

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6254087号
(P6254087)

(45) 発行日 平成29年12月27日(2017.12.27)

(24) 登録日 平成29年12月8日(2017.12.8)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00
A 6 1 K 31/445 (2006.01)	A 6 1 K 31/445
A 6 1 K 31/496 (2006.01)	A 6 1 K 31/496
A 6 1 K 31/501 (2006.01)	A 6 1 K 31/501
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00

請求項の数 16 (全 122 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-535954 (P2014-535954)	(73) 特許権者	509012625
(86) (22) 出願日	平成24年10月12日(2012.10.12)		ジェネンテック, インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2015-501301 (P2015-501301A)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ ディーエヌエー
(43) 公表日	平成27年1月15日(2015.1.15)		ウェイ 1
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/060094	(74) 代理人	100109726
(87) 国際公開番号	W02013/056148		弁理士 園田 吉隆
(87) 国際公開日	平成25年4月18日(2013.4.18)	(74) 代理人	100101199
審査請求日	平成27年10月13日(2015.10.13)		弁理士 小林 義教
(31) 優先権主張番号	61/547,706	(72) 発明者	アシュケナーズ, アヴィ
(32) 優先日	平成23年10月15日(2011.10.15)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
(33) 優先権主張国	米国 (US)		80, サウス サンフランシスコ, デ
(31) 優先権主張番号	61/704,397		イーエヌエー ウェイ 1, シー/オー
(32) 優先日	平成24年9月21日(2012.9.21)		ジェネンテック, インコーポレイテッ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		ド

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌を治療するための SCD1 アンタゴニスト

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

癌の治療のための医薬であって、SCD1 アンタゴニストを含み、癌は、一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現し、一又は複数のバイオマーカーが、FGFR3、リン酸化FGFR3、又はその組み合わせを含み、SCD1 アンタゴニストが、SCD1 siRNA、SCD1 shRNA、SCD1 アンチセンスポリヌクレオチド、A37062、G02447171、又はRG1、RG2、RG3、RG4、RG5、RG6、RG7、RG8、RG9、RG10、RG11、RG12、RG13及びRG14のいずれかである、医薬。

【請求項 2】

癌の治療のための医薬であって、SCD1 アンタゴニストを含み、癌は、一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現し、一又は複数のバイオマーカーが、FGFR3、リン酸化FGFR3、FGFR3 調節性脂質生合成シグナチャー (FGFR3-regulated lipogenic signature) の一又は複数の遺伝子、又はその組み合わせを含み、FGFR3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子が、SREBF1、G6PD、ACOT7、PTPLA、PCCB、FADS1、RDH11、ACER3、PDSS1、MVD、AGPAT5、HSD17B2、ACSL4、EBP、PIGW、LBR、ACLY、ADORA2B、GPCPD1、CYP24A1、ACSL3、MVK、ACSS2、FDPs、ELOVL5、HMGCR、LIPG、ME1、DHCR7、LSS、ACAT2、FASN、CYP51A1、IDI1、FDFT1、FAR2、HMGCS1、SD

10

20

R 1 6 C 5、L D L R、M S M O 1、I N S I G 1、D H R S 9、L R P 8、S Q L E、P C S K 9、F A B P 4、及びその組み合わせからなる群からの一又は複数の遺伝子、を含む、からなる、又は、から本質的になり、S C D 1 アнтаゴニストが、S C D 1 s i R N A、S C D 1 s h R N A、S C D 1 アンチセンスポリヌクレオチド、A 3 7 0 6 2、G 0 2 4 4 7 1 7 1、又はR G 1、R G 2、R G 3、R G 4、R G 5、R G 6、R G 7、R G 8、R G 9、R G 1 0、R G 1 1、R G 1 2、R G 1 3 及びR G 1 4 のいずれかである、医薬。

【請求項 3】

癌が、子宮内膜癌細胞、頭頸部癌、腎臓癌、卵巣癌、結腸癌、膵臓癌、泌尿器癌、又は膀胱癌である、請求項 1 又は 2 に記載の医薬。

10

【請求項 4】

癌が、腎臓癌、膵臓癌、又は膀胱癌である、請求項 3 に記載の医薬。

【請求項 5】

癌が膀胱癌である、請求項 4 に記載の医薬。

【請求項 6】

一又は複数のバイオマーカーが F G F R 3 である、請求項 1 から 5 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 7】

一又は複数のバイオマーカーがリン酸化 F G F R 3 である、請求項 1 から 5 の何れか一項に記載の医薬。

20

【請求項 8】

一又は複数のバイオマーカーが F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子である、請求項 2 から 5 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 9】

F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子が、E L O V L 5、H M G C R、L I P G、M E 1、D H C R 7、L S S、A C A T 2、F A S N、C Y P 5 1 A 1、I D I 1、F D F T 1、F A R 2、H M G C S 1、S D R 1 6 C 5、L D L R、M S M O 1、I N S I G 1、D H R S 9、L R P 8、S Q L E、P C S K 9、F A B P 4、及びその組み合わせからなる群からの一又は複数の遺伝子、を含む、からなる、又は、から本質的になる、請求項 8 に記載の医薬。

30

【請求項 10】

F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子が、C Y P 5 1 A 1、I D I 1、F D F T 1、F A R 2、H M G C S 1、S D R 1 6 C 5、L D L R、M S M O 1、I N S I G 1、D H R S 9、L R P 8、S Q L E、P C S K 9、F A B P 4、及びその組み合わせからなる群からの一又は複数の遺伝子、を含む、からなる、又は、から本質的になる、請求項 9 に記載の医薬。

【請求項 11】

F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子が、L D L R、M S M O 1、I N S I G 1、D H R S 9、L R P 8、S Q L E、P C S K 9、F A B P 4、及びその組み合わせからなる群からの一又は複数の遺伝子、を含む、からなる、又は、から本質的になる、請求項 10 に記載の医薬。

40

【請求項 12】

F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子が、S Q L E、P C S K 9、F A B P 4、及びその組み合わせからなる群からの一又は複数の遺伝子、を含む、からなる、又は、から本質的になる、請求項 11 に記載の医薬。

【請求項 13】

一又は複数のバイオマーカーが成熟した S R E B P 1 をさらに含む、請求項 1 から 5 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 14】

一又は複数のバイオマーカーが△9一価不飽和脂肪酸をさらに含む、請求項 1 から 5 の

50

何れか一項に記載の医薬。

【請求項 1 5】

一又は複数のバイオマーカーが△9一価不飽和脂肪酸：飽和脂肪酸の比率をさらに含む、請求項 1 から 5 の何れか一項に記載の医薬。

【請求項 1 6】

mTOR阻害剤、PI3K阻害剤、MEK阻害剤、及び／又はFGFR3阻害剤を含む群から選択される更なる治療薬が更に投与される、請求項 1 から 1 5 の何れか一項に記載の医薬。

【発明の詳細な説明】

【発明の開示】

10

【0001】

関連出願の相互参照

この出願は、2011年10月15日に出願された米国仮出願番号61/547,706、及び2012年9月21日に出願された米国仮出願番号61/704,397に対して、米国特許法第119条の下で優先権を主張し、その内容は参照することにより両方ともその全体が援用される。

【0002】

配列表

本出願は、EFS-Web経由でASCIIフォーマットで提出された配列表を含み、その全体が本明細書中で参照することにより援用される。2012年9月27日に作成された前記ASCIIコピーは、P4767R1W0_PCTSequenceListing.txtと命名され、4335バイトの大きさである。

20

【技術分野】

【0003】

分野

本明細書に提供されるのは、癌などの病的状態を治療するための治療法及びSCD1アンタゴニストを用いる方法である。

【背景技術】

【0004】

背景

30

膀胱癌は、全世界で5番目に多い癌であり、2009年に米国で70980人の新たな症例と14330人の死亡が推定される(34)。膀胱癌におけるFGFR3活性化変異及び／又は過剰発現の罹患率及び大規模な前臨床機能喪失研究は、この疾患に対しての重要な発癌性ドライバー及び潜在的な治療標的としてFGFR3を関与させている。FGFR3を標的とする治療薬の臨床開発に向けた最近の進歩にもかかわらず、FGFR3シグナル伝達が、膀胱癌の発生及び進行にどのように寄与しているのかについての重要な洞察が解明されていない。

【0005】

FGFR3は、ヒトにおいて同定された22のFGFポリペプチドの多くからのシグナルを伝達する4つの構造的及び機能的に関連する受容体チロシンキナーゼのファミリーに属する(1-3)。リガンド結合に際し、FGFR3は二量体化し、特定のチロシン残基で自己リン酸化される。これは、FGFR基質2α(FRS2α)などのアダプタータンパク質の受容体への補充を引き起こし、標準的なRas-Raf-MAPK及びPI3K-Akt-mTOR経路を含む複数の下流のシグナル伝達カスケードの活性化をもたらす(1-3)。FGFR3シグナル伝達は、胚発生の間および組織恒常性の維持において重要な役割を果たし、文脈依存的に細胞増殖、分化、遊走及び生存を調節する(3-4)。FGFR3の異常な活性化は、多様な生理学的及び病理学的状態に関係している。FGFR3における機能獲得型変異は、人間の先天性骨および頭蓋疾患の範囲の中で最も一般的な遺伝的変化の一つである(5-6)。変異又は過剰発現を介したFGFR3の調節不全是、t(4;14)(p16.3;q32)染色体転座(7-10)についての多発性骨

40

50

髄腫陽性、膀胱癌（11-14）、乳癌（15）、子宮頸癌（11、16）、肝細胞癌（17）、扁平上皮非小細胞肺癌（18、19）、及び精巣腫瘍（20）を含む様々なヒト癌と関連づけられる。特に、FGFR3の体細胞活性化変異は、乳頭の60-70%、及び筋浸潤性膀胱腫瘍の16-20%で同定されている（13-14）。更に、FGFR3の過剰発現は、表層性並びに進行性膀胱癌のかなりの部分において実証されている（12-13、21）。重要なことに、過剰の機能喪失研究が、FGFR3の機能の薬理的及び遺伝的介入は、培養液中で膀胱癌細胞の増殖を遮断し、動物モデルにおいて腫瘍増殖を阻害することを実証している。まとめると、これらのデータは、一部の膀胱癌がFGFR3活性に依存性(addictive)であることを示しており、膀胱癌における治療標的として、この受容体の重要性を強調している。実際、FGFR3に対するモノクローナル抗体および小分子阻害剤の両方が、最近、この疾患の設定における潜在的な標的療法として開発されている（26-28）。抗FGFR3薬剤の臨床開発に向けたこれらの最近の進歩および細胞表面のFGFR3から発する標準的なシグナル伝達経路の特徴付けにもかかわらず、現時点では、FGFR3シグナル伝達が膀胱癌にどのように寄与するのかほとんど情報がない。FGFR3活性化の正確な分子及び細胞性因果関係はFGFR3活性化の下流では、まだ解明されていない。

10

【発明の概要】

【0006】

概要

本明細書に提供されるのは、癌などの病的状態を治療するための治療法及びSCD1アンタゴニストを用いる方法である。一態様において、本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量と癌細胞を接触させることを含む、癌細胞の細胞増殖を阻害する方法である。また本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌細胞の細胞増殖を阻害する方法である。

20

【0007】

一態様において、提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量と癌細胞を接触させることを含む、細胞周期の停止を誘導する方法である。本明細書に更に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌細胞の細胞周期の停止を誘導する方法である。

【0008】

一態様において、本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量と癌細胞を接触させることを含む、癌細胞のアポトーシスを促進する方法である。また本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌細胞のアポトーシスを促進する方法である。

30

【0009】

更に、別の態様において、本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌細胞を治療する方法である。

【0010】

任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞は、子宮内膜癌細胞、頭頸部癌細胞、腎臓癌細胞、卵巣癌細胞、結腸癌、膵臓癌細胞、泌尿器癌細胞、又は膀胱癌細胞である。幾つかの実施態様において、癌細胞は腎臓癌細胞、膵臓癌細胞、又は膀胱癌細胞である。任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する。

40

【0011】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌を治療する方法である。幾つかの実施態様において、個体における癌は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する。

50

【0012】

一態様において、本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌を治療する方法であり、ここで治療は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する癌を有する個体に基づいている。

【0013】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、個体が、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する癌を有することを
10

見いだされていることを条件として、個体において癌を治療する方法である。
別の態様において、本明細書に提供されるのは、個体において癌を治療する方法であり、その方法は、個体から得られたサンプルが、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現することを決定し、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法の有効量を個体に投与することを含み、それにより癌が治療される。

【0014】

更に、別の態様において、本明細書に提供されるのは、（a）癌が、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する、癌を有する個体を選択すること；及び（b）そのようにして選択された個体にSCD1アンタゴニストの有効量を投与することを含み、それにより癌が治療される、癌を治療する方法である。
20

【0015】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法による治療から利益を受ける可能性がより高く、又はSCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法による治療から利益を受ける可能性が低い個体を同定する方法であり、その方法は、個体から得られたサンプル中で一又は複数のバイオマーカーの発現レベルを決定することを含み、ここで、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、個体がSCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法による治療から利益を受ける可能性がより高く、又は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、サンプル中の一又は複数のバイオマーカーの発現レベルの減少が、個体がSCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法による治療から利益を受ける可能性が低いことを示す。
30

【0016】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、癌を有する個体がSCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法に効果的に応答する可能性が高いかどうかを予測する方法であり、その方法は一又は複数のバイオマーカーを評価することを含み、それにより、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、個体がアンタゴニストによる治療に効果的に応答する可能性がより高いことを示し、及び参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、一又は複数のバイオマーカーの減少した発現レベルは、個体がアンタゴニストによる治療に効果的に応答する可能性が低いことを示す。
40

【0017】

一態様において、本明細書に提供されるのは、個体から得られたサンプル中で、一又は
50

複数のバイオマーカーの発現を測定することを含む、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法に対する個体の応答又は応答の欠如を予測する方法であり、ここで、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法に対する個体の応答を予測し、及び参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの減少した発現レベルは、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法に対する個体の応答の欠如を予測する。別の態様において、本明細書に提供されるのは、癌を有する個体がSCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法からの利益を示すであろう可能性を決定する方法であり、その方法は、個体から得られたサンプル中で一又は複数のバイオマーカーの発現レベルを決定し、参照サンプルと比較して、サンプル中で一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、個体がSCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法からの利益の増加した可能性を有することを示し、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの減少した発現レベルは、個体が、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法からの利益の減少した可能性を有することを示す。

10

【0018】

任意の方法の幾つかの実施態様において、癌は、子宮内膜癌、頭頸部癌、腎臓癌、卵巣癌、結腸癌、膵臓癌、泌尿器癌、又は膀胱癌である。幾つかの実施態様において、癌は腎臓癌、膵臓癌、又は膀胱癌である。幾つかの実施態様において、癌は膀胱癌である。

20

【0019】

任意の方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーはFGFR3である。任意の方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーはリン酸化されたFGFR3である。

【0020】

任意の方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーはFGFR3調節性脂質生合成シグナチャー(FGFR3-regulated lipogenic signature)の一又は複数の遺伝子である。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、SREBF1、G6PD、ACOT7、PTPLA、PCCB、FADS1、RDH11、ACER3、PDSS1、MVD、AGPAT5、HSD17B2、ACSL4、EBP、PIGW、LBR、ACLY、ADORA2B、GPCPD1、CYP24A1、ACSL3、MVK、ACSS2、FDPS、ELOVL5、HMGCR、LIPG、ME1、DHCR7、LSS、ACAT2、FASN、CYP51A1、IDI1、FDFT1、FAR2、HMGCS1、SDR16C5、LDLR、MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、ELOVL5、HMGCR、LIPG、ME1、DHCR7、LSS、ACAT2、FASN、CYP51A1、IDI1、FDFT1、FAR2、HMGCS1、SDR16C5、LDLR、MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、CYP51A1、IDI1、FDFT1、FAR2、HMGCS1、SDR16C5、LDLR、MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、LDLR、MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの

30

40

50

一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、S Q L E、P C S K 9、S C D 1、F A B P 4 からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーは、S C 4 M O L を、含む、からなる、又は、から本質的になる。

【0021】

任意の方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは成熟 S R E B P 1 である。任意の方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは△9 一価不飽和脂肪酸である。任意の方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは△9 一価不飽和脂肪酸：飽和脂肪酸の比率である。

10

【0022】

任意の方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは P I 3 K シグナル伝達、m T O R シグナル伝達、M E K シグナル伝達である。任意の方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは、P I 3 K、P T E N、p 8 5、T S C 1 / 2、及び A K T からなる群から選択される遺伝子の一又は複数の多型である。任意の方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーはリン酸化された A K T である。

【0023】

任意の方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーの発現レベルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、約 1.5 倍、約 1.75 倍、約 2 倍、約 2.25 倍、約 2.5 倍、約 2.75 倍、約 3.0 倍、又は約 3.25 倍を超えるだけ上昇する。

20

【0024】

任意の方法の幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、抗体、結合性ポリペプチド、結合性小分子、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子は、G 0 1 5 2 2 4 0 3 (A 3 7 0 6 2)、G 0 2 4 4 7 1 7 1、又はそれらの誘導体である。幾つかの実施態様において、小分子は、R G 1、R G 3、R G 8、又はそれらの誘導体である。

30

【0025】

任意の方法の幾つかの実施態様において、方法は、追加の治療薬を含む。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】F G F R 3 調節性遺伝子の同定3つのF G F R 3 s h R N A の誘導の際、有意な発現の変化を伴う遺伝子の重複を概説するベン図。赤い数字は上方制御された遺伝子を、緑色のものは下方制御された遺伝子を表す。

【図2】F G F R 3 のノックダウンは、ステロール及び脂肪酸生合成及び代謝に関与する遺伝子の発現を減少させる。(A) F G F R 3 ノックダウンによって調節されることが見いだされたプローブのヒートマップ。3つの独立したドキシサイクリン誘導性F G F R 3、又は対照のs h R N A (C t r l)を発現するR T 1 1 2 膀胱癌細胞を、R N A 抽出前に、1 μ g / m L のドキシサイクリンを含み又は含まずに2日間培養した。全てのR N A をマイクロアレイ研究に供した。3つ全てのF G F R 3 のs h R N A によって調節される遺伝子を、ヒートマップに示した。上部パネルには、F G F R 3 タンパク質レベルを示す。(B) コレステロール及び脂質生合成に関与する遺伝子のコホートは、F G F R 3 ノックダウン細胞においては抑制される。(C、D) q R T - P C R によるF G F R 3 調節性脂質合成遺伝子の確認。脂質(C)及びステロール生合成経路(D)からの代表的遺伝子のm R N A レベルをq R T - P C R により測定した。データは平均値+ / - S D として表される。(E) F G F R 3 のノックダウンは、S R E B P 1 の発現を適度に低下させるが

40

50

、SREBP2は低下させない。SREBP1及びSREBP2のmRNAレベルを、qRT-PCRによって分析した。データは平均値 $\pm$ SDとして表される。

【図3】FGFR3 siRNAは、UMUC-14細胞において、ステロール及び脂肪酸合成及び代謝に関与する遺伝子の発現を減少させる。UMUC-14膀胱癌細胞を、FGFR3 siRNA又は非標的化対照siRNA (Ctrl)でトランスフェクトし、全RNAを、トランスフェクションの48時間後に抽出した。脂質(A)及びステロール生合成経路(B)からの代表的遺伝子のmRNAレベルをqRT-PCRにより測定した。データは平均値 $\pm$ SDとして表される。(C)FGFR3のノックダウンは、SREBP1の発現を適度に低下させるが、SREBP2は低下させない。SREBP1及びSREBP2のmRNAレベルを、qRT-PCRによって分析した。データは平均値 $\pm$ SDとして表される。

10

【図4】FGFR3ノックダウン細胞におけるSREBP1、FASN及びSCD1の発現低下は、脂肪酸合成及び不飽和化の減少と相関する。(A)FGFR3のノックダウンは、SREBP1、FASN及びSCD1の発現を低下させる。ドキシサイクリン誘導性FGFR3、又は対照のshRNA (Ctrl)を発現するRT112膀胱癌細胞を、回収前に、1 μ g/mLのドキシサイクリンを含み又は含まずに3日間培養した。細胞溶解物を免疫ブロット分析に供した。(B)FGFR3のノックダウンは、脂質生合成を抑制する。RT112細胞は、[14 C]酢酸との4時間のインキュベーションの前に、1 μ g/mLのドキシサイクリンを含み又は含まずに3日間培養した。脂質画分を抽出し、脂質に組み込まれた[14 C]酢酸をシンチレーション計数により測定した。データは、サンプルタンパク質含有量をサンプリングするために正規化し、平均 $\pm$ SDとして示された。(C、D)FGFR3のノックダウンは、ステアリン酸不飽和化を遮断する。RT112細胞は、[14 C]ステアリン酸との6時間のインキュベーションの前に、1 μ g/mLのドキシサイクリンを含み又は含まずに3日間培養した。[14 C]ステアリン酸不飽和化は、銀染色薄層クロマトグラフィーによって分析し(C)、シンチレーション計数により測定した(D)。データは平均値 $\pm$ SDとして表示され、3つの独立した実験を代表する。

20

【図5】抗FGFR3モノクローナル抗体、R3 Mabは、UMUC-14細胞中で、SREBP1、FASN及びSCD1の発現および脂肪酸合成を低下させる。(A)UMUC-14膀胱癌細胞を、1%FBS培地中で培養し、15 μ g/mLの抗FGFR3抗体、R3 Mab、又は対照抗体 (Ctrl 抗体)で48時間処置した。細胞溶解物をウェスタンブロット分析に供した。(B)UMUC-14細胞は、15 μ g/mLのR3 Mab又はCtrl 抗体を含む1%FBS培地中で48時間培養し、[14 C]酢酸が最後の4時間で追加された。脂質画分への[14 C]酢酸の取り込みが抽出され、シンチレーション計数によって測定した。データは、各サンプル中の総タンパク質量に対して正規化し、平均 $\pm$ SDとして示された。

30

【図6】FGFR3シグナル伝達は、SREBP1依存的に脂質生合成を促進する。(A)FGF1-FGFR3軸は、成熟したSREBP1の蓄積とFASN及びSCD1の発現を刺激する。Cal29膀胱癌細胞は20時間血清飢餓状態とされ、その後、指示された時間、FGF1 (25 ng/mL)及びヘパリン (10 μ g/mL)で処置した。細胞溶解物を抗FGFR3抗体を用いて免疫沈降させ、抗ホスホチロシン抗体 (4G10)を用いFGFR3のリン酸化について評価した。溶解物はまた、方法に記載したように、示されたタンパク質を検出するために免疫ブロットした。(B)FGF1はCal29細胞における脂肪酸合成を刺激する。Cal29細胞は20時間血清飢餓状態であり、その後、25 ng/mLのFGF1及び10 μ g/mLのヘパリンと共に24時間インキュベートした。[14 C]酢酸を更なる16時間のインキュベーションで添加した。総脂肪酸(TFA)、飽和(SFA)及び不飽和脂肪酸(UFA)への 14 C取り込みをシンチレーション計数によって測定した。データは、サンプルタンパク質含有量をサンプリングするために正規化し、FGF1の処置無しと比較して平均 $\pm$ SDとして示され、3つの独立実験を代表する。(C)FGF1は、主にSREBP1を通じてSCD1の発現を刺

40

50

激する。RT112細胞を、SREBP1 (Sr1)、SREBP2 (Sr2)を標的とする siRNA、又は非標的対照 siRNA (Ctrl) でトランスフェクトした。トランスフェクション後24時間で、細胞は20時間血清飢餓状態とされ、その後、24時間、FGF1 (25 ng/mL) 及びヘパリン (10 µg/mL) で処置した。総細胞溶解物を免疫ブロット分析に供した。

【図7】 FGF1は、膀胱癌細胞においてSREBP1活性化及び脂質生合成を刺激する。(A、B) Cal29 (A) 及びRT112 (B) 膀胱癌細胞における、FGF1により誘導されるFGFR3活性化の用量反応。Cal29及びRT112細胞は20時間血清飢餓状態とされ、次いで、異なる用量のFGF1 + 10 µg/mLのヘパリンで10分間処置した。細胞溶解物を示された抗体により免疫ブロット分析に供した。方法に記載のようにFGFR3のリン酸化を分析した。Cal29細胞において、リン酸化されたFRS2は見かけ移動度シフトを表示することに注意。(C) FGF1は、SREBP1の発現と成熟、FASN及びSCD1の発現を刺激する。RT112膀胱癌細胞は20時間血清飢餓状態とされ、その後、指示された時間、30 ng/mLのFGF1 + 10 µg/mLのヘパリンで処置した。総細胞溶解物をウェスタンブロット分析に供した。(D) FGF1は、脂肪酸合成を刺激する。RT112細胞は20時間血清飢餓状態であり、その後、30 ng/mLのFGF1 + 10 µg/mLのヘパリンと共に24時間インキュベートした。^[14C] 酢酸を最終16時間において添加した。飽和 (SFA) 及び不飽和脂肪酸 (UFA) への^[14C] 取り込みをシンチレーション計数によって測定した。データは、総タンパク質量に対して正規化し、FGF1の処置無しと比較して平均+/-SDとして示され、2つの独立実験を代表する。

【図8】 FGFR3のシグナル伝達は、PI3K-mTORC1の経路を介して成熟したSREBP1及び脂質生合成の蓄積を促進する。(A) FGFR3シグナル伝達の薬理的阻害。RT112細胞を20時間血清飢餓状態とし、その後ラパマイシン (50 nM)、Ly294002 (Ly294、20 µM) 及びPD325901 (PD901、100 nM) で2時間処置し、FGF1を30 ng/mL + ヘパリン10 µg/mLで10分間刺激した。細胞溶解物を、指定された抗体を用いたイムノブロット分析に供した。おそらくフィードバック阻害の軽減のため、PD901処置時のMEKリン酸化の増加に注意のこと。(B) PI3K-mTORC1及びMEK阻害剤は、RT112細胞において、SREBP1及びSCD1のFGF1誘導をブロックする。RT112細胞を20時間血清飢餓状態とし、4時間キナーゼ阻害剤で処置し、30 ng/mLのFGF1を添加した培地中で24時間培養した。細胞溶解物を、SREBP1成熟化、SCD1及びFASNの発現を検出するために免疫ブロットした。(C) PI3K-mTORC1及びMEK阻害剤は、FGF1で刺激された脂質合成を遮断する。(B)に記載と同様にRT112細胞を処理した。^[14C] 酢酸を最終4時間のインキュベーションにおいて添加した。脂質画分を抽出し、脂質に組み込まれた^[14C] 酢酸をシンチレーション計数により測定した。データは、タンパク質含有量をサンプリングするために正規化し、平均+/-SDとして示された。これらのデータは、2つの独立した実験の代表である。

【図9】 FGFR3のシグナル伝達は、Cal29細胞においてMEK-MAPK経路ではなく、PI3K-mTORC1経路を介して成熟したSREBP1及びSCD1の発現蓄積を促進する。Cal29細胞は20時間血清飢餓状態とされ、ビヒクル (DMSO)、50 nMのラパマイシン (Rapamycin)、Ly294002 (Ly294、20 µM) 及びPD325901 (PD901、100 nM) で4時間処置された。次いで、細胞を、24時間、30 ng/mLのFGF1を補充した培地中で培養した。細胞溶解物をウェスタンブロットにより分析した。

【図10】 SCD1ノックダウンは、細胞増殖を阻害し、アポトーシスを誘導する。SW780 (A) 及びUMUC-14 (B) 細胞は、SCD1 siRNAまたは3つの非標的対照 siRNA (Ctrl) でトランスフェクトし、細胞増殖を、トランスフェクション後72時間で^[3H] チミジン取り込みによって測定した。データは、RNAiMAXのみ (Mock) でトランスフェクトした細胞に対しての平均+/-SDとして表示され

10

20

30

40

50

、3つの独立した実験の代表である。下のパネル：s i R N Aをトランスフェクトされた細胞におけるS C D 1レベルを示す代表的なウエスタンブロット。(C、D) S C D 1のノックダウンは、S W 7 8 0細胞でG 1細胞周期停止(C)およびアポトーシス(D)をもたらす。細胞を、方法に記載したように、トランスフェクション後48時間で分析した。(E) S C D 1のノックダウンは、カスパーゼ3/7の切断および活性化を誘導する。U M U C - 1 4細胞は、S C D 1 s i R N Aまたは3つの非標的対照s i R N A (C t r l)でトランスフェクトし、細胞溶解物を免疫ブロット分析に供した。

【図11】S C D 1ノックダウンは、膀胱癌細胞においてアポトーシスを誘導する。(A)膀胱癌細胞の増殖に対するS C D 1 s i R N Aの効果。細胞は、S C D 1 s i R N Aまたは3つの非標的対照s i R N A (C t r l)でトランスフェクトし、細胞増殖を、トランスフェクション後72時間で $[^3\text{H}]$ チミジン取り込みによって測定した。データは、R N A i M A Xのみ(M o c k)でトランスフェクトした細胞に対しての平均 $\pm$ SDとして表示される。(B)1%FBS培地中で培養したU M U C - 1 4細胞は、S C D 1 s i R N Aまたは対照のs i R N A (C t r l)でトランスフェクトした。F A C S分析を、方法に記載したように、トランスフェクション後48時間で実施した。データは、3つの独立した実験の代表である。(C、D)S C D 1のノックダウンは、カスパーゼ3/7活性化を誘導する。U M U C - 1 4細胞(C)及びS W 7 8 0細胞(D)は、S C D 1 s i R N A又は2つの非標的対照s i R N A (C t r l)でトランスフェクトした。トランスフェクション後48時間で、カスパーゼ3及び7の活性を、C a s p a s e - G 1 o 3/7アッセイキットを用いて測定した(P r o m e g a)。データは平均値 $\pm$ SDとして表示され、2つの独立した実験を代表する。

【図12】S C D 1ノックダウンは、脂肪酸不飽和化依存的に細胞増殖を阻害する。(A)S C D 1 s i R N AによるS C D 1タンパク質レベルの下方制御。S W 7 8 0細胞を、S C D 1、F A S Nを標的とするs i R N A又は2つの非標的対照s i R N A (C t r l)でトランスフェクトした。細胞溶解物を、S C D 1及びF A S Nの発現を評価するために免疫ブロットした。(B)S C D 1のノックダウンは、ステアリン酸不飽和化を遮断する。(A)に記載のようにS W 7 8 0細胞をトランスフェクトした。トランスフェクション後48時間で、 $[^{14}\text{C}]$ ステアリン酸を更なる6時間のインキュベーションで添加した。 $[^{14}\text{C}]$ ステアリン酸不飽和化は、銀染色薄層クロマトグラフィーによって分析し、シンチレーション計数により測定した。データは平均値 $\pm$ SDとして表される。

(C)一価不飽和オレイン酸はS C D 1のノックダウンからS W 7 8 0細胞を救出する。1%FBSを含有する培地中で増殖させたS W 7 8 0細胞は、S C D 1 s i R N A又は2つの非標的対照s i R N A (C t r l)でトランスフェクトした。トランスフェクション後6時間で、B S A複合体化オレイン酸は、示された濃度で培養培地に添加した。細胞増殖は、処置後72時間で $[^3\text{H}]$ チミジン取り込みによって測定した。データは、R N A i M A Xのみ(M o c k)でトランスフェクトし、B S Aのみを添加した培地中で増殖させた細胞に対しての平均 $\pm$ SDとして表示される。これらのデータは、3つの独立した実験の代表である。(D)飽和パルミチン酸はS C D 1 s i R N Aの作用を反転できない。B S A複合体化パルミチン酸がs i R N Aトランスフェクション後6時間で補充されたことを除いて、(C)に記載されるのと同様に細胞を処理した。

【図13】U M U C - 1 4細胞において、S C D 1ノックダウンは、脂肪酸不飽和化依存的に細胞増殖を阻害する。(A)S C D 1のノックダウンは、ステアリン酸不飽和化を遮断する。U M U C - 1 4細胞を、S C D 1 s i R N A又は2つの非標的対照s i R N A (C t r l)でトランスフェクトした。トランスフェクション後48時間で、 $[^{14}\text{C}]$ ステアリン酸を更なる6時間のインキュベーションで添加した。 $[^{14}\text{C}]$ ステアリン酸不飽和化は、薄層クロマトグラフィーによって分析し、シンチレーション計数により測定した。データは平均値 $\pm$ SDとして表示され、2つの独立した実験を代表する。(B)一価不飽和オレイン酸はS C D 1のノックダウンからU M U C - 1 4細胞を救出する。1%FBSを含有する培地中で増殖させたU M U C - 1 4細胞は、S C D 1 s i R N A又は2つの非標的対照s i R N A (C t r l)でトランスフェクトした。トランスフェクシ

ョン後6時間で、BSAがコンジュゲートしたオレイン酸は、指示されるように培養培地に添加した。細胞増殖は、処置後72時間で $[^3\text{H}]$ チミジン取り込みによって測定した。データは、RNAiMAXのみ(Mock)でトランスフェクトし、BSAのみを添加した培地中で増殖させた細胞に対しての平均 $\pm$ SDとして表示される。これらのデータは、3つの独立した実験の代表である。(C)飽和パルミチン酸はSCD1 siRNAの作用を反転できない。BSAがコンジュゲートしたパルミチン酸がsiRNAトランスフェクション後6時間で補充されたことを除いて、(B)に記載されるのと同様に細胞を処理した。高用量のパルミチン酸が、有意に細胞増殖を減少させたことに注意。

【図14】SW780膀胱癌細胞におけるSCD1のドキシサイクリン誘導性ノックダウンは、インビボでの腫瘍増殖を抑制する。三つの異なるSCD1 shRNAを、Tet誘導性レンチウイルス発現ベクターにクローニングした。ドキシサイクリン誘導性SCD1のshRNAまたは対照shRNA(Ctrl)を安定的に発現するSW780細胞がピューロマイシン選択によって確立された。(A)3日間 $1\mu\text{g/mL}$ のドキシサイクリンを含み又は含まずに処置された安定した細胞内でのSCD1発現を示す代表的プロット。KD比は、ドキシサイクリン処置を伴わない細胞へのSCD1ノックダウンの効率を示している。(B)SCD1ノックダウンは、 $[^3\text{H}]$ チミジン取り込みを低減する。SW780細胞は、 $[^3\text{H}]$ チミジンとの16時間のインキュベーションの前に、 $1\mu\text{g/mL}$ のドキシサイクリンを含み又は含まずに3日間培養した。取り込まれた $[^3\text{H}]$ チミジンの計数は、ドキシサイクリン処置なしの細胞と比較して、平均 $\pm$ SDとして示された。(C)SCD1ノックダウンは、マウスにおける腫瘍増殖を弱める。SCD1 shRNA1及び3又は対照shRNA(Ctrl)を発現するSW780細胞を、CB.17 SCIDマウスに接種し、処置のため10のコホートにグループ化された。マウスは、5%のスクロースを単独で与えられたか、又は 1mg/mL のドキシサイクリンを補充され、腫瘍サイズは週二回測定した。腫瘍体積は平均値 $\pm$ SDとして表される。第20日にて、SCD1 shRNA1について： $p<0.0001$ ；SCD1 shRNA3について、 $p<0.0001$ 。(D)対照又はSCD1 shRNAの異種移植組織から抽出された腫瘍溶解物におけるSCD1タンパク質の発現。腫瘍溶解物を、抗SCD1抗体で免疫沈降し、SCD1タンパク質レベルについてイムノプロットにより評価した。

【図15】SCD1の薬理的阻害は、腫瘍増殖を弱め、マウスにおける脂肪酸不飽和化を低減する。(A)SCD1小分子阻害剤A37062は、一価不飽和脂肪酸の合成を遮断する。UMUC-14細胞を、A37062で4時間処理し、次いで $[^{14}\text{C}]$ 酢酸と6時間インキュベートした。総脂肪酸を抽出し、薄層クロマトグラフィーにより分離した。(B)A37062は、Aktのリン酸化を消滅し、カスパーゼ3及び7を活性化させる。UMUC-14細胞を、20時間血清飢餓状態にし、次いで、20時間A37062で処置した。細胞溶解物をウェスタンブロット分析に供した。(C)一価不飽和オレイン酸はUMUC-14細胞中でA37062(100nM)による増殖阻害を反転させる。

(D)飽和パルミチン酸は、A37062で処置したUMUC-14細胞を救出することができない。(E)SCD1阻害剤A37062は、事前に樹立したUMUC-14腫瘍の異種移植片の成長を遅延する。マウスに経口でビヒクル又はA37062(75mg/kg)を1日2回投与し、腫瘍体積を群あたり $n=8$ で平均値 $\pm$ SEMとして提示した。20日目で、 $p=0.0073$ 。(F、G)A37062は、異種移植された腫瘍組織並びに試験終了時のマウスの肝臓及び血漿中でパルミチン酸(F)とステアリン酸(G)の不飽和化を減少させる。最後の処理後2時間で、サンプル(群あたり $n=5$)を収集し、方法に記載したように処理した。脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフィーで同定した。データは平均値 $\pm$ SDとして表される。

【図16】SW780細胞において、SCD1阻害剤は、脂肪酸不飽和化依存的に細胞増殖を抑制する。(A)一価不飽和オレイン酸はSCD1阻害剤A37062からSW780細胞を救出する。1%FBSを含む培地中で増殖させたSW780細胞は、100nMのSCD1阻害剤A37062又はDMSOで処理した(No.37602)。BSAがコンジュゲートしたオレイン酸は、指示されるように培養培地に添加した。細胞生存率は

10

20

30

40

50

、処置後48時間でCell Titer Glo (Promega)によって測定した。データは、DMSO単独(Mock)でトランスフェクトし、BSAのみを添加した培地中で増殖させた細胞に対しての平均値+/-SDとして表示される。(B)飽和パルミチン酸はSCD1阻害剤A37062の作用を反転できない。BSAがコンジュゲートしたパルミチン酸が補充されたことを除いて、(A)に記載されるのと同様に細胞を処理した。

【図17】SCD1の薬理的阻害は、細胞生存率を低下させ、ヒト結腸癌細胞株、ヒト膵臓癌細胞株、及び腎臓癌細胞株におけるカスパーゼ3/7活性を増加させる。(A)SCD1小分子阻害剤A37062は、結腸癌細胞の細胞生存率を減少させる。(B)SCD1小分子阻害剤A37062は、結腸癌細胞のカスパーゼ3/7を活性化させる。(C)SCD1小分子阻害剤A37062は、膵臓癌細胞の細胞生存率を減少させる。(D)SCD1小分子阻害剤A37062は、膵臓癌細胞のカスパーゼ3/7を活性化させる。(E)SCD1小分子阻害剤A37062は、腎臓癌細胞の細胞生存率を減少させる。(F)SCD1小分子阻害剤A37062は、腎臓癌細胞のカスパーゼ3/7を活性化させる。

10

【図18】SCD1の薬理的阻害は、結腸癌、前立腺癌、膵臓癌、及び膀胱癌を含むヒト癌細胞株のパネルにおいて、細胞生存率を低減し、カスパーゼ3/7活性を増加させ、マウスにおける腫瘍増殖を弱める。(A)SCD1小分子阻害剤A37062は、ヒト癌細胞の細胞生存率を減少させる。(B)SCD1小分子阻害剤G02447171.1は、ヒト癌細胞の細胞生存率を減少させる。(C)SCD1小分子阻害剤は、予め樹立されたHCT15結腸腫瘍の異種移植片の増殖を遅延させる。(D)SCD1小分子阻害剤は、予め樹立されたSW780膀胱腫瘍の異種移植片の増殖を遅延させる。(E)SCD1小分子阻害剤は、予め樹立されたHPAC膵臓腫瘍の異種移植片の増殖を遅延させる。

20

【図19】14の小分子SCD1阻害剤によるSCD1の薬理的阻害は、HCT15(A、B)及びHT29(C、D)癌細胞における細胞生存率を減少させる。

【図20】HCT15細胞において、SCD1阻害剤のRG1、RG3、及びRG8は、脂肪酸不飽和化依存的に細胞増殖を抑制する。(A-C)一価不飽和オレイン酸はSCD1阻害剤からHCT15細胞を救出する。(D-F)HCT15細胞において、飽和パルミチン酸はSCD1阻害剤の作用を反転できない。

【図21】HT29細胞において、SCD1阻害剤のRG1、RG3、及びRG8は、脂肪酸不飽和化依存的に細胞増殖を抑制する。(A-C)一価不飽和オレイン酸はSCD1阻害剤からHT29細胞を救出する。(D-F)HT29細胞において、飽和パルミチン酸はSCD1阻害剤の作用を反転できない。

30

【0027】

詳細の説明

I. 定義

用語「ステアロイル-CoA不飽和化酵素1」及び「SCD1」は、本明細書において、天然配列SCD1ポリペプチド、ポリペプチド変異体及び天然配列ポリペプチド及びポリペプチド変異体の断片（これらは本明細書で更に定義される）を指す。本明細書に記載SCD1ポリペプチドは、種々の供給源から、例えば、ヒト組織型から又は別の供給源から単離され得、又は組換え又は合成方法によって調製され得る。

40

【0028】

「天然配列SCD1ポリペプチド」は、天然由来の対応するSCD1ポリペプチドと同じアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。一実施態様において、天然配列SCD1ポリペプチドは、配列番号1のアミノ酸配列を含む。

【0029】

配列番号1

MPAHL LQDDI SSSYTTTTTITAPP SRVLQNGGDKLE TMPL
YLEDDIRPD IKDDIYDPTYK
DKEGPS PKVEYVWRNIILMSLLHLGALYGITLIPTCKFYT
WLWGVFYYFVSALGITAGAH

50

RLWSHRSYKARLPRLFLIIANTMAFQNDVYEWAR D HRAH
HKFSETHADPHNSRRGFFFS
HVGWLLVRKHPAVKEKGSTLDLSDLEAEKLV MFQRRYYKP
GLLMMCFILPTLVPWYFWGE
TFQNSVFVATFLRYAVVLNATWLVNSAAHLFGYR PYDKNI
SPRENI LVS LGAVGEGFHN Y
HHSFPYDYSASEYRWHINFTTFFIDCMAALGLAYDRKKVS
KAAILARIKRTGDGNYKSG

【0030】

「SCD1ポリペプチド変異体」、又はそのバリエーションは、本明細書に開示される天然配列SCD1ポリペプチド配列の何れかと少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有する、本明細書で定義のSCD1ポリペプチド、一般に活性SCD1ポリペプチドを意味する。そのようなSCD1ポリペプチド変異体は、例えば、一以上のアミノ酸残基が天然アミノ酸配列のN又はC末端に、追加、又は削除されるSCD1ポリペプチドを含む。通常、SCD1ポリペプチド変異体は、本明細書に開示される天然配列SCD1ポリペプチド配列に対して、少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性、あるいは少なくとも約81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のアミノ酸配列同一性を有する。通常、SCD1変異体ポリペプチドは、長さが少なくとも約10アミノ酸であり、あるいは長さが少なくとも約20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600アミノ酸、又はそれ以上である。任意で、SCD1変異体ポリペプチドは、天然SCD1ポリペプチド配列と比較して、一以下の保存的アミノ酸置換を有し、あるいは天然SCD1ポリペプチド配列と比較して、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10以下の保存的アミノ酸置換を有する。

【0031】

本明細書で定義される用語「SCD1アンタゴニスト」は、天然配列SCD1により媒介される生物学的活性を部分的又は完全に遮断、阻害、又は中和する任意の分子である。ある実施態様において、このようなアンタゴニストはSCD1に結合する。一実施態様によれば、アンタゴニストはポリペプチドである。別の実施態様によれば、アンタゴニストは抗SCD1抗体である。別の実施態様によれば、アンタゴニストは小分子アンタゴニストである。別の実施態様によれば、アンタゴニストはポリヌクレオチドアンタゴニストである。

【0032】

「ポリヌクレオチド」又は「核酸」は、互換的に本明細書で使用され、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、DNA及びRNAが含まれる。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチド又は塩基、及び／又はそれらの類似体、又はDNAもしくはRNAポリメラーゼにより、もしくは合成反応によりポリマー中に組み込むことができる任意の基質であることができる。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びそれらの類似体などの修飾ヌクレオチドを含むことができる。存在する場合、ヌクレオチド構造に対する修飾は、ポリマーの会合の前又は後に付与することができる。ヌクレオチドの配列は非ヌクレオチド成分により中断され得る。ポリヌクレオチドは、例えば標識とのコンジュゲーションなどによって、合成後に修飾することができる。他の型の修飾は、例えば天然に存在するヌクレオチド1つ以上の類縁体による「キャップ」置換、ヌクレオチド間修飾、例えば非荷電連結による（例えばメチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホロアミデート、カーバメート等）、及び、荷電連結（例え

ばホスホロチオエート、ホスホロジチオエート等) によるもの、ペンダント部分を含有するもの、例えば蛋白(例えばヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ポリーL-リジン等)、インターカレーターを有するもの(例えばアクリジン、ソラレン等)、キレート形成剤を含有するもの(例えば金属、放射活性金属、ホウ素、酸化金属等)、アルキル化剤を含有するもの、修飾された連結部を有するもの(例えばアルファ芳香族核酸等)、並びに、未修飾形態のポリヌクレオチドを包含する。さらに、糖類に通常存在する任意のヒドロキシル基は、例えばホスホナート基、ホスファート基で置き換えられてもよく、標準的な保護基で保護されてもよく、又は付加的なヌクレオチドへのさらなる結合を調製するために活性化されてもよく、もしくは固体または半固体の支持体に結合していても良い。5' 及び 3' 末端の OH はホスホリル化可能であり、又は 1~20 の炭素原子を有するアミン又は有機キャッピング基部分で置換することもできる。また他のヒドロキシル類は標準的な保護基に誘導されてもよい。さらにポリヌクレオチドは当該技術で一般的に知られているリボース又はデオキシリボース糖類の類似形態のものをさらに含み、これらには例えば 2'-O-メチル、2'-O-アシル、2'-フルオロー又は 2'-アジド-リボース、炭素環式糖の類似体、 α -アノマー糖、エピマー糖、例えばアラビノース、キシロース類又はリキソース類、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘプツロース、非環式類似体、及び脱塩基性ヌクレオチド類似体、例えばメチルリボシドが含まれる。一又は複数のホスホジエステル結合は代替の結合基で置き換えてもよい。これらの代替の結合基には、限定されるものではないが、ホスファートが P(O)S(「チオアート」)、P(S)S(「ジチオアート」)、(O)NR₂(「アミダート」)、P(O)R、P(O)OR'、CO 又は CH₂(「ホルムアセタール」)と置き換えられた実施態様のものが含まれ、ここでそれぞれの R または R' は独立して、H 又は、エーテル(-O-) 結合を含んでいてもよい置換もしくは未置換のアルキル(1-20C)、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル又はアラルジル(alaldyl)である。ポリヌクレオチド中の全ての架橋が同一である必要はない。先の記述において、RNA 及び DNA を含む、ここで引用された全てのポリヌクレオチドに適用される。

【0033】

本明細書で使用される「オリゴヌクレオチド」は、少なくとも約 7 ヌクレオチド長で約 250 ヌクレオチド長未満である短い、単鎖の合成ポリヌクレオチドを指す。オリゴヌクレオチドは、合成であってもよい。「オリゴヌクレオチド」と「ポリヌクレオチド」という用語は互いに排他的ではない。上記のポリヌクレオチドの記述は、オリゴヌクレオチドにも等しく全て適用できる。

【0034】

用語「プライマー」は、核酸とハイブリダイズすることができ、一般には遊離 3'-OH 基を提供することによって、相補的であるポリヌクレオチドの重合を可能とする単鎖ポリヌクレオチドを指す。

【0035】

用語「小分子」は、約 2000 ダルトン以下の、好ましくは、約 500 ダルトン以下の分子量を有する任意の分子を指す。

【0036】

「アレイ」又は「マイクロアレイ」なる用語は、基質上の、ハイブリダイズ可能なアレイ要素、好ましくはポリヌクレオチドプローブ(例えばオリゴヌクレオチド)の秩序だった配置を意味する。基質は、ガラススライドなどの固体基質、又はニトロセルロースメンブレンなどの半固体基質であってもよい。

【0037】

本明細書中で用いる「増幅」は通常、参照核酸配列又はその相補体の複数のコピーを生産する工程を指す。増幅は、線形又は指数関数であり得る(例えば PCR)。「コピー」が、鋳型配列に対して相補的な又は同一な完全な配列を必ずしも意味するものではない。例えば、コピーは、ヌクレオチド類似体、例えばデオキシイノシン、意図的配列変化(鋳型に完全に相補的ではないがハイブリダイズすることができる配列を含んでなるプライマ

10

20

30

40

50

ーにより導入された配列変化など)及び／又は増幅中に起こる配列エラーを含みうる。

【0038】

「単離された」抗体は、その自然環境の成分から分離されたものである。幾つかの実施態様において、抗体は、例えば、電気泳動（例えば、SDS-PAGE、等電点電気泳動（IEF）、キャピラリー電気泳動）又はクロマトグラフィー（例えば、イオン交換又は逆相HPLC）により決定されるように、95%以上または99%の純度に精製される。抗体純度の評価法の総説としては、例えばFlatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)を参照のこと。

【0039】

「単離された」核酸は、その自然環境の成分から分離された核酸分子を指す。単離された核酸は、核酸分子を通常含む細胞に含まれる核酸分子を含むが、しかし、その核酸分子は、染色体外又はその自然の染色体上の位置とは異なる染色体位置に存在している。

10

【0040】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及び「宿主細胞培養」は互換的に使用され、外因性の核酸が導入された細胞を指し、そのような細胞の子孫を含める。宿主細胞は、「形質転換体」及び「形質転換された細胞」を含み、継代の数に関係なく、それに由来する一次形質転換細胞及び子孫が含まれる。子孫は親細胞と核酸含量が完全に同一ではないかもしれないが、突然変異が含まれる場合がある。最初に形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能又は生物活性を有する変異型子孫が本明細書において含まれる。

20

【0041】

本明細書で使用される、用語「ベクター」は、それがリンクされている別の核酸を伝播することができる核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、並びにそれが導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターを含む。ある種のベクターは、それらが動作可能のようにリンクされている核酸の発現を指示することができる。このようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と言う。

【0042】

用語「抗体」は最も広い意味で用いられ、様々な抗体構造を包含し、限定されないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、及び、所望の抗原結合活性を示す限り、抗体断片を含む。

30

【0043】

用語「抗SCD1抗体」及び「SCD1に結合する抗体」は、抗体が、SCD1を標的とし、診断薬剤及び／又は治療的薬剤として有用であるように、十分な親和性でA x 1に結合することができる抗体を指す。一実施態様において、抗SCD1抗体の、無関係な、非SCD1タンパク質への結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定される場合、抗体のSCD1への結合の約10%未満である。ある実施態様において、抗SCD1抗体は、異なる種由来のSCD1間で保存されているSCD1のエピトープに結合する。

【0044】

「遮断（ブロック）」抗体又は「アンタゴニスト」抗体は、結合する抗原の生物学的活性を阻害するか又は低減させるものである。好適な阻止抗体又はアンタゴニスト抗体は、抗原の生物学的活性を、実質的に又は完全に阻害する。

40

【0045】

「親和性」とは、分子（例えば、抗体）の単一結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合相互作用の総和の強度を指す。本明細書で使用する場合、特に断らない限り、「結合親和性」は、結合対（例えば、抗体と抗原）のメンバー間の1:1の相互作用を反映している本質的な結合親和性を指す。そのパートナーYに対する分子Xの親和性は、一般的に解離定数（Kd）で表すことができる。親和性は、本明細書に記載したものを含む、当技術分野で知られている一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための具体的な例示であって典型的な実施態様は、以下で説明

50

される。

【0046】

「親和性成熟」抗体とは、その改変を有していない親抗体と比較して、抗原に対する抗体の親和性に改良を生じせしめる、その一又は複数の超可変領域（HVR）において一又は複数の改変を持つものである。

【0047】

「抗体断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原を結合するインタクトな抗体の一部を含むインタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、限定されないが、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；ダイアボディ；直鎖状抗体；単鎖抗体分子（例えばscFv）；及び抗体断片から形成される多重特異性抗体を含む。

10

【0048】

参照抗体として「同一のエピトープに結合する抗体」とは、競合アッセイにおいて50%以上、参照抗体のその抗原への結合をブロックする抗体、逆に競合アッセイにおいて50%以上、その抗体のその抗原への結合をブロックするその参照抗体を指す。典型的な競合アッセイが、本明細書において提供される。

【0049】

用語「キメラ」抗体は、重鎖及び／又は軽鎖の一部分が特定の起源又は種から由来し、一方重鎖及び／又は軽鎖の残りが異なる起源又は種から由来する抗体を指す。

【0050】

抗体の「クラス」は、その重鎖が保有する定常ドメイン又は定常領域のタイプを指す。抗体の5つの主要なクラスがあり：IgA、IgD、IgE、IgG及びIgM、及びこれらのいくつかは、さらにサブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG₁、IgG₂に、IgG₃、IgG₄、IGA₁、及びIgA₂に分けることができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれα、δ、ε、γ、及びμと呼ばれる。

20

【0051】

用語「完全長抗体」、「インタクトな抗体」及び「全抗体」は、本明細書中で互換的に使用され、天然型抗体構造と実質的に類似の構造を有するか、又は本明細書で定義されるFc領域を含む重鎖を有する抗体を指す。

【0052】

本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」とは、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を意味し、すなわち、例えば、天然に生じる変異を含み、又はモノクローナル抗体製剤の製造時に発生し、一般的に少量で存在している変異体などの、可能性のある変異体抗体を除き、集団を構成する個々の抗体は同一であり、及び／又は同じエピトープに結合する。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を一般的に含む、ポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。従って、修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されるべきではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、限定されないが、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部又は一部を含むトランスジェニック動物を利用する方法を含む様々な技術によって作成され、モノクローナル抗体を作製するためのそのような方法及び他の例示的な方法は、本明細書に記載されている。

30

40

【0053】

「ヒト抗体」は、ヒト又はヒト細胞により産生されるか、又はヒト抗体のレパートリー又は他のヒト抗体をコードする配列を利用した非ヒト起源に由来する抗体のそれに対応するアミノ酸配列を有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特に除外する。

【0054】

「ヒト化」抗体は、非ヒトHVR由来のアミノ酸残基、及びヒトFR由来アミノ酸残基

50

を含むキメラ抗体を指す。所定の実施態様において、ヒト化抗体は、少なくとも一つ、典型的には2つの可変ドメインの全てを実質的に含み、HVR（例えば、CDR）の全て又は実質的に全てが、非ヒト抗体のものに対応し、全てまたは実質的にFRの全てが、ヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は、任意で、ヒト抗体由来の抗体定常領域の少なくとも一部を含んでもよい。抗体の「ヒト化型」、例えば、非ヒト抗体は、ヒト化を遂げた抗体を指す。

【0055】

「イムノコンジュゲート」は、一以上の異種分子にコンジュゲートした抗体であり、限定されないが、細胞傷害性薬物を含む。

【0056】

参照ポリペプチド配列に関する「パーセント（％）アミノ酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入した後、如何なる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとした、参照ポリペプチドのアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、又はMegalign（DNASTAR）ソフトウェアのような公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用することにより達成可能である。当業者であれば、比較される配列の完全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、配列をアラインするための適切なパラメータを決定することができる。しかし、ここでの目的のためには、％アミノ酸配列同一性の値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を使用することによって生成される。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムはジェネテック社によって作製され、ソースコードは米国著作権庁、ワシントンD. C. , 20559に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号TXU510087の下で登録されている。ALIGN-2もまた、ジェネテック社、サウスサンフランシスコ、カリフォルニアから公的に入手可能であり、又はそのソースコードからコンパイルすることができる。ALIGN-2プログラムは、デジタルUNIXのV4.0Dを含む、UNIXオペレーティングシステム上での使用のためにコンパイルされるべきである。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され変動しない。

【0057】

アミノ酸配列比較にALIGN-2が用いられる状況では、与えられたアミノ酸配列Aの、与えられたアミノ酸配列Bとの、又はそれに対する％アミノ酸配列同一性（或いは、与えられたアミノ酸配列Bと、又はそれに対して所定の％アミノ酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列Aと言うこともできる）は次のように計算される：

分率X/Yの100倍

ここで、Xは配列アラインメントプログラムALIGN-2により、AとBのそのプログラムのアラインメントにおいて同一と一致したスコアのアミノ酸残基の数であり、YはBの全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さとは異なる場合、AのBに対する％アミノ酸配列同一性は、BのAに対する％アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。特に断らない限り、本明細書で使用されるすべての％アミノ酸配列同一性値が、ALIGN-2コンピュータプログラムを使用し、直前の段落で説明したように得られる。

【0058】

用語「検出」は、直接的及び間接的な検出を含む検出する任意の手段を含む。

【0059】

本明細書で使用される用語「バイオマーカー」は、サンプル中で検出することができる指標、例えば、予測、診断及び／又は予後を指す。バイオマーカーは、特定の、分子性、病理学的、組織学的、及び／又は臨床的特徴によって特徴付けられる特定のサブタイプの疾患又は障害（例えば、癌）の指標として機能することができる。幾つかの実施態様において、バイオマーカーは遺伝子である。バイオマーカーには、限定されないが、ポリヌク

10

20

30

40

50

レオチド（例えば、DNA及び／又はRNA）、ポリペプチド、ポリペプチド及びポリヌクレオチド修飾（例えば、翻訳後修飾）、炭水化物及び／又は糖脂質に基づく分子マーカ―が含まれる。

【0060】

用語「バイオマ―シグナチャー」、「シグナチャー」、「バイオマ―発現シグナチャー」又は「発現シグナチャー」は、本明細書中で交換可能に使用され、その発現が指標、例えば、予測、診断、及び／又は予後であるバイオマ―の一つ又はその組合せを指す。バイオマ―シグナチャーは、特定の、分子性、病理学的、組織学的、及び／又は臨床的特徴によって特徴付けられる特定のサブタイプの疾患又は障害（例えば、癌）の指標として機能することができる。幾つかの実施態様において、バイオマ―シグネチャーは「遺伝子シグネチャー」である。用語「遺伝子シグナチャー」は「遺伝子発現シグナチャー」と交換可能に使用され、その発現が指標、例えば、予測、診断、及び／又は予後であるポリヌクレオチドの一つ又はその組合せを指す。幾つかの実施態様において、バイオマ―シグネチャーは「タンパク質シグネチャー」である。用語「タンパク質シグナチャー」は「タンパク質発現シグナチャー」と交換可能に使用され、その発現が指標、例えば、予測、診断、及び／又は予後であるポリペプチドの一つ又はその組合せを指す。

10

【0061】

個体に対する臨床的利益の増大に関連したバイオマ―の「量」又は「レベル」は、生物学的サンプル中の検出可能なレベルである。これらは、当業者に知られており、また、本明細書に開示される。評価するのバイオマ―の発現レベル又は量は、治療に対する反応を決定するために使用することができる。

20

【0062】

「発現のレベル」又は「発現レベル」なる用語は、交換可能に使用され、一般に、生物学的試料中のバイオマ―の量を指す。「発現」は、一般に、情報（例えば遺伝子コード化及び／又はエピジェネティックな）が、細胞中に存在し作動する構造に変換されるプロセスを意味する。従って、本明細書で使用されるように、「発現」は、ポリヌクレオチドへの転写、ポリペプチドへの翻訳、又はポリヌクレオチド及び／又はポリペプチドの修飾（例えば、ポリペプチド、翻訳後修飾）を指しうる。転写されたポリヌクレオチド、翻訳されたタンパク質、又はポリヌクレオチド及び／又はポリペプチドの修飾（例えば、ポリペプチド、翻訳後修飾）の断片はまた、選択的スプライシングにより生成された転写物、又は分解された転写物に由来するか、又は例えばタンパク質分解によるタンパク質の翻訳後プロセッシングに由来するに関わらず、発現したとみなされる。「発現した遺伝子」には、mRNAとしてポリヌクレオチドに転写され、ついでポリペプチドに翻訳されたもの、及びRNAに転写はされたが、ポリペプチドには翻訳されていないもの（例えば、移転RNA及びリボソームRNA）が含まれる。

30

【0063】

「上昇した発現」、「上昇した発現レベル」又は「上昇したレベル」は、疾患又は障害（例えば、癌）に罹患していない個体（単数）又は個体（複数）などの対照又は内部標準（例えば、ハウスキーピングバイオマ―）と比較して、個体におけるバイオマ―の増加した発現又は増加したレベルを指す。

40

【0064】

「減少した発現」、「減少した発現レベル」又は「減少したレベル」は、疾患又は障害（例えば、癌）に罹患していない個体（単数）又は個体（複数）などの対照又は内部標準（例えば、ハウスキーピングバイオマ―）と比較して、個体におけるバイオマ―の減少した発現又は減少したレベルを指す。

【0065】

用語「ハウスキーピングバイオマ―」は、典型的には、全ての細胞型において同様に存在するバイオマ―又はバイオマ―（例えば、ポリヌクレオチド及び／又はポリペプチド）の群を意味する。幾つかの実施態様において、ハウスキーピングバイオマ―

50

カーは、「ハウスキーピング遺伝子」である。本明細書において「ハウスキーピング遺伝子」は、活性が細胞機能の維持に必須であるタンパク質をコードし、一般的に、すべての細胞型において同じように発現される遺伝子又は一群の遺伝子を指す。

【0066】

「増幅」は、本明細書で使用されるように、一般的に、所望の配列の複数のコピーを生成するプロセスを指す。「複数のコピー」は、少なくとも2つのコピーを意味する。「コピー」は、鋳型配列に対して相補的な又は同一な完全な配列を必ずしも意味するものではない。例えば、コピーは、ヌクレオチド類似体、例えばデオキシイノシン、意図的配列変化（鋳型に相補的ではないがハイブリダイズすることができる配列を含んでなるプライマーにより導入された配列変化など）及び／又は増幅中に起こる配列エラーを含みうる。

10

【0067】

用語「多重PCR」は、単一反応において2つ又はそれ以上のDNA配列を増幅する目的のため複数のプライマーセットを用いて、単一の供給源（例えば、個体）から得られた核酸上で行われる単一PCR反応を指す。

【0068】

ハイブリダイゼーション反応の「ストリンジェンシー」は、当業者によって容易に決定され、一般的にプローブ長、洗浄温度、及び塩濃度に依存する経験的な計算である。一般に、プローブが長くなると適切なアニーリングのための温度が高くなり、プローブが短くなると温度は低くなる。ハイブリダイゼーションは、一般的に相補鎖がその融点より低い環境で存在する場合における変性DNAの再アニールする能力に依存する。プローブとハイブリダイズ可能な配列との間の所望のホモロジーの度合いが高くなると、使用できる相対温度が高くなる。その結果、より高い相対温度は、反応条件をよりストリンジェントにするが、低い温度はストリンジェンシーを低下させる。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーの更なる詳細及び説明は、Ausubel等, Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers, (1995)を参照のこと。

20

【0069】

ここに定義される「ストリンジェントな条件」又は「高いストリンジェントな条件」は、（1）洗浄のために低イオン強度及び高温、例えば、50℃で0.015Mの塩化ナトリウム／0.0015Mのクエン酸ナトリウム／0.1%のドデシル硫酸ナトリウムを用いる；（2）ハイブリダイゼーションの間にホルムアミド等の変性剤、例えば、42℃で750mMの塩化ナトリウム、75mMクエン酸ナトリウムを含むpH6.5の0.1%ウシ血清アルブミン／0.1%フィコール／0.1%ポリビニルピロリドン／50mMのリン酸ナトリウムバッファーによる50%（v/v）ホルムアミドを用いる；又は（3）0.2xSSC（塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム）中で42℃での10分間の洗浄とその後の55℃でEDTAを含む0.1xSSCからなる10分間の高ストリンジェンシーな洗浄を伴う、42℃での50%ホルムアミド、5xSSC（0.75MのNaCl、0.075Mのクエン酸ナトリウム）、50mMのリン酸ナトリウム（pH6.8）、0.1%のピロリン酸ナトリウム、5xデンハード液、超音波処理サケ精子DNA（50µg/ml）、0.1%SDS、及び10%のデキストラン硫酸を用いた溶液中での一晚のハイブリダイゼーションによるものによって同定することができる。

30

40

【0070】

「中程度のストリンジェントな条件」は、Sambrook等, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (New York: Cold Spring Harbor Press, 1989に記載されているようにして同定されることができ、上述のものよりストリンジェンシーが低い洗浄溶液及びハイブリダイゼーション条件（例えば、温度、イオン強度及び%SDS）の使用を含む。中程度のストリンジェントな条件の一例は、37℃で、20%ホルムアミド、5xSSC（150mMのNaCl、15mMのクエン酸三ナトリウム）、50mMリン酸ナトリウム（pH7.6）、5xデンハード液、10%デキストラン硫酸、及び20mg/mLの変性剪断サケ精子DNAを含む溶液中での終夜にわたるインキュベーションと、それに続く37-50℃で1xSSCでのフィルター洗浄である。当業者であれば、プローブ長などの因子に

50

適合させる必要に応じて、どのようにして温度、イオン強度等を調節するかが分かるであろう。

【0071】

本明細書中で用いる「診断」なる用語は、分子又は病理学的状態、疾患ないしは症状（例えば癌）の同定又は分類を指す。例えば、「診断」は特定のタイプの癌の同定を指し得る。「診断」はまた、例えば、組織病理学的基準によって、又は分子の機能（例えば、バイオマーカー（例えば、前記遺伝子によりコードされる特定の遺伝子又はタンパク質）の一つ又は組み合わせの発現によって特徴付けられるサブタイプ）による、癌の特定のサブタイプの分類を指すことができる。

【0072】

用語「診断支援」は、本明細書において、疾患又は障害（例えば、癌）の特定のタイプの症状又は状態の存在又は性質に関して臨床決定を行うことを支援する方法を指す。例えば、疾患又は状態（例えば癌）の診断を支援する方法は、個体からの生物学的サンプル中の特定のバイオマーカーを測定することを含むことができる。

【0073】

用語「サンプル」は、本明細書で使用される場合、例えば、物理的、生化学的、化学的及び／又は生理学的特性に基づいて、特徴付けされ及び／又は同定されるべき、細胞性及び／又は他の分子性実体を含む、対象の被験者及び／又は個体から得られた又は由来した組成物を指す。例えば、「疾患サンプル」なる句及びその変形は、特徴付けられるべきである細胞性及び／又は分子性実体を含むことが予想されるか又は知られている、対象の被験者から得られた任意のサンプルを指す。サンプルは、限定されないが、初代又は培養細胞又は細胞株、細胞上清、細胞溶解物、血小板、血清、血漿、硝子体液、リンパ液、滑液、卵胞液、精液、羊水、乳汁、全血、血液由来の細胞、尿、脳脊髄液、唾液、痰、涙、汗、粘液、腫瘍溶解物、組織培養培地、ホモジナイズした組織などの組織抽出物、腫瘍組織、細胞抽出物、及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【0074】

「組織試料」又は「細胞試料」とは、被験体又は個体の組織から得られる類似細胞の集まりを意味する。組織又は細胞サンプルの起源は、新鮮な、冷凍された、及び／又は保存された臓器又は組織サンプル、又は生検及び／又は吸引からの固形組織、血液又は血漿などの任意の血液成分、脳脊髄液、羊水、腹水、または間質液などの体液、被検体の妊娠期間又は発育の任意の時期に由来する細胞であり得る。組織試料は、初代又は培養細胞又は細胞株であってもよい。任意で、組織又は細胞のサンプルは、疾患組織／臓器から得られる。組織サンプルは、本質的に組織と自然に混在しない化合物、例えば、防腐剤、抗凝血剤、緩衝剤、定着剤、栄養剤、抗生物質などが含まれる場合がある。

【0075】

「参照サンプル」、「参照細胞」、「基準組織」、「対照サンプル」、「対照細胞」、又は「対照組織」は、本明細書で使用する場合、比較目的のために使用されるサンプル、細胞、組織、標準、又はレベルを指す。一実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、又は対照組織は、同一被験体又は個体の身体の健常及び／又は非疾患部分（例えば組織又は細胞）から得られる。例えば、疾患細胞又は組織に近接した健常及び／又は非疾患細胞又は組織（例えば、腫瘍に近接した細胞又は組織）。別の実施態様において、参照サンプルは、同一被験体又は個体の身体の未処置組織及び／又は細胞から得られる。別の実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、又は対照組織は、被験体又は個体でない個体の身体の健常及び／又は非疾患部分（例えば組織又は細胞）から得られる。更に別の実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、又は対照組織は、被験体又は個体でない個体の身体の未処置組織及び／又は細胞から得られる。

【0076】

本明細書における目的において、組織サンプルの「切片」とは、組織サンプルの一部又は一片、例えば組織サンプルから切り出した組織又は細胞の一薄片を意味する。組織サン

10

20

30

40

50

プルの同じ切片が形態学的及び分子的レベルで分析され得るか、又はポリペプチド及びポリヌクレオチドの両方に関して分析され得ると理解される場合に、組織サンプルの複数の切片が採取され、分析に供されてもよいと理解される。

【0077】

「相関」又は「相関する」は、任意の方法で、第一の分析又はプロトコルの成績及び／又は結果を、第二の分析又はプロトコルの成績及び／又は結果と比較することを意味する。例えば、第二のプロトコルを行う際に第一の分析又はプロトコルの結果を用いてもよいし、及び／又は第一の分析又はプロトコルの結果を用いて、第二の分析又はプロトコルを行うかどうかを決定してもよい。ポリヌクレオチド分析又はプロトコルの実施態様に関し、ポリヌクレオチド発現分析又はプロトコルの結果を用いて、特定の治療投薬計画を実行するかどうかを決定してもよい。

10

【0078】

「個体の応答」又は「応答」は、個体に対して利益を示す任意のエンドポイントを用いて評価することができる、限定されないが、（１）減速及び完全停止を含む、疾患進行（例えば癌の進行）のある程度の阻害；（２）腫瘍の大きさの減少；（３）癌細胞の近接末梢器官及び／又は組織への浸潤の阻害（即ち、減少、減速又は完全停止）；（４）転移の阻害（即ち、減少、減速又は完全停止）；（５）疾患又は障害（例えば癌）に関連した一以上の症状のある程度の軽減；（６）無増悪生存期間の長さの増大；及び／又は治療後の特定の時点における死亡率の減少が含まれる。

【0079】

20

本明細書で用いる「実質的に同一」なる用語は、当業者が、２つの値の間の差異が、その値（例えばK_d値又は発現）によって測定される生物学的特性という脈絡の中で、わずかに又は全く生物学的及び／又は統計学的有意性がないと考慮するであろうほどに、２つの数値の間の十分高度な類似性を意味する。前記２つの値の間の差異は、参照／比較値に応じて、例えば約５０％以下、約４０％以下、約３０％以下、約２０％以下、及び／又は約１０％以下である。

【0080】

本明細書で用いる「実質的に異なる」なる句は、当業者が、２つの値の間の差異が、その値（例えばK_d値）によって測定される生物学的特性という脈絡の中で、統計学的有意性がないと考慮するであろうほどに、２つの数値の間の十分高度な差異を意味する。前記２つの値の間の差異は、参照／比較分子の値に応じて、例えば約１０％より大きく、約２０％より大きく、約３０％より大きく、約４０％より大きく、及び／又は約５０％より大きい。

30

【0081】

本明細書で用いられる「標識」なる単語は、検出可能な化合物又は組成物を指す。標識は、典型的には、例えばポリヌクレオチドプローブ又は抗体などの試薬に直接又は間接的にコンジュゲート又は融合しており、それがコンジュゲート又は融合している試薬の検出を容易にする。標識自体が検出可能なもの（例えば放射性標識又は蛍光性標識）であってもよく、酵素標識の場合、検出可能な基質化合物ないしは組成物の化学的変化を触媒するものであってもよい。

40

【0082】

薬剤の「有効量」とは、所望される治療的又は予防的結果を達成するのに必要な期間、必要な用量での有効量を意味する。

【0083】

本発明の物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストの「治療的有效量」は、病状、年齢、性別、個体の体重、及び個体に所望する反応を引き出すための物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストの能力等の要因に応じて変わり得る。また、治療的有效量とは、物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストの任意の毒性又は有害な影響を、治療的に有益な効果が上回るものである。「予防的有效量」は、所望する予防的結果を達成するのに必要な期間、用量で有効な量を意味する。必ずではないが、典型的には、予防的用量は、疾

50

病の前又は初期の段階に患者に使用されるために、予防的有効量は治療的有效量よりも少ないであろう。

【0084】

用語「薬学的製剤」は、その中に有効で含有される活性成分の生物学的活性を許容するような形態であって、製剤を投与する被検体にとって許容できない毒性である他の成分を含まない調製物を指す。

【0085】

「薬学的に許容される担体」は、被検体に非毒性であり、有効成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される担体は、限定されないが、緩衝剤、賦形剤、安定剤、又は保存剤を含む。

10

【0086】

本明細書で用いられるように、「治療」（及び「治療する(treat)」または「治療している(treating)」など文法上の変形）は、治療されている個体の自然経過を変えようとする臨床的介入を指し、予防のために、または臨床病理の過程においてのいずれかで実行できる。治療の望ましい効果は、限定されないが、疾患の発症又は再発を予防すること、症状の緩和、疾患の直接的または間接的な病理学的帰結の縮小、転移を予防すること、疾患の進行の速度を遅らせること、疾患状態の改善又は緩和、及び寛解又は予後の改善を含む。幾つかの実施態様において、本発明の抗体は、疾患の発症を遅延させるか又は疾患の進行を遅くするために使用される。

【0087】

20

用語「抗癌治療法」は、癌を治療するのに有用な治療法を指す。抗癌治療薬の例には、限定されないが、例えば、化学療法剤、増殖阻害剤、細胞傷害性薬剤、放射線療法に用いられる薬剤、抗血管新生剤、アポトーシス剤、抗チューブリン剤、及び癌を治療するための他の薬剤、抗CD20抗体、血小板由来成長因子阻害剤（例えば、GleevecTM（メシル酸イマチニブ））、COX-2阻害剤（例えば、セレコキシブ）、インターフェロン、サイトカイン、次の標的、PDGFR- β 、BlyS、APRIL、BCMA受容体、TRAIL/Apo2の一以上に特異的に結合するアンタゴニスト（例えば中和抗体）、及び他の生物活性薬剤及び有機化学薬剤などが含まれる。その組合せもまた本発明に含まれる。

【0088】

30

本明細書で用いられる「細胞障害性剤」という用語は、細胞の機能を阻害又は阻止し及び／又は細胞破壊を生ずる物質を指す。この用語は、放射性同位体（例えば、At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²及びLuの放射性同位体）、化学治療薬、例としてメトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロランブシル、ダウノルビシン又は他の挿入剤、酵素及びその断片、例えば核溶解性酵素、抗生物質、及び毒素、例えばその断片及び／又は変異体を含む小分子毒素又は細菌、糸状菌、植物又は動物起源の酵素的に活性な毒素、そして以下に開示する種々の抗腫瘍剤、抗癌剤および化学療法剤を含むように意図されている。他の細胞傷害性薬物は以下に記述される。殺腫瘍剤は、腫瘍細胞の破壊を引き起こす。

40

【0089】

「化学療法剤」は、癌の治療に有用な化合物を指す。化学療法剤の例には、アルキル化剤、例えばチオテパ及びシクロホスファミド（CYTOXAN（登録商標））；スルホン酸アルキル、例えばブスルファン、インプロスルファン及びピボスルファン(piposulfan)；アジリジン類、例えばベンゾドーパ(benzodopa)、カルボコン、メツレドーパ(meturedopa)、及びウレドーパ(uredopa)；アルトレトアミン(altretamine)、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド(triethylenethiophosphoramidate)及びトリメチローロメラミン(trimethylolomelamine)を含むエチレンイミン類及びメチラメラミン類；アセトゲニン（特にブラタシン及びブラタシノン）；デルター9

50

ーテトラヒドロカナビノール（ドロナビノール、MARINOL（登録商標）；βラパ
 ヨーネ；ラパコール；コルヒチン；ベツリン酸；カンプトセシン（合成アナログトポテカ
 ン（HYCAMTIN（登録商標）、CPT-11（イリノテカン、CAMPTOSAR
 （登録商標）を含む）、アセチルカンプトテシン、スコポレクチン(scopolectin)及び9
 ーアミノカンプトテシン；ブリオスタチン；カリスタチン；CC-1065（そのアドゼ
 レシン、カルゼレシン及びビゼレシン合成アナログを含む）；ポドフィロトキシ
 ン；ポド
 フィリン酸(podophyllinic acid)；テニポシド；クリプトフィシン（特にクリプトフィシ
 ン1及びクリプトフィシン8）；ドラスタチン；ドゥオカルマイシン（合成アナログ、K
 W-2189及びCB1-TM1を含む）；エロイテロピン；パンクラチスタチン；サル
 コジクチン；スポンギスタチン；クロランブシル、クロロナファジン(chlornaphazine)、
 チョロホスファミド(cholophosphamide)、エストラムスチン、イフォスファミド、メクロ
 レタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベンビチン(novem
 bichin)、フェネステリン(phenesterine)、プレドニムスチン(prednimustine)、トロフォ
 スファミド(trofوسفamide)、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード；カル
 ムスチン、クロロゾトシン(chlorozotocin)、フォテムスチン(fotemustine)、ロムスチン
 、ニムスチン、ラニムスチンなどのニトロスレアス(nitrosureas)；抗生物質、例えばエ
 ネジイン抗生物質（例えば、カリケアマイシン(calicheamicin)、特にカリケアマイシン
 γ1I及びカリケアマイシンω1I（例えばNicolaou et al., Agnew Chem Intl. Ed. En
 gl. 33:183-186(1994)参照）；CDP323、経口α-4インテグリン阻害剤；ダイネマ
 イシン(dynemicin)Aを含むダイネマイシン；エスペラマイシン；並びにネオカルチノス
 タチン発色団及び関連する色素タンパクエネジイン抗生物質発色団）、アクラシノマイシ
 ン類(aclacinomysins)、アクチノマイシン、オースラマイシン(authramycin)、アザセリ
 ン、ブレオマイシン、カクチノマイシン(cactinomycin)、カラビシン(carabycin)、カル
 ミノマイシン、カルジノフィリン(carzinophilin)、クロモマイシン類、ダクチノマイシ
 ン、ダウノルビシン、デトルビシン(detorubicin)、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロ
 イシン、ドキソルビシン(ADRIAMYCIN（登録商標）、モルホリノードキシソルビ
 シン、シアノモルホリノードキシソルビシン、2-ピロリノードキシソルビシン、ドキソルビ
 シンHClリポソーム注射剤(DOXIL（登録商標）、リポソームドキソルビシンTL
 CD-99(MYOCE(T（登録商標）、ペグ化リポソームドキソルビシン(CAELYX（登録商標）、及びデオキシドキソルビシンを含む）、エピルビシン、エソルビシン
 、イダルビシン、マーセロマイシン(marcellomycin)、マイトマイシンCのようなマイト
 マイシン、マイコフェノール酸(mycophenolic acid)、ノガラマイシン(nogalamycin)、オ
 リボマイシン(olivomycins)、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン(potfiromycin)、ピ
 ユーロマイシン、ケラマイシン(quelamycin)、ロドルビシン(rodorubicin)、ストレプト
 ニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン(tubercidin)、ウベニメクス、ジノスタチン
 (zinostatin)、ゾルビシン(zorubicin)；代謝拮抗剤、例えばメトトレキセート、ゲムシ
 タビン(gemcitabine)(GEMZAR（登録商標）、テガフル(tegafur)(UFTORAL（登録商標）、カペシタビン(capecitabine)(XELODA（登録商標）、エポチ
 ロン(epothilone)、及び5-フルオロウラシル(5-FU)；葉酸アナログ、例えばデノ
 プテリン(denopterin)、メトトレキセート、プテロプテリン(pteropterin)、トリメトレ
 キセート(trimetrexate)；プリンアナログ、例えばフルダラビン(fludarabine)、6-メ
 ルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン；ピリミジンアナログ、例えばアンシタビ
 ン、アザシチジン(azacitidine)、6-アザウリジン(azauridine)、カルモフル、シタ
 ラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン(enocitabine)、フロキ
 シウリジン(floxuridine)；アンドロゲン類、例えばカルステロン(calusterone)、プロ
 ピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン(tes
 tolactone)；抗副腎剤、例えばアミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン；葉酸リプ
 レニッシャー(replenisher)、例えばフロリン酸(frolinic acid)；アセグラトン；アルド
 ホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン(amsacrine
)；ベストラブシル(bestrabucil)；ビスアントレン(bisantrene)；エダトラキセート(edatr

10

20

30

40

50

axate)；デフォファミン(defofamine)；デメコルシン(demecolcine)；ジアジコン(diaziquone)；エルフォルニチン(elfornithine)；酢酸エリプチニウム(elliptinium)；エポチロン；エトグルシド(etoglucid)；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン(lonidainine)；メイタンシン(maytansine)及びアンサマイトシン類(ansamitocins)のようなメイタンシノイド類(maytansinoids)；ミトグアゾン(mitoguazone)；ミトキサントロン；モピダンモール(mopidanmol)；ニトラクリン(nitracrine)；ペントスタチン；フェナメット(phenamet)；ピラルピシン；ロソキサントロン(losoxantron)；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；P S K（登録商標）多糖類複合体(JHS Natural Products, Eugene, OR)；ラゾキサン(razoxane)；リゾキシシン(rhizoxin)；シゾフィラン；スピロゲルマニウム(spirogermanium)；テニュアゾン酸(tenuazonic acid)；トリアジコン(triaziquone)；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン(trichothecenes)（特に、T-2トキシシン、ベラキュリンA(verracurin A)、ロリジンA(roridin A)及びアングイジン(anguidine)）；ウレタン；ビンデシン(ELDISINE（登録商標）、FILDESIN（登録商標））；ダカルバジン；マンノムスチン(mannomustine)；ミトブロニトール；ミトラクトール(mitolactol)；ピポブロマン(pipobroman)；ガシトシン(gacytosine)；アラビノシド（「Ara-C」）；チオテパ；タキソイド、例えばパクリタキセル(TAXOL（登録商標）)、パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子製剤(ABRAXANETM)、及びドキセタキセル(TAXOTERE（登録商標）)；クロランブシル；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；プラチナ剤、例えばシスプラチン、オキサリプラチン（例えばELOXATIN（登録商標））及びカルボプラチン；ビンカ類でチューブリン重合の微小管形成を阻害するもの、例えばビンブラスチン(VELBAN（登録商標）)、ビンクリスチン(ONCOVIN（登録商標）)、ビンデシン(ELDISINE（登録商標）、FILDESIN（登録商標）)、及びビノレルビン(NAVELBINE（登録商標）)；エトポシド(VP-16)；イホスファミド；ミトキサントロン；ロイコボビン(leucovovin)；ノバントロン(novantrone)；エダトレキセート；ダウノマイシン；アミノプテリン；イバンドロナート(ibandronate)；トポイソメラーゼ阻害薬RFS2000；ジフルオロメチロールニチン(DMFO)；レチノイン酸などのレチノイド、例えば、ベキサロテン(TARGRETIN（登録商標）)；ビスホスホネート、例えばクロドロネート（例えばBONEFOS（登録商標）又はOSTAC（登録商標）)、エチドロロン酸(DIDROCAL（登録商標）)、NE-58095、ゾレドロロン酸／ゾレドロネート(ZOMETA（登録商標）)、アレンドロネート(FOSAMAX（登録商標）)、パミドロロン酸(AREDIA（登録商標）)、チルドロン酸(SKELID（登録商標）)、又はリセドロロン酸(ACTONEL（登録商標）)；トロキサシタビン(troxacitabine)（1, 3-ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体）；アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に異常な細胞増殖に結びつくシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの、例えばPKC- α 、Raf、及びH-Ras、及び上皮増殖因子受容体(EGF-R)；THERATOPE（登録商標）ワクチン及び遺伝子治療ワクチン等のワクチン、例えばALLOVECTIN（登録商標）ワクチン、LEUVECTIN（登録商標）ワクチン、及びVAXID（登録商標）ワクチン；トポイソメラーゼ1阻害薬（例えばLURTOTECAN（登録商標））；rmRH（例えばABARELIX（登録商標））；BAY439006（ソラフェニブ；Bayer）；SU-11248（スニチニブ、SUTENT（登録商標）、Pfizer）；ペリフォシン(perifosine)、COX-2阻害剤（例えばセレコキシブ又はエトリコキシブ）、プロテオゾーム阻害剤（例えばPS341）；ボルテゾミブ(VELCADE（登録商標）)；CCI-779；チピファルニブ(tipifarnib)（R11577）；オラフィニブ(orafenib)、ABT510；BCL-2阻害剤、例えばオブリメルセンナトリウム(oblimersen sodium)(GENASENSE（登録商標）)；ピクサントロン；EGFR阻害剤（以下の定義を参照）；チロシンキナーゼ阻害剤；セリンスレオニンキナーゼ阻害剤、例えばラパマイシン（シロリムス、RAPAMUNE（登録商標））；ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、例えばロナファーニブ(SCH6636, SARASARTM)；及び上

述したものの何れかの薬学的に許容可能な塩、酸又は誘導体：並びに上記のうち2以上の組合せ、例えば、シクロフォスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン、及びプレドニソロンの併用療法の略称であるCHOP；及び5-FU及びロイコボリンとオキサリプラチン（ELOXATINTM）を組合せた治療法の略称であるFOLFOXが含まれる。

【0090】

ここで定義された化学療法剤には、癌の増殖を促進しうるホルモンの作用を調節、低減、遮断、又は阻害するように働く「抗ホルモン剤」又は「内分泌治療剤」が含まれる。それらはそれ自体がホルモンであってもよく、限定するものではないが、混合アゴニスト／アンタゴニストプロファイルを持つ抗エストロゲン、例えばタモキシフェン（NOLVADEX（登録商標））、4-ヒドロキシタモキシフェン、トレミフェン（FARESTON（登録商標））、イドキシフェン、ドロキシフェン、ラロキシフェン（raloxifene）（EVIISTA（登録商標））、トリオキシフェン（trioxifene）、ケオキシフェン（keoxifene）、及びSERM3などの選択的なエストロゲン受容体調節因子（SERM）；アゴニスト特性を有さない純粋な抗エストロゲン類、例えばフルベストラント（FASLODEX（登録商標））、及びEM800（このような薬剤はエストロゲン受容体（ER）二量体化をブロックし、DNA結合を阻害し、ER代謝回転を増加させ、及び／又はERレベルを抑制しうる）；アロマターゼインヒビター、例えば、ホルメスタン及びエキセメスタン（AROMASIN（登録商標））などのステロイド系アロマターゼインヒビター、及びアナストロゾール（ARIMIDEX（登録商標））、レトロゾール（FEMARA（登録商標））及びアミノグルテチミドなどの非ステロイド性アロマターゼインヒビター、及びボロゾール（RIVISOR（登録商標））、メゲストロールアセテート（MEGASE（登録商標））、ファドロゾール及び4（5）-イミダゾールを含む他のアロマターゼインヒビター；黄体形成ホルモン放出ホルモンアゴニスト、例えばロイプロリド（LUPRON（登録商標））及びELIGARD（登録商標））、ゴセレリン、ブセレリン、及びトリプトレリン；性ステロイド、例えばプロゲステロン、例えばメゲストロールアセテート及びメドロキシプロゲステロンアセテート、エストロゲン、例えばジェチルスチルベストロール及びプレマリン、及びアンドロゲン／レチノイド、例えばフルオキシメステロン、全てのトランスレチオニン酸及びフェンレチニド；オナプリストン；抗プロゲステロン；エストロゲン受容体下方制御因子（ERD）；抗アンドロゲン類、例えばフルタミド、ニルタミド及びビカルタミド；及び上記の何れかの薬学的に許容可能な塩、酸又は誘導体；並びに、上記のうちの2以上の組合せを含む。

【0091】

この出願で用いられる用語「プロドラッグ」なる用語は、親薬剤と比較して腫瘍細胞に対する細胞障害性が低く、酵素的に活性化又はより活性化親形態に変換されうる薬学的に活性な物質の前駆体又は誘導体の形態を指す。例として、Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" Biochemical Society Transactions, 14, 頁375-382, 615th Meeting Belfast (1986)及びStella et al., "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," Directed Drug Delivery, Borchardt et al., (ed.), 頁247-267, Humana Press (1985)を参照のこと。本発明のプロドラッグには、限定するものではないが、ホスファート含有プロドラッグ、チオホスファート含有プロドラッグ、スルファート含有プロドラッグ、ペプチド含有プロドラッグ、D-アミノ酸修飾プロドラッグ、グリコシル化プロドラッグ、β-ラクタム含有プロドラッグ、任意に置換されたフェノキシアセトアミド含有プロドラッグ、又は任意に置換されたフェニルアセトアミド含有プロドラッグ、より活性のある細胞毒のない薬剤に転換可能な5-フルオロシトシン及び他の5-フルオロウリジンプロドラッグを含む。限定はしないが、本発明で使用されるプロドラッグ形態に誘導体化可能な細胞障害性剤の例には、前記の化学療法剤が含まれる。

【0092】

本明細書で使用する「増殖阻害剤」は、細胞（例えばインビトロ又はインビボの何れかにおいて増殖がSCD1の発現に依存している細胞）の増殖を阻害する化合物又は組成物

10

20

30

40

50

を指す。増殖阻害剤の例は、細胞周期の進行を（S期以外の位置で）阻害する薬剤、例えばG1停止又はM期停止を誘発する薬剤を含む。古典的なM期ブロッカーには、ビンカ（ビンクリスチン及びビンブラスチン）、タキサン、及び例えばドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、及びブレオマイシンなどのトポイソメラーゼII阻害剤が含まれる。またG1停止させるこれらの薬剤は、S期停止にも波及し、例えば、DNAアルキル化剤、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキセート、5-フルオロウラシル、及びアラ-Cである。更なる情報は、The Molecular Basis of Cancer, Mendelsohn及びIsrael, 編, 第1章, 表題「Cell cycle regulation, oncogene, and antineoplastic drugs」, Murakami等, (WB Saunders: Philadelphia, 1995)、特に13頁に見出すことができる。タキサン類（パクリタキセル及びドセタキセル）は、共にイチイに由来する抗癌剤である。ヨーロッパイチイに由来するドセタキセル（TAXOTERE（登録商標）、Rhone-Poulenc Rorer）は、パクリタキセル（TAXOL（登録商標）、Bristol-Myers Squibb）の半合成類似体である。パクリタキセル及びドセタキセルは、チューブリン二量体から微小管の集合を促進し、細胞の有糸分裂を阻害する結果となる脱重合を防ぐことによって微小管を安定化にする。

10

【0093】

「放射線療法」とは、正常に機能する能力を制限するか、又は完全に細胞を破壊するために、細胞に十分な損傷を誘導するために指定されたγ線又はβ線の使用を意味する。治療の用量及び持続時間を決定するための当技術分野で公知の多くの方法が存在することが理解されるであろう。典型的な治療法は一回の投与として与えられ、典型的な投与量は、1日あたり10から200単位（グレイ）の範囲である。

20

【0094】

「患者」、「個体」又は「被検体」は、哺乳動物である。哺乳動物は、限定されないが、家畜動物（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、ウマ）、霊長類（例えば、ヒト、サルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、げっ歯類（例えば、マウス及びラット）を含む。所定の実施態様において、患者、個体又は被検体はヒトである。

【0095】

用語「同時に」は、投与の少なくとも一部が時間的に重なる二以上の治療薬の投与を意味するために使用される。従って、同時投与とは、一以上の他の薬剤の投与を中止した後一以上の薬剤投与が継続する場合の投与計画を含む。

30

【0096】

「低減する又は阻害する」とは、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%又はそれ以上の全体的減少を引き起こす能力を意味する。低減する又は阻害するとは、治療する疾患の症状、転移の存在又は大きさ、又は原発腫瘍の大きさを指しうる。

【0097】

「パッケージ挿入物」は、効能、用法、用量、投与、禁忌、パッケージ製品と併用される他の治療用製品、及び／又はそのような治療用製品又は医薬の使用に関する警告を含む、治療用製品又は医薬の商用パッケージに慣習的に含まれている説明書を指すために使用される。

40

【0098】

「製造品」は、例えば、疾患又は障害（例えば、癌）の治療のための医薬、又は本明細書に記載のバイオマーカーを特異的に検出するためのプローブなど少なくとも一の試薬を含んでなる任意の製品（例えばパッケージ又は容器）又はキットである。ある実施態様において、製品又はキットは、本明細書に記載の方法を実施するためのユニットとして、宣伝され、配布され又は販売される。

【0099】

「ターゲット層(target audience)」は、個体、集団；新聞、医学文献、雑誌の読者；テレビやインターネットの視聴者；ラジオやインターネットのリスナー；医師、製薬会社

50

など、とりわけ特定の使用、治療、又は適応症について、マーケティング又は広告により、特定の医薬が宣伝されるか又は宣伝されることが意図される人々のグループ又は機関である。

【0100】

当業者によって理解されるように、本明細書中の「およそ」の値又はパラメーターへの言及は、その値又はパラメーター自体に対する実施態様を含む（記載する）。例えば、「およそX」との記載には「X」の記載が含まれる。

【0101】

本明細書に記載される本発明の態様及び実施態様は、態様及び実施態様を「含む」及び／又は「から本質的になる」を含む。本明細書で使用されるように、単数形の「a」、「an」及び「the」は、特に指示がない限り、複数への参照が含まれる。

10

【0102】

II. 方法と使用

本明細書中に提供されるのは、有益な作用を提供することを意図した特定の治療計画の一部としてのSCD1アンタゴニストの使用である。本明細書で提供されるSCD1アンタゴニストの何れかを、治療方法で使うことができる。更なる態様にて、本発明は、医薬の製造又は調製におけるSCD1アンタゴニストの使用を提供する。一実施態様において、本医薬は癌の治療のためのものである。更なる態様にて、本発明は、癌を治療する方法を提供する。更に、本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法による治療から利益を受けうる個体を同定するための方法及び組成物である。上記実施態様のいずれかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

20

【0103】

本明細書中に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量と癌細胞を接触させることを含む、癌細胞の細胞増殖を阻害する方法である。更に本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌細胞の細胞増殖を阻害する方法である。幾つかの実施態様において、細胞増殖は、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、又は約90%の何れかよりも大きく阻害される。幾つかの実施態様において、癌細胞は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは、小分子、抗SCD1抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子はSMI37062（G01522403）、G02447171、RG1、RG3、RG8又はそれらの誘導体である。上記実施態様のいずれかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

30

【0104】

本明細書において更に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量と癌細胞を接触させることを含む、細胞周期の停止を誘導する方法である。また本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌細胞の細胞周期の停止を誘導する方法である。幾つかの実施態様において、細胞周期の停止は、G1細胞周期の停止である。幾つかの実施態様において、癌細胞は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは、小分子、抗SCD1抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子はSMI37062（G01522403）、G02447171、RG1、RG3、RG8又はそれらの誘導体である。上記実施態様の何れかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

40

【0105】

本明細書中に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量と癌細胞を接触させる

50

ことを含む、癌細胞の細胞死を促進する方法である。また本明細書中に提供されるのは、個体に S C D 1 アンタゴニストの有効量を投与することを含む、個体における癌細胞の細胞死を促進する方法である。幾つかの実施態様において、細胞死は壊死である。幾つかの実施態様において、細胞死はアポトーシスである。幾つかの実施態様において、アポトーシスは、カスパーゼ依存性アポトーシスである。幾つかの実施態様において、アポトーシスは、カスパーゼ非依存性アポトーシスである。幾つかの実施態様において、アポトーシスの促進は、例えば、カスパーゼ 3、カスパーゼ 7 などのカスパーゼ活性の増加によって示される。幾つかの実施態様において、癌細胞は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、小分子、抗 S C D 1 抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子は S M I 3 7 0 6 2 (G 0 1 5 2 2 4 0 3)、G 0 2 4 4 7 1 7 1、R G 1、R G 3、R G 8 又はそれらの誘導体である。上記実施態様の何れかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

10

【0106】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、S C D 1 アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌細胞を治療する方法である。幾つかの実施態様において、癌細胞は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、小分子、抗 S C D 1 抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子は S M I 3 7 0 6 2 (G 0 1 5 2 2 4 0 3)、G 0 2 4 4 7 1 7 1、R G 1、R G 3、R G 8 又はそれらの誘導体である。上記実施態様の何れかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

20

【0107】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、S C D 1 アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌を治療する方法である。幾つかの実施態様において、個体における癌は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、小分子、抗 S C D 1 抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子は S M I 3 7 0 6 2 (G 0 1 5 2 2 4 0 3)、G 0 2 4 4 7 1 7 1、R G 1、R G 3、R G 8 又はそれらの誘導体である。上記実施態様の何れかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

30

【0108】

本明細書において更に提供されるのは、S C D 1 アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌を治療する方法であり、ここで治療は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベル及び／又は減少した発現レベルを発現する癌を有する個体に基づいている。また本明細書に提供されるのは、個体が、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する癌を有することを見いだされていることを条件として、個体において癌を治療する方法である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、小分子、抗 S C D 1 抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子は S M I 3 7 0 6 2 (G 0 1 5 2 2 4 0 3)、G 0 2 4 4 7 1 7 1、

40

50

R G 1、R G 3、R G 8 又はそれらの誘導体である。上記実施態様の何れかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

【0109】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、個体において癌を治療する方法であり、その方法は、(a) 個体から得られたサンプルが、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現することを決定すること、及び(b) 個体に S C D 1 アンタゴニストの有効量を投与することを含み、それにより癌が治療される方法である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、小分子、抗 S C D 1 抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子は S M I 3 7 0 6 2 (G 0 1 5 2 2 4 0 3)、G 0 2 4 4 7 1 7 1、R G 1、R G 3、R G 8 又はそれらの誘導体である。上記実施態様の何れかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

10

【0110】

本明細書に提供されるのは、(a) 癌が、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現する、癌を有する個体を選択すること；及び(b) 個体に S C D 1 アンタゴニストの有効量を投与することを含み、それにより癌が治療される、癌を治療する方法である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、小分子、抗 S C D 1 抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子は、S M I 3 7 0 6 2 (G 0 1 5 2 2 4 0 3)、G 0 2 4 4 7 1 7 1、又はそれらの誘導体である。上記実施態様のいずれかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

20

【0111】

本明細書に提供されるのは、S C D 1 アンタゴニストを含む抗癌治療法による治療から利益を受ける可能性がより高く、又は S C D 1 アンタゴニストを含む抗癌治療法による治療から利益を受ける可能性が低い個体を同定する方法であり、その方法は、個体から得られたサンプル中で一又は複数のバイオマーカーの発現レベルを決定することを含み、ここで、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、個体が S C D 1 アンタゴニストを含む抗癌治療法による治療から利益を受ける可能性がより高く、又は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、サンプル中の一又は複数のバイオマーカーの発現レベルの減少は、個体が S C D 1 アンタゴニストを含む抗癌治療法による治療から利益を受ける可能性が低いことを示す。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較してと比較して、サンプル中で一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、個体が S C D 1 アンタゴニストを含む抗癌治療法による治療から利益を受ける可能性がより高いことを示す。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較してと比較して、サンプル中で一又は複数のバイオマーカーの減少した発現レベルは、個体が S C D 1 アンタゴニストを含む抗癌治療法による治療から利益を受ける可能性が低いことを示す。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、小分子、抗 S C D 1 抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子は、S M I 3 7 0 6 2 (G 0 1 5 2 2 4 0 3)、G 0 2 4 4 7 1 7 1、R G 1、R G 3、R G 8、又はそれらの誘導体である。上記実施態様のいずれかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

30

40

50

【0112】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、癌を有する個体がSCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法に効果的に応答する可能性を予測する方法であり、その方法は一又は複数のバイオマーカーを評価することを含み、それにより、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、個体がSCD1アンタゴニストによる治療に効果的に応答する可能性がより高いことを示し、及び参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、一又は複数のバイオマーカーの減少した発現レベルは、個体がアンタゴニストによる治療に効果的に応答する可能性が低いことを示す。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較してと比較して、サンプル中で一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、個体がSCD1アンタゴニストによる治療に効果的に応答する可能性がより高いことを示す。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較してと比較して、サンプル中で一又は複数のバイオマーカーの減少した発現レベルは、個体がアンタゴニストによる治療に効果的に応答する可能性が低いことを示す。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは、小分子、抗SCD1抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子はSMI37062（G01522403）、G02447171、RG1、RG3、RG8又はそれらの誘導体である。上記実施態様のいずれかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

10

20

【0113】

また本明細書に提供されるのは、個体から得られたサンプル中で、一又は複数のバイオマーカーの発現を測定することを含む、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法に対する個体の応答又は応答の欠如を予測する方法であり、ここで、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法に対する個体の応答を予測し、及び参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの減少した発現レベルは、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法に対する個体の応答の欠如を予測する。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較してと比較して、サンプル中で一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法に対する個体の応答を予測する。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較してと比較して、サンプル中で一又は複数のバイオマーカーの減少した発現レベルは、SCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法に対する個体の応答の欠如を予測する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは、小分子、抗SCD1抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子はSMI37062（G01522403）、G02447171、RG1、RG3、RG8又はそれらの誘導体である。上記実施態様の何れかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

30

40

【0114】

別の態様において、本明細書に提供されるのは、癌を有する個体がSCD1アンタゴニストを含む抗癌治療法からの利益を示すであろう可能性を決定する方法であり、その方法は、個体から得られたサンプル中で一又は複数のバイオマーカーの発現レベルを決定し、

50

参照サンプルと比較して、サンプル中で一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、個体が S C D 1 アンタゴニストを含む抗癌治療法からの利益の増加した可能性を有することを示し、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの減少した発現レベルは、個体が、S C D 1 アンタゴニストを含む抗癌治療法からの利益の減少した可能性を有することを示す。幾つかの実施態様において、参照サンプルと比較してサンプル中で一又は複数のバイオマーカーの上昇した発現レベルは、S C D 1 アンタゴニストを含む抗癌治療法からの利益の増加した可能性を有することを示す。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較してと比較して、サンプル中で一又は複数のバイオマーカーの減少した発現レベルは、個体が S C D 1 アンタゴニストを含む抗癌治療法からの利益の減少した可能性を有することを示す。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、小分子、抗 S C D 1 抗体、結合ポリペプチド、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子は S M I 3 7 0 6 2（G 0 1 5 2 2 4 0 3）、G 0 2 4 4 7 1 7 1、R G 1、R G 3、R G 8 又はそれらの誘導体である。上記実施態様のいずれかに記載の「個体」は、好ましくはヒトである。

【0115】

任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、癌及び／又は癌細胞は固形腫瘍である。固形腫瘍の例は、限定されないが、膀胱癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、頭頸部癌、腎臓癌、卵巣癌、下咽頭、前立腺癌、食道癌、肝細胞癌、及び／又は泌尿器癌を含む。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、癌又は癌細胞は、膀胱癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、頭頸部癌、腎臓癌、卵巣癌、及び／又は泌尿器癌の群から選択される癌である。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、癌又は癌細胞は、膀胱癌、膵臓癌、結腸癌、結腸直腸癌、腎臓癌、及び／又は泌尿器癌の群から選択される癌である。幾つかの実施態様において、癌又は癌細胞は、膀胱癌、膵臓癌、子宮内膜癌、頭頸部癌、腎臓癌、卵巣癌、及び／又は泌尿器癌の群から選択される癌である。幾つかの実施態様において、癌及び／又は癌細胞は、腎臓癌である。幾つかの実施態様において、癌及び／又は癌細胞は、膵臓癌である。幾つかの実施態様において、癌及び／又は癌細胞は、膀胱癌である。幾つかの実施態様において、癌及び／又は癌細胞は、ステージ I、ステージ I I、ステージ I I I、及び／又はステージ I V である。幾つかの実施態様において、癌及び／又は癌細胞は、限局化する。幾つかの実施態様において、癌及び／又は癌細胞は、転移性である。

【0116】

任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは F G F R 3 である。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、F G F R 3 の上昇したレベルを有する。例えば、本明細書に提供されるのは、S C D 1 アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌を治療する方法であり、ここで個体の癌は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現し、一又は複数のバイオマーカーは F G F R 3 である。幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と、実質的に同レベルの F G F R 3 を発現する。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーはリン酸化された F G F R 3 である。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、リン酸化 F G F R 3 を発現する。例えば、本明細書に提供されるのは、S C D 1 アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌を治療する方法であり

、ここで個体の癌は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現し、一又は複数のバイオマーカーはリン酸化 F G F R 3 である。幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、リン酸化 F G F R 3 の上昇したレベルを発現する。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子または m R N A））のレベルにおいて、約 5 %、約 10 %、約 20 %、約 25 %、約 30 %、約 40 %、約 50 %、約 60 %、約 70 %、約 80 %、約 85 %、約 90 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 % 又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。ある実施態様において、上昇した発現とは、バイオマーカーの発現レベル／量の増加を指し、ここでその増加は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、それぞれのバイオマーカーの発現レベル／量の少なくとも約 1.5 X、約 1.75 X、約 2 X、約 3 X、約 4 X、約 5 X、約 6 X、約 7 X、約 8 X、約 9 X、約 10 X、約 25 X、約 50 X、約 75 X、又は約 100 X の何れかである。幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と、実質的に同レベルのリン酸化 F G F R 3 を発現する。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、F G F R 3 の既知のレベルの発現の有無にかかわらず非癌性である。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、F G F R 3 の既知のレベルの発現の有無にかかわらず癌性である。幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプル中の F G F R 3 の発現は、細胞表面発現である。幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプル中の F G F R 3 経路は、構成的に活性である。幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプル中の F G F R 3 経路は、リガンド依存性である。幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、F G F R 3 に変異を含む。F G F R 3 の構成的に活性な変異の例は、限定されないが、F G F R 3 S 249 C、F G F R 3 R 248 C、F G F R 3 G 372 C、F G F R 3 Y 375 C、F G F R 3 K 652 E、F G F R 3 K 652 Q、及び／又は F G F R 3 K 652 M を含む。幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、F G F R 3 の野生型である。

【0117】

任意の使用及び方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャー (FGFR3-regulated lipogenic signature) の一又は複数の遺伝子である。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャー (FGFR3-regulated lipogenic signature) の一又は複数の発現する。幾つかの実施態様において、個体からのサンプル、癌及び／又は癌細胞は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャー (FGFR3-regulated lipogenic signature) の一又は複数の遺伝子の上昇したレベルを発現する。例えば、本明細書に提供されるのは、S C D 1 アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌を治療する方法であり、ここで個体の癌は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現し、一又は複数のバイオマーカーは F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャー (FGFR3-regulated lipogenic signature) である。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試

10

20

30

40

50

料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約5%、約10%、約20%、約25%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。ある実施態様において、上昇した発現とは、バイオマーカーの発現レベル／量の増加を指し、ここでその増加は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、それぞれのバイオマーカーの発現レベル／量の少なくとも約1.5X、約1.75X、約2X、約3X、約4X、約5X、約6X、約7X、約8X、約9X、約10X、約25X、約50X、約75X、又は約100Xの何れかである。幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と、実質的に同レベルのFGFR3調節性脂質生合成シグナチャー(FGFR3-regulated lipogenic signature)を発現する。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャー(FGFR3-regulated lipogenic signature)の一又は複数の遺伝子の既知のレベルの発現の有無にかかわらず非癌性である。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャー(FGFR3-regulated lipogenic signature)の一又は複数の遺伝子の既知のレベルの発現の有無にかかわらず癌性である。

【0118】

幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、SREBF1、G6PD、ACOT7、PTPLA、PCCB、FADS1、RDH11、ACER3、PDSS1、MVD、AGPAT5、HSD17B2、ACSL4、EBP、PIGW、LBR、ACLY、ADORA2B、GPCPD1、CYP24A1、ACSL3、MVK、ACSS2、FDPS、ELOVL5、HMGCR、LIPG、ME1、DHCR7、LSS、ACAT2、FASN、CYP51A1、IDI1、FDFT1、FAR2、HMGCS1、SDR16C5、LDLR、MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、SC4MOLを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約5%、約10%、約20%、約25%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約85%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。ある実施態様において、上昇した発現とは、バイオマーカーの発現レベル／量の増加を指し、ここでその増加は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、それぞれのバイオマーカーの発現レベル／量の少なくとも約1.5X、約1.75X、約2X、約3X、約4X、約5X、約6X、約7X、約8X、約9X、約10X、約25X、約50X、約75X、又は約100Xの何れかである。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約1.4倍、約1.5倍、約1.6倍、又は約1.7倍又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質

または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約-0.5、約-0.6、約-0.7、又は約-0.8又はそれ以上の何れかの平均log2倍率変化の全体的な増加を指す。

【0119】

幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、ELOVL5、HMGCR、LIPG、ME1、DHCR7、LSS、ACAT2、FASN、CYP51A1、IDI1、FDFT1、FAR2、HMGCS1、SDR16C5、LDLR、MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、SC4MOLを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約1.8倍、約1.9倍、約2.0倍、又は約2.1倍又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約-0.9倍、約-1.0倍、約-1.1倍、又は約-1.2倍又はそれ以上の何れかの平均log2倍率変化の全体的な増加を指す。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、CYP51A1、IDI1、FDFT1、FAR2、HMGCS1、SDR16C5、LDLR、MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、SC4MOLを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約2.2倍、約2.3倍、約2.4倍、約2.5倍、約2.6倍、又は約2.7倍又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約-1.0、約-1.1、約-0.7、又は約-1.2又はそれ以上の何れかの平均log2倍率変化の全体的な増加を指す。

【0120】

幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、LDLR、MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、SC4MOLを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約2.6倍、約2.7倍、約2.8倍、約2.9倍、約3.0倍、約3.1倍、又は約3.2倍又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなど

の標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約1.4、約1.5、約1.6、又は約1.7又はそれ以上の何れかの平均log2倍率変化の全体的な増加を指す。

【0121】

幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、SQLEを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、PCSK9を、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、SCD1を、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、FABP4を、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約3.2倍、約3.3倍、約3.4倍、約3.5倍、約3.6倍、約3.7倍、又は約3.8倍又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約1.6、約1.7、約1.8、約1.9、又は約2.0又はそれ以上の何れかの平均log2倍率変化の全体的な増加を指す。

【0122】

任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは切断された成熟したSREBP1である。幾つかの実施態様において、完全長タンパク質のSREBP1aは、UNIPROTアミノ酸配列P36956-1の1-1147aaであり、切断された成熟したSREBP1は、UNIPROTアミノ酸配列P36956-1の1-490aaを形成する。幾つかの実施態様において、完全長タンパク質のSREBP1cは、UNIPROTアミノ酸配列P36956-3の1-1123aaであり、切断された成熟したSREBP1は、UNIPROTアミノ酸配列P36956-3の1-466aaを形成する。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、成熟したSREBP1の上昇したレベルを発現する。例えば、本明細書に提供されるのは、SCD1アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌を治療する方法であり、ここで個体の癌は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現し、一又は複数のバイオマーカーは成熟したSREBP1である。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、成熟したSREBP1の上昇したレベルを発現し、成熟したSREBP2のレベルは実質的に上昇しない（即ち、実質的に同一レベルの発現）。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約5%、約10%、約20%、約25%、約30%、約40%、約50%、約60%、約7

10

20

30

40

50

0 %、約 8 0 %、約 8 5 %、約 9 0 %、約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、約 9 8 %、約 9 9 % 又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。幾つかの実施態様において、S R E B P 1 は S R E B P 1 アイソフォーム a である。幾つかの実施態様において、S R E B P 1 は S R E B P 1 アイソフォーム c である。ある実施態様において、上昇した発現とは、バイオマーカーの発現レベル／量の増加を指し、ここでその増加は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、それぞれのバイオマーカーの発現レベル／量の少なくとも約 1. 5 X、約 1. 7 5 X、約 2 X、約 3 X、約 4 X、約 5 X、約 6 X、約 7 X、約 8 X、約 9 X、約 1 0 X、約 2 5 X、約 5 0 X、約 7 5 X、又は約 1 0 0 X の何れかである。幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、成熟した S R E B P 1 及び／又は、成熟した S R E B P 2 の既知のレベルの発現の有無にかかわらず、非癌性である。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、成熟した S R E B P 1 及び／又は成熟した S R E B P 2 の既知のレベルの発現の有無にかかわらず、癌性である。

10

【0 1 2 3】

任意の使用及び方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは△9一価不飽和脂肪酸である。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、△9一価不飽和脂肪酸の上昇したレベルを発現する。任意の使用及び方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは△9一価不飽和脂肪酸：飽和脂肪酸の比率である。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、△9一価不飽和脂肪酸：飽和脂肪酸の上昇した比率を発現する。例えば、本明細書に提供されるのは、S C D 1 アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む、個体において癌を治療する方法であり、ここで個体の癌は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して一又は複数のバイオマーカーの上昇したレベルを発現し、一又は複数のバイオマーカーは△9一価不飽和脂肪酸：飽和脂肪酸の比率である。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子または m R N A））のレベルにおいて、約 5 %、約 1 0 %、約 2 0 %、約 2 5 %、約 3 0 %、約 4 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 %、約 8 0 %、約 8 5 %、約 9 0 %、約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、約 9 8 %、約 9 9 % 又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。ある実施態様において、上昇した発現とは、バイオマーカーの発現レベル／量の増加を指し、ここでその増加は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、それぞれのバイオマーカーの発現レベル／量の少なくとも約 1. 5 X、約 1. 7 5 X、約 2 X、約 3 X、約 4 X、約 5 X、約 6 X、約 7 X、約 8 X、約 9 X、約 1 0 X、約 2 5 X、約 5 0 X、約 7 5 X、又は約 1 0 0 X の何れかである。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、成熟した△9一価不飽和脂肪酸及び／又は飽和脂肪酸の既知のレベルの発現の有無にかかわらず、非癌性である。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、成熟した△9一価不飽和脂肪酸及び／又は飽和脂肪酸の既知のレベルの発現の有無にかかわらず、癌性である。△9一価不飽和脂肪酸の例は、限定されないが、パルミトレイン酸（C 1 6 : 1）及びオレイン酸（C 1 8 : 1）を含む。△9一価不飽和脂肪酸の例は、限定されないが、ステアリン酸（C 1 8 : 0）及びパルミチン酸（C 1 6 : 0）を含む。△9一価不飽和脂肪酸及び飽和脂肪酸を測定する方法は、当業者に公知であり、限定されないが、質量分析、ガスクロマトグラフィー、及び薄層クロマトグラフィーを含む。

20

30

40

50

【0124】

任意の使用及び方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは P I 3 K シグナル伝達、m T O R シグナル伝達、M E K シグナル伝達である。任意の使用及び方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは、P I 3 K、P T E N、p 8 5、T S C 1 / 2、及び A K T からなる群から選択される遺伝子の一又は複数の多型である。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーはリン酸化された A K T である。任意の使用と方法の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、活性化 P I 3 K シグナル伝達（例えば、上昇した P I 3 K シグナル伝達）、活性化 m T O R シグナル伝達（例えば、上昇した m T O R シグナル伝達）、及び／又は活性化 M E K シグナル伝達（例えば、上昇した M E K シグナル伝達）を含む。任意の方法及び／又は使用の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、P I 3 K 活性化変異を含む。任意の方法及び／又は使用の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、P T E N の欠失及び／又は変異を含む。任意の方法及び／又は使用の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、p 8 5 変異を含む。任意の方法及び／又は使用の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、A K T 活性化変異を含む。任意の方法及び／又は使用の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、リン酸化 A K T（例えば p A K T S⁴⁷³）の上昇したレベルを含む。任意の方法及び／又は使用の幾つかの実施態様において、個体、癌及び／又は癌細胞からのサンプルは、T S C 1 / 2 の欠失及び／又は機能変異を含む。

10

20

【0125】

幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子または m R N A））のレベルにおいて、約 5 %、約 1 0 %、約 2 0 %、約 2 5 %、約 3 0 %、約 4 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 %、約 8 0 %、約 8 5 %、約 9 0 %、約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、約 9 8 %、約 9 9 % 又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。ある実施態様において、上昇した発現とは、バイオマーカーの発現レベル／量の増加を指し、ここでその増加は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、それぞれのバイオマーカーの発現レベル／量の少なくとも約 1. 5 X、約 1. 7 5 X、約 2 X、約 3 X、約 4 X、約 5 X、約 6 X、約 7 X、約 8 X、約 9 X、約 1 0 X、約 2 5 X、約 5 0 X、約 7 5 X、又は約 1 0 0 X の何れかである。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、約 1. 5 倍、約 1. 7 5 倍、約 2 倍、約 2. 2 5 倍、約 2. 5 倍、約 2. 7 5 倍、約 3. 0 倍、又は約 3. 2 5 倍を超える全体的な増加を指す。

30

【0126】

幾つかの実施態様において、減少した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子または m R N A））のレベルにおいて、約 5 %、約 1 0 %、約 2 0 %、約 2 5 %、約 3 0 %、約 4 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 %、約 8 0 %、約 8 5 %、約 9 0 %、約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、約 9 8 %、約 9 9 % 又はそれ以上の何れかの全体的な減少を指す。ある実施態様において、減少した発現とは、バイオマーカーの発現レベル／量の減少を指し、ここでその減少は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織において、それぞれのバイオマーカーの発現レベル／量の少なくとも約 0. 9 X、約 0. 8 X、約 0. 7 X、約 0. 6 X、約 0. 5 X、約 0. 4 X、約 0. 3 X、約 0. 2 X、約 0. 1 X、約 0. 0 5 X、又は約 0. 0 1 X の何れかである。

40

【0127】

任意の使用及び／又は方法の幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、

50

本明細書に記載される、任意の抗体、結合性ポリペプチド、結合性小分子、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、小分子は、SMI37062（G01522403）、G02447171、又はそれらの誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは抗体である。幾つかの実施態様において、抗体は、モノクローナル抗体である。幾つかの実施態様において、抗体はヒト、ヒト化、又はキメラ抗体である。幾つかの実施態様において、抗体は抗体断片であり、抗体断片は、SCD1に結合する。

【0128】

何れかの方法の幾つかの実施態様において、上記実施態様の何れかによる個体は、ヒトであり得る。

10

【0129】

バイオマーカーの発現レベル／量は、mRNA、cDNAを含むがこれらに限定されない当技術分野で公知の任意の適切な基準に基づいて、定性的及び／又は定量的に決定することができる。ある実施態様において、第一サンプル中のバイオマーカーの発現／量は、第二サンプル中の発現／量と比較して増加する。ある実施態様において、第一サンプル中のバイオマーカーの発現／量は、第二サンプル中の発現／量と比較して減少する。ある実施態様において、第二サンプルは、参照サンプル、参照セル、基準組織、対照サンプル、対照細胞又は対照組織である。遺伝子の発現レベル／量を決定するための更なる開示が本明細書に記載される。

【0130】

20

本明細書に記載されるSCD1アンタゴニストは、治療において、単独で、または他の薬剤と組み合わせて使用することができる。例えば、本明細書に記載されるSCD1アンタゴニストは少なくとも1つの更なる治療薬と同時投与され得る。所定の実施態様において、更なる治療薬は、化学療法剤である。幾つかの実施態様において、更なる治療薬は、mTOR阻害剤である。幾つかの実施態様において、更なる治療薬は、PI3K阻害剤である。幾つかの実施態様において、更なる治療薬は、MEK阻害剤である。幾つかの実施態様において、更なる治療薬は、FGFR3阻害剤である。

【0131】

上記のこうした併用療法は、併用投与（2つ以上の治療薬が、同一または別々の製剤に含まれている）、及び、本発明のSCD1アンタゴニストの投与が、追加の治療薬及び／又はアジュバントの投与の前、同時、及び／又はその後起きうる分離投与を包含する。本明細書に記載されるSCD1アンタゴニストはまた放射線治療と併用して用いることができる。

30

【0132】

本明細書に記載のSCD1アンタゴニスト（例えば、抗体、結合ポリペプチド、および／または小分子）（および任意の追加の治療薬）は、経口、肺内、および鼻腔内を含む任意の適切な手段によって投与することができ、局所治療が所望される場合、病巣内投与が含まれる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与が含まれる。投薬は、その投与が短期間か又は長期であるかどうかにかかわらず部分的に依存し、任意の適切な経路、例えば、静脈内または皮下注射などの注射により行うことができる。限定されないが、様々な時間点にわたる、単一または複数回投与、ボーラス投与、パルス注入を含む様々な投与スケジュールが本明細書で考えられている。

40

【0133】

本明細書中に記載されるSCD1アンタゴニスト（例えば、抗体、結合ポリペプチド、及び／又は小分子）は、良好な学的実用性に合わせた様式で、処方され、投薬され及び投与することができる。この観点において考慮すべき要因は、治療すべき特定の障害、治療すべき特定の哺乳類、個々の患者の臨床状態、障害の原因、薬剤送達部位、投与方法、投与日程及び医療従事者が知る他の要因を包含する。SCD1アンタゴニストは、必要ではないが任意で、問題となる障害の予防又は治療のために、現在使用中の一又は複数の薬剤とともに処方される。かかる他の薬剤の有効量は、製剤中に存在するSCD1アンタゴニス

50

トの量、疾患又は治療のタイプ、及び上で検討した他の因子に依存する。これらは一般的には本明細書に記載されるのと同じ用量及び投与経路において、又は、本明細書に記載された用量の1%から99%で、又は経験的に／臨床的に妥当であると決定された任意の用量及び任意の経路により使用される。

【0134】

疾患の予防又は治療のためには、本明細書中に記載されるSCD1アンタゴニストの適切な用量（単独で使用されるか、又は、一以上の更なる治療的薬剤との組み合わせられる場合）は治療すべき疾患の種類、疾患の重症度及び経過、SCD1アンタゴニストを予防又は治療目的のいずれにおいて投与するか、以前の治療、患者の臨床的履歴及びSCD1アンタゴニストに対する応答性、及び担当医の判断に依存する。SCD1アンタゴニストは、患者に対して、単回、又は一連の治療に渡って適切に投与される。1つの典型的な一日当たり用量は上記した要因に応じて約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ から $100\text{mg}/\text{kg}$ 又はそれ以上の範囲である。数日間以上に渡る反復投与の場合には、状態に応じて、治療は疾患症状の望まれる抑制が起こるまで持続するであろう。このような用量は断続的に、例えば毎週又は3週毎（例えば患者が約2から約20、例えば本明細書に記載されるSCD1アンタゴニストの約6投与量を受けるように）投与してよい。初期の高負荷投与量の後に一以上の低投与量が投与されても良い。典型的な投与計画は、投与することを含む。しかしながら他の投薬計画が有用であるかもしれない。この治療の進行は、従来技術及びアッセイにより容易にモニターされる。

【0135】

上記の製剤または治療方法のいずれかが、SCD1アンタゴニストの代わりか又はそれに加えて、イムノコンジュゲートを用いて行うことができることが理解される。

【0136】

バイオマーカーの発現レベル／量は、mRNA、cDNAを含むがこれらに限定されない当技術分野で公知の任意の適切な基準に基づいて、定性的及び／又は定量的に決定することができる。ある実施態様において、発現は、タンパク質発現である。ある実施態様において、発現は、ポリヌクレオチド発現である。ある実施態様において、ポリヌクレオチドはDNAである。ある実施態様において、ポリヌクレオチドはRNAである。ある実施態様において、第一サンプル中のバイオマーカーの発現／量は、第二サンプル中の発現／量と比較して増加する。ある実施態様において、第一サンプル中のバイオマーカーの発現／量は、第二サンプル中の発現／量と比較して減少する。ある実施態様において、第二サンプルは、参照サンプル、参照セル、基準組織、対照サンプル、対照細胞又は対照組織である。遺伝子の発現レベル／量を決定するための更なる開示が本明細書に記載される。サンプル中の種々のバイオマーカーの発現は、多くの方法論によって分析することができ、その多くは、当該分野で公知であり、当業者によって理解され、限定されないが、免疫組織化学（IHC）、ウェスタンブロット解析、免疫沈降、分子結合アッセイ、ELISA、ELIFA、蛍光活性化細胞選別（FACS）、MassARRAY、プロテオミクス、定量的な血液に基づくアッセイ（例えば血清ELISA）、生化学酵素活性アッセイ、インサイチュハイブリダイゼーション、ノーザン分析、定量的リアルタイムPCR（定量RT-PCR）を含むポリメラーゼ連鎖反応（PCR）及び他の増幅型検出方法、例えば、分枝DNA、SISBA、TMAなど）、RNA-Seq、FISH、マイクロアレイ解析、遺伝子発現プロファイリング、及び／又は遺伝子発現の連続分析（SAGE）、並びにタンパク質、遺伝子及び／又は組織アレイ分析によって実施することができる多種多様なアッセイの何れかーが含まれる。遺伝子の状態および遺伝子産物を評価するための典型的なプロトコルは、例えば、Ausubel et al. eds., 1995, Current Protocols In Molecular Biology, ユニット2（ノーザンブロットティング）、4（サザンブロットティング）、15（イムノブロットティング）及び18（PCR分析）に見いだされる。Rules Based Medicine又はMeso Scale Discovery (MSD)から入手可能なものとして多重イムノアッセイを使用してもよい。

【0137】

幾つかの実施態様において、バイオマーカーの発現レベルは、(a) 遺伝子発現プロファイリング、PCR (例えば、rtPCRなど)、RNA-seq、マイクロアレイ分析、SAGE、MassARRAY技術、又はサンプル (例えば、患者の癌サンプル) 上でのFISHを行い; b) サンプル中のバイオマーカーの発現レベルを決定することを含む方法を用いて決定される。一態様において、バイオマーカーの発現レベルは、(a) 抗体によりサンプル (例えば、患者の癌サンプルなど) のIHC解析を行い、b) サンプル中のバイオマーカーの発現レベルを決定することを含む方法を用いて決定される。幾つかの実施態様において、IHC染色強度は参照値に対して決定される。

【0138】

幾つかの実施態様によれば、遺伝子発現は、上記の遺伝子のタンパク質発現レベルを観察することにより測定される。幾つかの実施態様において、遺伝子発現レベルは、PCR法、マイクロアレイ法、免疫測定法から選択される方法によって測定される。幾つかの実施態様において、マイクロアレイ法は、上述した遺伝子をコードする核酸分子とストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることができる一又は複数の核酸分子を有する、又は上述した遺伝子によってコードされるタンパク質の一以上に結合することができる一以上のポリペプチド (例えば、ペプチド又は抗体など) を有するマイクロアレイチップの使用を含む。一実施態様において、PCR法はqPCRである。一実施態様において、PCR法は多重PCRである。幾つかの実施態様において、遺伝子発現は、マイクロアレイにより測定される。幾つかの実施態様において、遺伝子発現は、リアルタイム定量的ポリメラーゼ連鎖反応 (qPCR) によって測定される。幾つかの実施態様において、発現は、多重PCRにより測定される。

【0139】

所定の実施態様において、本方法は、バイオマーカーの結合を許容する条件下で、本明細書に記載の抗体と生物学的サンプルを接触させること、及び複合体が抗体とバイオマーカーとの間に形成されているかどうかを検出することを含む。そのような方法は、インビトロ又はインビボでの方法であり得る。一実施態様において、例えば患者の選択のためのバイオマーカーなど、抗体がSCD1アンタゴニストによる治療にふさわしい被検体を選択するために使用される。

【0140】

ある実施態様において、サンプルは、アッセイしたバイオマーカーの量における両方の差異、及び使用したサンプルの純度のばらつき、及びアッセイの実行間のばらつきについて正規化される。そのような正規化は、ACTBなどの周知のハウスキーピング遺伝子を含む特定の正規化バイオマーカーの発現を測定し、組み込むことによって達成することができる。別法として、正規化は、アッセイされた遺伝子の全て又はその大きなサブセットの平均値又は中央値に基づいて行うことができる (グローバル標準化アプローチ)。遺伝子ごとに基づいて、患者の腫瘍のmRNA又はタンパク質の測定された正規化された量は、参照セットにおいて見出される量と比較される。患者あたりの試験された腫瘍当たりの各mRNA又はタンパク質の正規化された発現レベルは、参照セットにおいて測定された発現レベルの割合として表すことができる。分析されるべき特定の患者のサンプル中で測定された発現レベルは、この範囲内でかなりのパーセンタイルで含まれ、当技術分野で周知の方法によって決定することができる。

【0141】

ある実施態様において、以下のように遺伝子の相対的発現レベルが決定される。
 相対発現 $gene1$ サンプル = $2^{exp(Ct_{\text{ハウスキーピング遺伝子}} - Ct_{gene1})}$ 、 Ct はサンプル中で測定される。
 相対発現 $gene1$ 参照RNA = $2^{exp(Ct_{\text{ハウスキーピング遺伝子}} - Ct_{gene1})}$ 、 Ct は参照サンプル中で測定される。
 正規化された相対的発現 $gene1$ サンプル1 = (相対的発現 $gene1$ サンプル1 / 相対的発現 $gene1$ 参照RNA) $\times 100$
 Ct は閾値サイクルである。 Ct は、反応内で生成される蛍光が閾値線と交差するサイク

10

20

30

40

50

ル数である。

【0142】

全ての実験は、様々な組織源からのRNAの網羅的混合物である、参照RNAに対して正規化される（例えば、Clontech, Mountain View, CAからの参照RNA # 636538）。同一の参照RNAは、各qRT-PCRの実行に含まれ、異なる実験実行の間の結果の比較を可能にする。

【0143】

一実施態様では、サンプルは診断アッセイにおいて使用される。別の実施態様において、サンプルは原発性又は転移性腫瘍から得られる。幾つかの実施態様において、サンプルは原発性又は転移性腫瘍から得られる。組織生検は、腫瘍組織の代表的な一片を得るためにしばしば使用される。あるいは、腫瘍細胞は、目的の腫瘍細胞を含有することが知られているか又は考えられる組織又は体液の形で間接的に得ることができる。例えば、肺癌病変のサンプルは切除術、気管支鏡検査法、細針吸引、気管支ブラッシングにより、又は痰、胸膜液または血液から得ることができる。遺伝子又は遺伝子産物は、癌又は腫瘍組織から、又は、尿、痰、血清又は血漿などの他の身体サンプルから検出することができる。癌性サンプル中の標的遺伝子又は遺伝子産物の検出のために、上述の同一技術を他の身体サンプルに適用することができる。癌細胞は、癌病変からはがれ落ちて、こうした身体サンプルに現れる場合がある。このような身体サンプルをスクリーニングすることによって、簡単な早期診断を、これらの癌のために成し遂げることができる。加えて、治療法の進歩は、標的遺伝子又は遺伝子産物についてこれらの身体サンプルを試験することによって、より容易にモニターすることができる。

【0144】

ある実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞又は対照組織は、試験サンプルが得られるときとは異なる一又は複数の時点で得られる、同一被験体または個体からの単一のサンプル又は組み合わせた複数のサンプルである。例えば、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、又は対照組織は、同一被験体または個体から、試験サンプルが得られるときよりも、より早い時点で得られる。そのような参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、又は対照組織は、参照サンプルが癌の初期診断時に得られ、試験サンプルが、癌が転移性になったときに後に得られる場合に、有用である場合がある。

【0145】

ある実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、又は対照組織は、被験者又は患者でない一又は複数の健康な個体からの混合性複数サンプルである。ある実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、又は対照組織は、被験者又は患者でない、疾患又障害（例えば癌）を持つ一又は複数の健康な個体からの混合性複数サンプルである。ある実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、又は対照組織は、被験者又は患者でない一又は複数の個体からの、正常組織からのプールされたRNAサンプル又はプールされた血漿又は血清サンプルである。ある実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、又は対照組織は、被験者又は患者でない、疾患又は障害（例えば癌）を持つ一又は複数の個体からの、正常組織からのプールされたRNAサンプル又はプールされた血漿又は血清サンプルである。

【0146】

ある実施態様において、サンプル中のタンパク質の発現は、免疫組織化学（「IHC」）及び染色プロトコールを用いて調べられる。組織切片の免疫組織化学的染色は、サンプル中のタンパク質の存在を評価又は検出するための信頼性のある方法であることが示されている。

【0147】

IHCは、例えば、形態学的染色および／または蛍光インサイツハイブリダイゼーションなどの追加技術と組み合わせて行ってもよい。IHCの2つの一般的な方法が利用可能

である；直接アッセイ及び間接アッセイ。第一のアッセイによれば、標的抗原に対する抗体の結合が直接決定される。この直接アッセイは、更なる抗体相互作用無しで視覚化することができる、蛍光タグ又は酵素標識一次抗体などの標識試薬を使用する。典型的な間接アッセイでは、コンジュゲートしていない一次抗体は抗原に結合し、次いで標識した二次抗体が一次抗体に結合する。二次抗体が酵素標識にコンジュゲートされる場合、発色性又は蛍光発生基質が、抗原の可視化を提供するために添加される。幾つかの二次抗体が一次抗体上の異なるエピトープと反応し得るため、シグナルの増幅が生じる。

【0148】

免疫組織化学のために用いられる一次及び／又は二次抗体は、典型的には、検出可能な部分で標識される。通常、以下の種類に分類できる多くの標識が利用可能である：(a) ラジオアイソトープ、例えば³⁵S、¹⁴C、¹²⁵I、³Hおよび¹³¹I。(b) コロイド金粒子。(c) 希有土類キレート（ユウロピウムキレート）、テキサスレッド、ローダミン、フルオレセイン、ダンシル、リサミン、ウンベリフェロン、フィコクリセリン(phycocrytherin)、フィコシアニン又はSPECTRUM ORANGE 7およびSPECTRUM GREEN 7などの市販の蛍光体および／または上記の何れか一ないしは複数の誘導体を含むが、これらに限定されるものではない蛍光標識。(d) 様々な酵素基質標識が利用可能であり、米国特許第4275149号にはこの概説がある。酵素標識の例には、ルシフェラーゼ（例えば、ホタルルシフェラーゼおよび細菌ルシフェラーゼ；米国特許第4737456号）、ルシフェリン、2, 3-ジヒドロフタルアジネジオン(dihydrophthalazinediones)、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、ウレアーゼ、西洋わさびペルオキシダーゼ(HRPO)などのペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リソチーム、サッカライドオキシダーゼ（例えばグルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼおよびグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ）、複素環のオキシダーゼ（例えばウリカーゼおよびキサンチンオキシダーゼ）、ラクトペルオキシダーゼ、ミクロペルオキシダーゼなどが含まれる。

【0149】

酵素基質の組合せの例には、例えば、基質として水素ペルオキシダーゼを有する西洋わさびペルオキシダーゼ(HRP)；色素生産性基質としてリン酸パラグラフ-ニトロフェニルを有するアルカリホスファターゼ(AP)；及び色素生産性基質（例えばp-ニトロフェニル-β-D-ガラクトシダーゼ）又は蛍光発生基質4-メチルウンベリフェリル(methylumbelliferyl)-β-D-ガラクトシダーゼを有するβ-D-ガラクトシダーゼ(β-D-Gal)。これらの一般的な概要については、米国特許第4275149号及び同第4318980号を参照。

【0150】

調製される検査材料はマウントしてカバーガラスをかけてもよい。その後、例えば顕微鏡を使用してスライドの評価を行い、当分野で通常用いられる染色強度判定基準を用いてもよい。幾つかの実施態様において、約1+以上の染色パターンスコアは、診断的及び／又は予後徴候である。ある実施態様において、IHCアッセイにおける約2+以上の染色パターンスコアは、診断的及び／又は予後徴候である。他の実施態様において、約3以上の染色パターンスコアは、診断的及び／又は予後徴候である。一実施態様において、腫瘍または結腸腺腫からの細胞および／または組織がIHCを用いて試験される場合、（サンプル中に存在し得る間質又は周囲の組織とは対照的に）染色は、腫瘍細胞および／または組織で一般に決定又は評価されることが理解される。

【0151】

別法において、サンプルは、抗体-バイオマーカー複合体を形成するのに十分な条件下で、前記バイオマーカーに特異的な抗体と接触させ、次いで前記複合体を検出してもよい。バイオマーカーの存在は、血漿又は血清を含む広く様々な組織及びサンプルをアッセイするために、ウェスタンブロッティングやELISA法など多くの方法で検出することができる。このようなアッセイ形式を使用する広範囲のイムノアッセイ技術が利用可能であり、例えば、米国特許第4,016,043号、第4,424,279号及び第4,01

10

20

30

40

50

8, 653号を参照。これらは、非競合型の単一部位及び二部位又は「サンドイッチ」アッセイ、並びに従来の競合結合アッセイの両方が含まれる。これらのアッセイはまた、標的バイオマーカーに対する標識抗体の直接結合を含む。

【0152】

細胞内におけるmRNAの評価方法は周知であり、例えば、相補的DNAプローブを用いたハイブリダイゼーションアッセイ（例えば、一以上の遺伝子に特異的な標識リボプローブを用いたインサイツハイブリダイゼーション、ノーザンブロットおよび関連した技術）、および様々な核酸増幅アッセイ（例えば、一以上の遺伝子に特異的な相補的プライマーを用いたRT-PCRおよび、他の増幅型の検出法、例えば枝分れDNA、SISBA、TMAなど）が含まれる。

10

【0153】

哺乳動物の生体サンプルは、例えばノーザン、ドットブロットまたはPCR分析を用いて、mRNAについて都合よくアッセイすることができる。また、そのような方法は、（例えばアクチンファミリーメンバーのような「ハウスキーピング」遺伝子の比較コントロールmRNA配列のレベルを同時に調べることによって）生物学的試料中の標的mRNAのレベルを決定することを可能にする一又は複数の工程を含みうる。場合によっては、増幅された標的cDNAの配列を決定することができる。

【0154】

本発明の任意の方法は、マイクロアレイ技術によって、組織又は細胞試料中における標的mRNAなどのmRNAを、検査又は検出するプロトコルを含む。核酸マイクロアレイを用いて、試験及び対照組織サンプル由来の試験及び対照のmRNAサンプルは逆転写され、cDNAプローブを生成するために標識される。次いで、プローブを固体支持体上に固定化された核酸のアレイにハイブリダイズさせる。アレイは、アレイの各メンバーの配列と位置が分かるように構成される。例えば、発現が抗血管新生療法の臨床的利益の増加又は減少と相関する遺伝子の選択を、固体支持体上に配列され得る。特定のアレイメンバーとの標識プローブのハイブリダイゼーションは、プローブが由来するサンプルがその遺伝子を発現することを示している。

20

【0155】

組織又は細胞サンプル中の選択されたバイオマーカーの発現は、機能的又は活性に基づくアッセイを介して調べることができる。例えば、バイオマーカーが酵素である場合、組織又は細胞試料中の所定の酵素活性の存在を決定又は検出するための当技術分野で公知のアッセイを行うことができる。

30

【0156】

III. 治療用組成物

本明細書に提供されるのは、本明細書に記載される方法において有用なSCD1アンタゴニストである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは、抗体、結合性ポリペプチド、結合性小分子、及び／又はポリヌクレオチドである。

【0157】

A. 抗体

一態様において、本明細書に提供されるのは、SCD1に結合する単離された抗体である。上記実施態様の何れかにおいて、抗体はヒト化されている。本発明の更なる態様では、上記実施態様のいずれかに記載の抗SCD1抗体は、キメラ、ヒト化又はヒト抗体を含むモノクローナル抗体である。一実施態様において、抗SCD1抗体は、抗体断片、例えば、Fv、Fab、Fab'、scFv、ダイアボディ、又はF(ab')₂断片である。その他の態様において、抗体は、全長抗体、例えば、インタクトなIgG1抗体、又は本明細書において定義された他の抗体クラス又はアイソタイプである。

40

【0158】

更なる態様にて、以下のセクションで説明されるように、上記実施態様のいずれかに記載の抗SCD1抗体は、単独または組み合わせで、任意の特徴を組み込むことができる：

【0159】

50

抗体親和性

ある実施態様において、本明細書に提供される抗体は、 $1\text{ }\mu\text{M}$ 以下の解離定数 (K_d) を有する。一実施態様において、以下のアッセイにより説明されるように、 K_d は、目的の抗体の Fab 型とその抗原を用いて実施される放射標識抗原結合アッセイ (RIA) により測定される。非標識抗原の力価測定系の存在下で、最小濃度の (^{125}I) 一標識抗原にて Fab を均衡化して、抗 Fab 抗体コートプレートと結合した抗原を捕獲することによって抗原に対する Fab の溶液結合親和性を測定する (例としてChen, et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)を参照)。アッセイの条件を決めるために、 $MICROITR$ (登録商標) マルチウェルプレート(Thermo Scientific)を $5\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$ の捕獲抗 Fab 抗体(Cappel Labs)を含む 50 mM 炭酸ナトリウム ($\text{pH } 9.6$) にて一晩コートして、その後 2% (w/v) のウシ血清アルブミンを含む PBS にて室温 (およそ 23°C) で $2\sim 5$ 時間、ブロックする。非吸着プレート ($Nunc\#269620$) に、 100 pM 又は 26 pM の [^{125}I] 抗原を段階希釈した所望の Fab と混合する (例えば、Presta等, (1997) Cancer Res. 57: 4593-4599の抗 $VEGF$ 抗体、 $Fab-12$ の評価と一致する)。ついで目的の Fab を一晩インキュベートする; しかし、インキュベーションは平衡状態に達したことを確認するまでに長時間 (例えばおよそ 65 時間) かかるかもしれない。その後、混合物を捕獲プレートに移し、室温で (例えば 1 時間) インキュベートする。そして、溶液を取り除き、プレートを 0.1% のポリソルベート 20 ($TWEEN-20$ (登録商標)) を含む PBS にて 8 回洗浄する。プレートが乾燥したら、 $150\text{ }\mu\text{l}/\text{well}$ の閃光物質 ($MICROSCINT-20^{\text{TM}}$; Packard) を加え、プレートを $TOPCOUNT^{\text{TM}}$ γ 計測器(Packard)にて 10 分間計測する。最大結合の 20% か又はそれ以下濃度の Fab を選択してそれぞれ競合結合測定に用いる。

【0160】

他の実施態様によると、 ~ 10 反応単位 (RU) の固定した抗原 $CM5$ チップを用いて 25°C の $BIACORE$ (登録商標) -2000 又は $BIACORE$ (登録商標) -3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) を用いる表面プラズモン共鳴アッセイを使用して K_d を測定する。簡単に言うと、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ ($CM5$, $BIACORE$ Inc.) を、提供者の指示書に従って N -エチル- N' -(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩 (EDC) 及び N -ヒドロキシスクシニミド (NHS) で活性化する。抗原を 10 mM 酢酸ナトリウム ($\text{pH } 4.8$) で $5\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$ ($\sim 0.2\text{ }\mu\text{M}$) に希釈し、結合したタンパク質の反応単位 (RU) がおよそ 10 になるように $5\text{ }\mu\text{l}/\text{分}$ の流速で注入する。抗原の注入後、反応しない群をブロックするために 1 M のエタノールアミンを注入する。動力学的な測定のために、 Fab の 2 倍の段階希釈 (0.78 nM から 500 nM) を、 25°C で、およそ $25\text{ }\mu\text{l}/\text{分}$ の流速で 0.05% ポリソルベート 20 ($TWEEN-20^{\text{TM}}$) 界面活性剤 ($PBST$) を含む PBS に注入する。会合及び解離のセンサーグラムを同時にフィットさせることによる単純一対一ラングミュア結合モデル (simple one-to-one Langmuir binding model) ($BIACORE$ (登録商標) $Evaluation$ ソフトウェアバージョン 3.2) を用いて、会合速度 (k_{on}) と解離速度 (k_{off}) を算出した。平衡解離定数 (K_d) を k_{off}/k_{on} 比として算出した。例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999) を参照。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによる結合速度が $10^6\text{ M}^{-1}\text{ s}^{-1}$ を上回る場合、分光計、例えば、流動停止を備えた分光光度計 (stop-flow equipped spectrophotometer) (Aviv Instruments) 又は攪拌キュベットを備えた 8000 シリーズ $SLM-AMINCO^{\text{TM}}$ 分光光度計 (ThermoSpectronic) で測定される、漸増濃度の抗原の存在下にて、 PBS ($\text{pH } 7.2$) 中、 25°C の、 20 nM の抗抗原抗体 (Fab 型) の蛍光放出強度 (励起 = 295 nm ; 放出 = 340 nm 、帯域通過 = 16 nm) の増加又は減少を測定する蛍光消光技術を用いて結合速度を測定することができる。

【0161】

抗体断片

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片は、

限定されないが、F a b、F a b'、F a b' - S H、F (a b')₂、F v、及び s c F v 断片、及び下記の他の断片を含む。所定の抗体断片の総説については、Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003)を参照。s c F v 断片の総説については、例えば、Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)を参照；また、国際公開第 9 3 / 1 6 1 8 5 号；及び米国特許第 5, 5 7 1, 8 9 4 号及び第 5, 5 8 7, 4 5 8 号も参照。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、かつインビボ半減期を増加させた F a b 及び F (a b')₂ 断片の議論については、米国特許第 5 8 6 9 0 4 6 号を参照のこと。

【0162】

ダイアボディは2価または二重特異性であり得る2つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州特許第 4 0 4, 0 9 7 号；国際公開第 1 9 9 3 / 0 1 1 6 1 号；Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)；及びHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)を参照。トリアボディ及びテトラボディもまた Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)に記載されている。

【0163】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全て又は一部、又は軽鎖可変ドメインの全て又は一部を含む抗体断片である。所定の実施態様において、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である (Domantis, Inc., Waltham, MA；例えば、米国特許第 6, 2 4 8, 5 1 6 B 1 号を参照)。

【0164】

抗体断片は様々な技術で作成することができ、限定されないが、本明細書に記載するように、インタクトな抗体の分解、並びに組換え宿主細胞 (例えば、大腸菌又はファージ) による生産を含む。

【0165】

キメラ及びヒト化抗体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、キメラ抗体である。所定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第 4, 8 1 6, 5 6 7 号、及びMorrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984))に記載されている。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域 (例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又はサル等の非ヒト霊長類由来の可変領域) 及びヒト定常領域を含む。更なる例において、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のものから変更された「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合断片を含む。

【0166】

所定の実施態様において、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、ヒトに対する免疫原性を低減するために、親の非ヒト抗体の特異性と親和性を保持したまま、ヒト化されている。一般に、ヒト化抗体は、H V R、例えば、C D R (またはその一部) が、非ヒト抗体から由来し、F R (またはその一部) がヒト抗体配列に由来する、一以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体はまた、任意で、ヒト定常領域の少なくとも一部をも含む。幾つかの実施態様において、ヒト化抗体の幾つかの F R 残基は、抗体特異性又は親和性を回復もしくは改善するめに、非ヒト抗体 (例えば、H V R 残基が由来する抗体) 由来の対応する残基で置換されている。

【0167】

ヒト化抗体およびそれらの製造方法は、例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)に総説され、更に、Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)；Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989)；米国特許第 5, 8 2 1, 3 3 7 号、第 7, 5 2 7, 7 9 1 号、第 6, 9 8 2, 3 2 1 号及び第 7, 0 8 7, 4 0 9 号；Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (S D R (a - C D R) グラフティングを記述)；Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (「リサーフェン」を記述)；Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) (「F R シャッフリン

10

20

30

40

50

グ」を記述) ; 及びOsbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) 及びKlimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (F Rのシャッフリングへの「誘導選択」アプローチを記述) に記載されている。

【0168】

ヒト化に用いられ得るヒトフレームワーク領域は、限定されないが、「ベストフィット」法を用いて選択されるフレームワーク領域(例えば、Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)); 軽鎖または重鎖の可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列由来のフレームワーク領域(例えば、Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); 及びPresta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993)を参照); ヒト成熟(体細胞変異) フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系フレームワーク領域(例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)を参照); 及びF Rライブラリスクリーニング由来のフレームワーク領域(例えば、Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997)及び Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)を参照)を含む。

10

【0169】

ヒト抗体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当技術分野で公知の様々な技術を用いて生産することができる。ヒト抗体は一般的にvan Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001) 及びLonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008)に記載されている。

20

【0170】

ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答して、インタクトなヒト抗体又はヒト可変領域を持つ又はインタクトな抗体を産生するように改変されたトランスジェニック動物に、免疫原を投与することにより調製することができる。このような動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置換するか、又は染色体外に存在するかもしれない動物の染色体にランダムに組み込まれている、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含む。このようなトランスジェニックマウスでは、内因性免疫グロブリン遺伝子座は、一般的に不活性化される。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の総説については、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005)を参照。また、例えば、XENOMOUSETM技術を記載している、米国特許第6, 075, 181号及び6, 150, 584号; HuMab(登録商標)技術を記載している米国特許第5, 770, 429号; K-MOUSE(登録商標)技術を記載している米国特許第7, 041, 870号及び、Velocimouse(登録商標)技術を記載している米国特許出願公開第2007/0061900号)を参照。このような動物で生成されたインタクトな抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることにより、更に改変される可能性がある。

30

【0171】

ヒト抗体は、ハイブリドーマベース法によって作成することができる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロ細胞株が記載されている。(例えば、Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 及びBoerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)を参照)。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されたヒト抗体はまた、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)に記載されている。更なる方法は、例えば、米国特許第7, 189, 826号(ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載している)及びNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006)(ヒト-ヒトハイブリドーマを記載している)に記載されたものを含む。ヒトハイブリドーマ技術(トリオーマ技術)もまた、Vollmers and Brandlein, Histol. Histopathol., 20(3):927-937 (2005)及びVollmers and Brandlein, Methods Find Exp. Clin. Pharmacol., 27(3):185-91 (2005)に記載される。

40

50

【0172】

ヒト抗体はまた、ヒト由来のファージディスプレイライブラリーから選択されたFvクロン可変ドメイン配列を単離することによって生成され得る。このような可変ドメイン配列は、次に所望のヒト定常ドメインと組み合わせてもよい。抗体ライブラリーからヒト抗体を選択するための技術が、以下に説明される。

【0173】

ライブラリー由来の抗体

本発明の抗体は、所望の活性または活性（複数）を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって単離することができる。例えば、様々な方法が、ファージディスプレイライブラリーを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてのライブラリーをスクリーニングするために、当該技術分野で知られている。そのような方法は、例えば、Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)に総説され、更に、例えば、McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); 及びLee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004)に記載されている。

【0174】

所定のファージディスプレイ法において、VH及びVL遺伝子のレパートリーがポリメラーゼ連鎖反応（PCR）により個別にクローニングされ、ファージライブラリーにランダムに再結合され、その後、Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)に記載されるように、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは、通常、抗体断片を、単鎖Fv（scFv）断片、またはFab断片のいずれかとして提示する。免疫された起源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要性を伴うことなく免疫原に高親和性抗体を提供する。あるいは、Griffiths et al., *EMBO J*, 12: 12-734 (1993)に記載されるように、ナイーブなレパートリーを（例えば、ヒトから）クローン化することにより、任意の免疫感作無しで、広範囲の非自己抗原及びまた自己抗原に対して、抗体の単一起源を提供することができる。最後に、ナイーブライブラリはまた、Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)に記載されるように、高度に変異性のCDR3領域をコードし、インビトロで再構成を達成するために、幹細胞由来の未再配置のV遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含むPCRプライマーを使用することにより合成することができる。ヒト抗体ファージライブラリーを記述する特許公報は、例えば、米国特許第5,750,373号、及び米国特許出願公開第2005/0079574号、第2005/0119455号、第2005/0266000号、第2007/0117126号、第2007/0160598号、第2007/0237764号、第2007/0292936号及び第2009/0002360を含む。

【0175】

ヒト抗体ライブラリーから単離された抗体又は抗体断片は、本明細書でヒト抗体又はヒト抗体の断片とみなされる。

【0176】

6. 多重特異性抗体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも二つの異なる部位に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体である。ある実施態様において、結合特異性の一つはSCD1に対してであり、他は、任意の他の抗原に対してである。ある実施態様において、二重特異性抗体は、SCD1の2つの異なるエピトープに結合することができる。二重特異性抗

体はまた S C D 1 を発現する細胞に対して細胞傷害性薬物を局在化させるために用いることができる。二重特異性抗体は、全長抗体又は抗体断片として調製することができる。

【0177】

多重特異性抗体を作製するための技術は、限定されないが、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖－軽鎖対の組換え共発現(Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983))、国際公開第93/08829号、及びTraunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)を参照)及び「ノブ・イン・ホール(knob-in-hole)エンジニアリング(例えば、米国特許第5,731,168号を参照)を含む。多重特異抗体はまた、抗体のFcヘテロ2量体分子を作成するための静電ステアリング効果を操作すること(国際公開第2009/089004A1号)、2つ以上の抗体又は断片を架橋すること(例えば米国特許第4,676,980号、及びBrennan et al., Science, 229: 81 (1985)を参照)、2重特異性抗体を生成するためにロイシンジッパーを使用すること(例えば、Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)を参照)、二重特異性抗体フラグメントを作製するため、「ダイアボディ」技術を使用すること(例えば、Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)を参照)、単鎖Fv(sFv)ダイマーを使用すること(例えば、Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)を参照)、及び、例えばTutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)に記載されているように、三重特異性抗体を調製することによって作成することができる。

【0178】

「オクトパス抗体」を含む、3つ以上の機能性抗原結合部位を持つ改変抗体もまた本明細書に含まれる(例えば、米国特許出願公開第2006/0025576A1号を参照)。

本明細書中の抗体又は断片はまた、S C D 1並びにその他の異なる抗原(例えば米国特許出願公開第2008/0069820号参照)に結合する抗原結合部位を含む、「2重作用(Dual Acting) FAb」又は「DAF」を含む。

【0179】

7. 抗体変異体

グリコシル化変異体

所定の実施態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少するように改変される。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、一以上のグリコシル化部位が作成または削除されるようにアミノ酸配列を変えることによって簡便に達成することができる。

【0180】

抗体がFc領域を含む場合には、それに付着する糖を変えることができる。哺乳動物細胞によって生成された天然型抗体は、典型的には、Fc領域のCH2ドメインのAsn297にN-結合により一般的に付着した分岐鎖、二分岐オリゴ糖を含んでいる。例えばWright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)を参照。オリゴ糖は、様々な炭水化物、例えば、二分岐オリゴ糖構造の「幹」のGlcNAcに結合した、マンノース、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)、ガラクトース、シアル酸、並びにフコースを含み得る。幾つかの実施態様において、本発明の抗体におけるオリゴ糖の改変は、一定の改善された特性を有する抗体変異体を作成するために行われ得る。

【0181】

一実施態様において、抗体変異体は、Fc領域に(直接または間接的に)付着されたフコースを欠いた糖鎖構造を有して提供される。例えば、このような抗体のフコース量は、1%から80%、1%から65%、5%から65%、または20%から40%であり得る。フコースの量は、例えば、国際公開第2008/077546号に記載されているように、MALDI-TOF質量分析法によって測定されるAsn297に付着しているすべての糖構造の合計(例えば、コンプレックス、ハイブリッド及び高マンノース構造)に対して、Asn297の糖鎖中のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297は、Fc領域(Fc領域残基のEU番号付け)でおよそ297の位置に位置す

るアスパラギン残基を指し、しかし、A s n 2 9 7 もまた位置 2 9 7 の上流または下流のおよそ±3 アミノ酸に、すなわち抗体の軽微な配列変異に起因して、位置 2 9 4 と 3 0 0 の間に配置され得る。このようなフコシル化変異体は A D C C 機能を改善させた可能性がある。例えば、米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8 号 (Presta, L.) ; 米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 0 9 3 6 2 1 号 (協和発酵工業株式会社) を参照。「フコース非修飾」又は「フコース欠損」抗体変異体に関連する出版物の例としては、米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8 号、国際公開第 2 0 0 0 / 6 1 7 3 9 号、国際公開第 2 0 0 1 / 2 9 2 4 6 号、米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 1 5 6 1 4 号、米国特許出願公開第 2 0 0 2 / 0 1 6 4 3 2 8 号、米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 0 9 3 6 2 1 号、米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 1 3 2 1 4 0 号、米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 1 1 0 7 0 4 号、米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 1 1 0 2 8 2 号、米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 1 0 9 8 6 5 号、国際公開第 2 0 0 3 / 0 8 5 1 1 9 号、国際公開第 2 0 0 3 / 0 8 4 5 7 0 号、国際公開第 2 0 0 5 / 0 3 5 5 8 6 号、国際公開第 2 0 0 5 / 0 3 5 7 7 8 号、国際公開第 2 0 0 5 / 0 5 3 7 4 2 号、国際公開第 2 0 0 2 / 0 3 1 1 4 0 号、Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004) が含まれる。非フコシル化抗体を産生する能力を有する細胞株の例としては、タンパク質フコシル化を欠損している L e c 1 3 C H O 細胞 (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); 米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8 A 1 号, Presta, L; 及び国際公開第 2 0 0 4 / 0 5 6 3 1 2 A 1 号, Adams ら、特に実施例 1 1)、及びノックアウト細胞株、例えばアルファー 1、6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、F U T 8、ノックアウト C H O 細胞 (例えば、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); 及び国際公開第 2 0 0 3 / 0 8 5 1 0 7 号を参照) を含む。

【0182】

抗体変異体は、例えば、抗体の F c 領域に結合した二分岐オリゴ糖が G l c N A c によって二分されている二分オリゴ糖を更に備えている。このような抗体変異体はフコシル化を減少させ、及び／又は A D C C 機能を改善している可能性がある。そのような抗体変異体の例は、例えば、国際公開第 2 0 0 3 / 0 1 1 8 7 8 号 (Jean-Mairett ら) ; 米国特許第 6, 6 0 2, 6 8 4 号 (Umana ら) ; 及び米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 1 2 3 5 4 6 号 (Umana ら) に記載されている。F c 領域に結合したオリゴ糖内に少なくとも 1 つのガラクトース残基を持つ抗体変異体も提供される。このような抗体変異体は C D C 機能を改善させた可能性がある。このような抗体変異体は、例えば、国際公開第 1 9 9 7 / 3 0 0 8 7 号 (Patel ら) ; 国際公開第 1 9 9 8 / 5 8 9 6 4 号 (Raju, S.) ; 及び国際公開第 1 9 9 9 / 2 2 7 6 4 号 (Raju, S.) に記載されている。

【0183】

F c 領域変異体

ある実施態様において、1 つまたは複数のアミノ酸改変を、本明細書で提供される抗体の F c 領域に導入することができ、それによって F c 領域変異体を生成する。F c 領域の変異体は、1 つまたは複数のアミノ酸位置においてアミノ酸修飾 (例えば置換) を含むヒト F c 領域の配列 (例えば、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3 又は I g G 4 の F c 領域) を含んでもよい。

【0184】

ある実施態様において、本発明は、インビボにおける抗体の半減期が重要であるが、ある種のエフェクター機能 (例えば補体および A D C C など) が不要または有害である用途のための望ましい候補とならしめる、全てではないが一部のエフェクター機能を有する抗体変異体を意図している。インビトロ及び／又はインビボでの細胞毒性アッセイを、C D C 活性及び／又は A D C C 活性の減少／枯渇を確認するために行うことができる。例えば、F c 受容体 (F c R) 結合アッセイは、抗体が F c γ R 結合を欠くが (それゆえ、おそらく A D C C 活性を欠く)、F c R n 結合能力を保持していることを確認するために行うことができる。A D C C、N K 細胞を媒介する初代細胞は、F c γ R I I I のみを発現す

るが、単球はF c γ R I、F c γ R I I及びF c γ R I I Iを発現する。造血細胞におけるF c Rの発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)の464ページの表3に要約されている。目的の分子のA D C C活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5, 500, 362号(例えば、Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)を参照)及びHellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985); 第5, 821, 337号(例えば、Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)を参照)に説明される。あるいは、非放射性アッセイ法を用いることができる(例えば、フローサイトメトリー用のA C T I^{T M}非放射性細胞傷害性アッセイ(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; 及びC y t o T o x 9 6 (登録商標)非放射性細胞傷害性アッセイ(Promega, Madison, WI)を参照。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞(P B M C)およびナチュラルキラー(N K)細胞が含まれる。あるいは、又は更に、目的の分子のA D C C活性は、Clynes et al., PNAS USA 95:652-656 (1998)に開示されるように、インビボで、例えば動物モデルにおいて評価することができる。C 1 q結合アッセイはまた、抗体が体C 1 qを結合することができないこと、したがって、C D C活性を欠いていることを確認するために行うことができる。例えば、国際公開第2 0 0 6 / 0 2 9 8 7 9号及び国際公開第2 0 0 5 / 1 0 0 4 0 2号のC 1 qおよびC 3 c結合E L I S Aを参照。補体活性化を評価するために、C D Cアッセイを行うことができる(例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); 及びCragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)を参照)。F c R n結合、及びインビボでのクリアランス/半減期の測定はまた、当該分野で公知の方法を用いて行うことができる(例えば、Petkova, S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)を参照)。

【0185】

エフェクター機能が減少した抗体は、F c領域の残基238、265、269、270、297、327、329の一つ以上の置換を有するものが含まれる(米国特許第6737056号)。そのようなF c変異体は、残基265及び297のアラニンへの置換を有する、いわゆる「DANA」F c変異体を含む、アミノ酸位置265、269、270、297及び327の2以上での置換を有するF c変異体を含む(米国特許第7, 332, 581号)。

【0186】

F c Rへの結合を改善又は減少させた特定の抗体変異体が記載されている。(例えば、米国特許第6, 737, 056号; 国際公開第2 0 0 4 / 0 5 6 3 1 2号、及びShields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)を参照)。所定の実施態様において、抗体変異体はA D C Cを改善する1つまたは複数のアミノ酸置換、例えば、F c領域の位置298、333、及び/又は334における置換(E Uの残基番号付け)を含む。幾つかの実施態様において、改変された(すなわち改善されたか減少した)C 1 q結合及び/又は補体依存性細胞傷害(C D C)を生じる、F c領域における改変がなされ、例えば、米国特許第6, 194, 551号、国際公開第99/51642号、及びIdusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)に説明される。

【0187】

増加した半減期を持ち、胎仔への母性I g Gの移送を担う、新生児F c受容体(F c R n)への結合が改善された抗体(Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976)及びKim et al., J. Immunol. 24:249 (1994))が、米国特許出願公開第2 0 0 5 / 0 0 1 4 9 3 4 A 1号(Hinton et al.)に記載されている。これらの抗体は、F c R nへのF c領域の結合を改善する一つまたは複数の置換を有するF c領域を含む。このようなF c変異体は、F c領域の残基の1以上の置換を有するものが含まれる: 238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424又は434、例えば、F c領域の残基434の置換(米国特許第7, 371, 826号)。Duncan & Winter, Nat

ure 322:738-40 (1988); 米国特許第5, 648, 260号; 米国特許第5, 624, 821号; 及び、Fc領域の変異体の他の例に関しては国際公開第94/29351号も参照のこと。

【0188】

システイン操作抗体変異体

ある実施態様において、抗体の1つ以上の残基がシステイン残基で置換されている、システイン操作抗体、例えば、「thioMAb」を作成することが望まれ得る。特定の実施態様において、置換された残基は、抗体のアクセス可能な部位で生じる。それらの残基をシステインで置換することにより、反応性チオール基は、それによって抗体のアクセス可能な部位に配置され、本明細書中でさらに記載されるように、イムノコンジュゲートを作成するために、例えば薬物部分またはリンカー-薬剤部分などの他の部分に抗体をコンジュゲートするために使用することができる。ある実施態様において、一以上の以下の残基がシステインで置換され得る：軽鎖のV205 (Kababの番号付け)；重鎖のA118 (EU番号付け)；及び重鎖Fc領域のS400 (EU番号付け)。システイン操作抗体は、例えば、米国特許第7521541号に記載のように生成され得る。

【0189】

イムノコンジュゲート

本明細書に更に提供されるのは、化学療法剤又は薬物、成長抑制剤、毒素（例えば、タンパク質毒素、細菌、真菌、植物、または動物起源の酵素活性毒素、又はそれらの断片）、又は放射性同位元素など、1つ以上の細胞傷害性薬物にコンジュゲートした本明細書中の抗Ax1抗体を含むイムノコンジュゲートである。

【0190】

一実施態様において、イムノコンジュゲートは、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)であって、そこでは抗体は、限定されないが、メイタンシノイド(米国特許第5208020号、第5416064号及び欧州特許EPO 425235 B1を参照)；モノメチルアウリスタチン薬物部分DE及びDF (MMAE及びMMAF) (米国特許第5635483号及び5780588号及び7498298号を参照)などのアウリスタチン；ドラスタチン、カリケアマイシン又はその誘導体(米国特許第5712374号、5714586号、5739116号、5767285号、5770701号、5770710号、5773001号、及び5877296号を参照；Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993)；及びLode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998))；ダウノマイシン又はドキソルビシンなどのアントラサイクリン(Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006)；Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006)；Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005)；Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000)；Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002)；King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002)；及び米国特許第6, 630, 579号を参照)；メトトレキサート、ビンデシン、ドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセル、及びオルタタキセルなどのタキサン、トリコテセン、及びCC1065を含む一つ以上の薬物とコンジュゲートしている。

【0191】

その他の実施態様において、イムノコンジュゲートは、酵素的に活性な毒素又はその断片にコンジュゲートした、本明細書に記載の抗体を含み、限定されないが、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、(緑膿菌からの)外毒素A鎖、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデクシン(modeccin)A鎖、アルファーサルシン、アレウリテス・フォーディ(Aleurites fordii)タンパク質、ジアンチン(dianthin)タンパク質、フィトラカ・アメリカナ(Phytolaca americana)タンパク質(PAPI、PAPII、及びPAP-S)、モモルディカ・チャランチア(momordica charantia)インヒビター、クルシン(curcin)、クロチン(crocin)、サパオナリア・オフィシナリス(sapaonaria officinalis)インヒビター、ゲロニン(gelonin)、ミトゲリン(mitogellin)、レストリクトシン(restrictocin)、フェノマイシン(phenomycin)、エノマイシン(enomycin)及びトリコテセン(tricot

hecene)が含まれる。

【0192】

その他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、放射性コンジュゲートを形成するために放射性原子にコンジュゲートした本明細書に記載されるような抗体を含む。様々な放射性同位体が放射性コンジュゲートの生産のために入手可能である。例としては、 At^{111} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 及びLuの放射性同位体を含む。放射性コンジュゲートが検出に使用される場合、それはシンチグラフィ研究用の放射性原子、例えば Tc^{99} 又は I^{123} 、又は核磁気共鳴(NMR)映像(磁気共鳴映像、*mri*としても公知)用のスピン標識、例えばヨウ素-123、ヨウ素-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガン又は鉄を含有し得る。

10

【0193】

抗体と細胞傷害性薬物のコンジュゲートは、様々な二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、N-スクシンイミジル3-(2-ピリジルチオ)プロピオネート(SPD P)、スクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサ-1-カルボキシレート(SMCC)、イミノチオラン(IT)、イミドエステルの2官能性誘導体(例えばジメチルアジピミデートHCl)、活性エステル(例えばジスクシンイミジルズベレート)、アルデヒド(例えばグルタルアルデヒド)、ビス-アジド化合物(例えばビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサンジアミン)、ビスジアゾニウム誘導体(例えばビス(p-ジアゾニウムベンゾイル)エチレンジアミン)、ジイソシアネート(例えばトルエン2,6-ジイソシアネート)及びビス活性フッ素化合物(例えば1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン)など、を使って作成され得る。Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)に記載されるように、例えば、リシンイムノトキシンを調製することができる。カーボン-14-標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミン五酢酸(MX-DTPA)は、放射性ヌクレオチドの抗体へのコンジュゲーションのためのキレート剤の例である国際公開第94/11026号を参照。リンカーは、細胞中に細胞毒性薬物の放出を容易にする「切断可能なリンカー」であり得る。例えば、酸に不安定なリンカー、ペプチダーゼ過敏性リンカー、光解離性リンカー、ジメチルリンカー又はジスルフィド含有リンカー(Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); 米国特許第5,208,020号)が使用され得る。

20

30

【0194】

本明細書において、イムノコンジュゲート又はADCは、限定されないが、市販の(例えばPierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.Aからの)、BMPS、EMCS、GMB S、HBVS、LC-SMCC、MBS MPBH、SBAP、SIA、SIA B、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMB S、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMCC、及びスルホ-SMPB、SVSB(スクシンイミジル(4-ビニルスルホン)ベンゾエート)を含むクロスリンカー試薬を用いて調製されるコンジュゲートを明示的に意図する。

【0195】

C. 結合ポリペプチド

40

結合ポリペプチドは、本明細書に記載されるように、SCD1に、好ましくは特異的に結合するポリペプチドである。幾つかの実施態様において、結合ポリペプチドはSCD1アンタゴニストである。結合ポリペプチドは既知のオリゴペプチド合成手法を用いて化学的に合成することができるか、又は組換え技術を用いて調製され、精製することができる。結合ポリペプチドは、通常長さが少なくとも5個のアミノ酸であり、あるいは長さが少なくとも約6、7、8、9、10、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、7

50

2、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、または100アミノ酸かそれ以上であり、本明細書に記載されるように、標的のSCD1に、好ましくは、特異的に結合することが可能である。結合ポリペプチドは、周知の技術を用いて過度の実験なしに同定することができる。この点に関して、ポリペプチド標的に特異的に結合することができる結合ポリペプチドについて、ポリペプチドライブラリーをスクリーニングするための技術が、当技術分野において周知であることが留意される（例えば、米国特許第5,556,762号、第5,750,373号、第4,708,871号、第4,833,092号、第5,223,409号、第5,403,484号、第5,571,689号、第5,663,143号；PCT公開番号国際公開第84/03506号及び国際公開第84/03564号；Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81:3998-4002 (1984); Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82:178-182 (1985); Geysen et al., in Synthetic Peptides as Antigens, 130-149 (1986); Geysen et al., J. Immunol. Meth., 102:259-274 (1987); Schoofs et al., J. Immunol., 140:611-616 (1988), Cwirla, S. E. et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6378; Lowman, H.B. et al. (1991) Biochemistry, 30:10832; Clackson, T. et al. (1991) Nature, 352: 624; Marks, J. D. et al. (1991), J. Mol. Biol., 222:581; Kang, A.S. et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:8363, and Smith, G. P. (1991) Current Opin. Biotechnol., 2:668)。

【0196】

この点に関して、バクテリオファージ（ファージ）ディスプレイは1つの周知の技術であり、標的ポリペプチドのSCD1に特異的に結合することができるこれらのライブラリーのメンバーを同定するため、大規模なポリペプチドライブラリーをスクリーニングすることができる。ファージディスプレイは、変異体ポリペプチドが、バクテリオファージ粒子の表面上のコートタンパク質への融合タンパク質として表示される技術である（Scott, J. K. and Smith, G. P. (1990) Science, 249: 386)。ファージディスプレイ法の有用性は、選択的にランダム化されたタンパク質変異体（またはランダムにクローニングされたcDNA）の大規模なライブラリーを、高親和性で標的分子に結合するそれらの配列について迅速かつ効率的にソートすることができるという事実にある。ファージ上のペプチド（Cwirla, S. E. et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6378)又はタンパク質（Lowman, H.B. et al. (1991) Biochemistry, 30:10832; Clackson, T. et al. (1991) Nature, 352: 624; Marks, J. D. et al. (1991), J. Mol. Biol., 222:581; Kang, A.S. et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:8363)のライブラリーの表示は、特定の結合特性を有するものについて、何百万ものポリペプチドまたはオリゴペプチドをスクリーニングするために使用されている（Smith, G. P. (1991) Current Opin. Biotechnol., 2:668)。ランダム変異体のファージライブラリーをソートすることは、多数の変異体を構築して増殖するための戦略、標的受容体を用いた親和性精製のための手順、及び結合濃縮の結果を評価する方法が必要である。米国特許第5,223,409号、第5,403,484号、第5,571,689号、及び第5,663,143号。

【0197】

ほとんどのファージディスプレイ法は、糸状ファージ、λファージディスプレイシステムを使用していたが（国際公開第95/34683号；米国特許第5,627,024号）、T4ファージディスプレイシステム（Ren et al., Gene, 215: 439 (1998); Zhu et al., Cancer Research, 58(15): 3209-3214 (1998); Jiang et al., Infection & Immunity, 65(11): 4770-4777 (1997); Ren et al., Gene, 195(2):303-311 (1997); Ren, Protein Sci., 5: 1833 (1996); Efimov et al., Virus Genes, 10: 173 (1995))及びT7ファージディスプレイシステム（Smith and Scott, Methods in Enzymology, 217: 228-257 (1993)；米国特許第5,766,905号）も知られている。

【0198】

更なる改善は、選択された標的分子への結合についてペプチドライブラリーをスクリー

ニングし、及び所望の特性について、これらのタンパク質をスクリーニングする可能性を持つ機能性タンパク質を表示するディスプレイシステムの能力を増強する。ファージディスプレイ反応のためのコンビナトリアル反応装置が開発され（国際公開第98/14277号）、ファージディスプレイライブラリーは二分子相互作用（国際公開第98/20169号；国際公開第98/20159号）及び束縛されたヘリカルペプチドの性質（国際公開第98/20036号）を分析し、調節するために使用されてきた。国際公開第97/35196号は、ファージディスプレイライブラリーが、リガンドが標的分子に結合する第一の溶液及びアフィニティリガンドが標的分子に結合しないであろう第二の溶液と接触されて、結合するリガンドを選択的に単離する、アフィニティリガンドを単離する方法を記載している。国際公開第97/46251号は、アフィニティ精製抗体でランダムファージディスプレイライブラリーをバイオパニングし、次いで結合ファージを単離し、その後マイクロプレートウェルを使用するマイクロパニングプロセスにより高親和性結合ファージを単離する方法を記載している。アフィニティタグを有する黄色ブドウ球菌プロテインAの使用もまた報告されている（Li et al. (1998) Mol Biotech., 9:187）。国際公開第97/47314号は、ファージディスプレイライブラリーでもよいコンビナトリアルライブラリーを用いて酵素特異性を識別するための基質サブトラクションライブラリーの使用を記載している。ファージディスプレイに用いる界面活性剤における使用に適した酵素を選択する方法は、国際公開第97/09446号に記載されている。特異的結合タンパク質を選択する更なる方法が、米国特許第5,498,538号、第5,432,018号及び国際公開第98/15833号に記載されている。

10

20

【0199】

ペプチドライブラリーを作製し、これらのライブラリーをスクリーニングする方法もまた、米国特許第5,723,286号、第5,432,018号、第5,580,717号、第5,427,908号、第5,498,530号、第5,770,434号、第5,734,018号、第5,698,426号、第5,763,192号、及び第5,723,323号に開示されている。

【0200】

D. 結合小分子

本明細書中に提供されるのは、SCD1小分子アンタゴニストとして使用するための結合小分子である。

30

【0201】

結合小分子とは、本明細書に定義されるような結合ポリペプチド又は抗体以外の、記載されるSCD1に好ましくは特異的に結合する、好ましくは有機分子である。結合有機小分子が同定され、化学的に既知の方法論を用いて合成することができる（例えば、PCT公開番号国際公開第00/00823号及び国際公開第00/39585号を参照）。結合有機小分子は、通常約2000ダルトン未満の大きさであり、あるいは、1500、750、500、250又は200ダルトンより小さい大きさであって、本明細書に記載されるように、好ましくは特異的にポリペプチドに結合することができる。この点に関して、標的ポリペプチドに結合することができる分子について、有機小分子ライブラリーをスクリーニングするための技術は、当技術分野において周知であることが特記される（例えば、PCT公開番号国際公開第00/00823号及び国際公開第00/39585号を参照）。結合有機小分子は、例えば、アルデヒド、ケトン、オキシム、ヒドラゾン、セミカルバゾン、カルバジド、第一アミン、第二級アミン、第三級アミン、N-置換ヒドラジン、ヒドラジド、アルコール、エーテル、チオール、チオエーテル、ジスルフィド、カルボン酸、エステル、アミド、尿素、カルバメート、カーボネート、ケタール、チオケタール、アセタール、チオアセタール、ハロゲン化アリール、アリールスルホン酸塩、アルキルハライド、アルキルスルホン酸塩、芳香族化合物、複素環化合物、アニリン、アルケン、アルキン、ジオール、アミノアルコール、オキサゾリジン、オキサゾリン、チアゾリジン、チアゾリン、エナミン、スルホンアミド、エポキシド、アジリジン、イソシアネート、塩

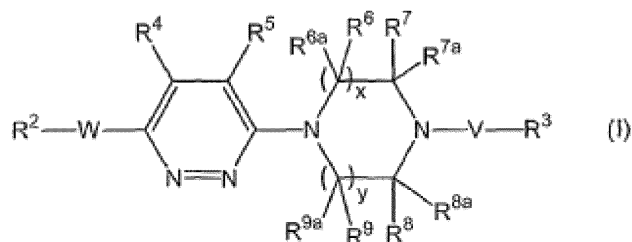
40

50

化スルホニル、ジアゾ化合物、酸塩化物等であり得る。

【0202】

幾つかの実施態様において、SCD1小分子アンタゴニストは、全体が参考として援用される国際公開第2005/011655号及び／又は米国特許第2005/0119251号に記載された化合物である。幾つかの実施態様において、SCD1小分子アンタゴニストは、式(I)の化合物である。



10

式中、 x 及び y はそれぞれ独立して、1, 2 又は 3 であり； W は、 $-C(O)N(R^1)-$ ； $-C(O)N[C(O)R^{1a}]-$ ， $-N(R^1)C(O)N(R^1)-$ 又は $-N(R^1)C(O)-$ であり； V は $-C(O)-$ ， $-C(S)-$ ，又は $-C(R^{10})H$ であり；各 R^1 は、水素；ハロ、メチル又はトリフルオロメチルからなる群から選択される一又は複数の置換基により任意で置換される C_1-C_6 アルキル；及びメトキシ及びヒドロキシルからなる群から選択される一又は複数の置換基により任意で置換される C_2-C_6 アルキルからなる群から独立して選択され； R^{1a} は、水素、 C_1-C_6 アルキル及びシクロアルキルからなる群から選択され； R^2 は、 C_1-C_{12} アルキル、 C_2-C_{12} アルケニル、 C_2-C_{12} ヒドロキシアルキル、 C_2-C_{12} ヒドロキシアルケニル、 C_1-C_{12} アルコキシ、 C_2-C_{12} アルコキシアルキル、 C_3-C_{12} シクロアルキル、 C_4-C_{12} シクロアルキルアルキル、アリール、 C_7-C_{12} アラルキル、 C_3-C_{12} ヘテロシクリル、 C_3-C_{12} ヘテロシクリルアルキル、 C_1-C_{12} ヘテロアリール及び C_3-C_{12} ヘテロアリールアルキルからなる群から選択され；又は R^2 は、環がシクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールからなる群から独立に選択され、一部又は全ての環がお互いに融合され得る、2 から 4 の環を有する多重環構造であり； R^3 は、 C_1-C_{12} アルキル、 C_2-C_{12} アルケニル、 C_2-C_{12} ヒドロキシアルキル、 C_2-C_{12} ヒドロキシアルケニル、 C_1-C_{12} アルコキシ、 C_2-C_{12} アルコキシアルキル、 C_3-C_{12} シクロアルキル、 C_4-C_{12} シクロアルキルアルキル、アリール、 C_7-C_{12} アラルキル、 C_3-C_{12} ヘテロシクリル、 C_3-C_{12} ヘテロシクリルアルキル、 C_1-C_{12} ヘテロアリール及び C_3-C_{12} ヘテロアリールアルキルからなる群から選択され；又は R^3 は、環がシクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールからなる群から独立に選択され、一部又は全ての環がお互いに融合され得る、2 から 4 の環を有する多重環構造であり； R^4 及び R^5 は、各々独立して水素、フルオロ、クロロ、メチル、メトキシ、トリフルオロメチル、シアノ、ニトロ又は $-N(R^{12})_2$ から選択され； R^6 ， R^{6a} ， R^7 ， R^{7a} ， R^8 ， R^{8a} ， R^9 及び R^{9a} は、各々独立して水素又は C_1-C_3 アルキルから選択され；又は、 V が $-C(O)-$ であるとき、 R^7 及び R^{7a} は共に、又は R^8 及び R^{8a} は共にオキソ基を形成しないことを条件として、 R^6 及び R^{6a} は共に、又は R^7 及び R^{7a} は共に、又は R^8 及び R^{8a} は共に、又は R^9 及び R^{9a} は共にオキソ基であり、一方残りの R^6 ， R^{6a} ， R^7 ， R^{7a} ， R^8 ， R^{8a} ， R^9 ，及び R^{9a} は水素又は C_1-C_3 アルキルから各々独立して選択され；又は R^6 ， R^{6a} ， R^7 ，及び R^{7a} の一は R^8 ， R^{8a} ， R^9 及び R^{9a} の一と共にアルキレン架橋を形成し、一方残りの R^6 ， R^{6a} ， R^7 ， R^{7a} ， R^8 ， R^{8a} ， R^9 ，及び R^{9a} は、水素又は C_1-C_3 アルキルから各々独立して選択され； R^{10} は水素又は C_1-C_3 アルキルであり；及び各 R^{12} は水素又は C_1-C_6 アルキルから独立して選択され；その立体異性体、エナンチオマー又は互変異性体、その薬学的に許容される塩、その薬学的組成物又はそのプロドラッグを含む。

20

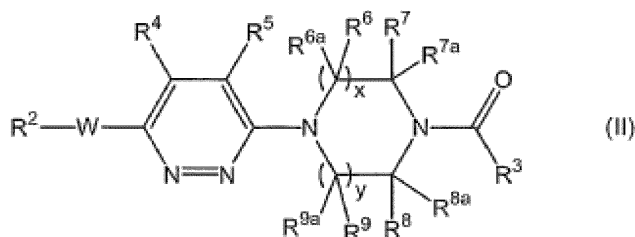
30

40

50

【0203】

幾つかの実施態様において、SCD1小分子アンタゴニストは、式(II)の化合物である。



(II)

10

式中、x及びyはそれぞれ独立して、1、2または3であり；Wは—C(O)N(R¹)—及び—N(R¹)C(O)—から選択され；各R¹は、水素；ハロ、メチル又はトリフルオロメチルからなる群から選択される一又は複数の置換基により任意で置換されるC₁—C₆アルキル；及びメトキシ及びヒドロキシルからなる群から選択される一又は複数の置換基により任意で置換されるC₂—C₆アルキルからなる群から独立して選択され；R²は、C₇—C₁₂アルキル、C₃—C₁₂アルケニル、C₇—C₁₂ヒドロキシアルキル、C₂—C₁₂アルコキシアルキル、C₃—C₁₂ヒドロキシアルケニル、C₃—C₁₂シクロアルキル、C₄—C₁₂シクロアルキルアルキル、C₁₃—C₁₉アラルキル、C₃—C₁₂ヘテロシクリルアルキル、及びC₃—C₁₂ヘテロアリールアルキルからなる群から選択され；又はR²は、環がシクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールからなる群から独立に選択され、一部又は全ての環がお互いに融合され得る、2から4の環を有する多重環構造であり；R³は、C₃—C₁₂アルキル、C₃—C₁₂アルケニル、C₃—C₁₂ヒドロキシアルキル、C₃—C₁₂ヒドロキシアルケニル、C₃—C₁₂アルコキシ、C₃—C₁₂アルコキシアルキル、C₃—C₁₂シクロアルキル、C₄—C₁₂シクロアルキルアルキル、アリール、C₇—C₁₂アラルキル、C₃—C₁₂ヘテロシクリル、C₃—C₁₂ヘテロシクリルアルキル、C₅—C₁₂ヘテロアリール及びC₃—C₁₂ヘテロアリールアルキルからなる群から選択され；又はR³は、環がシクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールからなる群から独立に選択され、一部又は全ての環がお互いに融合され得る、2から4の環を有する多重環構造であり；R⁴及びR⁵は、各々独立して水素、フルオロ、クロロ、メチル、メトキシ、トリフルオロメチルから選択され；及びR⁶、R^{6a}、R⁷、R^{7a}、R⁸、R^{8a}、R⁹、及びR^{9a}は各々独立して水素又はC₁—C₃アルキルから選択され；又は、Vが—C(O)—であるとき、R⁷及びR^{7a}は共に、又はR⁸及びR^{8a}は共にオキシ基を形成しないことを条件として、R⁶及びR^{6a}は共に、又はR⁷及びR^{7a}は共に、又はR⁸及びR^{8a}は共に、又はR⁹及びR^{9a}は共にオキシ基であり、一方残りのR⁶、R^{6a}、R⁷、R^{7a}、R⁸、R^{8a}、R⁹、及びR^{9a}は水素又はC₁—C₃アルキルから各々独立して選択され；又はR⁶、R^{6a}、R⁷、及びR^{7a}の一はR⁸、R^{8a}、R⁹及びR^{9a}の一と共にアルキレン架橋を形成し、一方残りのR⁶、R^{6a}、R⁷、R^{7a}、R⁸、R^{8a}、R⁹、及びR^{9a}は、水素又はC₁—C₃アルキルから各々独立して選択され、その立体異性体、エナンチオマー又は互変異性体、その薬学的に許容される塩、その薬学的組成物又はそのプロドラッグを含む。

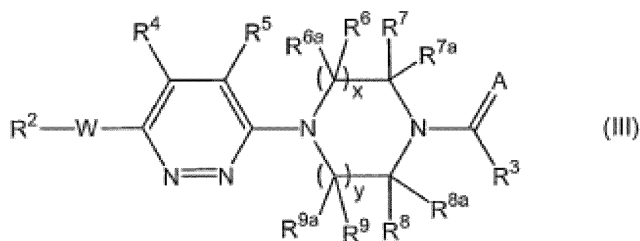
20

30

40

【0204】

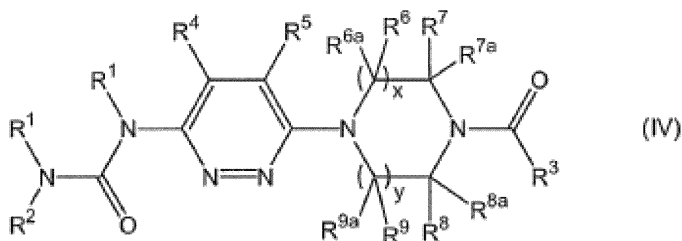
幾つかの実施態様において、SCD1小分子アンタゴニストは、式(III)の化合物である。



式中、 x 及び y はそれぞれ独立に 1、2 又は 3 であり； A は酸素又は硫黄であり； W は、 $-C(O)N(R^1)-$ 及び $-N(R^1)C(O)-$ から選択され；各 R^1 は、水素；ハロ、メチル又はトリフルオロメチルからなる群から選択される一又は複数の置換基により任意で置換される C_1-C_6 アルキル；及びメトキシ及びヒドロキシルからなる群から選択される一又は複数の置換基により任意で置換される C_2-C_6 アルキルからなる群から独立して選択され； R^2 は、 C_1-C_{12} アルキル、 C_2-C_{12} アルケニル、 C_2-C_{12} ヒドロシアルキル、 C_2-C_{12} ヒドロシアルケニル、 C_1-C_6 アルコキシ、 C_3-C_{12} アルコシアルキル、 C_3-C_{12} シクロアルキル、 C_4-C_{12} シクロアルキルアルキル、アリール、 C_7-C_{12} アラルキル、 C_3-C_{12} ヘテロシクリル、 C_3-C_{12} ヘテロシクリルアルキル、 C_1-C_{12} ヘテロアリール及び C_3-C_{12} ヘテロアリールアルキルからなる群から選択され；又は R^2 は、環がシクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールからなる群から独立に選択され、一部又は全ての環がお互いに融合され得る、2 から 4 の環を有する多重環構造であり； R^3 は、任意でチエニルで置換されるフェニルでないことを条件として、 R^3 は、ハロ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、 C_1-C_6 アルキル、 C_1-C_6 トリハロアルキル、 C_1-C_6 トリハロアルコキシ、 C_1-C_6 アルキルスルホニル、 $-N(R^{11})_2$ 、 $-OC(O)R^{11}$ 、 $-C(O)OR^{11}$ 、 $-S(O)_2N(R^{11})_2$ 、シクロアルキル、ヘテロシクリル、ヘテロアリール及びヘテロアリールシクロアルキルであり； R^4 及び R^5 は、水素、フルオロ、クロロ、メチル、メトキシ及びトリフルオロメチルから各々独立に選択され； R^6 、 R^{6a} 、 R^7 、 R^{7a} 、 R^8 、 R^{8a} 、 R^9 、及び R^{9a} は、水素又は C_1-C_3 アルキルから各々独立に選択され；又は、 V が $-C(O)-$ であるとき、 R^7 及び R^{7a} は共に、又は R^8 及び R^{8a} は共にオキソ基を形成しないことを条件として、 R^6 及び R^{6a} は共に、又は R^7 及び R^{7a} は共に、又は R^8 及び R^{8a} は共に、又は R^9 及び R^{9a} は共にオキソ基であり、一方残りの R^6 、 R^{6a} 、 R^7 、 R^{7a} 、 R^8 、 R^{8a} 、 R^9 、及び R^{9a} は水素又は C_1-C_3 アルキルから各々独立して選択され；又は、 R^6 、 R^{6a} 、 R^7 、及び R^{7a} の一は R^8 、 R^{8a} 、 R^9 及び R^{9a} の一と共にアルキレン架橋を形成し、一方残りの R^6 、 R^{6a} 、 R^7 、 R^{7a} 、 R^8 、 R^{8a} 、 R^9 、及び R^{9a} は、水素又は C_1-C_3 アルキルから各々独立して選択され；及び各 R^{11} は、水素、 C_1-C_6 アルキル、 C_3-C_6 シクロアルキル、アリール又はアラルキルから独立に選択され；その立体異性体、エナンチオマー又は互変異性体、その薬学的に許容される塩、その薬学的組成物又はそのプロドラッグを含む。

【0205】

幾つかの実施態様において、SCD1 小分子アンタゴニストは、式 (IV) の化合物である。



10

20

30

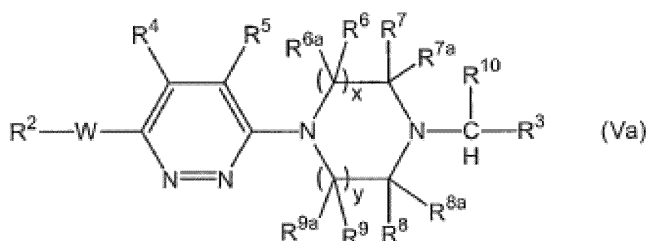
40

50

式中、 x 及び y はそれぞれ独立して、1, 2 または 3 であり；各 R^1 は、水素；ハロ、メチル又はトリフルオロメチルからなる群から選択される一又は複数の置換基により任意で置換される $C_1 - C_6$ アルキル；及びメトキシ及びヒドロキシルからなる群から選択される一又は複数の置換基により任意で置換される $C_2 - C_6$ アルキルからなる群から独立して選択され； R^2 は、 $C_1 - C_{12}$ アルキル、 $C_2 - C_{12}$ アルケニル、 $C_2 - C_{12}$ ヒドロキシアルキル、 $C_2 - C_{12}$ ヒドロキシアルケニル、 $C_2 - C_{12}$ アルコキシアルキル、 $C_3 - C_{12}$ シクロアルキル、 $C_4 - C_{12}$ シクロアルキルアルキル、 $C_3 - C_{12}$ ヘテロシクリル、 $C_3 - C_{12}$ ヘテロシクリルアルキル、アリール、 $C_7 - C_{12}$ アラルキル、 $C_1 - C_{12}$ のヘテロアリール及び $C_3 - C_{12}$ ヘテロアリールアルキルからなる群から選択され；又は R^2 は、環がシクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールからなる群から独立に選択され、一部又は全ての環がお互いに融合され得る、2 から 4 の環を有する多重環構造であり； R^3 は、 $C_1 - C_{12}$ アルキル、 $C_2 - C_{12}$ アルケニル、 $C_2 - C_{12}$ ヒドロキシアルキル、 $C_2 - C_{12}$ のヒドロキシアルケニル、 $C_1 - C_{12}$ アルコキシ、 $C_2 - C_{12}$ アルコキシアルキル、 $C_3 - C_{12}$ シクロアルキル、 $C_4 - C_{12}$ シクロアルキルアルキル、アリール、 $C_7 - C_{12}$ アラルキル、 $C_3 - C_{12}$ ヘテロシクリル、 $C_3 - C_{12}$ ヘテロシクリルアルキル、 $C_1 - C_{12}$ ヘテロアリール及び $C_3 - C_{12}$ ヘテロアリールアルキルからなる群から選択され；又は R^3 は、環がシクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール及びヘテロアリールからなる群から独立に選択され、一部又は全ての環がお互いに融合され得る、2 から 4 の環を有する多重環構造であり； R^4 及び R^5 は、各々独立して水素、フルオロ、クロロ、メチル、メトキシ、トリフルオロメチルから選択され；及び R^6 , R^{6a} , R^7 , R^{7a} , R^8 , R^{8a} , R^9 , 及び R^{9a} は各々独立して水素又は $C_1 - C_3$ アルキルから選択され；又は、 V が $-C(O)-$ であるとき、 R^7 及び R^{7a} は共に、又は R^8 及び R^{8a} は共にオキシ基を形成しないことを条件として、 R^6 及び R^{6a} は共に、又は R^7 及び R^{7a} は共に、又は R^8 及び R^{8a} は共に、又は R^9 及び R^{9a} は共にオキシ基であり、一方残りの R^6 , R^{6a} , R^7 , R^{7a} , R^8 , R^{8a} , R^9 , 及び R^{9a} は水素又は $C_1 - C_3$ アルキルから各々独立して選択され；又は R^6 , R^{6a} , R^7 , 及び R^{7a} の一は R^8 , R^{8a} , R^9 及び R^{9a} の一と共にアルキレン架橋を形成し、一方残りの R^6 , R^{6a} , R^7 , R^{7a} , R^8 , R^{8a} , R^9 , 及び R^{9a} は、水素又は $C_1 - C_3$ アルキルから各々独立して選択され、その立体異性体、エナンチオマー又は互変異性体、その薬学的に許容される塩、その薬学的組成物又はそのプロドラッグを含む。

【0206】

幾つかの実施態様において、SCD1 小分子アンタゴニストは、式 (Va) の化合物である。

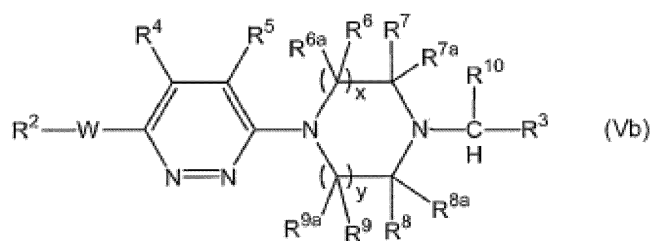


式中、 x 及び y はそれぞれ独立して、1, 2 または 3 であり； W は $-C(O)N(R^1)-$ ； $-N(R^1)C(O)N(R^1)-$ 又は $-N(R^1)C(O)-$ から選択され；各 R^1 は、水素；ハロ、メチル又はトリフルオロメチルからなる群から選択される一又は複数の置換基により任意で置換される $C_1 - C_6$ アルキル；及びメトキシ及びヒドロキシルからなる群から選択される一又は複数の置換基により任意で置換される $C_2 - C_6$ アルキルからなる群から独立して選択され； R^2 は、 $C_7 - C_{12}$ アルキル、 $C_2 - C_{12}$ アルケニル、 $C_7 - C_{12}$ ヒドロキシアルキル、 $C_2 - C_{12}$ ヒドロキシアルケニル、 $C_1 - C_{12}$ アルコキシ、 $C_2 - C_{12}$ アルコキシアルキル、 $C_3 - C_{12}$ シクロアルキル、 C_1

C_{1-2} シクロアルキルアルキル、 $C_{1-3}-C_{1-9}$ アラルキル、 C_{1-2} ヘテロシクリル、 C_{3-12} ヘテロシクリルアルキル、 C_{1-12} ヘテロアリール及び C_{3-12} ヘテロアリールアルキルからなる群から選択され； R^3 は、 C_{1-12} アルキル、 C_{2-12} アルケニル、 C_{2-12} ヒドロキシアルキル、 C_{2-12} ヒドロキシアルケニル、 C_{1-12} アルコキシ、 C_{2-12} アルコキシアルキル、 C_{3-12} シクロアルキル、 C_{4-12} シクロアルキルアルキル、アリール、 C_{7-12} アラルキル、 C_{3-12} ヘテロシクリル、 C_{3-12} ヘテロシクリルアルキル、 C_{1-12} ヘテロアリール及び C_{3-12} のヘテロアリールアルキルからなる群から選択され； R^4 及び R^5 は、各々独立して水素、フルオロ、クロロ、メチル、メトキシ、トリフルオロメチル、シアノ、ニトロ又は $-N(R^{1-2})_2$ から選択され； R^6 、 R^{6a} 、 R^7 、 R^{7a} 、 R^8 、 R^{8a} 、 R^9 、及び R^{9a} は各々独立して水素又は C_{1-3} アルキルから選択され；又は、 V が $-C(O)-$ であるとき、 R^7 及び R^{7a} は共に、又は R^8 及び R^{8a} は共にオキシ基を形成しないことを条件として、 R^6 及び R^{6a} は共に、又は R^7 及び R^{7a} は共に、又は R^8 及び R^{8a} は共に、又は R^9 及び R^{9a} は共にオキシ基であり、一方残りの R^6 、 R^{6a} 、 R^7 、 R^{7a} 、 R^8 、 R^{8a} 、 R^9 、及び R^{9a} は水素又は C_{1-3} アルキルから各々独立して選択され；又は R^6 、 R^{6a} 、 R^7 、及び R^{7a} の一は R^8 、 R^{8a} 、 R^9 及び R^{9a} の一と共にアルキレン架橋を形成し、一方残りの R^6 、 R^{6a} 、 R^7 、 R^{7a} 、 R^8 、 R^{8a} 、 R^9 、及び R^{9a} は、水素又は C_{1-3} アルキルから各々独立して選択され、 R^{10} は水素又は C_{1-3} アルキルであり；かつ、しかしながら、 R^2 はピラジニル、ピリジノニル、ピロリジノニルまたはイミダゾリルであり得ないことい条件として、各 R^{1-2} は、水素又は C_{1-6} アルキルから独立して選択され；その立体異性体、エナンチオマー又は互変異性体、その薬学的に許容される塩、その薬学的組成物又はそのプロドラッグを含む。

【0207】

幾つかの実施態様において、SCD1 小分子アンタゴニストは、式(Vb)の化合物である。



式中、 x 及び y はそれぞれ独立して、1、2または3であり； W は $-C(O)N(R^1)-$ ； $-N(R^1)C(O)N(R^1)-$ 又は $-N(R^1)C(O)-$ から選択され；各 R^1 は、水素；ハロ、メチル又はトリフルオロメチルからなる群から選択される一又は複数の置換基により任意で置換される C_{1-6} アルキル；及びメトキシ及びヒドロキシルからなる群から独立して選択され； R^2 は、 C_{1-12} アルキル、 C_{2-12} アルケニル、 C_{2-12} ヒドロキシアルキル、 C_{2-12} ヒドロキシアルケニル、 C_{1-12} アルコキシ、 C_{2-12} アルコキシアルキル、 C_{3-12} シクロアルキル、 C_{4-12} シクロアルキルアルキル、アリール、 C_{7-12} アラルキル、 C_{3-12} ヘテロシクリル、 C_{3-12} ヘテロシクリルアルキル、 C_{1-12} ヘテロアリール及び C_{3-12} ヘテロアリールアルキルからなる群から選択され； R^3 は、 C_{7-12} アルキル、 C_{2-12} アルケニル、 C_{2-12} ヒドロキシアルキル、 C_{2-12} ヒドロキシアルケニル、 C_{1-12} アルコキシ又は C_{2-12} アルコキシアルキルからなる群から選択され； R^4 及び R^5 は、各々独立して水素、フルオロ、クロロ、メチル、メトキシ、トリフルオロメチル、シアノ、ニトロ又は $-N(R^{1-2})_2$ から選択され； R^6 、 R^{6a} 、 R^7 、 R^{7a} 、 R^8 、 R^{8a} 、 R^9 、及び R^{9a} は各々独立して水素又は C_1

—C₃アルキルから選択され；又は、Vが—C(O)—であるとき、R⁷及びR^{7a}は共に、又はR⁸及びR^{8a}は共にオキソ基を形成しないことを条件として、R⁶及びR^{6a}は共に、又はR⁷及びR^{7a}は共に、又はR⁸及びR^{8a}は共に、又はR⁹及びR^{9a}は共にオキソ基であり、一方残りのR⁶、R^{6a}、R⁷、R^{7a}、R⁸、R^{8a}、R⁹、及びR^{9a}は水素又はC₁—C₃アルキルから各々独立して選択され；又はR⁶、R^{6a}、R⁷、及びR^{7a}の一はR⁸、R^{8a}、R⁹及びR^{9a}の一と共にアルキレン架橋を形成し、一方残りのR⁶、R^{6a}、R⁷、R^{7a}、R⁸、R^{8a}、R⁹、及びR^{9a}は、水素又はC₁—C₃アルキルから各々独立して選択され、R¹⁰は水素又はC₁—C₃アルキルであり；及び各R¹²は、水素又はC₁—C₆アルキルから独立して選択される；その立体異性体、エナンチオマー又は互変異性体、その薬学的に許容される塩、その薬学的組成物又はそのプロドラッグとして。

10

【0208】

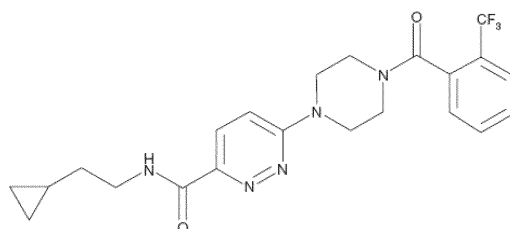
幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、米国特許出願公開第20050119251号、国際公開第2006014168号、国際公開第2006034441号、国際公開第2006034312号、国際公開第2006034315号、国際公開第2006125194号、国際公開第2007046868号、国際公開第2007050124号、国際公開第2006034279号、国際公開第2006034338号、国際公開第2006125181号、国際公開第2007044085号、国際公開第2007046867号、国際公開第2006034341号、国際公開第2006101521号、国際公開第2006125179号、国際公開第2006034440号、国際公開第2006034446号、国際公開第2006125178号、国際公開第2006125180号、国際公開第2007136746号、国際公開第2007130075号、国際公開第2007143597号、国際公開第2008024390号、国際公開第2008036715号、国際公開第2008074835号、国際公開第2008127349に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。

20

【0209】

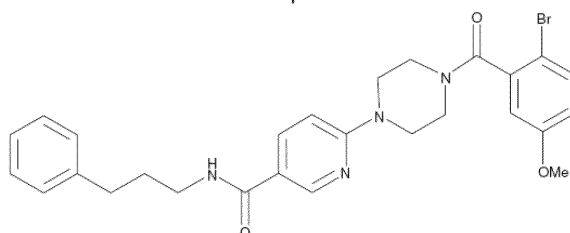
幾つかの実施態様において、SCD1小分子アンタゴニストは、一端が官能化ピペラジンベンズアミドで置換された中央のピリダジン／ピリジンを含み、もう一方の端にカルボキシアミドを含む。幾つかの実施態様において、SCD1小分子アンタゴニストは、化合物1である。幾つかの実施態様において、SCD1小分子アンタゴニストは、化合物2である。

30



1

40



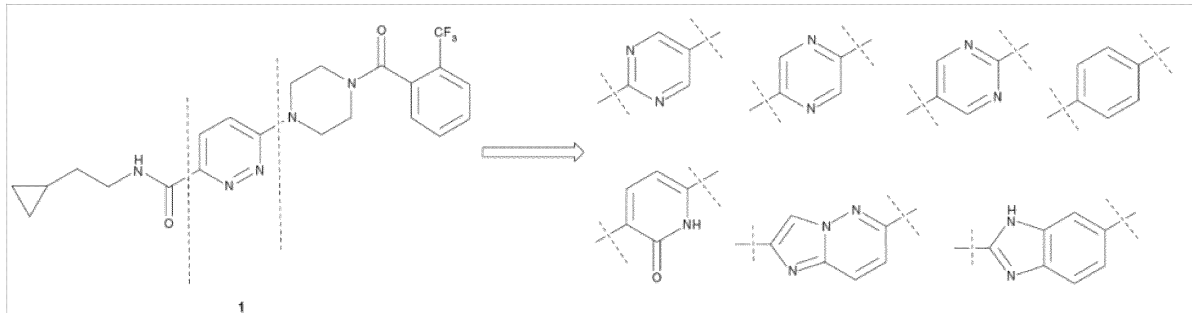
2

mSCD1 IC₅₀ = 100 nM
(US2005/0119251)

【0210】

50

幾つかの実施態様において、ピリダジン／ピリジンコアは、以下に示すように、ピリミジン（両方の位置異性体）及びピラジン、ピリジノン、フェニル環、イミダゾロピリダジン(imidazolopyridazine)及びベンズイミダゾールを含む他の単環式及び二環式環で置換されている。

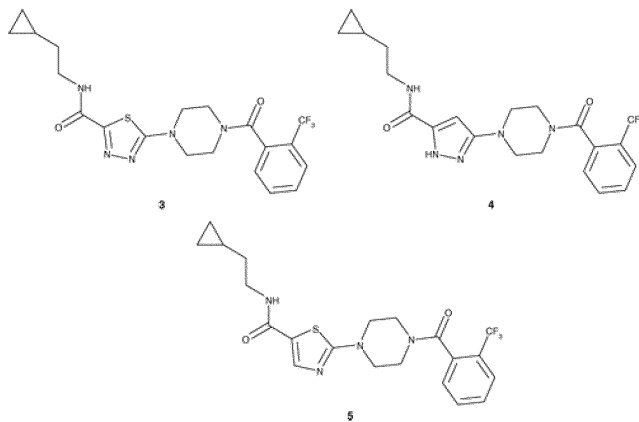


10

【0211】

幾つかの実施態様において、六員ヘテロアリアル環は、ピリダジンサロゲートとして、[1, 2, 4]チアジアゾール、ピラゾール、及びチアゾールなどの5員環で置換することができる。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物3である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物4である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物5である。

20

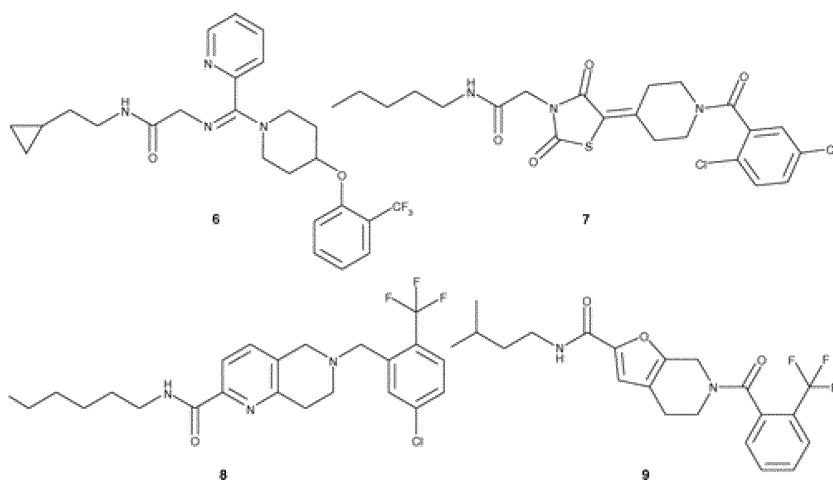


30

【0212】

幾つかの実施態様において、ピリダジン環は、非環式アミジン構造に変更される。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物6である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、非芳香族チアゾリジンジオンピペリジン誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物7である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、テトラヒドロ-1, 6-ナフチリジンに融合している。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、テトラヒドロフロ[2, 3-c]ピリジンである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物8である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物9である。

40

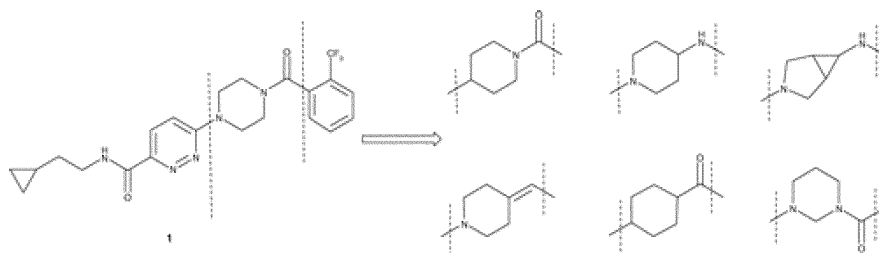


10

【0213】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピペラジンベンズアミドである。幾つかの実施態様において、ピペラジンベンズアミドは、ピペリジンベンズアミドに修飾される。幾つかの実施態様において、ピペラジンベンズアミドは、アニリンピペリジン（反対側の窒素）及び二環式3-アザビシクロ[3.1.0]ヘキサン-6-アミンに修飾される。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピペリジンおよびフェニル環の間に二重結合リンカーを含む。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、シクロヘキサン又はテトラヒドロピリミジンに修飾されるピペラジンである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、以下に示すドメインを含む。

20

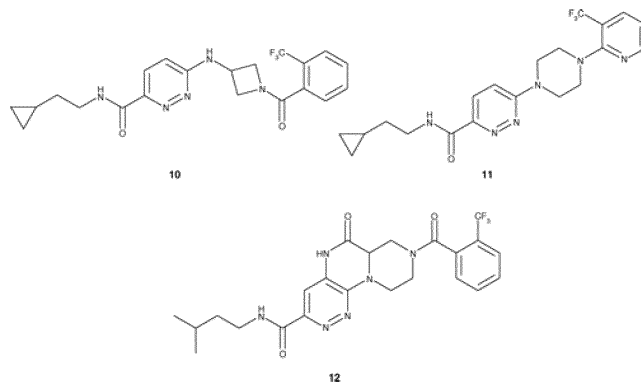


30

【0214】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピリダジンとピペリジン環との間に挿入される、酸素、アミノ及び／又はカルボニル基などのリンカーを含む。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物10である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、直接連結されたヘテロアリアルピペラジン誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物11である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、直接連結されたヘテロアリアルピペラジン誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、三環式SCD1阻害剤である。

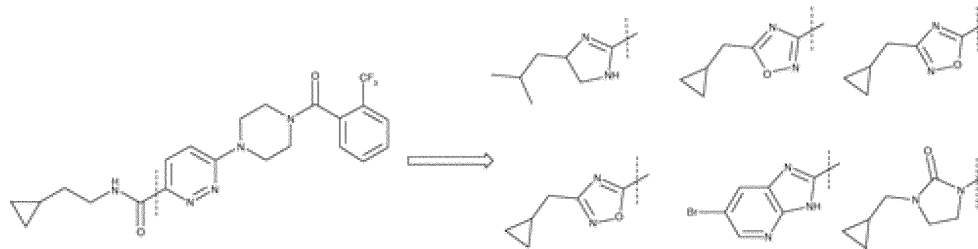
40



10

【0215】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、イミダゾリンである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、オキサジアゾール（3つの異なる位置異性体）である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、イミダゾピリジンである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、環状尿素である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、以下に示すドメインを含む。

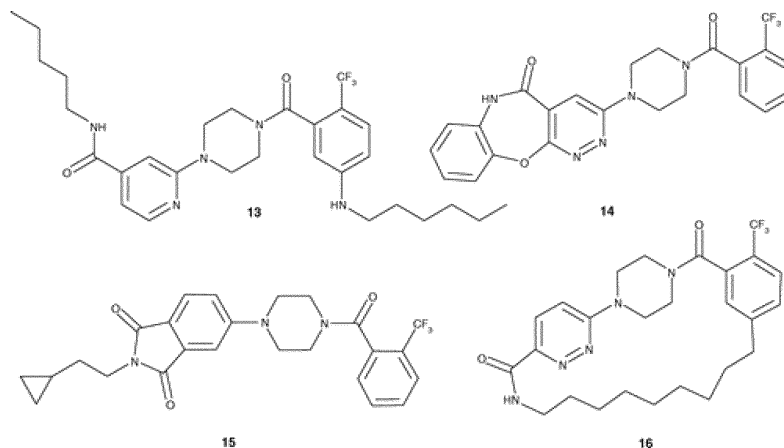


20

【0216】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピリジン誘型上で1,4から1,3配置へ移動されるカルボキサミドである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物13である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、三環系融合オキサゼピノン(oxazepinone)である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物14である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、フェニル環に環化し、フタルイミド型を生成する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物15である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物の両端を環化する大環状分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物16である。

30



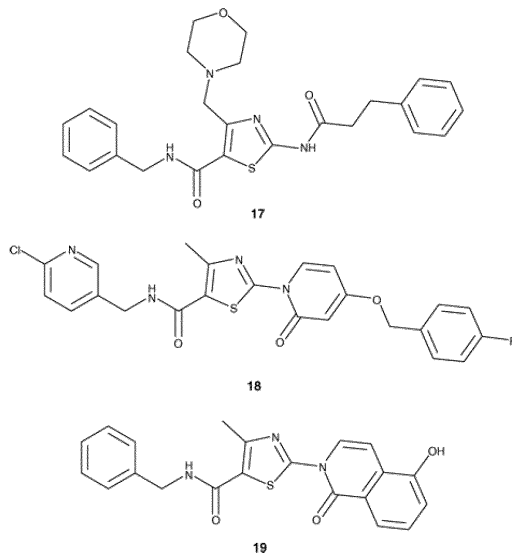
40

50

【0217】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、チアゾールカルボキサミドである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物17である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、2-オキソピリジン-1(2H)-イルチアゾールカルボキサミド誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物18である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、50 nMの IC_{50} 値を持つ。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物19である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、30 nMの IC_{50} 値を持つ。

10



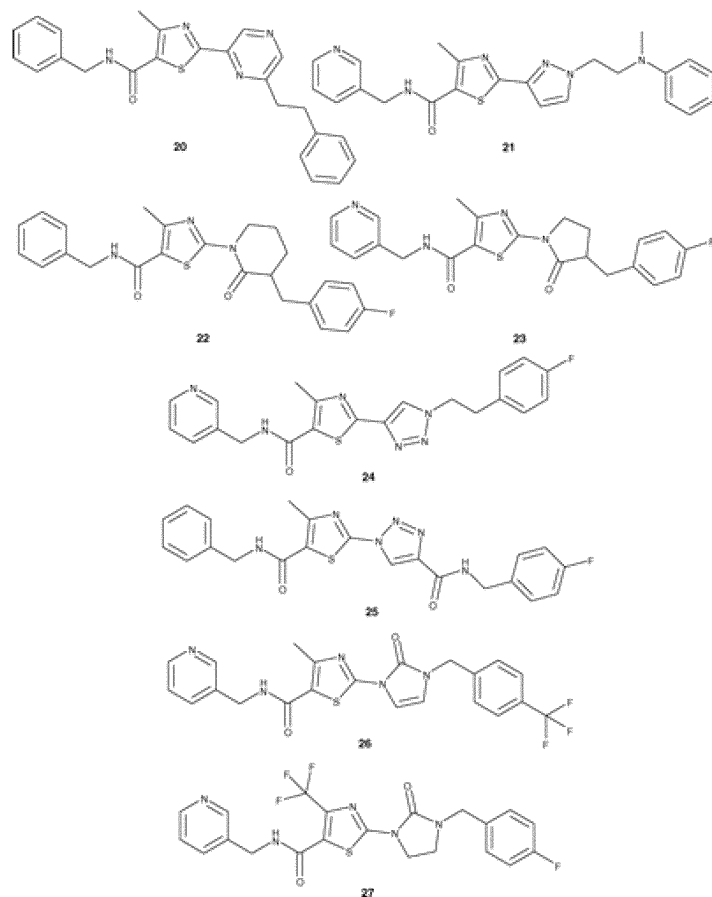
20

【0218】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、2-(ピラジン-2-イル)-チアゾール誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、2-(1H-ピラゾル-3-イル)-チアゾール誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物21である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、42 nMの IC_{50} 値を持つ。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物22である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、49 nMの IC_{50} 値を持つ。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、チアゾリルピロリジノン及びピペリジノン系SCD1阻害剤である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、トリアゾリルチアゾール系SCD1阻害剤である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物22である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、120 nMの IC_{50} 値を持つ。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物23である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、10 nMの IC_{50} 値を持つ。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ジヒドロイミダゾリノンである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、イミダゾリジノンである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物26である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物27である。

30

40



10

20

【0219】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、国際公開第2006130986号、国際公開第2007009236号、国際公開第2007056846号、国際公開第2008017161号、国際公開第2008141455号、国際公開第2007134457号、国際公開第2007143823号、国際公開第2007143824号、国際公開第2008046226号、国際公開第2008064474及び／又は国際公開第2008128335に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、アザシクロヘキサン誘導体である。

30

【0220】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、チアゾリルオキサジアゾール化合物である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物26である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物27である。

【0221】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、異なるカルボキサミド生物学的等価体を持つピリダジン誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物28である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物29である。

40

【0222】

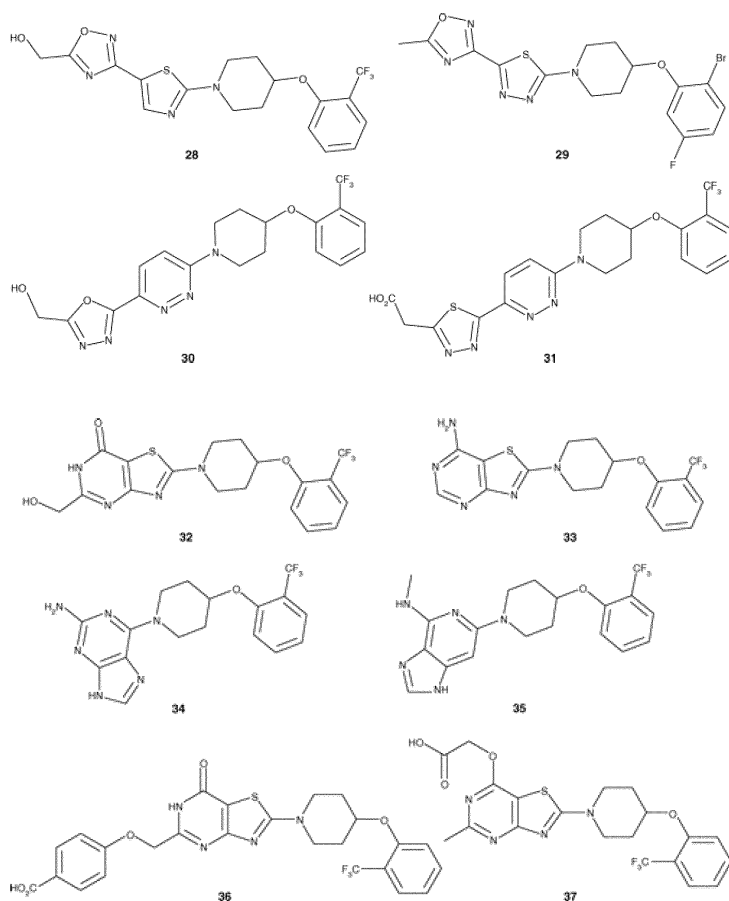
幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、二環式ヘテロアリアルが融合した化合物である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、二環式ヘテロアリアルが融合したチアゾロピリミジノン(thiazolopyrimidinone)である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、二環式ヘテロアリアルが融合したチアゾロピリミジンである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニ

50

スト小分子は、二環式ヘテロアリアルが融合したプリンである。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、二環式ヘテロアリアルが融合した 1 H-イミダゾ[4, 5-c]ピリジン-4-アミン（例えば、ピリダジンを置換する）。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、化合物 30 である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、化合物 31 である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、化合物 32 である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、化合物 33 である。

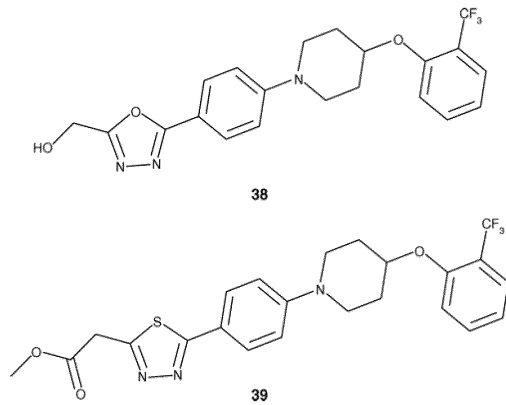
【0223】

幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、二環性である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、化合物 34 である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、化合物 35 である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、ピリダジン環を含む。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、ピリダジン環を含まない。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、化合物 36 である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、化合物 37 である。



【0224】

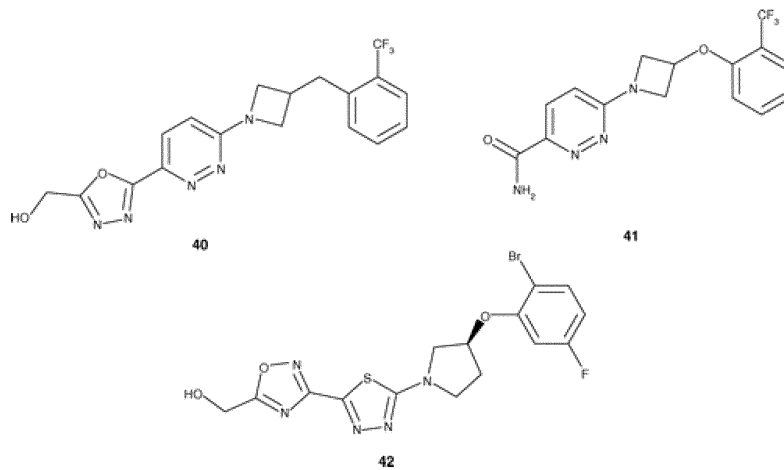
幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、6員ピペリジンを含む。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、4員アゼチジンを含む。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、化合物 38 である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニスト小分子は、化合物 39 である。



10

【0225】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、5員ピロリジン環を含む。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物40である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物41である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物42である。

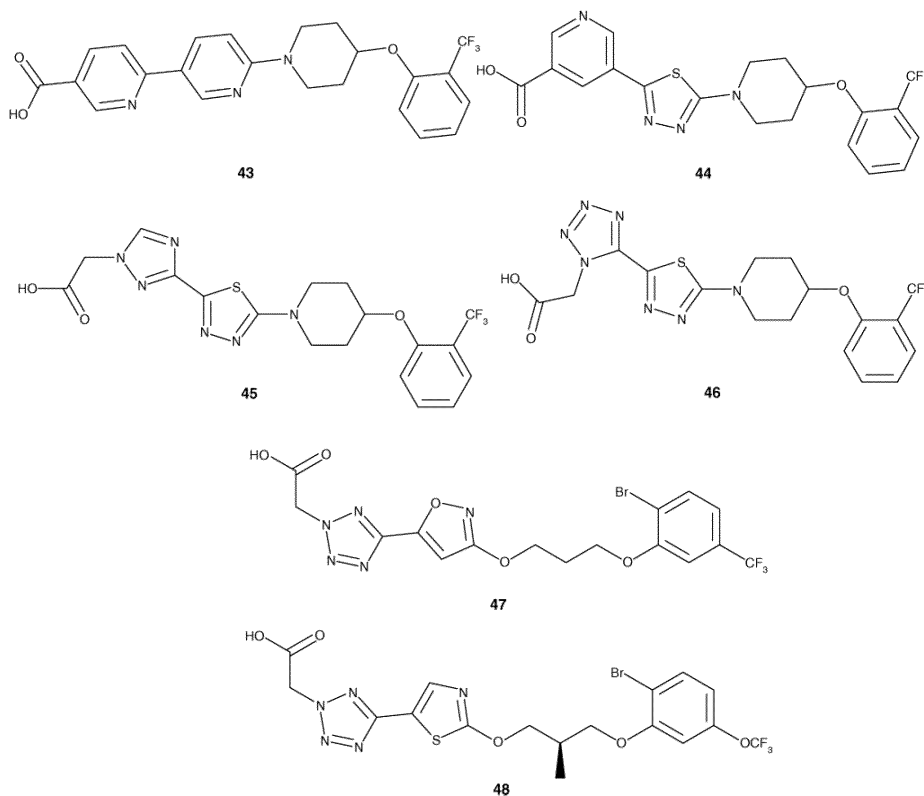


20

30

【0226】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物43である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物44である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、テトラゾール酢酸を含む。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、脂肪族部分を更に含むテトラゾール酢酸を含む。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物45である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物46である。

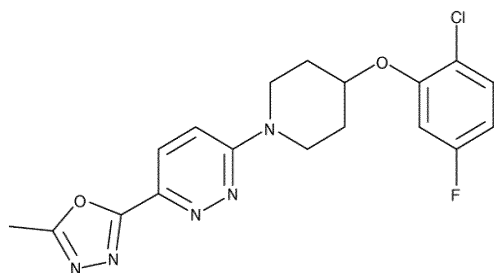


【0227】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、Liu G. et al., J Med Chem (2007);50:3086-100, Zhao H. et al., Bioorg Med Chem Lett (2007);17:3388-91, Xin Z. et al., Bioorg Med Chem Lett (2008);18:4298-302、及び／又はLiu G. Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD1) Inhibitors: Discovery and in vivo evaluation. 2型糖尿病シンポジウムの新たなターゲット、233回ACS全国大会、イリノイ州シカゴ、2007年3月、MED1-382に記載されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物46である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、経口的に生体利用可能である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、マウス及びヒトにおいて、それぞれ4.5 nM及び26 nMのIC₅₀値を有する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、[¹³C]-C16:1/[¹³C]-C16:0による測定の場合、HepG2細胞における長鎖脂肪酸-CoA不飽和化を6.8 nMのIC₅₀値で阻害する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、インビボでPKが(C_L=0.28 (1h)/kg, V_{ss}=0.71 l/kg, AUC=10.66 (μg h)/ml及びF=59%)である。

【0228】

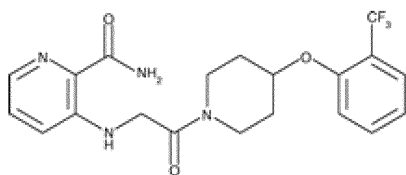
幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子はグリシンアミドピリジンである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物48である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、IC₉₀値が90 nMでヒトSCD1を阻害する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピラジン化合物である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物49である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ヒトSCD1に対して37 nMのIC₅₀値を持つ。



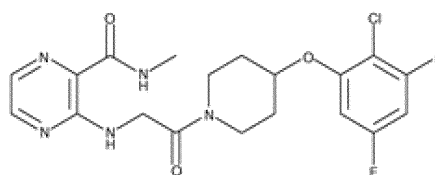
49

【0229】

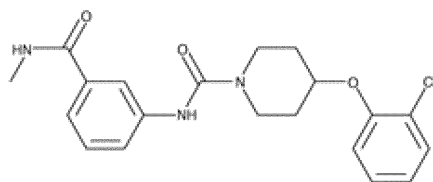
幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピペリジン尿素である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物50である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、mSCD1に対して $IC_{50} < 4 \text{ nM}$ 、hSCD1に対して $IC_{50} < 37 \text{ nM}$ 、及びPK特性($CL = 0.4 \text{ (l/h) / kg}$, $V_{ss} = 0.4 \text{ l/kg}$, 経口AUC = $13.3 \text{ (}\mu\text{g h) / ml}$, 経口F = 102%)を有する。



50



51



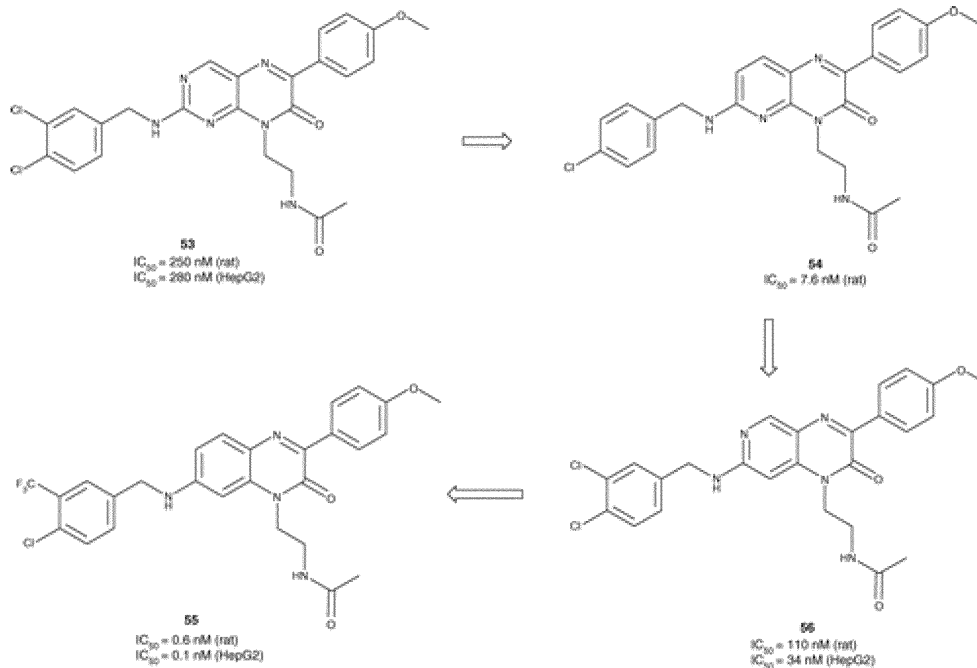
52

【0230】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、全体が参照により援用される、国際公開第2008123891号、国際公開第2008043087号、国際公開第2008127615号、及び／又はKoltun D0 et al. Potent, selective, and metabolically stable stearoyl-CoA desaturase (SCD) inhibitors for the potential treatment of obesity and diabetes、第236回ACS全国大会、フィラデルフィア、ペンシルバニア州、2008年8月、MED1-198に記載されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、プテリジノン (pteridinone)誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、国際公開第2008043087号及び／又は国際公開第2008127615号に示されるように、効力及びインビトロのADME (吸収・分布・代謝・排泄) プロファイルの両方に改善をもたらすコア骨格の系統的な修飾を含むプテリジノン (pteridinone) 誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物51である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、プテリジノン(pteridinone)アナログである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ラット及びヒトSCD1に対して、それぞれ250nM及び280nMの IC_{50} 値を有する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、3-オキソピリド [3, 2-b] ピラジンである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物52である。化合物52は、実施例で使用するA37602 (G01522403)である。幾つかの実施態様において、SCD

1 アンタゴニスト小分子は、37 nMのhSCD1 IC₃₇値を持つ。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ラットにおけるIC_{7.8}値が7.8 nMである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、2-オキソピリド[3,4-b]ピラジニアナログである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物53である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、2-オキソキノキサリン系SCD1阻害剤である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物54である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、Δ5及びΔ6不飽和化酵素に対して選択的であり、HLM及びRLM（30分のインキュベーション）において50%を超える安定性を有するためにnM以下の(subnanomolar) IC₅₀を有する。

10



20

【0231】

30

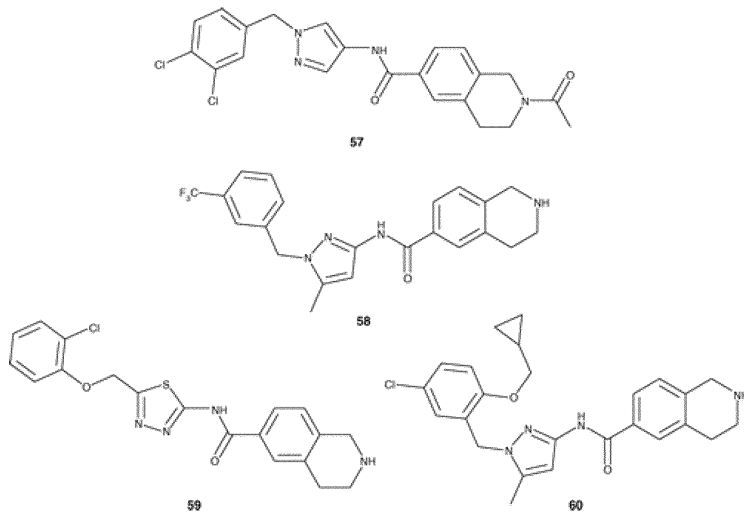
幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、国際公開第2008074824号、国際公開第20080074832号、国際公開第2008074833号、国際公開第2008074834号、国際公開第2008104524号及び／又は国際公開第2009010560号に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。GSKはSCD1阻害剤に関する多くの特許出願を出版した。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピラゾリル4-アミドである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物55である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ラットSCD1に対してpIC₅₀（-log IC₅₀）値<5.5を有する。

【0232】

40

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピラゾリル3-アミドである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物56である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、5.5を超えるpIC₅₀でラットSCD1を阻害する。幾つかの実施態様において、ピラゾールはチアジアゾールに修飾される。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物57である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、5.5を超えるpIC₅₀でラットSCD1を阻害する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物58である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、インビトロ及び細胞性効力を有する（それぞれ7.00と7.25の間のpIC₅₀）。

50



10

【0233】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、国際公開第2008044767号及び／又は国際公開第2008096746号に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、芳香族アミン誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物59である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、10 μ Mで100%のミクロソームSCD1活性阻害する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピリダジン誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物60である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、DIOマウスにおいてDI (C18:1 / C18:0) を減少させる。

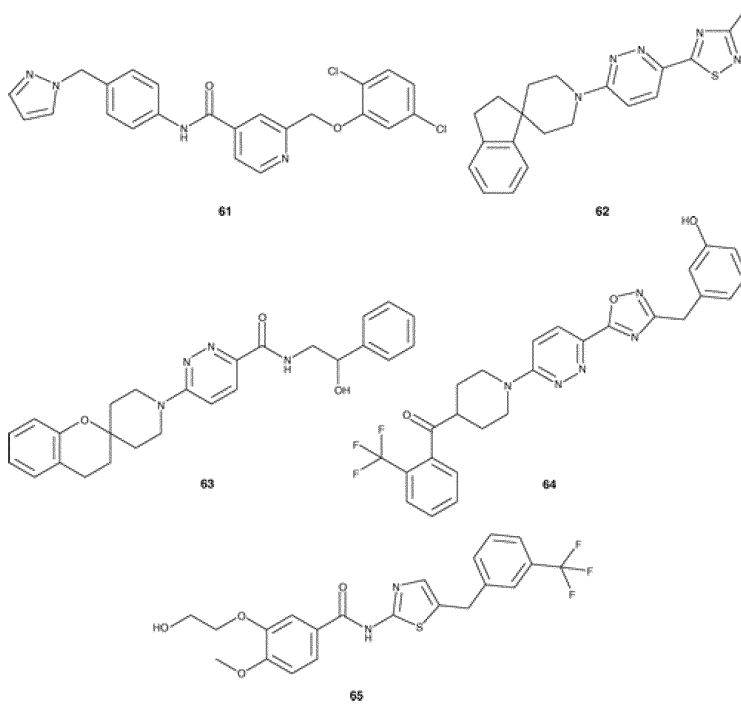
20

【0234】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、国際公開第2008056687、特表2009019013号、及び／又は国際公開第2008139845号に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、スピロペリジン誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物61である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、HEK293細胞でトランスフェクトされたヒトSCD1に対して0.2 μ M未満のIC₅₀値を持つ。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物62である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、アゾールアミドである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物63である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、IC₅₀値<1 μ MでヒトSCD1を阻害する。

30

40



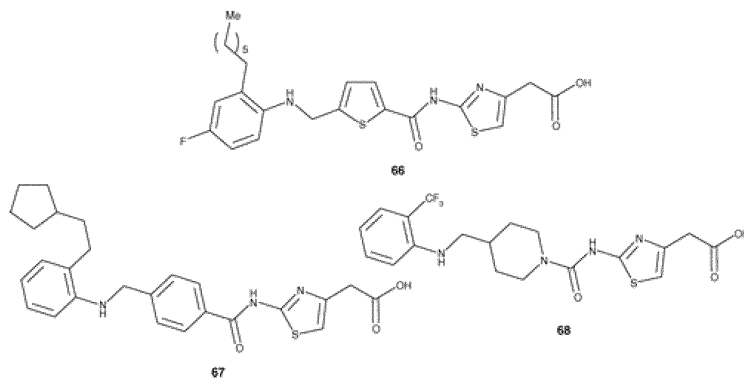
10

20

【0235】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、国際公開第2008120744号、国際公開第2008123469号、及び／又は国際公開第2008029266号に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、2,5-二置換のチオフェン／フラン誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物64である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、0.1 μ M未満のIC₅₀値を持つ。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、6員アリール環に修飾される。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ベンズアミドアナログである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物65である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ラットSCD1に対して0.1 μ M未満のIC₅₀値を持つ。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピペリジンに修飾されている。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、尿素誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物66である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ラットSCD1に対して0.1 μ M未満のIC₅₀値を持つ。

30



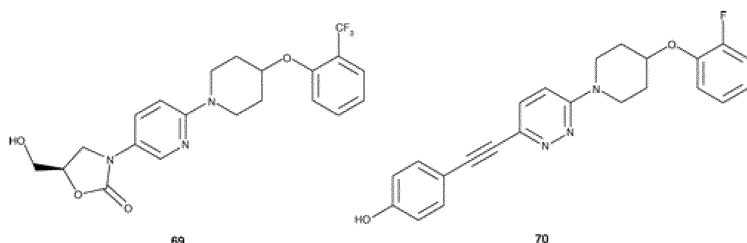
40

【0236】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により

50

援用される、国際公開第2008029266号及び／又は国際公開第2008062276号に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピリジニルオキサゾラノン(pyridinyloxazolanones)である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物67である。幾つかの実施態様において、SCD10アンタゴニスト小分子は、10 μ MでヒトSCD1の99%を阻害する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピリダジン／ピリジンを含むアセチレンである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物68である。幾つかの実施態様において、SCD10アンタゴニスト小分子は、10 μ MでヒトSCD1の100%を阻害する。

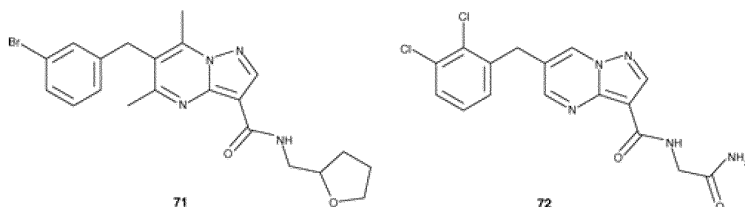


【0237】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、国際公開第2008003753号及び／又は国際公開第2008116898号に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピラゾロ[1,5-a]ピリミジン誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物69である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、140 nMのIC₅₀値を持つ。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物70である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、22 nMのIC₅₀値を持つ。

【0238】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、国際公開第2008157844号に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピペラジン系SCD1阻害剤である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物71である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物72である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、IC₅₀値<10 mMでラットSCD1を阻害する。



【0239】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、国際公開第2008135141に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、二環式ピロロ[3,4-c]ピロロジアミンコア骨格である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物73である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物74である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニ

10

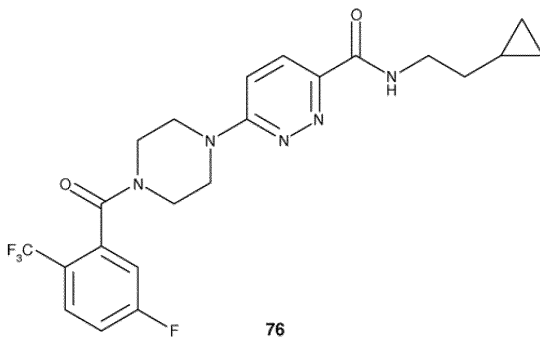
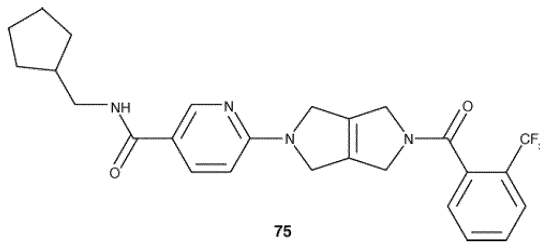
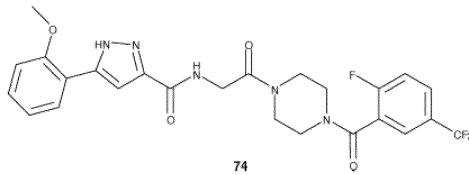
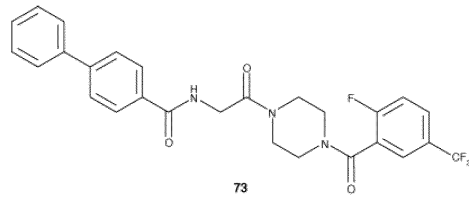
20

30

40

50

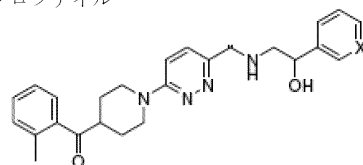
スト小分子は、 $10\ \mu\text{M}$ でラットSCD1の100%を阻害する。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物75である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物76である。



【0240】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物19bである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物24bである。化合物24bは、実施例で使用されるG02447171.1 (G02447171)である。

19b及び24bのADME及び薬物動態プロファイル



No.	溶解度 ^b		c Log P ^c	マウス肝臓 S9 安定性 ^d 30分での	PK ^e (iv, 5 mg/kg)			PK ^e (po, 20 mg/kg)			F (%)
	JP-1 (μM) (pH 1.2)	JP-2 (μM) (pH 6.8)			t _{1/2} (h)	Cl (mL/min/kg)	V _d (L/kg)	C _{max} (μg/mL)	t _{1/2} (h)	AUC _(0-8 h) (μg h/mL)	
19b	88	3	2.6	58	0.6	42	0.9	0.3	0.8	0.5	6
24b	>100	29	1.1	78	1.3	29	2.4	6.3	0.9	7.8	68

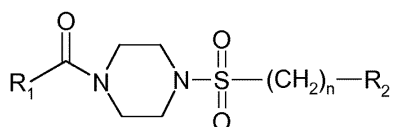
【0241】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により

援用される、国際公開第2011011872号、国際公開第2011011506号、国際公開第2011047481号、国際公開第2011011508号、国際公開第2011039358号、国際公開第2011030312号、国際公開第2010025553号、国際公開第2010094120号、国際公開第2010112520号、国際公開第2009060452号、国際公開第2009019566号、国際公開第2009010560号、国際公開第2009016216号、及び／又は国際公開第2009056556号に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、スピロ環状化合物である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、スピロ化合物である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ベンゾ融合オキサゼピン化合物(benzo-fused oxazepine compound)である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、ピラゾール誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、トリアゾール誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、N-チアゾリル-1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-6-イソキノリンカルボキサミド誘導体である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、A939572(4-(2-クロロフェノキシ)-N-(3-(メチルカルバモイル)フェニル)ピペリジン-1-カルボキサミド)である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、CVT-11, 127である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、MF-438である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、キノキサリノンである。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、CVT-13, 036である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、11, 563である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、CVT-12, 012である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、CVT-12, 805である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、http://caocao.myipcn.org/science?_ob=MImg&_cid=273013&_user=4861547&_pii=S0065774310450071&_zone=rslt_list_item&_coverDate=12%2F31%2F2010&wchp=dGLzVlt-zSkWz&_valck=1&md5=117298fb3b239424e814148d8b4bae32&ie=/sdarticle.pdfにあるSCD1アンタゴニスト小分子である。

【0242】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、式(I)の化合物である。



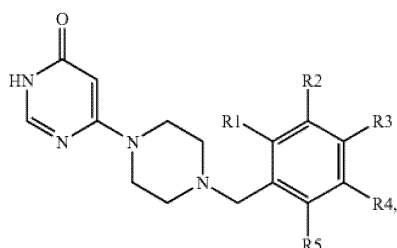
(IIa)

式中、R₁は、C₅からC₁₄、特にC₆のアルキル、シクロアルキル、アリール又はヘテロアリール基を表し、前記アリール又はヘテロアリールは一又は複数の群R_aにより任意で置換されており；-R_aはハロゲン原子、ヒドロキシル基、-NO₂、-CN、-NH₂、-N(C₁₋₆アルキル)₂、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、-C(O)-C₁₋₆アルキル、C₂₋₆アルケニル、C₃₋₆シクロアルキル、アリール、C₃₋₆ヘテロシクリル又はヘテロアリールでを表し、前記アルキル、アルコキシ、アルケニル、シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル又はヘテロアリールは、一つ以上のハロゲン原子、C₁₋₆アルキル、C₁₋₆アルコキシ、-C(O)-C₁₋₆アルキル、-NO₂、-CF₃、-OCF₃、-CN、-NH₂、及び／又は-N(C₁₋₆アルキル)₂により任意で置換され；-nは0、1、2、又は3を表し；-R₂は、C₅からC₁₄、特にC₆のアルキル、シクロアルキル、アリール又はヘテロアリール基を表し、前記

アリール又はヘテロアリールは一又は複数の群 R_b により任意で置換されており； $-R_b$ はハロゲン原子、ヒドロキシル基、 NO_2 、 $-CN$ 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ、 $-C(O)-C_{1-6}$ アルキル、 $-NH_2$ 、 $-N(C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 C_{3-6} シクロアルキル、 C_{3-6} ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールを表し、前記アルキル、アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールは、必要に応じて1つ以上のヒドロキシル基、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NO_2$ 、及び／又は $-CN$ 、またはその塩もしくは鏡像異性体の形態の一つで置換されている。

【0243】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、その全体が参照により援用される、米国特許出願第7652013号に記述されるSCD1アンタゴニスト小分子である。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、式(I I)の化合物である。



式中：、 R_1 及び R_5 は、お互いに独立して、水素、非置換の低級アルキル、ハロゲン、トリフルオロメチル、ヒドロキシ、アリール、アルコキシ又は NO_2 であり； R_1 及び R_2 は、任意で、それが結合している炭素原子と共に、1又は2のヘテロ原子を有する9員環を形成し； R_2 及び R_4 は、お互いに独立して、水素、非置換低級アルキル、低級アルケニル、アルコキシ、ハロゲン、シアノ、トリフルオロメチル、オートリフルオロメチル又は NO_2 であり；及び R_3 は、水素、非置換低級アルキル、アルコキシ又はハロゲンであり；ここで、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 又は R_5 の少なくとも一つは水素、及びその薬学的に許容される塩である。幾つかの実施態様において、 R_1 はハロゲンであり、 R_4 はアルコキシであり、 R_5 はヒドロキシである。幾つかの実施態様において、 R_1 、 R_4 及び R_5 は、それぞれ水素である。幾つかの実施態様において、 R_2 はハロゲンであり、 R_4 はハロゲンであり、 R_5 はヒドロキシである。幾つかの実施態様において、 R_2 及び R_3 の両方が低級アルキル基で置換されていない。幾つかの実施態様において、 R_2 及び R_5 の両方がトリフルオロメチルである。幾つかの実施態様において、 R_3 及び R_4 の両方がハロゲンである。幾つかの実施態様において、 R_4 及び R_5 の両方がハロゲンである。幾つかの実施態様において、 R_2 はハロゲンであり、 R_3 はヒドロキシである。幾つかの実施態様において、 R_2 はハロゲンであり、 R_3 は NO_2 である。幾つかの実施態様において、 R_2 はオートリフルオロメチルであり、 R_5 はヒドロキシである。幾つかの実施態様において、 R_3 はハロゲンである。幾つかの実施態様において、 R_4 は、低級アルキル基で置換されていない。幾つかの実施態様において、 R_5 は、低級アルキル基で置換されていない。幾つかの実施態様において、 R_5 はトリフルオロメチルである。幾つかの実施態様において、 R_5 はハロゲンである。幾つかの実施態様において、 R_5 は NO_2 である。幾つかの実施態様において、化合物は、6-[4-(3-ブロモベンジル)-ピペラジン-1-イル]-3H-ピリミジン-4-オン；6-[4-(5-ブロモ-2-ヒドロキシベンジル)-ピペラジン-1-イル]-3H-ピリミジン-4-オン；6-[4-(3-クロロベンジル)-ピペラジン-1-イル]-3H-ピリミジン-4-オン；6-[4-(5-クロロ-2-ニトロベンジル)-ピペラジン-1-イル]-3H-ピリミジン-4-オン；6-[4-(2,3-ジクロロベンジル)-ピペラジン-1-イル]-3H-ピリミジン-4-オン；6-[4-(3,5-ジクロロ-2-ヒドロキシベンジル)-ピペラジン-1-イル]-3H-ピリミジン-4-オン；6-[4-(2,6

ージメチルーベンジル)ーピペラジンー1ーイル]ー3Hーピリミジンー4ーオン;6ー[4ー(2ーヒドロキシー5ートリフルオロメトキシーベンジル)ーピペラジンー1ーイル]ー3Hーピリミジンー4ーオン;6ー[4ー(2ーニトローベンジル)ーピペラジンー1ーイル]ー3Hーピリミジンー4ーオン;又は6ー[4ー(2ートリフルオロメチルーベンジル)ーピペラジンー1ーイル]ー3Hーピリミジンー4ーオンである。

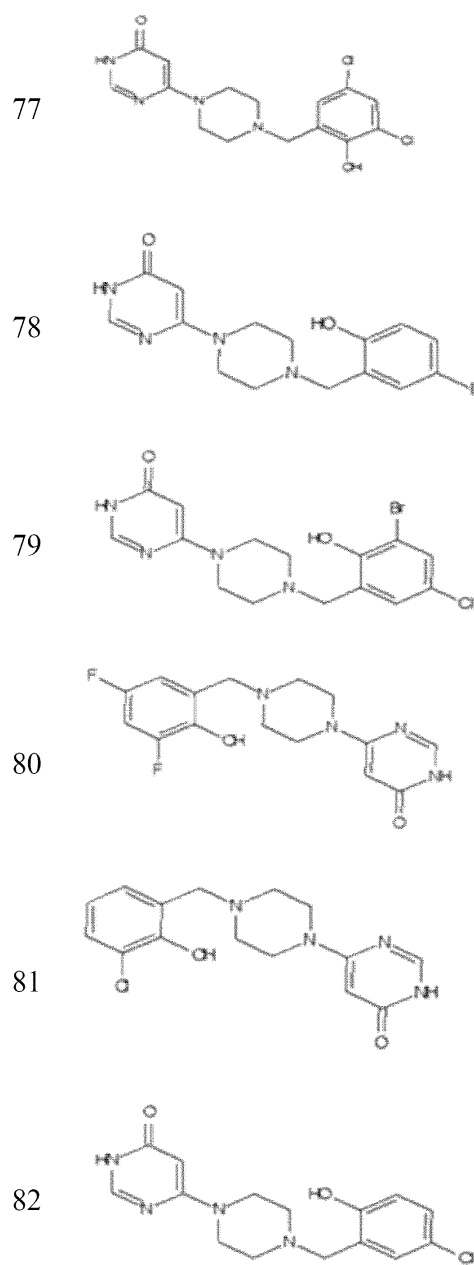
【0244】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物77である(実施例のRG1;米国特許出願第7652013号中の実施例24)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物78である(実施例のRG2;米国特許出願第7652013号中の実施例51)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物79である(実施例のRG3;米国特許出願第7652013号中の実施例50)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物80である(実施例のRG4;米国特許出願第7652013号中の実施例44)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物81である(実施例のRG5;米国特許出願第7652013号中の実施例45)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物82である(実施例のRG6;米国特許出願第7652013号中の実施例46)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物83である(実施例のRG7;米国特許出願第7652013号中の実施例28)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物84である(実施例のRG8;米国特許出願第7652013号中の実施例49)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物85である(実施例のRG9;米国特許出願第7652013号中の実施例48)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物86である(実施例のRG10;米国特許出願第7652013号中の実施例25)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物87である(実施例のRG11;米国特許出願第7652013号中の実施例38)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物88である(実施例のRG12;米国特許出願第7652013号中の実施例47)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物89である(実施例のRG13;米国特許出願第7652013号中の実施例35)。幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニスト小分子は、化合物90である(実施例のRG14;米国特許出願第7652013号中の実施例31)。

10

20

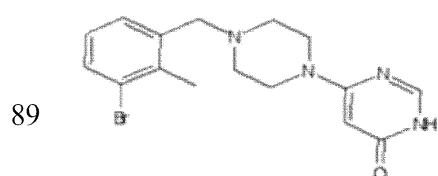
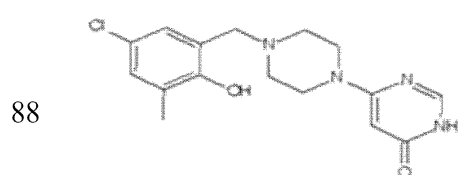
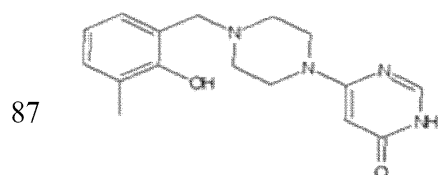
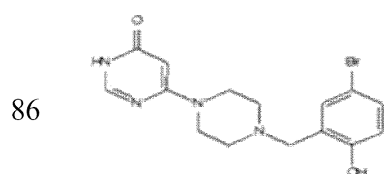
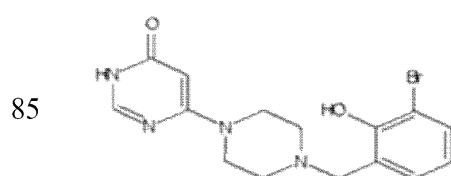
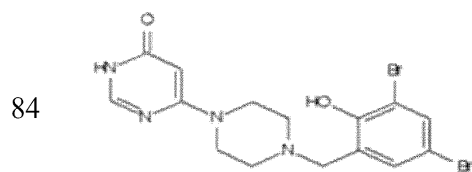
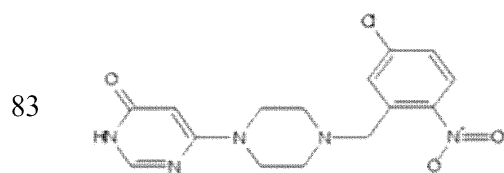
30



10

20

30



【0245】

E. アンタゴニストポリヌクレオチド

本明細書で提供されるのは、ポリヌクレオチドアンタゴニストである。ポリヌクレオチドは、アンチセンス核酸及び／又はリボザイムであってもよい。アンチセンス核酸は S C D 1 遺伝子の R N A 転写物の少なくとも一部に相補的な配列を含む。しかし、絶対的な相

10

20

30

40

50

補性は、好ましいものの、要求されない。

【0246】

本明細書で言及される「RNAの少なくとも一部分に相補的」配列は、RNAとハイブリダイズし安定な二重鎖を形成することができるために十分な相補性を有する配列を意味し；二本鎖SCD1アンチセンス核酸の場合、二重鎖DNAの一本鎖が試験されることができ、又は三重らせんの形成をアッセイすることができる。ハイブリダイズする能力はアンチセンス核酸の相補性の程度および長さの両方に依存する。一般的に、ハイブリダイズする核酸が大きいほど、それが含み得るSCD1 RNAとの塩基のミスマッチが多く、それでも安定な二重鎖（又は場合によっては三重鎖）を形成する。当業者は、ハイブリダイズした複合体の融点を決定するための標準的な手順の使用によって、ミスマッチの許容程度を確認することができる。

10

【0247】

幾つかの実施態様において、ポリヌクレオチドアンタゴニストは、

5' - GATCCCCCTACAAGAGTGGCTGAGTTTTTCAAGAGAAA
CTCAGCCACTCTTGTAGTTTTTTTGGAAA - 3' 配列番号2)；

5' - GATCCCCCTACGGCTCTTTCTGATCATTC AAGAGATG
ATCAGAAAGAGCCGTAGTTTTTTTGGAAA - 3' (配列番号3)；又は

5' - GATCCCCGCACATCAACTTCAACCACATTC AAGAGATG
TGGTGAAGTTGATGTGCTTTTTTTTGGAAA - 3' (配列番号4)を含む。

20

【0248】

メッセージの5'末端、例えばAUG開始コドンを含むところまでの5'非翻訳配列に相補的であるポリヌクレオチドは、翻訳を阻害するのに最も効率的に動作するはずである。しかし、mRNAの3'非翻訳配列に相補的な配列は、同様にmRNAの翻訳を阻害するのに有効であることが示されている。一般に、Wagner, R., 1994. Nature 372:333-335を参照。従って、SCD1遺伝子の5' - 又は3' - 非翻訳、非コード領域の何れかに相補的なオリゴヌクレオチドは、内因性のSCD1 mRNAの翻訳を阻害するアンチセンスアプローチにおいて使用することができる。mRNAの5'非翻訳領域に相補的なポリヌクレオチドは、AUG開始コドンの相補体を含むべきである。mRNAコード領域に相補的なアンチセンスポリヌクレオチドは、翻訳の効率の低い阻害剤であるが、本発明に従って使用することができる。SCD1 mRNAの5'、3'又はコード領域にハイブリダイズするように設計されるに関わらず、アンチセンス核酸は、長さが少なくとも6ヌクレオチドであるべきで、好ましくは、6から約50ヌクレオチド長の範囲のオリゴヌクレオチドである。特定の態様において、オリゴヌクレオチドは少なくとも10ヌクレオチド、少なくとも17ヌクレオチド、少なくとも25ヌクレオチド又は少なくとも50ヌクレオチドである。

30

【0249】

一実施態様において、本発明のSCD1アンチセンス核酸は、外因性配列からの転写により細胞内で産生される。例えば、ベクター又はその一部が転写され、SCD1遺伝子のアンチセンス核酸(RNA)を産生する。そのようなベクターは、SCD1アンチセンス核酸をコードする配列を含むであろう。このようなベクターは、所望のアンチセンスRNAを産生するように転写することが可能である限りエピソームのままでいるか又は染色体に組み込まれることができる。このようなベクターは、当技術分野で標準的な組換えDNA技術方法によって構築することができる。ベクターは、脊椎動物細胞における複製および発現のために使用される、プラスミド、ウイルス性、又は当技術分野で知られる他のものであり得る。SCD1、又はその断片をコードする配列の発現は、脊椎動物、好ましくはヒトの細胞において作用するその技術分野で公知の任意のプロモーターによることができる。そのようなプロモーターは誘導性又は構成的であり得る。このようなプロモーターとしては、限定されないが、SV40初期プロモーター領域(Bernoist and Chambon, Nat

40

50

ure 29:304-310 (1981)、ラウス肉腫ウイルスの3'末端反復配列に含まれるプロモーター(Yamamoto et al., Cell 22:787-797 (1980)、ヘルペスチミジンプロモーター(Wagner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78:1441-1445 (1981)、メタロチオネイン遺伝子の調節配列(Brinster, et al., Nature 296:39-42 (1982))等を含む。

【0250】

F. 抗体及び結合ポリペプチド変異体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体及び／又は結合ポリペプチドのアミノ酸配列変異体が企図される。例えば、抗体及び／又は結合ポリペプチドの結合親和性及び／又は他の生物学的特性を改善することが望まれ得る。抗体及び／又は結合ポリペプチドのアミノ酸配列変異体は、抗体及び／又は結合ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に適切な改変を導入することにより、またはペプチド合成によって調製することができる。このような改変は、例えば、抗体及び／又は結合ポリペプチドのアミノ酸配列内における、残基の欠失、及び／又は挿入及び／又は置換を含む。最終コンストラクトが所望の特性、例えば、標的結合を有していることを条件として、欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせが、最終コンストラクトに到達させるために作成され得る。

10

【0251】

ある実施態様において、一つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異体及び／又は結合ポリペプチド変異体が提供される。置換型変異誘発の対象となる部位は、HVRとFRを含む。保存的置換は、表1の「保存的置換」の見出しの下に示されている。より実質的な変更が、表1の「典型的な置換」の見出しの下に与えられ、アミノ酸側鎖のクラスを参照して以下に更に説明される。アミノ酸置換は、目的の抗体及び／又は結合ポリペプチドに導入することができ、その産物は、所望の活性、例えば、抗原結合の保持／改善、免疫原性の減少、又はADCC又はCDCの改善についてスクリーニングされる。

20

表 1

元の残基	典型的な置換	好ましい置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン	Leu

【0252】

アミノ酸は共通の側鎖特性に基づいてグループに分けることができる：

- (1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2) 中性の親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3) 酸性：Asp、Glu；
- (4) 塩基性：His、Lys、Arg；
- (5) 鎖配向に影響する残基：Gly、Pro；
- (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

【0253】

非保存的置換は、これらの分類の一つのメンバーを他の分類に交換することを必要とするであろう。

【0254】

置換変異体の一つのタイプは、親抗体（例えば、ヒト化又はヒト抗体など）の一以上の高頻度可変領域残基の置換を含む。一般的には、更なる研究のために選択され得られた変異体は、親抗体と比較して、特定の生物学的特性の改変（例えば、改善）（例えば、親和性の増加、免疫原性を減少）を有し、及び／又は親抗体の特定の生物学的特性を実質的に保持しているであろう。典型的な置換型変異体は、親和性成熟抗体であり、例えば、本明細書に記載されるファージディスプレイに基づく親和性成熟技術を用いて、簡便に生成され得る。簡潔に言えば、一つ以上のHVR残基が変異し、変異体抗体は、ファージ上に表示され、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。

変更（例えば、置換）は、例えば抗体の親和性を向上させるために、HVRで行うことができる。このような変更は、HVRの「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟過程に高頻度で変異を受けるコドンにコードされた残基で（例えばChowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)を参照）、及び／又はSDR（a-CDR）で行うことができ、得られた変異体VH又はVLが結合親和性について試験される。二次ライブラリから構築し選択し直すことによる親和性成熟が、例えばHoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)に記載されている。親和性成熟の幾つかの実施態様において、多様性が、種々の方法（例えば、変異性PCR、鎖シャッフリング、又はオリゴヌクレオチドを標的とした突然変異誘発）の何れかにより、成熟のために選択された可変遺伝子中に導入される。次いで、二次ライブラリが作成される。次いで、ライブラリは、所望の親和性を持つ抗体変異体を同定するためにスクリーニングされる。多様性を導入するするもう一つの方法は、いくつかのHVR残基（例えば、一度に4から6残基）がランダム化されたHVR指向のアプローチを伴う。抗原結合に関与するHVR残基は、例えばアラニンスキャニング突然変異誘発、またはモデリングを用いて、特異的に同定され得る。CDR-H3及びCDR-L3がしばしば標的にされる。

10

【0255】

所定の実施態様において、置換、挿入、または欠失は、そのような改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限りにおいて、一以上のHVR内で生じる可能性がある。例えば、実質的に結合親和性を低下させない保存的改変（例えば本明細書で与えられる保存的置換）をHVR内で行うことができる。このような改変は、HVR「ホットスポット」又はSDRの外側であってもよい。上記に与えられた変異体VH又はVL配列の所定の実施態様において、各HVRは不変であるか、又はわずか1個、2個または3個のアミノ酸置換が含まれているかの何れかである。

20

【0256】

突然変異誘発のために標的とすることができる抗体及び／又は結合ポリペプチドの残基又は領域を同定するための有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085により説明されるように、「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法では、標的残基の残基またはグループ（例えば、arg、asp、his、lys及びgluなどの荷電残基）が同定され、抗原と抗体との相互作用が影響を受けるかどうかを判断するために、中性または負に荷電したアミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）に置換される。更なる置換が、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸の位置に導入され得る。代わりに、又は更に、抗原抗体複合体の結晶構造が、抗体と抗原との接触点を同定する。そのような接触残基及び隣接残基が、置換の候補として標的とされるか又は排除され得る。変異体はそれらが所望の特性を含むかどうかを決定するためにスクリーニングされ得る。

30

【0257】

アミノ酸配列挿入は、一残基から百以上の残基を含有するポリペプチド長にわたるアミノ及び／又はカルボキシル末端融合、並びに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例としては、N末端メチオニン残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体は、酵素に対する抗体のN末端またはC末端への融合（例えばADPの場合）、または抗体の血清半減期を増加させるポリペプチドへの融合を含む。

40

【0258】

G. 抗体及び結合ポリペプチド誘導体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体及び／又は結合ポリペプチドは、当技術分野で知られ、容易に入手される追加の非タンパク質部分を含むように更に改変することができる。抗体及び／又は結合ポリペプチドの誘導体化に適した部分としては、限定されないが、水溶性ポリマーを含む。水溶性ポリマーの非限定的な例は、限定されないが、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール／プロピレングリコールの共重合体、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニ

50

ルピロリドン、ポリー 1, 3-ジオキソラン、ポリー 1, 3, 6-トリオキソラン、エチレン/無水マレイン酸共重合体、ポリアミノ酸（単独重合体又はランダム共重合体の何れか）及びデキストラン又はポリ（ n -ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコール単独重合体、プロピレンオキシド/エチレンオキシド共重合体、ポリオキシエチル化ポリオール（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール及びこれらの混合物を包含する。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドはその水中での安定性に起因して製造における利点を有し得る。ポリマーは何れかの分子量のものであってよく、そして分枝鎖又は未分枝鎖であってよい。抗体及び/又は結合ポリペプチドに結合するポリマーの数は変動してよく、そして、一以上の重合体が結合する場合は、それらは同じか又は異なる分子であってよい。一般的に、誘導体化に使用するポリマーの数及び/又は種類は、限定されないが、向上させるべき抗体及び/又は結合ポリペプチドの特定の特性又は機能、抗体誘導体及び/又は結合ポリペプチド誘導体が限定された条件下で治療に使用されるのか等を含む考慮に基づいて決定することができる。

10

【0259】

別の実施態様において、放射線への曝露によって選択的に加熱され得る抗体及び/又は結合ポリペプチドと非タンパク質部分とのコンジュゲートが提供される。一実施態様において、非タンパク質部分はカーボンナノチューブである(Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)。放射線は、任意の波長であって良いが、限定されないものの、通常の細胞に害を与えないが、抗体及び/又は結合ポリペプチド-非タンパク質部分の近位細胞が死滅される温度に非タンパク質部分を加熱する波長が含まれる。

20

【0260】

I V. 組換え方法及び組成物

抗体及び/又は結合ポリペプチドは、例えば米国特許第4, 816, 567号で説明したように、組換えの方法および組成物を用いて製造することができる。一実施態様において、抗SCD1抗体をコードする単離された核酸が提供される。このような核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列、及び/又は抗体のVHを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び/又は重鎖）をコードし得る。更なる実施態様において、抗体及び/又は結合ポリペプチドをコードするそのような核酸を含む1つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。更なる実施態様において、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。一実施態様において、宿主細胞は以下を含む（例えば、以下で形質転換される）：（1）抗体のVLを含むアミノ酸配列、及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、又は（2）抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第一ベクター、及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第二ベクター。一実施態様において、宿主細胞は、真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、またはリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。一実施態様において、抗SCD1抗体及び/又は結合ポリペプチドを作る方法が提供され、その方法は、上記のように、抗体及び/又は結合ポリペプチドの発現に適した条件下で、抗体及び/又は結合ポリペプチドをコードする核酸を含む宿主細胞を培養することを含み、および必要に応じて、宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から抗体及び/又は結合ポリペプチドを回収することを含む。

30

40

【0261】

抗SCD1抗体及び/又は結合ポリペプチドの組換え生産のために、例えば上述したように、抗体及び/又は結合ポリペプチドをコードする核酸が単離され、宿主細胞内でのさらなるクローニング及び/又は発現のために1つ以上のベクターに挿入される。このような核酸は、容易に単離され、従来の手順を用いて（例えば、抗体の重鎖と軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）配列決定することができる。

【0262】

ベクターのクローニング又は発現に適切な宿主細胞は、本明細書に記載の原核細胞又は真核細胞を含む。例えば、特に、グリコシル化およびFcエフェクター機能が必要ない場

50

合には、抗体は、細菌で産生することができる。細菌における抗体断片およびポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5,648,237号、第5,789,199号及び第5,840,523号を参照。(また、大腸菌における抗体の発現を説明している、Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254も参照。)発現の後、抗体及び／又は結合ポリペプチドは可溶性画分において細菌の細胞ペーストから単離され得、更に精製することができる。

【0263】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母菌のような真核微生物は、ベクターのための適切なクローニング宿主又は発現宿主であり、そのグリコシル化経路が、「ヒト化」されており、部分的または完全なヒトのグリコシル化パターンを有する抗体の生成をもたらす菌類や酵母菌株を含む。Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)、及びLi et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)を参照。

【0264】

グリコシル化抗体及び／又はグリコシル化結合ポリペプチドの発現に適した宿主細胞はまた、多細胞生物(無脊椎動物と脊椎動物)から派生している。無脊椎動物細胞の例としては、植物および昆虫細胞が挙げられる。多数のパキューロウイルス株が同定され、これらは特に*Spodoptera frugiperda*細胞のトランスフェクションのために、昆虫細胞と組み合わせ使用することができる。

【0265】

植物細胞培養を宿主として利用することができる。例えば、米国特許第5959177号、第6040498号、第6420548号、第7125978号及び第6417429号(トランスジェニック植物における抗体産生に関するPLANTIBODIESTM技術を記載)を参照。

【0266】

脊椎動物細胞もまた宿主として用いることができる。例えば、懸濁液中で増殖するように適合されている哺乳動物細胞株は有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40(COS-7)で形質転換されたサル腎臓CV1株、ヒト胚腎臓株(Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)に記載された293細胞又は293細胞、ベビーハムスター腎臓細胞(BHK)、マウスのセルトリ細胞(Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)に記載されるTM4細胞)、サル腎細胞(CV1)、アフリカミドリザル腎細胞(VERO-76)、ヒト子宮頸癌細胞(HeLa)、イヌ腎臓細胞(MDCK; バッファローラット肝臓細胞(BRL 3A)、ヒト肺細胞(W138);ヒト肝細胞(He p G2)、マウス乳腺腫瘍(MMT060562)、例えばMather et al., *Annals N. Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)に記載されるTRI細胞、MRC5細胞、およびFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株は、DHFRCCHO細胞(Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980))を含むチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、及びY0、NS0およびSp2/0などの骨髓腫細胞株を含む。抗体産生及び／又は結合ポリペプチド産生に適した特定の哺乳動物宿主細胞系の総説については、例えば、Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)を参照。

【0267】

説明は、抗体及び結合ポリペプチドをコードする核酸を含むベクターで形質転換またはトランスフェクトされた細胞を培養することによる、主に抗体及び／又は結合ポリペプチドの産生に関するものである。もちろん、当技術分野でよく知られている他の方法は、抗体及び／又は結合ポリペプチドを調製するために使用され得ることが企図される。例えば、適切なアミノ酸配列、又はその一部は、固相技術を用いた直接ペプチド合成によって製造することができる[例えば、Stewart et al., *Solid-Phase Peptide Synthesis*, W.H. Freeman Co., San Francisco, CA (1969); Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.*, 85:2149-2154 (1963)を参照]。インビトロタンパク質合成は、手動技術を用いて、又は自動化によ

って行うことができる。自動合成は、製造者の指示に従って使用して、例えばアプライド・バイオシステムズ・ペプチド合成機(Foster City, CA)を用いて達成され得る。抗体及び／又は結合ポリペプチドの種々の部分は、所望の抗体及び／又は結合ポリペプチドを生成するための化学的又は酵素的方法を用いて別々に化学的に合成され組み合わせることができる。

【0268】

抗体及び／又は結合ポリペプチドの形態は、培地又は宿主細胞の溶菌液から回収することができる。膜に結合した場合には、適切な界面活性剤溶液（例えばトリトン-X100）を用いて又は酵素的切断により膜から放出することができる。抗体及び／又は結合ポリペプチドの発現に用いられる細胞は、凍結融解サイクル、超音波処理、機械的破壊、又は細胞溶解剤などの種々の化学的又は物理的手段によって破壊することができる。

10

【0269】

組換え細胞タンパク質又はポリペプチドから抗体及び／又は結合ポリペプチドを精製することが望ましい。以下の手順は適切な精製手順の例である：イオン交換カラムでの分画；エタノール沈殿；逆相HPLC；シリカ又はDEAEなどのカチオン交換樹脂によるクロマトグラフィー；クロマトフォーカシング；SDS-PAGE；硫酸アンモニウム沈殿；例えば、セファデックスG-75を用いたゲル濾過；IgGなどの汚染物質を除去するプロテインAセファロースカラム；及び抗体及び／又は結合ポリペプチドのエピトープタグ形態を結合させる金属キレート化カラム。タンパク質精製の種々の方法を用いることができ、そのような方法は、当技術分野で公知であり、例えばDeutscher, Methods in Enzymology, 182 (1990); Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Springer-Verlag, New York (1982)に記載されている。選択された精製過程（単数又は複数）は、例えば、依存する使用される製造プロセスの性質及び生産される特定の抗体及び／又は結合ポリペプチドに依存するであろう。

20

【0270】

組換え技術を用いる場合、抗体及び／又は結合ポリペプチドは細胞内、細胞膜周辺腔に生成され、又は培地内に直接分泌される。抗体及び／又は結合ポリペプチドが細胞内に生成される場合、第1の工程として、宿主細胞が溶解された細胞の何れにしても、粒子状の細片が、例えば遠心分離又は限外濾過によって除去される。Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992)は、大腸菌のペリプラズム空間に分泌される抗体を単離するための手順を記載している。簡潔には、細胞ペーストは、酢酸ナトリウム（pH 3.5）、EDTA、及びフェニルメチルスルホニルフルオリド（PMSF）の存在下で約30分かけて解凍される。細胞デブリは遠心分離により除去することができる。抗体及び／又は結合ポリペプチドが培地に分泌された場合は、その発現系からの上清を、一般的には先ず市販のタンパク質濃縮フィルター、例えばAmicon又はPelliconの限外濾過装置を用いて濃縮する。PMSFなどのプロテアーゼ阻害剤を上記の任意の工程に含めて、タンパク質分解を阻害してもよく、また抗生物質を含めて外来性の汚染物の成長を防止してもよい。

30

細胞から調製した抗体及び／又は結合ポリペプチドの組成物は、例えば、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、及びアフィニティークロマトグラフィーを用いて精製でき、アフィニティークロマトグラフィーが好ましい精製技術である。アフィニティリガンドとしてのプロテインAの適合性は、抗体中に存在する免疫グロブリンFc領域の種及びアイソタイプに依存する。プロテインAは、ヒト $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、又は $\gamma 4$ 重鎖に基づく抗体の精製に用いることができる（Lindmark等, J. immunol. Meth. 62: 1-13 (1983)）。プロテインGは、全てのマウスアイソタイプ及びヒト $\gamma 3$ に推奨されている（Guss et al., EMBO J. 5:1567-1575 (1986)）。アフィニティリガンドが結合されるマトリクスはアガロースであることが最も多いが、他の材料も使用可能である。孔制御ガラスやポリ（スチレンジビニル）ベンゼン等の機械的に安定なマトリクスは、アガロースで達成できるものより早い流速及び短い処理時間を可能にする。抗体がCH3ドメインを含む場合、Bakerbond ABXTM樹脂(J.T. Baker, Phillipsburg, NJ)が精製

40

50

に有用である。イオン交換カラムでの分画、エタノール沈殿、逆相HPLC、シリカでのクロマトグラフィー、ヘパリンでのクロマトグラフィー、アニオン又はカチオン交換樹脂（ポリアスパラギン酸カラムなど）上でのSEPHAROSETMクロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、SDS-PAGE、及び硫酸アンモニウム沈殿法などのタンパク質精製の他の技術も、回収される抗体及び／又は結合ポリペプチドに応じて利用可能である。

【0271】

任意の予備精製工程（単数又は複数）に続いて、目的の抗体及び／又は結合ポリペプチド及び汚染物質を含む混合物は、pHが約2.5－4.5の間での溶出バッファーを用いて、好ましくは低塩濃度（約0－0.25Mの塩など）で実施される低pH疎水性相互作用クロマトグラフィーに供されてもよい。

10

【0272】

V. 所望の機能を有するSCD1アンタゴニストのスクリーニング及び／又は同定する方法

抗体、結合ポリペプチド、及び／又は小分子などのSCD1アンタゴニストを生成する技術について上記に説明した。本明細書で提供される、抗SCD1抗体、結合ポリペプチド、及び／又は結合小分子などの更なる抗SCD1アンタゴニストは、同定され、当技術分野で公知の様々なアッセイによってその物理的／化学的性質及び／又は生物学的活性についてスクリーニングされ、または特徴づけることができる。

【0273】

20

本明細書に更に提供されるのは、癌細胞周期停止を誘導し、癌細胞の増殖を阻害し、及び／又は癌細胞死を促進するSCD1アンタゴニストをスクリーニングし及び／又は同定するための方法であり、（a）癌細胞、癌組織、及び／又は癌試料をSCD1候補アンタゴニストと接触させ、（b）SCD1の候補アンタゴニストの非存在下で、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルに対して細胞周期段階の分布、細胞増殖のレベル、及び／又は癌細胞死のレベルを決定することを含み、それにより、SCD1の候補アンタゴニストの存在下での癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプル、及びSCD1の候補アンタゴニストの非存在下での癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルの間の細胞周期段階の分布、細胞増殖のレベル、及び／又は癌細胞死のレベルの違いが、癌細胞周期停止を誘導し、癌細胞の増殖を阻害し、及び／又は癌細胞癌死を促進する、SCD1アンタゴニストとしてSCD1アンタゴニストを同定する方法である。SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、SCD1候補アンタゴニストは、癌細胞周期停止を誘導する。SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、SCD1候補アンタゴニストは、癌細胞増殖を阻害する。SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、SCD1候補アンタゴニストは、癌細胞死を促進する。幾つかの実施態様において、癌細胞死はアポトーシスである。幾つかの実施態様において、癌細胞死は壊死である。

30

【0274】

SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、又は癌サンプルは、膀胱癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、頭頸部癌、腎臓癌、卵巣癌、下咽頭、前立腺癌、食道癌、肝細胞癌、及び／又は泌尿器癌である。SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、又は癌サンプルは、膀胱癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、頭頸部癌、腎臓癌、卵巣癌、及び／又は泌尿器癌の群から選択される癌由来である。幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、又は癌サンプルは、膀胱癌、膵臓癌、子宮内膜癌、頭頸部癌、腎臓癌、卵巣癌、及び／又は泌尿器癌の群から選択される癌由来である。幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、又は癌サンプルは、膀胱癌である。

40

【0275】

50

SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、FGFR3を発現する。幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、FGFR3の上昇したレベルを発現する。幾つかの実施態様において、参照癌細胞は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と、実質的に同レベルのFGFR3を発現する。SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、リン酸化FGFR3を発現する。幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、リン酸化FGFR3の上昇したレベルを発現する。幾つかの実施態様において、参照癌細胞は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と、実質的に同レベルのリン酸化FGFR3を発現する。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、FGFR3及び／又はリン酸化FGFR3の既知のレベルの発現の有無にかかわらず非癌性である。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、FGFR3及び／又はリン酸化FGFR3の既知のレベルの発現の有無にかかわらず癌性である。幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプル中のFGFR3の発現は、細胞表面発現である。幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプル中のFGFR3経路は、構成的に活性である。幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプル中のFGFR3経路は、リガンド依存性である。幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、FGFR3に変異を含む。FGFR3における構成的に活性な変異の例は、限定されないが、FGFR3 S249Cを含む。幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、FGFR3の野生型である。SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、FGFR3調節性脂質合成シグナチャーの一以上の遺伝子を発現する。幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、FGFR3調節性脂質合成シグナチャー(FGFR3-regulated lipogenic signature)の一又は複数の遺伝子の上昇したレベルを発現する。幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と、実質的に同一レベルのFGFR3調節性脂質合成シグナチャー(FGFR3-regulated lipogenic signature)を発現する。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、FGFR3調節性脂質合成シグナチャー(FGFR3-regulated lipogenic signature)の一又は複数の遺伝子の既知のレベルの発現の有無にかかわらず非癌性である。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、FGFR3調節性脂質合成シグナチャー(FGFR3-regulated lipogenic signature)の一又は複数の遺伝子の既知のレベルの発現の有無にかかわらず癌性である。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、SREBF1、G6PD、ACOT7、PTPLA、PCCB、FADS1、RDH11、ACER3、PDSS1、MVD、AGPAT5、HSD17B2、ACSL4、EBP、PIGW、LBR、ACLY、ADORA2B、GPCPD1、CYP24A1、ACSL3、MVK、ACSS2、FDPS、ELOVL5、HMGCR、LIPG、ME1、DHCR7、LSS、ACAT2、FASN、CYP51A1、IDI1、FDFT1、FAR2、HMGCS1、SDR16C5、LDLR、

10

20

30

40

50

MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、ELOVL5、HMGCR、LIPG、ME1、DHCR7、LSS、ACAT2、FASN、CYP51A1、IDI1、FDFT1、FAR2、HMGCS1、SDR16C5、LDLR、MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、CYP51A1、IDI1、FDFT1、FAR2、HMGCS1、SDR16C5、LDLR、MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、LDLR、MSMO1、INSIG1、DHRS9、LRP8、SQLE、PCSK9、SCD1、FABP4からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、SQLEを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、PCSK9を、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、SCD1を、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、FGFR3調節性脂質生合成シグナチャーは、FABP4を、含む、からなる、又は、から本質的になる。

【0276】

SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、成熟したSREBP1の上昇したレベルを発現する。SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、成熟したSREBP1の上昇したレベルを発現し、成熟したSREBP2のレベルは実質的に上昇しない（即ち、実質的に同一レベルの発現）。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、成熟したSREBP1及び／又は成熟したSREBP2の既知のレベルの発現の有無にかかわらず、非癌性である。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、成熟したSREBP1及び／又は成熟したSREBP2の既知のレベルの発現の有無にかかわらず、癌性である。

【0277】

SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、 $\Delta 9$ 一価不飽和脂肪酸の上昇したレベルを発現する。SCD1アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、 $\Delta 9$ 一価不飽和脂肪酸：飽和脂肪酸の上昇した比率を発現する。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、

対照組織は、成熟した△9一価不飽和脂肪酸及び／又は飽和脂肪酸の既知のレベルの発現の有無にかかわらず、非癌性である。幾つかの実施態様において、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織は、成熟した△9一価不飽和脂肪酸及び／又は飽和脂肪酸の既知のレベルの発現の有無にかかわらず、癌性である。△9一価不飽和脂肪酸の例は、限定されないが、パルミトレイン酸（C16：1）及びオレイン酸（C18：1）を含む。△9一価不飽和脂肪酸の例は、限定されないが、ステアリン酸（C18：0）及びパルミチン酸（C16：0）を含む。

【0278】

S C D 1 アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、活性化 P I 3 K シグナル伝達、活性化 m T O R シグナル伝達、及び／又は活性化 M E K シグナル伝達を含む。S C D 1 アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、P I 3 K 活性化変異を含む。S C D 1 アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、P T E N の欠失及び／又は変異を含む。S C D 1 アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、p 8 5 変異を含む。S C D 1 アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、A K T 活性化変異を含む。S C D 1 アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、リン酸化 A K T（例えば、p A K T S⁴⁷³）の上昇したレベルを含む。S C D 1 アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、癌細胞、癌組織、及び／又は癌サンプルは、T S C 1 / 2 の欠失及び／又は機能変異を含む。

【0279】

S C D 1 アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子または m R N A））のレベルにおいて、約 5 %、約 10 %、約 20 %、約 25 %、約 30 %、約 40 %、約 50 %、約 60 %、約 70 %、約 80 %、約 85 %、約 90 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 % 又はそれ以上の何れかの全体的な増加を指す。ある実施態様において、上昇した発現とは、サンプル中のバイオマーカーの発現レベル／量の増加を指し、ここでその増加は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、それぞれのバイオマーカーの発現レベル／量の少なくとも約 1.5 X、約 1.75 X、約 2 X、約 3 X、約 4 X、約 5 X、約 6 X、約 7 X、約 8 X、約 9 X、約 10 X、約 25 X、約 50 X、約 75 X、又は約 100 X の何れかである。幾つかの実施態様において、上昇した発現は、参照サンプル、参照細胞、参照組織、対照サンプル、対照細胞、対照組織、又は内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、約 1.5 倍、約 1.75 倍、約 2 倍、約 2.25 倍、約 2.5 倍、約 2.75 倍、約 3.0 倍、又は約 3.25 倍を超える全体的な増加を指す。

【0280】

S C D 1 アンタゴニストをスクリーニングする及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、減少した発現は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織と比較して、本明細書に記載のものなどの標準的な既知の方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子または m R N A））のレベルにおいて、約 5 %、約 10 %、約 20 %、約 25 %、約 30 %、約 40 %、約 50 %、約 60 %、約 70 %、約 80 %、約 85 %、約 90 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 % 又はそれ以上の何れかの全体的な減少を指す。

ある実施態様において、減少した発現とは、サンプル中のバイオマーカーの発現レベル／量の減少を指し、ここでその減少は、参照サンプル、参照細胞、基準組織、対照試料、対照細胞又は対照組織において、それぞれのバイオマーカーの発現レベル／量の少なくとも約0.9X、約0.8X、約0.7X、約0.6X、約0.5X、約0.4X、約0.3X、約0.2X、約0.1X、約0.05X、又は約0.01Xの何れかである。

【0281】

本明細書に記載されるSCD1アンタゴニストの増殖阻害効果は、例えば、内因性に又はそれぞれの遺伝子によるトランスフェクションの後での何れかによりSCD1を発現する細胞を用いて、当技術分野で公知の方法によって評価することができる。例えば、適切な腫瘍細胞株、およびSCD1ポリペプチドをトランスフェクトした細胞は、本明細書に記載されるSCD1アンタゴニストにより、数日間（例えば、2～7日）、種々の濃度で処置することができ、クリスタル・バイオレット又はMTTで染色されるか又は他の比色アッセイによって分析され得る。増殖を測定する別の方法は、本発明の抗体、結合ポリペプチド又は小分子の存在下または非存在下で処置された細胞による³H-チミジンの取り込みを比較することによるであろう。処置後、細胞を収集し、DNAへ取り込まれた放射能の量をシンチレーションカウンターで定量した。適切な陽性対照には、細胞株の増殖を阻害することが知られている成長阻害アンタゴニストにより選択された細胞株を処置することが含まれる。インビボでの腫瘍細胞の増殖阻害は、当該分野で既知の種々の方法で決定することができる。

【0282】

細胞周期段階の分布、細胞増殖のレベル、及び／又は癌細胞死のレベルを決定する方法は当該技術分野で知られており、本明細書の実施例に記載される。幾つかの実施態様において、癌細胞周期の停止は、G1での停止である。

【0283】

幾つかの実施態様において、SCD1アンタゴニストは、インビトロ又はインビボで、癌細胞、癌組織、又は癌サンプルの癌細胞増殖を、未処置の癌細胞、癌組織、又は癌サンプルと比較して、約25～100%、より好ましくは、約30～100%、更により好ましくは約50～100%又は約70～100%だけ阻害するであろう。例えば、増殖阻害は、SCD1アンタゴニストの濃度が細胞培養中で約0.5から約30μg/ml又は約0.5nMから約200nMで測定され得、ここで増殖阻害は、SCD1候補アンタゴニストへの腫瘍細胞の曝露後1～10日に決定される。約1μg/kgから約100mg/kg体重でのSCD1候補アンタゴニストの投与が、SCD1候補アンタゴニストの最初の投与から約5日から3月の間に、好ましくは約5から30日の間に腫瘍サイズ又は腫瘍細胞増殖の減少を生じる場合、SCD1アンタゴニストはインビボで増殖阻害性である。

【0284】

癌細胞死を誘導するSCD1アンタゴニストを選択するため、例えば、ヨウ化プロピジウム（PI）、トリパンプルー又は7AADの取り込みにより示される膜の完全性の喪失を参照に対して評価することができる。PI取り込みは、補体及び免疫エフェクター細胞の非存在下で行うことができる。SCD1を発現する腫瘍細胞を、培地のみ、又は適切なSCD1アンタゴニストを含有する培地でインキュベートする。細胞は、3日間インキュベートされる。各処理後に、細胞凝集塊の除去のために、細胞は洗浄され、35mmのストレーナキャップ付き12×75チューブに等分される（チューブ当たり1ml、処理群当たり3チューブ）。そして、チューブにPI（10μg/mL）を加える。サンプルはFACSCAN（登録商標）フローサイトメーター及びFACSCONVERT（登録商標）CellQuestソフトウェア(Becton Dickinson)を用いて解析され得る。PI取り込みにより決定される統計的に有意な細胞死のレベルを誘導するこれらの抗体、結合ポリペプチド又は結合小分子は、細胞死誘導性抗体、結合ポリペプチド、又は結合小分子として選択することができる。幾つかの実施態様において、癌細胞のアポトーシスは、カスパーゼ3及び／又はカスパーゼ7の活性化によって示される。

【0285】

対象の抗体が結合するポリペプチド上のエピトープに結合又は相互作用する S C D 1 アンタゴニストをスクリーニングするために、Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988)に記載のものなどの常套的な交差遮断(cross-blocking)アッセイを行ってもよい。このアッセイは、試験の S C D 1 アンタゴニストが、既知の抗体と同じ部位またはエピトープを結合するかどうかを決定することができる。代わりに又は付加的に、エピトープマッピングを、当該分野で公知の方法によって行うことができる。例えば、抗体配列又は結合ポリペプチドは、接触残基を同定するために、例えばアラニンスキャニングなどによって突然変異を誘発することができる。変異体抗体及び／又は変異型結合ポリペプチドは、適切なフォールディングを確実にするために、最初にポリクローナル抗体又は結合ポリペプチドとの結合について試験される。別の方法において、ポリペプチドの異なる領域に対応するペプチドを、特徴付けされ又は既知のエピトープによる、試験抗体又は試験結合ポリペプチドとの競合アッセイ、又は試験抗体又は試験結合ポリペプチド及び抗体との競合アッセイにおいて使用することができる。

10

【0286】

スクリーニング及び／又は同定する任意の方法の幾つかの実施態様において、S C D 1 候補アンタゴニストは、抗体、結合性ポリペプチド、結合性小分子、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、S C D 1 候補アンタゴニストは抗体である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは小分子である。

【0287】

20

一態様において、S C D 1 アンタゴニストは、E L I S A、ウェスタンブロット法、などの公知の方法によって、その結合活性（例えば、抗原結合活性）について試験される。

【0288】

V I . 薬学的製剤

本明細書に記載の S C D 1 アンタゴニストの薬学的製剤は、所望の程度の純度を有するその S C D 1 アンタゴニストと任意の薬学的に許容される担体(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.: Williams and Wilkins PA, USA (1980))とを、凍結乾燥製剤または水性溶液の形態で混合することによって調製される。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、結合小分子、抗体、結合ポリペプチド、及び／又はポリヌクレオチドである。薬学的に許容される担体は、使用される投薬量および濃度でレシピエントに毒性でなく、そしてこれには、限定しないが、リン酸塩、クエン酸塩および他の有機酸のような緩衝液；アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤（例えば、オクタデシルジメチオルベンジルアンモニウムクロライド；ヘキサメトニウムクロライド；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えば、メチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；およびm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリジン；マンノサッカライド、ジサッカライド、およびグルコース、マンノースまたはデキストリンを含む他の炭水化物；キレート剤、例えば、E D T A；糖、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトール；塩形成対イオン、例えば、ナトリウム、金属錯体（例えば、Z n-タンパク質錯体）；及び／又はポリエチレングリコール（P E G）等の非イオン性界面活性剤が挙げられる。本明細書における典型的な薬学的に許容される担体は、介在性薬物分散剤、例えば、水溶性の中性アクティブヒアルロニダーゼ糖タンパク質（s H A S E G P）、例えば、r H u P H 2 0（H Y L E N E X（登録商標）、Baxter International, Inc.）などのヒト可溶性 P H - 2 0 ヒアルロニダーゼ糖タンパク質を更に含む。所定の典型的な s H A S E G P 及び使用法は、r H u P H 2 0 を含む、米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 2 6 0 1 8 6 号及び第 2 0 0 6 / 0 1 0 4 9 6 8 に開示されている。一態様において、s H A S E G P は、コンドロイチナーゼなどの

30

40

50

1つまたは複数の追加のグルコサミノグリカンと組み合わせられる。

【0289】

典型的な凍結乾燥製剤は、米国特許第6267958号に記載されている。水性の製剤は、米国特許第6171586号及び国際公開第2006/044908号に記載されているものが含まれ、後者の製剤はヒスチジーン酢酸緩衝液を含む。

【0290】

本明細書の製剤はまた、治療を受けている特定の徴候のために必要な一以上の活性成分、好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を持つものが含まれる場合がある。このような活性成分は、意図した目的のために有効な量で組み合わせられ適切に存在する。活性成分は、例えば、コアセルベーション技術又は界面重合法によって、例えばそれぞれヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ(メチルメタクリレート(methylmethacrylate))マイクロカプセル)により、コロイド薬物送達系で(例えばリポソーム、アルブミンミクロスフィア、ミクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル)又はマクロ・エマルジョンで調製されたマイクロカプセルに封入されてもよい。このような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に開示される。

10

【0291】

徐放性製剤が調製されてもよい。徐放性製剤の好適な例は、抗体及び／又は結合ポリペプチドを含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、そのマトリクスが成形品、例えばフィルムまたはマイクロカプセルの形をしている。

20

【0292】

インビボ投与に使用される製剤は、一般的に無菌である。無菌性は、例えば、滅菌濾過膜を通して濾過することにより、達成することができる。

【0293】

V I I . 製造品

本発明の他の実施態様において、上述した障害の治療、予防、及び／又は診断に有用な物質を含む製造品が提供される。製造品は、容器とラベルまたは容器上にある又は容器に付属するパッケージ挿入物を含む。好適な容器は、例としてボトル、バイアル、シリンジ、I V輸液バッグ等を含む。容器はガラス又はプラスチックなどの様々な物質から形成されうる。容器は、疾患の治療、予防、及び／又は診断に有効である、それ自体か、又はその他の組成物と併用される化合物を収容し、無菌のアクセスポートを有し得る(例えば、容器は皮下注射針による穴あきストッパーを有する静脈内溶液バッグ又はバイアルであってもよい)。組成物中の少なくとも一の活性剤は本発明のS C D 1アンタゴニストである。ラベルまたはパッケージ挿入物は、組成物が特定の症状の治療のために使用されることを示している。更に、製造品は、(a)組成物がS C D 1アンタゴニストを含有する組成物を含む第一の容器；および(b)組成物が更なる細胞障害性又はその他の治療的薬剤を包含する組成物を含む第2の容器を含み得る。

30

【0294】

幾つかの実施態様において、製造品は、容器、該容器上のラベル、及び該容器内に含まれる組成物を含み；ここで組成物は、一以上の試薬(例えば、本明細書に記載される、バイオマーカーの一又は複数に結合する一次抗体又はバイオマーカーの一又は複数に対するプローブ及び／又はプライマー)、組成物がサンプル中の一又は複数のバイオマーカーの存在を評価するために使用することができることを示す容器上のラベル、及びサンプル中の一又は複数のバイオマーカーの存在を評価するための試薬の使用説明書を含む。製造品は、サンプルを調製し、試薬を利用するための使用説明書と物質を更に含む。幾つかの実施態様において、製造品は、一次及び二次抗体の両方を含み、ここでは該二次抗体は標識、例えば酵素的標識にコンジュゲートしている。幾つかの実施態様において、製造品は、本明細書に記載される、一又は複数のプローブ及び／又は一又は複数のバイオマーカーである。

40

【0295】

50

任意の製造品の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは F G F R 3 である。任意の製造品の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーはリン酸化 F G F R 3 である。

【0296】

任意の製造品の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャー (FGFR3-regulated lipogenic signature) の一又は複数の遺伝子である。幾つかの実施態様において、F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、S R E B F 1、G 6 P D、A C O T 7、P T P L A、P C C B、F A D S 1、R D H 1 1、A C E R 3、P D S S 1、M V D、A G P A T 5、H S D 1 7 B 2、A C S L 4、E B P、P I G W、L B R、A C L Y、A D O R A 2 B、G P C P D 1、C Y P 2 4 A 1、A C S L 3、M V K、A C S S 2、F D P S、E L O V L 5、H M G C R、L I P G、M E 1、D H C R 7、L S S、A C A T 2、F A S N、C Y P 5 1 A 1、I D I 1、F D F T 1、F A R 2、H M G C S 1、S D R 1 6 C 5、L D L R、M S M O 1、I N S I G 1、D H R S 9、L R P 8、S Q L E、P C S K 9、S C D 1、F A B P 4 からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、E L O V L 5、H M G C R、L I P G、M E 1、D H C R 7、L S S、A C A T 2、F A S N、C Y P 5 1 A 1、I D I 1、F D F T 1、F A R 2、H M G C S 1、S D R 1 6 C 5、L D L R、M S M O 1、I N S I G 1、D H R S 9、L R P 8、S Q L E、P C S K 9、S C D 1、F A B P 4 からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、C Y P 5 1 A 1、I D I 1、F D F T 1、F A R 2、H M G C S 1、S D R 1 6 C 5、L D L R、M S M O 1、I N S I G 1、D H R S 9、L R P 8、S Q L E、P C S K 9、S C D 1、F A B P 4 からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、L D L R、M S M O 1、I N S I G 1、D H R S 9、L R P 8、S Q L E、P C S K 9、S C D 1、F A B P 4 からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーの一又は複数の遺伝子は、S Q L E、P C S K 9、S C D 1、F A B P 4 からなる群からの一又は複数の遺伝子、及びその組み合わせを、含む、からなる、又は、から本質的になる。幾つかの実施態様において、F G F R 3 調節性脂質生合成シグナチャーは、S C 4 M O L を、含む、からなる、又は、から本質的になる。

【0297】

任意の製造品の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは成熟した S R E B P 1 である。任意の製造品の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは $\Delta 9$ 一価不飽和脂肪酸である。任意の製造品の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは $\Delta 9$ 一価不飽和脂肪酸：飽和脂肪酸の比率である。任意の製造品の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは P I 3 K シグナル伝達、m T O R シグナル伝達、M E K シグナル伝達である。任意の製造品の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーは、P I 3 K、P T E N、p 8 5、T S C 1 / 2、及び A K T からなる群から選択される遺伝子の一又は複数の多型である。任意の製造品の幾つかの実施態様において、一又は複数のバイオマーカーはリン酸化 A K T である。製造品の他の任意の成分には、一又は複数のバッファー（例えば、ブロッキングバッファー、洗浄バッファー、基質バッファー等）、他の試薬、例えば酵素標識により化学的に改変される基質（例えば色素原）、エピトープ回収液、コントロール試料（正及び／又は負のコントロール）、コントロールスライド等が含まれる。

【0298】

任意の製造品の幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは、抗体、結合性

10

20

30

40

50

ポリペプチド、結合性小分子、又はポリヌクレオチドである。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは小分子である。幾つかの実施態様において、S C D 1 アンタゴニストは抗体である。幾つかの実施態様において、抗体は、モノクローナル抗体である。幾つかの実施態様において、抗体はヒト、ヒト化、又はキメラ抗体である。幾つかの実施態様において、抗体は抗体断片であり、抗体断片は、S C D 1 に結合する。

【0299】

本発明の本実施態様における製造品は、組成物が特定の疾患を治療することに用いることができることを示すパッケージ挿入物をさらに含んでもよい。別法として、または加えて、製造品は、薬学的に許容されるバッファー、例えば注射用静菌水 (B W F I)、リン酸緩衝化塩水、リンガー溶液およびデキストロース溶液を含む第二 (または第三) の容器をさらに含んでもよい。これは、他のバッファー、希釈剤、フィルター、針、およびシリンジを含む、商業的およびユーザーの立場から望まれる他の物質のさらに含んでもよい。

10

【0300】

上記の製造品のいずれかは、S C D 1 アンタゴニストの代わりか又はそれに加えて、本明細書に記載されるイムノコンジュゲートを含み得ることが理解される。

【実施例】

【0301】

以下は本発明の方法および組成物の例である。上記提供される一般的な説明を前提として、他の様々な実施態様が実施され得ることが理解される。

20

【0302】

実施例の材料と方法

細胞培養、s i R N A トランスフェクション及び試薬

ヒト膀胱癌細胞株の S W 7 8 0、B F T C-9 0 5 及び C a 1 2 9 は A T C C から入手した。R T 1 1 2 細胞は、微生物及び細胞培養のドイツコレクションから購入した (DSMZ, Germany)。F G F R 3 または E G F P を標的としたドキシサイクリン誘導性 s h R N A を安定的に発現する R T 1 1 2 細胞は以前に説明されている (24)。膀胱癌細胞株 U M U C-1 4 は、ミシガン大学の H. B. Grossman (Currently at University of Texas M. D. Anderson Cancer Center, TX) 博士から入手した。膀胱癌細胞株 T C C-9 7-7 は、セントジェームズ大学病院 (Leeds, United Kingdom) の Margret Knowles 博士からの贈り物であった。細胞は、37℃、5% C O 2 の条件下で、10% ウシ胎児血清 (F B S) (S i g m a)、100 U / m l ペニシリン、0.1 m g / m l のストレプトマイシン及びL-グルタミンを補充した R P M I 培地により維持した。

30

【0303】

ラバマイシンおよび P I 3 K 阻害剤 L Y 2 9 4 0 0 2 は、セルシグナリングテクノロジー (Danvers, MA) から得た。強力で選択的な M E K 1 / 2 阻害剤 P D 0 3 2 5 9 0 1 (ファイザー) は Synthesis Med Chem (San Diego, CA) から購入した。S C D 1 の小分子阻害剤 A 3 7 0 6 2 は B i o F i n e インターナショナル (Vancouver, Canada) から購入した。

【0304】

全ての R N A 干渉実験は、O N-T A R G E T p l u s s i R N A (50nM, Dharmacon, Lafayette, CO) を用いて行った。細胞は、リポフェクタミン R N A i M A X (Invitrogen, Carlsbad, CA) でトランスフェクトし、細胞増殖及びアポトーシスは、トランスフェクション後48時間又は72時間後に評価した。

40

【0305】

遺伝子発現アレイ及び分析

F G F R 3 または E G F P を標的とするドキシサイクリン誘導性 s h R N A を発現する R T 1 1 2 細胞を、ドキシサイクリン (1 μ g / m l) の存在下又は非存在下で48時間10 cm プレート中で増殖させた。サブコンフルエント細胞培養物からの全 R N A を、R N A e a s y キット (Qiagen) を用いて単離した。R N A の品質は、A g i l e n t バイオア

50

ナライザー 2100 でサンプルを流すことにより確認した、十分な品質のサンプルは、アフィメトリクス HGU133-Plus_2.0 チップ上でプロファイリングした。マイクロアレイ研究は、三通りの RNA サンプルを用いて行った。相補的 RNA の調製、アレイハイブリダイゼーション、スキャニング、及び続く配列画像データ解析は、製造者のプロトコルに従って行った。全てのプローブセットについての発現概要値は、バイオコンダクターからの affy パッケージに実装された RMA アルゴリズムを用いて計算した。示差的に発現される遺伝子の統計分析は、線形モデル及びバイオコンダクターから LIMMA パッケージに実装されている経験的ベイズ統計を用いて実行された。示差的に発現される遺伝子によって過剰発現される生物学的プロセスを得るために、遺伝子オントロジー (GO) 生物学的プロセスカテゴリと遺伝子の関連についての超幾何学的試験が、Gostats とカテゴリパッケージを用いて行われた。発現プロファイルの階層的クラスタリングを、距離尺度として (1-ピアソンの相関) 及び凝集法としてウォードの最小分散法を用いて行った。

10

【0306】

mRNA 発現レベルの定量的 RT-PCR 分析

SREBP1、SREBP2、FASN、SCD1、SQLE、及び HMGCoA シンターゼの転写物を検出するために、定量的 RT-PCR を、予め設計された Taqman 遺伝子発現アッセイ (Applied Biosystems) を用いて行った。全ての反応は、少なくとも二重実施した。全ての mRNA の相対量は、ヒト RPL19 に対して正規化した後、比較 CT 法を用いて計算した。

20

【0307】

総脂肪酸合成の分析

脂質生合成活性は、報告されたように、脂肪酸への $[1, 2-^{14}\text{C}]$ 酢酸 (Perkin Elmer, Waltham, MA) の取り込みをモニターすることにより決定した (39)。 $[1, 2-^{14}\text{C}]$ 酢酸 (0.1% BSA を含む DMEM 培地中に $0.5 \mu\text{Ci/mL}$) が細胞に添加され、 37°C で 4 時間インキュベートした。細胞を、氷冷 PBS で 2 回洗浄し掻き集められ、2% KOH 中で溶解した。溶解物を試験管に移し、一晩 80°C でけん化した。ステロール及び他の中性脂質をジエチルエーテルで 2 回抽出した。次いで、下部相を 6N の HCl で中和し、脂肪酸を抽出するためにヘキサンと 2 回混合した。脂肪酸画分を回収し、窒素蒸気下で乾燥させ、シンチレーション計数により分析した。 $[^{14}\text{C}]$ 放射活性を、タンパク質含量をサンプリングするために正規化した。

30

【0308】

SCD1 活性アッセイ

SCD1 の活性は、 $[1-^{14}\text{C}]$ 18:0 ステアリン酸 (American Radiolabeled Chemicals, St. Louis, MO) の不飽和化又は $[1, 2-^{14}\text{C}]$ 酢酸の一価不飽和脂肪酸への組み込みをモニタリングすることにより決定した。細胞を標識された基質と共に 6~8 時間インキュベートした。上述したように、全脂質を単離し、メタノール中の 14% 三フッ化ホウ素を 1 mL に溶解し、6 時間 64°C でインキュベートした。1 mL の水を加えた後、メチルエステルを 2 mL のヘキサンで抽出し、Wilson と Sergeant の手順に従い、ヘキサン/ジエチルエーテル (85:15、v/v) からなる溶媒相を使用して 10% 銀色含浸シリカゲルプレート上で薄層クロマトグラフィー (TLC) により分離した。分離後、風乾したプレートを X 線フィルムに曝露し、TLC 上で脂肪酸スポットを掻きとり、液体シンチレーション分光計を用いて放射能をカウントした。SCD1 活性は、ステアリン酸メチルエステル酸に対するオレイン酸に対する比率、又はパルミチン酸メチルエステル酸に対するパルミトレイン酸に対する比率として表した。

40

【0309】

BSA 複合体化オレイン酸及びパルミチン酸の調製

50 mM のオレイン酸又はパルミチン酸のストック溶液を、オレイン酸とパルミチン酸のナトリウム塩 (Sigma-Aldrich) を用いて、4 mM の NaOH 中で調製した。脂肪酸フリーの BSA (Sigma-Aldrich) を、4 mM の最終濃度で蒸留水で調製した。オレイン酸又は

50

パルミチン酸の50 mMストックの1容量を、4 mMのBSAの1.5容量と混合し、1時間55℃に加熱し、脂肪酸/BSA比が～8.3:1で、BSA複合体化オレイン酸又はパルミチン酸の20 mMストック溶液を得た。

【0310】

SCD1のshRNAを発現するSW780の安定した細胞の生成

三つの独立したSCD1 shRNAは、ジェネンテックが開発したPG-pHUSHレンチウイルスベクターにクローニングした。ベクターの詳細情報は、要求に応じて提供されることになる。研究で使ったSCD1 shRNAの配列は次の通りである：shRNA1: 5'-GATCCCCCTACAAAGAGTGGCTGAGTTTTCAGAGAAACTCAGCCACTCTTGTAGTTTTTTTGGAAA-3' (配列番号2) ;

shRNA2: 5'-GATCCCCCTACGGCTCTTTCTGATCATTCAGAGAGATGATCAGAAAGAGCCGTAAGTTTTTTTGGAAA-3' (配列番号3) ;

shRNA3: 5'-GATCCCCGACATCAACTTCAACCACATTCAGAGAGATGTGGTGAAGTTGATGTGCTTTTTTTGGAAA-3' (配列番号4)。全ての構築物を配列決定により確認した。EGFP対照shRNAは、以前に記載している(24)。shRNAを含有するレンチウイルスは、パッケージングプラスミドデルタ8.9、エンベローププラスミドVSV-G及びPG-pHUSH-shRNA構築物とともにGNE293T細胞を同時トランスフェクトすることによって産生された。ウイルス上清は、トランスフェクション後48および72時間後に回収し、0.45 μmのシリンジフィルターを通して濾過することにより細胞の破片が取り除かれた。レンチウイルス形質導入及び安定な細胞の選択は、説明されるように行った(24)。

【0311】

細胞増殖とアポトーシスの研究

低分子干渉RNA実験のために、トランスフェクション後72時間で、細胞を[メチル-³H]チミジン取り込みのために処理した。ドキシサイクリン誘導性shRNAの実験のために、細胞を72時間1 μg/mLのドキシサイクリンを含み又は含まずに処理し、その後更に16時間[³H]チミジンとインキュベートした。SCD1小分子阻害剤実験のために、細胞を48時間、DMSO又はDMSO単独で指示された濃度のA37062で処置した。細胞生存率をCell Titer-Glo (Promega)を用いて評価した。カスパーゼ3及びカスパーゼ7の活性化は、Caspase-Glo 3/7アッセイキット (Promega)を用いて測定した。値は四つ組みの平均値+/-SDとして表される。データは、少なくとも3つの独立した実験の代表である。

【0312】

細胞周期の解析のため、細胞懸濁液を、70%エタノール中で固定し、室温で15分間ヨウ化プロピジウムとRNase染色緩衝液(BD Pharmingen)を0.5 mLで染色した。アポトーシスのフローサイトメトリー分析のために、iToTracker Red及びAlexa Fluor 488がコンジュゲートしたアネキシンVを、製造業者 (Invitrogen)の説明に従って細胞を染色するために使用した。フローサイトメトリーデータ解析及び可視化をFlowJo v8.4ソフトウェア (Tree Star, Inc.)を使用して実施した。

【0313】

タンパク質の分析

図の説明文に記載されているように、細胞を処理した。全細胞ライセート用に、細胞を氷冷PBSで2回洗浄し、ホスファターゼ阻害剤カクテルPhosSTOP及び完全プロテアーゼ阻害剤カクテル(Roche Applied Science, Indianapolis, IN)を補充したRIPA緩衝液中で抽出した (Millipore, Billerica, MA)。ライセートは遠心分離によって不溶物が取り除かれた。腫瘍異種移植片におけるタンパク質発現の分析のために、腫瘍組織からのライセートを、(プロテアーゼ阻害剤およびホスファターゼ阻害剤を補充した15

10

20

30

40

50

0 mM塩化ナトリウム、20 mMのトリス (pH 7.5)、2 MのEDTA、1%トリトンX-100、10 mMのフッ化ナトリウムからなる) 溶解緩衝液とともに、製造業者(MP Biomedicals, Irvine, CA)により記載されたようにファストプレッシャー24ホモジナイザーを用いて凍結組織を粉砕することによって、抽出した。

【0314】

pFGFR3を検出するために、FGFR3はウサギポリクローナル抗体(sc-123, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)を用いて免疫沈降させ、ナトリウムドデシルポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)及びウェスタンブロットによって分析した。リン酸化されたFGFR3は、リン酸化チロシン(4G10, Millipore)又はpFGFR^{Y653/645}(#3476, Cell Signaling Technology, Danvers, MA)に対するモノクローナル抗体を用いて評価した。腫瘍組織においてSCD1を検出するために、SCD1は、マウスモノクローナル抗体(GTX19862, GeneTex, Irvine, CA)を用いて同量のライセートから免疫沈降し、ウサギSCD1抗体(#2438, Cell Signaling Technology)で探索した。

【0315】

使用した一次ブロッティング抗体は、FGFR3 (sc-13121, Santa Cruz Biotechnology)、SREBP1 (sc-13551, Santa Cruz Biotechnology)、SREBP2 (557037, BD Pharmingen)、完全FRS2 (sc-8318, Santa Cruz Biotechnology)、pAKT^{T308}(#2214-1, Epitomics)である。以下の一次抗体は、Cell Signaling Technologyから購入した：pFRS2^{Y196}(#3864)、FASN(#3189)、pAKT^{S473}(#4060)、完全AKT(#9272)、pMAPK(#9101)、完全MAPK(#4695)、pS6(#2211)、切断されたカスパーゼ3(#9664)、完全カスパーゼ3(#9665)、切断されたカスパーゼ7(#9491)、完全カスパーゼ7(#9492)、及びPARP(#9542)。ブロットを、化学発光基質(ECL Plus, Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)を用いて可視化した。

【0316】

異種移植研究

6-8週齢のメスのCB17重症複合免疫不全症(SCID)マウスは、チャールズリバー研究所(Hollister, CA)から購入した。メスの無胸腺ヌードマウスはHarlan研究所(Hayward, CA)から入手した。マウスは、特定病原体フリーの条件下で維持した。SW780 shRNA安定細胞(7×10^6)をCB17・SCIDマウスの側腹部に、HBSs/マトリゲル(1:1 v/v, BD Biosciences)中で0.2ミリリットルの容量で皮下移植した。UMUC-14細胞(5×10^6)及びHCT-15細胞(5×10^6)は、マトリゲルなしで、無胸腺ヌードマウスに移植した。有効性研究のために、150-200 mm³の平均容積の腫瘍を有するマウスを無作為に8又は10の処置コホートに分類した。shRNA研究のために、マウスにH₂O単独又は1 mg/mLのドキシサイクリンを補充したスクロースが与えられた。SCD1阻害剤A37062(75 mg/kg)又はビヒクル対照を、21日間強制経口投与により1日2回投与した。図18の実験では、SCD1阻害剤G02447171及びA37062、又はビヒクル対照の異なる用量を、21日間強制経口投与により1日2回投与した。腫瘍体積の結果は平均腫瘍容積 $\pm$ SEMとして提示され、データはスチューデントt検定により分析した。体重とキャリパー測定は週2回行われ、腫瘍体積を式 $V = 0.5 \times a \times b^2$ を用いて計算され、ここでa及びbは、それぞれ、腫瘍の長さ及び幅である。腫瘍体積の結果は平均腫瘍容積 $\pm$ SEMとして提示され、データはスチューデントt検定により分析した。

【0317】

腫瘍組織及びマウス血漿及び肝臓における脂肪酸不飽和化を分析するために、サンプルは、有効性研究の終了時(最終投与後2時間)に採取され、瞬間凍結した。脂肪酸プロファイリングは、ケン化およびメチル化のための標準的な試料調製法を用いて、Microbial ID, Inc (Newark, DE)により行われた。脂肪酸メチルエステルを抽出し、分析のためにガスクロマトグラフにロードした。不飽和化指数は、ステアリン酸メチルエステル酸に対す

るオレイン酸に対する比率、又はパルミチン酸メチルエステル酸に対するパルミトレイン酸に対する比率として表した。

【0318】

統計

プールされたデータは平均 $\pm$ SEMとして表した。独立スチューデントt検定(両側)を両群間の比較のために使用した。P<0.05の値は、全ての実験において統計的に有意とみなした。

【0319】

細胞生存率及びカスパーゼ3/7活性アッセイ

SCD1小分子阻害剤実験のために、細胞を48時間、DMSO又はDMSO単独で指示された濃度のA37062 (Abbott化合物4c)又はG02447171.1 (Daichii化合物24)で処置した。細胞生存率は処置の72時間後にCellTiter-Gloで評価した(Promega)。カスパーゼ3及びカスパーゼ7の活性化は、処置の48時間後にCaspase-Glo 3/7アッセイキット(Promega)を用いて測定した。値は四つ組みの平均値 $\pm$ SDとして表される。データは、少なくとも3つの独立した実験の代表である。

【0320】

実施例1: FGFR3のノックダウンは、ステロール及び脂肪酸生合成及び代謝に与する遺伝子の発現を抑制する。

ドキシサイクリン誘導性shRNAを使用して、膀胱癌細胞系RT112におけるFGFR3のノックダウンは、Qing et al. J. Clin. Invest. 119(5):1216-1229 (2009)に示したように、インビトロ及びインビボで有意に腫瘍増殖を減弱した。潜在的なFGFR3一 downstream 標的を同定するため、対照shRNA又は3つの独立したFGFR3 shRNAの何れかを発現するRT112由来細胞株の転写プロファイルと比較した。異なるFGFR3のshRNAを発現する3つのRT112由来細胞株の使用は、これらの独立に樹立された細胞株において非特異的な相違についての対照を提供した。全ての細胞株は、マイクロアレイ解析のmRNAを単離する前にFGFR3タンパク質を枯渇させるため、48時間ドキシサイクリンを含み又は含まずに処置された。対照のshRNA細胞においてでなく、3つの全てのFGFR3のshRNA細胞株において、ドキシサイクリン誘導時に示差的に発現された遺伝子(偽発見率<0.1、倍率変化>2)は、潜在的なFGFR3調節遺伝子と考えられた(図1)。アレイ上に表された19701遺伝子のうち、313の遺伝子は、196が上方制御され117が下方制御され、FGFR3ノックダウンに回答して一貫した差次的発現を示した(図2Aおよび図1、表2も参照)。

【0321】

これらのFGFR3調節遺伝子の機能的分類は、著しく下方制御された遺伝子の大部分(p値<0.01)が脂肪酸およびステロール生合成および代謝に与する酵素やタンパク質のコホートをコードすることを明らかにした。SCD1は、モノ不飽和脂肪酸に飽和脂肪酸の変換を触媒する律速酵素であり、最も大きな減少を示す遺伝子の一員であった(3.85倍減、図2B)。このクラスはまた、脂肪酸合成酵素(FASN)、ヒドロキシメチルグルタリル補酵素1(HMGCS1)、及びスクアレンエポキシダーゼ(SQLE)を含んでいた(図2B)。マイクロアレイの結果は更に、代表的な遺伝子のmRNA存在量レベルの定量的RT-PCR(qRT-PCR)分析を用いて確認した(図2C及びD)。更に、これらの脂質生合成遺伝子のFGFR3一依存性調節はまた、低分子干渉RNA(siRNA)媒介性FGFR3ノックダウンにより膀胱癌細胞株UMUC-14で確認された(図3A及びB)。一緒に、これらのデータは、ステロールおよび脂質生合成および代謝経路上のFGFR3シグナル伝達の主な作用を示唆している。

【0322】

加えて、特異的抗FGFR3抗体、R3Ma bは、UMUC-14腫瘍異種移植片における脂質生合成遺伝子の発現を減少させた。UMUC-14異種移植腫瘍は、対照抗体(CTRL Ab)又はR3Ma bで処置し、腫瘍組織は第5日に回収された。全RNAはマ

10

20

30

40

50

マイクロアレイ分析のために腫瘍組織から単離した。C t r l A b に比べて R 3 M a b による有意な調節を示す遺伝子をさらに分析した。S C 4 M O L を更に含む全ての遺伝子とは、同様に s i - R N A 媒介性 F G F R 3 ノックダウンを用いて下方調節された。

【0323】

我々の発現アレイ研究で同定されたこれらの脂質生合成遺伝子の大多数は主要な転写因子の S R E B P ファミリーにより調節されるのため、S R E B P 1 及び S R E B P 2 の m R N A レベルを、q R T - P C R を用いて検討し、R T 1 1 2 細胞における F G F R 3 のノックダウンは、控えめに約 50% S R E B P 1 の m R N A レベルを減少し、S R E B P 2 レベルに影響を及ぼさないことを見いだした(図 2 E)。同様の結果が F G F R 3 の s i R N A でトランスフェクトした U M U C - 1 4 細胞で観察された(図 3 C)。これらの

10

【0324】

実施例 2: F G F R 3 のノックダウンは、脂肪酸合成及び不飽和化を阻害する

マイクロアレイ及び q R T - P C R の結果に基づいて、脂質生合成および細胞事象の調節における F G F R 3 シグナル伝達の役割を調べた。第一に、F G F R 3 ノックダウン時の S R E B P 1 の発現及び活性化を検討したコレステロール及び脂肪酸欠乏に応答して、S R E B P 1 は、N 末端タンパク質分解切断、続いて核移行を経て、脂質合成酵素の転写誘導を誘発することが知られている。ドキシサイクリンによる F G F R 3 s h R N A の誘導は、F G F R 3 タンパク質レベルを減少させる(図 4 A)。ドキシサイクリン処置はまた、S R E B P 1 の全長ならびに切断された成熟形態を減少させたが、全長又はプロセスされた S R E B P 2 に影響を及ぼさなかった(図 4 A)。F A S N の緩やかな減少及び S C D 1 レベルの明白な減少が、対照 s h R N A 細胞でなく、F G F R 3 s h R N A を発現する細胞で観察された(図 4 A)。[1, 2 - ¹⁴C] 酢酸とインキュベートした R T 1 1 2 細胞の更なる分析は、F G F R 3 のノックダウンが著しく脂肪酸合成を減少させることを明らかにした(図 4 B)。この観察と一致して、抗 F G F R 3 特異的抗体、R 3 M a b による U M U C - 1 4 細胞の 24 時間の処理は(その全体が参考として援用される、国際公開第 2010/111367 号を参照)、S R E B P 1 の完全長及び活性型のレベル並びに F A S N および S C D 1 の発現を減少させた(図 5 A)。同様に、U M U C - 1 4 細胞において総脂肪酸合成は R 3 M a b により減少した(図 5 B)。

20

30

【0325】

F G F R 3 ノックダウンほとんど S C D 1 の発現を消滅させ、S C D 1 はモノ不飽和脂肪酸の生合成の律速酵素であるため、脂肪酸不飽和化に対する F G F R 3 s h R N A の作用を、[¹⁴C] 標識ステアリン酸を用いて調べた。F G F R 3 s h R N A は、飽和ステアリン酸前駆体からの不飽和オレイン酸の産生をブロックしたが、対照の s h R N A は影響を与えなかった(図 4 C 及び D)。まとめると、これらの結果は、S R E B P 1 発現及び/又は切断の減少、並びに F A S N と S C D 1 を含む主要な脂質合成酵素の減少を伴い、F G F R 3 の阻害はデノボ脂肪酸合成および不飽和化の顕著な減少を引き起こしたことを示唆している。

【0326】

40

実施例 3: F G F R 3 シグナル伝達は、S R E B P 1 を活性化し、P I 3 K - m T O R C 1 を通して新規脂肪酸合成を促進する

新規脂質生合成の F G F R 3 調節の基礎をなす分子回路を別々にするために、膀胱癌細胞における F G F R 3 シグナル伝達は、F G F 1 で活性化され、S R E B P 1 発現および切断が分析された。C a l 2 9 膀胱癌細胞株は、高レベルの F G F R 3 を内因的に発現し、そして F G F 1 処置は、F G F R 3 及び下流のシグナル伝達エフェクターの強固なリン酸化及び活性化を時間用量依存的に誘発した(図 6 A 及び図 7 A)。F G F 1 は、全長不活性 S R E B P 1 タンパク質レベルに影響を与えなかったが、S R E B P 1 の切断された活性型は、2 時間の処置後において実質的に高くなり、蓄積は、24 時間の実験の全過程で持続した(図 6 A)。対照的に、完全長又はプロセスされた S R E B P 2 のどちらが

50

も影響を受けなかった。同様に、S C D 1 タンパク質レベル、およびより少ない程度に F A S N が、F G F 1 によって誘導された（図 6 A）。これらの変化と一致して、F G F 1 は、24 時間のインキュベーション後、全脂肪酸の合成を増加させた（図 6 B）。分画分析は、飽和および不飽和脂肪酸の両方が、F G F 1 により誘導されたことを明らかにした（図 6 B）。同様の結果が、完全長 S R E B P 1 の緩やかな増加を伴い、遅い動態で、R T 1 1 2 細胞において観察され、活性 S R E B P 1 の蓄積は、処置後約 24 時間でピークに達した（図 7 B、C 及び D）。

【0327】

F G F 1 刺激による S C D 1 などの脂質合成酵素の誘導が、プロセスされた活性な S R E B P 1 に依存するかどうかを判断するため、R T 1 1 2 細胞において S R E B P 1 又は S R E B P の発現が s i R N A を用いて枯渇された。s i R N A 標的性 S R E B P 1 は、基礎及び F G F 1 により誘導される S C D 1 発現の両方を著しく減少させるが、S R E B P 2 だけのノックダウンは効果がなかった（図 6 C）。興味深いことに、S R E B P 1 と S R E B P 2 の両方の標的化は、S C D 1 の発現をほぼ完全に消失させ（図 6 C）、S R E B P 1 は S C D 1 発現の調節に主要な役割を果たしているが、S R E B P 1 と S R E B P 2 両方が F G F 1 刺激の際の S C D 1 の最大の誘導の一因となることを示唆している。同様に、F A S N の誘導も S R E B P 1 と S R E B P 2 の両方に依存し、S R E B P 1 がより重要な役割を果たしている（データ示さず）。

【0328】

脂質生合成の調節における F G F R 3 下流のシグナル伝達カスケードの関与を評価するために、標準の F G F R 3 シグナル伝達が複数のノードで P I 3 K 阻害剤 L Y 2 9 4 0 0 2、m T O R C 1 の阻害剤ラパマイシン、及び強力かつ選択的な M E K 1 / 2 阻害剤 P D 3 2 5 9 0 1 によって薬理的にブロックされた。R T 1 1 2 膀胱癌細胞において、各阻害剤は、A K T、S 6、及び M A P K それぞれのリン酸化によって評価されるように、その意図した標的 F G F 1 誘導活性化を鈍らせた（図 8 A）。阻害剤は、完全長 S R E B P 1 タンパク質の発現に最小の効果を誘発しつつ、それらは全て、切断された活性な S R E B P 1 の基礎および F G F 1 により誘導されるレベルの両方を実質的に減少させた。協調的に、S C D 1 発現は阻害剤の各々によって有意に減少し、P I 3 K 阻害剤の L Y 2 9 4 0 0 2 が最強の阻害を示した。F A S N 発現は、阻害剤の各々によってのみ緩やかに減少した（図 8 B）。阻害剤による R T 1 1 2 細胞の処置は、F G F 1 により刺激される全脂肪酸合成を著しく抑制し、L Y 2 9 4 0 0 2 と P D 3 2 5 9 0 1 が最も強力な阻害効果を示した（図 8 C）。注目に値する。C a 1 2 9 膀胱癌細胞において、ラパマイシン及び L Y 2 9 4 0 0 2 は、R T 1 1 2 細胞において観察された結果と一致して、活性な S R E B P 1 の蓄積と S C D 1 の発現をブロックしたことが注目に値する（図 9）。しかし、C a 1 2 9 細胞では、選択的 M E K 1 / 2 阻害剤 P D 3 2 5 9 0 1 は、活性 S R E B P 1 の F G F 1 誘発性蓄積を部分的にしか減少させず、S C D 1 誘導に大きな影響を与えなかった（図 9）。したがって、膀胱癌細胞において、F G F R 3 は S R E B P 1 切断及び活性化を促進するために P I 3 K - m T O R C 1 の軸を介して主にシグナル伝達し、新規脂質生合成の上昇および脂肪酸の不飽和化が生じる。M E K - M A P K 経路の寄与は、細胞株及び／又はコンテキスト依存であってもよい。

【0329】

実施例 4：S C D 1 の s i R N A 媒介性ノックダウンは細胞周期の進行を遮断し、活性 F G F R 3 シグナル伝達により膀胱癌細胞においてアポトーシスを誘導する

新規脂質生合成は、細胞の成長および増殖のための前提条件である、新しい膜および細胞小器官を形成するために、急速に増殖する細胞において必要である。脂質及びその代謝中間体はまた、シグナル伝達分子の脂質化を介するシグナル伝達、細胞内のタンパク質の局在化の調節を制御することができ、又はセカンドメッセンジャーとしての役割を果たす。これにより、乳癌、前立腺癌及び膠芽細胞腫を含む特定の癌の型は、制御されない細胞増殖および生存のための新規脂肪酸合成に依存すると仮定されている（33）。膀胱腫瘍増殖における F G F R 3 - 刺激脂質生合成の重要性を検討し、治療標的として脂質合成経

10

20

30

40

50

路の可能性を探るために、SREBP1、FASN及びSCD1のsiRNA媒介性ノックダウン後の細胞増殖が利用された。我々の初期の研究は、SCD1 siRNAが最も強い抗増殖作用を誘発したことを明らかにし、従って、SCD1は更に調査された（データは示さず）。

【0330】

膀胱癌細胞株のパネルをこの研究で使用した（表3）。UMUC-14およびTCC-97-7細胞は、FGFR3における最も頻繁な活性化変異である、FGFR3^{S249C}を保有する（24）。SW780細胞株は、野生型FGFR3を含有するが、それは構成的FGFR3-FRS2-AKT活性化を示す（データは示さず）。複数のSCD1 siRNAは、SCD1タンパク質レベルを減少させ、siRNA4は効果が少なかった（図10A及びB）。SCD1ノックダウンは、SW780、UMUC-14およびTCC-97-7細胞を含む、構成的に活性化されたFGFR3を持つ細胞による^[3H]チミジン取り込みを顕著に抑制した（図10A及びB、図11A）。これとは対照的に、RT112細胞及びBFTC-905細胞は、野生型FGFR3を含み、SCD1 siRNAは、それらの増殖に明らかな効果を持っていなかった（図11A）。これらの結果は、構成的に活性なFGFR3のシグナル伝達を持つ細胞は、増殖と生存のためにSCD1活性に多くを依存していることを示唆している。

表3. 膀胱癌細胞株におけるFGFR3の変異状態とSCD1ノックダウンへの応答

細胞株	FGFR3の状態	FGFR3経路の活性	SCD1 siRNAによる ^[3H] チミジン取り込みの阻害
UMUC-14	S249C	構成的に活性	はい (60%)
TCC-97-7	S249C	構成的に活性	はい(80-90%)
SW780	WT	構成的に活性	はい (60-70%)
RT112	WT	リガンド依存的	いいえ
BFTC-905	WT	リガンド依存的	いいえ
Cal29	WT	リガンド依存的	40-50%

【0331】

指数関数的に成長するSW780細胞のさらなる分析では、SCD1ノックダウン48時間後で、細胞周期のG2及びS期の細胞の割合は、実質的かつ特異的に減少し、G1期にある細胞の随伴性の増加を伴うことを明らかにした（図10C）。サブ二倍体集団が、SCD1ノックダウンの72時間後に現れ始めたので（データ示さず）、アポトーシスに対するSCD1 siRNAの効果を分析した。SCD1ノックダウンは、SW780細胞（図10D）とUMUC-14細胞（図11B）においてアネキシンV陽性に染色される細胞集団を有意に増加させた（図11B）。エフェクターカスパーゼの更なる研究は、SCD1のノックダウンは、切断および活性化カスパーゼ3及び7、並びにその下流標的のPARPを生じることを明らかにした（図10E）。この観察と一致して、SCD1 siRNAはこれらの細胞においてカスパーゼ3および7のより高い酵素活性を生じる（図11C及びD）。従って、活性化されたFGFR3シグナル伝達を有する膀胱癌細胞上でのSCD1ノックダウンの阻害効果は、細胞周期進行の遮断及びアポトーシスの誘導の両方によるものである。

【0332】

実施例5：SCD1 siRNAは、脂肪酸不飽和化依存的に細胞増殖を阻害する

SCD1は、一価不飽和脂肪酸の生合成における律速酵素であるので、脂肪酸不飽和化に対するSCD1 siRNAの効果が利用された。銀化薄層クロマトグラフィーを用いて、SCD1ノックダウンは、顕著に^[14C]ステアリン酸のオレイン酸への変換をブロックすることが見出されたが、一方非特異的対照siRNA又はFASN siRNAは影響を与えなかった。細胞増殖に対する阻害は、一価不飽和脂肪酸の産生の欠損であり得、外因性に提供されるオレイン酸は、細胞を救出することができる場合がある。実際

にオレイン酸サプリメントは、SW780およびUMUC-14細胞の両方において用量依存的にSCD1 siRNA媒介性増殖阻害を逆転するが、一方パルミチン酸を逆に加えると救出に失敗した（図12C及びD：図13）。高濃度のパルミチン酸（20 μ M）はこれらの細胞の生存にとって有害であることは注目に値する（図12D、図13C）。従って、SCD1によって媒介される脂肪酸不飽和化は、膀胱癌細胞の増殖と生存に必須である。

【0333】

実施例6：SCD1のドキシサイクリン誘導性ノックダウンは、インビボで腫瘍の成長を減衰させる

動物モデルにおいて腫瘍増殖に対するSCD1の効果を評価するために、ドキシサイクリン誘導性SCD1 shRNAを発現する安定したSW780細胞を樹立した。EGFPを標的とする対照shRNAの発現は影響を及ぼさなかったのに対し、ドキシサイクリンによる三つの独立したSCD1 shRNAの誘導は、SCD1発現を減少させた（図14A）。ドキシサイクリンの処置は、対照shRNAでなく、SCD1 shRNAを発現する細胞による $[^3\text{H}]$ チミジン取り込みを減少させ（図14B）、SCD1ノックダウンが細胞増殖を阻害することを裏付けている。

【0334】

マウスにおいて、予め確立されたSW780腫瘍異種移植片の増殖に対するSCD1 shRNAの効果を評価した。SCD1のノックダウンは、対照shRNAを発現する細胞と比較して、実質的かつ特異的に腫瘍増殖を抑制した（図14C）。20日目の腫瘍サンプルの分析で、SCD1 shRNAのドキシサイクリン誘導時の効果的なSCD1ノックダウンが確認された（図14D）。これらの結果は、SCD1は、SW780膀胱癌細胞の増殖においてインビトロ及びインビボの両方で非常に重要であることを実証している。

【0335】

実施例7：SCD1の薬理的阻害は、腫瘍増殖を弱め、マウスにおける脂肪酸不飽和化を低減した。

腫瘍増殖における脂肪酸不飽和化の更なる重要性を調べるために、SCD1酵素活性は、薬理的に小分子阻害剤A37062でブロックした。この化合物は、 $[^{14}\text{C}]$ ステアリン酸のオレイン酸への変換をブロックし（データ非表示）、 $[^{14}\text{C}]$ 酢酸からの一価不飽和脂肪酸の合成を30 nMの推定IC50値で抑制した（図15A）。SCD1阻害剤によるUMUC-14細胞の処置は、リン酸化AKTリン酸化の減少、エフェクターカスパーゼ3及び7、並びにそのターゲットのPARPの切断及び活性化をもたらした（図15B）。

【0336】

A37062の特異性及び選択性も評価した。正常な増殖条件下で、A37062は、複数の膀胱癌細胞株の増殖を抑制し、培養中でアポトーシスを誘導した（データ非表示）。100 nMのA37062はUMUC-14細胞の生存率を約85%減少させた（図15C及びD）。外因的に補充したオレイン酸は、用量依存的ににおいて増殖抑制効果を逆転させたが（図15C）、一方パルミチン酸は細胞を救出することができなかった（図15D）。同様の結果がSW780細胞において観察された（図16）。これらのデータは、阻害A37062は、SCD1特異的であり、細胞増殖と生存に対するその阻害効果は、一価不飽和脂肪酸を生成することが不足することによるものであることを示唆している。

【0337】

次に、インビボでの膀胱癌細胞の増殖に対するA37062の作用を調べた。無胸腺ヌードマウスはUMUC-14細胞を播種され、腫瘍を $\sim 150\text{mm}^3$ の平均体積に成長させ、20日間ビヒクル又はA37062（75 mg/kg）を1日2回その動物に投与した。20日目でのビヒクル対照と比較して、A37062は、約60%、腫瘍増殖を抑制した（図15E）。最後の処置の2時間後に採取した腫瘍溶解物の分析は、A37062

は飽和脂肪酸に対する一価不飽和脂肪酸の割合を著しく減少させることを示した（図15F及びG）。同様に、マウスの肝臓および血漿中の脂肪酸不飽和化も有意に減少した（図15FおよびG）。従って、A37062は、脂肪酸不飽和化における遮断と連動してUMUC-14腫瘍異種移植片の増殖を阻害する。実験の過程において、ヌードマウスにおいて有意な体重減少又は他の肉眼的異常は観察されなかった。

【0338】

実施例8：SCD1小分子阻害剤を用いたインビボ有効性研究

結腸、膵臓、および腎臓癌におけるSCD1小分子アンタゴニストの作用を調べるために、結腸癌細胞株、膵臓癌細胞株、及び腎臓癌細胞株が連続希釈されたA37062で72時間処理され、上記のように細胞生存率をCellTiter-Glo (Promega)により測定した。更に、結腸癌細胞株、膵臓癌細胞株、及び腎臓癌細胞株は、連続希釈されたA37062で処理され、カスパーゼ3/7活性を、上記のようにCaspase-Glo 3/7アッセイキット(Promega)により測定した。SCD1の薬理的阻害は、ヒト結腸癌細胞株において（図17A及びB）、ヒト膵臓癌細胞株において（図17C及びD）、ヒト腎臓癌細胞株において（図17E及びF）、細胞生存率を減少させカスパーゼ3/7活性を増加させた。データは平均値+/-SDとして表示され、2つの独立した実験を代表した。

10

【0339】

付加的なSCD1小分子アンタゴニストの作用を調べるために、結腸癌、前立腺癌、膵臓癌、及び膀胱癌を含むヒト癌細胞株が、連続希釈されたA37062又はG02447171.1で72時間処理され、細胞生存率をCellTiter-Glo (Promega)により測定した。A37062又はG02447171.1を用いるSCD1の薬理的阻害は、結腸癌、前立腺癌、膵臓癌、及び膀胱癌を含むヒト癌細胞株のパネルにおいて、細胞生存率を低減し、カスパーゼ3/7活性を増加させた（それぞれ、図18A及びB）。データは平均値+/-SDとして表示され、2つの独立した実験を代表する。

20

【0340】

SCD1小分子アンタゴニストの効果を調べるために、癌細胞株は連続希釈されたA37062で72時間処理され、上述したように、細胞力価IC50 (nM)、細胞生存率をCellTiter-Glo (Promega)により測定した。表4を参照。

表 4.

A37062 で処置された大腸癌細胞株 (n=2)	細胞力価 IC50(nM)	最大阻害(%)
HT29	4.1	85.7
DLD1	4.6	74.7
LoVo	6.3	56.5
HCT-15	6.9	93.0
RKO	7.3	83.0
SW620	11.7	83.1
HT55	18.3	52.7
LS 180	18.8	51.0
Colo205	20.4	81.7
LS174T	31.3	50.9
HM7	35.3	70.9
HCT116	41.5	84.9
CL-11	耐性	11.2
A37062 で処置された膵臓癌細胞株 (n=2-3)	細胞力価 IC50(nM)	最大阻害(%)
KP4 X1.1	6.0	48.9
Capan-1	10.3	33.4
MIA PaCa-2	12.8	66.8
CFPAC-1	14.9	50.5
PANC-1	21.8	32.6
BxPC-3	30.9	49.4
HPAC	40.5	56.3
HPAF-II	48.3	27.5
Capan-2	耐性	なし
Hs 766T	耐性	14.6
AsPC-1	耐性	なし
SW1990	耐性	なし
A37062 で処置された膀胱癌細胞株 (n=2)	細胞力価 IC50(nM)	最大阻害(%)
SW780	12.5	54.6
UMUC-14	14.4	88.2
BTFC905	12.6	82.8
A37062 で処置された腎細胞癌細胞株(n=1)	細胞力価 IC50(nM)	最大阻害 (%)
4031.A	12.7	46.9
ACHN	15.8	73.5
786.O-VHL	32.0	85.8
786.O	32.4	81.3
769P	77.6	44.1
G402	689.5	36.1
BTFC909	766.6	39.0

10

20

30

40

Caki 1	耐性	9.6
Caki 2	耐性	24.0
Cal 54	耐性	20.0
A37062 で処置された前立腺細胞株 (n=1)	細胞力価 IC50(nM)	最大阻害(%)
Du145	7.1	34.4
LNCap/Ner	耐性	なし
PC-3	耐性	なし

10

【0341】

マウスにおいて腫瘍増殖に対する SCD1 小分子アンタゴニストの作用を調べるために、マウスは、ビヒクル又は SCD1 低分子阻害剤の G01522403 (A37062) と G02447171 を上記のように経口的に、一日二回与えられた。SCD1 の薬理的阻害は、予め確立された HCT15 結腸腫瘍、予め確立された SW780 膀胱腫瘍、及び予め確立された HPAC 膵臓腫瘍の異種移植片の増殖を遅延させた（それぞれ、図 18 C、D、及び E）。腫瘍体積は平均値 ± S D として表された。表 5 を参照。

表 5.

細胞株	組織起源	SCD1 阻害剤	最大 % TGI, PO
UMUC-14	膀胱	G01522403	77%
DLD1	結腸	G01522403	作用無し
HM7	結腸	G02447171	作用無し
HCT15	結腸	G02447171	69%
SW780	膀胱	G02447171	54%
HPAC	膵臓	G02447171	46%

20

【0342】

実施例 9：SCD1 の薬理的阻害は、腫瘍細胞の生存率を減衰させる

30

付加的な SCD1 小分子アンタゴニストの作用を調べるために、HT29 および HCT15 を連続希釈した小分子阻害剤 RG1-14 および G02447171 (G7171) で 72 時間処理し、細胞生存率を Cell Titer - Glo (Promega) により測定した。SCD1 小分子阻害剤の特異性および選択性も評価した。表 6～9 を参照。正常な成長条件の下で、小分子 SCD1 アンタゴニストは HT29 細胞及び HCT15 細胞の増殖を抑制した（図 19）。外因的に補充したオレイン酸は、用量依存的ににおいて増殖抑制効果を逆転させたが（図 20 A-C および 21 A-C）、一方パルミチン酸は細胞を救出することができなかった（図 20 D-F 及び 21 D-F）。

表 6 – 実験 1 HCT15

	IC50 (nM)	R 二乗	最低	最大
RG1	5.838	0.9907	0.1995	1.01
RG2	58.06	0.9953	0.1829	0.9681
RG3	2.773	0.9924	0.2168	1.025
RG4	289.2	0.9563	0.1912	0.982
RG5	152.5	0.9841	0.191	0.9372
RG6	86.88	0.9705	0.191	0.976
RG7	176.7	0.9766	0.192	0.9544
RG8	0.7843	0.9945	0.1839	1.13
RG9	206.7	0.9754	0.2374	0.9775
RG10	63.35	0.9672	0.2418	0.9502
RG11	148.3	0.9055	0.2171	0.9111
RG12	1.003	0.9952	0.2409	1.126
RG13	287.8	0.9291	0.219	0.913
RG14	24.61	0.9869	0.2003	0.9503

10

表 7 – 実験 2 HCT15

	IC50	R 二乗	最低	最大
RG1	13.44	0.9817	0.2787	0.9632
RG2	121.6	0.9659	0.299	0.9261
RG3	8.22	0.974	0.3197	0.996
RG4	244	0.9385	0.299	0.9533
RG5	382.8	0.9613	0.3466	0.9771
RG6	169.1	0.9167	0.3298	0.9319
RG7	495.3	0.9174	0.3853	0.9458
RG8	4.139	0.964	0.3645	0.9664
RG9	399.5	0.9477	0.3367	0.9725
RG10	125.7	0.9738	0.3257	0.9825
RG11	416.5	0.8575	0.3943	0.8913
RG12	4.331	0.9711	0.4316	0.992
RG13	274.4	0.8963	0.2951	0.9362
RG14	53.02	0.9568	0.3318	0.9505

20

30

表 8- 実験 1 HT29

	IC50	R 二乗	最低	最大
RG1	95.67	0.9962	0.05711	0.9793
RG2	683.4	0.9933	0.05245	0.9737
RG3	42.61	0.9933	0.0588	0.9909
RG4	546.6	0.994	0.05143	0.9778
RG5	277.1	0.9903	0.06627	0.9743
RG6	329.9	0.997	0.06325	0.9778
RG7	89.65	0.996	0.06893	0.9847
RG8	18.69	0.9966	0.0546	0.9739
RG9	311.6	0.9877	0.05633	0.9681
RG10	306.9	0.9982	0.05551	0.9788
RG11	242.8	0.9889	0.05832	0.9778
RG12	377.5	0.9906	0.02686	0.9791
RG13	129.2	0.9956	0.0767	0.9896
RG14	689	0.9943	0.05572	0.9799

10

表 9- 実験 2 HT29

	IC50	R 二乗	最低	最大
RG1	33.53	0.9914	0.1271	0.984
RG2	397.8	0.9894	0.1294	0.9694
RG3	14.49	0.9915	0.1558	0.9688
RG4	345.5	0.9816	0.1579	0.9656
RG5	328.1	0.9756	0.1567	0.9445
RG6	280.4	0.9866	0.1384	0.9358
RG7	271.6	0.9771	0.1562	0.9666
RG8	8.131	0.9967	0.156	0.996
RG9	300.1	0.9847	0.1545	0.9731
RG10	225.1	0.993	0.1432	0.9884
RG11	265.7	0.9742	0.1671	0.9241
RG12	83.55	0.985	0.1535	0.9792
RG13	190.6	0.9899	0.1797	0.9744
RG14	322.7	0.9942	0.165	0.9727

20

30

【0343】

実施例の考察

40

実施例は、F G F R 3 は、P I 3 K－m T O R C 1 を介して S R E B P 1 とその下流の標的を活性化させ、ヒト膀胱癌細胞における新規脂質合成および脂肪酸不飽和化を促進することを示している。更に、S C D 1 によって触媒される脂肪酸不飽和化を遮断する遺伝的または薬理的介入は、細胞培養及び異種移植マウスにおいて腫瘍増殖をおおいに阻害することが示された。これらの結果は、膀胱腫瘍の増殖および生存を維持することにおける F G F R 3 調節脂質代謝の重要性を初めて明らかにし、変化した細胞代謝と発癌成長因子シグナル伝達間の機構的連結を提供している。

【0344】

不偏な発現解析からの目立った知見は、ステロールと脂肪酸合成と代謝に関与する遺伝子の大規模コホートは、膀胱癌細胞における F G F R 3 ノックダウンの結果として、最も

50

顕著に下方制御された遺伝子の一員である。実施例は、F G F R 3 シグナル伝達の活性化は、切断され、転写的に活性な S R E B P 1 の量を増加させ、これが次に主要な脂質合成酵素の発現を誘導し、飽和及び不飽和の両方のクラスを含む脂肪酸の新規合成を促進したことをさらに実証している。これらの結果は、神経膠芽腫における活性化 E G F R シグナル伝達は S R E B P 1 プロセシングの刺激を通じた脂質合成を促進することを示した最近の報告書を連想させる (35)。これらの知見は、E G F R 及び H e r 2 の活性化は、乳癌細胞株で F A S N の発現を誘導することを示した以前の研究と一致しそして拡張する (36-38)。例えば、E G F 及び P D G F などの増殖因子が線維芽細胞 (39) 及び上皮細胞 (40-41) において S R E B P 1 活性化および脂質合成を促進することができることを考えると、発癌増殖因子受容体シグナル伝達刺激性脂質合成は、多くの癌のタイプにおいて脂肪酸合成の上昇の基礎となる一般的な機構であり得ると考えられる。

10

【0345】

低レベルの細胞内ステロール又はインスリン刺激に応答して、S R E B P 1 はタンパク質分解切断によって活性化され、成熟した N 末端断片が核に移行し、脂質合成遺伝子のカスケードの転写を活性化する (32)。増殖因子とその受容体は、転写の上方制御、タンパク質分解プロセシングの増加、又は G S K 3 - F b w 7 媒介性ユビキチン化とプロテアソームによる分解を阻害することによる切断された S R E B P 1 を安定させることを含む複数のメカニズムを介して S R E B P 1 を潜在的に活性化することができる (33)。実施例は、リガンド誘導性の F G F R 3 活性化は、完全長の不活性 S R E B P 1 の誘導に軽微な影響を及ぼし、一方 S R E B P 1 の切断された活性型が著しく蓄積することを実証している。更に、P I 3 K 又は m T O R C 1 阻害剤の何れかによる基準の F G F R 3 シグナル伝達の急性薬理的阻害は、成熟した S R E B P 1 のレベルを、全長不活性 S R E B P 1 のそれに影響を与えることなく、減少させる。これらのデータは、S R E B P 1 の F G F R 3 駆動型活性化は、P I 3 K - m T O R C 1 による成熟した S R E B P 1 の選択的増加に主にかかっていることを示唆している。この知見は、m y r - A K T を過剰発現する細胞 (42) または T S C の遺伝子除去を介した m T O R C の構成的過剰活性を持つマウス胎児線維芽細胞 (43) の最近の幾つかの研究と一致している。この研究からの別の注目すべき観察は、異なる細胞株において F G F 1 刺激された S R E B P 1 の活性化に対する M E K - M A P K の差次的寄与である。これは、増殖因子受容体による S R E B P 1 活性化における M E K - M A P K の関与の見かけ上矛盾する結果を示した以前の研究と一致しており、S R E B P 1 の M E K - M A P K の調節は非常に文脈依存かもしれないことを示唆している (37、39-41)。F G F R 3 シグナル伝達がどのように S R E B P 1 プロセシング及び／又は安定性を調節するかについての正確なメカニズムは更なる調査を待つ。

20

30

【0346】

我々の現在の研究の一つの重要な発見は、脂肪酸不飽和化における律速酵素である S C D 1 は、膀胱癌細胞において F G F R 3 のノックダウンによって最も劇的な調節を示した遺伝子の一因であることである。従って、F G F 1 は S C D 1 の発現および不飽和脂肪酸の合成の顕著な増加を誘導した。この調節は、S R E B P 1 s i R N A は基礎の F G F 1 誘導性 S C D 1 の発現を著しく減少させたことから、S R E B P 1 を主に介して媒介されるが、一方ノックダウン S R E B P 2 のみでは S C D 1 発現に明らかな作用を及ぼさなかった。更に、実施例は、S C D 1 は、構成的に活性化された F G F R 3 を有する膀胱癌細胞の増殖及び生存を維持するのに不可欠であることを示している。R N A 干渉又は薬理的介入を介した S C D 1 の阻害は、脂肪酸不飽和化をブロックし、G 1 細胞周期停止及びその後のアポトーシスを生じた。また、外生的に補充されたオレイン酸は、S C D 1 阻害から細胞を救出することができ、細胞増殖および生存における脂肪酸不飽和化の重要性を裏付けている。最後に、S C D 1 の阻害は、マウスのいくつかの膀胱癌異種移植片の増殖を顕著に弱めた。従って、膀胱腫瘍増殖を維持することにおける S C D 1 機能の重要性は、この疾患の設定で潜在的な新規治療標的としてそれを示唆している。限られた細胞株パネルによる例は、構成的に活性化された F G F R 3 を持つ細胞は、S C D 1 阻害に対し

40

50

てより敏感であることを示唆したが、F G F R 3 の活性化状態自体は S C D 1 に基づく治療に対する応答を予測することができるかどうかはまだ明らかではない。P I 3 K - A K T - m T O R C 1 の軸、及びそれほどではないにせよ、M E K - M A P K は、脂質生合成および S C D 1 活性を促進することができたので、F G F R 3 の下流のシグナル伝達経路の変化、又は他の受容体チロシンキナーゼにおける調節不全は、S C D 1 標的治療への応答に影響を与える可能性がある。

【0347】

最近の幾つかの研究では、S C D 1 は、肺癌および前立腺癌を含む他の悪性腫瘍において過剰発現され、腫瘍増殖のために必須であり（44-46）、そして前立腺癌における脂肪酸不飽和指数は疾患進行と相関している（45）と報告している。これらの疾患における S C D 1 上方制御の基礎となるメカニズムは説明されていないが（45-48）、これらのデータは、S C D 1 は、細胞分裂の間の膜の生合成、および細胞増殖、生存、およびストレス適応のための重要な多様な経路のシグナル伝達を制御することにより部分的に、腫瘍形成に広範な役割を果たし得ることを示唆している。

【0348】

参考文献のリストの一部

1. Eswarakumar, V.P., Lax, I., and Schlessinger, J. 2005. Cytokine Growth Factor Rev. 16:139-149.
2. Beenken, A., and Mohammadi, M. 2009. Nat. Rev.. Drug discovery 8:235-253.
3. Turner, N., and Grose, R. 2010. Nat. Rev. Cancer 10:116-129.
4. Dailey, L. et al., 2005. Cytokine Growth Factor Rev 16:233-247.
5. Ornitz, D.M. 2005. Cytokine Growth Factor Rev. 16:205-213.
6. Wilkie, A.O. 2005. Cytokine Growth Factor Rev. 16:187-203.
7. Chesi, M. et al., 1997. Nat. Genet.16:260-264.
8. Moreau, P. et al., 2002. Blood 100:1579-1583.
9. Trudel, S. et al., 2004. Blood 103:3521-3528.
10. Chang, H. et al., 2005. Blood 106:353-355.
11. Cappellen, D. et al., 1999. Nat. Genet. 23:18-20.
12. Gomez-Roman, J.J. et al., 2005. Clin Cancer Res 11:459-465.
13. Tomlinson, D.C. et al., 2007. J Pathol 213:91-98.
14. van Rhijn, B.W. et al., 2002. J Pathol 198:245-251.
15. Kuroso, K. et al. 2010. Pathobio.: J. Immun., Mol. Cell Biol. 77:231-240.
16. Rosty, C. et al., 2005. Mol Cancer 4:15.
17. Qiu, W.H. et al., 2005. World J Gastroenterol 11:5266-5272.
18. Woenckhaus, M. et al., 2006. J Pathol 210:192-204.
19. Cortese, R. et al., 2008. Int J Biochem Cell Biol 40:1494-1508.
20. Goriely, A. et al. 2009. Nat. Genet. 41:1247-1252.
21. Knowles, M.A. 2008. Future Oncol 4:71-83.
22. Martinez-Torrecedrada, J. et al., 2005. Clin Cancer Res 11:6280-6290.
23. Tomlinson, D.C. et al., 2007. Oncogene 26:5889-5899.
24. Qing, J. et al., 2009. J. Clin. Invest. 119:1216-1229.
25. Lamont, F.R. et al., 2011. Brit. J. Cancer 104:75-82.
26. Novartis. A dose escalation study in adult patients with advanced solid malignancies. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01004224>.
27. Novartis. A Phase II Multi-center, Non-randomized, Open Label Study of TKI258 in FGFR3 Mutated and FGFR3 Wild Type Advanced Urothelial Carcinoma. <http://clinicaltrial.gov/ct2/show/NCT00790426>.
28. Genentech. An Open-Label, Multicenter, Phase I Dose-Escalation Trial Evaluating the Safety and Pharmacokinetics of MFGR1877S in Patients With Advanced Solid Tumors. .

10

20

30

40

50

29. Paton, C.M., and Ntambi, J.M. 2009. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 297:E28-37.
30. Horton, J.D. et al., 2002. *J. Clin. Invest.* 109:1125-1131.
31. Horton, J.D. et al., 2003. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:12027-12032.
32. Goldstein, J.L. et al., 2006. *Cell* 124:35-46.
33. Menendez, J.A., and Lupu, R. 2007. *Nat. Rev. Cancer* 7:763-777.
34. Jemal, A. et al., 2010. *Cancer Statistics, 2010. CA: a Cancer Journal for Clinicians* 60:277-300.
35. Guo, D. et al., 2009. *Sci. Signal.* 2(101):ra82.
36. Swinnen, J.V. et al., 2000. *Oncogene* 19:5173-5181. 10
37. Yang, Y.A. et al., 2002. *Exp. Cell Res.* 279(1):80-90.
38. Kumar-Sinha, C. et al., 2003. *Cancer Res.* 63:132-139.
39. Demoulin, J.B. et al., 2004. *J. Biol. Chem.* 279:35392-35402.
40. Porstmann, T. et al., 2005. *Oncogene* 24:6465-6481.
41. Chang, Y. et al., 2005. *J. Lipid Res.* 46:2624-2635.
42. Porstmann, T. et al., 2008. *Cell Metabol.* 8:224-236.
43. Duvel, K. et al., 2010. *Mol. Cell* 39:171-183.
44. Morgan-Lappe, S.E. et al., 2007. *Cancer Res.* 67:4390-4398.
45. Fritz, V. et al., 2010. *Mol. Cancer Ther.* 9:1740-1754.
46. Roongta, U.V. et al., 2011. *Mol. Cancer Res.* doi: 10.1158/1541-7786.MCR-11-0 20
126.
47. Igal, R.A. 2010. *Carcinogenesis* 31:1509-1515.
48. Scaglia, N. et al., 2009. *PloS One* 4:e6812.

【0349】

前述の発明は、理解を明確にする目的のために例示および実施例によってある程度詳細に説明してきたが、説明や例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。すべての特許および本明細書に引用される科学文献の開示は、参照によりその全体が援用される。

表 3- FGFR3 ノックダウン細胞におけるコレステロールと脂質合成抑制に関与する遺伝子のコホート

Refseq の登録		Genbank の登録	
SREBF1	NM_001005291.2,NM_004176.4	AB209609.1, AB373958.1, AB373959.1, AK091131.1, AK095325.1, AK128320.1, AK293795.1, AK294800.1, AK297113.1, BC023621.2, BC026962.1, BC057388.1, BC063281.1, BE208013.1, BI906407.1, BQ025047.1, S66167.1, S66168.1, U00968.1	
	NM_000402.3, NM_001042351.1	AK292304.1, AK302341.1, AL560686.3, BC000337.2, DQ892219.2, DQ895415.2, M19866.1, M21248.1, M27940.1, S58359.1, X03674.1	
ACOT7	NM_007274.3, NM_181864.2,	AB074415.1, AB074416.1, AB074417.1, AB074418.1, AB074419.1, AK057168.1,	
	NM_181865.2, NM_181866.2,	AK289572.1, AK290097.1, AK291583.1, AK292202.1, AK300831.1, AL702662.1,	
	NM_181862.2, NM_181863.2	BC017365.2, BG332214.1, BM807217.1, BQ067921.1, BT006888.1, BU594651.1, D88894.2, U91316.1	
	NM_014241.3	AF114494.1, AW022173.1, AY455942.1, BC010353.1, BC027709.2, HQ447343.1	
PCCB	NM_000532.4,NM_001178014.1	AB209009.1, AF217984.1, AI191766.1, AK130359.1, AK225215.1, AK225733.1, AK295312.1, AK302522.1, AK303079.1, AL831978.2, BC005909.1, BC013768.1, BC018013.1, BC053661.1, DA090969.1, JF432277.1, M13573.1, S67325.1, X73424.1	
		AF035284.1, AF084558.1, AF199596.1, AF226273.1, AF271778.1, AI052027.1, AK027427.1, AK027522.1, AK074754.1, AK074819.1, AK096275.1, AK222906.1, AK289552.1, AK298871.1, AK314199.1, AL512760.1, AL834479.1, BC007846.2, BP253788.1, DQ890643.2, DQ893822.2	
FADS1	NM_013402.4	AB209223.1, AF151840.1, AF167438.1, AF395068.1, AK057195.1, AK074749.1, AK289427.1, AK293355.1, AK307500.1, AK314465.1, BC000112.1, BC011727.2, BC026274.1, BC037302.1, BC051291.1, CR457180.1, DC355364.1, DQ426886.1, HQ447163.1	
RDH11	NM_016026.3	AF214454.1, AF327353.1, AK002100.1, AK293800.1, AK294978.1, AK295142.1, AK295327.1, AK308856.1, AK315000.1, AK316120.1, BC049837.1, BC063034.1, BC073853.1, BG702017.1, HQ447508.1	
ACER3	NM_018367.5	AB209763.1, AB210838.1, AF118395.1, AK024802.1, AK223414.1, AK296288.1, BC049211.1, BC063635.1	
PDSS1	NM_014317.3	AB209229.1, AY203927.1, BC000011.2, BT0006930.1, DQ890562.2, DQ893724.2, U49260.1	
MVD	NM_002461.1		
AGPAT5	NM_018361.3	AF375789.1, AK002072.1, AK021722.1, AK310545.1, AL136587.1, AL514578.3, AM392899.1, AM393058.1, BC023550.2, BC068519.1, BC080537.1, BM837881.1,	

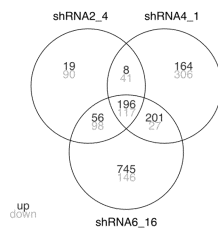
遺伝子		Refseq の登録	Genbank の登録
			CA414711.1, DQ893436.2, DQ896747.2
HSD17B2	NM_002153.2		AK223001.1, AK313109.1, AU139034.1, BC009581.1, BC059170.1, BM670647.1, BP270993.1, DQ893100.2, DQ896372.2, L11708.1
ACSL4	NM_004458.2, NM_022977.2		AB061713.1, AB061714.1, AF030555.1, AK292070.1, AK294915.1, AK307566.1, BC034959.2, BQ016115.1, CN310691.1, DQ890835.2, DQ893990.2, DR004263.1, Y12777.1, Y13058.1
EBP	NM_006579.2		AU128761.1, BC001549.1, BC001572.1, BC046501.1, CA488777.1, CR456815.1, CR542094.1, DQ891591.2, DQ894785.2, DQ894786.2, Z37986.1
PIGW	NM_178517.3		AB097818.1, AK094752.1, BC156433.1, BC160092.1, BC172479.1
LBR	NM_002296.3, NM_194442.2		AB209514.1, AK125116.1, AK222834.1, AK303589.1, AK312258.1, AU134026.1, AW504657.1, BC020079.1, BE243907.1, DA447510.1, DB091880.1, DQ891049.2, DQ894227.2, L25931.1
ACLY	NM_001096.2, NM_198830.1		AB210035.1, AK095084.1, AK295675.1, AK304802.1, AK312315.1, BC006195.2, BG037168.1, DQ575356.1, JF432308.1, U18197.1, X64330.1
ADORA2 B	NM_000676.2		AY136748.1, BC025722.1, DQ891714.2, DQ894891.2, M97759.1, X68487.1
GPCPD1	NM_019593.3		AB037855.1, AK001947.1, AK308111.1, AL049446.1, AL833069.1, BC027588.2, BG674365.1, BI561344.1, BP421674.1, T79323.1
CYP24A1	NM_000782.4, NM_001128915.1		AI400154.1, AW022349.1, AY858838.1, BC109083.1, BC109084.1, BI491491.1, BM928702.1, BU662901.1, CN311231.1, L13286.1, N29030.1, S67623.1
ACSL3	NM_004457.3, NM_203372.1		AB061712.1, AF116690.1, AI378485.1, AK001471.1, AK023191.1, AK314621.1, BC012066.1, BC032144.2, BC041692.1, BF679686.1, BG772246.1, BM971377.1, BQ435549.1, BX472576.1, D89053.1, N44998.1
MVK	NM_000431.2, NM_001114185.1		AB209722.1, AF217536.1, AK023087.1, AK293130.1, AK295338.1, AK315678.1, BC016140.1, DC421549.1, DQ891089.2, DQ894271.2, M88468.1
ACSS2	NM_001076552.2, NM_001242393.1, NM_018677.3, NM_139274.1		AF263614.1, AI674262.1, AK000162.1, AK000188.1, AK022608.1, AK025990.1, AK092281.1, AK098026.1, AK293634.1, AL359946.1, BC010141.2, BC012172.1, BC073846.1, BC098422.1, CR749716.1, DA411343.1, DA626707.1, DA628275.1, DA630609.1
FDPS	NM_001135821.1, NM_001135822.1, NM_001242824.1,		AK021828.1, AK022841.1, AK291084.1, BC010004.2, BE047993.1, BP370037.1, CD675633.1, CN346026.1, D14697.1, DA610405.1, DQ893471.2, DQ895943.2, J05262.1, M29863.1

遺伝子		Refseq の登録	Genbank の登録
	NM_001242825.1, NM_002004.3		AB209798.1, AF052129.1, AF111849.1, AF231981.1, AF338241.1, AK074748.1, AK074889.1, AK125098.1, AK299674.1, AK302948.1, AL136939.1, BC009838.2, BC017270.2, BC067123.1, BC074503.1, DC345924.1, HQ447433.1
ELOVL5	NM_001242831.1, NM_021814.4		AA648735.1, AK292892.1, AK296499.1, AK299655.1, AK312437.1, AY429541.1, AY429542.1, AY429543.1, BC024180.1, BC033692.1, CN278665.1, DQ890855.2, DQ894009.2, M11058.1, M62627.1, M62633.1
HMGCR	NM_000859.2, NM_001130996.1		AF118767.1, AI861822.1, AK124636.1, AK125344.1, AK291799.1, AK300333.1, AK315252.1, AY358928.1, BC060825.1, HQ448045.1
LIPG	NM_006033.2		AJ420574.1, AK223417.1, AK289783.1, AK301875.1, AK302777.1, BC017403.1, BC025246.1, BX376125.2, DA520723.1, DQ892155.2, EU176687.1, L34035.1, U43944.1, X77244.1
ME1	NM_002395.4		AF034544.1, AF062481.1, AF067127.1, AF096305.1, AI888720.1, AK289497.1, AK303881.1, AK309625.1, AK312775.1, BC000054.2, BU848891.1, DA502590.1, DQ891827.2, DQ895014.2
DHCR7	NM_001163817.1, NM_001360.2		AA922470.1, AK092334.1, AK096769.1, AK098352.1, AK128839.1, AK226141.1, AK296313.1, AK312489.1, AY927524.1, BC035638.1, BM662957.1, BU728696.1, BX443698.2, D63807.1, DA333499.1, DQ891234.2, DQ894418.2, S81221.1, X87809.1
LSS	NM_001145437.1, NM_002340.5		AB208993.1, AF356877.1, AK055001.1, AK225089.1, AK225244.1, AK291080.1, AK294273.1, BC000408.2, BM997310.1, BP210609.1, HQ448187.1, S70154.1
ACAT2	NM_005891.2		AB209988.1, AY451392.1, BC007267.1, BC007305.2, BC007909.1, BC014631.2, BC014634.2, BC021544.2, BC063242.1, S80437.1, U26644.1, U29344.1
FASN	NM_004104.4		AK295932.1, AK314205.1, BC018429.1, BC032322.1, D55653.1, DA349400.1, DC376300.1, DQ891311.2, DQ894495.2, U23942.1
CYP51A1	NM_000786.3, NM_001146152.1		AF271720.1, AK222875.1, AK303669.1, AK311110.1, BC005247.2, BC006999.2, BC019227.2, BC022418.2, BC025375.2, BC057827.1, BC107893.1, BE891119.1, BT006761.1, BX537663.1, BX648472.1, X17025.1
IDH1	NM_004508.2		AI679762.1, AK057726.1, AK098682.1, AK293545.1, AK296043.1, AK297868.1, AK300059.1, AK300245.1, AK301617.1, AK311246.1, AK311362.1, AK315993.1, AK316033.1, AK316182.1, AK316351.1, AK316531.1, AK316534.1, BC003573.1, BC009251.2, BC029641.1, BC034440.1, BT006704.1, CR457033.1, DQ890697.2, DQ893882.2, L06070.1, L06105.1, S76822.1, X69141.1
FDFT1	NM_004462.3		

遺伝子		Refseq の登録	Genbank の登録
FAR2	NM_018099.3		AK001324.1, AK001927.1, AK027756.1, AK129857.1, AK314670.1, AL136843.1, BC022267.1
HMGCS1	NM_001098272.1, NM_002130.6		AK095492.1, AK315593.1, AL050004.1, BC000297.2, BC082234.1, BC083514.1, BT007302.1, DB078662.1, L25798.1, M15802.1, X66435.1
SDR16C5	NM_138969.2		AB083038.1, AK057667.1, AK095159.1, AK294634.1, AY444559.1, BC037219.1, BC064525.1
LDLR	NM_000527.4, NM_001195798.1, NM_001195799.1, NM_001195800.1, NM_001195802.1, NM_001195803.1		AA292214.1, AB209409.1, AK295612.1, AK296312.1, AK299038.1, AK300313.1, AY114155.1, BC014514.1, BM785950.1, BT007361.1, BX648281.1, DA008286.1, DB081391.1, DC306821.1, DQ893879.2, M28219.1, S40543.1, S70123.1
MSMO1	NM_001017369.2, NM_006745.4		AK292418.1, AK295432.1, AK309206.1, AV704962.1, BC010653.1, BC107879.1, BU676028.1, BU940384.1, BX441001.2, DQ891060.2, DQ894237.2, U60205.1, U93162.1
INSIG1	NM_005542.4, NM_198336.2, NM_198337.2		AA565248.1, AF086365.1, AK095977.1, AK291675.1, AL541939.3, AY112745.1, BC001880.1, BI550548.1, BI918342.1, BM995866.1, BQ059075.1, BT007227.1, DA590854.1, DA738378.1, DN996424.1
DHRS9	NM_001142270.1, NM_001142271.1, NM_005771.4, NM_199204.1		AF067174.1, AF240697.1, AF240698.1, AF295380.1, AF343729.1, AF529286.1, AF529287.1, AF529288.1, AK296625.1, AK313220.1, AY017349.1, AY359046.1, BC040380.1, BC051797.1, BC058883.1, CA307349.1, DB010228.1, GQ129414.1, GQ129415.1, HQ448109.1
LRP8	NM_001018054.2, NM_004631.4, NM_017522.4, NM_033300.3		AA775280.1, AK096482.1, AK122887.1, AL119002.1, BC006443.1, BC051836.1, BE543079.1, BM477111.1, CD300289.1, CF593917.1, D50678.1, DB452432.1, DB455425.1, DR002432.1, Z75190.1
SQLE	NM_003129.3		AF098865.1, AK055357.1, AK225085.1, AK295302.1, AK301792.1, AK313384.1, AM393564.1, BC017033.1, BG772453.1, BX647400.1, BX647605.1, D78129.1, D78130.1, DQ894657.2
PCSK9	NM_174936.3		AK075365.1, AK122717.1, AK124635.1, AK293870.1, AK297473.1, BC042095.1, BC166619.1, DA738424.1, EF692496.1
SCD1	NM_005063.4		AB032261.1, AB208982.1, AF097514.1, AF109362.1, AF132203.1, AI740935.1, AK222862.1, AK312312.1, BC005807.2, BC062303.1, BI827092.1, BM546583.1, BU940035.1, CD245516.1, CF454075.1, S70284.1, Y13647.1
FABP4	NM_001442.2		BC003672.1, BQ880795.1, BT006809.1, CD000452.1, CR456903.1, J02874.1, JF432859.1

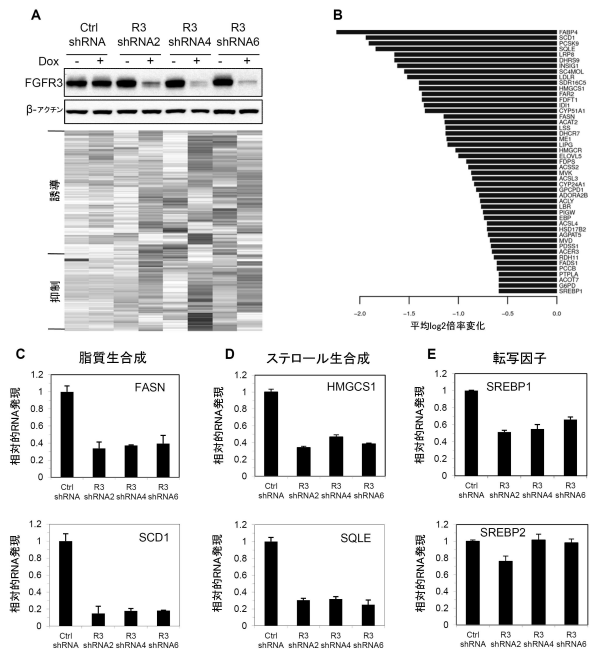
【図 1】

Figure 1



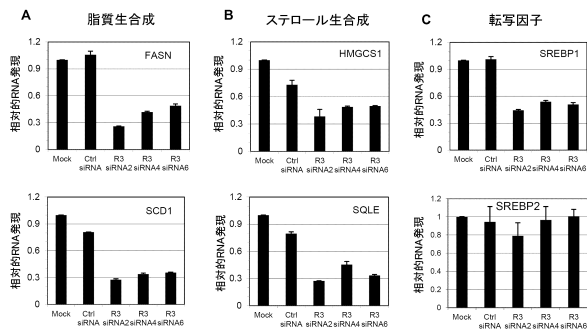
【図 2】

Figure 2



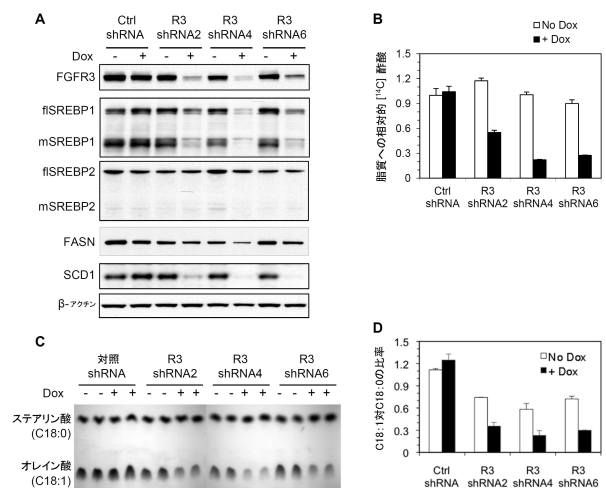
【図 3】

Figure 3



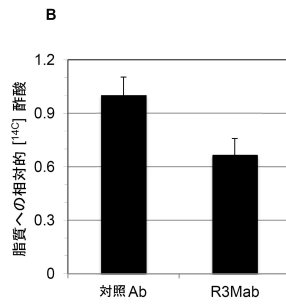
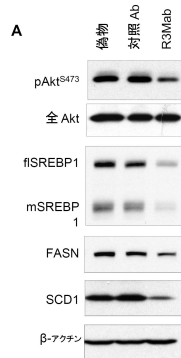
【図 4】

Figure 4



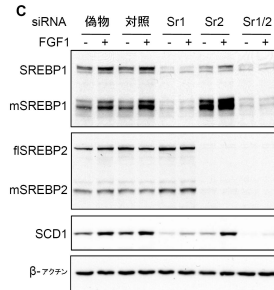
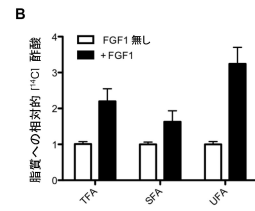
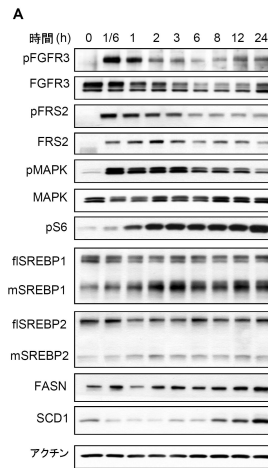
【図 5】

Figure 5



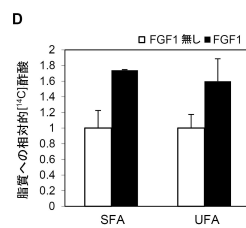
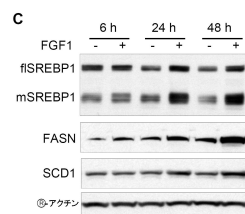
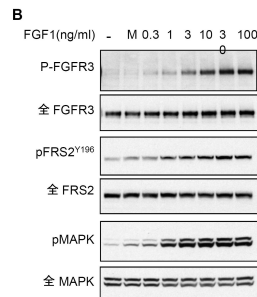
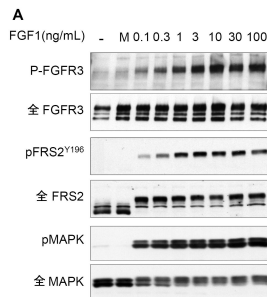
【図 6】

Figure 6



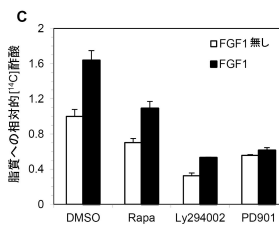
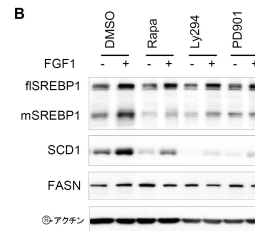
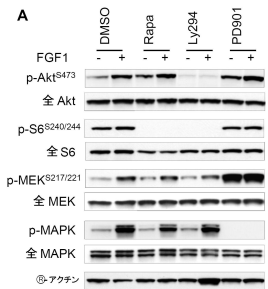
【図 7】

Figure 7



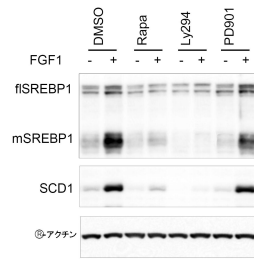
【図 8】

Figure 8



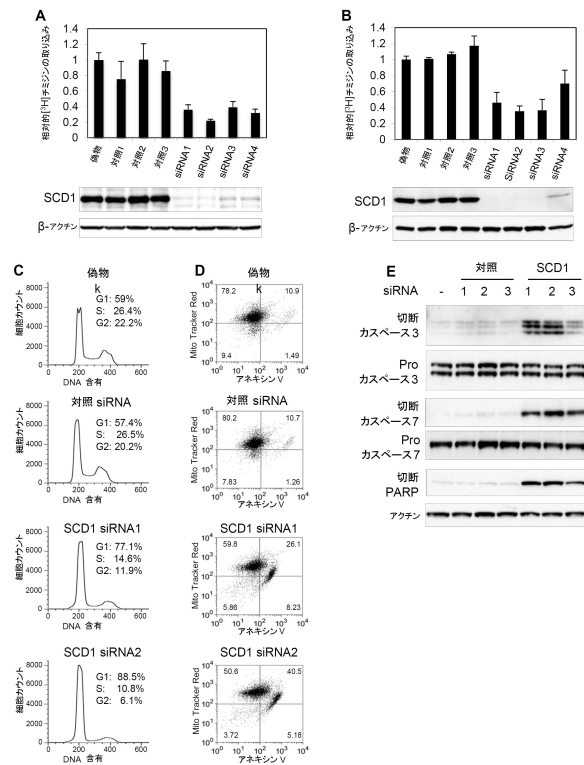
【図 9】

Figure 9



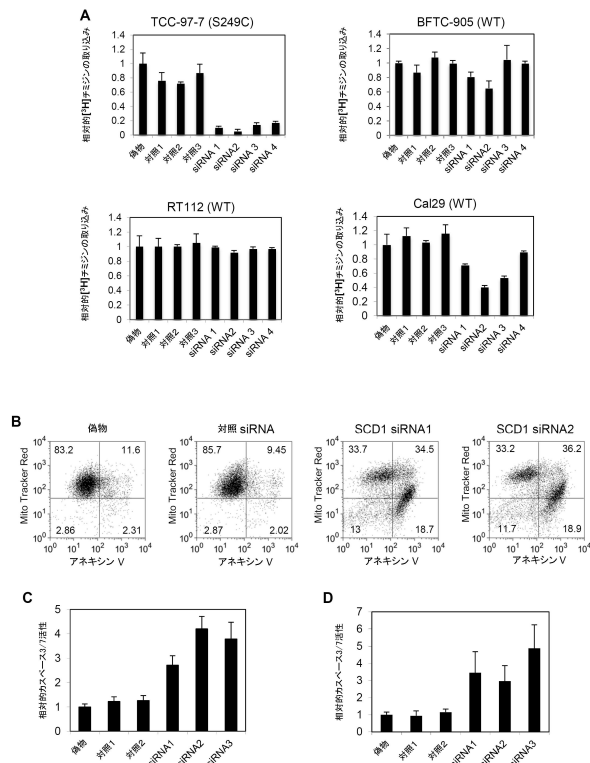
【図 10】

Figure 10



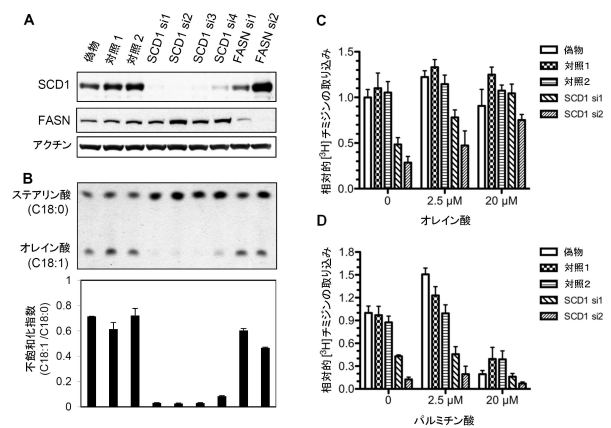
【図 11】

Figure 11



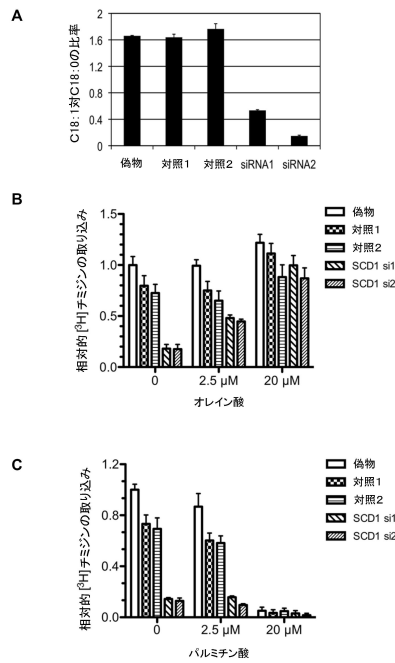
【図 12】

Figure 12



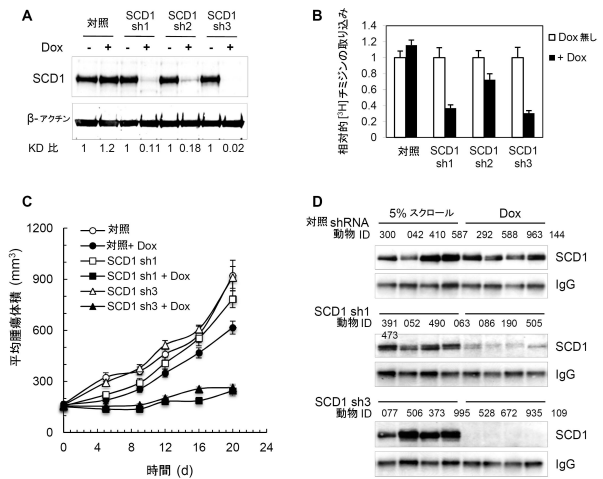
【図 13】

Figure 13



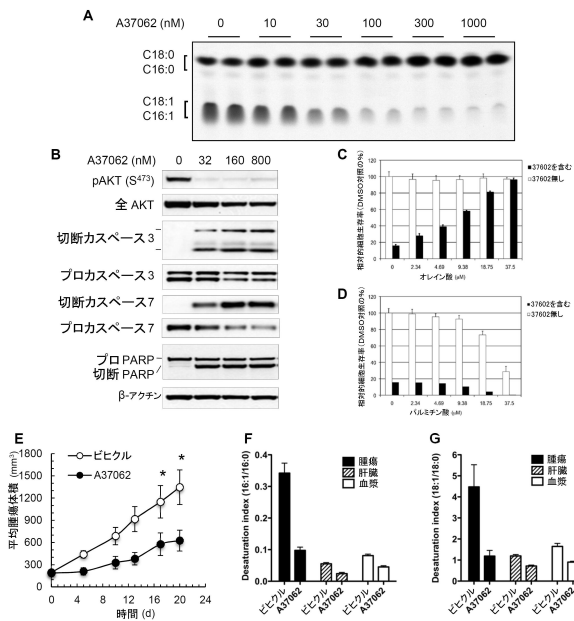
【図 14】

Figure 14



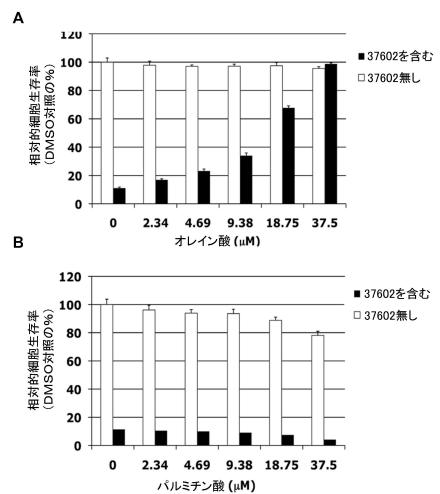
【図 15】

Figure 15



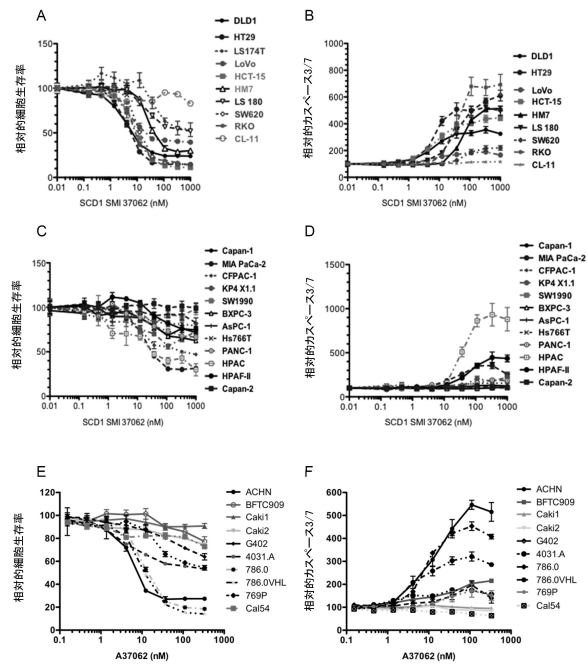
【図 16】

Figure 16



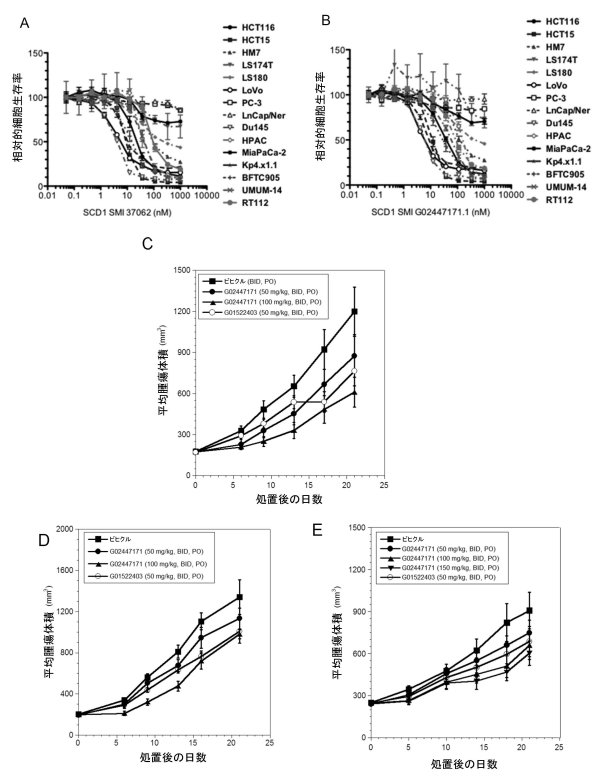
【図 17】

Figure 17



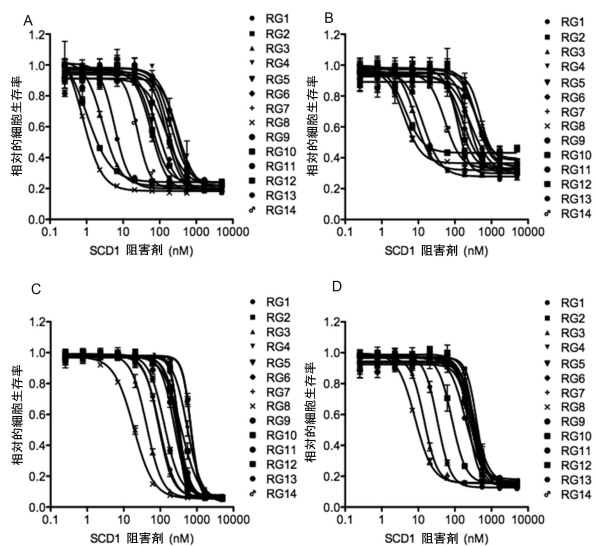
【図 18】

Figure 18



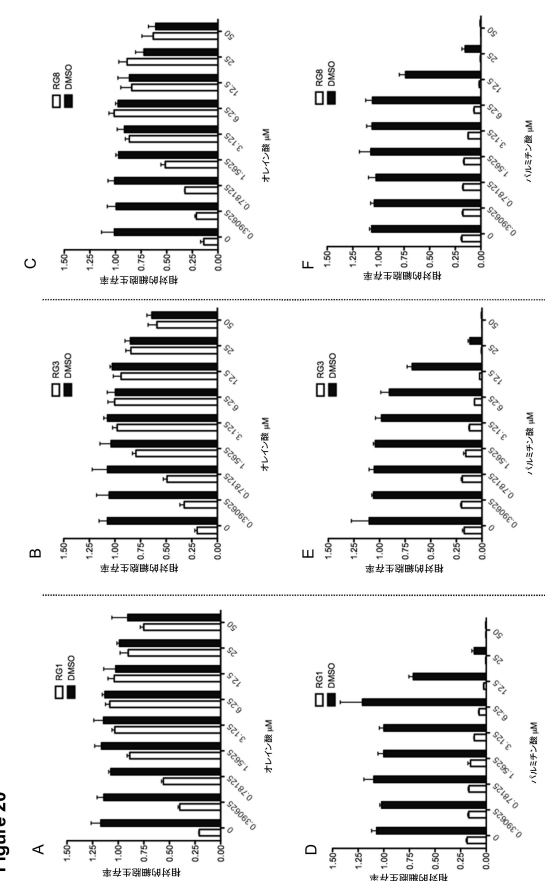
【図 19】

Figure 19

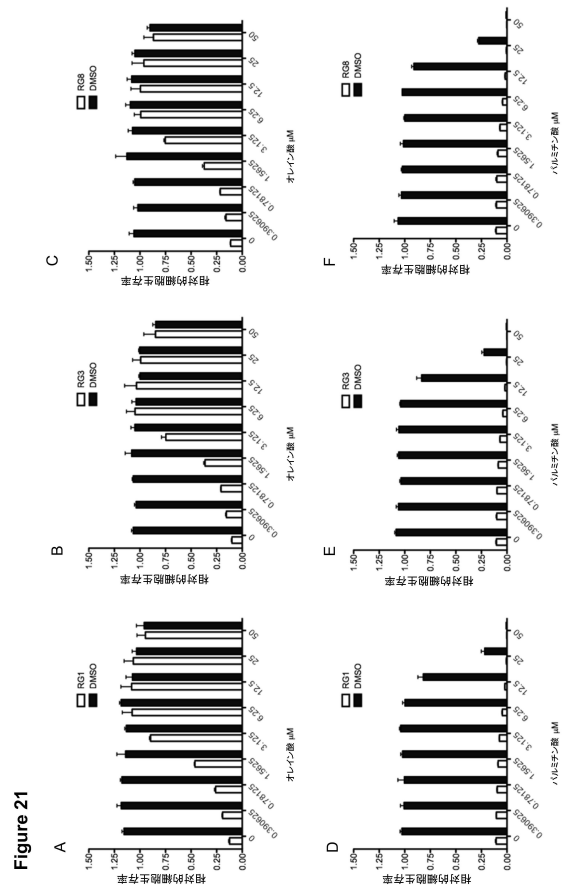


【図 20】

Figure 20



【図 21】



【配列表】

0006254087000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
A 6 1 P 15/00	(2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 13/12	(2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 1/18	(2006.01)	A 6 1 P 1/18	
A 6 1 P 13/10	(2006.01)	A 6 1 P 13/10	
A 6 1 P 1/00	(2006.01)	A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
C 0 7 D 211/04	(2006.01)	C 0 7 D 211/04	
C 0 7 D 237/02	(2006.01)	C 0 7 D 237/02	
C 0 7 D 241/04	(2006.01)	C 0 7 D 241/04	

- (72)発明者 トゥー, シャンガン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテッド
- (72)発明者 シン, ジン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテッド

審査官 菊池 美香

- (56)参考文献 特表2003-533978 (JP, A)
 国際公開第2011/015629 (WO, A1)
 PLOSONE, 2009, Vol.4, Issue8, e6812
 PLOSONE, 2010, Vol.5, Issue6, e11394

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- | | |
|---------|-------------|
| A 6 1 K | 4 8 / 0 0 |
| A 6 1 K | 3 1 / 4 4 5 |
| A 6 1 K | 3 1 / 4 9 6 |
| A 6 1 K | 3 1 / 5 0 1 |
| A 6 1 K | 4 5 / 0 0 |
| A 6 1 P | 1 / 0 0 |
| A 6 1 P | 1 / 1 8 |
| A 6 1 P | 1 3 / 1 0 |
| A 6 1 P | 1 3 / 1 2 |
| A 6 1 P | 1 5 / 0 0 |
| A 6 1 P | 2 5 / 0 0 |
| A 6 1 P | 3 5 / 0 0 |
| A 6 1 P | 4 3 / 0 0 |
- JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
 CApus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)