

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-500575
(P2023-500575A)

(43)公表日 令和5年1月10日(2023.1.10)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00 1 0 1	4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/53 (2006.01)	A 6 1 K 31/53	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全52頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2022-520800(P2022-520800)	(71)出願人	506137147
(86)(22)出願日	令和2年10月28日(2020.10.28)		エーザイ・アール・アンド・ディー・マ
(85)翻訳文提出日	令和4年6月2日(2022.6.2)		ネジメント株式会社
(86)国際出願番号	PCT/US2020/057650		東京都文京区小石川四丁目6番10号
(87)国際公開番号	WO2021/086909	(71)出願人	596129215
(87)国際公開日	令和3年5月6日(2021.5.6)		メルク・シャープ・アンド・ドーム・コ
(31)優先権主張番号	62/927,334		ーポレーション
(32)優先日	令和1年10月29日(2019.10.29)		Merck Sharp & Dohme
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		Corp.
(31)優先権主張番号	62/927,576		アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・
(32)優先日	令和1年10月29日(2019.10.29)		07065-0907 ローウェイ、イ
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		ースト・リンカーン・アベニュー・12
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA)		6
	最終頁に続く		126 East Lincoln Av
			enue, Rahway, New Je
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 癌を治療するためのPD-1アンタゴニスト、VEGFR/FGFR/RETチロシンキナーゼ阻害剤、及びCBP/ -カテニン阻害剤の組合せ

(57)【要約】

本開示は、プログラム死1受容体(PD-1)のアンタゴニスト、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及び(6S, 9aS)-N-ベンジル-8-({ 6-[3-(4-エチルピペラジン-1-イル)アゼチジン-1-イル]ピリジン-2-イル}メチル)-6-(2-フルオロ-4-ヒドロキシベンジル)-4,7-ジオキソ-2-(プロパ-2-エン-1-イル)ヘキサヒドロ-2H-ピラジノ[2,1-c][1,2,4]トリアジン-1(6H)-カルボキサミド(E7386)又はその薬学的に許容できる塩を含む併用療法、及び癌の治療のための上記併用療法の使用を記載する。

【選択図】図11

Figure 11

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
T/C Day 15	Hepa1-6	RAG	MCS8	CT26.WT	M8T-2	B16/F10	Renca	BNL1.V5E	XLN205	4T1	LL2	EMTE
LEN 10	HCC	RCC	Colon	Colon	Bladder	Melanoma	HCC	HCC	Lung	Breast	Lung	Breast
PD-Lab	4%	49%	107%	48%	52%	63%	84%	94%	85%	101%	113%	67%
LEN/PD-1	-47%	9%	15%	7%	5%	4%	17%	-34%	46%	48%	70%	47%
Combination Effect	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
E7386 25	77%	77%	91%	100%	98%	97%	98%	91%	79%	97%	111%	102%
E7386/LEN	-15%	8%	8%	10%	8%	4%	12%	-52%	16%	32%	53%	44%
Combination Effect	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
E7386/LEN/PD-1	-64%	-47%	8%	3%	-41%	2%	8%	-70%	2%	25%	58%	-6%
Combination Effect vs LEN/PD-1	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
Combination Effect vs E7386/LEN	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-

【特許請求の範囲】

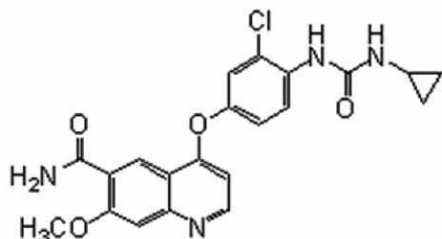
【請求項 1】

ヒト対象の癌を治療する方法であって、個体に：

(i) プログラム死 1 タンパク質 (P D - 1) のアンタゴニストと；

(i i) 構造：

【化 1】

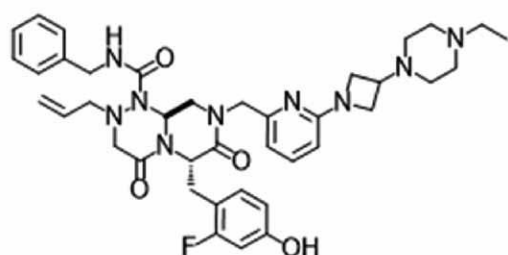


10

を有するレンバチニブ、又はその薬学的に許容できる塩と；

(i i i) 構造：

【化 2】



20

を有する (6 S , 9 a S) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミド (E 7 3 8 6)、又はその薬学的に許容できる塩と

30

を含む併用療法を施すことを含み、

P D - 1 アンタゴニストはアテゾリズマブでない、方法。

【請求項 2】

前記癌が固形腫瘍である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記癌が：腎細胞癌 (R C C)、大腸癌 (C R C)、肝細胞癌 (H C C)、メラノーマ、膀胱癌、尿路上皮癌、乳癌、非小細胞肺癌 (N S C L C)、子宮体癌、及び頭頸部扁平上皮細胞癌からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記癌が R C C である、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 5】

前記 P D - 1 アンタゴニストが、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記 P D - 1 アンタゴニストが抗 P D - 1 抗体である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記 P D - 1 アンタゴニストが、ペムプロリズマブ又はニボルマブである、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

50

前記 P D - 1 アンタゴニストがペムプロリズマブである、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩が、毎日投与され；且つペムプロリズマブが、3週毎に1回投与される、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩が、24 mg、20 mg、18 mg、12 mg、又は8 mgの1日用量にて投与され；且つペムプロリズマブが、3週毎に1回、成人対象について200 mg、又は小児対象について2 mg / kg（最大200 mg）の用量にて投与される、請求項 9 に記載の方法。

10

【請求項 11】

レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩が、レンバチニブメシル酸塩であり；且つ E 7 3 8 6 又はその薬学的に許容できる塩が、E 7 3 8 6 である、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

癌を治療するための医薬組成物であって、(6S, 9aS) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミド (E 7 3 8 6) 又はその薬学的に許容できる塩を含み、E 7 3 8 6 又はその薬学的に許容できる塩は、(a) レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩；及び (b) 抗 P D - 1 抗体と組み合わせて投与される、医薬組成物。

20

【請求項 13】

癌を治療するための医薬組成物であって、抗 P D - 1 抗体を含み、抗 P D - 1 抗体は、(a) レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩；及び (b) (6 S , 9 a S) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミド (E 7 3 8 6) 又はその薬学的に許容できる塩と組み合わせて投与される、医薬組成物。

30

【請求項 14】

癌を治療するための医薬組成物であって、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩を含み、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、(a) (6 S , 9 a S) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミド (E 7 3 8 6) 又はその薬学的に許容できる塩；及び (b) 抗 P D - 1 抗体と組み合わせて投与される、医薬組成物。

40

【請求項 15】

レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩が、レンバチニブメシル酸塩であり；且つ E 7 3 8 6 又はその薬学的に許容できる塩が、E 7 3 8 6 である、請求項 12 ~ 14 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

前記癌が固形腫瘍である、請求項 12 ~ 15 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

前記癌が：腎細胞癌 (R C C)、大腸癌 (C R C)、肝細胞癌 (H C C)、メラノーマ、膀胱癌、尿路上皮癌、乳癌、非小細胞肺癌 (N S C L C)、子宮体癌、及び頭頸部扁平上皮細胞癌からなる群から選択される、請求項 12 ~ 15 のいずれか一項に記載の医薬組

50

成物。

【請求項 18】

前記癌が R C C である、請求項 17 に記載の医薬組成物。

【請求項 19】

前記 P D - 1 アンタゴニストが、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である、請求項 12 ~ 18 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

前記 P D - 1 アンタゴニストが抗 P D - 1 抗体である、請求項 12 ~ 18 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

前記 P D - 1 アンタゴニストが、ペムプロリズマブ又はニボルマブである、請求項 12 ~ 20 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 22】

前記 P D - 1 アンタゴニストがペムプロリズマブである、請求項 12 ~ 21 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 23】

レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩が、毎日投与され；且つ前記 P D - 1 アンタゴニストが、ペムプロリズマブであり、3週毎に1回投与される、請求項 12 ~ 22 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 24】

レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩が、24 mg、20 mg、18 mg、12 mg、又は 8 mg の 1 日用量にて投与され；且つペムプロリズマブが、3週毎に1回、成人対象について 200 mg、又は小児対象について 2 mg / kg（最大 200 mg）の用量にて投与される、請求項 23 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 25】

レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩が、レンバチニブメシル酸塩であり；且つ E 7 3 8 6 又はその薬学的に許容できる塩が、E 7 3 8 6 である、請求項 12 ~ 24 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 26】

癌の治療用の薬剤の製造のための、請求項 12 ~ 25 のいずれか一項に記載の医薬組成物の使用。

30

【請求項 27】

癌の治療に使用される、請求項 12 ~ 25 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

請求項 1 ~ 27 のいずれか一項に記載の方法、キット、又は使用。

【請求項 29】

レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩が、毎日投与され；且つ前記 P D - 1 アンタゴニストが、ペムプロリズマブであり、6週毎に1回投与される、請求項 12 ~ 22 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

40

【技術分野】

【0001】

癌の治療に有用な併用療法が開示される。プログラム死 1 (P D - 1) タンパク質のアンタゴニストであるレンバチニブ、マルチ受容体チロシンキナーゼ (マルチ R T K) 阻害剤又はその薬学的に許容できる塩、及び C B P と - カテニン間の相互作用を阻害する C B P / - カテニン阻害剤阻害剤である E 7 3 8 6、又はその薬学的に許容できる塩を含む併用療法が開示される。また、抗 P D - 1 抗体、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及び E 7 3 8 6 又はその薬学的に許容できる塩の組合せを含有する腫瘍治療剤が開示される。

【背景技術】

50

【 0 0 0 2 】

PD - 1 は、免疫調節、及び末梢性寛容の維持における重要なプレイヤーとして認識されている。PD - 1 は、ナイーブ T - 、 B - 、及びナチュラルキラー T (NK T) - 細胞において適度に発現され、そしてリンパ球、単球、及び骨髄細胞での T / B 細胞受容体シグナル伝達によって上方制御される (1) 。

【 0 0 0 3 】

PD - 1 についての 2 つの公知のリガンド、PD - L 1 (B 7 - H 1) 及び PD - L 2 (B 7 - D C) が、種々の組織に生じるヒト癌において発現される。例えば卵巣、腎臓、大腸、膵臓、肝臓の癌及びメラノーマの大きなサンプルセットにおいて、PD - L 1 発現が、悪い予後と相関し、そして以降の治療に拘らず、全生存期間を引き下げることが示された (2 ~ 1 3) 。同様に、腫瘍浸潤リンパ球での PD - 1 発現が、乳癌及びメラノーマにおいて、機能不全 T 細胞をマークすることが (1 4 ~ 1 5) 、そして腎癌において、悪い予後と相関することが (1 6) 見出された。PD - L 1 発現腫瘍細胞が、PD - 1 発現 T 細胞と相互作用して、T 細胞活性化及び免疫監視の回避を減弱することによって、腫瘍に対する免疫応答の障害に寄与することが提唱されている。したがって、PD - 1 受容体又は PD - L 1 リガンドに対する抗体が、それらの間での結合を阻害して、腫瘍細胞に及ぼす免疫作用を増大させることができる (2 3) 。

10

【 0 0 0 4 】

PD - 1 と、そのリガンド PD - L 1 及び PD - L 2 の一方又は双方との相互作用を阻害するいくつかのモノクローナル抗体が、FDA によって使用について承認されており、そして更なるモノクローナル抗体が、癌を治療するために臨床開発中である。そのような抗体は、他の承認されたか、又は実験的な癌治療、例えば、放射線、外科手術、化学療法剤、標的治療、腫瘍において調節不全である他のシグナル伝達経路を阻害する剤、及び他の免疫増強剤と組み合わせて投与されれば、有効性が増強されるかもしれないと提唱されている。

20

【 0 0 0 5 】

ペムプロリズマブは、抗 PD - 1 抗体であり、米国において、いくつかの腫瘍型の治療用の単剤療法、又は特定の他の剤との組合せとして承認されている。当該腫瘍型として、メラノーマ、非小細胞肺癌 (NSCLC)、小細胞肺癌 (SCLC)、頭頸部扁平上皮細胞癌 (HNSCC)、古典的ホジキンリンパ腫 (cHL)、縦隔原発大細胞型 B 細胞性リンパ腫 (PMBC L)、尿路上皮癌、高頻度マイクロサテライト不安定性癌、胃癌、食道癌、子宮頸癌、肝細胞癌 (HCC)、メルケル細胞癌 (MCC)、腎細胞癌 (RCC)、及び子宮内膜癌が挙げられる。

30

【 0 0 0 6 】

チロシンキナーゼは、成長因子シグナル伝達の調節に関係しているので、癌治療にとって重要な標的である。レンパチニブは、腫瘍増殖に関係する他の血管新生促進経路関連 RTK 及び発癌経路関連 RTK (血小板由来成長因子 (PDGF) 受容体 PDGFR ; KIT ; 及び RET プロトオンコジーン (RET) が挙げられる) に加えて、血管内皮成長因子 (VEGF) 受容体 (VEGFR 1 (FLT 1)、VEGFR 2 (KDR)、及び VEGFR 3 (FLT 4))、並びに線維芽細胞増殖因子 (FGF) 受容体 FGFR 1、2、3、及び 4 のキナーゼ活性を選択的に阻害する経口受容体型チロシンキナーゼ (RTK) 阻害剤である。特に、レンパチニブは、X 線結晶構造分析により確認されるように、VEGFR 2 への新しい結合モード (V 型) を有し、そして動態解析に従って、キナーゼ活性の迅速且つ有力な阻害を示す。

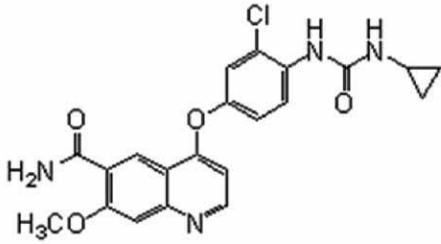
40

【 0 0 0 7 】

レンパチニブの化学名は 4 - [3 - クロロ - 4 - (シクロプロピルアミノカルボニル) アミノフェノキシ] - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミドであり、以下の構造を有する :

50

【化1】



【0008】

10

レンパチニブメシル酸塩は、米国において、少なくとも(a)局所的に再発するか、又は転移性の進行性放射性ヨウ素難治性分化甲状腺癌の患者の治療のために、(b)エベロリムスと組み合わせて、1回の以前の抗血管形成治療後の進行型腎細胞癌(RCC)の患者の治療のために、(c)切除不能肝細胞癌(HCC)の患者の第一選択治療のために、そして(d)ペムプロリズマブと組み合わせて、高頻度マイクロサテライト不安定性(MSI-H)でもミスマッチ修復機能欠損(dMMR)でもない進行型子宮内膜癌の、以前の全身治療の後に疾患が進行して、根治的外科手術も放射線も受けられない患者の治療のために承認されている。レンパチニブメシル酸塩は、更なる腫瘍型のための単剤療法、又は抗PD-1抗体との併用療法としての使用について臨床試験中である。更なる腫瘍型として、膀胱癌、メラノーマ、頭頸部扁平上皮細胞癌、尿路上皮癌、乳癌、胃癌、卵巣癌、大腸癌(CRC)、神経膠芽腫、及び胆道癌が挙げられる。

20

【0009】

一部の癌細胞は、Wntシグナルによって活性化されるβ-カテニンを有することが観察されている。Wntシグナル経路の阻害剤が、抗癌剤として研究されている；しかしながら、どれも実用に至っていない。

【0010】

抗癌剤として臨床開発中のCBP/β-カテニン阻害剤は、ヒトにおいて、他の機構を有する従来のWnt阻害剤よりも毒性が少ない(J. Clin. Oncol. 31巻、2013年(別冊；要約2501頁))。その機構として、CBP(CREB結合タンパク質)とβ-カテニン間の結合の阻害の後に、CBPへの類似性が高いp300が、CBPの代わりにβ-カテニンに結合し、そしてそのような変化が癌増殖を抑制して、分化を誘導すると考えられている(The EMBO Journal 2013年、32巻：1977~1989頁)。

30

【0011】

胆管癌の主要な経路は、Wnt-β-カテニン経路による腫瘍増殖であり得ることが示されている；CBP/β-カテニン阻害剤であるICG-001は、腫瘍増殖を抑制することができる(J. Clin. Invest. 2015年3月2日；125巻(3号)：1269~85頁、doi：10.1172/JCI76452)。

【0012】

従来のWnt阻害剤は、Wntリガンドの産生を阻害し、受容体の機能をブロックし、且つβ-カテニンの分解を促進する等の機構に基づいて、シグナルをブロックする。そのような機構のため、毒性問題が、前臨床研究及び臨床治験において出現し、そして開発は、ほとんどの場合、中断されてきた。Wntシグナル伝達経路は、高度に保存された経路であり、障害と関連しており、且つβ-カテニンが関与する。Wnt/β-カテニン経路は、正常な発生にとって重要である。理論によって拘束されないが、CBP/β-カテニン結合は、Wntシグナル伝達を引き下げると考えられているが、p300/β-カテニンは、Wntシグナル伝達を活性化すると考えられている。

40

【0013】

さらに、β-カテニンはまた、T細胞の分化を抑制することによってT細胞の活性化を抑制することが公知である(J. Immunol. 2011年；186巻：784~79

50

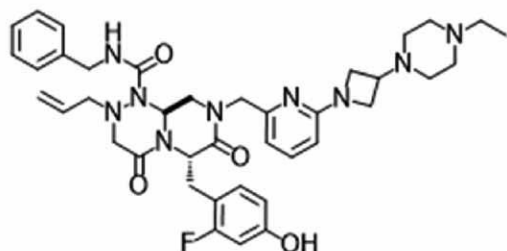
0頁)。したがって、CBP/ - カテニン阻害剤は、T細胞の分化及びT細胞の活性化を促進すると考えられている。

【0014】

化学名が(6S, 9aS) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミドであるE7386は、潜在的なCBP/ - カテニン阻害剤であり、以下の構造を有する：

【化2】

10



【0015】

E7386は、単独で(米国特許第10,259,817号及び米国特許第9,174,998号)、又は抗PD-1抗体との併用療法(米国特許出願公開第2018/0185395号)により、若しくはレンパチニブとの併用療法(カナダ国特許出願公開第3044658号)により、抗腫瘍効果を示すことができる。

20

【0016】

一般に、腫瘍治療剤は多くの場合、個々に投与される場合に、患者の全員に有効であるわけではない。ゆえに、そのような治療剤の治療率を、治療剤を組み合わせることによって上昇させる試みがなされてきた(22)。

【発明の概要】

【0017】

本明細書中で開示されるように、(i)アテゾリズマブでないPD-1アンタゴニスト、(ii)レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及び(iii)E7386又はその薬学的に許容できる塩の組合せの投与が、予想外に優れた抗腫瘍効果を達成する。

30

【0018】

個体において癌を治療する方法であって、個体に、アテゾリズマブでないPD-1アンタゴニスト、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE7386又はその薬学的に許容できる塩を含む併用療法を施すことを含む方法が提供される。一部の例において、個体はヒトである。癌は、固形腫瘍、例えば、腎細胞癌(RCC)、大腸癌(CRC)、肝細胞癌(HCC)、メラノーマ、膀胱癌、乳癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、子宮体癌、尿路上皮癌、及び頭頸部扁平上皮細胞癌であってもよい。癌は、進行型の癌であっても転移性の癌であってもよい。

40

【0019】

上記方法のPD-1アンタゴニストは、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片であってもよい。一部の例において、アンタゴニストは抗PD-1抗体である。アンタゴニストは、ペムプロリズマブであってもニボルマブであってもよい。

【0020】

一部の例において、上記方法のPD-1アンタゴニストは、ペムプロリズマブ、セミブリマブ、又はニボルマブ、好ましくはペムプロリズマブである。ペムプロリズマブの投与は、一部の治療計画において、レンパチニブ若しくはその薬学的に許容できる塩、及び/又はE7386若しくはその薬学的に許容できる塩の投与の後に起こってもよい。一部の例において、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、ペムプロリズマブ及び/若

50

しくはE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩の後に投与される。

【0021】

癌と診断されたヒト個体を治療する方法であって、個体に少なくとも24週間、併用療法を施すことを含む方法が提供される。併用療法は、ペムプロリズマブ、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩を含む。レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、レンバチニブとして各々、24 mg、20 mg、18 mg、12 mg、又は8 mgの1日用量にて投与されてもよく、そしてペムプロリズマブは、200 mg Q 3 W又は400 mg Q 6 Wの用量にて投与されてもよい。E 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩は、1日あたり約0.01~1000 mg / 個体の体重kgに及ぶ用量で投与することができる。

10

【0022】

癌を治療するための、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩との組合せに使用される、PD-1アンタゴニストを含む薬剤が提供される。

【0023】

また、癌を治療するための、PD-1アンタゴニスト、及びE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩との組合せに使用される、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩を含む薬剤が提供される。

【0024】

また、癌を治療するための、PD-1アンタゴニスト、及びレンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩と組み合わせて使用される、E 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩を含む薬剤が提供される。

20

【0025】

また、癌を治療するための治療組合せの使用が提供され、治療組合せは、PD-1アンタゴニスト、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩を含む。

【0026】

また、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩と組み合わせて投与される場合の、個体において癌を治療するための薬剤の製造におけるPD-1アンタゴニストの使用が提供される。また、PD-1アンタゴニスト、及びE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩と組み合わせて投与される場合の、個体において癌を治療するための薬剤の製造におけるレンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩の使用が提供される。また、PD-1アンタゴニスト、及びレンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩と組み合わせて投与される場合の、個体において癌を治療するための薬剤の製造におけるE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩の使用が提供される。

30

【0027】

また、個体において癌を治療するための薬剤の製造における、PD-1アンタゴニスト、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩の使用が提供される。前記薬剤は、キットを含むことができ、そしてまた、キットは、個体において癌を治療するために、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩と組み合わせてPD-1アンタゴニストを用いるための説明書を含む添付文書を含む。

40

【0028】

治療法、薬剤、及び使用の全てにおいて、PD-1アンタゴニストは、PD-1へのPD-L1の結合を阻害し、そして好ましくは、PD-1へのPD-L2の結合をも阻害する。上述の治療法、薬剤、及び使用の一部において、PD-1アンタゴニストは、PD-1に、又はPD-L1に特異的に結合して、PD-1へのPD-L1の結合をブロックするモノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。例えば、PD-1アンタゴニストは、重鎖及び軽鎖を含む抗PD-1抗体であり得、重鎖及び軽鎖は、図6に示されるアミノ酸配列(配列番号21及び配列番号22)を含む。また、抗PD-1抗体、レンバチニブ

50

又はその薬学的に許容できる塩、及び E 7 3 8 6 又はその薬学的に許容できる塩の併用を含み得る、腫瘍を治療する方法が提供される。

【0029】

併用療法、治療法、薬剤、及び使用の一部において、個体はヒトであり、癌は固形腫瘍であり、一部の例において、固形腫瘍は、腎細胞癌 (RCC)、大腸癌 (CRC)、肝細胞癌 (HCC)、メラノーマ、膀胱癌、尿路上皮癌、乳癌、非小細胞肺癌 (NSCLC)、子宮体癌、及び頭頸部扁平上皮細胞癌、又は本明細書中で開示されるあらゆる癌である。

【0030】

また、癌が、PD-L1及びPD-L2の一方又は双方の発現について陽性反応を示すならば、併用療法、治療法、薬剤、及び使用のいずれも利用することができる。さらに他の例において、癌は、PD-L1発現を上昇させている。

10

【0031】

併用療法、治療法、薬剤、及び使用の一部において、個体はヒトであり得、癌は、ヒトPD-L1について陽性反応を示し、腎細胞癌 (RCC)、大腸癌 (CRC)、肝細胞癌 (HCC)、メラノーマ、膀胱癌、乳癌、非小細胞肺癌 (NSCLC)、子宮体癌、及び頭頸部扁平上皮細胞癌からなる群から選択される。一実施形態において、膀胱癌は、尿路上皮癌である。

【図面の簡単な説明】

【0032】

20

【図1】図1は、例示的な抗PD-1モノクローナル抗体についての軽鎖CDR及び重鎖CDRのアミノ酸配列 (配列番号1~6)を示す。

【図2】図2は、別の例示的な抗PD-1モノクローナル抗体についての軽鎖CDR及び重鎖CDRのアミノ酸配列 (配列番号7~12)を示す。

【図3】図3は、例示的な抗PD-1モノクローナル抗体についての重鎖可変領域及び全長重鎖のアミノ酸配列 (配列番号13及び配列番号14)を示す。

【図4】図4は、例示的な抗PD-1モノクローナル抗体についての代替の軽鎖可変領域のアミノ酸配列 (配列番号15~17)を示す。

【図5A】図5Aは、例示的な抗PD-1モノクローナル抗体についての代替の軽鎖のアミノ酸配列を示しており、K09A-L-11軽鎖及びK09A-L-16軽鎖についてのアミノ酸配列 (それぞれ配列番号18及び19)を示す。

30

【図5B】図5Bは、例示的な抗PD-1モノクローナル抗体についての代替の軽鎖のアミノ酸配列を示しており、K09A-L-17軽鎖についてのアミノ酸配列 (配列番号20)を示す。

【図6】図6は、ペムプロリズマブについての重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列 (それぞれ配列番号21及び22)を示す。

【図7】図7は、ニボルマブについての重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列 (それぞれ配列番号23及び24)を示す。

【図8】図8は、3重薬物治療薬組合せの各々の単剤療法、2薬物治療 (レンパチニブ+E7386、及びペムプロリズマブ+レンパチニブ)、及び3重薬物治療 (E7386+レンパチニブ+ペムプロリズマブ)の、マウスにおけるインビボ治療についてのデータを示す。平均±SEとして示す。* : P < 0.05、**** : P < 0.0001 (Log変換した値を用いる、反復測定されるDunnettの多重比較による、3重組合せに対して)。レンパチニブは、レンパチニブメシル酸塩である。

40

【図9】図9は、図8に示す各群の、29日目の相対腫瘍体積を示す。データを、平均±SEとして示す。

【図10A】図10Aは、実施例2に記載する研究に使用したマウス細胞株、培地、動物系統、及び条件を要約する。

【図10B】図10Bは、実施例2に記載する研究に使用したマウス細胞株、培地、動物系統、及び条件を要約する。

50

【図10C】図10Cは、実施例2に記載する研究に使用したマウス細胞株、培地、動物系統、及び条件を要約する。

【図11】図11は、実施例2に記載する研究において得たデータを示す。LEN = レンバチニブ。PD-1Ab及びPD-1 = 抗PD-1抗体。LEN/PD-1 = レンバチニブ及び抗PD-1抗体。E78386 = (6S, 9aS) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6H) - カルボキサミド。E7386/LEN = E7386及びレンバチニブ。E7386/LENPD-1 = E7386、レンバチニブ、及び抗PD-1抗体。

10

【図12A】図12A ~ 図12Gは、実施例2に記載するように定義される最良平均応答(%)を示すウォーターフォールグラフを示す。各図において、細胞株をデータについて示す。水平のドット黒色線は、SD及びPR(それぞれ上部の線及び下部の線)を示す。SD = 安定、PR = 部分奏功。図12Aは、治療なしデータを示す。

【図12B】図12Bは、抗PD-1抗体(Ab)についてのデータを示す。

【図12C】図12Cは、25mg/kgでのE7386についてのデータを示す。

【図12D】図12Dは、10mg/kgでのレンバチニブについてのデータを示す。

【図12E】図12Eは、E7386及びレンバチニブの組合せについてのデータを示す。

20

【図12F】図12Fは、レンバチニブ及び抗PD-1抗体の組合せについてのデータを示す。

【図12G】図12Gは、E7386、レンバチニブ、及び抗PD-1抗体の組合せについてのデータを示す。

【発明を実施するための形態】

【0033】

略語。詳細な説明及び実施例の全体を通して、以下の略語を用いる：

BOR 最良総合効果
 BID 1日に2回の1回用量
 CBP CREB結合タンパク質
 CBR 臨床的有用率
 CDR 相補性決定領域
 CHO チャイニーズハムスター卵巣
 CR 完全奏効
 CRC 大腸癌
 DCR 病勢コントロール率
 DFS 無病生存率
 DLT 用量制限毒性
 DOR 奏功期間
 DSDR 持続的安定率
 FFPE ホルマリン固定、パラフィン包埋
 FR フレームワーク領域
 HCC 肝細胞癌
 IgG 免疫グロブリンG
 IHC 免疫組織化学又は免疫組織化学的
 irRC 免疫関連応答基準
 IV 静脈
 MCC メルケル細胞癌
 MTD 最大耐量
 NCBI 国立生物工学情報センター

30

40

50

N C I 国立癌研究所
 N K T ナチュラルキラー T 細胞
 N S C L C 非小細胞肺癌
 O R R 奏効率
 O S 全生存期間
 P D 進行性疾患
 P D - 1 プログラム細胞死 1
 P D - L 1 プログラム細胞死 1 リガンド 1、別名 B 7 - H 1
 P D - L 2 プログラム細胞死 1 リガンド 2、別名 B 7 - D C
 P F S 無増悪生存
 P R 部分奏効
 Q 2 W 2 週毎の 1 回用量
 Q 3 W 3 週毎の 1 回用量
 Q D 1 日あたり 1 回用量
 R C C 腎細胞癌
 R E C I S T 固形腫瘍における応答評価基準
 R T K 受容体チロシンキナーゼ
 S C L C 小細胞肺癌
 S D 安定
 V E G F 血管内皮成長因子
 V H 免疫グロブリン重鎖可変領域
 V K 免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域

10

20

30

40

50

【 0 0 3 4 】

定義。方法、組成物、及び使用がより容易に理解され得るように、特定の技術用語及び科学用語を以下で具体的に定義する。本明細書において他の場所で特に定義されない限り、本明細書中で用いられる他の全ての技術用語及び科学用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有する。

【 0 0 3 5 】

数値的に定義済みのパラメータ（例えば、P D - 1 アンタゴニストである（6 S , 9 a S）- N - ベンジル - 8 - （ { 6 - [3 - （ 4 - エチルピペラジン - 1 - イル）アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル） - 6 - （ 2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル） - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - （プロパ - 2 - エン - 1 - イル）ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 （ 6 H） - カルボキサミド（ E 7 3 8 6）若しくはその薬学的に許容できる塩、又はレンパチニブ若しくはその薬学的に許容できる塩の用量、或いは本明細書中に記載される併用療法による治療時間の長さ）を修飾するのに用いられる場合の「約」は、パラメータが、当該パラメータについて明示される数値の 1 0 % 未満又は当該値の 1 0 % 超程度も変動し得ることを意味する。例えば、約 2 0 m g の用量は、1 8 m g ~ 2 2 m g の間で変動してもよい。

【 0 0 3 6 】

「好ましくは」は、より所望される選択を意味する。例えば、数値的に定義されているパラメータを修飾するのに用いられる場合、「好ましくは」は、好ましいパラメータが、当該パラメータについての別の値に勝る結果の向上をもたらすことを示す。この「好ましくは」の意味は、米国外でのみ当てはまる。米国について、「好ましくは」を用いるあらゆる文は、あたかも当該用語が存在しないが如く読まれるべきである。

【 0 0 3 7 】

添付の特許請求の範囲を含む、本明細書中で用いられる単語の単数形、例えば「 a」、 「 a n」、及び「 t h e」は、文脈が明らかにそうでないと述べていない限り、対応する複数の参照を含む。

【 0 0 3 8 】

動物、ヒト、実験対象、細胞、組織、器官、又は生体液に使用される「投与」及び「処

置」は、動物、ヒト、対象、細胞、組織、器官、又は生体液への外因性医薬、治療薬、診断薬、又は組成物の接触を指す。細胞の処置は、細胞への試薬の接触、及び流体（流体は、細胞と接触している）への試薬の接触を包含する。また、「投与」及び「処置」は、例えば細胞の、試薬、診断、結合化合物による、又は別の細胞によるインビトロ処置及びエクスピボ処置を意味する。用語「対象」は、あらゆる生物、好ましくは動物、より好ましくは哺乳動物（例えば、ラット、マウス、イヌ、ネコ、及びウサギ）、最も好ましくはヒトを含む。

【0039】

本明細書中で用いられる用語「抗体」は、所望の生物学的活性又は結合活性を示す抗体のあらゆる形態を指す。ゆえに、当該用語は、最も広い意味で用いられて、具体的には、以下に限定されないが、モノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体が挙げられる）、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、ヒト化、完全ヒト抗体、キメラ抗体、及びラクダ化単ドメイン抗体をカバーする。「親抗体」は、意図する使用のための抗体の修飾、例えばヒト治療薬としての使用のための抗体のヒト化の前の、抗原への免疫系の曝露によって得られる抗体である。

10

【0040】

一般に、基本的な抗体構造単位は、テトラマーを含む。各テトラマーは、ポリペプチド鎖の2つの同一の対を含み、各対は、1つの「軽」鎖（約25kDa）及び1つの「重」鎖（約50～70kDa）を有する。各鎖のアミノ末端部分は、抗原認識を主に担う、約100～110個以上のアミノ酸の可変領域を含む。重鎖のカルボキシ末端部分は、エフェクター機能を主に担う定常領域を定義し得る。典型的には、ヒト軽鎖は、カッパ軽鎖及びラムダ軽鎖と分類される。さらに、ヒト重鎖は典型的に、ミュー、デルタ、ガンマ、アルファ、又はイプシロンと分類され、抗体のアイソタイプをそれぞれIgM、IgD、IgG、IgA、及びIgEと定義する。軽鎖及び重鎖内で、可変領域及び定常領域は、約12個以上のアミノ酸の「J」領域によって結合されており、重鎖もまた、約10個超のアミノ酸の「D」領域を含む。全般的に、FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY第7章（Paul, W. 編、第2版、Raven Press, N.Y.（1989年）参照。

20

【0041】

各軽鎖/重鎖対の可変領域は、抗体結合部位を形成する。ゆえに、一般に、インタクト抗体は2つの結合部位を有する。二機能抗体又は二重特異性抗体を除いて、2つの結合部位は、一般に、同じである。

30

【0042】

典型的には、相補性決定領域（CDR）とも呼ばれる、重鎖及び軽鎖双方の可変ドメインは、3つの超可変領域を含み、これらは、比較的保存されたフレームワーク領域（FR）内に位置する。CDRは、通常、フレームワーク領域によってアラインされて、特定のエピトープへの結合を可能にする。一般に、N末端からC末端まで、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインは双方とも、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、及びFR4を含む。各ドメインへのアミノ酸の割当ては、通常、SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST、Kabata; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 第5版; NIH出版番号91-3242（1991年）; Kabat（1978年）Adv. Prot. Chem. 32号: 1～75頁; Kabata（1977年）J. Biol. Chem. 252号: 6609～6616頁; Chothia（1987年）J. Mol. Biol. 196巻: 901～917頁、又はChothia（1989年）Nature 342巻: 878～883頁の定義に従う。

40

【0043】

本明細書中で用いられる用語「超可変領域」は、抗原結合を担う抗体のアミノ酸残基を指す。超可変領域は、「相補性決定領域」又は「CDR」由来のアミノ酸残基（すなわち、軽鎖可変ドメインにおけるCDRL1、CDRL2、及びCDRL3、並びに重鎖可変

50

ドメインにおけるCDRH1、CDRH2、及びCDRH3)を含む。Kabataら(1991年)SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST、第5版、Public Health Service、National Institutes of Health、Bethesda、Md. (配列によって抗体のCDR領域を定義する)参照;また、Chothia及びLesk(1987年)J. Mol. Biol. 196巻:901~917頁(構造によって抗体のCDR領域を定義する)参照。本明細書中で用いられる用語「フレームワーク」又は「FR」残基は、CDR残基と本明細書中で定義される超可変領域残基以外の可変ドメイン残基を指す。

【0044】

10

本明細書中で用いられる「可変領域」又は「V領域」は、異なる抗体間で配列が可変的であるIgG鎖のセグメントを意味する。「可変領域」又は「V領域」は、軽鎖においてKabata残基109に、そして重鎖において113にまで及ぶ。

【0045】

特に明記しない限り、本明細書中で用いられる「抗体断片」又は「抗原結合断片」は、抗体の抗原結合断片、すなわち、全長抗体によって結合される抗原に特異的に結合する能力を保持する抗体断片、例えば、1つ又は複数のCDR領域を保持する断片を指す。抗体結合断片の例として、以下に限定されないが、Fab、Fab'、F(ab')₂、及びFv断片;ダイアボディ;直鎖状抗体;単鎖抗体分子、例えばsc-Fv;抗体断片から形成されるナノボディ及び多特異性抗体が挙げられる。

20

【0046】

指定された標的タンパク質に「特異的に結合する」抗体は、他のタンパク質と比較して、当該標的に対する優先的な結合を示す抗体であるが、この特異性は、絶対的な結合特異性を必要としない。抗体は、その結合が、例えば偽陽性等の不所望の結果をもたらすことなく、サンプルにおける標的タンパク質の存在の決定因子であるならば、その意図された標的に「特異的である」と考えられる。抗体又はその結合断片は、標的タンパク質に、非標的タンパク質との親和性よりも少なくとも2倍大きな、好ましくは少なくとも10倍大きな、より好ましくは少なくとも20倍大きな、最も好ましくは少なくとも100倍大きな親和性で結合することとなる。本明細書中で用いられる抗体は、所与のアミノ酸配列、例えば成熟ヒトPD-1又はヒトPD-L1分子のアミノ酸配列を含むポリペプチドに結合するが、当該配列を欠くタンパク質に結合しないならば、当該配列を含むポリペプチドに特異的に結合すると言われる。

30

【0047】

「キメラ抗体」は、重鎖及び/又は軽鎖の部分が、特定の種(例えばヒト)に由来するか、又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一であるか、又は相同である一方、鎖(複数可)の残りが、別の種(例えばマウス)に由来するか、又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体、並びに、所望の生物活性を示す限り、そのような抗体の断片における対応する配列と同一であるか、又は相同である抗体を指す。

【0048】

40

「ヒト抗体」は、ヒト免疫グロブリンタンパク質配列のみを含む抗体を指す。ヒト抗体は、マウスにおいて、マウス細胞において、又はマウス細胞に由来するハイブリドーマにおいて産生されるならば、マウス炭水化物鎖を含有し得る。同様に、「マウス抗体」又は「ラット抗体」は、マウス免疫グロブリン配列又はラット免疫グロブリン配列のみをそれぞれ含む抗体を指す。

【0049】

「ヒト化抗体」は、非ヒト(例えばマウス)抗体及びヒト抗体由来の配列を含有する抗体の形態を指す。そのような抗体は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含有する。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含むこととなり、超可変ループの全て又は実質的に全てが、非ヒト免疫グロブリン

50

の超可変ループに相当し、そしてFR領域の全て又は実質的に全てが、ヒト免疫グロブリン配列のFR領域である。また、ヒト化抗体は、任意選択で、免疫グロブリン定常領域(Fc)、典型的にはヒト免疫グロブリンのFcの少なくとも一部を含む。親の齧歯類抗体からヒト化抗体を区別するのに必要な場合、接頭辞「hum」、「hu」、又は「h」が、抗体クローン表示に加えられる。齧歯類抗体のヒト化形態は、通常、親の齧歯類抗体の同じCDR配列を含むが、親和性を増大させるための、ヒト化抗体の安定性を増大させるための、又は他の理由のための特定のアミノ酸置換が含まれてもよい。

【0050】

「単離した抗体」及び「単離した抗体断片」は、精製状況を指し、そのような文脈において、命名された分子は、他の生体分子、例えば、核酸、タンパク質、脂質、炭水化物、又は他の材料、例えば細胞残渣及び増殖培地から実質的に遊離していることを意味する。通常、用語「単離した」は、そのような材料が、本明細書中に記載される結合化合物の実験的又は治療的使用に実質的に干渉する量で存在しない限り、そのような材料の完全な不在を指すことも、水、バッファ、又は塩の不在を指すことも意図されない。

10

【0051】

本明細書中で用いられる「Kabata」は、Elvin A. Kabat ((1991年) SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST、第5版、Public Health Service、National Institutes of Health、Bethesda、Md.)によって創始された免疫グロブリンアラインメント及びナンバリング系を意味する。

20

【0052】

本明細書中で用いられる「モノクローナル抗体」又は「mAb」若しくは「Mab」は、実質的に均一な抗体の集団を指す。すなわち、当該集団を含む抗体分子は、微量で存在する可能性がある、天然に存在する変異を除いて、アミノ酸配列が同一である。これに対し、従来(ポリクローナル)抗体調製物は典型的に、可変ドメイン、特にCDR内に様々なアミノ酸配列を有する多数の様々な抗体を含み、これらは多くの場合、様々なエピトープに特異的である。修飾子「モノクローナル」は、抗体の実質的に均一な集団から得られる抗体の性質を示し、特定のいずれかの方法による抗体の産生を必要とすると解釈されるべきでない。例えば、治療法、薬剤、及び開示される使用に従って用いられることとなるモノクローナル抗体は、Kohlerら(1975年) Nature 256巻: 495頁によって最初に記載されるハイブリドーマ法によって製造されてもよいし、組換えデオキシリボ核酸(DNA)法によって製造されてもよい(例えば米国特許第4,816,567号参照)。また、「モノクローナル抗体」は、Clacksonら(1991) Nature 352巻: 624~628頁及びMarksら(1991年) J. Mol. Biol. 222巻: 581~597頁に記載される技術を用いて、ファージ抗体ライブラリから単離されてもよい。例えば、Presta(2005年) J. Allergy Clin. Immunol. 116巻: 731頁も参照。

30

【0053】

本明細書中で用いられる「CDR」又は「CDRs」は、特に明記しない限り、Kabataナンバリング系を用いて定義される、免疫グロブリン可変領域の相補性決定領域(複数可)を意味する。

40

【0054】

本明細書中に記載される併用療法等の治療計画により治療された癌患者に言及する場合の「抗腫瘍応答」は、少なくとも1つのポジティブな治療効果、例えば、癌細胞数の引下げ、腫瘍サイズの引下げ、末梢器官中への癌細胞浸潤速度の引下げ、腫瘍転移速度若しくは腫瘍成長速度の引下げ、又は無増悪生存を意味する。癌におけるポジティブな治療効果は、いくつかの方法で測定することができる(W. A. Weber、J. Null、Med. 50巻: 1S~10S頁(2009年); Eisenhauerら、前掲参照)。一部の例において、本明細書中に記載される併用療法に対する抗腫瘍応答は、RECIST 1.1基準(固形腫瘍における応答評価基準)、二次元irRC(免疫関連応答基準)、

50

又は一次元 *irRC* を用いて評価される。一部の例において、抗腫瘍応答は、*SD*、*PR*、*CR*、*PFS*、又は *DFS* のいずれかである。

【0055】

「二次元 *irRC*」は、Wolchok JDら、「Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria」、*Clin Cancer Res.* 15巻(23号):7412~7420頁(2009年)に記載される基準のセットを指す。これらの基準は、標的病変の二次元腫瘍測定値を利用し、当該測定値は、各病変の最長径及び最長垂直径を乗算(cm^2)することによって得られる。

10

【0056】

「生物学的治療剤」は、腫瘍の維持及び/若しくは成長を支持するか、又は抗腫瘍免疫応答を抑制するあらゆる生物学的経路におけるリガンド/受容体シグナル伝達をブロックする生体分子、例えば抗体又は融合タンパク質を意味する。生物学的治療剤のクラスとして、以下に限定されないが、*VEGF*、表皮成長因子受容体(*EGFR*)、*Her2/neu*、他の成長因子受容体、*CD20*、*CD40*、*CD-40L*、*CTLA-4*、*OX-40*、*4-1BB*、及び *ICOS* に対する抗体が挙げられる。

【0057】

用語「癌」、「癌性」、「腫瘍」、又は「悪性」は、典型的には無秩序な細胞成長によって特徴付けられる、哺乳動物における生理学的状態を指すか、又は説明する。癌の例として、以下に限定されないが、腎細胞癌(*RCC*)、大腸癌(*CRC*)、肝細胞癌(*HCC*)、メラノーマ、膀胱癌、例えば尿路上皮癌、乳癌、非小細胞肺癌(*NSCLC*)、子宮体癌、及び頭頸部扁平上皮細胞癌が挙げられる。癌の別の特定の例として、腎細胞癌(*RCC*)が挙げられる。癌の更なる特定の例として、腎明細胞癌が挙げられる。癌は原発性癌であり得るが、転移性疾患(例えば、リンパ障害又は他の器官障害)が挙げられる癌病期分類において、進行型である可能性が高い。開示される治療法、薬剤、及び開示される使用に従って治療され得る癌として、試験される組織サンプルにおける *PD-L1* 及び *PD-L2* の一方又は双方の高い発現によって特徴付けられる癌が挙げられる。

20

【0058】

「*CBR*」又は「臨床的有用率」は、*CR* + *PR* + 持続性のある *SD* を意味する。

30

【0059】

「化学療法剤」は、癌の治療において有用な化合物である。本明細書中に記載される治療的組合せ並びにその方法及び使用と組み合わせることができる化学療法剤のクラスとして、以下に限定されないが：アルキル化剤、代謝拮抗薬、キナーゼ阻害剤、紡錘体毒植物アルカロイド、細胞傷害性/抗腫瘍抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤、光増感剤、抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体調節因子(*SERM*)、抗プロゲステロン、エストロゲン受容体ダウンレギュレータ(*ERD*)、エストロゲン受容体アンタゴニスト、黄体形成ホルモン放出ホルモンアゴニスト、抗アンドロゲン、アロマターゼ阻害剤、*EGFR* (表皮成長因子受容体)阻害剤、*VEGF* (血管内皮成長因子)阻害剤、*VEGFR* (血管内皮成長因子受容体)阻害剤、並びに異常な細胞増殖又は腫瘍成長に関係している遺伝子の発現を阻害するアンチセンスオリゴヌクレオチドが挙げられる。本明細書中で開示される治療法に有用な化学療法剤として、細胞増殖抑制剤及び/又は細胞毒性剤が挙げられる。

40

【0060】

本明細書中で用いられる「*Chothia*」は、Al-Lazikaniら、*JMB* 273巻:927~948頁(1997年)に記載される抗体ナンバリング系を意味する。

【0061】

「含むこと(*Comprising*)」又は変形、例えば、「含む(*comprise*)」、「含む(*comprises*)」、又は「で構成される(*comprised o*

50

f)」は、明らかな文言又は必須の含意に起因する、文脈上別段の解釈を要する場合を除き、本明細書及び特許請求の範囲の全体を通して、包括的な意味で、すなわち、明示される特徴の存在を指定するが、開示される治療法、薬剤、及び開示される使用のいずれの操作又は有用性をも物質的に増強し得る更なる特徴の存在又は追加を排除しないために用いられる。

【 0 0 6 2 】

「保存的修飾バリエーション」又は「保存的置換」は、タンパク質におけるアミノ酸の、類似した特徴（例えば、電荷、側鎖サイズ、疎水性／親水性、骨格高次構造、及び剛性その他）を有する他のアミノ酸による、タンパク質の生物活性又は他の所望される特性、例えば抗原親和性及び／又は特異性を変更することなく、変化を頻繁に生じさせることができるような置換を指す。当業者であれば、一般に、ポリペプチドの必須ではない領域における単一のアミノ酸置換が、生物活性を実質的に変更しないことを認識する（例えば、Watsonら（1987年）Molecular Biology of the Gene、The Benjamin/Cummings Pub. Co.、224頁（第4版）参照）。また、構造的に、又は機能的に類似したアミノ酸の置換は、生物活性を損なう可能性は低い。例示的な保存的置換を、以下の表1に示す。

【 0 0 6 3 】

【表1】

表 1.例示的な保存的アミノ酸置換

元の残基	保存的置換
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His
Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu

【 0 0 6 4 】

本明細書及び特許請求の範囲の全体を通して用いられる「から本質的になる (consists essentially of)」、及び変形、例えば「から本質的になる (consist essentially of)」又は「から本質的になること (consisting essentially of)」は、記載されるあらゆる要素又は要素の群の包含を、そして指定された投薬計画、方法、又は組成物の基本的な特性又は新規の特性を物質的に変えない、記載される要素と類似するか、又は異なる性質の、他の要素の任意選択の包含を示す。非限定の例として、記載されるアミノ酸配列から本質的になる PD - 1 アンタゴニストはまた、結合化合物の特性に物質的に影響を与えない 1 つ又は複数のアミノ酸残基の置換を含む 1 つ又は複数のアミノ酸を含んでもよい。

【 0 0 6 5 】

「 D C R 」又は「病勢コントロール率」は、 C R + P R + S D を意味する。

【 0 0 6 6 】

「診断抗 PD - L モノクローナル抗体」は、特定の哺乳動物細胞の表面に発現される指定された PD - L (PD - L 1 又は P D L 2) の成熟形態に特異的に結合する m A b を意味する。成熟 PD - L は、リーダーペプチドとも称される前分泌リーダー配列を欠いている。用語「 PD - L 」及び「成熟 PD - L 」は、本明細書中で互換的に用いられており、特に明記しない限り、又は文脈から容易に明らかのように、同じ分子を意味することが理解されるであろう。

【 0 0 6 7 】

本明細書中で用いられる診断抗ヒト PD - L 1 m A b 又は抗 h P D - L 1 m A b は、成熟ヒト PD - L 1 に特異的に結合するモノクローナル抗体を指す。成熟ヒト PD - L 1 分子は、以下の配列のアミノ酸 1 9 ~ 2 9 0 からなる：

MRIFAVFIFMTYWHELLNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVY
WEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVY
RCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDVPTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTS
SDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIP
ELPLAHPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMMDVKKCGIQDTNSKKQSD
THLEET (配列番号 2 5) 。

【 0 0 6 8 】

F F P E 腫瘍組織切片における PD - L 1 発現の I H C 検出のための診断 m A b として有用な診断抗ヒト PD - L 1 m A b の具体例が、抗体 2 0 C 3 及び抗体 2 2 C 3 であり、これらは 2 0 1 3 年 1 2 月 1 8 日出願の国際出願 P C T / U S 1 3 / 0 7 5 9 3 2 号 (2 0 1 4 年 6 月 2 6 日に国際公開第 2 0 1 4 / 1 0 0 0 7 9 号として公開) に記載されている。 F F P E 組織切片における PD - L 1 発現の I H C 検出に有用であることが報告されている別の抗ヒト PD - L 1 m A b (Chen , B . J . ら、 Clin . Cance r Res . 1 9 巻 : 3 4 6 2 ~ 3 4 7 3 頁 (2 0 1 3 年)) が、 Sino Biolo gical , Inc . (Beijing , P . R . China ; カタログ番号 1 0 0 8 4 - R 0 1 5) から公的に入手可能なウサギ抗ヒト PD - L 1 m A b である。

【 0 0 6 9 】

「 D S D R 」又は「持続的安定率」は、 2 3 週間の S D を意味する。

【 0 0 7 0 】

本明細書中で用いられる「フレームワーク領域」又は「 F R 」は、 C D R 領域を除く免疫グロブリン可変領域を意味する。

【 0 0 7 1 】

「相同性」は、 2 つのポリペプチド配列が最適にアラインされた場合の、当該 2 つのポリペプチド配列間の配列類似性を指す。 2 つの比較される配列の双方における位置が、同じアミノ酸モノマーサブユニットによって占められている場合、例えば、 2 つの異なる A b の軽鎖 C D R 内の位置がアラニンによって占められているならば、 2 つの A b は、その位置にて相同である。相同性のパーセントは、 2 つの配列によって共有される相同位置の数を、比較される位置の総数で割った値 × 1 0 0 である。例えば、配列が最適にアライン

10

20

30

40

50

された場合に、2つの配列内の位置の10個のうち8つがマッチするか、又は相同であるならば、2つの配列は80%相同である。通常、2つの配列が、最大のパーセント相同性を与えるようにアラインされた場合に、比較はなされる。例えば、比較は、米国国立医学図書館の登録商標であるBasic Local Alignment Search Tool (BLAST (登録商標)) アルゴリズムによって実行することができ、アルゴリズムのパラメータは、各参照配列の全長にわたって、各配列間で最も大きなマッチを与えるように選択される。

【0072】

以下の代表的な参考文献が、配列分析に多くの場合用いられるBLAST (登録商標) アルゴリズムに関する: BLAST ALGORITHMS: Altschul, S. F. 5 (1990年) J. Mol. Biol. 215巻: 403~410頁; Gish, W. 5 (1993年) Nature Genet. 3: 266~272頁; Madden, T. L. 5 (1996年) Meth. Enzymol. 266巻: 131~141頁; Altschul, S. F. 5 (1997年) Nucleic Acids Res. 25巻: 3389~3402頁; Zhang, J. 5 (1997年) Genome Res. 7巻: 649~656頁; Wootton, J. C. 5 (1993年) Comput. Chem. 17巻: 149~163頁; Hancock, J. M. 5 (1994年) Comput. Appl. Biosci. 10巻: 67~70頁; ATLAS OF PROTEIN SEQUENCE AND STRUCTURE (1978年) 5巻、別冊3. M. O. Dayhoff (編)、345~352頁、Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DCにおけるALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M. O. 5、「A model of evolutionary change in proteins.」; ATLAS OF PROTEIN SEQUENCE AND STRUCTURE (1978年) 5巻、別冊3. M. O. Dayhoff (編)、353~358頁、Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DCにおけるSchwartz, R. M. 5、「Matrices for detecting distant relationships.」; Altschul, S. F. (1991年) J. Mol. Biol. 219巻: 555~565頁; States, D. J. 5 (1991年) Methods 3巻: 66~70頁; Henikoff, S. 5 (1992年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89巻: 10915~10919頁; Altschul, S. F. 5 (1993年) J. Mol. Evol. 36: 290~300頁; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S. 5 (1990年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87巻: 2264~2268頁; Karlin, S. 5 (1993年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90巻: 5873~5877頁; Dembo, A. 5 (1994年) Ann. Prob. 22: 2022~2039頁; 及びTHEORETICAL AND COMPUTATIONAL METHODS IN GENOME RESEARCH (S. Suhai編)、(1997年) 1~14頁、Plenum、New YorkにおけるAltschul, S. F. 「Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments.」。

【0073】

本明細書中に記載される併用療法による治療に対する特定の抗腫瘍応答を指す場合の「非レスポンド患者」は、患者が抗腫瘍応答を示さなかったことを意味する。

【0074】

「ORR」又は「奏効率」は、場合によってはCR+PRを指し、ORR (week 24) は、ペムプロリズマブと組み合わせたレンパチニブメシル酸塩による治療の24週後のコホートにおける各患者にirRECISTを用いて測定されるCR及びPRを指す。

【0075】

「患者」又は「対象」又は「個体」は、治療が所望される、又は臨床試験、疫学的研究

に参加している、又は対照として用いられる単一のあらゆる対象を指し、ヒト、並びに哺乳動物の獣医学的患者、例えば、ウシ、ウマ、イヌ、及びネコが挙げられる。

【0076】

PD-1アンタゴニスト。抗PD-1アンタゴニストは、以下の通りである。「PD-1アンタゴニスト」は、癌細胞において発現されるPD-L1の、免疫細胞(T細胞、B細胞、又はNK細胞)において発現されるPD-1への結合をブロックし、そして好ましくは、癌細胞において発現されるPD-L2の、免疫細胞発現PD-1への結合をもブロックするあらゆる化合物又は生体分子を意味する。PD-1及びそのリガンドについての代替の名前又は同義語として、以下が挙げられる：PD-1についてのPDCD1、PD1、CD279、及びSLEB2；PD-L1についてのPDCD1L1、PDL1、B7H1、B7-4、CD274、及びB7-H；並びにPD-L2についてのPDCD1L2、PDL2、B7-DC、Btdc、及びCD273。ヒト個体が治療されることになる治療法、薬剤、及び開示される使用のいずれにおいても、PD-1アンタゴニストは、ヒトPD-L1の、ヒトPD-1への結合をブロックし、好ましくは、ヒトPD-L1及びPD-L2双方の、ヒトPD-1への結合をブロックする。ヒトPD-1アミノ酸配列は、NCBI遺伝子座番号：NP_005009に見出すことができる。ヒトPD-L1及びPD-L2アミノ酸配列は、NCBI遺伝子座番号：NP_054862及びNP_079515にそれぞれ見出すことができる。PD-1アンタゴニストは、抗PD-L1モノクローナル抗体アテゾリズマブでない。

10

【0077】

治療法、薬剤、及び開示される使用のいずれにおいても有用なPD-1アンタゴニストとして、PD-1又はPD-L1に特異的に結合する、好ましくはヒトPD-1又はヒトPD-L1に特異的に結合するモノクローナル抗体(mAb)又はその抗原結合断片が挙げられる。mAbは、ヒト抗体、ヒト化抗体、又はキメラ抗体であってもよく、ヒト定常領域を含んでもよい。ヒト定常領域は、IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4定常領域からなる群から選択され、好ましくは、ヒト定常領域は、IgG1又はIgG4定常領域である。一部の例において、抗原結合断片は、Fab、Fab'-SH、F(ab')₂、scFv、及びFv断片からなる群から選択される。

20

【0078】

PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド10断片、PD-1ペプチド、又はPD-1エピトープに結合し、且つPD-1とそのリガンドPD-L1又はPD-L2間の相互作用をブロックするあらゆるモノクローナル抗体を用いることができる。一部の実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体は、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、又はPD-1エピトープに結合し、且つPD-1とPD-L1間の相互作用をブロックする。他の実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体は、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、又はPD-1エピトープに結合し、且つPD-1とPD-L2間の相互作用をブロックする。さらに他の実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体は、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、又はPD-1エピトープに結合し、且つPD-1とPD-L1間の相互作用、及びPD-1とPD-L2間の相互作用をブロックする。

30

40

【0079】

また、PD-L1ポリペプチド、PD-L1 20ポリペプチド断片、PD-L1ペプチド、又はPD-L1エピトープに結合し、且つPD-L1とPD-1間の相互作用をブロックするあらゆるモノクローナル抗体を用いることができる。

【0080】

特定の実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体は、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、セミプリマブ、ピディリズマブ(米国特許第7,332,582号)、AMP-514(MedImmune LLC、Gaithersburg、MD)、PDR001(米国特許第25,968,048号)、BGB-A317(米国特許第8、

50

735, 553号)、及びMGA012(Macrogenics、Rockville、MD)からなる群から選択される。

【0081】

一実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体はペムプロリズマブである。別の実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体はニボルマブである。別の実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体はセミプリマブである。さらに別の実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体はピディリズマブである。一実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体はAMP-514である。別の実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体はPDR001である。さらに別の実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体はBGB-A317である。さらに別の実施形態において、抗ヒトPD-1モノクローナル抗体はMGA012である。

10

【0082】

ヒトPD-1に結合し、且つ治療法、薬剤、及び開示される使用に有用なmAbの例が、米国特許第7488802号、米国特許第7521051号、米国特許第8008449号、米国特許第8354509号、及び米国特許第8168757号；国際公開第2004/004771号、国際公開第2004/072286号、及び国際公開第2004/056875号、並びに米国特許出願公開第2011/0271358号に記載されている。治療法、薬剤、及び開示される使用においてPD-1アンタゴニストとして有用な具体的な抗ヒトPD-1 mAbとして、以下が挙げられる：ペムプロリズマブ（別名MK-3475）、ヒト化IgG4 mAb（構造は、WHO Drug Information、27巻、2号、161～162頁（2013年）に記載されており、図6に示される重鎖アミノ酸配列及び軽鎖アミノ酸配列を含む）、ニボルマブ（BMS-936558）、ヒトIgG4 mAb（構造は、WHO Drug Information、27巻、1号、68～69頁（2013年）に記載されており、図7に示される重鎖アミノ酸配列及び軽鎖アミノ酸配列を含む）、ピディリズマブ、ヒト化モノクローナル抗体、AMP-224、及びAMP-514；ヒト化抗体h409A11、h409A16、及びh409A17（国際公開第2008/156712号に記載されている）、並びにAMP-514（MedImmuneによって開発されている）。

20

【0083】

ヒトPD-L1に結合し、且つ治療法、薬剤、及び開示される使用に有用なmAbの例が、国際公開第2013/019906号、国際公開第2010/077634 A1号、及び米国特許第8383796号に記載されている。治療法、薬剤、及び開示される使用にPD-1アンタゴニストとして有用な具体的な抗ヒトPD-L1 mAbとして、BMS-936559、セミプリマブ、MED14736、MSB0010718C、並びに国際公開第2013/019906号の配列番号24及び配列番号21のそれぞれ重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む抗体が挙げられる。

30

【0084】

治療法、薬剤、及び開示される使用のいずれにも有用な他のPD-1アンタゴニストとして、PD-1又はPD-L1に特異的に結合する、好ましくはヒトPD-1又はヒトPD-L1に特異的に結合するイムノアドヘシン、例えば、免疫グロブリン分子のFc領域等の定常領域に融合するPD-L1又はPD-L2の細胞外又はPD-1結合部分を含有する融合タンパク質が挙げられる。PD-1に特異的に結合するイムノアドヘシン分子の例が、国際公開第2010/027827号及び国際公開第2011/066342号に記載されている。本明細書中に記載される治療法、薬剤、及び使用にPD-1アンタゴニストとして有用な特定の融合タンパク質として、PD-L2-Fc融合タンパク質であり、且つヒトPD-1に結合するAMP-224（別名B7-DCIg）が挙げられる。

40

【0085】

治療法、薬剤、及び開示される使用は、(a)軽鎖CDR配列番号1、2、及び3、並びに重鎖CDR配列番号4、5、及び6；又は(b)軽鎖CDR配列番号7、8、及び9、並びに重鎖CDR配列番号10、11及び12を含むモノクローナル抗体又はその抗原

50

結合断片となるPD - 1アンタゴニストを想定する。

【0086】

治療法、薬剤、及び開示される使用は、ヒトPD - 1に特異的に結合し、且つ(a)配列番号13又はそのバリエーションを含む重鎖可変領域、並びに(b)配列番号15又はそのバリエーション；配列番号16又はそのバリエーション；及び配列番号17又はそのバリエーションからなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含むモノクローナル抗体又はその抗原結合断片となるPD - 1アンタゴニストを想定する。重鎖可変領域配列のバリエーションは、フレームワーク領域(すなわち、CDRの外側)において最大17個の保守的アミノ酸置換を有する、好ましくは、フレームワーク領域において10、9、8、7、6、又は5未満の保守的アミノ酸置換を有することを除いて、参照配列と同一である。軽鎖可変領域配列のバリエーションは、フレームワーク領域(すなわち、CDRの外側)において最大5つの保守的アミノ酸置換を有する、好ましくは、フレームワーク領域において4、3、又は2未満の保守的アミノ酸置換を有することを除いて、参照配列と同一である。

10

【0087】

治療法、薬剤、及び開示される使用のいずれのためのPD - 1アンタゴニストも、ヒトPD - 1に特異的に結合するモノクローナル抗体であり得、(a)配列番号14を含む重鎖、及び(b)配列番号18、配列番号19、又は配列番号20を含む軽鎖を含む。

【0088】

治療法、薬剤、及び開示される使用は、ヒトPD - 1に特異的に結合し、且つ(a)配列番号14を含む重鎖、及び(b)配列番号18を含む軽鎖を含むモノクローナル抗体となるPD - 1アンタゴニストを想定する。

20

【0089】

以下の表2は、治療法、薬剤、及び開示される使用に用いられる例示的な抗PD - 1 mAbのアミノ酸配列のリストを示しており、配列は図1～図5Bに示す。

【0090】

30

40

50

【表 2】

表 2.例示的な抗ヒト PD-1 モノクローナル抗体

A.国際公開第 2008/156712 号における hPD-1.08A の軽鎖 CDR 及び重鎖 CDR を含む		
CDRL1	配列番号 1	
CDRL2	配列番号 2	
CDRL3	配列番号 3	10
CDRH1	配列番号 4	
CDRH2	配列番号 5	
CDRH3	配列番号 6	
B.国際公開第 2008/156712 号における hPD-1.09A の軽鎖 CDR 及び重鎖 CDR を含む		
CDRL1	配列番号 7	
CDRL2	配列番号 8	20
CDRL3	配列番号 9	
CDRH1	配列番号 10	
CDRH2	配列番号 11	
CDRH3	配列番号 12	
C.国際公開第 2008/156712 号における成熟 h109A 重鎖可変領域、及び成熟 K09A 軽鎖可変領域の 1 つを含む		
重鎖 VR	配列番号 13	30
軽鎖 VR	配列番号 15 又は配列番号 16 又は配列番号 17	
D.国際公開第 2008/156712 号における成熟 409 重鎖、及び成熟 K09A 軽鎖の 1 つを含む		
重鎖	配列番号 14	
軽鎖	配列番号 18 又は配列番号 19 又は配列番号 20	

【0091】

本明細書中で用いられる「PD-L1」又は「PD-L2」の発現は、細胞表面での指定された PD-L タンパク質の、又は細胞若しくは組織での指定された PD-L mRNA の、検出可能なあらゆるレベルの発現を意味する。PD-L タンパク質発現は、診断 PD-L 抗体により、腫瘍組織切片の IHC アッセイで、又はフローサイトメトリーによって検出され得る。これ以外にも、腫瘍細胞による PD-L タンパク質発現は、所望の PD-L 標的、例えば、PD-L1 又は PD-L2 に特異的に結合する結合剤（例えば、抗体断片、アフィボディなど）を用いる陽電子放射断層撮影（PET）イメージングによって検出され得る。PD-L mRNA 発現を検出且つ測定する技術として、RT-PCR 及びリアルタイム定量 RT-PCR が挙げられる。

【0092】

腫瘍組織切片のIHCアッセイによりPD-L1タンパク質発現を定量化するいくつかのアプローチが記載されている。例えば、Thompson, R. H.ら、PNAS 101巻(49号):17174~17179頁(2004年);Thompson, R. H.ら、Cancer Res. 66巻:3381~3385頁(2006年);Gadiot, J.ら、Cancer 117巻:2192~2201頁(2011年);Taubе, J. M.ら、Sci Transl Med 4巻:127~37頁(2012年);及びToplian, S. L.ら、New Eng. J Med. 366巻(26号):2443~2454頁(2012年)参照。

【0093】

一アプローチとして、PD-L1発現について陽性又は陰性の単純なバイナリエンドポイントを使用した。陽性結果を、細胞-表面膜染色の組織学的証拠を示す腫瘍細胞のパーセンテージを単位として定義する。総腫瘍細胞の少なくとも1%、好ましくは5%であると、腫瘍組織切片をPD-L1発現について陽性とカウントする。

【0094】

別のアプローチにおいて、腫瘍組織切片におけるPD-L1発現を、腫瘍細胞において、そしてリンパ球を主に含む浸潤免疫細胞において定量化する。膜染色を示す腫瘍細胞及び浸潤免疫細胞のパーセンテージを、<5%、5~9%、及びそこから10%の増分で100%までと別々に定量化する。腫瘍細胞について、PD-L1発現を、スコアが<5%スコアであれば陰性と、そしてスコアが5%であれば陽性とカウントする。膜染色細胞のパーセントに浸潤物の強度を乗算することによって求められる、調整炎症スコア(AIS)と呼ばれる半定量的測定値として、免疫浸潤物におけるPD-L1発現を報告する。半定量的測定値は、何もない(0)、軽度(1のスコア、リンパ球が稀)、中程度(2のスコア、リンパ組織球性凝集体による腫瘍の限局的浸潤)、又は重度(3のスコア、びまん性浸潤)と等級分けする。AISが5であれば、腫瘍組織切片を、免疫浸潤物によるPD-L1発現について陽性とカウントする。

【0095】

PD-L1 mRNA発現のレベルを、ユビキチンC等の、定量的RT-PCRに頻繁に用いられる1つ又は複数の参照遺伝子のmRNA発現レベルと比較してもよい。

【0096】

一部の例において、悪性細胞、及び/又は腫瘍内の浸潤免疫細胞によるPD-L1発現(タンパク質及び/又はmRNA)のレベルを、適切な対照によるPD-L1発現(タンパク質及び/又はmRNA)のレベルとの比較に基づいて、「過剰発現」又は「上昇」と判定する。例えば、対照PD-L1タンパク質又はmRNA発現レベルは、同じ型の非悪性細胞において、又はマッチする正常組織(すなわち非悪性組織)由来の切片において定量化されるレベルであってもよい。腫瘍サンプルにおけるPD-L1発現は、好ましくは、サンプル中のPD-L1タンパク質(及び/又はPD-L1 mRNA)が、対照中よりも少なくとも10%、20%、又は30%大きければ、上昇と判定される。

【0097】

「ペムブロリズマブバイオシミラー」は、Merck & Co., Inc. d. b. a. Merck Sharp and Dohme(MSD)以外の実体によって製造されるバイオ製品を意味し、ペムブロリズマブバイオシミラーとして売買するために、どこの国の規制機関によっても承認されている。ペムブロリズマブバイオシミラーは、原薬として、ペムブロリズマブと同じアミノ酸配列を有するペムブロリズマブバリエーション又は抗体を含む場合がある。

【0098】

本明細書中で用いられる「ペムブロリズマブバリエーション」は、軽鎖CDRの外側における位置にて3、2、又は1つの保存的アミノ酸置換を、そして重鎖CDRの外側に位置する6、5、4、3、2、又は、1つの保存的アミノ酸置換を有することを除いて、ペムブロリズマブ内と同一の重鎖配列及び軽鎖配列を含むモノクローナル抗体を意味する。例え

10

20

30

40

50

ば、バリエーション位置は、FR領域及び/又は定常領域内に位置する。言い換えると、ペムプロリズマブ及びペムプロリズマブバリエーションは、同一のCDR配列を含むが、全長軽鎖及び重鎖配列内のそれぞれ3つ以下又は6つ以下の他の位置にて保守的アミノ酸置換を有することに起因して、互いと異なる。ペムプロリズマブバリエーションは、以下の特性に関して、ペムプロリズマブと実質的に同じである：PD-1への結合親和性、並びにPD-1へのPD-L1及びPD-L2の各々の結合をブロックする能力。

【0099】

患者/癌/応答の定義。本明細書中で用いられる「RECIST 1.1 応答基準」は、必要に応じて、応答が測定されている文脈に基づいて、標的病変又は標的外病変についてEisenhauer E. A.ら、Eur. J. Cancer 45巻：228～247頁(2009年)に示される定義を意味する。

10

【0100】

本明細書中に記載する併用療法による治療に対する特定の抗腫瘍応答に言及する場合の「レスポナー患者」は、患者が抗腫瘍応答を示したことを意味する。

【0101】

「持続応答」は、治療剤、又は本明細書中に記載される併用療法による治療の停止後の持続する治療効果を意味する。一部の例において、持続応答は、治療期間と少なくとも同じ、又は治療期間よりも少なくとも1.5、2.0、2.5、若しくは3倍長い期間を有する。

【0102】

「組織切片」は、組織サンプルの単一の部分又はピース、例えば、正常な組織の、又は腫瘍のサンプルから切断した組織の薄いスライスを指す。

20

【0103】

本明細書中で用いられる癌を「治療する」又は「治療すること」は、PD-1アンタゴニスト、レンバチニブ、又はその薬学的に許容できる塩、及びE7386又はその薬学的に許容できる塩の併用療法を、癌を有するか、又は癌と診断される対象に施して、少なくとも1つのポジティブな治療効果、例えば、癌細胞数の引下げ、腫瘍サイズの引下げ、末梢器官中への癌細胞浸潤速度の引下げ、又は腫瘍転移若しくは腫瘍成長の速度の引下げを達成することを意味する。癌におけるポジティブな治療効果を、いくつかの方法で測定することができる(W. A. Weber, J. Nucl. Med. 50巻：1S～10S頁(2009年)参照)。例えば、腫瘍成長阻害に関して、NCI基準に従って、T/C 42%が、抗腫瘍活性の最小レベルである。T/C < 10%を、高い抗腫瘍活性レベルと考える(T/C (%) = 治療のメジアン腫瘍体積 / 対照のメジアン腫瘍体積 × 100である)。一部の例において、本明細書中に記載される併用療法に対する応答が、RECIST 1.1基準又はirRC(二次元又は一次元)、並びにレンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩、(6S, 9aS) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミド (E 7 3 8 6) 又はその薬学的に許容できる塩、及びPD-1アンタゴニストの組合せによって達成される治療を用いて評価され、PR、CR、OR、PFS、DFS、及びOSのいずれかである。「腫瘍進行までの時間」とも称されるPFSは、癌が成長しない治療の間と当該治療の後の時間の長さを示し、そして患者がCR又はPRを経験した時間の量、及び患者がSDを経験した時間の量を含む。DFSは、患者が疾患のないままである、治療の間と当該治療の後の時間の長さを指す。OSは、未経験の、又は未治療の個体又は患者と比較した、平均余命の延長を指す。場合によっては、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩の組合せ、(6S, 9aS) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c]

30

40

50

[1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミド (E 7 3 8 6) 又はその薬学的に許容できる塩、及び PD - 1 アンタゴニストに対する応答が、 R E C I S T 1 . 1 応答基準を用いて評価される PR、CR、PFS、DFS、OR、及び OS のいずれかである。癌患者を治療するのに有効な、開示される組合せについての治療計画は、患者の疾患状態、年齢、及び体重、並びに対象において抗癌応答を誘発する治療の能力等の要因に従って変動し得る。治療法、薬剤、及び開示される使用は、対象毎にポジティブな治療効果を達成するのに有効でなくてもよく、当該技術において公知のあらゆる統計学的検定、例えば、Student の t 検定、 χ^2 検定、Mann and Whitney に従う U 検定、Kruskal - Wallis 検定 (H 検定)、Jonckheere - Terpstra 検定、及び Wilcoxon 検定によって決定される、対象の統計学的に有意な数において有効であるべきである。

【 0 1 0 4 】

用語「治療計画」、「投与プロトコール」、及び「投与計画」は、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩、(6 S , 9 a S) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミド (E 7 3 8 6) 又はその薬学的に許容できる塩、及び PD - 1 アンタゴニストの組合せにおける、各治療剤の投与の用量及びタイミングを指すのに互換的に用いられる。

【 0 1 0 5 】

癌と診断され、又は癌を有する疑いがある対象に用いられる「腫瘍」は、あらゆるサイズの悪性の、又は潜在的に悪性の新生物又は組織塊を指し、原発腫瘍及び二次新生物が挙げられる。固形腫瘍は、嚢胞も液体領域も通常含有しない、組織の異常な増殖又は塊である。固形腫瘍の様々な型が、固形腫瘍を形成する細胞の型について命名される。固形腫瘍の例として、肉腫、癌腫、及びリンパ腫がある。

【 0 1 0 6 】

「腫瘍量 (tumor load) 」とも称される「腫瘍組織量 (tumor burden) 」は、体中に分配される腫瘍物質の総量を指す。腫瘍組織量は、リンパ節及び骨髄を含む体中の、癌細胞の総数又は腫瘍 (複数可) の総サイズを指す。腫瘍組織量は、当該技術において公知の種々の方法によって、例えば、対象からの除去と同時に、例えばキャリパーを使用して、又は体内で、撮像技術、例えば、超音波、骨スキャン、コンピュータ断層撮影 (CT)、若しくは核磁気共鳴画像法 (MRI) スキャンを用いながら、腫瘍 (複数可) の寸法を測定することによって、求めることができる。

【 0 1 0 7 】

用語「腫瘍サイズ」は、腫瘍の全長及び幅として測定することができる腫瘍の総サイズを指す。腫瘍サイズは、当該技術において公知の種々の方法によって、例えば、対象からの除去と同時に、例えばキャリパーを使用して、又は体内で、撮像技術、例えば、骨スキャン、超音波、CT、若しくは MRI スキャンを用いながら、腫瘍 (複数可) の寸法を測定することによって、求めることができる。

【 0 1 0 8 】

「一次元 irRC」は、Nishino M, Giobbie - Hurder A, Gargano M, Suda M, Ramaiya NH, Hodi FS. 「Developing a Common Language for Tumor Response to Immunotherapy: Immune - related Response Criteria using Unidimensional measurements」、Clin. Cancer Res. 2013 年、19 巻 (14 号) : 3936 ~ 3943 頁) に記載される基準のセットを指す。これらの基準は、各病変の最長径 (cm) を利用する。

【 0 1 0 9 】

10

20

30

40

50

「マルチRTK阻害剤」は、以下のRTKの少なくとも各々の受容体チロシンキナーゼ(RTK)活性を阻害する小分子化合物を意味する：(i)VEGFR2、並びに(ii)FGFR1、2、3、及び4からなる群から選択される少なくとも1つのFGFR。例示的なマルチRTK阻害剤は、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩である。

【0110】

-カテニンは、Wntシグナル伝達のメディエータとして機能し、転写因子Tcf/Lef(T細胞因子/リンパ球増強因子)に結合し、Wntシグナル伝達に関する種々の遺伝子(サイクリンD1、C-Myc、その他)の発現を促進し、且つ細胞の増殖及び分化を制御する(Heら、1998年 Science 281巻：1509~1512頁；Kolligsら、Mol. Cell. Biol. 19巻：5696~5706頁、1999年；Crawfordら、Oncogene 18巻：2883~2891頁、1999年；Shtutmanら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、11巻：5522~5527頁、1999年；Tetsu及びMcCormick、1999年 Nature、398巻：422~426頁)。

10

【0111】

CBP(環状AMP応答要素結合タンパク質(CREB)結合タンパク質)は、CREB結合ドメイン内の -カテニンと直接相互作用して、Tcf/Lefの転写活性化を促進する(Ken-Ichi Takemaru及びRandall T. Moon、2000年、J. Cell. Biol. 149巻(2号)：249~254頁)。CBP/-カテニン阻害剤は、CBPとカテニン、特に -カテニン間の相互作用を阻害する限り、特に制限されず、 -カテニン及びCBPの結合が阻害される結果として、 -カテニン複合体による遺伝子発現が抑制される実施形態が好ましい。

20

【0112】

CBP/-カテニンの阻害は、それ自体公知の結合アッセイ(ラジオバインディングアッセイその他)、リポーターアッセイ法、並びに他のインビトロアッセイ及びインビボアッセイ等によって測定することができる。阻害は、国際公開第2009/148192号に記載されるリポーターアッセイ法によってWntシグナル伝達の遺伝子発現を測定することによって確認することができる。

【0113】

本発明のCBP/-カテニン阻害剤は、先で定義される通りである限り、特に制限されない。本発明のCBP/-カテニン阻害剤は、好ましくは、CBP/-カテニン阻害活性を有する -ヘリックス模倣化合物であり、その例として、国際公開第2003/031448号、国際公開第2004/093828号、国際公開第2005/116032号、国際公開第2009/148192号、国際公開第2010/044485号、国際公開第2010/128685号、及び国際公開第2012/115286号等に記載されるような -ヘリックス模倣化合物及びその薬学的に許容できる塩が挙げられる。例示的なCBP/-カテニン阻害剤として、(6S, 9aS) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミド (E 7 3 8 6) が挙げられる。

30

40

【0114】

本明細書中で開示される併用療法におけるPD-1アンタゴニスト、レンバチニブ、及びE7386の各々が、標準的な医薬業務に従って、単独で、又は治療剤、並びに1つ若しくは複数の薬学的に許容できるキャリア、賦形剤、及び希釈剤を含む薬剤/製剤(本明細書中で医薬組成物とも称される)により投与されてもよい。各治療剤は、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩、抗PD-1抗体、及び/又はE7386若しくはその薬学的に許容できる塩を製剤化することによって調製され得、同時に投与されても別々に投与されてもよい。さらに、製剤を、単一のパッケージ内に配置して、いわゆるキット製剤を提供してもよい。

50

【 0 1 1 5 】

レンバチニブ又は薬学的に許容できる塩を、参考文献 17 に記載される方法によって生成することができる。薬学的に許容できる塩の例として、無機酸による塩、有機酸による塩、無機塩基による塩、有機塩基による塩、及び酸性又は塩基性のアミノ酸による塩が挙げられる。無機酸による塩の好ましい例として、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、及びリン酸等による塩が挙げられる。有機酸による塩の好ましい例として、酢酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、乳酸、ステアリン酸、安息香酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、及び p - トルエンスルホン酸等による塩が挙げられる。無機塩基による塩の好ましい例として、アルカリ金属塩、例えばナトリウム塩及びカリウム塩；アルカリ土類金属塩、例えばカルシウム塩及びマグネシウム塩；アルミニウム塩；及びアンモニウム塩が挙げられる。有機塩基による塩の好ましい例として、ジエチルアミン、ジエタノールアミン、メグルミン、及び N , N - ジベンジルエチレンジアミン等による塩が挙げられる。酸性アミノ酸による塩の好ましい例として、アスパラギン酸及びグルタミン酸等による塩が挙げられる。塩基性アミノ酸による塩の好ましい例として、アルギニン、リシン、及びオルニチン等による塩が挙げられる。より好ましい薬学的に許容できる塩が、有機酸による塩であり、とりわけ好ましい薬学的に許容できる塩が、メタンスルホン酸による塩である。

10

【 0 1 1 6 】

本明細書中で開示される併用療法における PD - 1 アンタゴニスト、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及び E 7 3 8 6 又はその薬学的に許容できる塩は、同時に（すなわち、同じ薬剤により）投与されても、並行して（すなわち、投与された一方の薬剤の直ぐ後に他方が、あらゆる順序で別々に）投与されても、あらゆる順序で連続して投与されてもよい。連続投与は、併用療法における治療剤が、異なる剤型である（一方の剤がタブレット又はカプセルであり、別の剤が滅菌液体である）場合、並びに / 又は異なる投与スケジュールで投与される、例えば、少なくとも毎日投与される化学療法薬、及びより低い頻度で、例えば、毎週 1 回、2 週毎に 1 回、又は 3 週毎に 1 回投与される生物学的治療薬である場合、特に有用である。

20

【 0 1 1 7 】

一部の例において、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、PD - 1 アンタゴニスト及び / 又は CBP / - カテニン阻害剤の投与の前に投与される一方、他の例において、マルチ RTK 阻害剤は、PD - 1 アンタゴニスト及び / 又は E 7 3 8 6 若しくはその薬学的に許容できる塩の投与の後に投与される。

30

【 0 1 1 8 】

一部の例において、併用療法における治療剤の少なくとも 1 つが、剤が同じ癌を治療する単剤療法として用いられる場合に典型的に使用される同じ投薬計画（治療の用量、頻度、及び期間）を用いて投与される。他の例において、患者は、剤が単剤療法として用いられる場合よりも低い総量、例えば、より少ない用量、より頻度が低い用量、及び / 又はより短い治療期間の、併用療法における治療剤の少なくとも 1 つを受ける。

【 0 1 1 9 】

本明細書中で開示される併用療法における各小分子治療剤は、固体製剤、例えば、錠剤、顆粒、細粒、粉末、若しくはカプセルの形態で、又は液体、ゼリー、若しくはシロップ等の形態で経口投与することができる。本明細書中で開示される併用療法における各小分子治療剤は、非経口的に投与されてもよく、静脈、筋肉内、腹腔内、皮下、直腸、局所、及び経皮投与経路が挙げられる。

40

【 0 1 2 0 】

本明細書中で開示される併用療法は、腫瘍を除去する外科手術の前に、又はその後に用いられてもよく、そして放射線治療の前に、その間に、又はその後に用いられてもよい。

【 0 1 2 1 】

一部の例において、本明細書中で開示される併用療法は、生物学的治療剤又は化学療法剤で以前に治療されていない、すなわち治療未経験の患者に投与される。他の例において

50

、併用療法は、生物学的治療剤又は化学療法剤による以前の治療の後の持続応答を達成できなかった（すなわち、治療経験がある）患者に施される。

【0122】

本明細書中で開示される併用療法は、触診によって、又は当該技術において周知の撮像技術、例えば、核磁気共鳴画像法（MRI）、超音波、若しくはコンピュータX線体軸断層撮影（CAT）スキャンによって見出されるほど十分に大きい腫瘍を治療するのに典型的に用いられる。

【0123】

本明細書中で開示される併用療法は、好ましくは、PD-L1発現について陽性反応を示す癌を有するヒト患者に投与される。PD-L1発現は、好ましくは、診断抗ヒトPD-L1抗体又はその抗原結合断片を用いて、患者から除去された腫瘍サンプルのFFPE又は凍結組織切片のIHCアッセイによって検出される。典型的には、患者の医師は、PD-1アンタゴニスト、E7386又はその薬学的に許容できる塩、及びレンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩による治療の開始の前に、患者から除去した腫瘍組織サンプルにおけるPD-L1発現を判定するように診断試験をオーダーすることとなるが、医師は、治療の開始の後に何時でも、例えば治療サイクルの完了の後に、最初の、又は以降の診断試験をオーダーすることができると想定される。

【0124】

本明細書中で開示される併用療法についての投薬計画（本明細書中で投与計画とも称される）の選択は、実体の血清又は組織ターンオーバー速度、病徴のレベル、実体の免疫原性、及び治療されることとなる個体における標的細胞、組織、又は器官のアクセシビリティが挙げられるいくつかの要因によって決まる。好ましくは、投薬計画は、副作用の許容可能なレベルと矛盾せずに、患者に送達される各治療剤の量を最大にする。したがって、組合せにおける各々の生物学的治療剤及び化学療法剤の用量及び投与頻度は、部分的に、特定の治療剤、治療されることとなる癌の重症度、及び患者特性によって決まる。抗体、サイトカイン、及び小分子の適切な用量を選択するガイダンスが利用可能である。例えば、Wawrzynczak（1996年）ANTIBODY THERAPY、Bios Scientific Pub. Ltd、Oxfordshire、UK；Kresina（編）（1991年）MONOCLONAL ANTIBODIES, CYTOKINES AND ARTHRITIS、Marcel Dekker、New York、NY；Bach（編）（1993年）MONOCLONAL ANTIBODIES AND PEPTIDE THERAPY IN AUTOIMMUNE DISEASES、Marcel Dekker、New York、NY；Baertら（2003年）New Engl. J. Med. 348巻：601～608頁；Milgromら（1999年）New Engl. J. Med. 341巻：1966～1973頁；Slamonら（2001年）New Engl. J. Med. 344巻：783～792頁；Beniaminovitzaら（2000年）New Engl. J. Med. 342巻：613～619頁；Ghoshら（2003年）New Engl. J. Med. 348巻：24～32頁；Lipskyら（2000年）New Engl. J. Med. 343巻：1594～1602頁；PHYSICIANS' DESK REFERENCE 2003（Physicians' Desk Reference、第57版）；Medical Economics Company；ISBN：1563634457；第57版（2002年11月）参照。適切な投薬計画の決定は、例えば、治療に影響を与えることが、又は治療に影響を与えることが予測されることが当該技術において公知であるか、又は疑われるパラメータ又は因子を用いて、臨床医によってなされてもよく、そして例えば、患者の病歴（例えば、以前の治療）、治療されることとなる癌の型及び病期、並びに併用療法における治療剤の1つ又は複数に対する応答のバイオマーカーに依存する。

【0125】

本明細書中で開示される併用療法における生物学的治療剤（すなわち、PD-1アンタゴニスト、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE7386又はその薬学的

10

20

30

40

50

に許容できる塩)は、持続性点滴によって投与されても、例えば、毎日、1日おき、1週あたり3回、又は毎週、2週、3週、毎月、隔月その他の間隔をおいた用量によって投与されてもよい。総毎週用量は、通常、少なくとも0.05 µg / 体重kg、0.2 µg / kg、0.5 µg / kg、1 µg / kg、10 µg / kg、100 µg / kg、0.2 mg / kg、1.0 mg / kg、2.0 mg / kg、10 mg / kg、25 mg / kg、50 mg / kg、又はそれ以上である。例えば、Yangら(2003) New Engl. J. Med. 349巻: 427~434頁; Heroldら(2002) New Engl. J. Med. 346巻: 1692~1698頁; Liuら(1999) J. Neurol. Neurosurg. Psych. 67巻: 451~456頁; Portieljiら(2003) Cancer Immunol. Immunother. 52巻: 133~144頁参照。セミプリマブ-rwlc (LIBTAYO(登録商標))は、別のPD-1アンタゴニストであり、静脈内に投与することができ、350 mgが、3週毎に1回(Q3W)、30分にわたって投与される。

10

【0126】

レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩の用量は、病徴の程度、患者の年齢、性別、及び体重、投与の感度、経路、時間の差異、投与の間隔、並びに/又は医薬調合のタイプその他に応じて、適切に選択され得る。典型的には、経口投与が成人(60 kgの体重)に実行される場合に、用量は、1日あたり1~600 mg、好ましくは5~400 mg、より好ましくは5~200 mgである。用量は、1回で投与されてもよいし、1日あたり2~3回与えられる、より小用量に分けられてもよい。

20

【0127】

抗ヒトPD-1 mAbを、併用療法におけるPD-1アンタゴニストとして使用する一部の例において、投与計画は、治療経過の全体を通じて、約14日(±2日)、又は約21日(±2日)、又は約30日(±2日)の間隔で、1、2、3、5、又は10 mg / kgの用量にて抗ヒトPD-1 mAbを投与することを含む。抗PD-1抗体の投薬量は、上記と同様にして適切に選択することができる。典型的には、静脈内投与が成人(60 kgの体重)に実行される場合に、用量は、6週サイクルで3週毎に1回(合計2用量)のスケジュールに関して、2 mg / kgとなり得る。抗体は、適切な間隔にて1~10サイクル投与することができる。

【0128】

併用療法におけるPD-1アンタゴニストとして抗ヒトPD-1 mAbを使用する他の例において、投与計画は、患者内用量漸増による約0.005 mg / kgから約10 mg / kgまでの用量にて抗ヒトPD-1 mAbを投与することを含む。用量間隔は、例えば、第1の用量と第2の用量との間で約30日(±2日)、第2の用量と第3の用量との間で約14日(±2日)と、次第に短くすることができる。特定の実施形態において、第2の用量以降の用量について、投与間隔は約14日(±2日)となる。

30

【0129】

特定の例において、対象に、本明細書中に記載されるPD-1アンタゴニストのいずれかを含む薬剤の静脈内(IV)点滴を施すことができる。

【0130】

併用療法におけるPD-1アンタゴニストは好ましくは、場合によってはニボルマブであり、1 mg / kg Q2W、2 mg / kg Q2W、3 mg / kg Q2W、5 mg / kg Q2W、10 mg Q2W、1 mg / kg Q3W、2 mg / kg Q3W、3 mg / kg Q3W、5 mg / kg Q3W、及び10 mg Q3Wからなる群から選択される用量にて静脈内に投与される。また、PD-1アンタゴニストは、350 mg Q3Wの用量にて静脈内に投与されるセミプリマブ-rwlcであってもよい。

40

【0131】

併用療法におけるPD-1アンタゴニストは好ましくは、場合によってはペムブロリズマブ、ペムブロリズマブバリエーション、又はペムブロリズマブバイオシミラーであり、1 mg / kg Q2W、2 mg / kg Q2W、3 mg / kg Q2W、5 mg / kg Q2

50

W、10 mg Q 2 W、1 mg / kg Q 3 W、2 mg / kg Q 3 W、3 mg / kg Q 3 W、5 mg / kg Q 3 W、10 mg Q 3 Wからなる群から選択される用量、及びこれらの用量のいずれかのフラット用量当量、すなわち、200 mg Q 3 W及び400 mg Q 6 W等にて、液体薬剤により投与される。一部の例において、ペムプロリズマブが、10 mMヒスチジンバッファpH 5.5中に25 mg / mlペムプロリズマブ、7% (w / v)スクロース、0.02% (w / v)ポリソルベート80を含む液体薬剤として与えられる。

【0132】

一部の例において、ペムプロリズマブの選択された用量は、25～40分、又は約30分の期間にわたって、IV注入によって投与される。

10

【0133】

レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩（例えばレンパチニブメシル酸塩）及びCBP / -カテニン阻害剤（例えばE7386）と組み合わせたペムプロリズマブにとって最適な用量は、これらの剤の一方又は双方の用量漸増又は用量減少によって特定される。一部の例において、併用療法は、ペムプロリズマブがIVによって200 mg Q 3 W（又はIVによって400 mg Q 6 W）にて投与される21日治療サイクルを含み、CBP / カテニン阻害剤であるレンパチニブメシル酸塩が、（a）1日あたり24 mgが経口的に、（b）1日あたり20 mgが経口的に、又は（c）1日あたり14 mgが経口的に、レンパチニブとして各々投与される。

【0134】

20

患者は最初に、CBP / -カテニン阻害剤の1日量である、200 mgのIVによるペムプロリズマブQ 3 W（又は400 mgのIVによるQ 6 W）、及び1日あたり24 mg（レンパチニブとして）のレンパチニブメシル酸塩で経口的に、少なくとも1つのDLTが観察されるまで治療することができ、そしてその後、レンパチニブメシル酸塩の投薬量は、1日あたり20又は14 mg（各々レンパチニブとして）まで引き下げることができる一方、ペムプロリズマブ用量は、200 mgのペムプロリズマブQ 3 W（又は400 mgのIVによるQ 6 W）にて続けることができ、CBP / -カテニン阻害剤は、同じ1日投薬量にて続けることもできるし、引き下げることができる。

【0135】

投与計画の例として、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、21日サイクルにおいて、日々、おおよそ同じ時間に、水と共に1日1回経口投与することができ、食物はあってもなくてもよい。レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、4 mg及び10 mg（各々レンパチニブとして）カプセルとして提供することができる。各サイクルの1日目（D 1）に、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、ペムプロリズマブ投与及び / 又はE7386若しくはその薬学的に許容できる塩の投与の完了後のおおよそ1時間以内に投与することができる。ペムプロリズマブは、防腐剤のない白色～オフホワイト色の滅菌凍結乾燥粉末として単回使用バイアル内に提供されてもよい。各バイアルは、静注用に復元且つ希釈することができる。復元された溶液の各々2 mLが、おおよそ50 mgのペムプロリズマブを含有してもよい。一部の例において、ペムプロリズマブは、静注のために希釈を必要とする、防腐剤のない、澄明～僅かに乳白色の、無色～僅かに黄色の滅菌溶液として提供されてもよい。各バイアルは、4 mLの溶液中に100 mgのペムプロリズマブを含有してもよい。溶液の各々1 mLが、25 mgのペムプロリズマブを含有してもよい。ペムプロリズマブは、30分の静注、Q 3 W（例えば25分～40分）としての200 mgの用量として投与されてもよい。

30

40

【0136】

経口固体製剤が調製される場合、薬学的に許容できるビヒクル、並びに、必要に応じて、結合剤、崩壊剤、潤滑剤、着色剤、及び / 又は香味剤その他が、従来の方法に従って、主な構成要素、すなわち、式（I）によって表される化合物又はその薬学的に許容できる塩であるCBP / -カテニン阻害剤及び / 又は抗PD - 1抗体に加えられてから、タブレット、顆粒、細粒、粉末、又はカプセル等が調製されてもよい。ビヒクルの例として、

50

ラクトース、コーンスターチ、白糖、グルコース、ソルビトール、結晶性セルロース、及び二酸化ケイ素が挙げられる。結合剤の例として、ポリビニルアルコール、エチルセルロース、メチルセルロース、アラビアゴム、ヒドロキシプロピルセルロース、及びヒドロキシプロピルメチルセルロースが挙げられる。潤滑剤の例として、ステアリン酸マグネシウム、タルク、及びシリカが挙げられる。着色剤の例として、酸化チタン、三二酸化鉄、黄色三二酸化鉄、コチニール、カルミン、及びリボフラビンが挙げられる。香味剤の例として、ココア粉末、アスコルビン酸、酒石酸、ペパーミント油、ボルネオール、及びシナモン粉末が挙げられる。これらのタブレット及び顆粒は、必要とされる場合にコーティングされてもよい。

【0137】

一部の例において、患者は、少なくとも24週間、例えば、8つの3週サイクルの間、併用療法で治療される。一部の例において、併用療法による治療は、患者がPD又はCRの証拠を示すまで続く。

10

【0138】

一部の例において、患者は、腎細胞癌(RCC)、大腸癌(CRC)、肝細胞癌(HCC)、メラノーマ、膀胱癌、尿路上皮癌、乳癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、子宮体癌、又は頭頸部扁平上皮細胞癌と診断されたならば、本明細書中で開示される併用療法による治療に選択した。

【0139】

癌のための「治療薬」又は「併用療法」は、免疫チェックポイント阻害剤(例えば抗PD-1抗体)、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE7386又はその薬学的に許容できる塩を含む。薬物は、3つの薬物の各々が別個になるように、且つ別々に、又は3つの薬物のうちの2つの組合せで、又は全体として、所望の投与、例えば、経口、経鼻、粘膜、直腸、膣、局所、静脈内、腹腔内、皮内、皮下、及び筋肉内投与に適した方法によって投与されるように、製剤化されてもよい。

20

【0140】

免疫チェックポイント阻害剤、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE7386又はその薬学的に許容できる塩の組合せを含有する、癌のための併用療法の治療的に有効な量の用量の決定及びその投与のタイミングは、十分に当業者の知識の範囲内である。例えば、最初の有効な量は、細胞培養又は他のインビトロアッセイから想定することができる。用量は、細胞培養アッセイ及び/又は動物モデルによって決定して、循環系濃度又は組織濃度、例えばIC₅₀濃度を生じさせるように設定することができる。

30

【0141】

投与方法は、治療及び治療薬下の状態に依存して選択される。免疫チェックポイント阻害剤、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE7386又はその薬学的に許容できる塩を、種々の方法によって投与することができる。例えば、構成要素の1つ又は複数、以下の経路のいずれかを介して対象に投与することができる:皮下、静脈、腹腔内、筋肉内、及び全身投与、並びに、場合によっては、特定の器官又は腫瘍等中への直接注入。免疫チェックポイント阻害剤、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE7386又はその薬学的に許容できる塩を、本明細書中に記載されるように、単一の経路又は同時のいくつかの経路を介して、同時に、又は連続して投与することができる。

40

【0142】

E7386又はその薬学的に許容できる塩は、とりわけ、治療指標及び処方医師の判断に応じて、1日あたり1回、1日あたり2回、1日あたり数回、又はさらに、1日あたり複数回投与されてもよい。

【0143】

治療効果を与えるのに必須の、免疫チェックポイント阻害剤、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE7386又はその薬学的に許容できる塩の量を、特定の対象についての従来の手続きに従って、実験に基づいて決定することができる。通常、治療の目的のために投与される場合は薬理的に有効な用量の細胞が与えられる。「薬理的に有効

50

な量」又は「薬理的に有効な用量」は、所望の生理学的効果をもたらすのに十分な、又は所望の結果を達成することができる、例えば、障害又は疾患等の1つ又は複数の病徴又は徴候を引き下げるか、又は除去して、特定の障害又は疾患状態を治療する量を指す。

【0144】

併用療法は、免疫チェックポイント阻害剤、レンパチニブ又はその薬学的に許容できる塩、及びE7386又はその薬学的に許容できる塩の組合せであってよく、これらは、他の癌治療、例えば、外科的切除、放射線治療、化学療法、免疫治療、及び支持治療（例えば、鎮痛薬、利尿、抗利尿、抗ウイルス薬、抗生物質、栄養補助剤、貧血治療、血液凝固治療、骨治療、並びに精神病理学的治療及び心理学的治療）とさらに組み合わせることができる。

10

【0145】

以下に記載される例示的な特定の治療法、薬剤、及び使用が挙げられる、本明細書中で開示されるこれらの態様及び他の態様は、本明細書中に含有される教示から明らかとなる。

【0146】

特定の治療法、薬剤、及び使用

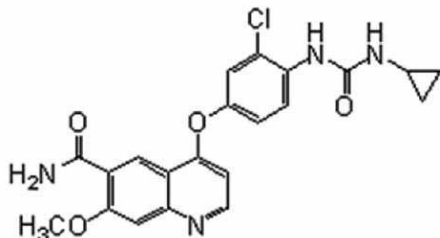
[1] ヒト対象において癌を治療する方法であって、個体に：

(i) プログラム死1タンパク質(PD-1)のアンタゴニストと；

(ii) 構造：

【化3】

20

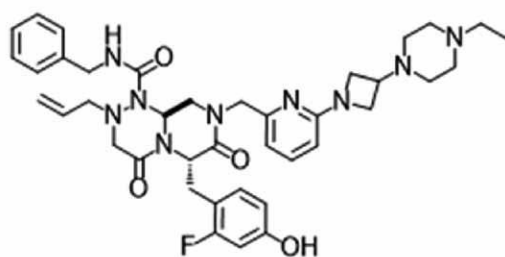


を有するレンパチニブ、又はその薬学的に許容できる塩と；

(iii) 構造：

【化4】

30



を有する(6S, 9aS)-N-ベンジル-8-({ 6-[3-(4-エチルピペラジン-1-イル)アゼチジン-1-イル]ピリジン-2-イル}メチル)-6-(2-フルオロ-4-ヒドロキシベンジル)-4,7-ジオキソ-2-(プロパ-2-エン-1-イル)ヘキサヒドロ-2H-ピラジノ[2,1-c][1,2,4]トリアジン-1(6H)-カルボキサミド(E7386)、又はその薬学的に許容できる塩と

40

を含む併用療法を施すことを含み、

PD-1アンタゴニストはアテゾリズマブでない、方法。

[2] 癌は固形腫瘍である、[1]の方法。

[3] 癌は：腎細胞癌(RCC)、大腸癌(CRC)、肝細胞癌(HCC)、メラノーマ、膀胱癌、乳癌、及び非小細胞肺癌(NSCLC)からなる群から選択される、[1]の方法。

50

[4] 癌はR C Cである、[1]の方法。

[5] P D - 1アンタゴニストは、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である、[1] ~ [4]のいずれか1つの方法。

[6] P D - 1アンタゴニストは抗 P D - 1抗体である、[1] ~ [5]のいずれかの方法。

[7] P D - 1アンタゴニストは、ペムプロリズマブ又はニボルマブである、[1] ~ [6]のいずれかの方法。

[8] P D - 1アンタゴニストはペムプロリズマブである、[1] ~ [7]のいずれか1つの方法。

[9] レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、毎日投与され；且つペムプロリズマブは、3週毎に1回投与される、[1] ~ [8]のいずれか1つの方法。 10

[1 0] レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、2 4 m g、2 0 m g、1 8 m g、1 2 m g、又は8 m gの1日用量にて投与され；且つペムプロリズマブは、3週毎に1回、成人について2 0 0 m g、又は小児について2 m g / k g（最大2 0 0 m g）の用量にて投与される、[9]の方法。

[1 1] レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、レンバチニブメシル酸塩であり；且つE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩は、E 7 3 8 6である、[1] ~ [1 0]のいずれかの方法。

[1 2] 癌を治療するための医薬組成物であって、(6 S , 9 a S) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミド (E 7 3 8 6) 又はその薬学的に許容できる塩を含み、E 7 3 8 6 又はその薬学的に許容できる塩は、(a) レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩；及び(b) 抗 P D - 1抗体と組み合わせて投与される、医薬組成物。 20

[1 3] 癌を治療するための医薬組成物であって、抗 P D - 1抗体を含み、抗 P D - 1抗体は、(a) レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩；及び(b) (6 S , 9 a S) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミド (E 7 3 8 6) 又はその薬学的に許容できる塩と組み合わせて投与される、医薬組成物。 30

[1 4] レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩を含む、癌を治療するための医薬組成物であって、レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、(a) (6 S , 9 a S) - N - ベンジル - 8 - ({ 6 - [3 - (4 - エチルピペラジン - 1 - イル) アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル) - 6 - (2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル) - 4 , 7 - ジオキソ - 2 - (プロパ - 2 - エン - 1 - イル) ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4] トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミド (E 7 3 8 6) 又はその薬学的に許容できる塩；及び(b) 抗 P D - 1抗体と組み合わせて投与される、医薬組成物。 40

[1 5] レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、レンバチニブメシル酸塩であり；且つE 7 3 8 6又はその薬学的に許容できる塩は、E 7 3 8 6である、[1 2] ~ [1 4]のいずれかの医薬組成物。

[1 6] 癌は固形腫瘍である、[1 2] ~ [1 5]のいずれかの医薬組成物。

[1 7] 癌は：腎細胞癌 (R C C)、大腸癌 (C R C)、肝細胞癌 (H C C)、メラノーマ、膀胱癌、尿路上皮癌、乳癌、非小細胞肺癌 (N S C L C)、子宮体癌、及び頭頸部扁平上皮細胞癌からなる群から選択される、[1 2] ~ [1 5]のいずれかの医薬組成物。

[1 8] 癌はR C Cである、[1 7]の医薬組成物。

[1 9] P D - 1アンタゴニストは、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である、 50

[1 2] ~ [1 8] のいずれかの医薬組成物。

[2 0] PD - 1 アントゴニストは抗 PD - 1 抗体である、[1 2] ~ [1 8] のいずれかの医薬組成物。

[2 1] PD - 1 アントゴニストは、ペムプロリズマブ又はニボルマブである、[1 2] ~ [2 0] のいずれかの医薬組成物。

[2 2] PD - 1 アントゴニストはペムプロリズマブである、[1 2] ~ [2 1] のいずれかの医薬組成物。

[2 3] レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、毎日投与され；且つ PD - 1 アントゴニストは、ペムプロリズマブであり、3 週毎に 1 回投与される、[1 2] ~ [2 2] のいずれかの医薬組成物。

[2 4] レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、2 4 m g、2 0 m g、1 8 m g、1 2 m g、又は 8 m g の 1 日用量にて投与され；且つペムプロリズマブは、3 週毎に 1 回、成人について 2 0 0 m g、又は小児について 2 m g / k g (最大 2 0 0 m g) の用量にて投与される、[2 3] の医薬の組成物。

[2 5] レンバチニブ又はその薬学的に許容できる塩は、レンバチニブメシル酸塩であり；且つ E 7 3 8 6 又はその薬学的に許容できる塩は、E 7 3 8 6 である、[1 2] ~ [2 4] のいずれかの医薬組成物。

[2 6] 癌の治療用の薬剤の製造のための、[1 2] ~ [2 5] のいずれかの医薬組成物の使用。

[2 7] 癌の治療に使用される、[1 2] ~ [2 5] のいずれかの医薬組成物。

【 0 1 4 7 】

一般的な方法。分子生物学における標準的な方法が、Sambrook、Fritsch、及び Maniatis (1 9 8 2 年及び 1 9 8 9 年第 2 版、2 0 0 1 年第 3 版) MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY；Sambrook 及び Russell (2 0 0 1 年) MOLECULAR CLONING、第 3 版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY；Wu (1 9 9 3 年) RECOMBINANT DNA、2 1 7 巻、Academic Press、San Diego、CA) に記載されている。また、標準的な方法が、Ausubelら (2 0 0 1 年) Current Protocols in Molecular Biology、1 ~ 4 巻、John Wiley and Sons, Inc. New York、NY に示されており、これは、細菌細胞におけるクローニング及び DNA 変異誘発 (1 巻)、哺乳動物細胞及び酵母におけるクローニング (2 巻)、複合糖質及びタンパク質発現 (3 巻)、並びにバイオインフォマティクス (4 巻) を解説している。

【 0 1 4 8 】

免疫沈降、クロマトグラフィ、電気泳動、遠心分離、及び結晶化が挙げられるタンパク質精製の方法が記載されている (Coliganら (2 0 0 0 年) CURRENT PROTOCOLS IN PROTEIN SCIENCE、1 巻、John Wiley and Sons, Inc.、New York)。化学分析、化学修飾、翻訳後修飾、融合タンパク質の生成、タンパク質のグリコシル化が記載されている (例えば、Coliganら (2 0 0 0 年) Current PROTOCOLS IN PROTEIN SCIENCE、2 巻、John Wiley and Sons, Inc.、New York；Ausubelら (2 0 0 1 年) CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY、3 巻、John Wiley and Sons, Inc.、NY、NY、1 6 . 0 . 5 ~ 1 6 . 2 2 . 1 7 頁；Sigma-Aldrich, Co. (2 0 0 1 年) PRODUCTS FOR LIFE SCIENCE RESEARCH、St. Louis、MO；4 5 ~ 8 9 頁；Amersham Pharmacia Biotech (2 0 0 1 年) BioDirectory、Piscataway、N. J.、3 8 4 ~ 3 9 1 頁参照)。ポリクローナル抗体及びモノクローナル

10

20

30

40

50

抗体の生成、精製、及びフラグメンテーションが記載されている (Coliganら (2001年) CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、1巻、John Wiley and Sons, Inc., New York; Harlow and Lane (1999年) USING ANTIBODIES、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY; Harlow and Lane、前掲)。リガンド/受容体相互作用を特徴付ける標準的な技術が利用可能である (例えば、Coliganら (2001) CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY、4巻、John Wiley, Inc., New York 参照)。

【0149】

10

モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ヒト化抗体を調製することができる (例えば、Sheperd及びDean (編) (2000年) Monoclonal Antibodies、Oxford Univ. Press、New York、NY; Kontermann及びDubel (編) (2001年) Antibody Engineering、Springer-Verlag、New York; Harlow及びLane (1988年) Antibodies A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、NY、139~243頁; Carpenterら (2000年) J. Immunol. 165巻: 6205頁; Heら (1998年) J. Immunol. 160巻: 1029頁; Tangら (1999年) J. Biol. Chem. 274巻: 27371~27378頁; Bacaら (1997年) J. Biol. Chem. 272巻: 10678~10684頁; Chothiaら (1989年) Nature 342巻: 877~883頁; Foote及びWinter (1992年) J. Mol. Biol. 224巻: 487~499頁; 米国特許第6,329,511号参照)。

20

【0150】

抗体ヒト化の代替法として、ファージで提示されるヒト抗体ライブラリ又はトランスジェニックマウスにおけるヒト抗体ライブラリを用いるものがある (Vaughanら (1996年) Nature Biotechnol. 14巻: 309~314頁; Barbas (1995年) Nature Medicine 1巻: 837~839頁; Mendezら (1997年) Nature Genetics 15巻: 146~156頁; Hoogenboom及びChames (2000年) Immunol. Today 21巻: 371~377頁; Barbasら (2001年) Phage Display: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、New York; Kayら (1996年) Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual、Academic Press、San Diego、CA; de Bruinら (1999年) Nature Biotechnol. 17巻: 397~399頁)。

30

【0151】

抗原の精製は、抗体の生成に必須でない。注目する抗原を有する細胞により動物を免疫化することができる。続いて、免疫化された動物から脾細胞を単離することができ、そして脾細胞を骨髓腫細胞株と融合させて、ハイブリドーマを生成することができる (例えば、Meygaardら (1997年) Immunity 7巻: 283~290頁; Wrightら (2000年) Immunity 13巻: 233~242頁; Prestonら、前掲; Kaithamanaら (1999年) J. Immunol. 163: 5157~5164頁参照)。

40

【0152】

抗体は、例えば、低分子薬物、酵素、リポソーム、ポリエチレングリコール (PEG) にコンジュゲートさせることができる。抗体は、治療、診断、キット、又は他の目的に有用であり、例えば、色素、放射性同位体、酵素、又は金属、例えば金コロイドにカップリ

50

ングされた抗体が挙げられる(例えば、Le Doussalら(1991年) J. Immunol. 146巻: 169~175頁; Gibelliniら(1998年) J. Immunol. 160: 3891~3898頁; Hsing及びBishop(1999年) J. Immunol. 162巻: 2804~2811頁; Evertsら(2002年) J. Immunol. 168巻: 883~889頁参照)。

【0153】

蛍光活性化セルソーティング(FACS)が挙げられるフローサイトメトリーの方法が利用可能である(例えば、Owensら(1994年) Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan(2001年) Flow Cytometry, 第2版; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro(2003年) Practical Flow Cytometry, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ参照)。例えば診断試薬として用いられる、核酸プライマー及びプローブが挙げられる核酸、ポリペプチド、並びに抗体を修飾するのに適した蛍光試薬が利用可能である(Molecular Probes(2003年)カタログ、Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich(2003年)カタログ、St. Louis, MO)。

10

【0154】

免疫系の組織学の標準的な方法が記載されている(例えば、Muller-Harmelink(編)(1986年) Human Thymus: Histopathology and Pathology, Springer Verlag, New York, NY; Hiattら(2000年) Color Atlas of Histology, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louisら(2002年) Basic Histology: Text and Atlas, McGraw-Hill, New York, NY参照)。

20

【0155】

例えば、抗原断片、リーダー配列、タンパク質フォールディング、機能ドメイン、グリコシル化部位、及び配列アラインメントを決定するための、ソフトウェアパッケージ及びデータベースが利用可能である(例えば、GenBank、Vector NTI(登録商標) Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); DeCypher(登録商標)(TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menneら(2000年) Bioinformatics 16巻: 741~742頁; Menneら(2000年) Bioinformatics Applications Note 16巻: 741~742頁; Wrenら(2002年) Comput. Methods Programs Biomed. 68巻: 177~181頁; von Heijne(1983年) Eur. J. Biochem. 133巻: 17~21頁; von Heijne(1986年) Nucleic Acids Res. 14巻: 4683~4690参照)。

30

40

【0156】

表3は、配列表における配列の簡単な説明を示す。

【0157】

【表 3】

表 3

配列番号	説明	
1	hPD-1.08A 軽鎖 CDR1	
2	hPD-1.08A 軽鎖 CDR2	
3	hPD-1.08A 軽鎖 CDR3	
4	hPD-1.08A 重鎖 CDR1	
5	hPD-1.08A 重鎖 CDR2	10
6	hPD-1.08A 重鎖 CDR3	
7	hPD-1.09A 軽鎖 CDR1	
8	hPD-1.09A 軽鎖 CDR2	
9	hPD-1.09A 軽鎖 CDR3	
10	hPD-1.09A 重鎖 CDR1	
11	hPD-1.09A 重鎖 CDR2	20
12	hPD-1.09A 重鎖 CDR3	
13	109A-H 重鎖可変領域	
14	409A-H 重鎖全長	
15	K09A-L-11 軽鎖可変領域	
16	K09A-L-16 軽鎖可変領域	
17	K09A-L-17 軽鎖可変領域	
18	K09A-L-11 軽鎖全長	30
19	K09A-L-16 軽鎖全長	
20	K09A-L-17 軽鎖全長	
21	ペムブロリズマブ重鎖	
22	ペムブロリズマブ軽鎖	
23	ニボルマブ重鎖	
24	ニボルマブ軽鎖	
25	ヒト PD-L1	40

【実施例】

【0158】

実施例 1：

E7386、レンバチニブ、及び抗PD-1抗体の3重組合せによる抗腫瘍効果

10%ウシ胎仔血清(FBS)及びペニシリン/ストレプトマイシン(それぞれ100単位/mL)を含有するイーグル最小必須培地(E-MEM)を用いて、マウス腎細胞癌細胞株RAG(ATCCナンバー: CCL-142)を培養した。トリプシン-EDTAを用いて、対数関数的に増殖する細胞をフラスコから収集した。細胞の懸濁液を遠心分離して、上清を除去した。次に、ハンクス平衡塩類溶液(HBSS)を用いて、 2.5×10^6

0⁷細胞/mLの濃度を有する細胞懸濁液を調製した。細胞懸濁液を、7週齢のマウス(BALB/cAnNCr1Cr1j、雌、日本チャールス・リバー株式会社)の各々の体の右外側部に、0.1mLの用量にて皮下移植した。移植の8日後に、電子デジタルキャリパー(Digimatic(商標)Caliper;株式会社ミットヨ)を用いて、注目する腫瘍の短径及び長径を測定した。以下の式を用いて、腫瘍体積TV及びRTVを算出した。

$$EQ. 1: \text{腫瘍体積 } TV (\text{mm}^3) = \text{長径} (\text{mm}) \times \text{短径} (\text{mm}) \times \text{短径} (\text{mm}) / 2$$

$$EQ. 2: \text{相対腫瘍体積 } RTV = n \text{ 日目の } TV / 1 \text{ 日目の } TV。$$

【0159】

投与の第1日目の腫瘍体積に基づいて、腫瘍体積の平均値がほとんど同じになるようなグループ化を実行した。レンバチニブの1mg/mL溶液を、3mM HClを用いて調製して、28日間、1日1回、0.2mL/マウス体重20gの用量にて経口投与した。PBSで希釈した、1.0mg/mLの抗マウスPD-1抗体(Clonal:RMP1-14、BioXCell、カタログ#:BE0146)を含有する0.2mLの投与サンプルを、1週あたり2回、合計8回(1日目、4日目、8日目、11日目、15日目、18日目、22日目、及び25日目(1日目に対するグループ化設定の日))、(200µg/マウスの投薬量にて)腹腔内投与した。E7386の2.5mg/mL溶液を、0.1M HClを用いて調製して、28日間、1日1回、0.2mL/マウス体重20gの用量にて経口投与した。対照群には何も投与しなかった。8頭のマウスを含む各群を用いて、実験を行った。1週あたり2回(1日目、4日目、8日目、11日目、15日目、18日目、22日目、25日目、及び29日目)、各腫瘍体積(TV)を、対照群、レンバチニブ投与群、抗マウスPD-1抗体投与群、レンバチニブ+抗マウスPD-1抗体投与群、E7386+レンバチニブ投与群、及び3重組合せ群について判定した。腫瘍体積を対数変換することによって得た値を用いて、反復測定されるDunnettの多重比較による統計分析を実行した。E7386は、(6S,9aS)-N-ベンジル-8-(6-[3-(4-エチルピペラジン-1-イル)アゼチジン-1-イル]ピリジン-2-イル}メチル)-6-(2-フルオロ-4-ヒドロキシベンジル)-4,7-ジオキソ-2-(プロパ-2-エン-1-イル)ヘキサヒドロ-2H-ピラジノ[2,1-c][1,2,4]トリアジン-1(6H)-カルボキサミドである。

【0160】

皮下(s.c.)RAG移植モデルにおいて、E7386、レンバチニブ、及び抗マウスPD-1抗体の3重組合せは、2重組合せ(すなわち、レンバチニブ+抗PD-1抗体の組合せ、又はレンバチニブ+E7386の組合せ)、又は単剤療法として単独で投与される場合の各剤のいずれよりも有意に高い抗腫瘍効果を示した。例えば、29日目に、3重組合せ群は、対照群及びE7386群と比較して、腫瘍体積が200分の1未満であった。3重組合せは、レンバチニブ群及び抗PD-1抗体群と比較して、腫瘍体積がそれぞれ30分の1未満及び120分の1未満であった。また、3重組合せ群は、レンバチニブ+抗PD-1抗体組合せ群及びE7386+レンバチニブ組合せ群と比較して、腫瘍体積がそれぞれ9分の1未満及び17分の1未満であった。

【0161】

CR率の態様において、3重組合せ群(レンバチニブ、ペムプロリズマブ、及びE7386)で観察される率は、他の治療群で観察される率よりも優れていた(CR率:対照群、レンバチニブ群、抗PD-1抗体群、E7386群、レンバチニブ+抗PD-1抗体群、E7386+レンバチニブ群、及び3重組合せ群における8頭のマウスのうち、それぞれ0、0、2、1、4、1、及び7頭)。

【0162】

腫瘍体積の経日変化を、表4に示す。また、各群の投与の間の腫瘍体積変化の時間過程、及び29日目の相対腫瘍体積を、図8及び図9にそれぞれ示す。

【0163】

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4

	1 日目	4 日目	8 日目	11 日目	15 日目	18 日目	22 日目	25 日目	29 日目
対照群	62	93	152	297	419	618	822	1101	1160
レンバチニブ群	62	82	102	134	152	175	162	166	151
抗 PD-1 抗体群	62	86	124	165	222	274	347	414	482
E7386 群	62	93	148	210	301	408	588	723	923
レンバチニブ+抗 PD-1 抗体 2 重組 合せ群	62	73	78	92	86	72	58	49	38
E7386+レンバチ ニブ 2 重組合せ群	62	70	74	83	84	83	78	71	68
3 重組合せ群	62	70	61	55	31	21	12	7	4

10

【 0 1 6 4 】

実施例 2 :

E 7 3 8 6、レンバチニブ、及び抗 P D - 1 抗体の 3 重組合せによる抗腫瘍効果

種々の培地を用いて、マウス細胞株（図 1 0 A ~ 図 1 0 C、列 A 参照）を培養した。トリプシン - E D T A を用いて、対数関数的に増殖する細胞をフラスコから収集した。細胞の懸濁液を遠心分離して、上清を除去した。次に、ハックス平衡塩類溶液（H B S S）を用いて、特定の細胞濃度（図 1 0 A ~ 図 1 0 C、列 B 参照）を有する細胞懸濁液を調製した。細胞懸濁液を、7 週齢の免疫コンピテントマウス（図 1 0 A ~ 図 1 0 C、列 C 参照）の各々の体の右外側部に、0 . 1 m L の用量にて皮下移植した。

20

【 0 1 6 5 】

移植の数日後（図 1 0 A ~ 図 1 0 C、列 D 参照）、電子デジタルキャリパー（D i g i m a t i c（商標）C a l i p e r ; 株式会社ミットヨ）を用いて、動物の腫瘍の短径及び長径を測定した。以下の式を用いて、腫瘍体積 T V 及び R T V を算出した。

$$E Q . 1 : 腫瘍体積 T V (m m ^ 3) = 長径 (m m) \times 短径 (m m) \times 短径 (m m) / 2$$

30

$$E Q . 2 : 相対腫瘍体積 R T V = n 日目の T V / 1 日目の T V .$$

【 0 1 6 6 】

投与の第 1 日目の腫瘍体積に基づいて、腫瘍体積の平均値がほとんど同じになるようなグループ化を実行した。レンバチニブの 1 m g / m l 溶液を、3 m M H C l を用いて調製して、2 8 日間、1 日 1 回、0 . 2 m L / マウス体重 2 0 g の用量にて経口投与した。P B S で希釈した、1 . 0 m g / m L の抗マウス P D - 1 抗体（C l o n e : R M P 1 - 1 4、B i o X C e l l、カタログ # : B E 0 1 4 6）を含有する 0 . 2 m L の投与サンプルを、1 週あたり 2 回、3 又は 4 週間（図 1 0 A ~ 図 1 0 C、列 E 参照）、（2 0 0 μ g / マウスの投薬量にて）腹腔内投与した。E 7 3 8 6 の 2 . 5 m g / m l 溶液を、0 . 1 M H C l を用いて調製して、3 又は 4 週間（図 1 0 A ~ 図 1 0 C、列 E 参照）、1 日 1 回、0 . 2 m L / マウス体重 2 0 g の用量にて経口投与した。対照群には何も投与しなかった。8 頭のマウスを含む各群を用いて、実験を行った。3 又は 4 週間（図 1 0 A ~ 図 1 0 C、列 E 参照）、1 週あたり 2 回、各腫瘍体積（T V）を、対照群、レンバチニブ投与群、抗マウス P D - 1 抗体投与群、レンバチニブ + 抗マウス P D - 1 抗体投与群、E 7 3 8 6 + レンバチニブ投与群、及び 3 重併用療法群について判定した。腫瘍体積を対数変換することによって得た値を用いて、反復測定される D u n n e t の多重比較による統計分析を実行した。E 7 3 8 6 は、（6 S , 9 a S）- N - ベンジル - 8 - （{ 6 - [3 - （4 - エチルピペラジン - 1 - イル）アゼチジン - 1 - イル] ピリジン - 2 - イル } メチル）- 6 - （2 - フルオロ - 4 - ヒドロキシベンジル）- 4 , 7 - ジオキソ - 2 - （プロ

40

50

パ - 2 - エン - 1 - イル)ヘキサヒドロ - 2 H - ピラジノ [2 , 1 - c] [1 , 2 , 4]
 トリアジン - 1 (6 H) - カルボキサミドである。

【 0 1 6 7 】

図 1 1 及び図 1 2 A ~ 図 1 2 G に示すように、E 7 3 8 6、レンバチニブ、及び抗マウス PD - 1 抗体の 3 重併用療法は、2 重組合せ (すなわち、レンバチニブ + 抗 PD - 1 抗体の組合せ、又はレンバチニブ + E 7 3 8 6 の組合せ)、又は単剤療法として単独で投与される場合の各剤のいずれよりも高い抗腫瘍効果を示した。

【 0 1 6 8 】

時間 t での相対腫瘍体積 (R T V) を、以下の式に従って算出した :

$$E Q . 3 : R T V = T V _ t / T V _ i n i t i a l \times 1 0 0 \% .$$

10

【 0 1 6 9 】

発明者らは、最良平均応答 (B e s t A v g R e s p o n s e) を、t 8 d 間の (R T V - 1 0 0 %) (E Q . 4) の平均の最小値と定義した。この測定基準は、応答の速度、強度、及び持続性の、単一の値への組合せを捕捉する。応答 (m R E C I S T) の基準は、R E C I S T 基準から応用して、以下のように定義した (この順序で用いた) : m C R、B e s t A v g R e s p o n s e 9 5 % ; m P R、B e s t A v g R e s p o n s e 5 0 % ; m S D、B e s t A v g R e s p o n s e < 3 0 % ; m P D、他にカテゴリー化されず。

【 0 1 7 0 】

参考文献

20

1. Sharpe, A.H, Wherry, E.J., Ahmed R., and Freeman G.J. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nature Immunology* (2007); 8:239-245.
2. Dong H et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med.* 2002 Aug;8(8):793-800.
3. Yang et al. PD-1 interaction contributes to the functional suppression of T-cell responses to human uveal melanoma cells in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008 Jun;49(6 (2008): 49:2518-2525.
4. Ghebeh et al. The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: correlation with important high-risk prognostic factors. *Neoplasia* (2006) 8: 190-198.
5. Hamanishi J et al. Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proceeding of the National Academy of Sciences*(2007): 104: 3360-3365.
6. Thompson RH et al. Significance of B7-H1 overexpression in kidney cancer. *Clinical Genitourinary Cancer* (2006): 5:206-211.
7. Nomi, T, Sho, M., Akahori, T., et al. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clinical Cancer Research*(2007);13: 2151-2157.
8. Ohigashi Y et al. Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 and programmed death-1 ligand 2 expression in human esophageal cancer. *Clin. Cancer Research* (2005): 11:2947-2953.
9. Inman et al. PD-L1 (B7-H1) expression by urothelial carcinoma of the bladder and BCG-induced granulomata: associations with localized stage progression. *Cancer* (2007): 109: 1499-1505.
10. Shimauchi T et al. Augmented expression of programmed death-1 in both neoplastic and nonneoplastic CD4+ T-cells in adult T-cell Leuke

50

mia/ Lymphoma. *Int. J. Cancer* (2007):121:2585-2590.

11. Gao et al. Overexpression of PD-L1 significantly associates with tumor aggressiveness and postoperative recurrence in human hepatocellular carcinoma. *Clinical Cancer Research* (2009) 15: 971-979.
12. Nakanishi J. Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers. *Cancer Immunol Immunother.* (2007) 56: 1173-1182.
13. Hino et al. Tumor cell expression of programmed cell death-1 is a prognostic factor for malignant melanoma. *Cancer* (2010): 00: 1-9.
14. Ghebeh H. Foxp3+ tregs and B7-H1+/PD-1+ T lymphocytes co-infiltrate the tumor tissues of high-risk breast cancer patients: implication for immunotherapy. *BMC Cancer*. 2008 Feb 23; 8: 57.
15. Ahmadzadeh M et al. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* (2009) 114: 1537-1544.
16. Thompson RH et al. PD-1 is expressed by tumor infiltrating cells and is associated with poor outcome for patients with renal carcinoma. *Clinical Cancer Research* (2007) 15: 1757-1761.
17. US Patent Application Publication No. 2018-0185395.
18. Canadian Application No. 3 044 658.
19. U.S. Patent 9,174,998.
20. U.S. Patent 10,259,817.
21. Keiichi Tamai, et al., "Suppressive expression of CD274 increases tumorigenesis and cancer stem cell phenotypes in cholangiocarcinoma," *Cancer Sci.* 105(6): 667-674, 2014.
- Anthony B. El-Khoueiry, et al., "A phase I first-in-human study of PRI-724 in patients (pts) with advanced solid tumors," *J. Clin. Oncol.* 31(15_suppl(May 20, 2013)): abstr 2501.
22. Renee van Amerongen, et al., "Break the loop, escape the cycle?" *The EMBO Journal* 2013, 32: 1977-1989.

【0171】

本明細書中で引用した全ての参考文献は、個々の刊行物、データベースエントリ（例えば、Genbank配列又はGeneIDエントリ）、特許出願、又は特許が具体的に、且つ個々に参照により組み込まれると示されているのと同程度に、参照により組み込まれる。参照による組込みのこの陳述は、37 C.F.R. § 1.57(b)(1)に従って、個々の刊行物、データベースエントリ（例えば、Genbank配列又はGeneIDエントリ）、特許出願、又は特許のいずれにも関係することが出願人によって意図されており、これらは各々、たとえそのような引用が参照による組込みの専用の陳述に近接していないとしても、37 C.F.R. § 1.57(b)(2)に従って明らかに識別される。もしあれば、本明細書内の参照による組込みの専用の陳述の包含は、参照による組込みのこの一般的な陳述を、いかなる形であれ弱めない。本明細書中で参考文献の引用は、参考文献が、関連する先行技術であるという承認として意図されないし、これらの刊行物又は文献の内容又は日付に関して、いかなる承認も構成しない。

【0172】

[配列表の参照]

本出願は、ASCIIフォーマットで電子的に提出した配列表を含有する。当該配列表は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。2020年10月27日に作成した前記ASCIIのコピーは、213597__0005__00__ST25と命名し、サイズは31,517バイトである。

【0173】

[関連出願の相互参照]

本出願は、米国特許仮出願第 6 2 / 9 2 7 , 3 3 4 号及び米国特許仮出願第 6 2 / 9 2 7 , 5 7 6 号の優先権及び利益を主張する。これらの仮出願は双方とも、2019年10月29日に出願されており、それらの内容は、全体が本明細書中に組み込まれる。

【 図面 】

【 図 1 】

【 図 2 】

Figure 1

hPD-1.08A 軽鎖CDR1(配列番号1)

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Phe Ser Tyr Leu His

hPD-1.08A 軽鎖CDR2(配列番号2)

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

hPD-1.08A 軽鎖CDR3(配列番号3)

Gln His Ser Trp Glu Leu Pro Leu Thr

hPD-1.08A 重鎖CDR1(配列番号4)

Ser Tyr Tyr Leu Tyr

hPD-1.08A 重鎖CDR2(配列番号5)

Gly Val Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Ser Glu Lys Phe Lys

hPD-1.08A 重鎖CDR3(配列番号6)

Arg Asp Ser Asn Tyr Asp Gly Gly Phe Asp Tyr

Figure 2

hPD-1.09A 軽鎖CDR1(配列番号7)

Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His

hPD-1.09A 軽鎖CDR2(配列番号8)

Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser

hPD-1.09A 軽鎖CDR3(配列番号9)

Gln His Ser Arg Asp Leu Pro Leu Thr

hPD-1.09A 重鎖CDR1(配列番号10)

Asn Tyr Tyr Met Tyr

hPD-1.09A 重鎖CDR2(配列番号11)

Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys

hPD-1.09A 重鎖CDR3(配列番号12)

Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr

10

20

30

40

50

【 図 3 】

Figure 3

109A-H 重鎖可変領域(配列番号13)

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Val	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly
Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr
Asn	Tyr	Tyr	Met	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
Glu	Trp	Met	Gly	Gly	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Phe
Asn	Glu	Lys	Phe	Lys	Asn	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Thr	Asp	Ser	Ser
Thr	Thr	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Lys	Ser	Leu	Gln	Phe	Asp	Asp
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Arg	Asp	Tyr	Arg	Phe	Asp	Met
Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser

409A-H 重鎖可変領域(配列番号14)

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Val	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly
Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr
Asn	Tyr	Tyr	Met	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
Glu	Trp	Met	Gly	Gly	Ile	Asn	Pro	Ser	Asn	Gly	Gly	Thr	Asn	Phe
Asn	Glu	Lys	Phe	Lys	Asn	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Thr	Asp	Ser	Ser
Thr	Thr	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Lys	Ser	Leu	Gln	Phe	Asp	Asp
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Arg	Asp	Tyr	Arg	Phe	Asp	Met
Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Ser
Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Thr	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser
Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys
Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala
Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp
Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser
Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Trp	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gly
Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His
Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Pro	Asn	His

【 図 4 】

Figure 4

K09A-L-11 軽鎖可変領域(配列番号15)

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
Gly	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Lys	Gly	Val	Ser
Thr	Ser	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly
Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Tyr	Leu	Glu	Ser
Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr
Tyr	Cys	Gln	His	Ser	Arg	Asp	Leu	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly
Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys									

K09A-L-16 軽鎖可変領域(配列番号16)

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro
Gly	Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Lys	Gly	Val	Ser
Thr	Ser	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly
Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Tyr	Leu	Glu	Ser
Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr
Tyr	Cys	Gln	His	Ser	Arg	Asp	Leu	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly
Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys									

K09A-L-17 軽鎖可変領域(配列番号17)

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro
Gly	Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Lys	Gly	Val	Ser
Thr	Ser	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly
Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Tyr	Leu	Glu	Ser
Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Ala	Phe
Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Leu	Tyr
Tyr	Cys	Gln	His	Ser	Arg	Asp	Leu	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly
Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe

10

20

【 図 5 A 】

Figure 5A

K09A-L-11 軽鎖全長(配列番号18)

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
Gly	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Lys	Gly	Val	Ser
Thr	Ser	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly
Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Tyr	Leu	Glu	Ser
Gly	Val	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr
Tyr	Cys	Gln	His	Ser	Arg	Asp	Leu	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly
Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe
Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser
Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val
Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu
Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr
Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							

K09A-L-16 軽鎖全長(配列番号19)

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro
Gly	Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Lys	Gly	Val	Ser
Thr	Ser	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly
Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Tyr	Leu	Glu	Ser
Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe		
Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr
Tyr	Cys	Gln	His	Ser	Arg	Asp	Leu	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly
Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe
Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser
Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val
Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu
Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr
Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							

【 図 5 B 】

Figure 5B

K09A-L-17 軽鎖全長(配列番号20)

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro
Gly	Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Lys	Gly	Val	Ser
Thr	Ser	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly
Gln	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Tyr	Leu	Glu	Ser
Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Ala	Phe
Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Leu	Tyr
Tyr	Cys	Gln	His	Ser	Arg	Asp	Leu	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly
Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe
Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser
Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val
Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu
Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr
Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							

30

40

50

【 図 6 】

Figure 6

ペムブロリズマブ

重鎖(配列番号21)

```

QVQLVQSGVE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYYMYWVRQA PGQGLEWMGG 50
INPSNGGTNF NEKFKNRVTL TDSSTTTAY MELKSLQFDD TAVYYCARRD 100
YRFDMGFDYW GQTTTVTVSS ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK 150
DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTPFAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT 200
YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT 250
LMISRTPEVT CVVVDVQSED FEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY 300
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTIKAK GQPREPQVYT 350
LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDL 400
DGSFFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LLSLSLGLK 447

```

軽鎖(配列番号22)

```

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASKGVS TSGYSYLHWY QQKPGQAPRL 50
LIYLYSYLEL GVPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY YCQHSRDLPL 100
TFGGGTKEVI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV 150
QWVKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLT STLTLSKADY EKHKVYACEV 200
THQGLSSPVT KSFNRGEC 218

```

【 図 7 】

Figure 7

ニボルマブ

重鎖(配列番号23)

```

QVQLVESGGG VVQPGRSRLR DCKASGITFS NSGMHWVRQA PGKGLEWVAV 50
IWYDGSKRYI ADSVKGRFTI SRDNSKNTLF LQMNSLRAED TAVYYCATND 100
DYWGQGLTIV VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV 150
TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTPVSSSLG TKTYTCNVNDH 200
KPSNTKVDKR VESKYGPPCP PCPAPEFLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP 250
EVTCVVVDVS QEDPEVQFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQFN STYRVVSVLT 300
VLHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPSSIEKTIK KAKGQPREPQ VYTLPPSQEE 350
MTKQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTFPV LDSDGSFFLY 400
SRLTVDKSRW QEGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSLGK 440

```

軽鎖(配列番号24)

```

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQVSV SYLAWYQQKQ GQAPRLLIYD 50
ASNRTATGIP RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SSNWPRTFGQ 100
GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNIFY PREAKVQWKV 150
DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSLSTLT LSKADYKHKV YACEVTHQG 200
LSPVTKSFN RQEC 214

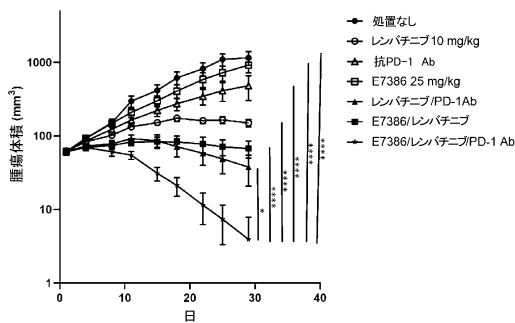
```

10

20

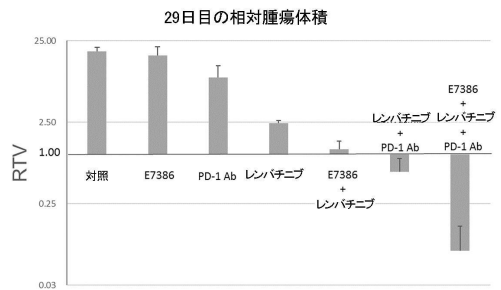
【 図 8 】

Figure 8



【 図 9 】

Figure 9



30

40

50

【 図 1 0 A 】

Figure 10A

細胞株	A 培地	B 細胞濃度	C 動物系統	D 投与開始 (日後)	E 投与期間
腎細胞 癌細胞株RAG (ATCC ナンバー: CCL-142)	10%ウシ胎仔血清(FBS) 及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有するイーグル 最小必須培地(E-MEM)	2.5 x 10 ⁷ 個細胞/mL	BALB/cAnNC rCrj, 雌、 日本チャールス・ リバー株式会社	8日	4週
腎細胞 癌細胞株Renca (ATCC ナンバー: CRL-2947)	10%ウシ胎仔血清(FBS)、 NEAA(0.1mM)、 ビルビン酸ナトリウム (1mM)、 L-グルタミン(2mM)、 及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有するRPMI1640	2 x 10 ⁷ 個細胞/mL	BALB/cAnNC rCrj, 雌、 日本チャールス・ リバー株式会社	8日	3週
肝癌細胞株 Hepa1-6 (ATCC ナンバー: CRL-1830)	10%ウシ胎仔血清(FBS) 及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有する ダルベッコ改変 イーグル培地(DMEM)	4 x 10 ⁷ 個細胞/mL	C57L/J, 雄、 自社繁殖	11日	4週
化学的に 形質転換された 肝癌細胞株 BNL 1ME A.7R.1 (ATCC ナンバー: TIB-75)	10%ウシ胎仔血清(FBS) 及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有する ダルベッコ改変 イーグル培地(DMEM)	1.4 x 10 ⁸ 個細胞/mL	BALB/cAnNC rCrj, 雄、 日本チャールス・ リバー株式会社	4日	4週

【 図 1 0 C 】

Figure 10C

細胞株	A 培地	B 細胞濃度	C 動物系統	D 投与開始 (日後)	E 投与期間
肺扁平上皮 癌細胞株 KLN205(ATCC ナンバー: CRL-1453)	10%ウシ胎仔血清(FBS)、 ビルビン酸ナトリウム (1mM)、及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有するイーグル 最小必須培地(E-MEM)	2 x 10 ⁷ 個細胞/mL	DBA/2Ncrj, 雌、 日本チャールス・ リバー株式会社	7日	3週
ルイス肺 癌細胞株 LL2(ATCC ナンバー: CRL-1642)	10%ウシ胎仔血清(FBS) 及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有する ダルベッコ改変 イーグル培地(DMEM)	2 x 10 ⁷ 個細胞/mL	C57BL/6JCrj, 雌、 日本チャールス・ リバー株式会社	7日	3週
メラノーマ 細胞株 B16-F10 (ATCC ナンバー: CRL-6475)	10%ウシ胎仔血清(FBS) 及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有する ダルベッコ改変 イーグル培地(DMEM)	5 x 10 ⁷ 個細胞/mL	C57BL/6Ncrj, 雌、 日本チャールス・ リバー株式会社	4日	3週
膀胱 癌細胞株 MBT2(JCRB ナンバー: IFO50041)	10%ウシ胎仔血清(FBS) 及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有するイーグル 最小必須培地(E-MEM)	1 x 10 ⁷ 個細胞/mL	C3H/HeNcrj, 雌、 日本チャールス・ リバー株式会社	6日	4週

【 図 1 0 B 】

Figure 10B

細胞株	A 培地	B 細胞濃度	C 動物系統	D 投与開始 (日後)	E 投与期間
結腸癌細胞株 CT26.WT (ATCC ナンバー: CRL-2638)	10%ウシ胎仔血清(FBS) 及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有するRPMI1640	1 x 10 ⁷ 個細胞/mL	BALB/cAnNC rCrj, 雌、 日本チャールス・ リバー株式会社	4日	3週
結腸腺 癌細胞株 MC38 (Kerafast Cat #: ENH204-FP)	10%ウシ胎仔血清(FBS) 及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有するダルベッコ 改変イーグル培地(DMEM)	2 x 10 ⁷ 個細胞/mL	C57BL/6Ncrj, 雌、 日本チャールス・ リバー株式会社	7日	4週
乳癌細胞株 4T1(ATCC ナンバー: CRL-2539)	10%ウシ胎仔血清(FBS) 及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有するRPMI1640 (ATCC-30-2001)	5 x 10 ⁷ 個細胞/mL	BALB/cAnNC rCrj, 雌、 日本チャールス・ リバー株式会社	5日	3週
乳癌細胞株 EMT6(ATCC ナンバー: CRL-2755)	15%ウシ胎仔血清(FBS)、 1 x GlutaMAX-1、 及びペニシリン/ ストレプトマイシン (それぞれ100単位/mL) を含有するウェイマウス (1 x)MB752/1培地	5 x 10 ⁷ 個細胞/mL	BALB/cAnNC rCrj, 雌、 日本チャールス・ リバー株式会社	6日	3週

【 図 1 1 】

Figure 11

T/C 15日目	薬品	12											
		Hepa1-6 HCC	MBT2 RCC	メラノーマ HCC	B16-F10 メラノーマ	MBT-2 膀胱	B16/F10 メラノーマ	Renca HCC	BNL 1ME HCC	KLN205 肺	4T1 乳	LL2 肺	EMT6 乳
LEN 10		7%	28%	7%	7%	44%	17%	26%	26%	38%	74%	51%	
PD-1Ab		4%	49%	63%	63%	84%	94%	85%	101%	113%	113%	67%	
LEN/PD-1		-47%	9%	4%	4%	17%	-34%	46%	48%	70%	70%	47%	
併用効果		-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
E7386/25		77%	77%	98%	97%	98%	91%	79%	97%	111%	102%	102%	
E7386/LEN		-15%	8%	12%	4%	12%	-52%	10%	32%	53%	44%	44%	
併用効果		-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-
E7386/LEN/PD-1		-64%	-47%	6%	2%	8%	-70%	7%	25%	58%	46%	46%	
併用効果		+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
併用効果 対LEN/PD-1		+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
併用効果 対E7386/LEN		+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

10

20

30

40

50

【 図 1 2 A 】

【 図 1 2 B 】

Fig. 12A

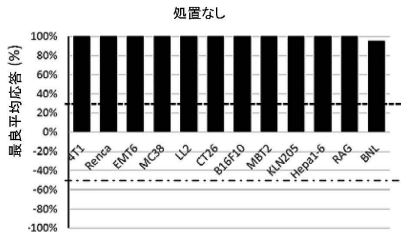
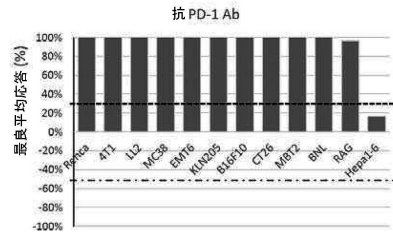


Fig. 12B



10

20

【 図 1 2 C 】

【 図 1 2 D 】

Fig. 12C

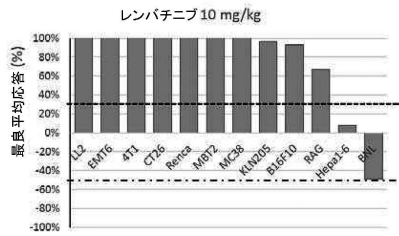
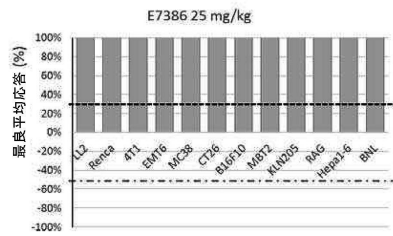


Fig. 12D



30

40

50

【 図 1 2 E 】

【 図 1 2 F 】

Fig. 12E

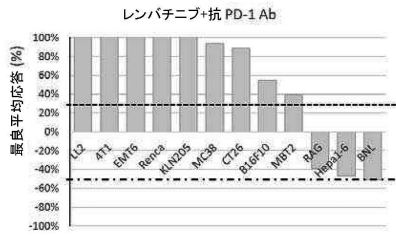
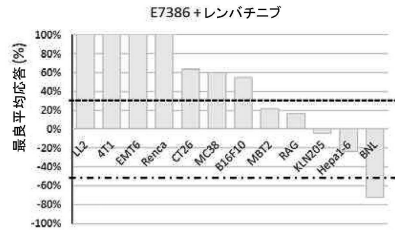


Fig. 12F

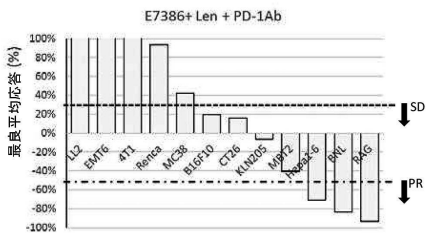


10

20

【 図 1 2 G 】

Fig. 12G



30

40

50

【配列表】

2023500575000001.app

10

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2020/057650

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	A61K31/47	A61K31/53
	A61K39/395	A61K45/06
ADD.	A61P35/00	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CA 3 044 658 A1 (EISAI R&D MAN CO LTD [JP]) 16 August 2018 (2018-08-16) cited in the application whole document, e.g. Fig. 1-16 -----	1-29
Y	WO 2016/141218 A1 (MERCK SHARP & DOHME [US]; EISAI R&D MAN CO LTD [JP]) 9 September 2016 (2016-09-09) Fig. 8-10 ----- -/--	1-29
<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
3 February 2021		12/02/2021
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 Scheithe, Rupert

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

page 1 of 2

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2020/057650

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>Yusaku Hori: "E7386, an orally active CBP/beta-catenin modulator, induces T cells infiltration into tumor and enhances antitumor activity of anti-PD-1 mAb in Wnt1 tumor syngeneic mice model", Cancer Research, 1 July 2017 (2017-07-01), page Abstract 5172, XP055706500, Retrieved from the Internet: URL:https://cancerres.aacrjournals.org/content/77/13_Supplement/5172 [retrieved on 2020-06-18] the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-29

10

20

30

40

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2020/057650

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
CA 3044658	A1	16-08-2018	AU 2018219637 A1	23-05-2019
			BR 112019014127 A2	11-02-2020
			CA 3044658 A1	16-08-2018
			CN 110072528 A	30-07-2019
			EP 3581183 A1	18-12-2019
			JP 6581320 B2	25-09-2019
			JP WO2018147275 A1	07-11-2019
			KR 20190110525 A	30-09-2019
			US 2019388420 A1	26-12-2019
			WO 2018147275 A1	16-08-2018

WO 2016141218	A1	09-09-2016	AU 2015384801 A1	07-09-2017
			CA 2978226 A1	09-09-2016
			JP 6788600 B2	25-11-2020
			JP 2018512391 A	17-05-2018
			KR 20170122809 A	06-11-2017
			US 2018092901 A1	05-04-2018
			WO 2016140717 A1	09-09-2016
			WO 2016141218 A1	09-09-2016

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/47 (2006.01)	A 6 1 K 31/47	
C 0 7 K 16/30 (2006.01)	C 0 7 K 16/30	Z N A
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	

,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,D
K,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),O
A(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,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z
W

r s e y 0 7 0 6 5 - 0 9 0 7 U . S . A .

- (71)出願人 520434824
エムエスディー インターナショナル ゲーエムベーパー
スイス連邦 6 0 0 6 ルツェルン ヴァイシュトラーセ 2 0
- (74)代理人 100088155
弁理士 長谷川 芳樹
- (74)代理人 100128381
弁理士 清水 義憲
- (74)代理人 100126653
弁理士 木元 克輔
- (72)発明者 小澤 陽一
茨城県つくば市東光台 5 丁目 1 番地 3 エーザイ株式会社 筑波研究所内
- (72)発明者 船橋 泰博
茨城県つくば市東光台 5 丁目 1 番地 3 エーザイ株式会社 筑波研究所内
- (72)発明者 加藤 悠
茨城県つくば市東光台 5 丁目 1 番地 3 エーザイ株式会社 筑波研究所内

F ターム (参考) 4C084 AA14 AA22 MA16 MA56 MA66 NA05 ZB091 ZB092 ZB211 ZB212
ZB261 ZB262 ZC751 ZC752
4C085 AA14 BB11 CC02 DD62 EE03 GG06
4C086 AA01 AA02 BC29 CB09 MA03 MA04 MA16 MA56 MA66 NA05
ZB09 ZB21 ZB26 ZC75
4H045 AA11 AA30 BA10 DA76 EA28 FA74