

(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2018-529642

(P2018-529642A)

(43) 公表日 平成30年10月11日(2018.10.11)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00 Z N A	4 B 0 6 3
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 3/14 (2006.01)	A 6 1 P 3/14	4 C 2 0 6
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 K 31/137 (2006.01)	A 6 1 K 31/137	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 39 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-503504 (P2018-503504)	(71) 出願人	518020060
(86) (22) 出願日	平成27年7月22日 (2015.7.22)		ホスピタル サント ジョアン デ デュ
(85) 翻訳文提出日	平成30年3月17日 (2018.3.17)		ー
(86) 国際出願番号	PCT/ES2015/070561		HOSPITAL SANT JOAN
(87) 国際公開番号	W02017/013276		DE DEU
(87) 国際公開日	平成29年1月26日 (2017.1.26)		スペイン国, バルセロナ, 2 イー O
			8 9 5 0 エスブルガス デ リュブラガ
			ート, ピー サント ジョアン デ デ
			ュー
		(71) 出願人	518020071
			フンダシオ セレックス
			FUNDACIO CELLEX
			スペイン国, バルセロナ, 1 5 イー
			0 8 0 1 0, パセジ デ サント ジョ
			アン
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 C A S R を発現する癌 (例えば神経芽腫) のための免疫療法

(57) 【要約】

本発明は、癌の分野に関連する。特に、癌細胞の免疫療法薬に対する感受性を高めるための方法および癌治療の有効性を評価するための方法に関連する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

CaSRを発現する癌を持つ被験体のCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性を高めるときの使用のためのCaSR活性化剤。

【請求項 2】

請求項1に記載の使用のためのCaSR活性化剤であって、CaSR活性化剤は、CaSRアロステリック活性化因子であり、好ましくはシナカルセト、NPS-R568、カリンドール、カルシウム受容体作動薬B、AC-265347およびこれらの組み合わせから選択され；およびより好ましくは、CaSR活性化剤は、シナカルセトである、CaSR活性化剤。

【請求項 3】

請求項1または2に記載の使用のためのCaSR活性化剤であって、癌細胞は、副甲状腺腺腫および癌腫、大腸癌、乳癌、前立腺癌、膠腫、ライディヒ細胞癌、卵巣癌、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫、骨転移およびこれらの組み合わせから選択される癌からの細胞であり；好ましくは、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫から選択され；およびより好ましくは、神経芽腫である、CaSR活性化剤。

10

【請求項 4】

請求項1～3のいずれか1項に記載の使用のためのCaSR活性化剤であって、SSXファミリーのCTAに基づいた免疫療法薬に対する、および/またはGAGEファミリーのCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性を高めるときの使用のための、CaSR活性化剤。

【請求項 5】

請求項4に記載の使用のためのCaSR活性化剤であって、MAGEファミリーのCTAに基づいた免疫療法薬に対する、および/または非-X-ファミリーCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性を高めるときの使用のための、CaSR活性化剤。

20

【請求項 6】

CaSRを発現する癌の治療における使用のための、CTAに基づいた免疫療法薬と組み合わせたCaSR活性化剤。

【請求項 7】

請求項6に記載の使用のためのCaSR活性化剤であって、CaSR活性化剤は、CaSRアロステリック活性化因子であり、好ましくはシナカルセト、NPS-R568、カリンドール、カルシウム受容体作動薬B、AC-265347およびこれらの組み合わせから選択され；およびより好ましくは、CaSR活性化剤は、シナカルセトである、CaSR活性化剤。

30

【請求項 8】

請求項6または7に記載の使用のためのCaSR活性化剤であって、癌細胞は、副甲状腺腺腫および癌腫、大腸癌、乳癌、前立腺癌、膠腫、ライディヒ細胞癌、卵巣癌、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫、骨転移およびこれらの組み合わせから選択される癌からの細胞であり；好ましくは、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫から選択され；およびより好ましくは、神経芽腫である、CaSR活性化剤。

【請求項 9】

請求項6～8のいずれか1項に記載の使用のためのCaSR活性化剤であって、CTAに基づいた免疫療法薬は：

40

-SSXファミリー；好ましくは、SSX 4および/またはSSX 4Bから選択される、SSXファミリーのCTAおよび/または

-GAGEファミリー；好ましくは、GAGE1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択される、GAGEファミリーのCTA
に特異的な免疫療法薬を含む、CaSR活性化剤。

【請求項 10】

請求項9に記載の使用のためのCaSR活性化剤であって、CTAに基づいた免疫療法薬は、MAGEファミリー；好ましくはMAGE A2および/またはMAGE A3のCTAに特異的な免疫療法薬を

50

含む、CaSR活性化剤。

【請求項 1 1】

請求項9または10に記載の使用のためのCaSR活性化剤であって、CTAに基づいた免疫療法薬は、非-X-CTA；好ましくはCTCFLに特異的な免疫療法薬を含む、CaSR活性化剤。

【請求項 1 2】

同時の、別々の、または連続した投与のための組み合わせとしてCaSR活性化剤およびCTAに基づいた免疫療法薬を含むキット。

【請求項 1 3】

請求項12に記載のキットであって、CaSR活性化剤は、CaSRアロステリック活性化因子であり、好ましくは、シナカルセト、NPS-R568、カリンドール、カルシウム受容体作動薬B、AC-265347およびこれらの組み合わせから選択され；およびより好ましくは、CaSR活性化剤は、シナカルセトである、キット。

10

【請求項 1 4】

請求項12または13に記載のキットであって、CTAに基づいた免疫療法薬は：

-SSXファミリー；好ましくはSSX 4および/またはSSX 4B、のCTAおよび/または

-GAGEファミリー；好ましくはGAGE1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択される、GAGEファミリーのCTAに特異的な免疫療法薬を含む、キット。

20

【請求項 1 5】

請求項14に記載のキットであって、CTAに基づいた免疫療法薬は、MAGEファミリー；好ましくはMAGE A2および/またはMAGE A3のCTAに特異的な免疫療法薬を含む、キット。

【請求項 1 6】

請求項14または15に記載のキットであって、CTAに基づいた免疫療法薬は、非-X-CTA；好ましくはCTCFLに特異的な免疫療法薬を含む、キット。

【請求項 1 7】

CaSRを発現する癌を持つ被験体に投与される療法の有効性を評価するためのインビトロでの方法であって：

a) 療法前および後に前記被験体からの生物学的試料におけるCTA遺伝子の発現レベルを定量化する工程、および

30

b) 前記生物学的試料におけるCTA遺伝子の発現レベルを比較する工程、を含む方法であり、

投与される療法は、CaSR活性化剤を含み、および療法前の前記CTA遺伝子の発現レベルに対して療法後のCTA遺伝子の発現レベルの上昇は、療法が有効であることを示している、

方法。

【請求項 1 8】

請求項17に記載の方法であって、発現レベルは：

a) CTA遺伝子のmRNAを検出すること；

40

b) CTA遺伝子によってコードされるタンパク質を検出すること；および

c) CTA遺伝子によってコードされるタンパク質と少なくとも90%の同一性を有する任意のアミノ酸配列を検出すること、

から選択されるいずれか1つの方法によって定量化される、方法。

【請求項 1 9】

請求項17または18に記載の方法であって、生物学的試料は、腫瘍組織試料または生物学的液体であり、好ましくは生物学的液体である、方法。

【請求項 2 0】

請求項17～19のいずれか1項に記載の方法であって、CaSR活性化剤は、CaSRアロステリック活性化因子であり；好ましくは、シナカルセト、NPS-R568、カリンドール、カルシウ

50

ム受容体作動薬B、AC-265347およびこれらの組み合わせから選択され；およびより好ましくは、シナカルセットである、方法。

【請求項 2 1】

請求項17～20のいずれか1項に記載の方法であって、癌は、副甲状腺腺腫および癌腫、大腸癌、乳癌、前立腺癌、膠腫、ライディヒ細胞癌、卵巣癌、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫、骨転移およびこれらの組み合わせから選択され；好ましくは、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫から選択され；およびより好ましくは、神経芽腫である、方法。

【請求項 2 2】

請求項17～21のいずれか1項に記載の方法であって、工程a)は：

10

-SSXファミリー；好ましくはSSX 4および/またはSSX 4B、のCTAおよび/または

-GAGEファミリー；好ましくはGAGE1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択される、GAGEファミリーのCTAの発現レベルを定量化することを含む、方法。

【請求項 2 3】

請求項22に記載の方法であって、工程a)は、MAGEファミリー；好ましくはMAGE A2および/またはMAGE A3のCTAの発現レベルを定量化することを含む、方法。

20

【請求項 2 4】

請求項22または23に記載の方法であって、工程a)は、非-X-CTA；好ましくはCTCFLの発現レベルを定量化することを含む、方法。

【請求項 2 5】

請求項22～24のいずれか1項において定義された方法を実施するキットであって：

-SSXファミリー；好ましくはSSX 4および/またはSSX 4B、のCTAおよび

-GAGEファミリー；好ましくはGAGE1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択される、GAGEファミリーのCTAおよび随意に：

30

-MAGEファミリー；好ましくはMAGE A2および/またはMAGE A3、のCTAおよび/または

-非-X-CTA；好ましくはCTCFL、の発現レベルを定量化するための適切な手段

および適切なパッケージング

を含む、キット。

【請求項 2 6】

CaSR活性化剤での治療に対するCaSRを発現する癌の腫瘍応答の代用マーカーとしてのCTA遺伝子の使用。

【請求項 2 7】

請求項26に記載の使用であって、CaSR活性化剤は、CaSRアロステリック活性化因子であり、好ましくはシナカルセット、NPS-R568、カリンドール、カルシウム受容体作動薬B、AC-265347およびこれらの組み合わせから選択され、およびより好ましくは、シナカルセットである、使用。

40

【請求項 2 8】

請求項26または27に記載の使用であって、癌は、副甲状腺腺腫および癌腫、大腸癌、乳癌、前立腺癌、膠腫、ライディヒ細胞癌、卵巣癌、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫、骨転移およびこれらの組み合わせから選択され；好ましくは、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫から選択され；およびより好ましくは、神経芽腫である、使用。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

本発明は、癌の分野、特に癌免疫療法に関連する。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

カルシウム感知受容体 (CaSR) は、血漿における最小の Ca^{2+} 変動を感知し、およびそれに応じて副甲状腺ホルモンの分泌を調節して、非常に狭い範囲内でこの陽イオンの細胞外濃度を維持するファミリー C Gタンパク質共役受容体 (GPCR) である。また、CaSRは、 Ca^{2+} ホメオスタシスに含まれない多くの器官および組織において発現される。このGPCRは、
10
その他の物質の中で、その他のイオン、ポリアミンおよびL-アミノ酸の変化を検出し、およびいくつかのGタンパク質 ($G_{q/11}$ 、 $G_{12/13}$ 、 G_i および G_s) に結合することができ、したがって、様々な下流のシグナリング経路を活性化する。この多用途の機構は、CaSRが、癌を含む生理的、および病理学的状態における多種多様の細胞型特異的役割を果たすことを可能にする。

【0003】

CaSR活性化因子は、オルソステリックリガンドまたは直接的CaSRアゴニスト (1型アゴニストまたはI型カルシウム受容体作動薬としても知られる) およびCaSRのアロステリック活性化因子 (2型アゴニストまたはII型カルシウム受容体作動薬としても知られる) に
20
分けられることができる。 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Gd^{3+} 、ネオマイシン、Lアミノ酸などのI型カルシウム受容体作動薬は、その細胞外ドメインとの直接相互作用によってCaSRを活性化する。それに対して、シナカルセトなどのアロステリック活性化因子は、それ自体が受容体を活性化しないが、その三次元構造をむしろ修飾し、そうすると、それはカルシウム刺激に感受性がより高くなる。シナカルセトは、外科的な治療が可能でないときに、慢性腎疾患のために透析されている患者における重篤な上皮小体機能亢進症 (HPT)、副甲状腺癌と関連する高カルシウム血症および原発性HPTを持つ患者における重篤な高カルシウム血症を治療するために承認された。その上、WO2013144397は、神経芽細胞腫瘍の治療におけるシナカルセトの使用を記述する。

【0004】

神経芽細胞腫瘍は、末梢の神経系前駆細胞から生じる発達した悪性腫瘍の不均一なグループを包含し、および神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫を含む。これらの一部は、自発性後退を経て、およびその他は局所的領域性の腫瘍としてのみ進行するが、約50%は、転移性神経芽腫として存在する。前者の2つのグループにおける大部分の患者の予後は、細胞毒性の療法がなくても優秀である。しかし、転移性疾患と診断された患者の全体の生存率は、化学療法、外科手術、放射線療法、自己骨髄移植、分化誘導薬および免疫療法を含む現在の多様式アプローチにもかかわらず40%未満のままである。その上、18
30
カ月より年上の患者における転移性神経芽腫の約60%は、最終的に再発し、および現在まで、これらの患者のために根治的である公知の治療がない。

【0005】

腫瘍関連抗原、ジシアロガングリオシドGD2をターゲットとする免疫療法薬は、リスクの大きい神経芽腫 (転移性の場合および不応性の局所的領域性の腫瘍) のための標準治療の一部になった。顆粒白血球-マクロファージコロニー刺激因子およびインターロイキン-2と組み合わさったch14.18 (キメラヒト-マウス抗GD2モノクローナル抗体) を持つ免疫療法薬は、リスクの大きい神経芽腫を持つ患者における標準的な療法と比較して有意に改善された結果と関連すると報告されていた。しかし、また、GD2は、ニューロン、皮膚メラノサイトおよび末梢感覚神経繊維において発現される。発現のこのパターンは、この免疫療法薬投薬計画の重要な治療関連毒性作用の一因となり、重篤な疼痛、低血圧、毛細血管漏出症候群および過敏性反応を含む。
40

【0006】

その上、癌における分子標的治療を限定するのは、投与された薬物への腫瘍応答を評価
50

することを可能にするマーカー、特に非侵襲的技術を使用して検出されることができマーカーの欠如である。これらの薬物の多くは、撮像技術によってモニターされることができ腫瘍容積の劇的な収縮を生じさせず、生検を繰り返し行わない限り薬物の効果を評価することが困難である。

【0007】

したがって、最高水準の技術において、正常な組織に影響を及ぼさずに免疫療法薬に対する癌細胞の感受性を高め、新たな癌療法を提供し、および前記癌の治療のために投与される療法に対する癌と診断される患者の反応を評価することを可能にする代用マーカーを提供する必要がある。

【発明の概要】

10

【0008】

第1の側面において、本発明は、CaSRを発現する癌を持つ被験体のCTAに基づいた免疫療法薬に対するCaSRを発現する感受性を高めるときの使用のためのCaSR活性化剤に関連する。

【0009】

第2の側面において、本発明は、CaSRを発現する癌の治療における使用のためのCTAに基づいた免疫療法薬と組み合わせたCaSR活性化剤に関連する。

【0010】

第3の側面において、本発明は、同時の、別々の、または連続した投与のための組み合わせとしてCaSR活性化剤およびCTAに基づいた免疫療法薬を含むキットに関連する。

20

【0011】

第4の側面において、本発明は、CaSRを発現する癌を持つ被験体に投与される療法の有効性を評価するためのインピトロでの方法であって：

a) 療法前および後に前記被験体からの生物学的試料におけるCTA遺伝子の発現レベルを定量化する工程、および

b) 生物学的試料におけるCTA遺伝子の発現レベルを比較する工程、を含む方法であり、投与される療法は、CaSR活性化剤を含み、および療法前の前記CTA遺伝子の発現レベルに対して療法後のCTA遺伝子の発現レベルの上昇は、療法が有効であることを示す。

【0012】

第5の側面において、本発明は、SSXファミリーのCTA遺伝子およびGAGEファミリーのCTA遺伝子の発現レベルを測定する適切な手段および適切なパッケージングを含む、CaSRを発現する癌を持つ被験体に投与される療法の有効性を評価するためのキットに関連する。

30

【0013】

第6の側面において、本発明は、CaSR活性化剤での治療に対するCaSRを発現する癌の腫瘍応答の代用マーカーとしてのCTA遺伝子の使用に関連する。

【0014】

本出願のその他の目的、特徴、利点および側面は、以下の記述および添付の特許請求の範囲から当業者にとって明らかになるだろう。

【図面の簡単な説明】

【0015】

40

【図1】3日間(3d)および14日間(14d)1 μ Mシナカルセト(C)またはDMSO(溶媒(V))に曝露されるLA-N-1細胞の形態学的評価を示す顕微鏡写真である。

【図2】(A)時間(日)あたりのシナカルセト(三角)または溶媒(丸)で治療されたインビボでの神経芽腫モデルにおける生存率(%)におけるシナカルセト治療の効果；(B)時間(週)あたりのシナカルセト(三角)または溶媒(丸)を受けているマウスにおける血漿イオン性Ca²⁺濃度(mmol/L)、を示すグラフを含む。

【図3】シナカルセト(C)または溶媒(V)で治療された異なる検体についての種々の遺伝子(図3における93および図4における34のプロブセット)の発現プロファイルの視覚的描写である。ヒートマップにおいて、アップレギュレートされた遺伝子は赤で表され、グレースケールではより暗い色合いによって示される傾向がある。グレースケールにおい

50

てより明るい色合いは、ヒートマップ上で緑で存在する傾向がある（アップレギュレートされない遺伝子）。

【図4】シナカルセット（C）または溶媒（V）で治療された異なる検体についての種々の遺伝子（図3における93および図4における34のプロブセット）の発現プロファイルの視覚的描写である。ヒートマップにおいて、アップレギュレートされた遺伝子は赤で表され、グレースケールではより暗い色合いによって示される傾向がある。グレースケールにおいてより明るい色合いは、ヒートマップ上で緑で存在する傾向がある（アップレギュレートされない遺伝子）。

【図5】（A）シナカルセット（C）または溶媒（V）で治療された検体における逆転写定量的PCR（RT-qPCR）によって決定されるCTCFの相対的mRNA発現、（B）同じモデルにおけるSSX4/4B（黒）、MAGE A3（白）、MAGE A2（縞模様）の相対的mRNA発現、（C）同じモデルにおけるNTRK3の相対的mRNA発現、（D）同じモデルにおけるADCY8（黒）、PRKCA（白）、RYR2（縞模様）の相対的mRNA発現、を示すグラフを含む。

【発明を実施するための形態】

【0016】

発明の詳細な説明

本出願に使用されるように、単数形「1つ」、「1つ」および「その」は、文脈によって別途はっきり指示されない限りこれらの対応する複数形を含むことを留意されたい。

【0017】

癌の治療に免疫療法を適用することにおける現在の課題は、適切な腫瘍抗原の同定を含む。免疫療法のための理想的な標的は、免疫原性であり、および腫瘍細胞において特異的に発現されるこれらの抗原であるだろう。

【0018】

癌-精巣抗原（CTA）は、240を超える腫瘍関連抗原の大ファミリーを包含し、その詳細は、<http://www.cta.lncc.br>から得ることができる。CTAは、X染色体上の遺伝子マッピングによってコードされたもの、X-CTA遺伝子およびX染色体上の遺伝子マッピングによってコードされないもの、非-X-CTA遺伝子に分けられることができる。X-CTAは、X染色体に沿ってクラスターで構成される多重遺伝子族を含み、およびとりわけ、MAGE、GAGE、SSXおよびNY-ESO遺伝子ファミリーを含む。非-X-CTAは、ゲノムの全体にわたって分配されて、大部分は単一コピー遺伝子であり、およびとりわけ、BORIS（CTCF）遺伝子を含む。

【0019】

CTAは、様々な組織形成の腫瘍において発現されるが、免疫系にアクセス可能でない精巣、胎児の卵巣および胎盤を除いて、正常な組織では発現されない。そのうえ、CTAは、強力なインビボでの免疫原性を有する。したがって、これらの腫瘍制限された発現パターンおよび強力な免疫原性は、CTAを、様々な腫瘍特異的免疫療法アプローチのための理想的な標的とする。

【0020】

CTAは免疫原性の腫瘍抗原であるが、CTAの著しい腫瘍間および腫瘍内の不均一な発現は、治療に対する癌患者の適格性を限定し；および/または新生細胞の免疫認識を低下させ、したがってCTAに基づいた免疫療法の有効性を減少させている。

【0021】

驚くべきことに、本発明者らは、新生細胞におけるCTA発現を調節するアプローチを開発した。特に、本発明者らは、CaSR活性化剤がインビトロおよびインビボでのCTA遺伝子の発現を増加させ、および興味深いことに、過剰発現する遺伝子の大部分がX-CTA遺伝子であり、それはCTAで最も免疫原性のグループであることを見いだした。したがって、本発明者らは、免疫原性の標的の発現レベルを上昇させるアプローチを提供し、それは本質的に腫瘍特異的であり、CTAに基づいた免疫療法薬に対してより感受性の高い癌細胞を作り、およびCTAに基づいた免疫療法薬での治療の有効性を増強する。驚くべきことに、また、本発明者らは、CTA発現におけるこのような上昇が、CaSR活性化剤での治療に対する癌反応の代用マーカーとして使用されることができることを見いだした。したがって、CT

10

20

30

40

50

A発現におけるこの上昇は、新たな使用、方法および製品を提供し、それは本発明の目的である。

【0022】

実施例に示したように、シナカルセト、CaSR活性化剤は、インビトロおよびインビボでのCTA遺伝子の発現を増加させることができる。CTAは、ほぼ癌においてのみ発現される遺伝子であり、およびしたがって、これらの発現レベルを上昇させることは、腫瘍細胞およびしたがって、このような細胞を持つ被験体における、前記CTAに対して特異的に作られた免疫療法薬に対する感受性をより高くさせる。したがって、第1の側面において、本発明は、免疫療法薬CaSRを発現する癌を持つ被験体のCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性を高めるときの使用のためのCaSR活性化剤に関連する。

10

【0023】

CaSR活性化剤は、少なくとも1つのCTA遺伝子の発現レベルを上昇させ、したがって、また、本発明の第1の側面は、免疫療法薬CaSRを発現する癌を持つ被験体のCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性を高めるときの使用のためのCaSR活性化剤に関連し、CaSR活性化剤は、少なくとも1つのCTA遺伝子の発現レベルを上昇させる。

【0024】

また、本発明の第1の側面は、免疫療法薬CaSRを発現する癌を持つ被験体におけるCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性を高めるためのCaSR活性化剤の使用に関連する。

【0025】

また、本発明の第1の側面は、免疫療法薬CaSRを発現する癌を持つ被験体のCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性のエンハンサーとしてのCaSR活性化剤の使用に関連する。

20

【0026】

さらに、本発明の第1の側面は、CaSRを発現する癌を持つ被験体のCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性を高めるための方法に関連し、CTA遺伝子の発現レベルを上昇させるために被験体へのCaSR活性化剤の投与を含む。

【0027】

本発明の文脈において、用語「CaSR活性化剤」は、直接的CaSRアゴニストおよびCaSRのアロステリック活性化因子をいう。上の段落のいずれかに記載の本発明の第1の側面の好ましい態様において、CaSR活性化剤は、CaSRアロステリック活性化因子である。CaSRの複数のアロステリック活性化因子、とりわけ、シナカルセト、NPS-R568、カリンドール、カルシウム受容体作動薬BおよびAC-265347がある。したがって、より好ましい態様において、CaSR活性化剤は、シナカルセト、NPS-R568、カリンドール、カルシウム受容体作動薬BおよびAC-265347並びにこれらの組み合わせから選択され、およびさらにより好ましい態様において、CaSR活性化剤は、シナカルセトである。

30

【0028】

これらの化合物は、当業者によって周知であり、および標準的な技術、たとえばEP1913 941 A1、Nemeth et al. (Calcimimetics with potent and selective activity on the parathyroid calcium receptor". Proc Natl Acad Sci USA. 1998 31;95(7):4040-5)に記載されたものを使用して合成されることができる。その上、これらの化合物は、たとえば、シナカルセト (Amgen, Selleck Chemicals)、NPS-R-568 (NPS Pharmaceuticals/Shire)、カルシウム受容体作動薬B (Amgen)、AC-265347 (ACADIA Pharmaceuticals, Sigma-Aldrich)、カリンドール (Toronto Research Chemicals) の商業支店から市販されている。

40

【0029】

本発明の文脈において、用語「CTAに基づいた免疫療法薬」は、少なくともCTAに特異的な免疫療法薬、すなわち少なくともCTAが、免疫療法薬のための標的分子である薬剤をいう。CTAは、CTA遺伝子、それらの断片、CTAタンパク質、それらの断片 (CTAペプチド) またはこれらの組み合わせをいう。免疫療法薬は、免疫応答を刺激することができる薬剤をいう。前記免疫応答は、疾患の進行の治療、寛解および/または遅滞をもたらす。特に、免疫療法薬は、数ある中でも、ワクチン接種薬剤としてCTAペプチドを使用するワクチン

50

；これらのペプチドでパルスされた樹状細胞ワクチン；およびこれらのペプチドを認識する天然の、または操作された受容体を発現するT細胞である。

【0030】

本発明の文脈において、用語「CTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性」は、CTAに基づいた免疫療法薬に対する感度をいう。免疫療法薬CaSRを発現する癌細胞のCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性または感度の高まりに伴い、CaSRを発現する癌薬剤を持つ被験体のCTAに基づいたこのような免疫療法薬での治療のより優れた有効性は、予想される。

【0031】

同様に、用語「CTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性のエンハンサーとして」は、CTAに基づいた免疫療法薬の感受性または感度を増強する薬剤をいう。 10

【0032】

用語「CaSRを発現する癌」は、CaSRが癌細胞の細胞膜において発現される癌をいう。上の段落のいずれかに記載の本発明の第1の側面の特定の態様において、CaSRを発現する癌は、副甲状腺腺腫および癌腫、大腸癌、乳癌、前立腺癌、膠腫、ライディヒ細胞癌、卵巣癌、神経芽腫、神経節芽細胞腫、神経節性神経腫、骨転移（特に、腎臓癌癌腫、乳癌または前立腺癌の骨転移）およびこれらの組み合わせから選択される。好ましい態様において、CaSRを発現する癌は、神経芽腫、神経節芽細胞腫、神経節性神経腫およびこれらの組み合わせから選択され；およびより好ましくは、CaSRを発現する癌は、神経芽腫である。文献に示したように、全てのこれらの癌は、CaSRを発現する癌である。 20

【0033】

実施例1、3および4に示したように、SSXおよびGAGEファミリーのCTAの発現レベルは、インビトロおよびインビボでのシナカルセットの投与により増加し、およびそれはマイクロアレイによって、およびRT-qPCRによって検出される。したがって、上の段落のいずれかに記載の本発明の第1の側面の特定の態様において、SSXファミリーのCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性は高まり、もう一つの態様において、GAGEファミリーのCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性は高まり、およびもう一つの態様において、SSXファミリーのCTAに基づいた免疫療法薬に対する、およびGAGEファミリーのCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性は高まる。好ましい態様において、SSXファミリーのCTAは、SSX 4および/またはSSX 4Bから選択され；およびGAGEファミリーのCTAは、GAGE1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択される。好ましくは、GAGEファミリーのCTAは、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせである。なおさらにより好ましい態様において、SSX 4および/またはSSX 4B；およびGAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせに特異的な免疫療法薬に対する感受性が高まる。 30 40

およびより好ましくは、SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12HおよびGAGE 12Jに特異的な免疫療法薬に対する感受性が高まる。

【0034】

実施例4に示したように、MAGEファミリーのCTAの発現レベルは、シナカルセットの投与により上昇する。したがって、前の段落の態様に記載の本発明の第1の側面のもう一つの好ましい態様において、MAGEファミリーのCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性が高まる。好ましくは、MAGEファミリーのCTAは、MAGE A2および/またはMAGE A3、より好ましくは、MAGE A2およびさらにより好ましくは、MAGE A2およびMAGE A3である。

【0035】

前の2つの段落の態様のいずれかに記載の本発明の第1の側面のもう一つの好ましい態様において、非-X-CTAファミリーのCTAに基づいた免疫療法薬に対する感受性は、高まり、好ましくはCTCFLに基づく。

【0036】

より好ましくは、SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12J、MAGE A2、MAGE A3およびCTCFLに特異的な免疫療法薬に対する感受性が高まる。

【0037】

CTAの発現が、著しい腫瘍間および腫瘍内不均一分布を示すと記述されたので（すなわち異なる腫瘍は、異なるCTA発現パターンを示し、および同じ腫瘍内の異なる細胞は、これらの抗原の発現の異なるパターンを示す）、最善の免疫療法薬は、上の段落において記述した薬剤のように、同時にいくつかのCTAをターゲットとするいくつかの免疫療法薬を含むだろう。この種の複数ターゲットアプローチはまた、ターゲットとされる抗原が、高い腫瘍間および腫瘍内不均一発現を示すところである、グリア芽細胞腫の治療のために樹状細胞ワクチンなどのその他の免疫療法を行う状況において最も有効であることを示した。

10

【0038】

CaSR活性化剤が、CaSRを発現する癌細胞における少なくとも1つのCTAの発現レベルを上昇させ、前記細胞を前記CTAに基づいた少なくとも1つの免疫療法薬に対してより感受性を高くさせるため、本発明はまた、CaSRを発現する癌の治療における使用のための、併用療法としてのCaSR活性化剤およびCTAに基づいた免疫療法薬に関連する。したがって、第2の側面において、本発明は、CaSRを発現する癌の治療における使用のためのCTAに基づいた免疫療法薬と組み合わせたCaSR活性化剤に関連する。また、本発明の第2の側面は、CaSRを発現する癌の治療のための医薬の製造のためのCTAに基づいた免疫療法薬と組み合わせたCaSR活性化剤の使用に関連する。

20

【0039】

本発明の第2の側面の特定の態様において、CaSR活性化剤は、CaSRのアロステリック活性化因子であり、好ましい態様において、CaSR活性化剤は、シナカルセット、NPS-R568、カリンドール、カルシウム受容体作動薬B、AC-265347およびこれらの組み合わせから選択され、およびより好ましくは、CaSR活性化剤は、シナカルセットである。

30

【0040】

上の段落のいずれかにおいて定義したように本発明の第2の側面のもう一つの特定の態様において、CaSRを発現する癌は、副甲状腺腺腫および癌腫、大腸癌、乳癌、前立腺癌、膠腫、ライディヒ細胞癌、卵巣癌、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫、骨転移およびこれらの組み合わせから選択される。好ましい態様において、CaSRを発現する癌は、神経芽腫、神経節芽細胞腫、神経節性神経腫およびこれらの組み合わせから選択され；およびより好ましくは、神経芽腫である。

【0041】

本明細書に使用される、用語「組み合わせて」は、CaSR活性化剤およびCTAに基づいた免疫療法薬が、被験体に投与される順序を制限しない。CaSR活性化剤は、CTAに基づいた免疫療法薬の投与の前に（たとえば、少なくとも3日、1週、2週、3週、4週、5週、6週、8週または12週前に）、同時に、またはその後（たとえば、少なくとも3日、1週、2週、3週、4週、5週、6週、8週または12週後に）被験体に投与されることができる。CaSR活性化剤およびCTAに基づいた免疫療法薬の投与は、同じまたは異なる経路によってであってもよい。

40

【0042】

上の段落のいずれかに記載の本発明の第2の側面の特定の態様において、CaSR活性化剤は、CTAに基づいた免疫療法薬より前に、および/またはそれと同時に投与される。好ましくは、CaSR活性化剤は、CTAに基づいた免疫療法薬の前に投与されるため、CTAの発現は、CTAに基づいた免疫療法薬の投与の前に増加し、およびその後免疫療法薬は、投与され

50

る。好ましくは、CaSR活性化剤の投与は、CTAに基づいた免疫療法薬を投与した後でさえ維持されるため、CTAに基づいた免疫療法薬を投与する間にCaSR活性化剤の効果は、維持される。

【 0 0 4 3 】

上の段落の態様のいずれか1つに記載の本発明の第2の側面の特定の態様において、CTAに基づいた免疫療法薬は、SSXファミリーのCTAに特異的な免疫療法薬および/またはGAGEファミリーのCTAに特異的な免疫療法薬を含む。

【 0 0 4 4 】

上の段落に記載の第2の側面の好ましい態様において、CTAに基づいた免疫療法薬は：

-SSX 4および/またはSSX 4Bから選択されるSSXファミリーのCTA、および/または
-GAGE1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択されるGAGEファミリーのCTA、に特異的な免疫療法薬を含む。特に、前に言及されたGAGEの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21または22。好ましくは、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ。またさらにより好ましい態様において、CTAに基づいた免疫療法薬は、SSX 4および/またはSSX 4B；およびGAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせに特異的な免疫療法薬を含む。およびさらにより好ましくは、SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12HおよびGAGE 12Jに特異的である。

【 0 0 4 5 】

また、MAGEファミリーのCTA遺伝子の発現レベルが上昇するため（実施例1および4を参照されたい）、前の2つの段落の態様のいずれかに記載の本発明の第2の側面の特定の態様において、CTAに基づいた免疫療法薬はまた、MAGEファミリーのCTAに特異的な免疫療法薬を含む。好ましくは、MAGEファミリーのCTA遺伝子は、MAGE A2および/またはMAGE A3であり、より好ましくは、MAGE A2であり、およびさらにより好ましくは、MAGE A2およびMAGE A3である。

【 0 0 4 6 】

実施例1、3および4に示したように、非-X-CTAファミリーのCTA遺伝子の発現レベルにおける上昇もまた検出され、したがって、前の3つの段落のいずれかに記載の本発明の第2の側面の特定の態様において、CTAに基づいた免疫療法薬はまた、非-X-CTAに特異的な免疫療法薬を含み、好ましくは、それはCTCFLに特異的な免疫療法薬を含む。

【 0 0 4 7 】

本発明の第2の側面の好ましい態様において、CaSR活性化剤は、シナカルセットであり；CaSRを発現する癌は、神経芽腫、神経節芽細胞腫、神経節性神経腫およびこれらの組み合わせから選択され；およびより好ましくは、CaSRを発現する癌は、神経芽腫であり；およびCTAに基づいた免疫療法薬は：

-SSXファミリーのCTA、好ましくはSSX4および/またはSSX4B、および
-GAGEファミリーのCTA、好ましくはGAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択され；より好ましくは、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、および随意に：

-MAGEファミリーのCTA、好ましくはMAGE A2および／またはMAGE A3、および／または
-非-X-ファミリーCTA、好ましくはCTCFLに特異的な免疫療法薬を含む。

【0048】

前の段落に記載の本発明の第2の側面のさらにより好ましい態様において、CTAに基づいた免疫療法薬は、SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12J、MAGE A2、MAGE A3およびCTCFLに特異的な免疫療法薬を含む。

【0049】

第3の側面において、本発明は、同時の、別々の、または連続的投与のための組み合わせとしてCaSR活性化剤およびCTAに基づいた免疫療法薬を含むキットに関連する。本発明の第3の側面のキットは、CaSRを発現する癌の治療のために使用される。CaSR活性化剤およびCTAに基づいた免疫療法薬は、薬学的に許容される担体を含む組成物として製剤化されてもよい。したがって、特定の態様において、キットは、これらの同時の、別々の、または連続的投与のための組み合わせとして、CaSR活性化剤を含む組成物(1)およびCTAに基づいた免疫療法薬を含む組成物(2)を含む。

10

【0050】

本発明の第3の側面によるキットは、CaSRを発現する癌の治療のために使用される。特定の態様において、CaSRを発現する癌は、副甲状腺腺腫および癌腫、大腸癌、乳癌、前立腺癌、膠腫、ライディヒ細胞癌、卵巣癌、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫、骨転移およびこれらの組み合わせから選択される。好ましい態様において、CaSRを発現する癌は、神経芽腫、神経節芽細胞腫、神経節性神経腫およびこれらの組み合わせから選択され；およびより好ましくは、神経芽腫である。

20

【0051】

本発明の第3の側面のキットの特定の態様において、CaSR活性化剤は、CaSRアロステリック活性化因子である。好ましい態様において、CaSR活性化剤は、シナカルセト、NPS-R568、カリンドール、カルシウム受容体作動薬BおよびAC-265347およびこれらの組み合わせから選択され、およびより好ましい態様において、CaSR活性化剤は、シナカルセトである。

【0052】

上の段落のいずれか1つに記載のキットの特定の態様において、CTAに基づいた免疫療法薬は、SSXファミリーのCTAに特異的な免疫療法薬および／またはGAGEファミリーのCTAに特異的な免疫療法薬を含む。

30

【0053】

上の段落に記載のキットの好ましい態様において、CTAに基づいた免疫療法薬は：

-SSX 4および／またはSSX 4Bから選択されるSSXファミリーのCTA、および／または
-GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択されるGAGEファミリーのCTAに特異的な免疫療法薬を含む。特に、前に言及されたGAGEの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21または22。より好ましくは、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせに特異的である。またさらにより好ましい態様において、CTAに基づいた免疫療法薬は、SSX 4および／またはSSX 4B；およびGAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせに特異的な免疫療法薬を含む。より好ましくは、SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12HおよびGAGE 12Jに特異的である。

40

50

【 0 0 5 4 】

前の2つの段落のいずれかに記載のキットの特定の態様において、CTAに基づいた免疫療法薬はまた、MAGEファミリーのCTAに特異的な免疫療法薬を含む。好ましくは、MAGEファミリーのCTAは、MAGE A2および / またはMAGE A3であり、より好ましくは、それはMAGE A2であり、およびさらにより好ましくは、MAGE A2およびMAGE A3である。

【 0 0 5 5 】

前の3つの段落のいずれかに記載のキットのもう一つの特定の態様において、CTAに基づいた免疫療法薬はまた、非-X-CTA遺伝子に特異的な免疫療法薬を含み、好ましくは、それは、CTCFLに特異的な免疫療法薬を含む。

【 0 0 5 6 】

本発明の第3の側面の好ましい態様は、シナカルセットおよびCTAに基づいた免疫療法薬を含むキットに関連し：

-SSXファミリーのCTA、好ましくはSSX4および / またはSSX4B、および

-GAGEファミリーのCTA、好ましくはGAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択され；より好ましくは、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、および随意に：

-MAGEファミリーのCTA、好ましくはMAGE A2および / またはMAGE A3、および / または

-非-X-ファミリーCTA、好ましくはCTCFLに特異的な免疫療法薬を含む。

【 0 0 5 7 】

前の段落に記載の本発明の第3の側面のさらにより好ましい態様において、CTAに基づいた免疫療法薬は、SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、MAGE A2、MAGE A3およびCTCFLに特異的な免疫療法薬を含む。およびより好ましくは、SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12J、MAGE A2、MAGE A3およびCTCFLに特異的である。

【 0 0 5 8 】

さらにまた、本発明者らは、CaSR活性化剤がCaSRを発現する癌を持つ被験体に投与された後にCTA遺伝子の発現レベルが上昇することが、驚くべきことに前記CaSR活性化剤での治療の有効性の生物マーカーとして役立つことを見いだした。特定の治療に対する癌反応の最善の指標は、腫瘍容積または腫瘍成長の減少である。これは、その腫瘍容積減少および / または安定性が、大量の腫瘍細胞死および / または細胞周期退出および分化を示すと仮定して、化学療法に対する反応を通常評価する方法である。しかし、劇的な腫瘍収縮は、多くのいわゆる分子標的療法または生物学的標的療法での癌治療においては生じず、したがって、代用マーカーを使用して腫瘍応答を評価することが必要になる。実施例に示したように、上述したCTAのアプレギュレーションは、インビトロおよびインビボ両方でシナカルセットに曝露される神経芽腫モデルにおいて観察され、およびこれは正常な細胞において起こらない。したがって、シナカルセット治療によるこれらの遺伝子の発現のアプレギュレーションは、CaSR活性化剤での治療に対する癌反応のマーカーとしてCTAの使用をサポートする。これらのマーカーの解析は、腫瘍（生検）の、およびまた、CTAはタンパク質およびmRNA両方として血液中を循環するため、末梢血を含む生物学的液体における直接分析によって行われることできる。したがって、また、本発明は、CTAの発現のレベルを定量化することによってCaSR活性化剤でのCaSRを発現する癌の治療の有効性を評価するための方法に、および代用マーカーとしてのCTAの使用に関連する。

【 0 0 5 9 】

したがって、第4の側面において、本発明は、CaSRを発現する癌を持つ被験体に投与される療法の有効性を評価するためのインビトロでの方法であって：

a) 療法前および後に前記被験体からの生物学的試料におけるCTA遺伝子の発現レベルを定量化する工程、および

b) 生物学的試料におけるCTA遺伝子の発現レベルを比較する工程、を含み、

投与される療法は、CaSR活性化剤を含み、および療法前の前記CTA遺伝子の発現レベルに対して療法後のCTA遺伝子の発現レベルの上昇は、療法が有効であることを示す。

【0060】

本発明の文脈において、用語「被験体」は、限定されないが、ヒトおよびチンパンジーおよびその他の類人猿およびサル種などの人間以外の霊長類；牛、ヒツジ、ブタ、ヤギおよびウマなどの家畜；イヌおよびネコなどの家畜哺乳類；マウス、ラットおよびモルモットおよび同様のものなどの齧歯類を含む実験動物を含むほ乳綱の任意のメンバーをいう。用語は、特定の年齢または性別を意味しない。したがって、雄または雌であるにせよ、成体および新生児の被験体並びに胎児は、この用語の範囲内に含まれると意図される。被験体は、好ましくはヒトである。

【0061】

生物学的試料におけるCTA遺伝子の発現レベルは、前記遺伝子の転写から生じるRNA (mRNA) に基づいて、またはあるいは、前記遺伝子の相補的DNA (cDNA) に基づいて定量化されることができる。したがって、特定の態様において、CTA遺伝子の発現レベルを定量化することは、CTA遺伝子のmRNA、前記mRNAの断片、CTA遺伝子のcDNA、前記cDNAの断片またはそれらの混合物を定量化することを含む。加えて、本発明の方法は、総RNAを得る目的で抽出工程を行うことを含むことができ、それは従来の技術を用いてなされることができる。

【0062】

実質的に、任意の従来方法は、CTA遺伝子によってコードされるmRNAまたはその対応するcDNAのレベルを検出し、および定量化するために、本発明のフレームワーク内で使用されることができる。非限定的な例証の目的で、mRNAのレベルは、従来方法、たとえば、mRNA増幅、および電気泳動および染色などの前記mRNA増幅の産物を定量化することを含む方法の使用によって、または代わりに、ノーザンブロット法および対象の遺伝子 (CTA) のmRNAまたはその対応するcDNAの特異的プローブの使用、S1ヌクレアーゼによるマッピング、RT-PCR、ハイブリダイゼーション、マイクロアレイ、その他によって定量化されることができる。同様にまた、CTA遺伝子によってコードされる前記mRNAに対応するcDNAのレベルは、従来技術の使用によって定量化されることができる。この場合において、本発明の方法は、対応するmRNAの逆転写によって対応するcDNAを合成する工程を含み、その後前記cDNA増幅の産物の増幅および定量化が続く。発現レベルを定量化するための従来方法は、たとえば、Sambrook et al., 2001. "Molecular cloning: a Laboratory Manual", 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y., Vol. 1-3に見出されることができる。

【0063】

生物学的試料におけるCTA遺伝子の発現レベルは、前記遺伝子、すなわちCTAタンパク質またはCTA遺伝子によってコードされるタンパク質と少なくとも90%の同一性を有する任意のアミノ酸配列、さらにより好ましくは、前記タンパク質に対して少なくとも95%、96%、97%、98%または99%の同一性、によってコードされるタンパク質に基づいて定量化されることができる。2つのアミノ酸配列の間の同一性の程度は、たとえば、BLASTなどの当該技術の水準において公知の標準的な配列整列アルゴリズムをたとえば用いて従来方法によって決定されることができる (Altschul S. et al. Basic local alignment search tool. J Mol Biol. 1990. 215(3):403-410)。

【0064】

CTAタンパク質の発現レベルは、被験体からの試料における前記タンパク質を検出し、および定量化することを可能にする任意の従来方法によって定量化されることができる。

本発明において使用されることができ公知の多種多様のアッセイ法があり、これらの技術は、ウェスタンブロット、ELISA（酵素結合免疫吸着検定法）、RIA（放射免疫アッセイ）、競合的EIA（競合的酵素免疫測定法）、DAS-ELISA（二重抗体サンドイッチELISA）、免疫細胞化学的および免疫組織化学的技術、タンパク質バイオチップの使用に基づいた技術またはコロイド性沈澱に基づいた特異的抗体またはアッセイ法を含むマイクロアレイを含む。前記CTAタンパク質を検出し、および定量化する方法は、アフィニティークロマトグラフィー技術、リガンド結合アッセイ法、その他を含む。特定の態様において、CTA遺伝子によってコードされるタンパク質のレベルは、ウェスタンブロット、免疫組織化学またはELISAによって定量化される。

【0065】

本発明の第4の側面に従って方法の特定の態様において、工程a)において、発現レベルは：

- a) CTA遺伝子のmRNAを検出すること；
- b) CTA遺伝子によってコードされるタンパク質を検出すること；および
- c) CTA遺伝子によってコードされるタンパク質と少なくとも90%の同一性を有する任意のアミノ酸配列を検出すること、から選択されるいずれか1つの方法によって定量化される。

【0066】

さらにより好ましい態様において、工程a)において、発現レベルは、CTA遺伝子のmRNAを検出することによって、好ましくはRTqPCRによって、またはマイクロアレイによって定量化される。

【0067】

本発明の方法を実行に移すことは、研究される被験体から生物学的試料を得ることを含む。また、CTAは、腫瘍組織試料において発現し、およびこれらは、癌と診断された被験体の生物学的液体において検出されることができる。したがって、特定の態様において、生物学的試料は、腫瘍組織試料または生物学的液体であり、およびさらにもう一方のなおいっそうの特定の態様は、生物学的液体であるため、本方法は、生検によって採取される腫瘍組織試料を必要とするものより非侵襲的である。好ましい態様において、生物学的試料は、血液、血清、血漿、腹水、心膜液体、胸水、脳脊髄液および関節腔内の液体から選択される生物学的流体であり、好ましくは、生物学的液体は、血液、血清および血漿から選択され、およびより好ましくは、生物学的試料は、血液である。

【0068】

上の段落において定義した本発明の第4の側面による方法の特定の態様において、CaSR活性化剤は、CaSRのアロステリック活性化因子であり、好ましい態様において、CaSR活性化剤は、シナカルセット、NPS-R568、カリンドール、カルシウム受容体作動薬B、AC-265347およびこれらの組み合わせから選択され、およびより好ましくは、CaSR活性化剤は、シナカルセットである。

【0069】

上の段落のいずれかにおいて定義した本発明の第4の側面による方法のもう一つの特定の態様において、CaSRを発現する癌は、副甲状腺腺腫および癌腫、大腸癌、乳癌、前立腺癌、膠腫、ライディヒ細胞癌、卵巣癌、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫、骨転移およびこれらの組み合わせから選択される。好ましい態様において、CaSRを発現する癌は、神経芽腫、神経節芽細胞腫、神経節性神経腫およびこれらの組み合わせから選択され；およびより好ましくは、神経芽腫である。

【0070】

CTAに基づいた免疫療法の限定の1つは、CTA発現の腫瘍内および腫瘍間不均一性の顕著な程度である。これは、遺伝子/抗原のこのファミリーのいくつかのマーカーを同時に解析することを合理的にする。実施例に記述したデータにおいて、最も一貫してアップレギュレートされたマーカーは、GAGEおよびSSXファミリーのものであった。したがって、上の段落のいずれか1つに記載の本発明の第4の側面の方法の特定の態様において、工程a)

10

20

30

40

50

は、SSXファミリーのCTA遺伝子および／またはGAGEファミリーのCTA遺伝子の発現レベルを定量化することを含む。好ましくは、SSXファミリーのCTA遺伝子は、SSX 4および／またはSSX 4Bであり、より好ましくはSSX 4およびSSX 4Bであり、およびGAGEファミリーのCTA遺伝子は、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択される。特に、前に言及されたGAGEの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21または22。より好ましくは、GAGEファミリーのCTAは、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせである。より好ましくは、第4の側面の方法において、工程a)は、この段落において上記のようにSSXファミリーおよびGAGEファミリーのCTAの発現レベルを定量化することを含み、およびより好ましくは、SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12HおよびGAGE 12Jの発現レベルを定量化することを含む。

10

20

30

40

50

【0071】

CTAの組み合わせの定量化は、療法前の腫瘍に存在する遺伝子発現の不均一パターンを考慮し、およびしたがって、おそらくまたCaSR活性化薬剤での療法によって最も強い結果を生じるだろう。したがって、前の段落に記載の本発明の第4の側面のもう一つの好ましい態様において、また、工程a)は、MAGEファミリー、好ましくはMAGE A2および／またはMAGE A3、より好ましくはMAGE A2およびさらにより好ましくはMAGE A2およびMAGE A3のCTA遺伝子の発現レベルを定量化することを含む。

【0072】

前の2つの段落のいずれかに記載の本発明の第4の側面のもう一つの好ましい態様において、また、工程a)は、非-X-CTA遺伝子、好ましくはCTCFLの発現レベルを定量化することを含む。

【0073】

好ましい態様において、工程a)は：SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、MAGE A2、MAGE A3およびCTCFLのCTA遺伝子の発現レベルを定量化することを含む。およびより好ましくは、SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12J、MAGE A2、MAGE A3およびCTCFL。

【0074】

第5の側面において、本発明は、本発明の第4の側面の態様のいずれかによる方法を実施するためのキットに関連し、CTA遺伝子の発現レベルを測定する適切な手段および適切なパッケージングを含む。用語「パッケージング」は、製品の購入および使用を容易にする第一目的で販売の前の包み込みおよびパッキングをいう。

【0075】

第5の側面の特定の態様において、キットは、SSXファミリーのCTA遺伝子の、およびGAGEファミリーのCTA遺伝子の発現レベルを測定する適切な手段を含む。好ましくは、キットは、SSX 4および／またはSSX 4Bから選択されるSSXファミリーのCTA遺伝子およびGAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択されるGAGEファミリーのCTA遺伝子の発現レベルを測定する適切な手段を含む。特に、前に言及されたGAGEの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21または22。より好ましくは、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少な

くとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ。またさらにより好ましい態様において、第5の側面のキットは：SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、およびより好ましくはSSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12HおよびGAGE 12JのCTAの発現レベルを測定する適切な手段を含む。

【0076】

10

前の段落に記載の本発明の第5の側面のもう一つの好ましい態様において、キットは、MAGEファミリーのCTA遺伝子の発現レベルを測定する適切な手段を含む。好ましくは、MAGEファミリーのCTA遺伝子は、MAGE A2および/またはMAGE A3であり、より好ましくは、MAGE A2であり、およびさらにより好ましくは、MAGE A2およびMAGE A3である。

【0077】

前の2つの段落のいずれかに記載の本発明の第5の側面のもう一つの好ましい態様において、キットは、非-X-CTA遺伝子、好ましくはCTCFの発現レベルを測定する適切な手段を含む。

【0078】

本発明の第5の側面のより好ましい態様において、キットは：SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、MAGE A2、MAGE A3およびCTCFのCTAの発現を測定する適切な手段を含む。およびより好ましくは、SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12J、MAGE A2、MAGE A3およびCTCF。

20

【0079】

CTA特異的プライマー、プローブ、抗体などの発現を測定する適切な手段は、市販でありえ、または当業者によって作製されることができる。適切な手段は、とりわけ、本出願の実施例に記述したもの、特に表1に記述したもの、特別に配列番号1～配列番号20のプライマーであり、それは前記表1に示したCTAに特異的である。

30

【0080】

実施例に示したように、インビトロおよびインビボ両方において、および2つの独立した技術を使用して、CTAは、神経芽腫モデルにおけるシナカルセット治療によってアップレギュレートされることを見いだされた。その他の分子は、同様にアップレギュレートされた（たとえば、NTRK3、PRKCAおよびRYSR2、実施例1および3を参照されたい）。しかし、また、これらの遺伝子は、CTAが腫瘍細胞においてほぼ独占的に過剰発現される一方で、正常な組織において発現される。これは、CTAをこれらの癌モデルにおける全てのアップレギュレートされた遺伝子のうち、CaSR活性化因子での治療に対する腫瘍応答の最も好ましいマーカーにする。したがって、第6の側面において、本発明は、CaSR活性化剤での治療に対するCaSRを発現する癌の腫瘍応答の代用マーカーとして、CTAの使用に、またはCTAの発現のレベルの使用に関連する。これらの代用マーカーのレベルを上昇させることは、CaSR活性化剤が、腫瘍容積における劇的な、または迅速な変化がないにもかかわらず、CaSRを発現する癌細胞に対して我々のその機能を効率的に保持することを示すだろう。

40

【0081】

本発明の第6の側面による使用の特定の態様において、CaSR活性化剤は、CaSRのアロステリック活性化因子であり、好ましい態様において、CaSR活性化剤は、シナカルセット、NP S-R568、カリンドール、カルシウム受容体作動薬B、AC-265347およびこれらの組み合わせから選択され、およびより好ましくは、CaSR活性化剤は、シナカルセットである。

【0082】

50

上の段落のいずれかにおいて定義した本発明の第6の側面による使用のもう一つの特定の態様において、CaSRを発現する癌は、副甲状腺腺腫および癌腫、大腸癌、乳癌、前立腺癌、膠腫、ライディヒ細胞癌、卵巣癌、神経芽腫、神経節芽細胞腫および神経節性神経腫、骨転移およびこれらの組み合わせから選択される。好ましい態様において、CaSRを発現する癌は、神経芽腫、神経節芽細胞腫、神経節性神経腫およびこれらの組み合わせから選択され；およびより好ましくは、神経芽腫である。

【0083】

本発明の第6の側面の好ましい態様において、使用されるCTAは、SSXファミリーのCTAであり、好ましくはSSX4および/またはSSX4B；および/またはGAGEファミリーのCTA、好ましくはGAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 4、GAGE 5、GAGE 6、GAGE 7、GAGE 8、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12F、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12I、GAGE 12J、GAGE 13およびこれらの組み合わせから選択される。特に、前に言及されたGAGEの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21または22。より好ましくは、GAGEファミリーのCTAは、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせである。まださらにより好ましい態様において、使用されるCTAは：SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2Eの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、GAGE 10およびGAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12Jの少なくとも1つおよびこれらの組み合わせ、MAGE A2、MAGE A3およびCTCFである。およびより好ましくは、SSX 4、SSX 4B、GAGE 1、GAGE 2A、GAGE 2B、GAGE 2C、GAGE 2D、GAGE 2E、GAGE 10、GAGE 12B、GAGE 12C、GAGE 12D、GAGE 12E、GAGE 12G、GAGE 12H、GAGE 12J、MAGE A2、MAGE A3およびCTCF。

【0084】

上の段落において記述した態様のいずれかによる、なおさらにより好ましい態様において、また、MAGEファミリーのCTA、好ましくはMAGE A2および/またはMAGE A3、より好ましくは、MAGE A2およびより好ましくは、MAGE A2およびMAGE A3；および/または非-XファミリーのCTA、好ましくはCTCFが、使用される。

【0085】

以下の実施例は、本発明をさらに図示し、および本明細書における使用および方法がどのように実施されるかという完全な開示および記述を当業者に提供するのに役に立ち、および発明の範囲を限定するように意図されない。

【実施例】

【0086】

実施例1. シナカルセトは、神経芽腫インビトロモデルにおける細胞分化およびCTAのアップレギュレーションを誘導する

3つの神経芽腫株化細胞LA-N-1、SK-N-LPおよびSH-SY5Yをこの目的のために使用した。我々は、LA-N-1細胞が低レベルであるが内在性CaSR発現を示す一方で、CaSR遺伝子がSK-N-LP細胞において後成的機構によって発現抑制されるとすでに報告した。(Casala C, et al. The calcium-sensing receptor gene is silenced by genetic and epigenetic mechanisms in unfavorable neuroblastomas and its reactivation induces ERK1/2-dependent apoptosis. Carcinogenesis 2013; 34:268-76)。CaSRの発現は、SH-SY5Yにおいても検出可能でない。したがって、SK-N-LPおよびSH-SY5YをpCMV-CaSR-GFPまたはpCMV-GFPで安定してトランスフェクトした。全ての株化細胞をP100プレートで21日間1 μ Mシナカルセト(Selleck Chemicals, S1260)またはDMSOの存在下で成長させた。形態を毎日評価した。総RNAを1、3、5、7、10、14および21日に単離した。いくつかのマーカーをSYBRgreenおよび特異的プライマーまたはTaqman技術および遺伝子特異的Assays-on-Demand (Applied Biosystems) を使用してRT-qPCRによって解析した(表1)。

表1. RT-qPCRによって発現解析のために使われるAssays on Demandおよびプライマー。

遺伝子	Assay on Demand (ABI)	プライマー順方向 (5'-3')	プライマー逆方向 (5'-3')	mRNAs
<i>NTRK1</i>	Hs01021011_m1			
<i>NTRK3</i>	Hs00176797_m1			
<i>NFL</i>	Hs00196245_m1			
<i>TUBB3</i>	Hs00801390_s1			
<i>S100-β</i>	Hs00902901_m1			
<i>CTCF</i>		gcacgaaagcgacctacg (配列番号 NO 1)	tgaggcatagcgttcattg (配列番号 NO 2)	ヒトCCCTC結合因子 (亜鉛フィンガータンパク質) 様 (CTCF)、転写物バリエーション1-9, 11-12, 15-17
<i>SSX4/4B</i>		caccctccacatttcacg (配列番号 NO 3)	ggacgttcaacctgattctctg (配列番号 NO 4)	ヒト滑膜肉腫、X切断点4 (SSX4)、転写物バリエーション1および2、切断点4B (SSX4B)、転写物バリエーション1および2
<i>GAGE-P1</i>		gcagctctcaggaggaga (配列番号 NO 5)	tgtgggtgacctgttctg (配列番号 NO 6)	下を参照
<i>GAGE-P2</i>		ggcgaagcctgaagctcat (配列番号 NO 7)	attggcgggtccatctct (配列番号 NO 8)	下を参照
<i>GAGE-P3</i>		gaggagcctctgcagggtcaa (配列番号 NO 9)	cctgcccacaggaccatct (配列番号 NO 10)	下を参照
<i>MAGE A2</i>		aaccaggcagtgaggccttg (配列番号 NO 11)	agcctgtcccccctcagaacc (配列番号 NO 12)	ヒト黒色腫抗原ファミリーA2 (MAGEA2)、転写物バリエーション3~4
<i>MAGE A3</i>		aagggtggccgagtggttca (配列番号 NO 13)	actgccaatttccgacgaca (配列番号 NO 14)	ヒト黒色腫抗原ファミリーA3 (MAGEA3)、転写物バリエーションX1~4
<i>ADCY8</i>		cgccaagcttctcggagac (配列番号 NO 15)	acgagccgctctctgtttg (配列番号 NO 16)	ヒトアデニル酸シクラーゼ8 (脳) (ADCY8)、転写物バリエーションX1~2
<i>PRKCA</i>		ctgagaagagggggcggtt (配列番号 NO 17)	ggatctgaagcccgtttg (配列番号 NO 18)	ヒトプロテインキナーゼC、アルファ (PRKCA)、転写物バリエーションX1~4
<i>RYR2</i>		gcacaaggtggtggtcatcg (配列番号 NO 19)	ttaagaccgggaggtggac (配列番号 NO 20)	ヒトリアノジン受容体2型 (心臓) (RYR2)、転写物バリエーションX

10

20

30

40

50

【 0 0 8 7 】

GAGE P1：ヒトG抗原（GAGE）：12B、2B、12D、12E、12C、12G、12C、2C、1（転写物バリエーションX1）、12J、1（転写物バリエーション3、非コードRNA）、1（転写物バリエーション2）、2A、2E、12H、2D、10。

【 0 0 8 8 】

GAGE P2：ヒトG抗原（GAGE）：12B、2B、2A、12D、12E、12C、12H、12G、2C、1（転写物バリエーションX1）、12J、1（転写物バリエーション3、非コードRNA）、1（転写物バリエーション2）。

【 0 0 8 9 】

GAGE P3：ヒトG抗原（GAGE）：12B、2B、2A、12D、12E、12C、12H、12G、1（転写物バリエーションX1）、12J、1（転写物バリエーション3、非コードRNA）、1（転写物バリエーション2）、2E、2D、10。

【 0 0 9 0 】

広範な神経突起成長などの神経細胞分化の形態学的特徴は、3日目にすでに明らかであった。これらの特徴は、7日～14日の間に最大の発現に到達した（図1）。RT-qPCRによるmRNA発現の解析は、神経芽腫細胞分化と関連する遺伝子およびCTAをコードするいくつかの遺伝子のアップレギュレーションを示した（表2）。神経芽腫細胞分化は、より良性的に、より増殖性でないようになっているこの腫瘍の指標である。したがって、分化関連遺伝子のアップレギュレーションは、シナカルセットが神経芽腫の場合には抗腫瘍効果を及ぼすことを示す。その上、インビトロおよびインビボ両方での（実施例2-4を参照されたい）これらの分化関連遺伝子およびCTAのアップレギュレーションは、シナカルセットでの治療に対する神経芽腫反応を評価する優れたモデルとして、提唱されたインビトロモデル（使用される用量、露出時間など）を確認する。

表2．シナカルセットでの治療後の神経芽腫インビトロモデルにおけるアップレギュレートされた遺伝子。

		LA-N-1	SK-N-LP CaSR/GFP	SH-SY5Y CaSR/GFP
遺伝子		倍増加		
分化	<i>NTRK1</i>	3.2	3.6	2.9
	<i>NTRK3</i>	2.4	2.6	4.7
	<i>NFL</i>	ns	7.2	2.3
	<i>TUBB3</i>	ns	2.8	1.7
	<i>S100-β</i>	6.9	72.3	2.2
CTAs	<i>CTCF</i>	1.2	発現なし	発現なし
	<i>SSX4/4B</i>	3.8	69	3.45
	<i>GAGE-P1</i>	2.7	4.1	1.4
	<i>GAGE-P2</i>	7.6	5.7	7.9
	<i>GAGE-P3</i>	5.1	6.3	2.5
	<i>MAGEA2</i>	2.9	36.6	2.4
	<i>MAGEA3</i>	1.4	155.4	14.6

ns: 有意でない。

実施例2. シナカルセットは、インビボでの神経芽腫腫瘍成長を阻害する

神経芽腫のインビボモデルは、4～6週間目の雌の胸腺欠損Nude-Foxn1 nu/nuマウス（Charles River）において作成し、LA-N-1細胞（ 10^7 ）を皮下に接種した。腫瘍は、大きさが

7×7mmに到達するまで成長させることができた。次いで、マウスは、腫瘍容積が2cm³に到達するまで1週につき6日経口経管栄養によって溶媒（後述する）またはシナカルセット（10 mg/kg/日）いずれかを受けるようにランダム化した。シナカルセットは、Mimpara（登録商標）錠剤（Amgen）で調製した。乳鉢においてMimpara（登録商標）錠剤を均質化した後、生じた粉末は、20mg/mLの終濃度とし、0.5%のTween 20（20%、v/v）およびカルボキシメチルセルロース（0.25%、w/v）とともに再構成した。それぞれの用量は、マウス重量1グラムにつき5μLのこの混合物を含んだ。腫瘍の大きさは、デジタルノギスを使用して週3回測定した。腫瘍容積は、mmにおける長さを「L」で示し、およびmmにおける幅を「W」で示し、 $L \times W^2 / 2$ として算出した。実験の終わりに、それぞれのマウスは、対応する異種移植片が最終的な予め定められた容積2cm³に到達したときに屠殺し、腫瘍を切除し、およびそれぞれの検体の半分を分子解析のために液体窒素において凍結し、およびその他を10%のホルマリンにおいて固定した。無再発生存率（EFS）解析については、発症は、2cm³を超えた腫瘍サイズとして定義した。ログランク統計を群の間のEFS確率を比較するのに使用した。P<0.05を有意と考慮した。

10

20

30

40

50

【0091】

図2Aに示したように、対照（P=0.034）と比較してシナカルセットで治療されたマウスにおいて、有意な腫瘍成長阻害を観察した。軽度の、非症候性の、低カルシウム血症をシナカルセットで治療されたマウスにおいて考証した（図2B）。この結果は、上皮小体および腎臓におけるシナカルセット作用の予想される結果であり、およびしたがって、正確に投与され、および吸収された薬物の優れた指標である。毒性の徴候は、観察されなかった（図示せず）：マウスは食べ、および正常に成長し、および軽度の低カルシウム血症をよく許容した。

【0092】

全体として、このマウスのモデルは、シナカルセットに対する長期にわたる曝露が、インビボでの神経芽腫腫瘍成長を減少させることを示し、この抗腫瘍効果が十分許容的な用量にて得られた。

実施例3. インビボ治療でのシナカルセットによる神経芽腫におけるCTAのアップレギュレーション：マイクロアレイ解析

総RNAを対照群（V）から8つおよびシナカルセット（C）に曝露された8異種移植片から単離した。これらは、それぞれの群において切除された最後の8腫瘍であり、その結果、解析された異種移植片は、最も長い治療期間曝露したものであった（V5-V12、およびC4-C11）。2つの異なるmRNA発現解析を行った：マイクロアレイ（実施例3）により、およびRT-qPCR（実施例4）によるゲノム全体の発現解析。ゲノム全体の発現解析を製造業者のプロトコルに従って、Affymetrix Human and Mouse Gene Array 2.1 ST（Affymetrix、ヒト遺伝子アレイのための照会番号902136およびマウス遺伝子アレイのための902120）を使用して行った。結果を解析する手順は：アレイの品質制御（この工程の後、異種移植片C6をさらなる解析から取り除いた）；フィルタリングおよび規準化；異なって発現された遺伝子の選択；単一の比較（対照試料に対して治療されたもの）；有意性によってランクを付けられた異なって発現された遺伝子の一覧；最も異なって発現された遺伝子を示すVolcanoプロット；クラスター形成した発現プロファイルのヒートマップ；およびGene Ontologies、KEGG（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes）およびIngenuity pathwaysに対する濃縮解析を通して生物学的重要性の解析を含んだ。

【0093】

最初のゲノム全体の発現解析は、対照（V5-V12）と比較してシナカルセット治療された腫瘍（C4、C5、C7-C11）における潜在的にアップレギュレートされた遺伝子（ログ倍率変化>1）に対応する13のプロープの群を同定した。興味深いことに、これらの13のプロープ中11は、CTA遺伝子でハイブリダイズした（太字、表3）。しかし、遺伝子発現のこれらの相違は、統計的に有意でなく、調整されたP値>0.05であった（表3）。それにもかかわらず、この第1の解析において、図3上のヒートマップに対応して、遺伝子の群が最も長い期間シナカルセットに曝露された3つの腫瘍において特異的に調節されたことは明らかであっ

た。これを、8つの溶媒治療された腫瘍（V5-V12）と比較してこれらの3つの検体（C9-C11）において異なって発現された遺伝子を調べた第2のゲノム全体の発現解析によって確認した（図4）。

表3. シナカルセト治療された異種移植片対溶媒治療された異種移植片におけるアップレギュレートされた遺伝子（ログ倍率変化 > 1 ）

プローブ	記号A	Entrez	ログ倍率変化	調整されたP値
17103626	GAGE12G//GAGE12F//GAGE12I//GAGE7//GAGE6//GAGE4//GAGE5//GAGE12C//GAGE12D//GAGE12E//GAGE12H//GAGE12J//GAGE2E//GAGE8//GAGE12B//GAGE2D//GAGE2B//GAGE2C//GAGE13//GAGE2A//GAGE1	645073	1.48896708	0.39648602
17104821	CXorf49//CXorf49B	100130361	1.42318655	0.61235652
17103653	GAGE12C//GAGE12D//GAGE12E//GAGE12G//GAGE12H//GAGE12I//GAGE2A//GAGE2E//GAGE8//GAGE10//GAGE12B//GAGE2C//GAGE13//GAGE6//GAGE12F//GAGE12J//GAGE7//GAGE4//GAGE2D//GAGE5//GAGE2B	729422	1.3539287	0.52209349
17103647	GAGE2A//GAGE2C//GAGE2B//GAGE2D//GAGE2E//GAGE8//GAGE12F//GAGE12G//GAGE12I//GAGE7//GAGE5//GAGE6//GAGE4//GAGE12J//GAGE12C//GAGE12D//GAGE12E//GAGE12H//GAGE12B//GAGE13	729447	1.34133487	0.4625512
17103679	GAGE2A//GAGE2C//GAGE12G//GAGE12F//GAGE12I//GAGE7//GAGE5//GAGE2B//GAGE2D//GAGE12C//GAGE12D//GAGE12E//GAGE8//GAGE12H//GAGE12J//GAGE2E//GAGE12B//GAGE2C//GAGE13//GAGE1	729447	1.31803532	0.47520907
17103620	GAGE13//GAGE12D//GAGE12E//GAGE12B//GAGE12C//GAGE12H//GAGE12I//GAGE2E//GAGE8//GAGE12J//GAGE2B//GAGE2C//GAGE13//GAGE1	645051	1.31383129	0.52209349
17103655	GAGE12C//GAGE12D//GAGE12E//GAGE12H//GAGE12G//GAGE12B//GAGE12I//GAGE2E//GAGE8//GAGE12J//GAGE2B//GAGE2C//GAGE13//GAGE6//GAGE4//GAGE12H//GAGE12I//GAGE7//GAGE5//GAGE12J//GAGE2E//GAGE8//GAGE12B//GAGE2A//GAGE2C//GAGE2B//GAGE1	729422	1.31309793	0.52209349
17103690	GAGE12H//GAGE12C//GAGE12D//GAGE12E//GAGE12G//GAGE12B//GAGE12I//GAGE2E//GAGE8//GAGE12J//GAGE6//GAGE4//GAGE12H//GAGE12G//GAGE12B//GAGE12I//GAGE7//GAGE5//GAGE12J//GAGE2E//GAGE13//GAGE2E//GAGE13//GAGE2E//GAGE8//GAGE2A//GAGE2C//GAGE2B//GAGE1	729442	1.26052266	0.52209349
17103673	GAGE12G//GAGE12C//GAGE12D//GAGE12E//GAGE12H//GAGE12I//GAGE2E//GAGE8//GAGE12J//GAGE4//GAGE5//GAGE12J//GAGE2A//GAGE2D//GAGE2C//GAGE13//GAGE1	645073	1.25675401	0.52209349
17103614	GAGE12J//GAGE2D//GAGE2E//GAGE8//GAGE2A//GAGE2C//GAGE6//GAGE2B//GAGE1//GAGE13//GAGE12G//GAGE4//GAGE5//GAGE12J//GAGE2A//GAGE2D//GAGE2C//GAGE12H//GAGE12I//GAGE12J//GAGE12C//GAGE12D//GAGE12E//GAGE12H//GAGE12B	729396	1.19149006	0.52209349
16920617	CTCFL	140690	1.13688699	0.61235652
16902703	POTEF	728378	1.12397293	0.35366385
16837226	SNORA38B	100124536	1.10662073	0.35366385

10

20

30

40

50

この第2の解析は、シナカルセト治療された検体において有意に調節される遺伝子の群を同定した。この遺伝子サイン（または異なって発現される遺伝子の群）は、シナカルセト処理群において有意にアップレギュレートされた遺伝子でハイブリダイズされた34のプローブを包含した（ログ倍率変化 >1 、調整されたP値 <0.05 、表4）。これらの34のプローブの中で、11（32%）は、CTA（太字）でハイブリダイズした。これらは、X染色体に位置する遺伝子によってコードされるCTAであった（GAGEファミリーおよびSSX4/4B）。GAGEファミリーは、同様に第1の解析においてアップレギュレートされると見いだされた（表3）。

【0094】

この第2の解析におけるその他の有意にアップレギュレートされた遺伝子は、PRKCA、RYR2およびGABRA3を含んだ。最初の2つは、CaSRの下流に活性化されるシグナリング経路において重要であるタンパク質をコードし、およびGABA受容体は、良好な経過の神経芽細胞腫瘍においてアップレギュレートされる。

10

【0095】

また、2つのその他の関連した遺伝子（CTCFおよびNTRK3）は、調整されたP値がカットオフ値（CTCFおよびNTRK3両方について0.0514678）より下で正しかったが、この第2の解析においてアップレギュレートされると見いだされた。CTCF（BORISとも呼ばれる）は、いくつかの状況においてその他のCTAの発現を制御すると示された非-X-CTAであり、およびNTRK3はTrkファミリーの受容体であり、それは良性的、良好な経過の神経芽細胞腫瘍において過剰発現すると示された。

20

【0096】

全体として、マイクロアレイデータのこの第2の解析は、神経芽細胞腫瘍が、その延長期間シナカルセトに曝露されるときに分化されて、より良性的になることを示し、およびCaSR活性化薬剤の全く予想外の驚くべき効果：有意に前記薬物の投与により神経芽細胞におけるCTAのアップレギュレーションを同定した。

表4. 最も長いシナカルセト治療に曝露された3つの異種移植片対溶媒治療された異種移植片におけるアップレギュレートされた遺伝子。

40

表 4 (続き)

プローブ	記号 A	Entrez	ログ倍率変化	調整されたP値
16	17103690	729442	1.93137586	0.02269447
17	17103614	729396	1.85285723	0.02269447
18	17110576	6759	1.27218044	0.02269447
19	16986694	84654	1.23904633	0.02269447
20	16982161	27295	1.1874864	0.02269447
21	16938527	27303	1.24275967	0.02361429
22	16711753	219731	1.36008692	0.0249218
23	16838249	100507351	1.07828907	0.0249218
24	17111994	340526	1.07617776	0.0249218
25	17113928	10178	1.57691297	0.03166044
26	16679142	6262	1.35624613	0.04211565
27	17043613	100505938	1.14002293	0.04288827
28	16970118	171024	1.72221538	0.04520061
29	17115014	2556	1.24849657	0.04520061
30	16732397	25833	1.1475722	0.0462006
31	16928510	23544	1.17000959	0.04907024
32	16752147	58158	1.00910501	0.04907024
33	16920617	140690	1.86552485	0.05146784
34	16812942	4916	1.18566438	0.05146784

10

20

30

40

50

実施例4. インビボ治療でのシナカルセットによる神経芽腫におけるCTAのアップレギュレーション：RT-qPCR解析

マイクロアレイデータのバリデーションをRT-qPCRを用いて行った。この技術をSYBRgreenおよび特異的プライマーまたはTaqman技術および遺伝子特異的Assays-on-Demand (Applied Biosystems) を使用して行った (表1)。

【0097】

また、この技術をその他のCTA (MAGEファミリーのメンバーおよびCTCFL) の発現、分化と関連する遺伝子およびカルシウム-シグナリング経路をさらに詳しく解析するのに使用した。CTCFL (図5A)、MAGE A2、MAGE A3およびSSX4/4B (図5B)、NTRK3 (図5C)、ADCY8、PRKCAおよびRYYR2 (図5D) のアップレギュレーションをシナカルセット (C10-C11) に最も長い時間曝露された2つの検体において主に検出した。

10

【0098】

また、異なった発現をこの実験に含まれる動物の全てのコホートにおいて調べ、シナカルセット (C11) で長期の治療を受けた検体におけるGAGE mRNAのmRNA発現に対して100倍までの増加を観察した (データ示さず)。

実施例5. シナカルセットは、正常な周囲組織におけるCTAのアップレギュレーションを誘導しない

CTAのアップレギュレーションが、腫瘍特異的効果であったかどうか、またはそれが同様に正常な周囲組織において誘導されていたかどうかについて評価するために、マイクロアレイによるゲノム全体の発現解析をチップを使用して行い、ヒトアレイにおいて解析した同じRNAにおいて異なって発現されるマウス遺伝子を検出した。表5に示したように、ほとんどの遺伝子が、最後の3つの検体C9-C11を解析したときでさえ、アップレギュレートされず (ログ倍率変化 > 1)、どれも有意でなく (調整されたP値 > 0.05)、およびCTAは過剰発現された遺伝子の間になかった。したがって、興味深いことに、シナカルセットは、腫瘍におけるCTAの過剰発現を誘導するが、周辺非腫瘍性組織においては誘導せず、免疫療法薬に適切な標的を提供する。

20

表5. マイクロアレイによるハツカネズミ (*Mus musculus*) 遺伝子発現解析：アップレギュレートされた遺伝子

プローブ	記号 A	Entrez	ログ倍率変化	調整されたP値
17386477	Gm11084	---	1.5672508	0.80678117
17546774	Erdr1//Dock9	170942	1.3407767	0.80678117
17483098	Gdpd3	68616	1.30938806	0.80678117
17458439	Gpnmb	93695	1.22129554	0.80678117
17262250	Tgtp2//Tgtp1	100039796	1.10813814	0.80678117
17302054	Snora31	100303751	1.10492833	0.80678117
17546762	LOC101055644//Mid1//MID1	101055644	1.08780566	0.80678117
17395227	Gm14399	100043761	1.0665113	0.80678117
17503825	Mmp2	17390	1.04602291	0.80678117
17352957	Dsc1	13505	1.03318783	0.80678117
17380529	Gm14419//Gm14391//Gm6710	627901	1.03250936	0.80678117

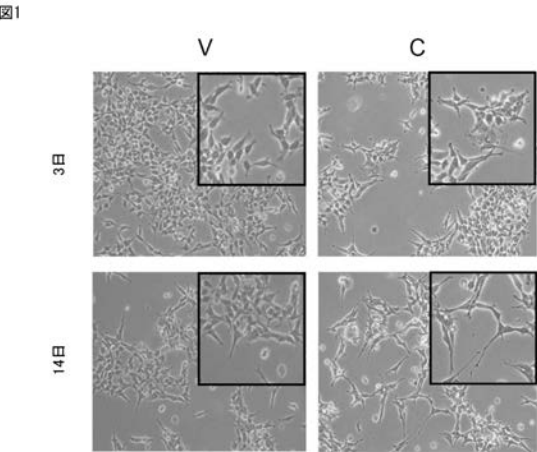
10

20

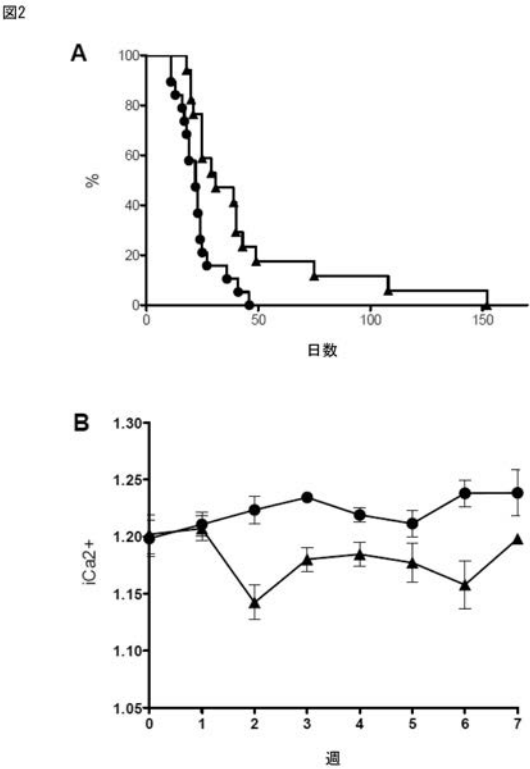
30

40

【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】

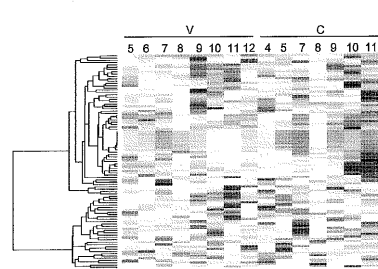


Fig. 3

【 図 4 】

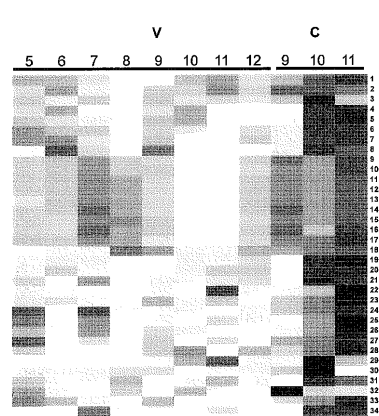
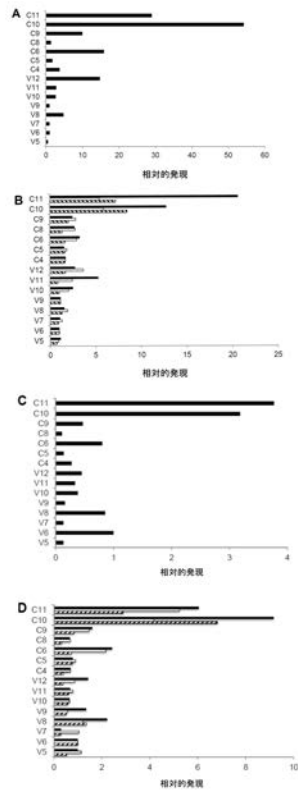


Fig. 4

【 図 5 】

図5



【 配 列 表 】

2018529642000001.app

【 国際調査報告 】

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ES2015/070561

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD INV. A61K31/137 A61P35/00 A61K45/06 G01N33/50 A61K39/395 De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.		
B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación) A61K A61P G01N Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, FSTA		
C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
X	DANG D K: "Cinacalcet: The first calcimimetic approved for secondary hyperparathyroidism", FORMULARY 200410 US, vol. 39, no. 10, octubre 2004 (2004-10), páginas 482-489, XP009188228, ISSN: 1082-801X todo el documento -/-	1-28
☒ En la continuación del Recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el Anexo		
* Categorías especiales de documentos citados: "A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante. "E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior. "L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada). "O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio. "P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención. "X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado. "Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia. "&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.	
Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional. 19 febrero 2016		Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional 29/02/2016
Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Funcionario autorizado Baumgärtner, Heike
N° de fax		N° de teléfono

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ES2015/070561

C (continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
X	C. CASALA ET AL: "The calcium-sensing receptor is silenced by genetic and epigenetic mechanisms in unfavorable neuroblastomas and its reactivation induces ERK1/2-dependent apoptosis", CARCINOGENESIS., vol. 34, no. 2, 29 octubre 2012 (2012-10-29), páginas 268-276, XP055244728, GB ISSN: 0143-3334, DOI: 10.1093/carcin/bgs338 cited in the application todo el documento	1-28
X	----- KRISHNADAS DEEPA K ET AL: "A phase I trial combining decitabine/dendritic cell vaccine targeting MAGE-A1, MAGE-A3 and NY-ESO-1 for children with relapsed or therapy-refractory neuroblastoma and sarcoma", CANCER IMMUNOLOGY AND IMMUNOTHERAPY, SPRINGER-VERLAG, BERLIN, DE, vol. 64, no. 10, 24 junio 2015 (2015-06-24), pages 1251-1260, XP035533184, ISSN: 0340-7004, DOI: 10.1007/S00262-015-1731-3 [retrieved on 2015-06-24] Resumen página 1252, left-hand column, parrafo 2; figura 1	1-28
X	----- WO 2013/144397 A1 (HOSPITAL SANT JOAN DE DEU [ES]; FUNDACIO CELLEX [ES]) 3 octubre 2013 (2013-10-03) cited in the application todo el documento	1-28
X	----- CHEUNG IRENE Y ET AL: "Detection of microscopic disease: Comparing histology, immunocytology, and RT-PCR of tyrosine hydroxylase, GAGE, and MAGE", MEDICAL AND PEDIATRIC ONCOLOGY, US, vol. 36, no. 1, 1 enero 2001 (2001-01-01), páginas 210-212, XP009188227, ISSN: 0098-1532 todo el documento	1-28
	----- -/--	

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ES2015/070561

C (continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
X	CHEUNG IRENE Y ET AL: "Prognostic significance of GAGE detection in bone marrows on survival of patients with metastatic neuroblastoma", MEDICAL AND PEDIATRIC ONCOLOGY, US, vol. 35, no. 6, 1 diciembre 2000 (2000-12-01), páginas 632-634, XP009188226, ISSN: 0098-1532 todo el documento	1-28
X	----- LEI BAO ET AL: "MAGE-A1, MAGE-A3, and NY-ESO-1 can be upregulated on neuroblastoma cells to facilitate cytotoxic T lymphocyte-mediated tumor cell killing", CANCER IMMUNOLOGY, IMMUNOTHERAPY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 60, no. 9, 28 mayo 2011 (2011-05-28), páginas 1299-1307, XP019943246, ISSN: 1432-0851, DOI: 10.1007/S00262-011-1037-Z Resumen first full parrafo ; pagina 1302, left-hand column figura 2 -----	1-28

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional N°

PCT/ES2015/070561

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013144397 A1	03-10-2013	CA 2877555 A1	03-10-2013
		EP 2842552 A1	04-03-2015
		ES 2384069 A1	29-06-2012
		US 2015342907 A1	03-12-2015
		WO 2013144397 A1	03-10-2013

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/ES2015/070561

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/137 A61P35/00 A61K45/06 G01N33/50 A61K39/395
ADD.

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)

A61K A61P G01N

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

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

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DANG D K: "Cinacalcet: The first calcimimetic approved for secondary hyperparathyroidism", FORMULARY 200410 US, vol. 39, no. 10, October 2004 (2004-10), pages 482-489, XP009188228, ISSN: 1082-801X the whole document ----- -/-	1-28

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

* Special categories of cited documents :

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier application or patent but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 February 2016

Date of mailing of the international search report

29/02/2016

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Baumgärtner, Heike

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/ES2015/070561

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	C. CASALA ET AL: "The calcium-sensing receptor is silenced by genetic and epigenetic mechanisms in unfavorable neuroblastomas and its reactivation induces ERK1/2-dependent apoptosis", CARCINOGENESIS., vol. 34, no. 2, 29 October 2012 (2012-10-29), pages 268-276, XP055244728, GB ISSN: 0143-3334, DOI: 10.1093/carcin/bgs338 cited in the application the whole document	1-28
X	----- KRISHNADAS DEEPA K ET AL: "A phase I trial combining decitabine/dendritic cell vaccine targeting MAGE-A1, MAGE-A3 and NY-ESO-1 for children with relapsed or therapy-refractory neuroblastoma and sarcoma", CANCER IMMUNOLOGY AND IMMUNOTHERAPY, SPRINGER-VERLAG, BERLIN, DE, vol. 64, no. 10, 24 June 2015 (2015-06-24), pages 1251-1260, XP035533184, ISSN: 0340-7004, DOI: 10.1007/S00262-015-1731-3 [retrieved on 2015-06-24] abstract page 1252, left-hand column, paragraph 2; figure 1	1-28
X	----- WO 2013/144397 A1 (HOSPITAL SANT JOAN DE DEU [ES]; FUNDACIO CELLEX [ES]) 3 October 2013 (2013-10-03) cited in the application the whole document	1-28
X	----- CHEUNG IRENE Y ET AL: "Detection of microscopic disease: Comparing histology, immunocytology, and RT-PCR of tyrosine hydroxylase, GAGE, and MAGE", MEDICAL AND PEDIATRIC ONCOLOGY, US, vol. 36, no. 1, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 210-212, XP009188227, ISSN: 0098-1532 the whole document	1-28
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/ES2015/070561

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHEUNG IRENE Y ET AL: "Prognostic significance of GAGE detection in bone marrows on survival of patients with metastatic neuroblastoma", MEDICAL AND PEDIATRIC ONCOLOGY, US, vol. 35, no. 6, 1 December 2000 (2000-12-01), pages 632-634, XP009188226, ISSN: 0098-1532 the whole document -----	1-28
X	LEI BAO ET AL: "MAGE-A1, MAGE-A3, and NY-ESO-1 can be upregulated on neuroblastoma cells to facilitate cytotoxic T lymphocyte-mediated tumor cell killing", CANCER IMMUNOLOGY, IMMUNOTHERAPY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 60, no. 9, 28 May 2011 (2011-05-28), pages 1299-1307, XP019943246, ISSN: 1432-0851, DOI: 10.1007/S00262-011-1037-Z abstract first full paragraph; page 1302, left-hand column figure 2 -----	1-28

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/ES2015/070561

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013144397	A1	03-10-2013	CA 2877555 A1 03-10-2013
			EP 2842552 A1 04-03-2015
			ES 2384069 A1 29-06-2012
			US 2015342907 A1 03-12-2015
			WO 2013144397 A1 03-10-2013

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)		A 6 1 P 43/00	1 2 1	
A 6 1 P 35/04 (2006.01)		A 6 1 P 35/04		
A 6 1 P 25/00 (2006.01)		A 6 1 P 25/00		
A 6 1 K 45/06 (2006.01)		A 6 1 K 45/06		
C 1 2 Q 1/6809 (2018.01)		C 1 2 Q 1/6809		Z
G 0 1 N 33/53 (2006.01)		G 0 1 N 33/53		D
C 1 2 Q 1/6886 (2018.01)		C 1 2 Q 1/6886		Z

(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

(特許庁注 : 以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

(74)代理人 110002103

特許業務法人にじいろ特許事務所

(72)発明者 デ トレス ゴメス - パレーテ、 カーメン

スペイン国 , バルセロナ , 2 イー - 0 8 9 5 0 エスブルガス デ リュブラガート , ピー
サント ジョアン デ デュー , ホスピタル サント ジョアン デ デュー

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ08 QQ53 QR08 QR42 QR55 QR62 QS25
QS34 QX02
4C084 AA17 MA02 NA05 NA14 ZB091 ZB092 ZC212 ZC412 ZC751
4C206 AA01 AA02 FA08 MA01 MA04 NA05 NA14 ZB09 ZC21 ZC41
ZC75

專利名称(译)	表达CASR的癌症的免疫疗法 (例如神经母细胞瘤)		
公开(公告)号	JP2018529642A	公开(公告)日	2018-10-11
申请号	JP2018503504	申请日	2015-07-22
[标]申请(专利权)人(译)	医院圣胡安DE申 FUNDACIO仙丽施		
[标]发明人	デトレスゴメスパレーテカーメン		
发明人	デトレス ゴメス-パレーテ、 カーマン		
IPC分类号	A61K45/00 A61P35/00 A61P3/14 A61P37/04 A61K31/137 A61P43/00 A61P35/04 A61P25/00 A61K45/06 C12Q1/6809 G01N33/53 C12Q1/6886		
CPC分类号	A61K31/137 A61K45/06 A61P35/00 C12Q1/6886 C12Q2600/106 C12Q2600/158 G01N33/57407 G01N33/57484 G01N2800/52 A61K2300/00		
FI分类号	A61K45/00.ZNA A61P35/00 A61P3/14 A61P37/04 A61K31/137 A61P43/00.121 A61P35/04 A61P25/00 A61K45/06 C12Q1/6809.Z G01N33/53.D C12Q1/6886.Z		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ53 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/MA02 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/ZB091 4C084/ZB092 4C084/ZC212 4C084/ZC412 4C084/ZC751 4C206/AA01 4C206/AA02 4C206/FA08 4C206/MA01 4C206/MA04 4C206/NA05 4C206/NA14 4C206/ZB09 4C206/ZC21 4C206/ZC41 4C206/ZC75		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及癌症领域。具体而言，本发明涉及增加癌细胞对免疫治疗药物的敏感性的方法和评估癌症治疗有效性的方法。

(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2018-529642 (P2018-529642A) (43) 公表日 平成30年10月11日 (2018. 10. 11)
(51) Int. Cl. A61K 45/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) A61P 3/14 (2006.01) A61P 37/04 (2006.01) A61K 31/137 (2006.01)	FI A61K 45/00 ZNA A61P 35/00 A61P 3/14 A61P 37/04 A61K 31/137 審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 39 頁) 最終頁に続く	テーマコード (参考) 4B063 4C084 4C206
(21) 出願番号 特願2018-503504 (P2018-503504) (86) (22) 出願日 平成27年7月22日 (2015. 7. 22) (85) 翻訳文提出日 平成30年3月17日 (2018. 3. 17) (86) 国際出願番号 PCT/ES2015/070561 (87) 国際公開番号 W02017/013276 (87) 国際公開日 平成29年1月26日 (2017. 1. 26)	(71) 出願人 518020060 ホスピタル サント ジョアン デ デュ ー HOSPITAL SANT JOAN DE DEU スペイン国、 バルセロナ、 2イー 8950 エスブルガス デ リュブラ ート、 ビー サント ジョアン デ デュ (71) 出願人 518020071 ファンシオ セレックス FUNDACIO CELLEX スペイン国、 バルセロナ、 15イー 08010、 パセジ デ サント ジョ アン 最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 CASRを発現する癌 (例えば神経芽腫) のための免疫療法