

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6497767号
(P6497767)

(45) 発行日 平成31年4月10日 (2019. 4. 10)

(24) 登録日 平成31年3月22日 (2019. 3. 22)

(51) Int. Cl.

F 1

G O 1 N 33/53 (2006. 01)

G O 1 N 33/53 S

A 6 1 K 31/4196 (2006. 01)

A 6 1 K 31/4196

A 6 1 P 35/00 (2006. 01)

A 6 1 P 35/00

C 1 2 Q 1/48 (2006. 01)

C 1 2 Q 1/48 Z

G O 1 N 33/574 (2006. 01)

G O 1 N 33/574 A

請求項の数 7 (全 19 頁)

(21) 出願番号 特願2013-259134 (P2013-259134)
 (22) 出願日 平成25年12月16日 (2013. 12. 16)
 (65) 公開番号 特開2015-114312 (P2015-114312A)
 (43) 公開日 平成27年6月22日 (2015. 6. 22)
 審査請求日 平成28年6月9日 (2016. 6. 9)
 審判番号 不服2018-5889 (P2018-5889/J1)
 審判請求日 平成30年4月27日 (2018. 4. 27)

(73) 特許権者 000004086
 日本化薬株式会社
 東京都千代田区丸の内二丁目1番1号
 (72) 発明者 福田 剛
 東京都北区志茂3-31-12 日本化薬
 株式会社 医薬研究所内
 (72) 発明者 宮▲崎▼ 修
 東京都北区志茂3-31-12 日本化薬
 株式会社 医薬研究所内
 (72) 発明者 増田 久仁子
 東京都北区志茂3-31-12 日本化薬
 株式会社 医薬研究所内
 (72) 発明者 岡本 一也
 東京都北区志茂3-31-12 日本化薬
 株式会社 医薬研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌治療における H S P 9 0 阻害剤の抗腫瘍効果を予測する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

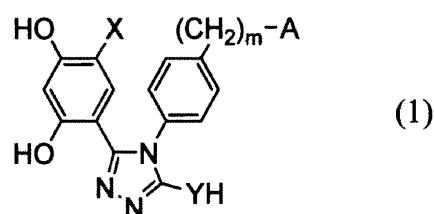
H S P 9 0 阻害剤に対する腫瘍の感受性を判定する方法であって、患者由来の腫瘍組織の、

(1) A k t のリン酸化レベルを検出する工程、または

(2) E R K のリン酸化レベルを検出する工程、

を含む方法であり、前記 H S P 9 0 阻害剤が、トリアゾール環を有する化合物であり、トリアゾール環を有する化合物が下記一般式 (1)

【化 1】



〔式中、Xは直鎖状または分岐状の炭素数1～8のアルキル基、炭素数2～10のアルキニル基、またはハロゲン原子を示し、Yは硫黄原子または酸素原子を示し、mは0～4の整数を示し、Aは置換基を有するアミノ基を示す〕で表されるトリアゾール化合物 (A) である方法。

【請求項 2】

前記一般式(1)において、Xがエチル基、イソプロピル基、tert-ブチル基、2,2-ジメチルプロピル基、2-プロピニル基、2-ブチニル基、ハロゲン原子である請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記一般式(1)において、mが0または1であり、Aがモルホリノ基、4-メチルピペラジン-1-イル基、ピペリジン-1-イル基、ピロリジン-1-イル基である請求項1に記載の方法。

【請求項4】

Aktのリン酸化および／またはERKのリン酸化が免疫組織学的解析(IHC)、ウェスタンブロット解析、ELISA解析または質量分析のいずれか1以上の手段によって検出される請求項1ないし3のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項5】

腫瘍が卵巣がん、乳がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、膵がん、結腸直腸がん、頭頸部がん、子宮内膜がん、胃がん、食道がん、腎細胞がん、前立腺がん、皮膚がん、白血病、リンパ腫、骨髄腫、脳腫瘍および肉腫から選択される請求項1ないし4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

腫瘍が卵巣がん、乳がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がんである請求項1ないし4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

20

腫瘍が卵巣がんである請求項1ないし4のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明はHSP90阻害活性を有する抗腫瘍剤によるがんの治療が有効であることが予測される癌患者を選択するための、生物マーカー、方法に関する。

【背景技術】

【0002】

悪性腫瘍疾患の治療のため、新たな抗腫瘍化学療法の開発が求められている。近年では、細胞増殖に関与するシグナル伝達に関わる増殖因子や増殖因子受容体、並びにシグナル伝達経路に関わるタンパク質等の各種機能性分子が認知されてきている。そこで、これらの機能性分子を標的とした分子標的抗腫瘍剤が開発されている。

30

このような分子標的抗腫瘍剤には治療効果の期待できる患者群と治療効果の期待できない患者群が存在する。たとえばBCR-ABL/KIT/PDGFR-A阻害剤イマチニブは、BCR/ABL転座を有する慢性骨髄性白血病患者において非常に高い治療効果を発揮する(非特許文献1)。またEGFR阻害剤ゲフィチニブおよびエルロチニブはEGFR遺伝子変異肺がん患者において高い治療効果を発揮する(非特許文献2、3)。抗HER2抗体であるトラスツズマブやHER2/EGFR阻害剤であるラパチニブはHER2過剰発現が認められる乳癌患者において高い治療効果を発揮する(非特許文献4、5)。ALK阻害剤であるクリゾチニブはEML4-ALK遺伝子変異肺がん患者において非常に高い治療効果を有する(非特許文献6)。したがって、新規の分子標的抗腫瘍剤の開発を成功させるため、ひいては該抗腫瘍剤が有効な患者に新たな治療選択肢を提供するには、臨床試験の開始前に治療に関連するバイオマーカーを発見しておくことが非常に重要といえる。

40

【0003】

バイオマーカーはしばしば化合物と1対1で対応していない。例えば、エルロチニブとゲフィチニブは異なる化合物であるにも関わらず、バイオマーカーはいずれもEGFR変異である。さらには抗体であるトラスツズマブと低分子化合物であるラパチニブもバイオマーカーは同一である。すなわち、分子標的抗腫瘍剤のバイオマーカーは分子標的抗腫瘍剤の構造ではなく、その作用機序に依存する。

50

【0004】

分子標的抗腫瘍剤の標的の一つとして熱ショックタンパク（Heat Shock Protein；HSP）がある。HSPは細胞内に存在する分子シャペロンであり、その分子量によってHSP90、HSP70、HSP60、HSP40、small HSPsなど、幾つかのファミリーに分類される機能性分子である。分子シャペロンとは、タンパク質の機能的な高次構造の形成を促進するため、標的タンパク質と一時的に複合体を形成するタンパク質の総称である。すなわち、分子シャペロンは、タンパク質の折り畳み（フォールディング）や会合を助け、凝集を抑止する。

中でもHSP90は、100種類以上のタンパク質の正確なフォールディング、凝集阻害、細胞内輸送、準活性化状態への維持など、多くの生体内高次機能に関わっている。HSP90の作用機作は、HSP90が不安定な折り畳み状態にあるタンパク質を特異的に認識して、これと結合して複合体を形成するというものである。特に、癌関連のシグナル伝達に関わる多様な標的タンパク質（ステロイドレセプター、Rafセリンキナーゼ、チロシンキナーゼ類）は、HSP90にその構造構築を依存し、HSP90は細胞周期の制御、細胞の癌化・増殖・生存シグナルに深く関与している。

10

【0005】

ヒト腫瘍では多くのシグナル分子の調節機能が失われているが、この機能を維持するためにHSP90が必要である（非特許文献7）。HSP90阻害剤は、HSP90とその標的タンパク質を含むシャペロン複合体の構成を変化させ、該複合体から離脱した標的タンパク質を主にユビキチン・プロテアソーム系で分解させる。これにより、HSP90の標的タンパク質量が減少し、それに伴う下流へのシグナル伝達を遮断し、癌細胞の増殖を抑制することにより抗腫瘍効果をもたらす。

20

特に、癌化する過程では複数の遺伝子異常が蓄積されており、タンパク質の変異が生じている。癌細胞では、生成した変異タンパク質が多く、正常タンパク質からなる正常細胞と比較して、より多くのシャペロン活性を必要とする。このため、多くの癌細胞ではHSP90の発現量が増加している。癌細胞は、異常なタンパク質発現が認められる事に加え、低酸素状態、栄養飢餓状態に置かれており、一種のストレス状態下にあるため、HSP90によるシャペロン活性への依存度合いが高いと考えられる。したがって癌細胞は、HSP90阻害剤に対する感受性が、正常細胞と比較して高いことが期待される。そこでHSP90を標的分子とするHSP90阻害剤の探索的研究、並びにその抗腫瘍効果の検証がなされている。

30

【0006】

HSP90阻害剤として、特許文献1には、5-（2，4-ジヒドロキシフェニル）-[1，2，4]トリアゾール-3-オン誘導体が記載されている。該化合物は動物実験においても優れた抗腫瘍効果を示し、抗腫瘍剤として有望であることが報告されている。また、特許文献2および特許文献3でも、HSP90阻害活性を有するトリアゾール化合物を報告している。

【0007】

前記のようにHSP90は有望な抗腫瘍剤の標的タンパク質であるが、HSP90阻害剤による治療に関連したバイオマーカーは未だ確立されていない。特許文献4はHSP90のバイオマーカーとしてKRAS、EGFRおよびBRAF遺伝子の内、少なくとも1つの活性化型突然変異を報告している。また特許文献5はHSP90阻害剤のバイオマーカーとしてALK、MAPK経路またはEGFR遺伝子の変異を報告しているが、詳細な実施例はALK、KRASまたはEGFR遺伝子の変異とHSP90阻害剤の治療効果に限定されており、さらにはKRASおよびEGFR遺伝子変異とHSP90阻害剤の効果における相関性は高くなかった。特許文献5ではALK遺伝子変異とHSP90阻害剤の効果に相関性は見られたものの、肺癌におけるALK遺伝子変異を持つ患者は全体の5%に満たない。

40

【0008】

特許文献5はHSP90阻害剤のバイオマーカーとしてAkt遺伝子とERK遺伝子の

50

変異についても言及している。しかしながら前述したように特許文献5にはA k tおよびE R Kの変異とH S P 9 0阻害剤の治療効果を予期させる実施例は皆無であり、A k tおよびE R K遺伝子またはタンパク質の、具体的にどのような変異がH S P 9 0阻害剤の治療効果と相関するかについての選択基準についても言及していない。

【0009】

A k tは増殖因子の下流で働くセリン／スレオニンキナーゼであり、細胞の増殖・生存・分化・糖代謝に関わるシグナルを伝達する。A k tは細胞膜上で上流のキナーゼであるP D K 1／2によってリン酸化を受けることによって活性化される（非特許文献8）。A k tは一部の癌種において遺伝子増幅や活性化変異が報告されていることや、A k tを負に調節するP T E Nの欠損が多くの癌種で認められていることから、抗腫瘍剤の標的タンパクとして薬剤が開発されている。

10

【0010】

E R Kは最初に発見されたM A Pキナーゼであり、細胞骨格や細胞運動、細胞周期、分化に関わるシグナルを伝達する。E R Kは様々な増殖因子や細胞特異的な刺激によりリン酸化を受け活性化する。E R Kの活性化はがん細胞の増殖・運動・生存において重要な役割を果たしており、実際に多くの癌種でE R Kの活性亢進が認められている（非特許文献9）。

【0011】

A k tおよびE R Kのリン酸化は細胞の生存・増殖に重要な役割を担うシグナルであるが、これらのリン酸化がH S P 9 0によって直接制御されているという知見はない。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

【特許文献1】国際公開2006／095783

【特許文献2】国際公開2009／023211

【特許文献3】国際公開2007／134678

【特許文献4】特表2012-500013

【特許文献5】国際公開2011／060328

【非特許文献】

【0013】

30

【非特許文献1】Activity of a Specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. The New England Journal of Medicine. 2001, 344:1038-42.

【非特許文献2】Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. The New England Journal of Medicine. 2004, 350:2129-39.

40

【非特許文献3】Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. The Lancet Oncology. 2011, 12:735-42.

【非特許文献4】Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastat

50

ic breast cancer that overexpress HER2. The New England Journal of Medicine. 2001, 344:783-92.

【非特許文献5】Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. The New England Journal of Medicine. 2006, 355:2733-43.

【非特許文献6】Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. The New England Journal of Medicine. 2010, 363:1693-703.

10

【非特許文献7】Hsp90 inhibitors as novel cancer chemotherapeutic agents. Trends in Molecular Medicine. 2002, 8:4 (Suppl.), S55-61.

【非特許文献8】Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. Aging. 2011, 3:192-222.

【非特許文献9】Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. Oncogene. 2007, 26:3291-310.

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

本発明の目的はHSP90阻害剤が有効な患者群を同定する方法の提供にある。

【課題を解決するための手段】

【0015】

本発明者らは上記課題を解決すべく、鋭意研究を重ねた結果、腫瘍内のリン酸化Akt (pAkt) またはリン酸化ERK (pERK) の発現レベルが、HSP90阻害剤の抗腫瘍効果と相関することを見出した。すなわち、特定の腫瘍のpAktまたはpERKの発現量がコントロールレベルに比較して上回っている判定されたとき、該腫瘍はHSP90阻害剤に対し高い感受性を持つと判定できることを見出した。すなわち、本発明は、以下の構成を要旨とする。

30

【0016】

HSP90阻害剤に対する腫瘍の感受性を判定する方法であって、患者由来の該腫瘍組織のpAktを検出する工程、または該腫瘍組織のpERKを検出する工程を含む方法に関する。

さらには、腫瘍のAktのリン酸化レベルがコントロールレベルに比較して亢進していること、または腫瘍のERKのリン酸化レベルがコントロールレベルに比較して亢進していることに基づき、HSP90阻害剤による治療が有効である患者を選択する方法に関する。

40

さらには、HSP90阻害剤に対する腫瘍の感受性を判定する方法であって、患者由来の該腫瘍組織のpAktを検出する工程及び該腫瘍組織のpERKを検出する工程を含む方法。

【0017】

さらには、ある患者由来の腫瘍のpAkt陽性細胞数の全腫瘍細胞数に対する割合が1.0%程度またはそれ以上であった場合、該患者にはHSP90阻害剤による治療が有効であると判定する工程を含む方法、またはある患者由来の腫瘍のpERK陽性細胞の該腫

50

瘍の全腫瘍細胞数に対する割合が1.0%程度またはそれ以上であった場合、該患者にはHSP90阻害剤による治療が有効であると判定する工程を含む方法に関する。

【0018】

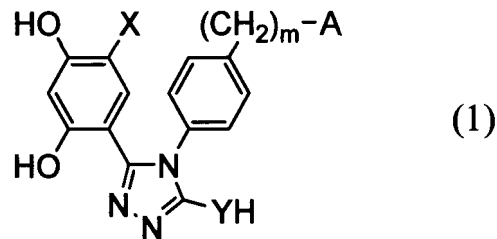
さらには、Aktのリン酸化および／またはERKのリン酸化が免疫組織学的解析（IHC）、ウエスタンブロット解析、ELISA解析または質量分析のいずれか1以上の手段によって検出される方法である。

【0019】

さらには、HSP90阻害剤は下記一般式（1）

【0020】

【化1】



〔式中、Xは直鎖状または分岐状の炭素数1～8のアルキル基、炭素数2～10のアルキニル基、またはハロゲン原子を示し、Yは硫黄原子または酸素原子を示し、mは0～4の整数を示し、Aは置換基を有するアミノ基を示す〕で表されるトリアゾール化合物（A）である上記方法に関する。

さらには、HSP90阻害剤はGanetespibである上記方法に関する。

さらには、腫瘍が卵巣がん、乳がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、膵がん、結腸直腸がん、頭頸部がん、子宮内膜がん、胃がん、食道がん、腎細胞がん、前立腺がん、皮膚がん、白血病、リンパ腫、骨髄腫、脳腫瘍および肉腫から選択される上記方法に関する。

【発明の効果】

【0021】

本発明によれば、HSP90阻害剤による治療が有効な癌患者を確実に、且つ、簡便に選択できる。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】ヒト卵巣癌細胞SK-OV-3の皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物（A-1）の抗腫瘍効果を示す図である。（実施例1）

【図2】ヒト卵巣癌細胞TOV-21Gの皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物（A-1）の抗腫瘍効果を示す図である。（実施例1）

【図3】ヒト卵巣癌細胞OV-90の皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物（A-1）の抗腫瘍効果を示す図である。（実施例1）

【図4】ヒト卵巣癌細胞OVCA-3の皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物（A-1）の抗腫瘍効果を示す図である。（実施例1）

【図5】ヒト卵巣癌細胞OC-11-JCKの皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物（A-1）の抗腫瘍効果を示す図である。（実施例1）

【図6】ヒト卵巣癌細胞OC-11-JCK/CDDPの皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物（A-1）の抗腫瘍効果を示す図である。（実施例1）

【図7】ヒト卵巣癌細胞OC-11-JCK/PTXの皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物（A-1）およびGanetespibの抗腫瘍効果を示す図である。（実施例1）

【図8】ヒト卵巣癌細胞TOGY-18の皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物（A-1）およびGanetespibの抗腫瘍効果を示す図である。（実施例1）

【図9】ヒト卵巣癌細胞2008の皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物（A-1）の抗腫瘍効果を示す図である。（実施例1）

【図10】ヒト卵巣癌細胞SHIN-3の皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物(A-1)の抗腫瘍効果を示す図である。(実施例1)

【図11】ヒト乳癌細胞MC-19-JCKの皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物(A-1)およびGanetespibの抗腫瘍効果を示す図である。(実施例1)

【図12】ヒト乳癌細胞JIMT-1の皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物(A-1)およびGanetespibの抗腫瘍効果を示す図である。(実施例1)

【図13】ヒト肺がん細胞NCI-H1975の皮下移植マウスをもちいた、トリアゾール化合物(A-1)およびGanetespibの抗腫瘍効果を示す図である。(実施例1)

10

【図14】マウス皮下に移植したヒト卵巣癌細胞OC-11-JCK、OC-11-JCK/CDDP、OC-11-JCK/PTX、ES-2、SHIN-3、SK-OV-3、OVCAR-3、TOV-21G、OV-90、TOGY-18、OC-10-JCKおよび2008腫瘍内のEGFR、HER2、HER3、Met, IGF-1R、Raf-1、Stat3、リン酸化Akt(pAkt)、Akt、リン酸化ERK(pERK)、ERK、mTOR、MEK、Hsp90、Hsp70およびActinタンパクの免疫ブロット解析を表す図である。(実施例1)

【図15】ヒト卵巣癌細胞SK-OV-3皮下移植マウスにトリアゾール化合物(A-1)を投与し、投与前・投与後4時間および24時間後に採取したSK-OV-3腫瘍内のHSP90関連タンパク免疫ブロット解析を示す図である。(実施例2)

20

【図16】ヒト卵巣癌細胞TOV-21G皮下移植マウスにトリアゾール化合物(A-1)を投与し、投与前・投与後4時間および24時間後に採取したTOV-21G腫瘍内のHSP90関連タンパク免疫ブロット解析を示す図である。(実施例2)

【図17】マウス皮下に移植したヒト卵巣癌細胞2008、OC-11-JCK、SK-OV-3およびTOV-21G腫瘍に対し、抗pAkt抗体を用いた免疫組織染色を施した際のpAkt陽性細胞数の割合を示す図である。(実施例3)

【図18】マウス皮下に移植したヒト卵巣癌細胞OC-11-JCK、SK-OV-3およびTOV-21G腫瘍に対し、抗pERK抗体を用いた免疫組織染色を施した際のpERK陽性細胞数の割合を示す図である。

【発明を実施するための形態】

30

【0023】

本明細書においてAktとは、Akt1、Akt2、Akt3のいずれか、又は全てである。またAktのリン酸化(リン酸化Akt:pAkt)とはAktのいずれかのアミノ酸残基にリン酸基が付与されること、またはリン酸基が付与されたアミノ酸残基を持つAktを指す。リン酸基が付与されるアミノ酸残基はそれだけに限定されないが、特にSer308またはSer473(Akt1)、Ser309またはSer474(Akt2)、Ser305またはSer472(Akt3)が挙げられる。

本明細書においてERKとは、ERK1、ERK2のいずれか、又は全てである。またERKのリン酸化(リン酸化:pERK)とはERKのいずれかのアミノ酸残基にリン酸基が付与されること、またはリン酸基が付与されたアミノ酸残基を持つERKを指す。リン酸基が付与されるアミノ酸残基はそれだけに限定されないが、特にThr160、Thr177、Thr202またはTy r 204が挙げられる。

40

本明細書においてリン酸化レベルとは細胞内のあるタンパク質におけるアミノ酸残基中のリン酸基が付与されたタンパクの量または割合を指す。例えばAktのリン酸化レベルはpAktの量または総Akt量(pAkt量+非リン酸化Akt量)に対するpAktの割合となる。AktとERKを含む細胞内のシグナル伝達を担うタンパク質は主にリン酸化を受けることにより機能が活性化される。したがってリン酸化レベルの高いシグナル伝達タンパクはその機能が活性化されており、リン酸化レベルが低いシグナル伝達タンパクはその機能が活性化されていないと推測することができる。

本明細書においてAktのリン酸化レベルまたはERKのリン酸化レベルを検出する工

50

程とは上述したAktのリン酸化レベルまたはERKのリン酸化レベルを検出する作業のすべてを指す。検出法として例えばウエスタンブロット解析やELISA解析、免疫染色法、免疫組織学的解析（IHC）に代表されるような、抗リン酸化Akt抗体または抗リン酸化ERK抗体を用いた免疫学的な検出法、質量分析によるpAktまたはpERKの検出、リン酸基に対し特異的な相互作用を有する機能性分子を用いた検出、pAktまたはpERKに対し特異的に相互作用する機能性分子、タンパク質、RNA等を用いた検出法などが挙げられる。

本明細書において免疫組織学的解析（IHC）とは検体より作製した凍結標本またはパラフィン包埋標本について、特定のタンパク質の発現を確認する一般的な手技である。

本明細書においてウエスタンブロット解析とは電気泳動で分離したタンパク質を膜に転写した後、抗体を利用して目的のタンパク質のみを検出する一般的な手技である。

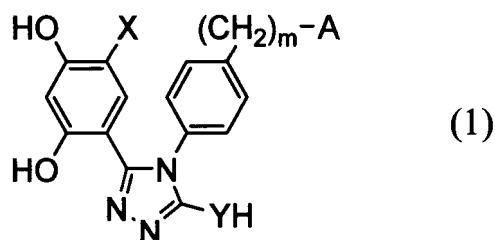
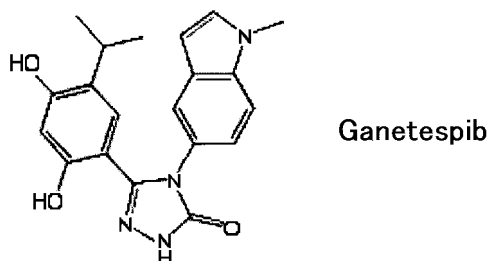
本明細書においてELISA解析とは目的のタンパク質またはリン酸残基に特異的な抗体と酵素反応による検出を組み合わせた手法であり、複数の成分が存在する検体中から抗体により認識される特定の物質の量のみを測定することが可能である。

本明細書において質量分析とは分子やイオンの質量電荷比を求めるために使用される手法である。高電圧をかけた真空中で試料をイオン化し、電氣的・磁氣的に試料を分離する。その際の分離は質量電荷比に依存して起こり、これは由来する物質について固有であるため、目的物質の検出が可能となる。本明細書では特に限定しないがイオン源としてタンパク質を安定にイオン化できるMALDIが挙げられる。

本明細書においてHSP90阻害剤とは、HSP90の阻害作用を有するものすべてをいう。例えば抗HSP90抗体、トリアゾール環を有する化合物、17-AAG、Geldanamycin、Radicicol、PU3又はそれらの誘導体、または薬理的に許容される塩であってHSP90の阻害作用を有するものである。トリアゾール環を有する化合物としては、Ganetespib、または、下記一般式（1）

【0024】

【化2】



で表されるトリアゾール化合物（A）またはその薬理的に許容される塩もHSP90阻害剤の1例である。また、Ganetespibおよびトリアゾール化合物（A）の互換異性体も含まれる。

【0025】

前記一般式（1）において、Xは炭素数が1～20の鎖状、分岐状、環状のアルキル基、炭素数2～10のアルキニル基、またはハロゲン原子である。Xがアルキル基の場合、好ましくは直鎖状または分岐状の炭素数1～8のアルキル基であって、さらに好ましくはエチル基、イソプロピル基、tert-ブチル基、2-ジメチルプロピル基である。

Xがアルキニル基の場合、好ましくは炭素数2～6のアルキニル基であって、さらに好ましくは2-プロピニル基、2-ブチニル基である。Xがハロゲン原子の場合、好ましくは臭素原子または塩素原子である。

【0026】

前記一般式(1)において、Yは硫黄原子または酸素原子のいずれかである。

【0027】

前記一般式(1)において、mは0～4の整数であり、好ましくは0または1である。

【0028】

前記一般式(1)において、Aは置換基を有するアミノ基であれば限定はないが、好ましくはモルホリノ基、4-メチルピペラジン-1-イル基、ピペリジン-1-イル基、又はピロリジン-1-イル基のいずれかである。

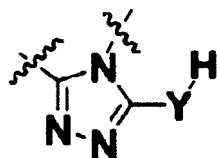
10

【0029】

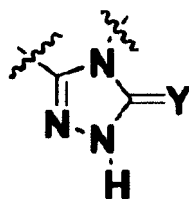
Ganetespi bおよび前記一般式(1)において、互換異性体とはそれぞれの異性体が速やかに相互変換可能で、トリアゾール環が下記一般式(2-1)と(2-2)に示すような関係であり、同一の化合物である。

【0030】

【化3】



(2-1)



(2-2)

20

【実施例】

【0031】

本実施例は、本発明の特定の実施形態、およびその様々な使用を例証するものである。これらは説明の目的で述べるものであり、本発明を限定するものではない。

30

本実施例で用いられたマウス（いずれも雌性）は以下のとおりである。

ヌードマウス

系統名：BALB/cA-nu/nu（移植時6～13週令）

購入会社：日本クレア株式会社、またはチャールズリバー

スキッドマウス

系統名：CB-17/scid（移植時5～7週令）

購入会社：チャールズリバー

NOD/スキッド

系統名：NOD-scid（移植時8週令）

購入会社：チャールズリバー

40

【0032】

合成例1 HSP90阻害剤化合物の合成

本発明の一般式(1)で表されるトリアゾール化合物(A)として、5-(2,4-ジヒドロキシ-5-イソプロピルフェニル)-4-[4-(4-メチルピペラジン-1-イルメチル)-フェニル]-2,4-ジヒドロ-[1,2,4]トリアゾール-3-オン；(A-1)を用いた。当該(A-1)は、国際公開2006/095783の実施例2-5に開示される製造方法に従い合成した。Ganetespi bは、国際公開2007/139952の実施例4に開示される製造方法に従い合成した。

50

【0033】

試験例1 腫瘍皮下移植マウスによる抗腫瘍試験

<細胞と移植腫瘍>

ヒト卵巣がん株であるOC-10-JCK、OC-11-JCK、TOGY-18およびヒト乳がん株であるMC-19-JCKは公益財団法人実験動物中央研究所から入手した。凍結保存していた腫瘍片を融解し、OC-10-JCKとOC-11-JCK、MC-19-JCKはスキッドマウス皮下に移植した。TOGY-18はヌードマウス皮下に移植した。腫瘍が増殖したのち、腫瘍を取り出して腫瘍片を作成し、スキッドマウス皮下またはヌードマウス皮下へ套管針を用いて移植した。同様の操作で移植を繰り返し、腫瘍を維持させ、移植腫瘍を調製した。ヒト卵巣がん細胞株であるES-2、SK-OV-3、OV-90、TOV-21Gおよびヒト肺がん細胞株であるNCI-H1975はAmerican Type Culture Collection (ATCC) から入手した。SK-OV-3およびNCI-H1975細胞は推奨されている培地中で増殖させた後、 1×10^7 個程度をHBSSにて懸濁し、スキッドマウスの皮下に注射した。細胞が腫瘍を形成したのち、腫瘍を取り出して腫瘍片を作成し、スキッドマウス皮下へ套管針を用いて移植した。同様の操作で移植を繰り返し、腫瘍を維持させ、移植腫瘍を調製した。OV-90細胞は推奨培地で増殖させた後、 1×10^6 個程度をHBSSにて懸濁し、スキッドマウスの皮下に注射した。細胞が腫瘍を形成したのち、抗腫瘍試験に供した。TOV-21G細胞は推奨培地で増殖させた後、 1×10^7 個程度をHBSSにて懸濁し、スキッドマウスの皮下に注射した。細胞が腫瘍を形成したのち、抗腫瘍試験に供した。ES-2細胞は推奨されている培地中で増殖させた後、HBSSに懸濁し、ヌードマウスの皮下に注射した。細胞が腫瘍を形成したのち、腫瘍を取り出して腫瘍片を作成し、ヌードマウス皮下へ套管針を用いて移植した。同様の操作で移植を繰り返し、腫瘍を維持させ、移植腫瘍を調製した。ヒト卵巣がん細胞株OVCAR-3はCell Resource Center for Biomedical Research (CRCBR) から入手した。10% FBSを添加したRPMI 1640培地で増殖させた後、 1×10^7 個程度をHBSSにて懸濁し、NOD/SCIDマウスの皮下に注射した。細胞が腫瘍を形成したのち、抗腫瘍試験に供した。ヒト乳がん細胞株JIMT-1はGerman Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ) から入手した。推奨されている培地中で増殖させた後、HBSSに懸濁し、スキッドマウスの皮下に注射した。細胞が腫瘍を形成したのち、腫瘍を取り出して腫瘍片を作成し、スキッドマウス皮下へ套管針を用いて移植した。同様の操作で移植を繰り返し、腫瘍を維持させ、移植腫瘍を調製した。ヒト卵巣がん細胞株2008は10% FBSを添加したRPMI 1640培地で増殖させた後、 1×10^7 個程度をHBSSにて懸濁し、スキッドマウスの皮下に注射した。細胞が腫瘍を形成したのち、腫瘍を取り出して腫瘍片を作成し、スキッドマウス皮下へ套管針を用いて移植した。同様の操作で移植を繰り返し、腫瘍を維持させ、移植腫瘍を調製した。ヒト卵巣がん細胞株SHIN-3は15% FBSを添加したE-MEM培地で増殖させた後、 1×10^6 個程度をHBSSにて懸濁し、スキッドマウスの皮下に注射した。細胞が腫瘍を形成したのち、抗腫瘍試験に供した。OC-11-JCK/PTXおよびOC-11-JCK/CDDPは日本化薬株式会社医薬研究所で樹立したものを使用した。公益財団法人実験動物中央研究所から入手したOC-11-JCKをスキッドマウスまたはヌードマウスに移植し、パクリタキセル(PTX)またはシスプラチン(CDDP)を継続的に投与することでそれぞれの薬剤について薬剤抵抗性を獲得した株をそれぞれOC-11-JCK/PTX、OC-11-JCK/CDDPと名付けた。

【0034】

<腫瘍皮下移植マウスによる抗腫瘍試験>

スキッドマウスまたはヌードマウスで継代維持した上述のOC-10-JCK、OC-11-JCK、OC-11-JCK/CDDP、OC-11-JCK/PTX、MC-19-JCK、TOGY-18、SK-OV-3、ES-2、2008、NCI-H197

10

20

30

40

50

5 および J I M T-1 腫瘍を、各スキッドマウス、NODスキッドマウス（O V C A R-3 のみ）またはヌードマウスの背側部皮下に套管針を用いて移植した。O V-90、T O V-21G、O V C A R-3 および S H I N-3 細胞は上述の方法でマウス皮下に移植した。平均腫瘍体積が概ね $100 \sim 200 \text{ mm}^3$ に達したときに、供試薬剤の投与を開始した。投与各薬剤の量及び用法は、H S P 90 阻害剤化合物として合成例 1 で合成したトリ
 アゾール（A-1）を日本薬局方ブドウ糖注射液に溶解して 40 mg/kg の用量を 4 日
 間隔で 3 回、尾静脈内に投与した。M C-19-J C K については 40 mg/kg を単回
 投与、N C I-H1975 および J I M T-1 については 40 mg/kg を 7 日間隔で 3
 回投与した。G a n e t e s p i b は、ジメチルスルフォキシドに溶解し、クレモフォル
 （登録商標）R H 40 を 20% 含有させた日本薬局方ブドウ糖注射液で 10 倍希釈して
 125 mg/kg の用量を 7 日間隔で 3 回、尾静脈内に投与した。M C-19-J C K につ
 いては 125 mg/kg を単回投与、N C I-H1975 については 150 mg/kg の用量を 7 日間隔で 3 回、尾静脈内に投与した。腫瘍の計測は、投与開始日から観察期間
 終了まで週 2 回行い、腫瘍の長径（L）と短径（W）を、ノギスを用いて測定した。計測
 した腫瘍の長径と短径を用いて、腫瘍体積を式 $(L \times W^2 \times 1/2)$ から算出した。各薬
 剤投与群に無投与群（コントロール群）を加えて、各群 3～5 匹にて抗腫瘍試験を行な
 った。投与開始から 21 日目までについて、無投与群の相対腫瘍体積を 100 とした薬剤投
 与群相対腫瘍体積（ T/C （%））を抗腫瘍効果の指標として以下の式で算出した。式（
 投与群相対腫瘍体積／無投与群相対腫瘍体積 $\times 100$ ）。それぞれの腫瘍について投与開
 始から 21 日目までの T/C （%）の中で最も低い値を表 1 に示した。

10

20

また、投与開始日の腫瘍体積を 1 とした相対腫瘍体積を算出した経時的腫瘍増殖曲線を
 図 1（S K-O V-3）、図 2（T O V-21G）、図 3（O V-90）、図 4（O V C
 A R-3）、図 5（O C-11-J C K）、図 6（O C-11-J C K／C D D P）、図
 7（O C-11／P T X、図 8（T O G Y-18）、図 9（2008）、図 10（S H I
 N-3）、図 11（M C-19-J C K）、図 12（J I M T-1）および図 13（N C
 I-H1975）に示した。

【0035】

<腫瘍タンパク質の抽出>

各腫瘍のタンパク質抽出液は以下のように採取した。スキッドマウスまたはヌードマウスで継代維持したヒト卵巣がん腫瘍を、各スキッドマウスまたはヌードマウスの背側部皮下に套管針を用いて移植した。腫瘍体積が概ね 300 mm^3 に達したときに腫瘍を取り出した。採材した腫瘍を速やかに細断し、湿重量を測定した後、液体窒素によって急速冷凍した。冷凍した腫瘍はビーズショッカーを用いて完全にホモジェナイズし、ここにプロテアーゼ阻害剤とホスファターゼ阻害剤を含有する R I P A 緩衝液を $4 \mu\text{L/mg}$ で加え軽く攪拌した後、氷上で 15 分間静置した。この細胞懸濁液を遠心して上清をタンパク質抽出液とした。タンパク質抽出液中の総タンパク量は B i o R a d プロテインアッセイを用いて定量した。

30

【0036】

<タンパク質の発現量>

腫瘍における H S P 90 の標的タンパク質（クライアントタンパク質）や細胞の生存および増殖に関連するタンパク質の発現量を免疫ブロット法で確認した。

40

$30 \mu\text{g}$ の総タンパク質を 8% アクリルアミドゲルで電気泳動した。次いで 4°C 下で 100 V、60 分間電圧をかけてタンパク質を P V D F 膜に転写した。転写の終えた P V D F 膜は 5% 脱脂粉乳を含む T B S-T w e e n（0.1%）を用いて常温で 60 分間ブロッキングした後、以下に示す一次抗体と 4°C で一晩インキュベートした。

【0037】

一次抗体（入手先、製品番号、希釈比率、露光時間）

E G F R（S a n t a C r u z, s c-003, 1:500, 1分）

H E R 2（S a n t a C r u z, s c-284, 1:2000, 5秒）

H E R 3（S a n t a C r u z, s c-285, 1:400, 1分）

50

Met (Santa Cruz, sc-161, 1:500, 5分)
 IGF-1R (Cell Signaling, #3027, 1:500, 15秒)
 Raf-1 (Santa Cruz, sc-133, 1:300, 5分)
 Stat3 (BD Transduction Laboratory, 610189, 1:500, 15秒)
 pAkt (Cell Signaling, #4058S, 1:500, 1分)
 Akt (Cell Signaling, #4691S, 1:2000, 15秒)
 pERK (Santa Cruz, sc-16982-R, 1:500, 1分)
 ERK (Invitrogen, 44-654G, 1:1000, 15秒)
 mTOR (Cell Signaling, #2983S, 1:500, 15秒)
 MEK (Cell Signaling, #9122S, 1:500, 1分)
 HSP90 (Enzo Life Science, SPA-830, 1:500, 15秒)
 HSP70 (Enzo Life Science, SPA-810, 1:2000, 15秒)
 Actin (Santa Cruz, sc-8432/HRP, 1:300, 5分)

【0038】

インキュベート後、ブロット膜をTBS-Tween (0.1%)を用いて常温で10分間洗浄×3回行い、余剰の一次抗体を除去した後、適切な二次抗体 (anti-rabbit IgG HRP conjugate又はanti-mouse IgG HRP conjugate) と常温で60分間インキュベートした。余剰な二次抗体をTBS-Tween (0.1%)を用いて常温で10分間×3回の洗浄で除去し、ECL Western Blotting Detection Reagents (GEヘルスケア) と2分間インキュベートした後、X線フィルムに露光することで目的タンパク質のシグナルを検出した。

クライアントタンパク質としてEGFR、HER2、HER3、Met、IGF-1R、Raf-1、Stat-3、Akt、mTORおよびMEKの発現量を調べた。細胞の生存および増殖を制御するタンパク質としてpAkt、pERKおよびERKの発現量を調べた。HSP90関連タンパク質としてHSP90およびHSP70の発現量を確認した。内部標準タンパク質としてActinを採用した。1つの腫瘍株につき最低2個体からタンパク質抽出液を採取し評価した。結果を図14に示した。また一部のタンパク質発現レベルの強弱を表1に示した。発現レベルは以下の基準により決定した。

+++：上述した条件でウエスタンブロットした際、目的の分子量の位置に非常に濃く明確なバンドが確認された。

++：上述した条件でウエスタンブロットを行った際、目的の分子量の位置に明確なバンドが確認された。

＋：上述した条件でウエスタンブロットを行った際、目的の分子量の位置に薄いまたはやや不明確なバンドが得られた。

－：上述した条件でウエスタンブロットを行った際、目的の分子量の位置にバンドが見られない、または極薄いバンド、不明瞭なバンドしか得られない。

【0039】

【表 1】

トリアゾール化合物（A-1）及びGanetespibの抗腫瘍効果と各種分子マーカーの発現量

腫瘍株	T/C%		発現レベル					
	A-1	Ganetespib	EGFR	HER2	Met	pAkt	pERK	mTOR
SK-OV-3	3.0	NT	+++	+++	+	+++	—	+
TOV-21G	25.0	NT	—	—	—	++	++	—
ES-2	25.6	NT	++	—	++	—	+	+
OV-90	30.4	NT	++	—	++	—	++	+
OVCAR-3	34.9	NT	—	+	+	+	—	+
OC-11-JCK	36.0	NT	+++	—	++	—	—	++
TOGY-18	45.2	67.7	—	+	++	—	—	+
OC-11-JCK/ CDDP	46.4	NT	+	—	—	—	—	++
OC-10-JCK	50.2	NT	—	++	++	—	—	++
2008	51.7	NT	+++	+	++	—	—	—
OC-11-JCK/ PTX	62.4	84.0	++	—	+	—	—	+
SHIN-3	78.1	NT	+	+	+	—	—	—
MC-19-JCK	5.2	19.8	NT	NT	NT	NT	NT	NT
JIMT-1	34.9	56.6	NT	NT	NT	NT	NT	NT
NCI-H1975	49.4	44.0	NT	NT	NT	NT	NT	NT

NT：未検討

【0040】

表1から分かるように、トリアゾール化合物（A-1）には他の分子標的薬と同様に薬剤が高い効果を示す株（例えばSK-OV-3やTOV-21G）と効果をほとんど示さない株（例えばOC-11-JCK／PTXやSHIN-3）が存在することが分かった。

【0041】

図14または表1から分かるように、トリアゾール化合物（A-1）の効果が比較的高い腫瘍であるSK-OV-3、TOV-21G、ES-2、OV-90およびOVCAR-3においてはpAktの発現量またはpERKの発現量が他の腫瘍株に比べ高い傾向にあり、トリアゾール化合物（A-1）の抗腫瘍効果が低い腫瘍（例えば2008、OC-11／PTXまたはSHIN-3）においてはpAktとpERKの発現レベルは両者とも低い傾向にあった。一方で他のHSP90クライアントタンパク質やHSP90関連タンパク質の発現量とトリアゾール化合物（A-1）の効果との間には相関性が見られなかった。

以上の結果はpAktまたはpERKの発現量が亢進している腫瘍はトリアゾール化合物（A-1）に対して高い感受性を持っていることを示している。

【0042】

また、表1から分かるようにトリアゾール化合物（A-1）の抗腫瘍効果とGanetespibの抗腫瘍効果が相関していることが確認された。このことは少なくともトリアゾール環を有するHSP90阻害剤であれば、抗腫瘍効果の発現パターンおよび効果の判別につながるバイオマーカーが共通であることによる。分子標的抗腫瘍剤のバイオマーカーは分子標的抗腫瘍剤の構造ではなく、その作用機序に依存するため、HSP90阻害剤全般においても、pAktまたはpERKの発現量が亢進している腫瘍はHSP90阻害剤に対して高い感受性を持っていることを示唆している。

【0043】

実施例2

<細胞と移植腫瘍>

実施例1と同様にして、ヒト卵巣がん細胞株であるSK-OV-3およびTOV-21Gの移植腫瘍を調製した。

【0044】

<腫瘍タンパク質の抽出>

各腫瘍のタンパク質抽出液は以下のように採取した。スキッドマウスで継代維持した該ヒト卵巣がん腫瘍を、スキッドマウスの背側部皮下に套管針を用いて移植した。腫瘍体積が概ね 300 mm^3 に達したときに、HSP90阻害剤として合成例1で合成したトリアゾール(A-1)を実施例1と同様に 40 mg/kg の用量でマウス尾静脈に投与した。投与前および投与後4、24時間に腫瘍を取り出した。各時点においてSK-OV-3腫瘍については3匹ずつ、TOV-21G腫瘍については2匹ずつのマウスから腫瘍を取り出した。実施例1と同様にしてタンパク質抽出液を得、タンパク質抽出液中の総タンパク質量を実施例1と同様にして定量した。

【0045】

<タンパク質の発現量の変化>

トリアゾール化合物(A-1)を投与した後のSK-OV-3およびTOV-21G腫瘍内におけるクライアントタンパク質およびHSP90関連タンパク質の発現量の変化を実施例1と同様に免疫ブロット法により調べた。用いた一次抗体及び二次抗体の種類、希釈比率は実施例1と同一である。

SK-OV-3腫瘍の免疫ブロット結果を図15に、TOV-21G腫瘍の免疫ブロット結果を図16に示した。

【0046】

図15から分かるようにトリアゾール化合物(A-1)投与後4時間のSK-OV-3腫瘍ではクライアントタンパク質であるEGFR、IGF-1R、MetおよびmTORなどの発現レベルが顕著に減少しており、それに伴って細胞の増殖・生存シグナルを制御するpAktおよびpERKの発現レベルも顕著に減少した。一方で総Aktおよび総ERK発現量に変化は見られなかった。また図16から分かるようにTOV-21G腫瘍についてもクライアントタンパク質であるEGFR、HER2、IGF-1R、MetおよびmTORなどの発現レベルが減少しており、それに伴ってpAktの発現レベルも減少した。しかし総Aktおよび総ERKの発現量に変化は見られなかった。以上の結果はHSP90阻害剤であるトリアゾール化合物(A-1)はがん細胞の増殖に寄与するクライアントタンパク質の発現量を減少させることでAktおよびERKのリン酸化を阻害し、抗腫瘍効果を発現することを示している。

【0047】

実施例3

<細胞と移植腫瘍>

ヒト卵巣がん細胞株であるSK-OV-3、TOV-21G、2008およびOC-11-JCKを実施例1と同様にして移植腫瘍を調製した。

【0048】

<組織標本の作製>

各腫瘍の組織標本は以下のように作製した。スキッドマウスで継代維持した上述のヒト卵巣がん腫瘍を、スキッドマウスの背側部皮下に套管針を用いて移植した。腫瘍体積が概ね 300 mm^3 に達したときに腫瘍を取り出した。採材した腫瘍は割を入れたのち、速やかに10%中性緩衝ホルマリンで一晩固定した。固定した腫瘍をエタノールで段階的に脱水し、キシレンに透徹後、パラフィンに包埋した。作製したパラフィンプロックを $3\text{ }\mu\text{m}$ で薄切しスライドガラスに固定することで切片を得た。作製した切片はキシレンを用いてパラフィンを除去し、エタノールで段階的に親水化した。クエン酸ナトリウムバッファー中でのマイクロウェーブ処理により抗原を賦活化した後(pAkt染色のみこの作業を行った。)、0.2%ブタ血清溶液を用いて常温で30分間ブロッキングした。次いで以下に示す一次抗体と 4°C で一晩インキュベートした。pAkt(シグマ, SAB43002

59, 1:500)、pERK (Santa Cruz, sc-16982-R, 1:500) TBS緩衝液を用いて常温で5分間洗浄×3回行い、余剰の一次抗体を除去した後、anti-rabbit IgG HRP conjugateと37℃で30分間インキュベートした。余剰な二次抗体を、TBSを用いて常温、5分間×3回の洗浄で除去し、DABで目的タンパク質のシグナルを染色した。各腫瘍の染色切片について顕微鏡観察を行い、細胞の増殖が盛んで壊死層の少ない腫瘍辺縁部において3視野の写真を撮影した。がん細胞の内、陽性細胞と陰性細胞の数を計測して、陽性細胞の割合を以下の式で算出した。陽性細胞% = $100 \times \text{陽性細胞数} / (\text{陽性細胞数} + \text{非陰性細胞数})$ 。

【0049】

2008、OC-11-JCK、SK-OV-3およびTOV-21G腫瘍におけるpAkt陽性細胞の割合を図17に示した。OC-11-JCK、SK-OV-3およびTOV-21G腫瘍におけるpERK陽性細胞の割合を図18に示した。またそれぞれの陽性細胞割合の値と実施例1で得られたトリアゾール化合物(A-1)のT/C(%)を表2に示した。

【0050】

【表2】

各腫瘍株におけるpAktおよびpERK陽性細胞の割合とトリアゾール化合物(A-1)の抗腫瘍効果

腫瘍	pAkt 陽性細胞%	pERK 陽性細胞%	T/C(%)
2008	0.88	NT	51.7
OC-11-JCK	0.67	1.01	36.0
TOV-21G	4.31	5.89	25.0
SK-OV-3	24.05	1.84	3.0

【0051】

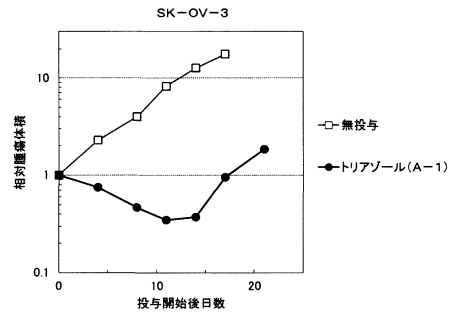
図17、18および表2から、免疫組織学的検討においてもpAkt陽性細胞またはpERK陽性細胞の割合とトリアゾール化合物(A-1)の抗腫瘍効果は相関していることが確認できた。またこれらの結果からpAktおよびpERKの陽性細胞の割合が両者とも1%未満の腫瘍に対してはトリアゾール化合物(A-1)の高い効果は望めないことが示唆された。分子標的抗腫瘍剤のバイオマーカーは分子標的抗腫瘍剤の構造ではなく、その作用機序に依存するため、その他のHSP90阻害剤全般においても、pAktまたはpERKの発現量が亢進している腫瘍はHSP90阻害剤に対して高い感受性を持っていることを示唆している。

10

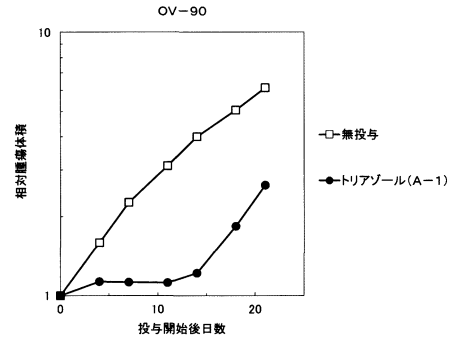
20

30

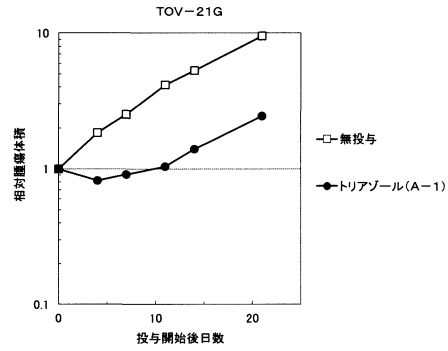
【図 1】



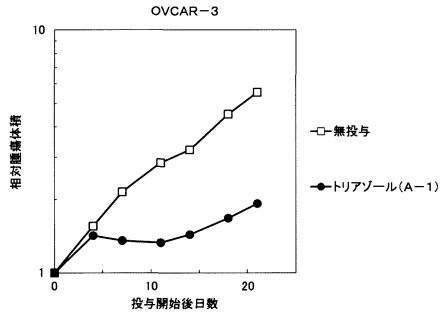
【図 3】



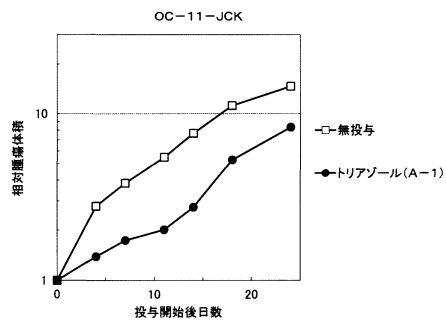
【図 2】



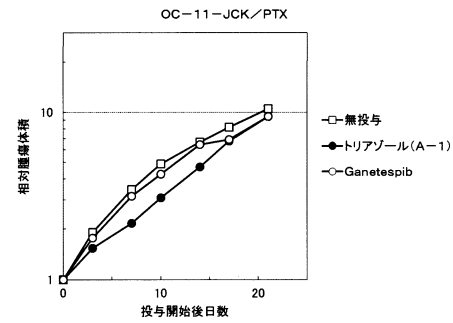
【図 4】



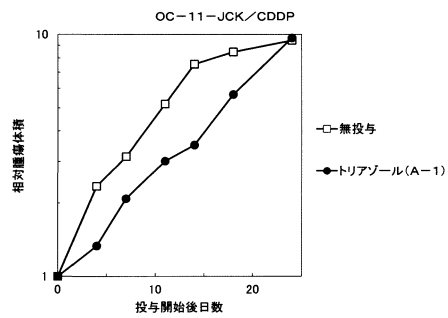
【図 5】



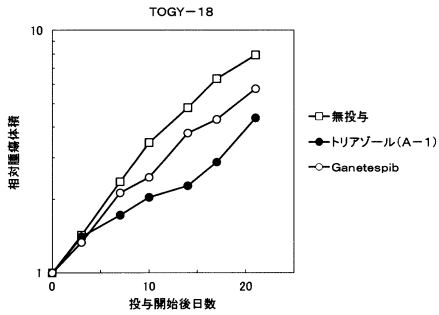
【図 7】



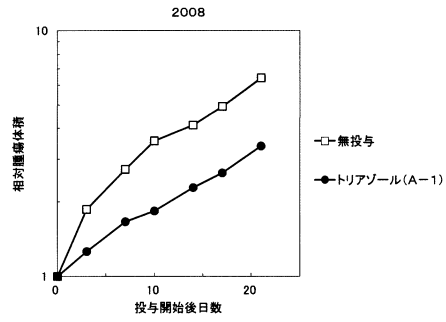
【図 6】



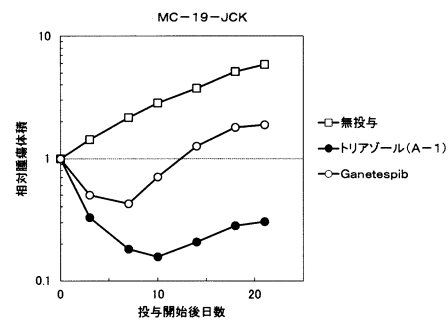
【図 8】



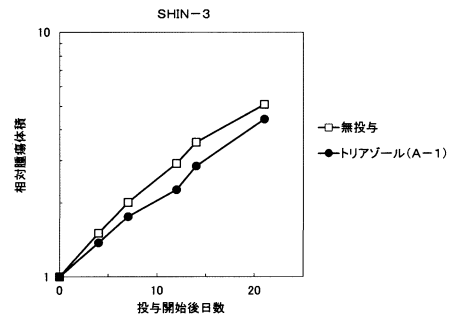
【図 9】



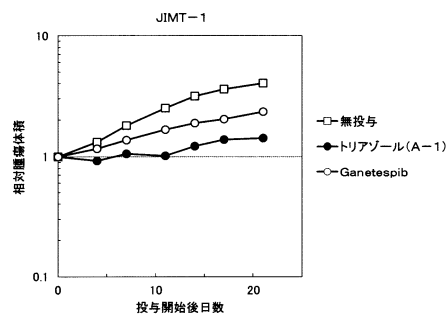
【図 1 1】



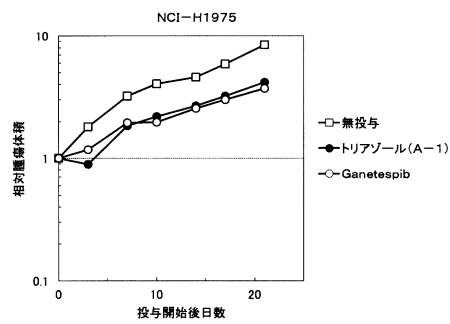
【図 1 0】



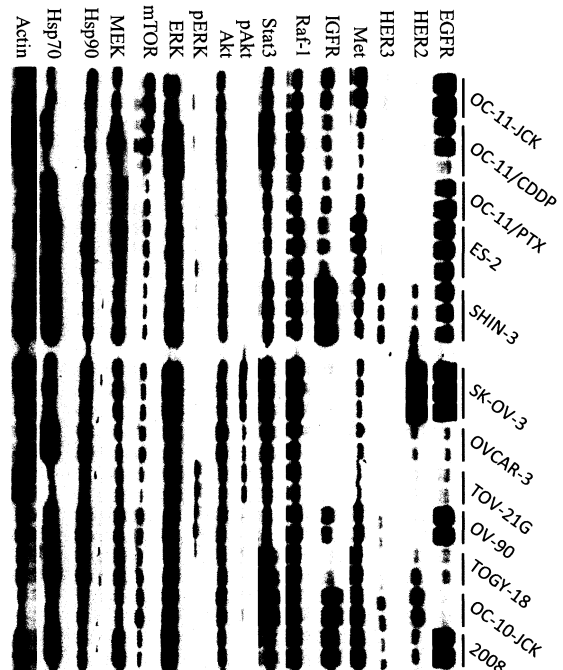
【図 1 2】



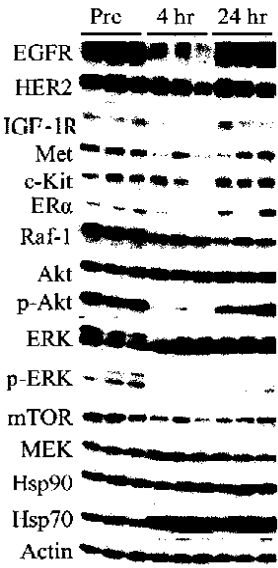
【図 1 3】



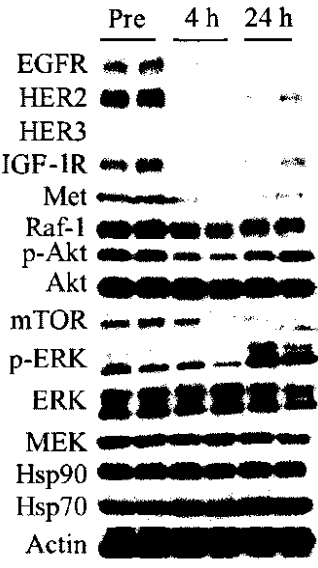
【図 1 4】



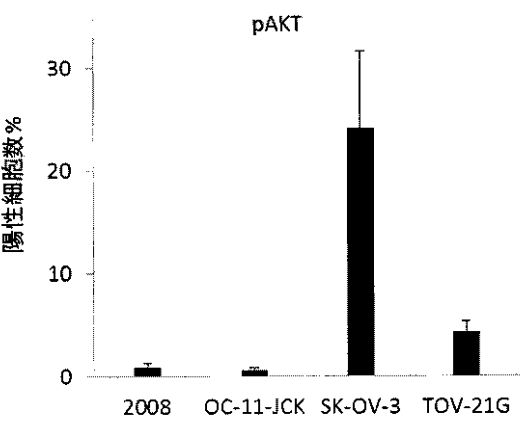
【図 1 5】



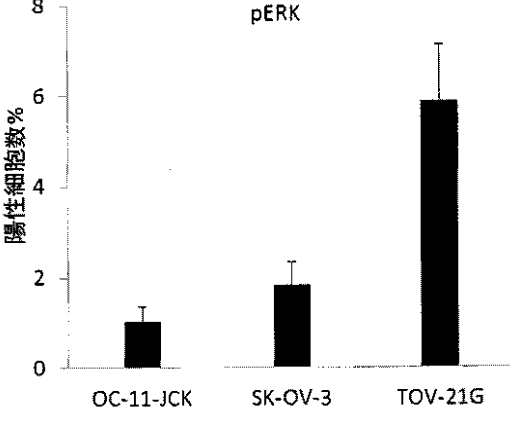
【図 1 6】



【図 1 7】



【図 1 8】



フロントページの続き

合議体

審判長 三崎 仁

審判官 渡戸 正義

審判官 ▲高▼見 重雄

(56)参考文献 国際公開第2013/009655 (WO, A2)

特表2012-500013 (JP, A)

特表2008-538750 (JP, A)

国際公開第2013/074594 (WO, A1)

国際公開第2006/095783 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N33/48-33/98

C12Q1/48

A61K31/4196

A61K31/4196

专利名称(译)	预测HSP90抑制剂在癌症治疗中的抗肿瘤作用的方法		
公开(公告)号	JP6497767B2	公开(公告)日	2019-04-10
申请号	JP2013259134	申请日	2013-12-16
[标]申请(专利权)人(译)	日本化药有限公司		
申请(专利权)人(译)	日本化药有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	日本化药有限公司		
[标]发明人	福田剛 宮崎修 増田久仁子 岡本一也		
发明人	福田 剛 宮▲崎▼ 修 増田 久仁子 岡本 一也		
IPC分类号	G01N33/53 A61K31/4196 A61P35/00 C12Q1/48 G01N33/574		
CPC分类号	G01N33/5011 C12Q1/485 G01N33/574 G01N2333/91205 G01N2333/91215		
FI分类号	G01N33/53.S A61K31/4196 A61P35/00 C12Q1/48.Z G01N33/574.A		
F-TERM分类号	4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ27 4B063/QQ79 4B063/QR07 4B063/QR48 4B063/QR72 4B063/QS33 4B063/QX01 4C086/AA02 4C086/BC60 4C086/ZB26		
其他公开文献	JP2015114312A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

一 尚未建立用于确定对HSP90抑制剂治疗有效的患者的生物标志物。
 [解决方案] 一种通过测量患者肿瘤组织中Akt或ERK磷酸化的磷酸化水平来确定肿瘤对HSP90抑制剂的敏感性的方法。[选定图]图17

(19) 日本国特許庁 (JP)		(12) 特 許 公 報 (B2)	(11) 特許番号 特許第6497767号 (P6497767)
(45) 発行日 平成31年4月10日 (2019. 4. 10)		(24) 登録日 平成31年3月22日 (2019. 3. 22)	
(51) Int. Cl.		F I	
G O 1 N 33/53 (2006.01)		G O 1 N 33/53 S	
A 6 1 K 31/4196 (2006.01)		A 6 1 K 31/4196	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)		A 6 1 P 35/00	
C 1 2 Q 1/48 (2006.01)		C 1 2 Q 1/48 Z	
G O 1 N 33/574 (2006.01)		G O 1 N 33/574 A	
		請求項の数 7 (全 19 頁)	
(21) 出願番号	特願2013-259134 (P2013-259134)	(73) 特許権者	000004086
(22) 出願日	平成25年12月16日 (2013. 12. 16)		日本化薬株式会社
(65) 公開番号	特開2015-114312 (P2015-114312A)	(72) 発明者	福田 剛 東京都千代田区丸の内二丁目1番1号
(43) 公開日	平成27年6月22日 (2015. 6. 22)		株式会社 医薬研究所内
審査請求日	平成28年6月9日 (2016. 6. 9)	(72) 発明者	宮▲崎▼ 修 東京都北区志茂3-31-12 日本化薬株式会社 医薬研究所内
審判番号	不服2018-5889 (P2018-5889/11)		東京都北区志茂3-31-12 日本化薬株式会社 医薬研究所内
審判請求日	平成30年4月27日 (2018. 4. 27)	(72) 発明者	増田 久仁子 東京都北区志茂3-31-12 日本化薬株式会社 医薬研究所内
		(72) 発明者	岡本 一也 東京都北区志茂3-31-12 日本化薬株式会社 医薬研究所内
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌治療におけるHSP90阻害剤の抗腫瘍効果を予測する方法