

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6906520号
(P6906520)

(45) 発行日 令和3年7月21日(2021.7.21)

(24) 登録日 令和3年7月1日(2021.7.1)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 31/70 (2006.01)

A 6 1 K 31/70

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 1 2 1

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 T

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/02

請求項の数 39 (全 30 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-528650 (P2018-528650)
 (86) (22) 出願日 平成28年12月2日(2016.12.2)
 (65) 公表番号 特表2019-501145 (P2019-501145A)
 (43) 公表日 平成31年1月17日(2019.1.17)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/064783
 (87) 国際公開番号 WO2017/096274
 (87) 国際公開日 平成29年6月8日(2017.6.8)
 審査請求日 令和1年11月29日(2019.11.29)
 (31) 優先権主張番号 62/263,228
 (32) 優先日 平成27年12月4日(2015.12.4)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/308,583
 (32) 優先日 平成28年3月15日(2016.3.15)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(73) 特許権者 503188759
 シージェン インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 ワシントン州 98021、ボセル、サーティース ドライブ エス.イー. 21823
 (74) 代理人 110002572
 特許業務法人平木国際特許事務所
 (72) 発明者 ガーダイ, シャイラ
 アメリカ合衆国 98021 ワシントン州、ボセル, 30ティーエイチ ドライブ エスイー 21823
 (72) 発明者 ロウ, チューレウン
 アメリカ合衆国 98021 ワシントン州、ボセル, 30ティーエイチ ドライブ エスイー 21823

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 チェックポイント阻害剤と組み合わせて2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースを用いる癌治療

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

有効量の2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはその酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩を含み、チェックポイント阻害剤と組み合わせて使用される、それを必要とする対象における癌を治療するための医薬組成物であって、チェックポイント阻害剤が、PD-L1、PD-L2、またはPD-1を阻害するモノクローナル抗体である、医薬組成物。

【請求項2】

有効量の2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはその酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、チェックポイント阻害剤を含む、それを必要とする対象における癌を治療するための医薬組成物であって、チェックポイント阻害剤が、PD-L1、PD-L2、またはPD-1を阻害するモノクローナル抗体である、医薬組成物。

【請求項3】

有効量の2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはその酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩を含み、チェックポイント阻害剤と組み合わせて使用される、それを必要とする対象における腫瘍の増殖を阻害するための医薬組成物であって、チェックポイント阻害剤が、PD-L1、PD-L2、またはPD-1を阻害するモノクローナル抗体である、医薬組成物。

【請求項 4】

有効量の 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはその酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、チェックポイント阻害剤を含む、それを必要とする対象における腫瘍の増殖を阻害するための医薬組成物であって、チェックポイント阻害剤が、PD - L 1、PD - L 2、または PD - 1 を阻害するモノクローナル抗体である、医薬組成物。

【請求項 5】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはその酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、前記チェックポイント阻害剤との前記組み合わせは、癌の治療においてまたは腫瘍細胞の増殖の阻害において、相加効果または相乗効果を提供する、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 6】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはその酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、前記チェックポイント阻害剤との前記組み合わせは、癌の治療においてまたは腫瘍細胞の増殖の阻害において相乗効果を提供する、請求項 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースまたは薬学的に許容可能なその塩を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

20

【請求項 8】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグまたは薬学的に許容可能なその塩を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースのカルボン酸エステルプロドラッグまたは薬学的に許容可能なその塩を含む、請求項 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの酢酸エステルまたは薬学的に許容可能なその塩を含む、請求項 8 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 11】

前記チェックポイント阻害剤は、ヒト化抗体および完全ヒト抗体からなる群から選択される、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

前記チェックポイント阻害剤は、PD - 1 阻害剤である、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

PD - 1 阻害剤は、ニボルマブまたはペンブロリズマブである、請求項 12 に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

PD - 1 阻害剤は、ニボルマブである、請求項 12 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 15】

前記癌は、泌尿生殖器、婦人科、肺、胃腸、頭頸部癌、悪性神経膠腫および脳転移を含む脳腫瘍、悪性中皮腫、非転移性または転移性乳癌、悪性黒色腫、メルケル細胞癌腫または骨および軟部組織肉腫、血液学的腫瘍、多発性髄腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群および急性リンパ芽球性白血病などのリンパ腫、非小細胞肺癌（NSCLC）、乳癌、転移性結腸直腸癌、ホルモン感受性またはホルモン不応性前立腺癌、結腸直腸癌、卵巣癌、肝細胞癌、腎細胞癌、膵臓癌、胃癌、食道癌、胆管細胞癌、頭頸部扁平上皮癌軟部組織肉腫、および小細胞肺癌からなる群から選択される、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

50

【請求項 1 6】

前記癌は、非小細胞肺癌（NSCLC）、乳癌、または結腸直腸癌である、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 7】

前記癌は、非小細胞肺癌（NSCLC）である、請求項 1 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 8】

固体または液体製剤である、請求項 1 ～ 1 7 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 9】

前記対象は哺乳類である、請求項 1 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 0】

前記哺乳類はヒトである、請求項 1 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 1】

有効量の 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはその酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩を含み、チェックポイント阻害剤と組み合わせて使用される、チェックポイント阻害剤の効果を開始、増強、または延長するための、または、それを必要とする対象において、チェックポイント阻害剤に前記対象が応答することを可能にするための医薬組成物であって、チェックポイント阻害剤が、PD - L 1、PD - L 2、またはPD - 1 を阻害するモノクローナル抗体である、医薬組成物。

【請求項 2 2】

有効量の 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはその酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、チェックポイント阻害剤を含む、チェックポイント阻害剤の効果を開始、増強、または延長するための、または、それを必要とする対象において、チェックポイント阻害剤に前記対象が応答することを可能にするための医薬組成物であって、チェックポイント阻害剤が、PD - L 1、PD - L 2、またはPD - 1 を阻害するモノクローナル抗体である、医薬組成物。

【請求項 2 3】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはその酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、前記チェックポイント阻害剤との前記組み合わせは、癌の治療においてまたは腫瘍細胞の増殖の阻害において、相加効果または相乗効果を提供する、請求項 2 1 または 2 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 4】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはその酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、前記チェックポイント阻害剤との前記組み合わせは、癌の治療においてまたは腫瘍細胞の増殖の阻害において相乗効果を提供する、請求項 2 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 5】

腫瘍成長の阻害、腫瘍細胞死の誘発、腫瘍退行、腫瘍再発、腫瘍成長、腫瘍拡大の予防または遅延、および腫瘍排除から選択される抗腫瘍応答のための、請求項 2 1 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 6】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースまたは薬学的に許容可能なその塩を含む、請求項 2 1 ～ 2 5 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 7】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの酢酸エステル、カルボン酸エステル、もしくはリン酸エステルプロドラッグまたは薬学的に許容可能なその塩を含む、請求項 2 1 ～ 2 5 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 2 8】

10

20

30

40

50

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースのカルボン酸エステルプロドラッグまたは薬学的に許容可能なその塩を含む、請求項 2 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 9】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの酢酸エステルまたは薬学的に許容可能なその塩を含む、請求項 2 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 0】

前記チェックポイント阻害剤は、ヒト化抗体および完全ヒト抗体からなる群から選択される、請求項 2 1 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 3 1】

前記チェックポイント阻害剤は、PD - 1 阻害剤である、請求項 2 1 ~ 3 0 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 3 2】

PD - 1 阻害剤は、ニボルマブまたはペンブロリズマブである、請求項 3 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 3】

PD - 1 阻害剤は、ニボルマブである、請求項 3 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 4】

前記癌は、泌尿生殖器、婦人科、肺、胃腸、頭頸部癌、悪性神経膠腫および脳転移を含む脳腫瘍、悪性中皮腫、非転移性または転移性乳癌、悪性黒色腫、メルケル細胞癌腫または骨および軟部組織肉腫、血液学的腫瘍、多発性髄腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群および急性リンパ芽球性白血病などのリンパ腫、非小細胞肺癌（NSCLC）、乳癌、転移性結腸直腸癌、ホルモン感受性またはホルモン不応性前立腺癌、結腸直腸癌、卵巣癌、肝細胞癌、腎細胞癌、膵臓癌、胃癌、食道癌、肝細胞癌、胆管細胞癌、頭頸部扁平上皮癌軟部組織肉腫、および小細胞肺癌からなる群から選択される、請求項 2 1 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

20

【請求項 3 5】

前記癌は、非小細胞肺癌（NSCLC）、乳癌、または結腸直腸癌である、請求項 3 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 6】

前記癌は、非小細胞肺癌（NSCLC）である、請求項 3 5 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 3 7】

固体または液体製剤である、請求項 2 1 ~ 3 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 3 8】

前記対象は哺乳類である、請求項 2 1 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 3 9】

前記哺乳類はヒトである、請求項 3 8 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互援用

40

本出願は、2015年12月4日に出願された米国特許仮出願第62/263,228号、2016年3月15日に出願された米国特許仮出願第62/308,583号、2016年4月13日に出願された米国特許仮出願第62/321,857号の利益を主張するものであり、その内容は、その全体においておよび全ての目的のために、本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

6 - デオキシ - L - ガラクトースとも呼ばれる L - フコースは、動物のいくつかの N - および O - 結合グリカンおよび糖脂質の成分である単糖である。（Becker and Lowe, Glycobiology 13:41R-51R (2003)を参照されたい。）フコースは、典型的には、血液型抗原

50

、セレクトインおよび抗体に結合したグリカンを含むグリカンの末端修飾として加えられる。フコースは、特定のフコシルトランスフェラーゼによって (1, 2) -、(1, 3) -、(1, 4) - および (1, 6) - 結合を介してグリカンに結合することができる。(1, 2) - フコース結合は、典型的には、H - 血液型抗原と関連している。(1, 3) - および (1, 4) - フコース結合は、ルイス^x 抗原の修飾に関連している。

(1, 6) - フコース結合は、抗体上のものなどのN結合型G1cNAc分子と関連している。

【0003】

タンパク質のフコシル化は、哺乳類の発達において役割を果たすと考えられている。F^x 遺伝子の標的突然変異のためのホモ接合マウスは、致命的な表現型を含む多面的異常を示す。ヘテロ接合性交配からのマウスの回復の減少も報告された。(Becker et al., Mammalian Genome 14:130-139 (2003))。異常なタンパク質フコシル化は、癌におけるシアリルLewis^x のアップレギュレーションを含む、ヒト疾患に関連することが提案されている。これらのグリカンは、E - およびP - セレクトイン分子のリガンドである。癌細胞上のシアリルLewis^x グリカンの増加は、内皮上のE - セレクトインおよびP - セレクトインとの相互作用を介して転移を増加させると推測されている。2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースを含むフコース類似体のインビボ投与、タンパク質脱フコシル化に対するそれらの効果、および癌の治療の潜在的な使用は、W02012019165に記載されており、これは参照により本明細書に組み込まれる。

【0004】

免疫システムのT細胞上のオフスイッチとして作用する免疫チェックポイントが、標的薬剤による免疫応答を回復させるために調査され、したがって身体の免疫系を活性化することによって癌を間接的に治療する。

【0005】

国際出願のW02002086083、W02004004771、W02004056875、W02006121168、W02008156712、W02010077634、W02011066389、W02014055897およびW02014100079は、PD - 1、PD - L1阻害抗体および/またはそのような抗体を同定する方法を報告する。さらに、US8735553およびUS8168757などの米国特許は、PD - 1またはPD - L1阻害抗体および/または融合タンパク質を報告している。W02002086083、W02004004771、W02004056875、W02006121168、W02008156712、W02010077634、W02011066389、W02014055897、およびW02014100079並びにUS8735553、およびUS8168757の開示は、それらの全体において、参照により、本願明細書に組み込まれる。

【0006】

さらに、国際出願のW02011161699、W02012168944、W02013144704、W02013132317、およびW02016044900は、プログラムされた細胞死1(PD - 1)シグナル伝達経路を抑制および/または阻害することができるペプチドまたはペプチド模倣化合物を報告している。W02011161699、W02012168944、W02013144704、W02013132317、およびW02016044900の開示は、それらの全体において、参照により、本願明細書に組み込まれる。

【0007】

さらに、国際出願のW02016142852、W02016142894、W02016142886、W02016142835、およびW02016142833は、プログラム細胞死1(PD - 1)シグナル伝達経路を抑制および/または阻害することができる低分子化合物および/またはPD - 1、PD - L1もしくはPD - L2によって誘導される免疫抑制シグナルを阻害することにより障害を治療することを報告している。W02016142852、W02016142894、W02016142886、W02016142835、およびW02016142833の開示は、それらの全体において、参照により、本願明細書に組み込まれる。

【0008】

最近、T細胞の表面のプログラム細胞死タンパク質1経路(PD - 1)を標的とするモノクローナル抗体である細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4(CTLA - 4)およびニボルマブ(Opdivo(登録商標))を標的とするモノクローナル抗体であるイピリムマブ(Yervoy(登録商標))が、進行性メラノーマ、進行性腎細胞癌および非小細胞肺癌の治療のた

10

20

30

40

50

めに、米国食品医薬品局によって承認されている。しかしながら、現在のチェックポイント阻害剤療法は、部分的に既存の免疫活性化および阻害性受容体の存在に起因する比較的少数の癌対象集団における癌の治療に有効である。従って、非応答対象集団および応答対象集団の両方におけるチェックポイント阻害剤の有効性を開始または増強するための方法および併用療法を開発する必要がある。

【発明の概要】

【0009】

本発明は、対象における癌の治療または腫瘍細胞の増殖の阻害に有効なおよび/または腫瘍細胞に対する免疫応答を開始、増強または延長することができる、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース（本明細書では「2FF」とも呼ばれる）およびチェックポイント阻害剤を使用する組み合わせ治療を開示する。

10

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1A】図1Aは、K L H結合A20 Id Fab（飲料水中20mMの2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース）によるワクチン接種ありまたはなしでの、BALB/cマウスにおけるIV移植A20マウスリンパ腫細胞の成長に対する2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースのインビボ効果を示す。

【図1B】図1Bは、K L H結合A20 Id Fab（飲料水中20mMの2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース）によるワクチン接種と組み合わせた、BALB/cマウスにおけるIV移植A20マウスリンパ腫細胞の成長に対する2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースのインビボ効果に対する免疫細胞サブセット枯渇の効果を示す。

20

【図2A】図2Aは、血清含有培地（対照共培養と比較される、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース処置共培養のMFI）中でT細胞と共培養されたDC上の樹状細胞（「DC」とも呼ばれる）マーカーの測定を示す。

【図2B】図2Bは、無血清培地（対照無血清共培養と比較される、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースで処理した無血清共培養のMFI）を、T細胞と共培養したDC上のDCマーカーの測定を示す。

【図3】図3は、3つの異なる四量体（EBV、M1、およびCMV）に対するT細胞への四量体結合（対照T細胞と比較した、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース処置T細胞への結合のMFI）の比較を示す。

30

【図4】図4は、CD3/CD28活性化T細胞（2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース処置ありまたはなし）におけるZAPのTCR媒介性リン酸化を示す。

【図5】図5は、FACSによって評価された2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース処置ありまたはなしでのT細胞におけるガレクチン-3の発現を示す。

【図6】図6は、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース処置対TGF γ で刺激した対照T細胞におけるSMAD2のリン酸化の比較を示す。

【図7A】図7Aおよび7Bは、FOXp3発現および2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース処置T細胞対対照T細胞における調節性T細胞の割合の比較を示す。

【図7B】図7Aおよび7Bは、FOXp3発現および2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース処置T細胞対対照T細胞における調節性T細胞の割合の比較を示す。

40

【図8A】図8A、8Bおよび8Cは、それぞれ（A）INF γ 、（B）IL12p40および（C）CD40LにおけるT細胞/DC共培養サイトカインを示す。

【図8B】図8A、8Bおよび8Cは、それぞれ（A）INF γ 、（B）IL12p40および（C）CD40LにおけるT細胞/DC共培養サイトカインを示す。

【図8C】図8A、8Bおよび8Cは、それぞれ（A）INF γ 、（B）IL12p40および（C）CD40LにおけるT細胞/DC共培養サイトカインを示す。

【図9】図9は、A20ワクチンモデルのサイトカイン評価、K L H-イディオタイプ（対照）対2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース+K L H-イディオタイプ（2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース）（BALB/cマウス）を示す。

【図10A】図10Aおよび10Bは、それぞれヒト共培養のIFN γ およびIL-12

50

p70のインビトロ産生を示す。

【図10B】図10Aおよび10Bは、それぞれヒト共培養のIFN およびIL-12 p70のインビトロ産生を示す。

【図11】2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース、抗-PD1抗体および2FFと抗-PD1抗体との組合せの、BALB/cマウスにおけるIV移植A20マウスリンパ腫細胞の成長に対するインビボ効果を示す(飲料水中20mM 2FF、5mg/kg 抗PD1 q3×3)。

【図12A】図12A~Cは、腫瘍微小環境における活性免疫応答を示す。

【図12B】図12A~Cは、腫瘍微小環境における活性免疫応答を示す。

【図12C】図12A~Cは、腫瘍微小環境における活性免疫応答を示す。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本発明は、適応免疫応答を活性化または増強することに基づく新規組み合わせ治療を記載する。適応免疫応答機構は、チェックポイント阻害剤が、既存の抗腫瘍免疫応答(すなわち、活性化T細胞)が存在する場合にのみ機能し、または、より効果的に機能することを意味する。例えば、既存の抗腫瘍応答をもたない患者では、チェックポイント阻害剤単独では効果がない可能性がある。したがって、抗腫瘍活性(例えば、抗腫瘍免疫応答)を活性化し、チェックポイント封鎖を阻害することができる組み合わせ治療は、チェックポイント阻害剤単独による治療に応答しない対象がこの併用治療の恩恵を受けることができるため、好ましい。

【0012】

本発明は、とりわけ、癌を治療する方法であって、有効量の2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースまたはそのプロドラッグ、またはその薬学的に許容可能なその塩を、チェックポイント阻害剤と組み合わせて、それを必要とする対象に投与することを含む、癌を治療する方法を提供する。本発明はまた、とりわけ、それを必要とする対象における腫瘍の増殖を阻害する方法であって、有効量の2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩を、チェックポイント阻害剤と組み合わせて対象に投与することを含む方法を提供する。さらに、本発明は、とりわけ、チェックポイント阻害剤の効果を増強または延長する方法、またはそれを必要とする対象において、チェックポイント阻害剤に対象が応答することを可能にする、有効量の2

【0013】

いくつかの態様において、投与される2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、チェックポイント阻害剤との組合せは、癌の治療においてまたは腫瘍細胞の増殖の阻害において、相加効果または相乗効果を提供する。別の態様では、投与される2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩、およびチェックポイント阻害剤の組み合わせは、癌の治療においてまたは腫瘍細胞の増殖の阻害において、相乗効果を提供する。別の態様では、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースまたは薬学的に許容可能なその塩は、チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースのプロドラッグまたは薬学的に許容可能なその塩は、チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースのカルボン酸エステルプロドラッグまたは薬学的に許容可能なその塩は、チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態において、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースの酢酸エステルまたは薬学的に許容可能なその塩は、チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される。

【0014】

いくつかの実施形態では、チェックポイント阻害剤は、生物学的治療薬または小分子である。いくつかの実施形態では、チェックポイント阻害剤は、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体および融合タンパク質またはそれらの組み合わせからなる群より選択される。いくつかの実施形態において、チェックポイント阻害剤は、CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、B7-H3、B7-H4、BMA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、A2aR、およびB-7ファミリーリガンドまたはそれらの組み合わせからなる群から選択されるチェックポイントタンパク質のリガンドを阻害するまたは該リガンドと相互作用する。いくつかの実施形態では、チェックポイント阻害剤は、PD-L1、PD-L2、またはPD-1阻害剤である。いくつかの実施形態では、チェックポイント阻害剤はPD-1阻害剤である。いくつかの実施形態において、チェックポイント阻害剤は、PD-1阻害剤であり、ニボルマブまたはペンブロリズマブである。別の実施形態では、チェックポイント阻害剤はPD-1阻害剤であり、ニボルマブである。

10

【0015】

いくつかの実施形態では、癌は固形腫瘍である。いくつかの実施形態では、癌は液体腫瘍である。いくつかの実施形態では、癌は、泌尿生殖器、婦人科、肺、胃腸、頭頸部癌、悪性神経膠腫および脳転移を含む脳腫瘍、悪性中皮腫、非転移性または転移性乳癌、悪性黒色腫、メルケル細胞癌腫または骨および軟部組織肉腫、血液学的腫瘍、多発性髄腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群および急性リンパ芽球性白血病などのリンパ腫、非小細胞肺癌（NSCLC）、乳癌、転移性結腸直腸癌、ホルモン感受性またはホルモン不応性前立腺癌、結腸直腸癌、卵巣癌、肝細胞癌、腎細胞癌、膵臓癌、胃癌、食道癌、肝細胞癌、胆管細胞癌、頭頸部扁平上皮癌軟部組織肉腫、および小細胞肺癌からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、癌は、非小細胞肺癌（NSCLC）、乳癌、または結腸直腸癌である。いくつかの実施形態では、癌は非小細胞肺癌（NSCLC）である。いくつかの実施形態では、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩を含む組成物を対象に投与する。いくつかの実施形態では、組成物は固体または液体製剤である。いくつかの実施形態において、チェックポイント阻害剤および2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースは、同時にまたはいずれかの順序で連続して投与される。いくつかの実施形態では、対象は哺乳類である。いくつかの実施形態では、哺乳動物はヒトである。

20

30

【0016】

定義

用語「阻害する」または「阻害」は、測定可能な量だけ減少させるか、または完全に防止することを意味する。本明細書で使用される阻害という用語は、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%の阻害または減少を意味することができる。

40

【0017】

用語「処置」または「処置する」は、疾患または状態の臨床的または診断的症状の減少または排除によって証明されるように、患者における疾患または状態の進行を遅延、停止または逆転させることを指す。処置には、例えば、症状の重症度の低下、症状の数、または再発の頻度が含まれ得る。

【0018】

「薬学的に許容可能な」という用語は、連邦または州政府の規制機関によって承認されているか、または米国薬局方または動物、特にヒトにおける使用のために一般的に認められている薬局方に挙げられていることを意味する。「医薬適合性成分」という用語は、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースが投与される薬学的に許容可能な希釈剤、アジ

50

ュバント、賦形剤またはビヒクルを指す。

【 0 0 1 9 】

本明細書で使用する「プロドラッグ」という用語は、インビボ投与時に化合物の活性型に変換される化合物を指す。例えば、活性化合物のプロドラッグ形態は、アシル化（アセチル化または他の）およびエーテル誘導体、カルボン酸エステルまたはリン酸エステル、および活性化合物の様々な塩形態であり得るが、これらに限定されない。当業者は、本発明の化合物をプロドラッグ形態に容易に改変して、宿主生物または患者内の標的部位への活性化合物の送達を容易にする方法を認識するであろう。当業者は、癌の治療における化合物の意図された効果を最大限にするために、適用可能であれば、宿主生物または患者内の標的部位に所望の化合物を送達する際に、プロドラッグ形態の好ましい薬物動態パラメータを利用する。

10

【 0 0 2 0 】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩は、典型的には、望ましくない混入物から実質的に純粋である。これは、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩が、典型的には少なくとも約 5 0 % w / w（重量 / 重量）または約 8 0 % w / w の純度であることを意味し、より好ましくは少なくとも約 9 0 % または約 9 5 % w / w の純度で、不純物および他の汚染物質を実質的に含まないことを意味する。従来の精製技術を用いて、少なくとも 9 9 % w / w の均質な生成物を得ることができる。

【 0 0 2 1 】

20

治療の目的のための「対象」または「患者」という用語は、ヒト、家畜化されたおよび農場の動物、動物園、スポーツ、またはペット動物、例えばイヌ、ウマ、ネコ、牛などの任意の動物を含み、特に哺乳類に分類される動物を指す。好ましくは、対象はヒトである。

【 0 0 2 2 】

「治療上有効な量」または「有効な量」という用語は、対象における癌の進行を遅らせる、停止させる、または逆行させる、または患者の生存を増加させるのに十分な、本明細書に記載の 1 つまたは複数の薬剤または組成物の量を指す。治療有効量は、例えば、疾患の進行を遅らせることにおいて有効であることが示されている標的血清濃度を指してもよい。「治療上有効な量」という用語が併用療法を指すために使用される場合、併用効果が所望の生物学的または医学的応答を誘発するように、併用される薬剤の組み合わせの量を指す。有効性は、治療すべき状態に応じて、従来の方法で測定することができる。例えば、腫瘍性疾患において、効力は、疾患進行までの時間（TTP）を評価することによって、または応答率（RR）を決定することによって測定することができる。

30

【 0 0 2 3 】

本明細書で使用される場合、「相乗作用」または「相乗効果」という用語は、作用物質の組み合わせの有効性の記載に関連して使用される場合、個々の薬剤の効果の合計から予想される効果よりも大きい組み合わせの任意の測定された効果を意味する。

【 0 0 2 4 】

本明細書で使用されるように、薬剤の組合せの有効性の記載に関連して使用される場合、用語「相加」または「相加効果」は、個々の薬剤の効果の合計から予測される効果に類似する組み合わせの任意の測定された効果を意味する。

40

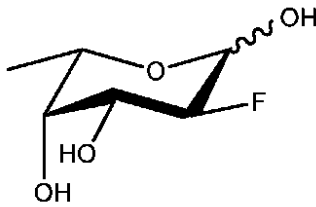
【 0 0 2 5 】

治療方法

固相での 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースは、以下の化学構造（I）：

【 0 0 2 6 】

【化 1】



(I)

を有し、これはアルファまたはベータのアノマーであり得る。

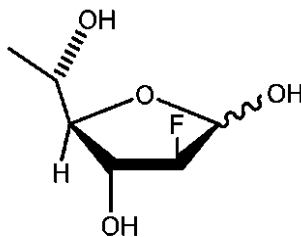
10

【 0 0 2 7】

液体では、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースは、対応するアルドース形態を介して、以下の化学構造 (I I) :

【 0 0 2 8】

【化 2】



20

(II)

を有する化合物に相互変換することができる。

【 0 0 2 9】

したがって、本明細書中で使用される用語「2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース」は、式 (I)、(I I) の化合物または対応するアルドース形態、またはそれらの混合物を指し、式 (I) または (I I) のそれぞれは、独立して、アルファまたはベータアノマーであり得る。

30

【 0 0 3 0】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースは、インビトロで宿主細胞によって産生される抗体または抗体誘導体の複合 N - グリコシド結合糖鎖へのフコースの取り込みを低下させる WO 2009/135181 に記載されている。2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース並びにその潜在的な抗腫瘍効果は、インビボで投与された場合にタンパク質フコシル化を阻害する WO 2012/019165 に記載されている。WO 2009/135181 および WO 2012/019165 の両開示は、それらの全体が本出願の開示に参照として組み込まれる。

【 0 0 3 1】

驚くべきことに、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースが調節性 T 細胞を減少させることが見出されている。本明細書で提供される方法において、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースは、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースで処置することによりフコシル化された場合に誘導される T - 細胞活性の変化に起因して癌を治療するための免疫調節剤として使用することができる。起こる変化としては、調節性 T 細胞集団の減少、抗原提示細胞の T 細胞活性化の増加、ならびに APC の活性化の増加をもたらす T 細胞受容体シグナル伝達の増加が挙げられる。T 細胞活性のこの調節の結果は、T 細胞および APC 活性化を増加させるだけでなく、免疫抑制性腫瘍微小環境を減少させることであろう。したがって、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースでの処置は、宿主媒介抗腫瘍免疫応答の増加をもたらす、腫瘍進行の遅延または腫瘍発症の遅延をもたらす。抗腫瘍活性はまた、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置 T 細胞の直接養子移入によっても起こり得る。本明細書で提供される方法のための 2 - デオキシ - 2 - フルオロ -

40

50

L - フコースは、それを必要とするヒトのような対象における癌を治療するのに有効な量のチェックポイント阻害剤と組み合わせて安全に対象に投与することができる。本明細書で提供される方法では、チェックポイント阻害剤と組み合わせた2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースは、PD - 1 阻害剤とCTLA - 4 阻害剤の組み合わせなどの既存のPD - 1 併用療法よりも優れた安全性プロファイルを提供する。

【0032】

いくつかの実施形態では、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース（または2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの細胞内代謝物質または産物）は、癌ワクチンと共に投与された場合、液性および細胞性免疫応答を増加させる。いくつかの実施形態では、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース（または2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの細胞内代謝物質または産物）は、CD45RO1 + T細胞集団（記憶T細胞表現型）を増加させる。いくつかの実施形態では、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース（または2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの細胞内代謝物質または産物）は、未処理（対照）T細胞よりも樹状細胞を活性化させる。いくつかの実施形態において、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース（または2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの細胞内代謝物質または産物）は、抗原特異的（例えば、EBV特異的）の四量体結合を増加させる。いくつかの実施形態において、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース（または2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの細胞内代謝物質または産物）は、調節性T細胞集団ならびにFOXp3 + 細胞の数を減少させる。抗CTLA4チェックポイント阻害剤は、調節性T細胞集団を減少させることが示されており、抗PD1抗体および抗PD - L1抗体のような異なる機構的標的を有する他のチェックポイント阻害剤とうまく組み合わせられている。したがって、いくつかの実施形態では、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース（または2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの細胞内代謝物質または産物）は、抗PD1抗体または抗PD - L1抗体などの別のチェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される。

【0033】

本明細書において提供される2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースは、対象における癌を治療するために有用である。それを必要とする動物（例えば、ヒトなどの哺乳動物）への2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの投与は、腫瘍細胞または癌細胞の増殖を阻害し、または動物（例えば、ヒト患者）における癌の治療をもたらすことができる。従って、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースは、動物の癌の治療のための種々の状況において使用することができる。

【0034】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースで治療できる特定のタイプの癌には、固形腫瘍および血液悪性腫瘍が含まれる。そのような癌には、限定されないが、（1）線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、結腸直腸癌、腎臓癌、膵臓癌、骨癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、食道癌、胃癌、口腔癌、鼻がん、咽喉がん、扁平上皮細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原発癌、腎細胞癌、肝癌腫胆管癌、絨毛癌、セミノーマ、胚性癌腫、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、子宮癌、精巣癌、小細胞肺癌、膀胱癌、肺癌、上皮癌、神経膠腫、神経膠芽細胞腫、多形星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体細胞腫、血管芽腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、皮膚癌、メラノーマ、神経芽細胞腫、および網膜芽細胞腫を含むがこれらに限定されない固形腫瘍、（2）急性リンパ芽球性白血病「ALL」、急性リンパ芽球性B細胞白血病、急性リンパ芽球性T細胞白血病、急性骨髄芽球性白血病「AML」、急性前骨髄球性白血病「APL」、急性単芽球性白血病、急性赤白血病白血病、急性巨核芽球性白血病、急性骨髄単球性白血病、急性非リンパ性白血病、急性未分化白血病、慢性骨髄性白血病「CML」、慢性リンパ性白血病「CLL」、毛状細胞白血病、多発性骨髄腫、急性および慢性の白血病、例えば、リンパ芽球性骨髄性白血病およびリンパ球性骨髄球性白血病を含むがこれらに限定さ

れない血液媒介性の癌、並びに(3)ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、重鎖疾患、および真性赤血球増加症などのリンパ腫、が含まれる。

【0035】

いくつかの態様では、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースは、少なくとも10 mMの濃度で製剤緩衝液(例えば、水性製剤緩衝液)に可溶である。いくつかの実施形態において、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースは、少なくとも100 mMの濃度で製剤緩衝液中に可溶性である。いくつかの態様では、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースは、少なくとも100 µg/ml、少なくとも1 mg/ml、少なくとも50 mg/ml、少なくとも約100 mg/ml、少なくとも約200 mg/ml、または少なくとも約300 mg/mlの濃度で製剤緩衝液(例えば、水性製剤緩衝液)に可溶である。

10

【0036】

2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容されるその塩は、治療上または予防上有効な量の2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容されるその塩、および1つまたは複数の薬学的に適合する(許容される)成分を含む医薬組成物として処方することができる。いくつかの態様では、哺乳類への投与に適している、有効量の2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースが賦形剤と混合されている2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースおよび薬学的賦形剤の医薬組成物が提供される。好ましい態様において、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースは、ヒトへの投与のために処方される。したがって、本発明は、ヒトへの投与のために製剤化された2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースを含む医薬組成物を提供する。処方された2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースは、一般に、1つ以上の薬学的に適合する(許容される)成分を含む。

20

【0037】

例示的な医薬組成物または非医薬組成物は、典型的には、1つまたは複数の担体(例えば、ピーナツ油、大豆油、鉱油、ゴマ油などの石油、動物、植物または合成起源のものを含む水および油などの無菌液体など)を含む。医薬組成物が静脈内投与される場合、水はより典型的な担体である。生理食塩水および水性デキストロスおよびグリセロール水溶液も、特に注射液用の液体担体として使用することができる。適切な賦形剤には、例えば、アミノ酸、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、チョコク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、グリセロールモノステアレート、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが含まれる。組成物は、必要に応じて、少量の湿潤剤または乳化剤、またはpH緩衝剤を含有することもできる。これらの組成物は、溶液、懸濁液、乳濁液、錠剤、丸薬、カプセル、粉末、徐放性製剤などの形態を取ることができる。適切な薬学的担体の例は、E.W.Martinによる"Remington's Pharmaceutical Sciences"に記載されている。このような組成物は、対象への適切な投与のための形態を提供するために、典型的には、治療に有効量な2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースを、典型的には精製形態で適切な量の担体とともに含む。処方物は、投与様式に対応する。

30

40

【0038】

本明細書に記載の医薬組成物は、組成物を動物(例えば、哺乳類)に投与することを可能にする任意の形態であり得る。組成物は、固体または液体の形態であり得る。典型的な投与経路としては、経口、非経口、および舌下が挙げられるが、これらに限定されない。非経口投与には、皮下注射、腹腔内注射、静脈内、筋肉内、胸骨内注射または注入技術が含まれる。好ましくは、組成物は経口投与される。これらの医薬組成物は、組成物の動物への投与時に2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースが生物学的に利用できるように処方することができる。組成物はまた、1つまたは複数の投与単位の形態を取ることができ、例えば、錠剤は単一投与単位であり、固体形態の2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースの容器は、複数の投与単位を保持することができる。

50

【 0 0 3 9 】

医薬組成物を調製する際に使用される材料は、使用される量で非毒性であり得る。医薬組成物中の活性成分の最適な投与量は、様々な要因に依存することは、当業者には明らかであろう。関連する因子には、動物（例えば、ヒト）のタイプ、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの特定の形態、投与様式、使用される組成物、および治療される疾患または状態の重篤度が含まれるが、これらに限定されない。

【 0 0 4 0 】

薬学的に許容可能な担体またはビヒクルは粒子状であり得、そのため、組成物は、例えば、錠剤または粉末の形態である。担体は液体であってもよく、組成物は、例えば、経口シロップ、香味水、または注射液である。

10

【 0 0 4 1 】

経口投与が意図される場合、組成物は、固体または液体の形態であることが好ましく、ここで半固体、半液体、懸濁液およびゲルの形態が本明細書で固体または液体のいずれかとみなされる。

【 0 0 4 2 】

経口投与のための固体組成物として、組成物は、粉末、顆粒、圧縮錠剤、丸薬、カプセル、チューインガム、ウェーハなどの形態に製剤化することができる。そのような固体組成物は、典型的には、1種以上の不活性希釈剤を含有する。さらに、以下の1つ以上が存在してもよい：カルボキシメチルセルロース、エチルセルロース、微結晶性セルロース、またはゼラチンのような結合剤；デンプン、乳糖またはデキストリンのような賦形剤；アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、プリモゲル（Primogel）、コーンスターチのような崩壊剤；ステアリン酸マグネシウムまたはステロテックス（Sterotex）のような潤滑剤；コロイド状二酸化ケイ素のような流動促進剤；スクロースまたはサッカリンなどの甘味剤；ペパーミント、サリチル酸メチルまたはオレンジ香味などの香味剤；および着色料。

20

【 0 0 4 3 】

組成物がカプセル、例えばゼラチンカプセルの形態である場合、それは、上記タイプの材料に加えて、ポリエチレングリコール、シクロデキストリンまたは脂肪油のような液体担体を含有することができる。

【 0 0 4 4 】

組成物は、液体、例えば、エリキシル剤、シロップ剤、溶液剤、エマルジョン剤または懸濁剤の形態であり得る。液体は、経口投与または注射による送達に有用であり得る。経口投与が意図される場合、組成物は、甘味剤、保存剤、色素／着色剤、および風味増強剤の1つ以上を含み得る。いくつかの態様では、組成物は粉末に調合され、最終使用者は経口投与のために水溶液中で粉末を混合する。注射による投与のための組成物（上記のように）には、界面活性剤、防腐剤、湿潤剤、分散剤、懸濁化剤、緩衝剤、安定化剤および等張剤の1つまたは複数を含むこともできる。

30

【 0 0 4 5 】

上記のように、本明細書に記載の方法において有効な2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの量は、障害または状態の性質に依存し、標準的な臨床技術によって決定することができる。さらに、インビトロアッセイまたはインビボアッセイを、最適な投与量範囲を同定するのを助けるために任意に用いることができる。組成物に使用される正確な用量はまた、投与経路および疾患または障害の重篤度に依存し、施術者の判断および各患者の状況に従って決定されるべきである。

40

【 0 0 4 6 】

組成物は、適切な投与量が得られるように、有効量の2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースを含む。典型的には、この量は、組成物の重量で少なくとも約0.01%の2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースである。いくつかの態様では、経口投与が意図される場合、この量は、組成物の約0.1重量%～約100重量%の範囲に変化させることができる。好ましい経口組成物は、組成物の重量に対して、例えば約4%～100%、

50

4 % ~ 75 % または 4 % ~ 約 50 % の 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースを含むことができる。

【 0047 】

いくつかの態様において、静脈内投与のために、投与される量は、約 1 ~ 約 500 mg / kg 体重の範囲の 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースであろう。

【 0048 】

一般に、動物に投与される 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの経口投与量は、動物の体重の約 1 mg / kg ~ 約 1 g / kg、より典型的には、動物の体重の約 5 mg / kg、10 mg / kg、25 mg / kg、50 mg / kg、100 mg / kg、150 mg / kg、200 mg / kg、250 mg / kg または 300 mg / kg ~ 約 500 mg / kg である。いくつかの態様では、動物に投与される投薬量は、約 1 g、約 5 g、または約 10 g ~ 約 150 g / 日、または約 1 g ~、約 5 g ~、約 10 g ~、約 15 g もしくは約 20 g ~ 約 60 g / 日である。

10

【 0049 】

一般に、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースまたはその医薬組成物は、所望の効果に従って、毎日、毎週、隔週または毎月のスケジュールで投与することができる。いくつかの態様において、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースまたはその医薬組成物は、約 1 ~ 5 回、約 1 ~ 約 10 回、約 1 ~ 約 15 回またはそれ以上のサイクルで投与ことができ、各サイクルは 1 ヶ月の期間である。各サイクル内の用量は、毎日 (1 日 1 回、1 日 2 回、または 1 日 2 回以上を含む)、隔日、週 2 回、週 3 回または月ごとに 1 回投与することができる。サイクルは、休止期間を任意に含むことができる。あるいは、休止期間をサイクル間を含めることができる。いくつかの態様において、投与は、疾患の持続期間であろう。

20

【 0050 】

2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースまたはその医薬組成物の好ましい投与様式は、医師の裁量に委ねられ、医学的状態の部位に部分的に依存する。一実施形態では、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースまたは組成物は、非経口的に投与される。別の実施形態では、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースまたは組成物を経口投与する。

【 0051 】

別の実施形態において、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースは、小胞、特にリポソーム中に送達され得る (Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treat et al., in LIPOSOMES IN THE THERAPY OF INFECTIOUS DISEASE AND CANCER 参照、Lopez-Berestein および Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, 同書、pp. 317-327; 一般的に同書を参照されたい。)。

30

【 0052 】

さらに別の実施形態において、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースまたは複数の組成物は、制御放出系で送達することができる。一実施形態では、ポンプを使用することができる (Langer, supra; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989) を参照されたい。)。別の実施形態では、ポリマー材料を使用することができる (Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Press, Boca Raton, Fla. (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61 (1983) を参照されたい; Levy et al., Science 228:190 (1985); During et al., Ann. Neurol. 25:351 (1989); Howard et al., J. Neurosurg. 71:105 (1989) についても参照されたい。)。Langer によるレビュー (Science 249: 1527-1533 (1990)) で議論された他の制御放出系を使用することができる。

40

【 0053 】

50

用語「担体」は、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースが投与される希釈剤、アジュバントまたは賦形剤を指す。そのような医薬担体は、ピーナッツ油、大豆油、鉱油、ゴマ油などの石油、動物、植物または合成起源のものを含む水および油などの液体であってもよい。担体は、生理食塩水、アラビアゴム、ゼラチン、デンプンペースト、タルク、ケラチン、コロイド状シリカ、尿素などであり得る。さらに、補助剤、安定化剤、増粘剤、潤滑剤および着色剤を使用することができる。一実施形態では、動物に投与する場合、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースまたは組成物および薬学的に許容される担体は無菌である。水は、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースを静脈内投与する場合に好ましい担体である。生理食塩水およびデキストロースおよびグリセロール水溶液も、特に注射液用の液体担体として使用することができる。適切な薬学的担体はまた、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、チョコク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、グリセロールモノステアレート、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどの賦形剤を含む。本組成物は、所望であれば、少量の湿潤剤または乳化剤、または pH 緩衝剤を含有することもできる。

【 0 0 5 4 】

免疫チェックポイントは、自己耐性を維持するおよび末梢組織損傷を最小限に抑えるために免疫系応答の程度を調節することに寄与する免疫系における障害経路を指す。しかしながら、腫瘍細胞はまた、免疫系チェックポイントを活性化して、腫瘍組織に対する免疫応答の有効性を低下させる（免疫応答を「ブロックする」）ことができる。大部分の抗癌剤とは対照的に、チェックポイント障害剤は、免疫系の内因性抗腫瘍活性を増強するために、腫瘍細胞を直接的に標的化せず、むしろリンパ球受容体またはそれらのリガンドを標的とする。（Pardoll, 2012, Nature Reviews Cancer 12:252-264）CTLA-4、PD-1 および PD-L1 などの免疫系チェックポイントに対する拮抗的なチェックポイントブロッキング抗体による治療は、癌および他の疾患に対する免疫療法の最も有望な新しい手段の1つである。TIM-3、LAG-3、様々なB-7リガンド、CHK1およびCHK2キナーゼ、BTLA、A2aRなどの追加のチェックポイント標的も調査中である。現在、CTLA-4 障害剤であるイピリマブ（Yervoy（登録商標））、ともにPD-1の障害剤であるペンブロリズマブ（Keytruda（登録商標））およびニボルマブ（Opdivo（登録商標））を含む、3つのチェックポイント障害剤が米国食品医薬品局（FDA）から癌治療についての早期の承認を受けている。さらに、いくつかのチェックポイント障害剤が臨床試験中である。

【 0 0 5 5 】

最近のデータは、腫瘍自体内で起こりうる抗CTLA-4抗体の二次的メカニズムを示唆している。CTLA-4は、腫瘍内エフェクターT細胞（本明細書では「Teff細胞」とも呼ばれる）と比較して、調節性T細胞（本明細書では「Treg細胞」とも呼ばれる）上のより高いレベルで腫瘍において発現することが見出され、Treg細胞に優先的に影響を与える抗CTLA-4の仮説が得られた。“Therapeutic use of anti-CTLA-4 antibodies”, Christian U. Blank and Alexander Enk, International Immunology, Vol. 27, No. 1, pp. 3-10. PD-1 および CTLA-4 の組み合わせに関する最近の研究は、CTLA-4 および PD-1 経路の併用遮断が協力して、調節性T細胞およびMDS Cの両方に対するTeff細胞の比率を増加させ、これにより、腫瘍微小環境における抑制を低減し、炎症を促進することを示す。“Combination of CTLA-4 and PD-1 blockade expands infiltrating T-cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors”, Curran et al., PNAS | March 2, 2010 | vol. 107 | no. 9 | 4275-4280. チェックポイント障害剤と別の治療剤との組み合わせは、チェックポイント障害剤の抗腫瘍応答および/または治療剤の効果を増強または延長し得る。これに関して、WO2015/069770は、癌の治療のための適応免疫応答、特にCTLA-4 および PD-1 障害剤の組合せの活性化に基づく併用処置を開示する。WO 2015/069770の開示内容は、本出願の開示内容全体が参考として援用される。

10

20

30

40

50

【0056】

チェックポイント遮断抗CTLA-4抗体が抗腫瘍効果を媒介する1つのメカニズムは、調節性T細胞を減少させることによるものである。抗CTLA-4抗体の作用機序が異なるため、エフェクターT細胞に付与された抑制シグナル伝達を解除する抗PD1チェックポイント遮断抗体とうまく組み合わせることができる。これらの抗体を用いた二重封鎖は、前臨床的に(Proc Natl Acad Sci USA 2010, 107, 4275-4280)およびクリニックで(N Engl J Med 2013, 369, 122-133; N Engl J Med 2015, 372, 2006-2017)、ともに、抗腫瘍応答も改善する。

【0057】

一般に、癌の治療に有効な2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースおよびチェックポイント阻害剤の最適量は、標準的な臨床技術によって決定することができる。さらに、最適な投与量範囲を同定するのを助けるために、インビトロアッセイを任意に用いることができる。製剤に使用される正確な用量は、投与経路および悪性疾患の段階にも依存し、施術者の判断および各患者の状況に従って決定されるべきである。有効な用量は、インビトロまたは動物モデル試験系から誘導された用量反応曲線から外挿することができる。

10

【0058】

さらなる態様において、チェックポイント阻害剤および2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースは、同時にまたはいずれかの順序で連続的に投与される。特定の態様において、チェックポイント阻害剤はPD-1阻害剤またはCTLA-4阻害剤である。別の特定の態様において、チェックポイント阻害剤は、PD-1阻害剤である。

20

【0059】

いくつかの実施形態において、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースおよびチェックポイント阻害剤は、最大耐容量(MTD)または最適生物学的用量(OBD)で対象に投与される。MTDとOBDを測定することは当該技術分野の範囲内である。いくつかの態様において、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースはそのMTDまたはOBDに提供され、チェックポイント阻害剤はMTDまたはOBDの50%~100%、好ましくは50%~90%で投与される。あるいは、チェックポイント阻害剤は、そのMTDまたはOBDに投与され、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースは、MTDまたはOBDの50%~100%、好ましくは50%~90%で投与される。いくつかの態様では、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースおよびチェックポイント阻害剤の両方が、MTDまたはOBDの60%~90%で投与される。

30

【0060】

本発明で使用されるように、組み合わせレジメンは、同時に与えられてもよく、またはチェックポイント阻害剤が、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースとは治療の間の異なる時間に与えられて、互い違いのレジメンで与えられてもよい。この時間差は、2つの薬剤の投与の間に数分、数時間、数日、数週間またはそれ以上の範囲であり得る。したがって、組み合わせという用語は、必ずしも同時に投与されることを意味するものではなく、単一投与量として投与されることを意味するのではなく、各成分が所望の治療期間中に投与されることを意味する。薬剤は、異なる経路によって投与することもできる。

【0061】

本明細書では、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースのプロドラッグまたは2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースまたはそのプロドラッグの薬学的に許容可能な塩も提供する。したがって、本明細書で提供される様々な実施形態のいずれかにおいて、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースのプロドラッグまたは2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースまたはそのプロドラッグの薬学的に許容可能な塩を使用することができる。

40

【0062】

本発明のこれらおよび他の態様は、以下の詳細な説明、特定の実施形態の非限定的な実施例、および添付の図面を参照することによって、より完全に理解され得る。

【実施例】

50

【 0 0 6 3 】

実施例は、本発明のさらなる理解を助けるために提供される。使用される特定の材料、プロトコルおよび条件は、本発明をさらに説明することを意図しており、その合理的な範囲を限定するものと解釈されるべきではない。

【 0 0 6 4 】

実施例 1 . 免疫サブセット枯渇を伴う A 2 0 マウスリンパ腫研究

K L H - A 2 0 I d F a b は、O k e l e y ら P N A S 2 0 1 2 に記載されているように作製した。A 2 0 細胞 (A T C C) を、1 0 % F B S、1 0 m M H E P E S、1 m M ピルビン酸ナトリウム、5 0 μ M 2 - メルカプトエタノールおよびペニシリン (1 0 0 U / m l) / ストレプトマイシン (1 0 0 μ g / m l) (P S) を含む R P M I 1 6 4 0 中で培養した。免疫化群 (B A L B / c、H a r l a n) に、K L H - F a b 結合体 (5 0 μ g) を T i t e r M a x アジュバント (1 : 1) と共に、2 1 日目に皮下注射し、- 7 日目に追加免疫した。2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置群は、- 1 4 日目に開始する 2 0 m M 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースを含有する飲料水を受けた。2 回目のワクチン接種の 1 週間後 (0 日目)、全てのマウスに 2 . 5 × 1 0 ⁶ 個の A 2 0 腫瘍細胞 (i . v .) を投与した。2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置を 2 1 日目まで続け、続いて通常の飲料水を続けた。免疫細胞の枯渇は、- 6、- 5、- 4、0 および + 7 日目 (2 0 0 μ g / マウス腹腔内) に投与された枯渇抗体で達成された。抗 C D 4 (G K 1 . 5) または - C D 8 (5 3 - 6 . 7 2) 抗体による C D 4 または C D 8 T 細胞枯渇が、- 1、7、1 4、2 1、2 9 日目の血液中で確認された (F A C S 分析)。同様の結果が、B A L B / c マウスからの 0 日目および 2 9 日目の脾臓においても見られた。図 1 A および 1 B は、C D 4 または C D 8 T 細胞の枯渇が、A 2 0 イディオタイプワクチン + 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの組み合わせの活性を低下させることを示す。したがって、C D 4 および C D 8 T 細胞は、組合せ活性において役割を果たす。

【 0 0 6 5 】

実施例 2 . 全血からの T 細胞および樹状細胞の単離

T 細胞を 1 0 m L の全血から単離し、1 2 0 0 r p m (3 0 0 × g) で 1 0 分間遠心分離した (ブレーキなし)。血小板を含む最上層を、白血球層を破壊することなく注意深く除去した。その後、残りの血液 (5 0 0 μ L / 1 0 m L 血液) に RosetteSep (商標) ヒト T 細胞濃縮カクテル (StemCell technologies、Vancouver、BC の PanT 細胞) を加えた。これを 2 0 分間インキュベートし、次いで、1 0 m L の P B S と共に 1 m L の F B S を添加した。調製した血液 / P B S 溶液を 5 0 m L のファルコンに入れたヒストパーク (2 0 ~ 2 5 m L) を非常にゆっくりと重ねた。これをブレーキなしで遠心分離した (2 5、1 5 0 0 r p m、2 5 分間)。上層を除去し、軟膜層中の T 細胞を新しい 5 0 m L チューブに移した。T 細胞を P B S で洗浄し、1 m L の A C K 溶解緩衝液に再懸濁し、2 5 m L まで補充し、5 分間インキュベートし、P B S で 5 0 m L にし、ペレット化した。この赤血球溶解工程を 2 回繰り返した。次いで、T 細胞を T 細胞培地 (1 0 % ウシ胎仔血清 (F C S)、1 % P S を補充した R P M I 培地) に再懸濁し、2 つの T 2 5 フラスコに入れた (1 0 0 ~ 2 0 0 μ M の 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースありまたはなし)。C D 3 / C D 2 8 抗体被覆ビーズ (2 0 μ L / フラスコ、M i l t e n y i B i o t e c) を添加して T 細胞を活性化した。2 4 時間後、I L 2 を添加した (1 0 0 n g / μ L、R & D S y s t e m s)。細胞を継代するたびに、新たな I L 2 および 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースを添加した。

【 0 0 6 6 】

9 0 m L の血液を使用し、血小板の除去後、RosetteSep (商標) T M ヒト T 細胞濃縮カクテルを添加しなかった以外は、P B M C を T 細胞と同様に単離し、ヒストパークにオーバーレイする前に、代わりに等量の P B S (9 0 m L) を前もって添加した上記のようにヒストパークを遠心分離すると、P B M C 含有パフィコートが得られる。赤血球溶解後、P B M C を樹状細胞 (D C) 培地 (3 0 % D M E M 7 0 % X - V I V O (商標) 1 5 +

2 mM グルタマックス + 10 % A T B 血清 + 1 % P S) に再懸濁し、6 ウェルプレートに播種し、一晚インキュベートした。翌日、上清を吸引して捨て、付着細胞を培地で洗浄し、I L 4 (1 0 0 n g / μ L 、 R & D Systems) および G M - C S F (2 0 0 n g / μ L 、 R & D Systems) を補充した 2 m L の培地で各ウェルを補充しながら、接着している単球を分化させて増殖させて D C にする。プレートを 4 ~ 5 日間インキュベートし、次いで細胞を T 2 5 フラスコに移した。細胞が継代されるたびに (2 ~ 3 日ごと) 、新しいサイトカインが与えられた。

【 0 0 6 7 】

T 細胞と D C との共培養

共培養実験を、48 ウェルプレート中、10 : 1 (T 細胞 : D C) の比で D C 培地中で行った。D C 培地 (2 0 0 0 0 ~ 3 0 0 0 0 / ウェル) および 10 倍の T 細胞を、各ウェルに合計 2 0 0 μ L / ウェルの D C 培地で播種した。共培養物を 24 時間インキュベートした後、後述するように細胞が D C 成熟マーカーについて評価した。

【 0 0 6 8 】

トランスウェル共培養

トランスウェルアッセイを、24 ウェルプレートで行った。共培養は、ウェルあたり 500 μ L の最終容量で上記のようにして培養した。トランスウェルサンプルについては、D C をウェルに播種し、T 細胞をインサートに入れた。次いで、細胞を 24 時間インキュベートし、トランスウェルを含まない共培養と同じ方法で調べた。

【 0 0 6 9 】

無血清共培養

D C は、2 つのフラスコに分けられた 1 つは正常培地で、もう 1 つは無血清培地で分割された 8 日目まで説明したように増殖させた。血清は存在しないが、X - V I V O (商標) 15 培地は、培養物の健康を維持するのに役立つ成長因子を含む。48 ウェルプレート中で上記のように共培養実験を行った。

【 0 0 7 0 】

共培養における D C マーカーの分析

共培養物を F A C S 分析を用いて試験した。インキュベーション後、細胞をヒト F c ブロック (E M D M i l l i p o r e) を有する B D 染色緩衝液 (B S A) 中で洗浄し、氷上で 30 分間インキュベートした。次いで、細胞を、蛍光標識した抗 M H C I I 、抗 C D 8 6 、抗 C D 8 3 、および抗 C D 4 0 一次抗体 (B D 、 B D 染色緩衝液 (B S A) 中の 1 : 1 0 0 または 1 : 5 0) または適切なアイソタイプ対照 (氷、暗所、40 分) 。次いで、細胞を B D 染色緩衝液 (B S A) で 2 回洗浄し、L S R I I フローサイトメーターで分析した。D C を前方散乱および側方散乱によって同定し、各マーカーの M F I を 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置培養物で対照培養物のものと比較した。図 2 A および 2 B は、血清含有および無血清アッセイ条件の両方について、これらのマーカー間の倍数差異を示す。

【 0 0 7 1 】

図 2 B は、T 細胞と自己 D C との共培養実験が、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置 T 細胞が対照 T 細胞よりも D C を活性化することを明らかにした。これは、D C 活性化および成熟マーカー M H C I I 、C D 8 6 、C D 8 3 および C D 4 0 の増加によって示される。これらの増加は、T 細胞と D C を分離するためにトランスウェルインサートを使用した場合に起こらないため、可溶性因子が単独で原因ではない可能性が高いことを示唆しているため、接触依存性である。D C 単独では、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置の有無にかかわらず、これらのマーカーの変化を示さない。この相互作用はまた、無血清培地が同じ増加をもたらさないで、これらの細胞表面活性化マーカーの増加のために抗原が存在することを必要とする。

【 0 0 7 2 】

実施例 3 . T 細胞の四量体染色

抗原特異的四量体および陰性対照四量体は、M B L (Woburn, MA) から購入した。2 -

10

20

30

40

50

デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース ($100 \mu\text{M}$) の有無にかかわらず上記のように増殖させた T 細胞を丸底 96 ウェルプレートに播種し、遠心分離し、ヒト Fc ブロック (EMD Millipore) とともに BD 染色緩衝液 (BSA) に再懸濁し、室温で 10 分間インキュベートした。次いで、細胞を所望の四量体 $10 \mu\text{L}$ / ウェルまたは陰性対照で染色し、暗所で 30 分間室温でインキュベートした。細胞を遠心分離し、BD 染色緩衝液 (BSA) 中で洗浄し、次いで、冷やした BD BSA 染色緩衝液中で再懸濁して、LSRII フローサイトメーターで分析した。図 3 は、3 つの異なる四量体 (EBV、M1、および CMV ; MBL Bio) の対照 T 細胞と比較した、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置 T 細胞への結合の MFI 倍数変化 (fold change) を示す。

【 0073 】

10

実施例 4 : TCR シグナリング

精製した T 細胞を 6 ウェルプレート (2.5×10^6 細胞 / ウェル、2.5 mL の T 細胞培地) に播種し、0 ~ 4 時間、37 °C で CD3 / CD28 ビーズ ($20 \mu\text{L}$ ビーズ / ウェル、Miltenyi Biotec、San Diego、CA) で活性化した。示された時間に試料を採取し、PBS で洗浄し、RIPA 緩衝液 (Thermo Scientific、DNase およびプロテアーゼ / ホスファターゼ阻害剤を含む) で溶解し、ドライアイス上で急速凍結した後、-80 °C で保存した。細胞溶解物 (BCA アッセイによって決定された約 $3 \mu\text{g}$ / サンプル) を SDS-PAGE 上で流し、抗 pZAP70 抗体 (Cell Signaling Technologies) を用いたニトロセルロース膜のウエスタンブロットによって調べた。簡単に述べると、ブロットを 5 % ミルク入り TBST (Cell Signaling Technologies からの TBST) 中で室温で 1 時間ブロッ

ックし、TBST でリンスし、次いで、一次抗体 (TBST 中の 5 % BSA 中の抗 pZAP70 1 : 1000) とともに 4 °C で一晩インキュベートした。ブロットを TBST で 3 回洗浄し、HRP 結合二次抗体で RT で 1 時間 (TBST 中 5 % 脱脂乳で 1 : 2000)、続いて洗浄 ($3 \times$ TBST) し、メーカーの指示にしたがって、Cell Signaling Elite ECL を用いて検出した。ブロットを Amersham (商標) 600 イメージャ (GE Healthcare) を用いてスキャンした。画像化されると、ブロットを除去し、他の一次抗体を用いてさらなるマーカーについて再ブローブすることができた。この方法のために、膜を、最初に PBS で洗浄した後、Thermo Scientific の Restore (商標) PLU S ウエスタンブロットストリッピングバッファーを使用して室温で 30 分間ストリッピングした。これに続いて、膜を TBST 中で洗浄し、5 % ミルク入り TBST 中で室温で 1 時間ブロッキングした。次いで、全 ZAP70 を染色するために、上記のブロットプロトコルを続けた。図 4 は、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置 T 細胞を有する対照 T 細胞と比較して、ZAP70 強度に対して正規化された pZAP70 タンパク質レベルを示す。

20

30

【 0074 】

実施例 5 . ガレクチン - 3 の活性化 T 細胞発現

精製した T 細胞を 12 ウェルプレート (10^6 細胞 / ウェル、1 ~ 2 mL の T 細胞培地) に播種し、CD3 / CD28 ビーズ ($4 \mu\text{L}$ ビーズ / 2 mL 培地、Miltenyi Biotec) で活性化した。細胞を 37 °C で一晩インキュベートし、次いで、固定および透過処理後の FACS 分析後のガレクチン - 3 発現について分析した。要するに、細胞をペレット化し (2×10^5 個)、BD 染色緩衝液 (FBS) で 2 回洗浄した後、冷やした BD Cytifix (商標) 固定バッファー (30 分、RT) で再懸濁した。細胞をペレット化し、BD 染色緩衝液 (FBS) で 2 回洗浄し、BD Perm/Wash (商標) バッファー (30 分、室温) に再懸濁した。細胞を新鮮な BD Perm/Wash (商標) バッファーで洗浄し、抗ガレクチン - 3 抗体 (Life Technologies、または適切なアイソタイプ対照) で RT (40 分、暗所) で染色した。細胞を室温で BD Perm/Wash (商標) で 2 回洗浄し、LSRII フローサイトメーターで分析するために BD 染色緩衝液 (FBS) に再懸濁した。図 5 は、対照 T 細胞の細胞と比較した、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置 T 細胞におけるガレクチン - 3 MFI の倍数変化を示す。

40

【 0075 】

T 細胞レセプター (TCR) は、抗原提示細胞上のペプチド MHC と直接相互作用し、

50

フコシル化分子であることが示唆されている (Garcia et al. 1996, Science, 274)。我々は、対照細胞と比較して、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置 T 細胞におけるフローサイトメトリーによる E B V 特異的四量体結合の増加を観察した (他の抗原 ; f l u、C M V でも若干の増加が観察された)。これは、p - M H C に対する T C R の親和性の増加を示す。さらに、D C との T 細胞の共培養から抗原 (血清タンパク質の形態のペプチド抗原) を除去すると、D C 上に活性化マーカーがほとんどまたは全く増加しなかった。これらの結果を総合すると、T C R / p M H C 相互作用が 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置によって調節されていることが示唆される。T C R が関与し、T 細胞シグナル伝達が起こるためには、T C R / ペプチド - M H C 相互作用は、T C R の基礎的シグナル伝達および活性化を調節するガレクチン - 糖タンパク質格子相互作用を克服するのに十分強くなければならない。本発明者らは、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置により、ガレクチン - 3 糖タンパク質相互作用を低下させ、より容易な T C R / p M H C 媒介シグナル伝達を可能にする、T 細胞におけるガレクチン - 3 レベルの減少があることを観察した。T C R シグナル伝達を調べたところ、T C R シグナル伝達カスケードの中心にあることが知られているタンパク質である、Z a p 7 0 が有意にリン酸化され、ナイーブ細胞と比較して 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置 T 細胞においてより長期間リン酸化されたままであることを観察した (同様の結果が他のシグナル伝達タンパク質で観察された)。

10

【 0 0 7 6 】

実施例 6 . T G F シグナル伝達および調節性 T 細胞分析

20

血清を含まない R P M I 培地 (1 % P S、2 . 5 m L) を含む 6 ウェル皿 (2 . 5 x 1 0 ⁶ 細胞 / ウェル) に細胞を播種し、血清飢餓の 6 時間後に、細胞を T G F (5 n g / m L) で 1 0 分間刺激した。細胞を採取し、P B S で 2 回洗浄し、ドライアイス上で急速凍結し、続いて - 8 0 で保存した。細胞を R I P A 緩衝液 (D N A s e およびプロテアーゼ / ホスファターゼ阻害剤を含む) で溶解した。以前に記載したように、細胞溶解物を S D S - P A G E 上で流し、抗 p S M A D 2 抗体および抗アクチン抗体を用いたニトロセルロース膜のウエスタンブロットによって調べた。図 6 は、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置 T 細胞についての同じ比率と比較した対照 T 細胞についてのアクチン強度に対する p S M A D 2 の比を示す。

【 0 0 7 7 】

30

ヒト調節性 T 細胞カクテル (B D Pharmingen (商標)) を用いて培養物中の調節性 T 細胞を同定し、F A C S を用いて分析した。簡潔には、細胞をヒト F c ブロック (E M D Millipore) を有する B D 染色緩衝液 (B S A) 中に洗浄し、氷上で 3 0 分間インキュベートした。次いで、細胞を蛍光標識したヒト調節 T 細胞カクテル (B D Pharmingen (商標) 、B D 染色緩衝液 (B S A) 中 1 : 1 0 0) または適切なアイソタイプ対照 (氷、暗所、4 0 分) で染色した。次いで、細胞を B D 染色緩衝液 (B S A) で 2 回洗浄し、L S R I I フローサイトメーターで分析した。調節性 T 細胞は C D 4 + 、C D 2 5 + 及び C D 1 2 7 L O W と同定された。図 7 A および 7 B は、この三重ゲート集団における細胞の割合を示す。

【 0 0 7 8 】

40

上記の細胞内染色の場合と同様にして T 細胞を調製し、固定して透過性にし、抗 F O X p 3 抗体 (B D Biosciences) で染色し、F A C S で分析した。要約すると、前述のように 3 0 分間氷上でヒト F c ブロック (M i l t e n y i B i o t e c) を用いて B D 染色緩衝液 (F B S) 中でインキュベートした後、細胞を暗所 (R T) で 2 0 分間抗 C D 4 抗体で染色した。等容積の B D 染色緩衝液 (F B S) を加え、サンプルを回転させて B D 染色緩衝液 (F B S) で 1 回洗浄した後、冷却した B D C y t o f i x (商標) 固定バッファー中で R T で 3 0 分間再懸濁した。細胞をペレット化し、B D 染色緩衝液 (F B S) で 2 回洗浄し、再懸濁し、B D P e r m / W a s h (商標) バッファー中で室温で 3 0 分間インキュベートした。細胞を新鮮な B D P e r m / W a s h (商標) バッファーで洗浄し、抗 F O X p 3 抗体 (または適切なアイソタイプ対照) で R T (4 5 分、暗所) で染色した。細胞を室温で B D P e r m / W a s h (商標) で 2 回

50

洗浄し、LSRIIFローサイトメーターで分析するためにBD染色緩衝液(FBS)に再懸濁した。細胞をCD4+でゲートし、このゲートからFOXp3+細胞を同定した。図7Aおよび7Bは、対照T細胞培養と比較した2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース処置培養物中のFOXp3+T細胞の総数の倍数変化を示す。

【0079】

0、125、500または2000mg/kg/日の用量で、連続して42日間連続経口胃管栄養法により、Sprague-Dawleyラット(CD(登録商標)[Cr1:CD(登録商標)(SD)]に2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースを投与した。予備試験並びに試験の2日目、7日目、22日目、43日目、49日目、56日目、および71日目にヘパリンナトリウムで血液試料(0.4mL/時間点)を採取した。サンプルは採集から24時間以内に処理した。試料のアリコートをし、各マーカーに特異的な予め試験し、滴定した所定量のモノクローナル抗体で染色した。各管の赤血球を溶解し、染色後、細胞をVersalyse Lysis Buffer溶液(Beckman Coulter)で固定した。調製した標本をBeckman-Coulter FC 500 MPLフローサイトメーターで分析した。

【0080】

TGF β Rはフコシル化されており、文献はこのフコシル化が腫瘍細胞におけるTGF β 結合に影響し得ることを示唆している(British Journal of Cancer (2014) 110,156-163)。SMAD媒介転写は、TGF β I受容体へのTGF β 結合後のリン酸化を必要とする。図6は、T細胞の2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース処置がTGF β 刺激後の対照T細胞と比較してSMAD2リン酸化を減少させ、TGF β 結合の変化およびフコシル化T細胞上のシグナル伝達を支持することを示す。FOXp3発現は、TGF β シグナル伝達の下流にあるSMAD転写因子によって駆動される。2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース処置T細胞は、調節性T細胞集団(全細胞のパーセント、図7B)の減少に関連するFOXp3+の発現低下を示した(図7A)。表1は、ラットを2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースで処理した場合、この結果がインビボで翻訳されたことを示している。2日目の収集から、プレテスト値(表1)と比較して、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースを投与された全ての群において、調節性T細胞(CD3+、CD4+、CD25+、FOXp3+)の相対的割合が減少する傾向があった。SMAD2転写因子のリン酸化を介したTGF β シグナル伝達は、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコース処置によって減少し、T細胞培養におけるFOXp3発現の低下およびT調節細胞数の減少をもたらす。調節性T細胞の減少は、免疫抑制性腫瘍微小環境を低下させることが知られている。抗CTLA4抗体によって付与される活性の一部は、調節性T細胞の枯渇に向けられている(Simpson et al. (2013) JEM, 210)。前臨床的に、そして最近では臨床で、抗CTLA4抗体が抗PD1または抗PD-L1チェックポイント抗体とうまく組み合わせられている(Larkin et al. (2015) NEJM 373)。調節性T細胞を減少させることに対する2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースの効果は、2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースに影響を受けたT細胞をPD1またはPD-L1標的化剤と組み合わせることにより、さらに増強された抗腫瘍免疫を付与するであろう。

【0081】

【表 1】

表 1

調節性 T 細胞 ^a の効果の概要							
エンド ポイント	インターバル	125 mg/kg/日		500 mg/kg/日		2000 mg/kg/日	
		M	F	M	F	M	F
Treg % ゲートさ れた	2 日目	-44%	-54%	-61%	-56%	-42%	-41%
	7 日目	-64%	-67%	-63%	-60%	-43%	-39%
	22 日目	-65%	-61%	-64%	-60%	-51%	-43%
	43 日目	-59%	-64%	-58%	-50%	-29%	-28%
	49 ^b 日目	-46%	-40%	-48%	-43%	-6%	-19%
	56 ^b 日目	-47%	-51%	-47%	-38%	-12%	-16%
	71 ^b 日目	-42%	-45%	-48%	-40%	-13%	-26%
M – 男性; F – 女性							
^a – テスト前の平均に対する変化率							
^b – 回復期							

10

【 0 0 8 2 】

実施例 7 . T 細胞 / D C 共培養における分泌されたサイトカインの分析およびインビボでの観察

先に記載した T 細胞 / D C 共培養由来の組織培養上清を回収し、Luminex アッセイによってサイトカイン変化について評価した。同様に、A 2 0 ワクチンモデル研究からの血液サンプルを凝固させ、サイトカイン (MCYTOMAG01L1X-13 マウスサイトカイン磁気ビーズパネル、Millipore) の分析のために血清を回収した。図 8 A、8 B および 8 C は、D C および 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置 T 細胞の共培養において、抗原特異的 T 細胞活性化に重要なサイトカイン、例えば I N F γ 、I L 1 2 p 4 0 および C D 4 0 L が、対照 T 細胞を含有する培養物と比較した場合、組織培養上清中で増加したことを示す。図 9 は、組織培養共培養系で観察されたサイトカインの変化に加えて、免疫応答に重要なサイトカインの特異的増加が、A 2 0 腫瘍ワクチンモデルで観察されたことを示している (上記、枯渇なし、- 2 1 日目、- 1 4 日目、0 日目、および 1 日目で採取したサンプル; I L 1 5)。これらのデータは、2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコース処置が、インビトロおよびインビボで最適な免疫応答の鍵となるサイトカインのアップレギュレーションをもたらし得ることを示している。

20

30

【 0 0 8 3 】

実施例 8 . ヒト P B M C におけるインビトロ 2 F F および抗 P D 1 抗体の組合せ

C M V 陽性ドナー (Astarte (商標) Biologics) からの C M V 反応性ヒト P M B C を解凍し、6 ウェルプレートに播種し、D C 培地 (3 0 % D M E M 7 0 % X - ビボ + 2 m M グルタマックス + 1 0 % A T B 血清 + 1 % P S) 中で一晩培養した。翌日、上清を回収して T 細胞を単離し、接着細胞を培地で洗浄し、次いで 1 ウェルあたり I L 4 (1 0 0 n g / μ L) および G M C S F (2 0 0 n g / μ L) を補充した培地 2 m L を補充、付着している単球を D C へと分化および増殖させた。プレートを 4 ~ 5 日間インキュベートし、次いで細胞を T 2 5 フラスコに移した。細胞が継代されるたびに (2 ~ 3 日ごと)、新しいサイトカインが与えられた。上清中の T 細胞を、S t e m S e p ヒト T 細胞濃縮キット (Stemcell technologies) を用いて単離した。次いで、T 細胞を T 細胞培地 (R P M I + 1 0 % ウシ胎児血清、1 % P S) に再懸濁し、2 つの T 2 5 フラスコに入れた (1 0 0 ~ 2 0 0 μ M 2 F F ありまたはなし)。T 細胞を活性化するために、C D 3 C D 2 8 抗体被覆ビーズ (Miltenyi Biotec) (2 0 μ L / フラスコ) を添加した。2 4 時間後に I L 2 を添加した (1 0 0 n g / μ L)。細胞を継代するたびに、新しい I L 2 および 2 F F を添加した。細胞を 1 0 ~ 1 2 日間培養し、5 μ g / m L の C M V 抗原刺激 (Astarte Biologics) を伴うまたは伴わない、および、1 μ g / m L の抗 P D 1 (ペンブロリズマブ、Keytruda) を伴うまたは伴わない 4 8 ウェルプレート中の 1 0 : 1 (T 細胞 : D C) 比の D C 培地中で共培養実験を行った。共培養物を 2 4 時間インキュベートした後、ヒト T 細胞高感度ルミネックスアッセイ (Millipore) を用いて製造業者の指示に従って上清を

40

50

I F N および I L 1 2 p 7 0 についてアッセイした。

【 0 0 8 4 】

5 日間の共培養からの上清中の I F N および I L 1 2 p 7 0 を、ルメニクスアッセイを用いて測定し、各サイトカインの濃度を内部標準曲線を用いて計算した。図 1 0 A および 1 0 B に示すように、C M V 抗原に曝露された 2 F F 成熟 T 細胞は、対照細胞と比較して上昇した抗原特異的 T 細胞応答を有し、この組合せへの抗 P D 1 の添加は、2 F F 成熟 T 細胞の抗原特異的応答をさらに増強する。

【 0 0 8 5 】

実施例 9 . A 2 0 マウスリンパ腫研究

A 2 0 細胞 (A T C C) を、1 0 % F B S、1 0 m M H E P E S、1 m M ピルビン酸ナトリウム、5 0 μ M 2 - メルカプトエタノールおよびペニシリン (1 0 0 U / m l) / ストレプトマイシン (1 0 0 μ g / m l) (P S) を含む R P M I 1 6 4 0 中で培養した。すべてのマウス (B A L B / c、n = 6 / 群) に 1×10^5 個の A 2 0 腫瘍細胞 (i . v .) を移植し、4 つの群：未処置；2 F F のみで処置；抗 P D 1 抗体のみで処置；抗 P D 1 抗体との 2 F F の組み合わせで処置、に分けた。2 F F 処置群は、腫瘍移植の日から開始して 2 0 m M 2 F F を含む飲料水を受け、研究の全体を通して継続した。2 F F を受けていないマウスには通常の飲料水が与えられた。抗 P D 1 抗体 (E biosciences、クローン J43) 処置群は、腫瘍移植後 5 日目から開始して 3 日ごとに 5 m g / k g の 3 回の投与を受けた。図 1 1 に示されるように、2 F F 単独処置群は、未処置群と比較して生存率が増加させたが、抗 P D 1 抗体単独処置群は、未処置群と比較して生存率を改善しなかった。2 F F と抗 P D 1 抗体との組み合わせで処置したマウスの群は、腫瘍移植後約 5 4 日の 5 0 % の耐性生存率を示し、腫瘍移植後約 9 0 日で実験終了まで持続した。このことは、実験の最後まで続く約 4 0 日間の処置後の抗 P D 1 単独処置群および未処置群におけるわずか 1 7 % の生存率であることと比較され、また、約 9 0 日での実験の終了まで続く処置の 7 0 日後の 2 F F 単独処置群におけるわずか 1 7 % の生存率と比較される。これらのデータは、2 F F および抗 P D 1 の組み合わせが、未処置および 2 F F または抗 P D 1 単剤処置と比較して、腫瘍移植マウスの生存期間を延長させることを示す。

【 0 0 8 6 】

ディスカッション

実施例に示すように、2 F F は、抗 C T L A 4 抗体で観察されるものと同様に、調節性 T 細胞集団を減少させる能力を実証している。調節性 T 細胞集団の減少は、調節性 T 細胞発生に重要な T G F - β シグナル伝達および F O X p 3 誘導の減弱と関連する。したがって、抗 P D 1 遮断抗体の存在下での 2 F F のコンビナトリアル活性をインビトロおよびインビボの両方で評価した。実施例は、インビトロで 2 F F が抗 P D 1 抗体と協力して抗原特異的 T 細胞活性化を増加させることを実証した；インビボでは、2 F F は、未処置または単剤処置群と比較して、リンパ腫の同系マウスモデルにおいて、抗 P D 1 抗体に対する抗腫瘍応答および全生存期間を延長させることを示した。

【 0 0 8 7 】

実施例 1 0 . 4 T 1 マウス腫瘍研究

腫瘍浸潤免疫細胞に対する 2 F F 処置の効果を評価するために、b a l b / c マウスに 4 T 1 細胞 (2×10^4 皮下注射) を移植し、同日に 2 0 m M 2 F F の飲料水で開始した。1 9 日目 (腫瘍が約 2 5 0 ~ 3 0 0 m m ³ のとき) または 2 8 日目 (腫瘍が約 8 0 0 ~ 1 0 0 0 m m ³ のとき) に腫瘍を除去し、カミソリの刃で細かく刻んだ後、5 m L の冷却した解離緩衝液 (D M E M (高グルコース) 培地、5 % F B S、1 M H E P E S、2 m g / m L コラゲナーゼ D (Roche)、0 . 1 m g / m L D N A s e I (5 0 m g / m L 2 0 m M トリス - H C L (p h 7 . 5)、1 m M M g C l ₂、5 0 % グリセロールでストック) に溶解し、M i l t e n y i C - チューブに移した。G e n t l e M A C S を各チューブ上で泳動し、チューブを 3 7 ° C で 4 0 分間連続回転させてインキュベートした。次いで、G e n t l e M A C S を 2 回泳動させ、チューブを急速に回転させて、チューブの底に腫瘍を集めた。次いで、管の内容物を、シリンジのゴム栓を用いて 7 0 μ

mのメッシュフィルターに通して50 mLのファルコンチューブに通し、組織を穏やかに解離させた。フィルターを5 mLの冷却した酵素阻害剤緩衝液（DMEM（高グルコース）、0.25 M EDTA）で洗浄し、チューブを遠心分離し、上清を捨て、サンプルをPBSに再懸濁させた。次いで、細胞を、製造者の指示に従ってeFluor（登録商標）506 バイアピリティ色素（eBioscience）で染色した。細胞をFACS染色緩衝液（0.5 % FBS、0.05 % NaN₃）中で2回洗浄し、免疫細胞を同定するためにCD45に対する抗体をそれぞれ含む3つの異なるパネルの抗体で免疫表現型を調べた。樹状細胞抗原について表現型を調べた細胞を、暗所で氷上で30分間所望の抗体で染色し、染色緩衝液で2回洗浄し、1:4のPBS:固定緩衝液（Biolgend）に再懸濁し、4で一晚保存した。翌日、細胞をFACS染色緩衝液で洗浄し、LSRIIFローサイトメーターで分析した。T調節性細胞について表現型を調べた細胞を、氷上で暗所で30分間、細胞表面抗原に対する所望の抗体で最初に染色した。次いで、細胞を洗浄し、固定し、透過処理し、製造指示（カタログ番号77-5775）に従ってeBioscience染色セットを用いてFOP3で染色した。

10

【0088】

図12A～Cに示すように、2FF処置動物は、T調節性細胞が有意に減少し、移植後19日目により活性化された樹状細胞が増加した。この結果はまた、移植後28日目に、2FF処置動物由来の腫瘍がメモリーおよびエフェクターT細胞を増加させたことを示す。

20

以下は、本発明の実施形態の一つである。

（1）有効量の2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、チェックポイント阻害剤とを組み合わせ、それを必要とする対象に投与することを含む、前記対象における癌を治療する方法。

（2）有効量の2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、チェックポイント阻害剤とを組み合わせ、それを必要とする対象に投与することを含む、前記対象における腫瘍の増殖を阻害する方法。

（3）投与される2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、前記チェックポイント阻害剤との前記組み合わせは、癌の治療においてまたは腫瘍細胞の増殖の阻害において、相加効果または相乗効果を提供する、（1）または（2）に記載の方法。

30

（4）投与される2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、前記チェックポイント阻害剤との前記組み合わせは、癌の治療においてまたは腫瘍細胞の増殖の阻害において相乗効果を提供する、（3）に記載の方法。

（5）2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースまたは薬学的に許容可能なその塩が、チェックポイント阻害剤と組み合わせ投与される、（1）～（4）のいずれかに記載の方法。

（6）前記2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースのプロドラッグまたは薬学的に許容可能なその塩が、チェックポイント阻害剤と組み合わせ投与される、（1）～（4）のいずれかに記載の方法。

40

（7）2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースのカルボン酸エステルプロドラッグまたは薬学的に許容可能なその塩が、チェックポイント阻害剤と組み合わせ投与される、（6）に記載の方法。

（8）2-デオキシ-2-フルオロ-L-フコースの酢酸エステルまたは薬学的に許容可能なその塩が、チェックポイント阻害剤と組み合わせ投与される、（7）に記載の方法。

（9）前記チェックポイント阻害剤は、生物学的治療薬または小分子である、（1）～（8）のいずれかに記載の方法。

（10）前記チェックポイント阻害剤は、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体および融合タンパク質またはそれらの組み合わせからなる群から選択される、（1）～

50

(8) のいずれかに記載の方法。

(1 1) 前記チェックポイント阻害剤は、CTLA - 4、PD - 1、PD - L 1、PD - L 2、B 7 - H 3、B 7 - H 4、BMA、HVEM、TIM 3、GAL 9、LAG 3、VISTA、KIR、2B 4、CD 1 6 0、CGEN - 1 5 0 4 9、CHK 1、CHK 2、A 2 a R、および B - 7 ファミリーリガンドまたはこれらの組み合わせからなる群から選択されるチェックポイントタンパク質のリガンドを阻害するまたは該リガンドと相互作用する、(9) または (1 0) に記載の方法。

(1 2) 前記チェックポイント阻害剤は、PD - L 1、PD - L 2、または PD - 1 阻害剤である、(1 1) に記載の方法。

(1 3) 前記チェックポイント阻害剤は、PD - 1 阻害剤である、(1 2) に記載の方法。

(1 4) PD - 1 阻害剤である前記チェックポイント阻害剤は、ニボルマブまたはペンブロリズマブである、(1 3) に記載の方法。

(1 5) PD - 1 阻害剤である前記チェックポイント阻害剤は、ニボルマブである、(1 4) に記載の方法。

(1 6) 前記癌は、泌尿生殖器、婦人科、肺、胃腸、頭頸部癌、悪性神経膠腫および脳転移を含む脳腫瘍、悪性中皮腫、非転移性または転移性乳癌、悪性黒色腫、メルケル細胞癌腫または骨および軟部組織肉腫、血液学的腫瘍、多発性髄腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群および急性リンパ芽球性白血病などのリンパ腫、非小細胞肺癌 (NSCLC)、乳癌、転移性結腸直腸癌、ホルモン感受性またはホルモン不応性前立腺癌、結腸直腸癌、卵巣癌、肝細胞癌、腎細胞癌、膵臓癌、胃癌、食道癌、肝細胞癌、胆管細胞癌、頭頸部扁平上皮癌軟部組織肉腫、および小細胞肺癌からなる群から選択される、(1) ~ (1 5) のいずれかに記載の方法。

(1 7) 前記癌は、非小細胞肺癌 (NSCLC)、乳癌、または結腸直腸癌である、(1 6) に記載の方法。

(1 8) 前記癌は、非小細胞肺癌 (NSCLC) である、(1 7) に記載の方法。

(1 9) 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩を含む組成物が、前記対象に投与される、(1) ~ (1 8) のいずれかに記載の方法。

(2 0) 前記組成物は、固体または液体製剤である、(1 9) に記載の方法。

(2 1) 前記対象は哺乳類である、(1) ~ (2 0) のいずれかに記載の方法。

(2 2) 前記哺乳類はヒトである、(2 1) に記載の方法。

(2 3) 有効量の 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、チェックポイント阻害剤とを組み合わせ、それを必要とする対象に投与することを含む、チェックポイント阻害剤の効果を開始、増強、または延長する、または、前記対象において、チェックポイント阻害剤に前記対象が応答することを可能にする方法。

(2 4) 投与される 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、前記チェックポイント阻害剤との前記組み合わせは、癌の治療においてまたは腫瘍細胞の増殖の阻害において、相加効果または相乗効果を提供する、(2 3) に記載の方法。

(2 5) 投与される 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩と、前記チェックポイント阻害剤との前記組み合わせは、癌の治療においてまたは腫瘍細胞の増殖の阻害において相乗効果を提供する、(2 4) に記載の方法。

(2 6) 抗腫瘍の反応は、腫瘍成長の阻害、腫瘍細胞死の誘発、腫瘍退行、腫瘍再発、腫瘍成長、腫瘍拡大の予防または遅延、および腫瘍排除から選択される、(2 3) ~ (2 5) のいずれかに記載の方法。

(2 7) 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースまたは薬学的に許容可能なその塩が、チェックポイント阻害剤と組み合わせ投与される、(2 3) ~ (2 6) のいずれかに

10

20

30

40

50

記載の方法。

(2 8) 前記 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースのプロドラッグまたは薬学的に許容可能なその塩が、チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される、(2 3) ~ (2 7) のいずれかに記載の方法。

(2 9) 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースのカルボン酸エステルプロドラッグまたは薬学的に許容可能なその塩が、チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される、(2 8) に記載の方法。

(3 0) 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースの酢酸エステルまたは薬学的に許容可能なその塩が、チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される、(2 9) に記載の方法。

10

(3 1) 前記チェックポイント阻害剤は、生物学的治療薬または小分子である、(2 3) ~ (3 0) のいずれかに記載の方法。

(3 2) 前記チェックポイント阻害剤は、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体および融合タンパク質またはそれらの組み合わせからなる群から選択される、(2 3) ~ (3 1) のいずれかに記載の方法。

(3 3) 前記チェックポイント阻害剤は、CTLA - 4、PD - 1、PD - L 1、PD - L 2、B 7 - H 3、B 7 - H 4、BMA、HVEM、TIM 3、GAL 9、LAG 3、VISTA、KIR、2B 4、CD 1 6 0、CGEN - 1 5 0 4 9、CHK 1、CHK 2、A 2 a R、および B - 7 ファミリーリガンドまたはそれらの組み合わせからなる群から選択される、チェックポイントタンパク質のリガンドを阻害するまたは該リガンドと相互作用する、(3 1) または (3 2) に記載の方法。

20

(3 4) 前記チェックポイント阻害剤は、PD - L 1、PD - L 2、または PD - 1 阻害剤である、(3 3) に記載の方法。

(3 5) 前記チェックポイント阻害剤は、PD - 1 阻害剤である、(3 4) に記載の方法。

(3 6) PD - 1 阻害剤である前記チェックポイント阻害剤は、ニボルマブまたはペンブロリズマブである、(3 5) に記載の方法。

(3 7) PD - 1 阻害剤である前記チェックポイント阻害剤は、ニボルマブである、(3 5) に記載の方法。

(3 8) 前記癌は、泌尿生殖器、婦人科、肺、胃腸、頭頸部癌、悪性神経膠腫および脳転移を含む脳腫瘍、悪性中皮腫、非転移性または転移性乳癌、悪性黒色腫、メルケル細胞癌腫または骨および軟部組織肉腫、血液学的腫瘍、多発性髄腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群および急性リンパ芽球性白血病などのリンパ腫、非小細胞肺癌 (NSCLC)、乳癌、転移性結腸直腸癌、ホルモン感受性またはホルモン不応性前立腺癌、結腸直腸癌、卵巣癌、肝細胞癌、腎細胞癌、膵臓癌、胃癌、食道癌、肝細胞癌、胆管細胞癌、頭頸部扁平上皮癌軟部組織肉腫、および小細胞肺癌からなる群から選択される、(2 3) ~ (3 7) のいずれかに記載の方法。

30

(3 9) 前記癌は、非小細胞肺癌 (NSCLC)、乳癌、または結腸直腸癌である、(3 8) に記載の方法。

(4 0) 前記癌は、非小細胞肺癌 (NSCLC) である、(3 9) に記載の方法。

40

(4 1) 2 - デオキシ - 2 - フルオロ - L - フコースもしくはそのプロドラッグ、または薬学的に許容可能なその塩を含む組成物が、前記対象に投与される、(2 3) ~ (4 0) のいずれかに記載の方法。

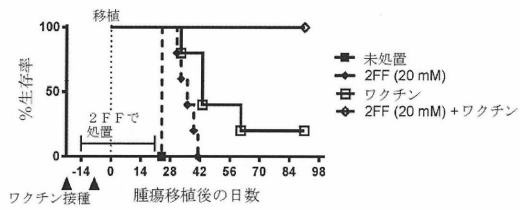
(4 2) 前記組成物は、固体または液体製剤である、(4 1) に記載の方法。

(4 3) 前記対象は哺乳類である、(2 3) ~ (4 2) のいずれかに記載の方法。

(4 4) 前記哺乳類はヒトである、(4 3) に記載の方法。

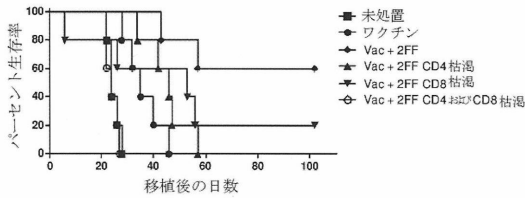
【図 1 A】

図 1 A



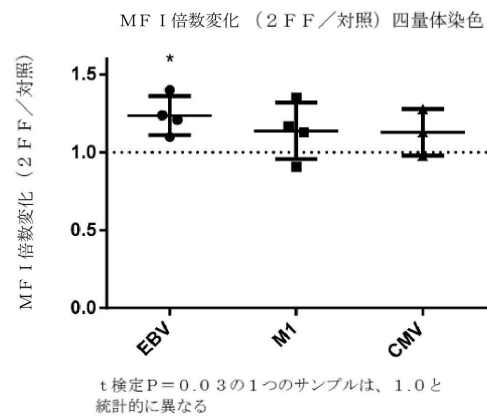
【図 1 B】

図 1 B



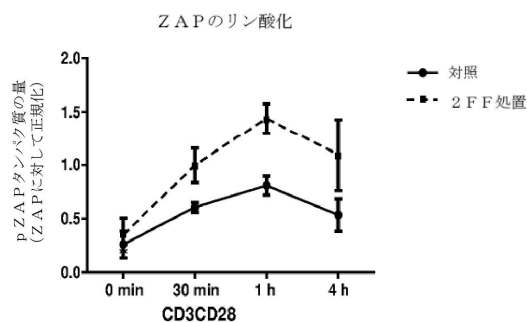
【図 3】

図 3



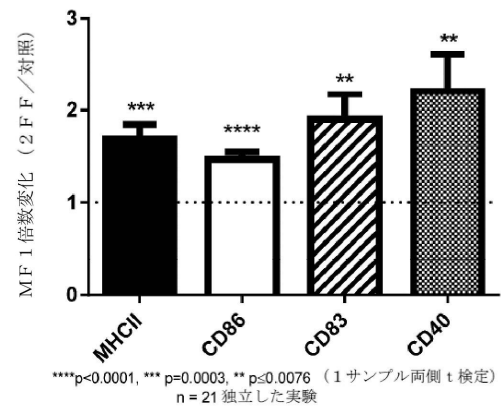
【図 4】

図 4



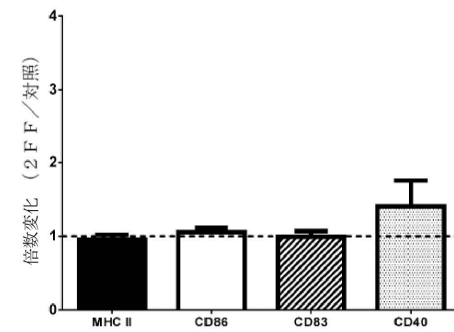
【図 2 A】

図 2 A



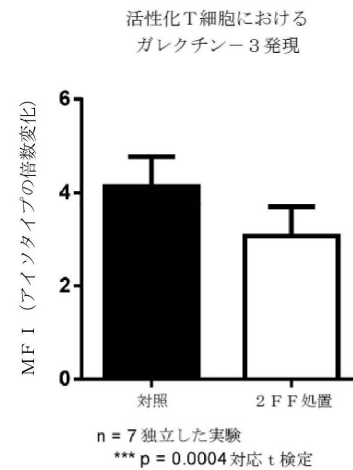
【図 2 B】

図 2 B



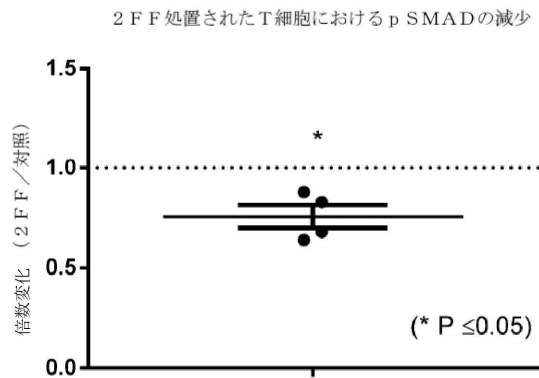
【図 5】

図 5



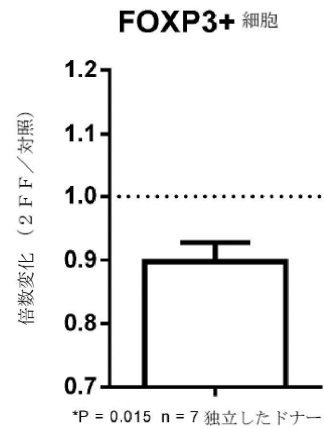
【図 6】

図 6



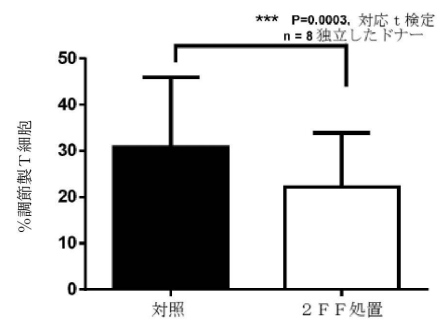
【図 7 A】

図 7 A



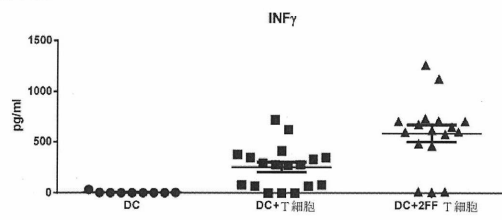
【図 7 B】

図 7 B



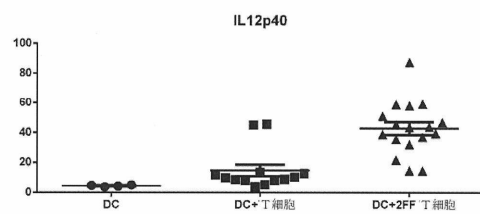
【図 8 A】

図 8 A



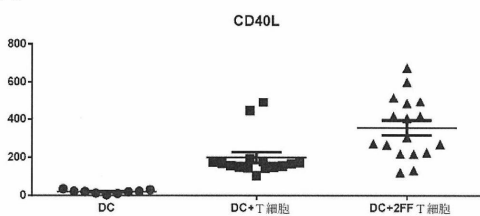
【図 8 B】

図 8 B



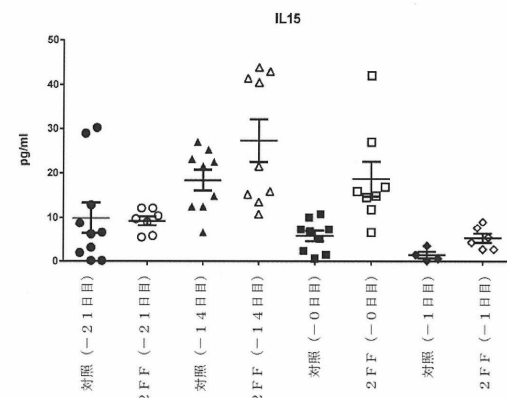
【図 8 C】

図 8 C



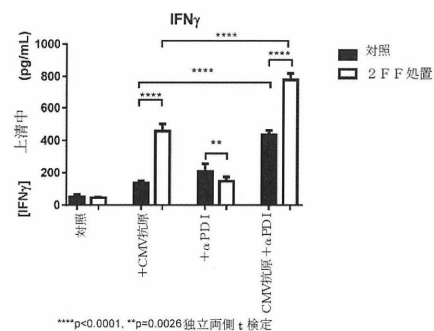
【図 9】

図 9



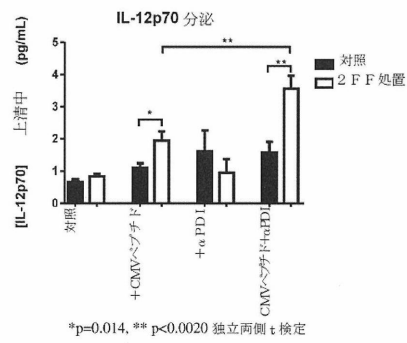
【図 10 A】

図 10 A



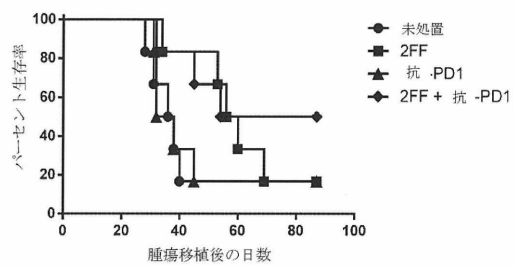
【図 10 B】

図 10 B



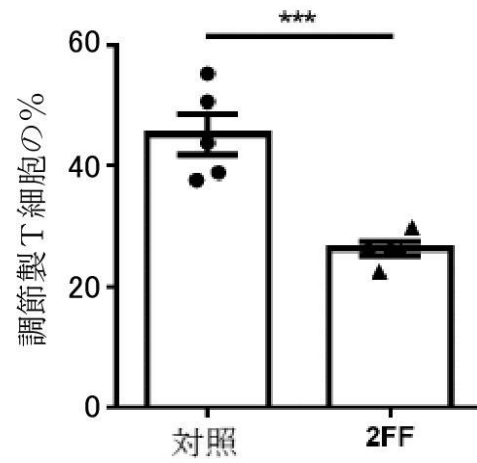
【図 11】

図 11



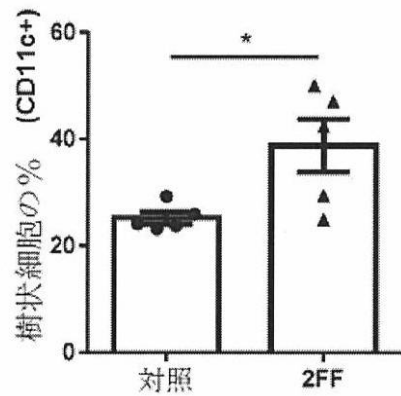
【図 12 A】

図 12 A



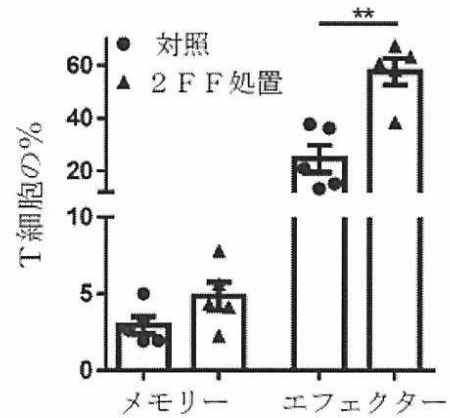
【図 12 B】

図 12 B



【図 12 C】

図 12 C



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P	35/04	(2006.01)	A 6 1 P 35/04
A 6 1 K	9/20	(2006.01)	A 6 1 K 9/20
A 6 1 K	9/08	(2006.01)	A 6 1 K 9/08
			A 6 1 K 39/395 U

(31)優先権主張番号 62/321,857

(32)優先日 平成28年4月13日(2016.4.13)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)(72)発明者 センター, ピーター
アメリカ合衆国 9 8 0 2 1 ワシントン州, ボセル, 3 0 ティーエイチ ドライブ エスイー
2 1 8 2 3(72)発明者 オケリー, ニコル
アメリカ合衆国 9 8 0 2 1 ワシントン州, ボセル, 3 0 ティーエイチ ドライブ エスイー
2 1 8 2 3(72)発明者 フィールド, ジェシカ
アメリカ合衆国 9 8 0 2 1 ワシントン州, ボセル, 3 0 ティーエイチ ドライブ エスイー
2 1 8 2 3

審査官 星 功介

(56)参考文献 特表2 0 1 3 - 5 4 1 5 0 3 (J P , A)
国際公開第2 0 1 5 / 0 6 9 7 7 0 (WO , A 1)
Cancer Research , 2014, Vol.74, No.19, Supplement , <URL:https://cancerres.aacrjournals.
org/content/74/19_Supplement/2890>

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0
A 6 1 K 3 9 / 0 0 - 3 9 / 4 4
A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S / W P I D S
(S T N)