

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-532537

(P2020-532537A)

(43) 公表日 令和2年11月12日 (2020. 11. 12)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 35/17 (2015. 01)	A 6 1 K 35/17 Z	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006. 01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/395 (2006. 01)	A 6 1 K 39/395 D	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/192 (2006. 01)	A 6 1 K 31/192	4 C 0 8 7
A 6 1 K 31/69 (2006. 01)	A 6 1 K 31/69	4 C 2 0 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 72 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2020-512453 (P2020-512453)
 (86) (22) 出願日 平成30年8月30日 (2018. 8. 30)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年4月22日 (2020. 4. 22)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2018/048876
 (87) 国際公開番号 W02019/046591
 (87) 国際公開日 平成31年3月7日 (2019. 3. 7)
 (31) 優先権主張番号 62/552, 814
 (32) 優先日 平成29年8月31日 (2017. 8. 31)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(71) 出願人 518150220
 アイオー セラピューティクス インコー
 ポレイテッド
 アメリカ合衆国 テキサス州 ヒュースト
 ン アルメダロード5927 アパートメ
 ント#22105
 (74) 代理人 100095407
 弁理士 木村 満
 (74) 代理人 100132883
 弁理士 森川 泰司
 (74) 代理人 100148633
 弁理士 桜田 圭
 (74) 代理人 100147924
 弁理士 美恵 英樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 がん免疫治療法のための免疫調節物質と併せたRAR選択的アゴニスト

(57) 【要約】

CAR導入免疫細胞及び少なくとも1種類のレチノイン酸受容体アゴニストを投与することを含む、がんを処置する方法が開示される。

【選択図】 図 1

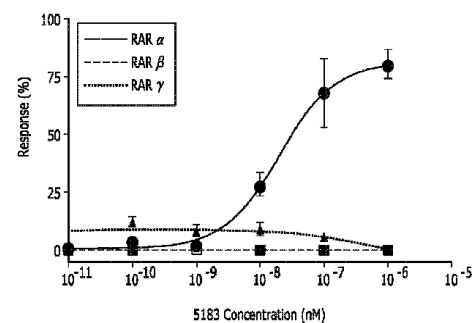


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

キメラ抗原受容体導入免疫細胞（CAR-MIC）を受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者に、RAR アゴニストである少なくとも 1 種類の分化誘導性レチノイン酸受容体（RAR）活性剤を投与することを含む、CAR-MIC がん免疫治療法を増強する方法。

【請求項 2】

がん免疫治療を必要とする対象に CAR-MIC と、RAR アゴニストである分化誘導性 RAR 活性剤とを投与することを含む、がん免疫治療方法。

【請求項 3】

CAR 導入免疫細胞の毒性を減らす方法であって、それを必要とする患者に、併せた結果、前記 CAR 導入免疫細胞を単独で投与する場合と比べより低い用量の前記 CAR 導入免疫細胞が効力を減少させずに投与されるように、前記 CAR 導入免疫細胞と併せて、少なくとも 1 種類の RAR アゴニストを投与することを含む、方法。

【請求項 4】

前記 CAR 導入免疫細胞の単独投与に比べて安全性が同じ又は増加している、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

免疫チェックポイント阻害剤を投与することをさらに含み、前記免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1 リガンド、B7-H3、B7-H4、BTLA の少なくとも 1 種類の阻害剤である、又は、ICOS 若しくは OX40 アゴニストであり、前記免疫チェックポイント阻害剤は抗体又は別の免疫チェックポイント阻害剤である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

前記 RAR アゴニストは選択的 RAR アゴニストである、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記 RAR アゴニストは CYP26 代謝耐性 RAR アゴニストである、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

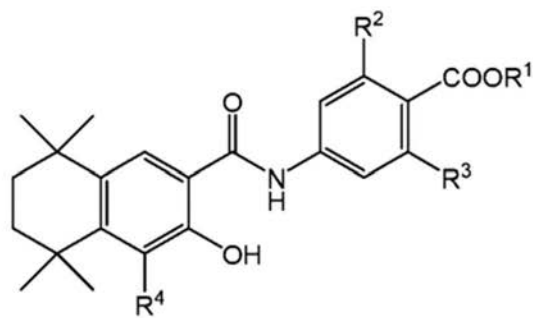
【請求項 8】

前記 CYP26 代謝耐性 RAR アゴニストは選択的 RAR アルファアゴニストである、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記 RAR アゴニストは下記の一般式（I）の化合物である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【化 1】



（ただし、 R^1 は、H 又は C_{1-6} アルキルであり、 R^2 及び R^3 は、独立して、H 又は F であり、 R^4 は、ハロゲンである。）

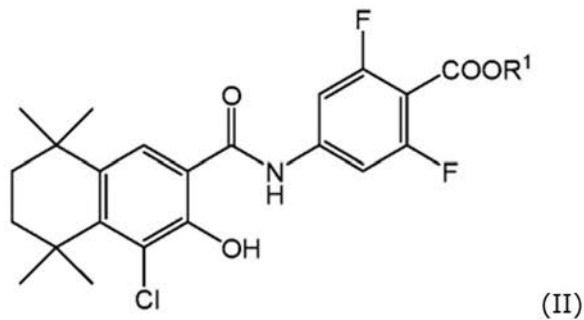
【請求項 10】

R^4 は、F、Cl、Br、又は I である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記 R A R アゴニストは下記の一般式 (I I) の構造を有する化合物である、請求項 9 に記載の方法。

【化 2】



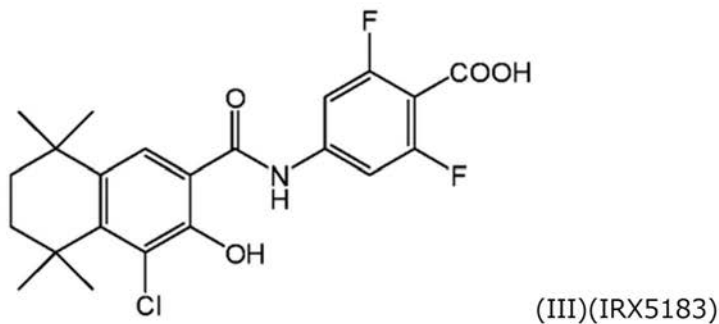
10

(ただし、R¹ は、H 又は C₁ - 6 アルキルである。)

【請求項 1 2】

前記 R A R アゴニストは下記の一般式 (I I I) の構造を有する化合物である、請求項 1 1 に記載の方法。

【化 3】



20

【請求項 1 3】

前記 R A R アゴニストはタミパロテン (A M 8 0 ; 4 - [(5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルバモイル] 安息香酸) である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 1 4】

前記 R A R アゴニストは A M 5 8 0 (4 - [(5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルボキサミド] 安息香酸) である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記 R A R アゴニストは R e 8 0 (4 - [1 - ヒドロキシ - 3 - オキソ - 3 - (5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 3 - ヒドロキシ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) - 1 - プロペニル] 安息香酸) である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 1 6】

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入 T 細胞である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入 N K 細胞である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入貪食細胞である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項

50

に記載の方法。

【請求項 19】

前記がんは血液悪性腫瘍である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

前記血液悪性腫瘍は、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病（CML）、移行期 CML、CML 急性転化期（CML-BP）、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、B 細胞リンパ腫、T 細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、ワルデンシュトレーンマクログロブリン血症、骨髄異形成症候群（MDS）、不応性貧血（RA）、環状鉄芽球を伴う RA、芽球増加を伴う RA（RAEB）、移行期の RAEB、又は骨髄増殖症候群である、請求項 19 に記載の方法。

10

【請求項 21】

前記血液悪性腫瘍は急性骨髄性白血病である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】

前記血液悪性腫瘍は多発性骨髄腫である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 23】

前記がんは固形腫瘍である、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

前記がんは骨に転移し得る固形腫瘍であり、前記固形腫瘍は、膵臓がん、膀胱がん、結腸直腸がん、乳がん（転移性乳がんを含む）、前立腺がん（アンドロゲン依存性及びアンドロゲン非依存性前立腺がんを含む）、腎がん、転移性腎細胞がん、肝細胞がん、肺がん、非小細胞肺がん（NSCLC）、小細胞肺がん（SCLC）、気管支肺がん（BAC）、及び肺の腺がん、卵巣がん、進行性上皮性がん、原発性腹膜がん、子宮頸がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん、頭頸部の扁平上皮細胞がん、黒色腫、神経内分泌がん、転移性神経内分泌腫瘍、脳腫瘍、神経膠腫、退形成性乏突起膠腫、成人多形性膠芽腫、成人未分化星細胞腫、骨がん、及び軟部肉腫である、請求項 23 に記載の方法。

20

【請求項 25】

前記 RAR アゴニストの投与は微小残存病変を前記 CAR 導入免疫細胞に感受性にし、これにより、前記 CAR 導入免疫細胞との前記 RAR アゴニストの併用は前記対象の無病生存を改善することとなる、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 26】

前記 RAR アゴニストは、前記 CAR 導入免疫細胞の投与の前に、少なくとも 1 日、少なくとも 2 日、少なくとも 3 日、少なくとも 4 日、少なくとも 5 日、少なくとも 6 日、少なくとも 1 週、少なくとも 2 週、少なくとも 3 週、又は少なくとも 1 ヶ月にわたり、投与される、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】

前記 RAR アゴニストの投与は前記 CAR 導入免疫細胞の投与の前に中止される、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 28】

前記 RAR アゴニストは式（III）（IRX5183）である、請求項 27 に記載の方法。

40

【請求項 29】

ボルテゾミブの投与をさらに含む、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記がんは多発性骨髄腫である、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

キメラ抗原受容体導入免疫細胞（CAR-MIC）を受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者のがん治療における CAR-MIC の免疫治療効果を増強するのに使用するための、RAR アゴニストである分化誘導性 RAR 活性剤。

【請求項 32】

50

CAR-MICを受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者のがん治療におけるCAR-MICの免疫治療効果を増強するための医薬の製造における、RAR アゴニストである分化誘導性RAR活性剤の使用。

【請求項33】

がん免疫治療で使用するための、RAR アゴニストである分化誘導性RAR活性剤及びキメラ抗原受容体導入免疫細胞(CAR-MIC)。

【請求項34】

がん免疫治療のための医薬の製造における、RAR アゴニストである分化誘導性RAR活性剤の使用であって、前記医薬はCAR-MICとの協同的な使用のために適合されている、使用。

【請求項35】

キメラ抗原受容体導入免疫細胞(CAR-MIC)単独の使用に比べてより低い用量の前記CAR-MICが効力を減少させることなく使用できる、前記CAR-MICを受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者におけるCAR-MICがん免疫治療の毒性を減らすのに使用するための、RAR アゴニストである分化誘導性RAR活性剤。

【請求項36】

CAR-MIC単独の使用に比べてより低い用量の前記CAR-MICが効力を減少させることなく使用できる、前記CAR-MICを受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者におけるCAR-MICがん免疫治療の毒性を減らすための医薬の製造における、RAR アゴニストである分化誘導性RAR活性剤の使用。

【請求項37】

前記CAR導入免疫細胞の単独投与に比べて安全性が同じ又は増加している、請求項35に記載の使用のための分化誘導性RAR活性剤、又は、請求項36に記載の使用。

【請求項38】

キメラ抗原受容体導入免疫細胞(CAR-MIC)を受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者のがん免疫治療において使用するための、

CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1リガンド、B7-H3、B7-H4、BTLAの少なくとも1種類の阻害剤である、又は、ICOS若しくはOX40アゴニストである免疫チェックポイント阻害剤、

RAR アゴニストである分化誘導性RAR活性剤、及び

CAR-MIC。

【請求項39】

CAR-MICを受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者のがん免疫治療のための医薬の製造における、RAR アゴニストである分化誘導性RAR活性剤の使用であって、前記医薬はCAR-MIC及び免疫チェックポイント阻害剤との協同的な使用のために適合されており、前記免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1リガンド、B7-H3、B7-H4、BTLAの少なくとも1種類の阻害剤である、又は、ICOS若しくはOX40アゴニストである、使用。

【請求項40】

前記RAR アゴニストは選択的RAR アゴニストである、請求項31、35、又は37に記載の使用のための分化誘導性RAR活性剤、請求項33に記載の使用のためのCAR-MIC及び分化誘導性RAR活性剤、請求項38に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性RAR活性剤、及びCAR-MIC、並びに、請求項32、34、36、又は39に記載の使用。

【請求項41】

前記RAR アゴニストはCYP26代謝耐性RAR アゴニストである、請求項31、35、又は37に記載の使用のための分化誘導性RAR活性剤、請求項33に記載の使用のためのCAR-MIC及び分化誘導性RAR活性剤、請求項38に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性RAR活性剤、及びCAR-MIC、並びに

10

20

30

40

50

、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【請求項 4 2】

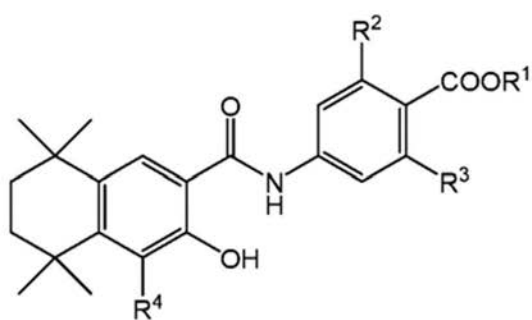
前記 R A R アゴニストは C Y P 2 6 代謝耐性の選択的 R A R アルファアゴニストである、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【請求項 4 3】

前記 R A R アゴニストは下記の一般式 (I) の化合物である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

10

【化 4】



(I)

20

(ただし、R¹ は、H 又は C₁ - 6 アルキルであり、R² 及び R³ は、独立して、H 又は F であり、R⁴ は、ハロゲンである。)

【請求項 4 4】

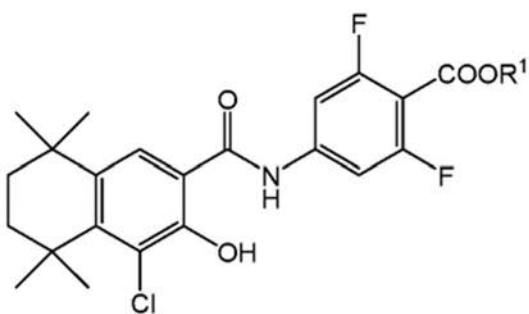
R⁴ は、F、Cl、Br、又は I である、請求項 4 3 に記載の、使用のための分化誘導性 R A R 活性剤又は使用。

【請求項 4 5】

前記 R A R アゴニストは下記の一般式 (I I) の構造を有する化合物である、請求項 4 3 に記載の、使用のための分化誘導性 R A R 活性剤又は使用。

30

【化 5】



(II)

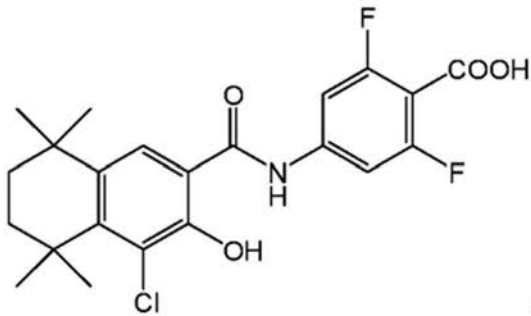
40

(ただし、R¹ は、H 又は C₁ - 6 アルキルである。)

【請求項 4 6】

前記 R A R アゴニストは下記の一般式 (I I I) の構造を有する化合物である、請求項 4 5 に記載の、使用のための分化誘導性 R A R 活性剤又は使用。

【化 6】



(III)(IRX5183)

10

【請求項 4 7】

前記 R A R アゴニストはタミパロテン (A M 8 0 ; 4 - [(5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルバモイル] 安息香酸) である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【請求項 4 8】

前記 R A R アゴニストは A M 5 8 0 (4 - [(5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルボキサミド] 安息香酸) である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

20

【請求項 4 9】

前記 R A R アゴニストは R e 8 0 (4 - [1 - ヒドロキシ - 3 - オキソ - 3 - (5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 3 - ヒドロキシ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) - 1 - プロベニル] 安息香酸) である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

30

【請求項 5 0】

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入 T 細胞である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【請求項 5 1】

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入 N K 細胞である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

40

【請求項 5 2】

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入貪食細胞である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4

50

、 3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【請求項 5 3】

前記がんは血液悪性腫瘍である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【請求項 5 4】

前記がんは、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病（C M L）、移行期 C M L、C M L 急性転化期（C M L - B P）、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、B 細胞リンパ腫、T 細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、骨髄異形成症候群（M D S）、不応性貧血（R A）、環状鉄芽球を伴う R A、芽球増加を伴う R A（R A E B）、移行期の R A E B、及び骨髄増殖症候群から選択される血液悪性腫瘍である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

10

【請求項 5 5】

前記がんは急性骨髄性白血病である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

20

【請求項 5 6】

前記がんは多発性骨髄腫である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

30

【請求項 5 7】

前記がんは固形腫瘍である、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【請求項 5 8】

前記がんは骨に転移し得る固形腫瘍であり、前記固形腫瘍は、膵臓がん、膀胱がん、結腸直腸がん、乳がん（転移性乳がんを含む）、前立腺がん（アンドロゲン依存性及びアンドロゲン非依存性前立腺がんを含む）、腎がん、転移性腎細胞がん、肝細胞がん、肺がん、非小細胞肺がん（N S C L C）、小細胞肺がん（S C L C）、気管支肺胞がん（B A C）、及び肺の腺がん、卵巣がん、進行性上皮性がん、原発性腹膜がん、子宮頸がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん、頭頸部の扁平上皮細胞がん、黒色腫、神経内分泌がん、転移性神経内分泌腫瘍、脳腫瘍、神経膠腫、退形成性乏突起膠腫、成人多形性膠芽腫、成人未分化星細胞腫、骨がん、及び軟部肉腫から選択される、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

40

【請求項 5 9】

50

前記 R A R アゴニストの投与は微小残存病変を前記 C A R 導入免疫細胞に感受性にし、これにより、前記 C A R 導入免疫細胞との前記 R A R アゴニストの併用は前記対象の無病生存を改善することとなる、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【請求項 6 0】

前記 R A R アゴニストは、前記 C A R 導入免疫細胞の投与の前に、少なくとも 1 日、少なくとも 2 日、少なくとも 3 日、少なくとも 4 日、少なくとも 5 日、少なくとも 6 日、少なくとも 1 週、少なくとも 2 週、少なくとも 3 週、又は少なくとも 1 ヶ月にわたり、投与される、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

10

【請求項 6 1】

前記 R A R アゴニストの投与は前記 C A R 導入免疫細胞の投与の前に中止される、請求項 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、請求項 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、請求項 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

20

【請求項 6 2】

前記 R A R アゴニストは式 (I I I) (I R X 5 1 8 3) である、請求項 6 1 に記載の、使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、又は使用。

【請求項 6 3】

ボルテゾミブの投与対象であるがん患者における、請求項 6 2 に記載の、使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、又は使用。

30

【請求項 6 4】

前記がんは多発性骨髄腫である、請求項 6 3 に記載の、使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、又は使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願)

本出願は、2017年8月31日に出願の米国仮特許出願第 62 / 552 , 814 号の利益を主張するものである。これらの出願の全内容を参照により本明細書で援用する。

【背景技術】

【0002】

長年にわたり、がん処置の拠り所は、外科手術、化学治療法、及び放射線治療法であった。また、ここ 10 年では、がん細胞で主にみられる特定の分子的变化に狙いを定めそれらの細胞を標的とする薬物である標的治療法も数々のがんの標準的処置法として浮上してきている。免疫治療法を利用した新たな手法として腫瘍を認識し攻撃する免疫細胞の設計が挙げられる。

40

【0003】

正常造血幹細胞 (H S C) は、レチノイド (レチノイン酸受容体又は R A R に特異的な化合物) への高い感受性を有する状態ではあるが、それらを生理学的レベルのレチノイドから隔離することによりレチノイドシグナル伝達ナীব状態に維持される。骨髄微小環境は、CYP26 酵素によりレチノイン酸を代謝的に不活性化し、レチノイドへの骨髄の

50

暴露を制御する。この機構（CYP26 媒介レチノイド代謝）は、ダイナミックであり、HSC 挙動を生理学的要求に合わせるために骨髓間質により使用される。例えば、骨髓ニッチ内のレチノイドの定常状態低レベルはHSCを休止状態に維持し、一方、ストレス状況（例えば、放射線又は化学療法への暴露）の間は、HSCを補充して細胞分裂させ血液生成を取り戻すために、より高いレチノイドレベルが維持される。

【0004】

血液悪性腫瘍を有する対象では、がんHSCは、正常状態と同じ様式で、間質CYP26によりレチノイドから守られている。しかし、アルデヒドデヒドロゲナーゼ（ALDH）活性における差などの血液悪性腫瘍における骨髓ニッチでの他の変化のために、レチノイドを血液悪性腫瘍の処置に役立てる治療ウィンドウが存在する。骨髓微小環境によるCYP26の発現は全トランス型レチノイン酸（ATRA）からの未成熟急性骨髄性白血病（AML）細胞の防御に寄与し、ATRAがAML処置に有効ではない理由を説明し得る。薬理的濃度のATRAの暴露は、レチノイン酸受容体（RAR）を介して働き、骨髓微小環境でのCYP26発現を誘導し、これにより、骨髓微小環境内のがん幹細胞をレチノイド活性から守る。また、この機構は、骨髓内の非造血転移性腫瘍細胞を保護する。しかし、CYP26により不活性化されないレチノイドアナログの使用は、こうしたレチノイドが、防御骨髓ニッチからがんHSCを最終分化させ、ひいては、取り除くことを可能とする。こうした分化はRARにより媒介されるため、CYP26耐性であるRAR特異的アナログの使用はCYP26酵素による不活性化をとまわず治療的分化誘導活性を可能とする。

10

20

【0005】

従って、がん幹細胞の分化を誘導するためのRARアゴニストと、標的免疫療法との併用は、がん処置に特に役立ち得る。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

標的がん免疫治療剤を増強するための化合物が本明細書に開示される。レチノイン酸受容体（RAR）に作用する化合物が、CAR導入免疫細胞及び/又は免疫チェックポイント標的治療剤の抗がん活性を増強するためにキメラ抗原受容体（CAR）導入免疫細胞（場合によっては、CAR-MICと略記する）と併せて用いられる。

30

【0007】

レチノイド及びレキシノイドは多様な活性を有する。特定のレチノイドは、がん幹細胞を最終分化させることに基づく抗がん効果を有する。こうした分化誘導性レチノイド又は分化誘導性RAR活性剤は、免疫療法の全体の有効性を増加するために、CAR-MICと併せて使用できる。いくつかの実施形態では、分化誘導性レチノイドはRARアゴニストである。いくつかの実施形態では、RARアゴニストはRAR特異的又は選択的アゴニストである。いくつかの実施形態では、RARアゴニストはCYP26耐性である。

【0008】

いくつかの実施形態では、CAR導入免疫細胞はCAR導入T細胞である又はそれを含む。いくつかの実施形態では、CAR導入免疫細胞はCAR導入NK細胞である又はそれを含む。いくつかの実施形態では、CAR導入免疫細胞はCAR導入NKT細胞である又はそれを含む。いくつかの実施形態では、CAR導入免疫細胞はCAR導入貪食細胞である又はそれを含む。さらなる実施形態は、これらの細胞種の混合物を含み得る。最も典型的には、これらの細胞製剤は、例えば静脈内注入などの注入により投与される。対照的に、RARアゴニストは、例えば丸剤やカプセル剤などとして経口で投与できる小分子である。従って、RARアゴニスト及びCAR導入免疫細胞は独立したスケジュールで投与されてもよい。

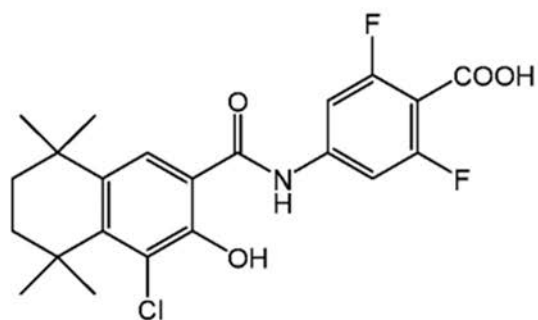
40

【0009】

いくつかの実施形態では、RARアゴニストは、

50

【化 1】



(III) (IRX5183)

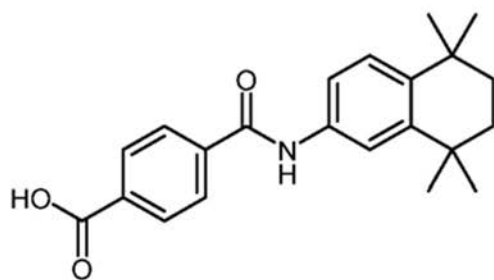
10

である。

【 0 0 1 0 】

別の実施形態では、R A R アゴニストは、タミバロテン (A M 8 0)、A M 5 8 0、又は R e 8 0 である。

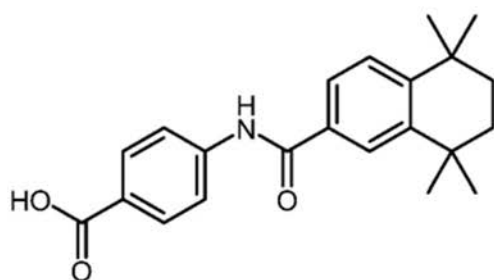
【化 2】



タミバロテン (AM80)

20

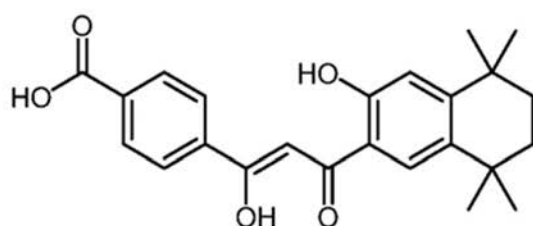
【化 3】



AM580

30

【化 4】



Re 80

40

別の実施形態はこれらの R A R アゴニストの 1 種類以上を特に除外する。

【 0 0 1 1 】

50

いくつかの実施形態では、がんは、急性骨髄性白血病又は多発性骨髄腫などの血液悪性腫瘍である。いくつかの実施形態では、がんは固形腫瘍である。

【0012】

いくつかの実施形態では、本方法は対象に少なくとも1種類の免疫チェックポイント阻害剤を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1リガンド、B7-H3、B7-H4、BTLAの少なくとも1種類の阻害剤である、又は、ICOS若しくはOX40アゴニストである。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1リガンド、B7-H3、B7-H4、BTLA、ICOS、又はOX40の少なくとも1種類に対して特異的な抗体である。他の実施形態は、特に、これらの剤の1種類又は複数種類を除外する。

10

【0013】

いくつかの実施形態では、本方法は、がん化学治療剤又は標的治療剤などの抗新生物剤の少なくとも1種類を追加的に投与することを含む。いくつかの実施形態では、抗新生物剤はボルテゾミブである。

【0014】

また、CAR導入免疫細胞及び少なくとも1種類のRAR アゴニストを投与することを含む、CAR導入免疫細胞を受けるものの当該RAR アゴニストを受けない患者に比べてがん患者の無病生存を延ばす方法も本明細書に開示される。他の実施形態は、CAR導入免疫細胞及び少なくとも1種類のRAR アゴニストを投与することを含む、がん患者の無進行生存期間又は全生存期間を延ばす方法である。

20

【0015】

また、CAR導入免疫細胞の毒性を減らす方法であって、それを必要とする対象に、併せた結果、CAR導入免疫細胞を単独で投与する場合と比べより低い用量のCAR導入免疫細胞がより高い安全性且つ同じ効力で投与されるように（又は、より高い用量のCAR導入免疫細胞をより高い効力且つ同じ安全性で投与することができるように）、CAR導入免疫細胞と併せて、少なくとも1種類のRAR アゴニストを投与することを含む、方法も本明細書に開示される。

【0016】

また、がんの処置を必要とする対象に、キメラ抗原受容体（CAR）導入免疫細胞、少なくとも1種類のRAR アゴニスト、及び、少なくとも1種類の免疫チェックポイント阻害剤を投与することを含む、がんを処置する方法も本明細書に開示される。

30

【0017】

また、培養培地にRAR アゴニストを含めることでCAR導入免疫細胞の産生を増大させる方法も本明細書に開示される。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】トランス活性化アッセイを用いた化合物IRX5183がRAR、RAR、及びRAR に結合しこれらからの転写を活性化する程度を示す。

【図2A】図2A～Cは、RAR受容体特異的アゴニストがFoxP3、4、7、及びCCR9の発現を制御することを示す。精製したCD4⁺CD25⁻FoxP3⁻細胞を、それぞれのRARアゴニストを特定の濃度で含む培地で培養し、全CD4⁺T細胞での、FoxP3（図2A）、4、7（図2B）、及びCCR9（図2C）の発現をフローサイトメトリーにより分析した。FoxP3の結果は3回の独立した実験の代表例である。CCR9及び4、7の結果は複数回の実験の代表例である。

40

【図2B】図2Aの説明を参照。

【図2C】図2Aの説明を参照。

【図3】図3A～Hは、AGN（RAR受容体アンタゴニストAGN194310、1μM）あり若しくはなしの間質の不在下（液体）で、又は、R115（CYP26阻害剤R115866、1μM）若しくはIRX（CYP26耐性レチノイドIRX5183、1μ

50

M) あり若しくはなしの骨髓間葉細胞との共培養 (間質) で、5 日にわたりインキュベートしたときの、多発性骨髄腫 (MM) 細胞株である H 9 2 9 (図 3 A ~ D) 又は 3 名の異なる患者サンプル由来の C D 1 3 8 + MM 細胞 (図 3 E ~ H) での、血漿マーカーである、B C L 6 (図 3 A 及び E)、B L I M P - 1 (図 3 B 及び F)、X B P S - 1 (図 3 C 及び G)、及び C H O P (図 3 D 及び H) の相対濃度を示す。未処置液体条件での発現を 1 とした。データは、同様の結果となった 3 回の独立した実験の代表例であり、平均 ± 標準誤差を表している。* P 0.05、** P 0.01、群間の統計的有意差を求めるための反復測定 1 - w a y A N O V A による。P 値はダネット検定を用いて多重比較のために補正した。対照：対照群。max：最大値。

【図 4】図 4 A ~ B は、H 9 2 9 細胞のクローン原生回復 (C F U) (図 4 A) 又は 3 名の異なる患者サンプル由来の初代 C D 1 3 8 + MM 細胞の細胞回復 (図 4 B) を示す。MM 細胞は、pan - R A R 阻害剤の A G N (1 μ M) あり若しくはなしの間質の不在下 (液体) で、又は、C Y P 2 6 阻害剤の R 1 1 5 (1 μ M) 若しくは C Y P 2 6 耐性レチノイドの I R X (1 μ M) あり若しくはなしの骨髓間葉細胞の存在化 (間質) で、5 日にわたりインキュベートした後に、ボルテゾミブ (B T Z ; 2.5 n M) で処置された。クローン原生又は細胞回復は B T Z 不在下での各条件に対して標準化した。

【図 5】B T Z (2.5 n M) で処置した H 9 2 9 細胞のクローン原生回復を示す。MM 細胞は、R 1 1 5 (1 μ M) あり若しくはなしの、骨髓間葉細胞の不在下 (液体) 又は存在化 (間質) で、5 日にわたりインキュベートされた。このプリインキュベーションの後に、H 9 2 9 細胞を、骨髓間質から分離し、新鮮な培地中で 0 から 48 時間培養し、その後、48 時間にわたり B T Z (2.5 n M) で処置した。クローン原生回復は B T Z の不在下の各条件に対して標準化した。

【図 6】全身 MM 異種移植の生物発光画像を示す。H 9 2 9 L u c + 細胞の生着後、マウスを、I R X (n = 4)、B T Z (n = 5)、又は両方の組み合わせ (n = 5) で、4 週にわたり処置した。データは、0 日からの生物発光 (光子 / 秒) の倍率変化の平均 ± 標準誤差を表す。

【図 7】図 7 A ~ C は、骨髓間質内の C Y P 2 6 A 1 の発現における MM 細胞の効果を示す (H 9 2 9 (図 7 A)、MM. 1 S (図 7 B)、U 2 6 6 (図 7 C))。MM 細胞の不在下 (対照) 又は存在下 (共培養又は T r a n s w e l l) で 24 時間培養したヒト骨髓間葉細胞での C Y P 2 6 A 1 m R N A の相対量。未処置骨髓間質 (対照) での発現を随意に 1 とした。

【図 8】図 8 A ~ C は、MM 細胞 (H 2 9 2、MM. 1 S、U 2 6 6) の不在下 (対照) 又は存在下 (共培養又は T r a n s w e l l) で 24 時間にわたり培養したマウス野生型 (W T) 又は S m o - K O 型の骨髓間質での C Y P 2 6 A 1 m R N A の相対量を示す。未処置 W T 又は S m o - K O 間質での発現を各処置条件について随意に 1 とした。データは、3 回の独立した実験の平均 ± 標準誤差を表す。* P 0.05、** P 0.01、対応のない、両側での、スチューデントの t 検定による。

【図 9】I R X (10 m g / k g)、B T Z (0.5 m g / k g)、又はその組み合わせでの処置の 4 週の間腫瘍負荷を示すマウスの生物発光画像である。前部腫瘍は MM. 1 S ルシフェラーゼ + 細胞及び対照ベクターを形質導入した S m o^{F1/F1} 骨髓間質細胞 (W T 骨髓間質) の組み合わせからなる。後部腫瘍は MM. 1 S ルシフェラーゼ + 細胞及び C r e - リコンビナーゼを形質導入した S m o^{F1/F1} 骨髓間質細胞 (S m o K O 骨髓間質) の組み合わせからなる。

【図 10】処置の 4 週の間腫瘍の生物発光 (光子 / 秒) における倍率変化を示す。1 日目の各腫瘍についての生物発光での変化を 14 日目及び処置の最後 (28 日目) での生物発光での変化に対して標準化した。

【図 11】間質の不在下 (対照) で、又は、W T 若しくは S m o - K O 間質細胞との共培養で、5 日にわたり培養した、H 9 2 9 細胞及び 3 名の異なる患者サンプル由来の初代 C D 1 3 8 + MM 細胞での、B C L 6 (B 細胞マーカー)、B L I M P、X B P 1 s、及び C H O P (P C マーカー) (H 9 2 9 細胞の場合、それぞれ、図 11 A - D、初代 C D 1

10

20

30

40

50

38 + MM細胞の場合、それぞれ、図11E - H)の相対量を示す。未処置液体条件での発現を1とした。データは平均 ± 標準誤差を表す。* P 0.05、** P 0.01、処置群間の統計的有意差を求めるための反復測定1-way ANOVAによる。P値はダネット検定を用いて多重比較のために補正した。

【図12A】図12A ~ Cは、ATRA媒介性だが、AM80又はIRX5183誘導性ではない、AMLの分化及び排除の間質妨害を示す。10⁻⁷ MのATRA、IRX5183、又は10⁻⁸ MのAM80で処置したNB4細胞を用いたCFU実験(図12A)、10⁻⁶ MのATRA、IRX5183、又は10⁻⁷ MのAM80で処置したOCI-AML3細胞(図12B)及びKasumi-1細胞(図12C)は、間質があるものがないものの両方の場合のAM80及びIRX5183で処置した対照群と比べ、クローン性増殖の減少を示した。データは3回の独立した実験にわたる。

【図12B】図12Aの説明を参照。

【図12C】図12Aの説明を参照。

【発明を実施するための形態】

【0019】

免疫チェックポイント標的療法剤及び/又はキメラ抗原受容体を発現する免疫細胞(CAR導入免疫細胞又はCAR-MIC)の養子移入及びレチノイド化合物の協調投与(coordinated administration)を含むがん治療法のための併用が本明細書に開示される。レチノイン酸受容体(RAR)に作用する化合物、特に、RAR選択的アゴニストに作用する化合物は、がん幹細胞を分化させ、骨髄又は腫瘍部位から離れさせ、CAR導入免疫細胞により攻撃され得る状態とすることにより、CAR導入免疫細胞の活性を増強できる。

【0020】

増強により、RARアゴニストがCAR導入免疫細胞とともに用いられる場合、RAR選択的アゴニストがCAR導入免疫細胞とともに用いられない場合に比べ、CAR導入免疫細胞はより大きい及び/又はより迅速な効果を示すこと、又は、同様に、RARアゴニストをやはり用いた場合、RAR選択的アゴニストを用いない場合に必要とされる投与量に比べ、より少ない投与量のCAR導入免疫細胞で所与の程度の効果を得ることができることが意図される。

【0021】

本明細書では、『増強(potentiate)』という用語は、RARアゴニストと併用された場合の、RARアゴニストの非存在下でのCAR導入免疫細胞の使用に比べての、CAR導入免疫細胞の改善された効力又は患者による改善された応答を指す。また、本明細書では、『増大(augment)』という用語は、RARアゴニストが用いられた場合の、RARアゴニストが用いられない場合と状況を比べての、改善された効果を指す。

【0022】

ほとんどではないにしても多くの悪性腫瘍が自己再生及び腫瘍維持の能力を広く維持する細胞の希少集団から生じる。こうしたがん幹細胞は疾患を特徴づける分化がん細胞の大部分とは生物学的に異なっていることが多い。例えば、慢性骨髄性白血病(CML)は造血幹細胞のレベルで生じ、それらの正常対応物と同じく、CML幹細胞は規則的な分化を受ける。従って、従って、CML内の白血病質量の大部分は分化血球からなり、一方、疾患維持に関与する希少細胞は正常造血幹細胞と似ている。同様に、腫瘍性形質細胞を特徴とする多発性骨髄腫(MM)では、これらの細胞がそれらの正常対応物と同じく最終分化しているように見える。腫瘍の大部分を形成する骨髄腫形質細胞は、後胚中心B細胞(post-germinal center B cell)に似た分化があまり進んでいないがん幹細胞の集団から生じる。他のがん(例えば、これらに限定されるわけではないものの、血液悪性腫瘍、骨髄異形成症候群、乳がん、前立腺がん、膵臓がん、結腸がん、卵巣がん、黒色腫、非黒色腫皮膚がん、及び脳腫瘍を含む)は、対応するがん幹細胞から生じることが示されてきている。

10

20

30

40

50

【0023】

従って、CAR導入免疫細胞による療法に影響を受けやすい成熟がん細胞へのがん幹細胞の分化を誘導することにより、防御骨髓ニッチ内の又は腫瘍内のがん幹細胞を標的にできる剤でがんを処置する方法が本明細書に開示される。これまでの研究から、骨髓間質細胞が骨髓内の多発性骨髓腫及び急性骨髓性白血病の細胞での未成熟薬剤耐性表現型を誘導することが示された。骨髓間質は正常細胞及び悪性細胞の分化を防ぐCYP26を介した低レチノイン酸（低RA）環境を作る。レチノイドシグナル伝達はPC分化及びIg産生を促進するため、RAシグナル伝達の調節は骨髓微小環境内での薬剤耐性を克服するための魅力的な治療戦略である。骨髓ニッチ内のがん幹細胞に（RAR アゴニストはCYP26により不活性化されないため）作用し、細胞の分化を引き起こす（そして、それらをCAR導入免疫細胞による破壊に影響を受けやすくする）ことのできるRAR アゴニストの投与は、こうした手法の一つである。また、こうした分化は、抗がん薬への耐性から感受性への細胞の変化と関連し得る。いくつかの実施形態では、こうした抗がん薬はボルテゾミブである。ある実施形態では、本明細書に開示のRAR アゴニストでの療法の有効性は防御環境でのがん幹細胞の数の大幅な減少をまねく。

10

【0024】

いくつかの実施形態では、1種類以上のRAR アゴニストとCAR導入免疫細胞との併用でがんを処置する方法が本明細書に開示される。また、1種類以上のRAR アゴニストと1種類以上の免疫チェックポイント標的がん療法剤との併用でがんを処置する方法も本明細書に開示される。また、1種類以上のRAR アゴニストと1種類以上の免疫チェックポイント標的がん療法剤とCAR導入免疫細胞とを含むがんを処置する方法も本明細書に開示される。

20

【0025】

（RAR アゴニスト）

レチノイド活性を有する化合物（ビタミンA及びその誘導体）は細胞増殖及び分化のプロセスでの活性を有する。レチノイドの多くの生物学的効果は核レチノイン酸受容体（RAR）を調節することにより媒介される。RARは、レチノイドX受容体（RXRとして知られる）の1つとのヘテロダイマーの形態で、RAR応答エレメント（RARE）として知られるDNA配列エレメントに結合することにより、転写を活性化する。ヒトRARの3種類のサブタイプ、RAR、RAR、及びRAR、が同定され記述されている。

30

【0026】

本明細書では、『RAR 選択的アゴニスト』という用語は、RAR に選択的に結合する化合物を指す。本明細書では、『選択的に結合』という用語は、RAR 選択的アゴニストを参照して用いられる場合、RAR 選択的アゴニストがRAR 又はRAR などの非標的受容体とほとんど結合しないような表記の標的RAR へのRAR 選択的アゴニストの差別的な結合を指す。好適な実施形態はRAR 選択的アゴニストを利用するものの、他の実施形態はRAR のみに必ずしも選択的ではないRAR アゴニストを使用できる。従って、多くの実施形態がRAR 選択的アゴニストを用いて記載されているが、一般的なRAR アゴニストを用いる以外は同様の実施形態も開示されることを理解されたい。

40

【0027】

本明細書では、『アゴニスト』という用語は、受容体に結合しそれを活性化して、遺伝子転写及びそれにより生じる薬理学的反応（例えば、収縮、弛緩、分泌、酵素活性化など）をもたらす化合物を意味するものと理解されたい。本明細書では、『RAR アゴニスト』という用語は、異なるRARなどの別の分子との結合に比べて、実質的に高い親和性でRAR と結合する化合物を指す。例示的实施形態では、RAR アゴニストはRAR 及び/又はRAR よりもRAR に対して選択的である。RAR 選択的アゴニストは他のRARのほぼ事実上の排除をもたらすほど特定のRAR受容体標的と高い結合親和性で結合する傾向がある。本明細書では、『アゴニスト』という用語は、選択的アゴニスト

50

を含む。

【0028】

本明細書では、『アンタゴニスト』という用語は、受容体を活性化することなくアゴニストと同じ部位に結合することでアゴニストの効果を減衰させる化合物を指す。アンタゴニスト自体は占有されていない受容体の遺伝子転写活性に影響しないものである。従来通り、RAR アンタゴニストはRAR アゴニストの活性を阻害する化学剤である。本明細書では、『アンタゴニスト』という用語は、選択的アンタゴニストを含む。

【0029】

本明細書では、『インバースアゴニスト』という用語は、同じ受容体で依然として働くもののアゴニストの効果とは反対の効果をもたらす化合物を意味するものと理解されたい。インバースアゴニスト自体は占有されていない受容体の基礎的遺伝子転写活性を減少させるものである。

【0030】

RAR へのRAR アゴニストの選択的結合は、例えば、結合親和性及び結合特異性などの結合特性を誘導する。結合親和性は、RAR アゴニストがそのRAR 結合部位に残る時間の長さを指し、RAR アゴニストがRAR に結合する力とみなすことができる。結合特異性は、RAR アゴニストがその結合部位を含まない例えばRAR 又はRAR などの受容体とRAR とを区別する能力である。結合特異性を測定するひとつの方法は、RAR アゴニストの結合部位を含まない受容体についてのRAR アゴニストの会合速度に対するRAR についてのRAR アゴニストの会合速度を比較すること、例えば、RAR 及び/又はRAR に対するRAR についてのRAR アゴニストの会合速度定数の比較である。

【0031】

いくつかの実施形態では、RAR アゴニストは、例えば、少なくとも5倍高い、少なくとも10倍高い、少なくとも15倍高い、少なくとも20倍高い、又は少なくとも100倍高い、RAR 及び/又はRAR に対するRAR での活性の割合を有する。RAR パンアゴニストは、RAR 、RAR 、及びRAR での活性を有する、すなわち、RAR 、RAR 、及びRAR での同様の親和性を有する。

【0032】

また、RAR に選択的に結合するRAR アゴニストの結合特異性は、RAR アゴニストが、その結合部位を含まない例えばRAR 又はRAR などの受容体に対して、RAR への結合を介して発揮し得る活性比率により特徴づけることもできる。いくつかの実施形態では、RAR に選択的に結合するRAR アゴニストは、少なくとも2:1、少なくとも3:1、少なくとも4:1、少なくとも5:1、少なくとも6:1、少なくとも7:1、少なくとも8:1、少なくとも9:1、少なくとも10:1、少なくとも15:1、少なくとも20:1、少なくとも25:1、少なくとも30:1、少なくとも35:1、又は少なくとも40:1の、その結合部位を含まない受容体に対するRAR を介した活性比率を有する。いくつかの実施形態では、RAR に選択的に結合するRAR アゴニストは、少なくとも2:1、少なくとも3:1、少なくとも4:1、少なくとも5:1、少なくとも6:1、少なくとも7:1、少なくとも8:1、少なくとも9:1、少なくとも10:1、少なくとも15:1、少なくとも20:1、少なくとも25:1、少なくとも30:1、少なくとも35:1、又は少なくとも40:1の、RAR 及び/又はRAR に対するRAR を介した活性比率を有する。

【0033】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の方法に役立つRAR アゴニストは、CYP26により代謝されないRAR アゴニストである。CYP26は、レチノイン酸を代謝して細胞から容易に排除できる不活性又はより低い活性の物質とし、レチノイン酸の細胞内レベルを制御するシトクロムP450モノオキシゲナーゼである。CYP26により容易に代謝されるRAR 選択的アゴニストはこれらの実施形態の開示の範囲内ではない。

10

20

30

40

50

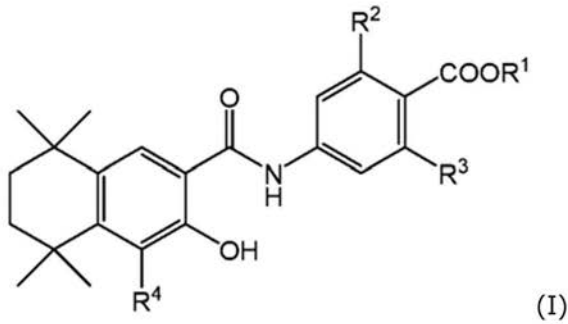
【 0 0 3 4 】

本明細書では、『CYP26耐性』という用語は、CYP26酵素により、代謝、分解、又はその他不活性化されず、骨髄内での活性を有する、RAR アゴニストを指す。

【 0 0 3 5 】

この実施形態の一態様では、RAR アゴニストは下記の式(I)の構造を有する化合物である。

【化5】



10

(ただし、R¹は、H又はC₁ - 6アルキルであり、R²及びR³は、独立して、H又はFであり、R⁴は、ハロゲンである。)

【 0 0 3 6 】

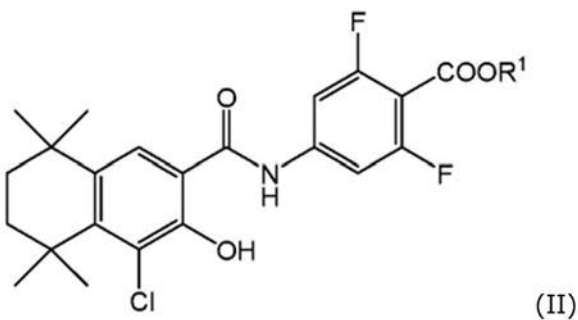
20

式(I)のいくつかの実施形態では、ハロゲンは、F、Cl、Br、又はIである。いくつかの実施形態では、式(I)で、ハロゲンはFである。いくつかの実施形態では、式(I)で、ハロゲンはClである。いくつかの実施形態では、式(I)で、ハロゲンはBrである。いくつかの実施形態では、式(I)で、ハロゲンはIである。

【 0 0 3 7 】

この実施形態の一態様では、RAR アゴニストは下記の式(II)の構造を有する化合物である。

【化6】



30

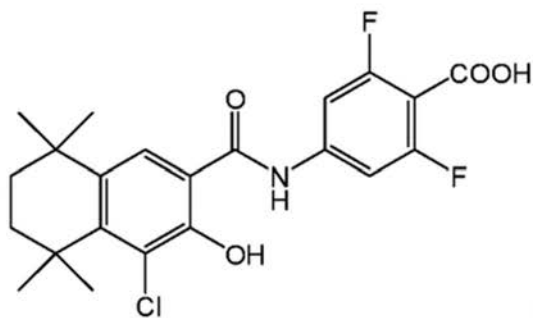
(ただし、R¹は、H又はC₁ - 6アルキルである。)

【 0 0 3 8 】

40

この実施形態の別の態様では、RAR アゴニストは下記の式(III)の構造を有する化合物である。

【化 7】



(III)(IRX5183)

10

【0039】

R¹ が C₁ - 6 アルキルである実施形態のいずれにおいても、R¹ は、C₁ アルキル、C₂ アルキル、C₃ アルキル、C₄ アルキル、C₅ アルキル、C₆ アルキル、又はこれらの任意の組み合わせである。

【0040】

別の実施形態では、RAR アゴニストはタミバロテン (AM80; 4 - [(5, 6, 7, 8 - テトラヒドロ - 5, 5, 8, 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルバモイル] 安息香酸) である。別の実施形態では、RAR アゴニストは AM580 (4 - [(5, 6, 7, 8 - テトラヒドロ - 5, 5, 8, 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルボキサミド] 安息香酸) である。別の実施形態では、RAR アゴニストは Re80 (4 - [1 - ヒドロキシ - 3 - オキソ - 3 - (5, 6, 7, 8 - テトラヒドロ - 3 - ヒドロキシ - 5, 5, 8, 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) - 1 - プロペニル] 安息香酸) である。

20

【0041】

本明細書に開示の化合物として役立つ他の RAR アゴニストが、米国特許第 5, 856, 490 号、米国特許第 5, 965, 606 号、及び米国特許第 6, 387, 950 号に記載されている。これらの文献をそれぞれその全開示について参照により本明細書に援用する。また、これらの参考文献は化合物が実際に RAR アゴニストであることをしめすデータを提供する。ある化合物が RAR アゴニストであると検査し確定するためのアッセイは本技術分野で既知であり、数々の先行技術文献及び特許に記載されている。例えば、RAR、RAR、RAR、及び RAR の受容体サブタイプでのアゴニスト様活性を検査するキメラ受容体トランス活性化アッセイは、米国特許第 5, 455, 265 号に詳細に開示されている。この文献をその全開示について参照により本明細書に援用する。

30

【0042】

本明細書の態様は、RAR アゴニストを含む組成物を部分的には提供する。RAR アゴニストは本明細書に開示の化合物を含む。

【0043】

(CAR 導入免疫細胞)

40

腫瘍細胞は主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 発現を下方制御することが多く、さらには、腫瘍細胞が MHC アレルを発現する場合、免疫優性エピトープが未知であることが多い。従って、MHC 依存性がん免疫治療法は有効でないことが多い。キメラ抗原受容体 (CAR) 導入免疫細胞はがん細胞上の標的抗原と MHC 非依存的に反応する。CAR は抗原結合ドメインを介した標的細胞への結合を可能とし、CAR 導入細胞は、標的細胞に結合して腫瘍標的に対する導入細胞の活性化及び細胞毒性を誘導することにより、MHC 非拘束的に標的細胞を破壊する。標的細胞への結合は CAR 導入細胞の増殖も誘導し得る。

【0044】

本明細書では、『標的細胞』という用語は、CAR が結合することができる表面抗原を

50

発現する細胞を指す。また、この抗原は『標的抗原』とも呼ばれ得る。標的抗原は、C A R ががん細胞を非がん細胞よりも優先的に標的とできるようにがん細胞上で差次的に発現されている抗原である。

【0045】

C A R 導入免疫細胞が標的抗原にいったん結合すると、C A R の内部刺激性ドメインが免疫細胞の完全な活性化に必要なシグナルをもたらす。この完全活性化状態では、免疫細胞はより効率的に増殖及びがん細胞への攻撃を行える。

【0046】

C A R 導入細胞は、様々な種類の抗原を認識でき、タンパク質のみならず、腫瘍細胞表面上で典型的に発現される糖質及び糖脂質構造も認識できる。T 細胞受容体 (T C R) 認識とは異なり、抗原は M H C により処理及び提示される必要はないので、H L A 型とは無関係に同じ腫瘍抗原を発現する患者の全てに対して同じ C A R 分子を用いることができる。

10

【0047】

C A R は、少なくとも1つの抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、及び1つ又は複数の刺激性細胞内ドメイン (細胞質シグナル伝達ドメイン又は細胞内シグナル伝達ドメインとも呼ばれる) を含む組換えポリペプチド構築物を含む。抗原結合ドメインは C A R 導入免疫細胞が標的抗原に特異的に結合することを可能とし、膜貫通ドメインは C A R を免疫細胞の原形質膜に固定し、刺激性細胞内ドメインは形質導入細胞での長期生存 (p e r s i s t e n c e) 、細胞交通 (t r a f f i c k i n g) 、及びエフェクター機能を誘導する。

20

【0048】

C A R の抗原結合ドメインは、モノクローナル抗体由来であることが多いが、他のリガンド (例えば、ヘレグリン、サイトカインなど) 及び他の受容体 (例えば、N K p 3 0) も使用できる。抗原結合ドメインは、抗体、又は、抗原結合機能を持つ抗体の任意の抗体断片を含み得る。例えば、C A R 抗原結合ドメインは、抗体の重鎖及び軽鎖の可変領域から形成される一本鎖可変断片 (s c F v) に寄与されることも多い。

【0049】

一態様では、膜貫通ドメインは、T 細胞受容体複合体と会合するゼータ () 鎖の配列 (ヒト C D 3 鎖の細胞内ドメインなど) を含む。

30

【0050】

C A R の1つ以上の刺激性細胞内ドメインは、C D 2 8 、 4 - 1 B B (C D 1 3 7) 、 C D 1 3 4 (O X - 4 0) 、 I C O S 、 及び C D 4 0 L の1つ以上の刺激性細胞内ドメインを含み得る。

【0051】

抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、及び (1つ又は複数の) 刺激性細胞内ドメインは、直接に又はスパーサー配列を介して、結合されている。

【0052】

C A R 配列は発現ベクター内に組み込まれている。様々な発現ベクターが本分野で周知だが、こうしたベクターを利用してもよい。いくつかの実施形態では、ベクターはレトロウイルスベクター又はレンチウイルスベクターであるものである。別の実施形態では、ベクターはアデノ随伴ウイルスに由来するものである。

40

【0053】

免疫細胞は C A R を形質導入され、その後、C A R は細胞表面に発現される。典型的には、免疫細胞は C A R を安定的に発現するが、いくつかの実施形態では、免疫細胞は C A R を一過的に発現する。免疫細胞は、このため、C A R をコードする核酸 (例えば、m R N A 、 c D N A 、 D N A) を形質導入される。本開示の免疫細胞は、哺乳類細胞 (例えば、ヒト細胞) を包含するものであり、自己細胞、同系細胞、同種異系細胞、及び、いくつかの場合では、異種細胞であってもよい。これらの細胞は、C A R を発現するように設計されるので、C A R 自身と同じく、天然にはみられない。免疫細胞の例として、T リンパ

50

球（Ｔ細胞）、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、ＮＫＴ細胞、及び貪食細胞（単球及び樹状細胞を含む）が挙げられる。

【００５４】

その後、ＣＡＲ導入免疫細胞は、その細胞集団を増やして単回投与又は複数回投与に適した細胞数を得るために培養される。

【００５５】

ある実施形態では、１種類以上のレチノイド及び／又はレキシノイド活性剤（例えば、ＲＡＲ アンタゴニスト、ＲＡＲ アゴニスト、ＲＸＲアンタゴニスト、又はこれらの組み合わせ）が、培養期間中に拡大培養物に添加され、ＣＡＲ導入細胞への直接的な効果を奏する。例えば、ＣＡＲ－ＭＩＣの培養の際に、拡大培養物に添加された１種類以上のレチノイド及び／又はレキシノイド活性剤は、例えばＴｒ ｅ ｇ細胞の発生の抑制を行う能力及び／又はＴｈ １ ７細胞の発生を促進する能力で選ばれるだろう。いくつかの実施形態では、１種類以上のレチノイド及び／又はレキシノイド活性剤は、ＣＡＲ導入免疫細胞の拡大培養物中に含まれ、対象へ直接に投与される。レチノイド及び／又はレキシノイド活性剤の使用は米国特許第１６／０３４，０６４号及び米国特許第１６／０３４，１２３号に記載されている。この使用に関連するこれらの教示の全てについてこれらを参照により本明細書で援用する。

10

【００５６】

ある実施形態では、１種類以上のＲＡＲ アゴニストは、培養期間中に大量培養に添加され、ＣＡＲ導入細胞に直接的に作用する。いくつかの実施形態では、１種類以上のＲＡＲ アゴニストは、ＣＡＲ導入免疫細胞の大量培養中に含まれ、対象に直接的に投与される。

20

【００５７】

（免疫チェックポイント標的がん治療剤）

免疫チェックポイント治療法は、抗腫瘍活性（又は他の治療活性）を実現できるようにこれらのチェックポイントを介したＴ細胞分化プログラムの進行を促進するために、Ｔ細胞の分化及び活性化における制御経路を標的とする。免疫チェックポイント治療法をもたらず剤は一般的に免疫チェックポイント阻害剤と呼ばれ、阻害されるのはＴ細胞分化での抑制（ｃ ｈ ｅ ｃ ｋ）であることを理解されたい。従って、多くの免疫チェックポイント阻害剤が受容体－リガンド対の相互作用も阻害し（例えば、抗ＰＤ－１、抗ＰＤ－Ｌ１、ＣＴＬＡ－４）、一方で、他のもの（抗ＯＸ４０及び抗ＩＣＯＳなど）はＴ細胞分化の抑制を解放して又は他のやり方で阻害して最終的にエフェクター機能の促進及び／又は制御機能の阻害を果たす標的のアゴニストとして働く。

30

【００５８】

ＣＡＲ導入免疫細胞及びＲＡＲ アゴニストと併せての、免疫チェックポイント阻害剤分子の使用が本明細書に開示される。免疫チェックポイントタンパク質を阻害する分子として、ＰＤ－１、ＰＤ－１リガンド、ＣＴＬＡ－４、ＴＩＭ－３、ＬＡＧ－３、Ｂ７－Ｈ３、及びＢ７－Ｈ４の１つ以上に特異的な抗体が挙げられる。

【００５９】

Ｐｒ ｏ ｇ ｒ ａ ｍ ｅ ｄ Ｄ ｅ ａ ｔ ｈ － １（ＰＤ－１）は、Ｔ細胞上のチェックポイントタンパク質であり、通常、Ｔ細胞が体内で他の細胞を攻撃するのを防ぐことを助ける『オフスイッチ』の一種として働く。これをなすために、ＰＤ－１は、いくつかの正常細胞及びがん細胞上のタンパク質であるＰｒ ｏ ｇ ｒ ａ ｍ ｍ ｅ ｄ Ｄ ｅ ａ ｔ ｈ Ｌ ｉ ｇ ａ ｎ ｄ － １（ＰＤ－Ｌ１）と結合する。ＰＤ－１がＰＤ－Ｌ１に結合すると、Ｔ細胞は標的細胞を攻撃しない。いくつかのがん細胞は大量のＰＤ－Ｌ１を持っており、この大量のＰＤ－Ｌ１はそれらのがん細胞が免疫攻撃を回避することを助ける。ＰＤ－１又はＰＤ－Ｌ１のいずれかを標的とするモノクローナル抗体（ｍＡｂ）は、がん細胞への免疫応答をブーストすることができるものであり、ある種のがんの処置にかなり有望であることが示されている。ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１を標的とするモノクローナル抗体の例として、抗ＰＤ－１モノクローナル抗体である、ニボルマブ（ＯＰＤＩＶＯ（登録商標）、Ｂｒ ｉ ｓ ｔ ｏ ｌ － Ｍ ｙ ｅ ｒ

40

50

s Squibb) 及びペムブロリズマブ (KEYTRUDA (登録商標)、Merck & Co.)、BMS-936559 (Bristol-Myers Squibb)、ピジリズマブ (Medivation) や、抗PD-L1モノクローナル抗体である、デュルバルマブ (MED14736、IMFINZI (商標)、Medimmune)、アテゾリズマブ (MPDL3280A、TECENTRIQ (登録商標)、Hoffman-La Roche)、及びアベルマブ (BAVENCIO (登録商標)、EMD Serono) が挙げられる。これらの抗体は、悪性黒色腫 (MM)、腎細胞癌 (RCC)、メルケル細胞癌、尿路上皮癌、及び非小細胞肺癌 (NSCLC) をはじめとする多様な癌の処置での有用性をさまざまに示してきた。また、PD-1 / PD-L1 相互作用の非抗体阻害剤も開発中であり、例えば、ステフィンA (steffin A) に基づく組み換え小タンパク質 (AFFIMER (登録商標) 分子と呼ばれる) が挙げられる。PD-1 は、PD-L1 に加えて、PD-L2 にも結合することができる。PD-L1 は、PD-1 に加えて、B7-1 (CD80) にも結合することができる。

10

【0060】

CTLA-4 は、CD4 及びCD8 T細胞の表面上やCD25 + FOXP3 + T制御性 (Treg) 細胞上で発現する免疫チェックポイント分子である。CTLA-4 は、T細胞応答を遮断する阻害シグナルを生成し、腫瘍成長を可能とする。抗CTLA-4モノクローナル抗体 (イピリムマブ (YERVOY (登録商標)、Bristol-Myers Squibb) など) は、動物モデルにおいて腫瘍の収縮を引き起こす。イピリムマブは、MM患者の全生存率を改善し、MMの処置についての承認を受けている。腎細胞がん (RCC) 及び非小細胞肺癌 (NSCLC) でも同様に奏効が観察されている。抗CTLA-4抗体の他の例として、トレメリムマブ (Medimmune) が挙げられる。

20

【0061】

TIM-3 (T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3) は、IFN 産生性CD4⁺ヘルパーT細胞1型 (Th1) 及びCD8⁺細胞傷害性T細胞1型 (Tc1) 上で選択的に発現する分子である。TIM-3 は、Th1 及びTc1 T細胞の応答の持続期間及び規模を特異的に制限する機能を有する免疫チェックポイント受容体である。TIM-3 に対する抗体の例が、米国特許出願公開第2016/0075783号に記載されており、抗TIM-3抗体に関するこの文献の開示の全てについてこの文献を参照により本明細書に援用する。

30

【0062】

LAG-3 (lymphocyte-activation gene 3; CD223) は、CTLA-4 及びPD-1と同様に、T細胞の、細胞増殖、活性化、及び恒常性を負に制御し、Tregの抑制性機能に関与する。LAG-3 に対する抗体の例として、GSK2831781 (GlaxoSmithKline)、BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb)、及び米国特許出願公開第2011/0150892号に記載の抗体が挙げられ、抗LAG-3抗体に関するこの文献の開示の全てについてこの文献を参照により本明細書に援用する。

【0063】

共刺激タンパク質のB7ファミリーは抗原提示細胞の表面上で発現しT細胞上のリガンドと相互作用する。B7-H3 (CD276) は、このファミリーの分子の1つである。B7-H3 に対する抗体であるエノブリツズマブ (enoblituzumab) (EMPLICITI (商標)、Bristol-Myers Squibb) が多発性骨髄腫の処置について承認を受けている。このファミリーの別の分子にB7-H4 (V-set domain-containing T-cell activation inhibitor 1) があるが、これに対する抗体が開発中である。

40

【0064】

他の免疫チェックポイント阻害剤標的、B及びT細胞アテニュエーター (BTLA)、誘導性共刺激因子 (ICOS)、OX40 (tumor necrosis factor receptor superfamily, member 4) などが、潜在的

50

に本開示の方法において役立つ。いくつかの抗OX40アゴニストモノクローナル抗体が早期がん臨床試験中であり、こうしたものとして、MED10562及びMED16469 (Medimmune)、MOXR0916 (Genentech)、並びにPF-04518600 (Pfizer)が挙げられる。同様に、抗ICOSアゴニスト抗体では、JTX-2011 (Jounce Therapeutics)が挙げられる。

【0065】

CTLA-4阻害剤、PD-1阻害剤、TIM-3阻害剤、LAG-3阻害剤、PD-1リガンド (PD-L1など)、PD-1リガンドの阻害剤、OX40アゴニスト、ICOSアゴニスト、B7-H3タンパク質、B7-H3タンパク質の阻害剤、B7-H4タンパク質、及びB7-H4タンパク質の阻害剤を含む1種類以上の免疫チェックポイント標的免疫治療剤、1種類以上のRARアゴニスト、及びCAR導入免疫細胞を投与することを含むがんを処置する方法が本明細書に開示される。ある実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は抗体である。

10

【0066】

免疫チェックポイント標的免疫治療法抗体は全抗体又は抗体断片であり得る。本明細書では、『抗体の断片』、『抗体断片』、及び『抗体の機能性断片』といった用語は、抗原に特異的に結合する能力を持つ抗体の1種類又は複数種類の断片を互換的に意味する。抗体断片は、望ましくは、例えば、1種類又は複数種類の相補性決定領域 (CDR)、可変領域 (又はその一部)、定常領域 (又はその一部)、又はこれらの組み合わせを含む。抗体断片の例としては、これらに限定されるわけではないが、Fab断片 (V_L 、 V_H 、 C_L 、及び CH_1 ドメインからなる一価断片)、 $F(ab')_2$ 断片 (ヒンジ領域でジスルフィド架橋により結合された2つのFab断片を含む二価断片)、Fv断片 (ある抗体の単腕の V_L 及び V_H ドメインからなる断片)、一本鎖Fv (前述の V_L 及び V_H ドメインがペプチドリinker配列により接続されている断片)、Fab'断片 ($F(ab')_2$ 断片のジスルフィド架橋をマイルドな還元条件を用いて分解することにより生じる断片)、ジスルフィド結合により安定化されたFv断片 (dsFv)、及びドメイン抗体 (dAb) (抗原に特異的に結合する、抗体の単一の可変領域ドメイン (VH 又は VL) のポリペプチド)が挙げられる。また、抗原結合抗体断片のこれらの形態のいずれもがCARの抗原結合ドメインを提供できることを理解されたい。

20

【0067】

代替的实施形態では、免疫チェックポイント阻害剤抗体は免疫チェックポイント標的分子に同様に結合する別のタンパク質で置換される。ときとして、これらの非抗体分子は免疫チェックポイント標的分子のリガンド又は結合パートナーの細胞外部分を、すなわち、少なくとも免疫チェックポイント標的分子への結合の媒介に必要な細胞外部分を含む。いくつかの実施形態では、このリガンドの細胞外結合部分は追加のポリペプチドと融合タンパク質中で接続されている。いくつかの実施形態では、この追加のポリペプチドは抗体のFc領域又は定常領域を含む。

30

【0068】

(処置法)

1種類以上のRARアゴニスト及びCAR導入免疫細胞を投与することにより哺乳類においてがんを処置する方法が本明細書で提供される。より具体的には、いくつかの実施形態では、CAR導入免疫細胞及び1種類以上のRARアゴニストに加えて、免疫チェックポイント阻害剤が投与される。また、がんに関与している対象において、腫瘍負荷 (tumor burden) を減少させ、及び/又は、無病生存又は無進行生存を増加させる方法も提供される。別の実施形態は、がんの処置における使用のための、及び、がんの処置のための医薬の製造における使用のための、前述の剤を含む組成物に関する。用いられる複数の剤が別々の組成物又は医薬内で提供されてもよく、これらの組成物又は医薬は別々の投与経路で及び/又は別々の時間に投与されてもよく、しなしながら、こうした複数の組成物又は医薬の使用は被投与患者が複数の薬剤の組み合わせさせた相互作用的な活性の利益を受けるように調整されていることを理解されたい。本明細書に記載のがんを処置

40

50

する方法のそれぞれについて、対応するがん免疫治療法の方法が存在する。がんを処置する方法及びがん免疫治療法の方法のそれぞれについて、対応するがん処置 / 免疫治療法を増強する方法が存在する。

【 0 0 6 9 】

種々の実施形態では、1種類以上の R A R アゴニストが C A R 導入免疫細胞又は免疫チェックポイント阻害剤を受ける又は受ける予定の対象に投与される。これらの実施形態では、これらの分化誘導性 R A R アゴニストは、C A R 導入免疫細胞又は免疫チェックポイント阻害剤が対象内に存在するインターバルの前及び / 又はその間に投与される。R A R アゴニストは C Y P 2 6 耐性であることが好ましい。

【 0 0 7 0 】

いくつかの実施形態では、本方法は1種類以上の R A R アゴニスト及び C A R 導入免疫細胞を投与することを含む。いくつかの実施形態では、本方法は1種類以上の R A R アゴニスト及び1種類以上の免疫チェックポイント阻害剤を投与することを含む。さらなる別の実施形態では、本方法は、1種類以上の R A R アゴニストと C A R 導入免疫細胞、及び1種類以上の R A R アゴニストと1種類以上の免疫チェックポイント阻害剤を投与することを含む。ある実施形態では、R A R アゴニストは、I R X 5 1 8 3 (A G N 1 9 5 1 8 3) である。本明細書に開示の処置実施形態の様々な使用又は方法における複数種の R A R の使用について、本明細書に開示の一般式の群 (g e n e r a)、その部分群、及び、個別種のいずれも、任意の他の一般式の群、その部分群、及び、個別種と組み合わせてもよく、各組み合わせは別個の実施形態を規定する。

【 0 0 7 1 】

本明細書に記載の、化合物、医薬組成物、及び方法は、がんの処置に特に役立つ。本明細書では、『がん』という用語は、制御不能な又は無調節の細胞増殖、減少した細胞分化、周囲組織に浸潤する不適切な能力、及び / 又は、異所での新規成長を確立する能力を特徴とする細胞障害を指す。『がん』という用語は、これらに限定されるわけではないが、固形腫瘍及び血液腫瘍を含む。『がん』という用語は、皮膚、組織、臓器、骨、軟骨、血液、及び血管の疾患を包含する。『がん』という用語は、さらに、原発性及び転移性のがんを包含する。がん幹細胞も『がん細胞』という用語に含まれる。

【 0 0 7 2 】

本開示の方法は、本技術分野で知られている任意の種類のがんの処置に用いることができる。いくつかの実施形態では、がんは血液悪性腫瘍である。血液悪性腫瘍の非限定的な例として、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病 (C M L) (移行期 C M L 及び C M L 急性転化期を含む)、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫 (濾胞性リンパ腫及びマントル細胞リンパ腫を含む)、B細胞リンパ腫、T細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、骨髄異形成症候群 (不応性貧血、環状鉄芽球を伴う不応性貧血、芽球増加を伴う不応性貧血 (R A E B)、及び、移行期の R A E B を含む)、又は骨髄増殖症候群が挙げられる。

【 0 0 7 3 】

いくつかの実施形態では、がんは固形腫瘍である。別の実施形態では、がんは骨に転移し得る固形腫瘍である。本開示の方法により処置可能な固形腫瘍の非限定的な例としては、膵臓がん、膀胱がん、結腸直腸がん、乳がん、前立腺がん (例えば、アンドロゲン依存性及びアンドロゲン非依存性前立腺がん)、腎がん、肝細胞がん、肺がん (例えば、非小細胞肺がん (N S C L C)、小細胞肺がん (S C L C)、気管支肺がん (B A C)、及び肺の腺がん)、卵巣がん (例えば、進行性上皮性又は原発性腹膜がん)、子宮頸がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん (例えば、頭頸部の扁平上皮細胞がん)、黒色腫、神経内分泌がん、脳腫瘍 (例えば、神経膠腫、退形成性乏突起膠腫、成人多形性膠芽腫、及び成人未分化星細胞腫)、骨がん、及び軟部肉腫が挙げられる。

【 0 0 7 4 】

精選実施形態では、特定種のがんが処置される。別の精選実施形態では、特定種のがんが処置から除外される。

10

20

30

40

50

【0075】

さらに、1種類以上のRAR アゴニストは、より低い用量のCAR導入免疫細胞を同じ効力で投与することを可能とすることにより、CAR導入免疫細胞に伴う毒性を減少させることができるし、あるいは、より高い用量のCAR導入免疫細胞が同じ安全度で投与され得る。また、同効力の低用量と同安全性の高用量との間の中間用量も実現できる。従って、CAR導入免疫細胞がん免疫療法と協同的な(in coordination with)RAR アゴニストの使用は、CAR導入免疫細胞の活性に関連する毒性及び有害事象の頻度若しくは重篤性の減少若しくは回避に、又は、少なくとも臨床関連増加の欠如につながり得る。改善された又は同じ安全性とは、CAR導入免疫細胞の使用に関連する1つ以上の毒性又は有害事象の頻度及び重篤性の一方又は両方が減少する又は少なくとも増加しないことを意味する。がんなどの命にかかわる疾患の処置において、実質的な毒性の可能性がある処置が十分に安全であるとみなされ得ることを理解されたい。

10

【0076】

がん幹細胞は、種々の機構により数えることができ、それにより、CYP26耐性RAR アゴニストの投与の結果としてのそれらの数の減少が測定される。本明細書に開示の実施形態では、RAR アゴニストの投与の結果として、骨髓内のがん幹細胞は、約0.5 logより多く、約1 logより多く、約1.5 logより多く、約2.0 logより多く、約2.5 logより多く、約3.0 logより多く、約3.5 logより多く、約4.0 logより多く、約4.5 logより多く、又は約5.0 logより多く、減少される。

20

【0077】

『処置する』又は『処置』という用語は、人又は他の動物における、疾患の、診断、緩和、又は予防をはじめとする、任意の種類の処置活動、又は、その他のやり方で、人又は他の動物の身体の種類又は任意の機能に影響する活動を広く含む。処置活動は、本明細書に記載の、医薬、剤形、及び医薬組成物を、患者に、特に、本明細書に記載の様々な処置方法に従って、医療従事者、患者自身、又は任意の別の人物によるものであるかを問わず、投与することを含む。処置活動は、医師、医師助手、実地看護師などの医療従事者の、命令、指示、及び助言であって、その後他の医療従事者又は患者自身をはじめとする他の人物により実行されるものを含む。ある実施形態では、処置活動は、特定の医薬又はその組み合わせがある症状の処置のために選ばれるべきであり、そして、当該医薬が実際に用いられることを、保険会社又は薬剤給付管理会社などがやるように、当該医薬への保険適用を承認し、代替医薬への適用を拒否し、採用医薬品集(drug formulary)に当該医薬を含め若しくは採用医薬品集から代替医薬を除き、又は当該医薬の使用への奨励金を提供することにより、奨励、誘導、又は命令することも含む。ある実施形態では、処置活動は、特定の医薬がある症状の処置のために選ばれるべきであり、そして、当該医薬が実際に用いられることを、病院、診療所、保健維持機構、医療又は医師の団体などが策定するように、方針又は実施基準により、奨励、誘導、又は命令することも含む。

30

【0078】

CAR導入免疫細胞の典型的な用量は、例えば、投与当たり細胞 1×10^6 から 3×10^{10} 個にできる。いくつかの実施形態では、CAR導入免疫細胞は、少なくとも 1×10^6 個の投与当たりの細胞数、少なくとも 3×10^6 個の投与当たりの細胞数、少なくとも 1×10^7 個の投与当たりの細胞数、少なくとも 3×10^7 個の投与当たりの細胞数、少なくとも 1×10^8 個の投与当たりの細胞数、少なくとも 3×10^8 個の投与当たりの細胞数、少なくとも 1×10^9 個の投与当たりの細胞数、少なくとも 3×10^9 個の投与当たりの細胞数、少なくとも 1×10^{10} 個の投与当たりの細胞数、少なくとも 3×10^{10} 個の投与当たりの細胞数の用量で、又は前述の値のいずれか2つにより区切られた範囲で、投与される。いくつかの実施形態では、CAR導入免疫細胞の典型的な用量は、例えば、患者体重の1キログラム当たり細胞 1×10^5 から 1×10^8 個の範囲にできる。いくつかの実施形態では、CAR導入免疫細胞は、少なくとも 1×10^5 個のkg当たりの細胞数、少なくとも 3×10^5 個のkg当たりの細胞数、少なくとも 6×10^5 個のk

40

50

g 当たりの細胞数、少なくとも 1×10^6 個の k g 当たりの細胞数、少なくとも 3×10^6 個の k g 当たりの細胞数、少なくとも 6×10^6 個の k g 当たりの細胞数、少なくとも 1×10^7 個の k g 当たりの細胞数、少なくとも 3×10^7 個の k g 当たりの細胞数、少なくとも 6×10^7 個の k g 当たりの細胞数の用量で、又は前述の値のいずれか 2 つにより区切られた範囲で、投与される。

【0079】

治療的又は予防的効力は処置患者の定期的評価により観察できる。数日又はそれよりも長期にわたる反復投与について、症状に応じて、疾患又は疾患症状の所望の抑制が得られるまで処置は反復され得る。しかし、他の投与レジメンも、有用であるかもしれず、本開示の範囲に含まれる。所望の投与量は、CAR 導入免疫細胞の、単回ボラス投与、複数回ボラス投与、又は持続注入投与により、送達され得る。種々の実施形態において、持続注入は、30分、1時間、数時間、1日、又は数日にわたってもよい。処置は1回又は複数回の注入を含んでもよい。

10

【0080】

いくつかの実施形態では、CAR 導入免疫細胞は追加の剤のその他の前処置投与又は同時投与を伴って投与される。いくつかの実施形態では、CAR 導入免疫細胞を受ける予定の対象は、骨髄非破壊的リンパ球枯渇レジメンで、例えば、これに限定されるわけではないが、シクロホスファミド及び/又はフルダラビンによる処置で、前処置される。いくつかの実施形態では、CAR 導入免疫細胞はインターロイキン-2とともに投与される。

【0081】

CAR 導入免疫細胞は1回又は複数回対象に投与されてもよい。本細胞は、毎週、隔週、毎月、隔月で、又はがん進行の兆候がみられた際に、投与されてもよい。

20

【0082】

本明細書では、『投与』という用語は、医薬剤又は組成物を対象に提供することを指し、これに限定されるわけではないが、医療専門家による投与及び自己投与を含む。投与は、これに限定されるわけではないが、経口投与、経鼻投与、肺内投与、皮下投与、静脈内投与、筋肉内投与、腫瘍内投与、腔内投与、硝子体内投与、皮膚投与、及び経皮投与を含む。

【0083】

投与経路に加えてがんの種類及び処置対象の患者に依存して、開示のRAR アゴニストは、それを必要とする患者に異なる治療有効用量で投与されてもよい。

30

【0084】

一方で、哺乳類に、特に、人に、投与される用量は、本方法に関して、妥当な期間にわたり当該哺乳類で治療反応をもたらすのに十分であるべきである。当業者であれば、正確な用量及び組成の選択並びに最適な送達レジメンの選択が、特定化合物の効能、処置対象の患者の、年齢、症状、体重、性別、及び奏効、並びに疾患のステージ/重篤度に加えて、とりわけ、製剤の薬理学的特性、処置対象の症状の性質及び重篤度、並びにレシピエントの体調及び精神的鋭さにより影響されるものであることを理解するだろう。

【0085】

非限定的な例として、本明細書に開示のRAR アゴニストを哺乳類に投与する場合、治療有効量は、通常、約 $1 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ から約 $100 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ の範囲内であってもよい。いくつかの実施形態では、本明細書に開示のRAR アゴニストの有効量は、約 $5 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ から約 $90 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、約 $10 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ から約 $80 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、約 $15 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ から約 $70 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、約 $20 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ から約 $65 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、約 $25 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ から約 $60 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、又は約 $30 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ から約 $55 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ であってもよい。いくつかの実施形態では、本明細書に開示の化合物又は組成物の治療有効量は、少なくとも $10 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、少なくとも $15 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、少なくとも $20 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、少なくとも $25 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、少なくとも $30 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、少なくとも $35 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、少なくとも $40 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、少なくとも $45 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、少なくとも $50 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、少なくと

40

50

も $55 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、少なくとも $60 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、少なくとも $65 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、又は少なくとも $75 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ であってもよい。いくつかの実施形態では、本明細書に開示の RAR アゴニストの治療有効量は、多くとも $15 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $20 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $25 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $30 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $35 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $40 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $45 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $50 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $55 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $60 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $65 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $70 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $80 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、多くとも $90 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ 、又は多くとも $100 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ であってもよい。

【0086】

人体の平均表面積は、成人男性で 1.9 m^2 、成人女性で 1.6 m^2 、12～13歳の子どもで 1.33 m^2 であると、一般的に受け入れられている。これらの値を前述の段落の値に対して1日の投与についての用量範囲を計算するために用いることができる。RAR アゴニストの1日の総投与量は、単回投与として、又は、8から16時間又は10から14時間の間を置いて24時間以内に投与される2回の投与として、投与できる。(1種類又は複数種類の) RAR アゴニストはCAR導入免疫細胞と協同的に投与され、上述のように、治療的又は予防的な効力は処置患者の定期的評価により観察できる。数日又はそれよりも長期にわたる反復投与について、症状に応じて、疾患又は疾患症状の所望の抑制が得られるまで処置は反復され得る。しかし、他の投与レジメンも、有用であるかもしれない、本開示の範囲に含まれる。所望の投与量は、組成物の、単回ボラス投与、複数回ボラス投与、又は持続注入投与により、送達され得る。

【0087】

投与は連続的でも間欠的でもよい。また、投与量は投与の時期及び頻度により決定されてもよい。従って、本明細書に開示の RAR アゴニストは、随意に後に休薬期間(無薬剤期間)を置くかたちで、ある期間にわたり、毎日、毎週、隔週、又は毎月の頻度で与えられ得るものであり、また、この薬剤投与/休薬期間サイクルは必要なだけ繰り返され得る。ある実施形態では、RAR アゴニストの1日の総投与量は、単回投与として、又は、8から16時間又は10から14時間の間を置いて24時間以内に投与される2回の投与として、投与できる。

【0088】

RAR アゴニストはCAR導入免疫細胞と協同的に投与され、上述のように、治療的又は予防的な効力は処置患者の定期的評価により観察できる。数日又はそれよりも長期にわたる反復投与について、症状に応じて、疾患又は疾患症状の所望の抑制が得られるまで処置は反復され得る。しかし、他の投与レジメンも、有用であるかもしれない、本開示の範囲に含まれる。所望の投与量は、組成物の、単回ボラス投与、複数回ボラス投与、又は持続注入投与により、送達され得る。

【0089】

RAR アゴニストは、非経口投与、経口投与、静脈内投与、腹腔内投与、皮下投与、肺内投与、経皮投与、筋肉内投与、鼻腔内投与、口腔投与、舌下投与、又は坐剤投与をはじめとする標準投与法を用いて哺乳類に投与できる。本明細書では、『非経口』という用語は、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、直腸投与、膣内投与、及び腹腔内投与を含む。CAR導入免疫細胞は、静脈内注射、腹腔内注射、又は皮下注射により、哺乳類に投与される。RAR アゴニストは、例えば、丸剤、錠剤、又はカプセル剤として、経口投与に適合していることが好ましい。

【0090】

一実施形態では、RAR アゴニストは、CAR導入免疫細胞の投与の前に、ある期間にわたり、すなわち、少なくとも2日、少なくとも3日、少なくとも4日、少なくとも5日、少なくとも6日、少なくとも1週、少なくとも2週、少なくとも3週、又は少なくとも1ヶ月にわたり、毎日投与される。いくつかの実施形態では、RAR アゴニストは、自己CAR導入免疫細胞の生成のために患者の末梢血リンパ球を採取する1～7日以内に開

始して投与される。C A R 導入免疫細胞は、通常、R A R アゴニストが残存するのであるよりもずっと長い長期間にわたって体内に存在し続けることになる。R A R アゴニスト療法は、ある期間にわたり毎日施され、C A R 導入免疫細胞よりも長期間にわたって与えられてもよいと期待される。いくつかの実施形態では、R A R は、合計で30日、90日、1年、2年、5年、又はこれ以上などの、C A R 導入免疫細胞よりも長期にわたって、投与される。この代わりに、R A R アゴニストの投与はC A R 導入免疫細胞が体内に存在する期間の全体を通して続けられずともよく、C A R 導入免疫細胞の投与の1週間前まで、投与の1日前若しくは後の間、投与の時、又は投与後の1～14日のいずれかの日に、止められてもよい。処置は複数サイクルで実行されてもよく、この場合、上記の通り予期されるC A R 導入免疫細胞の投与の前にR A R アゴニストの投与は再開され得る。

10

【0091】

さらに、C A R 導入免疫細胞は、単回ボラス投与として、又は、投与毎に $0.5 \sim 2.0 \times 10^6$ 細胞の毎日の、毎週の、又は毎月の投与により、投与される。

【0092】

本明細書に開示のC A R 導入免疫細胞及びR A R アゴニストは、少なくとも1種の別の抗がん剤／抗新生物剤（例えば、本技術分野で知られている任意の化学療法剤又は標的療法剤）をはじめとする他の薬剤、電離放射線、小分子抗がん剤、がんワクチン、生物学的療法（例えば、他のモノクローナル抗体、殺がんウイルス、遺伝子療法、及び養子T細胞移植）、及び／又は、手術と併せて投与されてもよい。別の実施形態では、C A R 導入免疫細胞及びR A R アゴニストは、投与される唯一の療法剤又は与えられる唯一の処置である、又は、抗がん免疫応答を促進することを主な用途として与えられる唯一の処置又は試薬である。

20

【0093】

いくつかの例示的实施形態では、処置はR A R アゴニストの投与から始められる。いくつかの実施形態では、このR A R アゴニストはCYP26耐性である。R A R アゴニストの投与と同時に又は投与に続いて、C A R - M I C、及び、任意で、抗新生物剤が、同時に又は順次に投与される。これらの実施形態のいくつかの態様では、抗新生物剤は、用いられる場合、C A R - M I Cの投与の前に投与される。抗新生物剤は、1日から1ヶ月のインターバルにわたり、例えば、2日、5日、1、2、3、又は4週のインターバルにわたり、投与される。いくつかの実施形態では、抗新生物剤の投与は、C A R - M I Cの投与の1日から1週間前に止められる。いくつかの実施形態では、C A R - M I CはC A R - T細胞である。いくつかの実施形態では、抗新生物剤はボルテゾミブである。これらの実施形態の様々な態様では、がんは骨髄腫（多発性骨髄腫など）又は白血病（A M L、C M L、又は急性前骨髄球性白血病（A P L）など）であり得る。これらの実施形態のさらなる態様では、R A R アゴニストは式（I I I）（I R X 5 1 8 3）であり得る。

30

【0094】

通常、がん療法の有効性は『奏効』の期間で測られる。奏効を監視する方法は、がんの診断に用いられる試験と同様にでき、これらに限定されるわけではないが、以下のものが挙げられる。

40

- ・いくつかのリンパ節を含む塊又は腫瘍が身体診察で外部から触知及び測定できる。
- ・いくつかの内蔵がん腫瘍がX線又はCTスキャンに写るものでありルーラーで測定できる。
- ・内臓機能を評価するものをはじめとする血液検査が行える。
- ・ある種のがんについて腫瘍マーカー検査が行える。

【0095】

用いた検査によらず、血液検査、細胞計数、又は腫瘍マーカー検査であるかを問わず、同種の前に行った検査と結果を比較できるように、検査は特定間隔で繰り返される。

【0096】

50

がん処置への奏効は数種のやり方で定義される。

- ・完全奏効：がん又は腫瘍の全てが消失する。疾患の徴候が存在しない。（該当する場合）腫瘍マーカーの発現レベルが正常範囲内に収まり得る。
- ・部分奏効：がんが百分率単位で収縮したが疾患が残存する。（該当する場合）腫瘍マーカーの発現レベルが下降（腫瘍マーカーによっては、減少した腫瘍負荷を表すものとして、増加）したかもしれないが疾患の徴候が残存する。
- ・安定状態：がんが増殖も収縮もしない。疾患の量が変化していない。（該当する場合）腫瘍マーカーの発現レベルが大きく変化しない。
- ・疾患進行：がんが増殖している。処置前よりも多くの疾患が存在する。（該当する場合）腫瘍マーカー検査が腫瘍マーカーが上昇していることを示す。

10

【0097】

がん処置の効力の別の評価法として、全生存期間（すなわち、評価中の処置の開始又は診断から測定した、原因を問わず死亡するまでの時間）、無がん生存期間（すなわち、がんが未検出のままである完全奏効後の時間の長さ）、及び無進行生存期間（すなわち、再開したがんの成長が検出されない疾患安定又は部分奏効後の時間の長さ）が挙げられる。

【0098】

腫瘍サイズ（腫瘍負荷）に関して固形がん処置の奏効の2つの標準的評価法として、WHO規準とRECIST規準がある。これらの方法は、現在の腫瘍を以前の測定値と比較する、又は、変化を将来の測定値と比較して、処置レジメンを変更するために、固形腫瘍を測定する。WHOの方法では、固形腫瘍の長軸及び短軸を測定し、その後、これらの2つの測定値の積を計算する。複数の固形腫瘍が存在する場合、全ての積の合計を計算する。RECISTの方法では、長軸のみを測定する。複数の固形腫瘍が存在する場合、全ての長軸測定値の合計を計算する。ただし、リンパ節については、長軸ではなく短軸を測定する。

20

【0099】

いくつかの実施形態では、本方法は、処置患者の腫瘍負荷は、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約90%、約95%、約100%だけ、又は、これらの値を境界とする任意の範囲だけ、減少する。

【0100】

別の実施形態では、処置対象の1年生存率は、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約90%、約95%、約100%だけ、又は、これらの値を境界とする任意の範囲だけ、増加する。

30

【0101】

別の実施形態では、処置対象の5年生存率は、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約90%、約95%、約100%だけ、又は、これらの値を境界とする任意の範囲だけ、増加する。

【0102】

別の実施形態では、処置対象の10年生存率は、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約90%、約95%、約100%だけ、又は、これらの値を境界とする任意の範囲だけ、増加する。

40

【0103】

さらに別の実施形態では、対象は、少なくとも6ヶ月、少なくとも7ヶ月、少なくとも8ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも10ヶ月、少なくとも11ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも14ヶ月、少なくとも16ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも20ヶ月、少なくとも22ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも27ヶ月、少なくとも30ヶ月、少なくとも33ヶ月、少なくとも36ヶ月、少なくとも42ヶ月、少なくとも48

50

ヶ月、少なくとも54ヶ月の、又は少なくとも60ヶ月以上の、持続的寛解を有する。

【0104】

別の実施形態では、本方法は、がんに関連する、症状、病状、又は障害の、処置又は緩和を助け得る。いくつかの実施形態では、これらの症状又は病状として、これらに限定されるわけではないが、貧血、無力、悪液質、クッシング症候群、倦怠感、痛風、歯周病、血尿、高カルシウム血、甲状腺機能低下、内出血、脱毛、中皮腫、嘔吐、寝汗、好中球減少、腫瘍随伴症候群、胸膜炎、リウマチ性多発筋痛、横紋筋融解、ストレス、リンパ節腫大、血小板減少、ビタミンD欠乏、又は体重減少が挙げられる。別の実施形態では、R A R アゴニスト及びC A R 導入免疫細胞の両方の投与は、C A R 導入免疫細胞単独での処置に比して、処置中の個体の生存を引き延ばす。

10

【0105】

(特定の実施形態の一覧)

以下の実施形態の一覧は、本明細書で明らかとなる、本発明の、幅、結合、及び副結合に関する様々な実施形態を例示するものであり、本明細書に支持される実施形態のすべてを網羅的に列挙することを意図したものではない。

[実施形態1]

がん免疫治療を必要とする対象にキメラ抗原受容体導入免疫細胞(C A R - M I C)及び少なくとも1種類の分化誘導性R A R 活性剤を投与することを含む、がん免疫治療法。

[実施形態2]

がんの処置を必要とする対象にキメラ抗原受容体導入免疫細胞(C A R - M I C)及び少なくとも1種類の分化誘導性R A R 活性剤を投与することを含む、がんを処置する方法。

20

[実施形態3]

C A R - M I Cを受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者に少なくとも1種類の分化誘導性R A R 活性剤を投与することを含む、C A R - M I Cがん免疫治療法を増強する方法。

[実施形態4]

がん免疫治療を必要とする対象に分化誘導性R A R 活性剤及びC A R - M I Cを投与することを含み、前記C A R - M I Cは前記対象に投与される前に少なくとも1種類の免疫調節性R A R / R X R 活性剤を含む培養培地中で培養されている、がん免疫治療法。

30

[実施形態5]

C A R - M I C及び少なくとも1種類の分化誘導性R A R 活性剤を投与することを含む、がん患者の無病生存を延ばす方法。

[実施形態6]

C A R - M I C療法の毒性を減らす方法であって、それを必要とする患者に、併せた結果、前記C A R - M I Cを単独で投与する場合と比べより低い用量の前記C A R - M I Cが投与されるように、前記C A R - M I Cと併せて、少なくとも1種類の分化誘導性R A R 活性剤を投与することを含む、方法。

[実施形態7]

C A R - M I Cの単独投与に比べて効力が同じ又は増加している、実施形態6に記載の方法。

40

[実施形態8]

C A R - M I C療法の効力を増やす方法であって、それを必要とする患者に、併せた結果、前記C A R - M I Cを単独で投与する場合と比べより高い用量の前記C A R - M I Cが投与されるように、前記C A R - M I Cと併せて、少なくとも1種類の分化誘導性R A R 活性剤を投与することを含む、方法。

[実施形態9]

C A R - M I Cの単独投与に比べて毒性が同じ又は減少している、実施形態8に記載の方法。

[実施形態10]

50

免疫チェックポイント阻害剤の投与をさらに含む、実施形態 1 - 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 1 1]

前記免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA - 4、PD - 1、TIM - 3、LAG - 3、PD - L1 リガンド、B7 - H3、B7 - H4、BTLA の少なくとも 1 種類の阻害剤である、又は、ICOS 若しくは OX40 アゴニストである、実施形態 10 に記載の方法。

[実施形態 1 2]

前記免疫チェックポイント阻害剤は抗体である、実施形態 10 又は 11 に記載の方法。

[実施形態 1 3]

前記分化誘導性 RAR 活性剤は RAR アゴニストである、実施形態 1 - 12 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 1 4]

前記 RAR アゴニストは CYP26 耐性である、実施形態 13 に記載の方法。

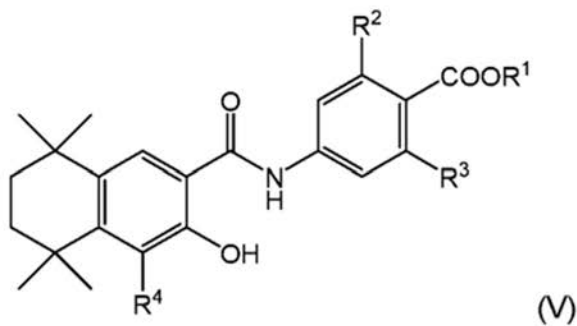
[実施形態 1 5]

前記 RAR アゴニストは RAR 選択的アゴニストである、実施形態 12 又は 13 に記載の方法。

[実施形態 1 6]

前記 RAR アゴニストは下記の一般式 (V) の化合物である、実施形態 13 - 15 のいずれか 1 つに記載の方法。

【化 8】



(ただし、R¹ は、H 又は C₁ - 6 アルキルであり、R² 及び R³ は、独立して、H 又は F であり、R⁴ は、ハロゲンである。)

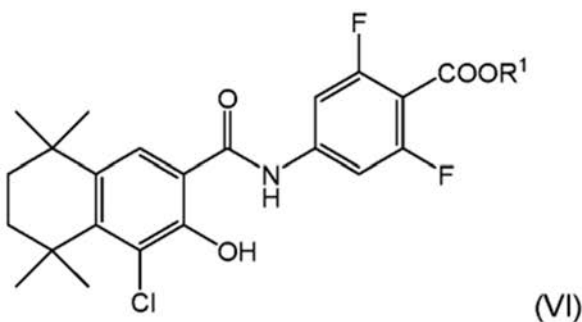
[実施形態 1 7]

R⁴ は、F、Cl、Br、又は I である、実施形態 16 に記載の方法。

[実施形態 1 8]

前記 RAR アゴニストは下記の一般式 (VI) の化合物である、実施形態 13 - 15 のいずれか 1 つに記載の方法。

【化 9】

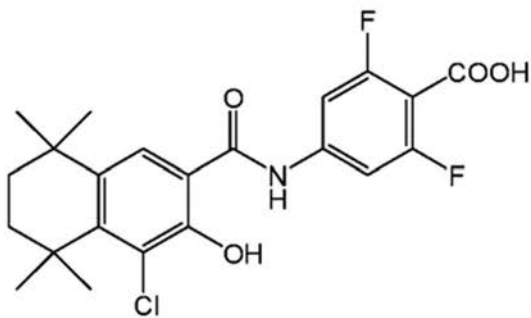


(ただし、R¹ は、H 又は C₁ - 6 アルキルである。)

[実施形態 19]

前記 RAR アゴニストは下記の一般式 (III) の化合物である、実施形態 13 - 15 のいずれか 1 つに記載の方法。

【化 10】



(III; IRX5183)

10

[実施形態 20]

前記 RAR アゴニストはタミパロテン (AM80 ; 4 - [(5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルバモイル] 安息香酸) である、実施形態 13 - 14 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 21]

前記 RAR アゴニストは AM580 (4 - [(5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルボキサミド] 安息香酸) である、実施形態 13 - 14 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

[実施形態 22]

前記 RAR アゴニストは Re80 (4 - [1 - ヒドロキシ - 3 - オキソ - 3 - (5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 3 - ヒドロキシ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) - 1 - プロベニル] 安息香酸) である、実施形態 13 - 14 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 23]

前記分化誘導性 RAR 活性剤又は前記 RAR アゴニストは毎日投与される、実施形態 1 - 22 のいずれか 1 つに記載の方法。

30

[実施形態 24]

前記分化誘導性 RAR 活性剤又は前記 RAR アゴニストは 1 日に 2 回投与される、実施形態 1 - 22 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 25]

RAR 活性剤又は RAR アゴニストの 1 日用量は、約 1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、又は 75 mg / m² / 日から、約 15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、又は 100 mg / m² / 日の範囲内であり、前記範囲の上限及び下限は前記範囲の下限が前記範囲の上限以下となるように選択される、実施形態 23 又は 24 に記載の方法。

40

[実施形態 26]

少なくとも 1 種類のがん免疫療法剤又は標的療法剤を投与することをさらに含む、実施形態 1 - 25 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 27]

前記少なくとも 1 種類のがん免疫療法剤又は標的療法剤はボルテゾミブである、実施形態 26 に記載の方法。

[実施形態 28]

前記対象又は前記がん患者は血液悪性腫瘍を有する、実施形態 1 - 26 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 29]

50

前記血液悪性腫瘍は、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）（移行期ＣＭＬ及びＣＭＬ急性転化期を含む）、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫（濾胞性リンパ腫及びマントル細胞リンパ腫を含む）、Ｂ細胞リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、骨髄異形成症候群（不応性貧血、環状鉄芽球を伴う不応性貧血、芽球増加を伴う不応性貧血（ＲＡＥＢ）、及び、移行期のＲＡＥＢを含む）、及び骨髄増殖症候群から選択される、実施形態２８に記載の方法。

[実施形態３０]

前記血液悪性腫瘍は白血病である、実施形態２８又は２９に記載の方法。

[実施形態３２]

前記血液悪性腫瘍は多発性骨髄腫である、実施形態２８又は２９に記載の方法。

[実施形態３３]

前記対象又は前記がん患者は固形腫瘍を有する、実施形態１－２６のいずれか１つに記載の方法。

[実施形態３４]

膵臓がん、膀胱がん、結腸直腸がん、乳がん、前立腺がん（例えば、アンドロゲン依存性及びアンドロゲン非依存性前立腺がん）、腎がん、肝細胞がん、肺がん（例えば、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、小細胞肺がん（ＳＣＬＣ）、気管支肺胞がん（ＢＡＣ）、及び肺の腺がん）、卵巣がん（例えば、進行性上皮性又は原発性腹膜がん）、子宮頸がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん（例えば、頭頸部の扁平上皮細胞がん）、黒色腫、神経内分泌がん、脳腫瘍（例えば、神経膠腫、退形成性乏突起膠腫、成人多形性膠芽腫、及び成人未分化星細胞腫）、骨がん、及び軟部肉腫、実施形態３３に記載の方法。

[実施形態３５]

前記分化誘導性ＲＡＲ活性剤又は前記ＲＡＲ アゴニストは、前記ＣＡＲ－ＭＩＣの投与前に、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも４日、少なくとも５日、少なくとも６日、少なくとも１週、少なくとも２週、少なくとも３週、又は少なくとも１ヶ月にわたって投与される、実施形態１－３４のいずれか１つに記載の方法。

[実施形態３６]

前記分化誘導性ＲＡＲ活性剤又は前記ＲＡＲ アゴニストの投与は前記ＣＡＲ－ＭＩＣの投与の２から１０日前に中止される、実施形態３５に記載の方法。

[実施形態３７]

前記分化誘導性ＲＡＲ活性剤又は前記ＲＡＲ アゴニストの投与は前記ＣＡＲ－ＭＩＣの投与の２日前から２日後のインターバル内のある時点で中止される、実施形態３５に記載の方法。

[実施形態３８]

前記分化誘導性ＲＡＲ活性剤又は前記ＲＡＲ アゴニストの投与は前記ＣＡＲ－ＭＩＣの投与後の２日より長いインターバルにわたり続けられる、実施形態３５に記載の方法。

[実施形態３９]

前記分化誘導性ＲＡＲ活性剤又は前記ＲＡＲ アゴニストの投与は前記ＣＡＲ－ＭＩＣの投与の１４日後に中止される、実施形態３８に記載の方法。

[実施形態４０]

前記分化誘導性ＲＡＲ活性剤又は前記ＲＡＲ アゴニストは前記ＣＡＲ－ＭＩＣの投与の開始が予定される４週前から始まる期間にわたり投与される、実施形態３５－３９のいずれか１つに記載の方法。

[実施形態４１]

実施形態３５－４０のいずれか１つが１サイクルを構成する、複数の処置サイクルから構成される処置の方法。

[実施形態４２]

前記分化誘導性ＲＡＲ活性剤又は前記ＲＡＲ アゴニストの投与が中止されていた、実施形態３５－４１のいずれか１つに記載の方法であって、前記分化誘導性ＲＡＲ活性剤又

10

20

30

40

50

は前記 R A R アゴニストの投与が、C A R - M I C の予定されたさらなる投与の前に再開される、方法。

[実施形態 4 3]

前記分化誘導性 R A R 活性剤又は前記 R A R アゴニストは、前記 C A R - M I C の投与前に、少なくとも 2 日、少なくとも 3 日、少なくとも 4 日、少なくとも 5 日、少なくとも 6 日、少なくとも 1 週、少なくとも 2 週、少なくとも 3 週、又は少なくとも 1 ヶ月にわたり投与される、実施形態 4 2 に記載の方法。

[実施形態 4 4]

処置サイクルが前記 C A R - M I C の最初の投与後の 6 ヶ月にわたり続けられる、実施形態 4 1 - 4 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

[実施形態 4 5]

処置サイクルが、持続的完全奏効が得られるまで、続けられる、実施形態 4 1 - 4 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 4 6]

処置サイクルが、継続的腫瘍退縮がある限り、続けられる、実施形態 4 1 - 4 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 4 7]

処置サイクルが、安定状態 (s t a b l e d i s e a s e) である又はがんが進行しない限り、続けられる、実施形態 4 1 - 4 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

[実施形態 4 8]

処置が完全奏効又は安定状態の達成後に中断され、処置サイクルが疾患進行の際に再開される、実施形態 4 5 又は 4 7 に記載の方法。

[実施形態 4 9]

前記 C A R - M I C は静脈内注射又は注入により投与される、実施形態 1 - 4 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 5 0]

前記 C A R - M I C は腫瘍内注射により投与される、実施形態 1 - 4 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 5 1]

1×10^6 から 3×10^{10} 個の細胞が投与される、実施形態 1 - 5 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

30

[実施形態 5 2]

患者体重 1 k g 当たり 1×10^5 から 1×10^8 個の細胞が投与される、実施形態 1 - 5 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 5 3]

前記 C A R - M I C は C A R - T 細胞である、実施形態 1 - 5 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 5 4]

前記 C A R - M I C は C A R - N K T 細胞である、実施形態 1 - 5 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

40

[実施形態 5 5]

前記 C A R - M I C は C A R - 貪食細胞である、実施形態 1 - 5 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

[実施形態 5 6]

C A R - M I C 治療法の毒性を減らすのに使用するための、分化誘導性 R A R 活性剤。

[実施形態 5 7]

がん処置での C A R - M I C の免疫治療効果を増強するのに使用するための、分化誘導性 R A R 活性剤。

[実施形態 5 8]

がんを処置するのに使用するための、C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤。

50

[実施形態 5 9]

がん免疫治療で使用するための、C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤。

[実施形態 6 0]

C A R - M I C を受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者における、実施形態 5 6 又は 5 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、又は、実施形態 5 8 又は 5 9 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤。

[実施形態 6 1]

がん処置での C A R - M I C の免疫治療効果を増強するための医薬の製造における、分化誘導性 R A R 活性剤の使用。

[実施形態 6 2]

がん免疫治療法のための医薬の製造における、C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤の使用。

[実施形態 6 3]

がん患者の無病生存を延ばすための医薬の製造における、C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤の使用。

[実施形態 6 4]

C A R - M I C 治療法の毒性を減らすための医薬の製造における、分化誘導性 R A R 活性剤の使用。

[実施形態 6 5]

がんを処置するための医薬の製造における、C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤の使用。

[実施形態 6 6]

前記分化誘導性 R A R 活性剤医薬が、C A R - M I C を受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者において使用するためのものである、実施形態 6 1 - 6 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 0 6 】

実施形態 5 6 - 6 6 のそれぞれが実施形態 7 - 5 5 による実施形態 1 - 6 の修正と同様の修正を受け得ることは明らかであろう。

【 0 1 0 7 】

(実施例)

以下の非限定的な実施例は、現在考慮する代表的な実施形態のより完全な理解を助けるための例示を意図して提示するにすぎない。こうした実施例は本明細書に記載の実施形態のいずれを限定するとも解釈されるべきではない。

【 0 1 0 8 】

(実施例 1)

(R A R 受容体への試験化合物の結合及びレポーター遺伝子の活性化)

レチノイン酸受容体トランス活性化活性及び結合効率を、実質的に米国特許第 5 , 2 9 8 , 4 2 9 号及び米国特許第 5 , 0 7 1 , 7 7 3 号に記載のとおり求める。これらの文献の内容を参照により本明細書に援用する。トランス活性化アッセイは、R A R 、 R A R 、 及び R A R の全長受容体をコードする発現プラスミドを採用する。ヘルペスウイルスチミジンキナーゼプロモーター及び適切なレチノイン酸受容体応答エレメント (R A R E) を含むレポータープラスミドは、ホタルルシフェラーゼをコードするオープンコーディングリージョンの上流に位置する。

【 0 1 0 9 】

結合アッセイは、クローン化した受容体である R A R 分子が先ず放射性標識オールトランスレチノイン酸 (R A R) を取り込まされ、その後、増加する試験化合物濃度により自由になる放射能の量を測定するという古典的な競合アッセイ形式を用いて行う。

【 0 1 1 0 】

これらのアッセイは、本明細書で上述したような、R A R アゴニストを特定するために用いられる。

10

20

30

40

50

【 0 1 1 1 】

(実施例 2)

(化合物 I R X 5 1 8 3 は R A R 特異的である)

式 (I) の構造を有する化合物が R A R 選択的アゴニストであるか否かを明らかにするために、アゴニスト結合親和性を測定するための置換アッセイ及びアゴニスト活性を測定するためのトランス活性化アッセイ (米国特許第 5 , 4 5 5 , 2 6 5 号に記載。当該文献の内容を参照により本明細書に援用する。) を用いて、 R A R 、 R A R 、 及び R A R への結合能について化合物 I R X 5 1 8 3 を調べた。これらの結果は、化合物 I R X 5 1 8 3 が、 R A R と高い親和性で選択的に結合し (表 1) 、 R A R を特異的に活性化する (図 1) ことを表している。こうした R A R 選択的アゴニストは、臨床研究での、皮膚粘膜毒性、頭痛、及び炎症誘発減少をはじめとする p a n 活性化に関連する有害効果を最小化するかもしれない。

10

【 0 1 1 2 】

表 1 : R A R 、 R A R 、 及び R A R への I R X 5 1 8 3 の結合親和性

【 表 1 】

RAR α	RAR β	RAR γ
4.7 nM	>10,000 nM	>10,000 nM

【 0 1 1 3 】

(実施例 3)

(R A R シグナル伝達が F o x p 3 発現を誘導する)

F o x p 3 発現の誘導にどの R A R (R A R 、 R A R 、 R A R) のシグナル伝達経路が関与しているかを明らかにするために、ナイーブ C D 4 ⁺ C D 2 5 ⁻ F o x p 3 ⁻ 細胞を、 F o x p 3 - G F P マウスから、フローサイトメトリーを用いて、 G F P ⁻ フェノタイプに基づくソート及び単離により、精製した。これらの細胞を、 I L - 2 及び T G F ⁻ の存在下、インビトロで、 C D 3 によりポリクローナルに活性化した。 R A 誘導 F o x p 3 発現に関与する R A R を特定するために、これら培養細胞を複数の R A R 選択的アゴニストとともにインキュベートした。その後、培養細胞を G F P ⁺ (F o x p 3 ⁺) の頻度について数値化した。選択的アゴニストの使用について、 R A R アゴニストのみが F o x p 3 の発現に顕著な効果を奏し、 4 7 及び C C R 9 (腸ホーミング受容体) の発現の増大をとまなうほぼ 1 0 0 % が F o x p 3 ⁺ である T 細胞を誘導した (図 2) 。 R A R 及び R A R アゴニストは効果がなかった。

20

30

【 0 1 1 4 】

(実施例 4)

(R A R 選択的アゴニストは T 細胞分化を制御する)

R A R アゴニストが T 細胞分化に影響し得るか否かを明らかにするために、 T 細胞を R A R アゴニストとともに培養して F o x p 3 発現へのその作用を求めた。ナイーブ C D 4 ⁺ C D 2 5 ⁻ F o x p 3 ⁻ 細胞を、 F o x p 3 - G F P マウスから、フローサイトメトリーを用いて、 G F P ⁻ フェノタイプに基づくソート及び単離により、精製した。これらの細胞を、 I L - 2 及び T G F ⁻ の存在下、インビトロで、 C D 3 によりポリクローナルに活性化した。その後、これらの細胞を、化合物 I R X 5 1 8 3 (R A R アゴニスト) を様々な濃度で含む培地中で培養し、 F o x p 3 - G F P の発現をフローサイトメトリーにより分析した。 R A R アゴニストである化合物 I R X 5 1 8 3 は、インビトロで、免疫抑制性 T r e g 細胞の分化を増強し、ナイーブ T 細胞由来の炎症性 T H 1 7 細胞の分化を阻害した (表 2) 。

40

【 0 1 1 5 】

表 2 : T 細胞分化への R A R アゴニストの効果

【表 2】

RAR α アゴニスト	Treg細胞		Th17細胞	
	濃度 (nM)	分化 パーセント (%)	濃度 (nM)	分化 パーセント (%)
化合物 IRX5183	0	25	0	32
	0.1	26	0.1	32
	1	55	1	21
	10	90	10	11
	100	ND	100	5

10

【0116】

上記知見を拡大するために、T細胞分化へのRAR α アゴニストのインビボ効果をマウスモデルで調べた。マウスを10日にわたり1日おきに100 μ gの化合物IRX5183又は同体積のDMSO（ビヒクル対照）で処置した。その後、血液及び脾臓からリンパ球を単離し、CD4 $^{+}$ T細胞でのFoxP3発現を評価した。このデータは、化合物IRX5183の投与後に処置マウスの脾臓及び血液中のFoxp3 $^{+}$ T細胞の割合が顕著に増加したことを示している。

【0117】

表3：T細胞分化へのRAR α アゴニストの効果

20

【表 3】

組織	Foxp3+発現(%)	
	DMSO	IRX5183
血液	2.4	4.3
脾臓	10	25

【0118】

反対に、RAR α 選択的アンタゴニストの一種であるAGN196996は、上述のインビトロ及びインビボのアッセイで、Th17細胞の数を増やし、Treg細胞の数を減らす（データは省略する）。

30

【0119】

（実施例5）

（骨髓ニッチは多発性骨髄腫においてボルテゾミブ耐性を誘導する）

多発性骨髄腫（MM）は骨髓（BM）内での悪性形質細胞（PC）の増殖及びそれらによるモノクローナル免疫グロブリン（Ig）の産生を特徴とする。プロテアソーム阻害剤をはじめとする新規の療法はMMの患者の生存を顕著に延ばしはものの治療を成し遂げることはできないでいた。増加する証拠から骨髓微小環境との相互作用が化学療法中のMM細胞の生存に重要な役割を果たすことが示されている。しかし、この骨髓ニッチ依存的化学防御を媒介する機序は不完全にしか理解されておらず依然として重要な研究分野である。

40

【0120】

ある種のMM細胞は成熟B細胞と似ておりボルテゾミブ（BTZ）に耐性を有する。こうしたCD138 $^{+}$ MM細胞は、対応する正常B細胞と同じく、CD138 $^{+}$ PCへとクローン性増殖及び分化する能力を有する。さらに、これらの細胞は、微小残存病変（MRD）の最中に濃縮されることから、疾患再発での重要な役割を担うことが示唆される。CD138 $^{+}$ 及びCD138 $^{-}$ のMM細胞の差次的BTZ感受性は、それらの分泌活性により説明できるかもしれない。CD138 $^{+}$ PCは、その豊富なIg産生の結果、不適切に折り畳まれたタンパク質を分解するインタクトなプロテアソーム経路への依存性が高い。プロテアソームによるタンパク質分解を阻害する状態は、タンパク質合成を減少させ且つ

50

タンパク質分解を促進することによりERストレスを相殺する小胞体ストレス応答(UPR)として知られる細胞ストレス経路を活性化する。恒常性が復旧できなければ、UPR活性化は最終的にアポトーシスにつながる。一方、CD138- MM細胞は、限定的なIg産生及び低いERストレスを示し、誤って折り畳まれたタンパク質のプロテアソーム媒介分解への依存性がより低い。

【0121】

これまでの研究から、骨髄間質細胞がMMで未成熟薬剤耐性表現型を誘導することが示された。骨髄間質は正常細胞及び悪性細胞の分化を防ぐCYP26を介した低レチノイン酸(低RA)環境を作る。レチノイドシグナル伝達はPC分化及びIg産生を促進するため、本研究では骨髄ニッチが間質のCYP26活性を介してPC分化を防ぐことによりBTZ耐性を誘導するか否かを明らかにした(Alonso S. et al., J. Clin. Invest., 126: 4460-4468, 2016)。間質のCYP26により誘導される低RA環境は、MM細胞でのB細胞様BTZ耐性表現型の維持に關与する。CYP26の直接的な阻害、又は、CYP26耐性レチノイドを介した間質防御の迂回は、PC分化及びBTZ感受性を取り戻させる。さらに、発明者等は、MM細胞により分泌された傍分泌ヘッジホッグが骨髄間質のRA不活性化能の増加を介して防御ニッチを強化するという二方向性クロストークも記載する。これらのデータは、RAシグナル伝達の調節がMM骨髄微小環境でのBTZ耐性を克服するための魅力的な治療戦略であることを表している。

10

20

【0122】

方法

《細胞培養》

全ての細胞株はアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから購入した。H929、MM.1S、及びU266細胞は、10% FCS(ウシ胎仔血清)、2 mMのL-グルタミン、及び100 µg/mlのペニシリン-ストレプトマイシン(P/S)を含むRPMI 1640で培養した。OP-9細胞は、MEM(20% FCS、L-グルタミン、及びP/S)で培養した。細胞株は縦列型反復配列プロファイリングにより認証された。

【0123】

初代MM細胞はIRB承認済みの手順のもとMMに罹患したと新たに診断された又はMMが再発した患者から得た。簡単に説明すると、新鮮な骨髄吸引物から密度勾配遠心法(Ficoll-Paque)により単核細胞を単離し、その後、CD138+細胞を磁気ビーズ及びカラムを介して選択してRPMI 1640(10% FCS、L-グルタミン、及びP/S)において37℃で培養した。

30

【0124】

初代ヒト骨髄間質細胞はIRB承認済みの手順のもと健康なドナーから集めた吸引物に由来する。簡単に説明すると、骨髄吸引物から単離した単核細胞を、イスコフ改変ダルベッコ培地(IMDM)に、10%ウマ血清、10% FCS、 10^{-5} Mのヒドロコルチゾン21-ヘミスクシナート、P/S、及び0.1 mMのβ-メルカプトエタノール(β-ME)を添加したもの(FBMD1培地)で培養した。翌日に、懸濁液中の細胞をPBSで2回洗うことにより除去し、培地を換えた。付着間質細胞をコンフルエントな単層が得られるまで33℃でインキュベートした。マウス大腿骨から全骨髄単核細胞を単離した後、マウス初代骨髄間質細胞を同じ手順に従い単離した。

40

【0125】

《ベクター及びウイルス上清》

Smc-KO及びWTの間質を作るために、骨髄間質細胞をSmc^{f1/f1}マウスから得てCre-リコンビナーゼをコードするレトロウイルスベクターPIG-Cre(Addgene、カタログ番号50935)又は対照ベクター(Addgene、カタログ番号18751)をそれぞれ形質導入した。感染成功細胞を、4 µg/mlのピューロマイシンを5日間使って選抜し、フローサイトメトリーを介してGFP発現により確認した

50

。pLenti-CMV-LUC-Puroレンチウイルスベクター（プラスミド17477）を用いてH929のLuc+細胞を作った。

【0126】

CYP26A1過剰発現間質細胞を作るために、WT及びSmc-KOの間質細胞にCYP26A1をコードするように設計されたレンチウイルスベクターpBABE-neo（Addgene、カタログ番号1767）を形質導入した。簡単に説明すると、Cyp26a1 cDNA（Origene）を、BamHI及びEcoRIの制限酵素部位を含むプライマーを用いてPCRにより増幅し、pCR2.1ベクターにクローン化した。Cyp26a1 cDNAをサンガーシーケンシングにより確認し、制限酵素であるBamHI及びEcoRIで分解した後に断片を単離して、pBABEベクターの対応部位にサブクローン化した。レンチウイルス粒子は前例通りに産生された。感染成功細胞を、3 μ g/mlのG-418を10日間使って選抜し、Cyp26a1の発現をqRT-PCRにより確認した。

10

【0127】

《共培養実験》

24ウェルプレートに37℃で30分にわたり0.1%ゼラチンPBS溶液をコートした。ゼラチン溶液を除去した後、間質細胞を 5×10^4 細胞/ウェルの密度で一晩培養し、コンフルエントな単層を得た。この時点で、MM細胞株又は初代MM細胞（2ml内で 1×10^5 ）をこの間質培養物に加えた。この間質共培養物を、AGN194310（1 μ M、5日間）、R115866（1 μ M、5日間）、IRX5183（1 μ M、5日間）、又はBTZ（2.5 nM、48時間）の存在下又は不在下で、10%FCS、L-グルタミン、及びP/Sを含有するRPMIにおいて、37℃でインキュベートした。

20

【0128】

《Transwell実験》

Transwell実験では、6ウェルプレートに37℃で30分にわたり0.1%ゼラチンPBS溶液をコートした。ゼラチン溶液を除去した後、間質細胞をFBD1培地において培地2ml内で 10×10^4 細胞/ウェルの密度で一晩培養し、コンフルエントな単層を得た。この時点で、Transwellインサート（Corning）を間質培養物の上方に置き、MM細胞株（1ml内で 1×10^6 ）をTranswell内に37℃で24時間にわたり播種した。このインキュベーション後、Transwell及びMM細胞を除去し、間質細胞を壁から剥がしてqRT-PCRによりCYP26発現について分析した。

30

【0129】

《動員実験》

ウェルの近くで穏やかに数回ピペッティングすることによりMM細胞を骨髄間質細胞から分離した。剥がした細胞を、遠心分離し、新鮮な培地に再懸濁し、37℃で1時間にわたり24ウェルプレートでインキュベートした。この短いインキュベーション期間の間に、混入していた間質細胞は壁に付着し、一方、MM細胞は懸濁液中に留まった。その後、穏やかなピペッティングでMM細胞を回収した。この手順をqRT-PCR及びCFU共培養実験について用いた。この手順を用いて得られた純度をフローサイトメトリーで確認したところ、MM細胞98%~99%、混入間質2%未満であった。

40

【0130】

《クローン形成法》

処置後、MM細胞を集め、PBSで洗い、30%FBS、10%BSA、L-グルタミン、P/S、及び0.1mMのβ-MEを添加した1.32%メチルセルロースの1ml内で5,000細胞/mlの密度でまいた。細胞を、トリプリケートで35mm培養皿にまき、37℃でインキュベートし、14日後のコロニーの存在について記録した。

【0131】

《qRT-PCR》

RNeasy Mini Kit（QIAGEN）を製造元の指示通りに用いて全RN

50

Aを抽出した。iScript cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad)を用いた逆転写によりcDNAを合成した。配列特異的プライマーを用いてiTaq SYBR Green Supermix (Bio-Rad)でqRT-PCRを行った。遺伝子発現量はGAPDHに対して標準化し、Ct法を用いて相対定量を行った。全ての実験は、デュプリケートで行い、Bio-Rad CFX96機上で実行した。

【0132】

《フローサイトメトリー》

処置後、MM細胞を集め、PBSで洗い、室温で15分にわたりフィコエリスリン結合 (PE結合) 抗CD138で染色した。細胞を洗い未結合抗体を除去し、FACSCalibur system (BD Biosciences) で評価した。間質細胞をGFP発現により同定し、生存細胞を7-アミノアクチノマイシンD (7-AAD) を用いて同定した。細胞数を計算するために、生きているGFP細胞をキャリブレーションビーズに対して標準化した。

10

【0133】

《マウス異種移植》

1×10^6 H929Luc+細胞及び 1×10^6 マウス骨髄間質細胞を100 μ lのMATRIGEL (登録商標) に再懸濁し、RPMIで希釈し(1:1)、16週齢のオスのNSGマウスに皮下注射した。4日後、BTZ (0.5 mg/kg、腹腔内、毎週2回) 及びIRX (10 mg/kg、腹腔内、毎日) での処置を開始した。腫瘍負荷をIn Vivo Imaging System (PerkinElmer) を用いて生物発光により評価した。撮像のために、マウスを撮像の10~5分前に腹腔内投与を介して120 mg/kgのD-ルシフェリンに暴露し、イソフルランを用いて麻酔した。画像はLiving Image Software, version 2.5 (PerkinElmer) で分析し、データを光子/秒として定量した。

20

【0134】

全身MMモデルに関しては、 2×10^6 Luc+/GFP+H929細胞を尾の静脈を介して16週齢のNSGマウスに注射した。生着 (生物発光での指数関数的増加により確認) 後、マウスを毎週2回のBTZ (0.5 mg/kg、腹腔内) 及び毎日のIRX (10 mg/kg) で処置した。腫瘍負荷は上記と同じく生物発光により評価した。

30

【0135】

《統計解析》

まず、処置群が対照群と異なるか否かを1-way ANOVAにより評価した。ANOVA検定で統計的に有意な結果が得られたら、対照群と各処置群との間の差を、多重比較のために調節したP値でダネット検定を用いて評価した。2組のデータのみを分析する実験に関しては、対応のない、両側での、スチューデントのt検定を用いて統計的有意差を評価した。相関についてのピアソンのR値及びP値はGraphPad Prism 7 (GraphPad Software) を用いて計算した。

【0136】

結果

骨髄微小環境 (『ニッチ』とも呼ばれる) はレチノイドシグナル伝達を調節することによりPC分化を制限する。MM前駆細胞集団は、B細胞と表現型が類似するが、B2Tに対して元来耐性を有し、MRD及び再発に寄与する。骨髄ニッチがMM細胞の表現型の決定に関与しているか否かを調べるために、マウス骨髄間質との共培養後に、MMのH929細胞株 (図3A~D) 及びMMのCD138+初代細胞 (図3E~H) でのB細胞マーカー及びPCマーカーのmRNA発現をヒト特異的プライマーを用いて分析した。B cell lymphoma 6 (BCL6) (胚中心B細胞の自己再生を促進しPC分化を阻害する転写抑制因子) は、骨髄間質細胞の存在化では上方調節された (図3A、3E)。対照的に、骨髄間質とMM細胞の共培養は、PC分化の重要なメディエーターであるB lymphocyte-induced maturation protein 1 (BLIMP1) 及びspliced X box-binding protein

40

50

1 (X B P 1 s) の m R N A 発現を減少させた (図 3 B、C、F、G)。同様に、U P R 経路の重要な構成要素である C / E B P h o m o l o g o u s p r o t e i n (C H O P) は骨髄間質細胞の存在下で下方制御された (図 3 D、H)。

【 0 1 3 7 】

骨髄ニッチはレチノイド不活性化酵素である C Y P 2 6 を発現させることにより造血幹細胞 (H S C) 分化を制御する。C Y P 2 6 酵素は骨髄間葉細胞では高発現したが、それらの発現は M M 細胞では殆ど検出できなかった。レチノイドシグナル伝達は P C 分化を促進し I g 分泌を増強するので、間質 C Y P 2 6 が M M 細胞での B 細胞表現型の誘導に関与しているか否かを確かめた。このために、共培養条件を C Y P 2 6 阻害剤の R 1 1 5 8 6 6 (R 1 1 5) 又は C Y P 2 6 耐性 R A 受容体 選択的 (R A R 選択的) レチノイド I R X 5 1 8 3 (I R X) で処理した。間質共培養物を R 1 1 5 又は I R X のいずれかとともにインキュベートすると、全てのマーカーが液体対照条件のレベルに匹敵するレベルまで回復した (図 3 A ~ H)。さらに、パン R A R アンタゴニストの A G N 1 9 4 3 1 0 (A G N) での M M 細胞の処置は骨髄間質細胞により誘導された変化を模倣し (図 3 A - H)、P C 分化を制限した。

10

【 0 1 3 8 】

C D 1 3 8 の発現は、正常 P C 分化の特徴であり、また、M M の P C の特徴でもある。P C マーカーの m R N A レベルと一致して、表面 C D 1 3 8 発現は骨髄間質細胞との共培養又は A G N とのインキュベーションにより著しく減少した。骨髄間質細胞共培養物を R 1 1 5 又は I R X とともにインキュベートすると M M 細胞での C D 1 3 8 発現が回復した。R 1 1 5 は定量逆転写 P C R (q R T - P C R) 又はフローサイトメトリーによる液体条件での分化マーカーの発現量に顕著な影響を示さなかったが、I R X は骨髄間質の存在にかかわらず匹敵する変化を誘導した。まとめると、これらのデータは、レチノイドシグナル伝達が M M 細胞の P C 分化を促進し、このプロセスが間質 C Y P 2 6 介在性の R A 代謝により遮断されることを示唆している。

20

【 0 1 3 9 】

《 低 R A 微小環境は B T Z 耐性を誘導する 》

減少したレチノイドシグナル伝達が骨髄ニッチ内での B T Z 耐性に寄与するか否かを明らかにするために、M M 細胞株及び M M の C D 1 3 8 + 初代細胞を骨髄間質とともに 5 日にわたりインキュベートし、その後、B T Z 処置を行った。骨髄間質の不在下 (液体) では、M M 細胞は B T Z への感受性が高かった (図 4 A ~ B)。一方、骨髄間質とのインキュベーションは B T Z 耐性を誘導し、これは R 1 1 5 を介した C Y P 2 6 阻害により又は C Y P 2 6 耐性レチノイド I R X により克服された。さらに、パン R A R アンタゴニストの A G N での M M 細胞の処置は骨髄間質細胞により誘導された変化を模倣し (図 5)、B T Z 感受性を減少させた。

30

【 0 1 4 0 】

微小環境依存的化学防御を克服するための戦略は骨髄ニッチから末梢循環へのがん細胞の動員に集中してきていた。M M 細胞の表現型及びその結果生じる B T Z 耐性の変化が骨髄間質からの分離 (動員を模倣するプロセス) の際に失われるか否かを分析した。このために、H 9 2 9 細胞を 5 日間の間質共培養後に骨髄間葉細胞から分離し、0 から 4 8 時間にわたり新鮮な培地 (1 0 % F B S を含む R P M I) で培養し、その後、B T Z で処理した。興味深いことに、M M 細胞は間質から剥がした後 4 8 時間までにわたり B T Z への部分的な耐性を維持し続けた (図 5)。さらに、R 1 1 5 による共培養条件の処置は B T Z 耐性表現型の発達を防いだ (図 5)。従って、M M 細胞表現型の変化により誘導された微小環境依存的 B T Z 耐性は腫瘍動員により即座に逆になるわけではない。

40

【 0 1 4 1 】

レチノイドが M M での B T Z 活性を増加させ得るか否かを検査するために、全身 M M 異種移植を瘦せ型糖尿病重症複合免疫不全 I L - 2 受容体 - K O (N S G) マウスの尾の静脈を介した 2×10^6 H 9 2 9 ルシフェラーゼ + (L u c +) 細胞の注射により行った。被験動物は無作為化し I R X、B T Z、又はこれらの組み合わせを受けさせ、疾患負荷

50

を生物発光イメージングにより毎週追跡した（図6）。BTZ処置マウスは未処置対照群と比べて減少した腫瘍成長を示した。一方、いくつかのMM細胞は生物発光の継続的増加によって示されるようにBTZへの耐性を保持し続けた。同様に、IRX単独投与処置マウスは未処置対照群と比べて減少した腫瘍成長を示した。最も重要な点として、IRXがMM細胞をBTZに感受性とし、疾患負荷の有意な（ $P < 0.01$ ）減少をもたらした。まとめると、これらのデータは、間質CYP26により作られた低RA微小環境がBTZ耐性表現型を誘導し、これが骨髓ニッチからの移動後でさえも維持されることを示した。

【0142】

《MM細胞は間質CYP26を誘導する》

最近の研究から、間質細胞が防御的微小環境を提供するのみならず、がん細胞が補強ニッチを積極的に改変し作り上げるといふ、二方向性クロストークの存在が示されてきている。そこで、骨髓間質がレチノイドを不活性化する能力を強化することによりMM細胞が防御的微小環境を補強するか否かを確かめた。間質CYP26発現はMM細胞との24時間の共培養後の骨髓間葉細胞でのqRT-PCRにより分析した。アイソエンザイムのCYP26A1は調べた3種のMM細胞株の全てで高く上方制御された（図7A～C）。対照的に、アイソエンザイムのCYP26B1は僅かから零のmRNAレベルの変化を示した。また、MM細胞由来の条件付け培地はそれほどではないものの骨髓間質細胞でCYP26A1を上方制御した。このことは、共培養実験での物理的相互作用の存在により、又は、条件付け培地実験でのMM細胞による可溶性リガンドの継続的産生の欠如により、説明できる。後者と一致して、物理的接触を妨げるものの可溶性因子の拡散を許すTranswellによりMM及び骨髓間質細胞が分離されたときに間質CYP26A1は高く上方制御された（図7A～C）。

【0143】

MM細胞は、骨髓間質区画に影響し得るソニックヘッジホッグ（SHH）などのヘッジホックリガンドに加えて、サイトカイン（IL-1、IL-3、IL-6、TNF- α ）をはじめとする様々な可溶性因子を産生する。そこで、これらの因子のいずれが骨髓間質細胞で観察されたCYP26A1の上方制御に関与しているかを確かめた。調べた可溶性因子のなかで、SHHのみがCYP26A1の持続的過剰発現を生じ、IL-1、IL-3、IL-6、及びTNF- α は顕著な効果を示さなかった。SHHは、骨髓間質細胞により発現され、そのため、自己分泌様式でヘッジホッグ経路を活性化できるかもしれないが、その発現が骨髓間質で検出されるものと比べてMM細胞中で相当に高かったことから、傍分泌活性化が主要な役割を担っていることを示唆している。このことと一致して、MM細胞でのSHHのmRNAレベルとprotein patched homolog 1（PTCH1）の発現により求めた間質ヘッジホッグシグナル伝達の活性化との間には統計的に有意な相関がみられた。さらに、間質ヘッジホッグの活性化はCYP26A1上方制御と顕著に相関していた。具体的には、SHHの発現が最も高いMM.1S細胞は間質細胞でのPTCH1及びCYP26A1の両方の最も高い発現も誘導した。SHHは1時間未満の半減期を有し、このことは共培養及びTranswell実験で観察されたものと比べた場合の間質CYP26A1発現へのMM条件付け培地の抑制的な効果を説明できるかもしれない。

【0144】

この相互作用における傍分泌ヘッジホックの役割を確かめるために、smoothed（Smoo）（SHHシグナル伝達を変換する膜受容体）を間葉区画において遺伝子レベルでノックアウトした。このために、Smoo^{f1/f1}マウス由来の骨髓間葉細胞にCreリコンビナーゼをコードするレトロウイルスベクターを形質導入した（Smoo-KO間質）。空のレトロウイルスベクターを形質導入したマウスSmoo^{f1/f1}間質細胞を対照として用いた（WT間質）。形質導入骨髓間質細胞を24時間にわたりMM細胞と共培養した。期待通り、Smoo-KO間質はWT間質に比べMM細胞に反応してCyp26a1を上方制御する能力が減少していた（図8A～C）。同様に、SMO抑制剤のシクロパミンはMM細胞による間質Cyp26a1上方制御を部分的に克服した。これらのデー

10

20

30

40

50

タは、MM細胞が傍分泌SHHを介して少なくとも部分的に間質CYP26発現を調節することを示唆している。

【0145】

《MM細胞により産生された傍分泌ヘッジホッグは防御的微小環境を補強する》

間質CYP26活性がMM細胞でのBTZ耐性に関与しているかもしれないという観察結果をもとに、MM細胞により分泌された傍分泌ヘッジホッグがレチノイド代謝を制御することにより化学防御ニッチを補強するか否かを評価した。まず、ヘッジホッグシグナル伝達の調節が、これまでに観察されたレチノイド依存的表現型と似ているかを調べた。Smo-KO間質共培養物での傍分泌ヘッジホッグシグナル伝達の阻害は、H929（図11A～D）及び初代CD138+MM細胞（図11E～H）でのPC分化（BCL6の下方制御並びにBLIMP1、XBP1、及びCHOPの上方制御）を回復させた。また、CD138の表面発現もSmo-KO間質の存在下で回復された。期待通り、これらの知見はWT間質に比べSmo-KO間質の存在下で処置したMM細胞のBTZへの増大した感受性を連想させるものであった。

【0146】

傍分泌ヘッジホッグが実際にレチノイドを不活性化する骨髓間質の能力を増加させることによりBTZ耐性表現型を誘導することを確かめるために、WT（WT-Cyp26a1）及びSmo-KO（Smo-KO-Cyp26a1）の間質細胞で同程度のCYP26A1レベルを得るために、Smo-KO間質でのCyp26a1発現をレンチウイルス媒介遺伝子導入（pBABE-Cyp26a1）を介して回復させた。傍分泌ヘッジホッグの役割がレチノイドシグナル伝達と独立しているならば、Smo-KO間質が比較的B細胞表現型及びBTZ耐性を誘導できないことは、Cyp26a1上方制御の後でさえも引き続きみられるはずである。しかし、Cyp26a1過剰発現は、Smo-KO間質がB細胞表現型を誘導する能力を回復させ、分化マーカーの発現及びBTZ耐性をWT及びWT-Cyp26a1間質共培養条件で検出されるレベルに匹敵するレベルまで回復させた。これらの知見は傍分泌ヘッジホッグがCyp26a1上方制御を介して防御ニッチを補強するという仮説に一致している。

【0147】

骨髓間質により作られMM細胞により傍分泌ヘッジホッグシグナル伝達を介して強化された低RA環境がどの程度までBTZ耐性に寄与するのかを調べるために、MM-ニッチ間相互作用の異種移植モデルを開発した。各マウスは2箇所の皮下腫瘍を持っており、これらの皮下腫瘍はH929のLuc+細胞とWT間質（前部腫瘍）又はSmo-KO間質（後部腫瘍）のいずれかとからなる。マウスは、IRX（10mg/kg、腹腔内、毎日）、BTZ（0.5mg/kg、腹腔内、毎週2回）、又はこれらの組み合わせにより処置した。WT間質又はSmo-KO間質を持つ腫瘍の成長は未処置群又はIRX処置群では異なるものではなかった（図9及び10）。インビトロのデータと一致して、WT間質を有する腫瘍は生物発光の指数関数的増加により確かめたところBTZ処置が効かなかったが、Smo-KO間質を持つ腫瘍は顕著な反応を示した（図8）。さらに、IRX及びBTZの併用は間質区画の表現型によらず顕著且つ同等の反応をもたらした（図10）。IRX及びBTZを併せて受けた処置群のいくつかの腫瘍は解剖学的研究後であっても完全に退縮しているようにみえたが、この群の全てのマウスについてあてはまるわけではない。処置後の腫瘍のフローサイトメトリー分析から、WT間質又はSmo-KO間質のインビボの成長に差がないことが明らかとなった。まとめると、これらのデータは、MM細胞から分泌された傍分泌ヘッジホッグがCYP26A1上方制御を介して骨髓ニッチ内のレチノイドシグナル伝達及びBTZ感受性を調節することを示唆している。

【0148】

PCは、それらの高いIg分泌を考えると、プロテアソーム阻害に特に感受性であり、これはこの薬剤ファミリーで処置したMM患者で得られる高い寛解率を説明するものである。それにもかかわらず、BTZは治癒を成し遂げることができないでいた。MM細胞集団は、B細胞と表現型が類似するが、BTZ処置を生き延び、PCへと分化することがで

き、もとの疾患を繰り返す。MMのPCの効率的な排除にもかかわらず、これらのMMのB細胞はBTZ処置を生き延びMRDの最中に主要な細胞集団となる。結果として、MMのB細胞を標的とする新規の治療戦略が必要とされる。間質CYP26により作られた低レチノイド微小環境はMMで未成熟BTZ耐性表現型を維持した。従って、これらのデータはCYP26耐性レチノイドを用いてMM微小環境でのBTZ耐性を克服する治療機会を明らかにする。

【0149】

多くの悪性血液疾患で広く研究されているにもかかわらず、分化療法としてレチノイドの使用は急性前骨髄球性白血病(AML)の患者でのみ有益性が立証されている。骨髄間質細胞によるCYP26発現は天然レチノイドの臨床的有効性がそのインビトロでの活性にもかかわらずないことを説明するかもしれない。最近の研究からがん細胞を分化させそれらを標的療法感受性にする際のCYP耐性合成レチノイドの効能を浮き彫りになった。例えば、AM80は、FMS-like tyrosine kinase 3/interleukin 3 receptor (FLT3/ITD)型急性骨髄性白血病(AML)細胞を分化させ、FLT3阻害剤へのそれらの感受性を増加させる。同様に、合成レチノイドは、BCR-ABL1+白血病リンパ芽球での幹細胞表現型を覆し、インビボでのチロシンキナーゼ阻害剤(TKI)療法へのそれらの反応性を大幅に増加させる。間質CYP26を迂回するこうした戦略はレチノイド療法の臨床的有効性を拡張し得る。

10

【0150】

MM細胞は薬剤耐性の維持及び骨髄ニッチ内での生存のために物理的接触を用いている。従って、間質化学防御を克服するための治療戦略は、CXCR4などの接着分子又はケモカインを標的とすることによる骨髄ニッチからの悪性細胞の動員に集中していた。低レチノイド微小環境に暴露されたMM細胞は当該細胞が当該ニッチから移動した後であっても維持されるBTZ耐性表現型を獲得する。初期臨床研究はBTZと併せてCXCR4阻害剤のプレリキサホルを受けている再発/難治患者での改善された奏効率を示している。一方、このデータは、こうした動員手法がMMのB細胞を排除するのに不十分であるかもしれないことを示唆している。

20

【0151】

最近の研究から、間質細胞が化学防御ニッチを提供するのみならず、がん細胞も積極的にこうした微小環境を成形及び補強するという、二方向性コミュニケーションの存在が示されてきている。傍分泌ヘッジホッグの役割が固形悪性腫瘍で広く調べられてきている。このシステムでは、がん細胞により分泌されたりガンドが隣接する間質細胞でのヘッジホッグ経路を活性化し、それらの化学防御特性を完全には理解されていない機序を介して強化する。このデータは、傍分泌ヘッジホッグが、CYP26の上方制御を介してレチノイドを不活性化する間質の能力を増加させることにより少なくとも部分的には働き、これにより、MMでBTZ耐性表現型を維持することを示唆している。興味深いことに、CYP26上方制御は、『活性化間質サブタイプ』、及び、傍分泌ヘッジホッグシグナル伝達が確立している疾患である膵臓がんの患者での顕著に悪化した予後と関連している。がん細胞により産生されるヘッジホッグリガンドがこの『活性化』された間質表現型及び高いCYP26レベルにどの程度寄与するかは知られていない。さらに、骨髄間葉細胞は遊走しこうした腫瘍の間質区画内の関連細胞集団となる。

30

40

【0152】

骨内膜領域は、MM、AML、及び固形腫瘍由来の微小転移疾患の主要ニッチである。骨芽細胞領域内では、こうしたがん細胞は休止的幹細胞表現型を維持し化学療法誘導アポトーシスから守られている。こうしたがん細胞は化学療法を生き延び疾患を永らえさせるのに正常造血幹細胞と同じく骨髄微小環境由来の合図に頼っている可能性がある。骨髄微小環境はCYP3A4及び他の解毒酵素の発現を介して様々な化学療法剤を直接的に不活性化することによりMM及びAML細胞を守っていた。現在、微小環境媒介薬剤耐性の別の潜在的機序として、薬剤耐性B細胞表現型を維持する低レチノイドニッチの形成が示さ

50

れている。CYP26 耐性レチノイド (IRX5183) が骨髄ニッチ内で MM に対する BTK の活性を増強したことは、この耐性機序を迂回する治療機会を提供する。

【0153】

(実施例 6)

(急性骨髄性白血病での IRX5183 の第 I / II 相臨床研究)

急性骨髄性白血病 (AML) は若年患者の 30 ~ 40 % 及び老齢患者の極少数でしか標準化学療法レジメンによる処置が成功しない。急性前骨髄球性白血病 (APL) でのオールトランスレチノイン酸 (ATRA; レチノイン酸、RA) の臨床活性を考慮すると、ATRA は他の AML サブタイプに関する魅力的な治療戦略であると考えられた。APL 及び最も非 APL 的な AML は最終分化を経るのでインビトロでは ATRA による処置が成功する。しかし、ATRA は臨床試験における非 APL 的な AML での有効性が立証されていない。

10

【0154】

レチノイン酸 (RA) は造血幹細胞 (HSC) の分化において重要な役割を果たす。シトクロム P450 酵素の CYP26 は、骨髄 (BM) 間質細胞内で発現しているが、RA を不活性化し、これにより、HSC の分化を制限する。数種類の AML 細胞株は、APL 及び非 APL の両方が、RA 誘導性分化に感受性だが、この効果は骨髄間質の存在化では無効化された。そこで、CYP26 経路による代謝に耐性であるレチノイドで AML を処置することが有用であるかもしれない。IRX5183 は、CYP26 代謝に耐性である RAR 選択的アゴニストである。AML での IRX5183 の使用はこの疾患への新規標的手法を提供し、これはこの血液悪性腫瘍及び他の血液悪性腫瘍の予後を変える可能性を秘めている。そこで、再発 / 難治 AML での IRX5183 の第 I / II 相臨床試験が行われるものである。

20

【0155】

研究目的

《用量漸増相主目的》

- ・用量制限毒性 (DLT) 及び最大耐量 (MTD) を決定することで再発性及び難治性 AML の患者での IRX5183 の投与にともなう安全性及び毒性を評価する。
- ・末梢血中の IRX5183 の薬物動態 (PK) パラメータを決定する。

【0156】

《用量漸増相副目的》

- ・骨髄内での IRX5183 の PK パラメータを決定する。
- ・異なる用量レベルでの、IRX5183 にともなう分化プロファイル、骨髄細胞内レチノイド濃度、芽球数、及び細胞遺伝学を明確にする。

30

【0157】

《用量拡大相主目的》

- ・最適用量レベルでの AML 患者における、分化マーカー、骨髄レチノイド濃度、芽球数、及び細胞遺伝学を明確にする。
- ・患者のコホートの両方での、完全奏効 (CR)、部分奏効 (PR)、及び血液学的改善 (HI) に関する、IRX5183 の予備効力データを得る。

40

【0158】

《用量拡大相副目的》

- ・両方の患者コホートでの最適用量での IRX5183 の毒性プロファイルを明確にする。
- ・IRX5183 誘導性の分化及び毒性と臨床応答との間の相関についてのデータを得る。

【0159】

《適格基準 - 用量漸増 / 決定》

- ・患者は、インフォームドコンセント書面を理解し自発的に署名を行う能力を有せねばならない。

50

- ・年齢は、インフォームドコンセント署名時点で18～70歳。
- ・研究訪問予定及び他の要件を遵守できること。
- ・余命が6ヶ月より長いこと。
- ・同種骨髄移植の前又は後に、導入化学療法又は低メチル化剤療法の過程を以前に1回又は2回受けていた又は完全寛解後に再発した病理学的に確認済みのAMLを有しており、且つ、さらなる強化化学療法が計画されていない必要がある。
- ・患者は、造血成長因子をはじめとする自身の疾患への他の処置（AML患者での芽球数を制御するためのヒドロキシウレアを除く）を試験の開始の3週間以内に受けていてはならず、以前の療法の毒性のすべてから（Grade 0又は1まで）回復しているべきである。
- ・治験登録時にECOGパフォーマンスステータス 2、又は、Karnofsky 60%。
- ・試験室試験結果が以下の範囲である。
 - ・MDRDにより計算したクレアチニンクリアランス（CrCL） $>50\text{ ml / 分 / }1.73\text{ 平方メートル}$ 。
 - ・総ビリルビン 2.0 mg / dL （ジルベール症候群、溶血、又は無効造血のために、AST（SGOT）及びALT（SGPT） $3 \times \text{ULN}$ でない場合に限る）。
- ・妊娠可能な女性は妊娠検査で陰性でなければならない。
- ・患者は、CNS若しくは肺白血球停滞、播種性血管内凝固症候群、又はCNS白血病の臨床的証拠を有するものであってはならない。
- ・患者は、重篤又は制御不能な医学的状态であってはならない。

10

20

30

40

50

【0160】

《適格基準 - 用量拡大》

本相は、上記の適格基準に従うものであり、照会時に以下に規定される高リスク特徴を備える病理学的に確認済み慢性骨髄単球性白血病（CMML）を含む。

- ・INT-2又は高IPSSスコア。
- ・5%以上の骨髄芽球、又はRBC若しくは血小板の輸血依存性、異常核型、又は増殖特徴を備えるCMML。

【0161】

《処置計画》

用量漸増相について、IRX5183は毒性又は疾患が進行するまで28日周期で継続的に1日用量で経口投与される。最初の4周期のそれぞれの間での骨髄検査は骨髄の状態及び反応を決定する。単剤のIRX5183の開始用量（DL1）は $30\text{ mg / m}^2\text{ / 日}$ であり、個別の用量レベルは下記の通りである。

【0162】

【表4】

用量レベル(DL)	1日用量(mg / m^2)
DL(-1)	15
DL1	30
DL2	45
DL3	60
DL4	75

【0163】

本研究の相 - 拡大パートは、本研究の相 - 漸増パートで特定された最適用量を用い、26名の患者を採用するものである。

【0164】

AML患者でのIRX5183の毒性プロファイルを決定するために、同時に3名の対象を加入することを目的とする、典型的な3+3デザインに従って、用量レベルを探索する。DL1を受けた3名の患者が誰もDLTを経験しない場合、別の3名の患者が次に高

い用量レベルで処置されることになる。一方、最初の3名の患者の1名がDLTを経験する場合、さらに3名の患者が同じ用量レベルで処置されることになる。3～6名の患者のコホートのうち少なくとも2名の患者がDLTを経験するまで用量の漸増は継続する。2名以上の患者がDL1でDLTを経験する場合、次の患者はDL(-1)に採用される。単剤のIRX5183のMTDは、6名の対象からなるコホートで0又は1DLTがみられる最高用量となる。

【0165】

第2相の拡大コホートについて、26名の患者(試験の最初の相においてMTDで処置された患者を含む)を採用することを目的に、AMLの患者がMTDで採用され続ける。患者は、毒性又は疾患の進行を経験するまで、単剤のIRX5183を続ける。患者が完全寛解を遂げた場合、患者は、移植、化学療法を統合する、及び/又は、維持IRX5183を続けるという選択肢を有する。患者が部分奏功又は血液学的改善を遂げた場合、患者はIRX5183と併せてサルベージ療法を得るという選択肢を有する。

10

【0166】

《薬物動態分析》

IRX5183の血漿濃度は、漸増相及び拡大相について、LCM-MS(液体クロマトグラフィー-質量分析タンデム)を用いて、薬物動態により、安全及び有効レチノイドレベルを目標として、評価される。1pMの標的ピークレベルは全身毒性を回避するはずだが、一方で、局所的骨髄ニッチレチノイドレベルを保存すると推定される。IRX5183の血漿濃度は、14日目に前投与を行った単一の2mL血液サンプルを用いて求められる。サンプルは指定の分析実験室に輸送され分析される。

20

【0167】

《薬物力学分析》

標準的臨床応答基準の評価に加え、骨髄細胞(正常HSC及びLSC)濃度、末梢血及び骨髄の芽球数、分化マーカー、アポトーシス、及びクローン性増殖を決定する。骨髄吸引物及び生検は、ベースライン時、14日目、及び、療法の最初の4周期のそれぞれの終わりに、獲得される。分化は、フローサイトメトリーを用いて、14日目の骨髄上のCD45陽性細胞及びALDH hint LSC上の分化マーカーの発現をベースラインと比較して、評価される。また、14日目に白血病性クローンが依然として存在するかを決定するために、ベースライン異常の患者について各周期の後にFISH分析が行われる。

30

【0168】

期待される結果

RAR 選択的アゴニストを受ける患者は、末梢血及び骨髄における全血球数及び白血病芽球の百分率割合をはじめとする血液学的パラメータに基づき、応答基準について監視される。改善された好中球数と、骨髄内の芽球の減少した百分率割合をとまなう赤血球細胞及び血小板の減少した輸血要求と、これらの悪性芽球の分化及びアポトーシスの誘導とを有する患者は、療法に反応性であるとみなせる。研究患者へのこの療法の影響を判断するために、生活の質のパラメータ(痛み、一般状態、並びに、日常生活動作及び手段的日常生活動作への参加など)が評価される。このRAR 選択的アゴニストの使用はAML及び固形悪性腫瘍を有する患者での血液学的パラメータ及び生活の質のパラメータを改善すると期待される。加えて、CYP26耐性であるRAR アゴニストの使用は、分化をもたらし、ひいては、これらの患者の骨髄内の微小残存病変の排除をもたらし得る。

40

【0169】

(実施例7)

(急性骨髄性白血病でのIRX5183 + CAR導入免疫細胞の臨床研究)

適格基準は実施例6と同様である。

【0170】

《処置計画》

本研究は、相-漸増研究(実施例6)で特定されたIRX5183の最適用量を用い、26名の患者がそれぞれ採用されることになっている、CAR導入免疫細胞のみを受ける

50

患者の群（群１）及び I R X 5 1 8 3 及び C A R 導入免疫細胞の両方を受ける患者の群（群２）の２種類の独立した群を含む。

【 0 1 7 1 】

全ての患者は、D - 5 から D - 3 の日にフルダラビンを $25 \text{ mg} / \text{m}^2$ で静脈内投与され、D - 3 の日に $900 \text{ mg} / \text{m}^2$ のシクロホスファミドを投与される。

【 0 1 7 2 】

群１の患者は、M i n e g a w a 等 (P L o S O n e 1 2 : e 0 1 7 2 6 4 0 、 2 0 1 7) に開示及び調製された自己 C D 3 3 - C A R - T 細胞を、単回ボース投与で 5×10^6 細胞 / 患者体重 kg の用量で静脈内投与されて、受ける。

【 0 1 7 3 】

群２の患者は、自己 C D 3 3 - C A R - T 細胞療法 (D - 3 0) を始める前に 3 0 日にわたり毎日の I R X 5 1 8 3 で処置され、6 ヶ月にわたり又は毒性若しくは進行が生じるまで継続させられる。C D 3 3 - C A R - T 細胞は、I R X 5 1 8 3 投与の開始後の 3 0 日目に単回ボース投与で 5×10^6 細胞 / 患者体重 kg の用量で静脈内投与される。

【 0 1 7 4 】

《薬物動態分析》

I R X 5 1 8 3 の血漿濃度は、漸増相及び拡大相について、L C M - M S (液体クロマトグラフィー - 質量分析タンデム) を用いて、薬物動態により、安全及び有効レチノイドレベルを目標として、評価される。1 p M の標的ピークレベルは全身毒性を回避するはずだが、一方で、局所的骨髄ニッチレチノイドレベルを保存すると推定される。I R X 5 1 8 3 の血漿濃度は、1 4 日目に前投与を行った単一の 2 m L 血液サンプルを用いて求められる。サンプルは指定の分析実験室に輸送され分析される。

【 0 1 7 5 】

《薬物力学分析》

標準的臨床応答基準の評価に加え、骨髄細胞 (正常 H S C 及び L S C) 濃度、末梢血及び骨髄の芽球数、分化マーカー、アポトーシス、及びクローン性増殖を決定する。骨髄吸引物及び生検は、ベースライン時、1 4 日目、及び、療法の最初の 4 周期のそれぞれの終わりに、獲得される。分化は、フローサイトメトリーを用いて、1 4 日目の骨髄上の C D 4 5 陽性細胞及び A L D H i n t L S C 上の分化マーカーの発現をベースラインと比較して、評価される。また、1 4 日目に白血病性クローンが依然として存在するかを決定するために、ベースライン異常の患者について各周期の後に F I S H 分析が行われる。

【 0 1 7 6 】

期待される結果

R A R アゴニスト + C D 3 3 - C A R - T 療法を受ける患者は、末梢血及び骨髄における全血球数及び白血病芽球の百分率割合をはじめとする血液学的パラメータに基づき、応答基準について監視される。改善された好中球数と、骨髄内の芽球の減少した百分率割合をとらなう赤血球細胞及び血小板の減少した輸血要求と、これらの悪性芽球の分化及びアポトーシスの誘導とを有する患者は、療法に反応性であるとみなせる。研究患者へのこの療法の影響を判断するために、生活の質のパラメータ (痛み、一般状態、並びに、日常生活動作及び手段的日常生活動作への参加など) が評価される。この R A R アゴニスト + C D 3 3 - C A R - T 療法の使用は A M L 及び固形悪性腫瘍を有する患者での血液学的パラメータ及び生活の質のパラメータを改善すると期待される。加えて、C A R - T 療法と併せた C Y P 2 6 耐性である R A R アゴニストの使用は、分化をもたらす、ひいては、これらの患者の骨髄内の微小残存病変の排除をもたらす得る。

【 0 1 7 7 】

(実施例 8)

(多発性骨髄腫での I R X 5 1 8 3 + C A R 導入免疫細胞の臨床研究)

多発性骨髄腫 (M M) は、典型的には骨髄内でみられる形質細胞として知られる白血球細胞が制御不能に増え腫瘍へと発達するときに生じる血液がんの一形態である。米国では、今年、凡そ 3 0 0 0 0 の多発性骨髄腫の新規症例が診断されるだろう。この疾患を発達

10

20

30

40

50

させるリスク因子はほとんど知られておらず、腎臓や他の臓器に進行するまで診断につながるような兆候や症状を引き起こさない可能性がある。

【0178】

B細胞成熟抗原（BCMA）はMMのがん性形質細胞を含む全ての形質細胞で発現している。自己BCMA-CAR-T細胞及びMMでのその使用は、Ali等（Ali Set al、Blood 128：1688-1700、2016）に開示されている。

【0179】

《採用基準》

- ・患者は、MM細胞がBCMAを発現し、IMiD及びPIを含む療法の2+の以前のラインでこれまでに処置されており、難治性、持続性、又は進行性の疾患のいずれかを有している、病理学者により病理学的に確認済みのMMを有している必要がある。
- ・年齢 18歳
- ・クレアチニン 2.0mg/dL、直接ビリルビン 2.0mg/dL、AST及びALT 3.0×正常上限（ULN）
- ・パルス酸素濃度計による部屋空気での酸素飽和度が92%以上であることにより評価して十分な肺機能。

【0180】

《排除基準》

- ・Karnofskyパフォーマンスステータス<70。
- ・妊娠中又は授乳中の女性。出産適齢期の女性及び男性は、本研究中に有効な避妊法を採用し、全ての処置の終了後の1年にわたり続けるべきである。
- ・ECHO又はMUGAスキャンにより評価して（LVEF<40%の）心機能減少。
- ・以下の心疾患の患者は排除される。
 - ・ニューヨーク心臓協会（NYHA）ステージIII又はIVのうっ血性心不全
 - ・採用前の6ヶ月以内の心筋梗塞。
 - ・臨床的に有意な心室性不整脈、又は、血管迷走神経では全くない若しくは脱水によるものではないと考えられる原因不明の失神の履歴。
 - ・重篤な非虚血性心筋症の履歴。
- ・HIV又は活動性のB型肝炎若しくはC型肝炎の感染症を有する患者は不適格である。
- ・経過観察又はホルモン療法を除く療法を必要とする悪性腫瘍により定義して任意の活動性重複悪性腫瘍（ただし、皮膚の扁平上皮癌及び基底細胞癌を除く）を有する患者。
- ・以前に同種移植を受けた患者は、全身性ステロイド又は他の全身性リンパ球毒性療法を必要としたGVHDを以前又は現在経験したのでない限り、有効。
- ・採取の2週間以内に全身性ステロイド（副腎補充のみを目的とするものを除く）を受けた患者。
- ・結合組織疾患、ぶどう膜炎、サルコイドーシス、炎症性大腸疾患、又は多発性硬化症をはじめとする活動性自己免疫疾患である、又は、長期の免疫抑制療法を必要とする（治験責任医師の判断で）重篤な自己免疫疾患の病歴を有する。
- ・遺伝子導入T細胞により以前の処置。
- ・骨髄腫による以前の又は活動性のCNS合併症（例えば、軟髄膜炎）。例えば腰椎穿刺によるこれらのスクリーニングは疑わしい症状又はX線写真での発見が存在する場合のみ必要である。
- ・形質細胞性白血病。
- ・既存の（活動性の又は重篤な）神経障害（例えば、既存の発作障害）。
- ・活動性の制御不能な急性感染症。
- ・処置医師の意見に基づき患者を本研究に不適切とし得る任意の他の問題点。

【0181】

導入T細胞注入はコンディショニング化学療法（シクロホスファミド及び任意でフルダラビン）の完了後の2～7日に投与される。BCMA-CAR-T細胞は1～10×10

⁶ C A R - T細胞 / k g の用量で投与される。

【 0 1 8 2 】

コンディショニング化学療法は、シクロホスファミド (D - 7 から D - 2 の日に 1 回、
静脈内、 $3000\text{ mg} / \text{m}^2$)、又は、最終日が D - 7 から D - 2 の日に生じる低強度 c
y / f l u (シクロホスファミド $300\text{ mg} / \text{m}^2$ / 日 $\times 3$ + フルダラビン $30\text{ mg} / \text{m}^2$ / 日 $\times 3$) を含む。

【 0 1 8 3 】

本研究は、 $15 \sim 75\text{ mg} / \text{m}^2$ / 日の範囲 (この範囲は実施例 6 の臨床試験の結果に
基づき狭められ得る) 内の I R X 5 1 8 3 の 2 種類の用量を用い、26 名の患者がそれぞ
れ採用されることになっている、B C M A - C A R - T細胞単独を受ける患者の群 (群 1
)、I R X 5 1 8 3 用量 1 で I R X 5 1 8 3 及び B C M A - C A R - T細胞の両方を受け
る患者の群 (群 2)、I R X 5 1 8 3 用量 2 で I R X 5 1 8 3 及び B C M A - C A R - T
細胞の両方を受ける患者の群 (群 3) の、3 つの独立した群を含む。

10

【 0 1 8 4 】

群 1 の患者は、コンディショニング化学療法後の D 0 から始めて単回ボラス投与で
 $1 \sim 10 \times 10^6$ 細胞 / 患者体重 k g の用量で静脈内投与される B C M A - C A R - T で
処置される。

【 0 1 8 5 】

群 2 及び群 3 の患者は、B C M A - C A R - T細胞を始める前に 30 日にわたり毎日の
I R X 5 1 8 3 で処置され、6 ヶ月にわたり又は毒性若しくは進行が生じるまで継続させ
られる。B C M A - C A R - T細胞は、 $1 \sim 10 \times 10^6$ 細胞 / 患者体重 k g の単回ボ
ラス投与で静脈内投与される。

20

【 0 1 8 6 】

期待される結果

R A R アゴニスト + B C M A - C A R - T療法を受ける患者は、対象での B C M A -
C A R - T細胞の持続存在、腫瘍成長、転移などに基づき、応答基準について監視される
。研究患者へのこの療法の影響を判断するために、生活の質のパラメータ (痛み、一般状
態、並びに、日常生活動作及び手段的日常生活動作への参加など) が評価される。この R
A R アゴニスト + B C M A - C A R - T療法の使用は B C M A 発現腫瘍の患者での生活
の質のパラメータを改善し、疾患進行を防ぐと期待される。加えて、B C M A - C A R -
T療法と併せた C Y P 2 6 耐性である R A R アゴニストの使用は、分化をもたらし、ひ
いては、これらの患者の骨髄内の微小残存病変の排除をもたらし得る。

30

【 0 1 8 7 】

(実施例 9)

(メソテリン発現固形腫瘍での I R X 5 1 8 3 + C A R 導入免疫細胞の臨床研究)

メソテリンは、 40 KDa の細胞表面腫瘍分化抗原であり、メソテリン遺伝子によりコ
ードされる 69 KDa の前駆タンパク質に由来する。メソテリンの正常生物学的機能はほ
とんど知られていないままである。いくつかの研究は、メソテリンが C A 1 2 5 / M U C
1 6 の受容体であり、メソテリン - C A 1 2 5 間の相互作用が細胞接着を媒介するもので
あり、また、卵巣がんの転移における臨界点であるかもしれないことを示唆している。メ
ソテリン過剰発現は、腫瘍細胞増殖及び局所浸潤を促進し、悪化した無再発生存及び全生
存などの予後不良と関連する。腫瘍マーカーとして、血清中の可溶性メソテリンは悪性胸
膜中皮腫 (M P M) 及び卵巣がんの患者についての治療効果を診断し監視するのに重要な
役割を果たす。メソテリンは、胸膜、心膜、腹膜、精巣鞘膜をはじめとする正常組織では
低レベルで発現するが、M P M、卵巣がん、膵臓がん、及び非小細胞肺がんをはじめとす
る様々な悪性腫瘍では過剰発現している。正常組織での弱い発現と種々のがんでの強い発
現から、メソテリンは免疫に基づく療法のための魅力的な標的である。

40

【 0 1 8 8 】

患者は、骨髄非破壊的リンパ球枯渇準備レジメン、並びに、それに続く、自己抗メソテ
リン C A R 組み込み細胞 (m e s o - C A R - T細胞 ; A d u s u m i l l i 等 (S c i

50

Transl. Med. 6(261):26ra151、2014)に開示されている)の静脈注入と低用量静脈内アルデスロイキンを受けるだろう。

【0189】

白血球除去輸血により得られた末梢血単核細胞(PBMC)はT細胞成長を刺激するために培養されるだろう。形質導入は、抗メソテリンCARを含有するレトロウイルス上清に凡そ $1 \sim 5 \times 10^8$ 個の細胞を暴露することで開始される。患者は、シクロホスファミド及びフルダラビン(5日にわたり30分以上毎日IVPBで 25 mg/m^2 /日、及び、シクロホスファミドを1時間以上250ml D5W液でIVで 60 mg/kg /日 $\times 2$ 日)を含む骨髓非破壊的リンパ球枯渇準備レジメン、及び、それに続く、エクスビボCAR遺伝子導入PBMCの静脈注入と低用量アルデスロイキン(凡そ8時間(± 1 時間)毎に15分以上IVで 72000 IU/kg 、細胞注入の24時間以内に開始され高々5日にわたり最大15回の投与まで続けられる)を受けるだろう。

10

【0190】

《適格性》

18歳以上の患者は、メソテリンを発現する転移性又は切除不能性がんを有していなければならない、患者は、標準的治療を受けていたものの、当該治療に対し無応答者であった又は当該治療後に再発したものである。患者は、低用量アルデスロイキン投与について禁忌を有してはならない。

【0191】

《採用基準》

20

・メソテリンを発現する転移性又は切除不能性の測定可能がん。上皮型中皮腫及び膵臓がんについては、これらの腫瘍の全てがメソテリンを発現することが示されているので、メソテリン発現を評価する必要はない。他の転移性又は切除不能性がんについては、RT-PCR又は腫瘍組織上での免疫化学により評価して、メソテリンの発現が示されねばならない。二相型中皮腫は上皮成分内の細胞の50%超がメソテリンを発現せねばならない。

・患者は、転移性又は切除不能性疾患について、当該疾患に有効であることが知られているならば、少なくとも1種の全身性の標準的治療(又は有効なサルベージ化学療法レジメン)を以前に受けており、且つ、無応答者(進行性疾患)であった又は再発したものである必要がある。

30

・18歳以上且つ70歳以下。

・永続的委任状に署名する意思。

・インフォームドコンセントを理解しサインする能力がある。

・ECOG 0又は1の臨床パフォーマンスステータス。

・いずれの性別の患者も本研究の採用時から処置後最大4ヶ月まで避妊を実施する意思があるものでなければならない。

・血清学：

・HIV抗体に対して血清反応陰性。

・B型肝炎抗原に対して血清反応陰性且つC型肝炎抗体に対して血清反応陰性。C型肝炎抗体検査で陽性である場合、患者はRT-PCRにより抗原の存在についての検査を受け、HCV RNA陰性でなければならない。

40

・胎児への処置の潜在的有害効果のため、妊娠可能な女性は妊娠検査で陰性でなければならない。

・血液学：

・フィルグラスチムのサポートなしで $1000/\text{mm}^3$ 超の絶対好中球数。

・WBC($> 3000/\text{mm}^3$)。

・ $100000/\text{mm}^3$ 超の血小板数

・ 8.0 g/dl 超のヘモグロビン。

・化学分析：

・正常上限の2.5倍以下の血清ALT/AST。

・ 1.6 mg/dl 以下の血清クレアチニン。

50

・ 1 . 5 m g / d l 以下の総ビリルビン（ただし、3 . 0 m g / d l / 未満の総ビリルビンでなければならないジルベール症候群の患者を除く）。

・ 患者が準備レジメンを受ける時点で任意の以前の全身性治療から4週より長い時間が経過しておらねばならず、且つ、患者の毒性は1以下のグレードまで回復しておらねばならない（脱毛又は白斑などの毒性は除く）。

【0192】

《排除基準》

・ 肉腫型中皮腫の患者。
 ・ 妊娠又は授乳中の妊娠可能な女性。
 ・ 既知の脳転移を有する患者。
 ・ f u l l - d o s e の抗凝固剤療法を受ける患者。
 ・ 活動性全身性感染症（例えば、抗感染処置を必要とするもの）、凝固障害、又は任意の他の主要な内科的疾患。

・ 任意の形態の一次免疫不全。

・ 同時日和見感染。

・ 糖尿病性網膜症の患者。

・ 同時全身性ステロイド療法。

・ 本研究に用いられる任意の剤への重篤な即時型アレルギー反応の病歴。

・ 冠血行再建術又は虚血状態の履歴。

・ 以下を有する患者で検査して45%以下の文書化されたL V E F :

・ 臨床的に有意な心房性及び/又は心室性不整脈（これらに限定されるわけではないものの、心房細動、心室頻拍、第2度又は第3度房室ブロック、胸痛、又は虚血性心疾患を含む）。

・ 60歳以上の年齢。

・ 以下を有する患者で検査し予測して45%以下の文書化されたF E V 1 :

・ 喫煙の長期履歴（過去2年以内に20パック/年の喫煙）。

・ 呼吸器疾患の症状。

・ 任意の他の治験薬を受けている患者。

【0193】

コンディショニング化学療法は、シクロホスファミド（D - 7 から D - 2 の日に1回、静脈内、3000 m g / m²）、又は、最終日がD - 7 から D - 2 の日に生じる低強度 c y / f l u（シクロホスファミド3000 m g / m² / 日 × 3 + フルダラビン30 m g / m² / 日 × 3）を含む。

【0194】

本研究は、15 ~ 75 m g / m² / 日の範囲（この範囲は実施例6の臨床試験の結果に基づき狭められ得る）内のI R X 5 1 8 3の2種類の用量を用い、26名の患者がそれぞれ採用されることになっている、m e s o - C A R - T細胞単独を受ける群（群1）、I R X 5 1 8 3用量1でI R X 5 1 8 3及びm e s o - C A R - T細胞の両方を受ける群（群2）、I R X 5 1 8 3用量2でI R X 5 1 8 3及びm e s o - C A R - T細胞の両方を受ける群（群3）の、3つの独立した群を含む。

【0195】

群1の患者は、コンディショニング化学療法後のD0からはじめて単回ボラス投与で1 ~ 10 × 10⁶細胞/患者体重k gの用量で静脈内投与されるm e s o - C A R - Tで処置される。

【0196】

群2及び群3の患者は、m e s o - C A R - T細胞を始める前に30日にわたり毎日のI R X 5 1 8 3で処置され、6ヶ月にわたり又は毒性若しくは進行が生じるまで継続させられる。m e s o - C A R - T細胞は、1 ~ 10 × 10⁶細胞/患者体重k gの単回ボラス投与で静脈内投与される。

【0197】

期待される結果

RAR アゴニスト + meso - CAR - T療法を受ける患者は、対象での meso - CAR - T細胞の持続存在、腫瘍成長、転移などにに基づき、応答基準について監視される。研究患者へのこの療法の影響を判断するために、生活の質のパラメータ（痛み、一般状態、並びに、日常生活動作及び手段的日常生活動作への参加など）が評価される。この RAR アゴニスト + meso - CAR - T療法の使用は meso 発現腫瘍の患者での生活の質のパラメータを改善し、疾患進行を防ぐと期待される。加えて、meso - CAR - T療法と併せた CYP26 耐性である RAR アゴニストの使用は、分化をもたらし、ひいては、これらの患者の骨髄内の微小残存病変の排除をもたらし得る。

【0198】

（実施例10）

（肺がんでの IRX5183 + CAR 導入免疫細胞 + 標的免疫療法の臨床研究）

採用基準及び実験デザインは実施例9とだいたい同じで以下の通りである。

- ・群1：meso - CAR - T
- ・群2：IRX5183（実施例9で確立された最適用量）+ meso - CAR - T
- ・群3：meso - CAR - T + PD - 1 阻害
- ・群4：IRX5183 + meso - CAR - T + PD - 1 阻害

【0199】

用量、併用薬、及び結果の評価は、実施例9と同様である。

【0200】

（実施例11）

（CAR 導入T細胞の製造における IRX5183 の使用）

自己Tリンパ球は、患者の末梢血から精製され、支持細胞（自己の抗原提示細胞など）及び成長因子（IL - 2 など）とともに培養される。

【0201】

活性化工程の間、T細胞はCARをコードするウイルスベクターとともにインキュベートされ、数日後、希釈及び/又は培地交換によりベクターを培地から洗い流す。ウイルスベクターは、ウイルス機構を用いて患者細胞に付着し、細胞内への侵入の際に、ベクターはRNAの形態の遺伝物質を導入する。CAR - T細胞療法の場合、この遺伝物質はCARをコードする。RNAはDNAへと逆転写され、患者細胞のゲノムと永続的に一体化される。そのため、バイオリアクター内で細胞が分裂し成長して多数となる際にCAR発現は維持される。その後、CARは患者細胞により転写及び翻訳され、CARが細胞表面に発現される。ガンマレトロウイルスベクターよりも安全性の高い組み込み部位プロファイルを有するレンチウイルスベクターがCAR - T細胞療法の臨床試験では通常用いられる。

【0202】

その後、形質導入細胞はCAR - T療法を複数ラウンドのために所望の数まで培養される。培養細胞は将来の使用のために冷凍保存できる。

【0203】

RAR アゴニストは、CAR表現型の成長及び維持を促進するために、ウイルスベクターによる形質導入の前及び/又は後に培養物に含められる。

【0204】

特記のない限り、本明細書及び請求項において用いられる、成分、性質（分子量など）、反応条件などの量を表現する全ての数字は、全ての場合について、『約』という用語で修飾されているものとして理解されるべきである。本明細書では、『約』及び『凡そ』という用語は、10から15%、好ましくは、5から10%の範囲にあることを意味する。従って、そうでないことが記載されていない限り、本明細書及び添付の特許請求の範囲に記載の数値パラメータは、本願発明により得ようとする所望の性質に依存して変わり得る概算値である。請求項の範囲への均等論の適用を制限するわけではないが、最低限、各数値パラメータは、報告した有効数字の数を考慮し、通常の丸め手法を適用して解釈されるべきである。本発明の広い範囲を規定する数値範囲及びパラメータは概算値であるものの

10

20

30

40

50

、特定の実施例に記載の数値は可能な限り精確に報告したものである。数値は、ただし、それぞれの試験測定につきものの標準偏差から必然的に生じるいくつかの誤差を本質的に含む。

【0205】

本発明の文脈において（特に、添付の請求項の文脈において）用いられる単数の表記は、特記がなく且つ文脈に明白に反しない限り、単数及び複数の両方を包括するものと解釈されるべきである。本明細書において数値範囲の記載は、当該範囲に含まれる個々の数値のそれぞれを個別に参照する簡便な方法としての役割を果たすに過ぎない。本明細書に特記のない限り、これらの個々の数値のそれぞれはそれらが本明細書に個別に記載されているものとして本明細書に組み込まれる。本明細書に記載の方法の全ては、本明細書に特記がなく且つ文脈に明白に反しない限り、任意の適切な順番で実行できる。本明細書に記載の、いかなる実施例及び例示的表現（例えば、「～など」）の使用も、本発明をより明瞭に理解できるようにすることを意図するに過ぎず、これらの実施例及び例示的表現とは異なったやり方で請求項に記載された発明の範囲になんら限定を加えるものではない。本発明に記載のいかなる表現も本発明の実施に必須であるが請求項には記載されていない要素を示すものと解釈してはならない。

10

【0206】

本明細書に記載の発明の選択的な要素又は実施形態の集合は限定と解釈すべきではない。各集合要素は、個別に参照されたり請求項に記載されたりしてもよいし、本明細書にみられる他の集合要素又は他の要素と組み合わせて参照されたり請求項に記載されたりしてもよい。ある集合の1種類以上の要素が、便宜的理由及び/又は特許的理由で、集合に加入されたり、又は、集合から削除されたりしてもよい。こうした加入や削除が生じた場合も、本明細書は修正後の集合を含むものとみなされ、特許請求の範囲に記載の請求項で用いられるマーカーシュグループの全てについて記載要件を満たす。

20

【0207】

本明細書の特定の実施形態は、本発明の実施にあたり発明者が知る中で最善の態様を含んで、本明細書に記載されている。当然ながら、前述の記載に触れた当業者にとってこれら記載の実施形態の変形は明らかであろう。発明者は、当業者であればこうした変形を適切に採用するものと想定し、そして、本発明が本明細書に具体的に記載したのとは異なったやり方で実施されることを意図するものである。従って、本発明は、適用法令により許容されるように、特許請求の範囲に記載の請求項に記載の主題の修正例及び均等物の全てを包含する。さらに、全ての可能な変形形態の上述の要素の組み合わせのいずれも、本明細書に特記がなく且つ文脈に明白に反しない限り、本発明に包含される。

30

【0208】

本明細書に記載の特定の実施形態は、請求項において、「からなる」又は「から実質的になる」といった表現を用いてさらに限定されてもよい。出願時又は補正時に請求項で用いられる場合、「からなる」という移行句は、請求項で特定されていない、要素、工程、又は成分のいずれをも排除する。「から実質的になる」という移行句は、請求項の範囲を、特定された材料又は工程に加えて、基礎的で新規な性質に本質的な影響を与えないものを含むものに限定する。このように請求項に記載された発明の実施形態は、本明細書に内在的に又は明示的に記載されており、実施可能である。

40

【0209】

さらに、本明細書を通して特許及び刊行物への数々の参照がなされている。上述の参照及び刊行物のそれぞれはその全体を参照により本明細書で援用する。

【0210】

最後に、本明細書に記載の発明の実施形態は本発明の原理の例示であると理解されたい。採用可能な他の修正例も本発明の範囲に含まれる。そのため、制限ではなく、あくまで一例だが、本発明の代替的な構成を本明細書の教示に従い用いてもよい。従って、本発明は図示及び記載されるまさにそのものに限定されるわけではない。

【0211】

50

[付記]

[付記 1]

キメラ抗原受容体導入免疫細胞 (C A R - M I C) を受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者に、 R A R アゴニストである少なくとも 1 種類の分化誘導性レチノイン酸受容体 (R A R) 活性剤を投与することを含む、 C A R - M I C がん免疫治療法を増強する方法。

【 0 2 1 2 】

[付記 2]

がん免疫治療を必要とする対象に C A R - M I C と、 R A R アゴニストである分化誘導性 R A R 活性剤とを投与することを含む、がん免疫治療方法。

10

【 0 2 1 3 】

[付記 3]

C A R 導入免疫細胞の毒性を減らす方法であって、それを必要とする患者に、併せた結果、前記 C A R 導入免疫細胞を単独で投与する場合と比べより低い用量の前記 C A R 導入免疫細胞が効力を減少させずに投与されるように、前記 C A R 導入免疫細胞と併せて、少なくとも 1 種類の R A R アゴニストを投与することを含む、方法。

【 0 2 1 4 】

[付記 4]

前記 C A R 導入免疫細胞の単独投与に比べて安全性が同じ又は増加している、付記 3 に記載の方法。

20

【 0 2 1 5 】

[付記 5]

免疫チェックポイント阻害剤を投与することをさらに含み、前記免疫チェックポイント阻害剤は、 C T L A - 4、 P D - 1、 T I M - 3、 L A G - 3、 P D - L 1 リガンド、 B 7 - H 3、 B 7 - H 4、 B T L A の少なくとも 1 種類の阻害剤である、又は、 I C O S 若しくは O X 4 0 アゴニストであり、前記免疫チェックポイント阻害剤は抗体又は別の免疫チェックポイント阻害剤である、付記 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 1 6 】

[付記 6]

前記 R A R アゴニストは選択的 R A R アゴニストである、付記 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

30

【 0 2 1 7 】

[付記 7]

前記 R A R アゴニストは C Y P 2 6 代謝耐性 R A R アゴニストである、付記 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 1 8 】

[付記 8]

前記 C Y P 2 6 代謝耐性 R A R アゴニストは選択的 R A R アルファアゴニストである、付記 7 に記載の方法。

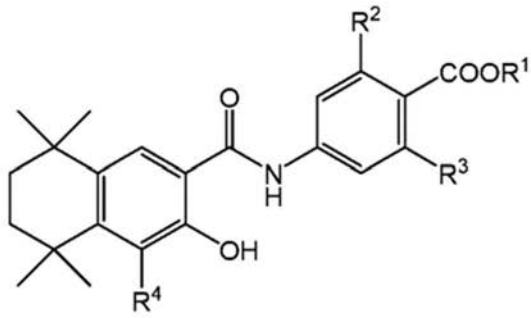
【 0 2 1 9 】

40

[付記 9]

前記 R A R アゴニストは下記の一般式 (I) の化合物である、付記 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【化 1 1】



(I)

10

(ただし、R¹は、H又はC₁ - 6 アルキルであり、R²及びR³は、独立して、H又はFであり、R⁴は、ハロゲンである。)

【0 2 2 0】

[付記 1 0]

R⁴は、F、Cl、Br、又はIである、付記 9 に記載の方法。

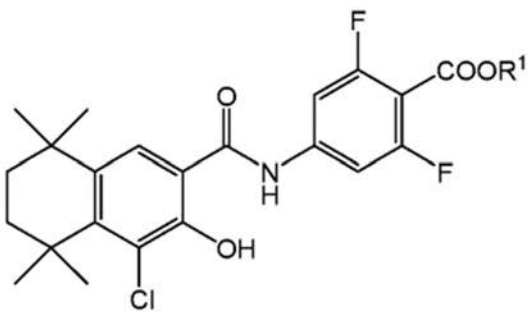
【0 2 2 1】

[付記 1 1]

前記 RAR アゴニストは下記の一般式 (II) の構造を有する化合物である、付記 9 に記載の方法。

20

【化 1 2】



(II)

30

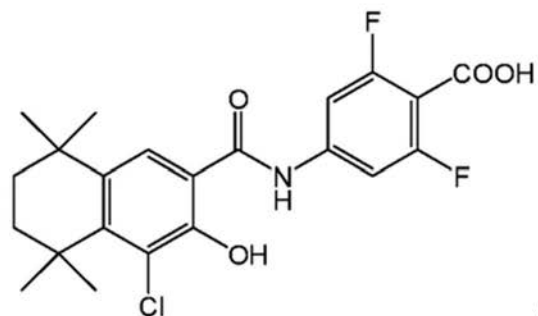
(ただし、R¹は、H又はC₁ - 6 アルキルである。)

【0 2 2 2】

[付記 1 2]

前記 RAR アゴニストは下記の一般式 (III) の構造を有する化合物である、付記 1 1 に記載の方法。

【化 1 3】



(III)(IRX5183)

40

【0 2 2 3】

[付記 1 3]

前記 RAR アゴニストはタミパロテン (AM80; 4 - [(5, 6, 7, 8 - テトラ

50

ヒドロ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルバモイル] 安息香酸)
である、付記 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 2 4 】

[付記 1 4]

前記 R A R アゴニストは A M 5 8 0 (4 - [(5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 5 ,
5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルボキサミド] 安息香酸) である、付
記 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 2 5 】

[付記 1 5]

前記 R A R アゴニストは R e 8 0 (4 - [1 - ヒドロキシ - 3 - オキソ - 3 - (5 ,
6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 3 - ヒドロキシ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフ
タレニル) - 1 - プロベニル] 安息香酸) である、付記 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の
方法。

【 0 2 2 6 】

[付記 1 6]

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入 T 細胞である、付記 1 から 3 のいずれか 1 つに記
載の方法。

【 0 2 2 7 】

[付記 1 7]

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入 N K 細胞である、付記 1 から 3 のいずれか 1 つに
記載の方法。

【 0 2 2 8 】

[付記 1 8]

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入貪食細胞である、付記 1 から 3 のいずれか 1 つに
記載の方法。

【 0 2 2 9 】

[付記 1 9]

前記がんは血液悪性腫瘍である、付記 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 3 0 】

[付記 2 0]

前記血液悪性腫瘍は、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病 (C M L)、移行期 C M L
、 C M L 急性転化期 (C M L - B P)、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、ホジ
キン病、非ホジキンリンパ腫、濾胞性リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、B 細胞リンパ腫
、 T 細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、骨髄異
形成症候群 (M D S)、不応性貧血 (R A)、環状鉄芽球を伴う R A、芽球増加を伴う R
A (R A E B)、移行期の R A E B、又は骨髄増殖症候群である、付記 1 9 に記載の方法
。

【 0 2 3 1 】

[付記 2 1]

前記血液悪性腫瘍は急性骨髄性白血病である、付記 1 9 に記載の方法。

【 0 2 3 2 】

[付記 2 2]

前記血液悪性腫瘍は多発性骨髄腫である、付記 1 9 に記載の方法。

【 0 2 3 3 】

[付記 2 3]

前記がんは固形腫瘍である、付記 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 2 3 4 】

[付記 2 4]

前記がんは骨に転移し得る固形腫瘍であり、前記固形腫瘍は、膵臓がん、膀胱がん、結
腸直腸がん、乳がん (転移性乳がんを含む)、前立腺がん (アンドロゲン依存性及びアン

10

20

30

40

50

ドロゲン非依存性前立腺がんを含む)、腎がん、転移性腎細胞がん、肝細胞がん、肺がん、非小細胞肺がん(N S C L C)、小細胞肺がん(S C L C)、気管支肺胞がん(B A C)、及び肺の腺がん、卵巣がん、進行性上皮性がん、原発性腹膜がん、子宮頸がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん、頭頸部の扁平上皮細胞がん、黒色腫、神経内分泌がん、転移性神経内分泌腫瘍、脳腫瘍、神経膠腫、退形成性乏突起膠腫、成人多形性膠芽腫、成人未分化星細胞腫、骨がん、及び軟部肉腫である、付記23に記載の方法。

【0235】

[付記25]

前記R A R アゴニストの投与は微小残存病変を前記C A R 導入免疫細胞に感受性にし、これにより、前記C A R 導入免疫細胞との前記R A R アゴニストの併用は前記対象の無病生存を改善することとなる、付記1から3のいずれか1つに記載の方法。

10

【0236】

[付記26]

前記R A R アゴニストは、前記C A R 導入免疫細胞の投与の前に、少なくとも1日、少なくとも2日、少なくとも3日、少なくとも4日、少なくとも5日、少なくとも6日、少なくとも1週、少なくとも2週、少なくとも3週、又は少なくとも1ヶ月にわたり、投与される、付記1から3のいずれか1つに記載の方法。

【0237】

[付記27]

前記R A R アゴニストの投与は前記C A R 導入免疫細胞の投与の前に中止される、付記1から3のいずれか1つに記載の方法。

20

【0238】

[付記28]

前記R A R アゴニストは式(I I I)(I R X 5 1 8 3)である、付記27に記載の方法。

【0239】

[付記29]

ボルテゾミブの投与をさらに含む、付記28に記載の方法。

【0240】

[付記30]

前記がんは多発性骨髄腫である、付記29に記載の方法。

30

【0241】

[付記31]

キメラ抗原受容体導入免疫細胞(C A R - M I C)を受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者のがん治療におけるC A R - M I Cの免疫治療効果を増強するのに使用するための、R A R アゴニストである分化誘導性R A R 活性剤。

【0242】

[付記32]

C A R - M I Cを受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者のがん治療におけるC A R - M I Cの免疫治療効果を増強するための医薬の製造における、R A R アゴニストである分化誘導性R A R 活性剤の使用。

40

【0243】

[付記33]

がん免疫治療で使用するための、R A R アゴニストである分化誘導性R A R 活性剤及びキメラ抗原受容体導入免疫細胞(C A R - M I C)。

【0244】

[付記34]

がん免疫治療のための医薬の製造における、R A R アゴニストである分化誘導性R A R 活性剤の使用であって、前記医薬はC A R - M I Cとの協同的な使用のために適合されている、使用。

50

【 0 2 4 5 】

[付 記 3 5]

キメラ抗原受容体導入免疫細胞（CAR-MIC）単独の使用に比べてより低い用量の前記CAR-MICが効力を減少させることなく使用できる、前記CAR-MICを受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者におけるCAR-MICがん免疫治療の毒性を減らすのに使用するための、RAR アゴニストである分化誘導性RAR活性剤。

【 0 2 4 6 】

[付 記 3 6]

CAR-MIC単独の使用に比べてより低い用量の前記CAR-MICが効力を減少させることなく使用できる、前記CAR-MICを受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者におけるCAR-MICがん免疫治療の毒性を減らすための医薬の製造における、RAR アゴニストである分化誘導性RAR活性剤の使用。

10

【 0 2 4 7 】

[付 記 3 7]

前記CAR導入免疫細胞の単独投与に比べて安全性が同じ又は増加している、付記35に記載の使用のための分化誘導性RAR活性剤、又は、付記36に記載の使用。

【 0 2 4 8 】

[付 記 3 8]

キメラ抗原受容体導入免疫細胞（CAR-MIC）を受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者のがん免疫治療において使用するための、

20

CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1リガンド、B7-H3、B7-H4、BTLAの少なくとも1種類の阻害剤である、又は、ICOS若しくはOX40アゴニストである免疫チェックポイント阻害剤、

RAR アゴニストである分化誘導性RAR活性剤、及び

CAR-MIC。

【 0 2 4 9 】

[付 記 3 9]

CAR-MICを受けている、受けた、又は受ける予定のがん患者のがん免疫治療のための医薬の製造における、RAR アゴニストである分化誘導性RAR活性剤の使用であって、前記医薬はCAR-MIC及び免疫チェックポイント阻害剤との協同的な使用のために適合されており、前記免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3、PD-L1リガンド、B7-H3、B7-H4、BTLAの少なくとも1種類の阻害剤である、又は、ICOS若しくはOX40アゴニストである、使用。

30

【 0 2 5 0 】

[付 記 4 0]

前記RAR アゴニストは選択的RAR アゴニストである、付記31、35、又は37に記載の使用のための分化誘導性RAR活性剤、付記33に記載の使用のためのCAR-MIC及び分化誘導性RAR活性剤、付記38に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性RAR活性剤、及びCAR-MIC、並びに、付記32、34、36、又は39に記載の使用。

40

【 0 2 5 1 】

[付 記 4 1]

前記RAR アゴニストはCYP26代謝耐性RAR アゴニストである、付記31、35、又は37に記載の使用のための分化誘導性RAR活性剤、付記33に記載の使用のためのCAR-MIC及び分化誘導性RAR活性剤、付記38に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性RAR活性剤、及びCAR-MIC、並びに、付記32、34、36、又は39に記載の使用。

【 0 2 5 2 】

[付 記 4 2]

50

前記 R A R アゴニストは C Y P 2 6 代謝耐性の選択的 R A R アルファアゴニストである、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

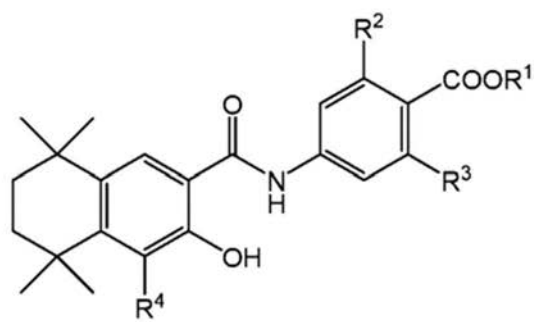
【0253】

[付記 4 3]

前記 R A R アゴニストは下記の一般式 (I) の化合物である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

10

【化 1 4】



20

(ただし、R¹ は、H 又は C₁ - 6 アルキルであり、R² 及び R³ は、独立して、H 又は F であり、R⁴ は、ハロゲンである。)

【0254】

[付記 4 4]

R⁴ は、F、Cl、Br、又は I である、付記 4 3 に記載の、使用のための分化誘導性 R A R 活性剤又は使用。

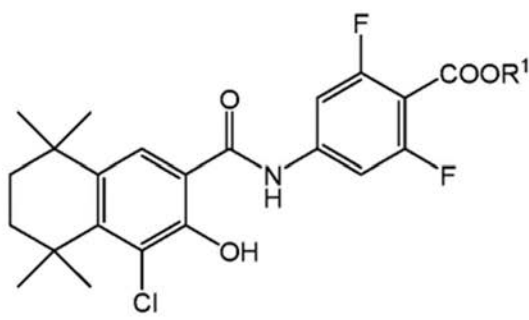
【0255】

30

[付記 4 5]

前記 R A R アゴニストは下記の一般式 (II) の構造を有する化合物である、付記 4 3 に記載の、使用のための分化誘導性 R A R 活性剤又は使用。

【化 1 5】



40

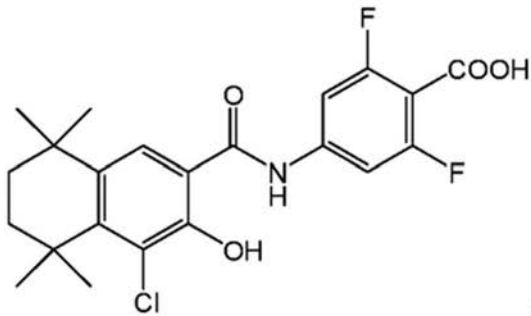
(ただし、R¹ は、H 又は C₁ - 6 アルキルである。)

【0256】

[付記 4 6]

前記 R A R アゴニストは下記の一般式 (III) の構造を有する化合物である、付記 4 5 に記載の、使用のための分化誘導性 R A R 活性剤又は使用。

【化 1 6】



(III)(IRX5183)

10

【 0 2 5 7】

[付 記 4 7]

前記 R A R アゴニストはタミパロテン (A M 8 0 ; 4 - [(5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルバモイル] 安息香酸) である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【 0 2 5 8】

20

[付 記 4 8]

前記 R A R アゴニストは A M 5 8 0 (4 - [(5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) カルボキサミド] 安息香酸) である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【 0 2 5 9】

[付 記 4 9]

前記 R A R アゴニストは R e 8 0 (4 - [1 - ヒドロキシ - 3 - オキソ - 3 - (5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - 3 - ヒドロキシ - 5 , 5 , 8 , 8 - テトラメチル - 2 - ナフタレニル) - 1 - プロペニル] 安息香酸) である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

30

【 0 2 6 0】

[付 記 5 0]

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入 T 細胞である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

40

【 0 2 6 1】

[付 記 5 1]

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入 N K 細胞である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

50

【 0 2 6 2 】

[付記 5 2]

前記 C A R 導入免疫細胞は C A R 導入貪食細胞である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【 0 2 6 3 】

[付記 5 3]

前記がんは血液悪性腫瘍である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

10

【 0 2 6 4 】

[付記 5 4]

前記がんは、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病 (C M L)、移行期 C M L、C M L 急性転化期 (C M L - B P)、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、濾胞性リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、B 細胞リンパ腫、T 細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、骨髄異形成症候群 (M D S)、不応性貧血 (R A)、環状鉄芽球を伴う R A、芽球増加を伴う R A (R A E B)、移行期の R A E B、及び骨髄増殖症候群から選択される血液悪性腫瘍である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

20

【 0 2 6 5 】

[付記 5 5]

前記がんは急性骨髄性白血病である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

30

【 0 2 6 6 】

[付記 5 6]

前記がんは多発性骨髄腫である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

40

【 0 2 6 7 】

[付記 5 7]

前記がんは固形腫瘍である、付記 3 1、3 5、又は 3 7 に記載の使用のための分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 3 に記載の使用のための C A R - M I C 及び分化誘導性 R A R 活性剤、付記 3 8 に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性 R A R 活性剤、及び C A R - M I C、並びに、付記 3 2、3 4、3 6、又は 3 9 に記載の使用。

【 0 2 6 8 】

[付記 5 8]

前記がんは骨に転移し得る固形腫瘍であり、前記固形腫瘍は、膵臓がん、膀胱がん、結腸直腸がん、乳がん (転移性乳がんを含む)、前立腺がん (アンドロゲン依存性及びアン

50

ドロゲン非依存性前立腺がんを含む)、腎がん、転移性腎細胞がん、肝細胞がん、肺がん、非小細胞肺がん(N S C L C)、小細胞肺がん(S C L C)、気管支肺がん(B A C)、及び肺の腺がん、卵巣がん、進行性上皮性がん、原発性腹膜がん、子宮頸がん、胃がん、食道がん、頭頸部がん、頭頸部の扁平上皮細胞がん、黒色腫、神経内分泌がん、転移性神経内分泌腫瘍、脳腫瘍、神経膠腫、退形成性乏突起膠腫、成人多形性膠芽腫、成人未分化星細胞腫、骨がん、及び軟部肉腫から選択される、付記31、35、又は37に記載の使用のための分化誘導性R A R活性剤、付記33に記載の使用のためのC A R - M I C及び分化誘導性R A R活性剤、付記38に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性R A R活性剤、及びC A R - M I C、並びに、付記32、34、36、又は39に記載の使用。

10

【0269】

[付記59]

前記R A R アゴニストの投与は微小残存病変を前記C A R 導入免疫細胞に感受性にし、これにより、前記C A R 導入免疫細胞との前記R A R アゴニストの併用は前記対象の無病生存を改善することとなる、付記31、35、又は37に記載の使用のための分化誘導性R A R活性剤、付記33に記載の使用のためのC A R - M I C及び分化誘導性R A R活性剤、付記38に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性R A R活性剤、及びC A R - M I C、並びに、付記32、34、36、又は39に記載の使用。

【0270】

[付記60]

前記R A R アゴニストは、前記C A R 導入免疫細胞の投与の前に、少なくとも1日、少なくとも2日、少なくとも3日、少なくとも4日、少なくとも5日、少なくとも6日、少なくとも1週、少なくとも2週、少なくとも3週、又は少なくとも1ヶ月にわたり、投与される、付記31、35、又は37に記載の使用のための分化誘導性R A R活性剤、付記33に記載の使用のためのC A R - M I C及び分化誘導性R A R活性剤、付記38に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性R A R活性剤、及びC A R - M I C、並びに、付記32、34、36、又は39に記載の使用。

20

【0271】

[付記61]

前記R A R アゴニストの投与は前記C A R 導入免疫細胞の投与の前に中止される、付記31、35、又は37に記載の使用のための分化誘導性R A R活性剤、付記33に記載の使用のためのC A R - M I C及び分化誘導性R A R活性剤、付記38に記載の使用のための免疫チェックポイント阻害剤、分化誘導性R A R活性剤、及びC A R - M I C、並びに、付記32、34、36、又は39に記載の使用。

30

【0272】

[付記62]

前記R A R アゴニストは式(I I I)(I R X 5 1 8 3)である、付記61に記載の使用のための分化誘導性R A R活性剤、使用のためのC A R - M I C及び分化誘導性R A R活性剤、又は使用。

【0273】

[付記63]

ボルテゾミブの投与対象であるがん患者における、付記62に記載の使用のための分化誘導性R A R活性剤、使用のためのC A R - M I C及び分化誘導性R A R活性剤、又は使用。

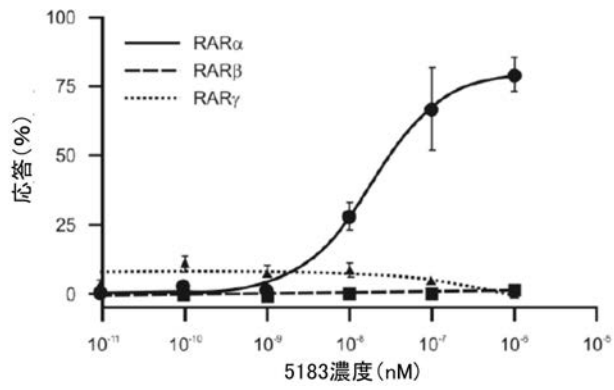
40

【0274】

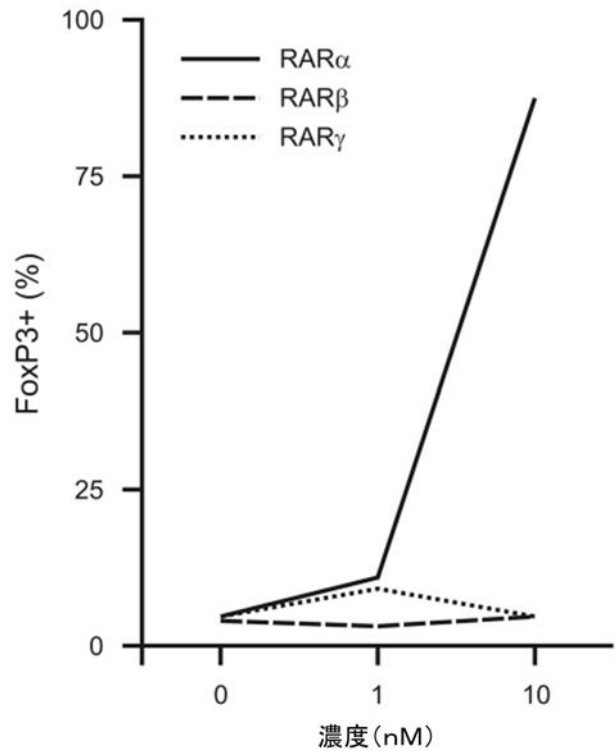
[付記64]

前記がんは多発性骨髄腫である、付記63に記載の使用のための分化誘導性R A R活性剤、使用のためのC A R - M I C及び分化誘導性R A R活性剤、又は使用。

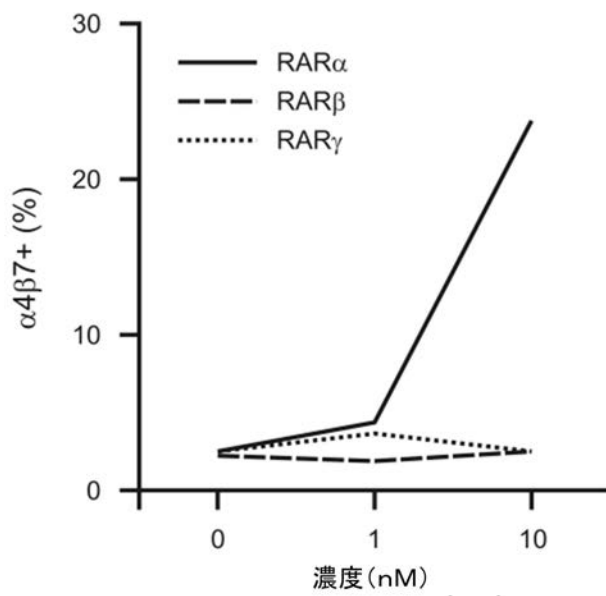
【 図 1 】



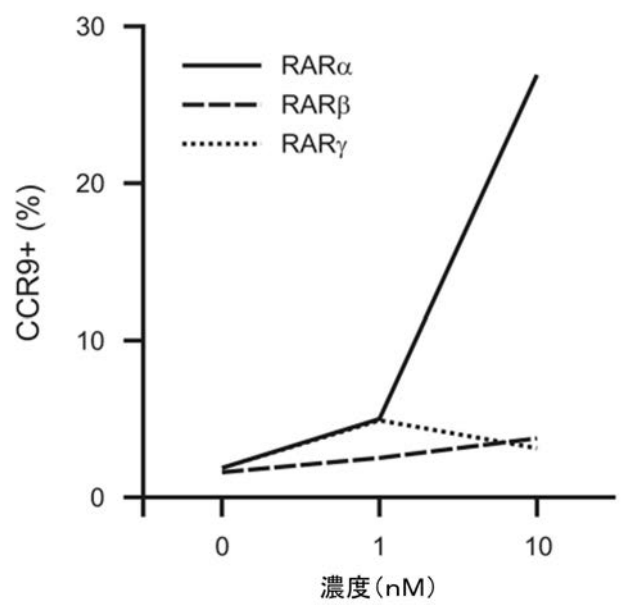
【 図 2 A 】



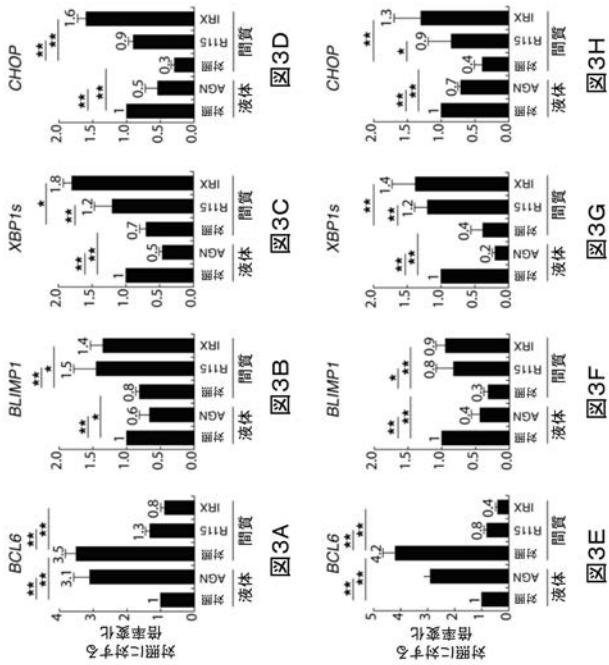
【 図 2 B 】



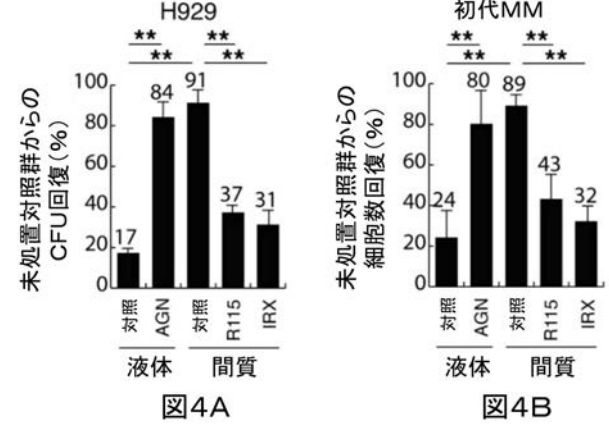
【 図 2 C 】



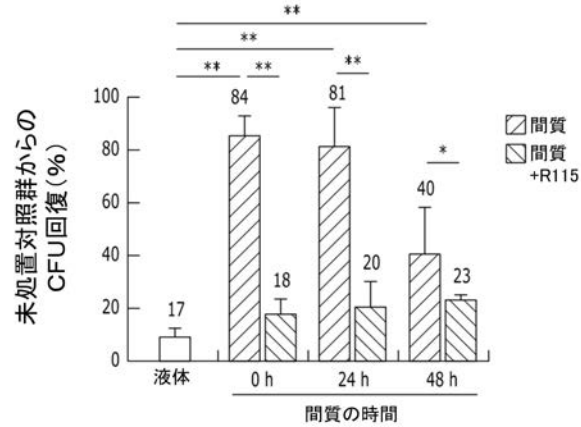
【 図 3 】



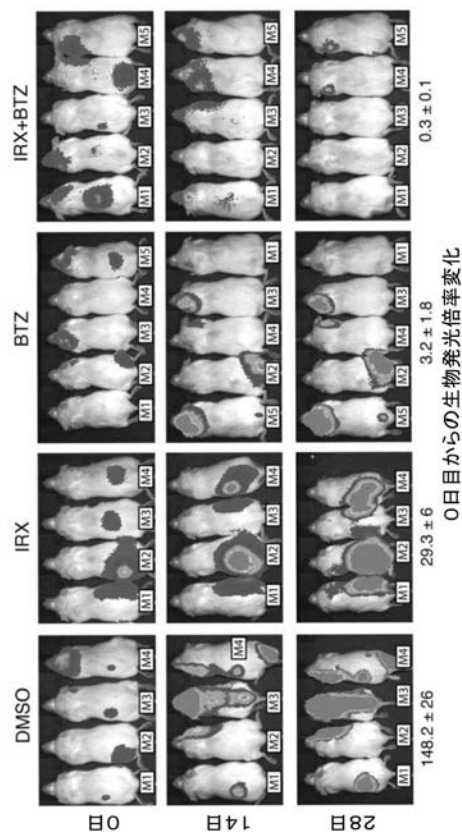
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】

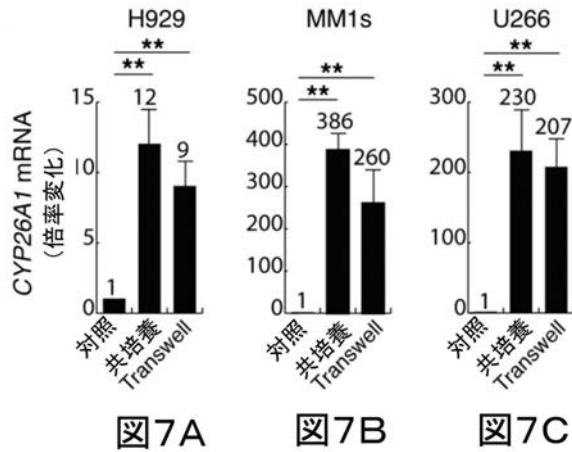


図7A

図7B

図7C

【 図 8 】

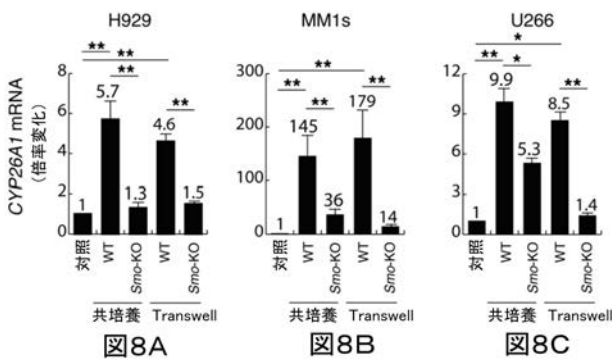
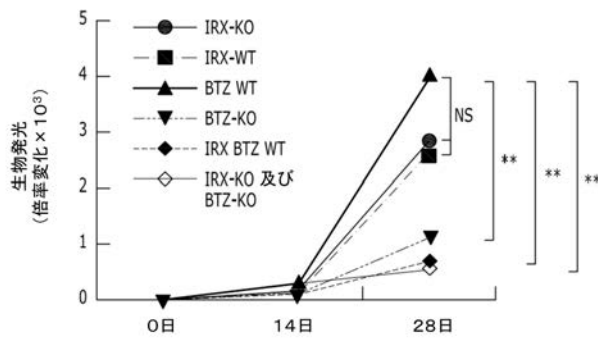


図8A

図8B

図8C

【 図 1 0 】



【 図 1 1 】

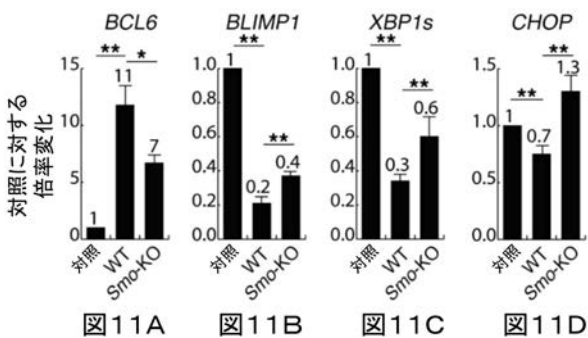


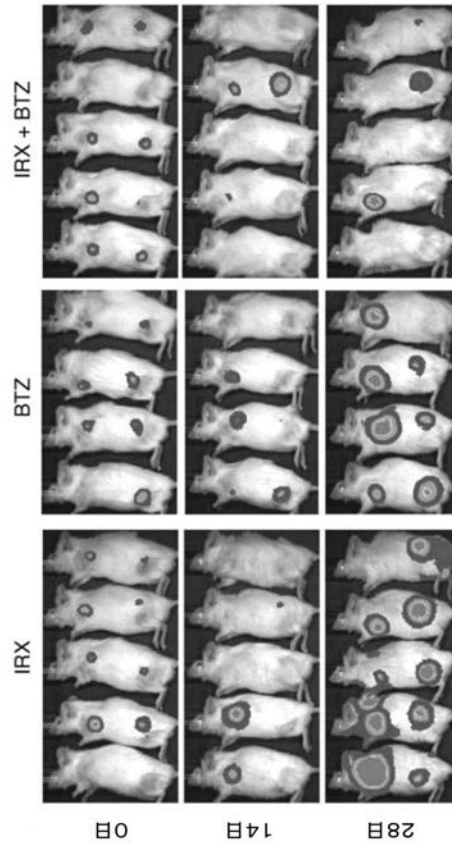
図11A

図11B

図11C

図11D

【 図 9 】

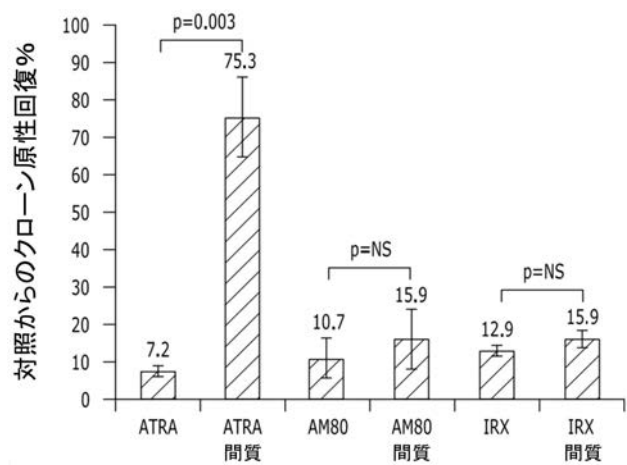


0日

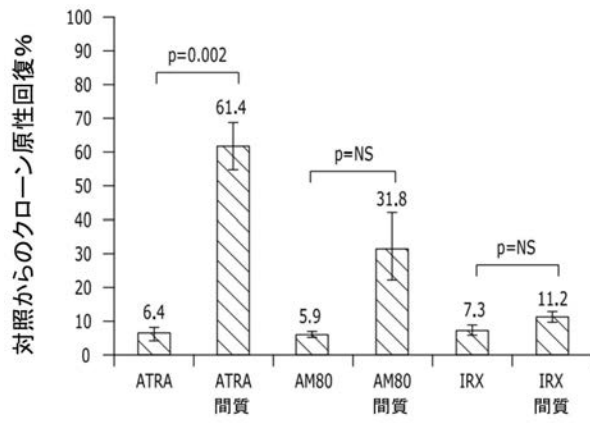
14日

28日

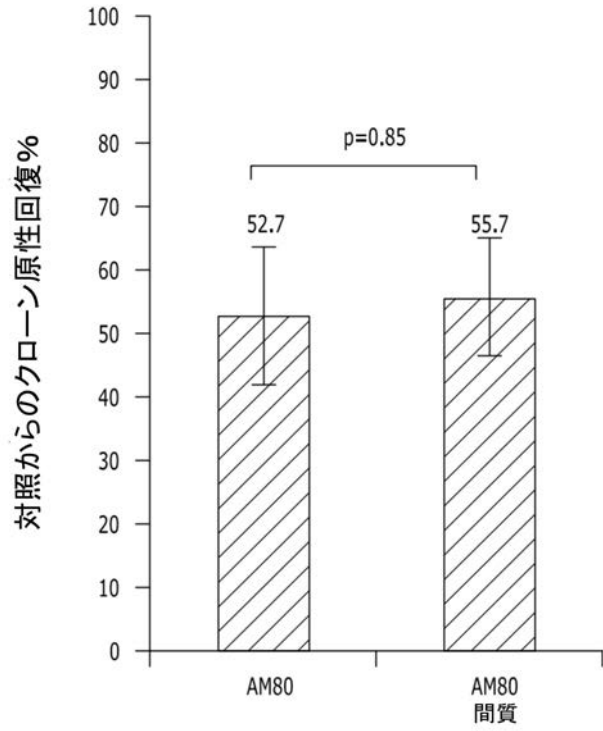
【 図 1 2 A 】



【図 1 2 B】



【図 1 2 C】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2018/048876

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 31/135; A61K 31/136; A61K 31/196; C07C 63/06; C07C 211/44; C07C 211/45 (2018.01)

CPC - A61K 31/135; A61K 31/136; A61K 31/196; C07C 63/06; C07C 211/44; C07C 211/45 (2018.08)

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)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

USPC - 514/561; 514/567; 514/649 (keyword delimited)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2016/144976 A1 (KINGS COLLEGE LONDON et al) 15 September 2016 (15.09.2016) entire document	1-10, 16, 19-21, 25-27, 31-39
A	US 2007/0077652 A1 (PELED et al) 05 April 2007 (05.04.2007) entire document	1-10, 16, 19-21, 25-27, 31-39
A	US 2014/0286973 A1 (THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA) 25 September 2014 (25.09.2014) entire document	1-10, 16, 19-21, 25-27, 31-39

☐ 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

21 November 2018

Date of mailing of the international search report

11 DEC 2018

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Blaine R. Copenheaver

PCT Helpdesk: 571-272-4300

PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/048876

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.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

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.: 40-64
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet(s).

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-10, 16, 19-21, 25-27, 31-39

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/048876

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

Claims 1-10, 16, 19-21, 25-27, and 31-39 have been analyzed subject to the restriction that the claims read on a method of potentiating chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MiC) cancer immunotherapy comprising administering at least one differentiating retinoic acid receptor (RAR) active agent, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist, wherein the RARa agonist is a selective RARa agonist, wherein the RARa agonist is a compound of general formula (I), wherein R1 is H; R2 and R3 are independently H and R4 is a halogen, wherein the halogen is F, to a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MiC, wherein the CAR-modified immune cells are CAR-modified T cells, wherein the cancer is a hematologic malignancy, wherein the hematological, malignancy is acute myeloid leukemia.

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+: claims 1-39 are drawn to methods of potentiating chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MiC) cancer immunotherapy, methods of cancer immunotherapy, methods of decreasing toxicity of CAR-modified immune cells, differentiating RAR active agents, and uses of a differentiating RAR active agent in the manufacture of a medicament.

The first invention of Group I+ is restricted to a method of potentiating chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MiC) cancer immunotherapy comprising administering at least one differentiating retinoic acid receptor (RAR) active agent, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist, wherein the RARa agonist is a selective RARa agonist, wherein the RARa agonist is a compound of general formula (I), wherein R1 is H; R2 and R3 are independently H and R4 is a halogen, wherein the halogen is F, to a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MiC, wherein the CAR-modified immune cells are CAR-modified T cells, wherein the cancer is a hematologic malignancy, wherein the hematological, malignancy is acute myeloid leukemia; methods of cancer immunotherapy; methods of decreasing toxicity of CAR-modified immune cells; differentiating RAR active agents; and uses of a differentiating RAR active agent in the manufacture of a medicament. It is believed that claims 1-10, 16, 19-21, 25-27, and 31-39 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on the above embodiment.

Applicant is invited to elect additional formula(e) for each additional compound to be searched in a specific combination by paying an additional fee for each set of election. Each additional elected formula(e) requires the selection of a single definition for each compound variable. An exemplary election would be a method of potentiating chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MiC) cancer immunotherapy comprising administering at least one differentiating retinoic acid receptor (RAR) active agent, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist, wherein the RARa agonist is a selective RARa agonist, wherein the RARa agonist is a compound of general formula (I), wherein R1 is C1 alkyl; R2 and R3 are independently H and R4 is a halogen, wherein the halogen is F, to a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MiC, wherein the CAR-modified immune cells are CAR-modified T cells, wherein the cancer is a hematologic malignancy, wherein the hematological, malignancy is acute myeloid leukemia; methods of cancer immunotherapy; methods of decreasing toxicity of CAR-modified immune cells; differentiating RAR active agents; and uses of a differentiating RAR active agent in the manufacture of a medicament. Additional formula(e) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulae do not share a significant structural element requiring the selection of alternatives for the retinoic acid receptor (RAR) active agent, CAR-MiC, and cancer and accordingly these groups lack unity a priori.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/048876

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of a method of potentiating chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MIC) cancer immunotherapy comprising administering at least one differentiating retinoic acid receptor (RAR) active agent, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist, to a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MIC; a method of cancer immunotherapy comprising administering to a subject in need thereof CAR-MIC and at least one differentiating RAR active agent, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist; a method of decreasing toxicity of CAR-modified immune cells comprising administering to a subject in need thereof at least one RARa agonist in combination with the CAR-modified immune cells such that as a result of the combination, a lower dose of CAR-modified immune cells is administered but the efficacy is not decreased, as compared to administering the CAR-modified immune cells alone; a differentiating RAR active agent for use in potentiating the immunotherapeutic effect of chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MIC) in the treatment of cancer in a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MIC, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist; use of a differentiating RAR active agent in the manufacture of a medicament for potentiating the immunotherapeutic effect of CAR-MIC in the treatment of cancer in a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MIC, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist; chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MIC) and a differentiating RAR active agent for use in cancer immunotherapy, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist; use a differentiating RAR active agent in the manufacture of a medicament for cancer immunotherapy, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist, and wherein the medicament is adapted for use in coordination with CAR-MIC; a differentiating RAR active agent for use in reducing the toxicity of chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MIC) cancer immunotherapy in a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MIC, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist, and wherein a lower dose of CAR-MIC can be used without decreasing the efficacy as compared to use of the CAR-MIC alone; use of a differentiating RAR active agent in the manufacture of a medicament for reducing the toxicity of CAR-MIC cancer immunotherapy in a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MIC, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist, and wherein a lower dose of CAR-MIC can be used without decreasing the efficacy as compared to use of the CAR-MIC alone; chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MIC), an immune checkpoint inhibitor, and a differentiating RAR active agent for use in cancer immunotherapy in a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MIC, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist and the immune checkpoint inhibitor is an inhibitor of at least one of CTLA-4, PD-1, TIM-3, LAG-3, PD-L1 ligand, B7-H3, B7-H4, BTLA, or is an ICOS or OX40 agonist; use of a differentiating RAR active agent in the manufacture of a medicament for cancer immunotherapy in a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MIC, wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist, and wherein the medicament is adapted for use in coordination with CAR-MIC and an immune checkpoint inhibitor, wherein the immune checkpoint inhibitor is an inhibitor of at least one of CTLA-4, PD-1, TIM-3, LAG-3, PD-L1 ligand, B7-H3, B7-H4, BTLA, or is an ICOS or OX40 agonist, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art as disclosed by US 2014/0286973 A1 to The Trustees of The University of Pennsylvania, WO 2016/144976 A1 to Kings College London, and US 2007/0077652 A1 to Peled et al.

US 2014/0286973 A1 to The Trustees of The University of Pennsylvania teaches a method of potentiating chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MIC) cancer immunotherapy (Para. [0183],...CAR T cells...; Para. [0373],...Immunotherapy of Cancer) comprising administering at least one differentiating retinoic acid receptor (RAR) active agent (Para. [0183],...the CAR T cells of the invention in combination with a retinoic acid receptor (RARs) agonist...), wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist (Para. [0183],...all-trans retinoic acid (ATRA); It is well known in the art that ATRA is an RARa agonist...), to a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MIC (Para. [0183],...the CAR T cells of the invention in combination with a retinoic acid receptor (RARs) agonist...); a method of cancer immunotherapy (Para. [0254],...an efficient immune response...; Para. [0183],...CAR T cells...; Para. [0373],...Immunotherapy of Cancer) comprising administering to a subject in need thereof CAR-MIC (Para. [0183],...CAR T cells...; Para. [0373],...Immunotherapy of Cancer) and at least one differentiating RAR active agent (Para. [0183],...the CAR T cells of the invention in combination with a retinoic acid receptor (RARs) agonist...), wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist (Para. [0183],...all-trans retinoic acid (ATRA); a differentiating RAR active agent (Para. [0183],...the CAR T cells of the invention in combination with a retinoic acid receptor (RARs) agonist...), for use in potentiating the immunotherapeutic effect of chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MIC) (Para. [0183],...CAR T cells...; Para. [0373],...Immunotherapy of Cancer) in the treatment of cancer in a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MIC (Para. [0183]), wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist (Para. [0183]); use of a differentiating RAR active agent (Para. [0183],...the CAR T cells of the invention in combination with a retinoic acid receptor (RARs) agonist...), in the manufacture of a medicament (Para. [0059]) for potentiating the immunotherapeutic effect of CAR-MIC in the treatment of cancer in a cancer patient (Para. [0183],...CAR T cells...; Para. [0373],...Immunotherapy of Cancer); chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MIC) (Para. [0183],...CAR T cells...; Para. [0373],...Immunotherapy of Cancer) and a differentiating RAR active agent for use in cancer immunotherapy (Para. [0183],...the CAR T cells of the invention in combination with a retinoic acid receptor (RARs) agonist...); use a differentiating RAR active agent in the manufacture of a medicament for cancer immunotherapy (Para. [0059]), wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist (Para. [0183],...all-trans retinoic acid (ATRA), and wherein the medicament is adapted for use in coordination with CAR-MIC (Para. [0183]); chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MIC) (Para. [0183],...CAR T cells...; Para. [0373],...Immunotherapy of Cancer), an immune checkpoint inhibitor (Para. [0242] and [0203], stimulatory ligand...), and a differentiating RAR active agent for use in cancer immunotherapy in a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MIC (Para. [0183],...the CAR T cells of the invention in combination with a retinoic acid receptor (RARs) agonist...), wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist (Para. [0183]) and the immune checkpoint inhibitor is an inhibitor of PD-1 (Para. [0203], A co-stimulatory ligand also encompasses, inter alia, an antibody that specifically binds with a co-stimulatory molecule present on a T cell, such as...PD-1...); and use of a differentiating RAR active agent (Para. [0183],...the CAR T cells of the invention in combination with a retinoic acid receptor (RARs) agonist...), in the manufacture of a medicament (Para. [0059]) for cancer immunotherapy in a cancer patient who is receiving, has received, or is scheduled to receive, CAR-MIC (Para. [0183],...the CAR T cells of the invention in combination with a retinoic acid receptor (RARs) agonist...), wherein the differentiating RAR active agent is a RARa agonist (Para. [0183],...all-trans retinoic acid (ATRA), and wherein the medicament is adapted for use in coordination with CAR-MIC (Para. [0183],...the CAR T cells of the invention in combination with a retinoic acid receptor (RARs) agonist...), and an immune checkpoint inhibitor (Para. [0242] and [0203], stimulatory ligand...), wherein the immune checkpoint inhibitor is an inhibitor of PD-1 (Para. [0203], A co-stimulatory ligand also encompasses, inter alia, an antibody that specifically binds with a co-stimulatory molecule present on a T cell, such as...PD-1...).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/048876

WO 2016/144976 A1 to Kings College London teaches a method of decreasing toxicity of modified immune cells (Para. [006]....ATRA is its many, severe, toxicities, which may be due to its agonistic effects on RAR or RARy. As such a selective RARoc agonist will have reduced toxicities and have broader utility.) comprising administering to a subject in need thereof at least one RARa agonist in combination (Claim 1) with the modified immune cells such that as a result of the combination (Para. [0013]....administering a vaccine to the patient having a tumor, and treating the patient with T-cell based therapy.; Claim 2); a differentiating RAR active agent for use in reducing the toxicity of chimeric antigen receptor-modified immune cells (CAR-MIC) cancer immunotherapy in a cancer patient (Para. [006]; Claim 1; Para. [0013]).

US 2007/0077652 A1 to Peled et al. teach a lower dose of modified immune cells is administered but the efficacy is not decreased, as compared to administering the modified immune cells alone (Para. [0060], [0064] and [0473]....the synergistic effect of nicotinamide on three week cultures of hematopoietic stem cells, prepared and co-cultured with mesenchymal cells as described in Example 1....; Para. [0145].... using RAR...antagonists...methods of ex-vivo expanding a population of stem cells....; i.e., the combination of the RAR activator and the modified immune cells expands the stem cell population. Therefore a lower dose of modified immune cells can be administered because the efficacy is increased when the modified immune cells are administered with the RAR activator.).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02		
A 6 1 P 7/00 (2006.01)	A 6 1 P	7/00		
A 6 1 P 7/06 (2006.01)	A 6 1 P	7/06		

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(72)発明者 チャンドララトナ、ロシャンサ エイ
アメリカ合衆国 9 2 6 7 5 カリフォルニア州 サンファンカピストラノ ピアコリゾ 2 6 2 4
2

(72)発明者 サンダース、マーティン イー
アメリカ合衆国 9 8 1 0 1 ワシントン州 シアトル フォースアベニュー 1 9 2 0 ナンバー
2 7 0 4

F ターム(参考) 4C084 AA19 MA02 NA05 ZA51 ZA55 ZB26 ZB27 ZC75
4C085 AA13 EE03
4C086 AA01 AA02 DA43 MA04 NA05 ZA51 ZA55 ZB26 ZB27 ZC75
4C087 AA01 AA02 BB65 CA04 MA02 NA05 ZA51 ZA55 ZB26 ZB27
ZC75
4C206 AA01 AA02 GA07 GA34 KA01 MA04 NA05 ZA51 ZA55 ZB26
ZB27 ZC75