

明 細 書

発明の名称：神経膠腫の治療用医薬組成物

技術分野

[0001] 本発明の技術分野は、神経膠腫の治療に関する。

背景技術

[0002] 脳腫瘍は、頭蓋内に生じる腫瘍の総称である。非特許文献1のアブストラクトには、脳腫瘍及び他の中枢神経系腫瘍は最も致命的ながんの一つであり、米国では相当な罹患率と死亡率を占めていることが記載されている。神経膠腫は悪性脳腫瘍の一種である。非特許文献2のアブストラクトには、過去20年間に高悪性度の神経膠腫の病態生理の解明が大きく進んだにもかかわらず、ほとんどの患者が診断から2年以内にこの新生物のために命を落としていることが記載されている。

[0003] 神経膠腫の中でも膠芽腫は、侵攻性の高い脳腫瘍として知られている。非特許文献3のアブストラクトには、膠芽腫は成人における最も頻度の高い悪性原発性脳腫瘍であり、ほとんどの場合致命的であること、治療失敗の基礎となる様々なメカニズムが理解されつつあるにもかかわらず、標準的な治療法は過去20年間変わっておらず、大きなアンメットニーズがあることが記載されている。また非特許文献3のイントロダクションには、過去の臨床試験を振り返った上で、現在、膠芽腫に対する有効な治療法は存在しないと記載されている。非特許文献4には、膠芽腫の診断方法や予後について解説されている。また非特許文献4のイントロダクションには、膠芽腫は予後不良で生存率が低く、治療の機会が極めて限られていることが特徴であることが記載されている。

先行技術文献

非特許文献

[0004] 非特許文献1：“Brain and other central nervous system tumor statistics , 2021” Miller et al., CA Cancer J Clin. 2021 Sep;71(5):381-406.

非特許文献2: "Interactions between Tumor Cells, Neurons, and Microglia in the Glioma Microenvironment" Radin et al., Int J Mol Sci. 2020 Nov 11;21(22):8476.

非特許文献3: "Molecular Mechanisms of Treatment Resistance in Glioblastoma" Ou et al., Int J Mol Sci. 2020 Dec 31;22(1):351.

非特許文献4: "Current and Future Trends on Diagnosis and Prognosis of Glioblastoma: From Molecular Biology to Proteomics" Silantsev et al., Cells. 2019 Aug 9;8(8):863.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] これまでに各種の知見が蓄積されているものの、神経膠腫のメカニズムは不明な点が多く残されており、従来の治療アプローチだけでは十分ではなかった。

[0006] 一方で本願発明者らは、鋭意研究を重ねた結果、プリンシドフォビルが膠芽腫の治療に優れた効果を示すことを発見した。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明の一態様によれば、プリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を含む、神経膠腫の治療用の医薬組成物が提供される。この組成物を用いれば、神経膠腫を治療することができる。

[0008] 本発明の一態様によれば、プリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及びアルキル化剤、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を含む、医薬組成物又はキットが提供される。この組成物又はキットを用いれば、神経膠腫を治療することができる。

図面の簡単な説明

[0009] [図1] 膠芽腫動物モデル脳内での膠芽腫細胞増殖を調べた結果を示す。

[図2] 膠芽腫動物モデルの生存個体率を調べた結果を示す。

[図3] 膠芽腫動物モデル脳内での膠芽腫細胞増殖を調べた結果を示す。

[図4]膠芽腫動物モデル脳内での膠芽腫細胞増殖を調べた結果を示す。

[図5]BCV投与後のマウスの薬物動態パラメータを調べた結果を示す。

[図6]BCV投与後のヒトの薬物動態パラメータを示す。

[図7]各種ヒト膠芽腫細胞株に対するBCVの濃度-細胞障害性曲線及び各 IC_{50} 値を調べた結果を示す。

[図8]各種ヒト膠芽腫細胞株に対するBCVの濃度-細胞障害性曲線及び各 IC_{50} 値を調べた結果を示す。

[図9]ウエスタンブロットによるU-87MG/MGMTプール細胞におけるMGMT蛋白発現を調べた結果を示す。

[図10]ウエスタンブロットによるU-87MG/MGMTモノクローナル細胞におけるMGMT蛋白発現を調べた結果を示す。

[図11]U-87MG/MGMTモノクローナル細胞に対するBCVの濃度-細胞障害性曲線及び各 IC_{50} 値を調べた結果を示す。

[図12]上位3種のBCV高感受性ヒト膠芽腫細胞株群対残りの8細胞株群のボルケーノプロットを示す。図12のプロットは各細胞株群を比較したときの相対的な関係を示している。図12は点線により6つの区画に分けられている。左上のGPC6等が含まれる区画内の丸は、高感受性群で有意な発現低下を示した遺伝子を示す。右上のNYAP2等が含まれる区画内の丸は、高感受性群で有意な発現亢進を示した遺伝子を示す。他の4つの区画は、感受性株群と残りの株群との間の発現差が2倍以下の、又は感受性株群と残りの株群との関連有意性が0.01以上の相対的に弱い遺伝子が含まれる。

[図13]80種のヒト脳腫瘍細胞株におけるNYAP2遺伝子発現量 (nTPM) 及びBCVに対する IC_{50} 値を調べた結果を示す。

[図14]3種のBCV高感受性株と残りの8細胞株におけるNYAP2遺伝子発現量 (nTPM) の差異を調べた結果を示す。

[図15]80種のヒト脳腫瘍細胞株におけるGPC6遺伝子発現量 (nTPM) 及びBCVに対する IC_{50} 値を調べた結果を示す。

[図16]BCV高感受性株と残りの8細胞株におけるGPC6遺伝子発現量 (nTPM) の

差異を調べた結果を示す。

[図17]膠芽腫動物モデル脳内での膠芽腫細胞増殖を調べた結果を示す。

[図18]ヒト脳腫瘍細胞移植後の累積生存率をプロットした Kaplan-Meier 曲線を示す。

[図19]7種の患者由来脳腫瘍細胞の主なゲノム特性を示す。図中、ampは増幅、wtは野生型、mutantは変異型を意味する。

発明を実施するための形態

[0010] 以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。なお、同様な内容については繰り返しの煩雑を避けるために、適宜説明を省略する。

[0011] (1) 方法

本発明の一実施形態によれば、ブリンシドフォビル (BCV)、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を対象に投与する工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。この方法を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、神経膠腫の中でも悪性度が高く、一般には治療の困難性が高い膠芽腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。

[0012] (2) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を対象に投与する工程を含む、神経膠腫細胞の増殖抑制方法が提供される。この方法を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫細胞の増殖を抑制することができる。

[0013] (3) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれら

の溶媒和物を対象に投与する工程を含む、延命方法が提供される。この方法を用いれば、新規の治療アプローチによって、対象の延命することができる。

[0014] (4) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及び化学療法剤の併用治療において、BCV、その薬学的に許容される塩もしくはそれらの溶媒和物又は化学療法剤を対象に投与する工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。この方法を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。この方法を用いれば、例えば、BCV及び化学療法剤による相乗的又は相加的な効果が得られる。化学療法剤は、より低用量のBCVとの組み合わせで有意な治療効果が発揮される観点からは、テモゾロミド（TMZ）、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物が好ましい。本明細書においてTMZは、テモゾロミドを略して記載したものであり、それらは同一の意味を有する。

[0015] (5) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を対象に投与する工程を含み、ここで、対象はBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与前、同時、又は投与後に、化学療法剤を投与される対象である、神経膠腫の治療方法が提供される。この方法を用いれば、上記(4)の方法と同様の効果が得られる。投与と同時は、同時期を含み、通常の治療手続きを考慮して実質的に同時であればよい。投与と同時は、BCV及び化学療法剤を合剤として投与する場合を含む。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、化学療法剤を対象に投与する工程を含み、

ここで、対象は化学療法剤の投与前、同時、又は投与後に、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を投与される対象である、神経膠腫の治療方法が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、化学療法剤が投与された対象に対して、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を投与する工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物が投与された対象に対して、化学療法剤を投与する工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を対象に投与する工程、及び化学療法剤を対象に投与する工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及び化学療法剤を対象に併用で投与する工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。

[0016] (6) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与、及び放射線治療の併用治療において、BCV、その薬学的に許容される塩もしくはそれらの溶媒和物を対象に投与する工程、又は対象に放射線治療を施す工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。この方法を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。この方法を用いれば、例えば、BCV及び放射線治療による相乗的又は相加的な効果が得られる。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を対象に投与する工程を含み、ここで、対象はBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和

物の投与前、同時、又は投与後に、放射線治療を施される対象である、神経膠腫の治療方法が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、放射線治療を対象に施す工程を含み、ここで、対象は放射線治療の処置前、同時、又は処置後に、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を投与される対象である、神経膠腫の治療方法が提供される。

[0017] (7) 方法

本発明の一実施形態によれば、(a)BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与、(b)化学療法剤の投与、及び(c)放射線治療の併用治療において、BCV、その薬学的に許容される塩もしくはそれらの溶媒和物を対象に投与する工程、化学療法剤を対象に投与する工程、又は対象に放射線治療を施す工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。この方法を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。この方法を用いれば、例えば、BCV、化学療法剤及び放射線治療による相乗的又は相加的な効果が得られる。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を対象に投与する工程を含み、ここで、対象はBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与前、同時、又は投与後に、化学療法剤が投与される対象であり、且つ放射線治療を施される対象である、神経膠腫の治療方法が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、化学療法剤を対象に投与する工程を含み、ここで、対象は化学療法剤の投与前、同時、又は処置後に、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を投与される対象であり、且つ放射線治療を施される対象である、神経膠腫の治療方法が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、放射線治療を対象に

施す工程を含み、ここで、対象は放射線治療の処置前、同時、又は処置後に、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を投与される対象であり、且つ化学療法剤が投与される対象である、神経膠腫の治療方法が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与、及び化学療法剤の投与、及び放射線治療を対象に併用で実施する工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。

[0018] (8) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を10～60mgの用量でヒトに投与する工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。この方法を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、神経膠腫の中でも悪性度が高く、一般には治療の困難性が高い膠芽腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。ヒトは、成人を含む。

[0019] (9) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を40mgの用量でヒトに投与する工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。この方法を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、神経膠腫の中でも悪性度が高く、一般には治療の困難性が高い

膠芽腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。ヒトは、成人を含む。

[0020] (10) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及び化学療法剤の併用治療において、BCV、その薬学的に許容される塩もしくはそれらの溶媒和物を20mgの用量でヒトに投与する工程を含む、神経膠腫の治療方法が提供される。この方法を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この方法を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。この方法を用いれば、例えば、BCV及び化学療法剤による相乗的又は相加的な効果が得られる。ヒトは、成人を含む。化学療法剤は、より低用量のBCVとの組み合わせで有意な治療効果が発揮される観点からは、TMZ、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物が好ましい。

[0021] (11) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を対象に投与する工程を含む、安全の高い神経膠腫の治療方法が提供される。ここで、安全が高いことは、例えば、全身性の毒性が実質的に見られないこと、又は腎毒性が実質的に見られないことを含む。

[0022] (12) 方法

本発明の一実施形態によれば、対象のMGMT遺伝子のプロモーター領域のメチル化の有無を検出する工程を含む、診断方法又は検出方法が提供される。この方法は、対象がアルキル化剤（例えばTMZ）に対する耐性を有する神経膠腫、又はアルキル化剤による治療効果が低い神経膠腫を有するかどうかを、B

CV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物による治療の前に評価するための診断方法又は検出方法を含む。この方法を利用すれば、アルキル化剤による治療効果が低い集団、又はアルキル化剤が効きにくい集団に対して、治療を施すことができる。検出する工程は、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物による治療が行われる前に実施してもよい。検出する工程は、メチル化特異的PCR、非メチル化特異的PCR又はパイロシーケンス法を用いて実施してもよい。この方法は、対象の神経膠腫細胞を採取する工程、又は上記のメチル化がされていない対象を治療対象として特定する工程を含んでもよい。この方法は、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物による治療対象を特定するために実施される方法であってもよい。上記の対象は、神経膠腫を罹患している患者又はその患者の神経膠腫細胞を含む。診断方法は、コンパニオン診断方法を含む。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与対象を特定するための方法であって、対象のMGMT遺伝子のプロモーター領域のメチル化の有無を検出する工程を含む、方法が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、対象のMGMT遺伝子の発現レベルを検出する工程を含む、診断方法又は検出方法が提供される。発現レベルを検出する工程は、陽性又は陰性を検出する工程を含む。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、上記の診断方法又は検出方法のためのキット又は組成物が提供される。このキット又は組成物は、例えば、MGMT遺伝子のプロモーター領域のメチル化又は非メチル化を検出する手段を含む。検出手段は、例えば、プライマー（例えば、上記プロモーター領域の少なくとも一部を増幅可能なプライマー（例えば、上記プロモーター領域の上流もしくは下流部位に結合できるプライマー））、又は抗体を含んでもよい。プライマーはメチル化又は非メチル化特異的プライマーであってもよい。抗体はMGMT遺伝子のメチル化又は非メチル化状態のプロモーター領域又はその部分領域に特異的な抗体であってもよい。

[0023] (13) 方法

本発明の一実施形態によれば、神経膠腫の治療方法であって、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を神経膠腫を有する対象に投与する工程を含み、前記対象はMGMTの発現レベルを指標に特定された対象である、方法が提供される。本発明の一実施形態によれば、神経膠腫の治療方法であって、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物をMGMT高発現神経膠腫対象に投与する工程を含む、方法が提供される。本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与対象の神経膠腫細胞、又はその投与を検討される対象の神経膠腫細胞からのMGMTの高発現レベルを検出する方法が提供される。本発明の一実施形態によれば、治療方法又は治療に用いる有効成分を選択する方法であって、MGMTの発現レベルを指標にする工程を含む、方法が提供される。本発明の一実施形態によれば、薬剤投与対象を決定する方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるMGMTの発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。本発明の一実施形態によれば、対象のMGMTの発現レベルを検査する工程を含む、診断方法又は検査方法が提供される。これらの方法において、検査対象又は指標としてのMGMTの発現レベルは、高発現もしくは陽性であってもよい。

[0024] (14) 方法

本発明の一実施形態によれば、神経膠腫の治療方法であって、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を神経膠腫を有する対象に投与する工程を含み、前記対象はGPC6又はNYAP2の発現レベルを指標に特定された対象である、方法が提供される。後述の実施例に記載の通り、神経膠腫におけるBCV感受性がGPC6又はNYAP2の発現レベルと関連していた。例えば、GPC6の発現レベルが低い場合に、BCVによる神経膠腫の抑制効果が高く、BCV感受性が高いことが示された。例えば、NYAP2の発現レベルが高い場合に、BCVによる神経膠腫の抑制効果が高く、BCV感受性が高いことが示された。そのため、この方法を利用すれば、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にして感受性を予測し、より適切なBCV治療を実施することができる。本明細書において、より適切なBCV治療は、例えば、不特定の対象に投与する場合に比べて、治療効果

が現れる確率が向上、又は治療効果が向上したBCV治療を含む。例えば、対象のGPC6の発現レベルが低く、感受性が高いことが予測される場合は、BCVを投与するか、もしくは低用量で投与するように治療を実施してもよい。また、例えば、対象のGPC6の発現レベルが高く、感受性が低いことが予測される場合は、BCVを投与しない、もしくは高用量で投与するように治療を実施してもよい。例えば、対象のNYAP2の発現レベルが高く、感受性が高いことが予測される場合は、BCVを投与するか、もしくは低用量で投与するように治療を実施してもよい。また、例えば、対象のNYAP2の発現レベルが低く、感受性が低いことが予測される場合は、BCVを投与しない、もしくは高用量で投与するように治療を実施してもよい。

[0025] (15) 方法

本発明の一実施形態によれば、神経膠腫の治療方法であって、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物をGPC6低発現又はNYAP2高発現神経膠腫対象に投与する工程を含む、方法が提供される。この方法を利用して、GPC6低発現又はNYAP2高発現、且つBCV高感受性の神経膠腫を有する対象へ投与することによって、より適切なBCV治療を実施することができる。

[0026] (16) 方法

本発明の一実施形態によれば、神経膠腫細胞の増殖抑制方法であって、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物をGPC6の発現レベルが低い神経膠腫細胞（GPC6低発現神経膠腫細胞）、又はNYAP2の発現レベルが高い神経膠腫細胞（NYAP2高発現神経膠腫細胞）に接触させる工程を含む、方法が提供される。この方法を利用して、BCVと、GPC6低発現又はNYAP2高発現、且つBCV高感受性の神経膠腫細胞とを接触させることによって、特に高い神経膠腫細胞の増殖抑制効果が得られる。

[0027] (17) 方法

本発明の一実施形態によれば、神経膠腫対象におけるBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物への感受性を予測する方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程

を含む、方法が提供される。この方法は、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にしてBCVへの感受性が高い対象又は低い対象を予測又は特定するために利用できる。そのため、この方法を利用すれば、より適切なBCV治療を実施することができる。例えば、対象のGPC6の発現レベルが低く、感受性が高いことが予測される場合は、BCVを投与するか、もしくは低用量で投与するように治療を実施してもよい。例えば、対象のGPC6の発現レベルが高く、感受性が低いことが予測される場合は、BCVを投与しない、もしくは高用量で投与するように治療を実施してもよい。例えば、対象のNYAP2の発現レベルが高く、感受性が高いことが予測される場合は、BCVを投与するか、もしくは低用量で投与するように治療を実施してもよい。例えば、対象のNYAP2の発現レベルが低く、感受性が低いことが予測される場合は、BCVを投与しない、もしくは高用量で投与するように治療を実施してもよい。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、神経膠腫対象におけるBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物への感受性を予測する方法であって、神経膠腫対象由来の神経膠腫細胞におけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。

[0028] (18) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を投与する神経膠腫対象を決定する方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。この方法を利用すれば、より適切なBCV治療を実施することができる。例えば、対象のGPC6の発現レベルが低く、感受性が高いことが予測された場合は、BCVの投与対象として決定するか、もしくは低用量での投与対象として決定してもよい。例えば、対象のGPC6の発現レベルが高く、感受性が低いことが予測された場合は、BCVの高用量での投与対象として決定してもよい。例えば、対象のNYAP2の発現レベルが高く、感受性が高いことが予測された場合は、BCVの投与対象として決定するか、もしくは低用量での投与対象として決定してもよい。例えば、対象のNYAP2の発現レベルが低く、感受

性が低いことが予測された場合は、BCVの高用量での投与対象として決定してもよい。投与する対象は、投与すべき対象であってもよい。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、神経膠腫対象におけるBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物による治療に適した神経膠腫対象を選択する方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。

[0029] (19) 方法

本発明の一実施形態によれば、対象がBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物に感受性が高い神経膠腫を有する対象であるかどうかを診断する方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。この方法は、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にしてBCVへの感受性が高い神経膠腫を有する対象であるかどうかを診断するために利用できる。そのため、この方法を利用すれば、より適切なBCV治療を実施することができる。例えば、対象のGPC6の発現レベルが低く、感受性が高い神経膠腫を有する対象であると診断された場合は、BCVを投与するか、もしくは低用量で投与するように治療を実施してもよい。例えば、対象のGPC6の発現レベルが高く、感受性が高い神経膠腫を有する対象ではないと診断された場合は、BCVを投与しない、もしくは高用量で投与するように治療を実施してもよい。例えば、対象のNYAP2の発現レベルが高く、感受性が高い神経膠腫を有する対象であると診断された場合は、BCVを投与するか、もしくは低用量で投与するように治療を実施してもよい。例えば、対象のNYAP2の発現レベルが低く、感受性が高い神経膠腫を有する対象ではないと診断された場合は、BCVを投与しない、もしくは高用量で投与するように治療を実施してもよい。この診断は、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の治療のためのコンパニオン診断であってもよい。

[0030] (20) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物への感受性神経膠腫対象の神経膠腫細胞からのGPC6又はNYAP2の発

現レベルを検出する方法であって、(a)対象からサンプルを得る工程（ここで、サンプルは神経膠腫細胞、神経膠腫細胞溶解物、又は神経膠腫細胞に含まれる核酸もしくは蛋白質を含む溶液であってもよい）、又は(b)サンプルと、GPC6又はNYAP2検出用試薬（例えば、後述の核酸又はペプチドを含む）とを接触させることを経て、サンプルのGPC6又はNYAP2の発現レベルを検出する工程、を含む、方法が提供される。この方法によれば、BCV感受性神経膠腫対象の神経膠腫細胞からのGPC6又はNYAP2の発現レベルを検出することができる。例えば、GPC6低発現又はNYAP2高発現の神経膠腫細胞において、GPC6の低発現レベル又はNYAP2の高発現レベルを検出することで、BCVによって有効な治療効果が見られることを予期しながら治療することができる。例えば、GPC6低発現又はNYAP2高発現の神経膠腫細胞において、GPC6の低発現レベル又はNYAP2の高発現レベルを検出することで、BCVの用量設定の指標にすることができる。

[0031] (21) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物に感受性である確率が高い神経膠腫対象を特定するための指標を検出する方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。この方法は、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にしてBCVに感受性である確率が高い神経膠腫対象を特定するために利用できる。そのため、この方法を利用すれば、より適切なBCV治療を実施することができる。

[0032] (22) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物に応答又は反応する確率が高い神経膠腫対象を特定するための指標を検出する方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。この方法は、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にしてBCVに応答又は反応する確率が高い神経膠腫対象を特定するために利用できる。そのため、この方法を利用すれば

、より適切なBCV治療を実施することができる。

[0033] (23) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与対象の神経膠腫細胞、又はその投与を検討される対象の神経膠腫細胞からのGPC6の低発現レベル又はNYAP2の高発現レベルを検出する方法が提供される。この方法は、例えば、(a)対象からサンプルを得る工程（ここで、サンプルは神経膠腫細胞、神経膠腫細胞溶解物、又は神経膠腫細胞に含まれる核酸もしくは蛋白質を含む溶液であってもよい）、又は(b)サンプルと、GPC6又はNYAP2検出用試薬（例えば、後述の核酸又はペプチドを含む）とを接触させることを経て、サンプルのGPC6の低発現レベル又はNYAP2の高発現レベルを検出する工程、を含む。この方法によれば、例えば、GPC6低発現又はNYAP2高発現の神経膠腫細胞において、GPC6の低発現レベル又はNYAP2の高発現レベルを検出することで、BCVによって有効な治療効果が見られることを予期しながら治療することができる。

[0034] (24) 方法

本発明の一実施形態によれば、神経膠腫対象に対するBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物による奏功性の予測方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。この方法は、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にしてBCVによる奏功性の高い対象を特定するために利用できる。そのため、この方法を利用すれば、より適切なBCV治療を実施することができる。

[0035] (25) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物による治療効果が期待できる神経膠腫対象を選択する方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。この方法は、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にしてBCVによる治療効果が期待できる対象を選択するために利用できる。そのため、この方法を利用すれば、より適切なBCV治療を実施すること

ができる。

[0036] (26) 方法

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物による治療方法を実施するか決定するための指標を得る方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。この方法を利用すれば、より適切なBCV治療を実施することができる。

[0037] (27) 方法

本発明の一実施形態によれば、神経膠腫を有する又は神経膠腫の発症が疑われている対象からのサンプルにおけるGPC6の発現レベル又はNYAP2の高発現レベルを検査する方法が提供される。この方法は、例えば、対象からのサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを測定する工程、又はGPC6低発現サンプル又はNYAP2高発現サンプルを提供した対象をBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与対象として特定する工程、を含んでもよい。この方法を利用して、GPC6低発現又はNYAP2高発現の神経膠腫を有する対象を特定することによって、より適切なBCV治療を実施することができる。

[0038] (28) 方法

本発明の一実施形態によれば、治療方法又は治療に用いる有効成分を選択する方法であって、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にする工程を含む、方法が提供される。この方法は、例えば、神経膠腫対象の神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含んでもよい。この方法は、例えば、対象のGPC6が低発現でBCV高感受性であることが予測される場合に、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を治療に使用することを選択してもよい。この方法は、例えば、対象のNYAP2が高発現でBCV高感受性であることが予測される場合に、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を治療に使用することを選択してもよい。この方法は、例えば、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にしてBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与量を調整又は選択してもよい。

治療方法はブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を対象に投与する工程を含んでもよい。この方法は、治療方法又は治療に用いる有効成分を選択するためのコンパニオン診断方法であってもよい。

[0039] (29) 方法

本発明の一実施形態によれば、腫瘍細胞増殖におけるBCV感受性を予測する方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。この方法を利用すれば、より効果的に腫瘍細胞増殖を抑制することができる。

[0040] (30) 方法

本発明の一実施形態によれば、薬剤感受性を予測する方法又は薬剤投与対象を決定する方法であって、神経膠腫対象由来のサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検査する工程を含む、方法が提供される。この方法を利用すれば、より効果的に神経膠腫の治療ができる。

[0041] (31) 方法

本発明の一実施形態によれば、上記(14)～(30)に記載の方法は、GPC6を指標又は検査対象にすることに代えて又は加えて、RFTN2、JAKMIP2、SORBS2、GALNT13、RFTREG1、STXBP6、又はDCCの1つ以上（以下、RFTN2等と称す）を指標又は検査対象にしてもよい。このとき、RFTN2等の実施形態はGPC6と同じ実施形態（例えば上記(1)～(30)）を採用してもよい（このとき、GPC6はRFTN2等で読み替えてもよい）。本発明の一実施形態によれば、上記(1)～(30)に記載の方法は、NYAP2を指標又は検査対象にすることに代えて又は加えて、CCDC3、OLR1、又はEEF1A2の1つ以上（以下、CCDC3等と称す）を指標又は検査対象にしてもよい。このとき、CCDC3等の実施形態はNYAP2と同じ実施形態（例えば上記(1)～(30)）を採用してもよい（このとき、NYAP2はCCDC3等で読み替えてもよい）。

[0042] (32) 組成物

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれら

の溶媒和物を含む、神経膠腫の治療用の医薬組成物が提供される。この組成物を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この組成物を用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この組成物を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この組成物を用いれば、例えば、神経膠腫の中でも悪性度が高く、一般には治療の困難性が高い膠芽腫を治療することができる。この組成物を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、神経膠腫の治療に使用するための、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を含む医薬組成物が提供される。

[0043] (33) 組成物

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及び化学療法剤による併用治療において用いられる、BCV、その薬学的に許容される塩もしくはそれらの溶媒和物又は化学療法剤を含む、神経膠腫の治療用の医薬組成物が提供される。この組成物を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この組成物を用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この組成物を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この組成物を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。この組成物を用いれば、例えば、BCV及び化学療法剤の組み合わせによる相乗的又は相加的な効果が得られる。化学療法剤は、より低用量のBCVとの組み合わせで有意な治療効果が発揮される観点からは、TMZ、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物が好ましい。

[0044] (34) 組成物

本発明の一実施形態によれば、対象に投与するための、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を含む医薬組成物であって、対象はBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与前、同時、又は投与後に、化学療法剤を投与される対象である、神経膠腫の治療用の医薬組成物が提供される。この組成物を用いれば、上記(33)の組成物と同様の効果が得られる。投与と同時は、同時期を含み、通常の治療手続きを考慮して実質的に同時であればよい。投与と同時は、BCV及び化学療法剤を合剤として投与する場合を含む。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、対象に投与するための、化学療法剤を含む医薬組成物であって、対象は化学療法剤の投与前、同時、又は投与後に、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を投与される対象である、神経膠腫の治療用の医薬組成物が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を含む、化学療法剤が投与された対象に投与するための、神経膠腫の治療用の医薬組成物が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、化学療法剤を含む、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物が投与された対象に投与するための、神経膠腫の治療用の医薬組成物が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及び化学療法剤を含む、神経膠腫の治療用の医薬組成物が提供される。

[0045] (35) 組成物

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及び化学療法剤を含む、医薬組成物又はキットが提供される。この組成物又はキットを用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この組成物又はキットを用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この組成物又はキットを用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この組成物又はキットを用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又

は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。化学療法剤は、より低用量のBCVとの組み合わせで有意な治療効果が発揮される観点からは、TMZ、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物が好ましい。

[0046] (36) 組成物

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及び放射線治療による併用治療において用いられる、BCV、その薬学的に許容される塩もしくはそれらの溶媒和物を含む、神経膠腫の治療用の医薬組成物が提供される。この組成物を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この組成物を用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この組成物を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この組成物を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。この組成物を用いれば、例えば、BCV及び放射線治療による相乗的又は相加的な効果が得られる。

[0047] (37) 組成物

本発明の一実施形態によれば、(a)BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、(b)化学療法剤、及び(c)放射線治療による併用治療に用いられる、BCV、その薬学的に許容される塩もしくはそれらの溶媒和物又は化学療法剤を含む、神経膠腫の治療用の医薬組成物が提供される。この組成物を用いれば、新規の治療アプローチによって、神経膠腫を治療することができる。この組成物を用いれば、例えば、治療効果及び安全性のバランスに優れた治療を実施できる。この組成物を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量（例えば、有効性及び安全性に優れた用量）又は低用量の薬剤によって、神経膠腫を治療することができる。この組成物を用いれば、例えば、臨床応用に適した用量又は低用量の薬剤によって、神経膠腫の対象の延命をすることができる。この組成物を用いれば、例えば、BCV、化学療法剤及び放射線治

療による相乗的又は相加的な効果が得られる。

[0048] (38) 組成物

本発明の一実施形態によれば、神経膠腫の治療用の医薬組成物であって、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を含み、前記治療の対象はGPC6又はNYAP2の発現レベルを指標に特定された対象である、医薬組成物が提供される。この医薬組成物を用いれば、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にして感受性を予測し、より適切なBCV治療を実施することができる。

[0049] (39) 組成物

本発明の一実施形態によれば、神経膠腫対象におけるBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物への感受性の予測のために使用するための組成物であって、GPC6又はNYAP2発現レベルの検査用試薬を含む、組成物が提供される。この組成物は、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にして、BCVへの感受性が高い対象又は低い対象を予測又は特定するために利用できる。そのため、この組成物を用いれば、より適切なBCV治療を実施することができる。

[0050] (40) 組成物

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を投与する神経膠腫対象の決定のために使用するための組成物であって、GPC6又はNYAP2発現レベルの検査用試薬を含む、組成物が提供される。この組成物を用いれば、より適切なBCV治療を実施することができる。

[0051] (41) 組成物

本発明の一実施形態によれば、対象がブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物に感受性が高い神経膠腫を有する対象であるかどうかの診断のために使用するための組成物であって、GPC6又はNYAP2発現レベルの検査用試薬を含む、組成物が提供される。この組成物は、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にしてBCVへの感受性が高い神経膠腫を有する対象であるかどうかを診断するために利用できる。そのため、この組成物を用いれば、より適切なBCV治療を実施することができる。

[0052] (42) 組成物

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物に感受性である確率が高い神経膠腫対象を特定するための指標を検出するために使用するための組成物であって、GPC6又はNYAP2発現レベルの検査用試薬を含む、組成物が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物に応答又は反応する確率が高い神経膠腫対象を特定するための指標を検出するために使用するための組成物であって、GPC6又はNYAP2発現レベルの検査用試薬を含む、組成物が提供される。別の観点からは、本発明の一実施形態によれば、神経膠腫を有する又は神経膠腫の発症が疑われている対象からのサンプルにおけるGPC6又はNYAP2の発現レベルを検出するために使用するための組成物であって、GPC6又はNYAP2発現レベルの検査用試薬を含む、組成物が提供される。これらいずれかの方法を用いれば、より適切なBCV治療を実施することができる。

[0053] (43) 組成物

本発明の一実施形態によれば、上記(1)～(31)に記載の方法に使用するための、GPC6、NYAP2、RFTN2等、又はCCDC3等の蛋白質又は遺伝子の発現レベルの検査用試薬を含む、組成物が提供される。

[0054] (44) 組成物

本発明の一実施形態によれば、上記(1)～(31)に記載の方法に使用するための、BCV、その薬学的に許容される塩もしくはそれらの溶媒和物、又は化学療法剤を含む組成物が提供される。

[0055] (45) キット

本発明の一実施形態によれば、上記(1)～(31)に記載の方法に使用するための、GPC6、NYAP2、RFTN2等、又はCCDC3等の蛋白質又は遺伝子の発現レベルの検査用試薬を含む、キットが提供される。キットは、例えば、取扱説明書、緩衝液、容器、又は包装を含んでもよい。

[0056] (46) キット

本発明の一実施形態によれば、上記(1)～(31)に記載の方法に使用するための、BCV、その薬学的に許容される塩もしくはそれらの溶媒和物、又は化学療法剤を含むキットが提供される。キットは、神経膠腫の治療用、神経膠腫細胞の増殖抑制用、又は神経膠腫患者の延命用、のキットを含む。キットは、例えば、取扱説明書、緩衝液、容器、又は包装を含んでいてもよい。

[0057] (47) 使用

本発明の一実施形態によれば、上記(1)～(31)に記載の方法に使用するための、GPC6、NYAP2、RFTN2等、又はCCDC3等の蛋白質又は遺伝子のバイオマーカーとしての使用が提供される。

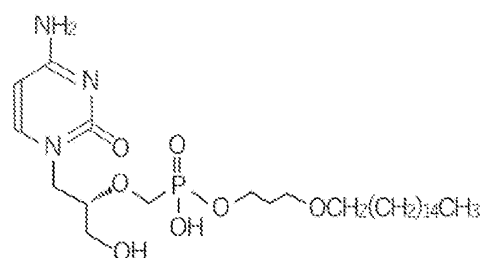
[0058] (48) 使用

本発明の一実施形態によれば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、又は化学療法剤の、上記(32)～(44)に記載の組成物の製造のための使用が提供される。

[0059] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、ブリンシドフォビル（BCV）は、下記式で示される構造を有する化合物を含む。BCVは[(2S)-1-(4-amino-2-oxopyrimidin-1-yl)-3-hydroxypropan-2-yl]oxymethyl-(3-hexadecyloxypropoxy)phosphinic acidのIUPAC名で示すこともできる。BCVは444805-28-1のCAS登録番号で示される化合物を含む。本明細書においてBCVは、ブリンシドフォビルを略して記載したものであり、それらは同一の意味を有する。後述の実施例では、神経膠腫を有する動物にBCVを投与した結果、治療効果及び全身毒性抑制のバランスに優れた治療を実施できることが示された。BCVについて過去にいくつかの研究報告がされているが、神経膠腫を有する動物における治療効果を実証した報告は存在しない。また過去の研究報告において、神経膠腫を標的とした場合に、治療に適した用量又は低用量のBCVが有効であることは示されていない。BCVは抗ウイルス作用を有することが知られているが、その作用機序はウイルス由来のDNAポリメラーゼ阻害によるウイルス複製阻害であり、神経膠腫のような固形がんに対する作用機序とは異なると考えられる。例えば、特表2013-501056の表4にはインビトロにおける腎臓癌細胞

株等に対するBCVの IC_{50} 値が記載されているが、抗ウイルス活性において報告されている値に比べて非常に大きい。このことは、標的が腎臓癌細胞株の場合、ウイルスの場合よりも大量のBCVが必要であることを示唆している。

[化1]



[0060] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、神経膠腫は、悪性脳腫瘍の一種である。神経膠腫は、例えば、膠芽腫を含む。膠芽腫は、神経膠腫の中でも最も悪性度の高い腫瘍に分類され得る。

[0061] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、神経膠腫は、MGMT遺伝子プロモーター非メチル化神経膠腫（例えば膠芽腫）であってもよい。この場合、TMZに対する耐性を有する神経膠腫に対する、BCVによる優れた治療効果が得られる。MGMT遺伝子プロモーター非メチル化神経膠腫は、例えば、MGMT遺伝子のプロモーター領域がメチル化されていない膠芽腫を含む。非メチル化の有無は、例えば、リアルタイムメチル化特異的PCR（例えばYoshioka et al, Oncotarget. 2018 Jun 12;9(45):27728-27735参照）、パイロシーケンス法（例えばBerghoff et al., CNS Oncol. 2015;4(1):47-52. 参照）、又は市販の検査キット（例えばCpG WIZ(R) MGMT - Methylation specific PCR assay (Merck)）を用いて検査してもよい。MGMTはO6-methylguanine-DNA methyltransferaseで示すこともできる。UniProtに記載されているMGMTのPrimary accession numberは、例えば、P16455である。

[0062] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、神経膠腫は、CMV（サイトメガロウイルス）陽性の神経膠腫であってもよい。この場合、BCVによる特に優れた治療効果が得られる。CMV陽性の神経膠腫は、例えば、CMV感染に起因する神経膠腫又はCMV感染に起因して悪性化した神経膠腫を含む。

- [0063] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、神経膠腫は、GPC6低発現又はNYAP2高発現の神経膠腫であってもよい。この場合、不特定の患者にBCV治療を施す場合に比べて、治療効果が現れる確率の向上、又は治療効果の向上が期待できる。
- [0064] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(31)）の方法は、例えば、神経膠腫を有する対象を特定又は選択する工程を含んでいてもよい。特定又は選択する工程は、被検対象の体液（例えば、血液）中の神経膠腫バイオマーカーを指標として、又は画像診断（CT等）もしくは脳組織所見で実施してもよい。特定又は選択する工程は、比較対象（例えば健常人）の神経膠腫バイオマーカー量に比べて、被検対象のバイオマーカー量が増加していることを指標にして実施してもよい。特定又は選択する工程は、例えば、Silantsev et al., Cells, 2019 Aug 9;8(8):863に記載の診断方法を用いて実施してもよい。本発明の実施形態（例えば上記(1)～(31)）の方法は、例えば、上記工程により特定又は選択された対象の神経膠腫を治療する工程を含んでいてもよい。
- [0065] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、対象（患者を含む）は、例えば、神経膠腫を発症していると診断された対象、又は神経膠腫の治療を必要としている対象であってもよい。対象は、例えば、神経膠腫のバイオマーカーが比較対象（例えば健常人）に比べて増加している対象、又は画像診断もしくは脳組織所見で神経膠腫が認められた対象であってもよい。対象は、例えば、神経膠腫を経験した対象であってもよい。対象は、ヒト又はヒトを除く哺乳動物（例えば、マウス、モルモット、ハムスター、ラット、ネズミ、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、マーモセット、サル、又はチンパンジー等の1種以上）を含む。対象は、ヒト成人患者（例えば体重50又は60kg以上のヒト患者）を含む。対象は、例えば、MGMT遺伝子プロモーター非メチル化神経膠腫を有する対象又はCMV陽性の対象であってもよい。対象は、例えば、MGMT高発現又は陽性の対象であってもよい。対象は、例えば、GPC6低発現又はNYAP2高発現の対象であってもよい。対象は、例えば、EGFR、PTEN、p53、もしくはp16の陽性もしくは陰性、又は野生型も

しくは変異型の対象であってもよい。

[0066] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(31)）の方法は、例えば、神経膠腫を有する対象を特定する工程、神経膠腫マーカー陽性の対象を特定する工程、治療上有効量のBCV又は化学療法剤を対象に投与する工程、対象の神経膠腫細胞の増殖を抑制させる工程、又は対象の神経膠腫マーカーを減少させる工程、を含んでもよい。また、本発明の実施形態（例えば上記(1)～(31)）の方法は、例えば、任意に以下を含んでもよく含まなくてもよい：アデノウイルス（AdV）、BKウイルス（BKV）、バリオラウイルス（VaV）、又はエプスタイン・バー・ウイルス（EBV）感染を有する対象を特定する工程、AdV、BKV、VaV、又はEBV血清陽性対象を特定する工程、AdV、BKV、VaV、又はEBV感染予防又は治療を必要としている対象を特定する工程、同種移植又は同種移植（例えば、造血細胞移植）後の対象を特定する工程、免疫抑制剤を必要としている対象を特定する工程、免疫抑制状態の対象を特定する工程、免疫抑制状態の対象におけるウイルス誘発腫瘍の治療を目的とした方法、又はウイルス（例えば、AdV、BKV、VaV、又はEBV）感染予防又は治療を目的とした方法。

[0067] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(31)）の方法は、例えば、(i) MGMT遺伝子プロモーター非メチル化神経膠腫を有する対象を特定する工程、(ii)対象の神経膠腫のMGMT遺伝子プロモーター非メチル化を検出する工程、(iii)対象の神経膠腫のMGMT遺伝子プロモーター非メチル化の有無を検出する工程、(iv)対象の検体（例えば神経膠腫細胞）を採取する工程、(v)採取した検体のMGMT遺伝子プロモーター非メチル化を検出する工程、(vi) MGMT遺伝子プロモーター非メチル化が検出された検体を提供した対象を特定する工程、(vii)神経膠腫細胞からDNA（例えばゲノムDNA）を抽出する工程、又は(viii)抽出したDNAのMGMT遺伝子プロモーター非メチル化の有無を検出する工程、を含んでもよい。これらの1つ以上の工程を採用することは、治療効果の高い集団に対して、治療を施すために有用である。2つ以上を採用した場合、順番は任意であり、所望の治療方法に応じて順番を決定できる。これらの工程は、BCV、その薬学的に許容される塩、もしくはそれらの溶媒和物、又は化学療法剤を対

象に投与する工程の前に実施してもよく、後に実施してもよい。検出は検査であつてもよい。

[0068] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(31)）の方法は、例えば、(i) CMV陽性の対象を特定する工程、(ii) CMV陽性神経膠腫を有する対象を特定する工程、(iii)対象のCMVを検出する工程、(iv)対象のCMV陽性の有無を検出する工程、(v)対象の検体（例えば、脳組織、又は体液（例えば、血液検体（例えば、血漿、血清、又は全血）））を採取する工程、(vi)採取した検体のCMVを検出する工程、又は(vii) CMVが検出された検体を提供した対象を特定する工程、を含んでもよい。これらの1つ以上の工程を採用することは、治療効果の高い集団に対して、治療を施すために有用である。2つ以上を採用した場合、順番は任意であり、所望の治療方法に応じて順番を決定できる。これらの工程は、BCV、その薬学的に許容される塩、もしくはそれらの溶媒和物、又は化学療法剤を対象に投与する工程の前に実施してもよく、後に実施してもよい。検出はCMVの核酸量（例えば、遺伝子量又はmRNA量）、又は蛋白質量を指標にしてもよい。検出は検査であつてもよい。

[0069] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、陽性は、遺伝子発現が陽性であることを含む。陽性は、遺伝子発現が健常人又は事前に陰性であることが確認された人に比べて増加していることを含んでもよい。本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、対象又は対象の神経膠腫のCMV陽性/陰性の検出は、例えば、対象の検体を採取し、その検体中のCMVの遺伝子発現を測定することで実施できる。遺伝子発現は、例えば、RT-PCR、DNAチップ、又は免疫染色によって測定できる。このとき、対象から採取した検体と、健常人又は事前に陰性であることが確認された人から採取した検体とを比較し、対象から採取した検体においてCMVの遺伝子発現が有意に亢進しているときに、CMV陽性と判断してもよい。遺伝子発現の亢進は、例えば、比較対象に対して1.5、2、3、4、5、10、20、もしくは50倍、又はそれらいずれか2つの値の範囲内で増加していることを含む。CMV陽性/陰性の検出は、例えば、in vitro、ex vivo又はin vivoで実施してもよい。

- [0070] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(31)）の方法は、例えば、BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与、及び放射線治療の併用治療、又は(a)BCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物の投与、(b)化学療法剤の投与、及び(c)放射線治療の併用治療において実施されてもよい。
- [0071] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、併用は、2つ以上の処置（例えば投与）が存在している場合に、1つの処置を基準として他の処置を前、同時、又は後に実施することを含む。
- [0072] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、治療は、患者の疾患（例えば神経膠腫（例えば膠芽腫））又は疾患に伴う1つ以上の症状に関して患者に有益な結果をもたらす作用（例えば、改善、軽減、緩和、治癒、寛解又は抑制（例えば、発症抑制（例えば予防）、進展抑制、又は再発抑制））を発揮しうることを含む。治療は、治療有効量のBCV、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を対象に投与することにより実施してもよい。本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、医薬組成物は、例えば有効成分と薬学的に許容される1つ以上の担体とを混合し、製剤学の技術分野において知られる任意の方法により製造してもよい。また医薬組成物は、治療のために用いられる物であれば使用形態は限定されず、有効成分単独であってもよいし、有効成分と任意の成分との混合物であってもよい。また上記担体の形状は特に限定されず、例えば、固体又は液体（例えば、緩衝液）であってもよい。上記担体の含有量は、例えば、製剤学上有効量であってもよい。有効量は、例えば、有効成分の製剤学的な安定性又は送達のために十分量であってもよい。例えば、緩衝液は、バイアル中における有効成分の安定化に有効である。また医薬組成物は、安定剤、緩衝剤、又はpH調整剤を含んでもよい。投与量、投与間隔、投与方法、投与経路は、特に限定されず、患者の年齢や体重、症状、対象臓器等により、適宜選択できる。また医薬組成物は、治療有効量、又は所望の作用を発揮する有効量の有効成分を含むことが好ましい。本発明の一実施形態において治療上有効量は、患者における症状の

改善が臨床的に観察されるために必要な量を含む。本発明の一実施形態において薬学的に許容されるとは、妥当な医学的判断の範囲内で、合理的なベネフィット/リスク比に見合って使用するのに適した状態を含む。医薬組成物中のBCV以外の成分としては、本発明の効果を損なわない限り、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。神経膠腫の治療効果は、患者の神経膠腫細胞が、治療薬投与後に有意に減少した場合に、治療効果があったと判断してもよい。治療効果は患者の脳組織所見の改善を指標にしてもよい。

[0073] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、対象（例えばヒト対象）へのBCV、その薬学的に許容される塩、もしくはそれらの溶媒和物（又はそれらを含む医薬組成物）の投与経路は、治療に際して効果的なものを使用するのが好ましく、例えば、静脈内、経口、皮下、筋肉内、又は腹腔内等であってもよい。投与形態は、治療に際して効果的なものを使用するのが好ましく、例えば、固形製剤（例えば錠剤）、液剤（例えば経口溶液）又は注射剤（例えば静脈注射）であってもよい。

[0074] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、対象（例えばヒト対象）へのBCV、その薬学的に許容される塩、もしくはそれらの溶媒和物（又はそれらを含む医薬組成物）の投与量、投与間隔、投与方法は、患者の年齢や体重、症状、対象臓器等により、適宜選択できる。この投与量は、例えば、1回あたり1～300mgであってもよい。本明細書において、特に指定しない場合は、投与量のmgは、投与対象の1個体（body）あたりに投与される量を示す。より具体的には、投与量は、例えば、5～100、10～90、10～80、10～60、10～50、15～70、15～50、20～70、20～50、30～70、30～60、30～50、35～45、又は38～42mgを含む。また、BCVと化学療法剤（例えばTMZ）との併用治療時のBCVの投与量は、例えば、5～100、10～90、10～80、10～60、10～50、15～70、15～50、15～30、15～25、18～22、20～70、20～50、30～70、30～60、30～50、又は35～45mgを含む。上記の投与量は、例えば、1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、

又は300mgであってもよく、それらいずれかの値以上、又はそれらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。ここに示した投与量は、いずれも1回当たり又は1日あたりの投与量であってもよい。投与間隔は、例えば、1～28日又は1～4週毎に1又は2回投与であってもよい。投与期間は、例えば、2～10又は4～6週間であってもよい。例えば、1回20～40mgのBCVを週1又は2回、6週間ヒト患者へ静脈注射により投与してもよい。別の観点からは、投与量は、例えば、1回あたり0.02～6mg/kgであってもよい。より具体的には、投与量は、0.1～2、0.2～1.8、0.2～1.6、0.2～1.2、0.2～1、0.3～1.4、0.3～1、0.3～0.6、0.3～0.5、0.36～0.44、0.4～1.4、0.4～1、0.6～1.4、0.6～1.2、0.6～1、又は0.7～0.9mg/kgを含む。また、BCVと化学療法剤（例えばTMZ）との併用治療時のBCVの投与量は、例えば、0.1～2、0.2～1.8、0.2～1.6、0.2～1.2、0.2～1、0.3～1.4、0.3～1、0.3～0.8、0.3～0.6、0.6～1.4、0.6～1.2、0.6～1、又は0.7～0.9mg/kgを含む。上記の投与量は、例えば、0.02、0.5、0.1、0.2、0.3、0.36、0.4、0.44、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.8、2、3、4、5、又は6mgであってもよく、それらいずれかの値以上、又はそれらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。例えば、1回0.4～0.8mg/kgのBCVを週1又は2回、6週間ヒト患者へ静脈注射又は経口投与により投与してもよい。

[0075] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、併用治療時の対象（例えばヒト対象）への化学療法剤（例えば、TMZ、その薬学的に許容される塩、もしくはそれらの溶媒和物）又はそれを含む医薬組成物の投与量、投与間隔、投与方法は、患者の年齢や体重、症状、対象臓器等により、適宜選択できる。この投与量は、例えば、1回あたり1～500mg/m²（体表面積）であってもよい。より具体的には、投与量は、例えば、1～400、5～200、5～75、5～30、5～400、30～300、50～250、50～200、70～200、70～170、又は130～170mg/m²を含む。上記の投与量は、例えば、1、5、10、20、30、50、70、75、100、130、150、170、200、300、400、又は500mg/m²であってもよく、それらいずれかの値以上、又はそれらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。ここに示

した投与量は、いずれも1回当たり又は1日あたりの投与量であってもよい。投与間隔は、例えば、1～28日又は1～4週毎に1又は2回投与であってもよい。投与期間は、例えば、1～5日間又は1～6週間であってもよい。例えば、75～200mg/m²の化学療法剤を1日1回、5日間連日又は6週間連日でヒト患者へ静脈注射又は経口投与により投与してもよい。化学療法剤及びBCVの併用治療時は、ここに示した化学療法剤の投与量、投与間隔、及び投与方法のそれぞれを、上記のBCVの投与間隔、及び投与方法のそれぞれと組み合わせて採用することができる（例えば、BCVは1～300mg内の上記に示した範囲の用量を採用し、且つ化学療法剤は1～500mg/m²（体表面積）内の上記に示した範囲の用量を採用してもよい。例えば、1回15～30mgのBCVを週1又は2回、（例えば6週間）ヒト患者へ静脈注射により投与し、75～200mg/m²の化学療法剤を1日1回、（例えば5日間連日又は6週間連日）ヒト患者へ静脈注射又は経口投与により投与してもよい。）。別の観点からは、投与量は、例えば、1回あたり1～500mgであってもよい。より具体的には、投与量は、例えば、1～400、5～200、5～75、5～30、5～400、50～300、50～250、50～150、100～150、100～300、又は250～300mgを含む。上記の投与量は、例えば、1、5、10、20、30、50、75、100、135、150、200、300、400、又は500mgであってもよく、それらいずれかの値以上、又はそれらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。後述の実施例に記載のマウスへのTMZ 2 mg/kgの投与量は、ヒトへの9.6 mg/bodyに換算できる。この投与量は、TMZ単剤の典型的な投与量より低いことから、BCV及びTMZの併用は安全性に優れた治療方法であることが示唆される。

[0076] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、化学療法剤は、特に限定されず、例えば、抗がん剤を含む。抗がん剤は、例えば、微小管阻害剤、DNA合成阻害剤、増殖因子阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、細胞毒性物質、免疫チェックポイント阻害剤、又はその他の抗がん剤を含む。微小管阻害剤は、例えば、ビンカアルカロイド系薬又はタキサン系薬を含む。ビンカアルカロイド系薬は、例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンデシン、ビノレルビン、又はエリブリンを含む。タキサン系薬は、例えば、パクリ

タキセル、又はドセタキセルを含む。DNA合成阻害剤は、例えば、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼ阻害剤、白金製剤、抗腫瘍性抗生物質、又はアルキル化剤を含む。代謝拮抗薬は、例えば、ペメトレキセド、5-フルオロウラシル、S-1、ゲムシタビン、又はカペシタビンを含む。トポイソメラーゼ阻害剤は、例えば、イリノテカン、ノギテカン、エトポシド、又はゾブゾキサシンを含む。白金製剤は、例えば、シスプラチン、オキサリプラチン、ネダプラチン、又はカルボプラチンを含む。抗腫瘍性抗生物質は、例えば、アントラサイクリン系薬（例えば、ドキソルビシン、リポソーマルドキソルビシン、ダウノルビシン、エピルビシン、イダルビシン、アクリルビシン、アムルビシン、ミトキサトロン、又はピラルビシン）、マイトマイシンC、アクチノマイシンD、ブレオマイシン、ベプロマイシン、又はジノスタチンスチマーを含む。アルキル化剤は、例えば、TMZ、ニトロソウレア化合物（例えば、ロムスチン、カルムスチン等）、ベンダムスチン、シクロホスファミド、ダカルバジン、又はイホスファミドを含む。増殖因子阻害剤は、例えば、EGF、VEGF、FGF、又はIGFの阻害剤を含む。増殖因子阻害剤は、例えば、ベバシズマブ、セツキシマブ、パニツムマブを含む。チロシンキナーゼ阻害剤は、例えば、ゲフィチニブ、又はエルロチニブを含む。細胞毒性物質は、例えば、サポリン、エムタンシン、デルクステカン、又はベドチンを含む。免疫チェックポイント阻害剤は、例えば、免疫チェックポイント分子又はそのリガンドに結合して免疫抑制シグナルの伝達を阻害することで、免疫チェックポイント分子によるT細胞の活性化抑制を解除する薬剤を含む。免疫チェックポイント阻害剤は、例えば、抗CTLA-4抗体（例えば、イピリムマブ）、抗PD-1抗体（例えば、ニボルマブ又はペムブロリズマブ）、又は抗PD-L1抗体（例えば、アテゾリズマブ又はアベルマブ）を含む。その他の抗がん剤は、例えば、L-アスパラギナーゼを含む。化学療法剤の形態は、例えば、低分子化合物又は高分子化合物を含む。化学療法剤は、ここに示したいずれか1つ以上の化合物の塩（以下に示す塩を含む）を含む。

[0077] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、塩は、特に限定され

ず、例えば、無機塩又は有機塩を含む（例えば、Bharate et al., Drug Discov Today, 2021 Feb;26(2):384-398.又はBerge et al., J Pharm Sci, 1977 Jan;66(1):1-19.参照）。塩は、例えば、金属塩、アンモニウム塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩、塩基性又は酸性アミノ酸との塩等を含む。金属塩は、例えば、アルカリ金属塩（ナトリウム塩、カリウム塩等）、アルカリ土類金属塩（カルシウム塩、マグネシウム塩、バリウム塩等）、アルミニウム塩等を含む。有機塩基との塩は、例えば、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、2, 6-ルチジン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン等との塩を含む。無機酸との塩は、例えば、塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸等との塩を含む。有機酸との塩は、例えば、ギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、フタル酸、フマル酸、メシル酸、トシル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸等との塩を含む。塩基性アミノ酸との塩は、例えば、アルギニン、リジン、オルニチン等との塩を含む。酸性アミノ酸との塩は、例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸等との塩を含む。塩は薬学的に許容可能な塩を含む。本発明の一実施形態において薬学的に許容可能とは、薬学的使用のために妥当なベネフィットを有する形態を含む。本発明の一実施形態において化合物又はその塩の一形態は、それらの溶媒和物の形態を含む。本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、溶媒和物は、溶質及び溶媒によって形成される化合物の形態を含む（例えば、Healy et al., Adv Drug Deliv Rev, 2017 Aug 1;117:25-46.参照）。溶媒和物は、特に限定されないが、例えば、水和物（例えば、一水和物、二水和物、三水和物等）又は有機溶媒和物（例えば、アルコール（メタノール、エタノール、プロパノール等）、アセトン、ジメチルホルムアミド、又は酢酸エチルとの溶媒和物等）を含む。溶媒は、溶媒和物を形成後に溶質の生理活性を実質的に維持可能な溶媒を含む。溶媒和物は、薬学的に許容可能な溶媒和物を含む。

- [0078] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、放射線治療は、例えば、腫瘍を含む部分に放射線を照射することによる治療を含む。放射線治療の回数、間隔、期間、吸収線量は患者の年齢や体重、症状、対象臓器等により、適宜選択できる。放射線治療は、例えば、1日1～2回、1～2グレイ又は1.5～2グレイを照射してもよい。
- [0079] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、GPC6は、グリピカン6で示される蛋白質を含む。GPC6のアミノ酸配列等の詳細は、UniProt又はNCBI等のWEBサイトから確認できる。GPC6のUniProtのPrimary accession numberはQ9Y625、NCBIのGene IDは10082である。後述の実施例では、上記Q9Y625に該当するGPC6を検出した。GPC6は、例えば、ヒト、サル、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、又はネコ由来のGPC6であってもよい。
- [0080] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、NYAP2は、Neuronal Tyrosine-Phosphorylated Phosphoinositide-3-Kinase Adaptor 2 で示される蛋白質を含む。NYAP2のアミノ酸配列等の詳細は、UniProt又はNCBI等のWEBサイトから確認できる。NYAP2のUniProtのPrimary accession numberはQ9P242、NCBIのGene IDは57624である。後述の実施例では、上記Q9P242に該当するGPC6を検出した。GPC6は、例えば、ヒト、サル、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、又はネコ由来のGPC6であってもよい。
- [0081] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、蛋白質（例えばGPC6又はNYAP2）の発現レベルは、例えば、PCR（ポリメラーゼ連鎖反応）、抗原抗体反応、免疫組織化学染色、又はDNAメチル化解析などの方法で検査してもよい。PCRは、例えば、qPCRを含む。抗原抗体反応は、例えば、ウエスタンブロットティングを含む。DNAメチル化解析は、例えば、遺伝子（例えばGPC6又はNYAP2遺伝子）上流（例えばプロモーター）のDNAメチル化の解析を含む。発現レベルの検査方法は、公知の方法を利用してもよい。対象のサンプル（例えば神経膠腫細胞又はその細胞溶解物）において蛋白質の発現レベルが低い場合、その程度は、比較対象（例えば、不特定又は一般の神経膠腫対象）のサンプルにおける蛋白質の発現レベルと比較して有意に低減している程度で

あってもよい。この低発現の程度は、例えば、10、5、3、1、0.1、もしくは0.01%以下、又は0%であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。この低発現は、例えば、10~0、5~0、1~0、又は0.1~0%であってもよい。この低発現の程度は、比較対象のサンプル群の平均値-1倍の標準偏差以下であってもよい。この値は、例えば、-1、-1.5、-2、-2.5、又は-3 SD以下であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。対象のサンプルにおいて蛋白質の発現レベルが低い場合、低発現の程度は、対象以外の患者から得られた神経膠腫の、サンプル群の平均値-1 SD以下であってもよい。この値は、例えば、-1、-1.5、-2、-2.5、又は-3 SD以下であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。対象以外の患者から得られた神経膠腫のサンプル群は、例えば、事前に蛋白質の発現レベルが高いことが確認されたサンプル群、又は事前にBCV感受性が低いことが確認されたサンプル群であってもよい。対象のサンプルにおいて蛋白質の発現レベルが低い場合、低発現の程度は、事前に蛋白質の発現レベルが低いことが確認されたサンプル、又は事前にBCV感受性が高いことが確認されたサンプルと比較して、同程度であってもよい。そのようなサンプルとしては、例えば、例えば、KALS-1、T98G及びLN-18の細胞株であってもよい。この同程度は、発現レベルの差が、例えば、±で30、20、10、5、3、2、1、もしくは0.1%以下、又は0%であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。この値は、例えば、±で10~0、5~0、1~0、又は0.1~0%であってもよい。対象のサンプルにおいて蛋白質の発現レベルが低い場合、低発現の程度は、その蛋白質の発現レベルが高いサンプル、事前にその蛋白質の発現レベルが高いことが確認されたサンプル、その蛋白質の発現レベルが低くないサンプル、又は事前にBCV感受性が低いことが確認されたサンプルと比較して、著しく低い程度であってもよい。この著しく低い程度は、例えば、10、5、3、1、0.1、もしくは0.01%以下、又は0%であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。この値は、例えば、10~0、5~0、1~0、又は0.1~0%であってもよい。発現レベルは、例えば、mRNA量又は蛋白質量で評価

してもよい。蛋白質の機能への影響を考慮すると、発現レベルは蛋白質量によって評価することが好ましい。発現レベルの評価は、例えば、対象の発現量と事前に定められた所定の閾値とを比較する工程、又はその閾値よりも対象の発現量が低い場合に発現レベルが低いと評価する工程を含んでもよい。発現レベルの評価は、対象の発現量がコントロールの値と比較して有意に低減している場合に、発現レベルが低いと評価する工程を含んでもよい。本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)又は本段落）において、蛋白質低発現は蛋白質陰性であってもよい。蛋白質の低発現に関する上記の実施形態は、蛋白質の陰性の実施形態に適用できる。蛋白質の発現レベルの検査は、例えば、*in vitro*、*ex vivo*又は*in vivo*で実施してもよい。

[0082] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、対象のサンプル（例えば神経膠腫細胞又はその細胞溶解物）において蛋白質（例えばGPC6又はNYA P2）の発現レベルが高い場合、その程度は、比較対象（例えば、不特定又は一般の神経膠腫対象）のサンプルにおける蛋白質の発現レベルと比較して有意に増大している程度であってもよい。この高発現の程度は、例えば、1.3、1.5、2、3、4、5、10、20、30、40、50、100、又は500倍以上であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。この高発現は、例えば、1.3～500、2～500、5～500、又は50～500倍であってもよい。この高発現の程度は、比較対象のサンプル群の平均値+1倍の標準偏差以上であってもよい。この値は、例えば、+1、+1.5、+2、+2.5、又は+3 SD以上であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。対象のサンプルにおいて蛋白質の発現レベルが高い場合、高発現の程度は、対象以外の患者から得られた神経膠腫の、サンプル群の平均値+1 SD以上であってもよい。この値は、例えば、+1、+1.5、+2、+2.5、又は+3 SD以上であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。対象以外の患者から得られた神経膠腫のサンプル群は、例えば、事前に蛋白質の発現レベルが低いことが確認されたサンプル群、又は事前にBCV感受性が低いことが確認されたサンプル群であってもよい。対象のサンプルにおいて蛋白質の発現レベルが高い場合、高発現の

程度は、事前に蛋白質の発現レベルが高いことが確認されたサンプル、又は事前にBCV感受性が高いことが確認されたサンプルと比較して、同程度であってもよい。そのようなサンプルとしては、例えば、KALS-1、T98G及びLN-18の細胞株であってもよい。この同程度は、発現レベルの差が、例えば、±で30、20、10、5、3、2、1、もしくは0.1%以下、又は0%であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。この値は、例えば、±で10~0、5~0、1~0、又は0.1~0%であってもよい。対象のサンプルにおいて蛋白質の発現レベルが高い場合、高発現の程度は、その蛋白質の発現レベルが低いサンプル、事前にその蛋白質の発現レベルが低いことが確認されたサンプル、その蛋白質の発現レベルが高くないサンプル、又は事前にBCV感受性が低いことが確認されたサンプルと比較して、著しく高い程度であってもよい。この著しく高い程度は、例えば、1.3、1.5、2、3、4、5、10、20、30、40、50、100、又は500倍以上であってもよく、それらいずれか2つの値の範囲内であってもよい。この値は、例えば、1.3~500、2~500、5~500、又は50~500倍であってもよい。発現レベルは、例えば、mRNA量又は蛋白質量で評価してもよい。蛋白質の機能への影響を考慮すると、発現レベルは蛋白質量によって評価することが好ましい。発現レベルの評価は、例えば、対象の発現量と事前に定められた所定の閾値とを比較する工程、又はその閾値よりも対象の発現量が高い場合に発現レベルが高いと評価する工程を含んでもよい。発現レベルの評価は、対象の発現量がコントロールの値と比較して有意に増大している場合に、発現レベルが高いと評価する工程を含んでもよい。本発明の実施形態（例えば上記(1)~(48)又は本段落）において、蛋白質高発現は蛋白質陽性又は蛋白質過剰発現であってもよい。蛋白質の高発現に関する上記の実施形態は、蛋白質の陽性の実施形態に適用できる。蛋白質の発現レベルの検査は、例えば、in vitro、ex vivo又はin vivoで実施してもよい。

[0083] 本発明の実施形態（例えば上記(1)~(48)）において、検査は、例えば、検出又は測定を含む。本発明の実施形態（例えば上記(1)~(48)）において、検査用試薬は、例えば、核酸（例えばDNA鎖又はRNA鎖）、ペプチド（例えばオ

リゴペプチド又はポリペプチド（例えば蛋白質））、又はそれらを含む組成物であってもよい。核酸は例えばプライマー又はプローブであってもよい。ポリペプチドは例えば抗体であってもよい。核酸は、例えば、蛋白質（例えばGPC6又はNYAP2）をコードするDNA（例えばGPC6又はNYAP2遺伝子）の上流もしくは下流領域に結合可能な核酸、又は蛋白質をコードするDNAの全長もしくは一部を増幅可能な核酸であってもよい。ペプチド又は抗体は、例えば、蛋白質に結合可能な、ペプチド又は抗体であってもよい。オリゴペプチドは1〜20個のアミノ酸を有するペプチドを指してもよい。ポリペプチドは21個以上のアミノ酸を有するペプチドを指してもよい。抗体は、例えば、ヒト、マウス、ウサギ、ラット、ハムスター、又はモルモット抗体であってもよい。抗体は、上記のいずれか2つ以上の生物のキメラ抗体であってもよい。抗体は、モノクローナル抗体であってもよい。検査用試薬は、検出手段に置き換えて実施してもよい。本発明の実施形態（例えば上記(1)〜(48)）において、検査する工程は、例えば、PCR、抗原抗体反応、免疫組織化学染色、又は遺伝子（例えばGPC6又はNYAP2遺伝子）のプロモーター領域DNAのメチル化解析によって実施してもよい。検査は、例えば、核酸（例えば遺伝子又はmRNA）量、蛋白質量、DNAメチル化、又は遺伝子転座を指標に実施してもよい。DNAメチル化解析は、遺伝子のプロモーター領域のメチル化又は非メチル化を検出する手段（例えば、メチル化特異的PCR、非メチル化特異的PCR又はパイロシーケンス法に使用する試薬）を用いて実施してもよい。DNAメチル化解析は、プライマー（例えば、プロモーター領域の少なくとも一部を増幅可能なプライマー（例えば、上記プロモーター領域の上流もしくは下流部位に結合できるプライマー））、又は抗体を使用して実施してもよい。プライマーはメチル化又は非メチル化特異的プライマーであってもよい。抗体は遺伝子のメチル化又は非メチル化状態のプロモーター領域又はその部分領域に特異的な抗体であってもよい。上記の検査用試薬は、これらの検出する工程で使用するものを含んでもよい。本発明の実施形態（例えば上記(1)〜(48)）において、発現レベルを検査する工程は、例えば、発現を検査する工程、又は陽性/陰性の

存在を検査する工程に置き換えてもよい。

[0084] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、検査対象又は指標としてのGPC6又はNYAP2の発現レベルは、GPC6低発現もしくは陰性、又はNYAP2高発現もしくは陽性であってもよい。例えば、BCV治療の対象となる神経膠腫患者を特定する場合、GPC6低発現もしくは陰性、又はNYAP2高発現もしくは陽性を検査対象又は指標にして特定してもよい。これにより、不特定の患者にBCV治療を施す場合に比べて、治療効果が現れる確率の向上、又は治療効果の向上が期待できる。発現レベルは、定性的又は定量的に検査してもよい。

[0085] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(31)）の方法は、例えば、(i)対象のGPC6又はNYAP2発現レベルを検査する工程、(ii)対象のGPC6又はNYAP2発現レベルを指標にして、対象をBCVによる治療対象として特定する工程、(iii)GPC6低発現神経膠腫を有する対象をBCVによる治療対象として特定する工程、又は対象のNYAP2高発現神経膠腫を有する対象をBCVによる治療対象として特定する工程、(iv)対象のGPC6発現レベルが低い場合に、対象がBCV感受性であることもしくはその可能性が高いことが示される工程、又は(v)対象のNYAP2発現レベルが高い場合に対象がBCV感受性であることもしくはその可能性が高いことが示される工程、を含んでもよい。これらの1つ以上の工程を採用することは、より適切なBCV治療のために（例えば、治療効果の高い集団に対して治療を施すために）有用である。2つ以上の工程を採用した場合、順番は任意であり、所望の治療方法に応じて順番を決定できる。これらの工程は、BCV、その薬学的に許容される塩、もしくはそれらの溶媒和物、又は化学療法剤を対象に投与する工程の前に実施しよく、後に実施してもよい。

[0086] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(31)）の方法は、例えば、(i)対象のEGFR、PTEN、p53、もしくはp16の発現レベルを検査する工程、(ii)対象のEGFR、PTEN、p53、もしくはp16の発現レベルを指標にして、対象をBCVによる治療対象として特定する工程、又は(iii) EGFR、PTEN、p53、もしくはp16の陽性、陰性、野生型、もしくは変異型の神経膠腫を有する対象をBCVによる治療対象として特定する工程、を含んでもよい。これらの1つ以上の工程を採用するこ

とは、より適切なBCV治療のために有用である。2つ以上の工程を採用した場合、順番は任意であり、所望の治療方法に応じて順番を決定できる。これらの工程は、BCV、その薬学的に許容される塩、もしくはそれらの溶媒和物、又は化学療法剤を対象に投与する工程の前に実施してもよく、後に実施してもよい。

[0087] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(31)）において、方法は、補助する方法を含んでもよい。補助は、治療対象、治療方法又は診断方法の検討又は決定の補助を含んでもよい。方法は、目的に応じて、例えば、*in vitro*、*ex vivo*又は*in vivo*で実施してもよい。

[0088] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、対象を特定する工程は、治療対象として対象を特定する工程を含んでもよい。治療対象として特定する工程は、薬剤の投与対象として対象を特定する工程を含んでもよい。対象を特定する工程は、対象を選択する工程又は対象を同定する工程を含んでもよい。

[0089] 本発明の実施形態（例えば上記(1)～(48)）において、サンプルは、例えば、生体サンプルを含んでもよい。サンプルは、例えば、細胞（例えば神経膠腫細胞）、細胞溶解物、血液検体（例えば、血漿、血清、又は全血）、組織、又は神経膠腫細胞に含まれる核酸もしくは蛋白質を含んでもよい。サンプルは、例えば、検体を含んでもよい。

[0090] 本明細書において、起因するとは、例えば、主な原因となること、過去に経験したために原因になることを含む。本明細書において、上位概念の用語は下位概念の用語を含むが、上位概念と下位概念の両方が対象とされていることをより明確にするためにそれらは並列で記載され得る。

[0091] 本発明の一実施形態において「有意に」は、例えば、統計学的有意差を学生t検定（片側又は両側）を使用して評価し、 $p < 0.05$ 又は $p < 0.01$ である状態であってもよい。又は、実質的に差異が生じている状態であってもよい。

[0092] 本明細書において引用しているあらゆる刊行物は、その全体を参照により

援用する。本明細書において「又は」は、文章中に列挙されている事項の「少なくとも1つ以上」を採用できるときに使用される。「もしくは」も同様である。本明細書において「2つの値の範囲内」と明記した場合、その範囲には2つの値自体も含む。本明細書において「A～B」は、A及びBを含む。本明細書において「上記(1)～(48)」は、(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)、(8)、(9)、(10)、(11)、(12)、(13)、(14)、(15)、(16)、(17)、(18)、(19)、(20)、(21)、(22)、(23)、(24)、(25)、(26)、(27)、(28)、(29)、(30)、(31)、(32)、(33)、(34)、(35)、(36)、(37)、(38)、(39)、(40)、(41)、(42)、(43)、(44)、(45)、(46)、(47)又は(48)のいずれか1つ以上への言及を含む。

[0093] 以上、本発明の実施形態について述べたが、これらは本発明に含まれ得る形態の例示であり、本発明はこれらに限定されるものではなく、上記以外の様々な構成を採用することもできる。また本発明は、上記実施形態に記載の各構成又は特徴を組み合わせ、又は独立して採用することもできる。

実施例

[0094] 以下、実施例によりさらに説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0095] 実施例1：BCVの抗腫瘍作用

(1) 試験方法

ヌードマウスの右側線条体（頭蓋骨表面のブレグマから2 mm右かつ冠状縫合から1 mm前方で、頭蓋骨表面より3mmの深さ）に、以前に蛍ルシフェラーゼ-GFPをトランスフェクトしたU87MGヒト膠芽腫（GBM）細胞株を、を 3×10^5 個ずつ移植し、GBM動物モデルを作成した。

[0096] 試験は1群8～10例のGBMモデルマウスからなる4群より構成され、第1群には10 mg/kgのBCV、第2群には20 mg/kgのBCV、第3群には40 mg/kgのBCV、そして第4群には溶媒のみをそれぞれ投与した。BCV及び溶媒は、GBM移植後7日目より5週間、それぞれ週2回腹腔内投与した。投与期間中、脳内での腫瘍増殖の評価としてケタミンザイラジンによる麻酔下でルシフェリン150 mg/kgを腹腔内投与した10分後、IVIS Luminaイメージングシステムによる生物発光イメー

ジング (BLI) を週2回行った。

[0097] (2) 結果と評価

脳内でのGBM細胞増殖を表わす正規化BLI (平均値±標準誤差) の経時的推移を図1に示す。投与期間中のBLIを個体毎に投与前のBLIで除することにより、正規化BLIを得た。10 mg/kg BCV群では、溶媒群 (Vehicle) と比べ、有意差には至らなかったものの、脳内GBMの増殖を抑制する傾向を示した。20 mg/kgのBCV群では、移植後28日目及び35日目に溶媒群と比べ有意な ($P<0.05$) 正規化BLIの減少が認められた。40 mg/kgのBCV群では、移植後22日目から35日目の間に溶媒群と比べ有意な ($P<0.05\sim P<0.0001$) 正規化BLIの減少が認められた。

[0098] また、40 mg/kg BCVの投与では体重減少が見られた。他のBCV投与群においては顕著な全身毒性症状は認められなかった。以上より、BCVが膠芽腫治療に優れた効果をもたらすことが示された。

[0099] 実施例2 : BCV及びTMZの併用による延命効果

(1) 試験方法

実施例1と同様の方法でGBM動物モデルを作成した。試験は1群9～11例のGBMモデルマウスからなる6群より構成され、第1群には2 mg/kgのテモゾロミド (TMZ)、第2群には10 mg/kgのBCV、第3群には20 mg/kgのBCV、第4群には2 mg/kg TMZ及び10 mg/kg BCVの併用、第5群には2 mg/kg TMZ及び20 mg/kg BCVの併用、そして第6群には溶媒のみをそれぞれ投与した。TMZは移植後8日目より5日間連日経口投与し、BCVは移植後8日目より38日目まで週2回腹腔内投与した。実施例1と同様の方法でBLIを評価し、GBM移植後37日目の生存個体率を調べた。

[0100] (2) 結果と評価

TMZ及び10 mg/kg BCVの単剤投与群は、溶媒群と比べ、有意差には至らなかったものの、脳内GBMの増殖を抑制する傾向を示した。一方、TMZ及び10 mg/kg BCVの併用投与群では、移植後28日目に溶媒群と比べ有意な ($P<0.01$) 正規化BLIの減少が認められた。20 mg/kg BCVの単剤投与群では、移植後23日目

及び28日目に溶媒群と比べ有意な ($P < 0.05$) 正規化BLIの減少が認められ、TMZ及び20 mg/kg BCVの併用投与群では同期間に溶媒群と比べより強い有意性 ($P < 0.05 \sim P < 0.001$) で正規化BLIの減少が認められた。

[0101] 各群におけるGBM移植後37日目の生存個体率(%)を図2に示す。溶媒群、TMZ単剤群、10 mg/kg BCV単剤群では全ての個体が生存していなかった。一方で、20 mg/kg BCVの単剤投与群は50%、TMZ及び10 mg/kg BCVの併用投与群は約64%、TMZ及び20 mg/kg BCVの併用投与群は約78%の個体が生存していた。

[0102] また、いずれのBCVの単剤群及び併用投与群においても顕著な全身毒性症状は認められなかった。以上より、BCV及びTMZの併用投与により相乗的な延命効果が見られた。また、10 mg/kg BCV及びTMZの併用投与による延命効果が、20 mg/kg BCV及びTMZの併用投与による延命効果に近い程度であったことから、投与量を抑えつつ十分な効果を発揮する観点からは、10 mg/kg BCV及びTMZの併用投与のレジメンが優れていることが示された。

[0103] 実施例3：BCV、TMZ及び放射線照射の併用による抗腫瘍作用

(1) 試験方法

実施例1と同様の方法でGBM動物モデルを作成した。試験は1群10例のGBMモデルマウスからなる3群より構成され、第1群には2 mg/kg TMZと1.5グレイ (Gy) 放射線照射 (RT) の併用 (TMZ+RT療法)、第2群にはTMZ+RT療法への10 mg/kg BCVの併用 (BCV+TMZ+RT療法)、第3群には溶媒のみをそれぞれ処置した。TMZは移植後8日目より5日間連日経口投与し、RTは同期間セシウムγ線照射装置による局所脳照射を行い、BCVは移植後8日目より49日目まで週2回腹腔内投与した。実施例1と同様の方法でBLIを評価した。

[0104] (2) 結果と評価

脳内でのGBM細胞増殖を表わす正規化BLI (平均値±標準誤差) の経時的推移を図3に示す。TMZ+RT療法群では、移植後25日目に溶媒群と比べ有意な ($P < 0.01$) 正規化BLIの減少が認められた。BCV+TMZ+RT療法群では、移植後より長い期間 (25日目から36日目) で溶媒群と比べより強い有意性 ($P < 0.01 \sim 0.0001$) を示す正規化BLIの減少が認められた。

[0105] また、BCV+TMZ+RT療法群において顕著な全身毒性症状は認められなかった。以上より、BCV+TMZ+RT療法が膠芽腫治療に優れた効果をもたらすことが示された。

[0106] 実施例4：MGMT遺伝子プロモーター非メチル化膠芽腫に対する抗腫瘍作用及び延命効果

(1) 試験方法

以前にGFPをトランスフェクトしたGBM患者由来のGBM6細胞を用い、実施例1と同様の方法で同所性GBMのPDXモデルを作成した。GBM6細胞は、アルキル化剤による抗腫瘍作用を阻害するDNA修復遺伝子MGMTのプロモーターがメチル化されていない細胞である。試験は1群9～11例のPDXマウスからなる2群より構成され、第1群には20 mg/kgのBCV、第2群には溶媒のみをそれぞれ投与した。BCVは移植後6日目より30日目まで週2回腹腔内投与した。実施例1と同様の方法でBLIを評価し、GBM移植後27日目の生存個体率を調べた。

[0107] (2) 結果と評価

GBM6細胞を用いたPDXマウスにおける、脳内でのGBM細胞増殖を表わす正規化BLI（平均値±標準誤差）の経時的推移を図4に示す。20 mg/kg BCVの投与では移植後13日目～23日目の間、溶媒群と比べ有意な（ $P<0.05$ ～ $P<0.01$ ）正規化BLIの減少が認められた。

[0108] 溶媒群ではGBM移植後27日目に全ての個体が生存していなかった。一方で、20 mg/kg BCV群は60%の個体が生存していた。

[0109] また、BCV投与群において顕著な全身毒性症状は認められなかった。GBM6は、MGMT（O6-methylguanine-DNA methyltransferase）の遺伝子プロモーターが非メチル化されていることが報告されている（Int J Radiat Oncol Biol Phys 2009, 75: 212-219）。また、MGMTの遺伝子プロモーターが非メチル化されることでMGMTの発現が亢進すると、TMZのアルキル化作用が減弱し、細胞にTMZに対する耐性が生じることが知られている（Cancer Drug Resist 2021;4: 17-43）。実際に、GBM6は、MGMT遺伝子プロモーターがメチル化されている他のPDXに比べて、TMZの効果が大きく減弱していることが示唆されている（Int

J Radiat Oncol Biol Phys 2009, 75: 212-219)。上記の通り、GBM6のPDXモデルにおいて腫瘍縮小と生存延長が認められたことから、MGMT遺伝子プロモーター非メチル化膠芽腫においてもBCVが優れた治療効果をもたらすことが示された。

[0110] 実施例5：BCVのPK試験

雌のC57BL/6マウスに、BCVを13 mg/kgで腹腔内投与（n=3）した後、また同用量で6日間連続投与した後、0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24時間後に各採血したサンプルをK2EDTA処理により得た血漿中のBCV濃度を既報のMC-MS/MS法（Biomed Chromatogr. 2021 35:e5061）にて定量した。WinNonlinを用いたノンコンパートメント解析により得られた薬物動態パラメータの結果を図5に示す。1日目と6日間連続投与後の成績の平均値から、マウスにBCVを10 mg/kgで腹腔内投与した際に得られる薬物暴露量は、1,935 ng/mL (C_{max})及び2,906 ng*^h/mL (AUC_{inf})と見積もられた。また、臨床第1相試験で得られたヒトへのBCV静脈内投与の薬物動態パラメータを図6に示す（CMX001-125試験より、ID WEEK Congress, 2018 Poster#1421）。以上の結果から、マウスにおけるBCV 10/mg腹腔内投与により得られる薬物暴露量は、ヒトにおける20 mg静脈内投与（1h-infusion）で得られる薬物暴露量と同程度と見積もられた。以上に基づいて、上記実施例1～4における10 mg/kg BCV、20 mg/kg BCV、及び40 mg/kg BCVのマウスへの腹腔内投与（単剤時又は併用時含む）は、20 mg/body BCV、40 mg/body BCV、及び80 mg/body BCVのヒトへの静脈内投与にそれぞれ換算できる。

[0111] 実施例6：ヒトGBM細胞株に対する細胞障害性試験

表1に示す各種ヒトGBM細胞株に対するBCVのin vitroでの細胞障害性を、CellTiter-Glo™ (CTG) アッセイ（Promega、ウィスコンシン州、米国）で評価した。CTGアッセイは、代謝活性の指標となる細胞内アデノシン三リン酸（ATP）を生物発光により定量することで、培養中の生存細胞数を測定する。即ち、GBM細胞を表1に示すそれぞれの培地中 2×10^3 細胞の濃度で播種した96ウェルプレートに各濃度のBCVを添加し、37℃及び5% CO₂下で5日間の培養後、CTG

試薬を処置し細胞を融解させた。Envision™プレートリーダー（PerkinElmer、コネティカット州、米国）を用いて蛍光シグナルを測定した。細胞障害性は、対照蛍光シグナルのパーセンテージとして評価した。GraphPad Prism（GraphPad Software、マサチューセッツ州、米国）を用い、薬物濃度に対する細胞障害性のパーセンテージのプロットで用量反応曲線を生成した。さらにBCVの各種GBM細胞株に対する50％細胞増殖抑制濃度（IC₅₀値）を求め、細胞障害効果を評価した。すべてのアッセイはデュプリケイトで行った。

[0112] [表1]

表 1 各種ヒト GBM 細胞株とその培養培地

細胞株	培地
A-172	DMEM ^① +10% FBS ^②
AM-38	EMEM ^③ +20% FBS
KALS-1	RPMI ^④ 1640 +10% FBS
KNS-42	DMEM +10% FBS
LN-18	DMEM +10% FBS
LN-229	DMEM +10% FBS
SNU-466	RPMI 1640 +10% FBS
SNU-1105	RPMI 1640 +10% FBS
T98G	EMEM +10% FBS
U-87MG	EMEM +10% FBS
U-138 MG	EMEM +10% FBS

① Dulbecco modified Eagle medium: ダルベッコ変法イーグル培地
② Fetal bovine serum: ウン胎仔血清
③ Eagle minimal essential medium: イーグル最小必須培地
④ Roswell Park Memorial Institute: ロズウェルパーク記念研究所

[0113] 結果を図7及び8に示す。BCVはすべてのGBM細胞株に対し用量依存的に細胞障害を示し、全細胞株におけるIC₅₀値の中央値は2.2 μMであった。実施例5の図6に示されたように、臨床用量20 mgを静脈内投与した際の最高血中BCV濃度は3.1 μM（1,720 ng/mL）であることから、試験に用いた過半数のヒトGBM細胞株は、最高臨床濃度以下の濃度のIC₅₀値を示すことが明らかとなった。

[0114] GBMにおける化学療法の耐性機序として、DNA修復酵素であるO⁶-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ（MGMT）の発現が挙げられる（Cancer Drug Resist 2021;4:17-43）。試験に用いたGBM細胞株のMGMT発現レベルを、

オープンデータベース (The Human Protein Atlas) より収集しBCVのIC₅₀値 (昇順に記載) と併せて評価した (表2)。その結果、BCVに対しμM以下のIC₅₀値を示した高感受性株 (KALS-1、T98G及びLN-18) では何れもMGMTが高発現していた。また、最高臨床血中濃度を超えるIC₅₀値を示した細胞株 (U-87MG、LN-229、U-138MG、SNU-1105、KNS-42) の中で、MGMTが高発現しているのはU-138MGのみであった。これらのことからGBM細胞におけるMGMTの高発現は、BCVの耐性に寄与しないことが示された。

[0115] [表2]

表2 各種ヒトGBM細胞株におけるIC₅₀値及びMGMT^①遺伝子発現状況

細胞株	IC ₅₀ (μM)	MGMT ^① (nTPM ^②)
KALS-1	0.03	21.1
T98G	0.81	17.1
LN-18	0.96	29.2
AM-38	1.77	0.1
SNU-466	1.93	30.8
A-172	2.20	0.0
U-87MG	5.86	0.1
LN-229	7.47	0.0
U-138 MG	8.27	14.0
SNU-1105	9.30	0.1
KNS-42	73.85	0.0

^① O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase: O⁶-メチルグアニン-DNAメチルトランスフェラーゼ
^② Normalized transcripts per million: 全転写産物百万あたりの正規化された転写産物発現数

[0116] 実施例7：MGMT陰性GBM細胞株におけるMGMT遺伝子強制発現

MGMT発現がBCVに対する感受性に及ぼす影響をより明確にするため、レンチウイルスをベクターとしMGMT遺伝子をU-87MG細胞株に強制発現させた。即ち、ヒトMGMTのDNA配列をピューロマイシン耐性遺伝子を含むpLVX-Puroレンチウイルスベクターにクローニングした。HEK293T細胞を10 cmディッシュに3.0×10⁶細胞の密度で播種し、37℃、5% CO₂下で24時間後50~60%のコンフルエンスに達するまで培養した。4μgのpLVX-Puro-MGMT、4μgのpΔ8.9及び2μgのpVSVGを500μLのOPTI-MEM™ (Thermo Fisher Scientific) で希釈し、40μLのInvitrogen™ リポフェクタミン™ 2000 (Thermo Fisher Scientific) を500μLのOPTI-MEM™で希釈した。次いで、これらのプラスミド混合物をトランスフェクション試薬に加えて混合しHEK293T細胞含有10 cmディッシュに

一滴ずつ加え攪拌した。48時間の培養後、改変レンチウイルスを含む細胞培養培地を収集し、3,000 rpmで10分間遠心分離し細胞残骸を除去した。さらに0.45 μ Mフィルターによる濾過後、バイアルに分注した。U-87MG細胞をトリプシン処置後、細胞密度を 2×10^5 /ml に調整した。2 ml/ウェルの細胞懸濁液を6ウェルプレートに分注し、細胞を37°C、5% CO₂下で培養した。24時間後1 mlのウイルス含有溶液を添加した。細胞プレートを37°C、5% CO₂下で24 時間の培養後、最終濃度1 μ g/mlのピューロマイシンにより7日間スクリーニングし、プール細胞 (U-87MG/MGMT) を収集した。MGMT発現レベルを定量ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 及びウエスタンブロットを用い評価した。

[0117] U-87MG/MGMTプール細胞を用いた定量PCRは、Applied Biosystems™ QuantStudio™ (Thermo Fisher Scientific)によりトリプリケートで実施し、データを取得した。MGMT遺伝子のフォワードプライマーとして5'-GCAATGAGAGGCAATCTG-3' (配列番号1)、リバープライマーとして5'-CCAGAAGCCATTCCTTCAC-3' (配列番号2)、また内在性コントロール遺伝子グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) のフォワードプライマーとして5'-CCACTCCTCCA CTTTG-3' (配列番号3)、リバープライマーとして5'-CACCACCCTGTTGCTGT-3' (配列番号4)を用いた。RNA発現は $\Delta\Delta C_t$ 法により定量化した。即ち、遺伝子mRNA発現の ΔC_t 値は、内在性コントロールGAPDHの C_t 値との差とし、 $\Delta\Delta C_t$ 値は、それぞれの ΔC_t 値からU87MG群の ΔC_t 値を減ずることにより算出した。発現比は、式 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ を用いて計算した。結果を表3に示す。親株U-87MGに比し、U-87MG/MGMTプール細胞においてMGMT遺伝子発現の著しい亢進が認められた。

[0118]

[表3]

表3 定量PCRによるU-87MG/MGMT プール細胞におけるMGMT遺伝子発現

リプリケート	U87MG	U-87MG/MGMTプール
MGMT Ct値		
1	Undetermined	11.590
2	Undetermined	11.655
3	38.974	11.544
平均値	38.974	11.596
GAPDH Ct値		
1	16.013	15.145
2	15.875	14.861
3	15.644	14.661
平均値	15.844	14.888
相対定量		
ΔCt	23.130	-3.292
$\Delta\Delta Ct$	0.000	-26.422
$2^{-\Delta\Delta Ct}$	1.00	$8.99E+07$

¹⁾ Threshold cycle: 閾値サイクル

[0119] ウェスタンブロットは、全細胞ライセートを、4-15% Mini-PROTEANTM TGX Stain-Free™ Protein Gelを用いたSDS-PAGE (Bio-Rad Laboratories、カリフォルニア州、米国) にて分離し、プロッティング用メンブレンPVDF (Bio-Rad Laboratories) に転写した。5%ウシ血清アルブミン (Sigma-Aldrich、ダルムシュタット、ドイツ) によるブロッキング後のメンブレンを、一次抗体 (抗MGMT抗体: Invitrogen™カタログ番号MA5-13506、Thermo Fisher Scientific; 抗 α -Tubulin抗体; カタログ番号2125S、Cell Signaling Technology、東京、日本) を含む溶液中で4℃で一晩、穏やかに振とうさせた。HRP結合抗マウス抗体 (カタログ番号c-516102、Santa Cruz、カリフォルニア州、米国) への暴露後、SuperSignal™ Western Blot Substrate Kit (Thermo Fisher Scientific) による化学発光検出を行い、ImageQuant™ LAS 4000 (GE、カリフォルニア州、米国) で画像化した。

[0120] 結果を図9に示す。親株U-87MGに比し、U-87MG/MGMTプール細胞におけるMGMTの発現量が亢進した。

[0121] MGMT遺伝子を強制発現したU-87MG細胞株のモノクローナル細胞は、96ウェルプレート内で限界希釈法を使用してU-87MG/MGMTプール細胞から生成した。U-87MG/MGMTプール細胞を0.25%トリプシン処理後、100、150及び200細胞/10

mL懸濁液を調整し、96ウェルプレートに分注した。単クローンが増殖するまで、37℃、5% CO₂下で培養した。U-87MG/MGMTモノクローナル細胞におけるMGMT発現は、上記と同様の方法で定量PCR及びウエスタンブロットにより同定した。

[0122] 定量PCRによる12種のU-87MG/MGMTモノクローナル細胞におけるMGMT遺伝子発現を表4に示す。親株U-87MGでは発現遺伝子は検出されなかった（undetermined）が、何れのモノクローナル細胞においてもMGMT遺伝子の過発現が認められた。

[0123] [表4]

表 4 定量 PCR による 12 種の U-87MG/MGMT モノクローナル細胞における MGMT 遺伝子発現

MGMT Ct値							
リプリケート	U87MG	MGMT-A3-1	MGMT-A3-3	MGMT-A8-1	MGMT-B6-3	MGMT-C2-2	MGMT-D5-3
1	Undetermined	13.326	13.731	12.049	12.745	12.148	12.438
2	Undetermined	13.046	13.750	12.014	12.647	12.254	12.257
3	Undetermined	13.266	13.947	12.231	12.608	12.223	12.362
平均Ct値	#DIV/0!	13.212	13.809	12.098	12.667	12.208	12.352
GAPDH Ct値							
リプリケート	U87MG	MGMT-A3-1	MGMT-A3-3	MGMT-A8-1	MGMT-B6-3	MGMT-C2-2	MGMT-D5-3
1	13.098	13.088	13.340	12.933	12.829	13.010	13.285
2	13.037	12.994	13.332	13.245	12.843	12.993	12.882
3	13.160	12.984	13.426	12.791	12.757	12.980	13.049
平均Ct値	13.098	13.022	13.366	12.957	12.810	12.995	13.072
ΔCt	#DIV/0!	0.190	0.443	-0.859	-0.143	-0.786	-0.720

MGMT Ct値						
リプリケート	MGMT-E7-3	MGMT-E12-1	MGMT-F6-3	MGMT-F11-2	MGMT-G11-2	MGMT-H3-3
1	12.203	12.354	11.982	12.363	12.960	13.127
2	12.175	12.524	12.023	12.371	13.005	12.969
3	12.203	12.379	12.004	12.448	12.893	12.967
平均Ct値	12.194	12.412	12.003	12.394	12.953	13.021
GAPDH Ct値						
リプリケート	MGMT-E7-3	MGMT-E12-1	MGMT-F6-3	MGMT-F11-2	MGMT-G11-2	MGMT-H3-3
1	12.540	12.396	12.743	13.277	12.401	13.139
2	12.592	12.177	12.612	13.283	12.587	12.909
3	12.636	12.383	12.876	12.984	12.551	13.044
平均Ct値	12.589	12.319	12.744	13.181	12.513	13.031
ΔCt	-0.396	0.094	-0.741	-0.787	0.439	-0.010

[0124] ウエスタンブロットにより12種のU-87MG/MGMTモノクローナル細胞におけるMGMT蛋白質発現を評価し、そのなかで発現量の大きかった7種のU-87MG/MGMTモノクローナル細胞について、ウエスタンブロットを再実施した。MGMT蛋白質発現を図10に示す。親株U-87MGに比し何れのモノクローナル細胞においてもMGMT蛋白質の過発現が認められた。中でもMGMT発現量が著しく高かったE7-3及びA8-1細胞を、BCVの細胞障害性アッセイに用いた。

[0125] 実施例6と同様の方法で実施した細胞障害性試験の結果を図11に示す。BCV

に対するU-87MG/MGMTモノクローナル細胞E7-3及びA8-1の感受性は、親株U-87MG細胞に比しそれぞれ16.28倍及び2.47倍であった。

[0126] 実施例8：全トランスクリプトームシーケンス解析

実施例6と同じ11種のヒトGBM細胞株について、全トランスクリプトームシーケンスを行った。各細胞株を細胞数 5×10^6 超かつ70～90%のコンフルエンスに達するまで培養し、RNA抽出試薬Invitrogen™ TRIzol™ (Thermo Fisher Scientific) で溶解させた。細胞ライセートをHiSeq™システム (Illumina、カリフォルニア州、米国) を用い、ペアエンド150 bpリード、6Gb/サンプル、デュプリケイトで解析した。BCVに高感受性である3種の細胞株群 (KALS-1、T98G及びLN-18) と残りの8細胞株群間での遺伝子発現差異解析をDESeq2 (Bioconductor オープンソースソフトウェア) を用いて行い、群間での遺伝子発現量比と統計学的有意差(p値)の散布図をボルケーノプロットで示した。

[0127] 結果を図12に示す。高感受性細胞株群において発現の低下が最も統計学的に有意であった遺伝子としてグリピカン6遺伝子 (GPC6; 発現量比 $[\log_2] = -6.39$ 、有意差 $[-\log_{10}p\text{値}] = 2.46E-51$) が見出された。また同時に、発現の亢進が最も統計学的に有意であった遺伝子としてNeuronal Tyrosine-Phosphorylated Phosphoinositide-3-Kinase Adaptor 2 (NYAP2; 発現量比 $[\log_2] = 9.15$ 、有意差 $[-\log_{10}p\text{値}] = 4.05E-32$) が見いだされ、GPC6と同様に高感受性を予測する指標となることが示された。他にも、図中で記載された遺伝子群は、高感受性を予測する上で補完的な指標となり得る。

[0128] 本試験に用いた11種のヒトGBM細胞株のNYAP2遺伝子発現レベル及びBCVに対する IC_{50} 値を、オープンデータベース (The Human Protein Atlas) に登録されている他の脳腫瘍細胞株と比較した。図13は、80種のヒト脳腫瘍細胞株におけるNYAP2遺伝子発現量 (nTPM) を降順で表示した。本試験で用いた11種のGBM細胞株については、 IC_{50} 値も併記した。BCVに高感受性である3種のGBM細胞株群 (KALS-1、T98G及びLN-18) は、同時に最もNYAP2遺伝子発現の高い細胞株でもあることが明らかとなった。これら3高感受性株のNYAP2遺伝子発現量は、残りの8細胞株に比し有意に ($P = 0.011$) 高かった (図14)。

[0129] 同様に、GPC6の発現レベルとBCVに対する IC_{50} 値の関連を、オープンデータベース (The Human Protein Atlas) により確認した。図15は、80種のヒト脳腫瘍細胞株におけるGPC6遺伝子発現量 (nTPM) を降順で表示した。本試験で用いた11種のGBM細胞株については、 IC_{50} 値も併記した。BCVに高感受性である3種のGBM細胞株群 (KALS-1、T98G及びLN-18) は、同時にGPC6遺伝子発現の極めて低い細胞株でもあることが明らかとなった。これら3高感受性株のNYAP2遺伝子発現量は、残りの8細胞株に比し有意に ($P=0.017$) 低かった (図16)。

[0130] 実施例8より、GBMにおけるBCV感受性がGPC6又はNYAP2の発現レベルと関連していることが明らかとなった。具体的には、GPC6の発現レベルが低い場合に、GBMのBCV感受性が高いことが示された。またNYAP2の発現レベルが高い場合に、GBMのBCV感受性が高いことが示された。従って、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にして感受性を予測することによって、より適切なBCV治療を実施できると考えられる。例えば、GPC6又はNYAP2の発現レベルを指標にして患者のBCV感受性を調べ、感受性が高いことが予測された患者 (即ち、GPC6の発現レベルが低い患者、又はNYAP2の発現レベルが高い患者) にBCVを投与することができる。これにより、不特定の患者に投与する場合に比べて、治療効果が現れる確率の向上、又は治療効果の向上が期待できる。

[0131] 実施例9：追加のPDXモデルを用いたin vivo試験

(1) 試験方法

以前に蛍ルシフェラーゼ-GFPをトランスフェクトしたGBM患者由来のGBM39細胞を用い、実施例1と同様の方法で同所性GBMのPDXモデルを作成した。試験は1群10例のPDXマウスからなる2群より構成され、第1群には20 mg/kgのBCV、第2群には溶媒のみをそれぞれ投与した。BCVは移植後5日目より28日目まで週2回腹腔内投与した。実施例1と同様の方法でBLIを評価し、 Kaplan-Meier 法により生存期間解析を行った。

[0132] (2) 結果と評価

GBM39細胞を用いたPDXマウスにおける、脳内でのGBM細胞増殖を表わす正規

化BLI（平均値±標準誤差）の経時的推移を図17に示す。20 mg/kg BCVの投与群では移植後21日目～28日目の間、溶媒群と比べ有意な（ $P<0.0001$ ）正規化BLIの減少が認められた。

[0133] GBM39細胞移植後の累積生存率をプロットした、カプラン・マイヤー曲線を図18に示す。溶媒群ではGBM移植後の生存期間中央値は25.5日であった。一方で、20 mg/kg BCV群はGBM移植後33日目時点で、65%の個体が生存しており生存期間中央値は50.0日であった（ $P<0.01$ ）。

[0134] PDXモデルは患者腫瘍における微小環境や組織構造が保持されており、他のスクリーニング系に比べ臨床効果予測能が30%～80%と高いことが知られている（Cancer Discov 2014, 4:998-1013）。実施例4のGBM6細胞を用いたPDXモデルと同様、本実施例におけるGBM39 PDXモデルでもBCVは抗腫瘍効果ならびに延命効果を示した。従って、BCVのGBMに対する臨床効果はこれまで2例のPDXモデルでの成功率、即ち100%にPDXモデルにおける臨床効果予測能0.3あるいは0.8を乗ずることにより、30%～80%と予測される。6種の患者由来GBM細胞の主なゲノム特性（Clin Cancer Res 2020, 26:1097-1104）を図19に示す。BCVは過半数のGBM患者でのドライバー遺伝子変異として知られるEGFRの過剰発現（Cell 2013, 155:462-477）を有すGBM6およびGBM39 PDXに対して奏功したことは注目に値する。さらにこれら2種のPDXで異なるp53変異の有無あるいはMGMT遺伝子メチル化の有無に関わらず奏功したことは、BCVが多様なゲノム特性を有するGBM患者に対し、広く有効であることを示すものである。

[0135] 実施例10：追加のPDXモデルを用いたin vivo試験

（1）試験方法

以前にGFPをトランスフェクトしたGBM患者由来のGBM12、GBM14、GBM26又はGBM43細胞を用い、実施例1と同様の方法で同所性GBMのPDXモデルを作成する。試験は1群10例のPDXマウスからなる2群より構成され、第1群には20 mg/kgのBCV、第2群には溶媒のみをそれぞれ投与する。BCVは移植後5日目より28日目まで週2回腹腔内投与する。実施例1と同様の方法でBLIを評価し、カプラン・マイヤー法により生存期間解析を行う。

[0136] (2) 結果と評価

GBM12、GBM14、GBM26又はGBM43細胞を用いたPDXマウスにおける、脳内でのGBM細胞増殖を表わす正規化BLI（平均値±標準誤差）の経時的推移を調べる。20 mg/kg BCVの投与群では、溶媒群と比べ有意な正規化BLIの減少を示す。

[0137] GBM12、GBM14、GBM26又はGBM43細胞移植後の累積生存率を調べる。20 mg/kg BCVの投与群では、溶媒群と比べ長期の生存期間を示す。BCV投与群において顕著な全身毒性症状は示されない。

[0138] 以上の実施例に記載の通り、BCVが膠芽腫治療に優れた効果を示すことが示された。BCVについて過去にいくつかの研究報告がされているが、神経膠腫を有する動物における治療効果を実証した報告は存在しない。また過去の研究報告において、神経膠腫を標的とした場合に、治療に適した用量のBCVが有効であることは示されていない。BCVは抗ウイルス作用を有することが知られているが、その作用機序はウイルス由来のDNAポリメラーゼ阻害によるウイルス複製阻害であり、膠芽腫のような固形がんに対する作用機序とは異なると考えられる。BCVによりもたらされた膠芽腫治療の結果は、従来技術からは予想外の結果といえる。

[0139] 上記実施例において、BCVによる膠芽腫治療には以下のような特徴が示された。低用量のBCV投与において治療効果が見られたことから、BCV投与により、膠芽腫治療効果及び全身毒性抑制のバランスに優れた治療を実施できることが示された。また、BCV及びTMZの併用により、低用量の薬剤で高い延命効果が得られることが示された。また、MGMT発現の影響を調べた結果から、膠芽腫におけるMGMTの高発現は、BCVの耐性に寄与しないことが示された。即ち、BCVはアルキル化剤が効きにくい膠芽腫に対しても有効であることが示された。また、ゲノム特性の異なる膠芽腫への影響を調べた結果から、BCVが多様なゲノム特性を有する患者に対して広く有効であることが示された。

[0140] 以上、本発明を実施例に基づいて説明した。この実施例はあくまで例示であり、種々の変形例が可能なこと、またそうした変形例も本発明の範囲にあることは当業者に理解されるところである。

請求の範囲

- [請求項1] ブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を含む、神経膠腫の治療用の医薬組成物。
- [請求項2] 前記神経膠腫が膠芽腫である、請求項1記載の医薬組成物。
- [請求項3] ブリンシドフォビルを含む、請求項1又は2に記載の医薬組成物。
- [請求項4] 前記治療はブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及び化学療法剤が併用で用いられる、請求項1～3のいずれかに記載の医薬組成物。
- [請求項5] 前記化学療法剤はテモゾロミド、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物である、請求項4に記載の医薬組成物。
- [請求項6] 前記治療は(a)ブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、(b)テモゾロミド、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及び(c)放射線治療、が併用で用いられる、請求項1～5のいずれかに記載の医薬組成物。
- [請求項7] 前記治療はブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及び放射線治療が併用で用いられる、請求項1～5のいずれかに記載の医薬組成物。
- [請求項8] 前記治療においてブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物は10～90mgが投与される、請求項1～7のいずれかに記載の医薬組成物。
- [請求項9] 前記治療においてブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物は10～60mgが投与される、請求項1～8のいずれかに記載の医薬組成物。
- [請求項10] 前記治療においてブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物は30～60mgが投与される、請求項1～9のいずれかに記載の医薬組成物。
- [請求項11] 前記治療においてブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物は15～30mgが投与される、請求項5又は6に記載

の医薬組成物。

- [請求項12] テモゾロミド、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を含む、神経膠腫の治療用の医薬組成物であって、前記治療は(a)ブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及び(b)テモゾロミド、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物が併用で用いられる、医薬組成物。
- [請求項13] 前記治療はさらに放射線治療が併用で用いられる、請求項12に記載の医薬組成物。
- [請求項14] ブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及びテモゾロミド、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を含む、医薬組成物。
- [請求項15] ブリンシドフォビル、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物、及びテモゾロミド、その薬学的に許容される塩又はそれらの溶媒和物を含む、キット。