

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年5月22日(22.05.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/101039 A1

(51) 国際特許分類: SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
C07K 14/705 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2019/045124

添付公開書類:

(22) 国際出願日: 2019年11月18日(18.11.2019)

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2018-215880 2018年11月16日(16.11.2018) JP

(71) 出願人: 国立大学法人東北大学 (TOHOKU UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒9808577 宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号 Miyagi (JP).

(72) 発明者: 藤村 卓 (FUJIMURA, Taku); 〒9808577 宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号 国立大学法人東北大学内 Miyagi (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所 (SAEGUSA & PARTNERS); 〒5410045 大阪府大阪府中央区道修町1-7-1 北浜コニシビル Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS,

(54) Title: ASSESSMENT OF THERAPEUTIC EFFECT OF IMMUNE CHECKPOINT INHIBITOR IN WHICH BLOOD CHEMOKINE IS USED

(54) 発明の名称: 血中ケモカインを用いた免疫チェックポイント阻害薬の治療効果判定

(57) Abstract: This method for assessing the therapeutic effect of an immune checkpoint inhibitor in a subject includes assessing the sCD163 level in a biological sample collected from the subject.

(57) 要約: 対象における免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定する方法は、対象から採取された生体試料における sCD163 のレベルを判定することを含む。



WO 2020/101039 A1

明 細 書

発明の名称：

血中ケモカインを用いた免疫チェックポイント阻害薬の治療効果判定

技術分野

[0001] [関連出願の相互参照]

本出願は、2018年11月16日に出願された、日本国特許出願第2018-215880号明細書（その開示全体が参照により本明細書中に援用される）に基づく優先権を主張する。本発明は、免疫チェックポイント阻害薬又はその抗原結合断片の治療効果を判定する方法、バイオマーカー、診断薬、及びキットに関する。

背景技術

[0002] がん細胞は、がん細胞を攻撃する免疫細胞の活性を下げることにより、免疫細胞の攻撃を阻止している。この仕組みは「免疫チェックポイント」と呼ばれている。したがって、この「免疫チェックポイント」を阻害することにより、免疫細胞の働きを再び活発にしてがん細胞を攻撃することができる。免疫チェックポイント阻害薬は、がん細胞により活性の下げられた免疫細胞を活性化させ、がん細胞を攻撃させる薬である。

[0003] 免疫チェックポイント阻害薬として具体的には、抗PD-1抗体、抗CTLA4抗体等が挙げられる。抗PD-1抗体であるニボルマブ及びペムブロリズマブは、悪性黒色腫の治療に有用であることが知られており、また、非小細胞肺癌及び腎細胞癌に対する治療効果も報告されている（特許文献1、非特許文献1）。

[0004] ニボルマブ、ペムブロリズマブ等の免疫チェックポイント阻害薬は非常に高額であるため、免疫チェックポイント阻害薬療法の有効性を評価するためのバイオマーカーが必要とされている。日本におけるニボルマブ及びペムブロリズマブの有効性はそれぞれ34.1%及び24.1%と報告されており（非特許文献2、3）、悪性黒色腫における抗腫瘍免疫応答を高める別の薬

剤が必要であることが示唆されている。

[0005] そこで、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果の高い患者を事前に選別して、該抗体を投与できれば有益である。

[0006] また、イピリムマブは、細胞性Tリンパ球抗原（CTLA4）をブロックする完全ヒト型IgG1モノクローナル抗体であり、ニボルマブと併用される進行期悪性黒色腫の患者の抗腫瘍免疫応答を高める有望な薬剤の一つである。進行期悪性黒色腫におけるニボルマブとイピリムマブの併用療法の有効性は57.8%と報告されており、ニボルマブとイピリムマブの同時投与に加えて、ニボルマブとイピリムマブとの適切な時期での切り替えによる連続投与も、進行期悪性黒色腫の治療における有効性が高いとされている。従って、当該適切な時期を決めるために、ニボルマブ等の免疫チェックポイント阻害薬を投与後に、その有効性を評価することが重要である。

[0007] 特許文献2は上記課題に取り組んだものであり、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA4抗体及びそれらの抗原結合断片から選択される少なくとも一つの抗体医薬を投与した対象から採取されたCD163及びCXCL5から選択される少なくとも一つのマーカーのレベルを測定することにより、該抗体医薬の投与に起因する副作用の発症を予測する方法を開示している。しかし、特許文献2には、これらのマーカーを用いて該抗体医薬の抗腫瘍効果自体を評価することは開示されていない。

先行技術文献

特許文献

- [0008] 特許文献1：特開2016-064989号公報
特許文献2：国際公開第2018/003995号

非特許文献

- [0009] 非特許文献1：N Engl J Med (2015)373: 23-34
非特許文献2：Cancer Sci. (2017)108:1223-1230
非特許文献3：Cancer Chemother Pharmacol. (2017) 79:651-660
非特許文献4：N Engl J Med. (2015) 373:23-34

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0010] 本発明は、免疫チェックポイント阻害薬の投与後に、対象における当該免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を精度よく判定できる方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明者らは、対象の生体試料中の種々のケモカインと免疫チェックポイント阻害薬の治療効果との関係を鋭意研究したところ、sCD163のレベルが高い対象において、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果が高いことを見だし、本発明を完成するに至った。

[0012] すなわち本発明は、例えば以下の実施形態を包含する。

[0013] 項1. 対象における免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定する方法であって、

対象から採取された生体試料におけるsCD163のレベルを測定することを含む方法。

[0014] 項2. 対象から採取された生体試料におけるsCD163のレベルが予め設定されたカットオフ値よりも高い場合、前記対象における疾患の治療に免疫チェックポイント阻害薬が有効である可能性が高いと判定することを含む項1に記載の方法。

[0015] 項3. sCD163を含む、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定するためのバイオマーカー。

[0016] 項4. 抗sCD163抗体又はその抗体結合断片を含む、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定するための診断薬。

[0017] 項5. 抗sCD163抗体又はその抗原結合断片を含む、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果の判定用キット。

発明の効果

[0018] 本発明によれば、対象における免疫チェックポイント阻害薬の治療効果の

新たな判定方法が提供される。すなわち、本発明の判定方法は、sCD163のレベルに基づいて、免疫チェックポイント阻害薬に対して顕著に感受性を示すがん患者を判定することができる。これにより、疾患治療における対象への適切な薬剤の選択ができ、又は無用な投薬を回避することができ、適切な投与計画の立案及び適切な投与計画への変更が可能となる。本発明において、治療効果の判定とは、治療効果の有無及び／又は有効性の程度を評価することを意味する。

図面の簡単な説明

[0019] [図1]皮膚黒色腫におけるsCD163の血清レベルとROC曲線（第1コホート） 4
2日目の各患者におけるsCD163の血清レベル変化（n = 59）（A）。ROC曲線を適用して、sCD163血清レベルおよびAUCについてのカットオフを計算した（B）。カットオフは、Youdenのインデックスを使用して、奏功者と非奏功者を区別するために決定した。

[図2]皮膚黒色腫におけるsCD163のROC曲線（第2コホート） 図1で確認したカットオフを新たな症例で再確認した（n=25）。ROC曲線を適用して、sCD163血清レベルおよびAUCについてのカットオフを計算した。

[図3]非皮膚黒色腫におけるsCD163の血清レベルとROC曲線 42日目の各患者におけるsCD163の血清レベル変化（n = 29）（A）。ROC曲線を適用して、sCD163血清レベルおよびAUCのカットオフを計算した（B）。カットオフは、Youdenのインデックスを使用して、奏功者と非奏功者を区別するために決定した。

発明を実施するための形態

[0020] 本発明の第一態様によれば、対象における免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定する方法であって、対象から採取された生体試料におけるsCD163のレベルを測定することを含む方法が提供される。

[0021] かかる方法によれば、sCD163のレベルに基づいて、対象における免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定することができる。

[0022] 本明細書において、「CD163」は、1本鎖の膜貫通型タンパク質で、

スカベンジャーレセプターシステインーリッチファミリーのメンバーであり、「M130」と相互に使用される。また、「sCD163（可溶型CD163）」は、CD163が切断されて可溶型となったものである。本発明における「sCD163」は、sCD163の改変体、アイソフォーム、および種ホモログを含んでよい。

[0023] sCD163のレベルとは、例えば、生体試料におけるsCD163の濃度又は量であり、好ましくは、生体試料におけるsCD163の濃度である。測定するsCD163の濃度としては、例えば、10pg/mL~50000pg/mL、10pg/mL~100000pg/mLの範囲の濃度が挙げられる。

[0024] 本発明において免疫チェックポイント阻害薬として、具体的には、抗PD-1抗体、抗CTLA4抗体等が挙げられ、抗PD-1抗体が好ましい。抗PD-1抗体としては、ニボルマブ、ペムブロリズマブ等が、悪性黒色腫の治療に有用であることが知られており、好ましい。本発明の好ましい実施形態においては、最初にある抗PD-1抗体による治療を行い、sCD163を指標にその治療効果を判定する。その結果、当該抗PD-1抗体による治療が有効であると判定された場合は当該治療を継続し、当該抗PD-1抗体による治療が有効でないと判定された場合に、当該抗PD-1抗体とは別の抗PD-1抗体による治療を行うか、又は抗CTLA4抗体による治療を行うことができる。

[0025] 本明細書において、「抗体」は、全長抗体であって、ジスルフィド結合で連結された少なくとも2個の重鎖（H）と2個の軽鎖（L）を含む糖タンパク質を含む。各重鎖は、重鎖可変領域（以下、 V_H と略すこともある。）と重鎖定常領域とから構成されている。重鎖定常領域は、3個のドメイン C_{H1} 、 C_{H2} 及び C_{H3} から構成されている。各軽鎖は、軽鎖可変領域（以下、 V_L と略すこともある。）と軽鎖定常領域から構成されている。軽鎖定常領域は、1個のドメイン C_L で構成されている。 V_H 及び V_L 領域はさらに、相補性決定領域（CDR）と称される変異性の高い領域に小分割され、それらには、フレー

ムワーク領域（FR）と称され、より保存性の高い領域が散在している。上記重鎖及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んでいる。

[0026] かかる「抗体」としては、例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二重特異性抗体、低分子化抗体、ドメイン抗体、合成抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体複合体、一本鎖抗体、抗体誘導體、抗体類似体、及びそのそれぞれの抗原結合断片が挙げられる。

[0027] 本明細書において、抗体の「抗原結合断片」（又は、単に「抗体断片」ともいう）とは、特異的に抗原（例えば、PD-1）に結合する能力を保持する抗体の1個以上の断片を示すものである。抗体の「抗原結合断片」に含まれる結合断片の例として、(i) V_L 、 V_H 、 C_L 及び C_{H1} ドメインから構成される1価の断片であるFab断片、(ii) ヒンジ領域中ジスルフィド架橋で結合した2個のFab断片を含む2価の断片である $F(a b')_2$ 断片、(iii) V_H 及び C_{H1} ドメインから構成されるFd断片、(iv) 抗体のシングルアームの V_L 及び V_H ドメインで構成されるFv断片、(v) V_H ドメインから構成されるdAb断片、又は(vi) 単離相補性決定領域(CDR)が挙げられる。さらに、Fv断片の2個のドメインである V_L 及び V_H は別々の遺伝子によりコードされているが、それらは、組み換え技術を用いてそれらを単一タンパク質鎖として作製できる合成リンカーにより連結でき、この鎖中では、 V_L 及び V_H 領域が対となって1価の分子を形成できる（単一鎖のFv(scFv)）。このような単一鎖の抗体も、抗体の「抗原結合断片」に含まれる。

[0028] 本明細書において、「PD-1」は、免疫応答調節のシグナルを介する免疫レセプターであって、CD28/CTLA-4ファミリーに属するI型膜タンパク質である。本発明における「PD-1」は、「Programmed Death 1」、「Programmed Cell Death 1」、「タンパク質PD-1」、「PD1」、「PDCD1」、及び「hPD-1」と相互に使用され、PD-1の改変体、アイソフォーム、種ホモログ、及びP

D-1 と少なくとも 1 個の共通エピトープを有するアナログを含んでよい。

[0029] 本明細書において、「抗PD-1抗体」は、本発明の効果を妨げない限り、特に限定されず、PD-1 に特異的に結合する任意の抗体であってよい。かかる抗体は、アミノ酸配列の構造の一部を特異的に認識する抗体でもあってもよく、全体構造を特異的に認識する抗体でもよい。また、上記抗体としては、特に限定されるものではないが、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、又はラムブロリズマブが挙げられ、好ましくはニボルマブ又はペムブロリズマブである。なお、抗PD-1抗体又はその抗原結合断片である抗体医薬を、以下、単に抗体医薬と称する場合がある。

[0030] 本明細書において、対象（被験対象とも称する）は、哺乳動物、例えば、げっ歯類、イヌ、ネコ、ウシ、霊長類等であり、好ましくはヒトであり、より好ましくは、免疫チェックポイント阻害薬の投与により治療されうる疾患に罹患しているか、又は該疾患に罹患する可能性のあるヒトであり、さらにより好ましくは、癌、肉腫、又は悪性中皮腫に罹患したヒトである。ここで「治療」には、確立された病態を治療することだけでなく、将来確立される可能性のある病態を予防することをも含む。対象は、好ましくは、免疫チェックポイント阻害薬の投与経験がない対象である。

[0031] 癌、肉腫、又は悪性中皮腫としては、具体的には、悪性黒色腫（メラノーマ）（例えば、転移性悪性黒色腫、根治切除不能悪性黒色腫）、皮膚有棘細胞癌、乳房外パジェット病、又はメルケル細胞癌等の皮膚癌；腎癌（例えば、腎細胞癌、透明細胞カルシノーマ）；前立腺癌（例えば、ホルモン難治性前立腺アデノカルシノーマ）；乳癌；結腸癌；肺癌（例えば、非小細胞肺癌）；骨癌；膀胱癌；頭頸部癌；皮膚若しくは眼窩内悪性メラノーマ；子宮癌；卵巣癌；直腸癌；肛門部癌；胃癌；精巣癌；子宮癌；卵管のカルシノーマ；子宮内膜カルシノーマ；子宮頸部カルシノーマ；膣カルシノーマ；外陰部カルシノーマ；食道癌；小腸癌；大腸癌；内分泌系癌；甲状腺癌；副甲状腺癌；副腎癌；柔組織肉腫；多発性骨髄腫；尿道癌；陰茎癌；慢性若しくは急性白血病（例えば、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性

白血病、慢性リンパ球性白血病) ; 小児固形癌 ; 進行性固形癌 ; 膀胱癌 ; 腎臓若しくは尿管の癌 ; 腎盂カルシノーマ ; 尿路上皮癌 ; 中枢神経系 (CNS) 腫瘍 ; リンパ腫 (例えば、リンパ球性リンパ腫、原発性CNSリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫 (ホジキン病)、T細胞リンパ腫) ; 胸膜悪性中皮腫 ; 心膜悪性中皮腫 ; 腹膜悪性中皮腫 ; 腫瘍新脈管形成 ; 脊椎腫瘍 ; 脳幹グリオーム ; 下垂体アデノーマ ; カポシ肉腫 ; 扁平上皮癌 ; 扁平細胞癌 ; アスベスト誘発癌を含む環境誘発癌 ; 又はそれらの組み合わせが挙げられ、好ましくは、皮膚癌、より好ましくは、悪性黒色腫、皮膚有棘細胞癌、乳房外パジェット病、又はメルケル細胞癌である。

[0032] 生体試料としては、あらゆる体液、例えば、血清、血漿、血液、リンパ液、組織液、体腔液、消化液又は尿等が挙げられ、好ましくは血清である。免疫チェックポイント阻害薬の投与方法としては、特に限定されるものではないが、静脈投与が好ましい。

[0033] 生体試料の採取時期は、好ましくは、対象への免疫チェックポイント阻害薬の投与後が挙げられる。

[0034] sCD163のレベルの測定は、sCD163レベルを定量的又は半定量的に測定できるものであれば特に制限はなく、公知のあらゆる方法を採用することができる。例えば、免疫測定法、電気泳動法、ウエスタンブロッティング法、質量分析法等が挙げられ、好ましくは免疫測定法である。

[0035] 免疫測定法としては、例えば、免疫比濁測定法、酵素免疫測定法等が挙げられる。免疫測定法は、タンパク質等を抗原として測定する免疫測定法であって、抗sCD163抗体又はその抗原結合断片を用いることができ、好ましくはそのポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体を用いることができる。抗sCD163抗体又はその抗原結合断片は、市販品の抗体であることもできるし、また、周知の方法により製造することもできる。

[0036] 免疫比濁測定法としては、生物学的試料におけるsCD163と、抗sCD163抗体又はその抗原結合断片とを反応させて抗原抗体反応させ、その結果、発生する濁りの度合いからsCD163のレベルを測定するものであ

れば、とくに限定されない。そのような方法として、T I A法、ラテックス免疫比濁法、ネフェロメトリー法を例示することができる。T I A法は、免疫比濁測定法において濁りの度合いを特定の吸光度において測定する方法である。また、ラテックス免疫比濁法は、免疫比濁測定法において、抗体として抗 s C D 1 6 3 抗体又はその抗原結合断片をラテックス粒子に結合させたものを用いて測定する方法である。さらに、ネフェロメトリー法は、免疫比濁測定法において濁りの度合いを、一定角度以上の大きさに散乱した光を集めて散乱光として測定する方法である。

[0037] 酵素免疫測定法としては、プレートを支持体とした、E L I S A 法等の E I A 法を挙げることが出来る。はじめに固相に直接又は間接的に抗 s C D 1 6 3 抗体又はその抗原結合断片を一次抗体として結合させる。s C D 1 6 3 を酵素免疫測定法で測定する場合には、例えば、固相に結合した一次抗体に、s C D 1 6 3 を測定するための生物学的試料を加えて反応させる。一定時間反応させた後、固相を洗浄し二次標識抗体を加えて二次反応させる。固相を再度洗浄し、固相に結合した標識部分を測定する。

[0038] 上記二次標識抗体を用いる免疫測定法において、標識物質としては西洋ワサビペルオキシダーゼ (H R P) アルカリホスファターゼ等の酵素を用いることができる。例えば、H R P 標識抗体を利用した場合には基質に既知の D A B、T M B、O P D 等を用いることができる。また、標識物質には、H R P のような酵素だけではなく、金コロイド、ユーロピウム等の標識金属、F I T C、ローダミン、T e x a s R e d、A l e x a、G F P 等の化学的、生物的各種蛍光物質、³²P、⁵¹C r 等の放射性物質等標識可能なあらゆる物質が挙げられる。また、本発明で標識物質を用いる場合、アビジン-ビオチン系又はストレプトアビジン-ビオチン系を用いることもできる。その場合には、例えば、ビオチンで標識された二次標識抗体とともに、H R P 等の酵素で標識されたストレプトアビジン又はアビジンを用いることができる。また、ルシフェラーゼ標識抗体による化学発光イムノアッセイ、蛍光色素標識抗体による蛍光イムノアッセイ、フローサイトメトリー法等を挙げること

ができる。

[0039] 電気泳動法としては、一般的にはSDS-PAGE法を挙げることができる。そのほかにもセルロース・アセテートを支持体としたもの等がある。タンパク質の染色にはクマシー・ブリリアント・ブルー、ポンソーS染色、アミドブラック染色、直接酵素活性を利用する方法等がある。

[0040] また、ウエスタンブロットリング法による検出も有効である。すなわち、電気泳動をしたゲルをニトロセルロース膜、PVDF膜等に転写し、次いで、一次抗体である抗sCD163抗体又はその抗原結合断片、さらに、二次標識抗体であるHRP標識抗IgG等を反応させ、次いで、HRP発色試薬で発色させ、sCD163に相当するバンドの発色度合いによりsCD163を測定することができる。

[0041] 質量分析法としては、例えば、質量分析器を使用した分析方法を挙げることができる。例えば、表面増強レーザー脱離イオン化 (Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization) 飛行時間型質量分析計 (SELDI-TOF MS法)、マトリックス支援レーザーイオン化 (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization) 飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF MS法)、ESI法 (Electrospray Ionization) を用いる方法を例示できる。SELDI-TOF MS法は、チップ表面の官能基に目的物質を均一に捕捉したまま不純物を除去し、レーザー光でイオン化するため、再現性のあるS/N比の高いイオンスペクトルが得られるので好ましい。

[0042] 上述の測定により得られたsCD163のレベルのデータを用いて、対象における免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定することができる。

[0043] かかる判定としては、対象から採取された生体試料におけるsCD163のレベルが予め設定されたカットオフ値よりも高い場合、対象における疾患の治療に免疫チェックポイント阻害薬が有効である可能性 (蓋然性) が高いと判定することが挙げられる。或いは、対象から採取された生体試料におけ

る s C D 1 6 3 のレベルが予め設定されたカットオフ値以下である場合、対象における疾患の治療に免疫チェックポイント阻害薬が有効である可能性が低いと判定することが挙げられる。

[0044] カットオフ値（閾値）は、薬物に対する奏功者と非奏功者とを区別する値であるが、測定対象、測定方法の種類等の諸条件により変動するものであるため、条件に合わせて予め設定する必要がある。カットオフ値は、測定対象（患者の数、年齢、性別、体重、健康状態、疾患の状態）、測定条件（例えば測定する抗体の種類及び感度）、統計的手法等により変動するため、本発明は、これらの諸条件により変動し得る任意のカットオフ値を用いた発明を広く包含し、特定の値に限定されない。本発明の一実施形態において、例えば、免疫チェックポイント阻害薬投与後の対象から採取された生物学的試料における s C D 1 6 3 のレベルが、投与前の対象から採取された生物学的試料における s C D 1 6 3 のレベルに比べて好ましくは 1.0 倍を超え、より好ましくは 1.1 倍以上高い場合、当該免疫チェックポイント阻害薬が当該対照の治療に有効である可能性が高いと判定することができる。また、本発明の一実施形態においては、免疫チェックポイント阻害薬投与後の対象から採取された生物学的試料における s C D 1 6 3 濃度が、例えば、投与前の対象の生物学的試料における s C D 1 6 3 濃度に比べて 3 n g / m L 以上高い場合、当該免疫チェックポイント阻害薬が当該対照の治療に有効である可能性が高いと判定することができる。また、任意選択で副作用の観点から上記とは別のカットオフ値を設け、対象の生物学的試料における s C D 1 6 3 のレベルが、当該別のカットオフ値以上の場合に、副作用が発生している可能性が高いと判定をしてもよい。当該カットオフ値も限定されないが、例えば、上記抗体医薬投与後の対象から採取された生物学的試料における s C D 1 6 3 のレベルが、投与前の対象から採取された生物学的試料における s C D 1 6 3 のレベルに比べて好ましくは 1.2 倍以上、より好ましくは 1.5 倍以上、さらに好ましくは 1.6 倍以上、さらにより好ましくは 1.8 倍以上、さらにより一層好ましくは 2 倍以上高い場合、副作用を発症する可能性が

高いと判定することができる。また、上記抗体医薬投与後の対象から採取された生物学的試料における sCD163 濃度が、投与前の対象の生物学的試料における sCD163 濃度に比べて好ましくは 10 ng/mL、より好ましくは 15 ng/mL、さらに好ましくは 20 ng/mL、さらにより好ましくは 40 ng/mL 以上高い場合、副作用を発症する可能性が高いと判定することができる。

[0045] 当業者はカットオフ値を、予め測定しておいた sCD163 のレベルから種々の統計解析手法により求めることができる。例えば、カットオフ値としては、免疫チェックポイント阻害薬を投与された対象における sCD163 のレベルの平均値又は中央値；免疫チェックポイント阻害薬を投与された対象の sCD163 のレベルと、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果（腫瘍縮小効果、生存期間延長効果等）との関係から感度と特異度の和が最大となるよう ROC (Receiver Operating Characteristic) 分析に基づき求められる値；免疫チェックポイント阻害薬を投与された対象における sCD163 のレベルと、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果（腫瘍縮小効果、生存期間延長効果等）との関係から、カイ二乗検定に基づき求められる値（このうちログランク検定で P 値が最小となる値、P 値がある水準以下になる値（例えば P 値が 0.05 以下になる値、P 値が 0.01 以下になる値）等）；が挙げられる。

[0046] カットオフ値は 1 つであってもよいし、治療効果の種類、投与する抗体医薬の種類、抗体医薬を投与する対象の状態、又はそれらの組合せに応じて複数設定することもできる。

[0047] 上記判定工程により、対象から採取された生体試料における sCD163 のレベルが予め設定されたカットオフ値よりも高く、対象における疾患の治療に免疫チェックポイント阻害薬が有効である可能性が高いと判定された場合、かかる対象には免疫チェックポイント阻害薬を投与するよう決定し得る。

[0048] 免疫チェックポイント阻害薬の有効量は、特に限定されず、薬剤の種類、

純度、副作用の程度、対象の種類、性質、性別、年齢、症状、併用薬剤の有無、前治療歴等に応じて当業者によって、適宜決定される。例えば、かかる有効量としては、0.1～20mg/体重kg/日、好ましくは1.0～20mg/体重kg/日を1回又は数回等が挙げられる。

[0049] なお、上記抗体医薬による治療は、その実施期間中、又は実施期間の前後に腫瘍を切除する手術の有無を問わない。主に延命効果を目的とした腫瘍の摘出を伴わない治療であっても、上記抗体医薬による治療の後に小さくなった腫瘍の摘出を行ってもよいし、再発・転移抑制効果を目的とした腫瘍の摘出の後に予防的に上記抗体医薬による治療を行ってもよい。

[0050] 本明細書において「治療効果」は「有効性」と互換的に使用することができ、腫瘍縮小効果、再発・転移抑制効果、延命効果等により評価することができる。「対象における疾患の治療に免疫チェックポイント阻害薬が有効である」とは、sCD163のレベルがカットオフ値を超える患者における治療効果が、sCD163のレベルがカットオフ値以下である患者における治療効果と比較して統計上有意な程度の差をもって顕著に優れていることをいう。

[0051] 上記判定工程により、対象から採取された生体試料におけるsCD163のレベルが予め設定されたカットオフ値以下である場合、かかる対象へは免疫チェックポイント阻害薬を投与しないよう決定し得る。

[0052] 例えば、進行性黒色腫の患者の治療の場合、ある免疫チェックポイント阻害薬を投与した後に、患者のsCD163のレベルを測定し、当該免疫チェックポイント阻害薬が有効である可能性が高いと判定されている間は当該免疫チェックポイント阻害薬（例えば、ニボルマブ、又はペムブロリズマブ）を投与し、否定判定の患者（初回投与後から否定判定である患者、及び初回投与後は有効判定であったが複数回投与後に否定判定となった患者を含む）には別のイピリムマブ等の免疫チェックポイント阻害薬を投与すれば、より効果的な治療を行うことができる。

[0053] このように、本発明の第一態様の対象における免疫チェックポイント阻害

薬の治療効果を判定する方法によれば、sCD163のレベルに基づいて対象における免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定することができ、疾患治療における対象ごとの適切な薬剤の選択ができ、無用な投薬による副作用の発生等を未然に回避することができる。このため、適切な投与計画の立案及び適切な投与計画への変更が可能となる。

[0054] 本発明の第一態様の対象は、疾患の治療における治療薬選択のための補助方法と見ることもできる。

[0055] 本発明の第二態様によれば、sCD163を含む、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定するためのバイオマーカーが提供される。

[0056] 本発明の第三態様によれば、抗sCD163抗体又はその抗体結合断片を含む、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定するための診断薬が提供される。

[0057] 上記診断薬はsCD163のレベルの測定に使用することができるため、上記に説明した各種の測定方法を行うことができる。上記測定方法としては、例えば、免疫測定法、電気泳動法、ウエスタンブロットティング法、質量分析法等が挙げられ、好ましくは免疫測定法である。

[0058] かかる診断薬の態様は、第一態様の治療効果を判定する方法に関する記載に準じて実施することができる。

[0059] 本発明の第四態様によれば、抗sCD163抗体又はその抗原結合断片を含む、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果の判定用キットが提供される。

[0060] かかるキットは、本発明の第一態様の判定方法を実施するために好適に用いられる。

[0061] 抗sCD163抗体又はその抗原結合断片は、対象から採取された生体試料におけるsCD163タンパク質のレベルを測定することができる。

[0062] 上記キットは、上記抗sCD163抗体又はその抗原結合断片からなる一次抗体以外に、当該一次抗体に対する二次抗体をさらに含んでもよい。二次抗体は、ルシフェラーゼ標識、放射性標識、蛍光標識、酵素標識等によって

標識されていることが好ましい。

[0063] 上記キットは、本発明の第一実施形態の判定方法を実施するための手順等を記載した取扱説明書をさらに含んでよい。

[0064] 本発明の第五態様によれば、上記第一態様の判定方法により抗PD-1抗体又はその抗原結合断片が有効である可能性が高いと判定された対象に、該抗PD-1抗体又はその抗原結合断片を投与することを含む対象の治療方法が提供される。

[0065] 対象は、哺乳動物、例えば、げっ歯類、イヌ、ネコ、ウシ、霊長類等であり、好ましくはヒトであり、より好ましくは、抗PD-1抗体又はその抗原結合断片の投与により治療されうる疾患に罹患しているか、又は該疾患に罹患する可能性のあるヒトであり、さらにより好ましくは、癌、肉腫、又は悪性中皮腫に罹患したヒトである。疾患の例、抗PD-1抗体又はその抗原結合断片の投与量及び投薬形式については第一実施形態について説明した通りである。

実施例

[0066] 以下、本発明を実施例に基づきより詳細に説明するが、本発明がこれら実施例に限定されないことはいうまでもない。

[0067] <イントロダクション>

PD-1/PD-L1経路は、腫瘍免疫応答において重要な役割を果たす。したがって、ニボルマブ、ペンブロリズマブ等の抗PD-1抗体は、進行した黒色腫を含むさまざまな癌の治療に広く使用されている。ニボルマブは転移性メラノーマの患者の生存期間を有意に長くし、イピリムマブとの併用投与の効果も改善させる。イピリムマブは、細胞傷害性Tリンパ球抗原 (CTLA-4) をブロックしてT細胞を活性化し増加させ、制御性T細胞 (Treg) の機能を抑制する完全ヒト化免疫グロブリン (Ig) G1モノクローナル抗体である。以前の報告では、イピリムマブが、特に他の抗メラノーマ試薬と併用すると、進行性メラノーマの治療に有用であることを示唆した。さらに、ニボルマブとイピリムマブを用いた併用療法は、メラノーマの脳への未治療の転移に対する奏率が

増加したとしている。しかし、ニボルマブ耐性黒色腫患者におけるイピリムマブの有効性は、目的の腫瘍が進行した後では非常に低い。進行性メラノーマの患者では、ニボルマブとイピリムマブの同時投与と計画的切り替えによるニボルマブとイピリムマブの連続投与のいずれも、免疫関連有害事象（irAE）が高頻度に生ずるため、ニボルマブからイピリムマブへ計画的に切り替える前に、ニボルマブ単剤療法の有効性を決めることが重要である。

[0068] 腫瘍関連マクロファージ（TAM）は、その不均一性と可塑性が特徴であり、癌関連因子、間質性因子、または感染への曝露により分極化した表現型に機能的リプログラムされ、腫瘍の微小環境を維持するのに重要な役割を果たす様々なケモカインを産生させる。TAMにおけるPD-1の発現は、M2マクロファージの分極化における重要な因子の1つであるので、抗PD1抗体を投与するとTAMを再び分極化させ、メラノーマ患者のTAMを活性化させ得る。皮膚癌におけるTAMの主要集団はCD163 + M2マクロファージであり、かつ、可溶性分化クラスター163（sCD163）はタンパク質分解による放出の結果として血清中に現れるTAMマーカーなので、本発明者らは血清sCD163が疾患の初期段階でのニボルマブの有効性のための判定マーカーとなり得ると仮定した。本研究では、ニボルマブで治療した、進行皮膚黒色腫59例および進行粘膜黒色腫16例についてsCD163の血清レベルを分析した。

[0069] <患者および方法>

<ヒト実験におけるエクスステートメント>

このヒトにおける研究のプロトコルは、日本の仙台市にある東北大学大学院医学研究科倫理委員会によって承認された（許可番号：2017-1-064）。すべての方法は関連する指針および規制に従って行われた。全患者が書面によるインフォームドコンセントを提供した。

[0070] <患者>

ニボルマブで治療した患者のデータは日本の8つの臨床現場から集めた。対象となる患者は、切除不能なステージIIIの黒色腫、切除可能であったが切除可能を辞退した患者、またはアクセシブルな皮膚、皮下および/または結節病

変を伴うステージIVの黒色腫とした（ステージはAJCCステージングマニュアル、第7版、2011に従って行った）。全患者は、2 mg / kgのニボルマブとそれに続く3週間の休薬期間、または3 mg / kgのニボルマブとそれに続く2週間の休薬期間を受けた。どちらも日本で承認された投与スケジュールである。患者の血清は、0日目および42日目に採取した。ニボルマブの奏功は、固形腫瘍における反応評価基準（RECIST）に従って評価した。

[0071] <sCD163の血清レベル>

ニボルマブ投与後0日目および42日目に、血清を保存し、製造者（カタログ番号DY1607; R&D Systems、ミネソタ州、ミネアポリス）により提供されたプロトコルに従って酵素結合免疫アッセイ（ELISA）により可溶性sCD163の血清レベルを分析した。各ドナーからのデータは、デュプリケートのアッセイの平均とした。42日目の血清レベルをベースライン（0日目）と比較し、統計的に分析した。

[0072] <統計学的方法>

受信者動作特性（ROC）曲線を用いて、sCD163の血清レベルおよび曲線下面積（AUC）でのカットオフ値を計算した。最大インデックス値のポイントを決定するために、Youdenのインデックス（感度+特異度-1）を使用してカットオフを決定した。ROC曲線を確立し、ニボルマブを投与された患者のsCD163の血清レベルを評価した。2群を単一比較するために、マン-ホイットニーU検定を使用した。有意水準は $p < 0.01$ に設定した。全ての統計分析は、JMPバージョン14.1ソフトウェア（SAS Institute、Tokyo、Japan）を用いて行った。

[0073] <結果>

<患者>

59人の皮膚黒色腫患者（表1）および16人の非皮膚（例えば、消化管、膣、鼻腔）黒色腫患者（表2）を含む、75人のニボルマブ治療を受けた黒色腫患者からデータを収集した。平均患者年齢は、皮膚黒色腫で68.0歳（31～93歳の範囲）、非皮膚黒色腫で66.0歳（54～82歳の範囲）であった。皮膚黒色腫および非皮膚黒色腫の男性患者の割合は、それぞれ57.6%および56.3%で

あった。最も一般的な原発腫瘍部位は四肢（55.9%）であり、続いて頭頸部（15.3%）、体幹（11.9%）、粘膜起源（8.5%）、および起源不明（8.5%）であった。

[0074] [表1]

表1. 皮膚黒色腫患者における sCD163 の特徴と血清レベル。42日目と0日目との間の各患者(n = 59)からの sCD163 の血清レベル変化を ELISA によって調べた。各ドナーについてのデータは二重アッセイの平均を表す。

No.	Age (y)	Sex	Location	Body weight (kg)	Prior systemic therapy	Efficacy at 3 months	Increase of sCD163	Change ratio of sCD163(%)
No. 1	61-70	M	Extremities	63.2	DAV+IFN-β	PR	11.556	149
No. 2	61-70	M	Extremities	48	-	PR	50.8525	227.8
No. 3	81-90	F	Extremities	48.7	DPCP	PR	12.676	152.7
No. 4	61-70	M	Extremities	70.4	DAV+IFN-β	PR	13.27122	146.2
No. 5	61-70	M	Extremities	58.5	DAV+IFN-β	PR	7.17709	127
No. 6	61-70	M	Lip	69.8	DAV+IFN-β	PR	5.934	123.1
No. 7	71-80	M	Trunk	59.4	-	PR	21.49956	133.4
No. 8	71-80	F	Extremities	68	-	PR	-12.9704	81.6
No. 9	31-40	F	Extremities	55.4	DTIC+IFN-β	PR	24.5042321	189.5
No. 10	71-80	M	Extremities	61.2	-	PR	3.36944	109.5
No. 11	51-60	F	Extremities	41.7	-	CR	2.109187	110.7
No. 12	81-90	M	Unknown	68.3	-	PR	3.07118	111.3
No. 13	71-80	F	Extremities	50.1	IFN-α	PR	35.7011169	158.5
No. 1	61-63	M	Trunk	68.7	-	SD	1.6625	107.5
No. 2	31-40	F	Extremities	60.8	CBDCA+PTX	PD	-9.6755	92.4
No. 3	61-70	M	Trunk	62	DTIC+IFN-β	PD	2.884	109.6
No. 4	81-90	F	Extremities	44.9	IFN-α	PD	-0.333	98.7
No. 5	71-80	M	head and neck	59.2	IFN-β	SD	0.998	103.6
No. 6	81-90	F	Trunk	41.9	IFN-β	PD	6.78453	116.9
No. 7	91-100	M	Extremities	55	IFN-β	PD	4.02405	113
No. 8	71-80	M	Extremities	85.9	IFN-β	SD	-5.10307	89.9
No. 9	31-40	M	Extremities	73	TMZ	PD	-16.806	67.8
No. 10	61-70	M	Extremities	55	anti-CCR4 Abs	PD	2.706	115.4
No. 11	61-70	F	Extremities	66.3	DAV feron	PD	0.653	103.4
No. 12	61-70	M	Head and neck	55	DTIC	PD	-0.954	99.6
No. 13	61-70	M	Extremities	115.4	DAV+IFN-β	SD	0.177	100.5
No. 14	61-70	M	Extremities	77.6	IFN-β	PD	-61.59461	35.5
No. 15	81-90	F	Unknown	47.8	-	SD	-6.54815	86.5
No. 16	71-80	M	Extremities	54.4	IFN-β	SD	-4.74553	80.8
No. 17	61-70	F	Trunk	46.5	-	PD	17.3346	140.4
No. 18	71-80	M	Extremities	53.7	-	PD	-1.595225	93
No. 19	51-60	F	Head and neck	49.2	DTIC+IFN-β	PD	5.457395	115.9
No. 20	31-40	M	Trunk	78.8	IFN-α	SD	-12.615365	53.7
No. 21	61-70	F	Trunk	48.8	IFN-β	PD	-1.7178157	98.2
No. 22	31-40	F	Head and neck	52.3	IFN-β	PD	3.88229	120.1
No. 23	71-80	F	External genitalia	59.1	-	SD	-3.34502	92.1
No. 24	71-80	F	External genitalia	53.4	IFN-β	SD	-7.38773	70.5
No. 25	61-70	F	Extremities	47.0	-	PD	-4.11263	64
No. 26	61-70	M	unknown	53.6	-	PD	-3.78005	75.6
No. 27	61-70	F	Extremities	60.9	IFN-β	PD	-0.54818	95.9
No. 28	61-70	F	Head and neck	41.6	IFN-α	PD	-1.456879	80.8
No. 29	71-80	M	Trunk	56	-	PD	-0.71335	77.2
No. 30	41-50	F	External genitalia	69.2	-	PD	-0.170996	94.4
No. 31	71-80	F	Extremities	53.3	-	PD	-0.682222	85.8
No. 32	61-70	M	Extremities	61	-	SD	2.202349	183.2
No. 33	71-80	M	Unknown	55	-	PD	0.326041	107.4
No. 34	61-70	F	Extremities	68	-	SD	0.228017	106.3
No. 35	71-80	M	Extremities	59.3	IFN-β	SD	-1.7178157	98.2
No. 36	61-70	M	Unknown	49.1	-	PD	0.428485	117.4
No. 37	61-70	M	Head and neck	61	-	SD	0.164125	110.7
No. 38	41-50	F	External genitalia	56	-	SD	1.269748	247.2
No. 39	71-80	F	Extremities	47	-	PD	-0.721186	86.1
No. 40	41-50	M	Head and neck	103	DTIC	PD	-0.111639	98
No. 41	61-70	M	Extremities	73	IFN-β	SD	0.421323	113.6
No. 42	31-40	M	Extremities	63.5	-	PD	0.9897167	102.1
No. 43	71-80	F	Extremities	66.2	-	SD	7.3643392	116.6
No. 44	71-80	M	Extremities	63.7	IFN-β	PD	-7.0989841	91.9
No. 45	71-80	M	Head and neck	67.4	-	PD	-0.5957191	98.4
No. 46	41-50	M	Extremities	62.7	IFN-β	PD	2.4247196	105.7

[0075]

[表2]

表2. 非皮膚黒色腫患者における sCD163 の特徴と血清レベル。42日目と0日目との間の各患者 (n = 16) からの sCD163 の血清レベル変化を ELISA によって調べた。各ドナーについてのデータは二重アッセイの平均を表す。

	Age (yr)	Sex	Location	Body weight (kg)	Prior systemic therapy	Efficacy at 3 months	Increase of sCD163	Change ratio of sCD163(%)
No. 1	61-70	M	Digestive duct	62	-	PR	-0.444523	81.5
No. 2	61-70	F	Palate	52.0	-	PR	-0.799493	77.8
No. 3	61-70	M	Paranasal	71	-	PR	-1.803397	82.8
No. 4	61-70	F	Vagina	52.5	-	PR	0.469173	114.9
No. 1	61-70	M	Vagina	53.4	-	SD	-17.52087	78.7
No. 2	61-70	M	Vagina	60.4	-	PD	49.95095	134.0
No. 3	51-60	F	Conjunctiva	84	-	SD	8.27076	115.4
No. 4	61-70	M	Digestive duct	49.5	-	PD	19.6379	158.1
No. 5	61-70	F	Digestive duct	49.3	-	SD	20.26377	155.2
No. 6	71-80	F	Vagina	50.1	-	PD	28.525961	192.1
No. 7	61-70	M	Nasal cavity	47.2	DTIC	PD	17.0558	132.0
No. 8	61-70	F	Vagina	53.1	DAV+IFN- β	PD	-17.787	84.2
No. 9	61-70	M	Paranasal	56	DTIC	PD	0.16109	132.0
No. 10	51-60	M	Palate	52.9	-	PD	1.086	107.3
No. 11	71-80	M	Nasal cavity	53.1	DAV+IFN- β	SD	2.52638	107.6
No. 12	71-80	F	Nasal cavity	53	-	SD	-0.545647	89.4

DAV: dacarbazine+ nimustine hydrochloride+ vincristine
DTIC: dacarbazine

[0076] <初回投与後3ヶ月間のニボルマブの有効性>

皮膚黒色腫患者では、完全奏功 (CR) が患者1人 (1.7%; 95%信頼区間[CI]、0~3.4%) に見られ、部分奏功 (PR) が患者12人 (20.3%; 95%CI、0~40.6%)、安定 (SD) が患者16人 (27.1%; 95%CI、0~54.2%)、進行性疾患 (PD) が患者29人 (49.2%; 95%CI、0~98.4%) に見られた。よって、初回投与後3ヶ月の奏効率 (ORR) は22.0% (95%CI、0~44.0%) であった。個々の患者の腫瘍奏功を表1に示す。粘膜黒色腫を有する患者において、PRは患者4人 (25.0%、95%CI、0~50.0%) に見られ、SDは患者5人 (31.3%; 95%CI、0~62.6%)、PDは患者7人 (43.8%; 95%CI、0~87.6%) に見られた。よって、初回投与後3ヶ月目のORRは25.0% (95%CI、0~50.0%) であった。個々の患者の腫瘍奏功を表2に示す。

[0077] <sCD163の血清レベル>

sCD163の血清中濃度を用いて、ニボルマブを使って治療したメラノーマ患者の早期奏功を判定できるかどうかを決定するために、ニボルマブで治療された進行性メラノーマ患者75人のレベルを評価した。ベースライン (0日目) と比較して、42日目のsCD163の血清レベルは、進行性皮膚黒色腫患者のうち奏功を示す群において有意に増加した ($p < 0.0001$; 図1 a) が、進行粘膜黒色腫患者では、血清sCD163レベルの有意差は見られなかった。(図3 a)。各患者におけるニボルマブの初回投与後3ヶ月における血清sCD163の増加お

よび有効性を前記表1および2に示す。非奏功者と奏功者を区別するため、4日目と0日目との間のsCD163の閾値変化をみたところ、皮膚黒色腫および非皮膚黒色腫において、それぞれ $3.07 \pm 0.07 \text{ ng/mL}$ および $0.47 \pm 0.05 \text{ ng/mL}$ であった。皮膚メラノーマコホートにおいて、sCD163血清レベルの平均変化率は、無奏功者の101.0%に対し、奏功を示した患者は144.6%であった(表1)。粘膜黒色腫コホートでは、sCD163血清レベルの平均変化率は、奏功を示した患者で84.1%、無奏功者で122.3%であった(表2)。皮膚黒色腫における増加した血清sCD163の閾値は $3.07 \pm 0.07 \text{ ng/mL}$ であったが、非皮膚黒色腫における血清sCD163の閾値は $0.47 \pm 0.05 \text{ ng/mL}$ であった。皮膚黒色腫における血清sCD163の感度および特異性はそれぞれ84.6%および87.0%であり($p = 0.0030$; 図1b)、一方、非皮膚黒色腫における血清sCD163の感度および特異性はそれぞれ100%および78.4%であった($p = 0.0507$; 図3b)。

[0078] <考察>

ニボルマブは、他の抗メラノーマ薬(例えばイピリムマブおよびダカルバジン)よりも高い有効性を示し、BRAF / MEK阻害薬(例えばベムラフェニブ、ダブラフェニブ、トラメチニブ)よりも抗腫瘍反応を長期間誘導する。腫瘍専門医は、転移性黒色腫患者の抗腫瘍免疫反応を増強する薬剤とニボルマブの併用に特に興味を持っていた。ニボルマブの有効性は、イピリムマブ(57.7%)と組み合わせると有意に増加するように見えるが、残念ながら、この特定の組み合わせ(59.0%)では、重度の治療関連AEの発生率も有意に増加する。イピリムマブによる重篤な有害事象を回避し、ニボルマブからイピリムマブへの計画的切り替えを準備するためには、判定バイオマーカーを用いて、初回投与後2~3ヵ月後にニボルマブ単独療法の有効性を評価する必要がある。

[0079] CD163は、スカベンジャー受容体のシステインリッチファミリーの一員であり、単球/マクロファージ系譜の細胞でのみ発現する。以前報告されたように、転移性メラノーマでは、かなりの数のCD163+ TAMが転移性メラノーマに存在し、間質性因子により活性化され、タンパク質分解放出の結果としてsCD16

3の血清レベルの上昇が引き起こされる。さらに、Jensen et al.は、以前に、sCD163およびCD163 + TAMを早期の皮膚黒色腫の予後マーカーとして報告している。特に、Gordonらが報告したように、PD-1発現はM2-分極化としてのTAMを維持する重要な因子であり、PD-1 / PD-L1の遮断はTAMのM1-分極化活性化マクロファージへの変換をもたらす。メラノーマのTAMは、不均一な、主に免疫抑制性の集団を構成するため、また、免疫調節薬によるTAMの活性化サブタイプへのリポラリゼーションは、自然発生のマウスメラノーマモデルにおいてメラノーマ増殖を有意に抑制すると報告されているため、本発明者らは黒色腫におけるニボルマブの標的のひとつがCD163 + TAMを活性化しているという仮説を立てた。

[0080] 本発明者らの仮説を証明するために、ニボルマブで治療した進行皮膚黒色腫59例および進行粘膜黒色腫16例におけるsCD163の血清レベルを分析した。sCD163の血清レベルは、皮膚メラノーマの非奏功群と比較して、奏功群のニボルマブ初回投与後6週間で有意に増加した。対照的に、非皮膚黒色腫については、ニボルマブ奏功者と非奏功者との間に有意差は見られなかった。興味深いことに、非皮膚黒色腫では、非奏功者におけるsCD163の血清レベルは奏功者における血清レベルよりもさらに高い傾向があった。この矛盾は、各臓器の腫瘍微小環境においてTAMを刺激する可能性がある癌間質の違いによって説明されるかもしれない、そのような研究が今後期待される。

[0081] 本結果によって、進行性皮膚黒色腫において最初の投与後3ヶ月でニボルマブの有効性を評価するための判定バイオマーカーsCD163が示された。メラノーマがニボルマブに対する耐性を発現する前であれば、イピリムマブとその後のニボルマブの連続投与は進行したメラノーマに対してのみ有効であり、かつ、イピリムマブの投与はニボルマブよりも頻繁にirAEの発症をもたらすので、最初の腫瘍評価前のニボルマブの有効性の判定をすれば、患者がニボルマブからイピリムマブ療法への計画的切り替えにうまく適応するかどうかを決定することができる。本研究は、sCD163が、ニボルマブおよびイピリムマブを使用する抗黒色腫免疫療法から効果が得られる可能性が最も高いこ

これらの皮膚黒色腫患者の選択のための有用なバイオマーカーであり得ることを示唆した。

[0082] [表3-1]

皮膚および非皮膚黒色腫患者における0日目および42日目のsCD163の血清レベル

cutaneous melanoma				
	Before treatment 1 (ng/ml)	Before treatment 2 (ng/ml)	After treatment 1 (ng/ml)	After treatment 2 (ng/ml)
No. 1	23.008	24.161	35.203	36.393
No. 2	38.654	40.938	89.43	91.867
No. 3	22.658	25.423	36.393	37.04
No. 4	29.04	28.447	51.73	49.588
No. 5	28.303	24.875	31.283	36.25
No. 6	26.76	23.746	31.922	30.252
No. 7	65.197	63.439	85.67	85.965
No. 8	74.169	67.15	56.517	58.862
No. 9	27.311	27.418	51.308	52.429
No. 10	32.749	38.12	36.855	40.757
No. 11	29.112	30.561	30.053	33.838
No. 12	27.577	29.263	28.517	32.084
No. 13	63.357	58.788	97.855	95.692
No. 1	19.501	22.401	23.177	21.85
No. 2	53.107	57.11	44.874	45.992
No. 3	51.87	47.586	33.889	29.993
No. 4	26.112	26.75	25.872	26.324
No. 5	25.912	29.458	27.163	30.203
No. 6	40.189	39.711	46.126	47.303
No. 7	35.357	30.427	28.041	29.694
No. 8	51.73	49.568	50.723	40.369
No. 9	50.312	53.972	30.225	40.447
No. 10	16.323	18.783	18.965	21.553
No. 11	17.729	19.861	21.022	17.874
No. 12	27.012	31.858	28.221	30.461
No. 13	33.112	34.26	34.512	33.234
No. 14	79.487	112.024	31.841	35.951
No. 15	48.341	49.062	43.156	41.151
No. 16	24.912	24.666	20.353	19.734
No. 17	44.306	41.576	53.324	67.227
No. 18	23.375	21.97	23.762	18.392
No. 19	31.841	36.645	40.072	39.329
No. 20	25.338	29.198	16.528	12.777
No. 21	25.809	16.533	18.556	20.357
No. 22	18.868	19.802	24.281	22.154
No. 23	37.222	47.143	40.396	37.28
No. 24	26.51	23.508	21.798	13.445
No. 25	11.416	11.432	8.973	5.65
No. 26	16.453	14.512	12.106	11.298
No. 27	14.713	11.834	14.008	11.443
No. 28	71.223	80.814	72.33	76.794
No. 29	33.295	29.315	28.223	32.96
No. 30	33.213	27.381	28.277	31.975
No. 31	50.221	45.859	44.266	50.45
No. 32	29.937	23.021	31.535	25.827
No. 33	42.912	45.61	41.466	47.712
No. 34	33.622	39.088	33.967	39.199
No. 35	46.327	44.726	43.604	44.014
No. 36	26.323	23.055	48.647	53.377
No. 37	17.231	13.446	14.777	16.228
No. 38	7.231	10.01	11.221	8.557
No. 39	48.323	55.333	53.466	48.748
No. 40	58.291	51.971	53.373	56.666
No. 41	28.793	32.327	33.062	28.901
No. 42	48.448	47.186	47.386	50.227
No. 43	44.843	44.168	52.464	51.275
No. 44	87.718	87.339	78.88	81.979
No. 45	35.653	37.072	39.293	32.242
No. 46	47.478	37.61	42.867	47.07

[0083]

[表3-2]

	Non-cutaneous melanoma			
	Before treatment 1 (ng/ml)	Before treatment 2 (ng/ml)	After treatment 1 (ng/ml)	After treatment 2 (ng/ml)
No. 1	22.719	25.39	25.693	21.527
No. 2	34.112	37.333	36.989	32.862
No. 3	51.103	45.804	45.112	48.189
No. 4	31.447	32.613	30.035	34.963
No. 1	85.9747	78.5917	64.5589	64.9657
No. 2	144.529	144.119	200.355	188.211
No. 3	55.066	52.412	58.9056	65.115
No. 4	33.741	33.77	50.698	56.089
No. 5	39.5675	33.8778	52.9967	60.976
No. 6	31.331	30.646	60.0458	58.983
No. 7	54.457	50.308	70.435	68.442
No. 8	52.311	47.125	34.311	29.571
No. 9	27.671	29.263	29.274	27.981
No. 10	13.281	16.657	17.323	14.787
No. 11	33.441	33.151	37.32	34.329
No. 12	31.845	33.356	35.239	29.271

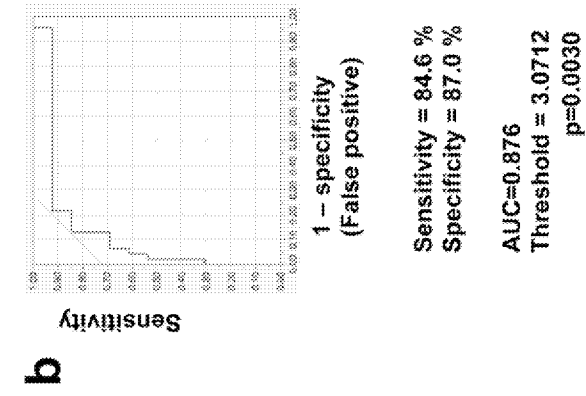
[0084] [まとめ]

ニボルマブ、ペムブロリズマブ等のPD-1に対する抗体は、進行性黒色腫を含むさまざまな癌の治療に広く使用されている。ニボルマブは転移性黒色腫患者の生存期間を有意に長くし、リピリムマブの連続投与は適切な時期に切り替えると効果を改善できる。したがって、初回投与後すぐにニボルマブの有効性を評価するためにバイオマーカーが必要である。本研究では、ニボルマブを用いて治療した、59例の進行性皮膚黒色腫および16例の進行性粘膜黒色腫における可溶性分化クラスター163 (sCD163) の血清レベルを分析した。皮膚メラノーマにニボルマブを初回投与した後の非奏功者と奏功者を比較すると、奏功者では6週間後にsCD163の血清レベルが有意に増加した。これに対し、非皮膚メラノーマ患者では、奏功者と非奏功者との間に有意差は見られなかった。これらの結果は、sCD163が、抗黒色腫免疫療法の効果が表れる可能性が最も高い進行性皮膚黒色腫を有する患者を選別するためのバイオマーカーとして有用であろうことを示唆している。

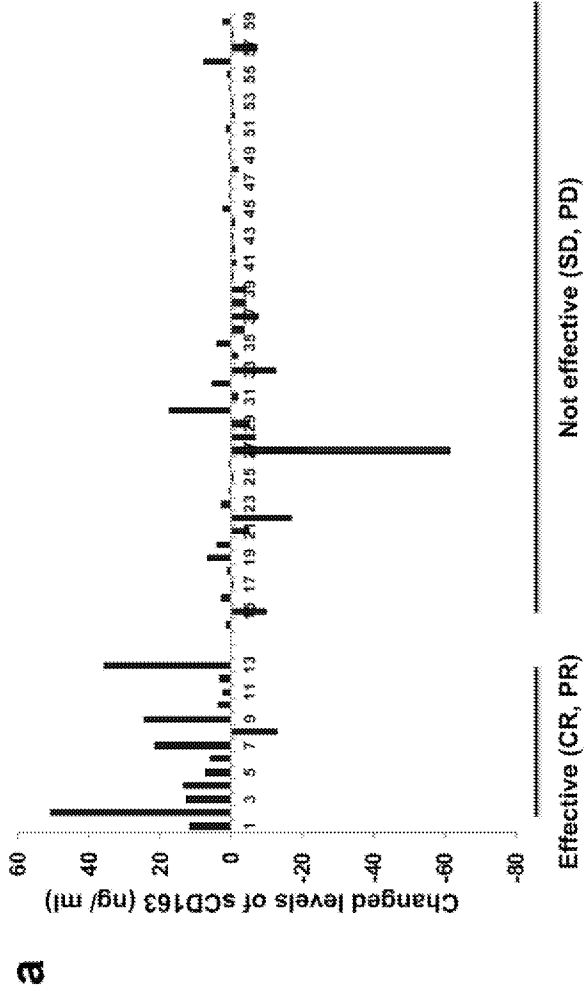
請求の範囲

- [請求項1] 対象における免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定する方法であって、
- 対象から採取された生体試料における s C D 1 6 3 のレベルを測定することを含む方法。
- [請求項2] 対象から採取された生体試料における s C D 1 6 3 のレベルが予め設定されたカットオフ値よりも高い場合、前記対象における疾患の治療に当該免疫チェックポイント阻害薬が有効である可能性が高いと判定することを含む請求項 1 に記載の方法。
- [請求項3] s C D 1 6 3 を含む、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定するためのバイオマーカー。
- [請求項4] 抗 s C D 1 6 3 抗体又はその抗体結合断片を含む、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を判定するための診断薬。
- [請求項5] 抗 s C D 1 6 3 抗体又はその抗原結合断片を含む、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果の判定用キット。

[X] 1



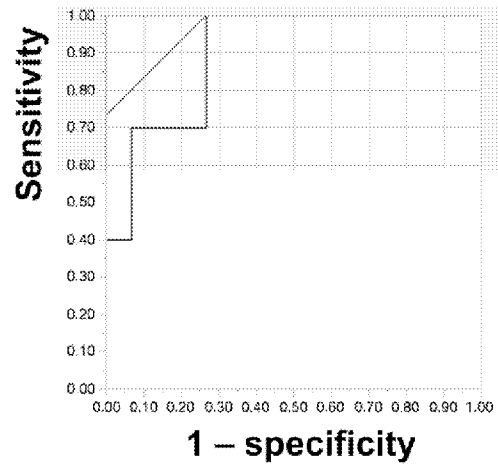
b



a

[図2]

皮膚黒色腫 25例 (セカンドコホート)

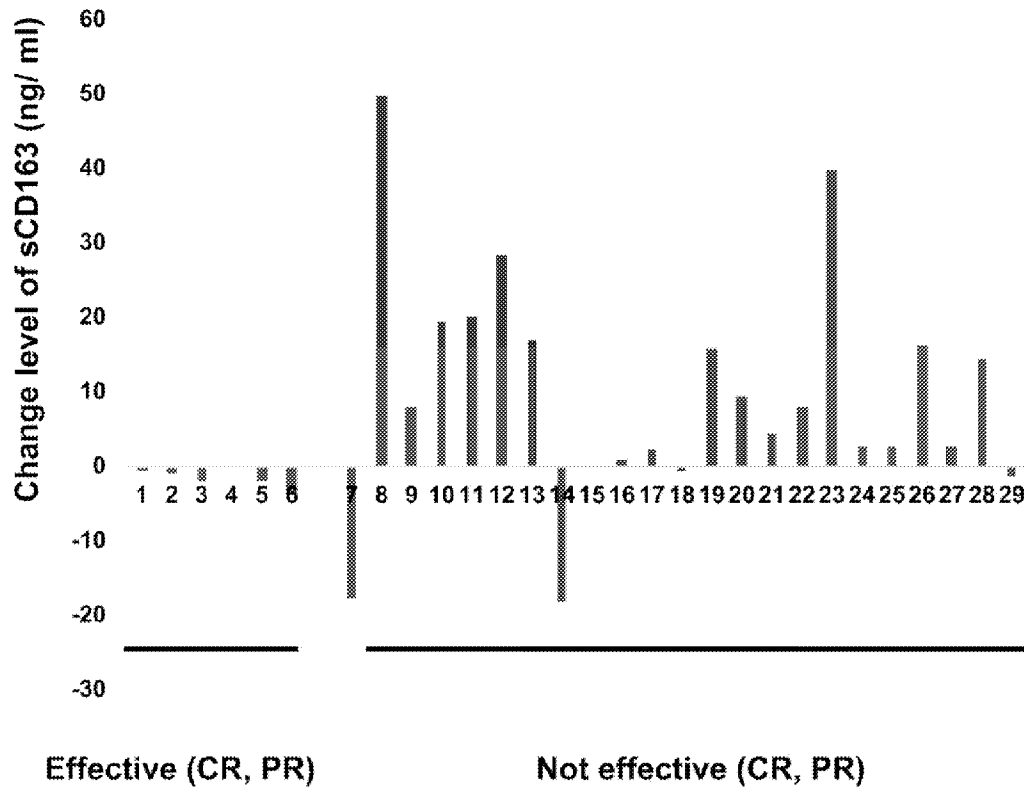


感度100%
特異度73.3%
AUC: 0.900
カットオフ 5.1 ng/ ml

$p < 0.001$

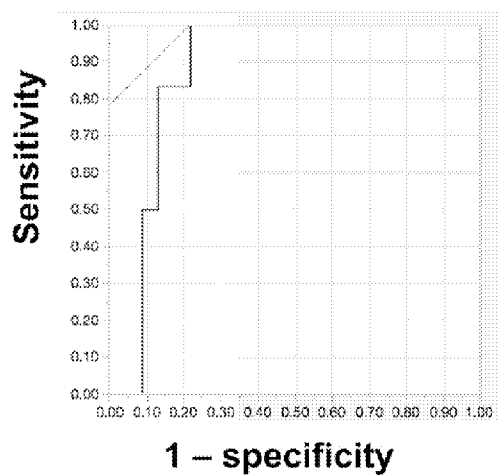
[図3]

a



b

非皮膚黒色腫 29例



感度100%
 特異度78.4%
 AUC: 0.876
 カットオフ 0.47 ng/ml

p=0.0507

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/045124

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 14/705 (2006.01)i; C07K 16/28 (2006.01)i; G01N 33/68 (2006.01)i
 FI: G01N33/68; C07K14/705; C07K16/28

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)

C07K14/705; C07K16/28; G01N33/68

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

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2020
Registered utility model specifications of Japan	1996-2020
Published registered utility model applications of Japan	1994-2020

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2018/003995 A1 (TOHOKU UNIVERSITY) 04.01.2018 (2018-01-04) see claims, paragraph [0060], etc.	1-5
X	FUJIMURA, Taku et al., "Serum levels of soluble CD163 and CXCL5 may be predictive markers for immune-related adverse events in patients with advanced melanoma treated with nivolumab: a pilot study", <i>Oncotarget</i> , vol. 9, no. 21, pp. 15542-15551, Published online 15 February 2018, doi:10.18632/oncotarget.24509 see abstract, page 15543, right column, paragraph [0001] to page 15547, right column, page 15548, right column, paragraph [0001] to page 15549, right column, paragraph [0001], etc.	1-5
A	JP 11-318448 A (AMANO PHARMACEUT CO., LTD.) 24.11.1999 (1999-11-24) see paragraph [0006], etc.	1-5

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
 05 February 2020 (05.02.2020)

Date of mailing of the international search report
 18 February 2020 (18.02.2020)

Name and mailing address of the ISA/
 Japan Patent Office
 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
 Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

 Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/045124

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FUJIMURA, Taku et al., "Serum Level of Soluble CD163 May Be a Predictive Marker of the Effectiveness of Nivolumab in Patients With Advanced Cutaneous Melanoma.", <i>Front Oncol</i> , 19 November 2018, vol. 8, article 530, doi:10.3389/fonc.2018.00530.eCollection 2018, see entire text, all drawings	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2018/003995 A1	04 Jan. 2018	US 2019/0202915 A1 see claims, paragraph [0088], etc.	
JP 11-318448 A	24 Nov. 1999	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C07K 14/705(2006.01)i; C07K 16/28(2006.01)i; G01N 33/68(2006.01)i FI: G01N33/68; C07K14/705; C07K16/28		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） C07K14/705; C07K16/28; G01N33/68 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2020年 日本国実用新案登録公報 1996-2020年 日本国登録実用新案公報 1994-2020年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	WO 2018/003995 A1 (国立大学法人東北大学) 04.01.2018 (2018-01-04) [特許請求の範囲]、段落 [0060] 等参照	1-5
X	FUJIMURA, Taku、外19名, Serum levels of soluble CD163 and CXCL5 may be predictive markers for immune-related adverse events in patients with advanced melanoma treated with nivolumab: a pilot study, Oncotarget, Vol.9, No.21, Page.15542-15551, Published online 2018 Feb 15. doi: 10.18632/oncotarget.24509 ABSTRACT、第15543頁右欄第1段落-第15547頁右欄、第15548頁右欄第1段落-第15549頁右欄第1段落等参照	1-5
A	JP 11-318448 A (天野製薬株式会社) 24.11.1999 (1999-11-24) 段落 [0006] 等参照	1-5
P, X	FUJIMURA, Taku、外21名, Serum Level of Soluble CD163 May Be a Predictive Marker of the Effectiveness of Nivolumab in Patients With Advanced Cutaneous Melanoma., Front Oncol, 2018.11.19, Vol.8, Article 530, doi: 10.3389/fonc.2018.00530. eCollection 2018. 全文・全図参照	1-5
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	05.02.2020	国際調査報告の発送日 18.02.2020
名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 草川 貴史 2J 4075 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2019/045124

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2018/003995 A1	04.01.2018	US 2019/0202915 A1 特許請求の範囲, 段落 [0 088] 等参照	
JP 11-318448 A	24.11.1999	(ファミリーなし)	