

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-509343
(P2025-509343A)

(43)公表日 令和7年4月11日(2025.4.11)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 B 0 6 5
A 6 1 K	38/20 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D	4 C 0 7 6
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 K	38/20		4 C 0 8 4
A 6 1 K	47/60 (2017.01)	A 6 1 P	35/02		4 C 0 8 5
A 6 1 K	35/17 (2025.01)	A 6 1 K	47/60		4 C 0 8 7
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全24頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-553571(P2024-553571)		(71)出願人	507363864	
(86)(22)出願日	令和5年3月7日(2023.3.7)			サノフィーアベンティス・ユー・エス・	
(85)翻訳文提出日	令和6年10月21日(2024.10.21)			エルエルシー	
(86)国際出願番号	PCT/US2023/063869			アメリカ合衆国ニュージャージー州08	
(87)国際公開番号	WO2023/172917			807.ブリッジウォーター・コーポレ	
(87)国際公開日	令和5年9月14日(2023.9.14)			イトドライブ55	
(31)優先権主張番号	63/317,253		(71)出願人	524334364	
(32)優先日	令和4年3月7日(2022.3.7)			マリエル・シロン・ブロンデル	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			フランス国75017パリ・アヴェニュー	
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ		(71)出願人	524334375	
	,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),			アレクサンドル・デジョンケール	
	EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(			フランス国75017パリ・アヴェニュー	
	AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,			・ドゥ・ラ・グランデ・アルメ46.サ	
	FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV			最終頁に続く	
	最終頁に続く			最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 多発性骨髄腫の治療のための他の薬剤と組み合わせたイサツキシマブの使用

(57)【要約】
本開示は、抗CD38抗体及びインターロイキン-2類似体をそれを必要とする個体に投与すること及び任意選択的にCD38の発現が減少した又はノックアウトされたナチュラルキラー（NK）細胞を投与することを含む、多発性骨髄腫を治療するための方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

多発性骨髄腫の治療のための抗CD38抗体の使用であって、

前記抗CD38抗体は、インターロイキン-2類似体（IL-2類似体）と組み合わせて個体に投与され、前記抗CD38抗体は、第1の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与され、次いで、少なくとも1回の追加のサイクルについて28日サイクルの1及び15日目に投与され、

前記IL-2類似体を前記個体に投与し、前記IL-2類似体は、2週間に1回又は3週間に1回投与される、使用。

【請求項 2】

前記抗CD38抗体は、イサツキシマブであり、10mg/kgの用量で静脈内投与される、請求項1に記載の使用。

【請求項 3】

前記CD-38抗体は、イサツキシマブであり、1400mgの用量で皮下投与される、請求項1に記載の使用。

【請求項 4】

前記IL-2類似体は、非天然アミノ酸、N6-（（2-アジドエトキシ）-カルボニル）-L-リジン（AzK）を含み、前記AzKは、ペグ化されている、請求項1～3のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 5】

前記IL-2類似体は、16ug/kg、24ug/kg又は32ug/kgの用量で投与される、請求項1に記載の使用。

【請求項 6】

前記抗CD38抗体は、少なくとも11サイクルについて28日サイクルの1及び15日目に投与され、次いで、1回以上の追加のサイクルについて28日サイクルの1日目に投与される、請求項1～3又は5のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 7】

前記個体は、治療の第1のサイクルを受ける前に、多発性骨髄腫の治療のための1回以上の治療ラインを受けており、前記1回以上の事前治療ラインは、抗CD38薬及び抗BcMA薬を含む、請求項1～3又は5のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 8】

多発性骨髄腫の治療のための抗CD38抗体の使用であって、

前記抗CD38抗体は、インターロイキン-2類似体（IL-2類似体）と組み合わせて個体に投与され、

前記抗CD38抗体は、イサツキシマブであり、前記IL-2類似体は、非天然アミノ酸、N6-（（2-アジドエトキシ）-カルボニル）-L-リジン（AzK）を含み、前記AzKは、ペグ化されており、

前記イサツキシマブは、第1の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与され、次いで、少なくとも1回の追加のサイクルについて28日サイクルの1及び15日目に投与され、

前記イサツキシマブは、10mg/kgの用量で静脈内投与され又は1400mgの用量で皮下投与され、

前記IL-2類似体は、2週間に1回又は3週間に1回、16ug/kg、24ug/kg又は32ug/kgの用量で前記個体に投与され、

前記個体は、治療の第1のサイクルを受ける前に、多発性骨髄腫の治療のための1回以上の治療ラインを受けており、前記1回以上の事前治療ラインは、抗CD38薬及び抗BcMA薬を含む、使用。

【請求項 9】

CD38の発現が減少した又はノックアウトされたナチュラルキラー（NK）細胞（NK-CD38KO細胞）もまた、前記個体に投与される、請求項1～3、5又は8のい

10

20

30

40

50

れか一項に記載の使用。

【請求項 10】

前記NK細胞は、ヒトサンプルから単離されたものである、請求項9に記載の使用。

【請求項 11】

多発性骨髄腫を有するヒト個体を治療するための方法であって、

抗CD38抗体及びインターロイキン-2類似体（IL-2類似体）を前記個体に投与することであって、前記抗CD38抗体は、第1の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与され、次いで、少なくとも1回の追加のサイクルについて28日サイクルの1及び15日目に投与される、投与すること並びに

前記IL-2類似体を前記個体に投与することであって、前記IL-2類似体は、2週間に1回又は3週間に1回投与される、投与することを含む方法。

10

【請求項 12】

前記抗CD38抗体は、イサツキシマブであり、10mg/kgの用量で静脈内投与される、請求項11に記載の方法。

【請求項 13】

前記CD-38抗体は、イサツキシマブであり、1400mgの用量で皮下投与される、請求項11に記載の方法。

【請求項 14】

前記IL-2類似体は、非天然アミノ酸N6-((2-アジドエトキシ)-カルボニル)-L-リジン(AzK)を含み、前記AzKは、ペグ化されている、請求項11~13のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 15】

前記IL-2類似体は、16ug/kg、24ug/kg又は32ug/kgの用量で投与される、請求項14に記載の方法。

【請求項 16】

前記抗CD38抗体は、少なくとも11サイクルについて28日サイクルの1及び15日目に投与され、続いて、1回以上の追加のサイクルについて28日サイクルの1日目に前記抗CD38抗体を投与する、請求項11~13又は15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

多発性骨髄腫を有するヒト個体を治療するための方法であって、

抗CD38抗体及びインターロイキン-2類似体（IL-2類似体）を前記個体に投与することであって、

前記抗CD38抗体はイサツキシマブであり、前記IL-2類似体は、非天然アミノ酸、N6-((2-アジドエトキシ)-カルボニル)-L-リジン(AzK)を含み、前記AzKは、ペグ化されており、

前記イサツキシマブは、第1の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与され、次いで、少なくとも1回の追加のサイクルについて28日サイクルの1及び15日目に投与され、

前記イサツキシマブは、10mg/kgの用量で静脈内投与され又は1400mgの用量で皮下投与され、

40

前記IL-2類似体は、2週間に1回又は3週間に1回、16ug/kg、24ug/kg又は32ug/kgの用量で前記個体に投与され、

前記個体は、治療の第1のサイクルを受ける前に、多発性骨髄腫の治療のための1回以上の治療ラインを受けており、前記1回以上の事前治療ラインは、抗CD38薬及び抗BcMA薬を含む、方法。

【請求項 18】

CD38の発現が減少した又はノックアウトされたナチュラルキラー（NK）細胞（NK-CD38KO細胞）もまた、前記個体に投与される、請求項11~13、15又は17のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 19】

前記NK細胞は、ヒトサンプルから単離されたものである、請求項18に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2022年3月7日に提出された米国仮特許出願第63／317,253号の優先権の利益を主張し、その開示はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

電子配列表の参照

電子配列表（183952034340SEQLIST.xml；サイズ：11,571バイト；及び作成日2023年3月6日）の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0003】

本開示は、抗CD38抗体、例えばイサツキシマブを投与することによって多発性骨髄腫を治療するための方法に関する。

【背景技術】

【0004】

多発性骨髄腫（MM）は、骨髄（BM）中の形質細胞のクローン増殖及び過剰量のモノクローナル免疫グロブリン（通常、IgG若しくはIgA型の又は遊離尿軽鎖、すなわちパラタンパク質、Mタンパク質若しくはM成分）の産生を特徴とする悪性形質細胞疾患である。MMを有する患者は、骨痛、骨折、疲労、貧血、感染症、高カルシウム血症及び腎臓の問題を経験することがある（Rollig et al. (2015) Lancet. 385 (9983) : 2197-208）。CD38の発現は、MMにおいて特に顕著であり、患者の>98%がこのタンパク質について陽性である（Goldmacher et al. (1994) Blood. 84 (9) : 3017-25；Lin et al. (2004) Am J Clin Pathol. 121 (4) : 482-8）。悪性クローン性MM細胞上のCD38の強力で均一な発現は、正常細胞上の限定的な発現パターンとは対照的であり、この抗原が腫瘍細胞の特異的ターゲティングに有用となり得ることを示唆している。

【0005】

一般に、MM患者は、生涯の間に、薬剤、例えばプロテアソーム阻害剤（例えばボルテゾミブ、イキサゾミブ及びカルフィルゾミブ）並びに免疫調節剤又は「IMiDs（登録商標）」（例えばレナリドミド、ポマリドミド及びタリドミド）、モノクローナル抗体（例えば エロツズマブ）、ヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害剤（例えばパノビノスタット）などを単独で又は組み合わせて含む治療レジメンを受けるであろう。

【0006】

著しい進歩及び全生存期間（OS）における延長にもかかわらず、多発性骨髄腫（MM）は、依然として治療不能であり、患者の大部分が再発し、追加の治療を必要とする（Kumar SK, Rajkumar V, Kyle RA, et al. Multiple myeloma. Nat Rev Dis Primer. 2017 ; 3 : 17046）。

【0007】

特許出願、特許公報及びUniProtKB/Swiss-Protアクセッション番号を含む、本明細書で引用される全ての参照物は、あたかも各個々の参照物が詳細且つ個々に示され、参照により組み込まれるかのように、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

多発性骨髄腫の治療に使用するための抗CD38抗体及びインターロイキン-2類似体（IL-2類似体）が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗CD38抗体及びIL-2類似体は、CD38の発現が減少した又はノックアウトされたNK細胞（NK-CD38KO細胞）と組み合わせられる。

【0009】

多発性骨髄腫を治療するための方法であって、抗CD38抗体及びインターロイキン-2類似体（IL-2類似体）を個体に投与することであって、抗CD38抗体は、第1の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与され、次いで、少なくとも1回の追加のサイクルについて28日サイクルの1及び15日目に投与される、投与すること並びにIL-2類似体を個体に投与することであって、IL-2類似体は、2週間に1回又は3週間に1回投与される、投与することを含む方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、方法は、NK-CD38KO細胞を抗CD38抗体及び／又はIL-2類似体と組み合わせることを含む。

10

【0010】

多発性骨髄腫の治療のための抗CD38抗体の使用であって、抗CD38抗体は、インターロイキン-2類似体（IL-2類似体）と組み合わせることを含む方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体及びIL-2類似体は、細胞NK-CD38KO細胞と組み合わせることを含む。

20

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】図1は、イサツキシマブ（ライトグレー）又はアイソタイプ対照（ダークグレー）の存在下で、野生型NK細胞と比較して、BC50サンプル由来のCD38 KO NK細胞でフラトリサイド効果が回避されることを示す棒グラフである。

【図2】図2は、イサツキシマブ（ライトグレー）又はアイソタイプ対照（ダークグレー）の存在下で、野生型NK細胞と比較して、BC45サンプル由来のCD38 KO NK細胞でフラトリサイド効果が回避されることを示す棒グラフである。

30

【発明を実施するための形態】

【0012】

概説

本開示は、多発性骨髄腫の治療に使用するための抗CD38抗体及びインターロイキン-2類似体（IL-2類似体）を提供する。いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗CD38抗体及びIL-2類似体は、CD38の発現が減少した又はノックアウトされたNK細胞（NK-CD38KO細胞）と組み合わせられる。個体における多発性骨髄腫（MM）を治療する又はその進行を遅延させるための方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、患者は、MM（例えば、新たに診断されたMM）について以前に治療を受けたことがない。いくつかの実施形態では、個体は、MMについて1回、2回、3回又は3回を超える事前治療を受けたことがある。いくつかの実施形態では、個体は、抗CD38薬及び抗BCMA薬を含む1回以上の事前治療ラインを受けたことがある。

40

【0013】

多発性骨髄腫を治療するための方法であって、抗CD38抗体及びインターロイキン-2類似体（IL-2類似体）を個体に投与することを含む方法が本明細書で提供される。多発性骨髄腫の治療のための抗CD38抗体の使用であって、抗CD38抗体は、IL-2類似体と組み合わせることを含む方法が本明細書で提供される。本明細書で提供される方法及び使用についてのいくつかの実施形態では、抗CD38抗体及びIL-2類似体は、細胞NK-CD38KO細胞と組み合わせることを含む。

【0014】

方法は、有効量の抗CD38抗体（例えばイサツキシマブ）を、CD38発現が「ノッ

50

クアウト」されているナチュラルキラー（NK）細胞（例えば、細胞は、CD38が細胞によって発現されないようにCD38遺伝子の全部若しくは一部を除去するように遺伝子改変されている）又はIL-15若しくはその類似体又はそれらの組み合わせと組み合わせて個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、デキサメタゾンもまた、投与される。いくつかの実施形態では、治療は、個体の無増悪生存期間（PFS）及び／又は全生存期間（OS）を延ばす。いくつかの実施形態では、治療は、治療を受けていない個体と比較して、個体の無増悪生存期間（PFS）及び／又は全生存期間（OS）を延ばす。いくつかの実施形態では、個体は、治療後の微小残存病変（MRD）について陰性である（例えば、 10^{-4} 以下又は 10^{-5} 以下又は 10^{-6} 以下の閾値で）（「MRD陰性」とも呼ばれる）。

10

【0015】

抗CD38抗体

いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、ヒトCD38に結合する。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体又はキメラ抗体である。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、（a）アミノ酸配列DYWMQ（配列番号1）を含むCDR-H1、アミノ酸配列TIYPGDGDTGYAQKFQGG（配列番号2）を含むCDR-H2及びアミノ酸配列GDYYGSNSLDY（配列番号3）を含むCDR-H3を含む重鎖可変ドメイン（V_H）並びに（b）アミノ酸配列KASQDVSTVVA（配列番号4）を含むCDR-L1、アミノ酸配列SASYRYI（配列番号5）を含むCDR-L2及びアミノ酸配列QQHYSPPYT（配列番号6）を含むCDR-L3を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）を含む。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、配列番号7に対して少なくとも90%同一（例えば、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%のうちのこれらの値の間にある任意の範囲を含め少なくともいずれか1つ）であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン（V_H）を含む。その上又はその代わりに、いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、配列番号8又は配列番号9に対して少なくとも90%同一（例えば、91%、92%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%のうちのこれらの値の間にある任意の範囲を含め少なくともいずれか1つ）であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）を含む。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、配列番号7を含むV_H及び配列番号8又は配列番号9を含むV_Lを含む。

20

30

QVQLVQSGAE VAKPGTSLVKL SCKASGYTFT DYWMQWV
KQR PGQGLEWIGT IYPGDGDTGY AQKFQGGKATL TAD
KSSKTVY MHLSSLASED SAVYYCARGD YYGSNSLDYW
GQGTSTVTSS（配列番号7）

DIVMTQSHLS MSTSLGDPVS ITCKASQDVS TVVAWYQ
QKP GQSPRRLIYS ASYRYIGVPD RFTGSGAGTD FTF
TISSVQA EDLAVYYCQQ HYSPPYTFGG GTKLEIKR（配
列番号8）

DIVMAQSHLS MSTSLGDPVS ITCKASQDVS TVVAWYQ
QKP GQSPRRLIYS ASYRYIGVPD RFTGSGAGTD FTF
TISSVQA EDLAVYYCQQ HYSPPYTFGG GTKLEIKR（配
列番号9）

40

【0016】

いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、イサツキシマブ（CAS登録番号：1461640-62-9）である。イサツキシマブは、hu38SB19及びSAR650984とも呼ばれ、国際公開第2008/047242号パンフレット及び米国特許第8,153,765号明細書に記載される抗CD38抗体であり、両方の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0017】

イサツキシマブの重鎖は、アミノ酸配列：

50

【化 1】

QVQLVQSGAE VAKPGTSVKL SCKASGYTFT DYWMQWVKQR PGQGLEWIGT IYPGDGDTGY
 AQKFQGKATL TADKSSKTVY MHLSSLASED SAVYYCARGD YYGSNSLDYW GQGTSVTVSS
 ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS
 GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG
 PSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN
 STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE
 LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW
 QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG (配列番号10)

を含み、イサツキシマブの軽鎖は、アミノ酸配列：

10

【化 2】

DIVMTQSHLS MSTSLGDPVS ITCKASQDVS TVVAWYQQKP GQSPRLIYS ASYRYIGVPD
 RFTGSGAGTD FTFTISSVQA EDLAVYYCQQ HYSPPYTFGG GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP
 SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSLSTLT
 LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC (配列番号11)

を含む。

【0018】

抗CD38抗体は、組換え方法を使用して産生されてもよい。抗抗原抗体の組換え産生のために、抗体をコードする核酸を単離し、さらなるクローニング（DNAの増幅）又は発現のために複製可能なベクターに挿入する。抗体をコードするDNAは、従来の手順（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）を使用して容易に単離され、配列決定されてもよい。多くのベクターが利用可能である。ベクター成分は、一般に、以下のうちの1つ以上を含むが、これらに限定されない：シグナル配列、複製開始点、1つ以上のマーカー遺伝子、エンハンサー要素、プロモーター及び転写終結配列。ベクターは、典型的には、核酸の発現に好適な宿主細胞に形質転換される。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、真核細胞又は原核細胞である。いくつかの実施形態では、真核宿主細胞は、哺乳動物細胞である。有用な哺乳動物宿主細胞株の例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株（COS-7、ATCC CRL 1651）；ヒト胎児腎臓株（293細胞又は浮遊培養で成長させるためにサブクローニングされた293細胞、Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)）；ベビーハムスター腎臓細胞（BHK、ATCC CCL 10）；マウスセルトリ細胞（TM4、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)）；サル腎臓細胞（CV1 ATCC CCL 70）；アフリカ緑色サル腎臓細胞（VERO-76、ATCC CRL-1587）；ヒト子宮頸癌細胞（HELA、ATCC CCL 2）；イヌ腎臓細胞（MDCK、ATCC CCL 34）；バッファローラット肝臓細胞（BRL 3A、ATCC CRL 1442）；ヒト肺細胞（W138、ATCC CCL 75）；ヒト肝臓細胞（Hep G2、HB 8065）；マウス乳房腫瘍（MMT 060562、ATCC CCL 51）；TRI細胞（Mather et al., Anna ls N. Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)）；MRC5細胞；FS4細胞；及びヒト肝細胞株（Hep G2）を含む。他の有用な哺乳動物宿主細胞株としては、DHFR-CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞（U rlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 77:4216 (1980)）；並びに骨髓腫細胞株、例えばNS0及びSP2/0などが含まれる。抗体産生に好適な特定の哺乳動物宿主細胞株のレビューについては、例えばY azaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totto wa, N. J., 2003), pp. 255-268を参照されたい。細胞から調製された抗CD38抗体は、例えばヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、疎水性相互作用

20

30

40

50

クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析及びアフィニティークロマトグラフィーを使用して精製することができ、アフィニティークロマトグラフィーは典型的に好ましい精製ステップに入る。一般に、研究、試験及び臨床応用で使用するための抗体を調製するための様々な方法論は、当技術分野において十分に確立されており、上述の方法論と一貫しており且つ／又は当業者によって適切とみなされる。

【0019】

いくつかの実施形態では、IL-2類似体は、ペグ化されたIL-2である。いくつかの実施形態では、IL-2類似体は、非天然アミノ酸、例えばN6-((2-アジドエトキシ)-カルボニル)-L-リジン(AzK)などを有する(例えば含む(include)又は含む(comprise)など)。いくつかの実施形態では、非天然アミノ酸は、平均分子量が30kDaの直鎖PEG基で1つずつペグ化される。好適なIL-2類似体は、例えば、その全体が本明細書に組み込まれる国際公開第2020/163532号パンフレットに記載される。

10

【0020】

いくつかの実施形態では、CD38の発現が減少する又はノックアウトされるように修飾されたナチュラルキラー(NK)細胞(NK-CD38KO細胞)は、多発性骨髄腫の治療のためにイサツキシマブ及び／又はIL-2類似体と組み合わせて使用される。そのようなNK-CD38KO細胞は、例えば、国際公開第2021087466号パンフレットに記載される方法によって産生することができ、その教示はその全体が組み込まれる。

20

【0021】

いくつかの実施形態では、個体は、抗CD38抗体、IL-2類似体及び任意選択的にNK-CD38KO細胞による治療の第1のサイクルを受ける前に、多発性骨髄腫の治療のための1回以上の治療ラインを受けた。抗CD38薬は、例えば、ヒトCD38に特異的に結合することができる単一又は多重特異性結合剤を含む。抗BCMA薬は、例えば、ヒトBCMAに特異的に結合することができる単一又は多重特異性結合剤を含む。結合剤は、例えば、モノクローナル抗体、二重特異性抗体若しくは三重特異性抗体又はそれぞれCD38若しくはBCMAに特異的に結合することができる従来の抗体の抗原特異的領域を含有する抗体類似体とすることができる。結合剤はまた、抗体-薬物コンジュゲートとすることもできる。

30

【0022】

医薬組成物及び使用

例えば、抗CD38抗体(例えばイサツキシマブなど)、IL-2類似体、NK-CD38KO細胞及び／又はデキサメタゾンを含む多発性骨髄腫の治療のための医薬組成物及び製剤もまた本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体、IL-2類似体、NK-CD38KO細胞及び任意選択的なデキサメタゾンのそれぞれは、別個の医薬組成物として提供される。いくつかの実施形態では、医薬組成物及び製剤は、薬学的に許容される担体をさらに含む。

【0023】

いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、例えば約20mg/mL(500mg/25mL)抗体、約20mMヒスチジン、約10%(w/v)スクロース、約0.02%(w/v)ポリソルベート80を含むpH6.0の静脈内投与に好適な製剤である。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、約20mg/mL抗体、約100mg/mLスクロース、2.22mg/mLヒスチジン塩酸塩一水和物、約1.46mg/mLヒスチジン及び約0.2mg/mLポリソルベート80を含む製剤中にある。いくつかの実施形態では、製剤は、注射用水(WFI)、例えば注射用滅菌水(SWFI)などを含む。いくつかの実施形態では、製剤は、無菌である。いくつかの実施形態では、単回使用の製剤は、5mLの製剤(すなわち100mg抗CD38抗体)を含む。いくつかの実施形態では、単回使用5mL製剤は、例えば、エラストマーの栓を備えた16mLタイプの無色透明ガラスバイアル中に提供される。いくつかの実施形態では、バイアルの充填量は、5m

40

50

Lの取り出しを確実にするよう決められている。いくつかの実施形態では、充填量は、5.4 mLである。いくつかの実施形態では、単回使用の製剤は、25 mLの製剤（すなわち500 mg抗CD38抗体）を含む。いくつかの実施形態では、単回使用25 mL製剤は、例えば、エラストマーの栓を備えた30 mLの無色透明ガラスバイアル中に提供される。いくつかの実施形態では、バイアルの充填量は、25 mLの取り出しを確実にするよう決められている。いくつかの実施形態では、製剤は、約2℃～約8℃の間の温度で、少なくとも約6、12、18、24、30又は36ヶ月間、これらの値の間の任意の範囲を含めて安定しており、光から保護されている。いくつかの実施形態では、製剤は、0.9%塩化ナトリウム又は5%デキストロース中に注入用に希釈される。いくつかの実施形態では、希釈注入溶液は、約2℃～約8℃の間で、最大約6、12、18、24、30、36、42又は48時間まで、これらの値の間の任意の範囲を含めて安定している。いくつかの実施形態では、注入用希釈溶液は、約2℃～約8℃の間で保管された後、室温でさらに8時間（注入時間を含む）安定している。いくつかの実施形態では、注入用希釈溶液は、光の存在下で安定している。いくつかの実施形態では、注入用希釈溶液が保管されるバッグは、フタル酸ジ（エチルヘキシル）（DEHP）又はエチル酢酸ビニル（EVA）とポリオレフィン（PO）、ポリエチレン（PE）、ポリプロピレン（PP）、ポリ塩化ビニル（PVC）から製造される。いくつかの実施形態では、注入に使用されるチューブは、インラインフィルタ（ポリエーテルスルホン（PES）、ポリスルホン又はナイロン）と共に、PE、PVC（DEHPあり若しくはなし）、ポリブチルジエン（PBD）又はポリウレタン（PU）から製造される。

10

20

【0024】

いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、皮下投与のための製剤として提供される。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、140 mg/mLの濃度のイサツキシマブ、9 mMヒスチジン、110 mM Arg-C1、2%（w/v）スクロース及び0.4%（w/v）ポロキサマー188を含む。

【0025】

多発性骨髄腫の治療のための他の薬剤と組み合わせた抗CD38抗体の使用

個体（例えばヒト個体）における多発性骨髄腫の治療のためにIL-2類似体、CD38の発現が減少する又はノックアウトされるように修飾されたナチュラルキラー（NK）細胞（NK-CD38 KO細胞）及びデキサメタゾンの1つ以上と組み合わせて使用するための抗CD38抗体が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、使用は、有効量の抗CD38抗体を個体に投与することを含む（例えば、（a）アミノ酸配列DYWMQ（配列番号1）を含むCDR-H1、アミノ酸配列TIYPGDGDTGYAQKFQG（配列番号2）を含むCDR-H2及びアミノ酸配列GDYYGSNSLDY（配列番号3）を含むCDR-H3を含む重鎖可変ドメイン（V_H）並びに（b）アミノ酸配列KASQDVSTVVA（配列番号4）を含むCDR-L1、アミノ酸配列SASYRYI（配列番号5）を含むCDR-L2及びアミノ酸配列QQHYSPPYT（配列番号6）を含むCDR-L3を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）を含む抗CD38抗体。いくつかの実施形態では、抗CD38抗体は、イサツキシマブである。

30

【0026】

いくつかの実施形態では、方法は、第1の28日サイクルの1、8、15及び22日目に10 mg/kgの用量で個体に抗CD38抗体（例えばイサツキシマブ）を投与すること並びに少なくとも1回の追加のサイクルについて28日サイクルの1及び15日目に10 mg/kgの用量で抗CD38抗体を投与することを含む。

40

【0027】

いくつかの実施形態では、方法は、28日サイクルの1及び15日目に10 mg/kgの用量で抗CD38抗体を投与する少なくとも11サイクルの後、1回以上の追加の28日サイクルで28日間に1回10 mg/kgの用量で抗CD38抗体（例えばイサツキシマブ）を投与することを含む。

【0028】

50

いくつかの実施形態では、方法は、抗CD38抗体により治療される間に対象が少なくとも非常に良好な部分奏効（VGPR）を達成した後で、1回以上の追加の28日サイクルで28日間に1回10mg/kgの用量で抗CD38抗体（例えばイサツキシマブ）を投与することを含む。

【0029】

いくつかの実施形態では、方法は、抗CD38抗体により治療される間に対象がMRD陰性を達成した後で、1回以上の追加の28日サイクルで28日間に1回10mg/kgの用量で抗CD38抗体（例えばイサツキシマブ）を投与することを含む。

【0030】

いくつかの実施形態では、方法は、抗CD38抗体により治療される間に対象がMRD陰性を達成した後で、1回以上の追加の28日サイクルで28日間に1回10mg/kgの用量で抗CD38抗体（例えばイサツキシマブ）を投与することを含む。

【0031】

本明細書で記載されるいくつかの実施形態では、IL-2類似体は、非天然アミノ酸、N6-（（2-アジドエトキシ）-カルボニル）-L-リジン（AzK）を含むように修飾されたIL-2であり、AzKは、ペグ化されている。いくつかの実施形態では、IL-2類似体は、2週間に1回若しくは3週間に1回又はそれらの組み合わせで投与される。いくつかの実施形態では、IL-2類似体は、24ug/kgの用量で投与される。いくつかの実施形態では、IL-2類似体は、32ug/kgの用量で投与される。いくつかの実施形態では、IL-2類似体は、16ug/kgの用量で投与される。

【0032】

いくつかの実施形態では、本明細書で記載される治療レジメンは、個体の無増悪生存期間（PFS）を延ばす。

【0033】

いくつかの実施形態では、多発性骨髄腫は、くすぶり型多発性骨髄腫（SMM）である。いくつかの実施形態では、多発性骨髄腫は、新たに診断された多発性骨髄腫である。いくつかの実施形態では、多発性骨髄腫は、再発性及び／又は難治性多発性骨髄腫（RRM）である。いくつかの実施形態では、個体は、多発性骨髄腫について1、2又は3回の事前治療を受けた。いくつかの実施形態では、個体は、多発性骨髄腫で3回を超える事前治療を受けた。いくつかの実施形態では、個体は、プロテアソーム阻害剤による前治療を受けた。いくつかの実施形態では、個体は、免疫調節剤による前治療を受けた。特定の実施形態では、対象は、抗CD38抗体による前治療を受けたことがない。

【0034】

特定の実施形態では、対象は、抗CD38抗体による前治療を受けたことがある。いくつかの実施形態では、事前の抗CD38抗体は、ダラツムマブである。いくつかの実施形態では、事前の抗CD38抗体は、イサツキシマブである。

【0035】

製品又はキット

本発明の別の実施形態では、抗CD38抗体（例えばイサツキシマブ）を含む製品又はキットが提供される。いくつかの実施形態では、製品又はキットは、少なくとも1つの追加の薬剤（例えば、1つ以上のIL-2類似体、NK-CD38KO細胞又はデキサメタゾン）をさらに含む。いくつかの実施形態では、製造品又はキットは、多発性骨髄腫（例えばくすぶり型多発性骨髄腫、新たに診断された多発性骨髄腫、難治性多発性骨髄腫又は再発性及び難治性多発性骨髄腫）を治療する又はその進行を遅延させるために本明細書に記載される使用に従って抗CD38抗体（例えばイサツキシマブ）及び他の薬剤を使用するための説明書を含む添付文書をさらに含む。

【0036】

定義

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「1つの（a）」、「1つの（an）」及び「その（the）」は、別途文脈が明らかに指示しない限り、複数の

10

20

30

40

50

指示物を含む。したがって、例えば、「分子」への言及は、任意選択的に、2つ以上のそのような分子の組み合わせ等を含む。

【0037】

「持続的奏効」は、治療の中止後の疾患（例えば多発性骨髄腫）の進行の予防若しくは遅延及び／又は1つ以上の奏効基準の改善に対する持続的な効果を指す。例えば、多発性骨髄腫に対する治療に対する奏効は、Kumar et al. (2016) “International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma.” Lancet Oncol. 17 (8) : e328–e346) 及び Durie et al. (2006) “International uniform response criteria for multiple myeloma. Leukemia. 20 : 1467–1473 における基準に従って測定されてもよい（下記表Aもまた参照されたい）。いくつかの実施形態では、持続的奏効は、治療期間と少なくとも同じ、治療期間の少なくとも1.5×、2.0×、2.5×又は3.0×の長さの期間を有する。

【0038】

【表1】

表A 国際骨髄腫作業部会(IMWG) 標準奏効基準

奏効	IMWG 基準
完全奏効(CR)	- 血清及び尿での免疫固定法陰性並びに - あらゆる軟部組織形質細胞腫の消失並びに - 骨髄穿刺液中<5%形質細胞。 2回連続の評価が必要である。X線検査を実行した場合に、病勢進行又は新しい骨病変のエビデンスが認められない
厳密完全奏効(sCR)	上記に定義されるCRに加えて: - 正常な遊離軽鎖比(0.26~1.65)及び - 免疫組織化学的検査で骨髄中にクローン性細胞が見つからない(≥100個の形質細胞をカウント後、それぞれκ及びλ患者についてκ/λ比≤4:1又は≥1:2)。 臨床検査パラメータの2回連続の評価が必要である。X線検査を実行した場合に、病勢進行又は新しい骨病変のエビデンスが認められない

【0039】

10

20

30

40

50

【表 2】

非常に良好な部分奏効 (VGPR)	- 免疫固定法では検出されるが、電気泳動法では検出されない血清及び尿 M タンパク質又は - 血清 M タンパク質で$\geq 90\%$減少し且つ尿 M タンパク質レベルが$< 100\text{mg}/24$ 時間。 - 軟部組織形質細胞腫のベースラインと比較して、直交する最大径の積の合計 (SPD) の$\geq 90\%$の低下。 2 回連続の評価が必要である。X 線検査を実行した場合に、病勢進行又は新しい骨病変のエビデンスが認められない。
部分奏効 (PR)	- 血清 M タンパク質の$\geq 50\%$の減少及び 24 時間尿 M タンパク質の$\geq 90\%$の又は$< 200\text{mg}/24$ 時間までの減少 - 上記にリストされる基準に加えて、ベースライン時に存在する場合、軟部組織形質細胞腫のサイズ (直交する最大径の積の合計、すなわち「SPD」) の$\geq 50\%$の低下もまた、必要とされる 2 回連続の評価が必要である。X 線検査を実行した場合に、病勢進行又は新しい骨病変のエビデンスが認められない。
最小奏効 (MR)	血清 M タンパク質の$\geq 25\%$であるが$\leq 49\%$の減少及び 24 時間尿 M タンパク質が 50～89%低下、24 時間尿 M タンパク質は $200\text{mg}/24$ 時間をなお超える。 上記にリストされる基準に加えて、ベースライン時に存在する場合、軟部組織形質細胞腫のサイズ (SPD) の$\geq 50\%$の減少もまた、必要とされる。 2 回連続の評価が必要である。X 線検査を実行した場合に、病勢進行又は新しい骨病変のエビデンスが認められない。
病勢安定 (SD)	CR、VGPR、PR、MR 又は病勢進行の基準を満たしていない。 X 線検査を実行した場合に、病勢進行又は新しい骨病変のエビデンスが認められない。
病勢進行 (PD)	以下の基準のいずれか 1 つ以上: 以下の基準のいずれか 1 つについて確認された最も低い値からの$\geq 25\%$の増加: - 血清 M タンパク質 (絶対的な増加は$\geq 0.5\text{g}/\text{dL}$ でなければならない)。 - 最も低い M 成分が$\geq 5\text{g}/\text{dL}$ であった場合、血清 M タンパク質は$\geq 1\text{g}/\text{dL}$ 増加する。 - 尿 M 成分 (絶対的な増加は$\geq 200\text{mg}/24$ 時間でなければならない)。 新しい病変の出現、> 1 つの病変の SPD における最下点からの$\geq 50\%$の増加又は短軸が$> 1\text{cm}$ の以前の病変の最長径における$\geq 50\%$の増加。 2 回連続の評価が、M タンパク質について PD に必要である。

‡SPD、測定された病変の直交する最大径の積の合計

【0040】

血清及び尿 M タンパク質レベルを測定する方法は、当技術分野で周知であり、例えば Jenkins (2009) Clin Biochem Rev. 30 (3) : 119–122; Leung, Nelson “Chapter 8: Clinical Tests for Monoclonal Proteins.” Onco–Nephrology Curriculum, American Society of Nephrology 2016, pages 1–5) において記載される。

【0041】

いくつかの実施形態では、VGPRは、Kumar et al. (2016) “In

10

20

30

40

50

ternational Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma.” Lancet Oncol. 17 (8) : e328 – e346) 及び Durie et al. (2006) “International uniform response criteria for multiple myeloma. Leukemia. 20 : 1467 – 1473 における基準に従って評価され、これらの内容は参照により本明細書に組み込まれる)。(表 A もまた参照されたい)。

【0042】

「医薬製剤」という用語は、有効成分の生物学的活性が有効となるのを可能にするような形態をしており、製剤が投与される対象に対して許容できないほど毒性である追加の成分を含有しない調製物を指す。そのような製剤は無菌である。「薬学的に許容される」賦形剤（ビヒクル、添加剤）は、用いられる有効成分の有効用量を提供するために、対象哺乳動物に合理的に投与することができるものである。

10

【0043】

本明細書で使用される場合、「治療」という用語は、臨床症状が見られる間に治療されている疾患又は細胞（例えば癌細胞）の自然な経過を変えるように設計された臨床介入を指す。治療の望ましい効果としては、疾患進行率の低下、疾患状態の軽減又は緩和及び寛解又は予後の改善が含まれる。例えば、癌細胞の増殖の減少（又は破壊）、疾患に起因する症状の低下、疾患に罹患している人々の生活の質の向上、疾患を治療するために必要とされる他の薬の用量の低下及び／又は個体の生存期間の延長を含むがこれらに限定されない、癌に関連する1つ以上の症状が軽くなる又は排除される場合、個体は、「治療に」成功している。

20

【0044】

本明細書で使用される場合、「疾患の進行を遅延させる」とは、疾患（例えば癌など）の発症を延期する、遅らせる、遅くする、阻止する、安定させる及び／又は繰り下げることを意味する。この遅延は、病歴及び／又は治療されている個体に応じて時間の長さが変動し得る。当業者に明白なように、十分な又は有意な遅延は、事実上、個体が疾患を発症しないという点で、予防を包含することができる。例えば、末期癌、例えば転移の発症などは、遅延されてもよい。

30

【0045】

「有効量」は、特定の障害の測定可能な改善又は予防をもたらすのに必要とされる最小量を指す。本明細書での有効量は、要因、例えば個体／患者の疾患状態、年齢、性別及び体重並びに個体において所望の応答を誘発する抗体の能力などに応じて変動してもよい。有効量はまた、治療上有益な効果が、治療のいかなる毒性の又は有害な影響にもまさる量でもある。予防的使用のために、有益な又は所望の結果としては、リスクの排除若しくは減少、重症度を小さくすること又は疾患の生化学的、組織学的及び／若しくは行動的症状、その合併症並びに疾患の発症の間に現れる中間病理学的表現型を含む疾患の発生の遅延などの結果が含まれる。治療的使用のために、有益な又は所望の結果としては、疾患に起因する1つ以上の症状の低下、疾患に罹患している人々の生活の質の向上、疾患の治療に必要なとされる他の薬の用量の低下、ターゲティングを介してなどの別の薬の効果の増強、疾患の進行の遅延及び／又は生存期間の延長などの臨床結果が含まれる。癌又は腫瘍の場合、有効量の薬物は、癌細胞の数を減少させること、腫瘍サイズを減少させること、末梢臓器への癌細胞浸潤を阻害する（すなわち、ある程度遅くする、望ましくは停止させる）こと、腫瘍転移を阻害する（すなわち、ある程度遅くする、望ましくは停止させる）こと、ある程度腫瘍成長を阻害すること及び／又は障害に関連する症状の1つ以上をある程度和らげることに於いて効果を有していてもよい。有効量は、1回以上の投与において投与することができる。本発明の目的では、薬物、化合物又は医薬組成物の有効量は、直接的又は間接的に予防的又は治療的処置を実現するのに十分な量である。臨床的状況において理解されるように、薬物、化合物又は医薬組成物の有効量は、別の薬物、化合物又は医薬

40

50

組成物と組み合わせて達成されても達成されなくてもよい。したがって、「有効量」は、1つ以上の治療剤を投与する状況において考えられてもよく、1つ以上の他の薬剤と組み合わせて望ましい結果が達成され得る又は達成される場合、単一の薬剤は有効量で与えられていると考えられてもよい。

【0046】

本明細書で使用される場合、「と組み合わせて」は、別の治療方法の他に、1つの治療方法を投与することを指す。そのため、「と組み合わせて」は、個体への他の治療方法の投与前、投与の間又は投与後の1つの治療方法の投与を指す。

【0047】

治療を目的とする「対象」又は「個体」とは、ヒト、家畜及び飼育動物並びに動物園の動物、競技用動物又は愛がん動物、例えばイヌ、馬、猫、牛などを含む哺乳動物として分類される任意の動物を指す。好ましくは、哺乳動物はヒトである。

【0048】

本明細書における「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、詳細には、所望の生物学的活性を示す限り、モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば二重特異性抗体）及び抗体断片を包含する。

【0049】

ヒト軽鎖は、典型的には、カッパ軽鎖及びラムダ軽鎖として分類され、ヒト重鎖は、典型的には、ミュー、デルタ、ガンマ、アルファ又はイプシロンとして分類され、抗体のアイソタイプをそれぞれIgM、IgD、IgG、IgA及びIgEと定める。IgGは、IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4を含むがこれらに限定されないいくつかのサブクラスを有する。IgMは、IgM1及びIgM2を含むが、これらに限定されないサブクラスを有する。IgAは同様に、IgA1及びIgA2を含むがこれらに限定されないサブクラスに細分される。完全長軽鎖及び重鎖内では、可変ドメイン及び定常ドメインは、典型的には、約12以上のアミノ酸の「J」領域によってつながれ、重鎖はまた、約10以上のアミノ酸の「D」領域も含む。例えば、目的を問わずその全体が参照により組み込まれるFundamental Immunology (Paul, W., ed., Raven Press, 2nd ed., 1989)を参照されたい。各軽鎖／重鎖ペアの可変領域は、典型的には抗原結合部位を形成する。抗体の可変ドメインは、典型的には、比較的保存されたフレームワーク領域（FR）が相補性決定領域又はCDRとも呼ばれる3つの超可変領域によってつながれた同じような一般的な構造を示す。各ペアの2本の鎖由来のCDRに、典型的にはフレームワーク領域が配置されており、これにより特異的なエピトープへの結合が可能になり得る。アミノ末端からカルボキシル末端まで、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインの両方は、典型的には、順に、ドメインFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及びFR4を含む。

【0050】

「CDRセット」という用語は、抗原に結合することができる単一の可変領域中に存在する3つのCDRの群を指す。これらのCDRの正確な境界は、様々な方式に従って各様に定められている。Kabataによって記載される方式（Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) and (1991))は、抗体の任意の可変領域に適用可能な明確な残基番号付け方式を提供するだけでなく、3つのCDRを定める厳密な残基境界も提供する。これらのCDRは、Kabata CDRと呼ばれてもよい。

【0051】

本明細書で使用される「Fc」という用語は、単量体形態か多量体形態かにかかわらず、抗体の消化に起因し又は他の手段によって産生され、ヒンジ領域を含有することができる非抗原結合断片の配列を指す。天然Fcの元の免疫グロブリン源は、好ましくはヒトを起源とし、免疫グロブリンのいずれかとすることができる。Fc分子は、共有結合（すなわちジスルフィド結合）及び非共有結合によって連結して二量体形態又は多量体形態にす

10

20

30

40

50

ることができる単量体ポリペプチドから構成される。天然Fc分子の単量体サブユニット間の分子間ジスルフィド結合の数は、クラス（例えばIgG、IgA及びIgE）又はサブクラス（例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgA1、IgGA2及びIgG4）に応じて1～4つの範囲にある。Fcの一例は、IgGのパパイン消化に起因するジスルフィド結合二量体である。本明細書で使用される「天然Fc」という用語は、単量体、二量体及び多量体形態のどれにも使える。

【0052】

本明細書で使用される場合、「全奏効率」又は「ORR」という用語は、Kumar et al. (2016) “International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma.” Lancet Oncol. 17 (8) : e328–e346及びDurie et al. (2006) “International uniform response criteria for multiple myeloma. Leukemia. 20:1467–1473において記載されるIMWG奏効基準を使用してIRCによって評価されるように、厳密完全奏効（sCR）、完全奏効（CR）、非常に良好な部分奏効（VGPR）及び部分奏効（PR）を有する個体／患者の割合を指す。本明細書の表Aもまた参照されたい。

【0053】

本明細書は、当業者が実施形態を実施するのを可能にするのに十分であると考えられる。本明細書に示され、記載されるものの他に、本発明の様々な改変が、上記の説明から当業者に明らかになり、添付の特許請求の範囲内にあるであろう。本明細書で引用される全ての刊行物、特許及び特許出願は、目的を問わずその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【実施例】

【0054】

本開示は、以下の実施例を参照することにより、より深く理解されるであろう。しかしながら、以下の実施例は、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本明細書に記載される実施例及び実施形態は例示のみを目的としており、それに照らして様々な改変又は変更が当業者に示唆され、本出願の趣旨及び範囲並びに添付の特許請求の範囲内に含まれることが理解される。

【0055】

実施例1

インビトロでの細胞傷害活性の測定

抗体依存性細胞傷害（ADCC）

イサツキシマブ及びSAR444245（ペグ化IL-2類似体）と組み合わせてWT又はCD38KO K-NK細胞（エフェクター細胞）を使用するLP-1RFP多発性骨髄腫細胞（標的細胞）に対する抗体依存性細胞傷害（ADCC）を、Incucyte（登録商標）live-cell imaging and analysis system（Essen Bioscience）によって長期的に測定した。

【0056】

LP-1 RFP細胞は、赤色蛍光タンパク質（RFP）を発現させるためにLP-1細胞（DSMZ）にIncucyte（登録商標）NucLight Red Lentivirus（Sartorius）を感染させることによって産出した。LP-1RFP細胞を、20%ウシ胎児血清（FBS熱不活性化、Biowest、#S181H-100）、1%L-グルタミン（Gibco、#25030-024）を補充したIMDM培地（Gibco、#12440053）中で維持し、37℃、5%CO₂でインキュベートした。LP-1RFP細胞を300gで5分間遠心分離し、RPMI1640完全培地（10%ウシ胎児血清-FBS、Biowest、#S181H-100-、1%L-グルタミン-Gibco、#25030-024を補充したRPMI1640）中に再浮

遊させた後、Incucyte（登録商標）プレートに添加した（下記に詳述する）。

【0057】

CD38の発現が減少した又はノックアウトされたナチュラルキラー（NK）細胞（CD38KO K-NK細胞）を、2人の健康なドナーから単離した末梢血NK細胞（BC45及びBC50）を使用して産出し、PM21粒子技術を使用して増殖させ、高活性化K-NK細胞を産生した。BC45細胞は、CD16についてV/V表現型を有し、BC50細胞は、F/V表現型を有する。

【0058】

CD38KO K-NK細胞を産生するために、CD38を標的とするCas9/RNP複合体をエレクトロポレーションすることによってNK細胞増殖の間にCRISPR遺伝子編集にかけた。増殖後、WT及びCD38KO K-NK細胞を凍結させ、-150℃に保った。WT及びCD38KO K-NK細胞を解凍し、50U/mLのIL-2（Peprotech、#200-02）を補充したRPMI1640完全培地に播種し、16～20時間37℃5%CO2でインキュベートした。細胞を、次いで、300gで5分間遠心分離した後、Incucyte（登録商標）プレートに追加した。

【0059】

化合物及び細胞を、Incucyte（登録商標）プレート（ポリ-Dーリジンにより処理した96ウェル平底マイクロプレートCellCoat（商標）、Greiner Bio-One；#655946）の適切なウェルに以下の順で添加した（各ウェルの最終体積：200μl）：

【0060】

イサツキシマブ（又はアイソタイプ対照）（RPMI1640完全培地中であらかじめ希釈）を、0.1、1又は10ng/mL（50μl/ウェル）のいずれかの最終濃度を有するように適切なウェルに添加した。

【0061】

SAR444245（RPMI1640完全培地中であらかじめ希釈）を、次いで、333,333ng/mLの最終濃度を有するように適切なウェルに添加した（50μL/ウェル）。

【0062】

LP-1RFP細胞（標的細胞、T）を、次いで、各ウェルに添加した（20000個のLP1-RFP細胞/ウェルを有するように）（50μL/ウェル）。

【0063】

WT又はCD38KO K-NK細胞（エフェクター細胞、E）を、次いで、適切なウェルに添加した。様々なE:T比（それぞれ1:1、3:1及び5:1）について判定するために、20000、60000又は100000個の細胞のいずれかを添加した（50μL/ウェル）。

【0064】

Incucyte（登録商標）プレートを、次いで、100gで1分間遠心分離した後、37℃、5%CO2の専用インキュベータ内に設置されたIncucyte（登録商標）（IncucyteS3、EssenBio）に入れた。画像（4枚の画像/ウェル）を、位相チャネル及び赤色チャネルを使用して、10×対物レンズ及び標準スキャンタイプで、2時間ごとに撮影した。LP-1RFP標的細胞の成長を、最大90時間まで蛍光イメージングによってモニターし、生標的細胞の数を、IncucyteS3ソフトウェアを使用して定量化し、ゼロ時間の生標的細胞の数に対して標準化した。

【0065】

実験を、少なくとも2回、WT並びに2人のドナー由来のCD38KO K-NK細胞（BC45及びBC50）により、各条件について2通り実行した。

【0066】

フラトリサイド効果

WT及びCD38KO K-NK細胞を解凍し、RPMI1640完全培地（10%ウ

10

20

30

40

50

シ胎児血清－FBS、Biowest、#S181H-100-、1% L-グルタミン－Gibco、#25030-024を補充したRPMI1640)に播種し、その上50 U/mLのIL-2 (Peprotech、#200-02)を補充し、16～20時間37℃5%CO₂でインキュベートした。細胞を次いで300gで5分間遠心分離し、カウントし、50000個のK-NK細胞/50μLを有するようにRPMI1640完全培地中に再浮遊させた。

【0067】

化合物及び細胞を、Corning (商標) 96-Well Clear Ultra Low Attachment Microplate (Corning、#7007)の適切なウェルに以下の順で添加した (各ウェルの最終体積：200μL)；

10

【0068】

RPMI1640完全培地を各ウェルに添加した (100μL/ウェル)。

【0069】

イサツキシマブ (又はアイソタイプ対照) (RPMI1640完全培地中であらかじめ希釈) を、10ng/mLの最終濃度を有するように適切なウェルに添加した (50μL/ウェル)。

【0070】

WT又はCD38KO K-NK細胞を、次いで、適切なウェルに添加した (50000個のK-NK細胞/ウェルを有するように) (50μL/ウェル)。

【0071】

20

プレートを次いで100gで1分間遠心分離した後、4時間37℃5%CO₂のインキュベータに入れた。

【0072】

フラトリサイドを定量化するために、WT及びCD38KO K-NK細胞を、アネキシンV-FITCキット又はDiOC6/DRAQ7のいずれかで染色した。

【0073】

アネキシンV-FITCキット (Miltenyi Biotec；#130-092-052)により標識するために：

【0074】

4時間のインキュベート後、プレートを300gで5分間遠心分離し、培地を除去し、ペレットを200μLのアネキシンV-FITCキット緩衝溶液中に再懸濁した。プレートを300gで5分間再び遠心分離した。

30

【0075】

緩衝液を除去し、次いでペレットを100μLのアネキシンV-FITCキット緩衝溶液中に再懸濁し、5μLのアネキシンV-FITCを適切なウェルに添加した。

【0076】

プレートを室温且つ暗中で15分間インキュベートした。

【0077】

100μLのアネキシンV-FITCキット緩衝溶液を添加し、プレートを300gで5分間遠心分離し、緩衝液を除去した。

40

【0078】

ペレットを200μLのアネキシンV-FITCキット緩衝溶液中に再懸濁し、プレートを300gで5分間再び遠心分離した。

【0079】

緩衝液を除去し、ペレットを100μLのアネキシンV-FITCキット緩衝溶液中に再懸濁した。

【0080】

1μLのヨウ化プロピジウム (PI) を、分析の直前に適切なウェルに添加した。

【0081】

サンプルを、次いで、MACSQuant 16フローサイトメーター (Milten

50

y i B i o t e c) で分析した。

【0082】

以下の手順を使用して、VenturiOneソフトウェアでデータを分析した：

デブリを除くK-NK細胞集団をゲートし、続いて単一細胞をゲートした。単一細胞から、生存しているPI neg 且つアネキシンV-FITC neg 細胞を定量化した。

【0083】

グラフ化するために、生存K-NK細胞（アネキシンV neg / PI neg）を、アイソタイプ対照の存在下での生存細胞のパーセンテージ（100%）に対して標準化したイサツキシマブの存在下での生存細胞のパーセンテージとして定量化した（図1を参照されたい）。

10

【0084】

DiOC6 / DRAQ7により標識するために：

【0085】

4時間のインキュベーション後、20 μLの100 nM DiOC6（3,3'-ジヘキシルオキサカルボシアニンヨード、ThermoFisher、#D273）を適切なウェルに添加した。

【0086】

プレートを20分間37℃5%CO2でインキュベートした。

【0087】

プレートを次いで300 gで5分間遠心分離し、培地を除去し、ペレットを100 μLの3 μM DRAQ7（BD Biosciences、#564904）中に再懸濁した。

20

【0088】

サンプルを次いでMACSQuant 16フローサイトメーター（Miltenyi Biotec）で分析した。

【0089】

以下の手順を使用して、VenturiOneソフトウェアでデータを分析した：

デブリを除くK-NK細胞集団をゲートし、続いて単一細胞をゲートした。単一細胞から、生存しているDiOC6 pos 且つDRAQ7 neg 細胞を定量化した。

【0090】

グラフ化するために、生存しているK-NK細胞（DiOC6 pos / DRAQ7 neg）を、アイソタイプ対照の存在下での生存細胞のパーセンテージ（100%）に対して標準化したイサツキシマブの存在下での生存細胞のパーセンテージとして定量化した（図2）。

30

【0091】

WT及び2人のドナー由来のCD38 KO K-NK細胞（BC45及びBC50）により実験を行った。図1に示すように。フラトリサイド効果は、イサツキシマブの存在下でCD38 KO K-NK細胞（F/V CD16表現型を有するBC50）で回避される。図2に示すように。フラトリサイド効果は、イサツキシマブの存在下でCD38 KO K-NK細胞（V/V CD16表現型を有するBC45）で回避される。さらに、SAR444245の存在は、野生型NK細胞の存在下でのLP-1細胞に対するイサツキシマブの細胞傷害活性を増強し、イサツキシマブの細胞傷害活性は、CD38 KO K-NK細胞の存在下でさらに増強された。CD38 KO K-NK細胞の細胞傷害活性は、長い間にわたって、最大で90時間まで持続した。

40

【0092】

本明細書に記載の各実施形態は、それとは反対に明らかに示されない限り、任意の他の実施形態と組み合わせられてもよい。特に、好ましい又は有利であると示されるいかなる特徴又は実施形態も、それとは反対に明らかに示されない限り、好ましい又は有利であると示される任意の他の特徴又は実施形態と組み合わせられてもよい。

【0093】

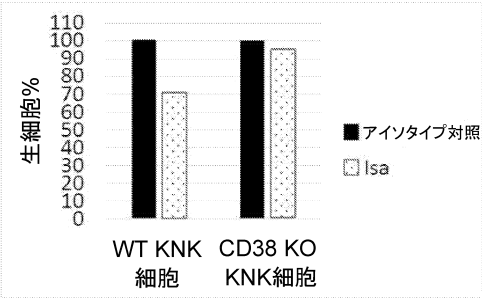
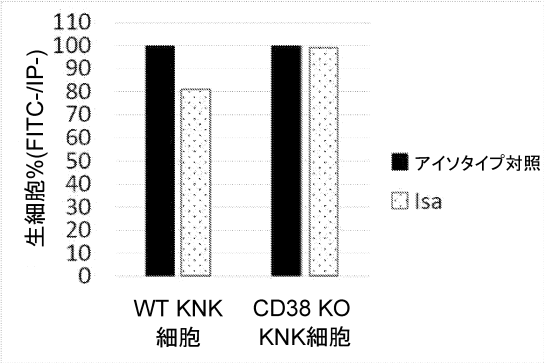
50

本出願において引用される全ての参照物は、明示的に参照により本明細書に組み込まれる。

【図面】

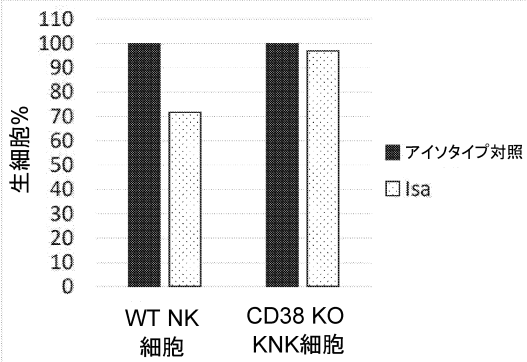
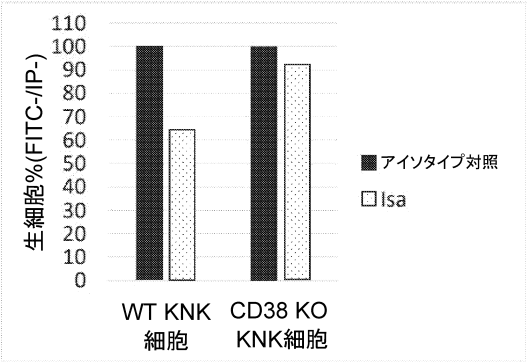
【図 1】

図1



【図 2】

図2



【配列表】

2025509343000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/063869

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. **A61K35/17 A61K38/20 A61K39/00 A61P35/00**
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K A61P

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2022/026706 A1 (EXELIXIS INC [US]) 3 February 2022 (2022-02-03) pages 13, 212; claims 21, 22 -----	1-19
X	WO 2018/165265 A1 (NANTCELL INC [US]) 13 September 2018 (2018-09-13) paragraph [0006]; claims 1, 30 -----	1-19
X	WO 2015/195556 A1 (US HEALTH [US]; JANSSEN BIOTECH INC [US]) 23 December 2015 (2015-12-23) page 1; claims 20-22. 31; figures 2A-B, /B-C; examples 1,2 ----- -/-	1-19

☒ 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

30 May 2023

Date of mailing of the international search report

07/06/2023

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Ramos Barbosa, I

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/063869

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/063869

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2021/087466 A1 (RES INST NATIONWIDE CHILDRENS HOSPITAL [US]; UNIV JOHNS HOPKINS [US]) 6 May 2021 (2021-05-06) paragraph [0154]; claims 1-4; figure 10F; examples 1-3	1-19
A	----- NAEIMI KARAROUDI MEISAM ET AL: "CD38 deletion of human primary NK cells eliminates daratumumab-induced fratricide and boosts their effector activity", BLOOD, vol. 136, no. 21, 19 November 2020 (2020-11-19), pages 2416-2427, XP055857378, US ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood.2020006200 page 2417; abstract	1-19
X,P	----- DATABASE EMBASE [Online] ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL; 1 June 2022 (2022-06-01), MELONI M ET AL: "CD38KO K-NK cells prevent NK cell fratricide effect and improve isatuximab-mediated cytotoxicity against multiple myeloma cells", XP002809369, Database accession no. EMB-638682206 abstract	1-19
X,P	& MELONI M ET AL: "CD38KO K-NK cells prevent NK cell fratricide effect and improve isatuximab-mediated cytotoxicity against multiple myeloma cells", CANCER RESEARCH 20220601 AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH INC. NLD, vol. 82, no. 12, Supplement, 1 June 2022 (2022-06-01), ISSN: 1538-7445	1-19
A	----- Jerod L. Ptacin ET AL: "An engineered IL-2 reprogrammed for anti-tumor therapy using a semi-synthetic organism", Nature communications, 9 August 2021 (2021-08-09), pages 4785-4785, XP055836909, DOI: 10.1038/s41467-021-24987-9 Retrieved from the Internet: URL:https://www.nature.com/articles/s41467-021-24987-9.pdf [retrieved on 2021-09-01] abstract; figure 3	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/063869

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2022026706 A1	03-02-2022	AU 2021318134 A1	02-03-2023
		BR 112023001792 A2	11-04-2023
		CA 3186517 A1	03-02-2022
		CO 2023001561 A2	16-02-2023
		EP 4188376 A1	07-06-2023
		KR 20230059792 A	03-05-2023
		TW 202220654 A	01-06-2022
		WO 2022026706 A1	03-02-2022

WO 2018165265 A1	13-09-2018	AU 2018230346 A1	26-09-2019
		CA 3055958 A1	13-09-2018
		CN 110891581 A	17-03-2020
		EP 3592366 A1	15-01-2020
		IL 269237 A	28-11-2019
		JP 2020509750 A	02-04-2020
		JP 2021191291 A	16-12-2021
		KR 20190126369 A	11-11-2019
		US 2020041490 A1	06-02-2020
		WO 2018165265 A1	13-09-2018

WO 2015195556 A1	23-12-2015	EP 3154581 A1	19-04-2017
		US 2018208669 A1	26-07-2018
		WO 2015195556 A1	23-12-2015

WO 2021087466 A1	06-05-2021	AU 2020375053 A1	26-05-2022
		BR 112022008215 A2	12-07-2022
		CA 3156509 A1	06-05-2021
		CN 114867485 A	05-08-2022
		EP 4051297 A1	07-09-2022
		IL 292584 A	01-06-2022
		JP 2022554284 A	28-12-2022
		KR 20220093337 A	05-07-2022
		US 2022401482 A1	22-12-2022
		WO 2021087466 A1	06-05-2021

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 5/0783(2010.01)	A 6 1 K 35/17	Z N A
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/0783	
	C 1 2 N 5/10	
,MC,ME,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,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW ノフィ。パテント・デパートメント		
(71)出願人 524334386	ザンドラ・カリナ・クリペル	
	フランス国 7 5 0 1 7 パリ。アヴェニュー・ドゥ・ラ・グランデ・アルメ 4 6。サノフィ。パテント・デパートメント	
(71)出願人 524334397	マルコ・メローニ	
	フランス国 7 5 0 1 7 パリ。アヴェニュー・ドゥ・ラ・グランデ・アルメ 4 6。サノフィ。パテント・デパートメント	
(71)出願人 524334401	アンジェラ・ヴィロンーオッドス	
	フランス国 7 5 0 1 7 パリ。アヴェニュー・ドゥ・ラ・グランデ・アルメ 4 6。サノフィ。パテント・デパートメント	
(74)代理人 100127926	弁理士 結田 純次	
(74)代理人 100216105	弁理士 守安 智	
(72)発明者 マリエル・シロン・ブロンデル	フランス国 7 5 0 1 7 パリ。アヴェニュー・ドゥ・ラ・グランデ・アルメ 4 6。サノフィ。パテント・デパートメント	
(72)発明者 アレクサンドル・デジョンケール	フランス国 7 5 0 1 7 パリ。アヴェニュー・ドゥ・ラ・グランデ・アルメ 4 6。サノフィ。パテント・デパートメント	
(72)発明者 ザンドラ・カリナ・クリペル	フランス国 7 5 0 1 7 パリ。アヴェニュー・ドゥ・ラ・グランデ・アルメ 4 6。サノフィ。パテント・デパートメント	
(72)発明者 マルコ・メローニ	フランス国 7 5 0 1 7 パリ。アヴェニュー・ドゥ・ラ・グランデ・アルメ 4 6。サノフィ。パテント・デパートメント	
(72)発明者 アンジェラ・ヴィロンーオッドス	フランス国 7 5 0 1 7 パリ。アヴェニュー・ドゥ・ラ・グランデ・アルメ 4 6。サノフィ。パテント・デパートメント	
F ターム (参考) 4B065 AA90X AA90Y AB01 AC14 BA03 BD09 CA44 CA46	4C076 AA95 CC27 CC41 EE59	
	4C084 AA02 BA44 DA14 NA05 ZB271 ZB272	
	4C085 AA13 AA14 BB11	
	4C087 AA01 AA02 BB37 NA05 ZB27	