

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-537551

(P2022-537551A)

(43)公表日 令和4年8月26日(2022.8.26)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	31/706 (2006.01)	A 6 1 K	31/706	4 C 0 5 7	
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	4 C 0 6 3	
A 6 1 K	45/06 (2006.01)	A 6 1 K	45/06	4 C 0 6 5	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	4 C 0 7 2
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K	9/08		4 C 0 7 6
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全90頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2021-575387(P2021-575387)				
(86)(22)出願日	令和2年6月19日(2020.6.19)				
(85)翻訳文提出日	令和4年2月2日(2022.2.2)				
(86)国際出願番号	PCT/US2020/038772				
(87)国際公開番号	WO2020/257671				
(87)国際公開日	令和2年12月24日(2020.12.24)				
(31)優先権主張番号	62/864,413				
(32)優先日	令和1年6月20日(2019.6.20)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR, GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く				
(71)出願人	521027700 セルジーン・クオンティセル・リサーチ ・インコーポレイテッド CELGENE QUANTICEL R ESEARCH, INC. アメリカ合衆国92121カリフォルニ ア州サンディエゴ、タウン・センター・ ドライブ9393番、スウィート110				
(74)代理人	100145403 弁理士 山尾 憲人				
(74)代理人	100162684 弁理士 呉 英燦				
(74)代理人	100221523 弁理士 佐藤 渉				
(74)代理人	100126778				最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ベネトクラクス、ギルテリチニブ、ミドスタウリン、または白血病もしくは骨髄異形成症候群を治療するための他の化合物との組み合わせにおけるアザシチジン

(57)【要約】

AMLなどの疾患および障害を治療するための、さらなる薬剤との組み合わせにおいて5-アザシチジンを用いるための方法が、本明細書において提供される。

FIG. 18A

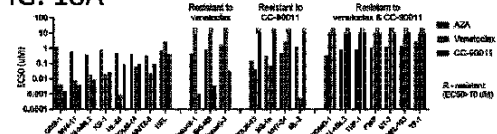


FIG. 18B

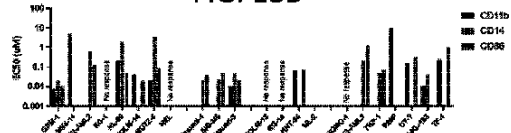
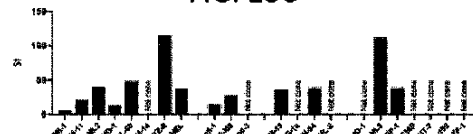


FIG. 18C



10

20

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

急性骨髄白血病（AML）を有するヒト対象を治療する方法であって、（i）5-アザシチジンを含む医薬組成物、（ii）少なくとも1つのさらなる治療剤、および（iii）リシン特異的脱メチル化酵素-1（LSD-1）阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩の組み合わせを対象に投与することを含む方法。

【請求項 2】

対象が集中的な導入化学療法に適格でない、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

（a）5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤が同時に投与されるか；あるいは

（b）5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤が順次投与され、5-アザシチジンが最初に投与される、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

（a）5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤が単一の単位剤形として共に製剤化されるか；あるいは

（b）5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤が別個の剤形として製剤化される、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

（a）5-アザシチジンおよび LSD-1 阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩が同時に投与されるか；あるいは

（b）5-アザシチジンおよび LSD-1 阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩が順次投与される、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

（a）5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、および LSD-1 阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩が同時に投与されるか；あるいは

（b）5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、および LSD-1 阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩が順次投与される、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

5-アザシチジンが、

（a）皮下または静脈内投与される；および／または

（b）約 75 mg/m² から約 100 mg/m² の用量で皮下または静脈内投与される；および／または

（c）約 75 mg/m² の用量で皮下または静脈内投与される；および／または

（d）28日サイクルの最初の7日間毎日、皮下または静脈内投与される、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

5-アザシチジンが、

（a）約 50 mg、約 60 mg、約 70 mg、約 80 mg、約 90 mg、約 100 mg、約 150 mg、約 200 mg、約 250 mg、約 300 mg、約 350 mg、約 400 mg、約 450 mg、約 500 mg、約 550 mg、または 600 mg の用量で経口投与される；および／または

（b）約 200 mg の用量で投与される；および／または

（c）約 300 mg の用量で投与される；および／または

（d）28日サイクルの最初の7日、14日、または21日間投与される；および／または

10

20

30

40

50

(e) ヒト対象に 1 日 1 または 2 回投与される；および／または

(f) カプセルまたは錠剤の形態で投与される、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

5-アザシチジンが腸溶性コーティングされていない錠剤の形態で投与される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

5-アザシチジンが、

(a) 28 日サイクルの 14 日間にわたり、1 日あたり約 200 mg の用量；

(b) 28 日サイクルの 14 日間にわたり、1 日あたり約 300 mg の用量；

(c) 28 日サイクルの 21 日間にわたり、1 日あたり約 200 mg の用量；または

(d) 28 日サイクルの 21 日間にわたり、1 日あたり約 300 mg の用量

で経口投与される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

5-アザシチジンが、

(a) 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 日間または 14 日を超えて毎日、その後適宜 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 日間または 14 日を超える治療休薬日を伴って；

(b) 14 日以上の間毎日、その後適宜 7 日以上の治療休薬日を伴って；

(c) 21 日以上の間、その後適宜 7 日以上の治療休薬日を伴って；

(d) 14 日間、その後適宜 14 日の治療休薬日を伴って；

(e) 21 日以上の間、その後 7 日以上の治療休薬日を伴って；または

(f) 14 日間、その後 14 日間の治療休薬日を伴って

経口投与される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

5-アザシチジンが、

(a) 14 日間毎日、約 300 mg の用量で、その後 14 日間の治療休薬日を伴って；

(b) 14 日間毎日、約 200 mg の用量で、その後 14 日間の治療休薬日を伴って；

(c) 21 日間毎日、約 300 mg の用量で、その後 7 日間の治療休薬日を伴って；ま

たは

(d) 毎日約 200 mg の用量で、その後 7 日間の治療休薬日を伴って

経口投与される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

5-アザシチジンが、

(a) 28 日サイクルの 7 日間にわたり、1 日あたり 5-アザシチジンの投与を含む治療サイクルを用いて；

(b) 28 日サイクルの 14 日間にわたり、1 日あたり 5-アザシチジンの投与を含む治療サイクルを用いて；または

(c) 28 日サイクルの 21 日間にわたり、1 日あたり 5-アザシチジンの投与を含む治療サイクルを用いて

経口投与される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

少なくとも 1 つのさらなる治療剤が、ギルテリチニブ、ミドスタウリン、キザルチニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、および／またはベネトクラクスを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】

少なくとも 1 つのさらなる治療剤がベネトクラクスである、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

ベネトクラクスが、

(a) 経口投与される；および／または

10

20

30

40

50

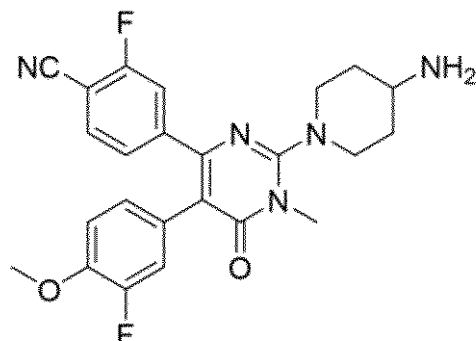
- (b) 錠剤の形態で投与される；および／または
- (c) 毎日投与される；および／または
- (d) 約 400 mg の用量で投与される、

請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

LSD-1 阻害剤が、以下の構造：

【化 1】



10

を有する化合物、またはその薬学的に許容可能な塩である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 18】

LSD-1 阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩が、

- (a) 経口投与される；および／または
- (b) 錠剤またはカプセルの形態で投与される；および／または
- (c) 週 1 回投与される；および／または
- (d) 約 20 mg、約 40 mg、または約 60 mg の用量で投与される

請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

(a) AML が 5-アザシチジンのみによる治療に耐性である；および／または

(b) AML が少なくとも 1 つのさらなる治療剤のみによる治療に耐性である；および／または

30

(c) AML が LSD-1 阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩のみによる治療に耐性である；および／または

(d) 5-アザシチジン、少なくとも 1 つのさらなる治療剤、LSD-1 阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせが、5-アザシチジンのみと比較して、AML 細胞死を増加させる；および／または

(e) 5-アザシチジン、少なくとも 1 つのさらなる治療剤、LSD-1 阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせが、5-アザシチジンのみと比較して、AML 細胞死を約 10 %、約 15 %、約 20 %、約 25 %、約 30 %、約 35 %、約 40 %、約 45 %、約 50 %、約 55 %、約 60 %、約 65 %、約 70 %、約 75 %、約 80 %、約 85 %、約 90 %、約 95 %、または約 100 % 増加させる；および／または

40

(f) 5-アザシチジン、少なくとも 1 つのさらなる治療剤、LSD-1 阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせが、少なくとも 1 つのさらなる治療剤のみと比較して、AML 細胞死を増加させる；および／または

(g) 5-アザシチジン、少なくとも 1 つのさらなる治療剤、LSD-1 阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせが、少なくとも 1 つのさらなる治療剤のみと比較して、AML 細胞死を約 10 %、約 15 %、約 20 %、約 25 %、約 30 %、約 35 %、約 40 %、約 45 %、約 50 %、約 55 %、約 60 %、約 65 %、約 70 %、約 75 %、約 80 %、約 85 %、約 90 %、約 95 %、または約 100 % 増加させる；および／または

(h) 5-アザシチジン、少なくとも 1 つのさらなる治療剤、LSD-1 阻害剤、および

50

びその薬学的に許容可能な塩の組み合わせが、LSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩と比較して、AML細胞死を増加させる；および／または

(i) 5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせが、LSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩と比較して、AML細胞死を約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%増加させる；および／または

(j) 5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせが、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩のうちの任意の2つの組み合わせと比較して、AML細胞死を増加させる；および／または

(k) 5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせが、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩のうちの任意の2つの組み合わせと比較して、AML細胞死を約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%増加させる；および／または

(l) 経口投与される5-アザシチジン、および少なくとも1つのさらなる治療剤が、静脈内または皮下投与される5-アザシチジン、および少なくとも1つのさらなる治療剤と比較して、AML細胞死を増加させる；および／または

(m) 経口投与される5-アザシチジン、および少なくとも1つのさらなる治療剤が、静脈内または皮下投与される5-アザシチジン、および少なくとも1つのさらなる治療剤と比較して、AML細胞死を約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%増加させる；および／または

(n) 経口投与される5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせが、静脈内または皮下投与される5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせと比較して、AML細胞死を増加させる；および／または

(o) 経口投与される5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせが、静脈内または皮下投与される5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせと比較して、AML細胞死を約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%増加させる、

請求項1に記載の方法。

【請求項20】

当該方法が、

(a) 28日サイクルの最初の7日間、1日1回、対象に5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；

(b) 28日サイクルで、1日1回、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および

(c) 28日サイクルで、1週間に1回、対象にLSD-1阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩を投与すること

を含む、請求項1に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 2 1】

当該方法が、

(a) 28日サイクルの1、2、3、4、5、6、および7日目に、対象に5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；

(b) 28日サイクルの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、および28日目に、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および

(c) 28日サイクルの1、8、15、および22日目に、対象にLSD-1阻害剤、または薬学的に許容可能な塩を投与することを含む、請求項1に記載の方法。

10

【請求項 2 2】

当該方法が、

(a) 28日サイクルの最初の7日間にわたり毎日、約75mg/m²の用量で5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；および／または

(b) 28日サイクルにおいて毎日、少なくとも約100mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および／または

(c) 28日サイクルにおいて1週間に1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を投与することを含む、請求項21に記載の方法。

20

【請求項 2 3】

当該方法が、28日サイクルにおいて、1日目に約100mgの用量、2日目に約200mgの用量、3日目に約300mgの用量、および4～28日目に約400mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を同時に投与することを含む、請求項22に記載の方法。

【請求項 2 4】

当該方法が、

(a) 28日サイクルの最初の7日間毎日、約75mg/m²の用量で、5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；および／または

(b) 28日サイクルにおいて毎日、約400mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を経口投与すること；および／または

(c) 28日サイクルにおいて週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を経口投与することを含む、請求項1に記載の方法。

30

【請求項 2 5】

少なくとも1つのさらなる治療剤の投与が、ベネトクラクスの投与を含む、請求項24に記載の方法。

【請求項 2 6】

当該方法が、

(a) 28日サイクルの最初の14日間、1日1回、対象に5-アザシチジンを経口投与し；

(b) 28日サイクルにおいて1日1回、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与し；および

(c) 28日サイクルにおいて週1回、対象にLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を投与するステップを含む、請求項1に記載の方法。

40

【請求項 2 7】

当該方法が、

(a) 28日サイクルの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、および14日目において、対象に5-アザシチジンを経口投与し；

50

(b) 28日サイクルの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、および28日目において、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与し；および

(c) 28日サイクルの1、8、15、および22日目において、対象にLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を投与するステップを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項28】

(a) 28日サイクルの最初の14日間毎日、約300mgの用量で5-アザシチジンを投与すること；および／または

(b) 28日サイクルにおいて毎日、少なくとも約100mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および／または

(c) 28日サイクルにおいて週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を投与すること
をさらに含む、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

当該方法が、28日サイクルにおいて、1日目に約100mgの用量、2日目に約200mgの用量、3日目に約300mgの用量、および4～28日目に約400mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を同時に投与することを含む、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

当該方法が、

(a) 28日サイクルの最初の14日間にわたり毎日、約300mgの用量で5-アザシチジンを経口投与すること；および／または

(b) 28日サイクルにおいて毎日、約400mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を経口投与すること；および／または

(c) 28日サイクルにおいて週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を経口投与すること
を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項31】

少なくとも1つのさらなる治療剤の投与が、ベネトクラクスの投与を含む、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

(a) 28日サイクルの最初の14日間にわたり毎日、約200mgの用量で5-アザシチジンを投与すること；および／または

(b) 28日サイクルにおいて毎日、少なくとも約100mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および／または

(c) 28日サイクルにおいて週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を投与すること
をさらに含む、請求項27に記載の方法。

【請求項33】

当該方法が、28日サイクルにおいて、1日目に約100mgの用量、2日目に約200mgの用量、3日目に約300mgの用量、および4～28日目に約400mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を同時に投与することを含む、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

当該方法が、

(a) 28日サイクルの最初の14日間にわたり毎日、約200mgの用量で5-アザシチジンを経口投与すること；および／または

(b) 28日サイクルにおいて毎日、約400mgの用量で、対象に少なくとも1つの

10

20

30

40

50

さらなる治療剤を経口投与すること；および／または

(c) 28日サイクルにおいて週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を経口投与することを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項35】

少なくとも1つのさらなる治療剤の投与が、ベネトクラクスの投与を含む、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

急性骨髄性白血病が、反復性遺伝子異常を伴う急性骨髄性白血病、骨髄形成異常関連の変化を伴う急性骨髄性白血病、治療関連骨髄性腫瘍、骨髄性肉腫、ダウン症に関連する骨髄増殖、芽球形質細胞様樹状細胞腫瘍、および／または急性前骨髄球性白血病を含む、請求項1に記載の方法。

10

【請求項37】

集中的な導入化学療法に適格でない、急性骨髄性白血病（AML）を有するヒト対象を治療する方法であって、当該方法がヒト対象に、

(i) 最初の連続的な28日サイクルにおいて：

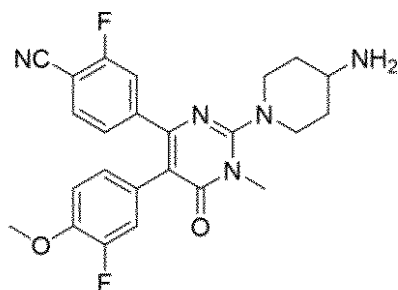
(a) 1～7日目に約75mg/m²の用量で毎日、5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；

(b) 1日目に約100mgの用量；2日目に約200mgの用量；および3～28日目に毎日約400mgの用量で、ベネトクラクスを経口投与すること；および

20

(c) 1、8、15、および22日目に、以下の化合物：

【化2】



30

のベシル酸塩を含む医薬組成物を投与すること；および

(ii) その後の28日サイクルにおいて：

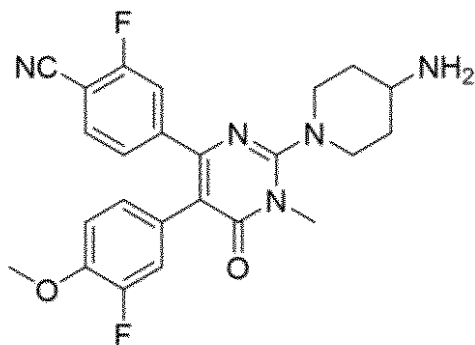
(d) それぞれのその後のサイクルの1～7日目に、約75mg/m²の用量で毎日、5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；

(e) それぞれのその後のサイクルの1～28日目に、約400mgの用量でベネトクラクスを経口投与すること；および

(f) それぞれのその後のサイクルの1、8、15、および22日目に、以下の化合物：

40

【化 3】



10

のベシル酸塩を含む医薬組成物を投与すること
を含む、方法。

【請求項 38】

医薬組成物が、

(a) 最初の連続的な 28 日サイクルおよびその後の 28 日サイクルにおいて、約 20 mg の用量；

(b) 最初の連続的な 28 日サイクルおよびその後の 28 日サイクルにおいて、約 40 mg の用量；または

(c) 最初の連続的な 28 日サイクルおよびその後の 28 日サイクルにおいて、約 60 mg の用量

20

において投与される、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

医薬組成物が、最初の連続的な 28 日サイクルおよびその後の 28 日サイクルにおいて、約 20 mg の用量で投与され；20 mg の用量が耐性である場合、最初の連続的な 28 日サイクルおよびその後の 28 日サイクルにおいて、医薬組成物が約 40 mg の用量で投与される第二用量コホートが開かれる、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 40】

40 mg の用量が耐性である場合、最初の連続的な 28 日サイクルおよびその後の 28 日サイクルにおいて、医薬組成物が約 40 mg の用量で投与される第三用量コホートが開かれる、請求項 39 に記載の方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本願は、米国仮出願第 62 / 864, 413 号（2019 年 6 月 20 日出願）の優先権の利益を主張し、その全体的な内容は参照により本明細書に援用される。

【0002】

急性骨髄性白血病（AML）などの疾患および障害を治療するための、1 つ以上のさらなる治療剤との組み合わせにおける、5-アザシチジンの使用方法が提供される。

40

【背景技術】

【0003】

急性骨髄性白血病（AML）は、骨髄および血液に影響する癌の種類である。AML は、急性骨髄性白血病、急性骨髄芽球性白血病、急性顆粒性白血病、および急性非リンパ芽球性白血病などの様々な名前で行われている。急性骨髄性白血病の「急性」という言葉は、この疾患の急速な進行を反映している。これは、通常、赤血球、白血球、および血小板などの様々な種類の成熟血液細胞に発達する、骨髄細胞と呼ばれる白血球のグループに影響するため、骨髄性白血病と呼ばれる。言い換えれば、AML は、骨髄前駆体細胞株の悪性腫瘍であり、骨髄に蓄積して正常細胞の産生を妨げる、異常細胞の急速な増殖によって

50

特徴付けられる。

【0004】

AMLは一般に、以前の細胞毒性化学への曝露後に生じる場合、または骨髄異形成症候群(MDS)または先行する血液障害(AHD)の前歴の後に生じる場合、新規または二次として分類される。遺伝子レベルでのAMLの病因もまた不均一である。AMLの遺伝子変化としては、チロシンキナーゼ遺伝子における遺伝子内縦列重複、白血病誘発に関連する遺伝子の機能を変化させる染色体再配置、転写因子の活性化を生じる変異などが挙げられる。AMLにおける遺伝子変化の包括的なプロファイリングは、疾患の分類、リスクの層別化、および予後を向上させ、最終的にはより正確な治療的介入を可能にするであろう。MV4-11およびMOLM-13は、FLT3変異を発現するAML細胞株である。Quentmeier et al., Leukemia, 17(1):120-4 (Jan. 2003)を参照されたい。FLT3-ITDはMCL-1を上方制御し、AMLにおける幹細胞の生存を促進する。Yoshimoto et al., Blood, 114(24):5034-43 (Dec. 3, 2009)を参照されたい。

10

【0005】

現在のAML治療の戦略としては、寛解導入のための導入化学療法(IC)、生存期間延長を意図する低強度治療が挙げられる。寛解導入化学療法は、寛解、または少なくとも腫瘍量の効果的な減少を達成するための、腫瘍縮小モダリティである。シタラビンおよびアントラサイクリンの組み合わせは、寛解を誘導するための治療の中心であった。一般的な導入レジメンは、7日間にわたり100から200mg/m²/日のシタラビン、および3日間にわたり45から90mg/m²/日のダウノルビシンから成り、しばしば「7+3プロトコル」と称される。寛解が達成された場合、化学療法またはドナーからの幹細胞移植(同種造血幹細胞移植[HSCT])のさらなるサイクルを、地固めのために用いる。ICは若い健康な患者の標準であるが、高齢および健康でない人々においては議論の余地が残る。ICを受けている高齢患者において、主に治療関連死亡率の増加および予後不良の要因によって、高齢者集団において見られる寛解率の低下が生じるため、結果はあまり好ましくない。年齢、パフォーマンスステータス、および既存疾患のために不適格または不健康であるとみなされる患者、またはICの現在の化学療法選択肢を選択しない患者についての治療選択肢としては、低用量シタラビン、5-アザシチジン、またはデシタビンが挙げられる。

20

30

【0006】

導入化学療法は、新たにAMLと診断された若年成人の約60%から80%、および高齢成人の40%から50%において、形態的完全寛解(CR)をもたらすが、CRを達成することができない(すなわち、難治性の)相当数の患者が存在する。導入治療後にCRを達成した患者でさえ、有意な割合で最終的に再発し、3年後の無再発生存率はわずか約29%である。

【0007】

したがって、AMLのより有効な治療の必要性が存在し、本開示はこの必要性に対処する。

【発明の概要】

40

【0008】

少なくとも1つのさらなる治療剤およびリシン特異的脱メチル化酵素-1(LSD-1)阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩との組み合わせにおいて5-アザシチジンを用いる、AMLなどの疾患および障害の治療方法が、本明細書に提供される。

【0009】

本明細書のいくつかの実施態様は、さらなる治療剤がギルテリチニブ、ミドスタウリン、キザルチニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、またはベネトクラクスから選択されることを提供する。

【0010】

ある局面において、急性骨髄性白血病(AML)を有するヒト対象の治療方法が提供さ

50

れ、ここで、当該方法は、(i) 5-アザシチジンを含む医薬組成物、(ii) 少なくとも1つのさらなる治療剤、および(iii) リシン特異的脱メチル化酵素-1 (LSD-1) 阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩の組み合わせを対象に投与することを含む。

【0011】

いくつかの実施態様において、対象は集中的な導入化学療法に適格でない。

【0012】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤は同時に投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤が順次投与され、ここで、5-アザシチジンは最初に投与される。

10

【0013】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤は、単一の単位剤形として共に製剤化される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤は、別個の剤形として製剤化される。

【0014】

ある実施態様において、5-アザシチジンおよびLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩は、同時に投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよびLSD-1阻害剤、またはそれらの薬学的に許容可能な塩は、順次投与される。

【0015】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、およびLSD-1阻害剤、またはそれらの薬学的に許容可能な塩は、同時に投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、およびLSD-1阻害剤、またはそれらの薬学的に許容可能な塩は、順次投与される。

20

【0016】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは皮下または静脈内投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは約75 mg/m²から約100 mg/m²の用量で、皮下または静脈内投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは約75 mg/m²の用量で、皮下または静脈内投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは28日サイクルの最初の7日間にわたり毎日、皮下または静脈内投与される。

30

【0017】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、約50 mg、約60 mg、約70 mg、約80 mg、約90 mg、約100 mg、約150 mg、約200 mg、約250 mg、約300 mg、約350 mg、約400 mg、約450 mg、約500 mg、約550 mg、または600 mgの用量で経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは約200 mgの用量で投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは約300 mgの用量で投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの最初の7、14、または21日にわたり毎日投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、1日1または2回、ヒト対象に投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、カプセルまたは錠剤の形態で投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、腸溶性コーティングされていない錠剤の形態で投与される。

40

【0018】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは28日サイクルにおいて14日間、1日あたり約200 mgの用量で経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは28日サイクルにおいて14日間、1日あたり約300 mgの用量で経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは28日サイクルにおいて21日間、1日あたり約200 mgの用量で経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは28日サイクルにおいて21日間、1日あたり約300 mgの用量で経口投与される。

50

【0019】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、(a) 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14日間または14日を超えて毎日、その後適宜1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14日間または14日を超える治療休薬日を伴って；(b) 14日以上の間毎日、その後適宜7日以上の治療休薬日を伴って；(c) 21日以上の間、その後適宜7日以上の治療休薬日を伴って；(d) 14日間、その後適宜14日の治療休薬日を伴って；(e) 21日以上の間、その後の7日以上の治療休薬日を伴って；(f) 14日間、その後の14日間の治療休薬日を伴って、投与される。いくつかの実施態様において、ステップ(a)、(b)、(c)、(d)、(e)、または(f)の少なくとも1つが繰り返される。

10

【0020】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、(a) 14日間毎日、約300mgの用量で、その後14日間の治療休薬日を伴って；(b) 14日間毎日、約200mgの用量で、その後14日間の治療休薬日を伴って；(c) 21日間毎日、約300mgの用量で、その後7日間の治療休薬日を伴って；(d) 毎日約200mgの用量で、その後7日間の治療休薬日を伴って、投与される。いくつかの実施態様において、ステップ(a)、(b)、(c)、または(d)のうち少なくとも1つが繰り返される。

【0021】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの7日間にわたり、1日あたり5-アザシチジンの投与を含む治療サイクルを用いて、経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの14日間にわたり、1日あたり5-アザシチジンの投与を含む治療サイクルを用いて、経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの21日にわたり、1日あたり5-アザシチジンの投与を含む治療サイクルを用いて、経口投与される。

20

【0022】

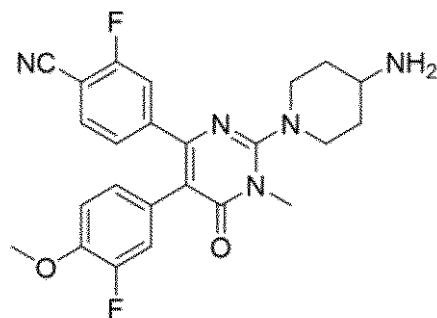
いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤は、ギルテリチニブ、ミドスタウリン、キザルチニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、および／またはベネトクラクスを含む。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤はベネトクラクスである。いくつかの実施態様において、ベネトクラクスは経口投与される。いくつかの実施態様において、ベネトクラクスは錠剤の形態で投与される。いくつかの実施態様において、ベネトクラクスは毎日投与される。いくつかの実施態様において、ベネトクラクスは約400mgの用量で投与される。

30

【0023】

いくつかの実施態様において、LSD-1阻害剤は、以下の構造：

【化1】



40

を有する化合物、またはその薬学的に許容可能な塩である。

【0024】

いくつかの実施態様において、LSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩は、経口投与される。いくつかの実施態様において、LSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩は、錠剤またはカプセルの形態で投与される。いくつかの実施態様におい

50

て、LSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩は、週1回投与される。いくつかの実施態様において、LSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩は、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で投与される。

【0025】

いくつかの実施態様において、AMLは5-アザシチジンのみによる治療に耐性である。いくつかの実施態様において、AMLは少なくとも1つのさらなる治療剤のみによる治療に耐性である。いくつかの実施態様において、AMLはLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩のみによる治療に耐性である。

【0026】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、5-アザシチジンのみと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、5-アザシチジンのみと比較して、AML細胞死を約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%増加させる。

【0027】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、少なくとも1つのさらなる治療剤のみと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、少なくとも1つのさらなる治療剤のみと比較して、AML細胞死を約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%増加させる。

【0028】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、LSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩と比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、LSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩と比較して、AML細胞死を約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%増加させる。

【0029】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩のうちの任意の2つの組み合わせと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩のうちの任意の2つの組み合わせと比較して、AML細胞死を約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%増加させる。

【0030】

いくつかの実施態様において、経口投与される5-アザシチジン、および少なくとも1

10

20

30

40

50

つのさらなる治療剤は、静脈内または皮下投与される５－アザシチジン、および少なくとも１つのさらなる治療剤と比較して、ＡＭＬ細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、経口投与される５－アザシチジン、および少なくとも１つのさらなる治療剤は、静脈内または皮下投与される５－アザシチジン、および少なくとも１つのさらなる治療剤と比較して、ＡＭＬ細胞死を約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、または約１００％増加させる。

【００３１】

いくつかの実施態様において、経口投与される５－アザシチジン、少なくとも１つのさらなる治療剤、ＬＳＤ－１阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、静脈内または皮下投与される５－アザシチジン、少なくとも１つのさらなる治療剤、ＬＳＤ－１阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせと比較して、ＡＭＬ細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、経口投与される５－アザシチジン、少なくとも１つのさらなる治療剤、ＬＳＤ－１阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、静脈内または皮下投与される５－アザシチジン、少なくとも１つのさらなる治療剤、ＬＳＤ－１阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせと比較して、ＡＭＬ細胞死を約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約５５％、約６０％、約６５％、約７０％、約７５％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、または約１００％増加させる。

【００３２】

いくつかの実施態様において、当該方法は：（ａ）２８日サイクルの最初の７日間、１日１回、対象に５－アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；（ｂ）２８日サイクルで、１日１回、対象に少なくとも１つのさらなる治療剤を投与すること；および（ｃ）２８日サイクルで、１週間に１回、対象にＬＳＤ－１阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を投与することを含む。

【００３３】

いくつかの実施態様において、当該方法は：（ａ）２８日サイクルの１、２、３、４、５、６、および７日目に、対象に５－アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；（ｂ）２８日サイクルの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、および２８日目に、対象に少なくとも１つのさらなる治療剤を投与すること；および（ｃ）２８日サイクルの１、８、１５、および２２日目に、対象にＬＳＤ－１阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を投与することを含む。

【００３４】

いくつかの実施態様において、当該方法はさらに：（ａ）２８日サイクルの最初の７日間にわたり毎日、約７５ｍｇ／ｍ^２の用量で５－アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；（ｂ）２８日サイクルにおいて毎日、少なくとも約１００ｍｇの用量で、対象に少なくとも１つのさらなる治療剤を投与すること；および／または（ｃ）２８日サイクルにおいて１週間に１回、約２０ｍｇ、約４０ｍｇ、または約６０ｍｇの用量で、対象にＬＳＤ－１阻害剤を投与することを含む。

【００３５】

いくつかの実施態様において、当該方法は、２８日サイクルにおいて、１日目に約１００ｍｇの用量、２日目に約２００ｍｇの用量、３日目に約３００ｍｇの用量、および４～２８日目に約４００ｍｇの用量で、対象に少なくとも１つのさらなる治療剤を同時に投与することを含む。

【００３６】

いくつかの実施態様において、当該方法は、２８日サイクルの最初の７日間毎日、約７５ｍｇ／ｍ^２の用量で、５－アザシチジンを皮下または静脈内投与することを含む。いくつかの実施態様において、当該方法は、２８日サイクルにおいて毎日、約４００ｍｇの用量で、対象に少なくとも１つのさらなる治療剤を経口投与することを含む。いくつかの実

施態様において、当該方法は、28日サイクルにおいて週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を経口投与することを含む。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤の投与は、ベネトクラクスの投与を含む。

【0037】

いくつかの実施態様において、当該方法は：(a) 28日サイクルの最初の14日間、1日1回、対象に5-アザシチジンを経口投与し；(b) 28日サイクルにおいて1日1回、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与し；(c) 28日サイクルにおいて週1回、対象にLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を投与することを含む。

10

【0038】

いくつかの実施態様において、当該方法は：(a) 28日サイクルの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、および14日目において、対象に5-アザシチジンを経口投与し；(b) 28日サイクルの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、および28日目において、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与し；(c) 28日サイクルの1、8、15、および22日目において、対象にLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を投与することを含む。

【0039】

いくつかの実施態様において、当該方法はさらに、28日サイクルの最初の14日間毎日、約300mgの用量で5-アザシチジンを投与することを含む。いくつかの実施態様において、当該方法はさらに、28日サイクルにおいて毎日、少なくとも約100mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与することを含む。いくつかの実施態様において、当該方法はさらに、28日サイクルにおいて週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を投与することを含む。

20

【0040】

いくつかの実施態様において、当該方法はさらに、28日サイクルの最初の14日間にわたり毎日、約200mgの用量で5-アザシチジンを投与することを含む。いくつかの実施態様において、当該方法はさらに、28日サイクルにおいて毎日、少なくとも約100mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与することを含む。いくつかの実施態様において、当該方法はさらに、28日サイクルにおいて週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を投与することを含む。

30

【0041】

いくつかの実施態様において、当該方法は、28日サイクルにおいて、1日目に約100mgの用量、2日目に約200mgの用量、3日目に約300mgの用量、および4～28日目に約400mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を同時に投与することを含む。

【0042】

いくつかの実施態様において、当該方法は、28日サイクルの最初の14日間にわたり毎日、約300mgの用量で5-アザシチジンを経口投与することを含む。いくつかの実施態様において、当該方法は、28日サイクルにおいて毎日、約400mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を経口投与することを含む。いくつかの実施態様において、当該方法は、28日サイクルにおいて週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を経口投与することを含む。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤は、ベネトクラクスの投与を含む。

40

【0043】

いくつかの実施態様において、当該方法は、28日サイクルの最初の14日間にわたり毎日、約200mgの用量で5-アザシチジンを経口投与することを含む。いくつかの実施態様において、当該方法は、28日サイクルにおいて毎日、約400mgの用量で、対

50

象に少なくとも1つのさらなる治療剤を経口投与することを含む。いくつかの実施態様において、当該方法は、28日サイクルにおいて週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を経口投与することを含む。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤は、ベネトクラクスの投与を含む。

【0044】

いくつかの実施態様において、急性骨髄性白血病は、反復性遺伝子異常を伴う急性骨髄性白血病、骨髄形成異常関連の変化を伴う急性骨髄性白血病、治療関連骨髄性腫瘍、骨髄性肉腫、ダウン症に関連する骨髄増殖、芽球形質細胞様樹状細胞腫瘍、および／または急性前骨髄球性白血病を含む。

【0045】

別の局面において、集中的な導入化学療法に適合でない、急性骨髄性白血病（AML）を有するヒト対象を治療する方法が提供され、当該方法はヒト対象に：

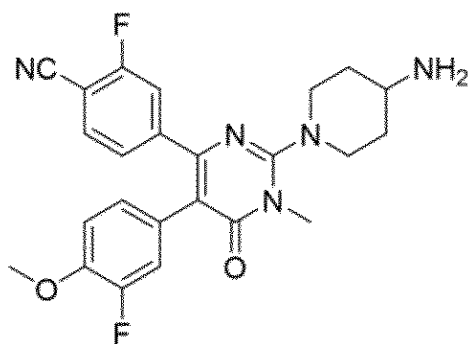
（i）最初の連続的な28日サイクルにおいて：

（a）1～7日目に約75mg/m²の用量で毎日、5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；

（b）1日目に約100mgの用量；2日目に約200mgの用量；および3～28日目に毎日約400mgの用量で、ベネトクラクスを経口投与すること；および

（c）1、8、15、および22日目に、以下の化合物：

【化2】



のベシル酸塩を含む医薬組成物を投与すること；および

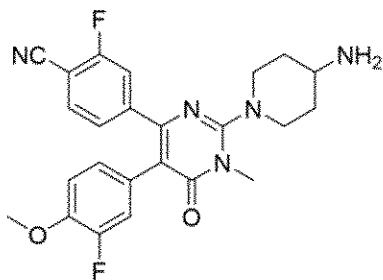
（ii）その後の28日サイクルにおいて：

（d）それぞれのその後のサイクルの1～7日目に、約75mg/m²の用量で毎日、5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；

（e）それぞれのその後のサイクルの1～28日目に、約400mgの用量でベネトクラクスを経口投与すること；および

（f）それぞれのその後のサイクルの1、8、15、および22日目に、以下の化合物：

【化3】



のベシル酸塩を含む医薬組成物を投与することを含む。

【0046】

いくつかの実施態様において、医薬組成物は、最初の連続的な28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、約20mgの用量で投与される。いくつかの実施態様において、医薬組成物は、最初の連続的な28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、約40mgの用量で投与される。いくつかの実施態様において、医薬組成物は、最初の連続的な28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、約60mgの用量で投与される。

【0047】

いくつかの実施態様において、医薬組成物は、最初の連続的な28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、約20mgの用量で投与され；20mgの用量が耐性である場合、最初の連続的な28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、医薬組成物が約40mgの用量で投与される第二用量コホートが開かれるであろう。

10

【0048】

いくつかの実施態様において、40mgの用量が耐性である場合、最初の連続的な28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、医薬組成物が約40mgの用量で投与される第三用量コホートが開かれるであろう。

【0049】

前記の概要および以下の図面の説明および詳細な説明はいずれも、例示的かつ説明的なものである。それらは、本開示のさらなる詳細を提供することを意図しているが、限定的であると解釈されるべきではない。別の目的、利点、および新規な特徴は、本開示の以下の詳細な説明から当業者に容易に明らかであるだろう。

20

【図面の簡単な説明】

【0050】

【図1】図1は、MV4-11およびMOLM-13細胞株の両方を用いた、ギルテリチニブとの組み合わせにおける5-アザシチジン、およびミドスタウリンとの組み合わせにおける5-アザシチジンの、最大EC50倍率変化を表す。3つの異なる用量スケジュールの結果を示す：(i)最初に投与した5-アザシチジン（黒の棒）；(ii)同時に投与した2つの薬剤（薄い灰色の棒）；および(iii)2番目に投与した5-アザシチジン（中間の灰色の棒）。

【0051】

30

【図2】図2は、(i)FLT3阻害剤（FLT3i）の前に、間隔を置いて、最初に投与した5-アザシチジン（AZA）；(ii)同時に投与した2つの薬剤（5-アザシチジンおよびFLT3i）；および(iii)FLT3iを投与した後、間隔を置いて、2番目に投与した5-アザシチジンの、3つの異なる用量スケジュールを表す。FLT3阻害剤は、ミドスタウリン、またはギルテリチニブなどの任意の適切なFLT3阻害剤でありうる。

【0052】

【図3】図3A-Dは、MV4-11（図3A）およびMOLM-13（図3C）細胞株を用いた、ベネトクラクスとの組み合わせにおける5-アザシチジンの、最大EC50倍率変化を表す。凡例に示されるように、3つの異なる用量スケジュールからの結果が示される：(i)最初に投与した5-アザシチジン（黒の棒）；(ii)同時に投与した2つの薬剤（薄い灰色の棒）；および(iii)2番目に投与した5-アザシチジン（中間の灰色の棒）。3つの異なる用量スケジュールについて、MV4-11（図3B）およびMOLM-13（図3D）細胞株を用いて、ベネトクラクスとの組み合わせで投与される5-アザシチジンについて、相乗指数もまた示す。

40

【0053】

【図4】図4A-Cは、5-アザシチジンを最初に投与した場合のMV4-11細胞における5-アザシチジンとベネトクラクスの相乗効果（図4A）、同時投与による比較的低い相乗効果（図4B）、および最初に投与したベネトクラクスとの相乗効果（図4C）を示す、応答曲面分析を表す。応答曲面法（RSM）は、いくつかの説明変数および1つ以

50

上の応答変数の関係を調査するための、よく知られた統計学的方法である。R S Mは、最適な応答、この場合は5-アザシチジンとベネトクラクスとの相乗効果を得るための、一連の計画実験を用いる。

【0054】

【図5】図5は、MV4-11細胞株において、(a) 5-アザシチジンおよびミドスタウリン(「*aza+0.3 μM Mido*」)および(b) 5-アザシチジンおよびギルテリチニブ(「*aza+0.3 μM Gilt*」)が、MCL-1分解を増加させることを示す、ウエスタンブロットを表す。

【0055】

【図6】図6は、5-アザシチジンおよびベネトクラクス治療が、FLT3 ITD MV4-11細胞におけるMCL-1量を減少させることを示すウエスタンブロットを表す。

【0056】

【図7】図7A-Cは、生存率(y軸)対0~70日目(x軸)のグラフによる、MOLM-13異種移植モデルにおける、5-アザシチジンの組み合わせのインビボ評価を示す。図7Aは、5-アザシチジンおよびミドスタウリンの組み合わせの結果を示し、図7Bは、ベネトクラクスとの組み合わせた5-アザシチジンの結果を示し、図7Cは、5-アザシチジンおよびギルテリチニブの組み合わせの結果を示す。図7A-Cに示す実験についての用量は、次の通りである：(i) 5-アザシチジン(低曝露、長期間、LEED)：1mg/kg 腹腔内(IP)、1日1回5日間を3回(qdx 5x3)；(ii) 5-アザシチジン(高曝露、短期間、HELD)：3mg/kg 腹腔内(IP)、1日1回5日間(qdx 5)；(iii) ミドスタウリン(100mg/kg 経口(PO)、1日1回21日間(qdx 21))；(iv) ギルテリチニブ(4mg/kg 経口(PO)、1日1回21日間(qdx 21))；および(v) ベネトクラクス(100mg/kg 経口(PO)、1日1回21日間(qdx 21))。P値(最善の単一薬剤に対し)
*P < 0.05；**P < 0.001；***P < 0.0001。

【0057】

【図8】図8A、8B、および8Cは、22個のAML細胞株の、単一薬剤としての5-アザシチジン(AZA)およびベネトクラクスに対する感受性(それぞれ、図8Aおよび8B)、および5-アザシチジンおよびベネトクラクスの組み合わせに対する感受性(図8C)を示す。

【0058】

【図9】図9A-Fは、5-アザシチジンおよびベネトクラクスによる治療開始の7日後、MV4-11細胞(図9A-C)およびMOLM-13細胞(図9D-F)の細胞生存を示す。以下のスケジュールを試験した：1、2、および3日目に5-アザシチジン投与、次いで4日目にベネトクラクス投与(最初に5-アザシチジン AZA)(図9Aおよび9D)；1日目に5-アザシチジンおよびベネトクラクスを共投与、次いで2および3日目に5-アザシチジン投与(同時)(図9Bおよび9E)；並びに1日目にベネトクラクス投与、次いで2、3、および4日目に5-アザシチジン(最初にベネトクラクス)(図9Cおよび9F)。

【0059】

【図10】図10A、10B、および10Cは、MCL-1の発現と、野生型FLT3、FLT3-ITD、またはFLT3(D835Y)変異のいずれかを発現する人工BaF3細胞株のパネルにおいて、5-アザシチジン-ベネトクラクスの組み合わせの相乗効果の程度との相関を示す。

【0060】

【図11】図11は、RNASeqによって測定したMCL1 RNA量と、20個のAML細胞株のパネルにおける相乗指数($r^2 = -0.5607$ 、 $p = 0.0101$)との相関を示す。

【0061】

【図12】図12A-Hは、4つの異なるAML細胞株：KG1α(図12A)、MV4

－11（図12B）、THP-1（図12C）、およびOCI-AML2（図12D）における、5-アザシチジン介在MCL-1分解の程度を示す。結果は、KG1α（図12E）およびMV4-11（図12F）細胞株を用いた5-アザシチジン-ベネトクラクス相乗活性（それぞれ、70および35.5の相乗指数（SI））、並びにTHP-1（図12G）およびOCI-AML2（図12H）細胞株を用いた非常に低い、または存在しない相乗活性（それぞれ、20.2および10.8のSI）を示す。KG1α（図12A）およびMV4-11（図12B）細胞株について、5-アザシチジン-ベネトクラクスが最大の相乗効果を有する場合（図12Eおよび12F）、5-アザシチジンは最も早くMCL-1の分解を生じさせ、これは治療の6時間後に開始した。対照的に、THP-1（図12G）について、5-アザシチジン-ベネトクラクスがわずかな相乗活性しか提供しなかった場合、5-アザシチジン介在MCL-1分解は遅く、16時間において開始し、24時間まで不完全な分解を示した（図12C）。OCI-AML2（図12D）について、5-アザシチジン-ベネトクラクスが最も低い相乗効果を有する場合（図12H）、5-アザシチジンはMCL-1のいかなる分解も生じさせなかった。

10

20

30

40

50

【0062】

【図13】図13Aは、カスパーゼ3の分解を評価するウエスタンブロットを示す。細胞をZ-VAD-FMK、汎カスパーゼ阻害剤で処理し、5-アザシチジンによるMCL-1分解の程度を測定した。図13Bは、5-アザシチジンによるMCL-1の分解の棒グラフを示し、ここで、さらに16時間5-アザシチジンで処理する前に、細胞を20μM Z-VAD-FMKで1時間処理した。カスパーゼ阻害は、MV4-11細胞における5-アザシチジンによるMCL-1分解を部分的に除去し、これはMCL-1分解のさらなるカスパーゼ依存性メカニズムを示唆した。

【0063】

【図14】図14AおよびBは、PBS（ビヒクル）、1μMの5-アザシチジンで24時間（図14A）、または1μMの5-アザシチジンで48時間（図14B）処理したMV4-11細胞において行った、RNAseqの結果を示す。図14AおよびBは、24時間（図14A）および48時間（図14B）において有意に改変された遺伝子のボルケーノプロットを示し、これは5-アザシチジンが、24時間において133個の差次的に発現した遺伝子、および48時間において226個の差次的に発現した遺伝子を誘導したことを示す。5-アザシチジンによって誘導される、差次的に発現した遺伝子のさらなる分析によって、MCL1発現を制御することが以前に示された、2つの遺伝子を特定した：活性化転写因子3（ATF3）およびステアロイル-CoAデサチュラーゼ（SCD）。5-アザシチジン治療の48時間後に、ATF3の発現は2倍に増加した。脂質代謝およびMCL1の調節因子である、SCD（ステアロイル-CoAデサチュラーゼ）の発現は、48時間における5-アザシチジン処理によって、2.5倍減少した。ATF3（図14C）およびSCD（図14D）発現の変化は、リアルタイムPCRを用いた別の実験において検証した。0.3μM 5-アザシチジン処理は、24または48時間のいずれかにおいて、ATF3発現を誘導するのに十分ではなかったため、ATF3発現は時間および濃度依存的な方法で増加した（図14C）。同様に、3μM 5-アザシチジンで処理した場合、SCD発現は24時間以内に急激に減少したが、この時点では低濃度の5-アザシチジンの影響を受けなかった（図14D）。

【0064】

【図15】図15A-Cは、相乗効果におけるそれらの機能を評価するため、MV4-11細胞におけるATF3および／またはSCD遺伝子のsiRNAノックダウンの結果を示す。MV4-11細胞をトランスフェクトしないままにするか、あるいはATF3、SCD、または対照（スクランブル）siRNAをトランスフェクトした。対照として、細胞をsiRNAでトランスフェクトし、RNAについて回収し、トランスフェクションの72時間後にqPCRした（図15A）。スクランブルsiRNAによって処理した細胞において、ATF3（図15B）またはSCD（図15C）の発現に変化は見られなかった。トランスフェクション後、1～3日目に毎日、細胞を様々な濃度の5-アザシチジン

で処理した。4日目に、細胞にベネトクラクスを投与し、次いで治療開始7日後にCellTiter-Glo（登録商標）を用いて細胞生存試験を行った。5-アザシチジン-ベネトクラクスの相乗効果は、CombeneftおよびHighest Single Agent分析を用いて計算した（図15D-G）。図15D=トランスフェクトしていない細胞；図15E=スクランブルRNAi；図15F=ATF3ノックダウン；および図15G=SCDノックダウン。
【0065】

【図16】図16A、16B、16C、16D、16E、および16Fは、5-アザシチジンおよびベネトクラクスが、注射可能な5-アザシチジン（HELD）または経口5-アザシチジン（LEED）に対応する用量およびスケジュールにおいて、インビボの相乗活性を有するかどうかに関する評価の結果を示す。5-アザシチジン-ベネトクラクスの相乗効果を示す2つの細胞株、MV4-11（図16A-C）およびMOLM-13（図16D-F）を用いて、免疫不全動物において播種性AML異種移植マウスを生成した。インビトロで、ベネトクラクスは、いずれの細胞株もベネトクラクスに対して感受性にし（図16Aおよび16D）、5-アザシチジンと相乗作用した（図16Bおよび16E）。経口5-アザシチジン（LEED）レジメンをモデル化するために、マウスを1mg/kg 5-アザシチジンで15日間処理した（低曝露、長期間）。あるいは、同じ累積用量であるが、注射可能な5-アザシチジン（HELD）レジメンを用いるために、マウスを3mg/ml 5-アザシチジンで5日日処理した（高曝露、短時間）。

【0066】

【図17】図17A、17B、17C、17D、17E、17F、17G、17H、17I、17J、および17Kは、5-アザシチジンおよびFLT3阻害剤の併用治療が、AML細胞において相乗効果を有するかどうかについての調査の結果を示す。図17A-Dは、MV4-11細胞を用いた実験結果を示し、図17E-Hは、MOLM-13細胞を用いた実験結果を示す。図17A、17B、17E、および17Fは、5-アザシチジンおよびミドスタウリンを用いた治療の結果を示す。図17C、17D、17G、および17Hは、5-アザシチジンおよびギルテリチニブを用いた治療の結果を示す。1～3日目に、細胞を5-アザシチジンの1日用量で処理し、次いで4日目にFLT-3阻害剤（ミドスタウリンまたはギルテリチニブ）で処理した。7日目に細胞を回収し、細胞生存率をCellTiter-Glo（登録商標）アッセイによって評価した。ミドスタウリンは、MV4-11を5-アザシチジンに対して感受性にし（図17A）、5-アザシチジンと相乗作用することが示された（図17B）。同様の効果は、5-アザシチジンおよびギルテリチニブで処理したMV4-11細胞（図17Cおよび17D）、並びに5-アザシチジンおよびミドスタウリン（図17Eおよび17F）、またはギルテリチニブ（図17Gおよび17H）で処理したMOLM-13細胞において観察された。図17Iは、MOLM-13細胞の生存率（y軸）対1～70日目のビヒクル、5-アザシチジン（LEED）、5-アザシチジン（HELD）、ミドスタウリン、5-アザシチジン（LEED）+ミドスタウリン、および5-アザシチジン（HELD）+ミドスタウリンの投与についての結果を示す。図17Jは、MV4-11細胞の生存率（y軸）対1～91日目のビヒクル、5-アザシチジン（LEED）、5-アザシチジン（HELD）、ミドスタウリン、5-アザシチジン（LEED）+ミドスタウリン、および5-アザシチジン（HELD）+ミドスタウリンの投与についての結果を示す。図17Kは、MOLM-13細胞の生存率（y軸）対1～70日目のビヒクル、5-アザシチジン（LEED）、5-アザシチジン（HELD）、ギルテリチニブ、5-アザシチジン（LEED）+ギルテリチニブ、および5-アザシチジン（HELD）+ギルテリチニブの投与の結果を示す。

【0067】

【図18】図18A-Cは、様々な薬剤の細胞毒性の評価を示す。細胞毒性を誘導するための単剤療法として、CC-90011、AZA、およびベネトクラクスの有効性を、22個のAML細胞株において評価した（図18A）。図18Aは、単一薬剤の細胞毒性（EC50）を示し；図18Bは、CC-90011による分化マーカー誘導（EC50）を示し；図18Cは、CC-90011/（AZA+Ven）相乗指数（SI）を示す。

4つの細胞株は、AZAおよびベネトクラクスに感受性であったが、CC-90011 (EC₅₀ > 10 μM) に耐性であり、一方で7つの細胞株はベネトクラクスおよびCC-90011のいずれにも耐性であった (図18A)。LSD阻害剤は、いくつかのAML細胞株およびヒトAML異種移植モデルにおいて、分化を増加させる (図18B)。CC-90011による分化マーカーの誘導を調査するために、フローサイトメトリーを用いて、CC-90011処理後の22個のAML細胞株における、CD11b、CD14、およびCD86表面マーカーの発現を測定した。これらの細胞株のうち17個は、少なくとも1つのこれらの分化マーカーの発現を増加させたが、HEL、KG-1、MOLM-13、KG-1a、およびNOMO-1などの5つの細胞株は、これらの分化マーカーのいずれにおいても変化がなかった (図18B)。AZA+Ven+CC-90011の3つの組み合わせが、AML細胞株において相乗効果を発揮するかどうかを調査するために、22個のAML細胞株のうち13個を、様々な濃度のAZA+Ven+CC-90011で処理した (図18C)。

10

【0068】

【図19】図19A-Mは、CellTiter-Glo (登録商標) を用いた細胞生存能力の分析、およびCombenefitを用いた相乗効果の計算、および「最大単一薬剤」モデリングを用いた表面マッピングを示す。図19A=MV4-11細胞；図19B=OCI-AML2細胞；図19C=Molm-13細胞；図19D=KG1細胞；図19E=HL-60細胞；図19F=Kasumi-1細胞；図19G=GDM-1細胞；図19H=THP-1細胞；図19I=MUTZ-8細胞；図19J=HNT-34細胞；図19K=OCI-AML3細胞；図19L=HEL細胞；および図19M=SIG-M5細胞。

20

【0069】

【図20】図20A-Cは、異なる組み合わせ治療の比較を示す。AZA+Ven+CC-90011の3つの組み合わせが、AZA+CC-90011またはVen+CC-90011と比較して、より有効かどうかを調べるために、これらの薬剤の3つの組み合わせを、2つの組み合わせと比較した (図20A-D)。OCI-AML2において、AZA+CC-90011 (図20A)、Ven+CC-90011 (図20B)、またはAZA+Ven (図20C) の2つの組み合わせは、OCI-AML2細胞において相乗効果を示さなかった。しかしながら、OCI-AML2がAZA+Ven+CC-90011の組み合わせで処理される場合 (図20D)、相乗効果が実質的に増加する。

30

【0070】

【図21】図21は、実施例2の試験設計を示す。

【0071】

詳細な説明

I. 概要

本開示は、(i) 5-アザシチジンを含む医薬組成物；および(ii) 少なくとも1つのさらなる治療剤をヒト対象に投与することによる、急性骨髄性白血病 (AML) の治療方法に関する。いくつかの実施態様において、さらなる治療剤は、ギルテリチニブ、ミドスタウリン、キザルチニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、および／またはベネトクラクスを含む。いくつかの実施態様において、リシン特異的脱メチル化酵素-1 (LSD-1) 阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩は、(i) 5-アザシチジンを含む医薬組成物；および(ii) 少なくとも1つのさらなる治療剤との組み合わせで投与される。また、ヒト対象においてAMLを治療するための、5-アザシチジンを、少なくとも1つのさらなる治療剤と、および適宜LSD-1阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩と共に含む医薬組成物も開示される。

40

【0072】

記載されている別の局面において、(i) 5-アザシチジンを含む医薬組成物；(ii) 少なくとも1つのさらなる治療剤；および(iii) リシン特異的脱メチル化酵素-1 (LSD-1) 阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩をヒト対象に投与することによる、急性骨髄性白血病 (AML) の治療方法が記載される。いくつかの実施態様において、

50

さらなる治療剤は、ギルテリチニブ、ミドスタウリン、キザルチニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、および／またはベネトクラクスを含む。いくつかの実施態様において、さらなる治療剤はベネトクラクスである。また、ヒト対象においてAMLを治療するための、5-アザシチジンを、少なくとも1つのさらなる治療剤、およびリシン特異的脱メチル化酵素-1 (LSD-1) 阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩と共に含む医薬組成物が本明細書に開示される。

【0073】

いくつかの実施態様において、いくつかの組み合わせは、特定の疾患または障害、例えば、癌の種類、並びに望ましくない血管形成または異常な細胞増殖に関連する、またはそれらによって特徴付けられる、特定の疾患および病状などの治療において、相乗的に作用する。

10

【0074】

急性骨髄性白血病 (AML) は、急性骨髄白血病としても知られており、高悪性度の不均一な骨髄の悪性腫瘍である。米国癌協会によると、AMLは、成人で診断される白血病の最も一般的な種類であり、全ての成人の白血病症例の32%を占める。2020年に米国 (US) において、約19,940人がAMLを有すると診断され、11,180人の患者がこの疾患で死亡するであろうことが推定されている。この疾患は特に、患者の大半を占める高齢者において治療が困難であり；そのため、5年の全生存率は約29%しかない。National Cancer Institute, SEER Cancer Stat Facts: Leukemia—Acute Myeloid Leukemia (AML), <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl.html> (2020年6月10日にアクセス)。1970年代から、最初の標準的な治療は、それを受けるのに十分に適した人について、「7+3」レジメンで構成され、これは7日間のシタラビン、および3日間のアントラサイクリンの持続注入を含む。Rai et. al. Blood 1981;58:1203-1212. 次の35年間で、治療標準をわずかに変化させることによって、AML治療を強化することを試みる多くの臨床試験が行われてきた。しかしながら、AMLの分子的個体発生を詳細に説明する近年のデータは、原因となる経路を解明し、これが標的薬物療法を開発するための努力につながった。E. Winer and R. Stone, Ther. Adv. Hematol., 10:PMC6624910 (2019年6月)。

20

【0075】

AMLは再発率が高く、さらに再発性および難治性AMLは非常に困難な疾患状態であり、複数の異常なシグナル伝達経路によって引き起こされ、これによって白血病細胞が阻害されている単一の経路を克服する利点を得る可能性が高いため、本明細書に記載の併用療法の必要性が長い間感じられている。したがって、AMLと闘うための努力において、成功する組み合わせ療法が非常に望ましい。

30

【0076】

本明細書に記載の治療方法のある局面において、治療される患者は約60歳以上である。本明細書に記載の治療方法の別の局面において、治療される患者は約65歳以上、約70歳以上、約75歳以上、または約80歳以上である。さらに別の局面において、患者は再発性AML対象である。さらに別の局面において、患者は難治性AML対象である。治療される対象はまた、約60歳未満、約55歳未満、約50歳未満、約45歳未満、または約40歳未満でありうる。別の局面において、治療される患者は、FLT3-ITDまたはFLT3-TKDのいずれかのFLT3変異を有する。いくつかの局面において、治療される患者は、再発性AML変異を有する。AML変異の例としては、限定されないが、Fms関連チロシンキナーゼ3 (FLT3)、カーステン・ラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ (KRAS)、神経芽腫RASウイルス (V-Ras) 癌遺伝子ホモログ (NRAS)、癌原遺伝子c-Kit (KIT)、タンパク質チロシンホスファターゼ非受容体タイプ11 (PTPN11)、ニューロフィブロミン1 (NF1)、DNAメチルトランスフェラーゼ3A (DNMT3A)、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ1 (IDH1)、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ2 (IDH2)、ten-eleven translocation-2 (TET2)、additional sex comb-like 1 (ASXL1)、enhancer of zeste ho

40

50

molog 2 (EZH2)、混合形質型白血病1／ヒストン－リシン N－メチルトランスフェラーゼ2A (MLL/KMT2A)、ヌクレオフォスミン (NPM1)、CCAATエンハンサー結合タンパク質アルファ (CEBPA)、runt関連転写因子1 (RUNX1)、GATA結合因子2 (GATA2)、腫瘍タンパク質p53 (TP53)、セリンおよびアルギニンリッチスプライシング因子2 (SRSF2)、U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1 (U2AF1)、splicing factor 3b subunit 1 (SF3B1)、ジンクフィンガー (CCCCH型)、RNA結合モチーフおよびセリン／アルギニンリッチ2 (ZRSR2)、RAD21 cohesin complex component (RAD21)、stromal antigen 1 (STAG1)、stromal antigen 2 (STAG2)、structural maintenance of chromosomes 1A (SMC1A)、およびstructural maintenance of chromosomes protein 3 (SMC3) が挙げられる。

10

II. 実験プロトコル

【0077】

試験する薬物の組み合わせとしては、(FLT3 ITDまたはTKD変異を有するAML対象において)イボシデニブ、エナシデニブ、ベネトクラクス、またはFLT3阻害剤との組み合わせで投与される、5－アザシチジンが挙げられる。いくつかの実施態様において、5－アザシチジンはベネトクラクスとの組み合わせで投与される。

【0078】

イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) は、クエン酸回路における重要な酵素である。IDHの変異型は、高いレベルの2－ヒドロキシグルタル酸の (R)－エナンチオマー (R-2-HG) を生じ、腫瘍の成長に寄与しうる。IDH1は細胞質でこの反応を触媒し、IDH2はミトコンドリアでこの反応を触媒する。イボシデニブおよびエナシデニブはIDH阻害剤である。

20

【0079】

イボシデニブ (Tibsovo (登録商標)) は、IDH1の小分子阻害剤である。神経膠腫、急性骨髄性白血病 (AML)、胆管癌、および軟骨肉腫を有すると診断された患者からの腫瘍において、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) 1および2の保存活性部位における体細胞変異が観察される。これらの新しい変異により、これらの酵素は、新規の新形態の挙動を示し、 α －ケトグルタル酸の、癌代謝物であるR-2－ヒドロキシグルタル酸への還元が生じる。イボシデニブは、 α －ケトグルタル酸依存性酵素を競合的に阻害し、最終的にはエピジェネティック変化および造血分化の障害を生じる。

30

【0080】

インビトロ試験において、イボシデニブは、アルファ－ケトグルタル酸 (α -KG) 基質およびNADPH補因子に対して、非競合的阻害性挙動を示した。これは、イボシデニブがmIDH1-R132Hホモ二量体の急速な平衡の阻害剤であることに関係すると考えられているものである。

【0081】

エナシデニブ (Idhifa (登録商標)) は、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ2 (IDH2) 遺伝子の小分子阻害剤である。上記のように、IDHの変異型は高レベルのR-2-HGを生じ、細胞質においてIDH1がこの反応を触媒し、ミトコンドリアにおいてIDH2がこの反応を触媒する。エナシデニブは、ミトコンドリアにおいて (R)－2-HGの総量を減少させることによって、このサイクルを妨害する。

40

【0082】

ベネトクラクス (Venclexta (登録商標)) およびVenclyxto (登録商標) は、BH3 (Bcl-2 ホモログドメイン3)－模倣化合物であり、抗アポトーシス性B細胞リンパ腫-2 (Bcl-2) タンパク質を阻害し、慢性リンパ性白血病 (CLL) 細胞のプログラム細胞死を生じる。一部のリンパ系悪性腫瘍において、Bcl-2の過剰発現は、化学療法に対する耐性の増加と関連する場合があることが示されている。

【0083】

FLT3阻害剤はチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) である。他のチロシンキナーゼ阻

50

害剤と同様に、それらはキナーゼの活性ドメインにおけるアデノシン三リン酸（ATP）結合部位について競合し、タンパク質がリン酸化され、その後そのタンパク質の活性を減少させる能力を阻害する。FLT3変異は、急性骨髄性白血病（AML）で最も一般的な所見の1つである。FLT3／ITD遺伝子は、正常な細胞遺伝を有するAMLの患者の約30%において見られる。FLT3遺伝子は、主にヒト造血前駆細胞および樹状細胞に発現し、白血病細胞の増殖、分化、および生存において重要な役割を有する。FLT3／ITD遺伝子の構造的活性化は、STAT5、RAS、MEK、およびPI3K／AKT経路などの複数の下流シグナル伝達カスケードを引き起こし、最終的に白血病細胞増殖の調節不全などの、白血病細胞のアポトーシスおよび分化の抑制を生じる。評価したFLT3阻害剤としては、ミドスタウリン（Rydapt（登録商標））およびギルテリチニブ（Xospata（登録商標））が挙げられる。ミドスタウリンはスタウロスポリンの半合成誘導体であり、細菌Streptomyces staurosporeusからのアルカロイドであり、発癌性CD135（FMS様チロシンキナーゼ3受容体、FLT3）に対して活性である。ギルテリチニブはまた、AXL受容体チロシンキナーゼの阻害剤としても機能する。

10

20

30

40

【0084】

実施例2は、ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおいて、4-〔2-（4-アミノ-ピペリジン-1-イル）-5-（3-フルオロ-4-メトキシ-フェニル）-1-メチル-6-オキソ-1,6-ジヒドロ-ピリミジン-4-イル〕-2-フルオロ-ベンゾニトリルのベシル酸塩であるCC-90011の安全性および許容性を、集中的な導入化学療法に適格でないAMLを有する治療未経験の対象において評価する実験を記載する。CC-90011はリシン特異的脱メチル化酵素-1（LSD-1）阻害剤である。図21は、実施例2の全体的な試験設計を示す。

【0085】

実験の目標は、（1）集中的な導入に適格でないAMLを有する治療未経験の対象において、ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおいて、CC-90011の安全性および許容性を評価すること；（2）集中的な導入化学療法に適格でないAMLを有する治療未経験の対象において、ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおいて、CC-90011の予備的な有効性を評価すること；および（3）マルチカラーフローサイトメトリー（MFC）および／または次世代シーケンシング（NGS）によって、微小残存病変（MRD）応答率およびMRD変換率を評価することでありうる。さらなる目的としてはまた、（1）骨髄穿刺の評価および末梢血スミア試験によって、MRD応答の期間を調査すること；（2）ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおいて投与される場合、CC-90011のPKプロファイルを特徴付けること；（3）ベネトクラクスおよび5-アザシチジンの組み合わせにおいて、CC-90011の機構的効果を理解するために、PDを特徴付けること；（4）ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおいて、CC-90011のPK、PDバイオマーカー、および／または臨床的結果との関係を調査すること；（5）ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおいて、CC-90011の有効性と相関する骨髄および血液中の分子および／または細胞マーカーを評価すること；および（6）ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおいて、CC-90011のベースライン後の輸血非依存率を評価することが挙げられる。

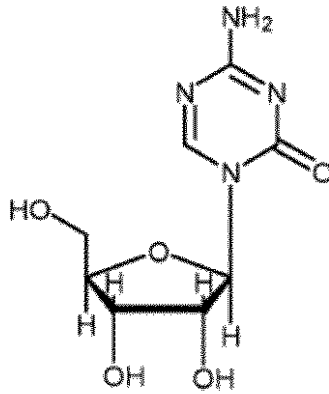
A. 5-アザシチジン

【0086】

5-アザシチジン（National Service Center designation NSC-102816; CAS Registry Number 320-67-2）はまた、アザシチジン、AZA、または4-アミノ-1-B-D-リボフラノシル-1,3,5-トリアジン-2（1H）-オンとしても知られている。市販品であるVIDAZA（登録商標）（注射のための5-アザシチジン）は5-アザシチジンを含み、皮下または静脈内使用のためである。5-アザシチジンはシチジンのピリミジンヌクレオシド類似体である。5-アザシチジンは以下の構造：

50

【化 4】



5-アザシチジン

10

を有する。

【0087】

DNAの複製への取り込みの後、5-アザシチジンはDNAメチルトランスフェラーゼとの共有結合複合体を形成する。DNAメチルトランスフェラーゼは、新規のDNAメチル化および複製されるDNAの娘DNA鎖において確立したメチル化パターンを再現することに関与する。5-アザシチジンによるDNAメチルトランスフェラーゼの阻害はDNAの低メチル化を引き起こし、それによって、正常な細胞周期の制御、分化、および死に関与する遺伝子の再発現によって、形態的な異形成、未熟な造血細胞、および癌細胞に対して正常な機能を回復させる。これらのシチジン類似体の細胞毒性効果は、正常な細胞増殖制御メカニズムにもはや応答しない、癌細胞などの急速に分裂する細胞の死を引き起こす。5-アザシチジンはまた、RNAに取り込まれる。5-アザシチジンの細胞毒性効果は、DNA、RNA、およびタンパク質合成の阻害、RNAおよびDNAへの取り込み、DNA損傷経路の活性化など、複数のメカニズムに起因しうる。

20

【0088】

注射可能な5-アザシチジンは、臨床試験において試験され、例えば、骨髄異形成症候群(MDS)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性骨髄性白血病(CML)、急性リンパ性白血病(ALL)、および非ホジキンリンパ腫(NHL)において、有意な抗腫瘍活性を示した。例えば、Aparicio et al., Curr. Opin. Invest. Drugs 3(4): 627-33 (2002)を参照されたい。

30

【0089】

5-アザシチジンは、様々な増殖性障害の治療のための皮下(SC)または静脈内(IV)投与について承認されている。経口投与は、NCT00761722、NCT01519011、NCT00528982、およびNCT01757535などの臨床試験において試験されている。経口製剤および5-アザシチジンを用いた治療方法は、米国特許第8,846,628号において開示され、これはそのような製剤および治療方法の開示について参照によって援用される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは皮下投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは静脈内投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは約75mg/m²から約100mg/m²の用量で皮下または静脈内投与され、例えば、約75mg/m²、約80mg/m²、約85mg/m²、約90mg/m²、約95mg/m²、または約100mg/m²で皮下または静脈内投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは約75mg/m²の用量で皮下または静脈内投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの最初の7日間毎日、皮下または静脈内投与される。

40

【0090】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンはカプセルまたは錠剤の形態で投与される。いくつかの実

50

施態様において、錠剤は腸溶性コーティングされていない錠剤である。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、約50mg、約60mg、約70mg、約80mg、約90mg、約100mg、約110mg、約120mg、約130mg、約140mg、約150mg、約160mg、約170mg、約180mg、約190mg、約200mg、約210mg、約220mg、約230mg、約240mg、約250mg、約260mg、約270mg、約280mg、約290mg、約300mg、約310mg、約320mg、約330mg、約340mg、約350mg、約360mg、約370mg、約380mg、約390mg、約400mg、約410mg、約420mg、約430mg、約440mg、約450mg、約460mg、約470mg、約480mg、約490mg、約500mg、約510mg、約520mg、約530mg、約540mg、約550mg、約560mg、約570mg、約580mg、または約600mgの用量で経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは約200mgの用量で投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは約300mgの用量で投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの最初の7日間、14日間、または21日間毎日、経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは28日サイクルの最初の14日間毎日、経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは1日1回対象に投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは1日2回対象に投与される。

10

【0091】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの14日間にわたり、1日約200mgの用量で経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの14日間にわたり、1日約300mgの用量で経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの21日間にわたり、1日約200mgの用量で経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの21日間にわたり、1日約300mgの用量で経口投与される。

20

【0092】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14日、または14日を超えて、毎日経口投与され、適宜、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14日、または14日を超える治療休薬日が続く。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、14日以上にわたり毎日経口投与され、適宜、7日以上の治療休薬日が続く。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、21日以上にわたり経口投与され、適宜、7日以上の治療休薬日が続く。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、14日にわたり経口投与され、適宜、14日の治療休薬日が続く。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、21日以上にわたり経口投与され、7日以上の治療休薬日が続く。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、14日間にわたり経口投与され、14日の治療休薬日が続く。

30

【0093】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、14日間にわたり毎日約300mgの用量で経口投与され、14日の治療休薬日が続く。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、14日間にわたり毎日約200mgの用量で経口投与され、14日の治療休薬日が続く。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、21日間にわたり毎日約300mgの用量で経口投与され、7日の治療休薬日が続く。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、毎日約200mgの用量で経口投与され、7日の治療休薬日が続く。

40

【0094】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの7日間にわたり、1日あたりの5-アザシチジンの投与を含む治療サイクルを用いて経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの14日間にわたり、

50

1日あたりの5-アザシチジンの投与を含む治療サイクルを用いて経口投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、28日サイクルの21日間にわたり、1日あたりの5-アザシチジンの投与を含む治療サイクルを用いて経口投与される。

【0095】

5-アザシチジンは、細胞生存率および細胞のエピジェネティック・リプログラミングにおいて影響を有する。Taylor and Jones, Cell 20(1):85-93 (1980). 高用量において、5-アザシチジンは主に急性細胞毒性効果を発揮すると考えられているが (Khan et al., Experimental Hematology 36(2): 149-57, 2008)、低用量において、分化を通して腫瘍細胞のクローン原性を阻害する (Tsai et al., Cancer Cell, 21(3): 430-46, 2012)。

10

【0096】

市販の製品であるVIDAZA (登録商標) は、5-アザシチジンの注射可能な製剤であり、CC-486などの米国特許第8,846,628号に記載されるような、5-アザシチジンの経口の腸溶性コーティングされていない製剤と比較して、比較的高用量において短期間で投与される。臨床試験により、CC-486の14または21日の累積曝露は、5日間投与したVIDAZA (登録商標) よりも低い (Garcia-Manero et al., Leukemia 30(4):889-96, 2016)、CC-486は、VIDAZA (登録商標) と比較して、より持続可能な脱メチル化効果を誘発することが明らかになった。 (Laille et al., PLOS One 10(8):e0135520, 2015)

20

【0097】

5-アザシチジンの曝露期間の関数としての細胞毒性およびエピジェネティックな効果における違いを調べるために、注射可能な5-アザシチジンの高曝露、短期間 (HELD) の投与を、経口投与した5-アザシチジンの低曝露、長期間 (LEED) の投与と比較した。非臨床システムにおいて注射可能な経口アザシチジン投与をモデル化するために、曝露期間を変更させながら、5-アザシチジンの総曝露を一定に保った。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンの経口投与をモデル化するために、5-アザシチジンを、1mg/kgの用量で、低曝露で長期間 (low exposure for extended duration; LEED)、15日間1日1回送達した (QD x 15)。5-アザシチジンの静脈内または皮下投与による同じ累積用量をモデル化するために、5-アザシチジンを、3mg/kgの用量で、高曝露で短期間 (high exposure for a limited duration; HELD)、5日間1日1回投与した (QD x 5)。

30

【0098】

いくつかの実施態様において、他の薬剤と組み合わせた5-アザシチジンのLEED投与は、持続的な薬力学的効果および／または改善された患者のコンプライアンスを提供する。持続的な薬力学的効果には、例えば、MCL-1分解、および／またはATF3またはSCD遺伝子発現の変化など、5-アザシチジンによって誘発される任意の変化が含まれ得る。いくつかの実施態様において、他の薬剤との組み合わせにおける5-アザシチジンのLEEDは、他の薬剤との組み合わせにおける5-アザシチジンのHELDと比較して、治療サイクル (すなわち、28日サイクル) の終了まで持続する、(例えば、核酸取り込みの増加に起因する) 全体的なDNAメチル化の減少を提供する。いくつかの実施態様において、他の薬剤との組み合わせにおける5-アザシチジンのLEEDは、28日サイクルの21日目にピークに達し、28日サイクルの28日まで生存能力の漸進的な喪失を特徴とする細胞死を有する、分化マーカーの上方制御を提供する。いくつかの実施態様において、他の薬剤との組み合わせにおける5-アザシチジンのHELDは、28日サイクルの7日目にピークに達し、14日目にピークがあり、その後28日サイクルにおいて回復することによって特徴付けられる細胞死を有する、分化マーカーの上方制御を提供する。いくつかの実施態様において、他の薬剤との組み合わせにおける5-アザシチジンのLEEDは、他の薬剤との組み合わせにおける5-アザシチジンのHELDと比較して、治療サイクル (すなわち、28日サイクル) を通して維持される、限定されないが、CD11b、CD14、CD86、HLA-DR、およびMERTKなどの、骨髄分化マーカー

40

50

一のより高い発現を提供する。いくつかの実施態様において、他の薬剤との組み合わせにおける５－アザシチジンのＬＥＥＤは、他の薬剤との組み合わせにおける５－アザシチジンのＨＥＬＤと比較して、より顕著なエピジェネティックな変化およびより広範な分化を提供する。

【００９９】

ⅡⅡ．薬学的製剤

A．５－アザシチジン

いくつかの実施態様において、本明細書に記載の方法は、例えば、５－アザシチジンのＩＶまたはＳＣ投与に関連する制限を克服するために、本明細書において提供される特定の経口製剤を投与することを含む。例えば、ＩＶまたはＳＣ投与は、５－アザシチジンを定期的により長期間送達する能力を制限する場合があり、それによって５－アザシチジンの最大有効性を制限する可能性がある。長期間のＩＶまたはＳＣ投与スケジュールの厳密さを遵守することは困難であるため、長期間の５－アザシチジンのＳＣまたはＩＶ曝露は、対象（例えば、多発性血球減少症を有する対象）がレジメンを中止する可能性がある。例えば、Lyons et al., Hematologic Response to Three Alternative Dosing Schedules of Azacitidine in Patients With Myelodysplastic Syndromes, J. Clin. Oncol. (2009) (DOI:10.1200/JCO.2008.17.1058)を参照されたい。そのため、いくつかの実施態様において、本明細書において提供される方法は、これらの制限、またはＳＣもしくはＩＶの５－アザシチジン投与に関連する他の制限を克服するために、本明細書において提供される経口製剤を投与することを含む。

【０１００】

本明細書に記載のいくつかの実施態様は、ＩＶまたはＳＣ投与と比較して、より長期間にわたってより低い用量で５－アザシチジン（例えば、アザシチジン）を送達することを含む、本明細書において提供される５－アザシチジンの経口製剤を投与することを含む方法を提供する。特定の実施態様において、そのような方法は、本明細書において提供される経口製剤を投与することによる、用量関連血球減少症（例えば、アザシチジンに関連する用量関連血球減少症など）の管理を含む。いくつかの実施態様において、本明細書において提供される方法は、ＩＶまたはＳＣの５－アザシチジンを含む用量と比較して、向上した安全性プロファイルを達成するために、本明細書において提供される経口製剤を投与することを含む。

【０１０１】

本明細書に記載の実施態様は、５－アザシチジンおよび透過促進剤を含む（または透過促進剤を含まない）、医薬製剤および組成物を含み、ここで、製剤および組成物は経口投与のために製剤化される。特定の実施態様は、本明細書において提供される、特定の医学的適応症を治療するための医薬製剤および組成物の製造のための、５－アザシチジンの使用に関する。本明細書において提供される５－アザシチジンを含む医薬製剤および組成物は、必要な対象における５－アザシチジンの経口送達を意図する。経口送達フォーマットとしては、限定されないが、錠剤、カプセル、カプレット、溶液、懸濁液、およびシロップが挙げられる。

【０１０２】

本明細書における特定の実施態様は、錠剤またはカプセルである固体経口剤形を提供する。いくつかの実施態様において、製剤は５－アザシチジンを含む錠剤である。いくつかの実施態様において、錠剤は５－アザシチジンを含むカプセルである。いくつかの実施態様において、本明細書において提供される錠剤またはカプセルは、例えば、流動促進剤、希釈剤、滑沢剤、着色剤、崩壊剤、造粒剤、結合剤、ポリマー、およびコーティング剤などの、１つ以上の賦形剤を含むか、あるいは１つ以上の賦形剤を必要としない。いくつかの実施態様において、本明細書に記載の実施態様は、異常な細胞増殖に関連する疾患を治療するための医薬組成物の調製のための、５－アザシチジンの使用を含み、ここで、組成物は経口投与のために調製される。

B．少なくとも１つのさらなる治療剤

【0103】

特定の実施態様において、本明細書において提供される5-アザシチジン組成物はさらに、1、2、3、またはそれ以上の他の薬学的に活性な物質（「さらなる治療剤」、「第二活性剤」などとも称される）を含む。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン組成物は経口製剤である。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤を含む5-アザシチジン経口組成物は、本明細書に開示される任意の疾患または障害の治療のために用いられる。特定の実施態様において、本明細書において提供される経口製剤は、治療有効量のさらなる治療剤を含む。

【0104】

さらなる治療剤の例としては、限定されないが、ギルテリチニブ、ミドスタウリン、キザルチニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、およびベネトクラクスが挙げられる。

10

【0105】

さらなる治療剤の例としては、限定されないが、FLT3阻害剤、IDH2阻害剤、IDH1阻害剤、およびBCL2阻害剤が挙げられる。第一世代FLT3阻害剤の例としては、限定されないが、ミドスタウリン、レスタウルチニブ、スニチニブ（Sutent（登録商標））、およびソラフェニブ（ネクサバル（登録商標））が挙げられる。第二世代FLT3阻害剤の例としては、限定されないが、キザルチニブ、クレノラニブ、ペキシダルチニブ（PLX3397）、およびギルテリチニブ（ASP2215）が挙げられ、第一世代阻害剤よりも強力で選択的である。IDH1および／またはIDH2阻害剤などの、IDH阻害剤の例としては、限定されないが、イボシデニブおよびエナシデニブが挙げられる。BCL2阻害剤の例としては、限定されないが、ベネトクラクス（ABT-199）、ナビトクラクス（ABT-263）、ABT-737（4-[[4-[[2-（4-クロロフェニル）フェニル]メチル]ピペラジン-1-イル]-N-[[4-[[（2R）-4-（ジメチルアミノ）-1-フェニルスルファニルブタン-2-イル]アミノ]-3-ニトロフェニル]スルホニルベンズアミド）、オバトクラクスメシル酸塩（GX15-070）、TW-37（N-[[4-（2-tert-ブチルフェニル）スルホニルフェニル]-2,3,4-トリヒドロキシ-5-[[（2-プロパン-2-イルフェニル）メチル]ベンズアミド）、AT101（（R）-（-）-ゴシポール）、HA14-1（2-アミノ-6-プロモ- α -シアノ-3-（エトキシカルボニル）-4H-1-ベンゾピラン-4-酢酸エチルエステル）、およびサブトクラクスが挙げられる。

20

30

【0106】

さらなる治療剤の例としては、限定されないが、ギルテリチニブ、ミドスタウリン、キザルチニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、およびベネトクラクスが挙げられる。さらなる治療剤の例は、ベネトクラクスである。

C. 少なくとも1つのさらなる治療剤としてのベネトクラクス

【0107】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを含む経口医薬組成物は、さらなる治療剤としてベネトクラクスと共に用いられる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン経口組成物は、本明細書に開示される任意の疾患または障害を治療するために、ベネトクラクスと共に用いられる。

40

【0108】

ベネトクラクスはBCL-2の小分子阻害剤であり、錠剤の形態であるVENCLXTA（登録商標）として販売されている。ベネトクラクスは以下に適応する：（i）慢性リンパ性白血病（CLL）または小リンパ性リンパ腫（SLL）を有する成人患者の治療；（ii）75歳以上、または集中的な導入化学療法の使用を妨げる併存疾患を有する成人における、新たに診断された急性骨髄性白血病（AML）の治療のための、注射可能な5-アザシチジンまたはデシタビンまたは低用量シタラビンの組み合わせ。

【0109】

ベネトクラクスを用いる治療は、推奨される1日の投与量まで、数日または数週間の特定期間にわたり、毎週強化スケジュールに従って開始される。CLLおよびSLLの治

50

療のために、ベネトクラクスを第1週に20mgの一日用量、第2週に50mgの1日用量、第3週に100mgの1日用量、第4週に200mgの1日用量、および第5週以降に400mgの1日用量で投与する。注射可能な5-アザシチジンなどの別の薬剤との組み合わせ療法においてAMLを治療するために、ベネトクラクスを1日目に100mgの1日用量、2日目に200mgの1日用量、および3日目以降の400mgの1日用量で投与する。注射可能な5-アザシチジンを、ベネトクラクス治療の1日目から開始される28日サイクルにおいて、各サイクルの1～7日目にIVまたは皮下で75mg/m²の用量で投与する。

【0110】

いくつかの実施態様において、ベネトクラクスを経口投与する。いくつかの実施態様において、ベネトクラクスを錠剤の形態で投与する。いくつかの実施態様において、ベネトクラクスを毎日投与する。いくつかの実施態様において、ベネトクラクスを約20mgから約400mg、例えば、約20mg、約50mg、約100mg、約200mg、または約400mgなどの用量で投与する。いくつかの実施態様において、ベネトクラクスを約400mgの用量で投与する。

【0111】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよびベネトクラクスを同時に投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよびベネトクラクスを順次投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよびベネトクラクスを順次投与する場合、5-アザシチジンを最初に投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよびベネトクラクスは、静脈内または皮下使用に適切な注射剤および／または経口使用に適切な錠剤またはカプセルなどの、別個の剤形として投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよびベネトクラクスは、静脈内または皮下使用に適切な注射剤または経口使用に適切な錠剤またはカプセルなどの、単一剤形として共に製剤化される。

D. LSD-1 阻害剤

【0112】

近年の研究では、白血病性幹細胞(LSC)の生存が、疾患の再発および最終的な治療耐性のメカニズムに重要な役割を有する可能性があることが示されている。現在の治療は、前癌性または悪性クローンによって腫瘍再発を起こすLSCが残る場合がある。したがって、LSCの根絶は長期生存の増加をもたらさう。さらに、リシン特異的脱メチル化酵素1A(LSD1)活性がLSCコンパートメントにおいて存在し、上昇することが示され、これはLSD1活性の阻害がLSCコンパートメントを根絶した可能性を示唆する。

【0113】

集中的な導入化学療法に不適格な患者の治療選択肢は限定されており、集中的な導入化学療法に不適格な患者は、標準的な集中的な導入化学療法に十分に適合する患者と比較して、悪化した生存結果を有する。アザシチジンと、ベネトクラクスなどの他のさらなる治療剤とを用いた組み合わせレジメンは、以前のレジメンと比較して、患者集団における応答率を改善しているが、リシン特異的脱メチル化酵素-1(LSD-1)阻害剤の添加は、AMLの病因として示唆されているLSD1の異常な発現、およびAML幹細胞集団の増殖を選択的に阻害し、より深くさらに持続的な応答を生じうる。

【0114】

したがって、本開示はまた、(i)AMLなどの疾患および障害に対して、5-アザシチジンを含む組成物を、リシン特異的脱メチル化酵素-1(LSD-1)阻害剤および少なくとも1つのさらなる治療剤、例えば、ベネトクラクスと共に用いる方法に関する。いくつかの実施態様において、治療される対象は、 ≥ 75 歳および／または ≥ 60 から74歳であり、集中的な導入化学療法の使用を妨げる併存疾患を有する、AMLを有する治療未経験の対象である。

【0115】

10

20

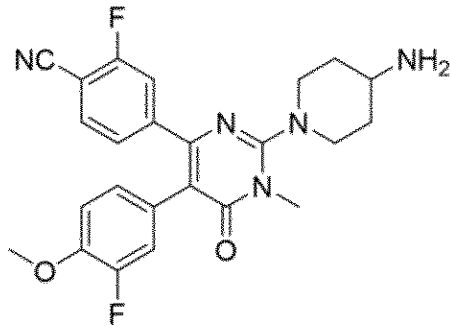
30

40

50

LSD-1 阻害剤を用いることを含む、本明細書に記載の実施態様において、LSD-1 阻害剤は、以下の構造：

【化 5】



を有する化合物、またはその薬学的に許容可能な塩である。上記の化合物の化学名は、4-[2-(4-アミノ-ピペリジン-1-イル)-5-(3-フルオロ-4-メトキシフェニル)-6-オキソ-1,6-ジヒドロ-ピリミジン-4-イル]-2-フルオロベンゾニトリルであり、 $C_{23}H_{21}F_2N_5O_2$ の化学式、437.44の分子量、および1821307-10-1のCAS番号を有する。4-[2-(4-アミノ-ピペリジン-1-イル)-5-(3-フルオロ-4-メトキシフェニル)-1-メチル-6-オキソ-1,6-ジヒドロ-ピリミジン-4-イル]-2-フルオロベンゾニトリルは、米国特許第9,255,097号に記載されている。

【0116】

本明細書に記載の任意の実施態様において、LSD-1 阻害剤は経口投与されうる。経口投与量は一般に、約1.0mgから約1000mgの範囲であり、1日あたり1~4回以上である。いくつかの実施態様において、LSD-1 阻害剤は約20mg、約40mg、または約60mgの用量で投与される。本明細書に記載の任意の実施態様において、LSD-1 阻害剤は錠剤またはカプセルの形態で投与されうる。本明細書に記載の任意の実施態様において、LSD-1 阻害剤は週1回投与されうる。本明細書に記載の任意の実施態様において、LSD-1 阻害剤は約60mgの用量で投与されうる。

IV. 治療方法

【0117】

本明細書に記載されるように、本明細書におけるいくつかの実施態様は、急性骨髄性白血病（AML）を有するヒト対象を治療する方法を提供し、ここで、当該方法は、(i) 5-アザシチジンを含む医薬組成物、(ii) 少なくとも1つのさらなる治療剤、および(iii) リシン特異的脱メチル化酵素-1（LSD-1）阻害剤またはその薬学的に許容可能な塩の組み合わせを対象に投与することを含む。

【0118】

治療を必要とする対象は、AMLのリスクが増加した患者集団のメンバーでありうる。例えば、いくつかの受け継がれた遺伝性疾患および免疫不全疾患は、AMLのリスクの増加に関連する。これらとしては、無作為な染色体切断を生じるDNAの安定性の欠損を伴う障害、例えば、ブルーム症候群、ファンコニ貧血、リ・フラウメニ症候群、毛細血管拡張性運動失調症、およびX連鎖無ガンマグロブリン血症などが挙げられる。

【0119】

いくつかの実施態様において、本明細書に記載される方法は、特定の種類のAMLを治療するために用いられうる。AMLの例示的な種類としては、限定されないが、反復性遺伝子異常を有するAML、骨髄形成異常関連の変化を有するAML、治療関連骨髄性腫瘍、骨髄性肉腫、ダウン症に関連する骨髄増殖、芽球形質細胞様樹状細胞腫瘍、および／または急性前骨髄球性白血病が挙げられる。

【0120】

10

20

30

40

50

いくつかの実施態様において、AMLは、以下の変異のいずれか1つを有することによって特徴付けられる：Fms 関連チロシンキナーゼ3 (FLT3)、カーステン・ラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ (KRAS)、神経芽腫RASウイルス (V-Ras) 癌遺伝子ホモログ (NRAS)、癌原遺伝子c-Kit (KIT)、タンパク質チロシンホスファターゼ非受容体タイプ11 (PTPN11)、ニューロフィブロミン1 (NF1)、DNAメチルトランスフェラーゼ3A (DNMT3A)、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ1 (IDH1)、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ2 (IDH2)、ten-eleven translocation-2 (TET2)、additional sex comb-like 1 (ASXL1)、enhancer of zeste homolog 2 (EZH2)、混合形質型白血病1/ヒストン-リシンN-メチルトランスフェラーゼ2A (MLL/KMT2A)、ヌクレオフォスミン (NPM1)、CCAATエンハンサー結合タンパク質アルファ (CEBPA)、runt 関連転写因子1 (RUNX1)、GATA結合因子2 (GATA2)、腫瘍タンパク質p53 (TP53)、セリンおよびアルギニンリッチスプライシング因子2 (SRSF2)、U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1 (U2AF1)、splicing factor 3b subunit 1 (SF3B1)、ジンクフィンガー (CCH型)、RNA結合モチーフおよびセリン/アルギニンリッチ2 (ZRSR2)、RAD21 cohesin complex component (RAD21)、stromal antigen 1 (STAG1)、stromal antigen 2 (STAG2)、structural maintenance of chromosomes 1A (SMC1A)、およびstructural maintenance of chromosomes protein 3 (SMC3)。

10

【0121】

20

いくつかの実施態様において、AMLはFLT3-ITD変異を有することによって特徴付けられる。いくつかの実施態様において、AMLは少なくとも1つのさらなる治療剤のみによる治療に耐性である。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、少なくとも1つのさらなる治療剤の前に投与される。いくつかの実施態様において、AMLはFLT3阻害剤による治療に応答性である。いくつかの実施態様において、AMLはMCL-1の過剰発現を有することによって特徴付けられる。

【0122】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンは、MCL-1の発現を下方制御することによって、少なくとも1つのさらなる治療剤によって介在されるアポトーシスについて癌細胞を刺激する。いくつかの実施態様において、MCL-1の発現の下方制御は、カスパーゼ依存性または非依存性メカニズムによって介在される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤は、MCL-1分解を増加させる。

30

V. 5-アザシチジン、さらなる治療剤、およびLSD-1阻害剤の使用法

【0123】

ある局面において、5-アザシチジンを、リシン特異的脱メチル化酵素-1 (LSD-1) 阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩、およびベネトクラクスなどの少なくとも1つのさらなる治療剤との組み合わせにおいて含む、医薬組成物を用いる、AMLなどの疾患および障害を治療する方法が提供される。いくつかの実施態様において、対象は集中的な導入化学療法に適格でない。

40

【0124】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤を同時に投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤を順次投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤は、単一剤形として共に製剤化される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤を同時に投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤を順次投与する。いくつかの実施態様において、少なくとも1つの治療剤、およびLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を同時に投与する。いくつかの実施態様において、少なくとも1つの治療剤、およびLSD-1阻害剤、または薬学的に

50

許容可能な塩を順次投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、およびLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を同時に投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、およびLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を順次投与する。

【0125】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを皮下投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを静脈内投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを約75mg/m²から約100mg/m²の用量で皮下または静脈内投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを約75mg/m²の用量で皮下または静脈内投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを28日サイクルの最初の7日間にわたり毎日、皮下または静脈内投与する。

10

【0126】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを経口投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを約50mg、約60mg、約70mg、約80mg、約90mg、約100mg、約150mg、約200mg、約250mg、約300mg、約350mg、約400mg、約450mg、約500mg、約550mg、または600mgの用量で経口投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを約200mgの用量で投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを約300mgの用量で投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンをサイクルの最初の7日、14日、または21日にわたり経口投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを1日1回または2回、対象に投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンをカプセルまたは錠剤の形態で投与する。いくつかの実施態様において、錠剤は腸溶性コーティングされていない錠剤である。

20

【0127】

いくつかの実施態様において、さらなる治療剤は、ギルテリチニブ、ミドスタウリン、キザルチニブ、エナシデニブ、イボシデニブ、またはベネトクラクスから選択される。いくつかの実施態様において、さらなる治療剤はベネトクラクスである。

【0128】

いくつかの実施態様において、ベネトクラクスを経口投与する。いくつかの実施態様において、ベネトクラクスを錠剤の形態で投与する。いくつかの実施態様において、ベネトクラクスを毎日投与する。いくつかの実施態様において、ベネトクラクスを約400mgの用量で投与する。

30

【0129】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、およびLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩は、本明細書に開示される疾患を治療するための相乗効果を提供する。相乗効果は、最大単一薬剤(HSA)モデルおよびCombeneFitパッケージを用いて測定しうる(Di Veroli et al., Bioinformatics, 2016 Sep 15;32(18):2866-8)。陰性細胞株を対照として用いて、EC₅₀の変化および／または最大阻害効果の増大があるかどうかを決定した。言い換えれば、陰性対照細胞株からのEC₅₀および最大阻害効果は、ベースライン効力の結果を提供し、EC₅₀の変化および薬物の組み合わせの最大阻害効果を、陰性対照細胞株からの結果と比較して、薬物の組み合わせが相乗効果を提供するかどうかを決定する。具体的には、以下のステップを用いて、2つの薬物間の相乗的相互作用を決定する：(a) 陰性対照細胞株からの結果と比較した、EC₅₀（すなわち、効力の変化）から決定した用量応答曲線の変化および／または最大阻害効果の増大の実証；(b) 2つの薬物間の濃度マトリックスに対する相乗効果、相加性、または拮抗作用を可視化するための応答曲面分析；および(c) 組み合わせインデックススコア(ソフトウェアアプリケーションCombeneFit)の分析。(薬物の組み合わせが相乗効果を示すような)相乗指数が有意になる限界は経験的に決定され、データの分散およびEC₅₀の効力シフトの確認に基づいてい

40

50

る。言い換えれば、用量応答曲線の明確な変化がなければ、組み合わせ指数は相乗的相互作用を構成しない。本明細書で使用される場合、いくつかの実施態様において、相乗効果は、HSAモデルおよびCombeneftパッケージによって測定される場合、約4を超えるEC50変化および／または約20を超える相乗指数を有することとして定義される。

【0130】

いくつかの実施態様において、AMLはFLT3-ITD変異を有することを特徴とする。いくつかの実施態様において、AMLは少なくとも1つのさらなる治療剤のみによる治療に耐性である。いくつかの実施態様において、AMLはLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩のみによる治療に耐性である。

10

【0131】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、5-アザシチジンのみと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、5-アザシチジンのみと比較して、臨床的に認められた技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

【0132】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、5-アザシチジンのみと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、5-アザシチジンのみと比較して、臨床的に認められた任意の技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

20

【0133】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、少なくとも1つのさらなる治療剤のみと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、少なくとも1つのさらなる治療剤のみと比較して、臨床的に認められた任意の技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

30

【0134】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、ベネトクラクスのみと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、ベネトクラクスのみと比較して、臨床的に認められた任意の技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

40

【0135】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、LSD-1阻害剤

50

、またはその薬学的に許容可能な塩と比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、LSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩と比較して、臨床的に認められた任意の技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

【0136】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、LSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩と比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、LSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩と比較して、臨床的に認められた任意の技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

10

【0137】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩のいずれか2つの組み合わせと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩のいずれか2つの組み合わせと比較して、臨床的に認められた任意の技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

20

【0138】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、および薬学的に許容可能な塩のいずれか2つの組み合わせと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩のいずれか2つの組み合わせと比較して、臨床的に認められた任意の技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

30

40

【0139】

いくつかの実施態様において、経口投与される5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤は、静脈内または皮下投与される5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤と比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、経口投与される5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤は、静脈内または皮下投与される5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤と比較して、臨床的に認められた任意の技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

50

【0140】

いくつかの実施態様において、経口投与される5-アザシチジンおよびベネトクラクスは、静脈内または皮下投与される5-アザシチジンおよびベネトクラクスと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、経口投与される5-アザシチジンおよびベネトクラクスは、静脈内または皮下投与される5-アザシチジンおよびベネトクラクスと比較して、臨床的に認められた任意の技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

【0141】

いくつかの実施態様において、経口投与される5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、静脈内または皮下投与される5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、経口投与される5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、静脈内または皮下投与される5-アザシチジン、少なくとも1つのさらなる治療剤、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせと比較して、臨床的に認められた任意の技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

【0142】

いくつかの実施態様において、経口投与される5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、静脈内または皮下投与される5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせと比較して、AML細胞死を増加させる。いくつかの実施態様において、経口投与される5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせは、静脈内または皮下投与される5-アザシチジン、ベネトクラクス、LSD-1阻害剤、およびその薬学的に許容可能な塩の組み合わせと比較して、臨床的に認識されている技術によって測定して、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%、AML細胞死を増加させる。

【0143】

いくつかの実施態様において、治療方法は、1、2、3、4、およびそれ以上など、1回以上のサイクルで投与される。いくつかの実施態様において、1つのサイクルは、約7日、約14日、約21日、または約28日の期間である。いくつかの実施態様において、1つのサイクルは約28日の期間である。

【0144】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを、約28日サイクルの最初の約7日間にわたり1日1回、対象に皮下または静脈内投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを、約28日サイクルの1～7日目に1日1回、対象に皮下または静脈内投与する。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを、約28日サイクルの連続した7日間において1日1回、対象に皮下または静脈内投与する。

【0145】

いくつかの実施態様において、LSD-1阻害剤を、約28日サイクルにおいて週に約1回、対象に投与する。いくつかの実施態様において、LSD-1阻害剤を、約28日サイクルの約1、8、15、および22日目に、対象に投与する。いくつかの実施態様において、LSD-1阻害剤を、約28日サイクルの約7、14、21、および28日目に、

10

20

30

40

50

対象に投与する。

【0146】

いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤を、約28日サイクルにおいて1日1回、対象に投与する。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤を、約28日サイクルの約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、および28日目に、対象に投与する。いくつかの実施態様において、さらなる治療剤はベネトクラクスである。

【0147】

いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを、約75mg/m²から約100mg/m²、例えば、約75mg/m²、約80mg/m²、約85mg/m²、約90mg/m²、約95mg/m²、または約100mg/m²の用量で、約28日サイクルの最初の7日間にわたり1日1回、好ましくは皮下または静脈内で投与される。いくつかの実施態様において、5-アザシチジンを、約75mg/m²から約100mg/m²、例えば、約75mg/m²、約80mg/m²、約85mg/m²、約90mg/m²、約95mg/m²、または約100mg/m²などの用量で、約28日サイクルの連続した7日間において1日1回、好ましくは皮下または静脈内で投与する。

【0148】

いくつかの実施態様において、LSD-1阻害剤を、約20mgから60mg、例えば、約20mg、約30mg、約40mg、約50mg、または約60mgなどの用量で、約28日サイクルで週1回、対象に投与する。いくつかの実施態様において、LSD-1阻害剤を、約20mgから60mg、例えば、約20mg、約30mg、約40mg、約50mg、または約60mgなどの用量で、約28日サイクルの1、8、15、および22日目において1日1回、対象に投与する。いくつかの実施態様において、LSD-1阻害剤を、約20mgから60mg、例えば、約20mg、約30mg、約40mg、約50mg、または約60mgなどの用量で、約28日サイクルの7、14、21、および28日目において1日1回、対象に投与する。

【0149】

いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤（例えば、ベネトクラクス）を、約28日サイクルにおいて1日1回、少なくとも約100mgの用量で、対象に投与する。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤（例えば、ベネトクラクス）を、約28日サイクルの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、および28日目に1日1回、少なくとも約100mgの用量で、対象に投与する。

【0150】

いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤（例えば、ベネトクラクス）を、約28日サイクルにおいて1日1回、約100mgから約400mg、例えば、約100mg、約150mg、約200mg、約250mg、約300mg、約350mg、または約400mgなどの用量で、対象に投与する。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤（例えば、ベネトクラクス）を、約28日サイクルの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、および28日目に1日1回、約100mgから約400mg、例えば、約100mg、約150mg、約200mg、約250mg、約300mg、約350mg、および約400mgなどの用量で、対象に投与する。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤（例えば、ベネトクラクス）を、約28日サイクルにおいて1日1回、約400mgの用量で対象に投与する。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤（例えば、ベネトクラクス）を、約28日サイクルの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、2

10

20

30

40

50

3、24、25、26、27、および28日目に1日1回、約400mgの用量で対象に投与する。

【0151】

いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤（例えば、ベネトクラクス）は、約28日サイクルの1日目に約100mgの用量、2日目に約200mgの用量、3日目に約300mgの用量、および4～28日目に約400mgの用量で、対象に投与する。

【0152】

いくつかの実施態様において、当該方法は：28日サイクルの最初の7日間にわたり1日1回、対象に5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；28日サイクルにおいて1日1回、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および28日サイクルにおいて週1回、対象にLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を投与することを含む。

10

【0153】

いくつかの実施態様において、当該方法は：（a）28日サイクルの1、2、3、4、5、6、および7日目に、対象に5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；（b）28日サイクルの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、および28日目に、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および（c）28日サイクルの1、8、15、および22日目に、対象にLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を投与することを含む。

20

【0154】

いくつかの実施態様において、当該方法はさらに：（a）28日サイクルの最初の7日間にわたり毎日、約75mg/m²の用量で、5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；および／または（b）28日サイクルの毎日、少なくとも約100mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および／または（c）28日サイクルの週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を投与することを含む。

【0155】

いくつかの実施態様において、当該方法は、28日サイクルの1日目に約100mgの用量、2日目に約200mgの用量、3日目に約300mgの用量、および4～28日目に約400mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を同時に投与することを含む。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤の投与は、ベネトクラクスの投与を含む。

30

【0156】

いくつかの実施態様において、当該方法は：（a）28日サイクルの最初の7日間にわたり毎日、約75mg/m²の用量で、5-アザシチジンを皮下または静脈内投与すること；および／または（b）28日サイクルの毎日、約400mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および／または（c）28日サイクルの週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を経口投与することを含む。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤を投与することは、ベネトクラクスを投与することを含む。

40

【0157】

いくつかの実施態様において、方法は：（a）28日サイクルの最初の14日間にわたり1日1回、対象に5-アザシチジンを経口投与すること；（b）28日サイクルにおいて1日1回、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および（c）28日サイクルにおいて週1回、対象にLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を投与することを含む。

【0158】

いくつかの実施態様において、当該方法は：（a）28日サイクルの1、2、3、4、

50

5、6、7、8、9、10、11、12、13、および14日に、対象に5-アザシチジンを経口投与すること；(b) 28日サイクルの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、および28日目に、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および(c) 28日サイクルの1、8、15、および22日目に、対象にLSD-1阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩を投与することを含む。

【0159】

いくつかの実施態様において、当該方法はさらに：(a) 28日サイクルの最初の14日間にわたり毎日、約300mgの用量で、5-アザシチジンを投与すること；および／または(b) 28日サイクルの毎日、少なくとも約100mgの用量で対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および／または(c) 28日サイクルの週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で対象にLSD-1阻害剤を投与することを含む。

10

【0160】

いくつかの実施態様において、当該方法はさらに：(a) 28日サイクルの最初の14日間にわたり毎日、約200mgの用量で、5-アザシチジンを投与すること；および／または(b) 28日サイクルの毎日、少なくとも約100mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を投与すること；および／または(c) 28日サイクルの週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で対象にLSD-1阻害剤を投与することを含む。

20

【0161】

いくつかの実施態様において、当該方法は、28日サイクルの1日目に約100mgの用量、2日目に約200mgの用量、3日目に約300mgの用量、および4～28日目に約400mgの用量で、少なくとも1つのさらなる治療剤を対象に同時に投与することを含む。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤の投与は、ベネトクラクスの投与を含む。

【0162】

いくつかの実施態様において、当該方法は：(a) 28日サイクルの最初の14日間にわたり毎日、約300mgの用量で5-アザシチジンを経口投与すること；および／または(b) 28日サイクルの毎日、約400mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を経口投与すること；および／または(c) 28日サイクルの週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を経口投与することを含む。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤の投与は、ベネトクラクスの投与を含む。

30

【0163】

いくつかの実施態様において、当該方法は：(a) 28日サイクルの最初の14日間にわたり毎日、約200mgの用量で5-アザシチジンを経口投与すること；および／または(b) 28日サイクルの毎日、約400mgの用量で、対象に少なくとも1つのさらなる治療剤を経口投与すること；および／または(c) 28日サイクルの週1回、約20mg、約40mg、または約60mgの用量で、対象にLSD-1阻害剤を経口投与することを含む。いくつかの実施態様において、少なくとも1つのさらなる治療剤を投与することは、ベネトクラクスを投与することを含む。

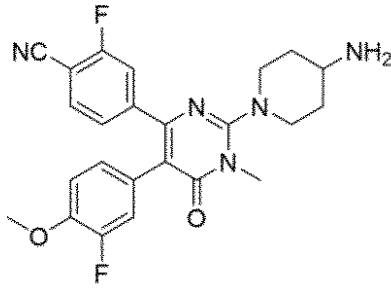
40

【0164】

別の局面において、集中的な導入化学療法に適格でない、急性骨髄性白血病(AML)を有する対象の治療方法もまた提供され、当該方法は、対象に、(i) 最初の連続的な28日サイクルにおいて：(a) 5-アザシチジンを、1～7日において、約75mg/m²の用量で、皮下または静脈内で毎日；(b) ベネトクラクスを、1日目に約100mg；2日目に約200mg、および3～28日目に毎日約400mgの用量で、経口で；および(c) 以下の化合物：

50

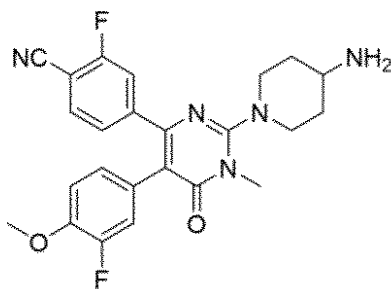
【化 6】



10

のベシル酸塩を含む医薬組成物を、1、8、15、および22日目に；および（ii）その後の28日サイクルにおいて：（d）5-アザシチジンを、それぞれのその後のサイクルの1～7日目に、約75 mg/m²の用量で、皮下または静脈内で毎日；（e）ベネトクラクスを、それぞれのその後のサイクルの1～28日目に、約400 mgの用量で、経口で；および（f）以下の化合物：

【化 7】



20

のベシル酸塩を含む医薬組成物を、それぞれのその後のサイクルの1、8、15、および22日目に、投与することを含む。

【0165】

いくつかの実施態様において、医薬組成物は、最初の連続した28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、約20 mgの用量で投与される。いくつかの実施態様において、医薬組成物は、最初の連続した28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、約40 mgの用量で投与される。いくつかの実施態様において、医薬組成物は、最初の連続した28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、約60 mgの用量で投与される。

30

【0166】

いくつかの実施態様において、医薬組成物は、最初の連続した28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、約20 mgの用量で投与される。いくつかの実施態様において、20 mgの用量が耐性である場合、第二用量コホートが開かれ、ここで、医薬組成物は最初の連続した28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、約40 mgの用量で投与される。

40

【0167】

いくつかの実施態様において、40 mgの用量が耐性である場合、第三用量コホートが開かれ、ここで、医薬組成物は最初の連続した28日サイクルおよびその後の28日サイクルにおいて、約40 mgの用量で投与される。

【0168】

参照による援用：本明細書を通して参照される、全ての開示（例えば、特許、刊行物、およびウェブページ）は、その全体が参照によって援用される。さらに、以下の開示はまた、その全体が本明細書に参照によって援用される：(1) 2008 ASCO poster abstract by Skikne et al., Leukemia, 2008, 22, 1680-84。

V I . 定義

50

【0169】

特に定義されない限り、本明細書において用いられる全ての技術的および科学的用語は、本技術分野における当業者に通常理解されるものと同じ意味を有する。本明細書において参照される全ての刊行物および特許は、その全体が引用によって本明細書に援用される。

【0170】

明細書および付属の特許請求の範囲において用いられるように、不定冠詞「a」および「an」、並びに定冠詞「the」は、文脈が明らかにそうでないものを示していない限り、複数形並びに単数形の言及を含む。

【0171】

用語「約」または「およそ」は、当業者によって決定される特定の値について許容される誤差を意味し、これはその値がどのように測定または決定されるかに部分的に依存する。いくつかの実施態様において、用語「約」または「およそ」は、1、2、3、または4標準偏差内を意味する。いくつかの実施態様において、用語「約」または「およそ」は、所定の値または範囲の30%、25%、20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、または0.05%内を意味する。

【0172】

本明細書において用いられる用語「治療する」、「治療すること」、および「治療」は、特に言及されない限り、疾患もしくは障害、または疾患もしくは障害の関連する1つ以上の症状の根絶または改善をいう。いくつかの実施態様において、当該用語は、そのような疾患または障害を有する対象に、1つ以上の予防剤または治療剤を投与することによって生じる、疾患または障害の拡散または悪化を最小化することをいう。いくつかの実施態様において、当該用語は、特定の疾患の症状の発症後の、1つ以上のさらなる活性剤を伴う、または伴わない、本明細書において提供される化合物または剤形の投与をいう。

【0173】

本明細書で用いられる用語「予防する」、「予防すること」、および「予防」は、特に言及されない限り、疾患もしくは障害、または1つ以上のそれらの症状の発症、再発、または拡散の予防をいう。いくつかの実施態様において、当該用語は、症状の発症の前に、特に本明細書において提供される疾患または障害のリスクを有する対象に対して、1つ以上のさらなる治療活性剤を伴う、または伴わない、本明細書に提供される化合物または剤形による治療または投与をいう。当該用語は、特定の疾患の症状の阻害または軽減を含む。特に疾患の家族歴を有する対象は、いくつかの実施態様における予防レジメンの候補である。さらに、再発する症状の既往歴のある対象もまた、予防の潜在的な候補である。この点に関して、用語「予防」は、用語「予防的治療」と同義で用いられうる。

【0174】

本明細書で用いられる用語、化合物の「治療上の有効量」および「有効量」は、特に言及されない限り、疾患または障害の治療または管理において、治療上の利益を提供すること、あるいは疾患または障害に関連する1つ以上の症状を遅延または最小化することについて十分な量を意味する。化合物の「治療上の有効量」および「有効量」は、単独で、または1つ以上の他の薬剤との組み合わせにおいて、疾患または障害の治療または管理において治療上の利益を提供する、治療剤の分量を意味する。用語「治療上の有効量」および「有効量」は、全体的な治療を向上させ、疾患または障害の症状または原因を軽減または回避し、他の治療剤の治療効果を高める分量を含むことができる。

【0175】

本明細書で用いられる、化合物の「予防上の有効量」は、特に言及されない限り、疾患または障害の予防、または再発の予防に十分な分量である。予防上の有効量の化合物は、単独で、または1つ以上の他の薬剤との組み合わせにおいて、疾患の予防において予防上の利益を提供する、治療剤の分量を意味する。用語「予防上の有効量」は、全体的な予防を向上させるか、あるいは他の予防剤の予防有効性を高める分量を含むことができる。

【0176】

本明細書において用いられる「腫瘍」は、悪性または良性を問わず、全ての腫瘍性細胞の成長および増殖、並びに全ての前癌性および癌性細胞および組織をいう。本明細書で用いられる「腫瘍性」は、悪性または良性を問わず、異常な組織増殖において生じる、無調節または調節不能な細胞増殖の任意の形態をいう。そのため、「腫瘍性細胞」としては、無調節または調節不能な細胞増殖を有する、悪性および良性細胞が挙げられる。

【0177】

本明細書で用いられる用語「組成物」、「製剤」、および「剤形」は、特定の成分（示される場合、特定の量で）、並びに示される量において、特定の成分の組み合わせから直接的または間接的に生じる、任意の生成物を含む組成物を含むことが意図される。「薬学的な」または「薬学的に許容される」によって、組成物、製剤、または剤形中の任意の希釈剤、賦形剤、または担体が、他の成分と許容可能であり、その受容者に有害でないことが意味される。特に言及されない限り、用語「組成物」、「製剤」、および「剤形」は、本明細書において同義で用いられる。

【0178】

本明細書で用いられる場合、用語「腸溶性コーティングされていない」は、胃を超えて（例えば、腸において）活性成分を放出することを目的としたコーティングを含まない、医薬組成物、製剤、または剤形をいう。いくつかの実施態様において、腸溶性コーティングされていない組成物、製剤、または剤形は、実質的に胃で活性な成分を放出するように設計されている。

【0179】

本明細書で定義される用語「対象」は、ヒトである。

【実施例】

【0180】

実施例 1

物質および方法：

細胞、培養条件、および試薬

AML細胞株は、American Tissue Culture Collection (ATCC) から購入した、あるいはCelgeneマスターセルラインバンクから入手した。細胞は、10%または20%ウシ胎児血清および10mM L-グルタミンを添加したRPMI 1640培地で、37°C、5%CO₂の湿潤雰囲気下で培養した。BaF3-FLT3wt、BaF3-FLT3ITD、BaF3-FLT3D538Yを、Kynno (Beijing, China)によって生成した。細胞を、0.5ug/mlピューロマイシンを含む10%FBSを含むRPMI中で培養した。指数関数的に増加する細胞を、全てのインビトロ試験について用いた。5-アザシチジン(DMSO中に10mM)を、Celgene化合物コレクションバンクから得た。ギルテリチニブ(ASP2215)、ミドスタウリン(PKC412)、ベネトクラクス(ABT-199)、キザルチニブ(AC220)、汎カスパーゼ阻害剤 Z-VAD-FMKを、Selleckchem (Houston, TX)から購入し、DMSOで10mMストックとして再構成した。

細胞生存力アッセイ

【0181】

細胞を、384ウェルプレート(Coming Cat#3764)に、2000細胞/ウェルで50μlの培地中に播種した。%DMSO対照ウェルとして計算した、相対細胞数は、製造元の説明に従って、Cell Titer-Glow (Promega, Madison, WI)を用いて測定した。発光値は、Envisionプレート(PerkinElmer)を使用して、所定の時間において定量した。細胞を5-アザシチジンで3日間毎日、および/またはミドスタウリン、ギルテリチニブまたはベネトクラクスで一度処理した。5-アザシチジンに対する感受性に応じて滴定された5-アザシチジンの9個の用量を、評価した第二薬物の6個の用量と組み合わせて、54の可能な組み合わせを生成し、それぞれを全ての実験で重複して評価した。Prism version 7.03 (Prism Software Corporation)を用いて、EC50値を計

10

20

30

40

50

算した。

組み合わせ効果のデータ分析

【0182】

細胞生存率を薬物濃度の関数としてプロットし、GraphPad Prismソフトウェア (San Diego, CA) を用いて EC₅₀ 値を計算するために用いた。相乗指数は、最大単一薬剤モデルおよび Combenefit ソフトウェアによって計算した。Combenefit: 薬物の組み合わせの分析および可視化のための双方向性プラットフォーム (Di Veroli et al., Bioinformatics. 2016 Sep 15;32(18):2866-8)。

ウエスタンブロット

【0183】

示された用量／時間における 5-アザシチジンおよび／または阻害剤による処理の後、タンパク質を 1 mM PMSF を含む可溶化緩衝液 (Cell Signaling, #9803, Cell Signaling Technologies, Danvers, MA) を用いて回収した。可溶化液は、ピシンコニン酸 (BCA) キットを用いて定量化した (Pierce/Thermo Fisher, Waltham, MA)。20~30 μg のタンパク質を、4-12% SDS-PAGE ゲルにおいて分離し、PVDF 膜に移し (ウェットトランスファーによって 80 V / 90 分)、Odyssey TBS ブロッキング緩衝液で 1 時間ブロッキングし、次いで製造元が推奨する希釈液を用いて、4℃で一晩適切な一次抗体でプローブした。膜を合計 30 分にわたり 3 回洗浄し、次いで暗所で 1 時間、室温で二次抗体と共にインキュベートした。さらに 3 回洗浄した後、Odyssey 赤外線イメージングシステムおよびコンパニオンソフトウェア (LI-COR biosciences, Lincoln, NE, USA) を用いて、製造元の説明に従って、免疫ブロット膜をスキャンし、バンド強度を定量した。処理したサンプル中のローディングコントロールに対する、目的のタンパク質の比率は、未処理の細胞における対応する比率に対して標準化した。免疫ブロットに用いる抗体は、以下の供給源から購入した: BCL-2 (sc-7382)、MCL1 (sc-819) は Santa Cruz Biotechnology (Dallas, TX, USA, Bim (2819)) から、カスパーゼ-3 (9664) は Cell Signaling Technology から; ベクターアクチン (A2228) は Sigma-Aldrich から; DNMT1 (ab188453) は AbCam から; IRDye 680 ヤギ抗ウサギおよび IRDye 800 ヤギ抗マウス二次抗体 (#925-68073 および #925-32212) は LI-COR Biosciences (Lincoln, NE) から購入した。

フローサイトメトリー

【0184】

PE マウス抗ヒト CD14 モノクローナル抗体 (クローン M5E2, Cat.no.#301850、BioLegend, San Diego, CA)、BV421 複合体化マウス抗ヒト CD11b モノクローナル抗体 (クローン M1/70, Cat.no.#101235, Biolegend)、FITC 複合体化マウス抗ヒト CD86 モノクローナル抗体 (クローン 2331, Cat.no.#560958、BD Pharmingen, San Diego, CA) を、1:200 希釈で FACS 染色に用いた。FACS サンプルを BD FACSCanto II を用いて獲得した。細胞生存能力はまた、製造元の説明に従って、Fixable Viability dye 780 (Thermofisher Scientific, Waltham, MA) を用いた FACS 分析によって調べた。簡単に説明すると、10⁵ 細胞を Uボトム 96 ウェルプレートに播種し、翌日 9 回の CC-90011 (10 μM で開始、3 倍希釈) で処理し、細胞を 37℃ で 6 日間インキュベートし、染色のために回収した。細胞を DPBS で 1 回洗浄し、1X FVS780 で染色し、染色緩衝液で 2 回洗浄した。サンプルを 1:200 希釈表面抗体で染色した。結果を次いで、FlowJo V10 ソフトウェア (Tree Star Inc., Ashland, OR) によって分析した。全ての陽性表面マーカーの生存率を用いて EC₅₀ 値を計算し、DMSO 処理サンプルを曲線対照について 100% として標準化した。

RNA Seq 分析

【0185】

MV4-11細胞をPBSまたは1 μ Mの5-アザシチジンで24時間、または1 μ Mの5-アザシチジンで48時間毎日3回処理した。処理後、細胞を回収し、PBS中で1回洗浄し、細胞ペレットとして瞬間凍結させた。細胞ペレットをRNA抽出、およびライブラリー調製、およびシーケンシングのために、Canopy Biosciencesに送った。Qiagen RNeasy Mini Kitを用いて、製造元の説明に従って、RNAを抽出した。変更したプロトコルを用いて、miRNA種を保存した。総RNA Seqライブラリーは、200 ngの総RNAおよびNEBNext Ultra IIディレクショナルライブラリー調製キットを用いて調製した。rRNAの枯渇は、RNase-Hに基づく方法を用いて行った(New England Biolabs, Ipswich, MA)。他の細胞株中のMCL1 RNA量を、標準的な方法を用いて、RNA Seqによって定量した。

10

【0186】

ライブラリーを多重化し、Illumina HiSeqを用いてシーケンシングした。次いで、全ての遺伝子カウントをR/Bioconductor package EdgeRにインポートし、TMM標準化サイズ因子を計算し、ライブラリーの大きさの差についてサンプルを調整した。リボソーム遺伝子、および100万あたり1カウントを超える1サンプルを差し引いた、最小グループサイズにおいて発現されていない遺伝子は、さらなる分析から除外した。次いで、差次的発現分析を行って条件間の差について分析し、結果を、Benjamini-Hochberg偽陽性率(false-discovery rate)調整p値が0.05以下である遺伝子についてのみフィルターした。R/Bioconductor package GAGEを用いて、既知の遺伝子オントロジー(GO)タームおよびKEGG経路における全体的な攪乱を検出し、それぞれのタームにおいてLimmaによって報告されたlog2倍率変化の発現の変化対それぞれのタームの外で見つかった全ての遺伝子のバックグラウンドlog2倍率変化をテストした。R/Bioconductor package ヒートマップおよびPathviewを用いて、Benjamini-Hochberg偽陽性率調整p値が0.05以下である、それぞれのGOタームまたはKEGG経路について(それぞれ)、サンプル群全体のヒートマップまたは注釈付きKEGGグラフを表示した。差次的に発現する遺伝子を見つけるために、R/BioconductorパッケージDESeq2を用いて、生のカウントを分散安定化した。

20

【0187】

ATF3およびSCD発現を検証するために、MV4-11細胞をPBSまたは0.3 μ Mの5-アザシチジン、1 μ Mの5-アザシチジン、または3 μ Mの5-アザシチジンで24時間および48時間処理した。この時点で、細胞を回収し、RNAを製造元の説明に従って、Qiagen RNeasyキットを用いて抽出した。SuperScript VILO cDNA合成キットを用いて、逆転写を行った。検証済みTaqmanプローブおよびTaqman Fast Advanced Master Mixを用いて、Viia 7 Real-Time PCR System (Invitrogen/ThermoFisher Scientific, Waltham, MA)によって、ATF3、SCD、および18S mRNAの転写物を定量した。

30

RNA 遺伝子スプライシング干渉

【0188】

ATF3、SCD、または対照Silencer Select siRNA (16nM siRNA、Invitrogen)を、製造元の推奨プロトコルに従って、リポフェクトアミン2000を用いてMV4-11細胞に遺伝子導入した。未処理の細胞は、siRNAなしで疑似遺伝子導入した。細胞を次いで、5-アザシチジンの様々な濃度で3日間毎日処理した。4日目に、細胞をベネトクラクスで処理し、次いで製造元のプロトコルに従って、Cell Titer Gloを用いて7日目に細胞生存能力を試験した。相乗効果をCombeneftitを用いて計算し、最大単一薬剤分析を用いて比較した。

40

【0189】

遺伝子ノックダウンの確認は、遺伝子導入の72時間後に(5-アザシチジンまたはベネトクラクス処理なしで)、siRNA遺伝子導入した細胞において行った。Qiagen RNeasyキットを用いてRNAを抽出し、SuperScript VILO cDNA synthesis kitを用いて逆転写を行った。検証済みのTaqmanプローブおよびTaqman Fast Advanced

50

Master Mixを、Viia 7 Real-Time PCR System (Invitrogen/ThermoFisher Scientific, Waltham, MA)と共に用いて、ATF3、SCD、および18S mRNAの転写物を定量した。

5-アザシチジンおよび少なくとも1つのさらなる治療剤の二重組み合わせアッセイ
【0190】

実施例全体で用いられるように、LEEDは、5-アザシチジンを、15日にわたり1日1回(QD x 15)、1mg/kgで長期間にわたり低曝露(LEED)で送達することをいう。同じ累積用量の5-アザシチジンを送達するために、5-アザシチジンを、5日間にわたり1日1回(QD x 5)、3mg/kgで短期間にわたり高曝露(HELD)で投与する。LEEDはAZAの経口投与をモデル化し、一方でHELDはAZAの静脈内または皮下投与をモデル化する。

10

【0191】

実験は、Charles River Laboratories (Morrisville, NC)において、試験1日目に17.6~28.4グラムの体重(BW)範囲の、8週齢の雌NOD/SCIDマウス(NOD.CB17-Prkdcscid/NcrCrl, Charles River)を用いて行った。動物に自由に水(逆浸透、1ppm Cl)、並びに18.0%の粗タンパク質、5.0%の粗脂質、および5.0%の粗繊維から成る、NIH 31 Modified and Irradiated Lab Diet(登録商標)を与えた。マウスを20-22°C(68-72°F)および40-60%の湿度で、12時間の光サイクルで、静的マイクロアイソレーターにおいて、照射したEnrich-o'-cobs(登録商標)実験動物寝床において飼育した。

20

【0192】

セルジーンは、LEED 5-アザシチジン、HELD 5-アザシチジン(ミドスタウリン(MedChemExpress, Monmouth Junction, NJ)、ギルテリチニブ(Sigma Aldrich, St. Louis, MO)、およびベネトクラクス(ABT-199, Sigma Aldrich, St. Louis, MO)を提供した。この研究で用いたビヒクルは、PO(経口)投与では、脱イオン(DI)水中の6%Gelucire(登録商標)44/14(Gattefosse, Paramus, NJ)であり、これは融解に44°Cまでウォーターバスを加熱することが必要なワックス状の固体であり、IP(腹腔内)投与では、リン酸緩衝化食塩水(PBS)である。投与のそれぞれの日に、LEEDまたはHELD 5-アザシチジンの適切な分量をPBS中に再懸濁し、それぞれ0.1または0.3mg/mLで投与懸濁液を得た。投与のそれぞれの日に、ミドスタウリンの適切な分量を6%Gelucire 44/14中に溶解させ、10mg/mLの投与溶液を得た。投与のそれぞれの日に、ギルテリチニブの適切な分量を、DI水中の0.5%メチルセルロースに溶解させ、0.4mg/mLの投与溶液を得た。各週、適切な分量のベネトクラクスを、10%エタノール:30%PEG 400:60%フォサル50プロピレングリコール中に溶解し、10mg/mLの投与溶液を得た。播種を用いた細胞を、対数期増殖の間に回収し、PBS中に5x10⁷細胞/mLの濃度で再懸濁した。各テストマウスは、尾静脈注射によって5x10⁶ MOLM-13細胞または10⁷ MV4-11細胞(0.2mL細胞懸濁液)を受けた。投与は、腫瘍細胞播種後の3日後に開始し、これを研究の1日目として設計した。NOD/SCIDマウス(n=9-12/群)を、体重に応じて無作為化し、投与した。リン酸緩衝化食塩水、LEED 5-アザシチジン、およびHELD 5-アザシチジンを腹腔内(IP)投与し、一方でミドスタウリン、ギルテリチニブ、およびベネトクラクスをPO投与した。ビヒクルをIPおよびPOの両方で投与した。全ての処理についての投与体積は、各個別の動物の体重に合わせて調整して、10mL/kgであった。

30

40

【0193】

白血病の進行による瀕死のエンドポイントについて、動物をそれぞれモニターした。後肢の完全麻痺、重度の眼球突出、または瀕死は、腫瘍の進行による安楽死には十分であると判断した。瀕死の動物を、食事および水に到達できない病気の動物として定義した。これらの死は、生存研究において死に分類した。エンドポイント(TTE)までの時間は、疾患により死亡した、または広範な腫瘍の進行により安楽死されたマウスのそれぞれにつ

50

いて、日数で記録した。エンドポイントに到達しなかった動物は、試験終了時に安楽死させ、最終日に等しいTTE値を割り当てた。治療関連（TR）原因により死亡したと分類された動物は、死亡日と同じTTE値を割り当てた。非治療関連（NTR）原因により死亡したと分類された動物、またはエンドポイント前のサンプリングに使用された動物は、TTEの計算および全てのさらなる分析から除外した。各群のTTE値の中央値を計算した。治療したマウスのTTEの中央値は、対照マウスのTTE中央値（%T/C）の割合として表し、寿命延長率（ILS）の増加を以下のように計算した： $ILS = \%T / C - 100\%$ 、ここで、 $T = TTE$ 治療の中央値、および $C = TTE$ 対照の中央値。そのため、 $T = C$ である場合、 $ILS = 0\%$ 。

【0194】

動物を1～5日目に毎日、次いで試験完了まで週に2回秤量した。マウスを、任意の有害な、治療関連（TR）副作用の明らかな徴候について頻繁に観察し、臨床的徴候が観察された場合、記録した。プロトコルに従って個々の体重減少をモニターし、許容される体重減少の限界を超えた任意の動物を安楽死させた。グループ平均体重もまた、プロトコルに従ってモニターした。許容される体重減少の中央値の限界を超えた任意のグループには、投与を中止した。体重の中央値が回復した場合、そのグループにおいて投与を再開することができるが、低い用量であるか、投与頻度の少ないスケジュールである。最大耐用量における許容される毒性は、試験中のグループ体重減少の中央値が20%であり、10匹の治療される動物のうちTR死亡が1匹未満であることとして定義した。死亡は、臨床的徴候および／または剖検によって証明された治療の副作用に起因する場合、TRに分類し、あるいは、投与期間中または最後の投与から14日以内に、不明な原因によって生じた場合もまた、TRに分類してもよい。死亡は、治療関連副作用または腫瘍の進行に関連する死の証拠がない場合、NTRに分類した。非治療関連死はさらに、死因に基づいて分類されうる。事故または人為的なミスに起因する場合、死亡はNTRに分類されうる。死因が不明であり、治療副作用、移転、事故、または人為的なミスに関連する死亡である利用可能な証拠が存在しない場合、これらの病因による死亡を除外することはできないが、死亡はNTRに分類されうる。生存率は、TTE値に基づいて、Kaplan-Meier法によって分析した。ログランク（Mantel-Cox）およびGehan-Breslow-Wilcoxon検定により、TTE値に基づく2つのグループの全生存経験（生存曲線）間の差の有意性を決定した。

5-アザシチジンとベネトクラクスの組み合わせの結果

【0195】

図1～7は、実験に関する様々な情報およびデータを提供する。例えば、図1は、細胞株MV4-11およびMOLM-13を用いた、ギルテリチニブとの組み合わせにおける5-アザシチジン、およびミドスタウリンとの組み合わせにおける5-アザシチジンの、最大EC50倍率変化を示す棒グラフである。3つの異なる投与スケジュールによる結果が示される：（i）最初に投与した5-アザシチジン（黒い棒）；（ii）同時に投与した2つの薬剤（薄いグレーの棒）；および（iii）2番目に投与した5-アザシチジン（中程度のグレーの棒）。図2は、（i）FLT3阻害剤（FLT3i）の前のインターバルに、最初に投与した5-アザシチジン（AZA）；（ii）同時に投与した2つの薬剤（5-アザシチジンおよびFLT3i）；および（iii）FLT3iが投与された後のインターバルに、2番目に投与した5-アザシチジンの、異なる3つの投与スケジュールを表し；ここで、FLT3iは、ミドスタウリンまたはギルテリチニブなどの任意の適切なFLT3阻害剤でありうる。図3A-Dは、細胞株MV4-11（図3A）およびMOLM-13（図3C）を用いた、ベネトクラクスとの組み合わせにおける5-アザシチジンの最大EC50倍率変化を表す。3つの異なる投与スケジュールは、（i）最初に投与した5-アザシチジン（黒い棒）；（ii）同時に投与した2つの薬剤（薄いグレーの棒）；および（iii）2番目に投与した5-アザシチジン（中程度のグレーの棒）を示す。3つの異なる投与スケジュールについて、細胞株MV4-11（図3B）およびMOLM-13（図3D）を用いて、ベネトクラクスとの組み合わせで投与される5-アザシ

チジンについて、相乗指数もまた示す。

【0196】

図4A-Cは、5-アザシチジンが最初に投与されたときの、MV4-11細胞における5-アザシチジンとベネトクラクスとの相乗効果（図4A）、同時投与による比較的低い相乗効果（図4B）、および最初に投与したベネトクラクスとの相乗効果（図4C）を示す応答曲面分析を表す。応答曲面法（RSM）は、いくつかの説明変数と1つ以上の応答変数間の統計的関係性を調査する。RSMは、一連の計画した実験を用いて、最適な応答を獲得し、これはこの場合において、5-アザシチジンとベネトクラクスとの相乗効果である。

【0197】

図5は、（a）5-アザシチジンおよびミドスタウリン（「aza+0.3 μM Mido」）および（b）5-アザシチジンおよびギルテリチニブ（「aza+0.3 μM Gilt」）が、MV4-11細胞株においてMCL-1分解を増加させることを示すウエスタンブロットを示す。

【0198】

さらに、図6は、5-アザシチジンおよびベネトクラクス処理が、FLT3ITDMV4-11細胞におけるMCL-1レベルを減少させることを示すウエスタンブロットを示す。

【0199】

最後に、図7A-Cは、MOLM-13異種移植モデルにおける5-アザシチジンの組み合わせのインビボ評価を、生存率（y軸）vs 0~70日（x軸）のグラフによって示す。図7A-Cにおいて示される実験のための用量は、以下の通りである：（i）5-アザシチジン（低曝露、長期間、LEED）：1mg/kg腹腔内（IP）、1日1回5日間、3回（qdx5x3）；（ii）5-アザシチジン（高曝露、短期間、HELD）：3mg/kg腹腔内（IP）、1日1回5日間（qdx5）；（iii）ミドスタウリン（100mg/kg経口（PO）、1日1回21日間（qdx21））；（iv）ギルテリチニブ（4mg/kg経口（PO）、1日1回21日間（qdx21））；および（v）ベネトクラクス（100mg/kg経口（PO）、1日1回21日間（qdx21））。P値（最大単一薬剤に対する）*P<0.05；**P<0.001；***P<0.0001。図7Aは5-アザシチジンおよびミドスタウリンの組み合わせの結果を示し、図7Bはベネトクラクスとの組み合わせによる5-アザシチジンの結果を示し、図7Cは5-アザシチジンおよびギルテリチニブの組み合わせの結果を示す。図7Aについて、試験した組成物は、ビヒクル、5-アザシチジン（低曝露、長期間、LEED、1mg/kg 5-アザシチジン、1日1回15日間（qdx15）のスケジュール）、5-アザシチジン（高曝露、短期間、HELD、3mg/kg 5-アザシチジン、1日1回5日間（qdx5）のスケジュール）、ミドスタウリン（100/kg、1日1回28日間（qdx28））、LEED+ミドスタウリン、およびHELD+ミドスタウリンであった。図7Bについて、試験した組成物は、ビヒクル、5-アザシチジン（LEED）、5-アザシチジン（HELD）、ベネトクラクス、LEED+ベネトクラクス、およびHELD+ベネトクラクスであった。図7Cについて、試験した組成物は、ビヒクル、5-アザシチジン（LEED）、5-アザシチジン（HELD）、ギルテリチニブ、LEED+ギルテリチニブ、およびHELD+ギルテリチニブであった。LEEDおよびHELD 5-アザシチジン投与のいずれも、ビヒクルのみに対して、生存率の統計的に有意な増加を生じた（LEED vs ビヒクル、p=0.003、Gehan-Breslow-Wilcoxon検定による；HELD vs ビヒクル、p=0.003、Gehan-Breslow-Wilcoxon検定）。ミドスタウリン単独、およびLEEDまたはHELD 5-アザシチジンとの組み合わせは、ビヒクルのみと比較して、有意に生存率を増加させた（ミドスタウリン vs ビヒクル、p=0.027；LEED+ミドスタウリン vs ビヒクル、p=0.012；HELD+ミドスタウリン vs ビヒクル、p=0.003）。ミドスタウリンとの組み合わせにおけるHELD 5-アザシチジンの投与は、LEEDま

10

20

30

40

50

たはH E L D 5-アザシチジンと比較してそれぞれ、有意に生存率を増加させた（L E E D + ミドスタウリン v s L E E D、 $p = 0.028$ ；H E L D + ミドスタウリン v s H E L D、 $p = 0.039$ ）。ミドスタウリン単独治療と比較して、ミドスタウリンとの組み合わせにおけるL E E DまたはH E L Dの間に、生存率の有意な変化は観察されなかった。平均生存率は、ビヒクルまたは単一薬剤のみと比較して、ミドスタウリンとの組み合わせにおけるL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンによって増加した（L E E D + ミドスタウリン = 45日、H E L D + ミドスタウリン = 43日、ビヒクル = 19日、ミドスタウリン = 34日、L E E D = 36日、H E L D = 32日）（図7A）。ギルテリチニブ単独、およびL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンとの組み合わせは、ビヒクル単独と比較して、有意に生存率を増加させた（ギルテリチニブ v s ビヒクル、 $p = 0.003$ ；L E E D + ギルテリチニブ v s ビヒクル、 $p = 0.003$ ；H E L D + ギルテリチニブ v s ビヒクル、 $p = 0.003$ ）。ギルテリチニブとの組み合わせにおける、低曝露、長期間、またはH E L D 5-アザシチジン投与は、L E E DまたはH E L D 5-アザシチジン単独と比較して、生存率を有意に増加させた（L E E D + ギルテリチニブ v s L E E D、 $p = 0.019$ ；L E E D + ギルテリチニブ v s H E L D、 $p = 0.004$ ；H E L D + ギルテリチニブ v s L E E D、 $p = 0.008$ ；H E L D + ギルテリチニブ v s H E L D、 $p = 0.003$ ）。さらに、ギルテリチニブとの組み合わせにおけるL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンの投与は、ギルテリチニブ単独と比較して、有意に生存率を増加させた（L E E D + ギルテリチニブ v s ギルテリチニブ、 $p < 0.001$ ；H E L D + ギルテリチニブ v s ギルテリチニブ、 $p < 0.001$ ）。ベネトクラクス単独、およびL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンとの組み合わせは、ビヒクルのみと比較して、有意に生存率を増加させた（ベネトクラクス v s ビヒクル、 $p = 0.003$ ；L E E D + ベネトクラクス v s ビヒクル、 $p = 0.002$ ；H E L D + ベネトクラクス v s ビヒクル、 $p = 0.004$ ）（図7B）。ベネトクラクスとの組み合わせにおいて投与される、低曝露、長期間またはH E L D 5-アザシチジンは、L E E DまたはH E L D 5-アザシチジンのいずれか単独と比較して、有意に生存率を増加させた（L E E D + ベネトクラクス v s L E E D、 $p = 0.001$ ；L E E D + ベネトクラクス v s H E L D、 $p < 0.001$ ；H E L D + ベネトクラクス v s L E E D、 $p < 0.001$ ；H E L D + ベネトクラクス v s H E L D、 $p < 0.001$ ）。さらに、ベネトクラクスとの組み合わせにおいて投与されるL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンは、ベネトクラクス単独と比較して、有意に生存率を増加させた（L E E D + ベネトクラクス v s ベネトクラクス、 $p < 0.001$ ；H E L D + ベネトクラクス v s ベネトクラクス、 $p < 0.001$ ）。ベネトクラクスとの組み合わせにおける低曝露、長期間は、ベネトクラクスとの組み合わせにおけるH E L Dと有意な差はなかった。平均生存率は、ビヒクルまたは単一薬剤と比較して、ベネトクラクスとの組み合わせにおいてL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンによって増加した（L E E D + ベネトクラクス = 46日、H E L D + ベネトクラクス = 45日、ビヒクル = 19日、ベネトクラクス = 29日、L E E D = 36日、H E L D = 32日）。平均生存率は、ビヒクルまたは単一薬剤と比較して、ギルテリチニブとの組み合わせにおけるL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンで増加した（L E E D + ギルテリチニブ = 45日、H E L D + ギルテリチニブ = 43日、ビヒクル = 19日、ギルテリチニブ = 34日、L E E D = 36日、H E L D = 32日）、（図7C）。

【0200】

図8A、8B、および8Cは、単一薬剤としての5-アザシチジン（AZA）およびベネトクラクス、および5-アザシチジンおよびベネトクラクスとの組み合わせに対する、22個のAML細胞株の感受性を示す。図8Aは、 $0.15 \mu\text{M}$ から $2.5 \mu\text{M}$ の範囲のE C 5 0値によって、5-アザシチジンが大半の細胞において細胞毒性効果を示したことを示す。反対に、図8Bは、試験したAML細胞株の11/22が、ベネトクラクスに対して感受性であったことを示す（E C 5 0 < $10 \mu\text{M}$ ）。図8Cは、表面応答分析および最大単一薬剤モデルを用いて、5-アザシチジンとベネトクラクスとの組み合わせ活性を示し、ここで、10/22の細胞株は、任意の閾値である20を超える相乗活性を示した

。特に、ベネトクラクスに耐性のある3つの細胞株（K a s u m i - 1、K a s u m i - 2、およびN O M O - 1）は、5 - アザシチジンとの同時処理により、ベネトクラクス耐性の逆転を示した。A M Lにおける再発性変異であるF L T 3 - I T Dを有する細胞株はまた、5 - アザシチジンおよびベネトクラクスとの相乗効果を示した。

【0201】

これらの結果は、驚くべきことに、5 - アザシチジンとベネトクラクスの組み合わせが、A M L細胞株、特にベネトクラクスに耐性であるA M L細胞株において、相乗効果を提供することを実証している。

【0202】

5 - アザシチジンおよびベネトクラクス投与の特定のスケジュールが、5 - アザシチジンおよびベネトクラクスによって提供される相乗効果に影響を有するかどうかもまた調査した。図9 A - Fは、5 - アザシチジンおよびベネトクラクスによる治療開始後、M V 4 - 1 1細胞（図9 A - C）およびM O L M - 1 3細胞（図9 D - F）の細胞生存を示す。以下のスケジュールを試験した：1、2、および3日目に5 - アザシチジンを投与、次いで4日目にベネトクラクスを投与（最初に5 - アザシチジン（A Z A））（図9 Aおよび9 D）；1日目に5 - アザシチジンおよびベネトクラクスを共投与、次いで2および3日目に5 - アザシチジンを投与（同時）（図9 Bおよび9 E）；および1日目にベネトクラクス投与、次いで2、3、および4日目に5 - アザシチジン（最初にベネトクラクス）（図9 Cおよび9 F）。示されている相乗指数（S I）に反映されているように、両方の細胞株について、5 - アザシチジンを最初に投与したレジメンが、最大相乗効果を提供したことが結果から示された。これらの結果は、5 - アザシチジンがベネトクラクス活性についてA M L細胞を刺激しうることを示唆する。

【0203】

ベネトクラクス耐性についての因子の1つは、アポトーシス制御因子M C L - 1の発現であり、これはF L T 3変異A M Lにおいて上方制御され、5 - アザシチジン処理により下方制御される。M C L - 1レベルが、5 - アザシチジン-ベネトクラクスの組み合わせの相乗効果の程度と関連するかどうかを調べるために、野生型F L T 3、F L T 3 - I T D、またはF L T 3（D 8 3 5 Y）変異のいずれかを発現する、改変B a F 3細胞株のパネルを調べた。改変B a F 3細胞株はまた、I L - 3と無関係に増殖した。図10 Aは、これらの改変B a F 3細胞株が、ベネトクラクスに耐性であるが（E C 5 0 > 1 μ M）、ギルテリチニブ、ミドスタウリン、およびキザルチニブなどのF L T 3阻害剤に対して感受性であることを示す。図10 Aに示すデータを、以下の表1にも示す。

【表1】

表1

様々なFTL3を発現するBaF3細胞 (EC50, nM)

	BaF-FLT3(WT)	BaF-FLT3-ITD	BaF-FLT3(D835Y)
AZA	189	598	456
ギルテリチニブ	4	1.8	1.8
ミドスタウリン	23	5.5	5.4
キザルチニブ	3	0.008	9.5
ベネトクラクス	>10000	>10000	4332

【0204】

図10 Bは、M C L - 1が、F L T 3（D 8 3 5 Y）に次いで、F L T - I T D変異体

株において最も高い発現レベルで、全ての細胞株で検出されたことを示す。5-アザシチジンとベネトクラクスの組み合わせは相乗効果を示し、MCL-1の発現量が最も低い、FLT3（野生型）において最大の相乗指数を有し、次いでFLT3（D835Y）（中程度のMCL-1量）およびFLT3-ITD（最大のMCL-1量）であった（図10C）。これらの結果から、MCL-1発現が、5-アザシチジン-ベネトクラクスの相乗効果の決定因子でありうることを示唆される。

【0205】

MCL-1と5-アザシチジン-ベネトクラクスとの間の相乗効果の関係性をさらに調査するために、MCL1 RNA量と5-アザシチジン-ベネトクラクス相乗指数との間の関係性を、20のAML細胞株のパネルにおいて探索した。図11は、20のAML細胞株のパネルにおいて、MCL1 RNA量が相乗指数（ $r^2 = -0.5607$ 、 $p = 0.0101$ ）と直接相関することを示す。これらの結果は、MCL-1がベネトクラクス誘導性アポトーシスについて、AZA刺激の重要な調節因子である可能性があり、特に、5-アザシチジンは、MCL-1を、ベネトクラクス介在性アポトーシスを可能にするある閾値以下にしうることを示す。

【0206】

次いで、4つの異なるAML細胞株における5-アザシチジン介在性MCL-1分解の程度を、KG1 α （図12A）、MV4-11（図12B）、THP-1（図12C）、およびOCI-AML-2（図12D）で探索した。KG1 α （図12E）およびMV4-11（図12F）細胞株を用いた5-アザシチジン-ベネトクラクス相乗活性（それぞれ、70および35.5の相乗指数（SI））、およびTHP-1（図12G）およびOCI-AML-2（図12H）細胞株を用いた非常に少ない相乗活性、または相乗活性がないこと（それぞれ、20.2および10.8のSI）が結果から示された。5-アザシチジン-ベネトクラクスが最大の相乗効果を有する（図12Eおよび12F）KG1 α （図12A）およびMV4-11（図12B）細胞株について、5-アザシチジンは、処理後6時間から開始して、最も速くMCL-1分解が生じた。一方、5-アザシチジン-ベネトクラクスが低い相乗効果を提供したTHP-1（図12C）について、5-アザシチジン介在性MCL-1の分解は遅く、16時間から開始して、24時間までに不完全な分解を示した（図12G）。5-アザシチジン-ベネトクラクスが最小の相乗効果を示す（図12H）OCI-AML2（図12D）について、5-アザシチジン処理はMCL-1のいかなる分解も生じなかった。これらの結果は、5-アザシチジンがMCL-1量を低下させることによって、ベネトクラクス介在性アポトーシスについて、5-アザシチジンが細胞を刺激するという仮説を支持するものである。

【0207】

5-アザシチジンがMCL-1を下方制御する1つの可能性のあるメカニズムは、カスパーゼ活性化を誘導することである。カスパーゼ活性化は、カスパーゼ3の分解をウエスタンブロットで評価することにより、アッセイすることができる（図13A）。この効果がカスパーゼ依存性であるかどうかを調べるために、細胞をZ-VAD-FMK、汎カスパーゼ阻害剤で処理し、5-アザシチジンによるMCL-1分解の程度を測定した（図13B）。特に、図13Bは、5-アザシチジンによるMCL-1分解の棒グラフを示し、ここで、細胞は1時間20 μ M Z-VAD-FMKで処理し、さらに16時間5-アザシチジンで処理した。カスパーゼ阻害は、MV4-11細胞における5-アザシチジンによるMCL-1の分解を部分的に阻害し、このことは、MCL-1分解のさらなるカスパーゼ依存性メカニズムを示唆した。Z-VAD-FMKが、5-アザシチジンがMCL-1を分解する能力を部分的に阻害することが発見され、このことは、このプロセスがカスパーゼ依存性および非依存性メカニズムによって介在されることを示唆した。

【0208】

5-アザシチジンが急性アポトーシスについてベネトクラクスをどのように刺激するかをさらに理解するために、PBS（ビヒクル）、1 μ M AZAで24時間（図14A）、または1 μ M AZAで48時間（図14B）処理したMV4-11細胞において、R

NAseqを行った。表2は、図14AのRNAseqデータについての経路分析であり、KEGG経路に基づく5-アザシチジンにより有意に誘導または抑制される遺伝子の分類である、5-アザシチジン処理後の解析を示す。

【表2】

表2

24時間における有意なKEGG経路(48時間においていずれも有意でない)

経路	logFC中央値	p値	調整p値
リボソーム	-10.50	10.49547	5.44E-21
酸化的リン酸化	-7.32	7.315598	2.01E-12
代謝経路	-5.79	5.788892	4.06E-09
細胞サイクル	-5.75	5.746475	1.43E-08
小胞体におけるタンパク質処理	-4.96	4.958095	6.26E-07
DNA複製	-4.45	4.450573	1.83E-05
プロテアソーム	-4.41	4.410196	2.17E-05
ファゴソーム	-4.13	4.134259	2.49E-05
スプライセオソーム	-4.10	4.100521	2.90E-05
ネクローシス	-3.78	3.779974	9.92E-05
脂肪酸代謝	-3.43	3.425249	4.51E-04
抗原処理および提示	-3.39	3.393502	5.02E-04
炭素代謝	-3.35	3.354515	4.75E-04
不飽和脂肪酸の生合成	-3.26	3.260586	1.11E-03
タンパク質排出	-3.19	3.191372	1.46E-03
RNA輸送	-3.08	3.081532	1.15E-03
ミスマッチ修復	-2.98	2.975621	2.43E-03
脂肪酸伸長	-2.87	2.867612	3.26E-03
リソソーム	-2.82	2.816478	2.65E-03
細胞老化	-2.69	2.691944	3.78E-03
心筋収縮	-2.61	2.614268	5.21E-03
テルペノイド骨格生合成経路	-2.48	2.481832	9.05E-03
アクチン細胞骨格制御	-2.46	2.456262	7.30E-03
味覚伝達	2.44	2.436918	8.81E-03
p53シグナル経路	-2.42	2.419681	8.46E-03

【0209】

処理後48時間において5-アザシチジンによって制御されたKEGG経路に、有意な差は観察されなかった。しかしながら、5-アザシチジン処理の24時間後に差次的に調節される上位のKEGG経路は、「リボソーム」、「酸化的リン酸化」、「代謝経路」、および「細胞周期」であった。これらの結果は、5-アザシチジン+ベネトクラクスの組み合わせにより治療された患者において以前観察された、5-アザシチジンが細胞代謝を変化させ、細胞周期を停止させ、酸化的リン酸化を抑制する役割を有するという仮説を支持する。

【0210】

24時間(図14A)および48時間(図14B)において有意に変更された遺伝子のボルケーノプロットは、5-アザシチジンが、24時間において、133個の差次的に発現した遺伝子を誘導し、48時間において、226個の差次的に発現した遺伝子を誘導し

たことを示す。5-アザシチジンによって誘導された差次的に発現した遺伝子をさらに分析することにより、MCL1発現を制御することが以前示されていた、2つの遺伝子：活性化転写因子3（ATF3）およびステアロイル-CoAデサチュラーゼ（SCD）が特定された。ATF3は、MCL1並びに免疫および代謝遺伝子を制御することが示されている、ストレス応答性転写因子である。ATF3の発現は、5-アザシチジン処理の48時間後に2倍に増加した。一方で、脂質代謝およびMCL1の調節因子であるSCDの発現は、48時間における5-アザシチジン処理の2.5倍減少した。ATF3（図14C）およびSCD（図14D）発現の変化は、リアルタイムPCRを用いる別の実験において検証した。0.3 μMの5-アザシチジン処理は、24または48時間のいずれかにおいて、ATF3発現を誘導するのに十分ではなかったため、ATF3発現は時間および濃度依存性様式で増加した（図14C）。同様に、SCD発現は、3 μMの5-アザシチジンで処理した場合、24時間以内に急速に減少したが、この時点では低濃度の5-アザシチジンに影響を受けなかった（図14D）。

10

20

30

40

50

【0211】

MCL1発現の調整との関連を考えると、ATF3および／またはSCDが、5-アザシチジン-ベネトクラクス相乗効果に寄与しうることを仮定した。これをさらに調査するために、これらの遺伝子のsiRNAノックダウンをMV4-11細胞において利用し、相乗効果におけるそれらの機能を評価した。MV4-11細胞は遺伝子導入されていないままであるか、あるいはATF3、SCD、または対照（スクランブル）siRNAで遺伝子導入した。対照として、細胞にsiRNAによって遺伝子を導入し、RNAを回収し、遺伝子導入の72時間後にqPCRを行った（図15A）。このことから、細胞にATF3またはSCD siRNAをそれぞれ遺伝子導入したとき、siRNAノックダウンが、ATF3またはSCDのmRNA発現を減少させるが、完全に阻害はしないことが確認された。さらに、スクランブルsiRNAで処理した細胞において、ATF3（図15B）またはSCD（図15C）の発現に変化は見られなかった。遺伝子導入の後、細胞を1～3日目において毎日、様々な濃度の5-アザシチジンで処理した。4日目に、細胞にベネトクラクスを投与し、治療開始7日後にCellTiter-Glo（登録商標）を用いて細胞生存能力を試験した。CombeneFitおよび最大単一薬剤分析を用いて、5-アザシチジン-ベネトクラクス相乗効果を計算した（図15D-G）。5-アザシチジン-ベネトクラクス相乗効果は、遺伝子導入しなかった細胞において確認され（相乗指数=43）（図15D）、スクランブルsiRNAによって遺伝子導入した細胞（図15E）は、相乗指数が46であるため、相乗効果は遺伝子導入自体によって影響されなかった。ATF3がノックダウンされたとき（図15F）、5-アザシチジン-ベネトクラクスは減少した相乗効果を有する（相乗指数=19）。一方で、SCDがノックダウンされた場合（図15G）、5-アザシチジン-ベネトクラクスは増加した相乗効果を有する（相乗指数=60）。このデータは、5-アザシチジンによって誘導されるATF3の増加およびSCDの減少が、5-アザシチジン-ベネトクラクス相乗効果において、少なくとも部分的に役割を有することを示唆する。

【0212】

5-アザシチジンおよびベネトクラクスが、注射可能な5-アザシチジン（HELD）または経口5-アザシチジン（LEED）に対応する用量およびスケジュールにおいて、インビボ相乗活性を有するかどうかを次に決定した。MV4-11（図16A-C）およびMOLM-13（図16D-F）は、5-アザシチジン-ベネトクラクス相乗効果（図8C）を示した2つの細胞株であり、これらを用いて免疫不全動物において播種性AML異種移植マウスを作製した。インビトロで、ベネトクラクスは両方の細胞株をベネトクラクスに感作させ（図16Aおよび16D）、5-アザシチジンと相乗させた（図16Bおよび16E）。経口5-アザシチジン（LEED）レジメンをモデル化するために、マウスを1 mg/kg 5-アザシチジンで15日間（低曝露、長期間）処理した。あるいは、同じ蓄積用量を用いるが、注射可能な5-アザシチジン（HELD）レジメンを用いて、マウスを3 mg/ml 5-アザシチジンで5日間（高曝露、短期間）処理した。

【0213】

MV4-11 移植のために、メスのNCGマウスに、0.2 mL 細胞懸濁液中の 1×10^7 個の細胞を尾静脈から注入した。1日目は移植後14日として設計した。1日目に、マウスを体重に基づいて治療群に分類し、投与を次のように開始した：ビヒクルで処理したマウス、高用量5-アザシチジン（H E L D、 3 mg/kg 1日1回5日間（ $q d \times 5$ ））、低用量5-アザシチジン（L E E D、 1 mg/kg 1日1回5日間、3回（ $q d \times 5 \times 3$ ））、ベネトクラクス（ 100 mg/kg 、 $q d \times 21$ ）、H E L D + ベネトクラクス、またはL E E D + ベネトクラクス。マウスがいつ腫瘍負荷に屈したかを決定するために、最初の治療後最大56日間にわたり、マウスを体重減少および瀕死についてモニターした。ベネトクラクス単独、またはL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンとの組み合わせは、ビヒクルのみと比較して、有意に生存率を増加させた（ベネトクラクス *vs* ビヒクル、 $p = 0.0493$ ；L E E D + ベネトクラクス *vs* ビヒクル、 $p = 0.0123$ ；H E L D + ベネトクラクス *vs* ビヒクル、 $p = 0.04$ ）。ベネトクラクスとの組み合わせにおけるL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンは、5-アザシチジンのみと比較して、有意に生存率を増加させた（L E E D + ベネトクラクス *vs* L E E D、 $p = 0.001$ ；H E L D + ベネトクラクス *vs* H E L D、 $p = 0.0004$ ）。しかしながら、L E E D + 5-アザシチジンのみは、ベネトクラクス単独と比較して、有意に良好であった（L E E D + ベネトクラクス *vs* ベネトクラクス、 $p = 0.0378$ ）。さらに、ベネトクラクスとの組み合わせにおけるL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンは、単一薬剤と比較して、平均生存率を増加させた（L E E D + ベネトクラクス = 38、H E L D + ベネトクラクス = 37、ビヒクル = 29.5、H E L D = 35、L E E D = 35、ベネトクラクス = 35.5）。（図16C）

【0214】

これらの実験を、2番目のF L T 3 - I T D細胞株、M O L M - 13によって繰り返した。簡潔に説明すると、 5×10^6 個のM O L M - 13細胞を、グループごとに12匹のN O D / S C Iマウスに注射した。腫瘍細胞播種の3日後、マウスをMV4-11細胞と同じ用量レジメンで処理した。マウスが腫瘍負荷にいつ屈したかを決定するために、マウスを最初の治療から最大70日にわたり、体重減少および瀕死についてモニターした。ベネトクラクス単独およびL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンとの組み合わせは、ビヒクルのみと比較して、有意に生存率を増加させた（ベネトクラクス *vs* ビヒクル、 $p = 0.003$ ；L E E D + ベネトクラクス *vs* ビヒクル、 $p = 0.002$ ；H E L D + ベネトクラクス *vs* ビヒクル、 $p = 0.004$ ）。ベネトクラクスとの組み合わせにおける低曝露、長期間またはH E L D 5-アザシチジン投与は、L E E DまたはH E L D 5-アザシチジン単独のいずれかと比較して、有意に生存率を増加させた（L E E D + ベネトクラクス *vs* L E E D、 $p = 0.001$ ；L E E D + ベネトクラクス *vs* H E L D、 $p < 0.001$ ；H E L D + ベネトクラクス *vs* L E E D、 $p < 0.001$ ；H E L D + ベネトクラクス *vs* H E L D、 $p < 0.001$ ）。さらに、ベネトクラクスとの組み合わせにおけるL E E DまたはH E L D 5-アザシチジン投与は、ベネトクラクス単独と比較して、有意に生存率を増加させた（L E E D + ベネトクラクス *vs* ベネトクラクス、 $p < 0.001$ ；H E L D + ベネトクラクス *vs* ベネトクラクス、 $p < 0.001$ ）。平均生存率は、ビヒクルまたは単一薬剤と比較して、ベネトクラクスとの組み合わせにおけるL E E DまたはH E L D 5-アザシチジンによって増加した（L E E D + ベネトクラクス = 46日、H E L D + ベネトクラクス = 45日、ビヒクル = 19日、ベネトクラクス = 29日、L E E D = 36日、H E L D = 32日）。（図16F）

【0215】

要するに、これらの結果から、F L T 3 - I T D変異を有する対象が、A Z A + V e n 組み合わせ療法から利益を受け得ることが示される。

5-アザシチジンとF L T - 3阻害剤との組み合わせの結果

【0216】

F L T 3変異はA M L患者の～30%で生じ、予後不良と関連している。広範作用型F

FLT-3 阻害剤ミドスタウリンおよび選択的 FLT-3 阻害剤ギルテリチニブは、AML の治療について承認されている。5-アザシチジンおよび FLT-3 阻害剤による共投与が、AML 細胞において相乗効果を有するかどうかを調査するために、2つの FLT-3-ITD 細胞株、MV4-11 および MOLM-13 細胞を、5-アザシチジン+ミドスタウリンまたは5-アザシチジン+ギルテリチニブで処理した。細胞を1~3日目に5-アザシチジンの1日用量で処理し、次いで4日目に FLT-3 阻害剤（ミドスタウリンまたはギルテリチニブ）で処理した。細胞を7日目に回収し、CellTiter-Glo（登録商標）アッセイによって細胞生存能力を評価した。ミドスタウリンはMV4-11を5-アザシチジンに感作性にし（図17A）、5-アザシチジンと相乗効果を示した（図17B）。同様の効果は、5-アザシチジンおよびギルテリチニブ（図17Cおよび17D）で処理したMV4-11細胞において、並びに5-アザシチジンおよびミドスタウリン（図17Eおよび17F）またはギルテリチニブ（図17Gおよび17H）によって処理したMOLM-13細胞において観察された。

10

20

30

40

50

【0217】

次に、注射可能（高曝露、短期間、またはHELDレジメン）または経口（低曝露、長期間、LEED）と同様の用量およびスケジュールを用いて、FLT-3 阻害剤および5-アザシチジンの相乗効果を調べた。MOLM-13およびMV4-11細胞株に基づくAMLの2つの播種性異種細胞モデルを用いた。マウスを、HELDレジメン（3mg/kg、5日間毎日）またはLEED（1mg/kg、1日1回15日間（qdx15））を用いて、5-アザシチジンで処理した。100mg/kg、21日間毎日、FLT-3 阻害剤ミドスタウリンを、および4mg/kg、qdx21、ギルテリチニブを、HELDまたはLEED 5-アザシチジンレジメンで、単一薬剤として投与した。MOLM-13異種移植モデルにおいて、ミドスタウリン単独で、およびLEEDまたはHELD 5-アザシチジンとの組み合わせは、ビヒクル単独と比較して、有意に生存率を増加させた（ミドスタウリンvsビヒクル、 $p=0.027$ ；LEED+ミドスタウリンvsビヒクル、 $p=0.012$ ；HELD+ミドスタウリンvsビヒクル、 $p=0.003$ ）（図17I）。ミドスタウリンとの組み合わせにおける低曝露、長期間またはHELD 5-アザシチジン投与は、LEEDまたはHELD 5-アザシチジンそれぞれと比較して、有意に生存率を増加させた（LEED+ミドスタウリンvsLEED、 $p=0.028$ ；HELD+ミドスタウリンvsHELD、 $p=0.039$ ）。ミドスタウリン治療単独と比較して、ミドスタウリンとの組み合わせにおけるLEEDまたはHELDとの間に、生存率の有意な変化は観察されなかった。平均生存率は、ビヒクルまたは単一薬剤と比較して、ミドスタウリンとの組み合わせにおけるLEEDまたはHELD 5-アザシチジンによって増加した（LEED+ミドスタウリン=45日、HELD+ミドスタウリン=43日、ビヒクル=19日、ミドスタウリン=34日、LEED=36日、HELD=32日）（図17I）。

【0218】

MV4-11異種移植モデルにおいて、ミドスタウリン単独、およびLEEDまたはHELD 5-アザシチジンとの組み合わせは、ビヒクルのみと比較して、生存率を増加させた（ミドスタウリンvsビヒクル、 $p=0.0067$ ；LEED+ミドスタウリンvsビヒクル、 $p=0.0084$ ；HELD+ミドスタウリンvsビヒクル、 $p=0.0625$ ）。ミドスタウリンとの組み合わせにおけるLEEDまたはHELD 5-アザシチジン投与は、LEEDまたはHELD 5-アザシチジンのいずれか単独と比較して、有意に生存率を増加させた（LEED+ミドスタウリンvsLEED、 $p<0.0001$ ；HELD+ミドスタウリンvsHELD、 $p=0.0015$ ）。さらに、ミドスタウリンとの組み合わせにおけるLEEDまたはHELD 5-アザシチジンは、ミドスタウリン単独と比較して、有意に生存率を増加させなかった（LEED+ミドスタウリンvsミドスタウリン、 $p=0.1704$ ；HELD+ミドスタウリンvsミドスタウリン、 $p=0.8308$ ）。平均生存率は、ビヒクルまたは単一薬剤のHELDまたはLEEDと比較して、ミドスタウリンとの組み合わせにおけるLEEDまたはHELD 5-アザシチジ

ンによって増加した（L E E D + ミドスタウリン = 64.5、H E L D + ミドスタウリン = 59.5、ビヒクル = 29.5、L E E D = 35、H E L D = 35、ミドスタウリン = 57）（図17J）。

【0219】

M O L M - 13 異種移植モデルにおいて、ギルテリチニブ単独およびL E E D またはH E L D 5-アザシチジンとの組み合わせは、ビヒクルのみと比較して、有意に生存率を増加させた（ギルテリチニブ v s ビヒクル、 $p = 0.003$ ；L E E D + ギルテリチニブ v s ビヒクル、 $p = 0.003$ ；H E L D + ギルテリチニブ v s ビヒクル、 $p = 0.003$ ）。ギルテリチニブとの組み合わせにおける、低曝露、長期間またはH E L D 5-アザシチジン投与は、L E E D またはH E L D 5-アザシチジンいずれかの単独と比較して、有意に生存率を増加させた（L E E D + ギルテリチニブ v s L E E D、 $p = 0.019$ ；L E E D + ギルテリチニブ v s H E L D、 $p = 0.004$ ；H E L D + ギルテリチニブ v s L E E D、 $p = 0.008$ ；H E L D + ギルテリチニブ v s H E L D、 $p = 0.003$ ）。さらに、ギルテリチニブとの組み合わせにおけるL E E D またはH E L D 5-アザシチジン投与は、ギルテリチニブ単独と比較して、有意に生存率を増加させた（L E E D + ギルテリチニブ v s ギルテリチニブ、 $p < 0.001$ ；H E L D + ギルテリチニブ v s ギルテリチニブ、 $p < 0.001$ ）。平均生存率は、ビヒクルまたは単一薬剤と比較して、ギルテリチニブとの組み合わせにおけるL E E D またはH E L D 5-アザシチジンによって増加した（L E E D + ギルテリチニブ = 45日、H E L D + ギルテリチニブ = 43日、ビヒクル = 19日、ギルテリチニブ = 34日、L E E D = 36日、H E L D = 32日）（図17K）。

【0220】

要するに、これらの結果は、F L T 3 阻害剤との組み合わせにおけるL E E D またはH E L D 5-アザシチジンは、単一薬剤の5-アザシチジンまたはF L T 3 阻害剤のみと比較して、A M L 細胞の殺傷に有意により効果的であることを示唆する。

5-アザシチジン／ベネトクラクス／C C - 90011の3つの組み合わせアッセイ

【0221】

以下の実施例において用いられるC C - 90011は、4-[2-(4-アミノペリジン-1-イル)-5-(3-フルオロ-4-メトキシフェニル)-1-メチル-6-オキソ-1,6-ジヒドロピリミジン-4-イル]-2-フルオロベンゾニトリルをいい、ベシル酸塩を含む。

【0222】

C C - 90011（DMSO中に30mM）を、C e l g e n e 化合物コレクションバンクから入手し、DMSOで希釈して10mMストックにし、分量して、 -80°C で保管した。A M L 細胞株を、384ウェルプレートで、ウェルごとに2,000細胞で播種し、次いで0日目に6つの濃度のC C - 90011、およびそれぞれの化合物のE C 50に対応する比率における、9つの濃度の5-アザシチジンおよびベネトクラクスの混合物を含むマトリクスフォーマット中で処理した。5-アザシチジンを、1、2、および3日目に毎日投与し、一方でベネトクラクスを4日目に投与した。次いで、細胞生存能力を、製造元の説明(Promega Inc.)に従って、CellTiter-Glo（登録商標）試薬を用いて決定した。50%細胞死を誘導する有効濃度（E C 50）を、Prism 7.03 (GraphPad Software)を用いた非線形回帰アルゴリズムによって決定した。相乗指数および3Dグラフは、最大単一薬剤モデルを用いて、Combenefitソフトウェア(DiVeroli Bioinformatics 2016)によって分析した。

5-アザシチジン、ベネトクラクス、およびC C - 90011の組み合わせの結果

【0223】

細胞毒性を誘導するための単剤治療としてのC C - 90011、A Z A、およびベネトクラクスの有効性を、22個のA M L 細胞株で評価した（図18A）。これらの系統のうち11個は、C C - 90011に感受性であり、そのうち8個の系統はC C - 90011、A Z A、およびベネトクラクスに感受性であり、3個の細胞株はA Z AおよびC C - 9

0011に感受性であったが、ベネトクラクスに感受性でなかった（用いられるベネトクラクスの最大濃度よりも大きなEC₅₀、10 μM）。4つの細胞株はAZAおよびベネトクラクスに感受性であったが、CC-90011（EC₅₀>10 μM）に耐性であり、一方で7つの細胞株はベネトクラクスおよびCC-90011のいずれにも耐性であった（図18A）。

【0224】

LSI阻害剤は、いくつかのAML細胞株およびヒトAML異種移植モデルにおいて、分化を増加させた（図18B）。CC-90011による分化マーカーの誘導を調査するために、フローサイトメトリーを用いて、CC-90011処理後の22個のAML細胞株におけるCD11b、CD14、およびCD86表面マーカーの発現を測定した。これらの細胞株のうち17個は、これらの分化マーカーの少なくとも1つの発現を増加させ、一方で5つの細胞株は、HEL、KG-1、MOLM-13、KG-1a、およびNOMO-1などの、これらの分化マーカーのいずれかにおける変化がなかった（図18B）。注目すべきことに、分化マーカーの発現の増加は、CC-90011細胞毒性に対する感受性とは相関していなかった。

【0225】

AZA+Ven+CC-90011の3つの組み合わせがAML細胞株において相乗効果を発揮するかどうかを調べるために、22個のAML細胞株のうち13個を、様々な濃度のAZA+Ven+CC-90011で処理した（図18Cおよび19A-M）。処理の7日後、細胞生存能力をCellTiter-Glo（登録商標）を用いて調査し、相乗効果をCombobenefitを用いて計算し、“最大単一薬剤”モデリングを用いて表面マッピングを行った（図19A-M）。AZA+Ven+CC-90011で処理したAML細胞株は、様々な程度の相乗効果を有し、MUTZ-8およびOCI-AML3はきわめて高い相乗効果を有した（それぞれ、115および112の相乗指数）。対照的に、GDM-1およびKasumi-1は、きわめて低い相乗効果か、相乗効果を有しなかった（それぞれ、6および15の相乗指数）。単一薬剤のベネトクラクスまたはCC-90011に耐性である細胞株（SIG-M5、MOLM-13、HNT-34、OCI-AML3、およびTHP-1）は、AZA+Ven+CC-90011の3つの組み合わせに応答性であった。このことは、AZA+Ven+CC-90011の3つの組み合わせは、患者が最初にベネトクラクスまたはCC-90011に耐性であったとしても、AML患者において有効性を有することを示唆する。

【0226】

AZA+Ven+CC-90011の3つの組み合わせが、AZA+CC-90011またはVen+CC-90011と比較して、より有効であることを決定するために、3つの組み合わせを、これらの薬剤の対と比較した（図20A-D）。OCI-AML2において、AZA+CC-90011（図20A）、Ven+CC-90011（図20B）、またはAZA+Ven（図20C）の2つの組み合わせは、OCI-AML2細胞において相乗効果を示さなかった。しかしながら、OCI-AML2をAZA+Ven+CC-90011の組み合わせで処理する場合（図20D）、相乗効果は実質的に増加する。

【0227】

このことは、3つの組み合わせが、OCI-AML2細胞において、単一薬剤のみ、または任意の2つの組み合わせよりも、白血病細胞の殺傷においてより良好であることを実証する。

実施例2

【0228】

以下の実施例で用いられるCC-90011は、4-[2-(4-アミノピペリジン-1-イル)-5-(3-フルオロ-4-メトキシフェニル)-1-メチル-6-オキソ-1,6-ジヒドロピリミジン-4-イル]-2-フルオロベンゾニトリルのベシル酸塩をいう。

10

20

30

40

50

【0229】

試験の目的：この試験の例示的な目的は、集中的な誘導に適格でない、AMLを有する治療未経験の対象において、ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおけるCC-90011の安全性および許容性を評価する。

【0230】

さらなる目的としては：（１）集中的な導入化学療法に適格でない、AMLを有する治療未経験の対象において、ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおけるCC-90011の予備的な有効性を評価すること；および（２）マルチカラーフローサイトメトリー（MFC）および／または次世代シーケンシング（NGS）による、微小残存病変（MRD）応答率およびMRD変換率を評価することが挙げられる。

【0231】

さらなる目的としては：（１）骨髓穿刺の評価および末梢血スメア試験によって、MRD応答の期間を調査すること；（２）ベネトクラクスおよび5-アザシチジンの組み合わせにおいて投与される場合、CC-90011のPKプロファイルを特徴付けること；（３）ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおいて、CC-90011の機構的効果を理解するために、PDを特徴付けること；（４）ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおいて、CC-90011のPK、PDバイオマーカー、および／または臨床的結果との関係を調査すること；（５）ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおいて、CC-90011の有効性と相関する骨髓および血液中の分子および／または細胞マーカーを評価すること；および（６）ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおいて、CC-90011のベースライン後の輸血非依存率を評価することが挙げられる。

【0232】

試験エンドポイントを、以下の表3に示す。

【表3】

表3：試験のための試験エンドポイント			
エンドポイント	名前	説明	時間枠
第一	安全性&許容性	有害事象（NCI CTCAE Version 5.0を用いる）、臨床検査、バイタルサイン、ECG、ECOG パフォーマンスステータス、LVEF、身体検査、併用療法、および用量変更	ICFの署名から、CC-90011の最後の投与から28日まで
	RP2D	NCI CTCAE基準、Version 5.0を用いて評価した、DLTおよびMTD（到達した場合）	C1D1から用量漸増パートにおけるサイクル1の終了まで

10

20

30

40

50

【表 4】

表 3：試験のための試験エンドポイント			
エンドポイント	名前	説明	時間枠
第二	予備的な有効性	CR/CRh率：CRまたはCRhの達成率として定義される（治験責任医師によって評価される）	C1D1から最後の投与の28日後まで。有効性評価は、サイクル2、3、4、その後2サイクル毎（例えば、サイクル6、8、10など）の1日目に行う。
		ORR:CR/CR _{inf} -/CRi/PR/MLFSの達成率として定義される	C1D1から最後の投与から28日後まで。有効性評価は、サイクル2、3、4、その後2サイクル毎（例えば、サイクル6、8、10など）の1日目に行う。
		DOR (CR/CRh)	最初のCRまたはCRhからの時間から、疾患の再発または死亡が記録された日のいずれか早い方まで
		DOR (CR/ CR _{inf} -/CRi/PR/MLFS)	最初のCR、CR _{inf} -、CRi、PR、またはMLFSからの時間から、疾患の再発、進行、または死亡が記録された日のいずれか早い方まで
第二 (継続)	予備的な有効性	EFS	CC-90011の最初の投与から、任意の原因による再発または進行または死亡の最初の発生まで。データ中断日に再発/進行を有しない、または死亡していない対象は、最後の適切な腫瘍評価の日に検査される。
		OS	CC-90011の最初の投与から任意の原因による死亡日まで。分析中断日に生存している対象は、最後の連絡日に検査される。
	MRD応答率	疾患負荷またはMRD陰性(10 ⁻³)の検査結果が、少なくとも1つの対数減少を有する割合	MRD評価は、サイクル2、3、4、その後2サイクル毎（例えば、サイクル6、8、10など）の1日目に、スクリーニングを行う。
	MRD変換率	治療中にいつでもMRD陰性(10 ⁻³)を達成する対象の割合	MRD評価は、サイクル2、3、4、その後2サイクル毎（例えば、サイクル6、8、10など）の1日目に、スクリーニングを行う。

10

20

30

40

50

【表 5】

表 3：試験のための試験エンドポイント			
エンドポイント	名前	説明	時間枠
探索	MRD応答期間	MRDの連続骨髄穿刺評価によるMRD応答の持続性の評価	最初のMRD応答を達成してから、陽性MRD結果を得るまで、または少なくとも1つの対数によって疾患負荷が増加するまでの時間。死亡を検査する。
	PK	CC-90011のPKの特徴付け	サイクル1－サイクル3の全ての計画された時点
探索的 (継続)	PK/PD	ペネトクラクスおよび5-アザシチジンとの組み合わせにおけるCC-90011の、PK/PDバイオマーカーおよび臨床的結果の間の関係性を評価すること	サイクル1および次のサイクルの特定の時点
	薬力学	末梢血管におけるMMDおよびMYL9の遺伝子発現	PKと同時の時点を選択する(1－22日目)
	薬力学	CC-90011:MRD集団における骨髄穿刺からの遺伝子発現および/またはフローサイトメトリーを用いた、骨髄細胞系列マーカー(例えば、CD86およびCD11b)、免疫細胞サブセット、およびLSCおよび前駆細胞集団の分析 AZA：血液中のDNAメチル化の変化 VEN：遺伝子発現；BH3プロファイリングを用いた、アポトーシスの制御(BCL-2, MCL-1)	登録から試験中断まで
	予測バイオマーカー	ソートされたMRD細胞でNGS単一細胞RNAseqを用いた骨髄穿刺からの遺伝子変異分析	登録から試験中断まで
	ベースライン後輸血非依存率	ベースラインで輸血に依存し、ベースライン後に輸血非依存に変換した対象の割合	C1D1から最後の投与後28日まで

10

20

30

40

50

略語：AE＝有害事象；AZA＝5-アザシチジン；BCL-2＝B細胞リンパ腫2；BH3＝BCL-2ホモログドメイン3；C1D1＝サイクル1の1日目；CD＝CD分類；CD11b＝CD11抗原様ファミリーメンバーB；CR＝完全寛解；CRh＝造血機能の部分的な回復を伴うCR；CRI＝造血機能の不完全な回復を伴うCR；CRM RD＝微小残存病変を有しないCR；DLT＝用量規制毒性；DNA＝デオキシリボ核酸；DOR＝応答期間；ECG＝心電図；ECOG＝米国東海岸がん臨床試験グループ；EFS＝無症候生存；ICF＝同意書；LVEF＝左室駆出率；MLFS＝形態学的な白血病消失状態；LSC＝白血病性幹細胞；MCL-1＝骨髄細胞白血病1；MLFS＝形態学的な白血病消失状態；MMD＝単球から分化関連マクロファージ；MRD＝微小残存病変；MYL9＝ミオシン軽鎖9；NCI＝国立癌研究所；NGS＝次世代シーケンシング；ORR＝全奏効率；OS＝全体的な生存率；PD＝薬力学；PK＝薬物動態；PR＝部分的な寛解；RNAseq＝リボ核酸シーケンシング；RP2D＝推奨される第2相用量；

V E N = ベネトクラクス。

【0233】

登録に適格な対象は、新たにAMLと診断され、年齢が ≥ 75 歳であるために集中的な導入化学療法に非適格でなければならないか、あるいは集中的な導入化学療法の使用を妨げる併存疾患を有する ≥ 60 から74歳である。

【0234】

試験は2つのパート：用量漸増および用量拡大パートから成り、これらはそれぞれ、およそ18人および40人の対象を登録する。

【0235】

図21は全体的な試験設計を示す。

10

【0236】

全ての対象は、ベネトクラクス用量強化（1-3日目）についてのサイクル1の間、および少なくともサイクル1の8日目までは入院する。対象は、CRまたは部分寛解（PR）からの再発、疾患の進行、許容できない有害事象、さらなる治療の投与を妨げる介入性疾患、治験責任医師による対象を除外する決定、対象が同意を撤回すること、試験治療または手順の要件に対する非遵守、死亡、または管理上の理由の記録が示されるまで、試験治療を継続しうる。

【0237】

用量漸増：用量漸増パートは、28日サイクルにおいて、ベネトクラクスおよび5-アザシチジンの組み合わせにおけるCC-90011のMTD（到達した場合）、および併用推奨第2相用量（RP2D）を決定する。用量漸増は、CC-90011、20mg PO QW、40mg PO QW、および60mg PO QWの3つの用量レベルを、ベネトクラクスおよび5-アザシチジンの標準的な用量との組み合わせにおいて評価し、それぞれの用量コホートにおいて3-6人の対象を登録しうる。用量漸増パートは、およそ9-18人の対象を登録する。

20

【0238】

用量漸増は、mTPI-2デザイン(Guo, W. et al., Contemp Clin Trials. 2017 Jul; 58:23-33)によって導かれ、別の用量および／またはスケジュールは、臨床的安全性およびSRCによる臨床検査の総括に基づいて探索されうる。

【0239】

用量拡大：3つの組み合わせのMTDおよび／またはRP2Dを一度決定すると、およそ40人の対象が、用量拡大パートに登録され、ベネトクラクスおよび5-アザシチジンとのCC-90011の投与される組み合わせRP2Dの安全性および予備的有效性をさらに評価する。用量変更ガイドラインに従って観察された安全性に基づいて、用量の減少が生じうる。

30

【0240】

スクリーニング・フェーズ：対象のスクリーニング手順は、試験治療の開始前の28日以内のスクリーニング期間に行われる。同意書（informed consent form：ICF）は、任意の他の試験手順の開始前に、対象および管理スタッフにより署名および日付を記入する必要がある。全てのスクリーニング試験および手順は、試験治療の開始前28日以内に完了される必要がある。

40

【0241】

治療期間：適格性が確認されると、対象を登録し、連続した4週間（28日）のサイクルにおいて週1回、経口CC-90011による治療を開始する。試験治療は、 ± 3 日の許容幅で、それぞれの治療サイクルの1日目に開始されるべきである。試験訪問は、サイクル1の1日目から開始してサイクル1の8日目まで毎日、次いで少なくとも最初の3回のサイクルについて週1回、次いでサイクル4から開始するその後のサイクルのそれぞれにおいて2週間に1回（1日目および15日目）、行われる。

【0242】

全ての対象は、ベネトクラクス用量強化のためのサイクル1の間（1-3日目）、およ

50

び少なくともサイクル1の8日目まで入院し、腫瘍崩壊性症候群（T L S）の予防または追跡を受ける。この入院はプロトコルごとに必要であり、重篤な有害事象を構成するものではない。サイクル1の完了時に残存する形態学的な白血病がなく、進行する血球減少症が存在するとき、C C - 9 0 0 1 1、ベネトクラクス、および／または5 - アザシチジンを最大14日間中断して、造血機能の回復を可能にすることができるであろう。好中球減少症の管理のために、サイクル1の完了後、患者がC R iを達成し、形態的な白血病消失状態（M L F S）を有する場合、次のサイクルを遅らせて、29日目からA N Cが $\geq 500 / \mu\text{L}$ に達するまで、または最大14日間、A N C回復を可能にすることができる。好中球減少症の再発事象は、治療強度を減少させることで対処することができる（すなわち、その後のサイクルの21日間にベネトクラクスおよび／または5 - アザシチジン用量を、ラベルに従って減少させる）。

10

【0243】

サイクル1の間、C C - 9 0 0 1 1の被験者内の用量漸増は許容されないが、S R Cによって承認された場合、その後のサイクルにおいて、より高い用量コホートにおいて耐性であるとみなされる用量への漸増が許容されうる。

【0244】

治療からの利益を得る機会を最大にし、C C - 9 0 0 1 1の作用機序およびベネトクラクスおよび5 - アザシチジンの組み合わせについての応答時間の平均を踏まえて、治験責任医師は、少なくとも3回のサイクルにわたり患者を治療することを目指すべきであるが、対象は、C RまたはP Rの再発、疾患の進行、許容できない有害事象、さらなる治療投与を阻害する併発疾患、治験責任医師による対象を除外する決断、対象の同意の撤回、試験治療または手順の要件に対する非遵守、死亡、または管理上の理由の記録が実証される場合、対象は治療を早く中断されうる。

20

【0245】

再発性または抵抗性疾患以外の理由でC C - 9 0 0 1 1を中断した対象は、疾患の再発または抵抗の証拠があるまで、または対象が治験責任医師の裁量により利益を享受している場合、有害事象により治療に耐えることができなくなるまで、ベネトクラクスおよび5 - アザシチジンの組み合わせを継続しうる。ベネトクラクスおよび5 - アザシチジンの組み合わせ治療を中断した対象は、C C - 9 0 0 1 1による治療もまた中断する。

【0246】

治療終了（E O T）：C RまたはP Rの再発、疾患の進行、許容できない有害事象、さらなる治療投与を阻害する併発疾患、治験責任医師による対象を除外する決断、対象の同意の撤回、試験治療または手順の要件に対する非遵守、死亡、または管理上の理由が記録されるまで、治療を継続する。

30

【0247】

治療終了（E O T）訪問は、C C - 9 0 0 1 1の最後の投与後の最も早い日付けで、最後の投与日から14日以内に行われるべきである。予定された訪問の間にE O Tが生じる場合、全てのE O T評価もまた完了する必要がある。

【0248】

追跡期間：追跡期間において、対象は、安全性追跡訪問において、C C - 9 0 0 1 1の最後の投与または最後の試験訪問のいずれか遅い方から28日間（ ± 3 日）追跡される。安全性追跡訪問の後、全ての対象は、生存追跡のために、次の4週間（ ± 2 週間）ごとに、最大1年まで、または死亡、追跡の失敗、さらなるデータ収集についての同意の撤回、または治験の終了のうち、いずれか最初に生じるものまで、追跡される。生存追跡は、記録のレビュー（公共記録を含む）、および／または対象、家族、または対象の治療医との電話連絡によって行われうる。

40

【0249】

対象の試験期間：全体的な研究の予想期間はおおよそ5年であり、これにはおおよそ25ヶ月の登録期間、最大28日のスクリーニング期間、15か月の治療期間、および最後の投与から1年の生存追跡期間が含まれる。研究の実際の期間は、治療期間の平均と対象の追

50

跡に依存する。

【0250】

それぞれの個々の対象について、予想される試験期間は、およそ2年であり、最大28日のスクリーニング期間、およそ15か月の治療期間、および最後の投与から1年の生存追跡期間を含む。

【0251】

治験終了：治験終了は、治療後の追跡を完了するための最後の対象の最後の訪問日、またはプロトコルにおいて事前に指定されている、第1、第2、および／または探索分析に必要な最後の対象から最後のデータポイントを受領した日のいずれか遅い日として定義される。

【0252】

試験集団／患者の推定数：この試験は、治療未経験で、集中的な導入化学療法に適格でない、AMLを有する最大58人の対象を登録し、用量漸増においておよそ9～18人の対象、および用量拡大においておよそ40人の対象を登録する。

【0253】

主要な組み入れ基準：対象は試験に登録されるために以下の基準を満たす：（1）対象は任意の試験関連評価／手順を実施する前に、同意書（ICF）を理解し、自発的に署名しなければならない。（2）対象は、試験訪問スケジュールおよび他のプロトコルの要件を進んで遵守し、遵守することができる。（3）組織学的に、世界保健機構（WHO）によって定義される未治療のAMLであることが確認され、同意書に署名をした時点で ≥ 75 歳であり、あるいは同意書に署名をした時点で ≥ 60 から74歳であり、以下に定義される集中的な導入化学療法の使用を妨げる併存疾患を有する：（a）以下の少なくとも1つの併存疾患を有する、 ≥ 60 から74歳：（i）米国東海岸がん臨床試験グループ（ECOG）パフォーマンスステータスが2；（ii）治療を必要とする、または駆出率 $\leq 50\%$ のうっ血性心不全（CHF）、またはマルチゲート取得（MUGA）または心エコー図（ECHO）によって決定された慢性安定狭心症の心臓病歴；（iii）クレアチニンクリアランスが ≥ 30 mL／分から < 45 mL／分；（iv）総ビリルビンが > 1.5 から $\leq 3.0 \times$ 正常値上限（ULN）の中程度の肝機能障害；（v）医師が集中的な化学療法に適合しないと判断する任意の他の併存疾患は、治験依頼者がスクリーニングの間および試験登録の前に検査されなければならない。（4）対象は少なくとも12週間の予想平均寿命を持っていなければならない。（5）対象は高白血球症を治療するためのヒドロキシ尿素を除いて、AMLの前治療を受けていない。（6）対象は0から2のECOGパフォーマンスステータスを有する。（7）対象は以下のスクリーニング臨床検査値を有していなければならない：（a）白血球（WBC）計数が $\leq 25 \times 10^9$ ／L。ヒドロキシ尿素または白血球除去がこの基準を満たすことが許容される。（b）カリウムおよびマグネシウムが通常の範囲内であるか、サプリメントで修正可能である。（c）尿酸が ≤ 7.5 mg／dL（ $446 \mu\text{mol}$ ／L）。低尿酸血症薬（例えば、アロプリノール、ラスブリカーゼ）による前および／または併用治療が許容される。ラスブリカーゼは、ベースラインのグルコースー6-ホスフェートデヒドロゲナーゼ（G6PD）欠損症の対象には禁忌である。（d）国際標準比（INR）が $< 1.5 \times$ ULN、および活性化部分トロンボプラスチン時間（aPTT）が $< 1.5 \times$ ULN。（8）以下によって定義される適切な臓器機能：（a）腎機能：Cockcroft-Gault式によって計算して、または24時間蓄尿によって計算して、クレアチニンクリアランスが ≥ 30 mL／分；（b）肝機能：ジルベール症候群または白血病臓器の関与が原因でない場合、AST、ALT $\leq 3 \times$ ULN、ビリルビン $\leq 1.5 \times$ ULN。 < 75 歳である対象は、ビリルビンが $\leq 3.0 \times$ ULNでありうる；（c）MUGAまたはECHOにより、左室駆出率（LVEF）が $> 50\%$ 。（9）対象は、ベネトクラクスの最初の投与前、およびサイクル1の間に、入院、水分補給、および尿酸還元剤による治療を受けることができ、進んで受ける必要がある。（10）出産可能性のある女性（FCBP）は以下の女性である：1）ある時点で初潮を達成している、2）子宮摘出術または両側卵巢摘出術を受けていない、または3）少

10

20

30

40

50

なくとも連続した24か月にわたり、自然に閉経していない（癌治療により無月経、または他の病状により出産可能性が排除されていない）（すなわち、過去24か月の間の任意の時点で月経があった）。出産可能な女性は、以下でなければならない：（a）異性愛者との接触を真に禁欲*することを約束するか（毎月見直し、情報を文書化しなければならない）、あるいはこの試験に関連する以下の期間の間、1つの非常に効果的な避妊方法と、1つのバリア方法を用いることに同意し、従うことができる：1）ICFの署名から；2）試験治療を受けている間；3）投与中断の間；および4）対象のCC-90011の最後の投与後少なくとも45日間、ベネトクラクスの最後の投与後30日間、または5-アザシチジンの最後の投与後90日間のうち、いずれか遅い方。非常に効果的な避妊方法が組み合わされる（エストロゲンおよびプロゲステロンを含む）または排卵阻害に関連するプロゲステロンのみのホルモン避妊薬（経口、注射、膈内、パッチ、または埋め込み）；両側卵管結紮術；子宮内避妊器具（IUD）；子宮内ホルモン放出システム；または精管切除したパートナーの避妊（精管切除したパートナーがFCBP試験参加者の唯一の性的パートナーであり、精管切除したパートナーが外科的成功の医学的評価を受けている場合に限り、精管切除したパートナーは非常に効果的な避妊方法であることに注意されたい）。バリア方法は、男性または女性のラテックスまたは非ラテックス合成コンドーム、ダイヤフラム、子宮頸管キャップ、または殺精子剤を含むスポンジである。（b）試験治療を開始する前に、治験責任医師により確立された2つの陰性妊娠検査を受ける：（i）スクリーニング時における、陰性の血清妊娠検査（少なくとも25mIU/mLの感受性）；（ii）試験治療のサイクル1の1日目の前72時間以内に、陰性の血清または尿妊娠検査。尿妊娠検査は、少なくとも25mIU/mLの感度を有していなければならない。（c）試験の過程で進行中の妊娠検査に同意する。これは、対象が異性愛者との接触を真に禁欲*している場合にも当てはまる。（d）治療中およびCC-90011の最後の投与から45日、ベネトクラクスの最後の投与から30日、または5-アザシチジンの最後の投与から90日のいずれか遅い方まで、卵子の妊娠または提供を避ける。（11）男性対象は以下でなければならない：（a）異性間性交渉の真の禁欲*の実施（毎月見直す必要がある）、または男性が成功した精管切除を受けていても、試験参加中の、投与中断中、および対象がCC-90011の最後の投与から少なくとも105日、ベネトクラクスが最後の投与から95日、または5-アザシチジンの最後の投与から90日のいずれか遅いものの間、妊娠した女性またはFCBPとの性的接触時に、コンドーム（ラテックスまたは非ラテックス合成コンドームが推奨される）の使用に合意する。治療の間、およびCC-90011の最後の投与から少なくとも105日、ベネトクラクスの最後の投与から95日、または5-アザシチジンの最後の投与から90日のいずれか遅い方まで、精液または精子を提供しないことに同意する。（*真の禁欲は、好ましい通常のライフスタイルに沿ったものであれば許容される〔周期的な禁欲（例えば、カレンダー、排卵、症候性；体温を用いて排卵時期を決定する）〕、および膈外射精は許容される避妊方法ではない。）

10

20

30

40

50

【0254】

試験物質（CC-90011）：CC-90011は経口投与のためのカプセルとして供給される。カプセルは、チャイルド・レジスタンスキャップ付きの、関連する国の保健当局の規則に従って、治験使用用に適切にラベルが付された、高密度ポリエチレンボトルにおいて供給される。CC-90011配合カプセルは、以下の用量：20mg、40mg、および60mgにおいて利用可能である。

【0255】

CC-90011は、室温（25℃〔77°F〕以下）で保管され、ラベルにおいて個々に割り当てられた有効期限内に用いなければならない。対象は、CC-90011カプセルを広範囲で取り扱うべきでなく、摂取するまでパッケージ内の保管を維持する必要がある。

【0256】

試験物質（ベネトクラクス）；ベネトクラクス（VENCLEXTA（登録商標））は

、経口投与のために、10mg、50mg、および100mgの錠剤として利用可能である。対象は、地元の病院の薬局または認可された販売業者を通じて、市販の製品を入手することができる。

【0257】

試験物質（5-アザシチジン）：注射のための5-アザシチジンは、再構成および投与のための100mgの単回投与バイアルに凍結乾燥粉末として供給される。対象は、地元の病院薬局または認可された販売業者を通じて、市販の製品を入手することができる。

【0258】

治療投与およびスケジュール：治療から利益を得る最善の機会を可能にするために、およびCC-90011の作用機構、およびベネトクラクスおよび5-アザシチジンの組み合わせに対する平均応答期間を考慮して、対象は少なくとも3サイクルにわたり治療を受けるが、対象は、CRまたはPRの再発、疾患の進行、許容できない有害事象、さらなる治療投与を阻害する併発疾患、治験責任医師による対象を除外する決断、対象の同意の撤回、試験治療または手順の要件に対する非遵守、死亡、または管理上の理由の記録が実証された場合、対象は速やかに治療を中断されうる。これらの理由がない限り、対象は試験治療を継続しうる。

【0259】

再発性または抵抗性疾患以外の理由で、CC-90011を中止した対象は、再発性または抵抗性疾患の証拠が得られるまで、または対象が治験責任医師の裁量で利益を受けている場合、対象が有害事象により治療に耐えられなくなるまで、併用薬が継続されうる。ベネトクラクスおよび5-アザシチジンの併用療法を中断した対象は、CC-90011による治療も中断する。

【0260】

CC-90011は、連続する4週間（28日）サイクルにおいて週1回（1、8、15、および22日目）、POで投与される。CC-90011は、少なくとも240mL（8オンス）の水によって投与される。対象はCC-90011投与前に最低4時間絶食し、投与後最大1時間にわたり食物摂取を控えるべきである。対象は、各投与後少なくとも1時間は、食物または他の薬物治療の摂取を控えるべきである。

【0261】

用量漸増パートは、28日サイクルで20mg PO QWのCC-90011の用量で開始するであろう。許容される場合、40mg PO QWの第二用量レベルのコホートが開き、次いで60mg PO QWの計画された第三用量レベルのコホートが開きうる。CC-90011の安全性および許容性に関する追加情報が、試験の実施中にいつでも利用可能である場合、SRCの推奨に従って、代替用量および／またはスケジュールを探索しうる。

【0262】

CC-90011、ベネトクラクス、および5-アザシチジンが同じ日に投与される場合、CC-90011を最初に投与し、次いで5-アザシチジン、および次いでベネトクラクスを、CC-90011の投与の少なくとも6時間後に投与する。

【0263】

ベネトクラクスは、承認されたラベル（Venclexta（登録商標）、2019）に従って、各28日サイクルの1～28日目に経口QDで投与される。サイクル1について、1日目に100mg、2日目に200mg、および3日目に400mgの用量で、短時間の用量強化が行われる。ベネトクラクスは、翌日以降に400mgで投与される。対象は、ベネトクラクス用量の強化のためのサイクル1から少なくともサイクル1の8日目まで入院する。この入院はプロトコルごとに必要であり、重篤な有害事象を構成するものではない。対象は毎日±6時間のほぼ同じ時間に1日用量を服用するように指示されるべきである。各用量は食事および水と一緒に服用し、できるだけ短時間で摂取する必要がある。対象は錠剤を丸ごとの飲み込み、錠剤を噛まないように指示する必要がある。グレープフルーツ、グレープフルーツ製品、セビリアオレンジ（セビリアオレンジを含むマーマ

10

20

30

40

50

レードを含む)、またはスターフルーツの摂取は、最初のベネトクラクスの投与前3日以内からベネトクラクスの最後の投与まで、禁止されている。

【0264】

5-アザシチジンは、承認されたラベル(VIDAZA(登録商標)、2018)に従って、IV注射またはSC注射として各28日サイクルの1~7日目に、75mg/m²で投与される。

【0265】

5-アザシチジンが静脈内投与される場合、CC-90011 PK収集に用いるために、腕の反対側に投与すべきである。これは、CC-90011の集中的なPKサンプル収集が行われる場合、サイクル1の1日目にのみ適用される。

【0266】

7日間の投薬期間中に、2回以下の投与が飛ばされた場合、投与は、対象が完全な7日間の治療を受けるように継続するべきである。7日間の投与期間中に3日以上が飛ばされた場合、治験責任医師は治験依頼者に連絡する必要がある、投薬の決定はケースバイケースで行われる。

【0267】

DLTについて対象評価の定義: CC-90011および/または併用療法を少なくとも1回の投与で受ける全ての対象は、安全性について評価される。

【0268】

用量漸増中に対象の任意のコホートにおいて最初の用量が投与された後、次に高いプロトコル指定の用量コホートが開始する前に、それぞれのコホートにおける対象を少なくとも28日間(サイクル1、DLTウィンドウ)観察する。

【0269】

対象がDLT評価可能であるとみなされるためには、対象は、CC-90011の少なくとも1つの投与を受けた後に、サイクル1のDLTを有するか、またはDLTを有していないサイクル1を完了するかのいずれかでなければならない。治療の最初のサイクルのCC-90011の計画された用量の75%(すなわち、28日におけるCC-90011の4つの用量のうち3つ)、およびベネトクラクスおよび5-アザシチジンの合計の計画した用量の80%(すなわち、>22のベネトクラクスの22の用量; ≥5-アザシチジンの6の用量)を完了する前に、対象が毒性以外の理由で試験の中止を受けた場合(例えば、個人的な理由、または疾患の進行)、対象は治療サイクルを完了したとはみなされず、置き換えられる。

【0270】

対象の次のコホートにおける用量漸増基準: SRCは用量漸増の決定を行う。用量拡大のためにSRCによって選択される用量レベルについては、少なくとも6人の対象は、許容用量レベルを宣言するために、用量漸増パートにおいてDLTを評価されるべきである。

【0271】

用量レベルの数は、DLTの発生率に依存する。対象は複数のDLTを経験しうる。用量漸増の決定は、DLT事象を経験する対象の数に基づく。

【0272】

有効性評価: 連続血液および骨髄サンプリングは、サイクル2の1日目から開始する治療療法への応答を決定するために用いられる。

【0273】

ベースラインにおいて、骨髄穿刺(BMA)サンプルが必要である。穿刺が利用可能でない場合は、生検を収集する必要がある、医療機関の慣習に従って、穿刺に加えて生検を収集してもよい。スクリーニングにおいて、BMAからの細胞遺伝子学および分子プロファイリングもまた必要である(過去90日間の対象の医療記録から入手可能である場合を除く)。全血球計測、末梢血スメア(PBS)、およびBMAを使用して、時点ごとの治療への応答を決定する。サンプルは、サイクルの終了前最大4日、例えば25~28日に

10

20

30

40

50

において得られ得る。

【0274】

治療への応答は、報告された血液臨床検査パラメーター、末梢血スメア、骨髄穿刺および／または生検に基づいて、治験責任医師ごとに評価する。

【0275】

先行する血液障害を有する対象が試験に登録されうる場合は、血液学的応答が評価される。輸血依存は、試験治療前の8週間以内に、 ≥ 2 単位のRBCおよび／または血小板を受けていることとして定義される。輸血非依存は、輸血なしの8週間の期間として定義される。

【0276】

対象は、試験治療が中断された場合に、治療終了評価を受けることになる。治療中止の理由は、eCRFページおよび情報源資料に記録される。

【0277】

MRD状態はまた、各骨髄収集において一次的にMFCおよび／またはNGSによって評価されるであろう。

【0278】

微小残存病変は、有効性評価と同時に評価され、一元的に評価される。この部位は、末梢血管および骨髄穿刺(BMA)／骨髄生検(BMB)サンプルを回収し、各骨髄収集時点における探索的検査のために保管されることを保証する。

【0279】

進行性疾患は、以下のように定義される：(1)ベースライン(スクリーニング)の骨髄芽球数から骨髄芽球数の割合が $> 50\%$ 増加すること(ベースラインにおいて $< 30\%$ の芽球；または少なくとも3ヶ月にわたり持続性骨髄芽球数 $> 70\%$ である場合、最低15%ポイントの増加が必要である；好中球絶対数(ANC)が絶対量($> 0.5 \times 10^9 / L$)に対して少なくとも100%改善していない、および／または血小板数 $> 50 \times 10^9 / L$ 非輸血)、または末梢芽球($WBC \times \% \text{芽球}$)が $> 25 \times 10^9 / L$ ($> 25,000 / \mu L$)に $> 50\%$ 増加すること(分化症候群が存在しない)、または新たな骨髄外疾患。

【0280】

進行性疾患の日は、ベースラインから骨髄芽球数が $> 50\%$ 増加、 $> 70\%$ のベースライン骨髄芽球数を有する対象における骨髄芽球 $> 70\%$ の持続、末梢血管芽球数の倍増、または新たな骨髄外疾患のいずれかが生じた最初の日として定義する。

【0281】

治療の失敗は、進行性疾患または少なくともPRが達成されていないこととして定義する。進行性疾患(上記で定義される)または許容できない毒性が存在しない場合、治験責任医師が判断して対象が利益を得ている場合、治療を継続しうる。

【0282】

骨髄穿刺およびコアサンプリング(生検)は、標準治療に従って実施され、国際血液標準化評議会(ICSH)ガイドラインに従って、地元の研究室において分析されるべきである。

【0283】

急性骨髄性白血病の応答基準は、最善の全奏効率カテゴリーにまとめられる：CR／CRh率、および全奏効率(ORR)。ORRは、完全寛解(すなわち、CR、CRMrd、CRi)、形態的な白血病消失状態(MLFS)、および部分寛解(PR)の全ての応答を含む。微小残存病変(MRD)応答率およびMRD変換率はまた、有効性変数として評価される。

【0284】

全生存(OS)、無症候生存(EFS、および応答期間(CR／CRhおよびORR)などの臨床的活性の他の測定値をまとめる。

【0285】

10

20

30

40

50

治療が中止した後、生存データの収集は最後の投与後1年間、死亡、追跡不能、またはさらなるデータ収集についての同意の撤回まで、4週間ごとに予定されている。

【0286】

血漿中のCC-90011のPK評価のために、血液サンプルをその時点で全ての対象から回収する。サイクル1の1日目およびサイクル1の2日目のその時点において、時間を合わせて3回のECGもまた回収する。

* * * * *

【0287】

本開示は、いくつかの実施態様および実施例に関連して説明されているが；しかしながら、特に言及されない限り、特許請求の範囲に記載される発明は、そのような特定の実施態様および実施例に過度に限定されるべきではない。

【0288】

いくつかの実施態様において図示および説明されているように、以下の特許請求の範囲において定義されるより広い局面における技術から逸脱することなく、当業者に従って変更および修正を行うことができることが理解されるべきである。

【0289】

本明細書に例示的に記載されている実施態様は、本明細書に具体的に開示されていない任意の要素、限定が存在しない状態で、適切に実施されうる。そのため、例えば、用語「含む (comprising)」、「含む (including)」、「含む (containing)」などは、広範に限定を含まずに解釈されるべきである。さらに、本明細書において用いられる用語および表現は、説明の用語として限定的でなく用いられ、そのような用語および表現を使用して、表示または記載されている特徴またはその一部の任意の等価物を排除する意図は存在しないが、特許請求の範囲に記載された技術の範囲内で、様々な修正が可能であることが理解される。さらに、用語「実質的に～から成る」は、具体的に記載される要素と、特許請求の範囲の技術の基本的な新規の特徴に実質的に影響を及ぼさないさらなる要素を含むことが理解される。用語「から成る」は、特定されていない任意の要素を排除する。

【0290】

さらに、本開示の特徴または局面がマーカッシュ群について記載されている場合、当業者はそれによって、本開示がマーカッシュ群の任意の個々のメンバーまたはメンバーのサブグループについて記載されていることを認識するであろう。

【0291】

当業者に理解されるように、ありとあらゆる目的のために、特に書面による説明を提供することに関して、本明細書に開示される全ての範囲はまた、エンドポイントを含む、ありとあらゆる可能なサブレンジおよびそのサブレンジの組み合わせを含む。任意の列挙される範囲は、当該範囲を少なくとも2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、10分の1などに分割することを十分に記載し可能にするものとして容易に理解することができる。限定されない例として、本明細書に記載されるそれぞれの範囲は、下3分の1、中3分の1、および上3分の1などに容易に分割することができる。また当業者によって理解されるように、「最大」、「少なくとも」、「を超える」、「未満」などの全ての用語は、記載される数を含み、上記で記載されるサブ範囲に分割することができる範囲を指す。最後に、当業者によって理解されるように、範囲はそれぞれの個々のメンバーを含む。

【0292】

本明細書において言及される全ての刊行物、特許出願、発行済み特許、および他の文書は、それぞれの刊行物、特許出願、発行済み特許、または他の文書が、その全体が引用により具体的かつ個別に組み込まれていることが示されているかのように、本明細書に参照により組み込まれる。参照により組み込まれる文書に含まれる定義は、本開示の定義と矛盾する範囲について除外される。

【0293】

別の実施態様は、以下の特許請求の範囲に記載される。

10

20

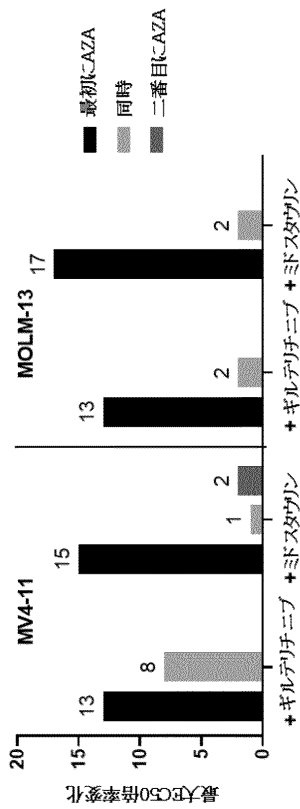
30

40

50

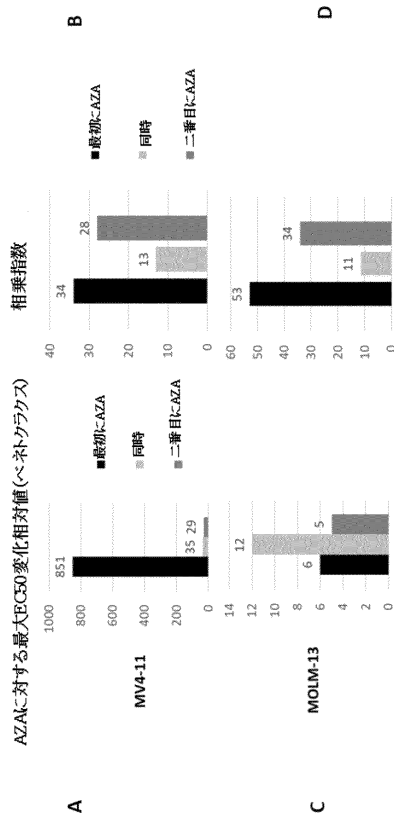
【図面】
【図 1】

図.1



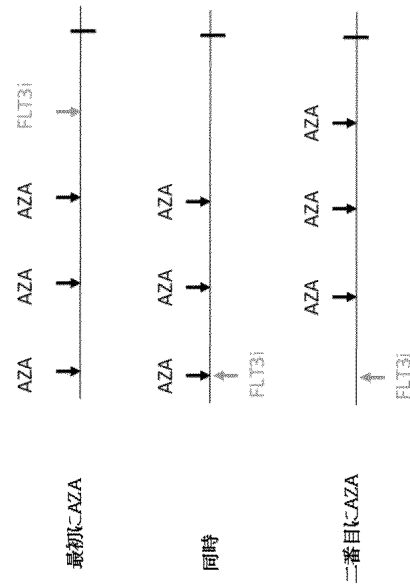
【図 3】

図.3



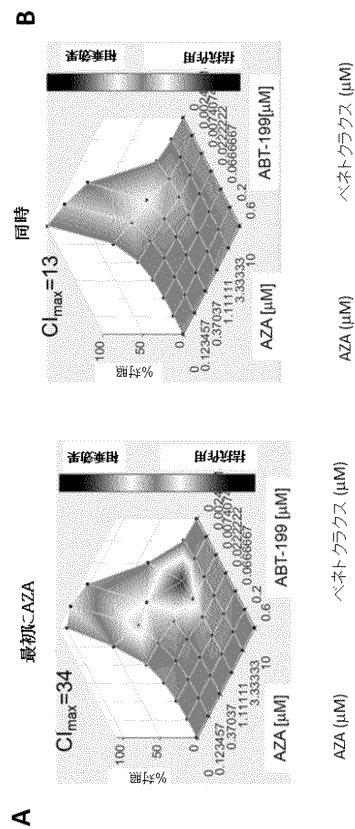
【図 2】

図.2

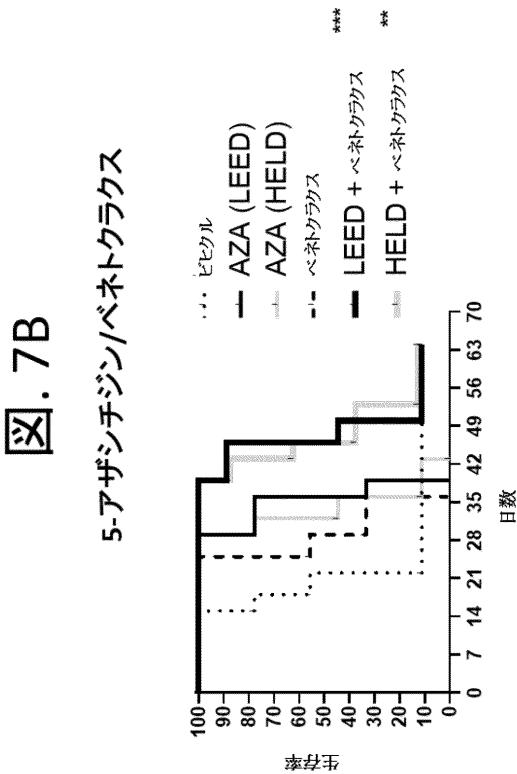


【図 4 - 1】

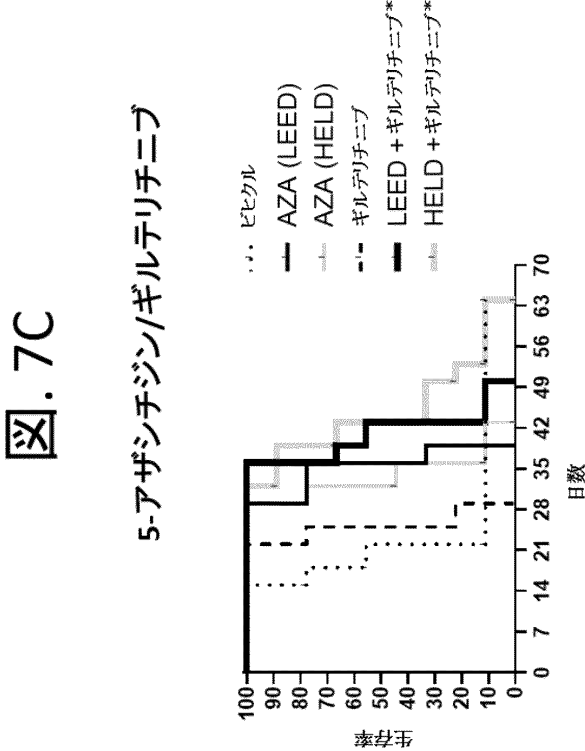
図.4



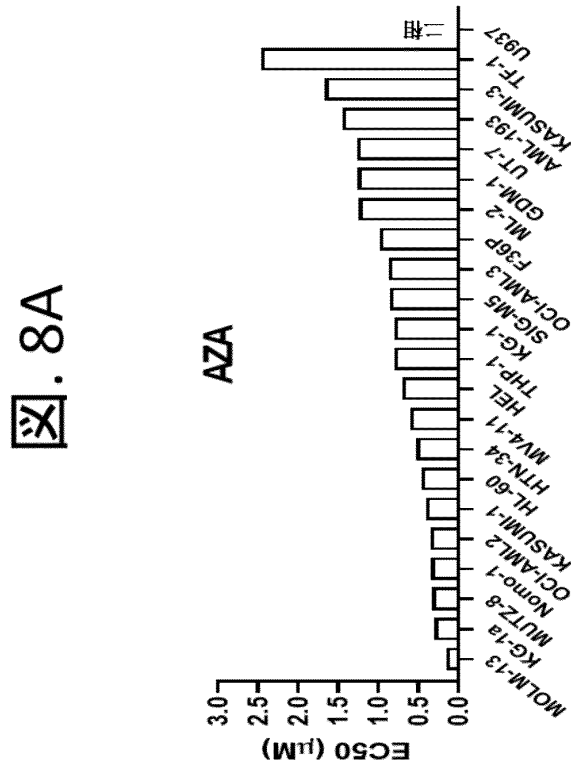
【図 7 - 2】



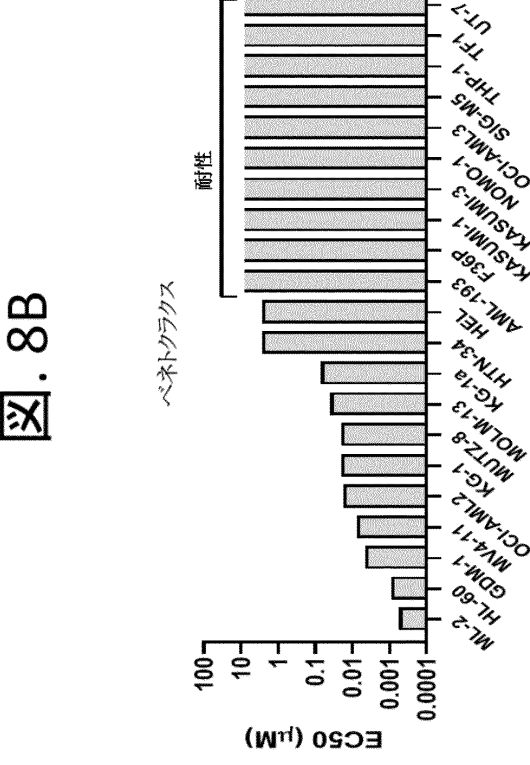
【図 7 - 3】



【図 8 - 1】

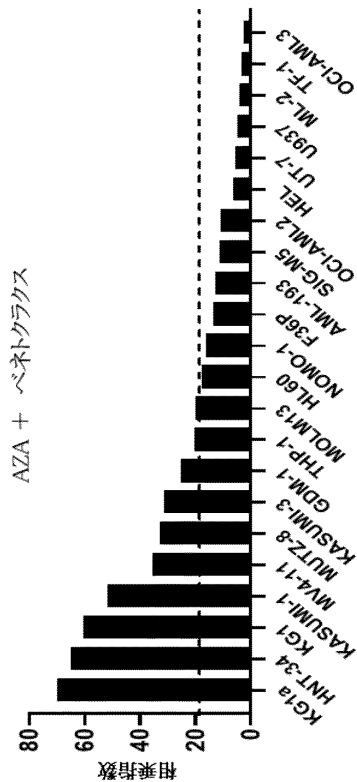


【図 8 - 2】



【 図 8 - 3 】

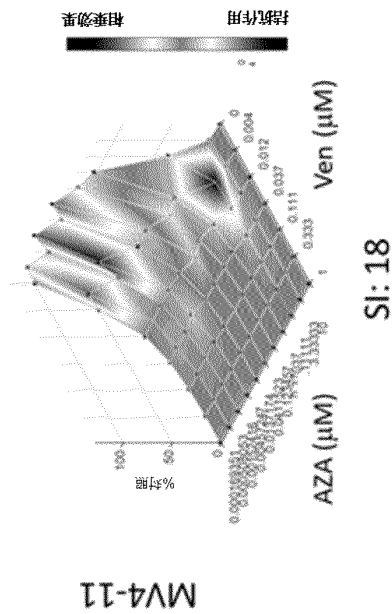
図. 8C



【 図 9 - 1 】

図. 9A

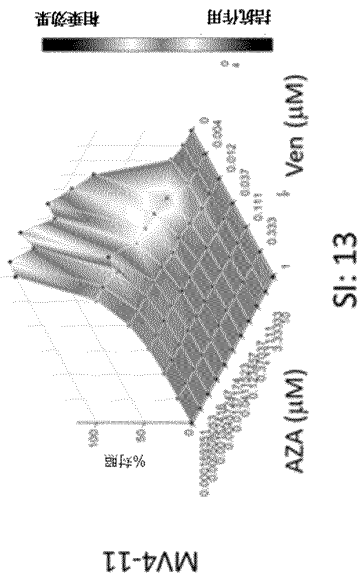
最初にAZA



【 図 9 - 2 】

図. 9B

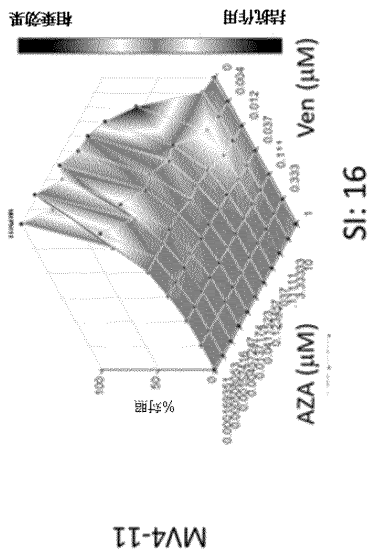
同時



【 図 9 - 3 】

図. 9C

最初にベネトクラクス



10

20

30

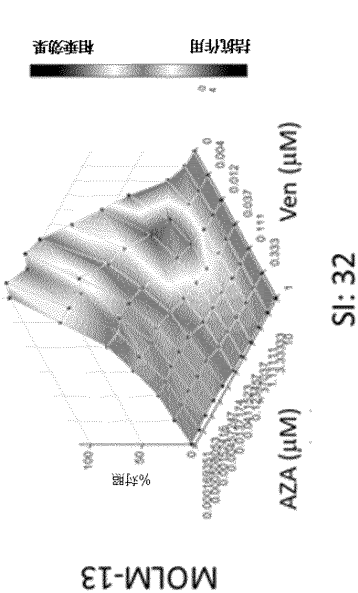
40

50

【 図 9 - 4 】

図. 9D

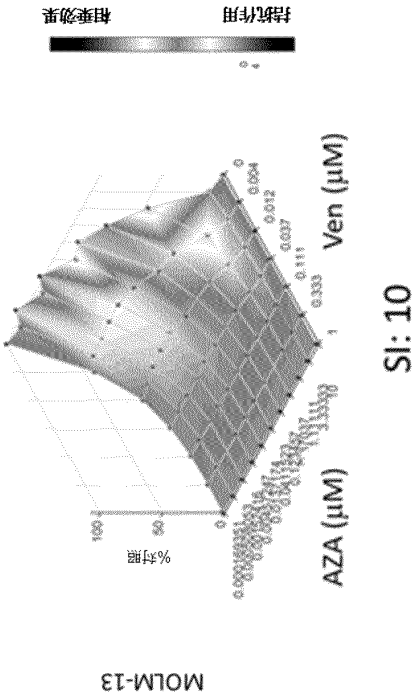
最初にAZA



【 図 9 - 5 】

図. 9E

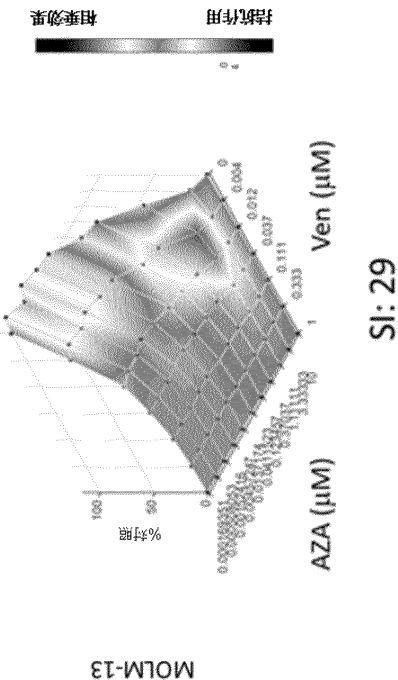
同時



【 図 9 - 6 】

図. 9F

最初にベネトクラクス



【 図 1 0 - 1 】

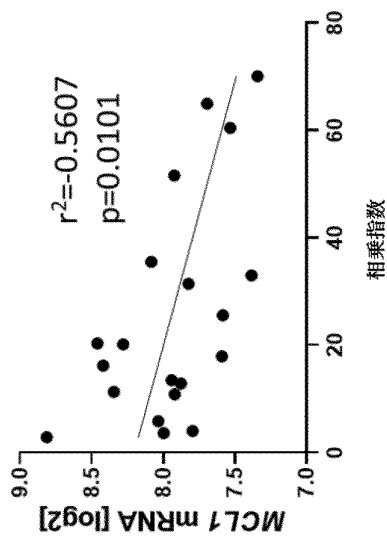
図. 10A

様々なFLT3を発現するBaF3細胞 (EC50, nM)

	BaF-FLT3(WT)	BaF-FLT3-ITD	BaF-FLT3(D835Y)
AZA	189	598	456
ギルチリチニブ	4	1.8	1.8
ミドスタウリン	23	5.5	5.4
ギザルチニブ	3	0.008	9.5
ベネトクラクス	>10000	>10000	4332

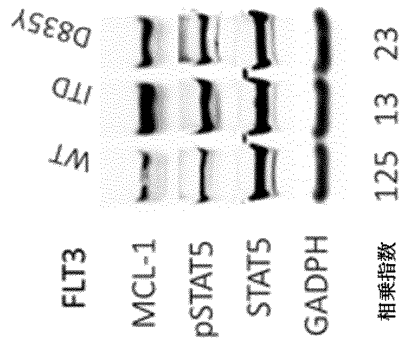
図. 11

AML細胞株



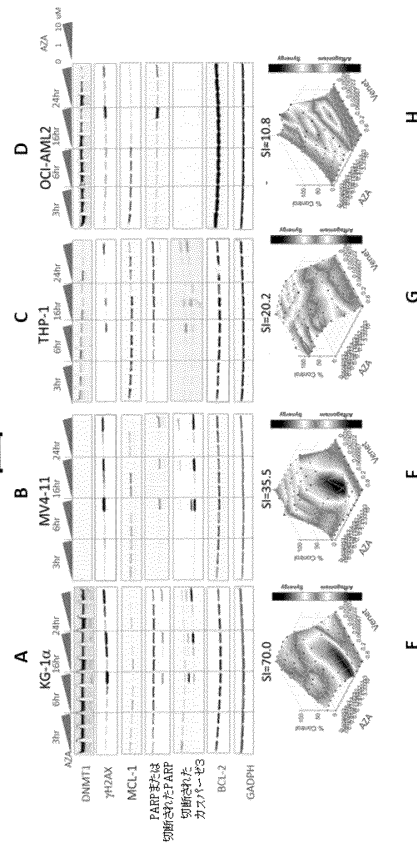
【図 1 1】

図. 10B



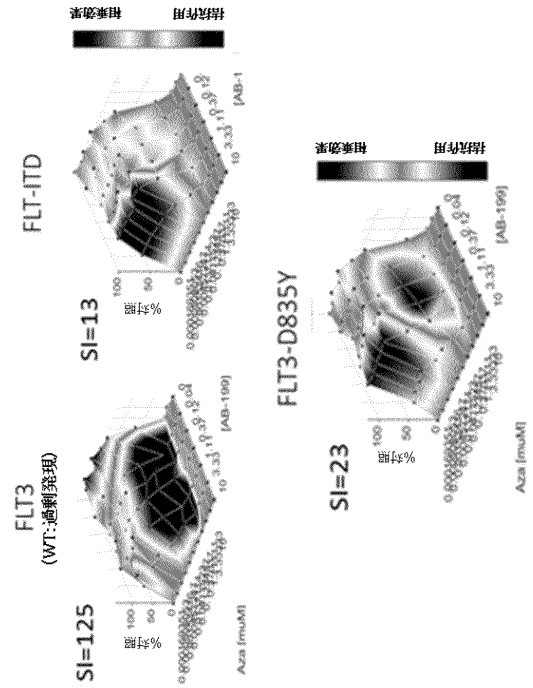
【図 1 0 - 2】

図. 12



【図 1 2】

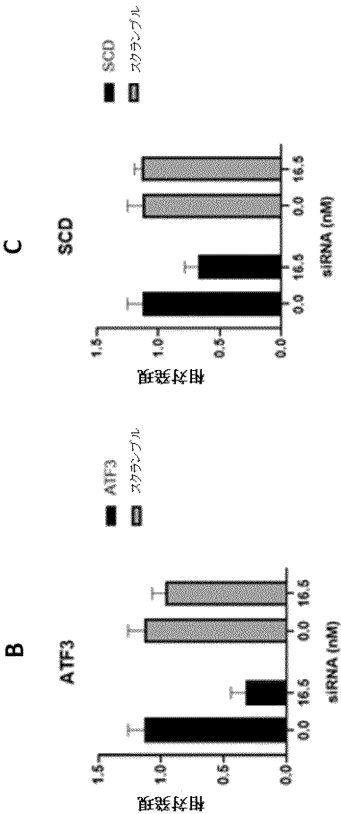
図. 10C



【図 1 0 - 3】

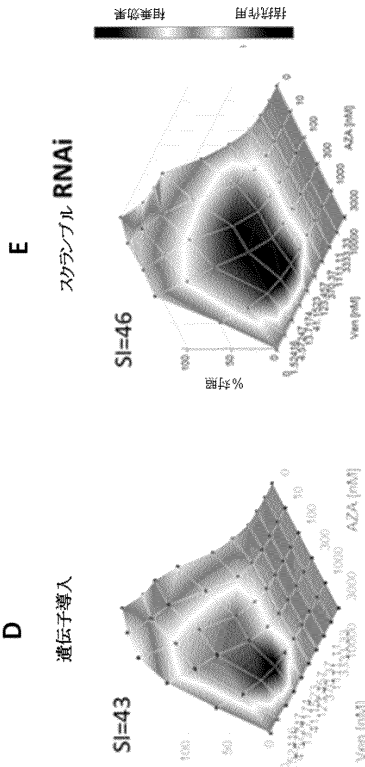
【 図 1 5 - 2 】

図. 15



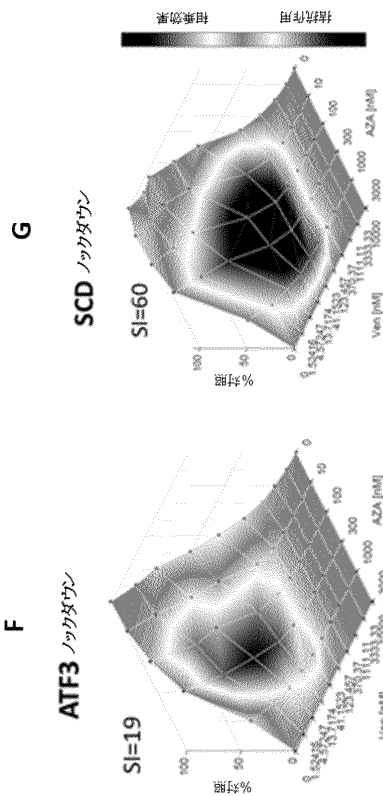
【 図 1 5 - 3 】

図. 15



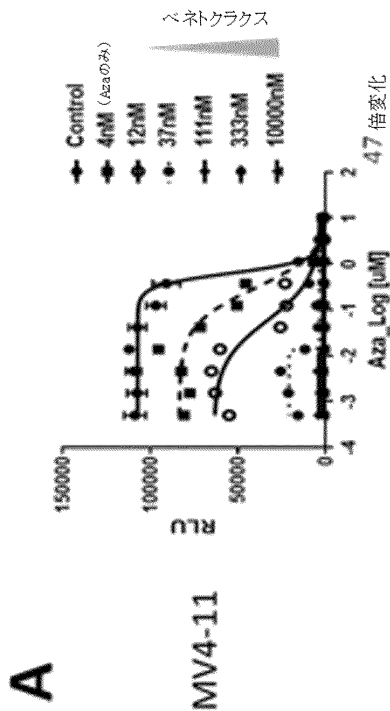
【 図 1 5 - 4 】

図. 15



【 図 1 6 - 1 】

図. 16A



10

20

30

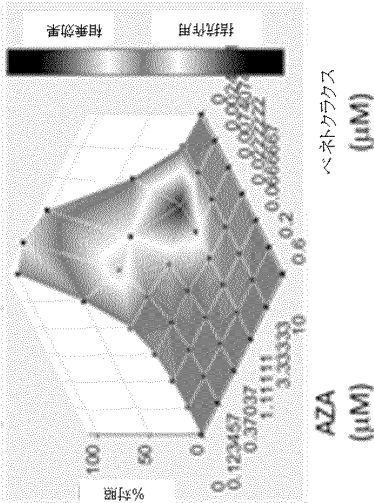
40

50

【 図 1 6 - 2 】

図. 16B

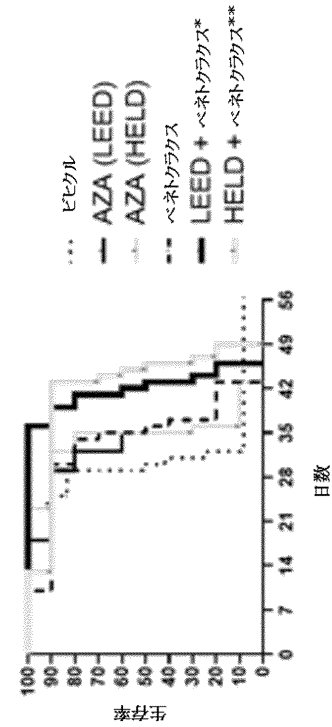
B



【 図 1 6 - 3 】

図. 16C

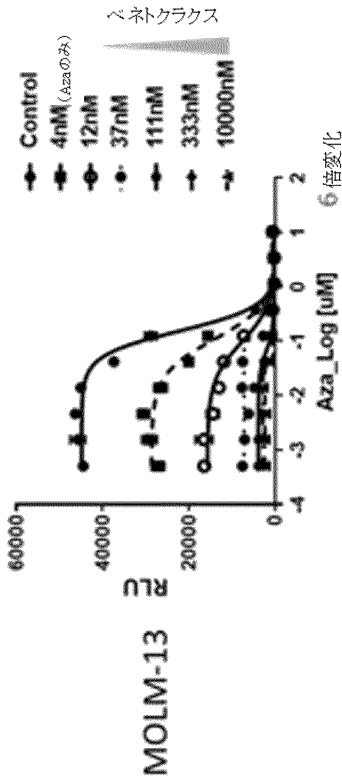
C



【 図 1 6 - 4 】

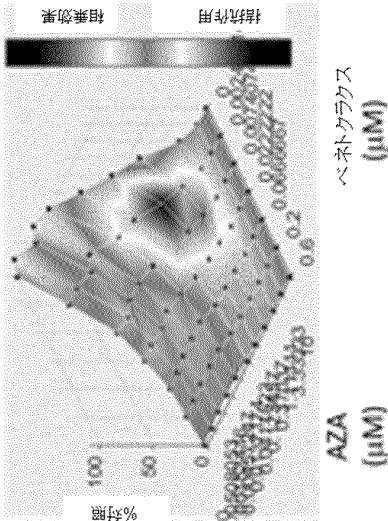
図. 16D

D



【 図 1 6 - 5 】

図. 16E



10

20

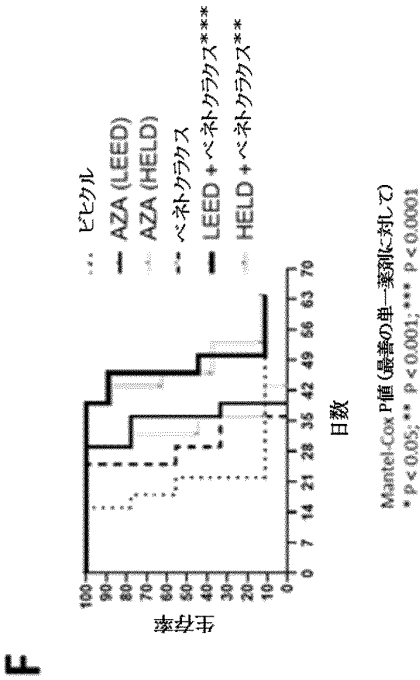
30

40

50

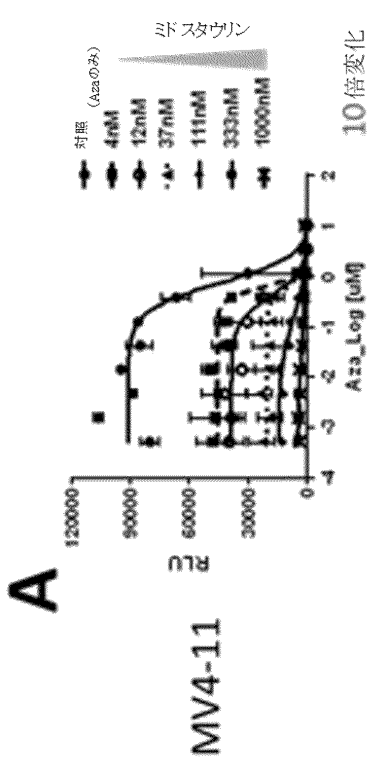
【 図 1 6 - 6 】

図. 16F



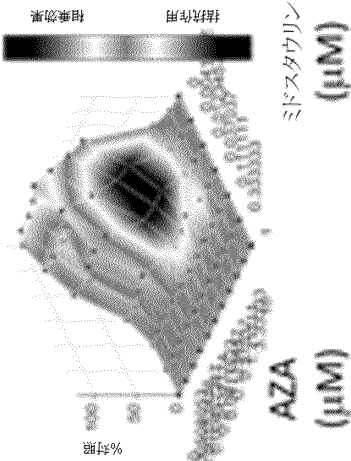
【 図 1 7 - 1 】

図. 17A



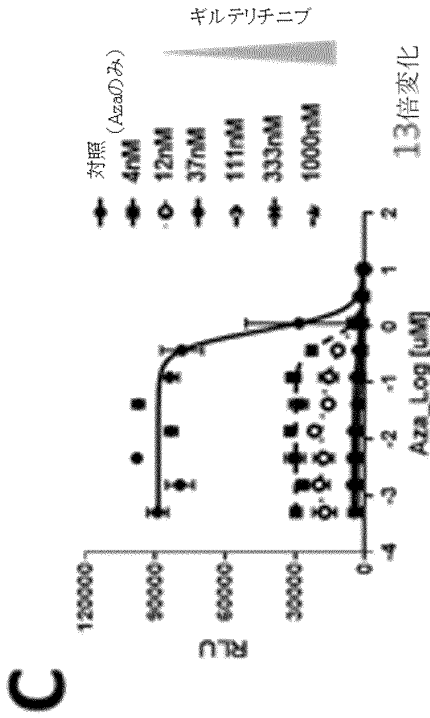
【 図 1 7 - 2 】

図. 17B



【 図 1 7 - 3 】

図. 17



10

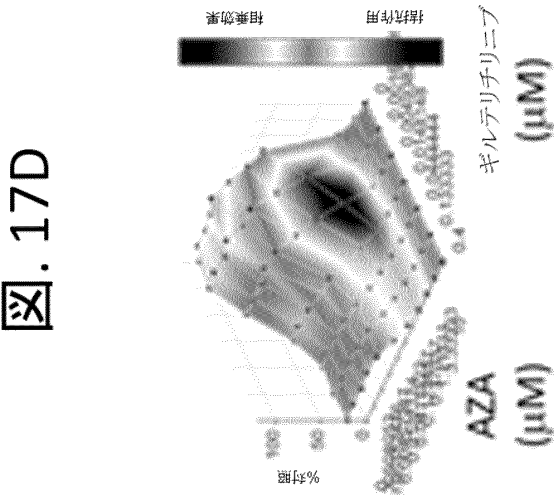
20

30

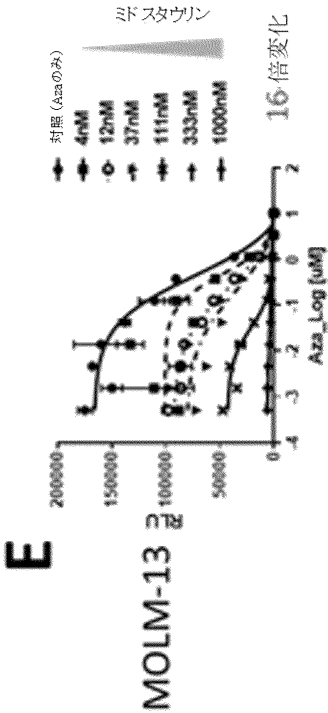
40

50

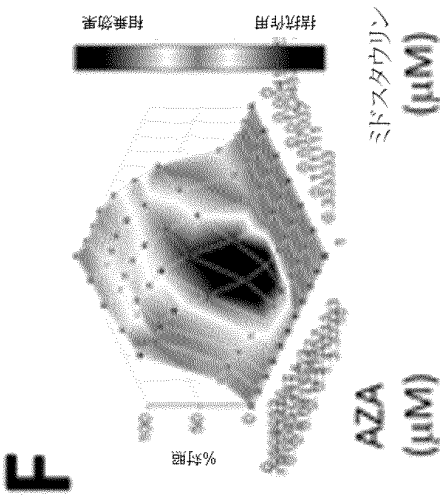
【 図 1 7 - 4 】



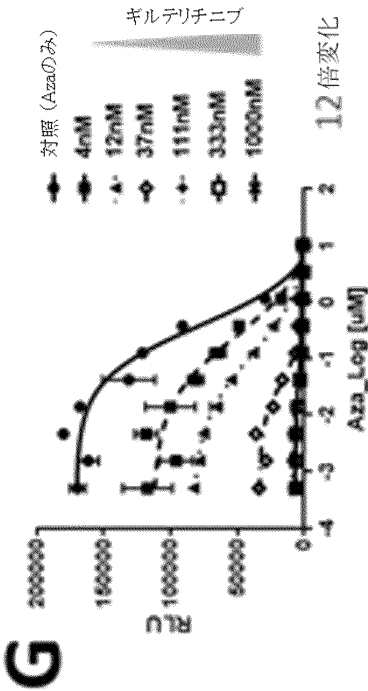
【 図 1 7 - 5 】



【 図 1 7 - 6 】



【 図 1 7 - 7 】



10

20

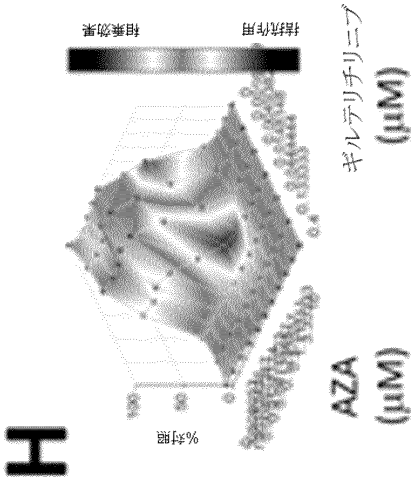
30

40

50

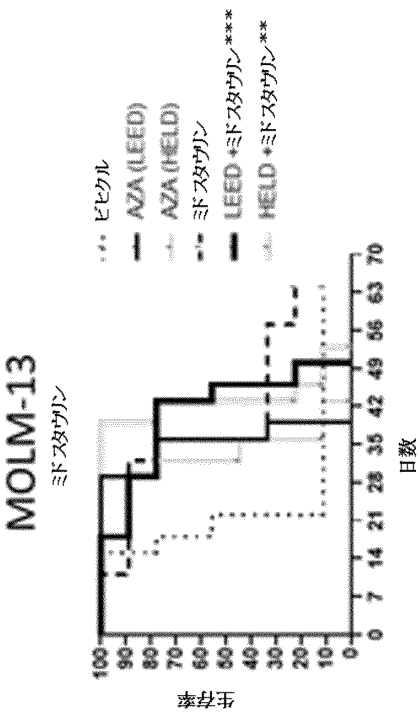
【図 17-8】

図. 17H



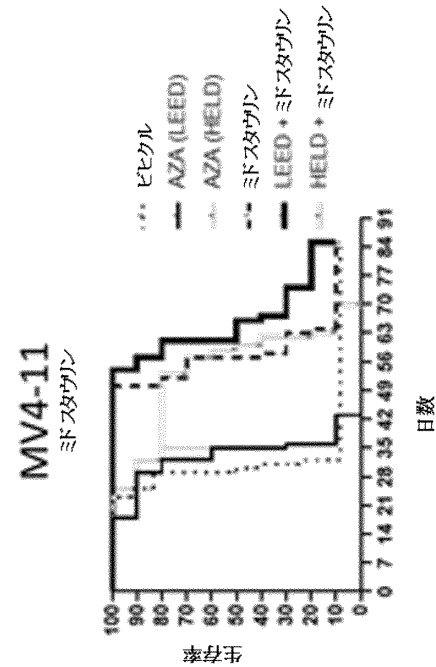
【図 17-9】

図. 17I



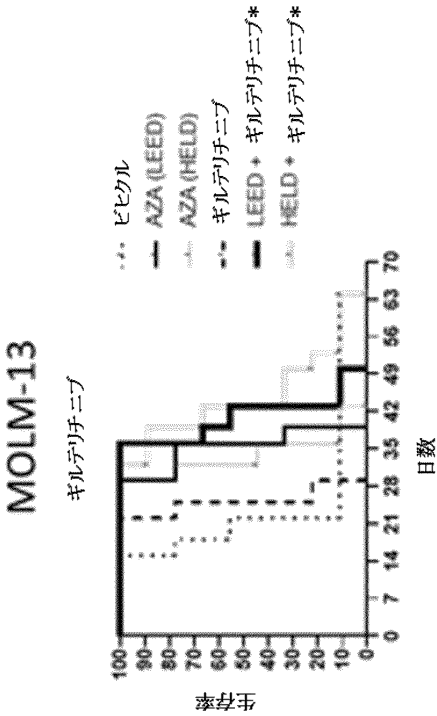
【図 17-10】

図. 17J



【図 17-11】

図. 17K



10

20

30

40

50

【図 18 - 1】

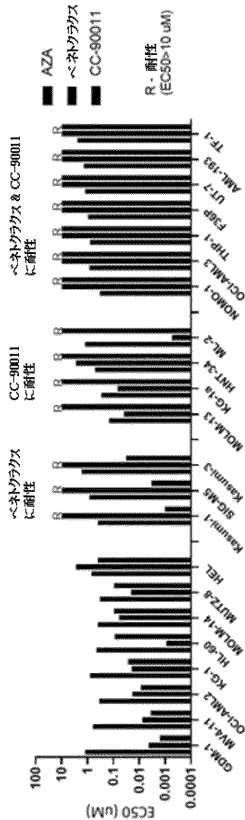


図. 18A

【図 18 - 2】

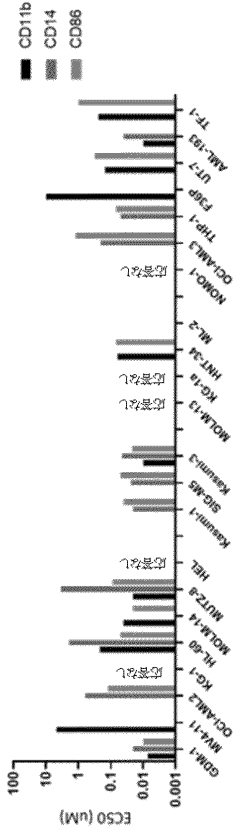


図. 18B

【図 18 - 3】

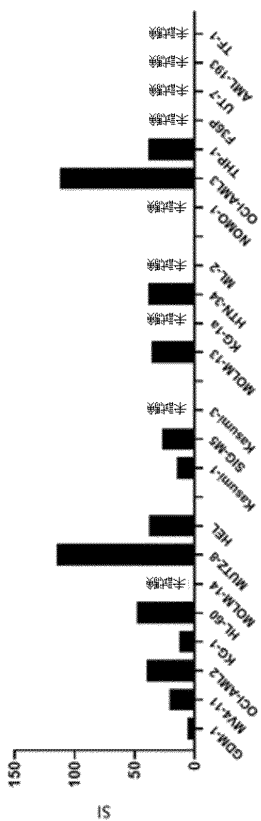


図. 18C

【図 19 - 1】

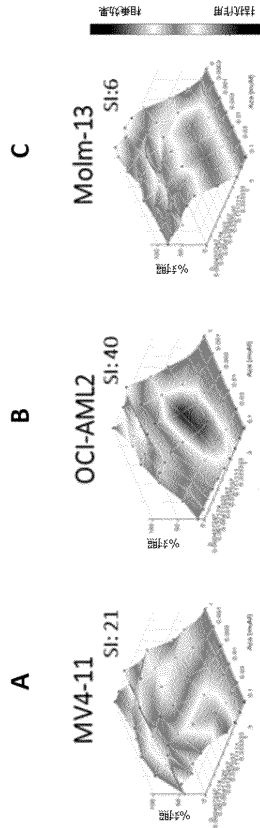


図. 19

10

20

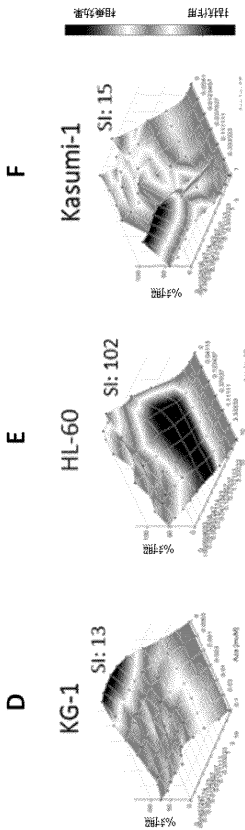
30

40

50

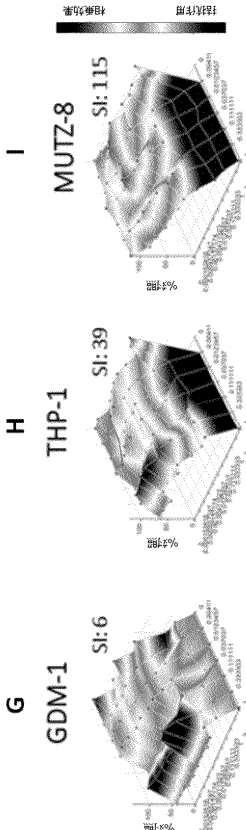
【図 19 - 2】

図. 19



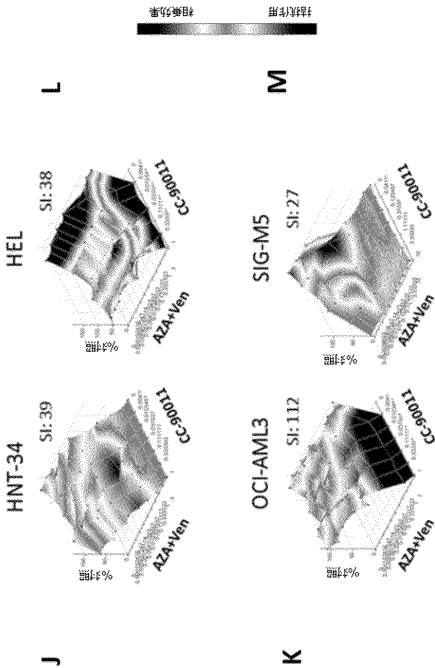
【図 19 - 3】

図. 19



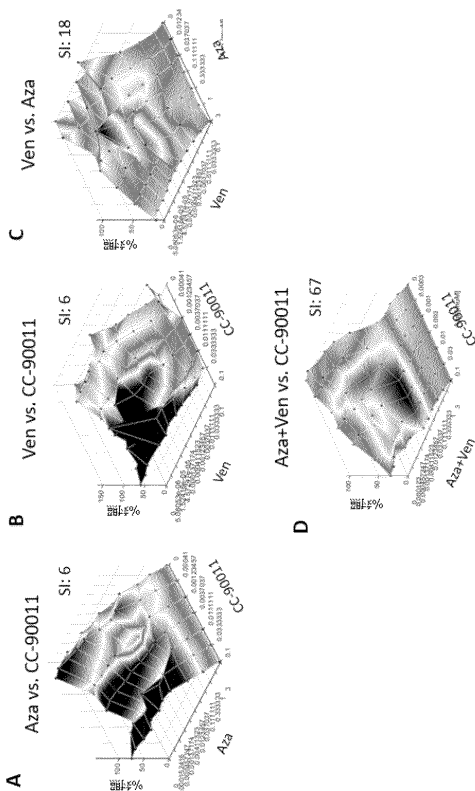
【図 19 - 4】

図. 19



【図 20】

図. 20



10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2020/038772

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K31/437 A61K31/706 A61P35/02 A61K31/404 A61L2/00
A61L2/16 A61K31/513

ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K A61P A61L

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, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2009/286752 A1 (ETTER JEFFREY B [US] ET AL) 19 November 2009 (2009-11-19) paragraphs [0029], [0158], [0196] claims 24,25	1
A	WO 2019/012328 A1 (BIOSIGHT PHARMA [IL]) 17 January 2019 (2019-01-17) example 3	1
T	WO 2020/127503 A1 (ARGENX BVBA [BE]; UNIV OF BERN [CH]) 25 June 2020 (2020-06-25) claims 1,13-15 page 38, paragraph 2	
	----- -/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 September 2020

Date of mailing of the international search report

15/09/2020

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 6818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bonzano, Camilla

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2020/038772

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/157813 A1 (F HOFFMANN-LA ROCHE AG [CH]; HOFFMANN-LA ROCHE INC [US]) 21 September 2017 (2017-09-21)	1,3-6,36
Y	page 47, paragraph 1.2.9.1 - page 48, paragraph 1.2.11.1	1-36
Y	----- DINARDO COURTNEY D ET AL: "Mutant Isocitrate Dehydrogenase (mIDH) Inhibitors, Enasidenib or Ivosidenib, in Combination with Azacitidine (AZA): Preliminary Results of a Phase 1b/2 Study in Patients with Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia (AML)", BLOOD; 59TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY (ASH); ATLANTA, GA, USA; DECEMBER 09 -12, 2017, THE AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US	1-36
	, vol. 130, no. Suppl. 1 7 December 2017 (2017-12-07), page 639, XP009522609, ISSN: 0006-4971 Retrieved from the Internet: URL:https://ashpublications.org/blood/article/130/Supplement%201/639/83406/Mutant-Isocitrate-Dehydrogenase-mIDH-Inhibitors-abstract page 2, paragraph 5	
Y	----- SWAMINATHAN MAHESH ET AL: "The Combination of Quizartinib with Azacitidine or Low Dose Cytarabine Is Highly Active in Patients (Pts) with FLT3-ITD Mutated Myeloid Leukemias: Interim Report of a Phase I/II Trial", BLOOD; 59TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY (ASH); ATLANTA, GA, USA; DECEMBER 09 -12, 2017, THE AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US	1-36
	, vol. 130, no. Suppl. 1 7 December 2017 (2017-12-07), page 723, XP009522608, ISSN: 0006-4971 Retrieved from the Internet: URL:https://ashpublications.org/blood/article/130/Supplement%201/723/83424/The-Combination-of-Quizartinib-with-Azacitidine-or-abstract page 1, paragraph 1 - page 2, paragraph 3	
	----- -/--	

2

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

page 2 of 4

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2020/038772

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ABOUDALLE IMAN ET AL: "Phase I-II Study of Crenolanib Combined with Standard Salvage Chemotherapy and Crenolanib Combined with 5-Azacitidine in Acute Myeloid Leukemia Patients with FLT3 Activating Mutations", BLOOD; 60TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY (ASH); SAN DIEGO, CA, USA; DECEMBER 01 -04, 2018, THE AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US vol. 132, no. Suppl. 1 29 November 2018 (2018-11-29), page 2715, XP009522607, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD-2018-99-117632 Retrieved from the Internet: URL:https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-117632?nosfx=y abstract page 3, paragraph 1 - paragraph 3; figure 1	1-36
Y	ESTEVE JORDI ET AL: "Multicenter, Open-Label, 3-Arm Study of Gilteritinib, Gilteritinib Plus Azacitidine, or Azacitidine Alone in Newly Diagnosed FLT3 Mutated (FLT3(mut+)) Acute Myeloid Leukemia (AML) Patients Ineligible for Intensive Induction Chemotherapy: Findings from the Safety Cohort", BLOOD; 60TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-HEMATOLOGY (ASH); SAN DIEGO, CA, USA; DECEMBER 01 -04, 2018, THE AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US vol. 132, no. Suppl. 1 29 November 2018 (2018-11-29), page 2736, XP009522606, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD-2018-99-110976 Retrieved from the Internet: URL:https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-110976?nosfx=y abstract page 2, paragraph 1 ----- -/--	1-36

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2020/038772

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MONTESINOS P ET AL: "PF277 Alice: An AML study with LSD1 inhibition in combination with Azacitidine in the elderly", HEMASPHERE; 24TH CONGRESS OF THE EUROPEAN HEMATOLOGY ASSOCIATION, WOLTERS KLUWER HEALTH, US; AMSTERDAM, NETHERLANDS, vol. 3, no. Supplement 1, 1 June 2019 (2019-06-01), page 90, XP009522684, ISSN: 2572-9241, DOI: 10.1097/01.HS9.0000559320.71687.58 the whole document	1-36
X	BRADLEY TERRENCE J ET AL: "Leveraging Hypomethylating Agents for Better MDS Therapy", CURRENT HEMATOLOGIC MALIGNANCY REPORTS, CURRENT SCIENCE INC., PHILADELPHIA, PA, US, vol. 13, no. 6, 28 September 2018 (2018-09-28), pages 507-515, XP036658883, ISSN: 1558-8211, DOI: 10.1007/S11899-018-0477-3 [retrieved on 2018-09-28] page 6, column 1, paragraph 2	1-36

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2020/038772

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2009286752 A1	19-11-2009	AR 071808 A1	14-07-2010
		AU 2009246926 A1	19-11-2009
		AU 2013202665 A1	02-05-2013
		AU 2015202884 A1	18-06-2015
		BR PI0912717 A2	23-12-2014
		CA 2761582 A1	19-11-2009
		CL 2009001170 A1	04-06-2010
		CL 2013001097 A1	29-11-2013
		CN 102099018 A	15-06-2011
		CN 103479586 A	01-01-2014
		CN 105535008 A	04-05-2016
		CO 6300930 A2	21-07-2011
		CR 11789 A	21-02-2011
		CY 1121350 T1	29-05-2020
		DK 2299984 T3	04-03-2019
		DK 2695609 T3	10-02-2020
		EC SP10010665 A	31-01-2011
		EP 2299984 A1	30-03-2011
		EP 2695609 A1	12-02-2014
		EP 3692983 A1	12-08-2020
		ES 2712506 T3	13-05-2019
		ES 2774226 T3	17-07-2020
		HR P20190100 T1	05-04-2019
		HR P20200096 T1	03-04-2020
		HU E042825 T2	29-07-2019
		HU E047707 T2	28-05-2020
		IL 209307 A	29-02-2016
		IL 238087 A	31-01-2019
		JP 6105547 B2	29-03-2017
		JP 6426778 B2	21-11-2018
		JP 2011520880 A	21-07-2011
		JP 2015110575 A	18-06-2015
		JP 2017137326 A	10-08-2017
		KR 20110015629 A	16-02-2011
		LT 2299984 T	25-03-2019
		LT 2695609 T	10-02-2020
		MX 363023 B	05-03-2019
		MY 161593 A	28-04-2017
		NI 201000193 A	01-08-2011
		NZ 589437 A	30-11-2012
		NZ 602833 A	30-04-2014
		NZ 623495 A	28-08-2015
		PE 20091971 A1	15-01-2010
		PE 20142440 A1	28-01-2015
		PL 2299984 T3	31-07-2019
		PL 2695609 T3	18-05-2020
		PT 2299984 T	25-02-2019
		PT 2695609 T	02-03-2020
		RU 2010151428 A	20-06-2012
		RU 2012147739 A	20-05-2014
		SG 193206 A1	30-09-2013
		SI 2299984 T1	30-04-2019
		SI 2695609 T1	31-03-2020
		TW 201006478 A	16-02-2010
		TW 201513869 A	16-04-2015
		TW 201729817 A	01-09-2017
		US 2009286752 A1	19-11-2009
		US 2015056280 A1	26-02-2015

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2020/038772

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US 2015374732 A1	31-12-2015
		US 2018153916 A1	07-06-2018
		US 2019231803 A1	01-08-2019
		US 2020101095 A1	02-04-2020
		WO 2009139888 A1	19-11-2009
		ZA 201008229 B	29-02-2012

WO 2019012328 A1	17-01-2019	BR 112020000492 A2	14-07-2020
		CA 3069558 A1	17-01-2019
		CN 110869029 A	06-03-2020
		EP 3651772 A1	20-05-2020
		KR 20200027548 A	12-03-2020
		US 2020147117 A1	14-05-2020
		WO 2019012328 A1	17-01-2019

WO 2020127503 A1	25-06-2020	US 2020222532 A1	16-07-2020
		WO 2020127503 A1	25-06-2020

WO 2017157813 A1	21-09-2017	AR 108686 A1	19-09-2018
		AU 2017233886 A1	01-11-2018
		BR 112018068532 A2	29-01-2019
		CA 3017408 A1	21-09-2017
		CN 109462980 A	12-03-2019
		EP 3429570 A1	23-01-2019
		JP 2019508439 A	28-03-2019
		KR 20180117710 A	29-10-2018
		RU 2018136153 A	15-04-2020
		SG 10201913290Q A	30-03-2020
		SG 11201807972Y A	30-10-2018
		US 2017281566 A1	05-10-2017
		US 2019083417 A1	21-03-2019
		WO 2017157813 A1	21-09-2017

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)

A 6 1 K 9/20 (2006.01)
 A 6 1 K 31/497 (2006.01)
 A 6 1 K 31/553 (2006.01)
 A 6 1 K 31/5377 (2006.01)
 A 6 1 K 31/52 (2006.01)
 A 6 1 K 38/05 (2006.01)
 A 6 1 K 31/496 (2006.01)
 A 6 1 K 31/506 (2006.01)
 C 0 7 H 19/04 (2006.01)
 C 0 7 D 405/12 (2006.01)
 C 0 7 D 498/22 (2006.01)
 C 0 7 D 513/04 (2006.01)
 C 0 7 D 401/14 (2006.01)
 C 0 7 D 471/04 (2006.01)
 C 0 7 D 401/04 (2006.01)

A 6 1 K 9/20
 A 6 1 K 31/497
 A 6 1 K 31/553
 A 6 1 K 31/5377
 A 6 1 K 31/52
 A 6 1 K 38/05
 A 6 1 K 31/496
 A 6 1 K 31/506
 C 0 7 H 19/04
 C 0 7 D 405/12
 C 0 7 D 498/22
 C 0 7 D 513/04 3 3 8
 C 0 7 D 401/14
 C 0 7 D 471/04 1 0 4 Z
 C 0 7 D 401/04

4 C 0 8 4
 4 C 0 8 6

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

弁理士 品川 永敏

(72)発明者

ビーチ, クル

アメリカ合衆国 0 7 9 0 1 ニュージャージー州サミット、モリス・アベニュー 8 6 番、セルジーン
 ・コーポレーション内

(72)発明者

ローズ, シェロニトダ

アメリカ合衆国 0 7 9 0 1 ニュージャージー州サミット、モリス・アベニュー 8 6 番、セルジーン
 ・コーポレーション内

(72)発明者

ダンシー, ダイアナ アール

アメリカ合衆国 0 7 9 0 1 ニュージャージー州サミット、モリス・アベニュー 8 6 番、セルジーン
 ・コーポレーション内

(72)発明者

ロペス デ メネゼス, ダニエル イー

アメリカ合衆国 0 7 9 0 1 ニュージャージー州サミット、モリス・アベニュー 8 6 番、セルジーン
 ・コーポレーション内

(72)発明者

マクベス, カイル

アメリカ合衆国 0 7 9 0 1 ニュージャージー州サミット、モリス・アベニュー 8 6 番、セルジーン
 ・コーポレーション内

(72)発明者

ダイ, ユーミン

アメリカ合衆国 0 7 9 0 1 ニュージャージー州サミット、モリス・アベニュー 8 6 番、セルジーン
 ・コーポレーション内

(72)発明者

ジャン, ジェシカ

アメリカ合衆国 0 7 9 0 1 ニュージャージー州サミット、モリス・アベニュー 8 6 番、セルジーン
 ・コーポレーション内

(72)発明者

フラッティーニ, マーク

アメリカ合衆国 0 7 9 0 1 ニュージャージー州サミット、モリス・アベニュー 8 6 番、セルジーン
 ・コーポレーション内

F ターム (参考)

4C057 BB02 DD01 LL25

4C063 AA01 AA03 BB02 BB09 CC29 CC43 CC78 DD10 DD12 DD34
 EE01

4C065 AA04 BB04 CC01 DD02 EE02 HH01 JJ03 KK01 LL01 PP02

F ターム (参考)

PP03 PP07 PP15
4C072 AA01 AA03 AA06 AA07 BB02 BB04 BB06 BB08 CC02 CC03
CC11 CC16 DD05 DD10 EE09 EE13 FF05 FF15 GG07 GG08 HH02
HH07 HH08 UU01
4C076 AA11 AA36 BB01 BB13 BB16 CC27 FF01 FF11 FF68
4C084 AA02 AA03 AA23 BA01 BA08 BA14 BA23 BA31 BA32 CA59
MA02 MA17 MA35 MA66 NA05 ZB27 ZC75
4C086 AA01 AA02 BC50 CB05 EA11 GA02 GA07 GA12 MA03 MA04
MA17 MA35 MA66 NA05 ZB27 ZC75

【要約の続き】

図. 18A

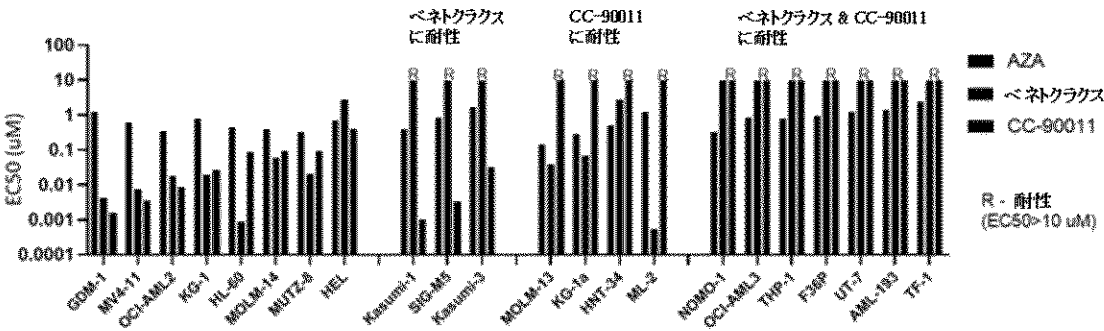


図. 18B

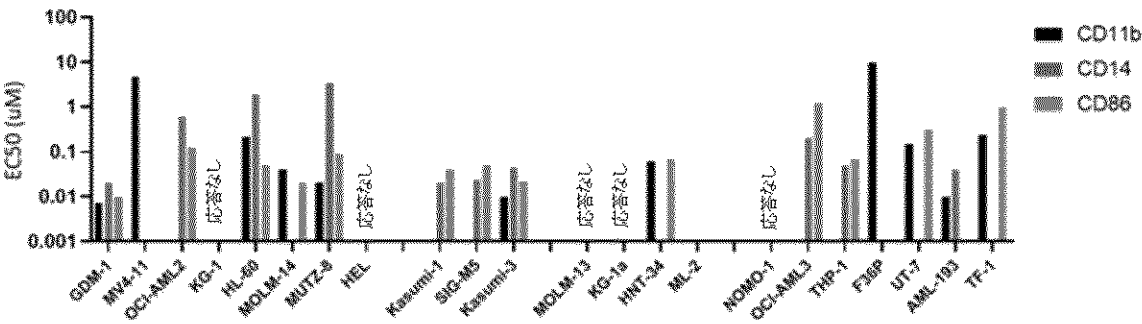


図. 18C

