(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2018-514549
(P2018-514549A)
(43)公表日　平成30年6月7日(2018.6.7)

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
A61K 31/436	(2006.01)	A61K	31/436		4C084
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00		4C086
A61P 35/04	(2006.01)	A61P	35/04		4C206
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00	111	
A61K 31/137	(2006.01)	A61P	43/00	121	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 68 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-556627(P2017-556627)
(86)(22)出願日　平成28年4月29日(2016.4.29)
(85)翻訳文提出日　平成29年12月19日(2017.12.19)
(86)国際出願番号　PCT/US2016/030316
(87)国際公開番号　WO2016/176664
(87)国際公開日　平成28年11月3日(2016.11.3)
(31)優先権主張番号　62/154,699
(32)優先日　平成27年4月29日(2015.4.29)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　62/155,451
(32)優先日　平成27年4月30日(2015.4.30)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　62/158,469
(32)優先日　平成27年5月7日(2015.5.7)
(33)優先権主張国　米国(US)

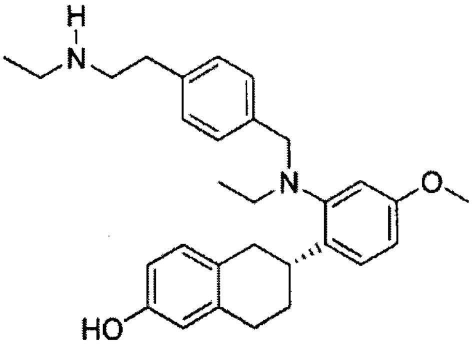
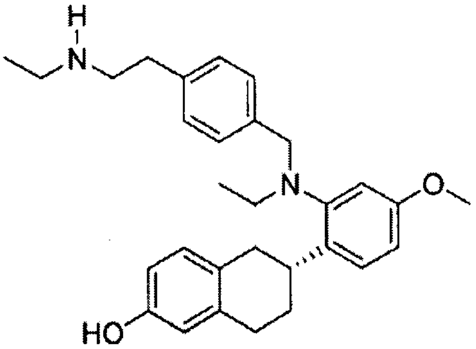
(71)出願人　517378016
ラジウス　ファーマシューティカルズ，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２４５１　ウォルサム，ウィンター　ストリート　９５０
(74)代理人　100095832
弁理士　細田　芳徳
(72)発明者　ハタスリー，ガリー
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０１７７５　ストー，ウッドマン　ドライブ　１４

Fターム(参考)　4C084 AA19 MA02 MA52 NA05 ZB261 ZC20 ZC41 ZC75

最終頁に続く

(54)【発明の名称】癌を治療するための方法

(57)【要約】
対象に、治療上有効量の、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と、１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）との組み合わせを投与することによって、１種以上の腫瘍を治療する方法が、本明細書に開示される。癌は、乳癌、卵巣癌、結腸癌、子宮内膜癌、または前立腺癌等のエストロゲン依存性癌である。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
　薬物耐性エストロゲン受容体アルファ陽性癌を有する対象において腫瘍成長を阻害するまたは腫瘍退縮を生じさせる方法であって、前記対象に、治療上有効量の、エベロリムスと構造：
【化１】

を有するＲＡＤ１９０１またはその塩もしくは溶媒和物との組み合わせを投与することを含む、方法。
【請求項２】
　変異体エストロゲン受容体アルファ陽性癌を有する対象において腫瘍成長を阻害するまたは腫瘍退縮を生じさせる方法であって、前記対象に、治療上有効量の、エベロリムスと構造：
【化２】

を有するＲＡＤ１９０１またはその塩もしくは溶媒和物との組み合わせを投与することを含む、方法。
【請求項３】
　前記癌が、乳癌、子宮癌、卵巣癌、及び下垂体癌からなる群から選択される、請求項１または２に記載の方法。
【請求項４】
　前記癌が、転移性癌である、請求項１または２に記載の方法。
【請求項５】
　前記癌が、Ｙ５３７Ｘ$_1$、Ｌ５３６Ｘ$_2$、Ｐ５３５Ｈ、Ｖ５３４Ｅ、Ｓ４６３Ｐ、Ｖ３９２Ｉ、Ｅ３８０Ｑ、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される１つ以上の変異を含む変異体エストロゲン受容体アルファに対して陽性であり、式中、
Ｘ$_1$が、Ｓ、Ｎ、またはＣ、Ｄ５３８Ｇであり、Ｘ$_2$がＲまたはＱである、請求項１または２に記載の方法。
【請求項６】
　前記変異が、Ｙ５３７Ｓである、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
　投与後の前記腫瘍中のＲＡＤ１９０１またはその塩もしくは溶媒和物の濃度の、血漿中

のＲＡＤ１９０１またはその塩もしくは溶媒和物の濃度に対する比（Ｔ／Ｐ）が、少なくとも約１５である、請求項１または２に記載の方法。

【請求項８】

前記対象が、骨粗鬆症または骨粗鬆症のより高いリスクを有する、請求項１または２に記載の方法。

【請求項９】

前記対象が、閉経前の女性である、請求項１または２に記載の方法。

【請求項１０】

前記対象が、ＳＥＲＭ及び／またはＡＩによるこれまでの治療後に、再発または進行している閉経後の女性である、請求項１または２に記載の方法。

【請求項１１】

前記治療上有効量が、１日当たり約１５０～約１，５００ｍｇである、請求項１または２に記載の方法。

【請求項１２】

前記その塩が、ＲＡＤ１９０１二塩酸塩である、請求項１または２に記載の方法。

【請求項１３】

前記腫瘍が、抗エストロゲン、アロマターゼ阻害剤、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される薬物に耐性を示す、請求項１または２に記載の方法。

【請求項１４】

前記抗エストロゲンが、タモキシフェンまたはフルベストラントである、請求項１２に記載の方法。

【請求項１５】

前記アロマターゼ阻害剤が、アロマシンである、請求項１２に記載の方法。

【請求項１６】

前記治療上有効量が、１５０ｍｇ～２，０００ｍｇである、請求項１または２に記載の方法。

【請求項１７】

前記治療上有効量が、２００ｍｇ、４００ｍｇ、または５００ｍｇである、請求項１６に記載の方法。

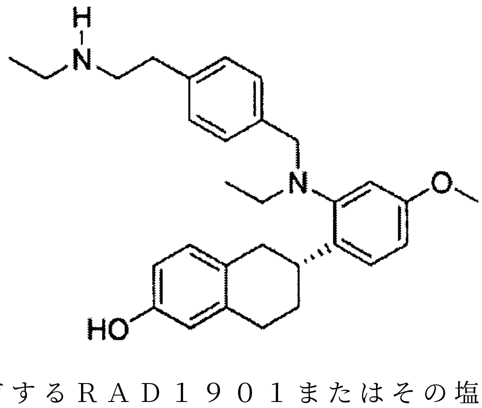
【請求項１８】

エベロリムス及びＲＡＤ１９０１またはその塩もしくは溶媒和物を含む、薬学的組成物。

【請求項１９】

薬物耐性エストロゲン受容体アルファ陽性癌を有する対象において乳癌を治療する方法であって、前記対象に、治療上有効量の、ｍ－ＴＯＲ阻害剤と構造：

【化３】



を有するＲＡＤ１９０１またはその塩もしくは溶媒和物との組み合わせを投与することを含む、方法。

【請求項２０】

前記薬物耐性乳癌が、１つ以上の抗エストロゲンまたはアロマターゼ阻害剤療法に対し

て耐性を示す、請求項１９に記載の方法。
【請求項２１】
前記１つ以上の抗エストロゲンが、タモキシフェン、トレミフェン、及びフルベストラントからなる群から選択され、前記１つ以上のアロマターゼ阻害剤が、アロマシン、レトロゾール、及びアナストロゾールからなる群から選択される、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
前記女性が、Ｄ５３８Ｇ、Ｙ５３７Ｓ、Ｙ５３７Ｎ、Ｙ５３７Ｃ、Ｅ３８０Ｑ、Ｓ４６３Ｐ、Ｌ５３６Ｒ、Ｌ５３６Ｑ、Ｐ５３５Ｈ、Ｖ３９２Ｉ、及びＶ５３４Ｅからなる群から選択される少なくとも１つの変異体エストロゲン受容体アルファを発現する、請求項１９～２１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２３】
前記変異体エストロゲン受容体アルファが、Ｙ５３７Ｓ、Ｙ５３７Ｎ、Ｙ５３７Ｃ、Ｄ５３８Ｇ、Ｌ５３６Ｒ、Ｓ４６３Ｐ、及びＥ３８０Ｑからなる群から選択される、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
前記変異体受容体アルファが、Ｙ５３７Ｓである、請求項２２または２３に記載の方法。
【請求項２５】
前記ＲＡＤ１９０１が、１００ｍｇ～１，５００ｍｇの合計１日投与量で投与される、請求項１９～２４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２６】
前記ＲＡＤ１９０１が、１００ｍｇ～１，０００ｍｇの合計１日投与量で投与される、請求項２５に記載の方法。
【請求項２７】
前記ＲＡＤ１９０１が、１００ｍｇ、２００ｍｇ、３００ｍｇ、４００ｍｇ、５００ｍｇ、６００ｍｇ、７００ｍｇ、８００ｍｇ、９００ｍｇ、または１，０００ｍｇの合計１日投与量で投与される、請求項２６に記載の方法。
【請求項２８】
前記１日投与量が、２回分の別々の用量で送達される、請求項２２～２７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２９】
前記別々の用量が、等しい用量である、請求項２８に記載の方法。
【請求項３０】
前記等しい用量がそれぞれ、１００ｍｇ、２００ｍｇ、２５０ｍｇ、３００ｍｇ、４００ｍｇ、または５００ｍｇである、請求項２９に記載の方法。
【請求項３１】
前記投与量が、経口経路によって送達される、請求項２５～３０のいずれかに記載の方法。
【請求項３２】
前記女性が、閉経後の女性である、請求項１９～３１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３３】
前記女性が、まず、ＡＢＬ１、ＡＫＴ１、ＡＫＴ２、ＡＬＫ、ＡＰＣ、ＡＲ、ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＳＸＬ１、ＡＴＭ、ＡＵＲＫＡ、ＢＡＰ、ＢＡＰ１、ＢＣＬ２Ｌ１１、ＢＣＲ、ＢＲＡＦ、ＢＲＣＡ１、ＢＲＣＡ２、ＣＣＮＤ１、ＣＣＮＤ２、ＣＣＮＤ３、ＣＣＮＥ１、ＣＤＨ１、ＣＤＫ４、ＣＤＫ６、ＣＤＫ８、ＣＤＫＮ１Ａ、ＣＤＫＮ１Ｂ、ＣＤＫＮ２Ａ、ＣＤＫＮ２Ｂ、ＣＥＢＰＡ、ＣＴＮＮＢ１、ＤＤＲ２、ＤＮＭＴ３Ａ、Ｅ２Ｆ３、ＥＧＦＲ、ＥＭＬ４、ＥＰＨＢ２、ＥＲＢＢ２、ＥＲＢＢ３、ＥＳＲ１、ＥＷＳＲ１、ＦＢＸＷ７、ＦＧＦ４、ＦＧＦＲ１、ＦＧＦＲ２、ＦＧＦＲ３、ＦＬＴ３、ＦＲＳ２、ＨＩＦ１Ａ、ＨＲＡＳ、ＩＤＨ１、ＩＤＨ２、ＩＧＦ１Ｒ、ＪＡＫ２、ＫＤＭ６Ａ、ＫＤＲ、ＫＩＦ５Ｂ、ＫＩＴ、ＫＲＡＳ、ＬＲＰ１Ｂ、ＭＡＰ２Ｋ１、ＭＡＰ２Ｋ４、ＭＣＬ１、Ｍ

ＤＭ２、ＭＤＭ４、ＭＥＴ、ＭＧＭＴ、ＭＬＬ、ＭＰＬ、ＭＳＨ６、ＭＴＯＲ、ＭＹＣ、ＮＦ１、ＮＦ２、ＮＫＸ２－１、ＮＯＴＣＨ１、ＮＰＭ、ＮＲＡＳ、ＰＤＧＦＲＡ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＰＩＫ３Ｒ１、ＰＭＬ、ＰＴＥＮ、ＰＴＰＲＤ、ＲＡＲＡ、ＲＢ１、ＲＥＴ、ＲＩＣＴＯＲ、ＲＯＳ１、ＲＰＴＯＲ、ＲＵＮＸ１、ＳＭＡＤ４、ＳＭＡＲＣＡ４、ＳＯＸ２、ＳＴＫ１１、ＴＥＴ２、ＴＰ５３、ＴＳＣ１、ＴＳＣ２、及びＶＨＬから選択される１つ以上の遺伝子の発現の増加における測定を介して治療のために特定される、請求項１９～３２のいずれか１項に記載の方法。

【請求項３４】

前記１つ以上の遺伝子が、ＡＫＴ１、ＡＫＴ２、ＢＲＡＦ、ＣＤＫ４、ＣＤＫ６、ＰＩＫ３ＣＡ、ＰＩＫ３Ｒ１、及びＭＴＯＲから選択される、請求項３３に記載の方法。

【請求項３５】

前記ｍ－ＴＯＲ阻害剤が、シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス、及びリダフォロリムスからなる群から選択される、請求項１９～３４のいずれかに記載の方法。

【請求項３６】

前記ｍ－ＴＯＲ阻害剤が、毎日１ｍｇ～５００ｍｇで投与される、請求項１９～３４のいずれかに記載の方法。

【請求項３７】

前記ｍ－ＴＯＲ阻害剤が、毎日５ｍｇ～１００ｍｇで投与される、請求項３６に記載の方法。

【請求項３８】

前記ｍ－ＴＯＲ阻害剤が、毎日１０ｍｇ～５０ｍｇで投与される、請求項３７に記載の方法。

【請求項３９】

前記ｍ－ＴＯＲ阻害剤が、エベロリムスである、請求項３５に記載の方法。

【請求項４０】

前記エベロリムスが、１０ｍｇの１日用量で投与される、請求項３９に記載の方法。

【請求項４１】

前記エベロリムスが、２．５ｍｇ～７．５ｍｇで投与される、請求項３９に記載の方法。

【請求項４２】

前記ｍ－ＴＯＲ阻害剤が、経口投与される、請求項１９～４１のいずれかに記載の方法。

【請求項４３】

前記ｍ－ＴＯＲ阻害剤が、１日１回投与される、請求項１９～４２のいずれか１項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の相互参照

本出願は、２０１５年４月２９日に出願された米国仮特許出願第６２／１５４，６９９号、２０１５年４月３０日に出願された米国仮特許出願第６２／１５５，４５１号、２０１５年１１月６日に出願された米国仮特許出願第６２／２５２，０８５号、２０１５年１２月１０日に出願された米国仮特許出願第６２／２６５，６９６号、２０１５年５月７日に出願された米国仮特許出願第６２／１５８，４６９号、２０１５年１１月９日に出願された米国仮特許出願第６２／２５２，９１６号、２０１５年１２月１０日に出願された米国仮特許出願第６２／２６５，７７４号、２０１５年７月１５日に出願された米国仮特許出願第６２／１９２，９４０号、２０１５年１２月１０日に出願された米国仮特許出願第６２／２６５，６５８号、２０１６年４月１５日に出願された米国仮特許出願第６２／３２３，５７２号、２０１５年７月１５日に出願された米国仮特許出願第６２／１９２，９４４号、２０１５年１２月１０日に出願された米国仮特許出願第６２／２６５，６６３号

、２０１６年４月１５日に出願された米国仮特許出願第６２／３２３，５７６号の利益を主張するものであり、これらのすべては、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【０００２】

乳癌は、３つの受容体：エストロゲン受容体（ＥＲ）、プロゲステロン受容体（ＰＲ）、及びヒト上皮成長因子受容体－２（Ｈｅｒ２）の発現に基づいて３つのサブタイプに分類される。ＥＲの過剰発現は、多くの乳癌患者において見出される。ＥＲ陽性（ＥＲ＋）の乳癌は、すべての乳癌の３分の２を含む。エストロゲン及びＥＲは、例えば、乳癌以外の卵巣癌、結腸癌、前立腺癌、及び子宮内膜癌と関連している。

【０００３】

ＥＲは、エストロゲンによって活性化し、ＤＮＡに結合する細胞核へ移行し、それにより、様々な遺伝子の活性を調節することができる。例えば、Ｍａｒｉｎｏ　ｅｔ　ａｌ．，“Ｅｓｔｒｏｇｅｎ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　Ｍｕｌｔｉｐｌｅ　Ｐａｔｈｗａｙｓ　ｔｏ　Ｉｍｐａｃｔ　Ｇｅｎｅ　Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ，”Ｃｕｒｒ．Ｇｅｎｏｍｉｃｓ　７（８）：４９７－５０８（２００６）、及びＨｅｌｄｒｉｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，“Ｅｓｔｒｏｇｅｎ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ：Ｈｏｗ　Ｄｏ　Ｔｈｅｙ　Ｓｉｇｎａｌ　ａｎｄ　Ｗｈａｔ　Ａｒｅ　Ｔｈｅｉｒ　Ｔａｒｇｅｔｓ，”Ｐｈｙｓｉｏｌ．Ｒｅｖ．８７（３）：９０５－９３１（２００７）を参照されたい。

【０００４】

エストロゲン産生を阻害する薬剤、例えば、アロマターゼ阻害剤（ＡＩ、例えば、レトロゾール、アナストロゾール、及びアロマシン）、またはＥＲ活性を直接遮断するもの、例えば、選択的エストロゲン受容体モジュレーター（ＳＥＲＭ、例えば、タモキシフェン、トレミフェン、ドロロキシフェン、イドキシフェン、ラロキシフェン、ラソフォキシフェン、アルゾキシフェン、ミプロキシフェン、レボルメロキシフェン、及びＥＭ－６５２（ＳＣＨ　５７０６８））ならびに選択的エストロゲン受容体ディグレーダー（ＳＥＲＤ、例えば、フルベストラント、ＴＡＳ－１０８（ＳＲ１６２３４）、ＺＫ１９１７０３、ＲＵ５８６６８、ＧＤＣ－０８１０（ＡＲＮ－８１０）、ＧＷ５６３８／ＤＰＣ９７４、ＳＲＮ－９２７、ＩＣＩ１８２７８２、及びＡＺＤ９４９６）は、すでに使用されているか、またはＥＲ陽性乳癌の治療において開発されている。

【０００５】

ＳＥＲＭ（例えばタモキシフェン）及びＡＩは、ＥＲ陽性乳癌のための第１選択のアジュバント全身療法としてよく使用されている。タモキシフェンは、ＥＲ陽性乳癌に一般に使用されている。ＡＩは、体内でアンドロゲンをエストロゲンに変える、アロマターゼの活性を遮断することによって末梢組織中のエストロゲン産生を抑える。しかしながら、ＡＩは、卵巣がエストロゲンを生成するのを止めることができず、そのため、ＡＩは、主に、閉経後の女性を治療するために使用される。さらに、ＡＩは、重篤な副作用が少なく、タモキシフェンよりもさらに有効であるため、ＡＩは、閉経前の女性を治療するために使用され、卵巣機能を抑えることもできる。例えば、Ｆｒａｎｃｉｓ　ｅｔ　ａｌ．，“Ａｄｊｕｖａｎｔ　Ｏｖａｒｉａｎ　Ｓｕｐｐｒｅｓｓｉｏｎ　ｉｎ　Ｐｒｅｍｅｎｏｐａｕｓａｌ　Ｂｒｅａｓｔ　Ｃａｎｃｅｒ，”Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．，３７２：４３６－４４６（２０１５）を参照されたい。

【０００６】

これらの薬剤による初期治療が成功し得るが、多くの患者は、最終的には、薬物耐性乳癌を再発する。ＥＲに影響を及ぼす変異は、この抵抗性の発症のためにある潜在的機序として現れる。例えば、Ｒｏｂｉｎｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，“Ａｃｔｉｖａｔｉｎｇ　ＥＳＲ１　ｍｕｔａｔｉｏｎｓ　ｉｎ　ｈｏｒｍｏｎｅ－ｒｅｓｉｓｔａｎｔ　ｍｅｔａｓｔａｔｉｃ　ｂｒｅａｓｔ　ｃａｎｃｅｒ，”Ｎａｔ．Ｇｅｎｅｔ．４５：１４４６－５１（２０１３）を参照されたい。ＥＲのリガンド結合ドメイン（ＬＢＤ）における変異は、内分泌療法のうちの少なくとも１つの方針を受けている患者からの２１％の転移性ＥＲ

陽性乳癌試料に見出される。Ｊｅｓｅｌｓｏｈｎ，ｅｔ　ａｌ．，“ＥＳＲ１　ｍｕｔａｔｉｏｎｓ－ａ　ｍｅｃｈａｎｉｓｍ　ｆｏｒ　ａｃｑｕｉｒｅｄ　ｅｎｄｏｃｒｉｎｅ　ｒｅｓｉｓｔａｎｃｅ　ｉｎ　ｂｒｅａｓｔ　ｃａｎｃｅｒ，”Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌ．，１２：５７３－８３（２０１５）。

【０００７】

フルベストラントは、現在、抗エストロゲン療法後の疾患の進行があるＥＲ陽性転移性乳癌の治療に承認されている唯一のＳＥＲＤである。その臨床的有効性にもかかわらず、フルベストラントの効用は、単回投与において投与され得る薬物の量によって、バイオアベイラビリティの低下によって制限されている。１８Ｆ－フルオロエストラジオール陽電子放出断層撮影法（ＦＥＳ－ＰＥＴ）を用いた画像研究は、５００ｍｇの用量レベルでさえ、患者の中には、完全なＥＲの阻害を有さない場合があり、不十分な投与は、治療不全の理由であり得ることを示唆している。

【０００８】

エストロゲン標的療法に関連する別の課題は、子宮、骨、及びその他の組織への望ましくない効果を有し得ることである。ＥＲは、多種多様な組織及び細胞型にエストロゲン応答性遺伝子の転写を指示する。これらの効果は、特に、エストロゲン及びその他の卵巣ホルモンの内因性レベルが、更年期中に減退する場合に、顕著であり得る。例えば、タモキシフェンは、子宮内膜における部分アゴニストとして作用するため、閉経前の女性における骨粗しょうを引き起こし、子宮内膜癌のリスクを増大させ得る。閉経後の女性では、ＡＩは、タモキシフェンよりもさらに骨喪失及び骨折を引き起こし得る。フルベストラントで治療された患者はまた、作用機序により、骨粗鬆症のリスクにさらされ得る。

【０００９】

ホスホイノシチド３－キナーゼ（ＰＩ３Ｋ）／タンパク質キナーゼＢ（ＡＫＴ）／ラパマイシンの哺乳類標的（ｍＴＯＲ）経路は、細胞周期を調節する際に重要な細胞内シグナル伝達経路である。癌におけるＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ／ｍＴＯＲ経路の高頻度の活性化ならびに細胞成長及び生存におけるその極めて重要な役割は、様々な療法の開発においてこの平衡を利用するために、増殖対分化の適切な量を見つけ出す課題を提供する。例えば、Ｇｉｔｔｏ　ｅｔ　ａｌ．，“Ｒｅｃｅｎｔ　ｉｎｓｉｇｈｔｓ　ｉｎｔｏ　ｔｈｅ　ｐａｔｈｏｐｈｙｓｉｏｌｏｇｙ　ｏｆ　ｍＴＯＲ　ｐａｔｈｗａｙ　ｄｙｓｒｅｇｕｌａｔｉｏｎ，”Ｒｅｓ．Ｒｅｐ．Ｂｉｏ．，２：１－１６（２０１５）を参照のこと。

【００１０】

ＰＩ３Ｋ経路の阻害剤は、他の療法と組み合わせて施された場合に、最も有望である。例えば、アロマステリックｍＴＯＲ阻害剤であるエベロリムスは、進行性ホルモン受容体陽性（ＨＲ＋）、ＨＥＲ２乳癌（ＢＯＬＥＲＯ－２試験）を有する閉経後の女性を治療するために、ＡＩエキセメスタンと併用して使用することが２０１２年に承認された。例えば、ＰＩ３Ｋ及びｍＴＯＲのＡＴＰ競合性二重阻害剤（例えば、ＢＥＺ２３５、ＧＤＣ－０９８０）、クラスＩ　ＰＩ３Ｋの４つすべてのアイソフォームを阻害する汎ＰＩ３Ｋ阻害剤（例えばＢＫＭ１２０、ＧＤＣ－０９４１）、様々なＰＩ３Ｋアイソフォームのアイソフォーム特異的阻害剤（例えばＢＹＬ７１９、ＧＤＣ－００３２）、ＡＫＴのアロマステリック及び触媒阻害剤（ＭＫ２２０６、ＧＤＣ－００６８、ＧＳＫ２１１０１８３、ＧＳＫ２１４１７９５、ＡＺＤ５３６３）、ならびにｍＴＯＲのみのＡＴＰ競合性阻害剤（ＡＺＤ２０１４、　ＭＬＮ０１２８、及びＣＣ－２２３）のようなＰＩ３Ｋ経路の他の成分を標的とする薬剤が、ＨＲ＋癌を治療するために開発中である。Ｄｉｅｎｓｔｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，“Ｐｉｃｋｉｎｇ　ｔｈｅ　ｐｏｉｎｔ　ｏｆ　ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎ：ａ　ｃｏｍｐａｒａｔｉｖｅ　ｒｅｖｉｅｗ　ｏｆ　ＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ／ｍＴＯＲ　ｐａｔｈｗａｙ　ｉｎｈｉｂｉｔｏｒｓ，”Ｍｏｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｔｈｅｒ．，１３（５）：１０２１－３１（２０１４）。

【００１１】

それらの大きな潜在性にもかかわらず、ｍＴＯＲ阻害剤と関連する望ましくない副作用が、有効な癌療法としてのそれらの開発を妨げている。Ｋａｐｌａｎ　ｅｔ　ａｌ．，“

Ｓｔｒａｔｅｇｉｅｓ　ｆｏｒ　ｔｈｅ　ｍａｎａｇｅｍｅｎｔ　ｏｆ　ａｄｖｅｒｓｅ　ｅｖｅｎｔｓ　ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ　ｗｉｔｈ　ｍＴＯＲ　ｉｎｈｉｂｉｔｏｒｓ，”Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ　Ｒｅｖ　（Ｏｒｌａｎｄｏ），２８（３）：１２６－１３３（２０１４）、及びＰａｌｌｅｔ　ｅｔ　ａｌ．，“Ａｄｖｅｒｓｅ　ｅｖｅｎｔｓ　ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ　ｗｉｔｈ　ｍＴＯＲ　ｉｎｈｉｂｉｔｏｒｓ，”Ｅｘｐｅｒｔ　Ｏｐｉｎ．Ｄｒｕｇ　Ｓａｆ．１２（２）：１７７－１８６（２０１３）。

【００１２】

進行段階の及び／または前治療への耐性がある癌と闘うために、第２の治療剤（例えば、エベロリムス、及びＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ／ｍＴＯＲ経路を標的とする他の薬剤）と混合することによってさらなる利点を提供しながら、現行の内分泌療法と関連した課題を克服し得る、より永続的かつ有効なＥＲ標的療法が依然として必要とされている。

【発明の概要】

【００１３】

本発明の一態様は、対象における１種以上の癌及び／または腫瘍を治療するための方法に関し、本方法は、対象に、治療上有効量の、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と、本明細書に記載される１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）との組み合わせを投与することを含む。

【００１４】

いくつかの実施形態では、癌は、乳癌、卵巣癌、結腸癌、子宮内膜癌、または前立腺癌等のエストロゲン依存性癌である。いくつかの実施形態では、癌は、ＥＲ陽性乳癌である。

【００１５】

ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、必要とする対象に、併用投与される。「併用」という語句は、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩が、第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）の投与前、その中、またはその後に投与され得ることを意味する。例えば、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）は、約１週間毎に、約６日間毎に、約５日間毎に、約４日間毎に、約３日間毎に、約２日間毎に、約２４時間毎に、約２３時間毎に、約２２時間毎に、約２１時間毎に、約２０時間毎に、約１９時間毎に、約１８時間毎に、約１７時間毎に、約１６時間毎に、約１５時間毎に、約１４時間毎に、約１３時間毎に、約１２時間毎に、約１１時間毎に、約１０時間毎に、約９時間毎に、約８時間毎に、約７時間毎に、約６時間毎に、約５時間毎に、約４時間毎に、約３時間毎に、約２時間毎に、約１時間毎に、約５５分間毎に、約５０分間毎に、約４５分間毎に、約４０分間毎に、約３５分間毎に、約３０分間毎に、約２５分間毎に、約２０分間毎に、約１５分間毎に、約１０分間毎に、または約５分間毎に投与され得る。他の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）は、対象に、同時にまたは実質的に同時に投与される。ある特定のこれらの実施形態では、化合物は、単一製剤の一部として投与され得る。

【００１６】

いくつかの実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）は、別々の製剤で投与される。ある特定のこれらの実施形態では、製剤は、同じタイプのものであり得る。例えば、両方の製剤は、経口投与用（例えば２種の別々の丸剤を介して）または注射用（例えば２種の注射製剤を介して）に設計され得る。他の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）は、異なるタイプの製剤で製剤化され得る。例えば、ある化合物は、経口投与用に設計される製剤であり得るが、その他は、注射用に設計される製剤であり得る。

【００１７】

他の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及

び第２の治療剤（複数可）は、単一製剤の一部として投与される。例えば、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）は、経口投与用の単一の丸剤または注射用の単一用量で製剤化される。したがって、ある特定の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び１種以上の第２の治療剤を含む製剤が、本明細書に提供される。

【００１８】

ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び／または第２の治療剤（複数可）の投与経路としては、局所投与、経口投与、皮内投与、筋肉投与、腹腔内投与、静脈内投与、膀胱腔内注入、皮下投与、経皮投与、及び経粘膜投与が挙げられるが、これらに限定されない。

【図面の簡単な説明】

【００１９】

【図１】ＲＡＤ１９０１は、ＥＳＲ１状態及び前内分泌療法にもかかわらず、様々な患者由来の異種移植片（ＰＤｘ）モデルにおける腫瘍成長を阻害した。ＲＡＤ１９０１で治療したＰＤｘモデルにおける腫瘍成長の阻害（ＴＧＩ）の割合を示す。

【図２】ＲＡＤ１９０１とエベロリムスとの組み合わせは、野生型（ＷＴ）ＥＲα　ＭＣＦ－７異種移植片モデル（ＰＲ＋、ＨＥＲ２－）における腫瘍成長の阻害及び退行を示した。（Ａ）：ビヒクル対照、エベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、フルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）、フルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）との組み合わせ、ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、ならびにＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）との組み合わせで治療したＭＣＦ－７異種移植片モデルの腫瘍成長；一元配置分散分析、「ｎｓ」は、有意差なし、＊ｐ値＜０．０５、及び＊＊＊ｐ値＜０．００１；（Ｂ）：ビヒクル対照、エベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、フルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）、フルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）との組み合わせ、ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、ならびにＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）との組み合わせで治療したＭＣＦ－７異種移植片モデルのベースラインから研究終了までの個々の腫瘍サイズの変化；（Ｃ）：ビヒクル対照、エベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、フルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）、フルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）との組み合わせ、ＲＡＤ１９０１（３０もしくは６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、ならびにＲＡＤ１９０１（３０もしくは６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）との組み合わせで治療したＭＣＦ－７異種移植片モデルの腫瘍成長。

【図３】ＲＡＤ１９０１とエベロリムスとの組み合わせは、ＷＴ　ＥＲα　ＰＤｘ－１１モデル（ＰＲ＋、Ｈｅｒ２＋、アロマターゼ阻害剤、フルベストラント、及び化学療法で以前に治療した）における腫瘍成長の阻害及び退行を示した。（Ａ）：ビヒクル対照、フルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）、エベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、ならびにＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）との組み合わせで治療したＰＤｘ－１１モデルの腫瘍成長；（Ｂ）：ビヒクル対照、フルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）、ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、ならびにＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）との組み合わせで治療したＰＤｘ－１１モデルにおけるベースラインから研究の終了までの個々の腫瘍サイズの変化。ｎ＝８～１０／群。

【図４】ＲＡＤ１９０１とエベロリムスとの組み合わせは、ＷＴ　ＥＲ＋ＰＤｘ－２モデ

ル（ＰＲ＋、Ｈｅｒ２＋、治療ナイーブ）における腫瘍成長の阻害を示した。（Ａ）：ビヒクル対照、ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、フルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）、ならびにＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）とフルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）との組み合わせで治療したＰＤｘ－２モデルの腫瘍成長；（Ｂ）：ビヒクル対照、エベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、ならびにＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）との組み合わせで治療したＰＤｘ－２モデルの腫瘍成長。ｎ＝８～１０／群。

【図５】ＲＡＤ１９０１の有効性は、エストラジオール治療は、ＷＴ　ＥＲα　ＰＤｘ－４モデル（ＰＲ＋、Ｈｅｒ２＋、治療ナイーブ）において継続したが、ＲＡＤ１９０１での治療を終了してから少なくとも２カ月持続した。

【図６】ＲＡＤ１９０１とエベロリムスとの組み合わせは、変異体（Ｙ５３７Ｓ）ＥＲα　ＰＤｘ－５モデル（ＰＲ＋、Ｈｅｒ２＋、アロマターゼ阻害剤で以前に治療した）における腫瘍成長の阻害を示した。（Ａ）：ビヒクル対照、ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、及びフルベストラント（３ｍｇ／ｋｇ、週１回皮下注射）で治療したＰＤｘ－５モデルの腫瘍成長；（Ｂ）：ビヒクル対照、ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、エベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、ならびにＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）との組み合わせで治療したＰＤｘ－５モデルの腫瘍成長。ｎ＝８～１０／群。

【図７】ヌードマウスにおけるフルベストラントの薬物動態分析。１ｍｇ／用量（黒ひし形）、３ｍｇ／用量（黒丸）、及び５ｍｇ／用量（黒三角）のフルベストラントの血漿濃度を示す。ヌードマウスに、１日目にフルベストラントを皮下投与し、２回目を８日目に投与した。フルベストラントの血漿濃度を、２回目の投与から１６８時間まで指示された時点でモニタリングした。

【図８】頭蓋内ＭＣＦ－７腫瘍モデルにおけるマウス生存へのＲＡＤ１９０１及びフルベストラント（Ｆａｓｌｏｄｅｘ）の効果。

【図９】２００及び５００ｍｇのＲＡＤ１９０１を１日１回の経口投与で治療を受けた対象の子宮のＦＥＳ－ＰＥＴスキャンの代表的な画像、及びＲＡＤ１９０１治療後のＥＲ関与の変化。（Ａ）：２００ｍｇのＲＡＤ１９０１での治療前（ａ）及び治療後（ｃ）の子宮ＣＴスキャンの横断図ならびにＲＡＤ１９０１での治療前（ｂ）及び治療後（ｄ）の子宮ＦＥＳ－ＰＥＴスキャンの横断図；（Ｂ）：５００ｍｇのＲＡＤ１９０１での治療前（（ａ）上パネル）及び治療後（（ａ）下パネル）の子宮ＣＴスキャンの矢状図、ＲＡＤ１９０１での治療前（（ｂ）上パネル）及び治療後（（ｂ）下パネル）の子宮ＦＥＳ－ＰＥＴスキャンの矢状図、ＲＡＤ１９０１での治療前（（ｃ）上パネル）及び治療後（（ｃ）下パネル）の子宮ＣＴスキャンの横断図、ＲＡＤ１９０１での治療前（（ｄ）上パネル）及び治療後（（ｄ）下パネル）の子宮ＦＥＳ－ＰＥＴスキャンの横断図；（Ｃ）：ベースライン（ＲＡＤ１９０１治療前）と比較した、対象１～３（２００ｍｇ）及び対象４～７（５００ｍｇ）のＲＡＤ１９０１での治療後のＥＲ関与の変化率（％）。

【図１０】ＲＡＤ１９０１（５００ｍｇ）での治療前（ベースライン）及びその後（治療後）の子宮（Ａ）及び下垂体（Ｂ）のＦＥＳ－ＰＥＴスキャンの代表的な画像。（ａ）側面断面図、（ｂ）経度断面図、及び（ｃ）経度断面図。

【図１１】ビヒクル対照、ＲＡＤ１９０１、エベロリムス、ＲＡＤ１９０１とエベロリムスとの組み合わせ、フルベストラント、ならびにフルベストラントとエベロリムスとの組み合わせで治療したＭＣＦ－７異種移植片モデルにおけるＰＲ及びＥＲ発現

【図１２】ＲＡＤ１９０１治療は、完全なＥＲの低下をもたらし、インビトロでのＭＣＦ－７細胞株（Ａ）及びＴ４７Ｄ細胞株（Ｂ）におけるＥＲシグナル伝達を阻害した。０．００１μＭ、０．０１μＭ、０．１μＭ、及び１μＭの様々な濃度で、それぞれ、ＲＡＤ１９０１及びフルベストラントで治療した両方の細胞株において、ＥＲ発現を示した。試

験した３つのＥＲ標的遺伝子：ＰＧＲ、ＧＲＥＢ１、及びＴＦＦ１によって、ＥＲシグナル伝達を示した。

【図１３】ＲＡＤ１９０１での治療は、ＭＣＦ－７異種移植片モデルにおけるＥＲ分解及びＥＲシグナル伝達の廃止をもたらした。（Ａ）：最後の投与から２時間または８時間後に、ビヒクル対照、３０及び６０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１、ならびに３ｍｇ／用量のフルベストラントで治療したＭＣＦ－７異種移植片モデルにおけるＰＲ及びＥＲ発現を示すウェスタンブロット；（Ｂ）：最後の投与から２時間または８時間後に、ビヒクル対照、３０及び６０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１、ならびに３ｍｇ／用量のフルベストラントで治療したＭＣＦ－７異種移植片モデルにおけるＥＲタンパク質発現；（Ｃ）：最後の投与から８時間後に、ビヒクル対照、３０及び６０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１、ならびに３ｍｇ／用量のフルベストラントで治療したＭＣＦ－７異種移植片モデルにおけるＰＲタンパク質発現。

【図１４】ＲＡＤ１９０１での治療は、ＭＣＦ－７異種移植片モデルにおけるＰＲの急激な減少をもたらした。（Ａ）：単回投与から８時間または１２時間後に、ビヒクル対照、３０、６０、及び９０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１で治療したＭＣＦ－７異種移植片モデルにおけるＰＲ発現を示すウェスタンブロット；（Ｂ）：７回目の投与から４時間または２４時間後に、ビヒクル対照、３０、６０、及び９０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１で処置したＭＣＦ－７異種移植片モデルにおけるＰＲ発現を示すウェスタンブロット；（Ｃ）：３０、６０、及び９０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１で治療したＭＣＦ－７異種移植片モデルにおけるＰＲ発現の用量依存的な減少。

【図１５】ＲＡＤ１９０１での治療は、ＭＣＦ－７異種移植片モデルにおけるＰＲの急激な減少をもたらした。（Ａ）：単回投与から８時間後及び４回目の投与から２４時間後に、ビヒクル対照及び９０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１で治療し、増殖マーカーＫｉ－６７に対して染色した、ＭＣＦ－７異種移植片モデルから採取した切片腫瘍の代表的な写真；（Ｂ）：単回投与から８時間後及び４回目の投与から２４時間後に、ビヒクル対照及び９０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１で治療したＭＣＦ－７異種移植片モデルにおける増殖マーカーＫｉ－６７の減少を示すヒストグラム。

【図１６】３０、６０、及び１２０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１での治療は、５６日の有効性研究の最終日において４時間のＰＤｘ－４モデルの研究腫瘍の終わりに、フルベストラント（１ｍｇ／動物）よりもさらに著しいＫｉ６７の減少をもたらした。

【図１７】６０及び１２０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１での治療は、ＰＲ発現の減少に伴って、ＰＤｘ－５モデルにおけるインビボでのＥＲのシグナル伝達の低下をもたらした。

【図１８】乳離れしたばかりの雌Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットにおける子宮組織へのＲＡＤ１９０１の効果。（Ａ）：最終投与から２４時間後に殺処分したラットの子宮湿重量；（Ｂ）：子宮の組織切片における上皮重量；（Ｃ）：４００倍率のトルイジンブルーＯ染色した子宮組織の代表的な切片；（Ｄ）：子宮組織から抽出し、１８ＳリボソームＲＮＡハウスキーピング遺伝子と比較して、補体Ｃ３発現のレベルに対して定量的ＲＴ－ＰＣＲによって分析した全ＲＮＡ。

【図１９】７日目に２００、５００、７５０、及び１０００ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１を投与した後の血漿薬物動態の結果。

【図２０】３ＥＲＴ（Ｉ）。

【図２１】３ＥＲＴ（ＩＩ）。

【図２２】表１１に要約されたＥＲα　ＬＢＤ－アンタゴニスト複合体の重ね合わせ。

【図２３】（Ａ）ＲＡＤ１９０１－１Ｒ５Ｋ及び（Ｂ）ＧＷ５－１Ｒ５Ｋのモデリング。

【図２４】（Ａ）ＲＡＤ１９０１－１ＳＪ０及び（Ｂ）Ｅ４Ｄ－１ＳＪ０のモデリング。

【図２５】（Ａ）ＲＡＤ１９０１－２ＪＦＡ及び（Ｂ）ＲＡＬ－２ＪＦＡのモデリング。

【図２６】（Ａ）ＲＡＤ１９０１－２ＢＪ４及び（Ｂ）ＯＨＴ－２ＢＪ４のモデリング。

【図２７】（Ａ）ＲＡＤ１９０１－２ＩＯＫ及び（Ｂ）ＩＯＫ－２ＩＯＫのモデリング。

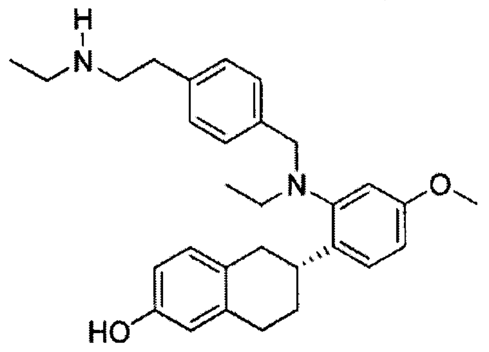
【図２８】１Ｒ５Ｋ及び２ＯＵＺによるＩＦＤ分析から得られたＲＡＤ１９０１の立体構造の重ね合わせ。

【図２９】２ＢＪ４及び２ＪＦＡによるＩＦＤ分析から得られたＲＡＤ１９０１の立体構造の重ね合わせ。
【図３０】２ＢＪ４、２ＪＦＡ、及び１ＳＪ０によるＩＦＤ分析から得られたＲＡＤ１９０１の立体構造の重ね合わせ。
【図３１】２ＢＪ４によるＲＡＤ１９０１のＩＦＤ。
【図３２】ＩＦＤによって２ＢＪ４にドックされたＲＡＤ１９０１のタンパク質表面相互作用。
【図３３】２ＢＪ４によるフルベストラントのＩＦＤ。
【図３４】２ＢＪ４によるフルベストラント及びＲＡＤ１９０１のＩＦＤ。
【図３５】２ＢＪ４によるフルベストラント及びＲＡＤ１９０１のＩＦＤの重ね合わせ。
【図３６】ＷＴ及びＬＢＤ変異体のＥＲα構築物によるＲＡＤ１９０１のインビトロ結合アッセイ。
【図３７】４０日間治療した後の、ＭＣＦ７細胞を移植したマウスの血漿、腫瘍、及び脳におけるＲＡＤ１９０１レベル。ＢＬＱ：定量下限未満。
【図３８】２００ｍｇの用量の経口投与で、１日１回、６日間治療したヒト対象の子宮、筋肉、及び骨のＳＵＶ。
【図３９】５００ｍｇの用量の経口投与で、１日１回、６日間治療したヒト対象（ｎ＝４）の子宮、筋肉、及び骨のＳＵＶ。
【図４０】卵巣摘出ラットにおけるＢＭＤへのＲＡＤ１９０１の効果。成体雌ラット（治療群当たりｎ＝２０）は、ビヒクル、Ｅ２（０．０１ｍｇ／ｋｇ）、またはＲＡＤ１９０１（３ｍｇ／ｋｇ）で１日１回の治療開始の前に、偽手術または卵巣摘出手術のいずれかを施行した。ＢＭＤは、ベースライン及び治療から４週間後に、二重放射Ｘ線吸光光度法によって測定された。データは、平均±標準偏差で表される。＊Ｐ＜０．０５対対応するＯＶＸ＋Ｖｅｈ対照。ＢＭＤ、骨ミネラル濃度；Ｅ２、ベータエストラジオール；ＯＶＸ、卵巣摘出した；Ｖｅｈ、ビヒクル。
【図４１】卵巣摘出ラットにおける大腿マイクロアーキテクチャへのＲＡＤ１９０１の効果。成体雌ラット（治療群当たりｎ＝２０）は、ビヒクル、Ｅ２（０．０１ｍｇ／ｋｇ）、またはＲＡＤ１９０１（３ｍｇ／ｋｇ）で１日１回の治療開始の前に、偽手術または卵巣摘出手術のいずれかを施行した。４週間後、骨マイクロアーキテクチャは、マイクロコンピュータ断層撮影法を用いて評価した。データは、平均±標準偏差で表される。＊Ｐ＜０．０５対対応するＯＶＸ＋Ｖｅｈ対照。ＡＢＤ、見掛け骨密度；ＢＶ／ＴＶ、骨体積密度；ＣｏｎｎＤ、連結密度；Ｅ２、ベータエストラジオール；ＯＶＸ、卵巣摘出した；ＴｂＮ、骨梁数；ＴｂＴｈ、骨梁幅；ＴｂＳｐ、骨梁中心距離；Ｖｅｈ、ビヒクル。
【図４２】ＲＡＤ１９０１の第１相用量漸増試験の重要なベースライン人口統計。
【図４３】ＲＡＤ１９０１の第１相用量漸増試験における最も頻繁に起こる（１０％超）治療関連ＡＥ。ＣＴＣＡＥ　ｖ４．０により等級分けされたＡＥ。同じ優先使用語の複数のシナリオを有する任意の患者は、最も重度のグレードまで１回のみ計数した。＊任意の関連ＴＥＡＥを有した全活性群における１０％超の患者。Ｎ＝所与のカテゴリーにおける少なくとも１つの治療関連ＡＥを有する対象の数。
【図４４】ＲＡＤ１９０１の第１相用量漸増試験における薬物動態学的パラメータ（７日目）。
【図４５】ＬＢＤ変異の頻度。
【図４６】残留姿勢対３ＥＲＴにおけるＥＲ－α　ＬＢＤ－アンタゴニスト複合体の違い。
【図４７】ＲＭＳＤ計算によるＥＲ－α　ＬＢＤ－アンタゴニスト複合体の構造オーバーラップの評価。
【図４８】ＥＲ－α　ＬＢＤ－アンタゴニスト複合体におけるリガンド結合の分析。
【図４９】ＲＡＤ１９０１ドッキングのモデル評価。
【図５０】１Ｒ５Ｋ、１ＳＪ０、２ＩＦＡ、２ＢＪ４、及び２ＯＵＺによるＲＡＤ１９０１の誘導適合ドッキングスコア。

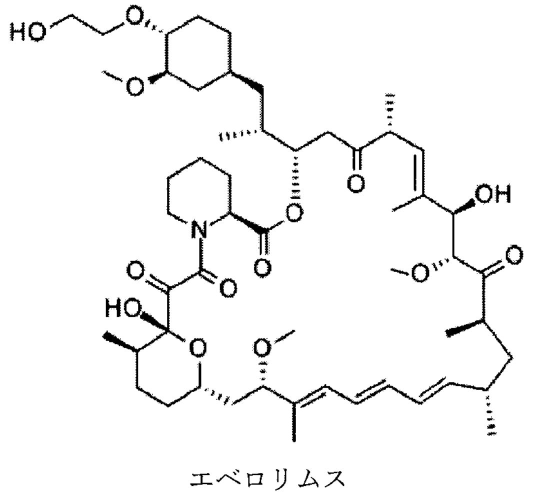
【発明を実施するための形態】
【００２０】
　以下の実施例の項に示されるように、ＲＡＤ１９０１とエベロリムスとの組み合わせ（ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせ）（以下の構造）は、実施例Ｉにおいて記載されるように、ＥＳＲ１状態、及びこれまでの内分泌療法にもかかわらず、野生型（ＷＴ）ＥＲα　ＭＣＦ－７異種移植片モデル（図２Ａ～Ｃ）、ＷＴ　ＥＲα　ＰＤｘ－２（図４Ａ～Ｂ）、及びＰＤｘ－１１モデル（図３Ａ～Ｂ）、及び変異（例えばＹ５３７Ｓ）ＥＲα　ＰＤｘ－５モデル（図６Ａ～Ｂ）を含む、いくつかの乳癌異種移植片モデルにおいて、ＲＡＤ１９０１単独よりも大きな腫瘍成長の阻害を示した。ＰＤｘ－２、ＰＤｘ－５、及びＰＤｘ－１１モデルは、ＷＴまたは変異（例えばＹ５３７Ｓ）ＥＲαを発現する腫瘍を有し、ＰＲの発現を有し、高いまたは低いＨｅｒ２の発現を有し、これまでに内分泌療法（例えばＡＩ、フルベストラント）、及び／または化学療法（化学）を有するまたはそれらを有さなかった（図１）。ＲＡＤ１９０１単独はまた、ＷＴまたは変異（例えばＹ５３７Ｓ）ＥＲαを発現する腫瘍を有し、ＰＲの発現を有し、高いまたは低いＨｅｒ２の発現を有し、これまでに内分泌療法（例えばタモキシフェン（ｔａｍ）、ＡＩ、フルベストラント）、化学療法（化学）、Ｈｅｒ２阻害剤（Ｈｅｒ２ｉ、例えばトラスツズマブ、ラパチニブ）、ベバシズマブ、及び／またはリツキシマブを有するまたはそれらを有さない、図１において列挙されるすべての他のＰＤｘモデルにおいて腫瘍成長を阻害した。
【００２１】
　ＥＲ　ＷＴ　ＰＤｘモデル及びＥＲ変異体ＰＤｘモデルは、フルベストラント単独、エベロリムス単独、及び／またはフルベストラントとエベロリムスとの組み合わせ（フルベストラント－エベロリムスの組み合わせ）による治療に対する異なるレベルの反応性を有し得る。しかしながら、ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、ＰＤｘモデルがフルベストラント治療及び／またはフルベストラント－エベロリムスの組み合わせに対する反応性があったかどうかにかかわらず、ＲＡＤ１９０１単独またはエベロリムス単独による治療と比較して、改善された腫瘍成長の阻害及び／または腫瘍退縮を示した。換言すれば、ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、フルベストラント耐性癌において腫瘍成長を阻害し、及び／または腫瘍退縮を生じ得る。
【００２２】
　ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせ治療は、フルベストラント単独またはフルベストラント－エベロリムスの組み合わせによる治療と比較して、改善された腫瘍成長の阻害及び／または腫瘍退縮を示した。例えば、ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、これらの異種移植片モデルが、フルベストラント治療に対する多様な反応性（例えば、フルベストラント治療に対するＭＣＦ７細胞株異種移植片モデル（図２）、フルベストラント治療に対するＰＤｘ－１１モデル（図３）、及びフルベストラント治療に対して最も反応性が少ないＰＤｘ－２モデル（図４）を有するとしても、フルベストラント単独、ＲＡＤ１９０１単独、またはエベロリムス単独による治療よりも、さらにＷＴ　ＥＲ＋異種移植片モデルにおいて、さらに有意な腫瘍退縮を生じた。ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせはまた、フルベストラント－エベロリムスの組み合わせによる治療よりも、さらにＷＴ　ＥＲ＋ＭＣＦ７細胞株異種移植片モデル及びＰＤｘ－１１モデルにおいて、さらに有意な腫瘍退縮を生じた（図２及び３）。ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、３０ｍｇ／ｋｇまたは６０ｍｇ／ｋｇの用量でＲＡＤ１９０１による同様の効果を与えたが、３０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１単独は、腫瘍成長を阻害する際に、６０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１単独ほど有効ではなかった（図２Ｃ）。当該の結果は、より低用量（例えば３０ｍｇ／ｋｇ）のＲＡＤ１９０１を用いたＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせが、当該異種移植片モデルにおいて腫瘍成長の阻害／腫瘍退縮の効果を最大限にするのに十分であったことを示唆している。
【００２３】
　ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、フルベストラント治療に対してほとんど反応性がない変異体ＥＲ＋（例えばＹ５３７Ｓ）ＰＤｘモデルにおいて、腫瘍退縮また

は改善された腫瘍成長の阻害を示した（図６Ａ）。例えば、ＰＤｘ－５は、フルベストラント治療に対してほとんど反応性がないＥＲ　Ｙ５３７Ｓ変異体ＰＤｘモデル（ＰＲ＋、Ｈｅｒ２＋、ＡＩによるこれまでの治療）である。ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、ＰＤｘ－５モデルにおいて腫瘍退縮を示し、一方、エベロリムス単独またはＲＡＤ１９０１単独が、腫瘍退縮を生じることなく、腫瘍成長のみを阻害した（図６Ｂ）。ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、変異体ＰＤｘ－５モデルにおいて、ＲＡＤ１９０１単独、エベロリムス単独、またはフルベストラント単独よりもさらに有意な腫瘍成長の阻害を生じた（図６Ｂ）。それ故に、エベロリムスの添加は、ＲＡＤ１９０１と組み合わせて適用された場合、ＰＤｘ－５モデルに利益をもたらした。それ故に、ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、ＰＲの発現を有する、高いまたは低いＨｅｒ２の発現を有し、フルベストラントに対する耐性を有するまたは有さない、ＷＴまたは変異体ＥＲを発現するＥＲ＋乳癌に対する強力な抗腫瘍療法を提供する。

【化１】



ＲＡＤ１９０１



エベロリムス

【００２４】

本明細書に提供される結果はまた、ＲＡＤ１９０１が脳に送達され得ることを示し（実施例ＩＩ）、当該送達は、野生型ＥＲαを発現する頭蓋内腫瘍モデル（ＭＣＦ－７異種移植片モデル、実施例Ｉ（Ｂ））においてマウス生存を改善したことを示した。エベロリムスは、上衣下巨細胞性星細胞腫（ＳＥＧＡ）、結節硬化症（ＴＳ）で見られる脳腫瘍を治療するように承認された。それ故に、ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせの成分は両方とも、脳血液関門を横断し、脳内のＥＲ＋腫瘍を治療することができる可能性が高い。これは、フルベストラントが脳血液関門を横断することができないため、脳内のＥＲ＋腫瘍を治療するためにフルベストラント－エベロリムスの組み合わせを上回るさらなる利点を表す（Ｖｅｒｇｏｔｅ１　ｅｔ　ａｌ．，“Ｆｕｌｖｅｓｔｒａｎｔ，ａ　ｎｅｗ　ｔｒｅａｔｍｅｎｔ　ｏｐｔｉｏｎ　ｆｏｒ　ａｄｖａｎｃｅｄ　ｂｒｅａｓｔ　ｃａｎｃｅｒ：ｔｏｌｅｒａｂｉｌｉｔｙ　ｖｅｒｓｕｓ　ｅｘｉｓｔｉｎｇ　ａｇｅｎｔｓ

，” Ａｎｎ．Ｏｎｃｏｌ．，１７（２）：２００－２０４（２００６））。ＲＡＤ１９０１と、血液脳関門を横断することができる他の第２の治療剤（複数可）（例えばラパマイシン類似体等のｍＴＯＲ阻害剤（Ｇｅｏｅｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，“Ａｎｔｉｔｕｍｏｒ ａｃｔｉｖｉｔｙ ｏｆ ｔｈｅ ｒａｐａｍｙｃｉｎ ａｎａｌｏｇ ＣＣＩ－７７９ ｉｎ ｈｕｍａｎ ｐｒｉｍｉｔｉｖｅ ｎｅｕｒｏｅｃｔｏｄｅｒｍａｌ ｔｕｍｏｒ／ｍｅｄｕｌｌｏｂｌａｓｔｏｍａ ｍｏｄｅｌｓ ａｓ ｓｉｎｇｌｅ ａｇｅｎｔ ａｎｄ ｉｎ ｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎ ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｙ，” Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．６１：１５２７－１５３２（２００１）））との組み合わせはまた、脳内のＥＲ＋腫瘍への同様の治療効果を有し得る。

【００２５】

ＲＡＤ１９０１は、エストラジオール治療は継続したが、ＲＡＤ１９０１治療を終了した後に、腫瘍成長を阻害する際に持続的な有効性を示した（例えばＰＤｘ－４モデル）。それ故に、ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、特に、第２の治療剤（複数可）での治療が、有害反応のために中断され得る（例えばエベロリムスにおいては２９％）、または低減もしくは遅延され得る（エベロリムスで治療した患者においては７０％）場合、治療終了後に腫瘍成長を阻害することによって患者の利益になる可能性が高い。ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｆｄａ．ｇｏｖ／Ｄｒｕｇｓ／ＩｎｆｏｒｍａｔｉｏｎＯｎＤｒｕｇｓ／ＡｐｐｒｏｖｅｄＤｒｕｇｓ／ｕｃｍ４８８０２８．ｈｔｍ。

【００２６】

Ａ ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、エベロリムス単独またはエベロリムスと他のホルモン療法（例えば、レトロゾール等のＡＩ及びフルベストラント等のＳＥＲＤ）との組み合わせによる治療よりも低い副作用を有する可能性が高い。例えば、ＡＩ及びフルベストラントは両方とも、治療した患者において骨喪失を生じ得る。ＲＡＤ１９０１は、同様の副作用を有する可能性は低い。ＲＡＤ１９０１は、腫瘍中に優先的に蓄積することが見出され、最大約３５の腫瘍中のＲＡＤ１９０１レベル対血漿中のＲＡＤ１９０１レベル（Ｔ／Ｐ比）があった（実施例ＩＩ）。子宮、筋肉、及び骨に対する標準取り込み値（ＳＵＶ）は、約２００ｍｇ～最大約５００ｍｇの１日用量で、ＲＡＤ１９０１で治療したヒト対象について計算された（実施例ＩＩＩ（Ａ））。投与後の子宮シグナルは、「非標的組織」（エストロゲン受容体を発現しない組織）からのレベルに近く、ＲＡＤ１９０１治療後のＦＥＳ－ＰＥＴの取り込みの完全な減衰を示唆している。エストロゲン受容体を有意に発現しなかった組織（例えば筋肉、骨）中の治療前対治療後ＰＥＴスキャンについては、ほとんど変化が観察されなかった（実施例ＩＩＩＡ）。最終的に、ＲＡＤ１９０１治療は、卵巣摘出（ＯＶＸ）ラットにおける子宮組織のエストラジオール刺激に拮抗し（実施例ＩＶ（Ａ））、治療を受けた対象の骨質を大いに保存した。例えば、ＲＡＤ１９０１で治療したＯＶＸラットは、維持されたＢＭＤ及び大腿マイクロアーキテクチャを示した（実施例ＩＶ（Ａ））。それ故に、ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、特に、骨粗鬆症または骨粗鬆症のより高いリスクを有する患者において有用であり得る。

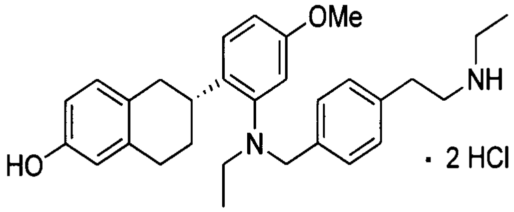
【００２７】

さらに、遺伝子発現プロファイリングは、エベロリムス治療に反応する患者を特定するために有効であることが報告されている。Ｙｏｏｎ ｅｔ ａｌ．，“Ｇｅｎｅ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｐｒｏｆｉｌｉｎｇ ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｓ ｒｅｓｐｏｎｓｉｖｅ ｐａｔｉｅｎｔｓ ｗｉｔｈ ｃａｎｃｅｒ ｏｆ ｕｎｋｎｏｗｎ ｐｒｉｍａｒｙ ｔｒｅａｔｅｄ ｗｉｔｈ ｃａｒｂｏｐｌａｔｉｎ，ｐａｃｌｉｔａｘｅｌ，ａｎｄ ｅｖｅｒｏｌｉｍｕｓ：ＮＣＣＴＧ Ｎ０８７１（ａｌｌｉａｎｃｅ），”Ａｎｎ．Ｏｎｃｏｌ．，２７（２）：３３９－４４（２０１６）。試験ＮＣＴ００８０５１２９は、当該変異が再発の増加及びエベロリムスに対する応答時間の増加をもたらすため、エベロリムスがＴＳＣ１中の体細胞の変異を提示する患者においてより効率的であることを見出した。それ故に、本明細書に開示される方法は、より多い応答時間及び／またはより長い応答時間を有する対象を特定するために、治療を受けた対象の遺伝子プロファイリングをさ

らに含み得る。
【００２８】
　さらに、ＲＡＤ１９０１は、ＭＣＦ７細胞株異種移植片モデルにおいてインビボで野生型ＥＲαを分解し、ＥＲシグナル伝達を廃止することが見出され、これらのＭＣＦ７細胞株異種移植片モデルにおいて、ＰＲの用量依存的な減少を生じた（実施例ＩＩＩ（Ｂ））。ＲＡＤ１９０１は、治療を受けた対象から採取した腫瘍中の増殖マーカーＫｉ６７の減少からも明らかなように、ＭＣＦ－７細胞株異種移植片モデル及びＰＤｘ－４モデルにおける増殖を減少した。ＲＡＤ１９０１はまた、フルベストラント治療に対してほとんど反応性がなかったＥＲ変異体ＰＤｘモデルにおいてインビボでＥＲシグナル伝達を減少した（実施例ＩＩＩ（Ｂ））。
【００２９】
　フルベストラント治療に対してほとんど反応性がない腫瘍の治療及び変異体ＥＲαを発現する腫瘍におけるＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせの予期せぬ有効性は、ＲＡＤ１９０１とＥＲαとの間の固有の相互作用によるものであり得る。ＲＡＤ１９０１に結合するＥＲα及び他のＥＲαと結合する化合物の構造モデルは、特定の結合相互作用についての情報を得るために分析した（実施例Ｖ）。コンピュータモデリングは、ＲＡＤ１９０１－ＥＲαの相互作用が、ＥＲαのＬＢＤの変異、例えばＹ５３７Ｘ変異体（式中、Ｘが、Ｓ、Ｎ、またはＣである）、Ｄ５３８Ｇ、及びＳ４６３Ｐによって影響を受ける可能性が低いことを示し、このことは、内分泌療法のうちの少なくとも１つを施した患者からの転移性ＥＲ陽性乳房の腫瘍試料の最近の研究に見出されたＬＢＤ変異の約８１．７％を説明する（表９、実施例Ｖ）。それ故に、１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）とＲＡＤ１９０１またはその塩もしくは溶媒和物（例えば水和物）との組み合わせは、本明細書に開示されるＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせと同様に比較的低い副作用を有する治療効果を有する可能性が高い。コンピュータモデリングは、結合にとって欠かせないＥＲαのＣ末端リガンド結合ドメインにおける特定の残基の特定をもたらし、野生型ＥＲαだけでなく、ある特定の変異体及びそれらのバリアントもまた結合し、拮抗する化合物を発生するために使用することができる情報は、第２の治療剤（例えばエベロリムス）と組み合わせたときに、本明細書に開示されるＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせと同様に比較的低い副作用を有する強力な抗腫瘍療法を提供し得る。
【００３０】
　本明細書に提供される結果に基づいて、対象に、治療上有効量の、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と本明細書に記載される第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）との組み合わせを投与することによって、それらを必要とする対象においてＥＲα陽性腫瘍の成長を阻害する、またはその退行を生じるための方法が、本明細書に提供される。
【００３１】
　ある特定の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその塩もしくは溶媒和物（例えば水和物）の投与は、腫瘍成長を阻害することに加えて、例えば、（例えば、エストラジオール結合を阻害するまたはＥＲαを分解することによって）癌細胞の増殖を阻害するまたはＥＲα活性を阻害することを含む、さらなる治療的有効性を有する。ある特定の実施形態では、本方法は、非標的組織（例えば、筋肉、骨）に対する負の効果をほとんど生じないまたは生じない。
【００３２】
　ある特定の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその塩もしくは溶媒和物（例えば水和物）は、ＥＲα及び変異体ＥＲαを調節する及び／または分解する。
【００３３】
　本明細書に提供される腫瘍成長の阻害または腫瘍退縮の方法のある特定の実施形態では、対象に、治療上有効量の、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と本明細書に記載される１種以上の第２の治療剤（複数可）との組み合わせを投与す

ることによって、それらを必要とする対象においてＥＲα陽性腫瘍の成長を阻害する、またはその退行を生じるための方法が、提供される。ある特定のこれらの実施形態では、その塩は、構造：

【化２】



ＲＡＤ１９０１二塩酸塩

を有するＲＡＤ１９０１二塩酸塩である。

【００３４】

第２の治療剤

本明細書に提供される方法で用いるための第２の治療剤は、化学療法剤、またはＡＫＴの阻害剤、アンドロゲン受容体、血管新生、アロマターゼ、オーロラＡキナーゼ、ＢＣＬ２、ＥＧＦＲ、エストロゲン経路、エストロゲンシグナル伝達経路、エストロゲン受容体、ＨＥＲ２、ＨＥＲ３、熱ショックタンパク質９０（Ｈｓｐ９０）、ヘッジホッグ（Ｈｈ）シグナル伝達経路、ヒストン脱アセチル化酵素（ＨＤＡＣ）、ＫＩＴ経路、ｍＴＯＲ（例えばＴＯＲＣ１及び／またはＴＯＲＣ２）、微小管、ＭＹＣ、ヌクレオシド代謝、ＰＡＲＰ、汎ＰＩ３Ｋ、ＰＩ３Ｋ、タンパク質キナーゼＣＫ２、ＲＡＳ経路、ステロイドスルファターゼ（ＳＴＳ）、ＴＫ、Ｔｏｐ２Ａ、チロシンキナーゼ、ＶＥＧＦ受容体チロシンキナーゼ、またはこれらの任意の組み合わせであり得る。第２の治療剤はまた、抗ＴＧＦベータ抗体、抗１型インスリン様成長因子受容体抗体、抗ＴＲＯＰ－２抗原抗体、抗ＨＥＲ３抗体、抗ＰＤ１抗体等の抗体、またはこれらの薬物複合体であり得る。

【００３５】

第２の治療剤のさらなる例としては、酢酸アビラテロン、ＡＤＩ－ＰＥＧ２０、アド－トラスツズマブエムタンシン、アファチニブ、アリセルチブ、アナストロゾール、パクリタキセル、及びパクリタキセル誘導体（例えば、ＡＮＧ１００５、パクリタキセル高分子ミセル）、ＡＲＮ－８１０、アザシチジン、ＡＺＤ２０１４、ＡＺＤ５３６３、ベバシズマブ、ＢＰ－Ｃ１、ブパリシブ（ＢＫＭ１２０）、ＢＹＬ７１９、カペシタビン、カルボプラチン、マレイン酸セジラニブ、セツキシマブ、シスプラチン／ＡＣ４－ＣＤＤＰ４、ＣＲ１４４７、ＣＸ－４９４５、ダサチニブ、デノスマブ、ドセタキセル、ドキソルビシン、エニルウラシル、エンチノスタット、エンザルタミド、エピルビシン、エリブリン、エキセメスタン、エベロリムス、フルオロウラシル、フルベストラント、フレゾリムマブ、ガネテスピブ（ｇａｎｅｔｅｓｐｉｂ）、ガニツマブ、ＧＤＣ－００３２、ＧＤＣ－０９４１、ゲムシタビン、グレムバツムマブベドチン、ＧｎＲＨアゴニスト（例えば酢酸ゴセレリン）、ＧＲＮ１００５、ＧＳＫ２１４１７９５、イバンドロネート、ＩＭＭＵ－１３２、イリノテカン、イロススタット、エポチロン（例えばイキサベピロン）、ラパチニブ、ソニデギブ（ＬＤＥ２２５）、レトロゾール、ＬＧＫ９７４、ＬＪＭ７１６、ルシタニブ、メトトレキサート、ＭＫ－２２０６、ＭＫ－３４７５、ＭＬＮ０１２８、ＭＭ－３０２、ネラチニブ、ニラパリブ、オラパリブ、抗アンドロゲン（例えばオルテロネル）、オキサリプラチン、パゾパニブ、ペルツズマブ、ＰＦ－０５２８００１４、ＰＭ０１１８３、プロゲステロン、ピロチニブ、ロミデプシン、ルキソリチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、タラゾパリブ、タモキシフェン、タキサン、Ｔ－ＤＭ１、テラプリストン（ＣＤＢ－４１２４）、テモゾロミド、テムシロリムス、テラチオモリブデート（ｔｅｒａｔｈｉｏｍｏｌｙｂｄａｔｅ）、テセタクセール（ｔｅｓｅｔａｘｅｌ）、ＴＬＲ７アゴニスト、ＴＰＩ２８７、トラメチニブ、トラスツズマブ、ＴＲＣ１０５、トレバナニブ（ＡＭＧ３８６）、トリプトレリン、ベリパリブ、ビンフルニン、ビノレルビン、ボリノスタッ

ト、ゾラデックス、及びゾレドロン酸が挙げられるが、これらに限定されず、これには、溶媒和物（例えば水和物）及びそれらの塩が含まれる。

【００３６】

ある特定の実施形態では、第２の治療剤は、アドートラスツズマブエムタンシン、オーロラＡキナーゼ阻害剤（例えばアリセルチブ）、ＡＩ（例えばアナストロゾール；エキセメスタン、レトロゾール）、ＡＲＮ－８１０、ｍＴＯＲ阻害剤（例えばエベロリムス、ＡＺＤ２０１４、ＢＥＺ２３５、ＧＤＣ－０９８０、ＣＣ－２２３、ＭＬＮ０１２８）、ＡＫＴ阻害剤（例えば、ＡＺＤ５３６３、ＧＤＣ－００６８、ＧＳＫ２１１０１８３、ＧＳＫ２１４１７９５、ＧＳＫ６９０６９３、ＭＫ２２０６）、ＰＩ３Ｋ阻害剤（例えば、ＢＫＭ１２０、ＢＹＬ７１９、ＧＤＣ－００３２、ＧＤＣ－０９４１）、選択的ヒストン脱アセチル化酵素（ＨＤＡＣ）阻害剤（例えばエンチノスタット）、ＧｎＲＨアゴニスト（例えば酢酸ゴセレリン）、ＧＲＮ１００５、ならびにトラスツズマブ、ラパチニブ、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、ルシタニブ、ネラチニブ）、抗抗アンドロゲン（例えばオルテロネル）、ペルツズマブ、テモゾロミド、及び抗体（例えば、ｋｅｙｔｒｕｄａ及びＢＹＭ３３８）とのこれらの組み合わせからなる群から選択される。

【００３７】

ある特定の実施形態では、第２の治療剤は、ＡＩ（例えば、アナストロゾール、アロマシン、及びレトロゾール）、別のＳＥＲＭ（例えば、アルゾキシフェン、ドロロキシフェン、ＥＭ－６５２（ＳＣＨ５７０６８）、イドキシフェン、ラソフォキシフェン、レボルメロキシフェン、ミプロキシフェン、ラロキシフェン、タモキシフェン、及びトレミフェン）、または別のＳＥＲＤ（例えば、フルベストラント、ＧＤＣ－０８１０（ＡＲＮ－８１０）、ＧＷ５６３８／ＤＰＣ９７４、ＩＣＩ１８２７８２、ＲＵ５８６６８、ＳＲＮ－９２７、ＴＡＳ－１０８（ＳＲ１６２３４）、及びＺＫ１９１７０３）であり得、これには、それらの溶媒和物（例えば水和物）及び塩が含まれる。＊

【００３８】

第２の治療剤のさらなる例としては、アブラキサン、ＡＭＧ３８６、カバジタキセル、ケリックス（ｃａｅｌｙｘ）、カペシタビン、ドセタキセル、エリブリン、ゲムシタビン、ハーセプチン、ネラチニブ、パゾパニブ（ＧＷ７８６０３４）、ラパログ（ラパマイシン及びその類似体）、タクソール（類似体／代替の製剤を含む）、ＴＤＭ１、テモゾルアミド、タイケルブ、ベリパリブ（ＡＢＴ－８８８）、及びビノレルビンが挙げられるが、これらに限定されず、これには、それらの溶媒和物（例えば水和物）及び塩が含まれる。

【００３９】

ＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ／ｍＴＯＲ経路を標的とする第２の治療剤

いくつかの実施形態では、第２の治療剤は、ＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ／ｍＴＯＲ経路を標的とし、ｍＴＯＲ阻害剤、二重ｍＴＯＲ阻害剤、ＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤であり得る。いくつかの実施形態では、第２の治療剤は、ラパマイシン（シロリムスまたはラパミューン、Ｐｆｉｚｅｒ）等のラパマイシン誘導体（別名、ラパログ）、エベロリムス（アフィニトールまたはＲＡＤ００１、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、リダフォロリムス（ＡＰ２３５７３またはＭＫ－８６６９、Ｍｅｒｃｋ　ａｎｄ　ＡＲＩＡＤ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、テムシロリムス（トリセルまたはＣＣＩ７７９、Ｐｆｉｚｅｒ）であり、これには、それらの溶媒和物（例えば水和物）及び塩が含まれる。いくつかの実施形態では、第２の治療剤は、例えば、ＭＬＮ０１２８（去勢耐性前立腺癌（ＣＲＰＣ）、Ｍｅｍｏｒｉａｌ　Ｓｌｏａｎ　Ｋｅｔｔｅｒｉｎｇ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｃｅｎｔｅｒ）、ＣＣ１１５及びＣＣ２２３（Ｃｅｌｇｅｎｅ）、ＯＳＩ－０２７（ＯＳＩ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、ならびにＡＺＤ８０５５及びＡＺＤ２０１４（ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）のようなｍＴＯＲＣ１及びｍＴＯＲＣ２の両方を阻害する二重ｍＴＯＲ阻害剤であり、これには、それらの溶媒和物（例えば水和物）及び塩が含まれる。いくつかの実施形態では、第２の治療剤は、例えば、ＧＤＣ－０９８０、ＳＡＲ２４５４０９（ＸＬ７６５）、ＬＹ３０２３４１４（Ｅｌｉ　Ｌｉｌｌｙ）、ＮＶＰ－ＢＥＺ２３５（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＮＶＰ－ＢＧＴ２２６（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＳＦ１１２６、及びＰＫＩ－５８７（Ｐｆｉｚｅ

ｒ）のようなＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤であり、これには、それらの溶媒和物（例えば水和物）及び塩が含まれる。

【００４０】

ある特定の実施形態では、上に開示されている１種を超える第２の治療剤は、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と組み合わせて使用され得る。例えば、ｍＴＯＲ阻害剤は、別のｍＴＯＲ阻害剤またはＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤と一緒に使用され得る。また、ｍＴＯＲ阻害剤、二重ｍＴＯＲ阻害剤、及びＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤を含む、上に開示されている第２の治療剤が、治療の有効性を増強するために、その他の活性剤と投与され得ることは、当該技術分野で周知である。例えば、ｍＴＯＲ阻害剤は、ＪＡＫ２阻害剤（Ｂｏｇａｎｉ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＬＯＳ　Ｏｎｅ，８（１）：ｅ５４８２６（２０１３））、化学療法剤（Ｙａｒｄｌｅｙ，Ｂｒｅａｓｔ　Ｃａｎｃｅｒ（Ａｕｃｋｌ）７：７－２２（２０１３））、またはタモキシフェンもしくはエキセメスタン（Ｖｉｎａｙａｋ　ｅｔ　ａｌ．，“ｍＴＯＲ　ｉｎｈｉｂｉｔｏｒｓ　ｉｎ　ｔｈｅ　ｔｒｅａｔｍｅｎｔ　ｏｆ　ｂｒｅａｓｔ　ｃａｎｃｅｒ，”Ｏｎｃｏｌｏｇｙ，ｐｕｂｌｉｓｈｅｄ　Ｊａｎｕａｒｙ　１５，２０１３（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｃａｎｃｅｒｎｅｔｗｏｒｋ．ｃｏｍ／ｂｒｅａｓｔ－ｃａｎｃｅｒ／ｍｔｏｒ－ｉｎｈｉｂｉｔｏｒｓ－ｔｒｅａｔｍｅｎｔ－ｂｒｅａｓｔ－ｃａｎｃｅｒ））等の内分泌療法と組み合わせて使用され得る。したがって、第２の治療剤はまた、これらの補助活性剤も含む。

【００４１】

併用療法

（１）ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と１種以上の第２の治療剤（複数可）との組み合わせ

ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は両方とも、対象に単独で投与された場合、１つ以上の癌または腫瘍への治療効果を有する（実施例Ｉ（Ａ）及びＩ（Ｂ））。対象に併用投与されるとき、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩ならびに第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、癌／腫瘍への有意に改善された効果を有する（実施例Ｉ（Ａ）及びＩ（Ｂ））。

【００４２】

本明細書に使用されるＥＲα陽性腫瘍の「成長を阻害すること」は、腫瘍成長の速度を減速すること、または腫瘍成長を完全に停止することを指し得る。

【００４３】

本明細書に使用されるＥＲα陽性腫瘍の「腫瘍退縮」または「退縮」は、最大サイズの腫瘍を軽減することを指し得る。ある特定の実施形態では、本明細書に記載される１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）とＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩との組み合わせ（例えば、リボシクリブ、アベマシクリブ、及びエベロリムス）の投与は、腫瘍のサイズ対ベースライン（すなわち、治療開始前のサイズ）の減少、または腫瘍の根絶もしくは部分的根絶でさえももたらし得る。したがって、ある特定の実施形態では、本明細書に提供される腫瘍退縮の方法は、代替的に、腫瘍のサイズ対ベースラインを減少する方法と特徴付けられ得る。

【００４４】

本明細書に使用される「腫瘍」は、悪性腫瘍であり、「癌」と同義に使用される。

【００４５】

腫瘍成長の阻害または退縮は、特定の組織または臓器内の単発性腫瘍または一連の腫瘍に限局され得るか、または全身性であり得る（すなわち、すべての組織または臓器における腫瘍に影響を及ぼす）。

【００４６】

ＲＡＤ１９０１は、ＥＲα対エストロゲン受容体ベータ（ＥＲβ）と優先的に結合することが周知であるため、別段記述がない限り、エストロゲン受容体、エストロゲン受容体アルファ、ＥＲα、ＥＲ、野生型ＥＲα、及びＥＳＲ１は、本明細書において同義に使用

される。本明細書に使用される「エストロゲン受容体アルファ」または「ＥＲα」は、遺伝子ＥＳＲ１によってコードされる、野生型ＥＲαアミノ酸配列を含む、それからなる、または本質的にそれからなる、ポリペプチドを指す。本明細書に使用される「エストロゲン受容体アルファに対して陽性である」、「ＥＲα陽性」、「ＥＲ＋」、または「ＥＲα＋」である腫瘍は、１つ以上の細胞がＥＲαのうちの少なくとも１つのイソ型を発現する腫瘍を指す。ある特定の実施形態では、これらの細胞は、ＥＲαを過剰発現する。ある特定の実施形態では、患者は、ＥＲβのうちの１つ以上の型を発現する腫瘍内に１つ以上の細胞を有する。ある特定の実施形態では、ＥＲα陽性腫瘍及び／または癌は、乳部、子宮、卵巣、または下垂体癌と関連している。ある特定のこれらの実施形態では、患者は、乳部、子宮、卵巣、または下垂体組織に位置する腫瘍を有する。患者が乳部に位置する腫瘍を有するような実施形態では、腫瘍は、ＨＥＲ２及びＨＥＲ２＋腫瘍に対して陽性であり得るかまたはあり得ない、内腔乳癌と関連し得、腫瘍は、高いまたは低いＨＥＲ２を発現し得る（例えば図１）。他の実施形態では、患者は、別の組織または臓器（例えば、骨、筋肉、脳）に位置する腫瘍を有するが、それにもかかわらず、乳部、子宮、卵巣、または下垂体癌（例えば、乳部、子宮、卵巣、または下垂体癌の移動または転移に由来する腫瘍）とは関連しない。したがって、本明細書に提供される腫瘍成長の阻害または腫瘍退縮の方法のある特定の実施形態では、標的とされる腫瘍は、転移性腫瘍である、及び／または腫瘍が、他の臓器（例えば、骨及び／または筋肉）におけるＥＲの過剰発現を有する。ある特定の実施形態では、標的とされる腫瘍は、脳腫瘍及び／または癌である。ある特定の実施形態では、標的とされる腫瘍は、別のＳＥＲＤ（例えば、フルベストラント、ＴＡＳ－１０８（ＳＲ１６２３４）、ＺＫ１９１７０３、ＲＵ５８６６８、ＧＤＣ－０８１０（ＡＲＮ－８１０）、ＧＷ５６３８／ＤＰＣ９７４、ＳＲＮ－９２７、ＩＣＩ１８２７８２、及びＡＺＤ９４９６）、Ｈｅｒ２阻害剤（例えば、トラスツズマブ、ラパチニブ、アドートラスツズマブエムタンシン、及び／もしくはペルツズマブ）、化学療法（例えば、アブラキサン、アドリアマイシン、カルボプラチン、サイトキサン、ダウノルビシン、ドキシル、エレンス、フルオロウラシル、ジェムザール、ヘラベン、ｌｘｅｍｐｒａ、メトトレキサート、マイトマイシン、ミコキサントロン（ｍｉｃｏｘａｎｔｒｏｎｅ）、ナベルビン、タクソール、タキソテール、チオテパ、ビンクリスチン、及びキセロダ）、アロマターゼ阻害剤（例えば、アナストロゾール、エキセメスタン、及びレトロゾール）、選択的エストロゲン受容体モジュレーター（例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン、ラソフォキシフェン、及び／もしくはトレミフェン）、血管新生阻害剤（例えばベバシズマブ）、ならびに／またはリツキシマブによる治療よりも、本明細書に開示されるＲＡＤ１９０１ならびに本明細書に開示される第２の治療剤の治療に対してより感受性がある。

【００４７】

本明細書に提供される腫瘍成長の阻害または退縮の方法のある特定の実施形態では、本方法は、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）との組み合わせを投与する前に、患者がＥＲαを発現する腫瘍を有するかどうかを決定するステップをさらに含む。本明細書に提供される腫瘍成長の阻害または退縮の方法のある特定の実施形態では、本方法は、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）との組み合わせを投与する前に、患者が変異体ＥＲαを発現する腫瘍を有するかどうかを決定するステップをさらに含む。本明細書に提供される腫瘍成長の阻害または退縮の方法のある特定の実施形態では、本方法は、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）との組み合わせを投与する前に、フルベストラント治療に応答するまたは応答しないＥＲαを発現する腫瘍を有するかどうかを決定するステップをさらに含む。これらの決定は、当該技術分野で周知である発現の検出のうちのいずれかの方法を用いて行われ得、対象から摘出された腫瘍または組織試料を用いてインビトロで行われ得る。

【００４８】

野生型ＥＲαを発現する腫瘍において腫瘍成長を阻害するＲＡＤ１９０１の能力を示す

ことに加えて、本明細書に提供される結果は、ＲＡＤ１９０１がＥＲαの変異型、すなわちＹ５３７Ｓ　ＥＲαを発現する腫瘍の成長を阻害する予期しない能力を示したことを示す（実施例Ｉ（Ａ））。ＥＲα変異の例のコンピュータモデリング評価は、例えば、Ｙ５３７Ｘ変異体（式中、Ｘが、Ｓ、Ｎ、またはＣである）を有するＥＲα、Ｄ５３８Ｇ変異体を有するＥＲα、及びＳ４６３Ｐ変異体を有するＥＲαからなる群から選択される１種以上の変異体を有するＥＲαのような、これらの変異のいずれも、ＬＢＤに影響を与えるか、またはＲＡＤ１９０１結合を特異的に妨げることが期待されなかったことを示したことを示した（実施例Ｖ（Ａ））。これらの結果に基づいて、対象に、治療上有効量の、１種以上の１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）とＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩との組み合わせを投与することによって、癌に罹患している対象において、Ｙ５３７$Ｘ_1$（式中、$Ｘ_1$が、Ｓ、Ｎ、またはＣである）、Ｄ５３８Ｇ、Ｌ５３６$Ｘ_2$（式中、$Ｘ_2$が、ＲまたはＱである）、Ｐ５３５Ｈ、Ｖ５３４Ｅ、Ｓ４６３Ｐ、Ｖ３９２Ｉ、Ｅ３８０Ｑ、特にＹ５３７Ｓ　ＥＲαからなる群から選択される、リガンド結合ドメイン（ＬＢＤ）内に１種以上の変異体を有するＥＲαに対して陽性である腫瘍の成長を阻害するか、またはその退行を生じるための方法が、本明細書に提供される。本明細書に使用される「変異体ＥＲα」は、ＥＲαのアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または少なくとも９９．５％の同一性を有するアミノ酸配列を含む、それからなる、または本質的にそれからなる、１つ以上の置換または欠失を含むＥＲα、及びそれらのバリアントを指す。

【００４９】

動物異種移植片モデルにおける乳癌腫瘍成長を阻害することに加えて、本明細書に開示される結果は、ＲＡＤ１９０１が、腫瘍細胞内に有意な蓄積を示し、血液脳関門を通過することができることを示す（実施例ＩＩ）。血液脳関門を通過する能力は、ＲＡＤ１９０１の投与が、脳転移異種移植片モデルにおいて有意に生存期間の延長を示すことによって確認された（実施例Ｉ（Ｂ））。したがって、本明細書に提供される腫瘍成長の阻害または腫瘍退縮の方法のある特定の実施形態では、標的とされるＥＲα陽性腫瘍は、脳または中枢神経系の他の場所に位置する。ある特定のこれらの実施形態では、ＥＲα陽性腫瘍は、主として脳癌と関連している。他の実施形態では、ＥＲα陽性腫瘍は、主として、別の組織または臓器から遊走してきた乳部、子宮、卵巣、または下垂体癌等の別のタイプの癌と関連している転移性腫瘍である。ある特定のこれらの実施形態では、腫瘍は、乳癌脳転移（ＢＣＢＭ）等の脳転移である。本明細書に開示される方法のある特定の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩は、標的腫瘍内の１つ以上の細胞に蓄積する。

【００５０】

本明細書に開示される方法のある特定の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩は、好ましくは、約１５以上、約１８以上、約１９以上、約２０以上、約２５以上、約２８以上、約３０以上、約３３以上、約３５以上、約４０以上のＴ／Ｐ（腫瘍中のＲＡＤ１９０１濃度／血漿中のＲＡＤ１９０１濃度）比で腫瘍に蓄積する。

【００５１】

本明細書に提供される結果は、ＲＡＤ１９０１投与が卵巣摘出ラットにおける骨量の減少を防ぐことを示す（実施例ＩＶ（Ａ））。したがって、本明細書に提供される腫瘍成長の阻害または腫瘍退縮の方法のある特定の実施形態では、１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）とＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩との組み合わせは、例えば、治療を受けた対象の骨体積密度、骨表面密度、骨ミネラル濃度、骨梁数、骨梁幅、骨梁中心距離、連結密度、及び／または見掛け骨密度への望ましくない効果を含む、骨への望ましくない効果を有さない。タモキシフェンが、閉経前の女性において骨喪失と関連し得るため、フルベストラントは、作用機序により骨構造を害し得、１種以上の１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）とＲＡＤ

１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩との組み合わせは、閉経前の女性、タモキシフェンまたは抗エストロゲン療法に耐性を示す腫瘍、ならびに骨粗鬆症及び／または骨粗鬆症の高いリスクを有する患者に特に有用であり得る。

【００５２】

本明細書に提供される結果は、ＲＡＤ１９０１が卵巣摘出ラットにおける子宮組織のエストラジオール刺激を拮抗することを示す（実施例ＩＶ（Ａ））。さらに、２００ｍｇまたは最大５００ｍｇの１日用量のＲＡＤ１９０１で治療したヒト対象において、ＥＲを有意に発現しなかった子宮、筋肉、及び骨組織に対する標準取り込み値（ＳＵＶ）は、治療前及び治療後のシグナルにおいてほとんど変化を示さなかった（実施例ＩＩＩ（Ａ））。したがって、ある特定の実施形態では、かかる投与はまた、例えば、子宮、筋肉、または乳部組織を含む、他の組織への望ましくない効果をもたらさない。

【００５３】

ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、必要とする対象に、併用投与される。「併用」という語句は、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩が、第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）の投与前、その中、またはその後に投与され得ることを意味する。例えば、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、約１週間毎に、約６日間毎に、約５日間毎に、約４日間毎に、約３日間毎に、約２日間毎に、約２４時間毎に、約２３時間毎に、約２２時間毎に、約２１時間毎に、約２０時間毎に、約１９時間毎に、約１８時間毎に、約１７時間毎に、約１６時間毎に、約１５時間毎に、約１４時間毎に、約１３時間毎に、約１２時間毎に、約１１時間毎に、約１０時間毎に、約９時間毎に、約８時間毎に、約７時間毎に、約６時間毎に、約５時間毎に、約４時間毎に、約３時間毎に、約２時間毎に、約１時間毎に、約５５分間毎に、約５０分間毎に、約４５分間毎に、約４０分間毎に、約３５分間毎に、約３０分間毎に、約２５分間毎に、約２０分間毎に、約１５分間毎に、約１０分間毎に、または約５分間毎に投与され得る。他の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、対象に、同時にまたは実質的に同時に投与される。ある特定のこれらの実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、単一製剤の一部として投与され得る。

【００５４】

いくつかの実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と単一の第２の治療剤（例えばエベロリムス）との組み合わせが、対象に投与される。他の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と１種を超える第２の治療剤（例えばエベロリムス）との組み合わせが、対象に投与される。例えば、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩は、癌／腫瘍を治療するために、２種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）と混合され得る。

【００５５】

（２）投与量

本明細書に開示される方法で用いるための、治療上有効量のＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）との組み合わせは、特定の時間間隔にわたって投与される場合、１つ以上の治療的基準の達成をもたらす（例えば、腫瘍成長を遅らせるまたは停止すること、腫瘍退縮を生じさせること、症状の停止等の）量である。現在開示されている方法で用いるための組み合わせは、対象に１回または複数回投与され得る。化合物が複数回投与されるこれらの実施形態では、それらは、一連の間隔、例えば、毎日、隔日、毎週、または毎月投与され得る。あるいは、それらは、例えば、症状、患者の健康状態等に基づいて、必要に応じて、不規則な間隔で投与され得る。治療上有効量の組み合わせは、１日間、少なくとも２

日間、少なくとも３日間、少なくとも４日間、少なくとも５日間、少なくとも６日間、少なくとも７日間、少なくとも１０日間、または少なくとも１５日間、毎日投与され得る。任意に、癌の状態または腫瘍の退縮は、例えば、対象のＦＥＳ－ＰＥＴスキャンによって、治療中またはその後にモニタリングされる。対象に投与される組み合わせの投与量は、検出された癌の状態または腫瘍の退縮に応じて増加または減少させることができる。

【００５６】

理想的には、治療上有効量は、治療を受けた対象の５０％以上が吐き気またはさらなる薬物投与を阻む他の毒性反応を経験する最大耐性用量を超えない。治療上有効量は、様々な症状、性別、年齢、体重の範囲、または対象の一般的健康、投与モード及び塩または溶媒和物タイプ、薬物に対する感受性の変動、特定のタイプの疾患等を含む、様々な要因に応じて対象において変動し得る。

【００５７】

本明細書に開示される方法で用いるための、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩の治療上有効量の例としては、耐性ＥＲ駆動型腫瘍または癌を有する対象において、約１５０～約１，５００ｍｇ、約２００～約１，５００ｍｇ、約２５０～約１，５００ｍｇ、または約３００～約１，５００ｍｇの１日投与量、野生型ＥＲ駆動腫瘍及び／または癌ならびに耐性腫瘍及び／または癌の両方を有する対象において、約１５０～約１，５００ｍｇ、約２００～約１，０００ｍｇまたは約２５０～約１，０００ｍｇまたは約３００～約１，０００ｍｇの１日投与量、主に野生型ＥＲ駆動腫瘍及び／または癌を有する対象において、約３００～約５００ｍｇ、約３００～約５５０ｍｇ、約３００～約６００ｍｇ、約２５０～約５００ｍｇ、約２５０～約５５０ｍｇ、約２５０～約６００ｍｇ、約２００～約５００ｍｇ、約２００～約５５０ｍｇ、約２００～約６００ｍｇ、約１５０～約５００ｍｇ、約１５０～約５５０ｍｇ、または約１５０～約６００ｍｇの１日投与量が挙げられるが、これらに限定されない。

【００５８】

治療上有効量または第２の治療剤（例えばエベロリムス）の投与量は、その特定のタイプに応じて異なる。全般に、第２の治療剤（例えばエベロリムス）の１日投与量は、約１ｍｇ～約１，５００ｍｇ、約1ｍｇ～約１，２００ｍｇ、約1ｍｇ～約１，０００ｍｇ、約1ｍｇ～約８００ｍｇ、約1ｍｇ～約６００ｍｇ、約1ｍｇ～約５００ｍｇ、約1ｍｇ～約２００ｍｇ、約1ｍｇ～約１００ｍｇ、約1ｍｇ～約５０ｍｇ、約1ｍｇ～約３０ｍｇ、約1ｍｇ～約２０ｍｇ、約1ｍｇ～約１０ｍｇ、約1ｍｇ～約５ｍｇ、約５０ｍｇ～約１，５００ｍｇ、約１００ｍｇ～約１，２００ｍｇ、約１５０ｍｇ～約１，０００ｍｇ、約２００ｍｇ～約８００ｍｇ、約３００ｍｇ～約６００ｍｇ、約３５０ｍｇ～約５００ｍｇの範囲に及ぶ。第２の治療剤（例えばエベロリムス）の１日投与量は、約１～約１００ｍｇ／ｋｇ、約１～約７５ｍｇ／ｋｇ、約１～約５０ｍｇ／ｋｇ、約１～約４５ｍｇ／ｋｇ、約１～約４０ｍｇ／ｋｇ、約１～約３０ｍｇ／ｋｇ、約１～約２０ｍｇ／ｋｇ、約１～約１０ｍｇ／ｋｇ、約２～約１００ｍｇ／ｋｇ、約２～約７５ｍｇ／ｋｇ、約２～約５０ｍｇ／ｋｇ、約２～約４５ｍｇ／ｋｇ、約２～約４０ｍｇ／ｋｇ、約２～約３０ｍｇ／ｋｇ、約２～約２０ｍｇ／ｋｇ、約２～約１０ｍｇ／ｋｇ、約２．５～約１００ｍｇ／ｋｇ、約２．５～約７５ｍｇ／ｋｇ、約２．５～約５０ｍｇ／ｋｇ、約２．５～約４５ｍｇ／ｋｇ、約２．５～約４０ｍｇ／ｋｇ、約２．５～約３０ｍｇ／ｋｇ、約２．５～約２０ｍｇ／ｋｇ、または約２．５～約１０ｍｇ／ｋｇの範囲に及び得る。

【００５９】

ある特定の実施形態では、治療上有効量の組み合わせは、治療上有効量の単独で投与されたいずれかの化合物を利用し得る。他の実施形態では、組み合わせによって達成される有意に改善された相乗作用の治療効果のため、併用投与されたときに、治療上有効量のＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、単独で投与されたときに必要とされる治療上有効量のＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）よりも少なくてもよく、一方または両方の化合物が、別々に投与

された場合に通常投与され得る投与量よりも低い投与量で投与され得る。任意の特定の理論によって拘束するものではないが、併用療法は、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）のうちの少なくとも１つまたはすべての投与量を減少させ、それによって望ましくない毒性副作用を排除または軽減することによって、有意に改善された効果を達成する。

【００６０】

いくつかの実施形態では、組み合わせの一部として投与されたときに、治療上有効量のＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩は、単独で投与されたときに、治療上有効量のＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩の約３０％～約２００％、約４０％～約２００％、約５０％～約２００％、約６０％～約２００％、約７０％～約２００％、約８０％～約２００％、約９０％～約２００％、約１００％～約２００％、３０％～約１５０％、約４０％～約１５０％、約５０％～約１５０％、約６０％～約１５０％、約７０％～約１５０％、約８０％～約１５０％、約９０％～約１５０％、約１００％～約１５０％、約３０％～約１２０％、約４０％～約１２０％、約５０％～約１２０％、約６０％～約１２０％、約７０％～約１２０％、約８０％～約１２０％、約９０％～約１２０％、約１００％～約１２０％、３０％～約１１０％、約４０％～約１１０％、約５０％～約１１０％、約６０％～約１１０％、約７０％～約１１０％、約８０％～約１１０％、約９０％～約１１０％、または約１００％～約１１０％である。いくつかの実施形態では、組み合わせの一部として投与されたときに、治療上有効量の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、単独で投与されたときに、治療上有効量の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）の約３０％～約２００％、約４０％～約２００％、約５０％～約２００％、約６０％～約２００％、約７０％～約２００％、約８０％～約２００％、約９０％～約２００％、約１００％～約２００％、３０％～約１５０％、約４０％～約１５０％、約５０％～約１５０％、約６０％～約１５０％、約７０％～約１５０％、約８０％～約１５０％、約９０％～約１５０％、約１００％～約１５０％、約３０％～約１２０％、約４０％～約１２０％、約５０％～約１２０％、約６０％～約１２０％、約７０％～約１２０％、約８０％～約１２０％、約９０％～約１２０％、約１００％～約１２０％、３０％～約１１０％、約４０％～約１１０％、約５０％～約１１０％、約６０％～約１１０％、約７０％～約１１０％、約８０％～約１１０％、約９０％～約１１０％、または約１００％～約１１０％である。

【００６１】

ある特定の実施形態では、癌または腫瘍は、耐性ＥＲ駆動型癌または腫瘍（例えば、変異体ＥＲ結合ドメイン（例えば、Ｙ５３７Ｘ$_1$（式中、Ｘ$_1$が、Ｓ、Ｎ、またはＣである）、Ｄ５３８Ｇ、Ｌ５３６Ｘ$_2$（式中、Ｘ$_2$が、ＲまたはＱである）、Ｐ５３５Ｈ、Ｖ５３４Ｅ、Ｓ４６３Ｐ、Ｖ３９２Ｉ、Ｅ３８０Ｑ、及びこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない、１種以上の変異を含むＥＲα）を有する）であり、ＥＲまたは腫瘍及び／もしくは癌の増殖の過剰発現体がリガンド非依存性になるか、または別のＳＥＲＤ（例えば、フルベストラント、ＴＡＳ－１０８（ＳＲ１６２３４）、ＺＫ１９１７０３、ＲＵ５８６６８、ＧＤＣ－０８１０（ＡＲＮ－８１０）、ＧＷ５６３８／ＤＰＣ９７４、ＳＲＮ－９２７、ＩＣＩ１８２７８２、及びＡＺＤ９４９６）、Ｈｅｒ２阻害剤（例えば、トラスツズマブ、ラパチニブ、アドートラスツズマブエムタンシン、及び／もしくはペルツズマブ）、化学療法（例えば、アブラキサン、アドリアマイシン、カルボプラチン、サイトキサン、ダウノルビシン、ドキシル、エレンス、フルオロウラシル、ジェムザール、ヘラベン、ｌｘｅｍｐｒａ、メトトレキサート、マイトマイシン、ミコキサントロン（ｍｉｃｏｘａｎｔｒｏｎｅ）、ナベルビン、タクソール、タキソテール、チオテパ、ビンクリスチン、及びキセロダ）、アロマターゼ阻害剤（例えば、アナストロゾール、エキセメスタン、及びレトロゾール）、選択的エストロゲン受容体モジュレーター（例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン、ラソフォキシフェン、及び／もしくはトレミフェン）、血管新生阻害剤（例えばベバシズマブ）、ならびに／またはリツキシマブの治療で進行する腫瘍及び／または癌である。

【００６２】
ある特定の実施形態では、成人対象において、現在開示されている方法で一般に用いるための、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と本明細書に記載される第２の治療剤（例えばエベロリムス）（例えば、リボシクリブ、アベマシクリブ、及びエベロリムス）との組み合わせの投与量は、経口投与を介して、１日当たり約３０μｇ～２，０００ｍｇ、１００μｇ～１，５００ｍｇ、または１５０ｍｇ～１，５００ｍｇであり得る。この１日投与量は、単回投与または複数回投与を介して達成され得る。
【００６３】
１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）とＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩との組み合わせは、対象に１回または複数回投与され得る。化合物が複数回投与されるこれらの実施形態では、それらは、一連の間隔、例えば、毎日、隔日、毎週、または毎月投与され得る。あるいは、それらは、例えば、症状、患者の健康状態等に基づいて、必要に応じて、不規則な間隔で投与され得る。
【００６４】
（３）製剤
いくつかの実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、別々の製剤で投与される。ある特定のこれらの実施形態では、製剤は、同じタイプのものであり得る。例えば、両方の製剤は、経口投与用（例えば２種の別々の丸剤を介して）または注射用（例えば２種の注射製剤を介して）に設計され得る。他の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、異なるタイプの製剤で製剤化され得る。例えば、ある化合物は、経口投与用に設計される製剤であり得るが、その他は、注射用に設計される製剤であり得る。
【００６５】
他の実施形態では、本明細書に記載されるＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、単一製剤の一部として投与される。例えば、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、経口投与用の単一の丸剤または注射用の単一用量で製剤化される。ある特定の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）を含む組み合わせ製剤が、本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、単一製剤における化合物の投与は、患者のコンプライアンスを改善する。
【００６６】
併用投与されたときに、治療上有効量の各化合物は、単独で投与されたときに、治療上有効量の各化合物よりも低くなり得る。
【００６７】
いくつかの実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩、第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）での１種以上、あるいはＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）の両方を含む製剤は、１種以上の薬学的賦形剤、担体、アジュバント、及び／または保存剤をさらに含み得る。
【００６８】
現在開示されている方法で用いるためのＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、単一剤形に製剤化され得、治療を受けている対象のための単一投与量として好適な物理的に別々の単位を意味し、各単位は、任意に、好適な薬学的担体と関連して、所望の治療効果を生じるように計算された活性材料の予め決定された量を含有する。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日当たり約１～４回またはそれ以上）のうちの１つであり得る。複数の１日用量が使用される場合、単位剤形は、各用量について同じであってもよく、または異なっていてもよい。ある特定の実施形態では、本化合物は、制御放出のた

めに製剤化され得る。

【００６９】

現在開示されている方法で用いるためのＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、任意の利用可能な従来の方法に従って製剤化され得る。好ましい剤形の例としては、錠剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、被覆錠剤、カプセル剤、シロップ剤、トローチ剤、吸入剤、坐剤、注射剤、軟膏剤、眼軟膏剤、点眼剤、点鼻剤、点耳剤、パップ剤、ローション剤等が挙げられる。製剤化には、希釈剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、香味剤、及び必要により安定化剤、乳化剤、吸収促進剤、界面活性剤、ｐＨ調整剤、防腐剤、抗酸化剤のような通常用いられる添加剤を使用することができる。加えて、製剤化はまた、従来の方法に従って、一般に薬学的製剤の原料として用いられる成分を混合することによって行われる。これらの組成物の例には、例えば、（１）大豆油、牛脂、及び合成グリセリド等の油、（２）流動パラフィン、スクアラン、及び固形パラフィン等の炭化水素、（３）ミリスチン酸オクチルドデシル及びミリスチン酸イソプロピル等のエステル油、（４）セトステアリルアルコール及びベヘニルアルコール等の高級アルコール、（５）シリコーン樹脂、（６）シリコーン油、（７）ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、グリセロール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、固形ポリオキシエチレンヒマシ油、及びポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロックコポリマー等の界面活性剤、（８）ヒドロキシエチルセルロース、ポリアクリル酸、カルボキシビニルポリマー、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、及びメチルセルロース等の水溶性高分子、（９）エタノール及びイソプロパノール等の低級アルコール、（１０）グリセロール、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、及びソルビトール等の多価アルコール、（１１）グルコース及びスクロース等の糖類、（１２）無水ケイ酸、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、及びケイ酸アルミニウム等の無機粉末、（１３）精製水等が含まれる。上の製剤で用いるための添加剤には、例えば、１）希釈剤として、ラクトース、コーンスターチ、スクロース、グルコース、マンニトール、ソルビトール、結晶セルロース、及び二酸化ケイ素、２）結合剤として、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、メチルセルロース、エチルセルロース、アラビアゴム、トラガカント、ゼラチン、セラック、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリプロピレングリコールーポリオキシエチレンーブロックコポリマー、メグルミン、クエン酸カルシウム、デキストリン、ペクチン等、３）崩壊剤として、デンプン、寒天、ゼラチン粉末、結晶セルロース、炭酸カルシウム、重炭酸ナトリウム、クエン酸カルシウム、デキストリン、ペクチン、カルボキシメチルセルロース／カルシウム等、４）滑沢剤として、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール、シリカ、硬化植物油等、５）添加が薬学的に許容される着色剤として十分である任意の着色剤、６）香味剤として、ココアパウダー、メントール、アロマタイザー、ハッカ油、及びシナモンパウダー、７）アスコルビン酸またはアルファートフェノール等の添加が薬学的に許容される抗酸化剤が含まれ得る。

【００７０】

現在開示されている方法で用いるためのＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）は、本明細書に記載される活性化合物のうちの任意の１つ以上及び生理学的に許容される担体（薬学的に許容される担体または溶液または希釈剤とも称される）として薬学的組成物に製剤化され得る。かかる担体及び溶液には、本発明の方法で使用された化合物の薬学的に許容される塩及び溶媒和物、ならびにかかる化合物のうちの２つ以上、該化合物の薬学的に許容される塩、及び該化合物の薬学的に許容される溶媒和物を含む混合物が含まれる。かかる組成物は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１８ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，ｅｄ．Ａｌｆｏｎｓｏ Ｒ．Ｇｅｎｎａｒｏ，Ｍａｃｋ Ｐｒｉｎｔｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｅａｔｏｎ，Ｐａ．（１９９０）（参照により本明細書に組み込まれる）に記載されるような許容される薬学的手順に従って調製される

。
【００７１】
「薬学的に許容される担体」という用語は、患者においてアレルギー反応または他の不都合な反応を生じず、該患者に投与され、製剤中の他の材料と混合可能である、担体を指す。薬学的に許容される担体は、例えば、目的の投与形態に対して適当に選択され、かつ従来の薬務と一致する、薬学的希釈剤、賦形剤、または担体を含む。例えば、固体担体／希釈剤としては、ガム、デンプン（例えば、コーンスターチ、アルファ化デンプン）、糖（例えば、ラクトース、マンニトール、スクロース、デキストロース）、セルロース系材料（例えば微結晶性セルロース）、アクリレート（例えばポリメチルアクリレート）、炭酸カルシウム、酸化マグネシウム、タルク、またはこれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。薬学的に許容される担体は、湿潤剤または乳化剤、治療剤の貯蔵期間または有効性を増強する保存剤または緩衝剤等の少量の補助物質をさらに含み得る。
【００７２】
１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）及びＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩は、遊離形態で、従来の方法によって塩に変換され得る。本明細書に使用される「塩」という用語は、塩がＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩で形成され、薬理学的に許容される限り、限定されず、塩の好ましい例には、ハロゲン化水素酸塩（例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩等）、無機酸性塩（例えば、硫酸塩、硝酸塩、過塩素酸塩、リン酸塩、炭酸塩、重炭酸塩等）、有機カルボン酸塩（例えば、酢酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩等）、有機スルホン酸塩（例えば、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、カンファースルホン酸塩等）、アミノ酸塩（例えば、アスパラギン酸塩、グルタミン酸塩等）、第４級アンモニウム塩、アルカリ金属塩（例えば、ナトリウム塩、カリウム塩等）、アルカリ土類金属塩（マグネシウム塩、カルシウム塩等）等が含まれる。加えて、塩酸塩、硫酸塩、メタンスルホン酸塩、酢酸塩等は、本発明に従って化合物の「薬理学的に許容される塩」として好ましい。
【００７３】
ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び／または第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）の異性体（例えば、幾何異性体、光学異性体、回転異性体、互変異性体等）は、例えば、再結晶化、ジアステレオマー塩法等の光学的分解能、酵素分画法、様々なクロマトグラフ法（例えば、薄層クロマトグラフィー、カラムクロマトグラフィー、ガラスクロマトグラフィー等）を含む通常の分離方法を用いて、単一異性体に精製することができる。本明細書において「単一異性体」という用語は、１００％の純度を有する異性体だけでなく、従来の精製操作を通してでさえ存在する、標的物以外の異性体を含有する異性体も含む。結晶多形は、時には、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩ならびに／または第２の治療剤（例えばエベロリムス）に対して存在し、そのすべての結晶多形は、本発明に含まれる。結晶多形は、時には、単一であり、時には、混合物であり、その両方が、本明細書に含まれる。
【００７４】
ある特定の実施形態では、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び／または第２の治療剤（例えばエベロリムス）は、プロドラッグ形態であり得、その活性型を達成するために、いくつかの変化（例えば、酸化または加水分解）を行わなければならないことを意味する。あるいは、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び／または第２の治療剤（例えばエベロリムス）は、その活性型への親プロドラッグの変化によって生成される化合物であり得る。
【００７５】
（４）投与経路
ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び／または本明細書に開示される第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）の投与経路としては、局所投与、経口投与、皮内投与、筋肉投与、腹腔内投与、静脈内投与、膀胱腔内注入、皮下投

与、経皮投与、及び経粘膜投与が挙げられるが、これらに限定されない。

【００７６】

（５）遺伝子プロファイリング

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される腫瘍成長の阻害または腫瘍退縮の方法は、対象を遺伝子プロファイリングすることをさらに含み、プロファイリングされた遺伝子は、ＡＢＬ１、ＡＫＴ１、ＡＫＴ２、ＡＬＫ、ＡＰＣ、ＡＲ、ＡＲＩＤ１Ａ、ＡＳＸＬ１、ＡＴＭ、ＡＵＲＫＡ、ＢＡＰ、ＢＡＰ１、ＢＣＬ２Ｌ１１、ＢＣＲ、ＢＲＡＦ、ＢＲＣＡ１、ＢＲＣＡ２、ＣＣＮＤ１、ＣＣＮＤ２、ＣＣＮＤ３、ＣＣＮＥ１、ＣＤＨ１、ＣＤＫ４、ＣＤＫ６、ＣＤＫ８、ＣＤＫＮ１Ａ、ＣＤＫＮ１Ｂ、ＣＤＫＮ２Ａ、ＣＤＫＮ２Ｂ、ＣＥＢＰＡ、ＣＴＮＮＢ１、ＤＤＲ２、ＤＮＭＴ３Ａ、Ｅ２Ｆ３、ＥＧＦＲ、ＥＭＬ４、ＥＰＨＢ２、ＥＲＢＢ２、ＥＲＢＢ３、ＥＳＲ１、ＥＷＳＲ１、ＦＢＸＷ７、ＦＧＦ４、ＦＧＦＲ１、ＦＧＦＲ２、ＦＧＦＲ３、ＦＬＴ３、ＦＲＳ２、ＨＩＦ１Ａ、ＨＲＡＳ、ＩＤＨ１、ＩＤＨ２、ＩＧＦ１Ｒ、ＪＡＫ２、ＫＤＭ６Ａ、ＫＤＲ、ＫＩＦ５Ｂ、ＫＩＴ、ＫＲＡＳ、ＬＲＰ１Ｂ、ＭＡＰ２Ｋ１、ＭＡＰ２Ｋ４、ＭＣＬ１、ＭＤＭ２、ＭＤＭ４、ＭＥＴ、ＭＧＭＴ、ＭＬＬ、ＭＰＬ、ＭＳＨ６、ＭＴＯＲ、ＭＹＣ、ＮＦ１、ＮＦ２、ＮＫＸ２－１、ＮＯＴＣＨ１、ＮＰＭ、ＮＲＡＳ、ＰＤＧＦＲＡ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＰＩＫ３Ｒ１、ＰＭＬ、ＰＴＥＮ、ＰＴＰＲＤ、ＲＡＲＡ、ＲＢ１、ＲＥＴ、ＲＩＣＴＯＲ、ＲＯＳ１、ＲＰＴＯＲ、ＲＵＮＸ１、ＳＭＡＤ４、ＳＭＡＲＣＡ４、ＳＯＸ２、ＳＴＫ１１、ＴＥＴ２、ＴＰ５３、ＴＳＣ１、ＴＳＣ２、及びＶＨＬから選択される１つ以上の遺伝子である。

【００７７】

ある特定の実施形態では、第２の薬剤は、エベロリムスであり、対象は、ＴＳＣ１において体細胞変異を提示する。

【００７８】

いくつかの実施形態では、本発明は、サブ集団の乳癌患者を治療する方法を提供し、当該サブ集団が、以下の遺伝子のうちの１つ以上の発現を増加する、治療する方法と、本開示に記載される投与の実施形態に従って、有効用量のＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩と本明細書に記載される１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）との組み合わせで当該サブ集団を治療する方法と、を提供する。

【００７９】

（６）用量の調節

ＲＡＤ１９０１の腫瘍成長を阻害する能力を構築することに加えて、本明細書に提供される結果は、ＲＡＤ１９０１が、子宮及び下垂体においてＥＲへのエストラジオール結合を阻害することを示す（実施例ＩＩＩ（Ａ））。これらの実験において、子宮及び下垂体組織においてＥＲへのエストラジオール結合は、ＦＥＳ－ＰＥＴ画像化によって評価された。ＲＡＤ１９０１による治療後、ＥＲ結合の観察されたレベルは、バックグラウンドレベルでまたはそのレベルを下回った。これらの結果は、ＥＲ活性へのＲＡＤ１９０１の拮抗効果は、リアルタイムの走査を用いて評価され得る。これらの結果に基づいて、結合の減少または消失が有効性を示す、１つ以上の標的組織においてエストラジオール－ＥＲ結合を測定することによって、本明細書に開示される併用療法においてＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩で治療の有効性をモニタリングするための方法が、本明細書に提供される。

【００８０】

エストラジオール－ＥＲ結合に基づいて、本明細書に開示される併用療法において、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩の投与量を調節する方法が、さらに提供される。これらの方法のある特定の実施形態では、結合は、第１の投与量の化合物のうちの１つ以上の投与後のいくつかの時点で測定される。エストラジオール－ＥＲ結合が影響を及ぼさないか、または予め決定された閾値を下回る減少（例えば、５％未満、１０％未満、２０％未満、３０％未満、または５０％未満のベースラインに対する結合の減少）を示す場合、第１の投与量は、低すぎると見なされる。ある特定の実施形態で

は、これらの方法は、増加した第２の投与量の化合物を投与するさらなるステップを含む。これらのステップを繰り返して、エストラジオール－ＥＲ結合の所望の低下が達成されるまで、投与量を繰り返し増加させることができる。ある特定の実施形態では、これらのステップは、本明細書に提供される腫瘍成長を阻害する方法に組み込まれ得る。これらの方法において、エストラジオール－ＥＲ結合は、腫瘍成長の阻害の代用、または成長の阻害を評価する補助手段としての役割を果たし得る。他の実施形態では、これらの方法は、例えば、癌細胞増殖の阻害を含む、腫瘍成長の阻害以外の目的のために、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩の投与と併用して使用することができる。

【００８１】

ある特定の実施形態では、併用療法において、ＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩の投与量を調節するための本明細書に提供される方法は、

（１）第１の投与量のＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩（例えば、約３５０～約５００ｍｇ／日）を、３、４、５、６、または７日間投与すること、

（２）エストラジオール－ＥＲ結合活性を、例えば、本明細書に開示されるＦＥＳ－ＰＥＴ画像化を用いて検出することであって、

（ｉ）ＥＲ結合活性が、検出不可能である、または予め決定された閾値レベルを下回る場合、第１の投与量を継続して投与する（すなわち、投与量レベルを維持する）こと、または

（ｉｉ）ＥＲ結合活性が、検出可能である、または予め決定された閾値レベルを上回る場合、第１の投与量よりも多い第２の投与量（例えば、第１の投与量＋約５０～約２００ｍｇ）を３、４、５、６、または７日間投与し、次いで、ステップ（３）に進むこと、

（３）エストラジオール－ＥＲ結合活性を、例えば、本明細書に開示されるＦＥＳ－ＰＥＴ画像化を用いて検出することであって、

（ｉ）ＥＲ結合活性が、検出不可能である、または予め決定された閾値レベルを下回る場合、第２の投与量を継続して投与する（すなわち、投与量レベルを維持する）こと、または

（ｉｉ）ＥＲ結合活性が、検出可能である、または予め決定された閾値レベルを上回る場合、第２の投与量よりも多い第３の投与量（例えば、第２の投与量＋約５０～約２００ｍｇ）を３、４、５、６、または７日間投与し、次いで、ステップ（４）に進むこと、

（４）ＥＲ結合活性が検出されなくなるまで、第４の投与量、第５の投与量等を通して、上のステップを繰り返すこと、を含む。

【００８２】

ある特定の実施形態では、本発明は、ＥＲ感受性またはＥＲ耐性癌を検出及び／または投与するために、ＰＥＴ画像化の使用を含む。

【００８３】

（７）本明細書に開示される方法のための組み合わせ

本発明の別の態様は、本明細書に記載の組み合わせ方法のために、本明細書に開示される治療上有効量で、１種以上のＲＡＤ１９０１またはその溶媒和物（例えば水和物）もしくは塩及び／または本明細書に開示される第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）を含む薬学的組成物に関する。

【００８４】

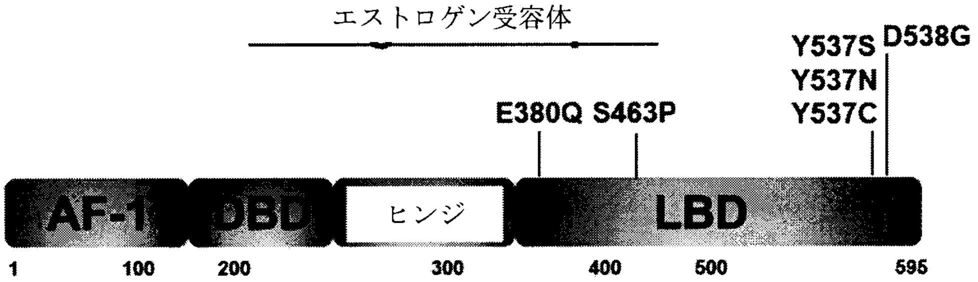
ＲＡＤ１９０１－ＥＲαの相互作用

（１）内分泌療法のうちの少なくとも１つの方針を受けている患者からのＥＲ陽性乳癌腫瘍試料中の変異体ＥＲα

過去２年間に報告された５つの研究において、内分泌療法のうちの少なくとも１つの方針を受けている患者からの合計１８７の転移性ＥＲ陽性乳癌腫瘍試料が、配列決定され、ＥＲ　ＬＢＤ変異が、３９人の患者（２１％）において特定された（Ｊｅｓｅｌｓｏｈｎ）。３９人の患者の中で、６つの最も頻繁なＬＢＤ変異を、Ｊｅｓｅｌｓｏｈｎから適合

されたスキーム１に示す。

【表１】



スキーム１．ＥＲαの例示的な変異の位置及びそれらの頻度

【００８５】

すべてのＬＢＤ変異の頻度を、表９に要約する。

【００８６】

コンピュータモデリングは、ＲＡＤ１９０１－ＥＲαの相互作用が、ＥＲαのＬＢＤの変異体、例えばＹ５３７Ｘ変異体（式中、Ｘが、Ｓ、Ｎ、またはＣである）、Ｄ５３８Ｇ、及びＳ４６３Ｐによって影響を受ける可能性が低いことを示し、これは、内分泌療法のうちの少なくとも１つを施した患者からの転移性ＥＲ陽性乳房の腫瘍試料の最近の研究に見出されたＬＢＤ変異の約８１．７％を占める（表１０、実施例Ｖ）。

【００８７】

ＥＲα及び／または変異体ＥＲαと結合するＲＡＤ１９０１の複合体及び結晶が、本明細書に提供され、変異体ＥＲαは、Ｙ５３７Ｘ$_{1}$（式中、Ｘ$_{1}$が、Ｓ、Ｎ、またはＣである）、Ｄ５３８Ｇ、Ｌ５３６Ｘ$_{2}$（式中、Ｘ$_{2}$が、ＲまたはＱである）、Ｐ５３５Ｈ、Ｖ５３４Ｅ、Ｓ４６３Ｐ、Ｖ３９２Ｉ、Ｅ３８０Ｑ、及びこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない、１つ以上の変異を含む。

【００８８】

本明細書に提供される方法のある特定の実施形態では、ＥＲα及び変異体ＥＲαのＬＢＤは、ＡＦ－２を含む。他の実施形態では、ＬＢＤは、ＥＲαのアミノ酸２９９～５５４を含む、それからなる、または本質的にそれからなる。ある特定の実施形態では、変異体ＥＲαのＬＢＤは、Ｙ５３７Ｘ$_{1}$（式中、Ｘ$_{1}$が、Ｓ、Ｎ、またはＣである）、Ｄ５３８Ｇ、Ｌ５３６Ｘ$_{2}$（式中、Ｘ$_{2}$が、ＲまたはＱである）、Ｐ５３５Ｈ、Ｖ５３４Ｅ、Ｓ４６３Ｐ、Ｖ３９２Ｉ、Ｅ３８０Ｑ、及びこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない、１つ以上の変異を含む。本明細書に使用される「及び／または」という用語は、「及び」の場合と「または」の場合の両方を含む。

【００８９】

ある特定の実施形態では、治療を必要とする対象において、ＥＲα及び／または変異体ＥＲαの活性または発現と関連する状態を治療する方法が、本明細書に提供され、本方法は、対象に、１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）とＬＢＤを介してＥＲα及び／または変異体ＥＲαと結合することができる１種以上の化合物との組み合わせを投与することを含む。ある特定の実施形態では、この対象は、哺乳動物であり、ある特定のこれらの実施形態では、対象は、ヒトである。ある特定の実施形態では、この状態は、腫瘍及び／または癌であり、これには、本明細書に開示されるＥＲ陽性腫瘍及び／または癌が含まれるが、これらに限定されない。

【００９０】

本明細書に提供される化合物及び方法のある特定の実施形態では、ＥＲα及び変異体ＥＲαのＬＢＤは、ＡＦ－２を含む。他の実施形態では、ＬＢＤは、ＥＲαのアミノ酸２９９～５５４を含む、それからなる、または本質的にそれからなる。ある特定の実施形態では、変異体ＥＲαのＬＢＤは、Ｙ５３７Ｘ$_{1}$（式中、Ｘ$_{1}$が、Ｓ、Ｎ、またはＣである）、Ｄ５３８Ｇ、Ｌ５３６Ｘ$_{2}$（式中、Ｘ$_{2}$が、ＲまたはＱである）、Ｐ５３５Ｈ、Ｖ５３

４Ｅ、Ｓ４６３Ｐ、Ｖ３９２Ｉ、Ｅ３８０Ｑ、及びこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない、１つ以上の変異を含む。

【００９１】

本明細書に提供される化合物及び方法のある特定の実施形態では、ＬＢＤを介してＥＲα及び／または変異体ＥＲαと結合することができる化合物は、選択的エストロゲン受容体ディグレーダー（ＳＥＲＤ）または選択的エストロゲン受容体モジュレーター（ＳＥＲＭ）である。ある特定の実施形態では、ＬＢＤを介してＥＲα及び／または変異体ＥＲαと結合することができる化合物は、残基Ｅ３５３、Ｄ３５１、Ｒ３４９、及び／またはＬ５３６とのＨ結合相互作用ならびにＥＲα及び／または変異体ＥＲαの残基Ｆ４０４とのπ相互作用からなる群から選択される１つ以上の相互作用を介しても結合することができる。そのような化合物の一例は、ＲＡＤ１９０１である。

【００９２】

ある特定の実施形態では、Ｙ５３７$Ｘ_1$（式中、$Ｘ_1$が、Ｓ、Ｎ、またはＣである）、Ｄ５３８Ｇ、Ｌ５３６$Ｘ_2$（式中、$Ｘ_2$が、ＲまたはＱである）、Ｐ５３５Ｈ、Ｖ５３４Ｅ、Ｓ４６３Ｐ、Ｖ３９２Ｉ、Ｅ３８０Ｑ、及びこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない、１つ以上の変異を含む変異体ＥＲαの活性または発現と関連する状態を治療する方法が、本明細書に提供され、本方法は、対象に、１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）とＬＢＤを介してＥＲαと結合することができる１種以上の化合物との組み合わせを投与することを含む。ある特定の実施形態では、この状態は、ＥＲ陽性癌、乳癌、ＥＲ陽性乳癌、及び転移性乳癌が挙げられるが、これらに限定されない、癌であり、ある特定の実施形態では、この化合物は、ＲＡＤ１９０１またはその薬学的に許容される溶媒和物（例えば水和物）または薬学的に許容される塩である。

【００９３】

以下の実施例は、請求された発明をよりよく例証するために提供され、本発明の範囲を限定するように解釈されるべきではない。特定の材料が言及される程度では、それは、単に例証の目的のためであり、及び本発明を限定することを意図しない。当業者は、発明能力の行使なしで、及び本発明の範囲を逸脱しない範囲で、均等な手段または反応を開発するであろう。多くの変更が、本明細書に記載される手順でなされ得るが、一方、依然として本発明の範囲内で維持されることを理解されよう。かかる変更が、本発明の範囲内に含まれることが本発明者らの意図である。

【実施例】

【００９４】

材料及び方法

試験化合物

以下の実施例に使用されるＲＡＤ１９０１は、ＩＲＩＸ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．によって製造された（６Ｒ）－６－（２－（Ｎ－（４－（２－（エチルアミノ）エチル）ベンジル）－Ｎ－エチルアミノ）－４－メトキシフェニル）－５，６，７，８－テトラヒドロナフタレン－２－オール二塩酸塩であった（Ｆｌｏｒｅｎｃｅ，ＳＣ）。ＲＡＤ１９０１は、乾燥粉末として保存され、脱イオン水中の０．５％（ｗ／ｖ）メチルセルロース中の均一の懸濁液として使用するために製剤化され、動物モデルにおいては、強制経口投与によって投与された。タモキシフェン、ラロキシフェン、及びエストラジオール（Ｅ2）は、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ（Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）から得られ、皮下注射によって投与された。フルベストラントは、Ｔｏｃｒｉｓ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ（Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）から得られ、皮下注射によって投与された。その他の実験試薬は、別途記述がない限り、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈから購入した。

【００９５】

細胞株

ＭＣＦ－７細胞（ヒト乳房転移性腺癌）は、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，ＭＤ）から購入し、０．０1ｍｇ／ｍｌのウシインスリン及び１０％ウシ胎仔血清（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａ

ｄ，ＣＡ）を補充した、２ｍＭのＬ－グルタミン及びＥａｒｌｅのＢＳＳ、０．１ｍＭの非必須アミノ酸、及び１ｍＭのピルビン酸ナトリウムを含有するフェノールレッドフリーの最小必須培地（ＭＥＭ）中で、通常、５％CO_2で維持した。

【００９６】

Ｔ４７Ｄ細胞を、１０％ＦＢＳ及び５μｇ／ｍＬのヒトインスリンを補充したＲＰＭＩ増殖培地中で約７５％コンフルエントになるまで１０ｃｍの皿中で５％CO_2インキュベーターで培養した。

【００９７】

インビボでの異種移植片モデル

すべてのマウスを、明暗周期（人工光の１２～１４時間の概日周期）ならびに制御された室温及び湿度下で、不断で滅菌食及び水へのアクセスする、滅菌した埃のない寝わらの塊（ｂｅｄｄｉｎｇ　ｃｏｂ）を有する個々に換気したケージの中に無菌ハウジングに収容した。腫瘍は、ノギスで週２回測定し、体積は、式：（Ｌ＊$Ｗ^2$）＊０．５２を用いて計算した。

【００９８】

ＰＤｘモデル

患者由来の異種移植片モデル（ＰＤｘモデル）のいくつかの例を、図１に示す。患者由来の乳癌腫瘍を有するＰＤｘモデルは、腫瘍の不均一性を維持するために、動物（無胸腺ヌードマウス（Ｎｕ（ＮＣＦ）－Ｆｏｘｎ１ｎｕ））において、限定された回数、連続継代している生存ヒト腫瘍組織または液体から構築された。前試験腫瘍体積は、その推定された開始日より約１週間前に開始する各実験で記録した。腫瘍がおよそ腫瘍体積開始（ＴＶＩ）の範囲（１５０～２５０$ｍｍ^3$）に達したとき、動物を治療及び対照群にランダム化し、投与を開始し（０日目、各群において８～１０匹）、すべての試験における動物は各実験において個々に従った。投与開始は、０日目に開始、すべての群の動物は、体重別に投与した（１グラム当たり０．０１ｍＬ、１０ｍｌ／ｋｇ）。各群は、０日目から特定されるように、ビヒクル（対照、経口投与／エンドポイントまで１日１回）、タモキシフェン（１ｍｇ／対象、皮下注射／エンドポイントまで１日毎）、フルベストラント（Ｆａｓｌｏｄｅｘ（登録商標）；必要に応じて、１ｍｇ／対象または３ｍｇ／対象、皮下注射／週×５、必要に応じて延長）、またはＲＡＤ１９０１（３０または６０または１２０ｍｇ／対象のｋｇ、経口投与／エンドポイントまで１日１回）で治療した。治療期間は、モデルに応じて、５６～６０日間続いた。これらのＰＤｘモデルのための飲料水に、１７β－エストラジオールを補充した。

【００９９】

薬剤の有効性

すべての試験において、０日目に開始し、腫瘍寸法を、各群に対して記録された個々の及び平均の推定された腫瘍体積（平均ＴＶ±標準誤差）を含むデジタルキャリパーによって測定し、腫瘍体積を、式（Ｙａｓｕｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｉｎｖａｓｉｏｎ　Ｍｅｔａｓｔａｓｉｓ　１７：２５９－２６９（１９９７）、これは参照により本明細書に組み込まれる）：ＴＶ＝$幅^2$×長さ×０．５２を用いて計算した。腫瘍体積（ＴＶ）エンドポイントに達したらすぐに、各群または試験を終了し（時間エンドポイントは、６０日であり、体積エンドポイントは、群平均２$ｃｍ^3$であった）、２$ｃｍ^3$以上の腫瘍体積に達する個々のマウスは、試験から除外し、最終測定は、平均が体積エンドポイントに達するかまたは試験が時間エンドポイントに達するまで群平均に含まれた。

【０１００】

有効性の計算及び統計学的分析

腫瘍成長阻害（％）（ＴＧＩ（％））値は、単一時点で計算し（対照群が腫瘍体積または時間エンドポイントに達したとき）、式によって初期（ｉ）及び最終（ｆ）腫瘍測定を用いて各治療群（Ｔ）対対照（Ｃ）について報告した（Ｃｏｒｂｅｔｔ　ＴＨ　ｅｔ　ａｌ．Ｉｎ　ｖｉｖｏ　ｍｅｔｈｏｄｓ　ｆｏｒ　ｓｃｒｅｅｎｉｎｇ　ａｎｄ　ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ　ｔｅｓｔｉｎｇ．Ｉｎ：Ｔｅｉｃｈｅｒ　Ｂ，ｅｄ．，Ａｎｔｉｃａｎ

ｃｅｒ　Ｄｒｕｇ　Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ　Ｇｕｉｄｅ．Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ：Ｈｕｍａｎａ．２００４：９９－１２３．）：ＴＧＩ（％）＝１－Ｔｆ－Ｔｉ／Ｃｆ－Ｃｉ。

【０１０１】

統計学

ＴＧＩ試験－一元配置分散分析＋Ｄｕｎｎｅｔｔ多重比較検定（Ｃｏｒｂｅｔｔ　ＴＨら）。

【０１０２】

試料採集

エンドポイントで、腫瘍を除去した。ある断片を急速冷凍し、一方、別の断片を、１０％　ＮＢＦ中に少なくとも２４時間入れ、ホルマリン固定パラフィン包埋した（ＦＦＰＥ）。急速冷凍した試料を、－８０℃で保存し、ＦＦＰＥブロックを、室温で保存した。

【０１０３】

ウェスタンブロット

細胞を採取し、タンパク質発現を、標準的技法を用いて分析した。腫瘍を、投与の最終日後に指示された時点で採取し、Ｔｉｓｓｕｅｌｙｓｅｒ（Ｑｉａｇｅｎ）を用いてプロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤を有するＲＩＰＡ緩衝液中で均質化した。等量のタンパク質を、ＭＷによって分離し、ニトロセルロース膜に移し、標準的技法を用いて以下の抗体でブロットした：

●エストロゲン受容体（Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ（ＨＣ－２０）；ｓｃ－５４３）

●プロゲステロン受容体（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ；３１５３）

●ビンキュリン（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，ｖ９１３１）

【０１０４】

ｑＰＣＲ分析を、次のように行った：細胞を採取し、ｍＲＮＡを抽出し、等量が、プロゲステロン受容体、ＧＲＥＢ１、及びＴＦＦ１（ＬｉｆｅＴｅｃｈ）に特異的なプライマーを有するｃＤＮＡ合成及びｑＰＣＲのために使用した。帯は、１Ｄ　Ｑｕａｎｔソフトウェア（ＧＥ）を用いて定量化した。

【０１０５】

免疫組織化学

腫瘍を採取し、ホルマリンに固定し、パラフィンに包埋した。包埋した腫瘍を切断し（６μＭ）、ＥＲ、ＰＲ、及びＨｅｒ２に特異的な抗体で染色した。定量化を以下の通りに行った：５つの分野を、陽性細胞（０～１００％）及び染色強度（０～３＋）について計数した。Ｈスコア（０～３００）を、以下の式：陽性（％）＊強度、を用いて計算した。

【０１０６】

実施例Ｉ．ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、異なる事前内分泌療法を用いて、ＷＴ　ＥＲまたは変異体ＥＲ（例えばＹ５３７Ｓ）を発現する腫瘍及び／または癌において増強した腫瘍成長の阻害を提供した。

【０１０７】

Ｉ（Ａ）．動物異種移植片モデルにおけるＲＡＤ１９０１の有効性

Ｉ（Ａ）（ｉ）ＲＡＤ１９０１は、ＥＲ状態及び事前内分泌療法にもかかわらず、ＰＤｘモデル（ＰＤｘ－１～ＰＤｘ－１２）において腫瘍成長を阻害した。

【０１０８】

図１は、ＲＡＤ１９０１単独で治療したマウスにおける様々なＰＤｘモデルにおいて腫瘍成長の阻害を実証する。１２の患者由来の異種移植片モデルをスクリーニングして、様々なレベルのＥＲ、ＰＲ、及びＨｅｒ２を有する様々な遺伝的バッググラウンドにおけるＲＡＤ１９０１反応を試験した。ｎ＝８～１０を有する、「＊」の印が付いたＰＤｘモデル（ＰＤｘ－１～ＰＤｘ－４、及びＰＤｘ－１２）に対して、完全有効性試験を行った。スクリーニング試験は、ｎ＝３を有する他のＰＤｘモデル（ＰＤｘ－５～ＰＤｘ－１１）に対して行われた。ＰＤｘモデルを、６０ｍｇ／ｋｇの投与量のビヒクル（陰性対照）またはＲＡＤ１９０１で、１日１回経口投与で６０日間治療した。図１で示されるように、

ＥＲ及びさらなるドライバー（例えばＰＲ＋及び／またはＨｅｒ２＋）で成長を引き起こしたＰＤｘモデルに対して、ＲＡＤ１９０１治療が有効であった。ＲＡＤ１９０１は、前治療、ナイーブ（Ｒｘ－陰性）、またはアロマターゼ阻害剤、タモキシフェン（ｔａｍ）、化学療法（ｃｈｅｍｏ）、Ｈｅｒ２阻害剤（Ｈｅｒ２ｉ、例えばトラスツズマブ、ラパチニブ）、ベバシズマブ、フルベストラント、及び／もしくはリツキシマブのいずれかの治療にもかかわらず、ＥＲ変異及び／または高いレベルの発現のＨｅｒ２（ＰＤｘ）を有するモデルにおいて腫瘍成長を阻害する際に有効であった。

【０１０９】

Ｉ（Ａ）（ｉｉ）ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、ＷＴ　ＥＲを発現する異種移植片モデルにおいて、ＲＡＤ１９０１単独よりもさらに退縮を引き起こした。

【０１１０】

Ｉ（Ａ）（ｉｉ）（１）ＲＡＤ１９０１－エベロリムスは、フルベストラント治療に反応したＭＣＦ－７異種移植片において、ＲＡＤ１９０１単独よりもさらに退縮を引き起こした。

【０１１１】

ＭＣＦ－７異種移植片モデル

細胞移植の２日前に、Ｂａｌｂ／Ｃ－ヌードマウスを、１７β－エストラジオールペレットで０．１８／９０日の放出でインキュベートした。ＭＣＦ－７細胞（ＰＲ＋、Ｈｅｒ２－）を採取し、$１×１０^{７}$細胞を、Ｂａｌｂ／Ｃ－ヌードマウスの右脇腹に皮下移植した。腫瘍は、$２００ｍｍ^{３}$の平均を達した場合、マウスを、腫瘍体積別に治療群にランダム化し、試験化合物で治療した。各群は、０日目から特定されるように、ビヒクル（対照、エンドポイントまで１日１回経口投与）、フルベストラント（Ｆａｓｌｏｄｅｘ（登録商標）；３ｍｇ／対象、週１回皮下注射×５、必要に応じて延長）、ＲＡＤ１９０１（３０ｍｇ／ｋｇまたは６０ｍｇ／対象のｋｇ、エンドポイントまで１日１回経口投与）、エベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、エンドポイントまで経口投与）、またはＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせで治療した。治療期間は、２８日間続いた。

【０１１２】

ＭＣＦ－７異種移植片マウスは、ビヒクル（陰性対照）、ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、毎日経口投与）、エベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、経口投与）、ＲＡＤ１９０１（３０または６０ｍｇ／ｋｇ、毎日経口投与）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、経口投与）との組み合わせ、フルベストラント（３ｍｇ／用量、毎週皮下注射）、またはフルベストラント（３ｍｇ／用量、毎週皮下注射）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、経口投与）との組み合わせで治療した。腫瘍サイズを、様々な時点で２７日間測定した。

【０１１３】

結果を図２Ａ～２Ｂに示す。ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ）との組み合わせによる治療は、有意な腫瘍退縮を再度もたらし、ＲＡＤ１９０１、エベロリムス、またはフルベストラント単独、またはフルベストラントとエベロリムスとの組み合わせでの治療に対して優れた結果を有した（図２Ｂ）。

【０１１４】

図２Ｃは、ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせが、３０ｍｇ／ｋｇまたは６０ｍｇ／ｋｇの用量でＲＡＤ１９０１による同様の効果を与えたが、３０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１単独は、腫瘍成長を阻害する際に、６０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１単独ほど有効ではなかったことを示す。当該の結果は、より低用量（例えば３０ｍｇ／ｋｇ）のＲＡＤ１９０１を用いたＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせが、当該異種移植片モデルにおいて腫瘍成長の阻害／腫瘍退縮の効果を最大限にするのに十分であったことを示唆している。

【０１１５】

ＲＡＤ１９０１とエベロリムスとの組み合わせによる治療はまた、ＲＡＤ１９０１、エベロリムス、またはフルベストラント単独、またはフルベストラントとエベロリムスとの組み合わせによる治療よりもＭＣＦ－７異種移植片モデルにおいて、インビボでＥＲ及び

ＰＲの発現を減少させる場合にさらに有効であった（図１１）；最終投与から２時間後に採取した腫瘍）。

【０１１６】

Ｉ（Ａ）（ｉｉ）（２）ＲＡＤ１９０１－エベロリムスは、フルベストラント治療に反応したＰＤｘ－１１及びＰＤｘ－２モデルにおいて、ＲＡＤ１９０１単独よりもさらに退縮を引き起こした。

【０１１７】

ＥＲ　ＷＴ　ＰＤｘモデルＰＤｘ－２（ＰＲ＋、Ｈｅｒ２－、治療ナイーブ）ならびにＰＤｘ－１１（ＰＲ＋、Ｈｅｒ２＋、ＡＩ、フルベストラント、及び化学療法で治療した）は、フルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）に対して異なる感受性を示した。ＰＤｘ－２及びＰＤｘ－１１モデルは、ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）とエベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、経口投与）との組み合わせ、ＲＡＤ１９０１単独（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、エベロリムス単独（２．５ｍｇ／ｋｇ、経口投与）、またはフルベストラント単独（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）で治療した。

【０１１８】

ＰＤｘ－１１モデルでは、フルベストラントまたはエベロリムス単独は、腫瘍成長を有意に阻害し、フルベストラントで治療したマウスは、腫瘍成長の阻害においてより良好な効果を示した。フルベストラント治療は、わずかに腫瘍退縮を示した（図３Ｂ）。意外にも、ＲＡＤ１９０１単独またはエベロリムスとの組み合わせの投与は、有意な腫瘍退縮をもたらし、この組み合わせは、野生型ＥＳＲ１　ＰＤｘモデルにおいてより有意な腫瘍退縮の効果を達成した（図３Ｂ）。

【０１１９】

ＰＤｘ－２モデルでは、ＲＡＤ１９０１単独の経口投与は、フルベストラント単独の注射と比較して腫瘍成長を阻害する良好な効果を達成した（図４Ａ）。さらに、ＲＡＤ１９０１またはエベロリムス単独の投与は、腫瘍成長を有意に阻害した。意外にも、エベロリムスと組み合わせたＲＡＤ１９０１の投与は、腫瘍成長を阻害する際にさらに増強した効果をもたらした（図４Ｂ）。

【０１２０】

さらに、フルベストラント治療（１ｍｇ／用量、週１回皮下注射）に対して反応したＰＤｘ－４モデルにおいて、ＲＡＤ１９０１の媒介による腫瘍成長の阻害は、ＲＡＤ１９０１治療（３０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）期間が終了したが、エストラジオール治療は継続してから少なくとも２カ月間治療の不在下で維持された（図５）。

【０１２１】

それ故に、１種以上の第２の治療剤（複数可）とＲＡＤ１９０１との組み合わせは、特に、１種以上の第２の治療剤（複数可）（例えばエベロリムス）が、有害反応が低減もしくは遅延され得る場合、治療終了後に腫瘍成長を阻害することによって患者の利益になる可能性が高い。ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｆｄａ．ｇｏｖ／Ｄｒｕｇｓ／ＩｎｆｏｒｍａｔｉｏｎＯｎＤｒｕｇｓ／ＡｐｐｒｏｖｅｄＤｒｕｇｓ／ｕｃｍ４８８０２８．ｈｔｍ。

【０１２２】

Ｉ（Ａ）（ｉｉｉ）ＲＡＤ１９０１－エベロリムスは、変異体ＥＲ（ＥＲα　Ｙ５３７Ｓ）を発現する異種移植片モデルにおいてＲＡＤ１９０１単独よりもさらに退縮を引き起こした。

【０１２３】

Ｉ（Ａ）（ｉｉｉ）（１）ＲＡＤ１９０１－エベロリムスは、フルベストラントに対してほとんど反応しなかったＰＤｘ－５モデルにおいて、ＲＡＤ１９０１単独よりも退縮を引き起こした。

【０１２４】

ＰＤｘ－５モデルは、ＰＤｘモデルについて上述されるように、以下の同様のプロトコルを調製した。各投与群の腫瘍サイズは、ノギスで週２回測定し、体積は、式（Ｌ＊Ｗ２

）＊０．５２を用いて計算した。

【０１２５】

ＰＤｘ－５モデル（Ｙ５３７Ｓエストロゲン受容体変異を有する患者由来の乳癌腫瘍を有するＰＤｘモデル、ＰＲ＋、Ｈｅｒ２＋、アロマターゼ阻害剤による前治療）において、エベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、経口投与）と組み合わせたＰＤｘモデルにおいて、ＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）、エベロリムス（２．５ｍｇ／ｋｇ、経口投与）、及びＲＡＤ１９０１（６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）による腫瘍成長の阻害は、本明細書に記載される方法を用いて評価された。ある特定のＥＲα変異（例えばＹ５３７Ｓ）を発現する腫瘍については、ＲＡＤ１９０１及びエベロリムスの組み合わせ治療が、いずれかの薬剤単独での治療よりも腫瘍成長を阻害する際により有効であった（図６Ｂ）。これらのＰＤｘモデルは、フルベストラント（３ｍｇ／用量）による治療ほど感受性ではなかった。ＲＡＤ１９０１及びエベロリムスの組み合わせ治療が、ＰＤｘ－５モデルにおいて、いずれかの薬剤単独での治療よりも腫瘍成長を阻害する際により有効であった（図６Ｂ）。

【０１２６】

それ故に、これらの結果は、ＲＡＤ１９０１が、標的薬剤の腫瘍成長の阻害を促進した有効な内分泌骨格であったことを示した。さらに、ＲＡＤ１９０１は、フルベストラントに対して反応がないものを含む、複数の前内分泌療法を受けた患者から由来するＰＤｘモデルにおいて強力な抗腫瘍活性を示した。

【０１２７】

Ｉ（Ａ）（ｉｖ）非腫瘍担持マウスに対するフルベストラント治療の薬物動態評価。

【０１２８】

様々な用量のフルベストラントをマウスに投与し、これらは、対象への有意な用量曝露を示した（図７）。

【０１２９】

フルベストラントを、１、３、または５ｍｇ／用量で、ヌードマウスに、１日目（Ｄ１　Ｒｘ）及び８日目（Ｄ８　Ｒｘ、ｎ＝４／用量レベル）に皮下投与した。血液を、２回目の投与から１６８時間まで指示された時点で採血し、遠心分離し、血漿を液体クロマトグラフィー質量分析法で分析した。

【０１３０】

Ｉ（Ｂ）ＲＡＤ１９０１は、脳転移のマウス異種移植片モデル（ＭＣＦ－７頭蓋内モデル）において生存を助長した。

【０１３１】

血液脳関門を横断し、腫瘍成長を阻害するＲＡＤ１９０１の潜在能力は、ＭＣＦ－７頭蓋内腫瘍異種移植片モデルを用いてさらに評価された。

【０１３２】

雌無胸腺ヌードマウス（Ｃｒｌ：ＮＵ（ＮＣｒ）－Ｆｏｘｎ１ｎｕ）を、腫瘍異種移植片試験のために使用した。腫瘍細胞移植の３日前に、エストロゲンペレット（０．３６ｍｇのＥ２、６０日の放出；Ｉｎｎｏｖａｔｉｖｅ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　ｏｆ　Ａｍｅｒｉｃａ，Ｓａｒａｓｏｔａ，ＦＬ）を、滅菌套管針を用いてすべての試験動物の肩甲骨間に皮下移植した。ＭＣＦ－７ヒト乳腺癌細胞は、１０％ウシ胎仔血清、１００単位／ｍＬのペニシリンＧ、１００μｇ／ｍＬの硫酸ストレプトマイシン、２ｍＭグルタミン、１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、０．０７５％重炭酸ナトリウム、及び２５ｇ／ｍＬのゲンタマイシンを含有するＲＰＭＩ－１６４０培地内で中間ログ相まで培養した。腫瘍細胞移植日に、細胞をトリプシン化し、ペレット化し、５×１０^{7}細胞／ｍＬの濃度で、リン酸緩衝生理食塩水中で再懸濁した。各試験マウスに、１×１０^{6}　ＭＣＦ－７細胞を頭蓋内に移植した。

【０１３３】

腫瘍細胞移植から５日後に（試験の１日目と表される）、マウスを、１２匹ずつの動物の３つの群にランダム化し、上述のように、ビヒクル、フルベストラント（０．５ｍｇ／動物　毎日）、またはＲＡＤ１９０１（１２０ｍｇ／ｋｇ　毎日）で治療した。

【０１３４】
　エンドポイントは、死亡率または対照群の３倍の生存率のいずれか早い方として定義された。体重測定、及び処置に関連した副作用の臨床症候に関する頻繁な観察により、処置耐性を評価した。１回の測定において３０％を超える、または3回の測定において２５％を超える体重減少を有する動物は、人道的に殺処分し、処置関連死として分類された。許容され得る毒性は、試験期間中で２０％未満の群平均体重損失、及び１０匹の処置動物の中で多くても１匹の処置関連死、または１０％として定義された。試験の終了時に、動物は、イソフルラン麻酔下で末期的心穿刺によって殺処分した。血漿及び腫瘍中のＲＡＤ１９０１及びフルベストラント濃度は、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳを用いて決定した。
【０１３５】
　カプランマイヤー生存分析は、ＲＡＤ１９０１がフルベストラントと比較して有意に生存を延ばしたことを示した（Ｐ＜０．０００１；図８）。対照またはフルベストラント群の動物は、それぞれ、２０日目及び３４日目を超えて生存したものはいなかったが、ＲＡＤ１９０１で処置した動物のうちの４１％（５／１２）が、５４日目の試験終了まで生存した。
【０１３６】
　血漿中のＲＡＤ１９０１の濃度は、７３８±４７１ｎｇ／ｍＬであり、頭蓋内腫瘍では、４６２±１０５ｎｇ／ｇであり、このことは、ＲＡＤ１９０１が血液脳関門を有効に横断することができるという仮説を支持した。対照的に、フルベストラントの濃度は、血漿中（２１±１０ｎｇ／ｍＬ）及び頭蓋内腫瘍中（８．３±０．８ｎｇ／ｇ）で実質的には低かった。
【０１３７】
　Ｉ（Ｃ）．ＥＲ＋進行性乳癌のためのＲＡＤ１９０１治療の第１相試験。
【０１３８】
　第１相試験では、安全性、耐性、及び薬物動態が、４４人の健常な閉経後の女性において評価された。用量を制限する毒性は観察されず、最大耐容量（ＭＴＤ）は構築されなかった。血漿曝露は、試験した用量範囲にわたって用量比例的よりも増加した。
【０１３９】
対象
　進行性乳腺腺癌（ＩＨＣによって１％以上の染色を有するＥＲ＋腫瘍、0または1のＥＣＯＧ一般状態を有するＨＥＲ２陰性腫瘍）を有する８人の閉経後の女性を、この第１相試験の対象として登録した。対象は、以下の前治療を受けていなければならない：
　●進行性／転移性の設定において２以下の前化学療法レジメン
　●６か月の事前内分泌療法及び事前内分泌療法において進行した
　●未治療もしくは症候性ＣＮＳ転移、または以下のウィンドウ内の事前抗癌治療を有する患者は、除外された：
　●タモキシフェン＜１回目の用量試験処置から１４日前
　●フルベストラント＜１回目の用量試験処置から９０日前
　●化学療法＜１回目の用量試験処置から２８日前
　●ＬＨＲＨ類似体＜１回目の用量試験処置から１２か月前
ＤＬＴ基準
　●３以上のいかなるグレードの非血液学的毒性（最適な薬剤で治療されていない脱毛症及び吐き気、嘔吐、または下痢を含まない）
　●３以上のいかなるグレードの血液学的毒性
　●７日を超える試験薬物中断をもたらすいかなるグレードの毒性
　●用量を制限する毒性の観察期間は、周期１のうち１～２８日である
【０１４０】
治療中に発生した有害事象（ＴＥＡＥ）
　ＴＥＡＥは、試験を通して記録された。予備データを表１２に要約する。「ｎ」は、所与のカテゴリー中の少なくとも１つの治療に関連したＡＥを有する対象の数であり、ＡＥ

は有害事象共通用語規準（ＣＴＣＡＥ）ｖ４．０のように等級分けされ、同じ優先使用語の複数のシナリオを有する任意の患者は、最も重度のグレードまで１回のみ計数した。死亡または用量を制限する毒性は観察されず、最大耐容量（ＭＴＤ）は構築されなかった。最もＡＥは、グレード１または２であった。最も一般的な治療に関連したＡＥは、消化不良（５／８人の患者）及び吐き気（３／８人の患者）であった。２つの重篤なＡＥ（ＳＡＥ）が観察され、１つはグレード３の治療に関連した便秘で、その他は、息切れ（胸水）であったが、治療には関連しなかった。

【０１４１】

この第１相試験の大量にこれまでに治療を受けた対象は、複数の内分泌及び標的薬剤、例えば、ＣＤＫ４／６、ＰＩ３Ｋ、及びｍＴＯＲ阻害剤でこれまでに治療を受けた対象を含んだ。用量を制限する毒性は、２００ｍｇの毎日経口投与で最高６か月間及び４００ｍｇの毎日経口投与で最高２か月間、ＲＡＤ１９０１で治療した後に観察されなかった。それ故に、ＲＡＤ１９０１は、特に、ＣＤＫ４／６、ＰＩ３Ｋ、及びｍＴＯＲ阻害剤等の内分泌及び／または標的薬剤でこれまでに治療を受けた対象において、ＥＲ＋進行性乳癌を治療する可能性を示した。

【０１４２】

実施例ＩＩ．ＲＡＤ１９０１は、好ましくは腫瘍中で蓄積し、脳に送達され得る。

【０１４３】

実施例Ｉ（Ａ）（ｉ）に記載されるように、ＭＣＦ－７異種移植片を、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳを用いて、血漿及び腫瘍中のＲＡＤ１９０１濃度についてさらに評価した。試験の終了時に、血漿中のＲＡＤ１９０１の濃度は、３４４±１１７ｎｇ／ｍＬであり、腫瘍中では、６０ｍｇ／ｋｇの用量レベルに対して１１，１１８±３，８０１ｎｇ／ｍＬであった。腫瘍濃度が血漿中よりも約２０～３０倍高かった場合に、同様の腫瘍対血漿の比率も、より低い用量レベルで観察された。４０日間処置されたマウスの血漿、腫瘍、及び脳中のＲＡＤ１９０１レベルを、表１に要約する。有意な量のＲＡＤ１９０１が、処置マウスの脳に送達され（例えば、Ｂ／Ｐ比（脳中のＲＡＤ１９０１濃度／血漿中のＲＡＤ１９０１濃度）を参照のこと）、このことは、ＲＡＤ１９０１が血液脳関門（ＢＢＢ）を横断することができたことを示した。意外にも、ＲＡＤ１９０１は、好ましくは腫瘍中で蓄積した。例えば、表１に示されるＴ／Ｐ（腫瘍中のＲＡＤ１９０１濃度／血漿中のＲＡＤ１９０１濃度）比を参照されたい。

【０１４４】

実施例ＩＩＩ．ＲＡＤ１９０１は、ＥＲ経路を阻害し、ＥＲを分解した。

【０１４５】

ＩＩＩ（Ａ）．ＲＡＤ１９０１は、健常な閉経後の女性ヒト対象の子宮及び下垂体においてＥＲ関与を軽減した。

【０１４６】

対象は、少なくとも１２か月間無月経であり、血清ＦＳＨが閉経と一致した。対象は、１８．０～３０ｋｇ／ｍ^{2}のＢＭＩを有する、４０～７５歳であった。対象は、無傷子宮であった。臨床的に関連する病理の証拠を有し、卒中もしくは過去に静脈血栓塞栓事象のリスク増加がある、または臨床研究センターに登録する１４日以内に併用薬（パラセタモールは、３日前まで許容された）の使用を有する患者は、除外された。

【０１４７】

ＦＥＳ－ＰＥＴは、子宮内のＥＲ関与を評価するために、ベースライン及びＲＡＤ１９０１への曝露から６日後に行われた。ＲＡＤ１９０１は、それぞれ、２００ｍｇ（７人の対象）及び５００ｍｇ（６人の対象）の用量レベルで、子宮内でＥＲが８３％及び９２％を占めた。

【０１４８】

ＦＥＳ－ＰＥＴ画像は、２００ｍｇまたは５００ｍｇのＲＡＤ１９０１による治療（１日１回、経口投与、６日）後に、子宮及び下垂体の両方への標識エストラジオールの結合の有意な減少を示した。

【０１４９】
高いＥＲ発現により、子宮は、ＲＡＤ１９０１治療前にベースラインで強力なＦＥＳ－ＰＥＴシグナル（図９Ａ）、２００ｍｇの用量レベルで治療した対象３の子宮ＦＥＳ－ＰＥＴスキャンにおけるベースラインの横断図；図９Ｂ、５００ｍｇの用量レベルで治療した対象７のベースラインの子宮ＦＥＳ－ＰＥＴスキャンにおける、それぞれ、矢状図及び横断図）を示した。しかしながら、試験中の６日目に投与してから４時間後にスキャンした場合、子宮は、ほとんど見えなかった（バックグラウンドＦＥＳ－ＰＥＴシグナルでまたはそれの近くに（図９Ａ、対象３の子宮スキャンにおける６日目の横断図；及び図９Ｂ、対象７の子宮スキャンにおける、それぞれ、６日目の矢状図及び横断図）。かかるデータは、ＥＲの分解及び／または受容体への結合に対する競合と一致した。図９Ａ及び９Ｂはまた、ＲＡＤ１９０１治療前及び後の子宮の存在を示す、ＦＥＳ－ＰＥＴによってスキャンされた子宮のＣＴスキャンも含む。
【０１５０】
ＦＥＳ－ＰＥＴの子宮スキャンの結果は、２００ｍｇの用量群及び５００ｍｇの用量群の例として、それぞれ、対象１～３及び対象４～７を示す、７人の対象についてベースラインから投与後のＥＲ結合の変化を示すためにさらに定量化した（図９Ｃ）。ＲＡＤ１９０１は、低用量（２００ｍｇ）で強固なＥＲ関与を示した。
【０１５１】
図１０Ａ～Ｂは、５００ｍｇのＲＡＤ１９０１で、１日１回経口投与で治療する前（ベースライン）及び治療して６日後（治療後）の子宮（Ａ）及び下垂体（Ｂ）のＦＥＳ－ＰＥＴスキャンの代表的な画像を示した。図１０Ａは、（ａ）側面横断図、（ｂ）縦横断図、及び（ｃ）縦横断図によって子宮のＦＥＳ－ＰＥＴスキャンを示した。
【０１５２】
子宮及び下垂体の対象の投与後のＦＥＳ－ＰＥＴスキャンは、それぞれ、子宮（図１０Ａ、治療後）及び下垂体（図１０Ｂ、治療後）でＥＲ結合の顕著なシグナルを示さなかった。
【０１５３】
それ故に、結果は、ＲＡＤ１９０１が、２００及び５００ｍｇの投与量で、１日１回経口投与で６日後のヒトにおいてＥＲが有効に分解／不活性化したことを示した。
【０１５４】
子宮、筋肉、及び骨に対する標準取り込み値（ＳＵＶ）を計算し、２００ｍｇ及び５００ｍｇで毎日経口投与したＲＡＤ１９０１での治療について、それぞれ、表２及び３に要約した。投与後の子宮シグナルは、「非標的組織」からのレベルに非常に近く、ＲＡＤ１９０１治療後のＦＥＳ－ＰＥＴの取り込みの完全な減衰を示唆している。エストロゲン受容体を有意に発現しなかった組織中の治療前対治療後ＰＥＴスキャンについては、ほとんど変化が観察されなかった。
【０１５５】
それ故に、ＲＡＤ１９０１またはその塩もしくは溶媒和物（例えば水和物）は、他の臓器（例えば、骨、筋肉）への悪影響を有さない、ＥＲの過剰発現を有する癌及び／または腫瘍細胞（例えば、乳癌、子宮癌、及び卵巣癌）を治療する際に使用することができる。ＲＡＤ１９０１またはその塩もしくは溶媒和物（例えば水和物）は、他の臓器（例えば、骨、筋肉）への乳癌、子宮癌、及び／または卵巣癌病巣を治療するために、当該臓器への悪影響を有さない、他の臓器においてＥＲ過剰発現を有する転移性癌及び／または腫瘍、例えば、他の臓器（例えば、骨、筋肉）に移動する元の乳癌、子宮癌、及び／または卵巣癌を治療する際に特に有用であり得る。
【０１５６】
ＩＩＩ（Ｂ）．ＲＡＤ１９０１は、ＥＲ発現を減少させ、ＥＲ経路を阻害した。
【０１５７】
ＩＩＩ（Ｂ）（ｉ）（１）ＲＡＤ１９０１－エベロリムスの組み合わせは、ＭＣＦ７異種移植片モデルにおいてＥＲ及びＰＲ発現を減少させ、ＲＡＤ１９０１、エベロリムス、

またはフルベストラント単独、またはフルベストラントーエベロリムスの組み合わせによる治療においてより有効であった。

【０１５８】

ＲＡＤ１９０１とエベロリムスとの組み合わせによる治療はまた、ＲＡＤ１９０１、パルボシクリブ、またはフルベストラント単独、またはフルベストラントとエベロリムスとの組み合わせによる治療よりもＭＣＦ７異種移植片モデル（実施例Ｉ（Ａ）（ｉｉ）で記載されるように）においてインビボでＥＲ及びＰＲ発現を減少させる際により有効であった（図１１）、腫瘍は最終投与から２時間後に採取した）。

【０１５９】

ＩＩＩ（Ｂ）（ｉ）（２）ＭＣＦ－７及びＴ４７Ｄ細胞株におけるＲＡＤ１９０１及びフルベストラントの比較

【０１６０】

ＲＡＤ１９０１及びフルベストラントの効果を、ＭＣＦ７及びＴ４７Ｄ細胞株（両方とも、ヒト乳癌細胞株である）を用いて、０．０１μＭ、０．１μＭ、及び１μＭの様々な濃度で比較した（ＭＣＦ７細胞株アッセイについては図１２Ａ、及びＴ４７Ｄ細胞株については図１２Ｂ）。３つのＥＲ標的遺伝子、プロゲステロン受容体（ＰｇＲ）、乳癌１におけるエストロゲンによる成長調節（ＧＲＥＢ１）、及びトレフォイル因子１（ＴＦＦ１）を、マーカーとして使用した。ＲＡＤ１９０１は、ほぼ完全にＥＲの分解を引き起こし、ＥＲのシグナル伝達を阻害した（図１２Ａ～Ｂ）。特に、ＭＣＦ－７細胞株については、フルベストラントは、同じ濃度で投与した場合に、ＥＲのシグナル伝達を阻害する際に同等またはさらに若干高い有効性を示した。意外にも、実施例Ｉ（Ａ）及び実施例Ｉ（Ｂ）において、上に開示されるように、ＲＡＤ１９０１は、腫瘍成長を阻害し、腫瘍退縮を引き起こす際に、フルベストラントと同等またはフルベストラントよりも有効であった。

【０１６１】

ＩＩＩ（Ｂ）（ｉ）（３）ＲＡＤ１９０１治療は、実施例Ｉ（Ａ）（ｉｉ）（１）において上述されるように、ＭＣＦ７異種移植片モデルにおいて、ＥＲの分解及びＥＲのシグナル伝達の廃止をもたらした。

【０１６２】

ＲＡＤ１９０１治療は、インビボでＥＲの分解をもたらし（図１３Ａ及び１３Ｂ、スチューデントのｔ検定：＊ｐ値＜０．０５、＊＊ｐ値＜０．０１）、インビボでＥＲのシグナル伝達を阻害した（図１３Ａ及び１３Ｃ、スチューデントのｔ検定：＊ｐ値＜０．０５、＊＊ｐ値＜０．０１）。

【０１６３】

ＲＡＤ１９０１（３０ｍｇ／ｋｇ、６０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）またはフルベストラント（３ｍｇ／用量、週１回皮下注射）の最終投与から２時間後にＭＣＦ－７異種移植片から採取した腫瘍は、ＥＲ及びＰＲの発現を有意に減少したことを示した（図１３Ａ～Ｂ）。フルベストラント治療の最終投与から８時間後にＭＣＦ－７異種移植片から採取した腫瘍は、ＰＲ及びＥＲの発現を増加したことを示した。しかしながら、ＲＡＤ１９０１治療の最終投与から８時間後にＭＣＦ－７異種移植片から採取した腫瘍は、ＰＲ及びＥＲの発現を減少したことを示した（図１３Ａ及び１３Ｃ）。

【０１６４】

ＲＡＤ１９０１（３０ｍｇ／ｋｇ、６０ｍｇ／ｋｇ、または９０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）の単回投与から８時間または１２時間後にＭＣＦ－７異種移植片から採取した腫瘍は、ＰＲの発現を急速に減少したことを示した（図１４Ａ～Ｃ）。ＲＡＤ１９０１（３０ｍｇ／ｋｇ、６０ｍｇ／ｋｇ、または９０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）の７回目の投与から４時間または２４時間後にＭＣＦ－７異種移植片から採取した腫瘍は、ＥＲのシグナル伝達の一貫した安定した阻害を示した（図１４Ｂ）。ＲＡＤ１９０１（３０ｍｇ／ｋｇ、６０ｍｇ／ｋｇ、または９０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）の治療中の様々な時点でＭＣＦ－７異種移植片から採取した腫瘍のウェスタンブロット分析の定量化は、ＰＲの用量依存的な減少を示した（図１４Ｃ）。

【０１６５】
　ＲＡＤ１９０１治療は、ＭＣＦ－７異種移植片モデルにおいて増殖の急速な減少を起こした。例えば、ＲＡＤ１９０１（９０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）の単回投与から８時間後及びＲＡＤ１９０１（９０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）の４回目の投与から２４時間後に、ＭＣＦ－７異種移植片モデルから採取した腫瘍を切断し、染色して、増殖マーカーＫｉ６７の急速な減少を示した（図１５Ａ及び１５Ｂ）。
【０１６６】
　これらの結果は、ＲＡＤ１９０１治療が、ＥＲ　ＷＴ異種移植片において、インビボでＥＲの分解及びＥＲのシグナル伝達の阻害をもたらすことを示唆している。
【０１６７】
　ＩＩＩ（Ｂ）（ｉ）（４）ＲＡＤ１９０１治療は、実施例Ｉ（Ａ）（ｉｉ）において上述されるように、ＰＤｘ－４モデルにおいて、ＥＲの分解及びＥＲのシグナル伝達の廃止をもたらした。
【０１６８】
　ＲＡＤ１９０１治療は、ＰＤｘ－４モデルにおいて増殖の急速な減少を起こした。例えば、５６日の有効性試験の最終日に最終投与から４時間後に、ＲＡＤ１９０１（３０、６０、または１２０ｍｇ／ｋｇ、１日１回経口投与）またはフルベストラント（１ｍｇ／動物、週１回）で治療したＰＤｘ－４モデルから採取した腫瘍を切断し、これは、フルベストラントで治療したＰＤｘ－４モデルと比較して、増殖マーカーＫｉ６７の急速な減少を示した（図１６）。
【０１６９】
　これらの結果は、ＲＡＤ１９０１治療が、ＥＲ　ＷＴ異種移植片において、インビボでＥＲの分解及びＥＲのシグナル伝達の阻害をもたらすことを示唆している。
【０１７０】
　ＩＩＩ（Ｂ）（ｉｉ）ＲＡＤ１９０１治療は、実施例Ｉ（Ａ）（ｉｉｉ）（１）において上述されるように、変異体ＥＲ　ＰＤｘ－５モデルにおいて、ＥＲのシグナル伝達の低下をもたらした。
【０１７１】
　腫瘍を、投与の最終日後に指示された時点で採取し（別途特定されない限り）、Ｔｉｓｓｕｅｌｙｓｅｒ（Ｑｉａｇｅｎ）を用いてプロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤を有するＲＩＰＡ緩衝液中で均質化した。等量のタンパク質を、ＭＷによって分離し、ニトロセルロース膜に移し、材料及び方法の項：プロゲステロン受容体（ＰＲ、Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ；３１５３）に記載されるように、以下の抗体でブロットした。
【０１７２】
　バンドを、１Ｄ　Ｑｕａｎｔソフトウェア（ＧＥ）を用いて定量化し、実施例Ｉ（Ａ）（ｉｉｉ）（１）に記載されるように、ＰＤｘ－５モデルから得られたＰＲ　ＩＨＣ　Ａｌｌｒｅｄスコアを、図１７に示す。フルベストラントは、ＰＲの発現に対してほとんど影響を与えなかったが、ＲＡＤ１９０１は、６０ｍｇ／ｋｇ及び１２０ｍｇ／ｋｇの両方の投与量で有効性を示した（１日１回経口投与、図１７）。
【０１７３】
　これらの結果は、ある特定のＥＲα変異（例えばＹ５３７Ｓ）を発現する腫瘍については、ＲＡＤ１９０１が、腫瘍成長を阻害するときに、フルベストラントよりもさらに有効であり、フルベストラント治療に対してほとんど反応しなかった腫瘍の成長を阻害する際に特に有効であったことを示す（例えば３ｍｇ／用量の投与量で、週１回皮下注射、図６Ａ　ＰＤｘ－５）。さらに、フルベストラント治療に対してあまり反応しなかった腫瘍（例えばＰＤｘ－５）については、ＲＡＤ１９０１は、インビボでＰＲの発現を減少する際に有効であったが、フルベストラントは有効でなかった（図１７）。
【０１７４】
　実施例ＩＶ　子宮組織及び／またはＢＭＤに対するＲＡＤ１９０１治療の影響

ＩＶ（Ａ（１））：ＲＡＤ１９０１は、子宮組織のエストラジオール刺激を拮抗した。

【０１７５】

ＲＡＤ１９０１の子宮向性効果を、未成熟ラットにおいて、子宮重量、組織、及びＣ３遺伝子発現の変化を評価することによって調査した。代表的な試験からの結果を図１８Ａ～Ｄに示す。

【０１７６】

子宮向性活性の評価

Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙ仔ラットを、１９日齢で乳離れさせ、群（ｎ＝４）にランダム化し、ビヒクル（水性メチルセルロース）、Ｅ２（０．０１ｍｇ／ｋｇ）、ラロキシフェン（３ｍｇ／ｋｇ）、タモキシフェン（１ｍｇ／ｋｇ）、ＲＡＤ１９０１単独（０．３～１００ｍｇ／ｋｇ）、またはＥ２（０．０１ｍｇ／ｋｇ）と組み合わせたＲＡＤ１９０１（０．０１～１０ｍｇ／ｋｇ）を、必要に応じて、皮下注射または経口投与のいずれかで（上の試薬を参照されたい）１日１回３日間連続で投与した。最終投与から２４時間後、すべての動物を、二酸化炭素の吸入によって殺処分した。体重及び湿子宮重量を、各動物について記録した。同様のアッセイも、ラット及びマウス（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｍｏｎｔｒｅａｌ，ＱＣ）において、ＲＡＤ１９０１（０．０３～１００ｍｇ／ｋｇ）で行った。

【０１７７】

各ラットからの新鮮な子宮組織を、４％パラホルムアルデヒド中で固定し、エタノールで脱水し、ＪＢ４プラスチック製樹脂に包埋した。切片を８μｍで切断し、０．１％トルイジンブルーＯで染色した。子宮内膜上皮組織の厚さは、Ｚｅｉｓｓ　Ａｘｉｏｓｋｏｐ　４０顕微鏡及びＳｐｏｔ　Ａｄｖａｎｃｅｄプログラムを用いて測定し、標本当たり９つの測定の平均を計算した。

【０１７８】

子宮成分の成分３（Ｃ３）遺伝子発現

処置した子宮組織中のＣ３の相対的発現レベルを決定するために、ＲＮＡを、製造業者の取扱説明書に従って、Ｍｉｃｒｏ　ｔｏ　Ｍｉｄｉ　Ｔｏｔａｌ　ＲＮＡ精製キット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）を用いて残りの組織から抽出した。ＲＮＡを定量化し、Ｈｉｇｈ　Ｃａｐａｃｉｔｙ　ｃＤＮＡアーカイブキット（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，ＣＡ）を用いて、等量を逆転写した。

【０１７９】

ＡＢＩ　Ｐｒｉｓｍ　７３００　Ｓｙｓｔｅｍ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を用いて、定量的ＰＣＲを行った。Ｃ３に対して及び参照遺伝子として１８ＳリボソームＲＮＡに対してプローブセットを有するＴａｑｍａｎ　Ｕｎｉｖｅｒｓａｌ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘを用いて、ＰＣＲを行った。熱サイクル条件は、９５℃で１０分間の初期変性ステップ、続いて、９５℃で１５秒、及び６０℃で１分間の４０サイクルを含んだ。

【０１８０】

相対遺伝子発現を、内因性対照（１８Ｓ）に各試料を正規化し、較正器（ビヒクル）で比較することによって決定した。相対遺伝子発現を、等式：２－ΔΔＣｔ（式中、Ｃｔ＝サイクル閾値またはＰＣＲ生成物が最初に検出されたサイクル数、ΔＣｔ＝正規化した試料値、及びΔΔＣｔ＝投与された対象とビヒクルとの間の正規化差）を用いて決定した。５つの複製遺伝子発現の決定を、各試験内の各投与について行った。

【０１８１】

Ｅ２（０．０１ｍｇ／ｋｇ）、ラロキシフェン（ＲＡＬ、３ｍｇ／ｋｇ）、またはタモキシフェン（ＴＡＭ、１ｍｇ／ｋｇ）による治療は、ビヒクル単独と比較して、子宮湿重量の有意な増加をもたらし、一方、０．３～１００ｍｇ／ｋｇの範囲の用量でのＲＡＤ１９０１治療は、子宮湿重量に有意な影響を及ぼさなかった（図１８Ａ）。示されたデータ（図１８Ａ）は、平均（±平均誤差）、群当たりｎ＝４のラット、Ｐ対ビヒクル：＊<０．０５；対Ｅ２：‡<０．０５である。さらに、Ｅ２（０．０１ｍｇ／ｋｇ）と併用投与

された場合に、ＲＡＤ１９０１は、用量依存的様式においてＥ２の媒介による子宮の刺激を拮抗し、０．１ｍｇ／ｋｇ以上の用量で子宮向性活性の有意な阻害及び３ｍｇ／ｋｇで完全な阻害を示した。ＲＡＤ１９０１のＥＣ$_{50}$は、約０．３ｍｇ／ｋｇであった。０．０３～１００ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１投与もまた、子宮湿重量または上皮の厚さに影響を及ぼさなかったマウスにおいて、同様の結果を得た（データ示さず）。

【０１８２】

子宮組織における治療依存的変化を、定量的顕微鏡組織学によってさらに調査した。０．０１及び０．３ｍｇ／ｋｇの両方でＥ２による治療後の、子宮内膜上皮の厚さの統計的に有意な増加があった（図１８Ｂ）。上皮の厚さの有意な増加はまた、タモキシフェン（１ｍｇ／ｋｇ）またはラロキシフェン（３ｍｇ／ｋｇ）による治療後にも観察された。対照的に、ＲＡＤ１９０１治療は、最も高く評価された用量の１００ｍｇ／ｋｇまで子宮内膜上皮の厚さを増加しなかった。子宮内膜上皮の代表的な画像を、図１８Ｃに示す。

【０１８３】

子宮重量及び子宮内膜上皮の厚さの両方の変化と一致して、Ｅ２、タモキシフェン、及びラロキシフェンはすべて、エストロゲンを調節した成分遺伝子Ｃ３の発現を有意に増加した（図１８Ｄ）。対照的に、ＲＡＤ１９０１は、試験した用量のいずれか（０．３～１００ｍｇ／ｋｇ）でＣ３遺伝子発現を増加しなかった。さらに、１、３、及び１０ｍｇ／ｋｇのＲＡＤ１９０１は、Ｅ２で刺激されたＣ３遺伝子発現を有意に抑制した。

【０１８４】

ＲＡＤ１９０１は、未成熟雌ラットの子宮を刺激しなかった。

未成熟雌ラットに、ビヒクル（ＶＥＨ）、エストラジオール（Ｅ２）、ラロキシフェン（ＲＡＬ）、タモキシフェン（ＴＡＭ）、ＲＡＤ１９０１、またはＲＡＤ１９０１＋Ｅ２で３日間連続して１日１回投与（経口）した。子宮湿重量を測定した。示されたデータ（図１８）は、平均（±平均誤差）、群当たりｎ＝４のラット、Ｐ対ビヒクル：＊＜０．０５；対Ｅ２：‡＜０．０５である。

【０１８５】

実施例ＩＩ（Ａ）（２）．ＲＡＤ１９０１による治療は、卵巣摘出ラットにおいて骨量の減少を防いだ。

ＲＡＤ１９０１の骨特異的効果を、卵巣摘出ラットにおいて試験した。

【０１８６】

閉経後骨量減少のモデルとして、麻酔をかけた雌Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットにおいて、卵巣摘出術を行い、対照として偽手術を行った。手術後、群当たり２０匹の動物を有する、卵巣摘出ラットを、ビヒクル、Ｅ２（０．０１ｍｇ／ｋｇ）、またはＲＡＤ１９０１（０．１、０．３、１、３ｍｇ／ｋｇ）で４週間１日１回処置し、上述のように投与した。偽手術群の動物は、ビヒクルで処置した。すべての動物を、最終投与から２４時間後に、二酸化炭素の吸入によって殺処分した。ＰＩＸＩｍｕｓ二重発光Ｘ線吸光光度法を用いて、骨ミネラル濃度を、ベースラインさらに処置から４週間後に評価した。

【０１８７】

剖検時に、各動物の左大腿骨を除去し、軟組織がないように切開し、分析前に７０％エタノール中に保存した。マイクロ－ＣＴ４０システム（Ｓｃａｎｃｏ Ｓｙｓｔｅｍｓ, Ｗａｙｎｅ, ＰＡ）を用いて、詳細な定性的及び定量的３Ｄ評価を行った。各標本については、大腿遠位骨幹端の２５０の画像枚数を必要とした。予め選択された分析領域において直接３Ｄアプローチを用いて、形態学的パラメータを決定した。骨梁において決定されたパラメータは、骨体積密度、骨表面密度、骨梁数、骨梁幅、骨梁中心距離、連結密度、及び見掛け骨密度を含んだ。

【０１８８】

卵巣摘出術後、未処置（ビヒクル対照）ラットは、ベースラインと比較して、完全大腿骨全体及び腰椎の両方の骨ミネラル濃度を減少した（表４）。Ｅ２による治療は、大腿骨及び脊椎の両方の骨量減少の防止と関連した。ＲＡＤ１９０１による治療は、卵巣摘出術で誘発した骨量減少の用量依存的で統計的に有意な抑制をもたらした（３ｍｇ／ｋｇの処

置群について示されたデータ）。０．１ｍｇ／ｋｇ～３ｍｇ／ｋｇの用量で、ＲＡＤ１９０１で処置したラットにおける骨ミネラル濃度は、完全であり、Ｅ２で処置した群と統計的に有意差はなかった。

【０１８９】

大腿遠位のマイクロＣＴ分析（表５）は、卵巣摘出術が、偽手術動物と比較した場合に、多数の主なマイクロアーキテクチャパラメータの有意な変化を誘発したことを示した。これらの変化は、骨量の減少と一致し、骨体積の減少、骨梁数、厚さ、及び密度の減少、ならびに骨梁間隔の増加を含む。ＲＡＤ１９０１による処置後に観察された骨ミネラル濃度の保存と一致して、骨梁アーキテクチャの有意な保存は、主なマイクロ構造パラメータにおいて観察された（表５）。

【０１９０】

実施例ＩＶ（Ｂ）：健常な閉経後の女性におけるＲＡＤ１０１の第１相用量漸増試験

【０１９１】

第１相試験では、安全性、耐性、及び薬物動態が、４４人の健常な閉経後の女性において評価された。用量を制限する毒性（ＤＬＴ）は観察されず、最大耐容量（ＭＴＤ）は構築されなかった。血漿曝露は、試験した用量範囲にわたって用量比例的よりも増加した。

【０１９２】

対象

４４人の健常な閉経後の女性を、この第１相試験の対象として登録した。対象は、少なくとも１２か月間無月経であり、血清ＦＳＨが閉経と一致した。対象は、１８．０～３０ｋｇ／ｍ^{2}のＢＭＩを有する、４０～７５歳であった。臨床的に関連する病理の証拠を有し、卒中もしくは過去に静脈血栓塞栓事象のリスク増加がある、または臨床研究センターに登録する１４日以内に併用薬（パラセタモールは、３日前まで許容された）の使用を有する患者は、除外された。

【０１９３】

投与

対象を、それぞれ、２００ｍｇ、５００ｍｇ、７５０ｍｇ、及び１０００ｍｇの用量レベルで、軽い朝食後に、プラセボまたは少なくとも１つの経口量で毎日７日間治療した。第１相試験に登録した４４人の閉経後の女性の主なベースライン人口統計を、表６に要約する。

【０１９４】

治療中に発生した有害事象（ＴＥＡＥ）

ＴＥＡＥを記録し、最も頻繁に起こる（任意の関連したＴＥＡＥを有した全活性群の患者の１０％超）有害事象（ＡＥ）を表７に要約し、「ｎ」は、所与のカテゴリー中の少なくとも１つの治療に関連したＡＥを有する対象の数であり、ＡＥは有害事象共通用語規準（ＣＴＣＡＥ）ｖ４．０のように等級分けされ、同じ優先使用語の複数のシナリオを有する任意の患者は、最も重度のグレードまで１回のみ計数した。用量を制限する毒性は観察されず、最大耐容量（ＭＴＤ）は構築されなかった。

【０１９５】

薬物動態評価

血漿中のＲＡＤ１９０１の分析のための試験期間中に、一連の血液試料を採血した。留置ＩＶカテーテルを介して、または抗凝血剤としてK_3－ＥＤＴＡを含有するチューブへの直接静脈穿刺によって、５ｍＬの血液試料をそれぞれ、採血した。定常状態は、治療から５日目で達成した。ＲＡＤ１９０１の幾何平均（Ｇｅｏ－Ｍｅａｎ）血漿濃度－時間プロファイルを評価した。試験において、７日目のＲＡＤ１９０１（２００、５００、７５０、または１，０００ｍｇ）により治療した群（Ｎ＝３５）の血漿薬物動態の結果を、例として、表８及び図１９に提供する。中央値$t_{1/2}$は、３７．５～４２．３時間であった（表８）。ＲＡＤ１９０１の複数回投与後、中央値t_{max}は、投与後の３～４時間であった。

【０１９６】

実施例Ｖ（Ａ）－１．選択公開されたＥＲ構造を用いたＲＡＤ１９０１－ＥＲα結合のモデリング。

別途記述がない限り、構造をそれらのスティックモデルで示す場合、結合の各末端を、それに結合する原子と同じ色で色付けし、灰色は炭素であり、赤色は酸素であり、青色は窒素であり、白色は水素である。

【０１９７】

様々なＥＲリガンド複合体形成されたＥＲαリガンド結合ドメイン（ＬＢＤ）の１４の公開された構造（すなわち、モデル）を、慎重な評価によって９６の公開されたモデルから選択した。これらの１４のモデルのうちの１つは、３ＥＲＴ（４－ヒドロキシタモキシフェンに結合したヒトＥＲα　ＬＢＤ（ＯＨＴ））であった。ＯＨＴは、タモキシフェンの活性代謝産物で、乳房組織中のアンタゴニストとしての役割を果たす第一世代のＳＥＲＭである。

【０１９８】

３ＥＲＴ（図２０及び２１）では、ＥＲα結合部位は、らせん３（Ｈ３）、らせん５（Ｈ５）、及びらせん１１（Ｈ１１）を含む疎水性ポエットを形成する３つの層「らせんサンドイッチ」を導入する（図２０）。図２１中の点線の箱は、結合部位、及び重要であるまたはＯＨＴ結合によって達成される結合部位内の残基を表す。ＯＨＴは、ＬＸＸＬＬコアクチベータ（複数可）を結合する部位にＨ１２を置換することによって、アンタゴニストとして役割を果たす。ＯＨＴは、Ｌ５４０によって正常に充填したスペースを占有し、らせん１１のＣ末端上に４つの残基（Ｇ５２１、Ｈ５２４、Ｌ５２５、及びＭ５２８）の立体構造を修飾する。ＯＨＴはまた、Ｄ３５１との塩橋を形成し、電荷中和をもたらす。

【０１９９】

その他の１３のＥＲα　ＬＢＤ－ＥＲリガンドモデルを、３ＥＲＴと比較した。それらの残基構造の違いを、表１０に要約する。１４のモデルのＥＲα構造の重ね合わせ（図２２）は、これらの構造が、残基Ｅ３８０、Ｍ４２１、Ｇ５２１、Ｍ５２２、Ｈ５２４、Ｙ５２６、Ｓ５２７、Ｍ５２８、Ｐ５３５、Ｙ５３７、Ｌ５４０、及びこれらの様々な組み合わせで有意に異なったことを示す。

【０２００】

１４のモデルの任意の対の標準偏差（ＲＭＳＤ）の計算を、表１１に要約する。構造は、ＲＭＳＤが２Å未満であった場合に、重なり合うと見なされた。表１１は、すべての１４のモデルが、１．５Å未満のＲＭＳＤを有したことを示す。フォーマット分析の使用は、１Ｒ５Ｋ及び３ＵＵＣが、他のモデルにあまり同様でなかったことを示唆した（分析は示さず）。したがって、１Ｒ５Ｋ及び３ＵＵＣは、試験された固有の別々の構造クラスターであると見なされた。

【０２０１】

１４のモデルにおけるリガンドによって結合されたＥＲα残基を、表１２に要約する。表１２はまた、ＥＲα　ＬＢＤ－アンタゴニスト複合体における$ＥＣ_{５０}$を示す。１４のモデルのうち、１３のモデルは、リガンドとＥ３５３との間のＨ結合相互作用を示し、１２のモデルは、リガンドとＦ４０４との間のπ相互作用を示し、５つのモデルは、リガンドとＤ３５１との間のＨ結合相互作用を示し、６つのモデルは、リガンドとＨ５２４との間のＨ結合相互作用を示し、４つのモデルは、リガンドとＲ３９４との間のＨ結合相互作用を示し、１つのモデル（３ＵＵＣ）は、リガンドとＴ３４７との間の相互作用を示した。

【０２０２】

１４のモデルの各々は、リガンドに加えて１，０００の化合物のランダムライブラリーをドックするために使用し、このモデルは、周知のアンタゴニストを特定し、優先順位を付け得るかどうかを決定するために、（周知のアンタゴニスト）と共に公開された。このモデルが周知のアンタゴニストを特定し得る場合、このモデルは、それ自体が公開されたリガンドの構造を予測することができることが決定された。次いで、$ＥＦ_{５０}$を計算して、ランダム選択よりもいかに良好であるかを知るためにモデルの強度を定量化した。ＲＡ

Ｄ１９０１を、選択したモデルにドッキングした（例えば図２３Ａ及びＢ～２７Ａ及びＢ）。モデルにおける公開されたリガンド及びＲＡＤ１９０１のドッキングスコアを決定した。また、ＥＣ$_{５０}$も決定した。ＲＡＤ１９０１の目視検査は、それが、１Ｒ５Ｋ、１ＳＪ０、２ＪＦＡ、２ＢＪ４、２ＯＵＺにおいて公開されたリガンドと共に示される相互作用に「従う」ことを示した。空間不調和は認められなかった。ある特定の実施形態では、例えば、１Ｒ５ｋ及び２ＢＪ４において、ＲＡＤ１９０１は、公開されたリガンドよりも高いドッキングスコアを有した。

【０２０３】

９つのモデル（１ＥＲＲ、３ＥＲＴ、３ＵＣＣ、２ＩＯＫ、１Ｒ５Ｋ、１ＳＪ０、２ＪＦＡ、２ＢＪ４、及び２ＯＵＺ）の評価結果を、表１３に要約する。

【０２０４】

１ＥＲＲ及び３ＥＲＴは、それらの結晶リガンドの正確な構造を予測することができなかった。ＲＡＤ１９０１は、３ＵＣＣにドッキングされなかった。２ＩＯＫ－ＲＡＤ１９０１においてテトラヒドロナフタアレンは非伝統的な様式で結合した。

【０２０５】

モデル１Ｒ５Ｋ、１ＳＪ０、２ＪＦＡ、２ＢＪ４、及び２ＯＵＺの間の大きな違いは、らせん１１のＣ末端の残基（Ｇ５２１－Ｍ５２８）であった。

【０２０６】

図２３Ａ及びＢは、ＲＡＤ１９０１－１Ｒ５Ｋ（Ａ）及びＧＷ５－１Ｒ５Ｋ（Ｂ）のモデリングを示す。ＲＡＤ１９０１は、Ｅ３５３、Ｒ３９４、及びＬ５３６とのＨ結合相互作用ならびにＦ４０４とのｐ相互作用で結合した。

【０２０７】

図２４Ａ及びＢは、ＲＡＤ１９０１－１ＳＪ０（Ａ）及びＥ４Ｄ－１ＳＪ０（Ｂ）のモデリングを示す。ＲＡＤ１９０１は、Ｅ３５３及びＤ３５１とのＨ結合相互作用ならびにＦ４０４とのｐ相互作用で結合した。

【０２０８】

図２５Ａ及びＢは、ＲＡＤ１９０１－２ＪＦＡ（Ａ）及びＲＡＬ－２ＪＦＡ（Ｂ）のモデリングを示す。ＲＡＤ１９０１は、Ｆ４０４とのｐ相互作用で結合した。

【０２０９】

図２６Ａ及びＢは、ＲＡＤ１９０１－２ＢＪ４（Ａ）及びＯＨＴ－２ＢＪ４（Ｂ）のモデリングを示す。ＲＡＤ１９０１は、Ｅ３５３及びＲ３９４とのＨ結合相互作用ならびにＦ４０４とのｐ相互作用で結合した。

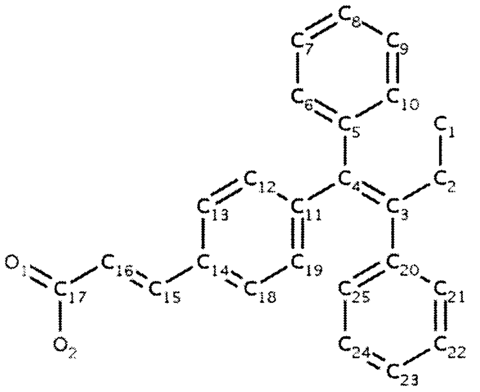
【０２１０】

図２７Ａ及びＢは、ＲＡＤ１９０１－２ＩＯＫ（Ａ）及びＩＯＫ－２ＩＯＫ（Ｂ）のモデリングを示す。ＲＡＤ１９０１は、Ｅ３５３、Ｒ３９４、及びＤ３５１とのＨ結合相互作用ならびにＦ４０４とのｐ相互作用で結合した。

【０２１１】

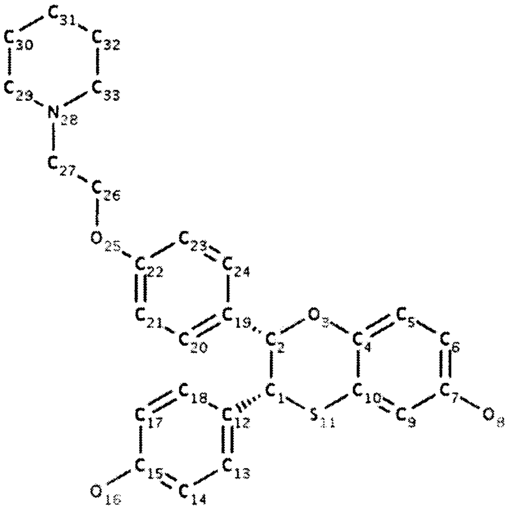
モデルにおいて公開したリガンドは、以下の構造を有する：

【化３】



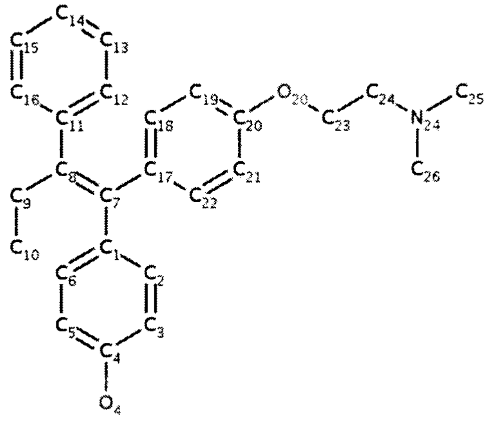
ＧＷ５、（２Ｅ）－３－｛４－［（１Ｅ）－１，２－ジフェニルブタ－１－エニル］フェニル｝アクリル酸

【化４】



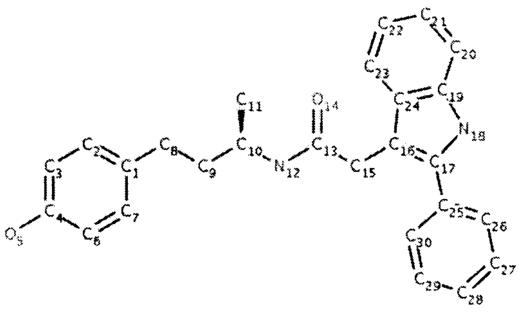
Ｅ４Ｄ、（２Ｓ，３Ｒ）－２－（４－（２－（ピペリジン－１－イル）エトキシ）フェニル）－２，３－ジヒドロ－３－（４－ヒドロキシフェニル）ベンゾ［Ｂ］［１，４］オキサチイン－６－オール

【化５】



ＯＨＴ、４－ヒドロキシタモキシフェン

【化６】



ＩＯＫ、Ｎ－［（１Ｒ）－３－（４－ヒドロキシフェニル）－１－メチルプロピル］－２－（２－フェニル－１Ｈ－インドール－３－イル）アセトアミド

【０２１２】

実施例Ｖ（Ａ）－２．ＲＡＤ１９０１及びフルベストラントによるＥＲαの誘導適合ドッキング（ＩＦＤ）

ＥＲαにおいて、ＲＡＤ１９０１の結合立体構造は、５つのＥＲα結晶構造１Ｒ５Ｋ、１ＳＪ０、２ＪＦＡ、２ＢＪ４、及び２ＯＵＺのＩＦＤ分析によってさらに最適化された。ＩＦＤ分析は、その正確な結合立体構造に適合するために（リガンド結合時の）受容体柔軟性を明らかにした。

【０２１３】

各リガンド（例えばＲＡＤ１９０１及びフルベストラント）に対して異なる立体構造のライブラリーは、回転結合について回転の関数として局所最小値を探すことによって生成した。ＲＡＤ１９０１のライブラリーは、２５の異なる立体構造を有した。

【０２１４】

５つのＥＲα結晶構造を調製し、最小化した。公開されたＸ線構造において対応するリガンドは、ＥＲα結合ポケットを定義するために使用した。

【０２１５】

ＲＡＤ１９０１の立体構造は、調製されたＥＲα構造にドッキングして、結合ポケットに位置する残基への側鎖または骨格運動を誘導することを可能にした。これらの運動は、ＥＲαがその結合部位を変化させることを可能にし、そのため、ＲＡＤ１９０１の立体構造の形状及び結合様式にさらに密接に適合した。いくつかの例では、受容体構造における小さな骨格弛緩及び有意な側鎖の立体構造の変化が、ＩＦＤ分析において可能になった。

【０２１６】

経験的スコアリング関数は、ドッキングスコアまたはＧスコアを提供するために、リガンド結合自由エネルギーを概算するために使用した。Ｇスコアはまた、ＧｌｉｄｅＳｃｏｒｅとして知られており、この実施例では、ドッキングスコアと同義に使用してもよい。ドッキングスコアは、結合親和性の推定値であった。したがって、ドッキングスコアの値が低いほど、「より良好に」リガンドがその受容体に結合した。－１３～－１４のドッキングスコアは、非常に良好な結合相互作用に相当した。

【０２１７】

１Ｒ５Ｋ、１ＳＪ０、２ＪＦＡ、２ＢＪ４、及び２ＯＵＺによるＩＦＤ分析から得られたＲＡＤ１９０１の立体構造は、それぞれ、それらの違いを示すために重ね合わせた（図２８～３０Ａ及びＢ、スティックモデルにおいて示される）。各ＲＡＤ１９０１の立体構造におけるすべての結合を、図２８、２９、及び３０Ａにおいて同じ色で示した。

【０２１８】

１Ｒ５Ｋ（青色）及び２ＯＵＺ（黄色）によるＩＦＤ分析から得られたＲＡＤ１９０１の立体構造は、前面にＲＡＤ１９０１のＮ－ベンジル－Ｎ－エチルアニリン基を有した（図２８）。２ＢＪ４（緑色）及び２ＪＦＡ（ピンク色）によるＩＦＤ分析から得られたＲ

ＡＤ１９０１の立体構造は、背面にＲＡＤ１９０１のＮ－ベンジル－Ｎ－エチルアニリン基を有した（図２９）。２ＢＪ４（緑色）、２ＪＦＡ（ピンク色）、及び１ＳＪ０（茶色）によるＩＦＤ分析から得られたＲＡＤ１９０１の立体構造は、それらの重ね合わせによって示されるように、ほぼ同様であった（図３０Ａ及び３０Ｂ）。ＲＡＤ１９０１のＩＦＤドッキングスコアを表１４に要約する。

【０２１９】

２ＢＪ４によるＲＡＤ１９０１のＩＦＤは、Ｅ３５３及びＤ３５１との水素結合相互作用及びＦ４０４とのπ相互作用を示した（図３１Ａ～３１Ｃ）。図３１Ａは、Ｈ結合受容体基（赤色）、Ｈ結合ドナー基（青色）、及び疎水性基（黄色）に適している結合部位内の領域を示した。図３１Ａ及び３１Ｂでは、薄青色は、ＲＡＤ１９０１の炭素に対するものであった。図３２Ａ～３２Ｃは、ＲＡＤ１９０１と２ＢＪ４とのＩＦＤのタンパク質表面の相互作用を示す。図３２Ａ及び３２Ｂは、正面図であり、図３２Ｃは、側面図である。ＲＡＤ１９０１の分子表面は、図３２Ａ中では青色であり、図３２Ｃ中では緑色であった。図３２Ｂ及び３２Ｃは、ＥＲαの溶媒接触可能性のある表面の静電気を示し、赤色は陰性を示し、青色は陽性を示した。

【０２２０】

上述のように、２ＢＪ４とのフルベストラントに対して、同様のＩＦＤ分析を行った。フルベストラント－２ＢＪ４のＩＦＤは、－１４．９４５のＧスコアをもたらし、Ｅ３５３、Ｙ５２６、及びＨ５２４との水素結合相互作用、ならびにＦ４０４とのπ相互作用を示した（図３３Ａ～３３Ｃ）。図３３Ａは、Ｈ結合受容体基（赤色）、Ｈ結合ドナー基（青色）、及び疎水性基（黄色）に適している結合部位内の領域を示した。図３３Ａでは、薄青色は、ＲＡＤ１９０１において炭素に対するものであった。

【０２２１】

図３４Ａ及び３４Ｂは、ＩＦＤによって２ＢＪ４にドックされたＲＡＤ１９０１及びフルベストラントがＦ４０４とのπ相互作用及びＥ３５３との水素結合相互作用の両方を有したことを示した。さらに、ＲＡＤ１９０１は、Ｄ３５１との水素結合相互作用を有した（青色は、ＲＡＤ１９０１分子表面を表す、図３４Ｂ）が、一方、フルベストラントは、Ｙ５２６及びＨ５２４との水素結合相互作用を有した（緑色は、フルベストラント分子表面を表す、図３４Ｃ）。ＲＡＤ１９０１及びフルベストラントでドッキングされた２ＢＪ４の重ね合わせを、図３５Ａ及び３５Ｂに示す。図３５Ａでは、緑色は、フルベストラント分子表面を表し、青色は、ＲＡＤ１９０１分子表面を表す。図３５Ｂでは、茶色構造は、フルベストラントであり、青色構造は、ＲＡＤ１９０１である。

【０２２２】

実施例Ｖ（Ａ）－３．選択ＥＲα変異のモデリング評価。

Ｃ末端リガンド結合ドメイン上の様々なＥＲα変異の効果を評価した。評価した特定のＥＲα変異は、Ｙ５３７Ｘ変異体（式中、Ｘは、Ｓ、Ｎ、またはＣである）、Ｄ５３８Ｇ、及びＳ４６３Ｐであった。

【０２２３】

らせん１２中のＹ５３７残基。それは、一旦リン酸化されると、リガンド結合、ホモ二量体化、及びＤＮＡ結合を調節し得、ＥＲαがリン酸化によって媒介された対照を逃れ、潜在的に選択的な腫瘍形成の利点を有する細胞を提供することを可能にし得る。加えて、それは、受容体を構造的に活性にする立体構造を変化させ得る。

【０２２４】

Ｙ５３７Ｓ変異は、リガンドによって占有されているかどうかにかかわらず、転写活性のある閉鎖したポケット構造が好ましい。閉鎖しているが、占有されていないポケットは、ＥＲαの構成的活性を説明し得る（Ｃａｒｌｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　３６：１４８９７－１４９０５（１９９７））。Ｓｅｒ５３７は、Ａｓｐ３５１との水素結合相互作用を構築し、らせん１１～１２のループの変化した構造及び溶媒が到達しにくい位置のＬｅｕ５３６の埋設をもたらす。これは、Ｙ５３７Ｓ変異体タンパク質の構成的活性の一因となり得る。Ｙ５３７Ｓ表面変異は、ＬＢＤポケットの表面上に影響

を及ぼさない。

【０２２５】

Ｙ５３７Ｎは、ＥＲα陰性転移性乳癌でよく見られる。この部位の変異は、ＥＲαがリン酸化によって媒介された対照を逃れ、潜在的に選択的な腫瘍形成の利点を有する細胞を提供することを可能にし得る。具体的には、Ｙ５３７Ｎ置換は、ホルモン結合を模倣し得るＥＲαにおいて構造変化を誘導し、受容体の二量化する能力に影響を及ぼさないが、受容体への構成的トランス活性化機能を与える（Ｚｈａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　５７：１２４４−１２４９（１９９７））。

【０２２６】

Ｙ５３７Ｃは、Ｙ５３７Ｎと同様の効果を有する。

【０２２７】

Ｄ５３８Ｇは、より好ましくは活性構造であるが、活性及び不活性の両方の構造を安定化させることによって全エネルギー景観を変え得る。これは、ホルモン耐性乳癌において観察されるように、ホルモンの不在下でこの変異体の構成的活性をもたらし得る（Ｈｕａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，“Ａ　ｎｅｗｆｏｕｎｄ　ｃａｎｃｅｒ−ａｃｔｉｖａｔｉｎｇ　ｍｕｔａｔｉｏｎ　ｒｅｓｈａｐｅｓ　ｔｈｅ　ｅｎｅｒｇｙ　ｌａｎｄｓｃａｐｅ　ｏｆ　ｅｓｔｒｏｇｅｎ−ｂｉｎｄｉｎｇ　ｄｏｍａｉｎ，”Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｔｈｅｏｒｙ　Ｃｏｍｐｕｔ．１０：２８９７−２９００（２０１４））。

【０２２８】

これらの変異のいずれも、リガンド結合ドメインに影響を及ぼすまたは具体的には、ＲＡＤ１９０１結合を妨げることを期待されない。Ｙ５３７及びＤ５３８は、リガンド結合と無関係である構成的受容体の活性化をもたらす立体構造を変化させ得る。

【０２２９】

実施例Ｖ（Ｂ）．ＲＡＤ１９０１及び他の化合物による野生型及びＬＢＤ変異体のＥＲα構築物のインビトロ結合アッセイ。

ＲＡＤ１９０１による野生型（ＷＴ）及びＬＢＤ変異体のＥＲα構築物のインビトロ結合アッセイは、ＲＡＤ１９０１がＷＴ　ＥＲαと同様の親和性を有する変異体ＥＲαと結合したことを示した。

【０２３０】

ＷＴ及びＬＢＤ変異体のＥＲα構築物は、発現し、Ｎ末端チオレドキシン及びＴＥＶプロテアーゼによって切断された６ｘＨｉｓタグで対応するＬＢＤ残基３０２〜５５２を精製することによって調製した。

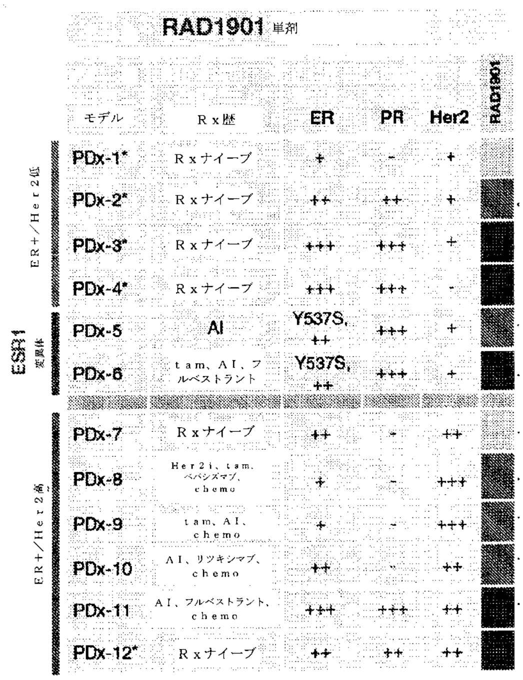
【０２３１】

蛍光偏光（ＦＰ）は、製造業者の取扱説明書（Ｐｏｌａｒ　Ｓｃｒｅｅｎ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）のように、２ｎＭ　フルオロモン、１００ｎＭ　ＷＴまたはＬＢＤ変異体のＥＲα構築物を用いて、ＥＲαへの試験化合物（ＲＡＤ１９０１、フルベストラント、バゼドキシフェン、ラロキシフェン、タモキシフェン、及びＡＺＤ９４９６）の結合を決定するために使用した。各セットは、二重に行われ、異なるＥＲα構築物に対する$ＩＣ_{５０}$を決定するためにある試験化合物を試験した（ＲＡＤ１９０１結合アッセイについては図３６）。

【０２３２】

上記のように、前述は、本発明の様々な実施形態を例示することを単に意図するものである。上に論じられる特定の改変は、本発明の範囲の限定と解釈されるべきではない。様々な同等物、変更、及び改変が本発明の範囲から逸脱することなくなされ得ることは、当業者にとって明らかであろうから、かかる同等の実施形態が、本明細書中に含まれるべきことも理解されるべきである。本明細書中に引用されたすべての参考文献は、あたかも本明細書に完全に記載されているかのように、参照により組み込まれる。

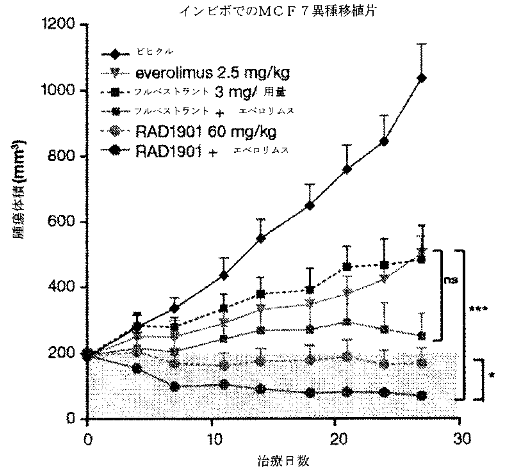
【図１】



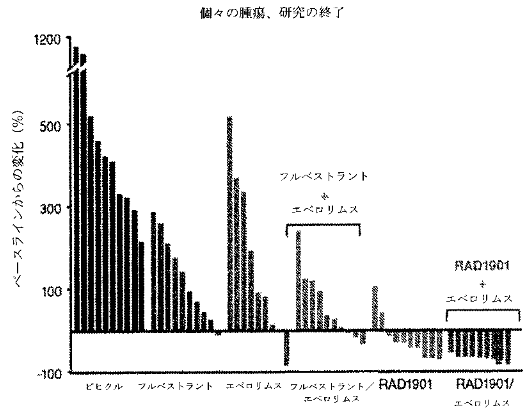
RAD1901 単剤

	モデル	Ｒｘ歴	ER	PR	Her2	RAD1901
ＥＲ＋／Ｈｅｒ２低	PDx-1*	Ｒｘナイーブ	+	-	+	
	PDx-2*	Ｒｘナイーブ	++	++	+	
	PDx-3*	Ｒｘナイーブ	+++	+++	+	
	PDx-4*	Ｒｘナイーブ	+++	+++	-	
ESR1 変異体	PDx-5	AI	Y537S, ++	+++	+	
	PDx-6	ｔａｍ、ＡＩ、フルベストラント	Y537S, ++	+++	+	
ＥＲ＋／Ｈｅｒ２高	PDx-7	Ｒｘナイーブ	++	-	++	
	PDx-8	Ｈｅｒ２ｉ、ｔａｍ、ベバシズマブ、ｃｈｅｍｏ	+	-	+++	
	PDx-9	ｔａｍ、ＡＩ、ｃｈｅｍｏ	+	-	+++	
	PDx-10	ＡＩ、リツキシマブ、ｃｈｅｍｏ	++	-	++	
	PDx-11	ＡＩ、フルベストラント、ｃｈｅｍｏ	+++	+++	++	
	PDx-12*	Ｒｘナイーブ	++	++	++	

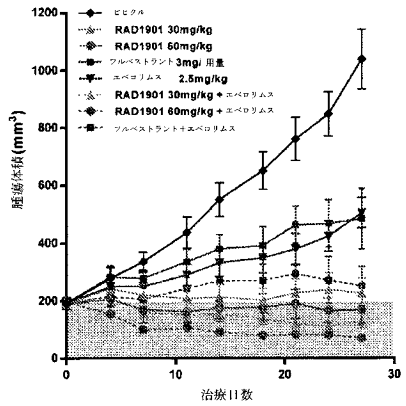
【図２Ａ】



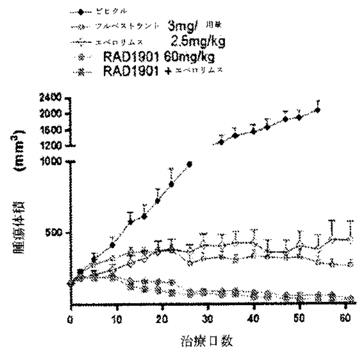
【図２Ｂ】



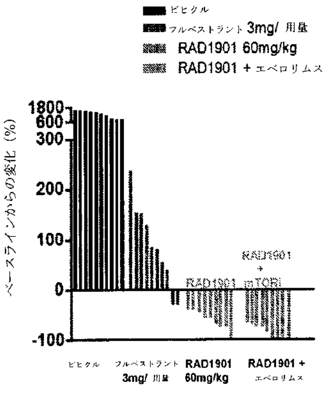
【図２Ｃ】



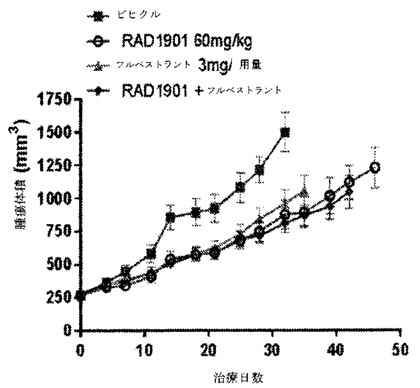
【図３Ａ】



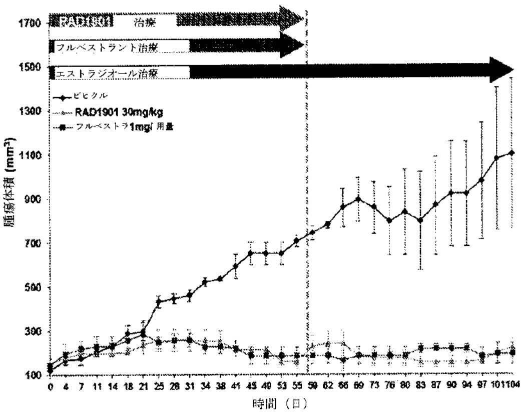
【図３Ｂ】



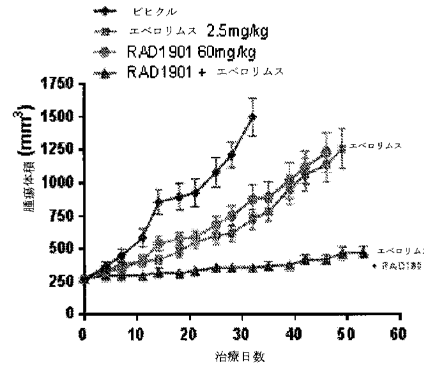
【図４】



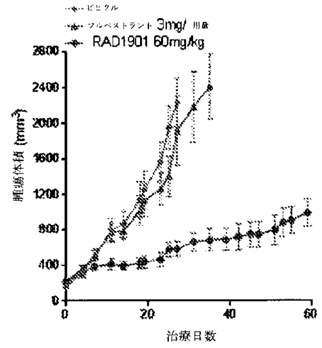
【図５】



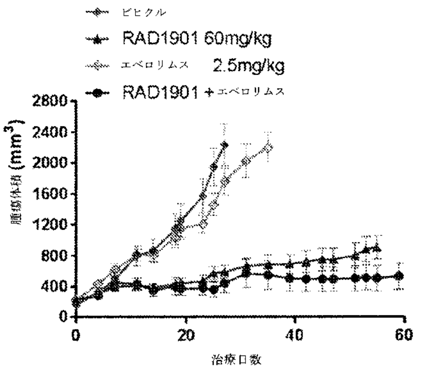
【図４Ｂ】



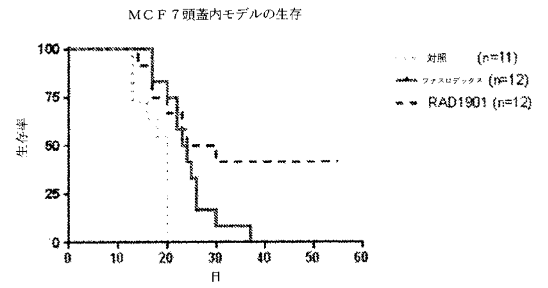
【図６Ａ】



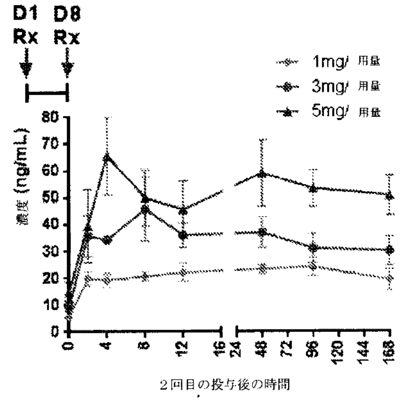
【図６Ｂ】



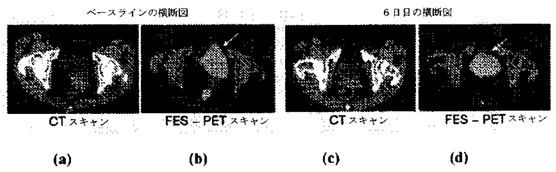
【図８】



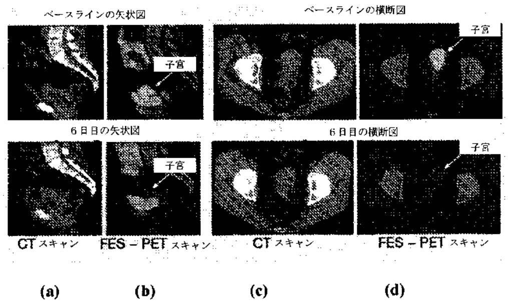
【図７】



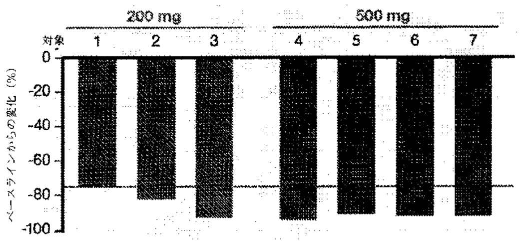
【図９Ａ】



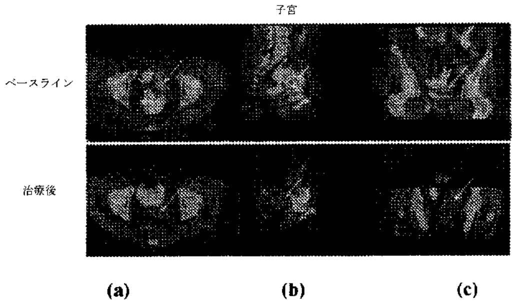
【図９Ｂ】



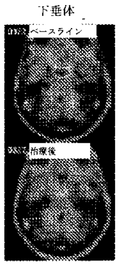
【図９Ｃ】



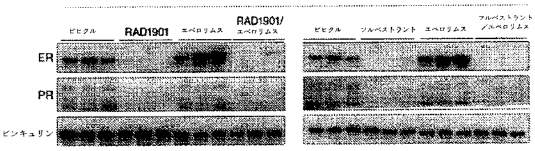
【図１０Ａ】



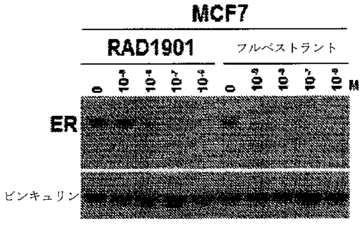
【図１０Ｂ】

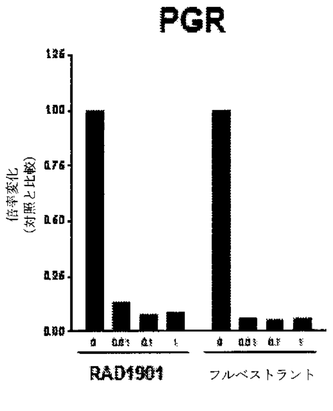


【図１１】

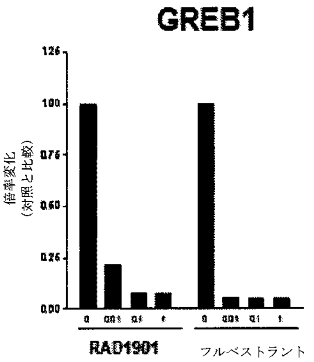


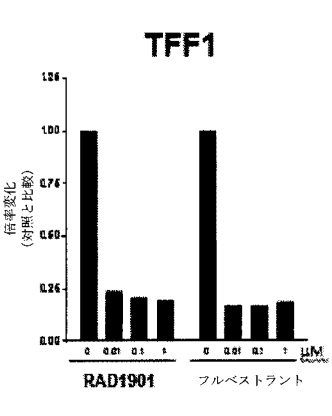
【図１２Ａ】



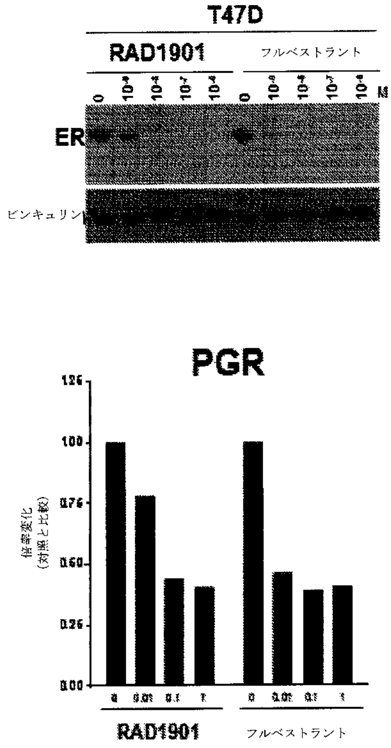


【図１２Ａ－２】

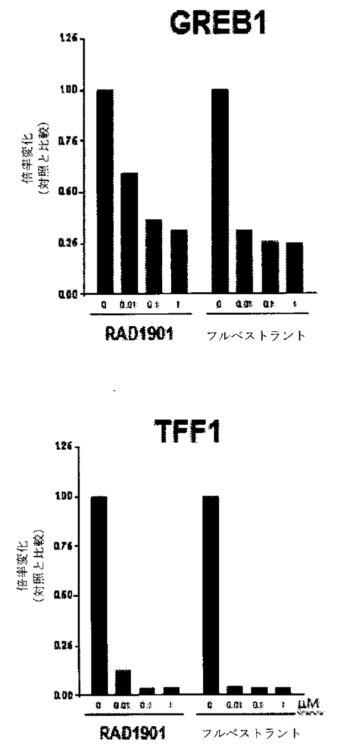




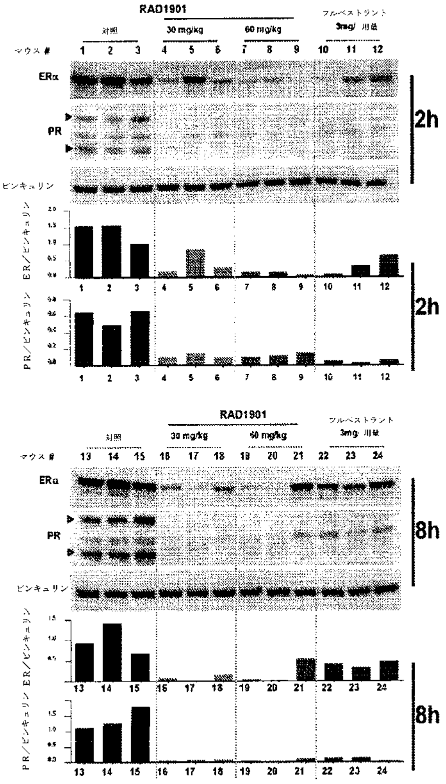
【図１２Ｂ】



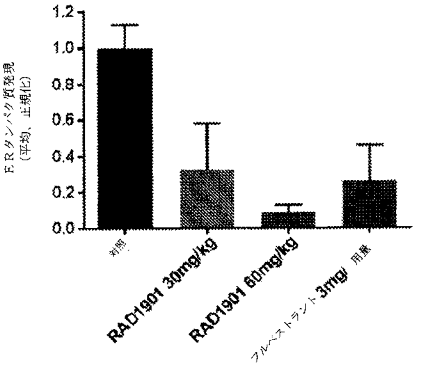
【図１２Ｂ－２】



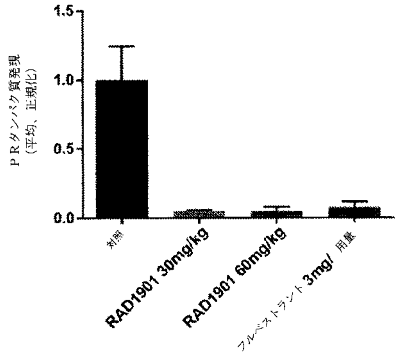
【図１３Ａ】



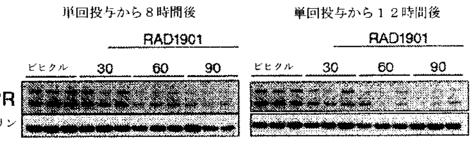
【図１３Ｂ】



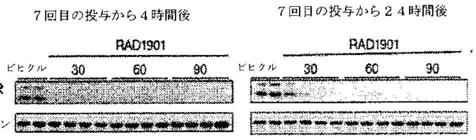
【図１３Ｃ】



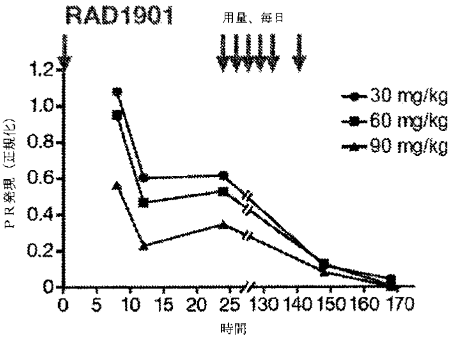
【図１４Ａ】



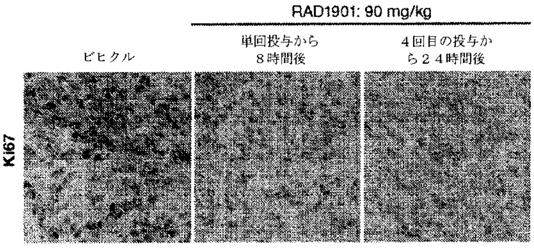
【図１４Ｂ】



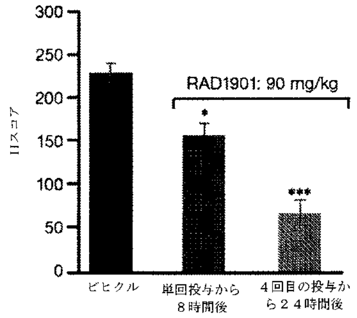
【図１４Ｃ】



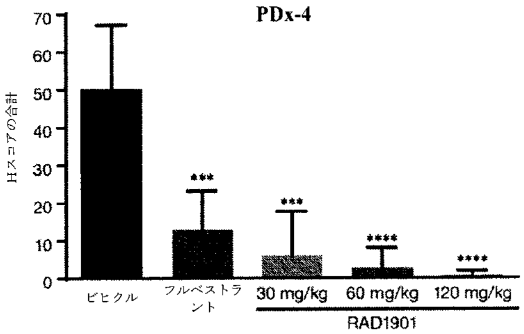
【図１５Ａ】



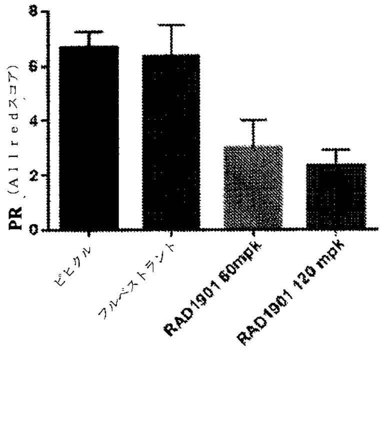
【図１５Ｂ】



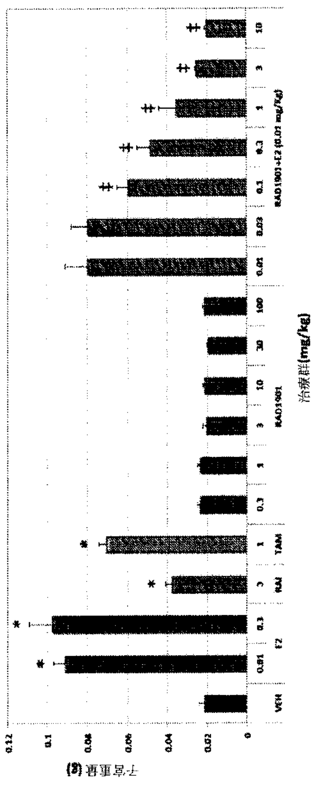
【図１６】



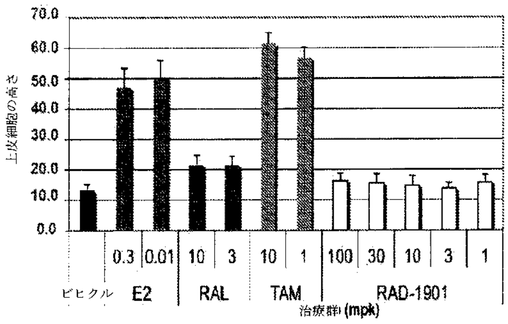
【図１７】



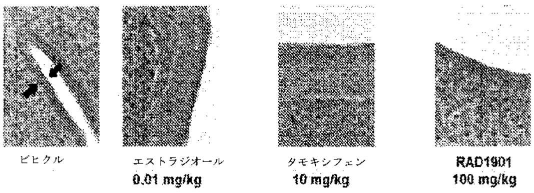
【図１８Ａ】



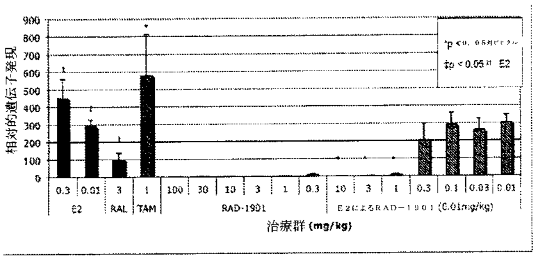
【図１８Ｂ】



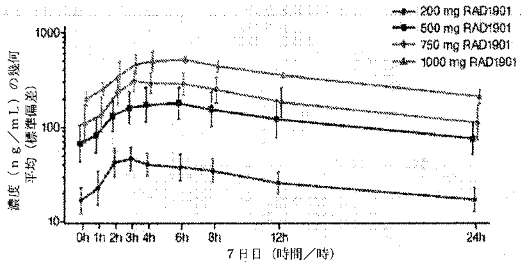
【図１８Ｃ】



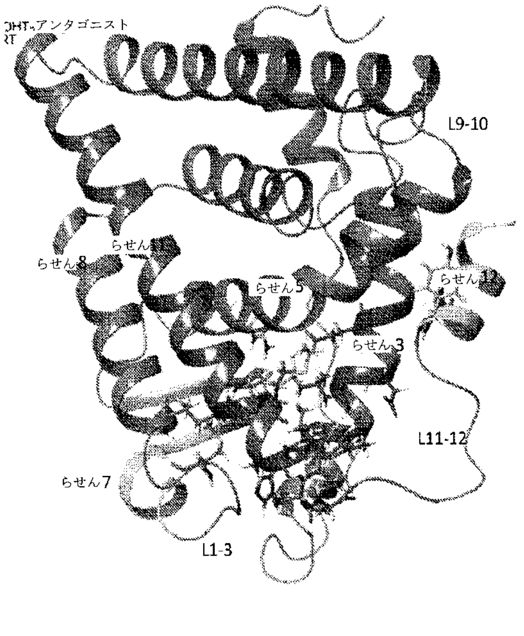
【図１８Ｄ】



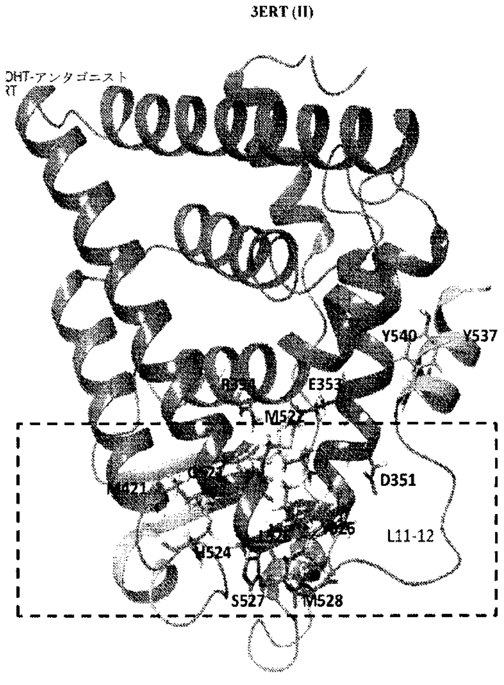
【図１９】



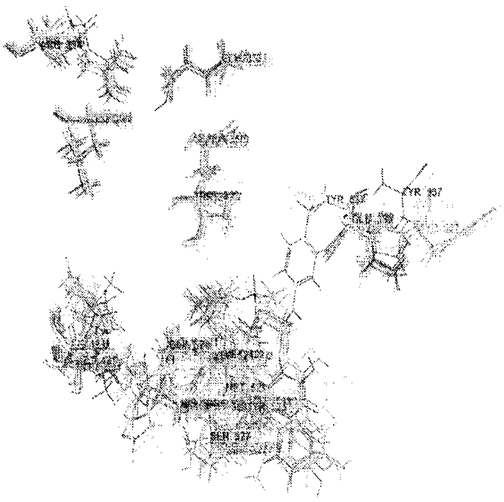
【図２０】



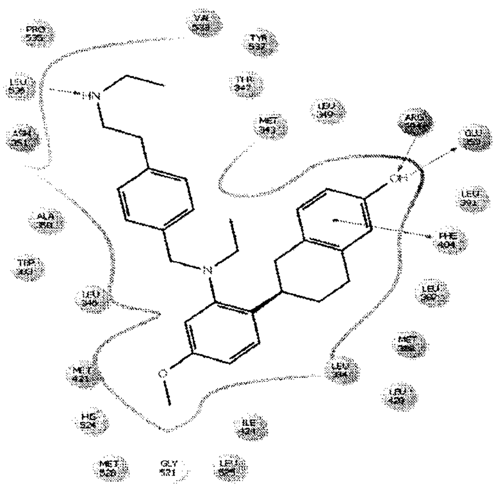
【図２１】



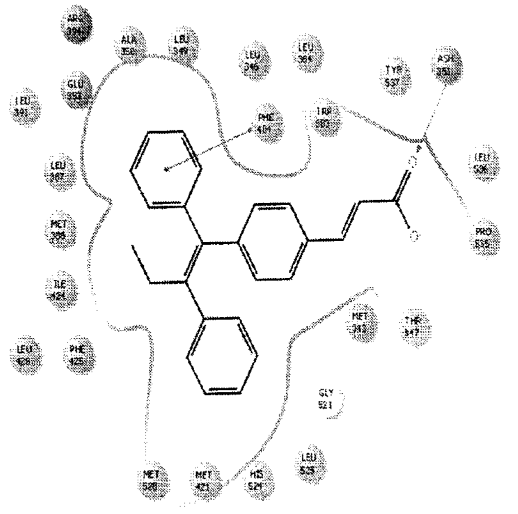
【図２２】



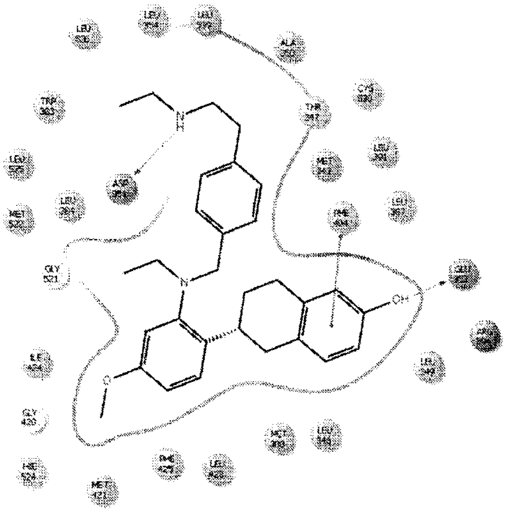
【図２３Ａ】



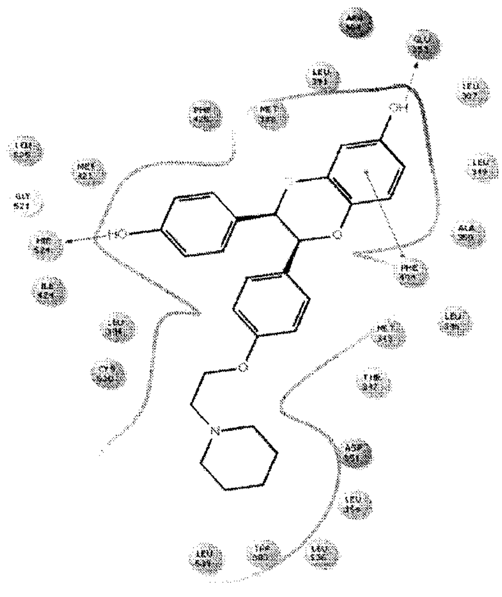
【図２３Ｂ】



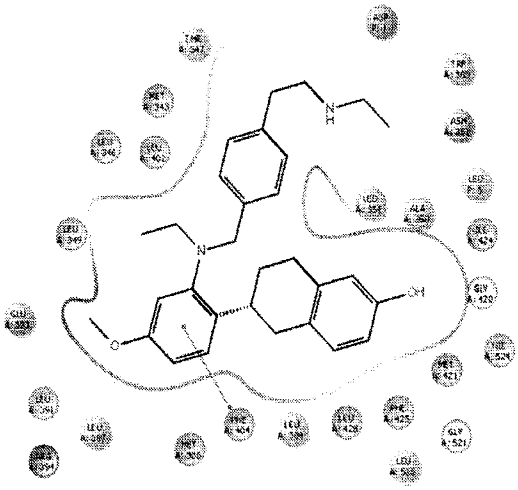
【図２４Ａ】



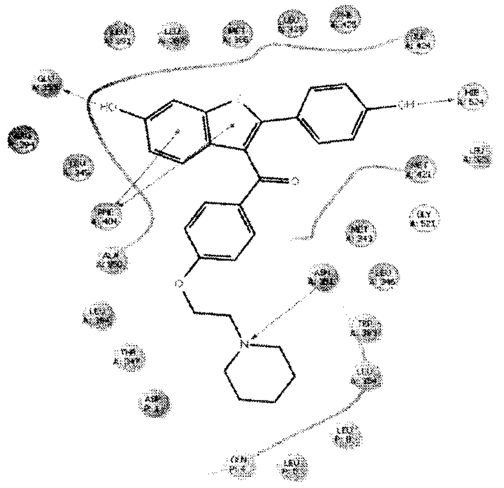
【図２４Ｂ】



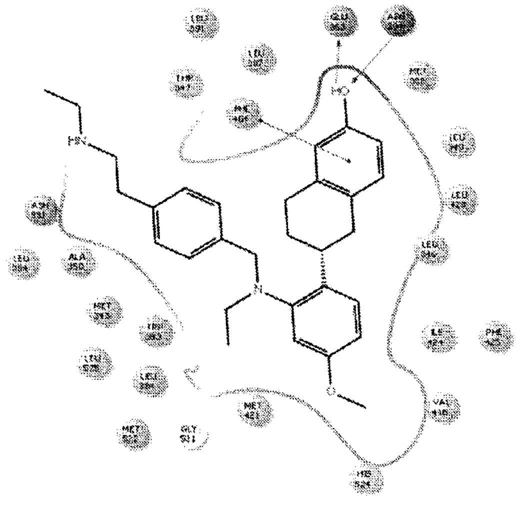
【図２５Ａ】



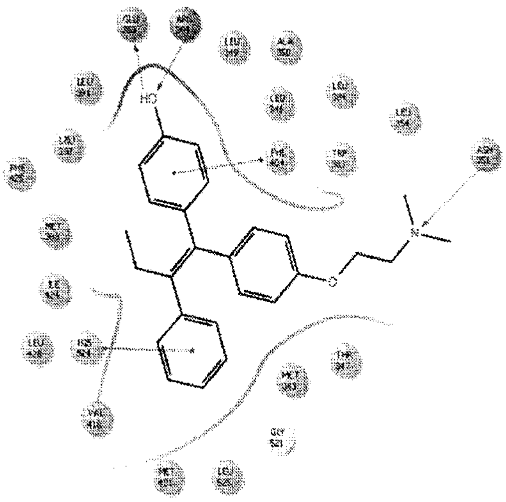
【図２５Ｂ】



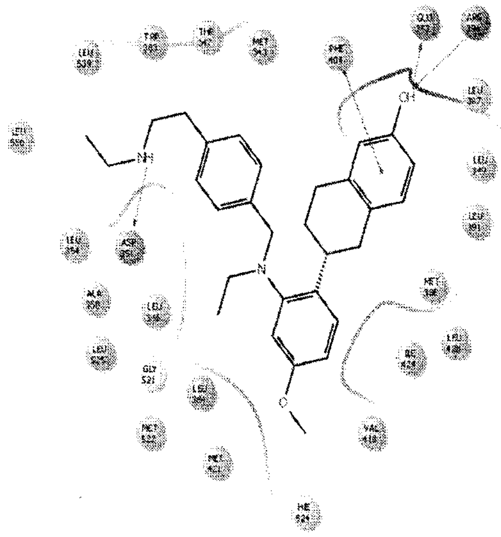
【図２６Ａ】



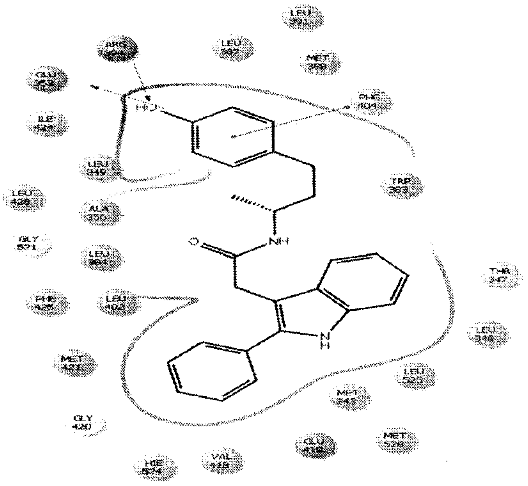
【図２６Ｂ】



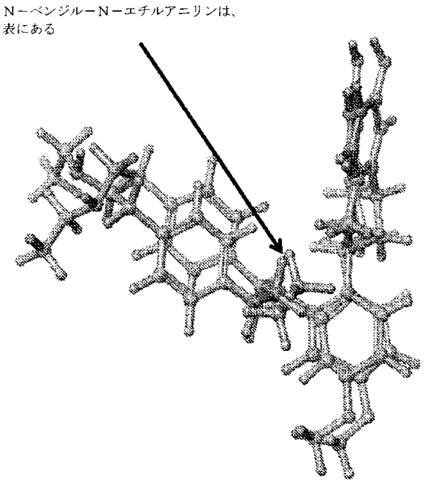
【図２７Ａ】



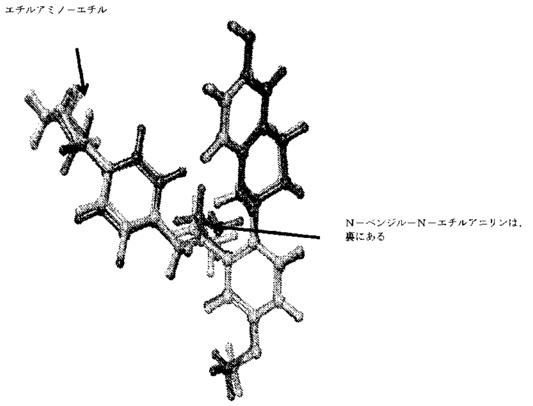
【図２７Ｂ】



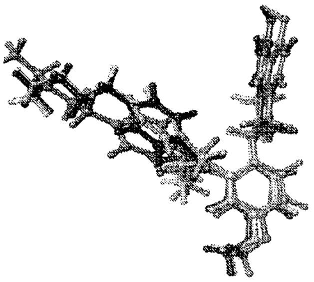
【図２８】



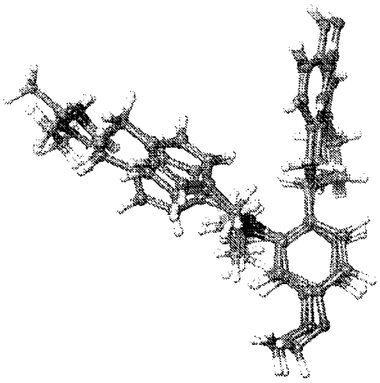
【図２９】



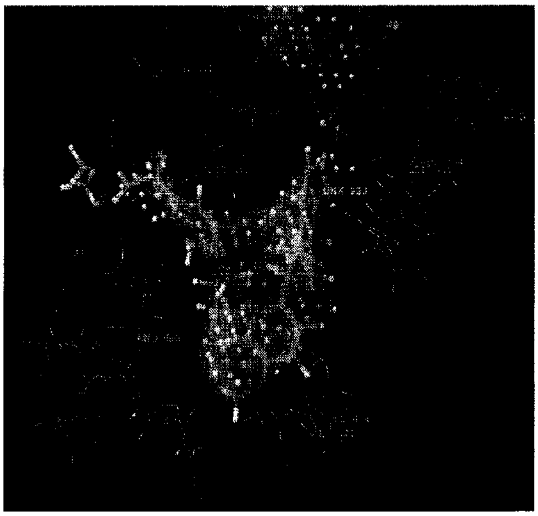
【図３０Ａ】



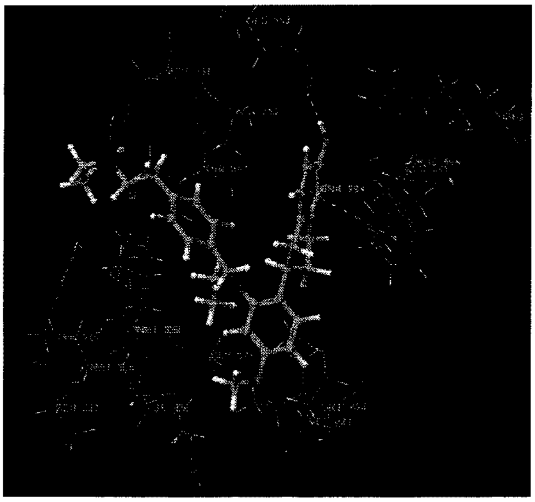
【図３０Ｂ】



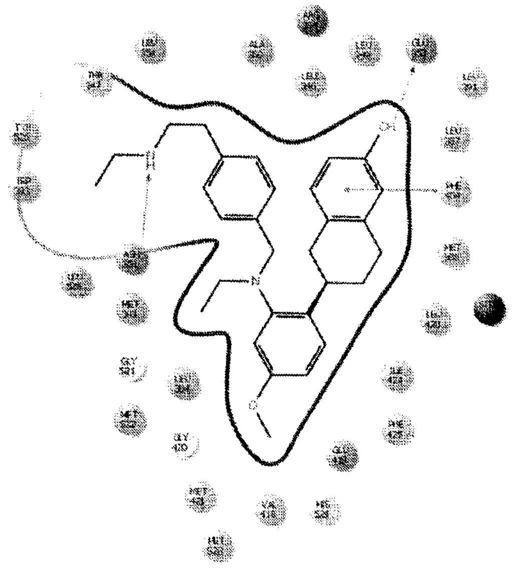
【図３１Ａ】



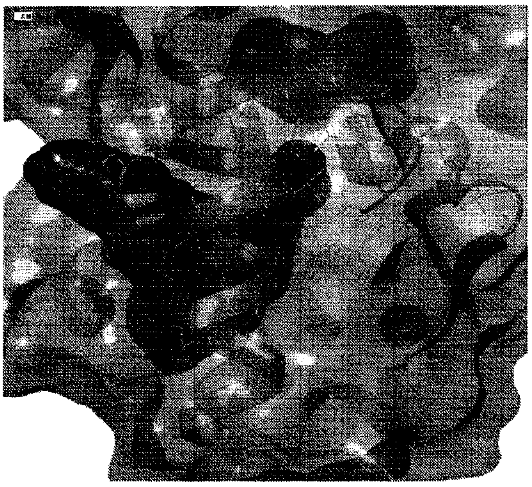
【図３１Ｂ】



【図３１Ｃ】

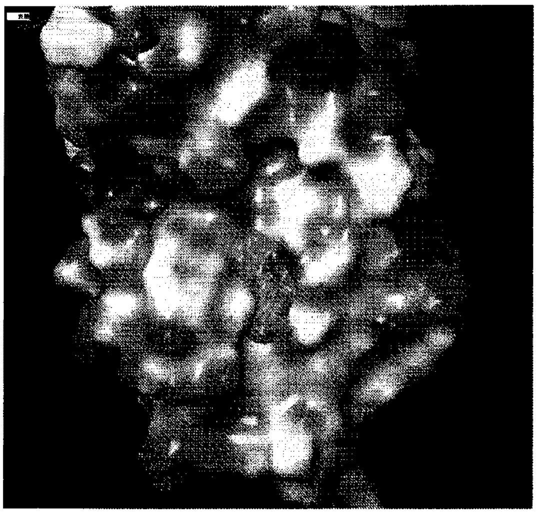


【図３２Ａ】



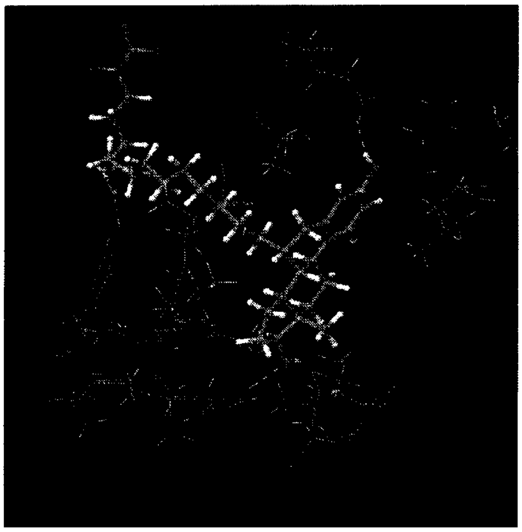
【図３２Ｂ】

【図３２Ｃ】

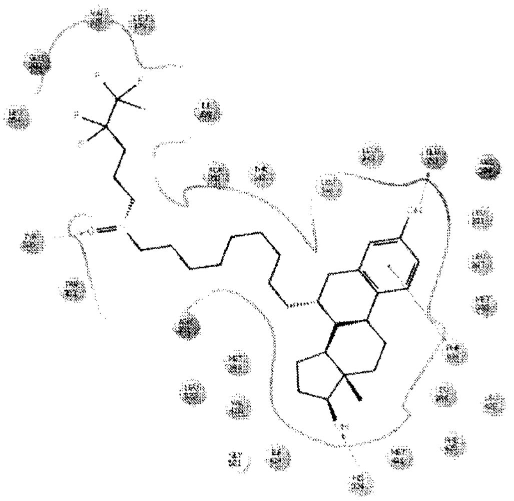


【図３３Ａ】

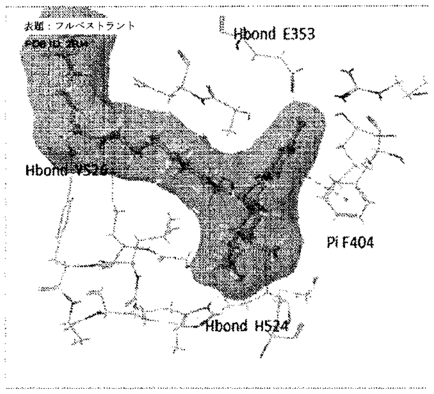
【図３３Ｂ】



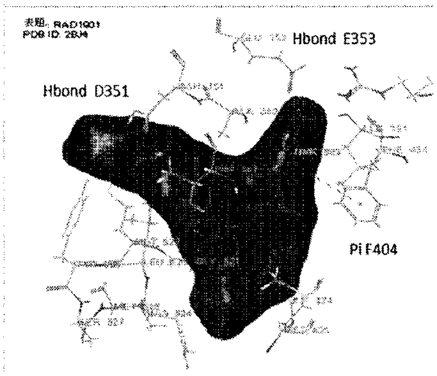
【図３３Ｃ】



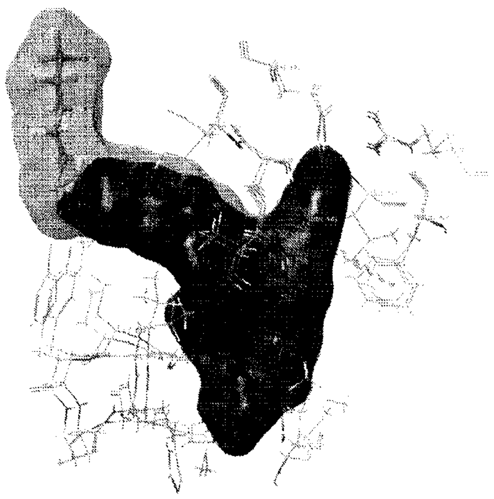
【図３４Ａ】



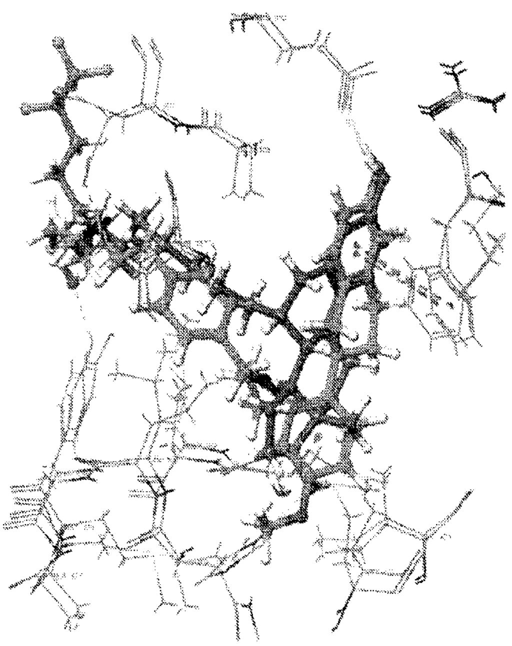
【図３４Ｂ】



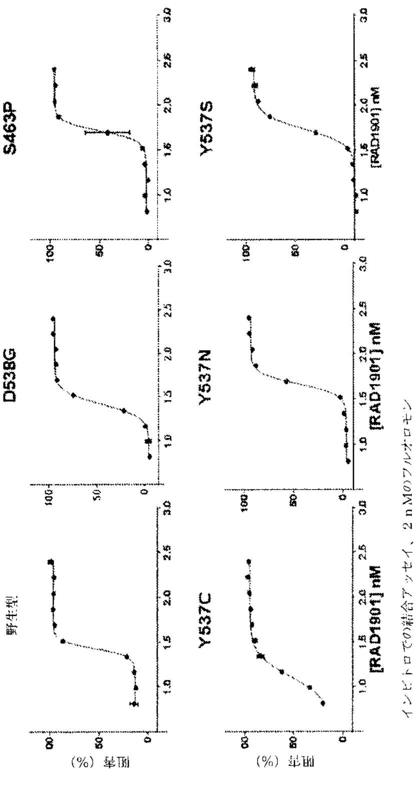
【図３５Ａ】



【図３５Ｂ】



【図３６】



【図３７】

４０日間治療した後の、ＭＣＦ７細胞を移植したマウスの血漿、腫瘍、及び脳におけるＲＡＤ１９０１レベル

	用量 (mg/kg)	血漿 (ng/mL)	腫瘍 (ng/mL)	脳 (ng/mL)	B/P 比	T/P 比
ビヒクル		BLQ*	BLQ	BLQ	-	-
RAD1901	0.3	2	11	BLQ	-	
RAD1901	1	3	45	BLQ	-	
RAD1901	3	9	169	7	0.78	18.78
RAD1901	10	39	757	14	0.36	19.41
RAD1901	30	137	3875	72	0.53	28.28
RAD1901	60	334	11117	201	0.60	33.28

＊ＢＬＱ：定量下限未満

【図３８】

２００ｍｇの用量の経口投与で、１日１回、６日間治療したヒト対象の子宮、筋肉、及び骨のＳＵＶ

用量	子宮のＳＵＶの変化（％）	骨のＳＵＶの変化（％）	筋肉のＳＵＶの変化（％）
200 mg	-85%	16%	0%

【図３９】

５００ｍｇの用量の経口投与で、１日１回、６日間治療したヒト対象（ｎ＝４）の子宮、筋肉、及び骨のＳＵＶ

対象 #	スキャン	平均子宮のＳＵＶ	子宮のＳＵＶの変化 (%)	平均筋肉のＳＵＶ	筋肉のＳＵＶの変化（%）	平均骨のＳＵＶ	骨のＳＵＶの変化（%）
1	ベースライン	3.88		0.33		0.36	
	６日目	0.58	-85	0.31	-6	0.48	33
2	ベースライン	6.47		0.25		0.49	
	６日目	0.33	-86	0.42	68	0.55	12
3	ベースライン	3.66		0.50		0.41	
	６日目	0.58	-84	0.31	-38	0.47	-23
4	ベースライン	3.35		0.30		0.40	
	６日目	0.41	-88	0.24	-20	0 52	30
平均			-86		1		13

【図４０】

卵巣摘出ラットにおけるＢＭＤへのＲＡＤ１９０１の効果。[a]

治療	大腿　BMD （変化（%））	腰椎　BMD （変化（%））
偽	3.1 ± 2.4*	2.7 ± 5.0*
OVX+veh	-5.4 ± 5.1	-10.2 ± 12.8
OVX+E2	-0.5 ± 2.6*	-2.1 ± 12.2*
OVX+RAD1901	0.4 ± 2.8*	-1.1 ± 7.9*

[a]成体雌ラット（治療群当たりｎ＝２０）は、ビヒクル、Ｅ２（０．０１ｍｇ／ｋｇ）、またはＲＡＤ１９０１（３ｍｇ／ｋｇ）で１日１回の治療開始の前に、偽手術または卵巣摘出手術のいずれかを施行した。ＢＭＤは、ベースライン及び治療から４週間後に、二重放射Ｘ線吸光光度法によって測定された。データは、平均±標準偏差で表される。＊対応するＯＶＸ＋Ｖｅｈ対照に対するＰ＜０．０５。ＢＭＤ、骨ミネラル濃度；Ｅ２、ベータエストラジオール；ＯＶＸ、卵巣摘出した；Ｖｅｈ、ビヒクル．

【図４１】

卵巣摘出ラットにおける大腿マイクロアーキテクチャへのＲＡＤ１９０１の効果[a]

治療	BV/TV (%)	ConnD ($1/mm^3$)	TbN (1/mm)	TbTh (mm)	TbSp (mm)	ABD (mgHA/ccm)
偽	0.394 ± 0.069*	138 ± 21*	5.2 ± 0.6*	0.095 ± 0.008*	0.175 ± 0.029*	456 ± 61*
OVX+Veh	0.234 ± 0.065	91 ± 32	3.5 ± 0.9	0.085 ± 0.011	0.307 ± 0.086	301 ± 69
OVX+E2	0.309 ± 0.079*	125 ± 25*	4.8 ± 0.8*	0.086 ± 0.008	0.204 ± 0.054*	379 ± 75*
OVX+RAD1901	0.300 ± 0.066*	113 ± 22*	4.5 ± 0.8*	0.088 ± 0.008	0.218 ± 0.057*	370 ± 66*

[a]成体雌ラット（治療群当たりｎ＝２０）は、ビヒクル、Ｅ２（０．０１ｍｇ／ｋｇ）、またはＲＡＤ１９０１（３ｍｇ／ｋｇ）で１日１回の治療開始の前に、偽手術または卵巣摘出手術のいずれかを施行した。４週間後、骨マイクロアーキテクチャは、マイクロコンピュータ断層撮影法を用いて評価した。データは、平均±標準偏差で表される。＊対応するＯＶＸ＋Ｖｅｈ対照に対するＰ＜０．０５。ＡＢＤ、見掛け骨密度；ＢＶ／ＴＶ、骨体積密度；ＣｏｎｎＤ、連結密度；Ｅ２，ベータエストラジオール；ＯＶＸ、卵巣摘出した；ＴｂＮ、骨梁数；ＴｂＴｈ、骨梁幅；ＴｂＳｐ、骨梁中心距離；Ｖｅｈ、ビヒクル。

【図４２】

ＲＡＤ１９０１の第１相用量漸増試験の重要なベースライン人口統計学

	プラセボ (N=8)	RAD1901 200 mg (N=15)	RAD1901 500 mg (N=14)	RAD1901 750 mg (N=8)	RAD1901 1,000 mg (N=7)
白人種（コホートの割合（%））	8(100)	14(93)	10(71)	8(100)	7(100)
平均年齢（歳）	64	62	59	64	64
平均ＢＭＩ、kg/m^2	26.1	25	24.4	24.9	26.7

【図４３】

ＲＡＤ１９０１の第１相用量漸増試験における最も頻繁に起こる（１０％超）治療関連ＡＥ

	Placebo N=8 n(%) Gr1	Placebo Gr2	Placebo Gr3	200 mg N=15 n(%) Gr1	200 mg Gr2	200 mg Gr3	500 mg N=14 n(%) Gr1	500 mg Gr2	500 mg Gr3	750 mg N=8 n(%) Gr1	750 mg Gr2	750 mg Gr3	1000 mg N=7 n(%) Gr1	1000 mg Gr2	1000 mg Gr3	全患者 N=44 n(%) Gr1	全患者 Gr2	全患者 Gr3	合計 TEAE N=44 All
[illegible]	2 (25)	0	0	5 (33)	0	0	3 (21)	2 (14)	0	2 (25)	1 (13)	0	4 (57)	2 (29)	0	14 (32)	5 (11)	0	19 (43)
[illegible]	1 (13)	0	0	3 (20)	0	0	5 (36)	2 (14)	0	4 (50)	0	0	1 (14)	1 (14)	0	13 (30)	3 (7)	0	16 (36)
[illegible]	0	0	0	2 (13)	0	0	1 (7)	5 (36)	1 (7)	0	2 (25)	0	0	3 (43)	0	3 (7)	10 (23)	1 (2)	14 (32)
[illegible]	1 (13)	0	0	2 (13)	0	0	6 (43)	0	0	2 (25)	0	0	1 (14)	0	0	11 (25)	0	0	11 (25)
[illegible]	1 (13)	0	0	2 (13)	2 (13)	0	3 (21)	0	0	1 (13)	0	0	1 (14)	1 (14)	0	7 (16)	3 (7)	0	10 (23)
[illegible]	0	0	0	0	2 (13)	0	1 (7)	3 (21)	0	1 (13)	0	0	1 (14)	1 (14)	1 (14)	3 (7)	6 (14)	1 (2)	10 (23)
[illegible]	0	0	0	3 (20)	0	0	1 (7)	1 (7)	0	3 (38)	0	0	2 (29)	0	0	9 (20)	1 (2)	0	10 (23)
[illegible]	0	0	0	1 (7)	0	0	4 (29)	0	0	2 (25)	0	0	2 (29)	0	0	9 (20)	0	0	9 (20)
[illegible]	0	0	0	2 (13)	0	0	2 (14)	0	0	2 (25)	0	0	2 (29)	0	0	8 (18)	0	0	8 (18)
[illegible]	1 (13)	0	0	0	0	0	3 (21)	0	0	0	0	0	3 (43)	1 (14)	0	6 (14)	1 (2)	0	7 (16)
[illegible]	0	0	0	0	0	0	1 (7)	2 (14)	0	3 (38)	1 (13)	0	0	0	0	4 (9)	3 (7)	0	7 (16)
[illegible]	0	0	0	2 (13)	0	0	1 (7)	0	0	0	0	0	4 (57)	0	0	7 (16)	0	0	7 (16)
[illegible]	0	0	0	1 (7)	1 (7)	0	1 (7)	0	0	1 (13)	0	0	2 (29)	0	0	5 (11)	1 (2)	0	6 (14)
[illegible]	0	0	0	2 (13)	0	0	1 (7)	1 (7)	0	0	0	0	1 (14)	1 (14)	0	4 (9)	2 (5)	0	6 (14)
[illegible]	2 (25)	0	0	1 (7)	0	0	2 (14)	0	0	1 (13)	0	0	1 (14)	0	0	5 (11)	0	0	5 (11)
[illegible]	0	0	0	3 (20)	0	0	0	0	0	1 (13)	1 (13)	0	0	0	0	4 (9)	1 (2)	0	5 (11)
[illegible]	0	0	0	2 (13)	0	0	2 (14)	0	0	1 (13)	0	0	0	0	0	5 (11)	0	0	5 (11)
[illegible]	1 (13)	0	0	2 (13)	1 (7)	0	0	1 (7)	0	1 (13)	0	0	0	0	0	3 (7)	2 (5)	0	5 (11)

【図４４】

ＲＡＤ１９０１の第１相用量漸増試験における薬物動態薬物動態学的パラメータ（７日目）

パラメータ	統計学的	200 mg N=15	500 mg N=11	750 mg N=6	1000 mg N=3
C_{max} (ng/mL)	幾何平均 最小、最大	49.8 30.6, 85.5	197 105. 316	322 248, 420	540 481, 602
t_{max}（時間）	中央値 最小、最大	3.00 2.00, 6.00	4.00 2.00-6.02	3.00 3.00, 4.00	4.00 3.00, 6.00
AUC_{0-tau} (h*ng/mL)	幾何平均 最小、最大	670 418, 1181	2927 1562. 5460	4614 3209, 7183	8292 7281, 8947
$t_{1/2}$（時間）	幾何平均 最小、最大	38.3 27.7, 51.4	37.5 33.8 41.3	38.4 34.6, 46.4	42.3 38.7, 49.4

【図４５】

ＬＢＤ変異の頻度

	頻度 (%)
D538G	29.5
Y537S	25.0
Y537N	13.6
Y537C	9.1
E380Q	6.8
S463P	4.5
L536R	2.3
L536Q	2.3
P535H	2.3
V392I	2.3
V534E	2.3

【図４６】

残基構造対３ＥＲＴにおけるＥＲ－αＬＢＤ－アンタゴニスト複合体の違い

残基＃／ＰＤＢ	L1-3/Helix 8		Helix 11							Helix 5	Helix 12	
	M421	I424	E521	M522	H524	L525	Y526	S527	M528	E380	Y537	L540
2BJ4	x	x		x	x		x		x	x	該当なし	
2JFA	x	x		x	x		x	x	x		該当なし	
1SJ0	x	x	x	x	x		x	x	x			
2JF9		x		x	x	x	x	x	x		該当なし	
1YIM	x	x		x	x		x		x			
1R5K	x	x		x	x		x	x	X		x	x
1UMO	x	x		x	x							
1ERR	x	x			x	x	x	x				
2IOK	x	x			x		x	x	x		x	x
3UUC	x	x			x		x	x	x	x	x	
1YIN	x	x	x	X	x	x	x	x	x			
2AYR	x			X	x				x			
2OUZ	x	x				x			x			

【図４７】

ＲＭＳＤ計算によるＥＲ－α　ＬＢＤ－アンタゴニスト複合体の構造オーバーラップの評価：

RMSD	3ERT	2BJ4	2JFA	1SJ0	2JF9	1Y1M	1R5K	1UOM	1ERR	2IOK	3UUC	1Y1N	2AYR
3ERT													
2BJ4	0.804												
2JFA	1.196	0.554											
1SJ0	0.786	0.637	1.115										
2JF9	1.177	0.411	0.415	1.186									
1Y1M	0.978	0.687	1.118	0.276	1.072								
1R5K	1.483	0.759	0.52	1.307	0.892	1.342							
1UOM	0.739	0.761	0.723	0.489	0.909	0.499	1.115						
1ERR	1.12	0.483	0.595	1.016	0.851	1.112	1.208	0.918					
2IOK	0.824	0.689	0.787	0.899	0.897	0.854	1.208	0.736	0.838				
3UUC	1.024	0.915	0.896	1.03	0.888	1.036	1.228	1.012	0.873	0.929			
1Y1N	0.749	0.683	1.105	0.432	1.061	0.318	1.293	0.557	1.076	0.744	1.015		
2AYR	0.659	0.682	0.95	0.792	1.124	0.777	1.391	0.491	1.118	0.071	1.031	0.581	

【図４８】

ＥＲ－α　ＬＢＤ－アンタゴニスト複合体におけるリガンド結合の分析

	リガンド：結合	EC_{50} (μM)	注釈
3ERT	OHT: E353, R394	0.010	反転したアミン、Ｆ４０４は、フェノールからかなり離れており、それ故に、パイ相互作用がなかった
2BJ4	OHT: E353, R394, pi F404	0.010	
2JF9	OHT: E353, D351, H524, pi F404	0.010	
2JFA	RAL: E353, D351, H524 and pi F404 x2	0.002	
1ERR	RAL: E353, D351, R394 and pi F404 x2	0.002	Ｈ５２４に対して反転したフェノール
1YIM	CM3: E353, H524,D351 pi F404	0.0015(IC_{50})	Ｄ３５１－ピロリジンと十分に配向したカルボキシル
1YIN	CM3: E535, H524 pi F404	0.001	
1SJ0	E4D: E353, H524, pi F404 x 2	0.0008(IC_{50})	
1R5K	GW5: D351 pi F404	0.039(IC_{50})	Ｅ３５３とのアンカー結合なし
1UOM	PTI: E353, H524 pi F404	該当なし	
2IOK	IOK: E353 pi F404	0.001	
3UUC	OD1: E353, R394, T347	該当なし	超低分子化合物
2OUZ	C3D :E353, pi F404	0.003	
2AYR	L4G: E353, pi F404 x2	0.0107	

【図４９】

ＲＡＤ１９０１ドッキングのモデル評価

	EC_{50}(μM)	EF_{50} (＝予測力)	モデルは結晶構造を予測できるか？	リガンドドッキングスコア	ＲＡＤ１９０１ドッキングスコア
1ERR	0.001		できない	-11.452	-7.912
3ERT	0.002		できない	-12.175	-8.151
3UCC	該当なし	8474	できる	-9 278	該当なし
2IOK	0.001		できる	-11.952	-10.478
1R5K	0.039	6100	できる	-11.518	-12.102
1SJ0	0.001	7511	できる	-12.507	-9.816
2JFA	0.001	6780	できる	-11.480	-11.055
2BJ4	0.002	5642	できる	-9.727	-11.971
2OUZ	0.003	--	できる	-11.789	-9.611

【図５０】

１Ｒ５Ｋ、１ＳＪ０、２ＪＦＡ、２ＢＪ４、及び２ＯＵＺによるＲＡＤ１９０１の誘導適合ドッキングスコア

ＥＲ－α結晶構造	ＲＡＤ１９０１　ＩＦＤドッキングスコア
1R5K	-14.1
1SJ0	-13.1
2JFA	-13.9
2BJ4	-13.8
2OUZ	-13.4

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 16/30316

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A01N 57/00; A01N 57/10 (2016.01)
CPC - A61K 31/66; A61K 31/685; C07F 9/1651
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC(8): A01N 57/00; A01N 57/10 (2016.01)
CPC: A61K 31/66; A61K 31/685; C07F 9/1651

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC: 514/133; 514/146

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PatBase; Keyword limited: Mutant/drug-resistant/estrogen receptor alpha; everolimus/RAD1901; breast/uterine/ovarian/pituitary/metastatic cancer; postmenopausal/relapsed/previous treatment AI/SERM/aromatase/anti-estrogen/antiestrogen

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2014/203129 A1 (OLEMA Pharmaceuticals Inc.) 24 December 2014 (24.12.2014), entire document, especially; para [0003]; para [0037]; para [0049]; para [0087]; para [00104]; para [00127]; para [00150].	1-23
Y	US 2011/0124617 A1 (LYTTLE et al.) 26 May 2011 (26.05.2011), entire document, especially: para [0007]; para [0008], Formula I; para [0057]; para [0071]; para [0074]; para [0076]; para [0077]; para [0084]; para [0130].	1-23
Y	(ALLURI et al.) "Estrogen receptor mutations and their role in breast cancer progression"Breast Cancer Research . 2014. Vol. 16, pg 494, 8 pages, entire document, especially: abstract; pg 4, col 1, para 2; pg 4, col 2, para 1.	5-8,22-23

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
27 June 2016 (27.06.2016)	04 AUG 2016

Name and mailing address of the ISA/US	Authorized officer:
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 16/30316

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

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

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

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

3. ☒ Claims Nos.: 24-43
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

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

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

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

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

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

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		ＦＩ		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ 45/06	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/137	
		Ａ６１Ｋ	45/06	

(31)優先権主張番号 62/192,940
(32)優先日 平成27年7月15日(2015.7.15)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 62/192,944
(32)優先日 平成27年7月15日(2015.7.15)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 62/252,085
(32)優先日 平成27年11月6日(2015.11.6)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 62/252,916
(32)優先日 平成27年11月9日(2015.11.9)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 62/265,663
(32)優先日 平成27年12月10日(2015.12.10)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 62/265,696
(32)優先日 平成27年12月10日(2015.12.10)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 62/265,658
(32)優先日 平成27年12月10日(2015.12.10)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 62/265,774
(32)優先日 平成27年12月10日(2015.12.10)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 62/323,572
(32)優先日 平成28年4月15日(2016.4.15)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 62/323,576
(32)優先日 平成28年4月15日(2016.4.15)
(33)優先権主張国 米国(US)

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

Ｆターム(参考) 4C086 AA01 AA02 CB22 MA02 MA04 MA52 NA05 ZB26 ZC20 ZC41
ZC75
4C206 AA01 AA02 FA31 MA72 NA05 ZB26 ZC20 ZC41 ZC75