

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年10月31日(31.10.2024)



(10) 国際公開番号

WO 2024/225481 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 45/00 (2006.01) A61K 31/4709 (2006.01)
A61K 31/27 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/501 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01) A61P 37/04 (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2024/016599

(22) 国際出願日: 2024年4月26日(26.04.2024)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2023-073380 2023年4月27日(27.04.2023) JP

(71) 出願人: 国立大学法人京都大学 (KYOTO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町3-6番地1 Kyoto (JP).

(72) 発明者: 塚本 博丈 (TSUKAMOTO, Hirotake); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町3-6番地1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP).

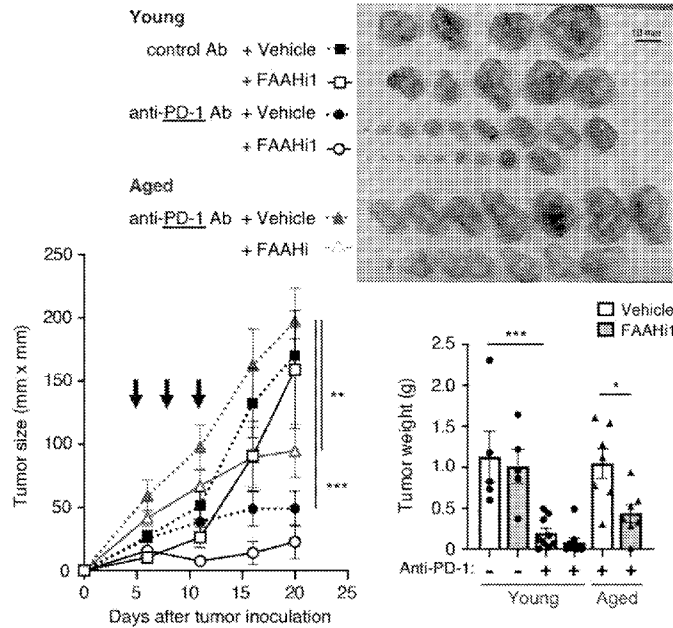
(74) 代理人: 田中 順也, 外 (TANAKA, Junya et al.); 〒5300005 大阪府大阪市北区中之島6-2-40 中之島インテス21階 Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU,

(54) Title: AGENT FOR IMPROVING THERAPEUTIC RESPONSIVENESS IN CANCER IMMUNOTHERAPY WITH PD-1 INHIBITOR OR PD-L1 INHIBITOR

(54) 発明の名称: PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬によるがん免疫療法における治療応答性の向上剤

[図10]



(57) Abstract: One purpose of the present disclosure is to provide a drug enhancing therapeutic effect in cancer immunotherapy with a PD-1/PD-L1 inhibitor. Provided is an agent for enhancing therapeutic effect in cancer immunotherapy with a PD-1 inhibitor or a PD-L1 inhibitor, the enhancing agent comprising an FAAH inhibitor as an active ingredient.

LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY,
MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,
PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(57) 要約: 本開示の一つの目的は、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法において、治療効果を増強させる薬剤を提供することである。PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬によるがん免疫療法における治療効果の増強剤であって、FAAH阻害薬を有効成分とする、前記増強剤。

明 細 書

発明の名称：

PD-1 阻害薬又はPD-L1 阻害薬によるがん免疫療法における治療応答性の向上剤

技術分野

[0001] 本開示は、PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬によるがん免疫療法において、がんの治療応答性を向上させるために使用される薬剤に関する。

背景技術

[0002] PD-1(Programmed cell death-1)阻害薬又はPD-L1 (Programmed cell Death 1-Ligand 1) 阻害薬（以下、PD-1/PD-L1阻害薬）によるがん免疫療法は、悪性黒色腫、肺がん、胃がんをはじめとした様々ながん種に奏効することが報告されており、がん治療の新たな潮流になっている。しかしながら、PD-1/PD-L1阻害薬の単剤によるがん免疫療法は、患者の30～40%程度しか治療応答性を示さない、また、従来のがん治療とは異なる免疫関連有害事象のリスクがある、という欠点がある。そこで、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法において、治療応答性の向上や免疫関連有害事象の低減のために様々な検討が行われている。例えば、非特許文献1には、老齢担がんマウスでは、若いマウスに比べてPD-1/PD-L1阻害療法に対する治療応答性が低いことが報告され、その改善策が模索されている。一方で非特許文献1では、老齢担がんマウスに対してPD-1阻害療法を施した際に、若い担がんマウスでは観察されなかった臓器傷害が起こることが報告されている。また、非特許文献2には、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法において、IL-6のシグナルを遮断することによって、治療応答性を高め得ることが報告されている。

[0003] 近年、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法の治療応答性を高めるべく、PD-1/PD-L1阻害薬と、抗CTLA-4抗体、抗VEGF抗体、抗がん剤等との併用療法が開発され普及しつつある。しかしながら、従来の併用療法でも、依然として治療効果が見込めない患者が存在し、更に有害事象の発症率、重症度が上昇

することが報告されている（非特許文献3及び4等）。

先行技術文献

非特許文献

[0004] 非特許文献1: Hirotake Tsukamoto et al., PNAS, 2022, Vol. 119 No. 29, e2205378119

非特許文献2: Hirotake Tsukamoto et al., Cancer Research, 2018, Vol. 78 No. 17, pp. 5011-5022

非特許文献3: Lijun Da et al., Front Pharmacol., 2020, Vol. 10, doi: 10.3389/fphar.2019.01671.

非特許文献4: Lancet Oncol., 2021, Vol.22 No. 9, pp.1265-1274, doi: 10.1016/S1470-2045(21)00333-8.

非特許文献5: Hirotake Tsukamoto et al., Nature Communications, 2015, Vol.6, doi: 10.1038/ncomms7702.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本開示の目的は、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法において、治療効果を増強させる薬剤を提供することである。

課題を解決するための手段

[0006] 実臨床でがん免疫療法を受ける患者の多くは高齢者であるが、従来のがん免疫療法では高齢者特有の環境因子を考慮した検討は行われていない。また、従来、老齢個体では、若齢個体に比べて、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法の治療応答性が低いことが知られている。更に、老齢個体では、予後不良因子として知られるIL-6濃度が若齢個体よりも高い（非特許文献5）。このような背景技術の下、本発明者は、高齢者特有の環境因子を考慮した新たながん免疫療法を開発すべく検討を行ったところ、老齢個体にPD-1/PD-L1阻害薬を投与すると、血清IL-6濃度の上昇を引き起こし、過剰な炎症応答が生じるという知見を得た。本発明者は、かかる知見に基づいて、PD-1/PD-L1

阻害薬によるがん免疫療法に治療応答性を低減させている一因は、加齢に伴う過剰な炎症応答があると考え、加齢に伴う過剰な炎症応答を制御できる薬剤が、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法の治療応答性の向上につながるとの仮説を立てた。

[0007] そこで、本発明者は、更に鋭意検討を進めたところ、老化マクロファージ特異的IL-6産生抑制活性を示す薬剤として、脂肪酸アミドヒドロラーゼ（FAAH, Fatty acid amid hydrolase）阻害薬を見出した。更に、本発明者は、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法にFAAH阻害薬を併用すると、PD-1/PD-L1阻害薬の単剤によるがん免疫療法では治療応答性を示さない個体（特に、老齢個体）に対しても、優れた治療効果を示すことを見出した。また、PD-1/PD-L1阻害薬とFAAH阻害薬の併用療法は、治療抵抗性を示すがんに対しても優れた治療効果を示すことを見出した。本開示は、これらの知見に基づいて、更に検討を重ねることにより、完成したものである。

[0008] 本開示は、PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬によるがん免疫療法における治療効果の増強剤に関し、下記に掲げる態様の発明を提供する。

項1-1. PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬によるがん免疫療法における治療効果の増強剤であって、FAAH阻害薬を有効成分とする、前記増強剤。

項1-2. 65歳以上の患者のがんに対して行われるがん免疫療法に適用される、項1-1に記載の増強剤。

項1-3. 治療抵抗性のがんに対して行われるがん免疫療法に適用される、項1-1又は1-2に記載の増強剤。

項1-4. 前記FAAH阻害薬が、URB597、PF-04457845、JNJ-42165279、OL-135、PF-750、PF-3845、V-158866、IPI-940、及びBIA 10-2474、よりなる群から選択される少なくとも1種である、項1-1～1-3のいずれかに記載の増強剤。

項1-5. 前記PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬が、抗PD-1抗体又は抗PD-L1抗体である、項1-1～1-4のいずれかに記載の増強剤。

[0009] 本開示は、がん治療のために使用される医薬セットに関し、下記に掲げる態様の発明を提供する。

項2-1. がん治療のために使用される医薬セットであって、

FAAH阻害薬を含む第1医薬組成物と、PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬を含む第2医薬組成物を含む、前記医薬セット。

項2-2. 65歳以上の患者のがんに対して行われるがん免疫療法に適用される、項2-1に記載の医薬セット。

項2-3. 治療抵抗性のがんに対して行われるがん免疫療法に適用される、項2-1又は2-2に記載の医薬セット。

項2-4. 前記FAAH阻害薬が、URB597、PF-04457845、JNJ-42165279、OL-135、PF-750、PF-3845、V-158866、IPI-940、及びBIA 10-2474、よりなる群から選択される少なくとも1種である、項2-1～2-3のいずれかに記載の医薬セット。

項2-5. 前記PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬が、抗PD-1抗体又は抗PD-L1抗体である、項2-1～2-4のいずれかに記載の医薬セット。

[0010] 本開示は、がんの治療方法に関し、下記に掲げる態様の発明を提供する。

項3-1. がん患者に、PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬と、FAAH阻害薬を投与する工程を含む、がんの治療方法。

項3-2. 前記がん患者が65歳以上である、項3-1に記載のがんの治療方法。

項3-3. 前記がん患者が治療抵抗性のがん患者である、項3-1又は3-2に記載のがんの治療方法。

項3-4. 前記FAAH阻害薬が、URB597、PF-04457845、JNJ-42165279、OL-135、PF-750、PF-3845、V-158866、IPI-940、及びBIA 10-2474、よりなる群から選択される少なくとも1種である、項3-1～3-3のいずれかに記載のがんの治療方法。

項3-5. 前記PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬が、抗PD-1抗体又は抗PD-L1抗体である、項3-1～3-4のいずれかに記載がんの治療方法。

[0011] 本開示は、FAAH阻害薬の使用に関し、下記に掲げる態様の発明を提供する。

項4-1. PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬によるがん免疫療法における治療効果の増強剤の製造のための、FAAH阻害薬の使用。

項4-2. 前記がん免疫療法の対象となるがん患者が65歳以上である、項4-1に記載の使用。

項4-3. 前記がん免疫療法の対象となるがんが治療抵抗性のがんである、項4-1又は4-2に記載の使用。

項4-4. 前記FAAH阻害薬が、URB597、PF-04457845、JNJ-42165279、OL-135、PF-750、PF-3845、V-158866、IPI-940、及びBIA 10-2474、よりなる群から選択される少なくとも1種である、項4-1～4-3のいずれかに記載の使用。

項4-5. 前記PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬が、抗PD-1抗体又は抗PD-L1抗体である、項4-1～4-4のいずれかに記載の使用。

[0012] 本開示は、FAAH阻害薬に関し、下記に掲げる態様の発明を提供する。

項5-1. PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬によるがん免疫療法における治療効果を増強するために使用される、FAAH阻害薬。

項5-2. 前記がん免疫療法の対象となるがん患者が65歳以上である、項5-1に記載のFAAH阻害薬。

項5-3. 前記がん免疫療法の対象となるがんが治療抵抗性のがんである、項5-1又は5-2に記載のFAAH阻害薬。

項5-4. 前記FAAH阻害薬が、URB597、PF-04457845、JNJ-42165279、OL-135、PF-750、PF-3845、V-158866、IPI-940、及びBIA 10-2474、よりなる群から選択される少なくとも1種である、項5-1～5-3のいずれかに記載のFAAH阻害薬。

項5-5. 前記PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬が、抗PD-1抗体又は抗PD-L1抗体である、項5-1～5-4のいずれかに記載のFAAH阻害薬。

発明の効果

[0013] 本開示によれば、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法の治療応答性や治療効果を高めることができる。従来、がん患者の多くは高齢者であり、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法を施すと、過剰な炎症応答が生じ、治療効果

が認められにくいという問題点があったが、本開示によれば、高齢のがん患者に対して、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法の治療応答性を高め、治療効果を増強することができる。更に、本開示によれば、治療抵抗性のがんに対するPD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法の治療応答性を高めることもできる。また、がん患者でしばしば観察される腫瘍随伴炎症による悪液質は免疫抑制効果を生じさせるが、本開示によれば、腫瘍随伴炎症による悪液質及び免疫抑制効果を改善して、患者の生活の質（QOL）の低下を抑制する効果も期待できる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]Aは、若齢マウス（Young）又は老齢マウス（Aged）に腫瘍移植し、抗PD-1抗体（Anti-PD-1 Ab）又はコントロール抗体の投与を行った後に、血清中のIL-6濃度を測定した結果である。Bは、野生型老齢マウス（WT）又はPD-1欠損老齢マウス（PD-1 K0）に腫瘍移植し、抗PD-1抗体又はコントロール抗体の投与を行った後に、腫瘍中のIL6のmRNA発現量を測定した結果である。*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

[図2]若齢マウス（Young）又は老齢マウス（Aged）に腫瘍移植し、抗マウスPD-1抗体の単独投与、ラットコントロール抗体の単独投与、或いは抗マウスPD-1抗体と抗IL-6抗体の併用投与を行い、経時的に腫瘍インデックス（Tumor index, 腫瘍組織の縦×横の平方根）を測定した結果である。

[図3]Aは、若いマクロファージと老化マクロファージの細胞老化状態を調べるために、老化関連 β -ガラクトシダーゼ活性の検出を行った際の画像である。老化マクロファージの画像中にマークが付しているマクロファージは老化関連 β -ガラクトシダーゼ活性が検出されていることを示す。Bは、代表的な薬剤について、老化マクロファージ特異的IL-6産生抑制活性の測定結果を示す図である。B中、FAAHiはURB597である。

[図4]マウス骨髄細胞から作製した若いマクロファージと老化マクロファージに対して、FAAH阻害薬として、FAAHi1（URB597）、FAAHi2（PF-04457845）、又はFAAHi3（JNJ-42165279）で処理した後に、R848で刺激し、IL-6の産生量を測

定した結果を示す図である。

[図5]老齢マウス(Aged)及び若齢マウス(Young)の脾臓及び肺から得られた単球・マクロファージに対して、FAAH阻害薬で処理した後にLPSで刺激し、IL-6及びTNF- α の産生量を測定した結果を示す図である。*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

[図6]Aは、マウスマクロファージにFaah遺伝子に対するsiRNAを導入して、R848刺激後のIL-6産生量及びFaah発現量を測定した結果を示す図である。Bは、若いマクロファージと老化マクロファージにFaah遺伝子に対するsiRNAを導入して、R848刺激後のIL-6とIL-1 β の産生量を測定した結果を示す図である。*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$.

[図7]ヒト末梢血単核細胞から作製した若いヒトマクロファージと老化ヒトマクロファージに対して、FAAH阻害薬として、FAAHi1 (URB597)又はFAAHi2 (PF-04457845)で処理した後に、R848で刺激し、IL-6の産生量を測定した結果を示す図である。***: $p < 0.001$.

[図8]若齢マウス(Young)又は老齢マウス(Aged)に、各薬剤又は生理食塩水(vehicle)を腹腔内投与した後にLPSを腹腔内投与して、血清中IL-6濃度を測定した結果を示す図である。図中、FAAHi-1はURB597である。*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

[図9]若齢マウス(Young)又は老齢マウス(Aged)に腫瘍移植し、抗PD-1抗体の投与とFAAH阻害薬又は生理食塩水の投与を行い、血清中IL-6濃度を測定した結果である。*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

[図10]若齢マウス(Young)又は老齢マウス(Aged)に腫瘍移植し、抗PD-1抗体(anti-PD-1 Ab)又はコントロール抗体(control Ab)の投与とFAAH阻害薬(FAAHi1, URB597)又は溶媒のみ(vehicle)の投与を行い、腫瘍サイズを経時的に測定し、腫瘍移植から21日後に腫瘍を回収して、腫瘍の画像を取得し、腫瘍の重量を測定した結果である。*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$.

[図11]若齢マウス又は老齢マウスに腫瘍移植し、抗PD-1抗体の投与とFAAH阻害薬(PF-04457845)又は溶媒のみ(vehicle)の投与を行い、腫瘍サイズを経

時的に測定し、腫瘍移植から25日後に腫瘍を回収して、腫瘍の画像を取得した結果である。**: $p < 0.01$.

[図12]若齢マウスに卵白アルブミン (OVA) 抗原を発現した悪性黒色腫細胞 (M04) を移植し、抗PD-1抗体 (anti-PD-1 Ab) 又はコントロール抗体 (control Ab) の投与とFAAH阻害薬 (FAAHi1, URB597) 又は溶媒のみ (vehicle) の投与を行い、腫瘍サイズを経時的に測定し、腫瘍移植から25日後に腫瘍を回収して、腫瘍の画像を取得した結果である。*: $p < 0.05$, ***: $p < 0.001$.

[図13]Aは、老齢マウスに腫瘍移植し、抗PD-1抗体 (anti-PD-1)、抗VEGFR抗体 (anti-VEGFR)、又はコントロール抗体 (Control) の各単独投与、或いは抗PD-1抗体と抗VEGFR抗体の併用投与 (Combi) を行い、腫瘍サイズを経時的に測定した結果である。Bは、老齢マウスに腫瘍移植し、抗PD-1抗体 (anti-PD-1)、抗CTLA4抗体 (anti-CTLA4)、又はコントロール抗体 (Control) の各単独投与、或いは抗PD-1抗体と抗CTLA4抗体の併用投与 (Combi) を行い、腫瘍サイズを経時的に測定した結果である。

発明を実施するための形態

[0015] 1. 定義

本開示において、「脂肪酸アミドヒドロラーゼ (FAAH)」とは、脂肪酸アミドを脂肪酸とアミンに加水分解する酵素である。

[0016] 本開示において、「脂肪酸アミドヒドロラーゼ (FAAH) 阻害薬」とは、FAAHの活性を阻害する作用を有する薬剤である。

[0017] 本開示において、「PD-1 (Programmed cell death-1)」とは、リンパ球の活性化シグナルの亢進及び／又は抑制に働くCD28/CTLA-4ファミリーに属する50～55 kDaのI型膜タンパク質を指す。

[0018] 本開示において、「PD-L1 (Programmed cell Death 1-Ligand 1)」とは、抗原提示細胞の表面に発現しているPD-1のリガンドである。

[0019] 本開示において、「PD-1阻害薬」とは、PD-1に作用 (結合等) して、PD-1とPD-L1との相互作用を阻害する薬剤である。

[0020] 本開示において、「PD-L1阻害薬」とは、PD-L1に作用 (結合等) して、PD-

1とPD-L1との相互作用を阻害する薬剤である。

[0021] 本開示において、「PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬（PD-1/PD-L1阻害薬）によるがん免疫療法における治療効果の増強剤」とは、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法において、がんの治療効果を向上させたり、治療応答性を高めたりするために使用される薬剤である。

[0022] 本開示において、「高齢のがん患者」及び「高齢者」とは、65歳以上のがん患者、65歳以上の者を指す。

[0023] 本開示において「治療抵抗性のがん」とは、既存の抗がん剤や免疫チェックポイント阻害薬の投与を行っても、十分な治療効果が認められないがんを指す。治療抵抗性のがんには、治療抵抗性を後発的に獲得した治療抵抗性のがん、最初から十分な治療効果が認められなかった先天性の治療抵抗性のがんの双方が包含される。

[0024] 2. 増強剤

本開示は、PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬によるがん免疫療法における治療効果の増強剤であって、FAAH阻害薬を有効成分とすることを特徴とする。以下、本開示の増強剤について詳述する。

[0025] [有効成分]

本開示の増強剤は、有効成分としてFAAH阻害薬を使用する。本開示で使用されるFAAH阻害薬としては、FAAHの活性を阻害でき、薬学的に許容されることを限度として、特に限定されないが、例えば、URB597 ((3'-(aminocarbonyl)[1,1'-biphenyl]-3-yl)-cyclohexylcarbamate; CAS番号546141-08-6)、PF-04457845 (N-3-Pyridazinyl-4-[[3-[[5-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]oxy]phenyl]methylene]-1-piperidinecarboxamide; CAS番号1020315-31-4)、JNJ-42165279 (N-(4-Chloropyridin-3-yl)-4-((2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)methyl)piperazine-1-carboxamide; CAS番号1346528-50-4)、OL-135 (1-Oxo-1-[5-(2-pyridyl)oxazol-2-yl]-7-phenylheptane; CAS番号681135-77-3)、PF-750 (N-phenyl-4-(quinolin-2-ylmethyl)piperidine-1-carboxamide; CAS番号959151-50-9)、PF-3845 (N-3-Pyridinyl-4-[[3-[[5-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]oxy]phenyl]methylene]-1-piperidinecarboxamide; CAS番号1020315-31-4)など。

oromethyl)-2-pyridinyl]oxy]phenyl]methyl]-1-piperidinecarboxamide; CAS番号1196109-52-0)、URB937 (3'-aminocarbonyl-6--hydroxy[1,1'-biphenyl]-3-yl cyclohexylcarbamate; CAS番号1357160-72-5)、V-158866(1-Azetidinedicarboxamide, 3-[[5-(2-Fluorophenyl)]oxy-N-3-pyridazinyl]-V-158866; CAS番号1186234-39-8)、IPI-940、BIA 10-2474(N-Cyclohexyl-N-methyl-4-(1-oxido-3-pyridinyl)-1H-imidazole-1-carboxamide; CAS番号1233855-46-3)等が挙げられる。FAAH阻害薬の中でも、好適な例として、URB597、PF-04457845、及びJNJ-42165279が挙げられる。これらのFAAH阻害薬は、1種単独で使用してもよく、また2種以上を組み合わせ使用してもよい。

[0026] [製剤化]

本開示の増強剤の一実施形態では、FAAH阻害薬は薬学的に許容される担体又は添加剤等と共に製剤化されて、所望の剤型に調製して提供される。薬学的に許容される担体又は添加剤としては、例えば、滅菌水、生理食塩水、安定剤、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、増粘剤、ゲル剤、酸化防止剤、緩衝剤、防腐剤、乳化剤、キレート剤、結合剤等が挙げられる。

[0027] 本開示の増強剤の剤型については、投与方法等に応じて適宜設定すればよいが、例えば、注射剤、点滴剤、坐剤等の非経口投与製剤；カプセル剤、錠剤、丸剤、サシェ剤、液剤、散剤、顆粒剤、細粒剤、フィルムコーティング剤、ペレット剤、トローチ剤、舌下剤、チュアブル剤、バッカル剤、ペースト剤、シロップ剤、懸濁剤、エリキシル剤、エマルション剤等の経口投与製剤が挙げられる。

[0028] 本開示の増強剤にけるFAAH阻害薬の含有量については、増強剤の剤型や投与方法等に応じて、後述する投与量を満たすように適宜設定すればよいが、本開示の増強剤の総量に対して、FAAH阻害薬の含有量が、例えば0.1～99重量%、好ましくは1～99重量%が挙げられる。

[0029] [本開示の増強剤が適用されるがん免疫療法]

本開示の増強剤は、PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法において、PD-1/PD-L1阻害薬と併用して使用される。本開示の増強剤は、PD-1/PD-L1阻害薬に

よるがん免疫療法の治療効果を向上させたり、治療応答性を高めたりすることができる。

[0030] 本開示の増強剤が適用されるがん免疫療法は、免疫チェックポイント阻害薬としてPD-1阻害薬及びPD-L1阻害薬の内、少なくとも1つの薬剤を投与するものであってもよい。

[0031] PD-1阻害薬としては、例えば、抗PD-1抗体、及びそのFabを有する抗体断片が挙げられる。抗PD-1抗体及びその抗体断片は、公知の抗体手法で作製することができるが、既に関連されているものを使用してもよい。既に関連されている抗PD-1抗体としては、具体的には、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、スパルタリズマブ、セミプリマブ、ドスタリマブ、レチファンリマブ等が挙げられる。

[0032] PD-L1阻害薬としては、例えば、抗PD-L1抗体、及びそのFabを有する抗体断片が挙げられる。抗PD-L1抗体及びその抗体断片は、公知の抗体手法で作製することができるが、既に関連されているものを使用してもよい。既に関連されている抗PD-L1抗体としては、具体的には、アベルマブ、アテゾリズマブ、デュルバルマブ等が挙げられる。

[0033] がん免疫療法に使用されるPD-1/PD-L1阻害薬は、薬学的に許容される担体又は添加剤等と共に製剤化されて、所望の剤型に調製して提供される。薬学的に許容される担体又は添加剤としては、例えば、滅菌水、生理食塩水、安定剤、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、増粘剤、ゲル剤、酸化防止剤、緩衝剤、防腐剤、乳化剤、キレート剤、結合剤等が挙げられる。PD-1/PD-L1阻害薬の剤型については、投与方法等に応じて適宜設定すればよいが、例えば、注射剤、点滴剤、坐剤等の非経口投与製剤；カプセル剤、錠剤、丸剤、サシェ剤、液剤、散剤、顆粒剤、細粒剤、フィルムコーティング剤、ペレット剤、トロリー剤、舌下剤、チュアブル剤、バッカル剤、ペースト剤、シロップ剤、懸濁剤、エリキシル剤、エマルジョン剤等の経口投与製剤が挙げられる。

[0034] 本開示の増強剤が適用されるがん免疫療法において治療対象となるがんの種類については、特に限定されないが、例えば、悪性黒色腫、非小細胞肺がん

ん、小細胞肺癌、腎細胞がん、ホジキンリンパ腫、頭頸部がん、大腸がん、胃がん、悪性胸膜中皮腫、食道がん、MSI-High結腸・直腸がん、胃食道接合部がん、食道がん、肝細胞がん、膠芽腫、尿路上皮がん、卵巣がん、膀胱がん、前立腺がん、子宮頸がん、子宮体がん、軟部肉腫、中枢神経系原発リンパ腫、卵巣原発リンパ腫、膵がん、胆道がん、舌がん、喉頭がん、カポジ肉腫、カルチノイド癌腫、白血病、多発性骨髄腫等が挙げられる。

[0035] 高齢のがん患者は、血清IL-6濃度が高い傾向にあり、PD-1/PD-L1阻害薬の単剤でのがん免疫療法では、過剰な炎症応答を生じて治療応答性を示さない傾向がある。これに対して、本開示の増強剤では、高齢のがん患者に対しても、PD-1/PD-L1阻害薬の治療応答性を高め、優れたがん治療効果を奏し得る。従って、本開示の増強剤の好適な一実施態様では、高齢患者のがんの治療目的で、PD-1/PD-L1阻害薬と併用して使用される。

[0036] また、本開示の増強剤が適用されるがん免疫療法では、治療抵抗性のがんの治療応答性を高め、優れたがん治療効果を奏し得る。従って、本開示の増強剤の他の好適な一実施態様では、治療抵抗性のがんの治療目的で、PD-1/PD-L1阻害薬と併用して使用される。治療抵抗性のがんの一態様として、PD-1/PD-L1阻害薬の単剤に対して治療抵抗性を示すがんが挙げられる。

[0037] 本開示の増強剤が適用されるがん免疫療法において、PD-1/PD-L1阻害薬の投与方法としては、特に限定されないが、例えば、直腸投与、静脈内的投与、筋肉内投与、皮下投与、腹腔内的、膀胱内投与、経肺投与、経鼻投与等の非経口投与、又は経口投与が挙げられる。これらの中でも、好ましくは非経口投与である。

[0038] 本開示の増強剤が適用されるがん免疫療法において、PD-1/PD-L1阻害薬の投与量及び投与間隔については、使用するPD-1/PD-L1阻害薬の種類、治療対象のがんの種類、患者の年齢や体重等応じて適宜設定すればよい。例えば、PD-1/PD-L1阻害薬の投与量の一例として、1回当たりPD-1/PD-L1阻害薬量で、10～1200 mg/kg-体重程度又は200～240 mg/kg-体重程度が挙げられる。また、PD-1/PD-L1阻害薬の投与間隔としては、2-3週に1回程度が挙げられる。

[0039] [本開示の増強剤の投与方法等]

本開示の増強剤の投与方法としては、特に限定されないが、例えば、経口投与、直腸投与、静脈内的投与、筋肉内投与、皮下投与、腹腔内的、膀胱内投与、経肺投与、経鼻投与等が挙げられる。これらの中でも、好ましくは経口投与が挙げられる。

[0040] 本開示の増強剤の投与タイミングについては、使用するFAAH阻害薬の種類、治療対象のがんの種類、患者の年齢や体重等応じて適宜設定すればよい。例えば、本開示の増強剤投与タイミングとして、PD-1/PD-L1阻害薬の投与と同時、PD-1/PD-L1阻害薬の投与の6～12時間程度前、又はPD-1/PD-L1阻害薬の投与の6～12時間程度後が挙げられる。また、本開示の増強剤の投与タイミングの好適な一例として、PD-1/PD-L1阻害薬の投与の6～12時間程度前が挙げられる。

[0041] 本開示の増強剤の投与量及び投与間隔については、使用するFAAH阻害薬の種類、治療対象のがんの種類、患者の年齢や体重等応じて適宜設定すればよい。例えば、本開示の増強剤の投与量の一例として、1回当たりFAAH阻害薬量で、0.25～100 mg/kg-体重程度、好ましくは1～500 mg/kg-体重程度が挙げられる。患者によって投薬法を選ぶ場合には、まず1日当たり1～100 mg/kgの投薬量から始め、状態が制御下にある場合には、0.25～10 mg/kg程度の低容量まで投薬量を低減することが好ましい。例えば、成人の処置の場合、1日当たり約0.05～約100 mg、好ましくは約0.1～約100 mgの投薬量に設定することができる。また、本開示の増強剤の投与間隔としては、1日に1回程度で、好ましくは3～5回の反復投与が挙げられる。

[0042] 3. がんの治療用医薬セット

本開示の治療薬セットは、がん治療のために使用される医薬セットであって、FAAH阻害薬を含む第1医薬組成物と、PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬を含む第2医薬組成物を含むことを特徴とする。

[0043] 本開示の治療薬セットは、前記増強剤と、がん免疫療法に使用されるPD-1/PD-L1阻害薬が、それぞれ別の医薬組成物として製剤化されて含まれている。

本開示の治療薬セットにおいて、使用されるFAAH阻害薬の種類、PD-1/PD-L1阻害薬の種類、第1医薬組成物の剤形やFAAH阻害薬の含有量、第2医薬組成物の剤形やPD-1/PD-L1阻害薬の含有量、第1医薬組成物と第2医薬組成物の投与方法、本開示の治療薬セットの適用対象となるがんの種類等については、前記「2. 増強剤」の欄に記載の通りである。

実施例

[0044] 以下に実施例を示して本開示の発明をより具体的に説明する。本開示は、以下に示す実施例の説明に何ら限定されるものではない。特許請求の範囲の記載を逸脱せず、当業者が容易に想到できる範囲で種々の変形態様もこの発明に含まれる。本明細書の中で示した文献等の内容は、その全ての内容を援用によって引用することとする。

[0045] 試験例 1：腫瘍移植した老齢個体におけるIL-6産生能、及び腫瘍移植した老齢個体におけるPD-1阻害又はPD-1ノックアウトがIL-6産生能に及ぼす影響の検証

試験方法

2ヵ月齢の若齢オスC57BL/6マウス又は20ヵ月齢の老齢オスC57BL/6マウスの皮下に、マウス大腸がん細胞株（MC38）を 4×10^5 cells移植した。腫瘍移植から4日後及び7日後に、抗マウスPD-1抗体（200 μ g/mouse, BioXcell）又はラットコントロール抗体（200 μ g/mouse, BioXcell）を腹腔内投与した。腫瘍移植から2日後にマウスの血清を回収し、血清中IL-6濃度をELISAにて測定した。

[0046] また、22ヵ月齢の野生型老齢マウス又はPD-1をノックアウトした22ヵ月齢のPD-1欠損老齢マウスの皮下に、マウス大腸がん細胞株（MC38）を 4×10^5 cells移植した。腫瘍移植から10日後に腫瘍組織を摘出し、RNAを抽出した。Rever Tra Ace（TOYOBO）を用いて、抽出したRNAからcDNAを作成し、腫瘍組織におけるIL6のmRNA発現をreal-time RT-PCRにて測定した（Thermo Fisher Scientific マウス IL6 Taqman probe を使用）。

[0047] 試験結果

若齢マウス又は老齢マウスの皮下にがん細胞を移植した後に血清中IL-6濃度を測定した結果を図1Aに示し、野生型老齢マウス又はPD-1欠損老齢マウスにがん細胞を移植した後に腫瘍組織におけるIL6のmRNA発現量を測定した結果を図1Bに示す。腫瘍組織を有する若齢マウスに、抗PD-1抗体を投与しても、血清中IL-6濃度の増加は認められなかった。コントロール抗体を投与した条件で対比すると、腫瘍組織を有する老齢マウスは、若齢マウスに比べて血清中IL-6濃度が有意に高くなっていた。また、腫瘍組織を有する老齢マウスに抗PD-1抗体を投与すると、血清中IL-6濃度が更に増大していた。更に、腫瘍組織を有するPD-1欠損老齢マウスでは、野生型老齢マウスに比べて、腫瘍組織中のIL6のmRNA発現量が有意に高くなっていた。

[0048] 即ち、これらの結果から、老齢個体ではIL-6産生能が高く、更に老齢個体においてPD-1を阻害することによりIL-6産生能が更に高まることが分かった。

[0049] 試験例2：腫瘍移植した老齢個体においてPD-1阻害とIL-6阻害が及ぼす影響の検証

試験方法

2ヵ月齢の若齢オスC57BL/6マウス又は20ヵ月齢の老齢オスC57BL/6マウスの皮下に、マウス大腸がん細胞株（MC38）を 4×10^5 cells移植した。腫瘍移植から4日後、7日後、及び10日後に、抗マウスPD-1抗体（200 μ g/mouse, BioXcell）の単独投与、ラットコントロール抗体（200 μ g/mouse, BioXcell）の単独投与、或いは抗マウスPD-1抗体（200 μ g/mouse, BioXcell）と抗IL-6抗体（200 μ g/mouse, BioXcell）の併用投与を行った。なお、各抗体は腹腔内に投与した。腫瘍移植から経時的に腫瘍サイズを計測し、腫瘍インデックス（Tumor index, 腫瘍組織の縦×横の平方根）を求めた。

[0050] 試験結果

結果を図2に示す。若齢マウスでは抗PD-1抗体の単独投与により抗腫瘍効果が認められた。一方、老齢マウスでは抗PD-1抗体の単独投与では抗腫瘍効果は認められなかったが、老齢マウスに抗PD-1抗体と抗IL-6抗体を併用投与し

た場合に抗腫瘍効果が認められた。

[0051] 前記試験例1の結果も考慮すると、腫瘍組織を有する老齢個体では、IL-6産生能が高く、更に抗PD-1抗体の投与によりIL-6産生能が更に増大するため、老齢個体に抗PD-1抗体を単独で投与した場合には、過剰な炎症応答が生じたことに起因して治療応答性が認められなかったと考えられる。

[0052] 試験例3：老化マクロファージ特異的IL-6産生抑制活性を示す薬剤の探索
試験方法

マウス骨髓細胞をin vitroにてマクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF) (50 ng/ml, ORF GENETICS) 存在下で5日間培養することにより、若いマクロファージに分化させた。若いマクロファージの培養を更に10日間継続することにより、老化マクロファージを得た。これらのマクロファージの細胞老化状態を Senescence-associated β -gal assay kit (Cell Biolabs, Inc.) にて評価した (図3A)。5日間培養した若いマクロファージでは、老化細胞マーカーである老化関連 β -ガラクトシダーゼ (SA β -Gal) 活性は認められず、15日間培養した老化マクロファージではSA β -Gal活性が認められた。

[0053] 若いマクロファージと老化マクロファージを 2×10^4 cells/wellの濃度で96ウェルプレートに播種し、AMED 生命科学・創薬研究支援基盤事業 (BINDS) の京都大学 ヒット化合物創出ユニット (ドラッグディスカバリーセンター) からの支援にて分与されたchemical compound libraryの2,000種程度の低分子化合物 (最終濃度 80 μ M) を候補薬剤として添加し、12時間培養した後、トル様受容体 (TLR) 7/8リガンドであるR848 (Sigma, 100 ng/ml) にて刺激した。18時間更に培養して産生されたIL-6をELISAにて計測した。薬剤無添加で産生されるIL-6に比して、薬剤を添加した際にIL-6産生が抑制される割合をIL-6産生抑制活性とし、老化マクロファージのIL-6産生抑制活性の値から、若いマクロファージのIL-6産生抑制活性の値を引いた値を、老化マクロファージ特異的IL-6産生抑制活性として求めた。

[0054] 試験結果

図3Bに、代表的な薬剤について、老化マクロファージ特異的IL-6産生抑制

活性の測定結果を示す。FAAH阻害薬であるURB597(図内FAAHi)をはじめとする複数の薬剤に老化マクロファージ特異的なIL-6産生抑制活性が認められた。また、ロキシスロマイシンは、若いマクロファージにて強いIL-6産生抑制作用を示したため、相対的に老化マクロファージ特異的なIL-6産生抑制活性は認められなかった。即ち、FAAH阻害薬は、老化マクロファージにおいて、優れたIL-6産生抑制活性を示すという特有の性質があることが分かった。

[0055] 試験例 4 : FAAH阻害薬が老化マクロファージの炎症性サイトカイン産生に及ぼす影響の検証

試験方法

前記試験例 2 と同様の方法でマウス骨髄細胞から若いマクロファージ及び老化マクロファージを準備した。若いマクロファージと老化マクロファージを 2×10^4 cells/well の濃度で 96 ウェルプレートに播種し、FAAH阻害薬として、FAAHi1 (URB597, Selleck chemicals)、FAAHi2 (PF-04457845, Selleck chemicals)、又はFAAHi3 (JNJ-42165279, MedChemExpress)を各ウェルに $0 \sim 20 \mu\text{M}$ となるように添加して12時間処理した後、R848 (100 ng/ml)にて刺激し、更に18時間培養した。そして、産生されたIL-6をELISAにて測定した。

[0056] 試験結果

結果を図4に示す。この結果、3種のFAAH阻害薬のいずれにおいても、若いマクロファージに比して、老化マクロファージに対して、強いIL-6産生抑制活性が認められた。

[0057] 試験例 5 : 老齢マウスの脾臓及び肺から得られた単球・マクロファージに対して、FAAH阻害薬が炎症性サイトカイン産生に及ぼす影響の検証

試験方法

2ヵ月齢の若齢オスC57BL/6マウス又は20ヵ月齢の老齢オスC57BL/6マウスから脾臓及び肺を摘出し、Gr-1 microbeadsとCD11b microbeads (いずれにMiltenyi Biotech)を用いて、Gr-1-CD11b⁺細胞 (単球・マクロファージ) を単離した。Gr-1-CD11b⁺細胞を 2×10^4 cells/well の濃度で96ウェルプレートに播種し、FAAH阻害薬 (URB597) を $5 \mu\text{M}$ となるように添加して12時間処理した。次い

で、LPS (100 ng/ml)にて刺激し、更に18時間培養した後に、産生されたIL-6及びTNF- α をELISAにて測定した。

[0058] 試験結果

結果を図5に示す。老齢マウスの脾臓及び肺から得られた単球・マクロファージは、若齢マウスから得られたものに比べて、LPS刺激によるIL-6及びTNF- α の産生量が有意に増加していた。老齢マウスの脾臓及び肺から得られた単球・マクロファージに対してFAAH阻害薬を処理することにより、LPS刺激によるIL-6及びTNF- α の産生量が顕著に低下していた。これらの結果から、老齢者において、FAAH阻害薬は優れたIL-6及びTNF- α の産生抑制効果を奏し得ることが明らかとなった。

[0059] 試験例 6：マクロファージにおけるFaah遺伝子のノックダウンが炎症性サイトカイン産生に及ぼす影響の検証

試験方法

マウスマクロファージ細胞株Raw264.7を 1×10^5 cells/wellの濃度で24ウェルプレートに播種し、Faah遺伝子に対するsiRNA(Faah1及びFaah2, Thermo Fisher Scientific)又はコントロールsiRNA(Thermo Fisher Scientific)をTransIT TK0 transfection reagent (Mirus Bio)を用いて遺伝子導入した。siRNAを導入から48時間後に、R848 (100 ng/ml) を添加して刺激し、18時間に上清を回収し、ELISAにてIL-6を測定するとともに、細胞からmRNAを回収し、real-time RT-PCRにてFaahの発現量を測定した。

[0060] また、前記試験例3と同様の方法でマウス骨髄細胞から若いマクロファージ及び老化マクロファージを準備した。若いマクロファージと老化マクロファージを 2×10^5 cells/wellの濃度で24ウェルプレートに播種し、Faah遺伝子に対するsiRNA(Thermo Fisher Scientific)又はコントロールsiRNA(Thermo Fisher Scientific)をTransIT TK0 transfection reagent (Mirus Bio)を用いて遺伝子導入した。siRNAを導入から48時間後に、R848 (100 ng/ml) を添加して刺激し、18時間に上清を回収し、IL-6及びIL-1 β をELISA (BioLegend又はR&D systems)にて測定した。

[0061] 試験結果

図6Aに、マウスマクロファージにFaah遺伝子に対するsiRNAを導入して、R848刺激後のIL-6産生量及びFaah発現量を測定した結果を示す。図6Aから分かるように、Faahをノックダウンさせたマウスマクロファージでは、IL-6産生量の低下及びFaah遺伝子の発現量低下が認められた。また、図6Bに、若いマクロファージと老化マクロファージにFaah遺伝子に対するsiRNAを遺伝子導入して、R848刺激後のIL-6とIL-1 β の産生量を測定した結果を示す。若いマクロファージでは、Faahをノックダウンしても、IL-6産生量の低下効果が限定的であり、IL-1 β の産生量は低下しなかった。これに対して、老化マクロファージでは、Faahをノックダウンすると、IL-6とIL-1 β の産生量が共に有意に低下していた。これらの結果から、高齢者では、FAAH阻害がIL-6等の炎症性サイトカインの産生抑制に有効であることが確認された。

[0062] 試験例7：FAAH阻害薬が老化ヒトマクロファージの炎症性サイトカイン産生に及ぼす影響の検証

試験方法

Human CD14 microbeads (Milteny Biotec)を用いて、ヒト末梢血単核細胞からCD14陽性単球を単離し、M-CSF (50 ng/ml) 存在下で6日間培養して、若いヒトマクロファージを作製した。また、若いヒトマクロファージの培養を更に14日継続し、老化ヒトマクロファージを得た。若いヒトマクロファージと老化ヒトマクロファージを 2×10^4 cells/wellの濃度で96ウェルプレートに播種し、FAAH阻害薬として、FAAHi1 (URB597)を各ウェルに0~14 μ M、又はFAAHi2 (PF-04457845)を各ウェルに0~44 μ Mとなるように添加して12時間処理した後、R848 (100 ng/ml)にて刺激し、更に18時間培養した。そして、産生されたIL-6をELISAにて測定した。

[0063] 試験結果

結果を図7に示す。この結果、FAAH阻害薬は、ヒトマクロファージでもIL-6産生抑制活性を示し、特に老化ヒトマクロファージにおけるIL-6産生抑制活性が高いことが確認された。

[0064] 試験例 8：老齢マウスにおいて各種薬剤が炎症性サイトカインの産生に及ぼす影響の検証

試験方法

2ヵ月齢の若齢オスC57BL/6マウス又は20ヵ月齢の老齢オスC57BL/6マウスに、URB597 (0.6 mg /kg)、ロキシスロマイシン (10 mg /kg)、セフォチアム (5.5 mg /kg)、フォシノプリル (2.5 mg /kg)、又はイニパリブ (1 mg /kg)、溶媒のみ (vehicle) を腹腔内投与し、更に18時間後にLPS (Sigma; 2 μ g/mouse) を腹腔内投与した。LPS投与後8時間後に血清を回収し、血清中IL-6濃度をELISAにて測定した。

[0065] 試験結果

結果を図8に示す。FAAH阻害薬であるURB597を老齢マウスに投与することにより、LPS投与後の血清中IL-6濃度の増大を有意に抑制できていた。一方、セフォチアム及びイニパリブの老化マクロファージ特異的IL-6産生抑制活性はURB597よりも高かったが（図3）、老齢マウスにおけるLPS投与後の血清中IL-6濃度の増大を十分に抑制できていなかった。即ち、これらの結果から、老化マクロファージ特異的IL-6産生抑制活性が認められた薬剤であれば、老齢個体中でIL-6産生抑制が認められることにはならず、老齢個体中でIL-6産生を抑制するにはFAAH阻害薬を選択することが重要であることが分かった。

[0066] 試験例 9：腫瘍移植マウスにおいて抗PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用投与が炎症性サイトカインの産生に及ぼす影響の検証

試験方法

2ヵ月齢の若齢オスC57BL/6マウス又は20ヵ月齢の老齢オスC57BL/6マウスの皮下に、マウス大腸がん細胞株 (MC38) を 4×10^5 cells移植した。腫瘍移植から4日後及び7日後に、抗マウスPD-1抗体 (200 μ g/mouse, BioXcell) 又はラットコントロール抗体 (200 μ g/mouse, BioXcell) を腹腔内投与した。また、腫瘍移植から3日後及び6日後に、FAAH阻害薬 (URB597, 0.6 mg/kg/shot) を腹腔内投与した。腫瘍移植から9日後にマウスの血清を回収し、血清中IL-6濃度をELISAにて測定した。

[0067] 試験結果

結果を図9に示す。若齢マウスでは、抗PD-1抗体の単独投与でも血清中IL-6濃度が低い値になっており、抗PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用投与では血清中IL-6濃度が更に低下していた。一方、老齢マウスでは、抗PD-1抗体の単独投与では血清中IL-6濃度が著しく高くなっていたが、抗PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用投与により血清中IL-6濃度を有意に低下させた。即ち、本結果から、抗PD-1抗体の応答性を減弱させる一因になっている炎症性サイトカイン産生を低下させるにはFAAH阻害薬が有効であり、とりわけ、その効果は老齢個体において顕著に認められることが分かった。

[0068] 試験例 10：腫瘍移植マウスにおいて抗PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用投与が移植腫瘍の増生に及ぼす影響の検証（1）

試験方法

2ヵ月齢の若齢オスC57BL/6マウス又は20ヵ月齢の老齢オスC57BL/6マウスの皮下に、PD-1阻害療法に対して感受性を有するマウス大腸がん細胞株（MC38）を 4×10^5 cells移植した。腫瘍移植から4日後、7日後及び11日後に、抗マウスPD-1抗体（200 μ g/mouse, BioXcell）又はラットコントロール抗体（200 μ g/mouse, BioXcell）を腹腔内投与した。また、腫瘍移植から3日後、6日後及び10日後に、FAAH阻害薬（URB597, 0.6 mg/kg/shot）又は溶媒のみ（Vehicle）を腹腔内投与した。経時的に腫瘍のサイズ（腫瘍組織の縦×横）を測定し、腫瘍移植から21日後に移植した腫瘍を取り出し、腫瘍の重量を測定した。

[0069] 試験結果

結果を図10に示す。若齢マウスでは、抗PD-1抗体の単独投与でも腫瘍の増生を十分に抑制できたため、抗PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用投与では腫瘍の増生の抑制効果の上乗せは観察されない。一方、老齢マウスは、抗PD-1抗体の単独投与では腫瘍の増生を抑制できていなかったが、抗PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用投与により腫瘍の増生を有意に抑制できていた。即ち、本結果から、抗PD-1抗体を使用したがん免疫療法においてFAAH阻害薬の併用投与が有効であり、特に抗PD-1抗体に対する応答性が低い老齢個体に対して、PD-1抗

体とFAAH阻害薬の併用投与が有効であることが明らかとなった。

[0070] 試験例 1 1：腫瘍移植マウスにおいて抗PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用投与が移植腫瘍の増生に及ぼす影響の検証（2）

試験方法

FAAH阻害薬としてPF-04457845 (Selleck Chemicals) を使用して、前記試験例 7 と同様の試験を行った。具体的には、先ず2ヵ月齢の若齢オスC57BL/6マウス又は20ヵ月齢の老齢オスC57BL/6マウスの皮下に、マウス大腸がん細胞株 (MC38) を 4×10^5 cells移植した。腫瘍移植から4日後、7日後及び11日後に、抗マウスPD-1抗体 (200 μ g/mouse, BioXcell) を腹腔内投与した。また、腫瘍移植から3日後、6日後及び10日後に、PF-0445784 (0.6 mg/kg/shot) 又は溶媒のみ (Vehicle) を腹腔内投与した。経時的に腫瘍のサイズ (腫瘍組織の縦×横) を測定し、腫瘍移植から25日後に移植した腫瘍を取り出し、腫瘍を観察した。

[0071] 試験結果

結果を図11に示す。FAAH阻害薬としてPF-04457845を使用しても、URB597を使用した試験例 1 0 と同様の結果が得られた。本結果からも、抗PD-1抗体を使用したがん免疫療法においてFAAH阻害薬の併用投与が有効であり、特に老齢個体に対しては、PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用療法が有効であることが確認された。

[0072] 試験例 1 2：腫瘍移植マウスにおいて抗PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用投与が治療抵抗性のがんに及ぼす影響の検証

試験方法

PD-1阻害療法に対して比較的感受性の低い移植がん細胞として、卵白アルブミン (OVA) 抗原を発現した悪性黒色腫細胞 (M04) 株を使用して、治療抵抗性のがんに対する抗PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用投与の有効性を検証した。具体的には、先ず、2ヵ月齢の若齢マウスの皮下に、OVA発現M04株を 3×10^5 cells移植した。腫瘍移植から4日後、7日後及び11日後に、抗マウスPD-1抗体 (200 μ g/mouse, BioXcell) 又はラットコントロール抗体 (200 μ g/mouse,

BioXcell) を腹腔内投与した。また、腫瘍移植から3日後、6日後及び10日後に、FAAH阻害薬 (URB597, 0.6 mg/kg/shot) 又は溶媒のみ (Vehicle) を腹腔内投与した。経時的に腫瘍のサイズ (腫瘍組織の縦×横) を測定した。

[0073] 試験結果

結果を図12に示す。本試験で使用したOVA発現M04株は治療抵抗性を示す腫瘍細胞である。抗PD-1抗体単独では、OVA発現M04株で形成された腫瘍の増生を抑制できていなかった。これに対して、抗PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用投与により、OVA発現M04株で形成された腫瘍の増生を有意に抑制できていた。即ち、本結果から、抗PD-1抗体とFAAH阻害薬の併用療法は、治療抵抗性を示すがんに対しても有効であることが確認された。

[0074] 参考試験例1：腫瘍移植老齢マウスに対する抗PD-1抗体の既存併用療法が移植腫瘍の増生に及ぼす影響の検証

試験方法

20ヵ月齢の老齢オスC57BL/6マウスの皮下に、マウス大腸がん細胞株 (MC38) を 4×10^5 cells移植した。腫瘍移植から3日後、7日後及び11日後に、抗マウスPD-1抗体 (200 μ g/mouse, BioXcell)、抗マウスVEGFR抗体 (200 μ g/mouse, BioXcell)、抗マウスCTLA4抗体 (200 μ g/mouse, BioXcell)、及びラットコントロール抗体 (200 μ g/mouse, BioXcell) の各単独投与、抗マウスPD-1抗体 (200 μ g/mouse, BioXcell) と抗マウスVEGFR抗体 (200 μ g/mouse) の併用投与、或いは抗マウスPD-1抗体 (200 μ g/mouse) と抗マウスCTLA4抗体 (200 μ g/mouse) の併用投与を行った。いずれの抗体も腹腔内に投与した。腫瘍移植時から経時的に腫瘍のサイズ (腫瘍組織の縦×横) を測定した。

[0075] 試験結果

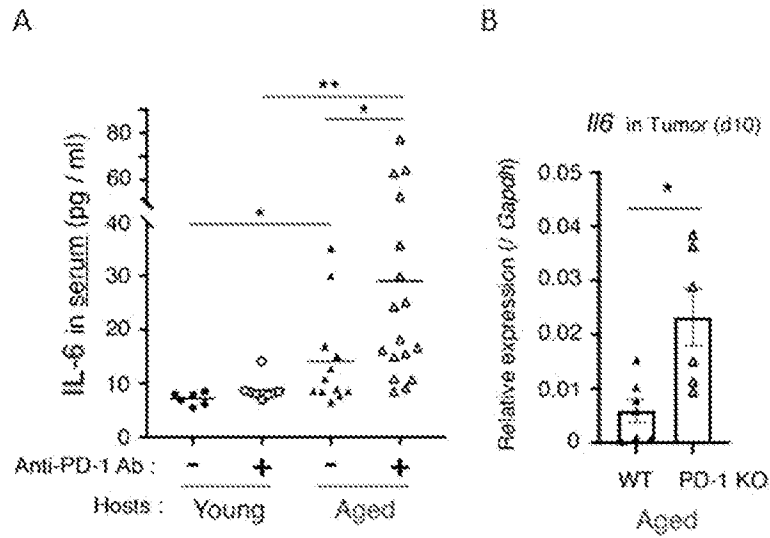
結果を図13に示す。従来、抗CTLA4抗体及び抗VEGFR抗体は、抗PD-1抗体と併用してがん免疫療法に使用されているが、老齢マウスにおける腫瘍に対しては、抗PD-1抗体と抗CTLA4抗体の併用、及び抗PD-1抗体と抗VEGFR抗体の併用は、抗CTLA4抗体単独及び抗VEGFR抗体単独の場合と同程度の効果しか認め

られず、がん治療効果は不十分であった。即ち、本結果から、老齢個体のがんに対しては、抗PD-1抗体と他の抗体を使用した既存併用療法では応答性が低いことが確認された。

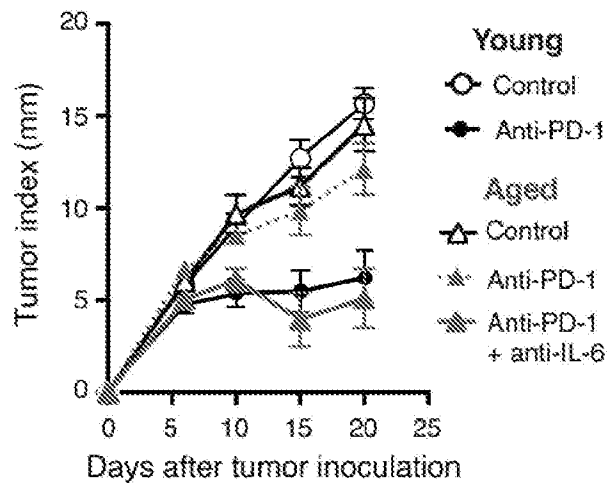
請求の範囲

- [請求項1] PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬によるがん免疫療法における治療効果の増強剤であって、脂肪酸アミドヒドロラーゼ阻害薬を有効成分とする、前記増強剤。
- [請求項2] 65歳以上の患者のがんに対して行われるがん免疫療法に適用される、請求項1に記載の増強剤。
- [請求項3] 治療抵抗性のがんに対して行われるがん免疫療法に適用される、請求項1又は2に記載の増強剤。
- [請求項4] 前記脂肪酸アミドヒドロラーゼ阻害薬が、URB597、PF-04457845、JNJ-42165279、OL-135、PF-750、PF-3845、V-158866、IPI-940、及びBIA 10-2474よりなる群から選択される少なくとも1種である、請求項1又は2に記載の増強剤。
- [請求項5] 前記PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬が、抗PD-1抗体又は抗PD-L1抗体である、請求項1又は2に記載の増強剤。
- [請求項6] がん治療のために使用される医薬セットであって、
脂肪酸アミドヒドロラーゼ阻害薬を含む第1医薬組成物と、PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬を含む第2医薬組成物を含む、前記医薬セット。
- [請求項7] がん患者に、PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬と、脂肪酸アミドヒドロラーゼ阻害薬を投与する工程を含む、がんの治療方法。
- [請求項8] PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬によるがん免疫療法における治療効果の増強剤の製造のための、脂肪酸アミドヒドロラーゼ阻害薬の使用。
- [請求項9] PD-1阻害薬又はPD-L1阻害薬によるがん免疫療法における治療効果を増強するために使用される、脂肪酸アミドヒドロラーゼ阻害薬。

[図1]

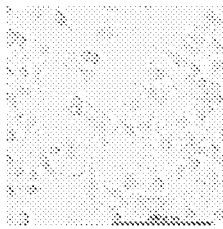


[図2]

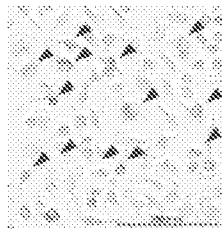


[図3]

A

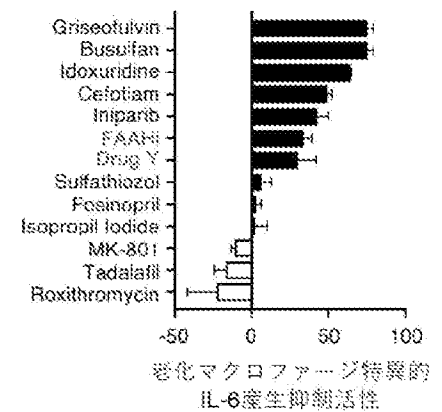


若いマクロファージ

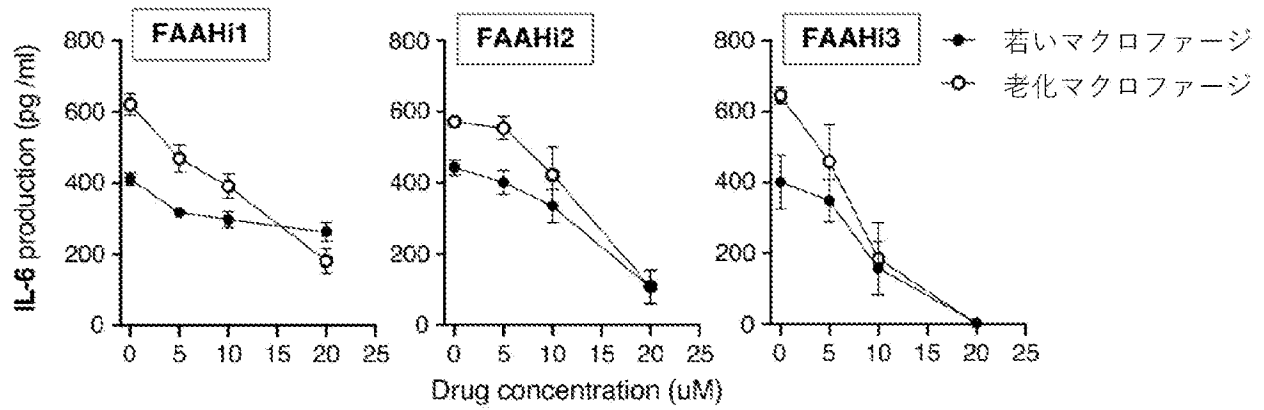


老化マクロファージ

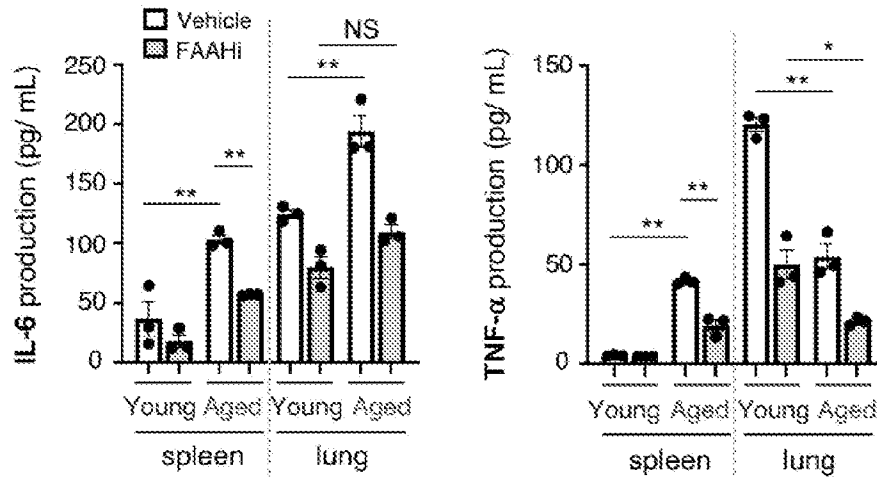
B



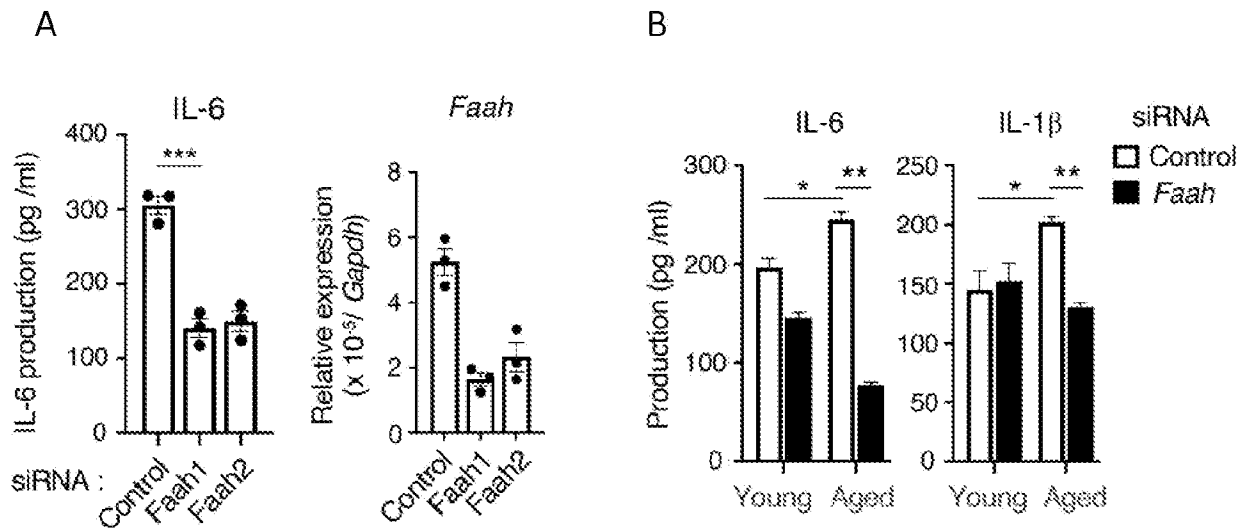
[図4]



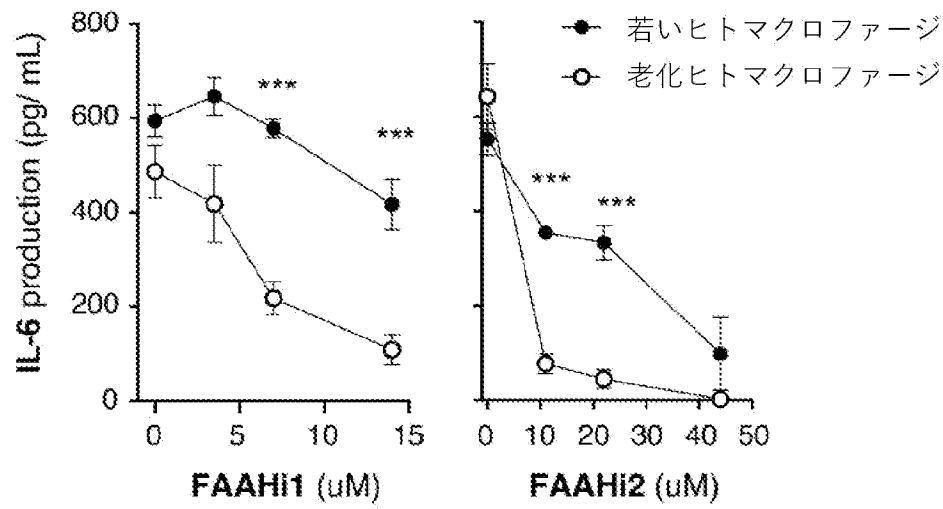
[図5]



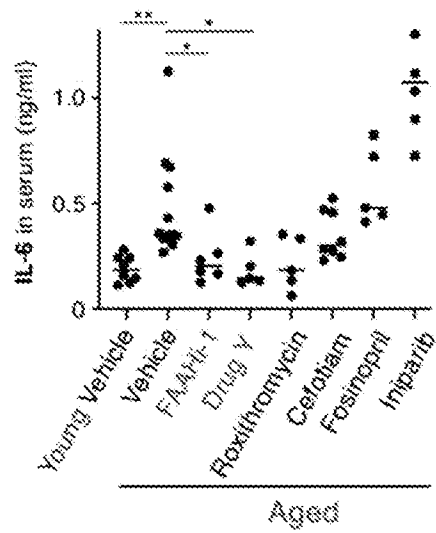
[図6]



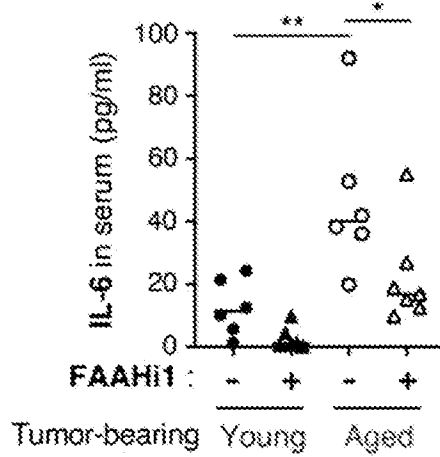
[図7]



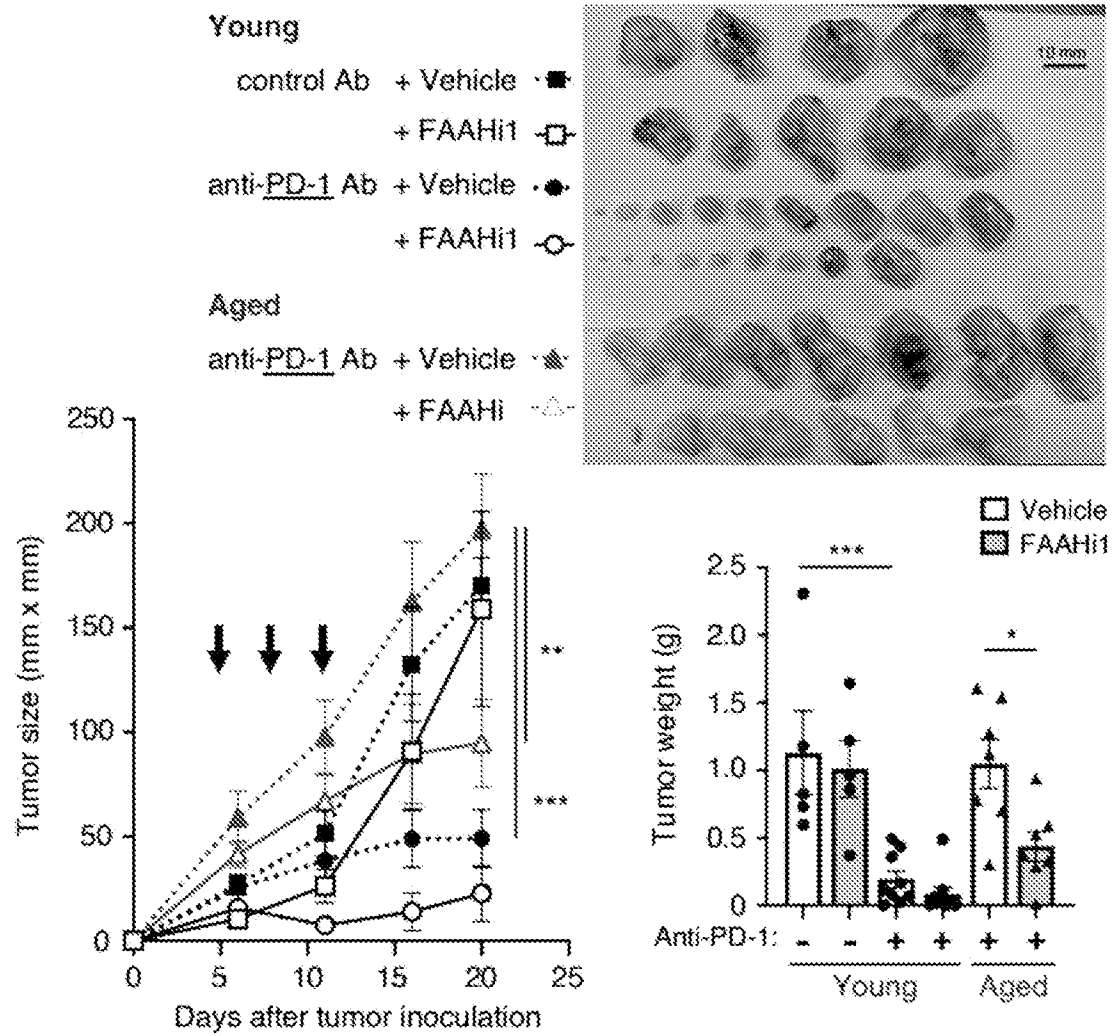
[図8]



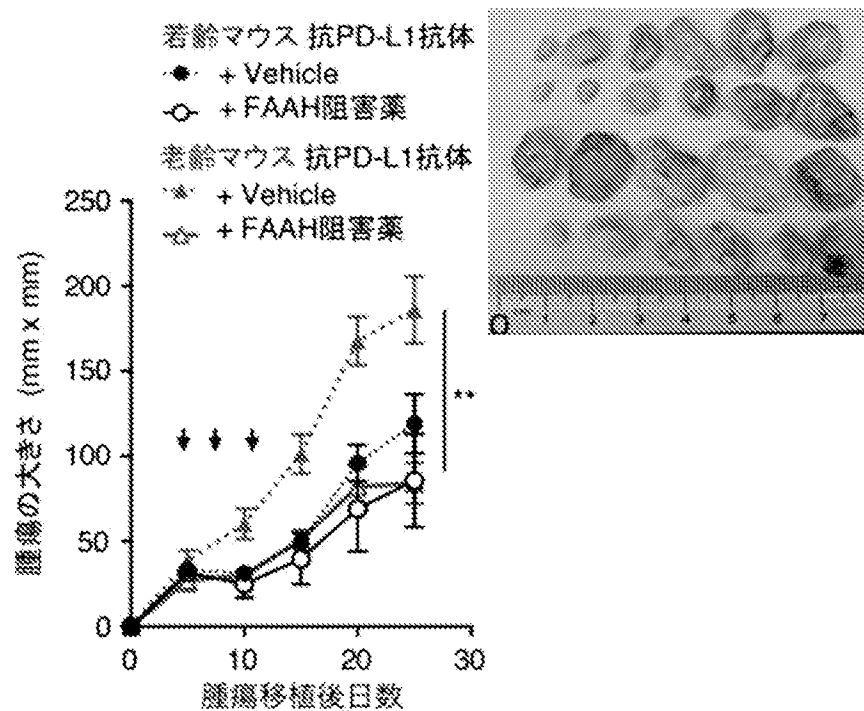
[図9]



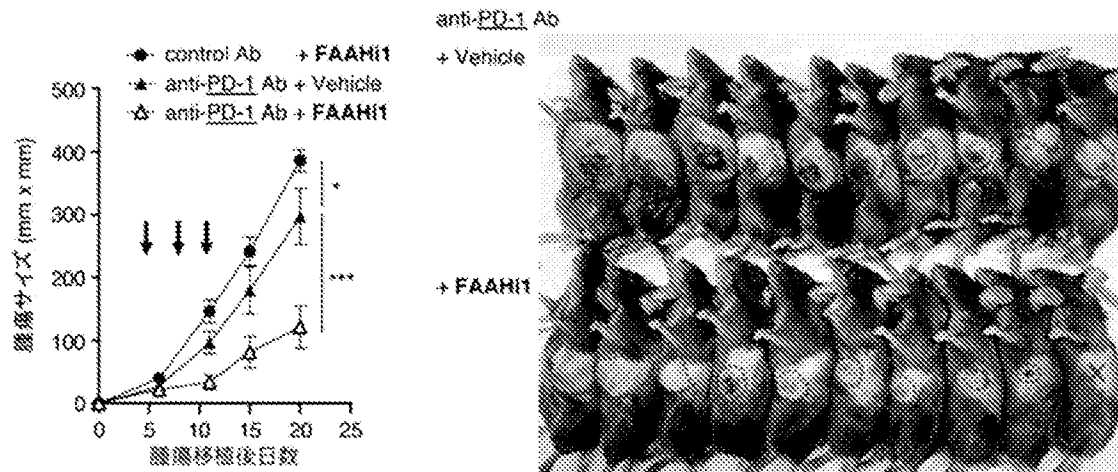
[図10]



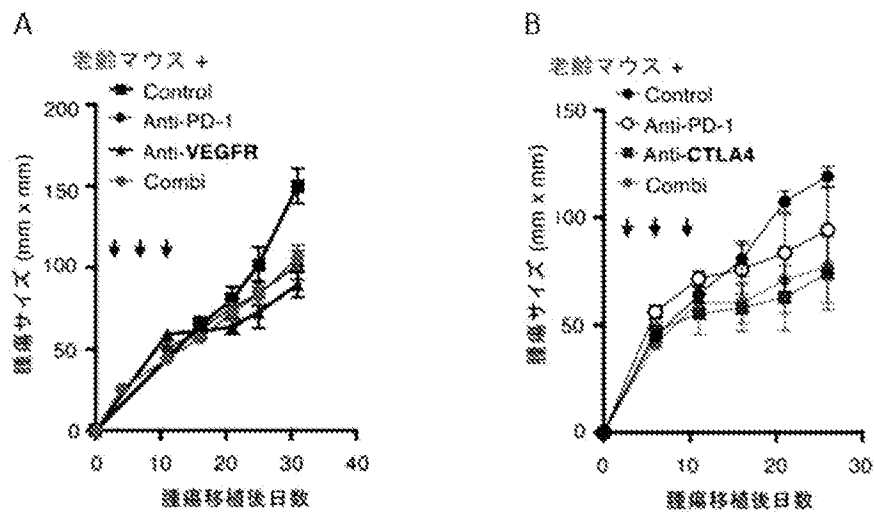
[図11]



[図12]



[図13]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/016599

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 45/00(2006.01)i; **A61K 31/27**(2006.01)i; **A61K 31/496**(2006.01)i; **A61K 31/501**(2006.01)i; **A61K 31/4439**(2006.01)i; **A61K 31/4545**(2006.01)i; **A61K 31/4709**(2006.01)i; **A61K 39/395**(2006.01)i; **A61K 45/06**(2006.01)i; **A61P 35/00**(2006.01)i; **A61P 37/04**(2006.01)i; **A61P 43/00**(2006.01)i

FI: A61K45/00; A61K31/27; A61K31/4439; A61K31/4545; A61K31/4709; A61K31/496; A61K31/501; A61K39/395 E; A61K39/395 T; A61K39/395 U; A61K45/06; A61P35/00; A61P37/04; A61P43/00 111; A61P43/00 121

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)

A61K45/00; A61K31/27; A61K31/4439; A61K31/4545; A61K31/4709; A61K31/496; A61K31/501; A61K39/395; A61K45/06; A61P35/00; A61P37/04; A61P43/00

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN); PubMed; 医中誌Web

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	塚本 博丈, 老化に伴う免疫機能低下を基軸にしたがん免疫療法の効果増強戦略の開発, Precision Medicine. 2020, vol. 3, no. 14, pp. 1334-1339, ISSN 2434-3625, (TSUKAMOTO, Hirotake. Development of combined cancer immunotherapy based on age-associated immune dysfunction.) in particular, pp. 1335-1336, "2. Cancer-bearing hosts in old age show low sensitivity to PD-1 inhibitor therapy", fig. 1	1-9
Y	TSUKAMOTO, H. et al. Combined Blockade of IL6 and PD-1/PD-L1 Signaling Abrogates Mutual Regulation of Their Immunosuppressive Effects in the Tumor Microenvironment. Cancer Research. 2018, vol. 78, no. 17, pp. 5011-5022, doi:10.1158/0008-5472.CAN-18-0118, ISSN 0008-5472 in particular, p. 5011, "Abstract", pp. 5016-5017, "Combined blockade of IL6 and PD-L1 signalings exerted synergistic antitumor effects", fig. 6	1-9



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
“D” document cited by the applicant in the international application
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 June 2024

Date of mailing of the international search report

02 July 2024

Name and mailing address of the ISA/JP

**Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan**

Authorized officer

Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CHIURCHIU, V. et al. Anti-Inflammatory Effects of Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibition in Monocytes/Macrophages from Alzheimer's Disease Patients. <i>Biomolecules</i> . 2021, vol. 11, no. 4, 502, doi:10.3390/biom11040502, ISSN 2218-273X in particular, p. 1, "Abstract", fig. 4	1-9
Y	JAISWAL, S. AYYANNAN, S. R. Anticancer Potential of Small-Molecule Inhibitors of Fatty Acid Amide Hydrolase and Monoacylglycerol Lipase. <i>ChemMedChem</i> . 2021, vol. 16, no. 14, pp. 2172-2187, doi:10.1002/cmdc.202100120, ISSN 1860-7179 in particular, pp. 2176-2179, "2. Anticancer Potential of FAAH Inhibitors", p. 2185, left column, second paragraph to right column, first paragraph, fig. 7, 23	1-9
Y	WASILEWSKI, A. et al. Fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitor PF-3845 reduces viability, migration and invasiveness of human colon adenocarcinoma Colo-205 cell line: an in vitro study. <i>Acta Biochimica Polonica</i> , 2017, vol. 64, no. 3, pp. 519-525, doi:10.18388/abp.2017_1520, ISSN 0001-527X in particular, p. 519, abstract, p. 521, "PF-3845, but not JZL-184 and RHC-80267, significantly decreased the Colo-205 cell viability", p. 522, "PF-3845 significantly reduces migration and invasiveness of the Colo-205 cells", fig. 1, 2, 5, 6	1-9
Y	KISS, L. E. et al. Discovery of a Potent, Long-Acting, and CNS-Active Inhibitor (BIA 10-2474) of Fatty Acid Amide Hydrolase. <i>ChemMedChem</i> . 2018, vol. 13, no. 20, pp. 2177-2188, doi:10.1002/cmdc.201800393, ISSN 1860-7179 in particular, fig. 1	1-9
Y	AHN, K. et al. Novel mechanistic class of fatty acid amide hydrolase inhibitors with remarkable selectivity. <i>Biochemistry</i> . 2007, vol. 46, no. 45, pp. 13019-13030, doi:10.1021/bi701378g, ISSN 0006-2960 in particular, fig. 1	1-9
Y	JAISWAL, S. et al. Synthesis and evaluation of dual fatty acid amide hydrolase-monoacylglycerol lipase inhibition and antinociceptive activities of 4-methylsulfonylaniline-derived semicarbazones. <i>Bioorganic & Medicinal Chemistry</i> . 2022, vol. 60, 116698, doi:10.1016/j.bmc.2022.116698, ISSN 0968-0896 in particular, fig. 1	1-9

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

A61K 45/00(2006.01)i; A61K 31/27(2006.01)i; A61K 31/496(2006.01)i; A61K 31/501(2006.01)i;
A61K 31/4439(2006.01)i; A61K 31/4545(2006.01)i; A61K 31/4709(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i;
A61K 45/06(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 37/04(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i
FI: A61K45/00; A61K31/27; A61K31/4439; A61K31/4545; A61K31/4709; A61K31/496; A61K31/501; A61K39/395
E; A61K39/395 T; A61K39/395 U; A61K45/06; A61P35/00; A61P37/04; A61P43/00 111; A61P43/00 121

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

A61K45/00; A61K31/27; A61K31/4439; A61K31/4545; A61K31/4709; A61K31/496; A61K31/501; A61K39/395;
A61K45/06; A61P35/00; A61P37/04; A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報1922-1996年
日本国公開実用新案公報1971-2024年
日本国実用新案登録公報1996-2024年
日本国登録実用新案公報1994-2024年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN); PubMed; 医中誌Web

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	塚本 博丈, 老化に伴う免疫機能低下を基軸にしたがん免疫療法の効果増強戦略の開 発, Precision Medicine, 2020, 第3巻, 第14号, p.1334-1339, ISSN 2434-3625 特に, p.1335-1336 「2. 高齢がん個体はPD-1阻害療法に対して低感受性を示 す」, 図1	1-9
Y	TSUKAMOTO, H. et al., Combined Blockade of IL6 and PD-1/PD-L1 Signaling Abrogates Mutual Regulation of Their Immunosuppressive Effects in the Tumor Microenvironment, Cancer Research, 2018, Vol.78, No.17, p.5011-5022, doi:10.1158/0008-5472.CAN-18-0118, ISSN 0008-5472 特に, p.5011 「Abstract」, p.5016-5017 「Combined blockade of IL6 and PD- L1 signalings exerted synergistic antitumor effects」, Figure 6	1-9

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に
公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若し
くは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を
付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の
後に公表された文献

“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵
触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引
用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性
又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献
との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がな
いと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日
19.06.2024

国際調査報告の発送日
02.07.2024

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員（特許庁審査官）

春田 由香 4U 4147

電話番号 03-3581-1101 内線 3439

様式 PCT/ISA/210（第2ページ）（2022年7月）

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	CHIURCHIU, V. et al., Anti-Inflammatory Effects of Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibition in Monocytes/Macrophages from Alzheimer's Disease Patients, Biomolecules, 2021, Vol.11, No.4, 502, doi:10.3390/biom11040502, ISSN 2218-273X 特に, p.1「Abstract」, Figure 4	1-9
Y	JAISWAL, S., & AYYANNAN, S. R., Anticancer Potential of Small-Molecule Inhibitors of Fatty Acid Amide Hydrolase and Monoacylglycerol Lipase, ChemMedChem, 2021, Vol.16, No.14, p.2172-2187, doi:10.1002/cmdc.202100120, ISSN 1860-7179 特に, p.2176-2179「2. Anticancer Potential of FAAH Inhibitors」, p.2185 左欄第2段落-右欄第1段落, Figure 7, 23	1-9
Y	WASILEWSKI, A. et al., Fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitor PF-3845 reduces viability, migration and invasiveness of human colon adenocarcinoma Colo-205 cell line: an in vitro study, Acta Biochimica Polonica, 2017, Vol.64, No.3, p.519-525, doi:10.18388/abp.2017_1520, ISSN 0001-527X 特に, p.519 要約, p.521「PF-3845, but not JZL-184 and RHC-80267, significantly decreased the Colo-205 cell viability」, p.522「PF-3845 significantly reduces migration and invasiveness of the Colo-205 cells」, Figure 1, 2, 5, 6	1-9
Y	KISS, L. E. et al., Discovery of a Potent, Long-Acting, and CNS-Active Inhibitor (BIA 10-2474) of Fatty Acid Amide Hydrolase, ChemMedChem, 2018, Vol.13, No.20, p.2177-2188, doi:10.1002/cmdc.201800393, ISSN 1860-7179 特に, Figure 1	1-9
Y	AHN, K. et al., Novel mechanistic class of fatty acid amide hydrolase inhibitors with remarkable selectivity, Biochemistry, 2007, Vol.46, No.45, p.13019-13030, doi:10.1021/bi701378g, ISSN 0006-2960 特に, FIGURE 1	1-9
Y	JAISWAL, S. et al., Synthesis and evaluation of dual fatty acid amide hydrolase-monoacylglycerol lipase inhibition and antinociceptive activities of 4-methylsulfonylaniline-derived semicarbazones, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2022, Vol.60, 116698, doi:10.1016/j.bmc.2022.116698, ISSN 0968-0896 特に, Fig. 1	1-9