(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2021-517135
(P2021-517135A)
(43)公表日　令和3年7月15日(2021.7.15)

| (51)Int.Cl. | | F I | | | テーマコード（参考） |
|---|---|---|---|---|---|
| A61K 39/395 | (2006.01) | A61K | 39/395 | ZNAN | 4B063 |
| A61K 45/00 | (2006.01) | A61K | 45/00 | | 4C076 |
| A61P 35/00 | (2006.01) | A61P | 35/00 | | 4C084 |
| A61P 43/00 | (2006.01) | A61P | 43/00 | 111 | 4C085 |
| A61K 31/337 | (2006.01) | A61P | 43/00 | 121 | 4C086 |

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 108 頁）　最終頁に続く

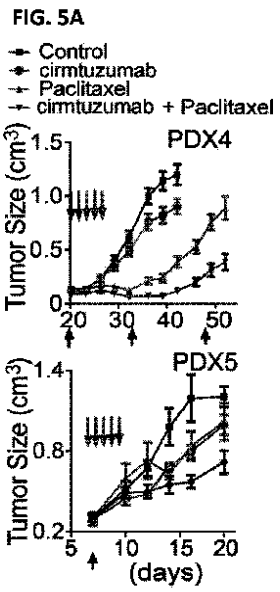
(21)出願番号　特願2020-547097 (P2020-547097)
(86)(22)出願日　平成31年3月11日 (2019.3.11)
(85)翻訳文提出日　令和2年11月5日 (2020.11.5)
(86)国際出願番号　PCT/US2019/021694
(87)国際公開番号　WO2019/173843
(87)国際公開日　令和1年9月12日 (2019.9.12)
(31)優先権主張番号　62/641,035
(32)優先日　平成30年3月9日 (2018.3.9)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

(71)出願人　507127440
ザ・リージエンツ・オブ・ザ・ユニバーシテイー・オブ・カリフオルニア
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９４６０７－５２００、オークランド、フランクリン・ストリート・１１１１、トゥエルブス・フロアー
(74)代理人　110001173
特許業務法人川口國際特許事務所
(72)発明者　キップス，トーマス
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９２１３０、サン・ディエゴ、カミニート・メンディオラ・１３１７５

最終頁に続く

(54)【発明の名称】化学療法抵抗性がんの組合せ処置

(57)【要約】
とりわけ、化学療法抵抗性がん（乳がん）の処置のための組成物及び方法が提供される。方法は、治療有効量の化学療法薬及びＲＯＲ－１アンタゴニストを、それを必要とする対象に投与することを含む。化学療法薬、ＲＯＲ－１アンタゴニスト及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物がさらに提供される。実施形態では、化学療法薬はパクリタキセルであり、ＲＯＲ－１アンタゴニストはシルムツズマブである。



【特許請求の範囲】
【請求項１】
化学療法抵抗性がんを処置する方法であって、それを必要とする対象において、治療有効量の化学療法薬及び治療有効量のチロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ－１）アンタゴニストを対象に投与すること、それによって、対象において化学療法抵抗性がんを処置することを含む方法。
【請求項２】
投与の前に対象においてＲＯＲ－１のレベルを検出することを含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
対象が化学療法を受けている又は受けたことがある、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
化学療法抵抗性がんが、化学療法抵抗性乳がんである、請求項３に記載の方法。
【請求項５】
投与の前に、標準対照と比べて増加したレベルのＲＯＲ－１を発現している対象を選択することをさらに含む、請求項４に記載の方法。
【請求項６】
化学療法薬が、植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質又はトポイソメラーゼ阻害剤である、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
化学療法薬が、パクリタキセル又はドセタキセルである、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
化学療法薬が、ドキソルビシン又はエピルビシンである、請求項６に記載の方法。
【請求項９】
ＲＯＲ－１アンタゴニストが抗体又は小分子である、請求項１に記載の方法。
【請求項１０】
ＲＯＲ－１アンタゴニストが抗ＲＯＲ－１抗体である、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
抗体が、ヒト化重鎖可変領域及びヒト化軽鎖可変領域を含み、
ヒト化重鎖可変領域が配列番号１、配列番号２及び配列番号３に示される配列を含み、及び、
ヒト化軽鎖可変領域が配列番号４、配列番号５及び配列番号６に示される配列を含む、請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
抗体がシルムツズマブである、請求項１０に記載の方法。
【請求項１３】
抗体が、ヒト化重鎖可変領域及びヒト化軽鎖可変領域を含み、
ヒト化重鎖可変領域が配列番号７、配列番号８及び配列番号９に示される配列を含み、及び、
ヒト化軽鎖可変領域が配列番号１０、配列番号１１及び配列番号１２に示される配列を含む、
請求項１０に記載の方法。
【請求項１４】
化学療法薬及びＲＯＲ－１アンタゴニストが、組み合わされた相乗作用量で投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項１５】
化学療法薬及びＲＯＲ－１アンタゴニストが、同時に又は逐次に投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項１６】
ＲＯＲ－１アンタゴニストが第１の時点で投与され、化学療法薬が第２の時点で投与さ

れ、第１の時点が第２の時点より前である、請求項１に記載の方法。
【請求項１７】
化学療法薬及びＲＯＲ－１アンタゴニストが、投与の前に混合される、請求項１に記載の方法。
【請求項１８】
化学療法薬がパクリタキセルである、請求項１に記載の方法。
【請求項１９】
化学療法薬が、約５ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、１１ｍｇ／ｋｇ、１２ｍｇ／ｋｇ、１３ｍｇ／ｋｇ、１４ｍｇ／ｋｇ又は１５ｍｇ／ｋｇの量で投与される、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
化学療法薬が約１３ｍｇ／ｋｇの量で投与される、請求項１９に記載の方法。
【請求項２１】
化学療法薬が１３．４ｍｇ／ｋｇの量で投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項２２】
ＲＯＲ－１アンタゴニストが、約１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ又は１０ｍｇ／ｋｇの量で投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項２３】
ＲＯＲ－１アンタゴニストが約２ｍｇ／ｋｇの量で投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項２４】
化学療法薬が１３．４ｍｇ／ｋｇの量で投与され、ＲＯＲ－１アンタゴニストが約２ｍｇ／ｋｇで投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項２５】
化学療法薬が少なくとも１４日間にわたって毎日投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項２６】
化学療法薬が約２８日間にわたって毎日投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項２７】
ＲＯＲ－１アンタゴニストが約２８日間にわたって１回投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項２８】
化学療法薬が静脈内に投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項２９】
ＲＯＲ－１アンタゴニストが静脈内に投与される、請求項１に記載の方法。
【請求項３０】
対象が哺乳動物である、請求項１に記載の方法。
【請求項３１】
対象がヒトである、請求項１に記載の方法。
【請求項３２】
乳がんを処置する方法であって、それを必要とする対象において、治療有効量の化学療法薬及び治療有効量のチロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ－１）アンタゴニストを対象に投与すること、それによって、対象において乳がんを処置することを含む方法。
【請求項３３】
（ｉ）植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質及びトポイソメラーゼ阻害剤からなる群から選択される化学療法薬、（ｉｉ）ＲＯＲ－１アンタゴニスト並びに（ｉｉｉ）薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。
【請求項３４】
（ｉ）植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質及びトポイソメラーゼ阻害剤からなる群から選択される化学療法薬、（ｉｉ）抗ＲＯＲ－１抗体並びに（ｉｉｉ）薬学的に許容される

賦形剤を含み、化学療法薬と抗ＲＯＲ－１抗体が組み合わされた相乗作用量で存在し、組み合わされた相乗作用量が乳がんを処置するのに、それを必要とする対象において有効である、医薬組成物。
【請求項３５】
化学療法薬が植物アルカロイドである、請求項３４に記載の医薬組成物。
【請求項３６】
化学療法薬がパクリタキセルである、請求項３５に記載の医薬組成物。
【請求項３７】
ＲＯＲ－１アンタゴニストが抗体又は小分子である、請求項３６に記載の医薬組成物。
【請求項３８】
ＲＯＲ－１アンタゴニストが抗ＲＯＲ－１抗体である、請求項３７に記載の医薬組成物。
【請求項３９】
抗体が、ヒト化重鎖可変領域及びヒト化軽鎖可変領域を含み、
ヒト化重鎖可変領域が配列番号１、配列番号２及び配列番号３に示される配列を含み、及び、
ヒト化軽鎖可変領域が配列番号４、配列番号５及び配列番号６に示される配列を含む、
請求項３８に記載の医薬組成物。
【請求項４０】
抗体がシルムツズマブである、請求項３８に記載の医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、２０１８年３月９日提出の米国特許仮出願第６２／６４１，０３５号の優先権を主張するものであり、前記特許文献はこれによって参照によりその全体をあらゆる目的のために組み込む。
【０００２】
アスキーファイルとして提出された「配列表」、表、又はコンピュータプログラムリスティング付録への言及
【０００３】
ファイル０４８５３７－６０５００１ＷＯ＿ＳＥＱＵＥＮＣＥ＿ＬＩＳＴＩＮＧ＿ＳＴ２５．ＴＸＴに書かれた配列表は、２０１９年３月８日に作成され、３，３７１バイト、機械フォーマットＩＢＭ－ＰＣ、ＭＳ－Ｗｉｎｄｏｗｓオペレーティングシステムである配列表は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０００４】
連邦政府支援研究開発の下で行われた発明への請求権に関する陳述
本発明は、国立衛生研究所により与えられた認可番号ＣＡ０８１５３４下の政府支援で行われた。政府は本発明にある特定の権利を有する。
【背景技術】
【０００５】
化学療法及び内分泌療法の進歩は乳がん死亡率を低下させてきたが、患者の２０％は未だ再発を起こし、最後にはこの疾患に負けてしまう（Ｅａｒｌｙ Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｒｉａｌｉｓｔｓ’ Ｃｏｌｌａｂｏｒａｔｉｖｅら、２０１２年）。これを説明する１つのモデルとしては、がん幹細胞（ＣＳＣ）があり、これは化学療法に比較的抵抗性であり、自己再生能力を有し、腫瘍を再生息させることができ、遠隔部位へ転移することができると仮定している（Ｂｒｏｏｋｓら、２０１５年；Ｗａｈｌ及びＳｐｉｋｅ、２０１７年）。そうであれば、ＣＳＣを標的にする療法も処置成績及び患者生存を改善する可能性がある。
【０００６】
研究によって、ＣＳＣと他のがん細胞を区別する特徴が同定されている。ＣＳＣは、非

粘着性細胞スフェロイドを形成し免疫欠損マウスに生着する特有の能力を有する（Ａｌ－Ｈａｊｊら、２００３年；Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎら、２００９年）。そのような細胞は、自己再生及び／又は薬物抵抗性についてのその比較的高い能力を反映する遺伝子発現シグネチャーを有する（Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎら、２００９年）。Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ経路の活性化は注目に値し、この活性化により、自己再生、化学療法に対する抵抗性、及び／又は転移能に寄与する遺伝子変化が誘導される（Ｃｈａｎら、２００８年；Ｃｏｒｄｅｎｏｎｓｉら、２０１１年；Ｍａｕｇｅｒｉ－Ｓａｃｃａ及びＤｅ　Ｍａｒｉａ、２０１６年；Ｍｏｒｏｉｓｈら、２０１５年）。

【０００７】

ＣＳＣの別の顕著な特長は、Ｂリンパ腫－Ｍｏ－ＭＬＶ挿入領域１相同体（ＢＭＩ１）の増強された発現であり；高レベルのＢＭＩ１は、基底様表現型を有する乳がんに関連しており、この表現型は低い患者生存に関連している（Ｗａｎｇら、２０１２年）。ＢＭＩ１は、ＣＳＣ自己再生及び発癌イニシエーション能力を促進しうる（Ｋｒｅｓｏら、２０１４年；Ｐａｒａｎｊａｐｅら、２０１４年；Ｗｕら、２０１１年）。さらに、ＢＭＩ１はＡＴＰ結合カセット（ＡＢＣ）トランスポーターをコードする遺伝子の発現を増強することができ、このトランスポーターは化学療法に対する抵抗性を増強する（Ｓｕら、２０１５年；Ｗｕら、２０１１年）。

【０００８】

乳房ＣＳＣは、これを他の新生物細胞と区別する表現型特長も有する。ＣＳＣは、アルデヒドデハイドロゲナーゼ１（ＡＬＤＨ１）の特有の発現を有し、一般にＣＤ２、ＣＤ４９ｆ、ＣＤ１３３及び／又はＣＤ４４を、低レベルのＣＤ２４（ＣＤ２４$^{low}$）又はＣＤ４７と併せて発現する（Ａｌ－Ｈａｊｊら、２００３年；Ｇｉｎｅｓｔｉｅｒら、２００７年；Ｋａｕｒら、２０１６年）。しかし、そのようなＣＳＣ関連表面タンパク質は新生物細胞に制限されない。例外はＩ型オーファン受容体チロシンキナーゼ様であるＲＯＲ１であり、これは多くのがんにより発現されるが、正常な分娩後組織により発現されない（Ｚｈａｎｇら、２０１２ｂ）。高レベルのＲＯＲ１＋細胞を含む乳がんは、分化が不十分であり、上皮間葉転換（ＥＭＴ）に関連するマーカーを発現する傾向がある（Ｃｕｉら、２０１３年）。ＲＯＲ１の高レベル発現は、三種陰性乳がんを抱えた患者の比較的短い処置後無病又は全生存に関連している（Ｚｈａｎｇら、２０１２ａ；Ｃｈｉｅｎら、２０１６年）。反対に、ＲＯＲ１を発現停止すると、ＥＭＴに関連する遺伝子の発現が減弱され、インビトロでのがん細胞遊走／浸潤及びインビボでの転移が損なわれ、ＲＯＲ１とＣＳＣに関連する特長及び／又は予後不良との間に関係があることが明らかにされている（Ｃｕｉら、２０１３年）。

【０００９】

先行研究により、ＲＯＲ１がＷｎｔ５ａに対する受容体であり（Ｆｕｋｕｄａら、２００８年）、Ｗｎｔ５ａは慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）において非標準Ｗｎｔシグナル伝達を誘導して、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼの活性化並びに増強された腫瘍細胞増殖及び生存をもたらすことができることが明らかにされた（Ｙｕら、２０１５年）。ＲｈｏＡ、Ｒａｃ１、及びｃｄｃ４２を含む、Ｒｈｏタンパク質は、乳がんでは非新生物胸部組織と比べて高レベルで発現される（Ｆｒｉｔｚら、１９９９年）。Ｒｈｏ　ＧＴＰアーゼが活性化されると、発がんを与え化学療法に対する抵抗性を増強することができる（Ｈｅｉｎら、２０１６年）。さらに、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼがＷｎｔ誘導活性化されると、ＨＥＫ２９３Ａ細胞においてＹＡＰ／ＴＡＺの活性化を促進することができる（Ｐａｒｋら、２０１５年）。しかし、ＲＯＲ１の異常な発現が、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼシグナル伝達の活性化、ＹＡＰ／ＴＡＺ活性化、若しくは乳がん細胞におけるＢＭＩ１に寄与しているのかどうか、又はＲＯＲ１依存性シグナル伝達が薬物抵抗性及び／若しくは腫瘍細胞自己再生を増強するのかどうかは分かっていない。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【００１０】

【非特許文献１】Ｅａｒｌｙ Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｒｉａｌｉｓｔｓ’Ｃｏｌｌａｂｏｒａｔｉｖｅら、２０１２年
【非特許文献２】Ｂｒｏｏｋｓ、Ｍ．Ｄ．、Ｂｕｒｎｅｓｓ、Ｍ．Ｌ．、ａｎｄ Ｗｉｃｈａ、Ｍ．Ｓ．（２０１５）．Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｉｍｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｅｌｌｕｌａｒ Ｈｅｔｅｒｏｇｅｎｅｉｔｙ ａｎｄ Ｐｌａｓｔｉｃｉｔｙ ｉｎ Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ．Ｃｅｌｌ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ １７、２６０～２７１頁
【非特許文献３】Ｗａｈｌ、Ｇ．Ｍ．、ａｎｄ Ｓｐｉｋｅ、Ｂ．Ｔ．（２０１７）．Ｃｅｌｌ ｓｔａｔｅ ｐｌａｓｔｉｃｉｔｙ、ｓｔｅｍ ｃｅｌｌｓ、ＥＭＴ、ａｎｄ ｔｈｅ ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ ｏｆ ｉｎｔｒａ－ｔｕｍｏｒａｌ ｈｅｔｅｒｏｇｅｎｅｉｔｙ．ＮＰＪ Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ ３、１４頁
【非特許文献４】Ａｌ－Ｈａｊｊ、Ｍ．、Ｗｉｃｈａ、Ｍ．Ｓ．、Ｂｅｎｉｔｏ－Ｈｅｒｎａｎｄｅｚ、Ａ．、Ｍｏｒｒｉｓｏｎ、Ｓ．Ｊ．、ａｎｄ Ｃｌａｒｋｅ、Ｍ．Ｆ．（２００３）．Ｐｒｏｓｐｅｃｔｉｖｅ ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｕｍｏｒｉｇｅｎｉｃ ｂｒｅａｓｔ ｃａｎｃｅｒ ｃｅｌｌｓ．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ １００、３９８３～３９８８頁
【非特許文献５】Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ、Ｃ．Ｊ．、Ｌｉ、Ｘ．、Ｌａｎｄｉｓ、Ｍ．、Ｄｉｘｏｎ、Ｊ．Ｍ．、Ｎｅｕｍｅｉｓｔｅｒ、Ｖ．Ｍ．、Ｓ］ｏｌｕｎｄ、Ａ．、Ｒｉｍｍ、Ｄ．Ｌ．、Ｗｏｎｇ、Ｈ．、Ｒｏｄｒｉｇｕｅｚ、Ａ．、Ｈｅｒｓｃｈｋｏｗｉｔｚ、Ｊ．Ｉ．ら、（２００９）．Ｒｅｓｉｄｕａｌ ｂｒｅａｓｔ ｃａｎｃｅｒｓ ａｆｔｅｒ ｃｏｎｖｅｎｔｉｏｎａｌ ｔｈｅｒａｐｙ ｄｉｓｐｌａｙ ｍｅｓｅｎｃｈｙｍａｌ ａｓ ｗｅｌｌ ａｓ ｔｕｍｏｒ－ｉｎｉｔｉａｔｉｎｇ ｆｅａｔｕｒｅｓ．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ １０６、１３８２０～１３８２５頁
【非特許文献６】Ｃｈａｎ、Ｓ．Ｗ．、Ｌｉｍ、Ｃ．Ｊ．、Ｇｕｏ、Ｋ．、Ｎｇ、Ｃ．Ｐ．、Ｌｅｅ、Ｉ．、Ｈｕｎｚｉｋｅｒ、Ｗ．、Ｚｅｎｇ、Ｑ．、ａｎｄ Ｈｏｎｇ、Ｗ．（２００８）．Ａ ｒｏｌｅ ｆｏｒ ＴＡＺ ｉｎ ｍｉｇｒａｔｉｏｎ, ｉｎｖａｓｉｏｎ, ａｎｄ ｔｕｍｏｒｉｇｅｎｅｓｉｓ ｏｆ ｂｒｅａｓｔ ｃａｎｃｅｒ ｃｅｌｌｓ．Ｃａｎｃｅｒ ｒｅｓｅａｒｃｈ ６８、２５９２～２５９８頁
【非特許文献７】Ｃｏｒｄｅｎｏｎｓｉ、Ｍ．、Ｚａｎｃｏｎａｔｏ、Ｆ．、Ａｚｚｏｌｉｎ、Ｌ．、Ｆｏｒｃａｔｏ、Ｍ．、Ｒｏｓａｔｏ、Ａ．、Ｆｒａｓｓｏｎ、Ｃ．、Ｉｎｕｉ、Ｍ．、Ｍｏｎｔａｇｎｅｒ、Ｍ．、Ｐａｒｅｎｔｉ、Ａ．Ｒ．、Ｐｏｌｅｔｔｉ、Ａ．ら、（２０１１）．Ｔｈｅ Ｈｉｐｐｏ ｔｒａｎｓｄｕｃｅｒ ＴＡＺ ｃｏｎｆｅｒｓ ｃａｎｃｅｒ ｓｔｅｍ ｃｅｌｌ－ｒｅｌａｔｅｄ ｔｒａｉｔｓ ｏｎ ｂｒｅａｓｔ ｃａｎｃｅｒ ｃｅｌｌｓ．Ｃｅｌｌ １４７、７５９～７７２頁
【非特許文献８】Ｍａｕｇｅｒｉ－Ｓａｃｃａ、Ｍ．、ａｎｄ Ｄｅ Ｍａｒｉａ、Ｒ．（２０１６）．Ｈｉｐｐｏ ｐａｔｈｗａｙ ａｎｄ ｂｒｅａｓｔ ｃａｎｃｅｒ ｓｔｅｍ ｃｅｌｌｓ．Ｃｒｉｔｉｃａｌ ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ ｏｎｃｏｌｏｇｙ／ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ ９９、１１５～１２２頁
【非特許文献９】Ｍｏｒｏｉｓｈｉ、Ｔ．、Ｈａｎｓｅｎ、Ｃ．Ｇ．、ａｎｄ Ｇｕａｎ、Ｋ．Ｌ．（２０１５）．Ｔｈｅ ｅｍｅｒｇｉｎｇ ｒｏｌｅｓ ｏｆ ＹＡＰ ａｎｄ ＴＡＺ ｉｎ ｃａｎｃｅｒ．Ｎａｔｕｒｅ ｒｅｖｉｅｗｓ Ｃａｎｃｅｒ １５、７３～７９頁
【非特許文献１０】Ｗａｎｇ、Ｙ．、Ｚｈｅ、Ｈ．、Ｄｉｎｇ、Ｚ．、Ｇａｏ、Ｐ．、Ｚｈａｎｇ、Ｎ．、ａｎｄ Ｌｉ、Ｇ．（２０１２）．Ｃａｎｃｅｒ ｓｔｅｍ ｃｅｌｌ ｍａｒｋｅｒ Ｂｍｉ－１ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｉｓ ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ ｗｉｔｈ ｂａｓａｌ－ｌｉｋｅ ｐｈｅｎｏｔｙｐｅ ａｎｄ ｐｏｏｒ ｓｕｒｖｉｖａｌ ｉｎ ｂｒｅａｓｔ ｃａｎｃｅｒ．Ｗｏｒｌｄ Ｊ Ｓｕｒｇ ３６、１１８９～１１９４頁
【非特許文献１１】Ｋｒｅｓｏ、Ａ．、ｖａｎ Ｇａｌｅｎ、Ｐ．ＰｅｄｌｅｙＮ．Ｍ．

Lima－Fernandes、E.、Frelin、C.、Davis、T.、Cao、L.、Baiazitov、R.、Du、W.、Sydorenko、N.ら、（2014）. Self－renewal as a therapeutic target in human colorectal cancer. Nature medicine 20、29～36頁
【非特許文献12】Paranjape、A. N.、Balaji、S. A.、Mandal、T.、Krushik、E. V.、Nagaraj、P.、Mukherjee、G.、and Rangarajan、A.（2014）. Bmi1 regulates self－renewal and epithelial to mesenchymal transition in breast cancer cells through Nanog. BMC Cancer 14、785頁
【非特許文献13】Wu、X.、Liu、X.、Sengupta、J.、Bu、Y.、Yi、F.、Wang、C.、Shi、Y.、Zhu、Y.、Jiao、Q.、and Song、F.（2011）. Silencing of Bmi－1 gene by RNA interference enhances sensitivity to doxorubicin in breast cancer cells. Indian journal of experimental biology 49、105～112頁
【非特許文献14】Su、J.、Wu、S.、Tang、W.、Qian、H.、Zhou、H.、and Guo、T.（2015）. Reduced SLC27A2 induces cisplatin resistance in lung cancer stem cells by negatively regulating Bmi1－ABCG2 signaling. Molecular carcinogenesis.
【非特許文献15】Ginestier、C.、Hur、M. H.、Charafe－Jauffret、E.、Monville F.、Dutcher、J.、Brown、M.、Jacquemier、J.、Viens、P.、Kleer、C. G.、Liu、S.ら、（2007）. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. Cell Stem Cell 1、555～567頁
【非特許文献16】Kaur、S.、Elkahloun、A. G.、Singh、S. P.、Chen、Q. R.、Meerzaman、D. M.、Song、T.、Manu、N.、Wu、W.、Mannan、P.、Garfield、S. H.ら、（2016）. A function－blocking CD47 antibody suppresses stem cell and EGF signaling in triple－negative breast cancer. Oncotarget.
【非特許文献17】Zhang、S.、Chen、L.、Wang－Rodriguez、J.、Zhang、L.、Cui、B.、Frankel、W.、Wu、R.、and Kipps、T. J.（2012b）. The onco－embryonic antigen ROR1 is expressed by a variety of human cancers. The American journal of pathology 181、1903～1910頁
【非特許文献18】Cui、B.、Zhang、S.、Chen、L.、Yu、J.、Widhopf、G. F.、2nd、Fecteau、J. F.、Rassenti、L. Z.、and Kipps、T. J.（2013）. Targeting ROR1 inhibits epithelial－mesenchymal transition and metastasis. Cancer Res 73、3649～3660頁
【非特許文献19】Zhang、S.、Chen、L.、Cui、B.、Chuang、

H.Y.、Yu、J.、Wang－Rodriguez、J.、Tang、L.、Chen、G.、Basak、G.W.、and Kipps、T.J.（2012a）.ROR1 is expressed in human breast cancer and associated with enhanced tumor－cell growth.PLoS One 7、e31127.
【非特許文献20】Chien、H.P.、Ueng、S.H.、Chen、S.C.、Chang、Y.S.、Lin、Y.C.、Lo、Y.F.、Chang、H.K.、Chuang、W.Y.、Huang、Y.T.、Cheung、Y.C.ら、（2016）.Expression of ROR1 has prognostic significance in triple negative breast cancer.Virchows Archiv：an international journal of pathology 468、589～595頁
【非特許文献21】Fukuda、T.、Chen、L.、Endo、T.、Tang、L.、Lu、D.、Castro、J.E.、Widhopf、G.F.、2nd、Rassenti、L.Z.、Cantwell、M.J.、Prussak、C.E.ら、（2008）.Antisera induced by infusions of autologous Ad－CD154－leukemia B cells identify ROR1 as an oncofetal antigen and receptor for Wnt5a.Proc Natl Acad Sci USA 105、3047～3052頁
【非特許文献22】Yu、J.、Chen、L.、Cui、B.、Widhopf、G.F.、2nd、Shen、Z.、Wu、R.、Zhang、L.、Zhang、S.、Briggs、S.P.、and Kipps、T.J.（2015）.Wnt5a induces ROR1／ROR2 heterooligomerization to enhance leukemia chemotaxis and proliferation.J Clin Invest.
【非特許文献23】Fritz、G.、Just、I.、and Kaina、B.（1999）.Rho GTPases are over－expressed in human tumors.International journal of cancer 81、682～687頁
【非特許文献24】Hein、A.L.、Post、C.M.、Sheinin、Y.M.、Lakshmanan、I.、Natarajan、A.、Enke、C.A.、Batra、S.K.、Ouellette、M.M.、and Yan、Y.（2016）.RAC1 GTPase promotes the survival of breast cancer cells in response to hyper－fractionated radiation treatment.Oncogene 35、6319～6329頁
【非特許文献25】Park、H.W.、Kim、Y.C.、Yu、B.、Moroishi、T.、Mo、J.S.、Plouffe、S.W.、Meng、Z.、Lin、K.C.、Yu、F.X.、Alexander、C.M.ら、（2015）.Alternative Wnt Signaling Activates YAP／TAZ.Cell 162、780～794頁

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１１】
上記これらの問題及び当技術分野における他の問題に対する解答がここで提供される。
【課題を解決するための手段】
【００１２】
（発明の概要）
態様では、化学療法抵抗性がんを、それを必要とする対象において処置する方法が提供

される。方法は、治療有効量の化学療法薬及び治療有効量のチロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）アンタゴニストを対象に投与すること、それによって、対象において化学療法抵抗性がんを処置することを含む。

【００１３】

態様では、乳がんを、それを必要とする対象において処置する方法が提供される。方法は、治療有効量の化学療法薬及び治療有効量のチロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）アンタゴニストを対象に投与すること、それによって、対象において化学療法抵抗性乳がんを処置することを含む。

【００１４】

態様では、（ｉ）植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質及びトポイソメラーゼ阻害薬からなる群から選択される化学療法薬、（ｉｉ）ＲＯＲ－１アンタゴニスト並びに（ｉｉｉ）薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が提供される。

【００１５】

態様では、（ｉ）植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質及びトポイソメラーゼ阻害薬からなる群から選択される化学療法薬、（ｉｉ）抗ＲＯＲ－１抗体並びに（ｉｉｉ）薬学的に許容される賦形剤を含み、化学療法薬と抗ＲＯＲ－１抗体が組み合わされた相乗作用量で存在し、組み合わされた相乗作用量がそれを必要とする対象において乳がんを処置するのに有効である医薬組成物が提供される。

【図面の簡単な説明】

【００１６】

【図１Ａ】化学療法前後のＲＯＲ１及びＣＳＣに関連する遺伝子の発現を示す図である。ＧＳＥ８７４５５データセットにおける治療に先立つ患者由来のＲＯＲ１Ｈｉ腫瘍（Ｎ＝６１）対ＲＯＲ１Ｌｏｗ腫瘍（Ｎ＝６１）上のＲａｃ１／ＲｈｏＡ／ｃｄｃ４２シグナル伝達経路、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ標的遺伝子及びＢＭＩ１標的遺伝子のエンリッチメントプロット。

【図１Ｂ】化学療法前後のＲＯＲ１及びＣＳＣに関連する遺伝子の発現を示す図である。化学療法前（「プレ」）又は対応する後（「ポスト」）の乳がん患者試料におけるＲＯＲ１又はＡＬＤＨ１Ａ１発現レベル（ポスト、プレ、Ｎ＝５７）。線は前対後処置下位群における遺伝子の中央値発現レベルを示している。

【図１Ｃ】化学療法前後のＲＯＲ１及びＣＳＣに関連する遺伝子の発現を示す図である。ＧＳＥ８７４５５データセットにおける処置後試料（Ｎ＝５７）対対応する処置前試料（Ｎ＝５７）上でのＲａｃ１／ＲｈｏＡ／ｃｄｃ４２シグナル伝達により活性化される遺伝子のエンリッチメントプロット。

【図１Ｄ】化学療法前後のＲＯＲ１及びＣＳＣに関連する遺伝子の発現を示す図である。治療未経験患者の乳がん組織から調製された可溶化液を使用する、右に示されるタンパク質についての免疫ブロット解析。βアクチンについてのプロービングはタンパク質負荷対照としての役目を果たした。それぞれのレーンの下の数字は、患者１について付記される比に関して正規化されている、βアクチンのバンド密度に対するタンパク質ごとのバンド密度の比を表している。

【図１Ｅ】化学療法前後のＲＯＲ１及びＣＳＣに関連する遺伝子の発現を示す図である。治療の前に患者から入手した乳がん生検におけるＲＯＲ１対ＴＡＺ又はＲＯＲ１対ＢＭＩ１についてのピアソン相関分析。

【図１Ｆ】化学療法前後のＲＯＲ１及びＣＳＣに関連する遺伝子の発現を示す図である。抗ＲＯＲ１　ｍＡｂ、４Ａ５で染色した乳がん組織の代表的な画像。スケールバー：２５μＭ。

【図１Ｇ】化学療法前後のＲＯＲ１及びＣＳＣに関連する遺伝子の発現を示す図である。ドセタキセル／エピルビシン±シクロホスファミドを用いた、治療前（プレ）又は後（ポスト）の患者から入手した乳房生検標本中のＲＯＲ１の免疫組織化学染色。Ｐ値はフィッシャー直接検定を用いて決定した。

【図２Ａ】ＲＯＲ１＋乳がん細胞がパクリタキセル処置後の乳房ＣＳＣの表現型及び機能

的特長を有する細胞について濃縮されていることを示す図である。グラフは、処置を受けなかった（四角データポイント、Ｎ＝７）又は矢印で示される日にパクリタキセルを受けていた（円形データポイント、Ｎ＝５）動物についての経時的平均腫瘍成長（±ＳＥＭ）を描いている。

【図２Ｂ】ＲＯＲ１＋乳がん細胞がパクリタキセル処置後の乳房ＣＳＣの表現型及び機能的特長を有する細胞について濃縮されていることを示す図である。上で示されている、非処置マウス（－）から又はパクリタキセルで処置されたマウス（＋）から単離されたＰＤＸ４又はＰＤＸ５由来の可溶化液は、ＲＯＲ１又は１３－アクチンについて試験し、後者はタンパク質負荷対照としての役目を果たした。それぞれのレーンの下の数字は、非処置マウスから単離したＰＤＸについてのバンド密度に正規化された、１３－アクチンに対するＲＯＲ１のバンド密度の比である。

【図２Ｃ】ＲＯＲ１＋乳がん細胞がパクリタキセル処置後の乳房ＣＳＣの表現型及び機能的特長を有する細胞について濃縮されていることを示す図である。ヒストグラムは、非処置マウス（オープンバー、Ｎ＝３）又はパクリタキセル処置マウス（ブラックバー、Ｎ＝３）から摘出されたＰＤＸ４又はＰＤＸ５由来のスフェロイドの平均数±ＳＥＭを描いている。ヒストグラムの左側の代表的顕微鏡写真は、左縁に示されている、非処置マウスから又はパクリタキセルを受けたマウスから摘出されたＰＤＸのスフェロイドを描いている。スケールバー：１００μｍ。

【図２Ｄ】ＲＯＲ１＋乳がん細胞がパクリタキセル処置後の乳房ＣＳＣの表現型及び機能的特長を有する細胞について濃縮されていることを示す図である。ヒストグラムは、非処置マウス（オープンバー、Ｎ＝３）又はパクリタキセル処置マウス（ブラックバー、Ｎ＝３）±ＳＥＭから摘出されたＰＤＸ４又はＰＤＸ５由来の浸潤細胞の平均数を描いている。ヒストグラムの左側の代表的顕微鏡写真は、左縁に示されている、非処置マウスから又はパクリタキセルを受けたマウスから摘出されたＰＤＸの浸潤細胞を描いている。スケールバー：１００μｍ。

【図２Ｅ】ＲＯＲ１＋乳がん細胞がパクリタキセル処置後の乳房ＣＳＣの表現型及び機能的特長を有する細胞について濃縮されていることを示す図である。腫瘍細胞は、左縁に示されている、処置を受けなかった（非処置）又はパクリタキセルで処置を受けた（パクリタキセル）マウス由来のＰＤＸ４又はＰＤＸ５から単離された。それぞれのＰＤＸから単離された腫瘍は、マウス（Ｎ＝５）中に再移植され、腫瘍発生率を記録した。左パネルは、非処置マウスから又はパクリタキセルを受けたマウスから単離された腫瘍についての代表的な写真を提供している。腫瘍原性細胞の頻度及び可能性評価は、エクストリーム限界希釈解析（ＥＬＤＡ）ソフトウェアを使用して右パネルに提供されている。

【図３Ａ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。上で示される時間Ｗｎｔ５ａで刺激されたＨｓ５７８Ｔ細胞（親）又はＲＯＲ１についてノックアウトされたＨｓ５７８Ｔ（ＲＯＲ１－／－）から調製された可溶化液を使用する、右に示されるタンパク質についての免疫ブロット解析。それぞれのレーンの下の数字は、Ｗｎｔ５ａなしで処置された細胞に関して正規化された、１３－アクチンのバンド密度に対するタンパク質ごとのバンド密度の比を表す。

【図３Ｂ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。アイソタイプ対照ＩｇＧ（ｈＩｇＧ）又はシルムツズマブ（ｃｉｒｍｔｕｚｕｍａｂ）で処置されており、次に上に示される時間Ｗｎｔ５ａで刺激されたＨｓ５７８Ｔ細胞の可溶化液を使用する、右に示されるタンパク質についての免疫ブロット解析。それぞれのレーンの下の数字は、Ｗｎｔ５ａなしのｈＩｇＧ処置細胞に関して正規化された、１３－アクチンのバンド密度に対するタンパク質ごとのバンド密度の比を表す。

【図３Ｃ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。上に示される、Ｗｎｔ５ａなし（－）又はあり（＋）で処置された親又はＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔ由来の可溶化液を使用する

、右縁に示されたタンパク質についての免疫ブロット解析。それぞれのレーンの下の数字は３Ａの通りである。
【図３Ｄ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。下に示される、Ｗｎｔ５ａなし又はありで処置され、次に上に示されるＹＡＰ／ＴＡＺ及びＤＡＰＩについて染色され、次に共焦点顕微鏡を使用して試験された親（上の列）又はＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔ細胞（下の列）の顕微鏡写真。スケールバー：２０μｍ。顕微鏡写真の右側のヒストグラムは、それぞれのフィールドにおいて細胞の核内に位置するＹＡＰ／ＴＡＺの平均パーセントを提供する（Ｎ＝１０、±ＳＥＭ）。
【図３Ｅ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。シルムツズマブ又はｈＩｇＧを用いて培養され、次に上に示されるＷｎｔ５ａなし又はありで処置されたＨｓ５７８Ｔ細胞から調製される可溶化液を使用する、右側に示されるタンパク質についての免疫ブロット解析。それぞれのレーンの下の数字は３Ｂの通りである。
【図３Ｆ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。シルムツズマブ又はｈＩｇＧ（左側に示されている）を用いて一晩培養され、次にＷｎｔ５ａなし又はあり（下に示されている）で４時間処置され、次にＹＡＰ／ＴＡＺ及びＤＡＰＩ（上に示されている）について染色され、次に共焦点顕微鏡を使用して試験されたＨｓ５７８Ｔの顕微鏡写真。スケールバー：２０μｍ。顕微鏡写真の右側のヒストグラムは、それぞれのフィールドにおいて細胞の核内に位置するＹＡＰ／ＴＡＺの平均パーセントを提供する（Ｎ＝１０、±ＳＥＭ）。
【図３Ｇ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。上に示される時間Ｗｎｔ５ａで処置された、親又はＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔ（下に示されている）の可溶化液を使用する、右側に示されるタンパク質についての免疫ブロット解析。それぞれのレーンの下の数字は、時間０で収集された試料のバンド密度に正規化されたＢＭＩ１対１３－アクチン、ｐＡＫＴ対全ＡＫＴ、又はＲＯＲ１対１３－アクチンのバンド密度の比である。
【図３Ｈ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。上に示される、対照ｓｉＲＮＡ又はＡＫＴ特異的ｓｉＲＮＡ（ＡＫＴ－ｓｉＲＮＡ）で処置されたＨｓ５７８Ｔの可溶化液を使用する、右側に示されるタンパク質についての免疫ブロット解析。それぞれのレーンの下の数字は３Ｇの通りである。
【図３Ｉ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。上に示される、ｈＩｇＧ又はシルムツズマブで一晩処置され、次にＷｎｔ５ａなし又はありで処置されたＨｓ５７８Ｔの可溶化液を使用する、右縁に示されるタンパク質についての免疫ブロット解析。それぞれのレーンの下の数字は３Ｇの通りである。
【図３Ｊ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。ｈＩｇＧ又はシルムツズマブで一晩処置され、次にＷｎｔ５ａで上に示される時間処置されたＨｓ５７８Ｔの可溶化液を使用する、右縁に示されるタンパク質についての免疫ブロット解析。それぞれのレーンの下の数字は３Ｇの通りである。
【図３Ｋ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。ヒストグラムは、Ｗｎｔ５ａなしで又はありで３通り処置された親又はＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔ由来のスフェロイドの平均数±ＳＥＭを描いている。
【図３Ｌ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。ヒストグラムは、Ｗｎｔ５ａなしで又はありで３通り処置された親又はＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔ由来の浸潤細胞の平均数±ＳＥＭを描いている。

【図３Ｍ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。Ｗｎｔ５ａなしで又はありで（凡例に示されている）補充された培地で培養され、次に下に示される濃度のパクリタキセルで処置された親又はＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔのパーセント生存細胞。データポイントは、３通りウェルでの生存細胞の平均パーセント±ＳＥＭを表している。

【図３Ｎ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。棒グラフは、ｈＩｇＧ又はシルムツズマブと一緒に一晩インキュベートし、次にＷｎｔ５ａあり又はなしで３つの別々の培養ウェルで処置したＨｓ５７８Ｔ細胞由来のスフェロイドの平均数±ＳＥＭを描いている。オープンバーは、３つの別々の培養ウェル±ＳＥＭで、最初の継代中に検出された（１ｓｔ）スフェロイドの数を示し、クローズドバーは第２継代の（２ｎｄ）スフェロイドの数を提供する。

【図３Ｏ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。棒グラフは、ｈＩｇＧ又はシルムツズマブと一緒に一晩インキュベートし、次にＷｎｔ５ａあり又はなしで３つの別々の培養ウェルで処置したＨｓ５７８Ｔ細胞由来の浸潤細胞の平均数±ＳＥＭを描いている。

【図３Ｐ】Ｗｎｔ５ａが、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導することを示す図である。Ｗｎｔ５ａなしで又はありで（凡例に示されている）補充されたｈＩｇＧ又はシルムツズマブを含む培地で培養され、次に下に示される濃度のパクリタキセルで処置されたＨｓ５７８Ｔのパーセント生存細胞。データポイントは、３通りウェルでの生存細胞の平均パーセント±ＳＥＭを表している。

【図４Ａ】シルムツズマブがＨｉｐｐｏ－ＹＡＰ及びＢＭＩ１の活性化を抑制し、乳がんＰＤＸの生着、自己再生及び転移を阻害することを示す図である。線グラフは、処置を受けなかった（データポイントは四角で表されている）又は黒線矢印で示された日にシルムツズマブで処置された（データポイントは円形で表されている）動物についてＰＤＸ４又はＰＤＸ５の平均腫瘍成長を経時的に描いている（±ＳＥＭ、Ｎ＝６～８）。スチューデントｔ検定を使用して、１つのアステリックはＰ＜０．０５を示し、２つはＰ＜０．０１を示す。

【図４Ｂ】シルムツズマブがＨｉｐｐｏ－ＹＡＰ及びＢＭＩ１の活性化を抑制し、乳がんＰＤＸの生着、自己再生及び転移を阻害することを示す図である。棒グラフは、図１Ａに記載されるそれぞれの群のマウスから摘出された腫瘍の平均重量を提供している（±ＳＥＭ、Ｎ＝６～８）。

【図４Ｃ】シルムツズマブがＨｉｐｐｏ－ＹＡＰ及びＢＭＩ１の活性化を抑制し、乳がんＰＤＸの生着、自己再生及び転移を阻害することを示す図である。ＰＤＸ５の細胞を移植され、左側に示される対照ｈＩｇＧ又はシルムツズマブで処置された代表的な担腫瘍マウス由来の肺組織のＨＥ染色。点線円は転移巣を目立たせている。スケールバー：１００μｍ。分散図は処置群によりそれぞれの動物の肺で見出された転移巣の平均数を示している（±ＳＥＭ、Ｎ＝６）。

【図４Ｄ】シルムツズマブがＨｉｐｐｏ－ＹＡＰ及びＢＭＩ１の活性化を抑制し、乳がんＰＤＸの生着、自己再生及び転移を阻害することを示す図である。ＲＮＡｓｅｑ（ＧＳＥ１０８６３２）を経て評価される、対照ｈＩｇＧ対シルムツズマブで処置されたマウス中のＰＤＸ４に由来するＰＤＸにおけるＲｈｏ－ＧＴＰアーゼ、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ若しくはＢＭＩ１の活性化に関連する遺伝子、又はＣＤ４４＋／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$細胞（ＣＤ４４＋／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$　ＵＰ）で上方調節された遺伝子のエンリッチメントプロット。

【図４Ｅ】シルムツズマブがＨｉｐｐｏ－ＹＡＰ及びＢＭＩ１の活性化を抑制し、乳がんＰＤＸの生着、自己再生及び転移を阻害することを示す図である。上で示される対照ｈＩｇＧ又はシルムツズマブで処置されたマウスから摘出されたＰＤＸ４又はＰＤＸ５（下に示されている）から調製した可溶化液を使用する、右側に示されるタンパク質についての免疫ブロット解析。それぞれの横列の下の数字は、最初の対照試料のバンド密度に正規化された、活性化対全ＧＴＰアーゼ、ｐＡＫＴ対全ＡＫＴ、ＢＭＩ１、ＡＢＣＧ２、ＴＡＺ

／ＹＡＰ、ＣＴＧＦ対１３－アクチン又はＲＯＲ１対１３－アクチンのバンド密度の比である。
【図４Ｆ】シルムツズマブがＨｉｐｐｏ－ＹＡＰ及びＢＭＩ１の活性化を抑制し、乳がんＰＤＸの生着、自己再生及び転移を阻害することを示す図である。ｈＩｇＧ又はシルムツズマブで処置されたマウスから取り除いたＰＤＸ４から単離された腫瘍細胞上でのＣＤ４４及びＣＤ２４の相対的発現を示す代表的等高線図。分散図は、それぞれの群（Ｎ＝６）のＰＤＸ４腫瘍に見出されたＣＤ４４＋／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$の平均割合を示している。
【図４Ｇ】シルムツズマブがＨｉｐｐｏ－ＹＡＰ及びＢＭＩ１の活性化を抑制し、乳がんＰＤＸの生着、自己再生及び転移を阻害することを示す図である。表は、腫瘍を発症したマウスの数（分子）対ＰＤＸ４又はＰＤＸ５（左縦列に示されている）由来の細胞を移植されたマウスの数（分母）を提供しており、ＰＤＸ４又はＰＤＸ５はｈＩｇＧ又はシルムツズマブ（第２の縦列に示されている）で処置されたマウスから取り除かれた。これらの実験では、マウスは変動する数の腫瘍細胞を与えられた（「細胞数」の下の横列に示されている）。ＥＬＤＡソフトウェアを使用して計算された腫瘍原性細胞の頻度は右から２番目の縦列に提供されている。Ｐ値は、ｈＩｇＧ－対シルムツズマブ－処置マウスから回収された腫瘍細胞の腫瘍原性頻度間の有意差を示している。
【図５Ａ】シルムツズマブとパクリタキセルが乳がんＰＤＸに対する補完的な活性を有することを示す図である。線グラフは、非処置の（対照、データポイントは四角形で表される）又は黒色矢印で示される日にシルムツズマブ（データポイントは円形で示される）、赤色矢印で示される日にパクリタキセル（データポイントは上向き三角形で示される）若しくは両方（データポイントは下向き三角形で示される）で処置されたマウスにおいて、ＰＤＸ４又はＰＤＸ５の平均腫瘍成長を経時的に描いている（±ＳＥＭ、Ｎ＝８～１０）。
【図５Ｂ】シルムツズマブとパクリタキセルが乳がんＰＤＸに対する補完的な活性を有することを示す図である。上に示される、処置を受けたことがない（対照）又はシルムツズマブ、パクリタキセル、若しくは両方で処置されたマウスから単離したＰＤＸ４から調製された可溶化液を使用する、右側に示されるタンパク質についての免疫ブロット解析。それぞれの横列の下の数字は４Ｅ同様にバンド密度の比である。
【図５Ｃ】シルムツズマブとパクリタキセルが乳がんＰＤＸに対する補完的な活性を有することを示す図である。表は、ＰＤＸを発症したマウスの数（分子）対ｈＩｇＧ、シルムツズマブ、パクリタキセル又はシルムツズマブとパクリタキセル（左端の縦列に示されている）で処置されたマウスから取り除いたＰＤＸ４又はＰＤＸ５（上横列に示されている）由来の細胞を移植されたマウスの数（分母）を提供している。これらの実験では、マウスは変動する数の腫瘍細胞を与えられた（ＰＤＸ名の下の横列に示されている）。下のパネルは、右側に示される非処置の又はシルムツズマブ及び／若しくはパクリタキセルで処置されたマウスから取り除いたＰＤＸ４由来の腫瘍細胞を移植されたマウスにおいて発症した代表的な腫瘍の写真を提供している。
【図６Ａ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＲｈｏ－ＧＴＰアーゼ、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ又はＢＭＩ１の活性化に関連する高いレベルの遺伝子を有することを示す図である。ＧＳＥ２１９７４由来のＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$及びＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$試料群（Ｎ＝２５）についてのＲａｃ１／ＲｈｏＡ／ｃｄｃ４２、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ、ＢＭＩ１の活性化に関連する遺伝子のエンリッチメントプロット。ＳＩＺＥは解析に含まれる遺伝子の数である。ＮＥＳ（正規化エンリッチメントスコア）は遺伝子セットサイズの違いを説明し、遺伝子セットにわたり解析結果を比較するのに使用することができる。ＦＤＲｑ－ｖａｌ（偽陽性率ｑ値）は、所与のＮＥＳを有する遺伝子セットが偽陽性を表す推定確率である。それぞれの遺伝子セットは、偽陽性率（ＦＤＲ）が０．２５未満である場合は有意と見なされる。プロットの中央部分は、遺伝子セットのメンバーがランク付けされた遺伝子の一覧のどこに現れるかを示している。
【図６Ｂ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＲｈｏ－ＧＴＰアーゼ、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ又はＢＭＩ１の活性化に関連する高いレベルの遺伝子を有することを

示す図である。化学療法前（「プレ」）又は後（「ポスト」）の適合する乳がん患者試料におけるＲＯＲ１又はＡＬＤＨ１Ａ１発現レベル（ポスト、プレ、Ｎ＝２５）。線は、プレ対ポスト処置群における遺伝子の中央値発現レベルを示している。

【図７Ａ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。それぞれのＰＤＸから単離された原発腫瘍細胞についてのゲート戦略。単細胞懸濁液を摘出した腫瘍小結節から作成し、ヨウ化プロピジウム（ＰＩ）、カルセインバイオレット又はフルオレセイン二酢酸（ＦＤＡ）、及びＥｐＣＡＭに特異的な蛍光色素コンジュゲートｍＡｂ又は無関係な抗原（対照）で染色した。適切な前方光散乱（ＦＳＣ）及び側方散乱（ＳＳＣ）特徴を有する細胞上でゲート開閉した（左側）。ＰＩで標識された死細胞は排除し、カルセインバイオレットで染色した生細胞上でゲート開閉した（中央）。細胞は蛍光色素コンジュゲートｍＡｂでも染色されていたので、ＥｐＣＡＭに特異的なｍＡｂで染色されたヒト乳がん細胞上でゲート開閉した（右側）。

【図７Ｂ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。それぞれのＰＤＸ由来の細胞は、ＲＯＲ１については４Ａ５又は対照ｍＡｂで染色し、ＡＬＤＯＦＬＵＯＲについては、ヒストグラムのそれぞれのカラムの上に示されるＡＬＤＨ１阻害因子、ＤＥＡＢなしで（－）又はありで（＋）染色した。上の横列のそれぞれの等高線図におけるオープンボックスは、ＡＬＤＨ１活性のある細胞を限定するために使用されるゲートを示しており、その割合が示されている。等高線図の左側のオープンボックスは、確かにＡＬＤＨ１活性を欠く細胞を同定するために使用されたゲートを描いている。下の横列には、ＡＬＤＨ１活性について陰性（左）又は陽性（右）であった細胞の蛍光を描くヒストグラムがある。右パネルは、５つの異なるＰＤＸ腫瘍のそれぞれ由来のＡＬＤＨ１＋対ＡＬＤＨ１$^{Ｎｅｇ}$細胞でのＲＯＲ１についての染色強度を提供している。

【図７Ｃ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。それぞれのＰＤＸ由来の細胞はＣＤ４４、ＣＤ２４、４Ａ５又は対照ｍＡｂで染色した。ヒストグラムは、ゲート開閉されたＣＤ４４＋／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$又はＣＤ４４＋／ＣＤ２４＋細胞の蛍光を描いており、陰のヒストグラムはアイソタイプ対照ｍＡｂで染色された細胞の蛍光を描いており、オープンヒストグラムは４Ａ５で染色された細胞の蛍光を描いている。右パネルは、５つの異なるＰＤＸのそれぞれ由来のＣＤ４４＋ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$対ＣＤ４４＋ＣＤ２４＋細胞のＲＯＲ１染色強度を提供している。それぞれのプロットでの数字は、ＲＯＲ１についての平均蛍光強度比（ＭＦＩＲ）を提供しており、この比は抗ＲＯＲ１ｍＡｂで標識された細胞の平均蛍光強度（ＭＦＩ）を対照抗体で標識された細胞のＭＦＩで割って導かれる。

【図７Ｄ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。ＰＤＸ１～５の組織切片は、ＩＨＣによるＲＯＲ１の検出のために４Ａ５で染色した。スケールバー：１５μｍ。

【図７Ｅ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。ＰＤＸ腫瘍は免疫ブロット解析を経てＲＯＲ１又はＢＭＩ１について試験した。

【図７Ｆ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。ＰＤＸ腫瘍から単離された単一腫瘍細胞上のＲＯＲ１又はＹＡＰ／ＴＡＺについて試験する共焦点顕微鏡。スケールバー：２０μｍ。右棒グラフは、それぞれのＰＤＸから単離された細胞における核ＹＡＰ／

ＴＡＺの平均パーセントを提供している。
【図７Ｇ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。ＰＤＸのそれぞれから単離された細胞により生み出されたスフェロイドの顕微鏡写真。スケールバー：１００μｍ。棒グラフは、３通りのウェルにおいてそれぞれのＰＤＸ由来の細胞により形成されたスフェロイドの平均数±ＳＥＭを描いている。
【図７Ｈ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。それぞれのＰＤＸの単離された腫瘍細胞由来の浸潤細胞の代表的顕微鏡写真。顕微鏡写真の右側には、３つの独立した実験においてそれぞれの腫瘍細胞集団からマトリゲル中に遊走した腫瘍細胞の平均相対割合（±ＳＥＭ）を描く棒グラフがあり、それぞれがマトリゲル中に遊走したＰＤＸ５由来の腫瘍細胞の割合に正規化されている。スケールバー：１０μｍ。１つのアステリスクは、ダネット多重比較検定を使用してＰ＜０．０５を表し、＊＊はＰ＜０．０１を意味し、＊＊＊はＰ＜０．００１を表す。
【図７Ｉ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。単細胞懸濁液は処置を受けたことがない（非処置）又はパクリタキセルで処置されているＰＤＸ移植マウスから取り除いたそれぞれのＰＤＸから作成した。フローサイトメトリーを通してＲＯＲ１酵素活性について試験した。（Ｉ）オープンヒストグラムは抗ＲＯＲ１で染色された細胞の蛍光強度を描いている。陰のヒストグラムは対照抗体で染色した細胞の蛍光強度を描いている。それぞれのヒストグラム中の数字はＲＯＲ１＋細胞のパーセントを描いている。
【図７Ｊ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。単細胞懸濁液は処置を受けたことがない（非処置）又はパクリタキセルで処置されているＰＤＸ移植マウスから取り除いたそれぞれのＰＤＸから作成した。フローサイトメトリーを通してＡＬＤＨ１酵素活性について試験した。ＡＬＤＨ１酵素活性の阻害剤であるＤＥＡＢは、ＡＬＤＨ１活性を有する細胞を同定するために使用した。等高線図の右側のオープンボックスは、ＡＬＤＨ１活性を有することが確かである細胞を同定するのに使用されたゲートを描いている。それぞれのヒストグラム中の数字はＡＬＤＨ１＋細胞のパーセントを描いている。
【図７Ｋ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。ＲＯＲ１＋対ＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$細胞を分別するための戦略。オープンボックスはＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$（左）又はＲＯＲ１＋（右）細胞を選択するのに使用されるゲートを示している。
【図７Ｌ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。上に示されている、ＰＤＸのそれぞれから単離されたＲＯＲ１＋又はＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$細胞から形成されたスフェロイドの顕微鏡写真。スケールバー：１００μｍ。右側の棒グラフは、ヒストグラムの下に示されているように、３つの別々の培養物において細胞調製物のそれぞれにより形成されるスフェロイドの平均数±ＳＥＭを描いている。
【図７Ｍ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。上に示されているように、異なるＰＤＸから単離されたＲＯＲ１＋又はＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$細胞由来のマトリゲル－侵入細胞の顕微鏡写真。スケールバー：１０μｍ。右側の棒グラフは、ＰＤＸ５由来の細胞の平

均相対浸潤に正規化された、３つの独立した実験において細胞調製物ごとのマトリゲル中への細胞の平均相対浸潤（±ＳＥＭ）を描いている。
【図７Ｎ】ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんが、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりもＣＳＣに関連する高いレベルのマーカーを発現し、スフェロイドを形成する、マトリゲルを浸潤する又は異種移植片を形成するより大きな能力を有したことを示す図である。種々の乳がんＰＤＸのそれぞれから単離されたＲＯＲ１＋又はＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$細胞を移植された動物での腫瘍発生率。腫瘍原性細胞の頻度及び確率見積はＥＬＤＡソフトウェアを使用して計算した。Ｎ．Ｄは、行われずを示している。
【図８Ａ】Ｗｎｔ５ａにより誘導された増強されたＢＭＩ１発現がＡＫＴの活性化に依存していることを示す図である。指示された時点で１００ｎｇ／ｍｌのＷｎｔ５ａで処置したＨｓ５７８Ｔ細胞中のＢＭＩ１　ｍＲＮＡレベルを、定量的ＰＣＲ（ｑＰＣＲ）により調べた。示されたデータは、３通りで及びＧＡＰＤＨに関して正規化された時間０試料と比べたＢＭＩ１の平均発現レベルであった。エラーバーはＳＥＭを示している。
【図８Ｂ】Ｗｎｔ５ａにより誘導された増強されたＢＭＩ１発現がＡＫＴの活性化に依存していることを示す図である。Ｈｓ５７８Ｔ細胞は、無血清培地で培養し、ＭＫ－２２０６を用いて又はなしで３時間前処置し、次に１００ｎｇ／ｍｌのＷｎｔ５ａを用いて又はなしで６時間刺激した。ＢＭＩ１、ｐＡＫＴ及びＡＫＴは免疫ブロット解析を通じてこれらの試料で調べた。ＡＫＴについての横列下の数字は、Ｗｎｔ５ａで０分間処置した試料のバンド密度に正規化したＡＫＴに対するｐＡＫＴのバンド密度の比を提供している。βアクチンはタンパク質負荷対照としての役割を果たした。ＢＭＩ１についての横列の下の数字は、Ｗｎｔ５ａで０分間処置した試料のバンド密度に関して正規化された、βアクチンに対するＢＭＩ１のバンド密度の比を提供している。
【図９Ａ】シルムツズマブを用いた処置により、ＹＡＰ／ＴＡＺ活性及びＢＭＩ１発現をインビトロで阻害し腫瘍成長をインビボで抑制することができたことを示す図である。ＰＤＸ１～ＰＤＸ５由来の可溶化液を、右縁に示されるＷｎｔ５ａの発現について調べた。βアクチンは負荷対照としての役割を果たす。
【図９Ｂ】シルムツズマブを用いた処置により、ＹＡＰ／ＴＡＺ活性及びＢＭＩ１発現をインビトロで阻害し腫瘍成長をインビボで抑制することができたことを示す図である。５０μｇ／ｍｌのシルムツズマブ抗体又は対照抗体で４時間処置したＰＤＸ４又はＰＤＸ５から単離した単細胞懸濁液を、共焦点顕微鏡を通してＹＡＰ／ＴＡＺについて調べた。右棒グラフは、それぞれのフィールドの細胞における核ＹＡＰ／ＴＡＺの平均パーセントを提供している。スケールバー：２０μｍ。
【図９Ｃ】シルムツズマブを用いた処置により、ＹＡＰ／ＴＡＺ活性及びＢＭＩ１発現をインビトロで阻害し腫瘍成長をインビボで抑制することができたことを示す図である。５０μｇ／ｍｌのシルムツズマブ抗体又は対照抗体で指示された時間処置したＰＤＸ４又はＰＤＸ５由来の可溶化液を、免疫ブロット解析を通してＢＭＩ１、ＲＯＲ１又は１３－アクチンについて調べた。
【図９Ｄ】シルムツズマブを用いた処置により、ＹＡＰ／ＴＡＺ活性及びＢＭＩ１発現をインビトロで阻害し腫瘍成長をインビボで抑制することができたことを示す図である。５０μｇ／ｍｌの対照抗体又はシルムツズマブで処置した異なるＰＤＸの単離した腫瘍細胞から形成されたスフェロイドの代表的顕微鏡写真。右パネルの棒グラフは、それぞれの処置の３つの別々の培養ウェルにおいてシルムツズマブ又は対照抗体で処置したＰＤＸ４又はＰＤＸ５の腫瘍細胞から形成されたスフェロイドの平均数±ＳＥＭを描いている。
【図９Ｅ】シルムツズマブを用いた処置により、ＹＡＰ／ＴＡＺ活性及びＢＭＩ１発現をインビトロで阻害し腫瘍成長をインビボで抑制することができたことを示す図である。５０μｇ／ｍｌの対照抗体又はシルムツズマブで処置した異なるＰＤＸの単離した腫瘍細胞由来の浸潤細胞の代表的顕微鏡写真。顕微鏡写真の右側には、３つの独立した実験において細胞調製物のそれぞれの侵入された細胞の平均数±ＳＥＭを描く棒グラフがある。スケールバー：１０μｍ
【図９Ｆ】シルムツズマブを用いた処置により、ＹＡＰ／ＴＡＺ活性及びＢＭＩ１発現を

インビトロで阻害し腫瘍成長をインビボで抑制することができたことを示す図である。５０μｌ中それぞれのＰＤＸ試料由来の１×１０$^{6}$細胞を等体積のマトリゲルと混合し、次にメスＲａｇ２－／－γｃ－／－マウスの乳房パッド中に注射した。腫瘍成長は４２又は４８日間経時的にモニターした。４２（ＰＤＸ５）又は４８（ＰＤＸ４）日目に取り除かれたそれぞれのＰＤＸの代表的な写真。スケールバー：１ｃｍ。

【図１０】シルムツズマブでの処置によりパクリタキセルに対する乳がん細胞の感受性が増強されたことを示す図である。ＰＤＸ４又はＰＤＸ５試料の単細胞懸濁液は、漸増濃度のパクリタキセルありで又はなしで２４時間シルムツズマブ又は対照抗体で処置した。データは、フローサイトメトリー解析で決定される、処置のそれぞれ由来の３通りの試料の生存細胞の平均（±ＳＥＭ）パーセントとして示されている。１つのアステリスクは、スチューデントｔ検定により決定された場合、Ｐ＜０．０５を示し、＊＊はＰ＜０．０１を示す。

【図１１】処置を受けなかった（四角形データポイント）又は矢印で示される日にシルムツズマブで処置された（円形データポイント）動物について、ＰＤＸ３、ＰＤＸ４及びＰＤＸ５のそれぞれの平均腫瘍成長（±ＳＥＭ、ｎ＝６～８）を経時的に描く線グラフを示す図である。スチューデントｔ検定を使用して１つのアステリスクはＰ＜０．０５を示し、２つのアステリスクはＰ＜０．０１を示す。

【図１２】上に示されるＰＤＸのそれぞれから単離されたＲＯＲ１　ＨＩ又はＲＯＲ１　Ｎｅｇ細胞から形成されたスフェロイドの顕微鏡写真を示す図である。スケールバー：１００μｍ。右側の棒グラフは、ヒストグラムの下に示されるように、３つの別々の培養物において細胞調製物のそれぞれにより形成されたスフェロイドの平均数±ＳＥＭを描いている。

【図１３】上に示される異なるＰＤＸから単離されたＲＯＲ１　ＨＩ又はＲＯＲ１　Ｌｏｗ細胞由来のマトリゲル侵入細胞の顕微鏡写真を示す図である。スケールバー：１０μｍ。右側の棒グラフは、３つの独立した培養物において細胞調製物のそれぞれの１０～２０フィールドについてフィールドあたりのマトリゲル中への平均侵入された細胞（±ＳＥＭ）を描いている。

【図１４】種々の乳がんＰＤＸのそれぞれから単離されたＲＯＲ１　Ｈｉ又はＲＯＲ１　Ｌｏｗ細胞を移植された動物における腫瘍発生率を示す図である。腫瘍原性細胞の頻度及び確率見積は、ＥＬＤＡソフトウェアを使用して計算された。Ｎ．Ｄは、行われずを示している。

【図１５】化学療法前（「プレ」）又は後（「ポスト」）の適合する乳がん患者試料におけるＲＯＲ１又はＡＬＤＨ１Ａ１、Ｗｎｔ５ａ発現レベルを示す図である（ポスト、プレ、Ｎ＝５７、ＧＳＥ８７４５５）。

【図１６】化学療法前（「プレ」）又は後（「ポスト」）の適合する乳がん患者試料におけるＲＯＲ１、ＡＬＤＨ１Ａ１又はＷｎｔ５ａ発現レベルを示す図である（ポスト、プレ、Ｎ＝２５、ＧＳＥ２１９７４）。線は前対後処置群における遺伝子の中央値発現レベルを示している。

【図１７】ＲＯＲ１　Ｌｏｗ及びＲＯＲ１　Ｈｉ試料群（Ｎ＝２５）についての又はネオアジュバンド化学療法を受けた患者由来の乳がん生検（Ｎ＝２５）対ＧＳＥ２１９７４データベースにおける適合する処置前試料（Ｎ＝２５）でのＣＤ４４＋／ＣＤ２４Ｌｏｗ　ＭＳ、ＥＴＭ、Ｒａｃ１／ＲｈｏＡ／ｃｄｃ４２の活性化、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ、ＢＭＩ１に関連する遺伝子についての遺伝子セットエンリッチメント（ＧＳＥ）解析を示す図である。ＳＩＺＥは解析に含まれる遺伝子の数である。ＮＥＳ（正規化されたエンリッチメントスコア）は遺伝子セットサイズの違いを説明しており、遺伝子セットにわたる解析結果を比較するのに使用することができる。ＮＯＭ　ｐ－ｖａｌ（名目上のｐ値）は、遺伝子セットサイズ又は多重遺伝子セット試験に対して調整されていないエンリッチメントスコアの統計的有意性であり、ＦＤＲ　ｑ－ｖａｌ（偽発見率ｑ値）は、所与のＮＥＳを有する遺伝子セットが偽陽性を表す推定確率である。それぞれの遺伝子セットは、偽発見率（ＦＤＲ）が０．２５未満である場合は有意であると見なされる。

【図１８】５０μｌ中それぞれのＰＤＸ試料由来の１×１０$^{6}$細胞が等体積のマトリゲルと混合され、次にメスＲａｇ２－／－γｃ－／－マウスの乳房パッド中に注射した２日後（ＰＤＸ５）又は４８日後（ＰＤＸ４）を示す図である。腫瘍成長は４２又は４８日間経時的にモニターされた。スケールバー：１ｃｍ。
【図１９】図１８に記載されているそれぞれの群のマウスから摘出された腫瘍の平均重量を提供する棒グラフを示す図である。（±ＳＥＭ、Ｎ＝５～８）。
【図２０】ＲＮＡｓｅｑ（ＧＳＥ１０８６３２）を通じて評価された、対照ｈＩｇＧ対シルムツズマブで処置されたマウスにおいてＰＤＸ４に由来するＰＤＸ中のＥＭＴに関連する遺伝子のエンリッチメントプロットを示す図である。
【発明を実施するための形態】
【００１７】
Ｉ．定義
本発明の種々の実施形態及び態様が本明細書で示され記載されているが、そのような実施形態及び態様が例としてのみ提供されていることは当業者には明らかである。数多くの変動、変化及び置換が、本発明から逸脱することなく今や当業者には浮かぶ。本明細書に記載される本発明の実施形態に対する種々の代替案を本発明を実行するのに用いてもよいことは理解されるべきである。
【００１８】
本明細書で使用される節の見出しは体系化のみを目的とし、記載されている主題を限定するものと解釈されるべきではない。限定せずに、特許、特許出願、記事、書籍、手引書及び論文を含む、本出願に引用されているすべての文書又は文書の一部はそれにより、その全体を任意目的のために参照により明確に組み込む。
【００１９】
本明細書で使用される略字は、化学及び生物学の分野内におけるその従来の意味を有する。本明細書に示される化学構造及び化学式は、化学の分野で既知である化学結合価の標準則に従って構築される。
【００２０】
置換基が、左から右に書かれてその従来の化学式により特定される場合、置換基は、右から左に構造を書くことから生じるであろう化学的に同一の置換成分を等しく包含する、例えば、－ＣＨ$_{2}$Ｏ－は－ＯＣＨ$_{2}$－と等価である。
【００２１】
用語「アルキル」は、単独で又は別の置換成分の一部として、別段記述されなければ、直線（すなわち、非分岐）又は分岐非環状炭素鎖（又は炭素）又はこの組合せを意味し、これは完全飽和、一不飽和又は多価不飽和でもよく、二価及び多価基を含むことができ、指示された炭素原子数を有する（すなわち、Ｃ$_{1}$～Ｃ$_{10}$は１～１０の炭素を意味する）。飽和炭化水素基の例は、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、ｔ－ブチル、イソブチル、ｓｅｃ－ブチル、（シクロヘキシル）メチル、例えば、ｎ－ペンチル、ｎ－ヘキシル、ｎ－ヘプチル、ｎ－オクチルなどの相同体及び異性体などの基を含むがこれらに限定されない。不飽和アルキル基は、１つ以上の二重結合又は三重結合を有する基である。不飽和アルキル基の例は、ビニル、２－プロペニル、クロチル、２－イソペンテニル、２－（ブタジエニル）、２，４－ペンタジエニル、３－（１，４－ペンタジエニル）、エチニル、１－及び３－プロピニル、３－ブチニル、並びにもっと高級な相同体及び異性体を含むがこれらに限定されない。アルコキシは、酸素リンカー（－Ｏ－）を通じて分子の残りに結合しているアルキルである。アルキル部分はアルケニル部分であってよい。アルキル部分はアルキニル部分であってよい。アルキル部分は完全飽和であってよい。アルケニルは、１つよりも多い二重結合及び／又は１つ以上の二重結合に加えて１つ以上の三重結合を含みうる。アルキニルは、１つよりも多い三重結合及び／又は１つ以上の三重結合に加えて１つ以上の二重結合を含みうる。
【００２２】
用語「アルキレン」は、単独で又は別の置換成分の一部として、別段記述されなければ

、アルキルに由来する二価基を意味し、－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$－により例示されるがこれに限定されない。典型的には、アルキル（アルキレン）基は１～２４の炭素原子を有し、１０又はそれよりも少ない炭素原子を有する基が本発明では好まれる。「低級アルキル」又は「低級アルキレン」は、もっと短鎖のアルキル又はアルキレン基であり、一般に８又はそれよりも少ない炭素原子を有する。用語「アルケニレン」は、単独で又は別の置換成分の一部として、別段記述されなければ、アルケンに由来する二価基を意味する。

【００２３】

用語「ヘテロアルキル」は、単独で又は別の用語と組み合わせて、別段記述されなければ、少なくとも１つの炭素原子及び少なくとも１つのヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｐ、Ｓｉ及びＳ）を含む、安定な直線若しくは分岐非環状鎖又はこの組合せを意味し、窒素及び硫黄原子は任意選択的に酸化されてよく、窒素ヘテロ原子は任意選択的に四級化されてよい。ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｐ、Ｓ及びＳｉ）は、ヘテロアルキル基の任意の内部位置に又はアルキル基が分子の残りの部分に結合している位置に置いてよい。例は、－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－Ｏ－ＣＨ$_3$、－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＮＨ－ＣＨ$_3$、－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－Ｎ（ＣＨ$_3$）－ＣＨ$_3$、－ＣＨ$_2$－Ｓ－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_3$、－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$、－Ｓ（Ｏ）－ＣＨ$_3$、－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－Ｓ（Ｏ）$_2$－ＣＨ$_3$、－ＣＨ＝ＣＨ－Ｏ－ＣＨ$_3$、－Ｓｉ（ＣＨ$_3$）$_3$、－ＣＨ$_2$－ＣＨ＝Ｎ－ＯＣＨ$_3$、－ＣＨ＝ＣＨ－Ｎ（ＣＨ$_3$）－ＣＨ$_3$、－Ｏ－ＣＨ$_3$、－Ｏ－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_3$、及び－ＣＮを含むがこれらに限定されない。例えば、－ＣＨ$_2$－ＮＨ－ＯＣＨ$_3$及び－ＣＨ$_2$－Ｏ－Ｓｉ（ＣＨ$_3$）$_3$などの、２つ又は３つまでヘテロ原子が連続してよい。ヘテロアルキル部分は、１つのヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。ヘテロアルキル部分は、２つの任意選択的に異なるヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。ヘテロアルキル部分は、３つの任意選択的に異なるヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。ヘテロアルキル部分は、４つの任意選択的に異なるヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。ヘテロアルキル部分は、５つの任意選択的に異なるヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。ヘテロアルキル部分は、８つまでの任意選択的に異なるヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。用語「ヘテロアルケニル」は、単独で又は別の用語と組み合わせて、別段記述されなければ、少なくとも１つの二重結合を含むヘテロアルキルを意味する。ヘテロアルケニルは任意選択的に、１つよりも多い二重結合及び／又は１つ以上の二重結合に加えて１つ以上の三重結合を含んでよい。用語「ヘテロアルキニル」は、単独で又は別の用語と組み合わせて、別段記述されなければ、少なくとも１つの三重結合を含むヘテロアルキルを意味する。ヘテロアルキニルは任意選択的に、１つよりも多い三重結合及び／又は１つ以上の三重結合に加えて１つ以上の二重結合を含んでよい。

【００２４】

同様に、用語「ヘテロアルキレン」は、単独で又は別の置換成分の一部として、別段記述されなければ、ヘテロアルキルに由来する二価基を意味し、－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－Ｓ－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－及び－ＣＨ$_2$－Ｓ－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－ＮＨ－ＣＨ$_2$－により例示されるがこれらに限定されない。ヘテロアルキレン基では、ヘテロ原子が鎖終端のどちらか又は両方を占めることも可能である（例えば、アルキレンオキシ、アルキレンジオキシ、アルキレンアミノ、アルキレンジアミノなど）。またさらに、アルキレン及びヘテロアルキレン連結基では、連結基の化学式が書かれる方向により連結基の配向が意味されることはない。例えば、化学式－Ｃ（Ｏ）$_2$Ｒ’－は－Ｃ（Ｏ）$_2$Ｒ’－も－Ｒ’Ｃ（Ｏ）$_2$－も表す。上記の通り、ヘテロアルキル基は、本明細書で使用される場合、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ’、－ＮＲ’Ｒ’’、－ＯＲ’、－ＳＲ’及び／又は－ＳＯ$_2$Ｒ’などの、ヘテロ原子を通じて分子の残りの部分に結合されている基を含む。「ヘテロアルキル」が列挙され、続いて－ＮＲ’Ｒ’’又はそれと同類の物などの、特定のヘテロアルキル基が記述される場合、用語ヘテロアルキル及び－ＮＲ’Ｒ’’は重複していないし互いに排他的でもないことは理解される。むしろ、特定のヘテロアルキル基が明確さを加えるために列挙される。したがって、用語「ヘテロアルキル」は、－ＮＲ’Ｒ’’又はそれと同類の物

などの、特定のヘテロアルキル基を排除すると本明細書で解釈されるべきではない。

【００２５】

用語「シクロアルキル」及び「ヘテロシクロアルキル」は、単独で又は他の用語と組み合わせて、別段記述されなければ、それぞれ「アルキル」及び「ヘテロアルキル」の非芳香族環状版を意味し、環（単数又は複数）を作り上げている炭素は、水素原子以外との結合に関与しているすべての炭素原子価により、必ずしも水素に結合している必要はない。さらに、ヘテロシクロアルキルでは、ヘテロ原子は、ヘテロ環が分子の残りの部分に結合している位置を占めることができる。シクロアルキルの例は、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、１－シクロヘキセニル、３－シクロヘキセニル、シクロペプチル、３－ヒドロキシ－シクロブト－３－エニル－１，２、ジオン、１Ｈ－１，２，４－トリアゾリル－５（４Ｈ）－オン、４Ｈ－１，２，４－トリアゾリルなどを含むがこれらに限定されない。ヘテロシクロアルキルの例は、１－（１，２，５，６－テトラヒドロピリジル）、１－ピペリジニル、２－ピペリジニル、３－ピペリジニル、４－モルフォリニル、３－モルフォリニル、テトラヒドロフラン－２－イル、テトラヒドロフラン－３－イル、テトラヒドロチエン－２－イル、テトラヒドロチエン－３－イル、１－ピペラジニル、２－ピペラジニルなどを含むがこれらに限定されない。「シクロアルキレン」及び「ヘテロシクロアルキレン」は、単独で又は別の置換成分の一部として、それぞれシクロアルキル及びヘテロシクロアルキル由来の二価基を意味する。ヘテロシクロアルキル部分は１つの環ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。ヘテロシクロアルキル部分は２つの任意選択的に異なる環ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。ヘテロシクロアルキル部分は３つの任意選択的に異なる環ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。ヘテロシクロアルキル部分は４つの任意選択的に異なる環ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。ヘテロシクロアルキル部分は５つの任意選択的に異なる環ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。ヘテロシクロアルキル部分は８つまでの任意選択的に異なる環ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ、Ｓ、Ｓｉ又はＰ）を含んでよい。

【００２６】

用語「ハロ」又は「ハロゲン」は、単独で又は別の置換成分の一部として、別段記述されなければ、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素原子を意味する。さらに、「ハロアルキル」などの用語は、モノハロアルキル及びポリハロアルキルを含むことが意図されている。例えば、用語「ハロ（$C_1$～$C_4$）アルキル」は、フルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、２，２，２－トリフルオロエチル、４－クロロブチル、３－ブロモプロピルなどを含むがこれらに限定されない。

【００２７】

用語「アシル」は、別段記述されなければ、－Ｃ（Ｏ）Ｒを意味し、Ｒは置換された若しくは非置換アルキル、置換された若しくは非置換シクロアルキル、置換された若しくは非置換ヘテロアルキル、置換された若しくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換された若しくは非置換アリール、又は置換された若しくは非置換ヘテロアリールである。

【００２８】

用語「アリール」は、別段記述されなければ、ポリ不飽和芳香族炭化水素置換成分を意味し、これは、互いに融合される（すなわち、融合環アリール）又は共有結合される単一環又は複数環（好ましくは１～３環）が可能である。融合環アリールとは、互いに融合された複数の環であって、融合間の少なくとも１つがアリール環のものを指す。用語「ヘテロアリール」とは、Ｎ、Ｏ又はＳなどの少なくとも１つのヘテロ原子を含有するアリール基（又は環）であって、窒素及び硫黄原子が任意選択的に酸化され、窒素原子が任意選択的に四級化されているものを指す。したがって、用語「ヘテロアリール」は、融合環ヘテロアリール基（すなわち、融合環の少なくとも１つがヘテロ芳香族環である互いに融合された複数環）を含む。５，６－融合環ヘテロアリーレンとは、互いに融合された２つの環であって、１つの環が５員を有し、もう１つの環が６員を有し、少なくとも１つの環がヘテロアリール環であるものを指す。同様に、６，６－融合環ヘテロアリーレンとは、互い

に融合された２つの環であって、１つの環が６員を有し、もう１つの環が６員を有し、少なくとも１つの環がヘテロアリール環である者を指す。さらに、６，５－融合環ヘテロアリーレンとは、互いに融合された２つの環であって、１つの環が６員を有し、もう１つの環が５員を有し、少なくとも１つの環がヘテロアリール環であるものを指す。ヘテロアリール基は、炭素又はヘテロ原子を通じて分子の残りの部分に結合することができる。アリール及びヘテロアリール基の非限定的例は、フェニル、１－ナフチル、２－ナフチル、４－ビフェニル、１－ピロリル、２－ピロリル、３－ピロリル、３－ピラゾリル、２－イミダゾリル、４－イミダゾリル、ピラジニル、２－オキサゾリル、４－オキサゾリル、２－フェニル－４－オキサゾリル、５－オキサゾリル、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－チアゾリル、４－チアゾリル、５－チアゾリル、２－フリル、３－フリル、２－チエニル、３－チエニル、２－ピリジル、３－ピリジル、４－ピリジル、２－ピリミジル、４－ピリミジル、５－ベンゾチアゾリル、プリニル、２－ベンズイミダゾリル、５－インドリル、１－イソキノリル、５－イソキノリル、２－キノキサリニル、５－キノキサリニル、３－キノリル及び６－キノリルを含む。上記のアリール及びヘテロアリール環系ごとの置換成分は、下記の許容可能な置換成分の群から選択される。「アリーレン」及び「ヘテロアリーレン」は、単独で又は別の置換成分の一部として、それぞれアリール及びヘテロアリール由来の二価基を意味する。アリール及びヘテロアリール基の非限定的例は、ピリジニル、ピリミジニル、チオフェニル、チエニル、フラニル、インドリル、ベンゾオキサジアゾリル、ベンゾジオキソリル、ベンゾジオキサニル、チアナフタニル、ピロロピリジニル、インダゾリル、キノリニル、キノキサリニル、ピリドピラジニル、キラゾリノニル、ベンジソキサゾリル、イミダゾピリジニル、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル、ベンゾチオフェニル、フェニル、ナフチル、ビフェニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、ピラジニル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、フリルチエニル、ピリジル、ピリミジル、ベンゾチアゾリル、プリニル、ベンズイミダゾリル、イソキノリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、ピロリル、ジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、ベンゾチアジアゾリル、イソチアゾリル、ピラゾロピリミジニル、ピロロピリミジニル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾオキサゾリル又はキノリルを含む。上記例は置換されている又は非置換でもよく、上記それぞれのヘテロアリール例の二価基はヘテロアリーレンの非限定的例である。ヘテロアリール部分は１つの環ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ又はＳ）を含んでいてよい。ヘテロアリール部分は２つの任意選択的に異なる環ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ又はＳ）を含んでいてよい。ヘテロアリール部分は３つの任意選択的に異なる環ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ又はＳ）を含んでいてよい。ヘテロアリール部分は４つの任意選択的に異なる環ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ又はＳ）を含んでいてよい。ヘテロアリール部分は５つの任意選択的に異なる環ヘテロ原子（例えば、Ｏ、Ｎ又はＳ）を含んでいてよい。アリール部分は、単一環を有していてよい。アリール部分は、２つの任意選択的に異なる環を有していてよい。アリール部分は、３つの任意選択的に異なる環を有していてよい。アリール部分は、４つの任意選択的に異なる環を有していてよい。ヘテロアリール部分は、１つの環を有していてよい。ヘテロアリール部分は、２つの任意選択的に異なる環を有していてよい。ヘテロアリール部分は、３つの任意選択的に異なる環を有していてよい。ヘテロアリール部分は、４つの任意選択的に異なる環を有していてよい。ヘテロアリール部分は、５つの任意選択的に異なる環を有していてよい。

【００２９】

融合環ヘテロシクロアルキル－アリールはヘテロシクロアルキルに融合したアリールである。融合環ヘテロシクロアルキル－ヘテロアリールはヘテロシクロアルキルに融合したヘテロアリールである。融合環ヘテロシクロアルキル－シクロアルキルはシクロアルキルに融合したヘテロシクロアルキルである。融合環ヘテロシクロアルキル－ヘテロシクロアルキルは別のヘテロシクロアルキルに融合したヘテロシクロアルキルである。融合環ヘテロシクロアルキル－アリール、融合環ヘテロシクロアルキル－ヘテロアリール、融合環ヘテロシクロアルキル－シクロアルキル、又は融合環ヘテロシクロアルキル－ヘテロシクロ

アルキルは、それぞれが独立して非置換である又は本明細書に記載される置換成分の１つ以上で置換されていてよい。

【００３０】

用語「オキソ」は、本明細書で使用される場合、炭素原子に二重結合している酸素を意味する。

【００３１】

用語「アルキルスルホニル」は、本明細書で使用される場合、式－Ｓ（Ｏ$_2$）－Ｒ’を有する部分を意味し、Ｒ’は上記の置換された又は非置換アルキル基である。Ｒ’は指定された数の炭素（例えば、「Ｃ$_1$～Ｃ$_4$アルキルスルホニル」）を有していてよい。

【００３２】

上記用語（例えば、「アルキル」、「ヘテロアルキル」、「シクロアルキル」、「ヘテロシクロアルキル」、「アリール」及び「ヘテロアリール」）のそれぞれは、示された基の置換と非置換型の両方を含む。基のタイプごとの好ましい置換成分は下に提供されている。

【００３３】

アルキル及びヘテロアルキル基（アルキレン、アルケニル、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、シクロアルケニル及びヘテロシクロアルケニルと呼ばれることの多い基を含む）の置換成分は、これらに限定されないが、－ＯＲ’、＝Ｏ、＝ＮＲ’、＝Ｎ－ＯＲ’、－ＮＲ’Ｒ”、－ＳＲ’、－ハロゲン、－ＳｉＲ’Ｒ”Ｒ”’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＣＯ$_2$Ｒ’、－ＣＯＮＲ’Ｒ”、－ＯＣ（Ｏ）ＮＲ’Ｒ”、－ＮＲ”Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＲ’－Ｃ（Ｏ）ＮＲ”Ｒ”’、－ＮＲ”Ｃ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－ＮＲ－Ｃ（ＮＲ’Ｒ”Ｒ”’）＝ＮＲ””、－ＮＲ－Ｃ（ＮＲ’Ｒ”）＝ＮＲ”’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$ＮＲ’Ｒ”、－ＮＲＳＯ$_2$Ｒ’、－ＮＲ’ＮＲ”Ｒ”’、－ＯＮＲ’Ｒ”、－ＮＲ’Ｃ＝（Ｏ）ＮＲ”ＮＲ”’Ｒ””、－ＣＮ、－ＮＯ$_2$から０～（２ｍ’＋１）の範囲に及ぶ数で選択される種々の基の１つ以上が可能であり、ｍ’はそのような基中の炭素原子の総数である。Ｒ、Ｒ’、Ｒ”、Ｒ”’及びＲ””とはそれぞれが好ましくは独立して、水素、置換若しくは非置換ヘテロアルキル、置換若しくは非置換シクロアルキル、置換若しくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換アリール（例えば、１～３ハロゲンで置換されたアリール）、置換若しくは非置換ヘテロアリール、置換若しくは非置換アルキル、アルコキシ若しくはチオアルコキシ基又はアリールアルキル基を指す。本発明の化合物が１つよりも多いＲ基を含む場合、例えば、Ｒ基のそれぞれは、これらの基の１つよりも多くが存在する場合はそれぞれＲ’、Ｒ”、Ｒ”’及びＲ””基であるように独立して選択される。Ｒ’とＲ”が同じ窒素原子に結合している場合、Ｒ’とＲ”は窒素原子と組み合わせて４－、５－、６－又は７－員環を形成することができる。例えば、－ＮＲ’Ｒ”は、１－ピロリジニル及び４－モルフォリニルを含むが、これらに限定されない。置換成分の上記の考察から、当業者であれば、用語「アルキル」は、ハロアルキル（例えば、－ＣＦ$_3$及び－ＣＨ$_2$ＣＦ$_3$）及びアシル（例えば、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_3$、－Ｃ（Ｏ）ＣＦ$_3$、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_2$ＯＣＨ$_3$など）などの水素基以外の基に結合している炭素原子を含む基を含むことが意図されていることを理解する。

【００３４】

アルキル基について記載した置換成分と類似して、アリール及びヘテロアリール基についての置換成分は変化に富んでおり、例えば、－ＯＲ’、－ＮＲ’Ｒ”、－ＳＲ’、－ハロゲン、－ＳｉＲ’Ｒ”Ｒ”’、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ’、－Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＣＯ$_2$Ｒ’、－ＣＯＮＲ’Ｒ”、－ＯＣ（Ｏ）ＮＲ’Ｒ”、－ＮＲ”Ｃ（Ｏ）Ｒ’、－ＮＲ’－Ｃ（Ｏ）ＮＲ”Ｒ”’、－ＮＲ”Ｃ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－ＮＲ－Ｃ（ＮＲ’Ｒ”Ｒ”’）＝ＮＲ””、－ＮＲ－Ｃ（ＮＲ’Ｒ”）＝ＮＲ”’、－Ｓ（Ｏ）Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$Ｒ’、－Ｓ（Ｏ）$_2$ＮＲ’Ｒ”、－ＮＲＳＯ$_2$Ｒ’、－ＮＲ’ＮＲ”Ｒ”’、－ＯＮＲ’Ｒ”、－ＮＲ’Ｃ＝（Ｏ）ＮＲ”ＮＲ”’Ｒ””、－ＣＮ、－ＮＯ$_2$、－Ｒ’、－Ｎ$_3$、－ＣＨ（Ｐｈ）$_2$、フルオロ（Ｃ$_1$～Ｃ$_4$）アルコキシ及びフルオロ（Ｃ$_1$～Ｃ$_4$）から０～芳香族環系上

の解放原子価の総数までの範囲に及ぶ数で選択され、Ｒ’、Ｒ”、Ｒ”’及びＲ””は好ましくは独立して、水素、置換若しくは非置換アルキル、置換若しくは非置換ヘテロアルキル、置換若しくは非置換シクロアルキル、置換若しくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換アリール、及び置換若しくは非置換ヘテロアリールから選択される。本発明の化合物が１つよりも多いＲ基を含む場合、例えば、Ｒ基のそれぞれは、これらの基の１つよりも多くが存在する場合はそれぞれＲ’、Ｒ”、Ｒ”’及びＲ””基であるように独立して選択される。

【００３５】

２つ以上の置換成分が任意選択的に結合されて、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキル又はヘテロシクロアルキル基を形成してよい。そのようないわゆる環形成置換成分は典型的には、必ずしもそうではないが、環状基礎構造に結合しているのが見出される。実施形態では、環形成置換成分は基礎構造の隣接員に結合している。例えば、環状基礎構造の隣接員に結合している２つの環形成置換成分は融合環構造を作り出す。別の実施形態では、環形成置換成分は基礎構造の単一員に結合している。例えば、環状基礎構造の単一員に結合している２つの環形成置換成分はスピロ環構造を作り出す。さらに別の実施形態では、環形成置換成分は基礎構造の非隣接員に結合している。

【００３６】

アリール又はヘテロアリール環の隣接原子上の置換成分の２つは任意選択的に、式－Ｔ－Ｃ（Ｏ）－（ＣＲＲ’）$_q$－Ｕ－の環を形成してよく、Ｔ及びＵは独立して－ＮＲ－、－Ｏ－、－ＣＲＲ’－又は単結合であり、ｑは０～３の整数である。あるいは、アリール又はヘテロアリール環の隣接原子上の置換成分の２つは任意選択的に、式－Ａ－（ＣＨ$_2$）$_r$－Ｂ－の置換成分で置き換えてよく、Ａ及びＢは独立して－ＣＲＲ’－、－Ｏ－、－ＮＲ－、－Ｓ－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）$_2$ＮＲ’－又は単結合であり、ｒは１～４の整数である。そのようにして形成された新しい環の単結合の１つは任意選択的に、二重結合で置き換えてよい。あるいは、アリール又はヘテロアリール環の隣接原子上の置換成分の２つは任意選択的に、式－（ＣＲＲ’）$_s$－Ｘ’－（Ｃ”Ｒ”Ｒ”’）$_d$－の置換成分で置き換えてよく、ｓ及びｄは独立して０～３の整数であり、Ｘ’は－Ｏ－、－ＮＲ’－、－Ｓ－、－Ｓ（Ｏ）－、－Ｓ（Ｏ）$_2$－、－Ｓ（Ｏ）$_2$ＮＲ’－である。置換成分Ｒ、Ｒ’、Ｒ”及びＲ”’は好ましくは独立して、水素、置換若しくは非置換アルキル、置換若しくは非置換ヘテロアルキル、置換若しくは非置換シクロアルキル、置換若しくは非置換ヘテロシクロアルキル、置換若しくは非置換アリール、及び置換若しくは非置換ヘテロアリールから選択される。

【００３７】

本明細書で使用される場合、用語「ヘテロ原子」又は「環ヘテロ原子」は、酸素（Ｏ）、窒素（Ｎ）、硫黄（Ｓ）、リン（Ｐ）及びケイ素（Ｓｉ）を含むことが意図されている。

【００３８】

「置換基」は、本明細書で使用される場合、以下の部分：

（Ａ）オキソ、ハロゲン、－ＣＦ$_3$、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ$_2$、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ$_2$、－ＮＯ$_2$、－ＳＨ、－ＳＯ$_3$Ｈ、－ＳＯ$_4$Ｈ、－ＳＯ$_2$ＮＨ$_2$、－ＮＨＮＨ$_2$、－ＯＮＨ$_2$、－ＮＨＣ＝（Ｏ）ＮＨＮＨ$_2$、－ＮＨＣ＝（Ｏ）ＮＨ$_2$、－ＮＨＳＯ$_2$Ｈ、－ＮＨＣ＝（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）－ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＦ$_3$、－ＯＣＨＦ$_2$、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、並びに

（Ｂ）（ｉ）オキソ、ハロゲン、－ＣＦ$_3$、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ$_2$、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ$_2$、－ＮＯ$_2$、－ＳＨ、－ＳＯ$_3$Ｈ、－ＳＯ$_4$Ｈ、－ＳＯ$_2$ＮＨ$_2$、－ＮＨＮＨ$_2$、－ＯＮＨ$_2$、－ＮＨＣ＝（Ｏ）ＮＨＮＨ$_2$、－ＮＨＣ＝（Ｏ）ＮＨ$_2$、－ＮＨＳＯ$_2$Ｈ、－ＮＨＣ＝（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）－ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＦ$_3$、－ＯＣＨＦ$_2$、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、及び

（ｉｉ）（ａ）オキソ、ハロゲン、－ＣＦ$_3$、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ$_2$、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ$_2$、－ＮＯ$_2$、－ＳＨ、－ＳＯ$_3$Ｈ、－ＳＯ$_4$Ｈ、－ＳＯ$_2$ＮＨ$_2$、－ＮＨＮＨ$_2$、－ＯＮＨ$_2$、－ＮＨＣ＝（Ｏ）ＮＨＮＨ$_2$、－ＮＨＣ＝（Ｏ）ＮＨ$_2$、－ＮＨＳＯ$_2$Ｈ、－ＮＨＣ＝（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）－ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＦ$_3$、－ＯＣＨＦ$_2$、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、及び

（ｂ）オキソ、ハロゲン、－ＣＦ$_3$、－ＣＮ、－ＯＨ、－ＮＨ$_2$、－ＣＯＯＨ、－ＣＯＮＨ$_2$、－ＮＯ$_2$、－ＳＨ、－ＳＯ$_3$Ｈ、－ＳＯ$_4$Ｈ、－ＳＯ$_2$ＮＨ$_2$、－ＮＨＮＨ$_2$、－ＯＮＨ$_2$、－ＮＨＣ＝（Ｏ）ＮＨＮＨ$_2$、－ＮＨＣ＝（Ｏ）ＮＨ$_2$、－ＮＨＳＯ$_2$Ｈ、－ＮＨＣ＝（Ｏ）Ｈ、－ＮＨＣ（Ｏ）－ＯＨ、－ＮＨＯＨ、－ＯＣＦ$_3$、－ＯＣＨＦ$_2$、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリールから選択される少なくとも１つの置換成分で置換されたアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール

から選択される少なくとも１つの置換成分で置換されたアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール

から選択される少なくとも１つの置換成分で置換されたアルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール

から選択される基を意味する。

【００３９】

「サイズ制限置換成分」又は「サイズ制限置換基」は、本明細書で使用される場合、「置換基」について上で記載される置換成分のすべてから選択される基を意味し、それぞれの置換又は非置換アルキルは置換又は非置換Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキルであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロアルキルは置換又は非置換２～２０員ヘテロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換シクロアルキルは置換又は非置換Ｃ$_3$～Ｃ$_8$シクロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロシクロアルキルは置換又は非置換３～８員ヘテロシクロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換アリールは置換又は非置換Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリールであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロアリールは置換又は非置換５～１０員ヘテロアリールである。

【００４０】

「低級置換成分」又は「低級置換基」は、本明細書で使用される場合、「置換基」について上で記載される置換成分のすべてから選択される基を意味し、それぞれの置換又は非置換アルキルは置換又は非置換Ｃ$_1$～Ｃ$_8$アルキルであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロアルキルは置換又は非置換２～８員ヘテロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換シクロアルキルは置換又は非置換Ｃ$_3$～Ｃ$_7$シクロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロシクロアルキルは置換又は非置換３～７員ヘテロシクロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換アリールは置換又は非置換Ｃ$_6$～Ｃ$_{10}$アリールであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロアリールは置換又は非置換５～９員ヘテロアリールである。

【００４１】

一部の実施形態では、本明細書の化合物に記載されるそれぞれの置換基は少なくとも１つの置換基で置換される。さらに具体的には、一部の実施形態では、本明細書の化合物に記載されるそれぞれの置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール、置換ヘテロアリール、置換アルキレン、置換ヘテロアルキレン、置換シクロアルキレン、置換ヘテロシクロアルキレン、置換アリーレン及び／又は置換ヘテロアリーレンは少なくとも１つの置換基で置換される。他の実施形態では、これらの基の少なくとも１つ又はすべては少なくとも１つのサイズ制限置換基で置換される。他の実施形態では、これらの基の少なくとも１つ又はすべては少なくとも１つの低級置換基で置換される。

【００４２】

本明細書の化合物の他の実施形態では、それぞれの置換又は非置換アルキルは置換又は

非置換$C_1$～$C_{20}$アルキルでよく、それぞれの置換又は非置換ヘテロアルキルは置換又は非置換２～２０員ヘテロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換シクロアルキルは置換又は非置換$C_3$～$C_8$シクロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロシクロアルキルは置換又は非置換３～８員ヘテロシクロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換アリールは置換又は非置換$C_6$～$C_{10}$アリールであり、及び／又はそれぞれの置換又は非置換ヘテロアリールは置換又は非置換５～１０員ヘテロアリールである。本明細書の化合物の一部の実施形態では、それぞれの置換又は非置換アルキレンは置換又は非置換$C_1$～$C_{20}$アルキレンであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロアルキレンは置換又は非置換２～２０員ヘテロアルキレンであり、それぞれの置換又は非置換シクロアルキレンは置換又は非置換$C_3$～$C_8$シクロアルキレンであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロシクロアルキレンは置換又は非置換３～８員ヘテロシクロアルキレンであり、それぞれの置換又は非置換アリーレンは置換又は非置換$C_6$～$C_{10}$アリーレンであり、及び／又はそれぞれの置換又は非置換ヘテロアリーレンは置換又は非置換５～１０員ヘテロアリーレンである。

【００４３】

一部の実施形態では、それぞれの置換又は非置換アルキルは置換又は非置換$C_1$～$C_8$アルキルであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロアルキルは置換又は非置換２～８員ヘテロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換シクロアルキルは置換又は非置換$C_3$～$C_7$シクロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロシクロアルキルは置換又は非置換３～７員ヘテロシクロアルキルであり、それぞれの置換又は非置換アリールは置換又は非置換$C_6$～$C_{10}$アリールであり、及び／又はそれぞれの置換又は非置換ヘテロアリールは置換又は非置換５～９員ヘテロアリールである。一部の実施形態では、それぞれの置換又は非置換アルキレンは置換又は非置換$C_1$～$C_8$アルキレンであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロアルキレンは置換又は非置換２～８員ヘテロアルキレンであり、それぞれの置換又は非置換シクロアルキレンは置換又は非置換$C_3$～$C_7$シクロアルキレンであり、それぞれの置換又は非置換ヘテロシクロアルキレンは置換又は非置換３～７員ヘテロシクロアルキレンであり、それぞれの置換又は非置換アリーレンは置換又は非置換$C_6$～$C_{10}$アリーレンであり、及び／又はそれぞれの置換又は非置換ヘテロアリーレンは置換又は非置換５～９員ヘテロアリーレンである。一部の実施形態では、化合物は、下の実施例のセクション、図又は表で示される化学種である。

【００４４】

したがって、本発明の化合物は、薬学的に許容される酸とのなどの塩として存在しうる。本発明はそのような塩を含む。そのような塩の例は、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、メタンスルホン酸、硝酸塩、マレイン酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩（例えば、（＋）酒石酸塩、（－）酒石酸塩又はラセミ混合物を含むこの混合物）、コハク酸塩、安息香酸塩及びグルタミン酸などのアミノ酸を有する塩を含む。これらの塩は当業者に公知である方法によって調製しうる。

【００４５】

化合物の中性型は好ましくは、塩を塩基又は酸と接触させ、親化合物を従来のやり方で単離することにより再生される。化合物の親型は、極性溶剤中での可溶性などのある特定の物理的特性が種々の塩型とは異なる。

【００４６】

プロドラッグ型でもよい薬剤（例えば、化合物、薬物、治療薬）が本明細書で提供される。本明細書に記載される化合物のプロドラッグは、選ばれた生理的条件下で容易に化学変化を受けて最終薬剤（例えば、化合物、薬物、治療薬）を提供する化合物である。さらに、プロドラッグは、イクスビボ環境において化学的又は生化学的方法により薬剤（例えば、化合物、薬物、治療薬）に変換することができる。明細書に記載されるプロドラッグは、選ばれた生理的条件下で容易に化学変化を受けて薬剤（例えば、化合物、薬物、治療薬）を生物システムに（例えば、対象において）提供する化合物を含む。

【００４７】

本発明のある特定の化合物は、非溶媒和型並びに水和型を含む溶媒和型で存在することができる。一般に、溶媒和型は非溶媒和型と等価であり、本発明の範囲内に包含される。本発明のある特定の化合物は、複数の結晶又は無定形型で存在しうる。一般に、あらゆる物理的形態が本発明により想定される使用について等価であり、本発明の範囲内であることが意図されている。

【００４８】

本明細書で使用される場合、用語「塩」とは本発明の方法で使用される化合物の酸性又は塩基性塩を指す。許容される塩の説明的例は、鉱酸（塩化水素酸、臭化水素酸、リン酸など）塩、有機酸（酢酸、プロピオン酸、グルタミン酸、クエン酸など）塩、四級アンモニウム（ヨウ化メチル、ヨウ化エチルなど）塩である。

【００４９】

本発明のある特定の化合物は、不斉炭素原子（光学又は鏡像異性中心）又は二重結合を有し；絶対立体化学の点からアミノ酸について（Ｒ）－若しくは（Ｓ）－と、又は（Ｄ）－若しくは（Ｌ）－と定義しうる鏡像異性体、ラセミ体、ジアステレオマー、互換異性体、幾何異性体、立体異性型及び個々の異性体は本発明の範囲内に包含される。本発明の化合物は、合成する及び／又は単離するには非常に不安定であると当技術分野で分かってる化合物は含まない。本発明は、ラセミ及び光学的に純粋な形態の化合物を含むことが意図されている。光学的に活性な（Ｒ）－及び（Ｓ）－、又は（Ｄ）－及び（Ｌ）－異性体は、鏡像異性シントン又は鏡像異性試薬を使用して調製する、又は従来の技法を使用して分解してもよい。本明細書に記載される化合物がオレフィン結合又は幾何学的非対称の他の中心を含有する場合、別段明記されなければ、化合物がＥとＺ幾何異性体の両方を含むことが意図されている。

【００５０】

本明細書で使用される場合、用語「異性体」は、同じ数及び種類の原子、したがって、同じ分子量を有するが、原子の構造配置又は立体配置に関して異なる化合物を指す。

【００５１】

用語「互換異性体」は、本明細書で使用される場合、平衡状態で存在し、１つの異性体型から別の異性体型に容易に変換される２つ以上の構造異性体の１つを指す。

【００５２】

本発明のある特定の化合物は互換異性体型で存在することがあり、化合物のそのような互換異性体型すべてが本発明の範囲内であることは当業者には明らかである。

【００５３】

別段記述されていなければ、本明細書に描かれる構造は、その構造のすべての立体化学型；すなわち、不斉中心ごとにＲ及びＳ立体配置を含むことも意図されている。したがって、本化合物の単一の立体化学異性体並びに鏡像異性体及びジアステレオマー混合物は本発明の範囲内である。

【００５４】

別段記述されていなければ、本明細書に描かれる構造は、１つ以上の同位体的に濃縮された原子の存在のみが異なる化合物を含むことも意図されている。例えば、水素が重水素若しくは三重水素で置き換えられている、又は炭素が$^{13}$Ｃ－若しくは$^{14}$Ｃ－濃縮炭素で置き換えられていることを除いて現構造を有する化合物は本発明の範囲内である。

【００５５】

本発明の化合物は、そのような化合物を構成する原子の１つ以上で不自然な割合の原子同位体も含有することがある。例えば、化合物は、例えば、三重水素（$^{3}$Ｈ）、ヨウ素１２５（$^{125}$Ｉ）又は炭素１４（$^{14}$Ｃ）などの放射性同位元素で放射標識されてよい。本発明の化合物の同位体変種すべてが、放射性であってもなくても、本発明の範囲内に包含される。

【００５６】

「類似体（ａｎａｌｏｇ）」と「類似体（ａｎａｌｏｇｕｅ）」は互換的に使用され、化学及び生物学内でのその明白な通常の意味に従って使用され、別の化合物（すなわち、

いわゆる「参照」化合物）と構造的に類似しているが、組成が、例えば、異なる元素の原子により１つの原子が置き換えられている点が、又は特定の官能基が存在している、若しくは１つの官能基が別の官能基により置き換えられている、若しくはこの異性体を含む、参照化合物の１つ以上のキラル中心の絶対立体化学の点が異なる化学化合物を指す。したがって、類似体は、参照化合物に対して機能及び外観は類似している又は匹敵するが、構造又は起源はそうではない化合物である。

【００５７】

用語「１つの（ａ）」又は「１つの（ａｎ）」は、本明細書で使用される場合、１つ以上を意味する。さらに、語句「～で置換された（ｓｕｂｓｔｉｔｕｔｅｄ　ｗｉｔｈ　ａ［ｎ］）」は、本明細書で使用される場合、指定された基がその指定された置換成分のいずれか又はすべてのうちの１つ以上で置換されていてよいことを意味する。例えば、「１つの（ａｎ）」のアルキル又はヘテロアルキル基などの基が「「１つの（ａｎ）」の非置換$Ｃ_{１}$～$Ｃ_{２０}$アルキル、又は非置換２～２０員ヘテロアルキルで置換されている」場合、その基は１つ以上の非置換$Ｃ_{１}$～$Ｃ_{２０}$アルキル及び／又は１つ以上の非置換２～２０員ヘテロアルキルを含有していてよい。

【００５８】

本発明の化合物の記述は、当業者には既知である化学結合の原則により制限される。したがって、基がいくつかの置換成分のうちの１つ以上により置換されていてよい場合、そのような置換成分は化学結合の原則に従い、本質的に不安定ではない並びに／又は水性、中性、及びいくつかの既知の生理的条件などの周囲条件下では不安定になる可能性のあると当業者には知られていると思われる化合物を与えるように選択される。例えば、ヘテロシクロアルキル又はヘテロアリールは、当業者に既知である化学結合の原則に従って環ヘテロ原子を通じて分子の残りの部分に結合しており、それによって本質的に不安定な化合物を回避する。

【００５９】

用語「抗体」は、当技術分野で一般に知られている意味に従って使用される。抗体は、例えば、無傷の免疫グロブリンとして又は種々のペプチダーゼでの消化により産生されるいくつかの特徴がはっきりした断片として存在する。したがって、例えば、ペプシンはヒンジ領域のジスルフィド結合の下で抗体を消化してＦ（ａｂ）’$_{2}$、それ自体がジスルフィド結合により$Ｖ_{Ｈ}$－$Ｃ_{Ｈ１}$に結合している軽鎖であるＦａｂのダイマーを生じる。Ｆ（ａｂ）’$_{2}$は穏やかな条件下で還元されて、ヒンジ領域のジスルフィド結合を切断し、それによってＦ（ａｂ）’$_{2}$ダイマーをＦａｂ’モノマーに変換する。Ｆａｂ’モノマーは本質的にヒンジ領域の一部を有するＦａｂである（Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｐａｕｌ編、第３版、１９９３年））。種々の抗体断片が無傷抗体の消化の点から定義されているが、当業者であれば、そのような断片は、化学的に又は組換えＤＮＡ法を使用することにより新規に合成しうることを認識する。したがって、用語抗体は、本明細書で使用される場合、全抗体の改変により産生される抗体断片又は組換えＤＮＡ法を使用して新規に合成される抗体断片（例えば、一本鎖Ｆｖ）又はファージディスプレイライブラリーを使用して同定される抗体断片（例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、Ｎａｔｕｒｅ　３４８：５５２～５５４頁（１９９０））も含む。

【００６０】

用語「抗体」とは、免疫グロブリン遺伝子によりコードされるポリペプチド又は抗原に特異的に結合して認識するこの機能的断片を指す。認識される免疫グロブリン遺伝子は、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロン、及びミュー定常領域遺伝子、並びに多数の免疫グロブリン可変領域遺伝子を含む。軽鎖はカッパ又はラムダに分類される。重鎖はガンマ、ミュー、アルファ、デルタ又はイプシロンに分類され、これらは今度はそれぞれ免疫グロブリンクラス、ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＤ及びＩｇＥを定義する。

【００６１】

語句、抗体に「特異的に（又は選択的に）結合する」又は「に特異的に（又は選択的に

）免疫反応性である」とは、タンパク質又はペプチドに言及する場合、多くの場合タンパク質と生物製剤の異種集団においてタンパク質の存在を決定する結合反応を指す。したがって、指定された免疫アッセイ条件下で、特定の抗体は特定のタンパク質にバックグランドの少なくとも２倍、さらに典型的には、バックグランドの１０～１００倍以上結合する。そのような条件下での抗体への特定の結合は、特定のタンパク質に対するその特異性で選択される抗体が必要となる。例えば、ポリクローナル抗体は、選択された抗原に特異的に免疫反応性であり他のタンパク質には免疫反応性ではない抗体のサブセットのみを得るように選択することができる。この選択は、他の分子と交差反応する抗体を差し引くことにより達成しうる。種々の免疫アッセイフォーマットを使用して、特定のタンパク質に特異的に免疫反応性である抗体を選択してよい。例えば、固相ＥＬＩＳＡ免疫アッセイは、タンパク質に特異的に免疫反応性である抗体を選択するのに日常的に使用されている（例えば、特異的免疫反応性を判定するのに使用することができる免疫アッセイフォーマット及び条件の記載についてはＨａｒｌｏｗ＆Ｌａｎｅ、Ｕｓｉｎｇ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ、Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ（１９９８）参照）。

【００６２】

例示的な免疫グロブリン（抗体）構造ユニットはテトラマーを含む。それぞれのテトラマーは２つの同一の対になったポリペプチド鎖で構成されており、それぞれの対は１つの「軽」（約２５ｋＤａ）及び１つの「重」鎖（約５０～７０ｋＤａ）を有する。それぞれの鎖のＮ終端は、主に抗原認識の原因である約１００～１１０又はそれよりも多いアミノ酸の可変領域を定義する。用語「可変重鎖」、「$V_H$」又は「ＶＨ」とは、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、ｄｓＦｖ又はＦａｂを含む免疫グロブリン重鎖の可変領域を指し、用語「可変軽鎖」、「$V_L$」又は「ＶＬ」とは、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、ｄｓＦｖ又はＦａｂを含む免疫グロブリン軽鎖の可変領域を指す。

【００６３】

抗体機能的断片の例は、完全抗体分子、Ｆｖ、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、相補性決定領域（ＣＤＲ）、ＶＬ（軽鎖可変領域）、ＶＨ（重鎖可変領域）、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ）２’などの抗体断片及びそれらの任意の組合せ又は標的抗原に結合することができる免疫グロブリンペプチドの他の任意の機能的部分を含むがこれらに限定されない（例えば、ＦＵＮＤＡＭＥＮＴＡＬ　ＩＭＭＵＮＯＬＯＧＹ（Ｐａｕｌ編、第４版、２００１年）参照）。当業者であれば認識しているように、種々の抗体断片は、様々な方法、例えば、ペプシンなどの酵素での無傷抗体の消化；又は新規合成により得ることができる。抗体断片は、化学的に又は組換えＤＮＡ法を使用することにより新規に合成される場合が多い。したがって、用語抗体は、本明細書で使用される場合、全抗体の改変により産生される抗体断片又は組換えＤＮＡ法を使用して新規に合成される抗体断片（例えば、一本鎖Ｆｖ）又はファージディスプレイライブラリーを使用して同定される抗体断片（例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、（１９９０）Ｎａｔｕｒｅ　３４８：５５２頁参照）も含む。用語「抗体」は、二価又は二特異性分子、ダイアボディ、トリアボディ及びテトラボディも含む。二価又は二特異性分子は、例えば、Ｋｏｓｔｅｌｎｙら、（１９９２）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８：１５４７頁、Ｐａｃｋ及びＰｌｕｃｋｔｈｕｎ（１９９２）Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　３１：１５７９頁、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒら、（１９９３）、ＰＮＡＳ．ＵＳＡ　９０：６４４４頁、Ｇｒｕｂｅｒら、（１９９４）Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５２：５３６８頁、Ｚｈｕら、（１９９７）Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉ．６：７８１頁、Ｈｕら、（１９９６）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５６：３０５５頁、Ａｄａｍｓら、（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５３：４０２６頁及びＭｃＣａｒｔｎｅｙら、（１９９５）Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．８：３０１頁に記載されている。

【００６４】

「キメラ抗体」は、（ａ）定常領域又はこの一部分が、抗原結合部位（可変領域）が異なる若しくは変更されたクラスのエフェクター機能及び／若しくは種の定常領域、又はキメラ抗体に新しい特性を与える全く異なる分子、例えば、酵素、毒素、ホルモン、成長因子、薬物、等に連結されるように変更される、置き換えられる若しくは交換される；又は

（ｂ）可変領域又はこの一部分が、異なる若しくは変更された抗原特異性を有する可変領域で変更される、置き換えられる若しくは交換される抗体分子である。本発明の及び本発明に従って使用するための好ましい抗体は、ヒト化及び／又はキメラモノクローナル抗体を含む。

【００６５】

「接触させる」はその明白な通常の意味に従って使用され、少なくとも２つの異なる種（例えば、生体分子又は細胞を含む化学化合物）を反応する、相互作用する又は物理的に接触するのに十分近位にさせておく過程を指す。しかし、得られた反応産物は、添加された試薬間の反応から又は反応混合物中で生成することができる添加された試薬のうちの１つ以上からの中間体から直接生成することができることは認識するべきである。

【００６６】

用語「接触する」は、２つの種を反応させる、相互作用させる又は物理的に接触させておくことを含んでいてよく、この２つの種は本明細書に記載される化合物及びタンパク質又は酵素でよい。一部の実施形態では、接触させるは、本明細書に記載される化合物をシグナル伝達経路に関与するタンパク質又は酵素と相互作用させておくことを含む。

【００６７】

別段定義されなければ、本明細書で使用される専門及び科学用語は、当業者が一般に理解しているのと同じ意味を有する。例えば、Ｓｉｎｇｌｅｔｏｎら、ＤＩＣＴＩＯＮＡＲＹ　ＯＦ　ＭＩＣＲＯＢＩＯＬＯＧＹ　ＡＮＤ　ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ　ＢＩＯＬＯＧＹ　第２版、Ｊ．Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ（Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、ＮＹ　１９９４）；Ｓａｍｂｒｏｏｋら、ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ　ＣＬＯＮＩＮＧ、Ａ　ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ　ＭＡＮＵＡＬ、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇｓ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｐｒｅｓｓ（Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇｓ　Ｈａｒｂｏｒ、ＮＹ　１９８９年）を参照されたい。本明細書に記載される方法、装置及び材料に類似する又は等価であるいかなる方法、装置及び材料でも本発明の実行に使用することができる。以下の定義は本明細書で頻繁に使用されるある特定の用語の理解を容易にするために提供され、本開示の範囲を限定することを意図していない。

【００６８】

本明細書で使用することがある場合、用語「核酸」、「核酸分子」、「核酸オリゴマー」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸配列」、「核酸断片」及び「ポリヌクレオチド」は互換的に使用され、種々の長さを持つことがある互いに共有結合されたヌクレオチドのポリマー型、デオキシリボヌクレオチド若しくはリボヌクレオチド、又はこの類似体、誘導体若しくは改変物を含むがこれらに限定されないことが意図されている。ポリヌクレオチドが異なれば三次元構造も異なることがあり、既知であれ未知であれ、種々の機能を果たすことがある。ポリヌクレオチドの非限定的例は、遺伝子、遺伝子断片、エキソン、イントロン、遺伝子間ＤＮＡ（限定せずに、異質染色質ＤＮＡを含む）、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、トランスファーＲＮＡ、リボソームＲＮＡ、リボザイム、ｃＤＮＡ、組換えポリヌクレオチド、分岐ポリヌクレオチド、プラスミド、ベクター、配列の単離ＤＮＡ、配列の単離ＲＮＡ、核酸プローブ及びプライマーを含む。本開示の方法において有用であるポリヌクレオチドは、天然の核酸配列及びこの変異体、人工的核酸配列又はそのような配列の組合せを含みうる。

【００６９】

ポリヌクレオチドは典型的には、４つのヌクレオチド塩基：アデニン（Ａ）；シトシン（Ｃ）；グアニン（Ｇ）；及びチミン（Ｔ）（ポリヌクレオチドがＲＮＡの場合はチミン（Ｔ）の代わりにウラシル（Ｕ））の特定の配列で構成されている。したがって、用語「ポリヌクレオチド配列」はポリヌクレオチド分子のアルファベット表示であり、あるいは、この用語はポリヌクレオチド分子自体に適用してよい。このアルファベット表示は、中央処理装置のあるコンピュータ内のデータベースに入力し、機能ゲノミクス及び相同性検索などのバイオインフォマティクスアップリケーションのために使用することができる。ポリヌクレオチドは任意選択的に、１つ以上の非標準ヌクレオチド、ヌクレオチド類似体及び／又は改変ヌクレオチドを含んでよい。

【００７０】
タンパク質中のアミノ酸残基は、それがタンパク質内の所与の残基と同じ不可欠な構造位置を占める場合、その所与の残基に「一致する」。
【００７１】
用語「アミノ酸」とは、天然に存在する及び合成アミノ酸、並びに天然に存在するアミノ酸に類似する様式で機能するアミノ酸類似体及びアミノ酸模倣物を指す。天然に存在するアミノ酸は、遺伝コードにコードされるアミノ酸、並びに、後に改変されるアミノ酸、例えば、ヒドロキシプロリン、γ－カルボキシグルタミン酸及びＯ－ホスホセリンである。アミノ酸類似体とは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造、すなわち、水素、カルボキシル基、アミノ基及びＲ基に結合しているα炭素を有する化合物、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウムを指す。そのような類似体は、改変Ｒ基（例えば、ノルロイシン）又は改変ペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造を保持している。アミノ酸模倣物とは、アミノ酸の一般的化学構造とは異なっているが天然に存在するアミノ酸に類似する様式で機能する構造を有する化学化合物を指す。用語「天然に存在しないアミノ酸」及び「非天然アミノ酸」とは、天然には見出されないアミノ酸類似体、合成アミノ酸及びアミノ酸模倣物を指す。
【００７２】
アミノ酸は、その一般に知られている３文字記号により又はＩＵＰＡＣ－ＩＵＢ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｎｏｍｅｎｃｌａｔｕｒｅ　Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎにより推奨される１文字記号により本明細書では言及してよい。ヌクレオチドも同様にその一般に受け入れられた１文字コードにより言及してよい。
【００７３】
用語「ポリペプチド」、「ペプチド」及び「タンパク質」は本明細書では互換的に使用されてアミノ酸残基のポリマーを指し、ポリマーは実施形態ではアミノ酸で構成されない部分にコンジュゲートしてよい。この用語は、１つ以上のアミノ酸残基が対応する天然に存在するアミノ酸の人工的な化学模倣物であるアミノ酸ポリマーに、並びに、天然に存在するアミノ酸ポリマー及び天然には存在しないアミノ酸ポリマーに当てはまる。「融合タンパク質」とは、単一部分として組換え的に発現される２つ以上の別々のタンパク質配列をコードするキメラタンパク質を指す。
【００７４】
用語「ペプチジル」及び「ペプチジル部分」は一価ペプチドを意味する。
【００７５】
「保存的に改変された変異体」はアミノ酸と核酸配列の両方に当てはまる。特定の核酸配列に関して、「保存的に改変された変異体」とは、同一の又は本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸を指す。遺伝コードの縮重のために、いくつかの核酸配列は任意の所与のタンパク質をコードする。例えば、コドンＧＣＡ、ＧＣＣ、ＧＣＧ及びＧＣＵはすべてアミノ酸アラニンをコードする。したがって、コドンによりアラニンが指定されるすべての位置で、コドンは、コードされたポリペプチドを変更することなく記載された対応するコドンのいずれにでも変更することができる。そのような核酸バリエーションは「サイレントバリエーション」であり、これは保存的に改変されたバリエーションの一種である。ポリペプチドをコードする本明細書のすべての核酸配列は、その核酸のすべての考えられるサイレントバリエーションも記載する。当業者であれば、核酸におけるそれぞれのコドン（ＡＵＧ、このコドンは通常、メチオニンを表す唯一のコドンであり、及びＴＧＧ、このコドンは通常、トリプトファンを表す唯一のコドンである、を除いて）は改変して機能的に同一の分子を生じることができることを認識する。したがって、ポリペプチドをコードする核酸のそれぞれのサイレントバリエーションはそれぞれの記載される配列に暗に示されている。
【００７６】
アミノ酸配列に関して、当業者であれば、コードされた配列中の単一アミノ酸又はわず

かな割合のアミノ酸を変更する、付加する又は欠失する核酸、ペプチド、ポリペプチド又はタンパク質配列への個々の置換、欠失又は付加は、変更によりアミノ酸が化学的に類似するアミノ酸で置換される「保存的に改変された変異体」であることを認識する。機能的に類似するアミノ酸を提供する保存的置換表は当技術分野では周知である。そのような保存的に改変される変異体は、本開示の多形変異体、種間相同体及び対立遺伝子に付け加えられるものでこれらを排除しない。

【００７７】

以下の８つのグループはそれぞれが、互いに対して保存的置換であるアミノ酸を含有する：

１）アラニン（Ａ）、グリシン（Ｇ）；

２）アスパラギン酸（Ｄ）、グルタミン酸（Ｅ）；

３）アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）；

４）アルギニン（Ｒ）、リジン（Ｋ）；

５）イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、バリン（Ｖ）；

６）フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、トリプトファン（Ｗ）；

７）セリン（Ｓ）、スレオニン（Ｔ）；及び

８）システイン（Ｃ）、メチオニン（Ｍ）

（例えば、Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ、Ｐｒｏｔｅｉｎｓ（１９８４）参照）。

【００７８】

用語「に関して番号付けられた」又は「に対応している」は、所与のアミノ酸又はポリペプチド配列の番号付けという文脈で使用される場合、所与のアミノ酸又はポリヌクレオチド配列が参照配列と比較される場合の指定された参照配列の残基の番号付けを指す。タンパク質中のアミノ酸残基は、それが所与の残基とタンパク質内の同じ不可欠な構造上の位置を占める場合、その所与の残基に「対応する」。当業者であれば、異なる番号付け方式での他のタンパク質中のタンパク質（例えば、ＲＯＲ－１）の特定の位置に対応している残基の正体及び位置を直ちに認識する。例えば、タンパク質（例えば、ＲＯＲ－１）との簡単な配列アライメントを実施することにより、前記タンパク質の特定の位置に対応する残基の正体及び位置は、前記タンパク質に整列する他のタンパク質配列において同定される。

【００７９】

「配列同一性のパーセント」は、比較ウィンドウにわたって２つの最適に整列させた配列を比較することにより決定され、比較ウィンドウにおけるポリヌクレオチド又はポリペプチド配列の一部は、２つの配列の最適整列について参照配列（付加も欠失も含まない）と比べて付加又は欠失（すなわち、ギャップ）を含んでよい。パーセントは、同一の核酸塩基又はアミノ酸残基が両方の配列に存在している位置の数を決定して適合する位置の数を得て、適合する位置の数を比較のウィンドウの位置の全数で割って、その結果に１００を掛けて配列同一性のパーセントを得ることにより計算される。

【００８０】

用語「同一の」又はパーセント「同一性」は、２つ以上の核酸又はポリペプチド配列という文脈では、下に記載されるデフォルトパラメータを有するＢＬＡＳＴ若しくはＢＬＡＳＴ２．０配列比較アルゴリズムを使用して、又はマニュアルアライメント及び目視検査（例えば、ＮＣＢＩ ｗｅｂ ｓｉｔｅ ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ＢＬＡＳＴ／又はそれと同類の物参照）により測定した場合と同じである、又は指定されたパーセントの同じアミノ酸残基若しくはヌクレオチド（すなわち、比較ウィンドウ又は指定された領域にわたって最大一致になるよう比較され整列された場合、指定された領域にわたって約６０％同一性、好ましくは６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれよりも高い同一性）を有する２つ以上の配列又はサブ配列を指す。次に、そのような配列は「実質的に同一である」と言われる。この定義は、試験配列の相補体のことでもあり、又はこれに適用してもよい。この定義は、欠失及び／又は付加がある配

列、並びに置換がある配列も含む。下に記載されるように、好ましいアルゴリズムはギャップなどを説明することができる。好ましくは、同一性は、少なくとも約２５アミノ酸若しくはヌクレオチド長である領域にわたって、又はさらに好ましくは５０～１００アミノ酸若しくはヌクレオチド長である領域にわたって存在する。

【００８１】

アミノ酸又はヌクレオチド塩基「位置」は、Ｎ終端（又は５’末端）に対するその位置に基づいた参照配列において、それぞれのアミノ酸（又はヌクレオチド塩基）を順次に識別する数により表示される。最適整列を決定する場合に考慮しなければならない欠失、挿入、短縮化、融合などのために、一般に、Ｎ終端から単純に数えることにより決定される試験配列におけるアミノ酸残基番号は、必ずしも参照配列におけるその対応する位置の番号と同じではない。例えば、整列された参照配列と比べて変異体が欠失を有する場合では、参照配列の欠失の部位での位置に対応するアミノ酸は変異体には存在しない。整列された参照配列に挿入がある場合、その挿入は参照配列において番号付けられたアミノ酸位に対応しない。短縮化又は融合の場合では、参照又は整列された配列のどちらかには、対応する配列のいかなるアミノ酸にも対応しないアミノ酸の一続きが存在できる。

【００８２】

本明細書で使用される用語「異常な」とは正常とは異なることである。酵素活性又はタンパク質機能を記載するのに使用される場合、異常なとは、正常な対照又は正常な非疾患対照試料の平均よりも高い又は低い活性又は機能を指す。異常な活性は疾患をもたらす活性量を指してもよく、異常な活性を正常な又は非疾患関連量に戻す（例えば、本明細書に記載される化合物を投与する又は方法を使用することによって）と、疾患又は１つ以上の疾患症状が低減される。

【００８３】

配列比較では、典型的に１つの配列は参照配列の役を務め、これと試験配列が比較される。配列比較アルゴリズムを使用する場合、試験及び参照配列はコンピュータに入力され、必要であれば配列座標が設計され、配列アルゴリズムプログラムパラメータが設計される。デフォルトプログラムパラメータを使用することができる、又は代わりのパラメータを設計することができる。次に、配列比較アルゴリズムは、プログラムパラメータに基づいて、参照配列と比べて試験配列についてパーセト配列同一性を計算する。

【００８４】

「比較ウィンドウ」は、本明細書で使用される場合、例えば、２つの配列が最適に整列された後、配列が同じ数の連続する位置の参照配列と比べられる、例えば完全長配列又は２０～６００、約５０～約２００、若しくは約１００～約１５０アミノ酸又はヌクレオチドからなる群から選択される連続する位置の数のいずれか１つのセグメントを参照することを含む。比較のための配列のアライメントの方法は当技術分野では周知である。比較のための配列の最適アライメントは、例えばＳｍｉｔｈ及びＷａｔｅｒｍａｎ（１９７０）Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．２：４８２ｃの局所的相同性アルゴリズムにより、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ及びＷｕｎｓｃｈ（１９７０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３頁の相同性アライメントアルゴリズムにより、Ｐｅａｒｓｏｎ及びＬｉｐｍａｎ（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：２４４４頁の類似性検索法により、これらのアルゴリズム（ＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡ及びＴＦＡＳＴＡ ｉｎ ｔｈｅ Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒ．，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）のコンピュータによる実施により又はマニュアルアライメント及び目視検査（例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（１９９５ ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔ）参照）により行うことができる。

【００８５】

パーセント配列同一性及び配列類似性を判定するのに適しているアルゴリズムの例は、ＢＬＡＳＴ及びＢＬＡＳＴ２．０アルゴリズムであり、これらはそれぞれＡｌｔｓｃｈｕ

ｌら、（１９７７）Ｎｕｃ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９～３４０２頁及びＡｌｔｓｃｈｕｌら、（１９９０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３～４１０頁に記載されている。ＢＬＡＳＴ解析を実施するためのソフトウェアはＮａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ（ｗｅｂｓｉｔｅ ａｔ ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／）を通じて公開されている。このアルゴリズムは先ず、問い合わせ配列中の長さＷの短いワードを同定することにより高スコア配列対（ＨＳＰ）を同定し、この対のどちらかは、データベース配列中の同じ長さのワードと整列されると、ある正値閾値スコアＴと適合する又は満たす。Ｔは近隣ワードスコア閾値と呼ばれる（Ａｌｔｓｃｕｌら、上記参照）。これらの開始近隣ワードヒットは、それを含有するもっと長いＨＳＰを見つける検索を開始するためのシードの役を務める。ワードヒットは、累積アライメントスコアを増やすことができる限り、それぞれの配列に沿って両方向に伸長される。累積スコアは、ヌクレオチド配列では、パラメータＭ（適合する残基の対についてのリワードスコア；常に＞０）及びＮ（ミスマッチ残基についてのペナルティースコア；常に＜０）を使用して計算される。アミノ酸配列では、スコアリングマトリックスを使用して累積スコアを計算する。それぞれの方向でのワードヒットの伸長は、累積アライメントスコアがその最大達成値から量Ｘ減る；累積スコアが、１つ以上の負スコアリング残基アライメントの蓄積のためにゼロ若しくはそれより下になる；又はどちらかの配列の末端に到達すると停止される。ＢＬＡＳＴアルゴリズムパラメータＷ、Ｔ及びＸはアライメントの感度及び速度を決定する。ＢＬＡＳＴＮプログラム（ヌクレオチド配列では）はデフォルトとしてワード長（Ｗ）１１、期待値（Ｅ）１０、Ｍ＝５、Ｎ＝－４及び両方の鎖の比較を使用する。アミノ酸配列では、ＢＬＡＳＴＰプログラムはデフォルトとしてワード長３及び期待値（Ｅ）１０、及びＢＬＯＳＵＭ６２スコアリングマトリックス（Ｈｅｎｉｋｏｆｆ及びＨｅｎｉｋｏｆｆ（１９８９）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８９：１０９１５頁参照）アライメント（Ｂ）５０、期待値（Ｅ）１０、Ｍ＝５、Ｎ＝－４及び両方の鎖の比較を使用する。

【００８６】

ＢＬＡＳＴアルゴリズムは２つの配列間の類似性の統計解析も実施する（例えば、Ｋａｒｌｉｎ及びＡｌｔｓｃｈｕｌ（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：５８７３～５７８７頁参照）。ＢＬＡＳＴアルゴリズムにより提供される類似性の１つの尺度は、最少和確率（Ｐ（Ｎ））であり、これは２つのヌクレオチド又はアミノ酸配列間の適合が偶然起きると考えられる確率の表示を提供する。例えば、核酸は、試験核酸と参照核酸の比較において最少和確率が、約０．２未満、さらに好ましくは約０．０１未満、もっとも好ましくは約０．００１未満である場合には参照配列に類似していると見なされる。

【００８７】

２つの核酸配列又はポリペプチドが実質的に同一であることの兆候は、下に記載されるように、第１の核酸によりコードされたポリペプチドが第２の核酸によりコードされたポリペプチドに対して産生された抗体に免疫学的に交差反応性であることである。したがって、ポリペプチドは典型的には、第２のポリペプチドに実質的に同一であり、例えば、そこではこの２つのペプチドは保存的置換のみが異なる。２つの核酸配列が実質的に同一であることの別の兆候は、下に記載されるように、２つの分子又はその相補体が厳密な条件下で互いにハイブリダイズすることである。２つの核酸配列が実質的に同一であることのさらに別の兆候は、その配列を増幅するのに同じプライマーが使用できることである。

【００８８】

用語「単離された」は、核酸又はタンパク質に適用される場合、核酸又はタンパク質が自然状態では会合している他の細胞成分が本質的にないことを意味する。核酸又はタンパク質は、例えば、均一状態が可能であり、乾燥状態又は水溶液でもよい。純度及び均一性は典型的には、ポリアクリルアミドゲル電気泳動又は高速液体クロマトグラフィーなどの分析化学技法を使用して決定される。調製物中に存在する優占種であるタンパク質は実質的に精製されている。

【００８９】
化合物の「選択性の」又は「選択性」又はそれと同類の物とは、分子標的を区別する化合物の能力を指す（例えば、ＨＭＴ　ＳＵＶ３９Ｈ１及び／又はＨＭＴ　Ｇ９ａに対する選択性を有する化合物）。
【００９０】
化合物の「特異的な」、「特異的に」、「特異性」又はそれと同類の物とは、細胞中の他のタンパク質には最小の作用で又は全く作用なしで、特定の分子標的に、阻害などの特定の作用を引き起こす化合物の能力を指す（例えば、ＲＯＲ－１に対して特異性を有する化合物は、ＲＯＲ－１の活性に阻害を示し、同じ化合物がＲＯＲ２などの他のＲＯＲタンパク質の阻害はほとんど示さない）。
【００９１】
語句、抗体に「特異的に（又は選択的に）結合する」又は「特異的に（又は選択的に）免疫反応性である」とは、タンパク質又はペプチドに言及する場合、タンパク質及び他の生物製剤の異種集団にタンパク質が存在することを決定する結合反応を指す。したがって、指示された免疫アッセイ条件下では、指定された抗体はバックグランドの少なくとも２倍特定のタンパク質に結合し、試料中に存在する他のタンパク質に有意な量で実質的に結合しない。典型的には、特異的又は選択的反応は、バックグランドシグナル又はノイズの少なくとも２倍であり、さらに典型的には、バックグランドの１０～１００倍以上になる。
【００９２】
本明細書で使用される「細胞」とは、そのゲノムＤＮＡを保存する又は複製するのに十分な代謝又は他の機能を実行する細胞を指す。細胞は、例えば、無傷膜の存在、特定の染料による染色、子孫を作り出す能力、又は、配偶子の場合は、第二の配偶子と結合して生存できる子孫を作り出す能力を含む、当技術分野で周知の方法により確かめることができる。細胞は原核細胞及び真核細胞を含んでよい。原核細胞は細菌を含むがこれに限定されない。真核細胞は、酵母細胞並びに植物及び動物、例えば、哺乳動物、昆虫（例えば、スポドプテラ属（ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ））及びヒト細胞に由来する細胞を含むがこれらに限定されない。細胞は、天然に非粘着性である又は表面に粘着しないように、例えば、トリプシン処理により、処理されている場合は有用になりうる。
【００９３】
「幹細胞」は、有糸分裂細胞分割を通じた自己再生能力及び組織又は器官に分化する潜在能力を特徴とする細胞である。哺乳動物幹細胞の間では、胚性幹細胞（ＥＳ細胞）と体性幹細胞（例えば、ＨＳＣ）は区別することができる。胚性幹細胞は胎盤胞に存在し胚組織を生じ、体性幹細胞は組織再生及び修復という目的で成人組織に存在する。本明細書で提供される「神経幹細胞」とは、有糸分裂細胞分割を通じて自己再生し神経細胞（例えば、グリア細胞、ニューロン、星状細胞、乏突起膠細胞）に分化することができる幹細胞を指す。
【００９４】
「Ｂ細胞」又は「Ｂリンパ球」とは、当技術分野でのその標準使用を指す。Ｂ細胞は、白血球細胞（白血球）の一種であるリンパ球であり、成長してプラズマ細胞（「成熟Ｂ細胞」）になり、これは抗体を産生する。「未成熟Ｂ細胞」は、成長して成熟Ｂ細胞になることができる細胞である。一般に、プロＢ細胞は免疫グロブリン重鎖再編成を受けてプロＢプレＢ細胞になり、免疫グロブリン軽鎖再編成をさらに受けて未成熟Ｂ細胞になる。未成熟Ｂ細胞はＴ１及びＴ２　Ｂ細胞を含む。
【００９５】
本明細書で使用される「Ｔ細胞」又は「Ｔリンパ球」は、細胞免疫で中心的役割を果たすリンパ球の一タイプ（白血球細胞のサブタイプ）である。「Ｔ細胞」又は「Ｔリンパ球」は、細胞表面上のＴ細胞受容体の存在により、Ｂ細胞及びナチュラルキラー細胞などの他のリンパ球から区別することができる。Ｔ細胞は、例えば、ナチュラルキラーＴ（ＮＫＴ）細胞、細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）、調節性Ｔ（Ｔｒｅｇ）細胞及びＴヘルパー

細胞を含む。異なるタイプのＴ細胞は、Ｔ細胞検出剤の使用により区別することができる。

【００９６】

「記憶Ｔ細胞」は、以前の感染、がんとの遭遇又は以前のワクチン接種中にその同族抗原に以前遭遇し応答したことがあるＴ細胞である。その同族抗原との２度目の遭遇時、記憶Ｔ細胞は再生して（分裂して）、最初に病原体に応答した免疫系よりも迅速で強力な免疫応答を開始することができる。

【００９７】

「調節性Ｔ細胞」又は「サプレッサーＴ細胞」は、免疫系をモジュレートし、自己抗原に対する寛容を維持し、自己免疫疾患を予防するリンパ球である。

【００９８】

本明細書で定義される場合、タンパク質－阻害因子相互作用に関して、用語「阻害」、「阻害する」、「阻害すること」などは、阻害因子がない場合のタンパク質の活性又は機能と比べてタンパク質の活性又は機能に負の影響を及ぼす（例えば、減少する）ことを意味する。実施形態では、阻害は、阻害因子がない場合のタンパク質の濃度又はレベルと比べてタンパク質の濃度又はレベルに負の影響を及ぼす（例えば、減少する）ことを意味する。実施形態では、阻害とは疾患又は疾患の症状を低減することである。実施形態では、阻害とは、特定のタンパク質標的の活性を低減することである。したがって、阻害は、少なくとも一部は、部分的に又は全体的に刺激を遮断する、活性化を減少する、予防する、若しくは遅延する、又はシグナル伝達若しくは酵素活性若しくはタンパク質の量を不活化する、感度を減じる、若しくは下方調節することを含む。実施形態では、阻害とは、直接相互作用から生じる標的タンパク質の活性を低減することである（例えば、阻害因子は標的タンパク質に結合する）。実施形態では、阻害とは、間接的相互作用から標的タンパク質の活性を低減することである（例えば、阻害因子は標的タンパク質を活性化するタンパク質に結合し、それによって標的タンパク質活性化を予防する）。「ＲＯＲ１阻害因子」は、阻害因子がない場合のＲＯＲ１の活性又は機能と比べてＲＯＲ１の活性又は機能に負の影響を及ぼす（例えば、減少する）化合物である。用語「ＲＯＲ１阻害因子」及び「ＲＯＲ１アンタゴニスト」は全体を通じて互換的に使用され、本明細書で定義されるのと同じ意味を有する。

【００９９】

用語「阻害因子」、「リプレッサー」、又は「アンタゴニスト」又は「下方調節因子」とは互換的に、所与の遺伝子又はタンパク質の発現又は活性を検出できるほどに減少させることができる物質を指す。アンタゴニストは、アンタゴニストがない対照と比べて発現又は活性を１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又はそれよりも多く減少させることができる。ある特定の例では、発現又は活性は、アンタゴニストがない場合の発現又は活性の３分の２、２分の１、３分の１、４分の１、５分の１、１０分の１又はそれよりも低い。

【０１００】

用語「疾患」又は「状態」とは、本明細書で提供される化合物又は方法で処置される状態又は処置することができる患者又は対象の健康状態を指す。疾患はがんでよい。疾患は自己免疫疾患でよい。疾患は炎症性疾患でよい。疾患は感染性疾患でよい。一部のさらなる例では、「がん」とは、固形及びリンパがんを含む、ヒトがん及び癌、肉腫、腺癌、リンパ腫、白血病、等、腎臓、乳房、肺、膀胱、結腸、卵巣、前立腺、膵臓、胃、脳、頭頸部、皮膚、子宮、精巣、神経膠腫、食道及び肝細胞癌を含む肝臓がん、Ｂ急性リンパ芽球性リンパ腫、非ホジキンリンパ腫（例えば、バーキット、小細胞及び大細胞リンパ腫）、ホジキンリンパ腫、白血病（ＡＭＬ、ＡＬＬ及びＣＭＬを含む）又は多発性骨髄腫を含むリンパ腫を指す。

【０１０１】

本明細書で使用される場合、用語「炎症性疾患」とは、異常な炎症（例えば、疾患に罹っていない健康な人などの対照と比べて増大したレベルの炎症）を特徴とする疾患又は状

態を指す。炎症性疾患の例は、自己免疫疾患、関節炎、関節リウマチ、乾癬性関節炎、若年性特発性関節炎、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、重症筋無力症、若年発症糖尿病、真性糖尿病タイプ１、ギランバレー症候群、橋本脳炎、橋本甲状腺炎、強直性脊椎炎、乾癬、シェーグレン症候群、血管炎、糸球体腎炎、自己免疫性甲状腺炎、ベーチェット病、クローン病、潰瘍性大腸炎、水疱性類天疱瘡、サルコイドーシス、魚鱗癬、グレーブス眼症、炎症性腸疾患、アディソン病、白斑、喘息、アレルギー性喘息、尋常性ざ瘡、セリアック病、慢性前立腺炎、炎症性腸疾患、骨盤内炎症性疾患、再灌流障害、虚血再灌流障害、脳卒中、サルコイドーシス、移植拒絶、間質性膀胱炎、アテローム性動脈硬化、強皮症及びアトピー性皮膚炎を含む。

【０１０２】

本明細書で使用される場合、用語「がん」とは、白血病、リンパ腫、細胞癌及び肉腫を含む、哺乳動物（例えば、ヒト）に見られるあらゆるタイプのがん、新生物又は悪性腫瘍を指す。本明細書で提供される化合物又は方法で処置しうる例示的ながんは、脳がん、神経膠腫、神経膠芽腫、神経芽細胞腫、前立腺がん、結腸直腸がん、膵臓がん、髄芽腫、メラノーマ、子宮頸がん、胃がん、卵巣がん、肺がん、頭部のがん、ホジキン病及び非ホジキンリンパ腫を含む。本明細書で提供される化合物又は方法で処置しうる例示的ながんは、甲状腺、内分泌系、脳、乳房、子宮頚部、結腸、頭頚部、肝臓、腎臓、肺、卵巣、膵臓、直腸、胃及び子宮のがんを含む。追加の例は、甲状腺癌、胆管細胞癌、膵臓腺癌、皮膚皮膚黒色腫、結腸腺癌、直腸腺癌、胃腺癌、食道癌、頭頚部扁平上皮癌、乳房浸潤癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、非小細胞肺癌、中皮腫、多発性骨髄腫、神経芽細胞腫、神経膠腫、多形神経膠芽腫、卵巣がん、横紋筋肉腫、原発性血小板血症、原発性マクログロブリン血症、原発性脳腫瘍、悪性膵臓インスリノーマ、悪性カルチノイド、膀胱がん、前悪性皮膚病変、精巣がん、甲状腺がん、神経芽細胞腫、食道がん、尿生殖路がん、悪性高カルシウム血、子宮内膜がん、副腎皮質がん、内分泌又は外分泌膵臓の新生物、甲状腺髄様がん、甲状腺髄様癌、メラノーマ、結腸直腸がん、乳頭様甲状腺がん、肝細胞癌又は前立腺がんを含む。

【０１０３】

本明細書で使用される場合、用語「転移」、「転移性の」及び「転移性がん」は互換的に使用され、１つの臓器又は別の非隣接臓器又は体の部分からの増殖性疾患又は障害、例えば、がんの広がりを指す。「転移性がん」は「ステージＩＶがん」とも呼ばれる。がんは起源部位、例えば、乳房で発生し、この部位は原発性腫瘍、例えば、原発性乳がんと呼ばれる。原発性腫瘍又は起源部位における一部のがん細胞は、局所領域において周囲の正常組織に浸透し浸潤する能力及び／又は系を通って身体の他の部位及び組織に循環するリンパ系又は血管系の壁を浸透する能力を身に付ける。原発性腫瘍のがん細胞から形成される第２の臨床的に検出できる腫瘍は、転移性又は続発性腫瘍と呼ばれる。がん細胞が転移すると、転移性腫瘍及びその細胞は最初の腫瘍の細胞に類似していると推定される。したがって、肺がんが乳房に転移する場合、乳房の部位での続発性腫瘍は異常な乳房細胞ではなく異常な肺細胞からなる。乳房の続発性腫瘍は転移性肺がんと呼ばれる。したがって、語句転移性がんとは、対象が原発性腫瘍を有している又は有していたかつ１つ以上の続発性腫瘍を有している疾患を指す。語句非転移性がん又は転移性ではないがんを抱えた対象とは、対象が原発性腫瘍を有するが１つ以上の続発性腫瘍は持たない疾患を指す。例えば、転移性肺がんとは、原発性肺腫瘍がある又は原発性肺腫瘍の病歴があり、第２の位置又は複数の位置に、例えば、乳房に１つ以上の続発性腫瘍がある対象における疾患を指す。

【０１０４】

本明細書で使用される「化学療法薬」とは、がん細胞又は組織の破壊又は阻害を通じてがんを処置するのに使用される分子（例えば、化合物、ペプチド、タンパク質、核酸、０１０３）を指す。化学療法薬はある特定のがん又はある特定の組織に対して選択的でよい。実施形態では、本明細書の化学療法薬は後成的阻害剤及びマルチキナーゼ抑制剤でよい。

【０１０５】

「化学療法的な」又は「化学療法薬」は、その明白な通常の意味に従って使用され、抗悪性腫瘍特性又は細胞の成長若しくは増殖を阻害する能力のある化学組成物（例えば、化合物、薬物、アンタゴニスト、阻害剤、モジュレータ）又は化合物を指す。一部の実施形態では、化学療法薬は、がんを処置する方法において有用性のある本明細書で同定された薬剤である。一部の実施形態では、化学療法薬は、がんを処置するために、ＦＤＡ又は米国以外の国の類似する規制当局により認可された薬剤である。化学療法薬の例は、ＭＥＫ（例えば、ＭＥＫ１、ＭＥＫ２又はＭＥＫ１とＭＥＫ２）阻害剤（例えば、ＸＬ５１８、ＣＩ－１０４０、ＰＤ０３５９０１、セルメチニブ／ＡＺＤ６２４４、ＧＳＫ１１２０２１２／トラメチニブ、ＧＤＣ－０９７３、ＡＲＲＹ－１６２、ＡＲＲＹ－３００、ＡＺＤ８３３０、ＰＤ０３２５９０１、Ｕ０１２６、ＰＤ９８０５９、ＴＡＫ－７３３、ＰＤ３１８０８８、ＡＳ７０３０２６、ＢＡＹ８６９７６６）、アルキル化剤（例えばシクロホスファミド、イホスファミド、クロラムブシル、ブスルファン、メルファラン、メクロレタミン、ウラムスチン、チオテパ、ニトロソウレア、ナイトロジェンマスタード（例えば、メクロレタミン（ｍｅｃｈｌｏｒｏｅｔｈａｍｉｎｅ）、シクロホスファミド、クロラムブシル、メイファラン（ｍｅｉｐｈａｌａｎ））、エチレンイミン及びメチルメラミン（例えば、ヘキサメチルメラミン（ｈｅｘａｍｅｔｈｌｙｍｅｌａｍｉｎｅ）、チオテパ）、アルキルスルホン酸塩（例えば、ブスルファン）、ニトロソウレア（例えば、カルムスチン、ロムスチン、セムスチン、ストレプトゾシン）、トリアゼン（ダカルバジン（ｄｅｃａｒｂａｚｉｎｅ））、代謝拮抗剤（例えば、５－アザチオプリン、ロイコボリン、カペシタビン、フルダラビン、ゲムシタビン、ペメトレキセド、ラルチトレキセド、葉酸類似体（例えば、メトトレキサート）、又はピリミジン類似体（例えば、フルオロウラシル、フロクスウリジン（ｆｌｏｘｏｕｒｉｄｉｎｅ）、シタラビン）、プリン類似体（例えば、メルカプトプリン、チオグアニン、ペントスタチン）、等）、植物アルカロイド（例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビン、ビンデシン、ポドフィロトキシン、パクリタキセル、ドセタキセル、等）、トポイソメラーゼ阻害剤（例えば、イリノテカン、トポテカン、アムサクリン、エトポシド（ＶＰ１６）、リン酸エトポシド、テニポシド、等）、抗腫瘍抗生物質（例えば、ドキソルビシン、アドリアマイシン、ダウノルビシン、エピルビシン、アクチノマイシン、ブレオマイシン、マイトマイシン、ミトキサントロン、プリカマイシン、等）、プラチナ系化合物（例えば、シスプラチン、オキサリプラチン（ｏｘａｌｏｐｌａｔｉｎ）、カルボプラチン）、アントラセンジオン（例えば、ミトキサントロン）、置換ウレア（例えば、ヒドロキシウレア）、メチルヒドラジン誘導体（例えば、プロカルバジン）、副腎皮質抑制剤（例えば、ミトタン、アミノグルテチミド）、エピポドフィロトキシン（例えば、エトポシド）、抗生物質（例えば、ダウノルビシン、ドキソルビシン、ブレオマイシン）、酵素（例えば、Ｌ－アスパラギナーゼ）、マイトジェン活性化タンパク質キナーゼシグナル伝達の阻害剤（例えば、Ｕ０１２６、ＰＤ９８０５９、ＰＤ１８４３５２、ＰＤ０３２５９０１、ＡＲＲＹ－１４２８８６、ＳＢ２３９０６３、ＳＰ６００１２５、ＢＡＹ　４３－９００６、ワートマニン又はＬＹ２９４００２、Ｓｙｋ阻害剤、ｍＴＯＲ阻害剤、抗体（例えば、リツキサン）、ゴシポール（ｇｏｓｓｙｐｈｏｌ）、ゲナセンス、ポリフェノールＥ、クロロフシン、オールトランス型レチノイン酸（ＡＴＲＡ）、ブリオスタチン、腫瘍壊死因子関連アポトーシス誘導リガンド（ＴＲＡＩＬ）、５－アザ－２’－デオキシシチジン、オールトランス型レチノイン酸、ドキソルビシン、ビンクリスチン、エトポシド、ゲムシタビン、イマチニブ（グリベック．ＲＴＭ）、ゲルダナマイシン、１７－Ｎ－アリルアミノ－１７－デメトキシゲルダナマイシン（１７－ＡＡＧ）、フラボピリドール、ＬＹ２９４００２、ボルテゾミブ、トラスツズマブ、ＢＡＹ　１１－７０８２、ＰＫＣ４１２、ＰＤ１８４３５２、２０－ｅｐｉ－１、２５－ジヒドロキシビタミンＤ３；５－エチニルウラシル；アビラテロン；アクラルビシン；アシルフルベン；アデシペノール；アドゼレシン；アルデスロイキン；ＡＬＬ－ＴＫアンタゴニスト；アルトレタミン；アンバムスチン；アミドックス；アミホスチン；アミノレブリン酸；アムルビシン；アムサクリン；アナグレリド；アナストロゾール；アンドログラホリド；血管新生抑制剤；アンタゴニストＤ；アンタゴニストＧ；アン

タレリックス；抗背側化形態形成タンパク質１；抗アンドロゲン前立腺癌；抗エストロゲン薬；アンチネオプラストン；アンチセンスオリゴヌクレオチド；アフィジコリングリシナート；アポトーシス遺伝子モジュレータ；アポトーシス調節因子；アプリン酸；ａｒａ－ＣＤＰ－ＤＬ－ＰＴＢＡ；アルギニンデアミナーゼ；アスラクリン；アタメスタン；アトリムスチン；アキシナスタチン１；アキシナスタチン２；アキシナスタチン３；アザセトロン；アザトキシン；アザチロシン；バッカチンＩＩＩ誘導体；バラノール；バチマスタット；ＢＣＲ／ＡＢＬアンタゴニスト；ベンゾクロリン類；ベンゾイルスタウロスポリン；ベータラクタム誘導体；ベータアレチン；ベタクラマイシンＢ；ベツリン酸；ｂＦＧＦ阻害剤；ビカルタミド；ビスアントレン；ビサジリジニルスペルミン；ビスナフィド；ビストラテンＡ；ビゼレシン；ブレフラート；ブロピリミン；ブドチタン；ブチオニンスルホキシミン；カルシポトリオール；カルフォスチンＣ；カンプトテシン誘導体；カナリア痘ＩＬ－２；カペシタビン；カルボキサミドアミノトリアゾール；カルボキシアミドトリアゾール；ＣａＲｅｓｔ　Ｍ３；ＣＡＲＮ　７００；軟骨由来阻害剤；カルゼレシン；カゼインキナーゼ阻害剤（ＩＣＯＳ）；カスタノスペルミン；セクロピンＢ；セトロレリクス；クロリン；クロロキノキサリンスルホンアミド；シカプロスト；シスポルフィリン；クラドリビン；クロミフェン類似体；クロトリマゾール；コリスマイシンＡ；コリスマイシンＢ；コンブレタスタチンＡ４；コンブレタスタチン類似体；コナゲニン；クランベシジン８１６；クリスナトール；クリプトフィシン８；クリプトフィシンＡ誘導体；クラシンＡ；シクロペンタアントラキノン類；シクロプラタム；シペマイシン；シタラビンオクホスファート；細胞溶解因子；サイトスタチン；ダクリキシマブ；デシタビン；デヒドロジデムニンＢ；デスロレリン；デキサメタゾン；デキシフォスファミド；デキスラゾキサン；デクスベラパミル；ジアジクオン；ジデムニンＢ；ジドックス；ジエチルノルスペルミン；ジヒドロ－５－アザシチジン；９－ジオキサマイシン；ジフェニルスピロムスチン；ドコサノール；ドラセトロン；ドキシフルリジン；ドロロキシフェン；ドロナビノール；デュオカルマイシンＳＡ；エブセレン；エコムスチン；エデルフォシン；エドレコロマブ；エフロルニチン；エレメン；エミテフール；エピルビシン；エプリステリド；エストラムスチン類似体；エストロゲンアゴニスト；エストロゲンアンタゴニスト；エタニダゾール；エトポシドリン酸塩；エキセメスタン；ファドロゾール；ファザラビン；フェンレチニド；フィルグラスチム；フィナステリド：フラボピリドール；フレゼラスチン；フルアステロン；フルダラビン；フルオロダウノルニシン塩酸塩；ホルフェニメックス；フォルメスタン；フォストリエシン；フォテムスチン；ガドリニウムテキサフィリン；硝酸ガリウム；ガロシタビン；ガニレリクス；ゼラチナーゼ阻害剤；ゲムシタビン；グルタチオン阻害剤；ヘプスルファム；ヘレグリン；ヘキサメチレンビスアセタミド；ヒペリシン；イバンドロン酸；イダルビシン；イドキシフェン；イドラマントン；イルモホシン；イロマスタット；イミダゾアクリドン；イミキモド；免疫刺激ペプチド；インスリン様成長因子－１受容体阻害剤；インターフェロンアゴニスト；インターフェロン；インターロイキン；ヨーベングアン；ヨードドキソルビシン；イポメアノール，４－；イロプラクト；イルソグラジン；イソベンガゾール；イソホモハリコンドリンＢ；イタセトロン；ジャスプラキノリド；カハラリドＦ；ラメラリン－Ｎトリアセテート；ランレオチド；レイナマイシン；レノグラスチム；レンチナン硫酸塩；レプトルスタチン；レトロゾール；白血病阻害因子：白血球アルファインターフェロン；リュープロリド＋エストロゲン＋プロゲステロン；リュープロレリン；レバミソール；リアロゾール；線状ポリアミン類似体；親油性二糖類ペプチド；親油性プラチナ化合物；リソクリナミド７；ロバプラチン；ロンブリシン；ロメトレキソール；ロニダミン；ロソキサントロン；ロバスタチン；ロキソリビン；ルルトテカン；ルテチウムテキサフィリン；リソフィリン；溶菌ペプチド；マイタンシン；マンノスタチンＡ；マリマスタット；マソプロコール；マスピン；マトリリシン阻害剤；マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤；メノガリル；メルバロン；メテレリン；メチオニナーゼ；メトクロプラミド；ＭＩＦ阻害剤；ミフェプリストン；ミルテフォシン；ミリモスチム；不適合二本鎖ＲＮＡ；ミトグアゾン；ミトラクトール；マイトマイシン類似体；ミトナフィド；マイトトキシン線維芽細胞成長因子－サポリン；ミトキサントロ

ン；モファロテン；モルグラモスチム；モノクローナル抗体、ヒト絨毛性ゴナドトロピン；モノホスホリルリピドＡ＋マイオバクテリウム細胞壁ｓｋ；モピダモール；多剤耐性遺伝子阻害剤；マルチ腫瘍抑制剤１ベースの療法；マスタード抗がん剤；ミカペルオキシドＢ；マイコバクテリウム細胞壁抽出物；ミリアポロン；Ｎ－アセチルジナリン；Ｎ－置換ベンズアミド；ナファレリン；ナグレスチップ；ナロキソン＋ペンタゾシン；ナパビン；ナフテルピン；ナルトグラスチム；ネダプラチン；ネモルビシン；ネリドロン酸；中性エンドペプチダーゼ；ニルタミド；ニサマイシン；一酸化窒素モジュレータ；窒素酸化物抗酸化剤；ニトルリン；Ｏ６－ベンジルグアニン；オクトレオチド；オキセノン；オリゴヌクレオチド；オナプリストン；オンダンセトロン；オンダンセトロン；オラシン；経口用サイトカイン誘導剤；オルマプラチン；オサテロン；オキサリプラチン；オキサウノマイシン；パラウアミン；パルミトイルリゾキシン；パミドロン酸；パナキシトリオール；パノミフェン；パラバクチン；パゼリプチン；ペガスパルガーゼ；ペルデシン；ペントサンポリ硫酸ナトリウム；ペントスタチン；ペントロゾール；ペルフルブロン；ペルホスファミド；ペリリルアルコール；フェナジノマイシン；フェニル酢酸；ホスファターゼ阻害剤；ピシバニール；ピロカルピン塩酸塩；ピラルビシン；ピリトレキシム；プラセチンＡ；プラセチンＢ；プラスミノーゲン活性化因子阻害剤；白金錯体；白金化合物；白金－トリアミン錯体；ポルフィマーナトリウム；ポルフィロマイシン；プレドニゾン；プロピルビスアクリドン；プロスタグランジンＪ２；プロテアソーム阻害剤；プロテインＡベース免疫モジュレータ；タンパク質キナーゼＣ阻害剤；タンパク質キナーゼＣ阻害剤、微細藻類；タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤；プリンヌクレオシドホスフォリラーゼ阻害剤；プルプリン；ピラゾロアクリジン；ピリドキシル化ヘモグロビンポリオキシエチレン（ｐｏｌｙｏｘｙｅｔｈｙｌｅｒｉｅ）コンジュゲート；ｒａｆアンタゴニスト；ラルチトレキセド；ラモセトロン；ｒａｓファルネシルタンパク質トランスフェラーゼ阻害剤；ｒａｓ阻害剤；ｒａｓ－ＧＡＰ阻害剤；脱メチル化レテリプチン；レニウムＲｅ１８６エチドロネート；リゾキシン；リボザイム；ＲＩＩレチンアミド；ログレチミド；ロヒツキン；ロムルチド；ロキニメックス；ルビギノンＢ１；ルボキシル；サフィンゴール；サイントピン；ＳａｒＣＮＵ；サクロフィトールＡ；サルグラモスチム；Ｓｄｉ１模倣物；セムスチン；老化由来阻害剤１；センスオリゴヌクレオチド；シグナル伝達阻害剤；シグナル

伝達モジュレータ；一本鎖抗原結合タンパク質；シゾフラン；ソブゾキサン；ボロカプテイトナトリウム；フェニル酢酸ナトリウム；ソルベロール；ソマトメジン結合タンパク質；ソネルミン；スパルフォシン酸；スピカマイシンＤ；スピロムスチン；スプレノペンチン；スポンジスタチン１；スクアラミン；幹細胞阻害剤；幹細胞分裂阻害剤；スチピアミド；ストロメリシン阻害剤；スルフィノシン；過剰活性血管作動性腸ペプチドアンタゴニスト；スラジスタ；スラミン；スワインソニン；合成グリコサミノグリカン；タリムスチン；タモキシフェンメチオジド；タウロムスチン；タザロテン；テコガランナトリウム；テガフル；テルラピリリウム；テロメラーゼ阻害剤；テモポルフィン；テモゾロミド；テニポシド；テトラクロロデカオキシド；テトラゾミン；タリブラスチン；チオコラリン；トロンボポエチン；トロンボポエチン模倣物；チマルファシン；サイモポイエチン受容体アゴニスト；サイモトリナン；甲状腺刺激ホルモン；錫エチルエチオプルプリン；チラパザミン；チタノセン二塩化物；トプセンチン；トレミフェン；全能性幹細胞因子；翻訳阻害剤；トレチノイン；トリアセチルウリジン；トリシリビン；トリメトレキサート；トリプトレリン；トロピセトロン；ツロステリド；チロシンキナーゼ阻害剤；チルホスチン；ＵＢＣ阻害剤；ウベニメクス；非尿生殖洞由来成長阻害因子；ウロキナーゼ受容体アンタゴニスト；バプレオチド；バリオリンＢ；ベクター系、赤血球遺伝子治療；ベラレソール；ベラミン；ベルジン；ベルテポルフィン；ビノレルビン；ビンキサルチン；ビタキシン；ボロゾール；ザノテロン；ゼニプラチン；ジラスコルブ；ジノスタチンスチマラマー；アドリアマイシン；ダクチノマイシン；ブレオマイシン；ビンブラスチン；シスプラチン；アシビシン；アクラルビシン；アコダゾール塩酸塩；アクロニン；アドレゼシン；アルデスロイキン；アルトレタミン；アンボマイシン；アメタントロン酢酸塩；アミノグルテ

チミド；アムサクリン；アナストロゾール；アントラマイシン；アスパラギナーゼ；アスペルリン；アザシチジン；アゼテパ；アゾトマイシン；バチマスタット；ベンゾデパ；ビカルタミド；ビサントレン塩酸塩；ビスナフィドジメシレート；ビゼレシン；ブレオマイシン硫酸塩；ブレキナルナトリウム；ブロピリミン；ブスルファン；カクチノマイシン；カルステロン；カラセミド；カルベチマー；カルボプラチン；カルムスチン；カルビシン塩酸塩；カルゼレシン；セデフィンゴール；クロラムブシル；シロレマイシン；クラドリビン；クリスナトールメシレート；シクロホスファミド；シタラビン；ダカルバジン；ダウノルビシン塩酸塩；デシタビン；デキソルマプラチン；デザグアニン；デザグアニンメシレート；ジアジクオン；ドキソルビシン；ドキソルビシン塩酸塩；ドロロキシフェン；ドロロキシフェンクエン酸塩；プロピオン酸ドロモスタノロン；ズアゾマイシン；エダトレキサート；エフロルニチン塩酸塩；エルサミトルシン；エンロプラチン；エンプロメート；エピプロピジン；エピルビシン塩酸塩；エルブロゾール；エソルビシン塩酸塩；エストラムスチン；エストラムスチンリン酸ナトリウム；エタニダゾール；エトポシド；エトポシドリン酸塩；エトプリン；ファドロゾール塩酸塩；ファザラビン；フェンレチニド；フロクスウリジン；フルダラビンリン酸塩；フルオロウラシル；フルオロシタビン；ホスキドン；ホストリエシンナトリウム；ゲムシタビン；ゲムシタビン塩酸塩；ヒドロキシウレア；イダルビシン塩酸塩：イホスファミド；イイモフォシン；インターロイキンＩ１（組換えインターロイキンＩＩ又はｒｌＬ．ｓｕｂ．２を含む）；インターフェロンアルファ－２ａ；インターフェロンアルファ－２ｂ；インターフェロンアルファ－ｎ１；インターフェロンアルファ－ｎ３；インターフェロンベーター－１ａ；インターフェロンガンマ－１ｂ；イプロプラチン；イリノテカン塩酸塩；ランレオチド酢酸塩；レトロゾール；リュープロリド酢酸塩；リアロゾール塩酸塩；ロメトレキソールナトリウム；ロムスチン；ロソキサントロン塩酸塩；マソプロコール；マイタンシン；メクロレタミン塩酸塩；メゲストロール酢酸塩；メレンゲストロール酢酸塩；メルファラン；メノガリル；メルカプトプリン；メトトレキサート；メトトレキサートナトリウム；メトプリン；メツレデパ；ミチンドミド；ミトカルシン；ミトクロミン；ミトギリン；ミトマルシン；マイトマイシン；ミトスペル；ミトタン；ミトキサントロン塩酸塩；ミコフェノール酸；ノコダゾイ；ノガラマイシン；オルマプラチン；オキシスラン；ペガスパルガス；ペリオマイシン；ペンタムスチン；ペプロマイシン硫酸塩；ペルホスファミド；ピポブロマン；ピポスルファン；ピロキサントロン塩酸塩；プリカマイシン；プロメスタン；ポルフィマーナトリウム；ポルフィロマイシン；プレドニムスチン；プロカルバジン塩酸塩；プロマイシン；プロマイシン塩酸塩；ピラゾフリン；リボプリン；ログレチミド；サフィンゴール；サフィンゴール塩酸塩；セムスチン；シムトラゼン；スパルフォセートナトリウム；スパルソマイシン；スピロゲルマニウム塩酸塩；スピロムスチン；スピロプラチン；ストレプトニグリン；ストレプトゾシン；スロフェヌル；タリソマイシン；テコガランナトリウム；テガフル；テロキサントロン塩酸塩；テモポルフィン；テニポシド；テロキシロン；テストラクトン；チアミプリン；チオグアニン；チオテパ；チアゾフリン；チラパザミン；トレミフェンクエン酸塩；トレストロン酢酸塩；トリシリビンリン酸塩；トリメトレキサート；トリメトレキサートグルクロン酸塩；トリプトレリン；ツブロゾール塩酸塩；ウラシルマスタード；ウレデパ；バプレオチド；ベルテポルフィン；ビンブラスチン硫酸塩；ビンクリスチン硫酸塩；ビンデシン；ビンデシン硫酸塩；ビネピジン硫酸塩；ビングリシネート硫酸塩；ビンロイロシン硫酸塩；ビノレルビン酒石酸塩；ビンロシジン硫酸塩；ビンゾリジン硫酸塩；ボロゾール；ゼニプラチン；ジノスタチン；ゾルビシン塩酸塩；Ｇ２－Ｍ期に細胞を停止し及び／又は微小管の形成若しくは安定性をモジュレートする薬剤（例えば、タキソール．ＴＭ（すなわち、パクリタキセル）、タキソテレ．ＴＭ、タキサン骨格を含む化合物、エルブロゾール（すなわち、Ｒ－５５１０４）、ドラスタチン１０（すなわち、ＤＬＳ－１０及びＮＳＣ－３７６１２８）、ミボブリンイソチオネート（すなわち、ＣＩ－９８０として）、ビンクリスチン、ＮＳＣ－６３９８２９、ディスコデルモライド（すなわち、ＮＶＰ－ＸＸ－Ａ－２９６として）、ＡＢＴ－７５１（Ａｂｂｏｔｔ、すなわちＥ－７０１０）、アルトリルチン（例えば、アルトリルチンＡ及びアルトリルチンＣ）、ス

ポンギスタチン（例えば、スポンギスタチン１、スポンギスタチン２、スポンギスタチン３、スポンギスタチン４、スポンギスタチン５、スポンギスタチン６、スポンギスタチン７、スポンギスタチン８及びスポンギスタチン９）、セマドチン塩酸塩（すなわち、ＬＵ－１０３７９３及びＮＳＣ－Ｄ－６６９３５６）、エポチロン（例えば、エポチロンＡ、エポチロンＢ、エポチロンＣ（すなわち、デスオキシエポチロンＡ又はｄＥｐｏＡ）、エポチロンＤ（すなわち、ＫＯＳ－８６２、ｄＥｐｏＢ及びデスオキシエポチロンＢ）、エポチロンＥ、エポチロンＦ、エポチロンＢ　Ｎ－オキシド、エポチロンＡ　Ｎ－オキシド、１６－アザ－エポチロンＢ、２１－アミノエポチロンＢ（すなわち、ＢＭＳ－３１０７０５）、２１－ヒドロキシエポチロンＤ（すなわち、デスオキシエポチロンＦ又はｄＥｐｏＦ）、２６－フルオロエポチロン、オーリスタチンＰＥ（すなわち、ＮＳＣ－６５４６６３）、ソブリドチン（すなわち、ＴＺＴ－１０２７）、ＬＳ－４５５９－Ｐ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ、すなわち、ＬＳ－４５７７）、ＬＳ－４５７８（Ｐｈａｒｍａｃｉａ、すなわち、ＬＳ－４７７－Ｐ）、ＬＳ－４４７７（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）、ＬＳ－４５５９（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）、ＲＰＲ－１１２３７８（Ａｖｅｎｔｉｓ）、ビンクリスチン硫酸塩、ＤＺ－３３５８（Ｄａｉｉｃｈｉ）、ＦＲ－１８２８７７（Ｆｕｊｉｓａｗａ、すなわち、ＷＳ－９８８５Ｂ）、ＧＳ－１６４（Ｔａｋｅｄａ）、ＧＳ－１９８（Ｔａｋｅｄａ）、ＫＡＲ－２（Ｈｕｎｇａｒｉａｎ　Ａｃａｄｅｍｙ　ｏｆ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）、ＢＳＦ－２２３６５１（ＢＡＳＦ、すなわち、ＩＬＸ－６５１及びＬＵ－２２３６５１）、ＳＡＨ－４９９６０（Ｌｉｌｌｙ／Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＳＤＺ－２６８９７０（Ｌｉｌｌｙ／Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＡＭ－９７（Ａｒｍａｄ／Ｋｙｏｗａ　Ｈａｋｋｏ）、ＡＭ－１３２（Ａｒｍａｄ）、ＡＭ－１３８（Ａｒｍａｄ／Ｋｙｏｗａ　Ｈａｋｋｏ）、ＩＤＮ－５００５（Ｉｎｄｅｎａ）、クリプトフィシン５２（すなわち、ＬＹ－３５５７０３）、ＡＣ－７７３９（Ａｊｉｎｏｍｏｔｏ、すなわち、ＡＶＥ－８０６３Ａ及びＣＳ－３９．ＨＣｌ）、ＡＣ－７７００（Ａｊｉｎｏｍｏｔｏ、すなわち、ＡＶＥ－８０６２、ＡＶＥ－８０６２Ａ、ＣＳ－３９－Ｌ－Ｓｅｒ．ＨＣｌ及びＲＰＲ－２５８０６２Ａ）、ビチレブアミド、チューブリシンＡ、カナデンソール、センタウレイジン（すなわち、ＮＳＣ－１０６９６９）、Ｔ－１３８０６７（Ｔｕｌａｒｉｋ、すなわち、Ｔ－６７、ＴＬ－１３８０６７及びＴＩ－１３８０６７）、ＣＯＢＲＡ－１（Ｐａｒｋｅｒ　Ｈｕｇｈｅｓ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ、すなわち、ＤＤＥ－２６１及びＷＨＩ－２６１）、Ｈ１０（Ｋａｎｓａｓ　Ｓｔａｔｅ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ）、Ｈ１６（Ｋａｎｓａｓ　Ｓｔａｔｅ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ）、オンコシジンＡ１（すなわち、ＢＴＯ－９５６及びＤＩＭＥ）、ＤＤＥ－３１３（Ｐａｒｋｅｒ　Ｈｕｇｈｅｓ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ）、フィジアノリドＢ、ラウリマリド、ＳＰＡ－２（Ｐａｒｋｅｒ　Ｈｕｇｈｅｓ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ）、ＳＰＡ－１（Ｐａｒｋｅｒ　Ｈｕｇｈｅｓ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ、すなわち、ＳＰＩＫＥＴ－Ｐ）、３－ＩＡＡＢＵ（Ｃｙｔｏｓｋｅｌｅｔｏｎ／Ｍｔ．Ｓｉｎａｉ　Ｓｃｈｏｏｌ　ｏｆ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ、すなわち、ＭＦ－５６９）、ナルコシン（ＮＳＣ－５３６６としても知られる）、ナスカピン、Ｄ－２４８５１（Ａｓｔａ　Ｍｅｄｉｃａ）、Ａ－１０５９７２（Ａｂｂｏｔｔ）、ヘミアスタリン、３－ＢＡＡＢＵ（Ｃｙｔｏｓｋｅｌｅｔｏｎ／Ｍｔ．Ｓｉｎａｉ　Ｓｃｈｏｏｌ　ｏｆ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ、すなわち、ＭＦ－１９１）、ＴＭＰＮ（Ａｒｉｚｏｎａ　Ｓｔａｔｅ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ）、バナドセンアセチルアセトネート、Ｔ－１３８０２６（Ｔｕｌａｒｉｋ）、モンサトロール、イナノシン（すなわち、ＮＳＣ－６９８６６６）、３－ＩＡＡＢＥ（Ｃｙｔｏｓｋｅｌｅｔｏｎ／Ｍｔ．Ｓｉｎａｉ　Ｓｃｈｏｏｌ　ｏｆ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ）、Ａ－２０４１９７（Ａｂｂｏｔｔ）、Ｔ－６０７（Ｔｕｉａｒｉｋ、すなわち、Ｔ－９００６０７）、ＲＰＲ－１１５７８１（Ａｖｅｎｔｉｓ）、エリュテロビン（Ｅｌｅｕｔｈｅｒｏｂｉｎ）（デスメチルエリュテロビン（Ｄｅｓｍｅｔｈｙｌｅｌｅｕｔｈｅｒｏｂｉｎ）、デスアセチルエリュテロビン（Ｄｅｓａｅｔｙｌｅｌｅｕｔｈｅｒｏｂｉｎ）、イソエリュテロビン（ｌｓｏｅｌｅｕｔｈｅｒｏｂｉｎ）Ａ及びＺ－エリュテロビンなどの）、カリバエオシド（Ｃａｒｉｂａｅｏｓｉｄｅ）、カリバエオリン（Ｃａｒｉｂａｅｏｌｉｎ）、ハリコンドリンＢ、Ｄ－６４１３１（Ａｓｔａ　Ｍｅｄｉｃａ）、Ｄ－６８１４４（Ａｓｔ

ａ Ｍｅｄｉｃａ）、ジアゾナミドＡ、Ａ－２９３６２０（Ａｂｂｏｔｔ）、ＮＰＩ－２３５０（Ｎｅｒｅｕｓ）、タッカロノリド（Ｔａｃｃａｌｏｎｏｌｉｄｅ）Ａ、ＴＵＢ－２４５（Ａｖｅｎｔｉｓ）、Ａ－２５９７５４（Ａｂｂｏｔｔ）、ジオゾスタチン、（－）－フェニルアヒスチン（Ｐｈｅｎｙｌａｈｉｓｔｉｎ）（すなわち、ＮＳＣＬ－９６Ｆ０３７）、Ｄ－６８８３８（Ａｓｔａ Ｍｅｄｉｃａ）、Ｄ－６８８３６（Ａｓｔａ Ｍｅｄｉｃａ）、ミオセベリン（Ｍｙｏｓｅｖｅｒｉｎ）Ｂ、Ｄ－４３４１１（Ｚｅｎｔａｒｉｓ、すなわち、Ｄ－８１８６２）、Ａ－２８９０９９（Ａｂｂｏｔｔ）、Ａ－３１８３
１５（Ａｂｂｏｔｔ）、ＨＴＩ－２８６（すなわち、ＳＰＡ－１１０、トリフルオロアセテート塩（ｔｒｉｆｌｕｏｒｏａｃｅｔａｔｅ ｓａｌｔ）（Ｗｙｅｔｈ）、Ｄ－８２３１７（Ｚｅｎｔａｒｉｓ）、Ｄ－８２３１８（Ｚｅｎｔａｒｉｓ）、ＳＣ－１２９８３（ＮＣＩ）、リン酸レスベラスタチンナトリウム（Ｒｅｓｖｅｒａｓｔａｔｉｎ ｐｈｏｓｐｈａｔｅ ｓｏｄｉｕｍ）、ＢＰＲ－ＯＹ－００７（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｈｅａｌｔｈ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ）、及びＳＳＲ－２５０４１１（Ｓａｎｏｆｉ））、ステロイド（例えば、デキサメタゾン）、フィナステリド、アロマターゼ阻害剤、ゴセレリン又はリュープロリドなどのゴナンドトロピン放出ホルモンアゴニスト（ＧｎＲＨ）、副腎皮質ステロイド（例えば、プレドニゾン）、プロゲスチン（例えば、ヒドロキシプロゲステロンカプロエート、メゲステロールアセテート、メドロキシプロゲステロンアセテート）、エストロゲン（例えば、ジエチルスチルベストロール、エチニルエストラジオール）、抗エストロゲン剤（例えば、タモキシフェン）、アンドロゲン（例えば、テストステロンプロピオネート、フルオキシメステロン）、抗アンドロゲン剤（例えば、フルタミド）、免疫賦活剤（例えば、バシラスカルメットゲラン（ＢＣＧ）、レバミソール、インターロイキン－２、アルファインターフェロン、等）、モノクローナル抗体（例えば、抗ＣＤ２０、抗ＨＥＲ２、抗ＣＤ５２、抗ＨＬＡ－ＤＲ及び抗ＶＥＧＦモノクローナル抗体）、免疫毒素（例えば、抗ＣＤ３３モノクローナル抗体－カリチアマイシンコンジュゲート、抗ＣＤ２２モノクローナル抗体－緑膿菌外毒素コンジュゲート、等）、放射免疫療法（例えば、$^{111}$Ｉｎ、$^{90}$Ｙ又は$^{131}$Ｉにコンジュゲートした抗ＣＤ２０モノクローナル抗体、等）、トリプトライド、ホモハリントニン、ダクチノマイシン、ドキソルビシン、エピルビシン、トポテカン、イトラコナゾール、ビンデシン、セリバスタチン、ビンクリスチン、デオキシアデノシン、セルトラリン、ピタバスタチン、イリノテカン、クロファジミン、５－ノニルオキシトリプタミン、ベムラフェニブ、ダブラフェニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、ＥＧＦＲ阻害剤、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）標的化療法又は治療薬（例えば、ゲフィチニブ（Ｉｒｅｓｓａ（商標））、エルロチニブ（Ｔａｒｃｅｖａ（商標））、セツキシマブ（Ｅｒｂｉｔｕｘ（商標））、ラパチニブ（Ｔｙｋｅｒｂ（商標））、パニツブマブ（Ｖｅｃｔｉｂｉｘ（商標））、バンデタニブ（Ｃａｐｒｅｌｓａ（商標））、アファチニブ／ＢＩＢＷ２９９２、ＣＩ－１０３３／カネルチニブ、ネラチニブ／ＨＫＩ－２７２，　ＣＰ－７２４７１４、ＴＡＫ－２８５、ＡＳＴ－１３０６、ＡＲＲＹ３３４５４３、ＡＲＲＹ－３８０、ＡＧ－１４７８、ダコミチニブ／ＰＦ２９９８０４、ＯＳＩ－４２０／デスメチルエルロチニブ（ｄｅｓｍｅｔｈｙｌ ｅｒｌｏｔｉｎｉｂ）、ＡＺＤ８９３１、ＡＥＥ７８８、ペリチニブ（ｐｅｌｉｔｉｎｉｂ）／ＥＫＢ－５６９、ＣＵＤＣ－１０１、ＷＺ８０４０、ＷＺ４００２、ＷＺ３１４６、ＡＧ－４９０、ＸＬ６４７、ＰＤ１５３０３５、ＢＭＳ－５９９６２６）、ソラフェニブ、イマチニブ、スニチニブ、ダサチニブ又はそれと同類の物を含むがこれらに限定されない。

【０１０６】

「ＲＯＲ１アンタゴニスト」とは、化合物なし又は不活性であることが分かっている化合物などの対照と比べた場合、ＲＯＲ１の活性を低減する化合物（例えば、本明細書に記載される化合物）を指す。

【０１０７】

用語「シルムツズマブ」、「ＵＣ－９６１」及び「９９９６１．１」は本明細書では互

換的に使用され、ヒト受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ１）の細胞外ドメインに結合することができるヒト化モノクローナル抗体を指す。実施形態では、シルムツズマブは、米国特許出願第１４／４２２，５１９号に開示される抗体のいずれか１つ又はこの断片であり、前記特許文献は参照によりその全体をあらゆる目的のために本明細書に組み込む。

【０１０８】

タキソール又はそれと同類の物としても知られる用語「パクリタキセル」とは、その通常の習慣的な意味で、ＣＡＳ登録番号３３０６９－６２－４により同定される化合物を指す。

【０１０９】

「ＤＴＸ」、「ＤＸＬ」、「タキソテール」及び「ドセカド（Ｄｏｃｅｃａｄ）」又はそれと同類の物としても知られる用語「ドセタキセル」とは、その通常の習慣的な意味で、ＣＡＳ登録番号１１４９７７－２８－５により同定される化合物を指す。

【０１１０】

「エレンス（Ｅｌｌｅｎｃｅ）」又はそれと同類の物としても知られる用語「エピルビシン」とは、その通常の習慣的な意味で、ＣＡＳ登録番号５６４２０－４５－２により同定される化合物を指す。

【０１１１】

「アドリアマイシン」又はそれと同類の物としても知られる用語「ドキソルビシン」とは、その通常の習慣的な意味で、ＣＡＳ登録番号２３２１４－９２－８により同定される化合物を指す。

【０１１２】

用語「処置する」又は「処置」とは、減少；軽減；症状を減少する又は傷害、病態若しくは状態を患者にとりもっと耐えられるようにする；変性又は減退の速度を遅くする；変性の最終点を衰弱性にしない；患者の身体的又は精神的幸福を改善するなどの、任意の客観的又は主観的パラメータを含む、傷害、疾患、病態又は状態の治療又は寛解が成功したことの任意の証を指す。症状の処置又は寛解は、身体検査、神経精神医学検査及び／又は精神医学的評価の結果を含む、客観的又は主観的パラメータに基づくことができる。用語「処置する」及びこの語形変化は、傷害、病態、状態又は疾患の予防を含んでよい。実施形態では、処置することは予防することである。実施形態では、処置することは予防することを含まない。

【０１１３】

本明細書で使用される（及び当技術分野でよく理解されている）「処置する」又は「処置」は、臨床結果を含む、対象の状態の有益な又は所望の結果を得るためのいかなるアプローチも広く含む。有益な又は所望の臨床結果は、部分的であれ全体的であれ、検出可能であれ検出できないのであれ、１つ以上の症状又は状態の緩和又は寛解、疾患の程度の縮減、疾患の状態を安定化させる（すなわち、悪化させない）こと、疾患の伝播又は蔓延の予防、疾患進行の遅延又は減速、疾患状態の寛解又は緩和、疾患の再発の縮減及び鎮静を含むことができるがこれらに限定されない。言い換えると、本明細書で使用される「処置」は、疾患のいかなる治癒、寛解又は予防も含む。処置は、疾患の発生を予防し；疾患の蔓延を阻害し；疾患の症状（例えば、目の痛み、光の周囲にハローが見えること、赤目、非常に高い眼圧）を緩和し、疾患の底に潜む原因を完全に若しくは部分的に取り除く、疾患の持続期間を短縮する、又はこれらのことの組合せを行ってもよい。

【０１１４】

本明細書で使用される「処置する」又は「処置」は予防処置を含む。処置方法は、治療有効量の活性薬剤を対象に投与することを含む。投与ステップは、単回投与からなっていてもよく又は一連の投与を含んでもよい。処置期間の長さは、状態の重篤度、患者の年齢、活性薬剤の濃度、処置において使用される組成物の活性又はこれらの組合せなどの種々の要因に依拠する。処置又は予防のために使用される薬剤の有効薬量は、特定の処置又は予防計画の間に増加する又は減少することがあることも認識されている。薬量の変化は、

当技術分野で既知である標準診断アッセイにより生じ明らかになることがある。一部の例では、慢性投与が必要とされることがある。例えば、組成物は、患者を処置するのに十分な量で及び十分な期間対象に投与される。実施形態では、処置すること又は処置は予防的処置ではない。

【０１１５】

用語「予防する」とは、患者における疾患症状の発生を減少させることである。上に示されるように、予防は完全であっても（検出可能な症状がない）又は部分的でもよく、処置なしの場合におそらく生じると考えられるよりも観察される症状が少ない。

【０１１６】

「患者」又は「それを必要とする対象」とは、本明細書に提供される医薬組成物の投与により処置することができる疾患又は状態に罹っている又はこの傾向がある生存生物を指す。非限定的例は、ヒト、他の哺乳動物、ウシ、ラット、マウス、イヌ、サル、ヤギ、ヒツジ、雌ウシ、シカ及び他の非哺乳動物を含む。一部の実施形態では、患者はヒトである。

【０１１７】

「有効量」は、化合物がない場合と比べて、化合物が定まった目的を果たす（例えば、化合物が投与される目的となる効果を達成する、疾患を処置する、酵素活性を低減する、酵素活性を増強する、シグナル伝達経路を減らす又は疾患若しくは状態の１つ以上の症状を減らす）のに十分な量である。「有効量」の例は、疾患の症状（単数又は複数）の処置、予防又は低減に寄与するのに十分な量であり、この量は「治療有効量」と呼ぶこともできると考えられる。症状（単数又は複数）の「低減」（及びこの語句の文法的な等価物）は、症状の重篤度若しくは頻度の減少又は症状の除去を意味する。薬物の「予防有効量」は、対象に投与された場合、意図された予防効果がある、例えば、傷害、疾患、病態若しくは状態の開始（又は再発）を予防する若しくは遅延する、又は傷害、疾患、病態若しくは状態若しくはその症状の開始（又は再発）の可能性を低減する薬物の量である。完全な予防効果は、必ずしも一用量の投与により生じるわけではなく、一連の用量の投与後にのみ生じてもよい。したがって、予防有効量は、１回以上の投与で投与されてもよい。「活性減少量」とは、本明細書で使用される場合、アンタゴニストがない場合と比べて酵素の活性を減少するのに必要なアンタゴニストの量を指す。「機能破壊量」とは、本明細書で使用される場合、アンタゴニストがない場合と比べて酵素又はタンパク質の機能を破壊するのに必要なアンタゴニストの量を指す。正確な量は処置の目的に依拠することになり、当業者であれば既知の技法を使用して確かめられる（例えば、Ｌｉｅｂｅｒｍａｎ、Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ（１～３巻、１９９２年）；Ｌｌｏｙｄ、Ｔｈｅ Ａｒｔ、Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｉｎｇ（１９９９）；Ｐｉｃｋａｒ、Ｄｏｓａｇｅ Ｃａｌｃｕｌａｔｉｏｎｓ（１９９９）；ａｎｄ Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ、第２０版、２００３年、Ｇｅｎｎａｒｏ、編、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ、Ｗｉｌｌｉａｍｓ＆Ｗｉｌｋｉｎｓ参照）。

【０１１８】

本明細書に記載されるいかなる化合物でも、治療有効量は最初に細胞培養アッセイから決定することができる。標的濃度は、本明細書に記載される又は当技術分野で公知の方法を使用して測定した場合、本明細書に記載される方法を達成することができる活性化合物の濃度になる。

【０１１９】

当技術分野で周知であるように、ヒトにおいて使用するための治療有効量は動物モデルからも決定することができる。例えば、ヒト用の用量は、動物において有効であることが分かっている濃度を達成するように処方することができる。ヒトでの薬量は、上記のように、化合物有効性をモニターし、薬量を上向きに又は下向きに調整することにより調整可能である。上記の方法及び他の方法に基づいてヒトにおいて最大有効性を達成するように

用量を調整することは、十分に当業者の能力の範囲内である。

【０１２０】

用語「治療有効量」とは、本明細書で使用される場合、上記のように、障害を寛解するのに十分な治療薬剤の量を指す。例えば、所与のパラメータでは、治療有効量は、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、４０％、５０％、６０％、７５％、８０％、９０％又は少なくとも１００％の増加又は減少を示す。治療有効性は、「～倍」増加又は減少として表すこともできる。例えば、治療有効量は、対照の少なくとも１．２倍、１．５倍、２倍、５倍又はそれよりも多い効果を持つことができる。

【０１２１】

薬量は、患者の必要条件及び用いられる化合物に応じて変更しうる。患者に投与される用量は、本開示の文脈では、時間をかけて患者に有効な治療応答をもたらすのに十分であるべきである。用量のサイズも、任意の有害な副作用の存在、性質及び程度により決定されることになる。特定の状況に適した薬量の決定は実務者の技術の範囲内である。一般に、処置は化合物の最適用量未満である比較的少ない薬量で開始される。その後、薬量は、状況下での最適効果に到達するまで少しずつ増加される。薬量及び間隔は、処置されている特定の臨床徴候に有効な投与化合物のレベルを提供するように個別に調整することができる。これにより、個人の疾患状態の重篤度に釣り合っている治療計画が提供されることになる。

【０１２２】

本明細書で使用される場合、用語「投与する」は、対象への、経口投与、座薬としての投与、局所接触、静脈内、非経口、腹腔内、筋肉内、病巣内、くも膜下腔内、鼻腔内若しくは皮下投与、又は徐放デバイス、例えば、ミニ浸透圧ポンプの埋め込みを意味する。投与は、非経口及び経粘膜的（例えば、頬側、舌下、口蓋、歯肉、鼻、膣、直腸又は経皮）を含むいかなる経路にもよる。非経口投与は、例えば、静脈内、筋肉内、細動脈内、皮内、皮下、腹腔内、脳室内及び頭蓋内を含む。他の送達様式は、リポソーム製剤、静脈内注入、経皮パッチ、等の使用を含むがこれらに限定されない。実施形態では、投与は、列挙された活性薬剤以外のいかなる活性薬剤の投与も含まない。

【０１２３】

「同時投与する」とは、本明細書に記載される組成物が、１種以上の追加の療法の投与と同時に、直前に又は直後に投与されることを意味する。本明細書で提供される化合物は患者に単独で投与することができる又は同時投与することができる。同時投与は、化合物の個々の又は組み合わせて（１つよりも多い化合物）の同時又は逐次投与を含むことを意味する。したがって、調製物は、所望する場合、他の活性物質（例えば、代謝分解を減らすための）と組み合わせることもできる。本開示の組成物は、局所経路により経皮的に送達する又はアプリケータスティック、溶液、懸濁液、乳濁液、ゲル、クリーム、軟膏、ペースト、ゼリー、ペンキ、粉末及びエアロゾルとして処方することができる。

【０１２４】

「対照」試料又は値とは、試験試料と比較するために、参照、通常は既知の参照としての役目を果たす試料を指す。例えば、試験試料は、試験条件から、例えば、試験化合物の存在下で採取し、既知の条件から、例えば、試験化合物の非存在下で（負の対照）、又は既知の化合物の存在下で（正の対照）試料と比較することができる。対照は、いくつかの試験又は結果から集めた平均値も表すことができる。当業者であれば、対照は、任意の数のパラメータの評価のために設計することができることを認識する。例えば、対照は、薬理学的データ（例えば、半減期）又は治療処置（例えば、副作用の比較）に基づいて治療効果を比較するように考案することができる。当業者であれば、所与の状況においてどの対照が価値があるかを理解し、対照値との比較に基づいてデータを解析することができる。対照は、データの有意性を判定するためにも価値がある。例えば、所与のパラメータについての値が対照において広く相違している場合は、試験試料の変動は有意とは見なされない。

【０１２５】

がんモデル生物とは、本明細書で使用される場合、生物内でがんを示す表現型、又は発がん性要素の活性を表している生物を指す。用語がんは上で定義されている。多種多様な生物ががんモデル生物としての役目を果たすことができ、例えば、がん細胞並びに齧歯類（例えば、マウス又はラット）及び霊長類（ヒトなどの）などの哺乳動物生物を含む。がん細胞株は、インビボがんに類似する表現型又は遺伝子型を示す細胞として当業者には広く理解されている。本明細書で使用されるがん細胞株は、動物（例えば、マウス）由来の及びヒト由来の細胞株を含む。

【０１２６】

本明細書で定義されるように、用語「活性化」、「活性化する」、「活性化すること」、「活性化因子」などは、タンパク質－阻害剤相互作用に関して、活性化因子がない場合のタンパク質の活性又は機能と比べてタンパク質の活性又は機能にプラスの影響を及ぼす（例えば、増加する）ことを意味する。実施形態では、活性化は、活性化因子がない場合のタンパク質の濃度又はレベルと比べてタンパク質の濃度又はレベルにプラスの影響を及ぼす（例えば、増加する）ことを意味する。この用語は、活性化、又はシグナル伝達若しくは酵素活性若しくは疾患において減少したタンパク質の量を活性化する、感作させる、若しくは上方調節することに言及しうる。したがって、活性化は、少なくとも一部、部分的に又は完全に刺激を増やす、活性化を増やす若しくは可能にする、又はシグナル伝達若しくは酵素活性若しくは疾患に関連するタンパク質（例えば、非疾患対照と比べて疾患において減少しているタンパク質）の量を活性化する、感作させる、若しくは上方調節することを含みうる。活性化は、少なくとも一部、部分的に又は完全に刺激を増やす、活性化を増やす若しくは可能にする、又はシグナル伝達若しくは酵素活性若しくはタンパク質の量を活性化する、感作させる、若しくは上方調節することを含みうる。

【０１２７】

用語「アゴニスト」、「活性化因子」、「上方調節因子」、等、とは、所与の遺伝子又はタンパク質の発現又は活性を検出できるほど増やすことができる物質を指す。アゴニストは、アゴニストがない場合の対照と比べて発現又は活性を１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又はそれよりも多く増やすことができる。ある特定の例では、発現又は活性はアゴニストがない場合の発現又は活性の１．５倍、２倍、３倍、４倍、５倍、１０倍又はそれよりも多い。

【０１２８】

用語「発現」は、転写、転写後修飾、翻訳、翻訳後修飾及び分泌を含むがこれらに限定されないポリペプチドの産生に関与するいかなるステップも含む。発現は、タンパク質を検出するための従来の技法（例えば、ＥＬＩＳＡ、ウェスタンブロッティング、フローサイトメトリー、免疫蛍光、免疫組織化学、等）を使用して検出することができる。

【０１２９】

用語「モジュレータ」とは、モジュレータがない場合と比べて標的分子のレベル又は標的分子の機能又は分子の標的の物理的状態を増やす又は減らす組成物を指す。一部の実施形態では、ＲＯＲ１関連疾患モジュレータは、ＲＯＲ１に関連する疾患（例えば、がん、炎症性疾患、自己免疫疾患又は感染性疾患）の１つ以上の症状の重篤度を低減する化合物である。ＲＯＲ１モジュレータは、ＲＯＲ１の活性若しくは機能又は活性のレベル若しくは機能のレベルを増加する又は減少する化合物である。

【０１３０】

用語「モジュレートする」は、その明白な通常の意味に従って使用され、１種以上の特性を変化させる又は変更する行為を指す。「モジュレーション」とは、１種以上の特性を変化させる又は変更する過程を指す。例えば、標的タンパク質に対するモジュレータの効果に適用した場合、モジュレートするとは、標的分子の特性若しくは機能又は標的分子の量を増加する若しくは減少することにより変化させることを意味する。

【０１３１】

疾患（例えば、タンパク質関連疾患、ＲＯＲ１活性に関連するがん、ＲＯＲ１関連がん、ＲＯＲ１関連疾患（例えば、がん、炎症性疾患、自己免疫疾患又は感染性疾患））に関

連する物質又は物質活性又は機能という文脈での用語「関連した」又は「に関連した」は、疾患（例えば、がん、炎症性疾患、自己免疫疾患又は感染性疾患）が、又は疾患の症状が、（全体において又は一部分において）物質又は物質活性若しくは機能により引き起こされることを意味する。例えば、ＲＯＲ１活性又は機能に関連するがんは、異常なＲＯＲ１機能（例えば、酵素活性、タンパク質－タンパク質相互作用、シグナル伝達経路）から（全体的に又は部分的に）生じるがん、又は疾患の特定の症状が異常なＲＯＲ１活性又は機能により（全体的に又は部分的に）引き起こされるがんでもよい。本明細書で使用される場合、疾患に関連すると記載されていることは、それが原因物質である場合には、疾患の処置のための標的になりうる。例えば、ＲＯＲ１活性又は機能に関連するがん又はＲＯＲ１関連疾患（例えば、がん、炎症性疾患、自己免疫疾患又は感染性疾患）は、増加したＲＯＲ１活性又は機能（例えば、シグナル伝達経路活性）が疾患（例えば、がん、炎症性疾患、自己免疫疾患又は感染性疾患）を引き起こす場合には、ＲＯＲ１モジュレータ又はＲＯＲ１阻害剤で処置しうる。例えば、ＲＯＲ１活性又は機能に関連する炎症性疾患又はＲＯＲ１関連炎症性疾患は、増加したＲＯＲ１活性又は機能（例えば、シグナル伝達経路活性）がその疾患を引き起こす場合には、ＲＯＲ１モジュレータ又はＲＯＲ１阻害剤で処置しうる。

【０１３２】

本明細書で使用される用語「シグナル伝達経路」とは、１つの成分の変化を１つ以上の他の成分に伝達する、細胞成分と任意選択的に細胞外の成分（例えば、タンパク質、核酸、小分子、イオン、脂質）の間の一連の相互作用を指し、この相互作用は順番に変化をさらなる成分に伝達することがあり、この変化は任意選択的に、他のシグナル伝達経路成分に伝播される。例えば、ＲＯＲ１と本明細書に記載される化合物が結合すると、ＲＯＲ１触媒反応の生成物のレベル若しくはその生成物の下流誘導体のレベルが減少することがある、又は結合によりＲＯＲ１酵素若しくはＲＯＲ１反応生成物と下流エフェクター若しくはシグナル伝達経路成分の間の相互作用が減少し、細胞成長、増殖又は生存が変化することがある。

【０１３３】

本明細書で使用される場合、用語「約」は、指定された値を含む値の範囲を意味し、これを当業者であれば、これは指定された値に合理的に類似すると見なすと考えられる。実施形態では、約は、当技術分野で一般的に受け入れられる測定値を使用した際に、標準偏差内にあることを意味する。実施形態では、約は、指定された値の＋／－１０％まで広がる範囲を意味する。実施形態では、約は、指定された値を含む。

【０１３４】

本明細書で使用される「相乗作用量」とは、相乗効果（付加効果よりも大きな効果）をもたらす第１の量（例えば、本明細書で提供される化合物の量）と第２の量（例えば、治療薬剤）の合計を指す。したがって、本明細書で互換的に使用される用語「相乗作用」、「相乗性」、「相乗的な」、「組み合わされた相乗作用量」及び「相乗的治療効果」とは、組み合わせて投与された化合物の測定された効果を指し、測定された効果は、単剤として単独で投与された本明細書で提供される化合物のそれぞれの個々の効果の合計よりも大きい。

【０１３５】

実施形態では、相乗作用量は、治療薬剤とは別々に使用される場合の本明細書で提供される化合物の量の約０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４．０、４．１、４．２、４．３、４．４、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９、５．０、５．１、５．２、５．３、５．４、５．５、５．６、５．７、５．８、５．９、６．０、６．１、６．２、６．３、６．４、６．５、６．６、６．７、６．８、６．９、７．０、７．１、７．２、７．３、７．４、７．５、７．６、７．７、７．８

、７．９、８．０、８．１、８．２、８．３、８．４、８．５、８．６、８．７、８．８、８．９、９．０、９．１、９．２、９．３、９．４、９．５、９．６、９．７、９．８、９．９、１０．０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、又は９９％でもよい。実施形態では、相乗作用量は、本明細書で提供される化合物とは別々に使用される場合の治療薬剤の量の約０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４．０、４．１、４．２、４．３、４．４、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９、５．０、５．１、５．２、５．３、５．４、５．５、５．６、５．７、５．８、５．９、６．０、６．１、６．２、６．３、６．４、６．５、６．６、６．７、６．８、６．９、７．０、７．１、７．２、７．３、７．４、７．５、７．６、７．７、７．８、７．９、８．０、８．１、８．２、８．３、８．４、８．５、８．６、８．７、８．８、８．９、９．０、９．１、９．２、９．３、９．４、９．５、９．６、９．７、９．８、９．９、１０．０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、又は９９％でもよい。

【０１３６】

本明細書で使用される用語「ＥＣ５０」又は「半数効果濃度」とは、指定された曝露時間後のベースライン応答と最大応答の中間である応答を誘導することができる分子（例えば、抗体、キメラ抗原受容体又は二特異性抗体）の濃度を指す。実施形態では、ＥＣ５０はその分子の考えられる最大効果の５０％を生じる分子（例えば、抗体、キメラ抗原受容体又は二特異性抗体）の濃度である。

【０１３７】

ＩＩ．方法

本明細書で提供される方法は、とりわけ、がんの処置に有用である。実施形態では、本明細書に記載される方法及び組成物は、ＲＯＲ－１を発現している化学療法抵抗性がんに有効な処置を提供する。出願者らは、驚いたことに、化学療法での処置に続いて、がん細胞においてＲＯＲ－１の発現が増加することを発見していた。さらに、出願者らは、ＲＯＲ－１発現が、転移し化学療法処置を生存するがん細胞の能力を増強して、化学療法抵抗性が生じることを明らかにしている。出願者らは、どのようにしてＲＯＲ－１アンタゴニスト（例えば、ＲＯＲ－１抗体）と化学療法薬（例えば、パクリタキセル）の同時投与のほうがどちらか単独での処置よりも効果が高く、したがってがん（例えば、乳がん）を有効に処置するのかの機序を本明細書に記載している。

【０１３８】

態様では、そ化学療法抵抗性がんを処置する方法であって、れを必要とする対象において、治療有効量の化学療法薬及び治療有効量のチロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ－１）アンタゴニストを対象に投与すること、それによって、対象において化学療法抵抗性がんを処置する方法が提供される。

【０１３９】
別の態様では、乳がんを処置する方法であって、それを必要とする対象において、治療有効量の化学療法薬及び治療有効量のチロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ－１）アンタゴニストを前記対象に投与すること、それによって、対象において乳がんを処置する方法が提供される。実施形態では、乳がんは化学療法抵抗性乳がんである。
【０１４０】
本明細書で使用される用語「ＲＯＲ－１」とは、組み換え又は天然に存在する型のチロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ－１）又はＲＯＲ－１活性を維持している（例えば、ＲＯＲ－１と比べて少なくとも５０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％活性内）この変異体若しくは相同体のいずれかを指す。一部の態様では、変異体又は相同体は、天然に存在するＲＯＲ－１タンパク質と比べて、全配列又は配列の一部（例えば、５０、１００、１５０又は２００連続アミノ酸部分）にわたり少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％アミノ酸配列同一性を有する。実施形態では、ＲＯＲ－１タンパク質は、受託番号ＮＰ＿００５００３．１により同定されるタンパク質に実質的に同一である、又はこれに実質的な同一性を有する変異体若しくは相同体である。
【０１４１】
ＲＯＲ－１アンタゴニストが抗体である例では、抗体はＲＯＲ－１ポリペプチドに特異的に結合する。したがって、実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは抗ＲＯＲ－１抗体である。実施形態では、抗ＲＯＲ－１抗体はヒト化抗体である。
【０１４２】
抗ＲＯＲ－１抗体は、それをＲＯＲ－１ポリペプチドの一部又はこの断片に結合させるアミノ酸配列（例えば、ＣＤＲ）を含みうる。したがって、実施形態では、抗体は、ヒト化重鎖可変領域及びヒト化軽鎖可変領域を含み、ヒト化重鎖可変領域は配列番号１、配列番号２及び配列番号３に示される配列を含み、ヒト化軽鎖可変領域は配列番号４、配列番号５及び配列番号６に示される配列を含む。
【０１４３】
実施形態では、抗体はシルムツズマブである。本明細書で定義されるシルムツズマブは、ＵＣ－９６１又は９９９６１．１とも呼ばれ、これらの用語は全体を通じて互換的に使用される。シルムツズマブの開発及び構造は米国特許出願第１４／４２２，５１９号に開示されており、前記特許文献は参照によりその全体をあらゆる目的のために本明細書に組み込む。実施形態では、シルムツズマブ（すなわち、９９９６１．１、ＵＣ－９６１）は、ヒト化重鎖可変領域及びヒト化軽鎖可変領域を含み、ヒト化重鎖可変領域は配列番号１、配列番号２及び配列番号３に示される配列を含み、ヒト化軽鎖可変領域は配列番号４、配列番号５及び配列番号６に示される配列を含む。
【０１４４】
実施形態では、抗体は、ヒト化重鎖可変領域及びヒト化軽鎖可変領域を含み、ヒト化重鎖可変領域が配列番号７、配列番号８及び配列番号９に示される配列を含み、ヒト化軽鎖可変領域が配列番号１０、配列番号１１及び配列番号１２に示される配列を含む。配列番号７、８、９、１０、１１、１２に示されるアミノ酸配列（すなわち、ＣＤＲ）を含む抗体は、本明細書では抗体Ｄ１０と呼ばれることがある。抗体Ｄ１０の開発及び使用は米国特許第９，２１７，０４０号に開示されており、前記文献は参照によりその全体をあらゆる目的のために本明細書に組み込む。
【０１４５】
実施形態では、抗体は、ＲＯＲ－１のアミノ酸１３０～１６０又はこの断片に結合する。実施形態では、抗体は、ＲＯＲ－１の１３８位に対応する位置でグルタミン酸を含むペプチドに結合する。実施形態では、抗体は、ＲＯＲ－１タンパク質の細胞外ドメインの３’又は中間のＩｇ様領域に特異的に結合する。実施形態では、抗体は、１～１４７位由来のＲＯＲ－１タンパク質の細胞外ドメインのＩｇ様領域の３’末端に結合する。
【０１４６】

実施形態では、抗体は転移を阻害する。実施形態では、抗体は抗体断片である。実施形態では、抗体はヒトである。実施形態では、抗体はヒト化である。実施形態では、抗体はキメラ抗体である。実施形態では、抗体は一本鎖抗体である。

【０１４７】

実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５５０ｐＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約６００ｐＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約６５０ｐＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約７００ｐＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約７５０ｐＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約８００ｐＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約８５０ｐＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約９００ｐＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約９５０ｐＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約１ｎＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約１ｎＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約１．５ｎＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約２ｎＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約２．５ｎＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約３ｎＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約３．５ｎＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約４ｎＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約４．５ｎＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５ｎＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５．５ｎＭ～約６ｎＭの結合親和性を有する。

【０１４８】

実施形態では、抗体は５００ｐＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５５０ｐＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は６００ｐＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は６５０ｐＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は７００ｐＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は７５０ｐＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は８００ｐＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は８５０ｐＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は９００ｐＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は９５０ｐＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は１ｎＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は１ｎＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は１．５ｎＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は２ｎＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は２．５ｎＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は３ｎＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は３．５ｎＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は４ｎＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は４．５ｎＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５ｎＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５．５ｎＭ～６ｎＭの結合親和性を有する。

【０１４９】

実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約５．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約４．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約４ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約３．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約３ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約３．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約３ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約２．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約２ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約１．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約１ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約９５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体

は約５００ｐＭ～約９００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約８５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約８００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約７５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約７００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約６５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約６００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５００ｐＭ～約５５０ｐＭの結合親和性を有する。

【０１５０】

実施形態では、抗体は５００ｐＭ～５．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～４．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～４ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～３．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～３ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～３．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～３ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～２．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～２ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～１．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～１ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～９５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～９００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～８５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～８００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～７５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～７００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～６５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～６００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭ～５５０ｐＭの結合親和性を有する。

【０１５１】

実施形態では、抗体は約５００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約６００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は６００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約６５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は６５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約７００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は７００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約７５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は７５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約８００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は８００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約８５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は８５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約９００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は９００ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約９５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は９５０ｐＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約１ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約１ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は１ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約１．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は１．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約２ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は２ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約２．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は２．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約３ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は３ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約３．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は３．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約４ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は４ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約４．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は４．５ｎＭの結合親和性を

有する。実施形態では、抗体は約５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約５．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は５．５ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は約６ｎＭの結合親和性を有する。実施形態では、抗体は６ｎＭの結合親和性を有する。

【０１５２】

実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約４０ｎＭ未満（例えば、３５、３０、２５、２０、１５、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、１、０．５、０．２５、０．１ｎＭ）の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に４０ｎＭ未満（例えば、３５、３０、２５、２０、１５、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、１、０．５、０．２５、０．１ｎＭ）の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約３５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に３５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約３０ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に３０ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約２５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に２５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約２０ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に２０ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約１５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に１５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約１０ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に１０ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約９ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に９ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約８ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に８ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約７ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に７ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約６ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に６ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約４ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に４ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約３ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に３ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約２ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に２ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約１ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に１ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約０．５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に０．５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約０．２５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に０．２５ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に約０．１ｎＭ未満の$K_D$で結合する。実施形態では、抗体はＲＯＲ－１タンパク質に０．１ｎＭ未満の$K_D$で結合する。

【０１５３】

実施形態では、抗体はシルムツズマブであり、本明細書では９９９６１．１又はＵＣ－９６１とも呼ばれる。実施形態では、抗体はＤ１０である。

【０１５４】

実施形態では、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストは組み合わされた相乗作用量で投与される。実施形態では、化学療法薬と抗ＲＯＲ－１抗体は組み合わされた相乗作用量で投与される。本明細書で使用される「組み合わされた相乗作用量」とは、相乗効果（す

なわち、相加効果よりも大きな効果）をもたらす第１の量（例えば、化学療法薬の量）と第２の量（例えば、ＲＯＲ－１アンタゴニストの量）の合計を指す。したがって、本明細書では互換的に使用される用語「相乗作用」、「相乗性」、「相乗的な」、「組み合わされた相乗作用量」及び「相乗的治療効果」とは、組み合わされて投与された化合物の測定された効果を指し、測定された効果は単剤として単独で投与された化合物のそれぞれ個々の効果の合計よりも大きい。

【０１５５】

実施形態では、相乗作用量は、ＲＯＲ－１アンタゴニストとは別々に使用された場合の化学療法薬の量の約０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４．０、４．１、４．２、４．３、４．４、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９、５．０、５．１、５．２、５．３、５．４、５．５、５．６、５．７、５．８、５．９、６．０、６．１、６．２、６．３、６．４、６．５、６．６、６．７、６．８、６．９、７．０、７．１、７．２、７．３、７．４、７．５、７．６、７．７、７．８、７．９、８．０、８．１、８．２、８．３、８．４、８．５、８．６、８．７、８．８、８．９、９．０、９．１、９．２、９．３、９．４、９．５、９．６、９．７、９．８、９．９、１０．０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、又は９９％でよい。実施形態では、相乗作用量は、化学療法薬とは別々に使用された場合のＲＯＲ－１アンタゴニストの量の約０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４．０、４．１、４．２、４．３、４．４、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９、５．０、５．１、５．２、５．３、５．４、５．５、５．６、５．７、５．８、５．９、６．０、６．１、６．２、６．３、６．４、６．５、６．６、６．７、６．８、６．９、７．０、７．１、７．２、７．３、７．４、７．５、７．６、７．７、７．８、７．９、８．０、８．１、８．２、８．３、８．４、８．５、８．６、８．７、８．８、８．９、９．０、９．１、９．２、９．３、９．４、９．５、９．６、９．７、９．８、９．９、１０．０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、又は９９％でよい。

【０１５６】

相乗効果は、細胞（例えば、がん細胞）分裂減少効果及び／又はＲＯＲ－１活性減少効果でもよい。実施形態では、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストの間の相乗作用は、個々に及び別々に使用した場合の化学療法薬又はＲＯＲ－１アンタゴニストの減少の合計よりも約０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、

２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４．０、４．１、４．２、４．３、４．４、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９、５．０、５．１、５．２、５．３、５．４、５．５、５．６、５．７、５．８、５．９、６．０、６．１、６．２、６．３、６．４、６．５、６．６、６．７、６．８、６．９、７．０、７．１、７．２、７．３、７．４、７．５、７．６、７．７、７．８、７．９、８．０、８．１、８．２、８．３、８．４、８．５、８．６、８．７、８．８、８．９、９．０、９．１、９．２、９．３、９．４、９．５、９．６、９．７、９．８、９．９、１０．０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、又は１００％大きな減少（例えば、細胞（例えば、がん細胞）分裂の減少又はＲＯＲ－１活性の減少）をもたらしうる。実施形態では、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストの間の相乗作用は、個々に及び別々に使用した場合の化学療法薬又はＲＯＲ－１アンタゴニストの阻害の合計よりも細胞（例えば、がん細胞）分裂及び／又はＲＯＲ－１タンパク質の０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４．０、４．１、４．２、４．３、４．４、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９、５．０、５．１、５．２、５．３、５．４、５．５、５．６、５．７、５．８、５．９、６．０、６．１、６．２、６．３、６．４、６．５、６．６、６．７、６．８、６．９、７．０、７．１、７．２、７．３、７．４、７．５、７．６、７．７、７．８、７．９、８．０、８．１、８．２、８．３、８．４、８．５、８．６、８．７、８．８、８．９、９．０、９．１、９．２、９．３、９．４、９．５、９．６、９．７、９．８、９．９、１０．０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、又は１００％大きな阻害をもたらしうる。

【０１５７】

相乗効果は、乳がん（すなわち、乳がん処置相乗効果）、リンパ腫（すなわち、リンパ腫処置相乗効果）、白血病（すなわち、白血病処置相乗効果）、骨髄腫（すなわち、骨髄腫処置相乗効果）、ＡＭＬ（すなわち、ＡＭＬ処置相乗効果）、Ｂ－ＡＬＬ（すなわち、Ｂ－ＡＬＬ処置相乗効果）、Ｔ－ＡＬＬ（すなわち、Ｔ－ＡＬＬ処置相乗効果）、腎細胞癌（すなわち、腎細胞癌処置相乗効果）、結腸がん（すなわち、結腸がん処置相乗効果）、結腸直腸がん（すなわち、結腸直腸がん処置相乗効果）、扁平上皮細胞がん（すなわち、扁平上皮細胞がん処置相乗効果）、メラノーマ（すなわち、メラノーマ処置相乗効果）、胃がん（すなわち、胃がん処置相乗効果）、脳がん（すなわち、脳がん処置相乗効果）、肺がん（すなわち、肺がん処置相乗効果）、膵臓がん（すなわち、膵臓がん処置相乗効果）、子宮頸がん（すなわち、子宮頸がん処置相乗効果）、卵巣がん（すなわち、卵巣がん処置相乗効果）、肝臓がん（すなわち、肝臓がん処置相乗効果）、膀胱がん（すなわち、膀胱がん処置相乗効果）、前立腺がん（すなわち、前立腺がん処置相乗効果）、精巣がん（すなわち、精巣がん処置相乗効果）、甲状腺がん（すなわち、甲状腺がん処置相乗効

果）、頭頚部がん（すなわち、頭頚部がん処置相乗効果）、子宮がん（すなわち、子宮がん処置相乗効果）、腺癌（すなわち、腺癌処置相乗効果）、副腎がん（すなわち、副腎がん処置相乗効果）、慢性リンパ性白血病（すなわち、慢性リンパ性白血病処置相乗効果）、小リンパ球性リンパ腫（すなわち、小リンパ球性リンパ腫処置相乗効果）、周辺細胞Ｂ細胞リンパ腫（すなわち、周辺細胞Ｂ細胞リンパ腫処置相乗効果）、バーキットリンパ腫（すなわち、バーキットリンパ腫処置相乗効果）、Ｂ細胞白血病（すなわち、Ｂ細胞白血病処置相乗効果）処置効果などのがん処置効果でもよい。

【０１５８】

化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストは、組み合わせて、同時に（例えば、混合物として）、別々であるが同時に（例えば、別々の静脈路を経て）又は逐次的に（例えば、１つの薬剤を最初に投与し、続いて第２の薬剤を投与する）投与してもよい。したがって、用語組合せは、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストの随伴、同時又は逐次投与を指すのに使用される。

【０１５９】

実施形態では、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストは同時に又は逐次的に投与される。実施形態では、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストは同時に投与される。実施形態では、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストは逐次的に投与される。処置の経過中、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストは時には逐次的に投与され、他の時には同時に投与されてもよい。

【０１６０】

実施形態では、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストが逐次的に投与される場合、ＲＯＲ－１アンタゴニストが第１の時点で投与され、化学療法薬が第２の時点で投与され、第１の時点は第２の時点より先行する。あるいは、実施形態では、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストが逐次的に投与される場合、化学療法薬が第１の時点で投与され、ＲＯＲ－１アンタゴニストが第２の時点で投与され、第１の時点は第２の時点より先行する。

【０１６１】

実施形態では、化学療法薬と抗ＲＯＲ－１抗体は同時に又は逐次的に投与される。実施形態では、化学療法薬と抗ＲＯＲ－１抗体は同時に投与される。実施形態では、化学療法薬と抗ＲＯＲ－１抗体は逐次的に投与される。処置の経過中、化学療法薬と抗ＲＯＲ－１抗体は時には逐次的に投与され、他の時には同時に投与されてもよい。

【０１６２】

実施形態では、化学療法薬と抗ＲＯＲ－１抗体が逐次的に投与される場合、抗ＲＯＲ－１抗体が第１の時点で投与され、化学療法薬が第２の時点で投与され、第１の時点は第２の時点より先行する。あるいは、実施形態では、化学療法薬と抗ＲＯＲ－１抗体が逐次的に投与される場合、化学療法薬が第１の時点で投与され、抗ＲＯＲ－１抗体が第２の時点で投与され、第１の時点は第２の時点より先行する。

【０１６３】

処置の過程は、対象の特定の特徴及び選択される処置のタイプに応じて、個別に決定されるのがもっともよい。本明細書に開示される処置などの処置は、毎日、１日２回、隔週、毎月又は治療的に有効である任意の適応可能なベースで対象に施すことができる。処置は単独で又は本明細書に開示される若しくは当技術分野で既知である他の任意の処置と組み合わせて施すことができる。追加の処置は最初の処置と同時に、異なる時点で又は全く異なる治療スケジュール（例えば、最初の処置は毎日が可能であり、追加の処置は毎週である）で施すことが可能である。

【０１６４】

化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストが同時に投与される例では、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニストは混合物として投与してよい。したがって、実施形態では、化学療法薬とＲＯＲ－１アンタゴニスト投与の前に混合される。

【０１６５】

実施形態では、化学療法薬は約５ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、１１ｍｇ／ｋｇ、１２

ｍｇ／ｋｇ、１３ｍｇ／ｋｇ、１４ｍｇ／ｋｇ又は１５ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、化学療法薬は約５ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、化学療法薬は約６ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、化学療法薬は約７ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、化学療法薬は約８ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、化学療法薬は約９ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、化学療法薬は１０ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、化学療法薬は約１１ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、化学療法薬は約１２ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、化学療法薬は約１３ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、化学療法薬は約１４ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、化学療法薬は約１３．４ｍｇ／ｋｇの量で投与される。さらなる実施形態では、化学療法薬はパクリタキセルである。

【０１６６】

実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは約１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ又は１０ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは約１ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは１ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは約２ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは２ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは約３ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは３ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは約５ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは５ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは約１０ｍｇ／ｋｇの量で投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは１０ｍｇ／ｋｇの量で投与される。

【０１６７】

実施形態では、化学療法薬は約１３ｍｇ／ｋｇの量で投与され、ＲＯＲ－１アンタゴニストは約２ｍｇ／ｋｇで投与される。実施形態では、化学療法薬は１４ｍｇ／ｋｇの量で投与され、ＲＯＲ－１アンタゴニストは２ｍｇ／ｋｇで投与される。実施形態では、化学療法薬は１３．４ｍｇ／ｋｇの量で投与され、ＲＯＲ－１アンタゴニストは２ｍｇ／ｋｇで投与される。実施形態では、化学療法薬は約１３ｍｇ／ｋｇの量で投与され、ＲＯＲ－１アンタゴニストは約１ｍｇ／ｋｇで投与される。実施形態では、化学療法薬は１４ｍｇ／ｋｇの量で投与され、ＲＯＲ－１アンタゴニストは１ｍｇ／ｋｇで投与される。実施形態では、化学療法薬は１３．４ｍｇ／ｋｇの量で投与され、ＲＯＲ－１アンタゴニストは１ｍｇ／ｋｇで投与される。

【０１６８】

実施形態では、化学療法薬は少なくとも１４日間（例えば、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、４０、４５又は５０日間）にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも１５日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも１６日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも１７日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも１８日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも１９日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも２０日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも２１日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも２２日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも２３日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも２４日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも２５日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも２６日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも２７日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも２８日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも２９日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも３０日間にわたって毎日投与される。実施形態

では、化学療法薬は少なくとも３１日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも３２日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも３３日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも３４日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも３５日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも４０日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも４５日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は少なくとも５０日間にわたって毎日投与される。

【０１６９】

実施形態では、化学療法薬は約２８日間にわたって毎日投与される。実施形態では、化学療法薬は２８日間にわたって毎日投与される。

【０１７０】

実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは約２８日間にわたって１回投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは２８日間にわたって１回投与される。

【０１７１】

実施形態では、化学療法薬は静脈内に投与される。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは静脈内に投与される。

【０１７２】

実施形態では、対象は哺乳動物である。実施形態では、対象はヒトである。

【０１７３】

実施形態では、方法は、投与の前に、対象においてＲＯＲ－１のレベルを検出することを含む。対象におけるＲＯＲ－１のレベルの検出では、生体試料においてタンパク質を検出するために当技術分野で一般的に使用されているいかなる方法も想定されている。ＲＯＲ－１のレベルの検出では、対象に由来するいかなる適切な生体試料でも使用してよい。限定せずに、生体試料は、組織由来試料、血液由来試料、唾液由来試料、尿由来試料、血清由来試料又は血漿由来試料を含む。

【０１７４】

ＲＯＲ－１（例えば、ＲＯＲ－１タンパク質又はＲＯＲ－１　ＲＮＡ）を検出しそのレベルを確認する方法は、当技術分野内の従来の分子生物学、微生物学及び組換えＤＮＡ技法を含む。そのような技法は文献（例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ、Ｆｒｉｔｓｃｈ＆Ｍａｎｉａｔｉｓ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ、第2版、１９８９年、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ、Ｎ．Ｙ．；Ａｎｉｍａｌ　Ｃｅｌｌ　Ｃｕｌｔｕｒｅ、Ｒ．Ｉ．Ｆｒｅｓｈｎｅｙ編、１９８６年参照）において十分に説明されている。

【０１７５】

本明細書で提供される用語「検出する」は、「ＲＯＲ－１のレベルを検出する」、「ＲＯＲ－１タンパク質の発現のレベルを検出する」又は「ＲＯＲ－１　ＲＮＡの発現レベルを検出する」を含み、当技術分野で周知の方法及び技術を含む。例えば、発現プロファイリングのための捕獲アレイを使用して、タンパク質又はＲＮＡの発現レベルを決定してもよい。捕獲アレイは、従来の抗体、単一ドメイン、操作されたスキャフォールド、ペプチド、核酸アプタマー又は相補的核酸（例えば、ＲＮＡ又はＤＮＡ）などの高親和性捕獲試薬を用いて高スループットな様式で特定の標的リガンドに結合し検出する。抗体アレイは、特異性及び容認できるバックグランドという必要な特性を有しており、一部は市販されている（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ、ＣＡ；Ｃｌｏｎｔｅｃｈ、Ｍｏｕｎｔａｉｎ　Ｖｉｅｗ、ＣＡ；ＢｉｏＲａｄ；Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）。捕獲アレイのための抗体は従来の免疫化（ポリクローナル血清及びハイブリドーマ）により、又はファージ若しくはリボソームディスプレイライブラリーからの選択後、通常大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）において発現される組換え断片として（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、ＵＫ；Ｂｉｏｌｎｖｅｎｔ、Ｌｕｎｄ、Ｓｗｅｄｅｎ；Ａｆｆｉｔｅｃｈ、Ｗａｌｎｕｔ　Ｃｒｅｅｋ、ＣＡ；

Ｂｉｏｓｉｔｅ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）作成される。従来の抗体、Ｆａｂ及びｓｃＦｖ断片に加えて、ラクダ科由来の単一Ｖドメイン又は操作されたヒト等価物（Ｄｏｍａｎｔｉｓ、Ｗａｌｔｈａｍ、ＭＡ）は任意選択的にアレイにおいて有用である。

【０１７６】

抗体アレイに結合するタンパク質解析物は、直接又は間接的に、例えば、二次抗体を経て検出される。直接標識化は、異なる色の異なる試料の比較のために使用される。同じタンパク質リガンドに向けられた抗体の対が利用可能な場合、サンドイッチ免疫アッセイは高特異性及び感受性を提供し、したがって、サイトカインなどの低含量タンパク質の選択法であり、タンパク質修飾の検出の可能性も与える。質量分析、表面プラズモン共鳴及び原子間力顕微鏡を含む、標識なし検出法はリガンドの変更を回避する。いかなる方法からでも要求されることは、ノイズに高いシグナルを与えるバックグランドが低い、最適の感受性及び特異性である。分析物濃度は広範囲に及ぶので、感受性は適切に目的に合わせなければならない。試料の段階希釈又は異なる親和性の抗体の使用はこの問題の解決策である。目的のタンパク質は、サイトカイン又は細胞中の低発現産物などの、体液及び抽出物中の低濃度のタンパク質であることが多く、ｐｇ範囲又はそれよりも低い検出が必要となる。

【０１７７】

捕獲分子のアレイの代替案は、分子インプリンティングング技術を通じて作成されるアレイであり、ここではペプチド（例えば、タンパク質のＣ終端領域由来の）は鋳型として使用されて、重合可能なマトリックス中に構造的に相補的で配列特異的なキャビティを生み出し、次にキャビティは、適切な一次アミノ酸配列を有する（変性）タンパク質を特異的に捕獲することができる（ＰｒｏｔｅｉｎＰｒｉｎｔ（商標）、Ａｓｐｉｒａ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ、ＣＡ）。

【０１７８】

診断上及び発現プリファイリングにおいて有用であるもう１つの方法は、ＰｒｏｔｅｉｎＣｈｉｐ（登録商標）アレイ（Ｃｉｐｈｅｒｇｅｎ、Ｆｒｅｍｏｎｔ、ＣＡ）であり、ここでは固相クロマトグラフィー表面が、血漿又は腫瘍抽出物などの混合物から電荷又は疎水性の類似する特徴のあるタンパク質に結合し、ＳＥＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析を使用して保持されたタンパク質を検出する。

【０１７９】

多数の精製されたタンパク質を固定することにより大規模機能チップが構築されており、他のタンパク質とのタンパク質相互作用、薬物－標的相互作用、酵素－基質、等、などの広範囲な生化学的機能をアッセイするのに使用されている。一般に、大規模機能チップは、大腸菌、酵母又は類似のものにクローニングされた発現ライブラリーを必要とし、次にそこから発現されたタンパク質は、例えば、Ｈｉｓタグを通じて精製され、固定される。無細胞タンパク質転写／翻訳は、細菌又は他のインビボ系においてよく発現しないタンパク質の合成の実行可能な代替法である。

【０１８０】

実施形態では、推定は、対象由来の生体試料を抗ＲＯＲ－１抗体と接触させ、生体試料中のＲＯＲ－１への抗ＲＯＲ－１抗体の結合を検出することを含む。実施形態では、推定は、対象を抗ＲＯＲ－１抗体と接触させ、対象中のＲＯＲ－１への抗ＲＯＲ－１抗体の結合を検出することを含む。実施形態では、抗体は、米国特許出願第９，２１７，０４０号に開示される抗ＲＯＲ－１抗体のいずれか１つであり、前記特許文献はこれにより参照によりその全体をあらゆる目的のために組み込む。

【０１８１】

本明細書で言及される「標準対照」とは、試験試料との比較のための参照、通常は既知の参照としての役目を果たす試料を指す。例えば、試験試料はがんに罹っていると疑われている患者から採取して、既知のがん患者、又は既知の正常な（非疾患の）個人由来の試料と比べることができる。対照は、類似する個人、例えば、類似する医学的背景、同年齢、体重、等を有するがん患者又は健康な個人の集団から集めた平均値を表すこともできる

。対照値は、同じ個人から、例えば、疾患の前に、又は処置の前に、以前に得られた試料から入手することもできる。当業者であれば、対照は任意の数のパラメータの評価のために設計することができることを認識している。

【０１８２】

当業者であれば所与の状況においてどの対照が役立つかを理解し、対照値との比較に基づいてデータを解析することができる。対照は、データの有意性を判定するのにも価値がある。例えば、所与のパラメータを表す値が対照において広く異なる場合は、試験試料における変動は有意とは見なされない。開示された方法のいくつかの例では、ＲＯＲ－１の発現レベルが評価される場合、レベルはＲＯＲ－１の対照発現レベルと比べられる。対照発現レベルとは、がんを欠く試料若しくは対象、がん若しくはがん状態の選択されたステージでの試料若しくは対象由来の、又は治療薬（例えば、化学療法薬）などの特定の変数がない場合のＲＯＲ－１の発現レベルを意味する。あるいは、対照レベルは既知の量のＲＯＲ－１を含む。そのような既知の量は、がんを欠く、がん若しくはがん状態の選択されたステージでの、又は治療薬などの特定の変数がない場合の対象の平均レベルと相関している。対照レベルは、本明細書に記載される１つ以上の選択された試料又は対象由来のＲＯＲ－１の発現レベルも含む。例えば、対照レベルは、がんがない、がん若しくはがん状態の選択されたステージにいる、又はがんの処置を受けたことがない対象由来の試料中のＲＯＲ－１の発現レベルの評価を含む。別の例示的な対照レベルは、がんがない、がんの選択されたステージにいる、又はがんの処置を受けたことがない複数の対象から採取された試料中のＲＯＲ－１の発現レベルの評価を含む。

【０１８３】

対照レベルが、化学療法薬がない場合の試料又は対象におけるＲＯＲ－１の発現レベルを含む場合、対照試料若しくは対象は任意選択的に、化学療法薬を用いた処置の前若しくは後に試験される同じ試料若しくは対象である、又は療法薬がない場合の選択された試料若しくは対象である。あるいは、対照レベルは、特定の疾患がないいくつかの対象から計算される平均発現レベルである。対照レベルは、既知の対照レベル又は当技術分野で既知の値も含む。

【０１８４】

実施形態では、方法は、治療有効量の化学療法薬及び治療有効量のＲＯＲ－１アンタゴニストを投与する前に、標準対照と比べて増大したレベルのＲＯＲ－１を発現する対象の選択をさらに含む。実施形態では、方法は、投与の前に、標準対照と比べて増大したレベルのＲＯＲ－１を発現する対象を選択することをさらに含む。選択された対象は、がん（例えば、乳がん）について処置しうる。一部の実施形態では、対象は、がん（例えば、乳がん）について処置されない。対象は、臨床試験に参加している複数の対象の一部でよい。対象が臨床試験の一部である場合、選択は少なくとも一部は、本明細書で提供されるＲＯＲ－１の発現レベルの決定に基づいている。実施形態では、対象は現在化学療法を受けている又はずっと受け続けている。実施形態では、化学療法抵抗性がんは化学療法抵抗性乳がんである。実施形態では、対象は現在化学療法を受けている。実施形態では、対象は化学療法を受けたことがある。さらなる実施形態では、標準対照は、患者が化学療法を受ける前に検出されたＲＯＲ－１のレベルである。

【０１８５】

実施形態では、化学療法薬は植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤である。実施形態では、化学療法薬は植物アルカロイドである。実施形態では、化学療法薬は抗腫瘍抗生物質である。実施形態では、化学療法薬はトポイソメラーゼ阻害剤である。実施形態では、化学療法薬はパクリタキセル又はドセタキセルである。実施形態では、化学療法薬はパクリタキセルである。実施形態では、化学療法薬はドセタキセルである。実施形態では、化学療法薬はドキソルビシン又はエピルビシンである。実施形態では、化学療法薬はドキソルビシンである。実施形態では、化学療法薬はエピルビシンである。

【０１８６】

実施形態では、化学療法薬はＢＴＫアンタゴニストではない。実施形態では、化学療法薬は、ＣＡＬ１０１でもＲ４０６でもイブルチニブでもない。実施形態では、化学療法薬はイブルチニブではない。

【０１８７】

実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは抗体又は小分子である。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは抗体である。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは小分子である。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは抗ＲＯＲ－１抗体である。

【０１８８】

一実施形態では、化学療法抵抗性がんは乳がんであり、化学療法薬はパクリタキセルであり、ＲＯＲ－１アンタゴニストはシルムツズマブであり、選択された対象は化学療法を受けたことがある。

【０１８９】

ＩＩＩ．医薬組成物

この実施形態を含む、本明細書で提供される化学療法薬及びＲＯＲ－１アンタゴニストを含む組成物は、医薬組成物としてさらに想定されている。したがって、態様では、（ｉ）植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質及びトポイソメラーゼ阻害薬からなる群から選択される化学療法薬、（ｉｉ）ＲＯＲ－１アンタゴニスト並びに（ｉｉｉ）薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が提供される。

【０１９０】

別の態様では、（ｉ）植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質及びトポイソメラーゼ阻害薬からなる群から選択される化学療法薬、（ｉｉ）抗ＲＯＲ－１抗体並びに（ｉｉｉ）薬学的に許容される賦形剤を含み、化学療法薬と抗ＲＯＲ－１抗体が組み合わされた相乗作用量で存在し、組み合わされた相乗作用量がそれを必要とする対象において乳がんを処置するのに有効である、医薬組成物が提供される。

【０１９１】

本明細書で提供される医薬組成物に含まれる化学療法薬及びＲＯＲ－１アンタゴニストは、この実施形態を含む、本明細書に記載される化学療法薬及び／又はＲＯＲ－１アンタゴニストのいずれか１つでよい。例えば、化学療法薬はパクリタキセルでよく、ＲＯＲ－１アンタゴニストはシルムツズマブでよい。同様に、本明細書で提供される医薬組成物は、化学療法薬及びＲＯＲ－１アンタゴニストの投与された量が、本明細書に記載される量のいずれか１つであるように処方しうる。例えば、パクリタキセルは組成物の投与が１３．４ｍｇ／ｋｇの投薬量をもたらすような量で存在していてよく、シルムツズマブは約２ｍｇ／ｋｇの投薬量をもたらす量で存在していてよい。

【０１９２】

したがって、実施形態では、化学療法薬は植物アルカロイドである。実施形態では、化学療法薬はパクリタキセルである。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは抗体又は小分子である。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは抗体である。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは小分子である。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストは抗ＲＯＲ－１抗体である。実施形態では、抗体は、ヒト化重鎖可変領域及びヒト化軽鎖可変領域を含み、ヒト化重鎖可変領域は配列番号１、配列番号２及び配列番号３に示される配列を含み、ヒト化軽鎖可変領域は配列番号４、配列番号５及び配列番号６に示される配列を含む。実施形態では、抗体はシルムツズマブである。

【０１９３】

提供される組成物は、とりわけ、インビトロ又はインビボでの処方及び投与に適している。適切な担体及び賦形剤及びその処方は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ、第２１版、Ｄａｖｉｄ Ｂ．Ｔｒｏｙ、編、Ｌｉｐｐｉｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ＆Ｗｉｌｋｉｎｓ（２００５）に記載されている。薬学的に許容される担体とは、生物学的にも他の点でも望ましくないものではない物質、すなわち、望ましくない生物学的効果を引き起こさず、それが含有されている医薬組成物のその他の成分と有害な様式で相互作用をせずに対象に投与される物質

を意味する。対象に投与された場合、担体は、任意選択的に、活性成分の分解を最小限に抑え対象における有害な副作用を最小限に抑えるように選択される。

【０１９４】

本明細書で提供される医薬組成物は、活性成分（例えば、実施形態又は実施例を含む、本明細書に記載される組成物）が治療的有効量で、すなわち、その意図された目的を達成するのに有効な量で含有される組成物を含む。特定の用途に有効な実際量は、とりわけ、処置を受けている状態に依拠する。疾患を処置する方法で投与される場合、本明細書に記載される組換えタンパク質は、所望の結果を達成する、例えば、標的分子の活性をモジュレートする、及び／又は疾患症状を低減する、取り除く、又はその進行を遅くするのに有効な量の活性成分を含有することになる。本発明の化合物の治療有効量の決定は、特に本明細書の詳細な開示に照らせば、十分に当業者の能力の範囲内である。

【０１９５】

提供されている組成物は、単剤又は１つよりも多い薬剤を含むことができる。投与のための組成物は、本明細書に記載され薬学的に許容される担体、好ましくは水性担体中で溶解する薬剤を一般的に含むことになる。種々の水性担体、例えば、緩衝食塩水などを使用することができる。これらの溶液は無菌であり、一般に望ましくない物質がない。これらの組成物は従来の周知な滅菌技法により滅菌しうる。組成物は、ｐＨ調整及び緩衝剤、毒性調整剤並びにそれと同類の物などの、生理的条件に近づくのに必要な薬学的に許容される補助物質、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウムなどを含有しうる。これらの製剤中の活性剤の濃度は広く変化することができ、選択される特定の投与様式及び対象の要求に従って主に液量、粘度、体重などに基づいて選択されることになる。

【０１９６】

遊離塩基又は薬学的に許容される塩としての活性化合物の溶液は、ヒドロキシプロピルセルロースなどの界面活性剤と適切に混合された水中で調製することができる。分散液は、グリセロール、液体ポリエチレングリコール及びこれらの混合物中で並びに油中で調製することもできる。通常の貯蔵及び使用条件下では、これらの調製物は微生物の成長を予防する保存剤を含有することができる。

【０１９７】

医薬組成物は、鼻腔内若しくは吸入可能溶液、又はスプレー、エアロゾル若しくは吸入薬を通して送達することができる。経鼻液は、液滴又はスプレーで鼻孔に投与されるように設計された水溶液が可能である。経鼻液は、多くの点で鼻分泌物に類似するように調製することができる。したがって、水性経鼻液は通常、等張性であり５．５～６．５のｐＨを維持するようわずかに緩衝される。さらに、抗菌性保存剤は、眼科用調製物及び適切な薬物安定化剤で使用される抗菌性保存剤に類似して、必要であるならば、製剤中に含まれてよい。種々の市販の経鼻調製物が知られており、例えば、抗生物質及び抗ヒスタミン剤を含むことができる。

【０１９８】

経口製剤は、賦形剤、例えば、医薬品グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどを含むことができる。これらの組成物は、溶液、懸濁液、錠剤、丸薬、カプセル、徐放性製剤又は粉末の形態をとる。一部の実施形態では、経口医薬組成物は不活性希釈剤若しくは吸収可能な食べられる担体を含む、又は硬質若しくは軟質シェルゼラチンカプセルに封入してもよく、又は錠剤に圧縮してもよく、又は食事の食物と一緒に直接取り込んでもよい。経口治療投与では、活性化合物は賦形剤と一緒に組み込まれ、摂取可能な錠剤、口腔錠、トローチ、カプセル、エリキシル、懸濁液、シロップ、ウエハース等の形態で使用しうる。そのような組成物及び調製物は少なくとも０．１％の活性化合物を含有するべきである。組成物及び調製物のパーセントは、当然のことながら、変更されてよく、都合に合わせて、単位の重量の約２～約７５％の間、又は好ましくは２５～６０％の間でよい。そのような組成物中の活性化合物の量は、適切な投薬量が得られるようにする。

【０１９９】
水溶液での非経口投与では、例えば、溶液は適切に緩衝されており、液体希釈剤は先ず十分な生理食塩水又はグルコースで等張にされているべきである。水溶液、特に、無菌水性溶媒は、静脈内、筋肉内、皮下及び腹腔内投与に特に適している。例えば、１投薬量は１ｍｌの等張ＮａＣｌ溶液に溶解し、１０００ｍｌの皮下点滴液に添加する又は提案された注入部位で注射することができると考えられる。
【０２００】
滅菌注射液は、活性化合物又は構築物を必要な量で適切な溶剤に組み込み、続いて滅菌濾過することにより調製することができる。一般に、分散液は、種々の滅菌済み活性成分を基本的な分散媒を含有する無菌媒体中に組み込むことにより調製される。真空乾燥及び凍結乾燥技法は、活性成分プラス任意の追加の所望な成分の粉末を生じるが、滅菌注射液の再構成用の無菌粉末を調製するのに使用することができる。直接注射のための、より濃縮された、又は高濃度の溶液の調製も想定されている。ＤＭＳＯは、極めて急速な浸透用の溶剤として使用することができ、高濃度の活性剤を狭い領域に送達する。
【０２０１】
化合物の製剤は、アンプル及びバイアルなどの、単位用量又は多用量密封容器で提示することができる。したがって、組成物は単位投与形態が可能である。そのような形態では、調製物は、活性成分の適量を含有する単位用量に細分される。したがって、組成物は、投与方法に応じて種々の単位投与形態で投与することが可能である。例えば、経口投与に適した単位投与形態は、粉末、錠剤、丸薬、カプセル及びトローチを含むがこれらに限定されない。
【０２０２】
哺乳動物に投与される投薬量及び頻度（１回又は多回投与）は、種々の要因、例えば、哺乳動物が別の疾患に罹っているかどうか、その投与経路；レシピエントのサイズ、年齢、性別、健康、体重、肥満度指数及び食餌；処置を受けている疾患の症状の性質及び程度（例えば、がんの症状及びそのような症状の重篤度）、併用療法の種類、処置を受けている疾患からの合併症又は他の健康関連問題に応じて変化することができる。他の治療計画又は薬剤は、本発明の方法及び化合物と併せて使用することができる。確立した投薬量の調整及び操作（例えば、頻度及び持続期間）は十分に当業者の能力の範囲内である。
【０２０３】
本明細書に記載されるいかなる組成物（例えば、提供される細胞浸透コンジュゲート）でも、治療有効量は細胞培養アッセイから最初に決定することができる。標的濃度は、本明細書に記載される又は当技術分野で周知の方法を使用して測定した場合、本明細書に記載される方法を達成することができる活性化合物の濃度になる。当技術分野では周知であるように、ヒトにおいて使用するための有効量は動物モデルから決定することもできる。例えば、ヒト用の用量は、動物において有効であると見出された濃度を達成するように処方することができる。ヒトにおける投薬量は、上に記載されるように、有効性をモニターし投薬量を上方又は下方に調整することにより調整することができる。上記の方法及び他の方法に基づいて、ヒトにおける最大効能を達成するように用量を調整することは、十分に当業者の能力の範囲内である。
【０２０４】
投薬量は患者の必要条件及び用いられている化合物に応じて変化してよい。患者に投与される用量は、本発明の文脈では、患者において時間と共に有益な治療応答を及ぼすのに十分であるべきである。用量の大きさは、任意の有害な副作用の存在、性質及び程度によっても決定される。特定の状況での適切な投薬量の決定は当業者の技術の範囲内である。一般に、処置は化合物の最適用量未満のもっと少ない投薬量で開始される。その後、投薬量は、状況下での最適効果に到達するまで少しずつ増やされる。
【０２０５】
投薬量及び間隔は、処置を受けている特定の臨床徴候に有効である投与される化合物のレベルを提供するように個々に調整することができる。これにより、個体の疾患状態の重

篤度に釣り合っている治療計画が提供されることになる。

【０２０６】

本明細書で提供される教示を利用すれば、実質的な毒性を引き起こさずそれでも特定の患者が示す臨床症状を処置するのに有効である、効果的な予防的又は治療的処置計画を立案することができる。この計画立案には、化合物の効能、相対的生物学的利用能、患者の体重、有害な副作用の存在及び重篤度、好ましい、などの要因を検討することによる、活性化合物の慎重な選択が含まれるべきである。

【０２０７】

「薬学的に許容される賦形剤」及び「薬学的に許容される担体」とは、対象への活性剤の投与及び対象による吸収を支援する物質を指し、患者に対して著しく有害な毒性効果をもたらさずに本発明の組成物中に含むことができる。薬学的に許容される賦形剤の非限定的例は、水、ＮａＣｌ、正常食塩溶液、乳酸加リンゲル液、通常スクロース、通常グルコース、結合剤、充填剤、崩壊剤、滑沢剤、コーティング剤、甘味料、香料、塩溶液（リンゲル液などの）、アルコール、油、ゼラチン、ラクトース、アミロース又はデンプンなどの炭水化物、脂肪酸エステル、ヒドロキシメチルセルロース（ｈｙｄｒｏｘｙｍｅｔｈｙｃｅｌｌｕｌｏｓｅ）、ポリビニルピロリジン及び色材並びにそれと同類の物を含む。そのような調製物は無菌化し、必要であれば、本発明の化合物と有害な反応をしない滑沢剤、保存剤、安定化剤、湿潤剤、乳化剤、浸透圧に影響を及ぼすための塩、緩衝剤、着色剤及び／又は芳香物質並びにそれと同類の物などの、補助剤と混ぜ合わせることができる。当業者であれば、他の医薬賦形剤が本発明において有用であることを認識する。

【０２０８】

用語「薬学的に許容される塩」とは、当技術分野で周知の種々の有機及び無機対イオン由来の塩を指し、単なる例として、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウム、テトラアルキルアンモニウムなど、並びに分子が塩基官能性を含有する場合は、塩酸塩、臭化水素酸塩、酒石酸塩、メシル酸塩、酢酸塩、マレイン酸塩、シュウ酸塩などの有機又は無機酸の塩が挙げられる。

【０２０９】

用語「調製」は、活性成分が他の担体と一緒に又はなしで担体に取り囲まれており、したがって、担体がその活性成分に会合しているカプセルを提供する担体としての封入材料と一緒の活性化合物の処方を含むことが意図されている。同様に、カシェ剤及びトローチが含まれる。錠剤、粉末、カプセル、丸薬、カシェ剤及びトローチは、経口投与に適した固体剤形として使用することができる。

【０２１０】

実施形態では、医薬組成物は、パクリタキセル、シルムツズマブ及び薬学的に許容される賦形剤からなる。実施形態では、医薬組成物は、ドセタキセル、シルムツズマブ及び薬学的に許容される賦形剤からなる。実施形態では、医薬組成物は、ドキソルビシン、シルムツズマブ及び薬学的に許容される賦形剤からなる。実施形態では、医薬組成物は、エピルビシン、シルムツズマブ及び薬学的に許容される賦形剤からなる。

【０２１１】

実施形態では、医薬組成物は、１３．４ｍｇ／ｋｇの用量に相当するパクリタキセルの量及び１ｍｇ／ｋｇの用量に相当するシルムツズマブの量を含む。実施形態では、医薬組成物は、１３．４ｍｇ／ｋｇの用量に相当するパクリタキセルの量及び２ｍｇ／ｋｇの用量に相当するシルムツズマブの量を含む。実施形態では、医薬組成物は、１３．４ｍｇ／ｋｇの用量に相当するパクリタキセルの量及び３ｍｇ／ｋｇの用量に相当するシルムツズマブの量を含む。実施形態では、医薬組成物は、１３．４ｍｇ／ｋｇの用量に相当するパクリタキセルの量及び５ｍｇ／ｋｇの用量に相当するシルムツズマブの量を含む。実施形態では、医薬組成物は、１３．４ｍｇ／ｋｇの用量に相当するパクリタキセルの量及び１０ｍｇ／ｋｇの用量に相当するシルムツズマブの量を含む。

【０２１２】

実施形態では、がんを処置する方法は、それを必要とする対象において、治療有効量の

有糸分裂阻害剤及びＲＯＲ－１アンタゴニストを対象に投与することを含む。実施形態では、化学療法抵抗性がんに罹った患者においてがんを処置する方法は、治療有効量の有糸分裂阻害剤及びＲＯＲ－１アンタゴニストを前記対象に投与することを含む。実施形態では、がんを処置する方法は、それを必要とする対象において、治療有効量のＲＯＲ－１抗体を前記対象に投与することを含み、対象は標準対照と比べて上昇したレベルのＲＯＲ－１を発現している。実施形態では、有糸分裂阻害剤はパクリタキセルである。実施形態では、ＲＯＲ－１アンタゴニストはシルムツズマブである。実施形態では、がんは乳がんである。実施形態では、医薬組成物は有糸分裂阻害剤及びＲＯＲ－１抗体を含み、有糸分裂阻害剤とＲＯＲ－１抗体は組み合わされた相乗作用量で存在し、組み合わされた相乗作用量は、それを必要とする対象においてがんを処置するのに有効である。

【０２１３】

本明細書に記載される実施例及び実施形態は説明のみを目的としていること、並びにこれに照らして種々の改変又は変更が当業者には示唆され、本出願の趣旨及び範囲並びに添付の特許請求の範囲内に含まれるべきであることは理解される。本明細書に引用されるあらゆる出版物、特許及び特許出願はこれにより参照によりその全体をあらゆる目的のために組み込む。

【実施例】

【０２１４】

［実施例１］　シルムツズマブはがん化学療法に選択的に抵抗性であるＲＯＲ１＋乳がん幹細胞を標的にする

本発明者らは、化学療法前後に患者から収集した原発乳がん検体のトランスクリプトームデータを調べた。免疫欠損マウスにおいて乳がん患者由来異種移植片（ＰＤＸ）に対する化学療法の効果も調べ、ＲＯＲ１＋乳がん細胞が活性化されたＲｈｏ－ＧＴＰアーゼ、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ若しくはＢＭＩ１及び／又は乳房ＣＳＣの特長を有するかどうかを評価した。最後に、ヒト化抗ＲＯＲ１抗体シルムツズマブが、単独で又はパクリタキセルと組み合わせて乳がんＰＤＸに対する活性を有するかどうかを検査した。

【０２１５】

乳がんトランスクリプトームデータを調べると、高レベルのＲＯＲ１を持つ腫瘍の方がＲｈｏ－ＧＴＰアーゼ、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ又はＢＭＩ１の活性化に関連する遺伝子の発現がより高いことが明らかにされた。そのような遺伝子及びＲＯＲ１の腫瘍細胞発現は化学療法後増加した。Ｗｎｔ５ａは、Ｈｓ５７８Ｔ又は乳がん患者由来異種移植片（ＰＤＸ）においてＲｈｏ－ＧＴＰアーゼ、ＹＡＰ／ＴＡＺ、ＡＫＴ及びＢＭＩ１のＲＯＲ１依存性活性化を誘導し、マトリゲルに侵入する、スフェロイドを形成する、又はパクリタキセルを用いた処置を生存する腫瘍細胞の能力を増大した；これらの効果は抗ＲＯＲ１ｍＡｂであるシルムツズマブにより阻害することができ、この抗体はＣＤ４４$^{+}$／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$乳がん幹細胞（ＣＳＣ）において上方調節された遺伝子、並びにＲｈｏ－ＧＴＰアーゼ、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ又はＢＭＩ１の活性化に関連する遺伝子の発現も抑制した。シルムツズマブは、Ｒａｇ２$^{－}$／$^{－}$γｃ$^{－}$／$^{－}$マウスに生着する又は転移を起こす乳がん細胞の能力も損なった。最後に、シルムツズマブとパクリタキセルの組合せは、乳がんＰＤＸを根絶するのにどちらかの薬剤単独よりも有効であり、シルムツズマブが進行乳がんを抱えた患者の処置成績を改善する可能性があることを示している。

【０２１６】

化学療法前後のＲＯＲ１及び他の遺伝子の発現

本発明者らは、治療の前に、ＨＥＲ２陰性乳腺腫瘍生検に関するＰｕｂＭｅｄ遺伝子発現オムニバス（ＧＥＯ）データベース（ＧＳＥ８７４５５）（Ｋｉｍｂｕｎｇら、２０１８年）を調べた。本発明者らは、それぞれの検体（Ｎ＝１２２）に関するデータをＲＯＲ１のその相対的発現に基づいて２つの下位群に分離した。中央値レベルよりもＲＯＲ１転写物が多い試料はＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$（Ｎ＝６１）と命名し、ＲＯＲ１が少ない腫瘍試料はＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$と命名した。遺伝子セットエンリッチメント（ＧＳＥ）解析により、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$腫瘍と比べて、ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$腫瘍は集団としてＲｈｏ－ＧＴＰアーゼ（Ｌｉｂｅｒ

ｚｏｎら、２０１１年；Ｓｃｈａｅｆｅｒら、２００９年）、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ（Ｌｉら、２０１７年）又はＢＭＩ１（Ｗｉｅｄｅｒｓｃｈａｉｎら、２００７年）の活性化に関連する遺伝子をより高いレベルで発現することが明らかになった（図１Ａ）。ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$腫瘍と比べて、ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんは、胚性幹細胞においてＯｃｔ４又は転写調節因子をコードするＮＯＳ活性化標的のサブセット（ＮＯＳ　ＴＦ）を含む胚性幹細胞同一性のＮＯＳ標的調節因子により結合され活性化されるプロモーターを持つ胚性幹細胞関連遺伝子もより高いレベルで有していた（表１）（Ｂｅｎ－Ｐｏｒａｔｈら、２００８年）。最後に、ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんは、非－ＣＤ４４$^{+}$／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$又はすべての腫瘍細胞のレベルと比べて、ＣＤ４４$^{+}$／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$において、又はマンモスフェア（ＭＳ）形成細胞において示差的に上方調節されている遺伝子をより高いレベルで有していた（Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎら、２００９年）。別のＧＥＯデータベース（ＧＳＥ２１９７４）（Ｓｔｉｃｋｅｌｅｒら、２０１１年）に記載される試料を同じようにＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$及びＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$下位群に分離すると、類似する関連が明らかになった（図６Ａ）。

【０２１７】

ＧＳＥ８７４５５データセットは、化学療法前（プレ）及び後（ポスト）に得られる腫瘍組織（Ｎ＝５７）に関するデータを持ち、この化学療法は４サイクルのエピルビシンプラスドセタキセル及びベバシズマブからなっていた。適合するポスト－及びプレ－処置検体間の遺伝子発現の違いは、ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$対ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんの遺伝子発現の違いに類似していた。解析した３４，６９４遺伝子のうち、本発明者らは、その適合するプレ処置生検と比べてポスト処置生検において、又はＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$腫瘍と比べてＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$腫瘍において、１，０００のもっとも高発現した及び１，０００のもっとも低発現した遺伝子を識別した。化学療法後、１，０００のもっとも高発現した転写物のうちの３６５は、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$がんと比べてＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$がんによりもっとも高発現された１，０００の中にあり（例えば、ＡＬＤＨ１Ａ１）、３つだけがＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$腫瘍と比べてＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$腫瘍によりもっとも高発現された１，０００の中にあった（ｐ＜０．０００１、フィッシャー直接検定）。同様に、化学療法後、１，０００のもっとも低発現した転写物のうちの１９０も、ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$腫瘍と比べてＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんでのもっとも低発現された１，０００の中にあり、ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$がんと比べてＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$腫瘍により低発現された転写物はこれらにはなかった（ｐ＜０．０００１、フィッシャー直接検定）。

【０２１８】

本発明者らは、ＧＳＥ８７４５５に記載される５７のポスト処置がん生検のうちの４３（７６％）が、その適合するプレ処置生検よりも高いレベルのＲＯＲ１を発現し、４８（８４％）がその適合するプレ処置生検よりも高いレベルのＡＬＤＨ１Ａ１を発現したことに注目した（図１Ｂ）。類似する所見は、ＧＳＥ２１４５７に記載される試料について観察された（図６Ｂ）。さらに、ポスト処置がん細胞は、プレ処置検体よりも、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ又はＢＭＩ１の活性化に関連するより高いレベルの遺伝子を有していた（図１Ｃ）。さらに、ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$腫瘍について注目されるように、ポスト処置乳がん細胞は、胚性幹細胞又はＣＤ４４$^{+}$／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$　ＣＳＣに関連する、より高いレベルの遺伝子を発現した（表１）。反対に、ＣＤ４４$^{+}$／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$　ＣＳＣにおいて又はＭＳ形成細胞において、非ＣＳＣ又は全腫瘍集団のレベルと比べて低いレベルで発現された遺伝子は、ポスト治療検体において低発現され（表１）（Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎら、２００９年）、ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$腫瘍に比べてＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$試料においては高発現されていた（表１）。まとめると、これらのデータは、ＲＯＲ１が乳房ＣＳＣについてのマーカーであること及び／又はＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$腫瘍細胞が化学療法を用いた場合選択的利点があることを暗示している。

【０２１９】

化学療法前後のＲＯＲ１、ＴＡＺ及びＢＭＩ１の発現

ＴＡＺはＨｉｐｐｏ－ＹＡＰが活性化すると蓄積するので（Ｐａｒｋら、２０１５年）、本発明者らは、免疫ブロットを通じてＲＯＲ１、ＴＡＺ及びＢＭＩ１について処置を受けたことがない患者（Ｎ＝２３）由来の原発がんを調べた。注目されるように（Ｚｈａｎ

ｇら、２０１２ａ）、＞６０％の原発乳がんが検出可能なＲＯＲ１を有していた（図１Ｄ及び表２）。さらに、ＲＯＲ１の発現は、ＴＡＺ（図１Ｅ及び表２、ピアソンＲ＝０．５６、Ｐ＜０．０１、Ｎ＝２３）又はＢＭＩ１（図１Ｄ及び１Ｅ並びに表２、ピアソンＲ＝０．９９、Ｐ＜０．０００１、Ｎ＝２３）の発現と相関していた。

【０２２０】

本発明者らは、浸潤性乳管癌に罹った患者（Ｎ＝２２）由来のホルマリン固定パラフィン包埋プレ－及びポスト－治療生検材料を入手し、この患者たちはドセタキセル、エピルビシン及び／又はシクロホスファミドで処置を受け、免疫組織化学を通じてＲＯＲ１について調べられていた。２２の適合する検体のうち、１４（６４％）が治療後ＲＯＲ１を増加させており、７（３２％）が変化のないレベルのＲＯＲ１を有していた（図１Ｆ～１Ｇ、表３）。ポスト処置検体の１つだけがプレ処置試料よりも低いレベルのＲＯＲ１を有していた（表３）。これらの所見は、トランスクリプトームデータを調べて得た所見を実証しており、がんが一般に化学療法後にＲＯＲ１＋細胞について濃縮されることを示している。

【０２２１】

ＲＯＲ１$^{+}$乳がん細胞は乳房ＣＳＣの特長を有している

本発明者らは、Ｒａｇ２$^{－}$／$^{－}$γｃ$^{－}$／$^{－}$マウスにおいて乳がんＰＤＸを樹立した（表４）。ＰＤＸは原発腫瘍に一般的に見出される異種性を保持しており、この腫瘍は典型的にはＣＳＣの特徴を持つわずかな割合の細胞を有している。例えば、ＰＤＸ１又はＰＤＸ４において腫瘍細胞のそれぞれ０．６％又は６．５％だけが検出可能なＡＬＤＨ１酵素活性を有していた（表４）。にもかかわらず、そのような腫瘍細胞並びにＣＤ４４及び低レベルＣＤ２４を同時発現した腫瘍細胞は、ＡＬＤＥＦＬＵＯＲ陰性であった、又はＣＤ４４及びＣＤ２４に陰性であった同じ腫瘍のがん細胞よりも高いレベルのＲＯＲ１を発現した（図７Ａ～７Ｃ）。もっとも高いレベルのＲＯＲ１を有していたＰＤＸ（ＰＤＸ４及びＰＤＸ５）は、もっとも高いレベルのＣＳＣマーカー及びＢＭＩ１も有していた（図７Ｄ～７Ｅ）。さらに、高いレベルのＲＯＲ１を有するＰＤＸは、共焦点顕微鏡により評価した場合、低から検出不能までのＲＯＲ１を有する同じＰＤＸのがん細胞よりも有意に高いレベルの核ＹＡＰ／ＴＡＺを有していた（図７Ｆ、Ｐ＜０．０５）。

【０２２２】

本発明者らは、高い割合のＲＯＲ１＋細胞を有するＰＤＸが、ＲＯＲ１＋細胞が比較的少ないＰＤＸよりも有意に大きな数のスフェロイドを形成することを見出した（図７Ｇ）。さらに、高い割合のＲＯＲ１＋細胞を有するＰＤＸの腫瘍細胞がマトリゲルにおいて、ＲＯＲ１＋細胞が少ないＰＤＸの腫瘍細胞よりも浸潤性であった（図７Ｈ）。

【０２２３】

本発明者らは、それぞれのＰＤＸ由来の等しい数の腫瘍細胞をＲａｇ２$^{－}$／$^{－}$γｃ$^{－}$／$^{－}$マウスに移植し、生着をモニターした。高い割合のＲＯＲ１＋細胞を有するＰＤＸ（例えば、ＰＤＸ４又はＰＤＸ５）由来の細胞を使用して形成された腫瘍のほうが、ＲＯＲ１＋細胞が少ないＰＤＸ（例えば、ＰＤＸ１又はＰＤＸ２、図２Ａ）から成長した腫瘍よりも速く成長した。二次ＰＤＸのサイズが３００ｍｍ$^{3}$に到達すると、マウスを１３．４ｍｇ／ｋｇのパクリタキセルを用いて５日連続で処置し、腫瘍退縮を観察した（図２Ａ）。高い割合のＲＯＲ１＋細胞を有するＰＤＸ（例えば、ＰＤＸ４又はＰＤＸ５）由来の腫瘍は、ＲＯＲ１＋細胞が少ないＰＤＸ（例えば、ＰＤＸ１又はＰＤＸ２、図２Ａ）由来の腫瘍とは対照的に、治療のすぐ後で再成長したことに本発明者らは注目した。

【０２２４】

本発明者らは、ＰＤＸ４又はＰＤＸ５由来の腫瘍を切除し、パクリタキセルで処置したマウスの残りの腫瘍のほうが、パクリタキセルを受けなかったマウスの適合する腫瘍又は最初のＰＤＸよりも高い割合のＲＯＲ１＋細胞を有することを見出した（図２Ｂ及び図７Ｉ、ＰＤＸ４：６１．７％±７．０％対４．５％±１．１％、ＰＤＸ５：５６．４％±６．４％対８．５％±５．８％）。先行研究（Ｓａｍａｎｔａら、２０１４年）において注目されたように、パクリタキセルで処置したマウスの腫瘍も、未処置のマウスの適合する

腫瘍又は最初のＰＤＸよりも高い割合のＡＬＤＨ１発現細胞を有していた（図７Ｊ）。最後に、パクリタキセルで処置したマウスの腫瘍は、未処置のマウスの適合する腫瘍又は最初のＰＤＸと比べて、スフェロイドを形成する、マトリゲルに侵入する又はＲａｇ２－／－γｃ－／－マウスに再生着することができる細胞について濃縮されていた（図２Ｃ～２Ｅ）。

【０２２５】

本発明者らは、シルムツズマブにより認識されるエピトープとは異なるＲＯＲ１のエピトープに結合するｍＡｂである４Ａ５を使用してフローサイトメトリーを通じてＰＤＸ４又はＰＤＸ５からＲＯＲ１＋及びＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$乳がん細胞を単離した（図７Ｋ）。ＲＯＲ１＋細胞はＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$細胞よりも有意に大きな数のスフェロイドを形成し、ＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$細胞が形成するスフェロイドはわずかである又は全くなかった（図７Ｌ）。さらに、ＲＯＲ１＋細胞は、同じ腫瘍のＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$がん細胞よりもマトリゲルにおいて有意に浸潤性であった（図７Ｍ）。

【０２２６】

ＰＤＸ４又はＰＤＸ５由来の限られた数の腫瘍細胞を用いて腫瘍形成能アッセイを実施した。それぞれのＰＤＸ由来の５００のＲＯＲ１＋細胞は、大半のマウスで二次ＰＤＸを樹立することができた（図７Ｎ）。これとは対照的に、同数のＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$細胞は、２，３の動物を除いて腫瘍を形成しなかった（図７Ｎ）。同様に、先行研究（Ａｌ－Ｈａｊｊら、２００３年；Ｇｉｎｅｓｔｉｅｒら、２００７年）で注目されたように、これらのＰＤＸから単離されたＡＬＤＨ１＋、又はＣＤ４４＋／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$細胞も、同じＰＤＸのＡＬＤＨ１$^{Ｎｅｇ}$又はＣＤ４４＋／ＣＤ２４＋細胞よりも二次ＰＤＸを形成する有意に大きな能力を有していた（表５）。

【０２２７】

シルムツズマブはＲｈｏ－ＧＴＰアーゼ、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ及びＢＭＩ１のＷｎｔ５ａ誘導ＲＯＲ１依存性活性化を阻害する

本発明者らは、基本タイプの乳がん細胞株Ｈｓ５７８ＴにおいてＣＲＩＳＰＲ／Ｃａｓ９を通じてＲＯＲ１の発現を失わせた（図３Ａ）。外因性Ｗｎｔ５ａは、野生型のＨｓ５７８Ｔ細胞（ｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔ）において１０分以内にＲａｃ１、ＲｈｏＡ及びｃｄｃ４２の活性化を誘導することができたが、ＲＯＲ１を欠くＲＯＲ１＿／＿Ｈｓ５７８Ｔ細胞（ＲＯＲ１＿／＿Ｈｓ５７８Ｔ）ではできなかった（図３Ａ）。さらに、シルムツズマブでの処置により、ｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔ細胞においてＲａｃ１、ＲｈｏＡ又はｃｄｃ４２の活性化を誘導する外因性Ｗｎｔ５ａの能力が阻害されたが、無関係な特異性のヒトＩｇＧ（ｈＩｇＧ）では阻害されなかった（図３Ｂ）。Ｗｎｔ５ａでの処置でも、ｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔ細胞ではＹＡＰ／ＴＡＺの発現及び核移行が増強されたが、ＲＯＲ１＿／＿Ｈｓ５７８Ｔでは増強されなかった（図３Ｃ及び３Ｄ）。

【０２２８】

シルムツズマブでの処置で、ｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔ細胞でのＹＡＰ／ＴＡＺの発現又は核移行を誘導する外因性Ｗｎｔ５ａの能力も阻害された（図３Ｅ及び３Ｆ）。

【０２２９】

２時間の外因性Ｗｎｔ５ａでの処置により、ｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔ細胞ではＢＭＩ１タンパク質の発現は増強できたが、ＢＭＩ１　ｍＲＮＡの発現は増強されず、ＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔ細胞ではＢＭＩ１タンパク質の発現は増強されず（図３Ｇ及び図８Ａ）、Ｗｎｔ５ａがＢＭＩ１を転写後様式で上方調節していることが示唆される。ＲＯＲ１に依存しているＷｎｔ５ａのこの効果と一致して、ｗｔ－Ｈｓ５７８ＴにおいてＢＭＩ１の発現を増強するＷｎｔ５ａの能力をシルムツズマブが阻害することができることに本発明者らは注目した（図３Ｇ）。

【０２３０】

本発明者らは、Ｈｓ５７８ＴをＷｎｔ５ａで処置するとＡＫＴのリン酸化を誘導できるかどうかを調べたが、これによりＢＭＩ１のプロテアソーム分解を阻害してその蓄積を促進することができると先行研究で分かっていた（Ｋｉｍら、２０１１年）。Ｗｎｔ５ａは

、ｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔ細胞ではＡＫＴ－リン酸化を誘導したが、ＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔ細胞では誘導しなかった（図３Ｇ）。一方、ＡＫＴに特異的な低分子干渉ＲＮＡ又はＡＫＴの小分子阻害剤（ＭＫ－２２０６）でｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔを処置すると、ＡＫＴの活性化を誘導するＷｎｔ５ａの能力が損なわれ、ＢＭＩ１の発現を増強するＷｎｔ５ａの能力も阻害された（図３Ｈ及び図８Ｂ）。シルムツズマブで処置しても、ＡＫＴの活性化又はＢＭＩ１の発現を誘導するＷｎｔ５ａの能力は阻害され（図３Ｉ～３Ｊ）、これらＷｎｔ５ａ効果がＲＯＲ１シグナル伝達に依存していることが示唆された。

【０２３１】

機能的には、ＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔ細胞が形成したスフェロイドはｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔ細胞より有意に少なかった（図３Ｋ）。その上、外因性Ｗｎｔ５ａで処置すると、ｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔ細胞の浸潤を増強することはできたが、ＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔはできなかった（図３Ｌ）。最後に、ＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔ細胞のほうがｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔ細胞よりも、パクリタキセルを用いた処置に感受性であった。さらに、外因性Ｗｎｔ５ａは、パクリタキセルに対するｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔの抵抗性を増強できたが、ＲＯＲ１－／－Ｈｓ５７８Ｔではできなかった（図３Ｍ）。

【０２３２】

シルムツズマブは、ｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔを増強してスフェロイドを形成させる（図３Ｎ）又はマトリゲルに侵入させる（図３Ｏ）外因性Ｗｎｔ５ａの能力を阻害した。さらに、シルムツズマブを用いた処置により、パクリタキセルに対するｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔの感受性が増強され、パクリタキセルに対するｗｔ－Ｈｓ５７８Ｔの抵抗性を増強するＷｎｔ５ａの能力が阻害されたが、非特異的ｈＩｇＧを用いた処置ではできなかった（図３Ｐ）。

【０２３３】

シルムツズマブは乳がんＰＤＸの再生着を阻害する

本発明者らは、変わりやすいレベルのＷｎｔ５ａを発現した原発乳がん細胞上でシルムツズマブの活性を調べた（図９Ａ）。それぞれのＰＤＸから単離された腫瘍細胞を、共焦点顕微鏡観察の前に５０μｇ／ｍｌのシルムツズマブで４時間処置した。これにより、シルムツズマブで処置された原発乳がん細胞が有する核ＹＡＰ／ＴＡＺが、対照ｈＩｇＧで処置された同じＰＤＸ由来の腫瘍細胞よりも有意に少ないことが明らかになった（図９Ｂ）。

【０２３４】

経時的研究により、シルムツズマブは６時間以内にＢＭＩ１の発現を減らすことができたが、非特異的ｈＩｇＧはできないことが明らかになった（図９Ｃ）。シルムツズマブは、スフェロイドを形成する又はマトリゲルに侵入する乳がんＰＤＸの能力も阻害した（図９Ｄ～９Ｅ）。シルムツズマブの隔週の静脈内注入（１０ｍｇ／ｋｇで）により、ＰＤＸ腫瘍の発達及び成長が有意に抑制された（図４Ａ～４Ｂ及び図９Ｆ）。さらに、シルムツズマブ処置（Ｎ＝０／マウス）対対照処置（Ｎ＝２／マウス）動物間の肺転移の数で注目される差は統計的に有意であった（Ｐ＜０．０５、スチューデントｔ検定）。

【０２３５】

本発明者らは、シルムツズマブ処置マウス（Ｎ＝４）から切除した腫瘍対対照Ｉｇ処置マウス（Ｎ＝４）から切除した腫瘍のトランスクリプトームを調べ、ＲＮＡ－ｓｅｑデータに関するＧＳＥ解析（ＧＳＥ１０８６３２）を実施した。シルムツズマブ処置マウスのＰＤＸから単離した腫瘍細胞は、対照処置マウス由来のＰＤＸの腫瘍細胞よりも、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ若しくはＢＭＩ１の活性化、又はＣＤ４４＋／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$腫瘍細胞に関連する遺伝子の発現が有意に低かった（図４Ｄ）。シルムツズマブ処置マウスのＰＤＸは、対照処置マウスのＰＤＸよりも、免疫ブロット解析によるＲＯＲ１のレベルも低く、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼの活性化に関連する遺伝子レベルも低減し、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ（例えば、ＣＴＧＦ）又はＢＭＩ１（例えば、ＡＢＣＧ２）により標的にされる遺伝子のレベルも低かった（図４Ｅ）。シルムツズマブ処置マウスの腫瘍は、対照ｈＩｇＧ処置マウスの腫瘍よりも、ＣＳＣのマーカーを担持する細胞（例えば、ＣＤ４４＋／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$集団）の割合も有意に低く、ＣＤ４４＋／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$腫瘍細

胞により通常高レベルで発現される遺伝子の発現も低かった（図４Ｆ）。

【０２３６】

本発明者らは、シルムツズマブ又は対照ｈＩｇＧで処置したマウスからＰＤＸの腫瘍細胞を単離し、Ｒａｇ２－／－γｃ－／－マウスにおいて二次ＰＤＸを形成するその相対的能力を調べた。シルムツズマブ処置マウス由来のＰＤＸの腫瘍細胞は、対照処置動物由来の同じＰＤＸの腫瘍細胞よりも、マウスに生着する効力が有意に低かった（図４Ｇ）。まとめると、これらのデータは、シルムツズマブでの処置が乳房ＣＳＣの成長及び自己再生を阻害できることを示している。

【０２３７】

パクリタキセル及びシルムツズマブはそれぞれ単独よりも大きな腫瘍クリアランスを達成する

本発明者らは、ＰＤＸ４又はＰＤＸ５由来の等しい数の腫瘍細胞をシルムツズマブ又は対照ｈＩｇＧを５０μｇ／ｍｌ用いて一晩処置し、次に漸増濃度のパクリタキセルを用いて別々のウェルで３通り細胞を培養した。シルムツズマブでの処置は、パクリタキセルの細胞毒性効果に対する乳がん細胞の感受性を有意に増強した（例えば、ＰＤＸ４のＩＣ５０：シルムツズマブでの１４±１μｍ対非特異的ｈＩｇＧでの２３±１μｍ、Ｐ＜０．００１、スチューデントｔ検定、図１０）。

【０２３８】

本発明者らは、ＰＤＸ４－又はＰＤＸ５担持マウスをシルムツズマブ（１０ｍｇ／ｋｇ）、パクリタキセル（１３．４ｍｇ／ｋｇ）（Ｄｅｓａｉら、２００６年）又はシルムツズマブとパクリタキセルの組合せを用いて処置した。シルムツズマブとパクリタキセルを用いての処置は、シルムツズマブ又はパクリタキセルのいずれか単独での処置よりも腫瘍量を低減するのに有意に効力があり（図５Ａ）、シルムツズマブとパクリタキセルのそれぞれは対照処置動物の腫瘍成長と比べて腫瘍成長を阻害した。シルムツズマブとパクリタキセルを用いて処置したマウスのＰＤＸから単離した腫瘍細胞は、パクリタキセル単独で処置した腫瘍細胞よりも、ＲＯＲ１のレベルを低減し、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼ及びＡＫＴの活性化を低減し、ＹＡＰ／ＴＡＺのレベルを低減し、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ標的遺伝子（例えば、ＣＴＧＦ）の発現レベルは低くなり、ＢＭＩ１のレベルは低くなり、ＢＭＩ１標的遺伝子（例えば、ＡＢＣＧ２）の発現レベルは低くなった（図５Ｂ）。これらのデータは、シルムツズマブとパクリタキセルの組合せが相補的な抗腫瘍活性を有していたことを示している。

【０２３９】

本発明者らは、治療後に再発したＰＤＸの腫瘍細胞を単離し、免疫欠損マウスに再生着するその能力を調べた。単剤パクリタキセルで処置されたマウス由来のＰＤＸの腫瘍細胞は二次ＰＤＸを容易に生じることが分かった。しかし、シルムツズマブで処置されたマウスから回収された腫瘍細胞は、対照ＩｇＧ処置動物から回収された腫瘍細胞でさえよりも、二次ＰＤＸを生じるのに効力は少なかった。一方、シルムツズマブとパクリタキセルで処置されたマウスから単離された腫瘍細胞を生着させたマウスで、検出可能な腫瘍を生じたものはなかった（図５Ｃ）。

【０２４０】

化学療法を用いた処置に続く腫瘍再発はＣＳＣの亜集団によって駆動されることがあり、ＣＳＣは標準化学療法に相対的に抵抗性であり自己再生及び／又は腫瘍開始能力を有する（Ｂｒｏｏｋｓら、２０１５年；Ｗａｈｌ及びＳｐｉｋｅ、２０１７年）。この意見に一致して、本発明者らは、従来の化学療法後の残りの乳がん細胞のほうが、化学療法の前に入手した適合する腫瘍検体よりもＣＳＣマーカー及びＣＳＣに関連する遺伝子（例えば、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ又はＢＭＩ１標的遺伝子）の発現が多いことを観察した。先行研究では、パクリタキセル処置動物から単離したＰＤＸは、乳房ＣＳＣの特長を有する細胞について濃縮されていることに注目していた（Ｂｈｏｌａら、２０１３年；Ｓａｍａｎｔａら、２０１４年）。乳がんは化学療法後ＲＯＲ１＋細胞についても濃縮されていることを本発明者らは見出し、ＲＯＲ１がＣＳＣについてのマーカーであり、これは化学療法で選

択され及び／又は誘導されると思われることが暗示された（Ｗａｈｌ及びＳｐｉｋｅ、２０１７年）。

【０２４１】

ＲＯＲ１が乳房ＣＳＣ細胞についてのマーカーの役目を果たす可能性があることは、治療に先立つ乳がん生検患者の遺伝子発現データの解析において示された。本発明者らは、ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$乳がんがＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$乳がんよりも高いレベルのＡＬＤＨ１Ａ１及びＣＳＣに関連する他の遺伝子を発現することを見出した。さらに、同じ腫瘍の分別されたＲＯＲ１＋がん細胞は、同じ腫瘍のＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$細胞よりも高いレベルのＣＳＣ関連遺伝子を発現した。さらに、ＲＯＲ１＋腫瘍細胞のほうが、同じ腫瘍由来のＲＯＲ１$^{Ｎｅｇ}$腫瘍細胞よりも、スフェロイドを形成し、マトリゲルに侵入し、免疫欠損マウスに生着する能力が大きかった。まとめると、これらの研究により、ＲＯＲ１が乳ＣＳＣについてのマーカーであることが示される。

【０２４２】

ＲＯＲ１はＣＳＣについてのマーカーというだけではなく、明らかにＣＳＣの維持に機能的な役割も果たしている。本発明者らは、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼの活性化に関連する遺伝子の発現がＲＯＲ１を発現する乳がん細胞では増加していること、及びＷｎｔ５ａがＲｈｏ－ＧＴＰアーゼ活性化をＲＯＲ１依存的様式で増強できることを見出した。先行研究では、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼシグナル伝達はヒト乳腺腫瘍では変更されており、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼの上昇した発現及び活性化は腫瘍進行、転移及び予後不良と相関することが見出されていた（Ｆｒｉｔｚら、１９９９年；ＭｃＨｅｎｒｙ及びＶａｒｇｏ－Ｇｏｇｏｌａ、２０１０年）。さらに、Ｒａｃ１の活性化は、多分割照射処置に応答して乳がん細胞の生存を促進する可能性がある（Ｈｅｉｎら、２０１６年）。

【０２４３】

ＲＯＲ１はＨｉｐｐｏ－ＹＡＰ経路の活性化にも寄与する。ＹＡＰ／ＴＡＺはＨｉｐｐｏ－ＹＡＰ経路の重要な媒介物であり、この経路は、胚性又は誘導性多能性幹細胞において幹細胞性を促進し、並びにがん細胞遊走及び侵襲性、化学療法に対する抵抗性及び遠隔転移を形成する能力を増加させることにより腫瘍形成を促進することができる（Ｂａｒｔｕｃｃｉら、２０１５年；Ｃｈａｎら、２００８年；Ｈｉｅｍｅｒら、２０１４年；Ｍｏら、２０１４年；Ｍｏｒｏｉｓｈｉら、２０１５年；Ｔａｍｍら、２０１１年）。先行研究によれば、Ｒｈｏ－ＧＴＰアーゼシグナル伝達が、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ経路にヒト胚性幹細胞生存及び自己再生を持続するように指示する可能性があることが見出された（Ｏｈｇｕｓｈｉら、２０１５年）。さらに、ＲＯＲ１とＦＺＤ２又はＦＺＤ５の同時発現は著しいＹＡＰ脱リン酸化及びＴＡＺ蓄積を誘導し、ＨＥＫ２９３Ａ細胞においてＨｉｐｐｏ－ＹＡＰシグナル伝達を活性化した（Ｐａｒｋら、２０１５年）。同様に、本発明者らは、ＲＯＲ１が原発乳がん細胞においてＴＡＺの発現及び核局在化に関連しており、Ｗｎｔ５ａがＲＯＲ１依存的様式でＹＡＰ／ＴＡＺの核蓄積を増強できることを見出した。

【０２４４】

原発乳がん検体におけるＢＭＩ１のレベルもＲＯＲ１のレベルと相関した。Ｗｎｔ５ａは、ＢＭＩ１の乳がん細胞発現において２時間以内にＲＯＲ１依存性増加を誘導することができた。ＢＭＩ１の急速な誘導は、Ｗｎｔ５ａ／ＲＯＲ１シグナル伝達がＢＭＩ１の転写後安定性を増強することを示唆しており、これはＡＫＴの活性化に依存していると思われる。活性化されたＡＫＴは、ＢＭＩ１を３つの高度に保存されたセリン残基でリン酸化して、ＢＭＩ１タンパク質代謝回転を減少させることができる（Ｍｕｒｇａら、２００２年；Ｎａｃｅｒｄｄｉｎｅら、２０１２年；Ｖｏｎｃｋｅｎら、２００５年）。この意見と一致して、本発明者らは、ＡＫＴを発現停止すると、ＲＯＲ１＋乳がん細胞においてＢＭＩ１を誘導するＷｎｔ５ａの能力が阻害されることを見出した。

【０２４５】

ＲＯＲ１の産後発現は事実上がん細胞に限られると思われる（Ｚｈａｎｇら、２０１２ａ）ので、ＲＯＲ１は抗がん治療の魅力的な標的である。シルムツズマブはＲＯＲ１に特異的なヒト化ｍＡｂであり、ＣＬＬに罹った患者において臨床評価を受けているところで

ある（Ｃｈｏｉら、２０１５年）。先行研究によれば、シルムツズマブは、Ｗｎｔ５ａに応答してＲＯＲ１＋ＣＬＬ細胞の増殖及び遊走を阻害できることが見出された（Ｙｕら、２０１６年）。ここで本発明者らは、シルムツズマブがＲｈｏ－ＧＴＰアーゼの活性化を阻害し、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ若しくはＢＭＩ１により標的される遺伝子、又はＣＤ４４＋／ＣＤ２４$^{Ｌｏｗ}$乳房ＣＳＣにおいて上方調節される遺伝子の発現を抑制できたことを示し、シルムツズマブがＣＳＣの維持及び遊走に必要とされるシグナル伝達を阻害する可能性があることを明らかにする。この意見と一致して、本発明者らは、シルムツズマブが、免疫欠損マウスに生着する又は遠隔転移を形成するＲＯＲ１＋乳腺腫瘍細胞の能力を抑制できることを見出した。さらに、本発明者らは、シルムツズマブが、おそらくＹＡＰ／ＴＡＺ又はＢＭＩ１標的遺伝子の活性化を阻害するその能力のために、インビトロでのパクリタキセルを用いた処置に対するＲＯＲ１＋腫瘍細胞の感受性を増強できることを見出したが、この活性化が薬物抵抗性に寄与することができると先行研究では示されていた（Ｋｒｅｓｏら、２０１４年；Ｗｕら、２０１１年）。

【０２４６】

ＣＳＣと非ＣＳＣ細胞の機能的な違いは、治療に対する応答及び治療後に再発する傾向に影響を及ぼすことがある（Ｗａｈｌ及びＳｐｉｋｅ、２０１７年；Ｗａｎｇら、２０１５年）。これは、インビボでのシルムツズマブとパクリタキセルの組合せ処置のほうがそれぞれの療法単独よりも大きな活性を樹立したＰＤＸに対して有していた理由を説明する可能性がある。したがって、１つがＣＳＣに向けられ（例えば、シルムツズマブ）１つが非ＣＳＣに向けられる（例えば、パクリタキセル）組合せ療法は相乗的治療活性があり、乳がん患者の改善された処置結果及び生存を潜在的に与える可能性がある。

【０２４７】

実験モデル及び対象の詳細

乳がん検体。ＲＯＲ１、ＴＡＺ又はＢＭＩ１の発現について調べた新鮮な凍結乳房組織は、病院当局及び患者の同意を得て、中国の北京大学深セン市病院から入手し、患者からは署名入りの告知に基づく同意を提供してもらった。すべてのプロトコルは北京大学深セン市病院の深セン市医学倫理委員会により承認を受けた。４４の適合ホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）腫瘍組織は、２００５年９月から２０１５年１月まで中国、中山大学がんセンターで浸潤性腺管癌と新たに診断された２２人の患者に由来していた。患者は全員が、ネオアジュバンド化学療法前にコア針生検又は摘出生検を受けた。化学療法後、患者は全員が外科的処置を受けた。本発明者らは、ネオアジュバンド化学療法前後のそれぞれの患者由来の適合ホルマリン固定パラフィン包埋組織を調べた。術前化学療法はドセタキセル、及び／又はドキソルビシン、及び／又はシクロホスファミドからなっていた。すべてのプロトコルは中山大学がんセンターの医学倫理委員会により承認を受けた。患者由来の異種移植片を作成するのに使用した原発乳腺腫瘍検体は患者から収集し、患者からは、ヘルシンキ宣言に従って、ＵＣのサンディエゴ校の施設内審査委員会により承認されたプロトコル（ＨＲＰＰ＃０９０４０１）により署名入りの告知に基づく同意を提供してもらった。

【０２４８】

患者由来異種移植片。生後４～８週のメスＲａｇ２$^{－／－}$γｃ$^{－／－}$マウスを、国立衛生研究所（ＮＩＨ）の実験動物の管理と使用に関する指針に従って、本研究で使用した。ＵＣサンディエゴ校医学実験動物管理委員会は研究プロトコルを承認した。マウスは特定病原体除去環境下ラミナーフローキャビネットに収容し、餌は自由に与えた。ＰＤＸは、機械的に細かく切り刻んだ新鮮な乳がん検体を使用して樹立した。これらのＰＤＸモデル由来の原発腫瘍組織の初期継代（Ｐ１～Ｐ５）は、機械的に細かく切り刻み、ＧｅｎｔｌｅＭＡＣＳ　Ｄｉｓｓｏｃｉａｔｏｒ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）を製造業者の説明書に従って使用して酵素的に及び機械的に分離した。赤血球は、ＰｅｒｃｏｌｌＴＭ　Ｐｌｕｓ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、ＣＣ－１７－５４４２－０１）において密度勾配遠心分離を通じて取り除いた。

【０２４９】

腫瘍原性アッセイ。細胞は乳腺上皮細胞成長培地（ＭＥＧＭ）に懸濁し、マトリゲル（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）と１対１比で混合し、次にＲａｇ２－／－γｃ－／－マウスの乳房パッド中に移植した。腫瘍の成長について毎週マウスをモニターした。連続５日間の静脈内注射を通じて１３．４ｍｇ／ｋｇのパクリタキセルでの処置後１０日目に腫瘍を摘出してＲＯＲ１の発現について腫瘍細胞を調べた。転移について調べるため、移植後４２又は４８日目にそれぞれの処置群から６匹のマウスの肺を収穫し、その組織をパラフィンに包埋する前に１０％ホルマリンで固定した。それぞれのパラフィンブロックは２００μｍの切片に切断した。腫瘍病巣は委員会認定の病理学者により盲検形式でスコア化した。シルムツズマブ単独又はパクリタキセルとの組合せが原発乳腺腫瘍細胞の生着を損なうかどうかを調べるため、ＰＤＸ４又はＰＤＸ５から単離した$1\times10^{5}$単細胞を生後４～６週のＲａｇ２－／－γｃ－／－マウスの乳房パッド中に注射した。腫瘍サイズが３００ｍｍ$^{3}$に到達すると、１３．４ｍｇ／ｋｇのパクリタキセルを連続５日間静脈内に注射した又は／及び１０ｍｇ／ｋｇのシルムツズマブを０日目、７日目、次に隔週静脈内に注射した。対照群にはシルムツズマブの代わりにｈＩｇＧを注射した。腫瘍量（ｖ）は、式ｖ＝（長さ）×（幅）２×０．４を使用して決定した。

【０２５０】

ＲＮＡ－Ｓｅｑ．試料調製及び塩基配列決定。全ＲＮＡは、トリアゾールＲＮＡ抽出プロトコルを使用し、続いてＲＮｅａｓｙカラム（Ｑｉａｇｅｎキット）を使用して精製し、対照ｈＩｇＧ又はシルムツズマブで処置されたマウスから切除した腫瘍組織から調製した。全ＲＮＡはＡｇｉｌｅｎｔ Ｔａｐｅｓｔａｔｉｏｎを使用して品質について評価した。試料は９．２～９．９の範囲に及ぶＲＮＡ完全性数（ＲＩＮ）を有していた。ＲＮＡライブラリーは、剪定時間を５分間まで変更しながら、Ｉｌｌｕｍｉｎａ’ｓ ＴｒｕＳｅｑ Ｓｔｒａｎｄｅｄ ｍＲＮＡ Ｓａｍｐｌｅ Ｐｒｅｐ Ｋｉｔを製造業者の使用説明書に従って使用して１μｇのＲＮＡから作成した。ＲＮＡライブラリーは多重化し、Ｉｌｌｕｍｉｎａ ＨｉＳｅｑ４０００上で、試料あたりおおよそ４０００万読取りデータの深さまで５０塩基対（ｂｐ）単一末端読取りデータ（ＳＲ５０）で塩基配列決定した。標準ＲＮＡ－ｓｅｑ解析パイプラインを８つの試料に適用した。手短に言えば、アダプターを取り除き、Ｃｕｔａｄａｐｔを使用して遅いシーケンシングサイクルでは低品質スコアの塩基の読取りデータを切り取った。このＣｕｔａｄａｐｔは、ハイスループット塩基配列決定読取りデータからアダプター配列を取り除く（Ｍａｒｃｅｌ、２０１１年）。次に、本発明者らは、ＳＴＡＲアライナー（ｖ２．５．２ｂ）を使用して読取りデータをヒトゲノムビルド３８にマッピングした（Ｄｏｂｉｎら、２０１３年）。ＲＳＥＭ（ｖ１．３．０）（Ｌｉ及びＤｅｗｅｙ、２０１１年）を使用して、読取りデータアライメント及びＥｎｓｅｍｂｌ遺伝子モデル（ｖ８３）から生の遺伝子カウントを得た（Ｙａｔｅｓら、２０１６年）。本発明者らはパッケージＤＥｓｅｑ２（Ｌｏｖｅら、２０１４年）を使用して読取りカウントデータを正規化し、パッケージｌｉｍｍａ（Ｒｉｔｃｈｉｅら、２０１５年）を使って差示的発現変動について評価した。データはＧＥＯデータベースに預けた（ＧＳＥ１０８６３２）。

【０２５１】

遺伝子セットエンリッチメント解析。本発明者らは、ＧＳＥＡソフトウェア（Ｓｕｂｒａｍａｎｉａｎら、２００５年）を使用して、受託番号ＧＳＥ８７４５５（Ｋｉｍｂｕｎｇら、２０１８年）及びＧＳＥ２１９７４．（Ｓｔｉｃｋｅｌｅｒら、２０１１年）下のＧＥＯデータベースにおいて入手可能な一次マイクロアレイデータに関して遺伝子セットエンリッチメント解析（ＧＳＥＡ）を行った。シルムツズマブ処置マウス又は対照マウスから単離されたＰＤＸ試料から作成されたＲＮＡ－ＳｅｑデータのＧＳＥＡも実施した。化学療法処置（Ｔｘ）ＧＳＥ２１９７４前（ｎ＝２５）若しくは後（ｎ＝２５）に得た５０の乳がん試料から、又はＧＳＥ８７４５５データセット由来の１２２の乳がん試料から得た遺伝子発現データを、ＲＯＲ１のその相対的発現によりランク付けした。これらの症例のうち、すべての試料についての中央より上のＲＯＲ１発現値を持つ腫瘍はＲＯＲ１Ｈｉと名付け、中央値よりも下のＲＯＲ１発現値を持つ腫瘍はＲＯＲ１Ｌｏｗと名付けた。

本発明者らは、遺伝子を、ＧＳＥＡシグナル対ノイズ比ランキングメトリックを使用して乳がん群とのその関連（ＲＯＲ１Ｈｉ対ＲＯＲ１Ｌｏｗ）によりランク付けした。ＧＳＥＡを３つの経路：ＢＩＯＣＡＲＴＡデータベースでのＲａｃ１、経路Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎデータベース（Ｌｉｂｅｒｚｏｎら、２０１１年；Ｓｃｈａｅｆｅｒら、２００９年）でのｃｄｃ４２、及びＩｎｇｅｎｕｉｔｙ経路データベース（ＩＰＡ（登録商標）、ＱＩＡＧＥＮ Ｒｅｄｗｏｏｄ Ｃｉｔｙ、ａｔ ｗｅｂｓｉｔｅ ｑｉａｇｅｎ．ｃｏｍ／ｉｎｇｅｎｕｉｔｙ）でのＲｈｏＡに焦点を合わせた。それぞれの遺伝子セットは、偽陽性率（ＦＤＲ）が２５％未満の場合は有意と見なした（Ｓｕｂｒａｍａｎｉａｎら、２００５年）。試験した遺伝子セットごとに、遺伝子セットサイズ（ＳＩＺＥ）、エンリッチメントスコア（ＥＳ）、正規化ＥＳ（ＮＥＳ）、名目ｐ値（ＮＯＭｐ－ｖａｌ）、及びＦＤＲｑ値（ＦＤＲｑ－ｖａｌ）を決定した。ＦＤＲｑ値は遺伝子セットサイズ及び多重仮説検定のために調整した。

【０２５２】

スフェロイド形成アッセイ。３００～１００００の生存単細胞を、超低接着表面６ウェル又は９６ウェルプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ Ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｅｄ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｃｏｒｎｉｎｇ、ＮＹ）上に蒔き、ＭＥＧＭＴＭ乳腺上皮細胞成長培地（Ｌｏｎｚａ、ＭＤ）において、１００ｎｇ／ｍｌの組換えＷｎｔ５ａ（Ｒ＆Ｄ ｓｙｓｔｅｍ）を用いて又はなしで１～３週間培養した。１００μｍより大きなサイズのスフェロイドを、倒立顕微鏡（Ｎｉｋｏｎ、Ｍｅｌｖｉｌｌｅ、ＮＹ）を使用して計数した。

【０２５３】

フローサイトメトリー解析。単細胞浮遊液をＦｃ－ブロッキング（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）で処置し、次に、フルオレセインコンジュゲート抗ＣＤ４４、フィコエリトリン（ＰＥ）コンジュゲート抗ＣＤ２４（Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）、Ａｌｅｘａ－６４７コンジュゲート４Ａ５（Ｆｕｋｕｄａら、２００８年）、ＰＥコンジュゲート抗ＥｐＣＡＭ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）で染色した。ＡＬＤＨ１活性は以前記載された方法（Ｚｈａｎｇら、２０１４年）に従って検出した。データは、ＦＡＣＳ－Ｃａｌｉｂｕｒ又はＦＡＣＳ－Ａｒｉａ（Ｂｅｃｔｏｎ Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）を使用して獲得し、ＦｌｏｗＪｏソフトウェア（Ｔｒｅｅ Ｓｔａｒ）を使用して解析した。前方光散乱（ＦＳＣ）及び側方散乱（ＳＳＣ）ゲート開閉を使用して、細胞片を締め出した。さらに、本発明者らは、ヨウ化プロピジウム（ＰＩ、Ｓｉｇｍａ）で染色した細胞を締め出し、生存細胞分析のためにカルセインバイオレット（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）で染色した細胞上でゲート開閉した。最後に、ヒトＥｐＣＡＭに特異的なｍＡｂに結合した細胞上でゲート開閉することにより、乳がん上皮細胞について調べることができた。

【０２５４】

細胞侵入アッセイ。原発腫瘍由来の$5\times10^{4}$生存単細胞をＭＥＢＭ成長培地（Ｌｏｎｚａ、ＭＤ）に懸濁し、侵入室に蒔き（８μｍ孔径、ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、シルムツズマブを用いて（５０μｇ／ｍｌ）又はなしで一晩培養した。下室は、ＮＩＨ３Ｔ３細胞から収集した無血清条件付き培地で満たした。細胞株についての侵入アッセイは記載された通りに（Ｃｕｉら、２０１３年）実施した。それぞれのインサートの頂端側の細胞をこすり取った。浸潤細胞は４％パラホルムアルデヒドで固定し、Ｄｉｆｆ－Ｑｕｉｃｋ染色キット（ＩＭＥＢ Ｉｎｃ、Ｓａｎ Ｍａｒｃｏｓ、ＣＡ）により染色し、倒立顕微鏡（Ｎｉｋｏｎ）で視覚化した。

【０２５５】

免疫組織化学染色。免疫組織化学染色のため、マウス異種移植片から切除した原発腫瘍又は肺器官をホルマリンに固定した。肺組織切片を調製し、記載の通り（Ｚｈａｎｇら、２０１２ａ）、Ｈｅｍａｔｏｘｙｌｉｎ＆Ｅｏｓｉｎ（Ｈ＆Ｅ）、Ｈｅｍａｔｏｘｙｌｉｎ及び／又は抗ＲＯＲ１抗体（４Ａ５）で染色した。画像はＤｅｌｔａ Ｖｉｓｉｏｎ顕微鏡を使用して収集した。ＲＯＲ１のレベルは次のスケールでスコア化した：スコア０は、試料中のがん細胞が抗ＲＯＲ１ｍＡｂで全く染色しなかったことを示す；スコア１は、腫瘍細胞へのｍＡｂの低レベル結合又は腫瘍細胞の５０％未満へのｍＡｂの低～中程度レ

ベル結合を示す；スコア２は、５０％を超える腫瘍細胞上の中程度レベル染色又は５０％未満の腫瘍細胞上の腫瘍細胞の高レベル染色を示す；スコア３は、５０％を超える腫瘍細胞上の腫瘍細胞の高レベル染色を示す。すべての染色は、委員会認定の病理学者により評価された。

【０２５６】

免疫蛍光染色。細胞はカバーガラス上で適切な密度まで培養した又は種々の処置後細胞遠心分離機を使用することによりスライド上にスピンした。細胞は４％パラホルムアルデヒドで固定し、ＰＢＳ中０．１％のＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００で透過処理した。細胞はＰＢＳで２回洗浄後、ＰＢＳ中１％ＢＳＡで３０分間ブロックした。対照抗体又はウサギ抗ＹＡＰ／ＴＡＺ及びマウス４Ａ５をブロッキングバッファーに添加し１時間半インキュベートした。細胞をＰＢＳで洗浄後、細胞は、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　５９４コンジュゲート抗ラビット二次抗体又はＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８コンジュゲート抗マウス二次抗体と一緒に１．５時間インキュベートした。次に、細胞は再び洗浄し、次にＤＡＰＩ付きのＰｒｏＬｏｎｇ　Ｇｏｌｄ褪色防止試薬（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用してスライド上に乗せた。画像はＯｌｙｍｐｕｓ　ＦＶ１０００共焦点顕微鏡を使用することにより入手し解析した。核局在化ＹＡＰ／ＴＡＺのパーセントは、ＩｍａｇｅＪソフトウェアの強度測定により解析した。核局在化ＹＡＰ／ＴＡＺは、全細胞のＹＡＰ／ＴＡＺシグナル強度からサイトゾル中のＹＡＰ／ＴＡＺシグナル強度を引くことにより計算される。核ＹＡＰ／ＴＡＺのパーセントは、核局在化ＹＡＰ／ＴＡＺシグナルを全細胞についてのＹＡＰ／ＴＡＺシグナルで割ることにより計算される。

【０２５７】

ＢｒｄＵ組込みＥＬＩＳＡ。異なる処置をした又はしていない３００～１０，０００細胞を９６ウェルプレートに蒔き、３日間培養した。ＢｒｄＵ細胞増殖ＥＬＩＳＡ（酵素結合免疫吸着アッセイ、Ｒｏｃｈｅ）を製造業者の使用説明書に従って実施した。手短に言えば、ＢｒｄＵを培地に添加し、細胞を一晩培養した。次に、細胞を固定し、９６ウェルプレートのウェルにおいて透過処理し、ＢｒｄＵに特異的なペルオキシダーゼコンジュゲート抗体と一緒に２時間インキュベートした。テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）基質をペルオキシダーゼ検出用に使用した。生存細胞の数は、ＢｒｄＵ細胞増殖ＥＬＩＳＡにより測定された同じ細胞の異なる数から導かれた標準曲線を使用して計算した。生存細胞のパーセントは、処置なしの生存細胞の数に正規化された異なる処置群を用いた生存細胞の数により計算した。

【０２５８】

免疫ブロット解析。免疫ブロット解析を通したタンパク質についての試験のために使用された細胞は、対照抗体又はシルムツズマブ（５０μｇ／ｍｌ）で一晩処置し、次に、組換えＷｎｔ５ａ（１００ｎｇ／ｍｌ）を補充された又はなしの培地で培養した。処置された細胞又は組織は、プロテアーゼ阻害剤（Ｐｉｅｒｃｅ）を補充された、１％のＮＰ４０、０．１％のＳＤＳ、０．５％のデオキシル酸ナトリウムを含有するバッファー中で溶解した。サイズで分離されたタンパク質を膜に移し、次のこの膜は、ＲＯＲ１、ＹＡＰ／ＴＡＺ、ＢＭＩ－１、ＡＢＣＧ２、ｐＡＫＴ　ＡＫＴ、βアクチン（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）、Ｒａｃ１、ＲｈｏＡ、ｃｄｃ４２（Ｃｙｔｏｓｋｅｌｅｔｏｎ）、ＣＴＧＦ（Ａｂｃａｍ）又はＷｎｔ５ａ（Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍ）に特異的な一次抗体と一緒にインキュベートした。非結合抗体を洗い流した後、膜は、西洋ワサビペルオキシダーゼをコンジュゲートされた二次抗体と一緒にインキュベートされた。次に、増強された化学発光及びオートラジオグラフィー用にブロットを調製した。タンパク質濃度は、ビシンコニン酸タンパク質アッセイ（Ｐｉｅｒｃｅ）を使用して決定した。

【０２５９】

活性化されたＲｈｏＡ、Ｒａｃ１及びＣｄｃ４２についてのアッセイ。ＲｈｏＡ及びＲａｃ１活性化アッセイ試薬はＣｙｔｏｓｋｅｌｅｔｏｎから購入し、製造業者の使用説明書に従って使用した。手短に言えば、ＧＴＰ結合活性ＲｈｏＡ、Ｒａｃ１又はＣｄｃ４２はそれぞれＲｈｏｔｅｋｉｎ－ＲＢＤ又はＰＡＫ－ＰＢＤビーズでプルダウンし、次に、

免疫ブロット解析にかけた。全細胞可溶化液の免疫ブロットを使用して、全ＲｈｏＡ、Ｒａｃ１又はＣｄｃ４２について評価した。バンドの集積光密度（ＩＯＤ）はデンシトメトリーにより評価し、Ｇｅｌ－Ｐｒｏ　Ａｎａｌｙｚｅｒ　４．０ソフトウェア（Ｍｅｄｉａ　Ｃｙｂｅｒｎｅｔｉｃｓ）を使用して解析した。

【０２６０】

定量的ＰＣＲ。全ＲＮＡはトリゾール（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用して抽出した。１０μｇ量の全ＲＮＡは、３７℃で３０分間、１０ＵのＲＮａｓｅなしＤＮａｓｅ　Ｉ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）と一緒にインキュベートした。ＲＮＡはＲＮｅａｓｙ　Ｍｉｎｉ　Ｋｉｔ（ＱＩＡＧＥＮ）を用いてさらに精製した。精製全ＲＮＡ（２μｇ）は、２００ＵのＳｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔ　ＩＩＩ逆転写酵素（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を使用して、ｃＤＮＡまで変換された。Ｔａｑ２×Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（ＮＥＢ）は、製造業者のプロトコルに従ってＰＣＲに使用された。

【０２６１】

ＣＲＩＳＰＲノックアウトＲＯＲ１。ＳｐＣａｓ９及びキメラガイドＲＮＡ発現プラスミドＰＸ３３０（Ａｄｄｇｅｎｅ）を使用して、以前記載されたプロトコル（Ｚｈａｎｇら、２０１２ａ）に従って安定したＲＯＲ１ノックアウト細胞株を作成した。ＲＯＲ１のＣＲＩＳＰＲターゲティング配列（ＣＣＡＧＴＧＣＧＴＧＧＣＡＡＣＡＡＡＣＧＧＣＡ）（配列番号５）は、ＣＲＩＳＰＲ　Ｄｅｓｉｇｎツール（ａｔ　ｗｅｂｓｉｔｅ　ｃｒｉｓｐｒ．ｍｉｔ．ｅｄｕ）を用いて設計した。ＲＯＲ１　ＣＲＩＳＰＲプラスミドをトランスフェクトされた細胞は４Ａ５－Ａｌｅｘ６４７を使用してＲＯＲ１について染色され、ＲＯＲ１陰性細胞は単離されて培養中に置かれた。

この工程は３回連続して繰り返されてＲＯＲ１ノックアウト細胞の集団を単離した。

【０２６２】

ヒトＡＫＴのサイレンシング。ＡＫＴ　ｓｉＲＮＡはｃｅｌｌ　ｓｉｇｎａｌｉｎｇから購入した。すべてのｓｉＲＮＡトランスフェクションは、リポフェクタミンＲＮＡｉＭＡＸ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を製造業者の使用説明書に従って使用してＤＭＥＭ無血清培地で実施し、次に、異なるアッセイを受けさせた。

【０２６３】

統計解析。別段指示されなければ、データは平均±平均の標準誤差（ＳＥＭ）として提示された。２つの群間の差は、不対両側スチューデントｔ検定により決定した。複数の群間の差は、ダネット多重比較検定により決定した。０．０５未満のＰ値はすべて有意と見なされた。有意性についての解析は、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　６．０（ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ　Ｉｎｃ．）を用いて実施した。

【０２６４】

表

【０２６５】

表１．

下の表１は、化学療法に先立つ乳がん患者由来のＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$（Ｎ＝６１）対ＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$（Ｎ＝６１）試料及びＲＯＲ１$^{Ｌｏｗ}$（Ｎ＝６１）対ＲＯＲ１$^{Ｈｉ}$（Ｎ＝６１）試料に関する、又はネオアジュバンド化学療法を受けた患者由来の乳がん生検（Ｎ＝５７）対ＧＳＥ８７４５５データベースでの適合したプレ処置試料（Ｎ＝５７）に関する１０の幹細胞遺伝子発現シグネチャーの遺伝子セットエンリッチメント（ＧＳＥ）解析を示している。アステリスクは、遺伝子セットがＲＯＲ１を含むことを示している。

【０２６６】

【表１】

| 遺伝子セット | サイズ | ES | | | NES | | | NOM p-val | | | FDR q-val | | | 参考文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *ROR1*$^{Hi}$ 対 *ROR1*$^{Low}$ | *ROR1*$^{Low}$ 対 *ROR1*$^{Hi}$ | Post 対 Pre | *ROR1*$^{Hi}$ 対 *ROR1*$^{Low}$ | *ROR1*$^{Low}$ 対 *ROR1*$^{Hi}$ | Post 対 Pre | *ROR1*$^{Hi}$ 対 *ROR1*$^{Low}$ | *ROR1*$^{Low}$ 対 *ROR1*$^{Hi}$ | ポスト対プレ | *ROR1*$^{Hi}$ 対 *ROR1*$^{Low}$ | *ROR1*$^{Low}$ 対 *ROR1*$^{Hi}$ | Post 対 Pre | |
| $CD44^{+}/CD24^{ow}$ MS UP | 106 | 0.63 | -0.63 | 0.29 | 1.67 | -1.69 | 1.61 | 0.00 | 0.00 | 0.04 | 0.01 | 0.01 | 0.07 | (Creighton ら, 2009) |
| $CD44^{+}/CD24^{ow}$ MS Down | 233 | -0.59 | 0.59 | -0.36 | -1.56 | 1.54 | -1.73 | 0.00 | 0.00 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | |
| Es exp1 | 359 | 0.31 | -0.31 | -0.30 | 0.82 | -0.83 | -1.57 | 0.72 | 0.73 | 0.06 | 0.85 | 0.85 | 0.03 | (Ben-Porath ら, 2008) |
| Es exp2 | 35 | -0.27 | 0.27 | -0.34 | -0.71 | 0.71 | -1.76 | 0.87 | 0.88 | 0.04 | 0.97 | 0.97 | 0.03 | |
| Nanog 標的 * | 913 | 0.31 | -0.31 | -0.21 | 1.01 | -1.01 | -1.57 | 0.41 | 0.39 | 0.00 | 0.43 | 0.43 | 0.04 | |
| Oct4 標的 * | 274 | 0.37 | -0.37 | 0.16 | 1.19 | -1.19 | 1.23 | 0.05 | 0.06 | 0.09 | 0.22 | 0.21 | 0.20 | |
| Sox2 標的 * | 678 | -0.33 | 0.33 | -0.23 | -1.05 | 1.05 | -1.62 | 0.25 | 0.26 | 0.00 | 0.41 | 0.38 | 0.03 | |
| NOS 標的 * | 168 | 0.43 | -0.43 | 0.18 | 1.34 | -1.33 | 1.27 | 0.01 | 0.02 | 0.09 | 0.13 | 0.09 | 0.24 | |
| NOS TFs | 37 | 0.55 | -0.55 | 0.19 | 1.40 | -1.42 | 1.01 | 0.06 | 0.04 | 0.45 | 0.10 | 0.06 | 0.39 | |
| Myc 標的 1 | 227 | 0.34 | -0.34 | -0.22 | 1.03 | -1.03 | -1.46 | 0.38 | 0.40 | 0.04 | 0.43 | 0.47 | 0.05 | |
| Myc 標的 2 | 755 | -0.42 | 0.42 | -0.29 | -1.28 | 1.28 | -1.91 | 0.04 | 0.02 | 0.00 | 0.14 | 0.11 | 0.02 | |

【０２６７】

表２．

下の表２は、乳がん患者由来の腫瘍のエストロゲン受容体及びＲＯＲ１発現ステータスを示している。ＮＤは定義されずを示す。

【０２６８】

【表２】

| 患者ID | ER 及び HER2/NEU ステータス | ROR1 ステータス |
|---|---|---|
| 1 | N.D | - |
| 2 | $HER2^+$ | + |
| 3 | $ER^+$ | + |
| 4 | $ER^+$ | + |
| 5 | $ER^+$ | + |
| 6 | $ER^+$ | - |
| 7 | $ER^-/PR^-/HER2^-$ | + |
| 8 | N.D | - |
| 9 | $ER^+$ | + |
| 10 | $ER^+$ | - |
| 11 | $ER^+$ | - |
| 12 | $ER^+$ | + |
| 13 | $HER2^+$ | + |
| 14 | $ER^+$ | + |
| 15 | $HER2^+$ | + |
| 16 | $ER^+$ | + |
| 17 | $ER^+$ | + |
| 18 | $ER^+$ | - |
| 19 | $ER^+$ | - |
| 20 | $ER^+$ | - |
| 21 | $ER^-/PR^-/HER2^-$ | + |
| 22 | $ER^+$ | + |
| 23 | ND | + |

【０２６９】

表３．

下の表３は、ネオアジュバンド療法を受けた患者由来の腫瘍の臨床及び病態的特徴を示している。ＣＲは完全寛解を示し、ＰＲは部分寛解を示し、ＮＤは定義されずを示す。

【０２７０】

【表３】

| 患者番号 | ER/PR/HER2 ｽﾃｰﾀｽ | 処置 | 応答 | ROR1染色 ﾌﾟﾚ | ROR1染色 ﾎﾟｽﾄ |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | ER-/PR-/HER2+ | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ | PR | 1 | 2 |
| 2 | ER-/PR-/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ | PR | 2 | 3 |
| 3 | ER-/PR-/HER2+ | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | PR | 3 | 3 |
| 4 | ER-/PR-/HER2+ | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ | PR | 1 | 3 |
| 5 | N.D | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | CR | 2 | 2 |
| 6 | N.D | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | PR | 2 | 2 |
| 7 | ER+/PR-/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | PR | 2 | 2 |
| 8 | ER-/PR-/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | CR | 2 | 3 |
| 9 | ER+/PR+/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ | PR | 1 | 3 |
| 10 | ER-/PR-/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | PR | 2 | 3 |
| 11 | ER+/PR-/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ | PR | 1 | 2 |
| 12 | ER+/PR+/HER2- | ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | PR | 2 | 2 |
| 13 | ER+/PR+/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ | PR | 2 | 3 |
| 14 | ER+/PR-/HER2+ | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | CR | 3 | 3 |
| 15 | ER+/PR+/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ | PR | 2 | 3 |
| 16 | ER+/PR+/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | PR | 1 | 3 |
| 17 | N.D | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ﾄﾞｷｿﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | PR | 1 | 0 |
| 18 | ER-/PR+/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ | PR | 2 | 3 |
| 19 | N.D | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | PR | 2 | 3 |
| 20 | ER+/PR+/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | PR | 2 | 2 |
| 21 | ER-/PR-/HER2+ | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ | PR | 1 | 2 |
| 22 | ER+/PR+/HER2- | ﾄﾞｾﾀｷｾﾙ/ｴﾋﾟﾙﾋﾞｼﾝ/ｼｸﾛﾎｽﾌｧﾐﾄﾞ | PR | 2 | 3 |

【０２７１】

表４．

下の表４は、それぞれのＰＤＸを作成するのに使用された腫瘍の、臨床、病態的特徴及び同腫瘍のＣＳＣマーカー発現の割合を示している。

【０２７２】

【表４】

| PDX ID | ER/PR/HER2 ｽﾃｰﾀｽ | 組織学的検査 | P53 突然変異 ｽﾃｰﾀｽ | 前処置 | CSCﾏｰｶｰの発現 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | $ALDH1^+$ | $CD44^+$ | $CD44^-/CD24^{LOW}$ |
| PDX1 | ER-/PR-/HER2+ | 乳管癌原発腫瘍 | N/A | ﾀｷｻﾝ/白金/ﾄﾗｽﾂｽﾞﾏﾌﾞ | 0.6% | 1.8% | 0.1% |
| PDX2 | ER-/PR-HER2- | 乳管癌原発腫瘍 | 突然変異なし | なし | 2.9% | 63.1% | 48.8% |
| PDX3 | ER-/PR-/HER2- | 混合乳管及び小葉癌原発腫瘍 | P53 突然変異 | ｱﾝﾄﾗｻｲｸﾘﾝ/ﾀｷｻﾝ | 3.5% | 76.1% | 5.6% |
| PDX4 | ER-/PR-/HER2- | 乳管癌原発腫瘍 | P53 突然変異 | ﾀｷｻﾝ | 6.5% | 23.9% | 2.3% |
| PDX5 | ER+/PR-/HER2- | 乳管癌腋窩ﾘﾝﾊﾟ節 | P53 突然変異 | N/A | 8.4% | 85.0% | 6.2% |

【０２７３】

表５．

下の表５は、乳がんＰＤＸから単離された細胞の異なる亜集団を移植された動物における腫瘍発生率を示している。

【０２７４】

【表５】

| 亜集団 | 細胞数 | | 腫瘍原性細胞の頻度 | Ｐ値 |
|---|---|---|---|---|
| | 500 | 100 | | |
| $CD44^+/CD24^{Low}$ | 3/4 | 2/4 | 1/265 | 0.002 |
| $CD44^+/CD24^+$ | 0/4 | 0/4 | 1/Inf | |
| $ALDH1^+$ | 2/5 | 1/5 | 1/800 | 0.04 |
| $ALDH1^{Neg}$ | 0/4 | 0/4 | 1/Inf | |

【０２７５】

【表６】

【０２７６】

【表７】

【０２７７】
【表８】

【０２７８】
【表９】

【０２７９】
表１０．
下の表１０は、種々の乳がんＰＤＸのそれぞれから単離されたＲＯＲ１Ｈｉ又はＲＯＲ１Ｌｏｗ細胞を移植された動物における腫瘍発生率を示している。腫瘍原性細胞の頻度及び確率見積はＥＬＤＡソフトウェアを使用して計算した。Ｎ．Ｄは行われずを示す。
【０２８０】
【表１０】

| 組織 ID | | 細胞数 | | | 腫瘍原性細胞の頻度 | P 値 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 5000 | 500 | 100 | | |
| PDX3 | $ROR1^{Low}$ | 0/4 | 0/9 | 0/10 | 1/2913 | <0.01 |
| | $ROR1^{Hi}$ | 2/5 | 5/10 | 1/10 | Inf | |
| PDX4 | $ROR1^{Low}$ | 3/6 | 2/6 | N.D | 1/455 | <0.001 |
| | $ROR1^{Hi}$ | 6/6 | 4/6 | N.D | 1/4740 | |
| PDX5 | $ROR1^{Low}$ | N.D | 1/9 | 0/10 | 1/329 | <0.001 |
| | $ROR1^{Hi}$ | N.D | 8/9 | 1/10 | 1/5247 | |

【０２８１】
表１１．
下の表１１は、ＲＯＲ１Ｌｏｗ及びＲＯＲ１Ｈｉ試料群（Ｎ＝２５）についての、又はネオアジュバンド化学療法を受けた患者由来の乳がん生検（Ｎ＝２５）対ＧＳＥ２１９７４データベースでの適合したプレ処置試料（Ｎ＝２５）に関するＣＤ４４＋／ＣＤ２４Ｌｏｗ　ＭＳ、ＥＴＭ、Ｒａｃ１／ＲｈｏＡ／ｃｄｃ４２の活性化、Ｈｉｐｐｏ－ＹＡＰ、ＢＭＩ１に関連する遺伝子についての遺伝子セットエンリッチメント（ＧＳＥ）解析を示している。ＳＩＺＥは解析に含まれる遺伝子の数である。ＮＥＳ（正規化エンリッチメントスコア）は遺伝子セットサイズの違いを説明し、遺伝子セットにまたがる解析結果を比較するのに使用することができる。ＮＯＭ　ｐ－ｖａｌ（名目上のｐ値）は、遺伝子セットサイズ又は多重遺伝子セット試験のために調整されていないエンリッチメントスコアの統計的有意性であり、ＦＤＲ　ｑ－ｖａｌ（偽陽性率ｑ値）は、所与のＮＥＳを持つ遺伝子セットが偽陽性を表す推定確率である。それぞれの遺伝子セットは、偽陽性率（ＦＤＲ）が０．２５未満である場合は有意であると見なされる。
【０２８２】
【表１１】

| 遺伝子セット | サイズ* | ES | | NES | | NOM p-val | | FDR q-val | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *ROR1*$^{Hi}$ 対 *ROR1*$^{Low}$ | ポスト対プレ | *ROR1*$^{Hi}$ 対 *ROR1*$^{Low}$ | ポスト対プレ | *ROR1*$^{Hi}$ 対 *ROR1*$^{Low}$ | ポスト対プレ | *ROR1*$^{Hi}$ 対 *ROR1*$^{Low}$ | ポスト対プレ |
| $CD44^{+}/CD24^{Low}$ MS | 99 | 0.46 | 0.52 | 1.61 | 2.16 | 0.03 | 0.00 | 0.07 | 0.00 |
| EMT | 220 | 0.52 | 0.31 | 1.78 | 1.47 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.03 |
| Rac1 経路 | 22 | 0.48 | 0.52 | 1.44 | 1.61 | 0.05 | 0.01 | 0.08 | 0.01 |
| RhoA 経路 | 45 | 0.44 | 0.41 | 1.34 | 1.52 | 0.12 | 0.03 | 0.12 | 0.02 |
| cdc42 | 30 | 0.46 | 0.35 | 1.47 | 1.19 | 0.05 | 0.22 | 0.12 | 0.16 |
| Hippo-Yap | 57 | 0.53 | 0.36 | 1.60 | 1.33 | 0.04 | 0.07 | 0.03 | 0.07 |
| BMI1 | 143 | 0.32 | 0.42 | 1.17 | 1.90 | 0.20 | 0.00 | 0.20 | 0.00 |

【０２８３】

【表１２】

## 参考文献

Al-Hajj, M., Wicha, M.S., Benito-Hernandez, A., Morrison, S.J., and Clarke, M.F. (2003). Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. Proc Natl Acad Sci U S A 100, 3983-3988.

Bartucci, M., Dattilo, R., Moriconi, C., Pagliuca, A., Mottolese, M., Federici, G., Benedetto, A.D., Todaro, M., Stassi, G., Sperati, F., et al. (2015). TAZ is required for metastatic activity and chemoresistance of breast cancer stem cells. Oncogene 34, 681¬690.

Ben-Porath, I., Thomson, M.W., Carey, V.J., Ge, R., Bell, G.W., Regev, A., and Weinberg, R.A. (2008). An embryonic stem cell-like gene expression signature in poorly differentiated aggressive human tumors. Nature genetics 40, 499-507.

Bhola, N.E., Balko, J.M., Dugger, T.C., Kuba, M.G., Sanchez, V., Sanders, M., Stanford, J., Cook, R.S., and Arteaga, C.L. (2013). TGF-beta inhibition enhances chemotherapy action against triple-negative breast cancer. J Clin Invest 123, 1348-1358.

Brooks, M.D., Burness, M.L., and Wicha, M.S. (2015). Therapeutic Implications of Cellular Heterogeneity and Plasticity in Breast Cancer. Cell Stem Cell 17, 260-271.

Chan, S.W., Lim, C.J., Guo, K., Ng, C.P., Lee, I., Hunziker, W., Zeng, Q., and Hong, W. (2008). A role for TAZ in migration, invasion, and tumorigenesis of breast cancer cells. Cancer research 68, 2592-2598.

Chien, H.P., Ueng, S.H., Chen, S.C., Chang, Y.S., Lin, Y.C., Lo, Y.F., Chang, H.K., Chuang, W.Y., Huang, Y.T., Cheung, Y.C., et al. (2016). Expression of ROR1 has prognostic significance in triple negative breast cancer. Virchows Archiv : an international ]ournal of pathology 468, 589-595.

Choi, M.Y., Widhopf, G.F., 2nd, Wu, C.C., Cui, B., Lao, F., Sadarangani, A., Cavagnaro, J., Prussak, C., Carson, D.A., Jamieson, C., et al. (2015). Pre-clinical Specificity and Safety of UC-961, a First-In-Class Monoclonal Antibody Targeting ROR1. Clinical lymphoma, myeloma & leukemia 15 Suppl, S167-169.

Cordenonsi, M., Zanconato, F., Azzolin, L., Forcato, M., Rosato, A., Frasson, C., Inui, M., Montagner, M., Parenti, A.R., Poletti, A., et al. (2011). The Hippo transducer TAZ confers cancer stem cell-related traits on breast cancer cells. Cell 147, 759-772.

Creighton, C.J., Li, X., Landis, M., Dixon, J.M., Neumeister, V.M., S]olund, A., Rimm, D.L., Wong, H., Rodriguez, A., Herschkowitz, J.I., et al. (2009). Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. Proc Natl Acad Sci U S A 106, 13820-13825.

Cui, B., Zhang, S., Chen, L., Yu, J., Widhopf, G.F., 2nd, Fecteau, J.F., Rassenti, L.Z., and Kipps, T.J. (2013). Targeting ROR1 inhibits epithelial-mesenchymal transition and metastasis. Cancer Res 73, 3649-3660.

Desai, N., Trieu, V., Yao, Z., Louie, L., Ci, S., Yang, A., Tao, C., De, T., Beals, B., Dykes, D., et al. (2006). Increased antitumor activity, intratumor paclitaxel concentrations, and endothelial cell transport of cremophor-free, albumin-bound paclitaxel, ABI-007, compared with cremophor-based paclitaxel. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research 12, 1317¬1324.

Dobin, A., Davis, C.A., Schlesinger, F., Drenkow, J., Zaleski, C., Jha, S., Batut, P., Chaisson, M., and Gingeras, T.R. (2013). STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. Bioinformatics 29, 15-21.

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative, G., Peto, R., Davies, C., Godwin, J., Gray, R., Pan, H.C., Clarke, M., Cutter, D., Darby, S., McGale, P., et a!. (2012). Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100,000 women in 123 randomised trials. Lancet 379, 432-444.

Fritz, G., Just, I., and Kaina, B. (1999). Rho GTPases are over-expressed in human tumors. International journal of cancer 81, 682-687.

Fukuda, T., Chen, L., Endo, T., Tang, L., Lu, D., Castro, J.E., Widhopf, G.F., 2nd, Rassenti, L.Z., Cantwell, M.J., Prussak, C.E., et a!. (2008). Antisera induced by infusions of autologous Ad-CD154-leukemia B cells identify ROR1 as an oncofetal antigen and receptor for Wnt5a. Proc Natl Acad Sci U S A 105, 3047-3052.

Ginestier, C., Hur, M.H., Charafe-Jauffret, E., Monville, F., Dutcher, J., Brown, M., Jacquemier, J., Viens, P., Kleer, C.G., Liu, S., et a!. (2007). ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. Cell Stem Cell 1, 555-567.

Hein, A.L., Post, C.M., Sheinin, Y.M., Lakshmanan, I., Natarajan, A., Enke, C.A., Batra, S.K., Ouellette, M.M., and Yan, Y. (2016). RAC1 GTPase promotes the survival of breast cancer cells in response to hyper-fractionated radiation treatment. Oncogene 35, 6319-6329.

Hiemer, S.E., Szymaniak, A.D., and Varelas, X. (2014). The transcriptional regulators TAZ and YAP direct transforming growth factor beta-induced tumorigenic phenotypes in breast cancer cells. J Biol Chem 289, 13461-13474.

Kaur, S., Elkahloun, A.G., Singh, S.P., Chen, Q.R., Meerzaman, D.M., Song, T., Manu, N., Wu, W., Mannan, P., Garfield, S.H., et a!. (2016). A function-blocking CD47 antibody suppresses stem cell and EGF signaling in triple-negative breast cancer. Oncotarget.

Kim, J., Hwangbo, J., and Wong, P.K. (2011). p38 MAPK-Mediated Bmi-1 down-regulation and defective proliferation in ATM-deficient neural stem cells can be restored by Akt activation. PLoS One 6, e16615.

Kimbung, S., Markholm, I., Bjohle, J., Lekberg, T., von Wachenfeldt, A., Azavedo, E., Saracco, A., Hellstrom, M., Veerla, S., Paquet, E., et a!. (2018). Assessment of early response biomarkers in relation to long-term survival in patients with HER2-negative breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy plus bevacizumab: Results from the Phase II PROMIX trial. Int J Cancer 142, 618-628.

Kreso, A., van Galen, P., Pedley, N.M., Lima-Fernandes, E., Frelin, C., Davis, T., Cao, L., Baiazitov, R., Du, W., Sydorenko, N., et a!. (2014). Self-renewal as a therapeutic target in human colorectal cancer. Nature medicine 20, 29-36.

Li, B., and Dewey, C.N. (2011). RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. BMC bioinformatics 12, 323.

Li, C., Wang, S., Xing, Z., Lin, A., Liang, K., Song, J., Hu, Q., Yao, J., Chen, Z., Park, P.K., et a!. (2017). A ROR1-HER3-lncRNA signalling axis modulates the Hippo-YAP pathway to regulate bone metastasis. Nature cell biology 19, 106-119.

Liberzon, A., Subramanian, A., Pinchback, R., Thorvaldsdottir, H., Tamayo, P., and Mesirov, J.P. (2011). Molecular signatures database (MSigDB) 3.0. Bioinformatics 27, 1739-1740.

Love, M.I., Huber, W., and Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome biology 15, 550.

Marcel, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. EMBnet J 17, 10-12.

Maugeri-Sacca, M., and De Maria, R. (2016). Hippo pathway and breast cancer stem cells. Critical reviews in oncology/hematology 99, 115-122.

McHenry, P.R., and Vargo-Gogola, T. (2010). Pleiotropic functions of Rho GTPase signaling: a Trojan horse or Achilles' heel for breast cancer treatment? Current drug targets 11, 1043-1058.

Mo, J.S., Park, H.W., and Guan, K.L. (2014). The Hippo signaling pathway in stem cell biology and cancer. EMBO reports 15, 642-656.

Moroishi, T., Hansen, C.G., and Guan, K.L. (2015). The emerging roles of YAP and TAZ in cancer. Nature reviews Cancer 15, 73-79.

Murga, C., Zohar, M., Teramoto, H., and Gutkind, J.S. (2002). Rac1 and RhoG promote cell survival by the activation of PI3K and Akt, independently of their ability to stimulate JNK and NF-kappaB. Oncogene 21, 207-216.

Nacerddine, K., Beaudry, J.B., Ginjala, V., Westerman, B., Mattiroli, F., Song, J.Y., van der Poel, H., Ponz, O.B., Pritchard, C., Cornelissen-Steijger, P., et a!. (2012). Akt-mediated phosphorylation of Bmi1 modulates its oncogenic potential, E3 ligase activity, and DNA damage repair activity in mouse prostate cancer. J Clin Invest 122, 1920¬1932.

Ohgushi, M., Minaguchi, M., and Sasai, Y. (2015). Rho-Signaling-Directed YAP/TAZ Activity Underlies the Long-Term Survival and Expansion of Human Embryonic Stem Cells. Cell Stem Cell 17, 448-461.

Paranjape, A.N., Balaji, S.A., Mandal, T., Krushik, E.V., Nagaraj, P., Mukherjee, G., and Rangarajan, A. (2014). Bmi1 regulates self-renewal and epithelial to mesenchymal transition in breast cancer cells through Nanog. BMC Cancer 14, 785.

Park, H.W., Kim, Y.C., Yu, B., Moroishi, T., Mo, J.S., Plouffe, S.W., Meng, Z., Lin, K.C., Yu, F.X., Alexander, C.M., et a!. (2015). Alternative Wnt Signaling Activates YAP/TAZ. Cell 162, 780-794.

Ritchie, M.E., Phipson, B., Wu, D., Hu, Y., Law, C.W., Shi, W., and Smyth, G.K. (2015). limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. Nucleic acids research 43, e47.

Samanta, D., Gilkes, D.M., Chaturvedi, P., Xiang, L., and Semenza, G.L. (2014). Hypoxia-inducible factors are required for chemotherapy resistance of breast cancer stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A 111, E5429-5438.

Schaefer, C.F., Anthony, K., Krupa, S., Buchoff, J., Day, M., Hannay, T., and Buetow, K.H. (2009). PID: the Pathway Interaction Database. Nucleic Acids Res 37, D674-679.

Stickeler, E., Pils, D., Klar, M., Orlowsk-Volk, M., Zur Hausen, A., Jager, M., Watermann, D., Gitsch, G., Zeillinger, R., and Tempfer, C.B. (2011). Basal-like molecular subtype and HER4 up-regulation and response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. Oncol Rep 26, 1037-1045.

Su, J., Wu, S., Tang, W., Qian, H., Zhou, H., and Guo, T. (2015). Reduced SLC27A2 induces cisplatin resistance in lung cancer stem cells by negatively regulating Bmi1-ABCG2 signaling. Molecular carcinogenesis.

Tamayo, P., Mootha, V.K., Mukherjee, S., Ebert, B.L., Gillette, M.A., Paulovich, A., Pomeroy, S.L., Golub, T.R., Lander, E.S., et a!. (2005). Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. Proc Natl Acad Sci U S A 102, 15545-15550.

Tamm, C., Bower, N., and Anneren, C. (2011). Regulation of mouse embryonic stem cell self-renewal by a Yes-YAP-TEAD2 signaling pathway downstream of LIF. Journal of cell science 124, 1136-1144.

Voncken, J.W., Niessen, H., Neufeld, B., Rennefahrt, U., Dahlmans, V., Kubben, N., Holzer, B., Ludwig, S., and Rapp, U.R. (2005). MAPKAP kinase 3pK phosphorylates and regulates chromatin association of the polycomb group protein Bmi1. The Journal of biological chemistry 280, 5178-5187.

Wahl, G.M., and Spike, B.T. (2017). Cell state plasticity, stem cells, EMT, and the generation of intra-tumoral heterogeneity. NPJ Breast Cancer 3, 14.

Wang, A., Chen, L., Li, C., and Zhu, Y. (2015). Heterogeneity in cancer stem cells. Cancer letters 357, 63-68.

Wang, Y., Zhe, H., Ding, Z., Gao, P., Zhang, N., and Li, G. (2012). Cancer stem cell marker Bmi-1 expression is associated with basal-like phenotype and poor survival in breast cancer. World J Surg 36, 1189-1194.

Wiederschain, D., Chen, L., Johnson, B., Bettano, K., Jackson, D., Taraszka, J., Wang, Y.K., Jones, M.D., Morrissey, M., Deeds, J., et a!. (2007). Contribution of polycomb homologues Bmi-1 and Mel-18 to medulloblastoma pathogenesis. Molecular and cellular biology 27, 4968-4979.

Wu, X., Liu, X., Sengupta, J., Bu, Y., Yi, F., Wang, C., Shi, Y., Zhu, Y., Jiao, Q., and Song, F. (2011). Silencing of Bmi-1 gene by RNA interference enhances sensitivity to doxorubicin in breast cancer cells. Indian journal of experimental biology 49, 105-112.

Yates, A., Akanni, W., Amode, M.R., Barrell, D., Billis, K., Carvalho-Silva, D., Cummins, C., Clapham, P., Fitzgerald, S., Gil, L., et a!. (2016). Ensembl 2016. Nucleic acids research 44, D710-716.

Yu, J., Chen, L., Cui, B., Widhopf, G.F., 2nd, Shen, Z., Wu, R., Zhang, L., Zhang, S., Briggs, S.P., and Kipps, T.J. (2015). Wnt5a induces ROR1/ROR2 heterooligomerization to enhance leukemia chemotaxis and proliferation. J Clin Invest.

Yu, J., Chen, L., Cui, B., Widhopf, G.F., 2nd, Shen, Z., Wu, R., Zhang, L., Zhang, S., Briggs, S.P., and Kipps, T.J. (2016). Wnt5a induces ROR1/ROR2 heterooligomerization to enhance leukemia chemotaxis and proliferation. J Clin Invest 126, 585-598.

Zhang, S., Chen, L., Cui, B., Chuang, H.Y., Yu, J., Wang-Rodriguez, J., Tang, L., Chen, G., Basak, G.W., and Kipps, T.J. (2012a). ROR1 is expressed in human breast cancer and associated with enhanced tumor-cell growth. PLoS One 7, e31127.

Zhang, S., Chen, L., Wang-Rodriguez, J., Zhang, L., Cui, B., Frankel, W., Wu, R., and Kipps, T.J. (2012b). The onco-embryonic antigen ROR1 is expressed by a variety of human cancers. The American journal of pathology 181, 1903-1910.

Zhang, S., Cui, B., Lai, H., Liu, G., Ghia, E.M., Widhopf, G.F., 2nd, Zhang, Z., Wu, C.C., Chen, L., Wu, R., et a!. (2014). Ovarian cancer stem cells express ROR1, which can be targeted for anti-cancer-stem-cell therapy. Proc Natl Acad Sci U S A 111, 17266-17271.

【０２８４】
非公式配列表

【化１】

99961.1 CDR H1( 配列番号 :1): GYAFTAYN

99961.1 CDR H2 ( 配列番号 :2): FDPYDGGS

99961.1 CDR H3 ( 配列番号 :3):GWYYFDY

99961.1 CDR L1 ( 配列番号 :4): KSISKY

99961.1 CDR L2 ( 配列番号 :5): SGS

99961.1 CDR L3 ( 配列番号 :6): QQHDESPY

D10 CDR H1 ( 配列番号 :7): GFSLTSYG

D10 CDR H2 ( 配列番号 :8): IWAGGFT

D10 CDR H3 ( 配列番号 :9): RGSSYSMDY

D10 CDR L1 ( 配列番号 :10): SNVSY

D10 CDR L2 ( 配列番号 :11): EIS

D10 CDR L3 ( 配列番号 :12): QQWNYPLIT

GAPDH ﾌｫﾜｰﾄﾞﾌﾟﾗｲﾏｰ ( 配列番号 :13): 5’-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3’

GAPDH ﾘﾊﾞｰｽﾌﾟﾗｲﾏｰ ( 配列番号 :14): 5’-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3’

BMI1 ﾌｫﾜｰﾄﾞﾌﾟﾗｲﾏｰ ( 配列番号 :15): 5’-CGTGTATTGTTCGTTACCTGGA-3’

BMI1 ﾘﾊﾞｰｽﾌﾟﾗｲﾏｰ ( 配列番号 :16): 5’-TTCAGTAGTGGTCTGGTCTTGT-3’

CRISPR ﾀｰｹﾞﾃｨﾝｸﾞ配列 of ROR1 ( 配列番号 :17):
CCAGTGCGTGGCAACAAACGGCA

【０２８５】

Ｐ実施形態

【０２８６】

Ｐ実施形態１．それを必要とする対象においてがんを処置する方法であって、治療有効量の有糸分裂阻害剤及びＲＯＲ１アンタゴニストを前記対象に投与することを含む前記方法。

【０２８７】

Ｐ実施形態２．化学療法抵抗性腫瘍を抱えた患者においてがんを処置する方法であって、治療有効量の有糸分裂阻害剤及びＲＯＲ１アンタゴニストを前記対象に投与することを含む前記方法。

【０２８８】

Ｐ実施形態３．がんを処置する方法であって、それを必要とする対象において、治療有効量のＲＯＲ１抗体を前記対象に投与することを含み、前記対象が標準対照と比べて上昇したレベルのＲＯＲ１を発現し、前記対象が化学療法を受けたことがある又は受けている、前記方法。

【０２８９】

Ｐ実施形態４．前記有糸分裂阻害剤がパクリタキセルである、Ｐ実施形態１～３に記載の方法。

【０２９０】

Ｐ実施形態５．前記ＲＯＲ１アンタゴニストがシルムツズマブである、Ｐ実施形態１～３に記載の方法。

【０２９１】

Ｐ実施形態６．前記がんが乳がんである、Ｐ実施形態１～３に記載の方法。

【０２９２】

Ｐ実施形態７．薬学的有効量の有糸分裂阻害剤及びＲＯＲ１抗体を含む、医薬組成物。

【０２９３】

Ｐ実施形態８．前記有糸分裂阻害剤と前記ＲＯＲ１抗体が組み合わされた相乗作用量で存在し、前記組み合わされた相乗作用量がそれを必要とする対象においてがんを処置するのに有効である、Ｐ実施形態７に記載の医薬組成物。

【０２９４】

実施形態

【０２９５】

実施形態１。化学療法抵抗性がんを処置する方法であって、それを必要とする対象において、治療有効量の化学療法薬及び治療有効量のチロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ－１）アンタゴニストを前記対象に投与すること、それによって、前記対象において化学療法抵抗性がんを処置することを含む方法。

【０２９６】

実施形態２。前記投与の前に前記対象においてＲＯＲ－１のレベルを検出することを含む、実施形態１の方法。

【０２９７】

実施形態３。前記対象が化学療法を受けている又は受けたことがある、実施形態１又は２の方法。

【０２９８】

実施形態４。前記化学療法抵抗性がんが、化学療法抵抗性乳がんである、実施形態１～３のいずれか１つの方法。

【０２９９】

実施形態５。前記投与の前に、標準対照と比べて増加したレベルのＲＯＲ－１を発現している対象を選択することをさらに含む、実施形態１～４のいずれか１つの方法。

【０３００】

実施形態６。前記化学療法薬が、植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質又はトポイソメラーゼ阻害剤である、実施形態１～５のいずれか１つの方法。

【０３０１】

実施形態７。前記化学療法薬が、パクリタキセル又はドセタキセルである、実施形態１～６のいずれか１つの方法。

【０３０２】

実施形態８。前記化学療法薬が、ドキソルビシン又はエピルビシンである、実施形態１～６のいずれか１つの方法。

【０３０３】

実施形態９。前記ＲＯＲ－１アンタゴニストが抗体又は小分子である、実施形態１～８のいずれか１つの方法。

【０３０４】

実施形態１０。前記ＲＯＲ－１アンタゴニストが抗ＲＯＲ－１抗体である、実施形態１～９のいずれか１つの方法。

【０３０５】

実施形態１１。前記抗体が、ヒト化重鎖可変領域及びヒト化軽鎖可変領域を含み、前記ヒト化重鎖可変領域が配列番号１、配列番号２及び配列番号３に示される配列を含み、前

記ヒト化軽鎖可変領域が配列番号４、配列番号５及び配列番号６に示される配列を含む、実施形態１０の方法。

【０３０６】

実施形態１２。前記抗体がシルムツズマブである、実施形態１０又は１１の方法。

【０３０７】

実施形態１３。前記抗体が、ヒト化重鎖可変領域及びヒト化軽鎖可変領域を含み、前記ヒト化重鎖可変領域が配列番号７、配列番号８及び配列番号９に示される配列を含み、前記ヒト化軽鎖可変領域が配列番号１０、配列番号１１及び配列番号１２に示される配列を含む、実施形態１０の方法。

【０３０８】

実施形態１４。前記化学療法薬と前記ＲＯＲ－１アンタゴニストは組み合わされた相乗作用量で投与される、実施形態１～１３のいずれか１つの方法。

【０３０９】

実施形態１５。前記化学療法薬と前記、実施形態１～１４のいずれか１つの方法。

【０３１０】

実施形態１６。前記ＲＯＲ－１アンタゴニストが第１の時点で投与され、前記化学療法薬が第２の時点で投与され、前記第１の時点が前記第２の時点より前である、実施形態１～１５のいずれか１つの方法。

【０３１１】

実施形態１７。前記化学療法薬及び前記ＲＯＲ－１アンタゴニストが、投与の前に混合される、実施形態１～１６のいずれか１つの方法。

【０３１２】

実施形態１８。前記化学療法薬がパクリタキセルである、実施形態１～１７のいずれか１つの方法。

【０３１３】

実施形態１９。前記化学療法薬が、約５ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、１１ｍｇ／ｋｇ、１２ｍｇ／ｋｇ、１３ｍｇ／ｋｇ、１４ｍｇ／ｋｇ又は１５ｍｇ／ｋｇの量で投与される、実施形態１～１８のいずれか１つの方法。

【０３１４】

実施形態２０。前記化学療法薬が約１３ｍｇ／ｋｇの量で投与される、実施形態１～１９のいずれか１つの方法。

【０３１５】

実施形態２１。前記化学療法薬が１３．４ｍｇ／ｋｇの量で投与される、実施形態１～２０のいずれか１つの方法。

【０３１６】

実施形態２２。前記ＲＯＲ－１アンタゴニストが、約１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ又は１０ｍｇ／ｋｇの量で投与される、実施形態１～２１のいずれか１つの方法。

【０３１７】

実施形態２３。前記ＲＯＲ－１アンタゴニストが約２ｍｇ／ｋｇの量で投与される、実施形態１～２２のいずれか１つの方法。

【０３１８】

実施形態２４。前記化学療法薬が１３．４ｍｇ／ｋｇの量で投与され、前記ＲＯＲ－１アンタゴニストが約２ｍｇ／ｋｇで投与される、実施形態１～２３のいずれか１つの方法。

【０３１９】

実施形態２５。前記化学療法薬が少なくとも１４日間にわたって毎日投与される、実施形態１～２４のいずれか１つの方法。

【０３２０】

実施形態２６。前記化学療法薬が約２８日間にわたって毎日投与される、実施形態１～

２５のいずれか１つの方法。
【０３２１】
実施形態２７。前記ＲＯＲ－１アンタゴニストが約２８日間にわたって１回投与される、実施形態１～２６のいずれか１つの方法。
【０３２２】
実施形態２８。前記化学療法薬が静脈内に投与される、実施形態１～２７のいずれか１つの方法。
【０３２３】
実施形態２９。前記ＲＯＲ－１アンタゴニストが静脈内に投与される、実施形態１～２８のいずれか１つの方法。
【０３２４】
実施形態３０。前記対象が哺乳動物である、実施形態１～２９のいずれか１つの方法。
【０３２５】
実施形態３１。前記対象がヒトである、実施形態１～３０のいずれか１つの方法。
【０３２６】
実施形態３２。乳がんを処置する方法であって、それを必要とする対象において、治療有効量の化学療法薬及び治療有効量のチロシンキナーゼ様オーファン受容体１（ＲＯＲ－１）アンタゴニストを前記対象に投与すること、それによって、前記対象において化学療法抵抗性乳がんを処置することを含む方法。
【０３２７】
実施形態３３。（ｉ）植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質及びトポイソメラーゼ阻害剤からなる群から選択される化学療法薬、（ｉｉ）ＲＯＲ－１アンタゴニスト並びに（ｉｉｉ）薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物。
【０３２８】
実施形態３４。（ｉ）植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質及びトポイソメラーゼ阻害剤からなる群から選択される化学療法薬、（ｉｉ）抗ＲＯＲ－１抗体並びに（ｉｉｉ）薬学的に許容される賦形剤を含み、前記化学療法薬と前記抗ＲＯＲ－１抗体が組み合わされた相乗作用量で存在し、前記組み合わされた相乗作用量がそれを必要とする対象において乳がんを処置するのに有効である、医薬組成物。
【０３２９】
実施形態３５。前記化学療法薬が植物アルカロイドである、実施形態３３又は３４の医薬組成物。
【０３３０】
実施形態３６。前記化学療法薬がパクリタキセルである、実施形態３３～３５のいずれか１つの医薬組成物。
【０３３１】
実施形態３７。前記ＲＯＲ－１アンタゴニストが抗体又は小分子である、実施形態３３～３６のいずれか１つの医薬組成物。
【０３３２】
実施形態３８。前記ＲＯＲ－１アンタゴニストが抗ＲＯＲ－１抗体である、実施形態３３～３７のいずれか１つの医薬組成物。
【０３３３】
実施形態３９。前記抗体が、ヒト化重鎖可変領域及びヒト化軽鎖可変領域を含み、前記ヒト化重鎖可変領域が配列番号１、配列番号２及び配列番号３に示される配列を含み、前記ヒト化軽鎖可変領域が配列番号４、配列番号５及び配列番号６に示される配列を含む、実施形態３８の医薬組成物。
【０３３４】
実施形態４０。前記抗体がシルムツズマブである、実施形態３８の医薬組成物。

【図１Ａ】

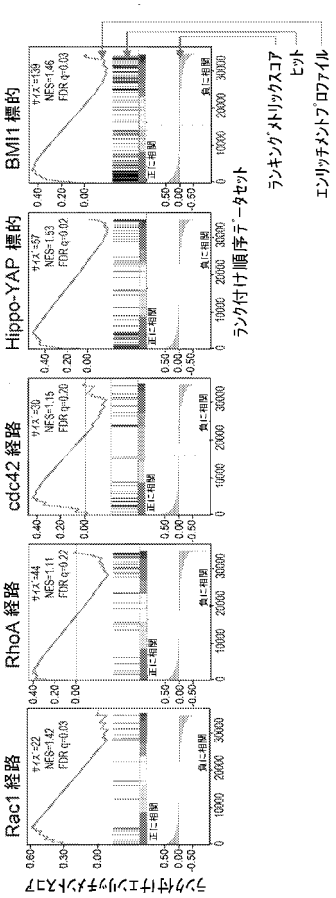
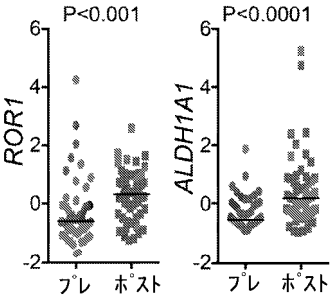


FIG. 1A

【図１Ｂ】

FIG. 1B




【図１Ｃ】

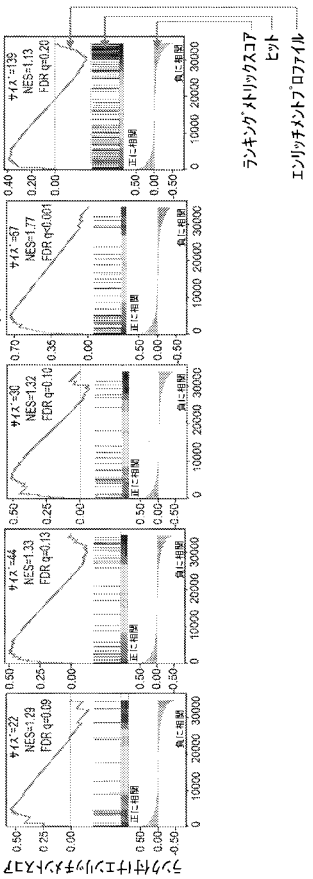


FIG. 1C

【図１Ｄ】

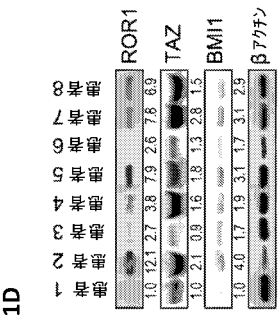



FIG. 1D

【図１Ｅ】

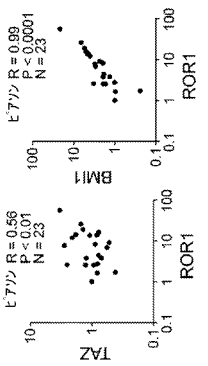
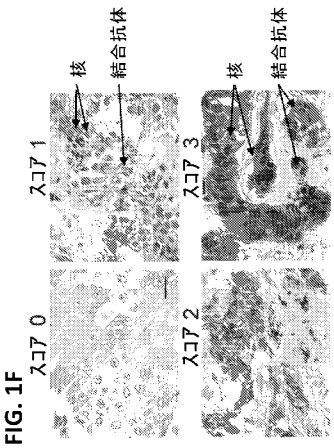
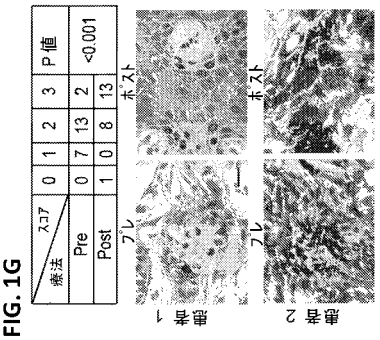



FIG. 1E

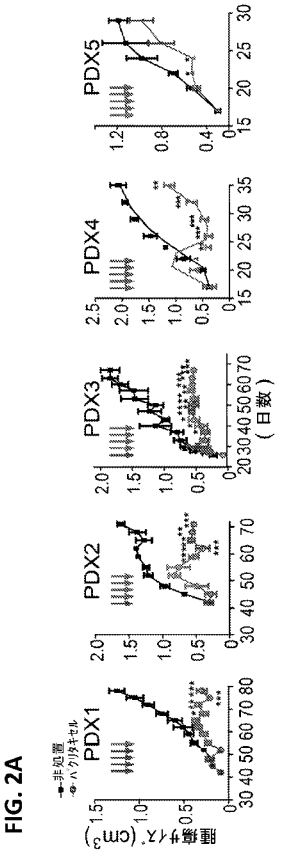
【図１Ｆ】



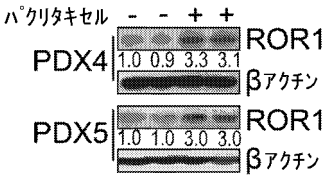

【図１Ｇ】



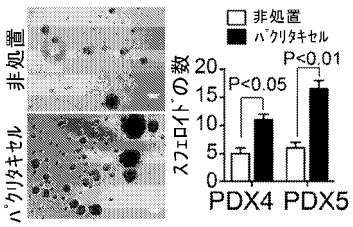

【図２Ａ】




【図２Ｂ】

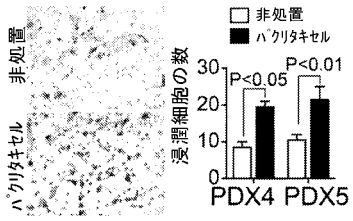



【図２Ｃ】



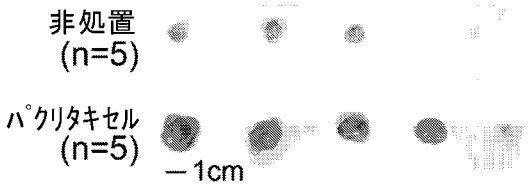
【図２Ｄ】

FIG. 2D




【図２Ｅ】

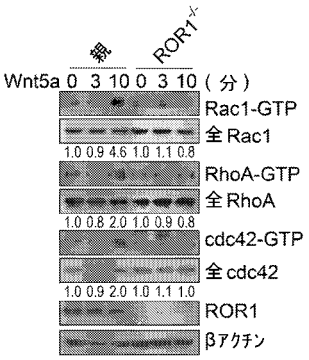
FIG. 2E




| 組織ID | 処置 | 細胞数 | | 腫瘍原性細胞の頻度 | P値 |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $10^4$ | $10^3$ | | |
| PDX4 | 非処置 | 3/5 | 0/5 | 1/12683 | 0.0002 |
| | パクリタキセル | 5/5 | 4/5 | 1/622 | |
| PDX5 | 非処置 | 4/5 | 0/5 | 1/7697 | 0.002 |
| | パクリタキセル | 5/5 | 4/5 | 1/622 | |

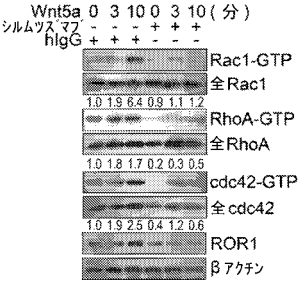
【図３Ａ】

FIG. 3A



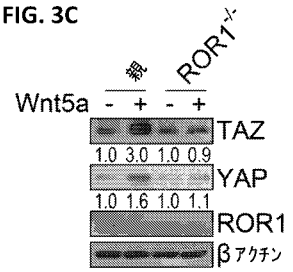

【図３Ｂ】

FIG. 3B



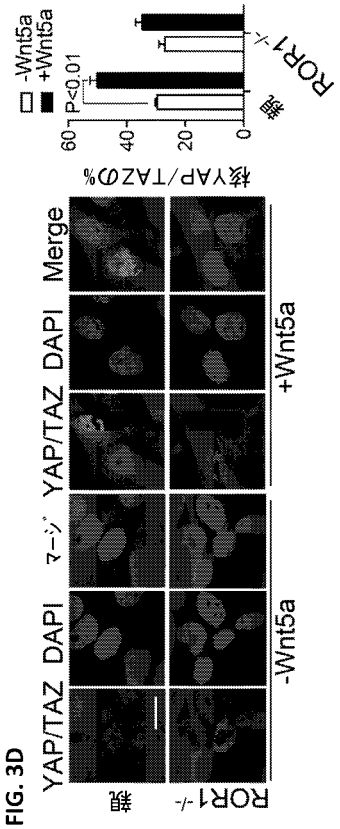

【図３Ｃ】

FIG. 3C




【図３Ｄ】

FIG. 3D



【図３Ｅ】

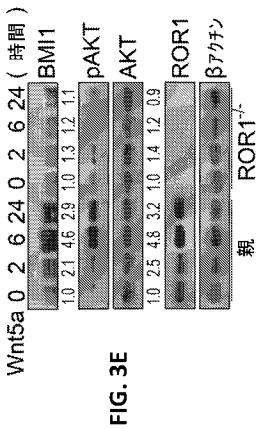



FIG. 3E

【図３Ｆ】

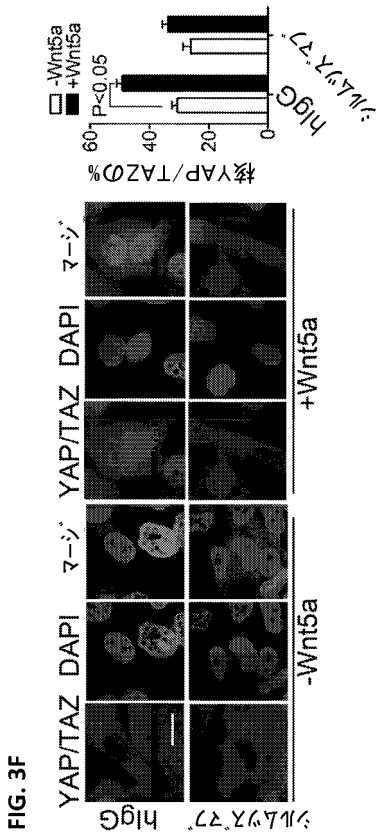
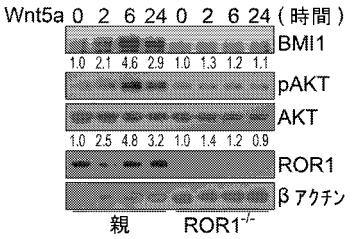



FIG. 3F

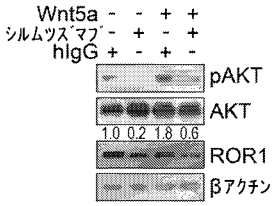
【図３Ｇ】

FIG. 3G



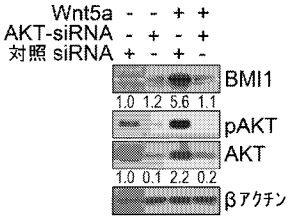

【図３Ｉ】

FIG. 3I



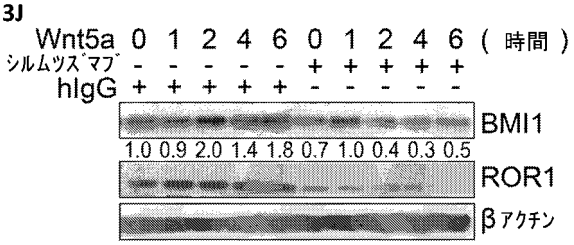

【図３Ｈ】

FIG. 3H



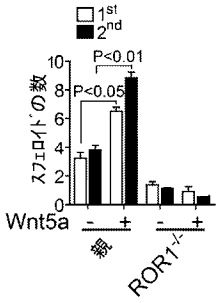

【図３Ｊ】

FIG. 3J



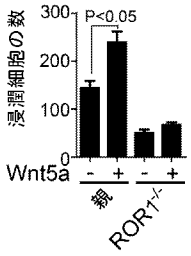
【図３Ｋ】

FIG. 3K



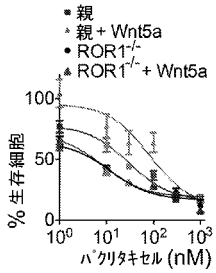

【図３Ｌ】

FIG. 3L



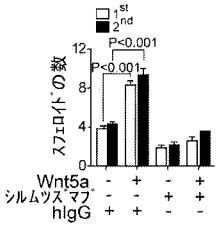

【図３Ｍ】

FIG. 3M



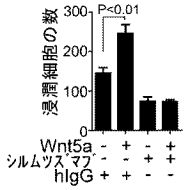

【図３Ｎ】

FIG. 3N



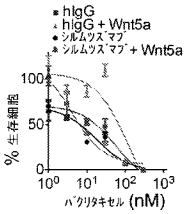

【図３Ｏ】

FIG. 3O



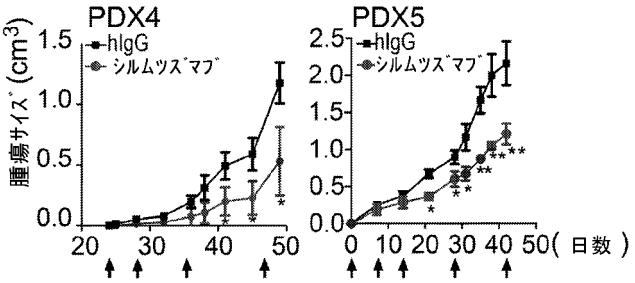

【図３Ｐ】

FIG. 3P



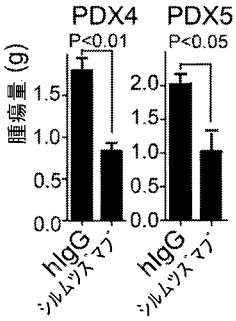

【図４Ａ】

FIG. 4A



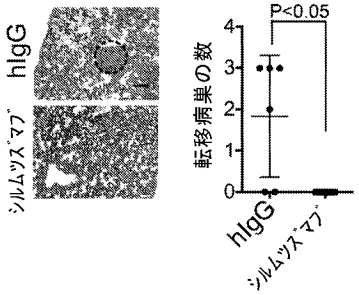

【図４Ｂ】

FIG. 4B



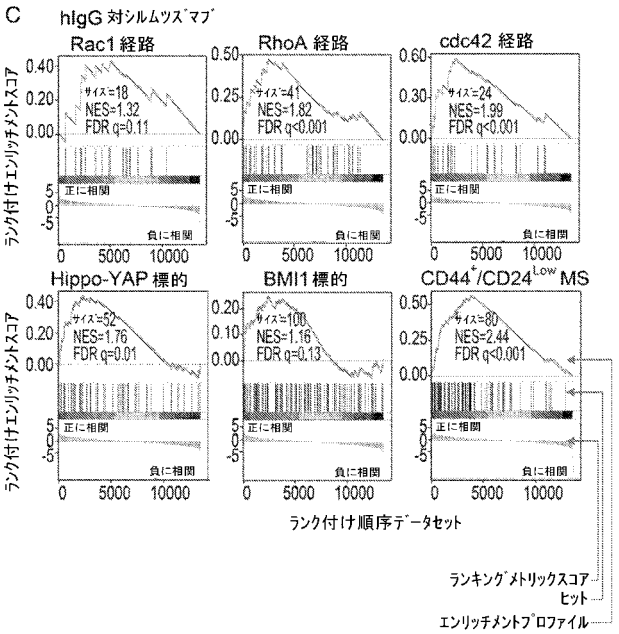
【図４Ｃ】

FIG. 4C



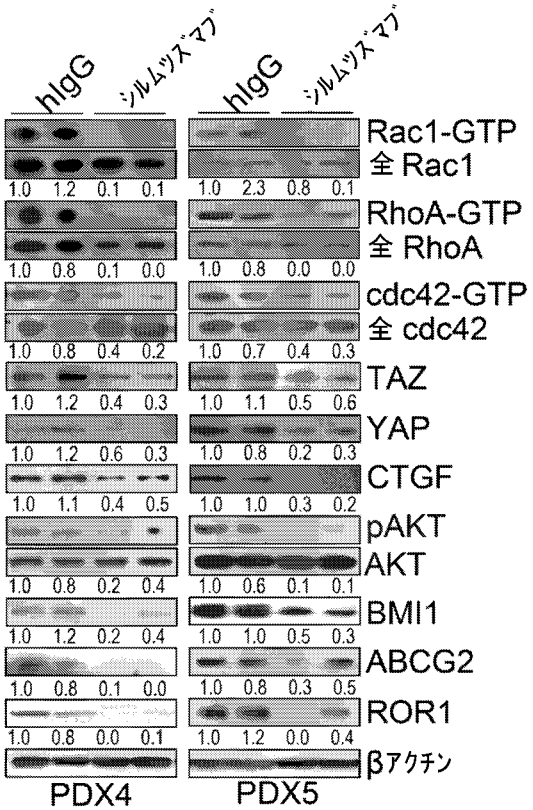

【図４Ｄ】

FIG. 4D



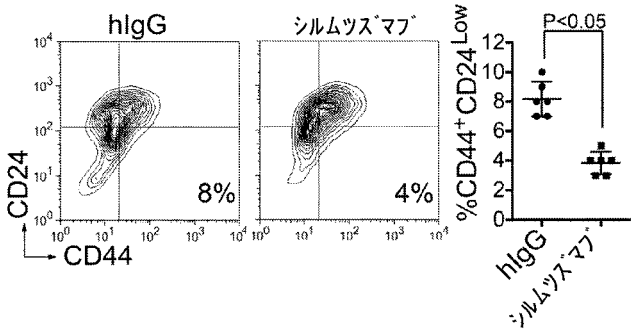

【図４Ｅ】

FIG. 4E




【図４Ｆ】

FIG. 4F



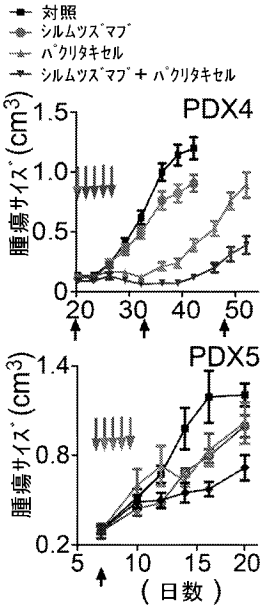

【図４Ｇ】

FIG. 4G

| | 処置 | 細胞数 | | | 腫瘍原性細胞の頻度 | P値 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1X10$^5$ | 1X10$^4$ | 1X10$^3$ | | |
| PDX4 | hIgG | 10/10 | 10/10 | 0/5 | 1/3285 | 8.61e-13 |
| | シルムツズマブ | 2/10 | 1/10 | 0/5 | 1/247052 | |
| PDX5 | hIgG | N.D | 5/5 | 2/4 | 1/1420 | 0.001 |
| | シルムツズマブ | N.D | 1/5 | 1/3 | 1/23572 | |

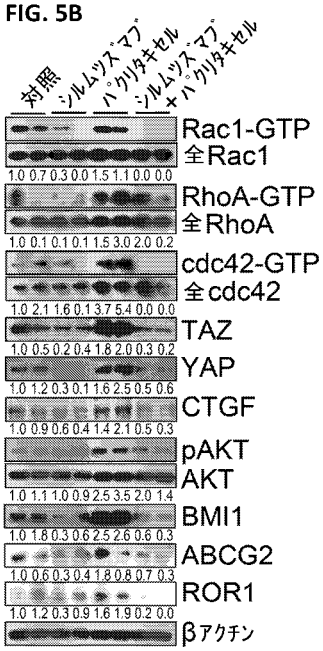
【図５Ａ】

FIG. 5A




【図５Ｂ】

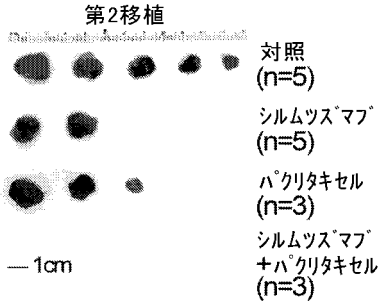
FIG. 5B




【図５Ｃ】

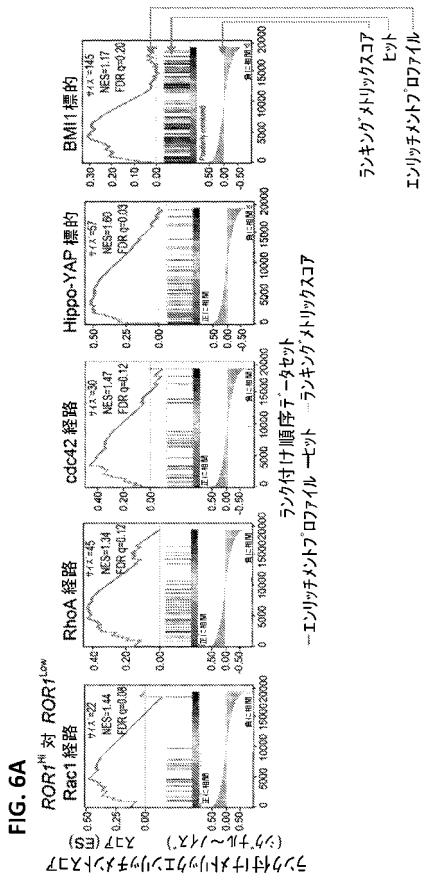
FIG. 5C

| 処置 | 細胞数 | | | |
|---|---|---|---|---|
| | PDX4 | | PDX5 | |
| | $1X10^5$ | $1X10^4$ | $1X10^5$ | $1X10^4$ |
| 対照 | 5/5 | 5/5 | 5/5 | 5/5 |
| シルムツズマブ | 2/5 | 1/5 | 3/5 | 2/5 |
| パクリタキセル | 5/5 | 5/5 | 4/5 | 3/3 |
| シルムツズマブ＋パクリタキセル | 0/5 | 0/4 | 0/5 | 0/3 |

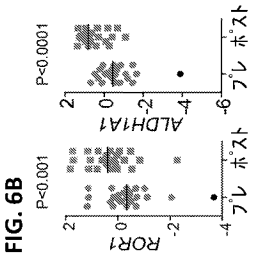



【図６Ａ】

FIG. 6A

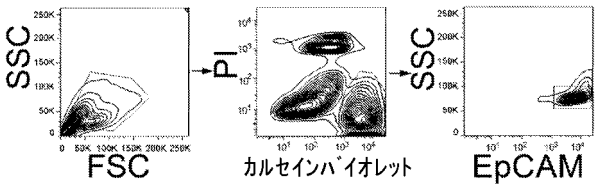


【図６Ｂ】



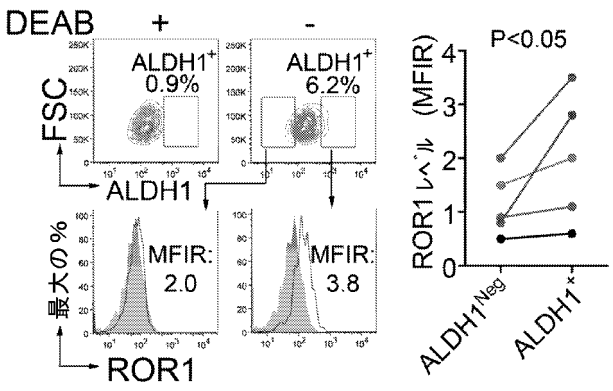

【図７Ａ】

FIG. 7A



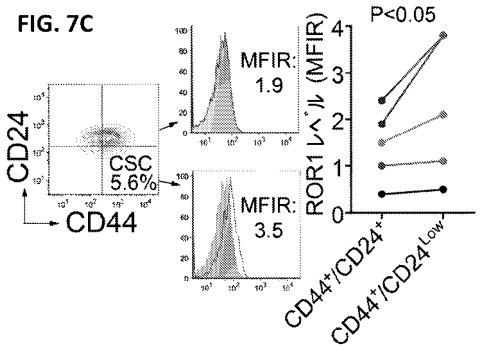

【図７Ｂ】

FIG. 7B



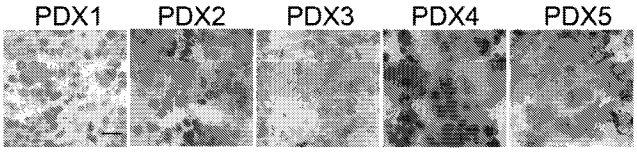

【図７Ｃ】

FIG. 7C



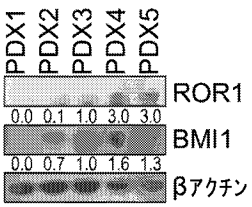

【図７Ｄ】

FIG. 7D




【図７Ｅ】

FIG. 7E




【図７Ｆ】

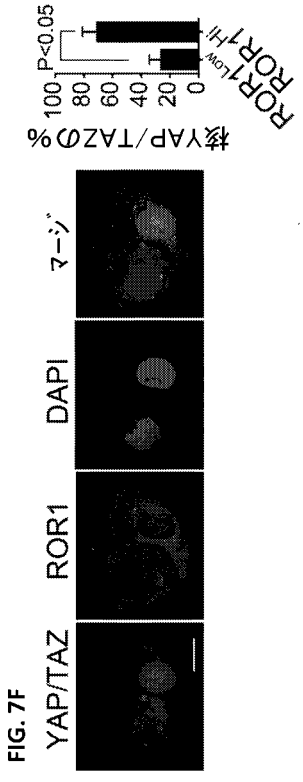



FIG. 7F

【図７Ｇ】

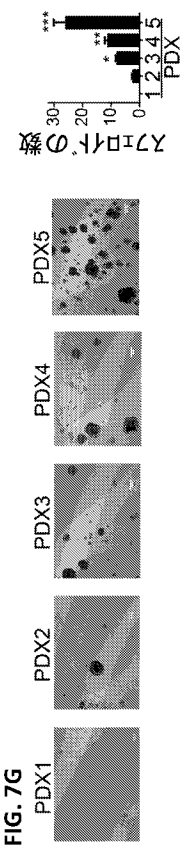



FIG. 7G

【図７Ｈ】

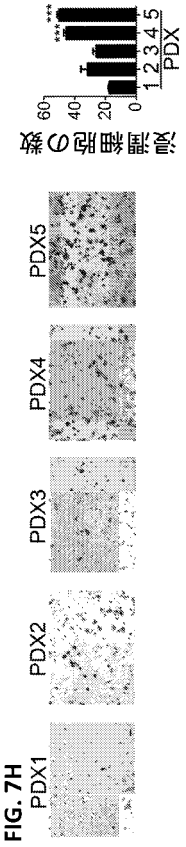



FIG. 7H

【図７Ｉ】

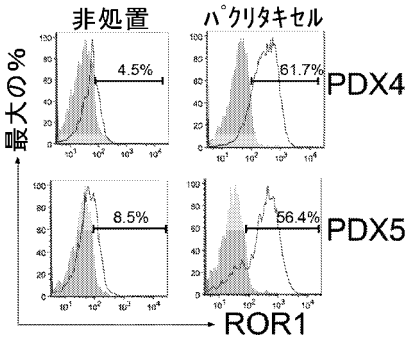



FIG. 7I

【図７Ｊ】

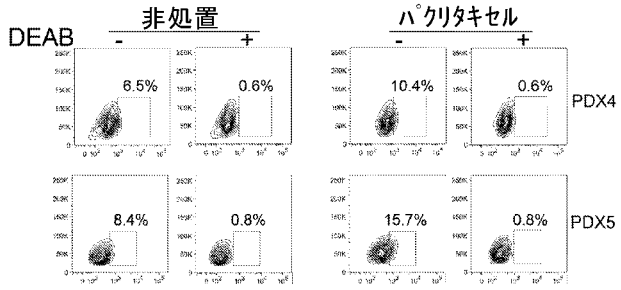



FIG. 7J

【図７Ｋ】

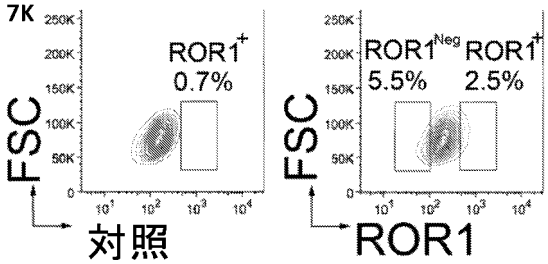



FIG. 7K

【図７Ｌ】

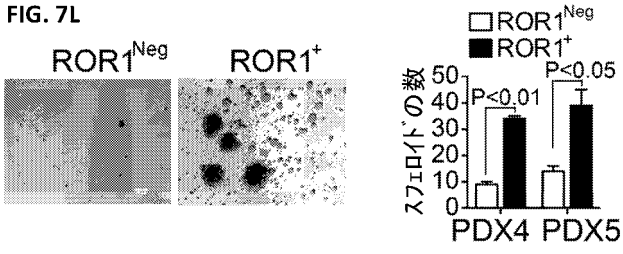
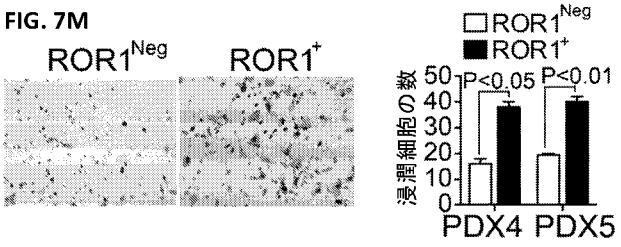



FIG. 7L

【図７Ｍ】

FIG. 7M



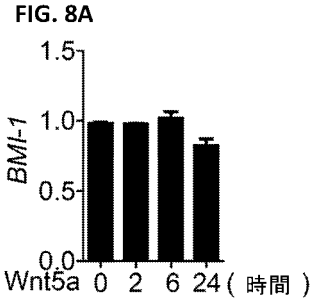

【図７Ｎ】

FIG. 7N

| 組織 ID | | 細胞数 | | | 腫瘍原性細胞の頻度 | P 値 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 5000 | 500 | 100 | | |
| PDX4 | ROR1+ | 6/6 | 4/6 | N.D | 1/455 | <0.001 |
| | ROR1Neg | 3/6 | 2/6 | N.D | 1/4740 | |
| PDX5 | ROR1+ | N.D | 8/9 | 1/10 | 1/329 | <0.001 |
| | ROR1Neg | N.D | 1/9 | 0/10 | 1/5247 | |

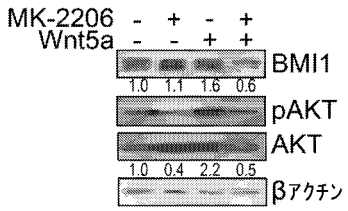
【図８Ａ】

FIG. 8A



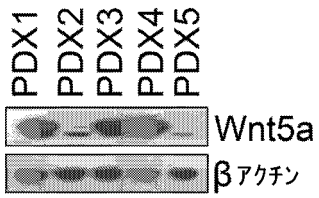

【図８Ｂ】

FIG. 8B



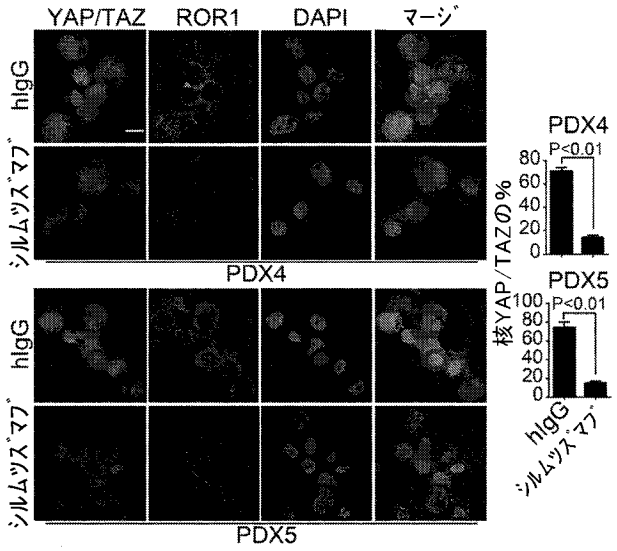

【図９Ａ】

FIG. 9A



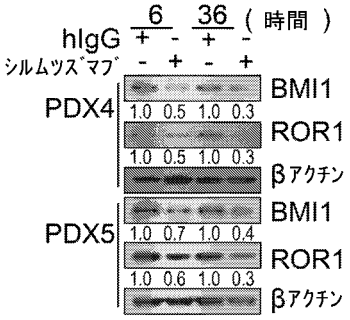

【図９Ｂ】

FIG. 9B



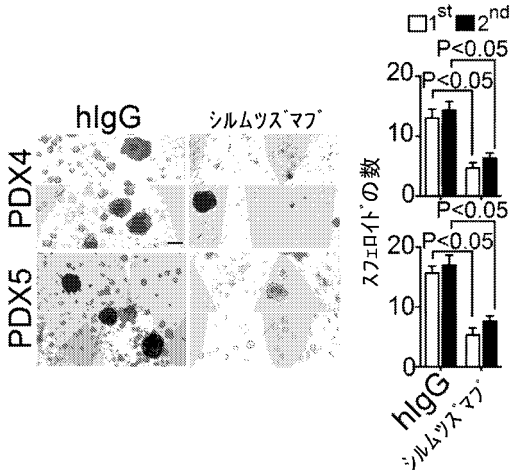

【図９Ｃ】

FIG. 9C



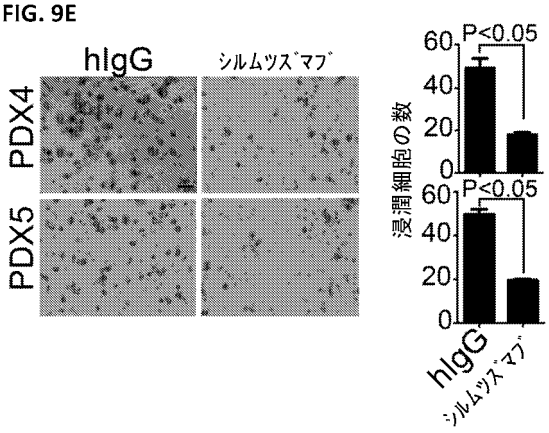
【図９Ｄ】

FIG. 9D



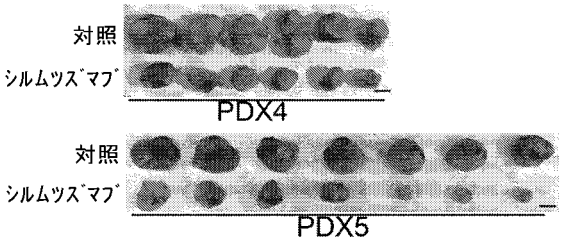

【図９Ｅ】

FIG. 9E



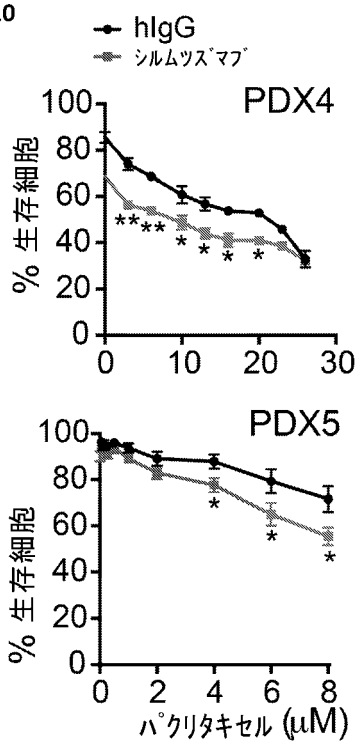

【図９Ｆ】

FIG. 9F



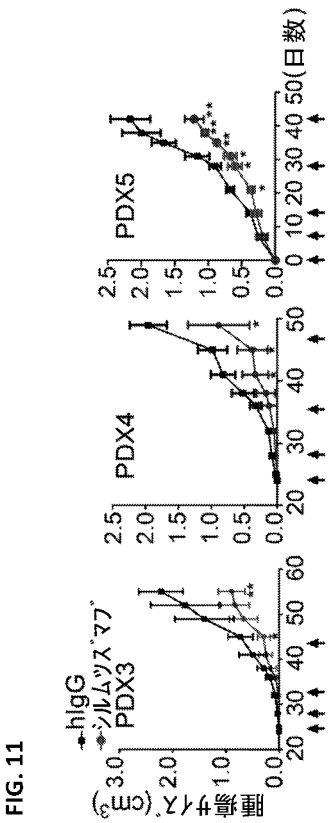

【図１０】

FIG. 10



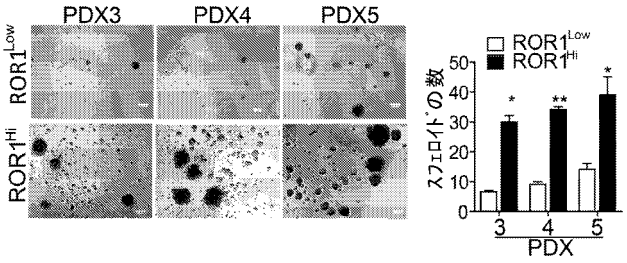

【図１１】

FIG. 11



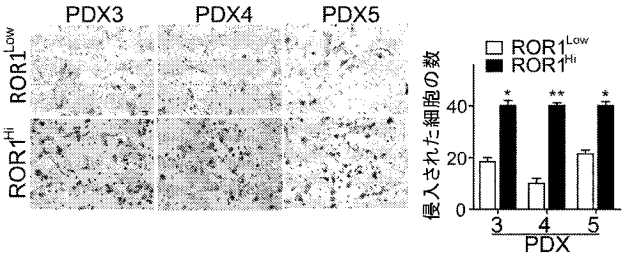
【図１２】

FIG. 12




【図１３】

FIG. 13



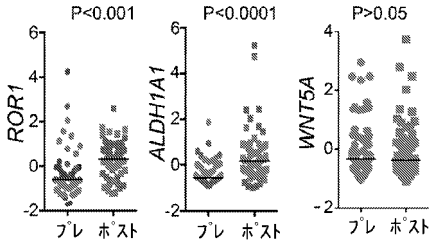

【図１４】

FIG. 14

| 組織ID | | 細胞数 5000 | 細胞数 500 | 細胞数 100 | 腫瘍原性細胞の頻度 | P 値 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| PDX3 | ROR1Low | 0/4 | 0/9 | 0/10 | 1/2913 | <0.01 |
| | ROR1Hi | 2/5 | 5/10 | 1/10 | inf | |
| PDX4 | ROR1Low | 3/6 | 2/6 | N.D | 1/455 | <0.001 |
| | ROR1Hi | 6/6 | 4/6 | N.D | 1/4740 | |
| PDX5 | ROR1Low | N.D | 1/9 | 0/10 | 1/329 | <0.001 |
| | ROR1Hi | N.D | 8/9 | 1/10 | 1/5247 | |

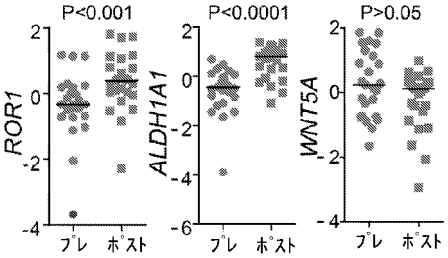
【図１５】

FIG. 15




【図１６】

FIG. 16



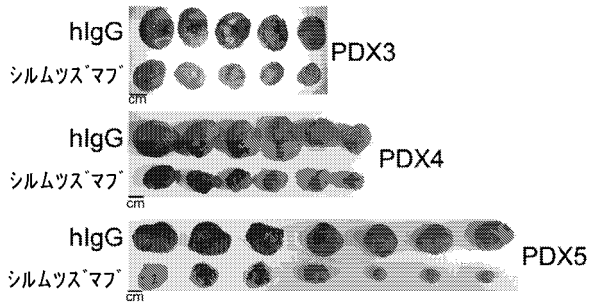

【図１７】

FIG. 17

| 遺伝子セット | サイズ | ES RORIHi 対 RORILow | ES ポスト対プレ | NES RORIHi 対 RORILow | NES ポスト対プレ | NOM p-val RORIHi 対 RORILow | NOM p-val ポスト対プレ | FDR q-val RORIHi 対 RORILow | FDR q-val ポスト対プレ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CD44+/CD24-low MS | 99 | 0.46 | 0.52 | 1.61 | 2.16 | 0.03 | 0.00 | 0.07 | 0.00 |
| EMT | 220 | 0.52 | 0.31 | 1.78 | 1.47 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.03 |
| Rac1経路 | 22 | 0.48 | 0.52 | 1.44 | 1.61 | 0.05 | 0.01 | 0.08 | 0.01 |
| RhoA経路 | 45 | 0.44 | 0.41 | 1.34 | 1.52 | 0.12 | 0.03 | 0.12 | 0.02 |
| cdc42 | 30 | 0.46 | 0.35 | 1.47 | 1.19 | 0.05 | 0.22 | 0.12 | 0.16 |
| Hippo-Yap | 57 | 0.53 | 0.36 | 1.60 | 1.33 | 0.04 | 0.07 | 0.03 | 0.07 |
| BMI1 | 143 | 0.32 | 0.42 | 1.17 | 1.90 | 0.20 | 0.00 | 0.20 | 0.00 |

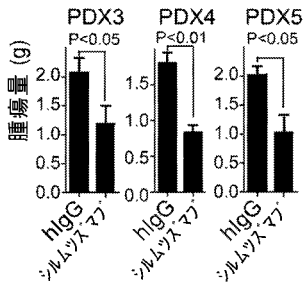
【図１８】

FIG. 18



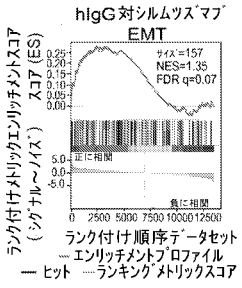

【図１９】

FIG. 19




【図２０】

FIG. 20



【配列表】
2021517135000001.app

【国際調査報告】

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
PCT/US19/21694

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - C07K 16/30; A61K 39/395, 31/337, 9/00; A61P 35/04 (2019.01)
CPC - C07K 16/30, 16/3015; A61K 39/39533, 39/395, 31/337, 9/0019; A61P 35/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X<br>--<br>Y | (ZHANG, S. et al.) Breast Cancer Initiating Cells Express Functional ROR1, Which Can Be Targeted By Cirmtuzumab To Potentially Mitigate The Risk Of Relapse After Therapy. Poster in 2017 San Antonio Breast Cancer Symposium. 5-9 December 2017 [Retrieved on 4 June 2019]. Retrieved from the Internet: <URL: http://sabcs17.posterview.com/nosl/p/P1-09-07>; Figures 1, 5; Introduction; Materials and Methods; Results; Conclusion | 1-7, 9-10, 12, 14-15, 18-22, 28-30, 32<br>----------<br>16-17, 24-26, 33-40 |
| X<br>--<br>Y | US 2018/0066063 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 8 March 2018; abstract; paragraphs [0007], [0009], [0011]-[0012], [0024], [0085], [0090], [0131], [0134], [0161]-[0163], [0166], [0172]. | 1, 9-11<br>----------<br>33-40 |
| X<br>--<br>Y | US 2017/0368173 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 28 December 2017; abstract; paragraphs [0136], [0148], [0153], [0156], [0180], [0183]-[0184], [0186], [0188]-[0190], [0192], [0195], [0448]. | 1, 23, 27, 31<br>----------<br>16-17, 24-26 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| 05 June 2019 (05.06.2019) | 19 JUL 2019 |
| Name and mailing address of the ISA/<br>Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents<br>P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450<br>Facsimile No. 571-273-8300 | Authorized officer<br>Shane Thomas<br>PCT Helpdesk: 571-272-4300<br>PCT OSP: 571-272-7774 |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
PCT/US19/21694

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

-***-Please See Supplemental Page-***-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-5, 6-7 (each in-part), 9-12 (each in-part), 14-32, 33-40 (each in-part); paclitaxel (first exemplary chemotherapeutic agent), and an ROR-1 antagonist antibody encompassing SEQ ID NO: 1 (first exemplary HCDR1), SEQ ID NO: 2 (first exemplary HCDR2), SEQ ID NO: 3 (first exemplary HCDR3); SEQ ID NO: 4 (first exemplary LCDR1), SEQ ID NO: 5 (first exemplary LCDR2), and SEQ ID NO: 6 (first exemplary LCDR3)

**Remark on Protest**

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US19/21694

-***-Continued from Box No. III: Observations Where Unity of Invention is Lacking-***-

Group I+, Claims 1-40, paclitaxel (chemotherapeutic agent), and an antibody encompsasing SEQ ID NO: 1 (HCDR1), SEQ ID NO: 2 (HCDR2), SEQ ID NO: 3 (HCDR3); SEQ ID NO: 4 (LCDR1), SEQ ID NO: 5 (LCDR2), and SEQ ID NO: 6 (LCDR3) are directed toward compositions and methods for treatment of chemoresistant cancer (breast cancer).

The compositions and methods will be searched to the extent that they encompass paclitaxel (first exemplary chemotherapeutic agent), and an ROR-1 antagonist antibody encompassing SEQ ID NO: 1 (first exemplary HCDR1), SEQ ID NO: 2 (first exemplary HCDR2), SEQ ID NO: 3 (first exemplary HCDR3); SEQ ID NO: 4 (first exemplary LCDR1), SEQ ID NO: 5 (first exemplary LCDR2), and SEQ ID NO: 6 (first exemplary LCDR3). Applicant is invited to elect additional chemotherapeutic agent(s) and/or antibody(ies) with associated set(s) of CDRs, with specified SEQ ID NO: for each CDR or specified substitution(s) at specified site(s) of a SEQ ID NO:, such that the sequence of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable residues or substituents), to be searched. Additional chemotherapeutic agent(s) and/or antibody(ies) will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1-5, 6-7 (each in-part), 9-12 (each in-part), 14-32, and 33-40 (each in-part) encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass paclitaxel (chemotherapeutic agent), and an antibody encompsasing SEQ ID NO: 1 (HCDR1), SEQ ID NO: 2 (HCDR2), SEQ ID NO: 3 (HCDR3); SEQ ID NO: 4 (LCDR1), SEQ ID NO: 5 (LCDR2), and SEQ ID NO: 6 (LCDR3). Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be docetaxel (chemotherapeutic agent).

No technical features are shared between the chemotherapeutic agents and/or CDR sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features including: a method of treating a chemoresistant cancer in a subject in need thereof, said method comprising administering to said subject a therapeutically effective amount of a chemotherapeutic agent and a therapeutically effective amount of a tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (ROR-1) antagonist, thereby treating a chemoresistant cancer in said subject; a method of treating breast cancer in a subject in need thereof, said method comprising administering to said subject a therapeutically effective amount of a chemotherapeutic agent and a therapeutically effective amount of a tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (ROR-1) antagonist, thereby treating breast cancer in said subject; a pharmaceutical composition comprising (i) a chemotherapeutic agent, (ii) a ROR-1 antagonist and (iii) a pharmaceutically acceptable excipient; a pharmaceutical composition comprising (i) a chemotherapeutic agent, (ii) an anti-ROR-1 antibody and (iii) a pharmaceutically acceptable excipient, wherein said chemotherapeutic agent and said anti-ROR-1 antibody are present in a combined synergistic amount, wherein said combined synergistic amount is effective to treat breast cancer in a subject in need thereof; these shared technical features are previously disclosed by US 2017/0368173 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) (hereinafter 'California').

California discloses a method of treating a chemoresistant cancer in a subject in need thereof (a method of treating a chemoresistant cancer in a subject in need thereof; abstract; paragraph [0148]), said method comprising administering to said subject a therapeutically effective amount of a chemotherapeutic agent (said method comprising administering to said subject a therapeutically effective amount of a chemotherapeutic agent; abstract; paragraph [0136]) and a therapeutically effective amount of a tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (ROR-1) antagonist (a therapeutically effective amount of a tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (ROR-1) antagonist; abstract), thereby treating a chemoresistant cancer in said subject (thereby treating a chemoresistant cancer in said subject; abstract; paragraph [0148]); a method of treating breast cancer in a subject in need thereof (a method of treating breast cancer in a subject in need thereof; abstract; paragraph [0148]), said method comprising administering to said subject a therapeutically effective amount of a chemotherapeutic agent (said method comprising administering to said subject a therapeutically effective amount of a chemotherapeutic agent; abstract; paragraphs [0136], [0183]) and a therapeutically effective amount of a tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (ROR-1) antagonist (a therapeutically effective amount of a tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (ROR-1) antagonist; abstract), thereby treating breast cancer in said subject (abstract; paragraph [0148]); a pharmaceutical composition (abstract) comprising (i) a chemotherapeutic agent (a pharmaceutical composition comprising (i) a chemotherapeutic agent selected from the group consisting of plant alkaloid, an anti-tumor antibiotic and a topoisomerase inhibitor; paragraphs [0136], [0183]), (ii) a ROR-1 antagonist (a therapeutically effective amount of a tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (ROR-1) antagonist; abstract) and (iii) a pharmaceutically acceptable excipient (abstract); a pharmaceutical composition (abstract) comprising (i) a chemotherapeutic agent (a chemotherapeutic agent selected from the group consisting of a plant alkaloid, an antitumor antibiotic and a topoisomerase inhibitor; paragraphs [0136], [0183]), (ii) an anti-ROR-1 antibody (abstract; paragraph [0006]) and (iii) a pharmaceutically acceptable excipient (abstract), wherein said chemotherapeutic agent and said anti-ROR-1 antibody are present in a combined synergistic amount (said chemotherapeutic agent and said anti-ROR-1 antibody are present in a combined synergistic amount; paragraph [0009]), wherein said combined synergistic amount is effective to treat breast cancer in a subject in need thereof (wherein said combined synergistic amount is effective to treat breast cancer in a subject in need thereof; abstract; paragraph [0117]).

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the California reference, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | | | FI | | テーマコード（参考） |
|---|---|---|---|---|---|
| *Ａ６１Ｋ* | *9/08* | *(2006.01)* | Ａ６１Ｋ | 31/337 | ４Ｈ０４５ |
| *Ｃ０７Ｋ* | *16/28* | *(2006.01)* | Ａ６１Ｋ | 9/08 | |
| *Ｃ１２Ｑ* | *1/68* | *(2018.01)* | Ｃ０７Ｋ | 16/28 | |
| *Ｃ０７Ｋ* | *16/46* | *(2006.01)* | Ｃ１２Ｑ | 1/68 | |
| | | | Ｃ０７Ｋ | 16/46 | |

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

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＴＲＩＴＯＮ

(72)発明者　ジャン，スウピン
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９２０９３－０８２０、ラ・ホーヤ、ヘルス・サイエンス・ドライブ・３８５５、ルーム・４３１１
(72)発明者　ギア，エマヌエラ・エム
アメリカ合衆国、カリフォルニア・９２１２２、サン・ディエゴ、ビア・キーノー・８１０８、ユニット・４

Ｆターム(参考)　4B063 QA01 QA18 QA19 QQ42 QQ52 QR32 QR35 QR77
4C076 AA11 BB13 CC27
4C084 AA19 MA02 MA66 NA05 NA14 ZB26 ZC02 ZC752
4C085 AA14 BB11 CC23
4C086 AA01 AA02 BA02 NA05 NA14 ZB26 ZC02 ZC75
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA40 DA76 EA20 FA74