

(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2017-511812

(P2017-511812A)

(43) 公表日 平成29年4月27日(2017.4.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	2 G 0 4 5
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68	A 4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)	C 1 2 Q 1/04	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/7008 (2006.01)	A 6 1 K 31/7008	4 C 0 8 5
A 6 1 K 31/7048 (2006.01)	A 6 1 K 31/7048	4 C 0 8 6

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 25 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-568771 (P2016-568771)
 (86) (22) 出願日 平成26年11月25日 (2014.11.25)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年10月5日 (2016.10.5)
 (86) 国際出願番号 PCT/KR2014/011376
 (87) 国際公開番号 W02015/119362
 (87) 国際公開日 平成27年8月13日 (2015.8.13)
 (31) 優先権主張番号 10-2014-0014242
 (32) 優先日 平成26年2月7日 (2014.2.7)
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)
 (31) 優先権主張番号 10-2014-0014243
 (32) 優先日 平成26年2月7日 (2014.2.7)
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)
 (31) 優先権主張番号 10-2014-0164963
 (32) 優先日 平成26年11月25日 (2014.11.25)
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)

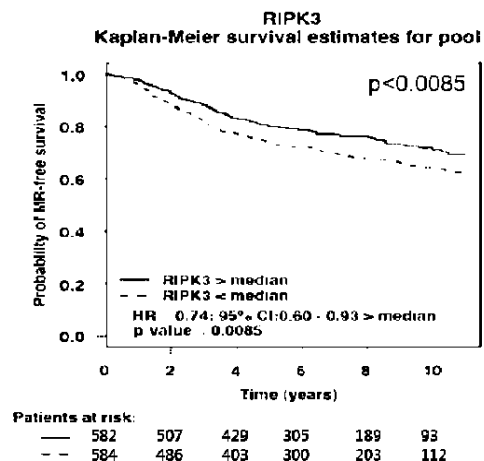
(71) 出願人 516237204
 ドン・ワ・ファーム・カンパニー・リミテッド
 DONG WHA PHARM. CO., LTD.
 大韓民国 04637 ソウル ジュングファム-ロ 98 19ス・フロア 19TH FLOOR, 98, HUAM-RO, JUNG-GU, SEOUL 04637, REPUBLIC OF KOREA
 (74) 代理人 110001818
 特許業務法人R&C

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 受容体共役タンパク質キナーゼ-3 (RIP3) 発現促進剤を有効成分として含む抗癌補助用組成物、受容体共役タンパク質キナーゼ-3 (RIP3) の発現を促して抗癌剤感受性を増進させる

(57) 【要約】

本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ-3 (RIP3: Receptor-interacting protein kinase-3) タンパク質発現促進剤又は活性化剤を有効成分として含む抗癌補助用薬学組成物に関するものである。また、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ-3 (RIP3) タンパク質発現促進剤又は活性化剤及び抗癌剤を癌細胞に併用投与することを特徴とする癌細胞の死滅の増進方法を提供する。更に、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ-3 (RIP3) の発現を促して抗癌剤感受性を増進させる抗癌補助剤のスクリーニング方法及び受容体共役タンパク質キナーゼ-3 (RIP3) の発現有無を用いた抗癌剤感受性のモニターリング方法に関するものである。したがって、受容体共役タンパク質キナーゼ-3 (RIP3) の発現が欠如された患者の場合、脱メチル化剤を前処置して受容体共役タンパク質キナーゼ-3 (RIP3) の発現を誘導した後、従来型の化学療法剤を用いることが効果的な治療戦略になるものと見込まれる。なお、抗癌治療に当たって抗癌剤感受性をモニターリングし、抗癌剤感受性



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質発現促進剤又は活性化剤を有効成分として含む抗癌補助用薬学組成物。

【請求項 2】

前記受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質発現促進剤又は活性化剤は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) に特異的に結合する化合物、ペプチド、ペプチドミメティックス、アプタマー、抗体及び天然物よりなる群から選ばれるいずれか一種であることを特徴とする請求項 1 に記載の抗癌補助用薬学組成物。

【請求項 3】

受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の脱メチル化を誘導することを特徴とする請求項 1 に記載の抗癌補助用薬学組成物。

【請求項 4】

前記癌は、乳癌、子宮頸部癌、肝癌又は大腸癌であることを特徴とする請求項 1 に記載の抗癌補助用薬学組成物。

【請求項 5】

受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質発現促進剤又は活性化剤、及び抗癌剤を癌細胞に併用投与することを特徴とする癌細胞の死滅の増進方法。

【請求項 6】

受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質発現促進剤又は活性化剤を癌細胞に処理するステップ、及び、

前記処理された癌細胞に抗癌剤を投与するステップを含むことを特徴とする請求項 5 に記載の癌細胞の死滅の増進方法。

【請求項 7】

前記癌細胞は、乳癌細胞、子宮頸部癌細胞、肝癌細胞又は大腸癌細胞であることを特徴とする請求項 5 に記載の癌細胞の死滅の増進方法。

【請求項 8】

前記抗癌剤は、ドキソルビシン又はエトポシドであることを特徴とする請求項 5 に記載の癌細胞の死滅の増進方法。

【請求項 9】

癌細胞に試験物質を接触させるステップ、

前記試験物質を接触した癌細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルを測定するステップ、及び、

対照試料と比較して前記受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルが増加した試験物質を選別するステップを含む抗癌補助剤のスクリーニング方法。

【請求項 10】

前記受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルは、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (R T - P C R)、酵素免疫分析法 (E L I S A)、免疫組織化学、ウェスタンブロット及びフローサイトメトリー (F A C S) よりなる群から選ばれたいずれか一種の方法を用いて測定することを特徴とする請求項 9 に記載の抗癌補助剤のスクリーニング方法。

【請求項 11】

前記癌細胞は、乳癌細胞、子宮頸部癌細胞、肝癌細胞又は大腸癌細胞であることを特徴とする請求項 9 に記載の抗癌補助剤のスクリーニング方法。

【請求項 12】

前記抗癌補助剤は、抗癌剤感受性を増進させることを特徴とする請求項 9 に記載の抗癌補助剤のスクリーニング方法。

【請求項 13】

前記抗癌剤は、ドキソルビシン、エトポシド又はタキソールであることを特徴とする請

10

20

30

40

50

求項 1 2 に記載の抗癌補助剤のスクリーニング方法。

【請求項 1 4】

癌細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルを測定するステップ、

正常組織細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルを測定するステップ、及び、

前記正常組織細胞において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性に比べて前記癌細胞において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性が低い場合、抗癌剤抵抗性があると判断するステップを含む抗癌剤感受性のモニターリング方法。

10

【請求項 1 5】

前記癌細胞は、乳癌細胞、子宮頸部癌細胞、肝癌細胞又は大腸癌細胞であることを特徴とする請求項 1 4 に記載の抗癌剤感受性のモニターリング方法。

【請求項 1 6】

前記抗癌剤は、ドキソルピシン、エトポシド又はタキソールであることを特徴とする請求項 1 4 に記載の抗癌剤感受性のモニターリング方法。

【請求項 1 7】

受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質発現促進剤又は活性化剤を癌細胞に処理するステップ、

前記処理された癌細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルを測定するステップ、及び、

前記処理前の対照試料に比べて前記処理後の受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性が 5 0 乃至 1 0 0 % 増加した場合に抗癌剤感受性が増進されたと判断するステップを含む抗癌剤感受性の増進方法。

20

【請求項 1 8】

受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 遺伝子又は前記遺伝子から発現されたタンパク質を含む抗癌剤感受性診断用バイオマーカー組成物。

【請求項 1 9】

受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 遺伝子を増幅させるためのプライマー又は前記遺伝子から発現されたタンパク質に特異的に結合する抗体又はアプタマーを含む抗癌剤感受性診断用キット。

30

【請求項 2 0】

癌患者試料において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現レベルを測定するステップ、

正常対照試料において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現レベルを測定するステップ、及び、

前記正常対照試料において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現レベルに比べて前記癌患者試料において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現レベルが低い場合に抗癌剤抵抗性があると判断するステップを含む抗癌剤感受性の予後の診断に必要な情報を提供する方法。

40

【請求項 2 1】

前記受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現レベルは、抗原 - 抗体反応を用いて測定することを特徴とする請求項 2 0 に記載の抗癌剤感受性の予後の診断に必要な情報を提供する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 発現促進剤を有効成分として含む抗癌補助用組成物及び抗癌剤との併用投与方法に関する。また、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を促して抗癌剤感受性を増進させる抗癌補助

50

剤のスクリーニング方法及び受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現有無を用いた抗癌剤感受性のモニターリング方法に関する。更に、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 遺伝子又は前記遺伝子から発現されたタンパク質を含む抗癌剤感受性診断用バイオマーカー組成物及び抗癌剤感受性の予後の診断に必要な情報を提供するを提供する。

【背景技術】

【0002】

受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R e c e p t o r - i n t e r a c t i n g p r o t e i n k i n a s e - 3 、 R I P 3 又は R I P K 3) は、細胞の死滅に重要なタンパク質であり、死滅受容体による細胞の死滅や他の細胞的なストレスによる細胞の死滅においてその役割を果たす。これらの細胞死滅の信号は、リン酸化や脱アセチル化に依存的な R I P 1 との複合体及び混合系統キナーゼドメイン様タンパク質 (M i x e d l i n e a g e k i n a s e d o m a i n - l i k e p r o t e i n 、 M L K L) との結合を介して行われ、ミトコンドリアに存在するタンパク質が関与することが知られている。このような信号伝達系の調節された機序が死滅調節タンパク質により行われて発生するだけでなく、リンパ球 (l y m p h o c y t e s) 、ケラチノサイト (k e r a t i n o c y t e) 、及び腸内の上皮細胞の細胞死滅、免疫反応を調節する。調節された壊死 (R e g u l a t e d n e c r o s i s) は、退行性、免疫性及び感染疾患や虚血性損傷など多くの病因論的な過程においてその役割を更に果たしている。

10

【発明の開示】

20

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

本発明の目的は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質発現促進剤又は活性化剤を有効成分として含む抗癌補助用薬学組成物及びこれを抗癌剤と併用投与することを特徴とする癌細胞の死滅の増進方法を提供することにある。

【0004】

本発明の目的は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を促して抗癌剤感受性を増進させる抗癌補助剤のスクリーニング方法及び受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現有無を通じた抗癌剤感受性のモニターリング方法を提供することにある。

30

【0005】

本発明の他の目的は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 遺伝子又は前記遺伝子から発現されたタンパク質を含む抗癌剤感受性診断用バイオマーカー組成物を提供することにある。

【0006】

本発明の更に他の目的は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 遺伝子を増幅させるためのプライマー又は前記遺伝子から発現されたタンパク質に特異的に結合する抗体又はアプタマーを含む抗癌剤感受性診断用キット及び組織内の癌を予測して診断するキットを提供することにある。

【0007】

40

本発明の更に他の目的は、癌患者試料から受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現レベルを測定するステップを含む抗癌剤感受性の予後の診断及び抗癌剤の反応性に必要な情報を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0008】

前記目的を達成するために、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現促進剤又は活性化剤を有効成分として含む抗癌補助用薬学組成物を提供する。

【0009】

また、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現促進

50

剤又は活性化剤、及び抗癌剤を癌細胞に併用投与することを特徴とする癌細胞の死滅の増進方法を提供する。

【0010】

更に、本発明は、癌細胞に試験物質を接触させるステップ、前記試験物質を接触した癌細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルを測定するステップ、及び対照試料と比較して前記受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルが増加された試験物質を選別するステップを含む抗癌補助剤のスクリーニング方法を提供する。

【0011】

更にまた、本発明は、癌細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルを測定するステップ、正常組織細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルを測定するステップ、及び前記正常組織細胞において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性に比べて前記癌細胞において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性が低い場合に抗癌剤抵抗性があると判断するステップを含む抗癌剤感受性のモニターリング方法を提供する。

10

【0012】

更にまた、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現促進剤又は活性化剤を癌細胞に処理するステップ、前記処理された癌細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルを測定するステップ、及び前記処理前の対照試料に比べて前記処理後の受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性が50乃至100%増加した場合に抗癌剤感受性が増進されたと判断するステップを含む抗癌剤感受性の増進方法を提供する。

20

【0013】

更にまた、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 遺伝子又は前記遺伝子から発現されたタンパク質を含む抗癌剤感受性の診断用バイオマーカ組成物を提供する。前記バイオマーカは、組織内の癌を予測して診断してもよい。

【0014】

更にまた、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 遺伝子を増幅させるためのプライマー又は前記遺伝子から発現されたタンパク質に特異的に結合する抗体又はアプタマーを含む抗癌剤感受性の診断用キットを提供する。なお、前記キットを用いて組織内の癌の予測診断に必要な情報を提供することができる。

30

【0015】

更にまた、本発明は、癌患者試料から受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現レベルを測定するステップ、正常対照試料において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現レベルを測定するステップ、及び前記正常対照試料において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現レベルに比べて前記癌患者試料において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現レベルが低い場合に抗癌剤抵抗性があると判断するステップを含む抗癌剤感受性の予後の診断に必要な情報を提供する方法を提供する。

40

【0016】

発明の効果

本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 発現促進剤を有効成分として含む抗癌補助用組成物及び抗癌剤との併用投与方法に関するものであり、現在、癌治療に際して問題が提起されるトリプルネガティブ (E R、P R、H e r 2 陰性) 患者の場合、90%において低い受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を確認することができるが、同じ患者の正常組織に比べて癌組織における顕著な受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現の低下は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) が腫瘍の発生及び成長中に選択的に欠如されることを示唆するといえるため、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現が欠如された患者の場合、脱メチル化剤を前処置

50

して受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を誘導した後、従来型の化学療法剤を用いることが効果的な治療戦略になり得るものと見込まれる。また、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を促して抗癌剤感受性を増進させる抗癌補助剤のスクリーニング方法及び受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現有無を通じた抗癌剤感受性のモニターリング方法に関するものであり、現在、癌の治療に際して問題が提起されるトリプルネガティブ (E R 、 P R 、 H e r 2 陰性) 患者の場合、90%において低い受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を確認することができるが、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現の調節が癌細胞の抗癌剤抵抗性に影響を及ぼすことを確認することができ、特に、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現が抑制される場合、癌細胞が抗癌剤に耐性を有して抗癌剤の活性が抑制されるのに対し、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) が発現される場合、抗癌剤の濃度依存的に癌細胞の死滅が増加されることを確認した。これは、抗癌治療に当たって抗癌剤感受性をモニターリングし、抗癌剤感受性を増進させる抗癌補助剤をスクリーニングする上で効果的な戦略になるものと見込まれる。

10

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】正常乳房及び乳癌細胞株における受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現分析結果である。

【図2】脱メチル化剤である5 - アザ - 2 ' - デオキシシチジン (5 - a z a - 2 ' - d e o x y c y t i d i n e 、 5 - A D) による受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現結果である。

20

【図3】脱メチル化剤である5 - アザシチジン (5 - a z a c y t i d i n e 、 5 - A Z A) による受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現結果である。

【図4】脱メチル化剤 (5 - A D) 及び抗癌剤の併合処理による癌細胞株の死滅感作結果である。

【図5】脱メチル化剤 (5 - A D 及び 5 - A Z A) 及び抗癌剤の併合処理による癌細胞株の死滅の感作結果である。

【図6】受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現抑制による脱メチル化剤 (5 - A D) の癌細胞株の死滅感作効果の抑制結果である。

【図7】代表的な正常乳房組織及び乳癌組織の受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の免疫染色写真である。

30

【図8】正常乳房組織及び乳癌組織の受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の免疫染色に対する代表的なH - スコア図式結果である。

【図9】正常乳房組織及び乳癌組織の受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の免疫染色に対する代表的なH - スコア図式結果である。

【図10】受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現が抑制された細胞における抗癌剤の濃度別の処理によるH T - 29の生存率結果である。

【図11】受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現が抑制された細胞における抗癌剤の濃度別の処理によるT 47Dの生存率結果である。

【図12】1, 166名の乳癌患者の10年間の転移再発のない生存率 (m e t a s t a t i c r e l a p s e - f r e e s u r v i v a l) グラフである。

40

【発明を実施するための形態】

【0018】

したがって、本発明者らは、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) に依存的な細胞の死滅が化学療法剤における細胞の毒性に効果を与えることを確認した。多くの癌細胞株において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現が抑制されており、このような受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現の阻害が死滅受容体による細胞の死滅に対する抵抗性だけでなく、化学療法剤、特に、DNA損傷薬物やタキサン (t a x a n e s) などの様々な標準的な抗癌療法剤に対する抵抗性を与えることを確認することができた。本発明において用いた脱メチル化剤である5 - アザ - 2 ' - デオキシ

50

シチジン(5 - a z a - 2 ' - d e o x y c y t i d i n e、5 - A D)による受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の発現が戻り、化学療法剤に対する感受性が増加されたことを確認することができたが、このような結果は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の発現が欠如された患者の場合、脱メチル化剤を前処置して受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の発現を誘導した後、従来型の化学療法剤を用いることが効果的な治療戦略になるということを確認し、本発明を完成するに至った。

【 0 0 1 9 】

また、本発明者らは、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の発現の調節が癌細胞株の抗癌剤に対する抵抗性に影響を及ぼすということを確認することができ、特に、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の発現が抑制される場合、抗癌剤に対して癌細胞が耐性を有して抗癌剤の活性が抑制されるのに対し、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)が発現される場合、抗癌剤の濃度依存的に癌細胞の死滅が増加されることを確認し、本発明を完成するに至った。

10

【 0 0 2 0 】

本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)タンパク質発現促進剤又は活性化剤を有効成分として含む抗癌補助用薬学組成物を提供する。

【 0 0 2 1 】

詳しくは、前記受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)タンパク質発現促進剤又は活性化剤は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の遺伝子発現の調節部位に特異的に結合する化合物、ペプチド、ペプチドミメティックス、アプタマー、抗体及び天然物であることが出来る。詳しくは、前記組成物は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)タンパク質の脱メチル化を誘導することができる。

20

【 0 0 2 2 】

好ましくは、前記癌は、乳癌、子宮頸部癌、肝癌又は大腸癌であることもできるが、これらに制限されるものではない。

【 0 0 2 3 】

好ましくは、前記受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)タンパク質は、ヒト、牛、ヤギ、羊、豚、マウス、ウサギなどの哺乳類を含む受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)を有するあらゆる真核生物由来のタンパク質であってもよく、例えば、ヒト受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) (N C B I a c c e s s i o n n o . N P _ 0 0 6 8 6 2 . 2)である場合もある。

30

【 0 0 2 4 】

本発明における用語「ペプチドミメティックス (P e p t i d e M i m e t i c s)」は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)活性を誘導する受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)タンパク質の結合ドメインを抑制するペプチド又は非ペプチドである。

【 0 0 2 5 】

本発明における用語「アプタマー (A p t a m e r)」は、それ自体で安定的な3次構造を有し、且つ、標的分子に高い親和性及び特異性をもって結合可能な特徴を有する一本鎖核酸 (D N A、R N A又は修飾核酸)である。アプタマーは、固有の高い親和性 (普通、p Mレベル)及び特異性をもって標的分子に結合可能であるという特性のために単一抗体と比較され、特に、「化学抗体」といえるほど代替抗体としての高い可能性がある。

40

【 0 0 2 6 】

本発明の「抗体」は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の注入により調製されたもの又は市販されて購入したものが両方とも使用可能である。また、前記抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体及びエピトープと結合可能な断片などを含む。ポリクローナル抗体は、前記受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)を動物に注射し、当該動物から採血して抗体を含む血清を得る従来の方法により産生可能である。このようなポリクローナル抗体は、当業界における周知のいかなる方法によっても精製可能であり、ヤギ、ウサギ、ヒツジ、サル、ウマ、ブタ、ウシ、イヌなどの任意の動物宿主から

50

産生可能である。モノクローナル抗体は、連続細胞株の培養を用いた抗体分子の産生を提供するいかなる技術を使用しても製造可能である。このような技術としては、これらに限定されるものではないが、ハイブリドーマ技術、ヒトB細胞株ハイブリドーマ技術及びEBV-ハイブリドーマ技術が含まれる。

【0027】

本発明の薬学組成物は、化学物質、ヌクレオチド、アンチセンス、siRNAオリゴヌクレオチド及び天然物抽出物を有効成分として含むことができる。本発明の薬学組成物又は複合製剤は、有効成分以外に、薬剤学的に適しており、且つ、生理学的に許容される補助剤を用いて製造可能であり、前記補助剤としては、賦形剤、崩解剤、甘味剤、結合剤、被覆剤、膨張剤、潤滑剤、滑沢剤又は香味剤などの可溶化剤が使用可能である。本発明の薬学組成物は、投与のために有効成分以外に更に薬剤学的に許容可能な担体を1種以上含んで医薬組成物に好適に製剤化可能である。液状溶液として製剤化される組成物において許容可能な薬剤学的担体としては、滅菌及び生体に適したものであり、食塩水、滅菌水、リンガー液、緩衝食塩水、アルブミン注射溶液、デキストロース溶液、マルトデキストリン溶液、グリセロール、エタノール及びこれらの成分のうちの1成分以上を混合して使用することができ、必要に応じて、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤など他の通常の添加剤を添加してもよい。なお、希釈剤、分散剤、界面活性剤、結合剤及び潤滑剤を付加的に添加して水溶液、懸濁液、乳濁液などの注射用剤形、丸薬、カプセル、顆粒又は錠剤に製剤化することができる。

10

【0028】

本発明の医薬組成物の薬剤製剤形態は、顆粒剤、散剤、被覆錠、錠剤、カプセル剤、坐剤、シロップ、ジュース、懸濁剤、乳剤、点滴剤又は注射可能な液剤及び活性化合物の徐放出型製剤などであってもよい。本発明の医薬組成物は、静脈内、動脈内、腹腔内、筋肉内、動脈内、腹腔内、胸骨内、経皮、鼻腔内、吸入、局所、直腸、経口、眼球内又は皮内経路を介して通常の方式により投与可能である。本発明の医薬組成物の有効成分の有効量とは、疾患の予防又は治療に求められる量のことをいう。このため、疾患の種類、疾患の重症度、組成物に含有されている有効成分及び他の成分の種類及び含有量、剤形の種類及び患者の年齢、体重、一般健康状態、性別及び食餌、投与時間、投与経路及び組成物の分泌率、治療期間、同時に使用される薬物をはじめとする様々な因子に応じて調節可能である。これに制限されるものではないが、例えば、成人の場合、1日につき1回乃至数回に亘って投与するとき、本発明の阻害剤は、1日につき1回乃至数回に亘って投与するとき、化合物である場合に0.1ng/kg~10g/kg、ポリペプチド、タンパク質又は抗体である場合に0.1ng/kg~10g/kg、アンチセンスヌクレオチド、siRNA、shRNA、miRNAである場合に0.01ng/kg~10g/kgの容量にて投与してもよい。

20

30

【0029】

また、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ-3(RIP3)タンパク質発現促進剤又は活性化剤及び抗癌剤を癌細胞に併用投与することを特徴とする癌細胞の死滅の増進方法を提供する。

【0030】

詳しくは、受容体共役タンパク質キナーゼ-3(RIP3)タンパク質発現促進剤又は活性化剤を癌細胞に処理するステップ、及び前記処理された癌細胞に抗癌剤を投与するステップを含むことができる。

40

【0031】

好ましくは、前記癌細胞は、乳癌細胞、子宮頸部癌細胞、肝癌細胞又は大腸癌細胞であってもよく、前記抗癌剤は、ドキシルビシン(doxorubicin)又はエトポシド(etoposide)であってもよいが、これに制限されない。

【0032】

本発明は、癌細胞に試験物質を接触させるステップ、前記試験物質を接触した癌細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ-3(RIP3)タンパク質の発現又は活性レベルを

50

測定するステップ及び対照試料と比較して前記受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルが増加された試験物質を選別するステップを含む抗癌補助剤のスクリーニング方法を提供する。

【0033】

好ましくは、前記受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルは、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (Reverse Transcription - Polymerase chain Reaction、RT - PCR)、酵素免疫分析法 (ELISA)、免疫組織化学、ウェスタンブロット (Western Blotting) 及びフローサイトメトリー (FACS) よりなる群から選ばれたいずれか一種の方法により測定可能であるが、これに制限されない。

10

【0034】

詳しくは、前記抗癌補助剤は、抗癌剤感受性を増進させることができる。より詳しくは、前記抗癌剤は、ドキシソルビシン (doxorubicin)、エトポシド (etoposide) 又はタキソール (taxol) であることが好ましいが、これに制限されない。

【0035】

本発明のスクリーニング方法を言及しながら用いる用語「試験物質」とは、遺伝子の発現量に影響を及ぼすか否か、或いは、タンパク質の発現又は活性に影響を及ぼすか否かを検査するためにスクリーニングにおいて用いられる未知の候補物質のことをいう。前記試料は、化学物質、ヌクレオチド、アンチセンス - RNA、siRNA (低分子干渉RNA : small interference RNA) 及び天然物抽出物を含むが、これに制限されない。

20

【0036】

また、本発明は、癌細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルを測定するステップ、正常組織細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルを測定するステップ、及び前記正常組織細胞において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性に比べて前記癌細胞において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性が低い場合に抗癌剤抵抗性があると判断するステップを含む抗癌剤感受性のモニターリング方法を提供する。

30

【0037】

好ましくは、前記癌細胞は、乳癌細胞、子宮頸部癌細胞、肝癌細胞又は大腸癌細胞である場合もあり、前記抗癌剤は、ドキシソルビシン (doxorubicin)、エトポシド (etoposide) 又はタキソール (taxol) であってもよいが、これに制限されない。

【0038】

更に、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質発現促進剤又は活性化剤を癌細胞に処理するステップ、前記処理された癌細胞において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性レベルを測定するステップ、及び前記処理前の対照試料に比べて前記処理後の受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) タンパク質の発現又は活性が50乃至100%増加された場合に抗癌剤感受性が増進されたと判断するステップを含む抗癌剤感受性の増進方法を提供する。

40

【0039】

更にまた、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 遺伝子又は前記遺伝子から発現されたタンパク質を含む抗癌剤感受性診断用バイオマーカ組成物を提供する。

本明細書における用語「診断」は、特定の疾病若しくは疾患に対するある対象体の感受性 (susceptibility) を判定すること、ある対象体が特定の疾病又は疾患を現在有しているか否かを判定すること、特定の疾病又は疾患にかかった対象体の予後 (prognosis) を判定すること、又はセラメトリックス (therapeutics

50

) (例えば、治療効能に関する情報を提供するために対象体の状態をモニターリングすること)を含む。

【0040】

加えて、本発明は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) 遺伝子を増幅するためのプライマー又は前記遺伝子から発現されたタンパク質に特異的に結合する抗体又はアプタマーを含む抗癌剤感受性診断用キットを提供する。

【0041】

本明細書における用語「プライマー」とは、短い自由3末端水酸基 (free 3' hydroxyl group) を有する核酸配列をもって相補的な鋳型 (template) 及び塩基対を形成し、鋳型鎖の複製のための開始点として働く短い核酸配列のことをいう。プライマーは、適切な緩衝溶液及び温度において重合反応のための試薬 (すなわち、DNAポリメラーゼ又は逆転写酵素) 及び異なる4種類のヌクレオチド三リン酸の存在下でDNA合成を開始することができる。PCR条件、センス及びアンチセンスプライマーの長さは、当業界における公知の技術により適切に選択可能である。

【0042】

また、本発明のキットは、マーカ成分に特異的に結合する抗体、基質との反応により発色する標識体が接合された2次抗体接合体 (conjugate)、前記標識体と発色反応すべき発色基質溶液、洗浄液及び酵素反応停止溶液などを含んでいてもよく、使用されるべき試薬成分を含む多数の別途のパッケージング又はコンパートメントにより製作可能である。

【0043】

前記2次抗体接合体の標識体としては、発色反応をする通常の発色剤を用いることが好ましく、ホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP: horseradish peroxidase)、アルカリフォスファターゼ (alkaline phosphatase)、コロイド状金 (colloid gold)、ポリ-L-リジン-フロオレセインイソチオシアネート (FITC: polyL-lysine-fluorescein isothiocyanate)、ローダミンBイソチオシアン酸塩 (RITC: rhodamine-B-isothiocyanate) などの蛍光物質 (fluorescein) 及び色素 (dye) などが使用可能である。

【0044】

また、本発明は、癌患者試料において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) の発現レベルを測定するステップ、正常対照試料において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) の発現レベルを測定するステップ、及び前記正常対照試料において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) タンパク質の発現レベルに比べて前記癌患者試料において測定された受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) タンパク質の発現レベルが低い場合に抗癌剤抵抗性があると判断するステップを含む抗癌剤感受性の予後の診断に必要な情報を提供する方法を提供する。

【0045】

詳しくは、前記受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) の発現レベルは、抗原 - 抗体反応により測定可能であり、更に詳しくは、前記抗原 - 抗体反応は、従来、開発されてきた様々な定量的又は定性的な免疫分析プロトコールにより行われてもよい。前記免疫分析フォーマットは、酵素免疫分析法 (ELISA)、放射能免疫分析法 (radioimmunoassay, RIA)、サンドイッチ測定法 (sandwich assay)、ウェスタンブロッティング、免疫沈降法、免疫組織化学染色法 (immunohistochemical staining)、フローサイトメトリー (flow cytometry)、蛍光活性化セルソーター (FACS)、酵素基質発色法及び抗原 - 抗体凝集法を含むが、これらに限定されない。

【0046】

本明細書における用語「患者試料」とは、抗癌剤感受性診断用バイオマーカである受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) の発現レベルにおいて正常対照と違いが出る組

10

20

30

40

50

織、細胞、全血、血清、血漿、唾液、喀痰、脳脊髄液、又は尿などの試料を含むが、これらに限定されない。

【実施例】

【0047】

以下、本発明の理解への一助となるために実施例を挙げて詳細に説明する。但し、下記の実施例は、本発明の内容を例示するものに過ぎず、本発明の範囲が下記の実施例に限定されることはない。本発明の実施例は、当業界における平均的な知識を有する者に本発明をより完全に説明するために提供されるものである。

【0048】

下記の実験例は、本発明によるそれぞれの実施例に共通的に適用される実験例を提供するためのものである。

【0049】

1. 試薬

受容体共役タンパク質キナーゼ-3(RIP3)抗体は、Abcam社から購入した。Actin抗体、ドキシソルピシン(Doxorubicin)、エトポシド(etoposide)、5-AD、5-AZAは、シグマアルドリッチ社から入手した。

【0050】

2. 細胞培養

様々な癌細胞株は、ATCCにおいて提示する培地において培養した。DLD1、HeLa、MCF7は、10%のウシ胎児血清(fetal bovine serum)、2mMのグルタミン(glutamine)、100U/mLのペニシリン(penicillin)及び100µg/mLのストレプトマイシン(streptomycin)が添加されたダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)において培養された。HCC1937、BT-549、MDA-MB231、MDA-MB468、SK-BR3、ZR75-1、T47Dは、10%のウシ胎児血清(fetal bovine serum)、2mMのグルタミン(glutamine)、100U/mLのペニシリン(penicillin)及び100µg/mLのストレプトマイシン(streptomycin)が添加されたロズウェルパーク記念研究所培地(RPMI)において培養された。

【0051】

3. 正常ヒト細胞

乳房上皮細胞(mammary epithelial cells、HME)は、クロナテイクス社(サンディエゴ、CA)から得た。HMLEは、正常乳房上皮細胞であるが、hTERTにより不死化され、なお、SV40large及びsmall T抗原としてレトロウイルスにより感染された。

【0052】

4. ヒト乳癌組織調製

ヒト乳癌及び比較正常サンプルは、延世大学の医科大学(ソウル、大韓民国)から得た。全てのケースにおいて、全ての参加者から同意書を受け、本研究は、延世大学の治験審査委員会(Institutional Review Board、IRB)の承認を受けた。

【0053】

5. レンチウイルス(Lentiviral)shRNA実験

hRIP3 mRNA(NM_006871)のコーディング部位又は3'UTRを標的とするMISSION短ヘアピンRNA(shRNA)プラスミド及び非標的対照群配列(NM-027088)は、シグマアルドリッチ社から入手した。レンチウイルスプラスミドは、リポフェクタミン2000(インビトロゲン、11668019)を用いて293T細胞(システムバイオサイエンス、LV900A-1)で形質感染させた。偽ウイルス粒子(Pseudoviral particles)は、レンチウイルスプラスミド形質感染2日後に収集され、ポリブレン(polybrene)(10µg/mL)の存在下で癌細胞に感染させた。感染2日後に、ピューロマイシン(puromycin)で

10

20

30

40

50

感染細胞は選別し、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) ノックダウン (knockdown) は、免疫プロットングで確認した。既存に内在性受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) を発現しなかった細胞は、今後 4 日間 5 - AD を処理し、その後、免疫プロットングで分析した。

【0054】

6. ウェスタンブロット分析 (免疫プロットング)

細胞は、M2 緩衝液で溶解された。同量の細胞抽出物を SDS - PAGE 及びウェスタンブロットを用いて分析して、増加された化学発光法 (enhanced chemiluminescence、ECL、アマシャム) により可視化させた。

【0055】

7. 細胞毒性の分析

細胞の死滅は、テトラゾリウム染料比色分析法 (tetrazolium dye colorimetric test) [MTT 試験] を用いて測定し、570nm において測定した。

【0056】

8. 免疫組織化学 (Immunohistochemistry) 分析

免疫組織化学分析は、製造社の指示に従い、ウルトラビジョン LP 検出システム TL - 060 - HD (サーモサイエンティフィック、バイオアナリチカ社) を利用した。薄いパラフィン部分 (4.5 μm) はキシレンにより除去され、様々な濃度のエタノール水溶液において再び水和された。抗原の修復は、10mM のクエン酸緩衝液 (pH 6.0) において電子レンジを用いて 15 分間スライドを加熱して行った。TBS に溶かした 3% の過酸化水素に 10 分間反応させることにより内因性ペルオキシダーゼの活性を遮断し、1:300 にて希釈された抗受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) 抗体を用いて 4 において一晩中反応させた。クロモゲン は、3,3' - ジアミノベンジジン (3,3' - diaminobenzidine) (TL - 015 - HD、サーモサイエンティフィック、バイオアナリチカ社、ギリシャ) 溶液を用いて 5 分間反応させ、マイヤーヘマトキシリンを用いて対比染色を行った。免疫組織化学染色は、染色された細胞の割合及び免疫染色の強さに基づいて測定した。本発明は、Hスコアを用いるが、これは、染色された細胞の割合 (%) 及び染色の強さ [0 (陰性)、1 (弱い)、2 (中間) 又は 3 (強い)] を乗じて求めた。Hスコアは、0 乃至 300 の範囲を有する。腫瘍及び正常組織において各サンプル当たりと同じ時間をかけて染色を行った。染色結果は、臨床データについては知らない専門病理学者により解析された。

【0057】

9. 統計分析

データは、平均 ± S.D にて示す。統計分析は、ANOVA 及び対応のないスチューデントの t 検定を用いて行った。0.01 又はこれよりも低い P 値の場合、統計学的な有意性があると判断された。統計学的な計算は、Windows Version 12.0 の SPSS ソフトウェアを用いて行った (SPSS、シカゴ、イリノイ州)。

【0058】

<実施例 1> 乳癌細胞株における受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) の発現分析

癌細胞株を溶解 (lysis) してタンパク質を分離した後、SDS - PAGE を用いてウェスタンブロットング (Western blotting) を行った。乳癌細胞株の受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) 発現パターンを分析したところ、60% 以上の細胞株において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) が発現しないことを確認した。受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (RIP3) が癌細胞株においては特定の機構により抑えられていることを確認した (図 1)。

【0059】

<実施例 2> 脱メチル化剤による RIP の発現分析

癌細胞株を 10 ~ 20% の密度にて培養した後、4 日間 2 回に亘って 5 - AD を処理し

10

20

30

40

50

た後、ウェスタンブロッティング技法を用いて受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現パターンを分析した。受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) が発現されていない3種類の癌細胞株 (H e L a、M D A - M B 2 3 1、B T 5 4 9) に脱メチル化剤 (5 - A D、2 μ M) を処理した場合、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現が誘導されることを確認し、この結果は、癌細胞株においてはメチル化により受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現が抑えられていることを意味する (図 2)。

また、癌細胞株を10~20%の密度にて培養した後、4日間2回に亘って5 - A Z A を処理した後、ウェスタンブロッティング技法を用いて受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現パターンを分析した。受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) が発現されていないD L D - 1大腸癌細胞株に5 A Dと同じ系列の5 - A Z Aを濃度別に処理した場合、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現が誘導されることを確認し、この結果は、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) がメチル化により癌細胞株において発現が抑えられていることを反証するものである (図 3)。

【0060】

<実施例3> 脱メチル化剤及び抗癌剤の併合処理による癌細胞株の死滅感作

癌細胞株を10~20%の密度にて初期培養した後、4日間2回に亘って5 - A D又は5 - A Z Aを処理して受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を誘導した。薬物を処理しなかった同じH e L a癌細胞株と同じ数を培養した後、同じ濃度の抗癌剤を処理して脱メチル化剤による感作効果を分析した。

【0061】

5 - A Dによる受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を誘導した後、抗癌剤と併合処理する場合、癌細胞株の死滅が感作される効果を確認することにより、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) が抗癌剤による癌細胞株の死滅と関連していることを確認した (図 4)。

【0062】

また、5 - A Dに加えて、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を誘導する5 - A Z Aの場合にも、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を誘導した後に抗癌剤と併合処理した場合に癌細胞株の感作効果を確認した (図 5)。

【0063】

<実施例4> 受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現抑制による脱メチル化剤の癌細胞株の死滅感作効果の抑制

【0064】

レンチウイルスシステムを用いて、子宮頸部癌細胞株 (H e L a細胞株) において持続的に受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を抑える安定的な細胞を作成した。非標的とは反対に、s h受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 細胞株の場合、5 - A Dを処理するにも拘わらず、s h R N Aにより受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現が抑えられる。このため、抗癌剤及び脱メチル化剤の併合処理による感作効果から受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の機能を確認することができた。非標的細胞株及びs h受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 細胞株を10~20%の密度にて初期培養した後、4日間2回に亘って5 - A Dを処理して受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現有無を判別した。なお、同じ数を培養した抗癌剤との併合処理による感作効果に対して細胞死滅実験 (M T T a s s a y) を用いて分析した (図 6)。

【0065】

脱メチル化剤 (5 - A D、5 - A Z A) は、特定のタンパク質に特異的な薬物ではないため、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) に加えて、様々なタンパク質の発現を引き起こすことがある。このため、抗癌剤及び脱メチル化剤の併合処理による細胞死滅の感作効果が受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) ではない他のタンパク質による効果であるか否かを判別するために、特異的に受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R

10

20

30

40

50

I P 3)の発現を抑える s h 受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)細胞株を用いて実験を行った。非標的細胞株においては、5 - A D を処理する場合、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の発現により抗癌剤との併合処理に感作効果が発生するが、特異的に受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の発現を抑えた s h 受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)細胞株においては、たとえ 5 - A D を処理しても、s h R N A システムにより受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)が発現されない。このような結果に基づいて細胞死滅実験を行ったとき、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)が発現されていない s h 受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)細胞株の場合、感作効果が抑えられる結果を通じて、脱メチル化剤及び抗癌剤との併合処理における感作効果は受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)が重要な分子であることを確認することができ、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の発現を促すことにより、癌細胞株の死滅を増加させる新たな抗癌戦略を提示する。

10

【0066】

<実施例5> 正常乳房組織及び乳癌組織の免疫染色分析

132名の乳癌患者から腫瘍組織及び非腫瘍組織を分離してパラフィンブロックを製作した。製作されたパラフィンブロックは、4.5 μmの厚さに薄切りした後に、スライドに塗抹させて用いた。キシレンによる脱パラフィン化及びエタノール - 水の濃度別の水溶液への含水過程を経た後、過酸化水素を用いて非特異的な酵素反応を除去した後、クエン酸溶媒を用いて潜在抗原 (l a t e n t a n t i g e n) を解離する。次いで、希釈された正常血清を20分間反応させて非特異的な反応を遮断した後、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)を (1 : 300) にて24時間かけて反応させる。水洗した後、ビオチン付き2次抗体を30分間反応させた後に水洗する。アビジン - ビオチン複合体を用いて30分間反応させた後に水洗過程を行い、D A B 発色剤を用いて5分間発色させた後にヘマトキシリンを用いて核を染色した後に水洗して封入する。

20

【0067】

D A B により発色された度合いの強さの基準を0 (発色なし)、1 (弱い発色)、2 (中間)、3 (強い発色)にし、染色された範囲及び強さを乗じた値をHスコアにて示し、染色結果の分析は、病理課専門医が監修した。

【0068】

実験結果は、代表的な正常乳房組織及び乳癌組織の受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の免疫染色写真を示し、その結果をHスコアにて図式化した (図7、図8及び図9)。正常乳房組織に比べて癌組織において受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の発現が格段に劣ることを確認することができた。

30

【0069】

<実施例6> 受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)の発現が抑えられた細胞における抗癌剤の濃度別の処理によるH T - 29の生存率の分析

H T - 29細胞 (アメリカン・ティッシュ・カルチャー・コレクション) は、ペニシリン - ストレプトマイシン (10 I U / m l) 及び10%のF B Sが添加されたD M E M 培地を用いて37 °Cのインキュベーターにおいて培養した。本発明において用いた s h R N A i 二重螺旋は、シグマ - アルドリッチ社において商業的に合成された。本発明において用いられた s h R N A は、ヒトR I P K 3 m R N A 配列のコーディング領域のターゲットのために考案された (N C B I 参照配列 N M _ 0 0 6 8 7 1) 。

40

【0070】

まず、培養されたH T - 29細胞を35 mm皿に2 × 10⁵分注した。翌日に、プロトコールの指示に従い、前記細胞をポリブレン (10 μg / m l) とともに s h R N A 粒子を用いて形質転換させた。対照群としては、特定のタンパクをターゲットとしない s h R N A を用いた (N C B I 参照配列 N M _ 0 2 7 0 8 8) 。

【0071】

前記調製された形質転換細胞内において産生される受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3)タンパク質の量を測定するために、まず、P B Sを用いて形質転換されたH T

50

- 29細胞を洗浄した後、溶解緩衝液を処理して上澄み液を得た後、BIO-RARD社製のウェスタンブロットキットを用いてタンパク質を分離した。分離されたタンパク質は、適正な抗体と反応をした後（抗- α -アクチン（1：5，000、シグマ社製）、抗-受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）（1：1，000、アブカム社製）及び2次HRP-共役抗体（ジャクソン社製）HRPは、イモビロンウェスタン化学発光HRP基質キット（サーモ社製）を用いて検出した。

【0072】

その結果、図10に示すように、受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）shRNAにより形質転換されたHT-29細胞内の受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）タンパク質がほとんど検出されないことが分かり、これを通じて、形質転換された受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）shRNAが受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）遺伝子を効果的にノックダウンさせることを確認することができた。

10

【0073】

本発明者らは、受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）遺伝子が抗癌剤感受性と関連しているか否かを確認するために、受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）shRNAにより形質転換されたHT-29にドキシソルビシン（Doxorubicin）及びエトポシド（Etoposide）を濃度別に処理した後、前記癌細胞の細胞生存率を測定した。詳しくは、受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）shRNAにより形質転換されたHT-29細胞は、ドキシソルビシン（Doxorubicin）2.5 μ M、5 μ M及びエトポシド（Etoposide）50 μ M、100 μ Mを処理した後に48時間かけて培養し、テストは、0.1 mgのMTT（3-（[4,5-dimethylthiazol-2-yl]）-2,5-diphenyltetrazolium bromide）を含む新鮮な培地に交換した後に更に2時間かけて培養する。生存細胞が溶解されたテトラゾリウム塩を紫色のホルマザン結晶に還元させて調製した沈殿物に対して色相分析を用いて行う。次いで、培地は除去し、生成されたホルマザン結晶は、500 μ lのDMSOで溶解してELISAリーダー（570 nmにおける）を用いて吸光度を測定した。細胞の生存率は、100%の生存率と定義された対照群による相対パーセントにて示す。

20

【0074】

その結果、図10（右側）に示すように、対照群は、ドキシソルビシン（Doxorubicin）及びエトポシド（Etoposide）の濃度に依存して細胞の生存率が減少されるのに対し、shRNAを用いて受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）をノックダウンさせた実験群は、対照群に比べて細胞の生存率が増加したことを確認した。

30

【0075】

<実施例7> 受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）の発現が抑えられた細胞における抗癌剤の濃度別の処理によるT47Dの生存率の分析

受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）が乳癌細胞にも影響を及ぼすか否かを確認するために、受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）が発現するT47D細胞を用いた。まず、<実施例6>に記載の方法と同様にして受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）を形質転換させた。

40

【0076】

ウェスタンブロッティング方法を用いて、受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）shRNAにより形質転換されたT47Dにおいて受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）タンパク質がほとんど検出されないことが分かり、受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）遺伝子は、効果的にノックダウンさせたことを確認することができた（図11）。受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）が乳癌細胞T47Dにおいて抗癌剤感受性を増加させるか否かを確認するためにMTT分析を行った。対照群及び受容体共役タンパク質キナーゼ-3（RIP3）がノックダウンされた実験群にドキシソルビシン及びエトポシド、タキソールを図11（右側）に示された濃度別に48時間反応した。MTT分析によれば、対照群においては、抗癌剤の濃度に応じて死滅したのに対し、受容

50

体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) が形質転換された細胞株は、特に、エトポシドを処理した実験群において対照群に比べて抗癌剤抵抗性が格段に増加した。

【 0 0 7 7 】

これを通じて、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現の調節が抗癌剤癌細胞株に対する抵抗性に影響を及ぼすことを確認することができ、特に、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現が抑えられる場合、抗癌剤に対して癌細胞が耐性を有して抗癌剤の活性が抑えられるのに対し、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) が発現される場合、抗癌剤の濃度依存的に癌細胞の死滅が増加されることが分かる。

【 0 0 7 8 】

< 実施例 8 > 乳癌患者の 10 年間の転移再発のない生存率の分析

図 1 2 は、1, 166 名の乳癌患者の 10 年間の転移再発のない生存率のグラフを示す。受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の遺伝子の発現レベルを 50 % 以上及び 50 % 以下にして生存率を分析したところ、統計的に $p < 0.0085$ の有意な差を示すことが分かり、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現レベルが患者の生存率に影響を及ぼすことを証明した。結果は、Jezequel et al. (Breast Cancer Research and Treatment 2012, 131 : 765 - 75) により考案された Breast Cancer Gene - Expression Miner v3.0 software を用いて分析した。

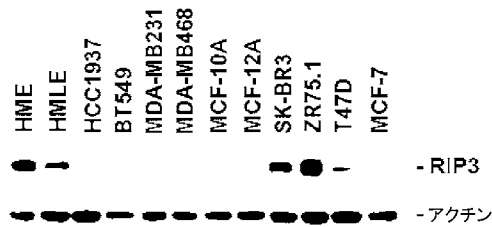
【 0 0 7 9 】

以上、本発明の特定の部分について詳細に説明したが、当業界における通常の知識を有する者にとって、このような具体的な記述は単なる好適な実施形態に過ぎず、これにより本発明の範囲が制限されることはないということは明白である。よって、本発明の実質的な範囲は、添付の請求項及びこれらの等価物により定義されるものといえる。

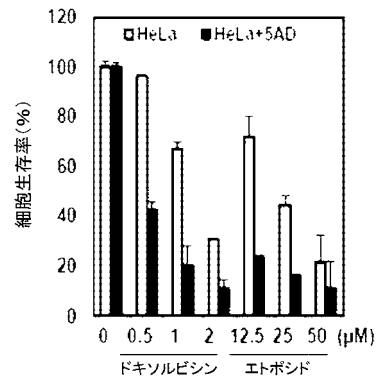
10

20

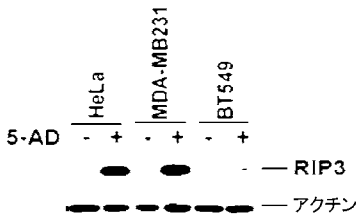
【 図 1 】



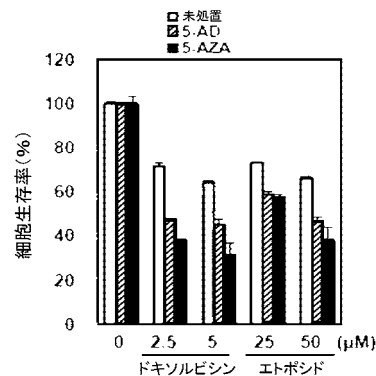
【 図 4 】



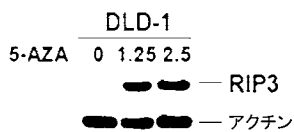
【 図 2 】



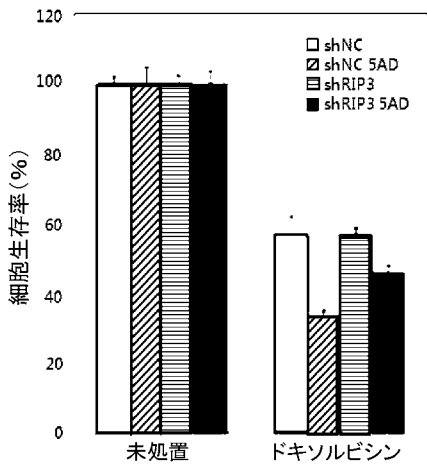
【 図 5 】



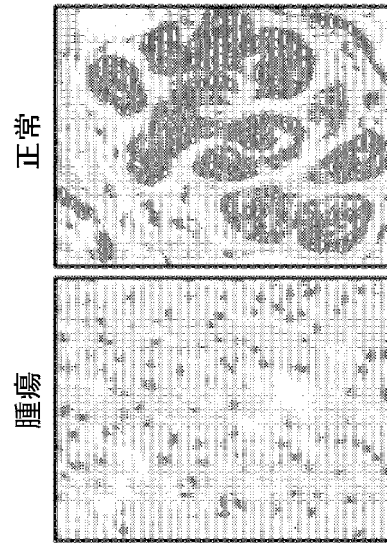
【 図 3 】



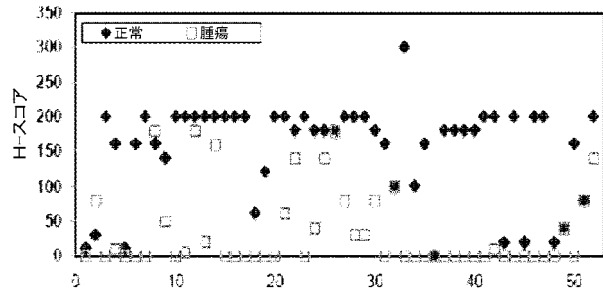
【 図 6 】



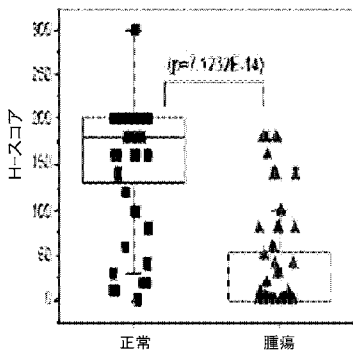
【 図 7 】



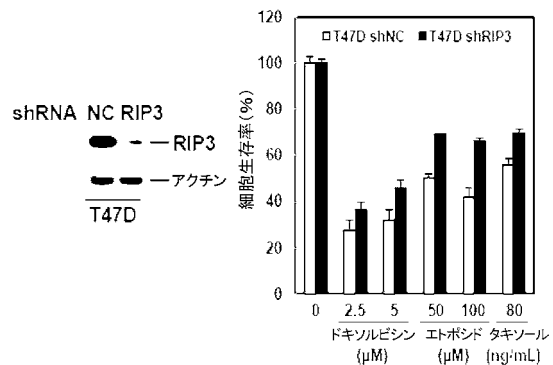
【 図 8 】



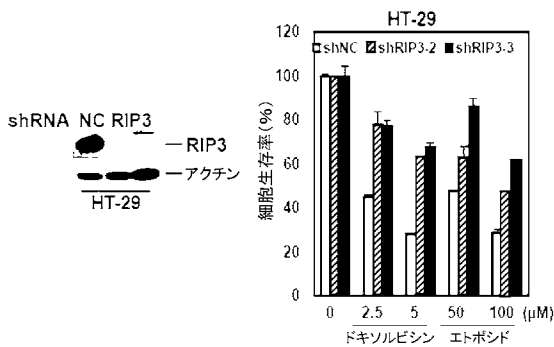
【 図 9 】



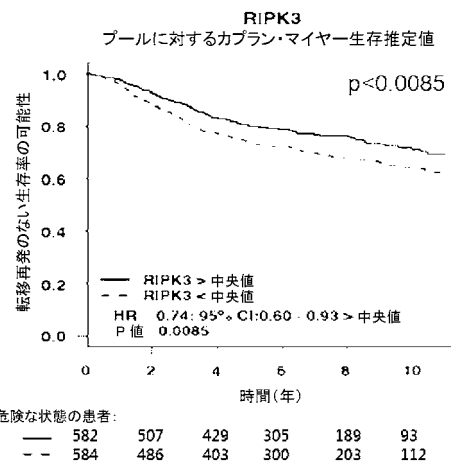
【 図 1 1 】



【 図 1 0 】



【 図 1 2 】




【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2014/011376

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 39/395(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i 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 39/395; C07K 14/00; C12Q 1/68; G01N 33/68; A61K 33/24; G01N 33/574; A61P 35/00 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: RIP3 protein expression promoter, RIP3 protein expression activating agent, anticancer drug susceptibility, biomarker, kit, antibody, aptamer		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FU, ZEZE et al., "The anti-tumor effect of shikonin on osteosarcoma by inducing RIP1 and RIP3 dependent necroptosis", BMC cancer, 2013, vol. 13, issue 1, no. 580, pages 1-10 See abstract; and pages 6, 8.	1-4,18-19
A	WO 2008-104543 A2 (INSERM et al.) 04 September 2008 See abstract; page 43, lines 8-14; and claims 1, 12.	1-4,18-19
A	HE, JIN-XUE et al., "Differential sensitivity of RIP3-proficient and deficient murine fibroblasts to camptothecin anticancer drug", Acta Pharmacologica Sinica, 2012, vol. 33, no. 3, pages 426-428 See abstract; and page 428.	1-4,18-19
A	US 2010-0323034 A1 (TANIGAWARA, Yusuke et al.) 23 December 2010 See abstract; and claims 1-12, 14-21.	1-4,18-19
A	KR 10-2013-0124961 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG) 15 November 2013 See abstract; and claims 1-2, 15.	1-4,18-19
<input 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 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 "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 25 FEBRUARY 2015 (25.02.2015)		Date of mailing of the international search report 26 FEBRUARY 2015 (26.02.2015)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 189 Seousa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2014/011376

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

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

1. Claims Nos.: 5-17, 20-21
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 5-17 and 20-21 pertain to a method for treatment of the human body by surgery or therapy, and to a diagnostic method, and thus pertain to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2014/011376

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
WO 2008-104543 A2	04/09/2008	AU 2008-220841 A1	04/09/2008
		CA 2679208 A1	04/09/2008
		EP 1961825 A1	27/08/2008
		EP 2115170 A2	11/11/2009
		EP 2253721 A1	24/11/2010
		IL 200181 D0	15/04/2010
		JP 2010-518878 A	03/06/2010
		US 2010-0113297 A1	06/05/2010
		WO 2008-104543 A3	06/11/2008
		ZA 200905897 A	28/07/2010
US 2010-0323034 A1	23/12/2010	AU 2009-208526 A1	06/08/2009
		CA 2713296 A1	06/08/2009
		CN 101932338 A	29/12/2010
		EP 2241334 A1	20/10/2010
		EP 2241334 A4	19/06/2013
		IL 207169 D0	30/12/2010
		JP 05461201 B2	02/04/2014
		KR 10-2010-0130587 A	13/12/2010
		MX 2010008496 A	30/08/2010
		NZ 586972 A	30/03/2012
		RU 2010136309 A	10/03/2012
WO 2009-096196 A1	06/08/2009		
KR 10-2013-0124961 A	15/11/2013	CA 2819080 A1	14/06/2012
		CN 103339508 A	02/10/2013
		JP 2014-501918 A	23/01/2014
		US 2014-0030257 A1	30/01/2014
		WO 2012-076582 A1	14/06/2012

국제조사보고서

국제출원번호
PCT/KR2014/011376

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 39/395(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류틀 기재) A61K 39/395; C07K 14/00; C12Q 1/68; G01N 33/68; A61K 33/24; G01N 33/574; A61P 35/00		
조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC		
국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: RIP3 단백질 발현 촉진제, RIP3 단백질 발현 활성화제, 항암제 감수성, 바이오마커, 키트, 항체, 앵타머		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	FU, ZEZE 외, "The anti-tumor effect of shikonin on osteosarcoma by inducing RIP1 and RIP3 dependent necroptosis", BMC cancer, 2013, 13권, 1호, 580번, 페이지 1-10 요약; 및 6, 8 페이지 참조.	1-4, 18-19
A	WO 2008-104543 A2 (INSERM 외) 2008.09.04 요약; 페이지 43, 라인 8-14; 및 청구항 1, 12 참조.	1-4, 18-19
A	HE, JIN-XUE 외, "Differential sensitivity of RIP3-proficient and deficient murine fibroblasts to camptothecin anticancer drug", Acta Pharmacologica Sinica, 2012, 33권, 3호, 426-428 페이지 요약; 및 428 페이지 참조.	1-4, 18-19
A	US 2010-0323034 A1 (TANIGAWARA, YUSUKE 외) 2010.12.23 요약; 및 청구항 1-12, 14-21 참조.	1-4, 18-19
A	KR 10-2013-0124961 A (에프, 호프만-라 로슈 아게) 2013.11.15 요약; 및 청구항 1-2, 15 참조.	1-4, 18-19
<input type="checkbox"/> 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. <input checked="" type="checkbox"/> 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2015년 02월 25일 (25.02.2015)		국제조사보고서 발송일 2015년 02월 26일 (26.02.2015)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 ++82 42 472 3473		심사관 이정아 전화번호 ++82-42-481-8740

국제조사보고서

국제출원번호

PCT/KR2014/011376

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

- 1. 청구항: 5-17, 20-21
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉, 청구항 제5항 내지 제17항 및 제 20항 내지 제21항은 수술 또는 치료에 의한 사람의 치료방법 및 진단방법에 관한 것이므로 PCT 조약 제 17조(2)(a)(i) 및 PCT 규칙 39.1 (iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
- 2. 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
- 3. 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

- 1. 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
- 2. 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
- 3. 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
- 4. 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에 관한 기재

- 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2014/011376

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
WO 2008-104543 A2	2008/09/04	AU 2008-220841 A1 CA 2679208 A1 EP 1961825 A1 EP 2115170 A2 EP 2253721 A1 IL 200181 D0 JP 2010-518878 A US 2010-0113297 A1 WO 2008-104543 A3 ZA 200905897 A	2008/09/04 2008/09/04 2008/08/27 2009/11/11 2010/11/24 2010/04/15 2010/06/03 2010/05/06 2008/11/06 2010/07/28
US 2010-0323034 A1	2010/12/23	AU 2009-208526 A1 CA 2713296 A1 CN 101932338 A EP 2241334 A1 EP 2241334 A4 IL 207169 D0 JP 05461201 B2 KR 10-2010-0130587 A MX 2010008496 A NZ 586972 A RU 2010136309 A WO 2009-096196 A1	2009/08/06 2009/08/06 2010/12/29 2010/10/20 2013/06/19 2010/12/30 2014/04/02 2010/12/13 2010/08/30 2012/03/30 2012/03/10 2009/08/06
KR 10-2013-0124961 A	2013/11/15	CA 2819080 A1 CN 103339508 A JP 2014-501918 A US 2014-0030257 A1 WO 2012-076582 A1	2012/06/14 2013/10/02 2014/01/23 2014/01/30 2012/06/14

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 P 1/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
G 0 1 N 33/573 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	A 6 1 P 1/00	
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
	G 0 1 N 33/53	Y
	G 0 1 N 33/573	A
	G 0 1 N 33/50	Z
	G 0 1 N 33/15	Z

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, 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, UZ

(72)発明者 キム, ヨウ・スン
大韓民国 4 4 3 7 2 3 ギョンギ ド スウォン シ ヨントン グ メボン ロ 2 0 1
0 6 1 8 0 3

(72)発明者 コオ, ギ・バン
大韓民国 3 2 5 8 0 5 チュンチョンナム ド ソチョン グン ソチョン ユップ ファソ
ック ロ・8 0 ビョン ギル 9

(72)発明者 ユン, ジュン・ホ
大韓民国 4 8 6 9 0 3 ギョンギ ド ヨンチョン グン ジョンゴク ユップ ビョンファ
ロ 9 2 0 6

(72)発明者 キム, ウォ・ジュン
大韓民国 4 4 7 7 4 5 ギョンギ ド オサン シ オサン ロ・1 6 0 ビョン ギル 1 4
1 0 9 1 4 0 3

(72)発明者 ジョ, ユ・ナ
大韓民国 1 2 2 7 5 1 ソウル ユンピョン グ トンギル ロ 7 8 0 1 2 0 6

Fターム(参考) 2G045 AA26

4B063 QA07 QA19 QQ08 QQ42 QQ52 QR55 QR62 QS25 QS33 QS34
QX01
4C084 AA02 AA17 AA20 BA44 MA02 NA05 NA14 ZA66 ZA75 ZA81
ZB26 ZC19 ZC41 ZC75
4C085 AA13 AA14 EE01 EE03
4C086 AA01 AA02 EA10 EA11 MA01 MA02 MA04 NA05 NA14 ZA66
ZA75 ZA81 ZB26 ZC19 ZC41 ZC75

(54) 【発明の名称】 受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) 発現促進剤を有効成分として含む抗癌補助用組成物、受容体共役タンパク質キナーゼ - 3 (R I P 3) の発現を促して抗癌剤感受性を増進させる抗癌補助剤のスクリーニング方法及び抗癌剤感受性のモニターリング方法

【要約の続き】

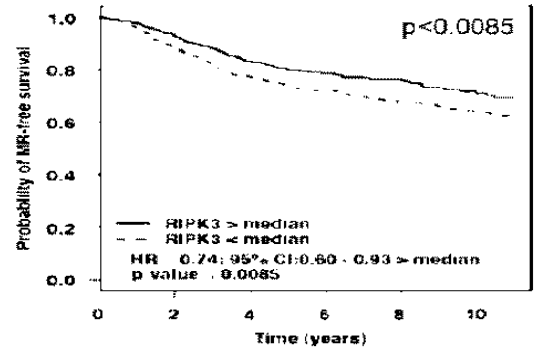
を増進させる抗癌補助剤をスクリーニングするのに効果的な戦略になるものと見込まれる。

专利名称(译)	一种抗癌辅助组合物，包含作为活性成分的受体偶联蛋白激酶-3 (RIP3) 表达启动子，促进受体偶联蛋白激酶-3 (RIP3) 表达并促进抗癌药物敏感性的抗癌辅助组合物筛选方法和抗癌剂药敏试验方法		
公开(公告)号	JP2017511812A	公开(公告)日	2017-04-27
申请号	JP2016568771	申请日	2014-11-25
[标]申请(专利权)人(译)	同和药品株式会社		
[标]发明人	キムヨウスン コオギバン ユンジユンホ キムウオジュン ジョユナ		
发明人	キム,ヨウ・スン コオ,ギ・バン ユン,ジュン・ホ キム,ウオ・ジュン ジョ,ユ・ナ		
IPC分类号	A61K45/00 C12Q1/68 C12Q1/04 A61K31/7008 A61K31/7048 A61P35/00 A61K38/00 A61K39/395 A61P43/00 A61K45/06 A61P15/00 A61P1/16 A61P1/00 G01N33/53 G01N33/573 G01N33/50 G01N33/15		
CPC分类号	A61K31/337 A61K31/704 A61K31/7048 A61K31/706 A61K45/06 A61P1/00 A61P1/16 A61P15/00 C12Q1/6886 C12Q2600/106 C12Q2600/136 C12Q2600/158 G01N33/5011 G01N2333/9121 A61K2300/00 C12Q2600/154 G01N2333/91205		
FI分类号	A61K45/00 C12Q1/68.A C12Q1/04 A61K31/7008 A61K31/7048 A61P35/00 A61K37/02 A61K39/395.D A61K39/395.N A61P43/00.111 A61P43/00.105 A61P43/00.121 A61K45/06 A61P15/00 A61P1/16 A61P1/00 G01N33/53.D G01N33/53.Y G01N33/573.A G01N33/50.Z G01N33/15.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA26 4B063/QA07 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX01 4C084/AA02 4C084/AA17 4C084/AA20 4C084/BA44 4C084/MA02 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/ZA66 4C084/ZA75 4C084/ZA81 4C084/ZB26 4C084/ZC19 4C084/ZC41 4C084/ZC75 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/EE01 4C085/EE03 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA10 4C086/EA11 4C086/MA01 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/NA14 4C086/ZA66 4C086/ZA75 4C086/ZA81 4C086/ZB26 4C086/ZC19 4C086/ZC41 4C086/ZC75		
优先权	1020140014242 2014-02-07 KR 1020140014243 2014-02-07 KR 1020140164963 2014-11-25 KR		
其他公开文献	JP6464436B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

抗癌佐剂药物组合物技术领域本发明涉及含有受体偶联蛋白激酶-3 (RIP3 : 受体相互作用蛋白激酶-3) 蛋白表达促进剂或活化剂作为有效成分的抗癌佐剂药物组合物。 本发明还提供了促进癌细胞死亡的方法，该方法包括对癌细胞共同施用受体偶联的蛋白激酶-3 (RIP3) 蛋白表达启动子或活化剂和抗癌剂。 此外，本发明使用一种筛选抗癌佐剂的方法，该佐剂可促进受体偶联蛋白激酶3 (RIP3) 的表达并增强抗癌药的敏感性，以及是否存在受体偶联蛋白激酶3 (RIP3) 的表达。 本发明涉及一种监测抗癌药物敏感性的方法。 因此，在缺乏受体偶联蛋白激酶3 (RIP3) 表达的患者中，脱甲基剂预处理后的常规治疗可诱导受体偶联蛋白激酶3 (RIP3) 表达 预期使用这些化学治疗剂将是有效的治疗策略。 预期它将在抗癌治疗中监测抗癌药物敏感性和筛选增强抗癌药物敏感性的抗癌佐剂的有效策略。

RIPK3
Kaplan-Meier survival estimates for pool



Patients at risk:

Time (years)	0	2	4	6	8	10
— RIPK3 > median	582	507	429	305	189	93
- - RIPK3 < median	584	486	403	300	203	112