

(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2011-513211

(P2011-513211A)

(43) 公表日 平成23年4月28日(2011.4.28)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00 A	4 C 0 6 1
A 6 1 K 51/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/02 A	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 B 1/00 (2006.01)	A 6 1 B 1/00 3 0 0 D	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 33 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2010-547200 (P2010-547200)
 (86) (22) 出願日 平成21年2月26日 (2009.2.26)
 (85) 翻訳文提出日 平成22年10月12日 (2010.10.12)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2009/052282
 (87) 国際公開番号 W02009/106566
 (87) 国際公開日 平成21年9月3日 (2009.9.3)
 (31) 優先権主張番号 0803477.9
 (32) 優先日 平成20年2月26日 (2008.2.26)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 396019387
 ジーイー・ヘルスケア・アクスイエ・セル
 スカブ
 ノルウェー国 0401・オスロ ニイダ
 レン ピーオーボックス・4220 ニイ
 コベイエン 2
 (74) 代理人 100137545
 弁理士 荒川 聡志
 (74) 代理人 100105588
 弁理士 小倉 博
 (74) 代理人 100129779
 弁理士 黒川 俊久

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 療法選択方法

(57) 【要約】

本発明は、バレット食道を罹患する患者に関し、特に第一選択療法が不成功であった場合及び異形成が診断された場合に療法の決定を助ける方法に関する。かかる方法は、(a) Her 2、(b) c Met、(c) グアニリルシクラーゼ又は (d) IGF 1 R を標的とするベクターを含むイメージング剤の使用を含んでいる。本発明は、インビトロ又は好ましくはインビボでの放射性同位体イメージング又は光学イメージングのために適している。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

バレット食道に罹患していると予め診断された個々の患者に関して最も好適な治療コースの決定を助ける方法であって、

(i) (a) H e r 2、(b) c M e t、(c) グアニリルシクラーゼ C 及び (d) I G F 1 R から選択される 1 種のタンパク質マーカーを選択的に標的とするベクターを含むイメージング剤であって、前記ベクターはイメージング成分で標識されており、前記イメージング成分は放射性同位体及び光学レポーターから選択されるイメージング剤を用意する段階、

(i i) 段階 (i) からの第 1 のイメージング剤を用いて前記患者の食道の少なくとも一部分のイメージングを行う段階、

(i i i) 段階 (i i) のイメージングから、患者の食道の 1 以上の位置においてバックグラウンドに対するイメージング剤の取込みの増加が存在するか否かについて判定を行う段階、

(i v) 段階 (i i i) の判定が異常な取込みを示す場合には、段階 (i i) で使用したイメージング剤のタンパク質マーカーに応じて、患者に対する適切なターゲティング療法、即ち

(a) H e r 2 に関しては、H e r 2 を標的とする薬物又は療法による治療、

(b) c M e t に関しては、c M e t を標的とする薬物又は療法による治療、

(c) グアニリルシクラーゼ C に関しては、グアニリルシクラーゼ C を標的とする薬物又は療法、又は

(d) I G F 1 R に関しては、I G F 1 R を標的とする薬物又は療法を決定する段階、並びに

(v) 段階 (i i i) の判定が正常である場合には、段階 (i v) で決定されるターゲティング療法をその患者個体に対しては不相当であると判定し、前記患者に対して異なる療法を施すか、或いは段階 (i i) で使用したベクターと異なるベクターを含む第 2 のイメージング剤を用いて前記患者について段階 (i i i) ~ (v) を繰り返す段階を含んでなる方法。

【請求項 2】

タンパク質マーカーが H e r 2 及び c M e t から選択される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

タンパク質マーカーが H e r 2 である、請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】

イメージング成分が、人体の P E T 外部イメージングに適する放射性同位体又は人体の S P E C T 外部イメージングに適する放射性同位体である、請求項 1 乃至請求項 3 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 5】

イメージング成分が光学レポーターである、請求項 1 乃至請求項 3 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 6】

光学レポーターが赤色乃至近赤外波長 6 0 0 ~ 1 2 0 0 n m に吸収極大を有する色素である、請求項 5 記載の方法。

【請求項 7】

光学レポーターが生体適合性である、請求項 5 又は請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】

患者がバレット食道中の異形成に罹患していると予め診断されている、請求項 1 乃至請求項 7 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 9】

患者が、抗逆流投薬、内視鏡粘膜切除及び外科的切除の 1 以上からなる第一選択療法に対して既に応答しなくなっている、請求項 1 乃至請求項 8 のいずれか 1 項記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 10】

段階(v)の異なる療法が、プロトンポンプ阻害剤による化学療法、内視鏡粘膜切除及び外科的切除から選択される、請求項1乃至請求項9のいずれか1項記載の方法。

【請求項 11】

段階(v)の異なる療法が、段階(iv)の残りのターゲティング療法選択肢(a)~(d)のうち、段階(v)で不相当であると判定されなかったものから選択される、請求項1乃至請求項9のいずれか1項記載の方法。

【請求項 12】

段階(i)のイメージング剤が医薬組成物として提供される、請求項1乃至請求項11のいずれか1項記載の方法。

10

【請求項 13】

さらに、(vi)段階(iv)の(a)~(d)に定義されたターゲティング療法が開始された場合、段階(ii)のイメージング剤を使用して前記開始された療法の効力をモニターする段階を含む、請求項1乃至請求項12のいずれか1項記載の方法。

【請求項 14】

請求項1乃至請求項13のいずれか1項記載の方法で使用するためのイメージング剤の製造における、請求項1乃至請求項7のいずれか1項記載の段階(i)に定義された標識ベクターの使用。

【請求項 15】

請求項1乃至請求項13のいずれか1項記載の方法における、請求項1乃至請求項7のいずれか1項記載の段階(i)に定義されたイメージング剤の使用。

20

【請求項 16】

イメージング剤がキットによって製造される、請求項15記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、バレット食道を罹患する患者に関し、特に第一選択療法が不成功であった場合及び異形成(dysplasia)が診断された場合に療法の決定を助ける方法に関する。かかる方法は、(a)Her2、(b)cMet、(c)グアニリルシクラーゼ又は(d)IGF1Rを標的とするベクターを含むイメージング剤の使用を含んでいる。

30

【0002】

本発明はまた、本発明の方法におけるイメージング剤及び/又は標識ベクターの使用も提供する。

【背景技術】

【0003】

食道癌はすべての報告された癌症例の5%未満を占めるが、米国では毎年約30000の新しいかかる症例が診断され、生存率は低い(下記参照)。食道癌は、悪性である細胞のタイプに応じて2つの主要タイプ(扁平上皮癌及び腺癌)に分類できる。バレット食道は、食道癌(特に腺癌)の発生リスクの増加と関連した前悪性状態である[Kieslich et al, Clin. Gastroenterol. Hepatol., 4, 979-987(2006)]。慢性逆流はバレット食道のリスクを増加させ、したがって胃食道逆流(GERD)は食道癌の危険因子であることが示唆されてきた。

40

【0004】

米国及び西欧では、食道の腺癌は扁平上皮癌より多い。食道癌は治療可能な疾患であり得るが、滅多に治癒しない。総合5年生存率は5~30%である。食道癌の早期診断は患者の生存率を向上させる。主な治療法には、手術のみ又は放射線と組み合わせた化学療法がある。食道癌の治療で使用される化学療法には、5-フルオロウラシル及びシスプラチンがある。正確な手術前ステージングのないことが臨床上の大きな問題である。

【0005】

バレット食道における低グレードの異形成(即ち、異常な組織増殖)の存在は食道癌発

50

生の危険因子であるが、監視は現在では組織病理学に頼っている [Lim et al, Endoscopy, 39, 581-7 (2007)]。バレット食道における異形成の診断は、現在では1~2cmごとのランダム4象限生検(シアトルプロトコル)によるが、これは多大の時間及び費用がかかる [DaCosta et al, Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol., 20(1), 41-57 (2006)]。バレット食道における異形成は、常用内視鏡検査時に見えないのが普通である [Endlicher et al, Gut, 48, 314-319 (2001)]。

【0006】

米国特許第6,035,229号(Washington Research Foundation)には、カテーテルの末端にある照明及びイメージング用プローブを用いてバレット食道を検出するためのシステムが記載されている。この文書には、光学造影剤は開示されていない。

10

【0007】

高度の異形成組織又は悪性組織の検出に際してメチレンブルー色素を使用することで、インビボでのバレット食道の染色がインビトロでの生検試料の染色と比較された [Canto et al, Endoscopy, 33, 391-400 (2001)]。

【0008】

Kiesslich et al [Clin. Gastroenterol. Hepatol., 4, 979-987 (2006)]は、共焦点レーザー内視鏡検査を用いたバレット上皮及び関連する新形成(neoplasia)の検出を助けるためにフルオレセインを使用することを報告した。

20

【0009】

国際公開第2005/058371号には、インビボでの食道癌及びバレット食道のイメージングのための光学イメージング用造影剤が開示されている。かかる造影剤は、バレット食道において異常に発現される生物学的標的に対して親和性を有している。国際公開第2005/058371号の造影剤は、好ましくは下記式を有する。

V-L-R

式中、

Vは食道癌又はバレット食道において異常に発現される標的に対して親和性を有する1以上のベクター部分であり、

30

Lはリンカー部分又は化学結合(bond)であり、

Rは光学イメージングにおいて検出可能な1以上のレポーター部分である。

【0010】

広範囲の標的が記載されているが、標的は好ましくはE-カドヘリン、CD44、P62/c-myc(HGFレセプター)、P53及びEGFR/erbB-2から選択される。ベクター(V)は、好ましくはペプチド、ペプトイド成分、オリゴヌクレオチド、オリゴ糖、脂肪関連化合物及び旧来の有機薬物様小分子から選択されると述べられている。レポーター(R)は、好ましくは電磁スペクトルの紫外部から近赤外部までの波長領域の光と相互作用する色素である。

【0011】

40

バレット食道は、扁平食道上皮が円柱上皮で置き換えられたこと(化生(metaplasia))を特徴とする状態である。一定割合のバレット食道患者は食道腺癌を発生し、この過程での臨界段階は異形成を生じることである。したがって、異形成を診断された患者は、疾患の程度に応じ、抗逆流投薬、内視鏡粘膜切除及び外科的切除を含み得る治療を受ける(図表1: "Guidelines for the Diagnosis and Management of Barrett's Columnar-lined Oesophagus", UK Society of Gastroenterology, August 2005; www.bsg.org.ukからの要約)。

【0012】

【表 1】

図表 1：バレット患者の管理に関する現行のガイドライン

バレット患者ー 異形成なし	→ ● 症状制御/PPI ● 抗逆流手術	→ 2年毎の内視鏡検査
異形成に関して 不明確	→ 再評価 (内視鏡検査) → PPI	→ 6ヶ月目の内視鏡検査で再分類
低グレード 異形成	→ 集中的 PPI → 6ヶ月毎の 内視鏡検査	← 後退：BOとして管理する ← 存続：●PPI/内視鏡検査を繰り返す ●内視鏡粘膜切除を考慮する
高グレード 異形成	→ ● 外科的切除 ● 内視鏡粘膜切除	→ 終生の内視鏡検査（6ヶ月毎）
癌腫	→ 外科的切除 ±化学療法	→ 緩和ケア

表中、PPI = プロトンポンプ阻害剤。

10

【 0 0 1 3 】

治療された患者を6ヶ月間隔で追跡することで、療法に対する応答が評価される。応答者（即ち、療法が有効であることを示す証拠が得られた患者）は低リスク患者と見なされる一方、非応答者に対しては治療の継続/追加が考慮される。特に第一選択治療に応答しないバレット食道患者の間では、さらに標的特異的な療法が開発されつつあることを考えると、一層良好な療法選択の必要性が存在している。

20

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 1 4 】

国際公開第 2 0 0 5 / 0 5 8 3 7 1 号パンフレット

【 発明の概要 】

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 5 】

本発明は、バレット食道に罹患している患者に関して療法の決定を助ける方法に関する。本方法は、(a) Her 2、(b) c Met、(c) グアニリルシクラーゼ又は (d) IGF 1 R を標的とするベクターを含むイメージング剤の使用を含んでいる。本方法は、第一選択治療に応答しない患者に対して特に価値がある療法選択ツールを提供する。罹患組織においてこれらのマーカーの1種を強く発現することが示される患者は、これらの細胞タンパク質を標的とする療法から利益を得ると予想される（図表 2）。

30

【 0 0 1 6 】

【 表 2 】

図表 2：治療法の選択を患者管理スキームに適合させる方法



40

【 0 0 1 7 】

本発明は、バレット患者の亜集団において c Met、Her 2、IGF 1 - R 及びグアニリルシクラーゼ C の発現が増加することを示す証拠を提供する。したがって、これらのタンパク質を標的とする適当なイメージング剤を用いてかかる患者を同定すれば、これらの亜集団は c Met、Her 2、IGF 1 - R 又はグアニリルシクラーゼ C を標的とする薬物療法からの利益を受けることができ、それと同時に療法リソースの一層有効な使用が可能となる。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 1 8 】

50

第1の態様では、本発明は、バレット食道に罹患していると予め診断された個々の患者に関して最も好適な治療コースの決定を助ける方法であって、

(i)(a) Her 2、(b) c Met、(c) グアニリルシクラーゼC及び(d) IGF 1 Rから選択される1種のタンパク質マーカ―を選択的に標的とするベクターを含むイメージング剤であって、前記ベクターはイメージング成分で標識されており、前記イメージング成分は放射性同位体及び光学レポーターから選択されるイメージング剤を用意する段階、

(ii) 段階(i)からの第1のイメージング剤を用いて前記患者の食道の少なくとも一部分のイメージングを行う段階、

(iii) 段階(ii)のイメージングから、患者の食道の1以上の位置においてバックグラウンドに対するイメージング剤の取込みの増加が存在するか否かについて判定を行う段階、

(iv) 段階(iii)の判定が異常な取込みを示す場合には、段階(ii)で使用したイメージング剤のタンパク質マーカ―に応じて、患者に対する適切なターゲティング療法、即ち

(a) Her 2に関しては、Her 2を標的とする薬物又は療法による治療、

(b) c Metに関しては、c Metを標的とする薬物又は療法による治療、

(c) グアニリルシクラーゼCに関しては、グアニリルシクラーゼCを標的とする薬物又は療法、又は

(d) IGF 1 Rに関しては、IGF 1 Rを標的とする薬物又は療法

を決定する段階、並びに
(v) 段階(iii)の判定が正常である場合には、段階(iv)で決定されるターゲティング療法をその患者個体に対しては不相当であると判定し、前記患者に対して異なる療法を施すか、或いは段階(ii)で使用したベクターと異なるベクターを含む第2のイメージング剤を用いて前記患者について段階(iii)～(v)を繰り返す段階を含んでなる方法を提供する。

【0019】

「予め診断された」という用語は、患者が既にバレット食道を罹患していると診断されたか、或いはバレット食道を罹患していると疑われることを意味する。診断は、臨床的症状に加えて、通例は第一選択内視鏡検査を用いた確認に基づいて行われる。かかる第一選択内視鏡検査は、ランダム4象限生検試料を集めるため、現在では白色光を用いて実施される。これらの生検試料の組織学的評価により、疾患の程度が確認される。

【0020】

「イメージング剤」という用語は、哺乳動物体のインビボイメージング又は哺乳動物体から採取した生検試料のインビトロイメージングのために適した化合物を意味する。好ましくは、哺乳動物は生きているヒト被験体である。インビボイメージングは侵襲的(例えば、手術中検査又は内視鏡検査)であってもよいし、或いは非侵襲的であってもよい。好ましいインビボイメージング方法は内視鏡検査である。

【0021】

「選択的に標的とする」という用語は、ベクターがバックグラウンド組織及び他の潜在的な標的に比べて標的に対する実質的に高い親和性を有することを意味する。ベクターは、高い親和性(0~50 nMの範囲内の K_i 値、好ましくはサブnM(即ち、1.0 nM未満)の K_i 値)をもって標的に結合できる。

【0022】

Her 2、c Met、グアニリルシクラーゼC及びIGF 1 Rという用語は、これらの通常の意味を有する。さらに詳しい説明は以下の通りである。

【0023】

Her 2はerb B-2としても知られている。Her 2は、上皮増殖因子レセプター系の一員である。それは185 kDaの細胞膜表面結合レセプターチロシンキナーゼであり、細胞増殖及び分化に関連するシグナルトランスダクション経路に参与している。

【0024】

cMetレセプターは、肝細胞増殖因子/散乱因子(HGF/SF)に対する高親和性レセプターであって、主として間葉細胞によって生産され、主にcMet発現上皮細胞に対して内分泌的及び/又は傍分泌的に作用するジスルフィド結合ヘテロ二量体分子である。

【0025】

グアニリルシクラーゼC(GCC)は、下部胃腸管の表皮細胞における流体分泌を制御する役割をもったグアニリルシクラーゼレセプターの一員である。それは、GUCY2C遺伝子(12p12)によってエンコードされた123kDaの刷子縁膜タンパク質であり、細胞外リガンド結合ドメイン、単一の膜貫通スパニング領域及び細胞質ドメインからなっている。

10

【0026】

インスリン様増殖因子レセプター(IGF-1R、遺伝子位置15q25)は、細胞生存、増殖並びに細胞-細胞接着の調節において重要な役割をもった155kDaの膜貫通ヘテロ四量体である。それは2つの細胞外サブユニット及び2つの膜貫通サブユニットからなっている。サブユニットはIGF-1に対する結合ドメインを含む一方、サブユニットの細胞内部分は自己リン酸化及びシグナリング開始のためのチロシンキナーゼを含んでいる。IGF1-Rはインスリンレセプターに対して60%の配列相同性を有している。同様に、その主リガンドであるIGF-1はインスリンに対して50%の相同性を有するが、下流のシグナリング経路は共通でない。

20

【0027】

インビボイメージングのために適する放射性同位体は金属又は非金属であってよく、陽電子放出断層撮影(PET)イメージング用の陽電子放射体又は単光子放出コンピューター断層撮影(SPECT)用の線放射体である。イメージング成分が放射性金属イオン(即ち、放射性金属(radiometal))である場合、好適な放射性金属は、 ^{64}Cu 、 ^{48}V 、 ^{52}Fe 、 ^{55}Co 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 又は ^{68}Ga のような(PETイメージング用の)陽電子放射体、或いは $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 $^{113\text{m}}\text{In}$ 又は ^{67}Ga のような(SPECTイメージング用の)線放射体であり得る。好ましい放射性金属は、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 及び ^{111}In である。最も好ましい放射性金属は線放射体、特に $^{99\text{m}}\text{Tc}$ である。イメージング成分が(SPECTイメージング用の)線を放出する放射性ハロゲンである場合、放射性ハロゲンは好適には ^{123}I 、 ^{131}I 及び ^{77}Br から選択される。好ましい線放射放射性ハロゲンは ^{123}I である。イメージング成分が陽電子を放出する放射性非金属である場合、好適なかかる陽電子放射体は ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{17}F 、 ^{18}F 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 及び ^{124}I を包含する。好ましい陽電子放出放射性非金属は ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{18}F 及び ^{124}I であり、特に ^{11}C 及び ^{18}F が好ましく、 ^{18}F が最も好ましい。

30

【0028】

患者から採取した生検試料のインビトロイメージングのために適する好適な放射性同位体は当技術分野で公知であり、 ^{125}I 、 ^3H 及び ^{14}C を包含する。

【0029】

イメージング成分が光学レポーターである場合、レポーターは光学イメージング操作で直接又は間接に検出できる任意の成分である。レポーターは、光散乱剤(例えば、着色又は無着色粒子)、吸光剤又は発光剤であり得る。さらに好ましくは、レポーターは発色団又は蛍光化合物のような色素である。色素は、紫外域乃至近赤外域の波長をもった電磁スペクトル中の光と相互作用する任意の色素であり得る。最も好ましくは、レポーターは蛍光性を有する。

40

【0030】

好ましい有機発色性及び発蛍光性レポーターには、広範な非局在化電子系を有する群、例えばシアニン類、メロシアニン類、インドシアニン類、フタロシアニン類、ナフタロシアニン類、トリフェニルメチン類、ポルフィリン類、ピリリウム色素、チアピリリウム色素、スクアリリウム色素、クロコニウム色素、アズレニウム色素、インドアニリン類、ベ

50

ンゾフェノキサジニウム色素、ベンゾチアフェノチアジニウム色素、アントラキノン類、ナフトキノン類、インダスレン類、フタロイルアクリドン類、トリスフェノキノン類、アゾ色素、分子内及び分子間電荷移動色素及び色素錯体、トロポニン類、テトラジン類、ビス（ジチオレン）錯体、ビス（ベンゼン-ジチオレート）錯体、ヨードアニリン色素、ビス（S, O-ジチオレン）錯体がある。緑色蛍光タンパク質（GFP）及び異なる吸収/発光特性を有するGFPの変種のような蛍光タンパク質も有用である。特定の状況においてはある種の希土類金属（例えば、ユウロピウム、サマリウム、テルビウム又はジスプロシウム）の錯体を使用され、蛍光ナノ結晶（量子ドット）についても同様である。

【0031】

使用できる発色団の具体例には、フルオレセイン、スルホローダミン101 (Texas Red)、ローダミンB、ローダミン6G、ローダミン19、インドシアニングリーン、シアニン色素であるCy2、Cy3、Cy3.5、Cy5、Cy5.5、Cy7、Marina Blue、Pacific Blue、Oregon Green 88、Oregon Green 514、テトラメチルローダミン、Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 532、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 555、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 647、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680、Alexa Fluor 700及びAlexa Fluor 750がある。

10

20

【0032】

特に好ましいのは、400nm乃至3µm、特に600~1300nmの範囲内の可視乃至近赤外領域内に吸収極大を有する色素である。光学イメージングモダリティー及び測定技法には、特に限定されないが、ルミネセンスイメージング、内視鏡検査、蛍光内視鏡検査、光学コヒーレンス断層撮影、透過率イメージング、時間分解透過率イメージング、共焦点イメージング、非線形顕微鏡検査、光音響イメージング、音響光学イメージング、スペクトル分析、反射スペクトル分析、干渉分析、コヒーレンス干渉分析、拡散光学断層撮影及び蛍光媒介拡散光学断層撮影（連続波、時間ドメイン及び周波数ドメインシステム）、並びに光の散乱、吸光、偏光、ルミネセンス、蛍光寿命、量子収量及び消光の測定がある。

30

【0033】

段階（iv）及び段階（v）に関しては、バックグラウンドに対する取込みの増加は段階（i）のタンパク質マーカー（a）~（d）の存在を表している。健常なバックグラウンド食道組織（扁平上皮）は、ゼロレベル又は低レベルのかかるマーカーしか示さないからである。これは、段階（iv）のターゲティング療法が価値を有し得ることを表している。

【0034】

Her2結合のために適するベクターには、抗体Trastuzumab（Herceptin（商標）、Genentech社）及びPertuzumab（Omnitarg（商標）、Genentech社）がある。これらは、Pal et al [Rev. Endocr. Metab. Disord., 8, 269-277 (2007)]によって総説されている。Her2に対して特異的な親和性を有するアフィボディも記載されている。例えば、Nilsson et al [Curr. Opin. Drug Disc. Dev., 10, 167-175 (2007)]を参照されたい。

40

【0035】

cMet結合のために適するベクターには、下記のアミノ酸配列（配列番号1）を含む17~30のアミノ酸の環状ペプチドがある。

Cys^a - X¹ - Cys^c - X² - Gly - Pro - Pro - X³ - Phe - Glu -
Cys^d - Trp - Cys^b - Tyr - X⁴ - X⁵ - X⁶

式中、

50

X¹はA s n、H i s又はT y rであり、

X²はG l y、S e r、T h r又はA s nであり、

X³はT h r又はA r gであり、

X⁴はA l a、A s p、G l u、G l y又はS e rであり、

X⁵はS e r又はT h rであり、

X⁶はA s p又はG l uであり、

C y s^{a-d}の各々はシステイン残基であって、残基 a 及び b 並びに残基 c 及び d は環化して2つの独立したジスルフィド結合を形成している。

【0036】

好ましいかかるペプチドは、下記配列番号2及び配列番号3のものである。

(配列番号2) S e r - C y s^a - X¹ - C y s^c - X² - G l y - P r o - P r o - X³ - P h e - G l u - C y s^d - T r p - C y s^b - T y r - X⁴ - X⁵ - X⁶

(配列番号3) A l a - G l y - S e r - C y s^a - X¹ - C y s^c - X² - G l y - P r o - P r o - X³ - P h e - G l u - C y s^d - T r p - C y s^b - T y r - X⁴ - X⁵ - X⁶ - G l y - T h r

特に好ましいかかるペプチドは、A r g に等しいX³を有している。最も好ましいc M e t ターゲティングペプチドは下記のものである。

A l a - G l y - S e r - C y s^a - T y r - C y s^c - S e r - G l y - P r o - P r o - A r g - P h e - G l u - C y s^d - T r p - C y s^b - T y r - G l u - T h r - G l u - G l y - T h r - G l y - G l y - G l y - L y s

グアニリルシクラゼCターゲティングのために適するベクターは当技術分野で公知であり、通例は大腸菌の耐熱性エンテロトキシン(STペプチド)のペプチド類似体に基づいている。IGF1Rターゲティングのために適するベクターは、Clemmons [Nature Rev. Drug Disc., 6, 821-833 (2006)] によって記載されている。

【0037】

段階(iv)では、適切なターゲティング療法は、それぞれHer2、cMet、グアニリルシクラゼC又はIGF1Rに対して上流又は下流効果を有することが知られている任意のものである。可能なかかる療法は細胞傷害剤による化学療法であって、好適なかかる細胞傷害剤には、5-フルオロウラシル、シスプラチン、プレオマイシン、マイトマイシン、ドキソルビシン、メトトレキサート、トポテカン、パクリタキセル、ビンレルビン及びドセタキセルがある。かかる細胞傷害剤は、シスプラチン/5-フルオロウラシル(5-FU)、カルボプラチン/パクリタキセル又はシスプラチン/イリノテカンのように組み合わせて使用することもできる。細胞傷害剤はまた、下記の特異的療法と併用することも可能であろう。

【0038】

Her2を標的とするイメージング剤が異常な取込みを見出した場合、段階(iv)(a)のための好ましい療法には、証明された効力を有する一般に認められたHer2ターゲティング薬物であるHerceptin(商標)(トラスツズマブ)による治療がある [UK National Cancer Research Institute Clinical Guidelines; Bohme "Anti-HER2 therapy: How to use Herceptin in clinical practice". Eur. J. Oncol. Nursing, 4, 30-36 (2000)]

【0039】

cMetを標的とするイメージング剤が異常な取込みを見出した場合、段階(iv)(b)のための好ましい療法は公知であり、Watson et al [Neoplasia, 8, 949-955 (2006)] によって記載されているような小分子阻害剤PHA665752による治療を含んでいる。

【0040】

10

20

30

40

50

GCCを標的とするイメージング剤が異常な取込みを見出した場合、段階(iv)(c)のための好ましい療法には、GCCに関連して結腸癌のマーカとして既に関連されたものがある。即ち、例えばWaldman et alは、STペプチド及び熱切除に基づくGCCターゲティング療法を記載している[“Opportunities for near-infrared thermal ablation of colorectal metastases by guanylyl cyclase C-targeted gold nanoshells” Future Oncology 2, 705-716 (2006)]。熱切除はバレット患者に対する可能な治療法として広く論じられており、したがってその場合には実行可能な療法選択肢にもなると考えられる。

10

【0041】

IGF1Rを標的とするイメージング剤が異常な取込みを見出した場合、段階(iv)(d)のための好ましい療法には、癌療法においてIGF1Rを標的とする公知の治療法がある。これらは、Tao et al[“Mechanisms of Disease: Signaling of the insulin-like growth factor 1 receptor pathway - Therapeutic perspectives in cancer” Nat. Clin. Pract. Oncol. 4, 591-602 (2007)]; Shao et al[“Integrated molecular targeting of IGF1R and HER2 surface receptors and destruction of breast cancer cells using single wall carbon nanotubes” Nanotechnology, 18, 315101 (2007)]; Martins et al[“Insulin-like growth factor I receptor pathway inhibition by ADW742, alone or in combination with imatinib, doxorubicin, or vincristine, is a novel therapeutic approach in Ewing tumor” Clin. Cancer Res. 12, 3532-3540 (2006)]; Bohula et al[“Targeting the type 1 insulin-like growth factor receptor as anti-cancer treatment” Anti-Cancer Drugs 14, 669-682 (2003)]によって記載されている。キナーゼ阻害剤又はモノクローナル抗体を使用する追加の癌治療アプローチは、Wang et al[Rec. Result. Cancer Res., 172, 59-76 (2007)]によって記載されている。

20

30

【0042】

段階(iv)のターゲティング療法は、当技術分野で公知の通り、静脈内投与、経口投与又は局所適用(例えば、食道への噴霧)のような通常の方法による患者投与経路によって送達できる。食道への一層効率的な送達のために薬物を製剤化する方法は当技術分野で公知であり[Batchelor, Pharmaceut. Res., 22(2), 175-181 (2005)]及びCollaud et al, J. Control. Rel., 123, 203-210 (2007)]、したがって本発明の段階(iv)の療法を任意にはかかる製剤によって送達することができる。

40

【0043】

段階(i)のイメージング剤は、当技術分野で公知の通り、静脈内投与又は経口投与のような通常の方法による患者投与経路によって送達できる。イメージング成分が放射性同位体である場合、イメージング剤は好ましくは静脈内経路によって投与される。そのようにすれば、患者及び施術者が受ける放射線量を一層綿密に制御できるからである。イメージング成分が光学レポーターである場合、静脈内又は経口投与経路が使用できる。上述の通り、食道への一層効率的な経口送達のために薬物を製剤化して一層長い局所食道接触時間を得る方法は当技術分野で公知であり、したがって本発明の段階(i)の光学イメージング剤を任

50

意にはかかる製剤によって送達することができる。

【0044】

段階(v)の「異なる療法」は、個々の患者にとって新しい治療又は治療コース(即ち、患者が以前に受けたことのない治療)である。「異なる療法」は、段階(iv)の残りのターゲティング療法選択肢(a)~(d)のうち、段階(v)で不適當であると判定されなかったものから選択できる。これは手術及び緩和ケアを含み得る。

【0045】

好ましい態様

第1の態様の方法は、好ましくはインビボイメージングを用いて、したがってインビボイメージングに適したレポーターを用いて実施される。段階(i)のタンパク質マーカ- 10
 ーは、好ましくはHer2及びcMetから選択され、最も好ましくはHer2である。マーカ-
 ーがHer2である場合、好ましい療法はHerceptin(商標)である。段階
 (iii)の異常な取込みは、好ましくは上昇した取込みである。それは組織バックグラ
 ウンドに比べてイメージング剤の高い取込み量を与え、したがって「ホットスポット」に
 よる検出を容易にすると期待されるからである。

【0046】

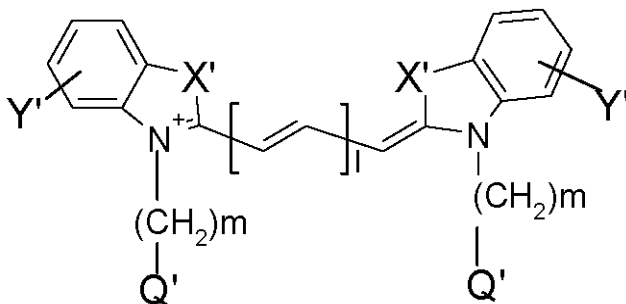
イメージング部分は、インビトロ及びインビボイメージングアプローチの両方に関して
 好ましくは光学レポーターであり、さらに好ましくは蛍光近赤外色素である。光学レポ- 20
 ーターは、好ましくは生体適合性でもある(即ち、インビボ光学イメージングのために適し
 ている)。「生体適合性」という用語は、無毒性であり、したがって副作用或いは投与時
 の苦痛又は不快感なしに哺乳動物体(特に人体)に投与するのに適していることを意味す
 る。かかるNIR色素は、好適には赤色乃至近赤外波長600~1200nmに吸収極大
 を有している。NIR色素は、好ましくはシアニン色素である。

【0047】

NIR色素は、好ましくはシアニン色素又はベンゾピリリウム色素である。発蛍光団で
 ある好ましいシアニン色素は、下記式Iのものである。

【0048】

【化1】



(I)

【0049】

式中、

各X'は独立に-C(CH₃)₂、-S-、-O-及び-C[(CH₂)_aCH₃][(CH₂)_bM]-
 (式中、aは0~5の値を有する整数であり、bは1~5の値を有する整数であり、Mは
 G基であるか、或いはSO₃M¹及びHから選択される。)から選択され、

各Y'は独立にH、-CH₂NH₂、-SO₃M¹、-CH₂COOM¹、-NCS、F及びG
 基からなる群から選択される1~4の基を表し、Y'基は芳香環の任意の位置に配置され
 ており、

Q'は独立にH、SO₃M¹、NH₂、COOM¹、アンモニウム、エステル基、ベンジル及
 びG基からなる群から選択され、

M¹はH又はB^c(ここに、B^cは生体適合性陽イオンである。)であり、

lは1~3の整数であり、

10

20

30

40

50

m は 1 ~ 5 の整数であり、

X'、Y' 及び Q' の少なくとも 1 つは G 基からなり、

G は共有結合を介して色素をベクターに結合するために適した反応基又は官能基である。

【0050】

「生体適合性陽イオン」(B⁺) という用語は、イオン化して負に帯電した基と共に塩を形成する正に帯電した対イオンを意味する。この場合、前記正に帯電した対イオンも無毒性であり、したがって哺乳動物体(特に人体)への投与に適している。好適な生体適合性陽イオンの例には、アルカリ金属であるナトリウム及びカリウム、アルカリ土類金属であるカルシウム及びマグネシウム、並びにアンモニウムイオンがある。好ましい生体適合性陽イオンはナトリウム及びカリウムであり、最も好ましくはナトリウムである。

10

【0051】

G 基はベクターの相補的な基と反応して、シアニン色素発蛍光団とベクターとの間に共有結合を形成する。G はペプチドの相補的な官能基と反応し得る反応基であってもよいし、或いは別法としてベクターの反応基と反応し得る官能基を含んでいてもよい。反応基及び官能基の例には、活性エステル、イソチオシアネート、マレイミド、ハロアセトアミド、酸ハライド、ヒドラジド、ビニルスルホン、ジクロロトリアジン、ホスホラミダイト、ヒドロキシル、アミノ、スルフヒドリル、カルボニル、カルボン酸及びチオホスフェートがある。好ましくは、G は活性エステルである。

【0052】

「活性化エステル」又は「活性エステル」という用語は、良好な脱離基であり、したがってアミンのような求核性化合物との一層容易な反応を可能にするように設計された関連カルボン酸のエステル誘導体を意味する。好適な活性エステルの例は、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)、スルホスクシンイミジルエステル、ペンタフルオロフェノール、ペンタフルオロチオフェノール、p-ニトロフェノール、ヒドロキシベンゾトリアゾール及び PyBOP (即ち、ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート)である。好ましい活性エステルは、N-ヒドロキシスクシンイミド又はペンタフルオロフェノールエステル、特に N-ヒドロキシスクシンイミドエステルである。

20

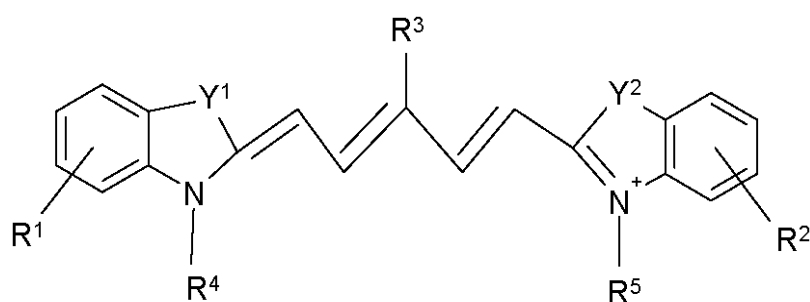
【0053】

さらに好ましいシアニン色素は、下記式 I a のものである。

30

【0054】

【化2】



(Ia)

40

【0055】

式中、

Y¹ 及び Y² は独立に -O-、-S-、-NR⁶- 又は -CR⁷R⁸- であり、Y¹ 及び Y² の少なくとも一方が -CR⁷R⁸- であるように選択され、

R¹ 及び R² は独立に H、-SO₃M¹ 又は R^a であり、

R³ は H、C₁₋₅アルキル、C₁₋₆カルボキシアルキル又は R^a 基であり、

R⁴ ~ R⁶ は独立に C₁₋₅アルキル、C₁₋₆カルボキシアルキル又は R^a であり、

R⁷ は H 又は C₁₋₃アルキルであり、

50

R^8 は R^a 又は C_{1-6} カルボキシアルキルであり、

R^a は独立に C_{1-4} スルホアルキルであり、

M^1 は式Iで定義した通りであり、

式I aのシアニン色素は1以上の R^a 基並びに R^1 、 R^2 及び R^a 基に由来する全部で1~6のスルホン酸置換基を有することを条件とする。

【0056】

「スルホン酸置換基」という用語は、式 $-SO_3M^1$ （式中、 M^1 は上記に定義した通りである。）の置換基を意味する。式I aの好ましい色素は、3~6のスルホン酸置換基を有している。 $-SO_3M^1$ 置換基は炭素原子に共有結合しており、炭素原子はアリール（即ち、 R^1 又は R^2 基）又はアルキル（即ち、 R^a 基）であり得る。式I a中では、 R^a 基は好ましくは式 $-(CH_2)_kSO_3M^1$ を有する。式中、 M^1 は上記に定義した通りであり、 k は1~4の値を有する整数である。 k は好ましくは3又は4である。

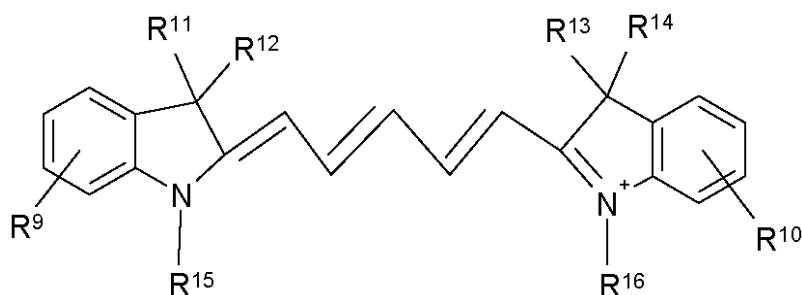
10

【0057】

特に好ましいシアニン色素は、下記式I bのものである。

【0058】

【化3】



20

【0059】

式中、

R^9 及び R^{10} は独立にH又は SO_3M^1 であって、 R^9 及び R^{10} の少なくとも一方は SO_3M^1 であり、

R^{11} 及び R^{12} は独立に C_{1-4} アルキル又は C_{1-6} カルボキシアルキルであり、

R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 及び R^{16} は独立に R^b 基（式中、 R^b は C_{1-4} アルキル、 C_{1-6} カルボキシアルキル又は $-(CH_2)_qSO_3M^1$ であり、 q は3又は4の値を有する整数である。）であり、

30

M^1 は式I及び式I aに関して定義した通りであり、

シアニン色素は R^9 、 R^{10} 及び R^b 基に全部で1~4の SO_3M^1 置換基を有することを条件とする。

【0060】

式I bの好ましいシアニン色素は、ベクターへのコンジュゲーションを容易にするため、1以上の C_{1-6} カルボキシアルキル基が存在するように選択される。

【0061】

式I bの好ましい個別シアニン色素を表1にまとめて示す。

40

【0062】

【表 3】

表 1：個別シアニン色素の化学構造

表 1	色素名称			
	Cy5(1)	Cy5(2)	Cy5**	Alexa647
R ⁹	H	SO ₃ H	SO ₃ H	SO ₃ H
R ¹⁰	SO ₃ H	SO ₃ H	SO ₃ H	SO ₃ H
R ¹¹	CH ₃	CH ₃	CH ₃	R ^f
R ¹²	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
R ¹³	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
R ¹⁴	CH ₃	CH ₃	-(CH ₂) ₄ SO ₃ H	CH ₃
R ¹⁵	R ^f	R ^f	R ^f	-(CH ₂) ₃ SO ₃ H
R ¹⁶	CH ₃	Et	-(CH ₂) ₄ SO ₃ H	-(CH ₂) ₃ SO ₃ H

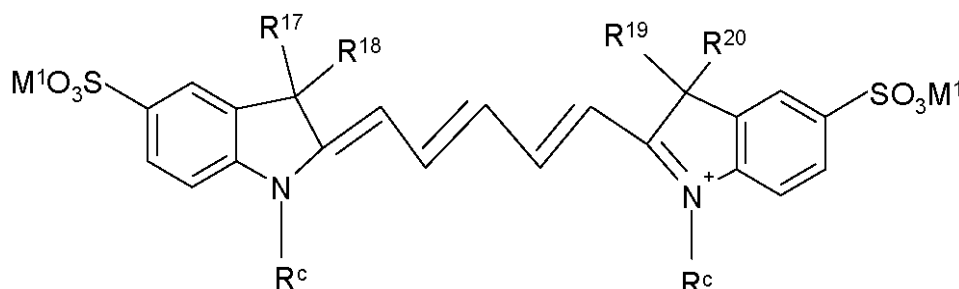
ただし、R^f = -(CH₂)₅COOH。

【0063】

特に好ましいシアニン色素は、下記式 I b のものである。

【0064】

【化 4】



(Ic)

【0065】

式中、

R^cは独立に R^a基又は C₁₋₆カルボキシアルキルであり、
R¹⁷ ~ R²⁰は独立に C₁₋₅アルキル又は R^c基であり、R¹⁷ = R¹⁸ = R^c又は R¹⁹ = R²⁰ = R^d (式中、R^dは C₁₋₂アルキルである。) であるように選択され、
R^a及び M¹は式 I に関して上記に定義した通りである。

【0066】

式 I b 及び式 I c の特に好ましいシアニン色素は Cy 5 ** 及び A l e x a 6 4 7 であり、
Cy 5 ** が理想的である。

【0067】

「ベンゾピリリウム色素」という用語は、その通常の意味を有する。本発明の好適なベンゾピリリウム色素は B z p^Mで表され、下記式 I I を有する。

【0068】

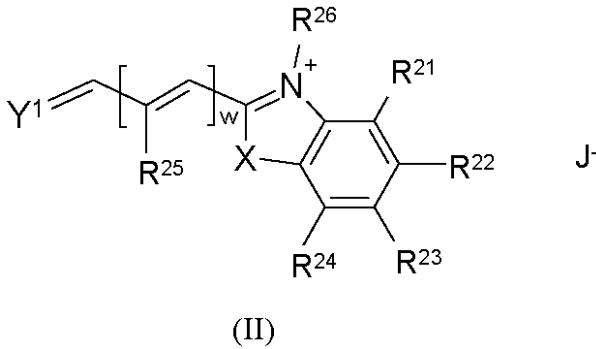
10

20

30

40

【化5】



10

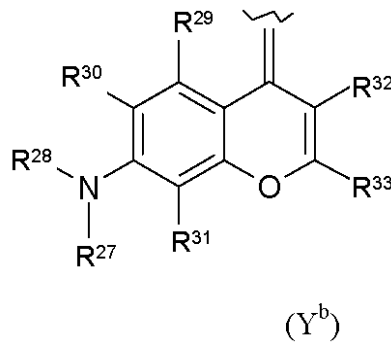
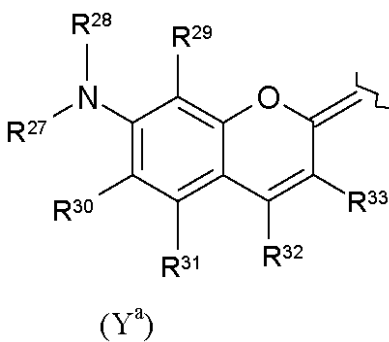
【0069】

式中、

Y¹は下記式Y^a又は式Y^bの基であり、

【0070】

【化6】



20

【0071】

R²¹ ~ R²⁴及びR²⁹ ~ R³³は独立にH、-SO₃M¹、Hal、R⁹及びC₃₋₁₂アリールから選択され、

R²⁵はH、C₁₋₄アルキル、C₁₋₆カルボキシアルキル、C₃₋₁₂アリールスルホニル又はClであり、或いはR²⁵は任意にはR²⁶、R³⁴、R³⁵又はR³⁶の1つと共に五員又は六員の不飽和脂肪族環、不飽和ヘテロ脂肪族環又は芳香環を形成でき、

30

R²⁶及びR³⁶は独立にR⁹基であり、

R²⁷及びR²⁸は独立にC₁₋₄アルキル、C₁₋₄スルホアルキル又はC₁₋₆ヒドロキシアルキルであり、或いは任意にはR²⁹及び/又はR³⁰の一方又は両方と共に五員又は六員のN含有複素環又はヘテロアリール環を形成でき、

Xは-CR³⁴R³⁵-、-O-、-S-、-Se-、-NR³⁶-又は-CH=CH-（式中、R³⁴ ~ R³⁶は独立にR⁹基である。）であり、

R⁹はC₁₋₄アルキル、C₁₋₄スルホアルキル、C₁₋₆カルボキシアルキル又はC₁₋₆ヒドロキシアルキルであり、

wは1又は2であり、

Jは生体適合性陰イオンであり、

40

M¹は式Iに関して定義した通りであり、

Bz p^MはR²¹ ~ R³⁶基から選択される1以上のスルホン酸置換基を含むことを条件とする。

【0072】

「生体適合性陰イオン」（J）という用語は、イオン化して正に帯電した基（この場合にはインドリニウム基）と共に塩を形成する負に帯電した対イオンを意味する。この場合、前記負に帯電した対イオンも無毒性であり、したがって哺乳動物体（特に人体）への投与に適している。対イオン（J⁻）は、モル相当量で存在することでBz p^M色素上の正電荷をバランスさせる陰イオンを表す。電荷をバランスさせる量が存在する限り、陰イオン（J）は好適には単一又は複数の電荷を有する。陰イオンは好適には無機酸又は有機酸か

50

ら導かれる。好適な陰イオンの例には、塩化物イオン又は臭化物イオンのようなハロゲン化物イオン、硫酸イオン、硝酸イオン、クエン酸イオン、酢酸イオン、リン酸イオン及びホウ酸イオンがある。好ましい陰イオンは塩化物イオンである。

【0073】

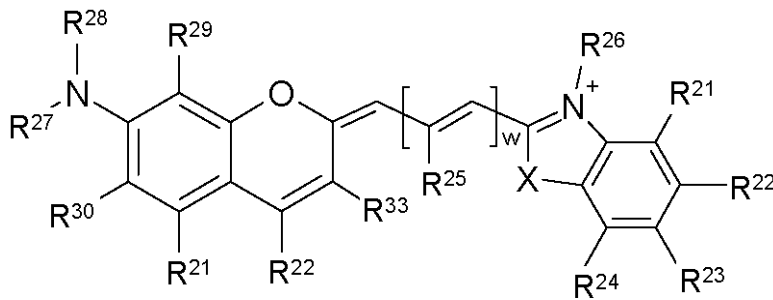
式 I I のベンゾピリリウム色素 ($Bz p^M$) は、緑色ないし近赤外波長 (500 ~ 1200 nm、好ましくは 550 ~ 1000 nm、さらに好ましくは 600 ~ 800 nm) の光を用いる光学イメージング方法で直接又は間接に検出できる蛍光色素又は発色団である。好ましくは、 $Bz p^M$ は蛍光性を有する。

【0074】

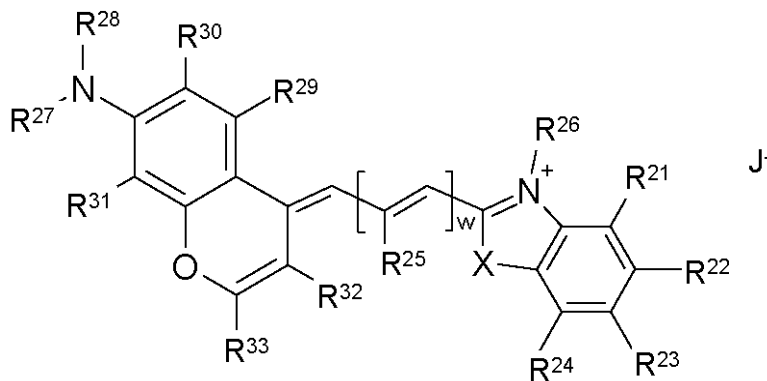
本発明の好適なイメージング剤は、 $Bz p^M$ が下記式 I I a 又は式 I I b を有するものである。

【0075】

【化7】



(IIa)



(IIb)

【0076】

式中、X、w、J 及び $R^{21} \sim R^{33}$ は式 I I に関して定義した通りである。

【0077】

R^{25} が R^{26} / $R^{34} \sim R^{36}$ の 1 つと共に五員又は六員の不飽和脂肪族環、不飽和ヘテロ脂肪族環又は芳香環を形成する場合、好適なかかる芳香環には、フェニル、フラン、チアゾール、ピリジル、ピロール及びピラゾール環がある。好適な不飽和環は、少なくとも R^{25} が結合した $C=C$ を含んでいる。

【0078】

R^{27} 及び / 又は R^{28} が R^{29} 及び / 又は R^{30} の一方又は両方と共に五員又は六員の N 含有複素環又はヘテロアリアル環を形成する場合、好適なかかる環には、チアゾール、ピリジル、ピロール及びピラゾール環並びにこれらの部分水素化変種がある。好ましくは、ピリジル又はジヒドロピリジルである。

【0079】

ベンゾピリリウム色素の好ましい特徴

ベクターは、好ましくは式 I I の $Bz p^M$ の R^{25} 、 R^{26} 、 R^{34} 、 R^{35} 又は R^{36} の位置、

10

20

30

40

50

さらに好ましくは R^{26} 、 R^{34} 、 R^{35} 又は R^{36} の位置、最も好ましくは R^{26} 、 R^{34} 又は R^{35} の位置に結合している。結合を容易にするため、関連する R^{25} 、 R^{26} 、 R^{34} 、 R^{35} 又は R^{36} 置換基は好ましくは C_{1-6} カルボキシアルキル、さらに好ましくは C_{3-6} カルボキシアルキルである。

【0080】

ベンゾピリリウム色素 ($Bz p^M$) は、好ましくは 2 以上のスルホン酸置換基、さらに好ましくは 2 ~ 6 のスルホン酸置換基、最も好ましくは 2 ~ 4 のスルホン酸置換基を有する。好ましくは、スルホン酸置換基の少なくとも 1 つは C_{1-4} スルホアルキル基である。かかるスルホアルキル基は、好ましくは式 I I の R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{34} 、 R^{35} 又は R^{36} の位置にあり、さらに好ましくは R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{34} 又は R^{35} の位置にあり、最も好ましくは R^{27} 及び R^{28} の一方又は両方と共に R^{26} の位置にある。式 I I のスルホアルキル基は、好ましくは式 $-(CH_2)_k SO_3 M^1$ (式中、 M^1 は H 又は B° であり、 k は 1 ~ 4 の値を有する整数であり、 B° は (上記に定義したような) 生体適合性陽イオンである。) を有する。 k は好ましくは 3 又は 4 である。

10

【0081】

式 I I 中、 w は好ましくは 1 である。 R^{25} は好ましくは H 又は C_{1-4} カルボキシアルキルであり、最も好ましくは H である。 X は好ましくは $-CR^{34}R^{35}-$ 又は $-NR^{36}-$ であり、最も好ましくは $-CR^{34}R^{35}-$ である。

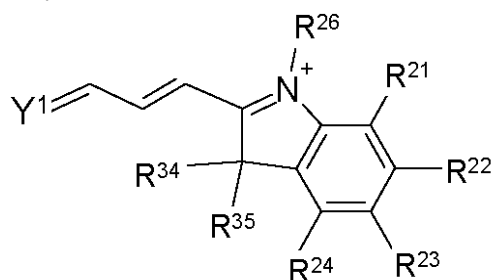
【0082】

好ましい $Bz p^M$ 色素は下記式 I I I を有する。

20

【0083】

【化 8】



J

(III)

30

【0084】

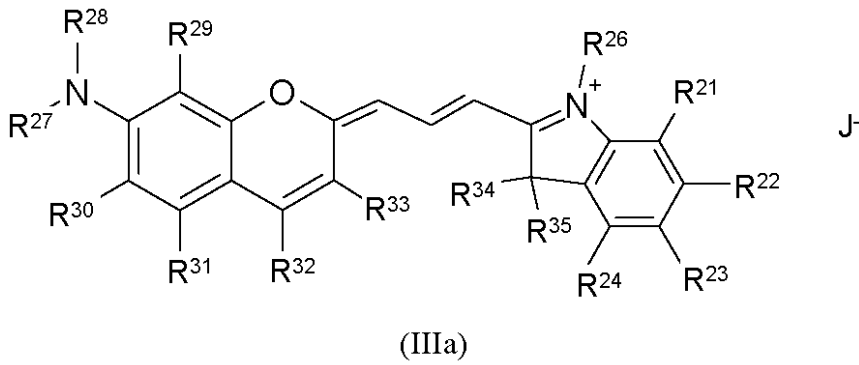
式中、 Y^1 、 R^{21} ~ R^{24} 、 R^{26} 、 R^{34} 、 R^{35} 及び J は式 I I に関して定義した通りである。

【0085】

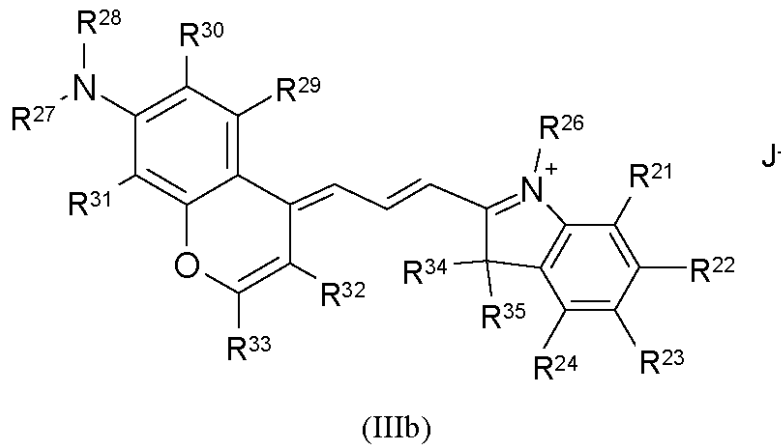
式 I I I の好適な色素は、下記式 I I I a 又は式 I I I b を有する。

【0086】

【化9】



10



20

【0087】

式III、式IIIa及び式IIIbの好ましい $R^{21} \sim R^{24}$ 及び $R^{26} \sim R^{33}$ 基は、式IIIa及び式IIIbに関して上記に定義した通りである。式III、式IIIa及び式IIIb中、 R^{34} 及び R^{35} は好ましくは一方が R^j 基でありかつ他方が R^k 基であるように選択される。 R^j は C_{1-2} アルキル、最も好ましくはメチルである。 R^k は C_{1-4} アルキル、 C_{1-6} カルボキシアルキル又は C_{1-4} スルホアルキル、好ましくは C_{3-6} カルボキシアルキル又は $-(CH_2)_kSO_3M^1$ (式中、 k は3又は4であるように選択される。)である。

30

【0088】

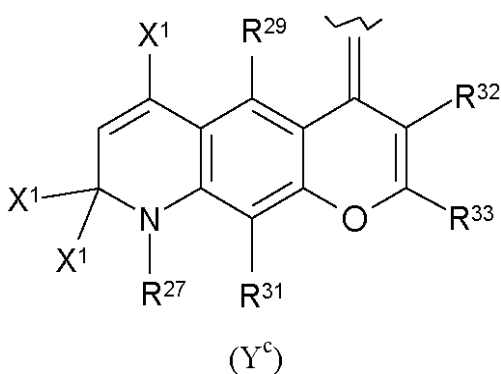
好ましくは、式IIIの色素は、ベクターへの容易な共有結合を可能にするために C_{1-6} カルボキシアルキル置換基を有する。

【0089】

式II又は式III中、 R^{27} 及び/又は R^{28} が R^{29} 及び/又は R^{30} の一方又は両方と共に五員又は六員のN含有複素環又はヘテロアリアル環を形成する場合、好ましいかかる環はピリジル又はジヒドロピリジルである。 R^{28} 基が R^{30} と共に環化された好ましいかかる Y^1 基は、下記式 Y^c を有する。

【0090】

【化10】



40

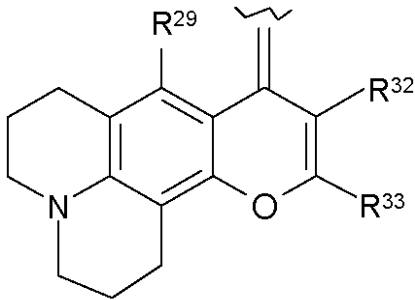
50

【 0 0 9 1 】

R^{27} 及び R^{28} 基の両方が環化された好ましいかかる Y^1 基は、下記式 Y^d を有する。

【 0 0 9 2 】

【 化 1 1 】

(Y^d)

10

【 0 0 9 3 】

式中、 R^{27} 、 R^{29} 及び $R^{31} \sim R^{33}$ は上記に定義した通りであり、各 X^1 は独立に H 又は C_{1-4} アルキルである。

【 0 0 9 4 】

式 Y^e 中、好ましくは下記の通りである。

各 X^1 は CH_3 であり、

$R^9 = R^{31} = H$ であり、

R^{32} は H であり、

R^{32} は CH_3 又は $-C(CH_3)_3$ 、さらに好ましくは $-C(CH_3)_3$ である。

【 0 0 9 5 】

式 Y^d 中、好ましくは下記の通りである。

R^{29} は H であり、

R^{32} は H であり、

R^{33} は好ましくは CH_3 又は $-C(CH_3)_3$ 、さらに好ましくは $-C(CH_3)_3$ である。

【 0 0 9 6 】

式 I I の $-NR^{27}R^{28}$ 基は下記のいずれかであることが好ましい。

(i) この基は開鎖形態にある。即ち、 R^{27} / R^{28} 基は R^{29} / R^{30} の一方又は両方と共に環化されていない。好ましいかかる R^{27} 及び R^{28} 基は、 C_{1-4} アルキル及び C_{1-4} スルホアルキルから独立に選択され、最も好ましくはエチル及び C_{3-4} スルホアルキルから独立に選択される。

(i i) この基は環化されて、式 Y^e 又は式 Y^d 、さらに好ましくは式 Y^e の環状 Y^1 置換基を生じる。

開鎖形態 (i) が最も好ましい。

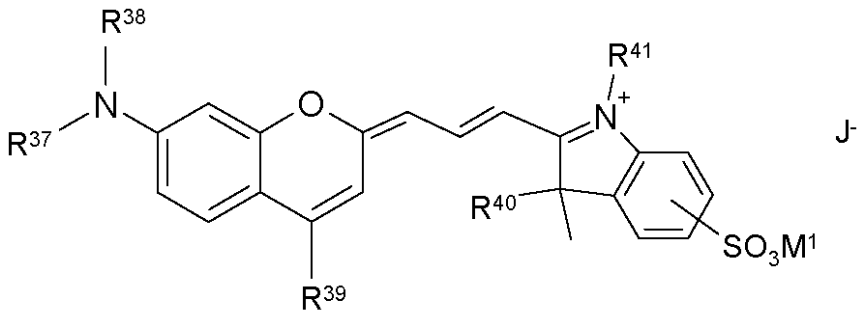
【 0 0 9 7 】

式 I I I の特に好ましい色素は、下記式 I I I c、式 I I I d 又は式 I I I e を有する。

【 0 0 9 8 】

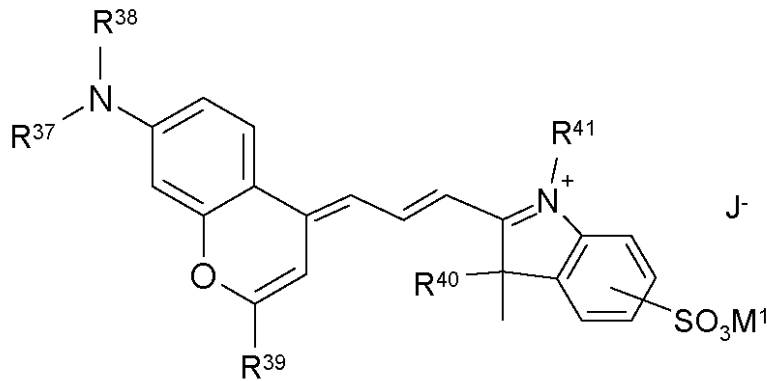
40

【化 1 2】



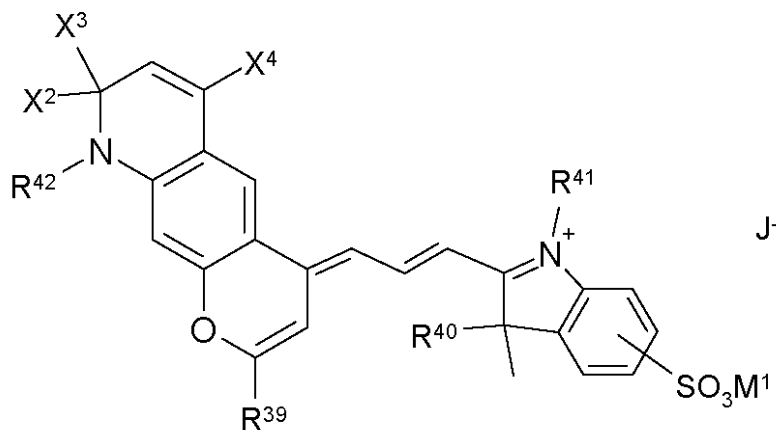
(IIIc)

10



(III d)

20



(III e)

30

【 0 0 9 9】

式中、

M¹及びJは上記に定義した通りであり、R³⁷及びR³⁸は独立にC₁₋₄アルキル及びC₁₋₄スルホアルキルから選択され、R³⁹はH又はC₁₋₄アルキルであり、R⁴⁰はC₁₋₄アルキル、C₁₋₄スルホアルキル又はC₁₋₆カルボキシアルキルであり、R⁴¹はC₁₋₄スルホアルキル又はC₁₋₆カルボキシアルキルであり、R⁴²はC₁₋₄アルキル、C₁₋₄スルホアルキル又はC₁₋₆カルボキシアルキルであり、X²、X³及びX⁴は独立にH又はC₁₋₄アルキルである。式 III d、式 III e 及び式 III f の色素は、好ましくはR⁴⁰ ~ R⁴²の1以上がC₁₋₄スルホアルキルであるように選択される。

【 0 1 0 0】

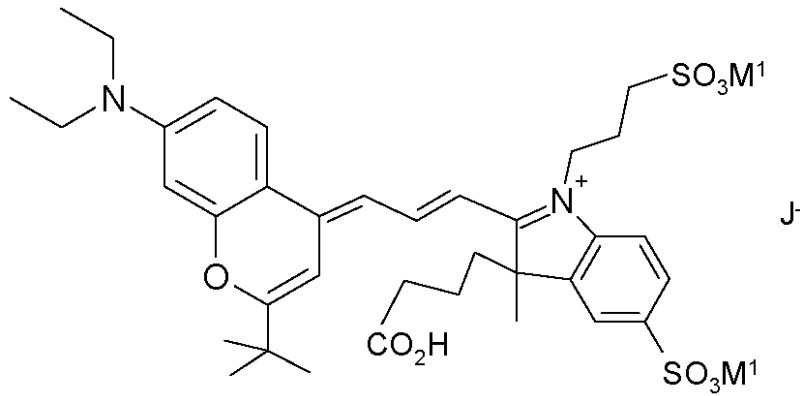
式 III d の好ましい特定の色素は、次式のDY - 631 及びDY - 633 である。

【 0 1 0 1】

40

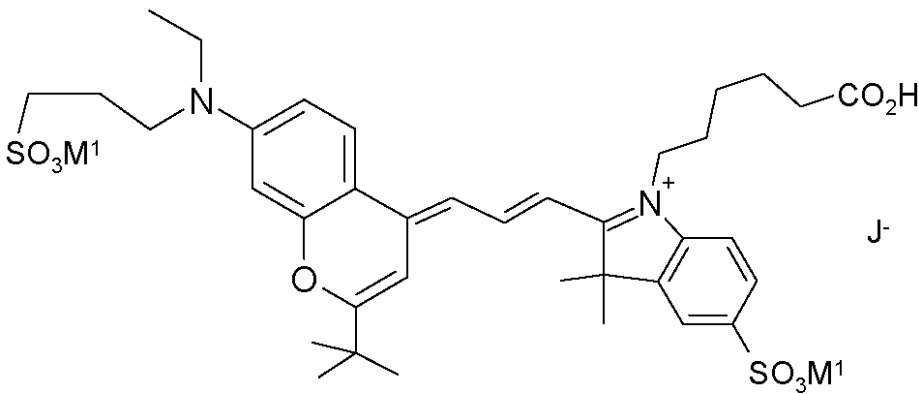
50

【化13】



DY-631

10



DY-633

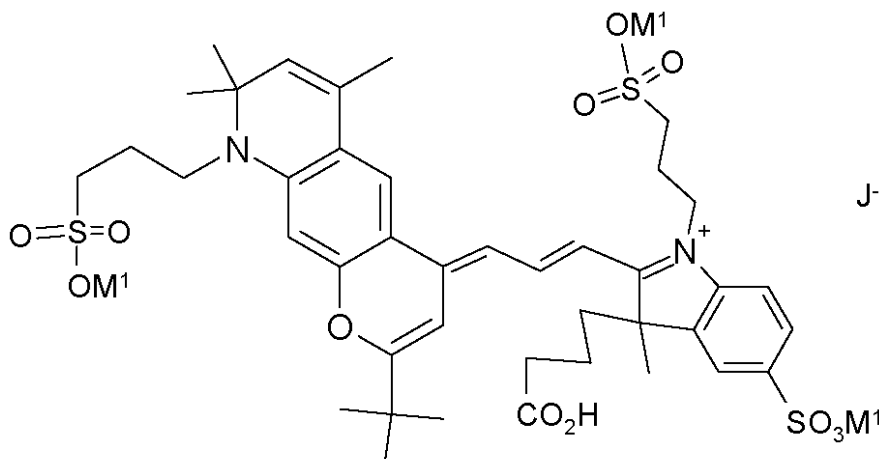
20

【0102】

式IIIeの好ましい特定の色素は、次式のDY-652である。

【0103】

【化14】



DY-652

30

40

【0104】

好ましい特定のベンゾピリリウム色素はDY-631及びDY-652であり、DY-652が最も好ましい。

【0105】

第1の態様の方法は、患者がバレット食道における異形成に罹患していると予め診断された場合、特に（癌を発生するリスクが高く、現行のガイドライン下では罹患組織の完全除去が指示される）高グレード異形成患者に対して特に有用であると予想される。段階（

50

v) の異なる療法は、好ましくはプロトンポンプ阻害剤による化学療法、内視鏡粘膜切除及び外科的切除から選択される。

【0106】

本方法はまた、患者が患者が第一選択療法に対して既に応答しなくなっている場合（即ち、「非応答者」である場合）に特に有用である。このような応答の欠如は、通例は追跡内視鏡検査によって判定される（図表1参照）。その場合、第一選択療法は通例は抗逆流投薬、内視鏡粘膜切除及び外科的切除の1以上であり、したがって本方法は最も適切な第二選択療法を見つけることに向けられる。

【0107】

段階(i)のイメージング剤は、好ましくは医薬組成物として提供される。かかる組成物は、イメージング剤を哺乳動物への投与に適した形態で生体適合性キャリアーと共に含んでいる。「生体適合性キャリアー」とは、組成物が生理学的に許容され得るようにして（即ち、毒性又は過度の不快感なしに哺乳動物体に投与できるようにして）イメージング剤を懸濁又は溶解できる流体（特に液体）である。生体適合性キャリアーは、好適には、無菌のピロジェンフリー注射用水、（有利には注射用の最終生成物が等張性になるように平衡させ得る）食塩水のような水溶液、或いは1種以上の張度調整物質（例えば、生体適合性対イオンを有する血漿陽イオンの塩）、糖（例えば、グルコース又はスクロース）、糖アルコール（例えば、ソルビトール又はマンニトール）、グリコール（例えば、グリセロール）又は他の非イオン性ポリオール物質（例えば、ポリエチレングリコール、プロピレングリコールなど）の水溶液のような注射可能なキャリアー液体である。好ましくは、生体適合性キャリアーはピロジェンフリー注射用水又は等張食塩水である。

【0108】

イメージング剤及び生体適合性キャリアーは無菌健全性及び/又は放射能安全性の維持並びに適宜不活性ヘッドスペースガス（例えば、窒素又はアルゴン）を維持することができ、しかもそれぞれ、注射器又はカニューレで溶液の追加及び吸引もできる密封容器からなる適当なバイアル又は容器に入れた状態で供給される。好ましいかかる容器は、セプタムシールバイアルであり、気密蓋をオーバーシール（通例アルミニウム製）でクリンプしたものである。蓋は、無菌健全性を維持したまま皮下注射針で一回又は複数回穿刺するのに適したもの（例えばクリンプオン式セプタムシール蓋）である。かかる容器は、適宜、例えば、ヘッドスペースガスの交換又は溶液の脱気などのため、蓋が真空に耐えることができ、しかも酸素又は水蒸気のような外部大気ガスを侵入させずに減圧のような圧力変化にも耐えることができるという追加の利点も有する。

好ましい多用量用容器は、複数回分の患者用量を収容した単一バルクバイアル（例えば容積10~30cm³のもの）からなり、臨床症状に応じて製剤の有効期間中様々な時間間隔で1回分の用量を臨床グレードのシリンジに吸引することができる。プレフィルドシリンジは1回分の患者用量つまり「単位用量」を収容するように設計され、そのため好ましくは使い捨てその他臨床用に適したシリンジである。本発明の医薬組成物は、好ましくは1人の患者用に適した用量を有し、上述したような適当な注射器又は容器に入れて供給される。

【0109】

かかる医薬組成物は、抗菌防腐剤、pH調整剤、フィラー、安定剤又は重量オスモル濃度調整剤のような追加賦形剤を任意に含むことができる。「抗菌防腐剤」という用語は、潜在的に有害な微生物（例えば、細菌、酵母又はかび）の増殖を阻止する薬剤を意味する。抗菌防腐剤はまた、使用する用量に応じて多少の殺菌性を示すこともある。本発明の抗菌防腐剤の主な役割は、医薬組成物におけるこのような微生物の増殖を阻止することである。しかし、抗菌防腐剤は、任意には投与に先立って前記組成物を製造するために使用されるキットの1種以上の成分における潜在的に有害な微生物の増殖を阻止するためにも使用できる。好適な抗菌防腐剤には、パラベン類（即ち、メチル、エチル、プロピル又はブチルパラベン或いはこれらの混合物）、ベンジルアルコール、フェノール、クレゾール、セトリミド及びチオメルサルがある。好ましい抗菌防腐剤はパラベン類である。

【0110】

「pH調整剤」という用語は、組成物のpHがヒト又は哺乳動物への投与のために許容される範囲（およそpH4.0～10.5）内にあることを保証するために有用な化合物又は化合物の混合物を意味する。好適なかかるpH調整剤には、トリシン、リン酸塩又はTRIS〔即ち、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン〕のような薬学的に許容される緩衝剤、及び炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム又はこれらの混合物のような薬学的に許容される塩基がある。組成物をキットの形態で使用する場合には、pH調整剤を任意には独立のバイアル又は容器に入れて供給することができ、その結果としてキットのユーザーは多段操作の一部としてpHを調整することができる。

【0111】

「フィラー」という用語は、製造及び凍結乾燥の際の材料の取扱いを容易にすることができる薬学的に許容される増量剤を意味する。好適なフィラーには、塩化ナトリウムのような無機塩、及びスクロース、マルトース、マンニトール又はトレハロースのような水溶性糖又は糖アルコールがある。

【0112】

かかる医薬組成物は、無菌製造条件下で（即ち、クリーンルーム内で）製造して所望の無菌で非発熱性の生成物を得ることができる。基本構成部分、特に関連する試薬並びにイメージング剤に接触する装置部品（例えば、バイアル）は無菌であることが好ましい。かかる構成部分及び試薬は、無菌濾過或いは（例えば、線照射、オートクレーブ処理、乾熱又は（例えば、エチレンオキシドによる）化学処理を用いる）終末滅菌を始めとする、当技術分野で公知の方法によって滅菌できる。一部の構成部分を予め滅菌しておけば、最小数の操作を実施すれば済むので好ましい。しかし、予防策として、医薬組成物の製造における最終段階として少なくとも無菌濾過段階を含めることが好ましい。

【0113】

かかる医薬組成物はまた、キットから製造することもできる。

【0114】

第1の態様の方法は、好ましくはさらに(vi)段階(iv)の(a)～(d)に定義されたターゲティング療法が開始された場合、段階(ii)のイメージング剤を使用して前記開始された療法の効力をモニターする段階を含む。そのようにすることは、イメージング剤が療法/化学療法と同じタンパク質マーカーを標的とするので、標的の異常な発現が存続しているか否かを判定するのに最も好都合であり、したがって療法の有効性の客観的尺度になると予想される。

【0115】

本発明の方法のための好適なベクターは、上述の通り、各種文献で知られており、場合によっては商業的に入手可能である。STペプチドの合成並びに放射性医薬品イメージングのための ^{111}In 及び $^{90\text{m}}\text{Tc}$ による放射性標識用のキレーターとのコンジュゲーションは、各種文献に記載されている[Cuthbertson et al., Tet. Lett., 42, 9257-59 (2001); Wolfe et al., J. Nucl. Med., 43, 392-399 (2002); Gibling et al., Biococonj. Chem., 15, 872-880 (2004)]。Her2イメージング用の放射性標識アフィボディは、Engfeldt et al. [Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging, 34, 722-733 (2007); Cancer Res., 67, 2178-2186 (2007); Biococonj. Chem., 18, 549-558 and 1956-1964 (2007)]によって記載されている。

【0116】

イメージング成分がフッ素の放射性同位体（例えば、 ^{18}F ）からなる場合、放射性原子は、 ^{18}F -フッ化物と良好な脱離基を有する適当な前駆体（例えば、臭化アルキル、メシル化アルキル又はトシル化アルキル）との反応を用いる直接標識によって導入できる。 ^{18}F はまた、 $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{OMs}$ （式中、Msはメシレートである。）のようなアルキル化剤でアミン前駆体をN-アルキル化してN-(CH_2) $_3$ ^{18}F を得るか、或いは $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3$

10

20

30

40

50

OMs又は $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{Br}$ でヒドロキシル基をO-アルキル化することによっても導入できる。 ^{18}F はまた、 $^{18}\text{F}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ 反応体でN-ハロアセチル基をアルキル化して-NH(CO)CH₂O(CH₂)₃ ^{18}F 誘導体を得るによっても導入できる。アリール系に関しては、アリールジアゾニウム塩、アリールニトロ化合物又はアリール第四級アンモニウム塩からの ^{18}F -フッ化物求核置換が、アリール- ^{18}F 誘導体への可能な経路である。 ^{18}F -標識及び ^{123}I -標識誘導体への合成経路のさらなる詳細は、Bolton [J. Lab. Comp. Radiopharm., 45, 485-528 (2002)] によって記載されている。

【0117】

光学レポーターは、通常の方法によってベクターにコンジュゲートすることができる。これに関しては、Achilefu [Technol. Cancer. Res. Treat., 3, 393-409 (2004)], Liet al [Org. Lett., 8 (17), 3623-26 (2006)] 及び Bullock et al [J. Med. Chem., 48, 5404-5407 (2005)] を参照されたい。シアニン色素とcMetターゲットペプチドとのコンジュゲーションは、実施例7(後述)にも示されている。

10

【0118】

第2の態様では、本発明は、第1の態様の方法で使用するためのイメージング剤の製造における、第1の態様で定義された標識ベクターの使用を提供する。ベクター及びイメージング剤の好ましい態様は、第1の態様に記載された通りである。

20

【0119】

第3の態様では、本発明は、第1の態様の方法における、第1の態様で定義されたイメージング剤の使用を提供する。ベクター及びイメージング剤の好ましい態様は、第1の態様に記載された通りである。

【0120】

イメージング剤は、当技術分野で公知の通り、任意にはキットによって製造することができる。

【実施例】

【0121】

以下の実施例によって本発明を例証する。実施例1は、本発明の組織マイクロアレイ方法を例示する。実施例2は、cMetレベルが正常組織で低く、化生組織、異形成組織及び(程度は低い)腺癌組織で強くアップレギュレートされていることを実証している。cMetは高リスクステージ(異形成又は腺癌)への進行にかかわらずすべてのバレット患者で高く発現されたので、この発現プロファイルを疾患の進行と結び付けることはできない。しかし、実施例2が示す通り、cMetのイメージングはcMetを標的とする療法が適切であることの良い指標である。

30

【0122】

実施例3は、Her2の発現が扁平上皮組織では最小であり、バレット組織及び高グレード異形成では強染色、低グレード異形成では弱染色、並びに腺癌試料では可変染色強度を伴っていたことを実証している。特に興味深いのは、Her2の発現が低グレード異形成(LGD)、高グレード異形成(HGD)又は癌に隣接したバレット組織で高かったことである。染色強度は隣接病変の程度と共に増加し、Her2と疾患の進行との関連の可能性を指摘している。実施例3が示す通り、Her2のイメージングはHer2を標的とする療法が適切であることの良い指標である。

40

【0123】

実施例4は、IGF1-Rが扁平上皮組織では低染色又は無染色を示したが、バレット化生、異形成及び腺癌ステージでは発現の増加を示したことを実証している。実施例4が示す通り、IGF1-RのイメージングはIGF1-Rを標的とする療法が適切であることの良い指標である。

【0124】

50

実施例 5 は、グアニリルシクラーゼ C が扁平上皮組織で検出できるものの、以後のステージでは発現が増加し、低グレード異形成及び癌では 90 ~ 100 % に達することを例示する。実施例 3 が示す通り、GCC のイメージングは GCC を標的とする療法が適切であることの良い指標である。

【0125】

実施例 6 は、cMet ターゲティングペプチド（化合物 1）の合成を例示する。

【0126】

実施例 7 は、シアニン色素による実施例 6 のペプチドの標識方法を例示する。

【0127】

略語

通常の一文字又は三文字アミノ酸略語を使用する。

Acm :	アセトアミドメチル	
ACN :	アセトニトリル	
Boc :	tert - ブチルオキシカルボニル	
DCM :	ジクロロメタン	
DMSO :	ジメチルスルホキシド	
Fmoc :	9 - フルオレニルメトキシカルボニル	
HBTU :	O - ベンゾトリアゾール - 1 - イル - N , N , N ' , N ' - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート	
HPLC :	高速液体クロマトグラフィー	20
NHS :	N - ヒドロキシスクシンイミド	
NMM :	N - メチルモルホリン	
NMP :	1 - メチル - 2 - ピロリジノン	
Pbf :	2 , 2 , 4 , 6 , 7 - ペンタメチルジヒドロベンゾフラン - 5 - スルホニル	
tBu :	t - ブチル	
TFA :	トリフルオロ酢酸	
TIS :	トリイソプロピルシラン	
Trt :	トリチル。	

【0128】

実施例 1 : 組織マイクロアレイ

一定範囲の組織学的所見を有するバレット食道患者から新鮮な生検組織試料を集めた。20 の胃対照、7 の扁平上皮対照、20 のバレット化生、20 の低グレード異形成、20 の高グレード異形成及び 20 の腺癌を含む全部で 107 の試料を得た。上記組織試料について組織マイクロアレイを実施したが、各コアは約 0.6 mm の直径を有し、深さは可変であった。組織マイクロアレイ用のプロトコルは、Camp et al [" Validation of tissue microarray technology in breast carcinoma " . Lab . Invest . 80 , 1943 - 1949 (2000)] によって記載されている。コアを得たのと同じパラフィンブロックから全切片スライドを作成した。すべての組織は患者の生検からのものであり、いずれの患者も食道の異形成 / 腺癌に対して特異的な化学療法は受けていなかった。

【0129】

以下の生物学的マーカー、即ち (a) Her 2、(b) cMet、(c) グアニリルシクラーゼ及び (d) IGF 1 R の発現を測定し、その結果を実施例 2 ~ 5 に記載する。化生とは組織の性質の異常な変化（食道化生では、正常な扁平上皮が円柱上皮に置き換わることをいうのに対し、異形成とは異常な組織増殖（食道異形成では、化生円柱上皮が増殖の抑制を失い始めること）をいう。

【0130】

実施例 2 : cMet の発現

C - met は、肝細胞増殖因子 (HGF) に対するレセプターとして作用する。免疫組

10

20

30

40

50

織化学分析において、以下の抗体、即ちR & D Systems社の抗ヒトHGF R (c-Met) ヤギ抗体 (AF276) 1 : 25 (TMA及び全切片染色のために使用した) 及びNovocastrol社のc-Met (HGF R) マウスモノクローナル (8F11) (非特異的染色) を使用した。

【0131】

実施例1と同様にして免疫組織化学分析を行ったところ、下記表1に示す結果が得られた。

【0132】

【表4】

表1

cMet 強染色%				
扁平上皮	バレット化生	低グレード異形成	高グレード異形成	腺癌
0% (0/7)	41% (7/17)	50% (8/16)	37.5% (6/16)	18 (3/17)

10

【0133】

実施例3: Her2の発現

CONFIRM (商標) 抗Her2/neu抗体 (Ventana Medical Systems Inc、タクソン、米国アリゾナ州) を使用した。これは、Her2/neuタンパク質のCOOH末端に対して親和性を有する30mg/mLのウサギモノクローナル抗体クローン4B5 IGF1であった。結果を下記表2に示す。

20

【0134】

【表5】

表2

Her2 強染色%				
扁平上皮	バレット化生 (BM)	低グレード異形成	高グレード異形成	腺癌 (Ad)
0% (0/7)	40% (4/10)	20% (1/5)	55% (5/9)	20% (2/10)
	LGD に隣接した BM	HGD に隣接した BM	Ad に隣接した BM	
	25%(2/8)	50%(3/6)	83%(5/6)	

表中: Adj = 隣接した

30

【0135】

実施例4: IGF1-Rの発現

インスリン関連増殖因子1レセプター (IGF1-R) は、チロシンキナーゼ活性を有する細胞レセプターであって、これは有糸分裂誘発性及び腫瘍形成性も有している。使用した抗体は、Chemicon社のマウス抗インスリン様増殖因子-1レセプターモノクローナル (MAB1120) であった。

40

【0136】

結果を下記表3に示す。

【0137】

【表 6】

表 3

IGF-1R 強染色				
扁平上皮	バレット 化生	低グレード 異形成	高グレード 異形成	腺癌
0% (0/15)	41% (7/17)	36% (4/11)	67% (6/9)	30% (6/9)

【0138】

実施例 5 : グアニリルシクラゼ C の発現

10

G C - C は、腸の上皮細胞によって特異的に発現される表面レセプターである。使用した抗体は、A b g e n t 社の G U C Y 2 C ウサギポリクローナル (A P 7 1 3 6 a) 1 : 5 0 であった。結果を下記表 4 に示す。

【0139】

【表 7】

表 4

GCC 強染色				
扁平上皮	バレット 化生	低グレード 異形成	高グレード 異形成	腺癌
31%(4/13)	50% (5/10)	100% (2/2)	63% (7/11)	90% (9/10)

20

【0140】

実施例 6 : c M e t ターゲティングペプチド (化合物 1) の合成

段階 (a) : 保護線状前駆体の合成

前駆体線状ペプチドは下記の構造を有している。

A c - A l a - G l y - S e r - C y s - T y r - C y s (A c m) - S e r - G l y - P r o - P r o - A r g - P h e - G l u - C y s (A c m) - T r p - C y s - T y r - G l u - T h r - G l u - G l y - T h r - G l y - G l y - G l y - L y s - N H ₂

30

【0141】

0 . 1 m m o l の R i n k A m i d e N o v a g e l 樹脂から出発する F m o c 化学を用いて、A p p l i e d B i o s y s t e m s 4 3 3 A ペプチド合成機上でペプチジル樹脂 H - A l a - G l y - S e r (t B u) - C y s (T r t) - T y r (t B u) - C y s (A c m) - S e r (t B u) - G l y - P r o - P r o - A r g (P b f) - P h e - G l u (O t B u) - C y s (A c m) - T r p (B o c) - C y s (T r t) - T y r (t B u) - G l u (O t B u) - T h r (^{Me, Me} p r o) - G l u (O t B u) - G l y - T h r (t B u) - G l y - G l y - G l y - L y s (B o c) - ポリマーをアSEMBルした。カップリング段階では、(H B T U を用いて) 予備活性化した過剰量の 1 m m o l アミノ酸を適用した。G l u - T h r プソイドプロリン (N o v a b i o c h e m 0 5 - 2 0 - 1 1 2 2) を配列に組み込んだ。樹脂を窒素バブラー装置に移し、無水酢酸 (1 m m o l) 及び N M M (1 m m o l) を D C M (5 m L) に溶解した溶液で 6 0 分間処理した。濾過によって無水物溶液を除去し、樹脂を D C M で洗浄してから窒素流下で乾燥した。

40

【0142】

2 . 5 % の T I S 、 2 . 5 % の 4 - チオクレゾール及び 2 . 5 % の水を含む T F A (1 0 m L) 中で、側鎖保護基の除去及び樹脂からのペプチド切断を 2 時間 3 0 分にわたり同時に実施した。樹脂を濾過によって取り除き、T F A を真空中で除去し、残留物にジエチルエーテルを添加した。生じた沈殿をジエチルエーテルで洗浄し、空気乾燥することで、2 6 4 m g の粗ペプチドを得た。

50

【0143】

粗ペプチドを分取HPLC（勾配：40分で20～30%B（ただし、A = H₂O / 0.1% TFA 及び B = ACN / 0.1% TFA）、流量：10 mL / 分、カラム：Phenomenex Luna 5 μ C18 (2) 250 × 21.20 mm、検出：UV 214 nm、生成物保持時間：30分）によって精製することで、純粋な化合物1の線状前駆体100 mgを得た。純生成物を分析HPLC（勾配：10分で10～40%B（ただし、A = H₂O / 0.1% TFA 及び B = ACN / 0.1% TFA）、流量：0.3 mL / 分、カラム：Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 × 2 mm、検出：UV 214 nm、生成物保持時間：6.54分）によって分析した。さらに、エレクトロスプレー質量分析法を用いて追加の生成物特性決定を実施した（MH₂²⁺計算値：1464.6、MH₂²⁺実測値：1465.1）。

10

【0144】

段階（b）：単環式Cys4-16ジスルフィドブリッジの形成

Cys4-16；Ac-Ala-Gly-Ser-Cys-Tyr-Cys(Acm)-Ser-Gly-Pro-Pro-Arg-Phe-Glu-Cys(Acm)-Trp-Cys-Tyr-Glu-Thr-Glu-Gly-Thr-Gly-Gly-Gly-Lys-NH₂。

【0145】

段階（a）からの線状前駆体（100 mg）を5% DMSO / 水（200 mL）に溶解し、アンモニアを用いて溶液をpH 6に調整した。反応混合物を5日間攪拌した。次いで、TFAを用いて溶液をpH 2に調整し、大部分の溶媒を真空中での蒸発によって除去した。生成物の精製のため、残留物（40 mL）を分取HPLCカラム上に少しずつ注入した。

20

【0146】

残留物を分取HPLC（勾配：0%Bを10分間、次いで40分で0～40%B（ただし、A = H₂O / 0.1% TFA 及び B = ACN / 0.1% TFA）、流量：10 mL / 分、カラム：Phenomenex Luna 5 μ C18 (2) 250 × 21.20 mm、検出：UV 214 nm、生成物保持時間：44分）によって精製することで、純粋な化合物1の単環式前駆体72 mgを得た。

【0147】

（異性体P1乃至P3の混合物としての）純生成物を分析HPLC（勾配：10分で10～40%B（ただし、A = H₂O / 0.1% TFA 及び B = ACN / 0.1% TFA）、流量：0.3 mL / 分、カラム：Phenomenex Luna 3 μ C18 (2) 50 × 2 mm、検出：UV 214 nm、生成物保持時間：5.37分（P1）、5.61分（P2）、6.05分（P3））によって分析した。さらに、エレクトロスプレー質量分析法を用いて追加の生成物特性決定を実施した（MH₂²⁺計算値：1463.6、MH₂²⁺実測値：1464.1（P1）、1464.4（P2）、1464.3（P3））。

30

【0148】

段階（c）：第2のCys6-14ジスルフィドブリッジの形成（化合物1）

段階（b）からの単環式前駆体（72 mg）を窒素ブランケット下で75% AcOH / 水（72 mL）に溶解した。1 M HCl（7.2 mL）及びAcOH中の0.05 M I₂（4.8 mL）をその順序で添加し、混合物を45分間攪拌した。1 M アスコルビン酸（1 mL）を添加して無色の混合物を得た。大部分の溶媒を真空中で蒸発させ、残留物（18 mL）を水 / 0.1% TFA（4 mL）で希釈し、分取HPLCを用いて生成物を精製した。

40

【0149】

残留物を分取HPLC（勾配：0%Bを10分間、次いで40分で20～30%B（ただし、A = H₂O / 0.1% TFA 及び B = ACN / 0.1% TFA）、流量：10 mL / 分、カラム：Phenomenex Luna 5 μ C18 (2) 250 × 21.20 mm、検出：UV 214 nm、生成物保持時間：44分）によって精製することで、純粋な化合物1の単環式前駆体72 mgを得た。

50

20 mm、検出：UV 214 nm、生成物保持時間：43～53分）によって精製することで、52 mgの純粋な化合物1を得た。純生成物を分析HPLC（勾配：10分で10～40% B（ただし、A = H₂O / 0.1% TFA及びB = ACN / 0.1% TFA）、流量：0.3 mL / 分、カラム：Phenomenex Luna 3µ C18（2）50×2 mm、検出：UV 214 nm、生成物保持時間：6.54分）によって分析した。さらに、エレクトロスプレー質量分析法を用いて追加の生成物特性決定を実施した（MH₂²⁺計算値：1391.5、MH₂²⁺実測値：1392.5）。

【0150】

実施例7：化合物1に対するシアニン色素のコンジュゲーション

化合物1（実施例6、10 mg）、NMM（4 µL）及びCy5 NHSエステル（5.7 mg、GE Healthcare PA15104）をNMP（1 mL）に溶解し、反応混合物を7時間攪拌した。次いで、反応混合物を5%アセトニトリル/水（8 mL）で希釈し、分取HPLCを用いて生成物を精製した。

10

【0151】

粗ペプチドを分取HPLC（勾配：40分で5～50% B（ただし、A = H₂O / 0.1% HCOOH及びB = ACN / 0.1% HCOOH）、流量：1.0 mL / 分、カラム：Phenomenex Luna 5µ C18（2）250×21.20 mm、検出：UV 214 nm、生成物保持時間：35.5分）によって精製することで、8.1 mgの純粋な色素結合生成物を得た。純生成物を分析HPLC（勾配：10分で5～50% B（ただし、A = H₂O / 0.1% HCOOH及びB = アセトニトリル / 0.1% HCOOH）、流量：0.3 mL / 分、カラム：Phenomenex Luna 3µ C18（2）50×2 mm、検出：UV 214 nm、生成物保持時間：8.15分）によって分析した。さらに、エレクトロスプレー質量分析法を用いて追加の生成物特性決定を実施した（MH₂²⁺計算値：1710.6、MH₂²⁺実測値：1711.0）。

20

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/EP2009/052282
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K49/00 A61K51/00 A61P35/00		
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		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2005/058371 A (AMERSHAM HEALTH AS [NO]; KLAVENESS JO [NO]; JOHANNESSEN EDVIN [NO]; TOL) 30 June 2005 (2005-06-30) cited in the application Claims: Abstract, page 24-26	1-16
Y	SAFRAN H. ET AL.: "Trastazumab, Paclitaxel, Cisplatin, and Radiation for Adenocarcinoma of the Esophagus: A Phase I study" CANCER INVESTIGATION, vol. 22, no. 5, 2004, pages 670-677, XP008113486 cited in the application Abstract, page 672 first paragraph, page 673 second paragraph.	1-16
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> 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 document 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		Date of mailing of the international search report
20 October 2009		28/10/2009
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 Bettio, Andrea

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2009/052282

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>KIESSLICH ET AL: "In Vivo Histology of Barrett's Esophagus and Associated Neoplasia by Confocal Laser Endomicroscopy" CLINICAL GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY, AMERICAN GASTROENTEROLOGICAL ASSOCIATION, US, vol. 4, no. 8, 1 August 2006 (2006-08-01), pages 979-987, XP005581169 ISSN: 1542-3565 cited in the application</p>	1-16
A	<p>WALDMANN S. A.: "Opportunities for near-infrared thermal ablation of colorectal metastases by guanylyl cyclase C-targeted gold nanoshells" FUTURE MEDICINE, vol. 2, no. 6, 2006, pages 705-716, XP008113480 cited in the application</p>	1-16
A	<p>WATSON G A ET AL: "Inhibition of c-Met as a therapeutic strategy for esophageal adenocarcinoma" NEOPLASIA, NEOPLASIA PRESS, ANN ARBOR, MI, US, vol. 8, no. 11, 1 November 2006 (2006-11-01), pages 949-955, XP008113475 ISSN: 1522-8002 cited in the application</p>	1-16
A	<p>WO 02/087630 A (EUROSPITAL S P A [IT]; DI LEO ALFREDO [IT]; LINSALATA MICHELLE [IT]; R) 7 November 2002 (2002-11-07) Claims</p>	1-16
A	<p>MARTINS A. S. ET AL.: "insuline-Like Growth Factor i Receptor Pathway Inhibition by ADW742, Alone or in combination with Imatinib, Doxorubicin, or Vincristine, Is a Novel Therapeutic Approach in Ewing Tumor" CLIN CANCER RES, vol. 12, no. 11, 2006, pages 3532-3540, XP002551195 cited in the application abstract</p>	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2009/052282

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2005058371 A	30-06-2005	EP 1694365 A1 US 2007258904 A1	30-08-2006 08-11-2007
WO 02087630 A	07-11-2002	AU 2002302542 A1 IT MI20010885 A1	11-11-2002 28-10-2002

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 B 1/00 3 0 0 G

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(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, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, 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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ダニカス, アントニオス
英国、アマーシャム・バッキンガムシャー・エイチピー7・9エルエル、ホワイト・ライオン・ロード、ザ・グローブ・センター、ジーイー・ヘルスケア・リミテッド(番地なし)

(72)発明者 スミス, クリフォード
英国、アマーシャム・バッキンガムシャー・エイチピー7・9エルエル、ホワイト・ライオン・ロード、ザ・グローブ・センター、ジーイー・ヘルスケア・リミテッド(番地なし)

(72)発明者 ウィルソン, イアン・エイ
英国、アマーシャム・バッキンガムシャー・エイチピー7・9エルエル、ホワイト・ライオン・ロード、ザ・グローブ・センター、ジーイー・ヘルスケア・リミテッド(番地なし)

Fターム(参考) 4C061 AA02 BB00 CC00 DD00 HH56 NN05 WW17
4C084 AA16 ZB262
4C085 HH03 HH11 HH13 LL05 LL18

专利名称(译)	治疗选择方法		
公开(公告)号	JP2011513211A	公开(公告)日	2011-04-28
申请号	JP2010547200	申请日	2009-02-26
[标]申请(专利权)人(译)	通用电气健康护理有限公司		
申请(专利权)人(译)	GE医疗Akusuie , Serusukapu		
[标]发明人	ダニカスアントニオス スミスクリフォード ウィルソンイアンエイ		
发明人	ダニカス,アントニオス スミス,クリフォード ウィルソン,イアン・エイ		
IPC分类号	A61K49/00 A61K51/00 A61K45/00 A61P35/00 A61B1/00		
CPC分类号	A61K49/0032 A61K49/0056 A61K51/0446 A61K51/0453 A61K51/0455 A61P35/00		
FI分类号	A61K49/00.A A61K49/02.A A61K45/00 A61P35/00 A61B1/00.300.D A61B1/00.300.G		
F-TERM分类号	4C061/AA02 4C061/BB00 4C061/CC00 4C061/DD00 4C061/HH56 4C061/NN05 4C061/WW17 4C084/AA16 4C084/ZB262 4C085/HH03 4C085/HH11 4C085/HH13 4C085/LL05 4C085/LL18		
代理人(译)	小仓 博		
优先权	2008003477 2008-02-26 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

患有Barrett食管的患者技术领域本发明涉及患有Barrett食管的患者，更具体地，涉及在一线治疗不成功和诊断为发育不良的情况下辅助确定治疗的方法。这种方法涉及使用包含靶向 (a) Her 2 , (b) cMet , (c) 鸟苷酸环化酶或 (d) IGF 1 R 的载体的成像剂。本发明适用于体外或优选体内的放射性同位素成像或光学成像。 【选择图】无

バレット患者- 異形成なし	→ ● 症状制御/PPI ● 抗逆流手術	→ 2年毎の内視鏡検査
異形成に関して 不明確	→ 再評価 (内視鏡検査)	→ PPI → 6ヶ月目の内視鏡検査で再分類
低グレード 異形成	→ 集中的 PPI	→ 6ヶ月毎の内視鏡検査 ↙ 後退: BOとして管理する 存続: ● PPI内視鏡検査を繰り返す ● 内視鏡粘膜切除を考慮する
高グレード 異形成	→ ● 外科的切除 ● 内視鏡粘膜切除	→ 終生の内視鏡検査 (6ヶ月毎)
癌腫	→ 外科的切除 ± 化学療法	→ 緩和ケア

表中、PPI=プロトンポンプ阻害剤。