

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2022-535062
(P2022-535062A)

(43)公表日 令和4年8月4日(2022.8.4)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00		4 C 0 8 4
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	Z N A	4 C 0 8 5
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 H 0 4 5
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	A 6 1 P	37/04		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全38頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2021-571692(P2021-571692)			(71)出願人	517020643
(86)(22)出願日	令和2年6月3日(2020.6.3)				キニクサ ファーマシューティカルズ、
(85)翻訳文提出日	令和4年1月31日(2022.1.31)				リミテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2020/035957				イギリス領 バミューダ ハミルトン エ
(87)国際公開番号	WO2020/247521				イチエム 11, チャーチ ストリート
(87)国際公開日	令和2年12月10日(2020.12.10)				2, クラレンドン ハウス
(31)優先権主張番号	62/856,638			(74)代理人	100078282
(32)優先日	令和1年6月3日(2019.6.3)				弁理士 山本 秀策
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			(74)代理人	100113413
(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,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く			(74)代理人	弁理士 森下 夏樹
				(74)代理人	100181674
				(74)代理人	弁理士 飯田 貴敏
				(74)代理人	100181641
				(74)代理人	弁理士 石川 大輔
				(74)代理人	230113332
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 GM－C S F 拮抗薬を用いたがんの治療

(57)【要約】

本発明は、とりわけ、治療を必要とする患者にGM－C S F 拮抗薬を投与することを含む、がんを治療する方法を提供し、GM－C S F 拮抗薬の投与は、骨髓由来抑制細胞（M D S C）の免疫抑制活性の阻害をもたらす。本発明はまた、とりわけ、患者にGM－C S F 拮抗薬を投与することを含む、がんに罹患している患者における骨髓由来抑制細胞（M D S C）の免疫抑制活性を阻害する方法も提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

治療を必要とする患者に G M - C S F 拮抗薬を投与することを含む、がんを治療する方法であって、前記 G M - C S F 拮抗薬の投与が、骨髓由来抑制細胞 (M D S C) の免疫抑制活性の阻害をもたらす、方法。

【請求項 2】

がん罹患している患者における骨髓由来抑制細胞 (M D S C) の免疫抑制活性を阻害する方法であって、前記患者に G M - C S F 拮抗薬を投与することを含む、方法。

【請求項 3】

がん治療のための免疫応答を強化する方法であって、がん治療を受けている患者に G M - C S F 拮抗薬を投与することを含み、前記免疫応答が、対照と比較して増加する、方法。

10

【請求項 4】

前記免疫応答が、T細胞増殖のパーセンテージである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記対照が、G M - C S F 拮抗薬の投与前の前記患者における免疫応答レベルを示す、請求項 3 または 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記対照が、G M - C S F 拮抗薬を用いずに前記がん治療を受けている対照患者における参照免疫応答レベル、または履歴データに基づく参照免疫応答レベルである、請求項 3 または 4 に記載の方法。

20

【請求項 7】

前記がん治療が、免疫療法である、請求項 3 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記 G M - C S F 拮抗薬を前記投与することが、前記免疫療法の有効性を増加させる、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

がん患者において P D - L 1 を抑制する方法であって、対照と比較して治療を必要とする患者に G M - C S F 拮抗薬を投与することを含む、方法。

【請求項 10】

前記 G M - C S F 拮抗薬を前記投与することが、がん患者における P D - L 1 のレベルを減少させる、請求項 9 に記載の方法。

30

【請求項 11】

前記対照が、G M - C S F 拮抗薬の投与前の前記患者における P D - L 1 レベルを示す、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記対照が、G M - C S F 拮抗薬を用いずに前記がん治療を受けている対照患者における参照 P D - L 1 レベル、または履歴データに基づく参照 P D - L 1 レベルである、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 13】

前記患者における前記 P D - L 1 のレベルが、前記対照と比較して、少なくとも 10 %、20 %、30 %、50 %、60 %、70 %、80 % または 90 % 減少する、請求項 10 ～ 12 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 14】

前記 P D - L 1 が、M D S C 上で発現される、請求項 9 ～ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

前記 P D - L 1 が、循環 M D S C 上で発現される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記 P D - L 1 が、血漿由来 M D S C 上で発現される、請求項 14 に記載の方法。

50

【請求項 17】

前記患者が、循環骨髄由来抑制細胞（MDS C）を有する、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記患者が、低レベルの浸潤性 T 細胞を有するがんに罹患する、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

前記患者が、免疫チェックポイント阻害剤（ICI）難治性がん罹患する、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記患者が、後期段階または転移性のがんに罹患する、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 21】

前記患者が、乳がん、大腸がん（CRC）、前立腺がん、黒色腫、膀胱がん、膵がん、膵管腺がん、肝細胞がん、胃がん、非小細胞肺がん（NSCLC）、小細胞肺がん（SCLC）、頭頸部扁平上皮細胞がん、非ホジキンリンパ腫、子宮頸がん、消化器がん、泌尿生殖器がん、脳がん、中皮腫、腎細胞がん、婦人科がん、卵巣がん、子宮内膜がん、肺がん、消化器がん、膵がん、食道がん、肝細胞がん、胆管細胞がん、脳がん、中皮腫、悪性黒色腫、メルケル細胞がん、多発性骨髄腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群または急性リンパ芽球性白血病から選択されるがん罹患する、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 22】

前記患者が、ステージ IV の乳がん、ステージ IV の大腸がん（CRC）、前立腺がん、または黒色腫から選択されるがん罹患する、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

前記方法が、前記患者に少なくとも 1 つの他のがん療法を投与することをさらに含む、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

前記少なくとも 1 つの他のがん療法が、化学療法、MDS C 標的療法、免疫療法、放射線療法、およびそれらの組み合わせである、請求項 23 に記載の方法。

30

【請求項 25】

前記 GM-CSF 拮抗薬および前記他のがん療法が、同時に投与される、請求項 23 または請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記 GM-CSF 拮抗薬および前記他のがん療法が、順次投与される、請求項 23 または請求項 24 に記載の方法。

【請求項 27】

前記患者が、前記 GM-CSF 拮抗薬の前記投与前に、前記他のがん療法を用いた治療を受けている、請求項 23 または請求項 24 に記載の方法。

40

【請求項 28】

前記患者が、前記他のがん療法の投与前に、前記 GM-CSF 拮抗薬を用いた治療を受けている、請求項 23 または請求項 24 に記載の方法。

【請求項 29】

前記他のがん療法が、ICI である、請求項 23 ～ 28 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

前記 ICI が、PD-1、CTLA-4、B7、BTLA、HVEM、TIM-3、GAL-9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、または A2aR の活性に拮抗する、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

50

前記ICIが、抗PD-1抗体（任意選択的にペムブロリズマブ、ニボルマブ、セミブリマブ）、抗PD-L1抗体（任意選択的にアテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ）、抗CTLA-4抗体（任意選択的にイピリムマブ（ipilimumab））、抗PD-L2抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体、抗BTLA抗体、抗HVEM抗体、抗TIM-3抗体、抗GAL-9抗体、抗LAG3抗体、抗VISTA抗体、抗KIR抗体、抗2B4抗体、抗CD160抗体、抗CGEN-15049抗体、抗CHK1抗体、抗CHK2抗体、抗A2aR抗体、抗B-7抗体、およびそれらの組み合わせから選択される、請求項29に記載の方法。

【請求項32】

前記ICIが、抗PD-L1抗体である、請求項29に記載の方法。

10

【請求項33】

前記方法が、前記患者に化学療法剤を投与することをさらに含む、請求項24～32のいずれか一項に記載の方法。

【請求項34】

前記MDSC標的療法が、抗CFS-1R抗体、抗IL-6抗体、オールトランスレチノイン酸、アキシチニブ、エンチノスタット、ゲムシタビン、またはフェンホルミン、およびそれらの組み合わせから選択される、請求項24～28のいずれか一項に記載の方法。

【請求項35】

前記免疫療法が、モノクローナル抗体、サイトカイン、がんワクチン、T細胞エンゲージング療法、およびそれらの組み合わせから選択される、請求項24～28のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項36】

前記モノクローナル抗体が、抗CD3抗体、抗CD52抗体、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA4抗体、抗CD20抗体、抗BCMA抗体、二重特異性抗体、または二重特異性T細胞エンゲージャー（BiTE）抗体、およびそれらの組み合わせから選択される、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

前記サイトカインが、IFN α 、IFN β 、IFN γ 、IFN δ 、IFN ϵ 、IFN ζ 、IFN η 、IFN θ 、IFN ι 、IFN κ 、IFN λ 、IL-2、IL-7、IL-15、IL-21、IL-11、IL-12、IL-18、hGM-CSF、TNF α 、またはそれらの任意の組み合わせから選択される、請求項35に記載の方法。

30

【請求項38】

前記GM-CSF拮抗薬が、抗GM-CSF抗体またはその断片である、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項39】

前記GM-CSF拮抗薬が、可溶性GM-CSF受容体である、請求項1～37のいずれか一項に記載の方法。

【請求項40】

前記GM-CSF拮抗薬が、抗GM-CSF受容体抗体またはその断片である、請求項1～37のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項41】

前記抗GM-CSF受容体抗体またはその断片が、抗GM-CSFR α 抗体またはその断片である、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

前記抗GM-CSFR α 抗体またはその断片が、ヒトGM-CSFR α に特異的なモノクローナル抗体である、請求項41に記載の方法。

【請求項43】

前記抗GM-CSFR α 抗体が、ヒトまたはヒト化IgG4抗体である、請求項42に記載の方法。

50

【請求項 4 4】

前記抗 GM-CSFR α 抗体が、マブリリムマブ (mavrilimumab) である、請求項 4 2 または 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記抗 GM-CSFR α 抗体その断片が、配列番号 6 によって規定される軽鎖相補性決定領域 1 (LCDR1)、配列番号 7 によって規定される軽鎖相補性決定領域 2 (LCDR2)、および配列番号 8 によって規定される軽鎖相補性決定領域 3 (LCDR3)、ならびに配列番号 3 によって規定される重鎖相補性決定領域 1 (HCDR1)、配列番号 4 によって規定される重鎖相補性決定領域 2 (HCDR2)、および配列番号 5 によって規定される重鎖相補性決定領域 3 (HCDR3) を含む、請求項 4 1 ~ 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 4 6】

前記 GM-CSF 拮抗薬および／または前記 ICI の前記投与が、対照と比較して、前記患者における MDSC の低減したレベルをもたらす、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記 GM-CSF 拮抗薬および／または前記 ICI の前記投与が、対照と比較して、特許における MDSC 介在性免疫抑制活性の低減したレベルをもたらす、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記 GM-CSF 拮抗薬および／または前記 ICI の前記投与が、対照と比較して、前記患者の末梢血中の Lin-CD14+HLA-DR-MDSC の低減したパーセンテージをもたらす、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 4 9】

前記 GM-CSF 拮抗薬および／または前記 ICI の前記投与が、対照と比較して、前記患者における成熟 MDSC 細胞の増加したパーセンテージをもたらす、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記 GM-CSF 拮抗薬および／または前記 ICI の前記投与が、対照と比較して、Treg 細胞、マクロファージ、および／または好中球の低減したレベルをもたらす、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 5 1】

前記 GM-CSF 拮抗薬および／または前記 ICI の前記投与が、阻害性サイトカインの減少したレベルをもたらす、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記阻害性サイトカインが、IL-10 および TGF β から選択される、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記 GM-CSF 拮抗薬および／または前記 ICI の前記投与が、免疫抑制因子の減少したレベルをもたらす、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 5 4】

前記免疫抑制因子が、アルギナーゼ 1、誘導性一酸化窒素シンターゼ (iNOS)、ペルオキシ亜硝酸、一酸化窒素、活性酸素種、腫瘍関連マクロファージ、およびそれらの組み合わせから選択される、請求項 5 3 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記 GM-CSF 拮抗薬および／または前記 ICI の前記投与が、対照と比較して、CD4+Tエフェクター細胞の増加したレベルをもたらす、先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記対照が、前記患者における治療前レベルもしくはパーセンテージ、または履歴デー

50

タに基づく参照レベルもしくはパーセンテージである、請求項 46～55 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 57】

GM-CSF 拮抗薬および ICI を含む、がんを治療するための、医薬組成物。

【請求項 58】

前記 GM-CSF 拮抗薬が、抗 GM-CSF 抗体またはその断片である、請求項 57 に記載の医薬組成物。

【請求項 59】

前記 GM-CSF 拮抗薬が、可溶性 GM-CSF 受容体である、請求項 57 に記載の医薬組成物。

【請求項 60】

前記 GM-CSF 拮抗薬が、抗 GM-CSF 受容体抗体またはその断片である、請求項 57 に記載の医薬組成物。

【請求項 61】

前記抗 GM-CSF 受容体抗体またはその断片が、抗 GM-CSFR α 抗体またはその断片である、請求項 60 に記載の医薬組成物。

【請求項 62】

前記抗 GM-CSFR α 抗体またはその断片が、ヒト GM-CSFR α に特異的なモノクローナル抗体である、請求項 61 に記載の医薬組成物。

【請求項 63】

前記抗 GM-CSFR α 抗体が、ヒトまたはヒト化 IgG4 抗体である、請求項 62 に記載の医薬組成物。

【請求項 64】

前記抗 GM-CSFR α 抗体が、マブリムマブである、請求項 60～63 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 65】

前記抗 GM-CSFR α 抗体その断片が、配列番号 6 によって規定される軽鎖相補性決定領域 1 (LCDR1)、配列番号 7 によって規定される軽鎖相補性決定領域 2 (LCDR2)、および配列番号 8 によって規定される軽鎖相補性決定領域 3 (LCDR3)、ならびに配列番号 3 によって規定される重鎖相補性決定領域 1 (HCDR1)、配列番号 4 によって規定される重鎖相補性決定領域 2 (HCDR2)、および配列番号 5 によって規定される重鎖相補性決定領域 3 (HCDR3) を含む、請求項 60～63 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 66】

前記 ICI が、PD-1、CTLA-4、B7、BTLA、HVEM、TIM-3、GAL-9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、A2aR、およびそれらの組み合わせの活性に拮抗する、請求項 57～65 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 67】

前記 ICI が、抗 PD-1 抗体（任意選択的にペムブロリズマブ、ニボルマブ、セミブリマブ）、抗 PD-L1 抗体（任意選択的にアテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ）、抗 CTLA-4 抗体（任意選択的にイピリムマブ）、抗 PD-L2 抗体、抗 B7-H3 抗体、抗 B7-H4 抗体、抗 BTLA 抗体、抗 HVEM 抗体、抗 TIM-3 抗体、抗 GAL-9 抗体、抗 LAG3 抗体、抗 VISTA 抗体、抗 KIR 抗体、抗 2B4 抗体、抗 CD160 抗体、抗 CGEN-15049 抗体、抗 CHK1 抗体、抗 CHK2 抗体、抗 A2aR 抗体、抗 B-7 抗体、およびそれらの組み合わせから選択される、請求項 57～63 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 68】

GM-CSF 拮抗薬を含む医薬組成物と、化学療法、MDS 標的療法、免疫療法、放射線療法、およびそれらの組み合わせから選択される少なくとも 1 つの他のがん療法を含

10

20

30

40

50

む医薬組成物とを含む、がんを治療するための、キット。

【請求項 69】

前記免疫療法が、抗PD-1抗体（任意選択的にペムブロリズマブ、ニボルマブ、セミプリマブ）、抗PD-L1抗体（任意選択的にアテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ）、抗CTLA-4抗体（任意選択的にイピリムマブ）、抗PD-L2抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体、抗BTLA抗体、抗HVEM抗体、抗TIM-3抗体、抗GAL-9抗体、抗LAG3抗体、抗VISTA抗体、抗KIR抗体、抗2B4抗体、抗CD160抗体、抗CGEN-15049抗体、抗CHK1抗体、抗CHK2抗体、抗A2aR抗体、抗B-7抗体、およびそれらの組み合わせから選択されるICIである、請求項68に記載のキット。

10

【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、2019年6月3日に出願された米国仮特許出願第62/856,638号に対する優先権を主張するものであり、これはすべての目的に対してそれらの全体の参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

配列表

本明細書は、配列表（2020年6月3日に「KPL-035WO__SL.txt」という名称の.txtファイルとして電子的に提出された）を参照する。 .txtファイルは、2020年6月3日に作成され、4KBのサイズである。配列表の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

20

【背景技術】

【0003】

腫瘍細胞は、宿主T細胞レパートリーによって認識される可能性のある固有の抗原を発現し、腫瘍免疫療法に対する強力な標的として機能する。しかしながら、腫瘍細胞は、宿主免疫を回避し、エフェクター細胞集団を提示する天然抗原を抑制する阻害性サイトカインを発現する。この免疫抑制性環境中の1つの要素は、腫瘍母地、排出リンパ節、および悪性腫瘍を有する患者の循環に見出される制御性T細胞の増加した存在である。さらなる研究の1つの分野は、腫瘍関連アレルギーを逆転させ、エフェクター細胞を刺激して悪性細胞を認識および除去するための治療薬の開発である。

30

【0004】

図面は、例示のためであり、限定のためでない。

【図面の簡単な説明】

【0005】

【図1】 脾がんを有する患者の血液からのCD14+細胞（MDSC）を用いるT細胞増殖アッセイを例示する例示的な棒グラフである。T細胞増殖は、健常ドナー同種T細胞と脾がん患者の血液から選別されたCD14+細胞との共培養後に、完全培地単独中で培養されたそれらのT細胞と比較して、抑制される。T細胞増殖は、脾がん患者の血液から選別された抗GM-CSFR α 抗体およびCD14+細胞を用いた培養後に、レスキューされる。

40

【図2】 異なるがん細胞株におけるGM-CSF発現レベルを例示する例示的なグラフである。

【図3】 がん細胞条件培地が、単球を表現型MDSC（CD14+細胞）に極性化できることを例示する一連の例示的な棒グラフである。腫瘍条件培地（CM）を生成するために、4つの異なる細胞株を、当技術分野で公知の方法に従って播種および培養した。次いで、CD14+単球細胞を、CMの存在下で6日間培養し、遺伝子およびタンパク質発現について解析した。低レベルのHLA-DRバイオマーカーは、MDSC表現型を示す。表現型MDSCの増加は、正常な培養培地（対照）中で成長したCD+14細胞と比較して

50

、CD14+単球がGM-CSF発現がん細胞からの条件培地を用いてインキュベートされる際に観察された。

【図4】様々な培地を用いて培養されたMDSC上のPD-L1発現を例示する一連の例示的な棒グラフである。データは、がん細胞条件培地（CM）および組換えGM-CSFを補充されたCMが、MDSC上のPD-L1の発現を誘導し得ることを示す。追加的に、抗GM-CSFR α 抗体（Ab）は、MDSC上のPD-L1発現レベルを低減できる。

【図5A】様々な培地を用いて培養されたMDSC上のPD-L1発現を例示する一連の例示的な棒グラフである。データは、がん細胞条件培地（CM）および1日目に組換えGM-CSFを補充されたCMが、正常な培養培地（培地）中で成長したMDSCと比較して、MDSC上のPD-L1の発現を誘導し得ることを示す。追加的に、抗GM-CSFR α 抗体（Ab）は、CM中のMDSC上のPD-L1発現レベルを低減できる。図5Aにおけるデータは、CMおよび抗GM-CSFR α 抗体（Ab）が同時に添加される際のPD-L1発現を示す。PD-L1発現を、3日間の処理後に測定した。図5Bは、抗GM-CSFR α 抗体が、CMを用いて培養した72時間後に添加される際のPD-L1発現を示す。PD-L1発現を、抗GM-CSFR α 抗体を用いた処理の24時間後に測定した。

10

【図5B】同上。

【図6】ヒト組換えGM-CSFおよび／または抗GM-CSFR α 抗体（Ab）の補充の有無での、GM-CSF発現がん細胞株からの条件培地を用いて処理された単球を用いたT細胞増殖を例示する一連の例示的な棒グラフである。単球を、GM-CSF発現がん細胞株からの条件培地（CM）中で3日間培養した。T細胞（ 1×10^5 細胞）を、 $0.1 \mu\text{M}$ のCFSEで標識することと、IMDM細胞培養培地中での 10 ng/mL のIL-2および 10 uL の可溶性CD3／CD28 T細胞活性化因子（ImmunoCult）での刺激とによって調製した。次いで、刺激されたT細胞を、混合リンパ球反応（MLR）において、組換えGM-CSF（ 10 ng/mL ）および／または抗GM-CSFR α 抗体（ $100 \mu\text{g/mL}$ ）の有無で、CM処理された単球と（2：1の単球：T細胞の比率で）共培養した。健常単球と一緒にIMDM培養培地中で刺激されたT細胞を、対照として使用した。T細胞を、5日間増殖させ、収集し、ヘルパーTおよび細胞傷害性T細胞に対するマーカーであるCD4およびCD8について染色した。細胞増殖を、フローサイトメトリーによって測定し、CFSE希釈によって評価した。左のパネルは増殖する細胞の％に関するT細胞増殖アッセイの結果を示し、右のパネルはフローサイトメトリーによる最大値の％（MFI）に関する結果（CD4+またはCD8+細胞におけるCFSE希釈のシグナル検出）を示す。

20

30

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は、とりわけ、GM-CSF拮抗薬を使用して、骨髓由来抑制細胞の免疫抑制活性の阻害に基づいてがんを治療するための改善された方法を提供する。本発明は、部分的には、GM-CSFが免疫抑制活性を有するMDSC上のPD-L1の発現を誘導すること、およびこの発現がGM-CSFを拮抗することによって抑制され得ることである、驚くべき発見に基づく。本発明はまた、本明細書にさらに記載される、GM-CSF拮抗薬を他のがん療法と組み合わせて使用してがんを治療する方法も提供する。

40

【0007】

いくつかの態様では、本発明は、治療を必要とする患者にGM-CSF拮抗薬を投与することを含む、がんを治療する方法を提供し、GM-CSF拮抗薬の投与は、骨髓由来抑制細胞（MDSC）の免疫抑制活性の阻害をもたらす。

【0008】

いくつかの態様では、本発明は、患者にGM-CSF拮抗薬を投与することを含む、がん罹患している患者における骨髓由来抑制細胞（MDSC）の免疫抑制活性を阻害する

50

方法を提供する。

【0009】

いくつかの態様では、本発明は、がん治療を受けている患者にGM-CSF拮抗薬を投与することを含む、がん治療のための免疫応答を強化する方法を提供し、免疫応答は、対照と比較して増加する。

【0010】

いくつかの実施形態では、免疫応答は、T細胞増殖のパーセンテージである。いくつかの実施形態では、T細胞は、CD8陽性(CD8+)である。いくつかの実施形態では、T細胞は、CD4陽性(CD4+)である。いくつかの実施形態では、T細胞は、CD8およびCD4(CD8+/CD4+)について二重陽性(CD8+/CD4+)である。

10

【0011】

いくつかの実施形態では、対照は、GM-CSF拮抗薬の投与前の患者における免疫応答レベルを示す。いくつかの実施形態では、対照は、GM-CSF拮抗薬を用いずにがん治療を受けている対照患者における参照免疫応答レベル、または履歴データに基づく参照免疫応答レベルである。

【0012】

いくつかの実施形態では、がん療法は、免疫療法である。

【0013】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬を投与することは、免疫療法の有効性を増加させる。

20

【0014】

一態様では、本発明は、とりわけ、対照と比較して治療を必要とする患者にGM-CSF拮抗薬を投与することを含む、がん患者においてPD-L1を抑制する方法を提供する。

【0015】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬を投与することは、がん患者におけるPD-L1のレベルを減少させる。

【0016】

いくつかの実施形態では、対照は、GM-CSF拮抗薬の投与前の患者におけるPD-L1レベルを示す。

30

【0017】

いくつかの実施形態では、対照は、GM-CSF拮抗薬を用いずにがん治療を受けている対照患者における参照PD-L1レベル、または履歴データに基づく参照PD-L1レベルである。

【0018】

いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも10%減少する。いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも15%減少する。いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも20%減少する。いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも30%減少する。いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも40%減少する。いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも45%減少する。いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも50%減少する。いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも60%減少する。いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも70%減少する。いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも75%減少する。いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも80%減少する。いくつかの実施形態では、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも85%減少する。いくつかの実施形態では

40

50

、患者におけるPD-L1のレベルは、対照と比較して少なくとも90%減少する。

【0019】

いくつかの実施形態では、PD-L1は、MDS C上で発現される。いくつかの実施形態では、PD-L1は、循環MDS C上で発現される。いくつかの実施形態では、PD-L1は、血漿由来MDS C上で発現される。いくつかの実施形態では、PD-L1は、MDS C上で発現される。いくつかの実施形態では、PD-L1は、腫瘍浸潤性免疫細胞上で発現される。

【0020】

いくつかの実施形態では、患者は、循環骨髄由来抑制細胞(MDS C)を有する。

【0021】

いくつかの実施形態では、患者は、低レベルの浸潤性T細胞を有するがんに罹患する。

【0022】

いくつかの実施形態では、患者は、免疫チェックポイント阻害剤(ICI)難治性がん

に罹患する。

【0023】

いくつかの実施形態では、患者は、後期段階または転移性のがんに罹患する。

【0024】

いくつかの実施形態では、患者は、乳がん、大腸がん(CRC)、前立腺がん、黒色腫、膀胱がん、膵がん、膵管腺がん、肝細胞がん、胃がん、非小細胞肺がん(NSCLC)、小細胞肺がん(SCLC)、頭頸部扁平上皮細胞がん、非ホジキンリンパ腫、子宮頸がん、消化器がん、泌尿生殖器がん、脳がん、中皮腫、腎細胞がん、婦人科がん、卵巣がん、子宮内膜がん、肺がん、消化器がん、膵がん、食道がん、肝細胞がん、胆管細胞がん、脳がん、中皮腫、悪性黒色腫、メルケル細胞がん、多発性骨髄腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群または急性リンパ芽球性白血病から選択されるがん

に罹患する。

【0025】

いくつかの実施形態では、患者は、ステージIVの乳がん、ステージIVの大腸がん(CRC)、前立腺がん、または黒色腫から選択されるがん

に罹患する。

【0026】

前記方法が、前記患者に少なくとも1つの他のがん療法を投与することをさらに含む、

先行請求項のいずれか一項に記載の方法。

【0027】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つの他のがん療法は、化学療法、MDS C標的

療法、免疫療法、放射線療法、およびそれらの組み合わせである。

【0028】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬および他のがん療法は、同時に投与され

る。

【0029】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬および他のがん療法は、順次投与される

。

【0030】

いくつかの実施形態では、患者は、GM-CSF拮抗薬の投与前に他のがん療法を用い

た治療を受けている。

【0031】

いくつかの実施形態では、患者は、他のがん療法の投与前にGM-CSF拮抗薬を用い

た治療を受けている。

【0032】

いくつかの実施形態では、他のがん療法は、ICIである。

【0033】

いくつかの実施形態では、ICIは、PD-1、CTLA-4、B7、BTLA、HV

10

20

30

40

50

EM、TIM-3、GAL-9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、またはA2aRの活性に拮抗する。

【0034】

いくつかの実施形態では、ICIは、抗PD-1抗体（任意選択的にペムブロリズマブ、ニボルマブ、セミプリマブ）、抗PD-L1抗体（任意選択的にアテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ）、抗CTLA-4抗体（任意選択的にイピリムマブ（ipilimumab））、抗PD-L2抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体、抗BTLA抗体、抗HVEM抗体、抗TIM-3抗体、抗GAL-9抗体、抗LAG3抗体、抗VISTA抗体、抗KIR抗体、抗2B4抗体、抗CD160抗体、抗CGEN-15049抗体、抗CHK1抗体、抗CHK2抗体、抗A2aR抗体、抗B-7抗体、およびそれらの組み合わせから選択される。

10

【0035】

いくつかの実施形態では、ICIは、抗PD-L1抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗PD-L1抗体である。

【0036】

いくつかの実施形態では、方法は、患者に化学療法剤を投与することをさらに含む。

【0037】

いくつかの実施形態では、MDS C標的療法は、抗CFS-1R抗体、抗IL-6抗体、オールトランスレチノイン酸、アキシチニブ、エンチノスタット、ゲムシタビン、またはフェンホルミン、およびそれらの組み合わせから選択される。

20

【0038】

いくつかの実施形態では、免疫療法は、モノクローナル抗体、サイトカイン、がんワクチン、T細胞エンゲージング療法、およびそれらの組み合わせから選択される。

【0039】

いくつかの実施形態では、モノクローナル抗体は、抗CD3抗体、抗CD52抗体、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA4抗体、抗CD20抗体、抗BCMA抗体、二重特異性抗体、または二重特異性T細胞エンゲージャー（BiTE）抗体、およびそれらの組み合わせから選択される。

【0040】

いくつかの実施形態では、サイトカインは、IFNa、IFNp、IFNy、IFNy、IFN、IL-2、IL-7、IL-15、IL-21、IL-11、IL-12、IL-18、hGM-CSF、TNFa、またはそれらの任意の組み合わせから選択される。

30

【0041】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬は、抗GM-CSF抗体またはその断片である。

【0042】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬は、可溶性GM-CSF受容体である。

【0043】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬は、抗GM-CSF受容体抗体またはその断片である。

40

【0044】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSF受容体抗体またはその断片は、抗GM-CSFR α 抗体またはその断片である。

【0045】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体またはその断片は、ヒトGM-CSFR α に特異的なモノクローナル抗体である。

【0046】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体は、ヒトまたはヒト化IgG4抗体である。

50

【0047】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体は、マブリリムマブ（mavrilimumab）である。

【0048】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体その断片は、配列番号6によって規定される軽鎖相補性決定領域1（LCDR1）、配列番号7によって規定される軽鎖相補性決定領域2（LCDR2）、および配列番号8によって規定される軽鎖相補性決定領域3（LCDR3）、ならびに配列番号3によって規定される重鎖相補性決定領域1（HCDR1）、配列番号4によって規定される重鎖相補性決定領域2（HCDR2）、および配列番号5によって規定される重鎖相補性決定領域3（HCDR3）を含む。

10

【0049】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬および／またはICIの投与は、対照と比較して、患者におけるMDSCの低減したレベルをもたらす。

【0050】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬および／またはICIの投与は、対照と比較して、特許におけるMDSC介在性免疫抑制活性の低減したレベルをもたらす。

【0051】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬および／またはICIの投与は、対照と比較して、患者の末梢血中のLin-CD14+HLA-DR-M-MDSCの低減したパーセンテージをもたらす。

20

【0052】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬および／またはICIの投与は、対照と比較して、患者における成熟MDSC細胞の増加したパーセンテージをもたらす。

【0053】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬および／またはICIの投与は、対照と比較して、Treg細胞、マクロファージ、および／または好中球の低減したレベルをもたらす。

【0054】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬および／またはICIの投与は、阻害性サイトカインの減少したレベルをもたらす。

30

【0055】

いくつかの実施形態では、阻害性サイトカインは、IL-10およびTGF β から選択される。

【0056】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬および／またはICIの投与は、免疫抑制因子の減少したレベルをもたらす。

【0057】

いくつかの実施形態では、免疫抑制因子は、アルギナーゼ1、誘導性一酸化窒素シンターゼ（iNOS）、ペルオキシ亜硝酸、一酸化窒素、反応性酸素種、腫瘍関連マクロファージ、およびそれらの組み合わせから選択される。

40

【0058】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬および／またはICIの投与は、対照と比較して、CD4+Tエフェクター細胞の増加したレベルをもたらす。

【0059】

いくつかの実施形態では、対照は、患者における治療前レベルもしくはパーセンテージ、または履歴データに基づく参照レベルもしくはパーセンテージである。

【0060】

いくつかの態様では、本発明は、GM-CSF拮抗薬およびICIを含むがんを治療するための医薬組成物を提供する。

【0061】

50

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬は、抗GM-CSF抗体またはその断片である。

【0062】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬は、可溶性GM-CSF受容体である。

【0063】

いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬は、抗GM-CSF受容体抗体またはその断片である。

【0064】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSF受容体抗体またはその断片は、抗GM-CSFR α 抗体またはその断片である。

【0065】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体またはその断片は、ヒトGM-CSFR α に特異的なモノクローナル抗体である。

【0066】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体は、ヒトまたはヒト化IgG4抗体である。

【0067】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体は、マブリリムマブである。

【0068】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体その断片は、配列番号6によって規定される軽鎖相補性決定領域1（LCDR1）、配列番号7によって規定される軽鎖相補性決定領域2（LCDR2）、および配列番号8によって規定される軽鎖相補性決定領域3（LCDR3）、ならびに配列番号3によって規定される重鎖相補性決定領域1（HCDR1）、配列番号4によって規定される重鎖相補性決定領域2（HCDR2）、および配列番号5によって規定される重鎖相補性決定領域3（HCDR3）を含む。

【0069】

いくつかの実施形態では、ICIは、PD-1、CTLA-4、B7、BTLA、HVEM、TIM-3、GAL-9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、A2aR、およびそれらの組み合わせの活性に拮抗する。

【0070】

いくつかの実施形態では、ICIは、抗PD-1抗体（任意選択的にペムブロリズマブ、ニボルマブ、セミプリマブ）、抗PD-L1抗体（任意選択的にアテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ）、抗CTLA-4抗体（任意選択的にイピリムマブ）、抗PD-L2抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体、抗BTLA抗体、抗HVEM抗体、抗TIM-3抗体、抗GAL-9抗体、抗LAG3抗体、抗VISTA抗体、抗KIR抗体、抗2B4抗体、抗CD160抗体、抗CGEN-15049抗体、抗CHK1抗体、抗CHK2抗体、抗A2aR抗体、抗B-7抗体、およびそれらの組み合わせから選択される。

【0071】

いくつかの態様では、本発明は、GM-CSF拮抗薬を含む医薬組成物と、化学療法、MDS標的療法、免疫療法、放射線療法、およびそれらの組み合わせから選択される少なくとも1つの他のがん療法を含む医薬組成物とを含む、がんを治療するためのキットを提供する。

【0072】

いくつかの実施形態では、免疫療法は、抗PD-1抗体（任意選択的にペムブロリズマブ、ニボルマブ、セミプリマブ）、抗PD-L1抗体（任意選択的にアテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ）、抗CTLA-4抗体（任意選択的にイピリムマブ）、抗PD-L2抗体、抗B7-H3抗体、抗B7-H4抗体、抗BTLA抗体、抗HVEM抗体、抗TIM-3抗体、抗GAL-9抗体、抗LAG3抗体、抗VISTA抗体、抗KIR

10

20

30

40

50

抗体、抗 2 B 4 抗体、抗 C D 1 6 0 抗体、抗 C G E N - 1 5 0 4 9 抗体、抗 C H K 1 抗体、抗 C H K 2 抗体、抗 A 2 a R 抗体、抗 B - 7 抗体、およびそれらの組み合わせから選択される I C I である。

【0073】

定義

本発明がより理解され易いように、特定の用語を、最初に以下に定義する。以下の用語およびその他の用語についての追加の定義は、本明細書全体を通して定められる。本発明の背景を説明し、その実施に関する追加的詳細を提供するために本明細書に参照される公表文献および他の参照資料は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0074】

抗体：本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン (I g) 分子の免疫活性部分、すなわち、抗原に結合する (免疫反応する) 抗原結合部位を含む分子を指す。「結合する」または「免疫反応する」によって、抗体が、所望のものの 1 つ以上の抗原決定基と反応することが、意味される。抗体は、抗体断片を含む。抗体はまた、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ d A b (ドメイン抗体)、単鎖、F a b、F a b'、F (a b') 2 断片、s c F v、および F a b 発現ライブラリを含むが、これらに限定されない。抗体は、全抗体、または免疫グロブリン、または抗体断片であり得る。

【0075】

アミノ酸：本明細書で使用される場合、「アミノ酸」という用語は、その最も広い意味で、ポリペプチド鎖に組み込まれ得る任意の化合物および／または物質を指す。いくつかの実施形態では、アミノ酸は、一般構造 $H_2N-C(H)(R)-COOH$ を有する。いくつかの実施形態では、アミノ酸は、天然に生じるアミノ酸である。いくつかの実施形態では、アミノ酸は合成アミノ酸であり、いくつかの実施形態では、アミノ酸は d - アミノ酸であり、いくつかの実施形態では、アミノ酸は、L - アミノ酸である。「標準アミノ酸」は、天然に生じるペプチドに一般的に見出される 20 の標準的な L - アミノ酸のうちのいずれかを指す。「非標準アミノ酸」は、合成的に調製されるか、または天然源から取得されたかにかかわらず、標準アミノ酸以外の任意のアミノ酸を指す。本明細書で使用される場合、「合成アミノ酸」は、塩、アミノ酸誘導体 (アミドなど)、および／または置換を含むがこれらに限定されない化学的に改変されたアミノ酸を包含する。ペプチド中のカルボキシル末端アミノ酸、および／またはアミノ末端アミノ酸を含むアミノ酸は、メチル化、アミド化、アセチル化、保護基、および／またはそれらの活性に悪影響を与えることなくペプチドの循環半減期を変化させることができる他の化学基との置換によって改変され得る。アミノ酸は、ジスルフィド結合に関与し得る。アミノ酸は、1 つ以上の化学物質 (例えば、メチル基、酢酸基、アセチル基、リン酸基、ホルミル部分、イソプレノイド基、硫酸基、ポリエチレングリコール部分、脂質部分、炭水化物部分、ビオチン部分など) との会合などの、1 つまたは翻訳後修飾を含み得る。「アミノ酸」という用語は、「アミノ酸残基」と互換的に使用され、遊離アミノ酸および／またはペプチドのアミノ酸残基を指す場合もある。用語が、遊離アミノ酸またはペプチドの残基を指すかは、用語が使用されている文脈から明白であろう。

【0076】

向上：本明細書において使用される場合、「向上」という用語は、状態の防止、低減、もしくは緩和、または対象の状態の改善を意味される。向上は、疾患状態の完全な回復または完全な防止を含むが、これらを必要としない。いくつかの実施形態では、向上は、関連疾患組織では欠落している関連タンパク質またはその活性の増加するレベルを含む。

【0077】

およそまたは約：本明細書で使用される場合、目的の 1 つ以上の値に適用される「およそ」または「約」という用語は、指定された参照値と類似している値を指す。特定の実施形態では、「およそ」または「約」という用語は、別段指定されない限り、または別段文脈から明白でない限り、指定された参照値のいずれか方向 (大きいか、または小さい) に

10

20

30

40

50

、25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%またはそれ以下の範囲内に収まる値の範囲を指す（そのような数が可能な値の100%を超える場合を除く）。

【0078】

送達：本明細書で使用される場合、「送達」という用語は、局所送達および全身送達の両方を包含する。

【0079】

改善する、増加しり、阻害するまたは低減させる：本明細書で使用される場合、「改善する」、「増加する」「阻害する」もしくは「低減させる」という用語、またはその文法的等価物は、本明細書に記載される治療の開始前の同じ個体における測定値、または本明細書に記載される治療が行われない対照対象（または複数の対照対象）における測定値などのベースライン測定値に対する、相対的な値を示す。「対照対象」は、治療されている対象と同じ形態の疾患に罹患し、治療されている対象とほぼ同じ年齢である対象である。

【0080】

「阻害」または「阻害すること」：本明細書で使用される場合、「阻害」もしくは「阻害すること」、または文法的等価物は、生物学的活性の低減、減少または阻害を意味する。中和：本明細書で使用される場合、中和は、中和抗体が結合するタンパク質、この場合にはGM-CSFR α の生物学的活性の低減または

阻害、例えば、GM-CSFR α へのGM-CSF結合、もしくは例えば、GM-CSFR α 介在性応答によって測定されるGM-CSFR α によるシグナル伝達の低減または阻害を意味する。生物学的活性の低減または阻害は、部分的または合計であり得る。抗体がGM-CSFR α を中和する程度は、その中和効力と称される。

【0081】

患者：本明細書で使用される場合、「患者」という用語は、提供される組成物が、例えば、実験目的、診断目的、予防目的、美容目的、および／または治療目的のために投与され得る任意の生物体を指す。典型的な患者は、動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、および／またはヒトなどの、哺乳動物）を含む。いくつかの実施形態では、患者は、ヒトである。ヒトは、出生前および出生後の形態を含む。

【0082】

薬学的に許容可能な：本明細書で使用される場合、「薬学的に許容可能」という用語は、適切な医学的判断の範囲内で、過剰な毒性、刺激、アレルギー応答、または他の問題もしくは合併症を伴わずにヒトおよび動物の組織と接触して使用することに適し、合理的な利益／リスク比に見合った物質を指す。

【0083】

実質的な同一性：本明細書において、「実質的な同一性」という語句は、アミノ酸配列または核酸配列の間の比較を指すために使用される。当業者によって理解されるであろうように、2つの配列は、対応する位置に同一の残基を含む場合、一般に「実質的に同一」とであるとみなされる。当技術分野で周知であるように、アミノ酸配列または核酸配列は、ヌクレオチド配列に対するBLASTN、ならびにアミノ酸配列に対するBLASTP、ギャップBLAST、およびPSI-BLASTなどの市販のコンピュータプログラムにおいて利用可能なものを含む、多様なアルゴリズムのうちのいずれかを使用して比較され得る。そのようなプログラムの例は、Altschul, et al., Basic local alignment search tool, J Mal. Biol., 215 (3) : 403-410, 1990、Altschul, et al., Methods in Enzymology, Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402, 1997、Baxevanis et al., Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, Wiley, 1998、およびMisener, et al., (eds.), Bioinf

10

20

30

40

50

ormatics Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol. 132), Humana Press, 1999に記載されている。同一配列を特定することに加えて、上述のプログラムは、典型的には、同一性の程度の数値を提供する。いくつかの実施形態では、対応する残基の少なくとも50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上は、残基の関連する並びにわたって同一である場合、実質的に同一であるとみなされる。いくつかの実施形態では、関連する並びは、完全な配列である。いくつかの実施形態では、関連する並びは、少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500またはそれ以上の残基である。

10

【0084】

対象：本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、ヒトまたは任意の非ヒト動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ウマ、または霊長類）を指す。ヒトは、出生前および出生後の形態を含む。多くの実施形態では、対象は、ヒトである。対象は、患者であってもよく、患者とは、疾患の診断または治療のために、医療提供者に提示するヒトを指す。「対象」という用語は、「個体」または「患者」と互換的に本明細書で使用される。対象は、疾患もしくは障害に罹患しているか、または感受性であってもよいが、疾患または障害の症状を呈している場合も、呈していない場合もある。

20

【0085】

実質的に：本明細書で使用される場合、「実質的に」という用語は、目的の特徴もしくは特性のすべてまたはほぼすべての範囲または程度を呈する定性的な状態を指す。生物学分野の当業者であれば、生物学および化学的な現象が、完了まで到達すること、かつ／または完全性にまで進展すること、または完全な結果を実現すること、または絶対的な結果を達成もしくは回避することは、あるとしても滅多にないことを理解するであろう。したがって、「実質的に」という用語は、多くの生物学および化学的な現象に固有な完全性の潜在的な欠落を捉えるために本明細書で使用される。

【0086】

全身分布または送達：本明細書で使用される場合、「全身分布」、「全身送達」という用語、または文法的等価物は、身体全体もしくは生物体全体に影響を及ぼす送達または分布メカニズムまたはアプローチを指す。典型的には、全身分布または全身送達は、身体の循環系、例えば、血流を介して達成される。「局所分布または送達」の定義と比較される。

30

【0087】

治療有効量：本明細書で使用される場合、治療剤の「治療有効量」という用語は、疾患、障害、および／もしくは状態に罹患しているか、または感受性の対象に投与されたとき、疾患、障害、および／もしくは状態の症状を治療、診断、予防、および／または発症遅延させるために十分である量を意味する。治療有効量は、典型的には、少なくとも1つの単位用量を含む投与レジメンを介して投与されることが、当業者によって理解されるであろう。

40

【0088】

治療：本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療」または「治療すること」という用語は、特定の疾患、障害、および／もしくは状態の1つ以上の症状または特性を部分的に、あるいは完全に軽減する、向上させる、緩和する、阻害する、予防する、発生遅延させる、重篤度低減させる、ならびに／あるいは発生率低減させるために使用される任意の方法を指す。治療は、疾患に関連した病態の発現リスクを減少させる目的のために、疾患の徴候を呈せず、かつ／または疾患の早期徴候のみを呈する対象に施され得る。

【発明を実施するための形態】

50

【0089】

本発明は、とりわけ、GM-CSF拮抗薬を使用する治療を必要とする患者において骨髓由来抑制細胞(MDSC)の免疫抑制活性を阻害することによって、がんを治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、GM-CSF拮抗薬は、免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて使用される。本発明は、免疫チェックポイント阻害性(ICI)の難治性もしくは抵抗性のがん、または後期段階もしくは転移性のがんを治療するのに特に効果的であることが、企図される。

【0090】

本発明の様々な態様を、以下のセクションにおいて詳細に記載する。セクションの使用は、本発明を限定するように意味されない。各セクションは、本発明の任意の態様に適用できる。本出願では、「または」の使用は、別段指定されない限り「および／または」を意味する。

【0091】

骨髓由来抑制細胞(MDSC)

MDSCは、骨髓系からの免疫細胞の異種群である。MDSCは、慢性感染症およびがんなどの病理学的状況において猛烈に増殖し、免疫刺激特性というよりむしろ、強力な免疫抑制活性を保有する他の骨髓細胞型と区別される。CD14+HLA-DR^{lo}/neg単球と呼ばれる、低下したHLA-DR発現を有するか、またはHLA-DR発現を有しない単球は、MDSCにグループ化され、適応免疫を変化させ免疫抑制を生み出すことができる。

【0092】

MDSCは、がん、感染症、慢性炎症、移植、および自己免疫において、末梢血、リンパ器官、脾臓、および腫瘍部位に蓄積する。腫瘍がMDSCを動員し、増殖させ、活性化させる具体的な経路は未知のままであるが、インターロイキン(IL-1 β)、IL-6、シクロオキシヘナーゼ2(COX2)生成PGE₂、高濃度のGM-CSF、M-CSF、血管内皮成長因子(VEGF)、IL-10、形質転換成長ベータ(TGF β)、インドールアミン2,3-ジオキシヘナーゼ(IDO)、FLT3リガンド、および幹細胞因子の関与についての証拠は、増加している。

【0093】

寛容原性DCまたはMDSCを誘導することが示されている腫瘍細胞株との免疫能力のある細胞の共培養。以前の研究はまた、腫瘍細胞がGM-CSFを放出し、これが顆粒球ROS産生を誘導してT細胞機能を阻害することも示唆する。追加的に、プログラム死リガンド1(PD-L1)の発現はマウス腫瘍モデルにおけるMDSCの表面で増加するが、MDSC介在性抑制におけるこのことの役割は不明なままである。

【0094】

プログラム死リガンド1(PD-L1)

プログラム死リガンド1(PD-L1、CD274としても知られる)は、その受容体PD-1に結合する免疫チェックポイントタンパク質である。PD-L1は、様々な細胞型で、主に腫瘍細胞、MDSC、単球、マクロファージ、ナチュラルキラー(NK)細胞、樹状細胞(DC)、および活性化T細胞において、また脳、角膜、および網膜などの免疫特権部位で、広く発現される。正常な生理学的条件下では、PD-1/PD-L1シグナル伝達経路の活性化は、末梢寛容の誘導および維持、T細胞免疫ホメオスタシスの維持、過剰活性化を回避することおよび免疫介在性組織損傷に対して保護することに密接に関連している。病態では、PD-L1は、その受容体プログラム死1(PD-1)と相互作用し、陰性シグナルを伝達して、プライミング、成長、増殖およびアポトーシスを含む、T細胞介在性細胞免疫応答の一連のプロセス、ならびに機能的成熟を制御して、免疫逃避をもたらす。

【0095】

免疫チェックポイント阻害剤(ICI)は、多くの腫瘍の治療風景を変え、一部の症例では持続的な応答を誘導し、腫瘍変異荷重、CD8+T細胞密度、およびPD-L1発現

10

20

30

40

50

は各々、PD-1／L1拮抗薬に対する応答の別個のバイオマーカーとして提案されている。免疫チェックポイント遮断抗体についての主な課題のうちの1つは、限定されたT細胞応答を伴う悪性腫瘍または免疫学的に「冷たい」腫瘍にある。これらの冷たい腫瘍は、ほとんど浸潤性T細胞を含まず、認識されず、免疫系による強力な応答を誘発せず、現在の免疫療法での治療を困難にしている。本発明者らは、驚くべきことに、GM-CSFが、PD-L1を上方制御し、免疫抑制活性に寄与することを見出した。「冷たい」腫瘍を「熱い」腫瘍に変換することは、がん治療における画期的な出来事のうちの1つである。

【0096】

GM-CSF拮抗薬

GM-CSFシグナル伝達

GM-CSFは、広範囲の造血細胞型の生存および増殖を強化するI型炎症促進性サイトカインである。それは、骨髄細胞（例えば、好中球、好塩基球、好酸球、単球、およびマクロファージ）の分化および増殖の誘導因子として最初に特定された成長因子である（Wicks IP and Roberts AW. Nat Rev Rheumatol. 2016, 12(1):37-48）。異なるアプローチを使用する研究は、GM-CSF過剰発現では、病理学的変化がほぼ常続くことが実証している（Hamilton JA et al., Growth Factors. 2004, 22(4):225-31）。GM-CSFは、血管の活性化された内皮を通じて骨髄細胞の輸送を強化し、炎症中の血管における単球およびマクロファージの蓄積にも寄与し得る。GM-CSFはまた、炎症組織における常駐組織マクロファージと同様に、単球およびマクロファージの活性化、分化、生存、および増殖も促進する。それは、MM1マクロファージおよび単球由来樹状細胞（MoDC）への浸潤性単球の分化を促進することによって、炎症組織における抗原提示細胞の表現型を調節する。さらに、マクロファージおよびMoDCによるIL-23の産生は、IL-6およびIL-1などの他のサイトカインと組み合わせて、T細胞分化を調節する。

【0097】

M-CSF（マクロファージコロニー刺激因子）と一緒に、GM-CSFは、マクロファージの数および機能を調節する。GM-CSFによって活性化されたマクロファージは、一連のエフェクター機能を獲得し、それらすべては、それらを炎症性マクロファージとして特定される。GM-CSF活性化マクロファージは、TNF、IL-1 β 、IL-6、IL-23およびIL-12を含む炎症促進性サイトカイン、ならびにCCL5、CCL22、およびCCL24などのケモカインを産生し、T細胞および他の炎症性細胞を組織微小環境中に動員する。

【0098】

GM-CSF受容体は、ヘマトポイエチン（haematopoietin）受容体スーパーファミリーのメンバーである。それは、アルファおよびベータサブユニットからなるヘテロ二量体である。アルファサブユニットは、GM-CSFに非常に特異的であるのに対し、ベータサブユニットは、IL-3およびIL-5を含む他のサイトカイン受容体と共有される。これは、ベータ受容体サブユニットのより広範な組織分布に反映される。アルファサブユニット、GM-CSFR α は、主に、好中球、マクロファージ、好酸球、樹状細胞、内皮細胞および呼吸上皮細胞などの骨髄細胞および非造血細胞上で発現される。全長GM-CSFR α は、I型サイトカイン受容体ファミリーに属する400アミノ酸のI型膜糖タンパク質であり、22アミノ酸のシグナルペプチド（位置1～22）、298アミノ酸の細胞外ドメイン（位置23～320）、位置321～345からの膜貫通ドメインおよび短い55アミノ酸の細胞内ドメインからなる。シグナルペプチドは、切断されて、378アミノ酸のタンパク質としてGM-CSFR α の成熟形態を提供する。ヒトおよびマウスGM-CSFR α の相補的なDNA（cDNA）クローンが利用可能であり、タンパク質レベルでは、受容体サブユニットは36%の同一性を有する。GM-CSFは、 α サブユニット単独に比較的低い親和性（K_d 1～5 nM）で結合することができ

10

20

30

40

50

るが、 β サブユニット単独には全く結合することができない。しかしながら、 α および β サブユニット両方の存在は、高親和性リガンド-受容体複合体 (K_d 約 100 pM) をもたらす。 GM-CSF シグナル伝達は、 $\text{GM-CSFR}\alpha$ 鎖へのその初期の結合、次いでより大きなサブユニット共通 β 鎖との架橋を通じて生じて、高親和性相互作用を生成し、 JAK-STAT 経路をリン酸化する。この相互作用はまた、チロシンリン酸化および MAPキナーゼ 経路の活性化を通じてシグナル伝達することもできる。

【0099】

病理学的には、 GM-CSF は、炎症性、呼吸器系、および自己免疫性の疾患を悪化させる役割を果たすことが示されている。したがって、 $\text{GM-CSFR}\alpha$ への GM-CSF 結合の中和は、 GM-CSFR を通じて介在される疾患および状態を治療するための治療アプローチである。したがって、本発明は、ヒト GM-CSF または $\text{GM-CSFR}\alpha$ 、に結合するか、またはヒト GM-CSF の $\text{GM-CSFR}\alpha$ への結合を阻害する、かつ／または受容体への GM-CSF リガンド結合から生じるシグナル伝達を阻害する結合メンバーに関する。リガンド結合時に、 GM-CSFR は、 JAK2/STAT5 、 MAPK 経路、および PI3K 経路を含む、複数の下流シグナル伝達経路の刺激を誘発し、すべて、骨髄細胞の活性化および分化に関連する。結合メンバーは、 GM-CSFR を通じた GM-CSF シグナル伝達の可逆的阻害因子であり得る。

【0100】

GM-CSF 拮抗薬

本発明に適した GM-CSF 拮抗薬は、本明細書に記載されるものを含む1つ以上の GM-CSF 介在性シグナル伝達を低減、阻害または無効化できるそれらの治療薬を含む。例えば、本発明に従う好適な GM-CSF 拮抗薬は、数例を挙げると、 GM-CSF 可溶性受容体-Fc融合タンパク質、抗 GM-CSF 受容体抗体またはその断片などの融合タンパク質を含む、抗 GM-CSF 抗体およびその断片、可溶性 GM-CSF 受容体およびそのバリエーションを含むが、これらに限定されない。

【0101】

いくつかの実施形態では、好適な GM-CSF 拮抗薬は、抗 $\text{GM-CSFR}\alpha$ 抗体である。例示的な抗 $\text{GM-CSFR}\alpha$ モノクローナル抗体は、 $\text{WO} 2007/110631$ として公開された2007年3月27日に出願された国際出願第 $\text{PCT/GB} 2007/001108$ 号、2010年10月10日に出願されたEP出願第120770487号、2007年3月27日に出願された米国出願第11/692,008号、2008年9月25日に出願された米国出願第12/294,616号、2013年7月12日に出願された米国出願第13/941,409号、2010年11月30日に出願された米国出願第14/753,792号、 $\text{WO} 2013/053767$ として公開された2012年10月10日に出願された国際出願第 $\text{PCT/EP} 2012/070074$ 号、 $\text{WO} 2015/177097$ として公開された2015年5月18日に出願された国際出願第 $\text{PCT/EP} 2015/060902$ 号、2017年5月23日に出願された国際出願第 $\text{PCT/EP} 2017/062479$ 号に記載されるものを含み、それらの各々は、それらの全体の参照により本明細書に組み込まれる。一実施形態では、抗 $\text{GM-CSFR}\alpha$ モノクローナル抗体は、マブリリムマブである。 $\text{WO} 2007/110631$ は、 $\text{GM-CSFR}\alpha$ の生物学的活性を高力価で中和する能力を共有する抗 $\text{GM-CSFR}\alpha$ 抗体マブリリムマブおよびそのバリエーションの分離ならびに特徴付けについて報告している。これらの抗体の機能特性は、少なくとも部分的に、ヒト $\text{GM-CSFR}\alpha$ の226~230位の $\text{Tyr-Leu-Asp-Phe-Gln}$ モチーフを結合することに起因すると考えられ、それによって、 $\text{GM-CSFR}\alpha$ とそのリガンド GM-CSF との間の会合を阻害する。マブリリムマブは、 $\text{GM-CSFR}\alpha$ を標的とすることによってマクロファージの活性化、分化、および生存を調節するように設計されたヒトIgG4モノクローナル抗体である。それは、 $\text{GM-CSFR}\alpha$ の生物学的活性の強力な中和剤であり、RA患者の滑膜関節内の白血球上の $\text{GM-CSFR}\alpha$ に結合することによって治療効果を発揮し、低減した細胞生存および活性化をもたらすことが示された。現在までのインビボ使用についての GM-CSF

S F R α 抗体マブリリムマブの安全性プロファイルは、関節リウマチ（R A）に対する第 I I 相治験において確立している。

【0102】

特定の実施形態では、抗体は、2つの軽鎖および2つの重鎖から構成される。重鎖可変ドメイン（V H）は、配列番号1において特定されたアミノ酸配列を含む。軽鎖可変ドメイン（V L）は、配列番号2において特定されたアミノ酸配列を含む。重鎖および軽鎖は各々、相補性決定領域（C D R）およびフレームワーク領域を以下の配置で含む。

F R 1 - C D R 1 - F R 2 - C D R 2 - F R 3 - C D R 3 - F R 4

【0103】

マブリリムマブ抗体重鎖は、C D R : H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3を、それぞれ、配列番号3、4および5のアミノ酸配列によって特定されるように含む。軽鎖は、C D R : L C D R 1、L C D R 2、L C D R 3を、それぞれ、配列番号6、7および8のアミノ酸配列によって特定されるように含む。

【0104】

抗 G M - C S F R α 重鎖可変ドメインアミノ酸配列

Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K V S G Y T L T E L S I H W V R Q A
P G K G L E W M G G F D P E E N E I V Y A Q R F Q G R V T M T E D T S T D T A Y
M E L S S L R S E D T A V Y Y C A I V G S F S P L T L G L W G Q G T M V T V S S
(配列番号1)

【0105】

抗 G M - C S F R α 軽鎖可変ドメインアミノ酸配列

Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R V T I S C T G S G S N I G A P Y D V S W Y Q Q
L P G T A P K L L I Y H N N K R P S G V P D R F S G S K S G T S A S L A I T G L
Q A E D E A D Y Y C A T V E A G L S G S V F G G G T K L T V L (配列番号2)

【0106】

抗 G M - C S F R α 重鎖可変ドメイン C D R 1 (H C D R 1) アミノ酸配列

E L S I H (配列番号3)

【0107】

抗 G M - C S F R α 重鎖可変ドメイン C D R 2 (H C D R 2) アミノ酸配列

G F D P E E N E I V Y A Q R F Q G (配列番号4)

【0108】

抗 G M - C S F R α 重鎖可変ドメイン C D R 3 (H C D R 3) アミノ酸配列

V G S F S P L T L G L (配列番号5)

【0109】

抗 G M - C S F R α 軽鎖可変ドメイン C D R 1 (L C D R 1) アミノ酸配列

T G S G S N I G A P Y D V S (配列番号6)

【0110】

抗 G M - C S F R α 軽鎖可変ドメイン C D R 2 (L C D R 2) アミノ酸配列

H N N K R P S (配列番号7)

【0111】

抗 G M - C S F R α 軽鎖可変ドメイン C D R 3 (L C D R 3) アミノ酸配列

A T V E A G L S G S V (配列番号8)

【0112】

いくつかの実施形態では、がん治療のための抗 G M - C S F R α 抗体は、出願第 W O 2 0 0 7 / 1 1 0 6 3 号および第 W O 2 0 1 3 / 0 5 3 7 6 7 号に開示される G M - C S F α 結合メンバーから選択されるマブリリムマブのバリエーションであり、その全体は、その全体の参照により組み込まれる。

【0113】

いくつかの実施形態では、がん治療のための抗 G M - C S F R α 抗体は、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、および配列番号8のうちの1つ以上

10

20

30

40

50

と、少なくとも75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上の同一性を有するCDRアミノ酸配列を含む。

【0114】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体は、配列番号2に対し少なくとも90%同一のアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号1に対し少なくとも90%同一のアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメインを含む。本発明のいくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体は、配列番号2に対し少なくとも50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上の同一性を有する軽鎖可変ドメインアミノ酸配列と、配列番号1に対し少なくとも50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上の同一性を有する重鎖可変ドメインアミノ酸配列とを有する。本発明のいくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体は、配列番号2に記載されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号1に記載されるアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメインとを含む。本発明のいくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体の重鎖定常領域は、IgG1抗体に由来するCH3ドメインに融合された、IgG4抗体に由来するCH1、ヒンジおよびCH2ドメインを含む。本発明のいくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体の重鎖定常領域は、IgG1、IgG2、またはIgG4重鎖定常領域であるか、またはこれらに由来する。本発明のいくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体の軽鎖定常領域は、ラムダもしくはカッパ軽鎖定常領域であるか、またはこれらに由来する。

10

20

【0115】

いくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 抗体は、マブリリムマブ抗体の断片である。いくつかの実施形態では、阻害剤は、配列番号3、4、5、6、7、または8のCDR配列のうちの少なくともいずれか1つを含む、単鎖可変断片（ScFv）を含む。いくつかの実施形態では、阻害剤は、配列番号3、4、5、6、7、または8のCDR配列のうちの少なくともいずれか1つを含む融合分子である。いくつかの実施形態では、抗GM-CSFR α 阻害剤配列は、配列番号3、4、5、6、7、または8のCDR配列のうちの少なくとも1つを含む二重特異性抗体である。

30

【0116】

他の実施形態では、好適なGM-CSF拮抗薬は、抗GM-CSF抗体である。例示的な抗GM-CSFモノクローナル抗体は、WO2006/122797として公開された2006年5月17日に出願された国際出願第PCT/EP2006/004696号、WO2017/076804として公開された2016年10月31日に出願された国際出願第PCT/EP2016/076225号、およびWO/2019/070680として公開された2018年10月2日に出願された国際出願第PCT/US2018/053933号に記載されるものを含み、それらの各々は、それらの全体の参照により本明細書に組み込まれる。一実施形態では、抗GM-CSFモノクローナル抗体は、オチリマブ（otilimab）である。

40

【0117】

本開示の抗GM-CSFR α または抗GM-CSF抗体は、多重特異性、例えば、二重特異性であり得る。その抗体は、哺乳動物（例えば、ヒトまたはマウス）、ヒト化、キメラ、組換え、合成的に産生された、または天然に単離された抗体であり得る。本開示の例示的な抗体は、限定なく、IgG（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4）、IgM、IgA（例えば、IgA1、IgA2、およびIgAsec）、IgD、IgE、Fab、Fab'2、F(ab')2、Fd、Fv、Feb、scFv、scFv-Fc、およびSMIP結合部分を含む。特定の実施形態では、抗体は、scFvである。scFvは、例えば、抗原結合を可能にするためにscFvを異なる方向に配向することを可能にする可撓性リンカーを含み得る。様々な実施形態において、抗体は、細胞内

50

側の還元環境においてその構造および機能を保持するサイトゾル安定性 s c F v またはイントラボディであってもよい（例えば、参照により本明細書に組み込まれる、F i s h e r and D e L i s a, J. M o l. B i o l. 3 8 5 (1) : 2 9 9 - 3 1 1, 2 0 0 9 を参照されたい）。特定の実施形態では、s c F v は、当技術分野で公知の方法に従って、I g G またはキメラ抗原受容体に変換される。実施形態では、抗体は、変性タンパク質標的および天然タンパク質標的の両方に結合する。実施形態では、抗体は、変性タンパク質および天然タンパク質の両方に結合する。

【0118】

ヒトを含むほとんどの哺乳動物において、抗体全体は、ジスルフィド結合によって連結される少なくとも2つの重（H）鎖および2つの軽（L）鎖を有する。各重鎖は、重鎖可変領域（VH）および重鎖定常領域（CH）からなる。重鎖定常領域は、3つのドメイン（CH1、CH2、およびCH3）、およびCH1とCH2との間のヒンジ領域からなる。各軽鎖は、軽鎖可変領域（VL）および軽鎖定常領域（CL）からなる。軽鎖定常領域は、1つのドメイン、CLからなる。VH領域およびVL領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる、より保存されている領域が散在する相補性決定領域（CDR）と呼ばれる、超可変性の領域にさらに細分され得る。各VHおよびVLは、3つのCDRおよび4つのFRから構成され、アミノ末端からカルボキシ末端へ以下の順序で配置される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。

【0119】

抗体は、抗体のすべての既知の形態、および抗体様特性を有する他のタンパク質足場を含む。例えば、抗GM-CSFR α 抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、二重特異性抗体、一価抗体、キメラ抗体、またはフィブロネクチンもしくはアンキリンリピートなどの抗体様特性を有するタンパク質足場であり得る。抗体は、以下のアイソタイプのうちのいずれかを有し得る：I g G（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、およびI g G 4）、I g M、I g A（例えば、I g A 1、I g A 2、およびI g A s e c）、I g D、またはI g E。

【0120】

抗体断片は、抗体に由来する1つ以上のセグメントを含み得る。抗体に由来するセグメントは、特定の抗原に特異的に結合する能力を保持し得る。抗体断片は、例えば、F a b、F a b'、F a b' 2、F (a b') 2、F d、F v、F e b、s c F v、またはS M I Pであり得る。抗体断片は、例えば、ダイアボディ（d i a b o d y）、トリアボディ（t r i a b o d y）、アフイボディ（a f f i b o d y）、ナノボディ、アプタマー、ドメイン抗体、線状抗体、単鎖抗体、または抗体断片から形成され得る多様な多重特異性抗体のうちのいずれかであり得る。

【0121】

抗体断片の例は、(i) F a b 断片：VL、VH、CL、およびCH1ドメインからなる一価断片と、(ii) F (a b') 2 断片：ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのF a b 断片を含む二価断片と、(iii) F d 断片：VHドメインおよびCH1ドメインからなる断片と、(iv) F v 断片：抗体の単一アームのVLドメインおよびVHドメインからなる断片と、(v) d A b 断片：VHドメインおよびVLドメインを含む断片と、(vi) d A b 断片：VHドメインである断片と、(vii) d A b 断片：VLドメインである断片と、(viii) 単離された相補性決定領域（CDR）と、(ix) 1つ以上の合成リンカーによって任意選択的に結合し得る、2つ以上の単離されたCDRの組み合わせとを含む。さらに、F v 断片の2つのドメイン、VLおよびVHは、別個の遺伝子によってコードされるが、それらは、例えば、VL領域およびVH領域が対になって一価結合部分（単鎖F v (s c F v)）として知られる）を形成する単一のタンパク質として発現されることを可能にする合成リンカーによる組換え方法を使用して、結合できる。抗体断片は、当業者に公知の従来技術を使用して取得され得、いくつかの例では、インタクトな抗体と同じ様式で使用され得る。抗原結合断片は、組換えDNA技術によ

10

20

30

40

50

って、またはインタクトな免疫グロブリンの酵素的もしくは化学的切断によって産生され得る。抗体断片は、追加のC末端アミノ酸、N末端アミノ酸、または個々の断片を分離するアミノ酸の添加を伴う、上述の抗体断片のうちのいずれかをさらに含み得る。

【0122】

抗体は、第一の種に由来する1つ以上の抗原決定領域または定常領域、および第2の種に由来する1つ以上の抗原決定領域または定常領域を含む場合、キメラと称され得る。キメラ抗体は、例えば、遺伝子工学によって構築され得る。キメラ抗体は、異なる種（例えば、マウスおよびヒトから）に属する免疫グロブリン遺伝子セグメントを含み得る。

【0123】

抗体は、ヒト抗体であり得る。ヒト抗体は、フレームワーク領域およびCDR領域の両方がヒト免疫グロブリン配列に由来する可変領域を有する結合部分を指す。さらに、抗体が定常領域を含む場合、定常領域もまた、ヒト免疫グロブリン配列に由来する。ヒト抗体は、例えば、1つ以上の配列多様性、例えば、変異などの、ヒト免疫グロブリン配列において特定されないアミノ酸残基を含み得る。多様性または追加のアミノ酸は、例えば、ヒトの操作によって導入され得る。本開示のヒト抗体は、キメラでない。

【0124】

抗体は、ヒト化され得、非ヒト免疫グロブリンまたは抗体に実質的に由来する1つ以上の抗原決定領域（例えば、少なくとも1つのCDR）を含む抗体は、操作されて、ヒト免疫グロブリンまたは抗体に実質的に由来する少なくとも1つの免疫グロブリンドメインを含むことを意味する。抗体は、本明細書に記載される変換方法を使用して、例えば、第1のベクターによってコードされた非ヒト抗体から、第2のベクターによってコードされたヒトフレームワークに抗原認識配列を挿入することによって、ヒト化され得る。例えば、第1のベクターは、非ヒト抗体（またはその断片）をコードするポリヌクレオチドおよび部位特異的組換えモチーフを含み得、一方で第2のベクターは、ヒトフレームワークをコードするポリヌクレオチドおよび第1のベクター上の部位特異的組換えモチーフに相補的な部位特異的組換えモチーフを含み得る。部位特異的組換えモチーフは、組換え事象が、非ヒト抗体からヒトフレームワークへの1つ以上の抗原決定領域の挿入をもたらし、それによって、ヒト化抗体をコードするポリヌクレオチドを形成するように、各ベクター上に位置付けられ得る。

【0125】

特定の実施形態では、抗体は、s c F vからI g G（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、およびI g G 4）に変換される。s c F v断片をI g Gに変換するための当技術分野における様々な方法が、存在する。s c F v断片をI g Gに変換する1つのそのような方法は、米国特許出願公開第2016/0362476号に開示されており、その内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0126】

併用療法

免疫チェックポイント阻害剤（ICI）

いくつかの実施形態では、本発明に従うがんを治療する方法は、それを必要とする対象に、ICIと組み合わせてGM-CSF拮抗薬を投与することを含む。

【0127】

いくつかの実施形態では、ICIは、生物学的治療薬または小分子である。いくつかの実施形態では、ICIは、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体、融合タンパク質またはそれらの組み合わせである。

【0128】

いくつかの実施形態では、ICIは、CTLA-4、PD-L1、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、TIM-3、GAL-9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、A2aR、B-7ファミリーリガンドまたはそれらの組み合わせであり得るチェックポイントタンパク質を阻害する。いくつかの実施形態では、ICIは、CTLA-4、P

10

20

30

40

50

D-L1、PD-L2、PD-1、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、TIM-3、GAL-9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、A2aR、B-7ファミリーリガンドまたはそれらの組み合わせであり得るチェックポイントタンパク質のリガンドと相互作用する。

【0129】

いくつかの実施形態では、ICIは、抗CTLA-4抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗PD-L1抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗PD-L2抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗PD-1抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗B7-H3抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗B7-H4抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗BTLA抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗HVEM抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗TIM-3抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗GAL-9抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗LAG-3抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗VISTA抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗KIR抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗2B4抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗CD160抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗CGEN-15049抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗CHK1抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗CHK2抗体である。いくつかの実施形態では、ICIは、抗A2aR抗体である。いくつかの実施形態では、チェックポイント阻害剤は、抗B-7抗体である。

10

20

【0130】

いくつかの実施形態では、PD-1抗体は、ペムブロリズマブである。いくつかの実施形態では、PD-1抗体は、ニボルマブである。いくつかの実施形態では、PD-1抗体は、センプリマブである。いくつかの実施形態では、PD-L1抗体はアテゾリズマブである。いくつかの実施形態では、PD-L1抗体はアベルマブである。いくつかの実施形態では、PD-L1抗体は、デュルバルマブである。いくつかの実施形態では、CTLA-4抗体は、イピリムマブである。

【0131】

追加の治療剤

いくつかの実施形態では、本発明に従うがんを治療する方法は、それを必要とする対象に、追加の治療剤と組み合わせてGM-CSF拮抗薬を投与することを含む。特定の実施形態では、追加の薬剤は、化学療法および／または放射線療法を含むがん療法である。特定の実施形態では、追加の治療剤は、組換えタンパク質またはモノクローナル抗体を含む。特定の実施形態では、組換えタンパク質またはモノクローナル抗体は、エタラシズマブ (Etaracizumab) (Abegrin)、タカツズマブテトラキセタン (Tacetuzumab tetraxetan)、ベバシズマブ (Avastin)、ラベツズマブ、セツキシマブ (Erbix), オビヌツズマブ (Gazyva)、トラスツズマブ (Herceptin)、クリバツズマブ (Clivatuzumab)、トラスツズマブエムタンシン (Kadcyla)、ラムシルマブ、リツキシマブ (MabThera, Rituxan)、ゲムツズマブオゾガマイシン (Mylotarg)、ペルツズマブ (Omniarg)、ギレンツキシマブ (Girentuximab) (Rencares), またはニモツズマブ (Nimotuzumab) (Theracim, Theraloc) を含む。

30

40

【0132】

特定の実施形態では、GM-CSF拮抗薬は、上のチェックポイント阻害剤の節に記載されるチェックポイント阻害剤を標的とする免疫調節物質を含む。特定の実施形態では、免疫調節物質は、ニボルマブ、イピリムマブ、アテゾリズマブ、またはペムブロリズマブを含む。特定の実施形態では、追加の治療剤は、化学療法剤である。特定の実施形態では、化学療法剤は、アルキル化剤 (例えば、シクロホスファミド、イホスファミド、クロラムブシル、ブスルファン、メルファラン、メクロレタミン、ウラムスチン、チオテパ、ニ

50

トロソウレア、またはテモゾロミド)、アントラサイクリン(例えば、ドキソルビシン、アドリマイシン、ダウノルビシン、エピルビシン、またはミトキサントロン)、細胞骨格破壊因子(例えば、パクリタキセルまたはドセタキセル)、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤(例えば、ボリノスタットまたはロミデプシン)、トポイソメラーゼの阻害剤(例えば、イリノテカン、トポテカン、アムサクリン、エトポシド、またはテニポシド)、キナーゼ阻害剤(例えば、ボルテゾミブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、ベムラフェニブ、またはビスモデギブ)、ヌクレオシド類似体もしくは前駆体類似体(例えば、アザシチジン、アザチオプリン、カペシタビン、シタラビン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシウレア、メルカプトプリン、メトトレキサート、またはチオグアニン)、ペプチド抗生物質(例えば、アクチノマイシンまたはブレオマイシン)、白金系薬剤(例えば、シスプラチン、オキサロプラチン、またはカルボプラチン)、または植物アルカロイド(例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレレルビン、ビンデシン、ポドフィロトキシン、パクリタキセル、またはドセタキセル)である。いくつかの実施形態では、化学療法剤は、ヌクレオシド類似体である。いくつかの実施形態では、化学療法剤は、ゲムシタビンである。特定の実施形態では、追加の治療剤は、放射線療法である。

10

【0133】

がんの治療

本発明は、様々ながん、特に、それらの免疫チェックポイント阻害性(ICI)の難治性もしくは抵抗性のがん、または後期段階もしくは転移性のがんを治療するために使用され得る。

20

【0134】

いくつかの実施形態では、がんは、泌尿生殖器がん(前立腺がん、腎細胞がん、膀胱がんなど)、婦人科がん(卵巣がん、子宮頸がん、子宮内膜がんなど)、肺がん、消化器がん(非転移性または転移性の大腸がん、膵がん、胃がん、食道がん、肝細胞がん、胆管細胞がんなど)、頭頸部がん(例えば、頭頸部扁平上皮細胞がん)、悪性グリオーマおよび脳転移を含む脳がん、悪性中皮腫、非転移性または転移性の乳がん(例えば、ホルモン難治性転移性乳がん)、悪性黒色腫、メルケル細胞がんまたは骨および軟部組織肉腫、ならびに多発性骨髄腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群および急性リンパ芽球性白血病などの血液学的腫瘍症を含む、任意の固形腫瘍または液体がんである。いくつかの実施形態では、疾患は、非小細胞肺癌(NSCLC)、乳がん(例えば、ステージIV乳がん、ホルモン難治性転移性乳がん)、頭頸部がん(例えば、頭頸部扁平上皮細胞がん)、転移性大腸がん、ホルモン感受性またはホルモン難治性の前立腺がん、大腸がん(例えば、ステージIV大腸がん)、卵巣がん、肝細胞がん、腎細胞がん、軟部組織肉腫、または小細胞肺癌である。

30

【0135】

本明細書で使用される場合、用語「がん」は、インビトロ(例えば、形質転換細胞)またはインビボのいずれかで、過剰増殖性細胞成長によって特徴付けられた広範なクラスの障害を指す。本発明の組成物および方法によって治療または予防され得る状態は、例えば、良性または悪性の腫瘍、多様な過形成などを含む、多様な新生物を含む。本発明の化合物および方法は、そのような条件に関与する望ましくない過剰増殖性細胞成長の阻害および/または復帰を達成できる。

40

【0136】

がんの例は、急性リンパ芽球性白血病、成人；急性リンパ芽球性白血病、小児；急性骨髄白血病、成人；副腎皮質がん；副腎皮質がん、小児；AIDS関連リンパ腫；AIDS関連悪性腫瘍；肛門がん；星細胞腫、小児小脳；星細胞腫、小児大脳；胆管がん、肝外；膀胱がん；膀胱がん、小児；骨がん、骨肉腫／悪性線維性組織球腫；脳幹グリオーマ、小児；脳腫瘍、成人；脳腫瘍、脳幹グリオーマ、小児；脳腫瘍、小脳星細胞腫、小児；脳腫瘍、大脳星細胞腫／悪性グリオーマ、小児；脳腫瘍、上衣腫、小児；脳腫瘍、髄芽腫、小児；脳腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、小児；脳腫瘍、視覚路および視床下部グリオーマ、小児；脳腫瘍、小児(その他)；乳がん；乳がんおよび妊娠；乳がん、小児；乳

50

がん、男性；気管支腺腫／カルチノイド、小児；カルチノイド腫瘍、小児；カルチノイド腫瘍、消化器；がん腫、副腎皮質；がん腫、膵島細胞；原発不明のがん腫；中枢神経系リンパ腫、原発性；小脳星細胞腫、小児；大脳星細胞腫／悪性グリオーマ、小児；子宮頸がん；小児がん；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性障害；腱鞘の明細胞肉腫；結腸がん；大腸がん、小児；皮膚T細胞リンパ腫；子宮内膜がん；上衣腫、小児；上皮がん、卵巣；食道がん；食道がん、小児；ユーイングの腫瘍ファミリー；頭蓋外胚細胞腫瘍、小児；性腺外胚細胞腫瘍；肝外胆管がん；眼がん、眼内黒色腫；眼がん、網膜芽細胞腫；胆嚢がん；胃（G a s t r i c）（胃（S t o m a c h））がん；胃（G a s t r i c）（胃（S t o m a c h））がん、小児；消化管カルチノイド腫瘍；胚細胞腫瘍、頭蓋外、小児；胚細胞腫瘍、性腺外；胚細胞腫瘍、卵巣；妊娠性絨毛性腫瘍；グリ
 10 オーマを含む。小児脳幹；グリオーマ。小児の視覚路および視床下部；ヘアリー細胞白血病；頭頸部がん；肝細胞（肝）がん、成人（原発性）；肝細胞（肝）がん、小児（原発性）；ホジキンリンパ腫、成人；ホジキンリンパ腫、小児；妊娠中のホジキンリンパ腫；下咽頭がん；視床下部および視覚路グリオーマ、小児；眼内黒色腫；膵島細胞がん（膵内分泌部）；カボジ肉腫；腎臓がん；喉頭がん；喉頭がん、小児；白血病、急性リンパ芽球性、成人；白血病、急性リンパ芽球性、小児；白血病、急性骨髄、成人；白血病、急性骨髄、小児；白血病、慢性リンパ球性；白血病、慢性骨髄性；白血病、ヘアリー細胞；口唇および口腔がん；肝がん、成人（原発性）；肝がん、小児（原発性）；肺がん、非小細胞；肺がん、小細胞；リンパ芽球性白血病、成人急性；リンパ芽球性白血病、小児急性；リン
 20 パ球性白血病、慢性；リンパ腫、A I D S 関連；リンパ腫、中枢神経系（原発性）；リンパ腫、皮膚T細胞；リンパ腫、ホジキン、成人；リンパ腫、ホジキン；小児；リンパ腫、妊娠中のホジキン；リンパ腫、非ホジキン、成人；リンパ腫、非ホジキン、小児；リンパ腫、妊娠中の非ホジキン；リンパ腫、原発性中枢神経系；マクログロブリン血症、ワルデンシュトレーム；男性乳がん；悪性中皮腫、成人；悪性中皮腫、小児；悪性胸腺腫；髄芽腫、小児；黒色腫；黒色腫、眼内；メルケル細胞がん；中皮腫、悪性；潜在性原発性の転移性扁平上皮頸部がん；多発性内分泌腫瘍症候群、小児；多発性骨髄腫／形質細胞新生物；菌状息肉症；骨髄異形成症候群；骨髄性白血病、慢性；骨髄白血病、小児急性；骨髄腫、多発性；骨髄増殖性障害、慢性；鼻腔および副鼻腔がん；上咽頭がん；上咽頭がん、小
 30 児；神経芽細胞腫；神経線維腫；非ホジキンリンパ腫、成人；非ホジキンリンパ腫、小児；妊娠中の非ホジキンリンパ腫；非小細胞肺がん；口腔（O r a l）がん、小児；口腔（O r a l C a v i t y）および口唇がん；中咽頭がん；骨肉腫／骨の悪性線維性組織球腫；卵巣がん、小児；卵巣上皮がん；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；膵がん；膵がん、小児、膵がん、膵島細胞；副鼻腔および鼻腔がん；副甲状腺がん；陰茎がん；褐色細胞腫、松果体およびテント上原始神経外胚葉性腫瘍、小児；下垂体腫瘍；形質細胞新生物／多発性骨髄腫；胸膜肺芽腫；妊娠および乳がん；妊娠およびホジキンリンパ腫；妊娠および非ホジキンリンパ腫；原発性中枢神経系リンパ腫；原発性肝がん、成人；原発性肝がん、小児；前立腺がん；直腸がん；腎細胞（腎臓）がん；腎細胞がん、小児；腎盂および輸尿管、移行細胞がん；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫、小児；唾液腺がん；唾液腺がん、小
 40 児；肉腫、ユーイングの腫瘍ファミリー；肉腫、カボジ肉腫（骨肉腫）／骨の悪性線維性組織球腫；肉腫、横紋筋肉腫、小児；肉腫、軟部組織、成人；肉腫、軟部組織、小児；セザリー症候群；皮膚がん；皮膚がん、小児；皮膚がん（黒色腫）；皮膚がん、メルケル細胞；小細胞肺がん；小腸がん；軟部組織肉腫、成人；軟部組織肉腫、小児；潜在性原発性の扁平上皮頸部がん、転移性；胃（S t o m a c h）（胃（G a s t r i c））がん；胃（S t o m a c h）（胃（G a s t r i c））がん、小児；テント上原始神経外胚葉性腫瘍、小児；T細胞リンパ腫、皮膚；精巣がん；胸腺腫、小児；胸腺腫、悪性；甲状腺がん；甲状腺がん、小児；腎盂および輸尿管の移行細胞がん；絨毛性腫瘍、妊娠性；原発部位不明のがん、小児；小児の異常ながん；輸尿管および腎盂、移行細胞がん；尿道がん；子宮肉腫；膣がん；視覚路および視床下部グリオーマ、小児；外陰がん；ワルデンシュトレームマクログロブリン血症ならびにウィルムス腫瘍。

【0137】

10

20

30

40

50

医薬組成物および投与

本発明の抗体または薬剤（本明細書では「活性化合物」とも称される）ならびにそれらの誘導体、断片、類似体および相同体は、投与に適した医薬組成物に組み込まれ得る。かかる組成物は、典型的には、抗体または薬剤および薬学的に許容可能な担体を含む。本明細書で使用される場合、「薬学的に許容可能な担体」という用語は、医薬投与と互換性のある、あらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などを含むように意図される。好適な担体は、参照により本明細書に組み込まれる、Remington's Pharmaceutical Sciencesの最新版、当分野の標準参照テキストに記載される。そのような担体または希釈剤の好ましい例は、水、生理食塩水、リンゲル溶液、デキストロース溶液、および5%ヒト血清アルブミンを含むが、これらに限定されない。リポソームおよび固定油などの非水性ビヒクルもまた、使用され得る。薬学的に活性な物質のためのこのような媒体および薬剤の使用は、当技術分野で周知である。任意の従来の培地または薬剤が活性化合物と互換性がない場合を除き、組成物におけるその使用が企図される。補足的な活性化合物もまた、組成物に組み込まれ得る。

10

【0138】

本発明の医薬組成物は、その意図された投与経路に適合するように製剤化される。投与経路の例は、非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口（例えば、吸入）、経皮（すなわち、局所）、経粘膜、および直腸投与を含む。非経口、皮内、または皮下適用のために使用される溶液または懸濁液は、以下の構成要素：注射用水、生理食塩水溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒などの滅菌希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗細菌剤；アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムなどの抗酸化物質；エチレンジアミン四酢酸（EDTA）などのキレート剤；酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩などの緩衝剤、および塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの浸透圧の調整のための薬剤を含み得る。pHは、塩酸または水酸化ナトリウムなどの酸または塩基で調整され得る。非経口調製物は、アンプル、使い捨てシリンジまたはガラスもしくはプラスチックで作製された複数回用量バイアルに封入され得る。

20

【0139】

注射可能な使用に適した医薬組成物は、滅菌注射可能溶液または分散液の即時調製のための滅菌水溶液（水溶性である場合）または分散液および滅菌粉末を含む。静脈内投与については、好適な担体は、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL（商標）（BASF、Parlissippany, N. J.）、またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）を含む。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、およびそれらの好適な混合物を含有する溶媒または分散媒であり得る。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散の場合に必要な粒子サイズの維持によって、かつ界面活性剤の使用によって維持され得る。微生物の作用の防止は、様々な抗細菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどによって達成され得る。多くの場合、組成物中に等張剤、例えば、糖類、例えば、マニトール（mannitol）、ソルビトールなどのポリアルコール、塩化ナトリウムを含むことが、好ましくなる。注射可能な組成物の長期間の吸収は、吸収を遅らせる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを組成物中に含むことによってもたらされ得る。

30

40

【0140】

滅菌注射可能溶液は、活性化合物を、必要に応じて、上で列挙された成分の1つまたは組み合わせを適切な溶媒中に必要量で組み込み、その後の濾過滅菌によって調製され得る。一般に、分散体は、活性化合物を、塩基性分散媒と、上で列挙されたものから必要とされる他の成分とを含有する滅菌ビヒクルに組み込むことによって調製される。滅菌注射可能溶液の調製のための滅菌粉末の場合、調製方法は、活性成分に加えて、その以前に滅菌

50

濾過された溶液からの任意の追加の所望の成分の粉末を生じる、真空乾燥および凍結乾燥である。

【0141】

経口組成物は、一般に、不活性希釈剤または食用担体を含む。これらは、ゼラチンカプセルに封入され得るか、または錠剤に圧縮され得る。経口治療投与の目的のために、活性化合物は、賦形剤とともに組み込まれ得、錠剤、トローチ、またはカプセルの形態で使用され得る。経口組成物はまた、マウスウォッシュとしての使用のための流体担体を使用して調製され得、流体担体中の化合物は、経口的に適用され、すすがれ (swished)、吐き出されるか、または飲み込まれる。薬学的に互換性のある結合剤、および／またはアジュバント材料は、組成物の一部として含まれ得る。錠剤、カプセル、トローチなどは、以下の成分、微結晶セルロース、トラガカントガムもしくはゼラチンなどの結合剤；デンプンもしくはラクトースなどの賦形剤、アルギン酸、Primogel、またはトウモロコシデンプンなどの崩壊剤；ステアリン酸マグネシウムまたはSterotesなどの潤滑剤；コロイド状二酸化ケイ素などの流動促進剤；スクロースまたはサッカリンなどの甘味剤；またはペパーミント、サリチル酸メチル、もしくはオレンジ香味料などの香味剤、または類似の性質の化合物のうちのいずれかを含有し得る。

10

【0142】

吸入による投与のために、化合物は、好適な噴射剤、例えば、二酸化炭素などの気体、またはネブライザーを含有する、加圧された容器またはディスペンサーからのエアロゾルスプレーの形態で送達される。

20

【0143】

全身投与はまた、経粘膜手段または経皮手段によるものでもあり得る。経粘膜投与または経皮投与のために、透過されるバリアに適切な浸透剤が、製剤において使用される。そのような浸透剤は、当技術分野で一般に公知であり、例えば、経粘膜投与用、洗剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体を含む。経粘膜投与は、鼻腔スプレーまたは座薬の使用を通じて達成され得る。経皮投与のために、活性化合物は、当技術分野で一般に公知の軟膏 (ointment)、軟膏 (salve)、ゲル、またはクリームに製剤化される。

【0144】

化合物はまた、直腸送達のための座薬 (例えば、ココアバターおよび他のグリセリドなどの従来の座薬基剤を用いて) または停留浣腸剤 (retention enema) の形態でも調製され得る。

30

【0145】

一実施形態では、活性化合物は、移植片およびマイクロカプセル化送達システムを含む制御放出製剤などの、身体からの急速な除去に対して化合物を保護するであろう担体とともに調製される。エチレンビニルアセテート、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸などの生分解性、生体適合性ポリマーが、使用され得る。そのような製剤の調製のための方法は、当業者に明白であろう。材料はまた、Alza CorporationおよびNova Pharmaceuticals, Inc. から商業的に入手することもできる。リポソーム懸濁液 (ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を用いて感染細胞に標的化されたリポソームを含む) もまた、薬学的に許容可能な担体として使用され得る。これらは、例えば、米国特許第4,522,811号に記載されるように、当業者に公知の方法に従って調製され得る。

40

【0146】

投与の容易さおよび投薬量の均一性のために、投薬量単位形態で経口組成物または非経口組成物を製剤化することが、特に有利である。本明細書で使用される場合、投薬量単位形態は、治療される対象に対する単位投薬量として適した、物理的に別個の単位を指し、各単位は、必要とされる薬学的担体に関連して所望の治療効果を生み出すように計算された所定量の活性化合物を含有する。本発明の投薬量単位形態についての仕様は、活性化合物の固有の特徴、および達成される特定の治療効果、および個体の治療のためのそのような活性化合物を配合する技術に内在する限界によって左右され、それらに直接依存する。

50

【0147】

医薬組成物は、投与についての指示と一緒に、容器、パック、またはディスペンサーに含まれ得る。

【実施例】

【0148】

本発明は、本明細書に付随するスライドによってさらに例示されるが、限定されるものではない。本発明の特定の化合物、組成物および方法が、特定の実施形態に従って具体的に記載されている一方で、以下の実施例は、本発明を例示するためにのみ役立つものであり、本発明を限定するように意図されない。

【0149】

実施例1．抗GM-CSFR α 抗体はT細胞増殖をレスキューする

本実施例における研究は、T細胞増殖に対する骨髄集団の抑制能が、GM-CSF拮抗薬によってレスキューされ得ることを例示する。

【0150】

抗GM-CSFR α 抗体の処理の有無でのCD14+細胞を用いたT細胞増殖アッセイを、実施した。簡潔に述べると、CD14+(MDS C)細胞を、当技術分野で公知の方法に従って、膵がん患者から取得された血液サンプル(PBMC)から単離した。単離されたCD14+細胞を、抗GM-CSFR α 抗体で48時間処理した。次に、カルボキシフルオレセインジアセテートスクシンイミジルエステル(CFSE)で標識されたCD3+T細胞を、抗GM-CSFR α 抗体処理または未処理のCD14+細胞と96時間共培養し、増殖を、CFSE希釈(分割細胞)によって決定した。共培養を有しないT細胞を、陰性対照として使用した。

【0151】

図1に示されるように、T細胞増殖は、未処理のCD14+細胞を用いた培養後に著しく抑制される。一方で、抗GM-CSFR α 抗体処理されたCD14+細胞は、増加したT細胞増殖を示し、抗GM-CSFR α 抗体の添加が、T細胞増殖をレスキューし、MDS Cの抑制能を妨げることを示唆した。

【0152】

実施例2．がん細胞条件培地は単球を表現型MDS Cに極性化する

この研究では、様々ながん細胞株を、CD+14単球がGM-CSF発現がん細胞からの条件培地を用いてインキュベートされる際の表現型MDS C(HLA-DR低)の増加を例示するために使用した。

【0153】

がん細胞株を、GM-CSFの発現について解析した。この特定の研究では、2つの大腸がん(HCT116およびSW-480)、2つの膵がん(Panc-1およびCapan-1)、子宮頸部腺がん(HeLa)、および悪性黒色腫(A375)細胞株を、GM-CSF発現について測定した。図2に示されるように、がん細胞株は、異なるレベルでGM-CSFを発現する。特に、SW480およびCapan-1は、GM-CSFの比較的高い発現を有するが、HeLa細胞は、GM-CSFの比較的低い発現を有する。

【0154】

腫瘍条件培地(CM)を生成するために、細胞株を、当技術分野で公知の方法に従って播種および培養した。次いで、CD14+細胞を、CMの存在下で6日間培養し、遺伝子およびタンパク質発現について解析した。低レベルのHLA-DRバイオマーカーは、MDS C表現型を示す。図3は、正常な培養培地中で成長したCD+14細胞と比較して、CD14+単球がGM-CSF発現がん細胞からの条件培地とインキュベートされた際の表現型MDS Cの増加を示す。結果は、高いGM-CSF発現を有するがん細胞株からのCMがMDS Cの高い誘導を有することを示し、GM-CSFが単球の表現型MDS Cへの極性化に寄与することを示唆している。

【0155】

実施例3．抗GM-CSFR α 抗体はMDS CにおけるPD-L1上方制御を遮断する

本実施例の研究は、GM-CSFが表現型MDSC上のPD-L1の発現を誘導するという、本発明者による驚くべき発見を例示する。特に、GM-CSF拮抗薬を用いた治療は、GM-CSF発現がん細胞株からの条件培地（CM）で処理された単球上のPD-L1の発現を抑制するのに十分である。

【0156】

免疫チェックポイント遮断抗体についての主な課題のうちの1つは、限定されたT細胞応答を伴う悪性腫瘍または免疫学的に「冷たい」腫瘍にある。これらの冷たい腫瘍は、ほとんど浸潤性T細胞を含まず、認識されず、免疫系による強力な応答を誘発せず、現在の免疫療法での治療を困難にしている。本発明者らは、驚くべきことに、GM-CSFが、PD-L1、免疫抑制活性に寄与するMDSCの表面上のチェックポイントタンパク質を上方制御することを見出した。本実施例の研究は、抗GM-CSFR α 抗体が、「冷たい」腫瘍を「熱い」腫瘍に変換し、免疫療法の有効性および感受性をおそらく増加させるために使用され得ることを示す。

10

【0157】

この研究では、様々ながん細胞株を、CD14+単球がGM-CSF発現がん細胞からの条件培地を用いてインキュベートされる際のMDSC上のPD-L1発現レベルの変化を評価するために使用した。図4に示されるように、GM-CSF発現がん細胞株からの条件培地をCD14+単球に添加することは、ベースライン（培養培地のみ）と比較してPD-L1発現のレベルを増加させた。低いレベルのGM-CSF発現を呈したHeLa細胞株（図2を参照されたい）は、PD-L1発現を上方制御しなかった。CM（CM+GM-CSF）と組み合わせた組換えGM-CSFを添加することは、PD-L1の発現を増加させ、GM-CSFが表現型MDSC上のPD-L1の発現を誘導することを示している。PD-L1におけるスパイクは、CMのみで低いベースラインPD-L1発現を有する細胞株（例えば、Panc-1およびHeLa細胞）においてより顕著であった。PD-L1発現に対する抗GM-CSFR α 抗体の効果もまた、調べた。組換えGM-CSFの不在下または存在下で、MDSCをCM中の抗GM-CSFR α 抗体で治療すること（それぞれ、CM+AbおよびCM+GM-CSF+Ab）は、それぞれ、CMのみまたはCM+GM-CSFと比較して、PD-L1の著しい減少レベルをもたらした。これらのデータは、抗GM-CSFR α 抗体が、GM-CSF発現がん細胞株から条件培地で処理されたCD14+単球（MDSC）においてPD-L1上方制御を抑制することを示す。

20

30

【0158】

実施例4．抗GM-CSFR α 抗体はMDSCにおけるPD-L1発現を抑制する

本実施例の研究は、MDSC上のPD-L1レベルがすでに増加している際に、GM-CSF拮抗薬がCM処理と同時またはその後に添加されるかどうかにかかわらず、GM-CSF拮抗薬が、GM-CSF発現がん細胞株（CM）からの条件培地で処理されたMDSC上でPD-L1発現を抑制できることを示す。

【0159】

図5Aに示されるように、組換えGM-CSF（10 ng/mL）および抗GM-CSFR α 抗体（100 μ g/mL）の有無でのGM-CSFがん細胞株（CM）からの条件培地（表1に示される）を、1日目にCD14+単球（MDSC）に添加した。3日間のインキュベーション後、MDSC細胞を、PD-L1の発現について解析した。

40

【表 1】

表 1.

サンプル	内容物
A	対照(培養培地)
B	CM
C	CM+抗 GM-CSFR α 抗体
D	CM+GM-CSF
E	CM+GM-CSF+抗 GM-CSFR α 抗体

10

【0160】

実施例 3 と一致して、GM-CSF を発現するがん細胞株からの条件培地を MDSC (B ; CM) または組換え GM-CSF を有する CM (D ; CM + GM-CSF) に添加することは、ベースライン (A ; 培養培地のみ) と比較して PD-L1 発現のレベルを増加させた。さらに、それぞれ、図 5 A のサンプル C および E において示されるように、抗 GM-CSFR α 抗体が CM または CM + GM-CSF と同時に添加される際に、PD-L1 の減少が観察され、抗 GM-CSFR α 抗体が MDSC に対する PD-L1 の上方制御を遮断することを示唆している。

【0161】

20

次に、MDSC に対する PD-L1 の上昇したレベルがすでに確立されている際に、PD-L1 発現レベルに対する GM-CSF 遮断の効果を調べるための、条件培地を用いた MDSC のインキュベーション後の抗 GM-CSFR α 抗体を添加する効果。この特定のセットアップでは、MDSC を、組換え GM-CSF (図 5 B のサンプル B ~ E) の有無での条件培地中で 48 時間培養する。次いで、抗 GM-CSFR α 抗体を、3 日目に図 5 B のサンプル C および E に添加した (48 時間後)。試料 A 中の MDSC を、対照として培養培地中で 3 日間インキュベートした。MDSC の表現型解析を、4 日目に実施した。図 5 B に示されるように、MDSC が GM-CSF 発現がん細胞株 (サンプル C および E) からの条件培地を用いて培養された後の抗 GM-CSFR α 抗体での MDSC の処理は、MDSC 上の PD-L1 の発現レベルを抑制した。注目すべきことに、抗 GM-CSFR α 抗体での処理のわずか 24 時間後、サンプル C および E における PD-L1 発現は、サンプル B および D と比較して、それぞれ減少した。

30

【0162】

実施例 5 . 抗 GM-CSFR α 抗体は MDSC 介在性 T 細胞抑制を低減させる

本実施例における研究は、T 細胞増殖に対する骨髓集団の抑制能が、GM-CSF 拮抗薬によって抑制され得ることをさらに例示する。

【0163】

この特定の試験では、GM-CSF 発現がん細胞株からの条件培地を用いて処理された単球を、T 細胞増殖アッセイにおいて使用した。簡潔に述べると、単球を、GM-CSF 発現がん細胞株 (CM) からの条件培地中で 3 日間培養した (CM 処理単球)。T 細胞 (1×10^5 細胞) を、 $1 \mu\text{M}$ の CFSE で標識することと、IMDM 細胞培養培地中での 10 ng/mL の IL-2 および 10 uL の可溶性 CD3 / CD28 T 細胞活性化因子での刺激とによって調製した。次いで、刺激された T 細胞を、図 6 に示されるように、混合リンパ球反応 (MLR) において、補充のヒト組換え GM-CSF (10 ng/mL) および / または抗 GM-CSFR α 抗体 ($100 \mu\text{g/mL}$) の有無で、CM 処理された単球と (2 : 1 の単球 : T 細胞の比率で) 共培養した。健常単球と一緒に IMDM 培養培地中で刺激された T 細胞を、対照として使用した。T 細胞を、5 日間増殖させ、収集し、ヘルパー T および細胞傷害性 T 細胞に対するマーカーである CD4 および CD8 について染色した。細胞増殖を、フローサイトメトリーによって測定し、CFSE 希釈によって評価した。

40

50

【 0 1 6 4 】

図 6 は、増殖する細胞の % に関する T 細胞増殖アッセイ（左のパネル）、およびフローサイトメトリーによる最大値の %（MFI）（CD4+またはCD8+細胞におけるCFSE希釈のシグナル検出）（右のパネル）の結果を示す。図 6 に示されるように、CM処理された単球は対象と比較して T 細胞増殖を抑制し、組換え GM-CSF の添加は T 細胞増殖をさらに抑制した。抗 GM-CSFR α 抗体（Ab）での処理は、MDS 介在性 T 細胞抑制を低減させた。

【 0 1 6 5 】

等価物

当業者であれば、本明細書に記載される本発明の具体的な実施形態に対する多数の等価物を、通常の実験そのものを使用して認識するか、または確認することができるであろう。本発明の範囲は、上記の記載に限定されるように意図されないが、むしろ以下の特許請求の範囲に定められる通りである。

【 図 面 】

【 図 1 】

【 図 2 】

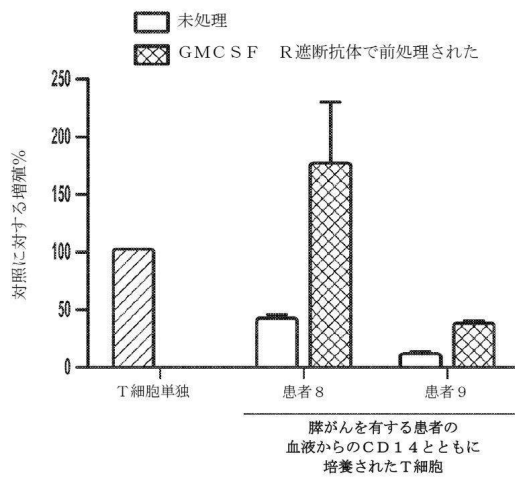


図 1

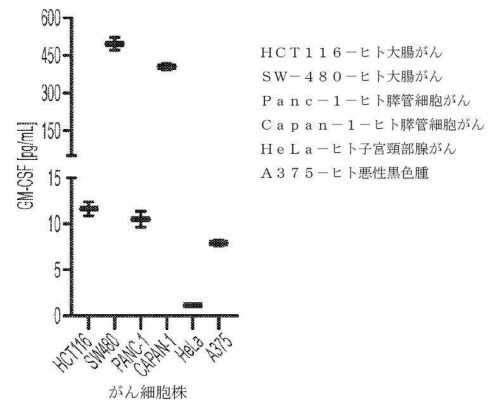


図 2

10

20

30

40

50

【 図 3 】

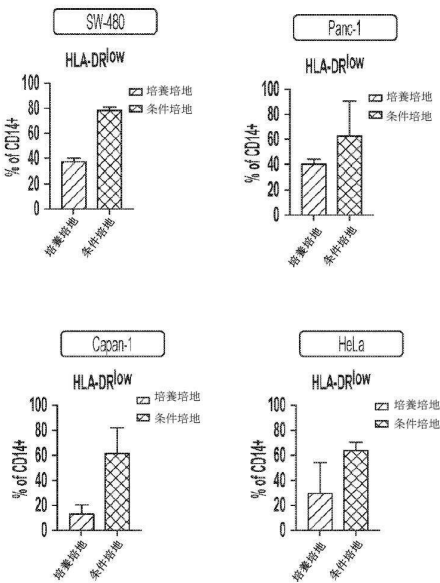


図 3

【 図 4 】

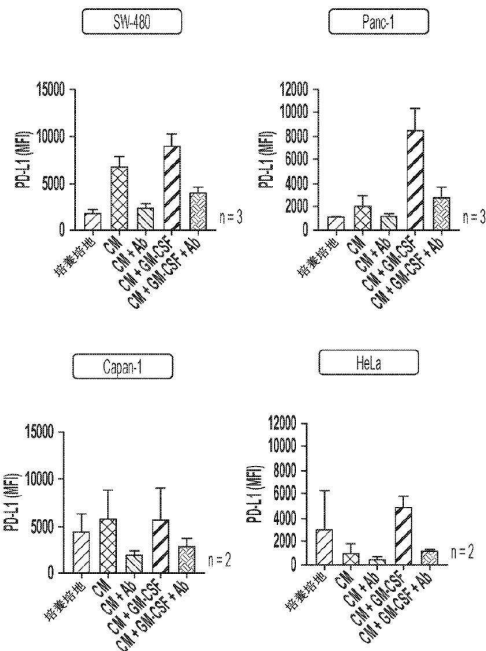


図 4

【 図 5 A 】

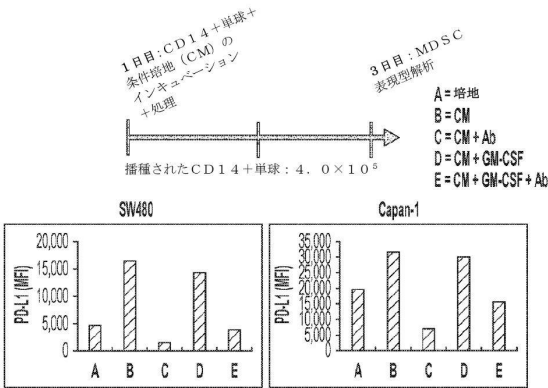


図 5 A

【 図 5 B 】

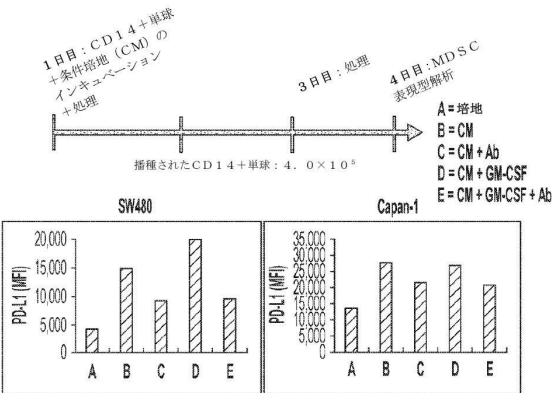


図 5 B

10

20

30

40

50

【 図 6 】

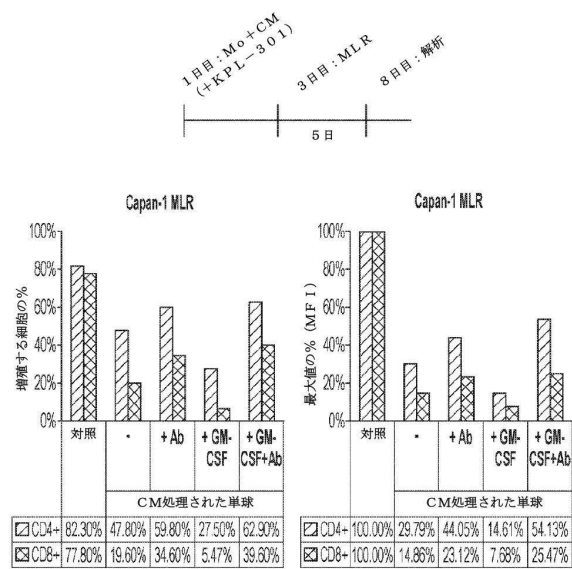


図 6

【 配 列 表 】

2022535062000001.a p p

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2020/035957

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K38/00 A61K39/395 A61P35/00 A61K38/17 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 C07K		
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, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ABIKO K ET AL: "GM-CSF increases myeloid-derived suppressor cells infiltration after anti-VEGF therapy in ovarian cancer", GYNECOLOGIC ONCOLOGY, ACADEMIC PRESS, LONDON, GB, vol. 154, 1 June 2019 (2019-06-01), page 85, XP085729704, ISSN: 0090-8258, DOI: 10.1016/J.YGYNO.2019.04.200 [retrieved on 2019-07-05] the whole document	1-69
X	WO 2016/066634 A2 (RUPRECHT KARLS UNIVERSITÄT HEIDELBERG [DE]) 6 May 2016 (2016-05-06) claim 37;	1-69
----- -/--		
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.		
☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
11 September 2020		02/10/2020
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Pilch, Bartosz

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2020/035957

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2018/225063 A1 (RAPPAPORT FAMILY INSTITUTE FOR RES IN THE MEDICAL SCIENCES [IL]) 13 December 2018 (2018-12-13) claims; -----	1-69
X	WO 2019/070680 A2 (HUMANIGEN INC [US]) 11 April 2019 (2019-04-11) claims; -----	1-69
X,P	WO 2020/055932 A2 (HUMANIGEN INC [US]) 19 March 2020 (2020-03-19) the whole document -----	1-69
A	JAMES E. TALMADGE ET AL: "History of myeloid-derived suppressor cells", NATURE REVIEWS CANCER, vol. 13, no. 10, 1 October 2013 (2013-10-01), pages 739-752, XP055397114, ISSN: 1474-175X, DOI: 10.1038/nrc3581 table 2; -----	1-69
T	HORIKAWA NAOKI ET AL: "Anti-VEGF therapy resistance in ovarian cancer is caused by GM-CSF-induced myeloid-derived suppressor cell recruitment", BRITISH JOURNAL OF CANCER, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 122, no. 6, 14 January 2020 (2020-01-14), pages 778-788, XP037065376, ISSN: 0007-0920, DOI: 10.1038/S41416-019-0725-X [retrieved on 2020-01-14] -----	1-69

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2020/035957

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016066634 A2	06-05-2016	EP 3212228 A2 JP 2017535534 A US 2018289689 A1 WO 2016066634 A2	06-09-2017 30-11-2017 11-10-2018 06-05-2016
WO 2018225063 A1	13-12-2018	CA 3066053 A1 CA 3066054 A1 EP 3635403 A1 EP 3635410 A1 JP 2020522707 A JP 2020525758 A US 2019113513 A1 US 2019137495 A1 WO 2018225062 A1 WO 2018225063 A1 WO 2020121310 A2 WO 2020121315 A1	13-12-2018 13-12-2018 15-04-2020 15-04-2020 30-07-2020 27-08-2020 18-04-2019 09-05-2019 13-12-2018 13-12-2018 18-06-2020 18-06-2020
WO 2019070680 A2	11-04-2019	AU 2018345751 A1 CA 3078349 A1 EP 3691663 A2 US 2019194343 A1 WO 2019070680 A2	07-05-2020 11-04-2019 12-08-2020 27-06-2019 11-04-2019
WO 2020055932 A2	19-03-2020	NONE	

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 K 16/24 (2006.01)

C 0 7 K 16/28

C 0 7 K 14/715 (2006.01)

C 0 7 K 16/24

C 0 7 K 14/715

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,N
E,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,K
G,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,N
I,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

弁護士 山本 健策

(72)発明者

ロナク, ナシルポール

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 2 1, レキシントン, ハイデン アベニュー 1 0 0,
キニクサ ファーマシューティカルズ, リミテッド 気付

(72)発明者

ピレロ, ジョー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 2 1, レキシントン, ハイデン アベニュー 1 0 0,
キニクサ ファーマシューティカルズ, リミテッド 気付

(72)発明者

テッサリ, エベン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 2 1, レキシントン, ハイデン アベニュー 1 0 0,
キニクサ ファーマシューティカルズ, リミテッド 気付

(72)発明者

カルバハル, ルイス

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 2 1, レキシントン, ハイデン アベニュー 1 0 0,
キニクサ ファーマシューティカルズ, リミテッド 気付

(72)発明者

ダンドレア, アンナリーサ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 2 1, レキシントン, ハイデン アベニュー 1 0 0,
キニクサ ファーマシューティカルズ, リミテッド 気付

(72)発明者

ムッサイ, フランシス

イギリス領 バミューダ ハミルトン エイチエム 1 1, チャーチ ストリート 2, クラレンド
ン ハウス

F ターム (参考)

4C084 AA17 MA01 MA52 MA55 NA14 ZB261

4C085 AA14 EE01 GG02 GG04 GG05 GG08

4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA40 DA12 DA50 DA75 DA76 EA20

EA50