

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6862422号  
(P6862422)

(45) 発行日 令和3年4月21日(2021.4.21)

(24) 登録日 令和3年4月2日(2021.4.2)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Z N A T
A 6 1 K 31/52 (2006.01)	A 6 1 K 31/52 Z M D
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1
C O 7 K 16/28 (2006.01)	C O 7 K 16/28

請求項の数 22 (全 34 頁)

(21) 出願番号	特願2018-508728 (P2018-508728)	(73) 特許権者	316005432
(86) (22) 出願日	平成28年8月18日 (2016.8.18)		モルフォシス・アーゲー
(65) 公表番号	特表2018-523685 (P2018-523685A)		ドイツ・82152・ブラネック・ゼンメルヴァイシュトラーセ・7
(43) 公表日	平成30年8月23日 (2018.8.23)	(74) 代理人	110001302
(86) 国際出願番号	PCT/EP2016/069571		特許業務法人北青山インターナショナル
(87) 国際公開番号	W02017/032679	(72) 発明者	エンデル, ヤン
(87) 国際公開日	平成29年3月2日 (2017.3.2)		ドイツ連邦共和国 80333 ミュンヘン, バレアシュトラーセ 36
審査請求日	令和1年7月24日 (2019.7.24)	(72) 発明者	ヴィンダーリッヒ, マルク
(31) 優先権主張番号	15181925.7		ドイツ連邦共和国 81371 ミュンヘン, インプレアシュトラーセ 52
(32) 優先日	平成27年8月21日 (2015.8.21)	(72) 発明者	ボックスハマー, ライナー
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)		ドイツ連邦共和国 85653 アイング, エーグマティンガーシュトラーセ 5
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 組み合わせおよびその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病、または急性リンパ芽球性白血病の治療であって、CD19に特異的な抗体がイデラリシブと組み合わせて用いられる治療のための医薬の製造における、CD19に特異的な抗体の使用であって、前記CD19に特異的な抗体が、配列SYVMH(配列番号1)のHC DR1領域、配列NPYNDG(配列番号2)のHC DR2領域、配列GTYYYGTRVFDY(配列番号3)のHC DR3領域、配列RSSKSLQNVNGNTYLY(配列番号4)のLC DR1領域、配列RMSNLNS(配列番号5)のLC DR2領域および配列MQHLEYPIT(配列番号6)のLC DR3領域を含むことを特徴とする使用。

【請求項2】

請求項1に記載の使用において、前記抗体は、配列

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY  
NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG  
QGTLTVSS (配列番号10)

の可変重鎖、および配列

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLLIYR  
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK(配列番号11)

の可変軽鎖を含むことを特徴とする使用。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 に記載の使用において、前記抗体は、配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQGVHTFPAVLQSSGLYSL  
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPK  
DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQD  
WLNQKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA  
VEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL  
SLSPGK (配列番号12)

10

の重鎖定常ドメインを含むことを特徴とする使用。

【請求項 4】

請求項 1 乃至 3 の何れか 1 項に記載の使用において、前記抗体は、配列

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD  
STYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号13)

20

の軽鎖定常ドメインを含むことを特徴とする使用。

【請求項 5】

請求項 1 乃至 4 の何れか 1 項に記載の使用において、前記 C D 1 9 に特異的な抗体およびイデラリシブは、異なった医薬組成物に製剤化されることを特徴とする使用。

【請求項 6】

請求項 1 乃至 5 の何れか 1 項に記載の使用において、前記 C D 1 9 に特異的な抗体およびイデラリシブは、別々に投与されることを特徴とする使用。

30

【請求項 7】

請求項 6 に記載の使用において、前記 C D 1 9 に特異的な抗体およびイデラリシブは、物理的に別々に投与されることを特徴とする使用。

【請求項 8】

請求項 6 に記載の使用において、前記 C D 1 9 に特異的な抗体およびイデラリシブは、時間的に別々に投与されることを特徴とする使用。

【請求項 9】

請求項 1 乃至 5 の何れか 1 項に記載の使用において、前記 C D 1 9 に特異的な抗体およびイデラリシブは、一緒に投与されることを特徴とする使用。

【請求項 10】

請求項 1 乃至 5 の何れか 1 項に記載の使用において、イデラリシブは、前記 C D 1 9 に特異的な抗体の投与前に投与されることを特徴とする使用。

40

【請求項 11】

請求項 1 乃至 5 の何れか 1 項に記載の使用において、イデラリシブは、前記 C D 1 9 に特異的な抗体の投与後に投与されることを特徴とする使用。

【請求項 12】

請求項 1 乃至 5 の何れか 1 項に記載の使用において、前記 C D 1 9 に特異的な抗体およびイデラリシブは、同時に投与されることを特徴とする使用。

【請求項 13】

請求項 1 乃至 12 の何れか 1 項に記載の使用において、非ホジキンリンパ腫の治療用医

50

薬の製造における使用であることを特徴とする使用。

【請求項 1 4】

請求項 1 3 に記載の使用において、前記非ホジキンリンパ腫が、濾胞性リンパ腫であることを特徴とする使用。

【請求項 1 5】

請求項 1 3 に記載の使用において、前記非ホジキンリンパ腫が、小リンパ球性リンパ腫であることを特徴とする使用。

【請求項 1 6】

請求項 1 3 に記載の使用において、前記非ホジキンリンパ腫が、粘膜関連リンパ組織リンパ腫であることを特徴とする使用。

10

【請求項 1 7】

請求項 1 3 に記載の使用において、前記非ホジキンリンパ腫が、辺縁帯リンパ腫であることを特徴とする使用。

【請求項 1 8】

請求項 1 3 に記載の使用において、前記非ホジキンリンパ腫が、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫であることを特徴とする使用。

【請求項 1 9】

請求項 1 3 に記載の使用において、前記非ホジキンリンパ腫が、パーキット細胞リンパ腫であることを特徴とする使用。

【請求項 2 0】

請求項 1 3 に記載の使用において、前記非ホジキンリンパ腫が、マントル細胞リンパ腫であることを特徴とする使用。

20

【請求項 2 1】

請求項 1 乃至 1 2 の何れか 1 項に記載の使用において、慢性リンパ球性白血病の治療用医薬の製造における使用であることを特徴とする使用。

【請求項 2 2】

請求項 1 乃至 1 2 の何れか 1 項に記載の使用において、急性リンパ芽球性白血病の治療用医薬の製造における使用であることを特徴とする使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0 0 0 1】

本開示は、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病の処置のための、抗 CD 1 9 抗体およびホスホイノシチド 3 - キナーゼ阻害剤の医薬品の組み合わせに関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

B 細胞は、液性免疫反応において大きい役割を果たすリンパ球である。B 細胞は、ほとんどの哺乳動物の骨髄で産生され、循環血中のリンパ球プールの 5 ~ 1 5 % に対応する。B 細胞の主な機能は、様々な抗原に対する抗体を作ることであり、B 細胞は適応免疫系の本質的な成分である。

40

【0 0 0 3】

免疫系の調節におけるその決定的な役割のため、B 細胞の調節異常は、リンパ腫および白血病などの種々の障害に関連する。これらには、非ホジキンリンパ腫（「NHL」）、慢性リンパ球性白血病（「CLL」）および急性リンパ芽球性白血病（「ALL」）が含まれる。

【0 0 0 4】

NHL は、リンパ球から生じる不均一な悪性腫瘍である。米国（U.S.）における発生率は年間 6 5 , 0 0 0 人、死亡率は約 2 0 , 0 0 0 人と推定される（American Cancer Society, 2 0 0 6 ; および SEER Cancer Statistics Review）。本疾患はすべての年齢で起こる可能性があり、通常の発

50

症は40歳を超える成人から始まり、発生率は年齢と共に増加する。NHLは、リンパ節、血液、骨髄および脾臓に蓄積するリンパ球のクローン増殖を特徴とするが、主要な臓器の何れも関係し得る。病理学者および臨床医により使用される現在の分類体系は、NHLを前駆体および成熟B細胞新生物または成熟T細胞新生物にまとめた、腫瘍の世界保健機関(WHO)分類(World Health Organization Classification of Tumours)である。PDQは、現在、臨床試験への組み入れのためNHLを低悪性度(indolent)または高悪性度(aggressive)に分類している。低悪性度NHL群は、主に濾胞性亜型、小リンパ球性リンパ腫、MALT(粘膜関連リンパ組織)および辺縁帯からなり、低悪性度は、新たに診断されたB細胞NHL患者の約50%を包含する。高悪性度NHLは、主にびまん性大細胞型B細胞(DLBL、DLBCLまたはDLCL)(新たに診断された全患者の40%がびまん性大細胞を有する)、パーキット細胞およびマントル細胞と組織学的に診断された患者を含む。NHLの臨床経過はばらつきが大きい。臨床経過の主要な決定因子は、組織学的サブタイプである。大部分の低悪性度型のNHLは、不治の疾患と考えられる。患者は、最初に化学療法または抗体療法の何れかに反応するが、大部分は再発する。これまでの研究から、早期介入による生存期間の改善が立証されていない。無症候性患者では、患者が症状を示すようになるか、または疾患の進行速度が加速していると思われるまで「経過観察を行う(watch and wait)」ことが容認される。本疾患は、時間経過と共に高悪性度の組織型に変化することがある。生存期間中央値は8~10年であり、低悪性度患者は、多くの場合、その疾患の処置段階において3つ以上の処置を受ける。症状を示す低悪性度NHL患者の初期処置は、歴史的に併用化学療法であった。最も多く使われている薬として、シクロホスファミド、ビンクリスチンおよびプレドニゾン(CVP);またはシクロホスファミド、アドリマイシン、ビンクリスチン、プレドニゾン(CHOP)が挙げられる。患者の約70%~80%は、それらの初期化学療法に反応し、寛解の期間は2~3年程度持続する。最終的に患者の大半が再発する。抗CD20抗体、リツキシマブの発見および臨床使用により、反応率および生存率が著しく改善されている。大部分の患者の現在の標準治療は、リツキシマブ+CHOP(R-CHOP)またはリツキシマブ+CVP(R-CVP)である。インターフェロンがアルキル化剤と併用してNHLの初期処置として承認されているが、米国では使用が限定される。リツキシマブ療法は、いくつかのタイプのNHLにおいて有効であることが示されており、現在低悪性度(濾胞性リンパ腫)および高悪性度NHL(びまん性大細胞型B細胞リンパ腫)の両方の第1選択治療として承認されている。しかしながら、抗CD20モノクローナル抗体(mAb)には、一次耐性(再発した低悪性度患者で50%の奏効)、獲得耐性(再処置時の奏効率50%)、稀な完全奏効(再発した母集団で完全奏効率2%)、および再発パターンの継続を含め、かなりの限界がある。最後に、多くのB細胞はCD20を発現せず、したがって多くのB細胞障害は抗CD20抗体療法を用いて処置できない。

#### 【0005】

NHLに加えて、B細胞の調節異常に起因するいくつかのタイプの白血病が存在する。CLLは、Bリンパ球の異常蓄積により引き起こされる成人白血病の一種である。CLLでは、悪性リンパ球は正常かつ成熟しているように見えることがあるが、効率的に感染に対処することができない。CLLは、成人における白血病の最も一般的な形態である。男性の方が女性よりもCLLを2倍発症しやすい。しかしながら、重要な危険因子は年齢である。新規症例の75%超が50歳を超える患者で診断される。毎年10,000例超が診断され、死亡数は年間ほぼ5,000例である(American Cancer Society, 2006;およびSEER Cancer Statistics Review)。CLLは不治の疾患であるが、ほとんどの場合にゆっくりと進行する。CLLの多くの方は、何年間も通常の活動的な生活を送る。初期CLLは、一般に、その発症が遅いために処置されない。早期介入により生存時間または生活の質が改善されないと考えられるからである。代わりに、その状態が時間経過と共にモニターされる。初期のCLL処置は、正確な診断および疾患の進行に応じて様々である。CLL療法に使用される薬

10

20

30

40

50

は数十存在する。併用化学療法レジメン、たとえばFCR（フルダラビン、シクロホスファミドおよびリツキシマブ）、およびBR（イデラリシブおよびリツキシマブ）は、新たに診断されたCLLおよび再発したCLLの両方に効果的である。同種異系骨髄（幹細胞）移植は、そのリスクのためにCLLの第1選択治療として使用されることが稀である。

【0006】

もう1つのタイプの白血病は、ALLであり、急性リンパ性白血病とも呼ばれる。ALLは、骨髄における悪性の幼若白血球（リンパ芽球とも呼ばれる）の過剰産生および連続的増殖を特徴とする。「急性」は、循環血中のリンパ球（「芽球」）が未分化、未成熟状態であること、および疾患が急速に進行し、処置しないまま放置した場合、平均余命が数週間～数カ月であることを指す。ALLは小児期に最も多く見られ、発生率のピークは4～5歳である。12～16歳の小児は、他の年齢の小児よりALLで死亡しやすい。現在、小児ALLの少なくとも80%は治癒可能と考えられる。診断される症例は毎年4,000例未満であり、死亡数は年間ほぼ1,500である（American Cancer Society, 2006; およびSEER Cancer Statistics Review）。

10

【0007】

ヒトCD19分子は、以下に限定されるものではないが、プレB細胞、発生初期のB細胞（すなわち、未成熟B細胞）、最終分化を経て形質細胞となる成熟B細胞、および悪性B細胞など、ヒトB細胞の表面上に発現する構造的に異なる細胞表面受容体である。CD19は、大部分のプレB急性リンパ芽球性白血病（ALL）、非ホジキンリンパ腫、B細胞慢性リンパ球性白血病（CLL）、前リンパ球性白血病、有毛細胞白血病、通常の急性リンパ性白血病、および一部のヌル細胞型急性リンパ芽球性白血病に発現する（Nadler et al, J. Immunol., 131: 244 - 250 (1983), Loken et al, Blood, 70: 1316 - 1324 (1987), Uckun et al, Blood, 71: 13 - 29 (1988), Anderson et al, 1984. Blood, 63: 1424 - 1433 (1984), Scheuermann, Leuk. Lymphoma, 18: 385 - 397 (1995)）。形質細胞上のCD19の発現から、CD19が多発性骨髄腫、形質細胞腫、ワルデンシュトレム腫瘍などの分化したB細胞腫瘍上に発現し得ることがさらに示唆される（Grossbard et al., Br. J. Haematol, 102: 509 - 15 (1998); Treon et al, Semin. Oncol, 30: 248 - 52 (2003)）。

20

30

【0008】

したがって、CD19抗原は、非ホジキンリンパ腫（本明細書に記載の各サブタイプを含む）、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病の処置における免疫療法の標的となる。

【0009】

いくつかのCD19療法が示されてきた。CD3 - および4 - BB共刺激ドメインの両方を含む抗CD19キメラ抗原受容体（CAR）を発現するT細胞が進行CLLの3患者に投与された。その全体を援用するKalos et al., T cells with Chimeric Antigen Receptors Have Potent Antitumor Effects and Can Establish Memory in Patients with Advanced Leukemia, Science Translational Medicine, vol. 3, no. 95 (10 August 2011)。その全体を援用するSadelain et al., The promise and potential pitfalls of chimeric antigen receptors, Current Opinion in Immunology, Elsevier, vol. 21, no. 2, 2 April 2009にも、抗CD19キメラ抗原受容体（CAR）が記載されている。

40

50

## 【0010】

非特異的B細胞リンパ腫におけるCD19抗体の使用は、何れもその全体を援用する国際公開第2007076950号パンフレット(米国特許第2007154473号明細書)において考察されている。

## 【0011】

CLL、NHLおよびALLにおけるCD19抗体の使用は、その全体を援用するScheuermann et al., CD19 Antigen in Leukemia and Lymphoma Diagnosis and Immunotherapy, Leukemia and Lymphoma, Vol. 18, 385-397 (1995)に記載されている。

10

## 【0012】

CD19に特異的な別の抗体は、すべてその全体を援用する国際公開第2005012493号パンフレット(米国特許第7109304号明細書)、国際公開第2010053716号パンフレット(米国特許出願第12/266,999号明細書)(Immunomedics);国際公開第2007002223号パンフレット(米国特許第8097703号明細書)(Medarex);国際公開第2008022152号パンフレット(米国特許出願第12/377,251号明細書)および国際公開第2008150494号パンフレット(Xencor)、国際公開第2008031056号パンフレット(米国特許出願第11/852,106号明細書)(Medimmune);国際公開第2007076950号パンフレット(米国特許出願第11/648,505号明細書)(Merck Patent GmbH);国際公開第2009/052431号パンフレット(米国特許出願第12/253,895号明細書)(Seattle Genetics);ならびに国際公開第2010095031号パンフレット(米国特許出願第12/710,442号明細書)(Glenmark Pharmaceuticals)、国際公開第2012010562号パンフレットおよび国際公開第2012010561号パンフレット(International Drug Development)、国際公開第2011147834号パンフレット(Roche Glycart)、ならびに国際公開第2012/156455号パンフレット(Sanofi)に記載されている。

20

## 【0013】

CD19に特異的な抗体および他の薬の組み合わせは、その全体を援用する国際公開第2010151341号パンフレット(米国特許出願第13/377,514号明細書)(The Feinstein Institute);米国特許第5686072号明細書(University of Texas)、ならびに国際公開第2002022212号パンフレット(国際出願PCT/米国特許出願第01/29026号明細書明細書)(IDEC Pharmaceuticals)、国際公開第2013/024097号パンフレット(米国特許出願第14/126,928号明細書)(MorphoSys AG)および国際公開第2013/024095号パンフレット(米国特許出願第14/127,217号明細書)(MorphoSys AG)に記載されている。Drug synergies observed for antibody and toxin components of SAR3419 ADC contribute to overall conjugate efficacy and can be combination drug or tumor cell line dependentという名称のAACR Annual Meeting 2014, April 5-9, 2014 in San Diego, CAのAbstract 4765には、特定の細胞株におけるPI3K阻害剤およびSAR3419抗CD19抗体薬物複合体(ADC)が開示されている。

30

40

## 【0014】

いくつかのホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤が市販されている。イデラリシブは、GS-1101またはCAL-101とも呼ばれ、Gileadにより販売され、米国で

50

は商標名 Z y d e l i g を有する。イデラリシブは、すべてその全体を援用する米国特許第 6, 8 0 0, 6 2 0 号明細書；同第 8, 8 6 5, 7 3 0 号明細書；同第 8, 9 8 0, 9 0 1 号明細書；米国再発行特許第 R E 4 4 5 9 9 号明細書；および同第 R E 4 4 6 3 8 号明細書に記載されている。

【 0 0 1 5 】

抗癌剤の発見および開発における近年の進展にもかかわらず、C D 1 9 発現腫瘍に係る癌の多くの形態は依然として予後不良であることは明らかである。したがって、そうした形態の癌を処置するための改良された方法が求められている。

【 発明の概要 】

【 0 0 1 6 】

従来技術は、単独でも組み合わせでも、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病の処置における、例示した抗体およびイデラリシブの組み合わせの相乗効果を示唆していない。

【 0 0 1 7 】

一態様では、本開示は、C D 1 9 に特異的な抗体およびホスホイノシチド 3 - キナーゼ阻害剤の相乗効果のある組み合わせに関する。こうした組み合わせは、非ホジキンリンパ腫 ( N H L )、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病 ( A L L ) などの B 細胞悪性腫瘍の処置に有用である。

【 0 0 1 8 】

インビトロモデルは、ある化合物または化合物の組み合わせがヒトにおいてどのように挙動するかを示唆すると考えられる。複数の細胞株、たとえば慢性 B 細胞白血病細胞株 M E C - 1 細胞 ( D S M Z # A C C 4 9 7 ) を試験した。このインビトロモデルにおいて M E C - 1 細胞から、本組み合わせがヒトの慢性リンパ性白血病 ( C L L ) の処置においてどのように作用するかが示唆される。

【 0 0 1 9 】

さらに、化合物がインビトロで組み合わせされると、組み合わせが相加作用のみを有することが予想される。驚くべきことに、本発明者らは、C D 1 9 に特異的な特定の抗体およびイデラリシブの組み合わせが、抗体およびイデラリシブ単独と比較してインビトロで相乗効果レベルの特異的な細胞殺傷に関与することを見出した。

【 0 0 2 0 】

具体的には、本発明者らは、M O R 0 0 2 0 8 およびイデラリシブの組み合わせが、M E C - 1 細胞において、抗体およびイデラリシブ単独と比較してインビトロで相乗効果レベルの特異的な細胞殺傷に関与することを見出した。

【 0 0 2 1 】

加えておよびさらに意外にも、本発明者らは、C D 1 9 に特異的な特定の抗体およびイデラリシブの組み合わせが抗体およびイデラリシブ単独と比較してある優れた機能特性を有することを見出した。

【 0 0 2 2 】

要約すると、例示した抗 C D 1 9 抗体およびイデラリシブの組み合わせは、C L L に係るモデルにおいて相乗的に挙動した。C L L は B 細胞関連障害であり、かつ C D 1 9 が B 細胞上に高度に発現するため、例示した組み合わせは、同じ作用機序を有すると考えられ、他の B 細胞関連障害、たとえば N H L および A L L の処置でも相乗的に挙動するはずである。

【 0 0 2 3 】

したがって、例示した C D 1 9 に特異的な抗体およびイデラリシブの組み合わせは、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病のヒトの処置において効果的であるはずである。例示した C D 1 9 に特異的な抗体およびイデラリシブの組み合わせの予想される有効性は、臨床試験において確認されるであろう。

【 0 0 2 4 】

イデラリシブおよび他のホスホイノシチド 3 - キナーゼ阻害剤は、成長制御、代謝およ

10

20

30

40

50

び翻訳開始などの多くの細胞機能にとって重要なシグナル伝達経路PI3K/AKT/mTOR経路の一部であるホスホイノシチド3-キナーゼ酵素の1つまたは複数を阻害することにより作用するため、それらの作用機序が類似していることから、例示した抗CD19抗体およびイデラリシブ以外のホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤の組み合わせで非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病を有するヒトを処置したときも相乗作用が見られるはずであると考えられる。

【0025】

例示した抗CD19抗体および他の抗CD19抗体はCD19に結合するため、任意の抗CD19抗体およびホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤、たとえばイデラリシブの組み合わせで非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病を有するヒトを処置するときも相乗作用が見られるはずであると考えられる。

10

【0026】

本開示の態様は、CD19に特異的な抗体が配列SYVMH(配列番号1)のHC DR1領域、配列NPYNDG(配列番号2)のHC DR2領域、配列GTYYYGTRVFDY(配列番号3)のHC DR3領域、配列RSSKSLQNVNGNTYLY(配列番号4)のLC DR1領域、配列RMSNLS(配列番号5)のLC DR2領域および配列MQHLEYPIT(配列番号6)のLC DR3領域ならびにイデラリシブを含む、相乗効果のある組み合わせを含む。好ましい態様では、この組み合わせは、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病の処置に使用される。

20

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】図1は、MOR00208の可変ドメインのアミノ酸配列を示す。

【図2】図2は、MOR00208のFc領域のアミノ酸配列を示す。

【図3】図3は、4回の独立した実験で得られたMEC-1細胞におけるMOR00208およびイデラリシブの組み合わせのADCC用量反応曲線を示す。

【図4】図4は、4回の独立した実験で得られたMEC-1細胞におけるMOR00208およびイデラリシブの組み合わせのADCC用量反応曲線を示す。

【図5】図5は、4回の独立した実験で得られたMEC-1細胞におけるMOR00208およびイデラリシブの組み合わせのADCC用量反応曲線を示す。

30

【図6】図6は、4回の独立した実験で得られたMEC-1細胞におけるMOR00208およびイデラリシブの組み合わせのADCC用量反応曲線を示す。

【図7】図7は、4回の独立した実験で得られた異なる濃度でのMOR00208およびイデラリシブの組み合わせのCI曲線を示す。

【図8】図8は、4回の独立した実験で得られた異なる濃度でのMOR00208およびイデラリシブの組み合わせのCI曲線を示す。

【図9】図9は、4回の独立した実験で得られた異なる濃度でのMOR00208およびイデラリシブの組み合わせのCI曲線を示す。

【図10】図10は、4回の独立した実験で得られた異なる濃度でのMOR00208およびイデラリシブの組み合わせのCI曲線を示す。

40

【発明を実施するための形態】

【0028】

「相乗作用」、「協力作用」または「相乗的」は、組み合わせの予想される相加作用を超えるものを意味する。ある組み合わせの「相乗作用」、「協力作用」または「相乗的」作用は、本明細書ではChou et al.、Clarke et al.および/またはWebb et al.の方法により決定される。その全体を援用するTing-Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621-681(2006

50

)を参照されたい。さらにその全体を援用するClarke et al., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278(1997)も参照されたい。さらにその全体を援用するWebb, J. L. (1963) Enzyme and Metabolic Inhibitors, Academic Press, New Yorkも参照されたい。

【0029】

「抗体」という用語は、IgG、IgM、IgA、IgDおよびIgEなどの任意のアイソタイプを含むモノクローナル抗体を意味する。IgG抗体は、ジスルフィド結合により連結された2つの同一重鎖および2つの同一軽鎖からなる。重鎖および軽鎖は、それぞれ定常領域および可変領域を含む。各可変領域は、抗原のエピトープへの結合を主に担う「相補性決定領域」(「CDR」)または「超可変領域」と呼ばれる3つのセグメントを含む。それらは、N末端から順に番号が付されCDR1、CDR2およびCDR3と呼ばれる。CDRの外側の可変領域のより高度に保存された部分は、「フレームワーク領域」と呼ばれる。「抗体フラグメント」は、Fv、scFv、dsFv、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>フラグメント、またはそれぞれCDRおよびフレームワーク領域を含む少なくとも1つの可変重鎖または可変軽鎖を含む他のフラグメントを意味する。

【0030】

「ホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤」は、成長制御、代謝および翻訳開始などの多くの細胞機能にとって重要なシグナル伝達経路PI3K/AKT/mTOR経路の一部であるホスホイノシチド3-キナーゼ酵素の1つまたは複数を阻害することにより機能する医薬剤のクラスである。

【0031】

PI3Kには、いくつかの異なるクラスおよびアイソフォームがある。クラス1 PI3Kにはp110と呼ばれる触媒サブユニットがあり、p110にはp110、p110、p110およびp110の4種(アイソフォーム)が存在する。現在研究されている阻害剤は、クラスI PI3Kの1つまたは複数のアイソフォームを阻害する。

【0032】

ホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤としては、少なくともイデラリシブ、デュベリシブおよびコパンリシブがある。

【0033】

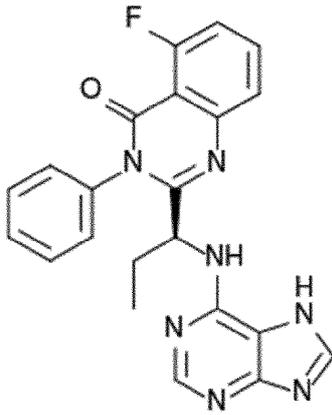
イデラリシブは、Gilead Sciences, Inc. (商標名ザイデリグ、GS-1101またはCAL-101とも名称される)により販売される。イデラリシブは、現在、他の併存症のためにリツキシマブ単独が適切な療法であると考えられている患者の、リツキシマブと組み合わせた再発性慢性リンパ球性白血病(CLL)の処置;少なくとも2回の全身療法を以前に受けたことがある患者の再発性濾胞性B細胞非ホジキンリンパ腫(FL)の処置;少なくとも2回の全身療法を以前に受けたことがある患者の再発性小リンパ球性リンパ腫(SLL)の処置についてラベル表示されている。本物質は、ホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤として作用し、さらに詳しくは、本物質は、酵素ホスホイノシチド3-キナーゼのアイソフォームP110を遮断する。イデラリシブの式は下記である。

10

20

30

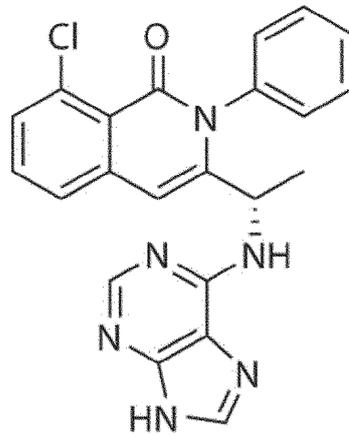
40



10

## 【 0 0 3 4 】

デュベリシブ ( I P I - 1 4 5 、 I N K 1 1 9 7 ) は、新規な選択的 P I 3 K / ( デルタおよびガンマ ) 阻害剤である。デュベリシブの式は下記である。

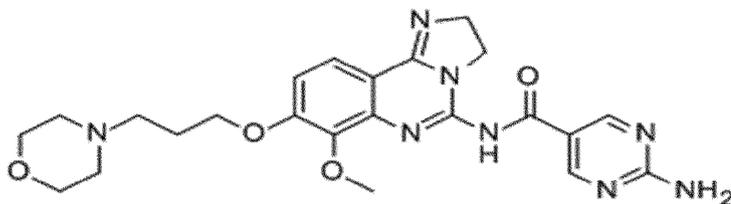


20

## 【 0 0 3 5 】

Bayer により開発されたコパンリシブ ( B A Y 8 0 - 6 9 4 6 ) は、選択的クラス I ホスホイノシチド 3 - キナーゼ阻害剤である。コパンリシブの式は下記である。

30



40

## 【 0 0 3 6 】

「 V H 」は、抗体の免疫グロブリン重鎖の可変領域または抗体フラグメントを指す。「 V L 」は、抗体の免疫グロブリン軽鎖の可変領域または抗体フラグメントを指す。

## 【 0 0 3 7 】

「 C D 1 9 」という用語は、C D 1 9 として知られるタンパク質を指し、以下の同義語 : B 4 、 B リンパ球抗原 C D 1 9 、 B リンパ球表面抗原 B 4 、 C V I D 3 、分化抗原 C D 1 9 、 M G C 1 2 8 0 2 および T 細胞表面抗原 L e u - 1 2 を有する。

## 【 0 0 3 8 】

50

ヒトCD19は、下記のアミノ酸配列を有する。

MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPFLLKLSL  
GLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLG  
GLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNLQSLSDLTMAPGS  
TLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVWVETGLLLPRATAQDAGK  
YYCHRGNTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRK  
RMTDPTRRRFFKVTPPPSSGPNQYGNVLSLPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQA  
DGALGSRSPPGVGPPEEEEGEGYEEPDSSEDFEYENDSNLGDQDLSQDGSYENPEDEPLGPE  
DEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSAAWDPSPREATSLGSSQSYEDMRGILYAAPQLR  
SIRGQPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSTR (配列番号7)

10

【0039】

「MOR00208」は抗CD19抗体である。可変ドメインのアミノ酸配列は図1に記載されている。MOR00208の重鎖および軽鎖のFc領域のアミノ酸配列は図2に記載されている。「MOR00208」、「XmAb 5574」および「MOR208」は、図1および2に示された抗体を表す同義語として使用される。MOR00208抗体は、その全体を援用する米国特許出願第12/377,25号明細書(全軽鎖が配列番号106であり、全重鎖が配列番号87である)に記載される。

【0040】

MOR00208は、ALL、NHL、CLLおよび小リンパ球性リンパ腫(SLL)のヒト臨床試験において研究されてきた。

20

【0041】

CD19に特異的な別の抗体は、その全体を援用する米国特許第7,109,30号明細書(Immunomedics);その全体を援用する米国特許出願第11/917,75号明細書(Medarex);その全体を援用する米国特許出願第11/852,10号明細書(Medimmune);その全体を援用する米国特許出願第11/648,50号明細書(Merck Patent GmbH);その全体を援用する米国特許第7,968,68号明細書(Seattle Genetics);およびその全体を援用する米国特許出願第12/710,44号明細書(Glenmark Pharmaceuticals)に記載される。

【0042】

「Fc領域」は、抗体の定常領域を意味し、ヒトではIgG1、2、3、4サブクラスまたは他の定常領域であってもよい。ヒトFc領域の配列は、IMGT, Human IGH C-REGIONS, [http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/protein/human/IGH/IGHC/Hu\\_IGHCallgenes.html](http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/protein/human/IGH/IGHC/Hu_IGHCallgenes.html) (2011年5月16日に検索)で入手可能である。

30

【0043】

「RefmAb33」は、アミノ酸配列が以下の通りである抗体である。

Fc領域を含む重鎖:

QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTAGMSVGVWIRQPPGKALEWLADIWWDDKKH  
YNPSLKDRLTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGGQTTTVVSSASTKG  
PSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT  
PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMIS  
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKE  
YKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN  
GQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK  
(配列番号8)

40

【0044】

Fc領域を含む軽鎖:

DIQMTQSPSTLSASVGDRVITCSASSRVGYMHWYQQKPGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRF  
SGSGSGTEFTLTISSLQPDFFATYYCFQGSYGFYFVGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT  
ASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC  
EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号9)

【0045】

RefmAb33はRSVに特異的であり、MOR00208と同じFc領域を共有するため、アイソタイプコントロールとして使用される。

【0046】

「組み合わせ」は、品目、たとえば抗体およびイデラリシブなどの化合物の2つ以上を意味する。

【0047】

本開示は、記載された組み合わせを含む組み合わせ、医薬品および医薬組成物にさらに関する。本発明の相乗効果のある組み合わせの2つの成分、たとえばCD19に特異的な抗体およびイデラリシブは、物理的にまたは時間的に一緒に、同時に、別々にまたは続けて投与してもよい。

【0048】

イデラリシブは、現在、1日2回150mg経口投与される。MOR00208は、現在、静脈内投与され、週1回または2週に1回投与されるのが現状である。一実施形態では、イデラリシブは、CD19に特異的な抗体、たとえばMOR00208の投与前に投与される。一実施形態では、イデラリシブは、CD19に特異的な抗体、たとえばMOR00208の投与後に投与される。

【0049】

好ましくは、両方の薬剤の投与により、両方の薬剤が患者に同時に有効であり得る。たとえば、MOR00208が週1回投与され、イデラリシブが1日1回投与される場合、両方の薬剤が必ずしも両方とも同じ日に投与されなくても、両方の薬剤の活性物質が同時に患者に存在することが望ましい。

【0050】

「同時に」または「一緒に投与される」は、2つの成分が、両方の成分（薬剤）が同時に患者に有効であるときに投与されることを意味する。「協力作用」は、両方の薬剤が同時に患者に有効であることを意味する。「同時に」または「一緒に投与される」は、薬剤が正確に同じ時間にまたは常に同じ日に投与されることを意味する必要はない。

【0051】

2つの成分は、異なる医薬組成物中で製剤化してもよい。

【0052】

医薬組成物は、有効な作用物質、たとえばヒトの治療に使用するための抗体を含む。医薬組成物は、許容可能キャリアまたは賦形剤を含んでもよい。

【0053】

「投与される」または「投与」は、以下に限定されるものではないが、注射用形態による送達を含み、たとえば、静脈内、筋肉内、皮内、局所、経皮、腹腔内、眼窩内、移植もしくは皮下経路による送達、または粘膜経路、たとえば吸入用の鼻スプレーもしくはエアロゾルとしての送達、または摂取可能な溶液としての送達、またはカプセル剤もしくは錠剤としての経口送達を含む。

【0054】

化合物または組み合わせの「治療有効量」は、既定の疾患または障害の臨床症状に測定可能な改善をもたらすか、軽減するか、または部分的に阻止するのに十分な量を指す。特定の治療目的に効果的である量は、被検体の疾患または傷害の重症度、ならびに体重および全身状態によって異なる。適切な投与量の決定は、通常の実験を用いて数値のマトリックスを構築し、マトリックス内の様々な点を試験することにより達成してもよいことが理解されるであろう。これらは、すべて訓練を受けた医師または臨床科学者の通常の技術の範囲内である。

10

20

30

40

50

## 【0055】

本明細書の「CDR」は、Chothia et alまたはKabat et alにより定義される。その全体を援用するChothia C, Lesk AM. (1987) Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. J Mol Biol., 196(4):901-17を参照されたい。その全体を援用するKabat E. A, Wu T. T., Perry H. M., Gottesman K. S. and Foeller C. (1991). Sequences of Proteins of Immunological Interest. 5th edit., NIH Publication no. 91-3242, US Dept. of Health and Human Services, Washington, DCを参照されたい。

10

## 【0056】

「交差競合」は、抗体または他の結合剤が標準的な競合結合アッセイにおいて他の抗体または結合剤のCD19への結合に干渉する能力を意味する。抗体または他の結合剤が別の抗体または結合剤のCD19への結合に干渉できる能力または程度と、したがってそれが本発明による交差競合とされ得るかどうかと、標準的な競合結合アッセイを用いて決定することができる。1つの好適なアッセイは、表面プラズモン共鳴技術を用いて相互作用の程度を測定できるBiacore技術(たとえば、BIAcore 3000装置(Biacore, Uppsala, Sweden)の使用による)を使用するものである。交差競合を測定するための別のアッセイは、ELISA系アプローチを使用する。抗体をその交差競合に基づき「エピトープビニング」するためのハイスループットプロセスは、国際公開第2003/48731号パンフレットに記載される。

20

## 【0057】

「エピトープ」という用語は、抗体に特異的に結合できるまたは他の方法で分子と相互作用できる任意のタンパク質決定基を含む。エピトープ決定基は、一般に、アミノ酸または炭水化物もしくは糖側鎖などの分子の化学的に活性な表面分子群からなり、特定の三次元構造特徴および特定の荷電特徴を有し得る。エピトープは「リニア」でも、または「コンフォメーションナル」でもよい。「リニアエピトープ」という用語は、タンパク質と相互作用分子(抗体など)との間の相互作用点のすべてがタンパク質の一次アミノ酸配列に沿って直線状に生じるエピトープを指す(連続的)。「コンフォメーションナルエピトープ」という用語は、不連続アミノ酸が三次元構造で集合したエピトープを指す。コンフォメーションナルエピトープでは、相互作用点は、タンパク質上の互いに離されたアミノ酸残基を横断して生じる。

30

## 【0058】

「同じエピトープに結合する」は、ある抗体または他の結合剤が、CD19および例示した抗体と同じエピトープに結合する能力を意味する。例示した抗体およびCD19に対する他の抗体のエピトープは、標準的なエピトープマッピング技術を用いて決定することができる。エピトープマッピング技術は、当該技術分野において周知であり、Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, New Jerseyを含む。たとえば、リニアエピトープは、たとえば、タンパク質分子の一部に対応する大量のペプチドを固体支持体上に同時に合成し、ペプチドを依然として支持体に結合させたままペプチドを抗体と反応させることにより決定してもよい。こうした技術は当該技術分野において公知であり、たとえば、米国特許第4,708,877号明細書; Geysen et al, (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 8:3998-4002; Geysen et al, (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:78-182; Geysen et al, (1986) Mol. Immunol. 23:709-715に記載される。同様に、コンフォメーションナルエピト-

40

50

ブも、たとえば、水素/重水素交換、X線結晶解析および二次元核磁気共鳴などにより、アミノ酸の空間構造を決定することによって容易に同定される。たとえば、Epitope Mapping Protocols, supraを参照されたい。タンパク質の抗原性領域も、たとえば、Oxford Molecular Groupから入手可能なOmega version 1.0ソフトウェアプログラムを用いて計算されたものなど、標準的な抗原性およびヒドロパシープロットを用いて同定することができる。このコンピュータプログラムは、抗原性プロファイルの決定にHopp/Woods method、Hopp et al, (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:3824-3828を、ヒドロパシープロットにKyte-Doolittle技術、Kyte et al, (1982) J. Mol. Biol. 157:105-132を利用する。

10

## 【0059】

## 実施形態

本開示の態様は、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病の処置に使用される、CD19に特異的な抗体およびホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤の組み合わせを含む。実施形態において本組み合わせは相乗的である。

## 【0060】

本明細書において、例示した抗CD19抗体およびイデラリシブの組み合わせは、CLLに関係するインビトロモデルにおいて相乗的に挙動した。CLLはB細胞関連障害であり、CD19がB細胞上に高度に発現するため、例示した組み合わせは同じ作用機序を有するはずであり、他のB細胞関連障害、たとえばNHLおよびALLの処置でも相乗的に挙動するはずである。したがって、例示したCD19に特異的な抗体およびイデラリシブの組み合わせは、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病のヒトの処置において効果的であるはずである。例示したCD19に特異的な抗体およびイデラリシブの組み合わせの予想される有効性は、臨床試験において確認されるであろう。

20

## 【0061】

慢性B細胞白血病細胞株MEC-1細胞(DSMZ#ACC497)を試験した。

## 【0062】

以下の別の細胞株も評価される：ヒトパーキットリンパ腫細胞であるRamos細胞(ATCC番号CRL-1596)。HG-3(DSMZ#ACC765)およびC11(DSMZ#ACC773)は、慢性リンパ球性白血病細胞株である。Su-DHL6(DSMZ#ACC572)およびU2932(DSMZ#ACC633)は、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)細胞株である。JVM-2(ATCC(登録商標)CRL-3002)は、マントル細胞リンパ腫細胞株である。BALL-1(DSMZ#ACC742)は、急性リンパ芽球性白血病細胞株である。

30

## 【0063】

このインビトロモデルにおけるMEC-1細胞から、本組み合わせがヒトの慢性リンパ性白血病(CLL)の処置においてどのように作用するかが示唆される。このインビトロモデルにおけるRamos細胞から、本組み合わせがヒトの非ホジキンリンパ腫(NHL)の処置においてどのように作用するかが示唆される。本インビトロモデルのHG-3細胞およびC11細胞から、本組み合わせがヒトの慢性リンパ性白血病(CLL)の処置においてどのように作用するかが示唆される。本インビトロモデルのSu-DHL6細胞およびU2932細胞から、本組み合わせがヒトの非ホジキンリンパ腫の処置においてどのように作用するかが示唆される。本インビトロモデルのJVM-2細胞から、本組み合わせがヒトの非ホジキンリンパ腫の処置においてどのように作用するかが示唆される。本インビトロモデルのBALL-1細胞から、本組み合わせがヒトの急性リンパ芽球性白血病の処置においてどのように作用するかが示唆される。

40

## 【0064】

ChouインデックスおよびClarke et al.の値から、MOR00208

50

およびイデラリシブ単独と比較すると、MEC-1細胞の特異的殺傷においてMORO 208およびイデラリシブの組み合わせの明らかな協力作用が示される。

【0065】

要約すると、例示した抗CD19抗体およびイデラリシブの組み合わせは、CLLに係するモデルにおいて相乗的に挙動する。したがって、例示したCD19に特異的な抗体およびイデラリシブの組み合わせは、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病のヒトの処置において効果的であるはずである。

【0066】

イデラリシブおよび他のホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤はすべて、成長制御、代謝および翻訳開始など多くの細胞機能にとって重要なシグナル伝達経路PI3K/AKT/mTOR経路の一部であるホスホイノシチド3-キナーゼ酵素の1つまたは複数を阻害することにより作用するため、イデラリシブおよび他のホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤の作用機序は類似していることから、例示した抗CD19抗体およびイデラリシブ以外のホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤の組み合わせで非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病を有するヒトを処置したときも相乗作用が見られるはずであると考えられる。

【0067】

例示した抗CD19抗体および他の抗CD19抗体はCD19に結合するため、たとえば、すべてその全体を援用する米国特許出願第12/377,25号明細書(Xencor)、国際公開第2005012493号パンフレット、国際公開第2010053716号パンフレット(ImmunoMedics);国際公開第2007002223号パンフレット(MedarEx);国際公開第2008022152号パンフレット(Xencor);国際公開第2008031056号パンフレット(Medimmune);国際公開第2007/076950号パンフレット(Merck Patent GmbH);国際公開第2009/052431号パンフレット(Seattle Genetix);および国際公開第2010095031号パンフレット(Glenmark Pharmaceuticals)に記載される任意の抗CD19抗体とホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤との組み合わせを用いて、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病を有するヒトを処置するときも相乗作用が見られるはずであると考えられる。

【0068】

実施形態では、CD19に特異的な抗体は、配列SYVMH(配列番号1)のHCDR1領域、配列NPYNDG(配列番号2)のHCDR2領域、配列GTYYYGTRVFDY(配列番号3)のHCDR3領域、配列RSSKSLQNVNGNTYLY(配列番号4)のLCDR1領域、配列RMSNLNS(配列番号5)のLCDR2領域および配列MQHLEYPIT(配列番号6)のLCDR3領域を含む抗体と交差競合する抗体を含む。

【0069】

実施形態では、CD19に特異的な抗体は、配列SYVMH(配列番号1)のHCDR1領域、配列NPYNDG(配列番号2)のHCDR2領域、配列GTYYYGTRVFDY(配列番号3)のHCDR3領域、配列RSSKSLQNVNGNTYLY(配列番号4)のLCDR1領域、配列RMSNLNS(配列番号5)のLCDR2領域および配列MQHLEYPIT(配列番号6)のLCDR3領域を含む抗体と同じエピトープに結合する抗体を含む。

【0070】

実施形態では、CD19に特異的な抗体は、配列SYVMH(配列番号1)のHCDR1領域、配列NPYNDG(配列番号2)のHCDR2領域、配列GTYYYGTRVFDY(配列番号3)のHCDR3領域、配列RSSKSLQNVNGNTYLY(配列番号4)のLCDR1領域、配列RMSNLNS(配列番号5)のLCDR2領域および配列MQHLEYPIT(配列番号6)のLCDR3領域を含む。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 7 1 】

実施形態では、C D 1 9 に特異的な抗体は、配列

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY  
NDGTKYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWG  
QGTLVTVSS (配列番号10)

の可変重鎖、および配列

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYR  
MSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (配列番号11)

10

の可変軽鎖を含む。

## 【 0 0 7 2 】

ある種の実施形態では、前記抗体は、配列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL  
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPK  
DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQD  
WLNKEYKCKVSNKALPAAPEEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA  
VEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL  
SLSPGK (配列番号12)

20

の重鎖定常ドメインを含む。

## 【 0 0 7 3 】

実施形態では、C D 1 9 に特異的な抗体は、配列

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD  
STYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号13)

30

の軽鎖定常ドメインを含む。

## 【 0 0 7 4 】

実施形態では、ホスホイノシチド3 - キナーゼ阻害剤は、イデラリシブである。

## 【 0 0 7 5 】

実施形態では、組み合わせの成分、C D 1 9 に特異的な抗体およびイデラリシブは、別々に投与される。一実施形態では、イデラリシブは、C D 1 9 に特異的な抗体の投与前に投与される。一実施形態では、イデラリシブは、C D 1 9 に特異的な抗体の投与後に投与される。実施形態では、組み合わせの成分、C D 1 9 に特異的な抗体およびイデラリシブは、同時にまたは一緒に投与される。

## 【 0 0 7 6 】

実施形態では、組み合わせは医薬組成物である。実施形態では、組成物は許容可能なキャリアを含む。実施形態では、組み合わせは有効量で投与される。

40

## 【 0 0 7 7 】

別の態様では、配列S Y V M H (配列番号1)のH C D R 1領域、配列N P Y N D G (配列番号2)のH C D R 2領域、配列G T Y Y Y G T R V F D Y (配列番号3)のH C D R 3領域、配列R S S K S L Q N V N G N T Y L Y (配列番号4)のL C D R 1領域、配列R M S N L N S (配列番号5)のL C D R 2領域および配列M Q H L E Y P I T (配列番号6)のL C D R 3領域を含む、C D 1 9 に特異的な抗体と、イデラリシブとの相乗効果のある組み合わせは、単離されたヒトP B M Cの存在下において、イデラリシブ単独より少なくとも2倍、3倍、4倍または5倍優れた有効性でA D C CによりM E C - 1細胞

50

の殺傷に關与することができる。

【0078】

本開示の態様は、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病の処置のための、配列SYVMH(配列番号1)のHC DR1領域、配列NPYNDG(配列番号2)のHC DR2領域、配列GTYYYGTRVFDY(配列番号3)のHC DR3領域、配列RSSKSLQNVNGNTYLY(配列番号4)のLC DR1領域、配列RMSNLNS(配列番号5)のLC DR2領域および配列MQHLEYPIT(配列番号6)のLC DR3領域を含む、CD19に特異的な抗体と、イデラリシブとの相乗効果のある組み合わせを含む。実施形態では、非ホジキンリンパ腫は、濾胞性リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫、粘膜関連リンパ組織、辺縁帯、びまん性大細胞型B細胞、パーキット細胞およびマントル細胞からなる群から選択される。

10

【0079】

もう一つの態様は、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病の処置を必要とする個体の、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病を処置する方法であって、CD19に特異的な抗体およびホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤の投与を含む方法を含む。本方法の実施形態では、配列SYVMH(配列番号1)のHC DR1領域、配列NPYNDG(配列番号2)のHC DR2領域、配列GTYYYGTRVFDY(配列番号3)のHC DR3領域、配列RSSKSLQNVNGNTYLY(配列番号4)のLC DR1領域、配列RMSNLNS(配列番号5)のLC DR2領域および配列MQHLEYPIT(配列番号6)のLC DR3領域を含む、CD19に特異的な抗体を含む。本方法の実施形態では、抗体は、例示したCD19に特異的な抗体を含む。本方法の実施形態では、ホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤は、イデラリシブである。

20

【0080】

もう一つの態様は、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病の処置を必要とする個体の、非ホジキンリンパ腫、慢性リンパ球性白血病および/または急性リンパ芽球性白血病の処置のための薬物の製造における、CD19に特異的な抗体およびホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤の使用を含み、その方法は、CD19に特異的な抗体およびホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤を含む薬物の投与を含む。本方法の実施形態では、CD19に特異的な抗体は、配列SYVMH(配列番号1)のHC DR1領域、配列NPYNDG(配列番号2)のHC DR2領域、配列GTYYYGTRVFDY(配列番号3)のHC DR3領域、配列RSSKSLQNVNGNTYLY(配列番号4)のLC DR1領域、配列RMSNLNS(配列番号5)のLC DR2領域および配列MQHLEYPIT(配列番号6)のLC DR3領域を含む。本方法の実施形態では、抗体は、例示したCD19に特異的な抗体を含む。本方法の実施形態では、ホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤はイデラリシブである。

30

【実施例】

【0081】

実施例1：MOR00208およびイデラリシブを単独および組み合わせて使用するMEC-1細胞の細胞毒性材料

40

細胞株MEC-1細胞(DSMZ#ACC497)慢性B細胞白血病細胞株；JVM-2(ATCC(登録商標)CRL-3002)マントル細胞リンパ腫細胞株；Ramos細胞(ATCC番号CRL-1596)、ヒトパーキットリンパ腫細胞；HG-3(DSMZ#ACC765)およびC11(DSMZ#ACC773)は慢性リンパ球性白血病細胞株であり；Su-DHL6(DSMZ#ACC572)およびU2932(DSMZ#ACC633)はびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)細胞株であり；BALL-1(DSMZ#ACC742)は急性リンパ芽球性白血病細胞株である。

【0082】

使用した細胞株の培養条件は、供給者の情報に従う。

50

## 【0083】

細胞培地：イスコフ改変ダルベッコ培地（IMDM）、Invitrogen、カタログ番号：31980-048；RPMI1640、Invitrogen、カタログ番号：31870-074；GlutaMAX、Invitrogen、カタログ番号：35050-38 ロット番号：1654740；FCS：Sigma カタログ番号：F7524 ロット番号：111M3396。

## 【0084】

NK：RPMI1640、GlutaMAX<sup>TM</sup>含有、Invitrogen、カタログ番号：31870-074、10%FCS；Biocoll：Biochrome AG カタログ番号：L6115 ロット番号：0034D；MACS NK細胞アイソレーションキット：Miltenyi Biotec カタログ番号：130-092-657 ロット番号：5150327376；イデラリシブ：Selleck Chem カタログ番号：S2226；FCS：Sigma カタログ番号：F7524 ロット番号：111M3396；およびMOR00208と同じFc領域を含むRefmAb33（抗RSV）。

## 【0085】

方法

MEC-1細胞株を対象として、MOR00208およびイデラリシブ単独および組み合わせの細胞毒性を試験した。

## 【0086】

イデラリシブは、ホスホイノシチド3-キナーゼ阻害剤であり、さらに詳しくは、イデラリシブは、酵素ホスホイノシチド3-キナーゼのアイソフォームP110を遮断する。イデラリシブは、単独ではMEC-1細胞に対してほとんどまたはまったく細胞毒性作用を有さない。MOR00208は、CD19を標的とし、ADCCを介して標的細胞殺傷に關与する。

## 【0087】

以下：a) MEC-1細胞+RefmAb33+DMSO+NK細胞、b) MEC-1細胞+DMSO+NK細胞、c) MEC-1細胞+DMSOを対照として使用した。

## 【0088】

標的細胞殺傷は、以下のパラメーター：0.3μM、1μM、3μMおよび10μMの濃度のイデラリシブ；1.5μg/ml、0.015μg/mlおよび0.0015μg/mlの濃度のMOR00208ならびに同じ濃度のMOR00208およびイデラリシブの組み合わせを用いて測定した。

## 【0089】

イデラリシブ群、MOR00208単独群およびMOR00208+イデラリシブの組み合わせ群では、標的細胞をADCCアッセイ測定前の7日間イデラリシブで前処理した。標的細胞をカウントし、最終濃度10μMのCFSEを用いて染色した。DMSO処理した標的細胞の場合、 $5 \times 10^5 / \text{ml}$ の細胞密度に対応する2:1のエフェクター:標的(E:T)比を選択する。阻害剤処理した細胞のE:T比を調整することにより、イデラリシブ処理により引き起こされる標的細胞に対する増殖作用を含めた。NK細胞をカウントし、 $1 \times 10^6 / \text{ml}$ に調整する。標的細胞殺傷アッセイは、以下の通り行った：96ウェルプレートを使用し、1ウェルあたり100μlの標的細胞懸濁液、続いてNK細胞の懸濁液100μlを各ウェルに加え、E:T比2:1とした。抗体は培地中10~0.00001nMの範囲に希釈した(1.5~0.0000015μg/mlに対応)。細胞を遠心し、標的：エフェクター細胞ペレットを100μlの抗体含有培地またはそれに対応する対照溶液に再懸濁した。アッセイは、37°CにおいてCO<sub>2</sub>インキュベーターで4時間インキュベートした。氷上で10分のインキュベーション後、50μlのDAPI溶液を各ウェルに加え(最終濃度1μg/ml)、氷上で10分間インキュベートした。細胞殺傷の測定は、FACS-Verserを用いて行った。死標的細胞はDAPI陽性であった。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 9 0 】

データ

MOR00208およびイデラリシブの組み合わせによるADCCのMEC-1細胞に対する関与を判定するため、合計で6つの実験を行った。6つの実験のうち2つでは、RefmAb対照およびDMSO単独対照がMEC-1細胞のみの対照と比較して25%高い殺傷を示したため、データを解析から除外した。これらの2つの実験では、NK細胞の自己反応性により適切な解析が妨げられた。

## 【 0 0 9 1 】

実験1～4のADCC用量反応曲線を図3～6に示す。

## 【 0 0 9 2 】

実験1～4の死細胞率(%) (生データ)を下記表1～16に示す。

## 【 0 0 9 3 】

実験1

表1:10 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	62.9	63.1	40.3
B:Idela 単独 10 $\mu$ M	11.6	11.6	11.6
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	7.4	7.4	7.4
AB:組み合わせ	88.0	86.4	68.2

表2 3 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	62.9	63.1	40.3
B:Idela 単独 3 $\mu$ M	11.3	11.3	11.3
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	7.4	7.4	7.4
AB:組み合わせ	87.7	87.6	68.1

表3 1 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	62.9	63.1	40.3
B:Idela 単独 1 $\mu$ M	10.8	10.8	10.8
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	7.4	7.4	7.4
AB:組み合わせ	85.9	79.6	65.3

10

表4 0.3 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	62.9	63.1	40.3
B:Idela 単独 0.3 $\mu$ M	6.8	6.8	6.8
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	7.4	7.4	7.4
AB:組み合わせ	77.5	78.5	57.6

20

【 0 0 9 4 】

実験 2

表5 10 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	85.6	78.9	52.9
B:Idela 単独 10 $\mu$ M	14.7	14.7	14.7
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	19.3	19.3	19.3
AB:組み合わせ	92.5	87.2	52.6

30

40

表6 3 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	85.6	78.9	52.9
B:Idela 単独 3 $\mu$ M	14.6	14.6	14.6
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	19.3	19.3	19.3
AB:組み合わせ	90.9	83.9	51.8

10

表7 1 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	85.6	78.9	52.9
B:Idela 単独 1 $\mu$ M	20.7	20.7	20.7
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	19.3	19.3	19.3
AB:組み合わせ	94.2	86.5	63.4

20

表8 0.3 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	85.6	78.9	52.9
B:Idela 単独 0.3 $\mu$ M	20.8	20.8	20.8
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	19.3	19.3	19.3
AB:組み合わせ	93.9	89.3	60.9

30

40

表9 10 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	62.0	59.5	43.5
B:Idela 単独 10 $\mu$ M	11.5	11.5	11.5
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	19.1	19.1	19.1
AB:組み合わせ	81.3	73.0	48.9

10

表10 3 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	62.0	59.5	43.5
B:Idela 単独 3 $\mu$ M	14.0	14.0	14.0
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	19.1	19.1	19.1
AB:組み合わせ	81.1	74.0	46.8

20

表11 1 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	62.0	59.5	43.5
B:Idela 単独 1 $\mu$ M	18.7	18.7	18.7
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	19.1	19.1	19.1
AB:組み合わせ	83.9	78.5	52.7

30

40

表12 0.3 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	62.0	59.5	43.5
B:Idela 単独 0.3 $\mu$ M	17.3	17.3	17.3
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	19.1	19.1	19.1
AB:組み合わせ	80.4	73.7	50.8

10

【 0 0 9 6 】

実験 4

表13 10 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	74.6	73.3	56.3
B:Idela 単独 10 $\mu$ M	12.1	12.1	12.1
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	21.4	21.4	21.4
AB:組み合わせ	90.6	88.0	68.9

20

表14 3 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	74.6	73.3	56.3
B:Idela 単独 3 $\mu$ M	13.8	13.8	13.8
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	21.4	21.4	21.4
AB:組み合わせ	91.9	88.5	66.2

30

40

表15 1 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	74.6	73.3	56.3
B:Idela 単独 1 $\mu$ M	15.9	15.9	15.9
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	21.4	21.4	21.4
AB:組み合わせ	91.7	89.9	67.4

10

表16 0.3 $\mu$ Mのイデラリシブ

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 $\mu$ g/ml	0.015 $\mu$ g/ml	0.0015 $\mu$ g/ml
A:MOR00208 単独	74.6	73.3	56.3
B:Idela 単独 0.3 $\mu$ M	15.5	15.5	15.5
C:対照 (0.03%DMSO/Ref33)	21.4	21.4	21.4
AB:組み合わせ	90.4	87.7	66.1

20

## 【0097】

協力作用の計算：Clarke et al.

ある薬剤の活性が低く、この場合のようにMEC-1細胞に対するイデラリシブ単独の細胞毒性(cytotoxicity)活性が低い場合、相乗作用は、その組み合わせがその阻害薬剤単独と有意に異なる統計学的証拠により判定することができる。その全体を援用するClarke et al., Issues in experimental design and endpoint analysis in the study of experimental cytotoxic agents in vivo in breast cancer and other models, Breast Cancer Research and Treatment 46:255-278(1997)を参照されたい。

30

## 【0098】

表1~16の死細胞%(生データ)は、以下のように解析した。

拮抗的 (AB)/C < (A/C) × (B/C)

相加的 (AB)/C = (A/C) × (B/C)

相乗的 (AB)/C > (A/C) × (B/C)

AはMOR00208を単独で用いた処理であり；Bはイデラリシブを単独で用いた処理であり；Cは対照DMSO+RefMab33に対する反応であり；ABは処理AおよびBの組み合わせである。

40

## 【0099】

実験1

表17:表1に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	12.0	11.7	9.3
(A/C)×(B/C)	13.5	13.5	8.6

10

表18 表2に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	11.9	11.9	9.3
(A/C)×(B/C)	13.1	13.1	8.4

20

表19 表3に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	11.7	10.8	8.9
(A/C)×(B/C)	12.5	12.5	8.0

30

表20 表4に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	10.5	10.7	7.8
(A/C)×(B/C)	7.9	7.9	5.0

40

【 0 1 0 0 】

実験 2

表21 表5に示したデータのClarke解析

		MOR00208 濃度		
		10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml	
(AB)/C	4.8	4.5	2.7	
(A/C)×(B/C)	3.4	3.1	2.1	

10

表22 表6に示したデータのClarke解析

		MOR00208 濃度		
		10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml	
(AB)/C	4.7	4.4	2.7	
(A/C)×(B/C)	3.4	3.1	2.1	

20

表23 表7に示したデータのClarke解析

		MOR00208 濃度		
		10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml	
(AB)/C	4.9	4.5	3.3	
(A/C)×(B/C)	4.8	4.4	3.0	

30

表24 表8に示したデータのClarke解析

		MOR00208 濃度		
		10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml	
(AB)/C	4.9	4.6	3.2	
(A/C)×(B/C)	4.8	4.4	3.0	

40

【 0 1 0 1 】

実験 3

表25 表9に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4.3	3.8	2.6
(A/C)×(B/C)	2.0	1.9	1.4

10

表26 表10に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4.2	3.9	2.5
(A/C)×(B/C)	2.4	2.3	1.7

20

表27 表11に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4.4	4.1	2.8
(A/C)×(B/C)	3.2	3.1	2.2

30

表28 表12に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4.2	3.9	2.7
(A/C)×(B/C)	2.9	2.8	2.1

40

【 0 1 0 2 】

実験 4

表29 表13に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4.2	4.1	3.2
(A/C)×(B/C)	2.0	1.9	1.5

10

表30 表14に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4.3	4.1	3.1
(A/C)×(B/C)	2.2	2.2	1.7

20

表31 表15に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4.3	4.2	3.1
(A/C)×(B/C)	2.6	2.5	2.0

30

表32 表16に示したデータのClarke解析

	MOR00208 濃度		
	10nM	0.1nM	0.01nM
	1.5 μg/ml	0.015 μg/ml	0.0015 μg/ml
(AB)/C	4.2	4.1	3.1
(A/C)×(B/C)	2.5	2.5	1.9

40

## 【 0 1 0 3 】

## 結果

各濃度での実験2～4から、Clarke et al.の方法を用いてMOR00208 + イデラリシブの組み合わせの明らかな相乗作用が示された。しかしながら、少数の濃度での実験1は、イデラリシブ群（表1～3を参照）は対照よりやや大きい（対照より約4%大きい）わずかな作用を示したため、協力作用を示さなかった。この対照と比較したわずかな（約4%）差は十分に他の対照の範囲内にあるため、実験装置に起因し得る。

## 【 0 1 0 4 】

協力作用の計算：併用係数（CI）

50

上記の Clarke et al. を用いて計算した相乗作用の結果を確認するため、併用係数 (CI) 法を表 1 ~ 16 の死細胞% (生データ) に適用した。CI 計算の場合、本発明者らは、0.3 μM、1 μM、3 μM および 10 μM のイデラリシブと MOR 208 の 3 つの濃度 (1.5 μg/ml、0.015 μg/ml および 0.0015 μg/ml) とを使用した。

#### 【0105】

そうした計算は、その全体を援用する Ting - Chao Chou, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies, Pharmacol Rev 58:621 - 681 (2006)、およびその全体を援用する Chou TC, Talalay P, Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. Adv Enzyme Regul 22:27 - 55 (1984) に記載される。Chou - Talalay の方法は、CI - isobol 法を用いて行う。

10

#### 【0106】

半数影響式 (Median effect equation)

半数影響式は、阻害剤 (薬剤など) の作用を  $F_a / F_u = (D / D_{50})^m$  としてモデル化する。式中、D は用量であり、 $F_a$  および  $F_u$  は、用量 D により影響を受けたまたは受けない系の割合であり ( $F_a + F_u = 1$ ) ;  $D_{50}$  は、半数影響を発揮する用量 (たとえば、 $IC_{50}$ 、 $ED_{50}$ 、 $LD_{50}$ ) である。定数 m は、用量作用曲線の形状を決定する。

20

#### 【0107】

本発明者らは、Graph Pad Prism を使用して非線形回帰計算を行い、パラメーター m および  $D_{50}$  を推定する。

#### 【0108】

CI - isobol 法

CI - isobol 法は、薬剤間の協力作用の定量的評価を与える。併用係数 (CI) は、単独および組み合わせた薬剤処理の用量作用データから推定する。CI が 1 未満であると協力作用を示し ; CI = 1 であると相加作用を示し ; CI > 1 であると拮抗作用を示す。薬剤相互作用 (協力作用または拮抗作用) が顕著であるほど、CI 値は 1 から離れる。

30

#### 【0109】

形式的には、組み合わせ薬剤処理の併用係数 (CI) は、 $CI = D_1 / D_{x1} + D_2 / D_{x2}$  と定義される。

ここで、 $D_1$  および  $D_2$  は、それぞれ組み合わせの薬剤 1 および薬剤 2 の用量であり ;  $D_{x1}$ 、および  $D_{x2}$  は、組み合わせの作用と同じ作用を与えると考えられる薬剤 1 および薬剤 2 のみを用いた処理の用量である。用量  $D_{x1}$  および  $D_{x2}$  は、単独の薬剤処理の用量作用データから推定する必要がある。本質的には、半数影響式は各薬剤のデータにフィッティングさせる。薬剤の半数影響式から、本発明者らは、作用 (すなわち  $F_a$ 、 $F_u$ ) を発揮するのに必要な用量 (すなわち D) を推定することができる。ある点が相加作用を示す線から離れているほど、1 とその CI との差が大きくなり、したがって (相乗または拮抗) 作用が強くなる。

40

#### 【0110】

結果

Chou を用いた相乗作用の計算のために作成した曲線を図 7 ~ 10 に示す。Chou インデックス値から、MEC - 1 細胞の特異的殺傷において、MOR 00208 およびイデラリシブ単独と比較して MOR 00208 およびイデラリシブの組み合わせの実験 1 ~ 4 のすべてで明らかな協力作用が示される。

50

## 【 0 1 1 1 】

MOR00208およびイデラリシブの組み合わせは、MEC-1 CLL細胞株において相乗的に挙動した。したがって、MOR00208およびイデラリシブの組み合わせはヒトのCLLの処置において相乗的であると考えられる。

## 【 0 1 1 2 】

さらに、MOR00208およびイデラリシブの組み合わせは、ヒトの非ホジキンリンパ腫(NHL)、慢性リンパ性白血病(CLL)および急性リンパ芽球性白血病(ALL)の処置においても相乗的に挙動するであろうと考えられる。

## 【 0 1 1 3 】

本記述、具体的な例およびデータは例示的な実施形態を示しているが、例示として提示しており、本発明を限定することを意図するものではないことが理解されるであろう。本明細書に含まれる考察、開示およびデータから本発明における様々な変更形態および修正形態が明らかになり、したがってこれらは本発明の一部と見なされる。

10

## 【 図 1 】

図 1

MOR00208重鎖可変ドメインのアミノ酸配列は下記である  
(CDRを太字および下線で示す)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPY  
NDGTKYNEKFGGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYCARGTYYYGTRVFDYWG  
QGLTIVTSS (配列番号10)

MOR00208軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列は下記である  
(CDRを太字および下線で示す)

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPQLIYR  
MSNLNSGVPDRFSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK (配列  
番号11)

MOR00208 HCDR1のアミノ酸配列はSYVHM(配列番号1)である

MOR00208 HCDR2のアミノ酸配列はNPYNDG(配列番号2)である

MOR00208 HCDR3のアミノ酸配列はGTYYYGTRVFDY(配列番号3)である

MOR00208 LCDR1のアミノ酸配列はRSSKSLQNVNGNTYLY(配列番号4)である

MOR00208 LCDR2のアミノ酸配列はRMSNLNS(配列番号5)である

MOR00208 LCDR3のアミノ酸配列はMQHLEYPIT(配列番号6)である

## 【 図 2 】

図2

## Fc領域の配列

MOR00208重鎖Fc領域のアミノ酸配列は下記である

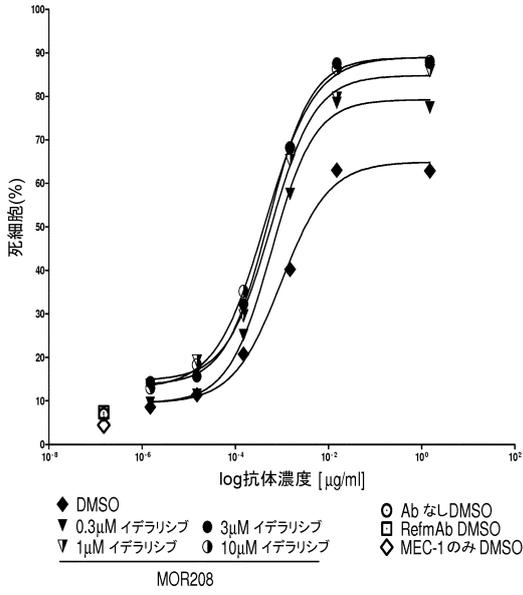
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG  
PDVFLFPPKPKDLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF  
NSTFRVSVLTVVHQDQLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTKTGQPREPQVYTLPPSRE  
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFFLYSKLTVDKSR  
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号12)

MOR00208軽鎖Fc領域のアミノ酸配列は下記である

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ  
DSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (配列番号13)

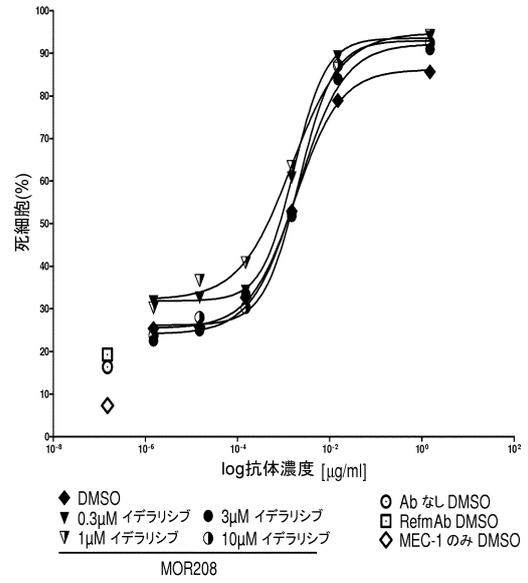
【 図 3 】

図 3



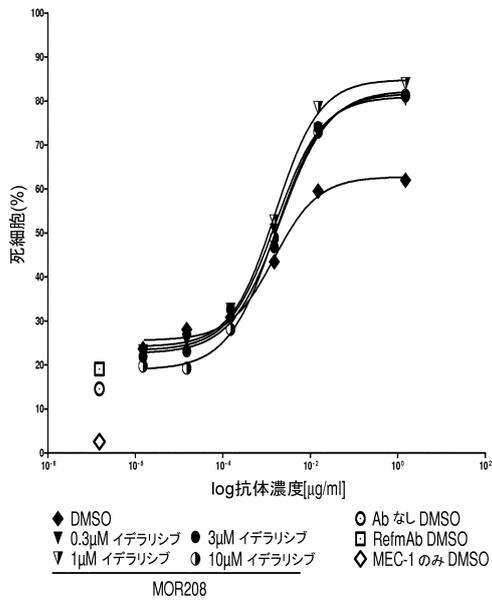
【 図 4 】

図 4



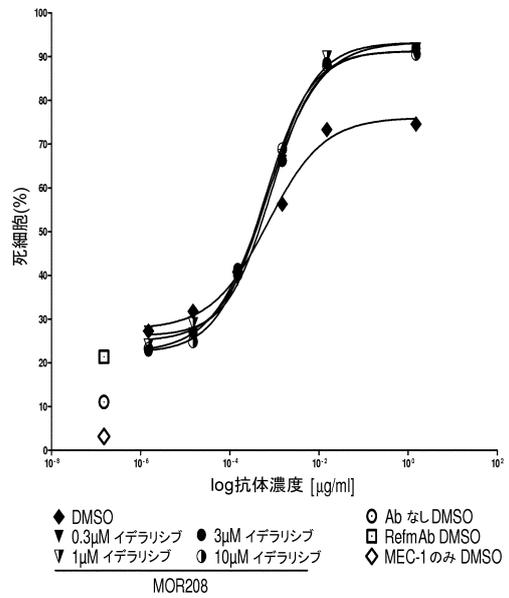
【 図 5 】

図 5



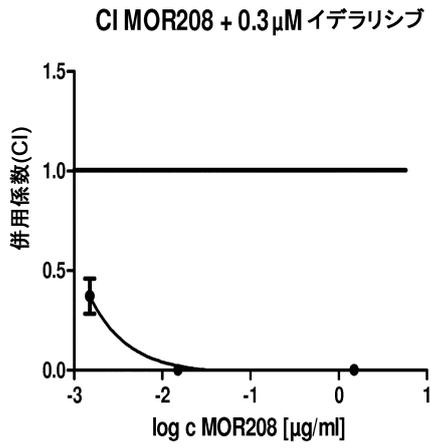
【 図 6 】

図 6



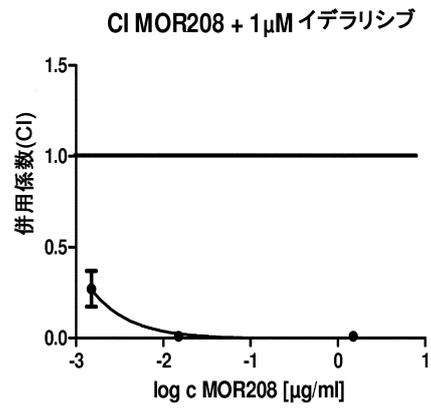
【 図 7 】

図 7



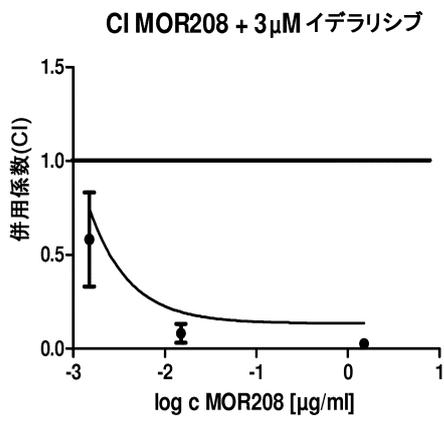
【 図 8 】

図 8



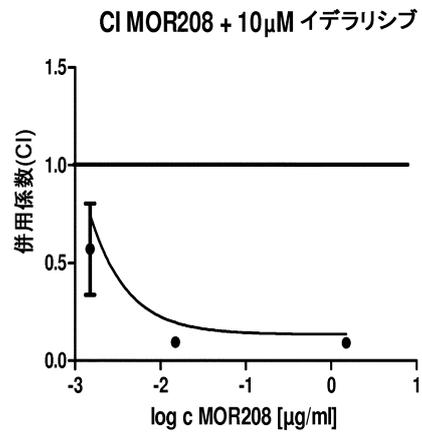
【 図 9 】

図 9



【 図 10 】

図 10



【配列表】

0006862422000001.app

---

フロントページの続き

審査官 春田 由香

(56)参考文献 特表2014-525926(JP,A)

特表2014-525925(JP,A)

Gockeritz E et al., Efficacy of phosphatidylinositol-3 kinase inhibitors with diverse isoform selectivity profiles for inhibiting the survival of chronic lymphocytic leukemia cells, *International Journal of Cancer*, 2015年4月, Vol.137, No.9, p.2234-2242, doi: 10.1002/ijc.29579

清水 隆之, リンパ性白血病における薬物/抗体療法, *医学と薬学*, 2015年4月, 第72巻, 第4号, p.647-655

伊豆津 宏二, B細胞リンパ腫に対する最新の薬物/抗体療法, *医学と薬学*, 2015年4月, 第72巻, 第4号, p.607-613

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 39/00-39/44

A61K 45/00-45/08

A61K 31/00-31/80

PubMed

医中誌WEB

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)