

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

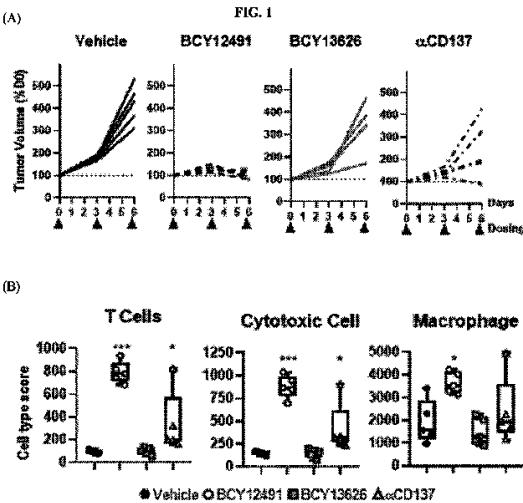
(11)公表番号
特表2024-502189
(P2024-502189A)

(43)公表日 令和6年1月17日(2024.1.17)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	38/04 (2006.01)	A 6 1 K	38/04		4 C 0 7 6
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	Z N A	4 C 0 8 4
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	4 C 0 8 5
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00		4 H 0 4 5
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	D	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全105頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-541750(P2023-541750)	(71)出願人	522208933	バイシクルティーエクス・リミテッド B i c y c l e T x L i m i t e d 英国シービー22・3エイティ、ケンブリッジ、バブラハム・リサーチ・キャンパス、ビルディング900	
(86)(22)出願日	令和4年1月11日(2022.1.11)	(74)代理人	100145403		
(85)翻訳文提出日	令和5年9月7日(2023.9.7)	(74)代理人	弁理士 山尾 憲人		
(86)国際出願番号	PCT/GB2022/050055	(74)代理人	100156144		
(87)国際公開番号	WO2022/148979	(72)発明者	キーン, ニコラス		
(87)国際公開日	令和4年7月14日(2022.7.14)		英国シービー22・3エイティ、ケンブリッジ、バブラハム・リサーチ・キャンパス、ビルディング900、バイシクル	ティエクス・リミテッド内 最終頁に続く	
(31)優先権主張番号	63/135,858				
(32)優先日	令和3年1月11日(2021.1.11)				
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/135,865				
(32)優先日	令和3年1月11日(2021.1.11)			最終頁に続く	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				
(31)優先権主張番号	63/138,019				

(54)【発明の名称】 癌を処置する方法

(57)【要約】
本発明は、患者における癌を処置する方法に関する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

患者における癌を処置する方法であって、該患者に治療有効量のヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤を投与することを含み、ここで、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 1以上のCD137結合ペプチドリガンド

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々は少なくとも2つのループ配列により離された少なくとも3つの反応性基および少なくとも2つのポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドの反応性基と共有結合を形成する分子足場を含むポリペプチドを含むものである、方法。

10

【請求項 2】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 1以上のCD137結合ペプチドリガンド

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々が少なくとも2つのポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドのシステイン残基と共有結合を形成する分子足場を含むポリペプチドを含む、請求項1の方法。

20

【請求項 3】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 2以上のCD137結合ペプチドリガンド

を含む、請求項1または2の方法。

【請求項 4】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 2以上のCD137結合ペプチドリガンド

を含む、請求項1または2の方法。

30

【請求項 5】

CD137結合ペプチドリガンドが

C_iIEEGQY C_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号5)；

C_i[tBuAla]PE[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号6)；

C_iIEEGQY C_{ii}F[D-Ala]DPY[NLe]C_{iii}(配列番号7)；

C_i[tBuAla]PK[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号8)；

C_i[tBuAla]PE[D-Lys]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号9)；

C_i[tBuAla]P[K(PYA)][D-Ala]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号10)；

40

C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号11)；

(配列番号11)－A(ここでBCY14601と称する)；

C_iIEE[D-Lys(PYA)]QY C_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号12)；

C_i[tBuAla]PE[dK]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号60)；

C_iIEE[dK(PYA)]QY C_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号61)；

C_i[tBuAla]EE(dK)PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号62)；

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号63)；

C_i[tBuAla]EE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号64)；

50

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FANPY[NLe]C_{iii}(配列番号65);
C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAEPY[NLe]C_{iii}(配列番号66);
C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FA[Aad]PY[NLe]C_{iii}(配列番号67);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAQPY[NLe]C_{iii}(配列番号68);
C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe][Cysam]_{iii}(配列番号69);

[MerPro]_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号70;ここでBCY12353と称する);

[MerPro]_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe][Cysam]_{iii}(配列番号71;ここでBCY12354と称する);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号72);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号73);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号74;

ここでBCY12372と称する);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeAla]Y[NLe]C_{iii}(配列番号75);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeDA]Y[NLe]C_{iii}(配列番号76);

C_i[tBuAla]P[K(PYA)][dA]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号77);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号78);

C_i[tBuAla]PE[dK(Me,PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号79);

C_i[tBuAla]PE[dK(Me,PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号80);および

[MerPro]_i[tBuAla]EE[dK]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号81;ここでBCY13137と称する)

〔式中、[MerPro]_i、C_i、C_{ii}、C_{iii}および[Cysam]_{iii}がシステイン、MerProおよびCysamから選択される第一(i)、第二(ii)および第三(iii)反応性基を表し、NLeがノルロイシンを表し、tBuAlaが α -ブチルアラニンを表し、PYAが4-ペンチン酸を表し、Aadが α -アミノアジピン酸を表し、MerProが3-メルカプトプロピオン酸を表し、そしてCysamがシステアミンを表し、NMeAlaがN-メチルアラニンを表す。〕

から選択されるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項1～4の何れかの方法。

【請求項6】

CD137結合ペプチドリガンドが

C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号11)

〔式中、C_i、C_{ii}およびC_{iii}がそれぞれ第一、第二および第三システイン残基を表し、tBuAlaが α -ブチルアラニンを表し、PYAが4-ペンチン酸を表し、NLeがノルロイシンを表す。〕

であるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項1～5の何れかの方法。

【請求項7】

CD137結合二環式ペプチドリガンドがN末端およびC末端修飾を含み、

Ac-A-(配列番号5)-Dap(ここでBCY7732と称する);

Ac-A-(配列番号5)-Dap(PYA)(ここでBCY7741と称する);

Ac-(配列番号6)-Dap(ここでBCY9172と称する);

10

20

30

40

50

A c - (配列番号 6) - D a p (P Y A) (ここで B C Y 1 1 0 1 4 と称する) ;
 A c - A - (配列番号 7) - D a p (ここで B C Y 8 0 4 5 と称する) ;
 A c - (配列番号 8) - A (ここで B C Y 8 9 1 9 と称する) ;
 A c - (配列番号 9) - A (ここで B C Y 8 9 2 0 と称する) ;
 A c - (配列番号 10) - A (ここで B C Y 8 9 2 7 と称する) ;
 A c - (配列番号 11) - A (ここで B C Y 8 9 2 8 と称する) ;
 A c - A - (配列番号 12) - A (ここで B C Y 7 7 4 4 と称する) ;
 A c - (配列番号 60) - D a p (P Y A) (ここで B C Y 1 1 1 4 4 と称する) ;
 A c - A - (配列番号 61) - K (ここで B C Y 1 1 6 1 3 と称する) ;
 A c - (配列番号 62) - D a p (P Y A) (ここで B C Y 1 2 0 2 3 と称する) ;
 A c - (配列番号 63) (ここで B C Y 1 2 1 4 9 と称する) ;
 A c - (配列番号 64) (ここで B C Y 1 2 1 4 3 と称する) ;
 A c - (配列番号 65) (ここで B C Y 1 2 1 4 7 と称する) ;
 A c - (配列番号 66) (ここで B C Y 1 2 1 4 5 と称する) ;
 A c - (配列番号 67) (ここで B C Y 1 2 1 4 6 と称する) ;
 A c - (配列番号 68) (ここで B C Y 1 2 1 5 0 と称する) ;
 A c - (配列番号 69) (ここで B C Y 1 2 3 5 2 と称する) ;
 A c - (配列番号 72) - [1 , 2 - ジアミノエタン] (ここで B C Y 1 2 3 5 8 と称する) ;
 [パルミチン酸] - [y G l u] - [y G l u] - (配列番号 73) (ここで B C Y 1 2 3 6 0 と
 称する) ;
 A c - (配列番号 75) (ここで B C Y 1 2 3 8 1 と称する) ;
 A c - (配列番号 76) (ここで B C Y 1 2 3 8 2 と称する) ;
 A c - (配列番号 77) - K (ここで B C Y 1 2 3 5 7 と称する) ;
 A c - (配列番号 78) - [d A] (ここで B C Y 1 3 0 9 5 と称する) ;
 [A c] - (配列番号 78) - K (ここで B C Y 1 3 3 8 9 と称する) ;
 A c - (配列番号 79) - [d A] (ここで B C Y 1 3 0 9 6 と称する) ; および
 A c - (配列番号 80) (ここで B C Y 1 3 0 9 7 と称する)
 [式中、A c がアセチル基を表し、D a p がジアミノプロピオン酸を表し、そして P Y A
 が 4 - ペンチン酸を表す。]

10

20

30

またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項 1 ～ 6 の何れかの方法。

【請求項 8】

C D 1 3 7 結合二環式ペプチドリガンドが N 末端および C 末端修飾を含み、
 A c - (配列番号 11) - A (ここで B C Y 8 9 2 8 と称する)

[式中、A c がアセチル基を表す。]

またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項 1 ～ 7 の何れかの方法。

【請求項 9】

癌細胞に存在する成分がネクチン - 4 および第一ペプチドリガンドがネクチン - 4 結合二環式ペプチドリガンドを含む、請求項 1 ～ 8 の何れかの方法。

【請求項 10】

ネクチン - 4 結合二環式ペプチドリガンドが

C_i P [1 N a l] [d D] C_{ii} M [H A r g] D W S T P [H y P] W C_{iii} (配列番号 1 ; ここで
 B C Y 8 1 1 6 と称する) ;

C_i P [1 N a l] [d K] (S a r₁₀ - (B - A l a)) C_{ii} M [H A r g] D W S T P [H y P]
 W C_{iii} (配列番号 3) ;

C_i P F G C_{ii} M [H A r g] D W S T P [H y P] W C_{iii} (配列番号 4 ; ここで B C Y 1 1
 4 1 4 と称する) ;

C_i P [1 N a l] [d K] C_{ii} M [H A r g] D W S T P [H y P] W C_{iii} (配列番号 14) ;

[M e r P r o]_i P [1 N a l] [d K] C_{ii} M [H A r g] D W S T P [H y P] W C_{iii} (配列番
 号 15 ; ここで B C Y 1 2 3 6 3 と称する) ;

C_i P [1 N a l] [d K] C_{ii} M [H A r g] D W S T P [H y P] W [C y s a m]_{iii} (配列番号

40

50

16);

[MerPro]_iP[1NaL][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]W[Cysam]_{iii}(配列番号17;ここでBCY12365と称する);

C_iP[1NaL][dK]C_{ii}M[HArg]HWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号18);

C_iP[1NaL][dK]C_{ii}M[HArg]EWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号19);

C_iP[1NaL][dE]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号20;ここでBCY12368と称する);

C_iP[1NaL][dA]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号21;ここでBCY12369と称する);

C_iP[1NaL][dE]C_{ii}L[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号22;ここでBCY12370と称する);および

C_iP[1NaL][dE]C_{ii}M[HArg]EWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号23;ここでBCY12384と称する)

〔式中、[MerPro]_i、C_i、C_{ii}、C_{iii}および[Cysam]_{iii}がシステイン、MerProおよびCysamから選択される第一(i)、第二(ii)および第三(iii)反応性基を表し、1NaLが1-ナフトルアラニンを表し、HArgがホモアルギニンを表し、HyPがtrans-4-ヒドロキシ-γ-プロリンを表し、Sar₁₀が10個のサルコシン単位を表し、B-Alaがベータ-アラニンを表し、MerProが3-メルカプトプロピオン酸を表し、そしてCysamがシステアミンを表す。〕

から選択されるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項9の方法。

【請求項11】

ネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドが所望によりN末端修飾を含み、

配列番号1(ここでBCY8116と称する);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (配列番号1)(ここでBCY8846と称する);

[PYA]- (配列番号1)(ここでBCY11015と称する);

[PYA]-[B-Ala]- (配列番号1)(ここでBCY11016と称する);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (配列番号2)(ここでBCY11942と称する);

Ac- (配列番号3)(ここでBCY8831と称する);

配列番号4(ここでBCY11414と称する);

[PYA]-[B-Ala]- (配列番号14)(ここでBCY11143と称する);

パルミチン-yGlu-yGlu- (配列番号14)(ここでBCY12371と称する);

Ac- (配列番号14)(ここでBCY12024と称する);

Ac- (配列番号16)(ここでBCY12364と称する);

Ac- (配列番号18)(ここでBCY12366と称する);および

Ac- (配列番号19)(ここでBCY12367と称する)

〔式中、YAが4-ペンチン酸を表し、B-Alaがベータ-アラニンを表し、Sar₁₀が10個のサルコシン単位を表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項9または10の方法。

【請求項12】

ネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドが配列番号1(ここでBCY8116と称する)を含む、請求項9～11の何れかの方法。

【請求項13】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体がBCY11027、BCY11863およびBCY11864などの表AおよびBに挙げるものまたはその薬学的に許容される塩から選択される、請求項9～12の何れかの方法。

【請求項14】

癌細胞に存在する成分がEphA2であり、第一ペプチドリガンドがEphA2結合二環式ペプチドリガンドを含む、請求項1～8の何れかの方法。

【請求項15】

10

20

30

40

50

E p h A 2 結合二環式ペプチドリガンドが

C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L H P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 2 4) ;
 C_iL W D P T P C_{ii}A N L H L[H A r g]C_{iii}(配列番号 2 5) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[K(P Y A)]P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 2 6) ;
 C_i[H y P][K(P Y A)]V N P L C_{ii}L H P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 2 7) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}[K(P Y A)]H P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 2 8) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L K P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 2 9) ;
 C_i[H y P]K V N P L C_{ii}L H P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 3 0) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}K H P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 3 1) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L H P[d E]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 3 2) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L E P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 3 3) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L H P[d D]W T C_{iii}(配列番号 3 4) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L E P[d D]W T C_{iii}(配列番号 3 5) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L E P[d A]W T C_{iii}(配列番号 3 6) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[3,3-D P A]P[d D]W T C_{iii}(配列番号 3 7 ; ここで
 B C Y 1 2 8 6 0 と称する) ;
 C_i[H y P][C b a]V N P L C_{ii}L H P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 3 8) ;
 C_i[H y P][C b a]V N P L C_{ii}L E P[d D]W T C_{iii}(配列番号 3 9) ;
 C_i[H y P][C b a]V N P L C_{ii}L[3,3-D P A]P[d D]W T C_{iii}(配列番号 4 0) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[3,3-D P A]P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 4 1) ;
 ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L H P[d 1 N a l]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 4 2) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[1 N a l]P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 4 3) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L E P[d 1 N a l]W T C_{iii}(配列番号 4 4) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[1 N a l]P[d D]W T C_{iii}(配列番号 4 5 ; ここで B C
 Y 1 3 1 1 9 と称する) ;
 C_i[H y P][C b a]V N P L C_{ii}L E P[d A]W T C_{iii}(配列番号 4 6) ;
 C_i[H y P][h G l u]V N P L C_{ii}L H P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 4 7) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}[h G l u]H P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 4 8) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[h G l u]P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 4 9) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L H P[d N l e]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 5 0) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[N l e]P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 5 1) ;
 [M e r P r o]_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[3,3-D P A]P[d D]W T C_{iii}(配列番号
 1 5 4) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L H P[d D]W[H A r g][C y s a m]_{iii}(配列番号 1 5 5) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[H i s 3 M e]P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 1 5 6
) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[H i s 1 M e]P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 1 5 7
) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[4 T h i A z]P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 1 5 8
) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L F P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 1 5 9) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[T h i]P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 1 6 0) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[3 T h i]P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 1 6 1) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L N P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 1 6 2) ;
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L Q P[d D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 1 6 3) ; および
 C_i[H y P]L V N P L C_{ii}L[K(P Y A-(パルミトイル-G l u-L y s N₃))]P[d
 D]W[H A r g]C_{iii}(配列番号 1 6 4)
 [式中、[M e r P r o]_i、C_i、C_{ii}、C_{iii}および[C y s a m]_{iii}がシステイン、M e
 r P r o および C y s a m から選択される第一(i)、第二(ii)および第三(iii)反応性基を

10

20

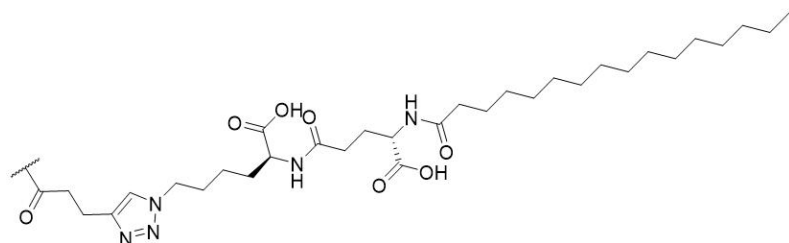
30

40

50

表し、H y Pがtrans-4-ヒドロキシ-L-プロリンを表し、H A r gがホモアルギニンを表し、P Y Aが4-ペンチン酸を表し、3,3-D P Aが3,3-ジフェニルアラニンを表し、C b aがβ-シクロブチルアラニンを表し、1 N a lが1-ナフチルアラニンを表し、h G l uがホモグルタミン酸を表し、T h iがチエニル-アラニンを表し、4 T h i A zがベーター-(4-チアゾリル)-アラニンを表し、H i s 1 M eがN1-メチル-L-ヒスチジンを表し、H i s 3 M eがN3-メチル-L-ヒスチジンを表し、3 T h i iを表し、パルミトイル-G l u-L y s N₃[P Y A]が

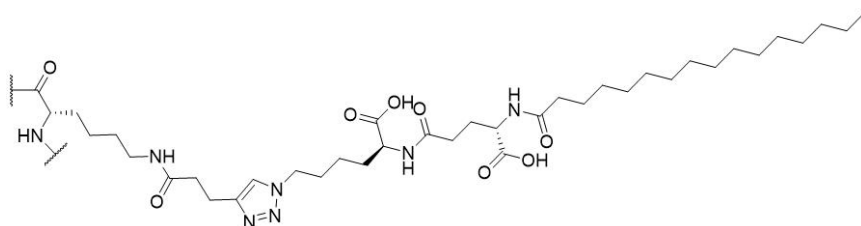
【化1】



(パルミトイル-Glu-LysN₃)[PYA]

を表し、[K(P Y A-(パルミトイル-G l u-L y s N₃))]が

【化2】



[K(PYA(パルミトイル-Glu-LysN₃))]

を表し、N l eがノルロイシンを表し、M e r P r oが3-メルカプトプロピオン酸を表し、そしてC y s a mがシステアミンを表す。]

から選択されるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項14の方法。

【請求項16】

E p h A 2 結合二環式ペプチドリガンドが

C i [H y P] L V N P L C i i L H P [d D] W [H A r g] C i i i (配列番号24)

〔式中、C i、C i i、C i i iが第一(i)、第二(ii)および第三(iii)システイン基を表し、H y Pがtrans-4-ヒドロキシ-L-プロリンを表し、H A r gがホモアルギニンを表す。〕

であるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項14または15の方法。

【請求項17】

E p h A 2 結合二環式ペプチドリガンドが

C i [H y P] L V N P L C i i L E P [d 1 N a l] W T C i i i (配列番号44)

〔式中、C i、C i i、C i i iが第一(i)、第二(ii)および第三(iii)システイン基を表し、H y Pがtrans-4-ヒドロキシ-L-プロリンを表し、1 N a lが1-ナフチルアラニンを表す。〕

であるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項14～16の何れかの方法。

【請求項18】

E p h A 2 結合二環式ペプチドリガンドが所望によりN末端修飾を含み、

A-[H A r g]-D-(配列番号24)(ここでB C Y 9 5 9 4と称する)；

10

20

30

40

50

[B-A l a]-[S a r 1 0]-A-[H A r g]-D-(配列番号 2 4)(ここで B C Y 6 0 9 と称する);

[P Y A]-A-[H A r g]-D-(配列番号 2 4)(ここで B C Y 1 1 8 1 3 と称する);

A c-A-[H A r g]-D-(配列番号 2 4)-[K(P Y A)](ここで B C Y 1 1 8 1 4 と称する);

A c-A-[H A r g]-D-(配列番号 2 4)-K(ここで B C Y 1 2 7 3 4 と称する);

[N M e A l a]-[H A r g]-D-(配列番号 2 4)(ここで B C Y 1 3 1 2 1 と称する);

[A c]-(配列番号 2 4)-L[d H]G[d K](ここで B C Y 1 3 1 2 5 と称する);

[P Y A]-[B-A l a]-[S a r 1 0]-V G P-(配列番号 2 5)(ここで B C Y 8 9 4 1 と称する);

A c-A-[H A r g]-D-(配列番号 2 6)(ここで B C Y 1 1 8 1 5 と称する);

A c-A-[H A r g]-D-(配列番号 2 7)(ここで B C Y 1 1 8 1 6 と称する);

A c-A-[H A r g]-D-(配列番号 2 8)(ここで B C Y 1 1 8 1 7 と称する);

A c-A-[H A r g]-D-(配列番号 2 9)(ここで B C Y 1 2 7 3 5 と称する);

(パルミトイル-G l u-L y s N₃)[P Y A]A[H A r g]D-(配列番号 2 9)(以後 B C Y 1 4 3 2 7 と称する);

A c-A-[H A r g]-D-(配列番号 3 0)(ここで B C Y 1 2 7 3 6 と称する);

A c-A-[H A r g]-D-(配列番号 3 1)(ここで B C Y 1 2 7 3 7 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 3 2)(ここで B C Y 1 2 7 3 8 と称する);

A-[H A r g]-E-(配列番号 3 2)(ここで B C Y 1 2 7 3 9 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 3 3)(ここで B C Y 1 2 8 5 4 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 3 4)(ここで B C Y 1 2 8 5 5 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 3 5)(ここで B C Y 1 2 8 5 6 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 3 5)-[d A](ここで B C Y 1 2 8 5 7 と称する);

(配列番号 3 5)-[d A](ここで B C Y 1 2 8 6 1 と称する);

[N M e A l a]-[H A r g]-D-(配列番号 3 5)(ここで B C Y 1 3 1 2 2 と称する);

[d A]-E D-(配列番号 3 5)(ここで B C Y 1 3 1 2 6 と称する);

[d A]-[d A]-D-(配列番号 3 5)(ここで B C Y 1 3 1 2 7 と称する);

A D-(配列番号 3 5)(ここで B C Y 1 3 1 2 8 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 3 6)(ここで B C Y 1 2 8 5 8 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 3 7)(ここで B C Y 1 2 8 5 9 と称する);

A c-(配列番号 3 7)-[d K](ここで B C Y 1 3 1 2 0 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 3 8)(ここで B C Y 1 2 8 6 2 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 3 9)(ここで B C Y 1 2 8 6 3 と称する);

[d A]-[H A r g]-D-(配列番号 3 9)-[d A](ここで B C Y 1 2 8 6 4 と称する);

(配列番号 4 0)-[d A](ここで B C Y 1 2 8 6 5 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 4 1)(ここで B C Y 1 2 8 6 6 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 4 2)(ここで B C Y 1 3 1 1 6 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 4 3)(ここで B C Y 1 3 1 1 7 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 4 4)(ここで B C Y 1 3 1 1 8 と称する);

[d A]-[H A r g]-D-(配列番号 4 6)-[d A](ここで B C Y 1 3 1 2 3 と称する);

[d 1 N a l]-[H A r g]-D-(配列番号 4 6)-[d A](ここで B C Y 1 3 1 2 4 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 4 7)(ここで B C Y 1 3 1 3 0 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 4 8)(ここで B C Y 1 3 1 3 1 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 4 9)(ここで B C Y 1 3 1 3 2 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 5 0)(ここで B C Y 1 3 1 3 4 と称する);

A-[H A r g]-D-(配列番号 5 1)(ここで B C Y 1 3 1 3 5 と称する);

(配列番号 1 5 4)-[d K](ここで B C Y 1 3 1 2 9 と称する);

A[H A r g]D-(配列番号 1 5 5)(ここで B C Y 1 3 1 3 3 と称する);

10

20

30

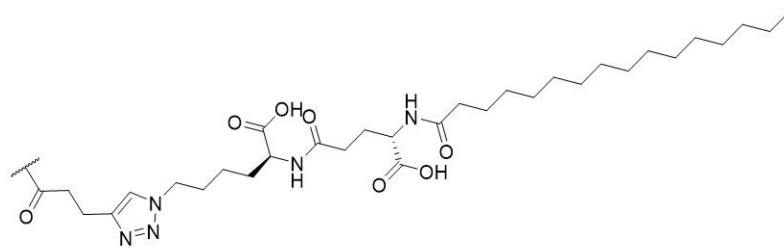
40

50

A[H A r g]D-(配列番号156)(ここでBCY13917と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号157)(ここでBCY13918と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号158)(ここでBCY13919と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号159)(ここでBCY13920と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号160)(ここでBCY13922と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号161)(ここでBCY13923と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号162)(ここでBCY14047と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号163)(ここでBCY14048と称する);および
 A[H A r g]D-(配列番号164)(ここでBCY14313と称する)

〔式中、Y Aが4-ペンチン酸を表し、B-A l aがベーターアラニンを表し、S a r₁₀が10個のサルコシン単位を表し、H A r gがホモアルギニンを表し、N M e A l aがN-メチルアラニンを表し、1 N a lが1-ナフチルアラニンを表し、パルミトイル-G l u-L y s N₃[P Y A]が

【化3】



(パルミトイル-Glu-LysN₃)[PYA]

を表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項14~17の何れかの方法。

【請求項19】

E p h A 2結合二環式ペプチドリガンド所望によりがN末端修飾を含み、

A-[H A r g]-D-(配列番号24)(ここでBCY9594と称する)

〔式中、H A r gがホモアルギニンを表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項14~18の何れかの方法。

【請求項20】

E p h A 2結合二環式ペプチドリガンド所望によりがN末端修飾を含み、

A-[H A r g]-D-(配列番号44)(ここでBCY13118と称する)

〔式中、H A r gがホモアルギニンを表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項14~19の何れかの方法。

【請求項21】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体がBCY12491、BCY12730、BCY13048、BCY13050、BCY13053およびBCY13272などの表Cに挙げるものまたはその薬学的に許容される塩から選択される、請求項14~20の何れかの方法。

【請求項22】

分子足場が1,1',1''-(1,3,5-トリアジナン-1,3,5-トリイル)トリプロプ-2-エン-1-オン(T A T A)である、請求項1~21の何れかの方法。

【請求項23】

癌免疫療法剤がチェックポイント阻害剤である、請求項1~22の何れかの方法。

【請求項24】

チェックポイント阻害剤がPD-1アンタゴニストである、請求項23の方法。

【請求項25】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤が同時にまたは逐次的に投与される、請求項1~24の何れかの方法。

【請求項 26】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤が互いに1日、2日、3日、4日、5日、6日または7日以内に投与される、請求項1～25の何れかの方法。

【請求項 27】

患者における癌を処置する方法であって、該患者に治療有効量のBT7480またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤を投与することを含む、方法。

【請求項 28】

癌免疫療法剤がチェックポイント阻害剤である、請求項27の方法。

【請求項 29】

チェックポイント阻害剤が抗PD-1抗体である、請求項28の方法。

【請求項 30】

抗PD-1抗体がペムブロリズマブまたはニボルマブである、請求項29の方法。

【請求項 31】

チェックポイント阻害剤が抗PD-L1抗体である、請求項28の方法。

【請求項 32】

抗PD-L1抗体がデュルバルマブまたはアテゾリズマブである、請求項31の方法。

【請求項 33】

チェックポイント阻害剤が抗CTLA-4抗体である、請求項28の方法。

【請求項 34】

抗CTLA-4抗体がイピリムマブである、請求項33の方法。

【請求項 35】

BT7480またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤が同時にまたは逐次的に投与される、請求項27～34の何れかの方法。

【請求項 36】

BT7480またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤が互いに1日、2日、3日、4日、5日、6日または7日以内に投与される、請求項27～35の何れかの方法。

【請求項 37】

BT7480またはその薬学的に許容される塩が静脈内点滴により投与される、請求項27～36の何れかの方法。

【請求項 38】

BT7480またはその薬学的に許容される塩が週1回の頻度で投与される、請求項27～37の何れかの方法。

【請求項 39】

BT7480またはその薬学的に許容される塩が週2回の頻度で投与される、請求項27～37の何れかの方法。

【請求項 40】

BT7480またはその薬学的に許容される塩が約0.1～75 mg/kgの用量で投与される、請求項27～39の何れかの方法。

【請求項 41】

癌の処置のための医薬の製造におけるBT7480またはその薬学的に許容される塩の使用であって、医薬がチェックポイント阻害剤と組み合わせて使用されるものである、使用。

【請求項 42】

医薬がさらにヒスチジンを含む、請求項41の使用。

【請求項 43】

医薬がさらにスクロースを含む、請求項41または42の使用。

【請求項 44】

医薬がBT7480またはその薬学的に許容される塩、ヒスチジン、スクロースおよび

10

20

30

40

50

水を含む、約 pH 7 の製剤である、請求項 4 1 ~ 4 3 の何れかの使用。

【請求項 4 5】

癌が高ネクチン-4 発現である、請求項 2 7 ~ 4 0 の何れかの方法または請求項 4 1 ~ 4 4 の何れかの使用。

【請求項 4 6】

癌が固形腫瘍である、請求項 2 7 ~ 4 0 の何れかの方法または請求項 4 1 ~ 4 4 の何れかの使用。

【請求項 4 7】

固形腫瘍が肉腫、癌またはリンパ腫である、請求項 4 6 の方法または使用。

【請求項 4 8】

患者における癌を処置する方法であって、該患者に治療有効量の B T 7 4 5 5 またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤を投与することを含む、方法。

【請求項 4 9】

癌免疫療法剤がチェックポイント阻害剤である、請求項 4 8 の方法。

【請求項 5 0】

チェックポイント阻害剤が抗 P D - 1 抗体である、請求項 4 9 の方法。

【請求項 5 1】

抗 P D - 1 抗体がペムブロリズマブまたはニボルマブである、請求項 5 0 の方法。

【請求項 5 2】

チェックポイント阻害剤が抗 P D - L 1 抗体である、請求項 4 9 の方法。

【請求項 5 3】

抗 P D - L 1 抗体がデュルバルマブまたはアテゾリズマブである、請求項 5 2 の方法。

【請求項 5 4】

チェックポイント阻害剤が抗 C T L A - 4 抗体である、請求項 4 9 の方法。

【請求項 5 5】

抗 C T L A - 4 抗体がイピリムマブである、請求項 5 4 の方法。

【請求項 5 6】

B T 7 4 5 5 またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤が同時にまたは逐次的に投与される、請求項 4 8 ~ 5 5 の何れかの方法。

【請求項 5 7】

B T 7 4 5 5 またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤が互いに 1 日、2 日、3 日、4 日、5 日、6 日または 7 日以内に投与される、請求項 4 8 ~ 5 6 の何れかの方法。

【請求項 5 8】

B T 7 4 5 5 またはその薬学的に許容される塩が静脈内点滴により投与される、請求項 4 8 ~ 5 7 の何れかの方法。

【請求項 5 9】

B T 7 4 5 5 またはその薬学的に許容される塩が週 1 回の頻度で投与される、請求項 4 8 ~ 5 8 の何れかの方法。

【請求項 6 0】

B T 7 4 5 5 またはその薬学的に許容される塩が週 2 回の頻度で投与される、請求項 4 8 ~ 5 8 の何れかの方法。

【請求項 6 1】

癌の処置のための医薬の製造における B T 7 4 5 5 またはその薬学的に許容される塩の使用であって、医薬がチェックポイント阻害剤と組み合わせて使用されるものである、使用。

【請求項 6 2】

医薬がさらにヒスチジンを含む、請求項 6 1 の使用。

【請求項 6 3】

医薬がさらにスクロースを含む、請求項 6 1 または 6 2 の使用。

10

20

30

40

50

【請求項 6 4】

医薬が B T 7 4 5 5 またはその薬学的に許容される塩、ヒスチジン、スクロースおよび水を含む、約 p H 7 の製剤である、請求項 6 1 ~ 6 3 の何れかの使用。

【請求項 6 5】

癌が高 E p h A 2 発現である、請求項 4 8 ~ 6 0 の何れかの方法または請求項 6 1 ~ 6 4 の何れかの使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、癌の処置のための、1 以上の C D 1 3 7 結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩の、癌免疫療法剤と組み合わせた使用に関する。本発明はまた薬学的に許容される 1 以上の C D 1 3 7 結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩を含む組成物も提供する。

【背景技術】

【0002】

環状ペプチドは、高親和性および標的特異性でタンパク質標的に結合でき、故に治療剤開発のための魅力的な分子群である。実際、例えば、抗細菌ペプチドバンコマイシン、免疫抑制剤薬物シクロスポリンまたは抗癌薬物オクトレオチドのように、数種の環状ペプチドが既に臨床での使用に成功している(Driggers et al. (2008), Nat Rev Drug Discov 7 (7), 608-24)。良好な結合性質はペプチドと標的の間で形成される比較的大きな相互作用表面および環状構造の低い配座柔軟性に起因する。典型的に、大環状分子は、例えば、環状ペプチド C X C R 4 アンタゴニスト C V X 1 5 ($400 \text{ \AA}^2$; Wu et al. (2007), Science 330, 1066-71)、インテグリン α V b 3 に結合する A r g - G l y - A s p モチーフを有する環状ペプチド ($355 \text{ \AA}^2$) (Xiong et al. (2002), Science 296 (5565), 151-5) またはウロキナーゼ型プラスミノーゲンアクティベーターに結合する環状ペプチド阻害剤ウパイン-1 ($603 \text{ \AA}^2$; Zhao et al. (2007), J Struct Biol 160 (1), 1-10) のように、数百平方オングストロームの表面に結合する。

【0003】

環状配置のため、ペプチド大環状分子は直線状ペプチドより柔軟性が低く、標的への結合によるエントロピーの喪失が小さくなり、その結果、結合親和性が高くなる。低い柔軟性によりまた標的特異的配座がロックされ、直線状ペプチドと比較して結合特異性が増加する。この効果は、開環したとき、他の MMP に対する選択性を喪失する、マトリクスメタロプロテイナーゼ 8 (MMP-8) の強力かつ選択的阻害剤により例示される(Cherney et al. (1998), J Med Chem 41 (11), 1749-51)。大環状化を介して達成される好ましい結合性質は、例えばバンコマイシン、ナイシンおよびアクチノマイシンのような 1 を超えるペプチド環を有する多環状ペプチドでより顕著である。

【0004】

種々の研究チームが、これまでにシステイン残基を有するポリペプチドを合成分子構造に係留している(KempおよびMcNamara (1985), J. Org. Chem; Timmerman et al. (2005), ChemBioChem)。Meloanおよび共同研究者らはトリス(ブロモメチル)ベンゼンおよび関連分子を、タンパク質表面の構造上の模倣のための合成足場への複数ペプチドループの迅速かつ定量的環化のために使用した(Timmerman et al. (2005), ChemBioChem)。システイン含有ポリペプチドの例えばトリス(ブロモメチル)ベンゼンなどの分子足場への連結により産生される、候補薬物化合物を産生する方法は、W O 2 0 0 4 / 0 7 7 0 6 2 および W O 2 0 0 6 / 0 7 8 1 6 1 に開示される。

【0005】

ファージディスプレイベースのコンビナトリアル・アプローチが、目的の標的に対する二環式ペプチドの大ライブラリーの産生およびスクリーニングのために開発されている(Heinis et al. (2009), Nat Chem Biol 5 (7), 502-7 および W O 2 0 0 9 / 0 9 8 4 5 0)

。簡潔には、3個のシステイン残基および6個のランダムアミノ酸の2領域を含む直線状ペプチド(Cys-(Xaa)₆-Cys-(Xaa)₆-Cys)のコンビナトリアル・ライブラリーをファージ上に提示させ、システイン側鎖を小分子(トリス-(ブロモメチル)ベンゼン)に共有結合で連結させることにより環化した。

【発明の概要】

【0006】

1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩が、腫瘍に浸潤する免疫細胞および免疫応答を有意に増加させることが本発明により判明した。例えば、実施例1の転写解析は、BCY12491およびBT7480の各々での処理による、免疫細胞スコアおよび数種のT細胞走化性ケモカイン／サイトカインのmRNAの有意な増加を示す。従って、ある態様において、本発明は、癌患者における免疫応答を増加する方法であって、患者に、治療有効量の1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む、方法を提供する。

10

【0007】

1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩と癌免疫療法剤の組み合わせが、各単剤処置と比較して抗腫瘍活性を有意に改善することも本発明により判明した。例えば、実施例2のBCY12491とPD-1アンタゴニストペムブロリズマブの組み合わせ療法は、各単剤での処置と比較して、抗腫瘍活性を有意に増加させる。従って、ある態様において、本発明は、患者における癌を処置する方法であって、患者に1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤を投与することを含む、方法を提供する。

20

【図面の簡単な説明】

【0008】

【図1】BCY12491が腫瘍免疫微小環境を調節し、T細胞浸潤を誘導することを示す。(A)MC38腫瘍担持マウスを媒体、15mg/kg EphA2／CD137ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体(BCY12491)、エナンチオマー非結合対照ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体(BCY13626)をq3d i.v.または2mg/kg αCD137をq3d i.p.で処置した。個々の腫瘍体積(処置開始日の腫瘍体積に対して正規化)を処置で群分けして示す。(B)腫瘍のナノストリング解析は、T細胞(プローブセット：Cd3d、Cd3e、Cd3g、Cd6、Sh2d1aおよびTrat1)、細胞毒性細胞(プローブセット：Ctsw、Gzma、Gzmb、Klrk1、Klrk1、Klrk1、Nkg7およびPrf1)およびマクロファージ(プローブセット：Cd163、Cd68、Cd84およびMs4a4a)含量に対するBCY12491およびαCD137の効果を示す。(C)腫瘍のナノストリング解析は、チェックポイント阻害剤Pdcd1(タンパク質PD-1)、Cd274(タンパク質PD-L1)およびCtla4(タンパク質CTLA-4)転写に対するBCY12491およびαCD137の効果を示す。(D)媒体、15mg/kg BCY12491、BCY13626または2mg/kg αCD137 Q3Dで処置し、マウスCD8で染色した腫瘍の組織切片の代表的画像。(BおよびC)*<0.05、***p<0.001、一元配置ANOVAとダネットの事後検定。

30

40

【0009】

【図2】選択サイトカイン／ケモカインに対するBT7480の効果を示す。(A)正規化線形カウントデータを、BT7480処置後のMC38#13腫瘍組織の5個の異なるサイトカイン／ケモカインmRNAについて、左手側にグラフで示す。(B)細胞毒性細胞スコアおよびCcl1、Ccl-17およびCcl24正規化RNAカウントの重ね合わせは、サイトカイン／ケモカイン転写物の初期増加、続いて細胞毒性細胞スコアの増加を示す。

【0010】

50

【図3】BT7480が腫瘍免疫微小環境を調節し、CD8+T細胞浸潤を誘導することを示す。MC38#13腫瘍担持マウスを媒体、5mg/kg(0時間、24時間)のBT7480または非結合ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体対照BCY12797(NB-BCY)i.v.または2mg/kg αCD137 i.p.で処置した。腫瘍のナノストリング解析は、腫瘍組織の(A)マクロファージ(プローブセット: Cd163、Cd68、Cd84およびMs4a4a)および(B)細胞毒性細胞(プローブセット: Ctsw、Gzma、Gzmb、Klrb1、Klrd1、Klrk1、Nkg7およびPrf1)スコアに対する経時的なBT7480およびαCD137の効果を示す。(C)細胞毒性細胞スコアおよびマクロファージ細胞スコアの重ね合わせはマクロファージ細胞スコアの初期増加、続いて細胞毒性細胞スコアの増加を示す。(AおよびB)*<0.05、**p<0.01、一元配置ANOVAとダネットの事後検定。

10

【0011】

【図4】BT7480が数種の免疫チェックポイントmRNAを増加させることを示す。MC38#13腫瘍担持マウスを、媒体、5mg/kg(0時間、24時間)のBT7480または非結合ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体対照BCY12797(NB-BCY)i.v.または2mg/kg αCD137 i.p.で処置した。腫瘍のナノストリング解析は数種の免疫チェックポイントmRNAのレベルに対するBT7480およびαCD137の効果を示す。*<0.05、**p<0.01、***p<0.001 一元配置ANOVAとダネットの事後検定。

【0012】

20

【図5】0日目(処置開始後)からのBCY12491+ペムブロリズマブ組み合わせが、22日目までに100%完全応答率に至ることを示す。MC38腫瘍担持マウスを、媒体、5mg/kg BCY12491 QW(0、24時間)、3mg/kg ペムブロリズマブQWまたはそれらの組み合わせで処置した。上のグラフは処置開始から28日目までの平均腫瘍体積を示す。単剤療法および組み合わせ処置何れも腫瘍増殖に有意に影響した(* **p<0.0001、媒体と比較したD18のダネットの事後検定での混合効果解析)。さらに、組み合わせ処置は、単剤療法の何れかよりも効果的であり(* **p<0.0001、組み合わせ対単剤療法を比較するD20のダネットの事後検定での混合効果解析)、22日目までに全処置動物の完全応答をもたらした。右手側グラフは、処置コホートからの個々の腫瘍の増殖曲線を示す。

30

【0013】

【図6】BCY12491+ペムブロリズマブ組み合わせが、種々の投与順で有意な抗腫瘍活性に至ることを示す。MC38腫瘍担持マウスを、媒体、5mg/kg BCY12491 QW(0、24時間)、3mg/kg ペムブロリズマブQWまたはそれらの組み合わせで、3つの異なる投与スケジュールで処置した: BCY12491およびペムブロリズマブ処置両方を0日目に開始、BCY12491処置を0日目に開始、続いてペムブロリズマブ処置を5日目に開始またはペムブロリズマブ処置を0日目に開始、続いてBCY12491処置を5日目に開始。上のグラフは、処置開始から28日目までの平均腫瘍体積を示す。全組み合わせ処置は、有意な抗腫瘍活性を示し、42日目までに10/10(D0からBCY12491+ペムブロリズマブ)、9/10(D0からBCY12491+D5からペムブロリズマブ)および8/10(D0からペムブロリズマブおよびD5からBCY12491)完全応答であった。***p<0.0001、媒体と比較したD18のダネットの事後検定での混合効果解析。右手側グラフは、処置コホートからの個々の腫瘍の増殖曲線を示す。

40

【0014】

【図7】抗PD-1単剤療法へのBCY11864の追加は、CT26#7(ネクチン-4を過剰発現するよう操作したCT26)担持マウスの生存(ヒトエンドポイントに達するとして定義、腫瘍体積>2000mm³)を有意に[p=0.004、抗PD-1アームと抗PD-1+BCY11864組み合わせアームを比較するログランク(マンテル・コックス)検定]増加させることを示す。

50

【0015】

【図8】抗PD-1単剤療法へのBT7480の追加はMC38#13(ネクチン-4を過剰発現するよう操作したMC38)担持マウスにおける完全応答率(CR)を増加させることを示す。

【0016】

【図9】抗CTLA-4単剤療法へのBT7480の追加は、MC38#13(ネクチン-4を過剰発現するよう操作したMC38)担持マウスの生存(ヒトエンドポイントに達するとして定義、腫瘍体積 $>2000\text{mm}^3$)を有意に[$p=0.0499$ 、抗Ctla-4アームと抗Ctla-4+BT7480組み合わせアームを比較するログランク(マンテル・コックス)検定]増加させ、完全応答率を増加させることを示す。

10

【0017】

【図10】BT7455は数種の免疫チェックポイントmRNAを増加させることを示す。MC38腫瘍担持マウスを、媒体、 8mg/kg (0時間、24時間)のBT7455の静脈内投与または 2mg/kg 抗CD137抗体または 10mg/kg 抗PD-1抗体の腹腔内投与により処置した。腫瘍のナノストリング解析は数種の免疫チェックポイントmRNAのレベルに対する処置の効果を示す。24時間、48時間および144時間時点のMC38腫瘍組織のmRNAの正規化Log2カウントを示す。 $*p<0.05$ 、 $**p<0.01$ 、 $***p<0.001$ 同一時点での処置対媒体を比較する一元配置ANOVAとダネットの事後検定。

【0018】

20

【図11】24時間、48時間および24時間時点にわたる5種の選択サイトカイン/ケモカインに対するBT7455(8mg/kg)、抗PD-1および抗CD137(ウレルマブアナログ)処置の効果を示す。24時間、48時間および144時間時点のMC38腫瘍組織のmRNAの正規化Log2カウントを示す。 $*p<0.05$ 、 $**p<0.01$ 、 $****p<0.0001$ 、 0.01 一元配置ANOVAとダネットの事後検定。

【0019】

【図12】細胞毒性細胞に対するBT7455(8mg/kg)、抗PD-1および抗CD137(ウレルマブアナログ)処置の効果を示す。24時間、48時間および144時間時点での細胞毒性細胞に対する処置の効果を、MC38腫瘍組織における正規化Log2(平均と標準偏差)スコアとしての細胞毒性細胞型スコアとして示す。 $(*p<0.05$ 、処置対媒体を比較する一元配置ANOVAとダネットの事後検定)。

30

【0020】

【図13】転写解析は、BT7455による処置開始後早期時点(48時間)での数種の遺伝子セットの有意な調節($*p<0.05$ 、 $**p<0.01$ 一元配置ANOVAとダネットの事後検定)を確認したが、抗PD-1およびウレルマブアナログ(抗CD137)の効果は有意ではなかった。遺伝子セットに対する処置の効果は、MC38腫瘍組織におけるシグネチャスコア(平均と標準偏差)として示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

1. 本発明のある実施態様の記載：

40

1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩が腫瘍に浸潤する免疫細胞および免疫応答を有意に増加させ、1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩と癌免疫療法剤の組み合わせが各単剤処置と比較して抗腫瘍活性を有意に増加させることが、本発明により判明した。例えば、実施例1におけるBCY12491およびBT7480各々での処置のデータおよび実施例2におけるBCY12491単独、PD-1アンタゴニストペムブロリズマブ単独およびBCY12491とペムブロリズマブの組み合わせでの処置のデータ参照。従って、ある態様において、癌患者における免疫応答の増加のための、1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩の組合せ方

50

法または使用が提供される。他の態様において、患者における癌の処置のための1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩と癌免疫療法剤の組み合わせの方法または使用が提供される。

【0022】

ある実施態様において、本発明は、癌患者における免疫応答を増加する方法であって、患者に、治療有効量の1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む、方法を提供する。ある実施態様において、本発明は、癌患者における免疫応答を増加するための医薬の製造における、1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。

10

【0023】

ある実施態様において、本発明は、患者における癌を処置する方法であって、患者に、治療有効量の1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤を投与することを含む、方法を提供する。ある実施態様において、本発明は、患者における癌の処置のための医薬製造における1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩の使用であって、ここで、医薬が癌免疫療法剤と組み合わせて使用される、使用を提供する。

【0024】

ある実施態様において、癌はここに記載するものから選択される。ある実施態様において、癌は固形腫瘍である。ある実施態様において、癌はMT1-MMPと関連する。ある実施態様において、癌はネクチン-4と関連する。ある実施態様において、癌はEphA2と関連する。ある実施態様において、癌はPD-L1と関連する。ある実施態様において、癌はPSMAと関連する。

20

【0025】

ある実施態様において、1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は、ここに記載する、1個のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体から選択される。ある実施態様において、1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は、ここに記載する、2以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体から選択される

30

【0026】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY11863(BT7480とも称する)またはその薬学的に許容される塩である。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY13272(BT7455とも称する)またはその薬学的に許容される塩である。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY12491またはその薬学的に許容される塩である。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY11864またはその薬学的に許容される塩である。

【0027】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はここに記載するものから選択される。ある実施態様において、癌免疫療法剤はチェックポイント阻害剤である。ある実施態様において、癌免疫療法剤はPD-1アンタゴニストである。ある実施態様において、癌免疫療法剤はペムブロリズマブである。ある実施態様において、癌免疫療法剤はニボルマブである。

40

【0028】

ある実施態様において、本発明は、癌患者における免疫応答を増加する方法であって、患者に治療有効量のBT7480またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む、方法を提供する。ある実施態様において、本発明は、癌患者における免疫応答を増加するための医薬の製造における、BT7480またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。ある実施態様において、本発明は、患者における癌を処置する方法であって、患

50

者に治療有効量のBT7480またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤を投与することを含む、方法を提供する。ある実施態様において、本発明は、患者における癌の処置のための医薬製造におけるBT7480またはその薬学的に許容される塩の使用であって、ここで、該医薬が癌免疫療法剤と組み合わせて使用される、使用を提供する。

【0029】

ある実施態様において、本発明は、癌患者における免疫応答を増加する方法であって、患者に治療有効量のBT7455またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む、方法を提供する。ある実施態様において、本発明は、癌患者における免疫応答を増加するための医薬の製造における、BT7455またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。ある実施態様において、本発明は、患者における癌を処置する方法であって、患者に治療有効量のBT7455またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤を投与することを含む、方法を提供する。ある実施態様において、本発明は、患者における癌の処置のための医薬製造におけるBT7455またはその薬学的に許容される塩の使用であって、ここで、該医薬が癌免疫療法剤と組み合わせて使用される、使用を提供する。

10

【0030】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は約0.001~100 mg/kgの用量で投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はここに記載するもの、例えば、BT7480またはBT7455またはその薬学的に許容される塩から選択される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は約0.001~0.01 mg/kg、約0.01~0.1 mg/kg、約0.1~1 mg/kg、約1~10 mg/kg、約10~25 mg/kg、約25~50 mg/kgまたは約50~100 mg/kgの用量で投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は約0.1~75 mg/kg、約1~50 mg/kg、約5~25 mg/kgまたは約7.5~20 mg/kgの用量で投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は約0.001 mg/kg、約0.005 mg/kg、約0.01 mg/kg、約0.05 mg/kg、約0.1 mg/kg、約0.25 mg/kg、約0.5 mg/kg、約1 mg/kg、約3 mg/kg、約5 mg/kg、約7.5 mg/kg、約10 mg/kg、約12.5 mg/kg、約15 mg/kg、約20 mg/kg、約25 mg/kg、約30 mg/kg、約40 mg/kgまたは約50 mg/kgの用量で投与される。

20

【0031】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は週に1回、2回、3回または4回の頻度で投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はここに記載するもの、例えば、BT7480またはBT7455またはその薬学的に許容される塩から選択される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は1日1回投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は2日毎に1回投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は3日毎に1回投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は4日毎に1回投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は5日毎に1回投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は週1回の頻度で投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は1.5週間毎に1回の頻度で投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は2週間毎に1回の頻度で投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は2.5週間毎に1回の頻度で投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は3週間毎に1回の頻度で投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は4週間毎に1回の頻度で投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は月1回の頻度で投与される。

30

40

【0032】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は約1~4週間の処置期間投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はここに記

50

載するもの、例えば、BT7480またはBT7455またはその薬学的に許容される塩から選択される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は約5～8週間の処置期間投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は約9～12週間の処置期間投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は約13～20週間の処置期間投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は約21～28週間の処置期間投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は約4週間、8週間、12週間、16週間、20週間、24週間または28週間の処置期間投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は約30週間以上の処置期間投与される。

【0033】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は患者に静脈内ボラス注射により投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はここに記載するもの、例えば、BT7480またはBT7455またはその薬学的に許容される塩から選択される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は患者に静脈内点滴により投与される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の静脈内点滴は約5～10分間点滴である。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の静脈内点滴は約10～20分間点滴である。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の静脈内点滴は約20～40分間点滴である。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の静脈内点滴は約45または50または55分間点滴である。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の静脈内点滴は約1時間点滴である。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の静脈内点滴は約1～1.5時間点滴である。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の静脈内点滴は約1.5～2時間点滴である。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の静脈内点滴は約2～3時間点滴である。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の静脈内点滴は3時間を超える点滴である。

【0034】

癌免疫療法剤はFDA推奨または承認に従う投与レジメンで投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は約1～20 mg/kgの用量で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は約1～5 mg/kg、約6～10 mg/kg、約11～15 mg/kgまたは約16～20 mg/kgの用量で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は約1～10 mg/kg、約5～15 mg/kgまたは約10～20 mg/kgの用量で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は約2 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg、5 mg/kg、6 mg/kg、7 mg/kg、8 mg/kg、9 mg/kgまたは10 mg/kgの用量で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は約11 mg/kg、12 mg/kg、13 mg/kg、14 mg/kg、15 mg/kg、16 mg/kg、17 mg/kg、18 mg/kg、19 mg/kgまたは20 mg/kgの用量で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は週に1回、2回、3回または4回の頻度で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は1日1回投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は2日毎に1回投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は3日毎に1回投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は4日毎に1回投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は5日毎に1回投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は週1回の頻度で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は1.5週間毎に1回の頻度で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は2週間毎に1回の頻度で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は2.5週間毎に1回の頻度で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は3週間毎に1回の頻度で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は4週間毎に1回の頻度で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は月1回の頻度で投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は約9～12週間、約13～20週間、約21～28週間または約29～36週間の処置期間投与される。ある実施

10

20

30

40

50

態様において、癌免疫療法剤は約36週間以上の処置期間投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は患者に静脈内注射により投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は患者に静脈内点滴により投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤の静脈内点滴は約5～10分間点滴である。ある実施態様において、癌免疫療法剤の静脈内点滴は約10～20分間または約20～40分間点滴である。ある実施態様において、癌免疫療法剤の静脈内点滴は約30分間、40分間、45分間、50分間、55分間または60分間点滴である。ある実施態様において、癌免疫療法剤の静脈内点滴は約1～1.5時間、約1.5～2時間または約2～3時間点滴である。

【0035】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩を含む医薬は、本実施例に示すヘテロタンデム二環式ペプチド複合体製剤から選択される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はここに記載するもの、例えば、BT7480またはBT7455またはその薬学的に許容される塩から選択される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩を含む医薬は、さらにヒスチジンを含む。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩を含む医薬およびヒスチジンは約pH7で含まれる。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩を含む医薬は、さらにスクロースを含む。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩を含む医薬は、さらに約10%w/vスクロースを含む。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩を含む医薬は、さらに水を含む。ある実施態様において、本発明は、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩、ヒスチジン、スクロースおよび水を含む医薬であって、ここで、該医薬は約pH7で提供される。

【0036】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の例

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩は

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 1以上のCD137結合ペプチドリガンド；

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々は少なくとも2つのループ配列により離された少なくとも3つの反応性基および少なくとも2つのポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドの反応性基と共有結合を形成する分子足場を含むポリペプチドを含む。

【0037】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩は

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 1以上のCD137結合ペプチドリガンド；

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々は、少なくとも2つのポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドのシステイン残基と共有結合を形成する分子足場を含むポリペプチドを含む。

【0038】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩は

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 1つのCD137結合ペプチドリガンド；

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々は少なくとも2個のループ配列により離された少なくとも3個の反応性基および少なくとも2個のポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドの反応性基と共有結合を形成する分子足場を含むポリペプチドを含む。

【0039】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩は

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 1個のCD137結合ペプチドリガンド；

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々は、少なくとも2個のポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドのシステイン残基と共有結合を形成する分子足場を含むポリペプチドを含む。

【0040】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩は

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 2以上のCD137結合ペプチドリガンド；

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々は少なくとも2個のループ配列により離された少なくとも3個の反応性基および少なくとも2個のポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドの反応性基と共有結合を形成する分子足場を含むポリペプチドを含む。

【0041】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩は

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 2以上のCD137結合ペプチドリガンド；

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々は、少なくとも2個のポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドのシステイン残基と共有結合を形成する分子足場を含むポリペプチドを含む。

【0042】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩は

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 2個のCD137結合ペプチドリガンド；

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々は少なくとも2個のループ配列により離された少なくとも3個の反応性基および少なくとも2個のポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドの反応性基と共有結合を形成する分子足場を含むポリペプチドを含む。

【0043】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩は

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 2個のCD137結合ペプチドリガンド；

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々は、少なくとも2個のポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドのシステイン残基と共有結合を形成する分子

10

20

30

40

50

足場を含むポリペプチドを含む。

【0044】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩は

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 3個のCD137結合ペプチドリガンド；

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々は少なくとも2個のループ配列により離された少なくとも3個の反応性基および少なくとも2個のポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドの反応性基と共有結合を形成する分子足場を含むポリペプチドを含む。

10

【0045】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩は

(a) リンカーを介して次の(b)にコンジュゲートした癌細胞に存在する成分に結合する第一ペプチドリガンド；

(b) 3個のCD137結合ペプチドリガンド；

を含み、ここで、該ペプチドリガンドの各々は、少なくとも2個のポリペプチドループが分子足場上に形成されるようにポリペプチドのシステイン残基と共有結合を形成する分子足場を含むポリペプチドを含む。

20

【0046】

第一ペプチドリガンド

ここでの用語「癌細胞」は、癌に含まれることが知られているあらゆる細胞を含む。癌細胞は、細胞分裂を担う遺伝子が損傷されたときに、発生する。発癌は、増殖と細胞死の間の正常なバランスを乱す、正常細胞の遺伝物質の変異およびエピ変異により引き起こされる。これは、制御されていない細胞分裂および体内の自然淘汰によるこのような細胞の進化をもたらす。細胞の制御されていないおよびしばしば迅速な増殖は良性または悪性腫瘍(癌)に至り得る。良性腫瘍は体の他の部分に広がらずまたは他の組織を侵襲しない。悪性腫瘍は他の臓器を侵襲し、遠位に広がり(転移)、生命の脅威となり得る。

30

【0047】

ある実施態様において、癌細胞はHT1080、A549、SC-OV-3、PC3、HT1376、NCI-H292、LnCap、MC38、MC38 #13、4T1-D02、H322、HT29、T47DおよびRKO腫瘍細胞から選択される。

【0048】

ある実施態様において、癌細胞に存在する成分はネクチン-4である。

【0049】

ネクチン-4は、4個のメンバーを含むタンパク質のネクチンファミリーに属する表面分子である。ネクチンは、生育中および成人期の上皮、内皮、免疫および神経細胞の分極、拡散、分化および遊走などの種々の生物学的過程に重要な役割を有する細胞接着分子である。いくつかのヒトにおける病理過程に関与する。ポリオウイルス、単純ヘルペスウイルスおよび麻疹ウイルスの主受容体である。ネクチン-1(PVRL1)またはネクチン-4(PVRL4)をコードする遺伝子の変異は、他の異常と関連する外胚葉形成不全症候群を引き起こす。ネクチン-4は胎児発達中に発現される。成人組織では、その発現はファミリーの他のメンバーより限定的である。ネクチン-4は、乳癌、卵巣癌および肺癌のそれぞれ50%、49%および86%における腫瘍関連抗原であり、大部分は予後不良の腫瘍である。その発現は、対応する正常組織では検出されない。乳房腫瘍において、ネクチン-4は主にトリプルネガティブおよびERBB2+癌腫で発現される。これらの癌を有する患者の血清で、可溶性形態のネクチン-4検出は予後不良と関連する。血清ネクチン-4レベルは転移進行中増加し、処置後減少する。これらの結果は、ネクチン-4が癌処置の信頼できる標的であることを示唆する。従って、数種の抗ネクチン-4抗体が先行文

40

50

献に記載されている。特に、エンホルツマブベドチン(ASG-22ME)はネクチン-4をターゲティングする抗体-薬物コンジュゲート(ADC)であり、現在固形腫瘍を有する患者の処置のための臨床試験がされている。

【0050】

ある実施態様において、第一ペプチドリガンドは、ネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドを含む。

【0051】

ある実施態様において、ネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドは、内容を引用により全体として本明細書に包含させる、WO2019/243832に開示のものから選択される。

【0052】

ある実施態様において、ネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドは、
C_iP[1NaL][dD]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号1；ここでBCY8116と称する)；
C_iP[1NaL][dD]C_{ii}M[HArg]D[dW]STP[HyP][dW]C_{iii}(配列番号2)；
C_iP[1NaL][dK](Sar₁₀-(B-Ala))C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号3)；
C_iPFGC_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号4；ここでBCY11414と称する)；
C_iP[1NaL][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号14)；
[MerPro]_iP[1NaL][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号15；ここでBCY12363と称する)；
C_iP[1NaL][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]W[Cysam]_{iii}(配列番号16)；
[MerPro]_iP[1NaL][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]W[Cysam]_{iii}(配列番号17；ここでBCY12365と称する)；
C_iP[1NaL][dK]C_{ii}M[HArg]HWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号18)；
C_iP[1NaL][dK]C_{ii}M[HArg]EWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号19)；
C_iP[1NaL][dE]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号20；ここでBCY12368と称する)；
C_iP[1NaL][dA]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号21；ここでBCY12369と称する)；
C_iP[1NaL][dE]C_{ii}L[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号22；ここでBCY12370と称する)；および
C_iP[1NaL][dE]C_{ii}M[HArg]EWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号23；ここでBCY12384と称する)
〔式中、[MerPro]_i、C_i、C_{ii}、C_{iii}および[Cysam]_{iii}はシステイン、MerProおよびCysamから選択される第一(i)、第二(ii)および第三(iii)反応性基を表し、1NaLは1-ナフチルアラニンを表し、HArgはホモアルギニンを表し、HyPはtrans-4-ヒドロキシーレウロリンを表し、Sar₁₀は10個のサルコシン単位を表し、B-Alaはベータアラニンを表し、MerProは3-メルカプトプロピオン酸を表し、そしてCysamはシステアミンを表す。〕
から選択されるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0053】

ある実施態様において、ネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドは、
C_iP[1NaL][dD]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号1；ここでBCY8116と称する)；
C_iP[1NaL][dK](Sar₁₀-(B-Ala))C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号3)；および

10

20

30

40

50

C_iPFGC_{ii}M[HA_rg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号4；ここでBCY11414と称する)

〔式中、C_i、C_{ii}およびC_{iii}はそれぞれ第一、第二および第三システイン残基を表し、1Na_lは1-ナフチルアラニンを表し、HA_rgはホモアルギニンを表し、HyPはtrans-4-ヒドロキシ-ε-プロリンを表し、Sar₁₀は10個のサルコシン単位を表し、B-Alaはベータ-アラニンを表す。〕

から選択されるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0054】

ある実施態様において、ネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドは所望によりN末端修飾を含み、

10

配列番号1(ここでBCY8116と称する)；

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (配列番号1)(ここでBCY8846と称する)；

[PYA]- (配列番号1)(ここでBCY11015と称する)；

[PYA]-[B-Ala]- (配列番号1)(ここでBCY11016と称する)；

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (配列番号2)(ここでBCY11942と称する)；

Ac- (配列番号3)(ここでBCY8831と称する)；

配列番号4(ここでBCY11414と称する)；

[PYA]-[B-Ala]- (配列番号14)(ここでBCY11143と称する)；

パルミチン-yGlu-yGlu- (配列番号14)(ここでBCY12371と称する)；

20

Ac- (配列番号14)(ここでBCY12024と称する)；

Ac- (配列番号16)(ここでBCY12364と称する)；

Ac- (配列番号18)(ここでBCY12366と称する)；および

Ac- (配列番号19)(ここでBCY12367と称する)

〔式中、YAは4-ペンチン酸を表し、B-Alaはベータ-アラニンを表し、Sar₁₀は10個のサルコシン単位を表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0055】

ある実施態様において、ネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドは所望によりN末端修飾を含み、

30

配列番号1(ここでBCY8116と称する)；

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (配列番号1)(ここでBCY8846と称する)；

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (配列番号2)(ここでBCY11942と称する)；

Ac- (配列番号3)(ここでBCY8831と称する)；および

配列番号4(ここでBCY11414と称する)

〔式中、YAは4-ペンチン酸を表し、B-Alaはベータ-アラニンを表し、Sar₁₀は10個のサルコシン単位を表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0056】

40

ある実施態様において、ネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドは、配列番号1(ここでBCY8116と称する)を含む。

【0057】

ある実施態様において、ネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドは、

C_iP[1Na_l][dD]C_{ii}M[HA_rg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号1；ここでBCY8116と称する)；

C_iP[1Na_l][dD]C_{ii}M[HA_rg]D[dW]STP[HyP][dW]C_{iii}(配列番号2；ここでBCY11415と称する)；および

C_iP[1Na_l][dK](Sar₁₀-(B-Ala))C_{ii}M[HA_rg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号3)；

50

C_iPFGC_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}(配列番号4;ここでBCY11414と称する)

[式中、C_i、C_{ii}およびC_{iii}はそれぞれ第一、第二および第三システイン残基を表し、1Na1は1-ナフチルアラニンを表し、HArgはホモアルギニンを表し、HyPはヒドロキシプロリンを表し、Sar₁₀は10個のサルコシン単位を表し、B-Alaはベーターアラニンを表す。]

から選択されるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0058】

さらなる実施態様において、ネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドは所望によりN末端修飾を含み、

配列番号1(ここでBCY8116と称する);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (配列番号1)(ここでBCY8846と称する);

配列番号2(ここでBCY11415と称する);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (配列番号2)(ここでBCY11942と称する);

Ac- (配列番号3)(ここでBCY8831と称する);および

配列番号4(ここでBCY11414と称する)

[式中、YAは4-ペンチン酸を表し、B-Alaはベーターアラニンを表し、Sar₁₀は10個のサルコシン単位を表す。]

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0059】

ある実施態様において、癌細胞に存在する成分はEphA2である。

【0060】

Eph受容体チロシンキナーゼ(Ephs)は、タンパク質のチロシン残基をリン酸化するキナーゼである受容体チロシンキナーゼ(RTK)の大きな群に属する。Ephsおよびその膜結合エフリンリガンド(エフリン)は、細胞ポジショニングおよび組織組織化を制御する(Poliakov et al. (2004) Dev Cell 7, 465-80)。機能的および生化学的Eph応答は、高次リガンドオリゴマー化状態で生ずる(Stein et al. (1998) Genes Dev 12, 667-678)。

【0061】

数あるパターン形成機能の中で、種々のEphsおよびエフリンは、血管発生において役割を果たすことが示されている。EphB4およびエフリン-B2のノックアウトは、毛細血管床から血管にリモデルする能力を喪失させ(Poliakov et al., supra)、胚致死性である。あるEph受容体およびエフリンの永続的発現が、新規形成された、成人微小血管で観察されている(Brantley-Sieders et al. (2004) Curr Pharm Des 10, 3431-42; Adams (2003) J Anat 202, 105-12)。

【0062】

成人におけるあるエフリンおよびその受容体の無秩序な再出現も、腫瘍侵襲、転移および新規血管形成への寄与が観察されている(Nakamoto et al. (2002) Microsc Res Tech 59, 58-67; Brantley-Sieders et al., supra)。さらに、あるEphファミリーメンバーは、多種多様なヒト腫瘍からの腫瘍細胞で過剰発現することが判明している(Brantley-Sieders et al., supra); Marme (2002) Ann Hematol 81 Suppl 2, S66; Booth et al. (2002) Nat Med 8, 1360-1)。

【0063】

EPH受容体A2(エフリンA型受容体2)は、ヒトにおいて、EPHA2遺伝子によりコードされるタンパク質である。

【0064】

EphA2は、しばしば疾患進行、転移および予後不良と関連透けられ、ヒトの複数の癌、例えば：乳房(Zelinski et al (2001) Cancer Res. 61, 2301-2306; Zhuang et al (2010) Cancer Res. 70, 299-308; Brantley-Sieders et al (2011) PL

10

20

30

40

50

o S One 6, e24426)、肺(Brannan et al (2009) Cancer Prev Res(Phila) 2, 1039-1049; Kinch et al (2003) Clin Cancer Res. 9, 613-618; Guo et al (2013) J Thorac Oncol. 8, 301-308)、胃(Nakamura et al (2005) Cancer Sci. 96, 42-47; Yuan et al (2009) Dig Dis Sci 54, 2410-2417)、膵臓(Mudali et al (2006) Clin Exp Metastasis 23, 357-365)、前立腺(Walker-Daniels et al (1999) Prostate 41, 275-280)、肝臓(Yang et al (2009) Hepatol Res. 39, 1169-1177)および神経膠芽腫(Wykosky et al (2005) MolCancer Res. 3, 541-551; Li et al (2010) Tumor Biol. 31, 477-488)で上方制御される。

【0065】

癌進行におけるEphA2の完全な役割はなお規定されていないが、腫瘍細胞増殖、生存、侵襲および血管形成を含む癌進行の種々のステージで相互作用している証拠がある。EphA2発現の下方制御は、腫瘍細胞増殖を抑制し(Binda et al (2012) Cancer Cell 22, 765-780)、一方EphA2遮断はVEGF誘導細胞遊走(Hess et al (2001) Cancer Res. 61, 3250-3255)、出芽および血管形成(Cheng et al (2002) Mol Cancer Res. 1, 2-11; Lin et al (2007) Cancer 109, 332-40)ならびに転移進行(Brantley-Sieders et al (2005) FASEB J. 19, 1884-1886)を阻害する。

【0066】

EphA2への抗体薬物コンジュゲートは、ラットおよびマウス異種移植モデルで腫瘍増殖を有意に減少させることが示され(Jackson et al (2008) Cancer Research 68, 9367-9374)、同様のアプローチがヒトでも試されているが、処置関連有害事象により処置は中断された(Annunziata et al (2013) Invest New drugs 31, 77-84)。

【0067】

ある実施態様において、第一ペプチドリガンドは、EphA2結合二環式ペプチドリガンドを含む。

【0068】

ある実施態様において、EphA2結合二環式ペプチドリガンドは、各内容を引用により全体として本明細書に包含させる、WO2019/122860、WO2019/122861およびWO2019/122863に開示のものから選択される。

【0069】

ある実施態様において、EphA2結合二環式ペプチドリガンドは、
 Ci[HyP]LVNPLCiiLHP[dD]W[HA rg]Ciii(配列番号24);
 CiLWDPTPCiiANLHL[HA rg]Ciii(配列番号25);
 Ci[HyP]LVNPLCiiL[K(PYA)]P[dD]W[HA rg]Ciii(配列番号26);
 Ci[HyP][K(PYA)]VNPLCiiLHP[dD]W[HA rg]Ciii(配列番号27);
 Ci[HyP]LVNPLCii[K(PYA)]HP[dD]W[HA rg]Ciii(配列番号28);
 Ci[HyP]LVNPLCiiLKP[dD]W[HA rg]Ciii(配列番号29);
 Ci[HyP]KVNPLCiiLHP[dD]W[HA rg]Ciii(配列番号30);
 Ci[HyP]LVNPLCiiKHP[dD]W[HA rg]Ciii(配列番号31);
 Ci[HyP]LVNPLCiiLHP[dE]W[HA rg]Ciii(配列番号32);
 Ci[HyP]LVNPLCiiLEP[dD]W[HA rg]Ciii(配列番号33);
 Ci[HyP]LVNPLCiiLHP[dD]WTCiii(配列番号34);
 Ci[HyP]LVNPLCiiLEP[dD]WTCiii(配列番号35);
 Ci[HyP]LVNPLCiiLEP[dA]WTCiii(配列番号36);
 Ci[HyP]LVNPLCiiL[3,3-DPA]P[dD]WTCiii(配列番号37;ここでBCY12860と称する);
 Ci[HyP][Cba]VNPLCiiLHP[dD]W[HA rg]Ciii(配列番号38);
 Ci[HyP][Cba]VNPLCiiLEP[dD]WTCiii(配列番号39);
 Ci[HyP][Cba]VNPLCiiL[3,3-DPA]P[dD]WTCiii(配列番号40);
 Ci[HyP]LVNPLCiiL[3,3-DPA]P[dD]W[HA rg]Ciii(配列番号41);

10

20

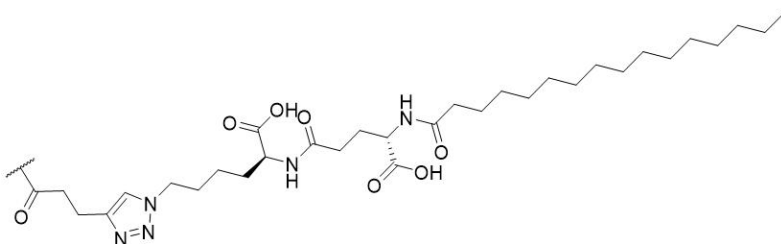
30

40

50

$C_i[HyP]LVNP LC_{ii}LHP[d1NaL]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号42);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}L[1NaL]P[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号43);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}LEP[d1NaL]WTC_{iii}$ (配列番号44);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}L[1NaL]P[dD]WTC_{iii}$ (配列番号45;ここでBCY13119と称する);
 $C_i[HyP][Cba]VNPLC_{ii}LEP[dA]WTC_{iii}$ (配列番号46);
 $C_i[HyP][hGlu]VNPLC_{ii}LHP[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号47);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}[hGlu]HP[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号48);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}L[hGlu]P[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号49);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}LHP[dNle]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号50);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}L[Nle]P[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号51);
 $[MerPro]_i[HyP]LVNP LC_{ii}L[3,3-DPA]P[dD]WTC_{iii}$ (配列番号154);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}LHP[dD]W[HA rg][Cysam]_{iii}$ (配列番号155);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}L[His3Me]P[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号156);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}L[His1Me]P[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号157);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}L[4ThiAz]P[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号158);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}LFP[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号159);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}L[Thi]P[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号160);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}L[3Thi]P[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号161);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}LNP[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号162);
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}LQP[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号163);および
 $C_i[HyP]LVNP LC_{ii}L[K(PYA-(\text{パルミトイル-Glu-LysN}_3))]P[dD]W[HA rg]C_{iii}$ (配列番号164)

(式中、 $[MerPro]_i$ 、 C_i 、 C_{ii} 、 C_{iii} および $[Cysam]_{iii}$ はシステイン、 $MerPro$ および $Cysam$ から選択される第一(i)、第二(ii)および第三(iii)反応性基を表し、 HyP はtrans-4-ヒドロキシー-L-プロリンを表し、 $HA rg$ はホモアルギニンを表し、 PYA は4-ペンチン酸を表し、3,3-DPAは3,3-ジフェニルアラニンを表し、 Cba はβ-シクロブチルアラニンを表し、1NaLは1-ナフチルアラニンを表し、hGluはホモグルタミン酸を表し、Thiは2-チエニル-アラニンを表し、4ThiAzはベーター-(4-チアゾリル)-アラニンを表し、His1MeはN1-メチル-L-ヒスチジンを表し、His3MeはN3-メチル-L-ヒスチジンを表し、3Thiは3-チエニルアラニンを表し、パルミトイル-Glu-LysN₃[PYA]は【化1】



(パルミトイル-Glu-LysN₃)[PYA]

を表し、 $[K(PYA-(\text{パルミトイル-Glu-LysN}_3))]$ は

10

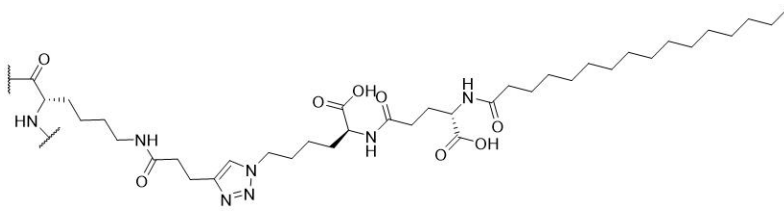
20

30

40

50

【化 2】



[K(PYA(パルミトイル-Glu-LysN3))]

を表し、N l e はノルロイシンを表し、M e r P r o は 3-メルカプトプロピオン酸を表し、そして C y s a m はシステアミンを表す。]

から選択されるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0070】

ある実施態様において、E p h A 2 結合二環式ペプチドリガンドは、

C i [H y P] L V N P L C i i L H P [d D] W [H A r g] C i i i (配列番号 2 4)

〔式中、C i、C i i、C i i i は第一(i)、第二(ii)および第三(iii)システイン基を表し、H y P は t r a n s - 4 - ヒドロキシ- L - プロリンを表し、H A r g はホモアルギニンを表す。〕

であるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0071】

ある実施態様において、E p h A 2 結合二環式ペプチドリガンドは、

C i [H y P] L V N P L C i i L E P [d 1 N a l] W T C i i i (配列番号 4 4)

〔式中、C i、C i i、C i i i は第一(i)、第二(ii)および第三(iii)システイン基を表し、H y P は t r a n s - 4 - ヒドロキシ- L - プロリンを表し、1 N a l は 1-ナフチルアラニンを表す。〕

であるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0072】

ある実施態様において、E p h A 2 結合二環式ペプチドリガンドは所望により N 末端および／または C 末端修飾を含み、

A - [H A r g] - D - (配列番号 2 4) (ここで B C Y 9 5 9 4 と称する) ;

[B - A l a] - [S a r 1 0] - A - [H A r g] - D - (配列番号 2 4) (ここで B C Y 6 0 9 9 と称する) ;

[P Y A] - A - [H A r g] - D - (配列番号 2 4) (ここで B C Y 1 1 8 1 3 と称する) ;

A c - A - [H A r g] - D - (配列番号 2 4) - [K (P Y A)] (ここで B C Y 1 1 8 1 4 と称する) ;

A c - A - [H A r g] - D - (配列番号 2 4) - K (ここで B C Y 1 2 7 3 4 と称する) ;

[N M e A l a] - [H A r g] - D - (配列番号 2 4) (ここで B C Y 1 3 1 2 1 と称する) ;

[A c] - (配列番号 2 4) - L [d H] G [d K] (ここで B C Y 1 3 1 2 5 と称する) ;

[P Y A] - [B - A l a] - [S a r 1 0] - V G P - (配列番号 2 5) (ここで B C Y 8 9 4 1 と称する) ;

A c - A - [H A r g] - D - (配列番号 2 6) (ここで B C Y 1 1 8 1 5 と称する) ;

A c - A - [H A r g] - D - (配列番号 2 7) (ここで B C Y 1 1 8 1 6 と称する) ;

A c - A - [H A r g] - D - (配列番号 2 8) (ここで B C Y 1 1 8 1 7 と称する) ;

A c - A - [H A r g] - D - (配列番号 2 9) (ここで B C Y 1 2 7 3 5 と称する) ;

(パルミトイル-G l u - L y s N 3) [P Y A] A [H A r g] D - (配列番号 2 9) (以後 B C Y 1 4 3 2 7 と称する) ;

A c - A - [H A r g] - D - (配列番号 3 0) (ここで B C Y 1 2 7 3 6 と称する) ;

A c - A - [H A r g] - D - (配列番号 3 1) (ここで B C Y 1 2 7 3 7 と称する) ;

A - [H A r g] - D - (配列番号 3 2) (ここで B C Y 1 2 7 3 8 と称する) ;

A - [H A r g] - E - (配列番号 3 2) (ここで B C Y 1 2 7 3 9 と称する) ;

10

20

30

40

50

A-[H A r g]-D-(配列番号 33)(ここで B C Y 1 2 8 5 4 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 34)(ここで B C Y 1 2 8 5 5 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 35)(ここで B C Y 1 2 8 5 6 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 35)-[d A](ここで B C Y 1 2 8 5 7 と称する);
 (配列番号 35)-[d A](ここで B C Y 1 2 8 6 1 と称する);
 [N M e A l a]-[H A r g]-D-(配列番号 35)(ここで B C Y 1 3 1 2 2 と称する);
 [d A]-E D-(配列番号 35)(ここで B C Y 1 3 1 2 6 と称する);
 [d A]-[d A]-D-(配列番号 35)(ここで B C Y 1 3 1 2 7 と称する);
 A D-(配列番号 35)(ここで B C Y 1 3 1 2 8 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 36)(ここで B C Y 1 2 8 5 8 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 37)(ここで B C Y 1 2 8 5 9 と称する);
 A c-(配列番号 37)-[d K](ここで B C Y 1 3 1 2 0 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 38)(ここで B C Y 1 2 8 6 2 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 39)(ここで B C Y 1 2 8 6 3 と称する);
 [d A]-[H A r g]-D-(配列番号 39)-[d A](ここで B C Y 1 2 8 6 4 と称する);
 (配列番号 40)-[d A](ここで B C Y 1 2 8 6 5 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 41)(ここで B C Y 1 2 8 6 6 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 42)(ここで B C Y 1 3 1 1 6 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 43)(ここで B C Y 1 3 1 1 7 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 44)(ここで B C Y 1 3 1 1 8 と称する);
 [d A]-[H A r g]-D-(配列番号 46)-[d A](ここで B C Y 1 3 1 2 3 と称する);
 [d 1 N a l]-[H A r g]-D-(配列番号 46)-[d A](ここで B C Y 1 3 1 2 4 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 47)(ここで B C Y 1 3 1 3 0 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 48)(ここで B C Y 1 3 1 3 1 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 49)(ここで B C Y 1 3 1 3 2 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 50)(ここで B C Y 1 3 1 3 4 と称する);
 A-[H A r g]-D-(配列番号 51)(ここで B C Y 1 3 1 3 5 と称する);
 (配列番号 154)-[d K](ここで B C Y 1 3 1 2 9 と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号 155)(ここで B C Y 1 3 1 3 3 と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号 156)(ここで B C Y 1 3 9 1 7 と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号 157)(ここで B C Y 1 3 9 1 8 と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号 158)(ここで B C Y 1 3 9 1 9 と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号 159)(ここで B C Y 1 3 9 2 0 と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号 160)(ここで B C Y 1 3 9 2 2 と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号 161)(ここで B C Y 1 3 9 2 3 と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号 162)(ここで B C Y 1 4 0 4 7 と称する);
 A[H A r g]D-(配列番号 163)(ここで B C Y 1 4 0 4 8 と称する);および
 A[H A r g]D-(配列番号 164)(ここで B C Y 1 4 3 1 3 と称する)

(式中、P Y A は 4-ペンチン酸を表し、B-A l a はベータアラニンを表し、S a r
 10
 10 は 10 個のサルコシン単位を表し、H A r g はホモアルギニンを表し、N M e A l a
 は N-メチルアラニンを表し、1 N a l は 1-ナフチルアラニンを表し、パルミトイル
 -G l u-L y s N₃[P Y A]は

10

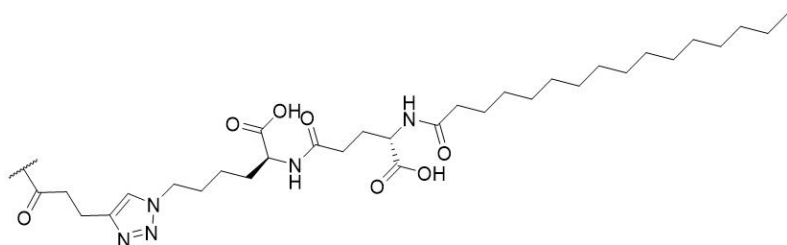
20

30

40

50

【化 3】



(パルミトイル-Glu-LysN3)[PYA]

10

を表す。]

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0073】

ある実施態様において、EphA2結合二環式ペプチドリガンドは所望によりN末端および／またはC末端修飾を含み、

A-[HArg]-D-(配列番号24)(ここでBCY9594と称する)

〔式中、HArgはホモアルギニンを表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0074】

ある実施態様において、EphA2結合二環式ペプチドリガンドは所望によりN末端および／またはC末端修飾を含み、

A-[HArg]-D-(配列番号44)(ここでBCY13118と称する)

〔式中、HArgはホモアルギニンを表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0075】

ある実施態様において、EphA2結合二環式ペプチドリガンドはアミノ酸
C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii}(配列番号24)；および
C_iLWDPTPC_{ii}ANLHL[HArg]C_{iii}(配列番号25)

〔式中、C_i、C_{ii}およびC_{iii}はそれぞれ第一、第二および第三システイン残基を表し、HyPはヒドロキシプロリンを表し、dDはD-配置のアスパラギン酸を表し、HArgはホモアルギニンを表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0076】

ある実施態様において、EphA2結合二環式ペプチドリガンドはアミノ酸
C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii}(配列番号24)

〔式中、C_i、C_{ii}およびC_{iii}はそれぞれ第一、第二および第三システイン残基を表し、HyPはヒドロキシプロリンを表し、dDはD-配置のアスパラギン酸を表し、HArgはホモアルギニンを表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0077】

ある実施態様において、EphA2結合二環式ペプチドリガンドはN末端修飾を含み、
A-HArg-D-(配列番号24)(ここでBCY9594と称する)；

[B-Ala]-[Sar₁₀]-A-[HArg]-D-(配列番号24)(ここでBCY6099と称する)；

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]-A-[HArg]-D-(配列番号24)(ここでBCY6169と称する)；および

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]-VG P-(配列番号25)(ここでBCY8941と称する)

〔式中、HArgはホモアルギニンを表し、PYAは4-ペンチン酸を表し、Sar₁₀は10個のサルコシン単位を表し、B-Alaはベーターアラニンを表す。〕

50

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0078】

ある実施態様において、E p h A 2 結合二環式ペプチドリガンドはN末端修飾を含み、A - H A r g - D - (配列番号24)(ここでB C Y 9 5 9 4と称する)

〔式中、H A r g はホモアルギニンを表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0079】

ある実施態様において、癌細胞に存在する成分はP D - L 1である。

【0080】

プログラム細胞死1リガンド1(P D - L 1)は、マウス染色体19およびヒト染色体9のC D 2 7 4 遺伝子によりコードされる290アミノ酸I型膜貫通タンパク質である。P D - L 1発現は、慢性感染、例えば、慢性ウイルス感染(例えば、とりわけ、H I V、H B V、H C VおよびH T L Vを含む)、慢性細菌感染(例えば、とりわけ、ヘリコバクター・ピロリを含む)および慢性寄生性感染(例えば、マンソン住血吸虫を含む)に關与する免疫応答の回避に關与する。P D - L 1発現は、T細胞、B細胞、マクロファージ、樹状細胞ならびに内皮細胞、肝細胞、筋肉細胞および胎盤を含む非造血細胞を含むいくつかの組織および細胞型で検出されている。

10

【0081】

P D - L 1発現はまた抗腫瘍免疫活性の抑制にも関連する。腫瘍は宿主T細胞により認識され得る抗原を発現するが、腫瘍の免疫性クリアランスは希である。この欠如の一部は、腫瘍微小環境による免疫抑制である。多くの腫瘍におけるP D - L 1発現は、この抑制性環境の成分であり、他の免疫抑制性シグナルと協調して働く。P D - L 1発現は、乳房、肺、結腸、卵巣、黒色腫、膀胱、肝臓、唾液腺、胃、神経膠腫、甲状腺、胸腺上皮性、頭頸部を含む広範な固形腫瘍についてインサイチュで示されている(Brown JA et al. 2003 Immunol. 170:1257-66; Dong H et al. 2002 Nat. Med. 8:793-800; H amanishi J, et al. 2007 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104:3360-65; Strome SE et al. 2003 Cancer Res. 63:6501-5; Inman BA et al. 2007 Cancer 109:1499-505; Konishi J et al. 2004 Clin. Cancer Res. 10:5094-100; Nakani shi J et al. 2007 Cancer Immunol. Immunother. 56:1173-82; Nomi T et al. 2007 Clin. Cancer Res. 13:2151-57; Thompson RH et al. 2004 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101: 17174-79; Wu C et al. 2006 Acta Histochem. 108:19-24)。さらに、P D - L 1の受容体、プログラム細胞死タンパク質1(P D - 1 およびC D 2 7 9としても知られる)の発現は腫瘍浸潤リンパ球で上方制御され、これもまた腫瘍免疫抑制に寄与する(Blank C et al. 2003 Immunol. 171:4574-81)。最も重要なことに、腫瘍のP D - L 1発現と疾患アウトカムに関連する試験は、腎臓、卵巣、膀胱、乳房、胃および膵臓癌の好ましくない予後とP D - L 1発現が強く相関することを示す(Hamanishi J et al. 2007 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104:3360-65; Inman BA et al. 2007 Cancer 109:1499-505; Konishi J et al. 2004 Clin. Cancer Res. 10:5094-100; Nakanishi J et al. 2007 Cancer Immunol. Immunother. 56:1173-82; Nomi T et al. 2007 Clin. Cancer Res. 13:2151-57; Thompson RH et al. 2004 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:17174-79; Wu C et al. 2006 Acta Histochem. 108:19-24)。さらに、これらの試験は、腫瘍のP D - L 1発現のレベルが高いほど、腫瘍ステージの進行およびより深い組織構造への侵襲が促進され得ることを示唆する。

20

30

40

【0082】

P D - 1経路は血液悪性腫瘍にも役割を有し得る。P D - L 1は多発性骨髄腫細胞に発現されるが、正常形質細胞には発現されない(Liu J et al. 2007 Blood 110:296-304)。P D - L 1は一部の原発T細胞リンパ腫、特に未分化大細胞Tリンパ腫に発現される(Brown JA et al, 2003 Immunol. 170:1257-66)。P D - 1は血管免疫芽細胞性リンパ腫のT細胞に高度に発現され、P D - L 1は関連濾胞性樹状細胞ネットワークに

50

発現される(Dorfman DM et al. 2006 Am. J. Surg. Pathol. 30:802-10)。結節性リンパ球優勢ホジキンリンパ腫において、リンパ球性または組織球性(L & H)細胞と関連するT細胞はPD-1を発現する。PD-1ライゲーションにより誘導される遺伝子の読み出しを使用するマイクロアレイ解析は、腫瘍関連T細胞がホジキンリンパ腫においてインサイチュでPD-1シグナルに応答することを示唆する(Chemnitz JM et al. 2007 Blood 110:3226-33)。PD-1およびPD-L1はHTLV-1介在成人T細胞白血病およびリンパ腫のCD4⁺T細胞で発現される(Shimauchi T et al. 2007 Int. J. 癌121: 2585-90)。これらの腫瘍細胞はTCRシグナルに低応答性である。

【0083】

動物モデルでの試験は、腫瘍のPD-L1がT細胞活性化および腫瘍細胞の溶解を阻害し、ある場合、腫瘍特異的T細胞死を増加させることを示す(Dong H et al. 2002 Nat. Med. 8:793-800; Hirano F et al. 2005 Cancer Res. 65:1089-96)。腫瘍関連APCもまた抗腫瘍T細胞応答制御のためにPD-1:PD-L1経路を利用できる。腫瘍関連骨髄DC集団のPD-L1発現は、腫瘍環境因子により上方制御される(Curiel TJ et al. 2003 Nat. Med. 9:562-67)。B16黒色腫の腫瘍流入領域リンパ節における形質細胞様樹状細胞(DC)はIDOを発現し、これは制御性T細胞の抑制活性を強く活性化する。IDO処理制御性T細胞の抑制活性は、IDO発現DCとの細胞接触を必要とする(Sharma MD et al. 2007 Clin. Invest. 117:2570-82)。

【0084】

ある実施態様において、第一ペプチドリガンドは、PD-L1結合二環式ペプチドリガンドを含む。

【0085】

ある実施態様において、PD-L1結合二環式ペプチドリガンドは、各内容を引用により全体として本明細書に包含させる、WO2020/128526およびWO2020/128527に開示のものから選択される。

【0086】

ある実施態様において、PD-L1結合二環式ペプチドリガンドは、

C_iSAGWLTMC_{ii}QKLHL C_{iii}(配列番号52);
C_iSAGWLTMC_{ii}Q[K(PYA)]LHL C_{iii}(配列番号53);
C_iSKGWLTMC_{ii}Q[K(Ac)]LHL C_{iii}(配列番号54);
C_iSAGWLTMC_{ii}Q[K(Ac)]LHL C_{iii}(配列番号55);
C_iSAGWLTMC_{ii}K[K(Ac)]LHL C_{iii}(配列番号56);
C_iSAGWLTMC_{ii}Q[K(Ac)]LKL C_{iii}(配列番号57);
C_iSAGWLTMC_{ii}Q[HArg]LHL C_{iii}(配列番号58);および
C_iSAGWLTMC_{ii}[HArg]QLNLC_{iii}(配列番号59)

〔式中、C_i、C_{ii}およびC_{iii}はそれぞれ第一、第二および第三システイン残基を表し、PYAは4-ペンチン酸を表し、そしてHArgはホモアルギニンを表す。〕から選択されるアミノ酸配列またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0087】

ある実施態様において、PD-L1結合二環式ペプチドリガンドは所望によりN末端および/またはC末端修飾を含み、

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]-SDK-(配列番号52)(ここでBCY10043と称する);

Ac-D-[HArg]-(配列番号52)-PSH(ここでBCY11865と称する);

Ac-SDK-(配列番号53)(ここでBCY11013と称する);

Ac-SDK-(配列番号53)-PSH(ここでBCY10861と称する);

Ac-D-[HArg]-(配列番号54)-PSH(ここでBCY11866と称する);

Ac-D-[HArg]-(配列番号55)-PSH(ここでBCY11867と称する);

Ac-D-[HArg]-(配列番号56)-PSH(ここでBCY11868と称する);

Ac-D-[HArg]-(配列番号57)-PSH(ここでBCY11869と称する);

10

20

30

40

50

A c - S D - [H A r g] - (配 列 番 号 5 8) - P S H K (こ こ で B C Y 1 2 4 7 9 と 称 す る)
; お よ び

A c - S D - [H A r g] - (配 列 番 号 5 9) - P S H K (こ こ で B C Y 1 2 4 7 7 と 称 す る)
〔 式 中 、 P Y A は 4 - ペ ン チ ン 酸 を 表 し 、 B - A l a は ベ ー タ - ア ラ ニ ン を 表 し 、 S a r
1 0 は 1 0 個 の サ ル コ シ ン 単 位 を 表 し 、 そ し て H A r g は ホ モ ア ル ギ ニ ン を 表 す 。 〕

ま た は そ の 薬 学 的 に 許 容 さ れ る 塩 を 含 む 。

【 0 0 8 8 】

あ る 実 施 態 様 に お い て 、 P D - L 1 結 合 二 環 式 ペ プ チ ド リ ガ ン ド は 、

C i [H A r g] D W C i i H W T F S H G H P C i i i (配 列 番 号 8 2) ;

C i S A G W L T M C i i Q K L H L C i i i (配 列 番 号 5 2) ; お よ び

C i S A G W L T M C i i Q [K (P Y A)] L H L C i i i (配 列 番 号 5 3)

〔 式 中 、 C i 、 C i i お よ び C i i i は そ れ ぞ れ 第 一 、 第 二 お よ び 第 三 シ ス テ イ ン 残 基 を 表 し 、
H A r g は ホ モ ア ル ギ ニ ン を 表 し 、 そ し て P Y A は 4 - ペ ン チ ン 酸 を 表 す 。 〕

か ら 選 択 さ れ る ア ミ ノ 酸 配 列 ま た は そ の 薬 学 的 に 許 容 さ れ る 塩 を 含 む 。

【 0 0 8 9 】

あ る 実 施 態 様 に お い て 、 P D - L 1 結 合 二 環 式 ペ プ チ ド リ ガ ン ド は N 末 端 お よ び / ま た
は C 末 端 修 飾 を 含 み 、

[P Y A] - [B - A l a] - [S a r 1 0] - (配 列 番 号 8 2) (こ こ で B C Y 8 9 3 8 と 称 す る
);

[P Y A] - [B - A l a] - [S a r 1 0] - S D K - (配 列 番 号 5 2) (こ こ で B C Y 1 0 0 4
3 と 称 す る);

N H 2 - S D K - (配 列 番 号 5 2) - [S a r 1 0] - [K (P Y A)] (こ こ で B C Y 1 0 0 4 4
と 称 す る);

N H 2 - S D K - (配 列 番 号 5 3) (こ こ で B C Y 1 0 0 4 5 と 称 す る); お よ び

A c - S D K - (配 列 番 号 5 3) - P S H (こ こ で B C Y 1 0 8 6 1 と 称 す る)

〔 P Y A は 4 - ペ ン チ ン 酸 を 表 し 、 B - A l a は ベ ー タ - ア ラ ニ ン を 表 し 、 S a r 1 0 は
1 0 個 の サ ル コ シ ン 単 位 を 表 す 。 〕

ま た は そ の 薬 学 的 に 許 容 さ れ る 塩 を 含 む 。

【 0 0 9 0 】

あ る 実 施 態 様 に お い て 、 癌 細 胞 に 存 在 す る 成 分 は 前 立 腺 特 異 的 膜 抗 原 (P S M A) で あ る
。

【 0 0 9 1 】

前 立 腺 特 異 的 膜 抗 原 (P S M A) (グ ル タ ミ ン 酸 カ ル ボ キ シ ペ プ チ ダ ー ゼ II (G C P II) 、
N - ア セ チ ル - L - ア ス パ ル チ ル - L - グ ル タ ミ ン 酸 ペ プ チ ダ ー ゼ I (N A A L A D a s
e I) お よ び N A A G ペ プ チ ダ ー ゼ と し て も 知 ら れ る) は 、 ヒ ト に お い て F O L H 1 (葉
酸 加 水 分 解 酵 素 1) 遺 伝 子 に よ り コ ー ド さ れ る 酵 素 で あ る 。 ヒ ト G C P II は 7 5 0 個 の ア
ミ ノ 酸 を 含 み 、 質 量 約 8 4 k D a で あ る 。

【 0 0 9 2 】

ヒ ト P S M A は 、 前 立 腺 で 高 度 に 発 現 さ れ 、 大 部 分 の 他 の 組 織 よ り 大 ま か に 1 0 0 倍 多
い 。 一 部 前 立 腺 癌 に お い て 、 P S M A は 二 番 目 に 最 も 上 方 制 御 さ れ る 遺 伝 子 産 物 で あ り 、
非 癌 前 立 腺 細 胞 の レ ベ ル の 8 ~ 1 2 倍 増 加 す る 。 こ の 高 発 現 の た め 、 P S M A は 一 部 癌 の
治 療 お よ び 造 影 の バ イ オ マ ー カ ー の 可 能 性 の あ る と し て 開 発 さ れ て い る 。 ヒ ト 前 立 腺 癌 に
お い て 、 腫 瘍 の 発 現 が 高 い ほ ど 、 進 行 の 時 間 が 速 く 、 再 発 に 苦 し む 患 者 の パ ー セ ン テ ー ジ
が 増 え る 。

【 0 0 9 3 】

あ る 実 施 態 様 に お い て 、 第 一 ペ プ チ ド リ ガ ン ド は 、 P S M A 結 合 二 環 式 ペ プ チ ド リ ガ ン
ド を 含 む 。

【 0 0 9 4 】

あ る 実 施 態 様 に お い て 、 P S M A 結 合 二 環 式 ペ プ チ ド リ ガ ン ド は 、 各 内 容 を 引 用 に よ り
全 体 と し て 本 明 細 書 に 包 含 さ せ る 、 W O 2 0 1 9 / 2 4 3 4 5 5 お よ び W O 2 0 2 0 / 1

10

20

30

40

50

20980に開示のものから選択される。

【0095】

ある実施態様において、癌細胞に存在する成分は膜1型メタロプロテアーゼ(MT1-MMP)である。

【0096】

ある実施態様において、第一ペプチドリガンドは、MT1-MMP結合二環式ペプチドリガンドを含む。

【0097】

ある実施態様において、MT1-MMP結合二環式ペプチドリガンドは、各内容を引用により全体として本明細書に包含させる、WO2016/067035、WO2017/191460およびWO2018/115204に開示のものから選択される。

【0098】

CD137結合ペプチドリガンド

CD137は腫瘍壊死因子(TNF)受容体ファミリーのメンバーである。別名は腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー9(TNFRSF9)、4-1BBであり、リンパ球活性化(ILA)により誘導される。CD137は活性化T細胞により発現され得るが、大部分はCD4+T細胞ではなくCD8+である。さらに、CD137発現は樹状細胞、濾胞性樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、顆粒球および炎症部位の血管壁の細胞に見られる。CD137の一つの特徴づけされた活性は、活性化T細胞のその共刺激活性である。CD137の架橋は、T細胞増殖、IL-2分泌、生存および細胞溶解活性を増強する。さらに、免疫活性を増強し、マウスで腫瘍を排除できる。

【0099】

CD137はTCR活性化により誘導されるT細胞共刺激受容体である(Nam et al., Curr. Cancer Drug Targets, 5:357-363 (2005); Waits et al., Annu. Rev. Immunol., 23:23-68 (2005))。活性化CD4+およびCD8+T細胞への発現に加えて、CD137はまたCD4+CD25+制御性T細胞、ナチュラルキラー(NK)およびNK-T細胞、単球、好中球および樹状細胞にも発現する。その天然リガンド、CD137Lは、B細胞、単球/マクロファージおよび樹状細胞を含む抗原提示細胞に記載されている(Watts et al. Annu. Rev. Immunol, 23:23-68 (2005))。そのリガンドとの相互作用により、CD137TCR誘導T細胞増殖、サイトカイン産生、機能的成熟およびCD8+T細胞生存延長を増加させる(Nam et al, Curr. Cancer Drug Targets, 5:357-363 (2005), Watts et d - l., Annu. Rev. Immunol, 23:23-68 (2005))。

【0100】

CD137LまたはCD137に対するアゴニストモノクローナル抗体(mAb)によるCD137を介するシグナル伝達により、TCR誘導T細胞増殖、サイトカイン産生および機能的成熟およびCD8+T細胞生存延長が増加される。これらの効果は、(1)NF-κB、c-Jun NH2末端キナーゼ/ストレス活性化タンパク質キナーゼ(JNK/SAPK)およびp38マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ(MAPK)シグナル伝達経路の活性化および(2)抗アポトーシスおよび細胞周期関連遺伝子発現の制御に起因する。

【0101】

両CD137およびCD137L欠損マウスで実施された実験は、さらに、十分に適格なT細胞応答の産生におけるCD137共刺激を示す。

【0102】

IL-2およびIL-15活性化NK細胞はCD137を発現し、アゴニストmAbによるCD137のライゲーションはNK細胞増殖およびIFN-γ分泌を刺激するが、細胞溶解活性は刺激しない。

【0103】

さらに、CD137刺激NK細胞は、インビトロでの活性化T細胞の拡大を促進する。

【0104】

10

20

30

40

50

共刺激機能により、CD137に対するアゴニストmAbは、心臓および皮膚同種移植の拒絶を促進し、確立された腫瘍を根絶し、一次抗ウイルスCD8+T細胞応答を拡大し、T細胞細胞溶解能を増加することが示されている。これらの試験は、CD137シグナル伝達が、腫瘍および感染に対する免疫を増強し得るT細胞機能を促進するとの観点を支持する。

【0105】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が2以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、該CD137結合ペプチドリガンドの2以上は同じペプチド配列を有する。ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が2以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、該CD137結合ペプチドリガンドの2以上は異なるペプチド配列を有する。ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が2以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、該CD137結合ペプチドリガンドの2以上は同一である。ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が2以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、該CD137結合ペプチドリガンドの2以上は異なる。

10

【0106】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が1個のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、CD137結合ペプチドリガンドはCD137結合二環式ペプチドリガンドである。ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が2以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、該CD137結合ペプチドリガンドの2以上はCD137結合二環式ペプチドリガンドである。

20

【0107】

ある実施態様において、CD137結合二環式ペプチドリガンドはWO2019/025811に開示のものから選択される。ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が1個のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、CD137結合ペプチドリガンドはWO2019/025811に開示のものから選択されるCD137結合二環式ペプチドリガンドである。ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が2以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、該CD137結合二環式ペプチドリガンドの2以上は独立してWO2019/025811に開示のものから選択される。WO2019/025811の内容は、引用により全体として本明細書に包含させる。

30

【0108】

ある実施態様において、CD137結合二環式ペプチドリガンドはアミノ酸
 CiIEEGQYCiFADPY[NLe]Ciii(配列番号5);
 Ci[tBuAla]PE[D-Ala]PYCiFADPY[NLe]Ciii(配列番号6);
 CiIEEGQYCiF[D-Ala]DPY[NLe]Ciii(配列番号7);
 Ci[tBuAla]PK[D-Ala]PYCiFADPY[NLe]Ciii(配列番号8);
 Ci[tBuAla]PE[D-Lys]PYCiFADPY[NLe]Ciii(配列番号9);
 Ci[tBuAla]P[K(PYA)][D-Ala]PYCiFADPY[NLe]Ciii(配列番号10);
 Ci[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYCiFADPY[NLe]Ciii(配列番号11);
 CiIEE[D-Lys(PYA)]QYCiFADPY(NLe)Ciii(配列番号12);
 Ci[tBuAla]PE[dK]PYCiFADPY[NLe]Ciii(配列番号60);
 CiIEE[dK(PYA)]QYCiFADPY[NLe]Ciii(配列番号61);
 Ci[tBuAla]EE(dK)PYCiFADPY[NLe]Ciii(配列番号62);
 Ci[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYCiFADPY[NLe]Ciii(配列番号63);
 Ci[tBuAla]EE[dK(PYA)]PYCiFADPY[NLe]Ciii(配列番号64);
 Ci[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYCiFANPY[NLe]Ciii(配列番号65);
 Ci[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYCiFAEPY[NLe]Ciii(配列番号66);
 Ci[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYCiFA[Aad]PY[NLe]Ciii(配列番号

40

50

67);
C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAQPY[NLe]C_{iii}(配列番号68);
C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe][Cysam]_{iii}(配列番号69);

[MerPro]_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号70;ここでBCY12353と称する);

[MerPro]_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe][Cysam]_{iii}(配列番号71;ここでBCY12354と称する);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号72);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号73);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号74;
ここでBCY12372と称する);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeAla]Y[NLe]C_{iii}(配列番号75);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeDA]Y[NLe]C_{iii}(配列番号76);

C_i[tBuAla]P[K(PYA)][dA]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号77);

C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号78);

C_i[tBuAla]PE[dK(Me,PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号79);

C_i[tBuAla]PE[dK(Me,PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号80);および

[MerPro]_i[tBuAla]EE[dK]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号81;ここでBCY13137と称する)

〔式中、[MerPro]_i、C_i、C_{ii}、C_{iii}および[Cysam]_{iii}はスステイン、MerProおよびCysamから選択される第一(i)、第二(ii)および第三(iii)反応性基を表し、NLeはノルロイシンを表し、tBuAlaはt-ブチルアラニンを表し、PYAは4-ペンチン酸を表し、Aadはアルファ-L-アミノアジピン酸を表し、MerProは3-メルカプトプロピオン酸を表し、そしてCysamはシステアミンを表し、NMeAlaはN-メチルアラニンを表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0109】

ある実施態様において、CD137結合二環式ペプチドリガンドはアミノ酸

C_iIEEGQYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号5);

C_i[tBuAla]PE[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号6);

C_iIEEGQYC_{ii}F[D-Ala]DPY[NLe]C_{iii}(配列番号7);

C_i[tBuAla]PK[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号8);

C_i[tBuAla]PE[D-Lys]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号9);

C_i[tBuAla]P[K(PYA)][D-Ala]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号10);

C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号11);および

C_iIEE[D-Lys(PYA)]QYC_{ii}FADPY(NLe)C_{iii}(配列番号12)

〔式中、C_i、C_{ii}およびC_{iii}はそれぞれ第一、第二および第三スステイン残基を表し、NLeはノルロイシンを表し、tBuAlaはt-ブチルアラニンを表し、PYAは4-ペンチン酸を表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0110】

ある実施態様において、CD137結合二環式ペプチドリガンドはアミノ酸

10

20

30

40

50

C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[NLe]C_{iii}(配列番号 11)

〔式中、C_i、C_{ii}およびC_{iii}はそれぞれ第一、第二および第三システイン残基を表し、tBuAlaはt-ブチルアラニンを表し、PYAは4-ペンチン酸を表し、NLeはノルロイシンを表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0111】

ある実施態様において、CD137結合二環式ペプチドリガンドはN末端およびC末端修飾を含み、

Ac-A-(配列番号5)-Dap(ここでBCY7732と称する)；

Ac-A-(配列番号5)-Dap(PYA)(ここでBCY7741と称する)；

Ac-(配列番号6)-Dap(ここでBCY9172と称する)；

Ac-(配列番号6)-Dap(PYA)(ここでBCY11014と称する)；

Ac-A-(配列番号7)-Dap(ここでBCY8045と称する)；

Ac-(配列番号8)-A(ここでBCY8919と称する)；

Ac-(配列番号9)-A(ここでBCY8920と称する)；

Ac-(配列番号10)-A(ここでBCY8927と称する)；

Ac-(配列番号11)-A(ここでBCY8928と称する)；

(配列番号11)-A(ここでBCY14601と称する)；

Ac-A-(配列番号12)-A(ここでBCY7744と称する)；

Ac-(配列番号60)-Dap(PYA)(ここでBCY11144と称する)；

Ac-A-(配列番号61)-K(ここでBCY11613と称する)；

Ac-(配列番号62)-Dap(PYA)(ここでBCY12023と称する)；

Ac-(配列番号63)(ここでBCY12149と称する)；

Ac-(配列番号64)(ここでBCY12143と称する)；

Ac-(配列番号65)(ここでBCY12147と称する)；

Ac-(配列番号66)(ここでBCY12145と称する)；

Ac-(配列番号67)(ここでBCY12146と称する)；

Ac-(配列番号68)(ここでBCY12150と称する)；

Ac-(配列番号69)(ここでBCY12352と称する)；

Ac-(配列番号72)-[1,2-ジアミノエタン](ここでBCY12358と称する)；

[パルミチン酸]-[yGlu]-[yGlu]-(配列番号73)(ここでBCY12360と称する)；

Ac-(配列番号75)(ここでBCY12381と称する)；

Ac-(配列番号76)(ここでBCY12382と称する)；

Ac-(配列番号77)-K(ここでBCY12357と称する)；

Ac-(配列番号78)-[dA](ここでBCY13095と称する)；

[Ac]-(配列番号78)-K(ここでBCY13389と称する)；

Ac-(配列番号79)-[dA](ここでBCY13096と称する)；および

Ac-(配列番号80)(ここでBCY13097と称する)

〔式中、Acはアセチル基を表し、Dapはジアミノプロピオン酸を表し、そしてPYAは4-ペンチン酸を表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0112】

ある実施態様において、CD137結合二環式ペプチドリガンドはN末端およびC末端修飾を含み、

Ac-A-(配列番号5)-Dap(ここでBCY7732と称する)；

Ac-A-(配列番号5)-Dap(PYA)(ここでBCY7741と称する)；

Ac-(配列番号6)-Dap(ここでBCY9172と称する)；

Ac-(配列番号6)-Dap(PYA)(ここでBCY11014と称する)；

A c - A - (配列番号 7) - D a p (ここで B C Y 8 0 4 5 と称する) ;

A c - (配列番号 8) - A (ここで B C Y 8 9 1 9 と称する) ;

A c - (配列番号 9) - A (ここで B C Y 8 9 2 0 と称する) ;

A c - (配列番号 10) - A (ここで B C Y 8 9 2 7 と称する) ;

A c - (配列番号 11) - A (ここで B C Y 8 9 2 8 と称する) ; および

A c - A - (配列番号 12) - A (ここで B C Y 7 7 4 4 と称する)

〔式中、A c はアセチル基を表し、D a p はジアミノプロピオン酸を表し、そして P Y A は 4 - ペンチン酸を表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0113】

ある実施態様において、C D 1 3 7 結合二環式ペプチドリガンドは N 末端および C 末端修飾を含み、

A c - (配列番号 11) - A (ここで B C Y 8 9 2 8 と称する)

〔式中、A c はアセチル基を表す。〕

またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0114】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が 2 以上の C D 1 3 7 結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、該 2 以上の C D 1 3 7 結合ペプチドリガンドの各々は同じペプチド配列を有し、該ペプチド配列は A c - (配列番号 11) - A (ここで B C Y 8 9 2 8 と称する)(ここで、A c はアセチル基を表す) またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0115】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が 2 個の C D 1 3 7 結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、該 2 個の C D 1 3 7 結合ペプチドリガンドの何れも同じペプチド配列を有し、それは A c - (配列番号 11) - A (ここで B C Y 8 9 2 8 と称する)(ここで、A c はアセチル基を表す) またはその薬学的に許容される塩を含む。

【0116】

リンカー

2 以上の C D 1 3 7 結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体

第一ペプチドリガンドを、任意の適当なリンカーを介して 2 以上の第二ペプチドリガンドにコンジュゲートし得ることは認識される。典型的に、該リンカーの設計は、3 個の二環式ペプチドが、何れか単独で各標的に妨害されないで結合できるような方法でまたは両標的受容体に同時に結合しながら存在するようなものである。さらに、リンカーは、所望の機能的アウトカムに至る標的細胞間の適切な距離を維持しながら、同時に両標的への結合を可能としないなければならない。リンカーの性質は、所望の機能的アウトカムを最適化するために、長さ、剛性または溶解度を増加するよう調節され得る。リンカーはまた 1 を超える二環の同じ標的への結合を可能とするようにも設計され得る。結合ペプチド何れかの価数の増加は、標的細胞へのヘテロタンデムの親和性に作用し得てまたは標的受容体の一方または両方のオリゴマー化の誘導を助け得る。

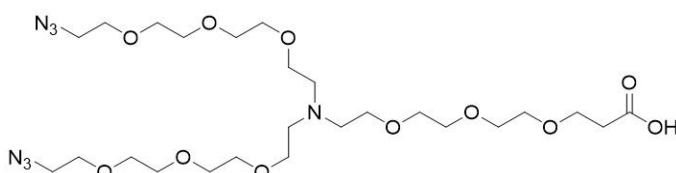
【0117】

ある実施態様において、リンカーは、一端に 1 つの第一ペプチドおよび他端に 2 以上の第二ペプチドを可能とする分岐リンカーである。

【0118】

ある実施態様において、分岐リンカーは

【化 4】



10

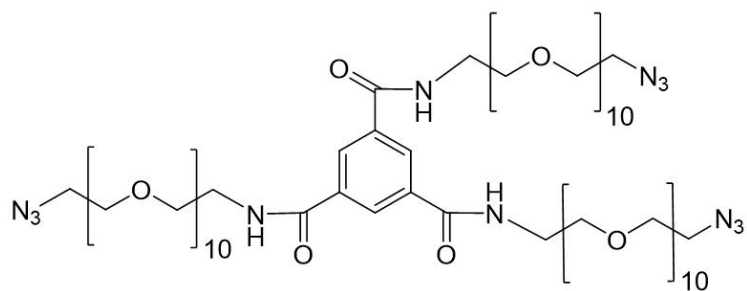
20

30

40

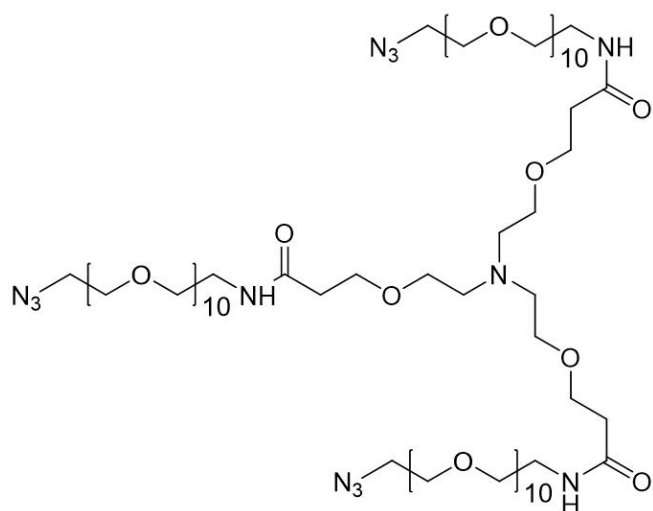
50

N-(酸-PEG₃)-N-ビス(PEG₃-アジド) ;
【化5】



10

トリメシン酸-[Peg10]₃ ;
【化6】



20

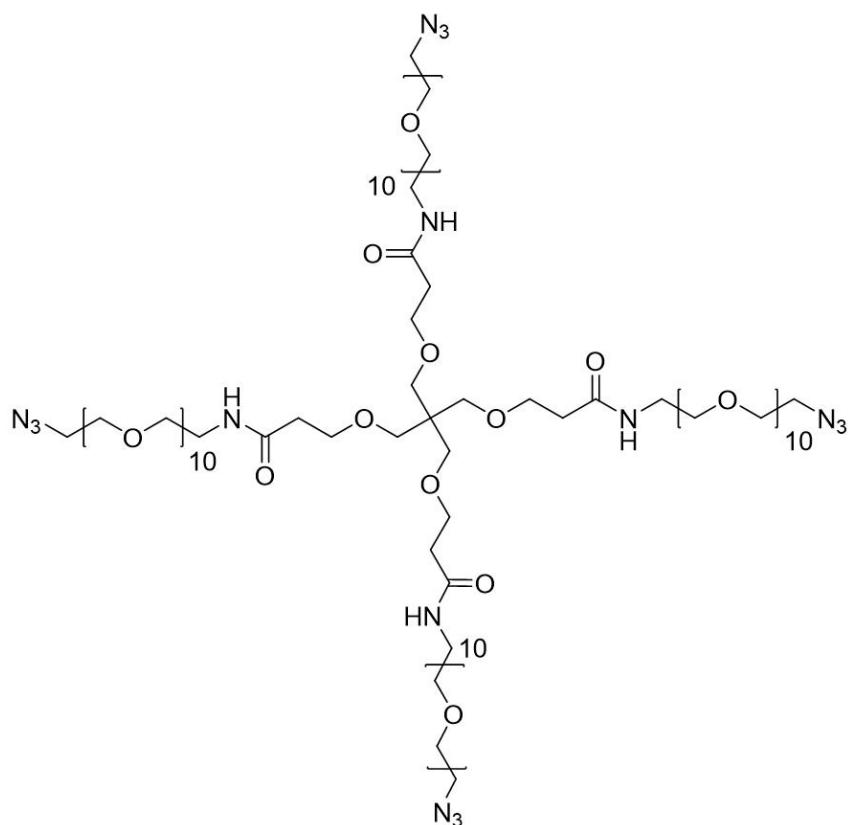
TCA-[Peg10]₃ ;

30

40

50

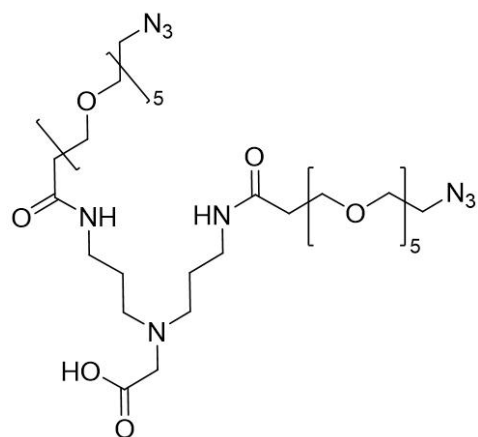
【化 7】



10

20

T e t - [P e g 1 0] 4 ; および
【化 8】



30

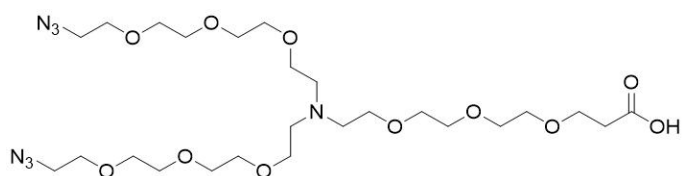
B A P G - (P e g 5) 2

から選択される。

【 0 1 1 9】

ある実施態様において、分岐リンカーは

【化 9】



50

N - (酸 - P E G 3) - N - ビス (P E G 3 - アジド)

である。

【0120】

1個のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体

第一ペプチドリガンドは任意の適当なリンカーを介して第二ペプチドリガンドにコンジュゲートし得ると認識される。典型的に該リンカーの設計は、2個の二環式ペプチドが、何れか単独で各標的に妨害されないで結合できるような方法でまたは両標的受容体に同時に結合しながら存在するようなものである。さらに、リンカーは、所望の機能的アウトカムに至る標的細胞間の適切な距離を維持しながら、同時に両標的への結合を可能としないなければならない。リンカーの性質は、所望の機能的アウトカムを最適化するために、長さ、剛性または溶解度を増加するよう調節され得る。リンカーはまた1を超える二環の同じ標的への結合を可能とするようにも設計され得る。結合ペプチド何れかの価数の増加は、標的細胞へのヘテロタンデムの親和性に作用し得てまたは標的受容体の一方または両方のオリゴマー化の誘導を助け得る。

10

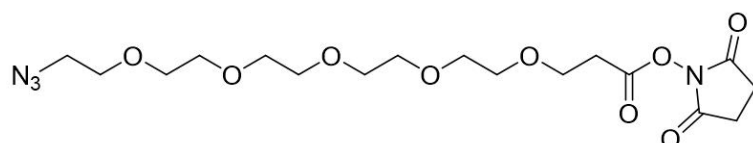
【0121】

ある実施態様において、リンカーは次の配列から選択される：-PEG5-およびTCA-[PEG10]₃。

【0122】

これらのリンカーの構造を下に詳述する：

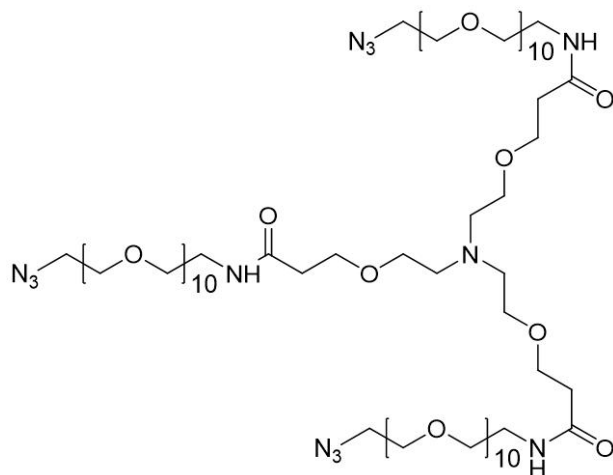
【化10】



20

-PEG5-；および

【化11】



30

TCA-[PEG10]₃。

40

【0123】

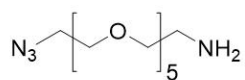
ある実施態様において、リンカーは次の配列から選択される：-CH₂-、-PEG5-、-PEG10-、-PEG12-、-PEG23-、-PEG24-、-PEG15-Sar5-、-PEG10-Sar10-、-PEG5-Sar15-、-PEG5-Sar5-、-B-Ala-Sar20-、-B-Ala-Sar10-PEG10-、-B-Ala-Sar5-PEG15-および-B-Ala-Sar5-PEG5-。

【0124】

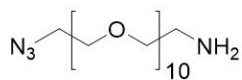
ある実施態様において、リンカーは次のものから選択される。

50

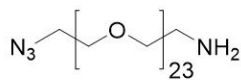
【化 1 2】



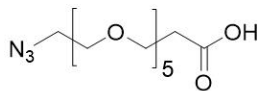
H2N-Peg5-N3
COM00000132



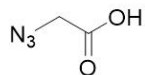
H2N-Peg10-N3
COM00000134



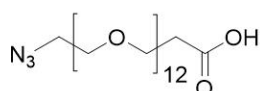
H2N-Peg23-N3
COM00000135



N3-PEG5-COOH
COM00000467

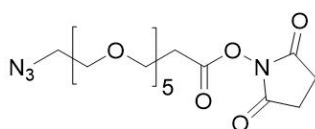


N3-CH2-COOH
COM00000468

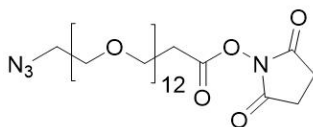


N3-PEG12-COOH
COM00000466

10



NHS-PEG5-N3



NHS-PEG12-N3

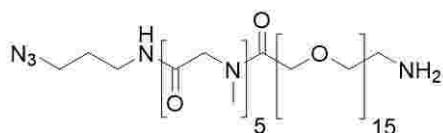
20

30

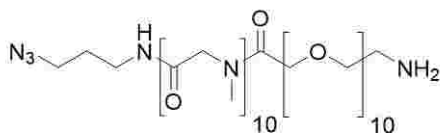
40

50

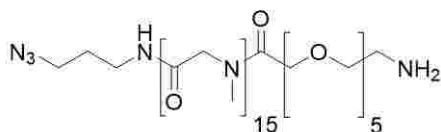
【化 1 3】



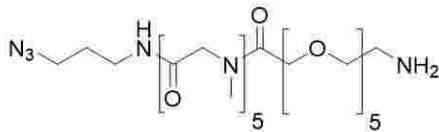
H2N-PEG15-SAR5-N3
COM00000128



H2N-PEG10-SAR10-N3
COM00000129

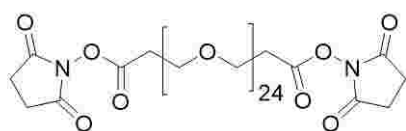


H2N-PEG5-SAR15-N3
COM00000130

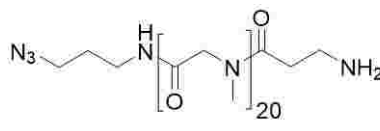


H2N-PEG5-SAR5-N3
COM00000131

10

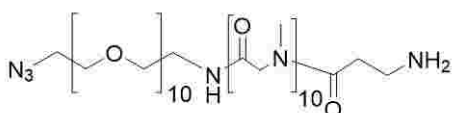


NHS-PEG24-NHS
COM00000469

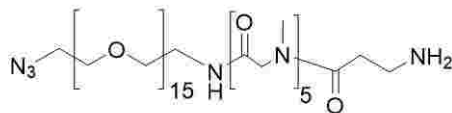


H2N-(B-Ala)-SAR20-N3
COM00000470

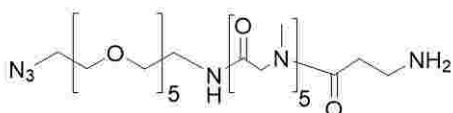
20



H2N-(B-Ala)-SAR10-PEG10-N3
COM00000471



H2N-(B-Ala)-SAR5-PEG15-N3
COM00000472



H2N-(B-Ala)-SAR5-PEG5-N3
COM00000473

30

【0125】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が2以上のCD137結合ペプチドリガンドを含む実施態様において、第一ペプチドリガンドはTATA足場に結合したネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドを含み、2以上のCD137結合二環式ペプチドリガンドの各々はTATA足場に結合し、該ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は表Aに挙げる複合体から選択される。

40

【表 1】

表A(ネクチン-4 : CD137 ; 1 : 2)

複合体番号	ネクチン-4 BCY No.	結合点	リンカー	CD137 B CY No.	結合点
BCY11863	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY8928	dLys (PYA) 4
BCY12484	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY12143	dLys(PYA)4
BCY10918	BCY11015	N末端 PYA	トリメチン酸-[Peg ₁₀] ₃	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY10919	BCY11015	N末端 PYA	トリメチン酸-[Peg ₁₀] ₃	BCY11014	C末端Dap(PYA)
BCY11027	BCY11015	N末端 PYA	TCA-[Peg ₁₀] ₃	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY11385	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY11014	C末端Dap(PYA)
BCY11864	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY7744	dLys(PYA)4
BCY12485	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY12149	dLys(PYA)4
BCY12486	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY12147	dLys(PYA)4
BCY12586	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY12352	dLys(PYA)4
BCY12487	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY12145	dLys(PYA)4
BCY12490	BCY12024	dLys3	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12587	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY12353	dLys(PYA)4
BCY12588	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY12354	dLys(PYA)4
BCY12589	BCY12371	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12590	BCY12384	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12760	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY12381	dLys(PYA)4
BCY12761	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY12382	dLys(PYA)4
BCY13390	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4
BCY14602	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY14601	dLys(PYA)4
BCY15155	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジド)	BCY14601 BCY8928	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4

【0126】

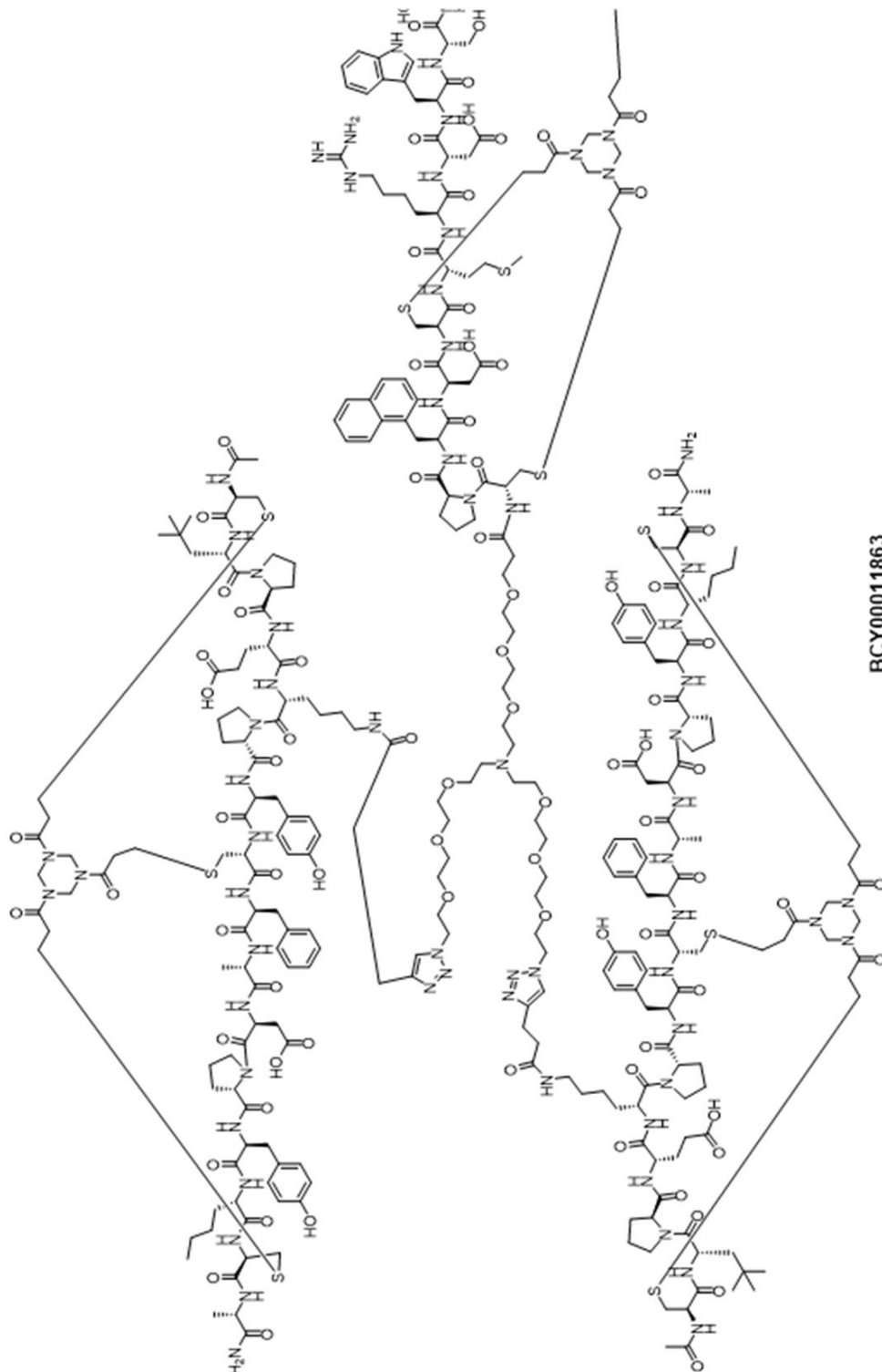
ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY11027、BCY11863およびBCY11864から選択される。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY11863およびBCY11864から選択される。

【0127】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体BCY11863(BT7480とも称する)は、以下に図的に示す、N-(酸-PEG₃)-N-ヒス(PEG₃-アジド)リンカーを介して2個のCD137特異的ペプチド(その何れもBCY8928である)に連結したネクチン

ー 4 特異的ペプチド B C Y 8 1 1 6 からなる。

【化 1 4】



【 0 1 2 8 】

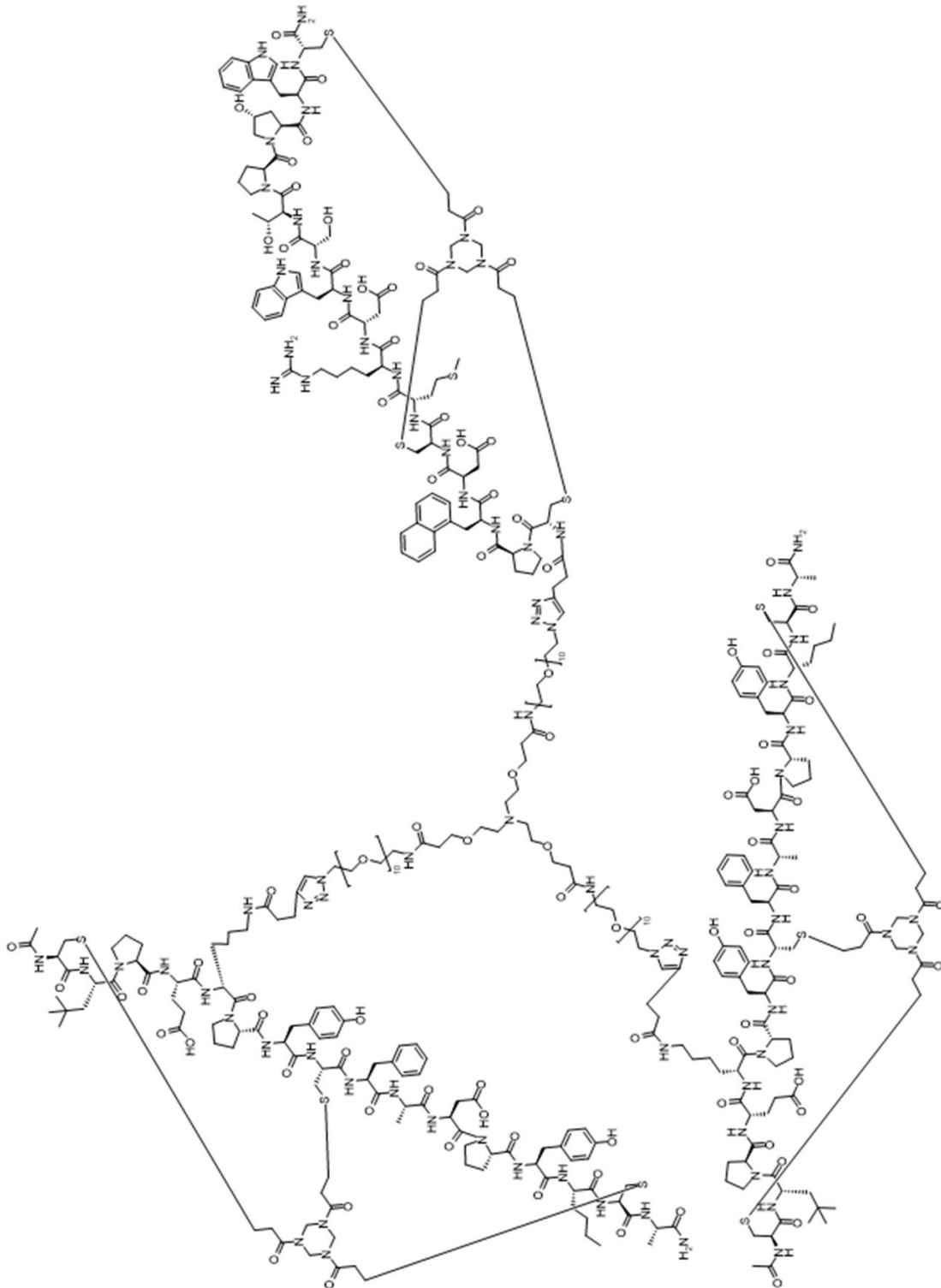
C D 1 3 7 はホモ三量体タンパク質であり、天然リガンド C D 1 3 7 L は免疫細胞に発現されるかまたは分泌されるホモ三量体として存在する。C D 1 3 7 の生物学は、免疫細胞で C D 1 3 7 活性を誘導するための多量体化に高度に依存する。C D 1 3 7 多量体化を産生する一つの方法は、他の細胞に存在する特異的受容体との相互作用を介する C D 1 3 7 特異的アゴニストの細胞性架橋である。本発明のヘテロタンデム複合体の利点は、C D 1 3 7 などの免疫細胞成分に特異的な 2 以上のペプチドリガンドの存在が、C D 1 3 7 のより有効なクラスター形成を提供することである。例えば、B C Y 1 1 8 6 3 が強い C D

137 活性化を示し、ロバストな IL-2 および IFN- γ サイトカイン分泌を誘導し、BCY11863 が、SD ラットで 4.1 時間およびカニクイザルで 5.3 時間の終末相半減期の優れた PK プロファイルを示すことである。

【0129】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体 BCY11027 は、以下に図的に示す、TCA-[Peg10]₃ リンカーを介して 2 個の CD137 特異的ペプチド(その何れも BCY8928 である)に連結したネクチン-4 特異的ペプチド BCY11015 からなる。

【化15】



【0130】

ネクチン-4 / CD137 ヘテロタンデム BCY11027 が原発患者由来肺腫瘍のエ

10

20

30

40

50

クスビボ培養で標的依存的サイトカイン放出を誘導し、ネクチン-4発現レベルと相関する、患者由来サンプルにおける数種の免疫マーカー(媒体に対して正規化)および%CD8+k i 6 7+T細胞のネクチン-4依存的変化を誘導することが判明した。

【0131】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が2以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、第一ペプチドリガンドはTATA足場に結合したネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドを含み、2以上のCD137結合二環式ペプチドリガンドの各々はTATA足場に結合し、該ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は表Bに挙げる複合体から選択される。

【表2】

表B(ネクチン-4：CD137；1：3)

複合体番号	ネクチン-4 BCY No.	結合点	リンカー	CD137 B CY No.	結合点
BCY11021	BCY11016	N末端PYA	Tet-[Peg ₁₀] ₄	BCY7744	dLys(PYA)4
BCY11022	BCY11016	N末端PYA	Tet-[Peg ₁₀] ₄	BCY8928	dLys(PYA)4

【0132】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が2以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、第一ペプチドリガンドはTATA足場に結合したEphA2結合二環式ペプチドリガンドを含み、2以上のCD137結合二環式ペプチドリガンドの各々はTATA足場に結合し、該ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は表Cに挙げる複合体から選択される。

10

20

30

40

50

【表 3】

表C(E p h A 2 : C D 1 3 7 ; 1 : 2)

複合体番号	EphA2 BC Y No.	結合点	リンカー	CD137 BC Y No.	結合点
BCY12491	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12723	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY12143	dLys (PYA)4
BCY12724	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY12149	dLys (PYA)4
BCY12725	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY12147	dLys (PYA)4
BCY12726	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY12145	dLys (PYA)4
BCY12728	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY12150	dLys (PYA)4
BCY12729	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY12352	dLys (PYA)4
BCY12730	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY12731	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY12354	dLys (PYA)4
BCY12732	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY12360	dLys (PYA)4
BCY12973	BCY12734	C末端 Lys	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12974	BCY12735	Lys8	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12975	BCY12736	Lys2	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12976	BCY12737	Lys7	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12977	BCY12738	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12978	BCY12739	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12979	BCY9594	N末端	BAPG-(PEG ₅) ₂	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13042	BCY12854	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13043	BCY12855	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13044	BCY12856	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13045	BCY12857	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト*)	BCY8928	dLys (PYA)4

10

20

30

40

50

【表 4】

BCY13049	BCY12861	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13050	BCY12862	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13051	BCY12863	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13052	BCY12864	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13053	BCY12865	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13054	BCY12866	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13138	BCY12856	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13139	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13140	BCY12856	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13270	BCY13116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13271	BCY13117	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13272	BCY13118	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13273	BCY13119	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13274	BCY13120	C末端dLys	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13275	BCY13121	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13276	BCY13122	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13277	BCY13123	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13278	BCY13124	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13280	BCY13126	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13281	BCY13127	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13282	BCY13128	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13284	BCY13130	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY8928	dLys (PYA)4

10

20

30

40

50

【表 5】

BCY13046	BCY12858	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13047	BCY12859	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13048	BCY12860	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13285	BCY13131	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13286	BCY13132	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13288	BCY13134	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13289	BCY13135	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13341	BCY12865	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13343	BCY12860	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13279	BCY13125	C末端d Lys	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13283	BCY13129	C末端d Lys	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13287	BCY13133	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14049	BCY13917	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14050	BCY13918	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14051	BCY13919	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14052	BCY13920	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14053	BCY13922	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14054	BCY13923	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14055	BCY14047	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14056	BCY14048	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14334	BCY14313	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト [*])	BCY8928	dLys (PYA)4

10

20

30

40

50

【表 6】

BCY14335	BCY14327	Lys 8	N-(酸-PEG3)-N- ヒス(PEG3-アジド)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14413	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG3)-N- ヒス(PEG3-アジド)	BCY8928 BCY13389	dLys (PYA)4 dLys (PYA)4
BCY14414	BCY13118	N末端	N-(酸-PEG3)-N- ヒス(PEG3-アジド)	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4
BCY15217	BCY13118	N末端	N-(酸-PEG3)-N- ヒス(PEG3-アジド)	BCY14601 BCY14601	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4
BCY15218	BCY13118	N末端	N-(酸-PEG3)-N- ヒス(PEG3-アジド)	BCY8928 BCY14601	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4

10

【0133】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY12491、BCY12730、BCY13048、BCY13050、BCY13053およびBCY13272から選択される。

【0134】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY12491、BCY12730、BCY13048、BCY13050およびBCY13053から選択される。

20

【0135】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY12491である。

【0136】

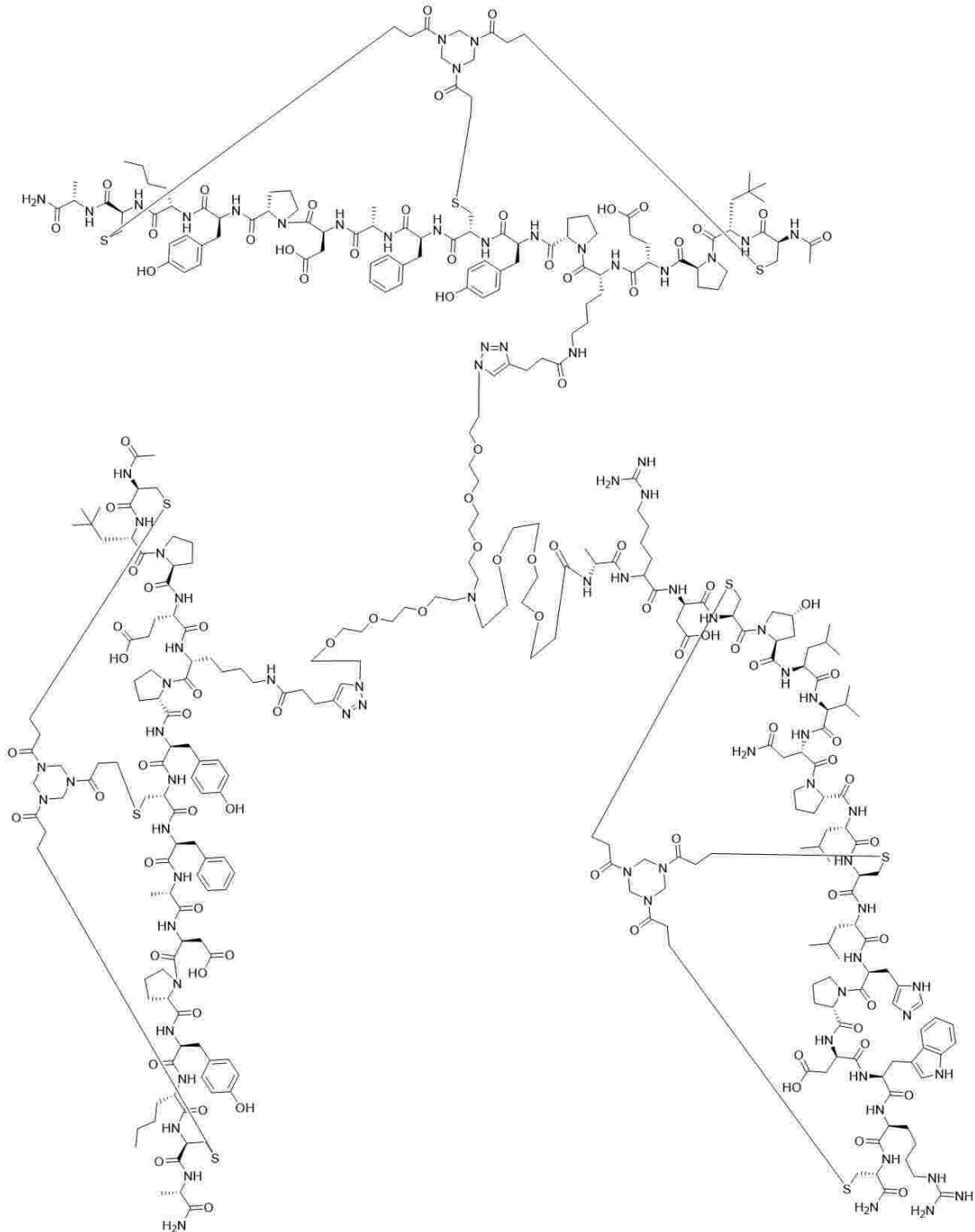
ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体BCY12491は、以下に図で示す、N-(酸-PEG₃)-N-ヒス(PEG₃-アジド)リンカーを介して2個のCD137特異的ペプチド(その何れもBCY8928である)に連結したEphA2特異的ペプチドBCY9594からなる。

30

40

50

【化 1 6】



10

20

30

40

【0137】

BCY12491

BCY12491が顕著な抗腫瘍応答ならびに腫瘍浸潤免疫細胞および免疫応答の調節(増加)をもたらすことが判明した。

【0138】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY13272である。

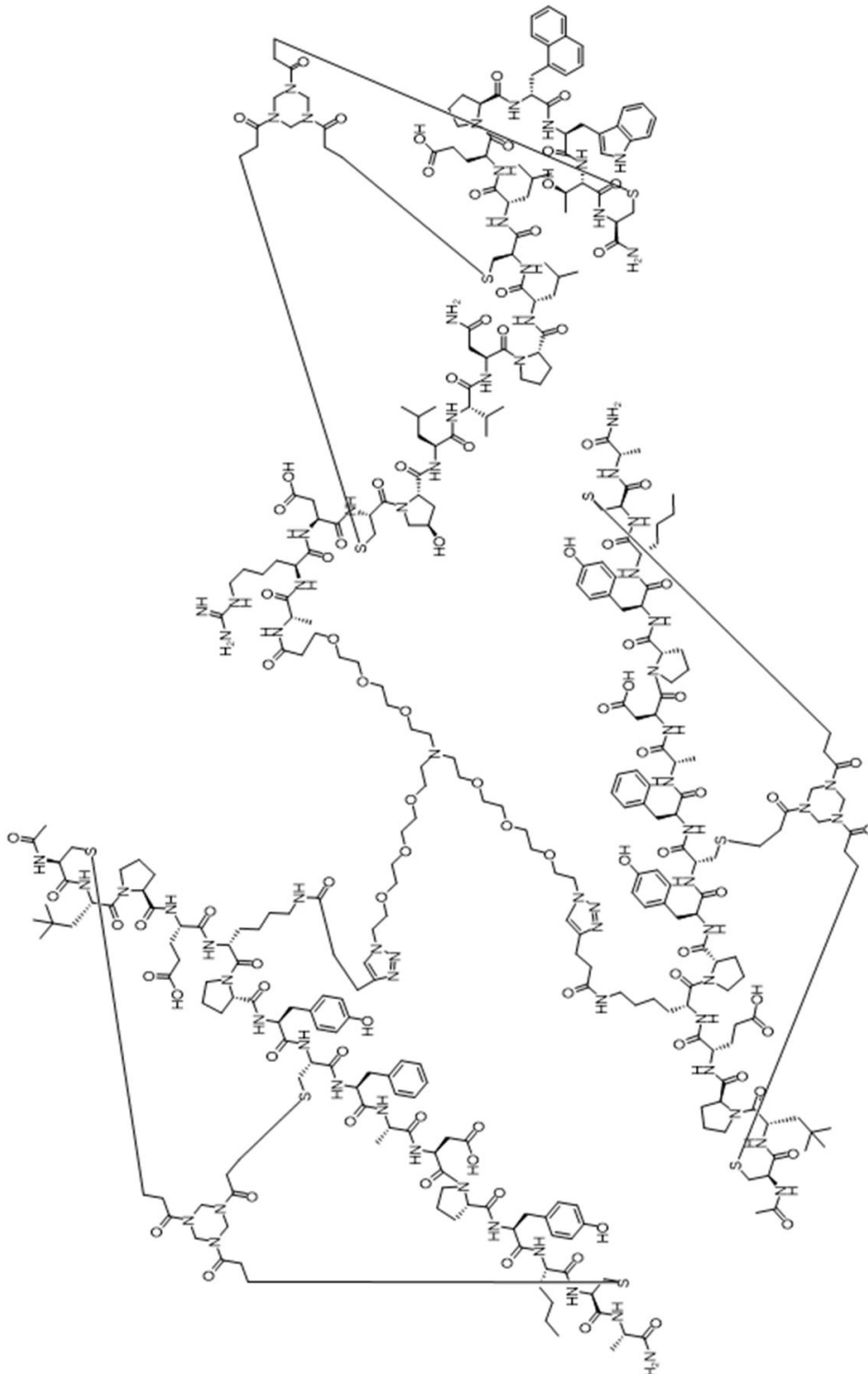
【0139】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体BCY13272は、以下に示す、N-(酸-

50

PEG₃)-N-ビス(PEG₃-アジド)リンカーを介して2個のCD137特異的ペプチド(その何れもBCY8928である)に連結したEphA2特異的ペプチドBCY13118からなる。

【化17】



10

20

30

40

【0140】

BCY13272

BCY13272がマウスのMC38腫瘍モデルで顕著な抗腫瘍効果をもたらすことが判明した。

【0141】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が2以上のCD137結合ペプチドリガンドを含

50

むある実施態様において、第一ペプチドリガンドはT A T A足場に結合したP D - L 1 結合二環式ペプチドリガンドを含み、T A T A足場に結合した2以上のC D 1 3 7 結合二環式ペプチドリガンドの各々および該ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は表Dに挙げる複合体から選択される。

【表7】

表D(PD-L1 : CD137 ; 1 : 2)

複合体番号	PD-L1 BCY No.	結合点	リンカー	CD137 BCY No.	結合点
BCY11780	BCY10861	Lys(PYA)9	TCA-[Peg ₁₀] ₃	BCY8928	dLys4
BCY12662	BCY12479	C末端Lys	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒ [*] ス(PEG ₃ -ア [*] ト [*])	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12722	BCY12477	C末端Lys	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒ [*] ス(PEG ₃ -ア [*] ト [*])	BCY8928	dLys(PYA)4

10

【0142】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が1個のC D 1 3 7 結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、第一ペプチドリガンドはT A T A足場に結合したP D - L 1 結合二環式ペプチドリガンドを含み、1個のC D 1 3 7 結合ペプチドリガンドはT A T A足場に結合し、該ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は表Eに挙げる複合体から選択される。

20

【表8】

表E(PD-L1 : CD137 ; 1 : 1)

複合体番号	PD-L1 BCY No.	結合点	リンカー	CD137 BCY No.	結合点
BCY12229	BCY11865	Lys9	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12230	BCY11866	Lys2	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12231	BCY11867	Lys7	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12232	BCY11868	Lys8	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12242	BCY11869	Lys11	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12375	BCY10861	Lys(PYA)9	Peg5	BCY12023	dLys4
BCY12663	BCY12479	C末端Lys	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12796	BCY12477	C末端Lys	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12021	BCY10861	Lys(PYA)9	Peg5	BCY11144	dLys4

30

40

【0143】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はB C Y 1 2 3 7 5およびB C Y 1 2 0 2 1から選択される。

【0144】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が1個のC D 1 3 7 結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、第一ペプチドリガンドはT A T A足場に結合したP D - L 1 結合二環式ペプチドリガンドを含み、1個のC D 1 3 7 結合ペプチドリガンドはT A T A足場に結合し、該ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は表E-2に挙げる複合体から選択される。

50

【表 9】

表E-2(PD-L1:CD137;1:1)					
複合体番号	PD-L1 BC Y No.	結合点	リンカー	CD137 BC Y No.	結合点
BCY8939	BCY8938	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY7732	C末端Dap
BCY10580	BCY10043	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C末端Dap
BCY10581	BCY10044	C末端Lys(PYA A)	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C末端Dap
BCY10582	BCY10045	Lys(PYA)9	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C末端Dap
BCY11017	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG ₁₂ -	BCY8919	Lys3
BCY11018	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG ₁₂ -	BCY8920	dLys4
BCY11019	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C末端Dap
BCY11376	BCY10861	Lys(PYA)9	-CH ₂ -	BCY8919	Lys3
BCY11377	BCY10861	Lys(PYA)9	-CH ₂ -	BCY8920	dLys4
BCY11378	BCY10861	Lys(PYA)9	-CH ₂ -	BCY9172	C末端Dap
BCY11379	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG ₅ -	BCY8919	Lys3
BCY11380	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG ₅ -	BCY8920	dLys4
BCY11381	BCY10861	Lys(PYA)9	-PEG ₅ -	BCY9172	C末端Dap

10

20

【0145】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が1個のCD137結合ペプチドリガンドを含む実施態様において、第一ペプチドリガンドはTATA足場に結合したEphA2結合二環式ペプチドリガンドを含み、1個のCD137結合ペプチドリガンドはTATA足場に結合し、該ヘテロタンデム複合体は表Fに挙げる複合体から選択される。

30

40

50

【表 10】

表F(E p h A 2 : C D 1 3 7 ; 1 : 1)

複合体番号	EphA2 BCY No.	結合点	リンカー	CD137 BCY No.	結合点
BCY12233	BCY11813	N末端PYA	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12234	BCY11814	C末端Lys(PYA)	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12235	BCY11815	Lys(PYA) 8	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12236	BCY11816	Lys(PYA)2	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12237	BCY11817	Lys(PYA)7	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12711	BCY9594	N末端	Peg5	BCY12143	dLys (PYA)4
BCY12712	BCY9594	N末端	Peg5	BCY12149	dLys (PYA)4
BCY12713	BCY9594	N末端	Peg5	BCY12147	dLys (PYA)4
BCY12714	BCY9594	N末端	Peg5	BCY12145	dLys (PYA)4
BCY12715	BCY9594	N末端	Peg5	BCY12146	dLys (PYA)4
BCY12717	BCY9594	N末端	Peg5	BCY12352	dLys (PYA)4
BCY12718	BCY9594	N末端	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY12719	BCY9594	N末端	Peg5	BCY12354	dLys (PYA)4
BCY12720	BCY9594	N末端	Peg5	BCY12360	dLys (PYA)4
BCY12961	BCY12734	C末端Lys	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12962	BCY12735	Lys8	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12963	BCY12736	Lys2	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12964	BCY12737	Lys7	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12965	BCY12738	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12966	BCY12739	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13029	BCY12854	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13030	BCY12855	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13031	BCY12856	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13032	BCY12857	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13033	BCY12858	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13034	BCY12859	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13035	BCY12860	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13036	BCY12861	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13037	BCY12862	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13038	BCY12863	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13039	BCY12864	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4

10

20

30

40

50

【表 1 1】

BCY13040	BCY12865	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13041	BCY12866	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13141	BCY12856	N末端	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13142	BCY9594	N末端	Peg5	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13143	BCY12856	N末端	Peg5	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13250	BCY13116	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13251	BCY13117	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13252	BCY13118	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13253	BCY13119	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13254	BCY13120	C末端dLys	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13255	BCY13121	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13256	BCY13122	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13257	BCY13123	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13258	BCY13124	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13260	BCY13126	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13261	BCY13127	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13262	BCY13128	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13264	BCY13130	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13265	BCY13131	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13266	BCY13132	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13268	BCY13134	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13269	BCY13135	N末端	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13340	BCY12865	N末端	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13342	BCY12860	N末端	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4

10

20

30

【0 1 4 6】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY13035、BCY13040、BCY13253、BCY13254、BCY13340およびBCY13342から選択される。

【0 1 4 7】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が1個のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、第一ペプチドリガンドはTATA足場に結合したEphA2結合二環式ペプチドリガンドを含み、1個のCD137結合ペプチドリガンドはTATA足場に結合し、該ヘテロタンデム複合体は表F-2に挙げる複合体から選択される。

40

50

【表 12】

表F-2(EphA2:CD137;1:1)

複合体番号	EphA2 BCY No.	結合点	リンカー	CD137 BCY No.	結合点
BCY9173	BCY6169	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C末端Dap
BCY7985	BCY6169	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY7732	C末端Dap
BCY8942	BCY6169	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8045	C末端Dap
BCY8943	BCY8941	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY7732	C末端Dap
BCY9647	BCY6099	N末端	-PEG ₁₀ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9648	BCY6099	N末端	-PEG ₂₃ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9655	BCY6099	N末端	-PEG ₁₅ -S ar ₅ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9656	BCY6099	N末端	-PEG ₁₀ -S ar ₁₀ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9657	BCY6099	N末端	-PEG ₅ -S ar ₁₅ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9658	BCY6099	N末端	-PEG ₅ -S ar ₅ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9659	BCY6099	N末端	-PEG ₅ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9758	BCY6099	N末端	-PEG ₂₄ -	BCY7732	C末端Dap
BCY10568	BCY6169	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8919	Lys3
BCY10570	BCY6169	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8920	dLys4
BCY10574	BCY9594	N末端	-PEG ₅ -	BCY8927	Lys (PYA)3
BCY10575	BCY9594	N末端	-PEG ₅ -	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY10576	BCY9594	N末端	-PEG ₅ -	BCY11014	C末端Dap(PYA)
BCY10577	BCY6169	N末端	-CH ₂ -	BCY9172	C末端Dap

10

20

30

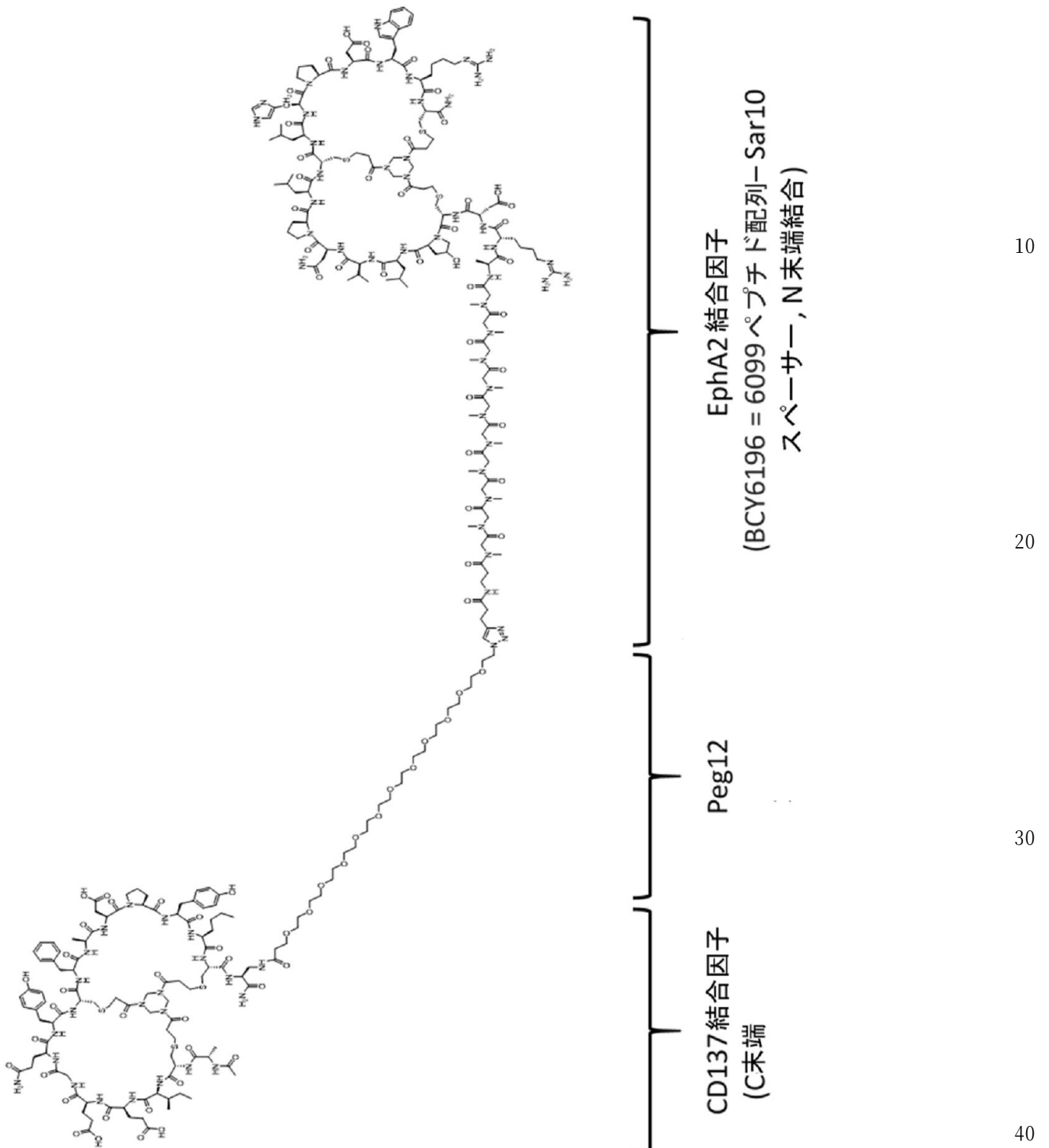
【0148】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY7985であり、ここで、CD137特異的ペプチドBCY7859はPEG₁₂を介してEphA2特異的ペプチドBCY6169のN末端PYA基に連結されている。

40

50

【化 1 8】



【0149】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が 1 個の CD137 結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、第一ペプチドリガンドは TATA 足場に結合したネクチン-4 結合二環式ペプチドリガンドを含み、1 個の CD137 結合ペプチドリガンドは TATA 足場に結合し、該ヘテロタンデム複合体は表 G に挙げる複合体から選択される。

【表 1 3】

表G(ネクチン-4 : CD137 ; 1 : 1)

複合体番号	ネクチン-4 BCY No.	結合点	リンカー	CD137 BCY No.	結合点
BCY11616	BCY8116	N末端	Peg5	BCY7744	dLys(PYA)4
BCY12238	BCY12024	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12377	BCY8116	N末端	Peg5	BCY12143	dLys(PYA)4
BCY12379	BCY8116	N末端	Peg5	BCY12149	dLys(PYA)4
BCY12572	BCY8116	N末端	Peg5	BCY12352	dLys(PYA)4
BCY12573	BCY8116	N末端	Peg5	BCY12353	dLys(PYA)4
BCY12574	BCY8116	N末端	Peg5	BCY12354	dLys(PYA)4
BCY12575	BCY8116	N末端	Peg5	BCY12360	dLys(PYA)4
BCY12576	BCY12363	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12577	BCY12364	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12578	BCY12365	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12579	BCY12366	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12580	BCY12367	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12581	BCY12368	N末端	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12582	BCY12369	N末端	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12583	BCY12370	N末端	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12584	BCY12371	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12585	BCY12384	N末端	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12709	BCY8116	N末端	Peg5	BCY12381	dLys(PYA)4
BCY12710	BCY8116	N末端	Peg5	BCY12382	dLys(PYA)4
BCY11468	BCY11016	N末端PYA	TCA-[Peg1 0]3	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY11618	BCY11143	N末端PYA	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY11776	BCY8116	N末端	Peg5	BCY11144	C末端Dap(PY A)
BCY11860	BCY11143	N末端PYA	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12020	BCY11016	N末端PYA	Peg5	BCY11144	C末端Dap(PY A)
BCY12661	BCY11015	N末端PYA	Peg5	BCY12023	dLys4
BCY12969	BCY8116	N末端	Peg5	BCY12358	dLys(PYA)4

【0150】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBCY11468、BCY11618、BCY11776、BCY11860、BCY12020、BCY12661およびBCY12969から選択される。

【0151】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が1個のCD137結合ペプチドリガンドを含むある実施態様において、第一ペプチドリガンドはTATA足場に結合したネクチン-4結合二環式ペプチドリガンドを含み、1個のCD137結合ペプチドリガンドはTATA足場に結合し、該ヘテロタンデム複合体は表G-2に挙げる複合体から選択される。

【表 1 4】

表G-2(ネクチン-4:CD137;1:1)

複合体番号	ネクチン-4 B CY No.	結合点	リンカー	CD137 BC Y No.	結合点
BCY8854	BCY8846	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY7732	C末端Dap
BCY9350	BCY11942	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY7732	C末端Dap
BCY9351	BCY8846	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8045	C末端Dap
BCY9399	BCY8116	N末端	-PEG ₁₀ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9400	BCY8116	N末端	-PEG ₂₃ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9401	BCY8116	N末端	-B-Ala-Sar ₂₀ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9403	BCY8116	N末端	-B-Ala-Sar ₁₀ -P EG ₁₀ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9405	BCY8116	N末端	-B-Ala-Sar ₅ -PE G ₁₅ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9406	BCY8116	N末端	-B-Ala-Sar ₅ -PE G ₅ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9407	BCY8116	N末端	-PEG ₁₅ -Sar ₅ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9408	BCY8116	N末端	-PEG ₁₀ -Sar ₁₀ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9409	BCY8116	N末端	-PEG ₅ -Sar ₁₅ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9410	BCY8116	N末端	-PEG ₅ -Sar ₅ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9411	BCY8116	N末端	-PEG ₅ -	BCY7741	C末端Dap(PYA)
BCY9759	BCY8116	N末端	-PEG ₂₄ -	BCY7732	C末端Dap
BCY10000	BCY8846	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C末端Dap
BCY10567	BCY8846	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8919	Lys3
BCY10569	BCY8846	N末端PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8920	dLys4
BCY10571	BCY8116	N末端	-PEG ₅ -	BCY8927	Lys(PYA)3
BCY10572	BCY8116	N末端	-PEG ₅ -	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY10573	BCY8116	N末端	-PEG ₅ -	BCY11014	C末端Dap(PYA)
BCY10578	BCY8846	N末端PYA	-CH ₂ -	BCY9172	C末端Dap
BCY10917	BCY8831	dLys(Sar ₁₀)- (B-Ala)4	-PEG ₁₂ -	BCY11014	C末端Dap(PYA)
BCY11020	BCY8831	dLys(Sar ₁₀)- (B-Ala)4	-PEG ₅ -	BCY11014	C末端Dap(PYA)
BCY11373	BCY8116	N末端	-CH ₂ -	BCY8927	Lys(PYA)3
BCY11374	BCY8116	N末端	-CH ₂ -	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY11375	BCY8116	N末端	-CH ₂ -	BCY11014	C末端Dap(PYA)
BCY11616	BCY8116	N末端	-PEG ₅ -	BCY7744	dLys (PYA)4
BCY11617	BCY8116	N末端	-PEG ₅ -	BCY11506	Lys(PYA)4
BCY11857	BCY11414	N末端	-PEG ₅ -	BCY7744	dLys (PYA)4
BCY11858	BCY11414	N末端	-PEG ₅ -	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY11859	BCY11415	N末端	-PEG ₅ -	BCY8928	dLys (PYA)4

【0152】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は内容を引用により全体として本明細書に包含させる米国特許出願17/062,662に開示のものから選択される。

【0153】

ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は内容を引用により全体として本明細書に包含させる米国特許公開20190307836に開示のものから選択される。

【0154】

10

20

30

40

50

他に定義しない限り、ここで使用する全ての技術的および科学的用語は、ペプチド化学、細胞培養およびファージディスプレイ、核酸化学および生化学分野などの、当業者により一般に理解されるのと同じ意味を有する。引用により本明細書に包含させる、分子生物学、遺伝学および生化学的方法の標準技術を使用する(Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., 2001, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel et al., Short Protocols in Molecular Biology (1999) 4th ed., John Wiley & Sons, Inc.)参照。

【0155】

命名法

ナンバリング

10

本発明の化合物内のアミノ酸残基位置を示すとき、システイン残基(C_i、C_{ii}およびC_{iii})は、不変であるためナンバリングから省き、故に、配列番号1内のアミノ酸残基のナンバリングは下記のとおりである：

C_i - P₁ - 1 N a l₂ - d D₃ - C_{ii} - M₄ - H A r g₅ - D₆ - W₇ - S₈ - T₉ - P₁₀ - H y P₁₁ - W₁₂ - C_{iii}(配列番号1)。

【0156】

本発明の目的のために、全二環式ペプチドはT B M B(1,3,5-トリス(ブロモメチル)ベンゼン)または1,1',1''-(1,3,5-トリアジナン-1,3,5-トリイル)トリプロプ-2-エン-1-オン(T A T A)で環化され、三置換構造を生ずると仮定される。T B M BおよびT A T Aでの環化はC_i、C_{ii}およびC_{iii}で起こる。

20

【0157】

分子形式

二環コア配列へのN末端またはC末端伸長を、ハイフンで離れた配列の左側または右側に付加する。例えば、N末端β A l a - S a r 10 - A l a テイルは次のとおり示される：

β A l a - S a r 10 - A - (配列番号X)。

【0158】

逆方向ペプチド配列

Nair et al (2003) J Immunol 170(3), 1362-1373の記載に照らし、ここに開示するペプチド配列がそのレトロインベルソ形態でも有用であることは予測される。例えば、配列は逆順(すなわちN末端がC末端となるおよびその逆)であり、その立体化学も同様である(すなわちD-アミノ酸はL-アミノ酸となるおよびその逆)。疑いを避けるために、アミノ酸の完全な名称またはアミノ酸一文字もしくは三文字コードでの記載は、特に断らない限りここではL-アミノ酸を表すことを意図する。このようなアミノ酸がD-アミノ酸を表すことが意図されるならば、アミノ酸を角括弧内で小文字dを前に付す、例えば[d A]、[d D]、[d E]、[d K]、[d 1 N a l]、[d N l e]など。

30

【0159】

ペプチドリガンドの利点

ある本発明のヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は、注射、吸入、経鼻、眼、経口または局所投与のための薬らしい分子に適するようにすると考えられる、いくつかの有利な性質を有する。このような有利な性質は

40

ー 種交差反応性。これは前臨床薬力学および薬物動態評価のための典型的必要条件である；

ー プロテアーゼ安定性。ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は理想的には血漿プロテアーゼ、上皮性(「膜固定」)プロテアーゼ、胃および腸プロテアーゼ、肺表面プロテアーゼ、細胞内プロテアーゼなどに対する安定性を示すべきである。プロテアーゼ安定性は、ヘテロタンデム二環式ペプチドリッド候補が動物モデルで開発できるようにおよびヒトに自信を持って投与されるように、異なる種間で維持されるべきである；

ー 望ましい溶解度プロファイル。これは、製剤および吸収目的で重要な荷電および親水性対疎水性残基および分子内／間H結合の比率の関数である；

50

ー 選択性。ある本発明のヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は他の標的を超える良好な選択性を示す；

ー 循環における最適血漿半減期。臨床的適用および処置レジメンにより、急性疾病管理状況で短暴露のためのヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の開発または循環での保持が長い、故に、より慢性の疾患状態の管理に最適なヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の開発が必要となり得る。望ましい血漿半減期に至る他の因子は、最高治療効率のための持続暴露対薬剤の持続暴露による付随する毒性の必要性である。重要なことに、選択ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が化合物のインビトロEC₅₀を超える血漿濃度を維持しない頻度で投与したとき、抗腫瘍有効性を示すデータがここに提供される。これは、CD137アゴニズムまたは二特異的CD137アゴニズムの大型組み換え生物学的(すなわち抗体ベースの)アプローチと対照的である(Segal et al., Clin Cancer Res., 23(8):1929-1936 (2017), Claus et al., Sci Trans Med., 11(496): eaav5989, 1-12 (2019), Hinner et al., Clin Cancer Res., 25(19):5878-5889 (2019))。理論に拘束されないが、この観察の理由は、ヘテロタンデム二環複合体が比較的低分子量(典型的に<15 kDa)を有し、完全合成であり、CD137の腫瘍標的化アゴニストであるとの事実によると考えられる。すなわち、血漿半減期は比較的短い、腫瘍浸透率および保持は良好である。これらの利点を十分に支持するデータがここに提供される。例えば、マウスの同系齧歯類モデルにおけるヒト化CD137での抗腫瘍有効性は毎日または3日毎に示される。さらに、腹腔内薬物動態データは、複合体の循環濃度が投与間にインビトロEC₅₀より下に一貫して下がる<3時間の血漿半減期を示す。さらに、腫瘍薬物動態データは腫瘍組織におけるヘテロタンデム二環複合体のレベルが血漿レベルと比較して高く、かつより持続性であり得ることを示す。この観察は、重要な本発明のさらなる態様を形成することは認識される。故に、本発明のさらなる態様により、ここに定義するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体を、該複合体のインビトロEC₅₀を超える該複合体の血漿濃度を維持しない投与頻度で投与することを含む、癌を処置する方法が提供される。

ー 免疫記憶。癌細胞結合二環式ペプチドリガンドと免疫細胞結合二環式ペプチドリガンドのカップリングは、免疫記憶の相乗的利点を提供する。選択した本発明のヘテロタンデム二環式ペプチド複合体が腫瘍を根絶するだけでなく、腫瘍原性因子の再投与により、接種された完全応答者マウスの何れも腫瘍を発症しないことを示すデータがここに提供される(図5参照)。これは、選択した本発明のヘテロタンデム二環式ペプチド複合体での処置が完全応答者マウスに免疫原性記憶を誘導していることを示す。これは、最初に制御されかつ根絶されたら、該腫瘍の再発を予防するための相当な臨床的利点である。

【0160】

ペプチドリガンド

ここでいうペプチドリガンドは、分子足場に共有結合で結合したペプチドをいう。典型的に、このようなペプチドは、足場への共有結合を形成できる2以上の反応性基(すなわちシステイン残基)およびペプチドが足場に結合したときループを形成するためループ配列と称される該反応性基に包まれた配列を含む。本件の場合、ペプチドはシステイン、3-メルカプトプロピオン酸および／またはシステアミンから選択される少なくとも3個の反応性基を含み、足場上の少なくとも2個のループを形成する。

【0161】

反応性基

本発明の分子足場は、ポリペプチドの官能性または反応性基を介してポリペプチドに結合し得る。これらは、典型的にポリペプチドポリマーに見られる特定のアミノ酸の側鎖から形成される。このような反応性基は、システイン側鎖、リシン側鎖またはN末端アミン基またはペニシラミンなどの任意の他の適当な反応性基であり得る。適当な反応性基の詳細はWO2009/098450に見られ得る。

【0162】

天然アミノ酸の反応性基の例は、システインのチオール基、リシンのアミノ基、アスパラギン酸またはグルタミン酸のカルボキシル基、アルギニンのグアニジニウム基、チロシ

10

20

30

40

50

ンのフェノール性基またはセリンのヒドロキシル基である。非天然アミノ酸は、アジド、ケトカルボニル、アルキン、ビニルまたはアリールハライド基を含む広範な反応性基を提供できる。ポリペプチドの末端のアミノおよびカルボキシル基も、分子足場／分子コアへの共有結合を形成する反応性基として役立ち得る。

【0163】

本発明のポリペプチドは少なくとも3個の反応性基を含む。該ポリペプチドは4以上の反応性基も含んでよい。使用される反応性基が多いほど、分子足場に形成され得るループが多い。

【0164】

好ましい実施態様において、3個の反応性基を有するポリペプチドが産生される。該ポリペプチドと3部の回転対称を有する分子足場／分子コアの反応は、単一生成物異性体を産生する。単一生成物異性体の産生は、いくつかの理由により好ましい。化合物ライブラリーの核酸はポリペプチドの一次配列しかコードせず、ポリペプチドと分子コアの反応により形成される分子の異性状態はコードしない。2個だけの生成物異性体が形成され得るならば、核酸の生成物異性体への割り当ては明確に定義される。複数生成物異性体が形成されるならば、核酸はスクリーニングまたは選択過程で単離された生成物異性体の性質に関する情報を提供しない。本発明のライブラリーの特異的メンバーが合成されるならば、単一生成物異性体の形成はまた有利である。この場合、ポリペプチドと分子足場の化学反応は、異性体混合物ではなく、単一生成物異性体を生ずる。

【0165】

他の実施態様において、4個の反応性基を有するポリペプチドが産生される。該ポリペプチドと4面体対称を有する分子足場／分子コアの反応は、2個の生成物異性体を産生する。2個の異なる生成物異性体が1個の同一核酸によりコードされていても、単離異性体の異性性が両異性体の化学合成により決定し、2個の異性体を分離し、両異性体を標的リガンドへの結合について試験できる。

【0166】

本発明のある実施態様において、ポリペプチドの反応性基の少なくとも1個は残りの反応性基と直交する。直交反応性基の使用により、該直交反応性基を分子コアの特異的位置に指向させることができる。直交反応性基が関与する連結戦略は、形成される生成物異性体の数を限定するために使用し得る。換言すると、少なくとも3個の結合の1以上を少なくとも3個の結合の残りについて選択したのと別個のまたは異なる反応性基を選択することにより、ポリペプチドの特異的反応性基の分子足場上の特異的位置への特定の順番の結合または指向が有用に達成され得る。

【0167】

他の実施態様において、本発明のポリペプチドの反応性基を分子リンカーと反応させ、ここで、該リンカーは、最終結合状態でリンカーが分子足場とポリペプチド間に介在するように、分子足場と反応できる。

【0168】

ある実施態様において、ポリペプチドのライブラリーまたはセットのメンバーのアミノ酸を、任意の天然または非天然アミノ酸で置き換え得る。これらの交換可能アミノ酸から除外されるのは、ループ配列単独が交換可能であるようなポリペプチドの分子コアへの架橋のための官能基を有するものである。交換可能ポリペプチド配列は無作為配列、一定配列または無作為および一定アミノ酸を有する配列を有する。反応性基を有するアミノ酸は、これらのアミノ酸の位置がループサイズを決定するため、ポリペプチド内の規定位置に位置する。

【0169】

ある実施態様において、3個の反応性基を有するポリペプチドは配列 $(X)_l Y(X)_m Y(X)_n Y(X)_o$ を有し、ここで、Yは反応性基を有するアミノ酸を表し、Xは無作為アミノ酸を表し、mおよびnは同一でも異なってもよい介在ポリペプチドセグメントの長さを規定する3～6の数値であり、oは隣接ポリペプチドセグメントの長さを規定する0～2

10

20

30

40

50

0の数値である。

【0170】

チオール介在コンジュゲーションの代替が、共有結合相互作用を介する分子足場のペプチドへの結合に使用できる。あるいはこれらの技術を、本発明により選択または単離後、ポリペプチドの修飾またはさらなる部分(例えば分子足場と異なる目的の小分子)の結合のために使用し得る。この実施態様において、そうであれば、明らかに結合は共有である必要はなく、非共有結合結合を含み得る。これらの方法を、相補的反応性基を有する小分子と組み合わせて、必須化学反応性基を有する非天然アミノ酸を担持するタンパク質およびペプチドを提示するファージを産生することによりまたは分子が選択／単離相後製造されるならば化学合成または組み換え合成ポリペプチドに非天然アミノ酸を組み込むことにより、チオール介在方法の代わりに(または組み合わせて)使用し得る。さらなる詳細はWO2009/098450またはHeinis et al., Nat Chem Biol 2009, 5 (7), 502-7に見ることができる。

10

【0171】

ある実施態様において、反応性基はシステイン、3-メルカプトプロピオン酸および／またはシステアミン残基から選択される。

【0172】

薬学的に許容される塩

塩形態は本発明の範囲内であり、ペプチドリガンドは塩形態の該リガンドを含むことは認識される。

20

【0173】

本発明の塩は、塩基性または酸性部分を含む親化合物から、Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388 pages, August 2002に記載される方法などの慣用の化学方法により合成できる。一般に、このような塩は、遊離酸または塩基形態のこれら化合物と、適切な塩基または酸を水または有機溶媒またはこれら2種の混合物中で反応させることにより製造できる。

【0174】

酸付加塩(一または二塩)は、無機および有機両方の広範な酸から形成され得る。酸付加塩の例は、酢酸、2,2-ジクロロ酢酸、アジピン酸、アルギン酸、アスコルビン酸(例えばL-アスコルビン酸)、L-アスパラギン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、4-アセトアミド安息香酸、酪酸、(+)-ショウノウ酸、カンファースルホン酸、(+)-(1S)-カンファー10-スルホン酸、カプリン酸、カプロン酸、カプリル酸、ケイ皮酸、クエン酸、サイクラミン酸、ドデシル硫酸、エタン-1,2-ジスルホン酸、エタンスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、ギ酸、フマル酸、ガラクトール酸、ゲンチジン酸、グルコヘプトン酸、D-グルコン酸、グルクロン酸(例えばD-グルクロン酸)、グルタミン酸(例えばL-グルタミン酸)、 α -オキシグルタル酸、グリコール酸、馬尿酸、ハロゲン化水素酸(例えば臭化水素酸、塩酸、ヨウ化水素酸)、イセチオン酸、乳酸(例えば(+)-L-乳酸、(±)-DL-乳酸)、ラクトビオン酸、マレイン酸、リンゴ酸、(-)-L-リンゴ酸、マロン酸、(±)-DL-マンデル酸、メタンスルホン酸、ナフタレン-2-スルホン酸、ナフタレン-1,5-ジスルホン酸、1-ヒドロキシ-2-ナフトエ酸、ニコチン酸、硝酸、オレイン酸、オロト酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモ酸、リン酸、プロピオン酸、ピルビン酸、L-ピログルタミン酸、サリチル酸、4-アミノ-サリチル酸、セバシン酸、ステアリン酸、コハク酸、硫酸、タンニン酸、(+)-L-酒石酸、チオシアン酸、p-トルエンスルホン酸、ウンデシレン酸および吉草酸からなる群から選択される酸ならびにアシル化アミノ酸およびカチオン交換樹脂と形成された一または二塩を含む。

30

40

【0175】

塩のある特定の群は、酢酸、塩酸、ヨウ化水素酸、リン酸、硝酸、硫酸、クエン酸、乳酸、コハク酸、マレイン酸、リンゴ酸、イセチオン酸、フマル酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、硫酸、メタンスルホン酸(メシル酸)、エタンスルホン酸、ナフタレ

50

ンスルホン酸、吉草酸、プロパン酸、酪酸、マロン酸、グルクロン酸およびラクトビオン酸から形成された塩からなる。ある特定の塩は塩酸塩である。他の特定の塩は酢酸塩である。

【0176】

化合物がアニオン性であるかまたはアニオン性であり得る官能基を有するならば(例えば、 $-\text{COOH}$ は $-\text{COO}^-$ であり得る)、塩は、適当なカチオンを形成する有機または無機塩基と形成され得る。適当な無機カチオンの例は、アルカリ金属イオン、例えば Li^+ 、 Na^+ および K^+ 、アルカリ土類金属カチオン、例えば Ca^{2+} および Mg^{2+} および他のカチオン、例えば Al^{3+} または Zn^+ を含むが、これらに限定されない。適当な有機カチオンの例は、アンモニウムイオン(すなわち、 NH_4^+)および置換アンモニウムイオン(例えば、 NH_3R^+ 、 NH_2R_2^+ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+)を含むが、これらに限定されない。ある適当な置換アンモニウムイオンの例は、メチルアミン、エチルアミン、ジエチルアミン、プロピルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリエチルアミン、ブチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ベンジルアミン、フェニルベンジルアミン、コリン、メグルミンおよびトロメタミン、ならびにアミノ酸、例えばリシンおよびアルギニン由来のものである。一般的4級アンモニウムイオンの例は、 $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ である。

10

【0177】

本発明の化合物がアミン官能基を含むとき、例えば当業者に周知の方法によるアルキル化剤との反応により、4級アンモニウム塩を形成し得る。このような4級アンモニウム化合物は本発明の範囲内である。

20

【0178】

修飾誘導体

ここに記載するペプチドリガンドの修飾誘導体は本発明の範囲内であることは認識される。このような適当な修飾誘導体の例は、N末端および／またはC末端修飾；1以上のアミノ酸残基の1以上の非天然アミノ酸残基での置き換え(例えば1以上の極性アミノ酸残基の1以上の等比体積または等電子数アミノ酸での置き換え；1以上の非極性アミノ酸残基の他の非天然等比体積または等電子数アミノ酸での置き換え)；スパーサー基の付加；1以上の酸化感受性アミノ酸残基の1以上の酸化抵抗性アミノ酸残基での置き換え；1以上のアミノ酸残基のアラニンでの置き換え、1以上のL-アミノ酸残基の1以上のD-アミノ酸残基での置き換え；二環式ペプチドリガンド内の1以上のアミド結合のN-アルキル化；1以上のペプチド結合のサロゲート結合での置き換え；ペプチド主鎖長修飾；1以上のアミノ酸残基のアルファー炭素の水素の他の化学基での置換、システイン、リシン、グルタミン酸／アスパラギン酸およびチロシンなどのアミノ酸の該アミノ酸を官能化するための適当なアミン、チオール、カルボン酸およびフェノール反応性剤での修飾および官能化に適する直交反応性を導入するアミノ酸、例えばそれぞれアルキンまたはアジド担持部分での官能化を可能とするアジドまたはアルキン基担持アミノ酸の導入または置き換えから選択される1以上の修飾を含む。

30

【0179】

ある実施態様において、修飾誘導体はN末端および／またはC末端修飾を含む。さらなる実施態様において、修飾誘導体は適当なアミノ反応性化学を使用するN末端修飾および／または適当なカルボキシ反応性化学を使用するC末端修飾を含む。さらなる実施態様において、該N末端またはC末端修飾は、細胞毒性剤、ラジオキレーターまたは発色団を含むが、これらに限定されないエフェクター基の付加を含む。

40

【0180】

ある実施態様において、修飾誘導体はN末端修飾を含む。さらなる実施態様において、N末端修飾はN末端アセチル基を含む。この実施態様において、N末端システイン基(この基はここでは C_β と称する)を、ペプチド合成中酢酸無水物または他の適切な試薬でキャップして、分子のN末端をアセチル化する。この実施態様は、アミノペプチダーゼの潜在的認識点を除去し、二環式ペプチドが分解する可能性を回避する利点を提供する。

50

【0181】

ある実施態様において、N末端修飾は、エフェクター基のコンジュゲートおよび二環式ペプチドのその標的への能力の保持を促進する分子スペーサー基の付加を含む。

【0182】

ある実施態様において、修飾誘導体はC末端修飾を含む。さらなる実施態様において、C末端修飾はアミド基を含む。この実施態様において、C末端システイン基(この基はここではC_{iii}と称する)を、ペプチド合成中アミドとして合成して、分子のC末端をアミド化する。この実施態様は、カルボキシペプチダーゼの潜在的認識点を除去し、二環式ペプチドがタンパク質分解される可能性を低減する利点を有する。

【0183】

ある実施態様において、修飾誘導体は、1以上のアミノ酸残基の1以上の非天然アミノ酸残基での置き換えを含む。この実施態様において、分解性プロテアーゼにより認識されず、標的に何ら有害効果を有しない等比体積／等電子数側鎖を有する、非天然アミノ酸から選択され得る。

【0184】

あるいは、近隣ペプチド結合のタンパク質分解的加水分解が立体配座的および立体的に妨げられるように、拘束アミノ酸側鎖を有する、非天然アミノ酸が使用され得る。特に、これらはプロリンアナログ、嵩高い側鎖、C α -二置換誘導体(例えば、アミノイソ酪酸、Aib)およびシクロアミノ酸が考慮され、単純誘導体はアミノ-シクロプロピルカルボン酸である。

【0185】

ある実施態様において、修飾誘導体は、スペーサー基の付加を含む。ある実施態様において、修飾誘導体は、スペーサー基のN末端システイン(C_i)および／またはC末端システイン(C_{iii})への付加を含む。

【0186】

ある実施態様において、修飾誘導体は、1以上の酸化感受性アミノ酸残基の1以上の酸化抵抗性アミノ酸残基での置き換えを含む。ある実施態様において、修飾誘導体は、トリプトファン残基のナフチルアラニンまたはアラニン残基での置き換えを含む。この実施態様は、得られた二環式ペプチドリガンドの医薬安定性プロファイルを改善する利点を提供する。

【0187】

ある実施態様において、修飾誘導体は、1以上の荷電アミノ酸残基の1以上の疎水性アミノ酸残基での置き換えを含む。別の実施態様において、修飾誘導体は、1以上の疎水性アミノ酸残基の1以上の荷電アミノ酸残基での置き換えを含む。荷電アミノ酸残基対疎水性アミノ酸残基の正しいバランスは、二環式ペプチドリガンドの重要な特徴である。例えば、疎水性アミノ酸残基は血漿タンパク質の結合の程度、故に血漿中の遊離の利用可能なフラクションの濃度に影響し、一方荷電アミノ酸残基(特にアルギニン)はペプチドと細胞表面のリン脂質膜の相互作用に影響し得る。この二つは、組み合わせさせて、ペプチド薬物の半減期、分布容積および暴露に影響し得て、臨床的エンドポイントに応じてあつらえることができる。さらに、正しい組み合わせおよび荷電数対疎水性アミノ酸残基は、注射部位の刺激を低減し得る(ペプチド薬物が皮下投与されるならば)。

【0188】

ある実施態様において、修飾誘導体は、1以上のL-アミノ酸残基の1以上のD-アミノ酸残基での置き換えを含む。この実施態様は、立体障害およびD-アミノ酸が β ターン配座を安定化する傾向により、タンパク質分解安定性を増加すると考えられる(Tugyi et al (2005) PNAS, 102(2), 413-418)。

【0189】

β ターン配座を安定化するためのD-アミノ酸において、修飾誘導体は、何らかのアミノ酸残基の除去およびアラニンでの置換を含む。この実施態様は、潜在的タンパク質分解攻撃部位を除去する利点を提供する。

10

20

30

40

50

【0190】

上記修飾の各々は、ペプチドの有効性または安定性を意図的に改善するために役立つことは留意すべきである。修飾に基づくさらなる有効性改善は、次の機構を介して、達成され得る：

- － 高親和性が達成されるように、疎水性効果を利用し、低オフ速度に至る疎水性部分の組み込み；
- － 速いオン速度および高親和性に至る長期イオン性相互作用を利用する荷電基の組み込み(例えばSchreiber et al, Rapid, electrostatically assisted association of proteins (1996), Nature Struct. Biol. 3, 427-31参照)；および
- － 例えば、エントロピー喪失が標的結合により最小となるようにアミノ酸側鎖を正しく拘束し、エントロピー喪失が標的結合により最小となるように主鎖のねじれ角を拘束し、同じ理由により分子にさらなる環化を導入することによる、ペプチドへのさらなる拘束の組み込み。

(レビューのために、Gentilucci et al, Curr. Pharmaceutical Design, (2010), 16, 3185-203, and Nestor et al, Curr. Medicinal Chem (2009), 16, 4399-418参照)。

【0191】

本発明の修飾ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の例は、下表HおよびIに挙げるものを含む：

【表15】

表H：(EphA2：CD137；1：2)

複合体番号	EphA2 BCY No.	結合点	リンカー	CD137 BCY No.	結合点	修飾因子
BCY14415	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG 3)-N-ヒス(P EG3-アジ ド)	BCY8928 BCY13389	dLys (PYA) 4 dLys (PYA) 4	Peg12-ビ オチン
BCY14416	BCY9594	N末端	N-(酸-PEG 3)-N-ヒス(P EG3-アジ ド)	BCY8928 BCY13389	dLys (PYA) 4 dLys (PYA) 4	Alexa Fluor(登 録商標) 488
BCY14417	BCY1311 8	N末端	N-(酸-PEG 3)-N-ヒス(P EG3-アジ ド)	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	Peg12-ビ オチン
BCY14418	BCY1311 8	N末端	N-(酸-PEG 3)-N-ヒス(P EG3-アジ ド)	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	Alexa Fluor(登 録商標) 488

10

20

30

40

50

【表 16】

表 I : (ネクチン-4 : CD137 ; 1 : 2)

複合体番号	ネクチン-4 BCY No.	結合点	リンカー	CD137 B CY No.	結合点	修飾因子
BCY13582	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY892 8、BCY1338 9	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	ビオチン-Peg12
BCY13583	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY892 8、BCY1338 9	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	Alexa Fluor 488
BCY13628	BCY8116	N末端	N-(酸-PEG ₃)-N-ヒス(PEG ₃ -アジト)	BCY892 8、BCY1338 9	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	Cyanine 5

10

20

【0192】

同位体バリエーション

本発明は、1以上の原子が同じ原子番号を有するが、原子質量または質量数が天然で通常見られる原子質量または質量数と異なる原子で置き換えられている本発明の薬学的に許容される(放射性)同位体標識ペプチドリガンド全ておよび関連する(放射性)同位体を保持できる金属キレート基が結合している(「エフェクター」と称する)本発明のペプチドリガンドおよびある官能基が共有結合で関連する(放射性)同位体または同位体標識された官能基で置き換えられた本発明のペプチドリガンドを含む。

【0193】

本発明のペプチドリガンドへの包含に適する同位体の例は、水素の同位体、例えば²H(D)および³H(T)、炭素の同位体、例えば¹¹C、¹³Cおよび¹⁴C、塩素の同位体、例えば³⁶Cl、フッ素の同位体、例えば¹⁸F、ヨウ素の同位体、例えば¹²³I、¹²⁵Iおよび¹³¹I、窒素の同位体、例えば¹³Nおよび¹⁵N、酸素の同位体、例えば¹⁵O、¹⁷Oおよび¹⁸O、リンの同位体、例えば³²P、硫黄の同位体、例えば³⁵S、銅の同位体、例えば⁶⁴Cu、ガリウムの同位体、例えば⁶⁷Gaまたは⁶⁸Ga、イットリウムの同位体、例えば⁹⁰Yおよびルテチウムの同位体、例えば¹⁷⁷Luおよびビスマスの同位体、例えば²¹³Biを含む。

30

【0194】

ある本発明の同位体標識ペプチドリガンド、例えば、放射性同位体を組み込んだものは、薬物および／または基質組織分布試験および罹患組織におけるネクチン-4標的の存在および／または非存在の臨床的評価に有用である。本発明のペプチドリガンドは、さらに標識化合物と他の分子、ペプチド、タンパク質、酵素または受容体の間の複合体形成の検出または同定に使用され得る価値ある診断性質を有する。検出または同定方法は、放射性同位体、酵素、蛍光物質、発光物質(例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、エクオリンおよびルシフェラーゼ)などの標識剤で使用した化合物を使用できる。放射性同位体トリチウム、すなわち³H(T)および炭素-14、すなわち¹⁴Cは、組み込みの容易さおよび即座の検出手段の観点から、この目的に特に有用である。

40

【0195】

重水素、すなわち²H(D)などの重い同位体での置換は、大きな代謝安定性、例えば、インビボ半減期延長または必要投与量減少に起因する、ある治療利点を提供でき、故にあ

50

る状況で好ましいことがあり得る。

【0196】

^{11}C 、 ^{18}F 、 ^{15}O および ^{13}N などの陽電子放出同位体での置換は、標的占拠のための陽電子放射断層撮影(PET)試験に有用であり得る。

【0197】

本発明のペプチドリガンドの同位体標識した化合物は、一般に当業者に既知の慣用の技術によりまたは付随する実施例に記載するものに類する方法により、先に用いた標識されていない試薬の代わりに適切な同位体標識した試薬を用いて、製造され得る。

【0198】

分子足場

分子足場は、例えば、WO2009/098450およびそこで引用されている引用文献、特にWO2004/077062およびWO2006/078161に記載される。

【0199】

前記文献に記されるとおり、分子足場は小有機分子などの小分子であり得る。

【0200】

ある実施態様において、分子足場は高分子であり得る。ある実施態様において、分子足場はアミノ酸、ヌクレオチドまたは炭水化物からなる高分子である。

【0201】

ある実施態様において、分子足場は、ポリペプチドの官能基と反応して、共有結合を形成できる反応性基を含む。

【0202】

分子足場は、アミン、チオール、アルコール、ケトン、アルデヒド、ニトリル、カルボン酸、エステル、アルケン、アルキン、アジド、無水物、スクシンイミド、マレイミド、アルキルハライドおよびアシルハライドなどの、ペプチドと結合を形成する化学基を含み得る。

【0203】

ある実施態様において、分子足場は、ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン、特に1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン('TATA')またはそれらの誘導体を含んでもこれらになってもよい。

【0204】

本発明の分子足場は、本発明のコード化ライブラリーのポリペプチドの官能基が、分子足場と共有結合を形成することを可能にする化学基を含む。該化学基は、アミン、チオール、アルコール、ケトン、アルデヒド、ニトリル、カルボン酸、エステル、アルケン、アルキン、無水物、スクシンイミド、マレイミド、アジド、アルキルハライドおよびアシルハライドを含む広範な官能基から選択される。

【0205】

分子足場でシステインのチオール基と反応するために使用できる足場反応性基は、アルキルハライド(または別名ハロゲノアルカンまたはハロアルカン)である。

【0206】

例は、プロモメチルベンゼン(TBMBが例である足場反応性基)またはヨードアセトアミドを含む。タンパク質におけるシステインへの化合物の選択的結合に使用する他の足場反応性基は、マレイミド、 α -不飽和カルボニル含有化合物および α -ハロメチルカルボニル含有化合物である。本発明において分子足場として使用され得るマレイミドの例は、トリス-(2-マレイミドエチル)アミン、トリス-(2-マレイミドエチル)ベンゼン、トリス-(マレイミド)ベンゼンを含む。 α -不飽和カルボニル含有化合物の例は、1,1',1''-(1,3,5-トリアジナン-1,3,5-トリイル)トリプロプ-2-エン-1-オン(TATA)(Angewandte Chemie, International Edition (2014), 53(6), 1602-1606)である。 α -ハロメチルカルボニル含有化合物の例は、N,N',N''-(ベンゼン-1,3,5-トリイル)トリス(2-ブromoアセトアミド)である。セレノシステインも、システインと類似の反応性を有する天然アミノ酸であり、同じ反応に使用できる。故に、

10

20

30

40

50

システインが記載されているならば、文脈から他のことが示唆されない限り、セレノシステインへの置き換えが典型的に許容される。

【0207】

合成

本発明のペプチドは、標準的技術により合成し、続いてインビトロで分子足場と反応させることにより製造し得る。この実施に際して、標準的化学が使用され得る。これにより、さらなる下流実験または検証のための可溶性物質の迅速な大規模製造が可能となる。このような方法は、Timmerman et al (supra)に開示のものなどの慣用の化学を使用して、達成され得る。

【0208】

故に、本発明はまたここに示すとおりに選択したポリペプチドまたはコンジュゲートの製造に関し、ここで、製造は、下に説明するとおりに任意的なさらなる工程を含む。ある実施態様において、これらの工程は、化学合成で製造した最終産物ポリペプチド／コンジュゲートで実施する。

【0209】

所望により目的のポリペプチドにおけるアミノ酸残基を、コンジュゲートまたは複合体の製造時に置換し得る。

【0210】

ペプチドは、例えば他のループの組み込み、故に、複数特異性導入のために伸長し得る。

【0211】

ペプチドを伸長するために、標準的固相または液相化学を使用して、単純にN末端またはC末端またはループ内で、直交保護されたリシン(およびアナログ)を使用して化学的に伸長し得る。標準的(バイオ)コンジュゲーション技術を使用して、活性化または活性化可能N末端またはC末端を導入できる。あるいは、例えば(Dawson et al. 1994. Synthesis of Proteins by Native Chemical Ligation. Science 266:776-779)に記載のフラグメント縮合または天然化学ライゲーションまたは例えば(Chang et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994 Dec 20; 91(26):12544-8またはHikari et al Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters Volume 18, Issue 22, 15 November 2008, Pages 6000-6003)に記載のサブチリガーゼを使用する酵素により、付加し得る。

【0212】

あるいは、ペプチドを、ジスルフィド結合を介するさらなるコンジュゲーションにより伸長または修飾し得る。これは、細胞の還元環境内に入ると、第一および第二ペプチドが互いに解離が可能となるさらなる利点がある。この場合、分子足場(例えばTATA)は、3個のシステイン基と反応するように第一ペプチドの化学合成中に付加され得る；その後、さらなるシステインまたはチオールを第一ペプチドのN末端またはC末端に付加し、このシステインまたはチオールが第二ペプチドの遊離システインまたはチオールとのみ反応し、ジスルフィド結合二環式ペプチドーペプチドコンジュゲートを形成するようにする。

【0213】

2個の二環式および二特異的大環状分子の合成／カップリングに類似の技術を等しく適用し、四特異的分子を製造する可能性がある。

【0214】

さらに、他の官能基またはエフェクター基の付加を、N末端またはC末端でのまたは側鎖を介する適切な化学、カップリングを使用して、同じ方法で達成し得る。ある実施態様において、カップリングは、何れのエンティティの活性も遮断しない方法で実施される。

【0215】

2. 化合物および定義：

ここで使用する用語「薬学的に許容される塩」は、合理的な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー性応答などなくヒトおよび下等動物の組織と接触される使用

10

20

30

40

50

に適し、合理的な利益／リスク比に見合う、塩をいう。薬学的に許容される塩は当分野で周知である。例えば、S. M. Berge et al.は、引用により本明細書に包含させるJ. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19において薬学的に許容される塩を詳述している。本発明の化合物の薬学的に許容される塩は、適当な無機および有機酸および塩基由来のものを含む。薬学的に許容される、非毒性酸付加塩の例は、無機酸、例えば塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸および過塩素酸または有機酸、例えば酢酸、シュウ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸またはマロン酸と形成されるまたは当分野で使用される他の方法、例えばイオン交換の使用により形成される、アミノ基の塩である。他の薬学的に許容される塩は、アジピン酸、アルギン酸、アスコルビン酸、アスパラギン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、重硫酸、ホウ酸、酪酸、ショウノウ酸、カンファースルホン酸、クエン酸、シクロペンタンプロピオン酸、ジグルコン酸、ドデシル硫酸、エタンスルホン酸、ギ酸、フマル酸、グルコヘプトン酸、グリセロリン酸、グルコン酸、ヘミ硫酸、ヘプタン酸、ヘキサン酸、ヨウ化水素酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、ラクトビオン酸、乳酸、ラウリン酸、ラウリル硫酸、リンゴ酸、マレイン酸、マロン酸、メタンスルホン酸、2-ナフタレンスルホン酸、ニコチン酸、硝酸、オレイン酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモ酸、ペクチン酸、過硫酸、3-フェニルプロピオン酸、リン酸、ピバル酸、プロピオン酸、ステアリン酸、コハク酸、硫酸、酒石酸、チオシアン酸、p-トルエンスルホン酸、ウンデカン酸、吉草酸塩などを含む。

10

【0216】

適切な塩基由来の塩は、アルカリ金属、アルカリ土類金属、アンモニウムおよび $N^+(C_{1-4}\text{アルキル})_4$ 塩を含む。代表的アルカリまたはアルカリ土類金属塩は、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどを含む。さらに薬学的に許容される塩は、適当であるならば、ハライド、ヒドロキシド、カルボン酸、硫酸、リン酸、硝酸、低級アルキルスルホン酸およびアリースルホン酸などのカウンターイオンを使用して形成される非毒性アンモニウム、4級アンモニウムおよびアミンカチオンを含む。

20

【0217】

特に断らない限り、ここに記載する構造はまた該構造の全異性(例えば、エナンチオマー、ジアステレオマーおよび幾何(または配座))形態；例えば、各不斉中心のRおよびS配置、ZおよびE二重結合異性体およびZおよびE配座異性体を含むことも意図する。故に、本化合物の単一立体化学異性体ならびにエナンチオマー、ジアステレオマーおよび幾何(または配座)混合物は本発明の範囲内である。特に断らない限り、本発明の化合物の全互変異性形態は本発明の範囲内である。さらに、特に断らない限り、ここに記載する構造はまた1以上の同位体富化原子の存在によってのみ異なる化合物を含むことも意図する。例えば、水素の重水素またはトリチウムでの置き換えまたは炭素の ^{13}C または ^{14}C 富化炭素での置き換えを含む本構造を有する化合物は本発明の範囲内である。このような化合物は、例えば、解析ツールとして、生物学的アッセイにおけるプローブとしてまたは本発明による治療剤として有用である。

30

【0218】

ここで使用する用語「約」は、記載する値の20%以内をいう。ある実施態様において、用語「約」は示す値の20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%または1%以内である。

40

【0219】

ここで使用する用語「mg/kg」は、投薬される対象の体重キログラムあたりの医薬のミリグラムをいう。

【0220】

3. 薬学的に許容される組成物

ある実施態様によると、本発明は、1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩および薬学的に許容される担体、アジュバントまたは媒体を含む医薬組成物を提供する。ある実施態様におい

50

て、本発明は、1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩、癌免疫療法剤および薬学的に許容される担体、アジュバントまたは媒体を含む、癌の処置に使用するための医薬組成物を提供する。

【0221】

ある実施態様において、本発明は、BT7480またはその薬学的に許容される塩および薬学的に許容される担体、アジュバントまたは媒体を含む医薬組成物を提供する。ある実施態様において、本発明は、癌の処置に使用するためのBT7480またはその薬学的に許容される塩、癌免疫療法剤および薬学的に許容される担体、アジュバントまたは媒体を含む医薬組成物を提供する。

10

【0222】

ある実施態様において、本発明は、BT7455またはその薬学的に許容される塩および薬学的に許容される担体、アジュバントまたは媒体を含む医薬組成物を提供する。ある実施態様において、本発明は、BT7455またはその薬学的に許容される塩、癌免疫療法剤および薬学的に許容される担体、アジュバントまたは媒体を含む、癌の処置に使用するための医薬組成物を提供する。

【0223】

ある実施態様において、組成物は薬学的に許容される担体、アジュバントまたは媒体を含む。用語「薬学的に許容される担体、アジュバントまたは媒体」は、共に製剤化される化合物の薬理学的活性を損なわない非毒性担体、アジュバントまたは媒体をいう。本発明の組成物で使用され得る薬学的に許容される担体、アジュバントまたは媒体は、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、ヒト血清アルブミンなどの血清タンパク質、緩衝物質、例えばリン酸、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、飽和植物脂肪酸の部分グリセリド混合物、水、塩または電解質、例えば硫酸プロタミン、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイド状シリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロースベースの物質、ポリエチレングリコール、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ポリアクリル酸、蠟、ポリエチレンーポリオキシプロピレンーブロックポリマー、ポリエチレングリコールおよび羊毛脂を含むが、これらに限定されない。

20

【0224】

ここで使用する用語「患者」は、動物、好ましくは哺乳動物および最も好ましくはヒトを意味する。

30

【0225】

本発明の組成物は、経口、非経腸、吸入スプレー、局所、直腸、経鼻、頬側、膺またはインプラントされたリザーバーを介して投与され得る。ここで使用する用語「非経腸」は、皮下、静脈内、筋肉内、関節内、滑膜内、胸骨内、髄腔内、肝臓内、病巣内および頭蓋内注射または点滴技術を含む。ある実施態様において、組成物は経口、腹腔内または静脈内投与される。無菌注射用形態の本発明の組成物は水性または油性懸濁液であり得る。これらの懸濁液を、適当な分散または湿潤剤および懸濁化剤を使用して、当分野で知られる技術により製剤化し得る。無菌注射用製剤は、非毒性の非経腸的に許容される希釈剤または溶媒中の無菌注射用溶液または懸濁液、例えば1,3-ブタンジオール中の溶液でもあり得る。用いられ得る許容される媒体および溶媒は、とりわけ、水、リンゲル液および等張塩化ナトリウム溶液である。さらに、無菌、固定油は溶媒または懸濁媒体として簡便に用いられる。

40

【0226】

この目的で、合成モノまたはジグリセリドを含むあらゆる非刺激固定油が用いられ得る。オレイン酸などの脂肪酸およびそのグリセリド誘導体は、天然の薬学的に許容される油、例えばオリーブ油またはヒマシ油、特にそれらのポリオキシエチル化バージョンと同様、注射剤の調製に有用である。これら油溶液または懸濁液はまた長鎖アルコール希釈剤または分散剤、例えば、カルボキシメチルセルロースまたはエマルジョンおよび懸濁液を含

50

む薬学的に許容される剤形の製剤で一般に使用される類似の分散剤も含み得る。他の一般に使用される界面活性剤、例えばツイン、スパンおよび他の乳化剤または薬学的に許容される固体、液体または他の剤形の製造において一般に使用されるバイオアベイラビリティ増強剤も、製剤の目的で使用され得る。

【0227】

本発明の薬学的に許容される組成物は、カプセル、錠剤、水性懸濁液または溶液を含むが、これらに限定されない、あらゆる経口的に許容される剤形で経口投与され得る。経口使用のための錠剤の場合、一般に使用される担体は、ラクトースおよびトウモロコシデンプンを含む。ステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤も典型的に添加され得る。カプセル形態での経口投与のために、有用な希釈剤はラクトースおよび乾燥トウモロコシデンプンを含む。経口使用のために水性懸濁液が必要であるとき、活性成分を乳化および懸濁化剤と合わせる。所望により、ある甘味、風味または着色剤も添加し得る。

10

【0228】

あるいは、本発明の薬学的に許容される組成物を直腸投与のための坐薬形態で投与し得る。これらは、薬剤と、室温で固体であるが、直腸温度で液体であり、故に直腸で融解して薬物を放出する適当な非刺激性添加物の混合により製造できる。このような物質は、カカオバター、蜜蝋およびポリエチレングリコールを含む。

【0229】

本発明の薬学的に許容される組成物は、特に、処置の標的が、眼、皮膚または腸管下部の疾患を含む、局所適用により容易に接近可能な領域または臓器を含むとき、局所投与もされ得る。適当な局所製剤は、これらの領域または臓器の各々のために容易に製造される。

20

【0230】

腸管下部のための局所適用は、直腸坐薬製剤(上記参照)または適当な浣腸製剤で実施され得る。局所経皮パッチも使用され得る。

【0231】

局所適用のために、提供される薬学的に許容される組成物は、1以上の担体に懸濁または溶解された活性成分を含む適当な軟膏に製剤化され得る。本発明の化合物の局所投与用担体は、鉱油、液体ワセリン、白色ワセリン、プロピレングリコール、ポリオキシエチレン、ポリオキシプロピレン化合物、乳化蠟および水を含むが、これらに限定されない。あるいは、提供される薬学的に許容される組成物は、1以上の薬学的に許容される担体に懸濁または溶解された活性成分を含む適当なローションまたはクリームに製剤化され得る。適当な担体は、鉱油、ソルビタンモノステアレート、ポリソルベート60、セチルエステル蠟、セテアリルアルコール、2-オクチルドデカノール、ベンジルアルコールおよび水を含むが、これらに限定されない。

30

【0232】

眼使用のために、提供される薬学的に許容される組成物は、塩化ベンザルコニウムなどの防腐剤を含むまたは含まない、等張、pH調整無菌食塩水中の微粒子化懸濁液、または、好ましくは、等張、pH調整無菌食塩水の溶液として製剤化され得る。あるいは、眼使用のために、薬学的に許容される組成物は、ワセリンなどの軟膏で製剤化され得る。

40

【0233】

本発明の薬学的に許容される組成物はまた経鼻エアロゾルまたは吸入によっても投与され得る。このような組成物は、医薬製剤の分野で周知の技術により製造され、ベンジルアルコールまたは他の適当な防腐剤、バイオアベイラビリティを増強するための吸収促進剤、フッ化炭素および／または他の慣用の可溶化または分散剤を用いる食塩水溶液として製剤化され得る。

【0234】

本発明の薬学的に許容される組成物はまた経口投与用に製剤化され得る。このような製剤は、食物と共にまたは共にではなく、投与され得る。ある実施態様において、本発明の薬学的に許容される組成物は食物と共にではなく投与される。他の実施態様において、本

50

発明の薬学的に許容される組成物は食物と共に投与される。

【0235】

ある特定の患者についての具体的投与量および処置レジメンは、用いる具体的化合物の活性、年齢、体重、一般的健康、性別、食習慣、投与時間、排泄速度、薬物組み合わせおよび処置医の判断および処置する特定の疾患の重症度を含む、多種多様な因子に依存する。組成物中の本発明の化合物の量も、組成物中の特定の化合物に依存する。

【0236】

4. 癌を処置する方法

ある実施態様によると、本発明は、患者における癌を処置する方法であって、患者に、治療有効量の1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤を投与することを含む、方法を提供する。

【0237】

ある実施態様において、本発明は、癌の処置のための1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体またはその薬学的に許容される塩の、癌免疫療法剤と組み合わせた使用を提供する。

【0238】

ある実施態様において、本発明は、患者における癌を処置する方法であって、患者に治療有効量のBT7480またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤を投与することを含む、方法を提供する。ある実施態様において、本発明は、癌の処置のためのBT7480またはその薬学的に許容される塩の、癌免疫療法剤と組み合わせた使用を提供する。

【0239】

ある実施態様において、本発明は、患者における癌を処置する方法であって、患者に治療有効量のBT7455またはその薬学的に許容される塩および癌免疫療法剤を投与することを含む、方法を提供する。ある実施態様において、本発明は、癌の処置のためのBT7455またはその薬学的に許容される塩の、癌免疫療法剤と組み合わせた使用を提供する。

【0240】

癌の例

ある実施態様において、癌は固形腫瘍である。ある実施態様において、癌はMT1-MMPと関連する。ある実施態様において、癌は高MT1-MMP発現である。例えば、Adley et al. は、MT1-MMPが卵巣の明細胞癌で発現が高レベルであることを報告した(Adley et al. "Expression of Membrane Type 1 Matrix Metalloproteinase (MMP-14) in Epithelial Ovarian Cancer: High Level Expression in Clear Cell Carcinoma" Gynecol Oncol. 2009 February; 112(2): 319-324)。

【0241】

ある実施態様において、癌はネクチン-4と関連する。ある実施態様において、癌は高ネクチン-4発現である。

【0242】

ある実施態様において、癌はEphA2と関連する。ある実施態様において、癌は高EphA2発現である。

【0243】

ある実施態様において、癌はPD-L1と関連する。ある実施態様において、癌は高PD-L1発現である。

【0244】

ある実施態様において、癌はPSMAと関連する。ある実施態様において、癌は高PSMA発現である。

【0245】

ある実施態様において、癌は膀胱癌である。ある実施態様において、膀胱癌は基底、p

10

20

30

40

50

53 様および管腔からなる群から選択される。

【0246】

ある実施態様において、癌は子宮内膜癌である。ある実施態様において、子宮内膜癌は MMR-D、POLE EDM、p53 WT、p53 異常、I 型、II 型、癌腫、癌肉腫、類内膜腺癌、漿液性癌腫、明細胞癌、粘液癌、混合型または未分化癌腫、混合型漿液性および類内膜、混合型漿液性および低悪性度類内膜および未分化体からなる群から選択される。

【0247】

ある実施態様において、癌は食道癌である。ある実施態様において、食道癌は腺癌 (EAC)、扁平上皮細胞癌 (ESCC)、染色体不安定 (CIN)、エプスタイン・バー・ウイルス (EBV)、ゲノム安定 (GS) およびマイクロサテライト不安定 (MSI) からなる群から選択される。

10

【0248】

ある実施態様において、癌は神経膠芽腫である。ある実施態様において、神経膠芽腫は前神経、神経、古典的および間葉性からなる群から選択される。

【0249】

ある実施態様において、癌は中皮腫である。ある実施態様において、中皮腫は胸膜中皮腫、腹膜中皮腫、心膜中皮腫、類上皮中皮腫、肉腫様中皮腫、二相性中皮腫および悪性中皮腫からなる群から選択される。

【0250】

ある実施態様において、癌は多発性骨髄腫である。ある実施態様において、多発性骨髄腫は高二倍体、非高二倍体、サイクリン D 転座、MMSET 転座、MAF 転座および未分類体からなる群から選択される。

20

【0251】

ある実施態様において、癌は卵巣癌である。ある実施態様において、卵巣癌は明細胞、類内膜、粘液性、高悪性度漿液性および低悪性度漿液性卵巣癌からなる群から選択される。

【0252】

ある実施態様において、癌は膵臓癌である。ある実施態様において、膵臓癌は扁平上皮、膵臓前駆細胞、免疫原性および ADEX (内分泌・外分泌異常分化) 膵臓癌からなる群から選択される。

30

【0253】

ある実施態様において、癌は前立腺癌である。ある実施態様において、前立腺癌は AZGP1 (サブタイプ I)、MUC1 (サブタイプ II) および MUC1 (サブタイプ III) 前立腺癌からなる群から選択される。

【0254】

ある実施態様において、癌は肺癌である。ある実施態様において、肺癌は met 増幅扁平上皮 NSCLC、野生型 EGFR を有する扁平上皮細胞 NSCLC または T790M EGFR 発現肺腺癌である。

【0255】

ある実施態様において、癌は乳癌である。ある実施態様において、乳癌はトリプルネガティブ乳癌である。ある実施態様において、乳癌は類基底トリプルネガティブ乳癌である。

40

【0256】

ある実施態様において、癌は結腸癌である。ある実施態様において、癌は結腸直腸腺癌である。ある実施態様において、結腸直腸腺癌は高 p g p 発現結腸直腸腺癌である。

【0257】

ある実施態様において、癌は胃癌である。ある実施態様において、胃癌は FGFR 増幅胃癌である。

【0258】

50

ある実施態様において、癌は頭頸部癌である。ある実施態様において、頭頸部癌は鼻中隔扁平上皮細胞癌である。

【0259】

ある実施態様において、癌は肉腫である。ある実施態様において、肉腫は線維肉腫である。ある実施態様において、線維肉腫はN-ras変異体/I D H 1変異体軟組織肉腫(STS)である。

【0260】

癌は、ある実施態様において、白血病(例えば、急性白血病、急性リンパ球性白血病、急性骨髄性白血病、急性骨髄芽球性白血病、急性前骨髄球性白血病、急性骨髄単球性白血病、急性単球性白血病、急性赤白血病、慢性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ球性白血病)、真性多血症、リンパ腫(例えば、ホジキン病または非ホジキン病)、ワルデンシュトレーマクログロブリン血症、多発性骨髄腫、重鎖疾患および固形腫瘍、例えば肉腫および癌腫(例えば、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、リンパ管内皮腫、滑液腫瘍、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胚性癌、ウィルムス腫瘍、頭部癌、子宮癌、精巣癌、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮性癌、神経膠腫、星状細胞腫、多形神経膠芽腫(GBM、神経膠芽腫としても知られる)、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫瘍、乏突起膠腫、シュワン腫、神経線維肉腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽腫および網膜芽細胞腫)を含むが、これらに限定されない。

10

20

【0261】

ある実施態様において、癌は神経膠腫、星状細胞腫、多形神経膠芽腫(GBM、神経膠芽腫としても知られる)、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽腫、聴神経腫瘍、乏突起膠腫、シュワン腫、神経線維肉腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽腫または網膜芽細胞腫である。

【0262】

ある実施態様において、癌は聴神経腫瘍、星状細胞腫(例えばグレードI - 毛様細胞性星状細胞腫、グレードII - 低悪性度星状細胞腫、グレードIII - 未分化星状細胞腫またはグレードIV - 神経膠芽腫(GBM))、脊索腫、CNSリンパ腫、頭蓋咽頭腫、脳幹神経膠腫、上衣腫、混合型神経膠腫、視神経膠腫、上衣下腫、髄芽腫、髄膜腫、転移脳腫瘍、乏突起膠腫、下垂体腫瘍、原始神経外胚葉性腫瘍(PNET)腫瘍またはシュワン腫である。ある実施態様において、癌は脳幹神経膠腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、若年性毛様細胞性星状細胞腫(JPA)、髄芽腫、視神経膠腫、松果腺腫瘍、原始神経外胚葉性腫瘍腫瘍(PNET)またはラブドイド腫瘍など成人より小児で一般に見られるタイプである。ある実施態様において、患者は成人である。ある実施態様において、患者は小児または小児科患者である。

30

【0263】

癌は、他の実施態様において、中皮腫、胆汁性(肝臓および胆管)、骨癌、膵臓癌、皮膚癌、頭頸部癌、皮膚または眼内黒色腫、卵巣癌、結腸癌、直腸癌、肛門部癌、胃癌、消化器(胃、結腸直腸および十二指腸)、子宮癌、卵管癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、陰癌、外陰癌、ホジキン病、食道癌、小腸癌、内分泌系癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、副腎癌、軟組織肉腫、尿道癌、陰茎癌、前立腺癌、精巣癌、慢性または急性白血病、慢性骨髄性白血病、リンパ球性リンパ腫、膀胱癌、腎臓または輸尿管癌、腎細胞癌、腎盂癌、非ホジキンリンパ腫、脊髄軸腫瘍、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、副腎皮質癌、胆嚢癌、多発性骨髄腫、胆管細胞癌、線維肉腫、神経芽腫、網膜芽細胞腫または前記癌の1以上の組み合わせを含むが、これらに限定されない。

40

【0264】

ある実施態様において、癌は肝細胞癌、卵巣癌、卵巣上皮性癌または卵管癌；乳頭漿液性嚢胞腺癌または子宮乳頭漿液性癌(UPSC)；前立腺癌；精巣癌；胆嚢癌；胆管肝癌

50

；軟組織および骨滑膜肉腫；横紋筋肉腫；骨肉腫；軟骨肉腫；ユーイング肉腫；未分化甲状腺癌；副腎皮質腺腫；脾臓癌；脾臓腺管癌または脾臓腺癌；消化器／胃(GIST)癌；リンパ腫；頭頸部扁平上皮細胞癌(SCCHN)；唾液腺癌；神経膠腫または脳癌；神経線維腫症－1関連悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)；ワルデンシュトレームマクログロブリン血症；または髄芽腫から選択される。

【0265】

ある実施態様において、癌は肝細胞癌(HCC)、肝芽腫、結腸癌、直腸癌、卵巣癌、卵巣上皮性癌、卵管癌、乳頭漿液性嚢胞腺癌、子宮乳頭漿液性癌(UPSC)、胆管肝癌、軟組織および骨滑膜肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫、未分化甲状腺癌、副腎皮質腺腫、脾臓癌、脾臓腺管癌、脾臓腺癌、神経膠腫、神経線維腫症－1関連悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症または髄芽腫から選択される。

10

【0266】

ある実施態様において、癌は固形腫瘍、例えば肉腫、癌腫またはリンパ腫である。固形腫瘍は、一般に典型的に嚢胞または液体領域を含まない、組織の異常塊を含む。ある実施態様において、癌は腎細胞癌または腎臓癌；肝細胞癌(HCC)または肝芽腫または肝臓癌；黒色腫；乳癌；結腸直腸癌腫または結腸直腸癌；結腸癌；直腸癌；肛門癌；肺癌、例えば非小細胞肺癌(NSCLC)または小細胞肺癌(SCLC)；卵巣癌、卵巣上皮性癌、卵巣癌または卵管癌；乳頭漿液性嚢胞腺癌または子宮乳頭漿液性癌(UPSC)；前立腺癌；精巣癌；胆嚢癌；胆管肝癌；軟組織および骨滑膜肉腫；横紋筋肉腫；骨肉腫；軟骨肉腫；ユーイング肉腫；未分化甲状腺癌；副腎皮質癌；脾臓癌；脾臓腺管癌または脾臓腺癌；消化器／胃(GIST)癌；リンパ腫；頭頸部扁平上皮細胞癌(SCCHN)；唾液腺癌；神経膠腫または脳癌；神経線維腫症－1関連悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)；ワルデンシュトレームマクログロブリン血症；または髄芽腫から選択される。

20

【0267】

ある実施態様において、癌は腎細胞癌、肝細胞癌(HCC)、肝芽腫、結腸直腸癌腫、結腸直腸癌、結腸癌、直腸癌、肛門癌、卵巣癌、卵巣上皮性癌、卵巣癌、卵管癌、乳頭漿液性嚢胞腺癌、子宮乳頭漿液性癌(UPSC)、胆管肝癌、軟組織および骨滑膜肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫、軟骨肉腫、未分化甲状腺癌、副腎皮質癌、脾臓癌、脾臓腺管癌、脾臓腺癌、神経膠腫、脳癌、神経線維腫症－1関連悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症または髄芽腫から選択される。

30

【0268】

ある実施態様において、癌は肝細胞癌(HCC)、肝芽腫、結腸癌、直腸癌、卵巣癌、卵巣上皮性癌、卵巣癌、卵管癌、乳頭漿液性嚢胞腺癌、子宮乳頭漿液性癌(UPSC)、胆管肝癌、軟組織および骨滑膜肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫、未分化甲状腺癌、副腎皮質癌、脾臓癌、脾臓腺管癌、脾臓腺癌、神経膠腫、神経線維腫症－1関連悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症または髄芽腫から選択される。

【0269】

ある実施態様において、癌は肝細胞癌(HCC)である。ある実施態様において、癌は肝芽腫である。ある実施態様において、癌は結腸癌である。ある実施態様において、癌は直腸癌である。ある実施態様において、癌は卵巣癌または卵巣癌である。ある実施態様において、癌は卵巣上皮性癌である。ある実施態様において、癌は卵管癌である。ある実施態様において、癌は乳頭漿液性嚢胞腺癌である。ある実施態様において、癌は子宮乳頭漿液性癌(UPSC)である。ある実施態様において、癌は胆管肝癌である。ある実施態様において、癌は軟組織および骨滑膜肉腫である。ある実施態様において、癌は横紋筋肉腫である。ある実施態様において、癌は骨肉腫である。ある実施態様において、癌は未分化甲状腺癌である。ある実施態様において、癌は副腎皮質癌である。ある実施態様において、癌は脾臓癌または脾臓腺管癌である。ある実施態様において、癌は脾臓腺癌である。ある実施態様において、癌は神経膠腫である。ある実施態様において、癌は悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)である。ある実施態様において、癌は神経線維腫症－1関連MPNSTで

40

50

ある。ある実施態様において、癌はワルデンシュトレームマクログロブリン血症である。
ある実施態様において、癌は髄芽腫である。

【0270】

ある実施態様において、癌は、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)関連固形腫瘍、ヒトパピローマウイルス(HPV)-16陽性治療不能固形腫瘍およびヒトT細胞白血病ウイルスI型(HTLV-I)が原因であり、白血病細胞におけるHTLV-Iのクローン組み込みにより特徴づけられたCD4+T細胞白血病の高度に侵襲性の形態である成人T細胞白血病を含む、ウイルス関連癌(<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02631746>参照)；ならびに胃癌、鼻咽頭癌、頸部癌、膣癌、外陰癌、頭頸部扁平上皮細胞癌およびメルケル細胞癌におけるウイルス関連腫瘍である(<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02488759>参照;<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT0240886>; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02426892>もまた参照)。

10

【0271】

ある実施態様において、癌は黒色腫瘍である。ある実施態様において、癌は乳癌である。ある実施態様において、癌は肺癌である。ある実施態様において、癌は小細胞肺癌(SCLC)である。ある実施態様において、癌は非小細胞肺癌(NSCLC)である。

【0272】

ある実施態様において、癌は腫瘍のさらなる増殖の停止により処置される。ある実施態様において、癌は、処置前の腫瘍のサイズと比較した、腫瘍サイズ(例えば、体積または塊)の少なくとも5%、10%、25%、50%、75%、90%または99%の減少により処置される。ある実施態様において、癌は、処置前の腫瘍の量と比較した、患者における腫瘍の量の少なくとも5%、10%、25%、50%、75%、90%または99%の減少により処置される。

20

【0273】

本発明の方法によるヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および組成物は、癌の処置または重症度低減のために有効な、任意の量および任意の投与経路を使用して投与され得る。必要な正確な量は、対象の種、年齢および一般的状態、疾患または状態の重症度、特定の薬剤、その投与方法などに依存して、対象毎に変わる。ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は、好ましくは投与の容易さおよび投与量均一性のために投与量単位形態に製剤化される。ここで使用する表現「投与量単位形態」は、処置する患者に適する薬剤の物理的に分離された単位をいう。しかしながら、本発明のヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および組成物の総一日使用量は、合理的な医学的判断の範囲内で処置医により決定されることは理解される。ある特定の患者または生物のための具体的有効用量レベルは、処置する障害および障害の重症度；用いる具体的化合物の活性；用いる具体的組成物；患者の年齢、体重、一般的健康、性別および食習慣；投与時間、投与経路および用いる具体的化合物の排泄速度；処置期間；用いる具体的化合物と組み合わせるまたは同時に使用される薬物および医学分野で周知の同様の因子を含む、多種多様な因子に依存する。ここで使用する用語「患者」は、動物、好ましくは哺乳動物および最も好ましくはヒトを意味する。

30

【0274】

本発明の薬学的に許容される組成物は、ヒトおよび他の動物に、処置する疾患または障害の重症度に依存して、経口、直腸、非経腸、大槽内、膣内、腹腔内、局所(粉末、軟膏または液滴として)、頬側、経口または経鼻スプレーとしてなどで投与され得る。ある実施態様において、本発明のヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は、経口または非経腸で、所望の治療効果を得るために、1日1回以上、1日あたり対象体重の約0.01mg/kg～約100mg/kgまたは約1mg/kg～約25mg/kgの投与量レベルで投与し得る。

40

【0275】

経口投与用液体剤形は、薬学的に許容されるエマルジョン、マイクロエマルジョン、溶液、懸濁液、シロップおよびエリキシルを含むが、これらに限定されない。活性化合物に加えて、液体剤形は、例えば、水または他の溶媒、可溶化剤および乳化剤、例えばエチル

50

アルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油(特に、綿実、ラッカセイ、トウモロコシ、胚芽、オリーブ、ヒマシおよびゴマ油)、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコールおよびソルビタンの脂肪酸エステルおよびこれらの混合物など、当分野で一般に使用される不活性希釈剤を含み得る。不活性希釈剤以外に、経口組成物はアジュバント、例えば湿潤剤、乳化および懸濁化剤、甘味、風味および芳香剤も含み得る。

【0276】

注射用製剤、例えば、無菌注射用水性または油性懸濁液は、適当な分散または湿潤剤および懸濁化剤を使用して、当分野で既知のとおり製剤化し得る。無菌注射用製剤は、非毒性の非経腸的に許容される希釈剤または溶媒中の無菌注射用溶液、懸濁液またはエマルジョン、例えば、1,3-ブタンジオール中の溶液であり得る。用い得る許容される媒体および溶媒は、とりわけ、水、リンゲル液、U.S.P.および等張塩化ナトリウム溶液である。さらに、無菌、固定油は溶媒または懸濁媒体として簡便に用いられる。この目的で、合成モノまたはジグリセリドを含むあらゆる非刺激性固定油を用い得る。さらに、脂肪酸、例えばオレイン酸が注射用製剤に使用される。

【0277】

注射用製剤は、例えば、細菌捕捉フィルターを通す濾過または使用前に無菌水または他の無菌注射用媒体に溶解または分散させ得る無菌固体組成物の形態の滅菌剤の組み込みにより、滅菌できる。

【0278】

本発明の化合物の効果を延長させるために、皮下または筋肉内注射からの化合物の吸収を遅らせることがしばしば望ましい。これは、ほとんど水に溶けない結晶または非晶質物質の液体懸濁液の使用により、達成され得る。次いで、化合物の吸収速度は溶解速度に依存し、これは、次に、結晶サイズおよび結晶形態に依存し得る。あるいは、非経腸投与された化合物形態の吸収遅延は、油媒体への化合物の溶解または懸濁により達成され得る。注射用デポー形態は、ポリラクチド-ポリグリコリドなどの生分解性ポリマー中の化合物のマイクロカプセル化マトリクスの形成により製造する。化合物対ポリマー比および用いる具体的ポリマーの性質に依存して、化合物放出速度を制御できる。他の生分解性ポリマーの例は、ポリ(オルトエステル)およびポリ(無水物)を含む。デポー注射用製剤はまた体組織と適合性のリポソームまたはマイクロエマルジョンへの化合物の封入によっても製造される。

【0279】

直腸または腔投与用組成物は、好ましくは、本発明のヘテロタンデム二環式ペプチド複合体と、環境温度で固体であるが、体温で液体であり、故に、直腸または腔腔で溶解し、活性化合物を放出する、カカオバター、ポリエチレングリコールまたは坐薬蠟などの適当な非刺激性添加物または担体の混合により製造され得る坐薬である。

【0280】

経口投与用固体剤形は、カプセル、錠剤、丸剤、粉末および顆粒を含む。このような固体剤形において、活性化合物は、少なくとも1個の不活性、薬学的に許容される添加物または担体、例えばクエン酸ナトリウムまたはリン酸二カルシウムおよび／またはa)充填剤または増量剤、例えばデンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトールおよびケイ酸、b)結合剤、例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸、ゼラチン、ポリビニルピロリジノン、スクロースおよびアカシア、c)湿潤剤、例えばグリセロール、d)崩壊剤、例えば寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモまたはタピオカデンプン、アルギン酸、あるケイ酸および炭酸ナトリウム、e)溶解遅延剤、例えばパラフィン、f)吸収加速剤、例えば4級アンモニウム化合物、g)湿潤剤、例えば、セチルアルコールおよびモノステアリン酸グリセロール、h)吸収剤、例えばカオリンおよびベントナイトクレイおよびi)滑沢剤、例えばタルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウムおよびこれらの混合物と混

合される。カプセル、錠剤および丸剤のある場合、剤形は緩衝剤も含み得る。

【0281】

類似のタイプの固体組成物も、ラクトースまたは乳糖ならびに高分子量ポリエチレングリコールなどの添加物を使用する軟および硬充填ゼラチンカプセルにおける充填剤として使用し得る。錠剤、糖衣錠、カプセル、丸剤および顆粒の固体剤形は、腸溶性コーティングおよび製剤分野で周知の他のコーティングなどのコーティングおよび殻を施し得る。所望により不透明化剤を含んでよく、活性成分を腸管の特定部分のみにまたは優先的に、所望により、遅延様式で放出する組成物でもあり得る。使用できる包埋組成物の例はポリマー物質および蠟を含む。類似のタイプの固体組成物も、ラクトースまたは乳糖ならびに高分子量ポリエチレングリコールなどの添加物を使用する軟および硬充填ゼラチンカプセルにおいて充填剤として用いられ得る。

10

【0282】

活性化合物は、上記のとおり1以上の添加物とマイクロカプセル化した形態であり得る。錠剤、糖衣錠、カプセル、丸剤および顆粒の固体剤形は、腸溶性コーティング、放出制御コーティングおよび製剤分野で周知の他のコーティングなどのコーティングおよび殻を施され得る。このような固体剤形において、活性化合物をスクロース、ラクトースまたはデンプンなどの少なくとも1個の不活性希釈剤と混合し得る。このような剤形はまた、通常の実務どおり、不活性希釈剤以外のさらなる物質、例えば、ステアリン酸マグネシウムおよび微結晶セルロースなどの打錠滑沢剤および他の打錠助剤も含み得る。カプセル、錠剤および丸剤の場合、剤形はまた緩衝剤も含み得る。所望により不透明化剤を含んでよく、活性成分を腸管の特定部分のみにまたは優先的に、所望により、遅延様式で放出する組成物でもあり得る。使用できる包埋組成物の例はポリマー物質および蠟を含む。

20

【0283】

例えば、ここに記載する、1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の局所または経皮投与用剤形は、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、粉末、溶液、スプレー、吸入剤またはパッチを含む。活性成分を、薬学的に許容される担体および何らかの必要な防腐剤または必要に応じて緩衝液と、無菌条件下混合する。眼製剤、点耳剤および点眼剤も、本発明の範囲の範囲内であるとして意図される。さらに、本発明は、体への化合物の送達を制御するさらなる利点を有する経皮パッチの使用を意図する。このような剤形は、化合物の適切な媒体への溶解または分散により製造できる。吸収増強剤は、皮膚を通過する化合物の流動を増加させるためにも使用し得る。速度は、速度制御膜の提供または化合物のポリマーマトリクスまたはゲルへの分散により制御され得る。

30

【0284】

ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体と癌免疫療法剤の共投与

例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤を、別々に、複数投与量レジメンの一部として投与し得る。あるいは、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤を、単一剤形としての単一組成物として一緒に混合し得る。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBT7480またはBT7455またはその薬学的に許容される塩である。

40

【0285】

ある実施態様において、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体は、癌免疫療法剤と別に投与される。ある実施態様において、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤は同時に投与される。ある実施態様において、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤は逐次的に投与される。ある実施態様において、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤は互いに一定時間内に、例えば互いに1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、7時間、8時間、9時間、10時間、11時間、12時間、13時間、14時間、15時間、16時間、17時間、18時間、18時間、20時間、21時間、22時間、23時間または24時間以内に投与される。

50

ある実施態様において、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤は、24時間を超えて離して投与される。ある実施態様において、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤は互いに1日、2日、3日、4日、5日、6日または7日以内に投与される。ある実施態様において、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤は1週間を超えて離して投与される。ある実施態様において、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤は互いに1週間、2週間、3週間、4週間または5週間以内に投与される。

【0286】

ここで使用する用語「組み合わせ」、「組み合わせた」および関連用語は、本発明の治療剤の同時または逐次投与をいう。例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体を、癌免疫療法剤と同時にまたは逐次的に、別々の単位剤形でまたは一緒に単一単位剤形で投与し得る。従って、ある実施態様において、本発明は、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体、癌免疫療法剤および所望により薬学的に許容される担体、アジュバントまたは媒体を含む、単一単位剤形を提供する。

【0287】

単一剤形を作るために担体物質と組み合わせ得る、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤の量は、処置する宿主および特定の投与方法により変わる。好ましくは、本発明の組成物は、0.001~100mg/kg体重/日の、例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体の投与量が投与できるように製剤化される。

【0288】

例えば、ここに記載する1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤は相乗的に作用し得る。故に、このような組成物における例えば、ここに記載するヘテロタンデム二環式ペプチド複合体および癌免疫療法剤の量は、その治療剤のみを利用する単剤療法で必要であるより少ないかもしれない。

【0289】

本発明の組成物に存在する癌免疫療法剤の量は、唯一の活性剤としてそれを含む組成物で通常投与される量を超えないものであり得る。好ましくはここに開示する組成物中の癌免疫療法剤の量は、該薬剤の唯一の治療的活性剤として含む組成物に通常存在する量の約50%~100%である。ある実施態様において、癌免疫療法剤は、単剤療法として通常投与される量の約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%または約95%の投与量で投与される。ここで使用する用語「通常投与される」は、FDA添付文書に従う、FDA承認治療剤が承認された量を意味する。

【0290】

本発明の医薬組成物はまた補装具、人工弁、血管移植片、ステントおよびカテーテルなどの植込み型医療機器のコーティング用組成物にも組み込まれ得る。血管ステントは、例えば、再狭窄(傷害後の血管壁の再狭窄化)に打ち勝つために使用される。しかしながら、ステントまたは他の植込み型デバイスを使用する患者は、凝血塊形成または血小板活性化のリスクがある。これらの望まない効果を、キナーゼ阻害剤を含む薬学的に許容される組成物でデバイスをプレコーティングすることにより予防または緩和し得る。本発明の化合物で被覆された植込み型デバイスは、本発明の他の実施態様である。

【0291】

5. 癌免疫療法剤の例

ここで使用する用語「癌免疫療法剤」は、対象における免疫応答の増強、刺激および/または上方制御に有効な薬剤をいう。ある実施態様において、例えば、ここに記載する1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体と癌免疫療法剤の投与は、癌の処置に相乗効果を有する。

【0292】

癌免疫療法剤は、例えば、小分子薬物、抗体または生物学的製剤または小分子であり得る。生物学的癌免疫療法剤の例は、癌ワクチン、抗体およびサイトカインを含むが、これらに限定されない。ある実施態様において、抗体はモノクローナル抗体である。ある実施態様において、モノクローナル抗体はヒト化またはヒトである。

【0293】

ある実施態様において、癌免疫療法剤は、T細胞の(i)刺激(共刺激を含む)受容体アゴニストまたは(ii)阻害性(共阻害を含む)シグナルアンタゴニストであり、両者とも抗原特異的T細胞応答の増強をもたらす。

【0294】

刺激および阻害性分子の一部は、免疫グロブリンスーパーファミリー(IgSF)メンバーである。共刺激または共阻害受容体に結合する膜結合リガンドのある重要なファミリーはB7ファミリーであり、これは、B7-1、B7-2、B7-H1(PD-L1)、B7-DC(PD-L2)、B7-H2(ICOS-L)、B7-H3、B7-H4、B7-H5(VISTA)およびB7-H6を含む。共刺激または共阻害受容体に結合する膜結合リガンドの他のファミリーは、同族TNF受容体ファミリーメンバーに結合するTNFファミリーの分子であり、CD40およびCD40L、OX-40、OX-40L、CD70、CD27L、CD30、CD30L、4-1BBL、CD137(4-1BB)、TRAIL/Apo2-L、TRAILR1/DR4、TRAILR2/DR5、TRAILR3、TRAILR4、OPG、RANK、RANKL、TWEAKR/Fn14、TWEAK、BAFFR、EDAR、XEDAR、TACI、APRIL、BCMA、LTβR、LIGHT、DcR3、HVEM、VEGI/TL1A、TRAMP/DR3、EDAR、EDA1、XEDAR、EDA2、TNFR1、リンホトキシンα/TNFβ、TNFR2、TNFα、LTβR、リンホトキシンα1β2、FAS、FASL、REL T、DR6、TROY、NGFRを含む。

【0295】

ある実施態様において、癌免疫療法剤は、免疫応答刺激のための、T細胞活性化を阻害するサイトカイン(例えば、IL-6、IL-10、TGF-β、VEGFおよび他の免疫抑制性サイトカイン)またはT細胞活性化を刺激するサイトカインである。

【0296】

ある実施態様において、例えば、ここに記載する1以上のCD137結合ペプチドリガンドを含むヘテロタンデム二環式ペプチド複合体と癌免疫療法剤の組み合わせは、T細胞応答を刺激できる。ある実施態様において、ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体はBT7480またはBT7455またはその薬学的に許容される塩である。ある実施態様において、癌免疫療法剤は、(i)CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG-3、TIM-3、Gaレクチン9、CEACAM-1、BTLA、CD69、Gaレクチン-1、TIGIT、CD113、GPR56、VISTA、2B4、CD48、GARP、PD1H、LAIR1、TIM-1およびTIM-4などのT細胞活性化を阻害するタンパク質のアンタゴニスト(例えば、免疫チェックポイント阻害剤)；または(ii)B7-1、B7-2、CD28、4-1BB(CD137)、4-1BBL、ICOS、ICOS-L、OX40、OX40L、GITR、GITRL、CD70、CD27、CD40、DR3およびCD28HなどのT細胞活性化を刺激するタンパク質のアゴニストである。

【0297】

ある実施態様において、癌免疫療法剤は、NK細胞の阻害性受容体のアンタゴニストまたはNK細胞の活性化受容体のアゴニストである。ある実施態様において、癌免疫療法剤は、リリルマブなどのKIRのアンタゴニストである。

【0298】

ある実施態様において、癌免疫療法剤は、RG7155(WO11/70024、WO11/107553、WO11/131407、WO13/87699、WO13/11

10

20

30

40

50

9716、WO13/132044)またはFPA-008(WO11/140249; WO13169264; WO14/036357)を含む、CSF-1Rアンタゴニスト抗体などのCSF-1Rアンタゴニストを含むが、これに限定されない、マクロファージまたは単球を阻害または枯渇させる、薬剤である。

【0299】

ある実施態様において、癌免疫療法剤は、正の共刺激受容体をライゲートするアゴニスト剤、阻害性受容体を介するシグナル伝達を減弱させる遮断剤、アンタゴニストおよび抗腫瘍T細胞の頻度を全身性に増加させる薬剤、腫瘍微小環境内の別の免疫抑制経路に打ち勝つ薬剤(例えば、阻害性受容体結合(例えば、PD-L1/PD-1相互作用)遮断、Treg枯渇または阻害(例えば、抗CD25モノクローナル抗体(例えば、ダクリズマブ)を使用またはエキスピボ抗CD25ビーズ枯渇による)、IDOなどの代謝酵素阻害またはT細胞エネルギーまたは疲弊の回復/予防)および腫瘍位置での自然免疫活性化および/または炎症を誘発する薬剤の1以上から選択される。

10

【0300】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はCTLA-4アンタゴニストである。ある実施態様において、CTLA-4アンタゴニストはアンタゴニストCTLA-4抗体である。ある実施態様において、アンタゴニストCTLA-4抗体はヤーボイ(イピリムマブ)またはトレメリムマブである。

【0301】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はPD-1アンタゴニストである。ある実施態様において、PD-1アンタゴニストは点滴により投与される。ある実施態様において、癌免疫療法剤はプログラム死-1(PD-1)受容体に特異的に結合し、PD-1活性を阻害する抗体またはその抗原結合部分である。ある実施態様において、PD-1アンタゴニストはアンタゴニストPD-1抗体である。ある実施態様において、アンタゴニストPD-1抗体はオブジーボ(ニボルマブ)、キイトルーダ(ペムブロリズマブ)またはMED-0680(AMP-514; WO2012/145493)である。ある実施態様において、癌免疫療法剤はピディリズマブ(CT-011)であり得る。ある実施態様において、癌免疫療法剤はAMP-224と称される、IgG1のFc部分に融合したPD-L2(B7-DC)の細胞外ドメインからなる組み換えタンパク質である。

20

【0302】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はPD-L1アンタゴニストである。ある実施態様において、PD-L1アンタゴニストはアンタゴニストPD-L1抗体である。ある実施態様において、PD-L1抗体はMPDL3280A(RG7446; WO2010/077634)、デュルバルマブ(MEDI4736)、BMS-936559(WO2007/005874)およびMSB0010718C(WO2013/79174)である。

30

【0303】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はLAG-3アンタゴニストである。ある実施態様において、LAG-3アンタゴニストはアンタゴニストLAG-3抗体である。ある実施態様において、LAG-3抗体はBMS-986016(WO10/19570、WO14/08218)またはIMP-731またはIMP-321(WO08/132601、WO009/44273)である。

40

【0304】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はCD137(4-1BB)アゴニストである。ある実施態様において、CD137(4-1BB)アゴニストはアゴニストCD137抗体である。ある実施態様において、CD137抗体はウレルマブまたはPF-05082566(WO12/32433)である。

【0305】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はGITRアゴニストである。ある実施態様において、GITRアゴニストはアゴニストGITR抗体である。ある実施態様において、GITR抗体はBMS-986153、BMS-986156、TRX-518(WO00

50

6 / 1 0 5 0 2 1、W O 0 0 9 / 0 0 9 1 1 6)またはM K - 4 1 6 6 (W O 1 1 / 0 2 8 6 8 3)である。

【0306】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はインドールアミン(2,3)-ジオキシゲナーゼ(IDO)アンタゴニストである。ある実施態様において、IDOアンタゴニストは、エパカドスタット(INCB024360, Incyte); インドキシモド(NLG-8189, NewLink Genetics Corporation); カプマチニブ(INC280, Novartis); GDC-0919(Genentech/Roche); PF-06840003(Pfizer); BMS:F001287(Bristol-Myers Squibb); Phyllo 906/KD108(Phytoceutica); キヌレニン分解酵素(Kynase, Ikena Oncology、以前はKyn Therapeuticsとして知られた); および NLG-919(WO09/73620、WO009/1156652、WO11/56652、WO12/142237)から選択される。

10

【0307】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はOX40アゴニストである。ある実施態様において、OX40アゴニストはアゴニストOX40抗体である。ある実施態様において、OX40抗体はMED1-6383またはMED1-6469である。

【0308】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はOX40Lアンタゴニストである。ある実施態様において、OX40LアンタゴニストはアンタゴニストOX40抗体である。ある実施態様において、OX40LアンタゴニストはRG-7888(WO06/029879)である。

20

【0309】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はCD40アゴニストである。ある実施態様において、CD40アゴニストはアゴニストCD40抗体である。ある実施態様において、癌免疫療法剤はCD40アンタゴニストである。ある実施態様において、CD40アンタゴニストはアンタゴニストCD40抗体である。ある実施態様において、CD40抗体はルカツムマブまたはダセツズマブである。

【0310】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はCD27アゴニストである。ある実施態様において、CD27アゴニストはアゴニストCD27抗体である。ある実施態様において、CD27抗体はバルリルマブである。

30

【0311】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はMGA271(B7H3に対する)(WO11/109400)である。

【0312】

ある実施態様において、癌免疫療法剤はアバゴボマブ、アデカツムマブ、アフツズマブ、アレムツズマブ、アナツモマブ、マフェナトックス、アポリズマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、ブリナツモマブ、BMS-936559、カツマキソマブ、デュルバルマブ、エパカドスタット、エピラツズマブ、インドキシモド、イノツズマブ、オゾガマイシン、インテツムマブ、イピリムマブ、イサツキシマブ、ランプロリズマブ、MED14736、MPDL3280A、ニボルマブ、オビヌツズマブ、オカラツズマブ、オフアツムマブ、オララツマブ、ペムプロリズマブ、ピディリズマブ、リツキシマブ、チシリムマブ、サマリズマブまたはトレメリムマブである。

40

【0313】

ある実施態様において、癌免疫療法剤は免疫刺激剤である。例えば、PD-1およびPD-L1阻害性軸を遮断する抗体は活性化腫瘍反応性T細胞を解放でき、臨床試験で、従来の方法で免疫療法感受性とは考えられていなかったある腫瘍タイプを含み、腫瘍組織数の増加における持続性抗腫瘍応答を誘導することが示されている。例えば、Okazaki, T. et al. (2013) Nat. Immunol. 14, 1212-1218; Zou et al. (2016) Sci. Transl. Med. 8参照。抗PD-1抗体ニボルマブ(オブジーボ^(登録商標)、Bristol-Myers Sq

50

uibb、ONO-4538、MDX1106およびBMS-936558としても知られる)は、先の抗血管形成療法の間または後に疾患進行を経験しているRCCを有する患者の全体的生存を改善する可能性を示している。

【0314】

ある実施態様において、免疫調節治療は、特に腫瘍細胞のアポトーシスを誘導する。本発明において使用し得る承認された免疫調節治療は、ポマリドミド(ポマリスト(登録商標)、Celgene)；レナリドマイド(レブラミド(登録商標)、Celgene)；メブ酸インゲノール(ピカト(登録商標)、LEO Pharma)を含む。

【0315】

ある実施態様において、癌免疫療法剤は癌ワクチンである。ある実施態様において、癌ワクチンは、無症候性または症状の少ない転移去勢抵抗性(ホルモン難治性)前立腺癌の処置について承認されているシプロイセルT(プロベンジ(登録商標)、Dendreon/Valeant Pharmaceuticals)；および黒色腫における切除不能皮膚、皮下および結節性病変の処置について承認されている遺伝子修飾腫瘍溶解性ウイルス治療であるタリモジン ラヘルパレベク(イムリジック(登録商標)、BioVex/Amgen、以前はT-V E Cとして知られた)から選択される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は、肝細胞癌(NCT02562755)および黒色腫(NCT00429312)に対するGM-CSFを発現するよう操作されたチミジンキナーゼー(TK-)欠損ワクシニアウイルスであるペキサスティモジェネ デバシレベク(PexaVec/JX-594、SillaJen/以前はJennerex Biotherapeutics)；結腸直腸癌(NCT01622543)；前立腺癌(NCT01619813)；頭頸部扁平上皮細胞癌(NCT01166542)；膵臓腺癌(NCT00998322)；および非小細胞肺癌(NSCLC)(NCT00861627)を含む多数の癌におけるRAS活性化されていない細胞で複製しない呼吸器腸溶性オーファンウイルス(レオウイルス)のバリエーションであるペラレオレブ(レオリシン(登録商標)、Oncolytics Biotech)；卵巣癌(NCT02028117)；結腸直腸癌、膀胱癌、頭頸部扁平上皮細胞癌および唾液腺癌(NCT02636036)におけるなどの転移または進行性上皮性腫瘍におけるT細胞受容体CD3タンパク質に特異的な完全長CD80および抗体フラグメントを発現するよう操作されたアデノウイルスであるenadenotucirev(NG-348、PsiOxus、以前はColoAd1として知られた)；黒色腫(NCT03003676)；および腹膜疾患、結腸直腸癌または卵巣癌(NCT02963831)におけるGM-CSFを発現するよう曾佐されたアデノウイルスであるONCOS-102(Targovax/以前はOncos)；腹膜播種(NCT01443260)；卵管癌、卵巣癌(NCT02759588)において試験されているそれぞれベーターガラクトシダーゼ(ベーターgal)/ベーターグルクロニダーゼまたはベーターgal/ヒトヨウ化ナトリウム共輸送体(hNIS)を発現するよう操作されたワクシニアウイルスであるGL-ONC1(GLV-1h68/GLV-1h153、Genelux GmbH)；または膀胱癌(NCT02365818)におけるGM-CSFを発現するよう操作されたアデノウイルスであるCG0070(Cold Genesys)などの腫瘍溶解性ウイルス治療から選択される。

【0316】

ある実施態様において、癌免疫療法剤は、プロドラッグ5-フルオロシトシンから細胞毒性薬物5-フルオロウラシルに変換できるシトシンデアミナーゼを発現するよう操作されたTK-およびワクシニア増殖因子欠損ワクシニアウイルスであるJX-929(SillaJen/以前はJennerex Biotherapeutics)；難治性RAS変異を標的化するペプチドベースの免疫療法剤であるTG01およびTG02(Targovax/以前はOncos)；およびAd5/3-E2F-デルタ24-hTNF α -IRES-hIL20と指定される操作されたアデノウイルスであるTILT-123(TILT Biotherapeutics)；および抗原特異的CD8⁺T細胞応答を生ずるよう設計された抗原を発現するようさらに操作され得るリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)の糖タンパク質(GP)を発現するよう操作された水疱性口内炎ウイルス(VSV)であるVSV-GP(ViraTherapeutics)から選択される。

【0317】

10

20

30

40

50

ある実施態様において、癌免疫療法剤はキメラ抗原受容体またはCARを発現するよう操作されたT細胞である。このようなキメラ抗原受容体を発現するよう操作されたT細胞はCAR-T細胞と称する。

【0318】

Tリンパ球において活性化シグナルを産生できる、天然リガンド由来であり得る結合ドメイン、T細胞受容体(TCR)の機能的末端であるエンドドメインに融合した細胞表面抗原特異的モノクローナル抗体由来の一本鎖可変フラグメント(scFv)、例えばTCRからのCD3-ゼータシグナル伝達ドメインからなるCARが、構築されている。抗原結合により、このようなCARはエフェクター細胞内で内因性シグナル伝達経路と結合し、TCR複合体により開始されるのに類似する活性化シグナルを産生する。

10

【0319】

例えば、ある実施態様において、CAR-T細胞は、T細胞抗原受容体複合体ゼータ鎖(例えばCD3ゼータ)の細胞内シグナル伝達ドメインに融合した抗原結合ドメイン(例えばCD19に結合するドメイン)を有する細胞外ドメインを含むよう操作されたCAR-T細胞を開示する、米国特許8,906,682(June et al.; 引用により全体として本明細書に包含させる)に記載のもののひとつである。T細胞で発現されたとき、CARは、抗原結合特異性に基づき、抗原認識の再指示ができる。CD19の場合、抗原は悪性B細胞に発現される。CAR-Tを用いる200を超える臨床試験が、広範な適応症において現在進行中である[<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=chimeric+antigen+receptors&pg=1>]。

20

【0320】

ある実施態様において、免疫刺激剤はレチノイン酸受容体関連オーファン受容体γ(RORγt)のアクティベーターである。RORγtは、CD4+(Th17)およびCD8+(Tc17)T細胞のタイプ17エフェクターサブセットの分化および維持ならびにNK細胞などのIL-17発現自然免疫細胞亜集団の分化に重要な役割を有する転写因子である。ある実施態様において、RORγtのアクティベーターは、現在固形腫瘍(NCT02929862)の処置について臨床試験で評価中のLYC-55716(Lycera)である。

【0321】

ある実施態様において、免疫刺激剤はトール様受容体(TLR)のアゴニストまたはアクティベーターである。適当なTLRのアクティベーターは、SD-101(Dynavax)などのTLR9のアゴニストまたはアクティベーターを含む。SD-101は、B細胞、濾胞性および他のリンパ腫(NCT02254772)について試験中の免疫刺激性CpGである。本発明において使用し得るTLR8のアゴニストまたはアクティベーターは、頭頸部扁平上皮細胞癌(NCT02124850)および卵巣癌(NCT02431559)について試験中のモトリモド(VTX-2337、VentiRx Pharmaceuticals)を含む。

30

【0322】

本発明において使用できる他の癌免疫療法剤は、ウレルマブ(BMS-663513、Bristol-Myers Squibb)、抗CD137モノクローナル抗体；バルリルマブ(CDX-1127、Cell dex Therapeutics)、抗CD27モノクローナル抗体；BMS-986178(Bristol-Myers Squibb)、抗OX40モノクローナル抗体；リリルマブ(IPH2102/BMS-986015、Innate Pharma、Bristol-Myers Squibb)、抗KIRモノクローナル抗体；モナリズマブ(IPH2201、Innate Pharma、AstraZeneca)抗NKG2Aモノクローナル抗体；およびアンデカリキシマブ(GS-5745、Gilead Sciences)、抗MMP9抗体；MK-4166(Merck & Co.)、抗GITRモノクローナル抗体を含む。

40

【0323】

ある実施態様において、免疫刺激剤は、エロツズマブ、ミファムルチド、トール様受容体のアゴニストまたはアクティベーターおよびRORγtのアクティベーターから選択される。

【0324】

ある実施態様において、免疫刺激性治療は組み換えヒトインターロイキン15(rhI

50

L-15)である。rhIL-15は、黒色腫および腎細胞癌(NCT01021059およびNCT01369888)および白血病(NCT02689453)について治療として臨床で試験されている。ある実施態様において、免疫刺激剤は組み換えヒトインターロイキン12(rhIL-12)である。ある実施態様において、IL-15ベースの免疫治療は、黒色腫、腎細胞癌、非小細胞肺癌および頭頸部扁平上皮細胞癌(NCT02452268)についてフェーズ1臨床試験で試験されている、可溶性IL-15結合タンパク質IL-15受容体アルファ鎖(IL15:sIL-15RA)に複合体化した合形成態の内因性IL-15からなる融合複合体であるヘテロ二量体IL-15(hetIL-15、Novartis/Admune)である。ある実施態様において、組み換えヒトインターロイキン12(rhIL-12)は、NM-IL-12(Neumedicines, Inc.)、NCT02544724またはNCT02542124である。

10

【0325】

ある実施態様において、癌免疫療法剤は、内容を引用により全体として本明細書に包含させるJerry L. Adams et al., “Big opportunities for small molecules in immuno-oncology,” Cancer Therapy 2015, Vol. 14, pages 603-622に記載のものから選択される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は、Jerry L. Adams et al.の表1に記載の例から選択される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は、Jerry L. Adams et al.の表2に列記されたものから選択される免疫腫瘍学標的をターゲティングする小分子である。ある実施態様において、癌免疫療法剤はJerry L. Adams et al.の表22に列記されたものから選択される小分子剤である。

20

【0326】

ある実施態様において、癌免疫療法剤は、内容を引用により全体として本明細書に包含させるPeter L. Toogood, “Small molecule immuno-oncology therapeutic agents,” Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2018, Vol. 28, pages 319-329に記載の小分子癌免疫療法剤から選択される。ある実施態様において、癌免疫療法剤はPeter L. Toogoodに記載の経路をターゲティングする薬剤である。

【0327】

ある実施態様において、癌免疫療法剤は、内容を引用により全体として本明細書に包含させるSandra L. Ross et al., “Bispecific T cell engager (BiTE(登録商標)) antibody constructs can mediate bystander tumor cell killing”, PLoS ONE 12(8): e0183390に記載のものから選択される。ある実施態様において、癌免疫療法剤は二特異的T細胞エンゲージャー(BiTE(登録商標))抗体構築物である。ある実施態様において、二特異的T細胞エンゲージャー(BiTE(登録商標))抗体構築物は、CD19/CD3二特異的抗体構築物である。ある実施態様において、二特異的T細胞エンゲージャー(BiTE(登録商標))抗体構築物はEGFR/CD3二特異的抗体構築物である。ある実施態様において、二特異的T細胞エンゲージャー(BiTE(登録商標))抗体構築物はT細胞を活性化する。ある実施態様において、二特異的T細胞エンゲージャー(BiTE(登録商標))抗体構築物は、バイスタンダー細胞の細胞間接着分子1(ICAM-1)およびFASを上方制御を誘導する、サイトカインを放出するT細胞を活性化する。ある実施態様において、二特異的T細胞エンゲージャー(BiTE(登録商標))抗体構築物は、T細胞を活性化し、これはバイスタンダー細胞溶解の誘導に至る。ある実施態様において、バイスタンダー細胞は固形腫瘍にある。ある実施態様において、溶解されるバイスタンダー細胞は、BiTE(登録商標)活性化T細胞の近位にある。ある実施態様において、バイスタンダー細胞は、腫瘍関連抗原(TAA)陰性癌細胞を含む。ある実施態様において、バイスタンダー細胞は、EGFR陰性癌細胞を含む。ある実施態様において、癌免疫療法剤はPD-L1/PD1軸および/またはCTLA4を遮断する抗体である。ある実施態様において、癌免疫療法剤はエクスピボ拡大腫瘍浸潤T細胞である。ある実施態様において、癌免疫療法剤は、T細胞と腫瘍関連表面抗原(TAA)を直接接続する二特異的抗体構築物またはキメラ抗原受容体(CAR)である。

30

40

【0328】

50

チェックポイント阻害剤の例

ある実施態様において、癌免疫療法剤はここに記載する免疫チェックポイント阻害剤である。

【0329】

ここで使用する用語「チェックポイント阻害剤」は、癌細胞が患者の免疫系を回避することを阻止するのに有用な薬剤に関する。抗腫瘍免疫破壊の主要な機構の一つは「T細胞疲弊」として知られ、これは、阻害性受容体の上方制御に至る抗原への慢性暴露の結果である。これらの阻害性受容体は、制御されていない免疫反応を阻止するために免疫チェックポイントとして役立つ。

【0330】

PD-1および細胞毒性Tリンパ球抗原4(CTLA-4、BおよびTリンパ球減衰因子(BTLA; CD272)、T細胞免疫グロブリンおよびムチンドメイン-3(Tim-3)、リンパ球活性化遺伝子-3(Lag-3; CD223)およびその他などの共阻害受容は、しばしばチェックポイント制御因子と称される。細胞周期進行および他の細胞内シグナル伝達過程を進行させるべきか否かを指示するための細胞外情報伝達を可能とする分子「門番」として役立つ。

【0331】

ある実施態様において、免疫チェックポイント阻害剤はPD-1に対する抗体である。PD-1はプログラム細胞死1受容体(PD-1)に結合して、受容体が阻害性リガンドPDL-1に結合するのを阻止し、故に腫瘍が宿主抗腫瘍免疫応答を抑制する能力を無効にする。

【0332】

ある実施態様において、チェックポイント阻害剤は生物学的治療または小分子である。ある実施態様において、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、融合タンパク質またはこれらの組み合わせである。ある実施態様において、チェックポイント阻害剤はCTLA-4、PDL1、PDL2、PD1、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、A2aR、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選択されるチェックポイントタンパク質を阻害する。ある実施態様において、チェックポイント阻害剤はCTLA-4、PDL1、PDL2、PD1、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、A2aR、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選択されるチェックポイントタンパク質のリガンドと相互作用する。ある実施態様において、チェックポイント阻害剤は免疫刺激剤、T細胞増殖因子、インターロイキン、抗体、ワクチンまたはこれらの組み合わせである。ある実施態様において、インターロイキンはIL-7またはIL-15である。ある実施態様において、インターロイキンはグリコシル化IL-7である。さらなる態様において、ワクチンは樹状細胞(DC)ワクチンである。

【0333】

チェックポイント阻害剤は、統計学的に有意なように、免疫系の阻害性経路を遮断または阻害するあらゆる薬剤を含む。このような阻害剤は小分子阻害剤を含み得るまたは免疫チェックポイント受容体に結合し、遮断または阻害する抗体またはその抗原結合フラグメントまたは免疫チェックポイント受容体リガンドに結合し、遮断または阻害する抗体を含み得る。遮断または阻害の標的であり得る例示的チェックポイント分子は、CTLA-4、PDL1、PDL2、PD1、B7-H3、B7-H4、BTLA、HVEM、GAL9、LAG3、TIM3、VISTA、KIR、2B4(CD2ファミリーの分子に属し、全NK、 $\gamma\delta$ および記憶CD8⁺($\alpha\beta$)T細胞に発現される)、CD160(BY55とも称する)、CGEN-15049、CHK1およびCHK2キナーゼ、A2aRおよび種々のB-7ファミリーリガンドを含むが、これらに限定されない。B7ファミリーリガンドは、B7-1、B7-2、B7-DC、B7-H1、B7-H2、B7-H3、B7

10

20

30

40

50

ーH4、B7-H5、B7-H6およびB7-H7を含むが、これらに限定されない。チェックポイント阻害剤は、CTLA-4、PDL1、PDL2、PD1、BTLA、HVEM、TIM3、GAL9、LAG3、VISTA、KIR、2B4、CD160およびCGEN-15049の1以上と結合し、活性を遮断または阻害する、抗体またはその抗原結合フラグメント、他の結合タンパク質、生物学的治療または小分子を含む。例示的免疫チェックポイント阻害剤は、トレメリムマブ(CTLA-4遮断抗体)、抗OX40、PD-L1モノクローナル抗体(抗B7-H1; MEDI4736)、MK-3475(PD-1ブロッカー)、ニボルマブ(抗PD1抗体)、CT-011(抗PD1抗体)、BY555モノクローナル抗体、AMP224(抗PDL1抗体)、BMS-936559(抗PDL1抗体)、MPLDL3280A(抗PDL1抗体)、MSB0010718C(抗PDL1抗体)およびイピリムマブ(抗CTLA-4チェックポイント阻害剤)を含むが、これらに限定されない。チェックポイントタンパク質リガンドは、PD-L1、PD-L2、B7-H3、B7-H4、CD28、CD86およびTIM-3を含むが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0334】

ある実施態様において、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1アンタゴニスト、PD-L1アンタゴニストおよびCTLA-4アンタゴニストから選択される。ある実施態様において、チェックポイント阻害剤はニボルマブ(オプジーボ(登録商標))、イピリムマブ(ヤーボイ(登録商標))およびペムブロリズマブ(キイトルーダ(登録商標))からなる群から選択される。ある実施態様において、チェックポイント阻害剤は、ニボルマブ(抗PD-1抗体、オプジーボ(登録商標)、Bristol-Myers Squibb); ペムブロリズマブ(抗PD-1抗体、キイトルーダ(登録商標)、Merck); イピリムマブ(抗CTLA-4抗体、ヤーボイ(登録商標)、Bristol-Myers Squibb); デュルバルマブ(抗PD-L1抗体、イミフィンジ(登録商標)、AstraZeneca); およびアテゾリズマブ(抗PD-L1抗体、テセントリク(登録商標)、Genentech)から選択される。

【0335】

ある実施態様において、チェックポイント阻害剤は、ランブロリズマブ(MK-3475)、ニボルマブ(BMS-936558)、ピディリズマブ(CT-011)、AMP-224、MDX-1105、MEDI4736、MPDL3280A、BMS-936559、イピリムマブ、リリルマブ、IPH2101、ペムブロリズマブ(キイトルーダ(登録商標))およびトレメリムマブからなる群から選択される。

【0336】

ある実施態様において、免疫チェックポイント阻害剤は基底細胞癌(NCT03132636); NSCLC(NCT03088540); 皮膚扁平上皮細胞癌(NCT02760498); リンパ腫(NCT02651662); および黒色腫(NCT03002376)を有する患者で試験されている抗PD-1抗体であるREGN2810(Regeneron); 汎発性大B細胞リンパ腫および多発性骨髄腫に対する臨床試験中であるPD-1に結合する抗体であるCT-011としても知られるピディリズマブ(CureTech); 非小細胞肺癌、メルケル細胞癌、中皮腫、固形腫瘍、腎臓癌、卵巣癌、膀胱癌、頭頸部癌および胃癌について臨床試験である完全ヒトIgG1抗PD-L1抗体であるアベルマブ(バベンチオ(登録商標)、Pfizer/Merck KGaA)、MSB0010718Cとしても知られる); または非小細胞肺癌、黒色腫、トリプルネガティブ乳癌および進行性または転移固形腫瘍について臨床試験中であるPD-1に結合する阻害性抗体であるPDR001(Novartis)である。トレメリムマブ(CP-675,206; AstraZeneca)は、中皮腫、結腸直腸癌、腎臓癌、乳癌、肺癌および非小細胞肺癌、膵管腺癌、膵臓癌、胚芽細胞癌、頭頸部扁平上皮細胞癌、肝細胞癌、前立腺癌、子宮内膜癌、肝臓における転移癌、肝臓癌、大B細胞リンパ腫、卵巣癌、頸部癌、転移未分化甲状腺癌、尿路上皮癌、卵管癌、多発性骨髄腫、膀胱癌、軟組織肉腫および黒色腫を含むいくつかの適応症について臨床試験で試験されているCTLA-4に対する完全ヒトモノクローナル抗体である。AGEN-1884(Agenus)は、進行性固形腫瘍(NCT02694822)についてフェーズ1臨床試験で試験されている抗CTLA4抗体である。

【0337】

ある実施態様において、チェックポイント阻害剤はT細胞免疫グロブリンムチン含有タンパク質-3 (TIM-3)の阻害剤である。本発明において使用し得るTIM-3阻害剤は、TSR-022、LY3321367およびMBG453を含む。TSR-022 (Tesaro)は、固形腫瘍(NCT02817633)で試験されている抗TIM-3抗体である。LY3321367 (Eli Lilly)は固形腫瘍(NCT03099109)で試験されている抗TIM-3抗体である。MBG453 (Novartis)は進行性悪性腫瘍(NCT02608268)で試験されている抗TIM-3抗体である。

【0338】

ある実施態様において、チェックポイント阻害剤は、IgおよびITIMドメインを有するT細胞免疫受容体またはあるT細胞およびNK細胞の免疫受容体であるTIGITの阻害剤である。本発明で使用し得るTIGIT阻害剤は、BMS-986207 (Bristol-Myers Squibb)、抗TIGITモノクローナル抗体(NCT02913313)；OMP-313M32 (Oncomed)；および抗TIGITモノクローナル抗体(NCT03119428)を含む。

【0339】

ある実施態様において、チェックポイント阻害剤はリンパ球活性化遺伝子-3 (LAG-3)の阻害剤である。本発明で使用し得るLAG-3阻害剤はBMS-986016およびREGN3767およびIMP321を含む。抗LAG-3抗体であるBMS-986016 (Bristol-Myers Squibb)は、神経膠芽腫および膠肉腫(NCT02658981)で試験中である。REGN3767 (Regeneron)もまた抗LAG-3抗体であり、悪性腫瘍(NCT03005782)で試験中である。IMP321 (Immutep S.A.)はLAG-3-Ig融合タンパク質であり、黒色腫(NCT02676869)；腺癌(NCT02614833)；および転移乳癌(NCT00349934)で試験中である。

【0340】

本発明で使用できるチェックポイント阻害剤はOX40アゴニストを含む。臨床治験中のOX40アゴニストは、転移腎臓癌(NCT03092856)および進行性癌および新生物(NCT02554812；NCT05082566)におけるアゴニスト抗OX40抗体であるPF-04518600 / PF-8600 (Pfizer)；フェーズ1癌治験(NCT02528357)におけるアゴニスト抗OX40抗体であるGSK3174998 (Merck)；進行性固形腫瘍(NCT02318394およびNCT02705482)におけるアゴニスト抗OX40抗体であるMED10562 (Medimmune / AstraZeneca)；結腸直腸癌(NCT02559024)、乳癌(NCT01862900)、頭頸部癌(NCT02274155)および転移前立腺癌(NCT01303705)を有する患者におけるアゴニスト抗OX40抗体 (Medimmune / AstraZeneca)であるMED16469；および進行性癌(NCT02737475)におけるアゴニスト抗OX40抗体であるBMS-986178 (Bristol-Myers Squibb)を含む。

【0341】

本発明で使用できるチェックポイント阻害剤はCD137 (別名4-1BB)アゴニストを含む。臨床治験中のCD137アゴニストは、汎発性大B細胞リンパ腫(NCT02951156)および進行性癌および新生物(NCT02554812およびNCT05082566)におけるアゴニスト抗CD137抗体であるウトミルマブ (PF-05082566、Pfizer)；黒色腫および皮膚癌(NCT02652455)および神経膠芽腫および膠肉腫(NCT02658981)におけるアゴニスト抗CD137抗体であるウレルマブ (BMS-663513；Bristol-Myers Squibb)；および転移または局所進行性悪性腫瘍(NCT03881488)におけるアゴニスト抗CD137抗体であるCTX-471 (Compass Therapeutics)を含む。

【0342】

本発明で使用できるチェックポイント阻害剤はCD27アゴニストを含む。臨床治験中のCD27アゴニストは、扁平上皮細胞頭頸部癌、卵巣癌、結腸直腸癌、腎細胞癌および神経膠芽腫(NCT02335918)；リンパ腫(NCT01460134)；および神経膠腫および星状細胞腫(NCT02924038)におけるアゴニスト抗CD27抗体であるバルリルマブ (CD

10

20

30

40

50

X-1127, Celldex Therapeutics)を含む。

【0343】

本発明で利用できるチェックポイント阻害剤はグルココルチコイド誘導型腫瘍壊死因子受容体(GITR)アゴニストを含む。臨床治験中のGITRアゴニストは、悪性黒色腫および他の悪性固形腫瘍(NCT01239134およびNCT02628574)におけるアゴニスト抗GITR抗体であるTRX518(Leap Therapeutics)；固形腫瘍およびリンパ腫(NCT02740270)におけるアゴニスト抗GITR抗体であるGWN323(Novartis)；進行性癌(NCT02697591およびNCT03126110)におけるアゴニスト抗GITR抗体であるINCAGN01876(Incyte/Agenus)；固形腫瘍(NCT02132754)におけるアゴニスト抗GITR抗体であるMK-4166(Merck)および進行性固形腫瘍(NCT02583165)におけるヒトIgG1 Fcドメインを有するアゴニスト六量体GITR-リガンド分子であるMEDI1873(Medimmune/AstraZeneca)を含む。

10

【0344】

本発明で利用できるチェックポイント阻害剤は誘導型T細胞共刺激因子(ICOS、CD278としても知られる)アゴニストを含む。臨床治験中のICOSアゴニストは、リンパ腫(NCT02520791)におけるアゴニスト抗ICOS抗体であるMEDI-570(Medimmune)；フェーズ1(NCT02723955)におけるアゴニスト抗ICOS抗体であるGSK3359609(Merck)；フェーズ1(NCT02904226)におけるアゴニスト抗ICOS抗体であるJTX-2011(Jounce Therapeutics)を含む。

【0345】

20

本発明で利用できるチェックポイント阻害剤はキラーIgG様受容体(KIR)阻害剤を含む。臨床治験中のKIR阻害剤は、白血病(NCT01687387、NCT02399917、NCT02481297、NCT02599649)、多発性骨髄腫(NCT02252263)およびリンパ腫(NCT01592370)における抗KIR抗体であるリリルマブ(IPH2102/BMS-986015、Innate Pharma/Bristol-Myers Squibb)；骨髄腫(NCT01222286およびNCT01217203)におけるIPH2101(1-7F9、Innate Pharma)；およびリンパ腫(NCT02593045)における長細胞質テイル(KIR3DL2)の3ドメインと結合する抗KIR抗体であるIPH4102(Innate Pharma)を含む。

【0346】

本発明で利用できるチェックポイント阻害剤はCD47とシグナル制御性タンパク質アルファ(SIRPα)の相互作用のCD47阻害剤を含む。臨床治験中のCD47/SIRPα阻害剤は、フェーズ1(NCT03013218)におけるCD47と結合し、CD47/SIRPα介在シグナル伝達を阻止する(SIRPα)のアнтаゴニストバリエーションであるALX-148(Alexo Therapeutics)；フェーズ1(NCT02890368およびNCT02663518)の臨床治験におけるSIRPαのN末端CD47結合ドメインとヒトIgG1のFcドメインの連結により作製し、ヒトCD47に結合し、マクロファージに「摂食しない」シグナルを伝達することを阻止することにより作用する可溶性組み換え融合タンパク質であるTTI-621(SIRPα-Fc、Trillium Therapeutics)、白血病(NCT02641002)における抗CD47抗体であるCC-90002(Celgene)；および結腸直腸新生物および固形腫瘍(NCT02953782)、急性骨髄性白血病(NCT02678338)およびリンパ腫(NCT02953509)におけるHu5F9-G4(Forty Seven Inc.)を含む。

30

【0347】

本発明で利用できるチェックポイント阻害剤はCD73阻害剤を含む。臨床治験中のCD73阻害剤は、固形腫瘍(NCT02503774)における抗CD73抗体であるMEDI9447(Medimmune)；および固形腫瘍(NCT02754141)における抗CD73抗体であるBMS-986179(Bristol-Myers Squibb)を含む。

【0348】

本発明で利用できるチェックポイント阻害剤はインターフェロン遺伝子タンパク質刺激因子(STING、膜貫通タンパク質173またはTMEM173としても知られる)のアゴニストを含む。臨床治験中のSTINGのアゴニストは、リンパ腫(NCT03010176)

40

50

におけるアゴニスト合成環状ジヌクレオチドであるMK-1454 (Merck) ; およびフェーズ1 (NCT02675439およびNCT03172936)における、アゴニスト合成環状ジヌクレオチドであるADU-S100 (MIW815 ; Aduro Biotech/Novartis)を含む。

【0349】

本発明で利用できるチェックポイント阻害剤はCSF1R阻害剤を含む。臨床試験中のCSF1R阻害剤は、結腸直腸癌、膵臓癌、転移および進行性癌(NCT02777710)および黒色腫、非小細胞肺癌、扁平上皮細胞頭頸部癌、消化器間質腫瘍(GIST)および卵巣癌(NCT02452424)におけるCSF1R小分子阻害剤であるペキシダルチニブ(PLX3397、Plexxikon) ; および膵臓癌(NCT03153410)、黒色腫(NCT03101254)および固形腫瘍(NCT02718911)における抗CSF-1R抗体であるIMC-CS4 (LY3022855 ; Lilly) ; および進行性固形腫瘍(NCT02829723)におけるCSF1Rの経口利用可能な阻害剤であるBLZ945 (4-[2-((1R,2R)-2-ヒドロキシシクロヘキシルアミノ)-ベンゾチアゾール-6-イルオキシル]-ピリジン-2-カルボン酸メチルアミド、Novartis)を含む。

10

【0350】

本発明で利用できるチェックポイント阻害剤はNKG2A受容体阻害剤を含む。臨床試験中のNKG2A受容体阻害剤は、頭頸部新生物(NCT02643550)および慢性リンパ球性白血病(NCT02557516)における抗NKG2A抗体であるモナリズマブ(IPH2201、Innate Pharma)を含む。

20

【0351】

ある実施態様において、免疫チェックポイント阻害剤は、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、イピリムマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、アテゾリズマブまたはピディリズマブから選択される。

【実施例】

【0352】

以下の実施例は、上記本発明を説明する ; しかしながら、いかなる方法でも本発明の範囲を限定することは意図されない。本発明の医薬化合物、組み合わせおよび組成物の有益な効果はまた関連する分野の当業者にそれ自体知られる他の試験モデルによっても決定され得る。

30

【0353】

実施例1 : 転写プロファイリング試験

BCY12491でのプロファイリング試験

転写および免疫組織化学的(IHC)解析のために、6~8週齢雌huCD137-C57B/6Jマウス(Biocytogen)の皮下に 1×10^6 MC38細胞をインプラントした。平均腫瘍体積が約 240 mm^3 に達したとき、マウスを処置群に無作為化し、媒体(25 mM ヒスチジン、10%スクロース、pH7)、15 mg/kg BCY12491、15 mg/kg BCY13626(非結合対照)を静脈内または2 mg/kg抗CD137抗体ウレルマブを腹腔内で処置した。処置をQ3Dで3回与え、腫瘍増殖をキャリパー測定でモニターし、腫瘍組織を6日目の最終投与1時間後に採取した。腫瘍組織の一部を転写解析のためのRNA単離に使用し、腫瘍組織の一部をIHC解析用ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)サンプル調製に使用した。RNAをRNAeasyキット(Qiagen)を使用して腫瘍組織から単離し、転写解析を、100 ng RNA/腫瘍からのnCounter Mouse PanCancer 10360パネル(Nanostring)を使用して実施した。データを、高度解析プローブセットns_mm_io_360_v1.0(Nanostring)のnSolver Analysis Softwareを使用して、解析した。CD8+腫瘍浸潤細胞を抗マウスCD8抗体(Abcam, # ab217344)およびVentana Discovery OmniMap anti Rabbit-HRP Kit(Ventana #7604310)を使用してFFPE組織切片で染色した。

40

【0354】

データを図1に示す。

【0355】

50

所見：転写解析は、媒体処置マウスからの腫瘍と比較したとき、E P h A 2 ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体 B C Y 1 2 4 9 1 処置による腫瘍組織における細胞毒性細胞スコア、T 細胞スコアおよびマクロファージ細胞スコアなどの免疫細胞スコアの有意な増加を示す。抗 C D 1 3 7 抗体処置もまた腫瘍組織における細胞毒性細胞スコアおよび T 細胞スコアを有意に増加したが、B C Y 1 2 4 9 1 より程度は低かった。非結合対照 (B C Y 1 3 6 2 6) 処置動物からの腫瘍組織において免疫細胞スコアの変化は観察されなかった。腫瘍組織における C D 8 + 細胞の I H C 解析は、媒体または非結合因子 B C Y 1 3 6 2 6 処置マウスからの腫瘍と比較したとき、B C Y 1 2 4 9 1 処置マウスからの腫瘍における C D 8 + 細胞の強い浸潤を示した。抗 C D 1 3 7 抗体処置マウスからの腫瘍においても、C D 8 + 細胞浸潤のある程度の増加が観察された。腫瘍組織における免疫細胞スコアおよび C D 8 + 細胞におけるこれらの変化は、E p h A 2 / C D 1 3 7 ヘテロタンデム二環式ペプチド複合体 B C Y 1 2 4 9 1 による腫瘍組織における C D 1 3 7 のアゴニズムにより腫瘍浸潤免疫細胞および免疫応答の有意な調節 (増加) に至ることを示す。

10

【0356】

B T 7 4 8 0 での試験

転写および免疫組織化学的 (I H C) 解析のために、6 ~ 8 週齢雌 h u C D 1 3 7 - C 5 7 B / 6 J マウス (Biocytogen) マウスの皮下に 1×10^6 M C 3 8 # 1 3 (ネクチン-4 を発現するよう操作した M C 3 8 細胞) 細胞をインプラントした。平均腫瘍体積が約 255 mm^3 に達したとき、マウスを媒体、B T 7 4 8 0 (B C Y 0 0 0 1 1 8 6 3)、非結合因子 B C Y 対照 B C Y 0 0 0 1 2 7 9 7 (B C Y 1 2 7 9 7) または α C D 1 3 7 抗体 (ウレルマブアナログ) を投与する処置群に無作為化した。B T 7 4 8 0 およびその非結合対照を 0 時間および 2 4 時間に 5 mg/kg (25 mM ヒスチジン H C l、10 % スクロース、p H 7 中; 媒体) で静脈内投与し、ウレルマブアナログを 2 mg/kg の P B S 中、B I W (0 時、7 2 時) 用量およびスケジュールで腹腔内投与した。B T 7 4 8 0 処置マウスからの腫瘍を 2 4 時間 (0 時間投与後)、4 8 時間 (最後の 0 時間および 2 4 時間投与 2 4 時間後)、9 6 時間 (最後の 0 時間および 2 4 時間投与 7 2 時間後) および 1 4 4 時間 (最後の 0 時間および 2 4 時間投与 1 2 0 時間後) に採取した。 α C D 1 3 7 処置マウスからの腫瘍を処置開始 1 4 4 時間後に採取した。媒体処置マウスからの腫瘍を 0 時間投与 2 4 時間後および 1 4 4 時間 (最後の 0 時間および 2 4 時間投与 1 2 0 時間後) に採取した。R N A を R N A e a s y キット (Qiagen) を使用して腫瘍組織から単離し、転写解析を、100 ng R N A / 腫瘍からの nCounter Mouse PanCancer 10 360 パネル (Nanost ring) を使用して実施した。データを、高度解析プローブセット ns_mm_io_360_v1.0 (Nanost ring) の nSolver Analysis Software を使用して、解析した。

20

30

【0357】

データを図 2 ~ 4 に示す。

【0358】

所見：転写解析は、骨髄細胞により分泌され、ケモカイン分泌の部位における T 細胞の動員をもたらすと考えられる、とりわけ、C c l 1、C c l 1 7 および C c l 2 4 などの数種の T 細胞走化性ケモカイン / サイトカインの m R N A の有意な早期 (2 4 時間時点) 増加を示した。転写解析はまた媒体処置マウスからの腫瘍と比較したとき、B T 7 4 8 0 処置による腫瘍組織における細胞毒性細胞スコアおよびマクロファージ細胞スコアなどの免疫細胞スコアの有意な増加も確認した。マクロファージ細胞スコアは B T 7 4 8 0 投与 2 4 後に増加し始め、4 8 時間までに 2 4 時間媒体読み出しからの有意な増加に達する。他方で細胞毒性細胞スコアは処置開始 4 8 時間後から増加し始め、細胞毒性細胞スコアが 1 4 4 時間で媒体処置腫瘍と比較した有意に増加した 1 4 4 時間まで増加した。B T 7 4 8 0 に対する応答における細胞毒性細胞スコアおよび C c l 1、C c l 1 7 および C c l 2 4 についての正規化 m R N A カウントの重ね合わせは、C c l 1、C c l 1 7 および C c l 2 4 転写増加がどのように細胞毒性細胞スコアの増加に先立つかを示す。

40

【0359】

B T 7 4 8 0 に対する応答におけるマクロファージおよび細胞毒性細胞スコアの重ね合

50

わせは、マクロファージ細胞スコア増加がどのように細胞毒性細胞スコアの増加に先立つか示す。

【0360】

転写解析は、CTLA-4 (Ctla4)、PD-1 (Pdccl1)、PD-L1 (Cd274)、LAG3 (Lag3)、TIM3 (Havcr2)、PD-L2 (Pdccllg2) および TIGIT (Tigit) を含む数種の異なる免疫チェックポイントについての mRNA の増加または有意な増加の傾向を示し、チェックポイント阻害剤との BT7480 組み合わせの概念を支持した。

【0361】

実施例 2：BCY12491 および ペムブロリズマブ 組み合わせでの有効性試験

腫瘍増殖解析のために、6～8 週齢雌 huCD137/huPD-1-C57B/6J マウス (Biocytogen) マウスの皮下に 1×10^6 MC38 細胞をインプラントした。平均腫瘍体積が約 92 mm^3 に達したとき、マウスを処置群に無作為化し、媒体 (25 mM ヒスチジン、10% スクロース、pH 7)、5 mg/kg BCY12491 (0、24 時間) を静脈内または 3 mg/kg 抗 PD-1 抗体 ペムブロリズマブ または BCY12491 と ペムブロリズマブ の組み合わせを腹腔内で処置した。組み合わせ処置を、3 つの異なる投与スケジュールで与えた：BCY12491 および ペムブロリズマブ 処置 0 日目に同時に開始、BCY12491 処置 1 日目に開始 および ペムブロリズマブ 処置 5 日目に開始 または ペムブロリズマブ 処置 0 日目に開始 および BCY12491 処置 5 日目に開始。処置を毎週 4 回与え、腫瘍増殖をキャリパー測定でモニターした。

【0362】

データを図 5 および 6 に示す。

【0363】

所見：BCY12491 および ペムブロリズマブ 単剤療法 および それらの組み合わせ 両方とも、媒体対照と比較したとき有意な抗腫瘍活性を示した (全て *** $p < 0.0001$ 、18 日目に処置対媒体を比較したダネットの事後検定での混合効果解析)。さらに、組み合わせ処置は、単剤療法の何れかよりも効果的であり (*** $p < 0.0001$ 、組み合わせ対単剤療法を比較する D20 のダネットの事後検定での混合効果解析)、22 日目までに全処置動物の完全応答をもたらした。対照的に、これらの処置レジメン および スケジュールは、BCY12491 単剤療法処置コホートで 2/10 完全応答 および ペムブロリズマブ 単剤療法処置コホートで 3/10 完全応答をもたらした。BCY12491 と ペムブロリズマブ の組み合わせの交互の連続 (BCY12491 処置を 0 日目に開始 および ペムブロリズマブ 処置 5 日目に開始 またはその逆) も有意な抗腫瘍活性をもたらした (何れも *** $p < 0.0001$ 、18 日目に処置対媒体を比較したダネットの事後検定での混合効果解析)、両スケジュールとも 42 日目までに処置マウスの 9/10 完全応答 (BCY12491 処置を 0 日目に開始 および ペムブロリズマブ 処置 5 日目に開始) および 8/10 完全応答 (ペムブロリズマブ 処置を 0 日目に開始 および BCY12491 処置 5 日目に開始) をもたらした。

【0364】

実施例 3：BCY11864 および 抗 PD-1 組み合わせでの有効性試験

腫瘍増殖解析のために、6～8 週齢雌 Balb/c-huCD137-マウス (Gemp harmatech) の皮下に $3 \times 10^4 + e5$ CT26 #7 細胞 (ネクチン-4 を過剰発現するよう操作した CT26 細胞) をインプラントした。平均腫瘍体積が約 80 mm^3 に達したとき、マウスを処置群に無作為化し、媒体 (25 mM ヒスチジン、10% スクロース、pH 7)、10 mg/kg BCY11864 (0、24 時間) を静脈内または 10 mg/kg 抗 PD-1 抗体 (RMP1-14) または BCY11864 と 抗 PD-1 抗体 の組み合わせを腹腔内で処置した。処置を毎週与え、腫瘍増殖をキャリパー測定でモニターした。ヒトエンドポイントに到達したとして、 $> 2000 \text{ mm}^3$ 腫瘍の動物を殺した。試験を処置開始後 66 日目に終了し、その時点で 2 匹の動物のみ (何れも組み合わせ処置アーム) 試験に残っていた (一方は完全応答者であり、一方はなお腫瘍サイズ退縮中であった)。

【0365】

データを図7に示す。

【0366】

所見：抗PD-1単剤療法へのBCY11864の追加は、CT26#7担持マウスの生存(ヒトエンドポイント、すなわち、腫瘍体積 $>2000\text{mm}^3$ に達するまでの時間として測定したアウトカム)を有意に($p=0.004$ 、抗PD-1アームと抗PD-1+BCY11864組み合わせアームを比較するマンテル・コックス・ログランク検定)増加させた。

【0367】

実施例4. 抗PD-1および抗Ctla-4と組み合わせたBT7480での有効性試験
腫瘍増殖解析について、6~8週齢雌C57BL/6J-huCD137-マウス(Biocytogen)の皮下に 1×10^6 MC38#13細胞(ネクチン-4を過剰発現するよう操作したMC38細胞)をインプラントした。平均腫瘍体積が約 100mm^3 に達したとき、マウスを処置群に無作為化し、媒体(25mM ヒスチジン、10%スクロース、pH7)、 1mg/kg BT7480、 5mg/kg 抗PD-1(RMP 1-14)、 5mg/kg 抗Ctla-4(9H10)またはBT7480/抗PD-1およびBT7480/抗Ctla-4組み合わせを腹腔内で処置した。処置を週2回(BIW)で2週間与え、腫瘍増殖を処置開始後33日目までキャリパー測定でモニターした。ヒトエンドポイントに到達したとして、 $>2000\text{mm}^3$ 腫瘍の動物を 殺した。

【0368】

データを図8および9に示す。

【0369】

所見：抗PD-1単剤療法へのBT7480の追加は、完全応答率(CR)を0/8(BT7480および抗PD-1単剤療法アーム)からBT7480/抗PD-1組み合わせ処置アームの2/8まで増加させた。抗CTLA-4単剤療法へのBT7480の追加は、処置開始後33日目までに完全応答率(CR)を0/8または1/8(それぞれBT7480および抗Ctla-4単剤療法アーム)からBT7480/抗Ctla-4組み合わせ処置アームの4/8に増加させた。さらに、抗CTLA-4単剤療法へのBT7480の追加は、MC38#13担持マウスの生存(ヒトエンドポイント、すなわち、腫瘍体積 $>2000\text{mm}^3$ に達するまでの時間として測定したアウトカム)を、有意に($p=0.049$ 、抗Ctla-4アームと抗Ctla-4+BT7480組み合わせアームを比較するマンテル・コックス・ログランク検定)増加させた。

【0370】

実施例5. BT7455での転写プロファイリング試験

免疫腫瘍微小環境におけるBT7455の効果の転写プロファイリング解析のために、6~8週齢雌huCD137-C57B/6Jマウス(Biocytogen)マウスの皮下に 1×10^6 MC38細胞をインプラントした。平均腫瘍体積が約 350mm^3 に達したとき、マウスを媒体、BT7455、 α CD137抗体(ウレルマブアナログ)または α PD-1抗体を投与する処置群に無作為化した。BT7455を 8mg/kg (25mM ヒスチジンHCl、10%スクロース、pH7中；媒体)で0時間および24時間に静脈内投与し、ウレルマブアナログおよび α PD-1抗体を0時間にPBS中 2mg/kg (ウレルマブアナログ)または 10mg/kg (α PD-1抗体)で腹腔内投与した。媒体、BT7455、ウレルマブアナログおよび α PD-1抗体処置マウスからの腫瘍を24時間、48時間および処置開始144時間後に採取した。RNAをRNAeasyキット(Qiagen)を使用して腫瘍組織から単離し、転写解析を、 100ng RNA/腫瘍からのnCounter Mouse PanCancer IO 360パネル(Nanostring)を使用して実施した。データを、高度解析プロセッサns_mm_io_360_v1.0(Nanostring)のnSolver Analysis Softwareを使用して、解析した。

【0371】

データを図10~13に示す。

【0372】

所見：転写解析は、BT7455処置後、CTLA-4(*Ctla4*)、PD-1(*Pdcd1*)、PD-L1(*Cd274*)、LAG3(*Lag3*)、TIM3(*Havcr2*)、PD-L2(*Pdcd1lg2*)およびTIGIT(*Tigit*)を含む数種の異なる免疫チェックポイントについてのmRNAの有意な増加を示し、チェックポイント阻害剤とのBT7455組み合わせの概念を支持した。転写解析はまた、骨髄細胞により分泌され、ケモカイン分泌の部位におけるT細胞の動員をもたらすと考えられる、とりわけ、Ccl1、Ccl17およびCcl24などの数種のT細胞走化性ケモカイン／サイトカインのmRNAの有意な早期(24-48時間時点)増加も示した。転写解析はまた媒体または抗PD-1または抗CD137処置マウスからの腫瘍と比較したとき、BT7455処置により、腫瘍組織における細胞毒性細胞スコアなどの免疫細胞スコアの有意な増加も示した。BT7455処置は、サイトカインおよびケモカインシグナル伝達、細胞毒性、アポトーシスおよびNK-カッパBシグナル伝達遺伝子セットと関連する遺伝子セットを含む、数種の遺伝子セットの有意な早期(48時間)調節を誘導した。

【図面】

【図1-1】

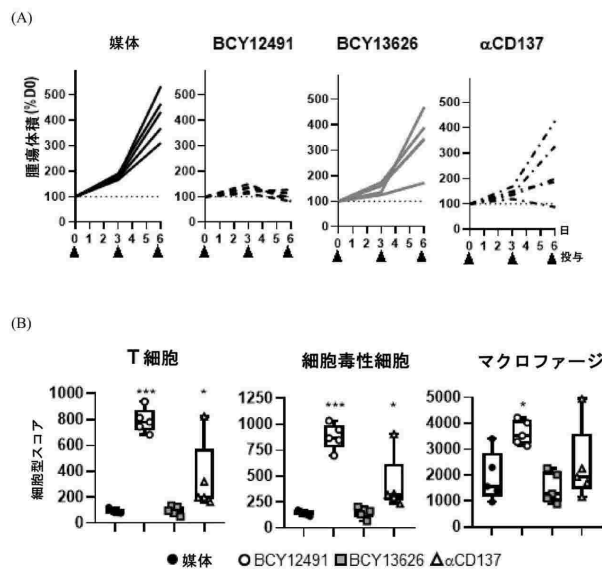


FIG. 1

【図1-2】

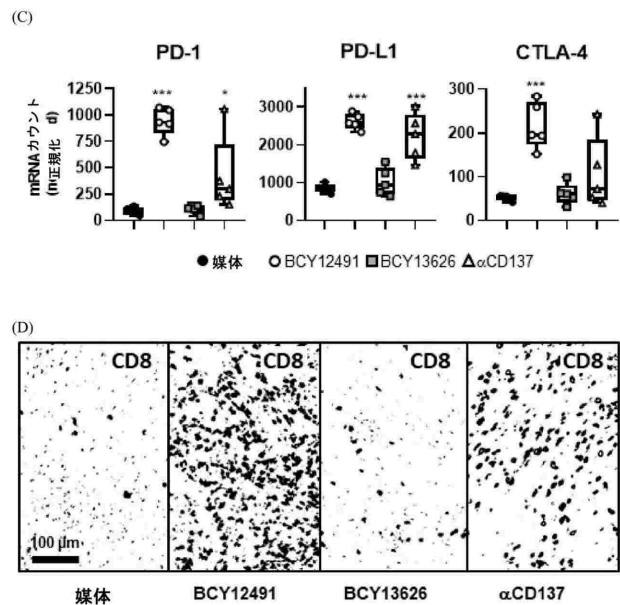


FIG. 1 (続き)

【図 2】

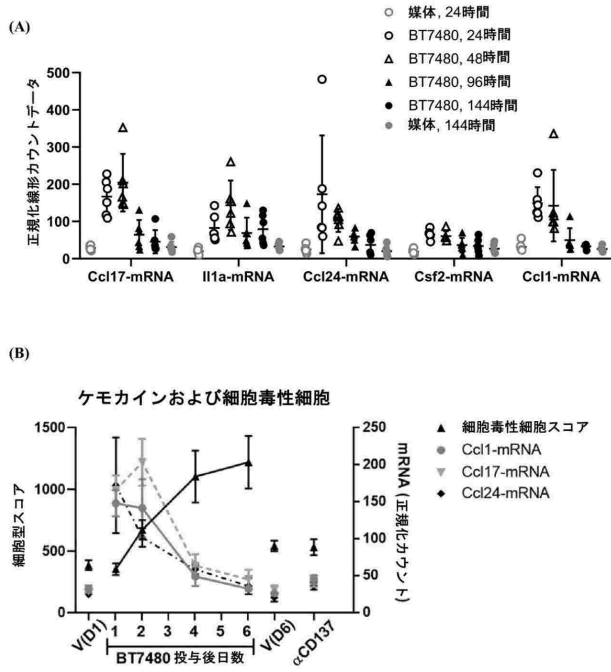


FIG. 2

【図 3 - 1】

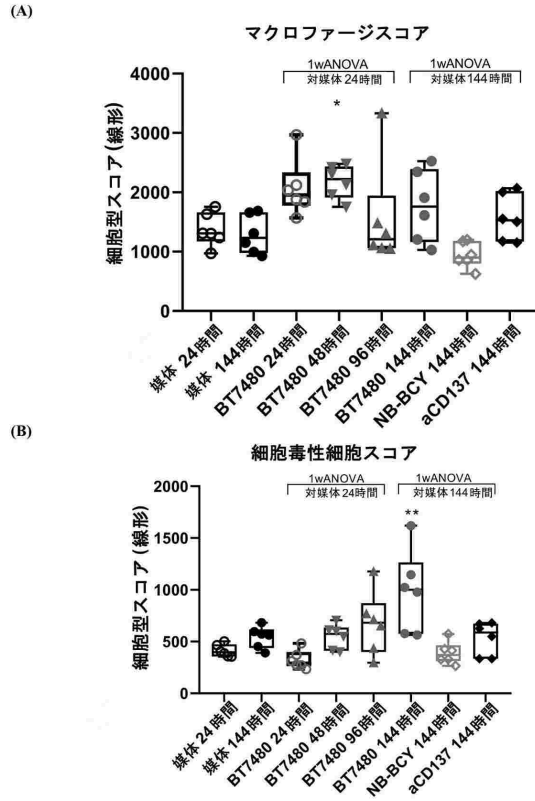


FIG. 3

【図 3 - 2】

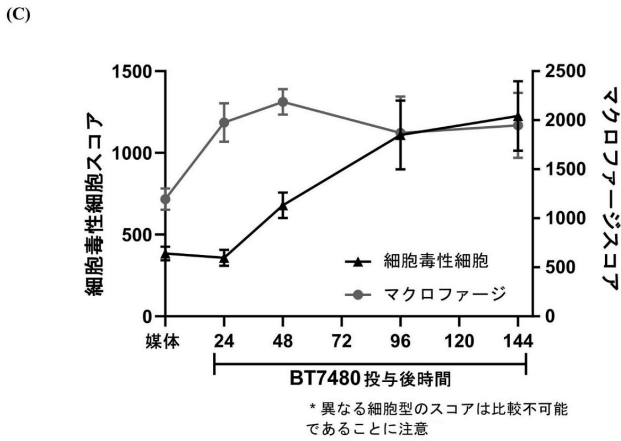


FIG. 3 (続き)

【図 4 - 1】

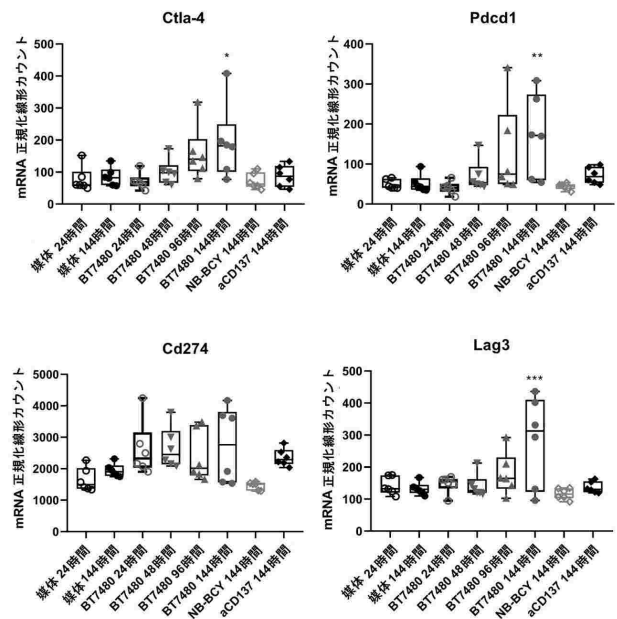


FIG. 4

10

20

30

40

50

【図 4 - 2】

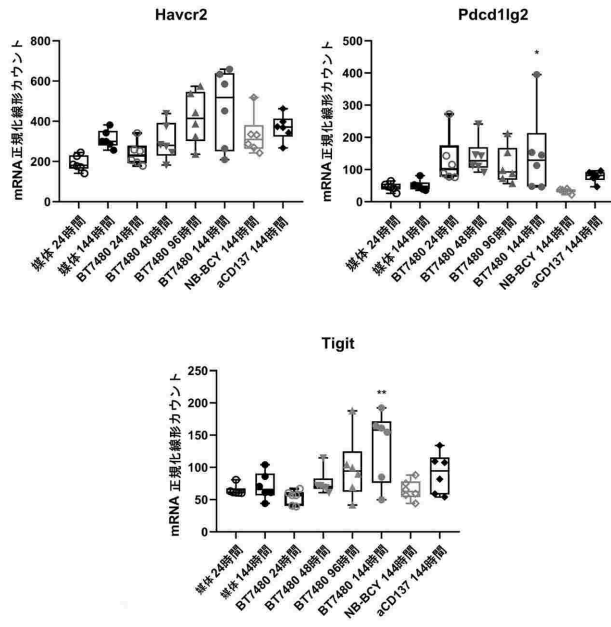


FIG. 4 (続き)

【図 5】

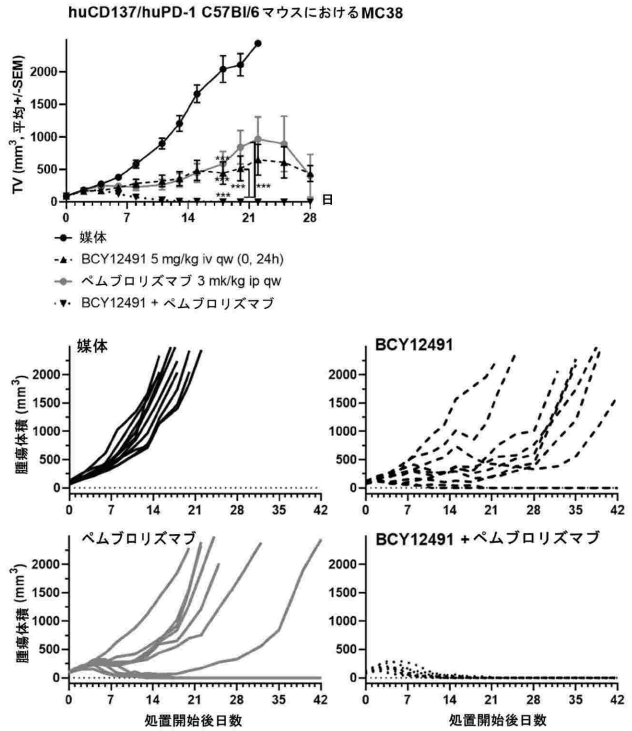


FIG. 5

【図 6】

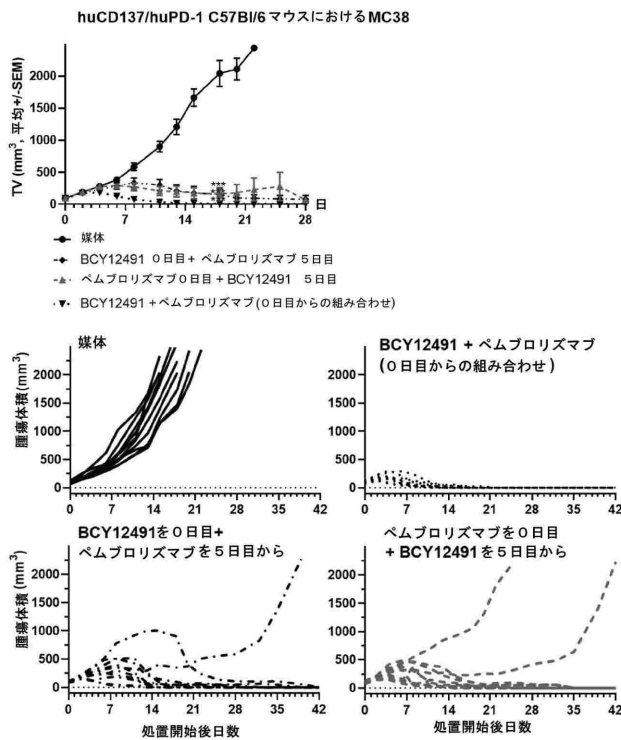


FIG. 6

【図 7】

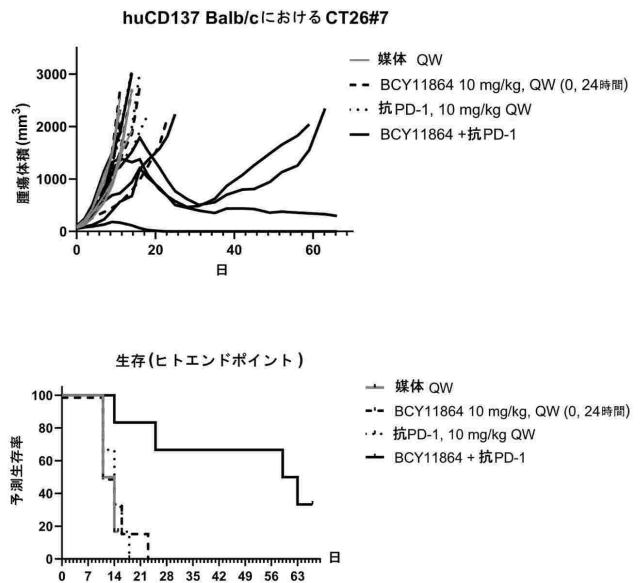


FIG. 7

10

20

30

40

50

【図 8】

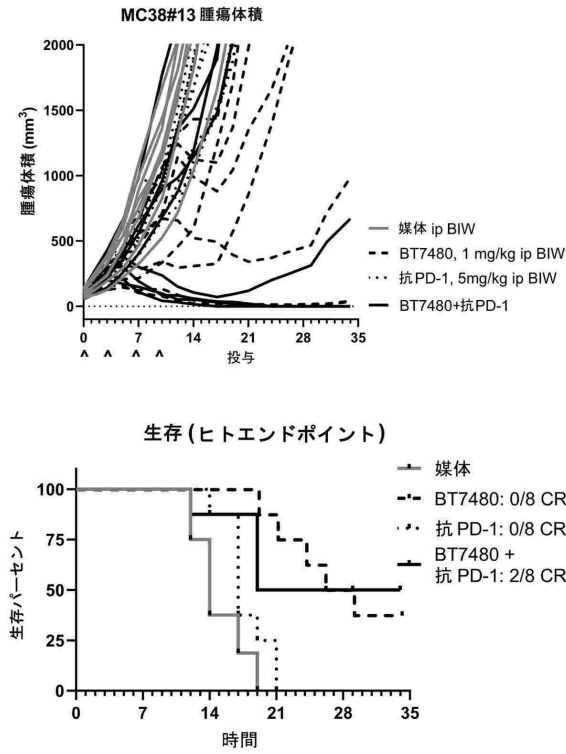


FIG. 8

【図 9】

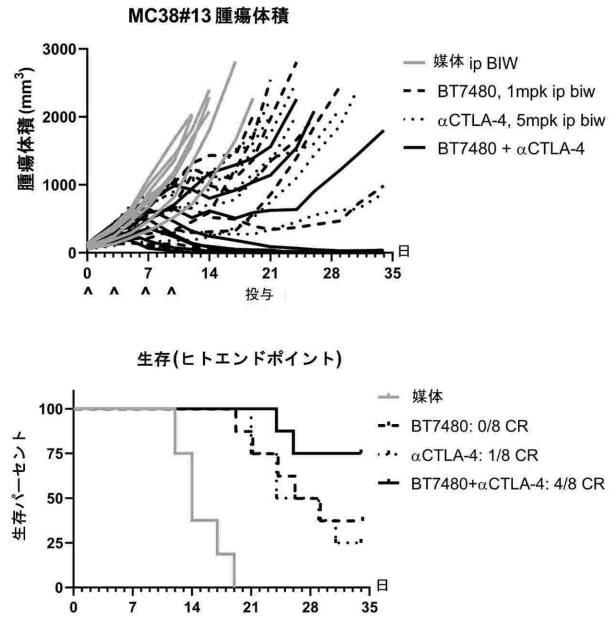


FIG. 9

【図 10 - 1】

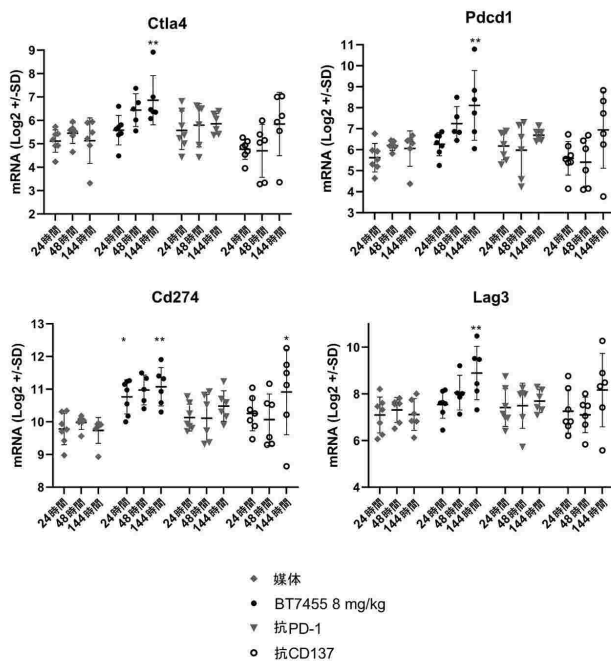


FIG. 10

【図 10 - 2】

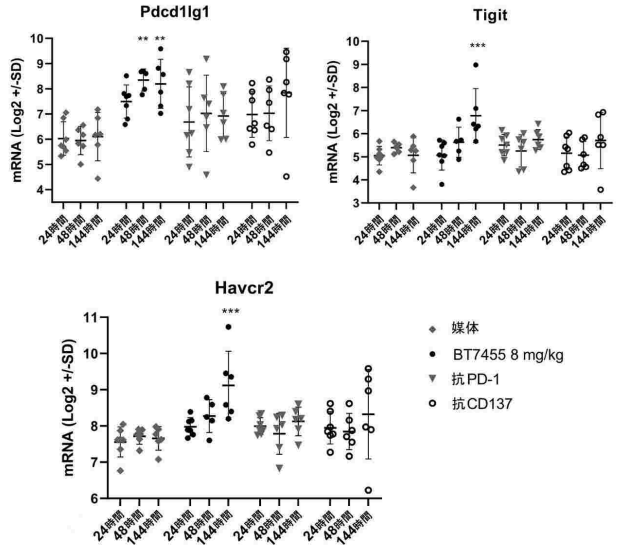


FIG. 10 (続き)

10

20

30

40

50

【図 1 1】

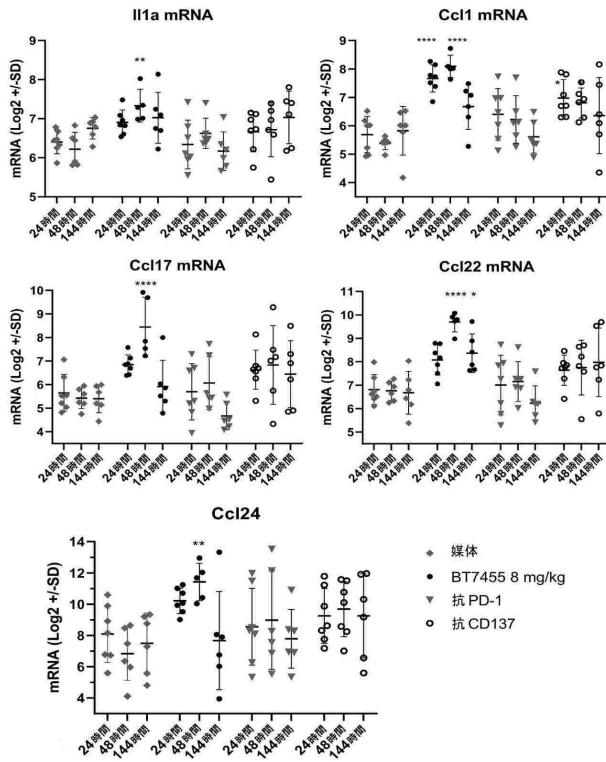


FIG. 11

【図 1 2】

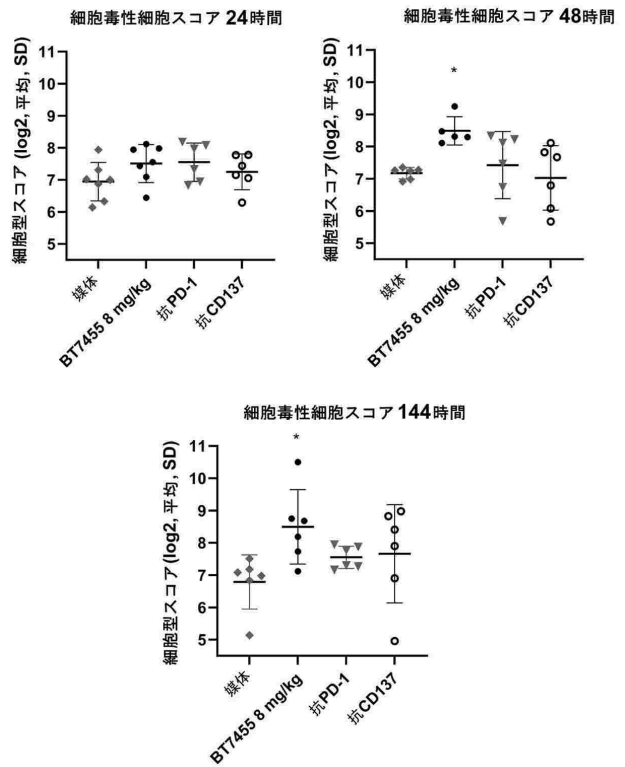


FIG. 12

【図 1 3】

サイトカインおよびケモカインシグナル伝達

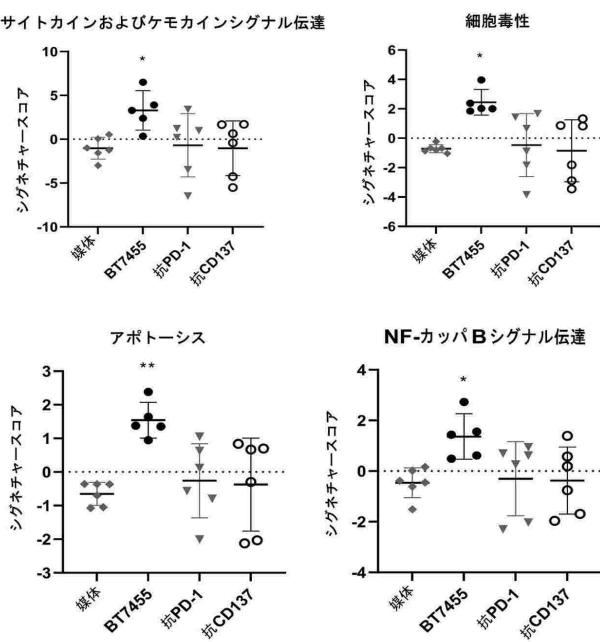


FIG. 13

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2022/050055

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. A61K38/12 A61K47/64 C07K14/705 A61P35/00		
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K A61P		
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		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/193328 A1 (BICYCLETX LTD [GB]) 10 October 2019 (2019-10-10)	1-65
Y	page 2, line 14 - line 28 page 30, line 21 - line 28 page 6, line 21 page 13, line 13 page 9, line 20 - line 24 -----	27-65
X	Anonymous: "Bicycle Conjugates", Internet Archive , 4 January 2021 (2021-01-04), XP002806133, Retrieved from the Internet: URL: https://web.archive.org/web/20210104063050/https://www.bicycletherapeutics.com/programs/ [retrieved on 2022-04-04]	27-65
Y	BT7480 and BT7455 ----- --/--	27-65
☒ 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		
"Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 5 April 2022		Date of mailing of the international search report 19/04/2022
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Pilling, Stephen

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2022/050055

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Anonymous: "Bicycle Therapeutics to Present New Translational Research for BT5528 and Preclinical Data for Tumor-targeted Immune Cell Agonists at the AACR Virtual Annual Meeting II", Internet: Business Wire / 15 May 2020 (2020-05-15), XP002806134, Retrieved from the Internet: URL:https://www.businesswire.com/news/home/20200515005111/en/Bicycle-Therapeutics-to-Present-New-Translational-Research-for-BT-5528-and-Preclinical-Data-for-Tumor-targeted-Immune-Cell-Agonists-at-the-AACR-Virtual-Annual-Meeting-II [retrieved on 2022-04-04] abstract	27-65
X	Kristen Hurov ET AL: "BT7480, a novel fully synthetic Bicycle tumor-targeted immune cell agonist (Bicycle TICA) induces tumor localized CD137 agonism", / 22 June 2020 (2020-06-22), XP055719960, Retrieved from the Internet: URL:https://www.bicycletherapeutics.com/wp-content/uploads/2020-06-16-BT7480-AACR-2020-poster-P5552_Final_CD137-in-title-002.pdf [retrieved on 2020-08-04] abstract	27-65
Y	abstract	27-65
Y	JEFFREY WEBER: "Immune Checkpoint Proteins: A New Therapeutic Paradigm for Cancer-Preclinical Background: CTLA-4 and PD-1 Blockade", SEMINARS IN ONCOLOGY, W.B. SAUNDERS, US, vol. 37, no. 5, 1 October 2010 (2010-10-01), pages 430-439, XP009177527, ISSN: 0093-7754, DOI: 10.1053/J.SEMINONCOL.2010.09.005 abstract	27-65
X,P	WO 2021/019243 A1 (BICYCLETX LTD [GB]) 4 February 2021 (2021-02-04) page 2, line 14 - line 35 page 16, line 13 - line 20	1-65
1 X,P	WO 2021/019244 A1 (BICYCLETX LTD [GB]) 4 February 2021 (2021-02-04) page 2, line 14 - line 35 page 19, line 1 - line 8	1-65
1	----- -/-	

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

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2022/050055

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2021/028686 A1 (BICYCLETX LTD [GB]) 18 February 2021 (2021-02-18) page 3, line 15 - line 33 page 27, line 31 - page 28, line 2 -----	1-65
X,P	WO 2021/064428 A1 (BICYCLETX LTD [GB]) 8 April 2021 (2021-04-08) page 2, line 14 - line 24 page 36, line 4 - line 11 -----	1-65
E	WO 2022/038158 A1 (BICYCLETX LTD [GB]) 24 February 2022 (2022-02-24) paragraphs [0032], [0090], [0225] - [0368] BT7480; page 20 -----	1-65

1

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

page 3 of 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2022/050055

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2019193328 A1	10-10-2019	AU 2019247795 A1 BR 112020020349 A2 CA 3095582 A1 CN 112236442 A EP 3774851 A1 JP 2021520378 A KR 20200139236 A SG 11202009773V A US 2019307836 A1 WO 2019193328 A1	12-11-2020 05-01-2021 10-10-2019 15-01-2021 17-02-2021 19-08-2021 11-12-2020 29-10-2020 10-10-2019 10-10-2019
WO 2021019243 A1	04-02-2021	AU 2020319704 A1 AU 2020322193 A1 AU 2020323739 A1 CA 3147570 A1 CA 3148033 A1 CA 3148039 A1 TW 202110485 A TW 202118770 A US 2021040154 A1 US 2021069287 A1 WO 2021019243 A1 WO 2021019244 A1 WO 2021019245 A1 WO 2021019246 A1	17-03-2022 17-03-2022 17-03-2022 04-02-2021 04-02-2021 04-02-2021 16-03-2021 16-05-2021 11-02-2021 11-03-2021 04-02-2021 04-02-2021 04-02-2021 04-02-2021
WO 2021019244 A1	04-02-2021	AU 2020319704 A1 AU 2020322193 A1 AU 2020323739 A1 CA 3147570 A1 CA 3148033 A1 CA 3148039 A1 TW 202110485 A TW 202118770 A US 2021040154 A1 US 2021069287 A1 WO 2021019243 A1 WO 2021019244 A1 WO 2021019245 A1 WO 2021019246 A1	17-03-2022 17-03-2022 17-03-2022 04-02-2021 04-02-2021 04-02-2021 16-03-2021 16-05-2021 11-02-2021 11-03-2021 04-02-2021 04-02-2021 04-02-2021 04-02-2021
WO 2021028686 A1	18-02-2021	NONE	
WO 2021064428 A1	08-04-2021	US 2021101937 A1 WO 2021064428 A1	08-04-2021 08-04-2021
WO 2022038158 A1	24-02-2022	NONE	

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I	テーマコード (参考)	
A 6 1 K	47/18 (2017.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	47/26 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K	47/18	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	A 6 1 K	47/26	
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	A 6 1 K	9/08	
		C 0 7 K	16/28	
		C 0 7 K	19/00	
(32)優先日 令和3年1月15日(2021.1.15)				
(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,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,NE,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,D J,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH, KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO, NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,T T,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW				
(72)発明者	マッド, ジェマ エリザベス 英国シービー 2 2 ・ 3 エイティ、ケンブリッジ、バブラハム・リサーチ・キャンパス、ビルディン グ 9 0 0、バイシクルティーエクス・リミテッド内			
(72)発明者	ラーデンランタ, ジョハンナ 英国シービー 2 2 ・ 3 エイティ、ケンブリッジ、バブラハム・リサーチ・キャンパス、ビルディン グ 9 0 0、バイシクルティーエクス・リミテッド内			
(72)発明者	ヒューロフ, クリステン 英国シービー 2 2 ・ 3 エイティ、ケンブリッジ、バブラハム・リサーチ・キャンパス、ビルディン グ 9 0 0、バイシクルティーエクス・リミテッド内			
(72)発明者	バットウラ, サイラジャ 英国シービー 2 2 ・ 3 エイティ、ケンブリッジ、バブラハム・リサーチ・キャンパス、ビルディン グ 9 0 0、バイシクルティーエクス・リミテッド内			
(72)発明者	ブランディッシュ, フィリップ イー 英国シービー 2 2 ・ 3 エイティ、ケンブリッジ、バブラハム・リサーチ・キャンパス、ビルディン グ 9 0 0、バイシクルティーエクス・リミテッド内			
(72)発明者	ウパディアヤ, プニト 英国シービー 2 2 ・ 3 エイティ、ケンブリッジ、バブラハム・リサーチ・キャンパス、ビルディン グ 9 0 0、バイシクルティーエクス・リミテッド内			
(72)発明者	マクドネル, ケビン 英国シービー 2 2 ・ 3 エイティ、ケンブリッジ、バブラハム・リサーチ・キャンパス、ビルディン グ 9 0 0、バイシクルティーエクス・リミテッド内			
F ターム (参考) 4C076 AA12 BB11 CC27 DD51 DD67				
4C084 AA02 AA07 AA19 BA01 BA08 BA23 MA17 MA66 NA05 NA14 ZB26 ZC75				
4C085 AA13 AA14 BB31 CC23 DD62 EE03 GG01				
4H045 AA10 AA11 AA30 BA41 DA76 EA22 EA28				