(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-507283
(P2024-507283A)
(43)公表日　令和6年2月16日(2024.2.16)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*45/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/06		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ	*35/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		４Ｃ０８５
Ａ６１Ｐ	*37/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/04		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｐ	*43/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	
Ａ６１Ｐ	*17/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/00		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全27頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2023-572049(P2023-572049)
(86)(22)出願日　令和4年1月29日(2022.1.29)
(85)翻訳文提出日　令和5年10月10日(2023.10.10)
(86)国際出願番号　PCT/CN2022/075135
(87)国際公開番号　WO2022/166909
(87)国際公開日　令和4年8月11日(2022.8.11)
(31)優先権主張番号　202110186583.1
(32)優先日　令和3年2月8日(2021.2.8)
(33)優先権主張国・地域又は機関
中国(CN)
(31)優先権主張番号　202110288214.3
(32)優先日　令和3年3月17日(2021.3.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
中国(CN)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA
最終頁に続く

(71)出願人　523302382
吉林大学第一医院
ＴＨＥ ＦＩＲＳＴ ＨＯＳＰＩＴＡＬ ＯＦ ＪＩＬＩＮ ＵＮＩＶＥＲＳＩＴＹ
中華人民共和国１３００６１吉林省▲長▼春市新民大街１号
Ｎｏ．１，Ｘｉｎｍｉｎ Ｓｔｒｅｅｔ Ｃｈａｎｇｃｈｕｎ，Ｊｉｌｉｎ １３００６１ Ｃｈｉｎａ
(74)代理人　110000578
名古屋国際弁理士法人
(72)発明者　▲劉▼文涛
中華人民共和国１３００６１吉林省▲長▼春市新民大街１号
(72)発明者　▲楊▼永▲広▼
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗腫瘍薬を調製するための免疫療法薬と併用でのＰＰＡＲ－デルタ阻害剤の使用

(57)【要約】
本発明は、抗腫瘍薬を調製するために免疫療法薬と併用でのＰＰＡＲδ阻害剤の医薬使用に関し、ここで、免疫療法薬は、免疫アゴニストまたは免疫チェックポイント阻害剤であり、腫瘍は、好ましくは、黒色腫、乳癌、卵巣癌、膵臓癌、肺癌、肝臓癌、食道癌、大腸癌、結腸癌、リンパ腫、脳腫瘍、肉腫、子宮頸癌、前立腺癌、膀胱癌、骨肉腫、頭頸部癌、腎細胞癌、または胃癌である。本発明の医薬品は、顕著な抗癌効果、強力な標的化能を示し、副作用が少ない。

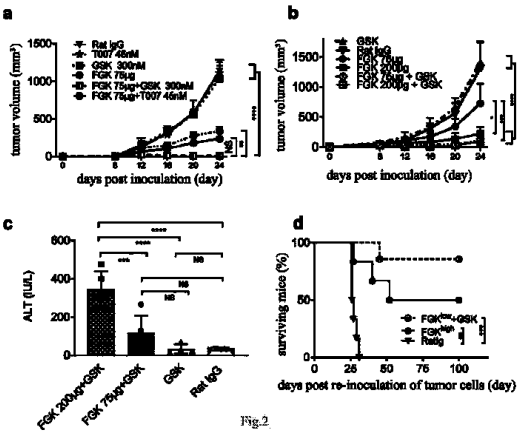


Fig.2

【特許請求の範囲】
【請求項１】
抗腫瘍薬を調製するための免疫療法薬と併用でのＰＰＡＲδ阻害剤の医薬使用であって、前記腫瘍は、好ましくは、黒色腫、乳癌、卵巣癌、膵臓癌、肺癌、肝臓癌、食道癌、大腸癌、結腸癌、リンパ腫、脳腫瘍、肉腫、子宮頸癌、前立腺癌、膀胱癌、骨肉腫、頭頸部癌、腎細胞癌、または胃癌である、医薬使用。
【請求項２】
前記免疫療法薬は、免疫アゴニストまたは免疫チェックポイント阻害剤であり、
好ましくは、前記免疫アゴニストは、共刺激分子に特異的なアゴニストであり、前記共刺激分子は、ＯＸ４０、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＧＩＴＲ、ＣＤ２８、および／またはＩＣＯＳを含み、
好ましくは、前記免疫アゴニストはＣＤ４０アゴニストであり、
好ましくは、前記免疫チェックポイント阻害剤は、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤＬ１阻害剤、ＴＩＭ３阻害剤、ＬＡＧ３阻害剤、ＣＤ４７阻害剤から選択され、好ましくは、前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤＬ１抗体、抗ＴＩＭ３抗体、抗ＬＡＧ３抗体、抗ＣＤ４７抗体、および抗ＣＴＬＡ－４抗体から選択され、
好ましくは、前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体である、請求項１に記載の医薬使用。
【請求項３】
前記ＣＤ４０アゴニストは、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体、ＣＤ４０Ｌタンパク質、ＣＤ４０Ｌタンパク質の発現ベクター、またはそれらの断片、誘導体、および／またはポリマーから選択され、
好ましくは、前記ＣＤ４０Ｌタンパク質は、組換えＣＤ４０Ｌタンパク質であり、
好ましくは、ＣＤ４０アゴニストは、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体である、請求項２に記載の医薬使用。
【請求項４】
前記ＰＰＡＲδ阻害剤は、標的とされた方法において、ＰＰＡＲδを阻害することができる化合物、またはＰＰＡＲδのｍＲＮＡの効果を阻害することができる核酸分子、またはＰＰＡＲδを分解することができる分子であり、
好ましくは、前記核酸分子は、ｓｉＲＮＡまたはｓｈＲＮＡであり、
好ましくは、前記ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＧＳＫ３７８７である、前記請求項のいずれか１項に記載の医薬使用。
【請求項５】
抗腫瘍薬組成物であって、別々に調製され、その後、一緒に包装されるＰＰＡＲδ阻害剤および免疫療法薬を含み、または前記ＰＰＡＲδ阻害剤および前記免疫療法薬を共に混合することによって調製される製剤を含み、
前記腫瘍は、好ましくは、黒色腫、乳癌、卵巣癌、膵臓癌、肺癌、肝臓癌、食道癌、大腸癌、結腸癌、リンパ腫、脳腫瘍、肉腫、子宮頸癌、前立腺癌、膀胱癌、骨肉腫、頭頸部癌、腎細胞癌、または胃癌、であり、
前記腫瘍は、好ましくは、黒色腫、膀胱癌、または非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である、抗腫瘍薬組成物。
【請求項６】
前記ＰＰＡＲδ阻害剤は、標的とされた方法において、ＰＰＡＲδを阻害することができる化合物、またはＰＰＡＲδのｍＲＮＡの効果を阻害することができる核酸分子、またはＰＰＡＲδを分解することができる分子であり、
好ましくは、前記核酸分子は、ｓｉＲＮＡまたはｓｈＲＮＡであり、好ましくは、前記ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＧＳＫ３７８７である、請求項５に記載の抗腫瘍薬組成物。
【請求項７】
前記免疫療法薬は、免疫アゴニストまたは免疫チェックポイント阻害剤であり、
好ましくは、前記免疫アゴニストは、共刺激分子に特異的なアゴニストであり、前記共

刺激分子は、ＯＸ４０、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＧＩＴＲ、ＣＤ２８、および／またはＩＣＯＳを含み、
好ましくは、前記免疫アゴニストはＣＤ４０アゴニストであり、
好ましくは、前記免疫チェックポイント阻害剤は、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤＬ１阻害剤、ＴＩＭ３阻害剤、ＬＡＧ３阻害剤、ＣＤ４７阻害剤から選択され、好ましくは、前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤＬ１抗体、抗ＴＩＭ３抗体、抗ＬＡＧ３抗体、抗ＣＤ４７抗体、および抗ＣＴＬＡ－４抗体から選択される、請求項５または請求項６に記載の抗腫瘍薬組成物。
【請求項８】
請求項５に記載の抗腫瘍薬組成物であって、薬学的に許容可能な担体を更に含み、および薬学的に許容可能な製剤に調製され、
好ましくは、前記製剤は注射剤、標的（ｔａｒｇｅｔｉｎｇ）製剤、またはナノ製剤である、抗腫瘍薬組成物。
【請求項９】
腫瘍を治療するための免疫療法薬と併用でのＰＰＡＲδ阻害剤の使用であって、免疫療法効果を高めるために、前記免疫療法薬の副作用を減らすために、または前記免疫療法薬の用量の増加を防ぐために、治療の過程中に、前記ＰＰＡＲδ阻害剤を投与しながら、低用量の前記免疫療法薬を患者に投与すること、を含み、
前記免疫療法薬は、免疫アゴニストまたは免疫チェックポイント阻害剤であり、
前記ＰＰＡＲδ阻害剤は、標的とされた方法において、ＰＰＡＲδを阻害することができる化合物、またはＰＰＡＲδのｍＲＮＡの効果を阻害することができる核酸分子、またはＰＰＡＲδを分解することができる分子であり、
好ましくは、前記核酸分子は、ｓｉＲＮＡまたはｓｈＲＮＡであり、好ましくは、前記ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＧＳＫ３７８７である、使用。
【請求項１０】
前記免疫アゴニストは、共刺激分子に特異的なアゴニストであり、前記共刺激分子は、ＯＸ４０、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＧＩＴＲ、ＣＤ２８、および／またはＩＣＯＳを含み、
好ましくは、前記免疫アゴニストはＣＤ４０アゴニストであり、
前記免疫チェックポイント阻害剤は、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤＬ１阻害剤、ＴＩＭ３阻害剤、ＬＡＧ３阻害剤、ＣＤ４７阻害剤から選択され、好ましくは、前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤＬ１抗体、抗ＴＩＭ３抗体、抗ＬＡＧ３抗体、抗ＣＤ４７抗体、および抗ＣＴＬＡ－４抗体から選択され、
好ましくは、前記免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体である、請求項９に記載の使用。
【請求項１１】
腫瘍を治療するための方法であって、
前記方法は、当該治療を必要とする対象に有効量の
（１）ＰＰＡＲδ阻害剤、および
（２）免疫刺激剤または免疫チェックポイント阻害剤、
を投与するステップを含み、
ここで、（１）および（２）は、同時に、または別々に投与され得る、方法。
【請求項１２】
前記癌は、黒色腫、膀胱癌、または膀胱癌、または非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
前記ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＰＰＡＲδにおける小分子阻害剤を含み、好ましくは、前記ＰＰＡＲδ阻害剤は、ｓｉＲＮＡまたはｓｈＲＮＡを含み、好ましくは、前記ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＧＳＫ３７８７を含む、請求項１１または請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】

前記ＰＰＡＲδ阻害剤は、経口で、筋肉内に、静脈内に、または腹腔内に投与され得る、請求項１１から請求項１３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１５】
前記免疫刺激剤または免疫チェックポイント阻害剤は、ＣＤ４０刺激剤であり、好ましくは、前記ＣＤ４０刺激剤は、抗ＣＤ４０抗体である、請求項１１から請求項１４のいずれか１項に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
［技術分野］
本発明は、生物医学の技術分野、特に、抗腫瘍薬の調製のための免疫療法薬と併用でのＰＰＡＲδ阻害剤の使用、およびその抗腫瘍薬組成物に関する。
【０００２】
［関連技術の説明］
近年、腫瘍は人間の健康に対する大きな脅威となっている。従来の手術、放射線療法、および化学療法に加えて、代替治療法としての免疫療法は、腫瘍を特異的に識別するために生体内の免疫系を動員することができ、従来の治療法と比較して当該副作用が少ない、優れた持続的な治療効果のため、ますます注目を集めている。免疫療法は単独で使用されることもでき、または放射線療法もしくは化学療法と併用で使用されることもできる。さらに、腫瘍の治療に対する免疫療法の効果を高めるために、様々な種類の免疫療法を併用してもよい。
【０００３】
免疫療法の目的は、免疫系を刺激して腫瘍細胞を特異的に除去し、および腫瘍に特異的な免疫記憶応答を生成することによって、新たな抗腫瘍免疫応答を構築する、または既存の抗腫瘍免疫応答を促進することである。腫瘍が免疫系からの攻撃を回避する様々な方法もあり、方法において、重要な点は、免疫抑制分子、例えばＣＴＬＡ－４およびＰＤ－（Ｌ）１などを介して免疫学的回避を可能にする共抑制機構を使用することである（Ｂｅａｔｔｙ　ＧＬ、Ｇｌａｄｎｅｙ　ＷＬ．Ｃｌｉｎ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．２０１５；２１（４）：６８７－６９２．）。これらの標的に特異的な第一世代の免疫チェックポイント阻害剤は、腫瘍治療において重大な進歩を遂げている。その中で、抗ＰＤ－（Ｌ）１モノクローナル抗体（ｍＡｂ）、および抗ＣＴＬＡ－４ｍＡｂは、数十の癌の治療に承認されているが、総有効率は、わずか約２０％にすぎない。これらの治療法が効果的であるための前提条件は、熱い癌（ｈｏｔ　ｔｕｍｏｒｓ）の場合と同様に、免疫系が腫瘍抗原に対して、前もって十分な免疫応答を生成することである。これらの腫瘍患者は腫瘍に対して免疫応答を有するＴ細胞を有するが、これらのＴ細胞の機能は、ＰＤ－１シグナルおよびＣＴＬＡ４によって阻害される。脱阻害は、この種の腫瘍を有する患者で有効である。冷たい癌（ｃｏｌｄ　ｔｕｍｏｒｓ）、または腫瘍抗原に対して免疫系が十分に応答しない腫瘍に関して、免疫系が有効に働くために免疫系を効果的に活性化することが重要である。
【０００４】
共刺激シグナルを活性化することは、免疫系を刺激するための重要な方法であり、および抗原提示細胞（ＡＰＣ）上に位置するＣＤ４０共刺激シグナルの経路を刺激することは、免疫系を刺激するための効果的な方法である。ＣＤ４０分子は、いくつかの単球、マクロファージ、および樹状細胞（ＤＣ）を含むＡＰＣ細胞で主に発現し、代替としてＢ細胞、血小板、内皮細胞、および平滑筋細胞で発現する可能性がある。ＣＤ４０Ｌは、活性化されたＣＤ４Ｔ細胞、メモリーＣＤ８Ｔ細胞、および活性化されたＮＫ細胞で発現する。ＣＤ４０刺激物質は、腫瘍モデルにおいて、ＤＣ細胞共刺激分子ＣＤ８０およびＣＤ８６、並びに主要組織適合性分子の発現を促進し、さらに免疫刺激を有するサイトカインの放出を促進し、そのことによって、ＡＰＣにおける抗原提示機能を高め、およびＴ細胞免疫を促進する能力を示す（Ｆｒｅｎｃｈ　ＲＲ，Ｃｈａｎ　ＨＴ，Ｔｕｔｔ　ＡＬ，Ｇｌｅｎｎｉｅ　ＭＪ．Ｎａｔ　Ｍｅｄ．１９９９；５（５）：５４８－５５３．；Ｓｏｔｏｍ

ａｙｏｒ ＥＭ，Ｂｏｒｒｅｌｌｏ Ｉ，Ｔｕｂｂ Ｅ，ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ Ｍｅｄ．１９９９；５（７））：７８０－７８７．；Ｄｉｅｈｌ Ｌ，ｄｅｎ Ｂｏｅｒ ＡＴ，Ｓｃｈｏｅｎｂｅｒｇｅｒ ＳＰ，ｅｔ ａｌ．Ｎａｔ Ｍｅｄ．１９９９；５（７）：７７４－７７９．）。組換えヒトＣＤ４０Ｌは、臨床試験で実証されているように、進行性物理的腫瘍および非ホジキンリンパ腫を治療することにおいて（Ｖｏｎｄｅｒｈｅｉｄｅ ＲＨ，Ｄｕｔｃｈｅｒ ＪＰ，Ａｎｄｅｒｓｏｎ ＪＥ，ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ．２００１；１９（１３）：３２８０－３２８７．）、並びに膀胱癌におけるＣＤ４０Ｌ ＤＮＡを含むアデノウイルスを治療することにおいて（Ｍａｌｍｓｔｒｏｍ ＰＵ，Ｌｏｓｋｏｇ ＡＳ，Ｌｉｎｄｑｖｉｓｔ ＣＡ，ｅｔ ａｌ，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２０１０；１６（１２）：３２７９－３２８７．）、予備的効果を示している。組換えヒトＣＤ４０Ｌは、ＣＤ８Ｔ細胞における抗腫瘍免疫応答を効果的に刺激することができる。膵臓癌を治療するためにＣＤ４０アゴニスト抗体が使用された臨床試験において明らかにされたように、ＣＤ４０シグナルはマクロファージの免疫監視を更に活性化することができ、腫瘍浸潤マクロファージを前腫瘍（ｐｒｏ－ｔｕｍｏｒ）から抗腫瘍に機能的に移行させる（Ｂｅａｔｔｙ ＧＬ，Ｃｈｉｏｒｅａｎ ＥＧ，Ｆｉｓｈｍａｎ ＭＰ，ｅｔ ａｌ，Ｓｃｉｅｎｃｅ．２０１１；３３１（６０２４）：１６１２－１６１６．）。

【０００５】

いくつかの抗ＣＤ４０アゴニスト抗体は、予備的治療効果を臨床的に示しているが、単独で使用された場合、それらの有効性は制限され、全体の応答率はわずか１４％程度であった。このことを考慮して、より良い免疫効果のために、使用において抗ＣＤ４０アゴニスト抗体および他の免疫刺激剤を組み合わせて使用することが検討されている。併用される免疫刺激剤は、Ｉ型インターフェロン、ＩＬ－２、およびＴＬＲ受容体アンタゴニストを主に含む（米国特許Ｎｏ．ＵＳ９０９５６０８Ｂ２；Ｂｏｕｃｈｌａｋａ ＭＮ，Ｓｃｋｉｓｅｌ ＧＤ、Ｃｈｅｎ Ｍ，ｅｔ ａｌ．Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．２０１３；２１０（１１）：２２２３－２２３７．；米国特許Ｎｏ．ＵＳ７９９３６５９Ｂ２．）。抗ＣＤ４０アゴニスト抗体の臨床応用を制限する他の重要な要因は、その有害な副作用である。抗ＣＤ４０アゴニスト抗体の臨床有効量はその毒性量に近く、副作用は、用量依存的なサイトカイン放出症候群（Ｖｏｎｄｅｒｈｅｉｄｅ ＲＨ，Ｆｌａｈｅｒｔｙ ＫＴ，Ｋｈａｌｉｌ Ｍ，ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ．２００７；２５（７）：８７６－８８３．）および肝毒性（例えば、トランスアミナーゼの増加、肝細胞壊死など）（Ｍｅｄｉｎａ－Ｅｃｈｅｖｅｒｚ Ｊ，Ｍａ Ｃ，Ｄｕｆｆｙ ＡＧ，ｅｔ ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ．２０１５；３（５）：５５７－５６６．）を主に含む。臨床試験によると、ＩＬ－２と共に投与される場合、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体は、加齢とともに増加する致死的な肝毒性、並びに肺毒性および腸管毒性を引き起こし得た（Ｂｏｕｃｈｌａｋａ ＭＮ，Ｓｃｋｉｓｅｌ ＧＤ，Ｃｈｅｎ Ｍ，ｅｔ ａｌ．Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．２０１３；２１０（１１）：２２２３－２２３７．）。マウスモデルで明らかにされたように、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体と化学療法薬との併用は、致死毒性さえ引き起こす（Ｌｏｎｇ ＫＢ，Ｇｌａｄｎｅｙ ＷＬ，Ｔｏｏｋｅｒ ＧＭ，ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｄｉｓｃｏｖ．２０１６；６（４）：４００－４１３．）。したがって、比較的高用量の抗ＣＤ４０アゴニストまたは抗ＣＤ４０アゴニストと他の免疫刺激剤との併用は、免疫系全体の活性化により重大な副作用を引き起こし、そのことは抗ＣＤ４０アゴニストの臨床応用を制限することは明らかである。したがって、薬物の抗腫瘍活性に影響を与えることがなく、または薬物の抗腫瘍活性を増加させることにもなる高用量ＣＤ４０アゴニストの投与によって発生した毒性を低下させる方法は、ＣＤ４０アゴニストにおける臨床の抗腫瘍適用を更に拡大することを可能にする前に取り組むべき緊急の課題である。

【０００６】

ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体（ＰＰＡＲ）は、核ホルモン受容体のファミリ

ーのリガンド活性化受容体である。当該３つのサブタイプは、多くの細胞内代謝プロセスの制御因子として様々な種において明らかにされている。ＰＰＡＲの３つのサブタイプ、すなわちα、γ、およびδは、核内受容体のサブファミリーを形成する。このＰＰＡＲファミリーは、通常、内因性脂肪酸によって（ＨＥ Ｘｕ，ＭＨ Ｌａｍｂｅｒｔ，ＶＧ Ｍｏｎｔａｎａ ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｃｅｌｌ．１９９９；３（３）：３９７－４０３．）、および活性化された標的遺伝子の転写によって（ＲＭ Ｅｖａｎｓ，ＧＤ Ｂａｒｉｓｈ，ＹＸ Ｗａｎｇ．Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．２００４；１０（４）：３５５－３６１．）、活性化され、脂肪酸のための一般的な代謝を制御することができる。ＰＰＡＲγまたはＰＰＡＲδは、Ｍ２マクロファージの成熟に必須である。ＰＰＡＲγまたはＰＰＡＲδシグナル用の経路を遮断することは、マクロファージのＭ１状態への分極化を引き起こすことができる（ＪＩ Ｏｄｅｇａａｒｄ，ＲＲ Ｒｉｃａｒｄｏ－Ｇｏｎｚａｌｅｚ，ＭＨ Ｇｏｆｏｒｔｈ，ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．２００７；４４７（７１４８）：１１１６－２０．；ＪＩ Ｏｄｅｇａａｒｄ，ＲＲ Ｒｉｃａｒｄｏ－Ｇｏｎｚａｌｅｚ，ＡＲｅｄ Ｅａｇｌｅ，ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ Ｍｅｔａｂ．２００８；７（６）：４９６－５０７．）。腫瘍微小環境において、マクロファージは浸潤白血球の主要なグループを形成する。マクロファージはＭ２様の表現型（抑制された表現型）を有し、免疫療法または化学療法において腫瘍の進行および薬剤耐性を促進する。マクロファージをＭ１状態に分極化させ、および逆転させることは、重要な抗がん免疫療法戦略と見なされる（Ｄ Ｓａｈａ，ＲＬ Ｍａｒｔｕｚａ，ＳＤ Ｒａｂｋｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｌｌ．２０１７；３２（２）：２５３－２６７．ｅ２５５．；ＤＧ ＤｅＮａｒｄｏ，Ｂ Ｒｕｆｆｅｌｌ．Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２０１９；１９（６）：３６９－３８２．）。

【０００７】

さらに、一方では、当分野における技術の理解に差異があり、他方では、発明者らは、本発明を行う場合に、多数の文献および特許を研究したが、長さの制限により、その詳細および内容の全てを詳細に列挙されないものの、このことは決して本発明が先行技術の特徴を有しないということではなく、逆に、本発明は先行技術の全ての特徴をすでに有しており、出願人は、関連する先行技術を背景に追加する権利を留保する。

【０００８】

［発明の要旨］

上述の先行技術の知識によると、本発明を提案する研究者は、ＰＰＡＲγまたはＰＰＡＲδ阻害剤が治療効果の観点から抗ＣＤ４０アゴニスト抗体を高めることができると仮定した。出願人は、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体とＰＰＡＲδ阻害剤とを併用する場合、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体を単独で使用した場合に比べて、黒色腫に対するより良い治療効果を提供することができることを研究において明らかにした。併用療法は、１００％の有効率を示した。一方、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体とＰＰＡＲδ阻害剤との併用療法は、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体を単独で使用するよりも効果的な量の境界範囲を有する。抗ＣＤ４０アゴニスト抗体とＰＰＡＲδ阻害剤との併用において、低用量および高用量の抗ＣＤ４０アゴニスト抗体は、腫瘍に対して同等の良好な治療効果を示し、併用された低用量の抗ＣＤ４０アゴニスト抗体は、肝毒性をほとんど発生しなかった。驚くべきことに、黒色腫モデルにおいて、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体とＰＰＡＲδ阻害剤との併用のみが治療効果の向上を示したが、ＰＰＡＲγ阻害剤と同用量の抗ＣＤ４０アゴニスト抗体を使用した場合には、相乗的な抗腫瘍効果は示されず、およびＰＰＡＲδ阻害剤のみの使用は治療効果を提供しなかった。

【０００９】

上記の出願人の発見に基づいて、出願人は以下の技術的解決策を主張する。

本発明の第一の態様において、抗腫瘍薬において免疫療法薬と併用でのＰＰＡＲδ阻害剤の医薬使用を提供する。

【００１０】

腫瘍は、好ましくは、黒色腫、乳癌、卵巣癌、膵臓癌、肺癌、肝臓癌、食道癌、大腸癌

、結腸癌、リンパ腫、脳腫瘍、肉腫、子宮頸癌、前立腺癌、膀胱癌、骨肉腫、頭頸部癌、腎細胞癌、または胃癌である。

【００１１】

上述の医薬使用において、免疫療法薬は、免疫アゴニストまたは免疫チェックポイント阻害剤であり、

好ましくは、免疫アゴニストは、共刺激分子に特異的なアゴニストであり、共刺激分子は、ＯＸ４０、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＧＩＴＲ、ＣＤ２８、および／またはＩＣＯＳを含み、

好ましくは、免疫アゴニストはＣＤ４０アゴニストであり、

好ましくは、免疫チェックポイント阻害剤は、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤＬ１阻害剤、ＴＩＭ３阻害剤、ＬＡＧ３阻害剤、ＣＤ４７阻害剤から選択され、好ましくは、免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤＬ１抗体、抗ＴＩＭ３抗体、抗ＬＡＧ３抗体、抗ＣＤ４７抗体、および抗ＣＴＬＡ－４抗体から選択され、

好ましくは、免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体である。

【００１２】

上述の医薬使用において、ＣＤ４０アゴニストは、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体、ＣＤ４０Ｌタンパク質、ＣＤ４０Ｌタンパク質の発現ベクター、またはそれらの断片、誘導体、および／またはポリマーから選択され、

好ましくは、ＣＤ４０Ｌタンパク質は、組換えＣＤ４０Ｌタンパク質であり、 好ましくは、ＣＤ４０アゴニストは、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体である。

【００１３】

上述の医薬使用において、ＰＰＡＲδ阻害剤は、標的とされた方法において、ＰＰＡＲδを阻害することができる化合物、またはＰＰＡＲδのｍＲＮＡの効果を阻害することができる核酸分子、またはＰＰＡＲδを分解することができる分子であり、

好ましくは、核酸分子は、ｓｉＲＮＡまたはｓｈＲＮＡであり、

好ましくは、ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＧＳＫ３７８７である。

【００１４】

本発明の第二の態様は、抗腫瘍薬組成物を提供し、別々に調製され、その後、一緒に包装されるＰＰＡＲδ阻害剤および免疫療法薬を含み、またはＰＰＡＲδ阻害剤および免疫療法薬を共に混合することによって調製される製剤を含み、

腫瘍は、好ましくは、黒色腫、乳癌、卵巣癌、膵臓癌、肺癌、肝臓癌、食道癌、大腸癌、結腸癌、リンパ腫、脳腫瘍、肉腫、子宮頸癌、前立腺癌、膀胱癌、骨肉腫、頭頸部癌、腎細胞癌、または胃癌、であり、

腫瘍は、好ましくは、黒色腫、膀胱癌、または非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である。

【００１５】

好ましくは、ＰＰＡＲδ阻害剤は、標的とされた方法において、ＰＰＡＲδを阻害することができる化合物、またはＰＰＡＲδのｍＲＮＡの効果を阻害することができる核酸分子、またはＰＰＡＲδを分解することができる分子であり、

好ましくは、核酸分子は、ｓｉＲＮＡまたはｓｈＲＮＡであり、好ましくは、ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＧＳＫ３７８７である。

【００１６】

好ましくは、免疫療法薬は、免疫アゴニストまたは免疫チェックポイント阻害剤であり、

更に好ましくは、免疫アゴニストは、共刺激分子に特異的なアゴニストであり、共刺激分子は、ＯＸ４０、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＧＩＴＲ、ＣＤ２８、および／またはＩＣＯＳを含み、

更に好ましくは、免疫アゴニストはＣＤ４０アゴニストであり、

更に好ましくは、免疫チェックポイント阻害剤は、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤＬ１阻害剤、ＴＩＭ３阻害剤、ＬＡＧ３阻害剤、ＣＤ４７阻害剤から選択され、

更に好ましくは、免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤＬ１抗体、

抗ＴＩＭ３抗体、抗ＬＡＧ３抗体、抗ＣＤ４７抗体、および抗ＣＴＬＡ－４抗体から選択される。

【００１７】

上述の抗腫瘍薬組成物は、薬学的に許容可能な担体を更に含み、および薬学的に許容可能な製剤に調製され、

好ましくは、製剤は注射剤、標的（ｔａｒｇｅｔｉｎｇ）製剤、またはナノ製剤である。

【００１８】

本発明の更なる態様は、腫瘍を治療するための免疫療法薬と併用でのＰＰＡＲδ阻害剤の使用を提供し、免疫療法効果を高めるために、免疫療法薬の副作用を減らすために、または免疫療法薬の用量の増加を防ぐために、治療の過程中に、ＰＰＡＲδ阻害剤を投与しながら、低用量の免疫療法薬を患者に投与することを含み、

免疫療法薬は、免疫アゴニスト、または免疫チェックポイント阻害剤であり、

ＰＰＡＲδ阻害剤は、標的とされた方法において、ＰＰＡＲδを阻害することができる化合物、またはＰＰＡＲδのｍＲＮＡの効果を阻害することができる核酸分子、またはＰＰＡＲδを分解することができる分子であり、

好ましくは、核酸分子は、ｓｉＲＮＡまたはｓｈＲＮＡであり、好ましくは、ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＧＳＫ３７８７である。

【００１９】

免疫アゴニストは、共刺激分子に特異的なアゴニストであり、共刺激分子は、ＯＸ４０、４－１ＢＢ（ＣＤ１３７）、ＣＤ２７、ＧＩＴＲ、ＣＤ２８、および／またはＩＣＯＳを含み、

好ましくは、免疫アゴニストはＣＤ４０アゴニストであり、

免疫チェックポイント阻害剤は、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤＬ１阻害剤、ＴＩＭ３阻害剤、ＬＡＧ３阻害剤、ＣＤ４７阻害剤から選択され、好ましくは、免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤＬ１抗体、抗ＴＩＭ３抗体、抗ＬＡＧ３抗体、抗ＣＤ４７抗体、および抗ＣＴＬＡ－４抗体から選択され、

好ましくは、免疫チェックポイント阻害剤は、抗ＰＤ－１抗体である。

【００２０】

Ｂ細胞は、腫瘍の増殖において２つの役割を有する。多くの研究において実証されているように、Ｂ細胞および形質細胞は、微小環境で腫瘍の増殖を促進する可能性があり、このことは、Ｂ細胞を根絶することによる物理的腫瘍の治療に刺激を与えている。しかしながら、ヒト腫瘍について行われたいくつかの研究は、マウス腫瘍モデルで得られたＢ細胞の腫瘍促進（ｐｒｏ－ｔｕｍｏｒ）効果とは異なり、ヒト腫瘍においてＢ細胞が三次リンパ構造（ＴＬＳ）を形成し得ることを明らかにした。ＴＬＳにおいてＢ細胞は、ＣＤ４Ｔ細胞への腫瘍抗原の提示を促進することによって免疫療法への反応を促進する可能性があり、このことは患者の良好な予後に関係する（Ｆ Ｐｅｔｉｔｐｒｅｚ，Ａ Ｒｅｙｎｉｅｓ，ＥＺ Ｋｅｕｎｇ，ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．２０２０；５７７（７７９１）：５５６－５６０．；ＢＡ Ｈｅｌｍｉｎｋ，ＳＭ Ｒｅｄｄｙ，Ｊ Ｇａｏ，ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．２０２０；５７７（７７９１）：５４９－５５５．；Ｒ Ｃａｂｒｉｔａ，Ｍ Ｌａｕｓｓ，Ａ Ｓａｎｎａ，ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ．２０２０；５７７（７７９１）：５６１－５６５．）。したがって、明らかに、Ｂ細胞の根絶は、ほとんどの患者に有害な結果を引き起こし得る。Ｂ細胞標的療法の使用、および他の療法との併用に関する決定は、様々なＢ細胞亜集団によって媒介される腫瘍免疫相互作用における一般的な性質のより良い理解に基づいて行われることになる。Ｂ細胞がヒト腫瘍モデルおよびマウス腫瘍モデルにおいて異なって働く理由は、Ｂ細胞が本質的に様々な効果を有する不均一な群を表し、前述の研究におけるマウスモデル実験が、Ｂ細胞群全体を根絶することによる腫瘍の発生および発達におけるＢ細胞の役割を調査するために設計された、という事実である可能性がある。したがって、免疫抑制作用を有するＢ細胞を標的とすることは魅力的な戦略である。

【００２１】
したがって、本発明において、ＰＰＡＲδ阻害剤は、免疫抑制効果を有するＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞のみを標的とし、一方、免疫系を刺激するＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{lo}ＩｇＤ^{hi}Ｂ細胞には影響を及ぼさない。このことは、Ｂ細胞の完全な根絶によって引き起こされる悪影響を防止する。さらに、ＰＰＡＲδ阻害剤と免疫療法薬とを併用する治療戦略は、免疫療法の効果を高めるだけでなく、患者が無効な免疫療法にさらされること、および免疫療法によってもたらされる深刻な毒性副作用、を防ぐことによって安全性の向上も提供する。
【００２２】
我々の研究の結果によると、ＰＰＡＲδ阻害剤と免疫療法薬との併用療法モデルにおいて、ＰＰＡＲδ阻害剤は、腫瘍関連マクロファージの分極化に影響を与えること以外の機構によって治療効果を提供したと思われる。黒色腫に対する抗ＣＤ４０アゴニスト抗体とＰＰＡＲδ阻害剤との併用治療機構における評価中に、流入領域リンパ節におけるＴ細胞抑制Ｂ細胞の数および割合が大幅に増加したことを明らかにした。ＰＰＡＲδ阻害剤を使用してＢ細胞を根絶すること、またはＢ細胞の免疫抑制効果を抑制することは、低用量の抗ＣＤ４０アゴニスト抗体の治療効果を大幅に高めた。さらに、全てのＢ細胞の根絶またはＰＰＡＲδ阻害剤の使用も、抗ＰＤ－１抗体の抗腫瘍効果の増強に役立った。更なる研究は、腫瘍自体が流入領域リンパ節におけるＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞の増加を誘導することができることを示唆する。比較すると、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞は、より多くのＰＰＡＲδを発現し、より強力な増殖能力および免疫抑制効果を有し、一方、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{lo}ＩｇＤ^{hi}Ｂ細胞は、より良い免疫刺激を有する。ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞の増殖および免疫抑制効果を低下させることができ、その副作用は極めて少ないため、安全である。
【００２３】
本発明の他の態様は、腫瘍を治療するための方法に関する。方法は、当該治療を必要とする対象に有効量の（１）ＰＰＡＲδ阻害剤、および（２）免疫刺激剤または免疫チェックポイント阻害剤、を投与するステップを含み、ここで、（１）および（２）は、同時に、または別々に投与されてもよい。いくつかの実施形態において、腫瘍は、黒色腫、膀胱癌、または非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である。
【００２４】
いくつかの実施形態において、ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＰＰＡＲδにおける小分子阻害剤を含む。いくつかの実施形態において、ＰＰＡＲδ阻害剤は、ｓｉＲＮＡまたはｓｒＲＮＡまたはｓｈＲＮＡを含む。いくつかの実施形態において、ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＧＳＫ３７８７を含む。
【００２５】
いくつかの実施形態において、ＰＰＡＲδ阻害剤は、１～１４日の期間で毎日、または２～３０日の期間で２日、３日、４日、５日、６日、７日、８日、９日、もしくは１０日ごと、または２～２４週の期間で、２週、３週、または４週間ごとに投与される。ＰＰＡＲδ阻害剤は、経口で、筋肉内に、静脈内に、または腹腔内に投与され得る。
【００２６】
いくつかの実施形態において、ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＧＳＫ３７８７であり、１～１００ｍＭ／ｋｇ体重、１～３０ｍＭ／ｋｇ体重、１～１０ｍＭ／ｋｇ体重、１～３ｍＭ／ｋｇ体重の単位用量で投与され、および１～１００ｍＭ／ｋｇ体重、１～３０ｍＭ／ｋｇ体重、１～１０ｍＭ／ｋｇ体重、１～３ｍＭ／ｋｇ体重、３～１００ｍＭ／ｋｇ体重、３～３０ｍＭ／ｋｇ体重、３～１０ｍＭ／ｋｇ体重、１０～１００ｍＭ／ｋｇ体重、１０～３０ｍＭ／ｋｇ体重、または３０～１００ｍＭ／ｋｇ体重の単位用量で投与される。
【００２７】
いくつかの実施形態において、免疫刺激剤または免疫チェックポイント阻害剤は、ＣＤ４０刺激剤である。いくつかの実施形態において、ＣＤ４０刺激剤は、抗ＣＤ４０抗体で

ある。
【００２８】
いくつかの実施形態において、免疫刺激剤または免疫チェックポイント阻害剤は、１～１４日の期間で毎日、または２～３０日の期間で２日、３日、４日、５日、６日、７日、８日、９日、もしくは１０日ごと、または２～２４週の期間で、２週、３週、または４週間ごとに投与される。免疫刺激剤または免疫チェックポイント阻害剤は、経口で、筋肉内に、静脈内に、または腹腔内に投与され得る。
【００２９】
いくつかの実施形態において、免疫刺激因子は抗ＣＤ４０抗体であり、０．１～３０ｍｇ／ｋｇ体重、０．１～１０ｍｇ／ｋｇ体重、０．１～３ｍｇ／ｋｇ体重、０．１～１ｍｇ／ｋｇ体重、０．１～０．３ｍｇ／ｋｇ体重、０．３～３０ｍｇ／ｋｇ体重、０．３～１０ｍｇ／ｋｇ体重、０．３～３ｍｇ／ｋｇ体重、０．３～１ｍｇ／ｋｇ体重、１～３０ｍｇ／ｋｇ体重、１～１０ｍｇ／ｋｇ体重、１～３ｍｇ／ｋｇ体重、３～３０ｍｇ／ｋｇ体重、３～１０ｍｇ／ｋｇ体重、または１０～３０ｍｇ／ｋｇ体重の単位用量で投与される。
【００３０】
本発明は、少なくとも以下の技術的利点を有する：
１）ＰＰＡＲδ阻害剤は、腫瘍性ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞の増殖および抑制効果を低下させることができ、抗腫瘍治療のためにＣＤ４０アゴニストと併用されることができる。本発明は、ＣＤ４０アゴニストの必要量を減少させながら、免疫応答を刺激するためのＣＤ４０アゴニストの能力を高め、および増強（ｅｎｈａｎｃｅ）ＣＤ４０アゴニストにおける大幅に改善された腫瘍治癒効果を提供し、そのことにより、高用量で使用されたＣＤ４０アゴニストにおける毒性副作用を防止する。
２）本発明は更に、担がんマウスに投与された場合、ＰＰＡＲδ阻害剤と低用量のＣＤ４０アゴニストとの組み合わせは、治療された生物を効果的に興奮させ抗腫瘍Ｔ細胞を発生させ、抗腫瘍Ｔ細胞の記憶応答を誘発し、したがって、抗腫瘍Ｔ細胞における抗腫瘍効果を大幅に高めることを証明する。
３）本発明は、ＰＰＡＲδ阻害剤を、抗腫瘍治療のために、種々の免疫療法薬（免疫アゴニストまたは免疫チェックポイント阻害剤）と併用して代替として使用することができることを証明する。
４）ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{lo}ＩｇＤ^{hi}Ｂ細胞と比較して、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞は、より高いＰＰＡＲδを発現する。本発明におけるＰＰＡＲδ阻害剤と免疫療法薬との併用療法モデルにおいて、ＰＰＡＲδ阻害剤は、免疫抑制性ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞の増殖および抑制効果を低下させるだけであり、免疫刺激性ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{lo}ＩｇＤ^{hi}Ｂ細胞に与える影響は非常に小さい。このことは、Ｂ細胞の枯渇によって引き起こされ得るはずのほとんどの患者における有害な結果を防止し、併用療法を高い標的特異性にし、副作用が少ないので非常に安全にする。
５）本開示における併用療法は、肝臓毒性を低下させるために低用量の抗ＣＤ４０抗体の使用を可能にする。
【図面の簡単な説明】
【００３１】
【図１】図１は、本発明の実施例１の実験において得られたＦＧＫ４５．５の用量依存性抗腫瘍効果をグラフで示す。
【図２】図２は、本発明の実施例２で得られたマウス実験において得られたＰＰＡＲδ阻害剤とＦＧＫ４５．５との併用における治療結果をグラフで示す。
【図３】図３は、本発明の実施例３で得られたＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用療法の免疫効果を示す。
【図４】図４は、本発明の実施例４で得られた様々な治療群の担がんマウスの流入領域リンパ節におけるリンパ球の亜集団および表現型の変化をグラフで示す。
【図５】図５は、本発明の実施例５で得られたＰＰＡＲδ阻害剤がＢ細胞の免疫抑制効果

を低下させたことを証明する実験結果をグラフで示す。
【図６】図６は、本発明の実施例６で得られたＢ１６担がんマウスに対するＰＰＡＲδ阻害剤と抗ＰＤ－１抗体との併用療法における治療効果をグラフで示す。
【図７】図７は、本発明の実施例７で得られたＣＤ１９＋ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／－Ｂ細胞の増殖を低下させるＰＰＡＲδ阻害剤の実験結果をグラフで示す。
【図８】図８は、本発明の実施例８で得られたＣＤ１９＋ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／－Ｂ細胞の抑制効果を低下させるＰＰＡＲδ阻害剤の実験結果をグラフで示す。
【図９】図９は、マウスＭＢ４９腫瘍の治療におけるＦＧＫ４５．５のＰＰＡＲδ阻害剤増強効果をグラフで示す。
【図１０】図１０は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）患者由来のＣＤ１９＋ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／－Ｂ細胞の免疫抑制効果を低下させるＰＰＡＲδ阻害剤をグラフで示す。
【発明を実施するための形態】
【００３２】
グラフにおいて、ラットＩｇＧは対照抗体群を表し、ＦＧＫは抗ＣＤ４０アゴニスト抗体ＦＧＫ４５．５を表し、Ｔ００７はＰＰＡＲγ阻害剤Ｔ００７０９０７を表し、ＧＳＫはＰＰＡＲδ阻害剤ＧＳＫ３７８７を表し、ナイーブＢは天然の未処理マウスからのＢ細胞を表し、Ｎｏ　Ｂは共培養系にＢ細胞が添加されていない群を表し、ナイーブは天然マウスの群を表し、ＮＳは統計的有意性がないことを表し、＊Ｐ＜０．０５、＊＊Ｐ＜０．０１、＊＊＊Ｐ＜０．００１、＊＊＊＊Ｐ＜０．０００１である。
【００３３】
［発明の詳細な説明］
以下の詳細な説明は、添付の図面と併せて与えられる。
本発明は、実施例と併せて以下に更に説明されることになるが、本発明はそれによって限定されない。
【００３４】
以下の実施例における実験方法は、特別の定めのない限り従来の方法である。以下の実施例において使用された材料、試薬等を、特別の定めのない限り、商業経路を介して入手することができる。
【００３５】
試薬の主な供給源：
ＰＰＡＲγ阻害剤Ｔ００７０９０７を米国のセレック　ケミカルズ（Ｓｅｌｌｅｃｋ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ）社から購入した。
【００３６】
ＰＰＡＲδ阻害剤ＧＳＫ３７８７を米国のセレック　ケミカルズ（Ｓｅｌｌｅｃｋ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ）社から購入した。
ＦＧＫ４５．５（マウス抗ＣＤ４０アゴニスト抗体）を米国（ウェストレバノン、ＮＨ）のバイオエックスセル（ＢｉｏＸｃｅｌｌ）社から購入した。
【００３７】
ラットＩｇＧ：クローンＮｏ．２Ａ３を米国（ウェストレバノン、ＮＨ）のバイオエックスセル（ＢｉｏＸｃｅｌｌ）社から購入した。
抗ＣＤ１９抗体：クローンＮｏ．１ｄ３を米国（ウェストレバノン、ＮＨ）のバイオエックスセル（ＢｉｏＸｃｅｌｌ）社から購入した。
【００３８】
抗ＰＤ－１抗体：クローンＮｏ．ＲＭＰ１－１４を米国（ウェストレバノン、ＮＨ）のバイオエックスセル（ＢｉｏＸｃｅｌｌ）社から購入した。
抗ＣＤ３ε抗体：クローンＮｏ．１４５－２Ｃ１１を米国（サンディエゴ、ＣＡ）のバイオレジェンド（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）社から購入した。
【００３９】
抗ＣＤ２８抗体：クローンＮｏ．３７．５１を米国（サンディエゴ、ＣＡ）のバイオレジェンド（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）社から購入した。

Ｂ１６腫瘍細胞：ＡＴＣＣを米国（アメリカン タイプ カルチャー コレクション（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ））細胞バンクから購入した。

【００４０】

実施例１：抗ＣＤ４０アゴニスト抗体は用量依存的な抗腫瘍効果を示したが、高用量の抗ＣＤ４０アゴニスト抗体では、明らかな肝毒性を引き起こす可能性があった。

【００４１】

抗ＣＤ４０アゴニスト抗体は、冷たい癌（ｃｏｌｄ ｔｕｍｏｒｓ）から熱い癌（ｈｏｔ ｔｕｍｏｒｓ）への移行を促進することができ、いくつかの腫瘍に対して中程度の抗腫瘍効果を有するが、有効用量の範囲が狭く、肝臓およびいくつかの他の組織に対して毒性がある。報告されるように、毒性効果を、組織内注射および腫瘍ドレナージ領域における抗ＣＤ４０アゴニスト抗体の持続放出によって低下させることができる。

【００４２】

最初に、我々は、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体の腫瘍周辺注射が明らかな毒性を招くかどうかを試験した。

我々は、研究において広範囲に使用されており、および比較的高い免疫原性を有するマウスＢ１６黒色腫モデル（Ｃ５７ＢＬ／６Ｂ１６担がんマウスモデル）を使用した。Ｃ５７ＢＬ／６マウス（８～１０週齢、ｎ＝５／群）は、7×10^{5}個のＢ１６腫瘍細胞（マウス黒色腫細胞）を皮下接種され、腫瘍細胞の接種の約８日後に腫瘍を触れることができるようになった時に、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体を投与した。

【００４３】

マウスを毎日監視し、腫瘍を４日ごとにキャリパー用いて測定した。腫瘍の長さ（ａ）および幅（ｂ）、および腫瘍体積＝$ab^{2}/2$を測定した。

投薬計画：これらの担がんマウスを、低用量の２５μｇのＦＧＫ４５．５（マウス抗ＣＤ４０アゴニスト抗体）を３回、合計７５μｇ（８日目、１１日目、および１４日目）、または高用量の４０μｇを５回、合計２００μｇ（８日目、１１日目、１４日目、１７日目、および２０日目）、または４０μｇのアイソタイプ対照ラットＩｇＧを５回（８日目、１１日目、１４日目、１７日目、２０日目）、を用いて治療した。皮下注射を、腫瘍と鼠径部の流入領域リンパ節との間に行った。各群における最後の注射の７２時間後に、マウス血清の試料を、アラニントランスアミナーゼ（ＡＬＴ、肝組織損傷の既知の指標）について試験した。

【００４４】

結果を図１ａに示す。ＦＧＫ４５．５で注射されたマウスは、対照よりも低い腫瘍体積を有したが、高用量のＦＧＫ４５．５群は、より明白な抗腫瘍効果を示した。

【００４５】

結果は、ＦＧＫ４５．５の抗腫瘍効果が用量依存性であったことを示す。

ＡＬＴを治療の毒性を評価するために分析した。低用量のＦＧＫ４５．５群のマウスは肝損傷が少なく、血清ＡＬＴは約１００ユニットであり、対照の約４０ユニットよりわずかに高かった。高用量のＦＧＫ４５．５群は、更に増加した毒性を有したことも注意すべきである。高用量のＦＧＫ４５．５を用いて処置されたマウスは、より重篤な肝損傷を示し、ＡＬＴレベルが約５００ユニットに著しく増加した（図１ｂ）。

【００４６】

これらのデータは、局所皮下注射により投与される高用量のアゴニストＣＤ４０抗体が、この療法において抗腫瘍効果の増強に役立つが、比較的重篤な肝毒性を招くことを示す。したがって、抗ＣＤ４０アゴニスト抗体の当該用量を増やすことによって抗腫瘍効果を高める戦略は、実行不可能である。したがって、当該抗腫瘍効果を確保しながら、アゴニストＣＤ４０抗体の毒性副作用を低下させる方法は、当該臨床応用を拡大するために極めて重要である。

【００４７】

実施例２：ＰＰＡＲδ阻害剤は、明らかな肝毒性を招くことなく、低用量の抗ＣＤ４０

アゴニスト抗体の治療効果を高め、ＰＰＡＲγ阻害剤は、当該効果を提供しなかった。

【００４８】

報告されているように、ＰＰＡＲγまたはＰＰＡＲδは、脂肪酸のセンサーであり、Ｍ２（阻害された表現型）マクロファージの成熟に必須である。ＰＰＡＲγまたはＰＰＡＲδの経路を遮断すると、マクロファージのＭ１状態への分極化につながる。腫瘍微小環境において、マクロファージは浸潤リンパ球の主要な群を形成し、Ｍ２様表現型を有し、並びに腫瘍の進行および免疫療法または化学療法における薬剤耐性を促進する。これらの細胞をＭ１状態に分極化すること、および逆転することは、重要な抗がん免疫療法戦略とみなされる。腫瘍関連マクロファージ（ＴＡＭ）を主要なＭ１表現型に変える能力を考慮して、我々は、実施例１のＢ１６担がんマウスモデルおよび低用量ＦＧＫ４５．５投与計画を使用して、ＰＰＡＲγ阻害剤（Ｔ００７０９０７、セレック（Ｓｅｌｌｅｃｋ）社、米国）またはＰＰＡＲδ阻害剤（ＧＳＫ３７８７、セレック（Ｓｅｌｌｅｃｋ）社、米国）、および抗ＣＤ４０アゴニスト抗体が、複合的な抗腫瘍効果を有するかどうか試験した。

【００４９】

Ｂ１６黒色腫担がんマウスモデルの確立、並びに低用量および高用量のＦＧＫ４５．５の投与計画は実施例１に従った。低用量のＦＧＫ４５．５とＴ００７０９０７またはＧＳＫ３７８７との併用群は、Ｂ１６細胞の注射後、７日目から１６日目に、Ｔ００７０９０７またはＧＳＫ３７８７を、図２ａ、２ｂにマークされた用量で、腹腔内注射によって、１日に１回、投与された。高用量のＦＧＫ４５．５とＴ００７０９０７またはＧＳＫ３７８７との併用群は、Ｂ１６細胞の注射後、７日目から２２日目に、Ｔ００７０９０７またはＧＳＫ３７８７を、図２ｂにマークされた用量で、腹腔内注射によって、１日に１回、投与された。Ｔ００７０９０７またはＧＳＫ３７８７のみの群は、Ｔ００７０９０７またはＧＳＫ３７８７を、腹腔内注射によって、Ｂ１６細胞の注射後、７日目から１６日目に、図２ａ、２ｂにマークされた用量で、１日に１回、投与された。

【００５０】

以前の研究と一致して、低用量のＦＧＫ４５．５単独（合計７５μｇ）での使用は、非常に小さな抗腫瘍効果しか示さず、治療のためのＰＰＡＲγ阻害剤またはＰＰＡＲδ阻害剤単独での使用は、ほとんど抗腫瘍効果を提供しなかった。しかしながら、ＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤とを併用した場合、腫瘍増殖の速度を大幅に低下させた。一方、ＦＧＫ４５．５およびＰＰＡＲγ阻害剤は、相乗的な抗腫瘍効果を生じなかった（図２ａ）。

【００５１】

次に、我々は、ＰＰＡＲδ阻害剤の効果、およびＰＰＡＲδ阻害剤と異なる用量のＦＧＫ４５．５との併用療法の効果を更に調べた。ＰＰＡＲδ阻害剤と低用量のＦＧＫ４５．５は共同して、高用量のＦＧＫ４５．５と共に同じ阻害剤によって提供される治療効果と基本的に同等の治療効果を提供し、高用量のＦＧＫ４５．５の治療効果に一致した。３つの治療計画は全て、明らかな、ほとんど同等の抗腫瘍効果を示した。

【００５２】

高用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用群、低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用群、および高用量のＦＧＫ４５．５単独の群における抗腫瘍効果は、腫瘍増殖容積曲線によって腫瘍発生率として測定され、それぞれ６２％（５／８）、７７％（６／９）、および８７％（７／８）であり、有効率は全て１００％であり、一方、低用量ＦＧＫ４５．５単独の群における腫瘍発生率および有効率は、それぞれ１００％（８／８）および５０％（４／８）である（図２ｂ）。

【００５３】

より重要なことに、低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用群は、高用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用群と比較した場合、肝毒性指標（血清中のＡＬＴレベル）が著しく低下した。ＰＰＡＲδ阻害剤（ＧＳＫ３７８７）の最後の注射の２４時間後に、マウス尾側静脈血液を各グループについて採取した。血清を分離し、ＡＬＴレベルを検査した。低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用群は、約１０

０ＩＵ／Ｌの血清ＡＬＴレベルを有し、低用量のＦＧＫ４５．５を単独で投与されたマウスの群の血清ＡＬＴレベルと同等であり、一方、高用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用群は、約５００ＩＵ／Ｌの血清ＡＬＴレベルを有した。それらの間の差異は、統計的に有意である（図２ｃ）。

【００５４】

抗腫瘍免疫記憶応答を生成するように免疫系を誘導することは、持続的な抗腫瘍効果を与え、および腫瘍の再発を防ぐために免疫系にとって鍵であると考えられている。ＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用が、生物において抗腫瘍免疫記憶応答を誘導することができるかどうかを更に検証するために、以下に記述される実験を実施した。

【００５５】

上述のＢ１６担がんマウスモデルおよび治療計画において、治療の完了後、低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用群、および高用量のＦＧＫ４５．５を単独で投与されたマウスの群の両方は、いくつかの腫瘍のないマウスを有した。次に、これらの腫瘍のないマウスを、以下に記述される記憶実験において使用した。最初の治療の９０日後、5×10^{5}個のＢ１６腫瘍細胞を、腫瘍のない各マウスの尾側静脈に注射し免疫系を再び興奮させた。対照群は、Ｂ１６腫瘍細胞を注射されていない、年齢が一致するマウスで構成された。

【００５６】

２つの処置群において９２％のマウスは４０日より長く生存し、対照群のマウスは全て３１日以内に死亡したことに注意すべきである。さらに、低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用療法群において８０％のマウスは１００日より長く生存したが、高用量のＦＧＫ４５．５を単独で用いて処理された群において５０％マウスのみが１００日より長く生存した。しかしながら、それら間の差異は統計的な有意性がなかった。これらの結果は、低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用療法は、同様に免疫系を誘導し、高用量のＦＧＫ４５．５を単独で使用して誘導されたものと同等の抗腫瘍記憶応答を生成することができることを示す（図２ｄ）。

【００５７】

上記の結果は、ＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤とを併用で投与されたマウスの群において、ＰＰＡＲδ阻害剤が、肝臓損傷を増加させることなく、低用量の抗ＣＤ４０アゴニスト抗体の治療効果を著しく高めることを示唆する。低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用療法は、良好な安全性および良好な有効性の両方を達成した。安全性のために、続く実験を全て、ＦＧＫ４５．５を低用量で使用して実施し、これを、成分が単独で使用されるか併用されるかにかかわらず、全ての投与計画に適用した。

【００５８】

実施例３：ＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用療法は、腫瘍におけるＣＤ８Ｔ細胞の浸潤深さを効果的に増加させた。

ＦＧＫ４５．５を単独で投与された群、低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤とを併用で投与された群、および対照群の腫瘍において免疫効果を有する細胞を、フローサイトメトリー、組織切片、および免疫細胞染色を使用して定量した。

【００５９】

結果を図３に示す。併用療法は、ＦＧＫ４５．５を単独で使用する治療と比較して、治療腫瘍においてＣＤ４５$^{+}$細胞におけるＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の割合をわずかしか増加させず、差は統計的有意性を有さず、対照群と比較した場合、併用療法で治療された腫瘍においてＣＤ４５$^{+}$細胞におけるＣＤ８$^{+}$細胞傷害性Ｔ細胞の割合は、大幅に増加した。ＰＰＡＲδ阻害剤と併用でＦＧＫ４５．５を投与されたマウスの治療群において、腫瘍においてＣＤ４５$^{+}$リンパ球におけるＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の割合は、約２５％に増加し、ＦＧＫ４５．５を単独で投与されたマウスの治療群のＣＤ４５$^{+}$リンパ球におけるＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞の割合は、約１５％であり、一方、対照群のＣＤ４５$^{+}$リンパ球におけるＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞割合は、わずか１０％であった。比較すると、ＣＤ４５$^{+}$細胞における、ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞、Ｂ細胞、および骨髄由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）の割合は、治療群間で有意な差を示さなかった

（図３ａ）。興味深いことに、腫瘍免疫組織化学を用いて明らかにされたように、ＦＧＫ４５．５を単独で治療された腫瘍において、ＣＤ８＋Ｔ細胞は、主に末梢に存在したが、ＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用療法群において、ＣＤ８＋Ｔ細胞は腫瘍のより深くに浸潤した（図３ｂ）。

【００６０】

実施例４：ＦＧＫ４５．５は、流入領域リンパ節におけるＢリンパ球の増加を招いた。

抗原によって引き起こされるＴ細胞の活性化は、リンパ節で起こり、様々な治療によって発生した担がんマウスのリンパ節における細胞の変動は、他のどの部分よりも明らかであるべきである。続く実験を、異なる投与計画を用いて治療された担がんマウスにおける流入領域リンパ節でのリンパ球の部分集団および表現型の変化を特定するために実施した。

【００６１】

実施例１のＣ５７ＢＬ／６Ｂ１６担がんマウスモデル（7×10^5個のＢ１６細胞を皮下接種されたマウス、腫瘍細胞の接種の８日後、腫瘍に触れることができるマウス）を使用した。実験は、低用量ＦＧＫ４５．５の治療群、ＰＰＡＲδ阻害剤と併用での低用量ＦＧＫ４５．５の治療群、ＰＰＡＲδ阻害剤を単独で使用する治療群、およびアイソタイプ対照ラットＩｇＧ治療群を含んだ。図２ａに示された実施例２の治療計画に従った。ＧＳＫ３７８７の最後の注射の２４時間後（すなわち、最後のＦＧＫ４５．５注射の７２時間後）、全ての群のマウスを犠牲にした。全ての群からマウスのリンパ節の細胞を、フローサイトメトリー分析および細胞計数のために採取した。

【００６２】

結果を図４に示す。流入領域リンパ節において、低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤とを併用で投与されたマウスの群、およびＦＧＫ４５．５を単独で投与されたマウスの群は、基本的に同様のＣＤ４５＋細胞の絶対数を有し、両者はＰＰＡＲδ阻害剤群およびラットＩｇＧ対照におけるＣＤ４５＋細胞の絶対数より著しく高かった。ＰＰＡＲδ阻害剤の使用は、流入領域リンパ節におけるＣＤ４５＋細胞の絶対数を変化させなかった（図４ａ）。その中で、ＦＧＫ４５．５群におけるＣＤ１９＋細胞数は、ラットＩｇＧ対照におけるＣＤ１９＋細胞数よりも著しく高く、低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤とを併用で投与されたマウス群におけるＣＤ１９＋細胞数は、ＦＧＫ４５．５群におけるＣＤ１９＋細胞数よりもわずかに低い。しかしながら、低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤とを併用で投与されたマウスの群のＣＤ４５＋細胞におけるＣＤ１９細胞の割合は、ＦＧＫ４５．５群のＣＤ４５＋細胞におけるＣＤ１９細胞の割合よりも著しく低かった。ＦＧＫ４５．５を単独で投与されたマウスの群、ＰＰＡＲδ阻害剤の群、およびラットＩｇＧ対照群のＣＤ４５＋細胞におけるＣＤ４＋Ｔ細胞およびＣＤ８＋Ｔ細胞の細胞数、並びに割合は一致しているが、低用量のＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤とを併用で投与されたマウスの群において、ＣＤ４５＋細胞におけるＣＤ４＋Ｔ細胞およびＣＤ８＋Ｔ細胞の細胞数、並びにそれらの割合の両方は、ＦＧＫ４５．５を単独で投与されたマウスの群よりも著しく高い。ＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤とを併用して投与されたマウスの群およびＦＧＫ４５．５の群におけるＣＤ１１ｃ＋細胞の絶対数および割合は基本的に同等であり、２つの両群は、ＰＰＡＲδ阻害剤群およびラットＩｇＧ対照群よりも著しく高い値を有した。ＰＰＡＲδ阻害剤群およびラットＩｇＧ対照群におけるＣＤ１１ｃ＋細胞の絶対数および割合は、基本的に同じである（図４ｂ）。ＦＧＫ４５．５群、ＰＰＡＲδ阻害剤群、およびラットＩｇＧ群におけるＣＤ４／ＣＤ１９細胞の割合は、基本的に同等であるが、ＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤とを併用して投与されたマウスの群において、値は著しく増加した（図４ｃ）。４つの実験群におけるＣＤ８／ＣＤ１９の値は、４つの実験群におけるＣＤ４／ＣＤ１９細胞の場合と同様である（図４ｄ）。

【００６３】

Ｍ２マクロファージが腫瘍微小環境において重要な抑制因子を示すこと、およびＰＰＡＲγまたはＰＰＡＲδ阻害剤がＭ２からＭ１へのマクロファージの分極化に有利であると報告されていることを考慮して、我々は最初に、ＰＰＡＲγまたはＰＰＡＲδ阻害剤が、

当該分極化後にＴＡＭをＭ２からＭ１へ変化させることを促進することによって抗ＣＤ４０アゴニスト抗体の治療効果を高めると仮定した。しかしながら、結果は、ＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用療法が腫瘍増殖速度を著しく低下させ、ＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲγ阻害剤との併用療法が抗腫瘍効果を示さないことを明らかにした。これらの結果は、ＰＰＡＲδ阻害剤が、分極化を介してＴＡＭをＭ２からＭ１に変化させるのではなく、異なるメカニズムによって抗ＣＤ４０アゴニスト抗体の治療効果を高める可能性があることを示す。上記の結果から分かるように、ＰＰＡＲδ阻害剤は、単独で使用された場合、ＣＤ４Ｔ、ＣＤ８Ｔ、ＣＤ１９$^{+}$Ｂ、およびＣＤ１１ｃ$^{+}$細胞の数にはほとんど影響を与えなかった。ＦＧＫ４５．５自体は単独で、リンパ節におけるＣＤ１９$^{+}$ＢおよびＣＤ１１ｃ$^{+}$細胞を増加させた。ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＦＧＫ４５．５によって引き起こされる流入領域リンパ節におけるＣＤ１９$^{+}$Ｂ細胞の数および割合の増加を抑制したが、ＦＧＫ４５．５によって引き起こされるＣＤ１１ｃ細胞の数および割合の増加には影響を与えなかった。

【００６４】

上述の結果は、低用量ＦＧＫ４５．５の抗腫瘍効果を高めるためのＰＰＡＲδ阻害剤の能力が、Ｂ細胞に対する効果に関連している可能性があることを示す。

実施例５：ＰＰＡＲδ阻害剤は、Ｂ細胞の免疫抑制効果を低下させ、そのことによってＦＧＫ４５．５の免疫療法効果を高めた。

【００６５】

次の点は、ＰＰＡＲδ阻害剤がＢ細胞に影響を与えることによって免疫療法を増強するかどうかを検証することであった。最初に、異なって処置された担がんマウスの流入領域リンパ節におけるＢ細胞が活性化Ｔ細胞の増殖を阻害する能力をインビトロ（ｉｎ　ｖｉｔｒｏ）で試験した。正常なマウスからの精製ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞を、２．５μＭのＣＦＳＥを使用してインビトロ（ｉｎ　ｖｉｔｒｏ）で標識化した。その後、ＣＦＳＥ標識細胞を、完全ＲＰＭＩ１６４０培地に１×１０^{6}／ｍｌで再懸濁し、１０μｇ／ｍｌの抗ＣＤ３ε抗体を用いて被覆された９６ウェルプレートに移し、４℃で一晩置いた。流入領域リンパ節から精製されたＢ細胞および前述のＴ細胞（１：１）を、１μｇ／ｍｌ抗ＣＤ２８ｍＡｂを含む前述の９６ウェルプレート中で７２時間共培養し、フローサイトメトリー分析を行った。ＣＦＳＥ標識Ｔ細胞の細胞増殖率を、式：（１－実験群におけるＴ細胞のＣＦＳＥのＭＦＩ値／対照群におけるＢ細胞無しＴ細胞のＣＦＳＥのＭＦＩ値）×１００％を使用して算出した。ＭＦＩは平均蛍光強度を指す。

【００６６】

結果は、未処理の担がんマウスにおける流入領域リンパ節に由来するＢ細胞がＣＤ４Ｔ細胞を抑制し、ＰＰＡＲδ阻害剤を用いて治療された担がんマウスの流入領域リンパ節に由来するＢ細胞は、阻害を低下させたことを明らかにする。ＦＧＫ４５．５を用いて治療することは、Ｂ細胞における阻害を低下させなかった（図５ａ）。これらの結果は、ＰＰＡＲδ阻害剤がＢ細胞における免疫抑制効果を弱めることによってＦＧＫ４５．５の免疫療法効果を高める可能性があることを示す。

【００６７】

仮説を検証するために、抗体を使用してＢ１６担がんマウスのＢ細胞を根絶し、ＦＧＫ４５．５とＰＰＡＲδ阻害剤との併用投与計画におけるＰＰＡＲδ阻害剤の役割を更に評価した。

【００６８】

Ｂ１６担がんマウスの一部に対して、最初に抗ＣＤ１９抗体を使用し、Ｂ細胞を殺し、その後、ラットＩｇＧ、またはＦＧＫ４５．５、またはＰＰＡＲδ阻害剤（ＧＳＫ３７８７）と併用でのＦＧＫ４５．５を、治療用に投与した。腫瘍の増殖を観察した。ラットＩｇＧ、ＦＧＫ４５．５、およびＰＰＡＲδ阻害剤と併用でのＦＧＫ４５．５を用いての治療を、対照群として採用した。これらの群において、ラットＩｇＧ、ＦＧＫ４５．５、およびＰＰＡＲδ阻害剤（ＧＳＫ３７８７）の用量および投与計画は全て、図２ａに示されるように、実施例２の用量および投与計画に従った。

【００６９】
ＣＤ１９$^{+}$Ｂ細胞の根絶実験：Ｂ１６細胞の接種後６日目、７日目、１５日目に、２５０μｇの抗ＣＤ１９抗体（クローン１ｄ３）を担がんマウスに腹腔内注射により投与し、Ｂ細胞の根絶率は、ＦＡＣＳを使用して測定されたように９０％以上であるべきである。実験結果は以下のことを明らかにする。Ｂ細胞を根絶した群、およびＩｇＧ処理の対照群における腫瘍は、同様の増殖状態を有し、このことはＢ細胞を単独で殺すことがＢ１６腫瘍に対して治療効果を提供せず、Ｂ細胞を殺すことがＢ１６腫瘍に対してＦＧＫ４５の治療効果を著しく高めることを意味する。更に重要なことに、ＦＧＫ４５．５との併用、およびＦＧＫ４５．５－ＰＰＡＲδ群におけるＢ細胞の根絶は、Ｂ１６腫瘍に対して基本的に同等の治療効果を有した。Ｂ細胞が根絶されたことにより、ＦＧＫ４５．５単独、およびＦＧＫ４５．５－ＰＰＡＲδ群がＢ１６腫瘍に対して基本的に同等の治療効果を有し、およびＰＰＡＲδ阻害剤がＦＧＫ４５．５の抗腫瘍効果を高める機能を失ったことは、より注目すべきでことある（図５ｂ）。

【００７０】
これらの結果は、Ｂ１６腫瘍モデルにおいて、Ｂ細胞がＦＧＫ４５．５治療における免疫抑制因子として作用し、ＰＰＡＲδ阻害剤がＢ細胞の免疫抑制効果を抑制することによって低用量ＦＧＫ４５．５の抗腫瘍効果を高めたことを示す。

【００７１】
実施例６：Ｂ１６担がんマウスに対する、抗ＰＤ－１抗体と併用されたＰＰＡＲδ阻害剤の治療効果

上記の結果から、我々は、Ｂ細胞の根絶またはＰＰＡＲδ阻害剤の使用は、Ｂ１６担がんマウスモデルにおいて他の免疫療法薬の効果を高めることができると予測した。

【００７２】
この可能性を検証するために、ＰＰＡＲδ阻害剤またはＢ細胞の根絶を抗ＰＤ－１抗体とともに使用して、Ｂ１６担がんマウスを治療し、それぞれの治療効果を評価した。

【００７３】
同じ状態の担がんマウスを、抗ＰＤ－１抗体、Ｂ細胞根絶＋抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤ－１抗体＋ＰＰＡＲδ阻害剤をそれぞれ用いて治療した（Ｂ１６細胞の注射の７～１６日後、図２ａに示された用量でのＧＳＫ３７８７（３００ｎｍｏｌ）、腹腔内注射、１日１回）。Ｂ細胞の根絶（例えば、実施例５における「ＣＤ１９$^{+}$Ｂ細胞根絶実験」など）、およびＩｇＧ処理群（実施例１の投与計画を用いたラットＩｇＧ注射のアイソタイプ対照）を対照群として、合計で５つの並行群（ｎ＝８／群）を使用した。

【００７４】
抗ＰＤ－１抗体を、以下の方法において使用した。腫瘍細胞の接種後８日目から、抗ＰＤ－１抗体（クローンＲＭＰ１－１４）を、担がんマウスに、腹腔内注射によって毎回２００μｇ、４日に１回、合計で４回の注射で投与した。

【００７５】
単独で使用された場合、抗ＰＤ－１抗体はＢ１６腫瘍に対して中程度の治療効果を有した（４／８の応答率を有する）が、Ｂ細胞の根絶、またはＰＰＡＲδ阻害剤の使用は、Ｂ１６腫瘍に対する抗ＰＤ－１抗体治療の治療効果を更に高めた（７／８の応答率を有する）ことを明らかにした（図６）。

【００７６】
実施例７：ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞の増殖を低下させた。

上記の結果に基づいて、我々は、腫瘍発生またはＦＧＫ４５．５治療は、流入領域リンパ節のＢ細胞、および腫瘍のＢ細胞において変化を起こし、これらのＢ細胞を免疫療法に対して抑制的にすると仮定した。

【００７７】
この仮定を検証するために、実施例４の実験スキームを使用した。全ての群のマウスを、ＧＳＫ３７８７の最後の注射の２４時間後（すなわち、最後のＦＧＫ４５．５注射の７

２時間後）に犠牲にし、様々な表面マーカー分析を、担がんマウスのリンパ節から単離されたＢ細胞に対して実施し、免疫抑制効果を有するＢ細胞亜集団の表面マーカー、および免疫抑制効果を有するＢ細胞亜集団に対する様々な処理の効果を同定した。

【００７８】

制御性Ｂ細胞の既知の表面マーカー、および主要な発展（ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ）表現型、例えば、ＣＤ２４、ＣＤ３８、ＣＤ１３８またはＩｇＤなどによると、異なる治療群におけるＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞集団は以下のように変化したことを明らかにした。

【００７９】

最後のＧＳＫ３７８７注射の２４時間後に、異なって処理されたマウスの腫瘍流入領域リンパ節を採取した。天然の、腫瘍の無いマウスにおける同じ体の部分のリンパ節も、対照群として採取した。リンパ節をすりつぶし単一細胞懸濁液にした。様々なリンパ節からの細胞を、フローサイトメトリー分析用に様々な蛍光標識抗体を使用して染色した。

【００８０】

結果によると、Ｂ細胞集団において、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞は、天然マウスにおいて最も少ない割合を占めた。担がんマウスにおいて、流入領域リンパ節におけるＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞亜集団の割合は、大幅に増加した。ＦＧＫ処理群において、この亜集団の割合は、更に増加した。ＰＰＡＲδ阻害剤を単独で投与されたマウスの群において、Ｂ細胞のこの亜集団の割合は、大幅に減少した。ＦＧＫをＰＰＡＲδ阻害剤と一緒に使用した群において、Ｂ細胞のこの亜集団の割合は、ＦＧＫ処理群におけるこの亜集団の割合よりもはるかに少なかった（図７ａ，ｂ）。さらに、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{lo}ＩｇＤ^{hi}Ｂ細胞集団と比較して、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞は、より高いＰＰＡＲδを発現した（図７ｃ）。腫瘍因子は、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞におけるＰＰＡＲδ発現を促進したが、ＦＧＫ４５．５によって引き起こされる刺激は、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞におけるＰＰＡＲδ発現に著しい変化をもたらさなかった（図７ｄ）。

【００８１】

さらに、フローサイトメトリー分析で明らかにされたように、腫瘍因子およびＦＧＫの両方は、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞におけるＫｉ６７発現を促進し、ＰＰＡＲδ阻害剤は、これらの２つの原因によって引き起こされるＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞におけるＫｉ６７発現の増加を低下させた（図７ｅ，ｆ）。しかしながら、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{lo}ＩｇＤ^{hi}Ｂ細胞集団の増殖は、様々な処理因子の影響を受けなかった（図７ｇ）。

【００８２】

実施例８：ＰＰＡＲδ阻害剤は、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞における抑制効果を低下させた。

ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞に対する機能調節効果を評価するために、実施例４の実験スキームを用いた。最後のＧＳＫ３７８７注射の２４時間後（すなわち、最後のＦＧＫ４５．５注射の７２時間後）、全ての群のマウスを犠牲にした。ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ$^{lo/-}$Ｂ細胞集団およびＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{lo}ＩｇＤ^{hi}Ｂ細胞集団を、フローサイトメトリーを用いて、異なって処理された担がんマウスの流入領域リンパ節から単離した。正常なマウスから精製されたＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞を、インビトロ（ｉｎｖｉｔｒｏ）で２．５μＭ　ＣＦＳＥを用いて標識した。ＣＦＳＥ標識細胞を、完全ＲＰＭＩ１６４０培地に１×１０^{6}／ｍｌで再懸濁し、１０μｇ／ｍｌの抗ＣＤ３ε抗体を用いて被覆された９６ウェルプレートに移し、４℃で一晩置いた。流入領域リンパ節から精製されたＢ細胞および前述のＴ細胞（１：１）を、フローサイトメトリー分析における使用のために、１μｇ／ｍｌの抗ＣＤ２８ｍＡｂを含む前述の９６ウェルプレートで７２時間共培養した。ＣＦＳＥ標識Ｔ細胞の増殖を、式：（１－実験群におけるＴ細胞のＣＦＳＥのＭＦＩ値／対照群におけるＢ細胞無しＴ細胞のＣＦＳＥのＭＦＩ値）×１００％を使用して算出した。

【００８３】
ＣＤ４＋Ｔ細胞を、ＣＤ１９＋ＣＤ２４ｈｉＩｇＤｌｏ／－Ｂ細胞と共に培養した場合、活性化Ｔ細胞の増殖を抑制した。腫瘍因子は、マウスの流入領域リンパ節におけるＣＤ１９＋ＣＤ２４ｈｉＩｇＤｌｏ／－Ｂ細胞の抑制効果を増加させた。ＦＧＫは、担がんマウスの流入領域リンパ節におけるＣＤ１９＋ＣＤ２４ｈｉＩｇＤｌｏ／－Ｂ細胞の抑制効果に重大な影響を与えず、およびＧＳＫは、担がんマウスの流入リンパ節におけるＣＤ１９＋ＣＤ２４ｈｉＩｇＤｌｏ／－Ｂ細胞の抑制効果を低下させた（図８ａ）。Ｔ細胞とＣＤ１９＋ＣＤ２４ｌｏＩｇＤｈｉＢ細胞集団との共培養系において、ＣＤ１９＋ＣＤ２４ｌｏＩｇＤｈｉＢ細胞集団は活性化Ｔ細胞の増殖を促進したが阻害しなかった（図８ｂ）。
【００８４】
上記で列挙された結果により、我々は、ＣＤ１９＋ＣＤ２４ｈｉＩｇＤｌｏ／－Ｂ細胞がＰＰＡＲδをより高発現、したがって免疫抑制効果を有することを明らかにした。ＰＰＡＲδ阻害剤は、主に、腫瘍およびＦＧＫ４５．５によって引き起こされるＣＤ１９＋ＣＤ２４ｈｉＩｇＤｌｏ／－Ｂ細胞の増殖を低下させ、腫瘍によって引き起こされるＣＤ１９＋ＣＤ２４ｈｉＩｇＤｌｏ／－Ｂ細胞の抑制効果の増加を低下させ、そのことにより、動物レベルでＣＤ１９＋ＣＤ２４ｈｉＩｇＤｌｏ／－Ｂ細胞の免疫抑制効果を低下させ、腫瘍に対する免疫刺激抗体または、および免疫チェックポイント抗体における免疫療法効果を促進する。
【００８５】
実施例９：マウスＭＢ４９膀胱癌に対する、ＦＧＫ４５．５と併用されたＰＰＡＲδ阻害剤の治療効果
上記の結果から、我々は、ＰＰＡＲδ阻害剤が他の腫瘍モデルにおいて腫瘍に対する免疫療法薬の治療効果も高める可能性もあることを予測する。当該可能性を検証するために、我々は、ＭＢ４９膀胱癌細胞担がんマウスに対するＰＰＡＲδ阻害剤のＦＧＫ４５．５との併用における治療効果を調べた。Ｃ５７ＢＬ／６マウス（８～１０週、ｎ＝５／群、４群）は、７×10^5個のＭＢ４９細胞（マウス膀胱癌細胞）を皮下接種され、腫瘍細胞の接種の約８日後に腫瘍を触れることができるようになった時に、ラットＩｇＧ、またはＦＧＫ４５．５、またはＰＰＡＲδ阻害剤（ＧＳＫ３７８７）、またはＦＧＫ４５．５を、ＰＰＡＲδ阻害剤（ＧＳＫ３７８７）と併用して投与した。腫瘍増殖状態を観察した。全ての群におけるラットＩｇＧ、ＦＧＫ４５．５、およびＰＰＡＲδ阻害剤（ＧＳＫ３７８７）の用量および投与計画は、図２ａに示されるように、実施例２の用量および投与計画に従った。
【００８６】
単独で使用されたＦＧＫ４５．５（マウスの抗ＣＤ４０アゴニスト抗体）は、ＭＢ４９腫瘍に対して中程度の治療効果を有し、一方、単独で使用されたＧＳＫ３７８７（ＰＰＡＲδ阻害剤）は、ＭＢ４９腫瘍に対して治療効果を有さないが、ＧＳＫ３７８７の使用は、ＭＢ４９腫瘍の治療において、ＦＧＫ４５．５の効果を更に向上させることができたことを明らかにした（図９）。
【００８７】
実施例１０：ＰＰＡＲδ阻害剤は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）患者（腺癌および扁平上皮癌）由来のＣＤ１９＋ＣＤ２４ｈｉＩｇＤｌｏ／－Ｂ細胞亜集団における免疫抑制を低下させることができた。
【００８８】
我々の研究の臨床的意義を更に証明する目的のために、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）患者（腺癌および扁平上皮癌患者を含む）の末梢血を採取し、末梢血におけるフローサイトメトリーにより次のことを明らかにした。マウスモデルにおける所見と同様に、健常者と比較して、癌患者の末梢血中のＣＤ１９＋ＣＤ２４ｈｉＩｇＤｌｏ／－Ｂ細胞の割合は、著しく増加し、ヒトＣＤ１９＋ＣＤ２４ｈｉＩｇＤｌｏ／－Ｂ細胞は、ヒトＣＤ１９＋ＣＤ２４ｌｏＩｇＤｈｉＢ細胞よりも高いレベルのＰＰＡＲδを発現した（図１０ｂ）。
【００８９】

Ｂ細胞を、複数の正常な献血者または患者の末梢血から単離し、収集し、ＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞を、収集されたＢ細胞から単離し、ＰＰＡＲδ阻害剤ＧＳＫ３７８７の有無にかかわらず、完全ＲＰＭＩ１６４０培地で２４時間培養した。その後、これらのＢ細胞を２回洗浄し、ＰＰＡＲδ阻害剤を除去し、完全ＲＰＭＩ１６４０培地に１×１０^{6}／ｍｌで再懸濁した。ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{-}$Ｔ細胞を、正常な献血者の血液から単離した。処理されたＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞、およびこれらのＴ細胞（１：１）を、４８時間共培養し、ダイナビーズ（Ｄｙｎａｂｅａｄｓ）を、抗ヒトＣＤ３ｍＡｂおよび抗ヒトＣＤ２８ｍＡｂを用いて被覆し、９６ウェルＵ型培養プレート、ゴルジ（Ｇｏｌｇｉ）プラグ（Ｐｌｕｇ）（ＢＤ　バイオサイエンシズ（Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）社）に置き、ＰＭＡ、およびイオノマイシンを一緒に培地に添加し、６時間処理した。ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞を表面染色し、細胞膜に穿孔し、蛍光標識抗ヒトＩＦＮγを使用して細胞内を染色し、その後フローサイトメトリーを使用して分析した。分析は、癌患者由来のＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞が、健康な対照群由来のＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞よりも、抗ヒトＣＤ３ｍＡｂおよび抗ヒトＣＤ２８ｍＡｂによって活性化されたＴ細胞のＩＦＮγ分泌を抑制する強力な能力を示したことを明らかにした（図１０ｃ）。さらに、健常者および癌患者におけるヒトＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞の抑制活性を、ＧＳＫ３７８７処理によって著しく減少させた。これらの結果は、マウスの場合と同様に、ヒトＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞も、抑制機能を有する重要な癌関連Ｂ細胞サブセットであり、ヒトＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞の免疫抑制機能は、ＰＰＡＲδに大いに依存しており、およびＰＰＡＲδ阻害剤は、癌患者由来のＣＤ１９$^{+}$ＣＤ２４^{hi}ＩｇＤ^{lo}／$^{-}$Ｂ細胞の免疫抑制機能を低下させることができたことを示す。

【００９０】

上述の特定の実施形態は例示であり、当業者は本発明の開示に刺激されて様々な解決策を提案することができ、これらの解決策も本発明の開示の範囲に属し、本発明の範囲内に含まれることに注意すべきである。本発明の明細書および添付の図面は、特許請求の範囲を限定するものではなく、例示的なものであることを当業者によって理解されるべきである。本発明の保護範囲は、特許請求の範囲および特許請求の範囲の均等物によって定義される。

【図面】

【図１】

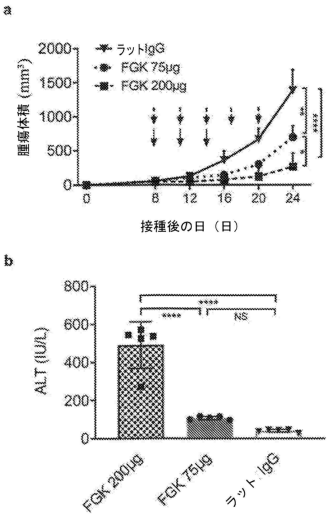


Fig.1

【図２】

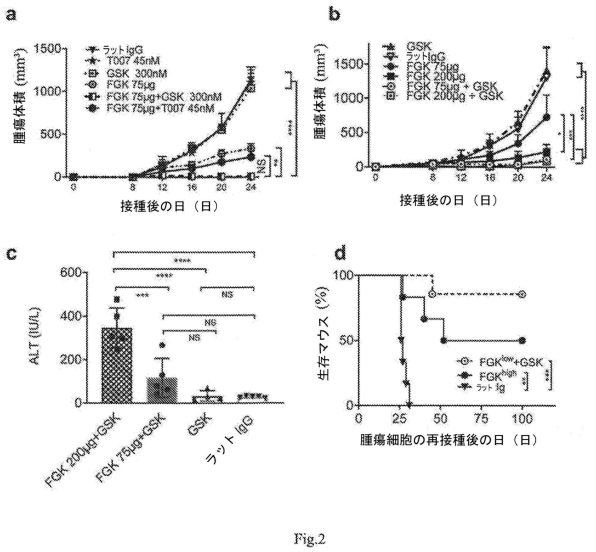


Fig.2

【図３】

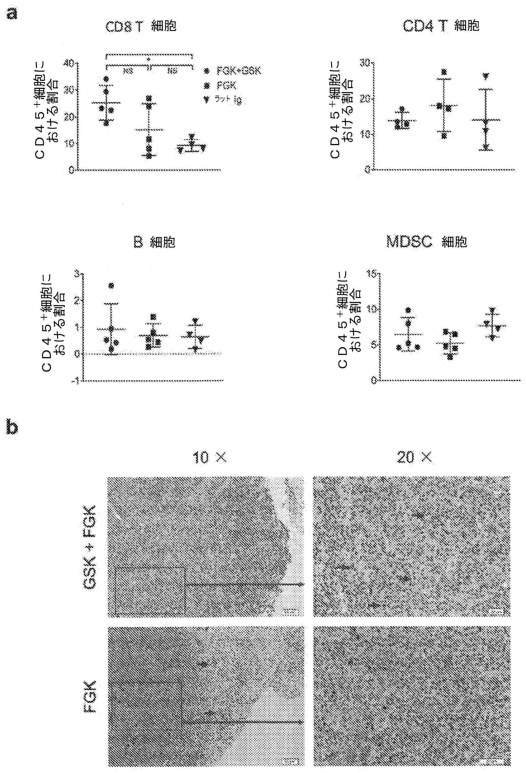


Fig.3

【図４】

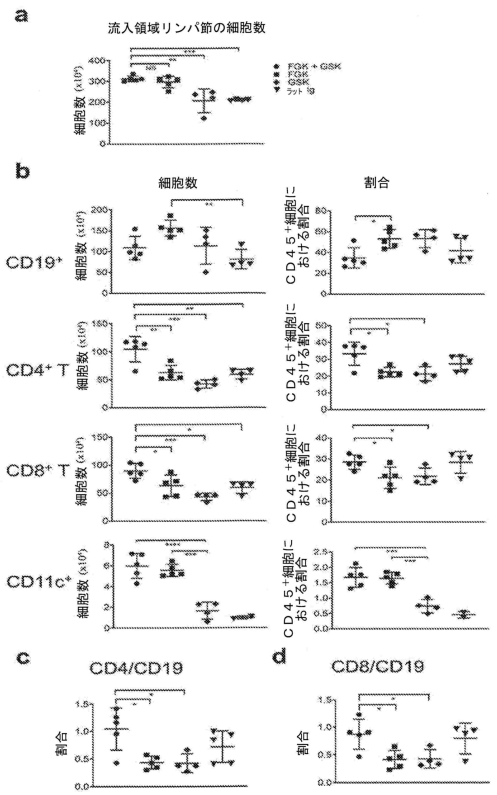


Fig.4

【図５】

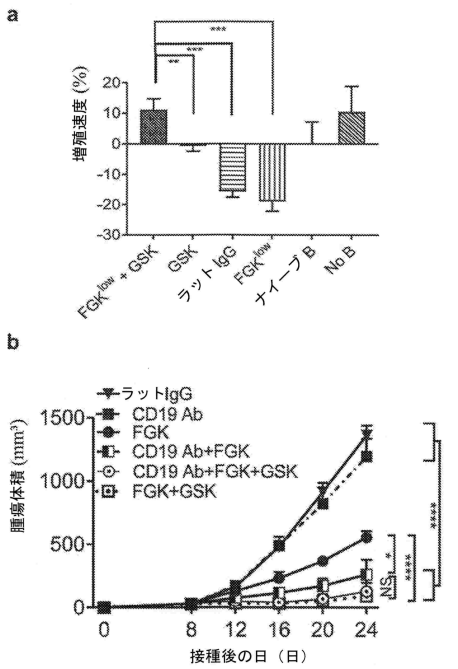


Fig.5

【図６】

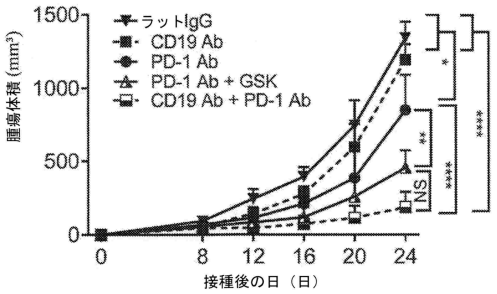


Fig.6

【図７】

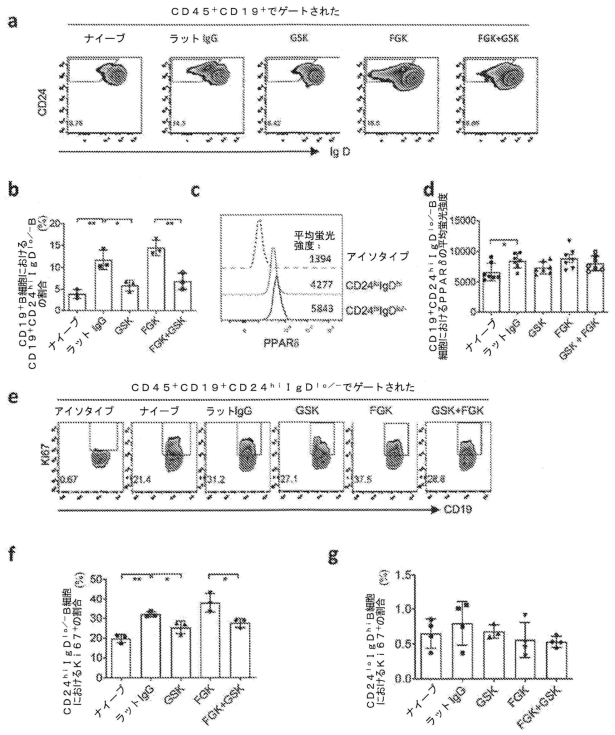


Fig.7

【図８】

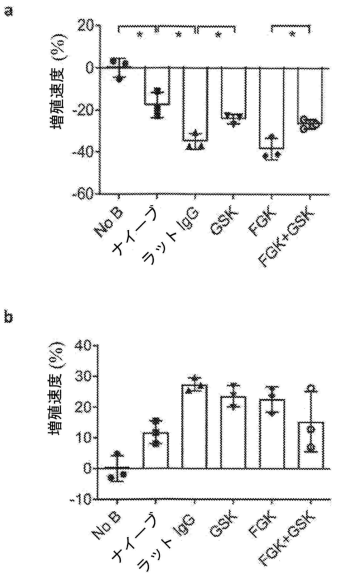


Fig.8

【図９】

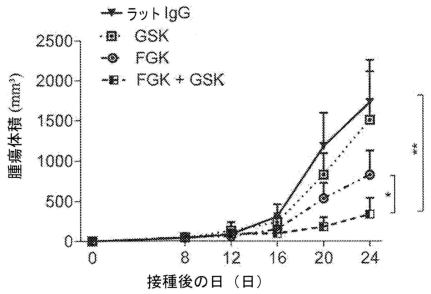


Fig.9

【図１０】

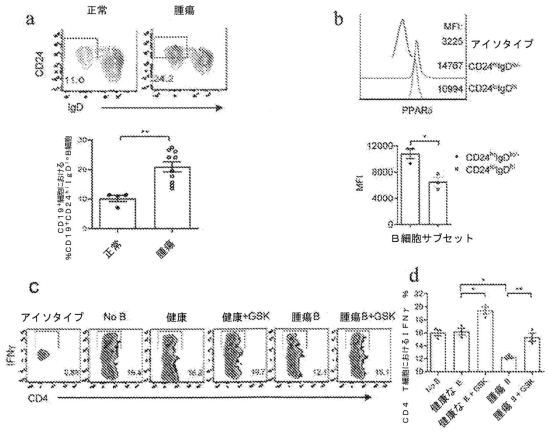


Fig.10

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/075135

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 45/06(2006.01)i; A61K 31/44(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; A61P

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)

CNTXT;WPABS;ENTXT;CNKI;Web of Science;STNext:JILIN UNIVERSITY, LIU Wentao, YANG Yongguang,CHENChen, PPAR,inhibitor,siRNA,shRNA,GSK3787,checkpoint, costimulatory molecule,OX40,4-1BB,CD27,GITR,CD28,ICOS,PD-1, TIM3,LAG3,CD47, FGK45.5

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 112972688 A (THE FIRST HOSPITAL OF JILIN UNIVERSITY) 18 June 2021 (2021-06-18) the whole document	1-15
X	CN 110917347 A (JIANGSU UNIVERSITY) 27 March 2020 (2020-03-27) claims 1-5	1-2, 4-14
Y	CN 110917347 A (JIANGSU UNIVERSITY) 27 March 2020 (2020-03-27) claims 1-5	2-4, 7, 9-15
Y	CN 107106687 A (NOVARTIS AG) 29 August 2017 (2017-08-29) claims 1 and 10	2-4, 7, 9-15
A	US 2009123460 A1 (3M INNOVATIVE PROPERTIES CO.) 14 May 2009 (2009-05-14) the whole document	1-15
A	US 2012251494 A1 (KEDL, Ross et al.) 04 October 2012 (2012-10-04) the whole document	1-15

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"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
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
14 April 2022	**26 April 2022**
Name and mailing address of the ISA/CN **National Intellectual Property Administration, PRC** **6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing** **100088, China**	Authorized officer **JIN,Wu**
Facsimile No. **(86-10)62019451**	Telephone No. **(86—10) 53961850**

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/075135

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	YIN, Xiaozhe et al. "PPARa Inhibition Overcomes Tumor-Derived Exosomal Lipid-Induced Dendritic Cell Dysfunction." *Cell Reports.*, Vol. 33, 20 October 2020 (2020-10-20), pages 1-14 and e1-e6	1-15
A	CHOWDHURY, P.S. et al. "PPAR-Induced Fatty Acid Oxidation in T Cells Increases the Number of Tumor-Reactive CD8T+ Cells and Facilitates Anti–PD-1 Therapy." *Cancer Immunology Research.*, Vol. 6, No. 11, 30 November 2018 (2018-11-30), pages 1375-1387	1-15
A	SUN, L. et al. "PPAR-delta modulates membrane cholesterol and cytokine signaling in malignant B cells." *Leukemia.*, Vol. 32, 07 July 2017 (2017-07-07), pages 184-193	1-15

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/075135

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

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

1. ☑ Claims Nos.: **9-15**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

[1] The subject-matter of claims 9-15 relates to a method of treating tumor, and thus does not warrant an international search according to the criteria set out in PCT Rule 39.1 (iv). The search report is based on the following subject-matter, namely use of a PPARδ inhibitor in combination with an immunotherapeutic drug (an immune stimulator or immune checkpoint inhibitor) for preparing an anti-tumor drug.

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2022/075135

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	112972688	A	18 June 2021	None			
CN	110917347	A	27 March 2020	None			
CN	107106687	A	29 August 2017	KR	20170066546	A	14 June 2017
				EP	3662903	A2	10 June 2020
				WO	2016054555	A2	07 April 2016
				US	2017209574	A1	27 July 2017
				EP	3200775	A2	09 August 2017
				ES	2774448	T3	21 July 2020
				CA	2963281	A1	07 April 2016
				EA	201790737	A1	31 August 2017
				AU	2021204687	A1	19 August 2021
				US	2021000951	A1	07 January 2021
				JP	2017535528	A	30 November 2017
				BR	112017006664	A2	26 December 2017
				JP	2022043060	A	15 March 2022
				MX	2017004360	A	26 June 2017
				AU	2015327868	A1	20 April 2017
US	2009123460	A1	14 May 2009	CA	2511538	A1	22 July 2004
				EP	2572715	A1	27 March 2013
				US	2011280903	A1	17 November 2011
				JP	2014101371	A	05 June 2014
				US	2004141950	A1	22 July 2004
				US	2011002946	A1	06 January 2011
				JP	2006512391	A	13 April 2006
				US	2013115228	A1	09 May 2013
				EP	2572714	A1	27 March 2013
				EP	1578419	A2	28 September 2005
				JP	2011016811	A	27 January 2011
				US	2016129095	A1	12 May 2016
				WO	2004060319	A2	22 July 2004
				JP	2011105749	A	02 June 2011
				US	2019083592	A1	21 March 2019
				AU	2003300184	A1	29 July 2004
US	2012251494	A1	04 October 2012	WO	2007130493	A2	15 November 2007
				US	2015376253	A1	31 December 2015
				CN	104357469	A	18 February 2015
				US	2008050340	A1	28 February 2008
				MX	2008013993	A	11 May 2009
				EP	2589654	A1	08 May 2013
				US	2010317111	A1	16 December 2010
				US	2020087370	A1	19 March 2020
				AU	2007248628	A1	15 November 2007
				EP	2019857	A2	04 February 2009
				IN	4702KOLNP2008	A	13 March 2009
				CN	101479375	A	08 July 2009
				US	2011286968	A1	24 November 2011
				CA	2652599	A1	15 November 2007

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*15/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	15/00		
Ａ６１Ｐ	*1/18*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/18		
Ａ６１Ｐ	*1/16*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/16		
Ａ６１Ｐ	*1/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/02		
Ａ６１Ｐ	*1/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/04		
Ａ６１Ｐ	*11/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/00		
Ａ６１Ｐ	*11/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/02		
Ａ６１Ｐ	*11/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/04		
Ａ６１Ｐ	*13/08*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/08		
Ａ６１Ｐ	*13/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/10		
Ａ６１Ｐ	*13/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/12		
Ａ６１Ｐ	*19/08*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/08		
Ａ６１Ｐ	*21/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	21/00		
Ａ６１Ｐ	*25/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/00		
Ａ６１Ｋ	*39/395*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｄ	
Ａ６１Ｋ	*38/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/00		
Ａ６１Ｋ	*48/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00		
Ａ６１Ｋ	*31/713*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/713		

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,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,ZW

中華人民共和国１３００６１吉林省▲長▼春市新民大街１号

(72)発明者 ▲陳▼晨

中華人民共和国１３００６１吉林省▲長▼春市新民大街１号

Ｆターム（参考） 4C084 AA02 AA13 AA20 BA44 DC50 MA66 NA05 NA14 ZA021 ZA341 ZA591 ZA661 ZA671 ZA751 ZA811 ZA891 ZA941 ZA961 ZB091 ZB261 ZB271 ZC411 ZC751

4C085 AA13 EE03 GG01

4C086 AA01 EA16 MA02 MA04 MA52 MA66 NA05 NA14 ZA02 ZA34 ZA59 ZA66 ZA67 ZA75 ZA81 ZA89 ZA94 ZA96 ZB09 ZB26 ZB27 ZC41 ZC75