(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7560026号
(P7560026)

(45)発行日　令和6年10月2日(2024.10.2)

(24)登録日　令和6年9月24日(2024.9.24)

(51)国際特許分類

Ａ６１Ｋ	*31/4965(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4965
Ａ６１Ｐ	*35/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00
Ａ６１Ｋ	*31/4375(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4375
Ａ６１Ｋ	*31/4745(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4745
Ａ６１Ｋ	*31/497 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/497

ＦＩ

請求項の数　13　（全75頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2018-535894(P2018-535894)
(86)(22)出願日　平成29年1月6日(2017.1.6)
(65)公表番号　特表2019-501203(P2019-501203A)
(43)公表日　平成31年1月17日(2019.1.17)
(86)国際出願番号　PCT/EP2017/050270
(87)国際公開番号　WO2017/118734
(87)国際公開日　平成29年7月13日(2017.7.13)
審査請求日　令和1年12月27日(2019.12.27)
審判番号　不服2021-18060(P2021-18060/J1)
審判請求日　令和3年12月27日(2021.12.27)
(31)優先権主張番号　1600388.1
(32)優先日　平成28年1月8日(2016.1.8)
(33)優先権主張国・地域又は機関
最終頁に続く

(73)特許権者　504052958
ザ インスティチュート オブ キャンサー リサーチ，ロイヤル キャンサー ホスピタル
イギリス国，ロンドン エスダブリュー７３アールピー，オールド ブロンプトン ロード １２３
(73)特許権者　518238805
ブレスト キャンサー ナウ
イギリス国，ロンドン イーシー３エヌ １ディーワイ，４２－４７ マイノリーズ，アイベックス ハウス ５階
(74)代理人　100114775
弁理士　高岡 亮一
(74)代理人　100121511
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　癌を治療する方法における使用のための毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲａｄ３関連タンパク質キナーゼ（ＡＴＲ）の阻害剤

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

１以上のＢＡＦ複合体遺伝子が変異又は欠損する癌を有する個体を治療する方法における使用のための医薬組成物であって、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ阻害剤（ＡＴＲｉ）又はそれらの薬学的に許容される塩を含み、前記変異又は欠損するＢＡＦ複合体遺伝子がＡＲＩＤ１Ａであり、前記ＡＴＲｉが、ＶＥ－８２１又はＶＥ－８２２である、医薬組成物。

【請求項２】

１以上のＢＡＦ複合体遺伝子が変異又は欠損する癌を有する個体を治療する方法における使用のための医薬組成物であって、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ阻害剤（ＡＴＲｉ）又はそれらの薬学的に許容される塩を含み、前記変異又は欠損するＢＡＦ複合体遺伝子がＡＲＩＤ１Ａであり、前記ＡＴＲｉが、ＶＥ－８２１又はＶＥ－８２２であり、前記方法が：

（ａ）前記癌が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子が変異又は欠損しているかどうかを前記個体から得られた試料において決定すること、及び

（ｂ）前記癌が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子の変異又は欠損を有する個体に治療有効量のＡＴＲｉを投与すること

を含む、医薬組成物。

【請求項３】

前記ＢＡＦ複合体の変異又は欠損癌が、滑膜肉腫、卵巣明細胞癌、結腸直腸癌、黒色腫

、肺癌、肝細胞癌、胃癌、膀胱癌、血液悪性腫瘍、扁平上皮癌、漿液性卵巣癌、乳癌、膵臓癌、髄芽腫、腎癌又は神経膠腫である、請求項１または２に記載の治療の方法における使用のためのＡＴＲｉ又はそれらの薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【請求項４】

前記ＡＴＲｉによる治療が、１以上のさらなる抗癌療法と組み合わされる、請求項１～３のいずれか一項に記載の治療方法における使用のためのＡＴＲｉ又はそれらの薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【請求項５】

前記ＡＴＲｉによる治療が、１以上のさらなる化学療法剤（複数可）との併用で使用される、請求項４に記載の治療の方法における使用のためのＡＴＲｉ又はそれらの薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【請求項６】

前記ＡＴＲｉによる治療が、放射線療法との併用で使用される、請求項４または５に記載の治療の方法における使用のためのＡＴＲｉ又はそれらの薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【請求項７】

前記方法が、前記個体が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子が変異又は欠損する癌を有するかどうかを決定する工程を含み、当該工程が、前記タンパク質（複数可）が変異される又は欠損するかどうかを決定するために前記個体から得られる試料中の１以上のＢＡＦ複合体遺伝子のタンパク質発現を測定することを含む、請求項１～６のいずれか一項に記載の治療の方法における使用のためのＡＴＲｉ又はそれらの薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【請求項８】

１以上のＢＡＦ複合体タンパク質の発現を決定する工程が、免疫組織化学を使用して腫瘍試料中のＢＡＦ複合体タンパク質の発現を決定することの１以上を含み、ＢＡＦ複合体タンパク質発現を決定することが、ＥＬＩＳＡ若しくはウェスタンブロットにより細胞溶解物中のＢＡＦ複合体のタンパク質レベルを測定することを含み、かつ／又はＢＡＦ複合体タンパク質発現を決定することが、ＢＡＦ複合体タンパク質、若しくはその断片に特異的に結合できる結合剤を使用することを含む、請求項７に記載の治療の方法における使用のためのＡＴＲｉ又はそれらの薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【請求項９】

前記方法が、前記個体が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子が変異又は欠損する癌を有するかどうかを決定する工程を含み、当該工程が、腫瘍から得られた癌細胞試料から、血液中で循環する癌細胞の試料から、又は血液中を循環する癌細胞の核酸の試料から抽出されるゲノム核酸で実行される、請求項１～８のいずれか一項に記載の治療の方法における使用のためのＡＴＲｉ又はそれらの薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【請求項１０】

１以上のＢＡＦ複合体遺伝子の発現を決定する工程が、癌細胞の試料からＲＮＡを抽出すること並びにリアルタイムＰＣＲによって及び／又はＢＡＦ複合体遺伝子ＲＮＡにハイブリダイズできるプローブを使用することによって発現を測定することを含む、請求項９に記載の治療の方法における使用のためのＡＴＲｉ又はそれらの薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【請求項１１】

前記プローブが、マイクロアレイに固定化される、請求項１０に記載の治療の方法における使用のためのＡＴＲｉ又はそれらの薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。

【請求項１２】

前記方法が、前記個体が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子が欠損する癌を有するかどうかを決定する工程を含み、当該工程が、前記個体から得られた試料の核型分析を介して染色体不安定性から生じる遺伝子喪失を特定することを含む、請求項１～１１のいずれか一項に記載の治療の方法における使用のためのＡＴＲｉ又はそれらの薬学的に許容される塩を含む

医薬組成物。
【請求項１３】
ＡＲＩＤ１Ａの喪失が、染色体１からの少なくとも１ｐ３６．１１の喪失によって示される、請求項１２に記載の治療の方法における使用のためのＡＴＲｉ又はそれらの薬学的に許容される塩を含む医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
発明の分野
本発明は、ＢＡＦ複合体欠損癌を治療する方法において使用するための毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲａｄ３関連タンパク質キナーゼ（ＡＴＲ）阻害剤に関し、特に、ＡＴＲ阻害剤を用いてＡＲＩＤ１Ａ欠損癌などの癌の治療に合成致死を利用するための材料及び方法に関する。本発明はさらに、ＢＡＦ複合遺伝子の変異癌又は欠損癌の治療に使用するためのＡＴＲ阻害剤を特定する方法を提供する。ＡＴＲ阻害剤を用いる滑膜肉腫の治療に関する医療用途及び方法も提供される。
【背景技術】
【０００２】
発明の背景
毎年、新しい抗癌剤承認の大半は既存の標的に対するものであるが、新規分子に対してライセンス供与される化合物は、わずか２又は３種である。これは、標的の数が限られていることを示唆するというよりむしろ、疾患の病因に決定的なタンパク質の特定及び検証に伴う困難さ、時間及び費用を反映している。その結果、多くの重要なタンパク質が薬物化されないままであり、結局、新しい治療法を開発する機会が失われる。この状況は、疾患の発症と関連している経路の根底にある重要な分子標的を特定する手法を使用することによって改善され得る。例えば、遺伝子を選択的に不活化又はノックアウトできる遺伝子標的化などの技術が強力であり得る。しかしながら、このような手法は、そのコスト及び低いスループットによって制限される。さらに、癌治療に対する現在の手法は、それらの根底にある分子病態が異なるにもかかわらず、類似した臨床表現型をグループ化する場合が多い。この分子異質性の結果は、個体が薬物治療に対して様々な相違を頻繁に示すことである。このように、個々の癌の根本的な分子生物学を標的とする治療は、ますます魅力的な手法になってきている。
【０００３】
ＡＴＲ（毛細血管拡張性運動失調症の変異した（ＡＴＭ）Ｒａｄ３関連タンパク質キナーゼ）は、細胞ＤＮＡ損傷応答（ＤＤＲ）の重要な構成要素である（１）。ＡＴＲは、複製ストレスの結果として頻繁に生じる一本鎖ＤＮＡの領域によって活性化される（２～４）。癌遺伝子の活性化は、複製ストレス及びＡＴＲチェックポイント機能への依存を誘導でき、癌治療薬としての小分子ＡＴＲ阻害剤（ＡＴＲｉ）の使用のための１つの理論的根拠を提供する（５）。最近、現在第Ｉ相臨床試験中であるＶＥ－８２１及びＶＸ－９７０（別名ＶＥ－８２２）（Ｖｅｒｔｅｘ）を含む強力かつ特異的なＡＴＲｉが発見された（５）。しかしながら、今日まで、標準的なＤＮＡ修復遺伝子であるＥＲＣＣ１（１０）、ＸＲＣＣ１（１１）及びＡＴＭ（１２）の欠損のみが、単剤ＡＴＲｉ感受性の予測バイオマーカーとして提案されている。標準的なＤＤＲを超えるプロセスがＡＴＲｉの感度に影響を与える可能性があるかどうか、かつ他の一般的に発生する癌のドライバー遺伝子がこれらの薬剤に対する応答を変える可能性があるかどうかも明らかではない。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００４】
新しい治療方法、特に、異なる型の癌の遺伝的依存性を標的にする方法に対する必要性が依然として当技術分野に存在する。
【課題を解決するための手段】

【０００５】
本発明の概要
概して、本発明は、ＡＴＲ阻害剤感受性のバイオマーカーとしての合成致死性遺伝因子を特定しようとする研究に基づいている。これらの結果は、ＡＴＲ阻害剤ＶＥ－８２１及びＶＸ－９７０を用いた例示的な証拠に基づいている。前臨床試験において、ＶＥ－８２１は、いくつかのＤＮＡ損傷剤の細胞傷害性効果を増強することが示され（６～９）、ＡＴＲ阻害剤（ＡＴＲｉ）が化学増感剤としての臨床的有用性を有する可能性があることを示唆する。しかしながら、ＡＴＲｉが、癌の治療のために、例えば単剤として使用され得る状況は、あまり明確ではない。
【０００６】
ＡＴＲのキナーゼ活性を阻害する薬物（ＡＴＲｉ）は、主に化学感受性剤として、癌の治療のための第１相臨床試験に最近入った。単剤ＡＴＲｉ応答の遺伝的決定因子を明らかにするために、本発明に至る研究は、一連の合成致死遺伝子スクリーニングを行い、ＢＡＦ複合体の腫瘍抑制遺伝子ＡＲＩＤ１Ａの欠損が、インビトロ及びインビボの両方でＡＴＲｉに対して腫瘍細胞を深く感作することを見出した。ＡＴＲｉは、ＡＲＩＤ１Ａ変異細胞における早期有糸分裂の開始、ゲノム不安定性及びアポトーシスを誘発し、影響は既存のトポイソメラーゼ及びＤＮＡ脱連環（ｄｅｃａｔｅｎｔａｔｉｏｎ）欠損によっておそらく引き起こされる。ＢＡＦ複合体欠損は、ヒト腫瘍の約２０％に存在する。本明細書に記載の研究は、他のＢＡＦ腫瘍抑制遺伝子の阻害もＡＴＲｉ感受性を引き起こすことを見出し、この合成致死手法が広い有用性を有し得ることを示唆する。このデータはしたがって、ＡＴＲｉ応答のバイオマーカーとして評価されるＢＡＦ欠損についての前臨床の及び機構的な根拠を提供する。下記の研究において、発明者らは、単剤ＡＴＲｉ感受性の臨床的に実用的な決定要因を特定することを目的とした。大規模な遺伝子スクリーニングを使用して、発明者らは、ＡＴＲｉの合成致死標的としてＢＡＦ構成要素のＡＲＩＤ１Ａを特定した。このデータに基づいて、本発明は、ＡＲＩＤ１Ａ及びＢＡＦ欠損がＡＴＲｉ感受性の臨床的に有用なバイオマーカーとして役立ち得ることを提案する。
【０００７】
スイッチ／ショ糖非発酵（ＳＷＩ／ＳＮＦ）クロマチンリモデリング複合体は、腫瘍抑制の役割を有するＡＲＩＤ１Ａ、ＳＭＡＲＣＡ４及びＳＭＡＲＣＢ１などのタンパク質を含む、複数の構成要素から構成されている（１３）。ＳＷＩ／ＳＮＦ複合体のタンパク質組成は大きく変動するが、ＳＷＩ／ＳＮＦの２つの主要なバージョンであるＢＡＦ及びＰＢＡＦが存在する（１４）。グループとしてとらえると、ＳＷＩ／ＳＮＦの構成要素は、全てのヒト腫瘍の約２０％において変異していると推定され、この複合体の喪失を癌における最も一般的な変化の１つにしている（１３）。
【０００８】
加えて、滑膜肉腫と関連する遺伝子における転位もＢＡＦ複合体欠損を引き起こすことが知られているように、そのような遺伝子転位欠陥を含有する細胞株はＡＴＲ阻害剤に感受性であることが実験によって実証されたので、本発明はＡＴＲ阻害剤での滑膜肉腫の治療に及ぶ。実験は、細胞株が、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ（ＡＴＲ）を標的にするｓｓＲＮＡｉ分子に感受性であるので、この効果が一般的であることを実証する。
【０００９】
本発明において、ＡＴＲへの言及は、毛細血管拡張性運動失調症の変異した（ＡＴＭ）ＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼを表す。本発明において、ＡＴＲへの言及は、ＨＧＮＣＩＤ：８８２を有する毛細血管拡張性運動失調症の変異した（ＡＴＭ）ＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼを表す。ＡＴＲについてのＨＵＧＯ遺伝子記号報告は、ＡＴＲ核酸及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ Ｓｙｍｂｏｌ ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ ｉｄ＝ＨＧＮＣ：８８２で見つけることができる。
【００１０】

ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＲＩＤ１Ｂ、ＡＲＩＤ２、ＳＭＡＲＣＡ２、ＳＭＡＲＣＡ４、ＳＭＡＲＣＢ１、ＳＭＡＲＣＣ２、ＳＭＡＲＣＣ１、ＳＭＡＲＣＤ１、ＳＭＡＲＣＤ２、ＳＭＡＲＣＤ３、ＳＭＡＲＣＥ１、ＡＣＴＬ６Ａ、ＡＣＴＬ６Ｂ、及び／又はＰＢＲＭ１から選択される１以上のＢＡＦ複合体遺伝子が変異又は欠損している癌の治療で使用するための、特に、ＢＡＦ複合体遺伝子ＡＲＩＤ１Ａが変異又は欠損している癌の治療のためのＡＴＲの阻害剤（ＡＴＲｉ）が開示される。

【発明の効果】

【００１１】

したがって、第１の態様において、本発明は、癌を有する個体を治療する方法において使用するための毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ阻害剤（ＡＴＲｉ）を提供し、ここで癌は１以上のＢＡＦ複合体遺伝子で変異又は欠損している。

【００１２】

さらなる態様において、本発明は、１以上のＢＡＦ複合体遺伝子で変異又は欠損している癌を有する個体を治療する方法において使用するための毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ阻害剤（ＡＴＲｉ）を提供し、方法は：

（ａ）個体から得られた試料において、癌が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子で変異又は欠損しているかどうかを決定すること、及び

（ｂ）癌が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子変異又は欠損を有する個体に治療有効量のＡＴＲ阻害剤を投与すること、

を含む。

【００１３】

一例として、変異又は欠損したＢＡＦ複合体遺伝子は、ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＲＩＤ１Ｂ、ＡＲＩＤ２、ＳＭＡＲＣＡ２、ＳＭＡＲＣＡ４、ＳＭＡＲＣＢ１、ＳＭＡＲＣＣ２、ＳＭＡＲＣＣ１、ＳＭＡＲＣＤ１、ＳＭＡＲＣＤ２、ＳＭＡＲＣＤ３、ＳＭＡＲＣＥ１、ＡＣＴＬ６Ａ、ＡＣＴＬ６Ｂ、及び／又はＰＢＲＭ１の１以上から選択される。より好ましくは、変異又は欠損したＢＡＦ複合体遺伝子は、ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＲＩＤ１Ｂ、ＡＲＩＤ２、ＳＭＡＲＣＡ２、ＳＭＡＲＣＡ４及びＳＭＡＲＣＢ１の１以上から選択され、より好ましくは、変異又は欠損したＢＡＦ複合体遺伝子はＡＲＩＤ１Ａである。

【００１４】

さらなる態様において、本発明は、滑膜肉腫を有する個体を治療する方法において使用するための毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ阻害剤（ＡＴＲｉ）を提供する。

【００１５】

さらなる態様において、本発明は、ＳＳＸ１、ＳＳＸ２又はＳＳ１８から選択される１以上の遺伝子で変異又は欠損している滑膜肉腫を有する個体を治療する方法において使用するための、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ阻害剤（ＡＴＲｉ）を提供し、方法は：

（ａ）個体から得られた試料において、癌が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子で変異又は欠損しているかどうかを決定すること、並びに

（ｂ）癌がＳＳＸ１、ＳＳＸ２及び／又はＳＳ１８から選択される１以上の遺伝子に変異又は欠損を有する個体に治療有効量のＡＴＲ阻害剤を投与すること、

を含む。

【００１６】

変異又は欠損は、ＳＳ１８－ＳＳＸ１又はＳＳ１８－ＳＳＸ２融合タンパク質をコードする転位であり得る。

【００１７】

さらなる態様において、本発明は、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ阻害剤（ＡＴＲｉ）で治療するための癌を有する個体を選択する方法を提供し、方法は：

（ａ）個体から得られた試料において、癌が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子で変異又は欠損しているかどうかを決定すること、及び
（ｂ）癌が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子変異又は欠損を有する場合にＡＴＲ阻害剤での治療のための個体を選択すること、及び
（ｃ）この個体への投与に適するＡＴＲの阻害剤を提供すること、
を含む。
【００１８】
任意選択で、本方法はさらに、個体に治療有効量のＡＴＲ阻害剤を投与することを含んでよい。
【００１９】
さらなる態様において、本発明は、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ阻害剤（ＡＴＲｉ）を用いて、癌を有する個体を治療するための方法を提供し、方法は：
（ａ）個体から得られた試料において、癌が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子で変異又は欠損しているかどうかを決定すること、及び
（ｂ）癌が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子変異又は欠損を有する場合にＡＴＲ阻害剤での治療のための個体を選択すること、及び
（ｃ）この個体への投与に適するＡＴＲの阻害剤を提供すること、及び
（ｄ）この個体に治療有効量のＡＴＲ阻害剤を投与すること、
を含む。
【００２０】
さらなる態様において、本発明は、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ阻害剤（ＡＴＲｉ）での治療のための、滑膜肉腫を有する個体を選択する方法を提供し、方法は：
（ａ）個体から得られた試料において、滑膜肉腫がＳＳＸ１、ＳＳＸ２及び／又はＳＳ１８から選択される１以上の遺伝子で変異又は欠損しているかどうかを決定すること、及び
（ｂ）滑膜肉腫がＳＳＸ１、ＳＳＸ２及び／又はＳＳ１８から選択される上記１以上の遺伝子に１以上の変異又は欠損を有する場合にＡＴＲ阻害剤での治療のために個体を選択すること、並びに
（ｃ）この個体への投与に適するＡＴＲの阻害剤を提供すること、
を含む。
【００２１】
変異又は欠損は、ＳＳ１８－ＳＳＸ１又はＳＳ１８－ＳＳＸ２融合タンパク質をコードする転位であり得る。
【００２２】
任意選択で、本方法はさらに、個体に治療有効量のＡＴＲ阻害剤を投与することを含んでよい。
【００２３】
さらなる態様において、本発明は、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ阻害剤（ＡＴＲｉ）を用いて、滑膜肉腫を有する個体を治療するための方法を提供し、方法は：
（ａ）個体から得られた試料において、滑膜肉腫がＳＳＸ１、ＳＳＸ２及び／又はＳＳ１８から選択される１以上の遺伝子で変異又は欠損しているかどうかを決定すること、並びに
（ｂ）滑膜肉腫がＳＳＸ１、ＳＳＸ２及び／又はＳＳ１８から選択される上記１以上の遺伝子に１以上の変異又は欠損を有する場合にＡＴＲ阻害剤での治療のために個体を選択すること、並びに
（ｃ）この個体への投与に適するＡＴＲの阻害剤を提供すること、並びに
（ｄ）この個体に治療有効量のＡＴＲ阻害剤を投与すること、
を含む。
【００２４】

変異又は欠損は、ＳＳ１８－ＳＳＸ１又はＳＳ１８－ＳＳＸ２融合タンパク質をコードする転位であり得る。したがって、本方法は、滑膜肉腫がＳＳ１８－ＳＳＸ１又はＳＳ１８－ＳＳＸ２融合タンパク質をコードする転位を有するかどうかを決定する工程を含んでよい。

【００２５】

さらなる態様において、癌が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子で変異又は欠損しているかどうかを決定するために試料を試験する工程は、個体の癌性細胞又は非癌性細胞から得られた核酸配列で実行される。適切な技術は当技術分野で周知であり、ダイレクトシーケンシング、プローブへのハイブリダイゼーション、制限断片長多型（ＲＦＬＰ）分析、一本鎖高次構造多型（ＳＳＣＰ）、特異的対立遺伝子のＰＣＲ増幅、ＰＣＲによるＤＮＡ標的の増幅に続くミニシーケンシングアッセイ、ＰＣＲ中の対立遺伝子の特定、遺伝子ビット分析、パイロシーケンシング、オリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ、融解曲線の分析、ヘテロ接合性の喪失（ＬＯＨ）についての試験又は次世代シーケンシング（ＮＧＳ）技術の使用を含む。

【００２６】

他の実施形態において、試験は、個体の癌性細胞又は非癌性細胞から得られるＲＮＡ配列で実行される。さらに別の実施形態において、試験は、個体の癌性細胞又は非癌性細胞から得られるタンパク質で実行される。

【００２７】

本発明の実施形態は、これから添付の図面を参照しながら一例として説明されるが、それに限定されるものではない。しかしながら、本発明の様々なさらなる態様及び実施形態は、本開示の観点から当業者には明らかであろう。

【００２８】

本明細書で使用する「及び／又は」は、他のものの有無に関わらず、２つの特定の特徴又は構成要素の各々の具体的な開示として解釈されるべきである。例えば、「Ａ及び／又はＢ」は、それぞれが個々に本明細書に記載されているかのように、（ｉ）Ａ、（ｉｉ）Ｂ並びに（ｉｉｉ）Ａ及びＢ、の各々の具体的な開示として解釈されるべきである。

【００２９】

文脈が特に指示しない限り、上述した特徴の記載及び定義は、本発明の任意の特定の態様又は実施形態に限定されず、記載される全ての態様及び実施形態に等しく適用される。

【図面の簡単な説明】

【００３０】

【図１】ＲＮＡｉスクリーニングはＡＴＲｉ感受性の遺伝的決定要因を明らかにする。Ａ．ＶＥ－８２１の構造並びにＭＣＦ１２Ａ及びＨＣＣ１１４３細胞での平行ＶＥ－８２１化学増感スクリーニングについての概略を説明するワークフロー。Ｂ．化学増感スクリーニングで使用された全１２８０種のｓｉＲＮＡからのＶＥ－８２１薬物効果（ＤＥ）Ｚスコアの散布図。候補の合成致死相互作用を定義するために使用した－２（赤線）のＤＥ　ＺスコアＩ閾値が示される。Ｃ．ＭＣＦ１２Ａ及びＨＣＣ１１４３細胞でのＤＥが－２未満のＶＥ－８２１感作ヒットのベン図。示される数字は、感作遺伝子の数を示す。両方の細胞株におけるＤＥ　Ｚスコアが－２未満の３０個の遺伝子の中で、７個の十分に確立された腫瘍抑制遺伝子を特定した。Ｄ．化学増感スクリーニングにおける対照、非標的化ｓｉＲＮＡ（ｓｉＡＬＬＳＴＡＲ、ｓｉＣＯＮ１、ｓｉＣＯＮ２）及びＡＲＩＤ１Ａ　ｓｉＲＮＡのＤＥ　Ｚスコアを示す棒グラフ。示される値は、３回のスクリーニングの中央値であり、エラーバーはＳＤを表す。Ｅ．ｓｉＲＮＡ標的化ＡＲＩＤ１Ａ（赤）又はｓｉＣｏｎ１（青）でトランスフェクトしたＨＣＣ１１４３細胞からの３８４ウェルプレート細胞生存データ。トランスフェクション後２４時間の時点で、細胞を５日間連続してＶＥ－８２１に暴露した。エラーバーは３回の実験からのＳＤを表す。生存曲線ｓｉＡＲＩＤ１Ａ対ｓｉＣＯＮ１　ｐ値＜０．０００１、ＡＮＯＶＡ。Ｆ．実験（Ｅ）からのＡＲＩＤ１Ａタンパク質サイレンシングを示すウェスタンブロット。

【図２】インビトロでのＡＲＩＤ１Ａ／ＡＴＲ合成致死。Ａ．ＶＸ－９７０の化学構造。

Ｂ．ヒトＡＲＩＤ１Ａ同質遺伝子ＨＣＴ１１６細胞におけるＡＲＩＤ１Ａのウェスタンブロット。Ｃ．６ウェルプレートクローン原性アッセイにおけるコロニーの画像。ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ同質遺伝子（$^{+}/^{+}$及び$^{-}/^{-}$）細胞株を、１４日間、漸増濃度のＶＥ－８２１（０、０．１、１μＭ）及びＶＸ－９７０（０、０．０１、０．０５μＭ）に曝露した。Ｄ及びＥ．１４日間、漸増濃度のＶＥ－８２１及びＶＸ－９７０に暴露したＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ同質遺伝子（$^{+}/^{+}$及び$^{-}/^{-}$）細胞株の用量応答クローン原性生存曲線。エラーバーは、３回の実験のＳＤを表し、ＡＮＯＶＡ　ｐ値は０．０００１未満である。Ｆ．５日間、ＶＸ－９７０に曝露したヒト腫瘍細胞株の曲線下面積（ＡＵＣ）ボックスウィスカー比較プロット。ＡＲＩＤ１Ａ野生型腫瘍細胞株（ｎ＝１５）を、ＡＲＩＤ１Ａ変異細胞株（ｎ＝９）と比較した。スチューデントｔ検定　ｐ＝０．００５９４。Ｇ．マウスＡｒｉｄ１ａ同質遺伝子ＥＳ細胞株の用量応答クローン原性生存曲線。実験を、（ｃ）に従って実行した。エラーバーは、３回の実験のＳＤを表し、ＡＮＯＶＡ　ｐ値は０．０００１未満である。Ｈ．マウスＥＳ　Ａｒｉｄ１ａ同質遺伝子細胞でのＡｒｉｄ１ａタンパク質発現のウェスタンブロット。Ｉ．ＡＴＲ　ｓｉＲＮＡでトランスフェクトした８６種のヒト腫瘍細胞株のＺスコアボックスウィスカー比較プロット。細胞株をｓｉＲＮＡでトランスフェクトし、細胞生存率をＣｅｌｌ　Ｔｉｔｒｅ　Ｇｌｏ試薬により5日後に推定した。ＡＲＩＤ１Ａ野生型（ｎ＝６５）及びＡＲＩＤ１Ａ変異体（ｎ＝２１）のＡＴＲ　ｓｉＲＮＡのＺスコアは、統計的に異なることが見出された（ｐ＝０．００８４、メジアン並べ替え検定）。

【図３】インビボでのＡＲＩＤ１Ａ／ＡＴＲ合成致死。Ａ．確立されたＨＣＴ１１６ＡＲＩＤ１Ａ$^{+}/^{+}$及びＡＲＩＤ１Ａ$^{-}/^{-}$異種移植片を有するマウスにおけるＶＸ－９７０療法実験の概略。細胞をヌードマウスの皮下に接種し、１０日間、腫瘍を確立させた。マウスを次いでＶＸ－９７０（６０ｍｇ／ｋｇ、経管栄養によって週４回）又はビヒクルのいずれかの治療レジメンに無作為化した。マウスを次いで、その後４０日間処置した。腫瘍体積を週に２回監視した。Ｂ．ＶＸ－９７０の有効性及びＡＲＩＤ１Ａ$^{-}/^{-}$異種移植片に関する選択性を示す（Ａ）からの相対腫瘍体積プロット　＊ｐ＝０．０２４、ＡＮＯＶＡ。Ｃ．非確立ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+}/^{+}$及びＡＲＩＤ１Ａ$^{-}/^{-}$異種移植片を有するマウスにおける腫瘍発生率実験の概略。マウスに、以前のように細胞を接種し、無作為化し、次いでＶＸ－９７０で処置した。ＶＸ－９７０又はビヒクル処置を細胞移植の日に開始した。腫瘍体積を週に２回監視し、全体的な腫瘍の発生率を４０日後に評価した。Ｄ．ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+}/^{+}$及びＡＲＩＤ１Ａ$^{-}/^{-}$細胞の移植後４０日の時点の発生率の棒グラフ。各群は１５匹の動物を含有し、バーの上の割合は、測定可能な異種移植片が形成した動物の数を示す。＊ｐ＝０．０２７フィッシャーの直接検定。Ｅ及びＦ．（ｃ）に記載の実験における腫瘍増殖。＊ｐ＝０．０１５　ＡＮＯＶＡ。Ｇ．ＴＯＶ２１Ｇ（ＡＲＩＤ１Ａ変異体）及びＲＭＧ１（ＡＲＩＤ１Ａ野生型）細胞からのＶＸ－９７０の用量反応曲線。細胞を５日間、ＶＸ－９７０に暴露した。Ｈ．細胞溶解前の２４時間、漸増濃度のＶＸ－９７０に暴露したＴＯＶ２１Ｇ細胞におけるＰＡＲＰ切断を示すウェスタンブロット。陽性対照として、細胞溶解前に細胞をカンプトテシン（Ｃｐｔ；１μＭ、２４時間）に曝露した。ＰＡＲＰ－１、切断したＰＡＲＰ－１（８５ｋＤａの断片）及びチューブリンを、ウェスタンブロットにより検出した。Ｉ．２４時間、漸増濃度のＶＸ－９７０に暴露したＲＭＧ１及びＴＯＶ２１Ｇ細胞におけるアポトーシスの割合を示す棒グラフ。カスパーゼ３／７活性を、Ｃａｓｐａｓｅ－Ｇｌｏを用いて評価し、全細胞生存率を、ＣｅｌｌＴｉｔｒｅ－Ｇｌｏを用いて推定した。Ｃａｓｐａｓｅ－Ｇｌｏ（すなわち、アポトーシス細胞）及びＣｅｌｌＴｉｔｒｅ－Ｇｌｏ（すなわち、生存細胞）の発光比を各用量について決定し、ＤＭＳＯ処理試料に対して規準化した。＊スチューデントｔ検定、ｐ＜０．０５。Ｊ．確立したＴＯＶ２１Ｇを有するマウスにおけるＶＸ－９７０療法実験の概略図。実験を（Ａ）に従って実行したが、２８日間だけ処置した。Ｋ．ＴＯＶ２１Ｇ異種移植片におけるＶＸ－９７０の有効性を示す（Ｊ）からの相対腫瘍体積プロット。＊ｐ＝０．０１４、ＡＮＯＶＡ。Ｌ．２８日間の処置後のＴＯＶ２１Ｇ異種移植片の画像。

【図４】ＡＲＩＤ１Ａ欠損細胞は、染色体脱連環欠損によりＧ２／Ｍ細胞周期チェックポイントに依存している。Ａ．二重チミジンブロックによってＧ１／早期Ｓ期で同期され新鮮な培地中に放出された、ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$及びＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞におけるＧ２／Ｍの割合を示す棒グラフ。放出後０、７、８、９及び１０時間の時点での細胞周期のＧ２／Ｍ期にある細胞のパーセンテージを示す。Ｂ．セリン１０上のヒストンＨ３のリン酸化を有する細胞の相対量を示す棒グラフ。示されるところで、ＨＣＴ１１６ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$細胞をｓｉＡＲＩＤ１Ａでトランスフェクトした。４８時間後、細胞を固定し、ＦＩＴＣ－Ｐ－Ｓ１０ヒストンＨ３及びヨウ化プロピジウムで染色した。有糸分裂細胞（Ｐ－Ｓ１０陽性及び２Ｎ）を、ＦＡＣＳによって定量化した。アスタリスクは、示される比較の間でスチューデントｔ検定による統計的に有意な差を示す。Ｃ．ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$とＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$の両方の細胞の細胞質画分におけるサイクリンＢ１タンパク質を示すウェスタンブロット。Ｄ．ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$と比較したＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞において上昇した後期ブリッジレベルを示す棒グラフ。細胞をＤＡＰＩで染色した。５０個の後期の最小値を、３回の生物学的反復実験でスコア化した。＊ｐ＝０．０３８、スチューデントｔ検定。Ｅ．（Ｅ）における実験からの正常後期及び後期ブリッジの代表的な画像。スケールバーは２０μｍを表す。Ｆ．核及びクロマチン結合ＴＯＰ２Ａのウェスタンブロット。示される細胞株を、ｓｉＲＮＡ標的化ＡＲＩＤ１Ａ又は対照ｓｉＲＮＡでトランスフェクトした。４８時間後、細胞内画分を単離し、得られたウェスタンブロットを、示されるタンパク質について免疫ブロットした。Ｇ．（Ｆ）由来のＴＯＰ２Ａタンパク質の定量化を示す棒グラフ。Ｈ．ＯＣＣＣ細胞株からの核及びクロマチン結合ＴＯＰ２Ａのウェスタンブロット。実験を、（Ｆ）に従って実行した。

【図５】細胞周期の進行、染色体不安定性、ＤＮＡ損傷及びアポトーシスに対するＡＴＲｉ効果。Ａ．二重チミジンブロックによってＧ１／早期Ｓ期で同期されＤＭＳＯ又はＶＸ－９７０（５００ｎＭ）を含有する新鮮な培地中に放出された、ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$及びＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞におけるＧ２／Ｍの割合を示す棒グラフ。Ｇ２／Ｍ中の細胞のパーセンテージをＰＩ染色後にＦＡＣＳによって測定した。Ｂ．ＶＸ－９７０（０．５μＭ、８時間）に曝露したＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$及びＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$細胞において上昇した後期ブリッジレベルを示す棒グラフ。細胞をＤＡＰＩで染色した。５０個の後期の最小値を、３回の生物学的反復実験でスコア化した。＊ｐ＝０．０２３、スチューデントｔ検定。Ｃ．固定前の８時間、ＶＸ－９７０（０．５μＭ）又はＤＭＳＯに暴露したＴＯＶ２１Ｇ細胞における後期ブリッジの頻度を示す棒グラフ。実験を（Ｂ）に従って実行した。ｐ＝０．００６スチューデントｔ検定。Ｄ．ＤＭＳＯ又はＶＸ－９７０（１μＭ）のいずれかへの曝露後のＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$及びＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞からの有糸分裂の広がりの画像。スケールバーは２０μｍを表す。Ｅ．ＶＸ－９７０（１μＭ）に暴露したＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$及びＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞における染色体異常の程度を示す棒グラフ。＊ｐ＜０．０５、スチューデントｔ検定。Ｆ．細胞溶解前に、示した時間の間ＶＸ－９７０（０．５μＭ）に暴露したＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$及びＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞におけるγＨ２ＡＸを示すウェスタンブロット。Ｇ．２４時間、漸増濃度のＶＸ－９７０に曝露した細胞におけるアポトーシスの割合を示す棒グラフ。実験を図３Ｉに従って実行した。Ｈ．ＶＸ－９７０に曝露したＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$及びＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞におけるＰＡＲＰ切断を示すウェスタンブロット。実験を図３Ｈに従って実行した。

【図６】ＢＡＦ複合体欠損はＡＴＲ阻害に対する感受性を引き起こす。Ａ．ヒト細胞におけるＢＡＦ複合体組成物の概略図。Ｂ．ｓｉＲＮＡ標的化ＡＲＩＤ１Ｂ又はＳＭＡＲＣＡ４でトランスフェクトしたＨＣＴ１１６細胞からのＶＸ－９７０用量反応曲線。トランスフェクション後４８時間で、細胞をＶＸ－９７０に５日間暴露した。エラーバーは３回の実験からのＳＤを表す。ｓｉＣＯＮに対するｓｉＡＲＩＤ１Ｂ及びｓｉＳＭＡＲＣＡ４についてはｐ＜０．０００１、ＡＮＯＶＡ。Ｃ．実験（Ｂ）におけるＡＲＩＤ１Ｂ及びＳＭＡＲＣＡ４サイレンシングを示すウェスタンブロット。Ｄ．４つのＯＣＣＣ細胞株である、３つのＳＭＡＲＣＡ４野生型（青；ＲＭＧ１、ＫＫ及びＥＳ２）並びに１つのＳＭＡＲ

ＣＡ４変異体（赤；ＴＯＶ１１２Ｄ）からのＶＸ－９７０用量反応曲線。Ｅ．ＳＭＡＲＣＡ４又はＡＲＩＤ１Ａのいずれかを標的とするｓｉＲＮＡでトランスフェクトしたＨＣＣ１１４３及びＨｅｌａ細胞における５日間のＶＸ－９７０暴露後の生存の割合を示す棒グラフ。ｓｉＣｏｎと比較したスチューデントｔ検定によって＊ｐ＜０．０５。Ｆ．ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＲＩＤ１Ｂ又はＳＭＡＲＣＡ４を標的とするｓｉＲＮＡでトランスフェクトしたＨＣＴ１１６細胞中のクロマチン結合ＴＯＰ２Ａのレベルを示すウェスタンブロット。細胞を、トランスフェクション後４８時間時点で分析した。Ｇ．ＡＴＲｉに対するＡＲＩＤ１Ａ欠損細胞の感受性を促進する提案された機構のモデル。ＡＲＩＤ１Ａ（又はＡＲＩＤ１Ｂ／ＳＭＡＲＣＡ４）への機能喪失ゲノム改変は、ＢＡＦ複合体の機能不全をもたらす。これは次に、クロマチンへのＴＯＰ２Ａの結合を減少させ、染色体脱連環の効率を低下させる。脱連環欠損は、ＡＴＲ依存性のＧ２／Ｍ細胞周期チェックポイントを活性化し、細胞が連結された染色体を分離するのを可能にする。ＡＴＲｉに暴露されたＢＡＦ欠損細胞は、連結された染色体と共に有糸分裂に進む。これは、ＤＮＡ切断、染色体不安定性及び最終的にアポトーシスをもたらす。

【図７】遺伝子依存性プロファイリングは、滑膜肉腫腫瘍細胞における遺伝子依存性としてＡＴＲを特定する。Ａ．滑膜肉腫（ＳＳ）腫瘍細胞株を、５つの平行して行うｓｉＲＮＡスクリーニングに使用した。Ｂ．ｓｉＲＮＡのスクリーニングの概略図（左）、高効率トランスフェクションを示すＨＳ－ＳＹ－ＩＩからのｓｉＲＮＡ　Ｚスコア（ｓｉＰＬＫ１のＺスコアは低く示されている、中間）及び２つのＨＳ－ＳＹ－ＩＩ　ｓｉＲＮＡスクリーニングからの例示的レプリカｓｉＲＮＡ　Ｚスコア（右）。Ｃ～Ｅ．ｓｉＲＮＡスクリーニングで特定されたＳＳ腫瘍細胞株における候補遺伝子依存性。ｓｉＲＮＡ　Ｚスコアは、非ＳＳ腫瘍細胞株（「パネル」）と比較した５つのＳＳ腫瘍細胞株（「ＳＳ」）について示される。示されるｐ値は、中央値並べ替えｔ検定から導出した。

【図８】ＡＴＲ遺伝子依存性滑膜肉腫腫瘍細胞－パート１。Ａ．腫瘍細胞株の癌組織学に従って分類した、図７に記載のｓｉＲＮＡスクリーニングからのＡＴＲ　ｓｉＲＮＡ　Ｚスコア。Ｂ．ＡＴＲｉ耐性ＨＣＴ１１６細胞と比較した、ＡＴＲ小分子阻害剤（ＡＴＲｉ）ＶＸ９７０に対するＳＳ腫瘍細胞株の感受性を示す用量反応生存曲線。細胞を５日間薬物に暴露し、細胞生存率をＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏを用いて推定した。各ＳＳ腫瘍細胞株についての、ＨＣＴ１１６に対する用量反応ＡＮＯＶＡ　ｐ＜０．０００１。Ｃ．ＡＴＲｉ耐性ＡＲＩＤ１Ａ野生型ＨＣＴ１１６細胞（ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$）及びＡＲＩＤ１Ａ欠損ＨＣＴ１１６細胞（ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$）と比較した、ＶＸ９７０に対するＳＳ腫瘍細胞株の感受性を示す用量応答生存曲線。細胞を５日間薬物に暴露し、細胞生存率をＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏを用いて推定した。各ＳＳ腫瘍細胞株及びＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$についての、ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$に対する用量反応ＡＮＯＶＡ　ｐ＜０．０００１。Ｄ．腫瘍細胞株におけるＶＸ９７０曲線下面積（ＡＵＣ）。ＡＲＩＤ１Ａ欠損細胞を「ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$」として示し、ユーイング肉腫腫瘍細胞株を「ＥＷＳ」として示す。Ｅ．確立した滑膜肉腫ＰＤＸ、ＳＡ１３４１２を有するマウスにおけるＶＸ９７０での処置に対する抗腫瘍応答。ＶＸ９７０の処置開始後の腫瘍体積の中央値を示す。エラーバーは平均値の標準誤差（ＳＥＭ）を表す。Ｆ．（Ｅ）からのデータのカプラン・マイヤー生存プロット。ログランクマンテルｐ＝０．００２６。Ｇ．ＨＣＴ１１６細胞における滑膜肉腫の融合タンパク質の発現を示すウェスタンブロット。ＳＳＸ１の最後の８個の残基を欠失した（Δ７１～７８）ＳＳ１８－ＳＳＸ１変異体を、ｄ７１～７８として示す。Ｈ．ＨＣＴ１１６細胞における滑膜肉腫の融合タンパク質の発現後のＡＸＩＮ２　ｍＲＮＡの誘導を示す棒グラフ。Ｉ～Ｋ．ＨＣＴ１１６細胞における滑膜肉腫融合タンパク質の発現がＡＴＲｉ感受性を引き起こすことを示す用量応答生存曲線。ＳＳＸ１８－ＳＳＸ１又はＳＳＸ１８－ＳＳＸ２の発現はＡＴＲｉ感受性を引き起こすが、Δ７１～７８の発現は引き起こさない。

【図９】ＡＴＲ遺伝子依存性滑膜肉腫腫瘍細胞－パート２。Ａ．ＡＴＲ　ｓｉＲＮＡはＳＳ腫瘍細胞において細胞阻害を引き起こす。細胞をＡＴＲ　ｓｉＲＮＡでトランスフェクトし、細胞生存率を５日後にＣｅｌｌ　Ｔｉｔｒｅ　Ｇｌｏの使用により推定した。生存の

割合を示す棒グラフを左及び中央に示す。ＡＴＲタンパク質サイレンシングを示すウェスタンブロットを右に示す。腫瘍細胞株の癌組織学に従って分類した、図７に記載のｓｉＲＮＡスクリーニングからのＺスコア。Ｂ．ＡＴＲｉ耐性ＨＣＴ１１６細胞及び非腫瘍細胞（ＨＦＦ１、ＭＣＦ１０Ａ）と比較した、ＡＴＲ小分子阻害剤（ＡＴＲｉ）ＶＸ９７０に対するＳＳ腫瘍細胞株の感受性を示す用量反応生存曲線。細胞を５日間薬物に暴露し、細胞生存率をＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏを用いて推定した。各ＳＳ腫瘍細胞株についての、ＨＣＴ１１６に対する用量反応ＡＮＯＶＡ　ｐ＜０．０００１。Ｃ．ＶＸ９７０に暴露した腫瘍細胞株におけるＶＸ９７０生存の割合５０値。ＡＲＩＤ１Ａ欠損細胞を「ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$」として示し、ユーイング肉腫腫瘍細胞株を「ＥＷＳ」として示す。Ｄ、Ｅ．ＡＴＲｉ耐性ＨＣＴ１１６細胞と比較した、追加のＡＴＲｉ小分子阻害剤（ＡＴＲｉ）ＡＺＤ６７３８、ＡＺ２０及びＶＥ８２１に対するＳＳ腫瘍細胞株の感受性を示す用量応答生存曲線。細胞を５日間薬物に暴露し、細胞生存率を、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏを用いて推定した。

【図１０】ＡＴＲ阻害剤は、ＳＳ腫瘍細胞において複製フォークストレスを誘発する。Ａ．Ｃａｓｐａｓｅ－Ｇｌｏによって推定される、ＶＸ９７０へのＳＹＯ１細胞の曝露によって引き起こされるアポトーシスを示す棒グラフ。エラーバーは３回の実験からのＳＥＭを表す。ｐ値はスチューデントｔ検定から導出した。Ｂ．２４時間、ＶＸ９７０に暴露したＳＹＯ１細胞におけるＰＡＲＰ１切断を示すウェスタンブロット。Ｃ．ＶＸ９７０（０．１μＭ）に暴露したＳＹＯ１細胞におけるＨ２ＡＸのリン酸化（γＨ２ＡＸ）を示すウェスタンブロット。Ｄ．ＶＸ９７０（０．１μＭ、２４時間）に暴露したＳＹＯ１細胞におけるＨ２ＡＸのリン酸化を示す共焦点顕微鏡画像。Ｅ．（Ｄ）からのデータを示す棒グラフ。エラーバーは、１００枚の画像からのＳＥＭを表す。ｐ値はスチューデントｔ検定から導出した。Ｆ．２時間、０．１μＭのＶＸ９７０に暴露したＳＹＯ１細胞における複製フォーク速度。ｐ値はスチューデントｔ検定から導出した。Ｇ．ＳＳ１８－ＳＳＸ１融合タンパク質の異所性発現の存在下及び非存在下で２時間、０．１μＭのＶＸ９７０に暴露したＨＣＴ１１６細胞における複製フォーク速度。ｐ値はスチューデントｔ検定から導出した。ＳＳ１８－ＳＳＸ１の発現又はＶＸ９７０への暴露は、フォーク速度を低下させた。組み合わせたＳＳ１８－ＳＳＸ１発現とＶＸ９７０の暴露は、フォーク速度の低下を増強した。Ｈ及びＩ．ＶＸ９７０に暴露したＳＹＯ１細胞からのＦＡＣＳプロット。０．１μＭのＶＸ９７０暴露は、Ｓ期の細胞の増加及びサブ$Ｇ_1$画分の増加を引き起こす。

【発明を実施するための形態】

【００３１】

詳細説明

ＳＷＩ／ＳＮＦ　ＢＡＦ欠損と関連する以下の遺伝子に欠損（変異、発現喪失）を有する癌

本発明において、１以上のＢＡＦ複合体遺伝子で変異又は欠損している癌への言及は、そのタンパク質生成物がマルチサブユニットＳＷＩ／ＳＮＦクロマチンリモデリング複合体「ＢＲＧ１関連因子又はＨＲＢＭ関連因子」（ＢＡＦ）及びポリブロモ関連ＢＡＦ（ＰＢＡＦ）を含むメンバーを表す。それらは、転写、複製、及びＤＮＡ修復中のＡＴＰ依存性クロマチンリモデリングプロセスを媒介し、分化及び増殖に重要である。複合体のいくつかの構成要素は、腫瘍抑制因子として機能する（参照により本明細書に組み込まれるＲｅｉｓｍａｎ，Ｏｎｃｏｇｅｎｅ　２８：１６５３－１６６８，２００９を参照されたい）。ＢＡＦ複合体遺伝子は、ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＲＩＤ１Ｂ、ＡＲＩＤ２、ＳＭＡＲＣＡ２、ＳＭＡＲＣＡ４、ＳＭＡＲＣＢ１、ＳＭＡＲＣＣ２、ＳＭＡＲＣＣ１、ＳＭＡＲＣＤ１、ＳＭＡＲＣＤ２及びＳＭＡＲＣＤ３、ＳＭＡＲＣＥ１、ＡＣＴＬ６Ａ及びＡＣＴＬ６Ｂ、並びにＰＢＲＭ１を含むが、これらに限定されない。

【００３２】

本発明において、ＡＲＩＤ１Ａへの言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１１１０を有するＡＴリッチ相互作用ドメイン１Ａを示す。ＡＲＩＤ１ＡについてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＡＲＩＤ１Ａ核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及び

ラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１１１０で見つけることができる。ＡＲＩＤ１Ａは、ヒトの癌で頻繁に欠失している領域である［１７］、１ｐ３６．１１［１５］に位置する。

【００３３】

本発明において、ＡＲＩＤ１Ｂへの言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１８０４０を有するＡＴリッチ相互作用ドメイン１Ｂを示す。ＡＲＩＤ１ＢについてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＡＲＩＤ１Ｂ核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１８０４０で見つけることができる。

【００３４】

本発明において、ＡＲＩＤ２への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１８０３７を有するＡＴリッチ相互作用ドメイン２を示す。ＡＲＩＤ２についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＡＲＩＤ２核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１８０３７で見つけることができる。

【００３５】

本発明において、ＳＭＡＲＣＡ２への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１０９８を有する、ＳＷＩ／ＳＮＦ関連マトリックス結合アクチン依存性クロマチン調節因子のサブファミリーメンバー２を示す。ＳＭＡＲＣＡ２についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＭＡＲＣＡ２核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１０９８で見つけることができる。

【００３６】

本発明において、ＳＭＡＲＣＡ４への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１１００を有する、ＳＷＩ／ＳＮＦ関連マトリックス結合アクチン依存性クロマチン調節因子のサブファミリーメンバー４を示す。ＳＭＡＲＣＡ４についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＭＡＲＣＡ４核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１１００で見つけることができる。

【００３７】

本発明において、ＳＭＡＲＣＢ１への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１１０３を有する、ＳＷＩ／ＳＮＦ関連マトリックス結合アクチン依存性クロマチン調節因子のサブファミリーｂメンバー１を示す。ＳＭＡＲＣＢ１についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＭＡＲＣＢ１核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１１０３で見つけることができる。

【００３８】

本発明において、ＳＭＡＲＣＣ１への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１１０４を有する、ＳＷＩ／ＳＮＦ関連マトリックス結合アクチン依存性クロマチン調節因子のサブファミリーｃメンバー１を示す。ＳＭＡＲＣＣ１についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＭＡＲＣＣ１核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１１０４で見つけることができる。

【００３９】
本発明において、ＳＭＡＲＣＣ２への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１１０５を有する、ＳＷＩ／ＳＮＦ関連マトリックス結合アクチン依存性クロマチン調節因子のサブファミリーｃメンバー２を示す。ＳＭＡＲＣＣ２についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＭＡＲＣＣ２核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１１０５で見つけることができる。
【００４０】
本発明において、ＳＭＡＲＣＤ１への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１１０６を有する、ＳＷＩ／ＳＮＦ関連マトリックス結合アクチン依存性クロマチン調節因子のサブファミリーｄメンバー１を示す。ＳＭＡＲＣＤ１についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＭＡＲＣＤ１核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１１０６で見つけることができる。
【００４１】
本発明において、ＳＭＡＲＣＤ２への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１１０７を有する、ＳＷＩ／ＳＮＦ関連マトリックス結合アクチン依存性クロマチン調節因子のサブファミリーｄメンバー２を示す。ＳＭＡＲＣＤ２についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＭＡＲＣＤ２核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１１０７で見つけることができる。
【００４２】
本発明において、ＳＭＡＲＣＤ３への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１１０８を有する、ＳＷＩ／ＳＮＦ関連マトリックス結合アクチン依存性クロマチン調節因子のサブファミリーｄメンバー３を示す。ＳＭＡＲＣＤ３についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＭＡＲＣＤ３核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１１０８で見つけることができる。
【００４３】
本発明において、ＳＭＡＲＣＥ１への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１１０９を有する、ＳＷＩ／ＳＮＦ関連マトリックス結合アクチン依存性クロマチン調節因子のサブファミリーｅメンバー１を示す。ＳＭＡＲＣＥ１についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＭＡＲＣＥ１核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１１０９で見つけることができる。
【００４４】
本発明において、ＡＣＴＬ６Ａへの言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：２４１２４を有するアクチン様６Ａを示す。ＡＣＴＬ６ＡについてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＡＣＴＬ６Ａ核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：２４１２４で見つけることができる。
【００４５】
本発明において、ＡＣＴＬ６Ｂへの言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１６０を有するアクチン様６Ａを示す。ＡＣＴＬ６ＢについてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＡＣＴＬ６

Ｂ核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１６０で見つけることができる。

【００４６】

本発明において、ＰＢＲＭ１への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：３００６４を有するポリブロモ１を示す。ＰＢＲＭ１についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＰＢＲＭ１核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：３００６４で見つけることができる。

【００４７】

滑膜肉腫と関連する以下の遺伝子に遺伝子転位欠陥を有する癌

滑膜肉腫（ＳＳ）は、主に青年及び若年成人（ＡＹＡ）に影響を与える、高悪性度で治療が困難な種類の軟部組織肉腫である。ＳＳは予後が不良で治療選択が限られている（Ｎｉｅｌｓｅｎ、Ｐｏｕｌｉｎら、２０１５）が、ほとんどの場合、局在性ＳＳは、時々化学療法又は放射線療法と組み合わせて、手術で治療される。この設定における化学療法は、通常、ドキソルビシン又はイホスファミドからなる（Ｓｐｕｒｒｅｌｌ、Ｆｉｓｈｅｒら、２００５）。進行した転移性ＳＳを有する患者は、特に長期生存率が不良である。例えば、遠隔転移を有するものは、局所腫瘍を有する患者の６９％と比較して、わずか８．９％の１０年生存率を有する（Ｓｕｌｔａｎ、Ｒｏｄｒｉｇｕｅｚ－Ｇａｌｉｎｄｏら、２００９）。まとめると、これらの要因は、ＳＳに対する追加の、より特異的な標的化治療手法がこの病気を効果的に管理するのに必要であることを強調する。

【００４８】

滑膜肉腫と関連する遺伝子における転位はＢＡＦ複合体欠損も引き起こすことが知られているように、そのような遺伝子転位欠陥を含有する細胞系がＡＴＲ阻害剤に感受性であることが実験によって実証されたので、本発明はＡＴＲ阻害剤での滑膜肉腫の治療に及ぶ。実験は、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ（ＡＴＲ）を標的にするｓｓＲＮＡｉ分子に対し細胞株が感受性であるので、この効果は一般的であることを実証する。

【００４９】

ＳＳの圧倒的大部分は、ｔ（Ｘ；１８）染色体転位によって特徴付けられ、それは疾患の診断バイオマーカーとして使用される（Ｃｌａｒｋ，Ｒｏｃｑｕｅｓら、１９９４）。ＳＳにおいて、ｔ（Ｘ；１８）転位は、ＳＳ１８遺伝子（滑膜肉腫転位、染色体１８）遺伝子の最初の１０個のエクソンを、ＳＳＸ（滑膜肉腫、Ｘブレークポイント）ファミリーの遺伝子である、ＳＳＸ１、ＳＳＸ２又はＳＳＸ４のうちの１つの最後の３つのエクソンに融合する（Ｃｌａｒｋ，Ｒｏｃｑｕｅｓら、１９９４、Ａｍａｒｙ，Ｂｅｒｉｓｈａら、２００７）。これらの転位は、ＳＳ１８－ＳＳＸ１、ＳＳ１８－ＳＳＸ２、又はＳＳ１８－ＳＳＸ４融合タンパク質のいずれかをコードし、それらの各々は腫瘍の発達を促進するのに十分であると思われる。例えば、ＳＳ１８－ＳＳＸ１又はＳＳ１８－ＳＳＸ２のいずれかは、トランスジェニックマウスにてＭｙｆ５筋芽細胞系列の細胞で発現される場合、１００％の浸透度で腫瘍を生じさせるのに十分である（Ｈａｌｄａｒ，Ｈａｎｃｏｃｋら、２００７、Ｊｏｎｅｓ，Ｂａｒｒｏｔｔら、２０１６）。細胞遺伝学的に、ＳＳ腫瘍は、ＳＳ１８－ＳＳＸ転位に加えて、著しく少ない再発変異を示し（Ｖｌｅｎｔｅｒｉｅ，Ｈｉｌｌｅｂｒａｎｄｔら、２０１５）、腫瘍形成が融合遺伝子単独により駆動されるという仮説を支持する。いくつかの研究は、ＳＳ腫瘍がゲノム不安定性を示すことを実証し、これは成人患者及び進行した転移性疾患を有する患者においてより一般的であると思われる（Ｌａｇａｒｄｅ，Ｐｒｚｙｂｙｌら、２０１３、Ｐｒｙｚｂｙｌ，Ｓｃｉｏｔら、２０１４、Ｖｌｅｎｔｅｒｉｅ，Ｈｉｌｌｅｂｒａｎｄｔら、２０１５）。

【００５０】

ＳＳ１８及びＳＳＸタンパク質はいかなる既知のＤＮＡ結合ドメインも含有していないが、両方の野生型タンパク質は、転写の調節に関与している（ｄｅ　Ｂｒｕｉｊｎ，Ａｌｌａｎｄｅｒら、２００６、Ｇａｒｃｉａ，Ｓｈａｆｆｅｒら、２０１２、Ｇａｒｃｉａ，Ｓｈａｆｆｅｒら、２０１２、Ｋａｄｏｃｈ及びＣｒａｂｔｒｅｅ２０１３）。少なくとも部分的に、ＳＳ１８の転写機能は、ＢＡＦ　ＳＷＩ／ＳＮＦ複合体の一部としての役割に関連する可能性がある（Ｔｈａｅｔｅ、Ｂｒｅｔｔら、１９９９、Ｎａｇａｉ，Ｔａｎａｋａら、２００１）。ＢＡＦ複合体は、転写を制御すると考えられているＡＴＰ依存性プロセスを介してヌクレオソームのリモデリングを媒介する（Ｗｉｌｓｏｎ及びＲｏｂｅｒｔｓ、２０１１、Ｓｍｉｔｈ－Ｒｏｅ，Ｎａｋａｍｕｒａら、２０１５）だけでなく、ＤＮＡ修復を含む他の様々なプロセスにおいて役割を有する（Ｓｈｅｎ，Ｐｅｎｇら、２０１５、Ｓｍｉｔｈ－Ｒｏｅ，Ｎａｋａｍｕｒａら、２０１５）。野生型ＳＳ１８タンパク質は、ＳＭＡＲＣＡ４、ＡＲＩＤ１Ａ及びＳＭＡＲＣＢ１を含む、ＢＡＦ複合体の複数の他の要素と相互作用する。ＳＳ１８－ＳＳＸ融合によって引き起こされるこれらの相互作用の変化は、滑膜肉腫の病因においても役割を果たしている可能性がある（Ｍｉｄｄｅｌｊａｎｓ，Ｗａｎら、２０１２、Ｋａｄｏｃｈ及びＣｒａｂｔｒｅｅ、２０１３）。例えば、ＳＳ１８－ＳＳＸ１融合タンパク質はＢＡＦと相互作用するが、野生型ＳＳ１８タンパク質及び追加のＢＡＦ構成要素であるＳＭＡＲＣＢ１をＢＡＦ複合体から移動させる（Ｋａｄｏｃｈ及びＣｒａｂｔｒｅｅ、２０１３）。

【００５１】

ＢＡＦからのＳＭＡＲＣＢ１の移動は、そのプロテアソーム分解をもたらし、ＢＡＦ関連ＳＭＡＲＣＢ１のレベルの低下は滑膜肉腫細胞株及び腫瘍に特徴的である（Ｋａｄｏｃｈ及びＣｒａｂｔｒｅｅ，２０１３、Ｉｔｏ，Ａｓａｎｏら、２０１５）。ＢＡＦ複合体からのＳＭＡＲＣＢ１の喪失は、遺伝子発現の改変された調節とも関連する。例えば、初代ヒト新生児線維芽細胞において、ＳＳ１８－ＳＳＸ１の発現及びその後のＳＭＡＲＣＢ１の喪失は、ＳＲＹ関連ＨＭＧボックス（ＳＯＸ）ファミリー転写因子をコードするＳＯＸ２遺伝子（性決定領域Ｙボックス２）のプロモーターからの抑圧ポリコーム複合体の排除を引き起こす（Ｋａｄｏｃｈ及びＣｒａｂｔｒｅｅ、２０１３）。これは、滑膜肉腫細胞の生存に必要とされる、ＳＯＸ２発現を増加させる（Ｋａｄｏｃｈ及びＣｒａｂｔｒｅｅ、２０１３）。興味深いことに、ＳＭＡＲＣＢ１のホモ接合性変異又は欠失は、悪性ラブドイド腫瘍（ＭＲＴ）でのみ観察される細胞遺伝学的異常であり（Ｖｅｒｓｔｅｅｇｅ，Ｓｅｖｅｎｅｔら、１９９８、ＭｃＫｅｎｎａ，Ｓａｎｓａｍら、２００８）、ＳＭＡＲＣＢ１が腫瘍抑制遺伝子として機能できることを示唆する。複数の他のＢＡＦ複合体コード遺伝子もまた、ＡＲＩＤ１Ａ及びＳＭＡＲＣＡ４を含む癌発症に関与しており、ＢＡＦ複合体変異がヒト癌の２０％にも存在し得ることが最近示唆された（Ｋａｄｏｃｈ、Ｈａｒｇｒｅａｖｅｓら、２０１３）。

【００５２】

滑膜肉腫と関連する遺伝子転位欠陥の好ましい例としては、ＳＳＸ１、ＳＳＸ２及びＳＳ１８での欠損が挙げられる。

【００５３】

本発明において、ＳＳＸ１への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１３３５を有する滑膜肉腫Ｘブレークポイント１を示す。ＳＳＸ１についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＳＸ１核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１３３５で見つけることができる。

【００５４】

本発明において、ＳＳＸ２への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１３３６を有する滑膜肉腫Ｘブレークポイント２を示す。ＳＳＸ２についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＳＸ２核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－

ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１３３６で見つけることができる。

【００５５】

本発明において、ＳＳ１８への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１３４０を有する滑膜肉腫転位染色体１８を示す。ＳＳ１８についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＳ１８核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１３４０で見つけることができる。ＳＳ１８は、ＢＡＦ複合体の専用の安定なサブユニットであり、その異常形態は、滑膜肉腫における増殖を進行させる機能不全ＢＡＦ複合体をもたらす（Ｋａｄｏｃｈら、「滑膜肉腫におけるＳＳ１８－ＳＳＸ発癌融合によるｍＳＷＩ／ＳＮＦ（ＢＡＦ）複合体の可逆的破壊（Ｒｅｖｅｒｓｉｂｌｅ　Ｄｉｓｒｕｐｔｉｏｎ　ｏｆ　ｍＳＷＩ／ＳＮＦ（ＢＡＦ）　Ｃｏｍｐｌｅｘｅｓ　ｂｙ　ｔｈｅ　ＳＳ１８－ＳＳＸ　Ｏｎｃｏｇｅｎｉｃ　Ｆｕｓｉｏｎ　ｉｎ　Ｓｙｎｏｖｉａｌ　Ｓａｒｃｏｍａ）」、Ｃｅｌｌ　１５３．１（２０１３）：７１～８５．ＰＭＣ．Ｗｅｂ．８　Ｊａｎ．２０１６）。

【００５６】

滑膜肉腫と関連する以下の遺伝子における欠損（機能喪失変異、発現喪失）を有する癌：

本発明において、ＳＳＸ１への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１３３５を有する滑膜肉腫Ｘブレークポイント１を示す。ＳＳＸ１についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＳＸ１核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１３３５で見つけることができる。

【００５７】

本発明において、ＳＳＸ２への言及は、ＨＧＮＣ　ＩＤ：１１３３６を有する滑膜肉腫Ｘブレークポイント２を示す。ＳＳＸ２についてのＨＵＧＯ遺伝子シンボルレポートは、ＳＳＸ２核酸配列及びアミノ酸配列へのリンク、並びに相同なマウス及びラットのタンパク質への言及を提供するｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｅｎｅｎａｍｅｓ．ｏｒｇ／ｃｇｉ－ｂｉｎ／ｇｅｎｅ＿ｓｙｍｂｏｌ＿ｒｅｐｏｒｔ？ｈｇｎｃ＿ｉｄ＝ＨＧＮＣ：１１３３６で見つけることができる。

【００５８】

同様の原理により、滑膜肉腫と関連する遺伝子、特に、ＳＳＸ１及びＳＳＸ２などの、滑膜肉腫と関連する欠損を有する遺伝子の欠損（機能喪失変異、発現喪失）を有する癌もまた、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ（ＡＴＲ）阻害剤（ＡＴＲｉ）を用いて標的化され得る。特に、欠損は、ＳＳ１８－ＳＳＸ１又はＳＳ１８－ＳＳＸ２融合物をコードする転位であり得る。

【００５９】

阻害剤

本発明において、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ（ＡＴＲ）阻害剤（ＡＴＲｉ）は、ＡＴＲの発現レベル又はキナーゼ活性を阻害する化合物又は物質を指し、それはＢＡＦ複合体遺伝子が変異又は欠損した癌を治療するために本発明に従って利用されるか、又はＡＴＲ阻害剤としての使用のためにスクリーニングされてよい。いくつかの阻害剤が知られており、さらなる例としては、これらの標的に対するスクリーニング技術の適用によって見出され得る。

【００６０】

ＡＴＲ阻害化合物は、小分子、ペプチド断片、抗体若しくはその断片、又はｓｉＲＮＡであり得る。ＡＴＲｉ化合物の例として、ＡＺ２０、ＢＥＺ２３５（ＮＶＰ－ＢＥＺ２３５、ダクトリシブ）、ＥＴＰ－４６４６４、ＶＥ－８２１、ＶＥ－８２２（ＶＸ－９７０）、ＡＺＤ６７３８、ＮＵ６０２７、ＣＰ－４６６７２２、ＣＧＫ７３３、ＫＵ－６００１９、ＫＵ－５５９３３、シサンドリンＢ、及びミリンが挙げられるが、これらに限定さ

れない。特に、本明細書に提供されるデータは、小分子阻害剤又はｓｉＲＮＡ標的化ＡＴＲが、１以上のＢＡＦ複合体遺伝子が変異又は欠損した癌の種類において一般的な抗癌効果を引き起こすことができることを示唆する。あるいは、阻害剤は、中和活性を有する抗体又はその断片を含んでよい。

【００６１】

小分子阻害剤

ＡＴＲ阻害剤であり、本発明に従って使用できる小分子化合物の例としては、以下のものが挙げられる。

【００６２】

本発明において、ＡＺ２０への言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：２９３６１３４０を有する４－シクロヘキシルメトキシ－５－ニトロソピリミジン－２，６－ジアミンを示す。ＡＺ２０についてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．２９３６１３４０．ｈｔｍｌで見つけることができる。ＡＺ２０は、インビボでの抗腫瘍活性（２３）を有するＡＴＲキナーゼの選択的阻害剤である。

【００６３】

本発明において、ＢＥＺ２３５（ＮＶＰ－ＢＥＺ２３５、ダクトリシブ）への言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：１０１５１０９９を有する、２－メチル－２－｛４－（３－メチル－２－オキソ－８－（３－キノリニル）－２，３－ジヒドロ－１Ｈ－イミダゾ（４，５－ｃ）キノリン－１－イル）フェニル｝プロパンニトリルを示す。ＢＥＺ２３５についてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．１０１５１０９９．ｈｔｍｌで見つけることができる。もともと二重ＰＩ３Ｋ／ＭＴＯＲ阻害剤として開発されたＢＥＺ２３５はまた、ＡＴＲに対する実質的な活性を有している（２５）。

【００６４】

本発明において、ＥＴＰ－４６４６４への言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：２９７８５２５２を有する、２－メチル－２－｛４－（２－オキソ－９－（３－キノリニル）－２Ｈ－（１，３）オキサジノ（５，４－ｃ）キノリン－１（４Ｈ）－イル）フェニル｝プロパンニトリルを示す。ＥＴＰ－４６４６４についてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．２９７８５２５２．ｈｔｍｌで見つけることができる。ＥＴＰ－４６４６４は、ＡＴＲキナーゼ活性の阻害剤である（２５）。

【００６５】

本発明において、ＶＥ－８２１への言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：２５９９１５５５を有する、３－アミノ－６－（４－メチルスルホニルフェニル）－Ｎ－フェニルピラジン－２－カルボキサミドを示す。ＶＥ－８２１についてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．２５９９１５５５．ｈｔｍｌで見つけることができる。ＶＥ－８２１は、いくつかのＤＮＡ損傷剤の細胞毒性効果を増強するＡＴＲキナーゼの阻害剤である（６～９）。

【００６６】

本発明において、ＶＥ－８２２（ＶＸ－９７０）への言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：３０７７３９６８を有する、５－［４－（イソプロピルスルホニル）フェニル］－３－（３－｛４－［（メチルアミノ）メチル］フェニル｝－１，２－オキサゾール－５－イル）－２－ピラジンアミンを示す。ＶＥ－８２２についてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．３０７７３９６８．ｈｔｍｌで見つけることができる。ＶＥ－８２２は、現在第Ｉ相臨床試験にある特異的かつ強力なＡＴＲの阻害剤である（６）。

【００６７】

本発明において、ＡＺＤ６７３８への言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：８０５４

７８０を有する、６－［５－（３－シアノ－５－フルオロフェニル）－１，２，４－オキサジアゾール－３－イル］ニコチノニトリルを示す。ＡＺＤ６５３８についてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．８０５４７８０．ｈｔｍｌで見つけることができる。ＡＺＤ６７３８は、溶解性、薬物動態及びバイオアベイラビリティが改良されたＡＺ２０のアナログとして、強力かつ選択的なＡＴＲ阻害剤である（２６）。

【００６８】

本発明において、ＮＵ６０２７への言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：３５２９５６を有する４－シクロヘキシルメトキシ－５－ニトロソピリミジン－２，６－ジアミンを示す。ＮＵ６０７２７についてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．３５２９５６．ｈｔｍｌで見つけることができる。ＮＵ６０２７は、もともとＣＤＫ２阻害剤として開発されたが、ＡＴＲ活性を強力に阻害もする（２７）。

【００６９】

本発明において、ＣＰ－４６６７２２への言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：２７４４５２８３を有する、１－（６，７－ジメトキシ－４－キナゾリニル）－３－（２－ピリジニル）－１Ｈ－１，２，４－トリアゾール－５－アミンを示す。ＣＰ－４６６７２２についてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．２７４４５２８３．ｈｔｍｌで見つけることができる。

【００７０】

本発明において、ＣＧＫ７３３への言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：５０３７５１２を有する、２，２－ジフェニル－Ｎ－（２，２，２－トリクロロ－１－｛［（４－フルオロ－３－ニトロフェニル）カルバモチオイル］アミノ｝エチル）アセトアミドを示す。ＣＧＫ７３３についてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．５０３７５１２．ｈｔｍｌで見つけることができる。ＣＧＫ７３３は、もともとＡＴＭ及びＡＴＲの阻害剤として特定され、サイクリンＤ１レベルを抑制し、細胞増殖を阻害することが示されている［２８］。

【００７１】

本発明において、ＫＵ－６００１９への言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：２８２９４９９７を有する、２－［（２Ｒ，６Ｓ）－２，６－ジメチルモルホリン－４－イル］－Ｎ－［５－［４－オキソ－６－（１－ピペリジル）ピラン－２－イル］－９Ｈ－チオキサンテン－２－イル］アセトアミドを示す。ＫＵ－６００１９についてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．２８２９４９９７．ｈｔｍｌで見つけることができる。

【００７２】

本発明において、ＫＵ－５５９３３への言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：４４４２２１８を有する、２－（モルホリン－４－イル）－６－（チアントレン－１－イル）－４Ｈ－ピラン－４－オンを示す。ＫＵ－５５９３３についてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．４４４２２１８．ｈｔｍｌで見つけることができる。

【００７３】

本発明において、ミリンへの言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：１０１６６４３を有する４－チアゾリジノン５－（ｐ－ヒドロキシベンジリデン）－２－イミノを示す。ミリンについてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．１０１６６４３．ｈｔｍｌで見つけることができる。

【００７４】

本発明において、シサンドリンＢへの言及は、ＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒ　ＩＤ：９７２２１を有する、１，２，３，１３－テトラメトキシ－６，７－ジメチル－５，６，７，８－テトラヒドロベンゾ［３’，４’］シクロオクタ［１’，２’：４，５］ベンゾ［１，２－ｄ］［１，３］ジオキソールを示す。シサンドリンＢについてのＣｈｅｍＳｐｉｄｅｒレポート及び構造は、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃｈｅｍｓｐｉｄｅｒ．ｃｏｍ／Ｃｈｅｍｉｃａｌ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ．９７２２１．ｈｔｍｌで見つけることができる。シサンドリンＢはＡＴＲの選択的阻害剤である（２９）。

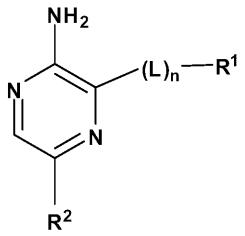
【００７５】

阻害剤の別のクラスは、式Ａ（すなわち、式Ａ－Ｉ、Ａ－Ｉ－ａ、Ａ－ＩＩ、Ａ－ＩＩ－ａなど）を含む、本明細書の式の化合物又は本明細書の式のいずれかの化合物である。

【００７６】

いくつかの実施形態において、ＡＴＲを阻害する化合物は、式Ａ－Ｉ：

【化１】



Ａ－Ｉ

（式中：

R^1は、窒素、酸素、若しくは硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有する５～６員の単環式アリール又はヘテロアリール環であり、上記単環式アリール又はヘテロアリール環は必要に応じて別の環に縮合されて、窒素、酸素、若しくは硫黄から独立して選択される０～６個のヘテロ原子を有する８～１０員の二環式アリール又はヘテロアリール環を形成し；各R^1は、１～５個のJ^1基で必要に応じて置換されており；

R^2は、窒素、酸素、若しくは硫黄から独立して選択される０～３個のヘテロ原子を有する５～６員の単環式アリール又はヘテロアリール環であり、上記単環式アリール又はヘテロアリール環は必要に応じて別の環に縮合されて、窒素、酸素、若しくは硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有する８～１０員の二環式アリール又はヘテロアリール環を形成し；各R^2は、１～５個のJ^2基で必要に応じて置換されており；

Ｌは、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ－又はＣ（Ｏ）Ｎ（$C_{1\sim6}$アルキル）－であり；

ｎは、０又は１であり；

各J^1及びJ^2は独立して、ハロ、－ＣＮ、－NO_2、－V^1－Ｒ、又は－（V^2）$_m$－Ｑであり；

V^1は、０～３個のメチレン単位がＯ、ＮＲ”、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）、又は$S(O)_2$で必要に応じてかつ独立して置換される$C_{1\sim10}$脂肪族鎖であり；V^1は、J^{V1}の１～６つの存在で必要に応じて置換されており；

V^2は、０～３個のメチレン単位が、Ｏ、ＮＲ”、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）、又は$S(O)_2$で必要に応じてかつ独立して置換される$C_{1\sim10}$脂肪族鎖であり；V^2は、J^{V2}の１～６つの存在で必要に応じて置換されており；

ｍは、０又は１であり；

Ｑは、窒素、酸素、若しくは硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有する３～８員の飽和若しくは不飽和の単環式環、又は窒素、酸素、若しくは硫黄から独立して選択される０～６個のヘテロ原子を有する９～１０員の飽和又は不飽和の二環式環であり；各Ｑは、０～５個のJ^Qで必要に応じて置換されており；

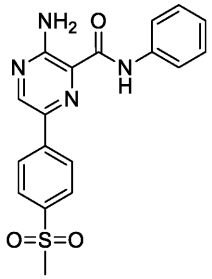
各J^{V1}又はJ^{V2}は独立して、ハロゲン、ＣＮ、NH_2、NO_2、$C_{1\sim4}$脂肪族、ＮＨ（$C_{1\sim4}$脂肪族）、Ｎ（$C_{1\sim4}$脂肪族）$_2$、ＯＨ、Ｏ（$C_{1\sim4}$脂肪族）、CO_2H、CO_2（$C_{1\sim4}$脂肪族）、Ｃ（Ｏ）NH_2、Ｃ（Ｏ）ＮＨ（$C_{1\sim4}$脂肪族）、Ｃ（Ｏ）Ｎ

（Ｃ１～４脂肪族）２、ＮＨＣＯ（Ｃ１～４脂肪族）、Ｎ（Ｃ１～４脂肪族）ＣＯ（Ｃ１～４脂肪族）、ＳＯ２（Ｃ１～４脂肪族）、ＮＨＳＯ２（Ｃ１～４脂肪族）、又はＮ（Ｃ１～４脂肪族）ＳＯ２（Ｃ１～４脂肪族）であり、上記Ｃ１～４脂肪族は必要に応じてハロで置換されており；
Ｒは、Ｈ又はＣ１～６脂肪族であり、上記Ｃ１～６脂肪族はＮＨ２、ＮＨ（Ｃ１～４脂肪族）、Ｎ（Ｃ１～４脂肪族）２、ハロゲン、Ｃ１～４脂肪族、ＯＨ、Ｏ（Ｃ１～４脂肪族）、ＮＯ２、ＣＮ、ＣＯ２Ｈ、ＣＯ２（Ｃ１～４脂肪族）、ＣＯ（Ｃ１～４脂肪族）、Ｏ（ハロＣ１～４脂肪族）、又はハロＣ１～４脂肪族の１～４つの存在で必要に応じて置換されており；
各Ｊ^{Q}は独立して、ハロ、オキソ、ＣＮ、ＮＯ２、Ｘ－Ｒ、又は－（Ｘ）ｐ－Ｑ^{4}であり；
ｐは、０又は１であり；
Ｘは、Ｃ１～１０脂肪族であり、上記Ｃ１～６脂肪族の１～３個のメチレン単位はＮＲ、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｃ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）２、又はＳ（Ｏ）で必要に応じて置換されており；
ＸはＮＨ２、ＮＨ（Ｃ１～４脂肪族）、Ｎ（Ｃ１～４脂肪族）２、ハロゲン、Ｃ１～４脂肪族、ＯＨ、Ｏ（Ｃ１～４脂肪族）、ＮＯ２、ＣＮ、ＣＯ（Ｃ１～４脂肪族）、ＣＯ２Ｈ、ＣＯ２（Ｃ１～４脂肪族）－Ｃ（Ｏ）ＮＨ２、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ（Ｃ１～４脂肪族）、Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｃ１～４脂肪族）２、ＳＯ（Ｃ１～４脂肪族）、ＳＯ２（Ｃ１～４脂肪族）、ＳＯ２ＮＨ（Ｃ１～４脂肪族）、ＳＯ２Ｎ（Ｃ１～４脂肪族）２、ＮＨＣ（Ｏ）（Ｃ１～４脂肪族）、Ｎ（Ｃ１～４脂肪族）Ｃ（Ｏ）（Ｃ１～４脂肪族）の１～４つの存在で必要に応じてかつ独立して置換されており、上記Ｃ１～４脂肪族はハロの１～３つの存在で必要に応じて置換されており；
Ｑ^{4}は、窒素、酸素、若しくは硫黄から独立して選択される０～４個のヘテロ原子を有する３～８員の飽和若しくは不飽和の単環式環であるか、又は窒素、酸素、若しくは硫黄から独立して選択される０～６個のヘテロ原子を有する８～１０員の飽和若しくは不飽和の二環式環であり；各Ｑ^{4}は、１～５個のＪ^{Q4}で必要に応じて置換されており；
Ｊ^{Q4}は、ハロ、ＣＮ、又は最大２個のメチレン単位が、Ｏ、ＮＲ＊、Ｓ、Ｃ（Ｏ）、Ｓ（Ｏ）、又はＳ（Ｏ）２で必要に応じて置換されるＣ１～４アルキルであり；
Ｒは、Ｈ又はＣ１～４アルキルであり、上記Ｃ１～４アルキルは必要に応じて１～４個のハロで置換されており：
Ｒ’、Ｒ”、及び＊Ｒは、それぞれ独立してＨ、Ｃ１～４アルキルであるか、又は存在せず；
上記Ｃ１～４アルキルは必要に応じて１～４個のハロで置換される）
で表されるか又はその医薬として許容し得る塩である。

【００７７】

いくつかの実施形態において、ＡＴＲを阻害する化合物は、化合物Ａ－１：

【化２】



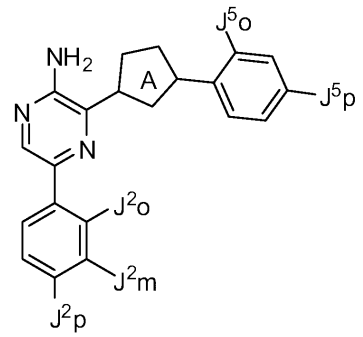
化合物Ａ－１

又はその医薬として許容し得る塩である。

【００７８】

いくつかの実施形態において、ＡＴＲを阻害する化合物は、式ＡＩ－ａ：

【化３】

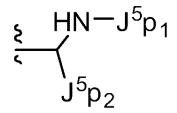


ＡＩ－ａ

（式中：
環Ａは、
【化４】



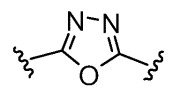
であり；
Ｊ^{5}ｏは、Ｈ、Ｆ、Ｃｌ、Ｃ$_{1～4}$脂肪族、Ｏ（Ｃ$_{1～3}$脂肪族）、又はＯＨであり；
Ｊ^{5}ｐは、
【化５】



であり；
Ｊ^{5}ｐ１は、Ｈ、Ｃ$_{1～4}$脂肪族、オキセタニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニルであり；上記Ｊ^{5}ｐ１はＯＨ又はハロの１～２つの存在で必要に応じて置換されており；
Ｊ^{5}ｐ２は、Ｈ、メチル、エチル、ＣＨ$_{2}$Ｆ、ＣＦ$_{3}$、又はＣＨ$_{2}$ＯＨであり；
Ｊ^{2}ｏは、Ｈ、ＣＮ、又はＳＯ$_{2}$ＣＨ$_{3}$であり；
Ｊ^{2}ｍは、Ｈ、Ｆ、Ｃｌ、又はメチルであり；
Ｊ^{2}ｐは、－ＳＯ$_{2}$（Ｃ$_{1～6}$アルキル）、－ＳＯ$_{2}$（Ｃ$_{3～6}$シクロアルキル）、－ＳＯ$_{2}$（４～６員のヘテロシクリル）、－ＳＯ$_{2}$（Ｃ$_{1～4}$アルキル）Ｎ（Ｃ$_{1～4}$アルキル）$_{2}$、又は－ＳＯ$_{2}$（Ｃ$_{1～4}$アルキル）－（４～６員のヘテロシクリル）であり、上記ヘテロシクリルは酸素、窒素、又は硫黄から選択される１個のヘテロ原子を含有し；上記Ｊ^{2}ｐはハロ、ＯＨ、又はＯ（Ｃ$_{1～4}$アルキル）の１～３つの存在で必要に応じて置換される）又はその医薬として許容し得る塩で表される。

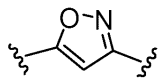
【００７９】

いくつかの実施形態において、環Ａは、
【化６】



である。いくつかの実施形態において、環Ａは

【化７】

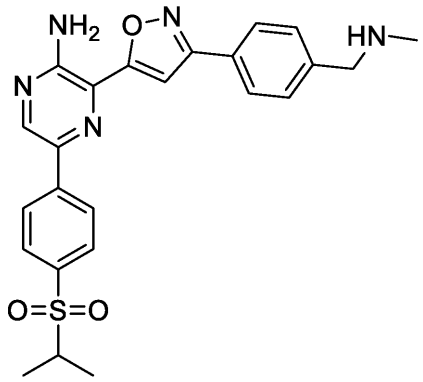


である。

【００８０】

いくつかの実施形態において、ＡＴＲを阻害する化合物は、化合物Ａ－２：

【化８】



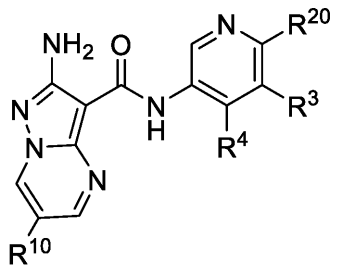
化合物Ａ－２

又はその医薬として許容し得る塩である。

【００８１】

いくつかの実施形態において、ＡＴＲを阻害する化合物は、化合物Ａ－ＩＩ：

【化９】



Ａ－ＩＩ

（式中：

R^{10}は、フルオロ、クロロ、又は－Ｃ（J^{10}）$_2$ＣＮから独立して選択され；

J^{10}は、Ｈ又は$C_{1\sim2}$アルキルから独立して選択されるか；又は

それらが結合している炭素原子と共にJ^{10}の２つの存在は、必要に応じて置換される３～４員の炭素環を形成し；

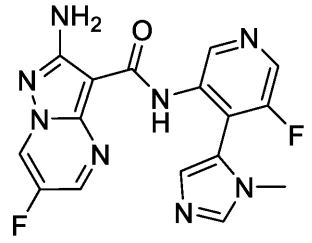
R^{20}は、Ｈ、ハロ、－ＣＮ、NH_2、フルオロの０～３つの存在で必要に応じて置換される$C_{1\sim2}$アルキル、又は脂肪族鎖の最大２個のメチレン単位が－Ｏ－、－ＮＲ^a－、－Ｃ（Ｏ）－、又はＳ（Ｏ）$_z$で必要に応じて置換される$C_{1\sim3}$脂肪族鎖から独立して選択され；

R^3は、Ｈ、ハロ、ハロの１～３つの存在で必要に応じて置換される$C_{1\sim4}$アルキル、$C_{3\sim4}$シクロアルキル、－ＣＮ、又は脂肪族鎖の最大２個のメチレン単位が－Ｏ－、－ＮＲ^2－、－Ｃ（Ｏ）－、又はＳ（Ｏ）$_z$で必要に応じて置換される$C_{1\sim3}$脂肪族鎖から独立して選択され；

R^4は、Q^1、又は脂肪族鎖の最大４個のメチレン単位が－Ｏ－、－ＮＲ^a－、－Ｃ（Ｏ）－、若しくはＳ（Ｏ）$_z$で必要に応じて置換される$C_{1\sim10}$脂肪族鎖から独立して選択さ

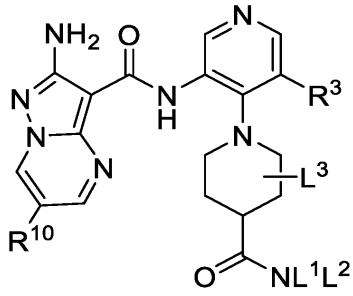
れ；各R^4はJ^{Q1}の０～５つの存在で必要に応じて置換されているか；又は
R^3及びR^4は、それらが結合している原子と共に、酸素、窒素又は硫黄から選択される０～２個のヘテロ原子を有する５～６員の芳香族又は非芳香族環を形成し；R^3及びR^4によって形成される環はJ^zの０～３つの存在で必要に応じて置換されており；
Q^1は、３～７員の完全飽和、部分不飽和、又は芳香族の単環式環、酸素、窒素若しくは硫黄から選択される０～３個のヘテロ原子を有する３～７員環、又は酸素、窒素、若しくは硫黄から選択される０～５個のヘテロ原子を有する７～１２員の完全飽和、部分不飽和、又は芳香族の二環式環から独立して選択され；
J^Zは、$C_{1～6}$脂肪族、＝Ｏ、ハロ、又は→Ｏから独立して選択され；
J^{Q1}は、－ＣＮ、ハロ、＝Ｏ、Q^2、又は$C_{1～8}$脂肪族鎖から独立して選択され、脂肪族鎖の最大３個のメチレン単位は－Ｏ－、－NR^a－、－Ｃ（Ｏ）－、又はＳ（Ｏ）$_z$－で必要に応じて置換されており；J^{Q1}の各存在はJ^Rの０～３つの存在で必要に応じて置換されるか；又は
同じ原子上のJ^{Q1}の２つの存在は、それらが結合している原子と共に、酸素、窒素、若しくは硫黄から選択される０～２個のヘテロ原子を有する３～６員環を形成し；J^{Q1}の２つの存在により形成される環はJ^Xの０～３つの存在で必要に応じて置換されるか；又はJ^{Q1}の２つの存在は、Q^1と共に、６～１０員の飽和又は部分不飽和の架橋環系を形成し；
Q^2は、酸素、窒素、若しくは硫黄から選択される０～３個のヘテロ原子を有する３～７員の完全飽和、部分不飽和、又は芳香族の単環式環、又は酸素、窒素、若しくは硫黄から選択される０～５個のヘテロ原子を有する７～１２員の完全飽和、部分不飽和、又は芳香族の二環式環から独立して選択され；
J^Rは、－ＣＮ、ハロ；＝Ｏ、→Ｏ、Q^3、又は$C_{1～6}$脂肪族鎖から独立して選択され、脂肪族鎖の最大３つのメチレン単位は－Ｏ－、－NR^a－、－Ｃ（Ｏ）－、又はＳ（Ｏ）$_z$－で必要に応じて置換されており；各J^RはJ^Tの０～３つの存在で必要に応じて、置換されるか；又は
同じ原子上のJ^Rの２つの存在は、それらが結合している原子と共に、酸素、窒素、若しくは硫黄から選択される０～２個のヘテロ原子を有する３～６員環を形成し；J^Rの２つの存在により形成される環はJ^Xの０～３つの存在で必要に応じて置換されるか；又は
J^Rの２つの存在は、Q^2と共に、６～１０員の飽和又は部分不飽和の架橋環系を形成し；
Q^3は、酸素、窒素、若しくは硫黄から選択される０～３個のヘテロ原子を有する３～７員の完全飽和、部分不飽和；若しくは芳香族の単環式環、又は酸素、窒素、若しくは硫黄から選択される０～５個のヘテロ原子を有する７～１２員の完全飽和、部分不飽和、又は芳香族の二環式環であり；
J^Xは、－ＣＮ、＝Ｏ、ハロ、又は$C_{1～4}$脂肪族鎖から独立して選択され、脂肪族鎖の最大２個のメチレン単位は－Ｏ－、－NR^a－、－Ｃ（Ｏ）－、又はＳ（Ｏ）$_z$－で必要に応じて置換されており；
J^Tは、ハロ、－ＣＮ、→Ｏ、＝Ｏ、－ＯＨ、$C_{1～6}$脂肪族鎖から独立して選択され、脂肪族鎖の最大２個のメチレン単位は、－Ｏ－、－NR^a－、－Ｃ（Ｏ）－、又はＳ（Ｏ）$_z$－；又は酸素、窒素、若しくは硫黄から選択される０～２個のヘテロ原子を有する３～６員の非芳香族環で必要に応じて置換されており；J^Tの各存在はJ^Mの０～３つの存在で必要に応じて置換されるか；又は
同じ原子上のJ^Tの２つの存在は、それらが結合する原子と共に、酸素、窒素、又は硫黄から選択される０～２個のヘテロ原子を有する３～６員環を形成するか；又は
J^Tの２つの存在は、Q^3と共に、６～１０員の飽和又は部分不飽和の架橋環系を形成し；
J^Mは、ハロ又は$C_{1～6}$脂肪族から独立して選択され；
Ｊは、Ｈ又はＣｌであり；
ｚは、０、１又は２であり；
R^aは、Ｈ又は$C_{1～4}$脂肪族から独立して選択される）
又はその医薬として許容し得る塩で表される。

【００８２】
いくつかの実施形態において、Ｒ^{1}及びＲ^{3}はフルオロである。いくつかの実施形態において、Ｒ^{4}はＱ^{1}である。いくつかの実施形態において、Ｑ^{1}は、ピペリジニル及びイミダゾリルから独立して選択される。
【００８３】
いくつかの実施形態において、ＡＴＲを阻害する化合物は、化合物Ａ－３：
【化１０】



化合物Ａ－３

又はその医薬として許容し得る塩である。
【００８４】
いくつかの実施形態において、ＡＴＲを阻害する化合物は、式Ａ－ＩＩ－ａ：
【化１１】



Ａ－ＩＩ－ａ

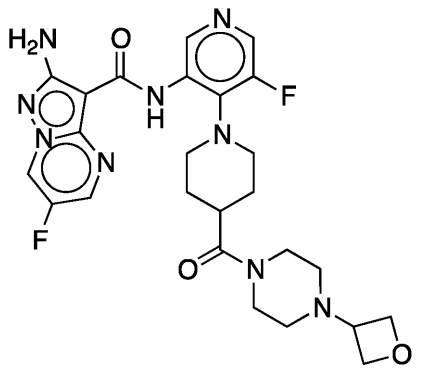
（式中：
Ｒ^{10}は、クロロ、フルオロ、又は－Ｃ（Ｊ^{10}）$_{2}$ＣＮから独立して選択され；
Ｊ^{10}は、Ｈ又はＣ$_{1\sim2}$アルキルから独立して選択されるか；又は
Ｊ^{1}の２つの存在は、それらが結合している炭素原子と共に、必要に応じて置換される３～４員の炭素環を形成し；
Ｒ^{3}は、Ｈ、クロロ、フルオロ；ハロの１～３つの存在で必要に応じて置換されるＣ$_{1\sim4}$アルキル、Ｃ$_{3\sim4}$シクロアルキル、－ＣＮ、又はＣ$_{1\sim3}$脂肪族鎖から独立して選択され、脂肪族鎖の最大２個のメチレン単位は－Ｏ－、－ＮＲ^{a}－、－Ｃ（Ｏ）－、又は－Ｓ（Ｏ）$_{z}$で必要に応じて置換されており；
Ｌ^{1}は、Ｈ；酸素、窒素若しくは硫黄から選択される０～２個のヘテロ原子を有する３～７員の芳香族又は非芳香族環；又はＣ$_{1\sim6}$脂肪族鎖であり、脂肪族鎖の最大２個のメチレン単位は－Ｏ－、－ＮＲ^{a}－、－Ｃ（Ｏ）－、又は－Ｓ（Ｏ）$_{z}$で必要に応じて置換されており；各Ｌ^{1}はＣ$_{1\sim4}$脂肪族、－ＣＮ、ハロ、－ＯＨ；又は酸素、窒素、若しくは硫黄から選択される０～２個のヘテロ原子を有する３～６員の非芳香族環で必要に応じて置換されており；
Ｌ^{2}は、Ｈ；酸素、窒素若しくは硫黄から選択される０～２個のヘテロ原子を有する３～７員の芳香族又は非芳香族環；又はＣ$_{1\sim6}$脂肪族鎖であり、脂肪族鎖の最大２個のメチレン単位は－Ｏ－、－ＮＲ^{a}－、－Ｃ（Ｏ）－、又は－Ｓ（Ｏ）$_{z}$で必要に応じて置換されており；
各Ｌ^{2}は、Ｃ$_{1\sim4}$脂肪族、－ＣＮ、ハロ、－ＯＨ；又は酸素、窒素、若しくは硫黄から選択される０～２個のヘテロ原子を有する３～６員の非芳香族環で必要に応じて置換される

か；又は
L^1及びL^2は、それらが結合している窒素と共に、環Ｄを形成し；環ＤはJ^Gの０～５の存在で必要に応じて置換されており；
L^3は、Ｈ、$C_{1～3}$脂肪族、又はＣＮであり；
環Ｄは、酸素、窒素若しくは硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する３～７員のヘテロシクリル環；又は酸素、窒素若しくは硫黄から選択される１～５個のヘテロ原子を有する７～１２員の完全飽和又は部分不飽和の二環式環から独立して選択され；
J^Gは、ハロ、－ＣＮ、－Ｎ（Ｒ°）$_2$、→Ｏ、３～６員のカルボシクリル；酸素、窒素若しくは硫黄から選択される１～２個のヘテロ原子を有する３～６員のヘテロシクリル；又は$C_{1～4}$アルキル鎖から独立して選択され、アルキル鎖の最大２個のメチレン単位は－Ｏ－、－ＮＲ^a－、－Ｃ（Ｏ）－、又は－Ｓ（Ｏ）$_z$で必要に応じて置換されており；各J^Gは、J^Kの０～２つの存在で必要に応じて置換されており；
同じ原子上のJ^Gの２つの存在は、それらが結合している原子と共に、酸素、窒素若しくは硫黄から選択される０～２個のヘテロ原子を有する３～６員環を形成するか；又は
J^Gの２つの存在は、環Ｄと共に、６～１０員の飽和又は部分不飽和の架橋環系を形成し；
J^Kは、酸素、窒素、若しくは硫黄から選択される０～２個のヘテロ原子を有する３～７員の芳香族又は非芳香族環であり；
ｚは、０、１、又は２であり；
Ｒ^{a}及びＲ°は、Ｈ又は$C_{1～4}$アルキルである）
又はその医薬として許容し得る塩で表される。

【００８５】
いくつかの実施形態において、R^1及びR^3は、フルオロである。

【００８６】
いくつかの実施形態において、ＡＴＲを阻害する化合物は、化合物Ａ－４：

【化１２】

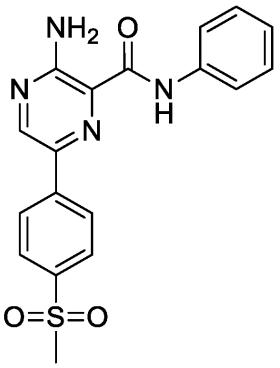


化合物Ａ－４

又はその医薬として許容し得る塩である。

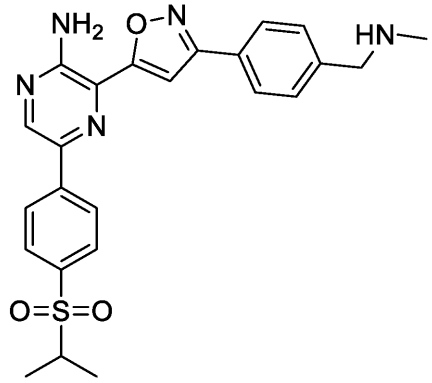
【００８７】
いくつかの実施形態において、ＡＴＲを阻害する化合物は、

【化１３】



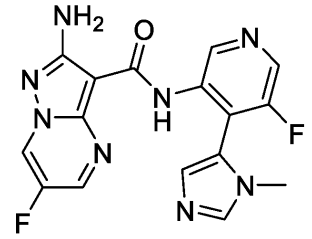
化合物Ａ－１

【化１４】



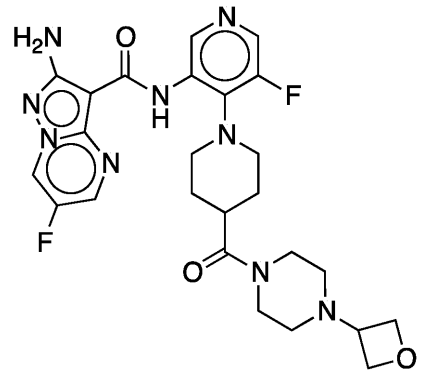
化合物Ａ－２

【化１５】



化合物Ａ－３

【化１６】



化合物Ａ－４

又はその医薬として許容し得る塩である。

【００８８】

上記のＡＴＲ化合物は、当技術分野で公知の、例えば、ＷＯ２０１５／１８７４５１、ＷＯ２０１５／０８５１３２、ＷＯ２０１４／０８９３７９、ＷＯ２０１４／０８９３７

９、ＷＯ２０１４／１４３２４２、ＷＯ２０１４／１４３２４１、ＷＯ２０１５／０８４３８４、ＷＯ２０１４／１４３２４０、ＷＯ２０１３／０７１０９４、ＷＯ２０１３／０７１０９３、ＷＯ２０１３／０７１０９０、ＷＯ２０１３／０７１０８８、ＷＯ２０１３／０４９８５９、ＷＯ２０１３／０４９７１９、ＷＯ２０１３／０４９７２０、ＷＯ２０１３／０４９７２２、ＷＯ２０１３／０７１０８５、ＷＯ２０１３／０４９７２６、ＷＯ２０１２／１７８１２５、ＷＯ２０１２／１７８１２４、ＷＯ２０１２／１７８１２３、ＷＯ２０１２／１３８９３８、ＷＯ２０１２／１３８９３８、ＷＯ２０１１／１６３５２７、ＷＯ２０１１／１４３４２３、ＷＯ２０１１／１４３４２６、ＷＯ２０１１／１４３４２５、ＷＯ２０１１／１４３４２２、ＷＯ２０１１／１４３４１９、ＷＯ２０１１／１４３３９９、ＷＯ２０１０／０５４３９８及びＷＯ２０１０／０７１８３７の任意の適切な方法によって調製できる。

【００８９】

本発明で利用できるＡＴＲ阻害剤の他の例は、ＷＯ２０１５／１８７４５１、ＷＯ２０１５／０８５１３２、ＷＯ２０１５／１８７４５１、ＷＯ２０１５／０８５１３２、ＷＯ２０１４／０８９３７９、ＷＯ２０１４／０８９３７９、ＷＯ２０１４／１４３２４２、ＷＯ２０１４／１４３２４１、ＷＯ２０１５／０８４３８４、ＷＯ２０１４／１４３２４０、ＷＯ２０１４／０８９３７９、ＷＯ２０１３／０７１０９４、ＷＯ２０１３／０７１０９３、ＷＯ２０１３／０７１０９０、ＷＯ２０１３／０７１０８８、ＷＯ２０１３／０４９８５９、ＷＯ２０１３／０４９７１９、ＷＯ２０１３／０４９７２０、ＷＯ２０１３／０４９７２２、ＷＯ２０１３／０７１０８５、ＷＯ２０１３／０４９７２６、ＷＯ２０１２／１７８１２５、ＷＯ２０１２／１７８１２４、ＷＯ２０１２／１７８１２３、ＷＯ２０１２／１３８９３８、ＷＯ２０１２／１３８９３８、ＷＯ２０１１／１６３５２７、ＷＯ２０１１／１４３４２３、ＷＯ２０１１／１４３４２６、ＷＯ２０１１／１４３４２５、ＷＯ２０１１／１４３４２２、ＷＯ２０１１／１４３４１９、ＷＯ２０１１／１４３３９９、ＷＯ２０１０／０５４３９８及びＷＯ２０１０／０７１８３７に記載の化合物を含んでよく、全てのそのような化合物及び化合物の式は、参照により本明細書に組み込まれる。

【００９０】

本出願の目的のために、J^{Q}の２つの存在がQ^{1}と共に架橋環系を形成する場合、J^{Q}の２つの存在はQ^{1}の別の原子に結合されることが理解される。また、J^{R}の２つの存在がQ^{2}と共に架橋環系を形成する場合、J^{R}の２つの存在はQ^{2}の別の原子に結合される。さらに、J^{T}の２つの存在がQ^{3}と共に架橋環系を形成する場合、J^{T}の２つの存在はQ^{3}の別の原子に結合される。さらに、J^{W}の２つの存在がＷと共に架橋環系を形成する場合、J^{W}の２つの存在はＷの別の原子に結合される。最後に、J^{G}の２つの存在が環Ｄと共に架橋環系を形成する場合、J^{G}の２つの存在は環Ｄの別の原子に結合される。

【００９１】

→Ｏにおける矢印は配位結合を表すことを、当業者なら理解している。

【００９２】

本発明の化合物は、一般に本明細書に記載されるものを含み、本明細書に開示されるクラス、サブクラス、及び種によってさらに例示される。本明細書で使用する場合、特に明記しない限り、以下の定義が適用される。本発明の目的のために、化学元素は元素の周期表、ＣＡＳバージョン、化学と物理のハンドブック、第７５版に従って特定される。さらに、有機化学の一般原則は、「有機化学」、Ｔｈｏｍａｓ Ｓｏｒｒｅｌｌ，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｂｏｏｋｓ，Ｓａｕｓａｌｉｔｏ：１９９９、及び「マーチの最新有機化学」、第５版、Ｓｍｉｔｈ，Ｍ．Ｂ．及びＭａｒｃｈ，Ｊ．（編），Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ：２００１に記述されており、これらの全体の内容は参照により本明細書に組み込まれる。

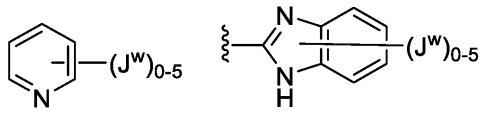
【００９３】

本明細書に記載されるように、原子の指定された数の範囲は、その中の任意の整数を含む。例えば、１～４個の原子を有する基は、１、２、３、又は４個の原子を有し得る。

【００９４】
本明細書に記載されるように、本発明の化合物は、そのようなものとして一般的に本明細書に示されるか、又は本発明の特定のクラス、サブクラス、及び種によって例示されるように、必要に応じて１以上の置換基で置換されてもよい。語句「必要に応じて置換される」は、語句「置換される又は置換されない」と互換的に使用されることを理解されたい。一般に、用語「置換」は、用語「必要に応じて」が先行するかしないかに関わらず、所定の構造中の水素ラジカルの、特定の置換基のラジカルとの置換を指す。特に明記しない限り、必要に応じて置換される基は、基の各置換可能な位置で置換基を有してよく、任意の所定の構造における１以上の位置が特定の基から選択される２以上の置換基で置換され得る場合、置換基は、全ての位置で同じであるか、又は異なっていてよい。本発明によって想定される置換基の組み合わせは好ましくは、安定な化合物又は化学的に実現可能な化合物の形成をもたらすものである。

【００９５】
特に断りのない限り、環の中心から引き出される結合によって連結される置換基は、置換基が環の任意の位置に結合できることを意味する。以下の実施例ｉにおいて、例えば、J^Wは、ピリジル環上の任意の位置に結合できる。二環式環については、両方の環を通って引き出される結合は、二環式環の任意の位置から結合できることを示す。以下の実施例ｉｉにおいて、例えば、J^Wは、（例えば、窒素原子上の）５員環、及び６員環に結合され得る。

【化１７】



ｉ　　ｉｉ

【００９６】
本明細書で使用する用語「安定な」は、本明細書に開示される目的の１以上のためにそれらの製造、検出、収集、精製、及び使用を可能にする条件に供されたときに、実質的に変更されない化合物を指す。いくつかの実施形態において、安定な化合物又は化学的に実現可能な化合物は、４０℃以下の温度に保たれたとき、少なくとも１週間、水分又は他の化学的に反応性のある条件の非存在下で、実質的に変更されないものである。

【００９７】
本明細書で使用する用語「供与結合」は、分子種間の相互作用時に形成される配位結合として定義され、それらの一方は、形成される複合体内で共有される電子対のドナーとして機能し、他方は受容体として機能する。

【００９８】
本明細書で使用する用語「脂肪族」又は「脂肪族基」は、完全に飽和しているか又は分子の残りへの単一の結合点を有する１以上の不飽和単位を含有する直鎖状（すなわち、非分枝状）、分枝状、若しくは環状の、置換された又は置換されない炭化水素鎖を意味する。

【００９９】
特に指定しない限り、脂肪族基は、１～２０個の脂肪族炭素原子を含有する。いくつかの実施形態において、脂肪族基は、１～１０個の脂肪族炭素原子を含有する。他の実施形態において、脂肪族基は、１～８個の脂肪族炭素原子を含有する。さらに他の実施形態において、脂肪族基は、１～６個の脂肪族炭素原子を含有し、さらに他の実施形態において、脂肪族基は、１～４個の脂肪族炭素原子を含有する。脂肪族基は、直鎖状又は分枝状の、置換された又は置換されないアルキル、アルケニル、又はアルキニル基であり得る。具体的な例としては、メチル、エチル、イソプロピル、ｎ－プロピル、ｓｅｃ－ブチル、ビニル、ｎ－ブテニル、エチニル、及びｔｅｒｔ－ブチルが挙げられるが、これらに限定されない。脂肪族基はまた、環状であり得るか、又は線形若しくは分岐状の基と環状基の組

み合わせを有してよい。そのようなタイプの脂肪族基の例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、－ＣＨ$_2$－シクロプロピル、ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ（ＣＨ$_3$）－シクロヘキシルが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１００】

用語「脂環式」（又は「炭素環」又は「カルボシクリル」）は、完全に飽和しているか又は１以上の不飽和単位を含有するが、芳香族ではなく、分子の残りへの単一の結合点を有する、単環式Ｃ$_3$～Ｃ$_8$炭化水素又は二環式Ｃ$_8$～Ｃ$_{12}$炭化水素を指し、上記二環式環系中の任意の個々の環は３～７員を有する。脂環式基の例としては、シクロアルキル基及びシクロアルケニル基が挙げられるが、これらに限定されない。具体的な例としては、シクロヘキシル、シクロプロピル、及びシクロブチルが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１０１】

本明細書で使用する用語「複素環」、「ヘテロシクリル」、又は「複素環」は、１以上の環員が独立して選択されるヘテロ原子である非芳香族、単環式、二環式、又は三環式の環系を意味する。いくつかの実施形態において、「複素環」、「ヘテロシクリル」、又は「複素環式」基は、１以上の環員が酸素、硫黄、窒素、又はリンから独立して選択されるヘテロ原子である３～１４個の環員を有し、系における各環は３～７個の環員を含有する。

【０１０２】

複素環の例としては、３－１Ｈ－ベンゾイミダゾール－２－オン、３－（１－アルキル）－ベンゾイミダゾール－２－オン、２－テトラヒドロフラニル、３－テトラヒドロフラニル、２－テトラヒドロチオフェニル、３－テトラヒドロチオフェニル、２－モルホリノ、３－モルホリノ、４－モルホリノ、２－チオモルホリノ、３－チオモルホリノ、４－チオモルホリノ、１－ピロリジニル、２－ピロリジニル、３－ピロリジニル、１－テトラヒドロピペラジニル、２－テトラヒドロピペラジニル、３－テトラヒドロピペラジニル、１－ピペリジニル、２－ピペリジニル、３－ピペリジニル、１－ピラゾリニル、３－ピラゾリニル、４－ピラゾリニル、５－ピラゾリニル、１－ピペリジニル、２－ピペリジニル、３－ピペリジニル、４－ピペリジニル、２－チアゾリジニル、３－チアゾリジニル、４－チアゾリジニル、１－イミダゾリジニル、２－イミダゾリジニル、４－イミダゾリジニル、５－イミダゾリジニル、インドリニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、ベンゾチオラン、ベンゾジチアン、及び１，３－ジヒドロイミダゾール－２－オンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１０３】

環状基（例えば、脂環式及び複素環）は、直線的に融合、架橋されるか、又はスピロ環状であり得る。

【０１０４】

用語「ヘテロ原子」は、酸素、硫黄、窒素、リン、又はケイ素（窒素、硫黄、リン、又はケイ素の任意の酸化形態；任意の塩基性窒素の四級化形態又は；複素環の置換可能な窒素、例えばＮ（３，４－ジヒドロ－２Ｈ－ピロリル中のような）、ＮＨ（ピロリジニル中のような）、又はＮＲ$^+$（Ｎ置換ピロリジニル中のような）を含む）の１以上を意味する。

【０１０５】

本明細書で使用する用語「不飽和」は、部分が１以上の不飽和単位を有することを意味する。当業者によって知られているように、不飽和基は、部分的に不飽和又は完全に不飽和であり得る。部分不飽和基の例としては、ブテン、シクロヘキセン、及びテトラヒドロピリジンが挙げられるが、これらに限定されない。完全不飽和基は、芳香族、抗芳香族、又は非芳香族であり得る。完全不飽和基の例としては、フェニル、シクロオクタテトラエン、ピリジル、チエニル、及び１－メチルピリジン－２（１Ｈ）－オンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１０６】

本明細書で使用する用語「アルコキシ」又は「チオアルキル」は、酸素原子（「アルコ

キシ」）又は硫黄原子（「チオアルキル」）を介して結合される、以前に定義されたアルキル基を指す。

【０１０７】

用語「ハロアルキル」、「ハロアルケニル」、「ハロ脂肪族」、及び「ハロアルコキシ」は、場合によっては、１以上のハロゲン原子で置換されるアルキル、アルケニル又はアルコキシを意味する。この用語は、－ＣＦ$_3$及び－ＣＦ$_2$ＣＦ$_3$などの、過フッ素化アルキル基を含む。

【０１０８】

用語「ハロゲン」、「ハロ」、及び「ハル」は、Ｆ、Ｃｌ、Ｂｒ、又はＩを意味する。

【０１０９】

単独で、又は「アリールアルキル」、「アリールアルコキシ」、又は「アリールオキシアルキル」におけるより大きな部分の一部として使用される用語「アリール」は、５～１４個の環員を有する単環式、二環式、及び三環式環系を指し、系中の少なくとも１個の環が芳香族であり、かつ系中の各環が３～７個の環員を含有する。用語「アリール」は、用語「アリール環」と互換的に使用され得る。

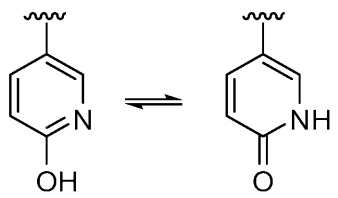
【０１１０】

単独で、又は「ヘテロアリールアルキル」又は「ヘテロアリールアルコキシ」におけるより大きな部分の一部として使用される用語「ヘテロアリール」は、５～１４個の環員を有する単環式、二環式、及び三環式環系を指し、系中の少なくとも１個の環が芳香族であり、かつ系中の各環が３～７個の環員を含有する。用語「ヘテロアリール」は、用語「ヘテロアリール環」又は用語「ヘテロ芳香族」と互換的に使用され得る。ヘテロアリール環の例としては、２－フラニル、３－フラニル、Ｎ－イミダゾリル、２－イミダゾリル、４－イミダゾリル、５－イミダゾリル、ベンズイミダゾリル、３－イソオキサゾリル、４－イソオキサゾリル、５－イソオキサゾリル、２－オキサゾリル、４－オキサゾリル、５－オキサゾリル、Ｎ－ピロリル、２－ピロリル、３－ピロリル、２－ピリジル、３－ピリジル、４－ピリジル、２－ピリミジニル、４－ピリミジニル、５－ピリミジニル、ピリダジニル（例えば、３－ピリダジニル）、２－チアゾリル、４－チアゾリル、５－チアゾリル、テトラゾリル（例えば、５－テトラゾリル）、トリアゾリル（例えば、２－トリアゾリル及び５－トリアゾリル）、２－チエニル、３－チエニル、ベンゾフリル、ベンゾチオフェニル、インドリル（例えば、２－インドリル）、ピラゾリル（例えば、２－ピラゾリル）、イソチアゾリル、１，２，３－オキサジアゾリル、１，２，５－オキサジアゾリル、１，２，４－オキサジアゾリル、１，２，３－トリアゾリル、１，２，３－チアジアゾリル、１，３，４－チアジアゾリル、１，２，５－チアジアゾリル、プリニル、ピラジニル、１，３，５－トリアジニル、キノリニル（例えば、２－キノリニル、３－キノリニル、４－キノリニル）、及びイソキノリニル（例えば、１－イソキノリニル、３－イソキノリニル、又は４－イソキノリニル）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１１】

用語「ヘテロアリール」は、２つの異なる形態間の平衡状態で存在する特定の種類のヘテロアリール環を含むことを理解されたい。より具体的には、例えば、ヒドロピリジン及びピリジノン（及び同様にヒドロキシピリミジン及びピリミジノン）などの種は、「ヘテロアリール」の定義の範囲内に包含されることが意図される。

【化１８】



【０１１２】

本明細書で使用する用語「保護基（ｐｒｏｔｅｃｔｉｎｇ　ｇｒｏｕｐ）」及び「保護基（ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ　ｇｒｏｕｐ）」は、互換的であり、複数の反応部位を有する化合物中の１以上の所望の官能基を一時的にブロックするために使用される薬剤を指す。特定の実施形態において、保護基は、以下の特性の１以上、又は好ましくは全てを有する：ａ）官能基に選択的に付加されて、良好な収率で保護基質を与える、ｂ）その保護基質は他の反応性部位の１以上で生じる反応に対して安定であり、かつｃ）再生され脱保護された官能基を攻撃しない試薬によって良好な収率で選択的に除去可能である。当業者によって理解されるように、場合によって、試薬は、化合物中の他の反応性基を攻撃しない。他の場合では、試薬は、化合物中の他の反応性基とも反応できる。保護基の例としては、Ｇｒｅｅｎｅ，Ｔ．Ｗ．，Ｗｕｔｓ，Ｐ．Ｇの「有機合成における保護基」（Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ　Ｇｒｏｕｐｓ　ｉｎ　Ｏｒｇａｎｉｃ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）、第３版、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ：１９９９（及び書籍の他の版）に詳述されており、その全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。本明細書で使用する用語「窒素保護基」は、多官能性化合物における１以上の所望の窒素反応部位を一時的にブロックするために使用される薬剤を指す。好ましい窒素保護基はまた、上記保護基について例示される特徴を有し、特定の例示的な窒素保護基は、Ｇｒｅｅｎｅ，Ｔ．Ｗ．，Ｗｕｔｓ，Ｐ．Ｇの「有機合成における保護基」（Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ　Ｇｒｏｕｐｓ　ｉｎ　Ｏｒｇａｎｉｃ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）、第３版、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ：１９９９の第７章に詳述されており、その全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０１１３】

いくつかの実施形態において、アルキル又は脂肪族鎖のメチレン単位は、必要に応じて別の原子又は基で置換される。そのような原子又は基の例としては、窒素、酸素、硫黄、－Ｃ（Ｏ）－、－Ｃ（＝－Ｎ－ＣＮ）－、－Ｃ（＝ＮＲ）－、－Ｃ（＝ＮＯＲ）－、－ＳＯ－、及び－SO_2－が挙げられるが、これらに限定されない。これらの原子又は基は、組み合わされてより大きなグループを形成できる。そのようなより大きな基の例としては、－ＯＣ（Ｏ）－、－Ｃ（Ｏ）ＣＯ－、－CO_2－、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ－、－Ｃ（＝Ｎ－ＣＮ）、－ＮＲＣＯ－、－ＮＲＣ（Ｏ）Ｏ－、－SO_2ＮＲ－、－ＮＲSO_2－、－ＮＲＣ（Ｏ）ＮＲ－、－ＯＣ（Ｏ）ＮＲ－、及び－ＮＲSO_2ＮＲ－が挙げられるが、これらに限定されず、式中、Ｒは、例えば、Ｈ又は$C_{1\sim6}$脂肪族である。これらの基は、単結合、二重結合、又は三重結合を介して脂肪族鎖のメチレン単位に結合され得るできることを理解すべきである。二重結合を介して脂肪族鎖に結合される任意の置換基の例（この場合、窒素原子）は、－CH_2－ＣＨ＝－Ｎ－CH_3であろう。場合によって、特に末端上の任意の置換は、三重結合を介して脂肪族基に結合され得る。この一例は、$CH_2CH_2CH_2$Ｃ≡Ｎである。このような状況では、末端窒素は他の原子に結合されないことを理解されたい。

【０１１４】

用語「メチレン単位」は、分岐状又は置換されたメチレン単位を指してもよいことも理解されたい。例えば、イソプロピル部分［－ＣＨ（CH_3）$_2$］において、最初に列挙した「メチレン単位」を置き換える窒素原子（例えば、ＮＲ）は、ジメチルアミン［－Ｎ（CH_3）$_2$］をもたらす。これらなどの場合には、当業者なら、窒素原子がそれに結合される任意の追加の原子を有しておらず、「ＮＲ」由来の「Ｒ」はこの場合には存在しないことを理解する。

【０１１５】

特に断りのない限り、任意選択の置換は化学的に安定な化合物を形成する。任意選択の置換は、鎖内及び／又は鎖のいずれかの末端での両方で；すなわち結合点で及び／又は末端でもの両方で生じ得る。２つの任意選択の置換はまた、それが化学的に安定な化合物を生じる限り、鎖内で互いに隣接し得る。例えば、C_3脂肪族は、必要に応じて２個の窒素原子と置換されて、－Ｃ－Ｎ≡Ｎを形成できる。任意選択の置換はまた、鎖中の炭素原子の全てを完全に置き換えてもよい。例えば、C_3脂肪族は必要に応じて、－ＮＲ－、－Ｃ

（Ｏ）－、及び－ＮＲ－で置換されて、－ＮＲＣ（Ｏ）ＮＲ－（尿素）を形成できる。

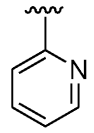
【０１１６】

特に断りのない限り、置換が末端で生じる場合、置換原子は、末端上の水素原子に結合される。例えば、－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_3$のメチレン単位が必要に応じて、－Ｏ－で置換された場合、生じる化合物は、－ＯＣＨ$_2$ＣＨ$_3$、－ＣＨ$_2$ＯＣＨ$_3$、又は－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＯＨであり得る。別の例において、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ$_3$のメチレン単位が必要に応じて、－ＮＨ－で置換された場合、生じる化合物は、－ＮＨＣＨ$_2$ＣＨ$_3$、－ＣＨ$_2$ＮＨＣＨ$_3$、又はＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＮＨ$_2$であり得る。末端原子が任意の自由原子価電子を含有しない場合、水素原子は末端で必要とされない（例えば、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ＝Ｏ又はＣＨ$_2$ＣＨ$_2$Ｃ≡Ｎ）ことを理解されたい。

【０１１７】

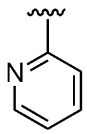
特に断りのない限り、本明細書に示される構造はまた、構造の全ての異性体（例えば、エナンチオマー、ジアステレオマー、幾何異性体、立体配座異性体、及び回転異性体）の形態を含むことを意味する。例えば、各不斉中心についてのＲ及びＳ配置、（Ｚ）及び（Ｅ）二重結合異性体、並びに（Ｚ）及び（Ｅ）配座異性体が、本発明に含まれる。当業者に理解されるように、置換基は、任意の回転可能な結合の周りを自由に回転できる。例えば、

【化１９】



として描かれる置換基はまた

【化２０】



を表す。

【０１１８】

したがって、本発明の化合物の単一の立体化学異性体並びにエナンチオマー、ジアステレオマー、幾何異性体、立体配座異性体、及び回転異性体の混合物は本発明の範囲内である。

【０１１９】

特に断りのない限り、本発明の化合物の全ての互変異性形態は、本発明の範囲内である。

【０１２０】

さらに、特に断りのない限り、本明細書に示される構造はまた、１以上の同位体濃縮原子の存在の点でのみ異なる化合物を含むことを意味する。例えば、重水素又はトリチウムによる水素の置換、又は^{13}Ｃ－又は^{14}Ｃ－濃縮炭素による炭素の置換を除いて本構造を有する化合物は、本発明の範囲内である。そのような化合物は、例えば、生物学的アッセイにおける分析ツール又はプローブとして有用である。

【０１２１】

本明細書に記載の化合物は、遊離形態として、又は適切な場合、塩として存在してよい。医薬として許容し得るそれらの塩は、医療目的のために以下に記載される化合物を投与するのに有用であるので、特に重要である。医薬として許容されない塩は、単離及び精製の目的のために、及び場合によっては、本発明の化合物の立体異性体又はその中間体を分離するのに使用するために、製造工程において有用である。

【０１２２】

医薬として許容し得る塩は、当技術分野で周知である。例えば、Ｓ．Ｍ．Ｂｅｒｇｅらは、参照により本明細書に組み込まれるＪ．Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１９７７，６６，１－１９の中で医薬として許容し得る塩について詳細に記載している。本明細書に記載の化合物の医薬として許容し得る塩は、適切な無機酸及び有機酸並び適切な無機塩基及び有機酸塩基から誘導されるものを含む。これらの塩は、化合物の最終単離及び精製中に、その場で調製されてよい。

【０１２３】

本明細書に記載の化合物が、塩基性基を、又は十分に塩基性の生物学的等価体を含有する場合、酸付加塩は、１）適切な有機酸又は無機酸と遊離塩基形態の精製化合物を反応させ、２）このように形成された塩を単離すること、により調製できる。実際には、酸付加塩は、使用のためにより都合の良い形態であり得、塩の使用は遊離塩基形態の使用に等しい。

【０１２４】

医薬として許容し得る、非毒性の酸付加塩の例は、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸及び過塩素酸などの無機酸と形成されるアミノ基の塩、又は酢酸、シュウ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸若しくはマロン酸などの有機酸と形成されるアミノ基の塩、又はイオン交換などの当技術分野で用いられる他の方法を使用することによって形成されるアミノ基の塩である。他の医薬として許容し得る塩は、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、グリコール酸塩、グルコン酸塩、グリコール酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、２－ヒドロキシ－エタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、２－ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パルモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、３－フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、サリチル酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、及び吉草酸塩などを含む。

【０１２５】

本明細書に記載の化合物がカルボキシ基又は十分に酸性の生物学的等価体を含有する場合、塩基付加塩は、１）その酸形態の精製化合物を適切な有機塩基又は無機塩基と反応させ、２）このように形成された塩を単離すること、によって調製できる。実際には、塩基付加塩の使用がより都合がよく、塩形態の使用は本質的に、遊離酸形態の使用に等しい。適切な塩基から誘導される塩は、アルカリ金属（例えば、ナトリウム、リチウム、及びカリウム）、アルカリ土類金属（例えば、マグネシウム及びカルシウム）、アンモニウム及びN^+（$C_{1\sim4}$アルキル）$_4$塩を含む。本発明はまた、本明細書に開示される化合物の任意の塩基性窒素含有基の四級化を想定する。水又は油溶性又は分散性の生成物は、このような四級化によって得ることができる。

【０１２６】

塩基付加塩は、医薬として許容し得る金属及びアミン塩を含む。適切な金属塩は、ナトリウム、カリウム、カルシウム、バリウム、亜鉛、マグネシウム、及びアルミニウムを含む。ナトリウム及びカリウム塩が通常好ましい。さらなる医薬として許容し得る塩は、適切な場合、非毒性アンモニウム、四級アンモニウム、及びハロゲン化物、水酸化物、カルボン酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩、低級アルキルスルホン酸塩及びアリールスルホン酸塩などの対イオンを用いて形成されるアミン陽イオンを含む。適切な無機塩基付加塩は、水素化ナトリウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化アルミニウム、水酸化リチウム、水酸化マグネシウム、及び水酸化亜鉛などを含む、金属塩基から調製される。適切なアミン塩基付加塩は、それらの低毒性及び医学的使用に対する

許容性のため、医薬品化学において頻繁に使用されるアミンから調製される。アンモニア、エチレンジアミン、Ｎ－メチル－グルカミン、リジン、アルギニン、オルニチン、コリン、Ｎ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、ジエタノールアミン、プロカイン、Ｎ－ベンジルフェネチルアミン、ジエチルアミン、ピペラジン、トリス（ヒドロキシメチル）－アミノメタン、水酸化テトラメチルアンモニウム、トリエチルアミン、ジベンジルアミン、エフェンアミン（ｅｐｈｅｎａｍｉｎｅ）、デヒドロアビエチルアミン、Ｎ－エチルピペリジン、ベンジルアミン、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、エチルアミン、塩基性アミノ酸、ジシクロヘキシルアミンなどが、適切な塩基付加塩の例である。

【０１２７】

他の酸及び塩基が、それ自体は医薬として許容し得るものではないが、本明細書に記載の化合物及びそれらの医薬として許容し得る酸付加塩又は塩基付加塩を得る際の中間体として有用な塩の調製に使用できる。

【０１２８】

本発明は、医薬として許容し得る異なる塩の混合物／組み合わせ並びに遊離形態の化合物と医薬として許容し得る塩の混合物／組み合わせも含むことを理解されたい。

【０１２９】

本明細書に記載の化合物はまた、医薬として許容し得る溶媒和物（例えば、水和物）及び包接化合物としても存在し得る。本明細書で使用する場合、用語「医薬として許容し得る溶媒和物」は、１以上の医薬として許容し得る溶媒分子と本明細書に記載の化合物の１つとの会合から形成される溶媒和物である。用語溶媒和物は、水和物（例えば、半水和物、一水和物、二水和物、三水和物、及び四水和物など）を含む。

【０１３０】

本明細書で使用する場合、用語「水和物」は、非共有結合分子間力によって結合される化学量論的又は非化学量論的な量の水をさらに含む、本明細書に記載の化合物又はその塩を意味する。

【０１３１】

本明細書で使用する場合、用語「包接化合物」は、その中に捕捉されたゲスト分子（例えば、溶媒又は水）を有する空間（例えば、チャネル）を含有する結晶格子の形態にある、本明細書に記載の化合物又はその塩を意味する。

【０１３２】

本明細書に記載の化合物に加えて、これらの化合物のプロドラッグを含む医薬として許容し得る誘導体もまた、本明細書で特定される障害を治療又は予防するための組成物で使用できる。

【０１３３】

ｓｉＲＮＡ阻害剤

ＰＴＥＮ変異又は欠損癌の治療に有用な阻害剤の別のクラスは、活性ポリペプチドの生成を下方制御することによって活性又は機能を阻害する、１以上のＳＷＩ／ＳＮＦ　ＢＡＦ複合体遺伝子の核酸阻害剤、又はその補体を含む。これは、実施例に記載されるように、例えばリアルタイムＰＣＲを用いるスクリーニングにより、当技術分野で周知の従来の方法を用いて監視できる。

【０１３４】

有糸分裂キナーゼの発現は、アンチセンス又はＲＮＡｉ技術を用いて阻害できる。遺伝子発現を下方制御するためのこれらの手法の使用は、現在、当技術分野において十分に確立されている。

【０１３５】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、核酸、プレｍＲＮＡ又は成熟ｍＲＮＡの相補的配列にハイブリダイズするように設計でき、塩基除去修復経路の構成要素の生成を妨害してその発現が低減又は完全に又はほぼ完全に防止されるようにする。コード配列の標的化に加えて、アンチセンス技術は、例えば５’隣接配列中の遺伝子の制御配列を標的化するため

に使用でき、それによってアンチセンスオリゴヌクレオチドが発現制御配列を干渉できる。アンチセンス配列の構築及びその使用は、例えば、Ｐｅｙｍａｎ ＆ Ｕｌｍａｎ，Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ，９０：５４３－５８４，１９９０及びＣｒｏｏｋｅ，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｔｏｘｉｃｏｌ．，３２：３２９－３７６，１９９２に記載されている。

【０１３６】

オリゴヌクレオチドが投与用にインビトロ又はエクスビボで生成されるか、又はアンチセンスＲＮＡが、下方制御が所望される細胞内で、インビボで生成されてよい。したがって、二本鎖ＤＮＡは、ＤＮＡのアンチセンス鎖の転写が標的遺伝子のセンス鎖から転写される正常ｍＲＮＡに相補的なＲＮＡをもたらすように、「逆配向」でプロモーターの制御下に置くことができる。相補的なアンチセンスＲＮＡ配列は、次いでｍＲＮＡと結合して二本鎖を形成し、標的遺伝子からタンパク質への内因性ｍＲＮＡの翻訳を阻害すると考えられている。これが実際の作用モードであるかどうかはまだ不明である。しかしながら、この技術が機能することは確立された事実である。

【０１３７】

逆向きでコード配列に対応する完全な配列を使用する必要はない。例えば、十分な長さの断片を使用できる。当業者にとって、アンチセンス阻害のレベルを最適化するために、遺伝子の様々なコード配列部分又は隣接配列部分から様々な大きさの断片をスクリーニングすることは日常的事項である。開始メチオニンＡＴＧコドン、及び開始コドンの上流のおそらく１以上のヌクレオチドを含むことが有利であり得る。適切な断片は、約１４～２３ヌクレオチド、例えば、約１５、１６又は１７個のヌクレオチドを有し得る。

【０１３８】

アンチセンスの代替物は、センスで、すなわち標的遺伝子と同じ方向で、挿入される標的遺伝子の全部又は一部のコピーを使用して、共抑制によって標的遺伝子の発現の減少を達成することである（Ａｎｇｅｌｌ ＆ Ｂａｕｌｃｏｍｂｅ，Ｔｈｅ ＥＭＢＯ Ｊｏｕｒｎａｌ １６（１２）：３６７５－３６８４，１９９７及びＶｏｉｎｎｅｔ ＆ Ｂａｕｌｃｏｍｂｅ，Ｎａｔｕｒｅ，３８９：５５３，１９９７）。二本鎖ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）は、センス又はアンチセンス鎖単独の両方よりも、遺伝子サイレンシングにおいてさらにより効果的であることが見出されている（Ｆｉｒｅら，Ｎａｔｕｒｅ ３９１，８０６－８１１，１９９８）。ｄｓＲＮＡ媒介性サイレンシングは遺伝子特異的であり、ＲＮＡ干渉（ＲＮＡｉ）と呼ばれる場合が多い。線虫、ショウジョウバエ、植物、及び哺乳動物で遺伝子を発現停止させるＲＮＡｉの使用に関する方法は、当技術分野で公知である（Ｆｉｒｅ，Ｔｒｅｎｄｓ Ｇｅｎｅｔ．，１５：３５８－３６３，１９９９；Ｓｈａｒｐ，ＲＮＡ ｉｎｔｅｒｆｅｒｅｎｃｅ，Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．１５：４８５－４９０ ２００１；Ｈａｍｍｏｎｄら，Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖ．Ｇｅｎｅｔ．２：１１０－１１１９，２００１；Ｔｕｓｃｈｌ，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２：２３９－２４５，２００１；Ｈａｍｉｌｔｏｎら，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２８６：９５０－９５２，１９９９；Ｈａｍｍｏｎｄら，Ｎａｔｕｒｅ ４０４：２９３－２９６，２０００；Ｚａｍｏｒｅら，Ｃｅｌｌ，１０１：２５－３３，２０００；Ｂｅｒｎｓｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ，４０９：３６３－３６６，２００１；Ｅｌｂａｓｈｉｒら，Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．，１５：１８８－２００，２００１；ＷＯ０１／２９０５８；ＷＯ９９／３２６１９，及びＥｌｂａｓｈｉｒら，Ｎａｔｕｒｅ，４１１：４９４－４９８，２００１）。

【０１３９】

ＲＮＡ干渉は、２段階のプロセスである。最初に、ｄｓＲＮＡは細胞内で切断されて、５’末端にリン酸及び３’に短いオーバーハング（約２ｎｔ）を有する約２１～２３ｎｔ長の低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）をもたらす。ｓｉＲＮＡは、特に破壊のために対応するｍＲＮＡ配列を標的にする（Ｚａｍｏｒｅ，Ｎａｔｕｒｅ Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ，８，９，７４６－７５０，２００１）。

【０１４０】

ＲＮＡｉはまた、３’オーバーハング末端を有する同じ構造の化学的に合成されたｓｉＲ

ＮＡ二本鎖を用いて効率的に誘導できる（Ｚａｍｏｒｅら，Ｃｅｌｌ，１０１：２５－３３，２０００）。合成ｓｉＲＮＡ二本鎖は、広い範囲の哺乳動物細胞株で内因性遺伝子及び異種遺伝子の発現を特異的に抑制することが示されている（Ｅｌｂａｓｈｉｒら，Ｎａｔｕｒｅ，４１１：４９４－４９８，２００１）。

【０１４１】

別の可能性は、特定部位で核酸を切断でき、したがって、遺伝子発現に影響を与えるのに有用なリボザイムを転写時に生成する核酸が使用されることであり、例えば、Ｋａｓｈａｎｉ－Ｓａｂｅｔ　＆　Ｓｃａｎｌｏｎ，ｃａｎｃｅｒ　Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒａｐｙ，２（３）：２１３－２２３，１９９５及びＭｅｒｃｏｌａ　＆　Ｃｏｈｅｎ，ｃａｎｃｅｒ　Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒａｐｙ，２（１）：４７－５９，１９９５を参照されたい。

【０１４２】

低ＲＮＡ分子を、遺伝子発現を調節するために用いることができる。これらは、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）によるｍＲＮＡの標的化分解、転写後の遺伝子サイレンシング（ＰＴＧ）、マイクロＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）により発生過程で調節されるｍＲＮＡの配列特異的翻訳抑制、及び標的化された転写遺伝子サイレンシングを含む。

【０１４３】

特定の染色体遺伝子座でのヘテロクロマチン複合体の標的化及びエピジェネティック遺伝子サイレンシングにおけるＲＮＡｉ機構並びに低分子ＲＮＡの役割も実証されている。ＲＮＡ干渉（ＲＮＡｉ）としても知られる二本鎖ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）依存性転写後サイレンシングは、短時間でサイレンシングするために特定の相同性遺伝子をｄｓＲＮＡ複合体が標的にできる現象である。これは、配列同一性を有するｍＲＮＡの分解を促進するためのシグナルとして作用する。２０ｎｔのｓｉＲＮＡは一般的に、遺伝子特異的サイレンシングを誘導するのに十分に長いが、宿主応答を回避するのに十分に短い。標的遺伝子生成物の発現の減少は大規模であり得、ｓｉＲＮＡのいくつかの分子によって９０％のサイレンシングが誘導される。

【０１４４】

当技術分野では、これらのＲＮＡ配列は、それらの起源に応じて「低分子又は小分子干渉ＲＮＡ」（ｓｉＲＮＡ）又は「マイクロＲＮＡ」（ｍｉＲＮＡ）と呼ばれる。両方の種類の配列を用いて、相補性ＲＮＡへの結合及びｍＲＮＡの除去（ＲＮＡｉ）を誘発するか又はタンパク質へのｍＲＮＡ翻訳を阻止することにより遺伝子発現を下方制御できる。ｓｉＲＮＡは、長い二本鎖ＲＮＡのプロセシングによって導出され、自然界で見出される場合、典型的には外因性の起源のものである。マイクロ干渉ＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）は、ショートヘアピンのプロセシングによって誘導される、内因的にコードされた非コーディング小ＲＮＡである。ｓｉＲＮＡとｍｉＲＮＡの両方は、ＲＮＡを切断することなく、部分的に相補的な標的配列を有するｍＲＮＡの翻訳を阻害し、かつ完全に相補的な配列を有するｍＲＮＡを分解できる。

【０１４５】

ｓｉＲＮＡリガンドは典型的には二本鎖であり、標的遺伝子の機能のＲＮＡ媒介性下方制御の有効性を最適化するためには、ｓｉＲＮＡ分子の長さは、ｍＲＮＡ標的のｓｉＲＮＡによる認識を媒介するＲＩＳＣ複合体によるｓｉＲＮＡの正確な認識を確実にするように選択され、その結果ｓｉＲＮＡが宿主応答を低減させるのに十分に短いことが好ましい。

【０１４６】

ｍｉＲＮＡリガンドは典型的には一本鎖であり、リガンドがヘアピンを形成するのを可能にする部分的に相補性の領域を有する。ｍｉＲＮＡは、ＤＮＡから転写されるが、タンパク質へと翻訳されないＲＮＡ遺伝子である。ｍｉＲＮＡ遺伝子をコードするＤＮＡ配列は、ｍｉＲＮＡよりも長い。このＤＮＡ配列は、ｍｉＲＮＡ配列及びおおよその逆相補鎖を含む。このＤＮＡ配列が一本鎖ＲＮＡ分子に転写される場合、ｍｉＲＮＡ配列とその逆相補鎖の塩基対は、部分的に二本鎖のＲＮＡセグメントを形成する。マイクロＲＮＡ配列の設計は、Ｊｏｈｎら，ＰＬｏＳ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，１１（２），１８６２－１８７９，２００４で論じられている。

【０１４７】
典型的には、ｓｉＲＮＡ又はｍｉＲＮＡの効果を模倣することが意図されるＲＮＡリガンドは、１０～４０リボヌクレオチド（又はその合成類似体）を有し、より好ましくは１７～３０リボヌクレオチド、より好ましくは１９～２５リボヌクレオチド及び最も好ましくは２１～２３リボヌクレオチドを有する。二本鎖ｓｉＲＮＡを用いる本発明のいくつかの実施形態において、分子は、対称的な３’オーバーハング、例えば１つ又は２つの（リボ）ヌクレオチドの、典型的には、ｄＴｄＴ　３’オーバーハングのＵＵを有してよい。本明細書に提供される開示に基づき、当業者は、例えば、Ａｍｂｉｏｎ社のｓｉＲＮＡ　ｆｉｎｄｅｒなどのリソースを用いて、適切なｓｉＲＮＡ及びｍｉＲＮＡ配列を容易に設計でき、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ａｍｂｉｏｎ．ｃｏｍ／ｔｅｃｈｌｉｂ／ｍｉｓｃ／ｓｉＲＮＡ＿ｆｉｎｄｅｒ．ｈｔｍｌを参照されたい。ｓｉＲＮＡ及びｍｉＲＮＡ配列は、合成的に生成され外因的に添加されて遺伝子の下方制御を引き起こすか、又は発現系（例えば、ベクター）を用いて生成され得る。好ましい実施形態において、ｓｉＲＮＡは合成される。

【０１４８】
より長い二本鎖ＲＮＡを細胞中で処理して、ｓｉＲＮＡを生成できる（例えば、Ｍｙｅｒｓ，Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，２１：３２４－３２８，２００３）。より長いｄｓＲＮＡ分子は、例えば１つ又は２つの（リボ）ヌクレオチドの対称な３’又は５’オーバーハングを有するか、又は平滑末端を有してよい。より長いｄｓＲＮＡ分子は、２５ヌクレオチド長又はそれより長くてよい。好ましくは、より長いｄｓＲＮＡ分子は２５～３０ヌクレオチド長である。より好ましくは、より長いｄｓＲＮＡ分子は、２５～２７ヌクレオチド長である。最も好ましくは、より長いｄｓＲＮＡ分子は、２７ヌクレオチド長である。長さが３０ヌクレオチド以上のｄｓＲＮＡは、ベクターｐＤＥＣＡＰを使用して発現させることができる（Ｓｈｉｎａｇａｗａら，Ｇｅｎｅｓ　ａｎｄ　Ｄｅｖ．，１７：１３４０－５，２００３）。

【０１４９】
別の代替物は、細胞でのショートヘアピンＲＮＡ分子（ｓｈＲＮＡ）の発現である。ｓｈＲＮＡは、合成ｓｉＲＮＡよりも安定である。ｓｈＲＮＡは、小さなループ配列によって分離される短い逆方向反復からなる。１つの逆方向反復は、遺伝子標的に相補的である。細胞中でｓｈＲＮＡは、標的遺伝子ｍＲＮＡを分解し発現を抑制するｓｉＲＮＡへとＤＩＣＥＲによって処理される。好ましい実施形態において、ｓｈＲＮＡは、ベクターからの転写によって内因的に（細胞内で）生成される。ｓｈＲＮＡは、ヒトＨ１又は７ＳＫプロモーターなどのＲＮＡポリメラーゼＩＩＩプロモーター又はＲＮＡポリメラーゼＩＩプロモーターの制御下で、ｓｈＲＮＡ配列をコードするベクターで細胞をトランスフェクトすることによって細胞内で生成され得る。別の方法として、ｓｈＲＮＡは、ベクターからの転写によって外因的に（インビトロで）合成され得る。ｓｈＲＮＡはその後、細胞中に直接導入できる。好ましくは、ｓｈＲＮＡ配列は、４０～１００塩基長、より好ましくは４０～７０塩基長である。ヘアピンのステムは、好ましくは長さが１９～３０塩基対である。ステムは、ヘアピン構造を安定化するために、Ｇ－Ｕ対合を含有してよい。

【０１５０】
一実施形態において、ｓｉＲＮＡ、より長いｄｓＲＮＡ又はｍｉＲＮＡは、ベクターからの転写によって内因的に（細胞内で）生成される。ベクターは、当技術分野で公知のいずれかの方法で細胞中に導入される。必要に応じて、ＲＮＡ配列の発現は、組織特異的プロモーターを用いて調節できる。さらなる実施形態において、ｓｉＲＮＡ、より長いｄｓＲＮＡ又はｍｉＲＮＡは、ベクターからの転写によって外因的に（インビトロで）生成される。

【０１５１】
もう１つの方法として、ｓｉＲＮＡ分子は、当技術分野で知られている、標準的な固相又は液相合成技術を用いて合成される。ヌクレオチド間の結合は、ホスホジエステル結合又は代替物、例えば、式Ｐ（Ｏ）Ｓ、（チオエート）、Ｐ（Ｓ）Ｓ、（ジチオエート）、

Ｐ（Ｏ）ＮＲ’２、Ｐ（Ｏ）Ｒ’、Ｐ（Ｏ）ＯＲ６、ＣＯ又はＣＯＮＲ’２の連結基であり得、式中、ＲはＨ（若しくは塩）又はアルキル（１～１２Ｃ）であり、Ｒ６は、－Ｏ－又は－Ｓ－を介して隣接ヌクレオチドに連結されるアルキル（１～９Ｃ）である。

【０１５２】

修飾ヌクレオチド塩基を、天然に存在する塩基に加えて使用でき、それらを含有するｓｉＲＮＡ分子に有利な特性を付与できる。

【０１５３】

例えば、修飾塩基は、ｓｉＲＮＡ分子の安定性を増加させ、それによってサイレンシングに必要な量を減らすことができる。修飾塩基の提供はまた、非修飾ｓｉＲＮＡより多かれ少なかれ、安定なｓｉＲＮＡ分子を提供できる。

【０１５４】

用語「修飾ヌクレオチド塩基」は、共有結合で修飾された塩基及び／又は糖を有するヌクレオチドを包含する。例えば、修飾ヌクレオチドは、３’位のヒドロキシル基以外及び５’位のリン酸基以外の低分子量有機基に共有結合される糖を有するヌクレオチドを含む。したがって修飾ヌクレオチドはまた、２’－Ｏ－メチル－、２－Ｏ－アルキル、２－Ｏ－アリル、２’－Ｓ－アルキル、２’－Ｓ－アリル、２’－フルオロ、２’－ハロ又は２アジド－リボースなどの２’置換糖、炭素環式糖類似体、ａ－アノマー糖、アラビノース、キシロース又はリキソースなどのエピマー糖、ピラノース糖、フラノース糖及びセドヘプツロースを含んでよい。

【０１５５】

修飾ヌクレオチドは、当技術分野で公知であり、アルキル化プリン及びピリミジン、アシル化プリン及びピリミジン、及び他の複素環を含む。ピリミジン及びプリンのこれらのクラスは、当技術分野で公知であり、シュードイソシトシン、Ｎ４，Ｎ４－エタノシトシン、８－ヒドロキシ－Ｎ６－メチルアデニン、４－アセチルシトシン、５－（カルボキシヒドロキシルメチル）ウラシル、５フルオロウラシル、５－ブロモウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチル－２－チオウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、イノシン、Ｎ６－イソペンチル－アデニン、１－メチルアデニン、１－メチルシュードウラシル、１－メチルグアニン、２，２－ジメチルグアニン、２－メチルアデニン、２－メチルグアニン、３－メチルシトシン、５－メチルシトシン、Ｎ６－メチルアデニン、７－メチルグアニン、５－メチルアミノメチルウラシル、５－メトキシアミノメチル－２－チオウラシル、－Ｄ－マンノシルケオシン、５－メトキシカルボニルメチルウラシル、５メトキシウラシル、２メチルチオ－Ｎ６－イソペンテニルアデニン、ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、シュードウラシル、２－チオシトシン、５－メチル－２－チオウラシル、２－チオウラシル、４－チオウラシル、５メチルウラシル、Ｎ－ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル－５－オキシ酢酸、ケオシン、２－チオシトシン、５－プロピルウラシル、５－プロピルシトシン、５－エチルウラシル、５－エチルシトシン、５－ブチルウラシル、５－ペンチルウラシル、５－ペンチルシトシン、及び２，６－ジアミノプリン、メチルシュードウラシル、１－メチルグアニン、１－メチルシトシンを含む。

【０１５６】

抗体

抗体は、ＢＡＦ複合体遺伝子変異又は欠損癌を治療するのに有用な阻害剤のクラスの例として、より具体的には、ＡＴＲ阻害剤として本発明で用いることができる。それらはまた、癌を有する個体を評価するか、又は癌を有する個体の応答を予測するために、特に、個体が、本発明に従って治療可能であり得るＢＡＦ複合体遺伝子変異又は欠損癌を有するかどうかを決定するために、本明細書に開示される方法で使用できる。

【０１５７】

本明細書で使用する用語「抗体」は、天然で生成されるか、又は部分的若しくは完全に合成されるかに関わらず、免疫グロブリンを含む。この用語は、抗体結合ドメインを含む任意のポリペプチド又はタンパク質も包含する。抗原結合ドメインを含む抗体断片は、Ｆ

ａｂ、ｓｃＦｖ、Ｆｖ、ｄＡｂ、Ｆｄなど、及びダイアボディである。モノクローナル抗体及び他の抗体を取得し、組換えＤＮＡテクノロジーの技術を使用して元の抗体の特異性を保持する他の抗体又はキメラ分子を生成することが可能である。そのような技術は、ある抗体の、免疫グロブリン可変領域、又は相補性決定領域（ＣＤＲ）をコードするＤＮＡを異なる免疫グロブリンの、定常領域、又は定常領域＋フレームワーク領域に導入することを伴い得る。例えば、ＥＰ　０１８４１８７Ａ、ＧＢ　２，１８８，６３８Ａ又はＥＰ０２３９４００Ａを参照されたい。

【０１５８】

抗体はいくつかの方法で修飾でき、用語「抗体分子」は、必要とされる特異性を有する抗体の抗原結合ドメインをもつ任意の特異的結合メンバー又は物質を包含すると解釈されるべきである。したがって、この用語は、天然であるか、又は部分的若しくは完全に合成であるかに関わらず、免疫グロブリン結合ドメインを含む任意のポリペプチドを含む、抗体断片及び誘導体を包含する。別のポリペプチドに融合される免疫グロブリン結合ドメイン、又は等価物を含むキメラ分子がしたがって含まれる。キメラ抗体のクローニング及び発現は、ＥＰ０１２０６９４Ａ及びＥＰ０１２５０２３Ａに記載されている。

【０１５９】

全抗体の断片は、結合抗原の機能を実行できることが示されている。結合断片の例は、（ｉ）ＶＬ、ＶＨ、ＣＬ及びＣＨ１ドメインからなるＦａｂ断片；（ｉｉ）ＶＨ及びＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片；（ｉｉｉ）単一抗体のＶＬ及びＶＨドメインからなるＦｖ断片；（ｉｖ）ＶＨドメインからなるｄＡｂ断片（Ｗａｒｄ，Ｅ．Ｓ．ら，Ｎａｔｕｒｅ　３４１，５４４－５４６（１９８９））；（ｖ）単離ＣＤＲ領域；（ｖｉ）２つの連結されたＦａｂ断片を含む二価断片である、Ｆ（ａｂ’）２断片；（ｖｉｉ）単鎖Ｆｖ分子（ｓｃＦｖ）であって、ＶＨドメイン及びＶＬドメインが、２つのドメインが結合して抗原結合部位を形成するのを可能にするペプチドリンカーによって連結される、分子（Ｂｉｒｄら，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４２；４２３－４２６，１９８８；Ｈｕｓｔｏｎら，ＰＮＡＳ　ＵＳＡ，８５：５８７９－５８８３，１９８８）；（ｖｉｉｉ）二重特異的単鎖Ｆｖ二量体（ＷＯ　９３／１１１６１）及び（ｉｘ）遺伝子融合により構築される多価又は多特異性断片である、「ダイアボディ」（ＷＯ　９４／１３８０４；Ｈｏｌｌｉｇｅｒら，Ｐ．Ｎ．Ａ．Ｓ．ＵＳＡ，９０：６４４４－６４４８，１９９３）；（ｘ）イムノアドヘシン（ＷＯ　９８／５０４３１）である。Ｆｖ、ｓｃＦｖ又はダイアボディ分子は、ＶＨ及びＶＬドメインを連結するジスルフィド架橋の組み込みによって安定化され得る（Ｒｅｉｔｅｒら，Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，１４：１２３９－１２４５，１９９６）。ＣＨ３ドメインに結合されるｓｃＦｖを含むミニボディも作製できる（Ｈｕら，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．，５６：３０５５－３０６１，１９９６）。

【０１６０】

本発明に従って使用される好ましい抗体は、他のポリペプチドに結合できる抗体などの混入物質を含まずかつ／又は血清成分を含まないという意味で、単離される。ポリクローナル抗体は本発明の範囲内であるが、モノクローナル抗体がいくつかの目的のために好ましい。

【０１６１】

試料に対する抗体の反応性は、任意の適切な手段によって決定できる。個々のレポーター分子でのタグ付けは、１つの可能性である。レポーター分子は、直接又は間接的に、検出可能な、好ましくは測定可能なシグナルを生成できる。レポーター分子の結合は、直接的又は間接的、例えばペプチド結合を介する共有結合的、又は非共有結合的であり得る。ペプチド結合を介する結合は、抗体及びレポーター分子をコードする遺伝子融合物の組換え発現の結果であり得る。１つの好ましいモードは、分光単離される吸収又は発光特性を有する個々の蛍光色素、リン光体又はレーザ励起色素との各抗体の共有結合によるものである。適する蛍光色素は、フルオレセイン、ローダミン、フィコエリトリン及びテキサスレッドを含む。好適な発色色素は、ジアミノベンジジンを含む。

【０１６２】

他のレポーターは、有色の、磁性又は常磁性のラテックスビーズなどの高分子コロイド粒子又は粒状物質、及び目視観察されるか、電気的に検出されるか、又は他の方法で記録される検出可能なシグナルを直接的又は間接的に生じ得る、生物学的又は化学的に活性な薬剤を含む。これらの分子は、例えば、発色するか、又は色を変化させるか、又は電気的特性の変化を引き起こす反応を触媒する酵素であり得る。それらは、エネルギー状態間の電子遷移が特徴的なスペクトル吸収又は発光をもたらすように、分子的に励起可能であり得る。それらは、バイオセンサーと組み合わせて使用される化学物質を含んでよい。ビオチン／アビジン又はビオチン／ストレプトアビジン及びアルカリホスファターゼ検出系を用いることができる。

【０１６３】

本発明による抗体は、説明したように、例えば細胞又は細胞溶解物を含有する試験試料中のポリペプチドの存在についてのスクリーニングに使用でき、例えば、コードする核酸からの発現によるポリペプチドの生成後に、本発明によるポリペプチドを精製及び／又は単離するのに使用できる。抗体は、それらが結合するポリペプチドの活性を調節でき、そのポリペプチドが個体に有害な影響を有する場合、治療的状況（予防を含み得る）において有用であり得る。

【０１６４】

ＢＡＦ複合体遺伝子

ＢＡＦ複合体遺伝子は、マルチサブユニットＳＷＩ／ＳＮＦクロマチンリモデリング複合体「ＢＲＧ１－又はＨＲＢＭ関連因子」（ＢＡＦ）及びポリブロモ関連ＢＡＦ（ＰＢＡＦ）を構成するタンパク質の確立されたグループである。それらは、分化及び増殖に重要であるＡＴＰ依存性クロマチンリモデリングプロセスを媒介する。

【０１６５】

複合体のいくつかの構成要素は、腫瘍抑制因子として機能する（Ｒｅｉｓｍａｎ，Ｏｎｃｏｇｅｎｅ　２８：１６５３－１６６８，２００９）。ＢＡＦ複合体遺伝子は、ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＲＩＤ１Ｂ、ＡＲＩＤ２、ＳＭＡＲＣＡ２、ＳＭＡＲＣＡ４、ＳＭＡＲＣＢ１、ＳＭＡＲＣＣ２、ＳＭＡＲＣＣ１、ＳＭＡＲＣＤ１、ＳＭＡＲＣＤ２及びＳＭＡＲＣＤ３、ＳＭＡＲＣＥ１、ＡＣＴＬ６Ａ、ＡＣＴＬ６Ｂ及びＰＢＲＭ１を含むが、これらに限定されない。そこで欠損を有する癌が本発明に従って治療され得る、ＢＡＦ複合体遺伝子の好ましい例は、ＯＳＡ、ｐ２７０及びＢＡＦ２５０Ａとしても知られる、ＡＲＩＤ１Ａ（ＡＴリッチＤＮＡ相互作用ドメイン１Ａ）である。ＡＲＩＤ１Ａは、ヒト癌において頻繁に欠失される領域（１７）である１ｐ３６．１１（１６）に位置し、腎臓癌の３０％及び乳癌の１０％において欠損している可能性がある（１８）。

【０１６６】

癌の治療

本発明は、ＡＴＲ阻害剤でのＢＡＦ複合体遺伝子欠損癌又は変異癌の治療のための方法及び医学的用途を提供する。ＢＡＦ複合体遺伝子欠損癌又は変異癌は、例えば、１以上のＢＡＦ複合体遺伝子タンパク質が１以上の変異を含有するかどうかを決定するために、個体からの癌細胞の試料を試験することなどによって特定できる。ＢＡＦ複合体遺伝子変異は、多くの異なる腫瘍の種類にわたり高頻度で存在することが知られている。最高のＢＡＦ複合体変異率を有する癌は、滑膜肉腫、卵巣明細胞癌（７５％）、結腸直腸癌（５５％）、黒色腫（３９％）、肺癌（３５％）、肝細胞癌（３３％）、胃癌（３２％）、膀胱癌（２２％）、血液悪性腫瘍（１５％）、扁平上皮癌（１４％）、漿液性卵巣癌（１２％）、乳癌（１１％）、膵臓癌（１０％）、髄芽腫（８％）、腎癌（６％）及び神経膠腫（６％）である。全ての腫瘍の種類にわたり、ＢＡＦ複合体遺伝子変異の平均頻度は１９．６％である（１３）（Ｓｈａｉｎ　＆　Ｐｏｌｌａｃｋ，ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ．２０１３；８（１）：ｅ５５１１９）。

【０１６７】

Ｋａｄｏｃｈ，Ｃら（哺乳類ＳＷＩ／ＳＮＦ複合体のプロテオーム解析及びバイオインフォマティクス解析は、ヒト悪性腫瘍における広範な役割を特定する（Ｐｒｏｔｅｏｍｉ

ｃ ａｎｄ ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｍａｍｍａｌｉａｎ ＳＷＩ／ＳＮＦ ｃｏｍｐｌｅｘｅｓ ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｓ ｅｘｔｅｎｓｉｖｅ ｒｏｌｅｓ ｉｎ ｈｕｍａｎ ｍａｌｉｇｎａｎｃｙ）Ｎａｔ Ｇｅｎｅｔ ４５，５９２－６０１（２０１３））で定義されるように、ＳＷＩ／ＳＮＦ ＢＡＦに欠損のある癌は、結腸直腸癌、卵巣明細胞癌、漿液性卵巣癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、肝細胞癌、腎臓癌、扁平上皮癌、乳癌、髄芽腫、神経膠腫、黒色腫、肺癌、血液悪性腫瘍及び滑膜肉腫を含む。

【０１６８】

いくつかの実施形態において、ＢＡＦ欠損癌は、体細胞の前癌性細胞又は癌性細胞で生じる１以上のＢＡＦ複合体遺伝子変異（複数可）又は欠損（複数可）によって特徴付けられる。さらに別の実施形態において、ＢＡＦ欠損癌は、個々の患者の生殖系列において生じる１以上のＢＡＦ複合体遺伝子変異（複数可）によって特徴付けられる。

【０１６９】

いくつかの実施形態において、ＢＡＦ複合体遺伝子欠損又は変異癌は、個体からの癌細胞の試料を試験することにより１以上のＢＡＦ複合体遺伝子の発現を決定してタンパク質の発現がないか、又は正常と比較して低下したレベルにあるかどうかを評価するなどで特定できる。

【０１７０】

他の実施形態において、ＢＡＦ欠損癌は、ＢＡＦ複合体遺伝子に欠損を有する癌細胞又はＢＡＦ複合体遺伝子のエピジェネティックな不活化、又はタンパク質の機能喪失を示す癌細胞によって特徴づけられる。

【０１７１】

より一般的には、癌は、個体からの細胞の試料中のＢＡＦポリペプチドの活性を決定することによって、ＢＡＦ欠損癌として特定され得る。試料は、個体が１以上のＢＡＦ遺伝子に変異を有する場合に個体からの正常細胞の試料であってよく、又は例えば腫瘍を形成する細胞がＢＡＦ活性において欠損を示す場合、試料は癌細胞の試料であり得る。活性は対照と比較して、例えば癌細胞に欠損のある場合では、好ましくは同じ組織からの、非癌性細胞と比較して、決定できる。１以上のＢＡＦ遺伝子の活性は、ウェスタンブロット分析、免疫組織学、染色体異常、酵素又はＤＮＡ結合アッセイ、及びプラスミドベースのアッセイなどの当技術分野で周知の技術を用いて決定できる。

【０１７２】

試料は、個体が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子に変異を有する個体からの正常細胞の試料であり得るか、又は試料は、例えば腫瘍を形成する細胞が１以上のＢＡＦ複合体遺伝子変異を含有する、癌細胞の試料であり得る。活性は対照と比較して、例えば癌細胞に欠損のある場合では、好ましくは同じ組織からの、非癌性細胞と比較して、決定できる。

【０１７３】

ＢＡＦ複合体遺伝子発現の決定は、試料中のＢＡＦ複合体遺伝子のｍＲＮＡの存在又は量を決定することを含んでよい。これを行うための方法は、当業者に周知である。一例として、それらは、ＢＡＦ複合体遺伝子転写物が試料中に存在するかどうかを決定するために（ｉ）ＢＡＦ複合体遺伝子の核酸にハイブリダイズできる標識プローブを用いて；及び／又は（ｉｉ）ＢＡＦ複合体遺伝子の核酸配列に基づいて１以上のプライマーを含むＰＣＲを用いて、ＢＡＦ複合体遺伝子ｍＲＮＡの存在を決定することを含む。プローブはまた、マイクロアレイに含まれる配列として固定されてもよい。

【０１７４】

一実施形態において、ＢＡＦ複合体遺伝子ｍＲＮＡの検出は、腫瘍の試料からＲＮＡを抽出すること、及び具体的には定量的リアルタイムＲＴ－ＰＣＲを使用して１以上のＢＡＦ複合体遺伝子の発現を測定することによって行われる。あるいは又はさらに、ＢＡＦ複合体遺伝子の発現は、基板上に固定されてアレイを形成する複数のプローブを用いて遺伝子群についてｍＲＮＡのレベルを測定する、マイクロアレイ分析を用いて、腫瘍試料から抽出されたＲＮＡを用いて評価できる。

【０１７５】

いくつかの実施形態において、癌は、個体の腫瘍からの細胞試料中の１以上の染色体異常、例えば、遺伝子喪失に対応する、染色体の一部の欠失又は全体の喪失、の存在を決定することによって、ＢＡＦ欠損として特定できる。染色体異常は、ギムザ染色、キナクリン染色、ヘキスト３３２５８染色、ＤＡＰＩ（４’－６－ジアミジノ－２－フェニルインドール）染色、ダウノマイシン染色、及び蛍光インサイツハイブリダイゼーションを含むが、これらに限定されない当技術分野で公知の任意の染色体分析技術により可視化できる。さらなる実施形態において、ＢＡＦ複合体遺伝子はＡＲＩＤ１Ａであり、欠損は、染色体１からの少なくとも部分１ｐ３６．１１の喪失を含む染色体異常によって決定される。

【０１７６】

いくつかの実施形態において、癌は、個体からの細胞試料中の、ＢＡＦ複合体ポリペプチドをコードする核酸での１以上の変形、例えば、多型又は変異の存在を決定することによってＢＡＦ欠損癌として特定される。

【０１７７】

変異及び多型などの配列変異は、野生型ヌクレオチド配列に対する１以上のヌクレオチドの欠失、挿入又は置換を含んでよい。１以上の変形は、核酸配列のコード領域又は非コード領域中であり得、ＢＡＦ遺伝子の発現若しくは機能を減少又は抑止し得る。言い換えれば、変異体核酸は、活性を低下又は消失させた変異体ポリペプチドをコードしてよく、又は例えば調節エレメントの活性の変化を介して、細胞内でほとんど又は全く発現しない野生型ポリペプチドをコードしてよい。変異核酸は、野生型配列に対して１以上の変異又は多型を有してよい。

【０１７８】

あるいは又はさらに、本発明において、患者がＢＡＦ欠損癌を有するかどうかの決定は、ＢＡＦ複合体タンパク質発現の分析によって、例えば１以上のＢＡＦ複合体タンパク質のレベルが抑制されるかどうかを調べることによって行われてよい。

【０１７９】

いくつかの態様において、ＢＡＦ複合体タンパク質の存在又は量は、ＢＡＦ複合体タンパク質、又はその断片に特異的に結合できる結合剤を使用して決定されてよい。ＢＡＦ複合体タンパク質結合剤の好ましい種類は、ＢＡＦ複合体タンパク質又はその断片に特異的に結合できる抗体である。抗体は、例えばＥＬＩＳＡ型アッセイにおいて、例えば標識されるか又は、検出可能な結果を生成できる二次抗体を用いて、１以上のさらなる化学種との反応後に検出されるのを可能にするように、又は検出できるように標識されてよい。代替法として、標識された結合剤をウェスタンブロットで使用してＢＡＦ複合体タンパク質を検出することができる。

【０１８０】

あるいは、又はさらに、ＢＡＦ複合体タンパク質の存在を決定するための方法は、例えば、免疫組織化学（ＩＨＣ）分析を用いて腫瘍試料に対して行われてよい。ＩＨＣ分析は、パラフィン固定試料又は凍結組織試料を用いて行われてよく、ＢＡＦ複合体タンパク質の存在及び位置を強調するために試料を染色することを一般的に含む。

【０１８１】

本発明のいくつかの実施形態において、ＢＡＦ欠損癌は、遺伝子又はタンパク質配列中の１以上の変異、ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＲＩＤ１Ｂ、ＡＲＩＤ２、ＳＭＡＲＣＡ２、ＳＭＡＲＣＡ４、ＳＭＡＲＣＢ１、ＳＭＡＲＣＣ２、ＳＭＡＲＣＣ１、ＳＭＡＲＣＤ１、ＳＭＡＲＣＤ２、ＳＭＡＲＣＤ３、ＳＭＡＲＣＥ１、ＡＣＴＬ６Ａ、ＡＣＴＬ６Ｂ及び／若しくはＰＢＲＭ１の１以上から選択されるＢＡＦ複合体遺伝子における欠損、並びに／又は不在によって特徴づけられる。より好ましくは、変異又は欠損したＢＡＦ複合体遺伝子は、ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＲＩＤ１Ｂ、ＡＲＩＤ２、ＳＭＡＲＣＡ２、ＳＭＡＲＣＡ４及びＳＭＡＲＣＢ１の１以上から選択され、より好ましくは、変異又は欠損したＢＡＦ複合体遺伝子はＡＲＩＤ１Ａある。

【０１８２】

いくつかの実施形態において、ＢＡＦ欠損癌は、ＡＲＩＤ１Ａの１以上の変異、欠損、

及び／又は不在によって特徴付けられる。
【０１８３】
さらなる態様において、本発明は、
癌を有する個体から得られた生物学的試料において、ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＲＩＤ１Ｂ、ＡＲＩＤ２、ＳＭＡＲＣＡ２、ＳＭＡＲＣＡ４、ＳＭＡＲＣＢ１、ＳＭＡＲＣＣ２、ＳＭＡＲＣＣ１、ＳＭＡＲＣＤ１、ＳＭＡＲＣＤ２、ＳＭＡＲＣＤ３、ＳＭＡＲＣＥ１、ＡＣＴＬ６Ａ、ＡＣＴＬ６Ｂ及び／若しくはＰＢＲＭ１の１以上から選択される１以上のＢＡＦ複合体遺伝子における変異若しくは欠損を測定又は定量すること；並びに
１以上のＢＡＦ複合体遺伝子の測定又は定量化された量を基準値と比較すること、及び基準値に対して１以上のＢＡＦ複合体遺伝子が変異又は欠損している場合に、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ（ＡＴＲ）阻害剤での治療に応答性である増加した可能性を有すると個体を特定すること、
を含むアッセイを提供する。
【０１８４】
さらなる態様において、本発明は、
滑膜肉腫を有する個体から得られた生物学的試料において、ＳＳＸ１、ＳＳＸ２及び／又はＳＳ１８の１以上から選択される１以上の遺伝子における変異若しくは欠損を測定又は定量すること；並びに
ＳＳＸ１、ＳＳＸ２及び／若しくはＳＳ１８の１以上から選択される１以上の遺伝子の測定又は定量化された量を基準値と比較すること、及び基準値に対して１以上のＢＡＦ複合体遺伝子が変異又は欠損している場合に、毛細血管拡張性運動失調症の変異したＲＡＤ３関連タンパク質キナーゼ（ＡＴＲ）阻害剤での治療に応答性である増加した可能性を有すると個体を特定すること、
を含むアッセイを提供する。
【０１８５】
ＡＴＲ阻害剤のスクリーニング方法
本発明はまた、ＡＴＲ阻害剤を見つけるために、候補化合物のスクリーニングのためのタンパク質標的としてＡＴＲを使用するスクリーニング方法を含む。したがって、スクリーニングの方法は、ＡＴＲを阻害できる候補薬剤を特定するために、ＢＡＦ複合体遺伝子変異又は欠損癌の治療のための、又は滑膜肉腫の治療のための薬剤としてのその後の開発における使用のために行うことができる。好都合なことに、これは、アッセイする構成要素が相互作用するのを助けるためにアッセイ緩衝液中で、及び複数の候補薬剤を試験するための複数ウェル形式で行うことができる。ＡＴＲの活性は次いで、所与の候補がＡＴＲ阻害剤であるかどうかを決定するために、１以上の候補化合物の存在下及び非存在下で決定される。
【０１８６】
例として、候補薬剤は、例えば１００Ｄａ未満の分子量の、本明細書に開示されるタンパク質標的、抗体、ペプチド、核酸分子又は有機若しくは無機化合物のうちの１つの既知の阻害剤であり得る。いくつかの例において、化合物である候補薬剤の使用が好ましい。しかし、任意の種類の候補薬剤のために、コンビナトリアルライブラリーテクノロジーは、標的タンパク質の活性を調節する能力についての、潜在的に膨大な数の異なる物質の効率的な試験方法を提供する。このようなライブラリー及びその使用は、当技術分野で公知である。本発明はまた、他の条件の治療、及び特に癌の他の形態の治療のための公知の候補薬剤のスクリーニングを具体的に想定する。これは、患者又は既知の治療薬の疾患プロファイルが、本明細書に開示されるスクリーニング技術を用いて拡張又は変更されるという利点を有し、又は開発中の治療剤、患者又はＢＡＦ複合体遺伝子変異若しくは欠損癌の治療に関連する確立された疾患プロファイルについて利点を有する。
【０１８７】
さらなる調査のための候補薬剤の特定後に、問題の薬剤が、それが正常細胞に対して致死的でないか、又はそうでなければ治療用途に適するかどうかを決定するために試験され

てよい。これらの研究後に、薬剤は製造され、及び／又は医薬、医薬組成物若しくは剤形の調製において使用される。

【０１８８】

スクリーニングアッセイにおける最初のヒットからのリード薬剤又は化合物の開発は、問題の薬剤を合成するのが困難又は高価である場合、又は特定の投与方法にとって適切ではない場合に望ましく、例えばペプチドは、それらが消化管中のプロテアーゼによってすぐに分解される傾向があるので、経口組成物には適さない活性物質である。模倣物の設計、合成及び試験は一般的に、標的特性について多数の分子をランダムにスクリーニングするのを避けるために使用される。

【０１８９】

所定の標的特性を有する化合物からの模倣物の設計で一般に行われるいくつかの工程がある。最初に、標的特性を決定する上で決定的かつ／又は重要である化合物の特定の部分が決定される。ペプチドの場合、これは、ペプチドのアミノ酸残基を系統的に変化させることによって、例えば順に各残基を置換することによって行われてよい。化合物の活性領域を構成するこれらの部分又は残基は、その「ファルマコフォア」として公知である。

【０１９０】

ファルマコフォアが発見されると、その構造は、様々な供給源、例えば分光技術からのデータ、Ｘ線回折データ及びＮＭＲを使用して、その物理的性質、例えば立体化学、結合、サイズ及び／又は電荷に従ってモデル化される。計算解析、類似性マッピング（原子間の結合よりむしろ、ファルマコフォアの電荷及び／又は体積をモデル化する）並びに他の技術を、このモデリングプロセスにおいて使用できる。この手法の変形において、リガンド及びその結合パートナーの三次元構造がモデル化される。これは、リガンド及び／又は結合パートナーが結合時に立体構造を変える場合に、特に有用であり、模倣物の設計でモデルがこれを考慮するのを可能にする。

【０１９１】

その上にファルマコフォアを模倣する化学基をグラフトすることができる鋳型分子が次いで選択される。鋳型分子及びその上にグラフトされる化学基は、模倣物が合成しやすく、薬理学的に許容される可能性があり、生体内で分解されず、一方でリード化合物の生物学的活性を保持するように都合よく選択できる。この手法によって発見された模倣物は次いで、それらが標的特性を有するかどうか、又はそれらがそれをどの程度示すかを確認するためにスクリーニングされてよい。さらなる最適化又は修飾を、インビボ試験又は臨床試験のための１以上の最終模倣物を得るために次いで行うことができる。

【０１９２】

薬学的組成物

ＢＡＦ欠損癌の治療のための本発明の活性剤は、単独で投与されてもよいが、１以上の医薬として許容し得る担体、アジュバント、賦形剤、希釈剤、増量剤、緩衝剤、安定化剤、防腐剤、潤滑剤、又は当業者に周知の他の材料及び必要に応じて他の治療薬又は予防薬を共にさらに含む医薬組成物中でそれらを提供することが一般的に好ましい。医薬組成物の成分の例は、レミントンの薬学、第２０版、２０００年、出版社Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ，Ｗｉｌｌｉａｍｓ　＆　Ｗｉｌｋｉｎｓに提供されている。

【０１９３】

これらの化合物又はそれらの誘導体は、ＢＡＦ欠損癌の治療のために本発明において使用できる。本明細書で使用する治療剤の「誘導体」は、塩、配位複合体、インビボで加水分解可能なエステルなどのエステル、遊離酸又は塩基、水和物、プロドラッグ又は脂質、カップリングパートナーを含む。

【０１９４】

本発明の化合物の塩は好ましくは、生理的に十分に許容され、かつ非毒性である。多くの塩の例が当業者に公知である。リン酸塩又は硫酸塩などの酸性基を有する化合物は、Ｎａ、Ｋ、Ｍｇ及びＣａなどのアルカリ金属又はアルカリ土類金属と、並びにトリエチルアミン及びトリス（２－ヒドロキシエチル）アミンなどの有機アミンと、塩を形成できる。

塩は、塩基性基、例えば、アミンを有する化合物と、塩酸、リン酸又は硫酸などの無機酸との間で、又は酢酸、クエン酸、安息香酸、フマル酸、又は酒石酸などの有機酸との間で形成され得る。酸性基と塩基性基の両方を有する化合物は、内部塩を形成できる。

【０１９５】

エステルは、当技術分野で周知の技術を用いて、化合物中に存在するヒドロキシル基又はカルボン酸基と、適切なカルボン酸又はアルコール反応パートナーとの間で形成できる。

【０１９６】

誘導体は、親化合物の１つへとインビボ又はインビトロで変換可能である、化合物のプロドラッグを含む。典型的には、化合物の生物学的活性の少なくとも１つは、化合物のプロドラッグ形態で還元され、プロドラッグの変換により活性化されて化合物又はその代謝物を放出できる。

【０１９７】

他の誘導体は化合物のカップリングパートナーを含み、そこでは化合物が、例えば化合物に化学的にカップリングされるか又はそれと物理的に結合することにより、化合物がカップリングパートナーに連結される。カップリングパートナーの例としては、標識分子又はレポーター分子、支持基質、担体又は輸送分子、エフェクター、薬物、抗体又は阻害剤が挙げられる。カップリングパートナーは、ヒドロキシル基、カルボキシル基又はアミノ基などの化合物上の適切な官能基を介して本発明の化合物に共有結合されてよい。他の誘導体は、リポソームを用いて化合物を製剤化することを含む。

【０１９８】

本明細書で使用する用語「医薬として許容し得る」は、健全な医学的判断の範囲内にあり、過度の毒性、刺激、アレルギー応答、若しくは他の問題又は合併症を伴わずに対象（例えば、ヒト）の組織との接触における使用に適し、妥当な利益／リスク比に見合う化合物、材料、組成物、及び／又は剤形を含む。各担体、賦形剤などはまた、製剤の他の成分と適合するという意味で「許容可能」でなければならない。

【０１９９】

本発明によるＢＡＦ欠損癌の治療のための、本明細書に開示される活性薬剤は好ましくは、個体に利益を示すのに十分である、「予防的有効量」又は「治療有効量」（場合によっては、予防は治療と考えてもよい）での個体への投与のためのものである。実際の投与量、及び投与の割合及び時間経過は、治療されるものの性質及び重症度に依存する。治療の処方、例えば投与量などの決定などは、一般開業医及び他の医師の責任の範囲内であり、典型的には治療される障害、個々の患者の状態、送達部位、投与方法及び開業医に公知の他の要因が考慮される。上記の技術及びプロトコルの例は、レミントンの薬学、第２０版、２０００年、出版社Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ，Ｗｉｌｌｉａｍｓ　＆　Ｗｉｌｋｉｎｓで見つけることができる。組成物は、治療される状態に依存して、同時に若しくは順次に、単独で又は他の治療と組み合わせて投与されてよい。

【０２００】

製剤は、単位剤形で好都合に提供でき、薬学の分野で周知の任意の方法によって調製できる。そのような方法は、１以上の補助成分を構成し得る担体と活性化合物を会合させる工程を含む。一般に、製剤は、液体担体又は微粉化した固体担体又はその両方と活性化合物を均一かつ密接に会合させること、及び次いで必要ならば生成物を成形することによって調製される。

【０２０１】

ＢＡＦ欠損癌の治療のための、本明細書に開示される薬剤は、全身的／末梢的又は所望の作用部位に関わらず、経口（例えば経口摂取）；局所（例えば経皮、鼻腔内、眼、頬、及び舌下を含む）；肺（例えば口若しくは鼻を介して、例えばエアロゾルを用いる吸入又はガス注入による）；直腸；膣；非経口、例えば、皮下、皮内、筋肉内、静脈内、動脈内、心臓内、くも膜下、脊髄内、嚢内、被膜下、眼窩内、腹腔内、気管内、表皮下、関節内、クモ膜下、及び胸骨内を含む注射による；例えば、皮下又は筋肉内へのデポーの移植によるものを含むが、これらに限定されない投与の任意の都合のよい経路によって対象に投

与できる。

【０２０２】

経口投与（例えば、摂取による）に適する製剤は、カプセル、カシェ剤又は錠剤などの個別の単位として提供でき、粉末又は顆粒として；水性若しくは非水性液体中の溶液又は懸濁液として；又は水中油型液体エマルジョン又は油中水型液体エマルジョンとして；ボーラスとして；舐剤として；又はペーストとして所定量の活性化合物をそれぞれ含有する。

【０２０３】

非経口投与（例えば、皮膚、皮下、筋肉内、静脈内及び皮内を含む、注射による）に適する製剤は、抗酸化剤、緩衝剤、防腐剤、安定化剤、静菌剤、及び意図されるレシピエントの血液と製剤を等張にする溶質を含有し得る水性及び非水性の、等張性で、発熱物質を含まない滅菌注射溶液；並びに懸濁化剤と増粘剤、及び化合物が血液成分又は１以上の臓器を標的とするように設計されるリポソーム又は他の微粒子系を含み得る水性及び非水性の無菌懸濁液、を含む。そのような製剤での使用に適する等張性ビヒクルの例としては、塩化ナトリウム注射、リンゲル溶液、又は乳酸リンゲル注射液が挙げられる。典型的には、溶液中の活性化合物の濃度は、約１ｎｇ／ｍｌ～約１０ｍｇ／ｍｌ、例えば約１０ｎｇ／ｍｌ～約１ｍｇ／ｍｌである。製剤は、単位用量又は多用量密封容器、例えば、アンプル及びバイアルで提供でき、使用直前に、滅菌液体担体、例えば注射用の水の添加のみを必要とするフリーズドライ（凍結乾燥）状態で保存できる。即席の注射溶液及び懸濁液は、滅菌粉末、顆粒、及び錠剤から調製できる。製剤は、活性化合物が血液成分又は１以上の臓器を標的にするように設計されるリポソーム又は他の微粒子系の形態であり得る。

【０２０４】

ＢＡＦ複合体遺伝子変異又は欠損癌の治療のための、本明細書に開示される薬剤を含む組成物は、標準的な化学療法レジメンと組み合わせて又は放射線療法と併用して、本明細書に記載の方法において使用できる。他の化学療法剤の例としては、アムサクリン（アムシジン）、ブレオマイシン、ブスルファン、カペシタビン（ゼローダ）、カルボプラチン、カルムスチン（ＢＣＮＵ）、クロラムブシル（リューケラン）、シスプラチン、クラドリビン（ロイスタット（ｌｅｕｓｔａｔ））、クロファラビン（エボルトラ）、クリサンタスパーゼ（エルウィニア）、シクロホスファミド、シタラビン（ＡＲＡ－Ｃ）、ダカルバジン（ＤＴＩＣ）、ダクチノマイシン（アクチノマイシンＤ）、ダウノルビシン、ドセタキセル（タキソテール）、ドキソルビシン、エピルビシン、エトポシド（ベプシド、ＶＰ－１６）、フルダラビン（フルダラ）、５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）、ゲムシタビン（ジェムザール）、ヒドロキシウレア（ヒドロキシカルバミド、ハイドレア）、イダルビシン（ザベドス）、イホスファミド（ミトキサン）、イリノテカン（ＣＰＴ－１１、カンプト）、ロイコボリン（フォリン酸）、リポソームドキソルビシン（カエリックス、ミオセット）、リポソームダウノルビシン（ＤａｕｎｏＸｏｍｅ（登録商標））、ロムスチン、メルファラン、メルカプトプリン、メスナ、メトトレキセート、マイトマイシン、ミトキサントロン、オキサリプラチン（エロキサチン）、パクリタキセル（タキソール）、ペメトレキセド（アリムタ）、ペントスタチン（ニペント）、プロカルバジン、ラルチトレキセド（Ｔｏｍｕｄｅｘ（登録商標））、ストレプトゾシン（Ｚａｎｏｓａｒ（登録商標））、テガフール－ウラシル（Ｕｆｔｏｒａｌ）、テモゾロミド（Ｔｅｍｏｄａｌ）、テニポシド（Ｖｕｍｏｎ）、チオテパ、チオグアニン（６－ＴＧ）（ランビス）、トポテカン（ハイカムチン）、トレオスルファン、ビンブラスチン（ベルベ）、ビンクリスチン（オンコビン）、ビンデシン（エルディシン）又はビノレルビン（ナベルビン）、又はＰＡＲＰ阻害剤（オラパリブ（リムパーザ）、ルカパリブ、ニラパリブ、ベリパリブ及びタラゾパリブ）が挙げられる。

【０２０５】

インビボでの投与は、治療の過程を通して、単回投与で、連続的又は断続的に（例えば、適切な間隔にて分割用量で）行うことができる。投与の最も有効な手段及び投与量を決定する方法は、当業者に周知であり、治療のために使用される製剤、治療の目的、治療される標的細胞、及び治療される対象によって変化する。単回投与又は複数回投与は、処置

する医師が選択する用量レベル及びパターンで行われてよい。
【０２０６】
一般に、活性化合物の適切な用量は、１日当たり、対象の体重１キログラム当たり約１００ｍｇ～約２５０ｍｇの範囲である。活性化合物が塩、エステル、又はプロドラッグなどである場合、投与される量は親化合物に基づいて計算されるので、使用される実際の重量は比例して増加する。
【０２０７】
実験例
実施例１
方法
細胞培養
ＥＳ２及びＴＯＶ２１Ｇは、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎから得た。ＲＭＧ１、ＳＭＯＶ２、ＫＯＣ７Ｃ、ＨＣＨ１、ＯＶＡＳ、ＯＶＩＳＥ、ＯＶＭＡＮＡ、ＯＶＴＯＫＯ、ＯＶＳＡＹＯ及びＫＫは、Ｈｉｒｏａｋｉ Ｉｔａｍｏｃｈｉ博士（鳥取大学医学部、米子、日本）から譲り受けた。卵巣明細胞癌株を、１０％ＦＣＳを含むマッコイで増殖させた。細胞株のアイデンティティを、２０１３年３月にＳｔｅｍＥｌｉｔｅキット（Ｐｒｏｍｅｇａ）を用いてショートタンデムリピート（ＳＴＲ）タイピングによって確認した。ＡＲＩＤ１Ａ ＨＣＴ１１６同質遺伝子細胞株を、Ｈｏｒｉｚｏｎ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ社から入手し、１０％ＦＣＳを含むマッコイで増殖させた。Ａｒｉｄ１ａヌルマウス及び野生型マウスの胚性幹細胞を、Ｚｈｏｎｇ Ｗａｎｇ博士（Ｈａｒｖａｒｄ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｓｃｈｏｏｌ，米国）から入手し、０．１ｍＭ ＮＥＡＡ、１ｍＭのピルビン酸ナトリウム、０．１ｍＭのベタメルカプトエタノール及び２０００Ｕ ＬＩＦ／ｍｌを補充した１０％ＦＣＳを含むＤＭＥＭ中で、ゼラチンコーティングしたプレート上で増殖させた。
【０２０８】
ＶＥ－８２１ ｓｉＲＮＡスクリーニング
ｓｉＲＮＡライブラリーを、Ｄｈａｒｍａｃｏｎ社から購入した。遺伝子を、本文に記載されるように選択した。各ウェルは、標的転写物の異なる配列を標的とする４つの異なるｓｉＲＮＡ種のＳＭＡＲＴプールを含有した。各プレートに、負のｓｉＣＯＮＴＲＯＬ（１２ウェル、Ｄｈａｒｍａｃｏｎ）及び陽性対照（４ウェル、ｓｉＰＬＫ１、Ｄｈａｒｍａｃｏｎ）を補充した。ＲＮＡｉスクリーニング条件を最適化し、生ＣｅｌｌＴｉｔｒｅ－Ｇｌｏ（Ｐｒｏｍｅｇａ）発光生存率の読み取りを、以前に記載された［２１］ように行った。ＶＥ－８２１又はビヒクル（ＤＭＳＯ）を、トランスフェクション後２４時間の時点で、培地中１μＭの濃度で添加し、細胞を５日間暴露した。ｓｉＲＮＡスクリーニングの統計分析を、［２１］に記載されるように行った。
【０２０９】
化学物質
ＡＴＲ阻害剤ＶＥ－８２１及びＶＸ－９７０は、Ｖｅｒｔｅｘ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ社によって提供された。オラパリブ及びＢＭＮ６７３を、Ｓｅｌｌｅｃｋ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ社から購入した。シスプラチンをＳｉｇｍａ社から購入した。
【０２１０】
ウェスタンブロッティング及び抗体
全細胞タンパク質抽出物を、プロテアーゼ阻害剤カクテル錠剤（Ｒｏｃｈｅ、Ｗｅｓｔ Ｓｕｓｓｅｘ，ＵＫ）を補充したＮＥＴ－Ｎ緩衝液（２０ｍＭ トリスｐＨ７．６、１ｍＭのＥＤＴＡ、１％ ＮＰ４０、１５０ｍＭのＮａＣｌ）に溶解した細胞から調製した。ウェスタンブロットを、プレキャストＢｉｓ－Ｔｒｉｓゲル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｐａｉｓｌｅｙ，ＵＫ）を用いて行った。以下の一次抗体を本研究で使用した；ＡＲＩＤ１Ａ（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ）、ＡＲＩＤ１Ｂ（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ）、ＳＭＡＲＣＡ４（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ）、ＡＴＲ（Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ）、ＰＴ１９８９ ＡＴＲ（Ｇｅｎｅ Ｔｅｘ）、チューブリン（Ｓｉｇｍａ）、ＳＭＡＲ

ＣＢ１（Ａｂｃａｍ）、γＨ２ＡＸ（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ）、ＰＡＲＰ－１（Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ）、エズリン（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ）、ＴＯＰ２Ａ（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ）、サイクリンＢ１（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ）、ラミンＡ／Ｃ（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ）、ＡＲＩＤ２（Ａｂｃａｍ）及びＰＢＲＭ１（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ）。

【０２１１】

細胞生存率アッセイ

短期生存アッセイを、３８４ウェルプレート中で行った。指数関数増殖細胞を、５００個の細胞／ウェルの濃度で播種した。薬物を播種後２４時間の時点で添加し、細胞を５日間連続して薬物に暴露し、その後、細胞生存率をＣｅｌｌＴｉｔｒｅ－Ｇｌｏルミネッセンス（Ｐｒｏｍｅｇａ）を用いて推定した。クローン原性アッセイのために、細胞を６ウェルプレートに播種し（５００個の細胞／ウェル）、播種後２４時間の時点で、１４日間連続的して薬物に暴露した。新鮮な薬物を含有する培地を７２時間ごとに交換した。細胞を、１０％トリクロロ酢酸で固定し、スルホローダミンＢ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｇｉｌｌｉｎｇｈａｍ，ＵＫ）で染色した。コロニーを手動で計数した。全細胞ベースアッセイを少なくとも３回実行した。

【０２１２】

細胞周期分析脱連環

細胞を、６ウェルプレートのウェル当たり２×１０５細胞の密度で播種し、２４時間インキュベートした後、示した時間の間、ＡＴＲｉ又は０．１％のＤＭＳＯを添加した。インキュベーション後に、付着細胞を収集し、次いでリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中５０（ｖ／ｖ）％の冷エタノールで固定した。細胞を次いでヨウ化プロピジウム（ＰＩ、Ｓｉｇｍａ）での核酸染色前に３０分間、ＲＮアーゼＡで処理した。試料をＢＤ ＦＡＣＳＤｉｖａソフトウェア（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用してＢＤ ＬＳＲ ＩＩフローサイトメーターで分析した。同期実験のために、細胞を１２時間、２ｍＭのチミジンとインキュベートし、洗浄し培地で１６時間インキュベートし、次いで、さらに１２時間、２ｍＭのチミジン中でインキュベートした。細胞を次いで、ＶＸ－９７０又はＤＭＳＯのいずれかを含有する培地中に放出し、試料を細胞周期分析のために、上記のように固定した。

【０２１３】

ｐ－Ｈ３アッセイ脱連環

実験処理後、細胞を５０％の冷エタノール及びＰＢＳを用いて固定した。分析前に、細胞を遠心分離し、１５分間、ＰＢＳ中０．２５％（ｖ／ｖ）のトリトン－Ｘ１００溶液１ｍＬ中に再懸濁した。遠心分離後、細胞を１％（ｗ／ｖ）のＢＳＡ及び０．７５μｇのＰ－Ｓ１０ヒストンＨ３抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）を含有する１００μＬのＰＢＳ溶液中に再懸濁した。試料を３時間室温でインキュベートした。試料を次いで遠心分離し、１％のＢＳＡを含有するＰＢＳ溶液で洗浄した。細胞をその後、１％のＢＳＡを含むＰＢＳ中で１：３０希釈した１００μＬのＦＩＴＣ標識ヤギ抗ウサギ二次抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）に懸濁した。試料を暗所で３０分間インキュベートし、ＰＩ（５μｇ／ｍＬ）及びＲＮアーゼ（１ｍｇ／ｍＬ）を含有するＰＢＳ溶液中に再懸濁した。試料を、ＢＤ ＦＡＣＳＤｉｖａソフトウェア（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用してＢＤ ＬＳＲ ＩＩフローサイトメーターで分析した。

【０２１４】

アポトーシスアッセイ

ＨＣＴ１１６同系及びＯＣＣＣ細胞を高密度（１５～２０，０００／ウェル）で９６ウェルプレートに播種した。２４時間後、示した時間の間、ＶＸ－９７０の連続希釈を添加した。ＡｐｏＴｏｘ－Ｇｌｏ（商標）トリプレックスアッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を、製造元のプロトコルに従って行った。

【０２１５】

インビボでの有効性試験

インビボでの有効性試験を、雌ＣＤ－１ヌードマウスの脇腹に皮下注射したＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+}$／$^{+}$、ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{-}$／$^{-}$及びＴＯＶ２１Ｇ細胞を用いて行った。動物を、経管栄養によってビヒクルのみ（１０％のＤ－α－トコフェロールポリエチレングリコール１０００スクシネート）又はＶＸ－９７０（１０％のＤ－α－トコフェロールポリエチレングリコール１０００スクシネート中６０ｍｇ／ｋｇ）のいずれかで処置した。処置を、示した時間の間、週４回施した。腫瘍をキャリパーによって週２回、手動で測定し、腫瘍が任意の方向に１５ｍｍ超になったときに、動物を　　殺した。

【０２１６】

後期ブリッジ分析

細胞を、ポリリシンコーティングされたカバーガラス上で２４時間成長させ、その後、示した処理に暴露した。試料を、ホルムアルデヒド（４％）中で固定し、トリトンＸ－１００（０．２％）中で透過処理し、ＤＮＡをＤＡＰＩで染色した。スライドを次いで、ライカ共焦点顕微鏡にて６０倍で撮像した。

【０２１７】

有糸分裂スプレッド

示した処理への曝露後、細胞を４時間、０．５％のコルヒチンとインキュベートした。細胞を収集し、ＰＢＳで洗浄し、２０分間、３７℃にて０．５６％のＫＣｌ中でインキュベートした。試料を次いで固定し（３メタノール：１酢酸）、ＤＡＰＩを添加した。細胞溶液をきれいなカバーガラス上に滴下し、有糸分裂スプレッドをライカ共焦点顕微鏡で、６０倍で撮像した。

【０２１８】

結果

遺伝子スクリーニングはＡＲＩＤ１ＡをＡＴＲｉ合成致死パートナーとして特定する

単剤ＡＴＲｉ応答の臨床的に実用的な遺伝的決定因子を明らかにするために、一連のハイスループットＲＮＡｉ化学増感スクリーニングを行った。細胞をｓｉＲＮＡライブラリーでトランスフェクトし、次いで非常に強力かつ選択的なＡＴＲ触媒阻害剤ＶＥ－８２１（Ｋｉ＝１３ｎＭ；１５）に曝露した。ＡＴＲ阻害剤がｐ５３変異体癌である程度の有用性を示す可能性があると示唆した研究に基づいて、スクリーニングのための細胞株として、ｐ５３変異体の、トリプルネガティブ（ＥＲα－、ＰＲ－、ＥＲＢＢ２－ｖｅ）乳房腫瘍細胞株である、ＨＣＣ１１４３を選択した。正常細胞に対するＡＴＲｉの効果をモデル化するために、非腫瘍の、乳房上皮細胞モデルである、ＭＣＦ１２Ａもスクリーニングした。これは、シスプラチン誘発性ＡＴＲ　ｐ．Ｔ１９８９自己リン酸化を評価することにより両方の細胞株が機能的なＡＴＲ活性化経路を保持することを裏付けた[16、17]。臨床的に実用的な効果を特定するために、ＲＮＡｉライブラリーは、薬物標的としてのそれらの固有の扱いやすさにより、癌中の反回性変異遺伝子[18]、キナーゼ、及びこれらのプロセスの欠損を強化するＡＴＲ阻害剤の潜在能力を考慮して[7、20]、ＤＮＡ損傷応答遺伝子[19]を標的とする１２８０種のｓｉＲＮＡを含んだ。ＨＣＣ１１４３及びＭＣＦ１２Ａ細胞を、ｓｉＲＮＡライブラリーを用いて、３８４ウェルプレートフォーマットでトランスフェクトし、次いでその後の４日間、ＶＥ－８２１（１μＭ）又はビヒクル（ＤＭＳＯ）のいずれかに曝露し、その時点で、発明者らは、Ｃｅｌｌ　Ｔｉｔｒｅ　Ｇｌｏ試薬（Ｐｒｏｍｅｇａ）を用いて細胞生存率を推定した（図１Ａ）。

【０２１９】

三重のスクリーニングからのデータを用いて、ＶＥ－８２１感作２１に対する各ｓｉＲＮＡの効果を説明するＺスコアを計算し、ＨＣＣ１１４３において１５０種の及びＭＣＦ１２Ａにおいて１７９種の顕著な（Ｚ＜－２）ＶＥ－８２１感受性を引き起こす効果を特定した（図１Ｂ、Ｃ）。ＡＴＲ　ｓｉＲＮＡは、他のＡＴＲ活性化因子（ＲＡＤ１７、ＲＡＤ１、ＲＡＤ９Ａ）を標的とするｓｉＲＮＡと同じように、顕著なＶＥ－８２１感作を引き起こした。ＥＲＣＣ４及びＡＴＭを標的にするｓｉＲＮＡもＶＥ－８２１に対して細胞を感作し、ＡＴＲｉ合成致死と一致し、スクリーニングからの結果における信頼性を与えた。

【０２２０】
多様な遺伝的バックグラウンドで動作するＡＴＲｉ合成致死効果を特定するために、ＨＣＣ１１４３及びＭＣＦ１２Ａデータを比較し、ＨＲ／ファンコニ貧血経路（ＦＡＮＣＥ、ＳＬＸ４、ＰＡＬＢ２）、ＤＮＡミスマッチ修復（ＭＳＨ４、ＰＭＳ２）及び損傷乗り越え合成（ＲＡＤ１８）経路の構成要素を標的にするものを含む、ＶＥ－８２１感受性を引き起こす共通する３０個のｓｉＲＮＡを特定した（図１Ｃ）。発明者らはまた、このリスト中で７つの腫瘍抑制遺伝子を特定した（ＡＴＭ、ＦＡＮＣＥ、ＧＣＰ３、ＩＤＨ１、ＰＡＬＢ２、ＰＭＳ２、ＡＲＩＤ１Ａ；図１Ｃ、Ｄ）。ＡＲＩＤ１Ａの発現停止がＡＴＲｉに対して細胞を感作したという観察は特に興味深い。なぜなら、ＡＲＩＤ１Ａは様々な腫瘍の種類において反回性に変異されており（卵巣明細胞癌腫で４５％、胃、膀胱、及び肝細胞の腫瘍で１４～１９％並びに乳房腫瘍で２～３％[13]）かつ現在のところＡＲＩＤ１Ａ変異体腫瘍に対するライセンス化された標的療法手法は利用可能ではないからである。
【０２２１】
ＡＲＩＤ１Ａ／ＡＴＲｉ合成致死相互作用をいくつかの直交法を用いて検証した。ＨＣＣ１１４３細胞において、ｓｉＲＮＡ　ＳＭＡＲＴＰｏｏｌは、個々のＡＲＩＤ１Ａ　ｓｉＲＮＡと同じように、ＡＲＩＤ１Ａタンパク質レベルを減少させ、ＶＥ－８２１に対する感受性を有意に高めた（ｐ＜０．０００１、ＡＮＯＶＡ、図１Ｅ、Ｆ）。ＡＲＩＤ１Ａ　ｓｉＲＮＡはまた、第１相臨床試験で現在評価されているＡＴＲｉであるＶＸ－９７０に対する感受性を引き起こし（図２Ａ）、合成致死性がＶＥ－８２１に特異的でないことを示唆する。ＡＲＩＤ１Ａの構成的機能喪失もまたＡＴＲｉ感受性をもたらすかどうかを評価するために、野生型ＡＲＩＤ１Ａ（ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$）又はホモ接合機能喪失変異体ＡＲＩＤ１Ａ対立遺伝子（ｐ．Ｑ４５６＊／ｐ．Ｑ４５６＊；ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$と呼ばれる；図２Ｂ）のいずれかを含有するヒト結腸直腸ＨＣＴ１１６同系細胞を利用した。クローン原性生存アッセイにおいて、ＡＴＲｉ曝露は、ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$と比較してＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞の生存を有意に損なった（ｐ＜０．０００１、ＡＮＯＶＡ、図２Ｃ～Ｅ）。これらの観察は、タキソール又はメトトレキサートのいずれにも誘発されないＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$選択性のように、標的治療に対するＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞の一般的な、非特異的な感受性を反映するとは考えられなかった。ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$モデルにおけるＡＲＩＤ１Ａ合成致死の観察は、ＡＲＩＤ１ＡとＡＴＲ阻害との間の合成致死相互作用を検証するだけでなく、効果が乳房系統からの細胞に限定されないことも立証した。腫瘍細胞株の遺伝的に及び組織学的に多様なパネルにおけるＡＴＲｉ感受性も評価し、グループとして機能喪失ＡＲＩＤ１Ａ変異を有するもの（ｎ＝９）は、ＡＲＩＤ１Ａ変異のないものよりもＶＸ－９７０に対して有意により感受性であったことを観察した（ｎ＝１５、ｐ＝０．００５、スチューデントｔ検定、図２Ｆ）。ＡＲＩＤ１Ａ変異細胞に関連するＡＴＲｉ感受性の大きさは、ＡＴＭ又はＥＲＣＣ１などのＡＴＲｉ感受性の他の候補バイオマーカーで見られる大きさより大きくないにしても、同程度であった。
【０２２２】
さらに、ＶＸ－９７０のＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$選択性は、ＰＡＲＰ阻害剤（ＰＡＲＰｉ）又はシスプラチンなどの他の提案されたＡＲＩＤ１Ａ標的剤の場合よりも大きいことが判明した[22、23]。ＡＴＲ／ＡＲＩＤ１Ａ合成致死相互作用が種特異的であるかどうかを調べるために、同系Ａｒｉｄ１ａ$^{+/+}$及びＡｒｉｄ１ａ$^{-/-}$マウス胚性幹（ＥＳ）細胞を調べた[24]。クローン原性アッセイにおいて、ＶＸ－９７０とＶＥ－８２１の両方は、選択的にＡｒｉｄ１ａ$^{-/-}$ＥＳ細胞を標的とした（ｐ＜０．００１、ＡＮＯＶＡ、図２Ｇ、Ｈ）。最後に、ＡＲＩＤ１Ａ／ＡＴＲｉ合成致死性がＡＴＲの触媒阻害に特異的であり得るという可能性を調べるために、ｓｉＲＮＡ感受性データを８６種のヒト腫瘍細胞株において作成した（[25]及びＣａｍｐｂｅｌｌら、投稿準備中）。ＡＴＲ　ｓｉＲＮＡが、ＡＲＩＤ１Ａ野生型腫瘍細胞（ｎ＝６５）と比較して、ＡＲＩＤ１Ａ変異腫瘍細胞（ｎ＝２Ｉ）に対して有意により高い増殖阻害効果を有したことが観察された（ｐ＝０．００８４、ＭＰ試験、図２１）。これを確認するために、ＡＴＲをＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$及びＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$細胞においてｓｉＲＮＡによって発現停止させ、ＡＴＲ　ｓｉＲＮＡ

が選択的にＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞を標的にすることが判明した。（ｐ＜０．０５、スチューデントｔ検定）。まとめると、このデータは、化学的阻害又は遺伝子サイレンシングのいずれかによるＡＴＲ機能の抑止が、ＡＲＩＤ１Ａ欠損による合成致死であることを示唆した。

【０２２３】

インビボＡＴＲ／ＡＲＩＤ１Ａ合成致死

臨床試験において評価されているＡＴＲｉであるＶＸ－９７０が、ＡＲＩＤ１Ａ欠損腫瘍に対するインビボでの有効性を示すかどうかを評価した。確立されたＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$又はＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$皮下異種移植片を有するマウスを使用して（図３Ａ）、ＶＸ－９７０はＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$異種移植片に影響を及ぼさない（ｐ＝０．４３、ＡＮＯＶＡ）が、有意にＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$異種移植片の成長を著しく阻害した（ｐ＝０．０５、ＡＴＲ／ＢＡＦ合成致死９　ＡＮＯＶＡ、図３Ｂ）ことが見出された。独立した実験で、ＶＸ－９７０が、ＨＣＴ１１６　ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$異種移植片の確立を防ぐことができる（ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$腫瘍形成頻度は、ビヒクル処置マウスについては７３％であるのに対して、ＶＸ－９７０処置マウスについては２７％、ｐ＝０．０２７　フィッシャーの直接検定）が、ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$異種移植片の発生率に影響を及ぼさない（それぞれ８０％対８７％、ｐ＝１　フィッシャーの直接検定、図３Ｃ、Ｄ）ことも判明した。この実験において、継続されたＶＸ－９７０処置はまた、ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$腫瘍の成長を著しく鈍化させた（ｐ＝０．０１５、ＡＮＯＶＡ）が、ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$異種移植片を損傷させなかった（ｐ＝０．６３、ＡＮＯＶＡ、図３Ｅ、Ｆ）。

【０２２４】

最後に、天然のＡＲＩＤ１Ａ変異を有する腫瘍細胞株の異種移植片におけるＶＸ－９７０のインビボでの有効性を評価した。インビトロ研究では、ＡＲＩＤ１Ａ欠損ＴＯＶ２１Ｇヒト卵巣明細胞癌（ＯＣＣＣ）細胞株（ＡＲＩＤ１Ａ　ｐ．５４８ｆｓ／ｐ．７５６ｆｓ）は、ＡＲＩＤ１Ａ野生型ＯＣＣＣ細胞株ＲＭＧ１よりもＶＥ－８２１とＶＸ－９７０の両方に対しより感受性であり（図３Ｇ、ｐ＜０．００５、ＡＶＯＶＡ）、ＡＴＲｉ暴露後にＤＮＡ損傷及びアポトーシス応答も示した（図３Ｈ、Ｉ）ことが判明した。インビボでは、ＶＸ－９７０処置は、ビヒクルと比較して、確立されたＴＯＶ２１Ｇ腫瘍の成長を有意に阻害し（ｐ＝０．０１４、ＡＮＯＶＡ、図３Ｊ～Ｌ）、ＡＲＩＤ１Ａ／ＡＴＲ合成致死がＡＴＲ阻害を用いてインビボで利用できることを再び示唆する。

【０２２５】

ＡＴＲ阻害はＡＲＩＤ１Ａ欠損細胞中のＤＮＡ脱連環の欠陥を標的にする

複製フォークストレスに応答して、ＡＴＲ活性は、Ｓ及びＧ２／Ｍチェックポイントで細胞周期停止を開始する[26]。ＡＴＲｉに対するＡＲＩＤ１Ａ欠損細胞の感受性は部分的にこれらのチェックポイントへの依存の増加が原因であり得るという仮説を調べた。これを調べるために、ＡＲＩＤ１Ａ同質遺伝子細胞を、二重チミジンブロックを用いてＧ１／Ｓで同期し、次いで細胞周期の解放後の経時的な細胞周期の進行を監視した。ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$とＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞の両方は、同様の速度でＳ期を経て進行し、７時間後にＧ２／Ｍでピークに達した（図４Ａ）。しかしながら、Ｇ２／ＭのＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$細胞の割合は、同期後７～１０時間に急速に落ちたが、ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞は、Ｇ２／Ｍを経て遅延した進行を有し、解放後１０時間の時点で、ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$でのわずか１１％と比較して、ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞の２５％は、Ｇ２／Ｍのままであった（図４Ａ）。Ｇ２／Ｍ移行を直接評価するために、有糸分裂開始を、ＦＡＣＳによりＳｅｒ１０がリン酸化されたヒストンＨ３陽性細胞の割合を評価することによって監視し、ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞対ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$において有糸分裂の開始が５０％低下したことを認めた（図４Ｂ）。ストレス条件下で、細胞質へ往復され、それによって有糸分裂開始を阻止する有糸分裂サイクリンＢ１の細胞内局在を調べた[27]。ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$細胞と比較してＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞中で細胞質サイクリンＢ１レベルがより高いことが観察され、Ｇ２／Ｍチェックポイントの関与の増加と一致した（図４Ｃ）。このことは、ＡＲＩＤ１Ａの構成的喪失と誘導的喪失の両方が、Ｇ２／Ｍを経る細胞周期進行に遅延を引き起こしたことを示唆

した。

【０２２６】

Ｇ２／Ｍ細胞周期チェックポイントは、トポイソメラーゼＩＩａ（ＴＯＰ２Ａ）によって媒介されるプロセスである、染色体脱連環を完了し損なうことを含む様々な細胞ストレスによって活性化できる[２８]。最近、クロマチンへのＴＯＰ２Ａの局在化にＢＡＦ複合体が必要とされることが示された[２９]。ＢＡＦ複合体欠損を有するマウス細胞において、ＴＯＰ２Ａ局在化の障害はＤＮＡ脱連環の欠損をもたらす[２９]。ＤＮＡ脱連環の欠損がまたＡＲＩＤ１Ａ欠損細胞中に存在するかどうかを、遅延脱連環の結果である後期ブリッジの頻度を評価することによって決定した。ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞は、ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$細胞と比較して後期ブリッジの数の有意な増加を示した（ｐ＝０．０３８、スチューデントｔ検定、図４Ｄ、Ｅ）。ＡＲＩＤ１Ａ発現がｓｉＲＮＡによって発現停止された細胞と同様に、ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞は、ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$細胞と比較して、より低いレベルのクロマチン結合ＴＯＰ２Ａを示したことにも留意されたい（図４Ｆ、Ｇ）。ＯＣＣＣ細胞株のパネルの中で、発明者らはまた、ＡＲＩＤ１Ａ変異を有するものがＡＲＩＤ１Ａ野生型細胞と比較して、クロマチン結合ＴＯＰ２Ａの減少を示したことも見出した（図４Ｈ）。これらの観察は、ＡＲＩＤ１Ａ欠損ヒト腫瘍細胞がＴＯＰ２Ａ媒介性染色体脱連環に欠陥をもつことを示唆した。

【０２２７】

ＡＴＲは、完全な染色体脱連環に失敗した後のＧ２／Ｍチェックポイントの開始に関与している[２７、３０]。これは、ＡＴＲの阻害がＡＲＩＤ１Ａ欠損細胞中で脱連環欠陥によって引き起こされるＧ２／Ｍチェックポイントを解放し、それが合成致死に貢献し得るという仮説につながった。同期化した細胞の細胞周期の進行を評価して、ＶＸ－９７０は以前にＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞で見られたＧ２／Ｍ遅延を抑止することが判明した（図５Ａ）。ＡＴＲｉ誘導性のＧ２／Ｍチェックポイント抑止はまた、おそらくＡＴＲ阻害によって引き起こされるＧ２／Ｍを経る遷移の増強が姉妹染色分体を効果的に脱連環する能力を制限するので、ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$ ＨＣＴ１１６細胞（ｐ＝０．０２３、スチューデントｔ検定、図５Ｂ）及びＡＲＩＤ１ＡヌルＴＯＶ２１Ｇ細胞（ｐ＝０．００６、スチューデントｔ検定による、図５Ｃ）における後期ブリッジの頻度を高めた。

【０２２８】

ゲノムの完全性に対するこれらの事象の影響を評価するために、発明者らは、ＶＸ－９７０に暴露したＡＲＩＤ１Ａ同質遺伝子細胞からの有糸分裂染色体を調べた。ＶＸ－９７０は、ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞中での染色体異常の頻度に有意な増強を誘発した（ｐ＝０．０００７、スチューデントｔ検定、図５Ｄ、Ｅ）。加えて、ＶＸ－９７０によるγＨ２ＡＸ誘導の誘導は、ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞においてより顕著であることが観察された（図５Ｆ）。同様のγＨ２ＡＸ応答は、ＡＲＩＤ１Ａ欠損ＴＯＶ２１Ｇ細胞でも観察された（図３Ｂ）。これらの効果に加えて、ＶＸ－９７０の曝露は、ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$細胞と比較してＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞におけるより高いカスパーゼ－３／７の活性化によって示されるように、ＡＲＩＤ１Ａ選択的アポトーシス応答を引き起こし（ｐ＜０．０５、スチューデントｔ検定による、図５Ｇ）、効果はＴＯＶ２１Ｇ（ＡＲＩＤ１Ａ変異ＯＣＣＣ）でも観察されたがＲＭＧ１（ＡＲＩＤ１Ａ野生型ＯＣＣＣ）細胞では観察されなかった（図３Ｃ）。ＰＡＲＰ開裂を測定することにより、アポトーシスの誘導も評価した。カンプトテシンは、ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$とＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$の両方の細胞において同様のレベルの開裂を誘発し、両方の遺伝子型が機能的アポトーシス応答を保有することを示唆する。対照的に、ＶＸ－９７０は、ＡＲＩＤ１Ａ$^{+/+}$細胞でよりも、ＡＲＩＤ１Ａ$^{-/-}$細胞においてはるかに高いレベルのＰＡＲＰ切断を引き起こした（図５Ｈ）。

【０２２９】

さらなるＢＡＦ構成要素の不活化はＡＴＲｉに対して細胞を感作する

ＡＲＩＤ１Ａは、ＢＡＦ複合体の構成要素である。さらなるＢＡＦ構成要素がＡＴＲｉと同様の合成致死性相互作用を示すかどうかを特定するために実験を行った（図６Ａ）。ＳＭＡＲＣＡ４、ＡＲＩＤ１Ｂ又はＳＭＡＲＣＢ１のサイレンシングは、ＶＸ－９７０に

対するＨＣＴ１１６細胞の感受性を個々に増強した（ｐ＜０．０００１、ＡＮＯＶＡ、図６Ｂ、Ｃ）。機能喪失ＳＭＡＲＣＡ４変異を有するＯＣＣＣ細胞株（ｐ．Ｌ６３９ｆｓ＊７）のＴＯＶ１１２Ｄ細胞は、ＡＲＩＤ１ＡとＳＭＡＲＣＡ４の両方について野生型であるＯＣＣＣ細胞株よりも、ＡＴＲｉに対して有意により感受性であることも判明した（図６Ｄ）。ＨＣＣ１１４３及びＨｅＬａ細胞においてＳＭＡＲＣＡ４サイレンシングによって引き起こされるＶＸ－９７０感受性は、ＡＲＩＤ１Ａ　ｓｉＲＮＡによって引き起こされる感受性と同等であった（図６Ｅ）。ＨＣＴ１１６細胞におけるＳＭＡＲＣＡ４又はＡＲＩＤ１Ｂのいずれかのサイレンシングはクロマチン結合ＴＯＰ２Ａレベルを有意に低下させ（図６Ｆ）、ＡＲＩＤ１Ａ機能障害について見られた効果を再現する。これらの結果は、ＡＲＩＤ１Ａの標準的機能、すなわち、ＢＡＦ複合体の一部としてのその役割がＡＴＲ阻害剤応答の決定に重要である可能性を示唆した。

【０２３０】

考察

本発明の基礎となるデータは、ＡＴＲ阻害剤が、ＡＲＩＤ１Ａ欠損癌及びＢＡＦ複合体における他の欠損を有するもののための単剤療法としての可能性を有し得ることを示唆する。ヒト癌における非常に再発性のあるＡＲＩＤ１Ａ変異及び臨床用ＡＴＲ阻害剤の利用可能性は、第１相臨床試験が完了すると、これらの薬剤の有効性を評価するために、バイオマーカー駆動性概念実証試験が推進され得ることを示唆する。これらは、卵巣明細胞癌などの、高頻度のＡＲＩＤ１Ａ変異があり、治療応答の配慮基準も制限されており標的化手法が存在しない、癌の種類で行うことができる。ＡＲＩＤ１Ａ欠損が他の癌（例えば、乳癌及び結腸直腸癌）由来の組織診断モデルにおいてＡＴＲ阻害剤感受性を引き起こしたことも判明し、この手法がより広い有用性を有する可能性もある。同様に、追加のＢＡＦ腫瘍抑制遺伝子の欠損もＡＴＲ阻害に対する感受性を引き起こすという観察はまた、ＡＴＲ阻害剤の広い有用性を示唆し得る。最後に、合成致死効果を特定することでの課題の１つは、これらの効果に耐性のあるものと、さらなる分子変化により容易に排除されるものとを判別することであるので[31]、ＡＲＩＤ１Ａ／ＡＴＲ合成致死性相互作用は様々な細胞モデル系で動作し、したがってさらなる分子変化に対しおそらく弾力的であり、かつ臨床的評価に適する可能性があることが認められた。

【０２３１】

機構的に、本発明のデータは、ＡＲＩＤ１Ａ／ＡＴＲ阻害剤合成致死（図６Ｇ）について以下のモデルを示唆する：（ｉ）ＡＲＩＤ１Ａ欠損は、ＴＯＰ２Ａクロマチン結合を低下させる（図４Ｆ）；（ｉｉ）これは、ＤＮＡ脱連環欠陥（図４Ｄ、Ｅ）、その結果、Ｇ２／Ｍチェックポイント活性化をもたらす（図４Ａ、Ｂ、Ｃ）；（ｉｉｉ）ＡＴＲｉを介するこの細胞周期チェックポイントの抑止は、連結ＤＮＡと共にＡＲＩＤ１Ａ欠損細胞を有糸分裂に追いやる（図５Ａ）；最後に（ｉｖ）細胞質分裂中の連結ＤＮＡのその後の剪断は、ＤＮＡ二本鎖切断、総染色体不安定性及びアポトーシス（図５Ｄ～Ｈ）を引き起こす。この効果にも寄与できる他の追加の機構がある可能性がある。例えば、ＡＴＲ機能の低下はＡＴＲｉ感受性の増加とも関連付けられ[10]、発明者らの観察に関するＡＴＲ活性の説明が可能である。発明者らは、様々なのＡＲＩＤ１Ａ欠損腫瘍細胞において強力なＡＴＲタンパク質発現及び自己リン酸化を検出したが、この機構はまた、他の脱連環欠陥癌がＡＴＲｉで標的化され得るという可能性がＡＲＩＤ１Ａ変異細胞では損なわれる可能性があることを示唆し得る。あるいは、テロメア維持のＡＬＴ経路を利用する細胞はまたＡＴＲｉ３２に感受性であり、本明細書で使用されるモデルのいずれもＡＬＴ陽性ではないが、これも寄与し得る。全体的に、脱連環欠陥に対しＡＲＩＤ１Ａ／ＡＴＲ合成致死がこれらの観察の根底にある最も直接的な機構であると思われ、及び他の脱連環欠陥癌がＡＴＲｉで標的化される可能性も示唆される。

【０２３２】

実施例２

癌における治療標的を特定するために、より最近に使用される手法の１つは、特定の癌ドライバー遺伝子の欠損に関連付けられる合成致死及び遺伝子中毒の影響などの遺伝子依

存性を特定及び利用することであった。例えば、ＢＲＣＡ１又はＢＲＣＡ２腫瘍抑制遺伝子と小分子ＰＡＲＰ阻害剤との間の合成致死相互作用は、ＢＲＣＡ１／２変異卵巣癌及び前立腺癌の治療においてＰＡＲＰ阻害剤を使用するための根拠を提供する（Ｌｏｒｄ，Ｔｕｔｔら、２０１５、Ｍａｔｅｏ，Ｃａｒｒｅｉｒａら、２０１５）。この特定の合成致死性相互作用は、ＤＮＡ損傷応答（ＤＤＲ）分子ネットワークの構成要素であるＰＡＲＰ１を阻害することによって、腫瘍抑制遺伝子の欠損を標的化する。ヒト細胞では、下等生物でのように、ＤＤＲは、ＤＮＡ損傷に直面してゲノムの完全性を維持する一連の重複する機構からなる（Ｌｏｒｄ及びＡｓｈｗｏｒｔｈ　２０１６）。いくつかの保存されたＤＤＲ経路における重要な要素の１つは、キナーゼＡＴＲ（毛細血管拡張性運動失調症ＲＡＤ３関連）である。ＡＴＲは、複製フォーク停止を引き起こす条件下で（例えば、ＤＮＡポリメラーゼからの複製ヘリカーゼの脱共役）又は二本鎖切断（ＤＳＢ）修復中に細胞中に蓄積する一本鎖ＤＮＡ（ｓｓＤＮＡ）に応答して活性化される（Ｎａｍ及びＣｏｒｔｅｚ　２０１１）。これらのシナリオでは、ｓｓＤＮＡはヒト複製タンパク質Ａ（ＲＰＡ）によって結合され、これがＡＴＲ及びＡＴＲ相互作用タンパク質（ＡＴＲＩＰ）を動員し、これがＡＴＲ活性化を促進する。活性のあるＡＴＲは、Ｐ５３、ヒストンＨ２ＡＸ及びＣＨＫ１キナーゼを含む複数の基質タンパク質上のセリン／スレオニン残基をリン酸化する。これらの標的タンパク質を介して、ＡＴＲは、Ｓ期での細胞周期停止及び停止した複製フォークの安定化を促進する。これらの事象は、細胞がＧ２及び有糸分裂に進む前に、ＤＮＡ損傷の修復を可能にする。ＡＴＲはしたがって、複製ストレス及びＤＮＡ損傷の他の形態を引き起こす条件下でのゲノムの完全性の維持に極めて重要である（Ｎａｍ及びＣｏｒｔｅｚ　２０１１、Ｇａｉｌｌａｒｄ、Ｇａｒｃｉａ－Ｍｕｓｅら、２０１５）。

【０２３３】

細胞周期及びゲノムの完全性の維持におけるＡＴＲの重要性は、癌におけるＡＴＲ阻害剤の治療可能性への多くの関心をもたらした。いくつかの小分子ＡＴＲ阻害剤が、第Ｉ相臨床試験（ＮＣＴ０２１５７７９２、ＮＣＴ０２２２３９２３）で現在調査中である。これらの薬物の臨床応用の成功は、応答する可能性が最も高い患者集団の特定を必要とし、この点で、いくつかの研究は、ＡＴＲ阻害剤感受性のバイオマーカーを特定することを目的としている。ＢＲＣＡ１／２変異体癌の療法としてのＰＡＲＰ阻害剤の例（Ｌｏｒｄ及びＡｓｈｗｏｒｔｈ　２０１６）と同様に、合成致死性相互作用は、シスプラチン（Ｒｅａｐｅｒ，Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓら　２０１１、Ｐｉｒｅｓ，Ｏｌｃｉｎａら　２０１２、Ｈｕｎｔｏｏｎ，Ｆｌａｔｔｅｎら　２０１３、Ｊｏｓｓｅ，Ｍａｒｔｉｎら　２０１４）、ＥＲＣＣ１（Ｍｏｈｎｉ，Ｋａｖａｎａｕｇｈら　２０１４）、ＸＲＣＣ１（Ｓｕｌｔａｎａ，Ａｂｄｅｌ－Ｆａｔａｈら　２０１３）及びＡＴＭ（Ｋｗｏｋ，Ｄａｖｉｅｓら　２０１５、Ｋｗｏｋ，Ｄａｖｉｅｓら　２０１５）と組み合わせた場合に、ＡＴＲとＰ５３を含むいくつかのＤＤＲ関連遺伝子との間に存在することが示されている。ＳＳは、しばしばＤＮＡ損傷化学療法で治療される疾患であるが、ＳＳ腫瘍細胞のＤＤＲネットワークの要素への依存性についてほとんど知られていない。

【０２３４】

ここで、発明者らは、ＳＳ細胞株における一連の平行高スループット低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）スクリーニングを行うことにより、ＳＳのための新規治療標的を特定することに着手した。この手法を使用して、発明者らは、ＳＳ細胞においてＡＴＲへの予想外の依存関係を特定した。この遺伝子依存性は、ＡＴＲ遺伝子のサイレンシングにより明らかであっただけでなく、重要なことに、臨床小分子ＡＴＲ阻害剤を用いて利用及び標的化することもできた。

【０２３５】

結果

滑膜肉腫の腫瘍細胞株のＲＮＡ干渉プロファイリングは候補遺伝子依存性としてＡＴＲを特定する

滑膜肉腫における候補治療標的を特定するために、発明者らは、５つの一般的に使用されるＳＳ腫瘍細胞株；ＨＳ－ＳＹ－ＩＩ、ＡＳＫＡ、ＹＡＭＯＴＯ、ＣＭＥ１及びＳＹＯ

１における大規模なＲＮＡ干渉スクリーニングを行った（図７Ａ）。これらの腫瘍細胞株は、ＳＳにおける２つの最も一般的な融合体（ＳＳ１８－ＳＳＸ１又はＳＳ１８－ＳＳＸ２）のこれらのハーバーの１つとして選択され、各モデルにおいて３８４ウェルプレートフォーマットで高効率のｓｉＲＮＡトランスフェクションに適していた（図７Ｂに示される例）。トランスフェクション条件を最適化した後、各腫瘍細胞株を、７２０個のキナーゼ及びキナーゼ関連遺伝子、Ｗｎｔ経路遺伝子、ＤＮＡ修復遺伝子及びヒト癌において反復改変された遺伝子（癌遺伝子調査で定義された）を含む、１６００個の遺伝子を標的化するように設計され、３８４ウェルプレートに整列されたｓｉＲＮＡライブラリーで逆トランスフェクトした。この分子経路は滑膜及び他の軟組織肉腫の病因に関与しているので、キナーゼを薬物標的としてそれらの薬理学的取り扱いやすさに基づいて選択する一方で、Ｗｎｔ関連遺伝子を選択した（Ｖｉｊａｙａｋｕｍａｒ，Ｌｉｕら ２０１１、Ｂａｒｈａｍ，Ｆｒｕｍｐら ２０１３，Ｔｒａｕｔｍａｎｎ，Ｓｉｅｖｅｒｓら ２０１３）。ｓｉＲＮＡトランスフェクション後、細胞をさらに５日間連続培養し、その時点で、細胞生存率を、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒＧｌｏルミネセンスアッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を用いて推定した。総合すると、発明者らは、各細胞株について３つのレプリカスクリーニングを行い、最終分析でこれらのレプリカからのデータを合わせ、各ｓｉＲＮＡについて堅牢なＺスコアを算出して（方法を参照）、腫瘍細胞生存率に対するその影響を推定した。

【０２３６】

ＳＳに特異的である可能性のある遺伝子依存性を特定するために、発明者らは、ＳＳ腫瘍細胞株におけるｓｉＲＮＡ Ｚスコアを、癌の組織型の多様なセットからの１１７腫瘍細胞株について最近記載されたキノーム（ｋｉｎｏｍｅ）ｓｉＲＮＡ Ｚスコアのプロファイルと比較した（Ｃａｍｐｂｅｌｌ，Ｒｙａｎら ２０１６）。発明者らは、４０種の追加の腫瘍細胞株における追加のキノームｓｉＲＮＡスクリーニング、７４種の腫瘍細胞株における癌遺伝子調査／ＤＮＡ修復ライブラリーｓｉＲＮＡのスクリーニング、及び合計１５種の腫瘍細胞株におけるＷｎｔ経路のｓｉＲＮＡスクリーニングによりこのデータを増補した。ＳＳモデルにおけるｓｉＲＮＡプロファイルを比較することで、発明者らは、Ｗｎｔシグナル伝達（例えば、ＷｎｔリガンドＷｎｔ７Ｂ及びβカテニン相互作用タンパク質、ＢＣＬ９Ｌ ＰＭＩＤ：１８６２７５９６、図７Ｃ）、新薬の開発につながるような有糸分裂ＡのＮｅｖｅｒ（ＮＩＭＡ）ファミリーメンバーＰＭＩＤ：２３１３２９２９ ＮＥＫ１、ＮＥＫ２及びＮＥＫ４並びにＤＲＥＡＭ複合体キナーゼ、ＤＹＲＫ１Ａと関連するものを含む、一連の候補ＳＳ遺伝子依存性に注目した（図７Ｄ）。以前に発明者らは、ＤＹＲＫ１Ａが骨肉腫（ＯＳ）におけるＲＢ１（ｐＲｂ）腫瘍サプレッサー欠損による合成致死であることを見出した（Ｃａｍｐｂｅｌｌ，Ｒｙａｎら ２０１６）。発明者らは、ＤＹＲＫ１Ａ ｓｉＲＮＡに対するＳＳ腫瘍細胞株の感受性が、ＲＢ１ヌルＯＳ腫瘍細胞株で見られるものと同等のスケールであることを見出した（図７Ｄ）。

【０２３７】

発明者らは、毛細血管拡張性運動失調症ＲＡＤ３関連（ＡＴＲ）、ＡＴＲ活性化タンパク質、ＲＡＤ９Ａ及びＲＡＤ１８並びに相同組換えによる二本鎖切断修復に関与する２つの腫瘍抑制タンパク質、ＢＲＣＡ１及びＢＲＣＡ２を含む、ＤＮＡ修復タンパク質を標的とするように設計されたｓｉＲＮＡに対しＳＳ腫瘍細胞株が感受性であることも見出した（図７Ｅ）。

【０２３８】

滑膜肉腫におけるＡＴＲ遺伝子依存性は臨床ＡＴＲ阻害剤で誘発でき、かつＳＳ１８－ＳＳＸ１とＳＳ１８－ＳＳＸ２の融合タンパク質の発現によって引き起こされる

遺伝子依存性としてのＡＴＲの特定は、いくつかの理由で特に興味深い：（ｉ）異なる癌組織由来の腫瘍細胞株についてのＡＴＲ ｓｉＲＮＡ Ｚスコアを比較した場合、発明者らは、ＳＳ腫瘍細胞株が最も感受性があり、比較的一貫して応答することを見出した（図８Ａ）；（ｉｉ）ＳＳはＤＮＡ損傷化学療法で治療される場合が多いが、ＤＮＡ損傷応答（ＤＤＲ）における腫瘍特異的欠陥を利用できるＡＴＲ阻害剤に対するそれらの感受性についてほとんど理解されていない；（ｉｉｉ）ＶＸ９７０及びＡＺＤ６７３８などのＡＴ

Ｒの小分子阻害剤は、癌の治療のための第１相臨床試験（ＮＣＴ０２１５７７９２、ＮＣＴ０２２２３９２３）に最近入り、この遺伝子依存性が臨床的に実用可能であり得ることを示唆する。

【０２３９】

検証実験でｓｉＲＮＡに対するＳＳ腫瘍細胞株の感受性を確認したので（図９Ａ）、発明者らは、臨床ＡＴＲ阻害剤（ＡＴＲｉ）であるＶＸ９７０（Ｖｅｒｔｅｘ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）に対する５種のＳＳ腫瘍細胞株の感受性を評価した。以前に検証したＡＴＲｉ耐性ＨＣＴ１１６細胞ＰＭＩＤ：２７９５８２７５と比較して、全５種のＳＳ腫瘍細胞株は、ＶＸ９７０に非常に感受性であり（ＡＮＯＶＡ　ｐ＜０．０００１）、それぞれが約０．１　ＭのＳＦ５０値（細胞生存率での５０％低下を引き起こすのに必要な濃度）を示す（図７Ｂ）。これはまた、ＳＳ腫瘍細胞株の感受性をＨＦＦ１線維芽細胞及び非腫瘍上皮ＭＣＦ１０Ａ細胞と比較した場合でも同じあった（図９Ｂ）。以前に、発明者らは、腫瘍抑制遺伝子ＡＲＩＤ１Ａの欠損がＡＴＲｉ感受性を引き起こすことを実証した（ＰＭＩＤ：２７９５８２７５）。発明者らは、ＳＳ腫瘍細胞株が、ＡＲＩＤ１Ａの両方のコピーが遺伝子標的化によって機能不全にされたＨＣＴ１１６細胞と同じくらいＶＸ９７０に感受性であることを見出した（図７Ｃ）。さらに、ＡＴＲｉ感受性に関連する他の分子の欠損を有するもの、すなわちＡＴＭ遺伝子欠損、ＡＲＩＤ１Ａ改変及びＥＷＳ－ＦＬＩ融合を有するユーイング肉腫腫瘍細胞（ＰＭＩＤ：２７５７７０８４）に対しＳＳ腫瘍細胞株のＶＸ９７０感受性を比較して、ＳＳ腫瘍細胞株は、ユーイング肉腫腫瘍細胞及びＡＲＩＤ１Ａ欠損を有する腫瘍細胞における感受性に匹敵するＶＸ９７０感受性を示した（図７Ｄ、図９Ｃ）。ＳＳ腫瘍細胞株におけるＡＴＲｉに対するこの一貫したインビトロ感受性は、ＶＸ９７０に限定されず、臨床ＡＴＲｉ　ＡＺＤ６７３８（ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ（Ｌｌｏｎａ－Ｍｉｎｇｕｅｚ、Ｈｏｇｌｕｎｄら　２０１４））及びツールボックス阻害剤、ＡＺ２０（ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ（Ｌｌｏｎａ－Ｍｉｎｇｕｅｚ，Ｈｏｇｌｕｎｄら　２０１４））及びＶＥ８２１（Ｖｅｒｔｅｘ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ（Ｃｈａｒｒｉｅｒ，Ｄｕｒｒａｎｔら　２０１１））を含む他のＡＴＲｉでも観察された（図９Ｄ、Ｅ）。さらに、確立された患者由来の滑膜肉腫異種移植片を有するマウス（ＰＤＸ　ＳＡ１３４１２）のＶＸ９７０での処置は、腫瘍成長の阻害（ＡＮＯＶＡ　ｐ＜０．０００１、図８Ｅ）及び生存時間の延長を引き起こし（ログランクマンテル　ｐ＝０．０２６、図８Ｆ）、これがさらなる調査に値する効果である可能性を示唆する。

【０２４０】

これらの実験は、ＳＳ腫瘍細胞がＡＴＲ阻害に非常に感受性を示す可能性を強く示唆するが、発明者らは、これらの効果がＳＳ１８－ＳＳＸファミリー融合タンパク質の発現と関連していることを正式に確認していない。発明者らは、ＨＦＦ１線維芽細胞を含む多くの細胞とは異なり、ＨＣＴ１１６細胞（ＡＴＲｉ耐性）がレンチウイルス構築物からのＳＳ１８－ＳＳＸ１又はＳＳ１８－ＳＳＸ２　ｃＤＮＡの発現を許容できることを見出した。さらに、ＨＣＴ１１６細胞におけるＳＳ１８－ＳＳＸ１又はＳＳ１８－ＳＳＸ２の発現は、ＳＳ融合遺伝子発現に関連する３つの特徴、すなわち、内因性ＳＳ１８の発現の適度な減少、ＳＷＩ／ＳＮＦ構成要素ＳＭＡＲＣＢ１のレベルの低下（おそらく両方とも、ＳＷＩ／ＳＮＦ　ＢＡＦ複合体からのＳＳ１８及びＳＭＡＲＣＢ１の移動によって引き起こされる（Ｋａｄｏｃｈ及びＣｒａｂｔｒｅｅ　２０１３、Ｉｔｏ，Ａｓａｎｏら　２０１５））並びに正規のＷｎｔ経路の標的遺伝子ＡＸＩＮ２の上方制御、を再現する（図８Ｇ、Ｈ）。Ｋａｄｏｃｈ及びＣｒａｂｔｒｅｅは最近、ＳＳ１８－ＳＳＸ１融合タンパク質のＣ末端の残基がＳＷＩ／ＳＮＦ複合体からのＳＭＡＲＣＢ１の移動に重要であることを証明した（Ｋａｄｏｃｈ及びＣｒａｂｔｒｅｅ　２０１３）。完全長ＳＳ１８－ＳＳＸ１又はＳＳ１８－ＳＳＸ２融合タンパク質の発現と比較して、ＳＳＸ１の最後の８つの残基が欠失したＳＳ１８－ＳＳＸ１変異体（Δ７１－７８）の発現は、ＳＭＡＲＣＢ１レベルの低下も、ＡＸＩＮ２　ｍＲＮＡの増加も引き起こさなかった（図８Ｇ、Ｈ）。発明者らは、ＳＳ１８－ＳＳＸ１、ＳＳ１８－ＳＳＸ２又はΔ７１－７８のいずれかを発現するＨＣＴ１１６細胞のＡＴＲｉ感受性を評価した時に、ＳＳ１８－ＳＳＸ１とＳＳ１８－ＳＳＸ

２の両方はＡＴＲｉ感受性の有意な（ＡＮＯＶＡ、ｐ＜０．０００１）増強を引き起こすが、Δ７１－７８の発現はなく（図８Ｉ～Ｋ）、効果は間葉系Ｕ２０Ｓ骨肉腫細胞においても再現されることを見出した。

【０２４１】

ＡＴＲｉは、ＳＳ腫瘍細胞におけるアポトーシス及び複製フォークストレス並びにサイクリンＥ依存的に合成致死を引き起こす

癌由来の腫瘍細胞中でＡＴＲｉに誘発される細胞毒性は、複製フォークストレスの増加と関連している場合が多い。発明者らは、ＡＴＲｉに暴露したＳＳ腫瘍細胞が、複製フォークストレスのバイオマーカーであるアポトーシス（γＨ２ＡＸ）を受けたことを見出した（図１０Ｃ～Ｄ）。複製フォークストレスを正式に評価するために、発明者らは、ＤＮＡ繊維分析を使用し（Ｓｃｈｗａｂ及びＮｉｅｄｚｗｉｅｄｚ ２０１１）、ＳＹＯ１細胞中でＶＸ９７０が複製フォーク速度を有意に（ｐ＜０．０００１、図１０Ｅ）減少させることを見出し、γＨ２ＡＸ分析の結果を確認した。さらに、発明者らは、ＨＣＴ１１６細胞中のＳＳ１８－ＳＳＸ１のみの発現が、複製フォーク速度のわずかではあるが有意な（ｐ＜０．０００１）減少を引き起こしたが、これはＶＸ９７０の添加によって増強された（図１０Ｆ）ことを見出し、ＡＴＲ阻害が滑膜肉腫の融合によって引き起こされる複製フォークストレスを標的にすることを示唆する。この仮説と一致して、発明者らは、ＳＳ腫瘍細胞が、ＶＸ９７０に暴露されたときに、Ｓ期で停止することを見出した（図１０Ｇ）。

【０２４２】

参考文献

本明細書に開示される文書は全て、参照によりその全体がはっきりと組み込まれる。

１．Ｓｈｉｌｏｈ，Ｙ．＆Ｚｉｖ，Ｙ．Ｔｈｅ ＡＴＭ ｐｒｏｔｅｉｎ ｋｉｎａｓｅ：ｒｅｇｕｌａｔｉｎｇ ｔｈｅ ｃｅｌｌｕｌａｒ ｒｅｓｐｏｎｓｅ ｔｏ ｇｅｎｏｔｏｘｉｃ ｓｔｒｅｓｓ，ａｎｄ ｍｏｒｅ．Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ １４，１９７－２１０（２０１３）．

２．Ｚｏｕ，Ｌ．＆Ｅｌｌｅｄｇｅ，Ｓ．Ｊ．Ｓｅｎｓｉｎｇ ＤＮＡ ｄａｍａｇｅ ｔｈｒｏｕｇｈ ＡＴＲＩＰ ｒｅｃｏｇｎｉｔｉｏｎ ｏｆ ＲＰＡ－ｓｓＤＮＡ ｃｏｍｐｌｅｘｅｓ．Ｓｃｉｅｎｃｅ ３００，１５４２－１５４８（２００３）．

３．Ｍｏｙｎａｈａｎ，Ｍ．Ｅ．＆Ｊａｓｉｎ，Ｍ．Ｍｉｔｏｔｉｃ ｈｏｍｏｌｏｇｏｕｓ ｒｅｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎ ｍａｉｎｔａｉｎｓ ｇｅｎｏｍｉｃ ｓｔａｂｉｌｉｔｙ ａｎｄ ｓｕｐｐｒｅｓｓｅｓ ｔｕｍｏｒｉｇｅｎｅｓｉｓ．Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ １１，１９６－２０７（２０１０）．

４．Ｚｅｍａｎ，Ｍ．Ｋ．＆Ｃｉｍｐｒｉｃｈ，Ｋ．Ａ．Ｃａｕｓｅｓ ａｎｄ ｃｏｎｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ ｒｅｐｌｉｃａｔｉｏｎ ｓｔｒｅｓｓ．Ｎａｔ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ １６，２－９（２０１４）．

５．Ｋａｒｎｉｔｚ，Ｌ．Ｍ．＆Ｚｏｕ，Ｌ．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐａｔｈｗａｙｓ：Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ＡＴＲ ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ．Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ（２０１５）．

６．Ｐｉｒｅｓ，Ｉ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ．Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｒａｄｉａｔｉｏｎ－ｒｅｓｉｓｔａｎｔ ｈｙｐｏｘｉｃ ｔｕｍｏｕｒ ｃｅｌｌｓ ｔｈｒｏｕｇｈ ＡＴＲ ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ．Ｂｒ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ １０７，２９１－２９９（２０１２）．

７．Ｒｅａｐｅｒ，Ｐ．Ｍ．，ｅｔ ａｌ．Ｓｅｌｅｃｔｉｖｅ ｋｉｌｌｉｎｇ ｏｆ ＡＴＭ－ ｏｒ ｐ５３－ｄｅｆｉｃｉｅｎｔ ｃａｎｃｅｒ ｃｅｌｌｓ ｔｈｒｏｕｇｈ ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ ｏｆ ＡＴＲ．Ｎａｔ Ｃｈｅｍ Ｂｉｏｌ ７，４２８－４３０（２０１１）．

８．Ｊｏｓｓｅ，Ｒ．，ｅｔ ａｌ．ＡＴＲ ｉｎｈｉｂｉｔｏｒｓ ＶＥ－８２１

and VX-970 sensitize cancer cells to topoisomerase i inhibitors by disabling DNA replication initiation and fork elongation responses. Cancer Res 74, 6968-6979 (2014).
9. Huntoon, C.J., et al. ATR inhibition broadly sensitizes ovarian cancer cells to chemotherapy independent of BRCA status. Cancer Res 73, 3683-3691 (2013).
10. Mohni, K.N., Kavanaugh, G.M. & Cortez, D. ATR pathway inhibition is synthetically lethal in cancer cells with ERCC1 deficiency. Cancer Res 74, 2835-2845 (2014).
11. Sultana, R., et al. Ataxia telangiectasia mutated and Rad3 related (ATR) protein kinase inhibition is synthetically lethal in XRCC1 deficient ovarian cancer cells. PLoS One 8, e57098 (2013).
12. Kwok, M., et al. Synthetic lethality in chronic lymphocytic leukaemia with DNA damage response defects by targeting the ATR pathway. Lancet 385 Suppl 1, S58 (2015).
13. Kadoch, C., et al. Proteomic and bioinformatic analysis of mammalian SWI/SNF complexes identifies extensive roles in human malignancy. Nat Genet 45, 592-601 (2013).
14. Wang, X., et al. Two related ARID family proteins are alternative subunits of human SWI/SNF complexes. Biochem J 383, 319-325 (2004).
15. Reisman et al. The SWI/SNF complex and cancer. Oncogene 28: 1653-1668 (2009).
16. Kozmik Z, et al Characterization of mammalian orthologues of the Drosophila osa gene: cDNA cloning, expression, chromosomal localization, and direct physical interaction with Brahma chromatin-remodeling complex. Genomics 73: 140-148 (2001).
17. Huang J, et al. Genomic and functional evidence for an ARID1A tumor suppressor role. Genes Chromosomes Cancer 46: 745-750 (2007).
18. Wang X, et al. Expression of p270 (ARID1A), a component of human SWI/SNF complexes, in human tumors. Int J Cancer 112: 636 (2004a).
19. Lui S. et al. ATR autophosphorylation as a molecular switch for checkpoint activation, Mol. Cell 43: 192-202 (2011).
20. Shain & Pollack. The Spectrum of SWI/SNF Mutations, Ubiquitous in Human Cancers.

PLoS One:8(1): e55119 (2013).
21.Lord, C.J., McDonald, S., Swift, S., Turner, N.C. & Ashworth, A. A highthroughput RNA interference screen for DNA repair determinants of PARP inhibitor sensitivity. DNA Repair (Amst) 7, 2010−2019 (2008).
22.Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition, 2000, pub. Lippincott, Williams & Wilkins
Amary, M. F., F. Berisha, C. Bernardi Fdel, A. Herbert, M. James, J. S. Reis−Filho, C. Fisher, A. G. Nicholson, R. Tirabosco, T. C. Diss and A. M. Flanagan (2007). "Detection of SS18−SSX fusion transcripts in formalin−fixed paraffin−embedded neoplasms: analysis of conventional RT−PCR, qRT−PCR and dual color FISH as diagnostic tools for synovial sarcoma." Mod Pathol 20(4): 482−496.
Baird, K., S. Davis, C. R. Antonescu, U. L. Harper, R. L. Walker, Y. Chen, A. A. Glatfelter, P. H. Duray and P. S. Meltzer (2005). "Gene expression profiling of human sarcomas: insights into sarcoma biology." Cancer Res 65(20): 9226−9235.
Barham, W., A. L. Frump, T. P. Sherrill, C. B. Garcia, K. Saito−Diaz, M. N. Vansaun, B. Fingleton, L. Gleaves, D. Orton, M. R. Capecchi, T. S. Blackwell, E. Lee, F. Yull and J. E. Eid (2013). "Targeting the Wnt Pathway in Synovial Sarcoma Models." Cancer Discov.
Bartkova, J., N. Rezaei, M. Liontos, P. Karakaidos, D. Kletsas, N. Issaeva, L. V. Vassiliou, E. Kolettas, K. Niforou, V. C. Zoumpourlis, M. Takaoka, H. Nakagawa, F. Tort, K. Fugger, F. Johansson, M. Sehested, C. L. Andersen, L. Dyrskjot, T. Orntoft, J. Lukas, C. Kittas, T. Helleday, T. D. Halazonetis, J. Bartek and V. G. Gorgoulis (2006). "Oncogene−induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints." Nature 444(7119): 633−637.
Brough, R., J. R. Frankum, D. Sims, A. Mackay, A. M. Mendes−Pereira, I. Bajrami, S. Costa−Cabral, R. Rafiq, A. S. Ahmad, M. A. Cerone, R. Natrajan, R. Sharpe, K. K. Shiu, D. Wetterskog, K. J. Dedes, M. B. Lambros, T. Rawjee, S. Linardopoulos, J. S. Reis

－Filho, N. C. Turner, C. J. Lord and A. Ashworth (2011). “Functional viability profiles of breast cancer.” Cancer Discov 1(3): 260－273.
Campbell, J., C. J. Ryan, R. Brough, I. Bajrami, H. N. Pemberton, I. Y. Chong, S. Costa－Cabral, J. Frankum, A. Gulati, H. Holme, R. Miller, S. Postel－Vinay, R. Rafiq, W. Wei, C. T. Williamson, D. A. Quigley, J. Tym, B. Al－Lazikani, T. Fenton, R. Natrajan, S. J. Strauss, A. Ashworth and C. J. Lord (2016). “Large－Scale Profiling of Kinase Dependencies in Cancer Cell Lines.” Cell Rep.
Charrier, J. D., S. J. Durrant, J. M. Golec, D. P. Kay, R. M. Knegtel, S. MacCormick, M. Mortimore, M. E. O’Donnell, J. L. Pinder, P. M. Reaper, A. P. Rutherford, P. S. Wang, S. C. Young and J. R. Pollard (2011). “Discovery of potent and selective inhibitors of ataxia telangiectasia mutated and Rad3 related (ATR) protein kinase as potential anticancer agents.” J Med Chem 54(7): 2320－2330.
Chen, T., F. K. Middleton, S. Falcon, P. M. Reaper, J. R. Pollard and N. J. Curtin (2015). “Development of pharmacodynamic biomarkers for ATR inhibitors.” Mol Oncol 9(2): 463－472.
Clark, J., P. J. Rocques, A. J. Crew, S. Gill, J. Shipley, A. M. Chan, B. A. Gusterson and C. S. Cooper (1994). “Identification of novel genes, SYT and SSX, involved in the t(X;18)(p11.2;q11.2) translocation found in human synovial sarcoma.” Nat Genet 7(4): 502－508.
D’Arcy, P., W. Maruwge, B. A. Ryan and B. Brodin (2008). “The oncoprotein SS18－SSX1 promotes p53 ubiquitination and degradation by enhancing HDM2 stability.” Mol Cancer Res 6(1): 127－138.
de Bruijn, D. R., S. V. Allander, A. H. van Dijk, M. P. Willemse, J. Thijssen, J. J. van Groningen, P. S. Meltzer and A. G. van Kessel (2006). “The synovial－sarcoma－associated SS18－SSX2 fusion protein induces epigenetic gene (de)regulation.” Cancer Res 66(19): 9474－9482.
Fokas, E., R. Prevo, J. R. Pollard, P. M. Reaper, P. A. Charlton, B. Cornelissen, K.

A. Vallis, E. M. Hammond, M. M. Olcina, W. Gillies McKenna, R. J. Muschel and T. B. Brunner (2012). “Targeting ATR in vivo using the novel inhibitor VE-822 results in selective sensitization of pancreatic tumors to radiation.” Cell Death Dis 3: e441.
Gaillard, H., T. Garcia-Muse and A. Aguilera (2015). “Replication stress and cancer.” Nat Rev Cancer 15(5): 276-289.
Garcia, C. B., C. M. Shaffer, M. P. Alfaro, A. L. Smith, J. Sun, Z. Zhao, P. P. Young, M. N. VanSaun and J. E. Eid (2012). “Reprogramming of mesenchymal stem cells by the synovial sarcoma-associated oncogene SYT-SSX2.” Oncogene 31(18): 2323-2334.
Garcia, C. B., C. M. Shaffer and J. E. Eid (2012). “Genome-wide recruitment to Polycomb-modified chromatin and activity regulation of the synovial sarcoma oncogene SYT-SSX2.” BMC Genomics 13: 189.
Haldar, M., J. D. Hancock, C. M. Coffin, S. L. Lessnick and M. R. Capecchi (2007). “A conditional mouse model of synovial sarcoma: insights into a myogenic origin.” Cancer Cell 11(4): 375-388.
Hayakawa, K., M. Ikeya, M. Fukuta, K. Woltjen, S. Tamaki, N. Takahara, T. Kato, Jr., S. Sato, T. Otsuka and J. Toguchida (2013). “Identification of target genes of synovial sarcoma-associated fusion oncoprotein using human pluripotent stem cells.” Biochem Biophys Res Commun 432(4): 713-719.
Huntoon, C. J., K. S. Flatten, A. E. Wahner Hendrickson, A. M. Huehls, S. L. Sutor, S. H. Kaufmann and L. M. Karnitz (2013). “ATR inhibition broadly sensitizes ovarian cancer cells to chemotherapy independent of BRCA status.” Cancer Res 73(12): 3683-3691.
Ito, J., N. Asano, A. Kawai and A. Yoshida (2015). “The diagnostic utility of reduced immunohistochemical expression of SMARCB1 in synovial sarcomas: a validation study.” Hum Pathol.
Jones, K. B., J. J. Barrott, M. Xie, M. Haldar, H. Jin, J. F. Zhu, M. J. Monument, T. L. Mosbruger, E. M. Langer, R. L. Randall, R. K. Wilson, B. R. Cairns, L. Ding and M. R. Capecchi (2016). “The impact of chromosomal translocation locus and fusion on

cogene coding sequence in synovial sarcomagenesis." Oncogene.
Jones, R. M., O. Mortusewicz, I. Afzal, M. Lorvellec, P. Garcia, T. Helleday and E. Petermann (2013). "Increased replication initiation and conflicts with transcription underlie Cyclin E-induced replication stress." Oncogene 32(32): 3744-3753.
Josse, R., S. E. Martin, R. Guha, P. Ormanoglu, T. D. Pfister, P. M. Reaper, C. S. Barnes, J. Jones, P. Charlton, J. R. Pollard, J. Morris, J. H. Doroshow and Y. Pommier (2014). "ATR inhibitors VE-821 and VX-970 sensitize cancer cells to topoisomerase i inhibitors by disabling DNA replication initiation and fork elongation responses." Cancer Res 74(23): 6968-6979.
Kadoch, C. and G. R. Crabtree (2013). "Reversible disruption of mSWI/SNF (BAF) complexes by the SS18-SSX oncogenic fusion in synovial sarcoma." Cell 153(1): 71-85.
Kadoch, C., D. C. Hargreaves, C. Hodges, L. Elias, L. Ho, J. Ranish and G. R. Crabtree (2013). "Proteomic and bioinformatic analysis of mammalian SWI/SNF complexes identifies extensive roles in human malignancy." Nat Genet 45(6): 592-601.
Koh, J. L., K. R. Brown, A. Sayad, D. Kasimer, T. Ketela and J. Moffat (2012). "COLT-Cancer: functional genetic screening resource for essential genes in human cancer cell lines." Nucleic Acids Res 40(Database issue): D957-963.
Kwok, M., N. Davies, A. Agathanggelou, E. Smith, C. Oldreive, E. Petermann, G. Stewart, J. Brown, A. Lau, G. Pratt, H. Parry, M. Taylor, P. Moss, P. Hillmen and T. Stankovic (2015). "ATR inhibition induces synthetic lethality and overcomes chemoresistance in TP53 or ATM defective chronic lymphocytic leukemia cells." Blood.
Kwok, M., N. Davies, A. Agathanggelou, E. Smith, C. Oldreive, E. Petermann, G. Stewart, J. Brown, A. Lau, G. Pratt, H. Parry, M. Taylor, P. Moss, P. Hillmen and T. Stankovic (2016). "ATR inhibition induces synthetic lethality and overcomes chemoresistance in TP53- or ATM-defective chronic lymphocytic leukemia cells." Blood 127(5): 582-595.

Kwok, M., N. Davies, A. Agathanggelou, E. Smith, E. Petermann, E. Yates, J. Brown, A. Lau and T. Stankovic (2015). “Synthetic lethality in chronic lymphocytic leukaemia with DNA damage response defects by targeting the ATR pathway.” Lancet 385 Suppl 1: S58.
Llona-Minguez, S., A. Hoglund, S. A. Jacques, T. Koolmeister and T. Helleday (2014). “Chemical strategies for development of ATR inhibitors.” Expert Rev Mol Med 16: e10.
Lord, C. J. and A. Ashworth (2016). “BRCAness revisited.” Nat Rev Cancer 16(2): 110-120.
Lord, C. J., A. N. Tutt and A. Ashworth (2015). “Synthetic lethality and cancer therapy: lessons learned from the development of PARP inhibitors.” Annu Rev Med 66: 455-470.
Mateo, J., S. Carreira, S. Sandhu, S. Miranda, H. Mossop, R. Perez-Lopez, D. Nava Rodrigues, D. Robinson, A. Omlin, N. Tunariu, G. Boysen, N. Porta, P. Flohr, A. Gillman, I. Figueiredo, C. Paulding, G. Seed, S. Jain, C. Ralph, A. Protheroe, S. Hussain, R. Jones, T. Elliott, U. McGovern, D. Bianchini, J. Goodall, Z. Zafeiriou, C. T. Williamson, R. Ferraldeschi, R. Riisnaes, B. Ebbs, G. Fowler, D. Roda, W. Yuan, Y. M. Wu, X. Cao, R. Brough, H. Pemberton, R. A'Hern, A. Swain, L. P. Kunju, R. Eeles, G. Attard, C. J. Lord, A. Ashworth, M. A. Rubin, K. E. Knudsen, F. Y. Feng, A. M. Chinnaiyan, E. Hall and J. S. de Bono (2015). “DNA-Repair Defects and Olaparib in Metastatic Prostate Cancer.” N Engl J Med 373(18): 1697-1708.
McKenna, E. S., C. G. Sansam, Y. J. Cho, H. Greulich, J. A. Evans, C. S. Thom, L. A. Moreau, J. A. Biegel, S. L. Pomeroy and C. W. Roberts (2008). “Loss of the epigenetic tumor suppressor SNF5 leads to cancer without genomic instability.” Mol Cell Biol 28(20): 6223-6233.
Middeljans, E., X. Wan, P. W. Jansen, V. Sharma, H. G. Stunnenberg and C. Logie (2012). “SS18 together with animal-specific factors defines human BAF-type SWI/SNF complexes.” PLoS One 7(3): e33834.
Mohni, K. N., G. M. Kavanaugh and D. Corte

z (2014). “ATR pathway inhibition is synthetically lethal in cancer cells with ERCC1 deficiency.” Cancer Res 74(10): 2835-2845.
Murga, M., S. Campaner, A. J. Lopez-Contreras, L. I. Toledo, R. Soria, M. F. Montana, L. D’Artista, T. Schleker, C. Guerra, E. Garcia, M. Barbacid, M. Hidalgo, B. Amati and O. Fernandez-Capetillo (2011). “Exploiting oncogene-induced replicative stress for the selective killing of Myc-driven tumors.” Nat Struct Mol Biol 18(12): 1331-1335.
Nagai, M., S. Tanaka, M. Tsuda, S. Endo, H. Kato, H. Sonobe, A. Minami, H. Hiraga, H. Nishihara, H. Sawa and K. Nagashima (2001). “Analysis of transforming activity of human synovial sarcoma-associated chimeric protein SYT-SSX1 bound to chromatin remodeling factor hBRM/hSNF2 alpha.” Proc Natl Acad Sci U S A 98(7): 3843-3848.
Nam, E. A. and D. Cortez (2011). “ATR signalling: more than meeting at the fork.” Biochem J 436(3): 527-536.
Nielsen, T. O., N. M. Poulin and M. Ladanyi (2015). “Synovial Sarcoma: Recent Discoveries as a Roadmap to New Avenues for Therapy.” Cancer Discov.
Pires, I. M., M. M. Olcina, S. Anbalagan, J. R. Pollard, P. M. Reaper, P. A. Charlton, W. G. McKenna and E. M. Hammond (2012). “Targeting radiation-resistant hypoxic tumour cells through ATR inhibition.” Br J Cancer 107(2): 291-299.
Prichard, M. N. and C. Shipman, Jr. (1990). “A three-dimensional model to analyze drug-drug interactions.” Antiviral Res 14(4-5): 181-205.
Reaper, P. M., M. R. Griffiths, J. M. Long, J. D. Charrier, S. Maccormick, P. A. Charlton, J. M. Golec and J. R. Pollard (2011). “Selective killing of ATM- or p53-deficient cancer cells through inhibition of ATR.” Nat Chem Biol 7(7): 428-430.
Schoppy, D. W., R. L. Ragland, O. Gilad, N. Shastri, A. A. Peters, M. Murga, O. Fernandez-Capetillo, J. A. Diehl and E. J. Brown (2012). “Oncogenic stress sensitizes murine cancers to hypomorphic suppression of ATR.” J Clin Invest 122(1): 241-252.
Schwab, R. A. and W. Niedzwiedz (2011). “Visualization of DNA replication in the ver

tebrate model system DT40 using the DNA fiber technique." J Vis Exp(56): e3255.
Shen, J., Y. Peng, L. Wei, W. Zhang, L. Yang, L. Lan, P. Kapoor, Z. Ju, Q. Mo, M. Shih Ie, I. P. Uray, X. Wu, P. H. Brown, X. Shen, G. B. Mills and G. Peng (2015). "ARID1A Deficiency Impairs the DNA Damage Checkpoint and Sensitizes Cells to PARP Inhibitors." Cancer Discov 5(7): 752-767.
Smith-Roe, S. L., J. Nakamura, D. Holley, P. D. Chastain, 2nd, G. B. Rosson, D. A. Simpson, J. R. Ridpath, D. G. Kaufman, W. K. Kaufmann and S. J. Bultman (2015). "SWI/SNF complexes are required for full activation of the DNA-damage response." Oncotarget 6(2): 732-745.
Spurrell, E. L., C. Fisher, J. M. Thomas and I. R. Judson (2005). "Prognostic factors in advanced synovial sarcoma: an analysis of 104 patients treated at the Royal Marsden Hospital." Ann Oncol 16(3): 437-444.
Sultan, I., C. Rodriguez-Galindo, R. Saab, S. Yasir, M. Casanova and A. Ferrari (2009). "Comparing children and adults with synovial sarcoma in the Surveillance, Epidemiology, and End Results program, 1983 to 2005: an analysis of 1268 patients." Cancer 115(15): 3537-3547.
Sultana, R., T. Abdel-Fatah, C. Perry, P. Moseley, N. Albarakti, V. Mohan, C. Seedhouse, S. Chan and S. Madhusudan (2013). "Ataxia telangiectasia mutated and Rad3 related (ATR) protein kinase inhibition is synthetically lethal in XRCC1 deficient ovarian cancer cells." PLoS One 8(2): e57098.
Thaete, C., D. Brett, P. Monaghan, S. Whitehouse, G. Rennie, E. Rayner, C. S. Cooper and G. Goodwin (1999). "Functional domains of the SYT and SYT-SSX synovial sarcoma translocation proteins and co-localization with the SNF protein BRM in the nucleus." Hum Mol Genet 8(4): 585-591.
Toledo, L. I., M. Murga, R. Zur, R. Soria, A. Rodriguez, S. Martinez, J. Oyarzabal, J. Pastor, J. R. Bischoff and O. Fernandez-Capetillo (2011). "A cell-based screen identifies ATR inhibitors with synthetic lethal properties for cancer-associated mutations." Nat Struct Mol Biol 18(6): 721-727.
Trautmann, M., E. Sievers, S. Aretz, D. Ki

ndler, S. Michels, N. Friedrichs, M. Renner, J. Kirfel, S. Steiner, S. Huss, A. Koch, R. Penzel, O. Larsson, A. Kawai, S. Tanaka, H. Sonobe, A. Waha, P. Schirmacher, G. Mechtersheimer, E. Wardelmann, R. Buttner and W. Hartmann (2013). "SS18-SSX fusion protein-induced Wnt/beta-catenin signaling is a therapeutic target in synovial sarcoma." Oncogene.

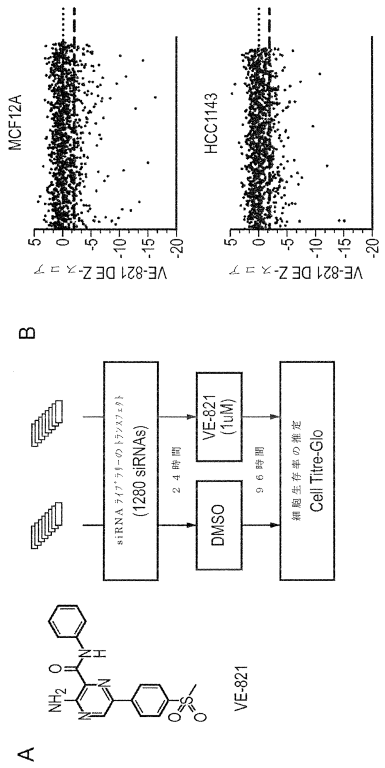
Versteege, I., N. Sevenet, J. Lange, M. F. Rousseau-Merck, P. Ambros, R. Handgretinger, A. Aurias and O. Delattre (1998). "Truncating mutations of hSNF5/INI1 in aggressive paediatric cancer." Nature 394(6689): 203-206.

Vijayakumar, S., G. Liu, I. A. Rus, S. Yao, Y. Chen, G. Akiri, L. Grumolato and S. A. Aaronson (2011). "High-frequency canonical Wnt activation in multiple sarcoma subtypes drives proliferation through a TCF/beta-catenin target gene, CDC25A." Cancer Cell 19(5): 601-612.

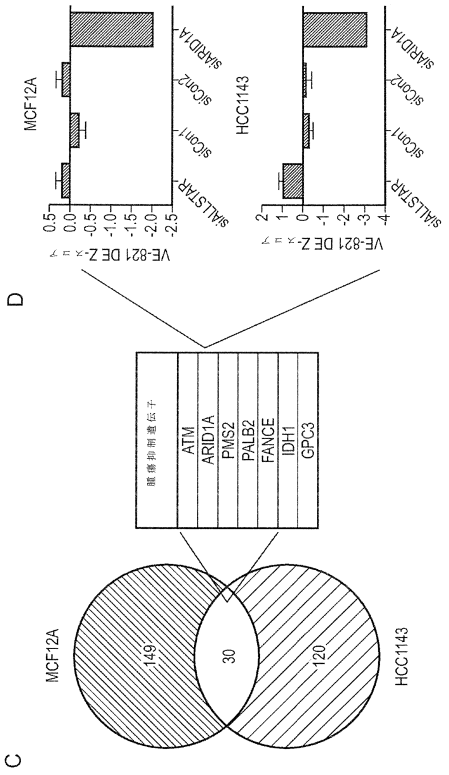
Wilson, B. G. and C. W. Roberts (2011). "SWI/SNF nucleosome remodellers and cancer." Nat Rev Cancer 11(7): 481-492.

【図面】

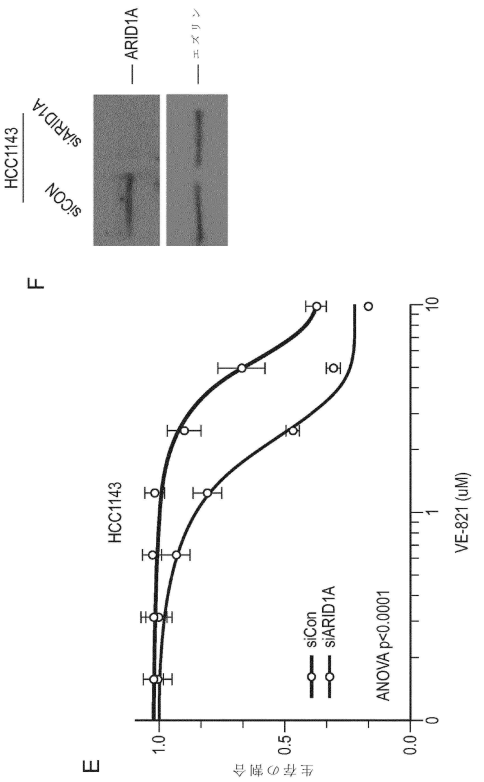
【図１－１】



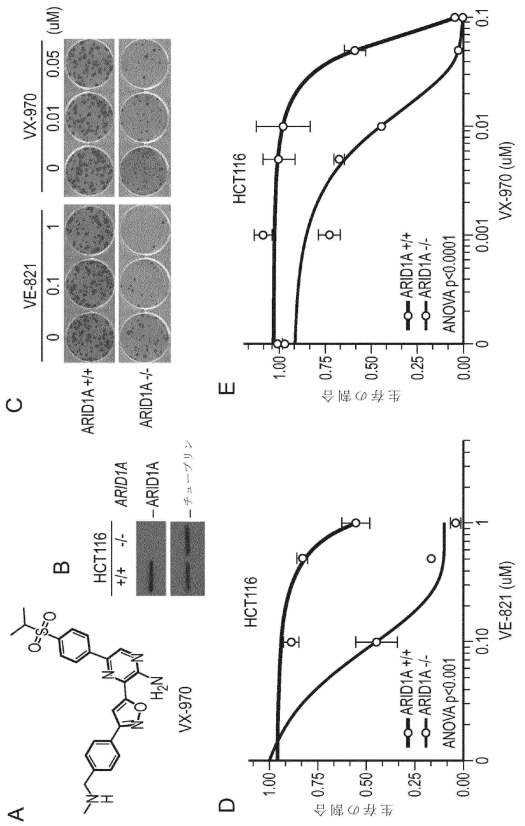
【図１－２】



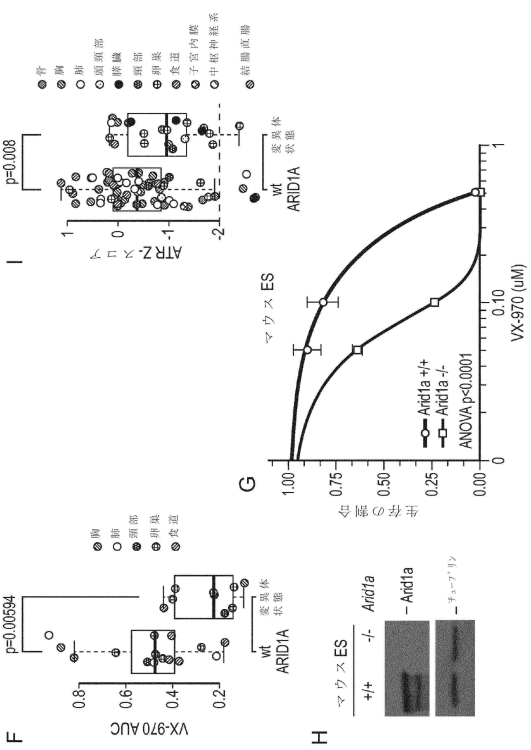
【図１－３】



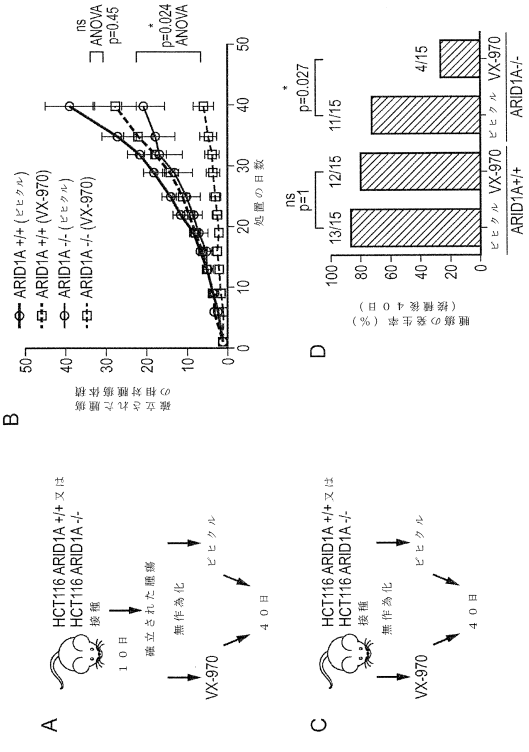
【図２－１】



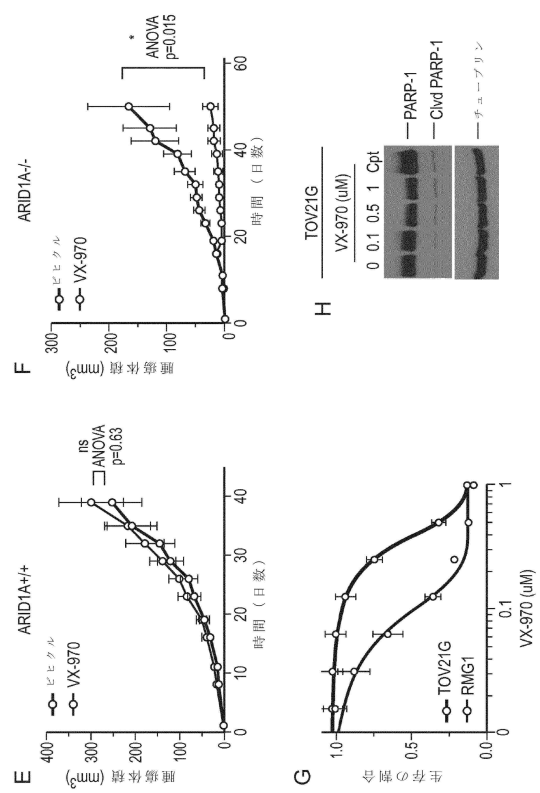
【図２－２】



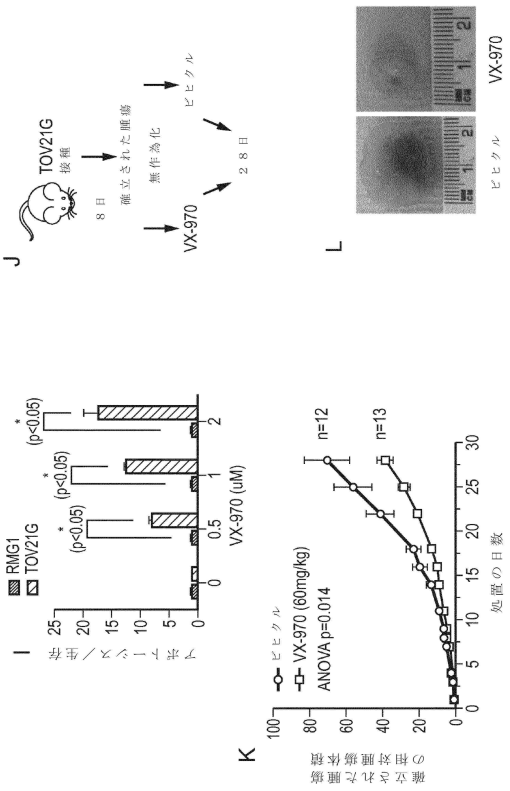
【図３－１】



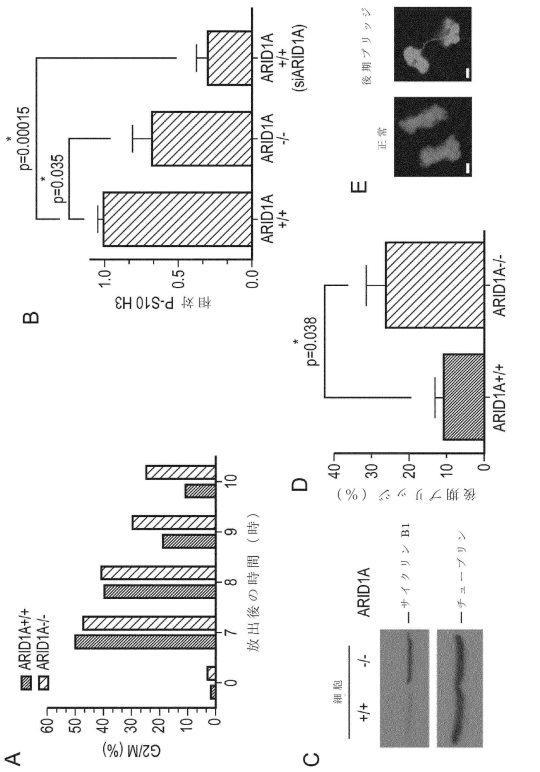
【図３－２】



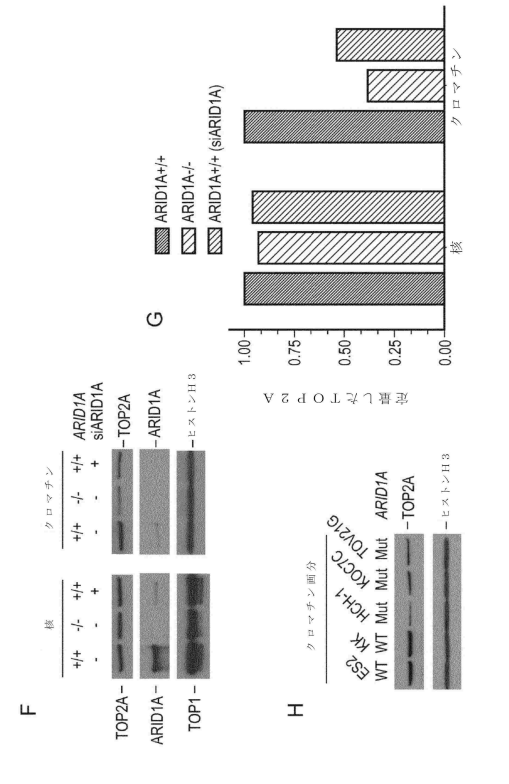
【図３－３】



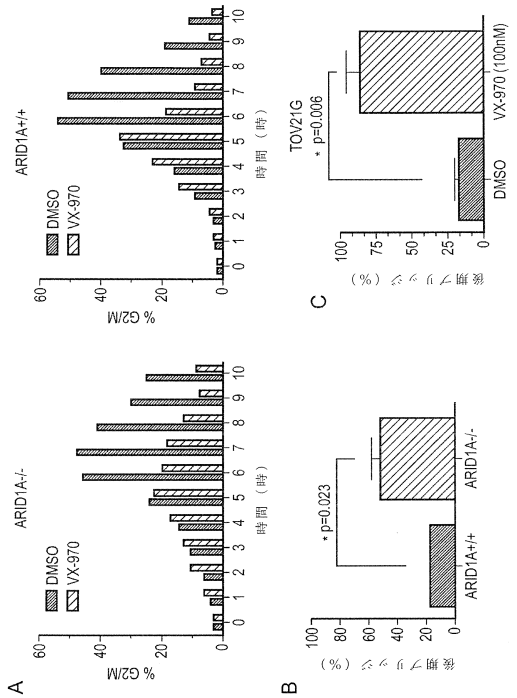
【図４－１】



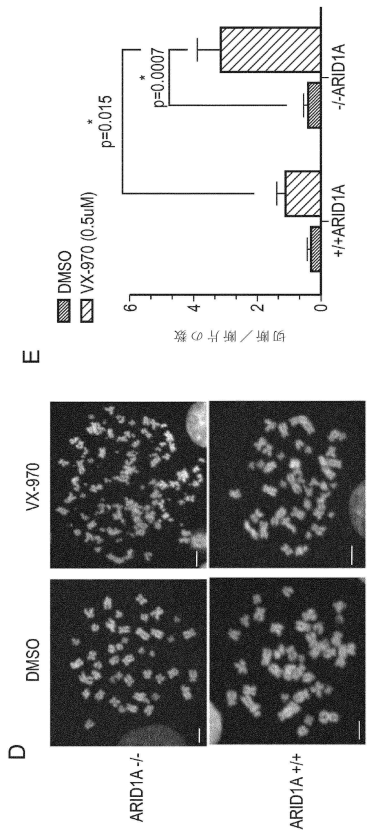
【図４－２】



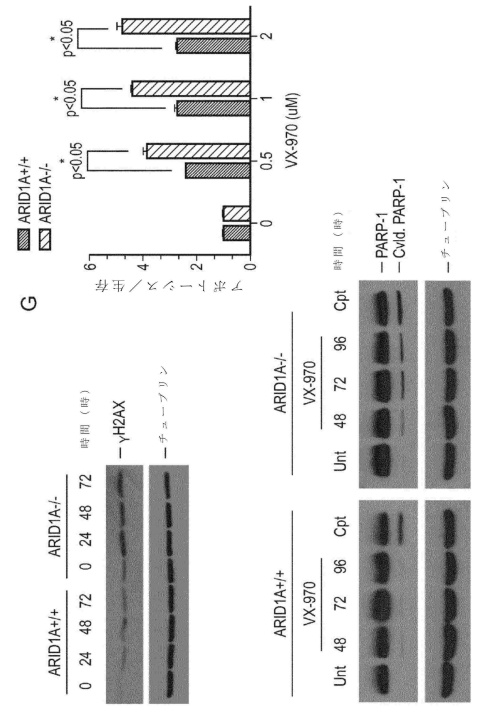
【図５－１】



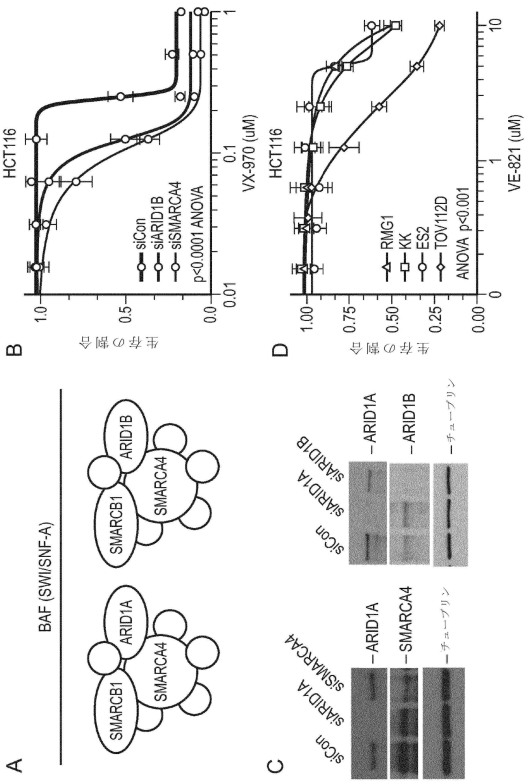
【図５－２】



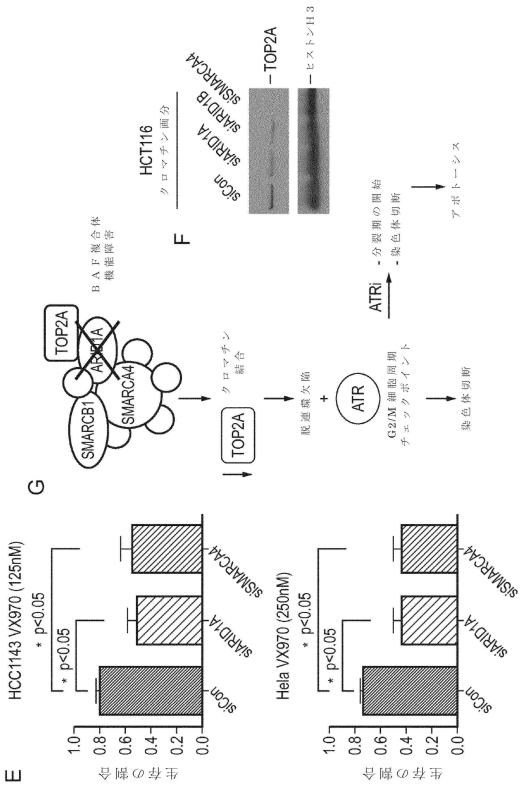
【図５－３】



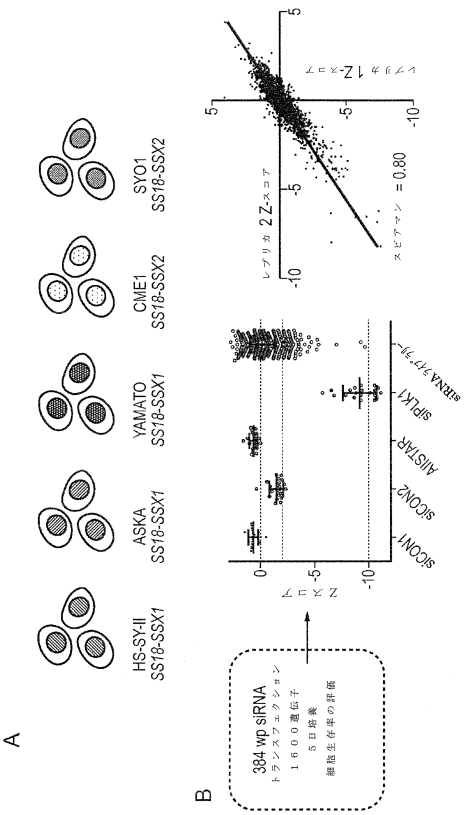
【図６－１】



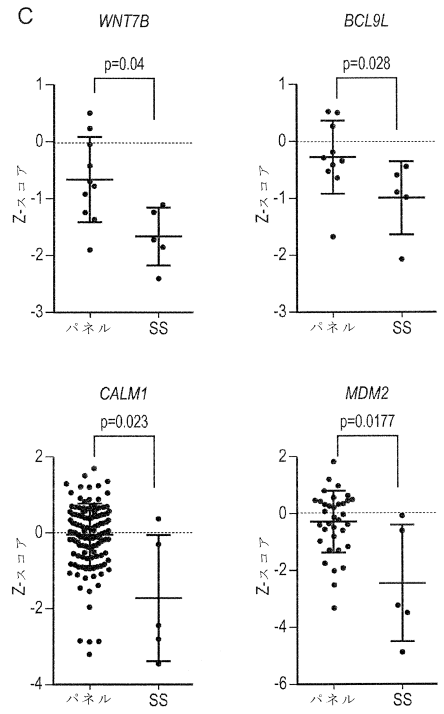
【図６－２】



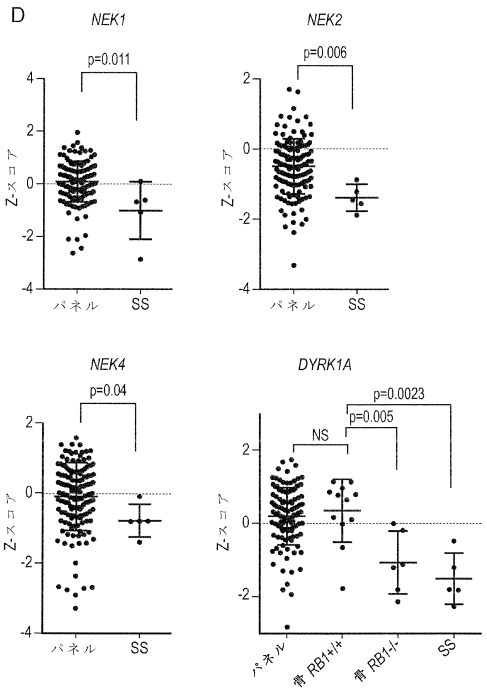
【図７－１】



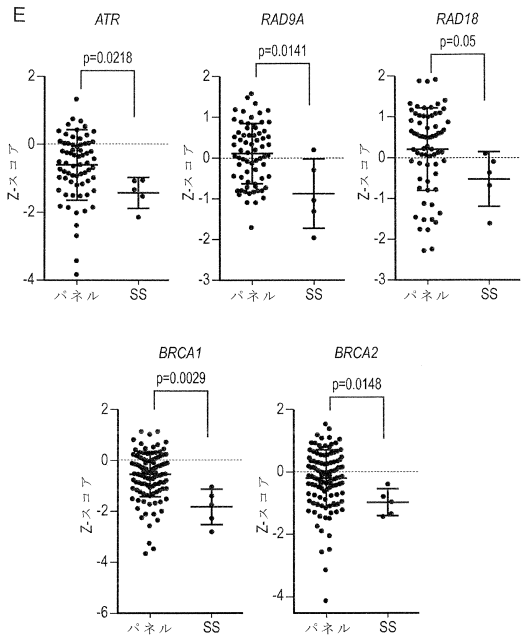
【図７－２】



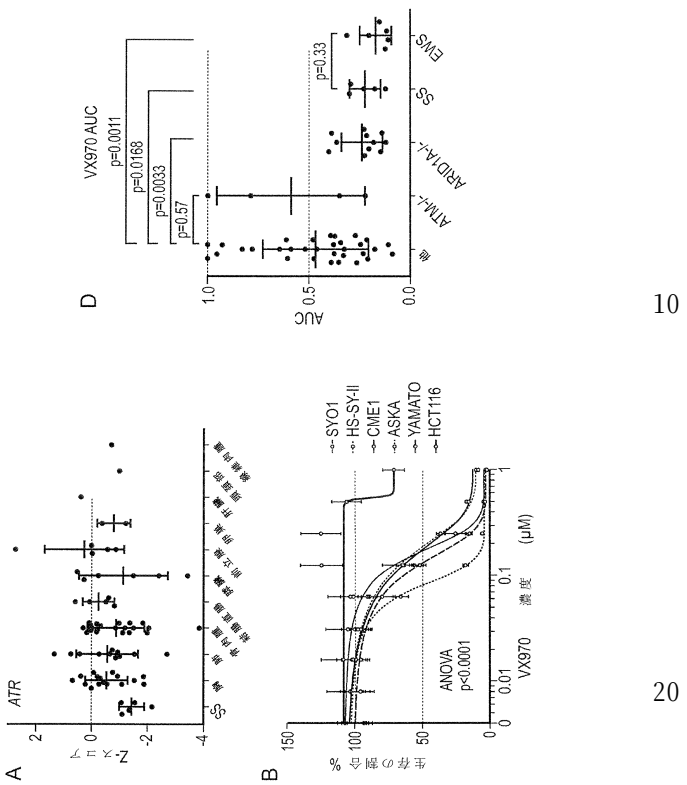
【図７－３】



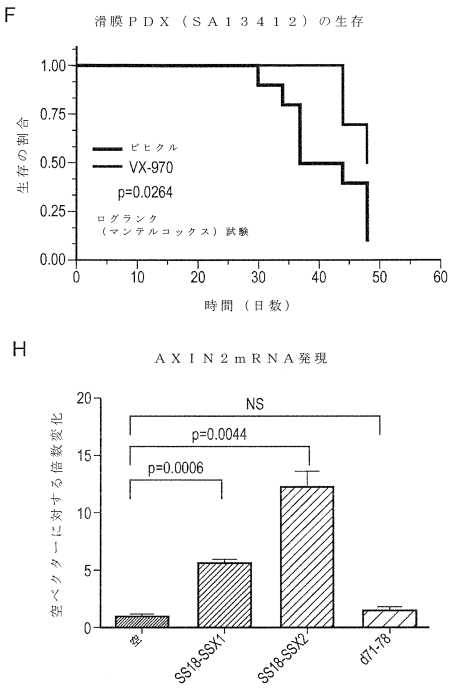
【図７－４】



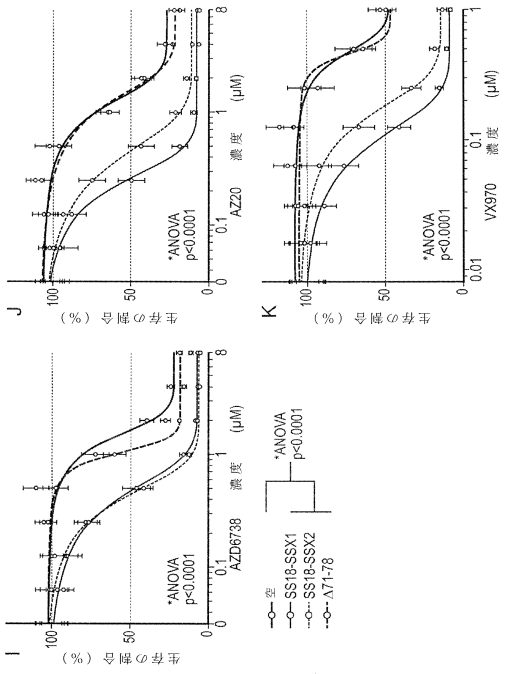
【図８－１】



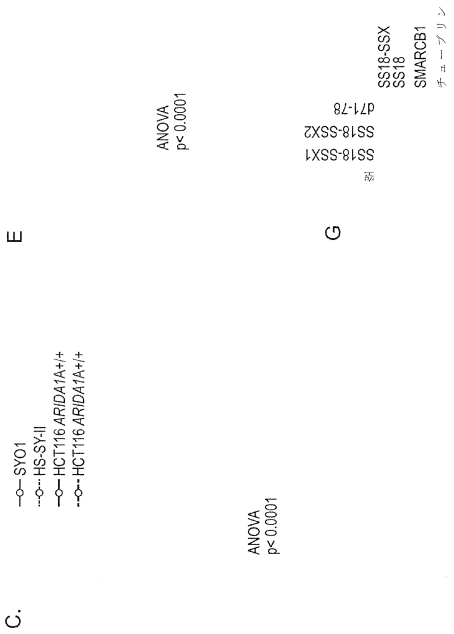
【図８－２】



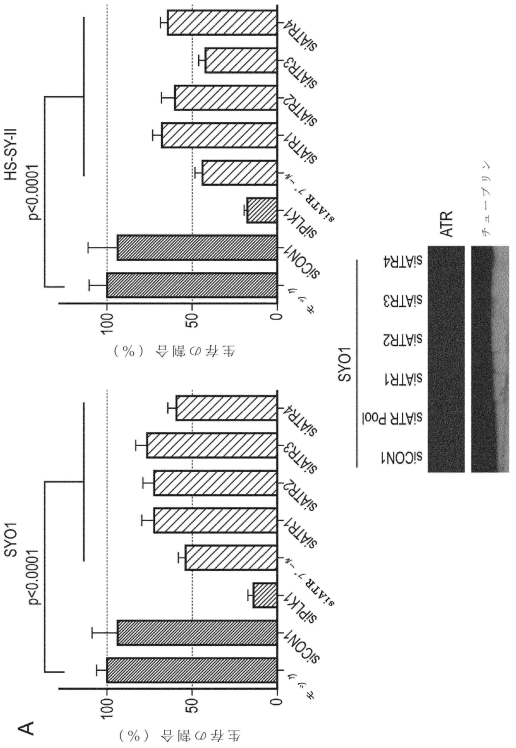
【図８－３】



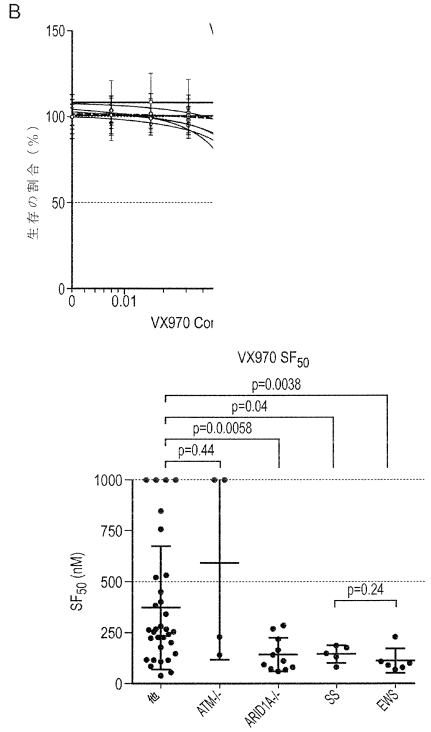
【図８－４】



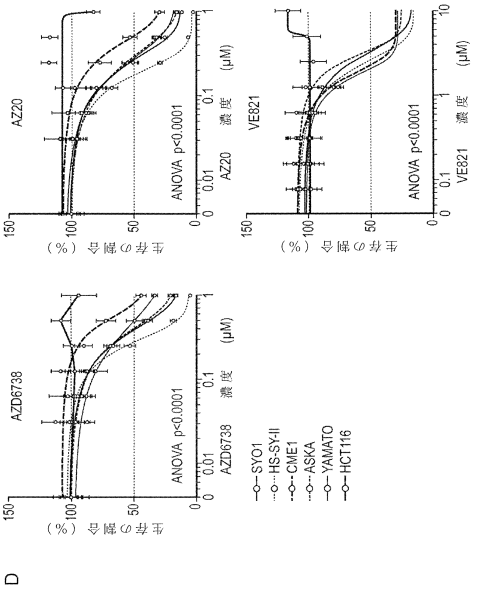
【図９－１】



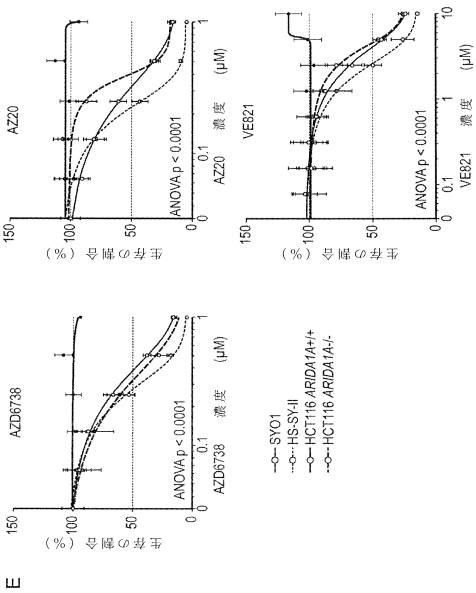
【図９－２】



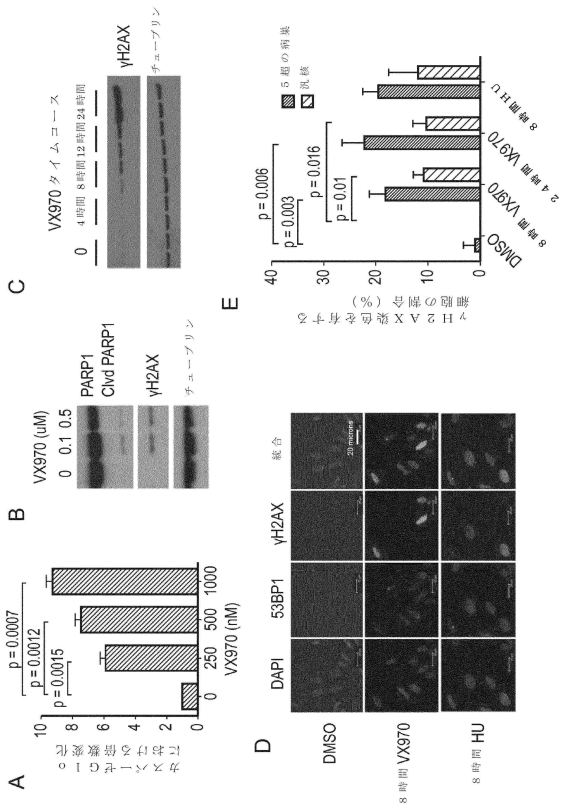
【図９－３】



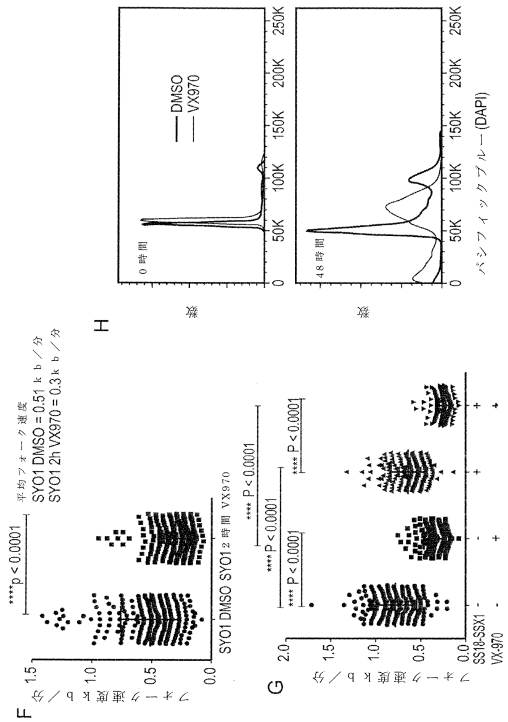
【図９－４】



【図１０－１】



【図１０－２】



フロントページの続き

(51)国際特許分類
Ａ６１Ｋ　31/505 (2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/519 (2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/7105(2006.01)

ＦＩ
Ａ６１Ｋ　31/505
Ａ６１Ｋ　31/519
Ａ６１Ｋ　31/7105

英国(GB)
(31)優先権主張番号　1621472.8
(32)優先日　平成28年12月16日(2016.12.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)

弁理士　小田 直
(74)代理人　100202751
弁理士　岩堀 明代
(74)代理人　100191086
弁理士　高橋 香元
(72)発明者　ロード，クリストファー ジェームズ
イギリス国，グレーター ロンドン エスダブリュー７ ３アールピー，ロンドン，オールド ブロンプトン ロード １２３，ザ インスティチュート オブ キャンサー リサーチ：ロイヤル キャンサー ホスピタル内
(72)発明者　ウィリアムソン，クリス
イギリス国，グレーター ロンドン エスダブリュー７ ３アールピー，ロンドン，オールド ブロンプトン ロード １２３，ザ インスティチュート オブ キャンサー リサーチ：ロイヤル キャンサー ホスピタル内
(72)発明者　ジョーンズ，サムエル
イギリス国，グレーター ロンドン エスダブリュー７ ３アールピー，ロンドン，オールド ブロンプトン ロード １２３，ザ インスティチュート オブ キャンサー リサーチ：ロイヤル キャンサー ホスピタル内

合議体
審判長　冨永 みどり
審判官　齋藤 恵
審判官　伊藤 幸司

(56)参考文献
特表２０１５－５１５４７８（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１５／１９５７４０（WO，Ａ１）
Ｗｅｂｅｒ，Ａ．Ｍ．ｅｔ ａｌ．，ＡＴＭ ａｎｄ ＡＴＲ ａｓ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ｔａｒｇｅｔｓ ｉｎ ｃａｎｃｅｒ，Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ＆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，２０１５年，Ｖｏｌ．１４９，ｐ．１２４－１３８，ｄｏｉ：１０．１０１６／ｊ．ｐｈａｒｍｔｈｅｒａ．２０１４．１２．００１
Ｍｉｄｄｌｅｔｏｎ，Ｆ．Ｋ．ｅｔ ａｌ．，Ｃｏｍｍｏｎ ｃａｎｃｅｒ－ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ ｉｍｂａｌａｎｃｅｓ ｉｎ ｔｈｅ ＤＮＡ ｄａｍａｇｅ ｒｅｓｐｏｎｓｅ ｃｏｎｆｅｒ ｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ ｔｏ ｓｉｎｇｌｅ ａｇｅｎｔ ＡＴＲ ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ，Ｏｎｃｏｔａｒｇｅｔ，２０１５年，Ｖｏｌ．６，Ｎｏ．３２，ｐ．３２３９６－３２４０９，ｄｏｉ：１０．１８６３２／ｏｎｃｏｔａｒｇｅｔ．６１３６
Ｗａｔａｎａｂｅ，Ｒ．ｅｔ ａｌ．，ＳＷＩ／ＳＮＦ ｆａｃｔｏｒｓ ｒｅｑｕｉｒｅｄ ｆｏｒ ｃｅｌｌｕｌａｒ ｒｅｓｉｓｔａｎｃｅ ｔｏ ＤＮＡ ｄａｍａｇｅ ｉｎｃｌｕｄｅ ＡＲＩＤ１Ａ ａｎｄ ＡＲＩＤ１Ｂ ａｎｄ ｓｈｏｗ ｉｎｔｅｒｄｅｐｅｎｄｅｎｔ ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｔａｂｉｌｉｔｙ，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２０１４年，Ｖｏｌ．７４，Ｎｏ．９，ｐ．２４６５－２４７５，ｄｏｉ：１０．１１５８／０００８－５４７２．ＣＡＮ－１３－３６０８

(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K45/00-08

A61K31/00-80
A61K48/00
PubMed