

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6941565号
(P6941565)

(45) 発行日 令和3年9月29日(2021.9.29)

(24) 登録日 令和3年9月8日(2021.9.8)

| | |
|--------------------------|---------------------|
| (51) Int. Cl. | F I |
| A 6 1 K 38/20 (2006.01) | A 6 1 K 38/20 Z N A |
| A 6 1 K 31/522 (2006.01) | A 6 1 K 31/522 |
| A 6 1 K 31/573 (2006.01) | A 6 1 K 31/573 |
| A 6 1 K 31/713 (2006.01) | A 6 1 K 31/713 |
| A 6 1 K 38/50 (2006.01) | A 6 1 K 38/50 |

請求項の数 13 (全 49 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-559125 (P2017-559125)
 (86) (22) 出願日 平成28年5月11日 (2016.5.11)
 (65) 公表番号 特表2018-519269 (P2018-519269A)
 (43) 公表日 平成30年7月19日 (2018.7.19)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/031820
 (87) 国際公開番号 W02016/183176
 (87) 国際公開日 平成28年11月17日 (2016.11.17)
 審査請求日 令和1年5月13日 (2019.5.13)
 (31) 優先権主張番号 62/160,114
 (32) 優先日 平成27年5月12日 (2015.5.12)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(73) 特許権者 515015252
 ドレクセル ユニバーシティ
 アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 フィ
 ラデルフィア チェスナット ストリート
 3 1 4 1
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志
 (74) 代理人 100102118
 弁理士 春名 雅夫
 (74) 代理人 100160923
 弁理士 山口 裕孝
 (74) 代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊
 (74) 代理人 100142929
 弁理士 井上 隆一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 がん転移を処置または防止するのに有用な化合物および組成物、ならびにこれらの使用法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アナキンラ、XOMA-052、AMG-108、カナキヌマブ、リロナセプト、K-832、CYT-013-IL1b Qb、LY-2189102、デキサメタゾン、インターフェロン-ガンマ、ペントキシフィリン、およびその任意の組み合わせからなる群より選択されるIL1 枯渇剤の有効量を含む、

ヒト対象におけるアンドロゲン受容体を発現しない前立腺がん細胞 [AR(-)PC細胞] を殺滅するか、または

ヒト対象におけるアンドロゲン受容体を発現しない前立腺がん細胞 [AR(-)PC細胞] の増殖率を低減する方法に使用するための

組成物であって、

該がん細胞がヒト対象内の固形腫瘍の一部であり、かつ

該方法が該がん細胞を該IL1 枯渇剤の有効量に接触させ、それにより該がん細胞を殺滅するか、または該がん細胞の増殖率を低減する段階を含む、組成物。

【請求項 2】

固形腫瘍が前立腺腫瘍を含む、請求項1記載の組成物。

【請求項 3】

固形腫瘍が骨転移を含む、請求項1記載の組成物。

【請求項 4】

アナキンラ、XOMA-052、AMG-108、カナキヌマブ、リロナセプト、K-832、CYT-013-IL1b Qb、LY-2189102、デキサメタゾン、インターフェロン-ガンマ、ペントキシフィリン、お

よびその任意の組み合わせからなる群より選択されるIL1 枯渴剤の有効量を含む、対象においてAR(-)PC細胞の転移を処置または防止する方法に使用するための組成物であって

、
該方法が対象にIL1 枯渴剤の治療的有効量を投与し、それにより対象におけるAR(-)PC細胞の転移を処置または防止する段階を含む、組成物。

【請求項5】

転移が骨転移を含む、請求項4記載の組成物。

【請求項6】

対象が去勢抵抗性前立腺がん罹患している、請求項4記載の組成物。

【請求項7】

化学療法剤および抗細胞増殖剤からなる群より選択される、対象に投与可能であるように製剤化される少なくとも1つの追加の化合物をさらに含む、請求項4記載の組成物。

【請求項8】

化学療法剤が、アルキル化剤、ニトロソ尿素、代謝拮抗薬、抗腫瘍抗生物質、植物アルキロイド(alkyloid)、タキサン、ホルモン剤、プレオマイシン、ヒドロキシ尿素、L-アスパラギナーゼ、およびプロカルバジンからなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物を含む、請求項7記載の組成物。

【請求項9】

抗細胞増殖剤が、グランザイム、Bcl-2ファミリーメンバー、チトクロムC、およびカスパーゼからなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物を含む、請求項7または8記載の組成物。

【請求項10】

IL1 枯渴剤および少なくとも1つの追加の化合物が、対象に同時投与可能であるように製剤化される、請求項7~9のいずれか一項記載の組成物。

【請求項11】

IL1 枯渴剤が、対象に、吸入、経口、直腸、膣、非経口、局所、経皮、肺、鼻内、口腔、眼、くも膜下腔内、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される投与経路により投与可能であるように製剤化される、請求項4~10のいずれか一項記載の組成物。

【請求項12】

対象が哺乳動物である、請求項4~11のいずれか一項記載の組成物。

【請求項13】

哺乳動物がヒトである、請求項12記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2015年15月12日提出の米国特許仮出願第61/160,114号に対する優先権を主張し、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

転移または転移疾患は、1つの器官または部分から、別の非隣接器官または部分への疾患の伝播である。転移疾患は主として、しかし特有ではなく、悪性腫瘍細胞および感染に関連している。

【0003】

がんは、組織における単一細胞が、悪性表現型を有する推定がん幹細胞の生成を引き起こす様式で遺伝的に損傷された後に起こる。これらのがん幹細胞は無制御の異常な有糸分裂を起こすことができ、これはその位置でがん細胞の総数を増加させるのに貢献する。起始部位でがん細胞の領域が臨床的に検出可能となれば、それは原発腫瘍と呼ばれる。いくつかのがん細胞は、局所領域において周囲の正常組織に侵入し、浸潤して、新しい腫瘍を

10

20

30

40

50

形成する能力も獲得する。組織内の隣接部位で新しく形成された腫瘍は局所転移と呼ばれる。

【0004】

いくつかのがん細胞はリンパ管および/または血管の壁に侵入する能力を獲得し、その後これらの細胞は血流を通じて体内の他の部位および組織に循環することができる（循環腫瘍細胞）。このプロセスは（それぞれ）リンパ性または血行性伝播として公知である。腫瘍細胞が別の部位で停止した後、それらは血管または壁を通して再侵入し（溢出）、増殖し続け、最終的には臨床的に検出可能な別の腫瘍が形成される。この新しい腫瘍は転移（または二次）腫瘍として公知である。転移は悪性の特徴の1つである。ほとんどの腫瘍および他の新生物は、程度は様々ではあるが、転移することができる（例えば、基底細胞がんはめったに転移しない）。

10

【0005】

転移腫瘍はがんの後期に非常によく見られる。転移が起こる最も一般的な場所は、肺、肝臓、脳、および骨である。一定の腫瘍が特定の器官に播種する傾向もある。例えば、前立腺がんおよび乳がんは通常は骨に転移する。結腸がんは肝臓に転移する傾向を有する。女性では胃がんは卵巣に転移することが多い。研究により、これらの組織選択的転移プロセスは特定の解剖学および機械的経路によることが示唆されている。特に、がん細胞はその遺伝子型および表現型特徴が局所微小環境とどういいうけが適合性である場合にのみ、他の器官にコロニー形成して、肉眼病変へと進行し得る。したがって、二次器官のがん細胞コロニー形成を支持する分子決定因子を特定することで、転移性疾患に効果的に対抗するための新規治療標的が明らかにされ得る。

20

【0006】

前立腺がんは前立腺、すなわち男性生殖系の腺において発生し、50歳を超える男性で発症することが多い。前立腺がんは先進国においては最も一般的で、発展途上国では発生率が上昇中である。世界的に、男性におけるがん関連死の第6の原因であるが、英国では第1、米国では第2の原因である。しかし、前立腺がんを有する多くの男性は症状を示さず、治療を受けず、ついには他の無関係の原因で死亡する。遺伝および食事を含む多くの因子が、前立腺がんの発生に関係するとされている。

【0007】

ほとんどの前立腺がんは成長が遅いが、侵襲性前立腺がんの症例もある。がん細胞は前立腺から体の他の部分、特に骨およびリンパ節に転移し得る。前立腺がんは疼痛、排尿困難、性交中の問題、または勃起不全を引き起こし得る。前立腺がん処置のために化学療法が広く用いられている。最近の研究は、腫瘍細胞増殖を阻害し、細胞死を促進するための、腫瘍細胞の化学療法誘導性アポトーシスに焦点を合わせている。

30

【0008】

前立腺がん処置のための2つの重要な分子標的には、P型トランスフォーミング成長因子（TGF- β ）などの前立腺組織分泌成長因子および前立腺特異抗原（PSA）が含まれる。TGF- β は細胞増殖、分化、および様々な機能の発生を制御する。PSAは、ガンマ-セミノプロテインまたはヒト腺性カリクレイン関連ペプチダーゼ-3（KLK3）として公知のキモトリプシン様セリンプロテアーゼで、上皮前立腺組織から分泌され、ここに高度に局在する。PSAスクリーニングは、前立腺がんを有する個人を特定するために用いられてきた。しかし、PSAは前立腺がんだけでなく、前立腺炎または良性前立腺肥大症の指標でもある。事実、生検後に前立腺がんとして診断されるのは、高PSAを示す者の30%にすぎない。PSAの上流調節因子であるアンドロゲン受容体を標的としている治療は前立腺がんの処置において有効であったが、疾患状態は時として進行し、去勢抵抗性前立腺がん（CRPC）をきたす。アンドロゲン受容体（AR）は、主に骨格に波及する播種性CRPCにおいても重要な役割を果たすと広く考えられている。

40

【0009】

インターロイキン-1ベータ（IL1 β ；IL-1 β ）前駆体についてはSEQ ID NO:1および切断された成熟IL-1 β についてはSEQ ID NO:2）は、カタボリンとしても公知で、ヒトにおいて1

50

L1B遺伝子によってコードされるサイトカインタンパク質である。IL1 はインターロイキン1サイトカインファミリーの一員であり、活性化マクロファージによってプロタンパク質として産生され、これはカスパーゼ1 (CASP1/ICE) によってタンパク分解性に処理されてその活性型となる。このサイトカインは炎症反応の重要なメディエーターであり、細胞増殖、分化、およびアポトーシスを含む細胞活動に關与する。研究により、この遺伝子は統合失調症に対する感受性に關係づけられている。

【0010】

特に原発性前立腺がんに関連する転移骨がんの状況における、対象の転移腫瘍の発生を回避する、遅延させる、または最小化する新規処置法の開発が当技術分野において必要とされている。本発明はこの要求を満たすものである。

10

【発明の概要】

【0011】

本発明は、アンドロゲン受容体を発現しない前立腺がん細胞 [AR(-)PC細胞] を殺滅する、および/またはその増殖を防止もしくは低減する方法を提供する。本発明は、対象においてAR(-)PC細胞の転移を処置または防止する方法をさらに提供する。本発明は、対象において、アンドロゲン受容体を発現しかつIL1 を発現しない前立腺がん細胞 [AR(+)/IL1 (-)PC細胞] の骨転移を処置または防止する方法をさらに提供する。本発明は、前立腺がん罹患している対象のために、抗転移治療処置を推奨する方法をさらに提供する。本発明は、IL1 枯渇剤を含む抗転移治療処置から利益を得るであろう前立腺がん患者を特定する方法をさらに提供する。本発明は、前立腺がん患者がIL1 枯渇剤を含む抗転移治療処置から利益を得ているかどうかを判定する方法をさらに提供する。本発明は、IL1 枯渇剤と、その使用のための説明材料とを含むキットをさらに提供する。

20

【0012】

一定の態様において、方法は、AR(-)PC細胞をIL1 枯渇剤の有効量と接触させ、それにより細胞を殺滅する、および/または細胞の増殖を防止もしくは低減する段階を含む。

【0013】

一定の態様において、方法は、対象にIL1 枯渇剤の治療的有効量を投与し、それにより対象におけるAR(-)PC細胞の転移を処置または防止する段階を含む。

【0014】

一定の態様において、方法は、対象にIL1 枯渇剤の治療的有効量を投与し、それにより対象における細胞の骨転移を処置または防止する段階を含む。

30

【0015】

一定の態様において、方法は、対象からの生物試料がAR(+)/IL1 (-)PC細胞またはAR(-)PC細胞を含むかどうかを判定し、ここで対象からの生物試料がAR(+)/IL1 (-)PC細胞またはAR(-)PC細胞を含む場合、IL1 枯渇剤の治療的有効量を用いて抗転移治療処置を受けるように対象に指示する段階を含む。

【0016】

一定の態様において、方法は、患者の生物試料中の、PCADM-1、PCADM-1に結合する抗体、およびPCADM-1をコードするポリヌクレオチドからなる群より選択される、少なくとも1つのマーカーのレベルを評価する段階を含む。他の態様において、方法は、患者の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルを、転移前立腺がん罹患していない同様の哺乳動物から得た生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルと比較する段階を含む。さらに他の態様において、同様の哺乳動物の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルと比較して、患者の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルが高いことは、患者がIL1 枯渇剤を含む抗転移治療処置から利益を得るであろうことを示す。

40

【0017】

一定の態様において、方法は、患者の少なくとも第一および第二の生物試料中の、PCADM-1、PCADM-1に結合する抗体、およびPCADM-1をコードするポリヌクレオチドからなる群より選択される、少なくとも1つのマーカーのレベルを評価する段階を含む。他の態様において、患者にIL1 枯渇剤を投与する前に第一の試料を得、患者にIL1 枯渇剤を投与し

50

た後に第二の試料を得るか；または患者にIL1 枯渴剤を投与した後に第一の試料および第二の試料を得、処置の後半の時点で第二の試料を得。さらに他の態様において、方法は、患者の少なくとも第一および第二の生物試料中の少なくとも1つのマーカのレベルを比較する段階を含む。さらに他の態様において、患者の第一の生物試料中の少なくとも1つのマーカのレベルと比較して、患者の第二の生物試料中の少なくとも1つのマーカのレベルが低いことは、患者がIL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に反応していることを示す。さらに他の態様において、患者の第一の生物試料中の少なくとも1つのマーカのレベルと比較して、患者の第二の生物試料中の少なくとも1つのマーカのレベルが等しい、または高いことは、患者がIL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に反応していないことを示す。

10

【0018】

一定の態様において、細胞はインビトロまたはエクスピボである。他の態様において、細胞は対象内の固形腫瘍の一部である。さらに他の態様において、固形腫瘍は前立腺腫瘍を含む。さらに他の態様において、固形腫瘍は骨転移を含む。さらに他の態様において、転移は骨転移を含む。さらに他の態様において、対象は去勢抵抗性前立腺がん罹患している。

【0019】

一定の態様において、IL1 枯渴剤はアナキンラ、XOMA-052、AMG-108、カナキヌマブ、リロナセプト、K-832、CYT-013-IL1bQb、LY-2189102、デキサメタゾン、インターフェロン-ガンマ、ペントキシフィリン、IL1 抗体、siRNA、リボザイム、アンチセンス、アプ
タマー、ペプチド模倣物、小分子、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される。

20

【0020】

一定の態様において、IL1 抗体はポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、合成抗体、重鎖抗体、ヒト抗体、抗体の生物活性断片、およびその任意の組み合わせを含む群より選択される抗体を含む。

【0021】

一定の態様において、細胞は哺乳動物細胞である。他の態様において、細胞はヒト細胞である。

【0022】

一定の態様において、対象に化学療法剤および抗細胞増殖剤からなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物をさらに投与する。他の態様において、化学療法剤はアルキル化剤、ニトロソ尿素、代謝拮抗薬、抗腫瘍抗生物質、植物アルキロイド(alkyloid)、タキサン、ホルモン剤、プレオマイシン、ヒドロキシ尿素、L-アスパラギナーゼ、およびプロカルバジンからなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物を含む。さらに他の態様において、抗細胞増殖剤はグランザイム、Bcl-2ファミリーメンバー、チトクロムC、およびカスパーゼからなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物を含む。さらに他の態様において、IL1 枯渴剤および少なくとも1つの追加の化合物を対象に同時投与する。さらに他の態様において、IL1 枯渴剤および少なくとも1つの追加の化合物を同時製剤し、対象に同時投与する。

30

40

【0023】

一定の態様において、IL1 枯渴剤を対象に、吸入、経口、直腸、膺、非経口、局所、経皮、肺、鼻内、口腔、眼、くも膜下腔内、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される投与経路により投与する。他の態様において、対象は哺乳動物である。他の態様において、哺乳動物はヒトである。

【0024】

一定の態様において、アンドロゲン除去療法(ADT)を受けないように対象に指示する。他の態様において、抗体はPCADM-1に特異的に結合し、ヒトS2リボソームタンパク質と非特異的に交差反応しない。さらに他の態様において、方法は、IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置を受けるように患者に指示する段階をさらに含む。さらに他の態様において、

50

方法は、IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置を患者に施す段階をさらに含む。さらに他の態様において、IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に患者が反応しており、その場合IL1 枯渴剤処置を含む治療処置を持続するように該対象に指示する。さらに他の態様において、IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に患者が反応しておらず、その場合IL1 枯渴剤処置を含む治療処置を中止するように該対象に指示する。

【 0 0 2 5 】

一定の態様において、説明材料は、AR(-)PC細胞またはAR(+)/IL1 (-)PC細胞の転移を防止または処置防止するための説明を含む。他の態様において、キットは化学療法剤および抗細胞増殖剤からなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物をさらに含む。さらに他の態様において、対象はCRPCに罹患している。

10

[本発明1001]

アンドロゲン受容体を発現しない前立腺がん細胞 [AR(-)PC細胞] を殺滅する、および/またはその増殖を防止もしくは低減する方法であって、

AR(-)PC細胞をIL1 枯渴剤の有効量と接触させ、それにより細胞を殺滅する、および/または細胞の増殖を防止もしくは低減する段階を含む、方法。

[本発明1002]

細胞がインビトロまたはエクスピボである、本発明1001の方法。

[本発明1003]

細胞が対象内の固形腫瘍の一部である、本発明1001の方法。

20

[本発明1004]

固形腫瘍が前立腺腫瘍を含む、本発明1003の方法。

[本発明1005]

固形腫瘍が骨転移を含む、本発明1003の方法。

[本発明1006]

IL1 枯渴剤が、アナキンラ、XOMA-052、AMG-108、カナキヌマブ、リロナセプト、K-832、CYT-013-IL1bQb、LY-2189102、デキサメタゾン、インターフェロン-ガンマ、ペントキシフィリン、IL1 抗体、siRNA、リボザイム、アンチセンス、アプタマー、ペプチド模倣物、小分子、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される、本発明1001の方法。

30

[本発明1007]

IL1 抗体が、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、合成抗体、重鎖抗体、ヒト抗体、抗体の生物活性断片、およびその任意の組み合わせを含む群より選択される抗体を含む、本発明1006の方法。

[本発明1008]

細胞が哺乳動物細胞である、本発明1001の方法。

[本発明1009]

細胞がヒト細胞である、本発明1008の方法。

[本発明1010]

対象においてAR(-)PC細胞の転移を処置または防止する方法であって、

対象にIL1 枯渴剤の治療的有効量を投与し、それにより対象におけるAR(-)PC細胞の転移を処置または防止する段階を含む、方法。

40

[本発明1011]

転移が骨転移を含む、本発明1010の方法。

[本発明1012]

対象が去勢抵抗性前立腺がん罹患している、本発明1010の方法。

[本発明1013]

IL1 枯渴剤が、アナキンラ、XOMA-052、AMG-108、カナキヌマブ、リロナセプト、K-832、CYT-013-IL1bQb、LY-2189102、デキサメタゾン、インターフェロン-ガンマ、ペントキ

50

シフィリン、IL1 抗体、siRNA、リボザイム、アンチセンス、アプタマー、ペプチド模倣物、小分子、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される、本発明1010の方法。

[本発明1014]

IL1 抗体が、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、合成抗体、重鎖抗体、ヒト抗体、抗体の生物活性断片、およびその任意の組み合わせを含む群より選択される抗体を含む、本発明1013の方法。

[本発明1015]

対象に化学療法剤および抗細胞増殖剤からなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物を投与する段階をさらに含む、本発明1010の方法。

10

[本発明1016]

化学療法剤が、アルキル化剤、ニトロソ尿素、代謝拮抗薬、抗腫瘍抗生物質、植物アルキロイド (alkyloid)、タキサン、ホルモン剤、プレオマイシン、ヒドロキシ尿素、L-アスパラギナーゼ、およびプロカルバジンからなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物を含む、本発明1015の方法。

[本発明1017]

抗細胞増殖剤が、グランザイム、Bcl-2ファミリーメンバー、チトクロムC、およびカスパーゼからなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物を含む、本発明1015の方法。

[本発明1018]

IL1 枯渇剤および少なくとも1つの追加の化合物を対象に同時投与する、本発明1015の方法。

20

[本発明1019]

IL1 枯渇剤および少なくとも1つの追加の化合物を同時製剤し、対象に同時投与する、本発明1015の方法。

[本発明1020]

IL1 枯渇剤を対象に、吸入、経口、直腸、膺、非経口、局所、経皮、肺、鼻内、口腔、眼、くも膜下腔内、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される投与経路により投与する、本発明1010の方法。

[本発明1021]

対象が哺乳動物である、本発明1010の方法。

30

[本発明1022]

哺乳動物がヒトである、本発明1021の方法。

[本発明1023]

対象において、アンドロゲン受容体を発現しかつIL1 を発現しない前立腺がん細胞 [AR(+)/IL1 (-)PC細胞] の骨転移を処置または防止する方法であって、

対象にIL1 枯渇剤の治療的有効量を投与し、それにより対象における細胞の骨転移を処置または防止する段階を含む、方法。

[本発明1024]

対象が去勢抵抗性前立腺がん罹患している、本発明1023の方法。

40

[本発明1025]

IL1 枯渇剤が、アナキンラ、XOMA-052、AMG-108、カナキヌマブ、リロナセプト、K-832、CYT-013-IL1bQb、LY-2189102、デキサメタゾン、インターフェロン-ガンマ、ペントキシフィリン、IL1 抗体、siRNA、リボザイム、アンチセンス、アプタマー、ペプチド模倣物、小分子、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される、本発明1023の方法。

[本発明1026]

IL1 抗体が、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、合成抗体、重鎖抗体、ヒト抗体、抗体の生物活性断片、およびその任意の組み合わせを含む群より選択

50

される抗体を含む、本発明1025の方法。

[本発明1027]

対象に化学療法剤および抗細胞増殖剤からなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物を投与する段階をさらに含む、本発明1023の方法。

[本発明1028]

化学療法剤が、アルキル化剤、ニトロソ尿素、代謝拮抗薬、抗腫瘍抗生物質、植物アルキロイド(alkyloid)、タキサン、ホルモン剤、ブレオマイシン、ヒドロキシ尿素、L-アスパラギナーゼ、およびプロカルバジンからなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物を含む、本発明1027の方法。

[本発明1029]

抗細胞増殖剤が、グランザイム、Bcl-2ファミリーメンバー、チトクロムC、およびカスパーゼからなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物を含む、本発明1027の方法。

[本発明1030]

IL1 枯渇剤および少なくとも1つの追加の化合物を対象に同時投与する、本発明1027の方法。

[本発明1031]

IL1 枯渇剤および少なくとも1つの追加の化合物を同時製剤し、対象に同時投与する、本発明1027の方法。

[本発明1032]

IL1 枯渇剤を対象に、吸入、経口、直腸、膺、非経口、局所、経皮、肺、鼻内、口腔、眼、くも膜下腔内、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される投与経路により投与する、本発明1023の方法。

[本発明1033]

対象が哺乳動物である、本発明1023の方法。

[本発明1034]

哺乳動物がヒトである、本発明1033の方法。

[本発明1035]

前立腺がん罹患している対象のために、抗転移治療処置を推奨する方法であって、対象からの生物試料がAR(+)/IL1 (-)PC細胞またはAR(-)PC細胞を含むかどうかを判定する段階を含み、

対象からの生物試料がAR(+)/IL1 (-)PC細胞またはAR(-)PC細胞を含む場合、IL1 枯渇剤の治療的有効量を用いて抗転移治療処置を受けるように対象に指示する、方法。

[本発明1036]

アンドロゲン除去療法(ADT)を受けないように対象に指示する、本発明1035の方法。

[本発明1037]

IL1 枯渇剤を含む抗転移治療処置から利益を得るであろう前立腺がん患者を特定する方法であって：

患者の生物試料中の、PCADM-1、PCADM-1に結合する抗体、およびPCADM-1をコードするポリヌクレオチドからなる群より選択される、少なくとも1つのマーカーのレベルを評価する段階；

患者の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルを、転移前立腺がん罹患していない同様の哺乳動物から得た生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルと比較する段階

を含み、

同様の哺乳動物の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルと比較して、患者の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルが高いことは、患者がIL1 枯渇剤を含む抗転移治療処置から利益を得るであろうことを示す、方法。

[本発明1038]

10

20

30

40

50

抗体がPCADM-1に特異的に結合し、ヒトS2リボソームタンパク質と非特異的に交差反応しない、本発明1037の方法。

[本発明1039]

IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置を受けるように患者に指示する段階をさらに含む、本発明1037の方法。

[本発明1040]

IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置を患者に施す段階をさらに含む、本発明1037の方法。

[本発明1041]

前立腺がん患者がIL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置から利益を得ているかどうかを判定する方法であって：

患者の少なくとも第一および第二の生物試料中の、PCADM-1、PCADM-1に結合する抗体、およびPCADM-1をコードするポリヌクレオチドからなる群より選択される、少なくとも1つのマーカのレベルを評価する段階であって、ここで

(i) 患者にIL1 枯渴剤を投与する前に第一の試料を得、患者にIL1 枯渴剤を投与した後に第二の試料を得るか、または

(ii) 患者にIL1 枯渴剤を投与した後に第一の試料および第二の試料を得、処置の後半の時点で第二の試料を得る、段階；

少なくとも第一および第二の生物試料での、患者における少なくとも1つのマーカのレベルを比較する段階

を含み、

患者の第一の生物試料中の少なくとも1つのマーカのレベルと比較して、患者の第二の生物試料中の少なくとも1つのマーカのレベルが低いことは、IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に患者が反応していることを示し、かつ

患者の第一の生物試料中の少なくとも1つのマーカのレベルと比較して、患者の第二の生物試料中の少なくとも1つのマーカのレベルが等しい、または高いことは、IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に患者が反応していないことを示す、方法。

[本発明1042]

IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に患者が反応しており、IL1 枯渴剤処置を含む治療処置を持続するように該対象に指示する、本発明1041の方法。

[本発明1043]

IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に患者が反応しておらず、IL1 枯渴剤処置を含む治療処置を中止するように該対象に指示する、本発明1041の方法。

[本発明1044]

IL1 枯渴剤と、その使用のための説明材料とを含むキットであって、説明材料が、AR(-)PC細胞またはAR(+)/IL1 (-)PC細胞の転移を防止または処置防止するための説明を含む、キット。

[本発明1045]

転移が骨転移を含む、本発明1044のキット。

[本発明1046]

IL1 枯渴剤が、アナキンラ、XOMA-052、AMG-108、カナキヌマブ、リロナセプト、K-832、CYT-013-IL1bQb、LY-2189102、デキサメタゾン、インターフェロン-ガンマ、ペントキシフィリン、IL1 抗体、siRNA、リボザイム、アンチセンス、アプタマー、ペプチド模倣物、小分子、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される、本発明1044のキット。

[本発明1047]

化学療法剤および抗細胞増殖剤からなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物をさらに含む、本発明1044のキット。

[本発明1048]

対象がCRPCに罹患している、本発明1044のキット。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0026】

本発明を例示するために、本発明の特定の態様を図面に示す。しかし、本発明は図面に示す態様の正確な配置および手段に限定されるものではない。

【図1A】原発腫瘍および骨格レベルでの転移病変におけるアンドロゲン受容体（AR）の発現を示す1組の画像である。

【図1B】Aperio Imagingおよび解析スイートを用いてのARに対する一次抗体の免疫化学検出を示す1組の画像である。

【図1C】転移病変におけるAR(+)およびAR(-)細胞の定量を示す1組の棒グラフである。

【図1D】レーザーキャプチャーマイクロダイセクション（LCM）により骨転移病変から組織を回収することによって得た結果を示す一連の画像である。

【図1E】図1E~1Hは、AR(-)およびAR(+)細胞における様々なタンパク質または受容体のqRT-PCR定量を示す棒グラフのセットである。

【図1F】図1Eの続きを示す図である。

【図1G】図1Fの続きを示す図である。

【図1H】図1Gの続きを示す図である。

【図1I】ADT後転移CRPCが記録された患者のAR染色骨生検の画像である。核ARを欠くがん細胞は一般にAR+細胞との混合で検出され（左側、矢印で示す）；すべての標本で、核AR染色を欠く細胞でほぼ完全に構成される大きい領域が観察された（右側）。

【図1J】AR発現が陰性のがん細胞の割合は $27 \pm 2\%$ であることが判明し、浸潤性または常在非がん細胞（免疫、内皮または間質起源）のパーセンテージは1~2%を超えないことを示す棒グラフである。

【図1K】図1K~1Lは、汎サイトケラチン抗体およびAR抗体の両方で染色した、原発（図1K）および骨転移（図1L）組織の画像である。AR+（図1Kでは矢印で示し、図1Lではより明るい領域の3つの矢印で示す）およびAR-（図1Lでより暗い領域の矢印で示す）がん細胞はいずれも上皮起源のものであり、原発腫瘍の基底区画ならびに骨格においてはAR+細胞との混合で存在する。骨髄間質において非上皮AR-細胞が特定された（図1Lでより暗い領域の矢印で示す）。

【図1L】図1Kの続きを示す図である。

【図2】（上）前立腺がん患者からの肺組織はAR染色されず；（下）骨転移病変はAR状態に関係なく神経内分泌（NE）マーカー（シナプトフィジンおよびクロモグラニンA）陰性であるが、肺転移病変はNEマーカー陽性であることを示す表および1組の画像を含む。

【図3A】処置計画の関数としての、マウスにおける腫瘍量を示す棒グラフである。

【図3B】マウスの骨転移病変におけるアナキンラ処置の効果を示す1組の画像である。

【図3C】IL1RノックアウトSCIDマウスのマウスコロニーにより得た結果を示す。図3Cは、骨転移病変に対する、IL1Rをノックアウトすることの効果を示す1組の画像である。

【図3D】IL1RノックアウトSCIDマウスのマウスコロニーにより得た結果を示す。図3Dは、IL1R状態の関数としての、骨転移病変を発生する（または発生しない）マウスの数を示す棒グラフである。

【図3E】IL1RノックアウトSCIDマウスのマウスコロニーにより得た結果を示す。図3Eは、IL1R状態の関数としての、マウスの腫瘍量を示す棒グラフである。

【図4A】ヒト骨間葉系幹細胞をIL1 またはAR(-)/IL1 (+)PC3-ML前立腺がん細胞からの条件培地に曝露することにより起こる、アルファ平滑筋アクチン（アルファMSA）で観察された形態変化を示す1組の画像である。

【図4B】図4Aに示す系におけるS100A4マーカーの発現の変化を示す1組の画像である。

【図4C】AR(-)/IL1 (+)細胞により生じた転移腫瘍のごく近傍の骨間質を回収することによって得た画像のセットである。

【図4D】AR(-)/IL1 (+)細胞により生じた転移腫瘍のごく近傍の骨間質を回収することによって得た画像のセットである。

【図4E】別個の原料からの間質におけるS100A4（図4E）の相対的発現を示す棒グラフの

10

20

30

40

50

セットである。

【図4F】別個の原料からの間質におけるCOX-2（図4F）の相対的発現を示す棒グラフのセットである。

【図5A】マウスに赤色生物発光/蛍光マーカーを安定に発現しているAR(-)/IL1 (+)前立腺がん細胞、および緑色生物発光/蛍光マーカーを安定に発現しているAR(+)/IL1 (-)がん細胞を同時接種した実験の略図である。

【図5B】ヒトPCa細胞：DU-145（欠いている）、またはLNCAP、VCaPもしくは22RV1（発現している）におけるIL-1 発現の欠如を示すウェスタンブロットを示す画像である。

【図5C】図5C～5Hは、図5Aの実験設定で観察された骨転移病変を示す棒グラフおよび画像のセットである。AR(+)細胞は、AR(-)/IL1 (+)細胞と共存している場合、生存して、骨にコロニー形成することができた。DU-145細胞（AR(-)/IL1 (-)）もAR(-)/IL1 (+)細胞の存在から利益を得たが、生成した腫瘍は小さかった（図5H）。

【図5D】図5Cの続きを示す図である。

【図5E】図5Dの続きを示す図である。

【図5F】図5Eの続きを示す図である。

【図5G】図5Fの続きを示す図である。

【図5H】図5Gの続きを示す図である。

【図5I】図5I～5Kは、図5Aの実験設定で観察された、接種後24時間（図5J）および接種後5分（図5K）で検出された骨中の播種腫瘍細胞（DTC）（図5I）の数を示す棒グラフおよび画像のセットである。

【図5J】図5Iの続きを示す図である。

【図5K】図5Jの続きを示す図である。

【図5L】IL-1シグナル伝達の軌道を調査することを意図したウェスタンブロットの画像のセットである。図5Lは、一連のPCa細胞株はすべてパラクリンIL-1 の受容体を有することを示す。

【図5M】IL-1シグナル伝達の軌道を調査することを意図したウェスタンブロットの画像のセットである。図5Mは、骨にコロニー形成すると、PC3-ML細胞から同等に利益を得る、2つのAr+ PCa細胞株の間の異なるシグナル伝達を示し、IL-1Rのパラクリン刺激が転移細胞協調の主な原因である見込みはないことを示す。

【図5N】IL-1シグナル伝達の軌道を調査することを意図したウェスタンブロットの画像のセットである。図5Nは、ヒト骨間葉系幹細胞（hMSC）は、IL-1 に曝露されると、急速かつ持続性のシグナル応答を示し、IL-1 に対する感受性を示すことを示す。

【図5O】図5O～5Pは、図5Aの実験設定で観察された、接種後の肺における（図5P）播種腫瘍細胞（DTC、図5O）の数を示す棒グラフおよび画像のセットである。

【図5P】図5Oの続きを示す図である。

【図5Q】図5Q～5Sは、高レベルのIL-1 を発現している、非転移のAR-DU-145細胞株をマウスに投与した結果を示す棒グラフおよび画像のセットである。図5Qは、これらの細胞における高いIL-1 発現を示す、ウェスタンブロットを示す。図5Rは、高発現細胞の1回接種後の、マウス大腿骨および脛骨上の混合腫瘍を示すグラフである。

【図5R】図5Qの続きを示す図である。

【図5S】図5Rの続きを示す図である。

【図6】アンドロゲン受容体を欠く前立腺がん細胞がIL-1 を分泌することによって転移開始の役割を果たす、骨転移ニッチの新規モデルの図解を示す。

【発明を実施するための形態】

【0027】

発明の詳細な説明

本発明は、部分的には、アンドロゲン受容体（AR）を発現しない前立腺がん細胞（本明細書においてAR(-)PC細胞と示す）由来の細胞の転移を処置または防止する際に、IL1 除去療法が有効である、との予想外の発見に関する。

【0028】

10

20

30

40

50

本明細書において示すとおり、ヒト標本をレーザーキャプチャーマイクロダイセクション (LCM) およびqRT-PCRにより調べた。解析により、骨格転移におけるPCa細胞の約30%はARを欠き、高レベルのインターロイキン-1 (IL1) を発現することが示された。これに対し、AR発現がん細胞はこのサイトカインは陰性である。AR(-)/IL1 (+)がん細胞が周囲の骨間質に影響をおよぼし、がん関連線維芽細胞 (CAF) の発生およびシクロオキシゲナーゼ2 (COX-2) の発現を促進することを示すために、動物モデルを用いた。特に、IL1 受容体 (IL1R) ノックアウト形質転換マウスは、IL1Rアンタゴニストのアナキンラで処置した動物と同様に、AR(-)/IL1 (+)がん細胞による骨格コロニー形成の傾向がはるかに低かった。これらの結果は、腫瘍由来IL1 が、転移許容性微小環境を確立するために、骨間質を利用することを示す。注目すべきことに、この転移ニッチは、動物モデルにおいて骨格に独立に転移することができない、ARを発現しIL1 を欠くPCa細胞も支持する。一定の態様において、本明細書において特定されるがん細胞協調は、PCaにおける骨格コロニー形成の手段となり、転移CRPCの樹立および進行に対するAR(-)/IL1 (+)の寄与を防止することを目指す、治療戦略のための新規分子標的を明らかにする。

【0029】

1つの局面において、本発明は、本発明の範囲内で企図される組成物による処置から利益を得るであろう患者を特定する新規方法を提供する。前立腺がん抗原診断マーカー1 (「PCADM-1」; SEQ ID NO:3) はAR(-)/IL1 (+)前立腺がん細胞によって高度に発現される。さらに、PSA遺伝子 (前立腺特異抗原遺伝子) は、ARの直接の転写制御下にある。したがって、ARを欠く前立腺がん細胞はPSAを発現することができないが、PCADM-1陽性である

【0030】

進行前立腺がんの後期において、転移病変は骨格レベルのみならず、肺および肝臓などの軟部組織器官でも検出される。本明細書において示すとおり、これらの病変を生じるがん細胞は主にAR(-)である。結果として、これらの後期患者において、疾患進行はPSAレベルだけを測定することによって確実にモニターすることはできず、そのような情報は転移腫瘍分画のAR(+)成分に限定され、AR(-)腫瘍細胞の寄与をまったく無視することになる。これに対して、血漿または尿中のPCADM-1のレベルを、単独、またはPSAとの組み合わせで評価することで、医師は疾患進行中のAR(+)およびAR(-)腫瘍成分両方の程度をモニターすることが可能となるであろう。したがって、前立腺がん罹患している患者の生物試料中のPCADM-1レベルを測定することにより、主にAR(+)腫瘍分画を有する患者に比べて、これらの治療からより利益を得ることができる患者の層化が可能となる。

【0031】

定義

本明細書において用いられる以下の用語はそれぞれ、本項においてそれに関連する意味を有する。

【0032】

特に記載がないかぎり、本明細書において用いられるすべての技術および科学用語は一般に、本発明が属する技術分野の当業者によって共通して理解されるものと同じ意味を有する。一般に、本明細書において用いられる命名法ならびに細胞培養、分子遺伝学、有機化学、およびペプチド化学における実験手順は、当技術分野において周知であり、一般に用いられるものである。

【0033】

本明細書において用いられる「1つの(a)」および「1つの(an)」なる冠詞は、冠詞の文法上の目的語の1つまたは複数(すなわち、少なくとも1つ)を指す。例として、「要素(an element)」は1つの要素または複数の要素を意味する。

【0034】

本明細書において用いられる「約」なる用語は、当業者には理解され、それが用いられる状況である程度変動する。量、持続時間などの測定可能な値に言及する際に本明細書において用いられる「約」なる用語は、そのような変動が開示する方法を実施するのに適切

10

20

30

40

50

であるような、明記された値からの $\pm 20\%$ または $\pm 10\%$ 、より好ましくは $\pm 5\%$ 、さらにより好ましくは $\pm 1\%$ 、さらにより好ましくは $\pm 0.1\%$ の変動を含むことになる。

【0035】

本明細書において用いられる「ADT」なる用語は、アンドロゲン除去療法を意味する。

【0036】

本明細書において用いられる「MSA」なる用語は、平滑筋アクチンを意味する。

【0037】

本明細書において用いられる「抗体」なる用語は、抗原上の特定のエピトープに特異的に結合することができる免疫グロブリン分子を意味する。抗体は天然原料由来または組換え原料由来の無傷の免疫グロブリンであり得、無傷の免疫グロブリンの免疫反応性部分でありうる。本発明において有用な抗体は、例えば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、細胞内抗体（「intrabody」）、Fv、FabおよびF(ab)₂、ならびに単鎖抗体（scFv）、ラクダ抗体およびヒト化抗体を含む、様々な形で存在しうる（Harlow et al., 1998, Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY; Harlow et al., 1989, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York; Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Bird et al., 1988, Science 242:423-426）。

【0038】

本明細書において用いられる「抗原」または「Ag」なる用語は、免疫応答を誘発する分子と定義される。この免疫応答は、抗体産生、もしくは特定の免疫学的に適格な細胞の活性化のいずれか、または両方に関与しうる。当業者であれば、実質的にすべてのタンパク質またはペプチドを含む任意の高分子は、抗原としてはたらきうることを理解するであろう。さらに、抗原は組換えまたはゲノムDNA由来でありうる。当業者であれば、免疫応答を誘発するタンパク質をコードするヌクレオチド配列または部分ヌクレオチド配列を含む任意のDNAは、したがって、その用語が本明細書において用いられる場合の「抗原」をコードすることを理解するであろう。さらに、当業者であれば、抗原は遺伝子の全長ヌクレオチド配列によってのみコードされる必要はないことを理解するであろう。本発明は、複数の遺伝子の部分ヌクレオチド配列の使用を含むが、それらに限定されるわけではないこと、およびヌクレオチド配列が所望の免疫応答を誘発するために様々な組み合わせで配列されることは、容易に明らかである。さらに、当業者であれば、抗原は「遺伝子」によってコードされる必要はまったくないことを理解するであろう。抗原は合成により生成することもでき、または生物試料由来でありうることは容易に明らかである。そのような生物試料は、組織（例えば前立腺または骨髄）、腫瘍（例えば前立腺）、細胞または生物学的液体（例えば、血液、尿、唾液、腹腔液、会陰腔液、胸膜腔液、精液、前立腺液、および便）から得ることができるが、それらに限定されるわけではない。

【0039】

用語が本明細書において用いられる場合、「アプリケーター」なる用語は、本発明の化合物および組成物を投与するための、皮下シリンジ、ピペットなどを含むが、それらに限定されるわけではない、任意の装置を意味する。

【0040】

本明細書において用いられる「アプタマー」とは、別の分子に特異的に結合することができる小分子を意味する。アプタマーは典型的にはポリヌクレオチドまたはペプチドに基づく分子のいずれかである。ポリヌクレオチドアプタマーは、通常は、他の有機および無機分子の中でも、ペプチド、タンパク質、薬物、ビタミンなどの特定の標的分子に対して、適切な結合親和性および特異性を有するように設計された、非常に特異的な三次元配座をとる、いくつかの核酸鎖を含む、DNAまたはRNA分子である。そのようなポリヌクレオチドアプタマーは、指数関数的強化によるリガンドの系統的発展の使用を通じて、膨大な数の無作為な配列から選択することができる。ペプチドアプタマーは、典型的には、特定のリガンドに結合するタンパク質骨格に結合している、約10から約20アミノ酸のループである。ペプチドアプタマーは、酵母ツーハイブリッド法などの方法を用いて、コンビナトリ

10

20

30

40

50

アルライブラリから同定し、単離してもよい。

【0041】

本明細書において用いられる「AR」なる用語は、アンドロゲン受容体を意味する。

【0042】

本明細書において用いられる「CAF」なる用語は、がん関連線維芽細胞を意味する。

【0043】

本明細書において用いられる「がん」なる用語は、異常細胞の急速かつ無制御の増殖によって特徴付けられる疾患と定義される。がん細胞は、局所的または血流およびリンパ系を通じて体の他の部分に広がり得る。様々ながんの例には、骨がん、乳がん、前立腺がん、卵巣がん、子宮頸がん、皮膚がん、膵臓がん、結腸直腸がん、腎臓がん、肝臓がん、脳がん、リンパ腫、白血病、肺がんなどが含まれるが、それらに限定されない。

10

【0044】

本明細書において用いられる「COX-2」なる用語は、シクロオキシゲナーゼ2を意味する。

【0045】

本明細書において用いられる「CRPC」なる用語は、去勢抵抗性前立腺がんを意味する。

【0046】

本明細書において用いられる「疾患」とは、動物がホメオスタシスを維持することができず、その疾患が寛解しなければ動物の健康が悪化し続ける、動物の健康状態である。

【0047】

20

本明細書において用いられる動物の「障害」とは、動物がホメオスタシスを維持することはできるが、動物の健康状態が障害のない状態に比べて好ましくない、健康状態である。未処置のままにしても、障害は必ずしも動物の健康状態のさらなる低下を引き起こすことはない。

【0048】

本明細書において用いられる「DTC」なる用語は、播種腫瘍細胞を意味する。

【0049】

本明細書において用いられる、化合物の「有効量」または「治療的有效量」または「薬学的有効量」なる用語は交換可能に用いられて、化合物を投与する対象に有益な効果を提供するのに十分な、化合物の量を意味する。本明細書において用いられる「処置する」なる用語は、患者もしくは対象が症状を経験する頻度を低減すること、または患者もしくは対象が症状を経験する重症度を低減するための作用物質もしくは化合物を投与することを意味する。任意の個々の場合における適切な治療量は、当業者が日常的な実験を用いて決定してもよい。

30

【0050】

本明細書において用いられる「内因性」とは、生物、細胞、組織または系由来の、またはその内部で産生される任意の材料を意味する。

【0051】

本明細書において用いられる「エピトープ」なる用語は、B細胞応答および/またはT細胞応答を誘導する、免疫応答を誘発しうる抗原上の小さい化学分子と定義される。抗原は1つまたは複数のエピトープを有しうる。ほとんどの抗原は多くのエピトープを有し；すなわち、それらは多価である。一般に、エピトープのサイズはおおよそ5つのアミノ酸および/または糖である。一般には、分子の特定の直線的配列ではなく全体の三次元構造が抗原特異性の主な基準であり、したがって1つのエピトープを別のエピトープから識別することを、当業者は理解する。

40

【0052】

本明細書において用いられる「外因性」なる用語は、生物、細胞、組織または系の外部から誘導される、または産生される任意の材料を意味する。

【0053】

本明細書において用いられる「重鎖抗体」なる用語は、抗原による免疫化とその後の血

50

清の単離、またはそのような抗体をコードする核酸配列のクローニングおよび発現のいずれかによる、ラクダ科の動物種由来の免疫グロブリン分子を含む。「重鎖抗体」なる用語は、重鎖病の動物から単離した、または動物からのV_H（可変重鎖免疫グロブリン）遺伝子のクローニングおよび発現によって調製した、免疫グロブリン分子をさらに含む。

【0054】

本明細書において用いられる「IL1」または「IL-1」なる用語は、インターロイキン1を意味する。

【0055】

本明細書において用いられる「IL1 枯渇剤」なる用語は、そのような作用物質で処置した対象において、IL1 の発現、産生および/または循環濃度を低減する作用物質を意味する。一定の態様において、作用物質はIL1 に結合し、中和する抗体である。他の態様において、作用物質はIL1 の生成を阻害する化学化合物である。さらに他の態様において、作用物質は対象においてIL1 の発現または産生を低減する。任意の生理的メカニズムによってIL1 の発現、産生および/または循環濃度を低減する作用物質は、本発明の方法の範囲内で有用と考えられる。一定の態様において、IL1 枯渇剤は、アナキンラ、XOM A-052、AMG-108、カナキヌマブ、リロナセプト、K-832、CYT-013-IL1bQb、LY-2189102、デキサメタゾン、インターフェロン-ガンマ、ペントキシフィリン、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される。

10

【0056】

本明細書において用いられる「阻害する」および「拮抗する」なる用語は、分子、反応、相互作用、遺伝子、mRNA、および/またはタンパク質の発現、安定性、機能または活性を測定可能な量で低減すること、または完全に防止することを意味する。阻害剤は、例えば、結合して、部分的または完全に、刺激を阻止する、タンパク質、遺伝子、およびmRNAの安定性、発現、機能および活性を低減、防止、活性を遅延、不活化、感受性低下、またはダウンレギュレートする化合物、例えば、アンタゴニストである。

20

【0057】

「説明材料」は、その用語が本明細書において用いられる場合、キット中の本発明の組成物および/または化合物の有用性を伝えるために用いられる出版物、記録、図表、または任意の他の表現媒体を含む。キットの説明材料は、例えば、本発明の化合物および/もしくは組成物を含む容器に添付されていてもよく、または化合物および/もしくは組成物を含む容器と一緒に出荷されてもよい。または、説明材料は、受容者が説明材料と化合物とを協同的に用いることを意図して、容器とは別に出荷してもよい。説明材料の送付は、例えば、キットの有用性を伝える出版物もしくは他の表現媒体の物理的送付によるものであってもよく、または、例えば、電子メール、もしくはウェブサイトからのダウンロードなどの、コンピューターによる電子伝達によって達成してもよい。

30

【0058】

本明細書において用いられる「LCM」なる用語は、レーザーキャプチャーマイクロダイセクションを意味する。

【0059】

本明細書において用いられる「MSC」なる用語は、間葉系幹細胞を意味する。

40

【0060】

目的物に適用する場合の「天然」とは、目的物を天然において見いださうという事実を意味する。例えば、天然の原料から単離することができ、人によって意図的に改変されていない生物（ウイルスを含む）中に存在するポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列は、天然配列である。

【0061】

本明細書において用いられる、対象の組織に関連しての「非がん対照試料」なる用語は、患者から得た同じ組織型からの試料であって、がんにも冒されていないことが知られているかまたはがんにも冒されていないことが見出された試料を意味する。例えば、対象の肺組織の非がん対照試料は、対象から得た肺組織試料であって、がんにも冒されていないことが

50

知られているかまたはがんに冒されていないことが見出された試料を意味する。対象の組織の「非がん対照試料」は、別の対象から得た、同じ組織型からの参照試料であって、がんに冒されていないことが知られているかまたはがんに冒されていないことが見出された試料も意味する。対象の組織の「非がん対照試料」は、もとは同じ組織型の試料から得、その組織の非がん状態の代表的描写と思われるかまたは考えられる、標準化された1組のデータ（例えば、遺伝子発現の同一性およびレベル、タンパク質レベル、活性化または非活性化された経路などであるが、それらに限定されない）も意味する。

【0062】

本明細書において用いられる「PCa」なる用語は、前立腺がんを意味する。

【0063】

本明細書において用いられる「PCADM-1」なる用語は、前立腺がん抗原診断マーカー1を意味する。PCADM-1およびこれに対する抗体は、米国特許第7,790,861号；第7,939,274号；および第8,206,899号に記載されており、これらはすべてその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0064】

本明細書において用いられる「薬学的に許容される」なる用語は、化合物の生物活性または特性を抑制せず、比較的非毒性である、担体または希釈剤などの材料を意味し、すなわち、望ましくない生物作用を引き起こすことなく、または材料が含まれる組成物の任意の成分と有害な様式で相互作用することなく、材料を個体に投与してもよい。

【0065】

「薬学的に許容される担体」なる用語は、本発明の化合物を対象の内部で、または対象に対して、その所期の機能を実施しうるように、運搬または輸送することに関与する、液体または固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、溶媒または封入材料などの、薬学的に許容される塩、薬学的に許容される材料、組成物または担体を含む。典型的には、そのような化合物は1つの器官、または体の一部から別の器官、または体の一部に運搬または輸送される。塩または担体はそれぞれ、製剤の他の成分と適合性であり、対象に有害ではないという意味で「許容され」なければならない。薬学的に許容される担体として役立つ材料のいくつかの例には下記が含まれる：ラクトース、グルコースおよびスクロースなどの糖類；トウモロコシデンプンおよびバレイショデンプンなどのデンプン；カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロースなどのセルロースおよびその誘導体；粉末トラガカント；麦芽；ゼラチン；タルク；カカオ脂および坐剤ワックスなどの賦形剤；落花生油、綿実油、ペニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油およびダイズ油などの油；プロピレングリコールなどのグリコール；グリセリン、ソルビトール、マンニトールおよびポリエチレングリコールなどのポリオール；オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチルなどのエステル；寒天；水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムなどの緩衝化剤；アルギン酸；発熱原を含まない水；等張食塩水；リンゲル液；エチルアルコール；リン酸緩衝溶液；希釈剤；造粒剤；滑沢剤；結合剤；崩壊剤；湿潤剤；乳化剤；着色剤；放出剤；コーティング剤；甘味剤；着香剤；香料；保存剤；抗酸化剤；可塑剤；ゲル化剤；増粘剤；硬化剤；凝結剤；懸濁化剤；界面活性剤；保水剤；担体；安定化剤；ならびに薬学的製剤において用いられる他の非毒性適合性物質、またはその任意の組み合わせ。本明細書において用いられる「薬学的に許容される担体」は、化合物の活性と適合性であり、対象にとって生理的に許容される、任意の、およびすべてのコーティング、抗菌および抗真菌剤、ならびに吸収遅延剤なども含む。補助的活性化合物も組成物に組み込まれてもよい。

【0066】

本明細書において用いられる「薬学的に許容される塩」なる用語は、無機酸、有機酸、溶媒和物、水和物、またはその包接化合物を含む、薬学的に許容される非毒性酸から調製した、投与される化合物の塩を意味する。

【0067】

本明細書において用いられる「薬学的組成物」なる用語は、本発明の範囲内で有用な少

10

20

30

40

50

なくとも1つの化合物と、担体、安定化剤、希釈剤、分散剤、懸濁化剤、増粘剤、および/または賦形剤などの、他の化学成分との混合物を意味する。薬学的組成物は化合物の生物への投与を促進する。化合物を投与する複数の技術には、静脈内、経口、エアロゾル、非経口、眼、肺および局所投与が含まれるが、それらに限定されない。

【0068】

「ポリペプチド」とは、ペプチド結合を介して連結された、アミノ酸残基からなるポリマー、関連する天然の構造変異体、およびその合成非天然類縁体を意味する。合成ポリペプチドは、例えば、自動ポリペプチド合成機を用いて合成することができる。「タンパク質」なる用語は、典型的には大きいポリペプチドを意味する。「ペプチド」なる用語は、典型的には短いポリペプチドを意味する。ポリペプチド配列を記載するために、本明細書において通常に表示法を用いる：ポリペプチド配列の左端はアミノ末端であり；ポリペプチド配列の右端はカルボキシル末端である。本明細書において用いられる「ペプチド模倣物」は、親ペプチドの生物学的作用を模倣することができる、非ペプチド構造要素を含む化合物である。ペプチド模倣物はペプチド結合を含んでいても、含んでいなくてもよい。

10

【0069】

本明細書において用いられる「防止する」または「防止」なる用語は、何も起こっていない場合は、障害もしくは疾患の発生がないこと、または障害もしくは疾患の発生がすでにある場合は、それ以上の障害もしくは疾患の発生がないことを意味する。同様に考えられることは、障害または疾患に関連する症状のいくつか、またはすべてを防止する、人の能力である。疾患および障害は本明細書において交換可能に用いられる。

20

【0070】

本明細書において用いられる「特異的に結合する」なる用語は、第一の分子（例えば、抗体）が第二の分子（例えば、特定の抗原エピトープ）に優先的に結合するが、必ずしもその第二の分子にのみ結合するものではないことを意味する。

【0071】

本明細書において用いられる「対象」または「個体」または「患者」は、ヒトまたは非ヒト哺乳動物でありうる。非ヒト哺乳動物には、例えば、ヒツジ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコおよびマウス哺乳動物などの、家畜およびペットが含まれる。一定の態様において、対象はヒトである。

【0072】

本明細書において用いられる「合成抗体」なる用語は、例えば、本明細書に記載のバクテリオファージによって発現される抗体などの、組換えDNA技術を用いて生成される抗体を意味する。この用語は、抗体をコードするDNA分子の合成によって生成され、そのDNA分子が抗体タンパク質、または抗体を指定するアミノ酸配列を発現する、抗体を意味すると解釈されるべきでもあり、ここでDNAまたはアミノ酸配列は当技術分野において利用可能かつ周知の合成DNAまたはアミノ酸配列技術を用いて得られている。

30

【0073】

本明細書において用いられる「TAF」なる用語は、腫瘍関連線維芽細胞を意味する。

【0074】

本明細書において用いられる「処置」または「処置すること」なる用語は、がん、がんの症状またはがんを発生する可能性を治癒する、癒す、緩和する、軽減する、変える、治す、寛解させる、改善する、または影響をおよぼすことを目的としての、がん、がんの症状またはがんを発生する可能性を有する対象への、治療薬、すなわち本発明の範囲内で有用な化合物（単独または別の薬剤との組み合わせ）の適用もしくは投与、または対象から単離された組織もしくは細胞株への治療薬の適用もしくは投与（例えば、診断またはエクスピボ適用のため）と定義される。そのような処置は、薬理ゲノミクスの分野から得た知識に基づき、特に調整または改変してもよい。

40

【0075】

本開示の全体を通して、本発明の様々な局面を範囲形式で提示することができる。範囲形式での記載は便宜および簡潔のためにすぎず、本発明の範囲に対する柔軟性のない限定

50

と解釈されるべきではないことが理解されるべきである。したがって、範囲の記載は、すべての可能な部分範囲ならびにその範囲内の個々の数値を具体的に開示したと考えられるべきである。例えば、1~6などの範囲の記載は、1~3、1~4、1~5、2~4、2~6、3~6などの部分範囲、ならびにその範囲内の個々の数字、例えば、1、2、2.7、3、4、5、5.3、および6を具体的に開示したと考えられるべきである。これは範囲の広さには関係なくあてはまる。

【0076】

組成物

一定の態様において、本発明の方法の範囲内で有用な組成物は、少なくとも1つのIL1 枯渴剤を含む。他の態様において、本発明の方法の範囲内で有用な組成物は、本質的に少なくとも1つのIL1 枯渴剤からなる。さらに他の態様において、本発明の方法の範囲内で有用な組成物は、少なくとも1つのIL1 枯渴剤からなる。

10

【0077】

本発明の範囲内で企図される作用物質は、対象においてIL1 の発現、産生および/または循環濃度を低減する。一定の態様において、作用物質はIL1 に結合し、中和する抗体である。他の態様において、作用物質はIL1 の生成を阻害する化学化合物である。さらに他の態様において、作用物質は対象においてIL1 の発現または産生を低減する。さらに他の態様において、作用物質は、アナキンラ、XOMA-052、AMG-108、カナキヌマブ、リロナセプト、K-832、CYT-013-IL1bQb、LY-2189102、デキサメタゾン、インターフェロン-ガンマ、ペントキシフィリン、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される。任意の生理的メカニズムによってIL1 の発現、産生および/または循環濃度を低減する作用物質は、本発明の方法の範囲内で有用と考えられる。

20

【0078】

本発明の方法の範囲内で企図されるIL1 枯渴剤の非限定例は下記である：

デキサメタゾン (8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17R)-9-フルオロ-11,17-ジヒドロキシ-17-(2-ヒドロキシアセチル)-10,13,16-トリメチル-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-ドデカヒドロ-3H-シクロペンタ[a]フェナントレン-3-オン) またはその塩：IL1 産生の公知の阻害剤 (Kern et al., 1998, J. Clin. Invest. 81:237-244)；

カナキヌマブ (Ilaris(登録商標)、Novartisとしても公知；以前はACZ885；Dhimolea, 2010, Mabs 2(1):3-13) は、インターロイキン-1ベータを標的とするヒトモノクローナル抗体である。インターロイキン-1アルファを含む、インターロイキン-1ファミリーの他のメンバーとの交差反応性は持たない (Lachmann et al., 2009, New Engl. J. Med. 360(23):2416-25)。カナキヌマブはクリオピリン関連周期性症候群 (CAPS) の処置のために、2009年6月にFDAにより、および2009年10月にEuropean Medicines Agencyにより認可された。カナキヌマブは慢性閉塞性肺疾患に対する処置の可能性があると、臨床試験中でもある (Yasothan & Kar, 2008, Nat. Rev. Drug Discov. 7(4):285)。

30

リロナセプト (IL1 TrapまたはAcalyst(登録商標)、Regeneronとしても公知)：インターロイキン1阻害剤 (Drug News Perspect. 21(4): 232)。リロナセプトは、ヒトインターロイキン-1受容体の細胞外ドメインおよびIL1に結合し、中和するヒトIgG1のFCドメインからなる二量体融合タンパク質である。リロナセプトは、クリオピリン関連周期性症候群 (CAPS) の処置のために用いられる。

40

AMG-108：インターロイキン-1の作用の阻害を標的とする完全ヒトモノクローナル抗体 (Cardiel et al., Arthritis Res. Ther. 12(5):R192)。

アナキンラ (Kineret(登録商標)、Amgenとしても公知)：アナキンラはIL1受容体アンタゴニストである (So et al., 2007, Arthritis Res. Ther. 9(2):R28)。アナキンラは、遺伝子改変された大腸菌 (E. coli) の培養物から調製された、ヒトIL1受容体アンタゴニストの組換え、非グリコシル化型である。アナキンラは、IL1のインターロイキン-1型受容体への結合を競合阻害することにより、天然IL1の生物活性を阻止する。

インターフェロン-ガンマ：IL1 遺伝子発現を選択的に阻害することが公知 (Chujor et al., 1996, Eur. J. Immun. 26:1253-1259)。

50

ペントキシフィリン：IL1- の合成の公知の阻害剤 (Roy et al., 2007, J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev. 10(4):235-57 ; Zargari, 2008, Dermat. Online J. 14(11):2)。

XOMA-052 (ゲボキズマブ (gevokizumab) としても公知) : 強力な抗IL1 ヒト化中和抗体 (Owyang et al., 2011, mAbs 3(1):49-60 ; 米国特許第7,531,116号)。XOMA-052は、ヒトIL1 に対する300フェントモルの結合親和性および低いピコモル範囲のインビトロ効力を有する。XOMA-052は急性痛風のマウスモデルにおいて活性である。

K-832 (2-ベンジル-5-(4-クロロフェニル)-6-[4-(メチルチオ)フェニル]-2H-ピリダジン-3-オンとしても公知) : この化合物は、インターロイキン-1 の産生に対する高い阻害活性を有し(すなわち、IL1 分泌阻害剤として作用し)、免疫、炎症、および虚血疾患のための予防および治療薬として試験中である(米国特許第6,348,468号 ; Tabunoki et al., 2003, Arthritis Rheum. 48 (Suppl. S555) ; Miura et al., 2010, Eur. J. Pharm. Biopharm. 76(2):215-221)。

CYT-013-IL1bQb (Cytos Biotechnology AG) : IL1 ワクチン (ClinicalTrials.gov, NCT00924105 ; www dot clinicaltrials dot gov/ct2/show/NCT00924105)。

LY-2189102 (Eli Lilly) : 糖尿病処置のために開発中のヒト化IgG4モノクローナル抗IL1 抗体で、結合親和性2.8pM、健常志願者への皮下投与後の半減期およびバイオアベイラビリティはそれぞれ20.3日および55%。LY2189102は最近、TDM患者における第II相試験で試験された(CT登録NCT00942188 ; ClinicalTrials.gov., 2011, 'A safety and pharmacokinetics study in patients with rheumatoid arthritis' : www dot clinicaltrials dot gov/ct2/show/NCT00380744 ; ClinicalTrials dot gov., 2011, 'A study for patients with rheumatoid arthritis on methotrexate (MTX) with an inadequate response to TNF inhibitor therapy' : www dot clinicaltrials dot gov/ct2/show/NCT00689728)。

【 0 0 7 9 】

本発明の方法の範囲内で企図されるIL1 枯渇剤のさらなる非限定例は、任意のIL1 抗体、siRNA、リボザイム、アンチセンス、アプタマー、ペプチド模倣物、小分子、およびその任意の組み合わせである。

【 0 0 8 0 】

抗体

本発明は、本発明の方法の範囲内でIL1 抗体を含む組成物を用いることを企図する。一定の態様において、抗体はXOMA-052、AMG-108、カナキヌマブ、リロナセプト、LY-2189102、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される。他の態様において、抗体はポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、合成抗体、重鎖抗体、ヒト抗体、および抗体の生物活性断片から選択される抗体を含む。

【 0 0 8 1 】

当業者であれば、抗体は、天然原料由来であるか、または組換え原料由来であるかにかかわらず、任意の免疫グロブリン分子を含み、これは標的分子上に存在するエピトープに特異的に結合しうることを理解するであろう。一定の態様において、標的分子はIL1 を含む。

【 0 0 8 2 】

本発明の1つの局面において、標的分子は標的分子上のエピトープに特異的に結合する抗体によって直接中和される。本発明のもう1つの局面において、標的分子の効果は下流のエフェクター上のエピトープに特異的に結合する抗体によって阻止される。本発明のさらにもう1つの局面において、標的分子の効果は標的分子の上流レギュレーターのエピトープに結合する抗体によって阻止される。

【 0 0 8 3 】

本発明の組成物および方法において用いる標的分子に対する抗体がポリクローナル抗体 (IgG) である場合、抗体は適切な動物に全長標的タンパク質、またはその断片、上流レギュレーター、またはその断片を含むペプチドを接種することによって生成する。これら

10

20

30

40

50

のポリペプチド、またはその断片は、本明細書の他所に記載の、化学合成および生物学的合成を含む、当技術分野において公知の任意の方法によって得てもよい。これに関して、例示的IL1 配列はSEQ ID NO:1~2である。次いで、標的分子、またはその断片に特異的に結合する、接種した動物において産生される抗体を、動物から得た液体から単離する。

【0084】

抗体は、ヤギ、ヒツジ、ウマ、ラクダ、ウサギ、およびロバなどであるが、それらに限定されるわけではない、いくつかの非ヒト哺乳動物において、この様式で生成してもよい。ポリクローナル抗体の生成法は当技術分野において周知で、例えば、Harlow, et al. (1998, In: *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, NY) に記載されている。

10

【0085】

全長標的分子、またはその断片に対するモノクローナル抗体は、例えば、Harlow et al. (1998, In: *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, NY) およびTuszynski et al., 1988, *Blood*, 72: 109-115に記載のものなどの、任意の周知のモノクローナル抗体調製手順を用いて調製してもよい。ヒトモノクローナル抗体は、米国特許出願公開第2003/0224490に記載の方法によって調製してもよい。抗原に対するモノクローナル抗体は、本明細書において参照する標準の手順を用いて、抗原で免疫したマウスから生成する。本明細書に記載の手順を用いて得たモノクローナル抗体をコードする核酸を、当技術分野において利用可能で、例えば、Wright et al., 1992, *Critical Rev. Immunol.* 12(3,4): 125-168およびその中で引用される参照文献に記載されている技術を用いて、クロー

20

【0086】

本発明の方法において用いる抗体が生物学的に活性な抗体断片あるいは全長標的分子、またはその断片に対する抗体に対応する合成抗体である場合、抗体は以下のとおりに調製する：所望の抗体またはその断片をコードする核酸を適切なベクターにクローニングする。ベクターを、大量の抗体またはその断片の生成に適した細胞中に形質移入する。次いで、所望の抗体をコードするDNAを細胞内で発現させ、それにより抗体を産生する。所望のペプチドをコードする核酸を、当技術分野において利用可能であり、例えば、Wright et al., 1992, *Critical Rev. in Immunol.* 12(3,4): 125-168およびその中で引用される参照文献に記載されている技術を用いて、クローニングし、配列決定してもよい。または、多量の所望の抗体またはその断片を、化学合成技術を用いて合成してもよい。抗体のアミノ酸配列が既知であれば、所望の抗体を、本明細書の他所に記載の当技術分野において公知の方法を用いて化学的に合成することができる。

30

【0087】

本発明は、標的分子上に存在するエピトープと特異的に反応性のヒト化抗体の使用も含む。これらの抗体は標的分子に結合することができる。本発明において有用なヒト化抗体はヒトフレームワークを有し、標的細胞表面分子と特異的に反応性の抗体、典型的にはマウス抗体からの1つまたは複数の相補性決定領域(CDR)を有する。

【0088】

本発明において用いる抗体がヒト化されている場合、抗体をQueen et al. (米国特許第6,180,370号)、Wright et al., 1992, *Critical Rev. Immunol.* 12(3,4): 125-168およびその中で引用される参照文献、またはGu et al., 1997, *Thrombosis & Hematocyst* 77(4): 755-759に記載のとおり、または当技術分野において公知の他のヒト化抗体生成法を用いて生成することができる。Queen et al.に開示される方法は、部分的には、アクセプターヒトフレームワーク領域をコードするDNAセグメントに結合された、所望の抗原に結合することができるドナー免疫グロブリンからの重鎖および軽鎖相補性決定領域(CDR)をコードする組換えDNAセグメントを発現することによって産生される、ヒト化免疫グロブリンを設計することを目的としている。概して、Queenの特許における発明は、実質的にいかなるヒト化免疫グロブリンの設計に対しても適用可能である。Queenは、DNAセグメントは典型的には、天然に結合された、または異種プロモーター領域を含む、ヒト化免疫グ

40

50

ロブリンコード配列に機能的に連結された発現制御DNA配列を含むと説明している。発現制御配列は、宿主真核細胞を形質転換もしくは宿主真核細胞に形質移入しうるベクター中の真核プロモーター系でありえ、または発現制御配列は、宿主原核細胞を形質転換もしくは宿主原核細胞に形質移入しうるベクター中の原核プロモーター系でありうる。いったんベクターが適切な宿主に取り込まれれば、導入されたヌクレオチド配列の高レベル発現に適した条件下で宿主を維持し、望まれる場合には、続いてヒト化軽鎖、重鎖、軽/重鎖二量体もしくは無傷の抗体、結合断片または他の免疫グロブリン型の回収および精製を行ってもよい (Beychok, Cells of Immunoglobulin Synthesis, Academic Press, New York, (1979)、これは参照により本明細書に組み入れられる)。

【0089】

様々なヒト細胞からのヒト定常領域 (CDR) DNA配列を、周知の手順に従って単離することができる。好ましくは、ヒト定常領域DNA配列を、国際公開公報第1987/02671号に記載の不死化B細胞から単離する。本発明の抗体を産生する際に有用なCDRは、標的分子に結合しうるモノクローナル抗体をコードするDNAから同様に誘導してもよい。そのようなヒト化抗体は、マウス、ラット、ラクダ、ラマ、ウサギ、または他の脊椎動物を含むが、それらに限定されるわけではない、抗体を産生しうる任意の好都合な哺乳動物原料から、周知の方法を用いて生成してもよい。定常領域およびフレームワークDNA配列に適した細胞ならびに抗体が発現および分泌される宿主細胞は、American Type Culture Collection, Manassas, VAなどの、いくつかの供給元から入手することができる。

【0090】

当業者であれば、本発明がラクダ科の種由来の抗体の使用を含むことをさらに理解するであろう。すなわち、本発明は、ラクダ科の種由来の抗体の使用を含むが、それに限定されるわけではない。当技術分野において周知のとおり、ラクダ科の抗体は軽鎖を欠き、したがって完全に多様な抗原結合能を有する重鎖だけを含む点で、ほとんどの他の哺乳動物のものとは異なる (Hamers-Casterman et al., 1993, Nature, 363:446-448)。そのような重鎖抗体は、通常の哺乳動物抗体よりも小さく、通常の抗体よりも溶解性が高く、かついくつかの他の抗体に比べて安定性の増加を示すという点で、有用である。ラクダ科の種には、フタコブラクダ (*C. bactrianus*) およびヒトコブラクダ (*C. dromedarius*) などの旧世界ラクダが含まれるが、それらに限定されるわけではない。ラクダ科は、ラマ、アルパカ、ビクーナおよびグアナコを含むが、それらに限定されるわけではない、新世界ラクダをさらに含む。ラクダ科の種からのポリクローナル血清の産生は、ヒツジ、ロバ、ヤギ、ウマ、マウス、ニワトリ、ラットなどの他の動物からのポリクローナル血清の産生と実質的にほぼ同等である。当業者が本開示および本明細書に詳細に記載する方法を読めば、ラクダ科の種から高い抗体価の抗体を調製することができる。一例として、哺乳動物における抗体の産生がHarlow et al., 1998, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New Yorkなどの参考文献中に詳細に記載されている。

【0091】

重鎖病 (Seligmann et al., 1979, Immunological Rev. 48:145-167、参照により本明細書に組み入れられる) を有する動物などの、他の供給源から単離したV_Hタンパク質も、本発明の組成物および方法において有用である。本発明は、Ward et al., 1989, Nature 341:544-546 (参照により本明細書に組み入れられる) に詳細に記載されているとおり、マウスおよび他の哺乳動物から産生される可変重鎖免疫グロブリンをさらに含む。簡単に言うと、V_H遺伝子をマウス脾臓調製物から単離し、大腸菌 (*E. coli*) 中で発現させる。本発明は、本明細書に詳細に記載する組成物および方法におけるそのような重鎖免疫グロブリンの使用を含む。

【0092】

本発明において標的分子阻害剤として有用な抗体を、ファージ抗体ライブラリから得てもよい。ファージ抗体ライブラリを生成するために、まずcDNAライブラリを、ファージ表面上で発現される所望のタンパク質、例えば、所望の抗体を発現する細胞、例えば、ハイブリドーマから単離されるmRNAから得る。mRNAのcDNAコピーを、逆転写酵素を用いて産生

10

20

30

40

50

する。免疫グロブリン断片を規定するcDNAをPCRによって得、得られたDNAを適切なバクテリオファージベクターにクローニングし、免疫グロブリン遺伝子を規定するDNAを含むバクテリオファージDNAライブラリを生成する。異種DNAを含むバクテリオファージライブラリを作成する手順は当技術分野において周知で、例えば、Sambrook et al., 2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NYに記載されている。

【0093】

所望の抗体をコードするバクテリオファージを、タンパク質がその対応する結合タンパク質、例えば、抗体が向けられる抗原への結合に利用可能であるような様式で、その表面上に提示されるように改変してもよい。したがって、特定の抗体を発現するバクテリオファージを、対応する抗原を発現する細胞存在下でインキュベートすると、バクテリオファージは細胞に結合することになる。抗体を発現しないバクテリオファージは、細胞に結合しない。そのようなパニング技術は当技術分野において周知で、例えば、Wright et al., 1992, Critical Rev. Immunol. 12(3,4):125-168に記載されている。

【0094】

M13バクテリオファージディスプレイを用いてのヒト抗体産生のために、前述のものなどの方法が開発されている (Burton et al., 1994, Adv. Immunol. 57:191-280)。基本的に、抗体産生細胞の集団から得たmRNAからcDNAライブラリを生成する。mRNAは再配列された免疫グロブリン遺伝子をコードし、したがって、cDNAは同じものをコードする。増幅したcDNAをM13発現ベクターにクローニングして、その表面上にヒトFab断片を発現するファージのライブラリを作成する。関心対象の抗体を提示するファージを抗原結合によって選択し、細菌中で増殖させて可溶性ヒトFab免疫グロブリンを産生する。したがって、通常のモノクローナル抗体合成とは対照的に、この手順はヒト免疫グロブリンを発現する細胞ではなく、ヒト免疫グロブリンをコードするDNAを不死化する。

【0095】

直前に示した手順は、抗体分子のFab部分をコードするファージの生成を記載している。しかし、本発明は、Fab抗体をコードするファージの生成だけに限定されると解釈されるべきではない。むしろ、単鎖抗体をコードするファージ (scFv/ファージ抗体ライブラリ) も本発明に含まれる。Fab分子は全Ig軽鎖を含む、すなわち、Fab分子は軽鎖の可変領域および定常領域の両方を含むが、重鎖の可変領域および第一定常領域ドメイン (CH1) だけを含む。単鎖抗体分子はIg Fv断片を含むタンパク質の単鎖を含む。Ig Fv断片は抗体の重鎖および軽鎖の可変領域だけを含み、その中に定常領域は含まれない。scFv DNAを含むファージライブラリを、Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581-597に記載の手順に従って生成してもよい。所望の抗体単離のためのそのように生成したファージのパニングを、Fab DNAを含むファージライブラリについて記載されたものと同様の様式で行う。

【0096】

本発明は、重鎖および軽鎖可変領域をそれらがほぼすべての可能な特異性を含むように合成しうる、合成ファージディスプレイライブラリを含むと解釈されるべきでもある (Barbas, 1995, Nature Medicine 1:837-839; de Kruif et al., 1995, J. Mol. Biol. 248:97-105)。

【0097】

いったん発現されれば、全抗体、それ由来の二量体、個々の軽鎖および重鎖、または他の形の抗体を、当技術分野において公知の標準の手順に従って精製することができる。そのような手順は、硫酸アンモニウム沈澱、アフィニティカラムの使用、日常的カラムクロマトグラフィ、ゲル電気泳動などを含むが、それらに限定されるわけではない (一般には、R. Scopes, 'Protein Purification', Springer-Verlag, N.Y. (1982)参照)。少なくとも約90%から95%の均一性の実質的に純粋な抗体が好ましく、98%から99%以上の均一性を有する抗体が薬学的使用のために最も好ましい。いったん精製すれば、本発明の方法を実施するために、または本発明の方法を実施する際に有用な薬学的組成物を調製する

10

20

30

40

50

ために、抗体を用いてもよい。

【0098】

本発明の抗体を、当技術分野において公知の任意の方法により、免疫特異的結合についてアッセイすることができる。用いることができるイムノアッセイには、いくつかではあるが例を挙げると、ウェスタンブロット、ラジオイムノアッセイ、ELISA（酵素結合免疫アッセイ法）、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫沈降アッセイ法、沈降素反応、ゲル拡散沈降素反応、免疫拡散アッセイ法、凝集アッセイ法、補体結合アッセイ法、免疫放射線アッセイ法、蛍光イムノアッセイ、プロテインAイムノアッセイなどの技術を用いての競合的および非競合的アッセイ系が含まれるが、それらに限定されるわけではない。そのようなアッセイ法は日常的で、当技術分野において公知である（例えば、Current Protocols in Molecular Biology, (Ausubel et al., eds.), Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, New York (2002)参照）。例示的イムノアッセイを以下に簡単に記載する（が、いかなる様式でも限定的であるとの意図はない）。

10

【0099】

方法

本発明は、アンドロゲン受容体を発現しない前立腺がん細胞 [AR(-)PC細胞] を殺滅する、および/またはその増殖を防止もしくは低減する方法を含む。一定の態様において、方法は、AR(-)PC細胞をIL1 枯渴剤の有効量と接触させ、それにより細胞を殺滅する、および/または細胞の増殖を防止もしくは低減する段階を含む。

【0100】

一定の態様において、細胞はインビトロまたはエクスピボである。他の態様において、細胞は対象内の固形腫瘍の一部である。さらに他の態様において、固形腫瘍は前立腺腫瘍を含む。さらに他の態様において、固形腫瘍は骨転移を含む。さらに他の態様において、細胞は哺乳動物細胞である。さらに他の態様において、細胞はヒト細胞である。

20

【0101】

本発明は、対象においてAR(-)PC細胞の転移を処置または防止する方法をさらに含む。一定の態様において、方法は、対象にIL1 枯渴剤の治療的有効量を投与し、それにより対象においてAR(-)PC細胞の転移を処置または防止する段階を含む。

【0102】

本発明は、対象において、アンドロゲン受容体を発現しかつIL1 を発現しない前立腺がん細胞 [AR(+)/IL1 (-)PC細胞] の骨転移を処置または防止する方法をさらに含む。一定の態様において、方法は、対象にIL1 枯渴剤の治療的有効量を投与し、それにより対象における細胞の骨転移を処置または防止する段階を含む。

30

【0103】

一定の態様において、転移は骨転移を含む。他の態様において、対象は去勢抵抗性前立腺がん罹患している。さらに他の態様において、対象に化学療法剤および抗細胞増殖剤からなる群より選択される少なくとも1つの追加の化合物をさらに投与する。さらに他の態様において、IL1 枯渴剤および少なくとも1つの追加の化合物を対象に同時投与する。さらに他の態様において、IL1 枯渴剤および少なくとも1つの追加の化合物を同時製剤し、対象に同時投与する。さらに他の態様において、IL1 枯渴剤を対象に、吸入、経口、直腸、膣、非経口、局所、経皮、肺、鼻内、口腔、眼、くも膜下腔内、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される投与経路により投与する。さらに他の態様において、対象は哺乳動物である。さらに他の態様において、哺乳動物はヒトである。

40

【0104】

本発明は、前立腺がん罹患している対象のために、抗転移治療処置を推奨する方法をさらに含む。一定の態様において、方法は、対象からの生物試料がAR(+)/IL1 (-)PC細胞またはAR(-)PC細胞を含むかどうかを判定し、ここで対象からの生物試料がAR(+)/IL1 (-)PC細胞またはAR(-)PC細胞を含む場合、対象にIL1 枯渴剤の治療的有効量を用いて抗転移治療処置を受けるように指示する段階を含む。他の態様において、対象にアンドロゲン除去療法 (ADT) を受けないように指示する。

50

【0105】

本発明は、IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置から利益を得るであろう、前立腺がん患者を特定する方法をさらに提供する。一定の態様において、方法は、患者の生物試料中の、PCADM-1、PCADM-1に結合する抗体、およびPCADM-1をコードするポリヌクレオチドからなる群より選択される、少なくとも1つのマーカーのレベルを評価する段階；ならびに患者の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルを、転移前立腺がんにかかっている同様の哺乳動物から得た生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルと比較する段階を含み、ここで同様の哺乳動物の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルと比較して、患者の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルが高いことは、患者がIL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置から利益を得るであろうことを示す。

10

【0106】

本発明は、前立腺がん患者がIL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置から利益を得ているかどうかを判定する方法をさらに提供する。一定の態様において、方法は、患者の少なくとも第一および第二の生物試料中の、PCADM-1、PCADM-1に結合する抗体、およびPCADM-1をコードするポリヌクレオチドからなる群より選択される、少なくとも1つのマーカーのレベルを評価する段階であって；ここで(i)患者にIL1 枯渴剤を投与する前に第一の試料を得、患者にIL1 枯渴剤を投与した後に第二の試料を得るか、または(ii)患者にIL1 枯渴剤を投与した後に第一の試料および第二の試料を得、処置の後半の時点で第二の試料を得る段階；ならびに患者の少なくとも第一および第二の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルを比較する段階を含み、ここで患者の第一の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルと比較して、患者の第二の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルが低いことは、患者がIL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に反応していることを示し、かつここで患者の第一の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルと比較して、患者の第二の生物試料中の少なくとも1つのマーカーのレベルが等しい、または高いことは、患者がIL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に反応していないことを示す。

20

【0107】

一定の態様において、抗体はPCADM-1に特異的に結合し、ヒトS2リボソームタンパク質と非特異的に交差反応しない。他の態様において、方法は、患者にIL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置を受けるように指示する段階をさらに含む。さらに他の態様において、方法は、患者にIL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置を施す段階をさらに含む。

30

【0108】

一定の態様において、IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に患者が反応しており、その場合IL1 枯渴剤処置を含む治療処置を持続するように該対象に指示する。他の態様において、IL1 枯渴剤を含む抗転移治療処置に患者が反応しておらず、その場合IL1 枯渴剤処置を含む治療処置を中止するように該対象に指示する。

【0109】

生物試料は組織試料、生体液試料、細胞(例えば、腫瘍細胞)試料などであり得る。対象から試料採取する任意の手段、例えば、組織生検、採血、脊椎穿刺、組織塗抹または搔爬を用いて、生物試料を得ることができる。したがって、生物試料は生検標本(例えば、腫瘍、ポリープ、腫瘤(固形、細胞))、吸引液、塗抹または血液試料であり得る。生物試料は、腫瘍(例えば、がん腫)および/もしくは腫瘍細胞を有する、または腫瘍および/もしくは腫瘍細胞を有することが疑われる器官からの組織であり得る。腫瘍試料は、個人の組織由来の培養ヒト細胞のインビトロでの回収により得ることもできる。腫瘍試料は、望まれる場合には、急速凍結、または制御凍結法などの、試料のタンパク質および/または核酸を分析可能な状態で保存する適切な保存手段によって、分析前に保存することもできる。

40

【0110】

キット

本発明は、IL1 枯渴剤、およびその使用のための説明材料を含むキットを含む。キットに含まれる説明材料は、AR(-)PC細胞またはAR(+)/IL1 (-)PC細胞の転移を防止または

50

処置防止するための説明を含む。一定の態様において、原発がんは前立腺がんを含む。他の態様において、転移は骨転移を含む。さらに他の態様において、IL1 枯渇剤はアナキノンラ、XOMA-052、AMG-108、カナキヌマブ、リロナセプト、K-832、CYT-013-IL1bQb、LY-2189102、デキサメタゾン、インターフェロン-ガンマ、ペントキシフィリン、IL1 抗体、siRNA、リボザイム、アンチセンス、アプタマー、ペプチド模倣物、小分子、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される。

【0111】

併用療法

本明細書に記載の方法を用いて同定した化合物は、がんを治療するために有用な少なくとも1つの追加の化合物との組み合わせで、本発明の方法において有用である。これらの追加の化合物は、本明細書において同定した化合物またはがんの症状および/もしくは転移を治療、防止、または軽減することが公知の化合物、例えば、市販の化合物を含んでいてもよい。

10

【0112】

1つの局面において、本発明は、本発明の範囲内で有用な作用物質を、化学療法剤、抗細胞増殖剤またはその任意の組み合わせを含むが、それらに限定されない、抗腫瘍剤などの治療剤との組み合わせで用い得ることを企図する。例えば、以下の非限定的例示的クラスの任意の通常化学療法剤が本発明に含まれる：アルキル化剤；ニトロソ尿素；代謝拮抗薬；抗腫瘍抗生物質；植物アルカロイド (alkaloid)；タキサン；ホルモン剤；およびその他の作用物質。

20

【0113】

アルキル化剤は、細胞中に存在する条件下で、多くの電気陰性基にアルキル基を付加し、それによりDNA複製を妨害して、がん細胞の再生を防止する。ほとんどのアルキル化剤は細胞周期非特異的である。特定の局面において、アルキル化剤は、DNA二重らせん鎖におけるグアニン塩基を架橋することにより腫瘍の増殖を停止させる。非限定例には、ブスルファン、カルボプラチン、クロラムブシル、シスプラチン、シクロホスファミド、ダカルバジン、イホスファミド、塩酸メクロレタミン、メルファラン、プロカルバジン、チオテパ、およびウラシルマスタードが含まれる。

【0114】

代謝拮抗薬は、細胞周期の合成 (S) 期における塩基のDNAへの組み込みを防止して、正常な発生および分化を妨げる。代謝拮抗薬の非限定例には、5-フルオロウラシル、6-メルカプトプリン、カペシタピン、シトシンアラビノシド、フロキシウリジン、フルダラビン、ゲムシタピン、メトトレキサート、およびチオグアニンが含まれる。

30

【0115】

抗腫瘍抗生物質は一般に、細胞分化に必要な酵素を妨害することにより、または細胞を取り囲む膜を変化させることにより、細胞分化を防止する。このクラスに含まれるのは、DNAの構造を破壊することにより細胞分化を防止し、その機能を停止するよう作用する、ドキソルビシンなどのアントラサイクリンである。これらの作用物質は細胞周期非特異的である。抗腫瘍抗生物質の非限定例には、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、イダルビシン、マイトマイシン-C、およびミトキサントロンが含まれる。

40

【0116】

植物アルカロイドは有糸分裂を阻害もしくは停止するか、または酵素を阻害し、細胞が細胞増殖に必要なタンパク質を生成するのを防止する。よく用いられる植物アルカロイドには、ビンブラスチン、ピンクリスチン、ビンデシン、およびビノレルピンが含まれる。しかし、本発明は、これらの植物アルカロイドだけに制限されると解釈されるべきではない。

【0117】

タキサンは、細胞機能において重要な、微小管と呼ばれる細胞構造に影響をおよぼす。正常な細胞増殖において、細胞が分化し始めると微小管が形成されるが、いったん細胞が分化を停止すると、微小管は分解または破壊される。タキサンは、がん細胞が微小管によ

50

り非常に妨害されて増殖および分化できなくなるように、微小管が分解するのを妨げる。非限定的例示的タキサンには、パクリタキセルおよびドセタキセルが含まれる。

【0118】

ホルモン剤およびホルモン様薬物は、例えば、白血病、リンパ腫、および多発性骨髄腫を含む、一定の型のがんに対して用いられる。これらは、その有効性を増強するために、他の型の化学療法剤と共に用いられることが多い。性ホルモンは、女性または男性ホルモンの作用または産生を変化させるために用いられ、乳がん、前立腺がん、および子宮内膜がんの増殖を遅らせるために用いられる。これらのホルモンの産生（アロマターゼ阻害剤）または機能（タモキシフェン）の阻害を、治療の補助剤としてしばしば用いることができる。いくつかの他の腫瘍もホルモン依存性である。タモキシフェンは、乳がん細胞の増殖を促進するエストロゲンの活性を妨害するホルモン剤の非限定例である。前立腺がんの処置もホルモン処置を含み得る（アンドロゲン除去療法またはアンドロゲン抑制療法とも呼ばれる）。前立腺がんは男性ホルモンであるテストステロンおよびアンドロゲンと呼ばれるその関連ホルモンに曝露されると増殖し得る。前立腺がんに対するホルモン処置は、テストステロンおよびすべてのアンドロゲンの産生を、一時的または永久のいずれかで停止する。薬物は精巣がテストステロンを産生するのを停止させ、体内に残る任意の他のアンドロゲンから細胞を保護することができる。ホルモン薬物には：テストステロンの作用に対抗するためのエストロゲンなどの様々なホルモン；抗アンドロゲン剤、黄体形成ホルモン放出ホルモン（LHRH）類縁体、またはアゴニストなどの、体内のテストステロンのレベルを低下させる、または男性ホルモンの活性を阻止する薬物、および副腎によるアンドロゲン産生を阻止する薬剤；精巣、ならびにホルモンを産生する、副腎と呼ばれる腎臓上に位置する腺からのテストステロン産生を低減する、組み合わせホルモン療法が含まれ得る。ホルモン処置には、テストステロンが産生される精巣の外科的除去（精巣摘出術と呼ばれる）も含まれ得る。これは、男性ホルモンが前立腺がんの増殖をさらに刺激するのを防止する。

【0119】

その他の作用物質には、本発明において同様に有用な、ブレオマイシン、ヒドロキシ尿素、L-アスパラギナーゼ、およびプロカルバジンなどの化学療法剤が含まれる。

【0120】

抗細胞増殖剤は、アポトーシス誘導剤または細胞毒性剤とさらに定義することができる。アポトーシス誘導剤は、グランザイム、Bcl-2ファミリーメンバー、シトクロムC、カスパーゼ、またはその組み合わせであってもよい。例示的グランザイムには、グランザイムA、グランザイムB、グランザイムC、グランザイムD、グランザイムE、グランザイムF、グランザイムG、グランザイムH、グランザイムI、グランザイムJ、グランザイムK、グランザイムL、グランザイムM、グランザイムN、またはその組み合わせが含まれる。他の特定の局面において、Bcl-2ファミリーメンバーは、例えば、Bax、Bak、Bcl-Xs、Bad、Bid、Bik、Hrk、Bok、またはその組み合わせである。さらなる局面において、カスパーゼはカスパーゼ-1、カスパーゼ-2、カスパーゼ-3、カスパーゼ-4、カスパーゼ-5、カスパーゼ-6、カスパーゼ-7、カスパーゼ-8、カスパーゼ-9、カスパーゼ-10、カスパーゼ-11、カスパーゼ-12、カスパーゼ-13、カスパーゼ-14、またはその組み合わせである。特定の局面において、細胞毒性剤はTNF- α 、ゲロニン、プロジギオシン、リボソーム阻害タンパク質（RIP）、緑膿菌（*Pseudomonas*）外毒素、クロストリジウム・ディフィシレ（*Clostridium difficile*）毒素B、ヘリコバクター・ピロリ（*Helicobacter pylori*）VacA、エルシニア・エンテロコリチカ（*Yersinia enterocolitica*）YopT、ヴィオラセイン、ジエチレントリアミンペンタ酢酸、イロフルベン、ジフテリア毒素、ミトギリン、リシン、ボツリヌス毒素、コレラ毒素、サポリン6、またはその組み合わせである。

【0121】

相乗作用を、例えば、シグモイド- E_{max} 式（Holford & Scheiner, 19981, Clin. Pharmacokinetic. 6: 429-453）、ロエベ相加式（Loewe & Muischnek, 1926, Arch, Exp, Pathol Pharmacol. 114: 313-326）および半効果式（Chou & Talalay, 1984, Adv. Enzyme Regul

10

20

30

40

50

22: 27-55) などの適切な方法を用いて計算してもよい。前述のそれぞれの式を実験データに適用して、薬物併用の効果を評価する際に助けとなる対応するグラフを生成してもよい。前述の式に関連する対応するグラフは、それぞれ濃度-効果曲線、アイソボログラム曲線および併用指数曲線である。

【0122】

薬学的組成物および製剤

本発明は、本発明の方法における、IL1 除去剤を含む薬学的組成物の使用を記載する

【0123】

そのような薬学的組成物は、対象への投与に適した形であり、あるいは薬学的組成物は1つもしくは複数の薬学的に許容される担体、1つもしくは複数の追加の成分、またはいくつかのこれらの組み合わせをさらに含んでもよい。薬学的組成物の種々の成分は、当技術分野において周知のとおり、生理的に許容されるカチオンまたはアニオンとの組み合わせなどの、生理的に許容される塩の形で存在してもよい。

【0124】

1つの態様において、本発明の方法を実施するために有用な薬学的組成物を、1ng/kg/日~100mg/kg/日の用量を送達するために投与してもよい。別の態様において、本発明の方法を実施するために有用な薬学的組成物を、1ng/kg/日~500mg/kg/日の用量を送達するために投与してもよい。

【0125】

本発明の薬学的組成物中の活性成分、薬学的に許容される担体、および任意の追加の成分の相対量は、治療する対象の同一性、サイズ、および状態に依存し、さらに組成物を投与する経路に依存して変動することになる。例として、組成物は0.1重量%~100重量%の活性成分を含んでもよい。

【0126】

本発明の方法において有用な薬学的組成物を、吸入、経口、直腸、膺、非経口、局所、経皮、肺、鼻内、口腔、眼、クモ膜下、静脈内または別の投与経路のために適切に開発してもよい。他の企図される製剤には、突出型ナノ粒子 (projected nanoparticle)、リポソーム調製物、活性成分を含有する再封赤血球 (resealed erythrocyte)、および免疫学に基づいた製剤が含まれる。投与経路は当業者には容易に明らかであり、治療中の疾患のタイプおよび重症度、治療中の獣医学的またはヒト患者のタイプおよび年齢などを含む、任意の数の因子に依存する。

【0127】

本明細書に記載する薬学的組成物の製剤は、薬学分野において公知または今後開発される任意の方法によって調製してもよい。一般に、そのような調製方法は、活性成分を担体または1つもしくは複数の他の補助成分と混合し、次いで、必要または望まれる場合、生成物を所望の単一または複数用量単位に形成または包装する段階を含む。

【0128】

本明細書において用いられる「単位用量」は、あらかじめ決められた量の活性成分を含む薬学的組成物の個別の量である。活性成分の量は一般に、対象に投与する活性成分の用量、または、例えば、そのような用量の2分の1もしくは3分の1などの、そのような用量の好都合な一部に等しい。単位剤形は単一の1日用量または複数の1日用量 (例えば、1日に約1から4回以上) の1つのためのものであってよい。複数の1日用量を用いる場合、単位剤形は各投与で同じでも異なってもよい。

【0129】

本明細書において提供する薬学的組成物の記載は主にヒトへの倫理的投与に適した薬学的組成物を対象とするが、当業者であれば、そのような組成物は一般にすべての種類の動物への投与にも適していることが理解される。組成物を様々な動物への投与に適したものとするための、ヒトへの投与に適した薬学的組成物の改変は十分に理解されており、獣医学的薬理学の当業者であれば、実験を行うとしても、単なる通常の実験によってそのよう

10

20

30

40

50

な改変を設計し、実施することができる。本発明の薬学的組成物の投与が企図される対象には、ヒトおよび他の霊長類、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコ、およびイヌなどの商業的に関連する哺乳動物を含む哺乳動物が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【0130】

ある態様において、組成物を、1つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤または担体を用いて製剤する。ある態様において、薬学的組成物は、少なくともIL1 除去剤の治療的有効量および薬学的に許容される担体を含む。有用な薬学的に許容される担体には、グリセロール、水、食塩水、エタノールならびにリン酸塩および有機酸の塩などの他の薬学的に許容される塩溶液が含まれるが、それらに限定されるわけではない。これらおよび他の薬学的に許容される担体の例は、Remington's Pharmaceutical Sciences (1991, Mack Publication Co., New Jersey) に記載されている。

10

【0131】

担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、その適切な混合物、および植物油を含む溶媒または分散媒であってもよい。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用により、分散液の場合には必要な粒径の維持により、および界面活性剤の使用により、維持しうる。微生物の作用の防止は、様々な抗菌および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどによって達成しうる。多くの場合、組成物中に、等張化剤、例えば、糖、塩化ナトリウム、またはマンニトールおよびソルビトールなどのポリアルコールを含むことが好ましい。注射用組成物の長期の吸収は、組成物中に、吸収を遅延させる作用物質、例えば、モノステアリン酸アルミニウムまたはゼラチンを含むことによってもたらしうる。

20

【0132】

製剤は通常賦形剤、すなわち、経口、非経口、鼻、静脈内、皮下、腸内、または当技術分野において公知の任意の他の適切な投与様式に適した、薬学的に許容される有機または無機担体物質との混合物で用いてもよい。薬学的調製物を滅菌し、望まれる場合には補助物質、例えば、滑沢剤、保存剤、安定化剤、湿潤剤、乳化剤、浸透圧緩衝剤に影響をおよぼすための塩、着色剤、着香剤および/または芳香物質などと混合してもよい。これらは、望まれる場合には、他の活性物質、例えば、他の鎮痛剤と組み合わせてもよい。

【0133】

本明細書において用いられる「追加の成分」には、以下の1つまたは複数が含まれるが、それらに限定されるわけではない：賦形剤；界面活性剤；分散剤；不活性希釈剤；造粒および崩壊剤；結合剤；滑沢剤；甘味剤；着香剤；着色剤；保存剤；ゼラチンなどの生理的に分解性の組成物；水性媒体および溶媒；油性媒体および溶媒；懸濁化剤；分散または湿潤剤；乳化剤；粘滑剤；緩衝剤；塩；増粘剤；充填剤；乳化剤；抗酸化剤；抗生物質；抗真菌剤；安定化剤；ならびに薬学的に許容されるポリマー性または疎水性材料。本発明の薬学的組成物中に含まれる他の「追加の成分」は、当技術分野において公知で、例えば、Genaro, ed., 1985, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PAに記載されており、これは参照により本明細書に組み入れられる。

30

【0134】

本発明の組成物は、組成物の全重量の約0.005% ~ 2.0%の保存剤を含んでいてもよい。環境中の汚染物質への曝露の場合、保存剤を用いて腐敗を防止する。本発明に従って有用な保存剤の例には、ベンジルアルコール、ソルビン酸、パラベン、イミド尿素およびその組み合わせからなる群より選択されるものが含まれるが、それらに限定されるわけではない。特に好ましい保存剤は、約0.5% ~ 2.0%ベンジルアルコールおよび0.05% ~ 0.5%ソルビン酸の組み合わせである。

40

【0135】

組成物は好ましくは、化合物の分解を阻害する抗酸化剤およびキレート剤を含む。いくつかの化合物のために好ましい抗酸化剤は、組成物の全重量の約0.01% ~ 0.3%の好ましい範囲のBHT、BHA、アルファ-トコフェロールおよびアスコルビン酸、より好ましくは0.0

50

3%～0.1%の範囲のBHTである。好ましくは、キレート剤は組成物の全重量の0.01重量%～0.5重量%の量で存在する。特に好ましいキレート剤は、組成物の全重量の約0.01重量%～0.20重量%の重量範囲、より好ましくは0.02重量%～0.10重量%の範囲のエデト酸塩（例えば、エデト酸2ナトリウム）およびクエン酸を含む。キレート剤は、製剤の貯蔵寿命にとって有害でありうる、組成物中の金属イオンをキレートするのに有用である。いくつかの化合物にとってBHTおよびエデト酸2ナトリウムはそれぞれ特に好ましい抗酸化剤およびキレート剤であるが、当業者には公知のとおり、他の適切で等価の抗酸化剤およびキレート剤をその代わりに用いてもよい。

【0136】

液体懸濁剤を、水性または油性媒体中の活性成分の懸濁液を得るための通常の方法を用いて調製してもよい。水性媒体には、例えば、水および等張食塩水が含まれる。油性媒体には、例えば、アーモンド油、油性エステル、エチルアルコール、ラッカセイ油、オリーブ油、ゴマ油、またはヤシ油などの植物油、分留植物油、および流動パラフィンなどの鉱油が含まれる。液体懸濁剤は、懸濁化剤、分散または湿潤剤、乳化剤、粘滑剤、保存剤、緩衝剤、塩、着香剤、着色剤、および甘味剤を含むが、それらに限定されるわけではない、1つまたは複数の追加の成分をさらに含んでもよい。油性懸濁剤は増粘剤をさらに含んでもよい。公知の懸濁化剤には、ソルビトールシロップ、硬化食用脂肪、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガントガム、アカシアガム、および（例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース）セルロース誘導体が含まれるが、それらに限定されるわけではない。公知の分散または湿潤剤には、レシチンなどの天然ホスファチド；アルキレンオキシドの、脂肪酸、長鎖脂肪族アルコール、脂肪酸およびヘキシトールに由来する部分エステル、または脂肪酸およびヘキシトール無水物に由来する部分エステルとの縮合生成物（例えば、それぞれ、ステアリン酸ポリオキシエチレン、ヘプタデカエチレンオキシセタノール、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビトール、およびモノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン）が含まれるが、それらに限定されるわけではない。公知の乳化剤には、レシチン、およびアカシアが含まれるが、それらに限定されるわけではない。公知の保存剤には、パラ-ヒドロキシ安息香酸メチル、エチル、またはn-プロピル、アスコルピン酸、およびソルビン酸が含まれるが、それらに限定されるわけではない。公知の甘味剤には、例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ソルビトール、スクロース、およびサッカリンが含まれる。油性懸濁剤のための公知の増粘剤には、例えば、蜜ろう、固形パラフィン、およびセチルアルコールが含まれる。

【0137】

水性または油性溶媒中の活性成分の液体液剤は、液体懸濁剤と実質的に同じ様式で調製してもよく、主な差は活性成分を溶媒中に懸濁するのではなく、溶解することである。本明細書において用いられる「油性」液体は、炭素含有液体分子を含み、水よりも極性が低い特性を示すものである。本発明の薬学的組成物の液体液剤は、液体懸濁剤に関して記載したそれぞれの成分を含んでもよいが、懸濁化剤が活性成分の溶媒中への溶解を必ずしも助けるとは限らないことが理解される。水性溶媒には、例えば、水、および等張食塩水が含まれる。油性溶媒には、例えば、アーモンド油、油性エステル、エチルアルコール、ラッカセイ油、オリーブ油、ゴマ油、またはヤシ油などの植物油、分留植物油、および流動パラフィンなどの鉱油が含まれる。

【0138】

本発明の薬学的調製物の粉末および顆粒製剤は、公知の方法を用いて調製してもよい。そのような製剤を対象に直接投与してもよく、それらを用いて、例えば、錠剤を形成しても、カプセル剤を充填しても、または水性もしくは油性媒体をそれに添加することによって水性もしくは油性懸濁剤もしくは液剤を調製してもよい。これらの製剤はそれぞれ、分散または湿潤剤、懸濁化剤、および保存剤の1つまたは複数を含んでもよい。充填剤および甘味剤、着香剤、または着色剤などの追加の賦形剤もこれらの製剤中に含まれていてもよい。

10

20

30

40

50

【0139】

本発明の薬学的組成物を、水中油型乳剤または油中水型乳剤の形で調製、包装、または販売してもよい。油相は、オリーブ油もしくはラッカセイ油などの植物油、流動パラフィンなどの鉱油、またはこれらの組合せであってもよい。そのような組成物は、アカシアガムまたはトラガントガムなどの天然ガム、ダイズまたはレシチンホスファチドなどの天然ホスファチド、モノオレイン酸ソルビタンなどの脂肪酸とヘキシトール無水物との組合せに由来するエステルまたは部分エステル、およびモノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタンなどのそのような部分エステルのエチレンオキシドとの縮合生成物などの、1つまたは複数の乳化剤をさらに含んでもよい。これらの乳剤は、例えば、甘味剤または着香剤を含む、追加の成分を含んでもよい。

10

【0140】

化学組成物で材料を含浸またはコーティングする方法は当技術分野において公知で、化学組成物を表面上に沈着または結合する方法、材料の合成中に材料の構造に化学組成物を組み込む方法（すなわち、生理的に分解性の材料によるなど）、および水性または油性溶液または懸濁液を吸収性材料に吸収させ、その後乾燥する、または乾燥しない方法が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【0141】

投与/投薬

投与の計画は、有効量を構成するものに影響をおよぼしうる。例えば、治療的製剤を患者に、がんに関連する外科的介入の前または後のいずれか、あるいは患者ががんであると診断された直後に投与してもよい。さらに、いくつかの分割用量、ならびに互い違いの用量を毎日もしくは逐次投与してもよく、または用量を連続的に注入してもよく、またはボラス注射であってもよい。さらに、治療的製剤の用量を、治療的または予防的状況の緊急性によって示されるのに比例して増量または減量してもよい。

20

【0142】

本発明の組成物の患者、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトへの投与を、公知の手順を用い、患者のがんを治療するのに有効な用量で、有効な期間実施してもよい。治療効果を達成するのに必要な治療化合物の有効量は、用いる特定の化合物の活性；投与の時間；化合物の排出速度；治療の期間；化合物と併用する他の薬物、化合物または材料；疾患または障害の状態、治療中の患者の年齢、性別、体重、状態、全身の健康および以前の病歴、ならびに医学の技術分野において周知の同様の因子などの、因子に応じて変動しうる。投与計画を調節して、最適な治療反応を提供してもよい。例えば、いくつかの分割用量を毎日投与してもよく、または治療的状況の緊急性によって示されるのに比例して減量してもよい。本発明の治療化合物に対する有効用量範囲の非限定例は、約0.01~50mg/kg体重/日である。当業者であれば、過度の実験を行うことなく、治療化合物の有効量に関して、関連する因子を調べ、決定することができるであろう。

30

【0143】

化合物を動物に、1日に数回の頻度で投与することもでき、または1日1回、1週間に1回、2週間に1回、1ヶ月に1回などのより低頻度で、もしくは数ヶ月に1回、さらには1年に1回以下などのさらにより低頻度で投与してもよい。1日に投与する化合物の量を、非限定例において、毎日、1日おき、2日に1回、3日に1回、4日に1回、または5日に1回投与しうることが理解される。例えば、1日おきの投与では、1日5mgの用量を月曜日に開始し、続く1回目の1日5mg用量を水曜日に投与し、続く2回目の1日5mg用量を金曜日に投与し、その後も同様に投与してもよい。投与の頻度は当業者には容易に明らかとなり、治療中の疾患のタイプおよび重症度、動物のタイプおよび年齢であるが、それらに限定されるわけではない、任意の数の因子に依存する。

40

【0144】

本発明の薬学的組成物中の活性成分の実際の用量レベルは、患者に対して毒性であることなく、特定の患者、組成物、および投与様式に対して所望の治療反応を達成するのに有効な活性成分の量を得るように、変動しうる。

50

【0145】

当技術分野において公知の技術分野において通常の技術を有する医師、例えば、内科医または獣医は、必要な薬学的組成物の有効量を容易に決定し、処方しうる。例えば、内科医または獣医は、薬学的組成物中で用いる本発明の化合物の用量を、所望の治療効果を達成するのに必要とされるよりも低いレベルで開始し、所望の効果が達成されるまで徐々に用量を高めることができるであろう。

【0146】

特定の態様において、投与の容易さおよび用量の均一性のために、化合物を単位剤形に製剤することは特に有利である。本明細書において用いられる単位剤形とは、治療する患者に対する単位用量に適した物理的に別個の単位を意味し；各単位は所望の治療効果を生じるよう計算した、あらかじめ決められた量の治療化合物を、必要な薬学的媒体と共に含む。本発明の単位剤形は、(a) 治療化合物の独特の特徴および達成すべき特定の治療効果、ならびに (b) 患者のがんの治療用にそのような治療化合物を調剤/製剤する技術分野に固有の制限によって指示され、それらに直接依存する。

10

【0147】

ある態様において、本発明の組成物を患者に、1日に1~5回以上の範囲の用量で投与する。別の態様において、本発明の組成物を患者に、1日に1回、2日に1回、3日に1回から1週間に1回、および2週間に1回を含むが、それらに限定されるわけではない、用量の範囲で投与する。当業者であれば、本発明の様々な組み合わせ組成物の投与頻度は、年齢、治療する疾患または障害、性別、全体の健康、および他の因子を含むが、それらに限定されるわけではない、多くの因子に依存して、対象ごとに変動することが容易に明らかである。したがって、本発明は、任意の特定の投与計画に限定されると解釈されるべきではなく、任意の患者に投与する正確な用量および組成物は主治医が患者に関するすべての他の因子を考慮して決定することになる。

20

【0148】

投与のための本発明の化合物は、約1 μ g~約7,500mg、約20 μ g~約7,000mg、約40 μ g~約6,500mg、約80 μ g~約6,000mg、約100 μ g~約5,500mg、約200 μ g~約5,000mg、約400 μ g~約4,000mg、約800 μ g~約3,000mg、約1mg~約2,500mg、約2mg~約2,000mg、約5mg~約1,000mg、約10mg~約750mg、約20mg~約600mg、約30mg~約500mg、約40mg~約400mg、約50mg~約300mg、約60mg~約250mg、約70mg~約200mg、約80mg~約150mg、ならびにその間の任意のおよびすべての全または部分的増分の範囲でありうる。

30

【0149】

いくつかの態様において、本発明の化合物の用量は、約0.5 μ g~約5,000mgである。いくつかの態様において、本明細書に記載の組成物中で用いる本発明の化合物の用量は、約5,000mg未満、または約4,000mg未満、または約3,000mg未満、または約2,000mg未満、または約1,000mg未満、または約800mg未満、または約600mg未満、または約500mg未満、または約200mg未満、または約50mg未満である。同様に、いくつかの態様において、本明細書に記載の第二の化合物の用量は、約1,000mg未満、または約800mg未満、または約600mg未満、または約500mg未満、または約400mg未満、または約300mg未満、または約200mg未満、または約100mg未満、または約50mg未満、または約40mg未満、または約30mg未満、または約25mg未満、または約20mg未満、または約15mg未満、または約10mg未満、または約5mg未満、または約2mg未満、または約1mg未満、または約0.5mg未満、ならびにその任意のおよびすべての全または部分的増分である。

40

【0150】

ある態様において、本発明は、治療的有効量の本発明の化合物を、単独または第二の医用薬剤との組み合わせで保持する容器；および患者のがんの1つまたは複数の症状を治療、防止、または軽減するために化合物を用いるための説明書を含む、包装された薬学的組成物を目的とする。

【0151】

「容器」なる用語は、薬学的組成物を保持するための任意の入れ物を含む。例えば、あ

50

る態様において、容器は薬学的組成物を含む包装である。他の態様において、容器は薬学的組成物を含む包装ではない、すなわち、容器は、包装した薬学的組成物または包装していない薬学的組成物および薬学的組成物を用いるための説明書を含む箱またはバイアルなどの入れ物である。さらに、包装技術は当技術分野において周知である。薬学的組成物を用いるための説明書は、薬学的組成物を含む包装上に含まれてもよく、したがって、説明書は包装した生成物に対して高い機能的関係を形成することが理解されるべきである。しかし、説明書は化合物のその所期の機能を実施する能力、例えば、患者のがんを治療、防止、または軽減することに関する情報を含みうるということが理解されるべきである。

【0152】

投与の経路

10

任意の本発明の組成物の投与経路には、吸入、経口、鼻、直腸、非経口、舌下、経皮、経粘膜（例えば、舌下、舌、（経）口腔、（経）尿道、膣、（例えば、経膣および膣周囲）、鼻（内）、および（経）直腸）、膀胱内、肺内、十二指腸内、胃内、クモ膜下、皮下、筋肉内、皮内、動脈内、静脈内、気管支内、吸入、および局所投与が含まれる。

【0153】

適切な組成物および剤形には、例えば、錠剤、カプセル剤、カプレット、丸剤、ゲルキャップ、トローチ、分散剤、懸濁剤、液剤、シロップ、顆粒剤、ビーズ、経皮パッチ、ゲル、散剤、ペレット、マグマ剤、ロゼンジ、クリーム、ペースト、硬膏剤、ローション、ディスク、坐剤、鼻または経口投与用の液体噴霧剤、吸入用のドライパウダーまたはエアロゾル製剤、膀胱内投与用の組成物および製剤などが含まれる。本発明において有用と考えられる製剤および組成物は、本明細書に記載の特定の製剤および組成物に限定されないことが理解されるべきである。

20

【0154】

経口投与

経口適用のために、特に適切なのは錠剤、糖衣錠、液体、滴剤、坐剤、またはカプセル剤、カプレットおよびゲルキャップである。経口投与に適した他の製剤には、粉末もしくは顆粒製剤、水性もしくは油性懸濁剤、水性もしくは油性液剤、ペースト、ゲル、磨歯剤、洗口剤、コーティング剤、オーラルリンス、または乳剤が含まれるが、それらに限定されるわけではない。経口使用が意図される組成物を、当技術分野において公知の任意の方法に従って調製してもよく、そのような組成物は、錠剤の製造に適した不活性、非毒性薬学的賦形剤からなる群より選択される、1つまたは複数の作用物質を含んでいてもよい。そのような賦形剤には、例えば、ラクトースなどの不活性希釈剤；トウモロコシデンプンなどの造粒および崩壊剤；デンプンなどの結合剤；ならびにステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤が含まれる。

30

【0155】

錠剤はコーティングしていなくてもよく、または対象の胃腸管内での崩壊遅延を達成し、それにより活性成分の持続放出および吸収を提供するために、公知の方法を用いてコーティングしてもよい。例として、モノステアリン酸グリセリルまたは2ステアリン酸グリセリルなどの材料を用いて錠剤をコーティングしてもよい。さらに例として、米国特許第4,256,108号；第4,160,452号；および第4,265,874号に記載の方法を用いて錠剤をコーティングし、浸透圧による制御放出錠剤を形成してもよい。錠剤は、薬学的に上品で美味な製剤を提供するために、甘味剤、着香剤、着色剤、保存剤、またはこれらの組み合わせをさらに含んでいてもよい。

40

【0156】

活性成分を含む硬カプセル剤を、ゼラチンなどの生理的に分解性の組成物を用いて作成してもよい。そのような硬カプセル剤は活性成分を含み、例えば、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、またはカオリンなどの不活性固体希釈剤を含む、追加の成分をさらに含んでいてもよい。

【0157】

活性成分を含むゼラチン軟カプセル剤を、ゼラチンなどの生理的に分解性の組成物を用

50

いて作成してもよい。そのような軟カプセル剤は活性成分を含み、活性成分は水またはラッカセイ油、流動パラフィン、もしくはオリーブ油などの油性媒質と混合してもよい。

【0158】

経口投与のために、本発明の化合物は、結合剤；充填剤；滑沢剤；崩壊剤；または湿潤剤などの薬学的に許容される賦形剤と共に通常的手段で調製した錠剤またはカプセル剤の剤形であってもよく、望まれる場合には、錠剤は適切な方法およびColorcon, West Point, Pa. から入手可能なOPADRY(商標)フィルムコーティングシステム(例えば、OPADRY(商標) OY Type、OYC Type、Organic Enteric OY-P Type、Aqueous Enteric OY-A Type、OY-PM TypeおよびOPADRY(商標) White、32K18400)などのコーティング材料を用いてコーティングしてもよい。

10

【0159】

経口投与用の液体製剤は、液剤、シロップまたは懸濁剤の剤形であってもよい。液体製剤は、懸濁化剤(例えば、ソルビトールシロップ、メチルセルロースまたは硬化食用脂肪)；乳化剤(例えば、レシチンまたはアカシア)；非水性媒体(例えば、アーモンド油、油性エステルまたはエチルアルコール)；および保存剤(例えば、パラヒドロキシ安息香酸メチルもしくはプロピルまたはソルビン酸)などの薬学的に許容される添加物と共に、通常的手段で調製してもよい。経口投与に適した本発明の薬学的組成物の液体製剤は、液体の形、または使用前に水もしくは別の適切な媒体で再構成することが意図された乾燥生成物の形のいずれかで調製、包装、および販売してもよい。

【0160】

活性成分を含む錠剤は、例えば、活性成分を、任意に1つまたは複数の追加の成分と共に圧縮または成形することにより作成してもよい。圧縮錠剤は、適切な装置中で、粉末または顆粒調製物などの流動性の形態の活性成分を、任意に結合剤、滑沢剤、賦形剤、界面活性剤、および分散剤の1つまたは複数と混合して圧縮することにより調製してもよい。成型錠剤は、適切な装置中で、活性成分、薬学的に許容される担体、および少なくとも混合物を湿潤させるのに十分な液体の混合物を成型することによって作成してもよい。錠剤の製造において使用する薬学的に許容される賦形剤には、不活性希釈剤、造粒および崩壊剤、結合剤、ならびに滑沢剤が含まれるが、それらに限定されるわけではない。公知の分散剤には、ジャガイモデンプンおよびデンプングリコール酸ナトリウムが含まれるが、それらに限定されるわけではない。公知の界面活性剤には、ラウリル硫酸ナトリウムが含まれるが、それらに限定されるわけではない。公知の希釈剤には、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ラクトース、微結晶セルロース、リン酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、およびリン酸ナトリウムが含まれるが、それらに限定されるわけではない。公知の造粒および崩壊剤には、トウモロコシデンプンおよびアルギン酸が含まれるが、それらに限定されるわけではない。公知の結合剤には、ゼラチン、アカシア、アルファ化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン、およびヒドロキシプロピルメチルセルロースが含まれるが、それらに限定されるわけではない。公知の滑沢剤には、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、シリカ、およびタルクが含まれるが、それらに限定されるわけではない。

20

30

【0161】

活性成分の出発粉末または他の粒状材料を改変するための造粒技術は、薬学の技術分野において周知である。粉末を典型的には結合材料と混合して、「顆粒化物」と呼ぶ大きい永続する流動性の凝塊または顆粒とする。例えば、溶媒使用「湿式」造粒法は一般に、粉末を結合材料と混合し、水または有機溶媒で、湿式造粒された塊の形成を引き起こす条件下で湿らせ、次いでこれから溶媒を蒸発させなければならないことで特徴づけられる。

40

【0162】

溶融造粒は一般に、基本的に追加の水または他の液体溶媒非存在下で、粉末または他の材料の造粒を促進するための、室温で固体または半固体の(すなわち、比較的低い軟化点または融点範囲を有する)材料の使用にある。低融点固体を融点範囲の温度まで加熱すると、液化して結合剤または造粒媒質として作用する。液化した固体はそれが接触している粉末材料の表面全体に広がり、冷却後、その中で初期材料が結合している固体顆粒塊を形

50

成する。得られる溶融顆粒化物を次いで経口剤形を調製するために錠剤圧縮に提供してもよく、またはカプセル化してもよい。溶融顆粒化物は固体分散物または固溶体を形成することにより活性物（すなわち薬物）の溶解速度およびバイオアベイラビリティを改善する。

【0163】

米国特許第5,169,645号は、改善された流動特性を有する、直接圧縮可能なワックス含有顆粒を開示している。顆粒は、ワックスを溶融物中で特定の流動改善添加物と混合し、続いて混合物を冷却し、造粒して得る。特定の態様において、ワックスおよび添加物の溶融組み合わせ中でワックス自体だけが溶融し、他の場合には、ワックスおよび添加物の両方が溶融する。

10

【0164】

本発明は、本発明の方法の範囲内で有用な1つまたは複数の化合物の遅延放出を提供する層、および本発明の方法の範囲内で有用な1つまたは複数の化合物の即時放出を提供するさらなる層を含む、多層錠も含む。ワックス/pH感受性ポリマー混合物を用いて、活性成分が捕捉された胃で不溶性の組成物を得、その遅延放出を確実にしてもよい。

【0165】

非経口投与

本明細書において用いられる、薬学的組成物の「非経口投与」は、対象の組織を物理的に破り、組織の破れた部分から薬学的組成物を投与することによって特徴付けられる任意の投与経路を含む。したがって、非経口投与には、組成物の注射、外科的切開からの組成物の適用、組織を貫通する非外科的創傷からの組成物の適用などによる薬学的組成物の投与が含まれるが、それらに限定されるわけではない。特に、非経口投与には、皮下、静脈内、腹腔内、筋肉内、胸骨内注射、および腎臓透析注入技術が含まれるが、それらに限定されるわけではないことが企図される。

20

【0166】

非経口投与に適した薬学的組成物の製剤は、滅菌水または滅菌等張食塩水などの、薬学的に許容される担体と混合した活性成分を含む。そのような製剤は、ボーラス投与または持続投与に適した形で調製、包装、または販売してもよい。注射用製剤は、アンプル中または保存剤を含有する複数回用量容器中などの単位剤型で調製、包装、または販売してもよい。非経口投与のための製剤には、懸濁剤、液剤、油性または水性媒体中の乳剤、ペースト、および埋込み型の持続放出または生分解性製剤が含まれるが、それらに限定されるわけではない。そのような製剤は、懸濁化剤、安定化剤、または分散剤を含むが、それらに限定されるわけではない、1つまたは複数の追加の成分をさらに含んでもよい。非経口投与用の製剤の1つの態様において、活性成分を、適切な媒体（例えば、滅菌した発熱性物質を含まない水）により再構成した後、再構成した組成物を非経口投与するための乾燥（すなわち、散剤または顆粒剤）形態で提供する。

30

【0167】

薬学的組成物は、滅菌注射用水性または油性懸濁剤または液剤の形で調製、包装、または販売してもよい。この懸濁剤または液剤は、公知の技術に従って製剤してもよく、活性成分に加えて、本明細書に記載の分散剤、湿潤剤、または懸濁化剤などの追加の成分を含んでもよい。そのような滅菌注射用製剤は、例えば、水または1,3-ブタンジオールなどの、非毒性の非経口的に許容される希釈剤または溶媒を使用して調製してもよい。他の許容される希釈剤および溶媒には、リンゲル液、等張塩化ナトリウム溶液、および合成モノまたはジグリセリドなどの固定油が含まれるが、それらに限定されるわけではない。有用な他の非経口投与可能な製剤には、活性成分を、微結晶形態、リボソーム調製物、または生分解性ポリマー系の構成成分として含むものが含まれる。持続放出または埋込みのための組成物は、エマルジョン、イオン交換樹脂、難溶性ポリマー、または難溶性塩などの薬学的に許容されるポリマー性または疎水性材料を含んでもよい。

40

【0168】

さらなる投与形態

50

本発明のさらなる剤形には、米国特許第6,340,475号、第6,488,962号、第6,451,808号、第5,972,389号、第5,582,837号、および第5,007,790号に記載の剤形が含まれる。本発明のさらなる剤形には、米国特許出願第20030147952号、第20030104062号、第20030104053号、第20030044466号、第20030039688号、および第20020051820に記載の剤形も含まれる。本発明のさらなる剤形には、PCT出願国際公開公報第03/35041号、国際公開公報第03/35040号、国際公開公報第03/35029号、国際公開公報第03/35177号、国際公開公報第03/35039号、国際公開公報第02/96404号、国際公開公報第02/32416号、国際公開公報第01/97783号、国際公開公報第01/56544号、国際公開公報第01/32217号、国際公開公報第98/55107号、国際公開公報第98/11879号、国際公開公報第97/47285号、国際公開公報第93/18755号、および国際公開公報第90/11757号に記載の剤形も含まれる。

10

【0169】**制御放出製剤および薬物送達系**

本発明の薬学的組成物の制御放出製剤または持続放出製剤は、通常の技術を用いて作成してもよい。いくつかの場合には、例えば、様々な比率の所望の放出特性を提供するために、ヒドロプロピルメチルセルロース、他のポリマーマトリックス、ゲル、透過性膜、浸透圧系、多層コーティング、微小粒子、リポソーム、もしくはマイクロスフェア、またはその組み合わせを用いて、用いる剤形をその中の1つまたは複数の活性成分の徐放または制御放出として提供することができる。本明細書に記載のものを含む、当業者には公知の適切な制御放出製剤は、本発明の薬学的組成物と共に用いるために容易に選択することができる。したがって、制御放出のために適合させた、錠剤、カプセル剤、ゲルキャップ、およびカプレットなどの、経口投与に適した単一の単位剤形は本発明に含まれる。

20

【0170】

ほとんどの制御放出薬学的生成物は、それらの非制御の相手によって達成されるものよりも薬物療法を改善するという共通のゴールを有する。理想的には、内科的処置における最適に設計された制御放出製剤の使用は、最小限の時間で、状態を治癒または制御するために用いる最小限の薬物によって特徴付けられる。制御放出製剤の利点には、薬物活性の延長、投薬頻度の低下、および患者のコンプライアンス増加が含まれる。加えて、制御放出製剤は作用開始時間または薬物の血中レベルなどの他の特徴に影響をおよぼすために用いることもでき、したがって副作用の出現に影響をおよぼすことができる。

30

【0171】

ほとんどの制御放出製剤は、所望の治療効果を即座に生じるある量の薬物を最初に放出し、長期間にわたってこのレベルの治療効果を維持するための他の量の薬物を徐々に、かつ持続的に放出するよう設計されている。体内で薬物のこの一定レベルを維持するために、薬物を剤形から、代謝され、体から排出される薬物の量に置き換わる速度で放出しなければならない。

【0172】

活性成分の制御放出は、様々な誘導因子、例えば、pH、温度、酵素、水、または他の生理的条件もしくは化合物によって刺激されうる。本発明の文脈における「制御放出成分」なる用語は、本明細書において、活性成分の制御放出を促進する、ポリマー、ポリマーマトリックス、ゲル、透過性膜、リポソーム、もしくはマイクロスフェア、またはその組み合わせを含むが、それらに限定されるわけではない、化合物と定義される。

40

【0173】

特定の態様において、本発明の製剤は、短期、急速オフセット、ならびに制御放出、例えば、持続放出、遅延放出および拍動性放出製剤でありうるが、それらに限定されるわけではない。

【0174】

持続放出なる用語は、長期にわたって薬物の徐々の放出を提供し、必須ではないが、長期にわたって実質的に一定の薬物血中レベルをもたらさしめる、薬物製剤を意味するための、その通常の意味で用いられる。期間は一ヶ月以上もの間であってもよく、ボーラスの形で投与した同じ量の薬剤よりも長い放出であるべきである。持続放出のために、化合物に

50

持続放出特性を提供する適切なポリマーまたは疎水性材料と共に化合物を製剤してもよい。したがって、本発明の方法において用いる化合物を微小粒子の形で、例えば、注射により、またはウェーファーもしくはディスクの形で埋め込みにより投与してもよい。本発明の好ましい態様において、本発明の化合物を患者に、持続放出製剤を用いて、単独または別の薬剤との組み合わせで投与する。

【0175】

遅延放出なる用語は、本明細書において、薬物投与後、いくらかの遅延の後に薬物の最初の放出を提供し、必須ではないが、約10分から最大約12時間までの遅延を含みうる薬物製剤を意味するための、その通常の意味で用いられる。拍動性放出なる用語は、本明細書において、薬物投与後に薬物のパルス血漿特性を生じるような様式での薬物の放出を提供する薬物製剤を意味するための、その通常の意味で用いられる。即時放出なる用語は、薬物投与の直後に薬物の放出を提供する薬物製剤を意味するための、その通常の意味で用いられる。

10

【0176】

本明細書において用いられる、短期とは、薬物投与後、薬物投与後、約8時間、約7時間、約6時間、約5時間、約4時間、約3時間、約2時間、約1時間、約40分、約20分、または約10分、およびその任意の、またはすべての全または部分的増分まで、およびそれらを含む、任意の期間を意味する。

【0177】

本明細書において用いられる、急速オフセットとは、薬物投与後、約8時間、約7時間、約6時間、約5時間、約4時間、約3時間、約2時間、約1時間、約40分、約20分、または約10分、ならびにその任意の、およびすべての全または部分的増分まで、およびそれらを含む、任意の期間を意味する。

20

【0178】

当業者であれば、日常の実験だけを用いて、本明細書に記載の具体的な手順、態様、特許請求の範囲、および実施例に対する多くの等価物を理解するか、または確認することができるであろう。そのような等価物は本発明の範囲内であり、本明細書に添付の特許請求の範囲によってカバーされると考えられた。例えば、当技術分野において認められている代替物による、日常の実験だけを用いての、溶媒、触媒、圧、空気の状態、例えば、窒素雰囲気、および還元/酸化剤などの、反応時間、反応サイズ/量、および実験試薬を含むが、それらに限定されるわけではない、反応条件における改変は、本出願の範囲内であることが理解されるべきである。

30

【0179】

本明細書において値および範囲が提供される場合はどこでも、これらの値および範囲に含まれるすべての値および範囲は、本発明の範囲内に含まれることになることが理解されるべきである。さらに、これらの範囲内に入るすべての値、ならびに値の範囲の上限または下限も、本出願によって企図される。

【0180】

以下の実施例は、本発明の局面をさらに例示する。しかし、これらはけっして本明細書に示す本発明の教示または開示を限定するものではない。

40

【実施例】

【0181】

本発明をここで以下の実施例に関して記載する。これらの実施例は例示のために提供するにすぎず、本発明はこれらの実施例に限定されることはないが、むしろ本明細書において提供する教示の結果明らかになるすべての変動を含む。

【0182】

材料と方法

細胞株および培養

DU-145、22Rv1、LNCaP、およびVCaPヒト前立腺がん細胞株はATCCから購入し；PC3-ML細胞株は、Wang M, Stearns ME. Isolation and characterization of PC-3 human prostat

50

ic tumor sublines which preferentially metastasize to select organs in S.C.I.D. mice. Differentiation. 1991 ; 48:115-25に記載のとおり親PC-3細胞株から誘導した。すべての細胞株はIDEXX Radilおよび/またはDDC Medicalによる短いタンデム反復プロファイリングによって確認された。細胞を、10%ウシ胎仔血清および0.1%ゲンタマイシンを含むダルベッコ改変イーグル培地 (DU-145、VCaP、およびPC3-ML) またはRPMI-1460 (2Rv1およびLNCaP) 中で培養した。骨髄由来ヒト間葉系幹細胞 (Lonza) を継代数5~8回で用い、10%FBS、1ng/ml bFGF (R&D)、および0.1%ゲンタマイシンを補足した -MEM中で培養した。各細胞株を37 °Cおよび5%CO₂で培養し、解凍後10継代で廃棄した。条件培地実験をLiu Q, Russell MR, Shahriari K, Jernigan DL, Lioni MI, Garcia FU, et al. Interleukin-1 promotes skeletal colonization and progression of metastatic prostate cancer cells with neuroendocrine features. Cancer Res. 2013 ; 73:3297-305に記載のとおり実施した。

10

【 0 1 8 3 】

安定な遺伝子発現のためのウイルスベクター

蛍光マーカー-eGFPおよびmCherry、ルシフェラーゼ酵素Red Firefly LuciferaseおよびLuc2、ならびにサイトカインIL-1 の安定な発現は、以下の作成物によるレンチウイルス形質導入を通じて達成された：pLenti CMV GFP Blast (659-1)、pLenti CMV Blast empty (w263-1)、pLenti CMV Puro DEST (w118-1)、およびpENTR1A no ccdB (w48-1) はEric Campeau (Addgeneプラスミド#17445、17486、17452、および17398) から寄贈された。pLenti CMV mCherry Blastは、pmCherry-N1 (Clontech, Mountain View, CA, USA) からのmCherry遺伝子をpLenti CMV Blast emptyのBamHIおよびXbaI部位にサブクローニングすることにより生成した。pLenti CMV Red Luc PuroおよびpLenti CMV Luc2 Puroは、pMCS-Red Firefly Luc (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) からのRed Firefly Luciferase遺伝子またはpGL4.51[luc2/CMV/Neo] (Clontech) からのLuc2遺伝子をpENTR1A no ccdBのBamHIおよびXhoI部位にまずサブクローニングすることにより生成し；pLenti CMV IL-1 Puroは、ヒトIL-1 cDNA (NM_000576) をpENTR1A no ccdBのSalIおよびBamHI部位に最初にシャトリングすることにより生成した。これらのインサートそれぞれを次いでGateway LR Clonase II (Invitrogen) によりpLenti CMV Puro DESTに導入した。レンチウイルス形質導入の後、細胞をそれぞれ以下の濃度のピューロマイシンまたはブラストサイジンで1週間選択に供した：PC3-ML：600ng/mL、5 µg/mL；22Rv1：1 µg/mL、6 µg/mL；DU-145：500ng/mL、10 µg/mL；LNCaP：2 µg/mL、7 µg/mL；VCaP：2 µg/mL、7 µg/mL。

20

30

【 0 1 8 4 】

SDS-PAGEおよびウェスタンブロットティング

細胞溶解物を得、以前に記載されたとおりにウェスタンブロットティング分析を行った。一次抗体をTBST中で希釈し、4 °Cで終夜インキュベートした。HRP結合二次抗体は3.33ng/mlで用いた。化学発光シグナルをSuperSignal West Femto基質 (Pierce) を用いて得、Fluorochrom 8900撮像システムおよび関連のソフトウェアで検出した。ウェスタンブロットティングに用いた一次抗体および希釈は、S100A4を標的とするもの (ab27957、Abcam)、1 : 500；IL-1 を標的とするもの (SC-7884、Santa Cruz Biotechnology)、1 : 250；アクチンを標的とするもの (A-2066、Sigma-Aldrich)、1 : 3000；以下すべてCell Signaling Technologyからの、phospho-I B Ser32を標的とするもの (#2859)、1 : 500；I B を標的とするもの (#4814)、1 : 500；phospho-NF- B p65 Ser536を標的とするもの (#3033)、1 : 1000；NF- B p65を標的とするもの (#8242)、1 : 1000；およびGAPDHを標的とするもの (#5174)、1 : 5000であった。

40

【 0 1 8 5 】

免疫蛍光

原発PCaおよび骨転移部のホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 切片をDepartment of Pathology at Drexel University College of Medicineのアーカイブから得、FITC結合汎サイトケラチン抗体 (クローンC-11) およびヒトアンドロゲン受容体のN-20領域に対する抗体を用いて染色し、次いでAxio Scope A1顕微鏡 (Zeiss) およびNuance Multispectr

50

al Imaging System (PerkinElmer) の対を用いて撮像した。hMSC細胞をカバーガラス上に播種し、処理し、4%パラホルムアルデヒド中で固定し、抗アクチン、 α -Smooth Muscle - Cy3(商標) (clone 1A4) で染色した。試料をDAPI含有培地で固定し、LSM 5 Exciter - Axio Imager Z1m共焦点顕微鏡 (Zeiss) で撮像した。

【 0 1 8 6 】

動物モデル

6~8週齢の雄C.B17-SCマウス (Taconic) をケタミン (80mg/kg) およびキシラジン (10 mg/kg) で麻酔した後、がん細胞を左心室から接種した。アナキンラ処置に関しては、動物にがん細胞接種の24時間前に媒体 (PBS) またはアナキンラ (Swedish Orphan Biovitrum) の初回皮下用量を投与し、次いで異種移植時およびその後屠殺まで毎日さらに投与した。

10

【 0 1 8 7 】

IL-1R SCIDマウスの生成

CB17-SC RFマウスをIL-1R1ノックアウト遺伝子導入動物 (OMIM 147810、Dr. Nancy McNamara, UCSFから寄贈) と交雑することにより、IL-1R SCIDマウスを生成した。次いで、これらの動物を、

順方向プライマー :

(SEQ ID NO: 4): 5' GGA AAA GAA TTG GTA TCC AC 3'

および、

逆方向プライマー :

(SEQ ID NO: 5): 5' AGT TAT AAC AGC TGG GTT GGC 3'

20

を用いてのPCRにより、Prkdc^{scid}突然変異について遺伝子型判定し ; 生成物をAluIで消化して、68および11bp (野生型) ならびに38、28、および11bp (SCID) の断片を得た。IL-1R状態を以下のプライマー :

IL-1R WT (SEQ ID

NO: 6): Fwd- 5' CCA CAT ATT CTC CAT CAT CTC TGC TGG TA 3', IL-1R WT (SEQ

ID NO: 7): Rev- 5' TTT CGA ATC TCA GTT GTC AAG TGT GTC CC 3', IL-1R KO

(SEQ ID NO: 8): Fwd- 5' CTG AAT GAA CTG CAG GAC GA 3', IL-1R KO (SEQ ID NO:

9): Rev- 5' ATA CTT TCT CGG CAG GAG CA 3'

30

を用いてのマルチプレックスPCRにより判定し、350塩基対 (野生型対立遺伝子) および172塩基対 (ノックアウト) の断片が増幅された。Prkdc^{scid}についてホモ接合性およびIL-1Rについてヘテロ接合性の動物が得られたら、このコロニーを、IL-1Rヘテロ接合体の、実験に用いた6~8週齢雄野生型およびノックアウト同腹仔との交雑により維持した。

【 0 1 8 8 】

インビボ生物発光撮像

1週間毎の各撮像セッションの前に、動物に150mg/kgのD-ルシフェリン (PerkinElmer) をIP注射し、10分間休ませ、次いで3%イソフルランを用いて麻酔し、IVIS Lumina XR (PerkinElmer) のチャンバーに移し、ここで画像収集の間中、2%イソフルランを投与した。基質の注射の15分後、背面および腹面両方の撮影を、発光フィルター無し、および515-575nm帯域通過フィルターを用いての両方で行い ; 各実験終了時に、各動物のX線写真を撮った。これらのデータの解析を、Living Imageソフトウェア、v4.3を用いて実施した。

40

【 0 1 8 9 】

動物組織の処理

骨および軟部組織器官を、以前に記載のとおり回収して処理した。骨の幅全体に広がるすべての切片 (大腿骨および脛骨で約32個) を精査して、接種した動物のDTCを正確に計数し、腫瘍巣を可視化してサイズ測定した。

【 0 1 9 0 】

動物転移の蛍光顕微鏡検査および形態計測解析

50

骨格転移の蛍光画像をLiu et al., 2013, Cancer Res. 73:3297-305に記載のとおり収集した。骨の出現/コロニー形成を評価する実験において、動物を屠殺し、大腿骨および脛骨を撮像し、Nuanceソフトウェアおよび標準化スペクトルライブラリを用いて処理し、各動物の膝関節における全GFP陽性DTCを計数した。同じ動物からの肺組織を器官の全域で80 μm間隔で切断し、5つの無作為の領域の画像を記載のとおり解析した。腫瘍測定およびDTC計数の両方からのデータを、独立両側スチューデントt検定を用いての群間の統計解析にかけた。

【0191】

ヒト骨転移の免疫組織化学および解析

ADT処置した進行前立腺がん患者の2つの異なるコホートからの骨転移病変の匿名化FFPE生検標本を、Departments of Pathology at Drexel University College of Medicine (5名) およびThomas Jefferson University (4名) のアーカイブから得、前述のヒトアンドロゲン受容体のN-20領域に対する抗体、またはProstein (Clone 10E3) に対する抗体を用いて染色した。これらの生検標本を用いて、関心対象の43箇所異なる領域全域のAR+およびAR- PCa細胞の相対パーセンテージを判定した。2名の認定病理学者 (F.U.GおよびY.G) が、AR発現について精査する腫瘍領域を、ヘマトキシリン/エオシンで染色した対の連続切片を調べることにより選択した。AR染色強度の評価を、AperioシステムおよびImageScopeソフトウェア (Leica) を用いて実施した。免疫組織化学シグナルをデジタル化し、染色強度を点数化することにより解析した。

【0192】

実施例1：前立腺がん細胞におけるアンドロゲン受容体の発現

図1Aに示す通り、アンドロゲン受容体 (AR) の発現を欠く前立腺がん細胞を、骨格レベルでの転移病変において検出した。AR (1~20アミノ酸、Bethyl Laboratoriesによるカスタムメイド) に対する一次抗体の免疫化学検出により生成したシグナルを用い、Aperio Imagingおよび解析スイートを用いてAR(+)およびAR(-)細胞のパーセンテージを確認した (図1B)。本データは、転移病変がAR(-)細胞の約3分の1を含むことを示した (図1D)。

【0193】

骨格にコロニー形成しているPCa細胞のAR状態を評価するために、本発明者らは、2つの異なる臨床コホートにおける、実証されたADT後転移CRPCを有する9名の患者から得たアーカイブの骨生検材料を調べた。これらの標本は、個人の病変内でも最低~最高のシグナル強度範囲の、AR染色の顕著な変動性を示した (図1L) が、いくつかの領域では、ARはほんの少数のがん細胞でのみ検出することができた (図1L)。全体に、これらの患者において形態学および組織病理学的基準によって特定されたがん細胞の25%よりも多くがARについて染色されなかった (図1J)。さらに、ARおよび汎サイトケラチン抗体による二重免疫蛍光染色により、これらの転移病変で特定された、AR発現陽性および陰性両方のがん細胞は、事実、原発 (図1K) および骨転移部位 (図1L) の両方で見られるとおり、上皮起源のものであることが確認された。

【0194】

免疫組織化学データをさらに確証するために、骨転移病変から組織をレーザーキャプチャーマイクロダイセクション (LCM) により回収し (図1D)、qRT-PCRを用いて、AR状態に無関係に前立腺がん細胞において等しく検出される、前立腺特異抗原prosteinの発現を評価した。これらの結果は、前立腺がん患者からの骨格転移において検出されるAR(-)がん細胞は、事実、前立腺起源のものであることを明らかに示している (図1E~1F)。さらに、本試験は、サイトカインIL1 はAR(-)がん細胞によってのみ発現され (図1G)、これらの細胞はAR(+)細胞に比べて、高いレベルの血小板由来成長因子のアルファ受容体 (PDGFR-) も発現する (図1H) ことを示している。

【0195】

実施例2：去勢抵抗性前立腺がんの調査

AR(-)前立腺がん細胞の出現は、前立腺がんの臨床歴における後期事象で、アンドロゲン除去療法 (ADT) の結果として起こると考えられる。前立腺腫瘍に対する局所処置 (手

10

20

30

40

50

術および/または放射線療法)を受けた患者を、血中の前立腺特異抗原(PSA)についてモニターする。局所処置後の極度に低いレベルのPSAについて上昇が認められれば、これは「生化学的失敗」と定義され、前立腺新生物の再発に関連する。局所再発の証拠がない場合、患者は明らかな転移疾患が存在しない場合でも、わずかな遠隔再発を有すると推測される。この時点で、アンドロゲンに依存し前立腺がん細胞の増殖を刺激する、ARの翻訳活性に対抗するために、循環アンドロゲンのレベルを去勢様レベルにするためのいくつかの手段を行う。ADTは約16~24ヶ月間有効で、その後、疾患は去勢抵抗性(CRPC)となる。CRPCはがん細胞におけるARの欠如に寄与しないが、AR(-)は肝臓および肺などの軟部組織に現れ始める続発腫瘍においてよく検出される。これらの細胞はADTの結果、神経内分泌(NE)表現型に向かって変化していると考えられ、元は少数の神経内分泌細胞に由来し前立腺に存在する、原発前立腺腫瘍の約0.5%で検出される細胞に似ている。

10

【0196】

図2に示すとおり、前立腺がん患者からの肺組織はARについて染色されず、NEマーカーのシナプトフィジンおよびクロモグラニンAに対して陽性であった。しかし、骨格病変からのAR(-)前立腺がん細胞を試験すると、NEマーカーに対して陰性であることが判明し、これらの細胞はおそらくは軟部組織続発腫瘍で観察されるNEへの変化とは異なるメカニズムにより、AR発現を抑制したことが示唆された(表1)。

【0197】

【表1】

| 試料 | シナプトフィジン | クロモグラニンA |
|-------------|----------|----------|
| マウス神経培養物 | 陽性 | 陽性 |
| 骨転移#1 [AR+] | 陰性 | 陰性 |
| 骨転移#2 [AR+] | 陰性 | 陰性 |
| 骨転移#1 [AR-] | 陰性 | 陰性 |
| 骨転移#2 [AR-] | 陰性 | 陰性 |
| 肺 [AR-] | 陽性 | 陽性 |

20

【0198】

実施例3: AR(-)前立腺がん細胞の生存および増殖におけるIL1 の役割

30

本実験は、骨のAR(-)前立腺がん細胞の生存および増殖を促進する際のIL1 の重要性を強調する。アナキンラはIL1 の受容体(IL1R)のアンタゴニストである。図3A~3Eに示すとおり、動物モデルにおいて、アナキンラは、左心室からマウスの全身血液循環中に接種したヒト前立腺がん細胞の骨格レベルでの進行を有意に妨げた。

【0199】

アナキンラで得た結果は、がん細胞においてIL1 の発現を停止させることにより得たもの(図3Aの4番目のカラム)と類似である。アナキンラが、がん細胞上に局在するかまたは間質細胞によって発現されたIL1Rを遮断するかどうかを確かめるために、IL1RについてもノックアウトされたSCIDマウスのマウスコロニーをエクスポで発生させた。図3C~3Eに示すとおり、IL1Rノックアウト動物において、AR(-)/IL1b(+)前立腺がん細胞は、骨でのそれらの転移進行において劇的に影響を受けた。この結果は、間質細胞上のIL1Rは転移ニッチにおいてがん細胞により分泌されたIL1 によって漸増していることを示す。

40

【0200】

実施例4: 骨間質

これらの実験は、転移ニッチにおける骨間質の関与をさらに示す。ヒト骨間葉系幹細胞をIL1 またはAR(-)/IL1 (+)PC3-ML前立腺がん細胞からの条件培地に曝露すると、アルファ平滑筋アクチン(アルファMSA)で観察された形態変化(図4A)およびS100A4マーカーの発現(図4B)によって示されるとおり、がん関連線維芽細胞(CAF)表現型が誘導されることを、インビトロ試験は示した。いずれの事象もアナキンラによって阻害され、し

50

たがってIL1 /IL1R相互作用の関与が確認された。

【0201】

最後に、LCMを用いて、AR(-)/IL1 (+)細胞により生じた転移腫瘍のごく近傍の骨間質を回収し、S100A4の発現を、転移腫瘍からいくらかの距離でまたは腫瘍のない動物で回収した間質と比較した(図4C~4D)。CAFのこのマーカーのmRNAは、腫瘍に近い間質でのみ極度に上昇し(図4E)、CAFはがん細胞により分泌されたIL1 によって誘導され、腫瘍周囲のIL1Rを活性化することを示した。これらの結果は、本明細書における他所で報告するインビトロ実験と一致している。IL1 は間質細胞において酵素シクロオキシゲナーゼ2(COX-2)の発現を誘導することができるため、前述の位置から回収した骨間質を試験し、がん細胞によって誘導された高いレベルのCOX-2が見出された(図4F)。

10

【0202】

実施例5: AR(-)およびAR(+)前立腺がん細胞のさらなる特徴付け

AR(-)前立腺がん細胞により分泌されたIL1 は骨におけるそれらの生存およびコロニー形成の支持を担っているため、IL1 が本発明の動物モデルにおいて独立に転移することができない前立腺がん細胞を支持するかどうかをさらに調べた。AR(+)ヒト前立腺がん細胞(22Rv1、LNCaP、VCaP)はIL1 発現を欠き、全身血液循環を通じて播種した後の骨微小環境において生存することができない(図5B)。これらの試験において、赤色生物発光および蛍光マーカーを安定に発現しているAR(-)/IL1 (+)前立腺がん細胞を、緑色生物発光および蛍光マーカーを安定に発現しているAR(+)/IL1 (-)がん細胞の1つの型と、同時接種した(図5A)。AR(+)細胞は、AR(-)/IL1 (+)細胞と共存している場合、生存して、骨にコロニー形成し得ることが判明した(図5C~5H)。各試験の動物の大部分は、BLIによって示されるとおり、4週の時点で混合腫瘍を有することが判明した(図5F)が、PC3-ML細胞によって促進されたAR混合腫瘍の全体の割合は、LNCaPおよび22Rv1細胞の59%からVCaPの86%まで変動した(図5G)。AR(-)でありIL1 (-)でもあるDU-145細胞もまた、AR(-)/IL1 (+)がん細胞の存在から利益を得たが、生成した腫瘍は小さかった(図5H)。

20

【0203】

まとめると、これらの結果から、AR(-)細胞は、IL1 発現を欠くAR(+)細胞と同様の転移挙動を示すことが判明し、前立腺がん細胞の転移能力の促進におけるこのサイトカインの役割がさらに強調される。

【0204】

さらに、本試験は、転移ニッチにおける骨間質のIL1 介在性漸増に依存するがん細胞協調の新しい型を示す。さらなる実験は、接種後5分で検出された播種腫瘍細胞(DTC)の数(図5K)で測定を行い、この協調はがん細胞の骨格への最初の出現には必要ではないが、それらの出現後のDTCの生存を支持する(図5J)ことを示す。さらに、肺に向かう(homing)AR(+)22Rv1細胞の数はAR(-)/IL1 (+)PC3-ML細胞が同時に存在しても存在しなくても同様であった(図5O~5P)ため、AR(+)がん細胞に対するIL-1 介在性支持は、骨組織に特異的のようである。これは、パラクリンIL-1 シグナル伝達に対するそれらの受容性の可能性を判定するために、本試験で用いた様々なPCa細胞株をIL-1Rの発現に関して試験することによって判定され、受容体はそれぞれに存在することが判明した(図5L)。しかし、インビトロでのIL-1 ペプチドへの曝露は、骨にコロニー形成するときにはPC3-ML細胞から同等に利益を得る2つのAR+ PCa細胞株間で、シグナル伝達プロファイルが異なることを明らかにし、IL-1Rのパラクリン刺激が、観察された転移細胞協調の主な原因である見込みはないことを示唆した(図5M)。一方、骨間質の豊富な構成要素であるヒト骨間葉系幹細胞(hMSC)は、IL-1 に同様に曝露されると急速かつ持続性のシグナル応答を示し、このサイトカインに対する明らかな感受性を示した(図5N)。

30

40

【0205】

これらの知見は、高レベルのIL-1 を安定に発現するよう改変された非転移のAR-DU-145細胞株を用いることによってさらに支持され(図5Q)、新規転移能力が付与されることを示す。これらの細胞をmCherryで標識して、GFP標識VCap細胞と同時注射し、マウスを24時間後または3週間後のいずれかで屠殺した。それらの大腿骨および脛骨の検査後、それ

50

らの単独での接種に比べて、混合腫瘍の生成（図5S）と同様、VCaP細胞の出現および播種の両方で有意な増大が観察された（図5R）。これは、外因性にIL-1を発現し従って検査した進行PCa患者において骨格転移に集まるAR-前立腺表現型のモデルとなる、PC3-ML細胞およびDU-145細胞がいずれも、独立に非転移性AR+細胞による早期骨コロニー形成を促進することを示す。

【0206】

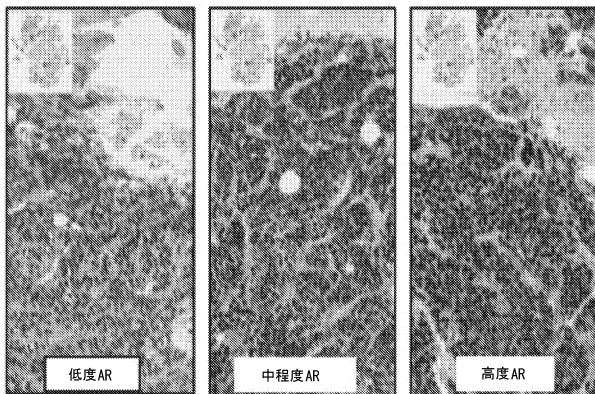
本明細書において引用するそれぞれ、およびすべての特許、特許出願、および出版物の開示は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0207】

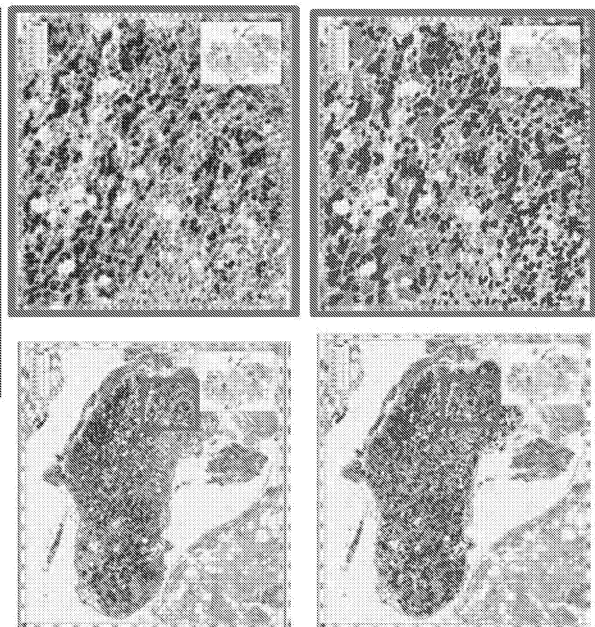
本発明を具体的態様に関して開示してきたが、当業者であれば、本発明の真の精神および範囲から逸脱することなく、本発明の他の態様および変形を考案しうることは明らかである。添付の特許請求の範囲は、すべてのそのような態様および等価の変形を含むと解釈されることが意図される。

10

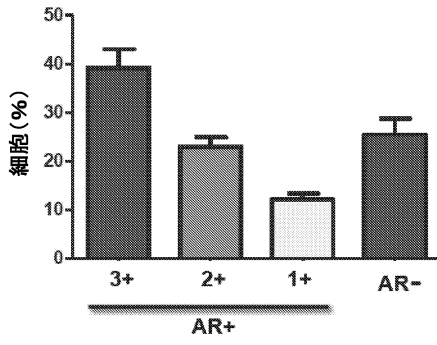
【図1A】



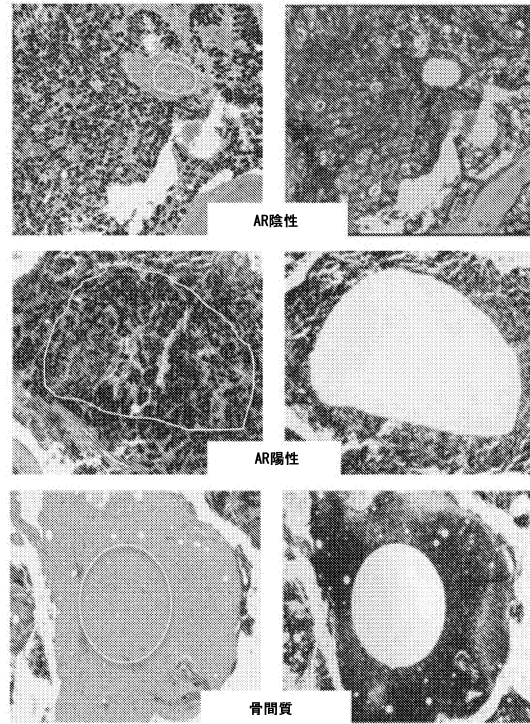
【図1B】



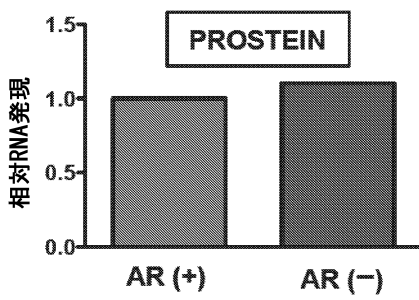
【図1C】



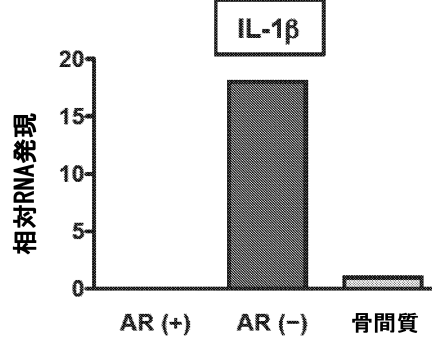
【図1D】



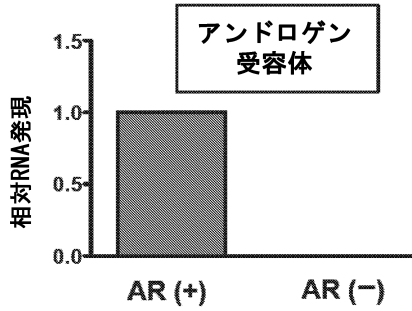
【図1E】



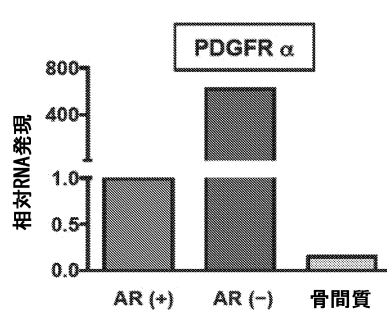
【図1G】



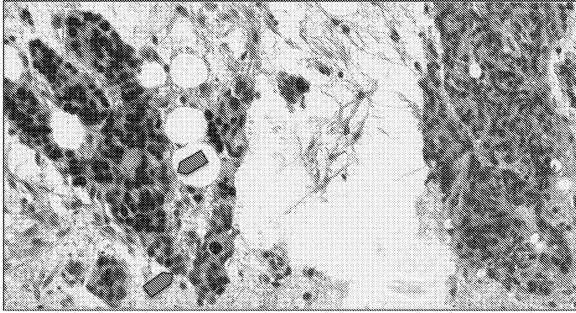
【図1F】



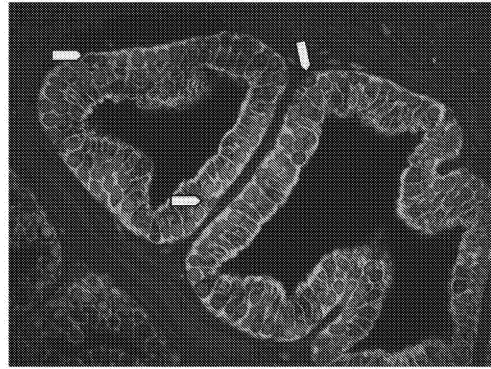
【図1H】



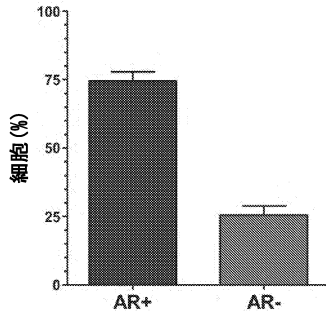
【図 1 I】



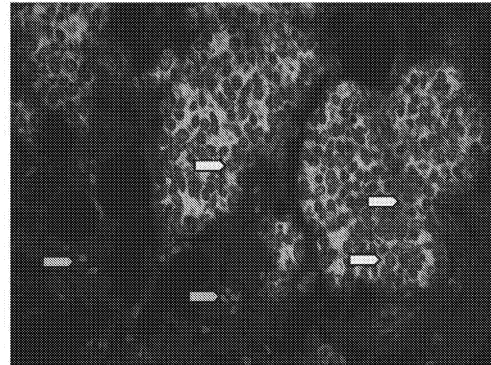
【図 1 K】



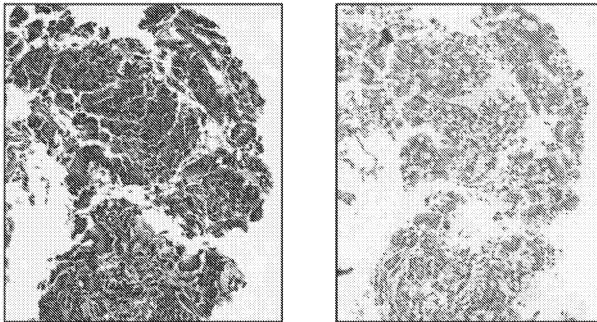
【図 1 J】



【図 1 L】

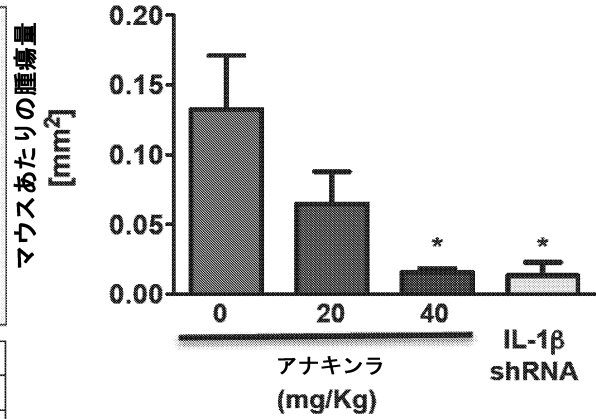


【図 2】

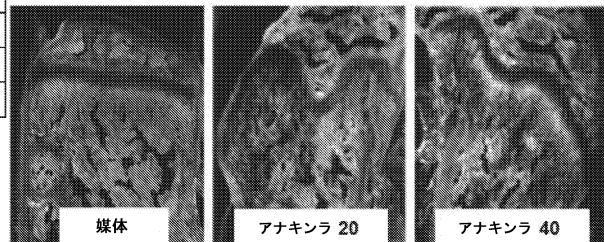


| 試料 | シナプトフィジン | クロモグラニンA |
|---------------|----------|----------|
| マウス神経培養物 | 陽性 | 陽性 |
| 骨転移 #1 [AR +] | 陰性 | 陰性 |
| 骨転移 #2 [AR+] | 陰性 | 陰性 |
| 骨転移 #1 [AR -] | 陰性 | 陰性 |
| 骨転移 #1 [AR -] | 陰性 | 陰性 |
| 肺 [AR -] | 陽性 | 陽性 |

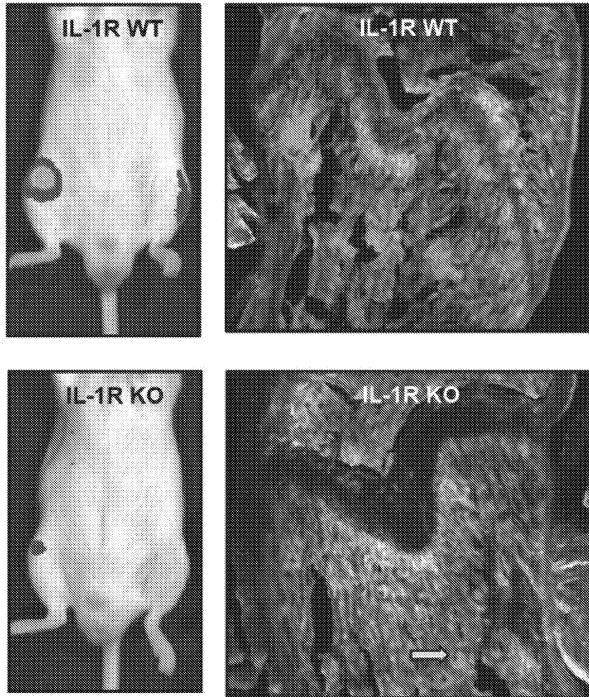
【図 3 A】



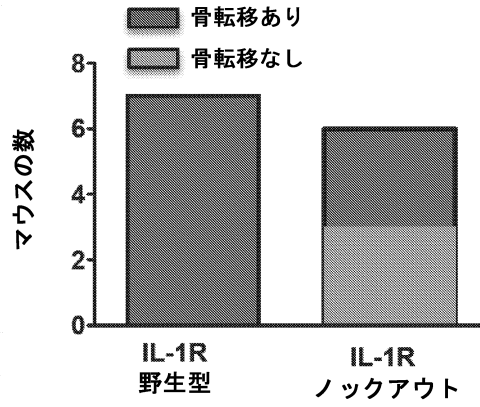
【図 3 B】



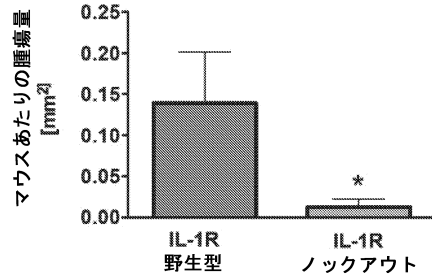
【図 3 C】



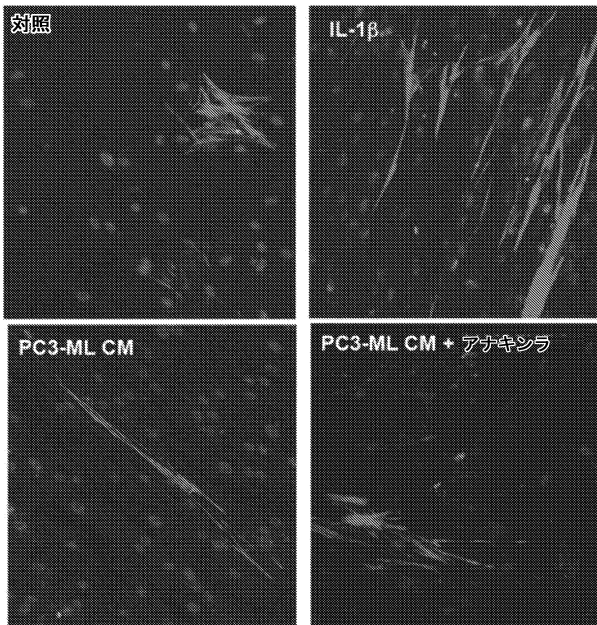
【図 3 D】



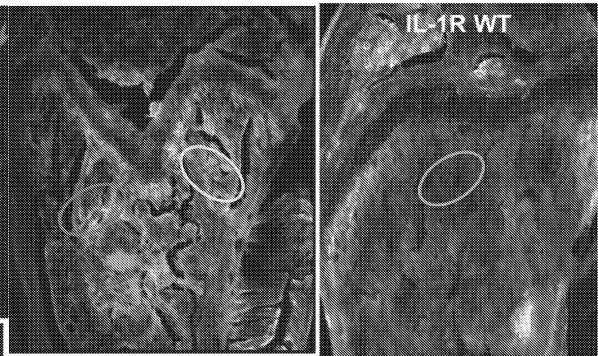
【図 3 E】



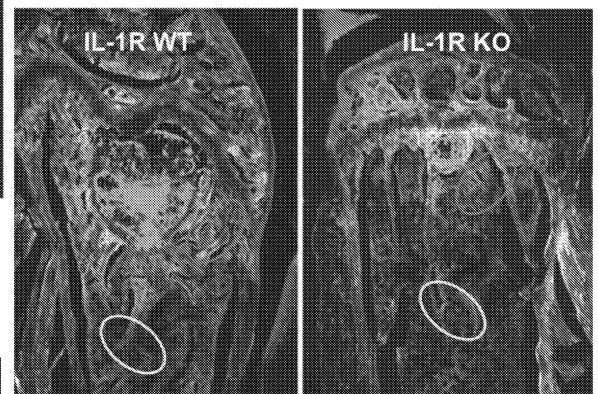
【図 4 A】



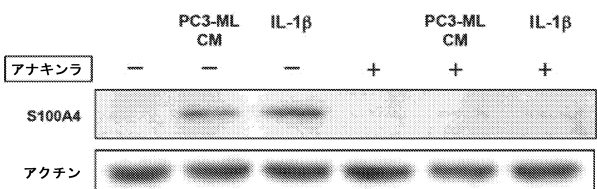
【図 4 C】



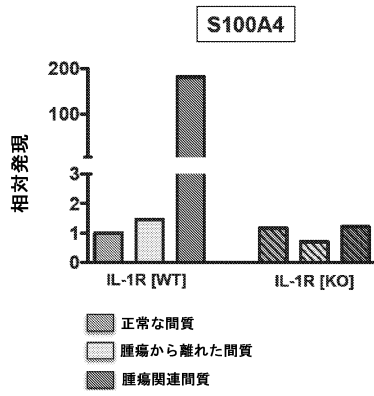
【図 4 D】



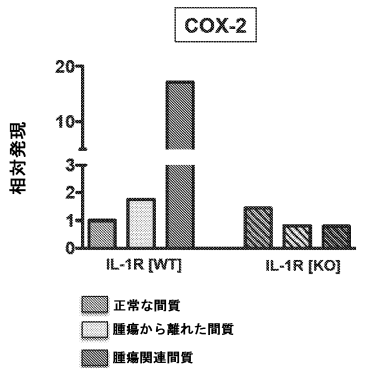
【図 4 B】



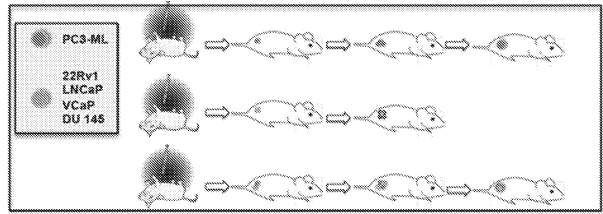
【 図 4 E 】



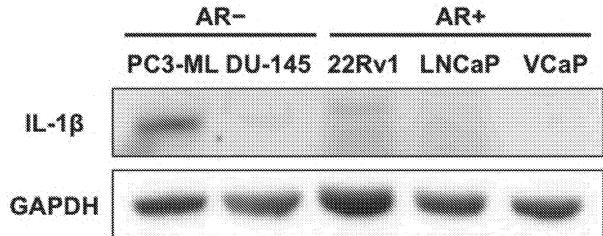
【 図 4 F 】



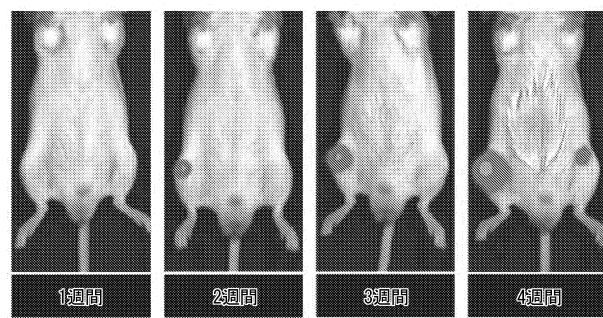
【 図 5 A 】



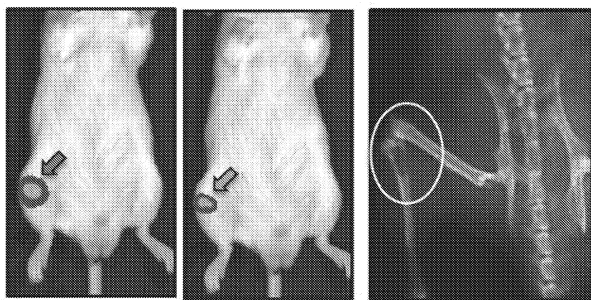
【 図 5 B 】



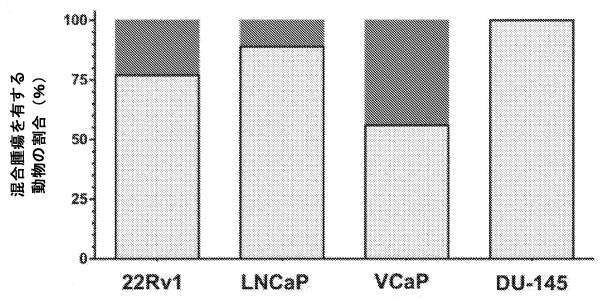
【 図 5 C 】



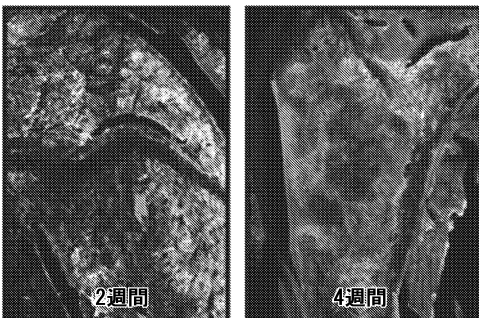
【 図 5 D 】



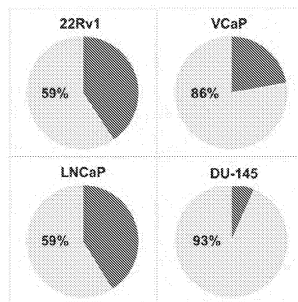
【 図 5 F 】



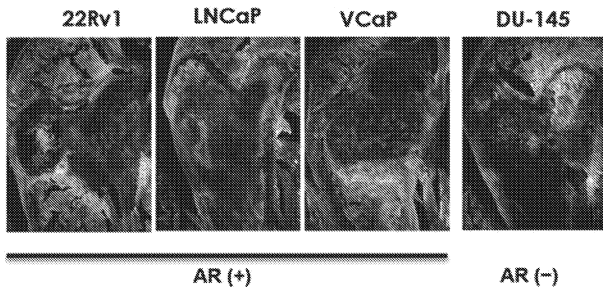
【 図 5 E 】



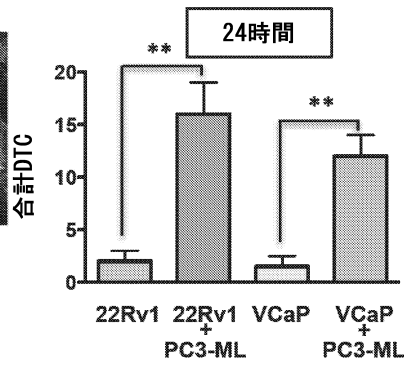
【 図 5 G 】



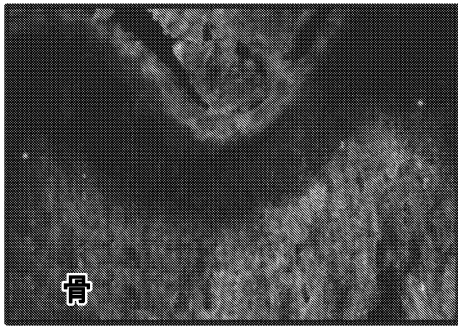
【 図 5 H 】



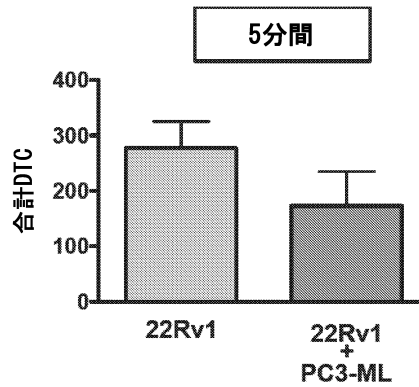
【 図 5 J 】



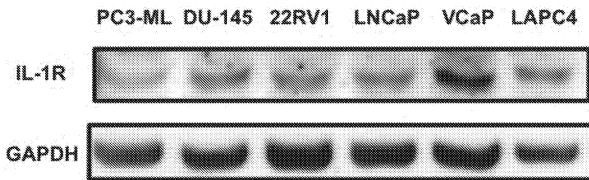
【 図 5 I 】



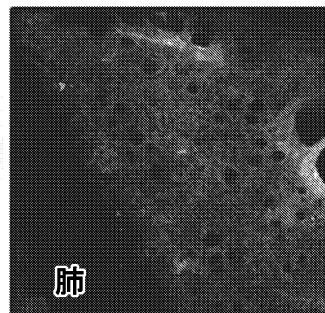
【 図 5 K 】



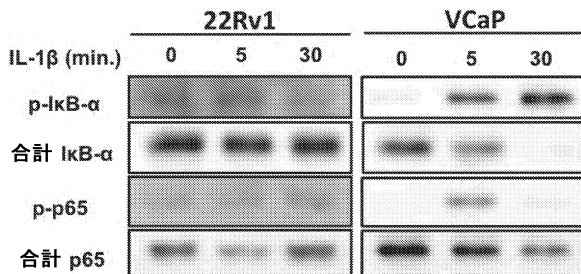
【 図 5 L 】



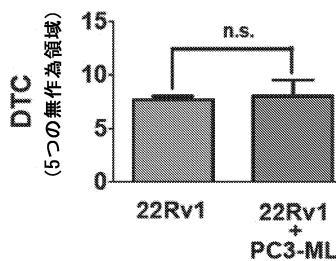
【 図 5 O 】



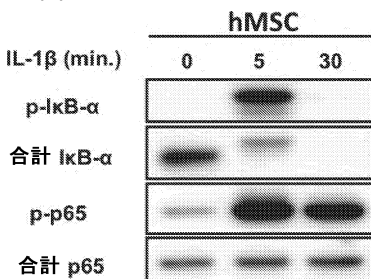
【 図 5 M 】



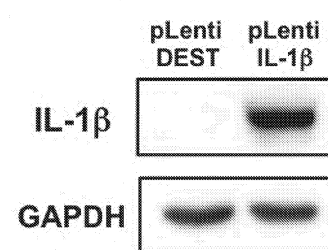
【 図 5 P 】



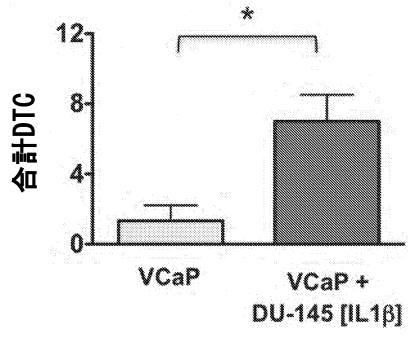
【 図 5 N 】



【 図 5 Q 】



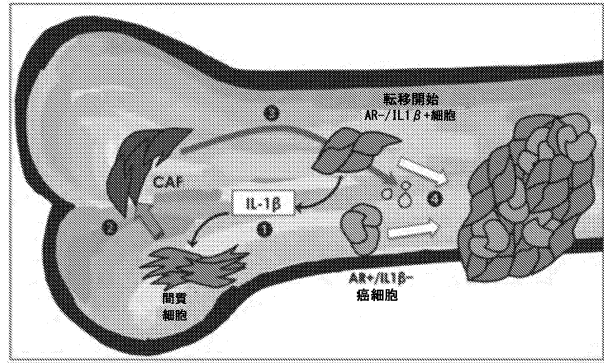
【 図 5 R 】



【 図 5 S 】



【 図 6 】



【 配列表 】

0006941565000001.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 | 35/04 | (2006.01) | A 6 1 P | 35/04 | |
| A 6 1 P | 43/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 43/00 | 1 1 1 |
| | | | A 6 1 P | 43/00 | 1 2 1 |

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ファタティス アレッサンドロ

アメリカ合衆国 19072 ペンシルベニア州 ペン バレー ノース ウッドバイン アベニュー 1140

(72)発明者 ジェルニガン ダニエル

アメリカ合衆国 19003 ペンシルベニア州 アードモア アードモア アベニュー 116

(72)発明者 シャリアリ クリスティーナ スーザン

アメリカ合衆国 19103 ペンシルベニア州 フィラデルフィア ノース トゥウェンティエス ストリート 117 アpartment 4

(72)発明者 シェン フェイ

アメリカ合衆国 19130 ペンシルベニア州 フィラデルフィア ハミルトン ストリート 2001 アpartment 406

審査官 山村 祥子

(56)参考文献 米国特許出願公開第2015/0023920 (US, A1)

J Cell Biochem., 2014年12月, 115(12), p.2188-2197

mAbs, 2011年, 3:1, p.49-60

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 4 5 / 0 0

A 6 1 P 4 3 / 0 0

A 6 1 P 3 5 / 0 0

A 6 1 P 3 5 / 0 4

A 6 1 K 3 8 / 0 0

A 6 1 K 3 1 / 0 0

CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)