

(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2018-521654
(P2018-521654A)

(43) 公表日 平成30年8月9日(2018.8.9)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/6883 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6883 Z	2 G 0 4 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 B 0 2 9
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	4 B 0 6 3
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/496 (2006.01)	A 6 1 K 31/496	4 C 0 8 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 54 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-502095 (P2018-502095)
 (86) (22) 出願日 平成28年7月18日 (2016.7.18)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年3月15日 (2018.3.15)
 (86) 国際出願番号 PCT/CA2016/050846
 (87) 国際公開番号 W02017/011907
 (87) 国際公開日 平成29年1月26日 (2017.1.26)
 (31) 優先権主張番号 62/194,109
 (32) 優先日 平成27年7月17日 (2015.7.17)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 514017714
 パシレックス・ファーマシューティカルズ
 ・インコーポレイテッド
 カナダ・アルバータ・T5J・3Y2・エ
 ドモントン・101ストリート・1018
 0・マヌライフ・プレイス・2600
 (74) 代理人 100108453
 弁理士 村山 靖彦
 (74) 代理人 100110364
 弁理士 実広 信哉
 (74) 代理人 100133400
 弁理士 阿部 達彦

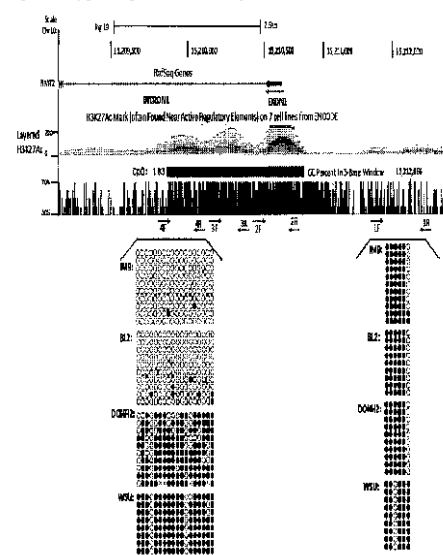
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 NMT2 の後成的なサイレンシング

(57) 【要約】

間質組織及び正常組織はそうでないが、多数の癌が2つのNMTの1つを欠くという発見は、NMT2に欠陥がある癌細胞のNMT阻害剤による治療を可能にする。特定の癌、一例では、リンパ腫において、後成的なメカニズムによりNMT2発現が低減又は排除されることを本明細書中に示す。NMT2発現の低減又は排除は、癌をNMTの阻害剤に感受性にする。

Figure 2 B -- Epigenetic regulation of NMT2 in lymphoma cell lines and tumors.



【特許請求の範囲】

【請求項1】

NMT阻害剤による治療に対する癌患者における応答を予測する方法であって、前記癌患者の生物サンプルを準備する工程と、前記生物サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、前記NMT2遺伝子において高メチル化が決定された場合に、前記NMT阻害剤による前記治療に対して陽性の臨床応答を予測する工程とを含む、方法。

【請求項2】

NMT阻害剤による治療に適した癌を有する患者、又は癌治療を受ける患者を同定及び/又は選択する方法であって、前記癌患者の生物サンプルを準備する工程と、NMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、NMT2遺伝子において高メチル化が決定された場合に、前記NMT阻害剤による治療のために癌患者を同定及び/又は選択する工程とを含む、方法。

10

【請求項3】

癌患者の癌に適した治療レジメンを選択するための方法であって、前記癌患者の生物サンプルを準備する工程と、前記生物サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、NMT2遺伝子の高メチル化が決定された場合、及び/又はNMT2遺伝子における低発現が決定された場合に、治療のためにNMT阻害剤を選択する工程とを含む、方法。

【請求項4】

癌を有する患者をNMT阻害剤により治療する方法であって、前記癌患者の生物サンプルを準備する工程と、前記生物サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、NMT2遺伝子において高メチル化が決定された場合に、治療のために前記NMT阻害剤を選択する工程とを含む、方法。

20

【請求項5】

a)癌を有する対象、又は癌を有する疑いがある対象からサンプルを得る工程と、b)サンプルを試薬と接触させて、サンプル中に存在するNMT2遺伝子のメチル化状態を示す生成物(幾つかの場合には、複合体)を形成する工程と、c)形成された生成物を測定して、サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、d)前記対象における前記癌のNMT阻害剤治療の利点を決定する工程とを含む方法であって、NMT阻害剤治療の利点の決定が前記サンプル中のNMT2遺伝子の高メチル化によって決定される、方法。

【請求項6】

工程b)において、前記試薬が、NMT2遺伝子における高メチル化を検出するためのプライマーを含む、請求項5に記載の方法。

30

【請求項7】

前記プライマーが、配列番号1及び/又は配列番号2を含む、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

癌を有する対象、又は癌を有する疑いがある対象を治療する方法であって、サンプル中のNMT2遺伝子が、場合によっては対照と比較して、高メチル化されている場合に、NMT阻害剤を前記対象に投与する工程を含む、方法。

【請求項9】

対象における癌を治療するための方法であって、

a)対象由来のサンプルから核酸を得る工程と、

40

b)工程a)の核酸にバイサルファイト修飾を実施する工程と、

c)PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、或いはNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用した、工程b)からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法を実施する工程と、

e)サンプル中のNMT2のプロモーター領域のプロモーターのメチル化レベルを、場合によっては対照と比較して、決定する工程と、

g)サンプル中のNMT2遺伝子のプロモーター領域のプロモーターのメチル化レベルが高メチル化であると決定された場合に、前記患者をNMTに対する阻害剤により治療する工程と

50

を含む、方法。

【請求項 1 0】

前記PCRプライマーが、配列番号1及び/又は配列番号2を含む、請求項9に記載の方法。

【請求項 1 1】

メチル化状態を決定する工程が、a)前記サンプル中の核酸にバイサルファイト修飾を実施する工程と、b)工程a)からのNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用してNMT2遺伝子のプロモーターのメチル化を決定する工程とを含む、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2】

工程b)が、PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、又は工程a)からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法によって実施される、請求項11に記載の方法。

10

【請求項 1 3】

NMT2遺伝子の高メチル化の検出が、配列番号1及び/又は配列番号2を含むプライマーにより実施される、請求項11又は12に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記NMT阻害剤が、小分子、抗体、ペプチド断片、核酸、又はそれらの組合せを含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 1 5】

前記小分子が、DDD85646、DDD86481、又はそれらの誘導体を含む、請求項14に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記抗体が、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である、請求項14に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記核酸が、dsRNA分子、RNAi分子、miRNA分子、リボザイム、shRNA分子、又はsiRNA分子を含む、請求項14に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記癌が、リンパ腫、B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、B-CLL/SLL、免疫細胞腫/ヴァルデンストレーム病、MALT型/単球B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、小児リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、急性骨髄性白血病、急性転化期慢性骨髄性白血病、パーキットリンパ腫、プラズマ細胞骨髄腫、腸腺癌、肺混合型扁平上皮腺癌、肺小細胞癌、肺癌、食道扁平上皮細胞癌、骨癌、乳管癌、胃びまん性腺癌、甲状腺髄様癌、尿路移行上皮癌、骨髄腫、卵巣明細胞癌、移行細胞癌(尿管及び膀胱癌)、慢性骨髄性白血病(CML)、リンパ腫-CLL、乳癌、結腸直腸腺癌、膵腺癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、骨肉腫、黒色腫、胃腺癌、子宮内膜腺癌、食道扁平上皮癌である、請求項1から17のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 1 9】

前記NMT阻害剤が、DDD85646又はDDD86481を含む、請求項1～18のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 2 0】

前記治療が、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤、DNAデメチラーゼ阻害剤、及び/又はヒストンデメチラーゼ阻害剤による治療を更に含む、請求項1から19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤が、アナカルド酸、CPTH2、MB-3、及び/又はクルクミンである、請求項20に記載の方法。

【請求項 2 2】

50

前記ヒストンデメチラーゼ阻害剤が、ダミノジット、GSK J1、GSK J2、GSK J4、GSK J5、GSK LSD1二塩酸塩、IOX 1、JIB 04、RN 1二塩酸塩、TC-E 5002、及び/又はトラニルシプロミン塩酸塩である、請求項20に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記癌がリンパ腫である場合、CHOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ピンクリスチン、及びプレドニソン)、GAP-BOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキソルビシン、プロカルバジン、プレオマイシン、ピンクリスチン、及びプレドニソン)、m-BACOD(すなわち、メトトレキサート、プレオマイシン、ドキソルビシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、デキサメタゾン、及びロイコボリン)、ProMACE-MOPP(すなわち、プレドニソン、メトトレキサート、ドキソルビシン、シクロホスファミド、エトポシド、ロイコボリンと標準的なMOPP)、ProMACE-CytaBOM(プレドニソン、ドキソルビシン、シクロホスファミド、エトポシド、シタラビン、プレオマイシン、ピンクリスチン、メトトレキサート、及びロイコボリン)、並びにMACOP-B(メトトレキサート、ドキソルビシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、プレドニソン、プレオマイシン、及びロイコボリン)から選択される治療を施す工程を更に含む、請求項1~22のいずれか一項に記載の方法。再発侵襲性非ホジキンリンパ腫に関して、以下の化学療法剤の組合せ、IMVP-16(すなわち、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MIME(すなわち、メチル-g ag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、DHAP(すなわち、デキサメタゾン、-16高用量シタラビン、及びシスプラチン)、ESHAP(すなわち、エトポシド、メチルプレドニソン、高用量シタラビン、及びシスプラチン)、CEFF(B)(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プロカルバジン、プレドニソン、及びプレオマイシン)、又はCAMP(すなわち、ロムスチン、ミトキサントロン、シタラビン、及びプレドニソン)を本明細書に記載する化合物及び組成物と共に使用することができる。

10

20

【請求項 2 4】

前記癌がホジキン病である場合、VABCD(すなわち、ビンブラスチン、ドキソルビシン、ダカルバジン、ロムスチン及びプレオマイシン)、ABDIC(すなわち、ドキソルビシン、プレオマイシン、ダカルバジン、ロムスチン、及びプレドニソン)、CBVD(すなわち、ロムスチン、プレオマイシン、ビンブラスチン、デキサメタゾン)、PCVP(すなわち、ビンブラスチン、プロカルバジン、シクロホスファミド、及びプレドニソン)、CEP(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びプレドニムスチン)、EVA(すなわち、エトポシド、ビンブラスチン、及びドキソルビシン)、MOPLACE(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プレドニソン、メトトレキサート、シタラビン、及びピンクリスチン)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MINE(すなわち、ミトクアゾン、イフォスファミド、ピノレルビン、及びエトポシド)、MTX-CHOP(すなわち、メトトレキサート及びCHOP)、CEM(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びメトトレキサート)、CEVD(すなわち、ロムスチン、エトポシド、ビンデシン、及びデキサメタゾン)、CAVP(すなわち、ロムスチン、メルファラン、エトポシド、及びプレドニソン)、EVAP(すなわち、エトポシド、ビンブラスチン、シタラビン、及びシスプラチン)、並びにEPOCH(すなわち、エトポシド、ピンクリスチン、ドキソルビシン、シクロホスファミド、及びプレドニソン)から選択される治療を施す工程を更に含む、請求項1~22のいずれか一項に記載の方法。

30

40

【請求項 2 5】

前記癌が乳癌である場合、個々に又は組み合せてのいずれかで、バクリタキセル、ドセタキセル、ナノ粒子アルブミン結合バクリタキセル、カペシタビン、ドキソルビシン、エリブリン、ピノレルビン、トラスツズマブ、カルボプラチン、シスプラチン;タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール、エキセメスタン、フルベストラントを含む内分泌療法、並びにパルボシクリブ、リボシクリブ、LEE001、及びエベロリムスを含む細胞周期阻害剤;ニボルマブ及びペンブロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬から選択される治療を施す工程を更に含む、請求項1~22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

50

前記癌が小細胞肺癌である場合、個々に又は組み合せてのいずれかで、カルボプラチン、シスプラチン、エトポシド、イリノテカンから選択される治療を施す工程を更に含む、請求項1～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項27】

前記癌が非小細胞肺癌である場合、個々に又は組み合せてのいずれかで、カルボプラチン、パクリタキセル、ドセタキセル、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、ペバシズマブ、ラムシルマブ、オシメルチニブ、ネシツムマブ、クリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブ、及びニボルマブ、ペンプロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬から選択される治療を施す工程を更に含む、請求項1～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項28】

前記癌が膀胱癌である場合、個々に又は組み合せてのいずれかで、メトトレキサート、ビンブラスチン、ドキソルビシン、シスプラチン；カルボプラチン及びパクリタキセル；ドセタキセル、ゲムシタピン及びシスプラチンから選択される治療を施す工程を更に含む、請求項1～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項29】

NMT2遺伝子における高メチル化の決定が、PCR、メチル化特異的PCR、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、及びパイサルファイトシーケンスからなる群から選択される方法によって実施される、請求項1～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項30】

前記生物サンプルが、剥離した腫瘍細胞及び/若しくは遊離核酸を含む組織、細胞試料若しくは液体、血液サンプル、分画血液サンプル、骨髄サンプル、生検サンプル、凍結組織サンプル、新たな組織試料、細胞サンプル、並びに/又はパラフィン包埋切片を含む、請求項1～29のいずれか一項に記載の方法。

【請求項31】

前記対象が、ヒトである、請求項1～30のいずれか一項に記載の方法。

【請求項32】

癌を有する患者のために治療を選択するためのin vitroアッセイであって、

- a) 対象由来のサンプルから核酸を得る工程と、
 - b) 工程a)の核酸にパイサルファイト修飾を実施する工程と、
 - c) PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、或いはNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用した、工程b)からのパイサルファイト修飾核酸に対するパイサルファイトシーケンスから選択される方法を実施する工程と、
 - e) サンプル中のNMT2のプロモーター領域のプロモーターのメチル化レベルを、場合によっては対照と比較して、決定する工程と
- を含み、サンプル中のNMT2遺伝子プロモーター領域が高メチル化されていると決定された場合、選択される治療が、NMT阻害剤である、アッセイ。

【請求項33】

前記PCRプライマーが、配列番号1及び/又は配列番号2を含む、請求項23に記載の方法。

【請求項34】

癌を有する患者のために治療を選択するための患者由来のサンプルのin vitroアッセイであって、

- a) 前記サンプル中の核酸にパイサルファイト修飾を実施する工程と、
 - b) 工程a)からのNMT2遺伝子プロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用してNMT2遺伝子プロモーターのメチル化を決定する工程と、
- を含む、アッセイ。

【請求項35】

工程b)が、PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメ

10

20

30

40

50

チル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、又は工程a)からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法によって実施される、請求項34に記載のアッセイ。

【請求項36】

NMT2遺伝子の高メチル化の検出が、配列番号1及び/又は配列番号2を含むプライマーにより実施される、請求項34又は35に記載のアッセイ。

【請求項37】

サンプル中のNMT2遺伝子のプロモーター領域が高メチル化されていると決定された場合、選択される治療が、NMT阻害剤である、請求項34から36のいずれか一項に記載のアッセイ。

10

【請求項38】

前記NMT阻害剤が、小分子、抗体、ペプチド断片、核酸、又はそれらの組合せを含む、請求項34から37のいずれか一項に記載のアッセイ。

【請求項39】

前記小分子が、DDD85646、DDD86481、又はそれらの誘導体を含む、請求項38に記載のアッセイ。

【請求項40】

前記抗体が、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である、請求項38に記載のアッセイ。

20

【請求項41】

前記核酸が、dsRNA分子、RNAi分子、miRNA分子、リボザイム、shRNA分子、又はsiRNA分子を含む、請求項38に記載のアッセイ。

【請求項42】

癌患者の癌に適した治療を選択するためのキットであって、

a) サンプル中のNMT2遺伝子のプロモーター領域が高メチル化されていると決定された場合に、選択される治療がNMT阻害剤である、前記癌患者のサンプルのNMT2遺伝子のメチル化状態を決定するための1つ又は複数の試薬と、

b) その使用説明書と

を含む、キット。

30

【請求項43】

前記試薬が、NMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを含む、請求項42に記載のキット。

【請求項44】

前記PCRプライマーが、配列番号1及び/又は配列番号2を含む、請求項43に記載のキット。

【請求項45】

NMT阻害剤を更に含む、請求項42～44のいずれか一項に記載のキット。

【請求項46】

前記NMT阻害剤が、小分子、抗体、ペプチド断片、核酸、又はそれらの組合せを含む、請求項45に記載のキット。

40

【請求項47】

前記小分子が、DDD85646、DDD86481、又はそれらの誘導体を含む、請求項46に記載のキット。

【請求項48】

前記抗体が、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である、請求項46に記載のキット。

【請求項49】

前記核酸が、dsRNA分子、RNAi分子、miRNA分子、リボザイム、shRNA分子、又はsiRNA分子を含む、請求項46に記載のキット。

50

【請求項50】

ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤、DNAデメチラーゼ阻害剤、及び/又はヒストンデメチラーゼ阻害剤を更に含む、請求項42から49のいずれか一項に記載のキット。

【請求項51】

前記ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤が、アナカルド酸、CPH2、MB-3、及び/又はクルクミンである、請求項50に記載のキット。

【請求項52】

前記ヒストンデメチラーゼ阻害剤が、ダミノジット、GSK J1、GSK J2、GSK J4、GSK J5、GSK LSD1二塩酸塩、IOX 1、JIB 04、RN 1二塩酸塩、TC-E 5002、及び/又はトラニルシプロミン塩酸塩である、請求項50に記載のキット。

10

【請求項53】

CHOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ビンクリスチン、及びプレドニソン)、GAP-BOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキシソルピシン、プロカルバジン、プレオマイシン、ビンクリスチン、及びプレドニソン)、m-BACOD(すなわち、メトトレキサート、プレオマイシン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ビンクリスチン、デキサメタゾン、及びロイコボリン)、ProMACE-MOPP(すなわち、プレドニソン、メトトレキサート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、エトポシド、ロイコボリンと標準的なMOPP)、ProMACE-CytaBOM(プレドニソン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、エトポシド、シタラビン、プレオマイシン、ビンクリスチン、メトトレキサート、及びロイコボリン)、並びにMACOP-B(メトトレキサート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ビンクリスチン、プレドニソン、プレオマイシン、及びロイコボリン)から選択される治療のための試薬を更に含む、請求項42から52のいずれか一項に記載のキット。再発侵襲性非ホジキンリンパ腫に関して、以下の化学療法剤の組合せ、IMVP-16(すなわち、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、DHAP(すなわち、デキサメタゾン、-16高用量シタラビン、及びシスプラチン)、ESHAP(すなわち、エトポシド、メチルプレドニソン、高用量シタラビン、及びシスプラチン)、CEFF(B)(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プロカルバジン、プレドニソン、及びプレオマイシン)、又はCAMP(すなわち、ロムスチン、ミトキサントロン、シタラビン、及びプレドニソン)を本明細書に記載する化合物及び組成物と共に使用することができる。

20

30

【請求項54】

VABCD(すなわち、ビンブラスチン、ドキシソルピシン、ダカルバジン、ロムスチン及びプレオマイシン)、ABDIC(すなわち、ドキシソルピシン、プレオマイシン、ダカルバジン、ロムスチン、及びプレドニソン)、CBVD(すなわち、ロムスチン、プレオマイシン、ビンブラスチン、デキサメタゾン)、PCVP(すなわち、ビンブラスチン、プロカルバジン、シクロホスファミド、及びプレドニソン)、CEP(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びプレドニムスチン)、EVA(すなわち、エトポシド、ビンブラスチン、及びドキシソルピシン)、MOPLACE(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プレドニソン、メトトレキサート、シタラビン、及びビンクリスチン)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MINE(すなわち、ミトクアゾン、イフォスファミド、ピノレルピン、及びエトポシド)、MTX-CHOP(すなわち、メトトレキサート及びCHOP)、CEM(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びメトトレキサート)、CEVD(すなわち、ロムスチン、エトポシド、ビンデシン、及びデキサメタゾン)、CAVP(すなわち、ロムスチン、メルファラン、エトポシド、及びプレドニソン)、EVAP(すなわち、エトポシド、ビンブラスチン、シタラビン、及びシスプラチン)、並びにEPOCH(すなわち、エトポシド、ビンクリスチン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、及びプレドニソン)から選択されるホジキン病に対する治療のための試薬を更に含む、請求項42～52のいずれか一項に記載のキット。

40

【請求項55】

個々に又は組み合せてのいずれかで、パクリタキセル、ドセタキセル、ナノ粒子アルブ

50

ミン結合パクリタキセル、カペシタピン、ドキシソルピシン、エリブリン、ビノレルピン、トラスツズマブ、カルボプラチン、シスプラチン;タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール、エキセメスタン、フルベストラントを含む内分泌療法、並びにバルボシクリブ、リボシクリブ、LEE001、及びエベロリムスを含む細胞周期阻害剤;ニボルマブ及びペンブロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬から選択される乳癌に対する治療のための試薬を更に含む、請求項42~52のいずれか一項に記載のキット。

【請求項56】

個々に又は組み合せてのいずれかで、カルボプラチン、シスプラチン、エトポシド、イリノテカンから選択される小細胞肺癌に対する治療のための試薬を更に含む、請求項42~52のいずれか一項に記載のキット。

10

【請求項57】

個々に又は組み合せてのいずれかで、カルボプラチン、パクリタキセル、ドセタキセル、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、ベバシズマブ、ラムシルマブ、オシメルチニブ、ネシツムマブ、クリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブ、及びニボルマブ、ペンブロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬から選択される非小細胞肺癌に対する治療のための試薬を更に含む、請求項42~52のいずれか一項に記載のキット。

【請求項58】

膀胱癌に対する治療のための試薬を更に含み、前記方法が、個々に又は組み合せてのいずれかで、メトトレキサート、ビンブラスチン、ドキシソルピシン、シスプラチン;カルボプラチン及びパクリタキセル;ドセタキセル、ゲムシタピン及びシスプラチンから選択される治療を施す工程を更に含む、請求項42~52のいずれか一項に記載のキット。

20

【請求項59】

癌を有する対象を治療するためのNMT阻害剤の使用であって、前記対象由来のサンプル中のNMT2遺伝子が、高メチル化されていると決定されている、使用。

【請求項60】

癌を有する対象を治療するための医薬の製造のためのNMT阻害剤の使用であって、前記対象由来のサンプル中のNMT2遺伝子が、高メチル化されていると決定されている、使用。

【請求項61】

メチル化状態を決定する工程が、a)前記サンプル中の核酸にバイサルファイト修飾を実施する工程と、b)工程a)からのNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用してNMT2遺伝子のプロモーターのメチル化を決定する工程とを含む、請求項59又は60に記載の使用。

30

【請求項62】

工程b)が、PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、又は工程a)からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法によって実施される、請求項61に記載の使用。

【請求項63】

NMT2遺伝子の高メチル化の検出が、配列番号1及び/又は配列番号2を含むプライマーにより実施される、請求項59から62のいずれか一項に記載の使用。

40

【請求項64】

前記NMT阻害剤が、小分子、抗体、ペプチド断片、核酸、又はそれらの組合せを含む、請求項59~63のいずれか一項に記載の使用。

【請求項65】

前記小分子が、DDD85646、DDD86481、又はそれらの誘導体を含む、請求項64に記載の使用。

【請求項66】

前記抗体が、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である、請求項64に記載の使用。

50

【請求項 67】

前記核酸が、dsRNA分子、RNAi分子、miRNA分子、リボザイム、shRNA分子、又はsiRNA分子を含む、請求項64に記載の使用。

【請求項 68】

前記癌が、リンパ腫、B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、B-CLL/SLL、免疫細胞腫/ヴァルデンストレーム病、MALT型/単球B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、小児リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、急性骨髄性白血病、急性転化期慢性骨髄性白血病、パーキットリンパ腫、プラズマ細胞骨髄腫、腸腺癌、肺混合型扁平上皮腺癌、肺小細胞癌、肺癌、食道扁平上皮細胞癌、骨癌、乳管癌、胃びまん性腺癌、甲状腺髄様癌、尿路移行上皮癌、骨髄腫、卵巣明細胞癌、移行細胞癌(尿管及び膀胱癌)、慢性骨髄性白血病(CML)、リンパ腫-CLL、乳癌、結腸直腸腺癌、膵腺癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、骨肉腫、黒色腫、胃腺癌、子宮内膜腺癌、食道扁平上皮癌である、請求項59から67のいずれか一項に記載の使用。

10

【請求項 69】

前記NMT阻害剤が、DDD85646又はDDD86481を含む、請求項59～68のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 70】

ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤、DNAデメチラーゼ阻害剤、及び/又はヒストンデメチラーゼ阻害剤の使用を更に含む、請求項59から69のいずれか一項に記載の使用。

20

【請求項 71】

前記ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤が、アナカルド酸、CPTH2、MB-3、及び/又はクルクミンである、請求項70に記載の使用。

【請求項 72】

前記ヒストンデメチラーゼ阻害剤が、ダミノジット、GSK J1、GSK J2、GSK J4、GSK J5、GSK LSD1二塩酸塩、IOX 1、JIB 04、RN 1二塩酸塩、TC-E 5002、及び/又はトラニルシプロミン塩酸塩である、請求項70に記載の使用。

【請求項 73】

前記癌がリンパ腫である場合、CHOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ピンクリスチン、及びプレドニソン)、GAP-BOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキシソルピシン、プロカルバジン、プレオマイシン、ピンクリスチン、及びプレドニソン)、m-BACOD(すなわち、メトトレキサート、プレオマイシン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、デキサメタゾン、及びロイコボリン)、ProMACE-MOPP(すなわち、プレドニソン、メトトレキサート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、エトポシド、ロイコボリンと標準的なMOPP)、ProMACE-CytaBOM(プレドニソン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、エトポシド、シタラビン、プレオマイシン、ピンクリスチン、メトトレキサート、及びロイコボリン)、並びにMACOP-B(メトトレキサート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、プレドニソン、プレオマイシン、及びロイコボリン)から選択される治療の使用を更に含む、請求項59～72のいずれか一項に記載の使用。

再発侵襲性非ホジキンリンパ腫に関して、以下の化学療法剤の組合せ、IMVP-16(すなわち、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、DHAP(すなわち、デキサメタゾン、-16高用量シタラビン、及びシスプラチン)、ESHAP(すなわち、エトポシド、メチルプレドニソン、高用量シタラビン、及びシスプラチン)、CEFF(B)(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プロカルバジン、プレドニソン、及びプレオマイシン)、又はCAMP(すなわち、ロムスチン、ミトキサントロン、シタラビン、及びプレドニソン)を本明細書に記載する化合物及び組成物と共に使用することができる。

30

40

【請求項 74】

前記癌がホジキン病である場合、VABCD(すなわち、ビンブラスチン、ドキシソルピシン、ダカルバジン、ロムスチン及びプレオマイシン)、ABDIC(すなわち、ドキシソルピシン、ブ

50

レオマイシン、ダカルバジン、ロムスチン、及びプレドニソン)、CBVD(すなわち、ロムスチン、プレオマイシン、ピンブラスチン、デキサメタゾン)、PCVP(すなわち、ピンブラスチン、プロカルバジン、シクロホスファミド、及びプレドニソン)、CEP(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びプレドニムスチン)、EVA(すなわち、エトポシド、ピンブラスチン、及びドキソルビシン)、MOPLACE(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プレドニソン、メトトレキサート、シタラビン、及びピンクリスチン)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MINE(すなわち、ミトクアゾン、イフォスファミド、ビノレルビン、及びエトポシド)、MTX-CHOP(すなわち、メトトレキサート及びCHOP)、CEM(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びメトトレキサート)、CEVD(すなわち、ロムスチン、エトポシド、ビンデシン、及びデキサメタゾン)、CAVP(すなわち、ロムスチン、メルファラン、エトポシド、及びプレドニソン)、EVAP(すなわち、エトポシド、ピンブラスチン、シタラビン、及びシスプラチン)、並びにEPOCH(すなわち、エトポシド、ピンクリスチン、ドキソルビシン、シクロホスファミド、及びプレドニソン)から選択される治療の使用を更に含む、請求項59~72のいずれか一項に記載の使用。

10

【請求項75】

前記癌が乳癌である場合、個々に又は組み合せてのいずれかで、パクリタキセル、ドセタキセル、ナノ粒子アルブミン結合パクリタキセル、カペシタビン、ドキソルビシン、エリブリン、ビノレルビン、トラスツズマブ、カルボプラチン、シスプラチン;タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール、エキセメスタン、フルベストラントを含む内分泌療法、並びにパルボシクリブ、リボシクリブ、LEE001、及びエベロリムスを含む細胞周期阻害剤;ニボルマブ及びペンブロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬から選択される治療の使用を更に含む、請求項59~72のいずれか一項に記載の使用。

20

【請求項76】

前記癌が小細胞肺癌である場合、個々に又は組み合せてのいずれかで、カルボプラチン、シスプラチン、エトポシド、イリノテカンから選択される治療の使用を更に含む、請求項59~72のいずれか一項に記載の使用。

【請求項77】

前記癌が非小細胞肺癌である場合、個々に又は組み合せてのいずれかで、カルボプラチン、パクリタキセル、ドセタキセル、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、ペバシズマブ、ラムシルマブ、オシメルチニブ、ネシツムマブ、クリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブ、及びニボルマブ、ペンブロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬から選択される治療の使用を更に含む、請求項59~72のいずれか一項に記載の使用。

30

【請求項78】

前記癌が膀胱癌である場合、個々に又は組み合せてのいずれかで、メトトレキサート、ピンブラスチン、ドキソルビシン、シスプラチン;カルボプラチン及びパクリタキセル;ドセタキセル、ゲムシタビン及びシスプラチンから選択される治療の使用を更に含む、請求項59~72のいずれか一項に記載の使用。

【請求項79】

NMT2遺伝子における高メチル化の決定が、PCR、メチル化特異的PCR、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、及びパイサルファイトシーケンスからなる群から選択される方法によって実施される、請求項59~72のいずれか一項に記載の使用。

40

【請求項80】

前記生物サンプルが、剥離した腫瘍細胞及び/若しくは遊離核酸を含む組織、細胞試料若しくは液体、血液サンプル、分画血液サンプル、骨髄サンプル、生検サンプル、凍結組織サンプル、新たな組織試料、細胞サンプル、並びに/又はパラフィン包埋切片を含む、請求項59~79のいずれか一項に記載の使用。

【請求項81】

前記対象が、ヒトである、請求項59~80のいずれか一項に記載の使用。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、参照によりその全内容が本明細書に組み込まれる2015年7月17日に出願された米国仮特許出願第62/194,109号の優先権を主張するものである。

【0002】

本開示は、一般に、癌を診断及び治療するための後成的な方法に関する。

【背景技術】

【0003】

カナダにおいて、癌は主な死因である。カナダ癌協会(Canadian Cancer Society)は、2011年に約170000件の新たな癌症例、及び癌の結果として約75000件の死亡例が存在すると推測している。

【0004】

2015年に、約589430人の米国人が癌で死亡するか、又は1日に約1,620の人々が癌で死亡すると推測された。癌は、米国において2番目に最も一般的な死因であり、4件の死亡例のうちほぼ1件を占める。

【0005】

血液癌は、新たな癌症例の約9パーセント、癌関連死の9パーセントを占める。血液癌の1つのタイプはリンパ腫である。パーキットリンパ腫(BL)及びびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)等の侵襲性非ホジキンリンパ腫は、治療可能であるが、現行の療法は高価で、重大な毒性があり、実現される応答は多種多様で、大部分の患者は最終的に疾患の再発を経験する。北アメリカだけで、年間78,000件の新たなNHL症例が存在し、寛解中であるが継続して再発のリスクがあるNHLの生存者が600,000人存在する。改善された治療が必要とされている。

【0006】

タンパク質のN-ミリストイル化は、ミリスチン酸(14-炭素鎖飽和脂肪酸)が、様々な細胞、ウイルス、及び腫瘍タンパク質(例えば、発癌性Src関連チロシンキナーゼ、ヘテロ三量体G サブユニット等)のNH₂末端グリジンと共有結合した修飾である。

【0007】

細胞ミリストイル化タンパク質には、シグナル変換及び発癌において多様な生物学的機能がある。ミリストイル化によるタンパク質の修飾は、細胞増殖において重要なシグナル変換及び制御機能に必要とされるものを含めて、真核生物細胞における多くの重要なタンパク質の垂細胞標的化、タンパク質立体配座及び生物学的活性に必要とされる。Srcファミリーのチロシンキナーゼ(原型癌遺伝子)は、特に最も広く研究されているミリストイル化タンパク質である。

【0008】

タンパク質のミリストイル化は、N-ミリストイルトランスフェラーゼ(NMT)によって触媒される。NMTは真核生物細胞中でこの活性を担い、メチオニルアミノペプチダーゼによる開始メチオニン残基の除去後に、そのポリペプチド基質を修飾することによって働く。この修飾は同時翻訳プロセスとして主に起こるが、ミリストイル化は翻訳後、タンパク質のタンパク質分解切断後、典型的にはアポトーシス中にも起こる可能性がある。哺乳動物NMT酵素の2つのアイソザイムがクローニングされており、NMT1及びNMT2で明示される。NMTは細胞中で生存促進的役割を果たす。この2つのNMTは全ての正常な哺乳動物細胞に存在する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】WO2013/013302

【特許文献2】WO2014/067002

10

20

30

40

50

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】J.A.Freearsonら(2010) Nature. 464.728~723頁)

【非特許文献2】Katrina J. Falkenberg¹及びRicky W. Johnstone (2014) NATURE REVIEWS | DRUG DISCOVERY、第13巻、673~691頁

【非特許文献3】Andrew A. Lane and Bruce A. Chabner (2009) J Clin Oncol 27:5459~5468頁

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

癌を治療するための化合物、組成物及び方法が依然として必要とされている。

【0012】

この背景情報は、本発明と関係する可能性があると本出願人が考えた公知の情報を示す目的で提供されたものである。いかなる前述の情報が本発明に対する従来技術を構成することを必ずしも認めるものではなく、そう解釈すべきでもない。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本開示の一態様では、NMT阻害剤による治療に対する癌患者における応答を予測する方法であって、前記癌患者の生物サンプルを準備する工程と、前記生物サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、NMT2遺伝子において高メチル化が決定された場合に、前記NMT阻害剤による前記治療に対して陽性の臨床応答を予測する工程とを含む、方法を提供する。

【0014】

本開示の一態様では、NMT阻害剤による治療に適した癌を有する患者、又は癌治療を受ける患者を同定及び/又は選択するための方法であって、前記癌患者の生物サンプルを準備する工程と、NMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、NMT2遺伝子において高メチル化が決定された場合に、前記NMT阻害剤による治療のために癌患者を同定及び/又は選択する工程とを含む、方法を提供する。

【0015】

本開示の一態様では、癌患者の癌に適した治療レジメンを選択するための方法であって、前記癌患者の生物サンプルを準備する工程と、前記生物サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、NMT2遺伝子の高メチル化が決定された場合、及び/又はNMT2遺伝子における低発現が決定された場合に、治療のためにNMT阻害剤を選択する工程とを含む、方法を提供する。

【0016】

本開示の一態様では、癌を有する患者をNMT阻害剤により治療する方法であって、前記癌患者の生物サンプルを準備する工程と、前記生物サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、NMT2遺伝子において高メチル化が決定された場合に、治療のために前記NMT阻害剤を選択する工程とを含む、方法を提供する。

【0017】

本開示の一態様では、a)癌を有する対象、又は癌を有する疑いがある対象からサンプルを得る工程と、b)サンプルを試薬と接触させて、サンプル中に存在するNMT2遺伝子のメチル化状態を示す生成物(一部の場合には複合体)を形成する工程と、c)形成された生成物を測定して、サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、d)前記対象における前記癌のNMT阻害剤治療の利点を決定する工程とを含む方法であって、NMT阻害剤治療の利点の決定が、前記サンプル中のNMT2遺伝子の高メチル化によって決定される、方法を提供する。

【0018】

一態様では、工程b)において、前記試薬は、NMT2遺伝子における高メチル化を検出するためのプライマーを含む。

10

20

30

40

50

【0019】

一態様では、前記プライマーは、配列番号1及び/又は配列番号2を含む。

【0020】

本開示の一態様では、癌を有する対象、又は癌を有する疑いがある対象を治療する方法であって、前記サンプル中のNMT2遺伝子が、場合によっては対照と比較して、高メチル化されている場合に、NMT阻害剤を前記対象に投与する工程を含む、方法を提供する。

【0021】

本開示の一態様では、対象における癌を治療するための方法であって、a)対象由来のサンプルから核酸を得る工程と、b)工程a)の核酸にバイサルファイト修飾(bisulfite modification)を実施する工程と、c)PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、或いはNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用した、工程b)からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法を実施する工程と、e)サンプル中のNMT2のプロモーター領域のプロモーターのメチル化レベルを、場合によっては対照と比較して、決定する工程と、g)サンプル中のNMT2遺伝子のプロモーター領域のプロモーターのメチル化レベルが高メチル化であると決定された場合に、前記患者をNMTに対する阻害剤により治療する工程とを含む、方法を提供する。

10

【0022】

一態様では、前記PCRプライマーは、配列番号1及び/又は配列番号2を含む。

20

【0023】

一態様では、メチル化状態を決定する工程は、a)前記サンプル中の核酸にバイサルファイト修飾を実施する工程と、b)工程a)からのNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用してNMT2遺伝子のプロモーターのメチル化を決定する工程とを含む。

【0024】

一態様では、工程b)は、PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、又は工程a)からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法によって実施される。

30

【0025】

一態様では、NMT2遺伝子の高メチル化の検出は、配列番号1及び/又は配列番号2を含むプライマーにより実施される。

【0026】

一態様では、前記NMT阻害剤は、小分子、抗体、ペプチド断片、核酸、又はそれらの組合せを含む。

【0027】

一態様では、前記小分子は、DDD85646、DDD86481、又はそれらの誘導体を含む。

【0028】

一態様では、前記抗体は、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である。

40

【0029】

一態様では、前記核酸は、dsRNA分子、RNAi分子、miRNA分子、リボザイム、shRNA分子、又はsiRNA分子を含む。

【0030】

一態様では、前記癌は、リンパ腫、B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、B-CLL/SLL、免疫細胞腫/ヴァルデンストレーム病、MALT型/単球B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、小児リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、急性骨髄性白血病、急性転化期慢性骨髄性白血病、パーキットリンパ腫、プラスマ細胞骨髄腫、腸腺癌、肺混合型扁平上皮腺癌、肺小細胞癌、肺癌、食道扁平上皮細胞癌

50

、骨癌、乳管癌、胃びまん性腺癌、甲状腺髄様癌、尿路移行上皮癌、骨髄腫、卵巣明細胞癌、移行細胞癌(尿管及び膀胱癌)、慢性骨髄性白血病(CML)、リンパ腫-CLL、乳癌、結腸直腸腺癌、膵腺癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、骨肉腫、黒色腫、胃腺癌、子宮内膜腺癌、食道扁平上皮癌である。

【0031】

一態様では、前記NMT阻害剤は、DDD85646又はDDD86481を含む。

【0032】

一態様では、前記治療は、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤、DNAデメチラーゼ阻害剤、及び/又はヒストンデメチラーゼ阻害剤による治療を更に含む。

【0033】

一態様では、前記ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤は、アナカルド酸、CPTH 2、MB-3、及び/又はクルクミンである。

【0034】

一態様では、前記ヒストンデメチラーゼ阻害剤は、ダミノジット、GSK J1、GSK J2、GSK J4、GSK J5、GSK LSD1二塩酸塩、IOX 1、JIB 04、RN 1二塩酸塩、TC-E 5002、及び/又はトランシルプロミン塩酸塩である。

【0035】

一態様では、前記癌がリンパ腫である場合、方法は、CHOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ビンクリスチン、及びプレドニソン)、GAP-BOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキシソルピシン、プロカルバジン、プレオマイシン、ビンクリスチン、及びプレドニソン)、m-BACOD(すなわち、メトトレキサート、プレオマイシン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ビンクリスチン、デキサメタゾン、及びロイコボリン)、ProMACE-MOPP(すなわち、プレドニソン、メトトレキサート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、エトポシド、ロイコボリンと標準的なMOPP)、ProMACE-CytaBOM(プレドニソン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、エトポシド、シタラビン、プレオマイシン、ビンクリスチン、メトトレキサート、及びロイコボリン)、並びにMACOP-B(メトトレキサート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ビンクリスチン、プレドニソン、プレオマイシン、及びロイコボリン)から選択される治療を施す工程を更に含む。再発侵襲性非ホジキンリンパ腫に関して、以下の化学療法剤の組合せ、IMVP-16(すなわち、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、DHAP(すなわち、デキサメタゾン、-16高用量シタラビン、及びシスプラチン)、ESHAP(すなわち、エトポシド、メチルプレドニソン、高用量シタラビン、及びシスプラチン)、CEFF(B)(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プロカルバジン、プレドニソン、及びプレオマイシン)、又はCAMP(すなわち、ロムスチン、ミトキサントロン、シタラビン、及びプレドニソン)を本明細書に記載する化合物及び組成物と共に使用することができる。

【0036】

一態様では、前記癌がホジキン病である場合、方法は、VABCD(すなわち、ビンブラスチン、ドキシソルピシン、ダカルバジン、ロムスチン及びプレオマイシン)、ABDIC(すなわち、ドキシソルピシン、プレオマイシン、ダカルバジン、ロムスチン、及びプレドニソン)、CBVD(すなわち、ロムスチン、プレオマイシン、ビンブラスチン、デキサメタゾン)、PCVP(すなわち、ビンブラスチン、プロカルバジン、シクロホスファミド、及びプレドニソン)、CEP(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びプレドニムスチン)、EVA(すなわち、エトポシド、ビンブラスチン、及びドキシソルピシン)、MOPLACE(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プレドニソン、メトトレキサート、シタラビン、及びビンクリスチン)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MINE(すなわち、ミトクアゾン(mitoquazone)、イフォスファミド、ピノレルピン、及びエトポシド)、MTX-CHOP(すなわち、メトトレキサート及びCHOP)、CEM(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びメトトレキサート)、CEVD(すなわち、ロムスチン、エトポシド、ビンデシン、及びデキサメタゾン)、CAVP(すなわち、ロムスチン、メルファラン、エト

10

20

30

40

50

ポシド、及びブレドニソン)、EVAP(すなわち、エトポシド、ビンブラスチン、シタラピン、及びシスプラチン)、並びにEPOCH(すなわち、エトポシド、ビソクリスチン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、及びブレドニソン)から選択される治療を施す工程を更に含む。

【0037】

一態様では、前記癌が乳癌である場合、方法は、個々に又は組み合わせてのいずれかで、パクリタキセル、ドセタキセル、ナノ粒子アルブミン結合パクリタキセル、カペシタピン、ドキシソルピシン、エリブリン、ビノレルピン、トラスツズマブ、カルボプラチン、シスプラチン;タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール、エキセメスタン、フルベストラントを含む内分泌療法、並びにパルボシクリブ、リボシクリブ、LEE001、及びエベロリムスを含む細胞周期阻害剤;ニボルマブ及びペンブロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬 (immune checkpoint inhibiting drug) から選択される治療を施す工程を更に含む。

10

【0038】

一態様では、前記癌が小細胞肺癌である場合、方法は、個々に又は組み合わせてのいずれかで、カルボプラチン、シスプラチン、エトポシド、イリノテカンから選択される治療を施す工程を更に含む。

【0039】

一態様では、前記癌が非小細胞肺癌である場合、方法は、個々に又は組み合わせてのいずれかで、カルボプラチン、パクリタキセル、ドセタキセル、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、ベバシズマブ、ラムシルマブ、オシメルチニブ、ネシツムマブ(necitumumab)、クリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブ、及びニボルマブ、ペンブロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬から選択される治療を施す工程を更に含む。

20

【0040】

一態様では、前記癌が膀胱癌である場合、方法は、個々に又は組み合わせてのいずれかで、メトトレキサート、ビンブラスチン、ドキシソルピシン、シスプラチン;カルボプラチン及びパクリタキセル;ドセタキセル、ゲムシタピン及びシスプラチンから選択される治療を施す工程を更に含む。

【0041】

一態様では、NMT2遺伝子における高メチル化の決定は、PCR、メチル化特異的PCR、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、及びバイサルファイトシーケンスからなる群から選択される方法によって実施される。

30

【0042】

一態様では、前記生物サンプルは、剥離した腫瘍細胞及び/若しくは遊離核酸を含む組織、細胞試料若しくは液体、血液サンプル、分画血液サンプル、骨髓サンプル、生検サンプル、凍結組織サンプル、新たな組織試料、細胞サンプル、並びに/又はパラフィン包埋切片を含む。

【0043】

一態様では、前記対象は、ヒトである。

40

【0044】

本開示の一態様では、癌を有する患者のために治療を選択するためのin vitroアッセイであって、a)対象由来のサンプルから核酸を得る工程と、b)工程a)の核酸にバイサルファイト修飾を実施する工程と、c)PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、或いはNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用した、工程b)からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法を実施する工程と、e)サンプル中のNMT2のプロモーター領域のプロモーターのメチル化レベルを、場合によっては対照と比較して、決定する工程とを含み、サンプル中のNMT2遺伝子のプ

50

ロモーター領域が高メチル化されていると決定された場合に、選択される治療が、NMT阻害剤である、アッセイを記載する。

【0045】

一態様では、前記PCRプライマーは、配列番号1及び/又は配列番号2を含む。

【0046】

本開示の一態様では、癌を有する患者のために治療を選択するための患者由来のサンプルの *in vitro* アッセイであって、a) 前記サンプル中の核酸にバイサルファイト修飾を実施する工程と、b) 工程a) からのNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用してNMT2遺伝子のプロモーターのメチル化を決定する工程とを含むアッセイを記載する。

10

【0047】

一態様では、工程b) は、PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、又は工程a) からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法によって実施される。

【0048】

一態様では、NMT2遺伝子の高メチル化の検出は、配列番号1及び/又は配列番号2を含むプライマーにより実施される。

【0049】

一態様では、サンプル中のNMT2遺伝子のプロモーター領域が高メチル化されていると決定された場合に、選択される治療は、NMT阻害剤である。

20

【0050】

一態様では、前記NMT阻害剤は、小分子、抗体、ペプチド断片、核酸、又はそれらの組合せを含む。

【0051】

一態様では、前記小分子は、DDD85646、DDD86481、又はそれらの誘導体を含む。

【0052】

一態様では、前記抗体は、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である。

【0053】

一態様では、前記核酸は、dsRNA分子、RNAi分子、miRNA分子、リボザイム、shRNA分子、又はsiRNA分子を含む。

30

【0054】

本開示の一態様では、癌患者の癌に適した治療を選択するためのキットであって、a) サンプル中のNMT2遺伝子のプロモーター領域が高メチル化されていると決定された場合に、選択される治療がNMT阻害剤である、前記癌患者のサンプルのNMT2遺伝子のメチル化状態を決定するための1つ又は複数の試薬と、b) その使用説明書とを含むキットを記載する。

【0055】

一態様では、前記試薬は、NMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを含む。

40

【0056】

一態様では、前記PCRプライマーは、配列番号1及び/又は配列番号2を含む。

【0057】

一態様では、NMT阻害剤を更に含む。

【0058】

一態様では、前記NMT阻害剤は、小分子、抗体、ペプチド断片、核酸、又はそれらの組合せを含む。

【0059】

一態様では、前記小分子は、DDD85646、DDD86481、又はそれらの誘導体を含む。

【0060】

50

一態様では、前記抗体は、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である。

【0061】

一態様では、前記核酸は、dsRNA分子、RNAi分子、miRNA分子、リボザイム、shRNA分子、又はsiRNA分子を含む。

【0062】

一態様では、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤、DNAデメチラーゼ阻害剤、及び/又はヒストンデメチラーゼ阻害剤を更に含む。

【0063】

一態様では、前記ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤は、アナカルド酸、CPTH 2、MB-3、及び/又はクルクミンである。

【0064】

一態様では、前記ヒストンデメチラーゼ阻害剤は、ダミノジット、GSK J1、GSK J2、GSK J4、GSK J5、GSK LSD1二塩酸塩、IOX 1、JIB 04、RN 1二塩酸塩、TC-E 5002、及び/又はトランシルプロミン塩酸塩である。

【0065】

一態様では、CHOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ビンクリスチン、及びプレドニソン)、GAP-BOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキシソルピシン、プロカルバジン、プレオマイシン、ビンクリスチン、及びプレドニソン)、m-BACOD(すなわち、メトトレキサート、プレオマイシン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ビンクリスチン、デキサメタゾン、及びロイコボリン)、ProMACE-MOPP(すなわち、プレドニソン、メトトレキサート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、エトポシド、ロイコボリンと標準的なMOPP)、ProMACE-CytaBOM(プレドニソン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、エトポシド、シタラビン、プレオマイシン、ビンクリスチン、メトトレキサート、及びロイコボリン)、並びにMACOP-B(メトトレキサート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ビンクリスチン、プレドニソン、プレオマイシン、及びロイコボリン)から選択される治療のための試薬を更に含む。再発侵襲性非ホジキンリンパ腫に関して、以下の化学療法剤の組合せ、IMVP-16(すなわち、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、DHAP(すなわち、デキサメタゾン、-16高用量シタラビン、及びシスプラチン)、ESHA P(すなわち、エトポシド、メチルプレドニソン、高用量シタラビン、及びシスプラチン)、CEFF(B)(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プロカルバジン、プレドニソン、及びプレオマイシン)、又はCAMP(すなわち、ロムスチン、ミトキサントロン、シタラビン、及びプレドニソン)を本明細書に記載する化合物及び組成物と共に使用することができる。

【0066】

一態様では、VABCD(すなわち、ビンブラスチン、ドキシソルピシン、ダカルバジン、ロムスチン及びプレオマイシン)、ABDIC(すなわち、ドキシソルピシン、プレオマイシン、ダカルバジン、ロムスチン、及びプレドニソン)、CBVD(すなわち、ロムスチン、プレオマイシン、ビンブラスチン、デキサメタゾン)、PCVP(すなわち、ビンブラスチン、プロカルバジン、シクロホスファミド、及びプレドニソン)、CEP(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びプレドニムスチン)、EVA(すなわち、エトポシド、ビンブラスチン、及びドキシソルピシン)、MOPLACE(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プレドニソン、メトトレキサート、シタラビン、及びビンクリスチン)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MINE(すなわち、ミトクアゾン、イフォスファミド、ピノレルピン、及びエトポシド)、MTX-CHOP(すなわち、メトトレキサート及びCHOP)、CEM(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びメトトレキサート)、CEVD(すなわち、ロムスチン、エトポシド、ビンデシン、及びデキサメタゾン)、CAVP(すなわち、ロムスチン、メルファラン、エトポシド、及びプレドニソン)、EVAP(すなわち、エトポシド、ビンブラスチン、シタラビン、及びシスプラチン)、並びにEPOCH(すなわち、エトポシド、ビンクリスチン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、及びプレドニソン)から選

10

20

30

40

50

扱われるホジキン病に対する治療のための試薬を更に含む。

【0067】

一態様では、個々に又は組み合せてのいずれかで、パクリタキセル、ドセタキセル、ナノ粒子アルブミン結合パクリタキセル、カペシタビン、ドキシソルビシン、エリブリン、ピノレルビン、トラスツズマブ、カルボプラチン、シスプラチン；タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール、エキセメスタン、フルベストラントを含む内分泌療法、並びにパルボシクリブ、リボシクリブ、LEE001、及びエベロリムスを含む細胞周期阻害剤；ニボルマブ及びペンプロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬から選択される乳癌に対する治療のための試薬を更に含む。

【0068】

一態様では、個々に又は組み合せてのいずれかで、カルボプラチン、シスプラチン、エトポシド、イリノテカンから選択される小細胞肺癌に対する治療のための試薬を更に含む。

【0069】

一態様では、個々に又は組み合せてのいずれかで、カルボプラチン、パクリタキセル、ドセタキセル、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、ベバシズマブ、ラムシルマブ、オシメルチニブ、ネシツムマブ、クリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブ、及びニボルマブ、ペンプロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬から選択される非小細胞肺癌に対する治療のための試薬を更に含む。

【0070】

一態様では、膀胱癌に対する治療のための試薬を更に含み、方法は、個々に又は組み合せてのいずれかで、メトトレキサート、ビンブラスチン、ドキシソルビシン、シスプラチン；カルボプラチン及びパクリタキセル；ドセタキセル、ゲムシタビン及びシスプラチンから選択される治療を施す工程を更に含む。

【0071】

本開示の一態様では、癌を有する対象を治療するためのNMT阻害剤の使用であって、前記対象由来のサンプル中のNMT2遺伝子が高メチル化されていると決定されている、使用を記載する。

【0072】

本開示の一態様では、癌を有する対象を治療するための医薬の製造のためのNMT阻害剤の使用であって、前記対象由来のサンプル中のNMT2遺伝子が高メチル化されていると決定されている、使用を記載する。

【0073】

一態様では、メチル化状態を決定する工程は、a)前記サンプル中の核酸にバイサルファイト修飾を実施する工程と、b)工程a)からのNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用してNMT2遺伝子のプロモーターのメチル化を決定する工程とを含む。

【0074】

一態様では、工程b)は、PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、又は工程a)からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法によって実施される。

【0075】

一態様では、NMT2遺伝子の高メチル化の検出は、配列番号1及び/又は配列番号2を含むプライマーにより実施される。

【0076】

一態様では、前記NMT阻害剤は、小分子、抗体、ペプチド断片、核酸、又はそれらの組合せを含む。

【0077】

10

20

30

40

50

一態様では、前記小分子は、DDD85646、DDD86481、又はそれらの誘導体を含む。

【0078】

一態様では、前記抗体は、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である。

【0079】

一態様では、前記核酸は、dsRNA分子、RNAi分子、miRNA分子、リボザイム、shRNA分子、又はsiRNA分子を含む。

【0080】

一態様では、前記癌は、リンパ腫、B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、B-CLL/SLL、免疫細胞腫/ヴァルデンストレーム病、MALT型/単球B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、小児リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、急性骨髄性白血病、急性転化期慢性骨髄性白血病、パーキットリンパ腫、プラズマ細胞骨髄腫、腸腺癌、肺混合型扁平上皮腺癌、肺小細胞癌、肺癌、食道扁平上皮細胞癌、骨癌、乳管癌、胃びまん性腺癌、甲状腺髄様癌、尿路移行上皮癌、骨髄腫、卵巣明細胞癌、移行細胞癌(尿管及び膀胱癌)、慢性骨髄性白血病(CML)、リンパ腫-CLL、乳癌、結腸直腸腺癌、膵腺癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、骨肉腫、黒色腫、胃腺癌、子宮内膜腺癌、食道扁平上皮癌である。

10

【0081】

一態様では、前記NMT阻害剤は、DDD85646又はDDD86481を含む。

【0082】

一態様では、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤、DNAデメチラーゼ阻害剤、及び/又はヒストンデメチラーゼ阻害剤の使用を更に含む。

20

【0083】

一態様では、前記ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤は、アナカルド酸、CPTH 2、MB-3、及び/又はクルクミンである。

【0084】

一態様では、前記ヒストンデメチラーゼ阻害剤は、ダミノジット、GSK J1、GSK J2、GSK J4、GSK J5、GSK LSD1二塩酸塩、IOX 1、JIB 04、RN 1二塩酸塩、TC-E 5002、及び/又はトランシルプロミン塩酸塩である。

【0085】

一態様では、前記癌がリンパ腫である場合、使用は、CHOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ピンクリスチン、及びプレドニソン)、GAP-BOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキソルビシン、プロカルバジン、プレオマイシン、ピンクリスチン、及びプレドニソン)、m-BACOD(すなわち、メトトレキサート、プレオマイシン、ドキソルビシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、デキサメタゾン、及びロイコボリン)、ProMACE-MOPP(すなわち、プレドニソン、メトトレキサート、ドキソルビシン、シクロホスファミド、エトポシド、ロイコボリンと標準的なMOPP)、ProMACE-CytaBOM(プレドニソン、ドキソルビシン、シクロホスファミド、エトポシド、シタラビン、プレオマイシン、ピンクリスチン、メトトレキサート、及びロイコボリン)、並びにMACOP-B(メトトレキサート、ドキソルビシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、プレドニソン、プレオマイシン、及びロイコボリン)から選択される治療の使用を更に含む。再発侵襲性非ホジキンリンパ腫に関して、以下の化学療法剤の組合せ、IMVP-16(すなわち、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、DHAP(すなわち、デキサメタゾン、-16高用量シタラビン、及びシスプラチン)、ESHAP(すなわち、エトポシド、メチルプレドニソン、高用量シタラビン、及びシスプラチン)、CEFF(B)(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プロカルバジン、プレドニソン、及びプレオマイシン)、又はCAMP(すなわち、ロムスチン、ミトキサントロン、シタラビン、及びプレドニソン)を本明細書に記載する化合物及び組成物と共に使用することができる。

30

40

【0086】

一態様では、前記癌がホジキン病である場合、使用は、VABCD(すなわち、ビンブラスチ

50

ン、ドキシソルピシン、ダカルバジン、ロムスチン及びブレオマイシン)、ABDIC(すなわち、ドキシソルピシン、ブレオマイシン、ダカルバジン、ロムスチン、及びブレドニソン)、C BVD(すなわち、ロムスチン、ブレオマイシン、ビンブラスチン、デキサメタゾン)、PCVP(すなわち、ビンブラスチン、プロカルバジン、シクロホスファミド、及びブレドニソン)、CEP(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びブレドニムスチン)、EVA(すなわち、エトポシド、ビンブラスチン、及びドキシソルピシン)、MOPLACE(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、ブレドニソン、メトトレキサート、シタラビン、及びピンクリスチン)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MINE(すなわち、ミトクアゾン、イフォスファミド、ピノレルピン、及びエトポシド)、MTX-CHOP(すなわち、メトトレキサート及びCHOP)、CEM(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びメトトレキサート)、CEVD(すなわち、ロムスチン、エトポシド、ビンデシン、及びデキサメタゾン)、CAVP(すなわち、ロムスチン、メルファラン、エトポシド、及びブレドニソン)、EVAP(すなわち、エトポシド、ビンブラスチン、シタラビン、及びシスプラチン)、並びにEPOCH(すなわち、エトポシド、ピンクリスチン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、及びブレドニソン)から選択される治療の使用を更に含む。

10

【0087】

一態様では、前記癌が乳癌である場合、使用は、個々に又は組み合わせてのいずれかで、パクリタキセル、ドセタキセル、ナノ粒子アルブミン結合パクリタキセル、カペシタピン、ドキシソルピシン、エリブリン、ピノレルピン、トラスツズマブ、カルボプラチン、シスプラチン;タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール、エキセメスタン、フルベストラントを含む内分泌療法、並びにパルボシクリブ、リボシクリブ、LEE001、及びエベロリムスを含む細胞周期阻害剤;ニボルマブ及びペンブロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬から選択される治療の使用を更に含む。

20

【0088】

一態様では、前記癌が小細胞肺癌である場合、使用は、個々に又は組み合わせてのいずれかで、カルボプラチン、シスプラチン、エトポシド、イリノテカンから選択される治療の使用を更に含む。

【0089】

一態様では、前記癌が非小細胞肺癌である場合、使用は、個々に又は組み合わせてのいずれかで、カルボプラチン、パクリタキセル、ドセタキセル、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、ベバシズマブ、ラムシルマブ、オシメルチニブ、ネシツムマブ、クリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブ、及びニボルマブ、ペンブロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬から選択される治療の使用を更に含む。

30

【0090】

一態様では、前記癌が膀胱癌である場合、使用は、個々に又は組み合わせてのいずれかで、メトトレキサート、ビンブラスチン、ドキシソルピシン、シスプラチン;カルボプラチン及びパクリタキセル;ドセタキセル、ゲムシタピン及びシスプラチンから選択される治療の使用を更に含む。

【0091】

一態様では、NMT2遺伝子における高メチル化の決定は、PCR、メチル化特異的PCR、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、及びパイサルファイトシーケンスからなる群から選択される方法によって実施される。

40

【0092】

一態様では、前記生物サンプルは、剥離した腫瘍細胞及び/若しくは遊離核酸を含む組織、細胞試料若しくは液体、血液サンプル、分画血液サンプル、骨髄サンプル、生検サンプル、凍結組織サンプル、新たな組織試料、細胞サンプル、並びに/又はパラフィン包埋切片を含む。

【0093】

一態様では、前記対象は、ヒトである。

50

【 0 0 9 4 】

本開示の他の態様及び特徴は、添付の図面と併せて具体的な実施形態の以下の説明を検討すれば、当業者には明白になると予想される。

【 0 0 9 5 】

本開示の実施形態を、単に例として、添付の図面を参照することによって、ここに記載する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 9 6 】

【 図 1 A 】 CCLEデータベースの数種の癌細胞系及びTCGAデータベースの腫瘍におけるNMT2発現が低減されることを示す図である。癌細胞系におけるNMT2(灰色)のmRNA発現は、NMT1(黒)よりも広範囲である。

10

【 図 1 B 】 CCLEデータベースの数種の癌細胞系及びTCGAデータベースの腫瘍におけるNMT2発現が低減されることを示す図である。腫瘍におけるNMT2(灰色)のmRNA発現は、NMT1(黒)よりも広範囲である。

【 図 1 C 】 CCLEデータベースの数種の癌細胞系及びTCGAデータベースの腫瘍におけるNMT2発現が低減されることを示す図である。癌特異的細胞系及び腫瘍タイプにおけるNMT2 mRNA発現のボックスプロット。***は、t検定による全腫瘍に対する0.0001より小さいpを示し、#は、データ利用できないことを示す。

【 図 1 D 】 CCLEデータベースの数種の癌細胞系及びTCGAデータベースの腫瘍におけるNMT2発現が低減されることを示す図である。癌特異的細胞系及び腫瘍タイプにおけるNMT2 mRNA発現のボックスプロット。***は、t検定による全腫瘍に対する0.0001より小さいpを示し、#は、データ利用できないことを示す。

20

【 図 1 E 】 CCLEデータベースの数種の癌細胞系及びTCGAデータベースの腫瘍におけるNMT2発現が低減されることを示す図である。癌特異的細胞系及び腫瘍タイプにおけるNMT2 mRNA発現のボックスプロット。***は、t検定による全腫瘍に対する0.0001より小さいpを示し、#は、データ利用できないことを示す。

【 図 1 F 】 CCLEデータベースの数種の癌細胞系及びTCGAデータベースの腫瘍におけるNMT2発現が低減されることを示す図である。ドロップレットデジタルPCR(droplet digital PCR)によって決定された様々なリンパ球細胞系におけるNMT2 mRNAコピー。

【 図 1 G 】 CCLEデータベースの数種の癌細胞系及びTCGAデータベースの腫瘍におけるNMT2発現が低減されることを示す図である。細胞系における特異的なNMT活性、*は、0.05より小さいp。

30

【 図 1 H 】 CCLEデータベースの数種の癌細胞系及びTCGAデータベースの腫瘍におけるNMT2発現が低減されることを示す図である。 Kaplan-Meierプロットは、高いNMT2発現(赤、上の曲線)対低いNMT2発現(青、下の曲線)を有する470のDLBCL患者(GSE31312)の無増悪生存期間(PFS)を示す。P値を、ログランク検定によって求めた。全ての値は、3回の独立した実験の平均値 \pm s.e.m. である。

【 図 2 A 】 NMT2プロモーターにおけるCpGアイランドを示す図である。

【 図 2 B 】 リンパ腫細胞系及び腫瘍におけるNMT2の後成的な制御を示す図である。TCGA腫瘍におけるNMT2発現(RSEM正規化カウント)は、WSU-DLCL2の位置15,212,006におけるNMT2メチル化値(cg02268561ベータ値)と負の相関関係がある(赤で強調した)。p=0.0082、スピアマン相関解析、TCGAコホートからのn=43)。

40

【 図 2 C 】 DAPK1プロモーター領域のパイサルファイトシーケンスが、悪性Bリンパ球においてのみ高度にメチル化されたCpGを含有するプロモーター領域を明らかにしていることを示す図である。

【 図 3 A 】 SAHAの存在下又は非存在下におけるDACによる24時間の処理後の様々なリンパ球細胞系におけるデジタルPCRによって測定したNMT2 mRNAコピー数を示す図である。

【 図 3 B 】 SAHAの存在下又は非存在下におけるDACによる24時間の処理後の様々なリンパ球細胞系におけるデジタルPCRによって測定したNMT2 mRNAコピー数を示す図である。

【 図 3 C 】 SAHAの存在下又は非存在下におけるDACによる24時間の処理後の様々なリンパ

50

球細胞系におけるデジタルPCRによって測定したNMT2 mRNAコピー数を示す図である。

【図3D】SAHAの存在下又は非存在下におけるDACによる24時間の処理後の様々なリンパ球細胞系におけるデジタルPCRによって測定したNMT2 mRNAコピー数を示す図である。

【図3E】上記の通りの24時間の処理後にBL2におけるウエスタンブロッティングによって評価したNMT2タンパク質レベル(GAPDHレベルに対して正規化した)を示す図である。値は、3回の独立した実験の平均値 \pm s.e.m.である。

【図3F】上記の通りの24時間の処理後にIM9におけるウエスタンブロッティングによって評価したNMT2タンパク質レベル(GAPDHレベルに対して正規化した)を示す図である。値は、3回の独立した実験の平均値 \pm s.e.m.である。

【図3G】TCGA腫瘍におけるNMT2発現(RSEM正規化カウント)は、WSU-DLCL2の位置15,212,006におけるNMT2メチル化値(cg02268561ベータ値)と負の相関関係がある(図2Bにおいて赤で強調した)ことを示す図である。p=0.0082、TCGAコホートからのスピアマン相関解析、n=43。グラフ及び免疫プロットを示す。

【図4A】各群のグラフにおける個々のマウス腫瘍体積の分布を示すボックス及びウィスカープロットを示す図である。

【図4B】細胞系DOHH2由来の異種移植に関するPCLX-001用量応答曲線を示す図である。

【図4C】細胞系DOHH2由来の異種移植に関する併用療法PCLX-001及びDOX用量応答曲線を示す図である。

【図5A】細胞系BL2由来の異種移植に関するPCLX-001用量応答曲線を示す図である。

【図5B】細胞系BL2由来の異種移植に関する併用療法PCLX-001及びDOX用量応答曲線を示す図である。

【図5C】パネルAにおけるBL2腫瘍サンプル中の全NMT特異的活性を示す図である。

【図5D】正確な医療のための患者選択方法を示す図である。

【図5E】免疫組織化学(IHC)及びRNA in situハイブリダイゼーション(ISH)による3人の患者からのDLBCLにおけるNMT2欠陥の同定を示す図である。マウスに移植後の患者DLBCL3からの腫瘍も示す。

【図5F】患者3に由来する異種移植に関するPCLX-001用量応答曲線を示す図である。

【図5G】患者由来の異種移植片(PDX)を有するマウスの代表的な腫瘍を示す図である。NMT2欠陥DLBCL3 PDXを有するマウスのPCLX-001処置は、アポトーシスを誘導する(切断型カスパーゼ-3染色を増加させる)。

【図5H】NMT2欠陥DLBCL3 PDXを有するマウスのPCLX-001処置は、細胞増殖を減少させる(Ki-67染色の減少)ことを示す図である。

【図5I】各処置に対する代表的な染色腫瘍薄片を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0097】

以下でより詳細に記載するように、癌を有する対象を治療するための化合物、組成物及び方法を本明細書に記載する。本明細書に記載する化合物、組成物及び方法で治療するのに適した癌を有する対象を同定するための方法も本明細書に記載する。

【0098】

細胞は、生存するために少なくとも1つのNMTを必要とする。間質組織及び正常組織はそうでないが、多数の癌が2つのNMTの1つを欠くという発見は、NMT2に欠陥がある癌細胞のNMT阻害剤による治療を可能にする。その全容が参照によって本明細書中に組み込まれるWO2013/013302及びWO2014/067002を参照のこと。

【0099】

特定の癌、一例では、リンパ腫において、後成的なメカニズムによりNMT2発現が低減又は排除されることを本明細書に示す。NMT2発現の低減又は排除は、癌をNMTの阻害剤に感受性にする。

【0100】

幾つかの例では、NMT2遺伝子のメチル化状態の決定は、NMT阻害剤による治療に対して応答する癌を同定するために使用することができる。

10

20

30

40

50

【0101】

癌

本明細書中で使用する、用語「癌」は、細胞の異常で制御不能な成長によって引き起こされる様々な状態を指す。「癌細胞」と呼ばれ癌を引き起こし得る細胞は、制御不能な増殖、不死性、転移能力、急激な成長及び増殖率、並びに/又は幾つかの典型的な形態学的特徴等の特徴的性質を有する。癌細胞は腫瘍の型であり得るが、このような細胞は対象内に単独で存在する可能性もあり、又は非腫瘍形成癌細胞である可能性がある。(例えば、臨床的又は放射線医学的手段による)1つ又は複数の腫瘍の存在の検出、腫瘍内又は別の生物サンプル由来の(例えば、組織生検由来の)細胞検査、癌を示す血中マーカーの測定、及び癌を示す遺伝子型の検出だけには限られないが、これらを含めた任意の幾つかの方法で、癌を検出することができる。しかしながら、前述の検出法の1つ又は複数における陰性結果が癌の不在を必ずしも示すわけではなく、例えば、癌治療に対して完全な応答を示した患者が、後の再発によって証明されるように、依然として癌を有する可能性がある。

10

【0102】

本開示の具体的な例では、癌はリンパ腫である。

【0103】

本明細書中で使用する、用語「リンパ腫」は、リンパ系におけるB又はT細胞の悪性増殖を指す。「リンパ腫」は、ホジキンリンパ腫又は非ホジキンリンパ腫を含めた、多型の悪性増殖を含む。本明細書中で使用する、用語「非ホジキンリンパ腫」は、(例えば、癌性領域内のリード-ステルンベルグ細胞の存在によって特徴付けられる)ホジキンリンパ腫ではない、リンパ系におけるB又はT細胞の悪性増殖を指す。非ホジキンリンパ腫は29を超える型のリンパ腫を包含し、その間の識別は癌細胞の型に基づく。

20

【0104】

本開示のより具体的な例では、癌はBリンパ腫である。

【0105】

したがって一実施形態では、本開示の化合物、組成物及び方法は、B細胞リンパ腫を有する対象を治療するのに適している。

【0106】

B細胞リンパ腫の例には、例えば、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、B-CLL/SLL、免疫細胞腫/ヴァルデンストレーム病、及びMALT型/単球B細胞リンパ腫があるが、これらだけには限られない。パーキットリンパ腫等の小児リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、前駆体B-LBL、前駆体T-LBL、及び未分化大細胞リンパ腫の治療も企図する。

30

【0107】

他の実施形態では、癌は、リンパ腫、B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、B-CLL/SLL、免疫細胞腫/ヴァルデンストレーム病、MALT型/単球B細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、小児リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、急性骨髄性白血病、急性転化期慢性骨髄性白血病、パーキットリンパ腫、プラズマ細胞骨髄腫、腸腺癌、肺混合型扁平上皮腺癌、肺小細胞癌、肺癌、食道扁平上皮細胞癌、骨癌、乳管癌、胃びまん性腺癌、甲状腺髄様癌、尿路移行上皮癌、骨髄腫、卵巣明細胞癌、移行細胞癌(尿管及び膀胱癌)、慢性骨髄性白血病(CML)、リンパ腫-CLL、乳癌、結腸直腸腺癌、膵腺癌、卵巣癌、非小細胞肺癌、骨肉腫、黒色腫、胃腺癌、子宮内膜腺癌、又は食道扁平上皮癌である。

40

【0108】

本明細書中で使用する、用語「対象」又は「患者」は、動物を指し、例えばネコ、イヌ等の飼育動物、家畜(例えば、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ等)、実験動物(例えば、マウス、ウサギ、ラット、モルモット等)、哺乳動物、非ヒト哺乳動物、霊長類、非ヒト霊長類、げっ歯類、鳥類、爬虫類、両生類、魚類、及び任意の他の動物を、例えば含むことができる。具体的な例では、対象はヒトである。

【0109】

50

本明細書中で使用する、用語「治療」又は「治療する」は、臨床結果を含めた、有益又は望ましい結果を得ることを指す。有益又は望ましい臨床結果は、検出可能であれ検出不能であれ、1つ又は複数の症状若しくは状態の軽減又は改善、疾患程度の減退、疾患状態の安定化(すなわち非悪化)、疾患の蔓延防止、疾患進行の遅延又は緩慢化、疾患状態の改善又は緩和、疾患再発の減退、及び(部分的であれ完全であれ)寛解だけには限られないが、これらを含み得る。「治療する」及び「治療」は、治療を受けない場合の予想生存期間と比較した、生存期間の延長も意味することができる。本明細書中で使用する、「治療する」及び「治療」は予防的治療も含む。例えば、初期の癌、例えば初期段階リンパ腫がある対象を治療して進行を防ぐことができ、或いは、本明細書に記載する化合物又は組成物で寛解中の対象を治療して、再発を防ぐことができる。

10

【0110】

本明細書中で使用する、用語「サンプル」又は「生物サンプル」は、後成的修飾、遺伝子発現レベル、タンパク質レベル、酵素活性レベル等に関してアッセイすることができる、癌細胞を含む、又は癌細胞を含有する疑いがある、液体、細胞又は組織サンプルだけに限られないが、これらを含めた、対象由来の任意のサンプルを指す。具体的な例では、サンプルは、後成的修飾に関してアッセイされる。別の具体的な例では、後成的修飾は、メチル化又はアセチル化である。サンプルは、例えば、血液サンプル、分画血液サンプル、骨髄サンプル、生検サンプル、凍結組織サンプル、新たな組織試料、細胞サンプル、及び/又はパラフィン包埋切片、そこから後成的修飾の測定を可能にするのに十分な量及び適切な性質のDNAを抽出することができる材料を含むことができる。

20

【0111】

NMTの阻害剤

具体的な態様では、前記NMT阻害剤は、小分子、抗体、ペプチド断片、核酸、又はそれらの組合せを含む。

【0112】

具体的な態様では、前記小分子は、DDD85646、T.ブルセイ(*T. brucei*) NMT[J.A.Frears onら(2010) *Nature*. 464.728~723頁]のピラゾールスルホンアミド阻害剤、又はそれらの誘導体を含む。

【0113】

具体的な態様では、前記小分子は、Trs-DBAを含む。

30

【0114】

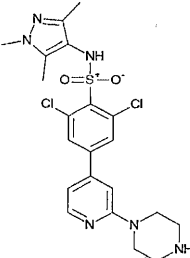
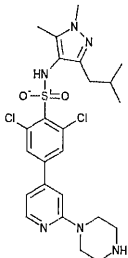
具体的な態様では、前記小分子は、DDD86481(本明細書中でPCLX-001及びCCI-002とも呼ぶ)、又はその誘導体を含む。

【0115】

DDD85646及びDDD86481をTable 1(表1)に示す。

【0116】

【表1】

Table 1	DDD00085646	DDD00086481
構造		

40

50

【0117】

具体的な態様では、前記抗体は、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である。

【0118】

具体的な態様では、前記核酸は、dsRNA分子、RNAi分子、miRNA分子、リボザイム、shRNA分子、又はsiRNA分子を含む。

【0119】

化学合成することによってNMT1の活性部位に適合するペプチド断片を完全又は部分的に調製することができる。当業者に知られる確立した、標準的な液相又は固相ペプチド合成法に従い、ペプチド断片を調製することができる。

【0120】

核酸阻害剤、又はその補体は、活性ポリペプチドの生成を下方制御することによって活性又は機能を阻害する。これは、当技術分野で周知の従来法を使用して、例えば実施例中に記載するリアルタイムPCRを使用したスクリーニングによって、モニタリングすることができる。

【0121】

核酸阻害剤の例には、遺伝子発現を下方制御するためのその使用が当技術分野で十分確立している、アンチセンス又はRNAi技術がある。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、核酸、プレmRNA又は成熟mRNAの相補配列とハイブリダイズして、塩基除去修復経路成分の生成に干渉し、結果としてその発現が低減される又は完全若しくは実質的に完全に妨げられるように設計することができる。コード配列を標的化することに加えて、アンチセンス技法を使用して、例えば5' 隣接配列における遺伝子の制御配列を標的化することができ、それによって、アンチセンスオリゴヌクレオチドは発現制御配列に干渉することができる。

【0122】

アンチセンスの代替は、標的遺伝子と同じ方向であるセンスに挿入される標的遺伝子の全部又は一部のコピーを使用して、同時抑制により標的遺伝子の発現の低減を得ることである。

【0123】

追加的に、二本鎖RNA(dsRNA)サイレンシングを使用することができる。dsRNA媒介サイレンシングは遺伝子特異的であり、RNA干渉(RNAi)と呼ばれることが多い。

【0124】

別の例では、転写時にリボザイムを生成する核酸を使用し、リボザイムは特定部位で核酸を切断することができ、したがってNMTに影響を与える際にも有用である。

【0125】

更に別の例では、低分子RNAを利用して遺伝子発現を制御することができる。これらは、低分子干渉RNA(siRNA)によるmRNAの標的化分解、転写後遺伝子サイレンシング(PTG)、マイクロRNA(miRNA)によるmRNAの発現段階制御配列特異的翻訳抑制及び標的化転写遺伝子サイレンシングを含む。

【0126】

更に別の例では、細胞内での低分子ヘアピン型RNA分子(shRNA)の発現を使用することができる。shRNAは、小ループ配列により隔てられた低分子逆方向反復配列からなる。一つの逆方向反復配列は遺伝子標的と相補的である。細胞内で、shRNAはDICERによってsiRNAにプロセシングされ、siRNAは標的NMT遺伝子mRNAを分解し発現を抑制する。好ましい実施形態では、ベクターからの転写によってshRNAが(細胞内で)内在的に生成される。

【0127】

本明細書中で使用する、用語「阻害する」又は「阻害剤」は、タンパク質合成、レベル、活性、若しくは機能を阻害する任意の方法又は技法、並びに対象のタンパク質、例えばNMT1の合成、レベル、活性、若しくは機能の誘導又は刺激を阻害する方法を指す。この用語は、対象のタンパク質の合成、レベル、活性、若しくは機能を制御することができる任意の代謝又は制御経路も指す。この用語は、他の分子との結合及び複合体形成を含む。したがって用語「阻害剤」は、その施用がタンパク質機能若しくはタンパク質経路機能の阻

10

20

30

40

50

害をもたらす、任意の作用物質又は化合物を指す。しかしながら、この用語は、これらの機能のどれもが、同時に阻害されなければならないことを意味するものではない。

【0128】

投与/医薬組成物

他の例では、対象に投与するのに適した薬学的に有効な量の化合物及び/又は組成物を提供する。

【0129】

本明細書中で使用する、用語「薬学的に有効な量」は、研究者又は臨床医によって調査中である組織、系、動物若しくはヒトの生物学的又は医学的応答を誘導する、薬剤又は薬学的作用物質の量を指す。この量は治療有効量であり得る。

10

【0130】

化合物及び組成物は、薬学的に許容される形で提供する。

【0131】

本明細書中で使用する、用語「薬学的に許容される」は、過度の毒性、炎症、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症がなく妥当なベネフィット/リスク比で釣り合う、対象の組織との接触における使用に適した、化合物、材料、組成物、及び/又は剤形(単用量等)を指す。それぞれの担体、賦形剤等も、製剤の他の成分と適合性がある意味で「許容される」。

【0132】

実際の投与量、並びに投与の速度及び経時的变化は、治療される対象の性質及び重症度に依存する。治療の処方、例えば投与量に関する決定等は、一般開業医及び他の医師の責任範囲内にあり、典型的には治療する障害、個々の患者の状態、送達の部位、投与の方法、及び開業医に公知の他の要因を考慮に入れる。

20

【0133】

化合物又は組成物は、治療される状態に応じて、同時又は連続的のいずれかで、単独又は他の治療と併用して投与することができる。

【0134】

製剤は便宜上単位剤形で存在してよく、製薬の技術分野で周知の任意の方法によって調製することができる。このような方法は、1つ又は複数の補助成分を構成し得る担体と活性化合物を結合させる工程を含む。一般に製剤は、液状担体若しくは微細固形担体又はその両方と活性化合物を均一且つ密接に結合させる工程、及び次いで必要であれば、生成物を成形する工程によって調製する。

30

【0135】

経口(例えば、摂取による)、局所(例えば、経皮、鼻腔内、眼部、頬、及び舌下を含む)、肺(例えば、口又は鼻を介した、例えばエアロゾルを使用した例えば、吸入又は通気療法による)、直腸、腔内、例えば皮下、皮内、筋肉内、静脈内、動脈内、心臓内、髄腔内、脊髄内、包内、被膜下、眼窩内、腹腔内、気管内、表皮下、関節内、くも膜下、及び胸骨内を含めた注射による非経口、例えば皮下又は筋肉内へのデポ剤インプラントだけに限られないが、これらを含めて、全身/末梢であれ望ましい作用部位であれ、任意の好都合な投与経路によって、対象に化合物及び組成物を投与することができる。

40

【0136】

(例えば、摂取による)経口投与に適した製剤は、それぞれ所定量の活性化合物を含有する、カプセル剤、カシェ剤又は錠剤等の別個単位として、散剤若しくは顆粒剤として、水溶液若しくは非水溶液中の液剤若しくは懸濁剤として、又は水中油滴型液状エマルジョン若しくは油中水滴型液状エマルジョンとして、ポーラスとして、舐剤として、又はペーストとして提供できる。

【0137】

(例えば、皮膚、皮下、筋肉内、静脈内及び皮内を含めた注射による)非経口投与に適した製剤には、抗酸化剤、パuffers、防腐剤、安定剤、静菌剤、及び目的とするレシピエントの血液と製剤を等張にする溶質を含有し得る、水性及び非水性の等張で、発熱物質を

50

含まない滅菌注射溶液、並びに懸濁剤及び増粘剤を含み得る水性及び非水性滅菌懸濁液、並びに血中成分又は1つ若しくは複数の器官を化合物が標的化するように設計されたリポソーム又は他のマイクロ粒子系がある。このような製剤において使用するのに適した等張媒体の例には、塩化ナトリウム注射液、リンゲル液、又は乳酸加リンゲル注射液がある。

【0138】

製剤は単位用量又は多数回用量密閉容器、例えば、アンプル及びバイアル中で提供することができ、使用直前に滅菌液状担体、例えば、注射水の添加のみを必要とするフリーズドライ(凍結乾燥)状態で保存することができる。即席の注射溶液及び懸濁液は、滅菌粉末、顆粒、及び錠剤から調製することができる。製剤は、リポソーム、又は血中成分又は1つ若しくは複数の器官を活性化化合物が標的化するように設計された他のマイクロ粒子系の形であってよい。

【0139】

本明細書に開示する化合物を含む組成物は、標準的な化学療法レジメと併用して、又は放射線療法と共に、本明細書に記載する方法中で使用することができる。

【0140】

併用療法

患者における癌、例えば、リンパ腫の場合、公知の治療は、治療する対象、疾患の型、及びその段階に依存する。例えば、リンパ腫を含む様々な癌に関する既存の治療モダリティは当業者公知である。したがって、癌に対する公知の治療は、本明細書に開示するNMT阻害剤と一緒に使用することができる。

【0141】

リンパ腫の治療において使用するための一般的な薬剤の組合せには、CHOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ピンクリスチン、及びプレドニソン)、GAP-BOP(すなわち、シクロホスファミド、ドキシソルピシン、プロカルバジン、プレオマイシン、ピンクリスチン、及びプレドニソン)、m-BACOD(すなわち、メトトレキサート、プレオマイシン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、デキサメタゾン、及びロイコボリン)、ProMACE-MOPP(すなわち、プレドニソン、メトトレキサート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、エトポシド、ロイコボリンと標準的なMOPP)、ProMACE-CytaBOM(プレドニソン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、エトポシド、シタラビン、プレオマイシン、ピンクリスチン、メトトレキサート、及びロイコボリン)、並びにMACOP-B(メトトレキサート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、プレドニソン、プレオマイシン、及びロイコボリン)があるが、これらだけには限られない。再発侵襲性非ホジキンリンパ腫に関して、以下の化学療法剤の組合せ、IMVP-16(すなわち、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メトトレキサート、及びエトポシド)、DHAP(すなわち、デキサメタゾン、-16高用量シタラビン、及びシスプラチン)、ESHAP(すなわち、エトポシド、メチルプレドニソン、高用量シタラビン、及びシスプラチン)、CEFF(B)(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プロカルバジン、プレドニソン、及びプレオマイシン)、並びにCAMP(すなわち、ロムスチン、ミトキサントロン、シタラビン、及びプレドニソン)を本明細書に記載する化合物及び組成物と共に使用することができる。

【0142】

再発性、耐性ホジキン病等の特定リンパ腫に使用するための救済化学療法用の治療には、VABCD(すなわち、ビンブラスチン、ドキシソルピシン、ダカルバジン、ロムスチン及びプレオマイシン)、ABDIC(すなわち、ドキシソルピシン、プレオマイシン、ダカルバジン、ロムスチン、及びプレドニソン)、CBVD(すなわち、ロムスチン、プレオマイシン、ビンブラスチン、デキサメタゾン)、PCVP(すなわち、ビンブラスチン、プロカルバジン、シクロホスファミド、及びプレドニソン)、CEP(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びプレドニムスチン)、EVA(すなわち、エトポシド、ビンブラスチン、及びドキシソルピシン)、MOPLACE(すなわち、シクロホスファミド、エトポシド、プレドニソン、メトトレキサート、シタラビン、及びピンクリスチン)、MIME(すなわち、メチル-gag、イフォスファミド、メト

10

20

30

40

50

トレキサート、及びエトポシド)、MINE(すなわち、ミトクアゾン、イフォスファミド、ビノレルビン、及びエトポシド)、MTX-CHOP(すなわち、メトトレキサート及びCHOP)、CEM(すなわち、ロムスチン、エトポシド、及びメトトレキサート)、CEVD(すなわち、ロムスチン、エトポシド、ビンデシン、及びデキサメタゾン)、CAVP(すなわち、ロムスチン、メルファラン、エトポシド、及びプレドニソン)、EVAP(すなわち、エトポシド、ピンブラスチン、シタラビン、及びシスプラチン)、並びにEPOCH(すなわち、エトポシド、ピンクリスチン、ドキソルビシン、シクロホスファミド、及びプレドニソン)があるが、これらだけには限られない。

【0143】

乳癌に対する治療は、個々に又は組み合せてのいずれかで、パクリタキセル、ドセタキセル、ナノ粒子アルブミン結合パクリタキセル、カペシタビン、ドキソルビシン、エリブリン、ビノレルビン、トラスツズマブ、カルボプラチン、シスプラチン;タモキシフェン、アナストロゾール、レトロゾール、エキセメスタン、フルベストラントを含む内分泌療法、並びにパルボシクリブ、リボシクリブ、LEE001、及びエベロリムスを含む細胞周期阻害剤;ニボルマブ及びペンブロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬による治療を含む。

10

【0144】

小細胞肺癌に対する治療は、個々に又は組み合せてのいずれかで、カルボプラチン、シスプラチン、エトポシド、イリノテカンによる治療を含む。

【0145】

非小細胞肺癌に対する治療は、個々に又は組み合せてのいずれかで、カルボプラチン、パクリタキセル、ドセタキセル、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ、ペバシズマブ、ラムシルマブ、オシメルチニブ、ネシツムマブ、クリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブ、及びニボルマブ、ペンブロリズマブを含む免疫チェックポイント阻害薬による治療を含む。

20

【0146】

膀胱癌に対する治療は、個々に又は組み合せてのいずれかで、メトトレキサート、ピンブラスチン、ドキソルビシン、シスプラチン;カルボプラチン及びパクリタキセル;ドセタキセル、ゲムシタビン及びシスプラチンによる治療を含む。

【0147】

後成的なメカニズム

上記の通り、特定の癌、一例では、リンパ腫において、後成的なメカニズムによりNMT2発現(すなわち、NMT2遺伝子発現)が低減又は排除されることを本明細書中で示す。NMT2発現の低減又は排除は、癌をNMTの阻害剤に感受性にする。

30

【0148】

本明細書中で使用する用語「後成的な」は、DNA配列に非依存的な遺伝子発現の改変を指す。

【0149】

後成的な要因には、DNAメチル化(高メチル化又は低メチル化)及びクロマチン構造の変化によって制御される遺伝子発現の改変がある。

40

【0150】

例えば、DNAメチル化パターンが遺伝子発現と相関関係にあることが公知である。DNAメチル化は、CpG部位における5位のシトシンで起こる。

【0151】

他の例では、後成的な変化は、変化したアセチル化パターン又はレベルである。

【0152】

後成的なメカニズム - メチル化

本明細書中の幾つかの例では、NMT2遺伝子のメチル化状態の決定は、NMT阻害剤による治療に应答する癌を同定するために使用することができる。

【0153】

50

本明細書中で使用する用語「メチル化状態」は、遺伝子、例えば、NMT2中のCpG部位におけるシトシン残基のメチル化のレベルを指す。CpG部位には、CpGペア(CpG pair)、CpGアイランド、及びCpGアイランドショアがある。

【0154】

用語「CpGアイランド」は、平均ゲノムCpG出現頻度と比較して高い割合のCpG部位を含有するゲノムDNA領域を指す。

【0155】

CpGペアの例では、メチル化状態は、メチル化又は非メチル化の可能性がある。CpGアイランド若しくはCpGアイランドショア又は任意のひと続きの残基の例では、メチル化状態は、生物サンプル中の特定のCpGアイランド若しくはCpGアイランドショア又はひと続きの残基におけるメチル化Cの相対的又は絶対的濃度であるメチル化のレベルを指す。

10

【0156】

プロモーターのCpG部位又はCpGアイランドのメチル化は、典型的に遺伝子の発現を低減又は排除させる。

【0157】

CpG部位又はCpGアイランドは、遺伝子のコード領域の5'領域、並びにコード領域の3'領域を囲む可能性がある。したがって、CpG部位又はCpGアイランドは、プロモーター領域を含む制御領域中のコード配列の上流、コード領域(例えば、エクソン)、コード領域の下流、例えば、エンハンサー領域、及びイントロンを含む核酸配列の複数の領域に見出すことができる。これらの領域の全ては、必要に応じてそのメチル化状態を決定するために評価することができる。

20

【0158】

NMT2遺伝子のメチル化、例えば、NMT2の高メチル化又はNMT2の低メチル化のレベルは、NMT2の発現レベルを示すために任意の適した手段によって決定することができる。

【0159】

本明細書中で使用する用語「発現レベル」は、遺伝子発現のレベルを指す。

【0160】

本明細書中で使用する用語「遺伝子」は、NMT2、(例えば、mRNA、tRNA及びrRNAだけには限られないが、これらを含めた)RNA又は前駆体等のポリペプチドの産生に必要なコード配列を含む核酸(例えば、DNA)配列を指す。ポリペプチド、RNA、又は前駆体は、完全長コード配列によって、或いは完全長又は断片の所望の活性若しくは機能特性(例えば、酵素活性、リガンド結合、シグナル変換等)が保持される限りコード配列の任意の部分によってコードされてよい。この用語は、構造遺伝子のコード領域と、それに含めて、約1kbの距離で5'及び3'末端の両方で、幾つかの例では遺伝子が完全長mRNAの長さに対応するように1kbよりも大きい距離でいずれかの末端で、コード領域に隣接して位置する配列も包含する。

30

【0161】

本明細書中で使用する用語「高メチル化」は、「正常な」及び/又は対照DNAサンプル内の対応するCpG部位若しくはCpGアイランドにおける5-メチルシチジンの量と比較した、試験DNAサンプルのDNA配列、例えば、NMT2遺伝子内の1つ又は複数のCpG CpG部位又はCpGアイランドにおける増加した5-メチルシチジンの存在に相当する平均メチル化状態を指す。

40

【0162】

幾つかの例では、高メチル化は、評価されている1つ又は複数のCpG部位に関して典型的に予想又は観察されるシトシンのメチル化の程度よりも約1%、約5%、約10%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、又は約95%超の大きなものを指す。メチル化は、当業者に公知であるように、様々な代謝条件、ストレス下等において変動することは理解されよう。幾つかの例では、高メチル化は、単一のシチジンにおけるメチル化を指す。

【0163】

本明細書中で使用する用語「低メチル化」は、「正常な」及び/又は対照DNAサンプル内

50

の対応するCpG部位若しくはCpGアイランドにおける5-メチルシチジンの量と比較した、試験DNAサンプルのDNA配列、例えば、NMT2遺伝子内の1つ又は複数のCpG CpG部位又はCpGアイランドの低減した5-メチルシチジンの存在に相当する平均メチル化状態を指す。

【0164】

典型的にはCpGモチーフは、例えば、約3kbp以内、約2.5kbp以内、約2kbp以内、約1.5kbp以内、約1kbp以内、約750bp以内、又は約500bp以内の転写開始点の近くに存在する。

【0165】

幾つかの例では、CpGアイランドの長さは、100塩基対未満、100から200塩基対の間、200から300塩基対の間、300から500塩基対の間、500から750塩基対の間;750から1000塩基対の間;100塩基対以上である。

10

【0166】

幾つかの例では、NMT2遺伝子のメチル化状態は、高メチル化であると決定される。幾つかの例では、NMT2のメチル化状態は、低メチル化であると決定される。

【0167】

サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化が高メチル化であると決定される例では、NMT2発現は、低減又は排除される。

【0168】

サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化が低メチル化であると決定される例では、NMT2発現は、低減又は排除されない。

【0169】

本明細書中で使用する用語「低減した発現」は、対照又は参照サンプルにおける発現と比較して、生物サンプルにおけるより低い遺伝子の発現レベルを指す。

20

【0170】

サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化状態は、当業者に公知であるように、メチル化定量化又は検出の広い範囲の適したデバイス及び方法を使用して決定することができる。

【0171】

適したデバイスには、ラブオンチップ技術、マイクロ流体技術、バイオモニタリング技術、陽子認識技術(例えば、Ion Torrent)、並びに/又は他の高度並列及び/又はディーブシーケンシング法があるが、これらだけに限られない。

【0172】

DNAメチル化分析の適した方法には、MALDI-TOFF、MassARRAY、Methy Light、メチル化アレルの定量分析(QAMA)、酵素領域メチル化アッセイ(enzymatic regional methylation assay)(ERMA)、HeavyMethyl、QBSUPT、MS-SNuPE、MethylQuant、定量PCR配列決定、及びオリゴヌクレオチドベースのマイクロアレイシステムがあるが、これらだけに限られない。

30

【0173】

DNAメチル化分析の更に適した方法には、メチル化特異的PCR(MSP)、バイサルファイトシーケンス(メチル化シトシンをウラシルに変換するためにバイサルファイトにより処理されたDNA配列決定とも呼ぶ)、ピロシーケンス、メチル化感受性DNA制限酵素分析、定量バイサルファイトピロシーケンス、バイサルファイトゲノム配列決定PCR及びAQAMAがあるが、これらだけに限られない。

40

【0174】

幾つかの例では、NMT2遺伝子のメチル化状態の決定は、CpGアイランド又はCpGアイランドショアのメチル化頻度を決定することを含む。メチル化が変化した核酸ポリマーのレベルの決定は様々な方法で行われ、上述の通り、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR、メチル化感受性DNA制限酵素分析、定量バイサルファイトピロシーケンス、次世代配列決定及びバイサルファイトゲノム配列決定PCRがあるが、これらだけに限られない。

【0175】

幾つかの例では、メチル化CpGジヌクレオチドモチーフを検出するためにメチル化感受性制限エンドヌクレアーゼを使用することができる。このようなエンドヌクレアーゼは、

50

非メチル化認識部位と比較してメチル化認識部位を優先的に切断することができる。非制限的な例には、Aat II、Ace III、Ad I、Acl I、Age I、Alu I、Asc I、AseI、AsiS I、Ban I、Bbe I、BsaA I、BsaH I、BsiE I、BsiW I、BsrVI、BssK 1、BstB I、BstN I、Bs I、Cla I、Eae I、Eag I、Fau I、FseI、Hha I、mP I、HinC II、Hpa 11、Npy99 I、HpyC AIV、Kas I、Mbo I、Mlu I、MapA 11、Msp I、Nae I、Nar I、Not 1、Pml I、PstI、Pvu I、Rsr II、Sac II、Sap I、Sau3A I、SfII、Sfo I、SgrA I、Sma I、SnaB I、Tsc I、Xma I、及びZra Iがある。幾つかの例では、エンドヌクレアーゼは、メチル化認識部位と比較して非メチル化認識部位を優先的に切断する。非制限的な例には、Ace II、Ava I、Bss H II、BstU I、Hpa II、Not I、及びMho Iがある。

【0176】

10

幾つかの例では、CpGジヌクレオチドモチーフのメチル化又は非メチル化形態のいずれかを選択的に修飾する化学試薬を使用することができる。修飾生成物は、直接又は容易に識別可能な生成物を作製する更なる反応の後に検出されてもよい。変化したサイズ及び/又は電荷を検出する手段は、修飾生成物を検出するために使用することができ、電気泳動、クロマトグラフィー、及び質量分析法があるが、これらだけに限られない。選択的な修飾のためのこのような化学試薬の例には、ヒドラジン及びバイサルファイトイオンがある。ヒドラジン修飾DNAは、それを切断するためにピペリジンにより処理することができる。バイサルファイトイオン処理DNAは、アルカリで処理することができる。ハイブリダイゼーション、増幅、配列決定、及びリガーゼ連鎖反応だけには限られないが、これらを含めた特異的な配列に依存した検出のための他の手段が使用されてもよい。所望の場合、このような技術の組合せを使用することができる。

20

【0177】

NMT2後成的修飾 - 対象における癌の診断、予後、分類、層別化、又はモニタリングの1つ又は複数のためのマーカー。

NMT2のメチル化状態の決定は、治療レジメン、例えば、化学療法剤又はNMTの阻害剤等の生物学的作用物質の有効性をモニタリングするために使用することができる。

【0178】

NMT2のメチル化状態の決定はまた、患者にどの治療又は予防レジメンを利用すべきか決定するために使用することができる。

【0179】

30

NMT2のメチル化状態の決定はまた、作用物質を試験するために患者を群に層別化するため、及び様々な群の患者に対するその有効性を決定するために使用することができる。このような使用は、後成的に発現抑制される遺伝子及び/又は遺伝子のサイレンシングの量に基づくカテゴリーに癌を特徴付ける。診断又は特徴付けの場合、データ又は判定を含む情報は、記述されても、或いは電子的に又は口頭で伝達されてもよい。同定は、機械によって補助されてよい。データ又は判定の伝達は、例として臨床検査室から診察室(clinical Office)へ、臨床医から患者へ、又は専門医から一般医へである可能性がある。データ又は判定の伝達の形式は、典型的には有形媒体又は物理的な人の行為を含むことができる。

【0180】

40

一例では、組織又は細胞試料或いは液体から得られる試験サンプルは、死んだ若しくは損傷した腫瘍細胞から放出される剥離した腫瘍細胞及び/又は遊離核酸を含む。

【0181】

核酸には、RNA、ゲノムDNA、ミトコンドリアDNA、一本鎖又は二本鎖のものがある。このようなサンプルから得られる精製した又は精製していない形態のあらゆる核酸試料を利用することができる。試験サンプルは、癌細胞若しくは前癌細胞又はそれらからの核酸を含有する可能性がある。具体的な例では、ゲノムDNAは単離される。

【0182】

正常な遺伝子発現を細胞に戻すため或いはメチル化の検証のために、脱メチル化剤をin vitro又はin vivoにおいて細胞と接触させてもよい。適した脱メチル化剤には、5-アザ-

50

2'-デオキシシチジン、5-アザシチジン、ゼブラリン、プロカイン、及びL-エチオニンがあるが、これらだけに限られない。この反応は、診断のため、素因を決定するため、及び適した治療レジメを決定するため使用することができる。

【0183】

一例では、NMT2のメチル化状態の決定は、癌の発症、転移、腫瘍再発のリスクの状態、治療に対する応答の予測、リンパ腫等の癌の同定及び/又は選択、適した治療レジメの選択、患者の層別化、並びに患者の治療を決定するためである。

【0184】

本発明の特定の実施形態では、メチル化状態は、対照との比較に基づいて部分的に又は完全に決定される。対照は、対照サンプル中のメチル化の程度及び/又はパターンに関する値又は一連の値である場合もある。本発明の特定の実施形態では、このような1つ又は複数の値は、例えば、アルゴリズムを使用して、並びに/又は予め取得された及び/若しくは保存されたデータから計算によって求めることができる。本発明の特定の実施形態では、対照に関する値又は一連の値は、サンプルに対して実施された実験から、或いは対象を使用して導き出される。例えば、対照データは、腫瘍に隣接する正常な組織等の類似の組織又は細胞由来のサンプルに対する実験から導き出すことができる。

【0185】

本発明の特定の実施形態では、分析されている1つ又は複数のCpG部位において大部分が又は完全に脱メチル化されたDNAを含む対照が使用される。このような対照は、例えば、メチルトランスフェラーゼ活性が欠如した突然変異組織若しくは細胞から及び/又は化学的に脱メチル化された組織若しくは細胞から得られ得る。例えば、対照は、メチルトランスフェラーゼの活性が欠如した組織又は細胞から得られ得る。5-アザ-2'-デオキシシチジン等の作用物質は、DNAを化学的に脱メチル化するために使用することができる。

【0186】

本発明の特定の実施形態では、分析されている1つ又は複数のCpG部位において大部分が又は完全にメチル化されたDNAを含む対照が使用される。このような対照は、例えば、対象の1つ又は複数のCpG部位において大部分が又は完全にメチル化されているとわかっているか、或いは予想される細胞又は組織から得られ得る。このような対照はまた、メチル化レベルが変えられたか、且つ/若しくは操作された細胞又は組織によっても得られるであろう。

【0187】

一例では、癌の治療に対する癌患者、例えば、リンパ腫患者における応答を予測する方法を本明細書に記載する。治療のための薬剤は、NMT阻害剤である。幾つかの例では、NMT阻害剤は、少なくとも1つの追加の化学療法と組み合わせて使用される。

【0188】

NMT2の高メチル化の存在は、NMT2遺伝子がより高い程度にメチル化されていることを示し、これは、NMT阻害剤による処置を可能にする。したがって、NMT2の高メチル化の存在は、前記治療に対してより陽性の臨床応答を示す一方、メチル化が存在しないサンプル又は対照サンプルと比較して低いメチル化のレベルは、NMT阻害剤による治療に対して不首尾の臨床応答を示す。NMT阻害剤による治療に対して陽性の臨床応答が決定された場合、前記NMT阻害剤による治療のために患者が同定又は選択される。他の場合には、患者はNMT阻害剤による治療のために選択されず、1つ又は複数の代替的な薬剤又は医学的介入が癌患者の治療により有益な可能性がある。

【0189】

したがって、対象における癌の診断、予後、分類、又はモニタリングの1つ又は複数のためのマーカーとしてのNMT2後成的修飾、例えば、NMT2のメチル化の使用を提供する。

【0190】

本明細書中で使用する用語「予後」は、乳癌等の腫瘍疾患の、癌が原因の死又は再発、転移蔓延、及び薬剤耐性を含めた進行の可能性を予測することを指す。

【0191】

本明細書中で使用する用語「予後マーカー」は、全身療法を受けていない患者の結果について知らせるか、又は(そのマーカーを標的化しない)経験的全身療法にもかかわらず、そのマーカーがない患者のそれとは異なる結果を意味するマーカーを指す。

【0192】

本明細書中で使用する用語「予測マーカー」は、マーカー状態に基づき個々の療法の示差的有効性(利点)を予測するマーカーを指す。

【0193】

本明細書中で使用する用語「診断」は、乳癌、又は他のタイプの癌の同定等、分子及び/又は病的状態、疾患若しくは状態を同定することを指す。

【0194】

試験は、診断的に又は療法レジメンと共に実施することができる。

【0195】

したがって、一態様では、癌患者(例えば、リンパ腫患者)におけるNMT阻害剤による治療に対する応答を予測する方法であって、前記癌患者(例えば、リンパ腫患者)の生物サンプルを準備する工程と、前記生物サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、NMT2遺伝子において高メチル化が決定された場合に、前記治療に対して陽性の臨床応答を予測する工程とを含む、方法を提供する。

【0196】

別の態様では、NMT阻害剤による治療に適した癌(例えば、リンパ腫)を有する患者、又は癌(例えば、リンパ腫)治療を受ける患者を同定及び/又は選択するための方法であって、癌患者の生物サンプルを準備する工程と、NMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、NMT2遺伝子において高メチル化が決定された場合に、前記NMT阻害剤による治療のために癌患者を同定及び/又は選択する工程とを含む、方法を提供する。

【0197】

癌患者の癌(例えば、リンパ腫)に適した治療レジメンを選択するための方法であって、前記癌患者の生物サンプルを準備する工程と、前記生物サンプル中のNMT2遺伝子のメチル化状態を決定する工程と、NMT2遺伝子における高メチル化及び/又は低発現が決定された場合に、治療のためにNMT阻害剤を選択する工程を含む、方法を更に提供する。

【0198】

癌(例えば、リンパ腫)を有する患者をNMT阻害剤により治療する方法であって、前記癌患者の生物サンプルを準備する工程と、前記生物サンプル中のNMT2のメチル化状態を決定する工程と、NMT2において高メチル化が決定された場合に、治療のために前記NMT阻害剤を選択する工程とを含む、方法を更に提供する。

【0199】

幾つかの状況では、NMT阻害剤治療に初期に応答する患者には再発する可能性があることは理解されよう。このような再発は、原発性腫瘍の再発及び転移の進行だけには限られないが、これらを含めた幾つかの形式で現れる可能性がある。追加的又は代替的に、別の異なる腫瘍が生じる可能性がある。

【0200】

本発明の一態様によれば、a)癌を有する対象、又は癌を有する疑いがある対象由来のサンプルを得る工程と、b)サンプルを試薬と接触させて、サンプル中に存在するNMT2のメチル化状態を示す生成物(一部の場合には、複合体)を形成する工程と、c)形成された生成物を測定して、サンプル中のメチル化NMT2の量又は濃度を決定する工程と、d)前記対象における前記癌のNMT阻害剤治療の利点を決定する工程とを含む方法であって、NMT阻害剤治療の利点の決定が、前記サンプル中のNMT2の高メチル化によって決定される、方法を提供する。

【0201】

具体的な態様では、NMT阻害剤を前記対象に投与する工程は、前記サンプル中のNMT2が、場合によっては対照と比較して、高メチル化されている場合に、指示される。

【0202】

10

20

30

40

50

一態様によれば、対象における癌を治療するための方法であって、a)対象由来のサンプルから核酸を得る工程と、b)工程a)の核酸にバイサルファイト修飾を実施する工程と、c)PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、或いはNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用した、工程b)からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法を実施する工程と、e)サンプル中のNMT2のプロモーター領域のプロモーターのメチル化レベルを、場合によっては対照と比較して、決定する工程と、g)サンプル中のNMT2遺伝子のプロモーター領域のプロモーターのメチル化レベルが高メチル化であると決定された場合に、前記患者をNMTに対する阻害剤により治療する工程とを含む、方法を提供する。

10

【0203】

一態様によれば、癌を有する患者のために治療を選択するためのin vitroアッセイであって、a)対象由来のサンプルから核酸を得る工程と、b)工程a)の核酸にバイサルファイト修飾を実施する工程と、c)PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、或いはNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用した、工程b)からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法を実施する工程と、e)サンプル中のNMT2のプロモーター領域のプロモーターのメチル化レベルを、場合によっては対照と比較して、決定する工程とを含み、サンプル中のNMT2遺伝子のプロモーター領域が高メチル化されていると決定された場合に、選択される治療がNMT阻害剤である、アッセイを提供する。

20

【0204】

一態様によれば、癌を有する患者のために治療を選択するための患者由来のサンプルのin vitroアッセイであって、a)前記サンプル中の核酸にバイサルファイト修飾を実施する工程と、b)工程a)からのNMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを使用してNMT2遺伝子のプロモーターのメチル化を決定する工程とを含むアッセイを提供する。

30

【0205】

アッセイの一態様では、工程b)は、PCR、メチル化特異的PCR、定量メチル化特異的PCR(QMSP)、リアルタイムメチル化特異的PCR、メチル化DNA特異的結合タンパク質を使用したPCRアッセイ、定量PCR、DNAチップベースのアッセイ、ピロシーケンス、又は工程a)からのバイサルファイト修飾核酸に対するバイサルファイトシーケンスから選択される方法によって実施される。

【0206】

一態様では、NMT2遺伝子の高メチル化の検出は、配列番号1及び/又は配列番号2を含むプライマーにより実施される。

【0207】

一態様では、癌患者の癌に適した治療を選択するためのキットであって、a)サンプル中のNMT2遺伝子のプロモーター領域が高メチル化されていると決定された場合に、選択される治療がNMT阻害剤である、前記癌患者のサンプルのNMT2遺伝子のメチル化状態を決定するための1つ又は複数の試薬と、b)その使用説明書とを含む、キットを提供する。

40

【0208】

一態様では、前記試薬は、NMT2遺伝子のプロモーター領域に特異的なPCRプライマー及び/又はプローブを含む。

【0209】

一態様では、癌を有する対象を治療するためのNMT阻害剤の使用であって、前記対象由来のサンプル中のNMT2遺伝子が高メチル化されていると決定されている、使用を提供する。

50

【0210】

一態様では、癌を有する対象を治療するための医薬の製造のためのNMT阻害剤の使用であって、前記対象由来のサンプル中のNMT2遺伝子が高メチル化されていると決定されている、使用を提供する。

【0211】

後成的なメカニズム - アセチル化

上述の通り、幾つかの例では、後成的修飾はヒストンアセチル化である。

【0212】

遺伝子サイレンシングの基礎をなす付加的なメカニズムは、ヒストンアセチル化を含む。ヒストンアセチル化は、ヒストンアセチルトランスフェラーゼによって媒介され、ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)によってアセチル基が除去される。

10

【0213】

リンパ腫細胞は、異常にメチル化を増加させ(高メチル化)、アセチル化を低減させて(低アセチル化(hypoacetylation))、NMT2を発現抑制することを本明細書において示す。

【0214】

バルプロ酸、バルプロアート、VPA; プチラート、NaB; ポリノスタット、SAHA; ロミデプシン、デブシペプチド; ベリノスタット、PXD101; トリコスタチンA、TSA; アピシジン; エンチノスタット(etinostat)、MS275; モセチノスタット、MGCD0103; パノビノスタット、LBH589; ギビノスタット、ITF2357; プラシノスタット、SB939; CHR--39961; キダミド、CS055、HBI--8000; AR--42; キシノスタット、JNJ--26481585; アベキノスタット、PCI--24782; レスミノスタット、4SC--201、RAS2410; CG200745; M344、ME--344; WJ25591; A248; NK--HDAC--1; MHY219; Ky--2; HDACi 4b; OBP--801、YM753; DWP0016; BRD8430; ラルガゾール; アダマンチン; トリフルオロメチルオキサジアゾール(TFMO)シリーズ、例えば、TMP195; YK--4--272、化合物2があるが、これらだけには限られない、幾つかの構造的に異なるクラスのHDAC阻害剤がある(それら全ての全容が参照により本明細書に組み込まれるKatrina J. Falkenberg 1及びRicky W. Johnstone (2014) NATURE REVIEWS | DRUG DISCOVERY、第13巻、673~691頁; 並びにAndrew A. Lane and Bruce A. Chabner (2009) J Clin Oncol 27:5459~5468頁参照)。

20

【0215】

ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤、DNAデメチラーゼ阻害剤、及び/又はヒストンデメチラーゼ阻害剤。

30

ヒストンアセチルトランスフェラーゼ(HAT)は、ヒストンタンパク質にある保存リジンアミノ酸をアセチルCoAからアセチル基を転移してe-N-アセチルリジンを形成することによりアセチル化する酵素である。ヒストンアセチル化は、一般的に転写活性化と関連する。これらは、一般的にユークロマチンと関連付けられる。ヒストンアセチルトランスフェラーゼ(HAT)は、転写共役因子として働く。ヒストンアセチル化は、クロマチン構造を制御する際に重要な役割を果たし、2つのクラスの酵素、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ(HAT)及びヒストンデアセチラーゼ(HDAC)によって厳重に制御される。

【0216】

HAT阻害剤の非制限的な例には、アナカルド酸、CPH2、MB-3、及びクルクミン(Sigma-Aldrich社)がある。

40

【0217】

DNAメチルトランスフェラーゼは、メチル基のDNAへの転移を触媒する酵素のファミリーである。メチル基をS-アデノシルメチオニン(AdoMet、SAM)からC-5位のシトシンへ転移する5つの関連するDNAシトシン-5-メチルトランスフェラーゼ(DNMT)がある。阻害剤は、抗増殖活性を有することが示されている。

【0218】

DNAメチルトランスフェラーゼ阻害剤の非制限的な例には、5-アザシチジン、ゼブラリン、コーヒー酸プルム(Caffeic acid purum)、クロロゲン酸、(-)-エピガロカテキンガラート、ヒドララジン、塩酸プロカインアミド、塩酸プロカイン、プサムマプリンA、及びR

50

G108(Sigma-Aldrich社)がある。

【0219】

DNA脱メチル化は、複製非依存的プロセス(replication-independent process)によって受動的又は能動的のいずれかで達成することができる。

【0220】

メチル化は偏在するメチルドナー、S-アデノシル-メチオニンを使用してヒストンメチルトランスフェラーゼ(HMT)によって行われるが、ヒストンデメチラーゼ(HDM)に関する2つの異なる酸化メカニズムが脱メチル化につながることを示された。リジン特異的デメチラーゼ1(LSD1/KDM1)が最初に発見されたHDMであった。LSD1は、メチルアミノ基からの水素をFADへ転移して、メチルイミニウムイオンを生成する全体を触媒することによってリジンのメチルアンモニウム基を酸化する。他の公知のHDMは、JmjCドメインを含有することによって特徴付けられるJumonjiタンパク質ファミリーからのものである。

10

【0221】

ヒストンデメチラーゼ阻害剤の非制限的な例には、ダミノジット、GSK J1、GSK J2、GSK J4、GSK J5、GSK LSD1二塩酸塩、IOX 1、JIB 04、RN1二塩酸塩、TC-E 5002、トラニルシプロミン塩酸塩(Tocris社 - Bio-Techneブランド)がある。

【0222】

本明細書中の幾つかの例では、癌を有する対象又は癌を有する疑いがある対象は、PCLX-001等のNMT阻害剤、並びにヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤、DNAデメチラーゼ阻害剤、及び/又はヒストンデメチラーゼ阻害剤により治療される。

20

【0223】

本明細書中の幾つかの例では、高メチル化のメチル化状態を有する対象は、PCLX-001等のNMT阻害剤、並びにヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤、DNAデメチラーゼ阻害剤、及び/又はヒストンデメチラーゼ阻害剤により治療される。

【0224】

理論によって束縛されることは望まないが、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ阻害剤、DNAデメチラーゼ阻害剤、及び/又はヒストンデメチラーゼ阻害剤は、クロマチンを凝集した形態に維持すると考えられる。

【0225】

キットの形でこのような方法において使用される試薬、化合物及び/又は組成物を提供することによって、本発明の方法を好都合に実施することができる。このようなキットは、組成物を含有することが好ましい。このようなキットは、その使用説明書を含有することが好ましい。

30

【0226】

本明細書に記載する本発明のより良い理解を得るために、以下の実施例を述べる。これらの実施例が、単なる例示目的であることは理解されるはずである。したがって、それらはいかなる形式でも本発明の範囲を制限することはないはずである。

【実施例】

【0227】

以下の実施例では、当業者には理解されると予想される標準的な方法を使用した。

40

【0228】

(実施例1)

967の癌細胞系に関する専門書(CCLE)のデータベース及びThe Cancer Genome Atlas(TCGA)の8178の原発性腫瘍におけるNMT発現レベル。

【0229】

図1では、NMT2は、NMT1(log₂マイクロアレイ蛍光 約6~9)と比較して非常に広範囲のmRNA発現(log₂正規化マイクロアレイ蛍光 約3~11)を示す(図1A)。NMT1(黒)及びNMT2(灰色)発現値は、TBP(TATA結合タンパク質)に対するlog変換RSEM正規化カウントである(図1B)。数種の癌亜型由来の癌細胞系のNMT2 mRNA発現を、プロットし、967の癌細胞系全てのプロットと比較する(図1C~図1E)。スチューデントのT検定を、全腫瘍と各群との比較に

50

より実施した。***は、0.001より小さいP値を示す。パーキットリンパ腫細胞系ラモス、及びBL-2並びにびまん性大細胞型B細胞リンパ腫DOHH-2、WSU-DLCL2における絶対的定量NM T2(パネルF)mRNAコピーを、不死化「正常」Bリンパ球細胞系IM-9と比較してデジタルドロ ップレットPCR(digital droplet PCR)によって測定した(n=3)。不死化「正常」Bリンパ球 細胞系IM-9と比較した様々なパーキットリンパ腫細胞系ラモス、及びBL-2並びにびまん 性大細胞型B細胞リンパ腫DOHH-2、WSU-DLCL2におけるミリストイル化活性(n=3)(図1G)。成 人DLBCL患者の無増悪生存期間に関するNMT2発現(図1H)。カプラン-マイヤープロットは、 高いNMT2発現(上の曲線)対低いNMT2発現(下の曲線)を有するDLBC患者(GSE31312、n=470) のPFSを示す(図1I)。P値を、ログランク検定によって求めた。

【0230】

遺伝子サイレンシングの根底にある顕著なメカニズムは、最も顕著にはCpGアイランド におけるDNAメチル化と共にヒストンアセチル化を含む。コンピュータによる解析は、NMT 2 5'制御領域のCpGアイランドを明らかにし、図2Aに示す。リンパ腫細胞系及び不死化IM9 B細胞由来のDNAのバイサルファイトシーケンスは、DOHH2及びSU-DLCL2リンパ腫細胞中の NMT2遺伝子座がメチル化されていたが、BL2及び良性IM9細胞ではされていなかったことを 裏付けた(図2B)。細胞系のメチル化状態を確認するために、本発明者らは、対照としてDA PK1を使用し、悪性Bリンパ球だけが高度にメチル化されていたことを発見した(図2C)

【0231】

それにより、本明細書において、NMT2発現が、一般的にリンパ腫では失われていること 、及びこの現象がより高悪性度の疾患と関連付けられることを示している。

【0232】

リンパ腫におけるNMT2発現の消失はほぼ完全であり、このことは、この癌におけるNMT2 の後成的なサイレンシングを示唆する。

【0233】

後成的修飾とヒトリンパ腫細胞系及び腫瘍におけるNMT2発現の制御の間の直接的な関連 を立証するために、本発明者らは、次に細胞をDNAメチル化及びヒストン脱アセチル化の 阻害剤、それぞれデオキシアザシチジン(DAC)及びスベロイルアニリドヒドロキサム酸(SA HA)で処理した。それぞれは、リンパ腫細胞におけるNMT2 mRNAレベルの時間及び濃度依存 的な回復をもたらし、DAC及びSAHAによる組合せ処理は、ラモス、BL2、DOHH2及びWSU-DLC L2細胞における転写レベルを非形質転換IM9細胞におけるものよりも回復させた(図3A~図 3D)。これらの阻害剤は、一緒に添加すると相乗的に働いた。DAC及びSAHAの組合せによる BL2細胞の処理は、NMT2発現を6倍増加させ、結果としてIM-9細胞において見られる発現に 近いNMT2レベルになった。

【0234】

BL2(図3、パネルA)及びIM9(図3、パネルB)におけるNMT2 mRNAコピーの絶対的定量を、 ヒストンデアセチラーゼ酵素阻害剤(SAHA)の存在下における高濃度の脱メチル化剤(DAC) による24時間の処理後に測定した(n=3)。WSU-DLCL2は、図3C及び図3Dに示す。

【0235】

ヒストンデアセチラーゼ阻害剤(SAHA)の存在下における高濃度の脱メチル化剤(DAC)に よる24時間の処理後のBL2(図3E)及びIM9(図3F)におけるNMT2タンパク質レベルの定量化(G APDHレベルに対して正規化した)。3回の独立した実験と1つの代表的なウエスタンプロッ トのグラフ表現。

【0236】

患者サンプルから抽出したデータを使用して、本発明者らは、NMT2発現(RSEM正規化カ ウント)とNMT2メチル化(ベータ値)状態との間の逆相関を発見した(スピアマン係数-0.4;p =0.0082)(図3G)。

【0237】

BL2細胞における、組合せ処理後のNMT2 mRNAの増加は、タンパク質レベルの増加と関連 付けられた(図3E~図3F)。しかしながら、DOHH2、及びWSU-DLCL2細胞では、DAC及び/又は SAHAによる処理時のNMT2 mRNAレベルの著しい増加にもかかわらずウエスタンプロッティ

10

20

30

40

50

ングによってNMT2は検出されなかった。患者サンプルにおけるNMT2発現は、NMT2メチル化状態と逆に相関した(図3G)。

【0238】

合わせて、これらの結果は、リンパ腫細胞が異常にメチル化を増加させ、アセチル化を低減させてNMT2を発現抑制すること、及びこの発現の消失がより高悪性度の疾患と関連付けられることを示した。

【0239】

(実施例2)

本発明者らは、次に、腫瘍の進行を緩和することができるかどうかを判断するために *in vivo* におけるDDD86481の治療上の可能性を調査した。

10

【0240】

本発明者らは、 1×10^7 のBL-2(BL)又はDOHH-2(DLBCL)細胞を免疫低下NODscidマウスの脇腹に皮下注射することによって発症させた2種のリンパ腫細胞系由来のマウス異種移植(CDX)モデルにおいてDDD86481単剤療法の殺腫瘍性効果の可能性を試験した。DOHH-2腫瘍(125~200mm³)を有するマウス(群当たりn=10)の反対の脇腹に1kg(mpk)当たり1日1回(QD)10、20、50mg若しくは50mg(1日おき、QOD)の用量でPCLX-001を、又は1日1回生理的食塩水対照を皮下注射した。

【0241】

本発明者らは、用量依存的な殺腫瘍性効果を観察し、これは、PCLX-001が20mpk又は50mpk QODで与えられた場合に統計的有意性があった($p < 0.05$)。

20

【0242】

DOHH2腫瘍(125~200mm³)を有するマウス(群当たりn=10マウス)では、反対の脇腹に1日1回20mg/kg又は1日おきに50mg/kg($p < 0.001$)で皮下注射したPCLX-001は、有意な殺腫瘍性効果があった(図4B)。1日1回50mg/kgで注射した場合、PCLX-001は腫瘍を70%縮小させた(7日目の平均腫瘍サイズ、 44.0 ± 8.1 mm³)。しかしながら、これは、いくらかの体重減少を伴い、5日間の治療の中断を必要とした(図示せず)。しかしながら、治療再開時に、95%の平均腫瘍成長抑制(TGI)が16日目までに観察された。重要なことに、10匹中6匹のマウスの腫瘍体積が14日から16日の間に縮小し、このことは、より長い治療期間が有益であることが証明されたであろうことを示した。

【0243】

同様に、BL2 CDXを有するマウスでは、20mg/kgのPCLX-001は、9日目までに40%のTGIに至った($p < 0.05$)(図5A)。連続した13日間に50又は60mg/kgで与えたPCLX-001は、それぞれ9匹中9匹及び7匹中7匹のマウスで腫瘍を消失させた。1日当たりより高用量の生き残らなかった4匹のマウスが薬物毒性又は腫瘍崩壊症候群により死亡したかどうかはわからない。一部のマウスは死亡したにもかかわらず、1日1回60mg/kgの投薬では利点が見られなかった。したがって、最大耐用量は50mg/kgのようである。

30

【0244】

これらの結果は、DDD86481が *in vivo* においてNMT2に欠陥があるB細胞リンパ腫の腫瘍を縮小又は除去することができることを示唆する。

【0245】

PCLX-001はまた、BL2腫瘍における全NMT特異的活性を濃度依存的に低下させた($p < 0.05$)(図5C)。2つの独立したリンパ腫CDXモデルにおけるこれらの結果は、PCLX-001が *in vivo* においてNMT2に欠陥があるB細胞リンパ腫を根絶することができることを裏付けている。

40

【0246】

CDXはヒト腫瘍の複雑さが欠けているので、免疫組織化学又はRNA *in situ*ハイブリダイゼーションによってNMT2に欠陥があるDLBCLを有する患者を同定するための方法を開発した(図5D及び図5E)。本発明者らは、その後、NODscidマウスのDLBCL患者由来の異種移植(PDX)モデルを確立するために、患者「DLCL3」からの1つのこのような腫瘍を切除し、増殖させた。最初の平均腫瘍体積は240mm³であった(図5F)。

【0247】

50

それぞれ8匹のマウスからなる群において治療レジメンを評価した。1日1回20mg/kgで21日間のPCLX-001は、60%のTGIをもたらした($p < 0.001$)。(おおよそ15%の体重減少からマウスを回復させるために)3日間の処置の一時中止によって隔てられた2つの9日間の期間における1日1回50mg/kgのPCLX-001は、13日目に生存マウス7匹のうちの6匹で腫瘍を消失させ、7日目に1匹の検出可能な腫瘍がないマウスが死亡した(図5F)。外科的除去対照及びPCLX-001処置PDX腫瘍において、本発明者らは、濃度依存的な腫瘍サイズの縮小を確認した(図5G)。50mg/kgの処置で残った腫瘍だけで、PCLX-001が効果的にアポトーシスを誘導し(図5H)、細胞増殖を減少させた(図5I)。したがって、マウスPDXモデルにおいてNMT2に欠陥があるリンパ腫を、同定し、治療することができる。更に、8匹のうちの7匹のマウスにおけるDLBCL PDX腫瘍の根絶は、NMT2発現の消失が一部のDLBCL症例において必須のドライバー事象であることを示唆する。

10

【0248】

(実施例3)

DLBCL異種移植結果

Table 2(表2)のDOHH-2-e225プロトコールに従って、雌のSCIDマウスの7つの群($n=10$ /群)に終了までs.c.投与した。

【0249】

【表2】

Table 2 マウスプロトコール-DLBCL

20

群	処置
1	対照
2	1日1回10mpkのCCI-002 SC
3	1日1回10mpkのCCI-002 SC、0日目に開始する週に1回の3mpkのドキシソルビシン IVと共に
4	1日1回20mpkのCCI-002 SC
5	1日おきに(QOD)50mpkのCCI-002 SC
6	1日1回(QD)50mpkのCCI-002 SC × 4、5日間の休薬、その後、1日1回(QD)50mpk SCを再開
7	0日目に開始する週に1回の4mpkのドキシソルビシン IV

30

【0250】

図4Aは、各群における個々のマウス腫瘍体積の分布を示すボックス及びウィスカープロットを示す。

40

【0251】

図4Bは、単剤療法における腫瘍成長中央値を示す。

【0252】

図4Cは、併用療法における腫瘍成長中央値を示す。

【0253】

有効性

対照マウス(1群)における腫瘍成長

1群のマウスには、1日目から開始してqd × 16のスケジュールで媒体を与え、これは、パーセントTGIの算出及び統計的比較のための対照群の役割を果たした。16日目に、1群に関する腫瘍体積中央値(MTV)は2213mm³であり、1764から2944mm³の範囲であった(図4A)。10

50

匹全ての対照マウスに腫瘍が生着した。1群対照に関する腫瘍成長中央値は、元の腫瘍サイズ $123.4 \pm 6.1 \text{mm}^3$ から進行した。

【0254】

1日1回の単剤療法としてのCCI-002による処置に対する応答(2群及び4群)

2群及び4群をそれぞれ、s.c. qd × 16で10mg/kg及び20mg/kgの活性用量のCCI-002で処置し、16日目に1895及び922 mm^3 のMTVを得た。これらの腫瘍体積中央値(MTV)は、2群に関しては14%の有意でないTGI($P > 0.05$)及び4群に関しては58%の有意なTGI($P < 0.001$)に対応し、これは、両群とも可能性のある治療活性閾値より低いままであった。全ての処置マウスに腫瘍が生着した。

【0255】

CCI-002及びドキシソルピシンの併用療法による処置に対する応答(3群)

3群をs.c. qd × 16での10mg/kgの活性用量のCCI-002及びi.v. qwk × 3でのドキシソルピシンの組合せにより処置し、16日目に864 mm^3 のMTVを得た。3群には11日目に過度の体重減少のため安楽死させた動物が1匹いた。プロトコールに従って、その動物のサンプルを採取し、NTR死亡として分類し、全ての分析から除いた。3群のMTVは61%の有意なTGI($P < 0.001$)に対応する864 mm^3 であり、これは、可能性のある治療活性閾値を上回った(図4A)。3群の併用は、対応するCCI-002単剤療法(3群対2群、 $P < 0.001$)よりも有意に効果的であったが、対応するドキシソルピシン処置群(3群対7群、 $P > 0.05$)よりは有意に効果的ではなかった。全ての処置マウスに腫瘍が生着した。

【0256】

高用量CCI-002単剤療法による処置に対する応答(5群及び6群)

5群及び6群を、それぞれ、s.c. 1日おきqod × 8又はqd × 4/5日間休薬/qd × 14で50mg/kgの活性用量のCCI-002により処置し、16日目に1018及び226 mm^3 のMTVを得た。これらのMTVは、5群に関する54%の有意なTGI($P < 0.01$)及び6群に関する90%($P < 0.001$)に対応し、6群は可能性のある治療活性閾値より高かった(図4A)。全ての処置マウスに腫瘍が生着した。

【0257】

ドキシソルピシン単剤療法による処置に対する応答(7群)

7群をi.v. qwk × 3で3mg/kgのドキシソルピシンにより処置し、16日目に43%の有意なTGIに対応する1268 mm^3 のMTVを得た($P < 0.05$)。全ての処置マウスに腫瘍が生着した。

【0258】

概要

この調査は、単剤療法として及びドキシソルピシンと組み合わせて投与された場合のCCI-002活性を評価した。調査の最終日(23日目)まで、週に3回腫瘍を測定した。TGI解析を16日目に実施した。

【0259】

2群を除く全ての療法が媒体処置対照群よりも有意に優れていた($P < 0.05$)。s.c. qd × 4/5日間休薬/qd × 14での50mg/kgのCCI-002処置群(6群)がこの調査において最も効果的なレジメンであり、90%TGIに対応する226 mm^3 のMTVであった。次に最も効果的な療法には、CCI-002/ドキシソルピシン併用群(3群)、20mg/kg及び50mg/kgのCCI-002単剤療法処置群(4群及び5群)が含まれ、これらのTGI値は、対照処置動物と比較してそれぞれ61、58及び54%であった。調査中に退縮は記録されなかった。

【0260】

このDOHH-2調査において試験した全ての療法は容認できる程度に許容された。

【0261】

(実施例4)

パーキットリンパ腫

(下記)Table 3(表3)のDOHH-2-e225プロトコールに従って、雌のNOD SCIDマウスの7つの群($n=10$ /群)に終了までs.c.投与した。この調査に対する元の処置計画はTable 3(表3)に見出すことができる。図5は、0日目からの平均(群当たり $n=10$)腫瘍体積を示す(A.単剤療法及びBドキシソルピシンとの併用療法)。

10

20

30

40

50

【 0 2 6 2 】

【表 3】

Table 3-マウスプロトコール-BL-2

群	処置
1	対照
2	1日1回20mpkのCCI-002 SC
3	0日目に開始する週に1回の3mpkのドキシソルビシン IV
4	1日1回10mpkのCCI-002 SC及び週に1回4mpkのドキシソルビシン IV
5	1日1回20mpkのCCI-002 SC及び週に1回4mpkのドキシソルビシン IV
6	1日1回50mpkのCCI-002 SC
7	1日1回60mpkのCCI-002 SC

10

【 0 2 6 3 】

また、脱水を緩和するために、注射の1日目に水ボトルを除去し、NaCl:4.5g/L(0.45%最終)、グルコース(デキストロース):25g/L(2.5%最終)及びKCl:0.75g/L(0.075%最終)でできた経口補液をマウスに与えた。

20

【 0 2 6 4 】

結果:

対照マウスにおける腫瘍成長(1群)

1群のマウスに1日目に開始してqd×9のスケジュールで媒体を与え、これは、パーセントTGIの算出及び統計的比較のための対照群の役割を果たした。9日目に、1群に関する平均腫瘍体積(ATV)は1492mm³であり、685から2742mm³の範囲であった。10匹全ての対照マウスに腫瘍が生着した。1群対照に関する腫瘍成長中央値は、255mm³の最初の腫瘍体積から進行した。

30

【 0 2 6 5 】

1日1回の単剤療法としてのCCI-002による処置に対する応答(2群、6群及び7群)

2群、6群及び7群を、それぞれ、s.c. qd×16で20mg/kg、50mg/kg及び60mg/kgの活性用量のCCI-002により処置し、9日目に918、74及び72mm³のMTVを得た。これらの平均腫瘍体積(ATV)は、2群に関しては38%の有意な相対的腫瘍成長抑制(P<###)及び6群及び7群に関しては95%の非常に有意な相対的腫瘍成長抑制(P<0.001)に対応し、これは6群及び7群ともに可能性のある治療活性閾値(TGI>60%)内のままであった(図4A)。全ての処置マウスに腫瘍が生着した。これらの群の平均腫瘍成長を図4Aに示す。腫瘍体積中央値は、調査の13日目までに0mm³に達し、したがって6群及び7群の処置はCCI-002が100%の腫瘍退縮をもたらしたことを示す。

40

【 0 2 6 6 】

ドキシソルビシン単剤療法による処置に対する応答(3群)

3群をi.v. qwk×3で4mg/kgのドキシソルビシンにより処置し、9日目に29%の有意なTGI(P<0.05)に対応する1061mm³のMTVを得た。全ての処置マウスに腫瘍が生着した。これらの群の腫瘍成長中央値を図4Aに示す。

【 0 2 6 7 】

CCI-002及びドキシソルビシンの併用療法による処置に対する応答(4群及び5群)

4群を、s.c. qd×16での10mg/kgの活性用量のCCI-002及びi.v. qwk×3でのドキシソルビシンの組合せにより処置し、9日目に36%の有意なTGI(P<0.001)に対応する952mm³の平均腫瘍体積(ATV)を得た(図5)。4群の組合せは、対応するドキシソルビシン単剤療法よりも有意

50

に効果的ではなかった(4群対3群、 $P < 0.05$ ##)。5群を、s.c. qd × 16での20mg/kgの活性用量のCCI-002及びi.v. qwk × 3でのドキソルビシンの組合せにより処置し、9日目に68%の有意なTGI($P < 0.001$)に対応する471mm³の平均腫瘍体積(ATV)を得た(図3.1)。5群の組合せは、対応するドキソルビシン単剤療法よりも有意に効果的であった(5群対3群、 $P < 0.05$ ##)。

【0268】

全ての処置マウスに腫瘍が生着した。これらの群(n=10マウス/群)の平均腫瘍成長を図5に示す。

【0269】

図5。BL-2細胞を注射したNOD SCIDマウスの処置期間に関する平均群(n=10/群)腫瘍体積(最初の平均腫瘍サイズ125mm³)。A.CCI-002単剤療法及びB CCI-002とドキソルビシンの併用療法。

10

【0270】

結果の概要(BL)

全般に、20mg/kg、50mg/kg及び60mg/kg処置群の試験物CCI-002は、皮下BL-2パーキットリンパ腫皮下異種移植モデルの処置において有意な抗腫瘍活性をもたらした。

【0271】

試験物CCI-002は、単剤療法として明らかな用量応答効果を示した。ドキソルビシンと組み合わせた場合、抗腫瘍活性の相乗効果が10及び20mg/kgのCCI-002で観察された。

【0272】

高用量のCCI-002(50及び60mpk)では、体重減少から回復させるために処置を様々な期間一時中止し、「正常な」体重に回復させた。

20

【0273】

安全性プロファイルに関して、20mg/kgの試験物CCI-002は、好適な安全性プロファイルを示した。しかしながら、50及び60mg/kgのCCI-002、4mg/kgのドキソルビシン又は併用処置により処置した動物で深刻な体重減少(10~30%)が観察された。4群、5群、6群、及び7群における群の一部のマウスで下痢が観察された。重要なことに、下痢及び15%を上回る体重減少を含む動物状態において2日間の投薬の一時中止及び補水処置(最終濃度:NaCl:2.5g/L、グルコース:30g/L)後、15%閾値よりも上に改善された。

【0274】

材料及び方法

細胞培養

L0、IM9、ラモス、BL2、Daudi、KMH2、ジャーカット及びCEM細胞をAmerican Type Culture Collection(ATCC; Manassas, VA, U.S.A)から購入し、10% FBS、100U/mlペニシリン、0.1mg/mlストレプトマイシン、1mMピルビン酸ナトリウム及び2mM L-グルタミンを補充したRPMI媒地中に維持した。使用した全ての細胞を加湿インキュベーター中で37 °C及び5% CO₂に維持した。

30

【0275】

細胞溶解

細胞を冷却PBS中で洗浄し、回収し、15分間4 °Cで固定することによって0.1% SDS-RIPAバッファー[50mMトリス、pH8.0、150mM NaCl、1% Igepal CA-630、0.5% NaDC、2mM MgCl₂、2mM EDTAと1×完全プロテアーゼ阻害剤(Roche Diagnostics社)]に溶解させた。細胞溶解物を、その後、16,000g、10分間、4 °Cにおいて遠心分離し、分裂後期核の上清を回収した。

40

【0276】

NMT阻害剤により処理した細胞の生存率

2 × 10⁶細胞[CEM(T細胞白血病)、L0(「正常な」B細胞)、BL2及びラモス]を、6ウェルプレートで増殖させ、多量(0、1、2及び5 µg/ml)のトリス-DBA(25)と共に24時間インキュベートした。トリス-DBAはDr. Jack Arbiser(Emory大学、GA、USA)からの親切な提供物であった。1 × 10⁵細胞[KMH2(ホジキンリンパ腫)、IM9(「正常な」B細胞)、BL2、ラモス]を96ウェルプレートに平板培養し、多量のDDD85646、DDD73228及びDDD86481で24、48及び72時

50

間処理した。DDD85646、DDD73228及びDDD86481は、ダンディー大学、スコットランド、UKの Drs. David Gray及びPaul Wyattからの親切な提供物であった。

【 0 2 7 7 】

細胞生存率の測定

トリス-DBA、DDD73228、及びDDD85646で処理した細胞の生存率を、製造業者の説明書に従ってTC10TMトリバンブルー色素(Biorad社、Hercules、CA、USA)を使用してトリス-DBAで処理した細胞をインキュベートすることによって測定した。細胞生存率を、その後、TC10TM自動セルカウンター(Biorad社)を使用して定量化した。DDD86481で処理した細胞の生存率を、製造業者の説明書に従ってPromega社の(Madison、WI、USA)のCellTiter 96 Aqueous Non-Radioactive細胞増殖アッセイ(MTS)を使用して測定した。

10

【 0 2 7 8 】

B細胞リンパ腫細胞系のqRT-PCR

製造者のプロトコールに従いTRIzol(登録商標)試薬を使用してIM9、KMH2、ラモス及びBL2細胞からRNAを単離した。次に、Applied Biosciences社からのランダムプライマースキームを備える高性能cDNA逆転写キットを使用して、製造業者の説明書に従い単離したRNAからcDNAを合成した。定量リアルタイムPCR(qRT PCR)反応を、TaqMan(登録商標)Universal Master Mix II、及びNMT1、NMT2、及びLife Technologies社(Carlsbad、CA)から購入した18のTaqman(登録商標)プローブを使用して設定し、三反復の各反応を供給者のガイドラインに従い設定した。qRT PCRはMastercycler(登録商標)ep realplex thermocycler(Eppendorf社)を使用して実施し、結果はRealplexソフトウェア(Eppendorf社)を使用して分析した。

20

【 0 2 7 9 】

SAHAによる細胞の処理

IM9、BL2及びラモス細胞を、1ウェル当たり 3×10^6 細胞で6ウェルディッシュに平板培養し、1Mスベロイルアニリドヒドロキサム酸(SAHA)により24時間処理した。等量のDMSOを対照サンプルに添加した。細胞を溶解させ、SDS-PAGEに供した。ウエスタンブロッティングをNMT1、NMT2、p21/WAF-1及びGAPDHに対する抗体を用いて実施した。

【 0 2 8 0 】

バイサルファイトシーケンス

クロマチンDNAをQiagen社のQIAamp DNA and Blood Miniキットを使用して細胞から単離した。DNA(20 μ l;濃度、1ngから2 μ g/ μ l)をEpiTech Bisulfiteキット(Qiagen社)を用いて変換し、バイサルファイト特異的プライマーを用いて増幅した(Table 4(表4))。

30

【 0 2 8 1 】

【表 4】

Table 4. バイサルファイトシーケンスに使用するプライマー。

プライマー	プライマー配列	配列番号	Tm (°C)	産物サイズ (bp)
1F	GTTTTGTTTTTTGTTTTGTTGAGAT	1	52.2	344
1R	TCCTTTTATATTTTAACCCCATTTAC	2		
2F	TTTAATAAGGATGGTAGGGAGTAGAG	3	53	519
2R	ACCAACCAACAAAACCTAAAATAA	4		
3F	GATTTAATAAGGATGGTAGGGAGTAG	5	51	360
3R	ACTCCCAAACTAAAAATTCTTC	6		
4F	GGTTTTGTTTTGAAGAGTTTTAGG	7	53	232
4R	ACTCCCTACCATCCTTATTAATCC	8		

10

20

【0282】

増幅したPCR産物をQIAquick PCR Purificationキット(Qiagen社)で清浄し、TA Cloning Kit(Life Technologies社)及びpC 2.1ベクターを用いてクローニングした。その配列をQUMAにより解析した。

【0283】

本明細書中で言及する全ての刊行物、特許及び特許出願は、本発明と関係がある当業者のレベルを示し、それぞれ個々の刊行物、特許又は特許出願が参照により組み込まれることが具体的且つ個別に示された場合と同じ程度で、参照により本明細書に組み込まれる。

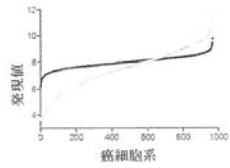
【0284】

上記の実施形態は、例であることのみが意図される。当業者は特定の実施形態に変更、改変及び変形を行うことができる。特許請求の範囲は、本明細書に記載した特定の実施形態によって限定されるべきではないが、全体として明細書と整合性のある様式で解釈されるべきである。

30

【 図 1 A 】

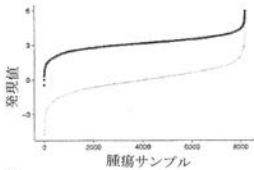
Figure 1 A



(軸の交差点において灰色の曲線の上に黒い曲線がある。)

【 図 1 B 】

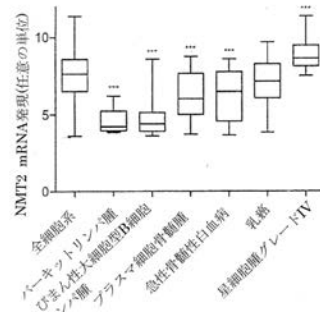
Figure 1 B



(黒い曲線が上の曲線であり、灰色の曲線が下の曲線である。)

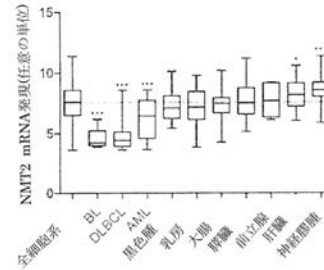
【 図 1 C 】

Figure 1 C



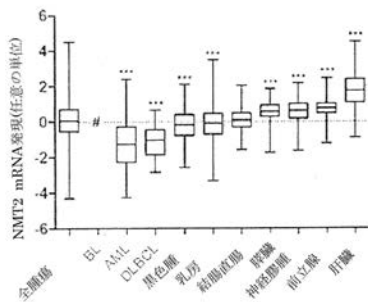
【 図 1 D 】

Figure 1 D



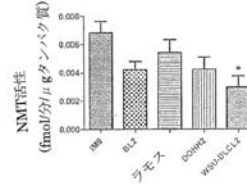
【 図 1 E 】

Figure 1 E



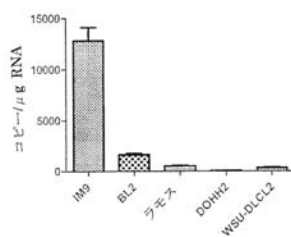
【 図 1 G 】

Figure 1 G



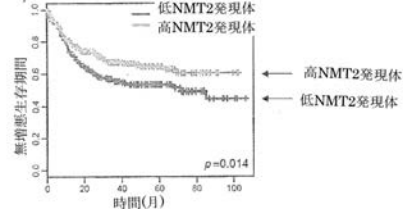
【 図 1 F 】

Figure 1 F



【 図 1 H 】

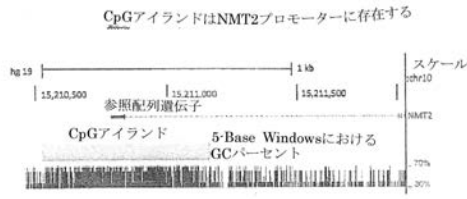
Figure 1 H



「低NMT2発現体」曲線は下の曲線であり、「高NMT2発現体」は上の曲線である。

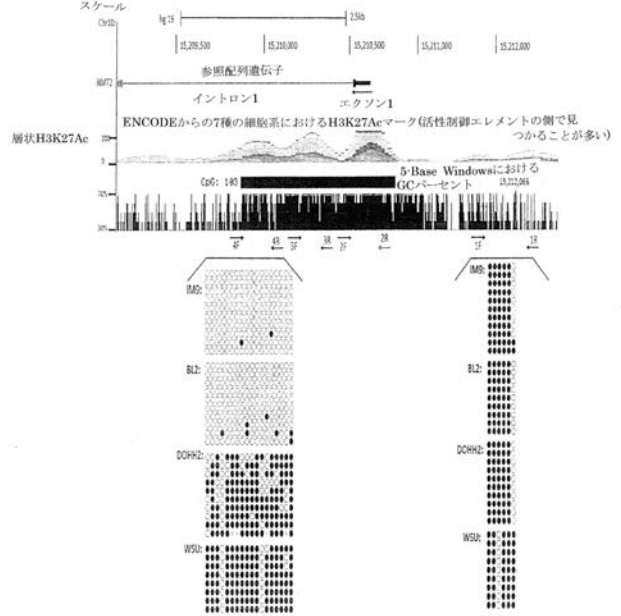
【 図 2 A 】

Figure 2 A



【 図 2 B 】

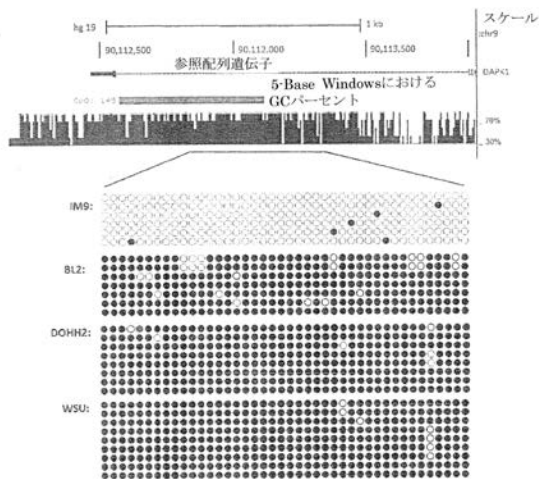
Figure 2 B - リンパ系細胞系及び腫瘍におけるNMT2の後成的な制御



【 図 2 C 】

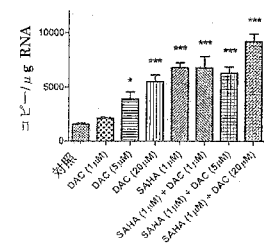
Figure 2 C

DAPK1プロモーター領域のハイサルファイトシーケンスは、悪性Bリンパ球においてのみ高度にメチル化されたCpGを含有するプロモーター領域を示す



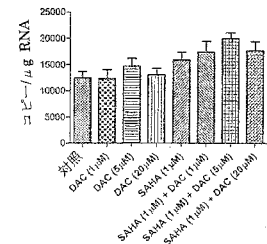
【 図 3 A 】

Figure 3 A



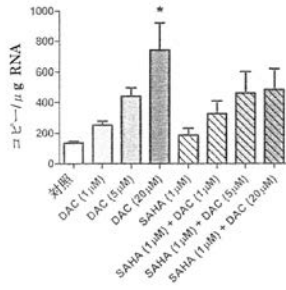
【 図 3 B 】

Figure 3 B



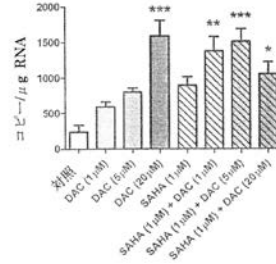
【 図 3 C 】

Figure 3 C



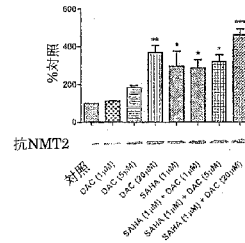
【 図 3 D 】

Figure 3 D



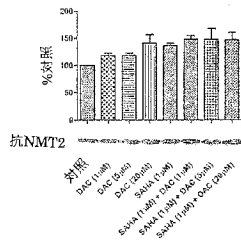
【 図 3 E 】

Figure 3 E



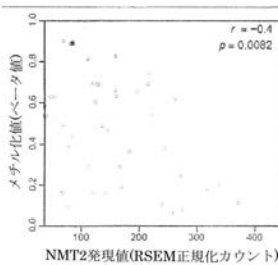
【 図 3 F 】

Figure 3 F



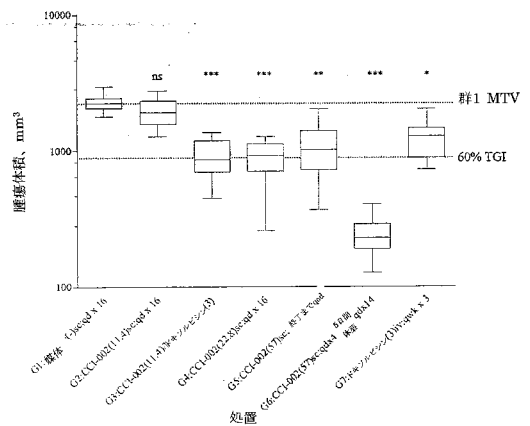
【 図 3 G 】

Figure 3 G



【 図 4 A 】

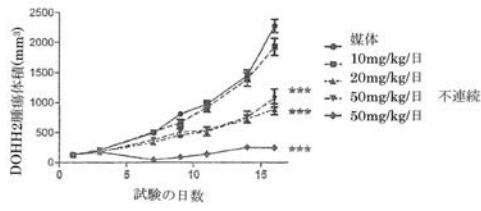
Figure 4 A



クラスカルウォリス、ダン検定に関する統計的有意性: ns=評価不能; ns=有意でない; * =P<0.05、**=P<0.01、***=P<0.001、群1と比較 TGI ≥ 60%は可能性のある治療活性を示す

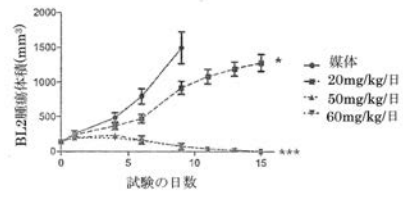
【 図 4 B 】

Figure 4B



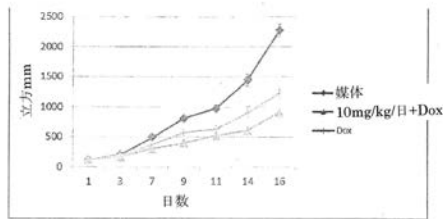
【 図 5 A 】

Figure 5A



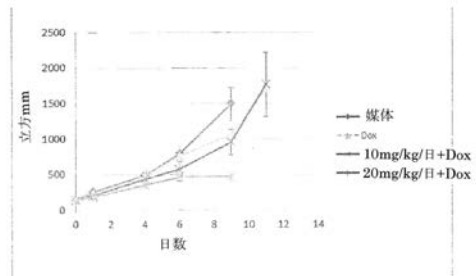
【 図 4 C 】

Figure 4C



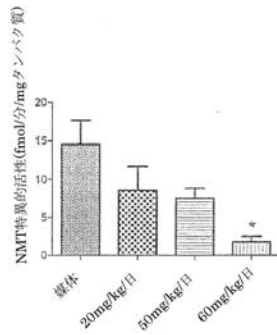
【 図 5 B 】

Figure 5B



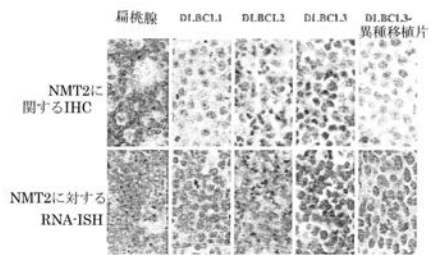
【 図 5 C 】

Figure 5C



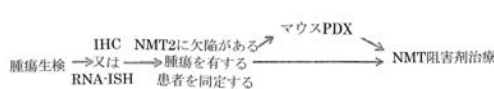
【 図 5 E 】

Figure 5E



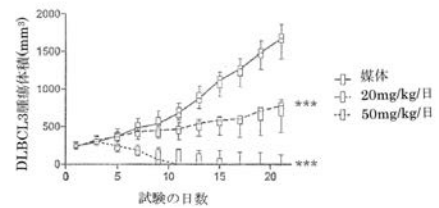
【 図 5 D 】

Figure 5D

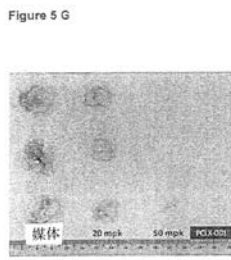


【 図 5 F 】

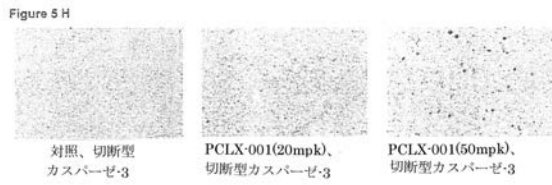
Figure 5F



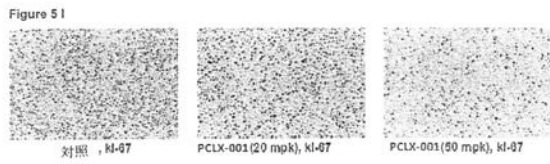
【 図 5 G 】



【 図 5 H 】



【 図 5 I 】



【 配列表 】

2018521654000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CA2016/050846
<p>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: <i>C12Q 1/68</i> (2006.01), <i>A61B 5/00</i> (2006.01), <i>A61B 5/06</i> (2006.01), <i>A61K 31/4439</i> (2006.01), <i>A61K 31/7088</i> (2006.01), <i>A61K 38/00</i> (2006.01) (more IPCs on the last page)</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>		
B. FIELDS SEARCHED		
<p>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Keywords used across the whole IPC</p>		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
<p>Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used) Databases: Questel-Orbit, CIPO Library Database, Scopus and Google Keywords: NMT2, N-myristoyltransferase 2, cancer, methylation, methylated, DNA, promoter, gene, expression, CpG</p>		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO2014/067002 A1 (BERTHIAUME, L.G. et al.) 8 May 2014 (08-05-2014) *Entire document*	1-3 and 32-81
Y	WO2013/013302 A1 (BERTHIAUME, L.G. et al.) 31 January 2013 (31-01-2013) *Entire document*	1-3 and 32-81
Y	KUANG, S-Q. et al., "Genome-wide identification of aberrantly methylated promoter associated CpG islands in acute lymphocytic leukemia". <i>Leukemia</i> , August 2008 (08-2008), Vol. 22(8), pp. 1529-1538. *Abstract, pages 1535-1537 containing Figure 3 and Table 3*	1-3 and 32-81
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* 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</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family</p>	
Date of the actual completion of the international search 09 September 2016 (09-09-2016)		Date of mailing of the international search report 14 September 2016 (14-09-2016)
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 819-953-2476		Authorized officer Maria Mill (819) 639-6815

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CA2016/050846**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of the first sheet)**

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

1. Claim Nos.: 4-31
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 4-31 are directed to a method for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, which the International Searching Authority is not required to search under PCT Rule 39.1(iv). However, this Authority has carried out a search based on the alleged use of the methylation status of the NMT2 gene as a marker in methods for cancer patient treatment and treatment selection.

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

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

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

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

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claim Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim Nos.:

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CA2016/050846

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date		
WO2014067002A1	08 May 2014 (08-05-2014)	WO2014067002A1	08 May 2014 (08-05-2014)		
		AU2013337569A1	07 May 2015 (07-05-2015)		
		CA2890113A1	08 May 2014 (08-05-2014)		
		CN104768550A	08 July 2015 (08-07-2015)		
		EP2914261A1	09 September 2015 (09-09-2015)		
		EP2914261A4	27 July 2016 (27-07-2016)		
		IL238481D0	30 June 2015 (30-06-2015)		
		JP2016506362A	03 March 2016 (03-03-2016)		
		KR20150079949A	08 July 2015 (08-07-2015)		
		MX2015005441A	21 July 2015 (21-07-2015)		
		SG11201503187UA	28 May 2015 (28-05-2015)		
		US2015275309A1	01 October 2015 (01-10-2015)		
		WO2013013302A1	31 January 2013 (31-01-2013)	WO2013013302A1	31 January 2013 (31-01-2013)
				WO2013013302A8	27 February 2014 (27-02-2014)
AU2012286542A1	06 February 2014 (06-02-2014)				
CA2842443A1	31 January 2013 (31-01-2013)				
CN103826623A	28 May 2014 (28-05-2014)				
EP2734199A1	28 May 2014 (28-05-2014)				
EP2734199A4	01 April 2015 (01-04-2015)				
IL230575D0	31 March 2014 (31-03-2014)				
JP2014523440A	11 September 2014 (11-09-2014)				
KR20140072026A	12 June 2014 (12-06-2014)				
MX2014000661A	08 September 2014 (08-09-2014)				
RU2014101787A	27 August 2015 (27-08-2015)				
US2014227284A1	14 August 2014 (14-08-2014)				

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CA2016/050846

A61K 39/395 (2006.01), *A61P 35/00* (2006.01), *C07H 21/04* (2006.01), *G01N 33/48* (2006.01),
G01N 33/50 (2006.01)

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 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	E 4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/7105 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T 4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/713 (2006.01)	A 6 1 K 31/7105	
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/713	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 1 2 Q 1/6837 (2018.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 1 2 Q 1/686 (2018.01)	A 6 1 K 45/06	
C 1 2 Q 1/6841 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6837	Z N A Z
C 1 2 Q 1/6827 (2018.01)	C 1 2 Q 1/686	Z
C 1 2 Q 1/6886 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6841	Z
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	C 1 2 Q 1/6827	Z
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	C 1 2 Q 1/6886	Z
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	P
C 1 2 N 9/99 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	M
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 N 15/09	Z
C 0 7 K 16/00 (2006.01)	C 1 2 N 9/99	
	C 1 2 M 1/00	A
	C 0 7 K 16/00	

(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, T J, 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, R O, 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, H N, 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

(72)発明者 リュク・ジー・ベルティオーム

カナダ・アルバータ・T 6 E・4 X 2・エドモントン・9 0・アヴェニュー・1 0 0 6 1

(72)発明者 エルワン・ポーシャン

カナダ・アルバータ・T 6 E・2 S 7・エドモントン・8 9・アヴェニュー・1 0 0 3 3・# 3 0
2

Fターム(参考) 2G045 AA26 CA26 CB02 DA13 DA14 FB02 FB03
4B029 AA07 BB20 FA12
4B063 QA01 QA13 QA19 QQ03 QQ08 QQ43 QR08 QR42 QR56 QR62
QS25 QS34 QX02
4C084 AA17 AA20 MA02 MA52 MA55 MA66 NA05 NA10 ZB261 ZB262
ZB271 ZB272 ZC202 ZC751
4C085 AA13 AA14 EE01 EE03 GG01 GG08
4C086 AA01 AA02 BC50 EA16 GA07 GA08 GA12 MA01 MA02 MA04
MA52 MA55 MA66 NA05 NA10 ZB26 ZB27 ZC20 ZC75
4H045 AA30 BA10 CA40 DA76 EA20 FA74

专利名称(译)	NMT 2的表观遗传沉默		
公开(公告)号	JP2018521654A	公开(公告)日	2018-08-09
申请号	JP2018502095	申请日	2016-07-18
[标]申请(专利权)人(译)	厄尔莱克斯制药公司		
申请(专利权)人(译)	Pashirekkusu制药公司		
[标]发明人	リュクジーベルティオーム エルワンポーシャン		
发明人	リュク・ジー・ベルティオーム エルワン・ポーシャン		
IPC分类号	C12Q1/6883 A61P35/00 A61P35/02 A61K45/00 A61K31/496 A61K39/395 A61K31/7105 A61K31/713 A61K31/7088 A61P43/00 A61K45/06 C12Q1/6837 C12Q1/686 C12Q1/6841 C12Q1/6827 C12Q1/6886 G01N33/50 G01N33/53 C12N15/09 C12N9/99 C12M1/00 C07K16/00		
CPC分类号	A61K31/496 A61K31/704 A61K31/7105 A61K31/713 A61K38/00 A61K45/06 A61P35/00 C12Q1/6886 C12Q2600/106 C12Q2600/154 A61K2300/00		
FI分类号	C12Q1/6883.Z A61P35/00 A61P35/02 A61K45/00 A61K31/496 A61K39/395.E A61K39/395.T A61K31 /7105 A61K31/713 A61K31/7088 A61P43/00.121 A61P43/00.111 A61K45/06 C12Q1/6837.ZNA.Z C12Q1/686.Z C12Q1/6841.Z C12Q1/6827.Z C12Q1/6886.Z G01N33/50.P G01N33/53.M C12N15/09.Z C12N9/99 C12M1/00.A C07K16/00		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/CA26 2G045/CB02 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/FB02 2G045/FB03 4B029 /AA07 4B029/BB20 4B029/FA12 4B063/QA01 4B063/QA13 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ43 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063 /QX02 4C084/AA17 4C084/AA20 4C084/MA02 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/NA10 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C084/ZB271 4C084/ZB272 4C084/ZC202 4C084/ZC751 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/GG01 4C085/GG08 4C086/AA01 4C086 /AA02 4C086/BC50 4C086/EA16 4C086/GA07 4C086/GA08 4C086/GA12 4C086/MA01 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/MA52 4C086/MA55 4C086/MA66 4C086/NA05 4C086/NA10 4C086/ZB26 4C086 /ZB27 4C086/ZC20 4C086/ZC75 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/FA74		
代理人(译)	村山彦 安倍晋三龙彦		
优先权	62/194109 2015-07-17 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

许多癌症缺乏两种NMT之一，但没有基质和正常组织的发现，使得可以用NMT抑制剂治疗NMT2有缺陷的癌细胞。本文显示在某些癌症中，在一种情况下，淋巴瘤中，NMT2表达通过表观遗传机制被降低或消除。减少或消除NMT2表达可使癌症对NMT抑制剂敏感。

Figure 2B -- Epigenetic regulation of DNMT2 in lymphoma cell lines and tissues.

