

(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2017-526629

(P2017-526629A)

(43) 公表日 平成29年9月14日(2017.9.14)

(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	4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68	A 4 B 0 6 5
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 C 0 8 4
C 1 2 N 5/09 (2010.01)	C 1 2 N 5/09	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/472 (2006.01)	A 6 1 K 31/472	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 44 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-575341 (P2016-575341)
 (86) (22) 出願日 平成27年6月26日 (2015. 6. 26)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年12月21日 (2016. 12. 21)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2015/064571
 (87) 国際公開番号 W02015/197839
 (87) 国際公開日 平成27年12月30日 (2015. 12. 30)
 (31) 優先権主張番号 14382249.2
 (32) 優先日 平成26年6月27日 (2014. 6. 27)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 516384689
 インスティテュート デ レセルカ コン
 トラ ラ ロイセミア ジョセップ カレ
 ーラス
 スペイン国 イー08021 バルセロナ
 、ムンタナ、383、3オー、2エイ
 (74) 代理人 110001656
 特許業務法人谷川国際特許事務所
 (74) 代理人 100094640
 弁理士 紺野 昭男
 (74) 代理人 100103447
 弁理士 井波 実
 (74) 代理人 100111730
 弁理士 伊藤 武泰

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血液系悪性腫瘍を治療、診断および予後判定するための方法

(57) 【要約】

本発明は、血液系悪性腫瘍の予防および/または治療で使用するための、1型5-HTR阻害剤および2型5-HTR阻害剤からなる群から選択されるセロトニン受容体(5-HTR)阻害剤に関する。

さらに、本発明は、血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞を同定もしくは単離するための、または、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現の検出に基づいて血液系悪性腫瘍を診断するための、インビトロ法に関する。

さらに、本発明は、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRのレベルの決定に基づく、予後を判定するための、治療法の効果をモニターするための、または、血液系悪性腫瘍を患う対象におけるカスタマイズされた治療法を設計するための、インビトロ法に関する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

骨髄系の血液系悪性腫瘍の予防および/または治療で使用するための、1型5-HTR阻害剤および2型5-HTR阻害剤からなる群から選択されるセロトニン受容体(5-HTR)阻害剤であって、1型5-HTR阻害剤が1A型5-HTR阻害剤および1B型5-HTR阻害剤から成る群から選択され、2型5-HTR阻害剤がアポモルヒネ、アゴメラチン、アミトリプチリン、アセナピン、クロミプラミン、クロザピン、ジメボリン(Dimebolin)、エルトプラジン(Eltoprazine)、エトペリドン、フルオキセチン、ハロペリドール、イロペリドン、ケタンセリン、リスリド、メチセルジド、ミアンセリン、ミルタザピン、ネファゾドン、オランザピン、パロキセチン、クエチアピン、リスペリドン、リタンセリン、トラマドール、トラゾドン、ジブラシドン、SB-242084、およびRSS-102221からなる群から選択される2C型5-HTR阻害剤である、前記セロトニン受容体(5-HTR)阻害剤。

10

【請求項 2】

前記阻害剤がアポモルヒネ、メチオテピン、アムペロジド、SB-224289およびその薬剂的に許容できる塩からなる群から選択される、請求項1に記載の用途のための5-HTR阻害剤。

【請求項 3】

前記阻害剤が1A型5-HTR阻害剤および1B型5-HTR阻害剤からなる群から選択される1型5-HTR阻害剤である、請求項1または2のいずれか一項に記載の用途のための5-HTR阻害剤。

20

【請求項 4】

血液系悪性腫瘍が白血病である、請求項1~3のいずれか一項に記載の用途のための5-HTR阻害剤。

【請求項 5】

白血病が急性骨髄性白血病(AML)である、請求項4に記載の用途のための5-HTR阻害剤。

【請求項 6】

骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される試料中の血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞を同定するためのインビトロ法であって、前記細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現を検出することを含む、前記インビトロ法。

30

【請求項 7】

対象において血液系悪性腫瘍を診断するためのインビトロ法であって、請求項6に記載の方法によって悪性細胞を同定することを含む、前記インビトロ法。

【請求項 8】

骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される試料中の血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞を単離するためのインビトロ法であって、前記細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現を検出し、前記5-HTRを発現する前記細胞を単離することを含む、前記インビトロ法。

40

【請求項 9】

1型5-HTRが5-HTR 1Aであり、2型5-HTRが5-HTR 2Cである、請求項6~8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

血液系悪性腫瘍が白血病である、請求項6~9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

白血病が急性骨髄性白血病である、請求項10に記載の方法。

【請求項 12】

血液試料が末梢血である、請求項6~11に記載の方法。

【請求項 13】

1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現細胞が免疫細胞化学によって検出

50

される、請求項 6 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

血液系悪性腫瘍を患う対象の予後を判定するためのインビトロ法であって、

(a) 骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される前記対象由来の試料の細胞における 1 型 5 - H T R および / または 2 型 5 - H T R の発現レベルを決定し、

(b) 前記レベルを基準値と比較すること、を含み、

基準値に対する 1 型 5 - H T R および / もしくは 2 型 5 - H T R の発現レベルの減少が、対象が良好な予後を示すことを示す、または

基準値に対する 1 型 5 - H T R および / もしくは 2 型 5 - H T R の発現レベルの増加が、対象が予後不良を示すことを示す、

前記インビトロ法。

10

【請求項 15】

血液系悪性腫瘍を患い、治療法による処置を受けている対象における、前記治療法の効果をモニターするためのインビトロ法であって、

a) 骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される前記対象由来の試料の細胞における 1 型 5 - H T R および / または 2 型 5 - H T R の発現レベルを決定し、

b) 前記レベルを、より早い時点の前記対象由来の試料の細胞における 1 型 5 - H T R および / または 2 型 5 - H T R の発現レベルと比較すること、を含み

より早い時点での前記対象由来の試料において決定されたレベルに対する、1 型 5 - H T R および / もしくは 2 型 5 - H T R の発現レベルの減少が、治療法が効果的であることを示す、または

より早い時点での前記対象由来の試料において決定されたレベルに対する、1 型 5 - H T R および / もしくは 2 型 5 - H T R の発現レベルの増加が、治療法が効果的でないことを示す、

前記インビトロ法。

20

【請求項 16】

血液系悪性腫瘍があると診断された対象のためのカスタマイズされた治療法を設計するためのインビトロ法であって、

a) 骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される前記対象由来の試料の細胞における 1 型 5 - H T R および / または 2 型 5 - H T R の発現レベルを決定し、

b) 前記レベルを基準値と比較すること、を含み、

基準値に対する 1 型 5 - H T R および / または 2 型 5 - H T R の発現細胞のレベルの増加が、対象が 1 型 5 - H T R 阻害剤および / または 2 型 5 - H T R 阻害剤で治療されるべきであることを示す、

前記インビトロ法。

30

【請求項 17】

5 - H T R 阻害剤がアポモルヒネ、メチオテピン、アムペロジドおよびその薬剂的に許容できる塩からなる群から選択される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

1 型 5 - H T R の発現レベルが決定される、請求項 14 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 19】

1 型 5 - H T R が 5 - H T R 1 A および 5 - H T R 1 B からなる群から選択される、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

血液系悪性腫瘍が白血病である、請求項 14 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

白血病が急性骨髄性白血病である、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

血液試料が末梢血である、請求項 14 ~ 21 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 23】

1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルが、1型5-HTR遺伝子および/もしくは2型5-HTR遺伝子にコードされるmRNAのレベルを測定することによって、または1型5-HTRタンパク質および/もしくは2型5-HTRタンパク質、もしくはその変異体のレベルを測定することによって決定される、請求項14~22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

mRNA発現レベルがPCRによって決定される、または、タンパク質もしくはその変異体の発現レベルがウェスタンブロットもしくは免疫細胞化学によって決定される、請求項23に記載の方法。

10

【請求項 25】

骨髄系の血液系悪性腫瘍の予防および/または治療のための薬剤の調製のための、1型5-HTR阻害剤および2型5-HTR阻害剤からなる群から選択されるセロトニン受容体(5-HTR)阻害剤の用途であって、1型5-HTR阻害剤が1A型5-HTR阻害剤および1B型5-HTR阻害剤から成る群から選択され、2型5-HTR阻害剤がアポモルヒネ、アゴメラチン、アミトリプチリン、アセナピン、クロミプラミン、クロザピン、ジメボリン、エルトブラジン、エトペリドン、フルオキセチン、ハロペリドール、イロペリドン、ケタンセリン、リスリド、メチセルジド、ミアンセリン、ミルタザピン、ネファゾドン、オランザピン、パロキセチン、クエチアピン、リスベリドン、リタンセリン、トラマドール、トラゾドン、ジブラシドン、SB-242084、およびRS-102221からなる群から選択される2C型5-HTR阻害剤である、前記用途。

20

【請求項 26】

5-HTR阻害剤がアポモルヒネ、メチオテピン、アムペロジド、SB-224289およびその薬剤的に許容できる塩からなる群から選択される、請求項25に記載の用途。

【請求項 27】

前記5-HTR阻害剤が1A型5-HTR阻害剤および1B型5-HTR阻害剤からなる群から選択される1型5-HTR阻害剤である、請求項25または26のいずれか一項に記載の用途。

【請求項 28】

血液系悪性腫瘍が白血病である、請求項25~27のいずれか一項に記載の用途。

30

【請求項 29】

白血病が急性骨髄性白血病(AML)である、請求項28に記載の用途。

【請求項 30】

骨髄系の血液系悪性腫瘍を予防および/または治療するための方法であって、1型5-HTR阻害剤および2型5-HTR阻害剤からなる群から選択されるセロトニン受容体(5-HTR)阻害剤を、前記予防および/または治療を必要とする対象に投与することを含み、1型5-HTR阻害剤が1A型5-HTR阻害剤および1B型5-HTR阻害剤から成る群から選択され、2型5-HTR阻害剤がアポモルヒネ、アゴメラチン、アミトリプチリン、アセナピン、クロミプラミン、クロザピン、ジメボリン、エルトブラジン、エトペリドン、フルオキセチン、ハロペリドール、イロペリドン、ケタンセリン、リスリド、メチセルジド、ミアンセリン、ミルタザピン、ネファゾドン、オランザピン、パロキセチン、クエチアピン、リスベリドン、リタンセリン、トラマドール、トラゾドン、ジブラシドン、SB-242084、およびRS-102221からなる群から選択される2C型5-HTR阻害剤である、前記方法。

40

【請求項 31】

5-HTR阻害剤がアポモルヒネ、メチオテピン、アムペロジド、SB-224289およびその薬剤的に許容できる塩からなる群から選択される、請求項30に記載の方法。

【請求項 32】

前記5-HTR阻害剤が1A型5-HTR阻害剤および1B型5-HTR阻害剤からなる群から選択される1型5-HTR阻害剤である、請求項30または31のいずれか一項

50

に記載の方法。

【請求項 33】

血液系悪性腫瘍が白血病である、請求項 30 ~ 32 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 34】

白血病が急性骨髄性白血病 (AML) である、請求項 33 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、治療法、診断法および予後判定法の分野に関する。

【背景技術】

【0002】

血液系または造血系の悪性腫瘍は、白血病およびリンパ腫を含む、血液または骨髄のがんである。白血病は、血液細胞の制御されない蓄積を特徴とし、急性リンパ性白血病 (ALL)、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性リンパ性白血病 (CLL)、および慢性骨髄性白血病 (CML) の 4 つの種類に分類される。

【0003】

急性骨髄性白血病 (AML) は、非リンパ系、骨髄芽球性、顆粒球性または骨髄球性の白血病とも称され、顆粒球および単球を含む様々な白血球に影響を与える。急性白血病は、髄および血液内での未成熟で機能のない細胞の蓄積をもたらす、急速に進行する疾患であり；しばしば、髄が正常な赤血球、白血球および血小板を十分に産生することを停止し、白血病細胞が肝臓、脾臓、リンパ節、中枢神経系、腎臓および生殖腺に広がる。結果的に、AML 患者は、例えば、貧血症、疲労、インフルエンザ様症状、骨痛、食欲不振、体重減少、紫斑の易形成 (bruising easily)、出血、および易感染性等の、AML の一つまたは複数の症状を発症し得る。

【0004】

世界中で 25 万人を超える成人が、毎年、急性骨髄性白血病 (AML) と診断されている。過去 30 年間の AML 治療法におけるかなりの進歩にもかかわらず、未だ、若年成人の 2/3 および高齢者の 90% がこれらの疾患によって死亡している。

【0005】

血液系悪性腫瘍を有する患者、特に、AML を患う患者から得られた経験は、診断ツールとして、および、患者の予後判定に、全身の血漿/血清サイトカインプロファイルが有用であり得ることを示唆している。しかし、サイトカイン/ケモカインは、広範な細胞によって放出され、広範な生物学的プロセスに関与しており；そのため、レベルの変化が生物学的プロセスの強弱および性質を主に反映し得ることから、ケモカイン/サイトカイン解析の最適な臨床使用は、臓器特異的な生物マーカーとの併用を必要とし得る。また、ケモカインレベルは臨床的処置、治療介入および患者の全身状態によっても変化する (Reikvam H. et al., *Toxins* (Basel). Feb 2013; 5(2): 336-362)。従って、血液系悪性腫瘍の最適な評価および管理を確立するために、新規の診断法および予後判定法が必要となる。

【0006】

現在の AML 治療には、化学療法、放射線療法、免疫療法、輸血、および骨髄移植が含まれ得る。初期の治療の主力であった、シトシンアラビノシド (ara-C) およびアントラサイクリンの併用は、40 年近く前に開発されたものであり、世界的な標準治療のままである。あるいは、例えば、シタラビン、ダウノルビシン、イダルビシン、チオグアニン、ミトキサントロン、エトポシド、およびメトトレキサート等の、3 ~ 8 つの薬物の組合せがある。現在の化学療法は完全寛解をもたらし得る一方、白血病、特に AML の長期無病生存率は低い。

【0007】

代替治療へのアプローチは、毒性が低くより効果的な治療の開発に向けられている。種々の新規化学療法剤、例えば、トポテカンおよびカンボテシン等のトポイソメラーゼ I 阻

10

20

30

40

50

害剤、白金含有薬剤（カルボプラチン）、並びに、ゲムシタピン、トロキサシタピン（tr oxcitabine）およびクロファラピンを含む新規代謝拮抗剤が、AMLにおいて評価された（Smith M, et al., Critical Reviews in Oncology/Hematology. 2004; 50(3): 197-222）。これらの薬剤は全て、白血病性芽球（leukaemic blast）に対する活性を有しているが、それらの使用は依然研究中である。シクロスポリンAまたはPSC833を用いたMDR-1遮断は、有益とは証明されておらず、毒性を増加させ得るか、または、用量減少を必要として全体的な化学療法への暴露を減少させ得る（Larson RA. et al, Leukemia 2003; 17: 488-91）。

【0008】

また、化学療法は通常、正常細胞も殺傷してしまうことから、化学療法を受けている患者はしばしば、例えば、悪心、疲労、およびより高い感染リスク等の副作用を被る。

【0009】

これらのことから、毒性が低減された、血液系悪性腫瘍（例えば、白血病）を治療するための効果的な治療法への需要が、明確に、そして未だ対処されずに、存在している。

【発明の概要】

【0010】

第一の態様において、本発明は、血液系悪性腫瘍の予防および/または治療で使用するための、1型5-HTR阻害剤および2型5-HTR阻害剤からなる群から選択されるセロトニン受容体（5-HTR）阻害剤に関する。

【0011】

第二の態様において、本発明は、骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される試料中の血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞を同定するためのインビトロ法に関し、前記方法は、前記細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現を検出することを含む。

【0012】

第三の態様において、本発明は、本発明の方法によって悪性細胞を同定することを含む、対象における血液系悪性腫瘍を診断するためのインビトロ法に関する。

【0013】

第四の態様において、本発明は、骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される試料中の血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞を単離するためのインビトロ法に関し、前記方法は、前記細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現を検出し、前記5-HTRを発現する前記細胞を単離することを含む。

【0014】

第五の態様において、本発明は、血液系悪性腫瘍を患う対象の予後を判定するためのインビトロ法に関し、前記方法は、

(a) 骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される前記対象由来の試料の細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルを決定し、

(b) 前記レベルを基準値と比較すること、を含み、

前記方法では、基準値に対する1型5-HTRおよび/もしくは2型5-HTRの発現レベルの減少は、対象が良好な予後を示すことを示し、または、基準値に対する1型5-HTRおよび/もしくは2型5-HTRの発現レベルの増加は、対象が予後不良を示すことを示す。

【0015】

第六の態様において、本発明は、血液系悪性腫瘍を患い、治療法による処置を受けている対象における、前記治療法の効果をモニターするためのインビトロ法に関し、前記方法は、

a) 骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される前記対象由来の試料の細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルを決定し、

b) 前記レベルを、より早い時点の前記対象由来の試料の細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルと比較すること、を含み、

10

20

30

40

50

前記方法では、より早い時点での前記対象由来の試料において決定されたレベルに対する、1型5-HTRおよび/もしくは2型5-HTRの発現レベルの減少は、治療法が効果的であることを示し、または、より早い時点での前記対象由来の試料において決定されたレベルに対する、1型5-HTRおよび/もしくは2型5-HTRの発現レベルの増加は、治療法が効果的でないことを示す。

【0016】

第七の態様において、本発明は、血液系悪性腫瘍があると診断された対象のためのカスタマイズされた治療法を設計するためのインビトロ法に関し、前記方法は、

a) 骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される前記対象由来の試料の細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルを決定し、

10

b) 前記レベルを基準値と比較すること、を含み、

前記方法では、基準値に対する1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現細胞のレベルの増加は、対象が1型5-HTR阻害剤および/または2型5-HTR阻害剤で治療されるべきであることを示す。

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】アポモルヒネ処理はAML細胞生存率を減少させた。完全RPMI培地中 10^6 / mlのHL-60細胞、KG-1細胞、MonoMac-1細胞およびKasumi-1細胞を、0.1、1および10 μ Mのアポモルヒネで72時間処理した。細胞を37、5%CO₂でインキュベートした。細胞を7-アミノアクチノマイシンD (7-AAD、CAS登録番号7240-37-1)およびHoechst33342 (CAS登録番号23491-52-3)で染色し、フローサイトメトリーで解析した。死細胞を7-AAD陽性染色で除外しながら、有核細胞(nuclear cell)をHoechst陽性染色で特定した。細胞数を体積計数(volumetric count)により算出した。A. 各々のAML細胞株の平均値(シンボル)および6つの異なる生物学的反復から得られた標準偏差(エラーバー)が示される。B. 4つの異なるAML細胞株に対応する平均値が示される。* p < 0.05。

20

【図2-1】1型および2型5HTR拮抗薬はAML細胞株に対し細胞死を誘導した。10⁶ / mlのHL-60、KG-1、MonoMac-1およびKasumi-1 AML細胞株を、0.1、1および10 μ Mのアポモルヒネ、メチオテピン、アムペロジドまたはGR113808と一緒に、37、5%CO₂で、72時間インキュベートした。死細胞を7-AAD陽性染色で除外しながら、有核細胞をHoechst陽性染色で特定した。細胞数を体積計数により算出した。A. 各々のAML細胞株の平均値(シンボル)および6つの異なる生物学的反復から得られた標準偏差(エラーバー)が示される。B. AML細胞株を、5-CTまたは5-HTの存在下または非存在下で、10 μ Mのアポモルヒネまたはメチオテピンで処理した。* p < 0.05。Apo:アポモルヒネ; Methio:メチオテピン。

30

【図2-2】同上。

【図3】5HTR拮抗薬は24時間における初代患者AML試料の細胞生存率を減少させた。5 × 10⁶ / mlの初代AML細胞を、完全IMDM培地中で0.1、1および10 μ Mのアポモルヒネまたはメチオテピンで37、5%CO₂で24時間処理した。AML混合集団(bulk population)を、それらのCD45発現および細胞数測定によるSSCプロファイルに基づいて特定した。AML混合集団内の未分化AML集団を、それらのCD34に対する陽性度(positivity)およびCD38に対する陰性度(negativity)に基づいて、特定した。死細胞を7-AAD陽性染色で除外しながら、有核細胞をHoechst陽性染色で特定した。細胞数を体積計数により算出した。11個の初代AML試料を3連で分析した。各々のシンボルは特定のAML患者を表す。バーは各々の反復実験の細胞生存率の平均値を表す。* p < 0.05

40

【図4】5HTR拮抗薬は72時間における初代患者AML試料の細胞生存率を減少させた。5 × 10⁶ / mlの初代AML細胞を、完全IMDM培地中で0.1、1および10

50

μM のアポモルヒネまたはメチオテピンで 3.7×10^6 、 $5\% \text{CO}_2$ で72時間処理した。AML混合集団を、それらのCD45発現および細胞数測定によるSSCプロファイルに基づいて特定した。AML混合集団内の未分化AML集団を、それらのCD34に対する陽性度およびCD38に対する陰性度に基づいて、特定した。死細胞を7-AAD陽性染色で除外しながら、有核細胞をHoechst陽性染色で特定した。細胞数を体積計数により算出した。11個の初代AML試料を3連で分析した。各々のシンボルは特定のAML患者を表す。バーは各々の反復実験の細胞生存率の平均値を表す。* $p < 0.05$ 。

【図5】5HTR拮抗薬はAML細胞株に対し骨髄分化を誘導した。 $10^6 / \text{ml}$ のHL-60、KG-1、MonoMac-1およびKasumi-1 AML細胞を、完全RPMI培地中で0.1、1および $10 \mu\text{M}$ のアポモルヒネおよびメチオテピンで 3.7×10^6 、 $5\% \text{CO}_2$ で72時間処理した。CD11c、CD11bおよびCD14の細胞表面発現をフローサイトメトリーで検出した。死細胞を7-AAD-陽性染色で除外した。* $p < 0.05$ 。MFI：平均蛍光強度。

【図6】5HTR拮抗薬であるアポモルヒネは初代患者AML試料に対し骨髄分化を誘導した。 $5 \times 10^6 / \text{ml}$ の初代AML細胞を、完全IMDM培地中で0.1、1および $10 \mu\text{M}$ のアポモルヒネで 3.7×10^6 、 $5\% \text{CO}_2$ で72時間処理した。AML混合集団を、それらのCD45発現および細胞数測定によるSSCプロファイルに基づいて特定した。CD11b、CD14およびCD15の細胞表面発現をフローサイトメトリーで検出した。死細胞を7-AAD-陽性染色で除外した。9個の初代AML試料を3連で分析した。各々のシンボルは特定のAML患者を表す。バーは各々の反復実験の細胞生存率の平均値を表す。* $p < 0.05$ 。

【図7】5HTR拮抗薬であるメチオテピンは初代患者AML試料に対し骨髄分化を誘導した。 $5 \times 10^6 / \text{ml}$ の初代AML細胞を、完全IMDM培地中で0.1、1および $10 \mu\text{M}$ のメチオテピンで 3.7×10^6 、 $5\% \text{CO}_2$ で72時間処理した。AML混合集団を、それらのCD45発現および細胞数測定によるSSCプロファイルに基づいて特定した。CD11b、CD14およびCD15の細胞表面発現をフローサイトメトリーで検出した。死細胞を7-AAD-陽性染色で除外した。9個の初代AML試料を3連で分析した。各々のシンボルは特定のAML患者を表す。線は各々の反復実験の細胞生存率平均値を表す。* $p < 0.05$ 。

【図8】健全な血液細胞生存率は5HTR拮抗薬による処理後も未影響のままである。健全ドナーから得られた末梢血試料由来の 5×10^6 個のフィコール単離された単核細胞を、完全RPMI培地中で0.1、1および $10 \mu\text{M} / 6 \text{mL}$ のアポモルヒネまたはメチオテピンで 3.7×10^6 、 $5\% \text{CO}_2$ で24時間(A)または72時間(B)処理した。血液細胞を、それらのCD45発現および細胞数測定によるSSCプロファイルに基づいて特定した。死細胞を7-AAD陽性染色で除外しながら、有核細胞をHoechst陽性染色で特定した。細胞数を体積計数により算出した。4つの初代ドナー試料を3連で分析した。バーは各々の反復実験の細胞生存率平均値を表し、エラーバーは標準偏差を示す。* $p < 0.05$ 。

【図9】5HTR拮抗薬処理は健全な造血幹/前駆細胞に影響を与えなかった。健全ドナーから得られた臍帯血試料由来の 2×10^5 個の系統枯渇(lineage-depleted)フィコール単離単核細胞を、完全IMDM培地中で $10 \mu\text{M}$ のアポモルヒネで 3.7×10^6 、 $5\% \text{CO}_2$ で24時間処理した。血液細胞を、それらのCD45発現および細胞数測定によるSSCプロファイルに基づいて特定した。CD34およびCD38表面染色を行い、各々の亜集団を特定した。死細胞を7-AAD陽性染色で除外しながら、有核細胞をHoechst陽性染色で特定した。細胞数を体積計数により算出した。3つの初代臍帯血試料を3連で分析した。バーは各々の反復実験の細胞生存率平均値を表し、エラーバーは標準偏差を示す。

【図10】初代AML試料のクローン原性は5HTR拮抗薬処理後に低減される。 $5 \times 10^5 / \text{ml}$ の初代患者AML血液細胞を、完全IMDM培地中で $10 \mu\text{M}$ のアポモルヒネまたはメチオテピンで 3.7×10^6 、 $5\% \text{CO}_2$ で18時間処理した。次に細胞を、造血サイト

10

20

30

40

50

カインを添加したメチルセルロース中で14日間培養した。得られたCFU-Bの数を形態学的基準に基づいて、顕微鏡法で測定した。7つの初代AML血液試料を分析した。各々のシンボルは特定の患者試料を表す。線は中央値を表す。* $p < 0.05$ 。CFU-B：芽球コロニー形成単位。

【図11】5HTR拮抗薬処理は健全な造血幹細胞のクローン原性を低減させなかった。 $1 \times 10^3 / \text{ml}$ の初代系統枯渇 臍帯血細胞を、完全IMDM培地中で $10 \mu\text{M}$ のアボモルヒネまたはメチオテピンで37、5%CO₂で18時間処理した。次に細胞を、造血サイトカインを添加したメチルセルロース中で14日間培養した。得られたコロニーの数を形態学的基準に基づいて、顕微鏡法で測定した。A. コロニーの総数を表す。CFU：コロニー形成単位。B. 各々のコロニー亜型の頻度が示される(CFU-Mix、混合系統(Mix lineaged)コロニー；CFU-GM、顆粒単球(granulo-monocyte)コロニー；CFU-G、顆粒球コロニー；CFU-M、単球コロニー；BFU-E 赤血球芽球(erythrocyte blast)コロニー)。4つの初代臍帯血試料を分析した。バーは各々の反復実験の細胞生存率平均値を表し、エラーバーは標準偏差を示す。* $p < 0.05$ 。

【図12】AML試料は5HTRを示差的に発現する。初代AML血液試料、健全な末梢血試料およびAML細胞株(HL-60、KG-1、MonoMac-1およびKasumi-1)を、5HTR1AおよびHTR1Bについて表面染色した。試料をフローサイトメトリーで分析した。陽性細胞の頻度が示される。18個の初代患者AML末梢血試料および16個の健全ドナー末梢血試料が示される。丸：AML細胞株、四角：AML、菱形：健全な成熟血液細胞 * $p < 0.05$ ；*** $p < 0.001$ 。

【図13】5HTRのmRNAレベルはAML臨床成績と相関する。初代患者AML血液試料由来の全RNAを単離し、5HTR1A(A)および5HTR1B(B)のmRNAレベルを半定量的PCRで測定した。発現レベルをGAPDHに対して正規化し、2^{-Ct}法に従って算出した。良好予後群に対応する6つのAML試料および不良予後群に対応する8つのAML試料が3連で示される。* $p < 0.05$ 。

【図14】5HTR拮抗薬による処理は二次CFUの減少をもたらす。 $10 \mu\text{M}$ アボモルヒネ、 $10 \mu\text{M}$ メチオテピンまたはビヒクル対照で事前処理された初代CFU由来の $10^6 / \text{ml}$ の初代AML患者細胞を、造血サイトカインを添加したメチルセルロース中に14日間再播種した。得られたCFU-Bの数を形態学的基準に基づいて、顕微鏡法で測定した。3つの初代AML試料を試験した。* $p < 0.05$ 、*** $p < 0.005$ 、** $p < 0.001$ 。

【図15】5HTR1拮抗薬による処置はインビボ異種移植マウスモデルにおけるAML負荷を低減する。6~8週齢NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG)マウスを、0日目にブスルファン(30mg/kg 腹腔内)で骨髄破壊した(myeloablate)。1日目に、 10^6 個のMonoMac-1細胞を静脈内注射した。7日目から14日目まで、マウスを一日おきにアボモルヒネ(5mg/kg)またはメチオテピン(0.1mg/kg)で腹腔内処置し、一方、対照マウスは食塩水ビヒクル(0.9%NaCl)で処置した。15日目に、マウスを屠殺し、それらの骨(腸骨稜、大腿骨および脛骨)を回収し、ヒト細胞の存在について分析した。骨髄試料をフローサイトメトリーで測定した。BMにおける、ヒトCD45陽性細胞の頻度(上段パネル)およびヒトCD45陽性細胞の総数(下段パネル)は、対照を参照している。バーは平均値を表す。エラーバーはSEMを表す。** $p < 0.01$ ；*** $p < 0.001$ 。

【図16】5HTR拮抗薬処理は、健全な造血幹/前駆細胞細胞に影響を与えずに、初代AML細胞の白血病再生能(leukemia regeneration capacity)を低減させる。 $1 \sim 10 \times 10^6$ 個の初代AML患者細胞または $10 \sim 14 \times 10^4$ 個の系統枯渇CB細胞を、5%熱非働化ウシ胎児血清および造血サイトカインを添加したIMDM中で18時間、エキソピボ処理($10 \mu\text{M}$ アボモルヒネ、 $10 \mu\text{M}$ メチオテピンまたはビヒクル対照)した。細胞を、事前ブスルファン(30mg/kg)-条件付けNSGマウスに静脈内注射し、8週間非処置のままにした。マウスを屠殺し、それらの骨(腸骨稜、大腿骨および脛骨)を回収し、フローサイトメトリーでヒト白血病細胞(上段パネル)または健全な血液細胞

10

20

30

40

50

(下段パネル)の存在について分析した。4つのAML患者試料および3つの臍帯血(UCB)試料を試験した。 $* p < 0.05$; $** p < 0.01$ 。

【図17】5HTR拮抗薬による処置は、正常な造血に影響を与えずに、二次レシピエントにおける初代AML試料の白血病再生能を低減させる。上段パネル：一次移植マウス由来の $3 \sim 10 \times 10^5$ 個の移植骨髄性細胞を、二次レシピエント(条件付けNSGマウス)に静脈内注射し、8週間非処置のままにした。骨髄性細胞を図16のように分析した。対照を参照したヒトCD45陽性細胞の頻度が示される。下段パネル： 50×10^3 個の移植ヒト細胞をCFUについてスクリーニングした。正規化した、得られたCFU数が示される。 $* p < 0.05$; $*** p < 0.005$; $**** p < 0.0001$ 。

【発明を実施するための形態】

10

【0018】

本発明の発明者は、血液悪性細胞、特にAML細胞、がセロトニン受容体(5HTR)を発現すること、並びに、1型および/または2型5HTRの阻害が、実施例1および2に示されるように、AML細胞に対する細胞毒性効果を有し、健全な造血幹細胞には影響を与えずに、AML芽球のクローン原性を低減させること(実施例5)、並びに、1型および/または2型5-HTR阻害剤が健全な血液細胞にも健全な造血幹/前駆細胞にも影響を与えないこと(実施例4)、を発見した。さらに、本発明者らによって、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現の検出が血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞の特定に使用できること(実施例6)、並びに、血液系悪性腫瘍を患う患者由来の試料における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現の減少が良好な予後と相関すること(実施例7)、が観察された。

20

【0019】

定義

「セロトニン受容体」は、5-ヒドロキシトリプタミン受容体または5-HT受容体または5-HTRとしても知られており、本明細書で使用される場合、中枢および末梢神経系に存在する、Gタンパク質共役型受容体(GPCR)およびリガンド開口型イオンチャネル(LGIC)の1群である。

【0020】

用語「1型5-HT受容体」または「1型5-HTR」または「5-HT1受容体」または「5-HTR1」は、本明細書で使用される場合、内在性神経伝達物質セロトニン(5-ヒドロキシトリプタミン、5-HT)と結合する5-HT受容体のサブファミリーに関する。5-HT1受容体サブファミリーは、Gi/Goと共役している5つのGタンパク質共役型受容体(GPCR)から成り、前記用語には、5-HTR1A、5-HTR1B、5-HTR1D、5-HTR1E、および5-HTR1Fが包含される。これらの受容体は、cAMPの細胞レベルを減少させることにより抑制性神経伝達を仲介する。ヒト1A型5-HT受容体の完全タンパク質配列は、UniProt受入番号P08908(2014年4月16日)を有する。ヒト1B型5-HT受容体の完全タンパク質配列は、UniProt受入番号P28222(2014年4月16日)を有する。ヒト1D型5-HT受容体の完全タンパク質配列は、UniProt受入番号P28221(2014年4月16日)を有する。ヒト1E型5-HT受容体の完全タンパク質配列は、UniProt受入番号P28566(2014年5月14日)を有する。ヒト1F型5-HT受容体の完全タンパク質配列は、UniProt受入番号P30939(2014年4月16日)を有する。

30

40

【0021】

用語「2型5-HT受容体」または「2型5-HTR」または「5-HT2受容体」または「5-HTR2」は、本明細書で使用される場合、内在性神経伝達物質セロトニン(5-ヒドロキシトリプタミン、5-HT)と結合する5-HT受容体のサブファミリーを指す。5-HT2受容体サブファミリーは、Gq/G11と共役している3つのGタンパク質共役型受容体(GPCR)から成り、前記用語には、5-HTR2A、5-HTR2B、および5-HTR2Cが包含される。これらの受容体は、IP3およびDAGの細胞

50

レベルを増加させることにより興奮性神経伝達を仲介する。ヒト2A型5-HT受容体の完全タンパク質配列はUniProt受入番号P28223(2014年5月14日)を有し、ヒト2B型5-HT受容体の完全タンパク質配列はUniProt受入番号P41595(2014年5月14日)を有し、ヒト2C型5-HT受容体の完全タンパク質配列はUniProt受入番号P28335(2014年5月14日)を有する。

【0022】

用語「阻害剤」は、本明細書で使用される場合、5-HT受容体の活性を阻害する化合物を指す。阻害剤という用語には、限定はされないが、5-HT受容体の拮抗薬、5-HT受容体に対する抗体、5-HT受容体の発現を妨げる化合物、および5-HT受容体のmRNAまたはタンパク質のレベル減少をもたらす化合物が包含される。好ましい実施形態では、阻害剤は拮抗薬である。本発明との関連において、用語「拮抗薬」は、5-HT受容体に結合し、受容体それ自体を活性化するいかなる実質的能力も示さない、化合物を指す。それにより、拮抗薬は、作動薬が存在する場合の作動薬または天然リガンドによる受容体の機能的活性化または占有を防止または低減させ得る。用語「5-HT受容体の拮抗薬」は、本明細書で使用される場合、ニュートラルアンタゴニストおよびインバースアゴニストの両方を包含することが意図される。「ニュートラルアンタゴニスト」は、作動薬の作用を遮断するが、内因性または自発性の受容体活性には影響を与えない、化合物である。「インバースアゴニスト」は、受容体における作動薬の作用の遮断および受容体の恒常的活性の減弱の両方が可能である。用語「拮抗薬」には、天然リガンドと同じ部位に結合する薬剤である競合的拮抗薬；天然リガンドとは異なる受容体上の部位に結合する非競合的拮抗薬；受容体-リガンド速度論によって決定される速度で受容体と結合および解離する可逆的拮抗薬；並びに、活性部位への共有結合を形成することにより、または解離速度が事実上ゼロになるほどただ堅固に結合することにより、受容体に永続的に結合する非可逆的拮抗薬、も包含される。

10

20

【0023】

用語「1型5-HTR阻害剤」は、本明細書で使用される場合、5-HTR1の活性を阻害することが可能なあらゆる化合物を指す(例えば、5-HTR1に結合し、受容体それ自体を活性化するいかなる実質的な能力も有さないことにより；または、5-HTR1 mRNAもしくは5-HTR1タンパク質の発現を防止もしくは減少させることにより)。この用語には、5-HTR1に対する、または5-HTR1サブタイプ(5-HTR1A、5-HTR1B、5-HTR1D、5-HTR1E、および5-HTR1F)のいずれかに対する選択的阻害剤、および、他のサブファミリー由来の5-HT受容体に対する阻害剤として作用することも可能な非選択的阻害剤、が包含される。

30

【0024】

用語「2型5-HTR阻害剤」は、本明細書で使用される場合、5-HTR2の活性を阻害することが可能なあらゆる化合物を指す(例えば、5-HTR2に結合し、受容体それ自体を活性化するいかなる実質的な能力も有さないことにより；または、5-HTR2 mRNAもしくは5-HTR2タンパク質の発現を防止もしくは減少させることにより)。この用語には、5-HTR2に対する、または5-HTR2サブタイプ(5-HTR2A、5-HTR2Bおよび5-HTR2C)のいずれかに対する選択的阻害剤、および、他のサブファミリー由来の5-HT受容体に対する阻害剤として作用することも可能な非選択的阻害剤、が包含される。

40

【0025】

「アポモルヒネ」は、本明細書で使用される場合、(6aR)-6-メチル-5,6,6a,7-テトラヒドロ-4H-ジベンゾ[de,g]キノリン-10,11-ジオール(CAS番号314-19-2)を指す。アポモルヒネは1型および2型5-HTR拮抗薬である(Millan M.J. et al. 2002. J Pharmacol Exp Ther, 303(2):791-804)。一実施形態では、阻害剤はアポモルヒネである。

【0026】

「メチオテピン」またはメチテピンは、1-メチル-4-(8-メチルスルファニル-

50

5, 6 - ジヒドロベンゾ [b] [1] ベンゾチエピン - 6 - イル) ピペラジン (C A S 番号 7 4 6 1 1 - 2 8 - 2) を指す。メチオテピンは 1 型および 2 型 5 - H T R 拮抗薬 (Kawanoh H. et al. 2001. Blood, 97(6):1697-1702)、特にインバースアゴニスト、である。一実施形態では、阻害剤はメチオテピンである。

【 0 0 2 7 】

「アムペロジド」は、本明細書で使用される場合、4 - [4 , 4 - ビス (4 - フルオロフェニル) プチル] - N - エチルピペラジン - 1 - カルボキサミド (C A S 番号 7 5 5 5 8 - 9 0 - 6) を指す。アムペロジドは 2 型 5 - H T R 拮抗薬である (Svartengren J. and Simonsson P. Pharmacol Toxicol, 1990;66 suppl 1:8-11)。一実施形態では、阻害剤はアムペロジドである。

10

【 0 0 2 8 】

用語「血液系悪性腫瘍」とは、血液、骨髄、およびリンパ節に影響を与えるがん種を指す。血液系悪性腫瘍は、2つの主要な血液細胞系統 (骨髄細胞系およびリンパ細胞系) のいずれかに由来し得る。骨髄細胞系は通常、顆粒球、赤血球、血小板、マクロファージおよびマスト細胞を産生し ; リンパ細胞系は B 細胞、T 細胞、NK 細胞および形質細胞を産生する。リンパ腫、リンパ性白血病、および骨髄腫はリンパ球系に由来し、一方、急性および慢性の骨髄性白血病、骨髄異形成症候群および骨髄増殖性疾患は骨髄由来である。血液系悪性腫瘍の非限定的な例示としての例は、急性リンパ芽球性白血病 (A L L)、急性骨髄性白血病 (A M L)、慢性リンパ性白血病 (C L L)、慢性骨髄性白血病 (C M L)、急性単球性白血病 (A M o L)、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫および骨髄腫である。

20

【 0 0 2 9 】

「白血病」は、本明細書で使用される場合、「芽球」と呼ばれる未熟な白血球の異常な増殖を特徴とする、血液または骨髄のがんの一種を指す。白血病は一連の疾患を網羅する広義語である。また、白血病は、血液系、骨髄系、およびリンパ系に影響を与えるさらに広い疾患群の一部であり、これらは全て血液腫瘍として知られている。4種の主要な白血病が存在する : 急性リンパ芽球性白血病、すなわち A L L ; 急性骨髄性白血病、すなわち A M L ; 慢性リンパ性白血病、すなわち C L L ; 慢性骨髄性白血病、すなわち C M L 。

【 0 0 3 0 】

「急性リンパ芽球性白血病 (A L L) または急性リンパ性白血病」は、リンパ芽球として知られるがん性の未熟な白血球の過剰産生を特徴とする、白血病、すなわち白血球のがん、の急性形態である。

30

【 0 0 3 1 】

「急性骨髄性白血病 (A M L) または急性骨髄性白血病または急性非リンパ性白血病 (A N L L)」は、骨髄に蓄積し、正常な血液細胞の産生を妨げる異常な白血球 (骨髄芽球 (myeloblast)) の急速な増殖を特徴とする、骨髄系血液細胞のがんである。A M L の症状は、赤血球、血小板および正常な白血球の減少を引き起こす、正常な骨髄の白血病細胞との置換によって引き起こされる。血液および血液髄 (blood marrow) の塗抹標本に対するミエロペルオキシダーゼまたはスタンブラック染色および非特異的エステラーゼ染色の併用は、A M L を A L L と区別するのに有用である。

40

【 0 0 3 2 】

「慢性リンパ性白血病 (C L L) または B 細胞性慢性リンパ性白血病 (B - C L L)」は、身体に多数の白血球 (B 細胞リンパ球) を産生させるがんの一種である。

【 0 0 3 3 】

「慢性顆粒球性白血病 (C G L)」としても知られている「慢性骨髄性白血病 (C M L)」は、身体に多数の白血球 (骨髄球) を産生させるがんの一種である。C M L では、成熟顆粒球 (好中球、好酸球および好塩基球) およびそれらの前駆体の増殖が見られる。C M L は、フィラデルフィア染色体と呼ばれる特徴的な染色体転座と関連している。

【 0 0 3 4 】

「試料」とは、本明細書で使用される場合、骨髄、血液およびリンパ節からなる群から

50

選択される試料を指す。

【0035】

「末梢血」とは、本明細書で使用される場合、血液の循環プール内に存在し、リンパ系、脾臓、肝臓、または骨髄内に隔離されていない、赤血球、白血球、および血小板から成る血液の細胞成分を含む試料を指す。

【0036】

「悪性細胞」は、本明細書で使用される場合、「腫瘍細胞」または「がん細胞」であり、制御されない急速なペースで成長および分裂する細胞を指す。

【0037】

用語「対象」または「個体」または「動物」または「患者」には、治療法が所望される、あらゆる対象、特に哺乳類対象、が包含される。哺乳類対象としては、ヒト、家畜 (domestic animal)、家畜 (farm animal)、および動物園動物またはペット動物、例えば、犬、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、ウマ、ウシ、雌ウシ等、が挙げられる。

【0038】

「免疫細胞化学」とは、細胞内の特定のタンパク質または抗原に結合する特異的な一次抗体の使用により、細胞内の特定のタンパク質または抗原の存在を局在化させるのに使用される手法を指し、この手法では、細胞外マトリックスおよび他の間質成分は取り除かれ、細胞全体のみが染色される。

【0039】

用語「発現レベルの減少」とは、基準値よりも低い、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルを指す。発現レベルは、発現レベルが、その基準値よりも、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも120%、少なくとも130%、少なくとも140%、少なくとも150%、またはそれ以上により低い場合に、基準値よりも低いと見なされる。

【0040】

用語「発現レベルの増加」とは、基準値よりも高い、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルを指す。発現レベルは、発現レベルが、その基準値よりも、少なくとも1.5%、少なくとも2%、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも100%、少なくとも110%、少なくとも120%、少なくとも130%、少なくとも140%、少なくとも150%、またはそれ以上に高い場合に、その基準値よりも高いと見なされる。

【0041】

用語「基準値」は、本明細書で使用される場合、対象から採取された試料から得られた値またはデータを評価するための参照として使用される所定の基準を指す。基準値または基準レベルは、絶対値；相対値；上限もしくは下限を有する値；ある範囲の値；平均値 (average value)；中央値；平均値 (mean value)；または特定の対照もしくはベースライン値と比較した値であり得る。基準値は、例えば、試験中の対象由来の試料から得られた、ただし初期時点における値等の、個々の試料値に基づいていてもよい。基準値は、暦年齢一致群の対象集団等から得られた多数の試料に基づいていてもよく、あるいは、試験されるべき試料を含む、またはそれを除外した試料プールに基づいていてもよい。

【0042】

「良好な予後」とは、本明細書で使用される場合、患者にとって正と見なされるである

う結果を意味し、予後タイプに依存し；例えば、1年生存（1 Y S）という良好な予後は、患者が少なくとも1年間生存することを意味するであろう。好ましい実施形態では、良好な予後は、40%超の確率の、疾患診断後の5年生存に関する。

【0043】

「予後不良」とは、本明細書で使用される場合、患者にとって負と見なされるであろう結果を意味し、予後タイプに依存し；例えば、1年生存という予後不良は、患者が少なくとも1年間生存しないことを意味するであろう。好ましい実施形態では、予後不良は、40%を下回る確率の、疾患診断後の5年生存に関する。

【0044】

「初期時点」とは、本明細書で使用される場合、血液系悪性腫瘍を患う対象に治療法が施行される前のあらゆる瞬間を指す。

10

【0045】

「有効な治療法」とは、本明細書で使用される場合、血液系悪性腫瘍を患っており前記治療法で治療されている患者の試料における、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRのレベルの減少をもたらす治療法を指す。

【0046】

「有効でない治療法」とは、本明細書で使用される場合、血液系悪性腫瘍を患っており前記治療法で治療されている患者の試料における、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRのレベルの減少に役立たない治療法を指す。

20

【0047】

1 - 医学的用途

本発明の著者は、1型5-HTR阻害剤および2型5-HTR阻害剤が血液系悪性腫瘍、好ましくはAML、の治療において治療効果があること、並びに、前記阻害剤が健全な血液細胞にも健全な造血幹細胞にも影響を与えず、それにより、従来の化学療法的処置によってもたらされる正常細胞に対する毒性が回避されること、を発見した。

【0048】

第一の態様において、本発明は、血液系悪性腫瘍の予防および/または治療で使用するための、1型5-HTR阻害剤および2型5-HTR阻害剤からなる群から選択されるセロトニン受容体（5-HTR）阻害剤に関する。

【0049】

あるいは、本発明は、血液系悪性腫瘍の予防および/または治療のための薬剤の調製のための、1型5-HTR阻害剤および2型5-HTR阻害剤からなる群から選択されるセロトニン受容体（5-HTR）阻害剤の用途に関する。

30

【0050】

あるいは、本発明は、血液系悪性腫瘍を予防および/または治療するための方法に関し、前記方法は、1型5-HTR阻害剤および2型5-HTR阻害剤からなる群から選択されるセロトニン受容体（5-HTR）阻害剤を、前記予防および/または治療を必要とする対象に投与することを含む。

【0051】

用語「予防 (prevention)」、「予防すること (preventing)」または「予防する (prevent)」とは、本明細書で使用される場合、投与時期には血液系悪性腫瘍を有し得ると診断されていないが、前記疾患を発症する、または前記疾患のリスクが増加していると通常予想されるであろう対象への、本発明による阻害剤の投与または前記阻害剤を含む薬剤の投与に関する。予防は、前記疾患の発症の回避を目的とする。予防は完全なものであってもよい（例えば、完全な無病（total absence of a disease））。予防は、例えば、対象における疾患の発症が、本発明の阻害剤の投与無しで発症したであろうものよりも少ないような、部分的なものであってもよい。予防は臨床状態に対する感受性の減少も指す。

40

【0052】

用語「治療」は、本明細書で使用される場合、疾患の初期または早期段階における投与を含む、血液系悪性腫瘍を患う対象への本発明による阻害剤または前記阻害剤を含む薬剤

50

の投与を指し、目的は、望まれない生理学的変化または障害を予防する、または遅延（減弱）させることである。有益または望ましい臨床結果には、限定はされないが、検出可能または検出不可にかかわらず、症状の軽減、疾患の程度の減弱、病状の安定化（すなわち、悪化させないこと）、疾患増悪の遅延または緩徐化、病状の改善または一時的緩和、および寛解（部分的なものであっても完全なものであってもよい）が含まれる。治療はまた、治療を受けていない場合の予想生存と比較した場合の、生存の延長も意味する。

【0053】

好ましい実施形態では、1型5-HTR阻害剤は1A型、1B型、1D型、1E型および1F型5-HTR阻害剤からなる群から選択され；1A型5-HTR阻害剤が好ましい。

10

【0054】

別の好ましい実施形態では、2型5-HTR阻害剤は2A型、2B型および2C型5-HTR阻害剤からなる群から選択され；2B型および2C型5-HTR阻害剤から選択されることが好ましく；2C型5-HTR阻害剤であることがより好ましい。

【0055】

1型5-HTRおよび/または2型5-HTRに対する特定の分子の親和性を決定する方法、並びにまた、この特定の分子が前記受容体の阻害剤であるかどうかを決定する方法は、当業者に公知である。例えば、ある分子の5-HTR親和性は、Millan et al.によって記述された方法論を用いて決定することができる（Millan et al. J Pharmacol Exp Ther. 2002;303(2):791-804）（放射性リガンド結合アッセイ）。ある化合物が1型5-HTR阻害剤であるかどうかを評価するためのアッセイは、Gi活性化状態の決定、並びにcAMP産生およびアデニルシクラーゼの活性化の測定である（Nichols D.E. and Nichols C.E. Chem Rev, 2008;108(5):1614-41）。ある化合物が2型5-HTR阻害剤であるかどうかを評価するためのアッセイは、膜ホスホイノシチドの加水分解およびPKCの活性化の測定である（Nichols D.E. and Nichols C.E. Chem Rev, 2008;108(5):1614-41）。1型5-HTR阻害剤が1A型、1B型、1D型、1E型または1F型5-HTR阻害剤であるかを識別するために当業者が実行することができるアッセイは、サブタイプ特異的な作動薬を用いた競合活性化アッセイである。2型5-HTR阻害剤が2A型、2B型および2C型5-HTR阻害剤であるかを識別するために当業者が実行することができるアッセイは、サブタイプ特異的な作動薬を用いた競合活性化アッセイである。

20

30

【0056】

一実施形態では、5-HTR阻害剤は、様々な種類の5-HTRに対する阻害剤として機能し得る非選択的阻害剤である。別の実施形態では、5-HTR阻害剤は、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRに対して選択的である。

【0057】

1型または2型5-HTR阻害剤は、特に、タンパク質、ペプチド、干渉RNA、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたは有機小分子であり得る。

【0058】

好ましい実施形態では、1型5-HTR阻害剤および/または2型5-HTR阻害剤は、表1の化合物またはそれらの薬剂的に許容できる塩から選択される。

40

【 0 0 6 5 】

【表 1 - 7】

V I I	<p>他の化合物、例えば：</p> <p>(S) - UH-301 ((S) - 5-フルオロ-8-ヒドロキシ-2-ジプロピルアミノテトラリン) (Moreau et al., Brain Res. Bull. 29, 901-04 (1992))</p> <p>アルプレノロール (1-(1-メチルエチル)アミノ-3-[2-(2-プロペニル)-フェノキシ]-2-プロパノール) (Brandstrom et al., 米国特許第3, 466, 325号)</p> <p>スピペロン (8-[4-(4-フルオロフェニル)-4-オキソブチル]-1-フェニル-1, 3, 8-トリアザスピロ[4, 5]デカン-4-オン) (米国特許第3, 155, 669号および同第3, 155, 670号)</p> <p>テルタトロール (8-(3-t-ブチルアミノ-2-ヒドロキシプロピルオキシ)-チオクロマン) (米国特許第3, 960, 891号)</p> <p>プロプラノロール (1-イソプロピルアミノ-3-(1-ナフタレニルオキシ)-2-プロパノール) (Crowther et al., 米国特許第3, 337, 628号)</p> <p>ペンプトロール (1-(t-ブチルアミノ)-2-ヒドロキシ-3-(2-シクロペンチル-フェノキシ)プロパン) (Ruschig et al., 米国特許第3, 551, 493号)</p> <p>ピンドロール (4-(2-ヒドロキシ-3-イソプロピルアミノプロポキシ)-インドール)、(米国特許第3, 471, 515号)</p> <p>E P 0 6 8 7 4 7 2 A 2 に開示される式 I の化合物</p>
-------	--

10

20

【 0 0 6 6 】

【表 1 - 8】

V I I I	1型および/または2型5-HTRの阻害抗体
I X	1型および/または2型5-HTR配列に特異的な干渉RNA
X	1型および/または2型5-HTR配列に特異的なアンチセンスオリゴヌクレオチド
X I	1型および/または2型5-HTR配列に特異的なリボザイムまたはDNA酵素

30

40

【 0 0 6 7 】

好ましい実施形態では、阻害剤は拮抗薬であり、より好ましくは、アボモルヒネ、メチオテピン、アムペロジドおよびその薬剤的に許容できる塩からなる群から選択される拮抗薬である。用語「拮抗薬」は、先に定義されている。1型5-HTRの活性は、cAMPのレベル減少(Williams C. Nat Rev Drug Discovery, 2004;3(2):125-35)およびリン光体(phosphor)-Aktのレベル増加(Suni MA. and Maino VC. Methods Mol Biol 2011;717:155-69)を検出することによって決定することができ; 2型5-HTRの活性は、IP3およびDAGのレベル増加(Thomsen W., Frazer J. et al. Curr Opin Biotechnol, 2005;16(6):655-65)並びにまた、リン光体(phosphor)-ERK1/2のレベル増加(Suni MA. and Maino VC. Methods Mol Biol 2011;717:155-69)を検出することによ

50

て決定することができる。

【0068】

用語「その薬剂的に許容できる塩」は、本明細書で使用される場合、その酸または塩基塩の作製により親化合物が修飾されている、表1の化合物の誘導体を指す。薬剂的に許容できる塩の例としては、限定はされないが、アミン等の塩基性残基の無機塩または有機酸塩；カルボン酸等の酸性残基のアルカリ塩または有機酸塩；等が挙げられる。薬剂的に許容できる塩としては、例えば、無毒の無機酸または有機酸から形成される、親化合物の従来の無毒の塩または四級アンモニウム塩が挙げられる。例えば、そのような従来の無毒の塩としては、限定はされないが、1, 2 - エタンジスルホン酸、2 - アセトキシ安息香酸、2 - ヒドロキシエタンスルホン酸、酢酸、アスコルビン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、重炭酸、炭酸、クエン酸、エデト酸、エタンジスルホン酸、エタンスルホン酸、フマル酸、グルコヘプトン酸、グルコン酸、グルタミン酸、グリコール酸、グリコリルアルサニル酸 (glycollyarsanilic)、ヘキシルレゾルシン酸 (hexylresorcinic)、ヒドラバム酸 (hydrabamic)、臭化水素酸、塩酸、ヨウ化水素酸、ヒドロキシマレイン酸、ヒドロキシナフトエ酸、イセチオン酸、乳酸、ラクトビオン酸、ラウリルスルホン酸、マレイン酸、リンゴ酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、ナプシル酸 (napsylic)、硝酸、シュウ酸、パモン酸、パントテン酸、フェニル酢酸、リン酸、ポリガラクトン酸、プロピオン酸、サリチル酸、ステアリン酸、塩基性酢酸 (subacetic)、コハク酸、スルファミン酸、スルファニル酸、硫酸、タンニン酸、酒石酸、およびトルエンスルホン酸から選択される無機酸および有機酸に由来する塩が挙げられる。

10

20

【0069】

表1の化合物の薬剂的に許容できる塩は、従来の化学的手法によって、塩基性部分または酸性部分を含有する親化合物から合成することができる。一般的に、このような塩は、これらの化合物の遊離酸形態または遊離塩基形態を、化学量論量の適切な塩基または酸と、水中もしくは有機溶剤中、または以下の2つの混合物中で反応させることにより調製することができる；一般的には、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリルのような非水培地が有用である。適切な塩の列挙は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990, p. 1445に見出される。

30

【0070】

一実施形態では、阻害剤は阻害性抗体である。用語「阻害性抗体」は、本発明によれば、1型5 - HTRまたは2型5 - HTRに結合することにより、その天然リガンドによる前記受容体の活性化の阻害を誘発することが可能な抗体を意味していると理解される。抗体は、当業者に公知のあらゆる方法を用いて調製され得る。従って、ポリクローナル抗体は、阻害されることを目的とするタンパク質で動物を免疫化することによって調製される。モノクローナル抗体は、Kohler, Milstein et al (Nature, 1975, 256: 495)に記載される方法を用いて調製され得る。1型5 - HTRまたは2型5 - HTRに結合可能な抗体が特定された後、1型5 - HTR活性または2型5 - HTR活性を決定するための上記アッセイを用いて、1型5 - HTR活性または2型5 - HTR活性を阻害可能な抗体が選択される。本発明において適切な抗体としては、抗原結合性可変領域および定常領域を含むインタクトな抗体、フラグメントである「Fab」、「F(ab')₂」、「Fab'」、「Fv」、「scFv」、ダイアボディ並びに二重特異性抗体が挙げられる。

40

【0071】

別の実施形態では、阻害剤は干渉RNAである。本明細書で使用される場合、用語「干渉RNA」または「iRNA」は、1型5 - HTR遺伝子もしくは2型5 - HTR遺伝子、または1型5 - HTR機能もしくは2型5 - HTR機能に必要なあらゆる遺伝子の発現をサイレンシングすることが可能なRNA分子を指す。これを受けて、iRNAは、典型的には、少なくとも30塩基対長を有する二本鎖オリゴヌクレオチドであり、前記二本鎖オリゴヌクレオチドは、約25、24、23、22、21、20、19、18または17個のリボ核酸塩基対を含むことがより好ましい。数種類の分子が、iRNA技術において

50

効果的に使用されており、例えば、短干渉RNA (short interference RNA) またはサイレンサーRNAとして知られている場合もある低分子干渉RNA (siRNA)、一本鎖RNA前駆物質から加工され、標的mRNAに対し部分的にしか相補性を示さないという理由でsiRNAとは通常異なるマイクロRNA (miRNA)、および低分子ヘアピン型RNA (shRNA) が挙げられる。

【0072】

低分子干渉RNA (siRNA) 剤は、RNAを干渉することにより標的遺伝子発現を阻害することが可能である。siRNAは、化学的に合成してもよいし、あるいはインビトロ転写により得てもよいし、あるいは標的細胞内でインビボ合成してもよい。典型的には、siRNAは15~40ヌクレオチド長の二本鎖RNAから成り、1~6ヌクレオチド長の3'および/または5'突起領域を含有し得る。突起領域の長さは、siRNA分子の全長とは無関係である。siRNAは、標的メッセンジャーの転写後分解またはサイレンシングによって作用する。

10

【0073】

siRNAは、siRNAを形成する逆平行鎖がループ領域またはヘアピン領域によって連結されていることを特徴とする、命名済みのshRNA (低分子ヘアピン型RNA) であってもよい。siRNAは、短アンチセンス配列 (19~25個のヌクレオチド)、それに続く5~9個のヌクレオチドのループ、およびセンス鎖によって構成される。shRNAは、RNAポリメラーゼIII用のU6プロモーター等のプロモーターの制御下で、プラスミドまたはウイルスに、具体的にはレトロウイルスに、より具体的にはレトロウイルスに、コードされていてもよい。

20

【0074】

本発明のsiRNAは、1型もしくは2型5-HTRのmRNAまたはこのタンパク質をコードするゲノム配列に実質的に相同である。用語「実質的に相同 (substantially homologous)」は、siRNAがRNA干渉によりmRNA分解を誘発可能であり得るように、siRNAが標的mRNAに十分に相補的または類似した配列を有することを意味していると理解される。干渉を誘発するのに適したsiRNAとしては、RNAによって形成されるsiRNA、並びに、例えば以下の化学的に異なる修飾を含有するsiRNAが挙げられる：

ヌクレオチド間の結合が天然に現れる結合とは異なる (例えば、ホスホロチオエート結合)、siRNA。

30

蛍光物質 (fluorophore) 等の機能性試薬との鎖状RNA複合体。

2'位における様々なヒドロキシル官能基との組合せによる、RNA鎖の末端、特に3'末端、の修飾体。

2'-O-メチルリボースまたは2'-O-フルオロリボース等の、2'位でO-アルキル化されたラジカル等の、糖修飾ヌクレオチド。

ハロゲン化塩基 (例えば、5-プロモウラシルおよび5-ヨードウラシル) またはアルキル化塩基 (例えば、7-メチル-グアノシン) 等の、塩基修飾ヌクレオチド。

【0075】

本発明のsiRNAおよびshRNAは、当業者に公知の一連の手法を用いて得てもよい。例えば、siRNAは、従来のDNA/RNA合成機において、保護リボヌクレオシドホスホラミダイトから化学合成されてもよい。あるいは、siRNAは、siRNA鎖 (複数可) のコード領域がRNAポリメラーゼIIIプロモーターの作動制御下にあるプラスミドおよびウイルスベクターから、組換えダイサー (recombinant dicer) によって作製されてもよい。RNaseダイサーは、細胞内で、shRNAをsiRNAに加工する。

40

【0076】

siRNAを設計するための基礎と見なされる領域は、限定はされないが、コード配列の領域 (開始コドンと終止コドンの間) を含有していてもよく、あるいは、好ましくは25~50ヌクレオチド長の、および開始コドンに対して3'位にあるあらゆる位置におい

50

て、5'または3'非翻訳領域由来の配列を含有していてもよい。siRNA設計のための手順には、目的配列における、Nがいかなるヌクレオチドであってもよい配列モチーフAA(N19)TTの特定、および、G/C高含量を示す配列モチーフの選択が含まれる。前記配列モチーフが見つからない場合、Nがいかなるヌクレオチドであってもよい配列モチーフNA(N21)が特定され得る。

【0077】

別の実施形態では、本発明の阻害剤は、1型5-HTRおよび/または2型5-HTR 1に特異的なアンチセンスオリゴヌクレオチド、すなわち、配列が1型5-HTRまたは2型5-HTRをコードするmRNAに相補的である、すなわち、cDNA有意鎖に相補的である、分子である。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、完全コード領域、またはコード領域並びに5'および3'非翻訳領域の両方を含む完全コード領域のある領域に相補的であり得る。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50またはそれ以上のヌクレオチド長から成り得る。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、当業者に広く知られている、化学合成によって、または酵素結合反応によって、得ることができる。例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、その生物学的安定性または、アンチセンスオリゴヌクレオチドと標的ポリヌクレオチドとの間で形成されるバイカテナリー状(bicatenary)DNA-RNA複合体の安定性を増加させる修飾ヌクレオチド、例えば、ホスホロチオエート誘導体、ペプチド核酸およびアクリジン置換オリゴヌクレオチドをさらに含有していてもよい。アンチセンス核酸の調製に使用され得る修飾オリゴヌクレオチドとしては、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチル-シトシン(cytosine)、5-(カルボキシヒドロキシメチル)ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチル-アミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、β-D-ガラクトシルクエオシン(beta-D-galactosylqueosine)、イノシン、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン(3-methylcytosine)、5-メチルシトシン(5-methylcytosine)、N6-アデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、β-D-マンノシルクエオシン(beta-D-mannosylqueosine)、5'-メトキシカルボキシメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸、偽ウラシル(pseudouracil)、クエオシン(queosine)、2-チオシトシン(2-thiocytosine)、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、3-(3-アミノ-3-N-2-カルボキシプロピル)ウラシル、および2,6-ジアミノプリンが挙げられる。あるいは、アンチセンス核酸は、アンチセンス指向の核酸がクローニングされている発現ベクターを用いて生物学的に作製されてもよい。

【0078】

本発明で使用することができる別の阻害剤群は、リボザイム(ribozyme)として知られている触媒活性を有する核酸である。リボザイム(ribozyme)は、触媒領域、および配列が標的核酸に相補的であり、リボザイム(ribozyme)に基質特異性を付与する第二領域、を含む。ハイブリダイゼーションによるリボザイム(ribozyme)とその基質との間の相互作用、および、標的核酸の相補領域とリボザイム(ribozyme)との間の共役の後、触媒領域の活性化がもたらされ、標的核酸の分子間破壊または分子内破壊が誘発される。リボザイム(ribozyme)を設計するための基本的な考慮事項は、当業者に広く知られている(例えば、Doherty and Doudna (Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 2001; 30:457-75)を参照)。

【0079】

本発明で使用することができる、1型5-HTRまたは2型5-HTRの発現を阻害可能な他の化合物としては、アプタマーおよびスピーゲルマー(spiegelmer)が挙げられる

。アプタマーおよびスピーゲルマーは、タンパク質に特異的に結合して、前記タンパク質の生物活性の改変をもたらす、一本鎖または二本鎖のD型またはL型核酸である。アプタマーおよびスピーゲルマーは、15～80ヌクレオチド長、好ましくは、20～50ヌクレオチド長である。

【0080】

ある阻害剤がmRNAレベルを減少させることが可能かどうかを決定するのに適した方法としては、限定はされないが、mRNA発現レベルを決定するための標準的アッセイ、例えば、qPCR、RT-PCR、RNA保護分析、ノーザンブロット、RNAドットブロット、インサイツハイブリダイゼーション、マイクロアレイ技術、タグに基づく方法、例えば、LongSAGEおよびSuperSAGE等の変種を含む遺伝子発現の連続分析(SAGE)、マイクロアレイ、Flow-FISH、qFISHおよび二重融合(double fusion)FISH(D-FISH)等の変種を含む蛍光インサイツハイブリダイゼーション法(FISH)等が挙げられる。

10

【0081】

ある阻害剤が1型または2型5-HTRのタンパク質レベルを減少させることにより作用するかどうかを決定するのに適した方法には、従来法による定量化、例えば、前記遺伝子によってコードされる前記タンパク質に(または、抗原決定基を含有するその断片に)特異的に結合する能力を有する抗体の使用、およびその後の得られた抗体-抗原複合体の定量化、が含まれる。

【0082】

本発明の阻害剤は、1型または2型5-HTRの活性を、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも75%、または少なくとも90%、および、5%～100%の全範囲で、阻害し得る。ある阻害剤が1型または2型5-HTRの活性を低減させることによって作用するかどうかを決定するのに適した方法は、前述の通りである。

20

【0083】

別の好ましい実施形態では、阻害剤は1型5-HTR阻害剤、好ましくは拮抗薬である。

【0084】

本発明によれば、1型5-HTR阻害剤および2型5-HTR阻害剤からなる群から選択されるセロトニン受容体(5-HTR)阻害剤は、血液系悪性腫瘍を患う対象を予防および/または治療するのに有用である。本発明の好ましい実施形態では、対象は哺乳動物である。本発明のより好ましい実施形態では、対象はあらゆる人種および性別のヒトである。別の好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍は白血病、より好ましくは急性骨髄性白血病(AML)である。

30

【0085】

当業者によって認められるように、血液系悪性腫瘍治療法における1型5-HTR阻害剤および2型5-HTR阻害剤の有効性は、血液学的反応の分析(白血球、赤血球および血小板の数並びにヘモグロビンおよびヘマトクリットのレベルの測定)、細胞遺伝学的反応の分析、および/または血清腫瘍マーカーの分析によって示され得る。

40

【0086】

個々の要求が変化しても、本発明による用途のための阻害剤の治療有効量の最適範囲の決定は、当業者の通例の経験に属する。一般的に、当業者によって調整され得る、有効処置を与えるために必要な投与量は、薬物送達系を使用する場合、および阻害剤が薬剤併用の一部として投与される場合、年齢、健康、適応度、性別、食事、体重、受容体の変化の程度、処置の頻度、傷害の性質および状態、機能障害または疾病の性質および程度、対象の医学的状态、投与経路、薬理学的な考慮事項、例えば、使用される特定の化合物の活性、有効性、薬物動態学および毒性学のプロファイルに応じて変動する。

【0087】

本発明の阻害剤は、限定はされないが、非経口経路、経口経路、局所経路、経鼻経路、

50

経直腸経路等の、あらゆる適切な投与経路で投与され得る。特定の実施形態では、本明細書に記載の阻害剤は、非経口経路によって、例えば、静脈内投与、くも膜下腔内投与、腹腔内投与、皮下投与、皮内投与、筋肉内投与または硬膜外投与によって投与される。

【0088】

2 - 血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞を特定するための方法

本発明の発明者らは、血液系悪性腫瘍由来、特にAML由来の悪性細胞が、健常ドナーと比較して有意により高値の量で1型5-HTRおよび/または2型5-HTRを発現することを発見した。このことから、血液細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現の検出は、血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞を特定するのに有用である可能性がある。

10

【0089】

別の態様において、本発明は、骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される試料中の血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞を同定するためのインビトロ法に関し、前記方法は、前記細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現を検出することを含む。

【0090】

当業者には公知であり得るが、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現は、前記受容体の機能的に等価な変異体の発現を検出することによっても検出することができる。

【0091】

「機能的に等価な変異体」は、機能が実質的に維持される限り、修飾、挿入および/もしくは欠失または一つもしくは複数のアミノ酸による、1型5-HTRまたは2型5-HTRの配列から生じる全てのタンパク質を意味すると理解される。

20

【0092】

1型5-HTRの活性は、cAMPのレベルの減少およびリン酸化Aktのレベルの増加を検出することによって決定することができ；2型5-HTRの活性は、IP3およびDAGのレベルの増加、並びにまたリン光体(phosphor)-ERK1/2のレベルの増加を検出することによって決定することができる。

【0093】

1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの変異体は、(i)一つまたは複数のアミノ酸残基が保存もしくは非保存アミノ酸残基(好ましくは保存アミノ酸残基)によって置換されており、このような置換されたアミノ酸が遺伝暗号によってコードされていてもされていなくてもよい、ポリペプチド、(ii)一つもしくは複数の修飾アミノ酸残基、例えば、結合している置換基によって修飾された残基、が存在するポリペプチド、(iii)類似のmRNAの選択的プロセッシングから生じるポリペプチド断片、並びに/または、(v)分泌性リーダー配列もしくは精製(例えば、Hisタグ)もしくは検出(例えば、SV5エピトープ標識)に使用される配列等の別のポリペプチドを有する、1型5-HTRおよび/もしくは2型5-HTR融合から生じるポリペプチドもしくは(i)~(iii)で定義されたポリペプチド、であることが好ましい。断片には、元の配列のタンパク分解性切断(多部位タンパク質分解を含む)を介して生成されるポリペプチドが包含される。変異体は翻訳後修飾または化学修飾されてもよい。このような変異体は、当業者には明らかであると思われる。

30

40

【0094】

当該技術分野において公知であるように、2つのポリペプチド間の「類似性」は、アミノ酸配列およびあるポリペプチドから保存された置換アミノ酸を、第二のポリペプチドの配列と比較することにより決定される。変異体は、元の配列と異なる、好ましくは、当該セグメント当たり40%未満の残基において元の配列と異なる、より好ましくは、当該セグメント当たり25%未満の残基において元の配列と異なる、より好ましくは、当該セグメント当たり10%未満の残基において元の配列と異なる、より好ましくは、当該セグメント当たりごく少数の残基において元の配列と異なり、同時に、元の配列の機能性を保存

50

するのに十分に元の配列と相同である、ポリペプチド配列を含むものと定義される。本発明は、元のアミノ酸配列と、少なくとも60%、65%、70%、72%、74%、76%、78%、80%、90%、もしくは95%類似した、または同一のアミノ酸配列を含む。2つのポリペプチド間の同一性の程度は、コンピュータアルゴリズムおよび当業者に広く知られている方法を用いて決定されてもよい。2つのアミノ酸配列の間の同一性は、優先的に、BLASTPアルゴリズム[BLASTManual, Altschul, S. et al., NCBI NLM NIH Bethesda, Md. 20894, Altschul, S., et al., J. Mol. Biol. 215: 403-410 (1990)]を用いて決定される。

【0095】

1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルは、骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される試料において決定される。

10

【0096】

骨髄由来の試料は、当該技術分野において公知の、吸引生検およびトレフィン生検(trephine biopsy)によって得ることができる。血液試料は、動脈または静脈、通常は肘関節の内側部分または手の甲の静脈、の穿刺による採血等の、技術の現状において当業者に公知の方法を用いて、従来の方法により得ることができ、血液試料は気密バイアルまたは注射器内に収集される。リンパ節は、リンパ節の全てまたは一部の生検(切除リンパ節生検または切開リンパ節生検)によって得られる。

【0097】

「発現を検出する」という表現は、その表面上に1型5-HTRおよび/もしくは2型5-HTRを保有する、または、1型5-HTRおよび/もしくは2型5-HTRのmRNAを発現する、試料中の血液細胞の存在を検出することを指す。前記検出は、定性的であっても定量的であってもよい。

20

【0098】

一実施形態では、本発明の悪性細胞を特定するための方法は、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルの決定を必要としない。

【0099】

別の実施形態では、本発明の悪性細胞を特定するための方法は、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルを決定することを含む。

【0100】

「発現レベルを決定する」という表現は、本明細書で使用される場合、生物マーカー(1型5-HTRおよび/または2型5-HTR)の発現レベル、および/または、その表面上にこの生物マーカー(すなわち細胞表面マーカー)を保有する細胞の数を決定することを指す。ここで、発現レベルとは、mRNAのレベルおよび/またはタンパク質のレベルおよび/またはその表面上に生物マーカーを保有する細胞の数を指す。

30

【0101】

発現を検出するための方法は、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRのmRNAまたはタンパク質の検出に基づき得る。あるいは、前記方法は、全体としての試料中の、試料の細胞内の、および/または試料の非細胞画分中の、mRNAレベルまたはタンパク質レベルおよびその変異体のレベルの決定にも基づき得る。

40

【0102】

mRNAを検出するための方法は当該技術分野において周知であり、例えば、リアルタイムPCR(rtPCR)、ノーザンブロット法、ナノストリング法(nanostring)およびマイクロアレイ技術が挙げられる。

【0103】

非限定的な例示として、発現レベルは、前記遺伝子にコードされるmRNAのレベルの定量化によって決定される。mRNAのレベルは、従来法、例えば、mRNAの増幅および前記mRNAの増幅産物の定量化を含む方法(例えば、電気泳動および染色)の使用によって、あるいは、ノーザンブロットおよび目的遺伝子のmRNAまたはその対応するcDNA/cRNAの適切なプローブの使用、S1ヌクレアーゼマッピング、RT-PCR

50

、ハイブリダイゼーション、マイクロアレイ等によって、定量化することができる。同様に、マーカー遺伝子にコードされる前記 mRNA に対応する cDNA / cRNA のレベルも、従来技術の使用によって定量化することができ；この場合、本発明の方法は、対応する mRNA の逆転写 (RT) と、それに続く前記 cDNA に相補的な cRNA の合成 (RNA ポリメラーゼ) および増幅による、対応する cDNA の合成段階を含む。

【0104】

異なる試料間で mRNA 発現の値を正規化するために、試験試料中の目的 mRNA の発現レベルが、対照 RNA の発現と比較され得る。「対照 RNA」とは、本明細書で 사용되는場合、その発現レベルが変化しない、または限定された量でのみ変化する、RNA を指す。対照 RNA は、ハウスキーピング遺伝子に由来し、構成的に発現され、必須の細胞機能を実行するタンパク質をコードする、mRNA であることが好ましい。本発明で使用するための好ましいハウスキーピング遺伝子としては、18 - S リボソームタンパク質、2 - ミクログロブリン、ユビキチン、シクロフィリン、GAPDH、PSMB4、チュープリンおよび - アクチンが挙げられる。

10

【0105】

あるいは、遺伝子の発現が増加している場合、対応するタンパク質の量の増加が起こるはずであり、遺伝子の発現が減少している場合、対応するタンパク質の量の減少が起こるはずであることから、1型5 - HTR 遺伝子および / または 2型5 - HTR 遺伝子にコードされるタンパク質の発現レベルの決定によって、前記遺伝子の発現レベルを決定することも可能である。

20

【0106】

実質的にいかなる従来法も、タンパク質のレベルを検出および定量化するために、本発明の枠組みの中で使用することができる。非限定的な例示として、発現レベルは、測定されるべきタンパク質 (または抗原決定基を含有するその断片) に特異的に結合する能力を有する抗体、および、その後の得られた抗原抗体複合体の定量化によって、決定される。この種のアッセイで使用されるであろう抗体は、例えば、ポリクローナル血清、ハイブリドーマ上清またはモノクローナル抗体、抗体断片、Fv、Fab、Fab' および F(ab')₂、scFv、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、並びにヒト型化抗体であり得る。同時に、抗体は標識されていてもされていないくてもよい。使用することができるマーカーの、例示的な、ただし非排他的な、例としては、放射性同位元素、酵素、フルオロフォア、化学発光 (chemoluminescent) 試薬、酵素補因子または基質、酵素阻害剤、粒子、色素等が挙げられる。1型または 2型5 - HTR の、非標識抗体 (一次抗体)、標識抗体 (二次抗体) または標識された拮抗薬もしくは作動薬を使用する、本発明で使用する事ができる、種々様々な周知のアッセイが存在し；これらの手法としては、ウエスタンブロットもしくは免疫ブロット、ELISA (酵素結合免疫吸着測定法)、RIA (ラジオイムノアッセイ)、競合的 EIA (酵素免疫測定法)、DAS - ELISA (二抗体サンドイッチ ELISA)、免疫細胞化学的手法および免疫組織化学的手法、免疫蛍光法、バイオチップの使用に基づく手法、または特異的抗体を含むタンパク質マイクロアレイ、または試験紙等の形式のコロイド沈殿に基づくアッセイが挙げられる。タンパク質を検出および定量化する他の形式としては、アフィニティークロマトグラフィー法、リガ

30

40

【0107】

本発明の好ましい実施形態では、1型5 - HTR および / または 2型5 - HTR の発現細胞は、免疫細胞化学によって、好ましくは免疫蛍光法によって検出される。

【0108】

本発明の好ましい実施形態では、1型5 - HTR および / または 2型5 - HTR の発現の検出またはレベルの決定は、免疫蛍光法によって行われる。免疫蛍光法 (IF) は、蛍光顕微鏡を用いる光学顕微鏡法に使用される手法であり、主に生物試料に対して使用される。この手法では、蛍光色素を細胞内の特定の生体分子標的に標的化するために、抗体のそれらの抗原に対する特異性が利用され、これにより、試料中の標的分子の分布が可視化

50

される。IFは、免疫染色の広く使用されている例であり、抗体の位置を可視化するためにフルオロフォアを利用する免疫組織化学（IHC）または免疫細胞化学（ICC）の具体例である。IFは、組織切片、培養細胞株、または個々の細胞に対して使用することができる。IFは、他の、抗体を使用しない蛍光染色法、例えばDNAを標識するためのDAPIの使用、と組み合わせて使用することができる。いくつかの顕微鏡設計がIF試料の分析に使用可能であり；最も単純なものは落射蛍光顕微鏡であり、共焦点顕微鏡も広く使用されている。また、さらに高度な解像度が可能な、様々な超解像度顕微鏡設計が使用可能である。好ましい実施形態では、悪性細胞の特定はフローサイトメトリーによって行われ、フローサイトメトリーは、液体流中に細胞を浮遊させ、電子検出器に細胞を通過させることによる、細胞計数、細胞選別および生物マーカー検出に使用される、レーザーに基づく生物物理学的技術である。

10

【0109】

本発明によれば、骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される試料中の1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現の検出は、血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞の特定に有用である。

【0110】

好ましい実施形態では、血液試料は末梢血である。

【0111】

別の好ましい実施形態では、1型5-HTRは5-HTR1Aであり、2型5-HTRは5-HTR2A、5-HTR2Bおよび5-HTR2Cからなる群から選択される。より好ましい実施形態では、2型5-HTRは5-HTR2Cである。

20

【0112】

別の好ましい実施形態では、悪性細胞を特定するための本発明の方法は、5-HTR1Aおよび5-HTR2Cの発現の検出を含む。

【0113】

好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍は白血病であり、より好ましくは急性骨髄性白血病である。

【0114】

前述の全ての用語および実施形態は、本発明のこの態様に等しく適用可能である。

【0115】

3 - 血液系悪性腫瘍を診断するための方法

別の態様において、本発明は、本発明による方法によって、具体的には、骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される試料中の血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞の特定によって、悪性細胞を特定することを含む、対象における血液系悪性腫瘍を診断するための*in vitro*法（*in vitro method*）に関し、前記方法は、前記細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現を検出することを含む。

30

【0116】

診断とは、本明細書で使用される場合、対象における可能性のある疾患を決定および/または特定しようとする試みの過程、すなわち、診断法、並びに、この過程によって到達される所見、すなわち診断所見（*diagnostic opinion*）の両方を指す。従って、診断は、治療および予後に関する医療上の決定がなされることを可能にする、個人の状態を別々の異なる分類に分類する試みと見なすこともできる。当業者には理解されることであるが、血液系悪性腫瘍の診断は、好ましいことではあるが、診断または評価される対象の100%において正しい必要はない。しかしながら、前記用語は、対象の統計的にかなりの部分が血液系悪性腫瘍を患っていると特定され得ることを要求する。対象が統計的に有意であるかどうかは、種々の周知の統計的評価手段（例えば、信頼区間の決定、*p*値決定、スチューデント*t*検定、マン・ホイットニー検定等）を用いることで、当業者により造作なく決定され得る。詳細は、Dowdy and Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, New York 1983に見出される。好ましい信頼区間は、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも9

40

50

5%である。p値は、0.05、0.01、0.005またはそれ未満が好ましい。

【0117】

好ましい実施形態では、対象における血液系悪性腫瘍を診断するための方法は、
(a) 骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される前記対象由来の試料の細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルを決定し、
(b) 前記レベルを基準値と比較すること、を含み、
前記方法では、基準値に対する、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRを発現する細胞のレベル増加は、対象が血液系悪性腫瘍を患っていることを示す。

【0118】

基準値は、血液系悪性腫瘍に冒されていない正常な個人由来の分析されるべき試料の混合物によって形成されることが好ましい試料集合から導かれる。前記基準値は、技術の現状において周知の手法によって、例えば、健常な対象から採取された試料において測定された、1型5-HTRタンパク質および/または2型5-HTRタンパク質のレベルの平均値を決定することによって、決定することができる。基準値は、分析されるべき同一対象から採取された構成的に発現されたタンパク質から得ることもできる。

10

【0119】

好ましい実施形態では、血液試料は末梢血である。別の好ましい実施形態では、1型5-HTRは5-HTR1Aであり、2型5-HTRは5-HTR2A、5-HTR2Bおよび5-HTR2Cからなる群から選択される。より好ましい実施形態では、2型5-HTRは5-HTR2Cである。

20

【0120】

別の好ましい実施形態では、本発明の血液系悪性腫瘍を診断するための方法は、5-HTR1Aおよび5-HTR2Cの発現の検出を含む。

【0121】

好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍は白血病であり、より好ましくは急性骨髄性白血病である。

【0122】

別の好ましい実施形態では、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現細胞は、免疫細胞化学によって、好ましくは免疫蛍光法によって、より好ましくはフローサイトメトリーによって、検出される。

30

【0123】

前述の全ての用語および実施形態は、本発明のこの態様に等しく適用可能である。

【0124】

4 - 悪性細胞を単離するための方法

別の態様において、本発明は、骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される試料中の血液系悪性腫瘍由来の悪性細胞を単離するためのインビトロ法に関し、前記方法は、前記細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現を検出し、前記5-HTRを発現する前記細胞を単離することを含む。

【0125】

用語「単離する」は、本明細書で使用される場合、骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される試料中に存在する残りの構成要素からの悪性細胞の、同定および分離または除去を意味する。

40

【0126】

好ましい実施形態では、血液試料は末梢血である。

【0127】

別の好ましい実施形態では、1型5-HTRは5-HTR1Aであり、2型5-HTRは5-HTR2A、5-HTR2Bおよび5-HTR2Cからなる群から選択される。より好ましい実施形態では、2型5-HTRは5-HTR2Cである。

【0128】

別の好ましい実施形態では、悪性細胞を単離するための本発明の方法は、5-HTR1

50

A および 5 - H T R 2 C の発現の検出を含む。

【 0 1 2 9 】

好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍は白血病であり、より好ましくは急性骨髄性白血病である。

【 0 1 3 0 】

別の好ましい実施形態では、1 型 5 - H T R および / または 2 型 5 - H T R の発現細胞は、免疫細胞化学によって、好ましくは免疫蛍光法によって、より好ましくはフローサイトメトリーによって、検出される。

【 0 1 3 1 】

前述の全ての用語および実施形態は、本発明のこの態様に等しく適用可能である。

10

【 0 1 3 2 】

5 - 予後を判定するための方法

別の態様において、本発明は、血液系悪性腫瘍を患う対象の予後を判定するためのインビトロ法に関し、前記方法は、

(a) 骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される前記対象由来の試料の細胞における 1 型 5 - H T R および / または 2 型 5 - H T R の発現レベルを決定し、

(b) 前記レベルを基準値と比較すること、を含み、

前記方法では、基準値に対する 1 型 5 - H T R および / または 2 型 5 - H T R の発現レベルの減少は、対象が良好な予後を示すことを示しており、あるいは、基準値に対する 1 型 5 - H T R および / または 2 型 5 - H T R の発現レベルの増加は、対象が予後不良を示すことを示している。

20

【 0 1 3 3 】

好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍は白血病であり、より好ましくは急性骨髄性白血病である。

【 0 1 3 4 】

用語「決定する」は、本明細書で使用される場合、患者の進展を決定するのに有用であり得るあらゆるパラメータの決定を指す。当業者には理解されることであるが、予後の予測は、好ましいことではあるが、診断または評価される対象の 1 0 0 % において正しい必要はない。しかしながら、前記用語は、対象の統計的にかなりの部分が所与の予後を有する可能性が高いと特定され得ることを要求する。対象が統計的に有意であるかどうかは、種々の周知の統計的評価手段（例えば、信頼区間の決定、p 値決定、スチューデント t 検定、マン・ホイットニー検定等）を用いることで、当業者により造作なく決定され得る。詳細は、Dowdy and Wearden, Statistics for Research, John Wiley & Sons, New York 1983に見出される。好ましい信頼区間は、少なくとも 5 0 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 8 0 %、9 0 %、または少なくとも 9 5 % である。p 値は、0 . 0 5、0 . 0 1、0 . 0 0 5 またはそれ未満が好ましい。

30

【 0 1 3 5 】

用語「予後」とは、本明細書で使用される場合、疾患からの回復の見込み、または、疾患の起こり得る発症もしくは結果の予測、例えば、限定はされないが、全生存 (O S) の期間、1 年生存 (1 Y S)、治療反応性 (R T)、無病生存期間、無増悪生存期間、および無再発生存期間の予測、を意味する。当業者には理解されることであるが、予測は、好ましいことではあるが、診断または評価される対象の 1 0 0 % において正しい必要はない。しかしながら、前記用語は、対象の統計的にかなりの部分が所与の予後を有する可能性が高いと特定され得ることを要求する。対象が統計的に有意であるかどうかは、種々の周知の統計的評価手段（例えば、信頼区間の決定、p 値決定、スチューデント t 検定、マン・ホイットニー検定等）を用いることで、当業者により造作なく決定され得る。詳細は、Dowdy and Wearden, Statistics for Research, John Wiley & Sons, New York 1983に見出される。好ましい信頼区間は、少なくとも 5 0 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 % である。p 値は、0 . 0 5、0 . 0 2、0 . 0 1 またはそれ未満が好ましい。

40

50

【 0 1 3 6 】

Standard criteria (Miller, et al. Cancer, 1981; 47(1): 207-14)が、治療法への応答における患者の臨床成績を評価するために本明細書と共に使用され得る。処置の有効性を決定するための広く認められているあらゆるパラメーターが、処置の応答における患者の臨床成績の決定に使用可能であり、限定はされないが、以下が挙げられる：

本明細書で使用される場合、試験期間中に疾患を再発させなかった完全寛解の対象の比率を述べる、無病進行 (disease-free progression)。

本明細書で使用される場合、対象が疾患の徴候無しで生存する疾患への処置の後の期間として理解される、無病生存期間 (DFS)。

本発明で使用される場合、完全または部分的な応答が観察される処置対象の比率を述べる、客観的応答 (objective response)。

本発明で使用される場合、完全奏功、部分奏功、小 (minor) 奏功または6ヶ月間以上の安定病態が観察される処置対象の比率に関する、腫瘍制御 (tumor control)。

本明細書で使用される場合、処置開始からがん成長の最初の測定までの時間と定義される、無増悪生存期間。

本明細書で使用される場合、疾患が増悪し始めるまでの、疾患が治療された後の時間を指す、腫瘍増殖停止時間。用語「進行」は、先に定義されている。

本明細書で使用される場合、治療法の開始後の最初の6ヶ月において無増悪である対象の割合を指す、6ヶ月無増悪生存率。

本明細書で使用される場合、原発性がんの診断後に生存している患者の割合と定義される、全生存率 (OS)。

本明細書で使用される場合、試験に参加した対象の半数が生存している期間を指す、生存期間中央値、並びに

本明細書で使用される場合、白血病細胞の染色体構造に基づく5年生存の確率を指す、細胞遺伝学的なリスク層別化。

【 0 1 3 7 】

好ましい実施形態では、患者の臨床成績は細胞遺伝学的なリスク層別化を決定することにより測定される。

【 0 1 3 8 】

予後を判定するためのインピト口法の第一段階は、骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される前記対象由来の試料の細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルを決定することを含む。生物マーカーの発現レベルの決定とは、生物マーカーの発現レベルおよび/またはその表面上に生物マーカー(すなわち細胞表面マーカー)を保有する細胞の数の決定を指す。ここで、発現レベルとは、mRNAのレベルおよび/またはタンパク質のレベルおよび/またはその表面上に生物マーカーを保有する細胞の数を指す。生物マーカーの発現レベルを決定するための方法の例は先に記載された。

【 0 1 3 9 】

別の好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍を患う対象の予後を決定するためのインピト口法は、1型5-HTR遺伝子および/もしくは2型5-HTR遺伝子にコードされるmRNAのレベル、またはその変異体のレベルを測定することによる、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルの決定を含む。別の好ましい実施形態では、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルは、1型5-HTRタンパク質および/もしくは2型5-HTRタンパク質のレベル、またはその変異体のレベルを測定することにより決定される。より好ましい実施形態では、mRNA発現レベルはPCRによって決定される。別の好ましい実施形態では、タンパク質またはその変異体の発現レベルは、ウェスタンブロットまたは免疫細胞化学によって決定される。より好ましい実施形態では、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルは、半定量的PCRによって決定される。

【 0 1 4 0 】

10

20

30

40

50

別の好ましい実施形態では、血液試料は末梢血である。

【0141】

好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍を患う対象の予後を判定するためのインビトロ法は、1型5-HTRのレベルの決定を含む。より好ましい実施形態では、1型5-HTRは5-HTR1Aおよび5-HTR-1Bからなる群から選択される。

【0142】

好ましい実施形態では、前記方法は、5-HTR1Aおよび5-HTR-1Bの発現レベルの決定を含む。

【0143】

第二段階において、予後を判定するためのインビトロ法は、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRのレベルを基準値と比較することを含む。前記比較によって、対象が良好な予後または予後不良を示すかどうか結論付けられる。

10

【0144】

好ましい実施形態では、本発明のインビトロ法によって判定される予後は、5年生存の確率である。

【0145】

前述の全ての用語および実施形態は、本発明のこの態様に等しく適用可能である。

【0146】

6 - 治療法の効果をモニターするための方法

別の態様において、本発明は、血液系悪性腫瘍を患い、治療法による処置を受けている対象における、前記治療法の効果をモニターするためのインビトロ法に関し、前記方法は

20

a) 骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される前記対象由来の試料の細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルを決定し、

b) 前記レベルを、より早い時点の前記対象由来の試料の細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルと比較すること、を含み、

前記方法では、より早い時点での前記対象由来の試料において決定されたレベルに対する、1型5-HTRおよび/もしくは2型5-HTRの発現レベルの減少は、治療法が効果的であることを示し、または、より早い時点での前記対象由来の試料において決定されたレベルに対する、1型5-HTRおよび/もしくは2型5-HTRの発現レベルの増加は、治療法が効果的でないことを示す。

30

【0147】

好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍は白血病であり、より好ましくは急性骨髄性白血病である。

【0148】

当業者によって理解されるように、前記治療法は、血液系悪性腫瘍の治療を目的としている。非限定例として、シタラピン(arra-C)およびダウノルピシン(ダウノマイシン)またはイダルピシン、フルダラピンまたはトポテカンの組合せが使用され得る。別の実施形態では、前記治療法は、1型5-HTR阻害剤または2型5-HTR阻害剤である。

40

【0149】

1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルを決定するための方法は、先に詳術された。

【0150】

好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍を患う対象における治療法の効果をモニターするためのインビトロ法は、1型5-HTRのレベルの決定を含む。より好ましい実施形態では、1型5-HTRは5-HTR1Aおよび5-HTR-1Bからなる群から選択される。

【0151】

好ましい実施形態では、前記方法は、5-HTR1Aおよび5-HTR-1Bの発現レ

50

ベルの決定を含む。

【0152】

別の好ましい実施形態では、血液試料は末梢血である。

【0153】

別の好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍を患う対象における治療法の効果をモニターするためのインビトロ法は、1型5-HTR遺伝子および/もしくは2型5-HTR遺伝子にコードされるmRNAのレベル、またはその変異体のレベルを測定することによる、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルの決定を含む。別の好ましい実施形態では、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルは、1型5-HTRタンパク質および/もしくは2型5-HTRタンパク質のレベル、またはその変異体のレベルを測定することにより決定される。

10

【0154】

より好ましい実施形態では、mRNA発現レベルはPCRによって決定される。別の好ましい実施形態では、タンパク質またはその変異体の発現レベルは、ウェスタンブロットまたは免疫細胞化学によって決定される。より好ましい実施形態では、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルは、半定量的PCRによって決定される。

【0155】

前述の全ての用語および実施形態は、本発明のこの態様に等しく適用可能である。

【0156】

7-カスタマイズされた治療法を設計するための方法

20

別の態様において、本発明は、血液系悪性腫瘍があると診断された対象のためのカスタマイズされた治療法を設計するためのインビトロ法に関し、前記方法は、

a) 骨髄、血液およびリンパ節からなる群から選択される前記対象由来の試料の細胞における1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルを決定し、

b) 前記レベルを基準値と比較すること、を含み、

前記方法では、基準値に対する1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現細胞のレベルの増加は、対象が1型5-HTR阻害剤および/または2型5-HTR阻害剤で治療されるべきであることを示す。

【0157】

血液系悪性腫瘍があると診断された対象に対するカスタマイズされた治療法の設計は、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現に基づいて決定し、必要に応じて、1型5-HTR阻害剤および/または2型5-HTR阻害剤を投与すること、と理解される。

30

【0158】

好ましい実施形態では、5-HTR阻害剤は、表1の化合物またはそれらの薬剂的に塩から選択される。

【0159】

より好ましい実施形態では、5-HTR阻害剤は、アポモルヒネメチオテピン、アムペロジドおよびその薬剂的に許容できる塩からなる群から選択される。

【0160】

好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍を患う対象におけるカスタマイズされた治療法を設計するためのインビトロ法は、1型5-HTRの発現レベルの決定を含む。より好ましい実施形態では、1型5-HTRは5-HTR1Aおよび5-HTR-1Bからなる群から選択される。

40

【0161】

好ましい実施形態では、前記方法は、5-HTR1Aおよび5-HTR1Bの発現レベルの決定を含む。

【0162】

別の好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍は白血病であり、より好ましくは急性骨髄性白血病である。

50

【 0 1 6 3 】

別の好ましい実施形態では、血液試料は末梢血である。

【 0 1 6 4 】

別の好ましい実施形態では、血液系悪性腫瘍を患う対象における治療法の効果をモニターするためのインビトロ法は、1型5-HTR遺伝子および/もしくは2型5-HTR遺伝子にコードされるmRNAのレベル、またはその変異体のレベルを測定することによる、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルの決定を含む。別の好ましい実施形態では、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルは、1型5-HTRタンパク質および/もしくは2型5-HTRタンパク質のレベル、またはその変異体のレベルを測定することにより決定される。より好ましい実施形態では、mRNA発現レベルはPCRによって決定される。別の好ましい実施形態では、タンパク質またはその変異体の発現レベルは、ウェスタンブロットまたは免疫細胞化学によって決定される。より好ましい実施形態では、1型5-HTRおよび/または2型5-HTRの発現レベルは、半定量的PCRによって決定される。

10

【 0 1 6 5 】

前述の全ての用語および実施形態は、本発明のこの態様に等しく適用可能である。

【 0 1 6 6 】

本発明は、単なる例示と見なされるべきであり、本発明の範囲を限定するものと見なされるべきではない、以下の実施例によって説明される。

【実施例】

20

【 0 1 6 7 】

材料および方法

【 0 1 6 8 】

実施例1：セロトニン受容体(5HTR)拮抗薬1型および2型はAML細胞株に対する細胞毒性効果を有する。5HTR拮抗薬の抗白血病作用を試験するために、HL-60 (Collins, Gallo et al. Nature. 1977;270(5635):347-9)、MonoMac-1 (Steube, Teepe et al. Leuk Res. 1997;21(4):327-35)、KG-1 (Koeffler and Golde. Science. 1978;200(4346):1153-4) および Kasumi-1 (Asou, Tashiro et al. Blood. 1991;77(9):2031-6) のAML(急性骨髄性白血病)細胞株を、様々な用量の、適用範囲の広い(broad)5HTR拮抗薬であるアポモルヒネ(CAS登録番号314-19-2)で72時間処理した。100万細胞/mLを、96ウェルプレート内の10%ウシ胎児血清を添加した完全RPMI培地中に播種した。アポモルヒネ処理に使用された濃度は0.1、1および10μMであった。図1に示すように、試験された全てのAML細胞株において、用量反応様式で、細胞生存率の減少が検出された。

30

【 0 1 6 9 】

ヒト5HTRファミリーは、7つのサブタイプ(1~7)の受容体によって構成される(Nichols and Nichols. Chem Rev 2008, 108:16414-41)。HL-60、KG-1、MonoMac-1およびKasumi-1 AML細胞株を、サブタイプ特異的5HTR拮抗薬：アポモルヒネ(1型、2型および5型)、メチオテピン(1型および2型)(CAS登録番号74611-28-2)、アムペロジド(2型)(CAS登録番号75558-90-6)、GR113808(4型)(CAS登録番号144625-51-4)と一緒にインキュベートした。処理の72時間後、細胞生存率をフローサイトメトリーで決定した。細胞を7-AAD(CAS登録番号7240-37-1)およびHoechst 33342(CAS登録番号23491-52-3)で染色した。生細胞(viability cell)を、7-AAD染色排除(7-AAD staining exclusion)およびHoechst陽性染色の存在によって特定した。体積当たりの細胞数を測定した。アポモルヒネ、メチオテピンおよびアムペロジドのみが、AML細胞株に対し細胞死を誘導した(図2);このことから、5HTR1型および2型の阻害はAML細胞に対する細胞毒性効果を有する。実際、抗白血病作用は、天然リガンドである5-HT(CAS登録番号153-98-0)または5-CT(CAS登録番号74885-72-6)等の競合的作動薬の存在下で逆転

40

50

した。

【0170】

実施例2：セロトニン受容体(5HTR)拮抗薬1型および2型は初代患者AML試料に対する細胞毒性効果を有する。初代AML患者試料を、0.1、1および10μMのサブタイプ1および2のHTR拮抗薬で24時間および72時間処理した。50000細胞/mLを、インスリン、トランスフェリン、ウシ血清アルブミン、IL3および可欠アミノ酸を添加したIMDM中に播種した。細胞生存率を上記のようにフローサイトメトリーで測定した。AML細胞株と同様に、アポモルヒネ処理およびメチオテピン処理の両方が、用量反応様式で初代AML芽球に対して細胞死を誘導した(図3および図4)。

【0171】

正常な造血系と同様に、AMLは、自己複製能が増強され、分化能が損なわれ、薬剤耐性が増加した少数の白血病幹細胞(LSC)によって究極的には維持される、異なる、機能的に不均一な細胞クラス階層として組織化されると考えられている(Bonnet and Dick Nat Med. 1997;3(7):730-7)。LSC集団がCD34+CD38-AML芽球集団の内部で富化されることが分かっている。アポモルヒネおよびメチオテピンは、CD34の存在およびCD38の非存在に基づくフローサイトメトリーによって特定される、大部分の未分化LSC富化芽球集団の細胞生存率を減少させた(図3および図4)。実際、未分化画分における減少は、混合集団における減少よりも、有意に高度であった；このことから、5HTR拮抗薬はLSCに選択的に影響を与える。

【0172】

実施例3：5HTR拮抗薬はAML細胞株に対して分化を誘導した

HL-60、KG-1、MonoMac-1およびKasumi-1 AML細胞株を、上記のように、様々な濃度のアポモルヒネおよびメチオテピンで72時間処理した。分化関連表面マーカーの発現をフローサイトメトリーで測定した。全てのAML細胞株において、5HTR拮抗薬の存在はCD11c、CD11bおよびCD14の発現を誘導した(図5)。

【0173】

同様に、アポモルヒネおよびメチオテピンは、初代AML患者試料に対し、骨髓性マーカーの発現上昇を誘導した(図6および図7)。

【0174】

実施例4：5HTR拮抗薬は健常な血液細胞にも健常な造血幹/前駆細胞にも影響を与えない

健常ドナー由来の末梢血細胞を単離し、初代患者AML試料と同じ条件を用いて5HTR拮抗薬で処理した。初代患者AML試料(the latter)とは異なり、健常な血液細胞はアポモルヒネまたはメチオテピンによる処理に対して無影響のままであった(図8)。

【0175】

造血幹/前駆細胞に対する5HTR拮抗薬処理の影響を研究するため、健常ドナーから得られた臍帯血試料由来の単核細胞を単離し、系統陰性(lineage-negative)画分をアポモルヒネの存在下で培養した。AML細胞とは異なり、初代造血幹/前駆細胞は処理に対して無影響のままであった。各々の集団内頻度または細胞の絶対数において、有意な細胞生存率変化は観察されなかった(図9)。

【0176】

実施例5：5HTR拮抗薬は、健常な造血幹細胞のクローン原性を低減させずに、AML芽球のクローン原性を低減させる

5HTR拮抗薬が大部分の未分化AML集団の細胞生存率を減少させないことを考慮して、処理に対するクローン原性を調べた。初代患者AML試料をアポモルヒネおよびメチオテピンの存在下で18時間培養し、5万細胞/mLの濃度で、系統誘導(instructive)サイトカインの存在下で、14日間、半固体メチルセルロース培地に播種した。コロニーを、形態および細胞充実性に基づく光学顕微鏡法で計数した。図10に示すように、両方の5HTR拮抗薬が、得られるCFU-Bの数で測定される、初代AML試料のクロー

10

20

30

40

50

ン原性を低減させた。

【0177】

次に、系統枯渴臍帯血細胞を、AML細胞に対する上記の実行と同様に、アポモルヒネまたはメチオテピンで処理した。播種の14日後、コロニーを形態および細胞充実性に基づく光学顕微鏡法で計数した。いずれの5HTR拮抗薬も、コロニーの総数またはCFUの各サブタイプの頻度によって測定される、健全な造血幹/前駆細胞のクローン原性に影響を与えなかった(図11)。

【0178】

実施例6:5HTRはAML患者試料上で示差的に発現される

5HTRが、健全な血液試料と比較して、AML患者試料上で示差的に発現されるかどうかを決定するため、初代患者AML末梢血試料、健全ドナー末梢血試料およびAML細胞株上でのそれらの発現をフローサイトメトリーで調べた。図12に示すように、初代患者AML末梢血細胞は、健全ドナーと比較して、有意により高い含量で、5HTRを発現した。

【0179】

実施例7:5HTR発現はAML患者の臨床成績と相関する

5HTR1Aおよび5HTR1BのmRNA発現レベルを初代患者AML試料において測定したところ、臨床成績と相関していた。2つの患者群を細胞遺伝学的リスクに基づいて定義した:良好(好ましい分子群)および不良(好ましくない分子群)。いずれの場合でも、各々の5HTR mRNAの高発現と臨床成績の悪化との間には関連性があった(図13)。

【0180】

実施例8:セロトニン受容体(5HTR)拮抗薬は二次CFUにおけるAML細胞のクローン原性を低減させる

クローン原性をインビトロでアッセイするために、等価な、アポモルヒネ処理、メチオテピン処理およびビヒクル処理したAML患者由来初代CFU-B(実施例5の説明の通り)を、5万細胞/mLの濃度で、系統誘導サイトカインの存在下で、ただしいかなる薬剤も存在させずに、14日間、半固体メチルセルロース培地中に、連続的に播種した。コロニーを形態および細胞充実性に基づく光学顕微鏡法で計数した。図14に示すように、クローン原性の低減が処理後に観察された。

【0181】

実施例9:セロトニン受容体拮抗薬による処置は、健全な血液細胞には影響を与えずに、インビボ異種移植マウスモデルにおけるAML負荷を低減させた

白血病細胞は骨髄ニッチに主に存在し、骨髄ニッチでは、間質細胞区画によって、白血病細胞の生存および増殖を強力に媒介し、白血病細胞をアポトーシス()から保護するパラクリンシグナル伝達が提供される。従って、条件付けされた免疫不全NSG.Cg-Prkdcs^{cid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ(NSG)マウス(Sanchez et al Leukemia. 2009 Nov;23(11):2109-17)に、ヒトAML細胞を移植し、白血病を確立させるために7日間放置した。その後、マウスを、2日毎に、7日間、合計4回のアポモルヒネ(5mg/kg体重)(Schmidt et al J Neurosci. 1982 Mar;2(3):376-80)またはメチオテピン(0.1mg/kg体重)(Ginawi et al J Physiol Pharmacol. 2004 Jun;55(2):357-69)の腹腔内投与で処置した。両方の5HTR1拮抗薬が、ビヒクル処置マウスと比較して、骨髄(BM)のAML負荷における有意な低減をもたらした(図15)。

【0182】

白血病惹起細胞(LIC)またはLSCは、異種移植片マウスモデルにおけるAML細胞の移植と関与しており、ヒトにおける前記疾患を惹起し維持すると考えられている。初代AML患者試料を、5HTR拮抗薬で18時間エキソビボ処理し、条件付けされた免疫不全NSGマウスに移植した。移植の8週間後、マウス骨髄をヒトAML細胞の存在について分析した。図16に示すように、アポモルヒネ処理AML細胞およびメチオテピン処理AML細胞は、ビヒクル処理AML細胞と比較して、より低いホーミング能および生着

10

20

30

40

50

能を示した。興味深いことに、アポモルヒネおよびメチオテピンによる処理後の系統枯渇 U C B 細胞の正常造血系再生能には、無視できる影響しか観察されなかった (図 1 6) 。

【 0 1 8 3 】

移植された試料に残るインビボ自己複製能をアッセイするために、二次移植を行った。35%未満のAML細胞が、アポモルヒネ処理細胞またはメチオテピン処理細胞を注射されたマウスにおいて検出された (図 1 7) 。

しかし、健全な造血幹細胞は、二次移植におけるそれらの再生能によって示されるように、処理後にそれらの自己複製能および分化能を保持した (図 1 7) 。

さらに、移植試料のクローン原性は、CFUアッセイで測定された通り、5HTR1拮抗薬で処理されたAML細胞において有意に低減された。興味深いことに、移植された健全HSCにはわずかな影響しか観察されない (図 1 7) 。

【 図 1 】

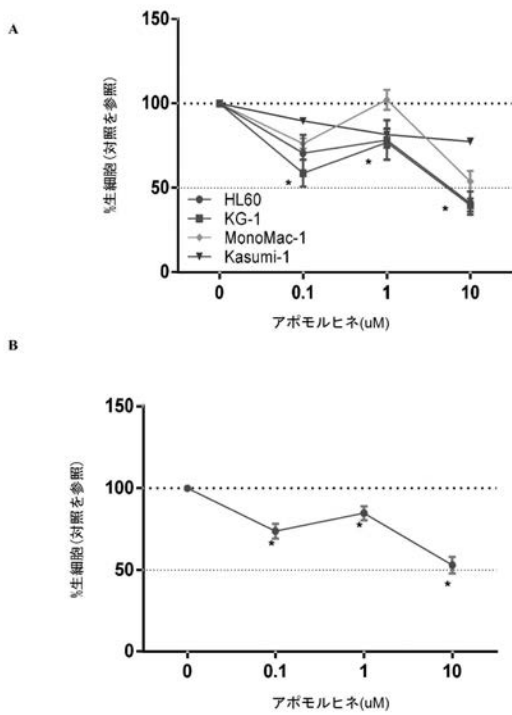
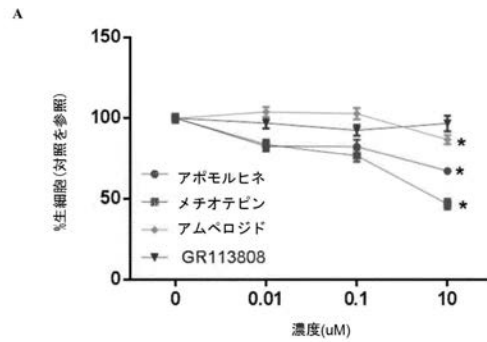


図 1

【 図 2 - 1 】



化合物	生物学的作用	標的
アポモルヒネ	拮抗薬	5-HTR 1/2/5
メチオテピン	拮抗薬	5-HTR 1/2
アムペロジド	拮抗薬	5-HTR 2
GR113808	拮抗薬	5-HTR 4

図 2

【 図 2 - 2 】

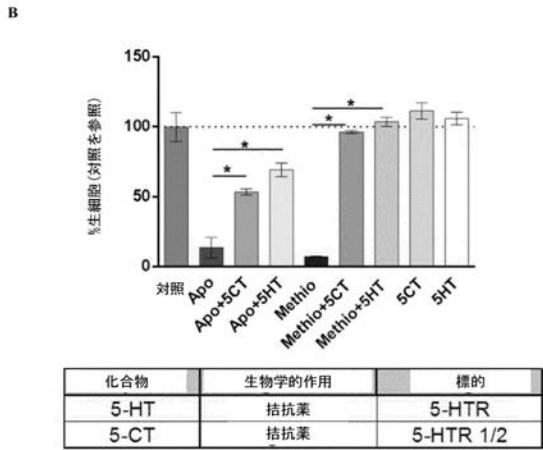


図 2 (続き)

【 図 3 】

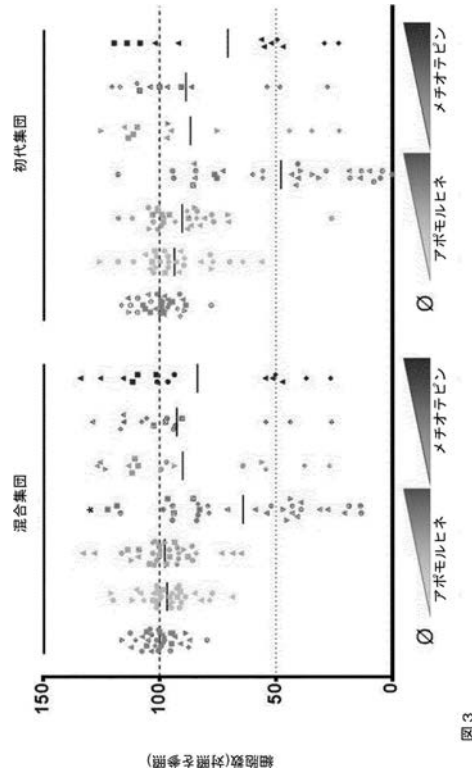


図 3

【 図 4 】

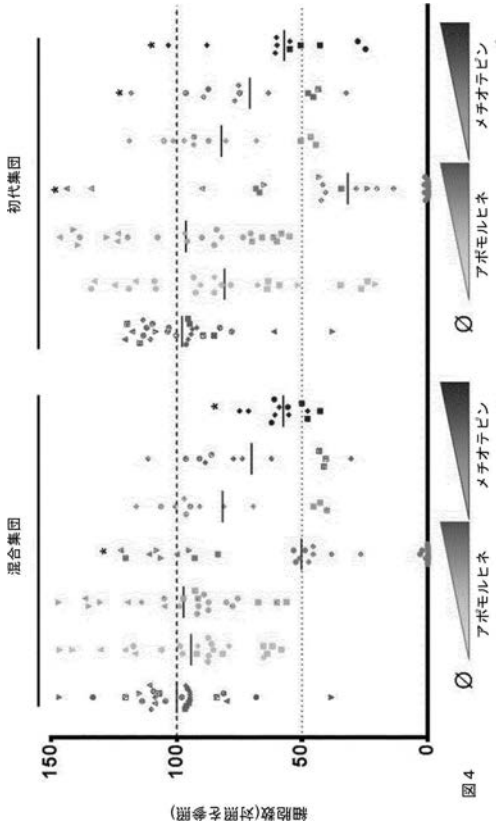


図 4

【 図 5 】

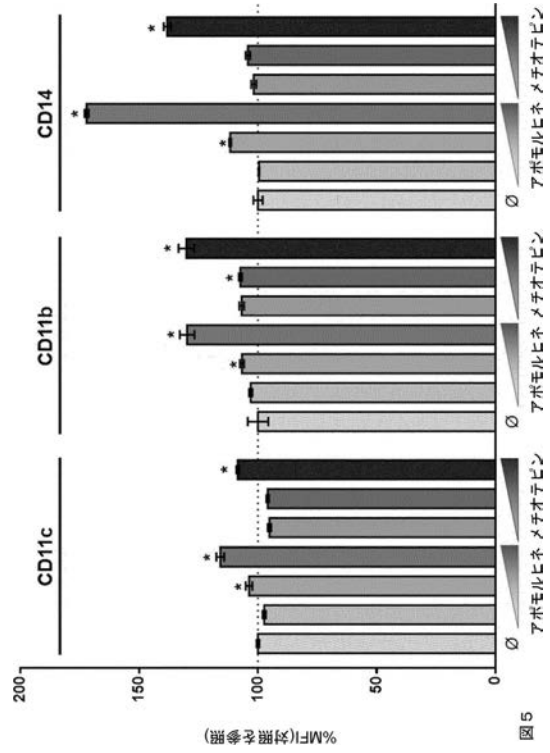


図 5

【 図 6 】

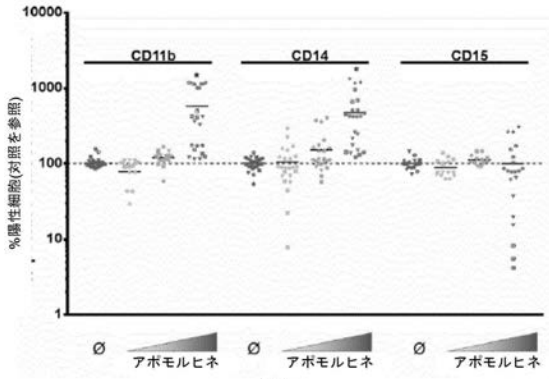


図 6

【 図 7 】

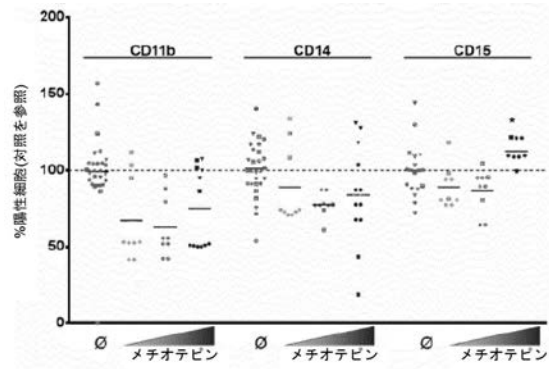


図 7

【 図 9 】

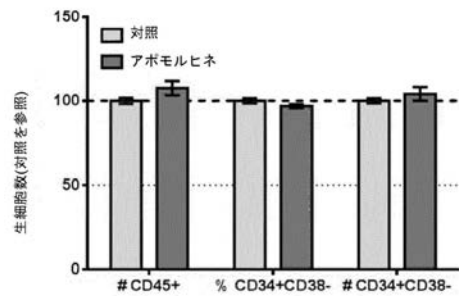


図 9

【 図 1 0 】

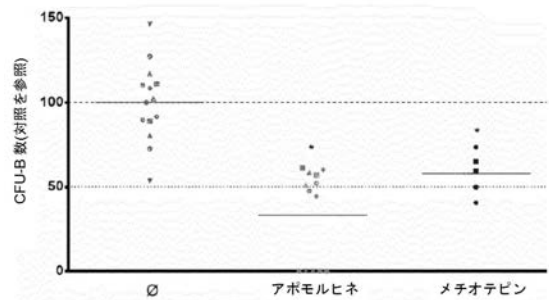
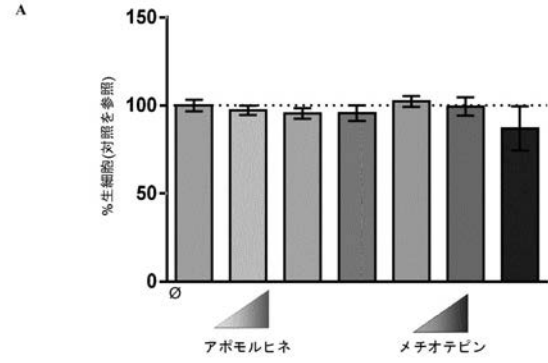


図 1 0

【 図 8 】



B

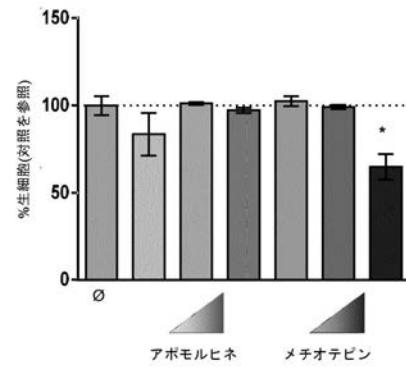
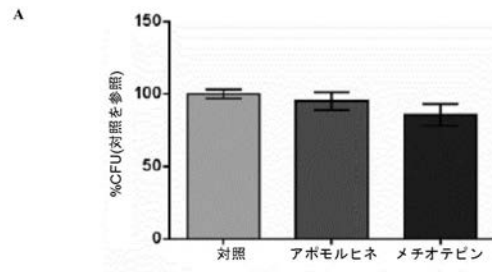


図 8

【 図 1 1 】



B

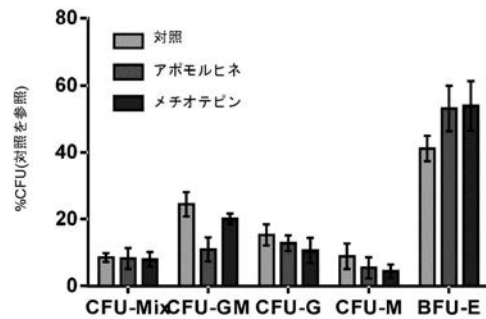


図 1 1

【 図 1 2 】

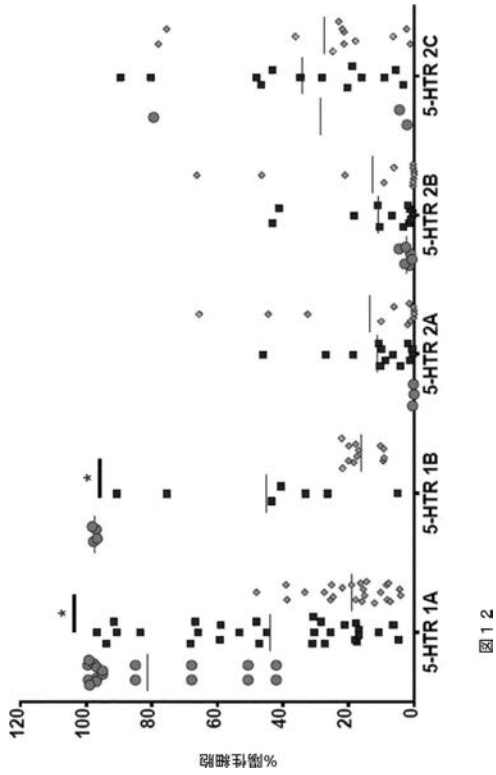


図 1 2

【 図 1 3 】

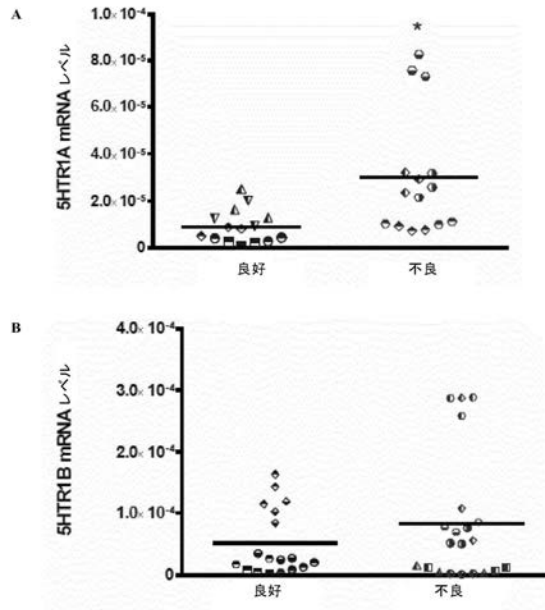


図 1 3

【 図 1 4 】

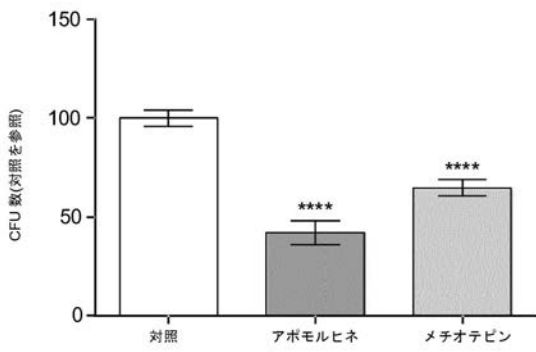


図 1 4

【 図 1 5 】

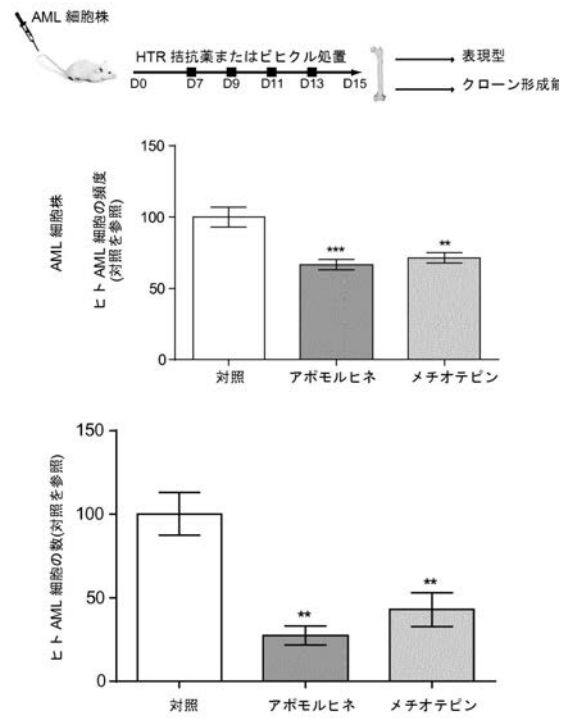


図 1 5

【 図 1 6 】

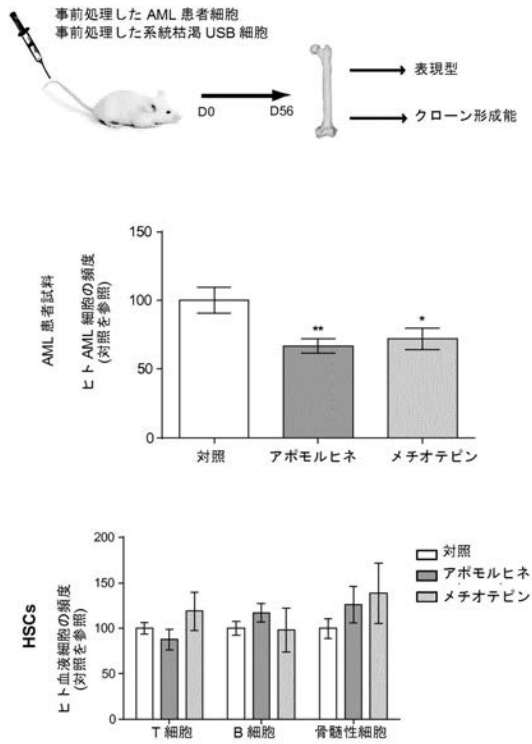


図 1 6

【 図 1 7 】

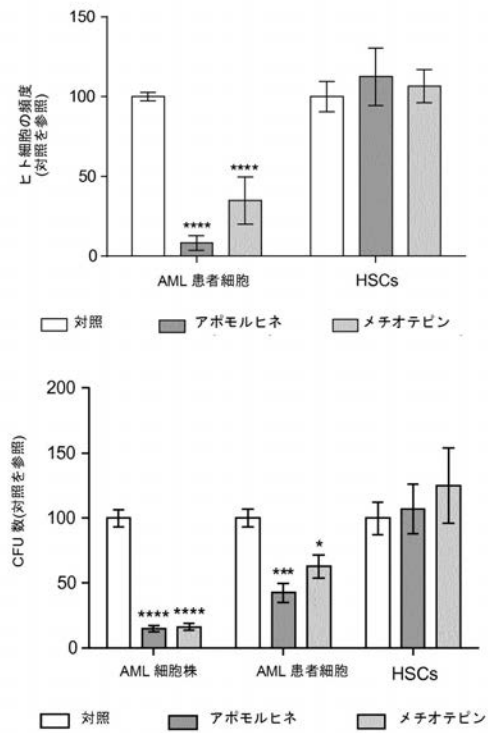


図 1 7

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/064571

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	A61K31/473	A61K31/495
	A61K31/55	G01N33/00
ADD.		A61P35/02
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 G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FATEMEH HAJIGHASEMI: "In Vitro Sensitivity of Leukemia Cells to Propranolol", JOURNAL OF CLINICAL MEDICINE RESEARCH, 1 January 2009 (2009-01-01), XP055137165, ISSN: 1918-3003, DOI: 10.4021/jocmr2009.06.1244 abstract ----- -/--	1,3,4, 25,27, 28,30, 32,33
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*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
E earlier application or patent but published on or after the international filing date		*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
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)		*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
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
24 July 2015		05/08/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Allnutt, Sarah

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/064571

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	XIA Z ET AL: "THE ANTIDEPRESSANTS IMIPRAMINE, CLOMIPRAMINE, AND CITALOPRAM INDUCE APOPTOSIS IN HUMAN ACUTE MYELOID LEUKEMIA HL-60 CELLS VIA CASPASE-3 ACTIVATION", JOURNAL OF BIOCHEMICAL AND MOLECULAR TOXICOLOGY, WILEY, NEW YORK, NY, US, vol. 13, no. 6, 1 January 1999 (1999-01-01), pages 338-347, XP009010373, ISSN: 1099-0461, DOI: 10.1002/(SICI)1099-0461(1999)13:6<338::AID-JBT8>3.0.CO;2-7 page 340, column 2, paragraph 3 page 345, column 1, paragraph 1 -----	1,4,5, 25, 28-30, 33,34
X	WO 03/063866 A1 (UNIV BIRMINGHAM [GB]; GORDON JOHN [GB]; BARNES NICHOLAS MARK [GB]) 7 August 2003 (2003-08-07) page 20, line 16 - page 21, line 18; claims 1,3,9; example 2 -----	1,4,25, 28,30,33
X	WO 2008/098351 A1 (UNIV HEALTH NETWORK [CA]; SCHIMMER AARON D [CA]; MAO XINLIANG [CA]; ST) 21 August 2008 (2008-08-21) page 9, lines 17-27 page 37, lines 9-18 -----	1,4,5, 25, 28-30, 33,34
A	KONDO Y ET AL: "SUPPRESSION OF TUMOR CELL GROWTH AND MITOGEN RESPONSE BY APORPHINE ALKALOIDS DICENTRINE GLAUCINE CORYDINE AND APOMORPHINE", JOURNAL OF PHARMACOBIO-DYNAMICS, vol. 13, no. 7, 1990, pages 426-431, XP009179892, ISSN: 0386-846X page 429, column 1, line 25 - page 429, column 2, line 3 page 429, column 2, paragraph 3 -----	1-34
A	WO 2010/135468 A1 (VIVIA BIOTECH S L [ES]; BALLESTEROS JUAN [ES]; BENNETT TERESA [ES]; PR) 25 November 2010 (2010-11-25) the whole document -----	1-34

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/064571

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03063866	A1	07-08-2003	AT 428418 T 15-05-2009
			DK 1478360 T3 13-07-2009
			EP 1478360 A1 24-11-2004
			ES 2323953 T3 28-07-2009
			US 2005182002 A1 18-08-2005
			WO 03063866 A1 07-08-2003

WO 2008098351	A1	21-08-2008	NONE

WO 2010135468	A1	25-11-2010	AR 076590 A1 22-06-2011
			AU 2010249593 A1 12-01-2012
			CA 2762783 A1 25-11-2010
			CN 102460165 A 16-05-2012
			EP 2433124 A1 28-03-2012
			JP 2012527627 A 08-11-2012
			RU 2011148289 A 27-06-2013
			SG 176571 A1 30-01-2012
			TW 201043955 A 16-12-2010
			US 2010298255 A1 25-11-2010
			WO 2010135468 A1 25-11-2010

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	31/496 (2006.01)	A 6 1 K 31/496	
A 6 1 K	31/495 (2006.01)	A 6 1 K 31/495	
A 6 1 K	31/438 (2006.01)	A 6 1 K 31/438	
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
G 0 1 N	33/574 (2006.01)	G 0 1 N 33/574	D
G 0 1 N	33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(74)代理人 100180873

弁理士 田村 慶政

(72)発明者 ムニョス リスエニヨ, ルース

スペイン国 イ - 0 8 0 3 6 バルセロナ、センター エスター コプロウィッツ、ロッセロ、1 4 9 - 1 5 3、2 ピーエル、ジョセップ カレーラス リューケミア リサーチ インスティテュート、ホスピタル クリニック バルセロナ . ユニバーシティ オブ バルセロナ

Fターム(参考) 4B063 QA01 QA05 QA19 QQ53 QR32 QR36 QR55 QR62 QS25 QS28
QS34 QX02

4B065 AA93X AC20 BD14 CA24 CA44 CA46 CA60

4C084 AA17 NA14 ZB271 ZC421

4C086 AA01 AA02 BC30 BC50 CB22 MA01 MA04 NA14 ZB27 ZC42

专利名称(译)	用于治疗，诊断和预测血液恶性肿瘤的方法		
公开(公告)号	JP2017526629A	公开(公告)日	2017-09-14
申请号	JP2016575341	申请日	2015-06-26
[标]申请(专利权)人(译)	INST DE RECERCA魂斗罗LA LEUCEMIA何塞·卡雷拉斯		
[标]发明人	ムニヨスリスエニヨルース		
发明人	ムニヨス リスエニヨ,ルース		
IPC分类号	A61K45/00 C12Q1/68 C12Q1/02 C12N5/09 A61K31/472 A61K31/496 A61K31/495 A61K31/438 A61P35/02 A61P43/00 G01N33/574 G01N33/53		
CPC分类号	A61K31/473 A61K31/495 A61K31/55 G01N33/57426 G01N33/942 A61P35/02 G01N33/00 G01N2800/00 G01N2800/52 G01N33/5091		
FI分类号	A61K45/00 C12Q1/68.A C12Q1/02 C12N5/09 A61K31/472 A61K31/496 A61K31/495 A61K31/438 A61P35/02 A61P43/00.111 G01N33/574.D G01N33/53.D		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA19 4B063/QQ53 4B063/QR32 4B063/QR36 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS28 4B063/QS34 4B063/QX02 4B065/AA93X 4B065/AC20 4B065/BD14 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4B065/CA60 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZB271 4C084/ZC421 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BC30 4C086/BC50 4C086/CB22 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZB27 4C086/ZC42		
代理人(译)	伊奈美稔 田村 庆政		
优先权	2014382249 2014-06-27 EP		
其他公开文献	JP2017526629A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)
 本发明提供了用于预防和/或治疗血液系统恶性肿瘤的5-羟色胺受体 (5-HTR)，其选自1型5-HTR抑制剂和2型5-HTR抑制剂。关于抑制剂。此外，本发明用于鉴定或分离源自血液恶性肿瘤的恶性细胞，或基于检测1型5-HTR和/或2型5-HTR的表达。一种体外诊断方法。此外，本发明基于确定1型5-HTR和/或2型5-HTR的水平，以确定预后，监测治疗效果或治疗血液系统恶性肿瘤。它涉及在受影响的受试者中设计定制治疗的体外方法。[选择图]无

(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2017-526629 (P2017-526629A) (43) 公表日 平成29年9月14日 (2017.9.14)
(51) Int. Cl. A61K 45/00 (2006.01) C12Q 1/68 (2006.01) C12Q 1/02 (2006.01) C12N 5/09 (2010.01) A61K 31/472 (2006.01)	FI A61K 45/00 C12Q 1/68 C12Q 1/02 C12N 5/09 A61K 31/472	テーマコード (参考) 4B063 4B065 4C084 4C086
(21) 出願番号 特願2016-575341 (P2016-575341)	(71) 出願人 516384689	インスティテュート デ レセルカ コン トラ ロイセミア ジョセップ カレ ーラス スペイン国 イー08021 ハルセロナ 、ムンタナ、383、3オー、2エイ 110001656 特許業務法人谷川国際特許事務所 100094640 弁理士 紺野 昭男 100103447 弁理士 井波 実 100111730 弁理士 伊藤 武泰
(86) (22) 出願日 平成27年6月26日 (2015.6.26)	(74) 代理人 100094640	
(85) 翻訳文提出日 平成28年12月21日 (2016.12.21)	(74) 代理人 弁理士 紺野 昭男 100103447 弁理士 井波 実 100111730 弁理士 伊藤 武泰	
(86) 国際出願番号 PCT/EP2015/064571	(74) 代理人 100094640	最終頁に続く
(87) 国際公開番号 W02015/197839	(74) 代理人 弁理士 紺野 昭男 100103447 弁理士 井波 実 100111730 弁理士 伊藤 武泰	
(87) 国際公開日 平成27年12月30日 (2015.12.30)	(74) 代理人 弁理士 紺野 昭男 100103447 弁理士 井波 実 100111730 弁理士 伊藤 武泰	
(31) 優先権主張番号 14382249.2	(74) 代理人 弁理士 紺野 昭男 100103447 弁理士 井波 実 100111730 弁理士 伊藤 武泰	
(32) 優先日 平成26年6月27日 (2014.6.27)	(74) 代理人 弁理士 紺野 昭男 100103447 弁理士 井波 実 100111730 弁理士 伊藤 武泰	
(33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人 弁理士 紺野 昭男 100103447 弁理士 井波 実 100111730 弁理士 伊藤 武泰	
(54) 【発明の名称】 血液系悪性腫瘍を治療、診断および予後判定するための方法		