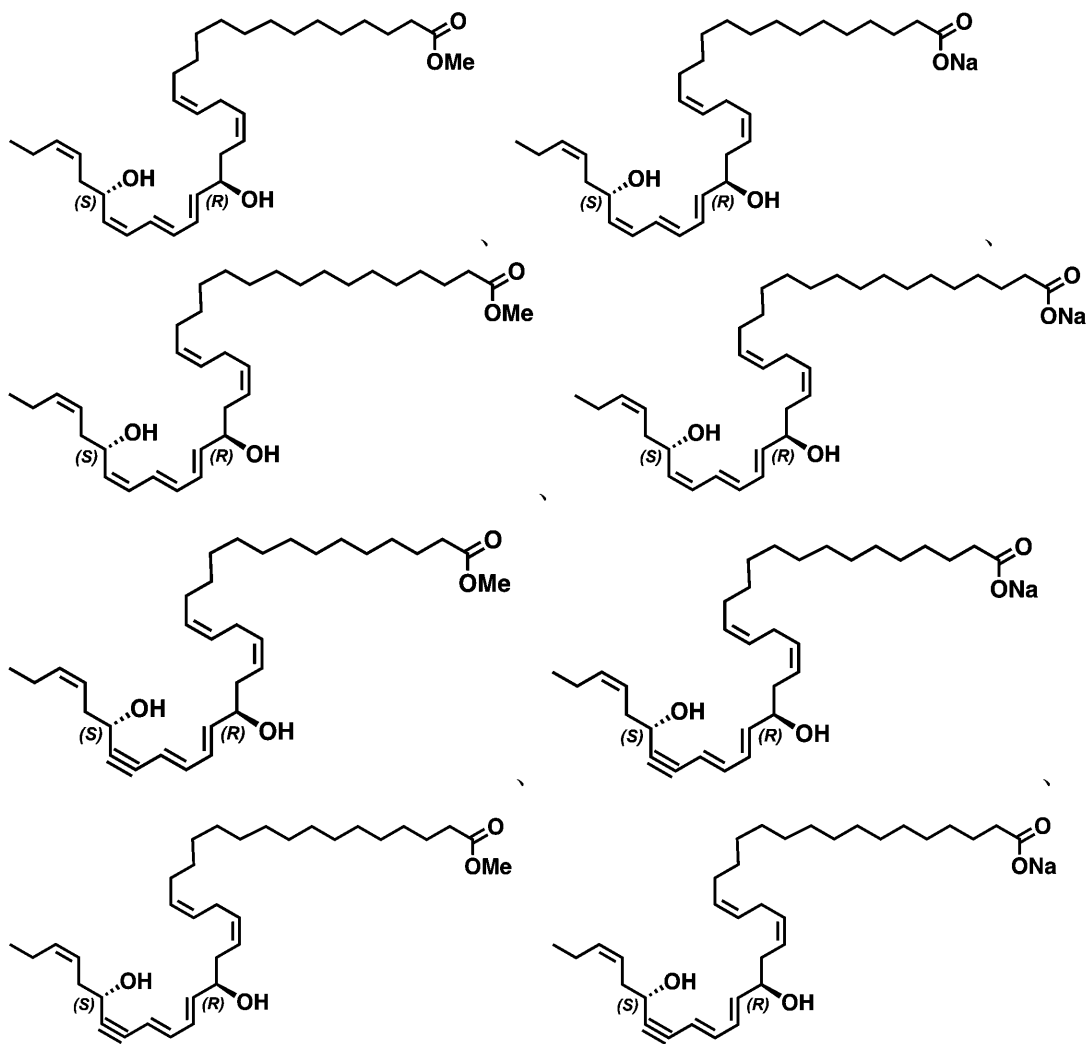
50



又はその薬学的に許容される塩を含む。実施形態において、抗 V E G T 抗体は、ペバシズマブを含む。

【 0 0 0 8 】

本発明の態様は、腫瘍サイズを縮小させる方法であって、対象に 2 つ以上の抗がん剤を投与することを含み、2 つ以上の抗がん剤が、エロバノイド、P A F 受容体アンタゴニスト；抗 V E G F 抗体；及びスラマブからなる群から選択される、方法に向けられる。実施形態において、がん又は腫瘍は、固形腫瘍又は液性がんを含む。実施形態において、固形腫瘍は、多形性膠芽腫（G B M）、結腸がん、前立腺がん又は肺がんを含む。実施形態において、2 つ以上の抗がん剤は、逐次的に、並行して、又は同時に投与される。実施形態において、2 つ以上の抗がん剤は、全身投与される。実施形態において、2 つ以上の抗がん剤は、非経口投与される。実施形態において、エロバノイドは、E L V - N 3 2 及び E L V - N 3 4 を含む。実施形態において、E L V - N 3 2 及び E L V - N 3 4 は、

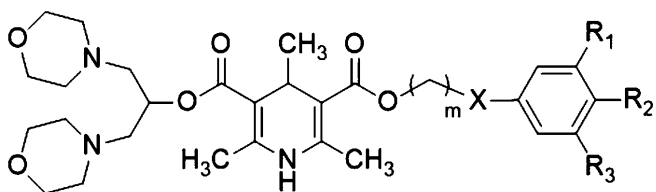


10

20

それらの異性体、又はそれらの組み合わせを含む。実施形態において、P A F 受容体アンタゴニストは、式 I による化合物を含む：

30

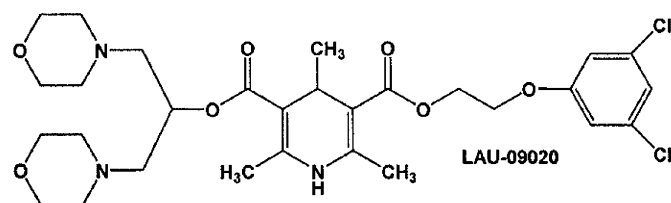
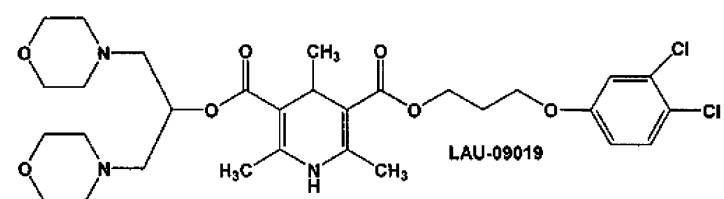
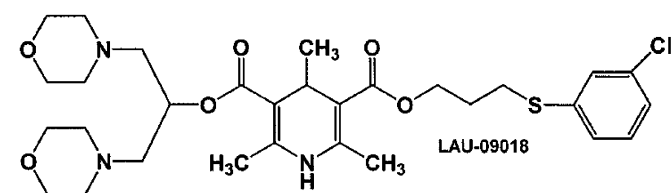
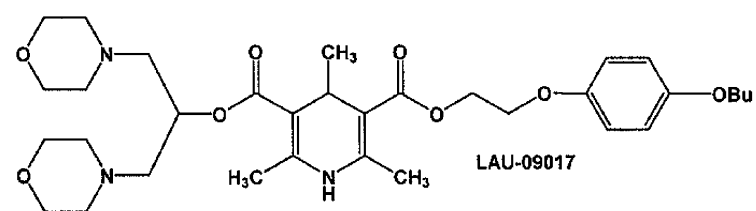
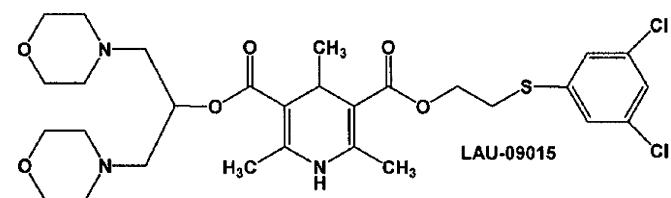
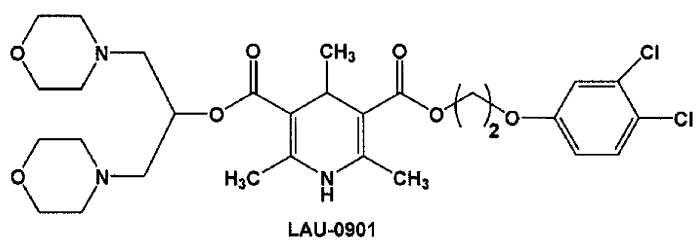


(式 I)。

40

実施形態において、 m は、1～4であり、 X は、O又はSであり、 R_1 は、H又はClであり、 R_3 は、H又はClであり、 R_2 は、H、ブトキシ、又はClであり、ここで、 R_2 がブトキシである場合、 m は、1若しくは4であり、又は、 R_1 及び R_2 が両方ともClでありかつ X がOである場合、 m は、3若しくは4である。実施形態において、式 I の化合物は、

50



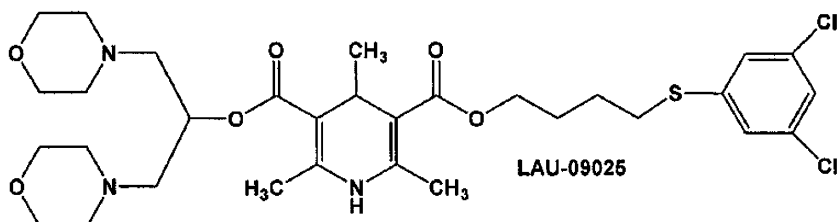
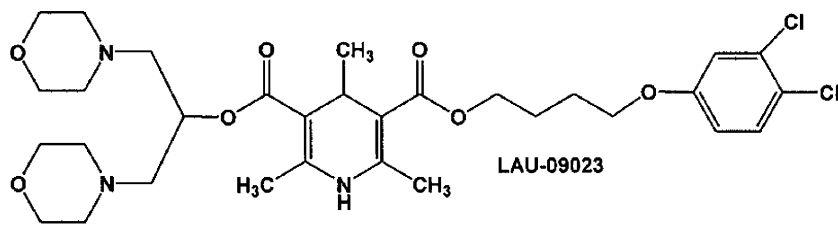
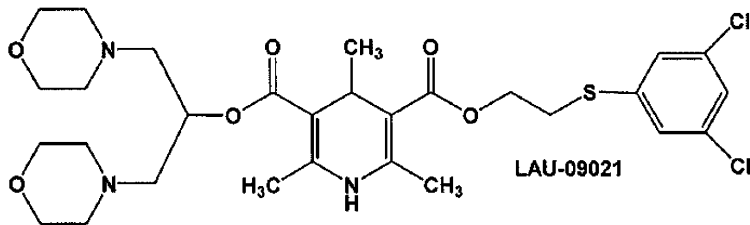
10

20

30

40

50

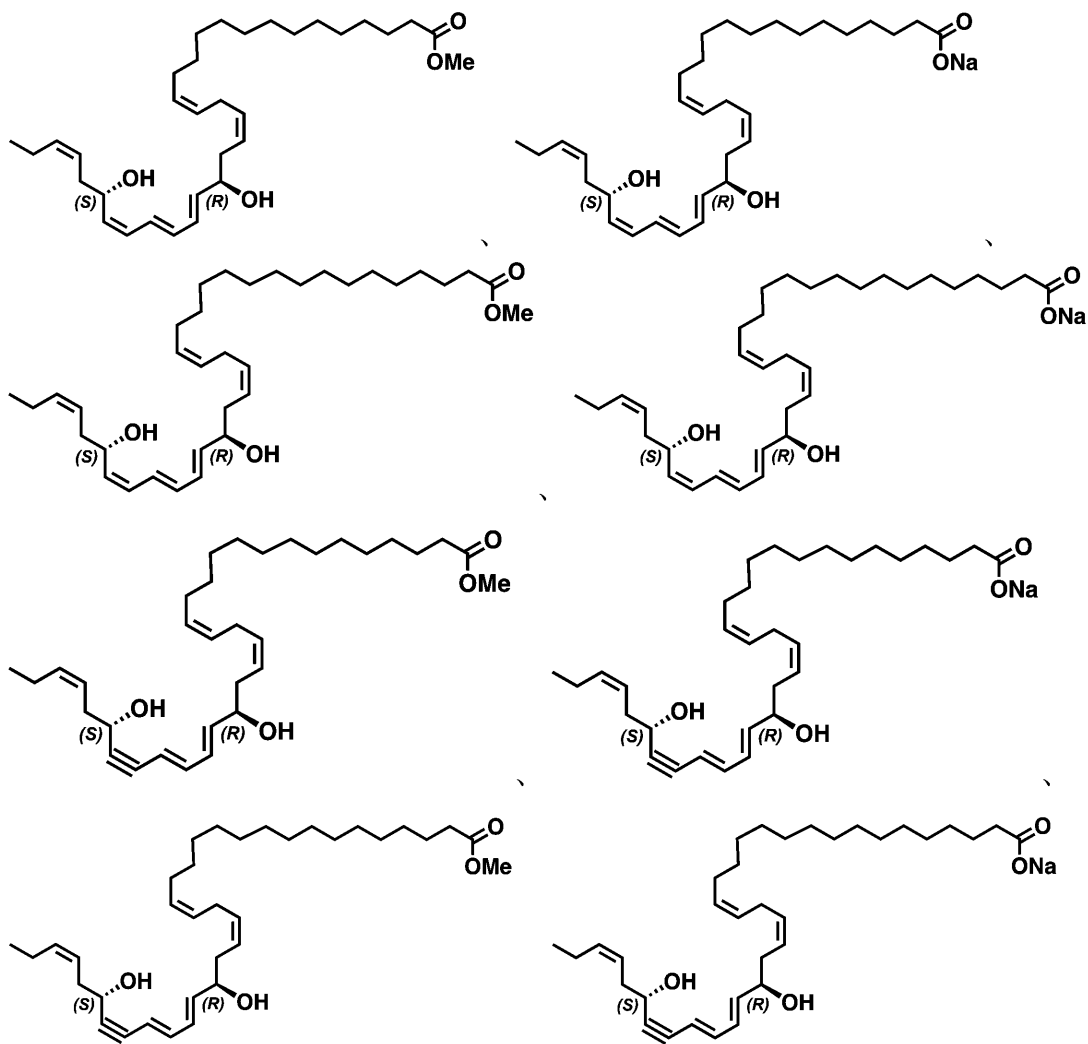


若しくは

又はそれらの薬学的に許容される塩を含む。実施形態において、抗 V E G T 抗体は、ペバシズマブを含む。

【0009】

本発明の態様は、治療有効量のエロバノイドと、治療有効量の P A F 受容体アンタゴニストと、を含む、抗がん組成物に向けられる。別の例では、抗がん組成物は、治療有効量のエロバノイドと、治療有効量の抗 V E G F 抗体と、を含む。別の例では、抗がん組成物は、治療有効量のエロバノイドと、治療有効量のスラマブと、を含む。別の例では、抗がん組成物は、治療有効量の P A F 受容体アンタゴニストと、治療有効量の抗 V E G F 抗体と、を含む。更に別の例では抗がん組成物は、治療有効量の P A F 受容体アンタゴニストと、治療有効量のスラマブと、を含む。実施形態において、エロバノイドは、E L V - N 3 2 及び E L V - N 3 4 を含む。実施形態において、E L V - 3 2 及び E L V N 3 4 は、

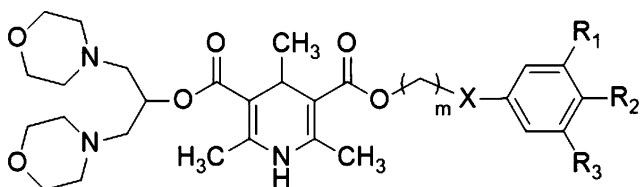


10

20

それらの異性体、又はそれらの組み合わせを含む。実施形態において、P A F 受容体アンタゴニストは、式 I の化合物を含む：

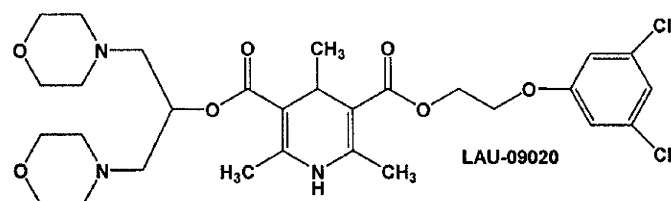
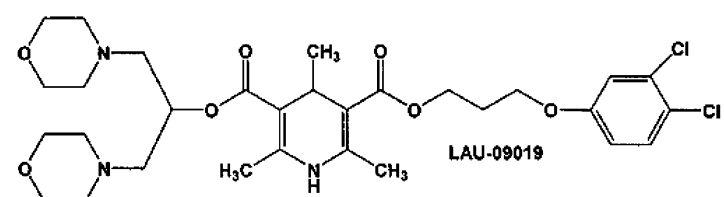
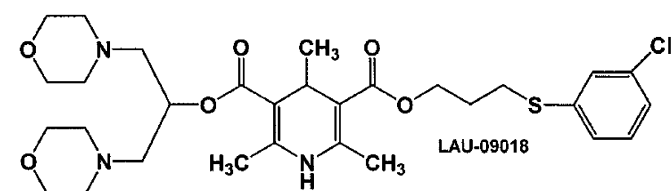
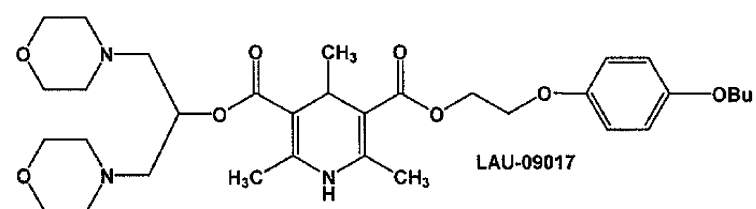
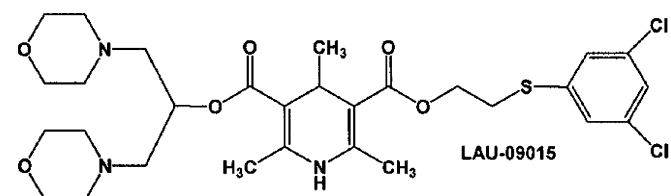
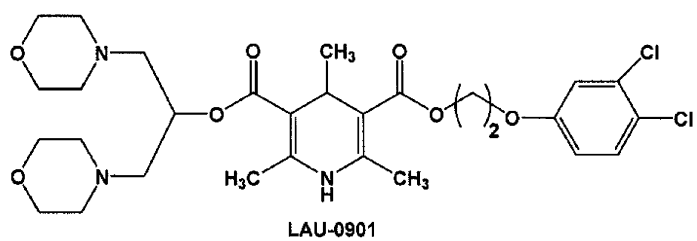
30



実施形態において、 m は、1～4であり、 X は、O又はSであり、 R_1 は、H又はClであり、 R_3 は、H又はClであり、 R_2 は、H、ブトキシ、又はClであり、ここで、 R_2 がブトキシである場合、 m は、1若しくは4であり、又は、 R_1 及び R_2 が両方ともClでありかつ X がOである場合、 m は、3若しくは4である。実施形態において、式 I の化合物は、

40

50



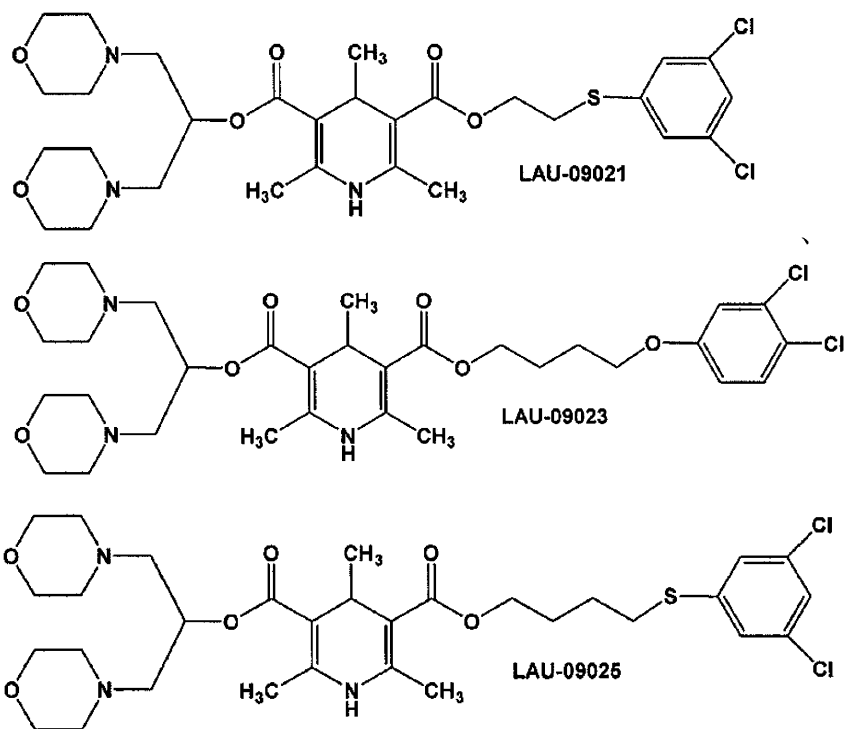
10

20

30

40

50



10

、若しくは

20

又はその薬学的に許容される塩を含む。実施形態において、抗 V E G F 抗体はペバシズマブを含む。実施形態において、抗がん組成物は、医薬組成物として提供される。実施形態において、医薬組成物は、賦形剤、薬学的に許容される担体、又は希釈剤を更に含む。

【0010】

本発明の態様は、がんを治療又は予防する方法であって、治療有効量のエロバノイドと、治療有効量の P A F 受容体アンタゴニストと、を含む治療有効量の抗がん組成物；治療有効量のエロバノイドと、治療有効量の抗 V E G F 抗体と、を含む治療有効量の抗がん組成物；治療有効量のエロバノイドと、治療有効量のスラムブと、を含む治療有効量の抗がん組成物；治療有効量の P A F 受容体アンタゴニストと、治療有効量の抗 V E G F 抗体と、を含む治療有効量の抗がん組成物；又は治療有効量の P A F 受容体アンタゴニストと、治療有効量のスラムブと、を含む治療有効量の抗がん組成物を、対象に投与することを含む方法に向けられる。実施形態において、がん又は腫瘍は、固形腫瘍又は液性がんを含む。実施形態において、固形腫瘍は、多形性膠芽腫（G B M）、結腸がん、前立腺がん又は肺がんを含む。実施形態において、がんの治療は、腫瘍浸潤、血管新生、腫瘍サイズ、又はそれらの任意の組み合わせの阻害又は遅延によって示される。実施形態において、組成物は、全身投与される。実施形態において、組成物は、非経口投与される。実施形態において、非経口投与は注射を含む。

30

【0011】

本発明の態様は、腫瘍サイズを縮小させる方法であって、治療有効量のエロバノイドと、治療有効量の P A F 受容体アンタゴニストと、を含む治療有効量の抗がん組成物；治療有効量のエロバノイドと、治療有効量の抗 V E G F 抗体と、を含む治療有効量の抗がん組成物；治療有効量のエロバノイドと、治療有効量のスラムブと、を含む治療有効量の抗がん組成物；治療有効量の P A F 受容体アンタゴニストと、治療有効量の抗 V E G F 抗体と、を含む治療有効量の抗がん組成物；又は治療有効量の P A F 受容体アンタゴニストと、治療有効量のスラムブと、を含む治療有効量の抗がん組成物を、対象に投与することを含む方法に向けられる。実施形態において、がん又は腫瘍は、固形腫瘍又は液性がんを含む。実施形態において、固形腫瘍は、多形性膠芽腫（G B M）、結腸がん、前立腺がん又は肺がんを含む。実施形態において、組成物は、全身投与される。実施形態において、組成物は、非経口投与される。実施形態において、非経口投与は注射を含む。

40

50

【0012】

例えば、抗がん組成物は、治療有効量のエロバノイドと、治療有効量のPAF受容体アンタゴニストと、を含む。別の例では、抗がん組成物は、治療有効量のエロバノイドと、治療有効量の抗VEGF抗体と、を含む。別の例では、抗がん組成物は、治療有効量のエロバノイドと、治療有効量のスラマブと、を含む。別の例では、抗がん組成物は、治療有効量のPAF受容体アンタゴニストと、治療有効量の抗VEGF抗体と、を含む。更に別の例では抗がん組成物は、治療有効量のPAF受容体アンタゴニストと、治療有効量のスラマブと、を含む。

【0013】

実施形態において、エロバノイドは、ELV-N32及びELV-N34を含む。

10

【0014】

実施形態において、PAF受容体アンタゴニストは式Iの化合物を含み、例えば、式Iの化合物はLAU-0901を含む。

【0015】

実施形態において、抗VEGF抗体は、ベバシズマブ、ラムシルマブ、又はラニビズマブを含む。

【0016】

実施形態において、抗VEGF剤は、アジチニブ (azitinib)、カボザンチニブ、ラパチニブ、レンパチニブ、パゾパニブ、ポナチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、又はパンデタニブなどの低分子量VEGF阻害剤を含む。

20

【0017】

実施形態において、抗がん組成物は、医薬組成物として提供される。

【0018】

実施形態において、医薬組成物は、賦形剤、薬学的に許容される担体、又は希釈剤を更に含む。

【0019】

本発明の態様は、がんを治療する方法になお更に向けられる。例えば、方法は、治療有効量の本明細書に記載される組成物を対象に投与することを含む。例えば、がんは、固形腫瘍又は液性がんを含む。例えば、固形腫瘍は、多形性膠芽腫 (GBM)、結腸がん、前立腺がん又は肺がんを含む。

30

【0020】

実施形態において、がんの治療は、侵襲性の阻害又は遅延によって示される。

【0021】

実施形態において、組成物は、全身投与される。

【0022】

実施形態において、組成物は非経口投与され、例えば、非経口投与は注射を含む。

【0023】

本発明の他の目的及び利点は、その後の記載から容易に明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0024】

40

【図1A】GBMにおいてPAF-Rアンタゴニストを使用する前提を示す。PAF-Rは、増強された神経炎症応答の一部として、異なる腫瘍の微小環境において過剰に活性化される。PAF-R依存性経路は、実験的腫瘍増殖の間に活性化されることが示されている。

【図1B】胸腺欠損雌マウスをケタミン／キシラジンカクテル溶液 (100mg/kg；10mg/kg) で麻酔したことを示す。次いで、マウスを定位固定ヘッドフレームに固定し、頭皮上の正中線1cm切開を行った。各マウスについて、ルシフェラーゼ受容体遺伝子でタグ付けされた5µLの無血清ダルベッコ改変イーグル培地 (Dulbecco's Modified Eagle Medium、DMEM) 中の5×10⁶個の細胞を、10µLのハミルトンシリンジを使用して、プレグマに対して次の座標：で：1.5mm側方、1.5mm後方、

50

及び3.5 mm深さで右海馬に移植した。注射前に、針を3.5 mmまで下げ、1 mmだけ引き上げた。

【図1C】GBM手術、イメージング及び処置を示す実験計画タイムラインを示す。マウスは、0日目にU87GBM細胞の定位移植を受け、30日間の生存期間の間モニターされた。移植後13日目に処置を開始した。インビボ生物発光イメージングを、移植後13、20及び30日目に実施した。移植後30日目に、マウスを安楽死処分し、脳をエクスピボMRIに供した。

【図2A】U87GBM細胞をCryofreezeから取り出し、5 mlのDMEM-F12 (10%) - Glutamax 培地を含有するT-25 mm フラスコに入れ、37 °Cでインキュベートしたことを示す。写真を撮影した：37 °Cでのインキュベーションの3時間後。

【図2B】U87GBM細胞をCryofreezeから取り出し、5 mlのDMEM-F12 (10%) - Glutamax 培地を含有するT-25 mm フラスコに入れ、37 °Cでインキュベートしたことを示す。写真を撮影した：37 °Cでのインキュベーションの36時間後。

【図2C】約500,000個のU-87GBM及びヒト網膜色素上皮(h-RPE)細胞を別々に6ウェルプレートにおいて37 °Cで36時間(80%コンフルエント)3回増殖させたことを示す。細胞を冷PBSで洗浄し、採取し、細胞抽出物を作製した。タンパク質含量をBio-Rad法によって測定し、調整した。ルシフェリンを基質として使用して、5~20 µgのタンパク質等価物抽出物においてルシフェラーゼ活性を測定した。ルシフェラーゼ単位(LFU)をGloMax 20/20ルミノメーターで検出した。

【図3】全ての群における腫瘍進行サイズを示すインビボ生物発光イメージングを示す。頭蓋内腫瘍増殖を、移植後13日目、20日目及び30日目にモニターした。生理食塩水群では進行性で急速な腫瘍増殖があった。ELV、ELV+LAU-0901及びELV+アバスチンで処置されたマウスは、腫瘍サイズを劇的に減少させた。

【図4】全ての処置群についてのインビボ生物発光イメージング増殖スコア(放射輝度 $\times 10^6$)を示す。全ての値は平均 $\pm$ SD ($n=5\sim7$)、* $p<0.05$ である。全ての処置は、ビヒクル群と比較して腫瘍増殖を有意に減少させた。

【図5A】T1強調MRI(T1WI)上のガドリニウム(Gd)増強腫瘍可視化を示す。Gd-DTPAを安楽死処分前に投与して、腫瘍可視化を増強させた(矢印)。大脳全体のエクスピボT1WIを実施して、脳及び腫瘍体積を測定した。ELVによる処置並びにLAU-0901及びアバスチンと組み合わせた処置は、図示されるように、生理食塩水処置マウスと比較してGBM腫瘍体積の減少をもたらした。

【図5B】全ての処置は、ビヒクル群と比較して腫瘍増殖を有意に減少させたことを示す。全ての値は平均 $\pm$ SD ($n=5\sim7$)、* $p<0.05$ である。

【図6】全ての群における腫瘍進行サイズを示すインビボ生物発光イメージングを示す。頭蓋内腫瘍増殖を、移植後13日目、20日目及び30日目にモニターした。生理食塩水群では進行性で急速な腫瘍増殖があった。LAU-0901、アバスチン、及びLAU-0901+アバスチンで処置したマウスは、腫瘍サイズを縮小させた。

【図7】全ての処置群についてのインビボ生物発光イメージング増殖スコア(放射輝度 $\times 10^6$)を示す。全ての値は平均 $\pm$ SD ($n=5\sim7$)、* $p<0.05$ 、生理食塩水対処置である。全ての処置は、ビヒクル群と比較して腫瘍増殖を有意に減少させた。

【図8A】T1強調MRI(T1WI)上のガドリニウム(Gd)増強腫瘍可視化を示す。Gd-DTPAを安楽死処分前に投与して、腫瘍可視化を増強させた(矢印)。大脳全体のエクスピボT1WIを実施して、脳及び腫瘍体積を測定した。アバスチン、LAU-0901による処置並びにLAU-0901及びアバスチンと組み合わせた処置は、図示されるように、生理食塩水処置マウスと比較してGBM腫瘍体積の減少をもたらした。

【図8B】全ての処置は、ビヒクル群と比較して腫瘍増殖を有意に減少させたことを示す。全ての値は平均 $\pm$ SD ($n=5\sim7$)、* $p<0.05$ ；全ての処置対生理食塩水である。

10

20

30

40

50

【図 9】スラマブ、E L V + スラマブ、L A U + スラマブ及びビヒクル処置群についてのインビボ生物発光イメージング増殖スコア（放射輝度 $\times 10^6$ ）を示す。全ての値は平均 $\pm$ S D（ $n = 3 \sim 4$ ）である。全ての処置は、ビヒクル群と比較して腫瘍増殖を減少させた。

【図 10】オメガ-3（ $n = 3$ 又は $n = 3$ ）の超長鎖多価不飽和脂肪酸（ $n = 3$ V L C P U F A）からのエロバノイド（elovanoid、E L V）の生合成を説明するスキームである。

【図 11】中間体からの E L V - N 3 2 及び E L V - N 3 4 合成を示すスキームであり、これらの各々は、立体化学的に純粋な形態で調製された。

【図 12 A】パネル A 及び B は、生物発光データを示す。パネル A は生物発光イメージングを示し、パネル B は腫瘍サイズの棒グラフを示す。

【図 12 B】図 12 A の説明を参照されたい。

【図 13】神経膠芽腫及び治療薬の特徴を描写する図を示す。（パネル A）神経膠芽腫は、ミクログリア、アストロサイト、線維芽細胞、及び腫瘍進行を促進する内皮細胞を含む複数の細胞型を含む。神経膠腫細胞によって放出されたサイトカインは、免疫細胞を腫瘍微小環境に動員し、炎症促進性シグナル伝達を誘導する。炎症性シグナル伝達は、腫瘍進行に寄与する免疫細胞を細胞が回避することを可能にする腫瘍促進活性を誘発する。周囲及び神経膠腫細胞からの増殖因子及び血小板活性化因子（platelet-activating factor、P A F）分泌の増加、並びに増殖因子サプレッサーを回避するそれらの能力は、腫瘍の増殖性及び浸潤性の性質に寄与する。血管内皮増殖因子（vascular endothelial growth factor、V E G F）は、神経膠芽腫における血管形成のための重要な増殖因子である。（パネル B）エロバノイド（E L V）による炎症シグナル伝達分子 I L - 1 β 、I L - 6、及び T N F α の阻害並びにスラマブ及び L A U - 0 9 0 1 による増殖因子及び P A F 活性の阻害は、腫瘍増殖及び遊走を減少させる。スラマブ及び E L V はまた、V E G F の阻害を介して血管形成を減少させる。（パネル C）30 日目の全ての実験群からのルシフェラーゼ修飾 U 8 7 M G 細胞の移植後の脳腫瘍の代表的な生物発光画像である。腫瘍量に対応する発光の強度は、比色スケールによって表され、赤色は最高放射輝度を示し、青色／紫色は最低放射輝度を示す。生理食塩水群では進行性で急速な腫瘍増殖があった。対照的に、L A U - 0 9 0 1、スラマブ、E L V、E L V + スラマブ、及び L A U - 0 9 0 1 + スラマブで処置したマウスは、ビヒクル処置マウスと比較して腫瘍増殖の減少を示した。

【図 14】G B M 腫瘍微小環境における L A U - 0 9 0 1、エロバノイド、及びアバスチンの標的の非限定的な例の概略図を示す。選択的 P A F R アンタゴニストである L A U - 0 9 0 1 は、P A F R の過剰活性化を防止する。P A F の過剰産生及び P A F R の過剰活性化は、増殖因子、接着分子、炎症性シグナリンの合成を増加させ、血管新生を促進する。E L V は、がん細胞の増殖及び遊走を阻害することによって腫瘍微小環境において役割を果たす炎症促進性シグナル伝達経路を標的とする。アバスチンは、V E G F 結合を防止し、したがって血管新生を阻害するモノクローナル抗体である。

【図 15】U 8 7 M G 細胞における形態学的増殖及びルシフェラーゼ活性を示す。C r y o f r i z i d e から取り出した後の 20 倍の倍率での 3 時間（パネル A）、36 時間（パネル B）、及び 72 時間（パネル C）における U 8 7 M G 細胞の代表的な画像である。ルシフェラーゼ受容体遺伝子を用いて、U 8 7 M G 細胞をタグ付けした。36 時間及び 72 時間に存在する U 8 7 M G 細胞の形態学的パターンの安定した増殖及び減衰である。（パネル D）U 8 7 M G 及び h R P E 細胞におけるルシフェラーゼ単位（luciferase unit、L F U）で表されるルシフェラーゼ活性の検出である。結果は、3 回の独立した実験の平均である。

【図 16】（パネル A）非限定的な例示の実験計画を示し、定位固定ヘッドフレームに固定された、麻酔された胸腺欠損雌マウスにおけるブレグマレベル及び腫瘍細胞移植部位を示す。（パネル B）G B M 移植、画像化、及び処置を示すタイムラインである。マウスは、0 日目にルシフェラーゼ修飾 U 8 7 M G 細胞の定位置移植を受け、30 日間の生存期間の

間モニターされた。移植後13日目に処置を開始した。インビボ生物発光イメージングを、移植後13、20及び30日目に実施した。30日目に、マウスを安楽死処分し、灌流した脳に対してエクスビボMRIを行った。

【図17】全ての実験群からの脳腫瘍の代表的な生物発光画像を示す。マウスは13日目に処置を受け、腫瘍13日目、20日目及び30日目に腫瘍増殖の進行をモニターした。発光の強度は比色スケールによって示され、赤色は発光の最大量を表し、青色／紫色は最小量を示す。生理食塩水群では進行性で急速な腫瘍増殖があった。対照的に、LAU-0901、アバスチン、ELV、及び組み合わせは、同所性GBMを抑制する。

【図18】腫瘍からの生物発光シグナルの定量化を示す。U87-Luc細胞の頭蓋内移植後13日目、20日目、及び30日目に、全ての群からのマウスにおける対象領域からの放射輝度（放射輝度 $\times 10^6$ ）値を平均し、比較した。（パネルA）LAU-0901、アバスチン、LAU-0901+アバスチン、及び（パネルB）ELV、ELV+LAU-0901、及びELV+アバスチンは、ビヒクル処置マウスと比較した場合、腫瘍形成を有意に減少させることが観察された。全ての値は平均 $\pm$ SEM（ $n=5\sim 7$ ）、* $p<0.05$ である。

【図19】腫瘍体積のT1WI測定を示す。（パネルA）処置群からの代表的なT1強調画像である。T1強調MRI（T1WI）上のガドリニウム（Gd）増強腫瘍可視化である。大脳全体のエクスビボT1WIを実施して、脳及び腫瘍体積を測定した。全ての処置が頭蓋内腫瘍増殖を減少させた。腫瘍体積は、ビヒクル群と比較して、LAU-0901／アバスチンパネルB及びELV／アバスチンパネルCにおいて有意に減少した。全ての値は平均 $\pm$ SEM（ $n=5\sim 7$ ）、* $p<0.05$ である。

【発明を実施するための形態】

【0025】

発明の詳細な説明

本発明の態様は、抗がん化合物及び組成物、例えば2つ以上の抗がん剤を含むものに向けられる。本発明の態様は更に、多形性膠芽腫などのがんを治療するためのキット及び方法に向けられる。

【0026】

本明細書に記載の組成物は、例えば、2つ以上の抗がん剤を含むことができる。そのような抗がん剤は、エロバノイド及びLAU化合物などのPAF受容体アンタゴニスト；エロバノイド及び抗VEGF抗体；エロバノイド及びスラマブ；PAF受容体アンタゴニスト及び抗VEGF抗体；又はLAU化合物などのPAF受容体アンタゴニスト；及びスラマブなどの薬剤の治療用組み合わせを含むことができる。治療用組み合わせは、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤を含むことができる。組み合わせ療法は、例えば、血管新生促進機構を鈍らせる一方で、炎症促進性シグナル伝達も遮断し、それによってがんを治療する。

【0027】

1つ以上の実施形態の詳細な説明が本明細書に提供される。しかしながら、本発明が、様々な形式で具現化され得ることが、理解されるべきである。したがって、本明細書に開示される特定の詳細は、限定として解釈されるべきではなく、特許請求の範囲の根拠として、及び当業者に本発明を任意の適切な方法で用いるように教示するための代表的な根拠として解釈されるべきである。

【0028】

単数形「a」、「an」、及び「the」は、文脈が明確に他のことを指示しない限り、複数の参照を含む。特許請求の範囲及び／又は明細書において「含む」という用語とともに使用されるとき「a」又は「an」という単語の使用は、「1つ」を意味し得るが、「1つ以上」、「少なくとも1つ」、及び「1つ又は2つ以上」の意味とも一致する。

【0029】

「例えば」、「など」、「含む」などの句のいずれかが本明細書で使用される場合は常に、他に明確に記載されない限り、「限定することなく」という句が付随することが理解

される。同様に、「一例」、「例示的」などは、非限定的であると理解される。

【0030】

「実質的に」という用語は、意図した目的に悪影響を与えない記述語からの逸脱を可能にする。記述用語は、「実質的に」という語が明確に列挙されていなくても、「実質的に」という用語によって修飾されることが理解される。

【0031】

「含む (comprising)」及び「含む (including)」及び「有する (having)」及び「含む (involving)」(並びに同様に「含む (comprises)」、「含む (includes)」、「有する (has)」、及び「含む (involves)」)などの用語は、交換可能に使用され、同じ意味を有する。具体的には、用語の各々は、「含む (comprising)」の一般的な米国特許法の定義と一致して定義され、したがって、「少なくとも以下 (at least the following)」を意味する非限定用語 (open term) であると解釈され、追加の特徴、限定、態様などを除外しないとも解釈される。よって、例えば、「ステップ a、b、及び c を含むプロセス」は、プロセスが少なくともステップ a、b、及び c を含むことを意味する。「a」又は「a n」という用語が使用されている場合は常に、そのような解釈が文脈上無意味でない限り、「1つ以上」と理解される。

10

【0032】

本明細書で使用される場合、「約」という用語は、本明細書では、おおよそ、大まかに、おおよそ、又はその領域内を意味するために使用される。「約」という用語が数値範囲とともに使用される場合、それは、記載された数値の上及び下の境界を拡張することによってその範囲を変更する。一般に、「約」という用語は、本明細書では、20パーセント上又は下の(より高い又はより低い)分散によって記載された値を上回る、及び下回る数値を修飾するために使用される。

20

【0033】

抗がん組成物及び組み合わせ

本発明の態様は、抗がん化合物及び組成物を対象とする。本明細書に記載される抗がん化合物には、抗 VEGF 剤；スラマブなどの医薬化合物；プロホメオスタティック (pro homeostatic) 脂質メディエーター；及び／又は PAF 受容体アンタゴニストが含まれる。例えば、抗がん化合物は、エロバノイド；LAU 化合物などの PAF 受容体アンタゴニスト；アバスチンなどの抗 VEGF 抗体；及び／又はスラマブを含み得る。抗がん化合物は、2つ以上の抗がん化合物及び薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤を含む治療的組み合わせに含まれ得る。

30

【0034】

用語「抗がん」は、がんの予防及び治療と関連して、がん細胞の増殖を抑制するか、がん細胞を死滅させる作用及びがん細胞の転移を抑制又は遮断する作用を意味することができる。例えば、抗がんは、がんの形成、浸潤、転移、及び増殖の阻害を指すことができる。

【0035】

本明細書に記載の抗がん化合物は、抗 VEGF 剤を含むことができる。「抗 VEGF 剤」という用語は、血管内皮増殖因子 (VEGF) の機能、活性又は効果を部分的若しくは完全に阻害する薬剤又は化合物を指すことができ、例えば、VEGF 阻害剤、VEGF 受容体阻害剤、及び／又は VEGF の発現を阻害する核酸を含む。抗 VEGF 剤は、例えば、抗体及びその断片を含み得る。例えば、ベバシズマブ (アバスチンとも呼ばれる) は、VEGF-A を阻害することによって血管新生を遮断する組換えヒト化モノクローナル抗体である。VEGF-A は、がんなどの様々な疾患において血管新生を刺激する増殖因子タンパク質である。ベバシズマブは、VEGF に結合し、内皮細胞の表面上のその受容体 (Flt-1 及び KDR) への VEGF の相互作用を防止する。VEGF とその受容体との相互作用は、血管新生のインビトロモデルにおいて内皮細胞増殖及び新しい血管形成をもたらす。(胸腺欠損) ヌードマウスにおける結腸がんの異種移植モデルへのベバシズマブの投与は、微小血管増殖の減少及び転移性疾患進行の阻害を引き起こした。ベバシズマ

40

50

ブは、とりわけ、結腸がん、肺がん、腎臓がん、卵巣がん、及び多形性膠芽腫を治療するために使用されている。別の例として、ラニビズマブ（ルセンティスとしても知られる）は、ベバシズマブと同じ親マウス抗体から作製されたモノクローナル抗体断片（Fab）である。他の抗VEGF抗体としては、ラムシルマブ又はラニビズマブが挙げられるが、これらに限定されない。実施形態において、抗VEGF剤は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、又はそれらの断片を指すことができる。

【0036】

実施形態において、抗VEGF剤はまた、低分子量VEGF阻害剤であってもよく、その非限定的な例は、アジチニブ（azitinib）、カボザンチニブ、ラパチニブ、レンバチニブ、パゾパニブ、ボナチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、及びバンデタニブを含む。用語「低分子量阻害剤」は、測定可能なVEGF阻害活性を有する化合物を指すことができる。

10

【0037】

本明細書に記載の抗がん化合物は、抗血管新生剤を含むことができる。抗血管新生剤は、血管の発達を妨害するか、又はある程度妨害する化合物を指し得る。

【0038】

本発明の抗がん化合物は、医薬化合物及び組成物、例えばスラマブを含むことができる。スラマブは、本明細書に記載のベバシズマブ、及びスラミンの化合物である。スラマブは、抗血管新生特性及び抗腫瘍特性を有することが示されている。例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第9,023,350（B2）号を参照されたい。スラミンは、線虫及び原虫によって引き起こされる疾患の治療のために長年知られている薬物である。例えば、スラミンは、アフリカ睡眠病（African sleeping sickness）及び河盲症（river blindness）を治療するために使用される薬剤である。その特性はまた、いくつかの機構：腫瘍血管形成の阻害、細胞毒性物質（化学療法）に対する細胞感受性の増加、及び細胞毒性作用それ自体を介して、抗新生物剤として記載されている。スラミンの分子式は $C_{51}H_{40}N_6O_{23}S_6$ であり、CAS番号は145-63-1である。

20

【0039】

本発明の抗がん化合物はまた、プロホメオスタティック脂質メディエーター、例えばエロバノイド及びその誘導体を含むことができる。本明細書で使用される場合、「プロホメオスタティック」という用語は、恒常性若しくは恒常性状態を促進又は維持する能力を指すことができる。本明細書中で使用される場合、「脂質メディエーター」という用語は、細胞外刺激に応答して生合成を介して産生され得る生物学的に活性な脂質のクラスを指し得る。例えば、国際公開第2016/130522（A1）号及び国際公開第2018/175288（A1）号を参照されたく、これらの各々は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。 $n-3$ 超長鎖多価不飽和脂肪酸（「 $n-3$ VLC-PUFA」、「 $n3$ VLC-PUFA」とも呼ばれる）は、機能的完全性が破壊されている組織並びに臓器への進行性損傷を保護及び予防することができるエロバノイド（ELV）と呼ばれるいくつかのこれまで未知のタイプのVLC-PUFAヒドロキシル化誘導体にインビボで変換される。実施形態において、用語「誘導体」は、構造類似体を指すことができる。実施形態において、「誘導体」という用語は、化学反応によって類似の化合物から誘導される化合物を指すことができる。ELVは、ドコサノイドに似た構造を有するが、異なる物理化学的特性及び選択的に調節される生合成経路を有する。実施形態において、例えば、エロバノイドは、ELV-N32及びELV-N34と呼ばれる32-及び／又は34-炭素エロバノイド、又はその塩を含む。

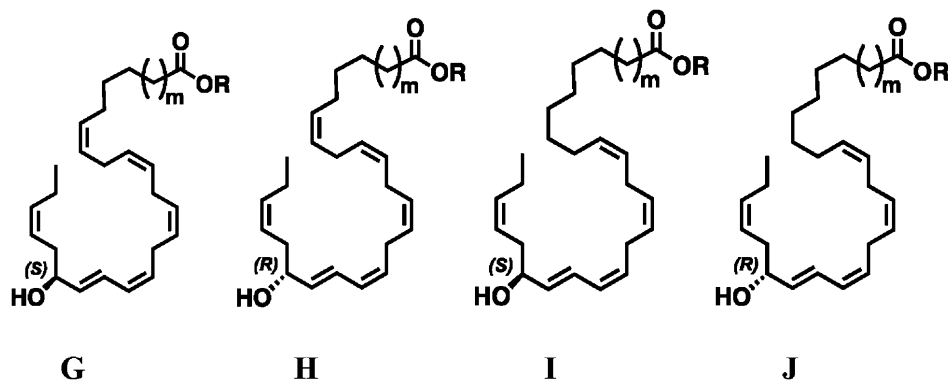
30

40

【0040】

本開示のモノヒドロキシル化エロバノイドは、G、H、I又はJの構造を有することができる：

50



化合物 G 及び H は、全体で 23 ～ 42 個の炭素原子を炭素鎖中に有することができ、5 個のシス炭素－炭素二重結合が $n-3$ 、 $n-9$ 、 $n-12$ 、 $n-15$ 及び $n-18$ 位から開始し、1 個のトランス炭素－炭素二重結合が $n-7$ 位から開始し；化合物 I 及び J は、全体で 23 ～ 42 個の炭素原子を炭素鎖中に有することができ、4 個のシス炭素－炭素二重結合が $n-3$ 、 $n-9$ 、 $n-12$ 及び $n-15$ 位から開始し、トランス炭素－炭素二重結合が $n-7$ 位から開始し；式中、R は、水素、メチル、エチル、アルキル、又はアンモニウムカチオン、イミニウムカチオン、又はナトリウム、カリウム、マグネシウム、亜鉛、若しくはカルシウムカチオンからなる群から選択される金属カチオンからなる群から選択されるカチオンであり、m は、0 ～ 19 からなる群から選択され；化合物 G 及び H は、等モル混合物として存在することができ；化合物 I 及び J は、等モル混合物として存在することができ；提供される化合物 G 及び H は、主に、ヒドロキシル基を有する炭素に定義された (S) 又は (R) キラリティーを有する 1 つのエナンチオマーであり得；化合物 G 及び H は、主に、ヒドロキシル基を有する炭素に定義された (S) 又は (R) キラリティーを有する 1 つのエナンチオマーであり得る。

【0041】

本明細書及び本開示の他の構造で使用される場合、本開示の化合物は、末端カルボキシル基「 $-COOR$ 」を有することが示され、「R」は、アルキル基などのカルボキシルに共有結合した基を表すことができる。あるいは、カルボキシル基は更に「 $-COO^-$ 」として負電荷を有することができ、R は金属カチオン、アンモニウムカチオンなどを含むカチオンである。

【0042】

本開示のモノヒドロキシル化エロバノイドのいくつかの実施形態では、m は、0 ～ 15 からなる群から選択される数である。他の実施形態では、m は、1、3、5、7、9、11、13、又は 15 から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計 24、26、28、30、32、34、36 又は 38 個の炭素原子を含む。他の実施形態では、m は、0、2、4、6、8、10、12 又は 14 からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計 23、25、27、29、31、33、35 又は 37 個の炭素原子を含む。

【0043】

いくつかの実施形態では、m は、5 ～ 15 からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計 28、29、30、31、32、33、34、35、36、37 又は 38 個の炭素原子を含む。いくつかの実施形態では、m は、5、7、9、11、13、又は 15 からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計 28、30、32、34、36 又は 38 個の炭素原子を含む。他の実施形態では、m は、4、6、8、10、12 又は 14 からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計 27、29、31、33、35 又は 37 個の炭素原子を含む。実施形態では、m は、9 ～ 11 からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖中に合計 32 又は 34 個の炭素原子を含む。

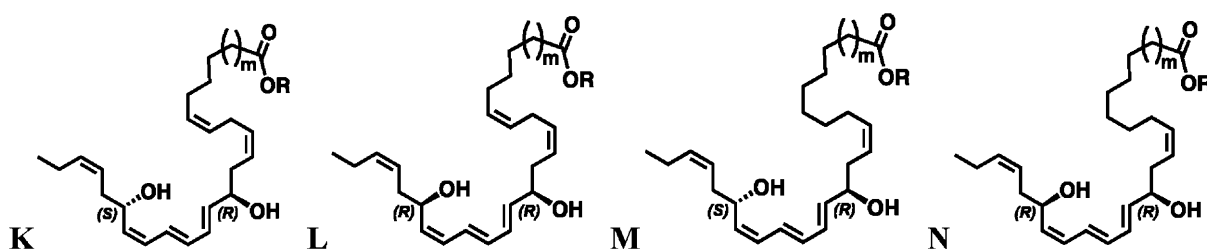
【0044】

いくつかの実施形態において、本開示のモノヒドロキシル化エロバノイドは、カルボン酸であり、すなわち、Rは水素である。他の実施形態では、化合物はカルボン酸エステルであり、Rはメチル、エチル又はアルキルである。実施形態において、化合物はカルボン酸エステルであり、Rはメチル又はエチルである。実施形態において、化合物はカルボン酸塩であり、Rは、アンモニウムカチオン、イミニウムカチオン、又はナトリウム、カリウム、マグネシウム、亜鉛、若しくはカルシウムカチオンからなる群から選択される金属カチオンである。いくつかの実施形態では、Rは、アンモニウムカチオン又はイミニウムカチオンである。他の実施形態では、Rは、ナトリウムカチオン又はカリウムカチオンである。実施形態では、Rは、ナトリウムカチオンである。

10

【0045】

本開示のジヒドロキシル化エロバノイドは、構造K、L、M、又はNを有することができ、



20

化合物K及びLは、全体で23～42個の炭素原子を炭素鎖中に有することができ、4個のシス炭素-炭素二重結合がn-3、n-7、n-15、及びn-18位から開始し、2個のトランス炭素-炭素結合がn-9、n-11位から開始し；化合物M及びNは、全体で23～42個の炭素原子を炭素鎖中に有することができ、3個のシス炭素-炭素二重結合がn-3、n-7、n-12及びn-15位から開始し、2個のトランス炭素-炭素結合がn-9、n-11位から開始し；式中、Rは、水素、メチル、エチル、アルキル、又はアンモニウムカチオン、イミニウムカチオン、又はナトリウム、カリウム、マグネシウム、亜鉛、若しくはカルシウムカチオンからなる群から選択される金属カチオンからなる群から選択されるカチオンであり、mは、0～19からなる群から選択され；化合物K及びLは、等モル混合物として存在することができ；化合物M及びNは、等モル混合物として存在することができ；提供される化合物K及びLは、主に、ヒドロキシル基を有する炭素に定義された(S)又は(R)キラリティーを有する1つのエナンチオマーであり；提供される化合物M及びNは、主に、ヒドロキシル基を有する炭素に定義された(S)又は(R)キラリティーを有する1つのエナンチオマーである。

30

【0046】

本明細書及び本開示の他の構造で利用される場合、本開示の化合物は、末端カルボキシル基「-COOR」を有することが示され、「R」は、アルキル基などのカルボキシルに共有結合した基であり得る。あるいは、カルボキシル基は更に「-COO⁻」として負電荷を有することができ、Rは金属カチオン、アンモニウムカチオンなどを含むカチオンである。

40

【0047】

本開示のジヒドロキシル化エロバノイドのいくつかの実施形態において、mは、5～15からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計28、29、30、31、32、33、34、35、36、37又は38個の炭素原子を含む。有利な実施形態において、mは、5、7、9、11、13、又は15からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計で28、30、32、34、36又は38個の炭素原子を含む。他の実施形態では、mは、4、6、8、10、12又は14からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計27、29、31、33、3

50

5又は37個の炭素原子を含む。実施形態では、 m は、9～11からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖中に合計32又は34個の炭素原子を含む。

【0048】

本開示のいくつかのジヒドロキシル化エロバノイドは、カルボン酸であり、すなわち、 R は水素である。他の実施形態では、本開示のジヒドロキシル化エロバノイドは、カルボン酸エステルであり、 R は、メチル、エチル、又はアルキルである。実施形態において、化合物はカルボン酸エステルであり、 R はメチル又はエチルである。有利な実施形態では、化合物はカルボン酸エステルであり、 R はメチルである。

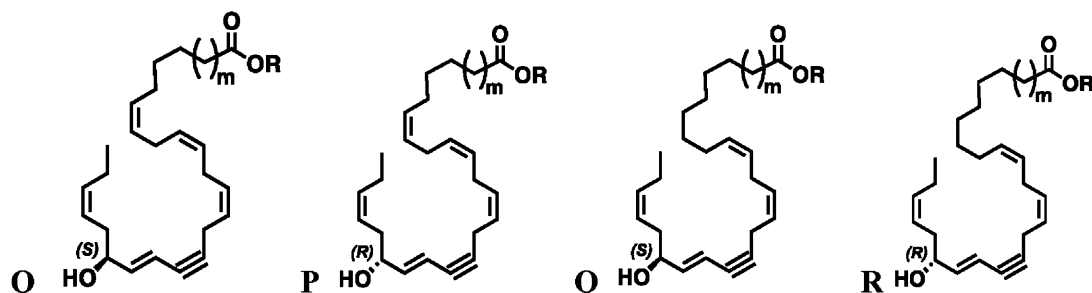
【0049】

他の実施形態では、本開示のジヒドロキシル化エロバノイドは、カルボン酸塩であり、 R は、アンモニウムカチオン、イミニウムカチオン、又はナトリウム、カリウム、マグネシウム、亜鉛、若しくはカルシウムカチオンからなる群から選択される金属カチオンである。いくつかの有利な実施形態では、 R は、アンモニウムカチオン又はイミニウムカチオンである。他の実施形態では、 R は、ナトリウムカチオン又はカリウムカチオンである。有利な実施形態では、 R はナトリウムカチオンである。

10

【0050】

本開示のアルキニルモノヒドロキシル化エロバノイドは、O、P、Q又はRの構造を有することができる：



20

化合物O及びPは、全体で23～42個の炭素原子を炭素鎖中に有することができ、4個のシス炭素-炭素二重結合が $n-3$ 、 $n-12$ 、 $n-15$ 、及び $n-18$ 位から開始し、トランス炭素-炭素結合が $n-7$ 位から開始し、炭素-炭素三重結合が、 $n-9$ 位から開始し；化合物I及びJは、全体で23～42個の炭素原子を炭素鎖中に有することができ、3個のシス炭素-炭素二重結合が $n-3$ 、 $n-12$ 及び $n-15$ 位から開始し、トランス炭素-炭素結合が $n-7$ 位から開始し、炭素-炭素三重結合は、 $n-9$ 位から開始し；式中、 R は、水素、メチル、エチル、アルキル、又はアンモニウムカチオン、イミニウムカチオン、又はナトリウム、カリウム、マグネシウム、亜鉛、若しくはカルシウムカチオンからなる群から選択される金属カチオンからなる群から選択されるカチオンであり、 m は、0～19からなる群から選択され；化合物O及びPは、等モル混合物として存在することができ；化合物Q及びRは、等モル混合物として存在することができ；提供される化合物O及びPは、主に、ヒドロキシル基を有する炭素に定義された(S)又は(R)キラリティーを有する1つのエナンチオマーであり得；提供される化合物O及びPは、主に、ヒドロキシル基を有する炭素に定義された(S)又は(R)キラリティーを有する1つのエナンチオマーであり得る。

30

40

【0051】

本明細書及び本発明の他の構造で使用される場合、本開示のアルキニルモノヒドロキシル化エロバノイドは、末端カルボキシル基「 COOR 」を有することが示され、「 R 」は、アルキル基などのカルボキシルに共有結合した基であり得る。あるいは、カルボキシル基は更に「 COO^- 」として負電荷を有することができ、 R は金属カチオン、アンモニウムカチオンなどを含むカチオンである。

【0052】

いくつかの実施形態では、 m は、0～15からなる群から選択される数である。他の実

50

施形態では、 m は、1、3、5、7、9、11、13、又は15から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計24、26、28、30、32、34、36又は38個の炭素原子を含む。

【0053】

追加の実施形態では、 m は、0、2、4、6、8、10、12又は14からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計23、25、27、19、31、33、35又は37個の炭素原子を含む。いくつかの実施形態では、 m は、5～15からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計28、29、30、31、32、33、34、35、36、37又は38個の炭素原子を含む。実施形態では、 m は、5、7、9、11、13、又は15からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計で28、30、32、34、36又は38個の炭素原子を含む。他の実施形態では、 m は、4、6、8、10、12又は14からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計27、29、31、33、35又は37個の炭素原子を含む。いくつかの実施形態では、 m は、9～11からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖中に合計32又は34個の炭素原子を含む。

10

【0054】

いくつかの実施形態において、本開示のアルキニルモノヒドロキシ化エロパノイドは、カルボン酸であり、例えば、 R は水素である。他の実施形態では、本開示のアルキニルモノヒドロキシ化エロパノイドは、カルボン酸エステルであり、 R は、メチル、エチル、又はアルキルである。実施形態では、本開示のアルキニルモノヒドロキシ化エロパノイドは、カルボン酸エステルであり、 R は、メチル又はエチルである。

20

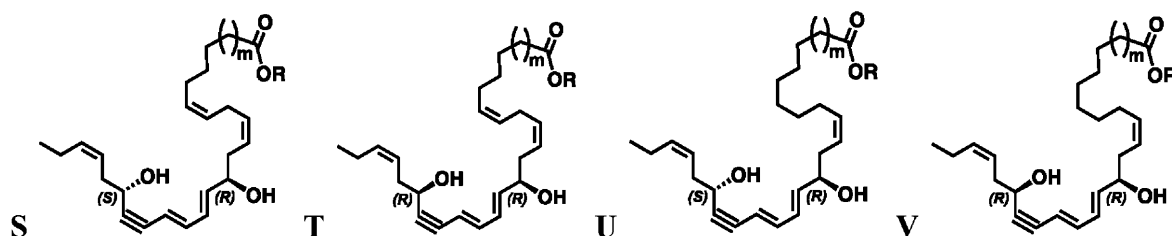
【0055】

いくつかの実施形態では、 R はメチルである。他の実施形態では、本開示のアルキニルモノヒドロキシ化エロパノイドは、カルボン酸塩であってよく、 R は、アンモニウムカチオン、イミニウムカチオン、又はナトリウム、カリウム、マグネシウム、亜鉛、若しくはカルシウムカチオンからなる群から選択される金属カチオンである。いくつかの実施形態では、 R は、アンモニウムカチオン又はイミニウムカチオンである。他の実施形態では、 R は、ナトリウムカチオン又はカリウムカチオンである。実施形態では、 R は、ナトリウムカチオンである。

【0056】

アルキニルジヒドロキシ化エロパノイドは、 S 、 T 、 U 、又は V の構造を有することができ：

30



40

化合物 S 及び T は、全体で23～42個の炭素原子を炭素鎖中に有し、3個のシス炭素-炭素二重結合が $n-3$ 、 $n-12$ 、 $n-15$ 、及び $n-18$ 位から開始し、2個のトランス炭素-炭素結合が $n-9$ 及び $n-11$ 位から開始し、炭素-炭素三重結合が、 $n-7$ 位から開始し；化合物 U 及び V は、全体で23～42個の炭素原子を炭素鎖中に有し、2個のシス炭素-炭素二重結合が $n-3$ 、及び $n-15$ 位から開始し、2個のトランス炭素-炭素二重結合が $n-9$ 及び $n-11$ 位から開始し、炭素-炭素三重結合は、 $n-7$ 位から開始し；式中、 R は、水素、メチル、エチル、アルキル、又はアンモニウムカチオン、イミニウムカチオン、又はナトリウム、カリウム、マグネシウム、亜鉛、若しくはカルシウムカチオンからなる群から選択される金属カチオンからなる群から選択されるカチオンであり、 m は、0～19からなる群から選択され；化合物 S 及び T は、等モル混合物とし

50

て存在することができ；化合物U及びVは、等モル混合物として存在することができ。

【0057】

いくつかの実施形態において、提供される化合物S及びTは、主に、ヒドロキシル基を有する炭素に定義された（S）又は（R）キラリティーを有する1つのエナンチオマーである。提供される化合物U及びVは、主に、ヒドロキシル基を有する炭素に定義された（S）又は（R）キラリティーを有する1つのエナンチオマーである。

【0058】

本明細書及び本明細書に記載の他の構造で使用される場合、本発明の化合物は、末端カルボキシル基「-COOR」を有することが示され、「R」は、アルキル基などのカルボキシルに共有結合した基を表すことができる。あるいは、カルボキシル基は更に「-COO⁻」として負電荷を有することができ、Rは金属カチオン、アンモニウムカチオンなどを含むカチオンである。

10

【0059】

いくつかの実施形態では、mは、5～15からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計28、29、30、31、32、33、34、35、36、37又は38個の炭素原子を含む。実施形態では、mは、5、7、9、11、13、又は15からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計28、30、32、34、36又は38個の炭素原子を含む。他の実施形態では、mは、4、6、8、10、12又は14からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖に合計27、29、31、33、35又は37個の炭素原子を含む。実施形態では、mは、9～11からなる群から選択される数であり、脂肪酸成分は、その炭素鎖中に合計32又は34個の炭素原子を含む。

20

【0060】

いくつかの実施形態において、提供される化合物はカルボン酸であり、例えば、Rは水素である。

【0061】

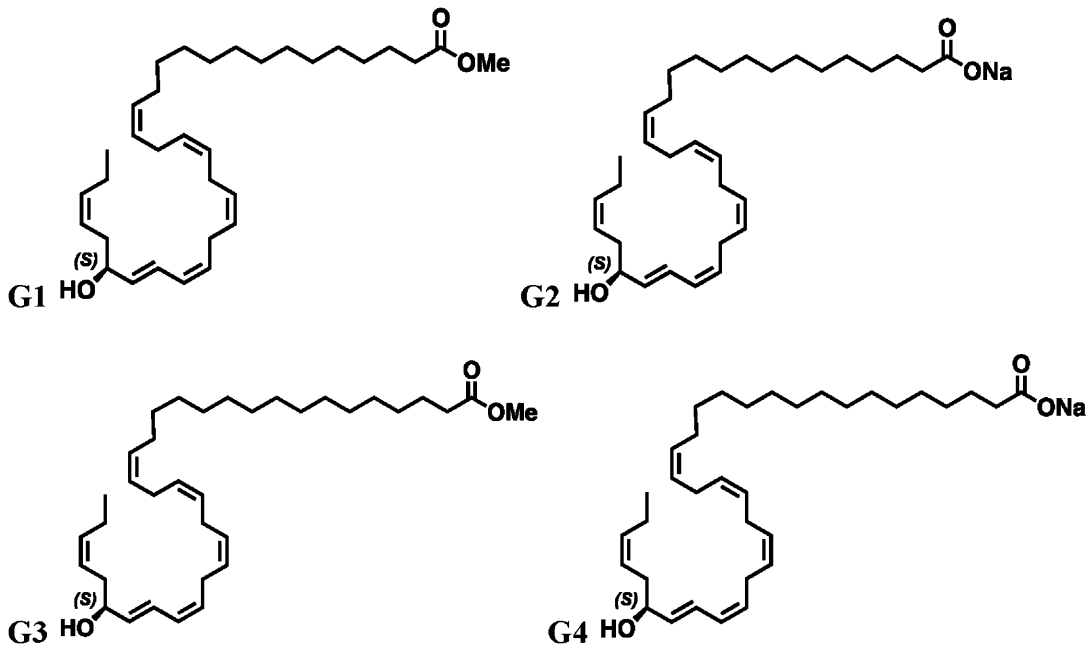
他の実施形態では、提供される化合物はカルボン酸エステルであり、Rはメチル、エチル又はアルキルである。実施形態では、提供される化合物はカルボン酸エステルであり、Rはメチル又はエチルである。実施形態では、提供される化合物はカルボン酸エステルであり、Rはメチルである。他の実施形態では、提供される化合物はカルボン酸塩であり、Rは、アンモニウムカチオン、イミニウムカチオン、又はナトリウム、カリウム、マグネシウム、亜鉛、若しくはカルシウムカチオンからなる群から選択される金属カチオンである。いくつかの実施形態では、Rは、アンモニウムカチオン又はイミニウムカチオンである。他の実施形態では、Rは、ナトリウムカチオン又はカリウムカチオンである。実施形態では、Rは、ナトリウムカチオンである。

30

【0062】

本明細書に記載の実施形態は、名称：メチル（S，14Z，17Z，20Z，23Z，25E，29Z）-27-ヒドロキシドトリアコンター-14，17，20，23，25，29-ヘキサエノートを有する、式G1のモノヒドロキシル化炭素数32のメチルエステル；名称：ナトリウム（S，14Z，17Z，20Z，23Z，25E，29Z）-27-ヒドロキシドトリアコンター-14，17，20，23，25，29-ヘキサエノートを有する、式G2のモノヒドロキシル化炭素数32のナトリウム塩；名称：メチル（S，16Z，19Z，22Z，25Z，27E，31Z）-29-ヒドロキシテトラトリアコンター-16，19，22，25，27，31-ヘキサエノートを有する、式G3のモノヒドロキシル化炭素数34のメチルエステル；又は名称ナトリウム（S，16Z，19Z，22Z，25Z，27E，31Z）-29-ヒドロキシテトラトリアコンター-16，19，22，25，27，31-ヘキサエノートを有する、式G4のモノヒドロキシル化炭素数34のナトリウム塩：

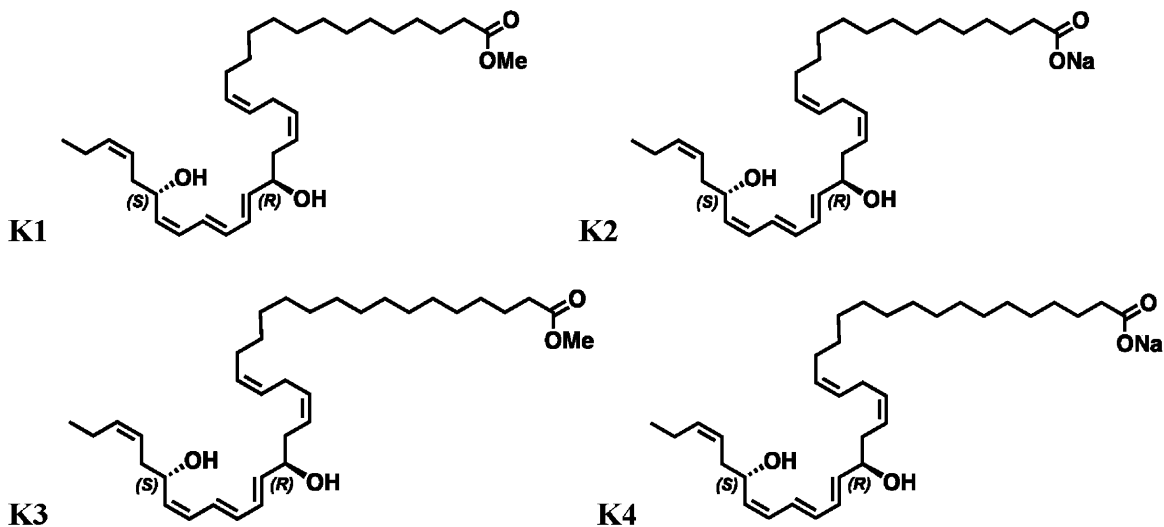
40



を含む。

【 0 0 6 3 】

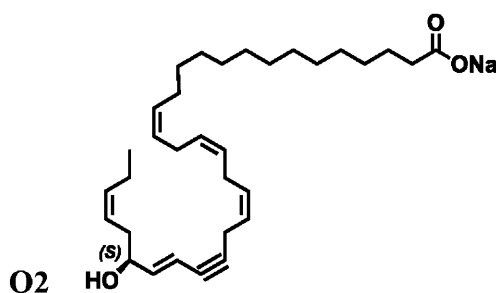
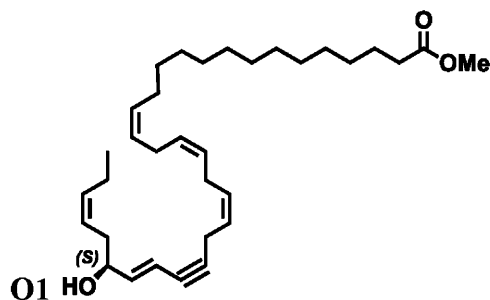
本明細書に記載の実施形態はまた、名称：メチル（１４Ｚ，１７Ｚ，２０Ｒ，２１Ｅ，２３Ｅ，２５Ｚ，２７Ｓ，２９Ｚ）－２０，２７－ヒドロキシドトリアコンター１４，１７，２１，２３，２５，２９－ヘキサエノエートを有する、式Ｋ１のジヒドロキシル化炭素数３２のメチルエステル；名称：ナトリウム（１４Ｚ，１７Ｚ，２０Ｒ，２１Ｅ，２３Ｅ，２５Ｚ，２７Ｓ，２９Ｚ）－２０，２７－ジヒドロキシドトリアコンター１４，１７，２１，２３，２５，２９－ヘキサエノエートを有する、式Ｋ２のジヒドロキシル化炭素数３２のナトリウム塩；又は名称：メチル（１６Ｚ，１９Ｚ，２２Ｒ，２３Ｅ，２５Ｅ，２７Ｚ，２９Ｓ，３１Ｚ）－２２，２９－ジヒドロキシテトラトリアコンター１６，１９，２３，２５，２７，３１－ヘキサエノエートを有する、式Ｋ３のジヒドロキシル化炭素数３４のメチルエステル；若しくは名称：ナトリウム（１６Ｚ，１９Ｚ，２２Ｒ，２３Ｅ，２５Ｅ，２７Ｚ，２９Ｓ，３１Ｚ）－２２，２９－ジヒドロキシテトラトリアコンター１６，１９，２３，２５，２７，３１－ヘキサエノエートを有する、式Ｋ４のジヒドロキシル化炭素数３４のナトリウム塩：



も含む。

【0064】

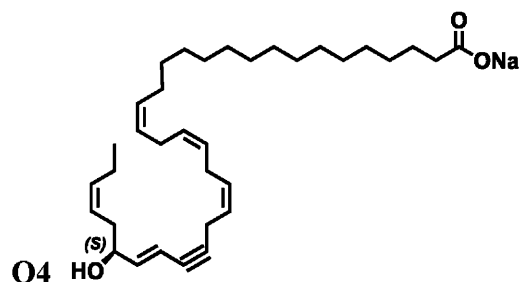
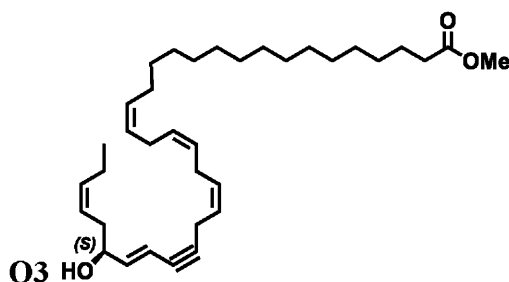
他の実施形態は、名称：メチル（S，14Z，17Z，20Z，25E，29Z）－27－ヒドロキシドトリアコンター－14，17，20，25，29－ペンタエン－23－イノエートを有する、式O1のアルキニルモノヒドロキシル化炭素数32のメチルエステル；名称：ナトリウム（S，17Z，20Z，25E，29Z）－27－ヒドロキシドトリアコンター－17，20，25，29－テトラエン－23－イノエートを有する、式O2のアルキニルモノヒドロキシル化炭素数32のナトリウム塩；名称：メチル（S，16Z，19Z，22Z，27E，31Z）－29－ヒドロキシドトリアコンター－16，19，22，27，31－ペンタエン－25－イノエートを有する、式O3のアルキニルモノヒドロキシル化炭素数34のメチルエステル；名称：ナトリウム（S，16Z，19Z，22Z，27E，31Z）－29－ヒドロキシドトリアコンター－16，19，22，27，31－ペンタエン－25－イノエートを有する、式O4のアルキニルモノヒドロキシル化炭素数34のナトリウム塩：



10

20

30



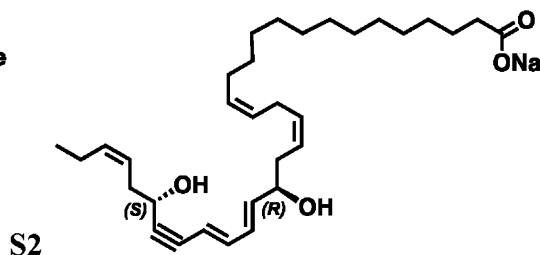
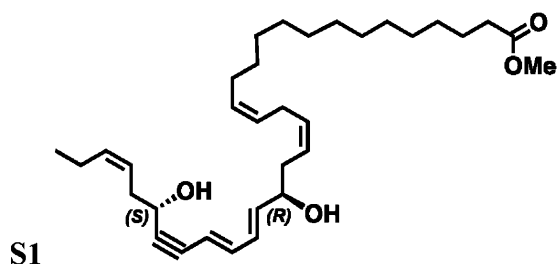
を提供する。

【0065】

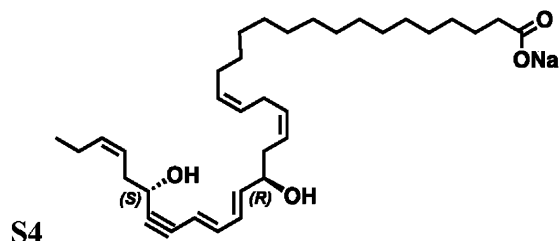
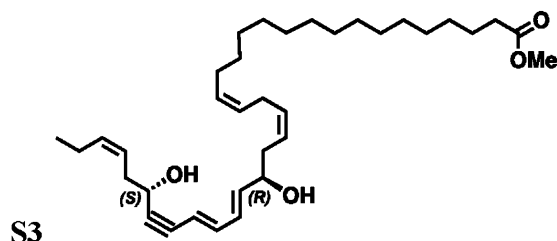
更に他の実施形態は、名称：メチル（14Z，17Z，20R，21E，23E，27S，29Z）－20，27－ジヒドロキシドトリアコンター－14，17，21，23，29－ペンタエン－25－イノエートを有する、式S1のアルキニルジヒドロキシル化炭素数32のメチルエステル；名称：ナトリウム（14Z，17Z，20R，21E，23E，27S，29Z）－20，27－ジヒドロキシドトリアコンター－14，17，21，23，29－ペンタエン－25－イノエートを有する、式S2のアルキニルジヒドロキシル化炭素数32のナトリウム塩；又は名称：メチル（16Z，19Z，22R，23E，25E，29S，31Z）－22，29－ジヒドロキシテトラトリアコンター－16，19，23，25，31－ペンタエン－27－イノエートを有する、式S3のアルキニルジヒドロキシル化炭素数34のメチルエステル；又は名称：ナトリウム（16Z，19Z，22R，23E，25E，29S，31Z）－22，29－ジヒドロキシテトラトリアコンター－16，19，23，25，31－ペンタエン－27－イノエートを有する、式S4のアルキニルジヒドロキシル化炭素数34のナトリウム塩

40

50



10



を提供する。

【 0 0 6 6 】

20

本発明の態様は、本明細書に記載の化合物のエナンチオマー及びジアステレオマーに向けられる。例えば、(R, R) 化合物が本明細書に記載されている場合、本発明の態様は、例えば、(S, S)、(R, S)、及び(S, R) にも向けられ得る。

【 0 0 6 7 】

本発明の抗がん化合物は、血小板活性化因子受容体アンタゴニストを更に含むことができる。例えば、米国特許第 6, 5 6 6, 3 5 9 号及び米国特許出願第 1 5 / 5 5 6, 7 1 6 号を参照されたく、これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【 0 0 6 8 】

「血小板活性化因子受容体」(PAF-r) という用語は、ロドプシン遺伝子ファミリーの構造的特徴を示し、血小板活性化因子に結合する G タンパク質共役受容体を指すことができる。PAF はリン脂質 (1-0-アルキル-2-アセチル-sn-グリセロール-3-ホスホリルコリン) であり、アレルギー、喘息、敗血症性ショック、動脈血栓症、及び炎症過程などの多様な病理学的過程におけるメディエーターとして関与している。

30

【 0 0 6 9 】

PAF、パファアセタ (PAF-acether) 又は AGEPC (アセチルグリセリル-エーテル-ホスホリルコリン) として互換的に知られる「血小板活性化因子」という用語は、多くの白血球機能、血小板凝集及び脱顆粒、炎症、並びにアナフィラキシーの強力なリン脂質活性化因子及びメディエーターである。これはまた、血管透過性の変化、酸化的バースト、白血球の走化性、並びに食細胞におけるアラキドン酸代謝の増大に関与する。PAF は、種々の細胞によって産生されるが、特に宿主防御に関与する細胞 (例えば、血小板、内皮細胞、好中球、単球、及びマクロファージ) によって産生される。PAF はこれらの細胞によって産生されるが、少量であり、産生は PAF アセチルヒドロラーゼ (PAF-AH) の活性によって制御される。これは、特定の刺激に応答して炎症細胞によって大量に産生される。例えば、Bazan, Nicolas G. 「A signal terminator」Nature 374. 6522 (1995) : 501-502 を参照されたい。

40

【 0 0 7 0 】

PAF シグナル伝達系は、炎症性カスケード及び血栓性カスケードを誘発し、他のメディエーターと作用する場合にこれらのカスケードを増幅し、炎症と血栓症との間の分子相互作用及び細胞相互作用 (クロストーク) を媒介することができる。制御されていない P

50

A F シグナル伝達は、病的炎症を引き起こし得、敗血症、ショック、及び外傷性損傷の原因であることが見出されている。P A F は、局所シグナル伝達分子として使用され得、非常に短い距離を移動し得るか、又は身体全体に循環され得る。P A F はまた、P A F 受容体に依存しないアポトーシスを誘導する。アポトーシスへの経路は、血小板活性化因子を異化する P A F アセチルヒドロラーゼ (P A F - A H) からの負のフィードバックによって阻害され得る。

【0071】

O - アルキル側鎖の長さが異なる血小板活性化因子のいくつかの分子種が同定されている。そのアルキル基は、C 1 炭素でのエーテル結合によって 16 炭素鎖に結合している。C 2 炭素のアシル基はアセテート単位であり、その短い長さが P A F の溶解度を増加させ、可溶性シグナルメッセンジャーとして機能させる。C 3 は、標準ホスファチジルコリンと同様に、ホスホコリン先端基を有する。

10

【0072】

P A F は、その生物学的活性を失わずに修飾することはできない。したがって、P A F の構造における小さな変化は、そのシグナル伝達能力を不活性にし得る。血小板及び血压応答は、s n - 2 プロピオニル類似体に依存する。s n - 1 が除去されると、P A F は生物学的活性を欠く。最後に、P A F の s n - 3 位において、メチル基の数が増加するにつれて、連続的に除去され、生物学的活性は不活性化されるまで減少する。

【0073】

P A F アンタゴニストは、結合時に炎症反応を引き起こさないが、P A F の効果を遮断又は減少させる受容体リガンド又は薬物の一種である。P A F アンタゴニストの例としては、C V - 3 9 8 8 (P A F の発現及び P A F レセプターへの P A F の結合に事象をブロックする P A F アンタゴニスト)、S M - 1 2 5 0 2 (酵素 C Y P 2 A 6 によって肝臓で代謝される P A F アンタゴニスト)、及びルパタジン (アレルギーを処置するために使用される抗ヒスタミン及び P A F アンタゴニスト) が挙げられるが、これらに限定されない。

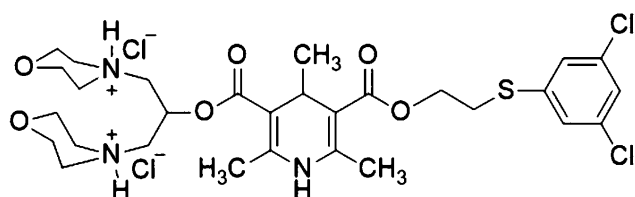
20

【0074】

L A U - 0 9 0 2 1 (2, 4, 6 - トリメチル - 1, 4 - ジヒドロピリジン誘導体) と呼ばれ、以下の構造を有する P A F - r アンタゴニスト化合物を本明細書に記載する：

LAU 09021

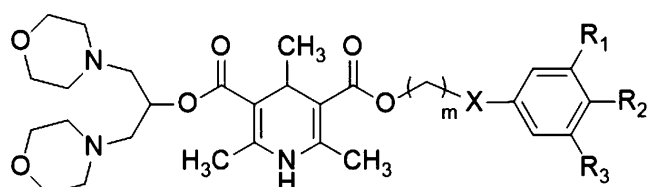
30



【0075】

本開示の化合物は、排他的ではないが、ラセミ混合物、例えば、S - L A U - 0 9 0 2 1 が 5 0 % 及び他方の R - L A U - 0 9 0 2 1 が 5 0 % であり得る。しかしながら、本開示の化合物の R 及び S エナンチオマーのキラル分割及び分離は、当技術分野で周知の方法によって単離することができる。したがって、本開示の一態様は、式 I を有する少なくとも 1 つの化合物、又はその薬学的に許容される塩を含む組成物の実施形態を包含し、

40



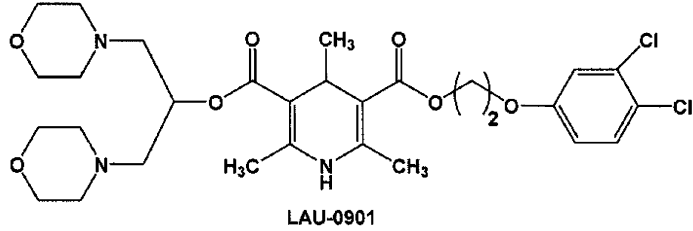
式 I

50

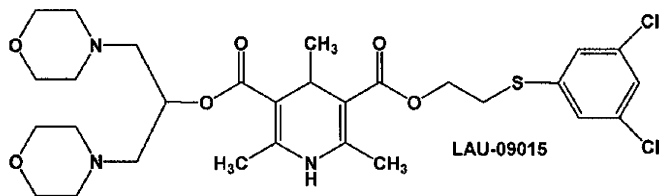
式中、 m は1～4であり、 X はO又はSであり、 R_1 及び R_3 は、独立して、H又はCしであり、 R_2 は、H、ブトキシ、又はCしであり；ここで、 R_2 がブトキシである場合、 m は1若しくは4であり、又は、 R_1 及び R_2 が両方ともCしでありかつ X がOである場合、 m は3若しくは4である。

【0076】

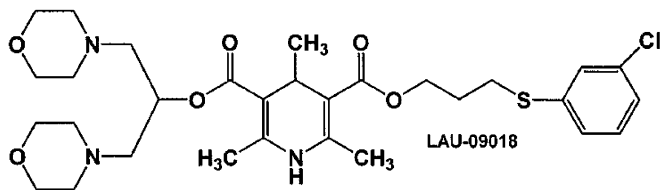
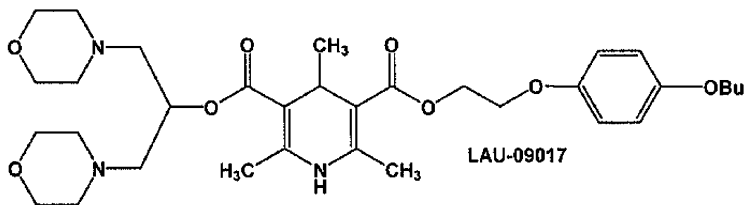
本開示のこの態様のいくつかの実施形態において、式Iを有する少なくとも1つの化合物は：



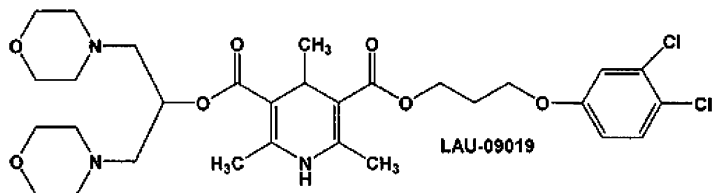
10



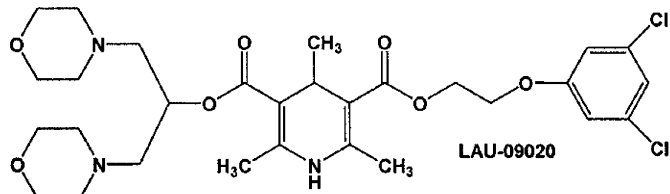
20



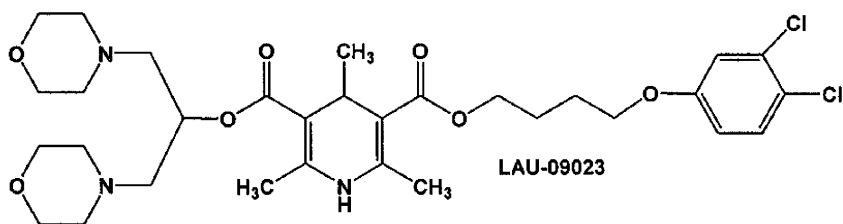
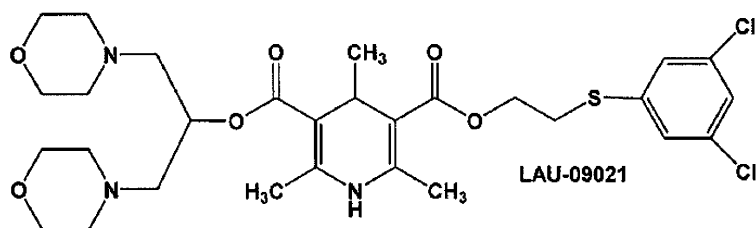
30



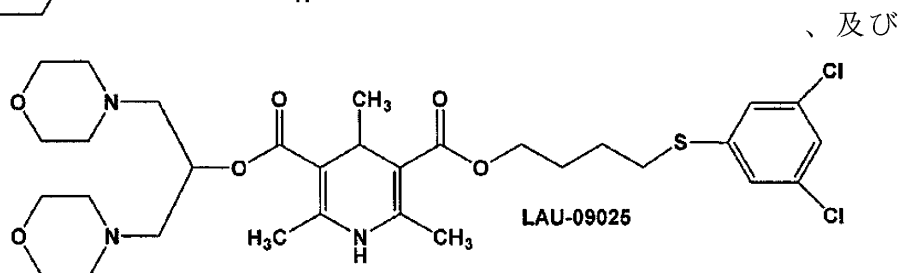
40



50



10



20

、又はその薬学的に許容される塩からなる群から選択することができる。

【0077】

本開示のこの態様のいくつかの実施形態において、化合物は、R-エナンチオマー、S-エナンチオマー、又はそれらの組み合わせであり得る。

【0078】

抗がん剤又はそれを含む医薬組成物は、脳腫瘍などの腫瘍の増殖を阻害するのに有効な量で提供することができる。そのような量は、「治療有効量」と呼ぶことができる。「治療有効量」という用語は、治療されている疾患又は状態の1つ以上の症状をある程度緩和する、及び／又は治療対象が発症する、又は発症するリスクのある状態又は疾患の1つ以上の症状をある程度予防する、投与される抗がん剤又は医薬組成物の実施形態のその量を指すことができる。ある実施形態において、治療有効量は、脳腫瘍などのがん、又は対象のヒト若しくは動物におけるがん性状態の存在から生じる少なくとも1つの病理学的影響を治療するのに必要な量を指すことができる。

30

【0079】

実施形態において、治療有効量のPAF受容体アンタゴニストは、対象の体重当たり、約0.1mg/kg未満、約0.1mg/kg、約0.5mg/kg、約1.0mg/kg、約2.5mg/kg、約5mg/kg、約7.5mg/kg、約10mg/kg、約15mg/kg、約20mg/kg、約25mg/kg、約30mg/kg、約35mg/kg、約40mg/kg、約45mg/kg、約50mg/kg、約55mg/kg、約60mg/kg、約70mg/kg、約80mg/kg、約90mg/kg、約100mg/kg、約120mg/kg、約135mg/kg、約150mg/kg、約175mg/kg、約200mg/kg、約225mg/kg、約250mg/kg、約275mg/kg、約300mg/kg、約325mg/kg、約350mg/kg、約375mg/kg、約400mg/kg、約425mg/kg、約450mg/kg、約475mg/kg、約500mg/kg、約525mg/kg、約550mg/kg、約575mg/kg、約600mg/kg、約625mg/kg、約650mg/kg、約675mg/kg、約700mg/kg、約725mg/kg、約750mg/kg、約775mg/kg、約800mg/kg、約825mg/kg、約850mg/kg、約875mg/kg、約900mg/kg、約1.0g/kg、約1.5g/kg、約2.0g/kg、

40

50

kg、約2.5g/kg、約5g/kg、約10g/kg、約25g/kg、約50g/kg、又は50g/kgを超える化合物を含み得る。例えば、PAF-rアンタゴニストは、LAU-0901を含み得る。例えば、PAF-rアンタゴニストは、LAU-0901、LAU-09015、LAU-09017、LAU-09017、LAU-09018、LAU-09019、LAU-09020、LAU-09021、LAU-09023、又はLAU-09025を含み得る。例えば、治療量の非限定的な例は、対象の体重当たり約30mg/kgを含み得る。

【0080】

実施形態において、治療有効量のエロバノイドは、対象の体重当たり、0.01mg/kg未満、約0.01mg/kg、約0.05mg/kg、約0.1mg/kg未満、約0.1mg/kg、約0.5mg/kg、約1.0mg/kg、約2.5mg/kg、約5mg/kg、約7.5mg/kg、約10mg/kg、約15mg/kg、約20mg/kg、約25mg/kg、約30mg/kg、約35mg/kg、約40mg/kg、約45mg/kg、約50mg/kg、約55mg/kg、約60mg/kg、約70mg/kg、約80mg/kg、約90mg/kg、約100mg/kg、約120mg/kg、約135mg/kg、約150mg/kg、約175mg/kg、約200mg/kg、約225mg/kg、約250mg/kg、約275mg/kg、約300mg/kg、約325mg/kg、約350mg/kg、約375mg/kg、約400mg/kg、約425mg/kg、約450mg/kg、約475mg/kg、約500mg/kg、約525mg/kg、約550mg/kg、約575mg/kg、約600mg/kg、約625mg/kg、約650mg/kg、約675mg/kg、約700mg/kg、約725mg/kg、約750mg/kg、約775mg/kg、約800mg/kg、約825mg/kg、約850mg/kg、約875mg/kg、約900mg/kg、約1.0g/kg、約1.5g/kg、約2.0g/kg、約2.5g/kg、約5g/kg、約10g/kg、約25g/kg、約50g/kg、又は50g/kgを超える化合物を含み得る。例えば、エロバノイドは、ELV-32又はELV-34を含むことができる。例えば、ELV-32及びELV-34は

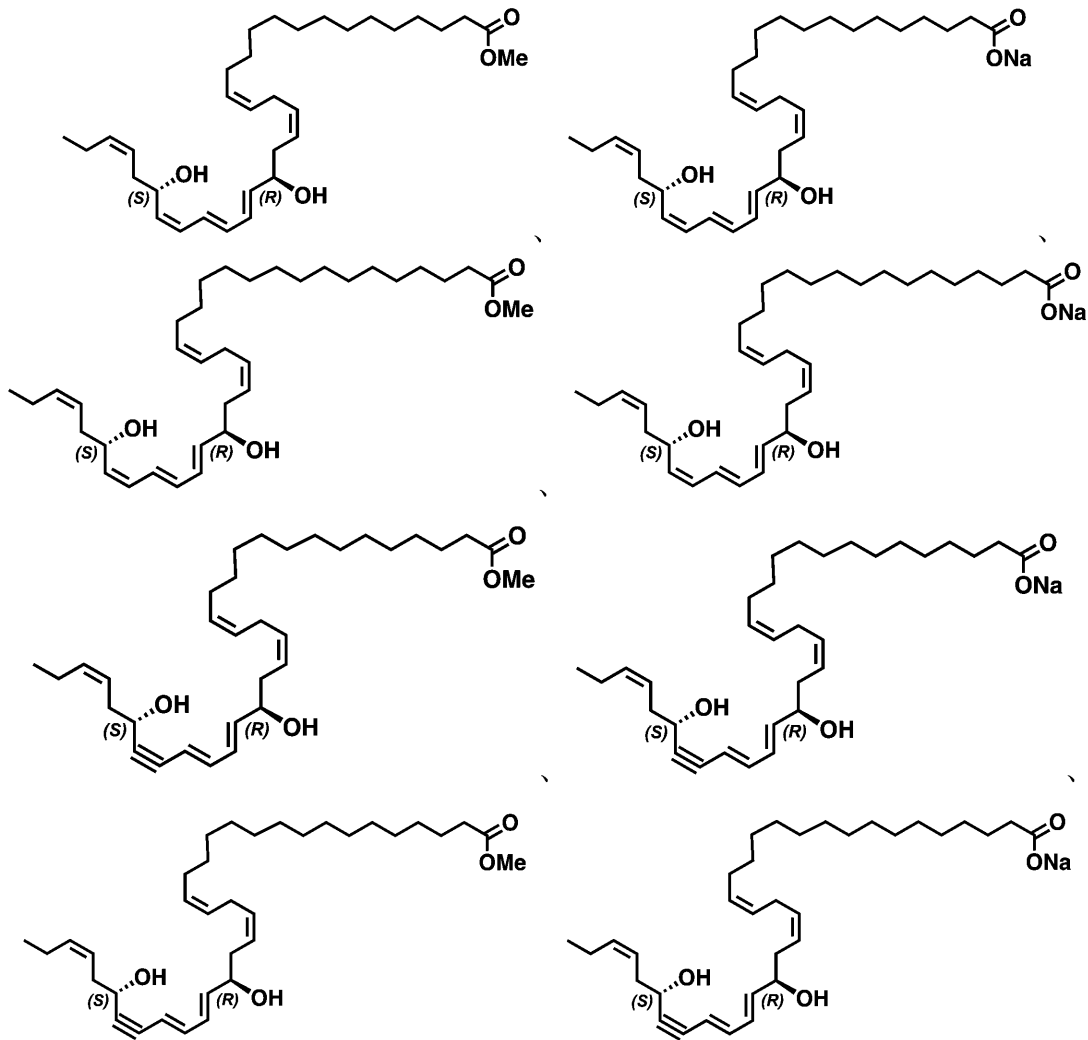
10

20

30

40

50



10

20

30

40

50

それらの異性体、又はそれらの組み合わせを含み得る。例えば、治療量の非限定的な例は、対象の体重当たり約 1.62 mg/kg を含み得る。

【0081】

実施形態において、治療有効量の抗 VEGF 抗体は、対象の体重当たり、0.1 mg/kg 未満、約 0.1 mg/kg、約 0.5 mg/kg、約 1.0 mg/kg、約 2.5 mg/kg、約 5 mg/kg、約 7.5 mg/kg、約 10 mg/kg、約 15 mg/kg、約 20 mg/kg、約 25 mg/kg、約 30 mg/kg、約 35 mg/kg、約 40 mg/kg、約 45 mg/kg、約 50 mg/kg、約 55 mg/kg、約 60 mg/kg、約 70 mg/kg、約 80 mg/kg、約 90 mg/kg、約 100 mg/kg、約 120 mg/kg、約 135 mg/kg、約 150 mg/kg、約 175 mg/kg、約 200 mg/kg、約 225 mg/kg、約 250 mg/kg、約 275 mg/kg、約 300 mg/kg、約 325 mg/kg、約 350 mg/kg、約 375 mg/kg、約 400 mg/kg、約 425 mg/kg、約 450 mg/kg、約 475 mg/kg、約 500 mg/kg、約 525 mg/kg、約 550 mg/kg、約 575 mg/kg、約 600 mg/kg、約 625 mg/kg、約 650 mg/kg、約 675 mg/kg、約 700 mg/kg、約 725 mg/kg、約 750 mg/kg、約 775 mg/kg、約 800 mg/kg、約 825 mg/kg、約 850 mg/kg、約 875 mg/kg、約 900 mg/kg、約 1.0 g/kg、約 1.5 g/kg、約 2.0 g/kg、約 2.5 g/kg、約 5 g/kg、約 10 g/kg、約 25 g/kg、約 50 g/kg、又は 50 g/kg を超える化合物を含み得る。例えば、抗 VEGF 抗体は、ペバシズマブを含み得る。本明細書で使用される場合、ペバシズマブ及びアバスチンは、互換的に使用すること

ができる。治療量の非限定的な例は、対象の体重当たり約 10.8 mg/kg 又は約 3 mg/kg を含み得る。

【0082】

実施形態において、治療有効量の非選択的 P2 プリン作動性受容体アンタゴニストは、対象の体重当たり、 0.1 mg/kg 未満、約 0.1 mg/kg 、約 0.5 mg/kg 、約 1.0 mg/kg 、約 2.5 mg/kg 、約 5 mg/kg 、約 7.5 mg/kg 、約 10 mg/kg 、約 15 mg/kg 、約 20 mg/kg 、約 25 mg/kg 、約 30 mg/kg 、約 35 mg/kg 、約 40 mg/kg 、約 45 mg/kg 、約 50 mg/kg 、約 55 mg/kg 、約 60 mg/kg 、約 70 mg/kg 、約 80 mg/kg 、約 90 mg/kg 、約 100 mg/kg 、約 120 mg/kg 、約 135 mg/kg 、約 150 mg/kg 、約 175 mg/kg 、約 200 mg/kg 、約 225 mg/kg 、約 250 mg/kg 、約 275 mg/kg 、約 300 mg/kg 、約 325 mg/kg 、約 350 mg/kg 、約 375 mg/kg 、約 400 mg/kg 、約 425 mg/kg 、約 450 mg/kg 、約 475 mg/kg 、約 500 mg/kg 、約 525 mg/kg 、約 550 mg/kg 、約 575 mg/kg 、約 600 mg/kg 、約 625 mg/kg 、約 650 mg/kg 、約 675 mg/kg 、約 700 mg/kg 、約 725 mg/kg 、約 750 mg/kg 、約 775 mg/kg 、約 800 mg/kg 、約 825 mg/kg 、約 850 mg/kg 、約 875 mg/kg 、約 900 mg/kg 、約 1.0 g/kg 、約 1.5 g/kg 、約 2.0 g/kg 、約 2.5 g/kg 、約 5 g/kg 、約 10 g/kg 、約 25 g/kg 、約 50 g/kg 、又は 50 g/kg を超える化合物を含み得る。例えば、非選択的 P2 プリン作動性アンタゴニストはスラミンである。治療量の非限定的な例は、対象の体重当たり約 3 mg/kg を含み得る。

10

20

【0083】

実施形態において、治療有効量のスラマブは、対象の体重当たり、 0.1 mg/kg 、約 0.1 mg/kg 、約 0.5 mg/kg 、約 1.0 mg/kg 、約 2.5 mg/kg 、約 5 mg/kg 、約 7.5 mg/kg 、約 10 mg/kg 、約 15 mg/kg 、約 20 mg/kg 、約 25 mg/kg 、約 30 mg/kg 、約 35 mg/kg 、約 40 mg/kg 、約 45 mg/kg 、約 50 mg/kg 、約 55 mg/kg 、約 60 mg/kg 、約 70 mg/kg 、約 80 mg/kg 、約 90 mg/kg 、約 100 mg/kg 、約 120 mg/kg 、約 135 mg/kg 、約 150 mg/kg 、約 175 mg/kg 、約 200 mg/kg 、約 225 mg/kg 、約 250 mg/kg 、約 275 mg/kg 、約 300 mg/kg 、約 325 mg/kg 、約 350 mg/kg 、約 375 mg/kg 、約 400 mg/kg 、約 425 mg/kg 、約 450 mg/kg 、約 475 mg/kg 、約 500 mg/kg 、約 525 mg/kg 、約 550 mg/kg 、約 575 mg/kg 、約 600 mg/kg 、約 625 mg/kg 、約 650 mg/kg 、約 675 mg/kg 、約 700 mg/kg 、約 725 mg/kg 、約 750 mg/kg 、約 775 mg/kg 、約 800 mg/kg 、約 825 mg/kg 、約 850 mg/kg 、約 875 mg/kg 、約 900 mg/kg 、約 1.0 g/kg 、約 1.5 g/kg 、約 2.0 g/kg 、約 2.5 g/kg 、約 5 g/kg 、約 10 g/kg 、約 25 g/kg 、約 50 g/kg 、又は 50 g/kg を超える化合物を含み得る。

30

40

【0084】

本明細書で交換可能に使用される場合、「対象」、「個体」、又は「患者」は、脊椎動物、例えば、ヒトなどの哺乳動物を指すことができる。哺乳動物には、ネズミ、サル、ヒト、家畜、スポーツ動物、及びペットが含まれるが、これらに限定されない。「ペット」という用語は、イヌ、ネコ、モルモット、マウス、ラット、ウサギ、フェレットなどを含む。家畜という用語は、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ、ブタ、ウシ、ロバ、ラマ、アルパカ、シチメンチョウなどを含む。

【0085】

本明細書で使用される場合、「医薬組成物」又は「医薬製剤」は、哺乳動物、特にヒトなどの対象への投与に好適な組成物又は医薬組成物を指すことができ、かつ本明細書に記

50

載される1つ以上の抗がん剤と、組成物を、インビトロ、インビボ、又はエクスビボでの診断的、治療的、又は予防的使用に好適なものにする薬学的に許容される担体又は賦形剤との組み合わせを指すことができる。「医薬組成物」は無菌であり得、対象内で望ましくない応答を誘発する可能性のある汚染物質を含み得ない（例えば、医薬組成物中の化合物は、医薬グレードである）。医薬組成物は、経口、静脈内、頬側、直腸、非経口、腹腔内、皮内、気管内、筋肉内、皮下、吸入などを含む多くの異なる投与経路を介して、それを必要とする対象又は患者に投与するように設計することができる。

【0086】

医薬組成物は、賦形剤、薬学的に許容される担体、又は希釈剤を更に含むことができる。「薬学的に許容され得る賦形剤」、「薬学的に許容され得る希釈剤」、「薬学的に許容され得る担体」、又は「薬学的に許容され得るアジュバント」は、安全であり、非毒性であり、生物学的にも望ましくないものでもない医薬組成物を調製するのに有用な賦形剤、希釈剤、担体、及び／又はアジュバントを指すことができ、獣医用及び／又はヒト用医薬品の使用に許容され得る賦形剤、希釈剤、担体、及びアジュバントを含むことができる。本明細書及び請求項で使用される「薬学的に許容され得る賦形剤、希釈剤、担体及び／又はアジュバント」は、1つ以上のそのような賦形剤、希釈剤、担体、及びアジュバントを含むことができる。

10

【0087】

組成物又は医薬組成物は、1つ以上の薬学的に許容され得る賦形剤、希釈剤、担体、及び／又はアジュバントとともに製剤化されて、本開示の組成物の実施形態を提供することができる。多種多様な薬学的に許容され得る賦形剤が当技術分野で知られている。薬学的に許容される賦形剤は、例えば、A. Gennaro (2000) 「Remington : The Science and Practice of Pharmacy,」 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins、Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds., 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins、及びHandbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assocを含む様々な刊行物に十分に記載されている。

20

30

【0088】

本開示の組成物又は医薬組成物は、所望の効果をもたらすことができる任意の手段を使用して対象に投与することができる。したがって、組成物又は医薬組成物は、治療的投与のための様々な製剤に組み込むことができる。例えば、組成物又は医薬組成物は、適切な薬学的に許容され得る担体又は希釈剤と組み合わせることによって医薬組成物に製剤化することができ、錠剤、カプセル、粉末、顆粒、軟膏、溶液、坐剤、注射剤、吸入剤、及びエアロゾルなどの固体、半固体、液体又は気体の形態の調製物に製剤化され得る。

【0089】

医薬剤形において、組成物又は医薬組成物は、その薬学的に許容される塩の形態で投与することができる。医薬的に許容され得る塩としては、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、アンモニア、ジエタノールアミン及び他のヒドロキシアルキルアミン、エチレンジアミン、N-メチルグルカミン、プロカイン、N-ベンジルフェネチルアミン、1-パラ-クロロベンジル-2-ピロリジン-1'-イルメチルベンズイミダゾール、ジエチルアミン及び他のアルキルアミン、ピペラジン、並びにトリス（ヒドロキシメチル）アミノメタンなどであるが、これらに限定されないアミン塩；リチウム、カリウム及びナトリウムなどであるが、これらに限定されないアルカリ金属塩；バリウム、カルシウム及びマグネシウムなどであるが、これらに限定されないアルカリ土類金属塩；亜鉛などであるが、これらに限定されない遷移金属塩；並びにリン酸水素ナトリウム及びリン酸二ナトリウムなどであるが、これらに限定されない他の金属塩を挙げることができるが、これらに限定されず、また、塩酸塩及び硫酸塩などであるが、これらに限

40

50

定されない鉱酸の塩；並びに酢酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、酪酸塩、吉草酸塩及びフマル酸塩などであるが、これらに限定されない有機酸の塩も挙げられるが、これらに限定されない。

【0090】

薬学的に活性な組成物は、単独で、又は適切に会合して、並びに他の薬学的に活性な化合物と組み合わせて使用することができる。

【0091】

本開示の化合物及びそのサブグループへの言及は、そのイオン形態、塩、溶媒和物、異性体、互変異性体、エステル、プロドラッグ、同位体及び保護形態も含まれる。より有利には、その塩又は互変異性体又は異性体又は溶媒和物である。本明細書で使用される場合、「異性体」という用語は、同一の分子式を有するが、空間における原子の配置が異なる分子又は多原子イオン (polyamtoic ions) を指すことができる。例えば、本明細書に記載の化合物の構造異性体及び立体異性体もまた、本発明の実施形態である。例えば、本明細書に記載される化合物のエナンチオマー及びジアステレオマーは、本発明の態様であり得る。例えば、化合物の (R, S) が本明細書に記載されている場合、(R, R)、(S, R)、及び (S, S) も本発明の態様であり得る。本明細書で使用される場合、「エナンチオマー」という用語は、互いに重ね合わせることができない鏡像である分子を指すことができる。本明細書で使用される場合、「ジアステレオマー」という用語は、同じ化合物の別の立体異性体の鏡像ではない2つ以上のキラル中心 (scenters) を有する化合物の立体異性体を指すことができる。

【0092】

本明細書に記載される化合物の多くの化合物は、例えば、塩、例えば酸付加塩、又はある場合には有機及び無機塩基の塩、例えばフェノレート、カルボン酸塩、スルホン酸塩及びリン酸塩の形態で存在することができる。全てのそのような塩は、本開示の範囲内である。

【0093】

本開示の塩は、Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl (ed), Camille G. Wermuth (ed), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388 pages, August 2002に記載される方法などの従来の化学的方法によって、塩基性部分又は酸性部分を含有する親化合物から合成され得る。一般に、このような塩は、これらの化合物の遊離酸又は塩基形態を、水中若しくは有機溶媒中、又はこれら2つの混合物中で適切な塩基又は酸と反応させることによって調製することができる。一般に、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、又はアセトニトリルなどの非水性媒体が使用される。

【0094】

本発明の態様は、少なくとも2つの異なる活性化合物の混合物を含む組成物を指すことができる治療用組み合わせ組成物も含む。例えば、活性化合物は、エロバノイド、PAF受容体アンタゴニスト、抗VEGF抗体、スラムブ、又はそれらの任意の組み合わせであり得る。

【0095】

治療用組み合わせ組成物はまた、本明細書に記載の賦形剤、希釈剤、又は担体を含むがこれらに限定されない、1つ以上の追加の薬剤を含むことができる。例えば、治療用組み合わせは、例えば、第1の活性化合物（又は抗がん剤）、第2の活性化合物（又は抗がん剤）、及び薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤を含む医薬組成物を含むことができる。

【0096】

治療用組み合わせ組成物の非限定的な例は、

- a. 治療有効量のエロバノイド及び治療有効量のPAF受容体アンタゴニスト、
- b. 治療有効量のエロバノイド及び治療有効量の抗VEGF抗体、

- c. 治療有効量のエロバノイド及び治療有効量のスラムブ、
- d. 治療有効量のエロバノイド及び治療有効量のスラミン、
- e. 治療有効量の P A F 受容体アンタゴニスト及び治療有効量の抗 V E G F 抗体、
- f. 治療有効量の P A F 受容体アンタゴニスト及び治療有効量のスラムブ、
- g. 治療有効量の P A F 受容体アンタゴニスト及び治療有効量のスラミン、又は
- h. 本明細書に記載される組成物の任意の組み合わせ

を含む。

【0097】

実施形態において、本開示は有効量の、本明細書で提供される抗がん化合物又はそれらの塩のうちの1つ以上を薬学的に許容される担体中に含有する医薬組成物の製剤を提供する。

10

【0098】

提供される組成物は、本明細書で提供される1つ以上の化合物又はそれらの塩、並びに薬学的に許容され得る賦形剤、希釈剤、担体及び／又はアジュバントを含む。化合物は、経口、頬、鼻腔内、膣、直腸、眼球投与用の溶液、懸濁液、錠剤、散剤、丸薬、カプセル、粉末、組織表面のコラーゲン若しくは他の材料に埋め込まれた硝子体内に移植されたりゼーバー若しくはナノデバイス、デンドリマーからの徐放化された徐放性製剤又はエリキシル剤、又は非経口投与用の滅菌溶液若しくは懸濁液、経皮パッチ、並びに経皮パッチ製剤、乾燥粉末吸入器などの適切な医薬製剤に製剤化され得る。本明細書に記載の化合物は、当技術分野で周知の技術及び手順を使用して医薬組成物に製剤化され得る（例えば、A n s e l I n t r o d u c t i o n t o P h a r m a c e u t i c a l D o s a g e F o r m s , F o u r t h E d i t i o n 1 9 8 5 , 1 2 6 を参照のこと）。

20

【0099】

本開示の実施形態は、提供される化合物の様々な形態、例えば、その薬学的に許容される塩又は誘導体を含む医薬組成物を提供する。

【0100】

実施形態において、本開示は、がんの治療のための医薬組成物を提供する。実施形態において、がんは、多形性膠芽腫などの脳がんである。

【0101】

実施形態において、1つ以上の化合物又は薬学的に許容され得る誘導体の有効濃度は、適切な医薬担体又はビヒクルと混合される。化合物は、上述されるように、製剤前に、対応する塩、エステル、エノールエーテル若しくはエステル、酸、塩基、溶媒和物、水和物又はプロドラッグとして誘導体化することができる。組成物中の化合物の濃度は、投与時に、疾患、障害、又は状態の1つ以上の症状を治療する、予防する、又は寛解する量の送達に有効であり得る。

30

【0102】

本明細書に記載されるように、組成物は、当技術分野で知られている方法を適応することによって容易に調製することができる。組成物は、薬学的製剤の成分であり得る。医薬製剤は、がんなどの疾患、又はその症状の治療のための既知の薬剤を更に含むことができる。

40

【0103】

実施形態はまた、疾患又は状態を治療する際の予防、回復、又は使用のためのパッケージ化された組成物又は医薬組成物を提供する。他のパッケージ化された組成物又は医薬組成物は、疾患又は状態を治療するために組成物を使用するための指示のうちの少なくとも1つを含む兆候を更に含むことができる。キットは、上で列挙されている成分の様々な組み合わせを宿主に投与するための当技術分野で知られている適切な緩衝液及び試薬を、更に含むことができる。

【0104】

本明細書の実施形態は、1つ以上の薬学的に許容され得る賦形剤、希釈剤、担体、天然に生じる若しくは合成抗酸化剤、及び／又はアジュバントとともに製剤化され得る組成物

50

又は医薬組成物を含む。更に、実施形態には、1つ以上の薬学的に許容される補助物質で製剤化された組成物又は医薬組成物が含まれ得る。特に、組成物又は医薬組成物は、1つ以上の薬学的に許容され得る賦形剤、希釈剤、担体、及び／又はアジュバントとともに製剤化されて、本開示の組成物の実施形態を提供することができる。

【0105】

多種多様な薬学的に許容され得る賦形剤が当技術分野で知られている。薬学的に許容される賦形剤は、例えば、A. Gennaro (2000) 「Remington: The Science and Practice of Pharmacy」20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds., 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins, 及び Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assocを含む様々な刊行物に十分に記載されている。ビヒクル、アジュバント、担体又は希釈剤などの薬学的に許容され得る賦形剤は、一般に容易に入手可能である。更に、pH調整剤及び緩衝剤、張性調整剤、安定剤、湿潤剤などの薬学的に許容され得る補助物質は、一般に容易に入手可能である。

【0106】

実施形態において、組成物又は医薬組成物は、所望の効果、例えば、がんの予防又は治療をもたらすことができる任意の手段を使用して対象に投与することができる。したがって、組成物又は医薬組成物は、治療的投与のための様々な製剤に組み込むことができる。例えば、組成物又は医薬組成物は、適切な薬学的に許容され得る担体又は希釈剤と組み合わせることによって医薬組成物に製剤化することができ、錠剤、カプセル、粉末、顆粒、軟膏、溶液、坐剤、注射剤、吸入剤、及びエアロゾルなどの固体、半固体、液体又は気体の形態の調製物に製剤化され得る。

【0107】

組成物又は医薬組成物に適した賦形剤ビヒクルは、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなど、及びそれらの組み合わせである。更に、必要に応じて、ビヒクルは、湿潤剤又は乳化剤、抗酸化剤又はpH緩衝剤などの少量の補助物質を含むことができる。そのような剤形を調製する方法は、当業者に知られているか、又はこの開示の考慮の上で明らかになるであろう。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 17th edition, 1985を参照のこと。投与される組成物又は製剤は、いずれにせよ、治療される対象において所望の状態を達成するのに十分な量の組成物又は医薬組成物を含むであろう。

【0108】

組成物には、徐放性又は制御放出性マトリックスを含むものが含まれ得る。更に、実施形態は、徐放性製剤を使用する他の治療と組み合わせて使用され得る。本明細書で 사용되는場合、徐放性マトリックスは、酵素的又は酸ベースの加水分解又は溶解によって分解可能な材料、通常、ポリマー製マトリックスである。体内に挿入されると、マトリックスは酵素と体液の作用を受ける。徐放性マトリックスは、望ましくは、ポリソーム、ポリラクチド（ポリ乳酸）、ポリグリコリド（グリコール酸のポリマー）、ポリラクチドコグリコリド（乳酸とグリコール酸のコポリマー）、ポリ無水物、ポリ（オルト）エステル、ポリペプチド、ヒアルロン酸、コラーゲン、コンドロイチン硫酸、カルボン酸、脂肪酸、リン脂質、多糖類、核酸、ポリアミノ酸、フェニルアラニンなどのアミノ酸、チロシン、イソロイシン、ポリヌクレオチド、ポリビニルプロピレン、ポリビニルピロリドン及びシリコーンなどの生体適合性材料から選択される。例示的な生分解性マトリックスには、ポリラクチドマトリックス、ポリグリコリドマトリックス、及びポリラクチドコグリコリド（乳酸とグリコール酸のコポリマー）マトリックスが含まれる。別の実施形態において、医

薬組成物（並びに組み合わせ組成物）は、制御放出システムにおいて送達され得る。例えば、組成物又は医薬組成物は、静脈内注入、移植可能な浸透圧ポンプ、経皮パッチ、リポソーム、又は他の投与様式を使用して投与することができる。一実施形態において、ポンプを使用することができる（Sefton（1987）. CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201、Buchwald et al.（1980）. Surgery 88:507、Saudek et al.（1989）. N. Engl. J. Med. 321:574）。別の実施形態では、高分子材料が使用される。更に別の実施形態では、制御放出システムは、治療標的の近くに配置され、したがって、全身用量のほんのわずかしかなければならない。更に別の実施形態では、制御放出システムは、治療標的の近くに配置され、したがって、全身のほんのわずかしかなければならない。他の制御放出システムは、Langer（1990）. Science 249:1527-1533によるレビューで議論されている。

10

【0109】

別の実施形態において、本開示の組成物（及び別個に又は一緒に組み合わせた組成物）には、本明細書に記載の組成物又は医薬組成物を、縫合糸、包帯、及びガーゼなどの吸収性材料に含浸させることによって形成されたもの、又は組成物を送達するための外科用ステープル、ジッパー、カテーテルなどの固相材料の表面にコーティングされたものが含まれる。このタイプの他の送達システムは、本開示を考慮して当業者には容易に明らかになるであろう。

【0110】

20

別の実施形態において、組成物又は医薬組成物（並びに別々に又は一緒に組み合わせた組成物）は、遅延放出製剤の一部であり得る。遅延放出剤形製剤は、「Pharmaceutical dosage form tablets」, eds. Liberman et al.（New York, Marcel Dekker, Inc., 1989）, 「Remington-The science and practice of pharmacy」, 20th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2000、及び「Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems」, 6th Edition, Ansel et al.,（Media, PA: Williams and Wilkins, 1995）編などの標準的な参考文献に記載されているように調製することができる。これらの参考文献は、錠剤及びカプセルを調製するための賦形剤、材料、機器及びプロセス、並びに錠剤、カプセル、及び顆粒の遅延放出剤形に関する情報を提供する。これらの参考文献は、錠剤及びカプセルを調製するための担体、材料、機器及びプロセス、並びに錠剤、カプセル、及び顆粒の遅延放出剤形に関する情報を提供する。

30

【0111】

治療法

本発明の態様は、がんを治療又は予防する方法を対照とする。

【0112】

本明細書で使用される場合、「治療」及び「治療すること」は、状態、疾患又は障害と闘う目的で、疾患又は障害の症状のうちの1つ以上が改善されたか、又は他の方法で有益に変化する任意の方法で、対象者の管理及びケアを指すことができる。この用語は、症状若しくは合併症を軽減若しくは緩和する；状態、疾患、若しくは障害の進行を遅延させる；状態、疾患、若しくは障害を治療若しくは排除する；及び／又は状態、疾患、若しくは障害を予防する目的のための活性化合物の投与など、患者が罹患している所与の状態のための全範囲の治療を含むことができ、ここで、「予防すること」又は「予防」は、状態、疾患、又は障害の発症を妨げる目的での患者の管理及びケアを指し得、症状又は合併症の発症のリスクを予防又は減少するための活性化合物の投与を含むことができる。治療される患者は、ヒトなどの哺乳動物であり得る。治療はまた、本明細書で提供されるような疾患を治療するための使用など、本明細書での組成物の任意の医薬使用を包含する。

40

50

【0113】

「がんの治療」又は「がんを治療する」という用語は、「がん」として一般に知られている病状に関連することが当技術分野で知られている現象のいずれかの予防又は軽減又は改善を指すことができる。「がん」という用語は、悪性腫瘍の開始又は進行、並びに転移に関連する病理学的症状の範囲を指すことができる。「腫瘍」という用語は、細胞の増殖が制御されず進行性である組織の新たな成長を指すことができる。実施形態において、腫瘍は、原発腫瘍が浸潤又は転移の特性を有するか、又は良性腫瘍よりも大きな程度の退形成を示す悪性腫瘍であり得る。したがって、「がんの治療」又は「がんを治療すること」は、疾患に関連する一次現象（開始、進行、転移）又は二次症状のいずれかを予防、緩和又は改善する活性を指すことができる。

10

【0114】

がんの治療は、例えば、がんの浸潤性の阻害又は遅延によって示され得る。「がん浸潤」は、がん細胞によってインビボで引き起こされる、生体組織などの中への又はそれを通しての移動を指すことができる。例えば、がん細胞によって引き起こされる、特別な細胞ベースのタンパク質（例えば、コラーゲン及びマトリゲル）及び他の物質によって形成される障壁への又は障壁を通る移動。

【0115】

「がんを予防する」という語句は、がん発生の予防を指すことができる。実施形態において、予防的処置は、がんの再発を減少する。他の実施形態において、予防的処置は、患者ががんを発症するリスクを減少させるか、又は前がん状態（例えば、大腸ポリープ）の実際の悪性疾患への進行を阻害する。

20

【0116】

本明細書に記載の実施形態は、血管新生を予防、阻害、又は遅延させることができる。したがって、本明細書に記載の化合物及び組成物は、「抗血管新生」と呼ぶことができる。血管新生は、内皮細胞による毛細血管の移動及び形成を指すことができる。成長は、細胞のサイズ、形状、及び複雑さの増加を指すことができる。増殖は、細胞分裂による細胞の成長を指すことができる。分化は、細胞が未分化状態からより分化した状態に変化するプロセスを指すことができ、通常、多様な機能的役割並びに新規及び多様な形質の発生に関連している。細胞相互作用は、近くの同種又は異種細胞間の存在及び移動に応答した遊走、浸潤、血管新生、成長、増殖又は分化などの細胞挙動の変化を指すことができる。

30

【0117】

「がん」は、異常な細胞が制御されずに分裂し、近くの組織に侵入し得る疾患を指すことができる。がん細胞はまた、血液及びリンパ系を介して身体の他の部分に広がり得る。がんにはいくつかの主要なタイプがある。がん腫は、皮膚において、又は内部器官を裏打ち若しくは覆う組織において始まるがんである。肉腫は、骨、軟骨、脂肪、筋肉、血管、又は他の結合組織若しくは支持組織において始まるがんである。白血病は、骨髄などの血液形成組織で始まり、多数の異常な血液細胞が産生されて血液に入る原因となるがんである。リンパ腫及び多発性骨髄腫は、免疫系の細胞において始まるがんである。中枢神経系がんは、脳及び脊髄の組織で始まるがんである。悪性腫瘍とも呼ばれる。

【0118】

実施形態において、がんは、固形腫瘍又は液性がんを含み得る。「固形腫瘍」は、通常は嚢胞又は液体を含まない組織の異常な塊を指すことができる。「液性がん」と呼ぶことができる「非固形腫瘍」は、リンパ種、骨髄腫、及び白血病などの造血液の新生物、又は一般に固形形成を伴わず、実質的に拡散を伴う新生物を指すことができる。

40

【0119】

いくつかの実施形態において、固形腫瘍としては、脳腫瘍、肺がん、肝臓がん、肝細胞がん（hepatocellular carcinoma、HCC）、食道がん、胆管がん、胆嚢がん、胃がん（stomach cancer）、腹部がん、胃腸がん、胃がん（gastric cancer）、膵臓がん、腎細胞がん、腎臓がん、骨肉腫、乳がん、卵巣がん、子宮がん、子宮頸がん、子宮内膜がん、結腸直腸がん、結腸がん、直腸がん、膀胱がん、表在性膀胱がん、前立腺がん、

50

副腎腫瘍、扁平上皮がん、神経腫、悪性神経腫、筋上皮がん、滑膜肉腫、横紋筋肉腫、消化管間質腫瘍、皮膚がん、基底細胞がん、悪性メラノーマ、甲状腺がん、上咽頭がん、血管腫、類表皮がん、頭頸部がん、神経膠腫、又はカポジ肉腫が挙げられるが、これらに限定されない。

【0120】

いくつかの実施形態において、非固形腫瘍としては、白血病、急性白血病、慢性白血病、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ球性白血病、急性リンパ芽球性白血病、T細胞性白血病、ヘアリーセル白血病、赤血球増加症、骨髄異形成症候群、多発性ミエローマ、リンパ節腫、ホジキン・リンパ腫、及び非ホジキン・リンパ腫が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0121】

いくつかの実施形態において、腫瘍は脳腫瘍であり、異常増殖又は異常増殖脳細胞及び／又は悪性脳腫瘍を含むが、これらに限定されない。本明細書で使用される場合、「脳腫瘍」という用語は、任意の脳腫瘍を指すことができ、したがって、そのような腫瘍は、原発性脳腫瘍及び／又は転移性脳腫瘍であり得、例えば、腫瘍は、他の位置の腫瘍が様々な転移様式を介して脳に転移するように形成される。脳腫瘍は、良性（非がん性）、前浸潤性病変（前がん性病変）、又は脳腫瘍などの悪性（がん性）脳腫瘍であり得る。

【0122】

「脳腫瘍」という用語は、グリア支持細胞に由来するグリオーマ又は原発性脳腫瘍を指すことができ、2010年に推定13,000人の死亡をもたらす成人中枢神経系の最も一般的な原発性腫瘍である。星状細胞起源の成人神経膠腫（星状細胞腫）は、一般にWHO基準によって低悪性度良性腫瘍（すなわち、若年性毛様細胞性星状細胞腫、びまん性星状細胞腫）及び高悪性度悪性腫瘍（すなわち、未分化星状細胞腫及び多形性膠芽腫（GBM））に分類される新生物のスペクトルを含む。最も侵襲性の悪性神経膠腫であるグレードIVのGBMと診断された患者は、臨床症状の発症後9～12ヶ月の生存期間中央値を有する。神経膠腫標本の分子分析により、神経膠芽腫形成に寄与し得るいくつかの一般的な遺伝子変化が同定されている。

20

【0123】

本明細書で使用される「多形性膠芽腫（GBM）」という用語は、未分化細胞によって取り囲まれた壊死組織の小領域の存在（偽柵状壊死）によって特徴付けられるグリア細胞に由来する神経膠腫又は脳腫瘍である。この特徴、並びに過形成血管の存在は、これらの特徴を有さないグレード3の星状細胞腫から腫瘍を区別する。一般に、神経膠腫は、従来のアプローチを使用して治療することが極めて困難である。これは主に、神経膠腫細胞が腫瘍コアを出て、隣接する正常な脳実質に侵入する固有の傾向による。これらの遊走細胞は、外科的切除を免れ、放射線又は化学療法による標的化が不十分である。それらは、しばしば血管及び線維路に沿って長い距離を移動することがあり、その後、それらの最終目的地で二次腫瘍増殖を開始する。この際立った浸潤能力は、他の原発性腫瘍部位（例えば、乳房）から脳組織に転移する非グリア細胞によって共有されない。神経膠腫細胞の浸潤は、細胞伸長、細胞外マトリックス（extracellular matrix、ECM）分子へのインテグリン媒介細胞付着、ECM分解酵素の産生及び分泌、並びに細胞移動を含む細胞応答のカスケードを促進する現在定義されていない1つ又は複数のシグナルによって引き起こされる可能性が高い。

30

40

【0124】

本開示のこの態様のいくつかの実施形態において、脳腫瘍は、膠芽腫、アストロサイトーマ、乏突起神経膠腫、上衣腫瘍、ニューロン腫瘍及びグリア腫瘍の組み合わせからなる群から選択することができる。

【0125】

実施形態において、方法は、治療上有効量の本明細書に記載される細胞を対象に投与することを含むことができる。

【0126】

50

「投与」という用語は、本明細書に記載の組成物又は製剤を対象に導入することを指すことができる。組成物の投与経路の1つは静脈内投与である。しかしながら、経口、局所、皮下、腹膜、動脈内、吸入、膣、直腸、経鼻、脳脊髄液への導入、又は身体区画への点滴注入などの任意の投与経路を使用することができる。

【0127】

製剤又は医薬化合物は、単独で投与することができるが、選択された投与経路及び標準的な医薬慣行に基づいて選択される他の化合物、賦形剤、充填剤、結合剤、担体又は他のビヒクルとともに投与することができる。投与は、滅菌水溶液若しくは非水溶液、又は生理食塩水、クリーム、ローション、カプセル、錠剤、顆粒、ペレット、粉末、懸濁液、エマルジョン若しくはマイクロエマルジョン、パッチ、ミセル、リポソーム、小胞、マイクロインプラントを含むインプラント、点眼剤、他のタンパク質及びペプチド、合成ポリマー、ミクロスフェア、ナノ粒子などを含む注射用溶液などの担体又はビヒクルを介して行うことができる。

10

【0128】

製剤又は医薬組成物はまた、グルコース、ラクトース、アカシアガム、ゼラチン、マンニトール、キサンタンガム、イナゴマメガム、ガラクトース、オリゴ糖及び／又は多糖類、デンプンペースト、三ケイ酸マグネシウム、タルク、コーンスターチ、スターチフラグメント、ケラチン、コロイド状シリカ、ジャガイモデンプン、尿素、デキストラン、デキストリンなどを含むがこれらに限定されない、薬学的に許容され得る担体、賦形剤、結合剤及び充填剤などの他の非毒性化合物を含むか、又は包装することができる。例えば、使用することができる薬学的に許容される担体、賦形剤、結合剤、及び充填剤には、本発明の化合物を硝子体内送達、眼内送達、眼送達、網膜下送達、髄腔内送達、静脈内送達、皮下送達、経皮送達、皮内送達、頭蓋内送達、局所送達などに適合させるものが含まれる。更に、包装材料は、プラスチックポリマー、及びシリコンなど、生物学的に不活性であるか、又は生物活性を欠くことができ、包装及び／又は一緒に送達される組成物／製剤の有効性に影響を与えることなく、対象によって内部で処理することができる。

20

【0129】

異なる形態の製剤は、異なる個体及び単一の個体の異なるニーズの両方に適応するために修正することができる。この概念を実施することは複雑であり、必要な研究は困難である。しかし、現在の製剤が、全ての個体の全ての原因に対抗する必要はない。むしろ、必要な原因に対抗することにより、現在の製剤が、体と脳を通常の機能に修復する。その後、体と脳自体が、残りの欠陥を直す。がんの全ての単一の局面を矯正し得る薬物は存在しないが、本製剤は、その可能性を最大化する。

30

【0130】

「非経口投与」は、注射又は注入による投与を指すことができる。非経口投与としては、皮下投与、静脈内投与、筋肉内投与が挙げられるが、これらに限定されない。

【0131】

経口製剤の場合、組成物又は医薬組成物は、単独で、又は錠剤、散剤、顆粒剤又はカプセル剤を作製するための適切な添加剤、例えば乳糖、マンニトール、トウモロコシデンプン又はジャガイモデンプンなどの従来の添加剤と、結晶性セルロース、セルロース誘導体、アカシア、コーンスターチ又はゼラチンなどの結合剤と、トウモロコシデンプン、ジャガイモデンプン又はカルボキシメチルセルロースナトリウムなどの崩壊剤と、タルク又はステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤と、及び所望により希釈剤、緩衝剤、湿潤剤、保存剤及び香味剤と組み合わせて使用することができる。

40

【0132】

組成物又は医薬組成物の実施形態は、それらを水性又は非水性溶媒、例えば植物油又は他の類似の油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸のエステル又はプロピレングリコール中に；所望であれば、従来の添加剤、例えば可溶化剤、等張剤、懸濁化剤、乳化剤、安定剤及び保存剤とともに溶解、懸濁又は乳化させることによって注射用製剤に製剤化することができる。

50

【0133】

組成物又は医薬組成物の実施形態は、吸入を介して投与されるエアロゾル製剤において利用することができる。組成物又は医薬組成物の実施形態は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素などの加圧された許容される噴射剤に製剤化することができる。

【0134】

経口投与のための単位剤形（例えば、シロップ剤、エリキシル剤、及び懸濁剤）が提供され得、ここで、各投薬単位（例えば、茶さじ1杯、テーブルスプーン1杯、錠剤又は坐剤）は、1つ以上の組成物を含む所定の量の組成物を含む。同様に、注射又は静脈内投与のための単位剤形は、滅菌水、生理食塩水又は別の薬学的に許容される担体中の溶液として組成物中に組成物又は医薬組成物を含むことができる。

10

【0135】

組成物又は医薬組成物の実施形態は、本開示に従って注射可能な組成物に製剤化することができる。例えば、注射用組成物は、液体溶液又は懸濁液として調製され、注射前の液体ビヒクル中の溶液又は懸濁液に適した固体形態も調製することができる。調製物はまた、乳化され得るか、又は活性成分（トリアミノーピリジン誘導体及び／若しくは標識トリアミノーピリジン誘導体）は、本開示に従ってリポソームビヒクル中に封入され得る。

【0136】

ある実施形態において、組成物又は医薬組成物は、連続送達系による送達のために製剤化することができる。「連続送達システム」という用語は、本明細書では「制御送達システム」と互換的に使用され、カテーテル、注射デバイスなどと組み合わせた連続（例えば、制御）送達デバイス（例えば、ポンプ）を包含し、その多種多様なものが当技術分野において既知である。

20

【0137】

組成物又は医薬組成物の実施形態は、1つ以上の用量で対象に投与することができる。当業者は、投与レベルが、投与される特定の組成物又は医薬組成物の機能、症状の重症度、及び副作用に対する対象の感受性に従って変化し得ることを容易に理解するであろう。所与の化合物の投与量は、当業者によって様々な手段によって容易に決定可能である。

【0138】

一実施形態では、組成物又は医薬組成物の複数回用量が投与される。組成物又は医薬組成物の投与の頻度は、例えば、症状の重症度などの様々な要因のいずれかに応じて変化し得る。例えば、一実施形態において、組成物又は医薬組成物は、月に1回、月に2回、月に3回、隔週（q o w）、週に1回（q w）、週に2回（b i w）、週に3回（t i w）、週に4回、週に5回、週に6回、隔日（q o d）、毎日（a d）、1日2回（q i d）、1日3回（t i d）、又は一日に4回投与され得る。上述のように、一実施形態において、組成物又は医薬組成物は、1～10日の期間にわたって1日1～4回投与される。

30

【0139】

組成物又は医薬組成物類似体の投与期間、例えば、組成物又は医薬組成物が投与される期間は、患者応答を含む様々な因子のいずれかに応じて変動し得る。例えば、組成物又は医薬組成物を組み合わせて又は別々に、約1日～1週間、約1日～2週間の期間にわたって投与することができる。状態又は疾患を治療するのに有効であり得る本開示のP A Fアンタゴニスト及び医薬組成物の量は、標準的な臨床技術によって決定することができる。更に、インビトロ又はインビボアッセイを任意選択的に使用して、最適な投与量範囲を特定することができる。使用する正確な用量は、投与経路にも依存する可能性があり、開業医の判断及び各患者の状況に応じて決定することができる。

40

【0140】

実施形態において、2つ以上の抗がん剤は、一方の前に他方など、逐次的に、又はほぼ同時など、並行して若しくは同時に投与することができる。用語「同時投与」は、本明細書で使用される場合、治療的併用療法における第1の抗がん剤及び第2の抗がん剤が、約15分未満、例えば、約10、5、又は1分未満のいずれかで投与されることを示す。第1及び第2の抗がん剤が同時に投与される場合、第1及び第2の治療は、同じ組成物（例

50

えば、第 1 及び第 2 の治療剤の両方を含む組成物）であってもよく、又は別々であってもよい（例えば、第 1 の治療剤が 1 つの組成物に含まれ、第 2 の治療剤が別の組成物に含まれる）。

【0141】

本明細書で使用される場合、「逐次的投与」という用語は、併用療法における第 1 の抗がん剤及び第 2 の抗がん剤が、約 15 分超、例えば、約 20、30、40、50、60 分超、又は 60 分超であることを示し得る。第 1 の抗がん剤又は第 2 の抗がん剤のいずれかを最初に投与することができる。第 1 及び第 2 の抗がん剤は、同じ又は異なるパッケージ又はキットに含まれ得る別々の組成物に含まれる。

【0142】

本明細書で使用される場合、「同時投与」という用語は、併用療法における第 1 の治療剤及び第 2 の治療剤の投与が互いに重複することを意味する。

【0143】

実施形態において、処置の投与の非限定的な例は、最初に PAF-r アンタゴニストを投与し、続いてスラマブ、抗 VEGF 抗体、エロバノイド、又はそれらの任意の組み合わせを投与することを含み得る。例えば、PAF-r アンタゴニストは、LAU-0901、LAU-09015、LAU-09017、LAU-09017、LAU-09018、LAU-09019、LAU-09020、LAU-09021、LAU-09023、又は LAU-09025 であり得る。例えば、抗 VEGF 抗体は、ペバシズマブ、ラムシルマブ、又はラニビズマブであり得る。

【0144】

例えば、エロバノイドは、ELV 32:6 又は ELV 34:6 であり得る。例えば、LAU-0901 を最初に投与し、続いて約 5 分後にペバシズマブ、スラマブ、ELV、又はそれらの組み合わせを投与することができる。例えば、ELV を投与した後、約 5 分後にペバシズマブ又はスラマブ又は LAU-0901 を投与することができる。

【0145】

本開示の治療用組成物は、インビボ、インビトロ及びエクスビボ方法、並びに全身的及び局所的な投与経路を含む、薬物送達に適した任意の利用可能な方法及び経路を使用して、対象に活性剤を投与するための方法及び組成物を提供する。投与経路には、鼻腔内、筋肉内、気管内、皮下、脳室内、皮内、局所適用、静脈内、直腸、鼻、経口、及び他の経腸及び非経口投与経路が含まれる。投与経路は、必要に応じて組み合わせることができ、又は薬剤及び／又は所望の効果に応じて調整することができる。活性剤は、単回投与又は複数回投与で投与され得る。

【0146】

組成物又は医薬組成物の実施形態は、全身経路又は局所経路を含む、従来の薬物の送達に適した利用可能な従来の方法及び経路を使用して対象に投与することができる。投与経路には、経腸投与、非経口投与、又は吸入が含まれ得るが、これらに限定されない。

【0147】

本開示の他の組成物、化合物、方法、特徴、及び利点は、以下の図面、詳細な説明、及び例を検討することにより、当業者に明らかであるか、又は明らかになるであろう。そのような全ての追加の組成物、化合物、方法、特徴、及び利点は、この説明に含まれ、本開示の範囲内にあることが意図される。

【0148】

本明細書に記載の抗がん剤及び組成物は、局所的又は全身的に投与することができる。「局所投与」は、限定された又は部分的な解剖学的空間に組成物又は薬物を投与することを指すことができる。局所投与の例としては、尿管内、リンパ節内、胸膜腔内、腹膜腔内などが挙げられるが、これらに限定されない。「全身投与」は、抗がん剤が有意な量で体内に広く分布するようになり、血液中で生物学的効果、例えば、その所望の効果を有し、かつ／又は血管系を介してその所望の作用部位に到達するような、抗がん剤の投与を指すことができる。例えば、全身投与経路には、(1) 薬剤を血管系に直接導入することによ

10

20

30

40

50

る投与、又は（２）薬剤が吸着され、血管系に入り、血液を介して１つ又は複数の所望の作用部位に運ばれる経口投与、肺投与、又は筋肉内投与が含まれる。

【０１４９】

キット

本発明の態様は、がんを治療するための本明細書に記載の組成物を含むキットなどのキットを対象とする。例えば、キットは、本明細書に記載の治療用組み合わせ組成物を含むことができる。

【０１５０】

一実施形態において、キットは、（ａ）抗体を含有する組成物を含有する容器、及び任意選択で（ｂ）情報資料を含む。情報資料は、本明細書に記載される方法及び／又は治療上の利益のための薬剤の使用に関する説明的、指導的、マーケティング、又は他の資料であり得る。

【０１５１】

一実施形態において、キットは、２つ以上の抗がん剤を含む。例えば、キットは、エロバノイドを含む組成物を含有する第１の容器、及びＰＡＦアンタゴニストを含む第２の容器を含む。

【０１５２】

キットの情報資料は、その形態において限定されない。一実施形態において、情報資料は、化合物の産生、化合物の分子量、濃度、有効期限、バッチ又は産生部位情報などについての情報を含むことができる。一実施形態において、情報資料は、神経切断障害を有する対象を治療するために、治療用組み合わせ組成物を、例えば、適切な用量、剤形、又は投与方法（例えば、本明細書に記載される用量、剤形、又は投与方法）で投与する方法に関する。情報は、様々な形式で提供することができ、印刷されたテキスト、コンピュータ読み取り可能な資料、ビデオ録音、若しくは音声録音、又は実質的な資料へのリンク若しくはアドレスを提供する情報を含む。

【０１５３】

キットにおける組成物は、溶媒若しくは緩衝液、安定剤、又は保存剤などの他の成分を含むことができる。アンタゴニストは、任意の形態、例えば、好ましくは、実質的に純粋及び／又は無菌の、液体、乾燥、又は凍結乾燥形態で提供することができる。薬剤が溶液で提供される場合、液体溶液は、好ましくは水溶液である。薬剤が乾燥形態として提供される場合、再構成は一般に、適切な溶媒の添加による。溶媒、例えば、無菌水又は緩衝液は、任意にキットにおいて提供することができる。

【０１５４】

キットは、薬剤を含む組成物のための１つ以上の容器を含むことができる。いくつかの実施形態では、キットは、組成物及び情報資料のための別個の容器、仕切り、又は区画を含有する。例えば、組成物は、ボトル、バイアル、又はシリンジに含有することができ、情報資料は、プラスチックスリーブ又はパッケージに含有することができる。他の実施形態では、キットの別個の要素は、単一の分割されていない容器内に含有される。例えば、組成物は、ラベルの形態でそれに添付された情報資料を有するボトル、バイアル、又はシリンジに含有される。いくつかの実施形態において、キットは、各々が薬剤の１つ以上の単位剤形（例えば、本明細書に記載される剤形）を含有する、複数（例えば、パック）の個々の容器を含む。容器は、組み合わせ単位投与量を、例えば、所望の比率で含むことができる。例えば、キットは、例えば、各々が単一の組み合わせ単位用量を含有する、複数のシリンジ、アンプル、ホイルパッケージ、ブリストアパック、又は医療デバイスを含む。キットの容器は、気密性、防水性（例えば、水分の変化又は蒸発に対して不浸透性）、及び／又は光密性であり得る。キットは、任意に、組成物の投与に適したデバイス、例えば、シリンジ又は他の適切な送達デバイスを含む。デバイスは、薬剤の一方又は両方が予め装填されて提供され得るか、又は空であるが、装填に適し得る。

【実施例】

【０１５５】

実施例は、本発明のより完全な理解を促進するために以下に提供される。以下の実施例は、本発明を作製及び実施する例示的な様式を例示する。しかしながら、本発明の範囲は、これらの実施例に開示されている特定の実施形態に限定されず、代わりの方法を使用して同様の結果を得ることができるため、例示のみを目的としている。

【0156】

実施例 1

実施例 1 – 膠芽腫多形脳浸潤性を予防する方法

本発明のある態様は、脳内の G B M 浸潤を遮断／ダウンレギュレートするための、全身注射されたスラマブ（スラミン＋アバスチン）又は L A U－0901＋エロバノイド若しくは＋スラマブの使用である。実験的に（マウスモデルにおいて）、本発明者らは、これらの処置が生存を改善し、脳腫瘍サイズを縮小させ、死亡率を減少させることを示す。

10

【0157】

機構的に、本発明者らの新しいアプローチは、脳腫瘍によって引き起こされるいくつかの経路及び神経炎症性破壊を標的とする。低分子量 L A U－0901 は、血小板活性化因子受容体（platelet-activating factor receptor、P A F R）に拮抗することによって炎症促進性シグナル伝達を抑制する。エロバノイドは、新しいクラスの内因性プロホメオスタティック脂質メディエーターであり、神経保護生物活性を示し、実験的脳卒中、培養中のニューロン、及び光受容体の完全性を維持するのに必要な網膜細胞においてアポトーシス促進性及び炎症促進性シグナル伝達を不活性化する。スラミンは抗腫瘍活性を有し、複数の成長因子の結合を阻害し、グルタミン酸作動性シナプス伝達を阻害する。

20

【0158】

多形性膠芽腫（G B M）は、最も侵襲性の原発性脳腫瘍であり、予後が悪く、平均生存期間が 13～16 ヶ月であり、現在の治療基準は、外科的切除、放射線、及び化学治療である。現在の治療の無効力は、浸潤／侵襲性を効果的に遮断する新規 G B M 治療剤の開発を必要とする。本発明者らのデータは、G B M モデルに適用した場合の本発明者らの化合物の実験的治療有用性を実証する。

【0159】

選択された化合物は、G B M 侵襲性／浸潤を遮断するための新規かつ異なるアプローチである。それらの作用は、炎症の効果的かつ適時の解消及び神経保護経路の活性化であり、血管新生促進事象の鈍化を含む。理論に束縛されることを望むものではないが、それらは、G B M 侵襲性を減少するための有効な治療選択肢を提供する。

30

【0160】

実施例 2

実施例 2 – 多形性膠芽腫のための新しい実験的治療

多形性膠芽腫（G B M）は、成人において最も一般的で侵襲性の原発性悪性脳腫瘍であり、外科的切除、化学療法、及び放射線療法にもかかわらず、平均生存率は 13～16 ヶ月である（Mooney et al., 2019）。G B M は、中枢神経系のグリア細胞に由来する高悪性度の神経膠腫であり、全ての悪性脳腫瘍の 80.7% を占める（Chen et al., 2019）。最大外科的切除及びアジュバント化学放射線療法を含む現在の標準治療は、患者の生存に対してほとんど有効性を示さず、生存期間中央値は再発後 6 ヶ月未満である（Mooney et al., 2019）。新たに診断された G B M の治療のための唯一の承認された薬物はテモゾロマイド（TMZ）（Mukherji, 2010）であり、再発性 G B M のためのものはベバシズマブ又はアバスチン（Mukherji, 2010）である。

40

【0161】

G B M のための有効な治療剤の開発は、G B M 細胞多剤耐性から生じる放射線療法及び化学療法の制限並びに細胞毒性治療剤のための低用量要件に起因する課題を提示する（Han et al., 2015、Florman et al., 2016）。腫瘍構造の複雑さ並びにその浸潤性及び急速増殖性の性質のために、外科的切除及び放射線療法の有効性は制限され、最終的に再発につながる（Soda et al., 2013; Ma

50

rrero et al., 2014、von Neubeck et al., 2015)。腫瘍内では、血管系が解体され、高度に透過性であり、血液脳関門 (blood brain barrier、BBB) を損傷し、患者に重篤な症状を示す原因となる浮腫をもたらす。しかしながら、腫瘍中心とは対照的に、腫瘍の縁部上の BBB は損なわれておらず、機能的なままであり、これらの領域への薬物送達を特に困難にしている (Soda et al., 2013)。治療開発が直面する別の課題は、GBM が示すことが示されている療法に対する獲得耐性である。腫瘍血管新生を阻害することを目的とした現在の療法は、適応腫瘍応答をもたらすことが示されており、記録された最も重度の適応は、より侵襲性の表現型への移行である (Bergers and Hanahan, 2008)。

10

【0162】

現在利用可能な治療薬の無効力及び再発率の高さを考慮すると、成功する新しい治療薬の開発の必要性は重要である。2つの新しい処置 (LAU-0901、エロバノイド 34:6 及びそれらの組み合わせ) 及びスラマブ (スラミン+アバスチン) (Dumas and Bissler, 1999、Bouteille et al., 2003、Kappagoda et al., 2011、Lopex et al., 2011、Quinteros et al.; 2016、Lopex et al., 2018) を、GBM の治療として調査した。本発明者らの処置を、GBM 患者の処置のための現在承認されている薬剤であるアバスチンと比較した。

20

【0163】

LAU-0901

LAU-0901 (2, 4, 6-トリメチル-1, 4-ジヒドロピリジン-3, 5-ジカルボン酸) は、高度に選択的な血小板活性化因子受容体 (PAFR) アンタゴニストであり、アポトーシス及び炎症応答の強力な阻害剤である (Bazan, 2003 He and Bazan, 2006)。LAU-0901 は、様々な炎症モデルにおいて抗炎症薬として使用される場合、高度に保護的である (Esquenazi et al., 2004, 2009、He and Bazan, 2006)。それはまた、ラット及びマウスにおける虚血-再灌流傷害のモデルに適用された場合、神経保護生物活性を示すことが示されている (Esquenazi et al., 2009、Belayev et al., 2012)。以前の研究では、ラットにおいて MCAo の 2 時間後に行動欠損を改善し、総梗塞体積を 76% 減少させ、マウスにおいて MCAo の 1 時間後の 6 時間で脳内血流 (intracerebral blood flow、ICBF) を 77% 増加させることが観察された (Belayev et al., 2008)。GBM における PAFR アンタゴニストの使用の前提を図 1A に示す。

30

【0164】

エロバノイド

エロバノイドは、興奮毒性に対して保護することが観察されている内因性プロホモオスタティック脂質メディエーターのクラスである (Bhattacharjee et al., 2017、Bazan, 2018)。エロバノイドは、要求に応じて作製することができ、超長鎖多価不飽和脂肪酸 (VLC-PUFA) から誘導することができる立体選択的メディエーターである (Calandria et al., 2015)。エロバノイドは、インビトロニューロンモデル及びインビボ実験的虚血性脳卒中の両方において神経保護生物活性を示し得ることが実証されている (Belayev et al., 2017)。それらはまた、実験的脳卒中及び神経変性疾患においてアポトーシス促進性及び炎症促進性シグナル伝達を不活性化する能力を有することが示されている (Harvey et al., 2015)。例として、本発明者らは、GBM マウスモデルに対するエロバノイド 34:6 (ELV) の使用を検証した。

40

【0165】

スラマブ

スラマブはスラミンとアバスチンの組み合わせである (Lopez et al. 20

50

11, Quinteros et al 2016, Lopez et al, 2018)。スラミンは、両方とも寄生虫によって引き起こされる感染症であるアフリカ睡眠病（アフリカトリパノソーマ症）及び河盲症（オンコセルカ症）を治療するために使用される（Dumas and Bisser, 1999、Kappagoda et al., 2011）。スラミンは、寄生虫にエネルギーを失わせることによって作用し、これが寄生虫の死を引き起こす。スラミンは、非選択的P2プリン作動性アンタゴニストpEC₅₀値は、4.5（P2X₂）、5.4（P2X₅）、4.3（P2Y₂）、4.0（P2Y₄）及び4.8（P2Y₁₁）である。多様な生物学的作用を示す。これは、抗腫瘍活性を示し、複数の成長因子の結合を阻害し、更にグルタミン酸作動性シナプス伝達を阻害する（Dumas and Bisser, 1999、Kappagoda et al., 2011）。

10

【0166】

アバスチン（ベバシズマブ）

アバスチンは、再発性GBMのための単剤として、又は化学療法と組み合わせて、最大40%のX線撮影反応率を示した抗血管内皮増殖因子（VEGF）モノクローナル抗体である。これは、2008年にGBMにおける使用が承認された。しかしながら、それは、GBMにおける適応突然変異（Bergers and Hanahan, 2008）におそらく起因して有効性が限られており、GBM患者における標準治療＋放射線と比較した場合、全生存期間（overall survival、OS）の改善をもたらさない（Mukherji, 2010、Ozdemir-Kaynak et al., 2018）。

20

【0167】

方法

動物

研究は、National Institutes of Healthのガイドラインに従って、並びに実験動物のケア及び使用において全国的に認められた原則に従って実施した。ニューオーリンズのLouisiana State University Health Sciences Center（Louisiana State University Health Sciences Center、LSNHSC）のInstitutional Animal Care and Use Committee（Institutional Animal Care and Use Committee、IACUC）は、この研究に使用される動物試験プロトコルを承認した。6～8週齢の胸腺欠損雌マウス（Charles Rivers Laboratories and Envigo）を全ての実験で使用した。水及び食物は、自由に摂取可能であった。痛み及び苦痛を最小限に抑え、これらの実験で使用するマウスの数を減らすために、全ての努力を行った。

30

【0168】

U87MG細胞株を用いたGBMマウスモデル

6～8週齢の胸腺欠損雌マウス（Charles Rivers Laboratories and Envigo）を、ケタミン／キシラジンカクテル溶液（100mg/kg；10mg/kg）で麻酔した。次いで、マウスを定位固定ヘッドフレームに固定し、頭皮上の正中線1cm切開を行った。天然涙液潤滑剤を眼に塗布した。各マウスについて、ルシフェラーゼ受容体遺伝子でタグ付けされた5μLの無血清ダルベッコ改変イーグル培地（DMEM）中の5×10⁶個のU87MG細胞を、10μLのハミルトンシリンジを使用して、プレグマに対して次の座標：1.5mm側方、1.5mm後方、及び3.5mm深さで右海馬に移植し、注射の前に、針を3.5mmまで下げ、1mmだけ引き上げた（Marrero et al., 2014）（図1B）。直腸及び頭蓋の温度は、外科的手順の間、36～37℃で維持される。黒色モノフィラメントナイロン5.0減菌縫合糸を使用して切開を閉じ、その領域をベタジン溶液で洗浄した。マウスを個々のケージに入れ、体重、体温、及び運動の変化について毎日観察した。30日間の生存の終わりにマウスを灌流し、脳を取り出し、エクスビボMRIイメージングを行った。実験計画及

40

50

び処理を図 1 C に示す。

【0169】

GBM細胞株

U87GBM細胞をCryofreezeから取り出し、5mlのDMEM-F12 (10%) - Glutamax 培地を含有するT-25mmフラスコに入れ、37℃でインキュベートした。37℃でのインキュベーションの3時間後、36時間後に写真を撮影した(それぞれ図2A及び図2B)。ルシフェラーゼ受容体遺伝子を用いて、U87GBM細胞をタグ付けした。ルシフェラーゼ活性の検出については、約500,000個のU87GBM及びヒト網膜色素上皮(human retinal pigment epithelial、h-RPE)細胞を別々に6ウェルプレートにおいて37℃で36時間(80%コンフルエント)3回増殖させた。細胞を冷リン酸緩衝生理食塩水(phosphate-buffered saline、PBS)溶液で洗浄し、採取し、細胞抽出物を作製した。タンパク質含量をBio-Rad法によって測定し、調整した。ルシフェリンを基質として使用して、5~20µgのタンパク質等価物抽出物においてルシフェラーゼ活性を測定した。ルシフェラーゼ単位(LFU)をGloMax 20/20ルミノメーターで検出した。ルシフェラーゼアッセイは、U87GBM細胞からの細胞抽出物の濃度を増加させて使用するとルシフェラーゼ活性が徐々に増加するので、活性が濃度依存的であることを示した。一方、h-RPE細胞抽出物は、同様の実験条件下でルシフェラーゼ活性を全く示さなかった(図2C)。ルシフェラーゼアッセイの結果は、ルシフェラーゼ遺伝子がこの細胞株でタグ付けされているので、本発明者らの実験で使用したGBM細胞株が真にU87GBM細胞であることを示した。これに反して、h-RPE細胞株は無効であり、このことは、この細胞株がルシフェラーゼ受容体遺伝子を有していないことから予想される。

【0170】

処置

移植後13日目に開始して処置を施し、13日目(処置前)、次いで20日目及び30日目にインビボ生物発光イメージングを使用して頭蓋内腫瘍増殖を定量化した。マウスを無作為に実験群に割り当て、盲検様式で処置を行った。以下の処置を使用した(1群当たりn=5~7): 1) LAU-0901 30mg/kg、IP; 毎日×5日間; 2) エロバノイド34: 6、30µg/マウス、IP; 1回; 3) アバスチン0.2mg/マウス、IP、週1回×2用量; 4) 等容量の生理食塩水(0.2mL/マウス); 5) LAU-0901+ELV; 6) LAU-0901+アバスチン; 7) LAU-0901+スラマブ、ELV 34: 6+アバスチン; 8) スラマブ(スラミン10mg/kg+アバスチン3mg/kg); 9) ELV+スラマブ。併用処置のために、LAU-0901を最初に投与し、続いて5分後にアバスチン、スラマブ又はELVを投与した。ELV併用処置: 最初にELV、続いて5分後にアバスチン又はスラマブ。

【0171】

インビボ生物発光イメージング

インビボ生物発光イメージングを使用して、本発明者らのImaging Core Facilityによって提供されるインビボイメージングシステムを使用して、GBM移植後13日目、20日目及び30日目に頭蓋内腫瘍増殖を定量化し、追跡した。このモダリティは、Xenogen IVIS 200システムを使用し、これは、麻酔された生物内の細胞活性及び遺伝子活性を非侵襲的に画像化、記録、及び定量化するために二光子イメージングを利用する。各イメージングセッションについて、イメージングの5分前に、マウスにD-ルシフェリン(150mg/kg)を腹腔内注射した。マウスをXGI-8気化器のチャンバーに入れることによってイソフルランガスで麻酔を誘導し、イメージングチャンバー内のノーズコーンを経た吸入によって持続させた。画像を捕捉し、Living Image 4.1ソフトウェアを用いて、頭部にわたる同等の対象領域に基づいて定量化した。画像強度を、以前に(Marrero et al., 2014)によって記載された手順によって、光子/秒/cm²として表した。放射輝度(ROI)(p/)(p/秒/cm²/sr)を使用して、腫瘍増殖及びサイズを決定した。

【0172】

エキスピボMRIデータ収集及び分析

実験終了30日後に、8mM Gd-DTPA（ガドベン酸ジメグルミン；529mg/ml；Henry Schein）を添加したPBS、4%PFAをマウスに灌流させた。脳を取り出し、89mm（ID）受信コイルを備えた11.7T Bruker Advanceの8.9cmの水平ボア装置（Bruker Biospin, Billerica, MA）でマウス脳のエキスピボでのMRIを実施した。エキスピボMRIは、T1WIを使用して以下のパラメータ：TR/TE=1000ms/7ms、マトリックス=128²、25×0.5mmのスライス、FOV=1.8cm、NEX=6で取得した。MR画像取得時間は、234umの面内解像度で約9.5分であった。

10

【0173】

Cheshire画像処理ソフトウェア（Hayden Image/Processing Group, Waltham, MA）を使用して、Gd沈着によって強化された全脳及び腫瘍体積を手動で輪郭を描いた。T1WIデータをシグナル強度について最適化して、腫瘍の可視化を増強した。腫瘍を、線条体及び周囲組織内の高強度（T1WI）シグナル強度として同定した。全脳及び腫瘍体積（mm³）を抽出し、分析した（Jeffes et al., 2005、Blasiak et al., 2013）。

【0174】

統計分析

データを平均値±SEMとして示す。反復測定分散分析（ANOVA）、続いて多重比較を補正するためのボンフェローニ法を群間比較に使用した。両側スチューデントt検定を、2群比較のために用いた。P<0.05での差は、統計的に有意であるとみなした。

20

【0175】

結果

生理学の変数

体重又は体温の統計的に有意な差は群間で観察されなかった。処置群における全ての動物は、1匹のビヒクル動物を除いて生存した。

【0176】

エロバノイド、エロバノイド+LAU-0901及びエロバノイド+アバスチン処置の効果

30

インビボ生物発光イメージングスコア

20日目及び30日目に、ビヒクル群と比較して、エロバノイド、エロバノイド+LAU-0901及びエロバノイド+アバスチン群において、増殖及びサイズの有意な減少が見られた（図3及び図4）。

【0177】

エキスピボMRI腫瘍サイズ

腫瘍サイズは、ELVによって劇的に減少し、LAU-0901及びアバスチンと組み合わせて、生理食塩水処置マウスと比較してGBM腫瘍体積の減少をもたらした（図5A及び図5B）。

【0178】

LAU-0901、アバスチン及びLAU-0901+アバスチン処置の効果

インビボ生物発光イメージングスコア

20日目及び30日目に、ビヒクル群と比較して、LAU-0901、アバスチン及びLAU-0901+アバスチンの群において、増殖及びサイズにおける有意な減少が見られた（図6及び図7）。

40

【0179】

エキスピボMRI腫瘍サイズ

腫瘍サイズは、ELVによって劇的に減少し、LAU-0901及びアバスチンと組み合わせて、生理食塩水処置マウスと比較してGBM腫瘍体積の減少をもたらした（図8A及び図8B）。

50

【 0 1 8 0 】

スラマブ、エロバノイド＋スラマブ及び L A U－0 9 0 1＋スラマブ処理の効果
腫瘍サイズは、ビヒクルと比較して、30日目にスラマブ（94%）及び E L V＋スラ
マブ（98%）、L A U－0 9 0 1＋スラマブ（97%）によって劇的に減少した（図9
）。

【 0 1 8 1 】

結論

理論に束縛されることを望むものではないが、本発明者らの結果は、G B Mモデルに適
用した場合のこれらの化合物及び新規組成物の治療的使用を実証する。

【 0 1 8 2 】

本実施例で引用されている参考文献

Bazan, N. G. (2003). Synaptic lipid signaling: significance of polyunsaturated
fatty acids and platelet-activating factor. *J. Lipid Res.* 44, 2221–2233.
doi:10.1194/jlr.R300013-JLR200.

Bazan, N. G. (2018). Docosanoids and elovanoids from omega-3 fatty acids are
pro-homeostatic modulators of inflammatory responses, cell damage and neuroprotection.
Molecular Aspects of Medicine 64, 18–33. doi:10.1016/j.mam.2018.09.003.

Belayev, L., Eady, T. N., Khoutorova, L., Atkins, K. D., Obenaus, A., Cordoba,
M., et al. (2012). Superior Neuroprotective Efficacy of LAU-0901, a Novel Platelet-Activating
Factor Antagonist, in Experimental Stroke. *Transl Stroke Res* 3, 154–163. doi:10.1007/s12975-
011-0116-y.

Belayev, L., Khoutorova, L., Atkins, K., Gordon, W. C., Alvarez-Builla, J., and
Bazan, N. G. (2008). LAU-0901, a novel platelet-activating factor antagonist, is highly
neuroprotective in cerebral ischemia. *Exp. Neurol.* 214, 253–258.
doi:10.1016/j.expneurol.2008.08.009.

Belayev, L., Mukherjee, P. K., Balaszczuk, V., Calandria, J. M., Obenaus, A.,
Khoutorova, L., et al. (2017). Neuroprotectin D1 upregulates Iduna expression and provides
protection in cellular uncompensated oxidative stress and in experimental ischemic stroke. *Cell
Death Differ.* 24, 1091–1099. doi:10.1038/cdd.2017.55.

Bergers, G., and Hanahan, D. (2008). Modes of resistance to anti-angiogenic
therapy. *Nature Reviews Cancer* 8, 592–603. doi:10.1038/nrc2442.

10

20

30

40

50

Bhattacharjee, S., Jun, B., Belayev, L., Heap, J., Kautzmann, M.-A., Obenaus, A., et al. (2017). Elovonoids are a novel class of homeostatic lipid mediators that protect neural cell integrity upon injury. *Sci Adv* 3, e1700735. doi:10.1126/sciadv.1700735.

Blasiak, B., Barnes, S., Foniok, T., Rushforth, D., Matyas, J., Ponjevic, D., et al. (2013). Comparison of T2 and T2*-weighted MR molecular imaging of a mouse model of glioma. *BMC Med Imaging* 13, 20. doi:10.1186/1471-2342-13-20.

10

Bouteille, B., Oukem, O., Bisser, S., and Dumas, M. (2003). Treatment perspectives for human African trypanosomiasis. *Fundam Clin Pharmacol* 17, 171–181. doi:10.1046/j.1472-8206.2003.00167.x.

Calandria, J. M., Sharp, M. W., and Bazan, N. G. (2015). The Docosanoid Neuroprotectin D1 Induces TH-Positive Neuronal Survival in a Cellular Model of Parkinson's Disease. *Cell. Mol. Neurobiol.* 35, 1127–1136. doi:10.1007/s10571-015-0206-6.

20

Chen, C.-H., Chen, P.-Y., Lin, Y.-Y., Feng, L.-Y., Chen, S.-H., Chen, C.-Y., et al. (2019). Suppression of tumor growth via IGFBP3 depletion as a potential treatment in glioma. *Journal of Neurosurgery* 132, 168–179. doi:10.3171/2018.8.JNS181217.

Dumas, M., and Bisser, S. (1999). "Clinical aspects of human African trypanosomiasis," in *Progress in Human African Trypanosomiasis, Sleeping Sickness*, eds M. Dumas, B. Bouteille, and A. Buguet (Paris: Springer), 215–233. doi:10.1007/978-2-8178-0857-4_13.

30

Esquenazi, S., He, J., Bazan, H. E. P., and Bazan, N. G. (2004). Prevention of experimental diffuse lamellar keratitis using a novel platelet-activating factor receptor antagonist. *J Cataract Refract Surg* 30, 884–891. doi:10.1016/j.jcrs.2003.09.069.

Esquenazi, S., He, J., Li, N., Bazan, N. G., Esquenazi, I., and Bazan, H. E. P. (2009). A novel platelet activating factor receptor antagonist reduces cell infiltration and

40

expression of inflammatory mediators in mice exposed to desiccating conditions after PRK.

Clin. Dev. Immunol. 2009, 138513. doi:10.1155/2009/138513.

Florman, J. E., Evans, D. L., Lu-Emerson, C., Cushing, D., and Rughani, A. (2016). Survival With Glioblastoma Multiforme and the Timing of Chemoradiation. *Neurosurgery* 78, E313–E314. doi:10.1227/NEU.0000000000001077.

Han, S. J., Rutledge, W. C., Molinaro, A. M., Chang, S. M., Clarke, J. L., Prados, M. D., et al. (2015). The Effect of Timing of Concurrent Chemoradiation in Patients With Newly Diagnosed Glioblastoma. *Neurosurgery* 77, 248–253. doi:10.1227/NEU.0000000000000766.

Harvey, L. D., Yin, Y., Attarwala, I. Y., Begum, G., Deng, J., Yan, H. Q., et al. (2015). Administration of DHA Reduces Endoplasmic Reticulum Stress-Associated Inflammation and Alters Microglial or Macrophage Activation in Traumatic Brain Injury: *ASN Neuro*. doi:10.1177/1759091415618969.

He, J., and Bazan, H. E. P. (2006). Synergistic effect of platelet-activating factor and tumor necrosis factor-alpha on corneal myofibroblast apoptosis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 47, 883–891. doi:10.1167/iovs.05-0581.

Jeffes, E. W. B., Zhang, J. G., Hoa, N., Petkar, A., Delgado, C., Chong, S., et al. (2005). Antiangiogenic Drugs Synergize with a Membrane Macrophage Colony-Stimulating Factor-Based Tumor Vaccine to Therapeutically Treat Rats with an Established Malignant Intracranial Glioma. *The Journal of Immunology* 174, 2533–2543. doi:10.4049/jimmunol.174.5.2533.

Kappagoda, S., Singh, U., and Blackburn, B. G. (2011). Antiparasitic Therapy. *Mayo Clin Proc* 86, 561–583. doi:10.4065/mcp.2011.0203.

10

20

30

40

50

Marrero, L., Wyczechowska, D., Musto, A. E., Wilk, A., Vashistha, H., Zapata, A., et al. (2014a). Therapeutic efficacy of aldoxorubicin in an intracranial xenograft mouse model of human glioblastoma. *Neoplasia* 16, 874–882. doi:10.1016/j.neo.2014.08.015.

Marrero, L., Wyczechowska, D., Musto, A. E., Wilk, A., Vashistha, H., Zapata, A., et al. (2014b). Therapeutic efficacy of aldoxorubicin in an intracranial xenograft mouse model of human glioblastoma. *Neoplasia* 16, 874–882. doi:10.1016/j.neo.2014.08.015.

10

Mooney, J., Bernstock, J. D., Ilyas, A., Ibrahim, A., Yamashita, D., Markert, J. M., et al. (2019). Current Approaches and Challenges in the Molecular Therapeutic Targeting of Glioblastoma. *World Neurosurgery* 129, 90–100. doi:10.1016/j.wneu.2019.05.205.

Mukherji, S. K. (2010). Bevacizumab (Avastin). *American Journal of Neuroradiology* 31, 235–236. doi:10.3174/ajnr.A1987.

Ozdemir-Kaynak, E., Qutub, A. A., and Yesil-Celiktas, O. (2018). Advances in Glioblastoma Multiforme Treatment: New Models for Nanoparticle Therapy. *Front. Physiol.* 9. doi:10.3389/fphys.2018.00170.

20

Soda, Y., Myskiw, C., Rommel, A., and Verma, I. M. (2013). Mechanisms of neovascularization and resistance to anti-angiogenic therapies in glioblastoma multiforme. *J. Mol. Med.* 91, 439–448. doi:10.1007/s00109-013-1019-z.

von Neubeck, C., Seidlitz, A., Kitzler, H. H., Beuthien-Baumann, B., and Krause, M. (2015). Glioblastoma multiforme: emerging treatments and stratification markers beyond new drugs. *Br J Radiol* 88. doi:10.1259/bjr.20150354.

30

Emiliano S. Lopez, Manglio M. Rizzo, J Oscar Croxatto, Guillermo Mazzolini, Juan E. Gallo. Suramab, a Novel Antiangiogenic Agent, Reduces Tumor Growth and Corneal Neovascularization. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011 Mar;67(3):723-8.

Emiliano S. Lopez, Gustavo A. Ortiz, Constanza Potilinski, J Oscar Croxatto, Juan E. Gallo. Corneal Neovascularization: A Combined Approach of Bevacizumab and

40

Suramin Showed Increased Antiangiogenic Effect Through Downregulation of BFGF and P₂X₂. Curr Eye Res 2018 Apr;43(4):466-473

Daniela A. Quinteros, Emiliano S. Lopez, Juan L. Silva Couto, Belkys A. Maletto, Daniel A. Allemandi, Santiago D. Palma, Juan E. Gallo. Evaluation of the Performance of an Ophthalmic Thermosensitive Hydrogel Containing Combination of Suramin and Bevacizumab. Curr Pharm Des 2016;22(43):6587-6594.

10

【0183】

実施例 3

序章：多形性膠芽腫（GBM）は、最も侵襲性の原発性脳腫瘍であり、予後が悪く、平均生存期間が12～14ヶ月であり、現在の治療基準は、外科的切除、放射線、及び化学治療である。現在の治療の無効力は、新規GBM治療剤の開発を必要とする。

【0184】

方法：雌胸腺欠損マウスをケタミン／キシラジンで麻酔し、生理学的にモニターした。ヒトGBM細胞株を右線条体に立体的に移植した。移植後13日目に、マウスは、腹腔内注射を介して以下の処置のうちの1つを受けた：生理食塩水；スラマブ、ELV＋スラマブ。生物発光イメージングを移植後13日目（処置前）、20日目、及び30日目に実施し、代表的な画像を図12パネルA.に示した。30日目にマウスを灌流し、エクスビオMRIを行った。

20

【0185】

結果：スラマブ及びELV＋スラマブ処置群において、有害な生理学的効果は観察されなかった。増殖イメージングスコアは、ビヒクルと比較してスラマブ及びELV＋スラマブによって減少した。30日目に、ビヒクル動物は、それぞれ、 0.69×10^6 及び 0.20×10^6 のスコアを有するスラマブ及びELV＋スラマブ動物と比較して、 10.6×10^6 のスコアを有していた（図12パネルB）。

30

【0186】

結論：腫瘍サイズは、ビヒクルと比較して、30日目にスラマブ（94%）及びELV＋スラマブ（98%）によって劇的に減少した。結果は、GBMモデルに適用したときのこれらの新規化合物の治療的有用性を実証している。

【0187】

実施例 4

多形性膠芽腫侵襲性のマルチプロング制御：炎症促進性シグナル伝達の遮断、抗血管新生及び恒常性回復

要約

多形性膠芽腫（GBM）は、外科的切除、化学療法、及び放射線の進歩にも関わらず、全生存率が低い最も侵襲的なタイプのグリア腫瘍である。GBMの処置における主な課題の1つは、腫瘍の位置、複雑かつ不均一な生物学、及び高い侵襲性に関連する。酸素及び栄養素の需要を満たすために、成長する腫瘍は新しい血管の成長を誘導する。血管新生を促進する血管内皮増殖因子（VEGF）に対する抗体は、腫瘍増殖を制限するために開発されてきた。抗VEGFモノクローナル抗体であるベバシズマブ（アバスチン）は、治療の見込みがある最初に承認された血管新生阻害剤である。しかしながら、それは限られた有効性を有し、これはGBMにおける適応突然変異に起因する可能性があり、GBM患者における標準治療と比較して全生存期間（overall survival）をもたらず。血管新生、炎症、酸化ストレス経路、及び神経膠腫の発生の間の分子的関連が認識されている。GBMを有する患者の治療転帰の改善は、シグナル伝達経路の収束的な調節不全に起因して多

40

50

面的なアプローチを必要とし得る。いくつかのGBM臨床試験は、「抗血管新生」様式に焦点を当てているが、炎症消散を刺激することは、新規の宿主中心の治療手段である。腫瘍微小環境、具体的には血管新生及び炎症経路を標的とするための選択的治療の可能性が拡大する。したがって、いくつかの機構を妨害することを目的とする薬剤の組み合わせは、転帰を改善するのに有益であり得る。本発明者らのアプローチはまた、持続性の有効性を増強するために他の治療と組み合わせられ得る。ここで、本発明者らは、スラマブ（抗血管新生）、LAU-0901（血小板活性化因子受容体アンタゴニスト）、エロバノイド（ELV；GBM成長及び侵襲性を抑制するための新しい実施形態としてのそれらの組み合わせ）。

【0188】

10

序章

多形性膠芽腫（GBM）は、最も一般的で致死的な頭蓋内悪性腫瘍であり、数十年にわたって治療が少し進歩している。標準治療には、積極的切除、放射線、及び化学療法が含まれるが、全生存期間中央値は2年未満のままである[1]。GBMの処置における課題の1つは、その侵襲性の増殖特性である。腫瘍の完全な外科的切除は、浸潤性増殖、複数の病変、及び顕微鏡的拡散のために不可能である。したがって、新規で有効なGBM治療が強く求められている。GBMの分子不均一性は、適応突然変異及び薬物耐性を可能にする。したがって、微小環境中の細胞を標的とするためには、多標的アプローチが必要であり得る。この微小生息環境における形質転換されていない細胞は、これらの適応に対して感受性が低く、理想的な標的とすることができる。神経膠芽腫の微小環境は、複数の細胞型を保有しており、これらは、理論に束縛されることを望むものではないが、腫瘍進行及び浸潤に明確に寄与する[2]（図13）。これらの細胞としては、ミクログリア、星状細胞、マクロファージ、周皮細胞、線維芽細胞、及び血管細胞が挙げられるが、これらに限定されない。神経膠腫は高度に血管性の腫瘍であり、神経血管単位機能を形成する内皮細胞、周皮細胞、及び星状細胞が腫瘍進行を支持する。加えて、ミクログリア細胞は、神経膠腫遊走及び腫瘍増殖を促進する[2]。星状細胞は、神経膠腫微小環境によって反応性表現型に変換され、腫瘍増殖に影響を及ぼす多くの因子を分泌することができる[3]。要素、経路、及び相互作用は、脳腫瘍の細胞生物学に対する新しい展望を提供し、これは、新しい治療パラダイムを生成することができる（図13）。

20

【0189】

30

スラマブ（スラミン+アバスチンの組み合わせ）は、GBM処置のための抗血管新生の組み合わせである。

高悪性度神経膠腫を治療するための抗血管新生戦略は、これらの腫瘍が大量の血管内皮増殖因子（VEGF）を産生し、高度に血管性であるため、確実な生物学的根拠を有する。それらの高い代謝要求に起因して、成長中の固形腫瘍は、栄養及び酸素を提供する血管新生並びに塞栓性老廃物の処分に依存する。VEGFは新しい血管形成に必要とされる重要な成長因子であるため、血管形成を阻害することによって腫瘍成長を遮断するために抗VEGF剤が開発された[4]。しかしながら、ヒトVEGFを中和するために開発されたヒト化モノクローナル抗体であるベバシズマブ商品名アバスチンは、単独治療として生存利益を改善することができなかったが、化学治療又は免疫治療と組み合わせてのみ生存利益を与えた[4]。理論に束縛されることを望むものではないが、併用治療の成功は、アバスチンが腫瘍の異常な血管系を「正常化」させ、同時に投与された抗がん薬の送達の改善並びに低酸素症の緩和をもたらすことである。

40

【0190】

スラマブは、2つの抗血管新生化合物、スラミン、及びアバスチンの新規な薬学的組み合わせであり、一緒に投与された場合に高い相乗効果を示した[5]。スラミンは、ローデシアトリパノソマ（*Trypanosoma brucei rhodesiense*）によって引き起こされるアフリカ睡眠病を治療するために100年にわたって使用されている薬物である[6]。それは、寄生虫及びウイルス疾患からがん、ヘビ咬傷、及び自閉症までの用途を有する多機能分子である。これは、複数の増殖因子の結合及びグルタミン酸作動性シナプス伝達

50

を阻害することによって抗がん活性を実証している〔6〕。それは非常に長い半減期を有するが、反復投与は薬物蓄積をもたらし得る〔7〕。注目すべきことに、比較的低用量で投与されたスラミン及びアバスチンの薬学的組み合わせは、アバスチン又はスラミンの単一用量によって生じる効果よりも大きな強度及び長い持続時間で、相乗的であるような非常に大きな抗血管新生効果を有する〔5〕。スラマブは、マウスの結腸直腸がんにおいて腫瘍増殖を強く減少させ、角膜血管形成のウサギモデルにおいて新血管形成を減少させることが実証された〔5〕。これまで、GBMに対するスラマブの効力を評価する研究はない。

〔0191〕

LAU-0901は、選択的PAFレセプターアンタゴニストであり、炎症及び腫瘍増殖の強力な阻害剤である。

抗血管新生戦略とは対照的に、炎症収束の刺激は、現在の治療法を補完するための新しい宿主に焦点を当てた代替法である。炎症性分子によって組織化され得る腫瘍微小環境は、そのような腫瘍の増殖、生存、及び移動を促進し、抗炎症薬を使用することは論理的であると思われる。

〔0192〕

ほぼ50年前に記載されたように、リン脂質メディエーター血小板活性化因子（PAF）は、多くの病理学的プロセスに関与している。PAFは、アテローム性動脈硬化症、心血管疾患、及びがんなどの炎症性疾患に関与する炎症の強力なメディエーターである〔8〕。PAFは、様々な病的状態に関与するPAF受容体（PAF-R）の活性化を介して、強力な全身性炎症促進性、増殖促進性、及び遅延型免疫抑制応答を誘導する〔8〕。最近の研究により、がん増殖及び転移におけるPAFの関与が実証された〔8〕。循環細胞又はがん細胞は、PAF及び腫瘍微小環境におけるその存在を合成する。腫瘍血管形成及び転移の発生をもたらす誘導性経路は、そのレセプターへのPAF結合を含み得る。腫瘍性PAF-Rの発現増加は、肺及び食道扁平上皮細胞がんにおける侵襲性、腫瘍病期の増加、腫瘍状態、及び予後不良と関連付けられている〔8〕。特に、全生存期間の減少を経験した患者は、低い腫瘍PAF-R発現を有する患者と比較して、高レベルのPAF-Rを発現する腫瘍を有することが見出された〔9〕。〔8〕。全身腫瘍組織量の減少はマウス宿主の生存を改善し、薬理的PAF-Rアンタゴニストを用いて治療剤の効力の増強が観察されている〔9〕。複数の構造的に異なるが特異的なPAF-Rアンタゴニストが、実験的腫瘍に対して効果を発揮することが示されている〔9〕。しかしながら、これらの薬剤は、臨床設定においてまだ調査されていない。したがって、PAFは、GBMにおける合理的な治療標的となり得る。新しいPAF-Rアンタゴニストとして、LAU-0901は、炎症及び虚血性脳卒中モデルにおいて神経保護的であることが以前に示されている〔10〕。LAU-0901（2, 4, 6-トリメチル-1, 4-ジヒドロピリジン-3, 5-ジカルボン酸）は、選択的PAF-Rアンタゴニストであり、炎症反応及びアポトーシスの強力な阻害剤である〔10〕。それはまた、ラット及びマウスにおける局所性脳虚血のモデルに適用された場合、神経保護生物活性を示すことが示されている〔11〕。

〔0193〕

エロバノイドは、恒常性を調節する脂質メディエーターの新しいクラスである。

腫瘍増殖は血管新生依存性であり、炎症の亢進は多くのがんのリスク因子である。炎症は、内因性の特殊化された炎症収束性脂質-オクタコイドメディエーター（SPM）によって調節される。これには、レゾルビン、リポキシン、及びプロテクチンが含まれ、これらは、血管形成を阻害し、細胞破片のマクロファージ食作用を刺激することによって内因性の消散を媒介し、局在化した炎症性サイトカインの減少をもたらす〔12、13〕。大部分の抗炎症剤とは異なり、SPMは非免疫抑制性及び非毒性である。炎症収束性脂質メディエーター及び抗血管新生療法が、レゾルビン受容体活性化を介して相乗的な抗腫瘍活性を示すことが実証された〔14〕。注目すべきことに、レゾルビン（RvD4又はRvD5）は、アスピリン及びNSAIDなどの抗炎症剤より10,000倍低い用量で腫瘍

10

20

30

40

50

増殖を阻害した〔14〕。本発明者らは、興奮毒性から保護する新規クラスの内因性プロホメオスタティック脂質メディエーターであるELVを発見した〔15〕。それらは、要求に応じて作製することができ、非常に長鎖の多価不飽和脂肪酸から誘導することができ、実験的脳卒中及び神経変性疾患においてアポトーシス促進性及び炎症促進性シグナル伝達を不活性化する強力な能力を有することが示されている立体選択的メディエーターである〔15〕。

【0194】

抗血管新生及び抗炎症経路に加えて、遊離脂肪酸酸化は、GBMに密接に関連している。強化された脂肪酸酸化は、神経膠芽腫細胞の代謝可塑性を提供して、その動的栄養微小環境に適応させる〔16〕。したがって、動的代謝リプログラミングは、神経膠腫発生中に極めて重要な役割を果たし、これにより、この腫瘍に内在する多様な微小環境におけるこれらの細胞の適応、生存、及び増殖が可能になる。したがって、脂肪酸酸化の阻害は、腫瘍増殖を減少させるための間接的アプローチを提供し得る。

10

【0195】

有効なGBM療法の開発は課題を提示し、その1つは、これらの腫瘍の分子不均一性及び遺伝的不安定性である。この複雑さを克服するために、重要なシグナル伝達経路、具体的には、血管新生、炎症、及び酸化ストレス経路を標的とする多方面にわたるアプローチは、新しい治療手段を開くことができる。

【0196】

本実施例で引用されている参考文献

20

1. Tan, A. C., Ashley, D. M., López, G. Y., Malinzak, M., Friedman, H. S., & Khasraw, M. (2020). Management of glioblastoma: State of the art and future directions. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 70(4), 299–312. <https://doi.org/10.3322/caac.21613>

2. Charles, N. A., Holland, E. C., Gilbertson, R., Glass, R., & Kettenmann, H. (2011). The brain tumor microenvironment. Glia, 59(8), 1169–1180. <https://doi.org/10.1002/glia.21136>

30

3. Fishbein, A., Hammock, B. D., Serhan, C. N., & Panigrahy, D. (2021). Carcinogenesis: Failure of resolution of inflammation? Pharmacology & Therapeutics, 218, 107670. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107670>

4. Garcia, J., Hurwitz, H. I., Sandler, A. B., Miles, D., Coleman, R. L., Deurloo, R., & Chinot, O. L. (2020). Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook. Cancer Treatment Reviews, 86, 102017. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2020.102017>

40

5. Lopez, E. S., Rizzo, M. M., Croxatto, J. O., Mazzolini, G., & Gallo, J. E. (2011). Suramab, a novel anti-angiogenic agent, reduces tumor growth and corneal neovascularization. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 67(3), 723–728. <https://doi.org/10.1007/s00280-010-1457-z>
6. Wiedemar, N., Hauser, D. A., & Mäser, P. (2020). 100 Years of Suramin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(3), e01168-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.01168-19> 10
7. Grossman, S. A., Phuphanich, S., Lesser, G., Rozental, J., Grochow, L. B., Fisher, J., & Piantadosi, S. (2001). Toxicity, Efficacy, and Pharmacology of Suramin in Adults With Recurrent High-Grade Gliomas. *Journal of Clinical Oncology*, 19(13), 3260–3266. <https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.13.3260> 20
8. Tsoupras, A. B., Iatrou, C., Frangia, C., & Demopoulos, C. A. (2009). The implication of platelet activating factor in cancer growth and metastasis: potent beneficial role of PAF-inhibitors and antioxidants. *Infectious Disorders Drug Targets*, 9(4), 390–399. <https://doi.org/10.2174/187152609788922555>
9. de Oliveira, S. I., Andrade, L. N., Onuchic, A. C., Nonogaki, S., Fernandes, P. D., Pinheiro, M. C., Jancar, S. (2010). Platelet-activating factor receptor (PAF-R)-dependent pathways control tumour growth and tumour response to chemotherapy. *BMC Cancer*, 10(1), 200. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-200> 30
10. He, J., & Bazan, H. E. P. (2006). Synergistic effect of platelet-activating factor and tumor necrosis factor-alpha on corneal myofibroblast apoptosis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 47(3), 883–891. <https://doi.org/10.1167/iovs.05-0581>
11. Belayev, L., Khoutorova, L., Atkins, K., Gordon, W. C., Alvarez-Builla, J., & Bazan, N. G. (2008). LAU-0901, a novel platelet-activating factor antagonist, is highly 40

neuroprotective in cerebral ischemia. *Experimental Neurology*, 214(2), 253–258.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.08.009>

12. Bazan, N. G., Eady, T. N., Khoutorova, L., Atkins, K. D., Hong, S., Lu, Y., Belayev, L. (2012). Novel aspirin-triggered neuroprotectin D1 attenuates cerebral ischemic injury after experimental stroke. *Experimental Neurology*, 236(1), 122–130.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.04.007>

10

13. Panigrahy, D., Gilligan, M. M., Huang, S., Gartung, A., Cortés-Puch, I., Sime, P. J., Hammock, B. D. (2020). Inflammation resolution: a dual-pronged approach to averting cytokine storms in COVID-19? *Cancer and Metastasis Reviews*, 39(2), 337–340.
<https://doi.org/10.1007/s10555-020-09889-4>

14. Sulciner, M. L., Serhan, C. N., Gilligan, M. M., Mudge, D. K., Chang, J., Gartung, A., Panigrahy, D. (2017). Resolvins suppress tumor growth and enhance cancer therapy. *Journal of Experimental Medicine*, 215(1), 115–140.
<https://doi.org/10.1084/jem.20170681>

20

15. Bhattacharjee, S., Jun, B., Belayev, L., Heap, J., Kautzmann, M.-A., Obenaus, A., Bazan, N. G. (2017). Elovans are a novel class of homeostatic lipid mediators that protect neural cell integrity upon injury. *Science Advances*, 3(9).
<https://doi.org/10.1126/sciadv.1700735>

30

16. Kant, S., Kesarwani, P., Prabhu, A., Graham, S. F., Buelow, K. L., Nakano, I., & Chinnaiyan, P. (2020). Enhanced fatty acid oxidation provides glioblastoma cells metabolic plasticity to accommodate to its dynamic nutrient microenvironment. *Cell Death & Disease*, 11(4), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2449-5>

40

【 0 1 9 7 】

実施例 5

アバステン、P A F レセプターアンタゴニスト及び脂質メディエーターによる併用療法は、神経膠芽腫増殖を阻害した。

要約

多形性膠芽腫（G B M）は、予後不良及び低生存率を有する、侵襲性で高増殖性の浸潤性脳腫瘍である。G B Mのための現在の標準治療は、外科的介入後の放射線と組み合わせた化学療法であり、生存期間が平均 1 8 ヶ月であるため、全体的に有効性は限られている。G B Mを有する患者の治療転帰の改善には、多数のシグナル伝達経路の調節不全に起因

50

する多面的アプローチが必要である。腫瘍血管形成、炎症、及び酸化ストレスを正確に調節するための最近出現した療法は、GBMと闘うための潜在的な選択肢として注目を集めている。GBMのマウスモデルを使用して、本発明者らは、アバスチン（血管内皮増殖因子の抑制因子及び抗血管新生治療）、LAU-0901（炎症促進性シグナル伝達を遮断する血小板活性化因子受容体アンタゴニスト）、エロバノイド（ELV）、神経細胞の完全性を保護する新しいプロ恒常性脂質メディエーター、及びGBMの代替治療としてのそれらの組み合わせを検証する。雌無胸腺マウスをケタミン／キシラジンで麻酔し、ルシフェラーゼ修飾U87MG腫瘍細胞を右線条体に定位的に注射した。移植後13日目に、マウスに以下のうちの1つを与えた：LAU-0901、ELV、アバスチン、及び3つ全ての化合物の組み合わせ。生物発光イメージング（Bioluminescent imaging、BLI）を、移植後13日目、20日目及び30日目に行った。30日目にエクスピボMRIのためにマウスを灌流した。生物発光頭蓋内腫瘍増殖率は、生理食塩水処置と比較して、30日目までに、LAU-0901（43%）、アバスチン（77%）、又はELV（86%）を個別に用いた処置によって減少した。組み合わせにおいて、LAU-0901／アバスチン、ELV／LAU-0901、又はELV／アバスチンは、腫瘍増殖をそれぞれ72%、92%、及び96%減少させる相乗効果を有した。加えて、腫瘍縮小が30日目にMRIによって確認され、これは、生理食塩水処置と比較して、30日目までに、LAU-0901（37%）、アバスチン（67%）、又はELV（81.5%）を個別に用いた処置による腫瘍体積の減少を示す。組み合わせにおいて、LAU-0901／アバスチン、ELV／LAU-0901、又はELV／アバスチンは、腫瘍増殖をそれぞれ69%、78.7%、及び88.6%減少させる相乗効果を有した。本発明者らは、アバスチンと組み合わせたLAU-0901及びELVが、単剤療法よりもGBM進行において良好な阻害効果を発揮すると結論付けた。本研究は、GBMのモデルにおけるこれらの新しい治療レジメンの有効性を実証し、GBM患者における治療薬としてのそれらの使用を検証する。

10

20

30

40

50

【0198】

序章

多形性膠芽腫（GBM）は、中枢神経系（central nervous system、CNS）のグリア細胞由来の高悪性度腫瘍であり、悪性脳腫瘍の49%を占めている（Chen et al., 2019、Ostrom et al., 2020）。GBMに対する現在の標準治療は、最大限安全な外科的切除、放射線、及びアジュバント化学療法を含む。この従来のアプローチは、GBMの不均一性、高増殖性、及び浸潤性の性質に起因して、GBMを有する患者の生存及び予後にほとんど影響を与えないことを示している（Stupp et al., 2005、Soda et al., 2013、von Neubeck et al., 2015、Mooney et al., 2019）。腫瘍血管新生を阻害することを目的とする他の戦略は、より侵襲性の表現型に移行する適応腫瘍応答をもたらし得る（Bergers and Hanahan, 2008）。したがって、脳がん療法における到達しがたい目標は、長期の肯定的な転帰をもたらし得る腫瘍形成経路に対する標的化アプローチを開発することである（Woodworth et al., 2014）。最近、腫瘍血管形成（アバスチン）、炎症（LAU-0901）、及び酸化的ストレス（エロバノイド）を調節する新たなメディエーターが、GBMと闘うための治療薬として注目を集めている（図14）。

【0199】

アバスチンは、GBMを治療するために2008年に承認された血管内皮増殖因子（VEGF）に対するモノクローナル抗体である。それは、単剤として、又はGBM再発のための化学療法と組み合わせて、最大40%のX線撮影奏効率を示している（Mukherji, 2010）。しかしながら、アバスチンは、おそらくGBMにおける適応突然変異（Bergers and Hanahan, 2008）に起因して、有効性が限られており、GBM患者における標準治療＋放射線と比較して全生存期間の改善をもたらさない（Mukherji, 2010、Ozdemir-Kaynak et al., 201

8)。GBMに対する利用可能な治療薬の無効力及びその高い再発率を考慮すると、より高い成功率を有する療法を開発することが非常に必要である。

【0200】

血小板活性化因子(PAF)をアンタゴナイズすることは、GBMに対する合理的で多面的な療法であり得る。PAFは、がん及び他の炎症状態の発症に関与し得る強力な炎症促進性脂質メディエーターである。それは、循環細胞及びがん細胞において合成され、腫瘍微小環境に分泌される。PAFは、腫瘍の血管形成及び転移に関与することが示されている増殖因子、付着分子、及びサイトカインの産生を増強することが示されている(Tsoupras et al., 2009、Lordan et al., 2019)。したがって、PAF生合成の阻害は、腫瘍の転移性脈管形成を軽減するための間接的アプローチを提供し得る。LAU-0901(2, 4, 6-トリメチル-1, 4-ジヒドロピリジン-3, 5-ジカルボン酸)は、高度に選択的なPAF受容体(PAFR)アンタゴニストであり、アポトーシス及び炎症応答の強力な阻害剤である(Bazan et al., 1994; Bazan, 2003、He and Bazan, 2006、Musto et al., 2016、Belayev et al., 2020)。これは、様々なモデルにおいて抗炎症薬として使用される場合、高度に保護的である(Esque naz i et al., 2004, 2009、He and Bazan, 2006)。それはまた、ラット及びマウスにおける虚血-再灌流傷害のモデルに適用された場合、神経保護生物活性を示すことが示されている(Belayev et al., 2008, 2009, 2012, 2020)。

【0201】

抗炎症薬に加えて、酸化ストレスのメディエーターは、GBMに密接に関連している(Conti et al., 2010)。炎症、酸化ストレス経路、及び神経膠腫の発生の間の分子的关系が確立されている(Alghamri et al., 2021)。炎症性分子によって組織化され得る腫瘍微小環境は、そのような腫瘍の増殖、生存、及び移動を促進する。本発明者らは、エロバノイド(ELV; ELV-N32及びELV-N34)と呼ばれる新しいクラスの脂質メディエーターを特徴付け、これらは、それぞれ32:6n3及び34:6n3のジヒドロキシル化誘導体である(Bhattacharjee et al., 2017)。ELVは、要求に応じて作製することができ、超長鎖多価不飽和脂肪酸(VLC-PUFA)から誘導することができる立体選択的メディエーターである(Calandria et al., 2015)。それらは、興奮毒性及び細胞損傷から保護し、炎症反応を調節する新規クラスの内因性プロホメオスタティック脂質メディエーターである(Bhattacharjee et al., 2017、Bazan, 2018)。本発明者らは、ELV-N34:6が、実験的局所脳虚血後に投与された場合に、梗塞体積の減少、細胞生存の促進、及び神経血管単位破壊の減少をもたらすことを実証した(Bhattacharjee et al., 2017)。理論に束縛されることを望むものではないが、ELVは、GBMによって引き起こされる代謝崩壊下の神経環境に対して保護効果を有し得る。

【0202】

本発明者らは、GBMを軽減するために、LAU-0901、ELV-N34:6、及びアバスチンの個々の効果、並びに3つ全ての化合物の組み合わせの効果を検証する。本発明者らの処置を、GBMを処置するために承認された薬物であるアバスチンの個々の投与に対して比較した。本明細書で、本発明者らは、GBMの同所性モデルにおけるこれらの新しい療法の有効性を比較する。理論に束縛されるものではないが、これらの薬剤の組み合わせ適用は、GBMの同所性モデルにおいて生存を改善し、腫瘍増殖を制限することができる。GBM進行及び侵襲性の動態に関与する複数の腫瘍形成カスケードの複雑な相互作用に起因して、本研究において調査された処置との組み合わせアプローチは、GBM患者の治療及び予後の改善に光を当て得る。

【0203】

材料及び方法

動物及び倫理に関する声明

研究は、National Institutes of Healthのガイドラインに従って、並びに実験動物のケア及び使用において全国的に認められた原則の下で実施した。ニューオリンズのLouisiana State University Health Sciences CenterのInstitutional Animal Care and Use Committee (IACUC) は、この研究で使用する動物試験プロトコルを承認した。6～8週齢の胸腺欠損雌マウス (Charles Rivers Laboratories) を全ての実験で使用した。水及び食物は、自由に摂取可能であった。痛み及び苦痛を最小限に抑え、これらの実験で使用するマウスの数を減らすために、全ての努力を行った。

10

【0204】

ルシフェラーゼレポーターを有するU87MG細胞株

ルシフェラーゼ発現遺伝子を含むヒト細胞株U87MG-Red-Flug (U87MG) をPerkinElmer (Waltham, MA) から購入した。到着直後に、細胞を使用の準備ができるまで蒸気相で液体窒素中に保存した。細胞を解凍し、10%のFBS (Hyclone、GE Health Care/Fisher Scientificカタログ番号SH300071, Waltham, MA) 及びピューロマイシン ($2\mu\text{g}/\text{ml}$) を含む、イーグルMEM (ATCCカタログ番号30-2003, Manassas, VA) を含むT-25mmのフラスコに入れた。細胞を 37°C で72時間まで増殖させた後、同じ培地中で継代培養した。細胞増殖をモニタリングし、3、36、及び72時間目に顕微鏡写真撮影した (図15パネルA～C)。500,000個のU87MG及びヒト網膜色素上皮 (hRPE) 細胞を、3つの別々の実験において、6ウェルプレート中で72時間、 37°C で、80%の集密度まで別々に増殖させた。細胞抽出物を作製し、タンパク質含量をBio-Rad法によって $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ で調整した。ルシフェラーゼ活性を、基質としてルシフェリンを使用して、5～20 μg のタンパク質抽出物においてGloMax 20/20ルミノメーターを使用してルシフェラーゼ単位 (LFU) で測定した (図15パネルD)。U87MG株におけるルシフェラーゼ遺伝子発現の特異性を示すために、hRPE細胞を対照としてこれらの実験に使用した。

20

【0205】

GBMの同所性モデル

マウスをケタミン/キシラジンカクテル溶液 ($100\text{mg}/\text{kg}$; $10\text{mg}/\text{kg}$) を加え、定位ヘッドフレームに固定した。頭皮を正中線で1cm切開した。天然涙液潤滑剤を眼に塗布した。各マウスについて、5 μL の無血清ダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) 中の 5×10^6 個のU87MG細胞を、10 μL のハミルトンシリンジを使用して、ブレグマに対して次の座標: 1.5mm側方、1.5mm後方、及び3.5mm深さで右海馬に注射した。注射前に、針を3.5mmまで下げ、1mmだけ後退させた (図16パネルA) (Marrero et al., 2014)。直腸の温度を制御する機器 (CMA/150温度調節装置、CMA/Microdialysis AB, Stockholm, Sweden) 及び頭蓋を制御するための機器 (側頭筋; Omega Engineering, Stamford, CT) を、手順の前、間、及び後に $36\sim 37^{\circ}\text{C}$ に厳密に維持した。黒色モノフィラメントナイロン5.0滅菌縫合糸を使用して切開を閉じ、その領域をベタジンで洗浄した。マウスを個々にケージに入れ、体重、体温、及び運動の変化について毎日観察した。動物を30日間の生存の終わりに灌流し、脳をエクスピボMRIのために取り出した。非限定的な例示的実験計画を図16パネルBに示す。

30

40

【0206】

処置

特定の用量のLAU-0901 ($30\text{mg}/\text{kg}$) 及びELV 34:6 ($5\mu\text{g}$) は、脳卒中モデルにおいて最良の神経保護を提供することが示されており (Belayev et al., 2008、Bhattacharjee et al., 2017)、したがって、膠芽腫の同じマウスモデル (Pechman et al., 2011) にお

50

けるアバスチン（ 10 mg/kg 、 0.2 mg/マウス ）をこの研究のために選択した。マウスを無作為かつ盲検的に8つの処置群に割り当てた。以下の処置を使用した（1群当たり $n=5\sim7$ ）：1）LAU-0901 30 mg/kg 、IP；毎日 $\times 5$ 日間；2）ELV34：6、 $30\text{ }\mu\text{g/マウス}$ 、IP；1回；3）アバスチン 0.2 mg/マウス 、IP、週1回 $\times 2$ 用量（Pechman et al., 2011）；4）等容量の生理食塩水（ 0.2 mL/マウス ）；5）LAU-0901+ELV；6）LAU-0901+アバスチン；及び7）ELV 34：6+アバスチン。併用処置のために、LAU-0901を最初に投与し、続いて5分後にアバスチン、又はELVを投与した。ELV併用治療では、ELVを最初に投与し、続いて5分後にアバスチンを投与した。移植後13日目に処置を施し、生物発光イメージング（BLI）のタイムコースを開始した。

10

【0207】

生物発光イメージング（BLI）

インビボ頭蓋内腫瘍増殖を、LSU Health School of MedicineのMorphology and Imaging Coreによって促進されたXenogen IVIS200バイオフィットニックイメージャ（Caliper）を使用してBLIによって定量化した。マウスを無作為に個々の処置群に割り当てた。各イメージングセッションについて、イメージングの5分前に、マウスにD-フルシフェリン（ 150 mg/kg ）を腹腔内注射した。麻酔は、気化器及び誘導チャンバーを備えたXGI-8システムにおいてイソフルラン-酸素混合物（3%）によって投与した。誘導後、マウスを、5つのマウスの群を同時に維持及び撮像するために、5位置マニホールド及び十分なノーズコーンを備えたIVIS200撮像チャンバーに移動させた。移植後13日目、20日目及び30日目に腫瘍増殖を測定した。画像を捕捉し、Living Image 4.1ソフトウェアを用いて、頭部にわたる同等の対象領域（ROI）に基づいて定量化した。放出された放射値は、以前に記載されているように（Marrero et al., 2014）、光子/秒で報告される。

20

【0208】

磁気共鳴イメージング及びデータ解析

高分解能エクスピボMRIを、30日目に、 8 mM Gd-DTPA （ガドベン酸ジメグルミン； 529 mg/mL ；Henry Schein）を含むPBS及び4%パラホルムアルデヒド（PFA）で灌流した脳で行った。T1強調画像（T1-weighted image、T1WI）は、 89 mm (ID) 受信コイル（Bruker Biospin, Billerica, MA）を備えた $11.7\text{ T Bruker Advance 8.9 cm}$ 水平ボア装置で得た。以下のパラメータを使用した：TR/TE= $1000/7\text{ ms}$ 、マトリックス= $1282, 25\times 0.5\text{ mm}$ スライス、FOV= 1.8 cm 、NEX=6。MRI取得時間は、 $234\text{ }\mu\text{m}$ の面内解像度で約9.5分であった。Cheshire画像処理ソフトウェア（Hayden Image/Processing Group, Waltham, MA）を使用してGd沈着によって強化された全脳及び腫瘍体積を手動で輪郭を描いた。T1WIデータをシグナル強度について最適化して、腫瘍可視化を増強した。腫瘍を、線条体及び周囲組織内の高強度（T1WI）として同定した。全脳及び腫瘍体積（ mm^3 ）を抽出し、分析した（Jeffes et al., 2005、Blasiak et al., 2013）。

30

40

【0209】

統計分析

データを平均値 $\pm$ SEMとして示す。反復測定による分散分析（ANOVA）、続いて多重比較を補正するためのボンフェローニ法を用いて、群を比較した。両側スチューデントt検定を、2群比較のために用いた。 $P<0.05$ を統計的に有意であるとみなした。

【0210】

結果

動物生理学

2匹のビヒクル処置動物を除いて、処置群の全ての動物が生存した。LAU-0901

50

を個別に投与した群を除く全ての群において、体重の増加が観察された。LAU-0901 + アバスチン、アバスチン、ELV + LAU-0901、又はELV + アバスチンで処置したマウスでは、30日間の生存期間中、ビヒクルと比較して、直腸温度に有意な変化は測定されなかった。ELV + アバスチンによる処置は、全ての処置群と比較して、30日目に約17%、最も有意に体重を増加させた。対照的に、ビヒクルを投与された動物は、30日間の生存期間中に体重の有意な増加を経験しなかった。

【0211】

U87MG-Luc及びBLIアッセイの評価

3、36、及び72時間で測定された細胞増殖を示す細胞培養物の代表的な画像（図15パネルA～C）は、ルシフェラーゼレポーターを発現するU87MG細胞の安定した増殖及び形態学的パターンを明らかにした。ルシフェラーゼ活性のレベルは、hRPEと比較してU87MG細胞タンパク質抽出物において増加した（図15パネルD）。hRPE細胞株はルシフェラーゼ遺伝子を含まないため、本発明者らのアッセイにおいて標準対照として使用した。13、20、及び30日目に、インビボバイオフィットニックイメージングを用いて腫瘍増殖を測定した。腫瘍担持マウスの代表的な画像を図17に示す。放射された放射輝度は、生細胞の数を示し、腫瘍量を示した（図17）。最初の13日間、全ての頭蓋内腫瘍はサイズが増大し、ビヒクルと比較して $p = 0.04$ 及び $p = 0.049$ のp値で、ELV及びELV + アバスチン処置群においてのみ有意差が見られた。生理食塩水群では進行性で急速な腫瘍増殖があった。20日目に、全てのマウスが頭蓋内腫瘍を有し、これはサイズが変動したが、全ての処置マウスは、生理食塩水処置マウスよりも小さい腫瘍を示すようであった。30日目に、生理食塩水群からの2匹のマウスが死亡し、残りの6匹は広範な腫瘍を有した。

10

20

【0212】

経時的なBLI腫瘍増殖の定量化を図18のパネルA及びパネルBに示す。腫瘍サイズは、20日目に全ての処置によって縮小したが、ビヒクル群からの統計的有意性に達しなかった。対照的に、腫瘍サイズは、30日目に以下のパーセンテージで有意に縮小した：LAU-0901では43%、アバスチンでは77%、LAU-0901 + アバスチンでは72%、ELVは86%、ELV + LAU-0901では92%、及びELV + アバスチンでは96%（図18パネルA及びパネルB）。腫瘍増殖は、ELV + アバスチン処置群において最も低く、ビヒクルと比較して最も有意な減少を示した（図18パネルB）。

30

【0213】

脳腫瘍のT1WI評価

T1WIは、ビヒクル処置動物においてより広範な腫瘍増殖を明らかにしたが、実験的処置を受けた全ての動物において増殖を減少させた（図19パネルA）。腫瘍体積は、ビヒクルと比較して、LAU-0901で処置した動物において37%、アバスチンで処置した場合には67%、及びLAU-0901 + アバスチンで処置した場合には69%減少した（図19パネルB）。腫瘍体積の更なる減少が、ELVを投与された群において観察された。本発明者らは、ELVで処置した場合には81.5%の減少を、ELV + LAU-0901で処置した場合には78.7%の減少を測定した。30日目の最小腫瘍体積は、ELV + アバスチンで処置した群において観察され、ビヒクルと比較して88.6%の最も有意な（ $p < 0.001$ ）減少を示した（図19パネルC）。

40

【0214】

考察

本発明者らは、ここで、LAU-0901（PAF受容体アンタゴニスト）、ELV（脂質メディエーター）、アバスチン（VEGFに対するモノクローナル抗体）、及びそれらの組み合わせが、実験的GBMモデルにおいて生存を改善し、腫瘍体積及び成長を減少させることを示した。頭蓋内腫瘍の減少を、20日目及び30日目にBLIによって、並びに30日目にMRIによって確認した。

【0215】

GBMは、CNSの最も侵襲性で致死性の悪性疾患であり、予後が悪く、生存期間中央

50

値は8ヶ月である (Ostrom et al., 2020)。いくつかの処置が、一貫した生存利益を伴わない再発性又は進行性GBMを有する患者において評価されている (Mooney et al., 2019)。より低いグレードのグリア腫瘍と区別するGBMの1つの病理学的特徴は、微小血管増殖の程度である。GBM腫瘍コアの低酸素環境は、VEGFの下流転写を誘発する低酸素誘導因子 (HIF1- α) の上方制御を介して既存の血管からの毛細血管の出芽に影響を及ぼす。VEGFは、VEGF受容体チロシンキナーゼに結合することによって内皮細胞を活性化して、内皮細胞増殖及び血管の透過性を刺激し、GBMの代謝要求を支持する。そのために、アバスチンは、依然としてVEGF-Aの特徴的な抑制因子及び抗血管新生治療である (Garcia et al., 2020)。しかしながら、アバスチンの有効性は、GBMにおける適応突然変異によって制限される (Bergers and Hanahan, 2008)。結果として、免疫チェックポイント阻害剤との組み合わせなど、アバスチンを含む多数の標的化アプローチが研究されており、肺、腎細胞、肝細胞がん、及び卵巣がんを有するPARP阻害剤患者を処置するための有望な結果が得られている (Huang et al., 2017、Garcia et al., 2020)。マウスGBMモデルにおける腫瘍増殖の抑制と同様に、アバスチンと他の化学療法薬との組み合わせは、非GBM腫瘍増殖に対して有効であることが証明されている (Freitas and Campos, 2019)。しかしながら、GBM患者において改善された転帰を示す療法の適用は、依然として課題である。持続的な応答の欠如は、GBMなどの悪性腫瘍を処置するための細胞生存、血管新生、及び浸潤を増強する経路の活性化による化学療法抵抗性の獲得に起因し得る (Woo

10

20

【0216】

この制限は、従来の療法を克服するために、GBMによって使用される特異的シグナル伝達経路を標的化するための多面的なアプローチに関する更なる調査を保証することができる。したがって、GBMにおける耐性機構を予防又は克服することができる新しい治療が必要とされている。これまでのところ、治療薬単独による有意な有効性は実証されていない (Yamada et al., 2020)。本発明者らの研究は、GBMのための潜在的な処置としてのルシフェラーゼ改変U87MG腫瘍細胞の頭蓋内移植を有するマウスの生存の確率を有意に増加させるであろうLAU-0901、ELV-N34:6、アバスチン及びそれらの組み合わせの効果を調査する。この研究は、LAU-0901、ELV-N34:6、又はアバスチンの個別若しくは同時適用が、GBMマウスモデルにおいて生存を改善し得ることを示す。

30

【0217】

PAFRの過剰活性化は、腫瘍細胞増殖及び他の腫瘍形成促進効果を加速することが示されている (da Silva-Junior et al., 2018)。最近の研究は、PAFレセプター依存性機構が、腫瘍マクロファージの表現型を含む腫瘍微小環境の改変に関与し得ることを示す (da Silva-Jr et al., 2017)。病理学的状態下で生じる過剰なPAFは、神経毒性になり得、このプロセスの阻害は、ニューロン生存を増強する (Bazan, 2005; Tian and Bazan, 2005)。したがって、PAFは、GBMにおける治療標的であり得る。PAFRアンタゴニストとして、LAU-0901は、炎症、てんかん、及び虚血性脳卒中モデルにおいて神経保護的であることが示されている (Bazan et al., 1994、Bazan, 2005、Belayev et al., 2008, 2009, 2012、Musto et al., 2016)。PAFは、強力なリン脂質メッセンジャーであり、過剰産生されると、細胞浸潤及びシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) の発現を刺激する炎症性メディエーターとして作用する (Tian and Bazan, 2005、Esquenazi et al., 2009)。COX-2は、組織損傷及び疾患状態に応答して急速に誘導されて、リポ多糖類、興奮毒性、サイトカイン、及び増殖因子などの重度の炎症過程に関連する事象を媒介する (Qiu et al., 2017)。これは、組織中の腫瘍細胞においてアップレギュレートされ、プロスタグランジンE2及び選択的

40

50

C O X - 2 阻害剤のレベルの上昇を伴い、これは、U 8 7 M G 細胞株の増殖及び遊走の減少に有効であることが実証されている (Q i u e t a l . , 2 0 1 7) 。本発明者らは、L A U - 0 9 0 1 が、過負荷時に C O X - 2 経路を活性化する P A F を阻害することを実証した (H e a n d B a z a n , 2 0 0 6 、B e l a y e v e t a l . , 2 0 0 8 , 2 0 1 2) 。病態生理学的状態中の C O X - 2 の重要性は、炎症性疾患に対する魅力的な介入としてそれを提示する。また、P A F の蓄積は、細胞内 $C a^{2+}$ 過負荷、脳血流 (cerebral blood flow、C B F) の減少、血液脳関門の破壊、及び白血球の刺激を介して C N S 損傷を生じる (B e l a y e v e t a l . , 2 0 0 9 , 2 0 1 2) 。本発明者らは、L A U - 0 9 0 1 が、限局性脳虚血の 2 時間後に投与された場合、局所 C B F を増加させることを確立した (B e l a y e v ら、2 0 0 8) 。本発明者らは、L A U - 0 9 0 1 の G B M モデルへの適用が腫瘍増殖を損ない、標的としての P A F 及び C O X - 2 を示すことを検証する証拠を提示する。本発明者らの研究は、B L I 及び M R I を使用して、G B M モデルにおいて L A U - 0 9 0 1 単独又はアバスチン及び E L V と組み合わせ付与された効果をインビボで評価した。B L I は、頭蓋内腫瘍増殖が、2 0 日目及び 3 0 日目に L A U - 0 9 0 1 単独で処置することによって有意に減少したことを実証した。組み合わせにおいて、L A U - 0 9 0 1 / A v a s t i n 及び L A U - 0 9 0 1 / E L V は、腫瘍増殖を 7 1 ~ 9 2 % 減少させる相乗効果を有した。更に、腫瘍の減少が 3 0 日目に M R I によって確認された。

10

【0218】

E L V は、細胞傷害に応答して、又は細胞が生存のための対立遺伝子に直面したときに放出されるオメガ-3、超長鎖多価不飽和脂肪酸 (V L C - P U F A、n - 3) から作られる最初の生物活性化学メッセンジャーである (B h a t t a c h a r j e e e t a l . , 2 0 1 7 ; B a z a n , 2 0 1 8) 。オメガ-3 ファミリーの中で、ドコサヘキサエン酸 (D H A ; 2 2 : 6 n 3) は、最も豊富な P U F A であり、ドコサノイドとして知られる酵素的に誘導されたジヒドロキシル化誘導体の前駆体として働く。これらの誘導体には、恒常性の破壊が切迫している場合に「要求に応じて」で作製することができる強力な神経保護メディエーターが含まれる (B a z a n e t a l . , 2 0 1 1 、S e r h a n e t a l . , 2 0 1 5) 。D H A は、その有害な副作用を制限しながら、腫瘍のサイズを減少させ、化学療法薬シスプラチンの肯定的な効果を増強することが示されている (W a n g e t a l . , 2 0 1 1) 。研究により、細胞培養における G B M 細胞に対する D H A の効果が調査されている。D H A は抗腫瘍効果を発揮することが示されており、治療は、膜リン脂質のエステル化を介して G B M の悪性腫瘍を調節し、透過性及び可動性を変化させることに関与し得る (R u a n e t a l . , 2 0 1 9) 。E L V の前駆体は、D H A の伸長によって作製され、E L O V L 4 (超長鎖脂肪酸-4 の伸長) によって触媒される。E L V は、酸素-グルコース欠乏、N - メチル- D - アスパラギン酸 (N M D A) 誘導性興奮毒性、又は M C A o 誘導性虚血性脳卒中に対抗する (B h a t t a c h a r j e e e t a l . , 2 0 1 7 ; B a z a n , 2 0 1 8) 。それらは、恒常性攪乱物質の存在下で、細胞が神経炎症応答に対抗してその完全性を保護し、細胞死を防止する必要がある場合に、迅速に合成される (B a z a n , 2 0 1 8) 。

20

30

【0219】

炎症誘導性突然変異誘発は、それが引き起こす遺伝的不安定性に起因するがんの顕著な特徴であり得る。したがって、腫瘍微小環境における炎症シグナル伝達の調節は、適応突然変異を獲得する腫瘍の能力及び療法に対する耐性を軽減するのに役立ち得る。炎症を起こした微小環境における突然変異率は、正常組織と比較して増加することが示されている (C o l o t t a e t a l . , 2 0 0 9 、G r i v e n n i k o v e t a l . , 2 0 1 0) 。L A U - 0 9 0 1 及び E L V の両方による炎症シグナル伝達の調節を通して、それらは、適応突然変異誘発の減少、腫瘍細胞が治療薬に対する耐性を獲得することの防止に寄与することができ、したがって、神経膠芽腫における L A U - 0 9 0 1 及び E L V 生物活性の可能な機構を提供する。本発明者らは、マウス G B M モデルにおける E L V による処置が、単独及び L A U - 0 9 0 1 又はアバスチンとの組み合わせの両方で、3 0

40

50

日目までに腫瘍増殖及び腫瘍サイズを71～92%有意に縮小させることを発見した。腫瘍増殖は、ELV+アバスチン処置群において最も低く、ビヒクル処置ラットと比較して最も有意な減少を示した。LAU-0901+アバスチンの組み合わせよりも大きな阻害効果を有するELVは、複数のシグナル伝達経路を標的とするその強力なプロホメオスタティック生物活性に起因し得る。これは、微小環境における過剰な炎症性シグナル伝達に起因するがん細胞の増殖、生存、及び細胞の増殖、生存、及び遊走を減少し、腫瘍成長を阻害することに寄与し得る。この研究は、実験的GBMモデルにおけるLAU-0901、ELV、及びそれらの組み合わせの有効性を実証する。本発明者らは、本発明者らの新しい治療アプローチによる処置が、ヒト由来GBM細胞の異種移植片移植後の腫瘍体積及び増殖を減少させることを見出した。LAU-0901及びELVによるアバスチンの増強は、GBMを有する患者における臨床転帰を改善することができる戦略を提供する。

10

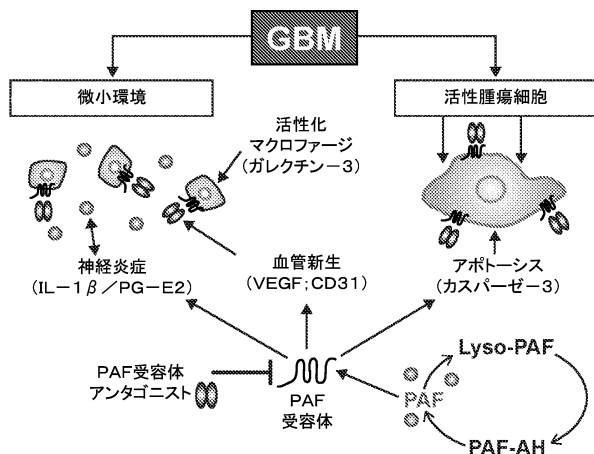
【0220】

同等物

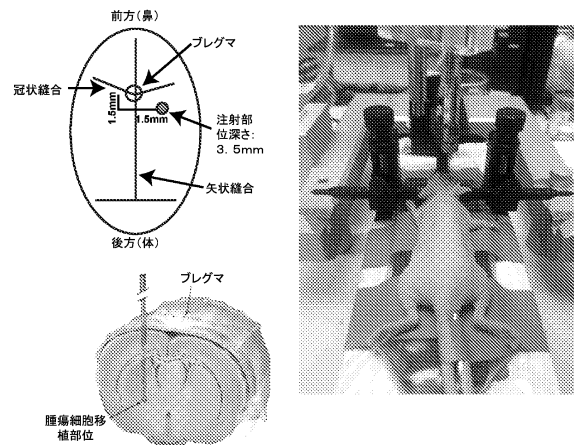
当業者であれば、ルーチンの実験以上のものを使用せずに、本明細書に具体的に記載された特定の物質及び手順に対する多数の同等物を認識するであろう、又は確認できるであろう。そのような同等物は、本発明の範囲内であると考えられ、以下の請求項によってカバーされる。

【図面】

【図1A】



【図1B】



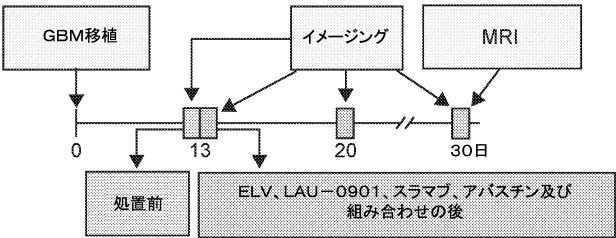
20

30

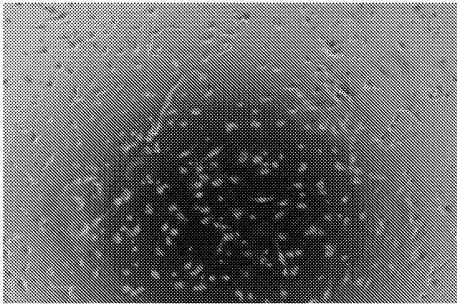
40

50

【図 1 C】

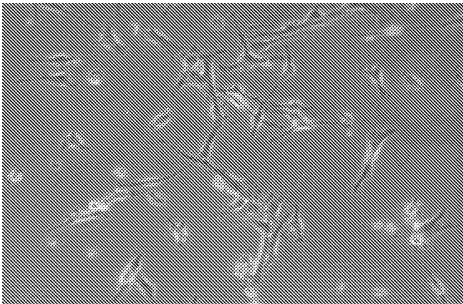


【図 2 A】

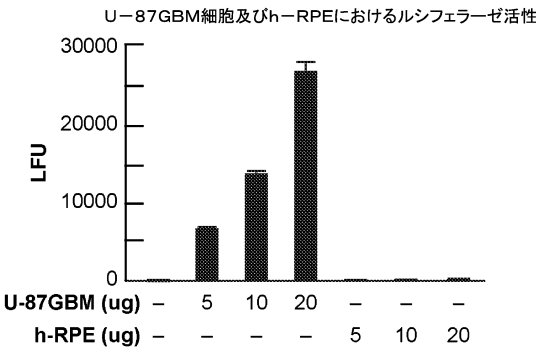


10

【図 2 B】



【図 2 C】



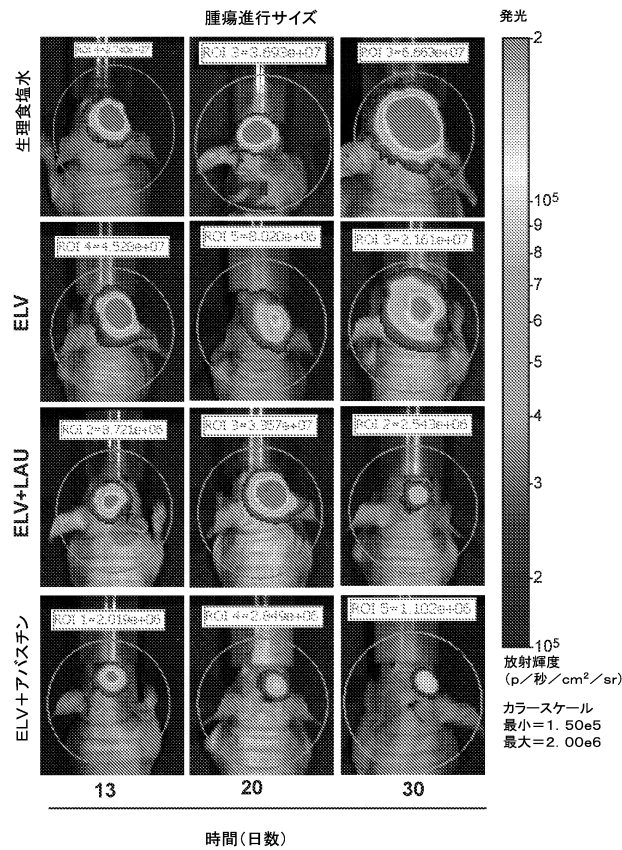
20

30

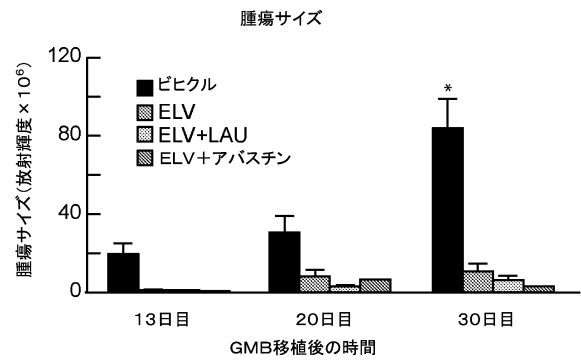
40

50

【図 3】



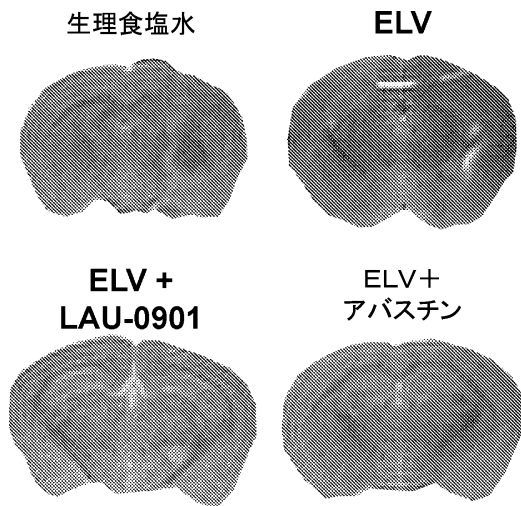
【図 4】



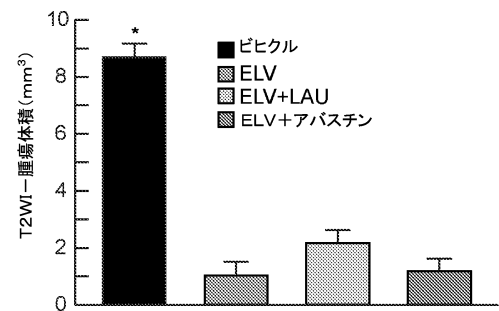
10

20

【図 5 A】



【図 5 B】

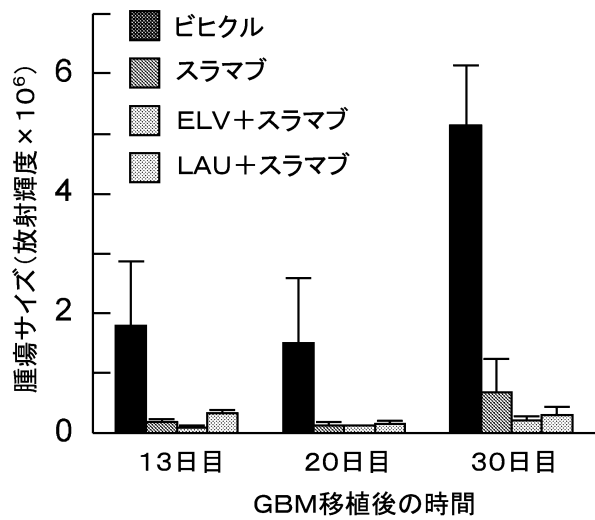


30

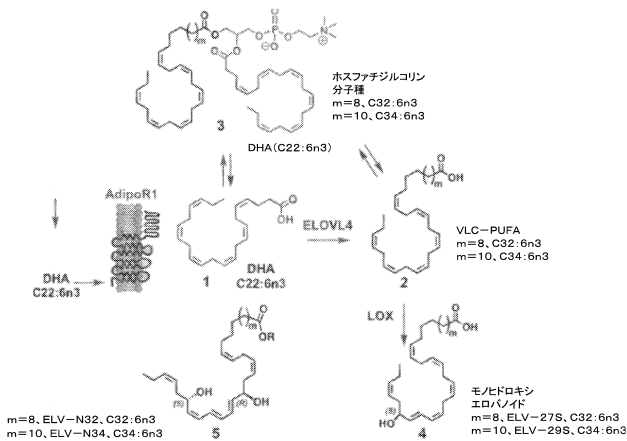
40

50

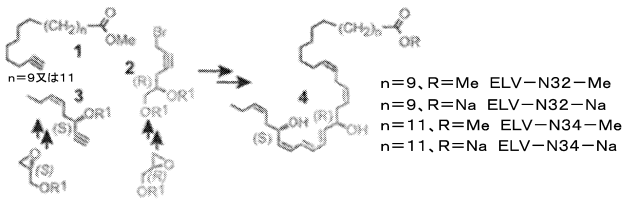
【図 9】



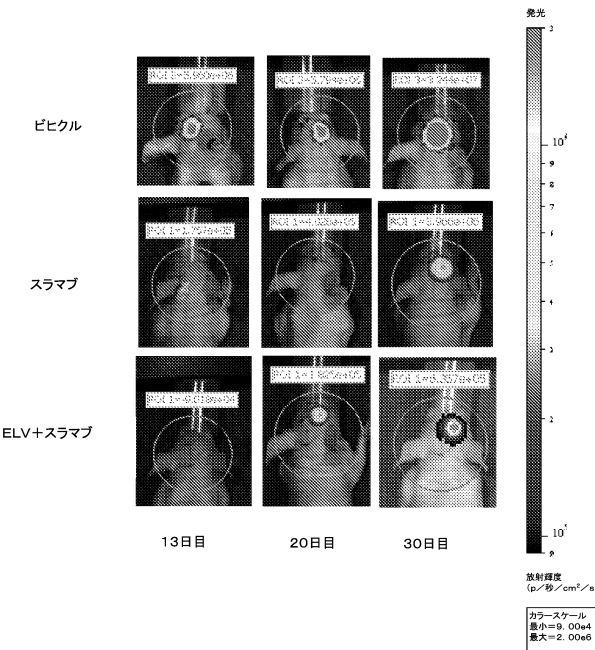
【図 10】



【図 11】



【図 12 A】



10

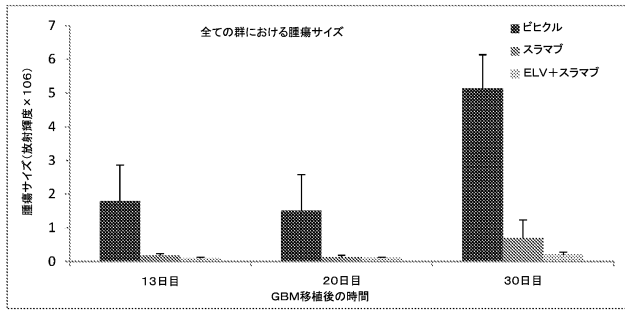
20

30

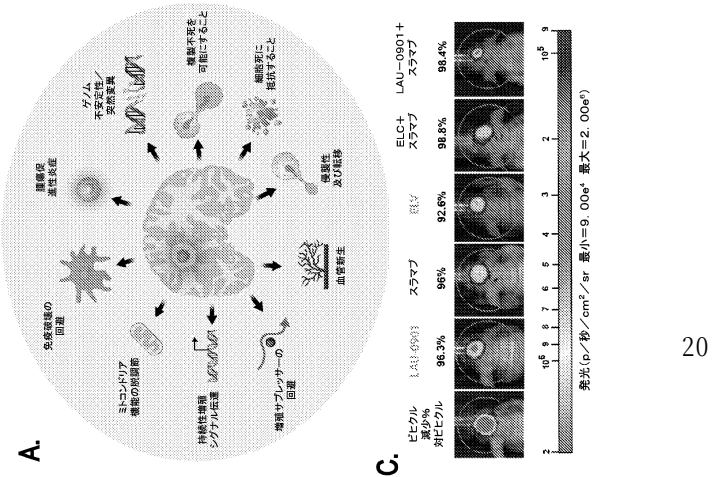
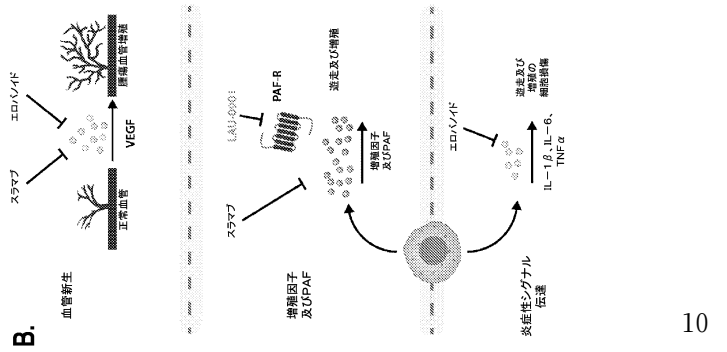
40

50

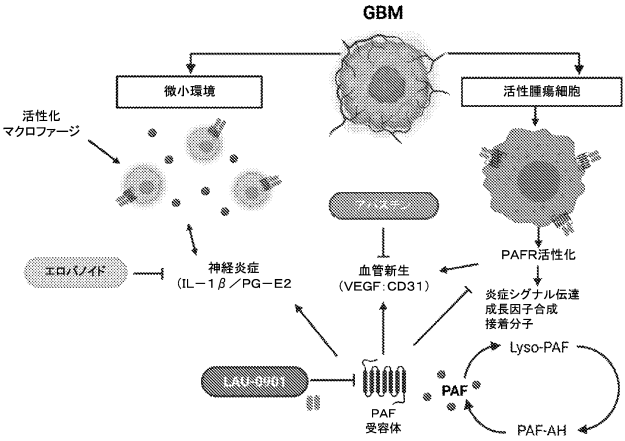
【図 1 2 B】



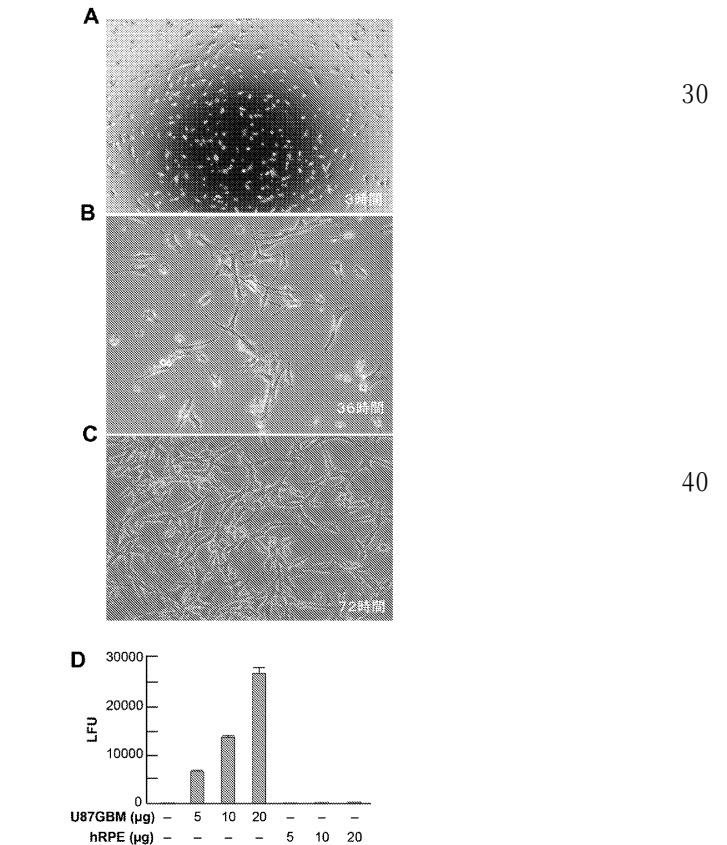
【図 1 3】



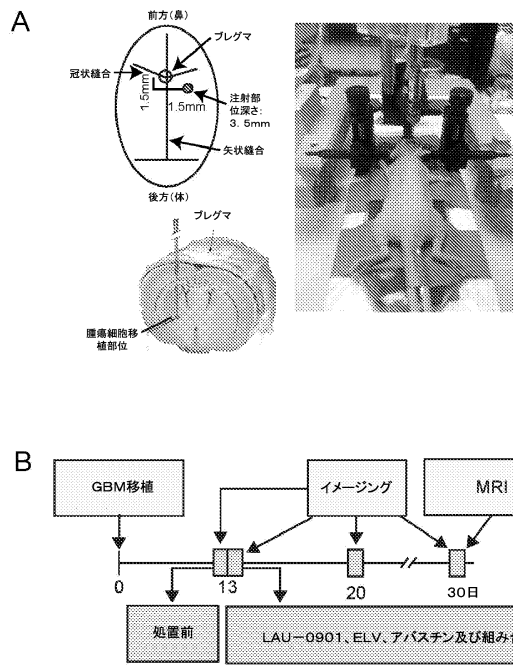
【図 1 4】



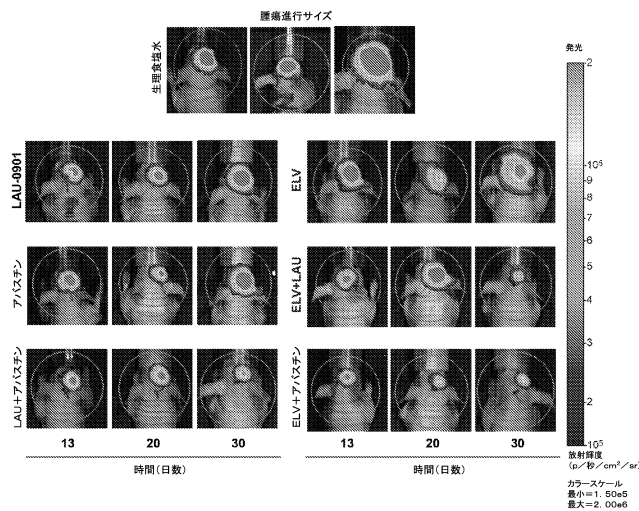
【図 1 5】



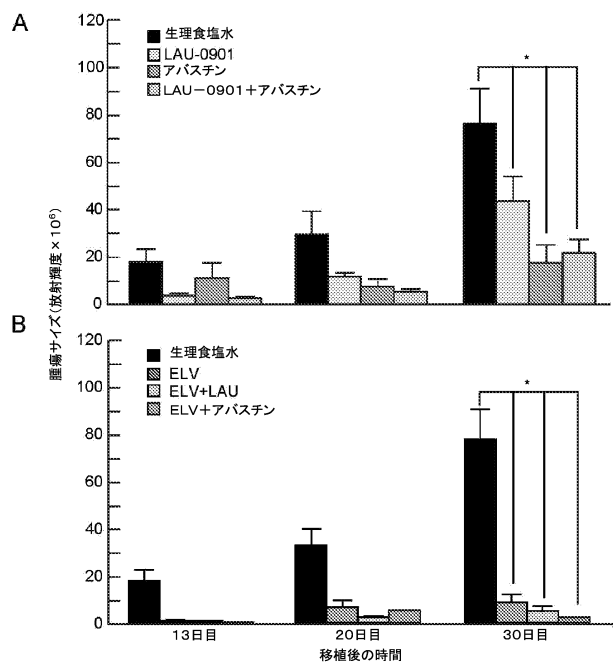
【図 1 6】



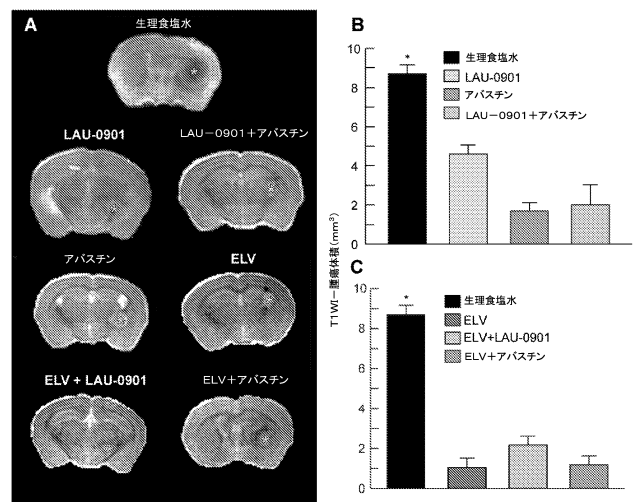
【図 1 7】



【図 1 8】



【図 1 9】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/49297

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 31/44; C07D 211/90; A61P 7/02 (2021.01)

CPC - A61K 31/5377; A61K 45/06; A61P 25/00

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)

See Search History document

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

See Search History document

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

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2018/0251536 A1 (Hoffman-La Roche Inc.) 06 September 2018 (06.09.2018); abstract, para [0009], [0075]	1-31
A	US 9,023,350 B2 (Gallo Barraco) 05 May 2015 (05.05.2015); col 2, ln 8-25	1-31
A	US 2020/0009100 A1 (Board of Supervisors of Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College) 09 January 2020 (09.01.2020); para [0018], [0269]	1-31
A	US 6,566,359 B1 (Bazan et al.) 20 May 2003 (20.05.2003); entire document	1-31
T	Flores et al. "Combined Therapy With Avastin, a PAF Receptor Antagonist and a Lipid Mediator Inhibited Glioblastoma Tumor Growth" Frontiers in Pharmacology. 24 September 2021 (24.09.2021) vol 12, pg. 1-10; entire document	1-31

☐ 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

"D" document cited by the applicant in the international application

"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

15 November 2021

Date of mailing of the international search report

DEC 13 2021

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Kari Rodriguez

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 31/17 (2006.01)

A 6 1 K 31/17

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 1 0 1

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,N
 E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
 CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
 E,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,N
 G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,
 TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100160923

弁理士 山口 裕孝

(74)代理人 100119507

弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100188433

弁理士 梅村 幸輔

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100214396

弁理士 塩田 真紀

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 バザン ニコラス

アメリカ合衆国 7 0 1 1 8 ルイジアナ州 ニューオーリンズ ブロードウェイ ストリート 4 7 8

(72)発明者 ベリヤーエフ リュドミラ

 アメリカ合衆国 7 0 1 1 2 ルイジアナ州 ニューオーリンズ グラバー ストリート 2 0 2 0 ス
 イート ディー

(72)発明者 ガージョ フアン

アルゼンチン共和国 ブエノス アイレス デリキ ピラール マリアノ アコスタ 1 6 1 1

F ターム (参考) 4C084 AA20 MA55 NA05 NA14 ZB261 ZC202 ZC412 ZC751

4C085 AA14 BB11 CC23 EE03 GG01

4C086 AA01 AA02 BC73 MA02 MA04 MA55 NA05 NA14 ZB26 ZC75

 4C206 AA01 AA02 DA07 JA09 KA01 MA02 MA05 MA75 NA05 NA14
 ZB26 ZC75