

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-500889

(P2023-500889A)

(43)公表日 令和5年1月11日(2023.1.11)

| (51)国際特許分類        |                               | F I     |                       | テーマコード (参考) |                   |
|-------------------|-------------------------------|---------|-----------------------|-------------|-------------------|
| A 6 1 K           | 38/18 (2006.01)               | A 6 1 K | 38/18                 | 4 C 0 7 6   |                   |
| A 6 1 P           | 35/00 (2006.01)               | A 6 1 P | 35/00                 | 4 C 0 8 4   |                   |
| A 6 1 K           | 45/00 (2006.01)               | A 6 1 K | 45/00                 | 4 C 0 8 5   |                   |
| A 6 1 K           | 39/395 (2006.01)              | A 6 1 K | 39/395                | M           | 4 H 0 4 5         |
| A 6 1 K           | 39/00 (2006.01)               | A 6 1 K | 39/00                 | G           |                   |
|                   |                               | 審査請求    | 未請求                   | 予備審査請求      | 未請求 (全78頁) 最終頁に続く |
| (21)出願番号          | 特願2022-526005(P2022-526005)   | (71)出願人 | 514129453             |             |                   |
| (86)(22)出願日       | 令和2年11月6日(2020.11.6)          |         | イン3 バイオ・リミテッド         |             |                   |
| (85)翻訳文提出日        | 令和4年7月4日(2022.7.4)            |         | I N 3 B I O L T D.    |             |                   |
| (86)国際出願番号        | PCT/IB2020/000969             |         | 英国領バミューダ諸島、エイチ・エム・    |             |                   |
| (87)国際公開番号        | WO2021/090069                 |         | 1 1 ハミルトン、チャーチ・ストリー   |             |                   |
| (87)国際公開日         | 令和3年5月14日(2021.5.14)          |         | ト、2、クラレンドン・ハウス、コーダ    |             |                   |
| (31)優先権主張番号       | 62/932,131                    |         | ン・サービシーズ・リミテッド        |             |                   |
| (32)優先日           | 令和1年11月7日(2019.11.7)          | (74)代理人 | 100189131             |             |                   |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                        |         | 弁理士 佐伯 拓郎             |             |                   |
| (31)優先権主張番号       | 63/094,018                    | (74)代理人 | 100182486             |             |                   |
| (32)優先日           | 令和2年10月20日(2020.10.20)        |         | 弁理士 中村 正展             |             |                   |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                        | (74)代理人 | 100147289             |             |                   |
|                   |                               |         | 弁理士 佐伯 裕子             |             |                   |
| (81)指定国・地域        | AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA | (72)発明者 | ドント, エリック             |             |                   |
|                   | 最終頁に続く                        |         | ベルギー ビー 9 1 5 0 パーゼル, |             |                   |
|                   |                               |         | 最終頁に続く                |             |                   |

(54)【発明の名称】 非チロシン標的化キナーゼ阻害剤との併用における成長因子抗体の使用のための方法及び組成物

(57)【要約】

本開示は、癌を治療するための方法に関する。より具体的には、本開示は、癌の治療並びにNTKIに対する内因性及び／又は獲得性の耐性の予防における、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤(NTKI)と組み合わせたキメラ非天然合成タンパク質の使用に関する。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

対象の癌を治療する方法であって、前記対象に、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（N T K I）、並びに成長因子又は成長因子受容体の全長又はその断片、免疫原性ポリペプチド及びリンカーを含む非天然合成ポリペプチド（N N S P）の活性レジメンを投与することを含み、前記ポリペプチドが前記リンカーによって前記免疫原性ポリペプチドから分離されている、対象の癌を治療する方法。

## 【請求項 2】

対象に、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（N T K I）及び成長因子又は成長因子受容体に対する抗体の活性レジメンを前記対象に投与することを含む、対象の癌を治療する方法。

10

## 【請求項 3】

対象の非小細胞肺癌（N S C L C）又は結腸直腸癌（C R C）を治療する方法であって、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（N T K I）、並びに成長因子又は成長因子受容体の全長又はその断片、免疫原性ポリペプチド及びリンカーを含む非天然合成ポリペプチド（N N S P）を前記対象に投与することを含み、前記ポリペプチドが前記リンカーによって前記免疫原性ポリペプチドから分離されている、対象の非小細胞肺癌（N S C L C）又は結腸直腸癌（C R C）を治療する方法。

## 【請求項 4】

非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（N T K I）と、成長因子又は成長因子受容体に対する抗体とを前記対象に投与することを含む、対象における非小細胞肺癌（N S C L C）又は結腸直腸癌（C R C）を治療する方法。

20

## 【請求項 5】

前記成長因子が E G F である、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記成長因子受容体が E G F R である、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記免疫原性ポリペプチドが、コレラ毒素 B（C T - B）タンパク質の全長又はその一部を含む、請求項 1 又は 3 に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記 N N S P が、配列番号 7 又は配列番号 8 を含むか、又は前記 N N S P が、配列番号 7 又は配列番号 8 を発現する細胞に由来する、請求項 1 又は 3 に記載の方法。

30

## 【請求項 9】

前記 N N S P が、配列番号 2 又は配列番号 6 を含むか、又は前記 N N S P が、配列番号 2 又は配列番号 6 を発現する細胞に由来する、請求項 1 又は 3 に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記抗体がハイブリドーマ細胞に由来する、請求項 2 又は 4 に記載の方法。

## 【請求項 11】

前記 N T K I が、トラメチニブ、タセリシブ、アルペリシブ、コパンリシブ、イデアリシブ、デュベリシブ、ブパルリシブ、ウンブラリシブ、P X - 8 6 6、ダクトリシブ、C U D C - 9 0 7、ボクタリシブ（S A R 2 4 5 4 0 9、X L 7 6 5）M E - 4 0 1、I P I - 5 4 9、S F 1 1 2 6、I N K 1 1 1 7 ピクチリシブ、X L 1 4 7（S A R 2 4 5 4 0 8）、G S K 1 0 5 9 6 1 5、Z S T K 4 7 4、P W T 3 3 5 9 7、I C 8 7 1 1 4、T G 1 0 0 - 1 1 5、C A L 2 6 3、R P 6 5 0 3、G N E - 4 7 7 A E Z S - 1 3 6、エンコラフェニブ、ベムラフェニブ、ダブラフェニブ、G D C - 0 8 7 9、P L X - 4 7 2 0、コビメチニブ、ビニメチニブ、セルメチニブ、P D - 3 2 5 9 0 1、P D 0 3 5 9 0 1、C I - 1 0 4 0、T A K - 7 3 3、ペリホシン、パロミド 5 2 9 又はそれらの薬学的に許容され得る塩である、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の方法。

40

## 【請求項 12】

前記 E G F がヒト E G F 又はマウス E G F である、請求項 5 に記載の方法。

50

## 【請求項 13】

前記リンカーが、SSG、GSSG（配列番号9）、SSGGG（配列番号10）、SGG、GSSGG（配列番号11）、GGGGS（配列番号12）、SSGGGSGG（配列番号13）、SSGGGGSGGG（配列番号14）、TSGGGSG（配列番号15）、TSGGGSGG（配列番号16）、SSGGSGGGSG（配列番号17）、SSGGGSGGSSG（配列番号18）、GSGGGTSGGGSG（配列番号19）、SGGTSGGGGGSGG（配列番号20）、GSGGGTSGGGGGSGG（配列番号21）、SSGGGGSGGGGSSG（配列番号22）、SSGGGSGGGSSGGG（配列番号23）、及びSSGGGGSGGGGSSGGG（配列番号24）からなる群から選択される、請求項1又は3に記載の方法。

10

## 【請求項 14】

前記リンカーが、GSSG（配列番号9）又はGSGGGTSGGGGGSGG（配列番号21）である、請求項1又は3に記載の方法。

## 【請求項 15】

前記NNSPが、少なくとも2つの異なる成長因子又は2つの異なる成長因子受容体の全長又はその断片を含む、請求項1又は3に記載の方法。

## 【請求項 16】

前記活性レジメンが、10～400mgの範囲の平均1日用量に基づく連続レジメンでのNTKIの投与と組み合わせて、治療有効量に従って、繰返し週に3回、2回又は1回、2週間に1回、3週間に1回あるいは少なくとも月に1回、前記対象に投与される、NTKI治療に対する耐性を獲得するのを防ぐ、請求項1又は2に記載の方法。

20

## 【請求項 17】

前記平均1日用量が、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、110mg、120mg、130mg、140mg、150mg、160mg、170mg、180mg、190mg、200mg、210mg、220mg、230mg、240mg、250mg、260mg、270mg、280mg、290mg、300mg、310mg、320mg、330mg、340mg、350mg、360mg、370mg、380mg、390mg、及び400mgからなる群から選択される、請求項16に記載の方法。

## 【請求項 18】

前記活性レジメンが、10～400mgの範囲の平均1日用量に基づく連続レジメンでのNTKIの投与の前に、治療有効量に従って、繰返し週に3回、2回又は1回、2週間に1回、3週間に1回あるいは少なくとも月に1回、前記対象に投与される、前記NTKI治療に対する耐性を獲得するのを防ぐ、請求項1又は2に記載の方法。

30

## 【請求項 19】

前記活性レジメンが、10～400mgの範囲の平均1日用量に基づく連続レジメンでのNTKIの投与の後に、治療有効量に従って、繰返し週に3回、2回又は1回、2週間に1回、3週間に1回あるいは少なくとも月に1回、前記対象に投与される、前記NTKI治療に対する耐性を獲得するのを防ぐ、請求項1又は2に記載の方法。

## 【請求項 20】

前記NNSPが、EGF／EGFR経路の阻害をもたらす経路免疫化を生じさせる、請求項1又は3に記載の方法。

40

## 【請求項 21】

前記抗体が、EGF／EGFR経路の阻害をもたらす経路免疫化を生じさせる、請求項2又は4に記載の方法。

## 【請求項 22】

前記対象が、HRAS、NRAS、KRAS、PIK3CA、BRAF、及び／又はMEKタンパク質の変異型を発現する、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 23】

前記NTKIが、HRAS、NRAS、KRAS、PIK3CA、BRAF及び／又は

50

MEKタンパク質を標的とする、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項24】

前記対象がNTKI治療に対する耐性を獲得しており、前記方法がNTKI治療に対する耐性を克服する、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項25】

前記癌が、HRAS、NRAS、KRAS、PIK3CA、BRAF、及び／又はMEKタンパク質の変異型に関連する、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項26】

以下の工程を更に含む、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法：

前記対象から組織試料を得ること、

前記対象からの前記組織試料中の1又は複数の変異を同定すること、及び

前記1又は複数の変異が1又は複数の成長因子受容体エフェクタータンパク質にあると同定された場合、前記投与工程を実施すること。

【請求項27】

前記1又は複数のエフェクタータンパク質が、HRAS、NRAS、KRAS、PIK3CA、BRAF、及び／又はMEKタンパク質である、請求項26に記載の方法。

【請求項28】

前記1又は複数の変異が、以下の、KRAS G12S、KRAS G12C、KRAS G13D、KRAS G12D、EML4-ALK(V3;E6:A20)、BRAF V600E、BRAF G596R、PIK3CA E545K及びNRAS Q61Kから選択される、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

前記EGFが、ヒトEGF又はマウスEGFである、請求項5に記載の対象を治療する方法。

【請求項30】

前記抗体が、約0.01～0.1μg/kg～約95mg/kg体重、又は約0.1～1.0μg/kg～約90mg/kg体重、又は約0.5～5.0μg/kg～約80mg/kg体重、又は約1.0～10.0μg/kg～約60mg/kg体重、又は約5.0～20.0μg/kg～約50mg/kg体重、又は約20～50μg/kg～約25mg/kg体重、又は約50～100μg/kg～約20mg/kg体重で投与され、他の実施形態では、この用量が、約1、5、10、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050、1100、1150、1200、1250、1300、1350、1400、1450、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2500、3000、3500、4000、4500、又は5000μg/kg体重であり得る、請求項2又は4に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2019年11月7日に出願された米国仮特許出願第62/932,131号、発明の名称「COMPOSITIONS AND METHODS FOR USE OF ANTI-EGF ANTIBODIES WITH MEK INHIBITORS」、及び2020年10月20日に出願された米国仮特許出願第63/094,018号、発明の名称「ANTI-EPIDERMAL GROWTH FACTOR VACCINE ANTIBODIES INCREASE THE ANTITUMOR ACTIVITY OF KINASE INHIBITORS IN NON SMALL CELL LUNG CANCER CELL LINES」に対する優先権を主張し、これらは、あらゆる目的のためにそれらの全体が参照により本明細書に組み込まれ

10

20

30

40

50

る。

#### 【0002】

本開示は、癌を治療するための方法に関する。より具体的には、本開示は、癌の治療、及び、NTKIに対する内因性及び／又は獲得性の耐性の予防における、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（NTKI）と組み合わせたキメラ非天然合成タンパク質の使用に関する。

#### 【背景技術】

#### 【0003】

世界保健機関によれば、新生物（例えば、癌）は、世界中で主要な死因の1つであり、2015年には880万人の死亡の原因であった。世界のヒト集団における癌の頻度は顕著であり、死者6人のうちほぼ1人を占める。2015年では、最も一般的な癌の死亡は、以下の種類の癌に起因していた。肺癌（約170万人が死亡）、肝癌（約80万人が死亡）、結腸直腸癌（約80万人が死亡）、胃癌（約80万人が死亡）、及び乳癌（約60万人が死亡）。

10

#### 【0004】

ほとんどの化学療法剤は、悪性表現型の発生に関与すると考えられる特定の分子標的に作用する。しかしながら、シグナル伝達経路の複雑なネットワークは細胞増殖を調節し、悪性癌の大部分はこれらの経路における複数の遺伝子異常によって促進される。標準的な細胞傷害性化学療法による癌の治療は有効性のために最適化されているが、より最近の手法は、それらの異なる癌遺伝子ドライバーに基づいて分子サブセットに分類することに基づいている。癌のこれらの分子ドライバーは、特定の癌遺伝子に対する標的薬剤で治療的に攻撃することができる。

20

#### 【0005】

癌治療における治療的介入のための有望な標的セットには、HER-キナーゼ軸のメンバー及びその下流のエフェクターが含まれる。それらは、例として、前立腺、肺及び乳房の固形上皮腫瘍において頻繁に変異を示し、膠芽腫においても上方制御される。野生型EGFRエフェクタータンパク質（例えば、RAS、BRAF及びPIK3CA）を有する患者は、EGFRを標的とするチロシンキナーゼ阻害剤（TKI）、例えばセツキシマブ及びエルロチニブで治療することができる。しかしながら、EGFRエフェクタータンパク質に変異を有する癌患者の大きなコホートが存在する。変異は、EGFRを標的とするTKIに対する耐性をもたらし、EGFRエフェクターを標的とする非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（NTKI）に対する耐性の発生を可能にするため、これらの患者には既存の治療は有効ではない。同様に、野生型EGFRエフェクタータンパク質を有する患者におけるEGFRを標的とするTKIによる治療は、癌遺伝子変異の選択のために耐性の発生をもたらしことが多い。したがって、TKI及びNTKIを用いた既存の治療は、一部の患者においてEGFR経路を標的とする強力な抗腫瘍特性を示すが、耐性が生じた患者ではそれほど強力でなくなるか、又は効果が完全になくなる。EGFRエフェクターキナーゼは、TKI及びNTKIに対する内因性及び獲得性の両方の耐性の機構として同定されているという点で、「バイパス経路」と呼ばれることがある。理論に拘束されるものではないが、EGFRシグナル伝達カスケード中の並行キナーゼ又は他のキナーゼが変異キナーゼを補い、これによってより強いEGFRシグナル伝達効果を誘導すると考えられる。したがって、EGFR又は同様の成長因子が介在する疾患及び癌を効果的に治療するために、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤に対するEGFR経路の耐性を克服する更なる治療法が必要とされている。

30

40

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0006】

本開示は、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（NTKI）に対する耐性を防止又は最小化し、これにより細胞増殖を阻害する、EGFRエフェクター非チロシン標的化キナーゼ阻害剤と組み合わせたキメラ非天然合成タンパク質の使用に関する。これらの療法は、例

50

例えば、肺癌、乳癌、膀胱癌、前立腺癌、卵巣癌、外陰癌、結腸癌、結腸直腸癌、腸癌、肺癌、脳癌、食道癌、及び他の癌などの癌を治療するために使用することができる。

【課題を解決するための手段】

【0007】

例示的な実施形態では、本開示は、対象に、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（NTKI）、並びに、成長因子又は成長因子受容体の全長又はその断片、免疫原性ポリペプチド及びリンカーを含む非天然合成ポリペプチド（NNSP）の活性レジメンを投与することを含み、ポリペプチドがリンカーによって免疫原性ポリペプチドから分離されている、対象の癌を治療する方法を提供する。

【0008】

いくつかの実施形態では、対象において癌を治療する方法は、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（NTKI）及び成長因子又は成長因子受容体に対する抗体の活性レジメンを対象に投与することを含む。

【0009】

他の実施形態では、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（NTKI）、並びに、成長因子又は成長因子受容体の全長又はその断片、免疫原性ポリペプチド及びリンカーを含む非天然合成ポリペプチド（NNSP）を投与することを含み、ポリペプチドがリンカーによって免疫原性ポリペプチドから分離されている、対象の非小細胞肺癌（NSCLC）又は結腸直腸癌（CRC）を治療する方法が開示される。

【0010】

いくつかの実施形態では、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（NTKI）及び成長因子又は成長因子受容体に対する抗体を対象に投与することを含む、対象における非小細胞肺癌（NSCLC）又は結腸直腸癌（CRC）を治療する方法が開示される。

【0011】

いくつかの実施形態では、成長因子はEGFである。

【0012】

いくつかの態様では、成長因子受容体はEGFRである。

【0013】

更なる実施形態では、免疫原性ポリペプチドは、コレラ毒素B（CT-B）タンパク質の全長又はその一部を含む。

【0014】

いくつかの実施形態では、NNSPは、配列番号7又は配列番号8を含むか、又はNNSPは、配列番号7又は配列番号8を発現する細胞に由来する。

【0015】

いくつかの実施形態では、NNSPは、配列番号2又は配列番号6を含むか、又はNNSPは、配列番号2又は配列番号6を発現する細胞に由来する。

【0016】

いくつかの実施形態では、抗体はハイブリドーマ細胞に由来する。

【0017】

いくつかの実施形態では、NTKIは、トラメチニブ、タセリシブ、アルペリシブ、コパンリシブ、イデアリシブ（Idealisib）、デュベリシブ、ブパルリシブ、ウンブラリシブ、PX-866、ダクトリシブ、CUDC-907、ボクタリシブ（SAR245409、XL765）ME-401、IPI-549、SF1126、INK1117ピクチリシブ、XL147（SAR245408）、GSK1059615、ZSTK474、PWT33597、IC87114、TG100-115、CAL263、RP6503、GNE-477 AEZS-136、エンコラフェニブ、ベムラフェニブ、ダブラフェニブ、GDC-0879、PLX-4720、コビメチニブ、ビニメチニブ、セルメチニブ、PD-325901、PD035901、CI-1040、TAK-733、ペリホシン、パロミド529又はそれらの薬学的に許容され得る塩である。

【0018】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、EGFはヒトEGF又はマウスEGFである。

【0019】

いくつかの実施形態では、リンカーは、SSG、GSSG（配列番号9）、SSGGG（配列番号10）、SGG、GGSSG（配列番号11）、GGGGG（配列番号12）、SSGGGSGG（配列番号13）、SSGGGGSGGG（配列番号14）、TSSGGGG（配列番号15）、TSSGGGGSGG（配列番号16）、SSGGSGGGG（配列番号17）、SSGGGSGGGSSG（配列番号18）、GGSGGGTSSGGG（配列番号19）、SGGTSSGGGGSGG（配列番号20）、GGSGGGTSSGGGGSGG（配列番号21）、SSGGGGSGGGGSSG（配列番号22）、SSGGGGSGGGSSSGG（配列番号23）、及びSSGGGGSGGGGSSSGGG（配列番号24）からなる群から選択される。

10

【0020】

いくつかの実施形態では、リンカーは、GSSG（配列番号9）又はGGSGGGTSSGGGGSGG（配列番号21）である。

【0021】

いくつかの実施形態では、NNSPは、少なくとも2つの異なる成長因子又は2つの異なる成長因子受容体の全長又はその断片を含む。

【0022】

いくつかの実施形態では、活性レジメンは、10～400mgの範囲の平均1日用量に基づく連続レジメンでのNTKIの投与と組み合わせて、治療有効量に従って、繰返し週に3回、2回又は1回、2週間に1回、3週間に1回あるいは少なくとも月に1回、対象に投与され、この方法は、NTKI治療に対する耐性を獲得するのを防ぐ。

20

【0023】

いくつかの実施形態では、平均1日用量は、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、110mg、120mg、130mg、140mg、150mg、160mg、170mg、180mg、190mg、200mg、210mg、220mg、230mg、240mg、250mg、260mg、270mg、280mg、290mg、300mg、310mg、320mg、330mg、340mg、350mg、360mg、370mg、380mg、390mg、及び400mgからなる群から選択される。

30

【0024】

いくつかの実施形態では、活性レジメンは、10～400mgの範囲の平均1日用量に基づく連続レジメンでのNTKIの投与の前に、治療有効量に従って、繰返し週に3回、2回又は1回、2週間に1回、3週間に1回あるいは少なくとも月に1回、対象に投与され、この方法は、NTKI治療に対する耐性を獲得するのを防ぐ。

【0025】

いくつかの実施形態では、活性レジメンは、10～400mgの範囲の平均1日用量に基づく連続レジメンでのNTKIの投与の後に、治療有効量に従って、繰返し週に3回、2回又は1回、2週間に1回、3週間に1回あるいは少なくとも月に1回、対象に投与され、この方法は、NTKI治療に対する耐性を獲得するのを防ぐ。

40

【0026】

いくつかの実施形態では、NNSPは、EGF／EGFR経路の阻害が生じる経路免疫化をもたらす。

【0027】

いくつかの実施形態では、抗体は、EGF／EGFR経路の阻害が生じる経路免疫化をもたらす。

【0028】

いくつかの実施形態では、対象は、HRAS、NRAS、KRAS、PIK3CA、BRAF、及び／又はMEKタンパク質の変異型を発現する。

【0029】

50

いくつかの実施形態では、NTK I は、HRAS、NRAS、KRAS、PIK3CA、BRAF 及び／又はMEKタンパク質を標的とする。

【0030】

いくつかの実施形態では、対象は、NTK I 治療に対する耐性を獲得しており、本方法はNTK I 治療に対する耐性を克服する。

【0031】

いくつかの実施形態では、癌は、HRAS、NRAS、KRAS、PIK3CA、BRAF、及び／又はMEKタンパク質の変異型に関連する。

【0032】

いくつかの実施形態では、対象の癌を治療する方法は、対象から組織試料を得ることと、対象からの前記組織試料中の1又は複数の変異を同定することと、1又は複数の変異が1又は複数の成長因子受容体エフェクタータンパク質にあると同定された場合、投与工程を実施することとを更に含む。

【0033】

いくつかの実施形態では、1又は複数のエフェクタータンパク質は、HRAS、NRAS、KRAS、PIK3CA、BRAF、及び／又はMEKタンパク質である。

【0034】

いくつかの実施形態では、1又は複数の変異は、KRAS G12S、KRAS G12C、KRAS G13D、KRAS G12D、EML4-ALK (V3; E6:A20)、BRAF V600E、BRAF G596R、PIK3CA E545K及びNRAS Q61Kから選択される。

【0035】

いくつかの実施形態では、EGFはヒトEGF又はマウスEGFである。

【0036】

いくつかの実施形態では、抗体は、約0.01~0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ~ 約95  $\text{mg}/\text{kg}$  体重、又は約0.1~1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ~ 約90  $\text{mg}/\text{kg}$  体重、又は約0.5~5.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ~ 約80  $\text{mg}/\text{kg}$  体重、又は約1.0~10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ~ 約60  $\text{mg}/\text{kg}$  体重、又は約5.0~20.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ~ 約50  $\text{mg}/\text{kg}$  体重、又は約20~50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ~ 約25  $\text{mg}/\text{kg}$  体重、又は約50~100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ~ 約20  $\text{mg}/\text{kg}$  体重で投与される。他の実施形態では、この用量は、約1、5、10、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050、1100、1150、1200、1250、1300、1350、1400、1450、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2500、3000、3500、4000、4500、又は5000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重であり得る。

【0037】

定義

「改善する」とは、疾患の発症又は進行を縮小、抑制、減弱、減少、停止又は安定化することを意味する。

【0038】

「疾患」とは、細胞、組織又は器官の正常な機能を損なうか、又は妨げるいずれかの状態又は障害を意味する。

「IN01」としても知られる「BVN22E核酸分子」とは、BVN22Eポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを意味する。例示的なBVN22E核酸分子を以下に再現する（配列番号1）。

10

20

30

40

50

>BVN22E

aataccgaaaaacgattgccctctgtctcatgaagcgtattgtctgcacgacggcgtgtgtat  
gtacattgaagccctggacaaatatgcatgtaactgtgtcgtgggctacgtgggggagcgat  
gtcagtttcgagacctgcgttgggtgggatgcgcgcggctcgagcggtaataccgaaaacgat  
tgccctctgtctcatgaagcgtattgtctgcacgacggcgtgtgtatgtacattgaagccct  
ggacaaatatgcatgtaactgtgtcgtgggctacgtgggggagcgatgtcagtttcgagacc  
tgcgttgggtgggatgcgcgcggcgggtctggaggtactagtggcggcgggtggaggggtcgggt  
acccgcgagaacatcacccgacctgtgcgcgcgagtaccacaacacccagatccacaccctgaa  
cgacaagatcttctcgtacaccgagagcctggccgataagcgtgaaatggccatcatcacct  
tcaagaacggtgcgaccttcaggtggaggtcccggttagccagcacatcgattcacagaag  
aaggccatcgagcgtatgaaggacaccctgcgtatcgccctacctgaccgaagccaagggtgga  
aaagctgtgcgtctggaacaacaagacgcgcgcacgccatcgccgccaatcagcatggccaat

10

【 0 0 3 9 】

「 I N 0 1 」としても知られる「 B V N 2 2 E ポリペプチド」とは、以下のアミノ酸配列（配列番号 2）と少なくとも約 85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % のアミノ酸同一性を有するポリペプチド又はその断片（以下のアミノ酸変化を除く： T 2 S、E 3 D、N 4 S、D 5 E、E 1 1 D、A 1 2 G、V 3 8 I、F 4 4 Y、R 4 8 K、D 5 1 E、及び A 5 2 L）を意味する。

20

>BVN22E

NTENDCPLSHEAYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVG YVGERCQFRDLRWWDARGSSGNTEND  
CPLSHEAYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVG YVGERCQFRDLRWWDARGSGGTSGGGGGSG  
TPQNITDLCAEYHNTQIHTLNDKIFSYTESLADKREMAIITFKNGATFQVEVPGSQHIDSQK  
KAIERMKDTRLRIAYLTEAKVEKLCVWNNKTPHAIAAISMAN

【 0 0 4 0 】

「上皮成長因子受容体（ E G F R ）核酸分子」とは、 E G F R ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを意味する。例示的な E G F R 核酸分子は、 N C B I アクセッション番号 N M \_ 0 0 5 2 2 8 . 4 で提供され、以下に再現される（配列番号 3）。

30

40

50

gtccgggacagcccccggcgcagcgcggccgcagcagcctccgcccccgccacgggtgtgag  
cgccccgacgcggcccgaggcgccggaggtcccgagctagccccggcgggccgcgcgcgccca  
gaccggacgcacaggccacctcgtcggcgctccgccccgagtcccccgcctcgcgcgccaaacgcc  
acaaccaccgcgcacggccccctgactccgtccagttattgatcgggagagccggagcgcgag  
ctcttcgggggagcagcgcgatgcgaccctccgggacggccgggggcagcgcctcctggcgctgc  
tggtctgcgctctgcgccggcgagtcgggctctggaggaaaagaaagtttgccaaaggcacga  
gtaacaagctcacgcagttggggcacttttgaagatcattttctcagcctccagaggatgt  
tcaataactgtgaggtggctccttgggaatttggaaattacctatgtgcagagggaattatg  
atctttccttcttaaaagaccatccaggaggtggctgggttatgtcctcattgccctcaaca  
cagtgagcgaattccttttgaaaacctgcagatcatcagaggaaatatgtactacgaaa  
attcctatgccttagcagtccttatctaactatgatgcaataaaaaccggactgaaggagc  
tgcccatgagaaatttacaggaaatcctgcatggcgccgtgcgggttcagcaacaaccctg  
ccctgtgcaaacgtggagagcatccagtggcgggacatagtcagcagtgactttctcagca  
acatgtcgatggacttccagaaccacctgggcagctgccaaaagtgtgatccaagctgtc  
ccaatgggagctgctgggggtgcaggagaggagaactgccagaaaactgaccaaatacatct  
gtgcccagcagtgctccgggcgctgcctgtggcaagtcccccagtgactgctgccacaacc  
agtgtgctgcaggctgcacaggcccccgggagagcgactgcctggctctgcgcgcaaattcc  
gagacgaagccacgtgcaaggacaacctgccccccactcatgctctacaacccccaccacgt  
accagatggatgtgaaccccgagggcaaatacagcctttgggtgccacctgcgtgaagaagt  
gtccccgtaattatgtgggtgacagatcacggctcgtgcgtccgagcctgtggggccgcaca  
gctatgagatggagggaagacggcgctccgcaagtgtgaagaagtgcgaagggccttgccgca  
aagtgtgtaaacggaatagggtatttgggtgaatttaaagactcactctccataaatgctacga  
atattaaacacttcaaaaaactgcacctccatcagtgggcgatctccacatcctgcccgggtgg  
catttaggggtgactccttcacacatactcctcctctggatccacaggaaactggatattc  
tgaaaaccgtaaaaggaaatcacagggtttttgctgattcaggccttggcctgaaaacagga  
cggaacctccatgcctttgagaacctagaaatcatacgcgggcaggaccaagcaacatggctc  
agttttctcttgacgtcgtcagcctgaacataacatccttgggattacgctccctcaagg  
agataagtgatggagatgtgataatttcaggaaacaaaaatttgtgctatgcaaatacaa  
taaactggaaaaaaactgtttgggacctccgggtcagaaaaaccaaattataagcaacagag

20

30

40

gtgaaaacagctgcaaggccacaggccaggtctgccatgccttgtgctccccgagggct  
gctggggcccgagccagggactgcgtctcttggcgaatgtcagccgagggcagggat  
gogtggacaagtgaacctcttgagggtgagccaaggagtttgggagaaactctgagt  
gcatacagtgccaccagagtgccctgcctcaggccatgaacatcacctgcacaggacggg  
gaccagacaactgtatccagtggtgcccactacattgacggccccactgcgtcaagacct  
gcccggcaggagtcattgggagaaaaaacacctgggtctggaagtacgcagacgcccgc  
atgtgtgccacctgtgccatccaaaactgcacctacggatgcactgggcccaggtcttgaag  
gctgtccaacgaatgggacctaaagatcccgccatcgccactgggatgggtggggccctcc  
tcttgcgtgctgggtgggtggccctggggatcgccctcttcatgcgaaggcgccacatcggtc  
ggaagcgcacgctgcggaggtgctgcaggagagggagcttggtagcctcttacacca  
gtggagaagctcccaaccaagctctcttgaggatcttgaaggaaactgaattcaaaaaga  
tcaaagtgcctgggtccggtgcgttcggcacggtgtataagggaactctggatcccagaag  
gtgagaaagttaaaattcccgctgcgtatcaaggaattaagagaagcaacatctccgaaag  
ccaacaaggaaatcctcgatgaagcctaactgcgtgatggccagcgtggacaacccccacgtgt  
gcccctgctgggcatctgcctcactccactccactgcagctcatcagcagctcatgcct  
tcggctgcctcctggactatgtccgggaacacaaagacaatatattggctcccagtaacctgc  
tcaactgggtgtgtgcagatcgcaaggccatgaactacttggaggaccgtcgcttgggtgc  
accgcgacctggcagccaggaaactgactgggtgaaaacacgcgacatgtcaagatcacag  
atcttgggtggccaaactgctgggtgaggagagaaagaataccatgcagaaggaggca  
aagtgcctatcaagtggatggcattggaatcaatcttccacagaatctatacccaccaga  
gtgatgtctggagctacgggtgactggttgggagttgatgaccttggatccaagccat  
atgacggaatccctgccagcgagatctcctccatcctggagaaaggagaacgcctccctc  
agccaccatctgtaccatcgatgtctacatgatcatggtcaagtgcgtggatgatagacg  
cagatagtcgcccgaagtccggtgagttgatcatcgaattctccaaaatggcccagagacc  
cccagcgctacctgtcattcagggggatgaaagaatgcatttggcaagtccacagact  
ccaacttctaccgtgacctgatggatgaagaagacatggacgacgtgggtggatgcgacg  
agtacctcatcccaagcagggtcttctcagcagccctccacgtcacggaactccctcc  
tgagctctctgagtgcaaccagcaacaattccacctgggttgcattgatagaaatgggc  
tgcaagctgtcccatcaaggaagacagcttcttgcagcgatacagctcagaccccacag  
gogccttgactgaggacagcatagacgacaccttccctccagtgccctgaatacataaacc  
agtccgttcccaaaaggcccgctgggtctgtgacagaatcctgtctatcacatcagcctc  
tgaaccccgcgcccagcagagacccacactaccaggacccccacagcactgcagtgggca  
accccagagtatctcaacactgtccagcccacctgtgtcaacagcacattcgacagccctg  
cccactgggcccagaaaggcagccaccaaaattagcctggacaacctgactaccagcagg  
acttcttcccaagggaagccaagccaaatggcatctttaagggtccacagctgaaaatg  
cagaatacctaagggtcgccgcaaaagcagtgaaatttattggagcatgaccacggagga  
tagtatgagccctaaaaatccagactcttctcgatacccaggaccaagccacagcaggctc  
tccatcccaacagccatgcccgcattagctctttagacccacagactggtttgcacggtt  
tacaccgactagccaggaagtacttccacctcgggcacatttgggaagttgcattcctt  
tgtcttcaaaactgtgaagcatttacagaaacgcctccagcaagaatattgtccctttgag  
cagaaatttatcttcaaaagaggtatatttgaaaaaagatatgtgaggattt  
ttattgattggggatcttgaggttttctattgtcgctattgatttttacttcaatgggct  
cttccaacaagggaagagcttgcgtggtagcacttgctaccctgagttcatccaggcccaa  
ctgtgagcaaggagcacaagccacaagcttccagaggatgcttgattccagtggttctg  
cttcaaggcttccactgcaaaaacactaaagatccaagaaggccttcatggccccagcagg  
ccggatcggtactgtatcaagtcatggcaggtacagtaggataagccactctgtcccttc  
ctgggcaaggaagaaaacgggggatggaattcttcccttagacttacttttgtaaaaatg  
tccccacggtaacttactccccactgatggaccagtggtttccagtcactgagcggttagact  
gacttgtttgtcttccattccattgttttgaactcagtatgctgcccctgtcttgcgtg  
catgaaatcagcaagagaggatgacacatcaataataactcggattccagcccacattg  
gattcatcagcatttggaccaatagcccacagctgagaatgtggaatacctaaggatagc

10

20

30

40

50

accgcttttgttctcgcaaaaacgtatctcctaatttgaggctcagatgaaatgcatcag  
gtcctttggggcatagatcagaagactacaaaaatgaagctgctctgaaatctccttttag  
ccatcaccccaaccccccaaaaattagtttgtgttacttatggaagatagttttctccttt  
tacttcacttcacaaaagctttttactcaaaagagtatatgttccctccagggtcagctgcccc  
caaacccccctccttacgctttgtcacacaaaaagtgctctgcttgagtcattctattca  
agcacttacagctctggccacaacagggcattttacagggtgcgaatgacagtagcattat  
gagtagtgtggaattcaggtagtaaatatgaaactagggtttgaaattgataatgctttc  
acaacatttgcagatgttttagaaggaaaaaagttccttcctaaaaataatttctctacaa  
ttggaagattggaagattcagctagttaggagcccaccttttttccctaattctgtgtgtgc  
cctgtaacctgactgggttaacagcagtcctttgtaaacagtgttttaaactctccttagtc  
aatatccaccccatccaatttatcaaggaagaaatgggttcagaaaaatattttcagccctac  
agttatgttccagtcacacacacatacaaaaatgttcccttttgccttttaaagtaatttttga  
ctcccagatcagtcagagccccctacagcattgttaagaaagtattttgattttttgtctcaa  
tgaaaaataaaaactatattcatttccactctattatgctctcaaatacccctaagcatcta  
tactagcctgggtatgggtatgaaagatacaaaagataaaataaaaacatagtccttgattcta  
agaaattcacaaatttagcaaaggaaatggactcatagatgctaacccttaaaaacaacgtga  
caaatgccagacaggaccccatcagccaggcactgtgagagcacagagcagggagggttggg  
tcttgcttgaggagacctggaaggaggacctcacaggaggatgaccagggtctcagtcagc  
ggggagggtggaagtgacaggtgcatcagggggcacccctgaccgaggaaacagctgccagag  
gcctccaactgctaagtgccacataaggctgagggtcagtcacccctaaacaacctgctccct  
ctaagccaggggatgagcttggagcatcccacaagttccctaaaaagttgcagccccccagg  
gggatttttgagctatcatctctgcacatgcttagtgagaagactacacaacatttctaag  
aatctgagatttttatattgtcagtttaaccactttcattattcattcacctcaggacatgc  
agaaatatttccagtcagaactgggaaacagaaggacctacattctgctgtcacttatgtg  
tcaagaagcagatgatcgatgaggcagggtcagttgtaagtgagtcacattgtagcatttaa  
attctagtatttttgtagtttgaaacagtaacttaataaaaagagcaaaaagctaaaaaaaa  
aaaaaaaaa

10

20

**【 0 0 4 1 】**

30

「上皮成長因子受容体（EGFR）ポリペプチド」とは、NCBIアクセッション番号  
NP\_005219.2と少なくとも約85%のアミノ酸同一性を有し、上皮成長因子（  
EGF）結合活性を有する、ポリペプチド又はその断片を意味し、以下に再現される通り  
である（配列番号4）。

40

50

>NP\_005219.2

MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFSLQRMFNNECEV  
VLGNLEITYVQRNYDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPLNLQIIRGNMYEENSIALA  
VLSNYDANKTGLKELPMRNLOEILHGAVRFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDF  
QNHLSGSCQKCDPSCPNGSCWGAGEENCQKLTKIICAQQCSGRRCRGKSPSDCCHNQCAAGC  
TGPRESDCLVCRKFRDEATCKDTCPPMLLYNPPTYQMDVNPEGKYSFGATCVKKCPRNYV  
VTDHGSCVVRACGADSYEMEEDGVRKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFK  
NCTSIGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAF  
ENLEIIRGRTKQHGGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVVISGNKNLCYANTINWKKL  
FGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCN  
LLEGEPRFEVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPCAGVM  
GENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPNGPKIPSIATGMVGALLLLLVV  
ALGIGLFMRRRHIVRKRTLRRLLQERELVEPLTPSGEAPNQALLRILKETEFKKIKVLGS  
GAFGTVYKGLWIPEGEKVKIPVAIKELREATSPKANKEILDEAYVMASVDNPHVCRLGI  
CLTSTVQLITQLMPFGCLLDYVREHKDNIGSQYLLNWCVQIAKGMNYLEDRLVHRDLAA  
RNVLVKTPQHVKITDFGLAKLLGAEEKEYHAEGGKVPIKWMMALESILHRIYTHQSDVWSY

10

GVTWELMTFGSKPYDGIPASEISSILEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDADSRPK  
FRELIIEFSKMARDPQRYLVIQGDERMHLPSPTDSNFYRALMDEEDMDDVDDADEYLIPO  
QGFFSSPSTSRTPLLSSLSATSNNSTVACIDRNLQSCPIKEDSFLQRYSSDPTGALTED  
SIDDTFLPVPEYINQSVPKRPAGSVQNPVYHNQPLNPAPSRDPHYQDPHSTAVGNPEYLN  
TVQPTCVNSTFDSPAHWAKGSHQISLDNPDYQQDFFPKAKPNGIFKGSTAENAEYLRV  
APQSSEFIGA

20

#### 【 0 0 4 2 】

「上皮成長因子（EGF）核酸分子」とは、EGFポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを意味する。例示的なEGF核酸分子は、NCBIアクセッション番号NM\_001963.5で提供され、以下に再現される（配列番号5）。

30

（配列番号5）

40

50

>NM\_001963.5

aaaaagagaaaactgttgggagaggaatcgtatctccatattttcttctttcagccccaatc  
caagggttgtagctggaactttccatcagttcttccctttcttttttccctctctaagccttt  
gccttgctctgtcacagtgaaagtcagccagagcagggctgttaaactctgtgaaatttgt  
cataagggtgtcaggtattttcttactggcttccaaagaaacatagataaaagaaatctttc  
ctgtggcttcccttggcagggctgcattcagaaggtctctcagttgaagaaagagcttgga  
ggacaacagcacaaacaggagagtaaaagatgccccagggctgaggcctccgctcaggcag  
ccgcatctgggggtcaatcatactcaccttgcctgggcatgctccagcaaaatcaagctg  
ttttcttttgaaagttcaaaactcatcaagattatgctgctcactcttatcattctgttgc  
cagtagttttcaaaatttagttttgttagtctctcagcaccgcagcactggagctgtcctg  
aagggtactctcgcaggaaatgggaattctacttgtgtgggtcctgcaccttcttaattt  
tctcccatggaaatagttatcttttaggattgacacagaaggaaccaattatgagcaattgg  
tggtggatgctggtgtctcagtgatcatggattttcattataatgagaaaagaatctatt  
gggtggatttagaaagacaacttttgcaaagagtttttctgaatgggtcaaggcaagaga  
gagtatgtaatatagagaaaaatgtttctggaatggcaataaattggataaatgaagaag  
ttatttgggtcaaatacaacaggaaggaatcattacagtaacagatatgaaaggaaataatt  
cccacattcttttaagtgttttaaaatatcctgcaaagttagcagttgatccagtagaaa  
ggtttatatttttgggtcttcagaggtggctggaagcctttatagagcagatctcgatgggtg  
tgggagtgaaggctctgtttggagacatcagagaaaaataacagctgtgtcattggatgtgc  
ttgataagcggctgttttggattcagtacaacagagaaggaagcaattctcttatttgc  
cctgtgattatgatggaggttctgtccacatttagtaaacatccaacacagcataatttgt  
ttgcaatgtcccttttttgggtgaccgtatcttctattcaacatggaaaatgaagacaattt  
ggatagccaacaaacacactggaaaggacatgggttagaattaacctccattcatcatttg  
taccacttgggtgaactgaaagtagtgcacacttgcacaaccaaggcagaagatgaca  
cttgggagcctgagcagaaaactttgcaaattgaggaaaggaaactgcagcagcactgtgt  
gtgggcaagacctccagtcacacttgtgcatgtgtgcagagggatacgccctaagtcgag  
accggaagtactgtgaagatgttaatgaatgtgctttttggaatcatggctgtactcttg  
ggtgtaaaaaacacccctggatcctattactgcacgtgacctgtaggattttgttctgtctt  
ctgatgggaaacgatgtcatcaacttgtttcctgtccacgcaatgtgtctgaatgcagcc  
atgactgtgttctgacatcagaaggtcccttatgtttctgtcctgaaggctcagtgcttg  
agagagatgggaaaacatgtagcggttgttcctcaccgataatgggtggatgtagccagc  
tctgcttctcttagccagtatcctgggaatgtgattgctttcctgggtatgacctac  
aactggatgaaaaaagctgtgcagcttcaggaccacaaccatttttgcgtgttgccaatt  
ctcaagatattcgacacatgcatttttgatggaacagactatggaactctgctcagccagc  
agatgggaatggtttatgccctagatcatgacctgtggaaaataagatatactttgcc  
atacagccctgaagtggatagagagagctaataatggatgggttccagcgagaaaggctta  
ttgaggaaggagtagatgtgccagaaggtcttgcgtgtggactggattggccgtagattct  
attggacagacagagggaaatctctgattggaaggagtgatttaaatgggaaacgttcca  
aaataatcactaaggagaacatctctcaaccacgaggaattgctgttcattccaatggcca

10

20

30

40

50

agagattattctggactgatacagggattaatccacgaattgaaagttottccctccaag  
 gccttggcogtctggttatagccagctctgatctaattctggccagtggaataacgattg  
 acttcttaactgacaagttgtactggtgcatgccaagcagctctgtgattgaaatggcca  
 atctggatggttcaaacgcggaagacttaccagaatgatgtaggtcacccatttgcgtg  
 tagcagtgtttgaggattatgtgtggttctcagattgggctatgccatcagtaatgagag  
 taaacaagaggactggcaagatagagtagctctccaaggcagcatgctgaagccctcat  
 cactggttgtggttcatccattggcaaaaccaggagcagatccctgcttatatcaaaacg  
 gaggtgtgaacatatttgcaaaaagaggcttggaaactgcttggtgttcgtgtcgtgaag  
 gttttatgaaagcctcagatgggaaaacgtgtctggtctggtatggtcatcagctgttgg  
 caggtggtgaagttgatctaaagaaccaagtaacaccattggacatcttgtccaagacta  
 gagtgtcagaagataacattacagaatctcaacacatgctagtggctgaaatcatggtgt  
 cagatcaagatgactgtgctcctgtgggatgcagcatgtatgctcggtgtatttcagagg  
 gagaggatgccacatgtcagtggttgaaggatttgcgtgggatggaaaactatgttctg  
 atatagatgaatgtgagatgggtgtccagtggtgccccctgctcctccaagtgcac  
 acaccgaaggtggttatgtctgcccgtgtcagaaggctaccaaggagatgggattcact  
 gtcttgatattgatgagtgcacactgggggagcacagctgtggagagaatgccagctgca  
 caaatacagagggaggctatacctgcatgtgtgctggacgctgtctgaaccaggactga  
 tttgcctgtactctactccacccctcacctcagggaagatgaccaccactattccgtaa  
 gaaatagtgaactgtccctgtccacgatgggtactgctccatgatggtgtgt  
 gcatgtatattgaagcattggacaagtatgcatgcaactgtgttgttggctacatcgggg  
 agcgtatgtcagtagcagacotgaagtgggtgggaactgcgccacgctggccaaggcagc  
 agcagaaggtcatcgtgggtggtgtctgctggtggtgcttgtcatgctgctcctcctga  
 gcctgtggggggccactactacaggactcagaagctgctatcgaaaaacccaaagaatc  
 cttatgaggagtgcagcagagatgtgaggagtgcaggcctgctgacactgaggatggga  
 tgtcctcttgcctcaaccttgggttgggttataaaagaacaccaagacctcaagaatg  
 ggggtcaaccagtggctggtgaggatggccaggcagcagatgggtcaatgcaaccaactt  
 catggaggcaggagccctcgttatgtggaatgggcacagagcaaggctgctggattccag  
 tatccagtataaagggtcctgtccacaggtaatggagcgaagcttccatagccctcct  
 atgggacacagaccccttgaaggggtgtcagagaagccccattctcctatcagctaacc  
 cattatggcaacaaaggccctggaccaccacaccaaattggagctgactcagtgaaaac  
 tgggaattaaaaggaaagtcaagaagaatgaactatgtcgtatgcacagtatctttcttcc  
 aaaagtagagcaaaactatagggttgggttccacaatctctacgactaatcacctactca  
 atgcctggagacagatacgtagtgtgtgttgggttctttaaagcagctctcactgca  
 gtcttatttccaaagtaagagtactgggagaatcactaggttaacttattagaaaaccaa  
 attgggacaacagtgtttgttaaattgtgttgccttcagcagtcacatacaaatagattttt  
 ttttgggttctcctgcagccccagaagaaattaggggttaaagcagacagtcacactggt  
 ttgggtcagttacaaagtaatttctttgatctggacagaaacatttatatcagtttcatgaa  
 atgattggaatattacaataccgttaagatacagtgtaggcatttaactcctcattggcg  
 tggctcctgctgatgatttggcaaatgagttgtgtatgaatcaatgaaaaatgtaattta  
 gaaactgatttcttcagaattagatggcttatttttttaaaatatttgaatgaaaaacattt  
 tatttttaaaatattacacaggaggcttcggagtcttcttagtcattactgtccttttccc  
 ctacagaattttccctccttgggtgtgattgcacagaatttgtatgtattttcagttacaag  
 attgtaagtaaatgctgatttgggttcttattatagacaacgatgaatttcttctaatta  
 ttttaataaaatcaccaaaaacataaacattttattgtatgcctgattaagtagttaatt  
 atagtctaaggcagtagtagagttgaacaaaaatgatttgtcaagcttgcctgatgttct  
 gtttttgcgttttttttttttttcoggagagaggataggatctcactctgttatccaggct  
 ggagtgtgcaatggcacaatcatagctcagtgccagcctcaaacctcctgggctcaagcaat  
 cctcctgctcagcctcccgagtaactaggaccacaggccacaggccacatgctggcta  
 aggttttttattttttttttttgtagacatggggatcacacaatgttggccaggctggtct  
 tgaactcctggcctcaagcaaggctgctggttaattttgcaaaatgaattgtgattgac  
 tttcagcctcccaacgtattagattataggcattagccatggtgccagccttgtaactt

10

20

30

40

ttaaaaaaatttttttaattctacaactctgtagattaaaatttccatgggtgttcttaatta  
 aatatttttcttgcagccaagataattgttactacagataacacaaacctgatatggtaact  
 ttaaaattttgggggcttttgaatcattcagtttatgcattaaactagtccctttgtttatct  
 ttcattttctcaaccccttgtacttttgggtgataccagacatcagaataaaaagaaattgaa  
 gtacctgttttcaaatggatactttataggaattttgggttaaagatttgggtgatgggagga  
 tgacttgagggtttgtggatattagtttaattattcagtatgatacctcaccagctaattt

「上皮成長因子（EGF）ポリペプチド」とは、NCBIアクセッション番号NP\_001954.2と少なくとも約85%のアミノ酸同一性を有し、53アミノ酸のEGF分子（太字で示す）を産生するように処理され、EGFR結合活性（hEGF標的化シグナル伝達経路（Targeted Signaling Pathway（TSP）ドメイン）を有するEGFのプレプロタンパク質形態に対応する、ポリペプチド又はその断片を意味し、以下に再現される通りである（配列番号6）。

>NP\_001954.2

```
MLLTLLIILLPVVSKFSFVSL SAPQHWSCPEGTLAGNGNSTCVGPAPFLIFSHGNSIFRID
TEGTNYEQLVVDAGVSVIMDFHYNEKRIYWVDLERQLLQRFVFLNGSRQERVCNIEKNVSG
MAINWINEEEVIWSNQOEGIIITVTD MKGNNSHILLSALKYPANVAVDPVERFI FWSSEVAG
SLYRADLDG VGVKALLETSEKITAVSLDVL DKRLF WIQYNREGS NSLICSCDYD GGSVHI
SKHPTQHNL FAMS LFGDRI FYSTWK MKTIWIANKHTGKDMVRINLHSS FVPLGELKVVHP
LAQPKAEDDTWEPEQKLCKLRKGNCSSTVCGQDLQSHLCMCAEGYALS RDRKYCEDVNEC
AFWNHGCTLGCKNTPGSYYCTCPVGFVLLPDGKRCHQLVSCPRNVSECSHDCVLTSEGPL
CFCPEGSVLERD GKTCSGCSSPDNGGCSQLCVPLSPVSWECDCFPGYDLQLDEKSCAASG
PQPFLLFANSQDIRHMHFDGTDYGTLLSQQMGMVYALDHDPVENKIYFAHTALKWIERAN
MDGSQRERLIEEGVDVPEGLAVDWIGRRFYWTD R G KSLIGRSDLN GKRSKIITKENISQP
RGI AVHPMAKRLFWTDTGINPRIESSSLQGLGR LVIASSDLIWPSGITIDFLTDKLYWCD
AKQSVIEMANLDGSKRRRLTQNDVGH PFAVAVFEDYVWFSDWAMP S VMRV NKR T GKDRVR
LQGSMLKPSSLVVVHPLAKPGADPCLYQNGGCEHICKRLGTAWCSCREGFMKASDGKTC
LALDGHQLLAGGEVDLKNQVTPLDILSKTRVSEDNITESQHMLVAEIMVSDQDDCAPVGC
SMYARCISEGEDATCQCLKG FAGDGKLCSD IDECEMGVPVCP PASSKCINTEGGYVCRCS
EGYQGDGIHCLDIDECQLGEHSCGENASCTNTEGGYT CMCAGRLSEPG LICPDSTPPPHL
REDDHHYSVRNSDSECPLSHDGYCLHDGVC MYIEALDKYACNCVVG YIGERCQYRDLKWW
ELRHAGHGQQQKVI VVAVCVVVLV MLLLLSLWGAHY YRTQKLLSKNPKNPYEESSRDVRS
RRPADTEDGMSSCPQPFVVIKEHQDLKNGGQPVAGEDGQAADGSMQPTSWRQEPQLCGM
GTEQGCWIPVSSDKGSCPQVMERSFHMPSYGTQTLEGGVEKPHSLLSANPLWQQRALDPF
HQMELTQ
```

10

20

30

#### 【0044】

「断片」とは、ポリペプチド又は核酸分子の一部を意味する。この部分は、好ましくは、参照核酸分子又はポリペプチドの全長の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、又は90%を含む。断片は、10、20、30、40、50、60、70、80、90、若しくは100、200、300、400、500、600、700、800、900、若しくは1000のヌクレオチド又はアミノ酸を含み得る。

#### 【0045】

「マーカー」とは、疾患又は障害に関連する発現レベル又は活性の変化を有する任意のタンパク質又はポリヌクレオチドを意味する。

40

#### 【0046】

「新生物」とは、過剰な増殖又はアポトーシスの減少を特徴とする疾患又は障害を意味する。本発明を使用することができる例示的な新生物には、脾臓癌、白血病（例えば、急性白血病、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性骨髄芽球性白血病、急性前骨髄球性白血病、急性骨髄単球性白血病、急性単球性白血病、急性赤白血病、慢性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病）、真性赤血球増加症、リンパ腫（ホジキン病、非ホジキン病）、ワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症、重鎖疾患、並びに肉腫及び癌腫などの固形腫瘍（例えば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底

50

細胞癌、腺癌、汗腺癌、脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌腫、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌（bile duct carcinoma）、絨毛癌、セミノーマ、胎児性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、子宮癌、精巣癌、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、多形神経膠芽腫、星細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上皮腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫瘍、乏突起神経膠腫（oligodendroglioma）、シュワン細胞腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽腫、及び網膜芽細胞腫）が含まれるが、これらに限定されない。

【0047】

「タンパク質」又は「ポリペプチド」又は「ペプチド」とは、翻訳後修飾（例えば、グリコシル化又はリン酸化）にかかわらず、本明細書に記載される天然に存在するか、又は天然に存在しないポリペプチド又はペプチドの全部又は一部を構成する、2つを超える天然又は非天然アミノ酸の任意の鎖を意味する。

10

【0048】

「対象」とは、ヒト又は非ヒト哺乳動物、例えばウシ、ウマ、イヌ、ヒツジ又はネコを含むがこれらに限定されない哺乳動物を意味する。

【0049】

「EGFRエフェクター」とは、本明細書に開示され、当技術分野で一般的に知られているように、EGFRの下流にあるキナーゼを含む任意のタンパク質を意味する。

【0050】

「NTKI」又は「非チロシン標的化キナーゼ阻害剤」とは、チロシンリン酸化に影響を及ぼさずにキナーゼを特異的に標的化する任意の化合物を意味する。チロシンキナーゼ阻害剤（TKI）とは対照的に、「NTKI」は、受容体型チロシンキナーゼ（例えばEGFR）ではないキナーゼのキナーゼ阻害剤を指す。むしろ、NTKIは受容体の下流のキナーゼを標的とする。いくつかの実施形態では、これらのキナーゼは、EGFRの下流にある。

20

【0051】

範囲は、本明細書では、「約」+1つの特定の値から、及び／又は「約」+別の特定の値までとして表すことができる。そのような範囲が表現される場合、別の態様は、1つの特定の値及び／又は他の特定の値を含む。同様に、先行詞「約」を使用して値が近似値として表される場合、特定の値が別の態様を形成することが理解される。各範囲の終点は、他方の終点に関して、及び他方の終点とは無関係にも有意であることが更に理解される。また、本明細書に開示されているいくつかの値があり、各値はまた、値自体に加えてその特定の値の「約」として本明細書に開示されていることも理解される。また、本出願を通して、データは多数の異なるフォーマットで提供され、このデータは、終点及び始点並びにデータ点の任意の組合わせの範囲を表すことも理解される。例えば、特定のデータ点「10」及び特定のデータ点「15」が開示されている場合、10及び15より大きい、それら以上、それら未満、それら以下、及びそれらに等しいこと、並びに10～15の間が開示されていると見なされることが理解される。また、2つの特定の単位間の各単位も開示されていることが理解される。例えば、10及び15が開示されている場合、11、12、13、及び14も開示されている。

30

40

【0052】

本明細書で提供される範囲は、その範囲内のすべての値の省略表現であると理解される。例えば、1～50の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49又は50、並びに例えば1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8及び1.9などの前述の整数間に介在するすべての小数值からなる群からの、任意の数字、数字の組合わせ、又は部分範囲を含むと理解される。部分範囲に関して、範囲のいずれかの終点から延びる「入れ子部分範囲（nested sub-range）」が特に企図される。例え

50

ば、1～50の例示的な範囲の入れ子部分範囲は、一方向に1～10、1～20、1～30、及び1～40、又は反対方向に50～40、50～30、50～20、及び50～10を含むことができる。

【0053】

「参照」とは、標準又は対照条件を意味する。一実施形態では、細胞に対する薬剤の効果を、対照細胞に対する薬剤の効果と比較する。

【0054】

「参照配列」は、配列比較の基礎として使用される定義された配列である。参照配列は、指定された配列のサブセット又はその全体、例えば、完全長cDNA若しくは遺伝子配列の断片、又は完全なcDNA若しくは遺伝子配列であり得る。ポリペプチドの場合、参照ポリペプチド配列の長さは、一般に、少なくとも約16アミノ酸、好ましくは少なくとも約20アミノ酸、より好ましくは少なくとも約25アミノ酸、更により好ましくは約35アミノ酸、約50アミノ酸、又は約100アミノ酸である。核酸の場合、参照核酸配列の長さは、一般に、少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約60ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも約75ヌクレオチド、更により好ましくは約100ヌクレオチド若しくは約300ヌクレオチド、又はそれらの周り若しくはそれらの間の任意の整数である。

【0055】

「特異的に結合する」とは、本発明のポリペプチドを認識し、結合するが、試料中の他の分子を実質的に認識せず、結合しない化合物又は抗体を意味する。

【0056】

「実質的に同一」とは、参照アミノ酸配列（例えば、本明細書に記載されるアミノ酸配列のいずれか1つ）又は核酸配列（例えば、本明細書に記載される核酸配列のいずれか1つ）に対して少なくとも50%の同一性を示すポリペプチド又は核酸分子を意味する。好ましくは、そのような配列は、比較に使用される配列に対して、アミノ酸レベル又は核酸において、少なくとも60%、より好ましくは80%又は85%、最も好ましくは90%、95%又は更には99%同一である。

【0057】

「合成TSPドメイン」とは、以下のアミノ酸配列（配列番号7）に対して少なくとも約85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するアミノ酸又はその断片を意味する。

>合成TSPドメイン

NTENDCPLSHEAYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVG YVGERCQFRDLRWWDAR

【0058】

「hEGF TSPドメイン」とは、配列番号6で上に太字で示されているような、以下のアミノ酸配列（配列番号8）に対して少なくとも約85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%のアミノ酸同一性を有するアミノ酸又はその断片を意味する。

>hEGF TSPドメイン

NSDSECPLSHDGYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVG YIGERCQYRDLKWWELR

【0059】

「CTBポリペプチド」とは、以下のアミノ酸配列（配列番号25）に対して少なくとも約85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するアミノ酸又はその断片を意味する。

## &gt; C T B ポリペプチド

TPQNITDLCAEYHNTQIHTLNDKIEFSYTESLADKREMAIITFKNGATFQVEVPGSQHIDSQK  
KAIERMKDTRLRIAYL/TEAKVEKLCVWNNKTPHATAAISMAN

## 【0060】

適用可能であるか、又は具体的に排除されない場合、本明細書に記載された実施形態のいずれか1つは、実施形態が本開示の異なる態様の下で説明されている場合であっても、任意の他の1又は複数の実施形態と組み合わせることができると考えられる。

10

## 【0061】

これら及び他の実施形態は、以下の発明を実施するための形態によって開示及び／又は包含される。

## 【0062】

例として与えられるが、説明される特定の実施形態のみに本開示を限定することを意図するものではない以下の詳細な説明は、添付の図面と併せて最もよく理解され得る。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0063】

【図1】図1は、いくつかのK R A S変異を有する細胞株の細胞株名及び起源を示す。D L D 1及びL S 1 7 4 T細胞株はまた、P I K 3 C A変異を有する。

20

【図2】図2は、D L D 1細胞における異なる濃度の抗I N O 1治療用抗体「A b」又は対照抗体「C - A b」による2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるp E G F R、p S t a t 3、p A k t、及びp E r k 1 / 2シグナル伝達に対する効果を示す。

【図3】図3は、E G Fを有する、及び有さない場合の、D L D 1細胞生存率に対する異なる濃度のトラメチニブの3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図4】図4は、D L D 1細胞におけるE G F又は異なる濃度のトラメチニブによる2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるp E G F R、p S t a t 3、p A k t、及びp E r k 1 / 2シグナル伝達に対する効果を示す。

【図5】図5 A及び図5 Bは、D L D 1細胞生存率に対するトラメチニブと併用した抗I N O 1の効果を示す。図5 Aは、D L D 1細胞生存率に対する、異なる濃度のトラメチニブと組み合わせて使用される、抗I N O 1治療用抗体又は対照抗体C - A bによる3日間のインキュベーションの効果を示す。図5 Bは、トラメチニブと組合わせて使用される、抗I N O 1治療用抗体又は対照抗体C - A bのD L D 1細胞生存率に対する長期効果を示す。

30

【図6】図6は、D L D 1細胞における、E G F、10 n Mトラメチニブ、及び「A b」と呼ばれる抗I N O 1抗体又は「C」と呼ばれる対照抗体との単独又は組み合わせによる2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるp E G F R、p S t a t 3、p A k t及びp E r k 1 / 2シグナル伝達に対する効果を示す。

【図7】図7は、E G Fを有する、及び有さない場合の、L S 1 7 4 T細胞生存率に対する異なる濃度のトラメチニブの3日間のインキュベーションの効果を示す。

40

【図8】図8は、L S 1 7 4 T細胞におけるE G F又は異なる濃度のトラメチニブによる2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるp E G F R、p S t a t 3、p A k t、及びp E r k 1 / 2シグナル伝達に対する効果を示す。

【図9】図9は、L S 1 7 4 T細胞生存率に対する、異なる濃度のトラメチニブと組み合わせて使用される、抗I N O 1治療用抗体又は対照抗体C - A bによる3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図10】図10は、L S 1 7 4 T細胞における、E G F、5 n Mトラメチニブ、及び／又は「A b」と呼ばれる抗I N O 1抗体又は「C」と呼ばれる対照抗体による2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるp E G F R、p S t a t 3

50

、p A k t及びp E r k 1 / 2シグナル伝達に対する効果を示す。抗 I N O 1 A bをこれらの実験のために1 : 1 0に希釈した。

【図 1 1】図 1 1は、0 . 5  $\mu$  Mトラメチニブと組み合わせて使用される、抗 I N O 1 治療用抗体又は対照抗体 C - A bを用いた L S 1 7 4 T細胞によるトラメチニブに対する耐性の発達を示す。

【図 1 2】図 1 2は、E G Fの存在下における、B R A F V 6 6 E変異を有する H T 2 9の細胞成長の増大を示す。

【図 1 3】図 1 3 A ~ 図 1 3 Cは、H T 2 9細胞シグナル伝達及び長期生存率に対する、トラメチニブと組み合わせた抗 I N O 1 A bの効果を示す。図 1 3 Aは、H T 2 9細胞生存率に対する、異なる濃度のトラメチニブと組み合わせて使用される、抗 I N O 1 治療用抗体又は対照抗体 C - A bによる3日間のインキュベーションの効果を示す。図 1 3 Bは、L S 1 7 4 T細胞における、E G F、0 . 0 1 m Mトラメチニブ、及び「A b 8」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体の単独又は併用による2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるp E G F R及びp E r k 1 / 2シグナル伝達に対する効果を示す。抗 I N O 1 A bをこれらの実験のために1 : 1 0に希釈した。図 1 3 Cは、E G F及びトラメチニブと組み合わせて使用される抗 I N O 1 治療用抗体の H T 2 9細胞生存率に対する長期効果を示す。E G Fを1 0 n g / m Lの濃度で細胞培養培地に添加した。

【図 1 4】図 1 4は、E G Fを有する、及び有さない場合の、H 5 0 8細胞生存率に対する異なる濃度のトラメチニブの3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図 1 5】図 1 5は、H 5 0 8細胞生存率に対する、異なる濃度のトラメチニブと組み合わせて使用される、抗 I N O 1 治療用抗体「A b」、又は対照抗体「C - A b」による3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図 1 6】図 1 6は、E G Fを有する、及び有さない場合の、H 5 0 8細胞生存率に対する異なる濃度のタセリシブの3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図 1 7】図 1 7は、H 5 0 8細胞生存率に対する、異なる濃度のタセリシブとの併用における、抗 I N O 1 治療用抗体「A b」、又は対照抗体「C - A b」による3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図 1 8】図 1 8は、E G F及び0 . 1 m Mタセリシブと組み合わせた、1 / 5 0希釈における抗 I N O 1 治療用抗体の H 5 0 8細胞生存率に対するより長期効果を示す。

【図 1 9】図 1 9は、E G F及び0 . 5 m Mタセリシブと組み合わせた、1 / 5 0希釈における抗 I N O 1 治療用抗体の H 5 0 8細胞生存率に対するより長期効果を示す。

【図 2 0】図 2 0は、H 5 0 8細胞にE G Fを有する、及び有さない場合の、アルペリシブ及びコパンリシブの効果を示す。左上は、E G Fを有する、及び有さない場合の、H 5 0 8細胞生存率に対する異なる濃度のアルペリシブの3日間のインキュベーションの効果を示す。右上は、E G F及び異なる濃度のアルペリシブによる2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるp E G F R、p A k t及びp E r k 1 / 2シグナル伝達に対する効果を示す。左下は、E G Fを有する、及び有さない場合の、H 5 0 8細胞生存率に対する異なる濃度のコパンリシブの3日間のインキュベーションの効果を示す。右下は、E G F及び異なる濃度のコパンリシブによる2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるp E G F R、p A k t及びp E r k 1 / 2シグナル伝達に対する効果を示す。

【図 2 1】図 2 1は、E G Fの存在下の H 5 0 8細胞生存率に対する、抗 I N O 1 抗体と組み合わせたアルペリシブ及びコパンリシブの効果を示す。図 2 1の左は、E G Fの存在下の H 5 0 8細胞生存率に対する、異なる濃度のアルペリシブと組み合わせて使用される、抗 I N O 1 治療用抗体「A b」、又は対照抗体「C - A b」による3日間のインキュベーションの効果を示す。図 2 1の右は、E G Fの存在下の H 5 0 8細胞生存率に対する、異なる濃度のコパンリシブと組み合わせて使用される、抗 I N O 1 治療用抗体「A b」、又は対照抗体「C - A b」による3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図 2 2】図 2 2は、E G F及びアルペリシブ（左）及びコパンリシブ（右）と組み合わ

せた抗 I N O 1 治療用抗体の H 5 0 8 細胞生存率に対する長期効果を示す。

【図 2 3】図 2 3 は、H T 2 9 細胞生存率に対する、E G F と組み合わせた抗 I N O 1 治療用抗体「A b」又は対照抗体「C - A b」の効果を示す。

【図 2 4】図 2 4 は、H T 2 9 細胞生存率に対する、異なる濃度のトラメチニブと組み合わせて使用される、抗 I N O 1 治療用抗体又は対照抗体 C - A b による 3 日間のインキュベーションの効果を示す。

【図 2 5】図 2 5 は、H T 2 9 細胞における E G F 及び異なる濃度のトラメチニブによる 2 時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価される p E G F R、p S t a t 3、p A k t、及び p E r k 1 / 2 シグナル伝達に対する効果を示す。

【図 2 6】図 2 6 は、H T 2 9 細胞における、E G F、0.01 mM トラメチニブ、及び「A b 8」と称される抗 I N O 1 抗体との単独又は組み合わせによる 2 時間のインキュベーションの p E G F R 及び p E r k 1 / 2 シグナル伝達に対する効果を示す。

【図 2 7】図 2 7 は、P C 9 及び P C 9 G R 4 細胞におけるキナーゼ阻害剤に対する耐性の経時的出現を示す。左上は、P C 9 細胞生存率に対する、オシメルチニブと組み合わせた、「A b」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体及び「C - A b」と呼ばれる対照抗体の効果を示す。右上は、P C 9 G R 4 細胞生存率に対する、オシメルチニブと組み合わせた、「A b」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体及び「C - A b」と呼ばれる対照抗体の効果を示す。左下は、P C 9 細胞生存率に対する、オシメルチニブと組み合わせた、「A b」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体及び「C - A b」と呼ばれる対照抗体の効果を示す。右下は、P C 9 G R 4 細胞生存率に対する、オシメルチニブと組み合わせた、「A b」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体及び「C - A b」と呼ばれる対照抗体の効果を示す。抗 I N O 1 抗体の効果を「A b」と示し、対照抗体の効果を「C - A b」と示した。

【図 2 8】図 2 8 は、キナーゼ阻害剤に対する P C 9 細胞の経時的な耐性の出現を示す。左上は、0.5 mM ダコミチニブと組み合わせた、10% F B S、「A b」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体、及び「C - A b」と呼ばれる対照抗体の、P C 9 細胞生存率に対する効果を示す。右上は、1.0 mM ダコミチニブと組み合わせた、10% F B S、「A b」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体、及び「C - A b」と呼ばれる対照抗体の、P C 9 細胞生存率に対する効果を示す。図 2 8 の下部は、0.5 mM ダコミチニブと組み合わせた、「A b」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体、及び「C - A b」と呼ばれる対照抗体の、P C 9 細胞生存率に対する効果を示す。

【図 2 9】図 2 9 は、2.5 mM トラメチニブと組み合わせた抗 I N O 1 抗体及び対照抗体による処置に応答した D L D 1 細胞の経時的な耐性の出現を示す。

【図 3 0】図 3 0 は、フローサイトメトリーによる細胞周期及びアポトーシス決定の図を示し、試料細胞は懸濁液中で染色され、染色された細胞は蛍光励起によって検出される。

【図 3 1】図 3 1 は、併用及び単独で、「A b」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体、E G F、及び 1 n M トラメチニブに応答した細胞周期の S 期及び G 2 / M 期の A 5 4 9 細胞の相対数を示す。

【図 3 2】図 3 2 は、併用及び単独で、「A b」と称される抗 I N O 1 抗体、E G F 及び 1 n M トラメチニブに応答したアポトーシスにおける A 5 4 9 細胞の相対数を示す。

【図 3 3】図 3 3 は、併用及び単独で、「A b」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体、E G F、及び 10 n M トラメチニブに応答した細胞周期の S 期及び G 2 / M 期の D L D 1 細胞の相対数を示す。

【図 3 4】図 3 4 は、併用及び単独で、「A b」と称される抗 I N O 1 抗体、E G F 及び 10 n M トラメチニブに応答したアポトーシスにおける D L D 1 細胞の相対数を示す。

【図 3 5】図 3 5 は、併用及び単独で、「A b」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体、E G F 及び 1 m M プリガチニブに応答した細胞周期の S 期及び G 2 / M 期における A L K 転座細胞株である H 2 2 2 8 細胞の相対数を示す。

【図 3 6】図 3 6 は、併用及び単独で、「A b」と呼ばれる抗 I N O 1 抗体、E G F 及び 1 m M プリガチニブに応答した細胞周期の S 期及び G 2 / M 期における A L K 転座細胞株である H 3 1 2 2 細胞の相対数を示す。

10

20

30

40

50

【図 37】図 37 は、H2228、A549、及び SW900 モデル細胞株の主な変化を要約する。

【図 38】図 38 は、EGF の存在下で、患者由来の抗 EGF 抗体価に対する、及び「Ab8」と称される抗 INO1 抗体に対する、SW900 細胞株における pEGFR シグナル伝達応答を示す。

【図 39】図 39 は、EGF の存在下で、2 つの異なる患者由来抗 EGF 抗体価に対する、及び「Ab」と呼ばれる抗 INO1 抗体に対する、SW900 細胞株における pEGFR、pAkt、及び pErk1/2 シグナル伝達応答を示す。

【図 40】図 40 は、EGF の存在下で、3 つの異なる患者由来抗 EGF 抗体価に対する、及び抗 INO1 抗体に対する、SW900 細胞株における pEGFR、pAkt、及び pErk1/2 シグナル伝達応答を示す。

【図 41】図 41 は、患者由来の抗 EGF 抗体価に対する、及び「Ab8」と呼ばれる抗 INO1 抗体に対する、SW900 細胞における pEGFR 及び pErk1/2 シグナル伝達応答のウェスタンブロット定量化を示す。

【図 42】図 42 は、患者由来の抗 EGF 抗体価に対する、及び「Ab」と呼ばれる抗 INO1 抗体に対する、H288 細胞における pEGFR 及び pErk1/2 シグナル伝達応答のウェスタンブロット定量化を示す。

【図 43】図 43 は、結腸直腸癌細胞株に存在する例示的な変化を示す。

【図 44】図 44 は、本出願において使用される例示的なキナーゼ阻害剤を示す。

【図 45】図 45 は、DL D1 細胞における、EGF を伴う場合、及び伴わない場合のトラメチニブ及びタセリシブの効果を示す。左上は、EGF を有する、及び有さない場合の、DL D1 細胞生存率に対する異なる濃度のトラメチニブの 3 日間のインキュベーションの効果を示す。右上は、DL D1 細胞における EGF 及び異なる濃度のトラメチニブによる 2 時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価される pEGFR、pStat3、pAkt、及び pErk1/2 シグナル伝達に対する効果を示す。左下は、EGF を有する、及び有さない場合の、DL D1 細胞生存率に対する異なる濃度のタセリシブの 3 日間のインキュベーションの効果を示す。右下は、DL D1 細胞における EGF 及び異なる濃度のタセリシブによる 2 時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価される pEGFR、pStat3、pAkt、及び pErk1/2 シグナル伝達に対する効果を示す。

【図 46】図 46 は、DL D1 細胞における抗体及びキナーゼ阻害剤の併用療法の効果を示す。左上は、DL D1 細胞生存率に対する、異なる濃度のトラメチニブと組み合わせて使用される、抗 INO1 治療用抗体又は対照抗体 C-Ab による 3 日間のインキュベーションの効果を示す。右上は、DL D1 細胞における、EGF、「Ab」と称される抗 INO1 抗体及びトラメチニブとの単独又は組み合わせによる 2 時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価される pEGFR、pStat3、pAkt、及び pErk1/2 シグナル伝達に対する効果を示す。左下は、タセリシブと組み合わせて使用される抗 INO1 治療用抗体「Ab」、又は対照抗体「C-Ab」と組み合わせた異なる濃度のトラメチニブの 3 日間のインキュベーションの効果を示す。右下は、DL D1 細胞における、EGF、「Ab」と称される抗 INO1 抗体及びタセリシブとの単独又は組み合わせによる 2 時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価される pEGFR、pStat3、pAkt、及び pErk1/2 シグナル伝達に対する効果を示す。

【図 47】図 47 は、DL D1 細胞における細胞周期の S 期及び G2/M 期に対する、10 nM トラメチニブ、EGF 及び抗 INO1 抗体の組み合わせ及び単独による効果を示す。

【図 48】図 48 は、DL D1 細胞におけるアポトーシスに対する、10 nM トラメチニブ、EGF、及び抗 INO1 抗体の組み合わせ及び単独による効果を示す。

【図 49】図 49 は、DL D1 細胞における、トラメチニブ単独で、又は「Ab」と呼ばれる抗 INO1 抗体若しくは「C」と呼ばれる対照抗体と組み合わせて、トラメチニブに

に対する抵抗性の経時的出現を示す。

【図50】図50は、LS174T細胞におけるEGFを伴う場合、及び伴わない場合のトラメチニブの効果を示す。左は、EGFを有する、及び有さない場合の、LS174T細胞生存率に対する異なる濃度によるトラメチニブの3日間のインキュベーションの効果を示す。右は、LS174T細胞におけるEGF及び異なる濃度のトラメチニブの2時間のインキュベーションのpEGFR、pStat3、pAkt、及びpErk1/2に対する効果を示す。

【図51】図51は、LS174T細胞における抗IN01抗体と組み合わせたトラメチニブの効果を示す。左は、異なる濃度のトラメチニブと単独で、及び「Ab」と呼ばれる抗IN01抗体又は「C」と呼ばれる対照抗体と組み合わせて3日間のインキュベーションのLS174T細胞生存率に対する効果を示す。右は、LS174T細胞における、EGF、1nMトラメチニブ、及び／又は「Ab」と呼ばれる抗IN01抗体又は「C」と呼ばれる対照抗体による2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるpEGFR、pStat3、pAkt及びpErk1/2シグナル伝達に対する効果を示す。抗IN01 Abをこれらの実験のために1:25に希釈した。

【図52】図52は、0.05mMのトラメチニブと組み合わせて使用される、抗IN01治療用抗体又は対照抗体C-AbのLS174T細胞生存率に対する長期効果を示す。

【図53】図53は、LS174T細胞におけるトラメチニブに対する耐性の経時的出現を示す。0.5mMトラメチニブを、単独で、又は抗IN01抗体「Ab」若しくは対照抗体「C-Ab」と組み合わせて投与した。

【図54】図54は、HT29細胞におけるEGFを伴う場合、及び伴わない場合のキナーゼ阻害剤の効果を示す。左上は、EGFを伴う場合、及び伴わない場合の異なる濃度のトラメチニブとの3日間のインキュベーションのHT29細胞生存率に対する効果を示す。右上は、EGF又は異なる濃度のトラメチニブによる2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるpEGFR、pStat3、pAkt、及びpErk1/2シグナル伝達に対する効果を示す。図51の下部は、EGFを伴う場合、及び伴わない場合の異なる濃度のエンコラフェニブとの3日間のインキュベーションのHT29細胞生存率に対する効果を示す。

【図55】図55は、EGFの存在下で、HT29細胞における抗体及びキナーゼ阻害剤の併用療法の効果を示す。左上は、単独で、又は抗IN01抗体「Ab」若しくは対照抗体「C-Ab」と組み合わせて、異なる濃度のトラメチニブによる3日間のインキュベーションのHT29細胞生存率に対する効果を示す。右上は、EGF、抗IN01抗体、「Ab」又はトラメチニブによる単独又は組み合わせにおける2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるpEGFR、pAkt及びpErk1/2シグナル伝達に対する効果を示す。図52に下部は、単独で、又は抗IN01抗体「Ab」若しくは対照抗体「C-Ab」と組み合わせて、異なる濃度のエンコラフェニブによる3日間のインキュベーションのHT29細胞生存率に対する効果を示す。

【図56】図56は、単独又は併用のいずれかにおける、エンコラフェニブ、EGF及び抗IN01抗体「Ab」の長期インキュベーションのHT29細胞の生存率に対する影響を示す。

【図57】図57は、H508細胞における、EGFを伴う場合、及び伴わない場合のトラメチニブ及びタセリシブの効果を示す。右上は、EGFを伴う場合、及び伴わない場合の異なる濃度のトラメチニブとの3日間のインキュベーションのH508細胞生存率に対する効果を示す。左上は、EGF及び異なる濃度のトラメチニブによる2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるpEGFR、pAkt及びpErk1/2シグナル伝達に対する効果を示す。左下は、EGFの存在下及び非存在下でのタセリシブとの3日間のインキュベーションのH508細胞生存率に対する効果を示す。右下は、EGF及び異なる濃度のタセリシブによる2時間のインキュベーションの、ウェスタンブロットによって評価されるpEGFR、pAkt及びpErk1/2シグナル伝達に対する効果を示す。

10

20

30

40

50

に対する効果を示す。右上は、HT29細胞におけるウェスタンブロットによって評価される、pEGFR、pStat3、pAkt及びpErk1/2シグナル伝達に対する、EGF及び様々な濃度のトラメチニブの2時間のインキュベーションの効果を示す。左下は、HT29細胞生存率に対するEGFの存在下及び非存在下の異なる濃度のエンコラフェニブの効果を示す。右下は、HT29細胞におけるウェスタンブロットによって評価される、pEGFR、pAkt及びpErk1/2シグナル伝達に対する、EGF及び様々な濃度のエンコラフェニブの2時間のインキュベーションの効果を示す。

【図66】図66は、HCC15細胞におけるEGFを伴う場合、及び伴わない場合のトラメチニブの効果を示す。左は、HCC15細胞生存率に対する、EGFの存在下及び非存在下の異なる濃度のトラメチニブによる3日間のインキュベーションの効果を示す。右は、EGF及び異なる濃度のトラメチニブによる2時間のインキュベーションのpEGFR、pStat3、pAkt、及びpErk1/2シグナル伝達に対する効果を示す。

【図67】図67は、EGFの存在下で、HT29細胞に対する抗IN01抗体と組み合わせたキナーゼ阻害剤の効果を示す。左上は、単独で、又は抗IN01抗体「Ab」若しくは対照抗体「C-Ab」と組み合わせて、異なる濃度のトラメチニブによる3日間のインキュベーションのHT29細胞生存率に対する効果を示す。右上は、HT29細胞において、単独で又は組み合わせた、EGF、抗IN01抗体、「Ab」及びトラメチニブによる2時間のインキュベーションのpEGFR、pAkt及びpErk1/2シグナル伝達に対する効果を示す。左下は、HT29細胞において、単独で、又は抗IN01抗体「Ab」若しくは対照抗体「C-Ab」と組み合わせて、異なる濃度のエンコラフェニブによる3日間のインキュベーションの効果を示す。右下は、HT29細胞において、単独で又は組み合わせた、EGF、抗IN01抗体、「Ab」及びエンコラフェニブによる2時間のインキュベーションのpEGFR、pAkt及びpErk1/2シグナル伝達に対する効果を示す。

【図68】図68は、EGFの存在下における、HCC15細胞に対する抗IN01抗体と組み合わせたトラメチニブの効果を示す。左は、単独で、又は抗IN01抗体「Ab」若しくは対照抗体「C-Ab」と組み合わせて、異なる濃度のトラメチニブによる3日間のインキュベーションのHCC15細胞生存率に対する効果を示す。右は、HCC15細胞において、単独で又は組み合わせた、EGF、抗IN01抗体、「Ab」及びトラメチニブによる2時間のインキュベーションのpEGFR、pStat3、pAkt及びpErk1/2シグナル伝達に対する効果を示す。

【図69】図69は、HT29細胞生存率に対する、10ng/mLのEGFの存在下におけるキナーゼ阻害剤及び抗IN01抗体の長期効果を示す。左上は、HT29細胞生存率に対する、EGF、抗IN01抗体「Ab」単独、又は0.01mMトラメチニブとの併用の長期効果を示す。右上は、HT29細胞生存率に対する、EGF、抗IN01抗体「Ab」単独、又は0.1mMトラメチニブとの併用の長期効果を示す。左下は、HT29細胞生存率に対する、EGF、抗IN01抗体「Ab」単独、又は0.01mMエンコラフェニブとの併用の長期効果を示す。右下は、HT29細胞生存率に対する、EGF、抗IN01抗体「Ab」単独、又は0.1mMエンコラフェニブとの併用の長期効果を示す。

【図70】図70は、HT29細胞生存率に対する、0.5mMエンコラフェニブと組み合わせた様々な濃度のEGFの長期効果を示す。

【図71】図71は、HT29細胞生存率に対する、0.5mMエンコラフェニブ及び抗IN01抗体と組み合わせた様々な濃度のEGFの長期効果を示す。左上は、HT29細胞生存率に対する、0.5mMのエンコラフェニブ及び抗IN01抗体と組み合わせた0.05ng/mLのEGFの長期効果を示す。右上は、HT29細胞生存率に対する、0.5mMのエンコラフェニブ及び抗IN01抗体と組み合わせた0.5ng/mLのEGFの長期効果を示す。下部は、HT29細胞生存率に対する、0.5mMのエンコラフェニブ及び抗IN01抗体と組み合わせた10ng/mLのEGFの長期効果を示す。

【図72】図72は、HCC15細胞生存率に対するトラメチニブ及び抗IN01抗体の

長期効果を示す。左は、EGFの存在下におけるHCC15細胞生存率に対する、0.1 mMトラメチニブ単独、及び抗IN01抗体との併用の長期効果を示す。右は、EGFの存在下におけるHCC15細胞生存率に対する、1.0 mMトラメチニブ単独、及び抗IN01抗体との併用の長期効果を示す。

【図73】図73は、HCC15細胞におけるトラメチニブに対する耐性の出現を示す。左は、HCC15細胞生存率に対する、1/10又は1/25のいずれかの希釈の抗IN01抗体「Ab」又は対照抗体「C-Ab」と組み合わせたトラメチニブの長期効果を示す。右は、HCC15細胞生存率に対する、抗IN01抗体「Ab」又は対照抗体「C-Ab」のいずれかと組み合わせたトラメチニブの長期効果を示す。

【図74】図74は、本出願で使用されるH508細胞株変化及びPIK3CAキナーゼ阻害剤を示す。

【図75】図75は、H508細胞にEGFを有する、及び有さない場合の、キナーゼ阻害剤アルペリシブ及びコパンリシブの効果を示す。左上は、EGFを伴う場合、及び伴わない場合の異なる濃度のアルペリシブとの3日間のインキュベーションのH508細胞生存率に対する効果を示す。右上は、EGF及び異なる濃度のアルペリシブの2時間のインキュベーションのpEGFR、pAkt及びpErk1/2に対する効果を示す。下部は、EGFを伴う場合、及び伴わない場合の異なる濃度のコパンリシブとの3日間のインキュベーションのH508細胞生存率に対する効果を示す。右下は、EGF及び異なる濃度のコパンリシブの2時間のインキュベーションのpEGFR、pAkt及びpErk1/2に対する効果を示す。

【図76】図76は、EGFの存在下におけるH508細胞生存率に対する、抗IN01抗体「Ab」又は対照抗体「C-Ab」と組み合わせたキナーゼ阻害剤の効果を示す。左は、H508細胞生存率に対する、抗IN01抗体「Ab」又は対照抗体「C-Ab」と組み合わせた異なる濃度のアルペリシブの3日間のインキュベーションの効果を示す。右は、H508細胞生存率に対する、抗IN01抗体「Ab」又は対照抗体「C-Ab」と組み合わせた異なる濃度のコパンリシブの3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図77】図77は、EGFの存在下におけるH508細胞生存率に対する、抗IN01抗体と組み合わせたキナーゼ阻害剤の長期効果を示す。左は、H508細胞生存率に対するEGF、アルペリシブ、及び1/50希釈の抗IN01抗体の長期効果を示す。右は、H508細胞生存率に対するEGF、コパンリシブ、及び1/50希釈の抗IN01抗体の長期効果を示す。

【図78】図78は、本出願で使用されるRET転座細胞株の細胞株、組織学、キナーゼ阻害剤及び関連する変化を示す。

【図79】図79は、EGFを有する、及び有さない場合の、LC-2/ad細胞生存率に対する異なる濃度のBLU667キナーゼ阻害剤の3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図80】図80は、LC-2/ad細胞生存率に対する、抗IN01抗体「Ab」又は対照抗体「C-Ab」と組み合わせた、異なる濃度のEGF及びBLU667キナーゼ阻害剤の3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図81】図81は、EGFの存在下でのLC/2ad細胞生存率に対する、抗IN01抗体と組み合わせたBLU667キナーゼ阻害剤の長期効果を示す。左は、LC/2ad細胞生存率に対するEGF及び1/50希釈抗IN01抗体の、単独又は0.1 mMのBLU667との併用の長期効果を示す。右は、LC/2ad細胞生存率に対するEGF及び1/50希釈抗IN01抗体の、単独又は1.0 mMのBLU667との併用の長期効果を示す。

【図82】図82は、使用した細胞株、それらが由来する組織、及び関連するMET変化を示す。

【図83】図83は、EBC1（左）及びHs746T（右）の細胞生存率に対するEGFとの3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図84】図84は、様々な希釈のEGFを有する抗IN01抗体「Ab」又は対照抗体

10

20

30

40

50

「C-A b」のEBC1（左）及びHs746T（右）細胞生存率に対する3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図85】図85は、EGFを有する、及び有さない場合のEBC1細胞生存率に対する、カプマチニブ（上）及びテポチニブ（左下）の3日間のインキュベーションの効果を示す。右下は、EBC1細胞におけるpMET、pEGFR、pAkt及びpErk1/2活性化に対する、異なる濃度のテポチニブの2時間のインキュベーションの効果を示す。

【図86】図86は、Hs746T細胞生存率に対する、EGFを有する、及び有さない場合の、異なる濃度のカプマチニブ（左）及びテポチニブ（右）による3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図87】図87は、EBC1細胞生存率に対する、抗INO1抗体「Ab」又は対照抗体「C-A b」と組み合わせた様々な濃度のカプチニブ（上）及びテポチニブ（左下）の3日間のインキュベーションの効果を示し、右下は、EBC1細胞におけるpMETシグナル伝達に対するテポチニブによる2時間のインキュベーションの効果を示す。

【図88】図88は、Hs746T細胞生存率に対する、抗INO1抗体「Ab」又は対照抗体「C-A b」と組み合わせた、異なる濃度のカプチニブ（左）及びテポチニブ（右）の3日間のインキュベーションの効果を示す。

【図89】図89は、単独で、及び抗INO1抗体と組み合わせた0.25nMのテポチニブ及びEGF（左）、並びに単独で、及び抗INO1抗体と組み合わせた0.75nMのテポチニブ及びEGF（右）によるインキュベーションのEBC1細胞生存率に対する長期効果を示す。

【図90】図90は、単独で、及び抗INO1抗体と組み合わせた0.5nMのテポチニブ及びEGF（左）、並びに単独で、及び抗INO1抗体と組み合わせた2.0nMのテポチニブ及びEGF（右）によるインキュベーションのHs746T細胞生存率に対する長期効果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0064】

本開示は、新生物を治療するための組成物及び方法を提供する。特に、本開示は、新生物（例えば、結腸腺癌及び非小細胞肺癌）を治療するための非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（NTKI）の有効性を増強するための組成物及び方法を提供する。特に、本開示は、EGFRエフェクターを標的とするNTKIと組み合わせて、EGF、EGFR又は他の成長因子に対する免疫化を誘導するための、非天然合成ポリペプチド（例えば、組換えタンパク質）及び／又は抗体を含む併用療法を提供して、NTKIに対する耐性を防止又は最小化し、それによって新生物（例えば、非小細胞肺癌及び腺癌）を阻害する。特に、本開示は、KRAS/NRAS、PIK3CA、又はBRAF遺伝子に変異を有する患者における癌の治療のために、1又は複数のNKTI、例えばトラメチニブ、タセリシブ、アルペリシブ、コパンリシブ、及び／又はエンコラフェニブと組み合わせて抗INO1抗体を投与するための組成物及び方法を提供して、NKTIに対する耐性を遅延又は防止する。

【0065】

本開示は、少なくとも部分的には、生理学的濃度の抗INO1抗体が、NTKIと組み合わせて、NTKIに対する耐性の発生を有意に遅延させ、NTKI単独と比較して癌細胞生存率を低下させ、NTKI単独よりもpEGFR及びpErk1/2の活性化を大幅に阻害したという発見に基づく。これらのデータは、EGF非天然合成ポリペプチド（NNSP）及び／又はその抗体が、EGFRエフェクターキナーゼ及びEGFR経路シグナル伝達の阻害におけるEGFRエフェクターNTKIの効果を有意に増強したことを実証している。1又は複数のNKTIと組み合わせたEGF非天然合成ポリペプチド及び／又は抗体によるKRAS/NRAS、PIK3CA、又はBRAF変異を示す患者の治療は、これらの化合物に対する耐性を遅延又は阻害するための重要な機構を提供し、それによって耐性癌の治療を促進する。

【0066】

野生型 E G F R エフェクタータンパク質（例えば、R A S、B R A F、M E K 及び P I K 3 C A）を有する患者は、E G F R を標的とするチロシンキナーゼ阻害剤（T K I）、例えばセツキシマブ及びエルロチニブで治療することができる。しかしながら、E G F R エフェクタータンパク質に変異を有する癌患者の大きなコホートが存在する。変異は、E G F R を標的化する T K I 及び下流タンパク質を標的化する他の非チロシン標的化キナーゼ阻害剤に対する耐性をもたらすことが多いため、これらの患者には、既存の治療は有効ではない。同様に、野生型 E G F R エフェクタータンパク質を有する患者における E G F R を標的とする T K I による治療は、癌遺伝子変異の選択のために耐性の発生をもたらすことが多い。したがって、T K I 及び他の非チロシン標的化キナーゼ阻害剤による既存の治療は、一部の患者において E G F R 経路を標的とする強力な抗腫瘍特性を示すが、耐性を示す患者ではそれほど強力でなくなるか、又は効果が完全でない。E G F R エフェクターキナーゼは、T K I 及び非チロシン標的化キナーゼ阻害剤に対する内因性及び獲得性の両方の耐性の機構として同定されているという点で、「バイパス経路」と呼ばれることがある。理論に拘束されるものではないが、E G F R シグナル伝達カスケード中の並行又は他のキナーゼが変異キナーゼを補償し、それによってより強い E G F R シグナル伝達効果を誘導すると考えられる。したがって、E G F R 又は同様の成長因子が媒介する疾患及び癌を効果的に治療するために、E G F R 経路非チロシン標的化キナーゼ阻害剤（N T K I）に対する耐性を克服するための更なる治療法が必要とされている。

10

#### 【0067】

そのような治療の 1 つは、免疫応答の開始である。例えば、E G F に対する抗体は、E G F R シグナル伝達を遮断することによって悪性細胞の分裂及び増殖を制御する。本開示は、N T K I に対する耐性を防止又は最小化し、それによって腫瘍細胞成長を阻害するための、E G F、E G F R 又は他の成長因子に対する免疫化における、及び E G F R エフェクターを標的とする N T K I と組み合わせた、非天然合成ポリペプチド（N N S P）及び／又はその抗体の併用療法を記載する。

20

#### 【0068】

いくつかの態様では、そのような抗体又はその抗原結合断片は、癌又は成長因子調節の他の障害を治療する方法で使用することができる。抗 E G F 抗体は、E G F に対する免疫応答を産生するワクチン（すなわち、I N O 1 ペプチド）の投与によって、インビボで活発に産生され得ることが本開示の範囲内で企図される。受動的モノクローナル抗 E F G 抗体を投与することができることも本開示の範囲内で企図される（例えば、抗 I N O 1）。いくつかの実施形態では、他の成長因子シグナル伝達経路における変異が、N T K I に対する耐性を提供することにおいて同様の代償的役割を果たし得ることが企図される。

30

#### 【0069】

##### 概要

癌免疫学は、免疫系と癌細胞、例えば腫瘍又は悪性腫瘍との間の相互作用の研究である。ヒト腫瘍によって発現され、正常組織では発現されない癌特異的抗原の認識などの免疫応答の開始は特に興味深い。一般に、悪性細胞の分裂及び増殖を制御する方法は、これらの抗原を単離し、それらを提示して、外来抗原として免疫系によって認識されて、特異的免疫応答を誘導することに焦点を当ててきた。

40

#### 【0070】

現在同定されている相当数の成長因子が存在し、すべてではないにしてもほとんどが、他の疾患状態に関与しているに加えて、様々な癌における細胞増殖の重要なメディエータであることが示されている。一般に、成長因子は、細胞表面に位置する一群の成長因子受容体を認識して結合する可溶性血清タンパク質である。特定の成長因子は、単一の受容体に特異的であり得るか、又は様々な親和性で 2 種以上の密接に関連する受容体に結合し得る。同様に、いくつかの受容体は、単一の成長因子リガンドにのみ結合するが、他の受容体は、同様に通常は異なる親和性で、複数の関連する成長因子に結合することができる。その天然の受容体に結合すると、受容体の細胞質ドメインがリン酸化され、これが細胞内シグナル伝達カスケードを開始させ、1 又は複数の遺伝子の転写の調節、並びに最終

50

的には細胞周期及び細胞増殖を通じた進行をもたらす。

#### 【0071】

成長因子及びそれらの受容体は、成長、発達及び修復の正常なプロセスの必須成分であり、それらの組織分布プロファイル及び発現レベルは細胞成長を密接に調節する。多数の研究が、成長因子がインビトロ及びインビボの両方で様々な細胞型の増殖を刺激することができることを示している (Cohen S., Carpenter G., PNAS USA 72, 1317, 1975, Witsch E et al: Physiology: 25 (2): 85-101, (2010))。更に、特定の成長因子は、いくつかの癌細胞株において増殖を刺激することが示されている。例えば、上皮成長因子 (EGF) は、いくつかの非小細胞肺癌細胞を刺激することができる (Osborne C. K. et al. Can Res. 40, 2.361 (1980))。血管内皮成長因子 (VEGF)、線維芽細胞成長因子 (FGF)、及び血小板由来成長因子 (PDGF) などの他の成長因子は、非小細胞肺癌 (NSCLC) (Ballas MS, Chachoua A., Onco Targets and Therapy: 4, 43-58 (2011))、前立腺癌 (Cox ME et al; Prostate 69 (1): 33-40 (2009))、及び乳癌 (Law J et al, Cancer Res; 68, 24: 10238-10346 (2008)) などのいくつかの腫瘍学的疾患において重要である。

10

#### 【0072】

本出願のいくつかの実施形態で使用されると予想される成長因子の核酸又はペプチド配列には、ヒト又はマウス EGF、IGF-1、IGF-2、FGF1、FGF2、TGF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF、D、PDGF、NGF、EGF、HGF、BMP、KGF、MSF、PDL1、IL's 1~6、ニューレグリン1~4、及びニューロトロフィンの全長又はその一部の核酸又はペプチド配列が含まれる。同様に、成長因子受容体の関連する全長又はその一部の核酸又はペプチド配列が使用され得ることが予想される。

20

#### 【0073】

##### EGFR

上皮成長因子受容体 (EGFR) は、受容体の ErbB ファミリーのメンバーであり、4つの密接に関連する受容体チロシンキナーゼのサブファミリーは、EGFR (ErbB-1)、HER2/neu (ErbB-2)、Her3 (ErbB-3) 及び Her4 (ErbB-4) である。EGFR は、上皮成長因子及びトランスフォーミング成長因子  $\alpha$  (TGF $\alpha$ ) を含むその特異的リガンドの結合によって活性化される膜貫通タンパク質である。

30

#### 【0074】

EGFR 二量体化は、その固有の細胞内タンパク質チロシンキナーゼ活性を刺激する。その結果、EGFR の C 末端ドメイン中のいくつかのチロシン (Y) 残基の自己リン酸化が起こる。これらには、Y992、Y1045、Y1068、Y1148 及び Y1173 が含まれる。EGFR の自己リン酸化は、いくつかの他のエフェクタータンパク質の下流活性化及びシグナル伝達を誘発し、いくつかのシグナル伝達カスケード、例えば MAPK、Akt 及び JNK 経路を開始し、DNA 合成及び細胞増殖を導く。EGFR エフェクターは、細胞遊走、接着及び増殖などの必須の表現型を調節する。

40

#### 【0075】

##### EGFR エフェクター

合計 219 の反応及び 322 の種が、EGFR シグナル伝達の下流、すなわち、EGFR エフェクターとして同定され、Abi、abl-interactor; ADAM、ディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ; ADPR、ADP-リボース; Akt、v-akt マウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子ホモログ; AP-1、活性化タンパク質-1; Bad、細胞死の BCL2 アンタゴニスト; cADPR、環状 ADP-リボース; CAK、サイクリン依存性キナーゼ活性化キナーゼ; CaM、カルモジュリン; CaMK、カルシ

50

ウム／カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ；c-Cbl、Casitas B系列リンパ腫癌原遺伝子；CD、分化クラスター；Cdc、細胞分裂周期；Cdk、サイクリン依存性キナーゼ；c-Fos、v-fos FBJマウス骨肉腫ウイルス癌遺伝子；Chk、c-srcチロシンキナーゼ（Csk）相同キナーゼ；c-Jun、v-jun肉腫ウイルス17癌遺伝子ホモログ；c-Myc、v-myc骨髄細胞腫症ウイルス癌遺伝子ホモログ；CREB、cAMP応答エレメント結合タンパク質；c-Src、v-src肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ；cyt、サイトゾル；DAG、ジアシルグリセロール；EGF、上皮成長因子；EGFR、上皮成長因子受容体；Elk、Ets様タンパク質；end、エンドソーム；EP、プロスタグランジンE受容体；Eps、EGF受容体経路基質；ER、小胞体；Erbb、赤芽球性白血病ウイルス（v-erb-b）癌遺伝子ホモログ；ERK、細胞外シグナル調節キナーゼ；Gab、GRB2関連結合タンパク質；GPCR、Gタンパク質共役受容体；Grb、成長因子受容体結合タンパク質；HB-EGF、ヘパリン結合EGF様成長因子；IP3R、イノシトール1，4，5三リン酸受容体；IP3、イノシトール1，4，5-三リン酸；JNK、c-Jun N末端キナーゼ；KDI、キナーゼドメインI；LARG、白血病関連rhoグアニンヌクレオチド交換因子；LIMK、LIM（Lin-11 Isl-1 Mec-3）キナーゼ；LPA、リゾホスファチジン酸；LPA1/2、リゾホスファチジン酸Gタンパク質共役受容体1/2；lyso、リソソーム；m、メッセンジャー；MAPK、マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ；MEKK、MAPK/ERKキナーゼキナーゼ；MKK、MAPキナーゼキナーゼ；MKP、MAPキナーゼホスファターゼ；MLK、混合系列キナーゼ；NAD、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド；nuc、核；PAK1、p21/Cdc42/Rac1活性化キナーゼ；PKC、3-ホスホイノシチド依存性タンパク質キナーゼ；PGE2、プロスタグランジンE2；Pi、リン酸イオン；PI3，4，5-P3、ホスファチジルイノシトール-3，4，5三リン酸；PI3，4-P2、ホスファチジルイノシトール-3，4-ビスホスファート；PI3K、ホスファチジルイノシトール-3-キナーゼ；PI4，5-P2、ホスファチジルイノシトール-4，5-ビスホスファート；PI4-P、ホスファチジルイノシトール-4-ホスファート；PI5K、ホスファチジルイノシトール-5-キナーゼ；PIP、ホスファチジルイノシトールポリホスファート；PKB、プロテインキナーゼB；PKC、プロテインキナーゼC；pl.m.、原形質膜；PLC、ホスホリパーゼC；PLD、ホスホリパーゼD；PP、タンパク質ホスファターゼ；PTB、ホスホチロシン結合ドメイン；PTEN、ホスファターゼ及びテンシンホモログ；Pyk、プロリンリッチチロシンキナーゼ；Rab5a、RAS関連タンパク質RAB5a；Raf、v-raf-1マウス白血病ウイルス癌遺伝子ホモログ；Ras、ラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ；RasGAP、Ras GTPase活性化タンパク質；Rb、網膜芽細胞腫；RGS、Gタンパク質シグナル伝達の調節因子；Rin、Ras相互作用；RN-tre、treのN末端に関連；RSK、リボソームタンパク質S6キナーゼ；RYR、リアノジン受容体；S、セリン；S1P、スフィンゴシン-1-ホスファート；S1P1/2/3、スフィンゴ脂質Gタンパク質共役受容体1/2/3；SERCA、筋小胞体カルシウムATPase；Shc、Src相同2ドメイン含有形質転換タンパク質；SHP、Shp-2チロシンホスファターゼ；SOS、son of sevenless homolog；SPRY、Sprouty；STAT、シグナル伝達及び転写活性化因子；T、トレオニン；TGFα、トランスフォーミング成長因子α；Ubc、ユビキチン結合酵素；Y、チロシン（Oda，Ket al. Molecular Systems Biology 2005）が挙げられる。したがって、EGFR及びその下流のエフェクターを標的とする抗体及びNTKIの併用療法は、広範囲の疾患及び障害に対する療法として役立ち得ることが予想される。

10

20

30

40

50

#### 【0076】

##### Rasタンパク質

Rasタンパク質は、ヒト癌において頻繁に変異する癌原遺伝子である。これらは、3つの遍在的に発現される遺伝子：HRAS、KRAS、及びNRASによってコードされ

る。これらのタンパク質は、増殖及び細胞生存を担う経路を調節する際の分子スイッチとして機能するGTPaseである。KRAS（カーステンラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ）変異は、すべてのヒト腫瘍の25%超に存在し、KRASは最も頻繁に活性化される癌遺伝子の1つである。過去四半世紀にわたる研究により、RASタンパク質が、細胞の増殖、分化、又は生存を制御するシグナル伝達ネットワークの必須成分として特性決定されてきた。ヒト腫瘍に頻繁に見られるH-RAS、N-RAS又はK-RAS遺伝子の発癌性変異は、これらのシグナル伝達経路の正常な結果のバランスを崩すことが知られており、したがって腫瘍発生を導く。RASシグナル伝達経路（膜RTK又はサイトゾルキナーゼを含む）の他の上流又は下流の多数の成分における発癌性変異が、様々な癌に関連してより最近になって検出されている。興味深いことに、発癌性RAS変異及びRAS/MAPKシグナル伝達経路の他の構成要素における変異は、ほとんどの腫瘍において相互に排他的な事象であるように思われ、RAS依存性シグナル伝達の調節解除が腫瘍形成の必須要件であることを示している。最後に、原因となる力ではないにしても、不完全なRASシグナル伝達は、糖尿病並びに免疫学的及び炎症性障害を含む多くの他のヒト疾患の一因として挙げられている。KRAS G12S、KRAS G12C、KRAS G13D、KRAS G12D、及びNRAS Q61Kは、とりわけ、癌腫の阻害されない成長及び細胞分裂を引き起こすことが知られている例示的な変異である。

10

【0077】

PIK3CA

ホスホイノシチドキナーゼ（PIK）は、ホスホイノシチドのイノシトール環をリン酸化する脂質キナーゼであり、したがってシグナルトランスデューサとして作用し、様々なヒト癌において変異している。炭水化物上のリン酸化部位に応じて、PIKは3つのファミリー、ホスホイノシチド3-キナーゼ（PI3K）、ホスホイノシチド4-キナーゼ（PIP4K）及びホスホイノシチド5-キナーゼ（PIP5K）に分類される。PIK3CAは、結腸直腸癌の32%、ヒト乳癌の40%、卵巣癌の12%、及び子宮頸内膜癌の36%において体細胞変異していると推定される。脳において、PIK3CA変異は、退形成乏突起膠腫の14%、GBMの5%、髄芽腫の5%、及び退形成星細胞腫の3%に見られる。PIK3CA E545Kは、癌の成長に寄与することが知られている例示的な変異である。

20

【0078】

BRAF

BRAF癌原遺伝子、セリン／トレオニンキナーゼは、細胞増殖、分化、及び転写調節を含む多くの細胞プロセスに関与している。BRAFは、すべての結腸腺癌、皮膚黒色腫、肺腺癌、黒色腫、及び甲状腺乳頭癌の5%で変化すると推定される。とりわけ、BRAFAF V600E及びBRAFG596Rは、癌腫の発生を促すことが知られている更なる例示的な変異である。

30

【0079】

EGFRの下流のKRAS、NRAS、PIK3CA及びBRAFタンパク質は、変異がEGFRを標的とするTKI及びEGFREフェクターを標的とするNTKIに対する耐性をもたらす例示的なタンパク質である。いくつかの実施形態では、他の成長因子シグナル伝達経路における変異が、NTKIに対する耐性を提供することにおいて同様の代償的役割を果たし得ることが企図される。

40

【0080】

合成タンパク質／分子

本開示は、免疫原性合成タンパク質／分子の要素としての最大数の成長因子エピトープ、腫瘍抗原エピトープ、及び／又は受容体結合部位の提示を改善するための均質な合成タンパク質／分子を提供する。例示的な一実施形態では、免疫原性の担体ドメイン（例えば、コレラ毒素B（CT-B））、合成上皮成長因子（sEGF）、及び／又は受容体の全部又は一部を発現する合成タンパク質／分子が記載される。代替の例示的な実施形態では、タンパク質は、既知の免疫原性タンパク質に基づいてモデル化された他の免疫原性の合

50

成又は組換えタンパク質／分子を発現することができる。そのような合成タンパク質／分子は、ヒト免疫系に対して高度に免疫原性であるポリペプチドを発現し得ることが本開示の範囲内で企図される。好ましくは、合成タンパク質／分子は、例えば、高い発現収率及び製造の容易さ、経口安定性及び腸から血流への交差能、並びに／あるいはヒトにおける事前の安全な使用などの追加の特性をキメラタンパク質に付与する。

#### 【0081】

例示的な実施形態では、本明細書に開示される合成タンパク質／分子は、単一の成長因子の全体若しくは一部の複数のコピー、又は2つ以上の異なる成長因子の全体若しくは一部のコピーとして成長因子エピトープを含むか、又は発現し得る。これらの成長因子エピトープは、天然に存在していてもよく、又は合成であってもよい（例えば、人工）。例えば、本明細書に記載の例示的な非天然合成タンパク質（NNSP）であるBVN22E（以下、INO1）は、約120kDの分子量を有し得る。INO1（配列番号2）は、2つの反復合成EGF（標的化シグナル伝達経路）（配列番号7）ドメイン、グリシン－セリン反復リンカー、及びCTB配列（配列番号9）からなる。例示的な実施形態では、本明細書に記載の成長因子エピトープは、成長因子内の1又は複数のドメイン（例えば、EGF標的化シグナル伝達経路（TSP）ドメイン）に対応し得る。

#### 【0082】

本開示によれば、発現された成長因子エピトープは、それらの天然の立体配座が実質的に保持され、エピトープに対する堅牢な宿主免疫応答を誘発するように宿主免疫系の成分に提示されることを可能にするような様式で折り畳まれるべきである。そのようなエピトープの折畳みは、合成タンパク質／分子内の1又は複数のドメインが適切に折り畳まれ、免疫応答を誘導する能力を支持する適切な天然タンパク質によって促進され得、限定されないが、コレラ毒素Bサブユニット、大腸菌熱不安定性LT及びLT－IIエンテロトキシシンBサブユニット、ベラトキシシン、百日咳毒素、C. ジェジュニ（C. jejuni）エンテロトキシシン、志賀毒素、リステリア毒素、破傷風トキソイド、ジフテリアトキソイド、髄膜炎菌（N. meningitidis）外膜タンパク質、バクテリオファージコートタンパク質、アデノウイルス及び他のウイルスコートタンパク質を含み得る。本明細書に記載されるように、全タンパク質に免疫原性を付与し、成長因子、受容体、腫瘍抗原又はそのエピトープの宿主免疫系への適切な折畳み及び提示を可能にする要件を満たす非天然合成ポリペプチド（例えば、BVN22E、INO1）を使用することができる。

#### 【0083】

本開示によれば、本明細書で提供される合成タンパク質／分子は、成長因子又はその一部、細胞受容体又はその一部、又は腫瘍抗原又はその一部にかかわらず、当該合成タンパク質内の腫瘍抗原として使用するための、慢性疾患、成長因子ベース又は受容体ベースの癌、及び／又は固形腫瘍に関与する広範囲の細胞経路に関連する。タンパク質は、合成タンパク質／分子の形態であり、慢性疾患、例えば、乳癌、肺癌、膀胱癌、卵巣癌、外陰癌、結腸癌、肺癌、脳癌、結腸直腸癌、腸癌、頭頸部癌、及び食道癌の治療に有用であり得る。

#### 【0084】

##### EGFRエフェクターNTKI化合物

本明細書に記載されるように、上記EGFRエフェクターNTKI化合物は、EGFRの下流のキナーゼを阻害し、特にシスプラチンなどのアルキル化剤と組み合わせて、非小細胞肺癌及び結腸腺癌などの新生物の治療に有用である。理論に拘束されることを望むものではないが、これらの併用療法は、新生物細胞がNTKIに対して耐性になる能力を低減又は排除するため、新生物細胞に対して特に有効であり得る。

#### 【0085】

ある特定の実施形態では、本発明の化合物は、EGFRエフェクターキナーゼの活性を少なくとも10%、25%、50%、75%、又は100%防止し、阻害し、又は破壊し、又は低下させることができる。

#### 【0086】

特定の実施形態では、本発明の化合物は、約1,300ダルトン未満、1000ダルトン未満、800ダルトン未満、600ダルトン未満、500ダルトン未満、400ダルトン未満、又は約300ダルトン未満の分子量を有する低分子である。本発明の化合物の例としては、本開示のEGFRエフェクターNTKI化合物が挙げられ、これには、限定されないが、トラメチニブ、タセリシブ、アルペリシブ、コパンリシブ、イディアリシブ、デュベリシブ、ブパルリシブ、ウムブラリシブ、PX-866ダクトリシブ、CUDC-907、ボクタリシブ(SAR245409、XL765)ME-401、IPI-549、SF1126、INK1117ピクチリシブ、XL147(SAR245408)、GSK1059615、ZSTK474、PWT33597、IC87114、TG100-115、CAL263、RP6503、GNE-477、AEZS-136、ベムラフェニブ、ダブラフェニブ、GDC-0879、PLX-4720コビメチニブ、ビメチニブ、セルメチニブ、PD-325901、PD035901、CI-1040、TAK-733、ペリホシン、パロミド529を含んでもよく、EGFR経路キナーゼを標的とする他の例示的な非チロシン標的化キナーゼ阻害剤(NTKI)である。  
【0087】

トラメチニブ(MW615.4g/mol)は、ミトゲン活性化タンパク質キナーゼキナーゼ(MEK MAPK/ERKキナーゼ)の経口で生体利用可能な阻害剤である。トラメチニブはMEK1及び2に特異的に結合して阻害し、様々な癌における成長因子媒介性細胞シグナル伝達及び細胞増殖の阻害をもたらす。MEK1及び2、二重特異性トレオニン/チロシンキナーゼは、様々な癌細胞型においてしばしば上方制御され、細胞増殖を調節するRAS/RAF/MEK/ERKシグナル伝達経路の活性化において重要な役割を果たす。トラメチニブは、FDA承認試験によって検出されるように、BRAF V600E又はV600K変異を有する切除不能又は転移性黒色腫の治療に適応される。トラメチニブはピリドピリミジンであり、既存の方法では、DMSOにおいて、BRAF V600E又はV600K変異を有する切除不能又は転移性黒色腫を有し、事前のBRAF阻害剤治療を受けていない患者を治療するために使用される。トラメチニブは容易に吸収される。BRAF V600変異陽性黒色腫の患者にトラメチニブを経口投与した場合、投与1.5時間後にピーク血漿中濃度が生じた(Tmax)。単回2mg経口用量は72%の生体利用率を有する。2mg/日の用量が投与される場合、ピーク血漿中濃度(Cmax)は22.2ng/mLである。トラメチニブは、主に脱アセチル化を介して単独で、又はモノ酸素化を伴って、又はインビトロでグルクロン酸抱合生体内変換経路と組み合わせて代謝される。脱アセチル化は、カルボキシルエステラーゼ又はアミダーゼなどの加水分解酵素によって媒介される可能性が高い。血漿中の主な循環構成要素は親薬物である。排出半減期=3.9~4.8日。IUPAC名：N-[3-[3-シクロプロピル-5-(2-フルオロ-4-ヨードアニリノ)-6,8-ジメチル-2,4,7-トリオキソピリド[4,3-d]ピリミジン-1-イル]フェニル]アセトアミド。  
【0088】

タセリシブ(MW460.5g/mol)は、クラスIのホスファチジルイノシトール3-キナーゼ(PI3K)αアイソフォーム(PIK3CA)の経口で生体利用可能な阻害剤である。タセリシブは、PI3K/Akt/mTOR経路においてPIK3CA及びその変異型を選択的に阻害し、PIK3CA発現腫瘍細胞における腫瘍細胞アポトーシス及び増殖阻害をもたらす。クラスIのPI3Kアルファを特異的に標的とすることにより、この薬剤は、panPI3K阻害剤よりも有効性が高く、毒性が低くなり得る。PI3K/Akt/mTOR経路の調節不全は、固形腫瘍において頻繁に見られ、腫瘍細胞の成長、生存、並びに化学療法及び放射線療法の両方に対する抵抗性の増加を引き起こす。クラスIのPI3Kのp110-α触媒サブユニットをコードするPIK3CAは、様々な癌細胞型において変異しており、癌細胞の成長及び浸潤において重要な役割を果たす。IUPAC名：2-メチル-2-[4-[2-(5-メチル-2-プロパン-2-イル-1,2,4-トリアゾール-3-イル)-5,6-ジヒドロイミダゾ[1,2-d][1,4]ベンゾオキサゼピン-9-イル]ピラゾール-1-イル]プロペンアミド。

## 【0089】

アルペリシブ (MW 441.5 g/mol) は、強力な抗腫瘍活性を有するホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (PI3K) 阻害剤である。アルペリシブは、増殖、生存、分化、及び代謝を含む様々な生物学的プロセスにおいて役割を果たす脂質キナーゼである PI3K の触媒サブユニットであるクラス I の PI3K p110 $\alpha$  を選択的に阻害することによって作用する。アルペリシブは、ヒト癌においてほぼ 30% の割合で変異していると思われるこの酵素を標的とし、過活性化をもたらすように設計された。アルペリシブは、2019 年 5 月に FDA によって承認され、閉経後の女性及び男性患者に対する、ホルモン受容体 (HR) 陽性、ヒト上皮成長因子受容体 2 (HER2) 陰性、PIK3CA 変異型、進行性又は転移性乳癌の治療に適応された最初に承認された PI3K 阻害剤である。既存の方法では、アルペリシブ治療を開始するために、組織及び／又は液体生検試料の採取における PIK3CA 変異の存在が、FDA 承認の診断テストによって必要とされる。アルペリシブは、商品名 Piqray で販売されており、経口錠剤として入手可能である。アルペリシブを服用している患者は、100 mg の用量を超える 200 mg の 1 日用量の 51% の利点、及び 150 mg を超える 1 日 2 回の 300 mg の 1 日 1 回の 22% の利点を伴って、治療による用量依存的な利益を経験する。より低い用量を必要とする患者は、1 日 2 回の投与から利益を得ることができる。アルペリシブの平均半減期は 8~9 時間である。IUPAC 名: (2S)-1-N-[4-メチル-5-[2-(1,1,1-トリフルオロ-2-メチルプロパン-2-イル)ピリジン-4-イル]-1,3-チアゾール-2-イル]ピロリジン-1,2-ジカルボキサミド。

10

20

## 【0090】

コパンリシブ (MW 480.5 g/mol) は、Bayer Healthcare Pharmaceuticals, Inc. によって最初に開発された選択的 pan-CLASS I のホスホイノシチド 3-キナーゼ (PI3K/ホスファチジルイノシトール-4,5-ビスホスファート 3-キナーゼ/ホスファチジルイノシチド 3-キナーゼ) 阻害剤である。この薬物は、細胞の成長及び生存を調節する役割を果たす酵素を標的とする。コパンリシブは、再発性濾胞性リンパ腫及び少なくとも 2 つの以前の全身療法の治療歴を有する成人患者の治療に対して、市場名 アリコパ として 2017 年 9 月 14 日に加速承認された。濾胞性リンパ腫は、リンパ球の制御されない増殖及び成長によって引き起こされる増殖の遅い種類の非ホジキンリンパ腫である。アリコパ 静脈内治療における有効成分は、コパンリシブ二塩酸塩である。コパンリシブは、様々な腫瘍細胞株及び異種移植片モデルにおいて強力な抗腫瘍活性及びアポトーシス促進活性を示した。臨床試験では、コパンリシブを受けている患者の 59% が、中央値 12.2 ヶ月後に腫瘍の完全な又は部分的な縮小を達成した。コパンリシブのより高い全身レベルは、血漿グルコースレベルの上昇に関連する。0.8 mg/kg における定常状態曝露後、コパンリシブの平均ピーク血漿中濃度 (C<sub>max</sub>) は 463 ng/mL であり、105~1670 ng/mL の範囲である。コパンリシブの幾何平均最終排出半減期は 39.1 時間 (範囲: 14.6~82.4; SD: 15.0) である。コパンリシブのインビトロヒト血漿タンパク質結合は 84.2% であり、アルブミンが主な結合タンパク質である。IUPAC 名: 2-アミノ-N-[7-メトキシ-8-(3-モルホリン-4-イルプロポキシ)-2,3-ジヒドロ-1H-イミダゾ [1,2-c] キナゾリン-5-イリデン]ピリミジン-5-カルボキサミド。

30

40

## 【0091】

エンコラフェニブ (MW 540 g/mol) は、BRAFTOVI としても知られており、キナーゼ阻害剤である。エンコラフェニブは、MAP キナーゼ/ERK シグナル伝達経路の調節において役割を果たす BRAF を阻害し、細胞分裂、分化及び分泌に影響を及ぼす。この遺伝子の変異、最も頻繁には V600E 変異は、黒色腫において最も一般的に同定されている癌原因変異であり、非ホジキンリンパ腫、結腸直腸癌、甲状腺癌、非小細胞肺癌、ヘアリー細胞白血病及び肺腺癌を含む様々な他の癌においても単離されている。2018 年 6 月 27 日に、食品医薬品局は、FDA 承認の試験によって検出された、BR

50

A F V 6 0 0 E 又は V 6 0 0 K 変異を有する切除不能又は転移性黒色腫を有する患者に対して、エンコラフェニブ及びビニメチニブ（B R A F T O V I 及び M E K T O V I , A r r a y B i o P h a r m a I n c . ）の併用を承認した。経口投与後、エンコラフェニブの T m a x 中央値は 2 時間である。用量の少なくとも 8 6 % が吸収される。見かけのクリアランスは 1 日目で 1 4 L / h （ 5 4 % ）であり、定常状態では 3 2 L / h （ 5 9 % ）に増加する。I U P A C 名は、メチル N - [ （ 2 S ） - 1 - [ [ 4 - [ 3 - [ 5 - クロロ - 2 - フルオロ - 3 - （メタンスルホンアミド）フェニル] - 1 - プロパン - 2 - イルピラゾール - 4 - イル] ピリミジン - 2 - イル] アミノ] プロパン - 2 - イル] カルバマートである。

【 0 0 9 2 】

「薬学的に許容される塩」という用語はまた、カルボン酸官能基などの酸性官能基及び薬学的に許容される無機又は有機塩基を有する本発明の化合物から調製される塩を指す。適切な塩基としては、限定されないが、ナトリウム、カリウム及びリチウムなどのアルカリ金属の水酸化物；カルシウム及びマグネシウム等のアルカリ土類金属の水酸化物；アルミニウム及び亜鉛などの他の金属の水酸化物；アンモニア、及び非置換又はヒドロキシ置換モノ、ジ、又はトリアルキルアミンなどの有機アミン；ジシクロヘキシルアミン；トリブチルアミン；ピリジン；Nメチル，Nエチルアミン；ジエチルアミン；トリエチルアミン；モノ、ビス、又はトリス（2ヒドロキシ低級アルキルアミン）、例えばモノ、ビス、又はトリス（2ヒドロキシエチル） - アミン、2ヒドロキシ t e r t ブチルアミン、又はトリス（ヒドロキシメチル）メチルアミン、N，N，ジ低級アルキル N（ヒドロキシ低級アルキル）アミン、例えば N，Nジメチル N（2ヒドロキシエチル） - アミン、又はトリ（2ヒドロキシエチル）アミン；Nメチル D グルカミン；及びアミノ酸、例えばアルギニン、リジンなどが挙げられる。「薬学的に許容され得る塩」という用語はまた、アミノ官能基などの塩基性官能基及び薬学的に許容される無機酸又は有機酸を有する本明細書に開示される化合物、例えば N S C - 3 0 0 4 9 から調製される塩を指す。適切な酸としては、限定されないが、硫酸水素、クエン酸、酢酸、シュウ酸、塩酸、臭化水素、ヨウ化水素、硝酸、リン酸、イソニコチン酸、乳酸、サリチル酸、酒石酸、アスコルビン酸、コハク酸、マレイン酸、ベシル酸、フマル酸、グルコン酸、グルカロン酸（g l u c a r o n i c a c i d）、糖酸、ギ酸、安息香酸、グルタミン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、及び p - トルエンスルホン酸が挙げられる。

【 0 0 9 3 】

アジュバント

本明細書で提供される特定の例示的な実施形態は、合成タンパク質／分子に加えて、アジュバント活性を有するそのような組成物の成分を指す少なくとも 1 つのアジュバントを含有する、ワクチン組成物及び免疫アジュバント組成物（医薬組成物を含む）内での本開示による合成タンパク質／分子の組成物及び使用方法を含む。そのようなアジュバント活性を有するアジュバントには、ヒト（例えば、ヒト患者）、非ヒト霊長類、哺乳動物又は認識された免疫系を有する別の高等真核生物などの対象に投与した場合に、免疫応答の効力及び／又は寿命を変化させる（すなわち、統計的に有意な様式で増加又は減少させる、特定の好ましい実施形態では、増強又は増加させる）ことができる組成物が含まれる。本明細書に開示される特定の例示的な実施形態では、所望の抗原及び／又は複数の抗原は、タンパク質担体内に含有され、任意選択的に 1 又は複数のアジュバントは、所望の抗原及び／又は複数の抗原に対する免疫応答を変化させる、例えば誘発又は増強することができ、その投与において同時に投与され得るか、又は時間的及び／又は空間的に分離され得る（例えば、異なる解剖学的部位で）が、特定の例示的な実施形態は、そのように限定されることを意図するものではなく、したがって、特定の抗原を含まないが、1 又は複数のコアジュバントであるイミダゾキンリン免疫応答調節剤も含み得るがこれらに限定されない組成物中の合成タンパク質／分子の投与も企図する。

【 0 0 9 4 】

医薬組成物

特定の例示的な実施形態では、医薬組成物は、本開示による合成タンパク質／分子の両方を含むワクチン組成物であり、本明細書で提供される1又は複数の構成要素を更に含み得、これは薬学的に許容される担体、賦形剤又は希釈剤と組み合わせて、TLRアゴニスト、コアダジュバント（例えば、サイトカイン、イミダゾキノリン免疫応答調節剤及び／又はdSLIMを含む）など及び／又は組換え発現構築物から選択される。

【0095】

例示的な担体は、使用される投与量及び濃度でレシipientに対して非毒性である。合成タンパク質／分子を含むワクチンの場合、約0.01 µg/kg～約100 mg/kg体重が、典型的には皮内、皮下、筋肉内又は静脈内経路によって、あるいは他の経路によって投与される。実施形態では、合成タンパク質／分子を含むワクチンは、約0.01～0.1 µg/kg～約95 mg/kg体重、又は約0.1～1.0 µg/kg～約90 mg/kg体重、又は約0.5～5.0 µg/kg～約80 mg/kg体重、又は約1.0～10.0 µg/kg～約60 mg/kg体重、又は約5.0～20.0 µg/kg～約50 mg/kg体重、又は約20～50 µg/kg～約25 mg/kg体重、又は約50～100 µg/kg～約20 mg/kg体重で投与される。他の実施形態では、この用量は、約1.5、10、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050、1100、1150、1200、1250、1300、1350、1400、1450、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2500、3000、3500、4000、4500、又は5000 µg/kg体重であり得る。

10

20

【0096】

投与の回数及び頻度が宿主の応答に依存することは、当業者には明らかであろう。治療的に使用するための「薬学的に許容される担体」は、製薬分野で周知であり、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985)に記載されている。例えば、生理的pHの滅菌生理食塩水及びリン酸緩衝生理食塩水を使用することができる。保存剤、安定剤、染料、更には香味剤が医薬組成物中に提供され得る。例えば、安息香酸ナトリウム、アスコルビン酸及びp-ヒドロキシ安息香酸のエステルを防腐剤として添加してもよい。更に、酸化防止剤及び懸濁化剤を使用してもよい。

30

【0097】

医薬組成物は、組成物を患者に投与することを可能にする任意の形態であり得る。例えば、組成物は、固体、液体又は気体（エアロゾル）の形態であってもよい。典型的な投与経路には、経口、局所、非経口（例えば、舌下又は頬側に）、舌下、直腸、膣及び鼻腔内（例えば、スプレーとして）が含まれるが、これらに限定されない。本明細書で使用される非経口という用語は、イオン導入ソノフォレーシス、受動経皮、マイクロニードル投与、並びに皮下注射、静脈内、筋肉内、胸骨内、空洞内、髄腔内、管内、尿道内、尿道内注射又は注入技術も含む。特定の実施形態では、本明細書に記載の組成物（ワクチン及び医薬組成物を含む）は、イオン導入、マイクロキャビテーション、ソノフォレーシス又はマイクロニードルから選択される技術によって皮内投与される。

40

【0098】

医薬組成物は、組成物を患者に投与する時に、その中に含まれる活性成分が生体利用可能になるように製剤化される。患者に投与される組成物は、1又は複数の投与単位の形態をとり、例えば、錠剤は、単一の投与単位であってもよく、エアロゾル形態の本発明の1又は複数の化合物の容器は、複数の投与単位を保持してもよい。

【0099】

経口投与の場合、賦形剤及び／又は結合剤が存在し得る。例は、スクロース、カオリン、グリセリン、デンプンデキストリン、アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロース及びエチルセルロースである。着色剤及び／又は香味剤が存在してもよい。コーティングシェルを使用することができる。

50

## 【0100】

組成物は、液体、例えばエリキシル、シロップ、溶液、エマルジョン又は懸濁液の形態であり得る。液体は、2つの例として、経口投与用又は注射による送達用であり得る。経口投与を意図する場合、好ましい組成物は、甘味剤、保存剤、色素／着色剤及び風味増強剤の1又は複数を含む。注射によって投与されることが意図される組成物には、界面活性剤、保存剤、湿潤剤、分散剤、懸濁化剤、緩衝剤、安定剤及び等張剤の1又は複数が含まれ得る。

## 【0101】

本明細書で使用される液体医薬組成物は、溶液、懸濁液又は他の同様の形態であるかどうかにかかわらず、以下の担体又は賦形剤の1又は複数を含み得る。滅菌希釈剤、例えば注射用水、生理食塩水、好ましくは生理的食塩水、リンゲル液、等張性塩化ナトリウム、スクアレン、スクアラン、鉱油、モノオレイン酸マンニド、コレステロールなどの固定油、並びに／あるいは溶媒若しくは懸濁媒体として機能し得る合成モノ若しくはジグリセリド、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又は他の溶媒；ベンジルアルコール、メチルパラベン等の抗菌剤；アスコルビン酸、亜硫酸水素ナトリウム等の酸化防止剤；エチレンジアミン四酢酸等のキレート剤；緩衝剤、例えば、アセタート、シトラート又はホスファート、及び張性を調整するための薬剤、例えば、塩化ナトリウム又はデキストロース。非経口製剤は、ガラス又はプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジ又は複数回投与バイアルに封入することができる。注射可能な医薬組成物は、好ましくは滅菌されている。

## 【0102】

特定の実施形態では、本発明の医薬組成物又はワクチン組成物は、0.2 µm未満の安定な水性懸濁液を含み、リン脂質、脂肪酸、界面活性剤、洗剤、サポニン、及びフッ素化脂質などからなる群から選択される少なくとも1つの構成要素を更に含む。

## 【0103】

限定されないが、アルミニウム塩、油中水型エマルジョン、生分解性オイルビヒクル、水中油型エマルジョン、生分解性マイクロカプセル及びリポソームを含む送達ビヒクルなどの他の構成要素をワクチン又は医薬組成物に含めることも望ましい場合がある。そのようなビヒクルにおいて使用するための更なる免疫刺激物質（コアジュバント）の例もまた上に記載されており、N-アセチルムラミル-L-アラニン-D-イソグルタミン（MDP）、グルカン、IL-12、GM-CSF、ガンマインターフェロン及びIL-12を含み得る。

## 【0104】

当業者に公知の任意の適切な担体を本発明の医薬組成物に使用することができるが、担体の種類は、投与様式及び持続放出が望まれるかどうかに応じて変化する。皮下注射などの非経口投与の場合、担体は、好ましくは水、生理食塩水、アルコール、脂肪、ワックス又は緩衝液を含む。経口投与のために、マンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、タルカム、セルロース、グルコース、スクロース及び炭酸マグネシウムなどの上記担体又は固体担体のいずれかを使用することができる。生分解性ミクロスフィア（例えば、ポリ乳酸ガラクトイド）もまた、本発明の医薬組成物のための担体として使用され得る。

## 【0105】

医薬組成物はまた、緩衝剤などの希釈剤、アスコルビン酸などの抗酸化剤、低分子量（約10残基未満）ポリペプチド、タンパク質、アミノ酸、グルコース、スクロース又はデキストリンを含む炭水化物、EDTAなどのキレート剤、グルタチオン並びに他の安定剤及び賦形剤を含む。非特異的血清アルブミンと混合された中性緩衝生理食塩水又は生理食塩水は、例示的な適切な希釈剤である。好ましくは、生成物は、希釈剤として適切な賦形剤溶液（例えば、スクロース）を使用して凍結乾燥物として製剤化され得る。

## 【0106】

例示的な実施形態では、合成タンパク質／分子のエピトープ又は受容体支持ドメインは

、天然又は合成ポリペプチド配列に由来するかどうかにかかわらず、適切な化学的／環境的条件下でオリゴマー多量体に自己集合する能力、又は代替的条件下でモノマーに還元される能力を有するべきである。理想的には、多量体化ドメインは、均一なサイズの生成物が生成されるように、離散的な (discrete) 数のサブユニット、例えば二量体、三量体、四量体、五量体などを有する安定な多量体に集合する。天然ポリペプチドの例としては、ロイシンジッパー、lacリプレッサタンパク質、ストレプトアビジン／アビジン、コレラ毒素Bサブユニット、シュドモナス三量体化ドメイン、及びウイルスカプシドタンパク質が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0107】

例示的な一実施形態では、前臨床試験で使用される抗EGF抗体は、Montanide アジュバントと共に製剤化された、内容が参照により全体が本明細書に組み込まれる、Manufacturing Process Development for an Epidermal Growth Factor-Based Cancer Vaccine, Rodriguez et al., (Supplement to BioPharm International October 2008に記載されるように、rEGF-rP64kコンジュゲート、CIMAvax-EGFワクチンによる免疫化によって能動的に産生される。EGF又はEGFRに対する免疫応答が生じる他のワクチン製剤が使用され得ることは、本開示の範囲内であると考えられる。また、他の成長因子又はそれらの受容体に対する免疫応答を生じるワクチンも使用され得ることも本開示の範囲内である。特に、内容がそれぞれ参照によりその全体が組み込まれる、国際公開第2013/076580号及び国際公開第2014/140894号に記載されているような免疫原性タンパク質を使用して、本開示による抗EGF抗体を産生することができる。

#### 【0108】

##### 治療用NTKI組成物の配合

新生物の治療のための非天然合成ポリペプチド (例えば、INO1) と組み合わせた化合物 (例えば、NKT1) の投与は、他の構成要素と組み合わせて、新生物の改善、低減又は安定化に有効な治療薬の濃度をもたらす任意の適切な手段によるものであり得る。化合物は、任意の適切な担体物質中に任意の適切な量で含有されてもよく、一般に、組成物の総重量の1～95重量%の量で存在する。組成物は、非経口 (例えば、皮下、静脈内、筋肉内、又は腹腔内) 投与経路に適した剤形で提供され得る。医薬組成物は、従来の製薬慣行 (例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20th ed.), ed. A. R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000 and Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, New York) に従って製剤化され得る。

#### 【0109】

当業者は、動物モデルと比較してヒトの投与量を修正することが当技術分野で日常的であることを認識しているため、ヒト投与量は、マウスに使用される化合物の量から外挿することによって最初に決定することができる。ある特定の実施形態では、投与量は、約1 µg化合物/kg体重～約5000mg化合物/kg体重、又は約5mg/kg体重～約4000mg/kg体重、又は約10mg/kg体重～約3000mg/kg体重、又は約50mg/kg体重～約2000mg/kg体重、又は約100mg/kg体重～約1000mg/kg体重、又は約150mg/kg体重～約500mg/kg体重の間で変動し得ることが想定される。他の実施形態では、この用量は、約1、5、10、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950、1000、1050、1100、1150、1200、1250、1300、1350、1400、1450、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2500、3000、3500、4000、4500、又は5000mg/kg体重であり得る

。他の実施形態では、用量は、約 5 mg 化合物 / Kg 体重 ~ 約 20 mg 化合物 / Kg 体重の範囲であり得ることが想定される。他の実施形態では、用量は、約 8、10、12、14、16 又は 18 mg / kg 体重であり得る。勿論のこと、この投与量は、最初の臨床試験の結果及び特定の患者の必要性に応じて、そのような治療プロトコルで日常的に行われるように、上方又は下方に調整することができる。

#### 【0110】

本発明による医薬組成物は、実質的に投与直後に、又は投与後の任意の所定の時間若しくは期間に活性化合物を放出するように製剤化され得る。後者のタイプの組成物は、一般に制御放出製剤として知られており、(i) 長期間にわたって体内で実質的に一定の濃度の薬物を生成する製剤と、(ii) 所定の遅延時間の後、長期間にわたって体内に実質的に一定の濃度の薬物を生成する製剤と、(iii) 活性物質の血漿中レベルの変動に関連する望ましくない副作用を付随して最小化しながら、体内で比較的一定の有効なレベルを維持することによって所定の期間中に作用を維持する製剤（鋸歯状動力学パターン）と、(iv) 例えば、胸腺に隣接するか又は胸腺と接触する制御放出組成物の空間的配置によって作用を局在化する製剤と、(v) 好都合な投与を可能にして、用量が、例えば、1 週間又は 2 週間に 1 回投与される製剤と、(vi) 担体又は化学誘導体を使用することによって新生物を標的として、特定の細胞型（例えば、新生物細胞）に治療薬を送達する製剤とを含む。いくつかの用途では、制御放出製剤は、血漿中レベルを治療レベルで維持するために日中に頻繁に投与する必要性をなくす。

#### 【0111】

放出速度が問題の化合物の代謝速度を上回る制御放出を得るために、いくつかの戦略のいずれかを追求することができる。一例では、制御放出は、例えば、様々なタイプの制御放出組成物及びコーティングを含む様々な製剤パラメータ及び成分の適切な選択によって得られる。したがって、治療薬は、適切な賦形剤と共に、投与時に制御された様式で治療薬を放出する医薬組成物に製剤化される。例としては、単一又は複数単位の錠剤又はカプセル組成物、油溶液、懸濁液、エマルジョン、マイクロカプセル、ミクロスフィア、分子複合体、ナノ粒子、パッチ及びリボソームが挙げられる。

#### 【0112】

本開示は投与の範囲を示唆しているが、当業者は、製品のラベルに記載されているような任意の治療有効用量が本開示の範囲内であることを理解するであろう。同様に、腫瘍学の分野における医師の理解及び知識に基づく任意の投薬が、本開示の範囲内で企図される。

#### 【0113】

##### 治療方法の選択

対象が新生物（例えば、NSLC 又は CRC）を有すると診断された後、治療方法が選択される。例えば、結腸直腸癌（CRC）では、多数の標準的な治療レジメンが利用可能である。一般に、CRC は、癌の最も侵襲性形態の 1 つであり、進行した CRC は、従来の治療方法の影響を受けるのは稀である。侵襲性 CRC については、利用可能な治療選択肢はほとんどなく、そのような腫瘍は、転移又は死亡などの臨床転帰不良と相関することが多い。侵襲性 CRC を有する対象は、トラメチニブ、タセリシブ、アルペリシブ、コパンリシブ及び／又はエンコラフェニブと組み合わせた、INO1 の非天然合成ポリペプチド（NNSP）又はその抗体を含む本発明の組成物による治療から利益を得る可能性が高いと同定される。したがって、本発明は、対象のための治療を選択するための方法を提供し、方法は、CRC などの侵襲性新生物、又は侵襲性形態の NSLC 若しくは膠芽腫を有するとして対象を同定することと、本発明の治療的併用を対象に投与することを含む。

#### 【0114】

新生物（例えば、結腸癌、肺癌、及び脳癌、例えば膠芽腫）を有する対象が良好な臨床転帰を有すると同定された場合であっても、その対象は、本発明の方法による治療から利益を得る可能性もある（例えば、より低い副作用）。本発明の方法が、新生物が非常に侵襲性であることを示す場合、積極的な治療方法を選択すべきである。積極的治療レジメン

は、典型的には、以下の療法：根治的乳房切除術、放射線療法、ホルモン療法、及び化学療法の中の1又は複数を含む。上記方法は、本明細書に記載される治療方法と組み合わせ、特に再発しやすい膵臓癌の治療のために使用され得る。

【0115】

1又は複数の腫瘍抗原、合成成長因子、及び／又は受容体を発現又は組み込む均質な合成タンパク質／分子が、特定の実施形態に関連して記載及び例示されているが、多くの変形及び修正が当業者には明らかであり、本開示の趣旨及び範囲から逸脱することなく行われ得る。したがって、本開示は、そのような変形及び修正が本開示の範囲内に含まれることが意図されているため、上記の方法又は構成の正確な詳細に限定されるべきではない。

【0116】

NTKIトラメチニブ、タセリシブ、アルペリシブ、コパンリシブ、及び／又はエンコラフェニブに対するINO1の非天然合成ポリペプチド（NNSP）又はその抗体の任意の投与順序が、患者の治療において好ましい場合があると考えられる。例えば、NTKI、例えばトラメチニブ、タセリシブ、アルペリシブ、コパンリシブ、及び／又はエンコラフェニブを投与する前に、INO1の非天然合成ポリペプチド又はその抗体を投与することが有益であり得る。INO1の非天然合成ポリペプチド又はその抗体を投与する前に、トラメチニブ、タセリシブ、アルペリシブ、コパンリシブ、及び／又はエンコラフェニブを投与することも有益であり得る。

【0117】

「減少させる」、「低減する」、「低減される」、「低減」、「減少」及び「阻害する」という用語はすべて、本明細書では一般に、基準と比較して統計的に有意な量の減少を意味するために使用される。しかし、誤解を避けるために、「低減する」、「低減」又は「減少」又は「阻害する」は、典型的には、参照レベルと比較して少なくとも10%の減少を意味し、例えば、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%以下の減少含むことができ、例えば、参照レベルと比較した所与の実体又はパラメータの完全な欠如、又は所与の治療の欠如と比較した10～99%の間の任意の減少に匹敵し、それを含む。

【0118】

「増加した」、「増加する」又は「向上する」又は「活性化する」という用語はすべて、本明細書では、静的に有意な量の増加を一般に意味するために使用され、疑いを避けるために、「増加した」、「増加する」又は「向上する」又は「活性化する」という用語は、参照レベルと比較して少なくとも10%の増加、例えば、参照レベルと比較して少なくとも約20%、又は少なくとも約30%、又は少なくとも約40%、又は少なくとも約50%、又は少なくとも約60%、又は少なくとも約70%、又は少なくとも約80%、又は少なくとも約90%まで、又は最大100%又はそれを含む増加、あるいは10～100%の任意の増加、又は参照レベルと比較して少なくとも約2倍、又は少なくとも約3倍、又は少なくとも約4倍、又は少なくとも約5倍、あるいは少なくとも約10倍の増加、あるいは2倍～10倍以上の任意の増加を意味する。

【0119】

本明細書で使用される「単離」又は「部分的に精製された」という用語は、核酸又はポリペプチドの場合、その天然供給源で見出されるように、その核酸又はポリペプチドと一緒に存在するか、並びに／あるいは細胞によって発現されるか、又はポリペプチドの場合、分離される時、その核酸又はポリペプチドと一緒に存在するであろう、少なくとも1つの他の構成要素の核酸又はポリペプチドから分離された核酸又はポリペプチドを指す。化学的に合成された核酸若しくはポリペプチド、又はインビトロ転写／翻訳を使用して合成されたものは、「単離」と考えられる。「精製」又は「実質的に精製された」という用語は、対象の核酸又はポリペプチドの少なくとも95重量%（例えば、少なくとも96%、

10

20

30

40

50

少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99% 又はそれを超えるものを含む)である単離された核酸又はポリペプチドを指す。

#### 【0120】

本明細書で使用される場合、「タンパク質」及び「ポリペプチド」という用語は、隣接する残基の  $\alpha$ -アミノ基とカルボキシ基との間のペプチド結合によって他方に連結された一連のアミノ酸残基を指すために本明細書で互換的に使用される。本明細書で互換的に使用される「タンパク質」及び「ポリペプチド」という用語は、そのサイズ又は機能にかかわらず、修飾アミノ酸(例えば、リン酸化、糖化、グリコシル化など)及びアミノ酸類似体を含むタンパク質アミノ酸のポリマーを指す。「タンパク質」及び「ポリペプチド」は、比較的大きなポリペプチドに関して使用されることが多いのに対して、「ペプチド」という用語は、小さなポリペプチドに関して使用されることが多いが、当技術分野におけるこれらの用語の使用は重複する。「タンパク質」及び「ポリペプチド」という用語は、コードされた遺伝子産物及びその断片を指す場合に、本明細書では互換的に使用される。したがって、例示的なポリペプチド又はタンパク質には、遺伝子産物、天然に存在するタンパク質、ホモログ、オルソログ、パラログ、断片、並びに前述のものの他の等価物、バリエーション、断片、及び類似体が含まれる。

10

#### 【0121】

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の可変領域内の少なくとも 1 つの抗原認識部位を介して、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質などの標的を認識し、特異的に結合する任意の免疫グロブリン分子を含む。本明細書で使用される場合、抗体が所望の生物学的活性を示す限り、この用語は最も広い意味で使用され、インタクトなポリクローナル抗体、インタクトなモノクローナル抗体、抗体断片(例えば、Fab、Fab'、F(ab')サブ、2、及びFv断片等)、一本鎖Fv(scFv)変異体、少なくとも 2 つのインタクトな抗体から生成された二重特異性抗体などの多重特異性抗体、抗体部分を含む融合タンパク質、及び抗原認識部位を含む任意の他の修飾免疫グロブリン分子を包含する。抗体は、それぞれアルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ及びミューと呼ばれるそれらの重鎖定常ドメインの同一性に基づいて、免疫グロブリンの 5 つの主要クラス、IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgM、又はそのサブクラス(アイソタイプ)(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2)のいずれかであり得る。異なるクラスの免疫グロブリンは、異なる周知のサブユニット構造及び三次元構成を有する。抗体は、そのままであるか、又は細胞毒、毒素、放射性同位元素などの他の分子に結合させることができる。抗体は、インビボでそれらを能動的に産生することによって、又はモノクローナル抗体を受動的に投与することによって投与され得る。

20

30

#### 【0122】

本明細書で互換的に使用される「ポリヌクレオチド、」又は「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、DNA及びRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチド若しくは塩基、及び／又はそれらの類似体、又はDNA若しくはRNAポリメラーゼによって、又は合成反応によってポリマーに組み込むことができる任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びそれらの類似体などの修飾ヌクレオチドを含み得る。

40

#### 【0123】

「抗体」(Ab)及び「免疫グロブリン」(Ig)は、同じ構造的特徴を有する糖タンパク質である。抗体は特定の抗原に対する結合特異性を示すが、免疫グロブリンには、抗体及び一般に抗原特異性を欠く他の抗体様分子の両方が含まれる。後者の種類のポリペプチドは、例えば、リンパ系によって低レベルで産生され、骨髄腫によって高レベルで産生される。

#### 【0124】

「抗体」及び「免疫グロブリン」という用語は、最も広い意味で互換的に使用され、モノクローナル抗体(例えば、完全長又はインタクトなモノクローナル抗体)、ポリクロー

50

ナル抗体、一価多価抗体、多重特異性抗体（例えば、所望の生物学的活性を示す限り、二重特異性抗体）を含み、特定の抗体断片も含み得る（本明細書でより詳細に説明するように）。抗体は、キメラ、ヒト、ヒト化及び／又は親和性成熟であり得る。

【0125】

重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、抗体（免疫グロブリン）を異なるクラスに割り当てることができる。免疫グロブリンには5つの主要なクラス、IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMがあり、これらのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えばIgG-1、IgG-2、IgA-1、IgA-2などに更に分割され得る。異なるクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれα、δ、ε、γ及びλと呼ばれる。異なるクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造及び三次元構成は周知であり、一般に、例えば、Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. (2000)に記載される。抗体は、抗体と1又は複数の他のタンパク質又はペプチドとの共有結合又は非共有結合によって形成される、より大きな融合分子の一部であり得る。

10

【0126】

「完全長抗体」、「インタクトな抗体」及び「全抗体」という用語は、本明細書では互換的に使用され、以下に定義する抗体断片ではなく、実質的にインタクトな形態の抗体を指す。この用語は、特に、Fc領域を含有する重鎖を有する抗体を指す。

【0127】

「抗体断片」は、インタクトな抗体の一部のみを含み、その部分は、インタクトな抗体中に存在する場合、好ましくは、その部分と通常関連する機能の少なくとも1つ、好ましくはほとんど又はすべてを保持する。一実施形態では、抗体断片は、インタクトな抗体の抗原結合部位を含み、したがって抗原に結合する能力を保持する。別の実施形態では、抗体断片、例えばFc領域を含むものは、インタクトな抗体中に存在する場合にFc領域と通常関連する生物学的機能、例えばFcRn結合、抗体半減期調節、ADCC機能及び補体結合の少なくとも1つを保持する。一実施形態では、抗体断片は、インタクトな抗体と実質的に同様のインビボ半減期を有する一価抗体である。例えば、そのような抗体断片は、断片にインビボ安定性を付与することができるFc配列に連結された抗原結合アームを含み得る。

20

【0128】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量存在し得る天然に存在する可能性のある変異を除いて、本質的に同一のアミノ酸配列を含む。モノクローナル抗体は非常に特異的であり、単一の抗原に対して向けられる。更に、典型的には異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は抗原上の単一の決定基に対するものである。

30

【0129】

本明細書におけるモノクローナル抗体は、所望の生物学的活性を示す限り、重鎖及び／又は軽鎖の一部が、特定の種に由来する抗体又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一又は相同であり、鎖（複数可）の残りが、別の種に由来する抗体又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一又は相同である、「キメラ」抗体、並びにそのような抗体の断片を特異的に含む（米国特許第4,816,567号；及びMorrisson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)）。

40

【0130】

「ヒト抗体」は、ヒトによって産生される抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有するもの、及び／又は本明細書中に開示されるようなヒト抗体を作製するための技術のいずれかを使用して作製されたものである。ヒト抗体のこの定義は、具体的には、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を除外する。

【0131】

50

本明細書で使用される「腫瘍」は、悪性又は良性にかかわらず、すべての新生物細胞の成長及び増殖、並びにすべての前癌性及び癌性の細胞及び組織を指す。「癌」、「癌性」、「細胞増殖性障害」、「増殖性障害」及び「腫瘍」という用語は、本明細書で言及されるように相互に排他的ではない。

【0132】

「癌」及び「癌性」という用語は、典型的には調節されていない細胞成長／増殖を特徴とする哺乳動物における生理学的状態を指すか又は説明する。癌の例には、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病が含まれるが、これらに限定されない。上記癌のより具体的な例には、扁平上皮癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、腹膜の癌、肝細胞癌、胃腸癌、膵臓癌、膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肝細胞癌、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜又は子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、肝臓癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝癌及び様々な種類の頭頸部癌が含まれる。

10

【0133】

本明細書で使用される場合、「治療」とは、治療されている個体又は細胞の自然経過を変化させようとする臨床的介入を指し、予防のために、又は臨床病理の経過の間に行われ得る。治療の望ましい効果には、疾患の発生又は再発の予防、症状の緩和、疾患の直接的又は間接的な病理学的結果の減少、炎症及び／又は組織／器官損傷の予防又は減少、疾患進行速度の低下、疾患状態の改善又は緩和、並びに寛解又は予後の改善が含まれる。いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、疾患又は障害の発症を遅延させるために使用される。

20

【0134】

「医薬賦形剤」は、製薬技術分野で一般的に利用されるもの、特に「Handbook of excipients」, (Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey, Paul J. Weller – 4<sup>th</sup> Edition, 2003)に見出されるものを意味するものとし、その内容はその全体が組み込まれる。

【0135】

本発明の物質／分子の「治療有効量」は、個体の疾患状態、年齢、性別、及び体重、並びに個体において所望の応答を誘発する物質／分子の能力などの因子に従って変動し得る。治療有効量はまた、治療的に有益な効果が、物質／分子の任意の毒性又は有害作用にまさる量である。「予防有効量」は、所望の予防結果を達成するために、必要な投与量及び期間において有効な量を指す。必ずしもそうとは限らないが、典型的には、予防用量が疾患の前又は初期段階で対象に使用されるため、予防有効量は治療有効量よりも少ないであろう。

30

【0136】

「化学療法剤」は、癌の治療に有用な化合物である。化学療法剤の例としては、チオテパ及びCYTOXAN（登録商標）シクロホスファミドなどのアルキル化剤；ブスルファン、インブrosulfan及びピボsulfan等のアルキルスルホナート；ベンゾドパ、カルボコン、メトレドパ、及びウレドパ等のアジリジン類；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド及びトリメチロロメラミンを含むエチレンイミン及びメチルアメラミン；アセトゲニン（特にブラタシン及びブラタシノン）； $\delta$ -9-テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、MARINOL（登録商標））；ベターラパコン；ラパコール；コルヒチン；ベツリン酸；カンプトテシン（合成類似体トポテカン（HYCAMTIN（登録商標））、CPT-11（イリノテカン、CAMP TOSAR（登録商標））、アセチルカンプトテシン、スコボレクチン、及び9-アミノカンプトテシンを含む）；プリオスタチン；カリスタチン；CC-1065（そのアドゼレシン、カルゼレシン及びビゼレシン合成類似体を含む）；ポドフィロトキシシン；ポドフィリン酸；テニポシド；クリプトフィシン（特にクリプトフィシン1及びクリプトフィシン8）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成類似体、KW-2189及びCB1-TM1を含む）；エレウテロピン；パンクラチスタチン；サルコジクチン；スポンギスタチン；クロラムブシル、クロルナファジン、クロロフォスファミド

40

50

、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベンピチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロフォスファミド、ウラシルマスタード等のナイトロジェンマスタード類；カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及びラニムスチン等のニトロスレアス；エンジン系抗生物質（例えば、カリケアマイシン、特にカリケアマイシガンマルⅠ及びカリケアマイシンオメガイル（例えば、Agnew, Chem Intl. Ed. Eng l., 33:183-186 (1994)を参照されたい）；ダイネマイシンAを含むダイネマイシン；エスプメラミシン（espmemicin）；並びにネオカルジノスタチン発色団及び関連する色素タンパク質エンジンアンチバイオティック発色団）、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン、6-ジアゾ-5-オキソ-1-ノルロイシン、ドキシソルピシン（ADRIAMYCIN（登録商標）、モルホリノードキシソルピシン、シアノモルホリノードキシソルピシン、2-ピロリノードキシソルピシン、ドキシソルピシンHC1リボソーム注射剤（DOXIL（登録商標））及びデオキシドキシソルピシンを含む）、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシンC等のマイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン（potfiromycin）、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルピシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメックス、ジノスタチン、ゾルピシン；メトトレキサート、ゲムシタピン（GEMZAR（登録商標））、テガフル（UFTORAL（登録商標））、カペシタピン（XELODA（登録商標））、エポチロン、及び5-フルオロウラシル（5-FU）などの代謝拮抗剤；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサートなどの葉酸類似体；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジンなどのピリミジン類似体；カルステロン、ドロモスタノールオンプロピオナート、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン等のアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン等の抗副腎物質；フロリン酸等の葉酸補充剤；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ピサントレン；エダトラキサート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジコン；エルホルニチン；酢酸エリブチニウム；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシン及びアンサミトシンなどのメイタンシノイド；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモル；ニトラエリン（nitraerine）；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン；ロソキサントロン；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK（登録商標）多糖複合体（JHS Natural Products, Eugene, Oreg.）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；2, 2', 2-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特にT-2毒素、ベラクリンA、ロリジンA及びアングイジン）；ウレタン；ビンデシン（ELDISINE（登録商標）、FILDISEIN（登録商標））；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ara-C」）；チオテパ；タキソイド、例えばパクリタキセル（TAXOL（登録商標））、パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子製剤（ABRAXANETM）、及びドセタキセル（TAXOTERE（登録商標））；クロランブシル；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン及びカルボプラチンなどの白金類似体；ビンブラスチン（VELBAN（登録商標））；白金；エトポシド（VP-16）；ifosulfamid；ミトキサントロン；ピンクリスチン（ONCOVIN（登録商標））；オキサリプラチン；ロイコボピン；ビノレルビン（NAVELBINE（登録商標））；ノバントロン；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；イバンドロネート；トポイソメラーゼ阻害剤RFS2

10

20

30

40

50

000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイン酸などのレチノイド；上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸又は誘導体；並びにシクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン及びプレドニゾロンの併用療法の略語であるCHOP、並びに5-FU及びロイコポビンと組み合わせたオキサリプラチン（ELOXATINTM）による治療レジメンの略語であるFOLFOXなどの上記のうちの2つ以上の組み合わせが挙げられる。

#### 【0137】

「患者応答」は、患者に対する利益を示す任意のエンドポイントを使用して評価することができ、それには、限定するものではないが、（1）緩慢化及び完全停止を含む、疾患進行のある程度の阻害、（2）疾患エピソード及び／又は症状の数の減少、（3）病変サイズの縮小、（4）隣接する末梢臓器及び／又は組織への疾患細胞浸潤の抑制（すなわち、減少、減速又は完全停止）、（5）疾患拡散の阻害（すなわち、減少、減速又は完全停止）、（6）必ずしもそうである必要はないが、疾患病変の退縮又は消失をもたらし得る、細胞増殖、浸潤又は転移の減少、（7）障害に関連する1又は複数の症状のある程度の緩和、（8）治療後の無病提示の長さの増加、及び／又は（9）治療後の所与の時点における死亡率の低下が含まれる。

#### 【0138】

「組織又は細胞試料」とは、対象又は患者の組織から得られた類似の細胞の集合を意味する。組織又は細胞試料の供給源は、新鮮な、凍結された、及び／又は保存された臓器又は組織試料あるいは生検又は吸引物からの固体組織；血液又は任意の血液成分；脳脊髄液、羊水、腹水、間質液等の体液；対象の妊娠又は発達の任意の時点からの細胞であり得る。組織試料はまた、初代細胞又は培養細胞又は細胞株であり得る。場合により、組織又は細胞試料は、疾患組織／器官から得られる。組織試料は、保存剤、抗凝固剤、緩衝剤、固定剤、栄養素、抗生物質などの天然では組織と混合されない化合物を含有し得る。

#### 【0139】

癌に対する所与の治療の有効性は、当業者によって決定することができる。しかし、治療は、例えば腫瘍の徴候又は症状のいずれか1又はすべてが有益な様式で変化するか、又は他の臨床的に許容される症状が改善されるか、又は例えば本明細書に記載の薬剤による治療後に少なくとも10%でも改善される場合、用語が本明細書で使用されるように、「有効な治療」と見なされる。有効性はまた、入院又は医学的介入の必要性によって評価されるように、個体が悪化しないこと（すなわち、疾患の進行が停止される）によって測定され得る。これらの指標を測定する方法は、当業者に知られており、及び／又は本明細書に記載されている。疾患の治療のための有効量とは、それを必要とする哺乳動物に投与した場合に、その疾患について、その用語が本明細書で定義されるような有効な治療をもたらすのに十分な量を意味する。薬剤の有効性は、例えば癌の物理的指標、例えば腫瘍サイズ、腫瘍質量、腫瘍密度、血管新生、腫瘍増殖速度などを評価することによって決定することができる。更に、薬剤の有効性は、本明細書に記載の抗体若しくはその抗原結合部分、又は本明細書に記載の抗体若しくはその抗原結合部分をコードする核酸を含む薬剤で治療されている対象における循環MICペプチド又はその断片の減少によって測定することができる。

#### 【0140】

キット又は医薬システム

本組成物は、新生物（例えば、CRC又はNSLC）の改善に使用するためのキット又は医薬システムに組み立てることができる。本発明のこの態様によるキット又は医薬システムは、バイアル、チューブ、アンプル、ボトルなどの1又は複数の容器手段を内部に密接に閉じ込めた、箱、カートン、チューブなどのキャリア手段を含む。本発明のキット又は医薬システムはまた、本発明の薬剤を使用するための関連する説明書を含み得る。本発明のキットは、少なくとも1又は複数のアルキル化剤（例えば、シスプラチン、並びにINO1非天然合成ポリペプチド及び／又は抗INO1抗体と組み合わせてEGFRエフェクターキナーゼに結合し、それによってEGFR及びMEKタンパク質の両方の活性を低

下させる少なくとも1又はそれを超える薬剤、例えばトラメチニブを含む。所望であれば、キットはまた、リボヌクレオチドレダクターゼ（RR）に結合し、ヌクレオチド合成を減少させる薬剤（例えば、ゲムシタビン）を含む。キットは、EGFRエフェクターキナーゼに結合する1又は複数の薬剤、例えばトラメチニブと組み合わせたアルキル化剤を、INO1非天然合成ポリペプチド（NNSP）及び／又は抗INO1抗体と組み合わせて投与し、EGFR及びMEKタンパク質の両方の活性を低下させ、それにより、単独で投与されたアルキル化剤の有効性と比較してアルキル化剤の有効性を増加させるための説明書を含み得る。アルキル化剤の有効性を測定するための方法は当技術分野で公知であり、本明細書に記載されている（例えば、IC50の測定）。

#### 【0141】

本発明の実施は、特に明記しない限り、分子生物学（組換え技術を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学及び免疫学の従来技術を使用し、これらは十分に当業者の範囲内である。そのような技術は、文献、例えば、「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」, second edition (Sambrook, 1989); 「Oligonucleotide Synthesis」 (Gait, 1984); 「Animal Cell Culture」 (Freshney, 1987); 「Methods in Enzymology」, 「Handbook of Experimental Immunology」 (Weir, 1996); 「Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells」 (Miller and Calos, 1987); 「Current Protocols in Molecular Biology」 (Ausubel, 1987); 「PCR: The Polymerase Chain Reaction」, (Mullis, 1994); 「Current Protocols in Immunology」 (Coligan, 1991) で十分に説明されている。これらの技術は、本発明のポリヌクレオチド及びポリペプチドの製造に適用可能であり、したがって、本発明の作製及び実施において考慮され得る。特定の実施形態のための特に有用な技術は、以下のセクションで説明される。

#### 【0142】

本開示の実施形態の説明は、網羅的であること、又は本開示を開示された正確な形態に限定することを意図するものではない。本開示の特定の実施形態及び例は、例示目的で本明細書に記載されているが、当業者が認識するように、本開示の範囲内で様々な同等の修正が可能である。本明細書で提供される開示の教示は、必要に応じて他の手順又は方法に適用することができる。本明細書に記載の様々な実施形態を組み合わせ、更なる実施形態を提供することができる。本開示の態様は、必要に応じて、上記の参考文献及び出願の組成物、機能及び概念を用いて、本開示の更に別の実施形態を提供するように修正することができる。これら及び他の変更は、詳細な説明に照らして本開示に対して行うことができる。

#### 【0143】

前述の実施形態のいずれかの特定の要素は、他の実施形態の要素と組み合わせるか、又は置き換えることができる。更に、本開示の特定の実施形態に関連する利点をこれらの実施形態の文脈で説明してきたが、他の実施形態もそのような利点を示すことができ、すべての実施形態が本開示の範囲内に入るためにそのような利点を必ずしも示す必要はない。

#### 【実施例】

#### 【0144】

本開示は、以下の実施例によって更に説明されるが、これらは限定として解釈されるべきではない。すべての参考文献、GenBankアクセッション番号及び遺伝子番号、並びに本出願を通して引用された公開特許及び特許出願の内容は、参照により本明細書に組み込まれる。当業者は、本開示が、開示された構造、材料、組成物及び方法に対する変形を用いて実施され得、そのような変形が本開示の範囲内にあると見なされることを認識するであろう。

## 【実施例 1】

## 【0145】

抗 I N O 1 抗体 N T K I 併用療法に対する D L D 1 ( G 1 3 D K R A S ) 及び L S 1 7 4 T ( G 1 3 D K R A S ) K R A S 変異細胞株の応答

抗 I N O 1 ( B V N 2 2 E ) 抗体は、2つの反復合成 E G F 標的化シグナル伝達経路 ( 配列番号 7 ) ドメイン、グリシンーセリンリピートリンカー、及び C T B 配列 ( 配列番号 2 5 ) からなる配列番号 2 から開発した。抗 I N O 1 抗体は、癌細胞の成長を阻害するために、E G F R 下流エフェクターを標的とする非チロシン標的化キナーゼ阻害剤と組み合わせて使用するために開発した。この実施例では、K R A S に G 1 3 D 突然変異及び P I K 3 C A に E 5 4 5 K 突然変異を保有する K R A S 突然変異保有細胞株 D L D 1、並びに K R A S に G 1 2 D 突然変異及び P I K 3 C A に突然変異を保有する L S 1 7 4 T を使用した ( 図 1 及び図 4 3 ) 。

10

## 【0146】

図 2 ～図 6 は、D L D 1 細胞におけるトラメチニブと組み合わせた抗 I N O 1 抗体の効果を示す。E G F R のリン酸化は、抗 I N O 1 抗体によって強力に阻害される。抗 I N O 1 抗体とトラメチニブとの組み合わせは、p E G F R 及び p E R K 1 / 2 活性化に対する有意な効果があるという点で、トラメチニブ単独の効果を増強する ( 図 6 ) 。併用療法はまた、p S T A T 3 及び p A K T に対して顕著な効果を有する ( 図 6 ) 。図 2 9 及び図 4 9 は、トラメチニブに対する耐性が経時的に発現するが、抗 I N O 1 抗体によって低下することを示す。図 4 5 は、D L D 1 細胞が、タセリシブ及びトラメチニブに対する同様の細胞シグナル伝達応答を示すことを表す。図 4 6 は、抗 I N O 1 抗体が、トラメチニブ又はタセリシブのいずれかと組み合わせて D L D 1 細胞の細胞生存率を大きく低下させることを示す。

20

## 【0147】

図 3 3、図 3 4、図 4 7、及び図 4 8 は、フローサイトメトリーによって評価されるように、S 期及び G 2 / M 期の D L D 1 細胞の数が、抗 I N O 1 及びトラメチニブ併用療法によって減少し、アポトーシスにある D L D 1 細胞の数が増加したことを示す ( 図 3 0 ) 。

## 【0148】

図 7 ～図 1 1 は、L S 1 7 4 T 細胞におけるトラメチニブと組み合わせた抗 I N O 1 抗体の効果を示す。D L D 1 細胞における細胞生存率に対する効果と比較して、併用療法は L S 1 7 4 T 細胞においてあまり顕著ではない。しかし、p A k t、p E G F R 及び p E r k 1 / 2 の活性化が、L S 1 7 4 T 細胞においてほぼ完全に阻害される ( 図 1 0 ) 。特に、図 5 3 に示されるように、トラメチニブ耐性は、抗 I N O 1 抗体が L S 1 7 4 T 細胞株において同時投与されると時に有意に遅延される。

30

## 【0149】

注目すべきことに、抗 I N O 1 抗体は、これらの K R A S 変異細胞株に対する E G F の刺激効果を一貫して逆転させる。示されるように、E G F は K R A S 細胞株の成長を刺激するが、抗 I N O 1 抗体は、トラメチニブ又はタセリシブと組み合わせて、E G F 誘導細胞成長を阻害し、非チロシン標的化キナーゼ阻害剤に対する耐性を遅延させる。

40

## 【実施例 2】

## 【0150】

抗 I N O 1 抗体 N T K I 併用療法に対する A 5 4 9 ( G 1 2 S K R A S ) 及び H C C 1 5 ( Q 6 1 K N R A S ) R a s 変異細胞株の応答

抗 I N O 1 ( B V N 2 2 E ) 抗体は、2つの反復合成 E G F 標的化シグナル伝達経路 ( 配列番号 7 ) ドメイン、グリシンーセリンリピートリンカー、及び C T B 配列 ( 配列番号 2 5 ) からなる配列番号 2 から開発した。抗 I N O 1 抗体は、癌細胞の成長を阻害するために、E G F R 下流エフェクターを標的とする非チロシン標的化キナーゼ阻害剤と組み合わせて使用するために開発した。本実施例では、K R A S G 1 2 S 変異を有する A 5 4 9 細胞株、及び N R A S に Q 6 1 K 変異を有する H C C 1 5 細胞株を使用した。

50

## 【0151】

図31及び図32は、フローサイトメトリーによって評価されるように、S期及びG2/M期のA549細胞の数が、抗IN01及びトラメチニブ併用療法によって減少し、アポトーシスにあるA549細胞の数が増加したことを示す。図66、図68、図72及び図73は、HCC15細胞における、トラメチニブ単独の効果、及び抗IN01抗体との併用の効果を示し、ここで、抗IN01抗体は、細胞生存率を低下させることにおけるトラメチニブの効果を増強する。

## 【実施例3】

## 【0152】

抗IN01抗体NTKI併用療法に対するHT29(V600E BRAF)及びH508(G596R BRAF及びE545K PIK3CA)変異細胞株の応答

抗IN01(BVN22E)抗体は、2つの反復合成EGF標的化シグナル伝達経路(配列番号7)ドメイン、グリシン-セリンリピートリンカー、及びCTB配列(配列番号25)からなる配列番号2から開発した。抗IN01抗体は、癌細胞の成長を阻害するために、EGFR下流エフェクターを標的とする非チロシン標的化キナーゼ阻害剤と組み合わせて使用するために開発した。この実施例では、BRAF及びPIK3CA変異を有するHT29及びH508細胞を使用した(図43、図63、及び図74)。

## 【0153】

図12、図13及び図54～図56は、抗IN01抗体と組み合わせて使用した場合のエンコラフェニブのトラメチニブによるHT29細胞の細胞生存率の低下を示す。図14～図22、図57～図62、図72、図73及び図75～図77は、抗IN01抗体とのトラメチニブ、タセリシブ、アルペリシブ、及びコパンリシブによるH508細胞及びHT29細胞の細胞生存率の低下を示す。図18及び図19は、抗IN01抗体と組み合わせたタセルシブによる細胞生存率の効果的な阻害が、現在の患者治療の濃度より低い濃度で達成されたことを特に実証している。図14はまた、トラメチニブと組み合わせた抗IN01抗体が、HT29細胞においてトラメチニブ単独よりもpEGFR及びpErk1/2活性化の阻害を強く増強したことを示す。

## 【0154】

図20は、PIK3CA阻害剤であるアルペリシブ及びコパンリシブがpAktを阻害するが、pEGFR又はpErk1/2シグナル伝達に影響を及ぼさないことを示す。しかし、図21は、これらの阻害剤が、タセリシブの場合と同様の抗IN01抗体との組み合わせで細胞生存率に対する効果を示すことを表す。同様に、抗IN01抗体は、低濃度でアルペリシブ又はコパンリシブ単独よりもH508細胞生存率に対して大きな効果を有していた(図22)。これらの結果は、タセリシブがより標的化され、おそらくより効果的な腫瘍成長阻害を提供することを示している。

## 【0155】

タセリシブはPIK3CAを標的とし、エンコラフェニブはBRAFを標的とするが、トラメチニブはMEK阻害剤である。特に抗IN01抗体と組み合わせて、細胞増殖及びEGFRエフェクターシグナル伝達の減少を達成することにおけるPIK3CA、BRAF及びKRAS阻害剤の同様の効果は、EGFRの下流の複数の経路を標的とすることが、癌の治療においてより多くの治療選択肢及びより高い有効性を実証することを示している。

## 【実施例4】

## 【0156】

抗IN01抗体TKI併用療法に対するPC9/PC9GR4(EGFRのエクソン19欠失)変異細胞株の応答

抗IN01(BVN22E)抗体は、2つの反復合成EGF標的化シグナル伝達経路(配列番号7)ドメイン、グリシン-セリンリピートリンカー、及びCTB配列(配列番号25)からなる配列番号2から開発した。抗IN01抗体は、癌細胞の成長を阻害するために、EGFRを標的とするチロシン標的化キナーゼ阻害剤と組み合わせて使用するため

に開発した。この実施例では、PC9／PC9GR細胞を使用した。

【0157】

図27及び図28は、抗IN01抗体を細胞に共投与した場合、オシメルチニブ及びダコチニブに対する耐性の発現が低下したことを示す。

【実施例5】

【0158】

抗IN01抗体TKI併用療法に対するH228及びH3122 EML4-ALK転座変異細胞株の応答

抗IN01 (BVN22E) 抗体は、2つの反復合成EGF標的化シグナル伝達経路 (配列番号7) ドメイン、グリシン-セリンリピートリンカー、及びCTB配列 (配列番号25) からなる配列番号2から開発した。抗IN01抗体は、癌細胞の成長を阻害するために、EGFRを標的とするチロシン標的化キナーゼ阻害剤ブリガチニブと組み合わせて使用するために開発した。この実施例では、H228及びH3122細胞を使用した。

【0159】

図35及び図36は、フローサイトメトリーによって評価されるように、抗IN01抗体と組み合わせたブリガチニブに対する応答におけるG2／M期H2228細胞及びH3122細胞の減少をそれぞれ示す。

【0160】

図42は、H228細胞における抗IN01抗体の患者力価に対するシグナル伝達応答を示す。

【実施例6】

【0161】

抗IN01抗体／TKI併用療法に対するLC-2／ad (RET転座) 変異細胞株の応答

RET癌原遺伝子の機能獲得は、甲状腺髄様癌、多発性内分泌腺腫症2A型及び2B型、褐色細胞腫及び副甲状腺過形成を含む様々なタイプのヒト癌の発症に関連する。RETは、EGF誘導によりEGFRの下流でリン酸化される。EGFはRET細胞株の成長を刺激するが、抗IN01抗体は、LC-2／ad (RET転座) 細胞におけるこの効果のBLU667阻害を有意に増強した (図78～図81)。

【実施例7】

【0162】

抗IN01抗体患者力価に対するSW900 wt KRAS／wt ALK細胞株応答

図38～図41は、抗IN01抗体の異なる患者力価に対するSW900細胞のシグナル伝達応答を示しており、抗IN01ペプチド (配列番号2) を使用する能動免疫化が、細胞分裂及び生存率の低下をもたらすことが知られている、EGFR及び下流のシグナル伝達に対して有意な効果を有することを実証している。

【実施例8】

【0163】

抗上皮成長因子ワクチン抗体は、非小細胞肺癌細胞株におけるキナーゼ阻害剤 (TKI) の抗腫瘍活性を増加させる

MET増幅及びMETエクソン14欠失 (METΔex14) を有する進行NSCLC患者は、METチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) による治療から利益を得る。RASファミリー遺伝子に変化がある患者では、標的療法はまだ承認されておらず、NSCLCにおけるトラメチニブなどのMEK阻害剤の試験は臨床的利益を示すことができなかった。本明細書では、ワクチン接種によって生成された抗体 (抗EGF抗体) は、インビトロで増殖する上皮成長因子受容体変異体 (EGFR-mut)、ALK及びRET転座細胞におけるEGFR TKIの効果を増強し、EGFR TKIに対する耐性の出現を予防した。目的は、MET及びNRASの変化を有する細胞株における抗EGF VacAb、MET TKI、MEK阻害剤及び併用の効果を決定することであった。

【0164】

10

20

30

40

50

ウサギにおいて抗EGF VacAbを生成し、精製し、滴定した。細胞株を、MET増幅、METΔex14及びNRAS変異NSCLC細胞株（EBC-1、Hs746T及びHCC15）において、抗EGF VacAb単独で、及びMET阻害剤及びMEK阻害剤と組み合わせて処理した。細胞生存率及び長期成長曲線を、MTT、ウェスタンブロットによる総タンパク質及びリン酸化タンパク質の変化、フローサイトメトリーによる細胞周期及びアポトーシス効果、並びに低密度培養物における直接顕微鏡検査による耐性の出現によって決定した。

#### 【0165】

抗EGF抗体は、試験したすべての細胞株において、EGF及びTGFα誘導性細胞増殖を抑制し、EGFRリン酸化及び下流ERKシグナル伝達を阻害した。組み合わせて、抗EGF抗体は、EBCにおけるカプマチニブ及びテポチニブ、並びにHCC15細胞におけるHs746T及びトラメチニブの抗腫瘍活性を有意に増強した。これらの細胞株において、ウェスタンブロットは、抗EGF抗体と試験した阻害剤との組み合わせがEGFR下流経路を効果的に抑制したことを実証した。これらの効果を更に調べるために、細胞周期実験を行った。EGFの添加は、予想通り、S+G2/Mの細胞数を有意に増加させたが、抗EGF抗体及び阻害剤はこの刺激を逆転させた。

#### 【実施例9】

#### 【0166】

MET増幅及びMETex14細胞株におけるTKI阻害剤であるテポチニブ及びカプマチニブと組み合わせた抗IN01抗体

抗IN01（BVN22E）抗体は、2つの反復合成EGF標的化シグナル伝達経路（配列番号7）ドメイン、グリシン-セリンリピートリンカー、及びCTB配列（配列番号25）からなる配列番号2から開発した。この実施例では、MET増幅及びMETエクソン14欠失を有するEBC1及びHs746T細胞株を使用した（図82）。

#### 【0167】

EBC1及びHs746Tの短期細胞生存率を、（図83～図88）EGF、抗IN01抗体、「Ab」並びに様々な濃度のカプマチニブ及びテポチニブの存在下で試験した。EBC1細胞におけるpMET、pEGFR、pAkt及びpErk1/2活性化に対するテポチニブ、並びにEBC1細胞におけるpMETシグナル伝達に対するテポチニブの異なる濃度の効果も観察した（図85及び図87）。

#### 【0168】

0.75nM及び0.25nMのテポチニブ、EGF、及び抗IN01抗体とのインキュベーションのEBC1細胞生存率に対する長期効果もまた、EBC1細胞において観察された。

#### 【0169】

2.0nM及び0.5nMのテポチニブ、EGF、及び抗IN01抗体とのインキュベーションのEBC1細胞生存率に対する長期効果が、Hs746T細胞において観察された。

#### 【0170】

要約すると、上皮成長因子受容体（EGFR）の活性化を阻害する抗IN01抗体は、腫瘍細胞の成長及び生存率を調節するEGFRの下流の細胞シグナル伝達を減少させることによって、特に、NTKI単独と比較してNTKIに対する耐性の開始を遅延させることによって、限定されないが、トラメチニブ、タセリシブ、アルペリシブ、コパンリシブ、及びエルロチニブを含むEGFREフェクタータンパク質を標的とするNTKIの効果を有意に増強することが示された。したがって、NTKIと組み合わせたIN01非天然合成ポリペプチド（NNSP）及び／又はその抗体に由来する患者療法は、これまで治療することができなかった癌を減少させるか又は根絶する可能性を有する。非チロシン標的化キナーゼ阻害剤と組み合わせて使用される他の成長因子及びそれらの受容体に対する抗体は、NTKIの効果を同様に増強し、耐性の開始を遅延させることが更に企図される。

#### 【0171】

参照による組込み

本明細書で引用又は参照されるすべての文書、及び本明細書で引用された文書において引用又は参照されたすべての文書は、本明細書で言及される任意の製品又は参照により本明細書に組み込まれる任意の文書についての任意の製造者の指示、説明、製品仕様、及び製品シートと共に、参照により本明細書に組み込まれ、本開示の実施に使用され得る。

【0172】

同等物

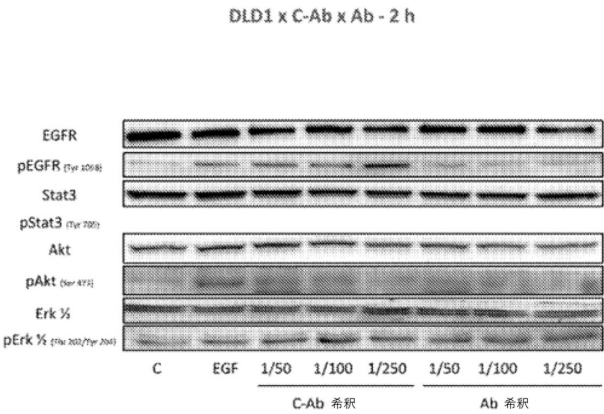
本明細書に記載された詳細な例及び実施形態は、例示のみを目的として例として与えられており、決して本開示を限定すると見なされないことが理解される。その観点から様々な修正又は変更が当業者に示唆され、本出願の趣旨及び範囲内に含まれ、添付の特許請求の範囲内にあると考えられる。本開示のシステム、方法、及びプロセスに関連する追加の有利な特徴及び機能は、添付の特許請求の範囲から明らかになるであろう。更に、当業者は、本明細書に記載の開示の特定の実施形態に対する多くの均等物を認識するか、又は日常的な実験のみを使用して確認することができるであろう。そのような均等物は、以下の特許請求の範囲に包含されることが意図されている。

【図面】

【図1】

| 細胞株    | 起源        | KRAS 変異                  |
|--------|-----------|--------------------------|
| A549   | 肺腺癌 NSCLC | G12S                     |
| H23    | 肺腺癌 NSCLC | G12C                     |
| DLD1   | 直腸腺癌      | G13D, また PIK3CA 変異及び P53 |
| LS174T | 直腸腺癌      | G12D, また PIK3CA 変異       |

【図2】



10

20

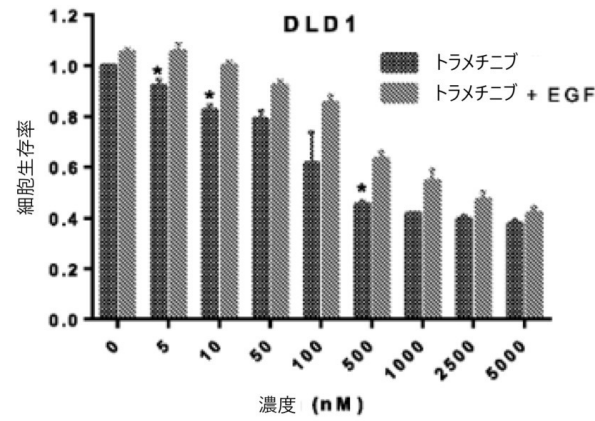
30

40

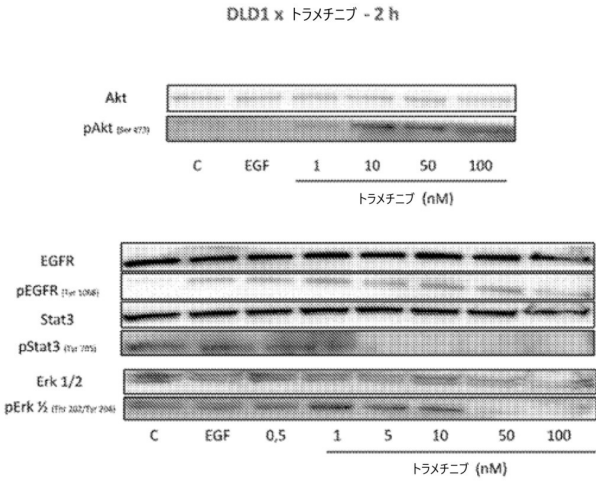
50

【図 3】

DLD1細胞株におけるトラメチニブ活性でのEGFの効果



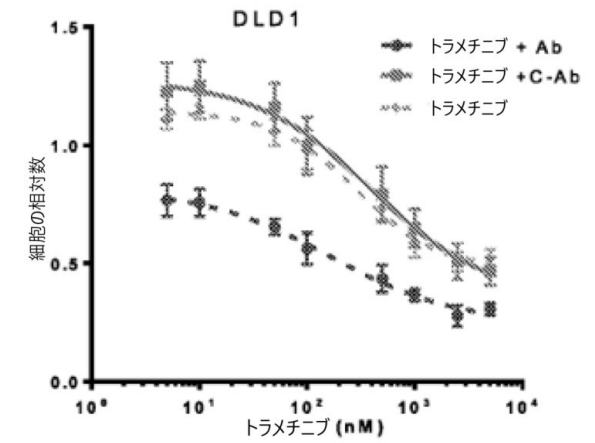
【図 4】



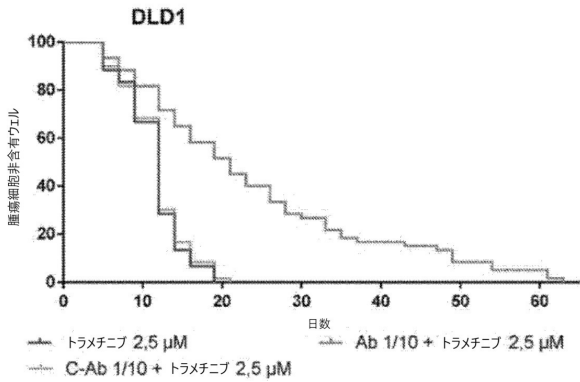
10

【図 5 A】

DLD1細胞株におけるAb及びトラメチニブの併用



【図 5 B】

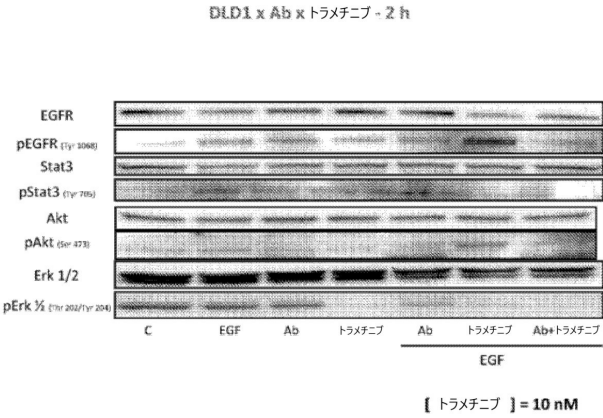


30

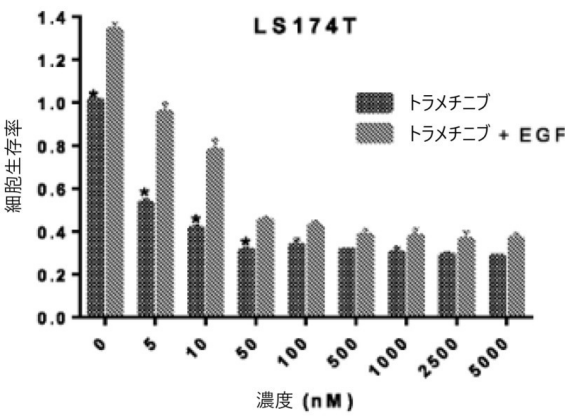
40

50

【図 6】

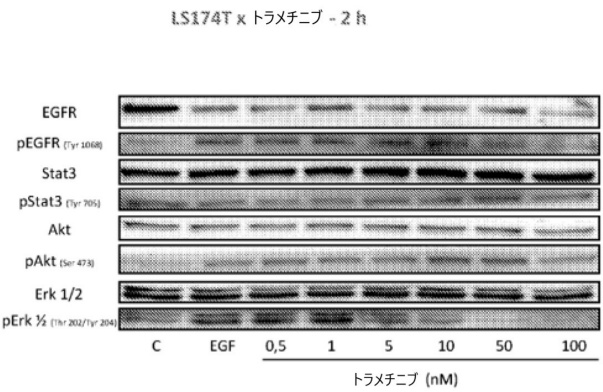


【図 7】



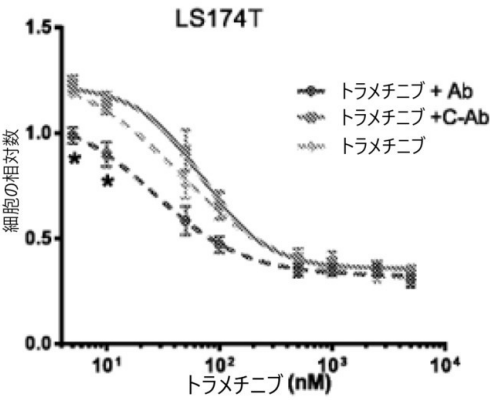
10

【図 8】



【図 9】

LS174T細胞株におけるAb及び ترامチニブの併用



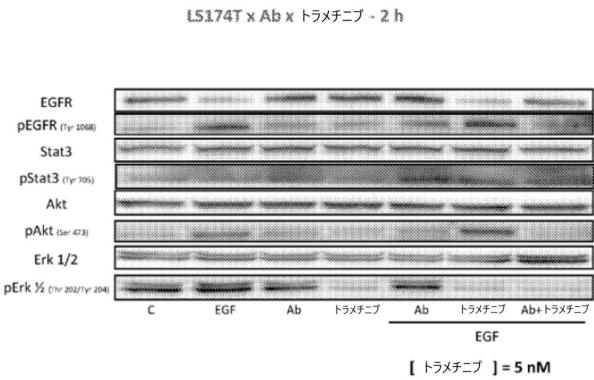
20

30

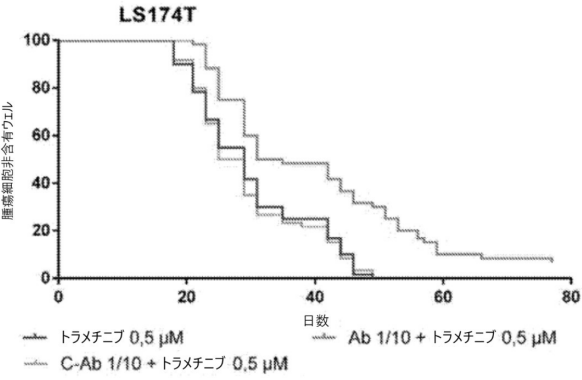
40

50

【図 1 0】

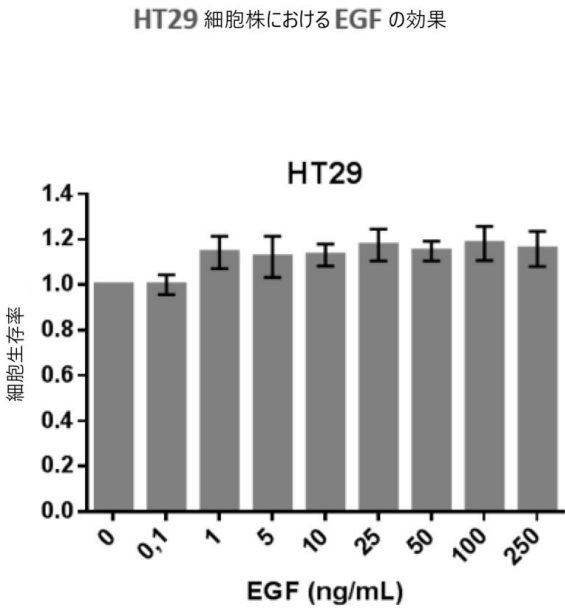


【図 1 1】

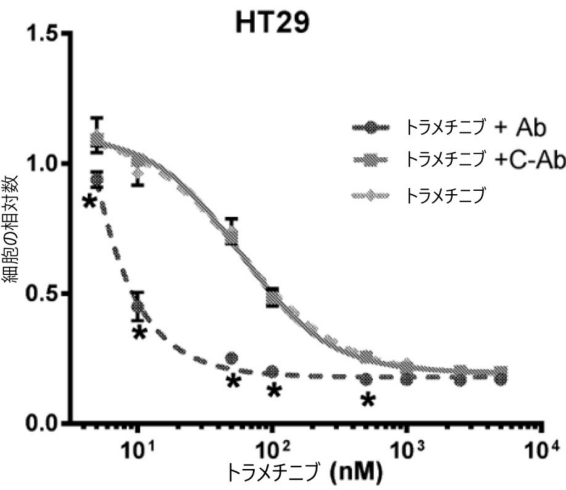


10

【図 1 2】



【図 1 3 A】



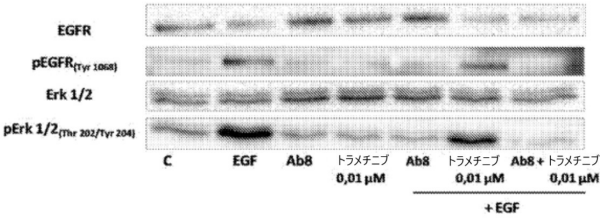
20

30

40

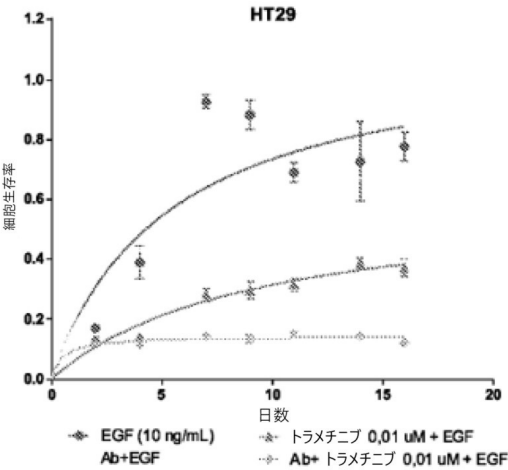
50

【図 1 3 B】



【図 1 3 C】

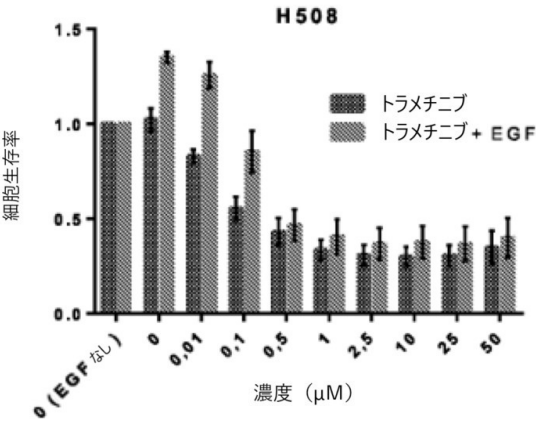
14日のHT29における抗EGF VacAb との併用のトラメチニブの成長曲線



10

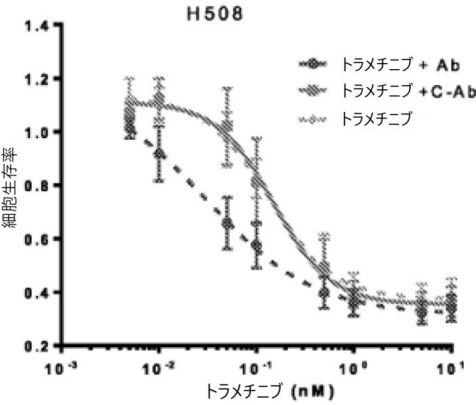
【図 1 4】

H508細胞株におけるトラメチニブの活性に対するEGFの効果



【図 1 5】

H508細胞株における抗EGF VacAb 及びトラメチニブの併用



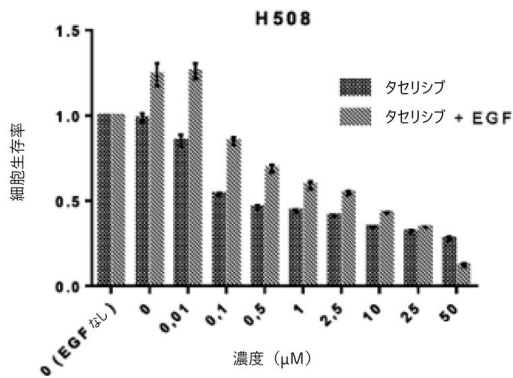
30

40

50

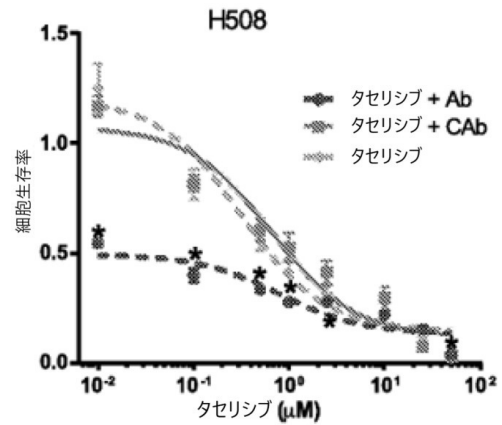
【図 1 6】

H508細胞株におけるタセリシブの活性に対するEGFの効果



【図 1 7】

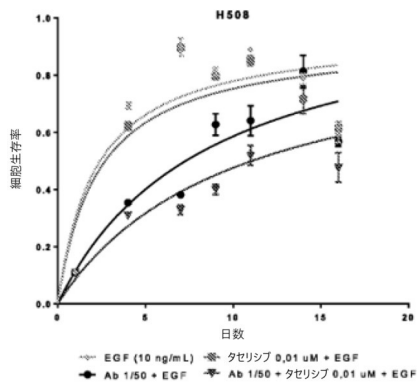
H508細胞株における抗EGF VacAb 及びタセリシブの併用



10

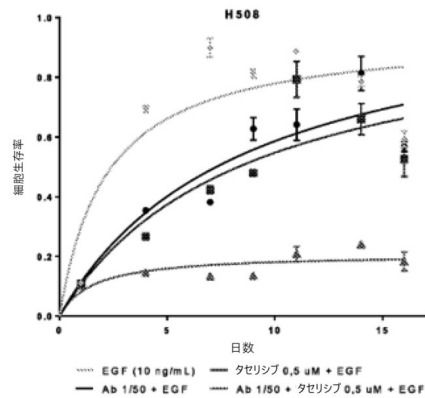
【図 1 8】

14日のH508における抗EGF VacAb との併用のタセリシブ0.01 μMの成長曲線



【図 1 9】

14日のH508における抗EGF VacAb との併用のタセリシブ0.5 μMの成長曲線



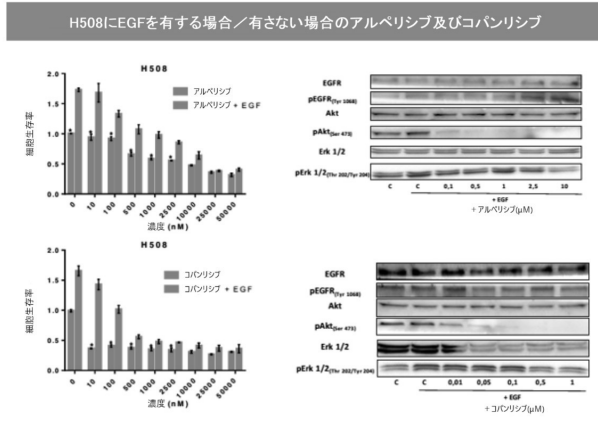
20

30

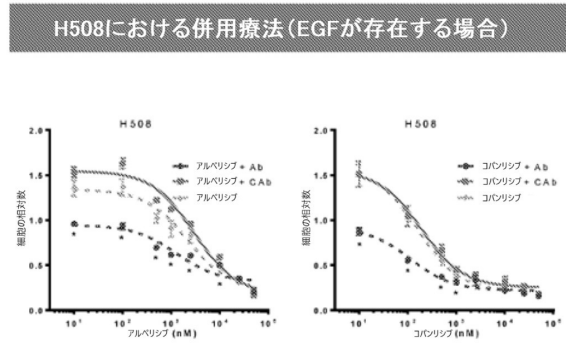
40

50

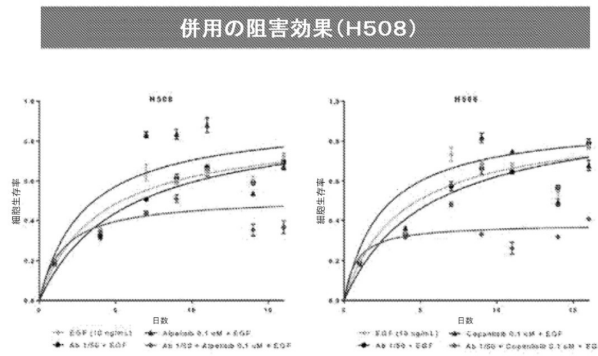
【図 20】



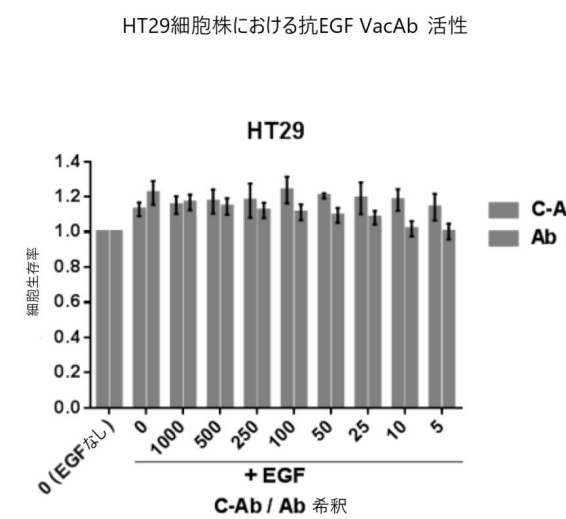
【図 21】



【図 22】



【図 23】



10

20

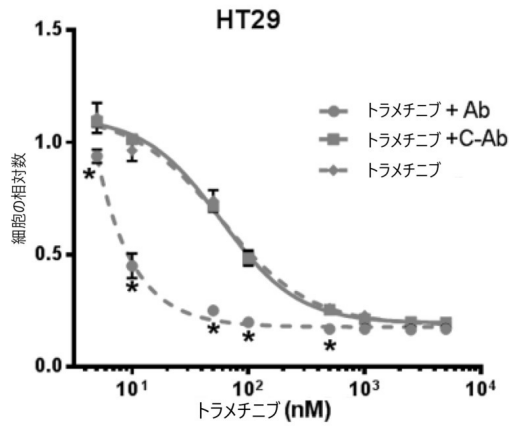
30

40

50

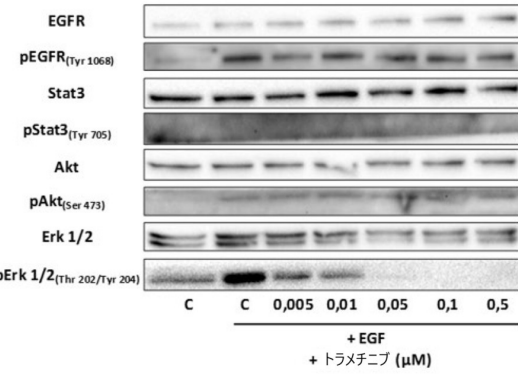
【図 2 4】

HT29細胞株における抗EGF VacAb 及びトラメチニブの併用



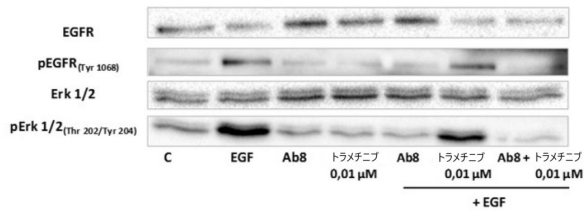
【図 2 5】

HT29細胞株での2時間のインキュベーションにおけるトラメチニブの用量-応答



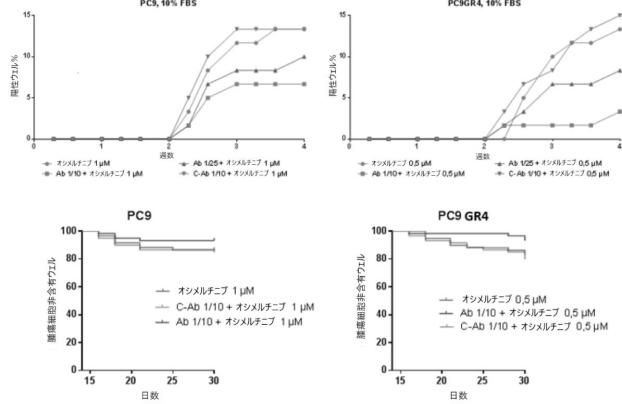
【図 2 6】

HT29細胞株での2時間のインキュベーションにおけるトラメチニブとの抗EGF VacAb



【図 2 7】

PC9及びPC9GR4:オシメルチニブ



10

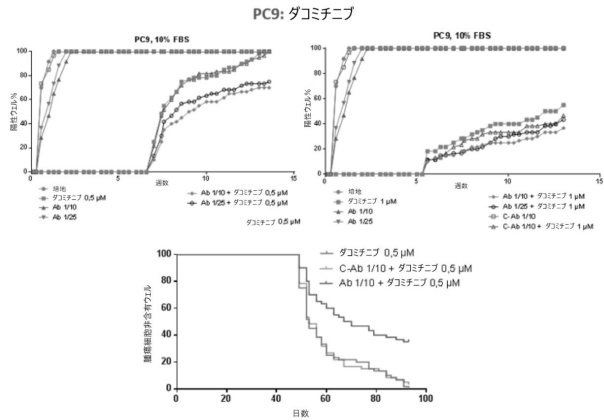
20

30

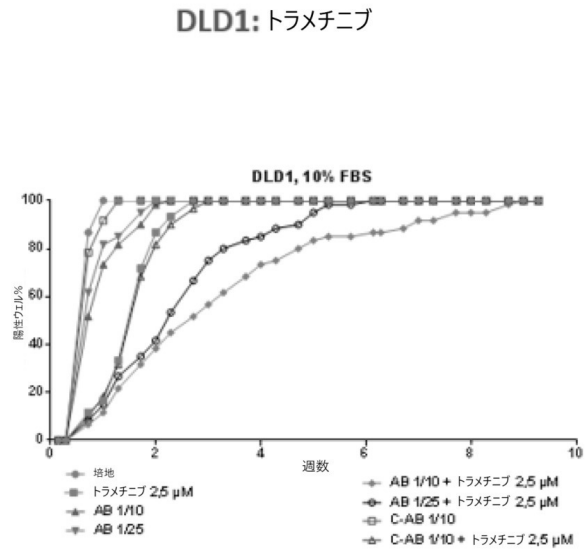
40

50

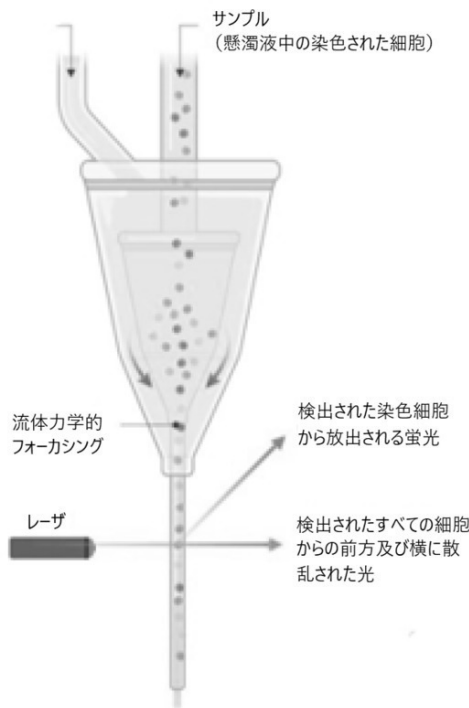
【図 2 8】



【図 2 9】

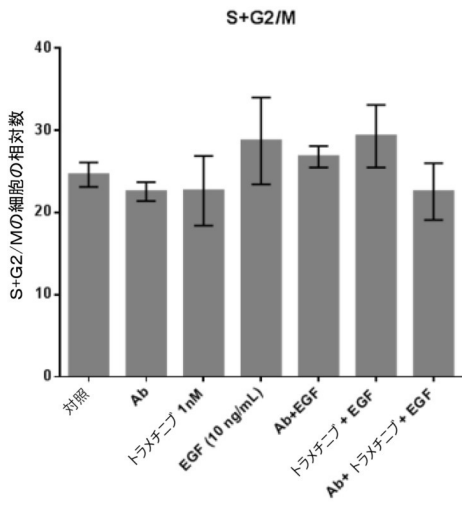


【図 3 0】



【図 3 1】

A549においてトラメチニブと併用の抗EGF VacAb : 細胞周期



10

20

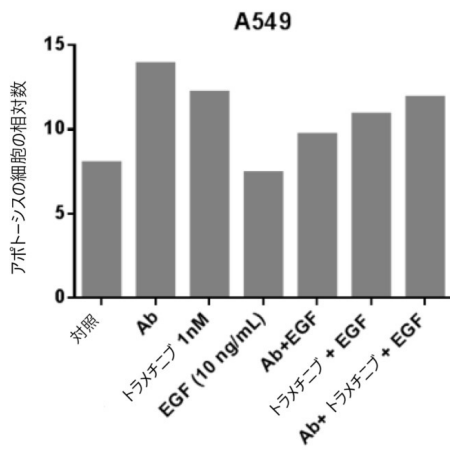
30

40

50

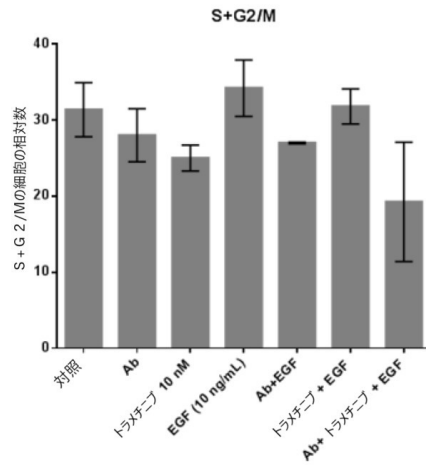
【図 3 2】

A549においてトラメチニブと併用の抗EGF VacAb : アポトーシス



【図 3 3】

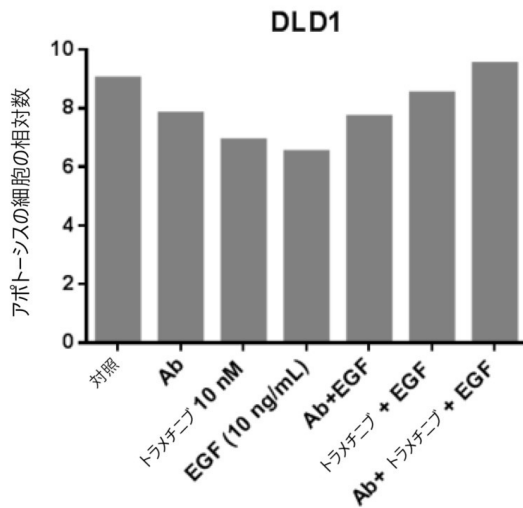
DLD1においてトラメチニブと併用の抗EGF VacAb : 細胞周期



10

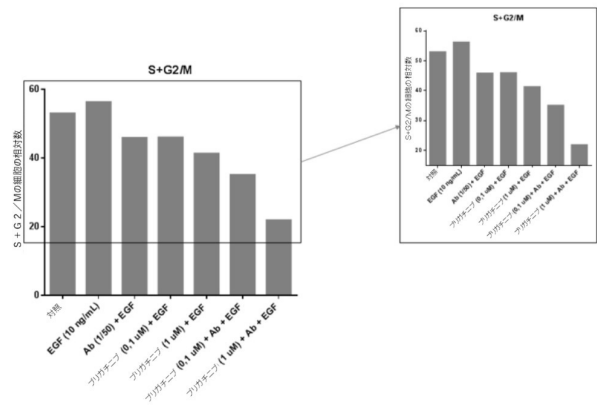
【図 3 4】

DLD1においてトラメチニブと併用の抗EGF VacAb : アポトーシス



【図 3 5】

H2228においてプリガチニブと併用の抗EGF VacAb : 細胞周期



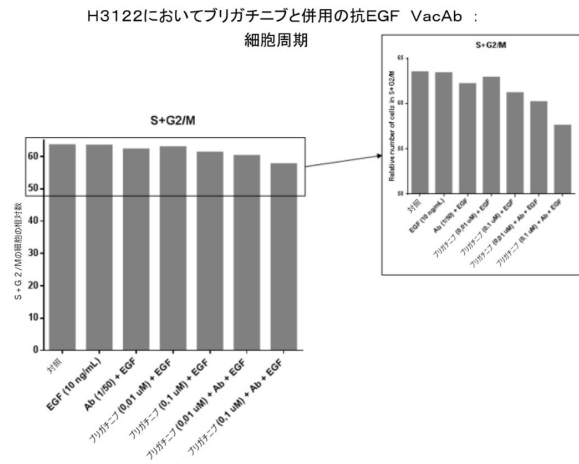
20

30

40

50

【図 3 6】



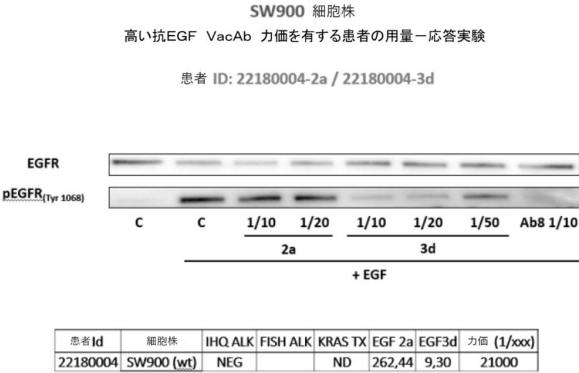
【図 3 7】

BV-NSCLC-002 ウェスタンブロット

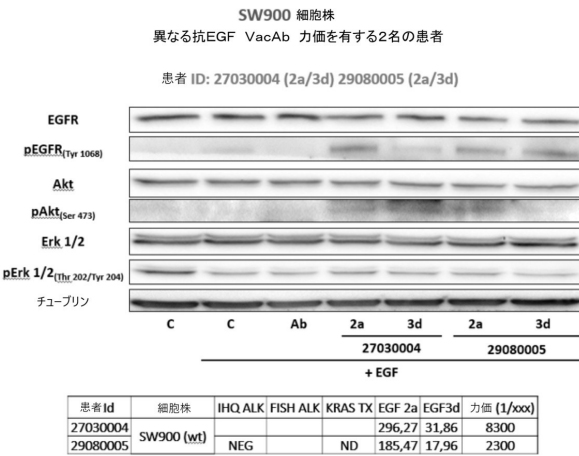
| 患者の変化        | 使用される細胞株 | 細胞株主要変化               |
|--------------|----------|-----------------------|
| ALK転位        | H2228    | EML4-ALK (v3; E6:A20) |
| KRAS変異       | A549     | KRAS変異 (G12S)         |
| ALK及びKRAS野生型 | SW900    | ALK及びKRAS野生型          |

10

【図 3 8】



【図 3 9】



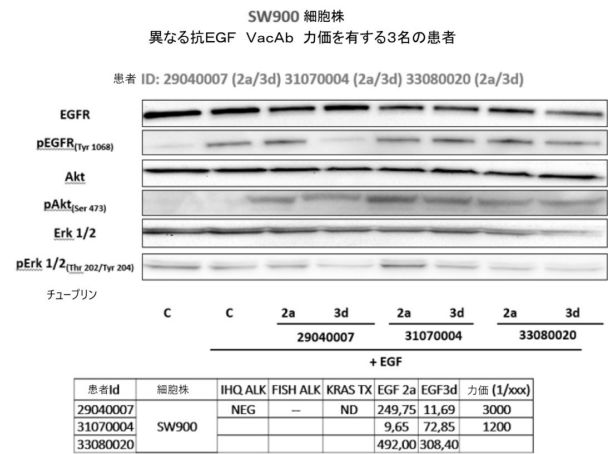
20

30

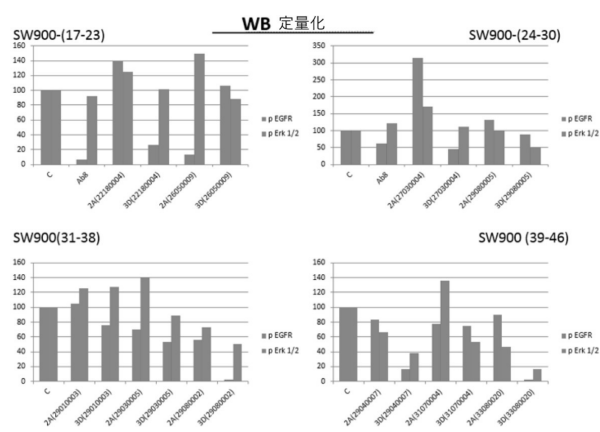
40

50

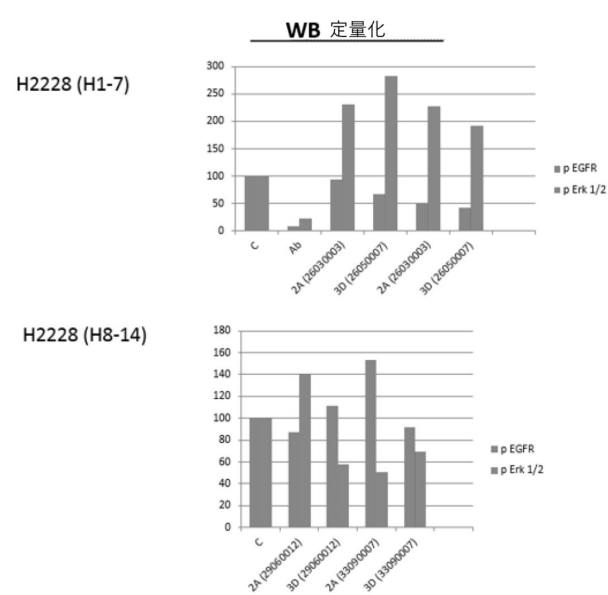
【図 4 0】



【図 4 1】



【図 4 2】



【図 4 3】

| 細胞株    | 組織学      | 関連する変化              | 他の変化                |
|--------|----------|---------------------|---------------------|
| DLD1   | 結腸直腸 ADC | KRAS 変異 (p.G13D)    | PIK3CA 変異 (p.E545K) |
| LS174T | 結腸直腸 ADC | KRAS 変異 (p.G12C)    | ----                |
| HT29   | 結腸直腸 ADC | BRAF 変異 (p.V600E)   | ----                |
| H508   | 結腸直腸 ADC | PIK3CA 変異 (p.E545K) | BRAF 変異 (p.G596R)   |

10

20

30

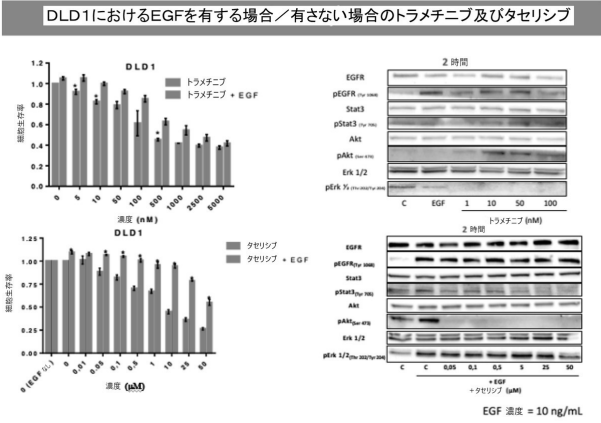
40

50

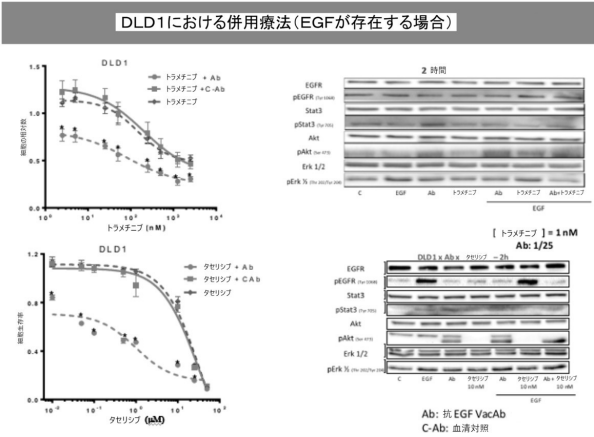
【図 4 4】

| 薬物       | 活性         |
|----------|------------|
| トラメチニブ   | MEK1/2 阻害剤 |
| タセリシブ    | PI3K 阻害剤   |
| アルペリシブ   | PI3K 阻害剤   |
| コパンリシブ   | PI3K 阻害剤   |
| エンコラフェニブ | BRAF 阻害剤   |

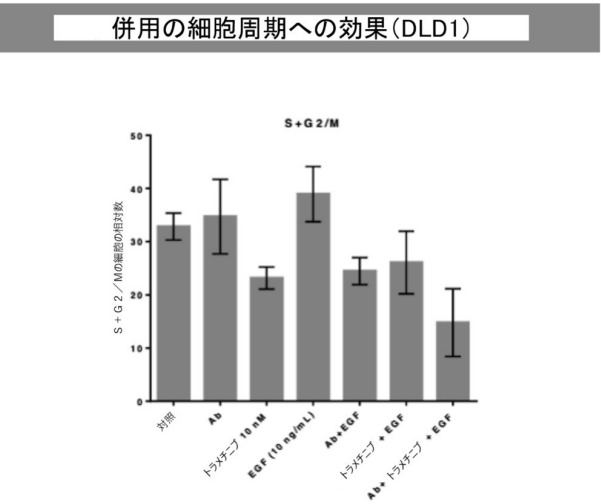
【図 4 5】



【図 4 6】



【図 4 7】



10

20

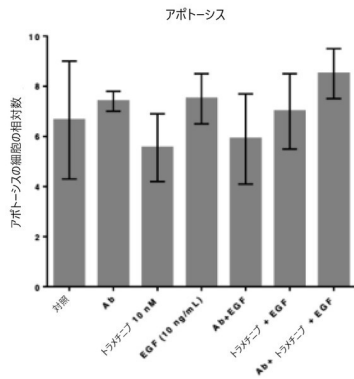
30

40

50

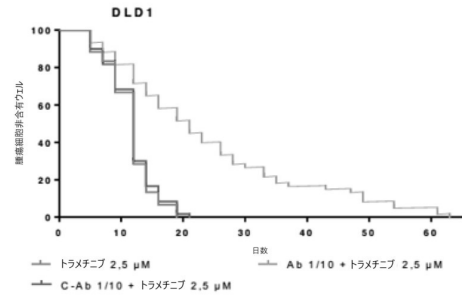
【図 48】

併用のアポトーシスへの効果(DLD1)



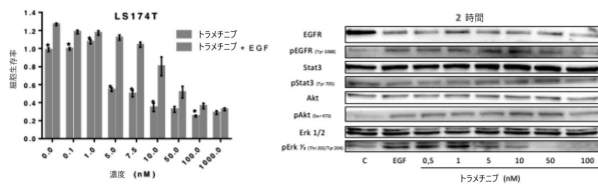
【図 49】

トラメチニブに対する耐性の出現(DLD1)



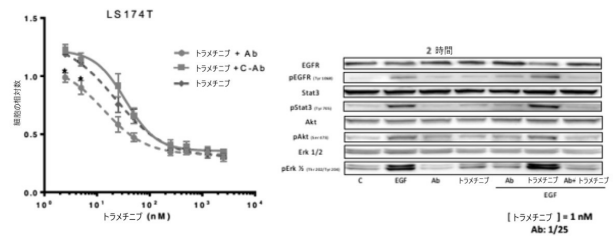
【図 50】

LS174TにおけるEGFを有する場合／有さない場合のトラメチニブ



【図 51】

LS174Tにおける併用療法(EGFが存在する場合)



10

20

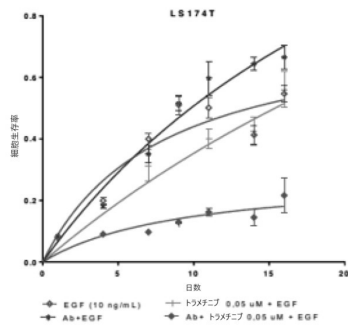
30

40

50

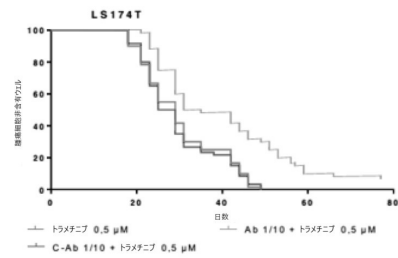
【図 5 2】

併用の阻害効果 (LS174T)



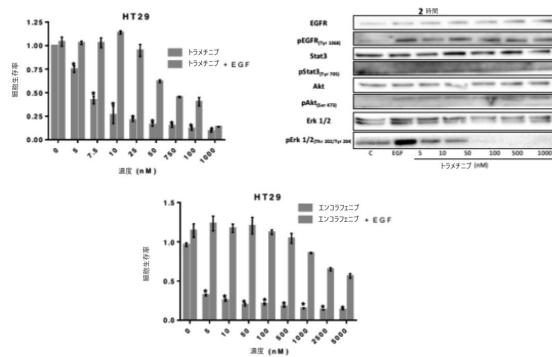
【図 5 3】

トラメチニブに対する耐性の出現 (LS174T)



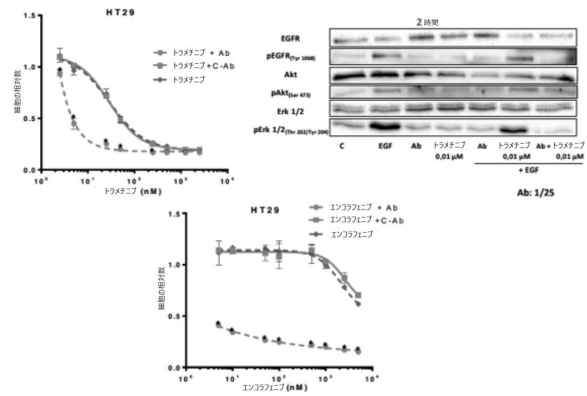
【図 5 4】

HT29におけるEGFを有する場合／有さない場合のトラメチニブ



【図 5 5】

HT29における併用療法 (EGFが存在する場合)



10

20

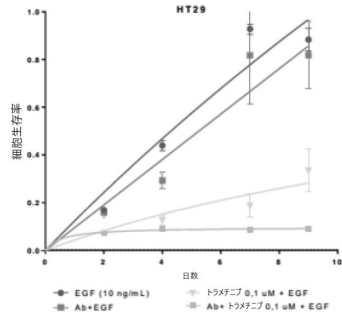
30

40

50

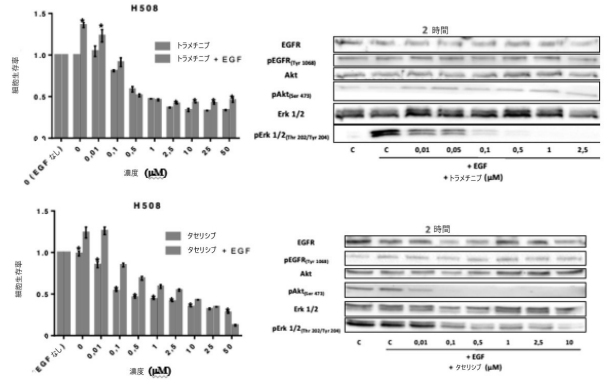
【図 5 6】

併用における阻害効果 (HT29)



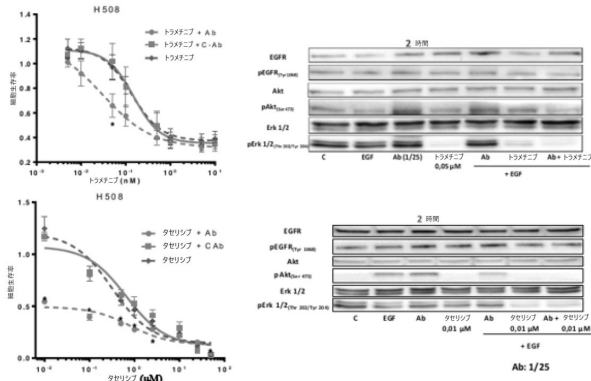
【図 5 7】

H508におけるEGFを有する場合／有さない場合のトラメチニブ及びタセリシブ



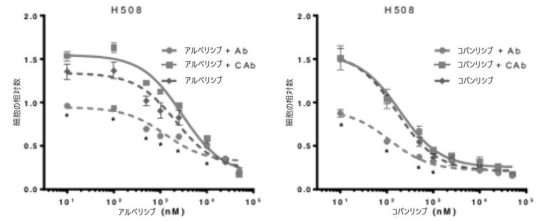
【図 5 8】

H508における併用療法 (EGFが存在する場合)



【図 5 9】

H508における併用療法 (EGFが存在する場合)



10

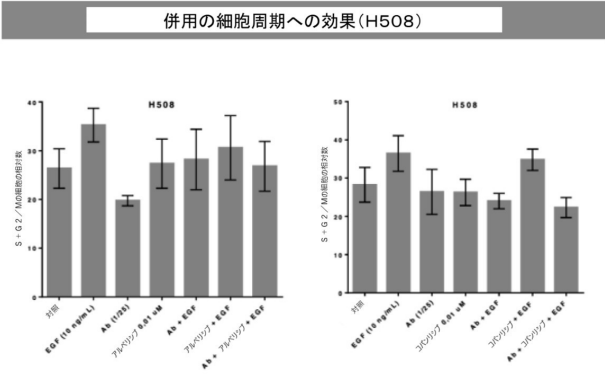
20

30

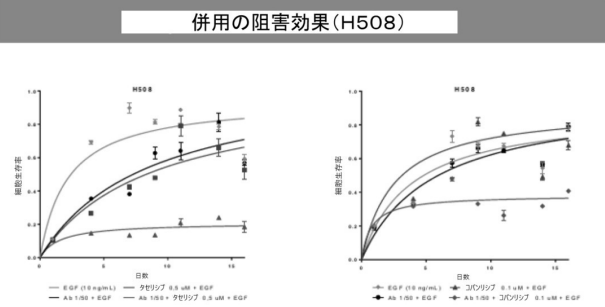
40

50

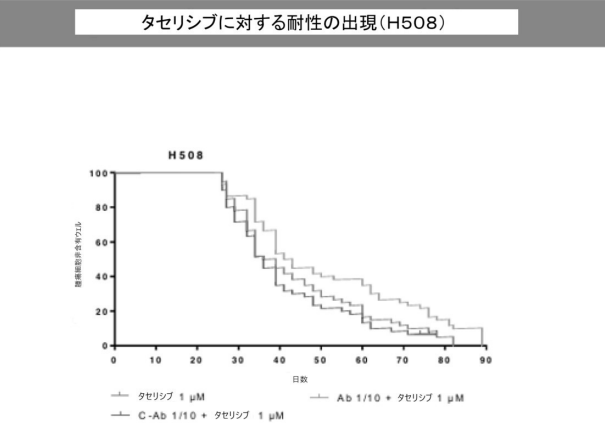
【図 6 0】



【図 6 1】



【図 6 2】



【図 6 3】

| 細胞株   | 組織学           | 関連する変化            |
|-------|---------------|-------------------|
| HCC15 | NSCLC (扁平上皮癌) | NRAS 変異 (p.Q61K)  |
| HT29  | 結腸直腸 ADC      | BRAF 変異 (p.V600E) |

| 薬物       | 活性       |
|----------|----------|
| トラメチニブ   | MEK 阻害剤  |
| エンコラフェニブ | BRAF 阻害剤 |

10

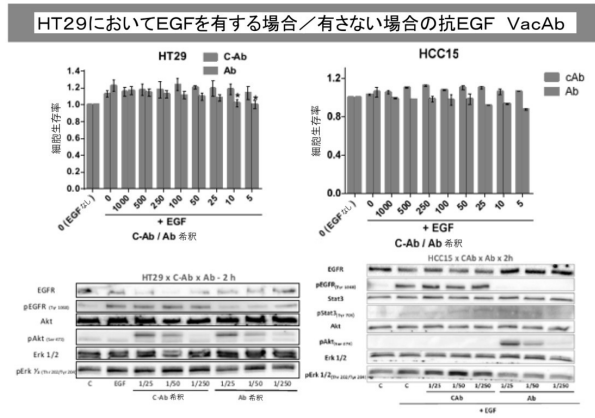
20

30

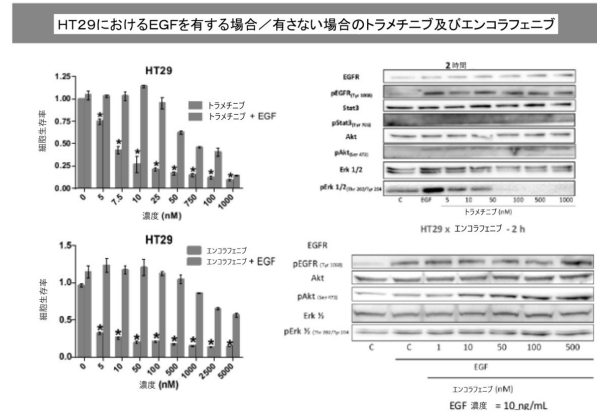
40

50

【図 6 4】

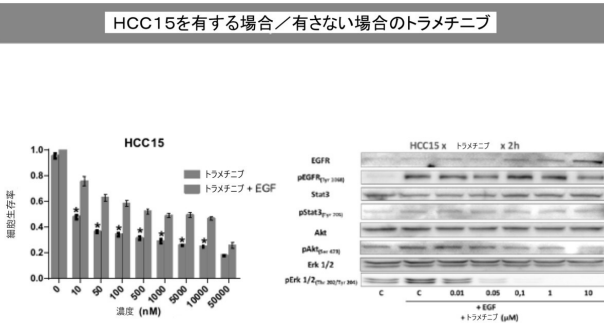


【図 6 5】

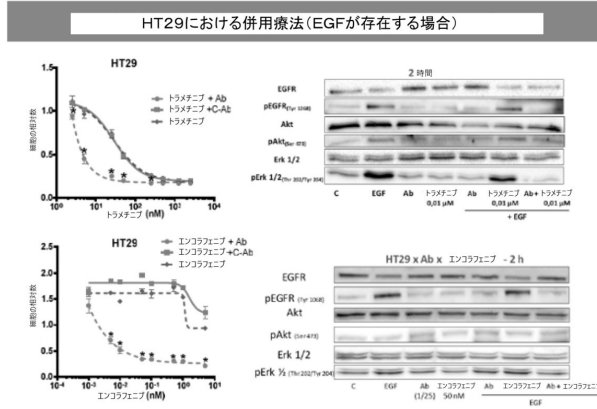


10

【図 6 6】



【図 6 7】



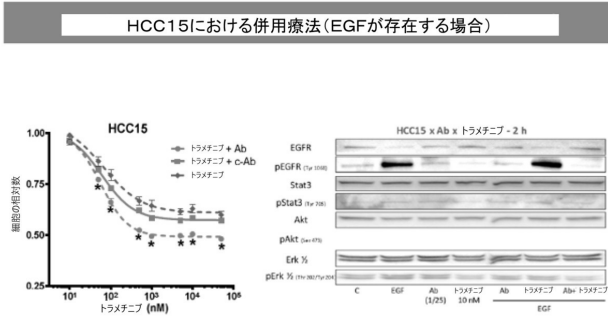
20

30

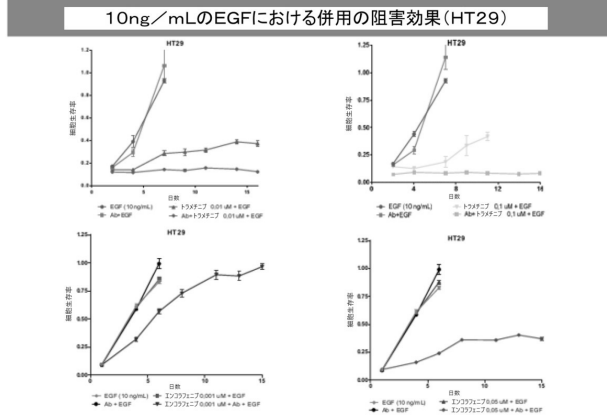
40

50

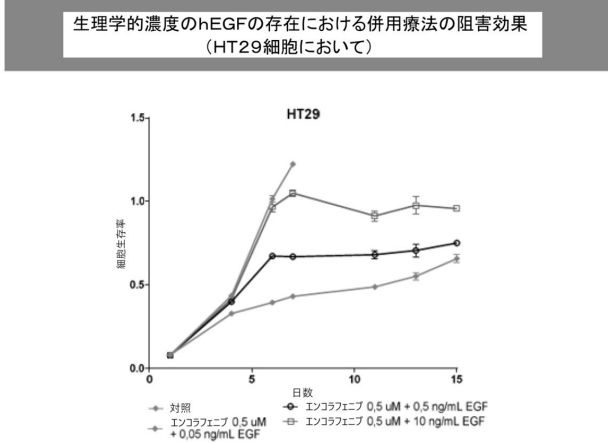
【図 68】



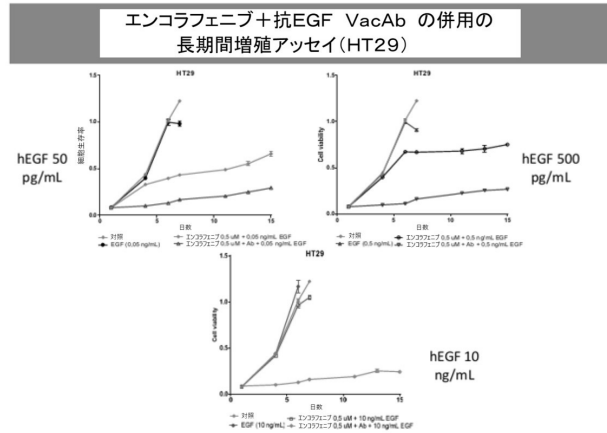
【図 69】



【図 70】



【図 71】



10

20

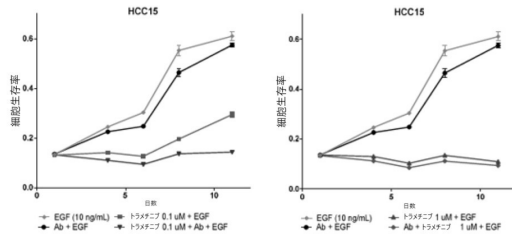
30

40

50

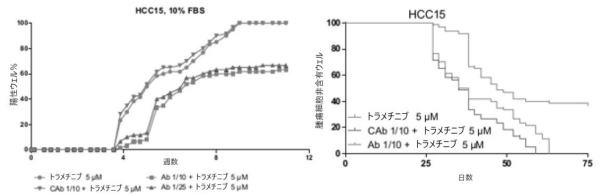
【図 7 2】

HCC15細胞におけるトラメチニブ+抗EGF VacAbの併用の阻害効果



【図 7 3】

トラメチニブに対するインビトロ耐性の出現



10

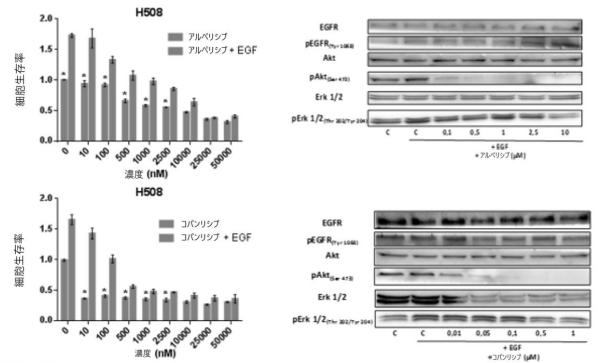
【図 7 4】

| 細胞株  | 組織学      | 関連する変化              | 他の変化              |
|------|----------|---------------------|-------------------|
| H508 | 結腸直腸 ADC | PIK3CA 変異 (p.E545K) | BRAF 変異 (p.G596R) |

| 薬物     | 活性         |
|--------|------------|
| アルベリシブ | PI3KCA 阻害剤 |
| コバンリシブ | PI3KCA 阻害剤 |

【図 7 5】

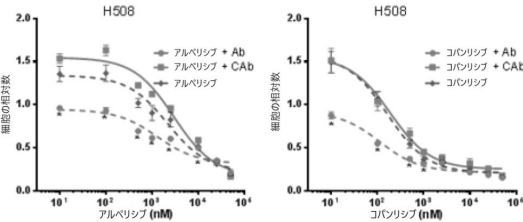
H508におけるEGFを有する場合／有さない場合のアルベリシブ及びコバンリシブ



20

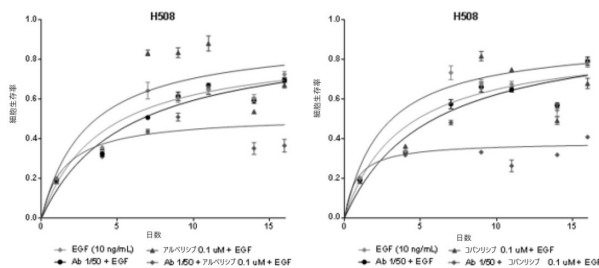
【図 7 6】

H508における併用療法(EGFが存在する場合)



【図 7 7】

併用の阻害効果(H508)



30

40

50

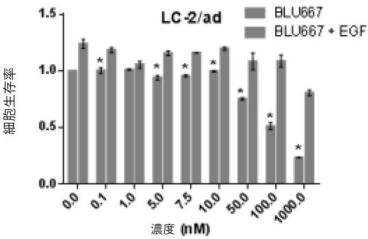
【図 7 8】

|         |       |                    |
|---------|-------|--------------------|
| 細胞株     | 組織学   | 関連する変化             |
| LC-2/ad | 肺 ADC | RET 転座 (CCDC6-RET) |

|        |         |
|--------|---------|
| 薬物     | 活性      |
| BLU667 | RET 阻害剤 |

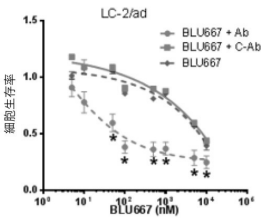
【図 7 9】

|                                    |
|------------------------------------|
| LC-2/adにおけるEGFを有する場合／有さない場合のBLU667 |
|------------------------------------|



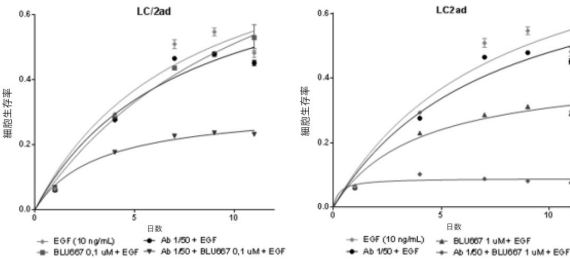
【図 8 0】

|                             |
|-----------------------------|
| LC-2/adにおける併用療法(EGFが存在する場合) |
|-----------------------------|



【図 8 1】

|                  |
|------------------|
| 併用の阻害効果(LC-2/ad) |
|------------------|



10

20

30

40

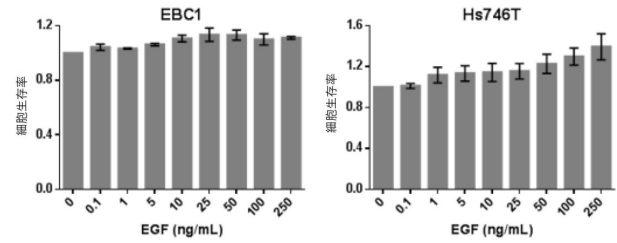
50

【図 8 2】

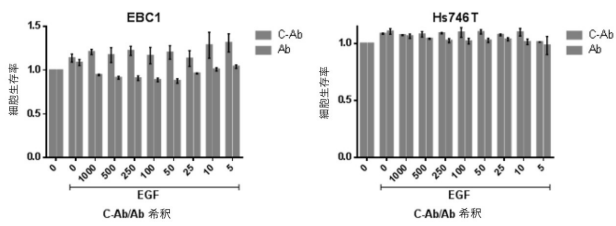
| 細胞株    | 組織学      | 関連する変化                                 |
|--------|----------|----------------------------------------|
| EBC-1  | 扁平上皮細胞肺癌 | <i>MET</i> 増幅                          |
| Hs746T | 胃腺腫      | <i>MET</i> 増幅<br><i>MET</i> エクソン 14 欠失 |

| 薬物     | 活性             |
|--------|----------------|
| カプマチニブ | <i>MET</i> 阻害剤 |
| テボチニブ  | <i>MET</i> 阻害剤 |

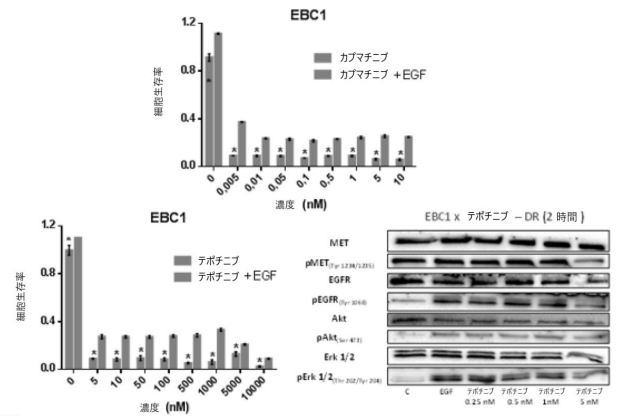
【図 8 3】



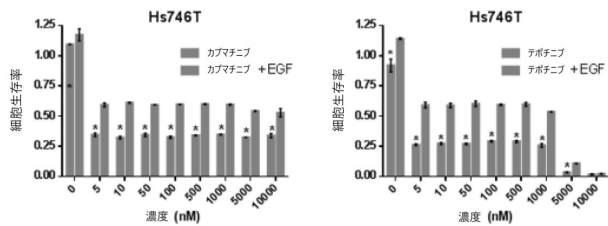
【図 8 4】



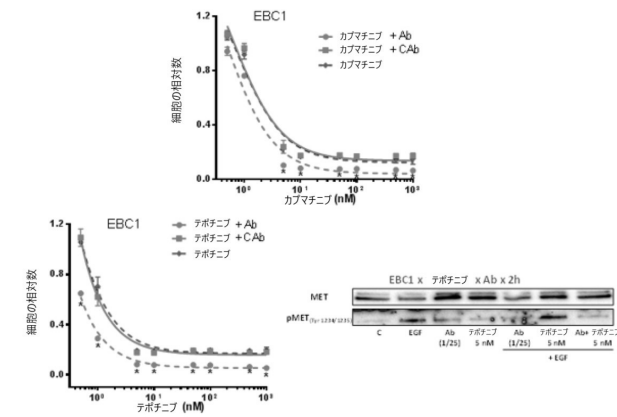
【図 8 5】



【図 8 6】



【図 8 7】



10

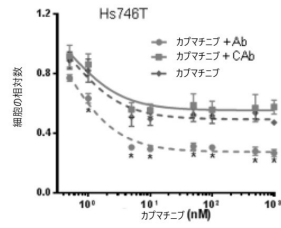
20

30

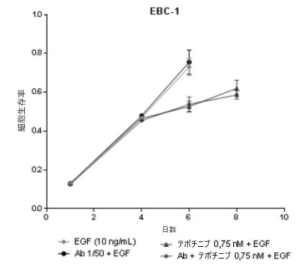
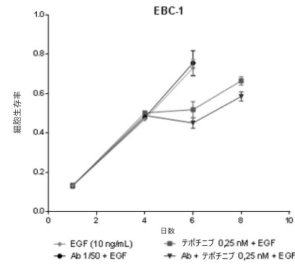
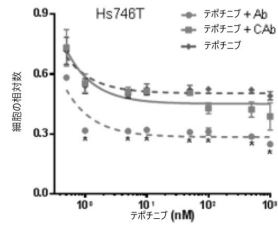
40

50

【図 88】

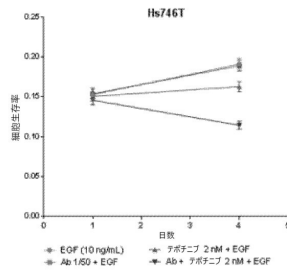
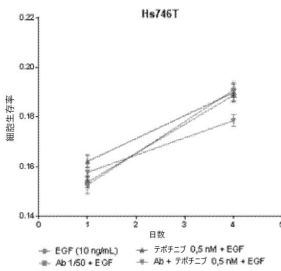


【図 89】



10

【図 90】



20

【配列表】

2023500889000001.app

30

40

50

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2020/000969

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K38/18 A61K38/17 A61K31/519 A61K31/553 A61K39/395  
A61P35/00 G01N33/50

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 C07K A61P G01N

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, WPI Data, BIOSIS, COMPENDEX, EMBASE

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Relevant to claim No.              |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| X         | <p>E. VAN CUTSEM ET AL.: "0-027 BEACON CRC study safety lead-in: Assessment of the BRAF inhibitor encorafenib 1 MEK inhibitor binimetinib 1 anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab for BRAFV600E metastatic colorectal cancer", ANNALS OF ONCOLOGY, vol. 29, 1 June 2018 (2018-06-01), XP055754374, NL<br/>ISSN: 0923-7534, DOI: 10.1093/annonc/mdy149 abstract</p> <p>-----<br/>-/--</p> | <p>2,4-6,<br/>10-12,<br/>16-30</p> |

☒ 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

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 April 2021

Date of mailing of the international search report

15/04/2021

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

Bochelen, Damien

10

20

30

40

50

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2020/000969

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                           |
|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Category*                                            | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Relevant to claim No.     |
| X                                                    | <p>Anonymous: "Encorafenib, Cetuximab, and Nivolumab in Treating Patients With Microsatellite Stable, BRAFV600E Mutated Unresectable or Metastatic Colorectal Cancer - Full Text View - ClinicalTrials.gov",</p> <p>12 July 2019 (2019-07-12), pages 1-11, XP055792137,</p> <p>Retrieved from the Internet:<br/> URL: <a href="https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NC T04017650?term=encorafenib,+cetuximab&amp;draw=2&amp;rank=1">https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NC T04017650?term=encorafenib,+cetuximab&amp;draw=2&amp;rank=1</a><br/> [retrieved on 2021-04-01]<br/> page 2</p> | 2,4-6,<br>10-12,<br>16-30 |
| X                                                    | <p>Anonymous: "Updated efficacy of the MEK inhibitor trametinib (T), BRAF inhibitor dabrafenib (D), and anti-EGFR antibody panitumumab (P) in patients (pts) with BRAF V600E mutated (BRAFM) metastatic colorectal cancer (mCRC).   Journal of Clinical Oncology",</p> <p>20 May 2015 (2015-05-20), XP055792201,</p> <p>Retrieved from the Internet:<br/> URL: <a href="https://ascopubs.org/doi/10.1200/jco.2015.33.15_suppl.103">https://ascopubs.org/doi/10.1200/jco.2015.33.15_suppl.103</a><br/> [retrieved on 2021-04-01]<br/> page 2 - page 3</p>                                 | 2,4-6,<br>10-12,<br>16-30 |
| Y                                                    | <p>WO 2013/076580 A2 (BIOVEN 3 LTD [GB]; CHARLTON KEITH ALAN [GB]; D HONDT ERIK [BE]) 30 May 2013 (2013-05-30)<br/> cited in the application<br/> paragraphs [0076], [0080]; example VIII</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 1-30                      |
| Y                                                    | <p>CODONY-SERVAT JORDI ET AL:<br/> "Anti-Epidermal Growth Factor Vaccine Antibodies Enhance the Efficacy of Tyrosine Kinase Inhibitors and Delay the Emergence of Resistance in EGFR Mutant Lung Cancer Cells",<br/> JOURNAL OF THORACIC ONCOLOGY,<br/> vol. 13, no. 9,<br/> 1 September 2018 (2018-09-01), pages<br/> 1324-1337, XP055791848,<br/> US<br/> ISSN: 1556-0864, DOI:<br/> 10.1016/j.jtho.2018.04.030<br/> page 1327</p>                                                                                                                                                     | 1-30                      |

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

10

20

30

40

50

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2020/000969

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☐ forming part of the international application as filed:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2020/000969

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 2013076580 A2                          | 30-05-2013          | AU 2012342117 A1           | 30-05-2013          |
|                                           |                     | AU 2017268634 A1           | 21-12-2017          |
|                                           |                     | AU 2020201297 A1           | 12-03-2020          |
|                                           |                     | BR 112014012460 A2         | 06-06-2017          |
|                                           |                     | CA 2856255 A1              | 30-05-2013          |
|                                           |                     | CN 104066447 A             | 24-09-2014          |
|                                           |                     | CN 108864261 A             | 23-11-2018          |
|                                           |                     | CN 108864291 A             | 23-11-2018          |
|                                           |                     | DK 2782598 T3              | 10-08-2020          |
|                                           |                     | EP 2782598 A2              | 01-10-2014          |
|                                           |                     | EP 3744343 A1              | 02-12-2020          |
|                                           |                     | ES 2812564 T3              | 17-03-2021          |
|                                           |                     | HR P20201282 T1            | 13-11-2020          |
|                                           |                     | HU E050438 T2              | 28-12-2020          |
|                                           |                     | IL 232645 A                | 31-01-2021          |
|                                           |                     | JP 6121436 B2              | 26-04-2017          |
|                                           |                     | JP 6570081 B2              | 04-09-2019          |
|                                           |                     | JP 2014534258 A            | 18-12-2014          |
|                                           |                     | JP 2017137339 A            | 10-08-2017          |
|                                           |                     | JP 2019146576 A            | 05-09-2019          |
|                                           |                     | KR 20140108235 A           | 05-09-2014          |
|                                           |                     | KR 20190112161 A           | 02-10-2019          |
|                                           |                     | LT 2782598 T               | 27-07-2020          |
|                                           |                     | MX 354902 B                | 23-03-2018          |
|                                           |                     | PL 2782598 T3              | 08-03-2021          |
|                                           |                     | PT 2782598 T               | 02-09-2020          |
|                                           |                     | RU 2014124923 A            | 27-12-2015          |
|                                           |                     | RU 2018108421 A            | 25-02-2019          |
|                                           |                     | SI 2782598 T1              | 31-12-2020          |
|                                           |                     | US 2014248302 A1           | 04-09-2014          |
|                                           |                     | US 2016207972 A1           | 21-07-2016          |
|                                           |                     | US 2018162917 A1           | 14-06-2018          |
|                                           |                     | WO 2013076580 A2           | 30-05-2013          |
| -----                                     |                     |                            |                     |

## 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)

|                |                         |                |               |              |
|----------------|-------------------------|----------------|---------------|--------------|
| <b>A 6 1 P</b> | <b>43/00 (2006.01)</b>  | <b>A 6 1 P</b> | <b>43/00</b>  | <b>1 2 1</b> |
| <b>A 6 1 K</b> | <b>47/55 (2017.01)</b>  | <b>A 6 1 K</b> | <b>47/55</b>  |              |
| <b>A 6 1 K</b> | <b>39/106 (2006.01)</b> | <b>A 6 1 K</b> | <b>39/106</b> |              |
| <b>C 0 7 K</b> | <b>19/00 (2006.01)</b>  | <b>C 0 7 K</b> | <b>19/00</b>  | <b>Z N A</b> |
| <b>C 0 7 K</b> | <b>16/18 (2006.01)</b>  | <b>C 0 7 K</b> | <b>16/18</b>  |              |
| <b>C 0 7 K</b> | <b>14/475 (2006.01)</b> | <b>C 0 7 K</b> | <b>14/475</b> |              |
| <b>C 1 2 N</b> | <b>15/62 (2006.01)</b>  | <b>C 1 2 N</b> | <b>15/62</b>  | <b>Z</b>     |

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D  
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O  
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B  
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD  
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,  
LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,  
RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z  
W

ロペルモンデ ストラート 1 6 6

## (72)発明者 モリナービリャ, ミゲル アンヘル

スペイン 0 8 1 9 3 バダロナ, カリエ バリエスピ 1 6, 5 0 3 エー

## F ターム (参考)

4C076 CC27 CC41 EE41  
4C084 AA22 CA18 CA23 DB52 DB53 DB63 NA05 ZB261 ZB262 ZC751  
4C085 AA03 AA13 BA20 CC02 CC21 DD02 EE03  
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA41 DA20 DA22 DA50 DA76 EA20