

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6283665号  
(P6283665)

(45) 発行日 平成30年2月21日 (2018. 2. 21)

(24) 登録日 平成30年2月2日 (2018. 2. 2)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 39/395 (2006. 01)	A 6 1 K 39/395 Z M D T
A 6 1 P 35/00 (2006. 01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 43/00 (2006. 01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1
A 6 1 K 31/485 (2006. 01)	A 6 1 K 31/485
C O 7 K 16/30 (2006. 01)	C O 7 K 16/30 Z N A

請求項の数 16 (全 47 頁)

(21) 出願番号	特願2015-517621 (P2015-517621)	(73) 特許権者	509343116
(86) (22) 出願日	平成24年7月31日 (2012. 7. 31)		アペイロン・バイオロジックス・アクチェンゲゼルシャフト
(65) 公表番号	特表2015-521607 (P2015-521607A)		A P E I R O N B i o l o g i c s A G
(43) 公表日	平成27年7月30日 (2015. 7. 30)		オーストリア、アー―1030ウィーン、
(86) 国際出願番号	PCT/EP2012/064970		キャンパス―ビエンナーバイオセンター5
(87) 国際公開番号	W02013/189554	(74) 代理人	100106518
(87) 国際公開日	平成25年12月27日 (2013. 12. 27)		弁理士 松谷 道子
審査請求日	平成27年7月30日 (2015. 7. 30)	(74) 代理人	100138900
(31) 優先権主張番号	PCT/EP2012/061618		弁理士 新田 昌宏
(32) 優先日	平成24年6月18日 (2012. 6. 18)	(72) 発明者	ハンス・ロイプナー
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		オーストリア、アー―1230ヴィエナ、
			ハイムガッセ23番
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 GD2陽性癌を治療するための方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1 ~ 25 mg / m<sup>2</sup> の日用量で且つ 50 ~ 150 mg / m<sup>2</sup> / サイクルの用量で、1日あたり24時間の連続静脈内輸注として患者に投与することによるGD2陽性癌の処置において用いるための、ch14.18抗体を含む調製物であって、ch14.18抗体を含む医薬組成物の非連続な輸注スケジュールと比較して疼痛の副作用が実質的に減少する、調製物。

【請求項 2】

調製物が、50、60、75、80、100、120または150 mg / m<sup>2</sup> / サイクルの用量で患者に投与される、請求項1記載の調製物。

【請求項 3】

調製物が、1 ~ 15または1 ~ 20 mg / m<sup>2</sup> の日用量で患者に投与される、請求項1または2に記載の調製物。

【請求項 4】

調製物が、1、2、3、4、5、6、7、7.5、8、9、10、12、15、20または25 mg / m<sup>2</sup> の日用量で患者に投与される、請求項1 ~ 3のいずれかに記載の調製物。

【請求項 5】

調製物が、25 mg / m<sup>2</sup> 未満の日用量で患者に投与される、請求項1 ~ 4のいずれかに記載の調製物。

10

20

## 【請求項 6】

調製物が、 $10\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ の用量で10日間連続して、または15、20または25  $\text{mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ の用量で4日間連続して患者に投与される、請求項1～5のいずれかに記載の調製物。

## 【請求項 7】

c h 1 4 . 1 8 抗体が c h 1 4 . 1 8 / C H O または c h 1 4 . 1 8 / S P 2 / 0 である請求項1～6のいずれかに記載の調製物。

## 【請求項 8】

c h 1 4 . 1 8 抗体が配列番号3の軽鎖アミノ酸配列と配列番号4の重鎖アミノ酸配列を有する請求項1～7のいずれかに記載の調製物。

10

## 【請求項 9】

c h 1 4 . 1 8 抗体を含む調製物が2以上の処置サイクルで投与される、請求項1～8のいずれかに記載の調製物。

## 【請求項 10】

c h 1 4 . 1 8 抗体を含む調製物が、3、4、5、6、7、8、9または10の処置サイクルで投与される、請求項1～8のいずれかに記載の調製物。

## 【請求項 11】

c h 1 4 . 1 8 抗体を含む調製物が、A P N 3 1 1 であって2以上の処置サイクルについて  $10\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ の用量で10日間連続して投与される、または c h 1 4 . 1 8 抗体が c h 1 4 . 1 8 / S P 2 / 0 であって2以上の処置サイクルについて15、20または25  $\text{mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ の用量で4日間連続して患者に投与される、請求項1～10のいずれかに記載の調製物。

20

## 【請求項 12】

c h 1 4 . 1 8 抗体を含む調製物の投与に先行して、またはそれと共に I L - 2 および / または G M - C S F または他のサイトカインの投与を行う、請求項1～11のいずれかに記載の調製物。

## 【請求項 13】

a) 本発明の c h 1 4 . 1 8 抗体を含有する調製物の1日以上連続静脈内輸注の間におよび / または全てのモルヒネ処置日に投与されるモルヒネの日用量が、抗体の非連続的な投与の間のモルヒネの日用量よりも低い；

30

b) モルヒネが、c h 1 4 . 1 8 抗体を含有する調製物が投与される日のすべてではなく何日間かのみ投与される；

c) 本発明の c h 1 4 . 1 8 抗体を含有する調製物の連続的な静脈内輸注を含む1つ以上の処置サイクルの間に投与される処置サイクルあたりのモルヒネ用量が、c h 1 4 . 1 8 抗体を含有する調製物の非連続的な輸注スケジュールでの処置サイクルあたりのモルヒネ用量よりも低い；

d) 全処置期間のモルヒネ投与量が、非連続的な輸注スケジュールにおける全処置期間のモルヒネ用量よりも低い；

e) 本発明の c h 1 4 . 1 8 抗体を含有する調製物の1時間以上または1日以上抗体の連続静脈内輸注の間におよび / またはモルヒネ処置の全ての時間または日に投与されるモルヒネ用量が、50  $\text{mcg} / \text{kg} / \text{時}$  よりも低い、または30  $\text{mcg} / \text{kg} / \text{時}$  よりも低い；または

40

f) 本発明の c h 1 4 . 1 8 抗体を含有する調製物の1日以上連続静脈内輸注の間におよび / またはモルヒネ処置の全ての日に投与されるモルヒネの日用量が、0.9、0.72、0.48、0.38、0.4375 および / または0.205  $\text{mg} / \text{kg} / \text{日}$  よりも低い、請求項1～12のいずれかに記載の調製物。

## 【請求項 14】

1つ以上の鎮痛剤、特にモルヒネ、の用量が、全処置期間に、処置サイクルにおいて、処置サイクルの抗体処置期間に、ある抗体処置日から次の抗体処置日までの間に、および / またはある処置サイクルから次の処置サイクルまでの間で、減少する、請求項1～13

50

のいずれかに記載の調製物。

【請求項 15】

G D 2 陽性癌が、神経芽細胞腫、神経膠芽腫、髄芽腫、星状細胞腫、メラノーマ、小細胞肺癌、線維形成性小円形細胞腫瘍、骨肉腫、横紋筋肉腫、またはその他の軟部肉腫である、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の調製物。

【請求項 16】

患者が、一次不応性または再発の高リスクの神経芽細胞腫、または高リスクの神経芽細胞腫における微小な残存疾患に罹患している、請求項 1 ~ 15 のいずれかに記載の調製物。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗 G D 2 抗体を含む調製物を一日あたり 24 時間の連続静脈内輸注として患者へ投与することにより、G D 2 陽性の癌を治療する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

神経芽細胞腫は、脳がんの後、5 歳未満の小児で最も頻度の高い固形癌である。危険度の高い神経芽細胞腫では、標準的な治療を受けている患者の半数以上は、再発があり、最終的にこの疾患で死亡する。90%が0~6歳の間に発症する。先進国での世界的な発生率は年間約2000例である。

20

【0003】

腫瘍学における特定の抗原に対するモノクローナル抗体の使用は増えてきている。トラスツズマブ、セツキシマブ、ペバシズマブ、リツキシマブなどで示されるように、細胞毒性の治療法と比べて作用様式の全く異なることにより有用である。ジシアロガングリオシド G D 2 は、主に細胞表面上に発現するスフィンゴ糖脂質である。正常組織における G D 2 の発現はまれで、主に中枢神経系 (C N S)、末梢神経およびメラノ部位に限定される。癌細胞では、G D 2 は神経芽細胞腫およびほとんどのメラノーマにおいては均一に、そして骨および軟組織肉腫、小細胞肺癌、腎細胞癌、および脳腫瘍では様々な程度で表現する (Navid et al., Curr Cancer Drug Targets 2010)。G D 2 は、細胞表面上のその存在と組み合わせて比較的腫瘍選択的に発現するため、抗体ベースの癌免疫療法のための標的としては有望である。

30

【0004】

したがって、いくつかの抗 G D 2 抗体は、神経芽細胞腫、メラノーマおよび他の G D 2 関連癌における前臨床および臨床試験の対象となる。

【0005】

A P N 3 1 1 は、市販の抗体を製造するための標準的な哺乳動物細胞系であるチャイニーズハムスター卵巣 (C H O) 細胞中で組換え的に産生されるキメラモノクローナル抗 G D 2 抗体 c h 1 4 . 1 8 の調製物である。再発 / 難治性神経芽細胞腫患者の寛解の第 I 相臨床試験では、この抗体を単剤として用いて行われた。A P N 3 1 1 での治療を含む第 I I 相試験は、小児腫瘍学欧州神経芽腫学会 (S I O P E N) により 2006 年に開始され、現在、イソトレチノイン (シス - レチノイン酸 (シス R A)) 併用の A P N 3 1 1 での治療 (皮下 I L - 2 ありまたはなし) に関連するイベントフリーおよび全生存率に対する効果を調べている。4 つの薬物 (即ち、S P 2 / 0 マウスハイブリドーマ細胞中で産生される関連する抗体と、静脈インターロイキン - 2 (I L - 2)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (G M - C S F) およびイソトレチノイン) の治療パッケージを用いた対応する米国試験では、神経芽細胞腫の小児において興味深い生存率の改善が初期治療後に完全寛解の形でみられ、疾患の兆候は認められなかった。

40

【0006】

A P N 3 0 1 は、融合タンパク質として、ヒト化抗 G D 2 抗体 (h u 1 4 . 1 8) および I L - 2 を含む免疫サイトカインの調製物である。抗体部分は、神経芽細胞腫やいくつ

50

かの他の癌で強く発現される G D 2 抗原に特異的に結合する。I L - 2 は、複数の免疫エフェクター細胞タイプを補充するサイトカインである。神経芽細胞腫の患者では、A P N 3 0 1 を、抗体成分を介して、G D 2 陽性腫瘍細胞に局在化するように設計される。融合した I L - 2 は、N K および T 細胞両方の活性化によって腫瘍に対する患者の免疫系を刺激し、一方、抗体の F c 部分は、抗体依存性細胞傷害 ( A D C C ) と補体依存性細胞傷害 ( C D C ) による腫瘍細胞死滅を誘発するように設計される。免疫サイトカインは、再発 / 難治性神経芽細胞腫の小児における第 I I 相臨床試験 ( Shusterman ら、JCO 2010 ) において活性を示し、また、後期の悪性メラノーマにおける第 I / I I 相試験でも試験され免疫活性を示した。

#### 【 0 0 0 7 】

10

研究または開発中の他の抗 G D 2 抗体には、例えば、モノクローナル抗体 3 F 8 ( 第 I I 相マウス、および第 I 相ヒト化抗体 )、及び 8 B 6 ( O - アセチル化 G D 2 に特異的、前臨床 ) がある。さらに、抗イディオタイプ抗体 ( 例えば 4 B 5、1 A 7、および A 1 G 4 など ) が潜在的な腫瘍ワクチンとして検討されていたが、その開発は中止されているようである。W O 2 0 0 8 / 0 4 9 6 4 3 には、G D 2 エピトープを模擬する ( すなわち G D 2 ミモトープ ) 抗イディオタイプ抗体が記載されている。

#### 【 0 0 0 8 】

1 4 . 1 8 抗 G D 2 抗体の別のバージョンは h u 1 4 . 1 8 K 3 2 2 A ( W O 2 0 0 5 / 0 7 0 9 6 7 に記載 ) であり、これは、例えば、A D C C 増強に適切な細胞株 ( 例えば、Y B 2 / 0 ) での発現によって、C D C が減少するが A D C C は維持されるような F c 領域中の点突然変異を有している。C D C の減少は、抗体治療に伴う疼痛の減少をもたらすと考えられている。

20

#### 【 0 0 0 9 】

抗体の抗腫瘍活性は、一般に、補体依存性細胞傷害 ( C D C または補体結合 ) または抗体依存性細胞媒介性細胞傷害 ( A D C C ) のいずれかを介して起こる。これらの 2 つの活性は、「エフェクター機能」として当該分野で公知であり、特に I g G クラスの抗体によって媒介される。I g G 4 以外の I g G サブクラスは ( I g G 1、I g G 2、I g G 3 ) はいずれも、A D C C とある程度の補体結合を媒介し、I g G 1 および I g G 3 は両方の活性についてもっとも強い。A D C C は、ナチュラルキラー上の F c 受容体 ( N K ) 細胞および / または免疫細胞 ( エフェクター細胞 ) を有する他の F c 受容体が細胞表面上の抗原に結合した抗体の F c 領域に結合した場合に起きると考えられている。F c 受容体結合がエフェクター細胞にシグナルを伝達し、標的細胞を死滅させる。C D C は複数のメカニズムによって起こると考えられており、その 1 つは抗体が細胞表面上の抗原に結合すると開始される。抗原 - 抗体複合体が形成されると、C 1 q 分子は、抗原 - 抗体複合体に結合すると考えられている。次いで、C 1 q は自分自身を切断して他の補体タンパク質の酵素的活性化および切断のカスケードを開始し、それらは標的細胞表面に結合し、例えば、細胞溶解および / またはマクロファージによる摂取を介して細胞死を促進する。

30

#### 【 0 0 1 0 】

しかし、C D C は、特に抗 G D 2 抗体について、痛みの副作用を引き起こすと考えられている。W O 2 0 0 5 / 0 7 0 9 6 7 に記載されるように、このプロセスは、制御されないイオン流束を可能にする細胞膜内のチャネルの作成が含まれているため、ニューロンは、補体結合に特に敏感である。痛みを感じるニューロンでは、補体結合がたとえ少量であっても、作用を生じるには十分であり得る。即ち、神経細胞に結合する抗 G D 2 抗体から生じる C D C は、いかなる量であっても痛みを引き起こす。

40

#### 【 0 0 1 1 】

したがって、従来技術は、補体結合を副作用のレベルを低減するよう減らすことが有利であること、そして G D 2 抗体の抗腫瘍活性が、実質的に補体結合からではなく、主に A D C C から生じるものであることを教示している ( 例えば、W O 2 0 0 5 / 0 7 0 9 6 7 参照 )。

#### 【 発明の概要 】

50

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0012】

対照的に、本発明の重要な態様は、CDCアッセイまたは全血液検査(WBT)によって測定される抗GD2抗体の細胞溶解能力が、抗GD2抗体の抗腫瘍効果に不可欠であるということである。CDCまたはADCCアッセイとは対照的に、そのようなWBTアッセイは、ヘパリン化全血試料の溶解能を測定する。このように、単独のエフェクターメカニズムに焦点を当てるだけでなく、ADCC及びCDCの組み合わせ(さらに、腫瘍細胞に対する溶解能力に関連するヘパリン化全血試料中に存在する任意の他の構成要素および/またはメカニズム)を生理学的に測定する。したがって、本発明の方法により、抗体の投与量を、CDCアッセイまたはWBTによって決定される標的細胞の溶解のために必要最小限の用量に低減することができる。さらに、本発明の方法は、考慮患者の抗腫瘍応答の個人差を考慮し、個別に有効な抗体の量を決定することが可能である。本発明のもう1つの重要な側面は、CDC及び/又は全血細胞溶解活性を誘発するために投与する抗GD2抗体の閾値用量を決定することによって、痛みの副作用を軽減し、管理することが可能であるということである。本発明のもう1つの重要な知見は、患者の既定の総用量が投与されるまで、抗GD2抗体を連続輸注として投与することによって、疼痛の副作用を実質的に減少させることができるということである。したがって、本発明の方法によって、抗体治療中、鎮痛投与、特にモルヒネなどの強力な鎮痛薬の投与、を実質的に低減することが可能であり、したがって、そのような鎮痛薬の投与の副作用を実質的に低減する。

10

## 【課題を解決するための手段】

20

## 【0013】

一態様において、本発明は、一日あたり24時間の連続静脈内輸注として抗GD2抗体を含む調製物を患者へ投与することにより、GD2陽性の癌を治療するための方法に関する。抗GD2抗体を含む調製物はミニポンプを用いて投与することができ、患者の既定の総用量が投与されるまでの処置期間にわたって投与することができる。

## 【0014】

別の態様において、本発明は、抗GD2抗体を含む調製物を患者へ投与することにより、GD2陽性の癌を治療するための方法であって、該調製物が、腫瘍細胞溶解を誘導するのに十分な用量(細胞溶解の閾値用量)で投与され、該細胞溶解の閾値用量が、患者の既定の総用量が投与されるまでの処置期間にわたって投与される方法に関する。

30

## 【0015】

関連する態様において、本発明は、前記治療において使用するための抗GD2抗体を提供する。さらなる関連する態様において、本発明は、前記治療のための医薬の製造における抗GD2抗体の使用を提供する。本発明はさらに、特許請求の範囲によって定義される。本明細書にさらに記載された本発明の好ましい実施形態はいずれも、同様に本発明の全ての態様に関連している。

## 【発明の効果】

## 【0016】

意外にも、細胞溶解能力(例えばCDCアッセイによりまたはWBTによって測定された)によって決定された用量での抗GD2抗体を含む調製物による治療は、癌の治療において、特に、痛みなどの副作用に対して、有益な効果を有することが分かった。

40

抗GD2抗体を含む調製物を、CDC及び/又は全血細胞溶解を誘導するのに十分であるが、可能な限り低い用量で投与され、そして、患者の総用量が投与されるまで処置期間にわたってその細胞溶解の閾値用量にて投与される場合、痛みを実質的に低減することができる。したがってモルヒネまたは他の鎮痛薬の投与を実質的に減らす、さらには止めることができる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0017】

【図1】図1は、APN311の存在下で2人の健康なドナーのWBT(<sup>51</sup>Cr標識標的ヒト神経芽腫細胞を用いたヘパリン化全血)およびCDCアッセイ(<sup>51</sup>Cr標識標的

50

ヒト神経芽腫細胞を用いたヘパリン血漿)の結果を示す。図から分かるように、2人のドナーの間でWBT溶解に実質的な差がある:  $2 \text{ ng/mL}$  (全血) 対  $10 \text{ ng/mL}$  (全血) のAPN311濃度で50%の溶解に到達する。しかし、CDCには差がなく、いずれのドナーも  $1000 \text{ ng/mL}$  (血漿) のAPN311濃度で50%の溶解に到達する。どちらのアッセイ(WBT及びCDCアッセイ)も、同じインキュベーション時間(20時間)と補体の最終濃度を用いた。

【図2】図2は、APN311またはAPN301の存在下で1人の健康なドナーのWBT( $^{51}\text{Cr}$ 標識標的ヒト神経芽腫細胞を用いたヘパリン化全血)およびCDCアッセイ( $^{51}\text{Cr}$ 標識標的ヒト神経芽腫細胞を用いたヘパリン血漿)の結果を示す。2つの調製物間でWBT溶解に実質的な違いがある: APN311は  $21 \text{ ng/mL}$  (全血) の濃度、APN301は  $234 \text{ ng/mL}$  (全血) の濃度で50%の溶解に達する。しかし、CDCの差は実質的により少なく: APN311は  $470 \text{ ng/mL}$  (血漿) の濃度でAPN301は  $619 \text{ ng/mL}$  (血漿) の濃度で50%の溶解に達する。

10

【図3】図3は、 $5 \text{ g/mL}$  のAPN311を添加した健康なドナーの全血または血漿を、APN311で治療された患者の全血または血漿と比較した、WBTとCDCアッセイの結果を示す。患者の試料は、この場合、処置サイクルの第17日(即ち、APN311による処置期間(この場合の処置期間は第8日~第18日)の終了時)に採取した。

【図4】図4は、図3に示したのと同様のWBTを、標的細胞の溶解を阻害する特異的な抗イディオタイプ(抗ID)抗体を5倍過剰で添加した同じサンプルと比較した結果を示す。

20

【図5】図5は、図3に示したのと同様のCDCアッセイを、標的細胞の溶解を阻害する特異的な抗イディオタイプ(抗ID)抗体を5倍過剰で添加した同じサンプルと比較した結果を示す。

【図6】図6は、患者の血清中のAPN311の薬物動態を示す。平均血清レベルの上の数字は、サンプル収集のこの日における当該平均に含まれる患者の数を示す。APN311による処置期間は、第8日~第18日とし、IL-2による2つの処置期間は、処置サイクルの第1日~第5日と第12日~第18日とした。

【図7】図7は、APN311で処置した37人の患者の処置サイクルの第1日、第8日および第15日での、カルセイン放出CDCアッセイによって測定される、CDCアッセイの結果を示す。APN311による処置期間は、IL-2による2つの処置期間を、第1日~第5日と第8日~第12日とした。

30

【図8】他の治療と組み合わせた抗GD2抗体を含む調製物を用いた治療のための治療スケジュール例の概略を示す。

【図9】他の治療と組み合わせた抗GD2抗体を含む調製物を用いた治療のための治療スケジュール例の概略を示す。

【図10】図10は、37人の患者の規定の標準輸注速度( $30 \text{ mcg/kg/h}$ )のAPN311連続輸注中に使用したモルヒネ量(平均値)を%で示したものである。抗体輸注は常に第8日に開始した。

【図11】図11は、それぞれ処置サイクルのステージが異なる患者の血液サンプルで得た細胞溶解結果を示す。データは、適用した治療スケジュールを標準化した形式で示す。即ち、APN311(用量  $100 \text{ mg/m}^2$  /サイクル、ミニポンプによる連続輸注を10日間、静脈内); アルデスロイキン(IL2)(用量  $60 \times 10^6 \text{ IU/m}^2$  /サイクル、1サイクルにつき10日間、5日間を2回、 $6 \times 10^6 \text{ IU/m}^2$  /日(皮下); および13-シスレチノイド酸(イソトレチノイン)(用量  $2240 \text{ mg/m}^2$  /日/サイクル、14日間投与(1日1回、 $160 \text{ mg/m}^2$  /日、経口)。全体的な処置期間は、35日間の1サイクルを5サイクル行い、36日目は、第2の処置サイクルの初日である。APN311による処置期間の初め(すなわち、初日)に採取した血液試料は、APN311治療を開始する前に採取した(処置サイクルの8日目に相当)(表8も参照)。

40

【図12】図12は、それぞれ処置サイクルのステージが異なる患者の血液サンプルで得た細胞溶解結果を示す。データは、適用した治療スケジュールを標準化した形式で示す。

50

即ち、APN311（用量  $100 \text{ mg} / \text{m}^2$  / サイクル、ミニポンプによる連続輸注を 10 日間、静脈内）；アルデスロイキン（IL2）（用量  $60 \times 10^6 \text{ IU} / \text{m}^2$  / サイクル、1 サイクルにつき 10 日間、5 日間を 2 回、 $6 \times 10^6 \text{ IU} / \text{m}^2$  / 日（皮下）；および 13 - シスレチノイド酸（イソトレチノイン）（用量  $2240 \text{ mg} / \text{m}^2$  / 日 / サイクル、14 日間投与（1 日 1 回、 $160 \text{ mg} / \text{m}^2$  / 日、経口）。全体的な処置期間は、35 日間の 1 サイクルを 5 サイクル行い、36 日目は、第 2 の処置サイクルの初日である。APN311 による処置期間の初め（すなわち、初日）に採取した血液試料は、APN311 治療を開始する前に採取した（処置サイクルの 8 日目に相当）（表 8 も参照）。

【図 13】図 13 は、それぞれ処置サイクルのステージが異なる患者の血液サンプルで得た細胞溶解結果を示す。データは、適用した治療スケジュールを標準化した形式で示す。

10

即ち、APN311（用量  $100 \text{ mg} / \text{m}^2$  / サイクル、ミニポンプによる連続輸注を 10 日間、静脈内）；アルデスロイキン（IL2）（用量  $60 \times 10^6 \text{ IU} / \text{m}^2$  / サイクル、1 サイクルにつき 10 日間、5 日間を 2 回、 $6 \times 10^6 \text{ IU} / \text{m}^2$  / 日（皮下）；および 13 - シスレチノイド酸（イソトレチノイン）（用量  $2240 \text{ mg} / \text{m}^2$  / 日 / サイクル、14 日間投与（1 日 1 回、 $160 \text{ mg} / \text{m}^2$  / 日、経口）。全体的な処置期間は、35 日間の 1 サイクルを 5 サイクル行い、36 日目は、第 2 の処置サイクルの初日である。APN311 による処置期間の初め（すなわち、初日）に採取した血液試料は、APN311 治療を開始する前に採取した（処置サイクルの 8 日目に相当）（表 8 も参照）。

【図 14】図 14 は、それぞれ処置サイクルのステージが異なる患者の血液サンプルで得た細胞溶解結果を示す。データは、適用した治療スケジュールを標準化した形式で示す。

20

即ち、APN311（用量  $100 \text{ mg} / \text{m}^2$  / サイクル、ミニポンプによる連続輸注を 10 日間、静脈内）；アルデスロイキン（IL2）（用量  $60 \times 10^6 \text{ IU} / \text{m}^2$  / サイクル、1 サイクルにつき 10 日間、5 日間を 2 回、 $6 \times 10^6 \text{ IU} / \text{m}^2$  / 日（皮下）；および 13 - シスレチノイド酸（イソトレチノイン）（用量  $2240 \text{ mg} / \text{m}^2$  / 日 / サイクル、14 日間投与（1 日 1 回、 $160 \text{ mg} / \text{m}^2$  / 日、経口）。全体的な処置期間は、35 日間の 1 サイクルを 5 サイクル行い、36 日目は、第 2 の処置サイクルの初日である。APN311 による処置期間の初め（すなわち、初日）に採取した血液試料は、APN311 治療を開始する前に採取した（処置サイクルの 8 日目に相当）（表 8 も参照）。

【図 15】図 15 は、それぞれ処置サイクルのステージが異なる患者の血液サンプルで得た細胞溶解結果を示す。データは、適用した治療スケジュールを標準化した形式で示す。

30

即ち、APN311（用量  $100 \text{ mg} / \text{m}^2$  / サイクル、ミニポンプによる連続輸注を 10 日間、静脈内）；アルデスロイキン（IL2）（用量  $60 \times 10^6 \text{ IU} / \text{m}^2$  / サイクル、1 サイクルにつき 10 日間、5 日間を 2 回、 $6 \times 10^6 \text{ IU} / \text{m}^2$  / 日（皮下）；および 13 - シスレチノイド酸（イソトレチノイン）（用量  $2240 \text{ mg} / \text{m}^2$  / 日 / サイクル、14 日間投与（1 日 1 回、 $160 \text{ mg} / \text{m}^2$  / 日、経口）。全体的な処置期間は、35 日間の 1 サイクルを 5 サイクル行い、36 日目は、第 2 の処置サイクルの初日である。APN311 による処置期間の初め（すなわち、初日）に採取した血液試料は、APN311 治療を開始する前に採取した（処置サイクルの 8 日目に相当）（表 8 も参照）。

【図 16】図 16 は、それぞれ処置サイクルのステージが異なる患者の血液サンプルで得た細胞溶解結果を示す。データは、適用した治療スケジュールを標準化した形式で示す。

40

即ち、APN311（用量  $100 \text{ mg} / \text{m}^2$  / サイクル、ミニポンプによる連続輸注を 10 日間、静脈内）；アルデスロイキン（IL2）（用量  $60 \times 10^6 \text{ IU} / \text{m}^2$  / サイクル、1 サイクルにつき 10 日間、5 日間を 2 回、 $6 \times 10^6 \text{ IU} / \text{m}^2$  / 日（皮下）；および 13 - シスレチノイド酸（イソトレチノイン）（用量  $2240 \text{ mg} / \text{m}^2$  / 日 / サイクル、14 日間投与（1 日 1 回、 $160 \text{ mg} / \text{m}^2$  / 日、経口）。全体的な処置期間は、35 日間の 1 サイクルを 5 サイクル行い、36 日目は、第 2 の処置サイクルの初日である。APN311 による処置期間の初め（すなわち、初日）に採取した血液試料は、APN311 治療を開始する前に採取した（処置サイクルの 8 日目に相当）（表 8 も参照）。

【図 17】図 17 は、異なる 2 つのスケジュールにおける抗体輸注の間に投与したモルヒネの初期輸注速度（SIOPEN 第 I 相試験用：8 時間の抗体輸注をその後 5 日間；持続

50

輸注パイロットスケジュールとして24時間抗体輸注をその後10日間)、並びに必要とされた追加のモルヒネ投与(ボラスとして)およびモルヒネ輸注速度またはモルヒネの投与量の増加を示す。

【発明を実施するための形態】

【0018】

一態様において、本発明は、抗GD2抗体を含む調製物を一日あたり24時間の連続静脈内輸注として患者へ投与することにより、GD2陽性の癌を治療する方法に関する。抗GD2抗体を含む調製物は、患者の既定の総用量が投与されるまでの処置期間にわたって投与することができる。

【0019】

別の態様において、本発明は、抗GD2抗体を含む調製物を患者へ投与することにより、GD2陽性の癌を治療するための方法であって、該調製物が、腫瘍細胞溶解を誘導するのに十分な用量(細胞溶解の閾値用量)で投与され、該細胞溶解の閾値用量が、患者の既定の総用量が投与されるまでの処置期間にわたって投与される方法に関する。

【0020】

いくつかの実施形態では、抗GD2抗体を含む調製物は、腫瘍細胞溶解を誘発するのに十分な用量(細胞溶解の閾値用量)で患者に投与され、調製物は、一日あたり24時間の連続静脈内輸注として投与される。他の実施形態では、抗GD2抗体を含む調製物は、腫瘍細胞溶解を誘発するのに十分な用量(細胞溶解の閾値用量)で患者に投与され、調製物は、一日あたり24時間の連続静脈内輸注として投与され、該細胞溶解の閾値用量が、患者の既定の総用量が投与されるまでの処置期間にわたって投与される。

【0021】

ある特定の実施形態では、細胞溶解閾値用量は、抗GD2抗体を含む調製物の治療的有効量である。この治療有効量は、患者の血清または血漿またはヘパリン化全血を用いてCDCアッセイまたはWBTによって決定することができる。いくつかの実施形態では、細胞溶解閾値用量は、例えばCDCアッセイまたはWBTで細胞溶解をある一定レベルで誘導すると判断される、最小の細胞溶解閾値用量である。一実施形態では、細胞溶解の閾値用量は、CDCアッセイまたはWBTのそれぞれのアッセイで最大限可能な標的細胞溶解の30%を誘導すると決定された用量である。特定の実施形態では、細胞溶解閾値用量は、

それぞれのアッセイ(具体的なCDCアッセイまたはWBT)で最大限可能な標的細胞溶解の35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%またはこれらのレベルの間の任意の範囲を達成する用量である。例えば、実施例2および3で実施したように、また図1、2及び7に示すように、CDCまたは全血の溶解曲線を決定するために、抗GD2抗体を含む調製物のいくつかの濃度を、ドナーの血液または血漿中に加えるか、または抗GD2抗体を含む調製物で処置された患者の血液または血漿中に既に存在する。抗GD2抗体の測定された濃度間の曲線を描くことによって、ある特定の閾値細胞溶解(例えば、最大限可能な標的細胞溶解の50%)を達成する抗GD2抗体の用量または濃度を決定することができる。図1の例では、50%の細胞溶解(例えば最大限可能な標的細胞溶解の50%)の閾値は、WBTでは各ドナーの2~10ng/mL(全血)の濃度、CDCアッセイでは1000ng/mL(血清または血漿)で達成される。この例では、閾値細胞溶解は50%である。

【0022】

本明細書で使用される用語「閾値細胞溶解」および/または「細胞溶解のレベル」は、CDCアッセイまたはWBTにおける、血清、血漿又は全血中の細胞溶解の閾値用量を決定するために特定される、具体的なCDCアッセイまたはWBTにおける標的細胞の溶解のレベルを意味する。

【0023】

いくつかの実施形態では、閾値細胞溶解は、全処置期間において、患者が抗GD2抗体を含む調製物で処理されていない1またはそれ以上の時点(即ち、その患者が全処置期間

10

20

30

40

50



にわたって抗G D 2抗体を含む調製物で継続的に治療されるわけではない場合があるとすれば、抗G D 2抗体を含む調製物で治療される期間の間のインターバル)でさえ維持される。ある特定の実施形態では、細胞溶解のレベルはその処置サイクルの全体にわたって維持される。幾つかの実施形態では、細胞溶解のレベルはその処置期間の全体にわたって維持される。

【0024】

図11、図13、および図15に示されるように、30%~50%の増大した細胞溶解のレベルが、患者が抗G D 2抗体を含む調製物で処理されていないインターバル期間中にも維持されている。

【0025】

一実施形態では、細胞溶解の閾値用量は患者ごとに個別に決定される。

【0026】

本明細書で使用される「患者の既定の総用量」なる用語は、以下でさらに特定されるように、処置サイクルあたりの患者の総用量を意味するものとする。

【0027】

本明細書で用いられる「患者」という用語は、癌、特にG D 2陽性癌、に罹患している動物またはヒトの対象を意味する。

【0028】

範囲が記載されている場合、そのような範囲は、与えられた範囲(すなわち範囲の下限および上限)内の任意の範囲を含むものとする。例えば、範囲を1~5日とした場合、1、2、3、4、5日が含まれるものとする。このことは、他の任意の範囲(時間単位、例えば輸注時間)、任意の用量範囲(例えば、体表面積1m<sup>2</sup>あたり、体重1kgあたり、1日あたり、処置サイクルあたり)、輸注速度、濃度、パーセント、倍数、比、および数などが挙げられるがこれらに限定されない任意の他の範囲についても同様である。

【0029】

細胞溶解の閾値用量は、補体依存性細胞溶解(CDC)アッセイまたは全血液検査(WBT)によって決定することができる。WBTは、標的細胞または標的成分(すなわち、細胞、リボソームまたは溶解される他の細胞様コンパートメント)を患者由来の適切に抗凝固処理した全血と接触させるアッセイである。CDCアッセイは、例えば、当技術分野で知られているような標準的なCDCアッセイ(例えば、Indusogie et al., J Immunol 2000, Zeng et al., Molecular Immunology 2005、またはWO 2005/070967に記載のような)でありうる。CDCアッセイおよび/またはWBTは、治療すべきG D 2陽性癌の腫瘍細胞株等のG D 2陽性標的細胞を用いて行うことができる。例えば、治療されるべき患者が神経芽腫に罹患している場合は、細胞株は、例えばLAN-1ヒト神経芽細胞腫細胞などの神経芽細胞腫細胞株であってもよい。別の例では、治療されるべき患者がメラノーマに罹患している場合、細胞株は、例えばM21ヒトメラノーマ細胞などのメラノーマ細胞株であってもよい。さらに別の実施形態では、CDCアッセイおよび/またはWBTの標的細胞は、患者から得られた腫瘍細胞、すなわちその患者の自己腫瘍細胞である。別の実施形態では、CDCアッセイおよび/またはWBTの標的成分は、表面にG D 2を提示しているリボソームである。標的細胞または標的成分は、シグナル成分(例えば<sup>51</sup>Cr等の放射性成分またはカルセインなどの蛍光成分)で標識される。シグナリング成分は、標的細胞または標的成分によって構成される、即ち、標的細胞または標的成分の内部に存在し(例えば、シグナル成分で充填され、表面にG D 2を提示するリボソーム)、標的細胞の溶解の際に放出される。シグナリング化合物をロードした標的細胞または成分を特定の比率で全血、血清、または血漿と接触させる。全血、血漿または血清は、サンプルに加える前に、例えば1:2以上(例えば1:4、1:5あるいは1:10)またはこれらの比の間の任意の範囲の割合でCDCまたはWBTのために希釈してもよい。但し、希釈していないサンプルに加えてもよい。CDCまたはWBTにおける全血、血漿または血清の最終濃度は、例えば、10~50%の範囲であってもよい。標的細胞または標的成分の溶解は、シンチレーションカウンターまたは分光光度法により、該シグナリング成

10

20

30

40

50

分の放出によって測定することができる。例えば、標的細胞または標的成分の溶解は、シンチレーションカウンターにより、上清中に放出された<sup>51</sup>Crの量を決定することにより測定することができる。溶解のパーセンテージは、以下の式により求めることができる： $100 \times (\text{実験での放出} - \text{自発的な放出}) / (\text{最大放出} - \text{自然的な放出})$ 。

#### 【0030】

CDCアッセイのための細胞溶解成分（またはエフェクター成分）は、補体系の成分を含む患者またはドナーから得られた血清または適切に抗凝固処理した血漿により提供される。WBTのための細胞溶解成分（またはエフェクター成分）は、補体系の成分、並びに全ての細胞成分、またその標的細胞の溶解に関与し得る全血中に含まれる任意のさらなる成分、並びにすべての成分の相互作用（例えば、補体活性化は、顆粒球などの特定のエフェクター細胞を活性化することが知られている）を含む、患者またはドナーから得られた適切に抗凝固処理された全血により提供される。CDCおよび/またはWBTでは、血清、血漿又は全血は異なる希釈率で標的細胞または標的成分に添加してよい。

#### 【0031】

さらに、例えば標準曲線の生成のために、CDCアッセイおよび/またはWBTの1つ以上のサンプルには抗GD2抗体を異なる希釈率で加えることができる。

#### 【0032】

別の実施形態では、抗GD2抗体の可変ドメインを認識する1つ以上の抗イディオタイプ（抗-id）抗GD2抗体を、抗体によって媒介される標的細胞の溶解を阻害するため（例えばネガティブコントロールとして）、あるいはアッセイの特異性と抗-id抗体なしで測定される標的細胞の溶解が、抗体が媒介するものかまたは抗体に依存するものかを証明するため、サンプルに添加してもよい。

#### 【0033】

細胞溶解の閾値用量を、抗GD2抗体を含む調製物を用いた治療を開始する前の患者について決定する場合、抗GD2抗体又は抗GD2抗体を含む調製物を、（患者の血清、血漿、または血液に加えて）種々の希釈率でCDCアッセイおよび/またはWBT試料に加え、細胞溶解の閾値用量を決定することができるようにする。

#### 【0034】

本明細書にさらに記載するように、閾値用量の決定のための標的細胞は、同じ適応症（例えば神経芽細胞腫患者の場合、ヒト神経芽細胞腫細胞）のヒト腫瘍細胞株か、または、適していれば、その患者の自己腫瘍細胞であってもよい。

#### 【0035】

細胞溶解の閾値用量を、抗GD2抗体を含む調製物を用いた治療中の患者について決定する場合、患者の血清、血漿又は全血（抗GD2抗体を含む）を、（別途抗GD2抗体を添加することなく）種々の希釈率でCDCアッセイおよび/またはWBT試料に加え、細胞溶解の閾値用量を決定することができるようにする。

#### 【0036】

CDCおよび/または全血の細胞溶解を誘導するのに十分な用量は、それぞれのアッセイ（具体的なCDCアッセイまたはWBT）での最大限可能な細胞溶解の、少なくとも20%、25%、30%、35%、40%、45%または50%、またはこれらのレベルの間の任意の範囲を達成する用量として定義することができる。一実施形態では、用量は、それぞれのアッセイ（具体的なCDCアッセイまたはWBT）において最大限可能な細胞溶解の、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%、あるいはこれらのレベルの間の任意の範囲を達成する用量として定義される。

#### 【0037】

具体的なCDCアッセイまたはWBTで決定される細胞溶解の閾値用量は、抗GD2抗体の血清、血漿および/または血液でのレベルである。血液、血漿および/または血清での抗体レベルを達成するために患者に投与される抗GD2抗体を含む調製物の投与量は薬

10

20

30

40

50

物動態学的データに基づいて決定する必要がある。図1及び図2に示すように、血清または血漿中470～1000 ng/mL程度の低い抗体レベルで、CDCアッセイにおいて少なくとも50%の腫瘍細胞溶解を誘導するのに十分である（例えば、APN311：470 ng/mL（図2）、1000 ng/mL（図1）、およびAPN301：619 ng/mL（図2））。従って、本発明の一実施形態では、細胞溶解の閾値用量は、470～1000 ng/mL（血清または血漿）、または470 ng～10000 / mL（血清または血漿）、あるいはこれらのレベルの間の任意の範囲である。

#### 【0038】

特定の細胞溶解の閾値用量をCDCアッセイまたはWBT（特に、患者のがん細胞以外の標的細胞を用いるアッセイ）において決定する場合、インビトロで決定したこの細胞溶解の閾値用量（インビトロ細胞溶解閾値）を安全性が許容する範囲で増加して、患者の腫瘍細胞の細胞溶解を誘導するのに十分な抗体の投与量（インビボ細胞溶解閾値）としてよい。

従って、インビトロでの細胞溶解閾値用量を1～10倍あるいはこれら倍数の間の範囲の倍数で増加することができる。

#### 【0039】

特定の実施形態では、細胞溶解閾値用量は1410～3000 ng/mL（血清または血漿）または2350～5000 ng/mL（血清または血漿）、またはこれらのレベルの間の任意の範囲である。

#### 【0040】

患者に投与される抗GD2抗体を含む調製物の投与量はしかるべく決定される、即ち、抗GD2抗体を含む調製物を用いた治療の最初の1～4日以内（例えば、抗GD2抗体を含む調製物を用いた処置期間の1日目、2日目、3日目、または4日目）に前記の血清または血漿レベルを達成する用量として投与され、この血清または血漿レベルが抗GD2抗体を含む調製物による全処置期間にわたって維持される。図1及び図2に示すように、全血における2～234 ng/mL程度の低い抗体レベル（例えば、APN311：2 ng/mL（図1）、10 ng/mL（図1）、または21 ng/mL（図2）、およびAPN301：234 ng/mL（図2））は、WBTにおいて少なくとも50%の腫瘍細胞溶解を誘導するのに十分である。従って、本発明の一実施形態では、細胞溶解の閾値用量は2～250 ng/mL（全血）、または2～2500 ng/mL（全血）、またはこれらのレベルの間の任意の範囲である。特定の実施形態では、細胞溶解の閾値用量は、2～100 ng/mL（全血）、5～200 ng/mL（全血）またはこれらのレベルの間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、細胞溶解閾値用量は6～750、6～7500、10～1250、10～12500、6～300、10～500、15～600、25～1000 ng/mL（全血）である。

#### 【0041】

患者に投与される抗GD2抗体を含む調製物の投与量はしかるべく決定される、即ち、抗GD2抗体を含む調製物を用いた治療の最初の1～4日以内（例えば、抗GD2抗体を含む調製物を用いた処置期間の1日目、2日目、3日目、または4日目）に前記の全血中レベルを達成する用量として投与され、この血清または血漿レベルが抗GD2抗体を含む調製物による全処置期間にわたって維持される。図6に示すように、血清濃度1000 ng/mL（即ち1 µg/mL）は、抗GD2抗体を含む調製物を10 mg/m<sup>2</sup>/日の用量で連続静脈内（iv）の輸注（即ち、ミニポンプを用いて、1日24時間）として投与する場合、抗GD2抗体処置の最初の1～2日以内に達成することができる。したがって、一実施形態では、抗GD2抗体を含む調製物は5、7、10または15 mg/m<sup>2</sup>/日、特に10 mg/m<sup>2</sup>/日、またはこれらの用量の間の任意の範囲の用量で連続静脈内輸注（1日24時間）として投与される。一実施形態では、細胞溶解の閾値用量は、抗GD2抗体を含む調製物を用いた治療の第1日、第2日、第3日または第4日以内に達成される。図7は、抗GD2抗体を含む調製物を10 mg/m<sup>2</sup>の用量で、ミニポンプを用い、連続静脈内（iv）輸注として（すなわち、1日24時間）する場合に、細胞溶解の50

%が抗GD2抗体を含む調製物を用いた治療の最初の3～4日以内に達成され得ることを示す。

【0042】

本発明の方法を用いれば、抗体の投与量を、CDCアッセイまたはWBTによって決定される腫瘍細胞溶解および/または標的細胞の溶解に必要な最小用量に低減することができる。特定の実施形態では、CDCアッセイおよび/またはWBTによって決定される抗体の細胞溶解閾値用量は、50、40、30、25、20、15、10、7、5mg/m<sup>2</sup>/日より低く、またはこれらの用量間の任意の範囲より低い。さらに、本発明の方法は、CDCアッセイおよび/またはWBTにより、細胞溶解の閾値用量を個別に決定することが可能であり、したがって、患者の腫瘍細胞に対する溶解能の個体差を考慮に入れる。したがって、各患者は、潜在的な副作用、特に痛み、を最小限に抑えるできるだけ少ない用量で、且つ腫瘍細胞の溶解に有効である、自分の最適な抗体用量を投与され得る。調製物は、それを必要とする対象に投与することができる。一実施形態では、対象は、GD2陽性癌患者である。GD2陽性癌は、GD2が腫瘍細胞上に発現しているタイプの癌であり、例えば、神経芽細胞腫、神経膠芽腫、髄芽腫、星状細胞腫、メラノーマ、小細胞肺癌、線維形成性小円形細胞腫瘍、骨肉腫、横紋筋肉腫、およびその他の軟部肉腫が含まれる。一実施形態では、患者は、一次不応性または再発の高リスクの神経芽細胞腫、または高リスクの神経芽細胞腫における微小な残存疾患に罹患している。患者は、それ以前に処置されていてもよく、または他の治療（例えば外科手術、化学療法、放射線治療、幹細胞移植、サイトカイン治療（例えば、IL-2および/またはGM-CSFによる）および/またはレチノイド治療（例えばイソトレチノインによる）と同時に処置される。

【0043】

抗体は、単鎖抗体、哺乳動物抗体、ヒト抗体またはヒト化抗体を含む、組換えまたは人工の群から選択することができる。抗体は、特に、Fc、Fc様、Fv、Fab、F(ab)<sub>2</sub>、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、scFv、scfc、VHHから選択される、抗体の定常および/または可変部分を含んでなるかまたはそれらから選択してもよい。但し、そのような抗体フラグメントは、補体結合に關与するFc部分を含むべきであり、それにより、天然の（またはインビボの）エフェクター機能を媒介することができる。好ましくは、抗体は、抗体の軽鎖および重鎖を含む。抗体は、特異的に結合することができる同一のまたは異なる抗原（例えばGD2）と結合することができる1つまたは2つの抗原結合領域を含むことができる。本発明の抗体は、上記で定義された抗原に対する抗体 - 例えばその抗原に対して免疫によって作製された - でありうる。抗GD2抗体は、ヒト化またはキメラGD2抗体、例えばヒト化またはキメラ14・18、3F8または8B6抗体、あるいは天然のエフェクター機能を媒介するその抗原結合フラグメントであってよい。抗GD2抗体は、1つまたは複数のアミノ酸修飾（例えば修飾されたFc領域）を有してもよい。一実施形態では、抗GD2抗体はhu14・18K322Aである。別の実施形態では、抗GD2抗体は、キメラ14・18抗体である。一実施形態では、抗GD2抗体は、配列番号1の軽鎖ヌクレオチド配列（実施例1も参照）と配列番号2の重鎖ヌクレオチド配列（実施例1も参照）を有する。一実施形態では、抗GD2抗体は、配列番号3の軽鎖アミノ酸配列（実施例1も参照）と配列番号4の重鎖アミノ酸配列（実施例1も参照）を有する。2つの軽鎖および2つの重鎖を含む抗体の相対分子量は約150,000ダルトンであり得る。一実施形態では、抗GD2抗体はAPN311である。抗GD2抗体は、CHO細胞中で、SP2/0細胞内で、または他の適当な細胞系（例えばHEK-293、MRC-5、Vero、PerC6またはNS0）内で発現させることができる。一実施形態では、抗GD2抗体はSP2/0細胞で発現するキメラ14・18抗体である。別の実施形態では、抗GD2抗体はCHO細胞中で発現するキメラ14・18抗体である。

【0044】

抗GD2抗体はまた、抗GD2抗体（または天然のエフェクター機能を媒介する抗原結合フラグメント）とサイトカインの融合タンパク質を含む免疫サイトカインであってもよい。免疫サイトカインの抗体部分は、ヒト化またはキメラGD2抗体（例えば、ヒト化ま

たはキメラ14・18、3F8または8B6抗体)であってもよい。免疫サイトカインタンパク質の抗体部分は、1つまたは複数のアミノ酸修飾(例えば修飾されたFc領域)を有してもよい。一実施形態では、免疫サイトカインの抗体部分はhu14・18K322Aである。別の実施形態では、免疫サイトカインの抗体部分は、ヒト化14・18抗体である。抗GD2抗体-サイトカイン融合タンパク質のサイトカイン部分は、例えば、IL-2またはインターロイキン12(IL-12)、またはIL-15またはGM-CSFであってもよい。抗体およびサイトカインは共に融合され、リンカー配列を含んでいてもよい。一実施形態では、免疫サイトカインは、配列番号5の軽鎖ヌクレオチド配列(実施例1も参照)及び配列番号6の重鎖ヌクレオチド配列(実施例1も参照)を有する。一実施形態では、免疫サイトカインは、配列番号7の軽鎖アミノ酸配列(実施例1も参照)及び配列番号8の重鎖アミノ酸配列(実施例1も参照)を有する。一実施形態では、免疫サイトカインはAPN301である。免疫サイトカインは、NS0細胞内、または他の適当な細胞系(例えばCHO、HEK-293、MRC-5、Ver o、またはPerC6)内で発現させることができる。

#### 【0045】

特定の実施形態では、抗GD2抗体は、任意の他の部分に融合されていない。特定の実施形態では、抗GD2抗体は免疫サイトカインではない。

#### 【0046】

抗GD2抗体を含む調製物はさらに、塩およびWFIを含んでいてもよい。一実施形態では、抗GD2抗体を含む調製物は、さらに、そのような塩およびWFIを含む緩衝液(例えばリン酸緩衝生理食塩水)を含んでいてもよい。

#### 【0047】

抗GD2抗体を含む調製物はさらに、安定化剤、保存剤および他の担体または賦形剤を含んでいてもよい。抗GD2抗体を含む調製物は、凍結乾燥されていてもよい。一実施形態では、抗GD2抗体を含む調製物は、抗GD2抗体-サイトカイン融合体(例えばhu14・18-IL-2)、さらにスクロース、L-アルギニン、クエン酸一水和物、ポリソルベート20、および塩酸を含む。ある実施形態では、抗GD2抗体を含む調製物は、APN301、抗GD2抗体はhu14・18-IL-2であり、調製物は4mg/mLの免疫サイトカイン、20mg/mLのスクロース、13.9mg/mLのL-アルギニン、2mg/mLのポリソルベート20、及び2.1mg/mLのクエン酸一水和物を含む。ある実施形態では、免疫サイトカインおよび他の賦形剤を含む前記の調製物は凍結乾燥されており、4mLの0.9%塩化ナトリウムで再構成することができ、得られた溶液は5.5のpHを有する。一実施形態では、抗GD2抗体を含む調製物は、安定化剤、保存剤および他の賦形剤を含まない。抗GD2抗体を含む調製物は、輸液バッグ(例えば、20%ヒトアルブミン5mLと0.9%NaCl 100mLを含有する輸液バッグ)に添加することができる。

#### 【0048】

抗GD2抗体又は抗GD2抗体を含む調製物は、 $1 \sim 30 \text{ mg/m}^2$ 、 $1 \sim 35 \text{ mg/m}^2$ 、 $1 \sim 50 \text{ mg/m}^2$ 、 $1 \sim 60 \text{ mg/m}^2$ 、(例えば、1、2、3、4、5、6、7、7.5、8、9、10、12、15、20、25、30、32、35、40、45、50または $60 \text{ mg/m}^2$ )またはこれらの期間の間で任意の範囲の抗体の日用量で投与することができる。例えば、 $10 \text{ mg/m}^2$ という日用量は、患者が1日に体表面積 $1 \text{ m}^2$ あたり $10 \text{ mg}$ の抗GD2抗体を投与されることを意味する。本明細書で使用される用量(例えば、ミリグラムまたはマイクログラムで表示される)は、活性成分の用量、即ち、調製物中の活性成分の量を意味する。例えば、用量とは、抗GD2抗体を含む調製物中の抗GD2抗体の量、免疫サイトカインを含有する調製物中の免疫サイトカインの量、またはサイトカインを含有する調製物中のサイトカインの量を指す。上記の例で記載しているように、 $10 \text{ mg/m}^2$ という日用量は、患者が1日に体表面積 $1 \text{ m}^2$ あたり $10 \text{ mg}$ の抗GD2抗体(必要に応じて特定の体積の抗GD2抗体を含む調製物に含まれる)を投与されることを意味する。本明細書で用いられる、 $1 \text{ m}^2$ あたりの投与量は、患者の体表面積(

10

20

30

40

50

B S A )  $1 \text{ m}^2$ あたりの投与量を指す。本明細書で用いられる、 $1 \text{ kg}$ あたりの投与量は、患者の体重  $1 \text{ kg}$ あたりの投与量を意味する。

【0049】

いくつかの実施形態では、抗 G D 2 抗体を含む調製物は、 $1 \sim 15 \text{ mg} / \text{m}^2$ 、 $1 \sim 20 \text{ mg} / \text{m}^2$ 、 $1 \sim 25 \text{ mg} / \text{m}^2$ 、 $1 \sim 30 \text{ mg} / \text{m}^2$ 、または  $1 \sim 35 \text{ mg} / \text{m}^2$ 、あるいはこれらの日用量の間の任意の範囲の用量で投与される。特定の実施形態では、抗 G D 2 抗体を含む調製物は、 $50 \text{ mg} / \text{m}^2$ 未満、 $40 \text{ mg} / \text{m}^2$ 未満、 $30 \text{ mg} / \text{m}^2$ 未満、または  $25 \text{ mg} / \text{m}^2$ 未満の日用量で投与される。特定の実施形態では、抗 G D 2 抗体を含む調製物は、最大 7、10、15 または  $20 \text{ mg} / \text{m}^2$ での日用量で投与される。抗 G D 2 抗体は、10、20、25、50、60、75、80、100、120、150、200、210、250 または  $300 \text{ mg} / \text{m}^2$  / サイクルまたはこれらの用量間の任意の範囲の用量で投与することができる。処置サイクルあたりの患者あたりの総投与量は、既定の患者の総用量と定義することができる。

10

【0050】

いくつかの実施形態では、抗 G D 2 抗体を含む調製物を、特定の治療効果に達するまでの処置期間にわたって投与される。いくつかの実施形態では、治療効果は、例えば、免疫系バイオマーカー（例えばリンパ球数および / または N K 細胞数および / またはサイトカイン等の血液パラメータ）の増大によって測定される、腫瘍に対する免疫応答の増大であり得る。いくつかの実施形態では、治療効果は、腫瘍マーカー（例えば、カテコールアミン）の減少であってもよい。いくつかの実施形態では、治療効果は、メタヨードベンジルグアニジンシンチグラフィ（m I B G）、磁気共鳴画像法（M R I）または X 線コンピュータ断層撮影（C T）および / または骨髄組織学（穿刺又はトレフィン生検によって評価）などの

20

方法によって測定することができる。

【0051】

ある特定の実施形態では、治療効果は、疾患の安定（すなわち、病変、腫瘍組織および / またはサイズがそれ以上増大しないこと）、部分寛解（すなわち、病変、腫瘍組織および / またはサイズの減少）、および / または完全寛解（すなわち、すべての病変および腫瘍組織の完全な寛解）として定義することができる。

【0052】

完全寛解（C R）はさらに以下のとおり定義することができる：

- ・測定および評価可能なあらゆる疾患の完全な消失、
- ・新たな病変がみられないこと、
- ・疾患に関連する症状がみられないこと、および / または
- ・例えば、マーカーおよび / または他の異常な検査値の正常化などを含め、評価可能な疾患の証拠がみとめられないこと。

30

【0053】

いくつかの実施形態では、測定可能な、評価可能なおよび非評価可能な病変、並びに部位は、ベースラインとして同じ技術を使用して評価されなければならない。

【0054】

部分寛解（P R）はさらに以下のとおり定義することができる：

- ・少なくとも 1 つの測定可能な病変を有する患者にのみ適用される、
- ・測定可能なあらゆる病変の垂直直径の積和でベースラインよりも 50 % 以上の減少、
- ・評価可能な疾患の進行が認められないこと、
- ・新たな病変が認められないこと。

40

【0055】

いくつかの実施形態では、全ての測定および評価可能な病変および部位は、ベースラインと同じ技術を用いて評価しなければならない。抗 G D 2 抗体を含む調製物は、1 日 2 4 時間の連続静脈内輸注として投与することができる。抗 G D 2 抗体を含む調製物は、10、14、15 または 21 日間連続して、またはこれらの期間の間の任意の範囲にわたって

50

投与することができる。抗 G D 2 抗体を含む調製物はまた、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21日間、またはそれ以上の連続した日数の間にわたって投与することができる。ある特定の実施形態では、抗 G D 2 抗体を含む調製物は、全処置サイクル（例えば35日間）にわたって投与することもできる。いくつかの実施形態では、抗 G D 2 抗体を含む調製物を、5回の処置サイクル（それぞれ35日間）、すなわち合計180日間にわたって、投与される。抗体の日用量は、その患者の所定の抗体用量が投与されるように、それに応じて減らすことができる。一実施形態では、患者の所定の抗体用量は、 $100\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{サイクル}$ である。一実施形態では、全体処置期間は5サイクルを含む。したがって、この例では、全処置期間あたりの抗体用量は、 $500\text{ mg} / \text{m}^2$ である。ある実施形態では、この全処置期間あたりの総抗体用量  $500\text{ mg} / \text{m}^2$  を、180日間にわたって、すなわち  $2.77\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$  で投与する。抗 G D 2 抗体を含む調製物は、1日あたり24時間にわたって連続静脈内輸注として投与することができる。そのような連続的な輸注のために、浸透圧ミニポンプを用いてもよい。一実施形態では、抗 G D 2 抗体を含む調製物を1日あたり24時間連続静脈内輸注として、10、14、15または21日間、あるいはこれら期間の間の任意の範囲の期間にわたり、上記で特定した日用量（例えば、7、10または  $15\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ ）で投与される（例えば  $10\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$  で10日間、 $15\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$  で10日間、 $7\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$  で14日間、 $15\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$  で14日間、 $10\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$  で15日間、 $7\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$  で21日間、 $10\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$  で21日間、またはこれらの用量の間の任意の範囲）。特定の実施形態では、抗 G D 2 抗体を含む調製物は、 $40\text{ mg} / \text{m}^2$  の日用量では5日間も連続静脈内輸注として投与はされない。ある特定の実施形態では、抗 G D 2 抗体を含む調製物は、5日間も連続静脈内輸注として投与（すなわち120時間の輸注）はされない。いくつかの実施形態では、抗 G D 2 抗体を含む調製物は、5日を超える期間、連続静脈内輸注として投与される。いくつかの実施形態では、抗 G D 2 抗体を含む調製物は、6日間以上にわたって連続静脈内輸注として投与される。

#### 【0056】

免疫サイトカインまたは免疫サイトカインを含む調製物は、 $0.8 \sim 50\text{ mg} / \text{m}^2$ （例えば、例えば0.8、1.6、2、3.2、4、4.8、5、6、7、7.5、8、9、10、12、14.4、15、20、25、30、32、40、45、または  $50\text{ mg} / \text{m}^2$  あるいはこれらの用量の間に任意の範囲）の免疫サイトカインの日用量で投与することができる。例えば、 $10\text{ mg} / \text{m}^2$  の日用量とは、患者が1日あたり体表面積  $1\text{ m}^2$  あたり  $10\text{ mg}$  の免疫サイトカイン投与されることを意味する。一実施形態では、融合タンパク質  $1\text{ mg}$  は、約  $0.8\text{ mg}$  の h u 14.18 抗体と約  $3 \times 10^6\text{ U}$  の I L - 2 を含む。免疫サイトカインを含む調製物は、皮下又は静脈内輸注（例えば一日一回）として投与され得る。免疫サイトカインを含む調製物は、1日に24時間にわたって静脈内投与してもよい。免疫サイトカインを含む調製物は、2、3、4、5、10、14、15、または21日間またはこれらの期間の間の任意の範囲の期間連続して投与することができる。別の実施形態では、免疫サイトカインを含有する調製物は、1日あたり24時間にわたって、10、14、15または21日間連続して連続静脈内輸注として投与される。そのような連続的な輸注のために、浸透圧ミニポンプを用いてもよい。一実施形態では、免疫サイトカインは、 $12\text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$  の用量で28日サイクル（最大10サイクル）のうちの連続3日間にわたり投与される。

#### 【0057】

抗 G D 2 抗体を含む調製物を用いた処置期間は、サイトカインによる1以上の処置期間の前および/またはその期間と伴っていてもよい。一実施形態では、サイトカインは、顆粒球コロニー刺激因子（G - C S F）、G M - C S F、I L - 2、I L - 12 および/または I L - 15 である。サイトカインは、皮下投与（例えば、一日一回）、または静脈内輸注としてもよい。一実施形態では、サイトカインは I L - 2 であり、 $6 \times 10^6\text{ IU} / \text{m}^2 / \text{日}$  の用量で、1日1回皮下投与される（例えば、処置サイクルの第1日、第2日および第8～14日、または処置サイクルの第1～5日および第8～12日）。一実施形態

では、IL-2の患者の総用量は、 $60 \times 10^6 \text{ IU} / \text{m}^2$  / サイクルである。別の実施形態では、サイトカインは、GM-CSFであり、 $250 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で2時間かけて一日一回静脈内投与される（例えば、処置サイクルの第1日、第2日および第8～14日）。

【0058】

抗GD2抗体を含む調製物による処置期間の後に、レチノイドを有する1以上の処置期間が続いてもよい。一実施形態では、レチノイドは、レチノイン酸(RA)、例えばイソトレチノインである。

【0059】

そのような処置期間は繰り返すことができる。また、そのような処置期間の後には、同じおよび/または異なる薬物または治療による処置を行わないインターバル期間があってもよい。一実施形態では、インターバル期間は、なんら治療を行わない期間であってもよい。別の実施形態では、インターバル期間は、同じ調製物または治療の投与を行わないが、その期間に他の調製物の投与または治療を行うことができる。

【0060】

また、本発明に係る方法は、先だっておよび伴って、1つ以上の鎮痛剤（例えば、非ステロイド系抗炎症薬(NSAID)、例えば、インドメタシン）、および/または1以上のオピオイド、および/または1つ以上の他の鎮痛剤、またはそれらの任意の組み合わせ、による処置を行うことができる。一実施形態では、鎮痛剤は、オピオイド（例えば、モルヒネ、および/または、例えばヒドロモルホン等のモルヒネ誘導体）である。他のオピオイドとしては、例えば、トラマドール、ペチジン、コデイン、ピリトラミド、レボメタドン、ならびにフェンタニル、アルフェンタニル、レミフェンタニルおよびスフェンタニルが挙げられる。

【0061】

いくつかの実施形態では、1つ以上の鎮痛剤は、GABA類似体（例えばガバペンチン）から選択することができる。したがって、患者は、例えば抗体処置期間の開始前の3日間、ガバペンチンで処理することができる。ガバペンチンは、 $10 \text{ mg} / \text{kg} / \text{回}$ の用量で1日に1回、2回または3回、経口投与することができる。ガバペンチンは、最大 $300 \text{ mg} / \text{kg} / \text{回}$ の用量まで投与することができる。ガバペンチンは入手可能であり、 $250 \text{ mg} / 5 \text{ mL}$ のガバペンチンを含む経口溶液として、またはカプセル（ $100 \text{ mg}$ 、 $300 \text{ mg}$ 、 $400 \text{ mg}$ ）として投与することができる。ガバペンチンの処置は、モルヒネおよび/または他の鎮痛剤による治療に加えて投与することができる。さらに、患者は、パラセタモール（ $10 \sim 15 \text{ mg} / \text{kg} / \text{回}$ 、4時間毎または1日4回、経口または静脈内）、イブプロフェン（ $5 \sim 10 \text{ mg} / \text{kg} / \text{回}$ 、6～12時間毎に経口）、メタミゾール（ $10 \sim 15 \text{ mg} / \text{kg} / \text{回}$ 、4時間毎に経口）、ジフェンヒドラミン（ $0.5 \sim 1 \text{ mg} / \text{kg} / \text{回}$ 、経口または静脈内）、および/またはインドメタシン（例えば $0.3 \sim 0.5 \text{ mg} / \text{kg} / \text{回}$ 、または25または $50 \text{ mg} / \text{回}$ 、6時間毎に経口または静脈内）で処置することができる。パラセタモール、イブプロフェン、メタミゾール、および/またはインドメタシンでの処置は、モルヒネおよび/またはガバペンチン、および/または他の鎮痛剤による治療に加えて投与してもよい。

【0062】

1つ以上の鎮痛剤は、静脈内輸注、特に、1日に24時間にわたって連続静脈内輸注、として投与することができる。1つ以上の鎮痛剤による処置期間は、抗GD2抗体を含む調製物による処置期間に先立っておよび/またはそれと伴っていてもよい。

【0063】

本発明に係る方法によれば、用量を減らすこと、投与経路を変更すること（例えば、静脈内輸注から経口に）、鎮痛処置期間の期間を短くすること、および/または1つ以上の鎮痛薬の調製物の種類を変更することが可能である。従って、本発明は、抗GD2抗体を含む調製物を用いた治療を受けている患者の処置サイクルの少なくとも一部を、外来治療とすることも可能である。



## 【0064】

いくつかの実施形態では、本発明による抗体での治療日（連続輸注）に投与する、1以上の鎮痛薬の日用量は、非連続的な静脈内輸注として投与される抗GD2抗体を含む調製物を用いた治療で投与される通常の日用量よりも低いか、 $40\text{ mg/m}^2$ での日用量で5日間連続静脈内輸注として投与される用量よりも低い。

## 【0065】

ある特定の実施形態では、1以上の鎮痛薬（例えば、モルヒネ）の用量（例えば、日用量）を一定の期間（例えば、全処置期間、処置サイクルの期間、処置サイクル期間中の抗体処置期間、処置サイクル期間中のある抗体治療日から次の抗体治療日まで、および/またはある処置サイクルから次の処置サイクルまで）にわたって減らす。モルヒネの投与量の削減例を表9に示す。例えば、モルヒネの投与量は、3回目の処置サイクルの9日目から10日目に10%減らす（即ち、標準の輸注速度（この例では $30\text{ mcg/kg/h}$ ）の28%から18%に、 $8.1$ から $4.53\text{ mg/kg/h}$ に、あるいは $0.19$ から $0.11\text{ mg/kg/day}$ に）ことができる。いくつかの実施形態では、モルヒネの投与量は、処置サイクルの期間、処置サイクル期間中の抗体処置期間の間、および/または処置期間中のある抗体治療日から次の項対治療日まで、継続的に減らす。

## 【0066】

例えば、抗GD2抗体を含む調製物を用いた、非連続輸注（またはボラス輸注、すなわち、1日に24時間未満の輸注）による処置期間の前および/またはその期間中に投与されるこのような通常のもルヒネ用量を表1に示す。この例では、 $ch14.18/CHO$ （APN311）を1日あたり8時間の輸注として、その後の5日間にわたって投与（ $20\text{ mg/m}^2$ の用量で5サイクル、従って $100\text{ mg/m}^2$ /サイクル）し、モルヒネ塩酸塩は各抗体治療日にAPN311輸注を開始する前の2時間、 $0.05\text{ mg/kg/h}$ の用量でボラス投与、APN311輸注を行っている間は $0.03\text{ mg/kg/h}$ の輸注速度で8時間、およびAPN311処置の最日に $0.01\text{ mg/kg/h}$ のインターバル輸注速度で14時間、そして（10時間のモルヒネ非処置のインターバルを置いて）許容できる場合、次の治療日に4時間投与される。用量を増加し（例えば、抗体輸注の間の輸注速度の増加）および/またはさらなるボラス用量を、必要に応じて投与した。従って、所定のモルヒネの用量は、1日あたり少なくとも $0.38\text{ mg/kg}$ 、処置サイクル当たり少なくとも $2\text{ mg/kg}$ （抗体治療日5日間含む）であり、全処置期間あたり少なくとも $10\text{ mg/kg}$ （3サイクルを含む）であった。

## 【0067】

ある特定の実施形態では、1以上のモルヒネの日用量および/または1以上のモルヒネ輸注速度および/または標準的なモルヒネの投与量の1以上の百分率は表9で特定される。例えば、一実施形態では、最初の処置サイクルの12日目に投与される標準的なモルヒネ投与量の百分率は41%であり、最初の処置サイクルの12日目に投与されるモルヒネ輸注速度は $12.26\text{ mg/kg/h}$ であり、最初の処置サイクルの12日目に投与されるモルヒネ日用量は $0.29\text{ mg/kg}$ である。

## 【表 1】

表 1：モルヒネ輸注スケジュール

40 mL の 5 % グルコース中 10 mg のモルヒネを調製 (0.25 mg = 1 mL)

	モルヒネ 輸注時間 (時間)	モルヒネ 輸注速度 (mg/kg/h)	モルヒネ 用量 (mg/kg)
プレ輸注	2	0.05	0.1
APN311 処置中の輸注	8	0.03	0.24
インターバル輸注	14 または 4	0.01	0.14 または 0.04
治療日毎の総用量 (mg/kg/24h)			0.48 または 0.38

10

## 【0068】

別の例では、APN311 を 10、20 および 30 mg / m<sup>2</sup> / 日および 50、100、150 mg / m<sup>2</sup> / サイクルの用量で、1 日あたり 8 時間の輸注として、5 日間を 3 サイクル投与し、モルヒネ塩酸塩を、0.5 ~ 1.0 mg / kg / 回の用量にてボーラス投与 (抗体の輸注開始の直前) し、APN311 輸注の間は 0.05 mg / kg / 時間の連続輸注の速度で投与する。必要に応じ、用量を増加 (例えば、抗体輸注の間の輸注速度の増加) および / または追加のボーラス用量を投与する。従って、規定のモルヒネの用量は、少なくとも 0.9 mg / kg / 日、少なくとも 4.5 mg / kg / 処置サイクル (5 日間の抗体治療日数含む)、および少なくとも 13.5 mg / kg / 全処置期間 (3 サイクルを含む) である。

20

## 【0069】

ch14.18 の非連続的な (またはボーラス) 輸注のさらに別の例では、モルヒネを 24 時間にわたって 1.2 mg / kg / 時までの輸注速度で投与した。

## 【0070】

さらに別の例では、ch14.18 / SP2 / 0 は、25 mg / m<sup>2</sup> の用量で 4 日間連続して投与される。ch14.18 / SP2 / 0 を、静脈内輸注にて、はじめは 1.25 mg / m<sup>2</sup> / 時間 × 0.5 時間、次に 2.50 mg / m<sup>2</sup> / 時間 × 0.5 時間、次に 3.75 mg / m<sup>2</sup> / 時間 × 0.5 時間、次いで許容できれば 5 mg / m<sup>2</sup> / 時間を残りの時間投与する。この例では、各処置サイクルは 0 日目に開始し、処置サイクルの 0 日目は、それぞれのサイトカインを用いた治療の最初の日である。

30

## 【表 2】

表 2: ch14.18/SP2/0、サイトカインおよびイソトレチノイン (レチノイン酸または RA) の 5 サイクルの投与スキーム

サイクル 1	サイクル 2	サイクル 3	サイクル 4	サイクル 5
Ch14.18	Ch14.18	Ch14.18	Ch14.18	Ch14.18
GM-CSF	アルデスロイキン (IL-2)	GM-CSF	アルデスロイキン (IL-2)	GM-CSF
RA	RA	RA	RA	RA

40

## 【0071】

Ch14.18 / SP2 / 0 治療を、5 サイクルすべてについて、28 日ごとに 25 m

50

$\text{g} / \text{m}^2 / \text{日}$ にて4日間；GM-CSFを $250 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ にて14日間；アルデスロイキン（IL-2）を第1週目に $3 \text{ MIU} / \text{m}^2 / \text{日}$ にて、第2週目に $4.5 \text{ MIU} / \text{m}^2 / \text{日}$ にて投与する。

【表3】

表3：GM-CSFを用いたサイクルの治療スキーム

日	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14-23	24
GM-CSF	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		開始
ch14.18				↑	↑	↑	↑									サイクル 2&4
RA											↑	↑	↑	↑	↑	

10

注：上記の治療スキームへの変形例では、RA処置を、最初のサイクルの11日目に開始するが、上記スキームでは第3及び第5サイクルの10日目となっている。従って、上記処理スキームの変形例では、最初の処置サイクルの24日目は、最初のサイクルのRA処置の最終日でもある。

【0072】

GM-CSFの投与は、0～13日目に、 $250 \mu\text{g} / \text{m}^2 / \text{日}$ にて皮下注射（強く推奨）または1日あたり2時間の輸注として静脈内投与を行う（抗体治療の3日前から7日

20

【表4】

表4：アルデスロイキン（IL-2）を用いたサイクルの治療スキーム

日	0	1	2	3	4-6	7	8	9	10	11-13	14	15	16	17	18-27
IL-2	X	X	X	X		X	X	X	X						
ch14.18						↑	↑	↑	↑						
RA											↑	↑	↑	↑	↑

30

アルデスロイキンサイクルの28～31日目には治療を行わない。32日目に、（GM-CSFによる）次の処置サイクルを開始する（32日目＝次のサイクルの0日目）。

【0073】

アルデスロイキン（インターロイキン-2、IL-2）の投与を、各サイクルの第1週目の4日間（0～3日目）に、 $3 \text{ MIU} / \text{m}^2 / \text{日}$ にて連続輸注により行う（CADD（登録商標）Ambulatory Infusion Pumpを用いて）。各サイクルの第2週目に、アルデスロイキン（IL-2）を $4.5 \text{ MIU} / \text{m}^2 / \text{日}$ にて、4日間（7～10日目）に投与する（ch14.18 / SP2 / 0の輸注を7～10日目に）。アルデスロイキンは、5%デキストロース水溶液（必要に応じて0.1%ヒト血清アルブミンを含んでもよい）中で、携帯型輸注ポンプによりカテーテルを介して96時間かけて静脈内に連続輸注される（総体積はポンプに依存する）。

40

【0074】

無治療の14日間（第5サイクルの24日目、即ち第6サイクルの0日目に開始）の後イソトレチノインのみの投与を14日間行う第6の処置サイクルを加えてもよい。

【0075】

この例では、ヒドロキシジン（ $1 \text{ mg} / \text{kg}$ 、最大用量 $50 \text{ mg}$ ）またはジフェンヒドラミン（ $0.5 \sim 1.0 \text{ mg} / \text{kg}$ ；最大用量 $50 \text{ mg}$ ）を、ch14.18 / SP2 / 0輸注の20分前に10分かけて静脈内投与を開始；ch14.18 / SP2 / 0輸注の

50

20分前にアセトアミノフェン(10mg/kg; 最大用量650mg)を経口投与する; および/またはc h 14 . 18 / S P 2 / 0輸注の直前に硫酸モルヒネ(50mcg/kg)その後20~50µg/kg/時の輸注速度でc h 14 . 18 / S P 2 / 0輸注の完了2時間後まで硫酸モルヒネの点滴を継続する。さらに、ヒドロモルホンまたはフェンタニルなどの他の麻薬を用いることができる。あるいは、必要に応じて、リドカイン輸注は、モルヒネの静脈内ボラス投与と併用することができる。リドカイン輸注のための投与ガイドラインを以下に示す。

【0076】

リドカインの投与:

a . c h 14 . 18 / S P 2 / 0輸注の開始前に30分かけて50ccの生理食塩水(NS)中2mg/kgにてリドカインを静脈内ボラス投与。

b . c h 14 . 18 / S P 2 / 0輸注の開始時に、1mg/kg/時にて静脈内リドカイン輸注を開始し、c h 14 . 18 / S P 2 / 0の輸注完了の2時間後まで継続。

c . 必要に応じて、2時間ごとに25~50µg/kgにてモルヒネの静脈内ボラス投与。

【0077】

この例では、モルヒネの用量投与とともにガバペンチンの投与を検討してもよく、必要に応じて、モルヒネ輸注/ボラスを投与し; ガバペンチン10mg/kg/日にて開始し、臨床応答に応じて30~60mg/kg/日まで漸増することができる。

【0078】

この例では、ヒドロキシジン(またはジフェンヒドラミン)およびアセトアミノフェンの投与を、必要に応じ、静脈内又は経口で6時間毎に繰り返すことができる。

【0079】

この例では、神経因性疼痛を処置するためモルヒネの追加投与をc h 14 . 18 / S P 2 / 0輸注中に行った後、硫酸モルヒネ輸注速度の増加することができるが、患者を注意深く監視すべきである。患者がモルヒネ(例えば、かゆみ)に耐えることができない場合は、フェンタニルまたはヒドロモルフォンをモルヒネの代わりに使用することができる。あるいは、必要に応じて、リドカイン輸注を、モルヒネの静脈内ボラス投与と併用することができる。

【0080】

本明細書で使用する用語「モルヒネ用量」とは、患者の体重1kg当たりのモルヒネの量(mgまたはmcg)を意味する。従って、モルヒネの日用量を指す場合、その量は1日あたりの、患者の体重1kg当たりのモルヒネの量(mgまたはmcg)であり、または1時間あたりのモルヒネ用量を指す場合は、それは1時間あたりの患者の体重1kg当たりのモルヒネの量(mgまたはmcg)であり、処置サイクルあたりのモルヒネ用量を指す場合は、処置サイクルあたりの患者の体重1kg当たりのモルヒネの量(mgまたはmcg)であり、または全処置期間あたりのモルヒネ用量を指す場合は、それは全処置期間あたりの患者の体重1kg当たりのモルヒネの量(mgまたはmcg)である。

【0081】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体の連続静脈内輸注の1日以上の間でおよび/またはモルヒネ治療日(例えば、上述の例の1つ以上において)に投与されるモルヒネの日用量は、抗体の非連続的な投与の場合のモルヒネの日用量よりも低い。ある特定の実施形態では、連続的な抗体輸注スケジュールで投与されるモルヒネの日用量は、最初の処置サイクルでは非連続的な抗体の輸注スケジュールにおいてまたはそれについて規定されるモルヒネ用量の80%以下、第2の処置サイクルでは58%以下、第3の処置サイクルでは57%以下であり、第4の処置サイクルでは42%以下、第5の処置サイクルでは34%以下である。一実施形態では、本発明による抗体の治療スケジュールで投与されるモルヒネの日用量は、40mg/m<sup>2</sup>での日用量で5日間の連続静脈内抗体輸注の抗体の治療スケジュールで投与されるモルヒネの日用量よりも低い。いくつかの実施形態では、本発明による抗体の連続静脈内輸注の1日以上の間および/またはすべてのモルヒネ処置日に投

10

20

30

40

50

与されるモルヒネの日用量は、0.9、0.72、0.48、0.38、0.4375、および/または0.205 mg/kg/日未満である。

【0082】

ある特定の実施形態では、最初の処置サイクルにおける抗体の投与の第5日目、第6日目、第7日目、第8日目、第9日目および/または第10日目のモルヒネの日用量（本発明による抗体の連続的な静脈内輸注を適用する）は、非連続的な輸注スケジュールにおけるモルヒネの日用量より低い（例えば78%以下）。ある特定の実施形態では、処置サイクルの上記の日およびその後のいずれかの日および/または全処置期間の投与されるモルヒネ用量は、非連続的な輸注スケジュールにおけるモルヒネの日用量より低い。ある特定の実施形態では、第2の処置サイクルにおける抗体の投与の第3日目、第5日目、第6日目、第7日目、第8日目、第9日目および/または第10日目に投与されるモルヒネの日用量（本発明による抗体の連続的な静脈内輸注を適用する）は、非連続的な輸注スケジュールにおけるモルヒネの日用量より低い（例えば60%以下）。ある特定の実施形態では、処置サイクルの上記の日およびその後のいずれかの日および/または全処置期間の投与されるモルヒネ用量は、非連続的な輸注スケジュールにおけるモルヒネの日用量より低い。ある特定の実施形態では、第3の処置サイクルおよびその後の処置サイクルにおける抗体の投与の第1日目に投与されるモルヒネの日用量（本発明による抗体の連続的な静脈内輸注を適用する）は、非連続的な輸注スケジュールにおけるモルヒネの日用量より低い（例えば57%以下）。ある特定の実施形態では、処置サイクルの上記の日およびその後のいずれかの日および/または全処置期間の投与されるモルヒネ用量は、非連続的な輸注スケジュールにおけるモルヒネの日用量より低い。

【0083】

いくつかの実施形態では、モルヒネは、抗体が投与される日すべてではなく何日間かのみ投与される（例えば2、3、4または5の処置サイクルにおける、連続的な抗体の輸注の最初の1、2、3、4、5、6または7日間のみ）。いくつかの実施形態では、連続的な抗体輸注のサイクル6において、モルヒネは全く投与されない。

【0084】

いくつかの実施形態では、モルヒネ輸注速度、即ち、本発明の抗体の連続静脈内輸注の1時間以上または数日間および/またはモルヒネ治療の全ての時間または日に投与される、1時間あたりの患者の体重1 kgあたりのモルヒネの量（即ちモルヒネ用量）は、上のスケジュールについて規定される標準のモルヒネ輸注速度および/または上の例に記載した抗体の非連続的な投与の間のモルヒネ輸注速度よりも低い（例えば、第1の処置サイクルにおいて、第2日目で96%以下、第3日目で84%以下、第4日目で65%以下、第5日目で41%以下、第6日目で14%以下、第7日目で5%以下、第8日目で3%以下、第9日目で2%以下および/または第10日目で1%以下、第2の処置サイクルにおいて72%以下、第3の処置サイクルにおいて30%以下、第4の処置サイクルにおいて22%以下、第5の処置サイクルにおいて18%以下である）。いくつかの実施形態では、本発明による抗体の連続静脈内輸注の1以上の日数にわたっておよび/またはモルヒネ治療の全ての時間または日に投与されるモルヒネ輸注速度は、50、40、30、20、10および/または5 mcg/kg/時未満、および/またはこれら輸注速度の間の任意の範囲より低い。いくつかの実施形態では、本発明による抗体の連続静脈内輸注の1以上の日数にわたっておよび/またはモルヒネ治療の全ての時間または日に投与されるモルヒネ輸注速度は、第1および場合によりそれ以降の任意の処置サイクルにおいて30 mcg/kg/時未満、第2および場合によりそれ以降の任意の処置サイクルにおいて22 mcg/kg/時未満、第3および場合によりそれ以降の任意の処置サイクルにおいて10 mcg/kg/時未満、第4および場合によりそれ以降の任意の処置サイクルにおいて7 mcg/kg/時未満、第5および場合によりそれ以降の任意の処置サイクルにおいて6 mcg/kg/時未満である。

【0085】

特定の実施形態では、本発明による抗体の連続的な静脈内輸注を含む1つ以上の処置サイクルの間に投与される処置サイクルあたりモルヒネの投与量は、非連続的な輸注スケジュールにおける処置サイクルあたりのモルヒネの用量よりも低く、例えば第1の処置サイクルでは66%以下、第2の処置サイクルでは28%以下、第3の処置サイクルでは29%以下または13%以下、第4の処置サイクルでは16%以下または7%以下、第5の処置サイクルでは15%以下または6%以下である。ある特定の実施形態では、本発明による抗体の連続的な静脈内輸注を含む1以上の処置サイクルの間に投与される、第2および場合によりそれ以降の任意の処置サイクルの処置サイクルあたりのモルヒネ用量は、非連続輸注スケジュールにおける処置サイクルあたりのモルヒネ用量よりも低い。ある特定の実施形態では、該処置サイクルおよび場合によりそれ以降の任意の処置サイクルおよび/または全処置期間のモルヒネ用量は、非連続輸注スケジュールにおける処置サイクルあたりのモルヒネ用量よりも低い。いくつかの実施形態では、本発明による抗体の連続的な静脈内輸注を含む1以上の処置サイクルの間に投与される処置サイクルあたりのモルヒネ用量は、7.2、4.8、4.5、2、1.75および/または0.82 mg/kg/サイクル未満、あるいはこれらの用量の間の任意の範囲より低い。

10

**【0086】**

いくつかの実施形態では、全処置期間のモルヒネ用量（本発明による抗体の連続的な静脈内輸注を適用）は、非連続的な輸注スケジュールにおける全処置期間のモルヒネ用量よりも低い。一実施形態では、全処置期間のモルヒネ用量（本発明による抗体の連続的な静脈内輸注を適用）は、非連続的な輸注スケジュールにおける全処置期間のモルヒネ用量の55%以下、50%以下、45%以下または40%以下である。いくつかの実施形態では、全処置期間のモルヒネ用量（本発明の抗体の連続的な静脈内輸注を適用）は、全処置期間あたり43.2、28.8、13.5、10、8.75および/または4.1 mg/kg/日未満、および/またはこれらの用量の間の任意の範囲より低い。

20

**【0087】**

いくつかの実施形態では、本発明に係る連続輸注スケジュールにおけるモルヒネ用量と比較して本明細書で言及される、非連続的な輸注スケジュールにおける参照モルヒネ用量とは、該スケジュールについての標準的なモルヒネ用量または該スケジュールについて規定されるモルヒネ用量（例えば、臨床研究プロトコルにおいて特定される）を指す。いくつかの実施形態では、本明細書において言及する参照モルヒネ用量は、連続および/または非連続的な抗体の輸注スケジュールでの処置サイクルにおける、抗GD2抗体を含む調製物を用いた治療の最初の日に投与されるモルヒネ用量を指し、「初発モルヒネ用量」と呼ぶ。

30

**【0088】**

したがって、本明細書で使用する用語「参照モルヒネ用量」は、本発明に係るもの以外の治療スケジュールのモルヒネ用量および/または初発モルヒネ用量を含んでなり；本発明に係る連続輸注スケジュールの他のモルヒネ用量と比較して本明細書で言及される、そのようなモルヒネ用量の全ての例を包含するものとする。

**【0089】**

ある特定の実施形態では、抗体の投与期間中の、輸注1時間あたりの参照モルヒネ用量、即ち参照輸注速度、は50 mcg/kg/時である。ある特定の実施形態では、抗体の投与期間中の、輸注1時間あたりの参照モルヒネ用量、即ち参照輸注速度、は30 mcg/kg/時である。ある特定の実施形態では、参照モルヒネ用量は50、40、30および/または20 mcg/kg/時である。ある特定の実施形態では、参照モルヒネ用量は、0.9、0.72、0.48、0.38、0.4375および/または0.205 mg/kg/日である。ある特定の実施形態では、参照モルヒネ用量は、7.2、4.8、4.5、2、1.75および/または0.82 mg/kg/サイクルである。ある特定の実施形態では、参照モルヒネ用量は、全処置期間あたり43.2、28.8、13.5、10、8.75および/または4.1 mg/kgである。ある特定の実施形態では、参照インドメタシン用量は、経口または静脈内にて6時間毎に、0.3~0.5 mg/kg/回

40

50

、または25または50mg/回である。ある特定の実施形態では、本発明に係る連続輸注スケジュールにおけるモルヒネ用量と比較して言及される、非連続的な輸注スケジュールにおける参照モルヒネ用量は、実際に患者に投与されるモルヒネ用量を指す（例えば、臨床試験の治療を受けた全患者に投与されたモルヒネ用量のそれぞれの平均）。

【0090】

非連続的な輸注スケジュールにおけるモルヒネの投与量と比較して本明細書で言及される、本発明に係る連続輸注スケジュールにおけるモルヒネ用量は、該スケジュールについての標準的なモルヒネ用量、または該スケジュールについて規定される（例えば臨床研究プロトコルで特定された）モルヒネ用量を指すこともある。ある特定の実施形態では、1時間以上または数日間の抗体の連続投与の輸注1時間あたりモルヒネ用量、即ち輸注速度、は、50mcg/kg/時未満である。特定の実施形態では、1時間以上または数日間の抗体の連続投与の輸注1時間あたりモルヒネ用量、すなわち輸注速度、は30mcg/kg/時未満である。いくつかの実施形態では、非連続的な輸注スケジュールにおけるモルヒネの投与量と比較して上記で言及される、本発明の連続的な輸注スケジュールにおけるモルヒネ用量は、実際に患者に投与されたモルヒネの投与量を指す（例えば、臨床試験の治療を受けた全患者に投与されたモルヒネ用量のそれぞれの平均）。

【0091】

一般に、個々の鎮痛薬の投与量は、個々の患者の疼痛耐性に応じて変わり得る。投与は、最適な鎮痛が得るように適合させてよい。

【0092】

抗GD2抗体を含む調製物を用いた処置期間は、サイトカインでの1以上の処置期間、レチノイドでの1以上の処置期間、および/または鎮痛剤での1以上の処置期間と組み合わせてもよい。一実施形態では、このような他の処置期間と組み合わせた、抗GD2抗体を含む調製物を用いた処置期間は1処置サイクルとして表す。

【0093】

一実施形態では、本発明による方法で処置された患者はまた、GM-CSF、IL-2および/またはイソトレチノイン、および場合によりモルヒネ、および/または1つ以上のモルヒネ誘導体、および/または1以上の他の鎮痛薬で処置される。一実施形態では、抗GD2抗体を含む調製物を用いた処置期間には、サイトカインによる処置期間が先行する。一実施形態では、抗GD2抗体を含む調製物を用いた処置期間は、サイトカインによる処置期間が伴う。一実施形態では、抗GD2抗体を含む調製物を用いた処置期間には、サイトカインによる処置期間が先行し、別途サイトカインでの処置期間が伴う。

【0094】

本明細書で用いられる、特定の調製物または処置での「処置期間」は、その特定の調製物または処置が、その患者に投与されている期間、即ちその後も処置が続く日の期間、を意味する。例えば、サイトカインを含有する調製物を5日間連続して投与し、その後、その後サイトカインを含有する調製物の投与を1日以上行わない場合は、サイトカインを含む調製物を用いた処置期間は5日間である。別の例として、抗GD2抗体を含む調製物の24時間にわたる連続輸注を10日間連続して行った後、抗GD2抗体を含有する調製物の投与を1日以上行わない場合は、抗GD2抗体を含有する調製物を用いた処置期間は10日間である。さらに別の例として、イソトレチノインの投与を1日2回14日間行った後、イソトレチノインの投与を1日以上行わない場合は、イソトレチノインでの処置期間は14日間である。このような処置期間は反復および/または重複していてもよい。例えば、図8および図9に示されるように、治療スケジュールは、IL-2での5日間の処置期間が2回あり、2回目の処置期間は、ch14.18(APN311)による10日間（または14-、15-、または21日間）の処置期間と重複しており、その後にイソトレチノインによる14日間の処置期間が続く。

【0095】

処置期間に関連して本明細書で使用される用語「組み合わせる」または「組み合わせ」は、同じおよび/または異なる薬物または処置での2以上の処置期間が、1つの処置サイ

10

20

30

40

50

クルに含まれることを意味する。この異なる薬物または処置での2以上の処置期間は、一部または全部が重複してもよいし、重複していなくてもよい。そのような処置期間は、同一および/または異なる薬物または処置を行わないインターバル期間によって分けられていてもよい。

【0096】

本明細書で用いられる用語「処置サイクル」とは、その間の休止期間とともに定期的に反復される、1つまたはそれ以上の処置の過程または処置期間を意味する。例えば、1週間の処置に休止期間が3週間続く場合は1処置サイクルである。一実施形態では、1つの処置サイクルは、抗GD2抗体を含む調製物での1つの処置期間を含んでなる。処置サイクルは、場合により、サイトカインでの1以上の処置期間、レチノイドでの1以上の処置期間、および/または鎮痛剤での1以上の処置期間を含んでいてもよい。

10

【0097】

一実施形態では、1つの処置サイクルは、28日~49日、例えば28、35、42または49日、またはこれらの期間の間の任意の範囲を含んでなる。処置サイクルは、患者がそのサイクルに含まれるいずれかの処置（例えば、抗GD2抗体を含む調製物、および/またはサイトカイン、および/または任意の他の調製物の投与または処置）を初めて受ける日（即ち第1日目）をもって始まる。

【0098】

抗GD2抗体および/またはサイトカインでの処置期間に、レチノイド（例えば、トレチノイン）による処置期間が直接または1日以上は無処置のインターバル期間（例えば、1、2、3、4または5日間の無処置期間）を伴って続いていてもよい。一実施形態では、イソトレチノインは、 $160\text{ mg/m}^2/\text{日}$ での用量で一日二回、14日間（例えば、処置サイクルの第19日目~32日目）経口投与される。イソトレチノインでの処置期間に、1日以上は無処置のインターバル期間（例えば、1、2、3、4または5日間の無処置期間）が続いていてもよい。

20

【0099】

一実施形態では、処置サイクルは、サイトカインでの5日間の処置期間を2回含み（例えば処置サイクルの第1~5日目および第8~12日目）、抗GD2抗体での10日間の処置期間が1回（例えば、処置サイクルの第8~17日目に、 $10$ または $15\text{ mg/m}^2/\text{日}$ にて用量 $100$ または $150\text{ mg/m}^2/\text{サイクル}$ を投与する）、そしてイソトレチノインでの14日間の処置期間が1回（例えば、処置サイクルの第19~32日目、その後第36日目（第2の処置サイクルの第1日目）から始まる次のサイクルまでの3日間の無処置期間）続く。

30

【0100】

一実施形態では、処置サイクルは、サイトカインでの5日間の処置期間を2回含み（例えば処置サイクルの第1~5日目および第8~12日目）、抗GD2抗体での14日間の処置期間が1回（例えば、処置サイクルの第8~21日目に、 $7$ または $15\text{ mg/m}^2/\text{日}$ にて用量 $100$ または $210\text{ mg/m}^2/\text{サイクル}$ を投与する）、そしてイソトレチノインでの14日間の処置期間が1回（例えば、処置サイクルの第26~39日目、その後第43日目（第2の処置サイクルの第1日目）から始まる次のサイクルまでの3日間の無処置期間）が続く。

40

【0101】

一実施形態では、処置サイクルは、サイトカインでの5日間の処置期間を2回含み（例えば処置サイクルの第1~5日目および第8~12日目）、抗GD2抗体での15日間の処置期間が1回（例えば、処置サイクルの第8~22日目に、 $10\text{ mg/m}^2/\text{日}$ にて用量 $150\text{ mg/m}^2/\text{サイクル}$ を投与する）、そしてイソトレチノインでの14日間の処置期間が1回（例えば、処置サイクルの第26~39日目、その後第43日目（第2の処置サイクルの第1日目）から始まる次のサイクルまでの3日間の無処置期間）が続く。

【0102】

一実施形態では、処置サイクルは、サイトカインでの5日間の処置期間を2回含み（例

50



えば処置サイクルの第1～5日目および第8～12日目)、抗GD2抗体での21日間の処置期間が1回(例えば、処置サイクルの第8～28日目に、7または10mg/m<sup>2</sup>/日にて用量150または210mg/m<sup>2</sup>/サイクルを投与する)、そしてイソトレチノインでの14日間の処置期間が1回(例えば、処置サイクルの第33～46日目、その後第50日目(第2の処置サイクルの第1日目)から始まる次のサイクルまでの3日間の無処置期間)が続く。

#### 【0103】

一実施形態では、処置サイクルは、免疫サイトカイン(例えばAPN301)での3日間の処置期間を1回含み(例えば処置サイクルの第4～6日目)、サイトカイン(例えばGM-CSF)での処置期間が2回(例えば、処置サイクルの第1日目、第2日目、および第8～14日目)、そしてイソトレチノインでの14日間の処置期間が1回(例えば、処置サイクルの第11～24日目、その後第29日目(第2の処置サイクルの第1日目)から始まる次のサイクルまでの4日間の無処置期間)が続く。

#### 【0104】

一実施形態では、処置サイクルは、抗GD2抗体を含む調製物(例えばch14.18/SP2/0)の4日間の処置期間を1回(例えば、例えば用量25mg/m<sup>2</sup>/日にて、第0日目からはじまる24日間の処置サイクル(GM-CSFをサイトカインとして用いる場合)の第3～6日目、または第0日目からはじまる32日間の処置サイクル(IL-2をサイトカインとして用いる場合)の第7～10日目;これを5サイクル(例えば、第1サイクルではGM-CSF、第2サイクルではIL-2、第3サイクルではGM-CSF、第4サイクルではIL-2、第5サイクルではGM-CSFを使用))、サイトカインでの処置期間を2回(例えば、GM-CSFを250μg/m<sup>2</sup>/日にて14日間(第0日目からはじまる処置サイクルの第0～13日目);またはアルデスロイキン(IL-2)を3MIU/m<sup>2</sup>/日(第0日目からはじまる処置サイクルの第0～3日目)および4.5MIU/m<sup>2</sup>/日(第0日目からはじまる処置サイクルの第7～10日目)にて)、そしてRA(例えばイソトレチノイン)での処置期間が1回(第0日目からはじまる処置サイクルの第10～23日目(GM-CSFをサイトカインとして用いる場合)、または第0日目からはじまる処置サイクルの第14～27日目(IL-2をサイトカインとして用いる場合))含んでなる。ある実施形態では、治療スケジュールは表2、3および/または4に示すとおりである。

#### 【0105】

処置サイクルは、同一か、または変更を加えた形(例えば、異なる用量若しくはスケジュールで、あるいは異なったさらなる処置(例えば、1以上の他のサイトカインによる)により)で繰り返すことができる。したがって、全処置期間(即ち、後続するすべての処置サイクルを含む期間、または全体の連続した処置期間を含む期間)は、少なくとも1または2あるいはそれ以上のサイクル、または10サイクルまで含んでもよい。一実施形態では、全処置期間は3、4、5、6、7、8、9または10サイクルを含む。上述したように、処置サイクルは無処置の期間(患者に処置を行わない、即ち、抗体、サイトカイン、他の薬物を投与しない、インターバル期間)を含んでいてもよい。従って、本明細書において用いられる、全体の治療時間は、処置サイクルに治療を行わない該インターバル期間を含んでいてもよい。

#### 【0106】

一実施形態では、上記で特定した35、42または49日間の処置サイクルを、4または5回繰り返し、全体の連続的な処置期間は5または6の処置サイクルを含む。

#### 【0107】

好ましくは、本発明は以下のとおり定義される：

定義1：1日あたり24時間の連続静脈内輸注として患者に抗GD2抗体を含む調製物を投与することによる、GD2陽性癌を治療するための方法。

定義2：抗GD2抗体を含む調製物が、腫瘍細胞溶解を誘導するのに十分な用量(細胞溶

10

20

30

40

50

解の閾値用量)で投与される、定義1に記載の方法。

定義3：細胞溶解の閾値用量が患者ごとに個別に決定される定義2に記載の方法。

定義4：細胞溶解の閾値用量が補体依存性細胞溶解アッセイによって決定される、定義2または3に記載の方法。

定義5：細胞溶解の閾値用量が全血液検査によって決定される、定義2または3に記載の方法。

10

定義6：細胞溶解の閾値用量が、具体的なCDCアッセイまたはWBTにおいて、それぞれのアッセイにおいて最大限可能な標的細胞溶解の、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または100%を誘導すると決定される用量である、定義1～5のいずれかに記載の方法。

定義7：細胞溶解の閾値用量が、具体的なCDCアッセイまたはWBTにおいて、それぞれのアッセイにおいて最大限可能な標的細胞溶解の30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または100%を誘導すると決定される用量である、定義1～6のいずれかに記載の方法。

20

定義8：細胞溶解閾値用量が470～1000、470～10000、1410～3000、または2350～5000 ng/mL(血清または血漿)である、定義1～7のいずれかに記載の方法。

定義9：細胞溶解の閾値用量が2～250、2～2500、2～100、5～200、6～750、6～7500、10～1250、10～12500、6～300、10～500、15～600または25～1000 ng/mL(全血)である、定義1～8のいずれかに記載の方法。

30

定義10：抗GD2抗体を含む調製物が、患者の血清、血漿又は全血における細胞溶解の閾値用量を抗GD2抗体を含む調製物を用いた処置の1、2、3または4日以内に達成する用量で投与される、定義1～9のいずれかに記載の方法。

定義11：前記細胞溶解の閾値が、全処置期間内の抗GD2抗体を含む調製物で処置されていない1以上の期間についても維持される、定義1～10のいずれかに記載の方法。

定義12：細胞溶解のレベルが全体の処置サイクルにわたって維持される、定義1～11のいずれかに記載の方法。

40

定義13：細胞溶解のレベルが全処置期間にわたって維持される、定義1～12のいずれかに記載の方法。

定義14：抗GD2抗体を含む調製物が、1～30 mg/m<sup>2</sup>、1～35 mg/m<sup>2</sup>、1～50 mg/m<sup>2</sup>または1～60 mg/m<sup>2</sup>の日用量で投与される、定義1～13のいずれかに記載の方法。

定義15：抗GD2抗体を含む調製物が、1、2、3、4、5、6、7、7.5、8、9

50

、10、12、15、20、25、30、32、35、40、45、50、または60 mg / m<sup>2</sup>の日用量で投与される、定義の1～14のいずれかに記載の方法。

定義16：抗GD2抗体を含む調製物を、患者の既定の総用量が投与されるまでの処置期間投与する、定義1～15のいずれかに記載の方法。

定義17：抗GD2抗体を含む調製物を、特定の治療効果に達するまでの処置期間投与する、定義1～16のいずれかに記載の方法。

定義18：抗GD2抗体を含む調製物をミニポンプを用いることにより投与する、定義1～17のいずれかに記載の方法。 10

定義19：抗GD2抗体がキメラまたはヒト化抗体である、定義1～18のいずれかに記載の方法。

定義20：抗GD2抗体がch14.18 / CHOまたはch14.18 / SP2 / 0である定義の1～19のいずれかに記載の方法。

定義21：抗GD2抗体を含む調製物がAPN311またはAPN301である、定義1～20のいずれかに記載の方法。 20

定義22：抗GD2抗体を含む調製物が、7、10、15または25 mg / m<sup>2</sup> / 日の用量で投与される、定義1～21のいずれかに記載の方法。

定義23：抗GD2抗体を含む調製物が、4、10、14、15または21日間連続して投与される定義1～22のいずれかに記載の方法。

定義24：抗GD2抗体を含む調製物が、3、4、5または6つの処置サイクルについて投与される定義1～23のいずれかに記載の方法。

30

定義25：抗GD2抗体を含む調製物が、APN311であり、6つの処置サイクルについて10 mg / m<sup>2</sup> / 日の用量で10日間連続して投与される、定義1～24のいずれかに記載の方法。

定義26：抗GD2抗体がch14.18 / SP2 / 0であり、5つの処置サイクルについて、25 mg / m<sup>2</sup> / 日の用量で4日間連続して投与される、定義1～24のいずれかに記載の方法。

定義27：抗GD2抗体を含む調製物の投与に先行して、またはそれと共にIL-2および/またはGM-CSFまたは他のサイトカインの投与を行う、定義1～26のいずれかに記載の方法。 40

定義28：抗GD2抗体を含む調製物の投与期間の後に、イソトレチノインまたは他のレチノイドの投与期間が続いてもよい、定義1～27のいずれかに記載の方法。

定義29：抗GD2抗体を含む調製物の投与を、モルヒネおよび/または1以上の他の鎮痛薬の投与とともに行う、定義1～28のいずれかに記載の方法。

定義30：本発明による抗体の1日以上連続静脈内輸注の間におよび/または全てのモルヒネ処置日に投与されるモルヒネの日用量が、抗体の非連続的な投与の間のモルヒネの 50

日用量よりも低い、定義 1 ~ 29 いずれかに記載の方法。

定義 31 : モルヒネが、抗体が投与される日のすべてではなく何日間かのみ投与される、定義 1 ~ 30 のいずれかに記載の方法。

定義 32 : 本発明による抗体の連続的な静脈内輸注を含む 1 つ以上の処置サイクルの間に投与される処置サイクルあたりのモルヒネ用量が、非連続的な輸注スケジュールでの処置サイクルあたりのモルヒネ用量よりも低い、定義 1 ~ 31 のいずれかに記載の方法。

定義 33 : 全処置期間のモルヒネ投与量が、非連続的な輸注スケジュールにおける全処置期間のモルヒネ用量よりも低い、定義 1 ~ 32 のいずれかに記載の方法。 10

定義 34 : 本発明による 1 時間以上または 1 日以上 of 抗体の連続静脈内輸注の間におよび / またはモルヒネ処置の全ての時間または日に投与されるモルヒネ用量が、 $50 \text{ mcg} / \text{kg} / \text{時}$  よりも低い、または  $30 \text{ mcg} / \text{kg} / \text{時}$  よりも低い、定義 1 ~ 33 のいずれかに記載の方法。

定義 35 : 本発明による抗体の 1 日以上 of 連続静脈内輸注の間におよび / またはモルヒネ処置の全ての日に投与されるモルヒネの日用量が、 $0.9$ 、 $0.72$ 、 $0.48$ 、 $0.38$ 、 $0.4375$  および / または  $0.205 \text{ mg} / \text{kg} / \text{日}$  よりも低い、定義 1 ~ 34 のいずれかに記載の方法。 20

定義 36 : 1 つ以上の鎮痛剤、特にモルヒネ、の用量を、全処置期間に、処置サイクルにおいて、処置サイクルの抗体処置期間に、ある抗体処置日から次の抗体処置日までの間に、および / またはある処置サイクルから次の処置サイクルまでの間に、減少させる、定義 1 ~ 35 のいずれかに記載の方法。

定義 37 : モルヒネの用量を、処置サイクルにおいて、処置サイクルの抗体処置期間に、および / または処置サイクルのある抗体処置日から次の抗体処置日までの間に、継続的に減少させる、定義 1 ~ 36 のいずれかに記載の方法。 30

定義 38 : 定義 1 ~ 37 のいずれかに記載の処置に使用するための抗 GD2 抗体。

定義 39 : 定義 1 ~ 37 のいずれかに記載の治療のための医薬の製造における抗 GD2 抗体の使用。

【実施例】

【0108】

実施例 1 : APN311 および APN301 の配列および関連データ

APN311 配列データ

## 【表 5】

表 5：分子量 (MW) および pI (計算値)

	pI <sup>1)</sup>	MW [D] <sup>1)</sup>	アミノ酸数	状態	2D-DIGE <sup>2)</sup>
抗体	8.61	144701.10	1324	非還元	x
抗体 (1/2)	8.58	72359.56	662	還元	x
重鎖	8.58	48306.59	442	還元	x
軽鎖	8.48	24070.98	220	還元	x

10

1) [http://web.expasy.org/compute\\_pi/](http://web.expasy.org/compute_pi/)により計算

2) 色素の分子量に起因して、2D-DIGEの分子量は予想される分子量よりも高分子量側にシフトする

## 【0109】

ヌクレオチド配列 (cDNA、リーダー配列含む)

「TAG」は、「終止コドン」として機能するので、ペプチド配列には翻訳されない。

20

軽鎖 (配列番号 1) :

```

1  ATG GAA GCG CCA GCG CAG CTT CTC TTC CTC CTC CTA CTC TCG CTC GCA CAT ACC ACT GGA
61  GAA ATA GTG ATG ACG CAG TCT CCA GCC ACC CTG TCT GTG TCT CCA GGG GAA AGA GCC ACC
121 CTC TCC TGC AGA TCT AGT CAG AGT CTT GTA CAC CGT AAT GGA AAC ACC TAT TTA CAT TGG
181 TAC CTG CAG AAG CCA GGC CAG TCT CCA AAG CTC CTG ATT CAC AAA GTT TCC AAC CGA TTT
241 TCT GGG GTC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGA TCA GGG ACA GAT TTC ACA CTC AAG ATC
301 AGC AGA GTG GAG GCT GAG GAT CTG GGA GTT TAT TTC TGT TCT CAA AGT ACA CAT GTT CCT
361 CCG CTC ACG TTC GGT GCT GGG ACC AAG CTG GAG CTG AAA CGA ACT GTG GCT GCA CCA TCT
421 GTC TTC ATC TTC CCG CCA TCT GAT GAG CAG TTG AAA TCT GGA ACT GCC TCT GTT GTG TGC
481 CTG CTG AAT AAC TTC TAT CCC AGA GAG GCC AAA GTA CAG TGG AAG GTG GAT AAC GCC CTC
541 CAA TCG GGT AAC TCC CAG GAG AGT GTC ACA GAG CAG GAC AGC AAG GAC AGC ACC TAC AGC
601 CTC AGC AGC ACC CTG ACG CTG AGC AAA GCA GAC TAC GAG AAA CAC AAA GTC TAC GCC TGC
661 GAA GTC ACC CAT CAG GGC CTG AGC TCG CCC GTC ACA AAG AGC TTC AAC AGG GGA GAG TGT
721 TAG

```

30

重鎖（配列番号2）：

1    ~~ATG GGA TGG AGC TGG ATC TTT ATT TTA ATG CTC TGG GTA AGT AGA GGT CTC CAG TCT GAG~~  
 61    GTC CAA CTG CTG CAG TCT GGA CCT GAG CTG GAG AAG CCT GGC GCT TCA GTG ATG ATA TCC  
 121   TGC AAG GCT TCT GGT TCC TCA TTC ACT GGC TAC AAC ATG AAC TGG GTG AGG CAG AAC ATT  
 181   GGA AAG AGC CTT GAA TGG ATT GGA GCT ATT GAT CCT TAC TAT GGT GGA ACT AGC TAC AAC  
 241   CAG AAG TTC AAG GGC AGG GCC ACA TTG ACT GTA GAC AAA TCG TCC AGC ACA GCC TAC ATG  
 301   CAC CTC AAG AGC CTG ACA TCT GAG GAC TCT GCA GTC TAT TAC TGT GTA AGC GGA ATG GAG  
 361   TAC TGG GGT CAA GGA ACC TCA GTC ACC GTC TCC TCA GCC TCC ACC AAG GGC CCA TCG GTC  
 421   TTC CCC CTG GCA CCC TCC TCC AAG AGC ACC TCT GGG GGC ACA GCG GCC CTG GGC TGC CTG  
 481   GTC AAG GAC TAC TTC CCC GAA CCG GTG ACG GTG TCG TGG AAC TCA GGC GCC CTG ACC AGC  
 541   GGC GTG CAC ACC TTC CCG GCT GTC CTA CAG TCC TCA GGA CTC TAC TCC CTC AGC AGC GTG  
 601   GTG ACC GTG CCC TCC AGC AGC TTG GGC ACC CAG ACC TAC ATC TGC AAC GTG AAT CAC AAG  
 661   CCC AGC AAC ACC AAG GTG GAC AAG AGA GTT GAG CCC AAA TCT TGT GAC AAA ACT CAC ACA  
 721   TGC CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA  
 781   AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC  
 841   GTG AGC CAC GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT  
 901   AAT GCC AAG ACA AAG CCG CCG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC  
 961   CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC  
 1021   AAA GCC CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA  
 1081   CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG  
 1141   ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG  
 1201   CAG CCG GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC  
 1261   CTC TAT AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC  
 1321   TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCC CCG  
 1381   GGT AAA TGA

10

20

ヌクレオチド1～60（取消し線）：リーダー配列

最後のヌクレオチド（取消し線）：終止コドン

30

【0110】

ペプチド配列（シグナルペプチド含む）

シグナルペプチドは、翻訳後プロセッシングの間に開裂し、最終の組換えタンパク質の一部とはならない。

軽鎖（配列番号3）：

1    ~~MEAPAQLLFLLLLWLPD~~TTG  
 21    EIVMTQSPATLSVSPGERAT  
 41    LSCRSSQS L VHRNGNTYLHW  
 61    YLQKPGQSPKLLIHKVSNR F  
 81    SGVPDRFSGSGSGTDFTLKI  
 101   SRVEAEDLG V YFC S QSTHVP  
 121   PLTFGAGTKLELKR TVAAP S  
 141   VFIFPPSDEQLKSGTASVV C  
 161   LLNNFYPREAKVQWKVDNAL  
 181   QSGNSQESVTEQDSKDS TYS  
 201   LSS T L T LSKADYEKHKVYAC  
 221   EVTHQGLSSSPVTKSFNRGEC

40

50

重鎖（配列番号4）：

1 ~~M G W T W I F I L I L S V T T C V H S E~~  
21 V Q L L Q S G P E L E K P G A S V M I S  
41 C K A S G S S F T G Y N M N W V R Q N I  
61 G K S L E W I G A I D P Y Y G G T S Y N  
81 Q K F K G R A T L T V D K S S S T A Y M  
101 H L K S L T S E D S A V Y Y C V S G M E  
121 Y W G Q G T S V T V S S A S T K G P S V  
141 F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L  
161 V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S  
181 G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V  
201 V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K  
221 P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T  
241 C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P  
261 K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D  
281 V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H  
301 N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V  
321 L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N  
341 K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E  
361 P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L  
381 T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G  
401 Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F  
421 L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C  
441 S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P  
461 G K

10

20

アミノ酸1～20（取消し線）：リーダー配列

【0111】

A P N 3 0 1 配列データ

30

【表 6】

表 6：分子量 (MW) および pI (計算値)

	pI <sup>1)</sup>	MW [D] <sup>1)</sup>	アミノ酸数	状態	2D-DIGE <sup>2)</sup>
免疫サイトカイン	8.52	175741.35	1592	非還元	x
抗体	8.61	144941.37	1326	非還元	
免疫サイトカイン (1/2)	8.49	87879.68	796	還元	x
抗体 (1/2)	8.57	72479.69	663	還元	
重鎖+ IL-2	8.47	63861.72	576	還元	x
重鎖	8.59	48461.73	443	還元	
軽鎖	8.27	24035.97	220	還元	x
IL-2	7.05	15418.01	133	還元	

10

20

1) [http://web.expasy.org/compute\\_pi/](http://web.expasy.org/compute_pi/)により計算

2) 色素の分子量に起因して、2D-DIGEの分子量は予想される分子量よりも高分子量側にシフトする

3) IL-2はリンカーを介してFc部分と共有結合しているので、還元的条件下では免疫サイトカインを開裂せず、従って、重鎖、抗体(1/2)および抗体は2D-DIGE上には存在しない。

## 【0112】

ヌクレオチド配列(cDNA、リーダー配列含む)

「TAG」および「TGA」は、「終止コドン」として機能するので、ペプチド配列には翻訳されない。

30

軽鎖(配列番号5)：

```

1  ATG AAG TFG GGT GTT AGG CTG TTG CTG CTG ATG TFG TGG ATT GGT GGT TGC TTA AGG GAC
61  GTG GTG ATG ACC CAG ACC CCC CTG TCC CTG CCC GTG ACC CCC GGC GAG CCC GCC TCC ATC
121 TCC TGC AGA TCT AGT CAG AGT CTT GTA CAC CGT AAT GGA AAC ACC TAT TTA CAT TGG TAC
181 CTG CAG AAG CCA GGC CAG TCT CCA AAG CTC CTG ATT CAC AAA GTT TCC AAC CGA TTT TCT
241 GGG GTC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGA TCA GGG ACA GAT TTC ACA CTC AAG ATC AGC
301 AGA GTG GAG GCT GAG GAT CTG GGA GTT TAT TTC TGT TCT CAA AGT ACA CAT GTT CCT CCG
361 CTC ACG TTC GGT GCT GGG ACC AAG CTG GAG CTG AAA CGA ACT GTG GCT GCA CCA TCT GTC
421 TTC ATC TTC CCG CCA TCT GAT GAG CAG TTG AAA TCT GGA ACT GCC TCT GTT GTG TGC CTG
481 CTG AAT AAC TTC TAT CCC AGA GAG GCC AAA GTA CAG TGG AAG GTG GAT AAC GCC CTC CAA
541 TCG GGT AAC TCC CAG GAG AGT GTC ACA GAG CAG GAC AGC AAG GAC AGC ACC TAC AGC CTC
601 AGC AGC ACC CTG ACG CTG AGC AAA GCA GAC TAC GAG AAA CAC AAA GTC TAC GCC TGC GAA
661 GTC ACC CAT CAG GGC CTG AGC TCG CCC GTC ACA AAG AGC TTC AAC AGG GGA GAG TGT TAG

```

40



重鎖（I L - 2 含む；配列番号6）：

~~1 ATG AAG TTG CCT GTT AGG CTG TTG CTG CTG ATG TTC TGG ATT GGT GGT TCG TTA AGG GAG~~  
61 GTG CAG CTG GTG CAG TCC GGC GCC GAG GTG GAG AAG CCC GGC GCC TCC GTG AAG ATC TCC  
121 TGC AAG GCC TCC GGC TCC TCC TTC ACC GGC TAC AAC ATG AAC TGG GTG CGC CAG AAC ATC  
181 GGC AAG TCC CTG GAG TGG ATC GGC GCC ATC GAC CCC TAC TAC GGC GGC ACC TCC TAC AAC  
241 CAG AAG TTC AAG GGC CGC GCC ACC CTG ACC GTG GAC AAG TCC ACC TCC ACC GCC TAC ATG  
301 CAC CTG AAG TCC CTG CGC TCC GAG GAC ACC GCC GTG TAC TAC TGC GTG TCC GGC ATG GAG  
361 TAC TGG GGC CAG GGC ACC TCC GTG ACC GTG TCC TCC GCC TCC ACC AAG GGC CCA TCG GTC  
421 TTC CCC CTG GCA CCC TCC TCC AAG AGC ACC TCT GGG GGC ACA GCG GCC CTG GGC TGC CTG  
481 GTC AAG GAC TAC TTC CCC GAA CCG GTG ACG GTG TCG TGG AAC TCA GGC GCC CTG ACC AGC  
541 GGC GTG CAC ACC TTC CCG GCT GTC CTA CAG TCC TCA GGA CTC TAC TCC CTC AGC AGC GTG  
601 GTG ACC GTG CCC TCC AGC AGC TTG GGC ACC CAG ACC TAC ATC TGC AAC GTG AAT CAC AAG  
661 CCC AGC AAC ACC AAG GTG GAC AAG AGA GTT GAG CCC AAA TCT TGT GAC AAA ACT CAC ACA  
721 TGC CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTC CTC TTC CCC CCA  
781 AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC  
841 GTG AGC CAC GAA GAC CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT  
901 AAT GCC AAG ACA AAG CCG CCG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC  
961 CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC  
1021 AAA GCC CTC CCA GCC CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA  
1081 CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG  
1141 ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG  
1201 CAG CCG GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC  
1261 CTC TAT AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG AAC GTC TTC TCA TGC  
1321 TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC ACG CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCC CCG  
1381 GGT AAA GCC CCA ACT TCA AGT TCT ACA AAG AAA ACA CAG CTG CAA CTG GAG CAT CTC CTG  
1441 CTG GAT CTC CAG ATG ATT CTG AAT GGA ATT AAC AAC TAC AAG AAT CCC AAA CTC ACC AGG  
1501 ATG CTC ACA TTC AAG TTC TAC ATG CCC AAG AAG GCC ACA GAG CTC AAA CAT CTC CAG TGT  
1561 CTA GAG GAG GAA CTC AAA CCT CTG GAG GAA GTG CTA AAC CTC GCT CAG AGC AAA AAC TTC  
1621 CAC TTA AGA CCT AGG GAC TTA ATC AGC AAT ATC AAC GTA ATA GTT CTG GAA CTA AAG GGA  
1681 TCC GAA ACA ACA TTC ATG TGT GAA TAT GCT GAT GAG ACA GCA ACC ATT GTA GAA TTT CTG  
1741 AAC AGA TGG ATT ACC TTT TGT CAA AGC ATC ATC TCA ACA CTA ACT ~~TGA~~

10

20

30

ヌクレオチド 1 ~ 5 7（取消し線）：リーダー配列

ヌクレオチド 1 3 8 7 ~ 1 3 8 5：I L - 2 配列

最後のヌクレオチド（取消し線）：終止コドン

【 0 1 1 3 】

ペプチド配列（シグナルペプチド含む）

シグナルペプチドは、翻訳後プロセシングの間に開裂し、最終の組換えタンパク質の一部とはならない。

40

軽鎖（配列番号7）：

1    ~~M K L P V R L L V L M F W I P A S L S D~~  
 21   V V M T Q T P L S L P V T P G E P A S I  
 41   S C R S S Q S L V H R N G N T Y L H W Y  
 61   L Q K P G Q S P K L L I H K V S N R F S  
 81   G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S  
 101  R V E A E D L G V Y F C S Q S T H V P P  
 121  L T F G A G T K L E L K R T V A A P S V  
 141  F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L  
 161  L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q  
 181  S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L  
 201  S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E  
 221  V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C

10

重鎖（IL-2含む；配列番号8）：

1    ~~M K L P V R L L V L M F W I P A S L S E~~  
 21   V Q L V Q S G A E V E K P G A S V K I S  
 41   C K A S G S S F T G Y N M N W V R Q N I  
 61   G K S L E W I G A I D P Y Y G G T S Y N  
 81   Q K F K G R A T L T V D K S T S T A Y M  
 101  H L K S L R S E D T A V Y Y C V S G M E  
 121  Y W G Q G T S V T V S S A S T K G P S V  
 141  F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L  
 161  V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S  
 181  G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V  
 201  V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K  
 221  P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T  
 241  C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P  
 261  K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D  
 281  V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H  
 301  N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V  
 321  L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N  
 341  K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E  
 361  P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L  
 381  T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G  
 401  Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F  
 421  L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C  
 441  S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P  
 461  G K A P T S S S T K K T Q L Q L E H L L  
 481  L D L Q M I L N G I N N Y K N P K L T R  
 501  M L T F K F Y M P K K A T E L K H L Q C  
 521  L E E E L K P L E E V L N L A Q S K N F  
 541  H L R P R D L I S N I N V I V L E L K G  
 561  S E T T F M C E Y A D E T A T I V E F L  
 581  N R W I T F C Q S I I S T L T

20

30

40

50

アミノ酸 1 ~ 19 ( 取消し線 ) : リーダー配列

アミノ酸 463 ~ 595 : IL - 2 配列

#### 【 0 1 1 4 】

ch 14 . 18 / CHO ( APN311 ) 抗体の 2 つの GMP 準拠バッチを製造した。これら製造した 2 つの薬物のバッチは、ロット T651204 - A ( 抗体 4 . 3 mL ( 4 . 6 mg / mL ) を含有する ) およびロット T900310 - A ( 抗体 4 . 5 mL ( 4 . 5 mg / mL ) を含有する ) であった。APN311 モノクローナル抗体バルク調製物は、静脈内輸注用の濃縮液として製造される。

#### 【 表 7 】

表 7 : APN311 最終調製物の組成

製品名	マウスーヒトキメラモノクローナル抗 GD2 IgG1 抗体 (ch 14.18/CHO; APN311)
含有量	4.25 - 4.75 mg/mL (1 mL あたりの正確な含有量はロット毎に若干異なり、各バイアルに表示されている)
緩衝液	20 mM ヒスチジン, 5 % サッカロース, 0.01 % Tween 20, WFI
pH 値	5.5 - 6.5
添加物	なし

#### 【 0 1 1 5 】

##### 調製手順

抗体は、無菌条件下で準備する必要がある。適切な体積の ch 14 . 18 / CHO 抗体 ( APN311 ) をバイアルからとる。抗体溶液が患者に輸注される前に、輸注中にインラインフィルターを用いる (いくつかのセンターでは、日常的にそうであるように) か、または粒子フィルター (例えばフィルター Nr . MF1830、Impr o m e d i f o r m、ドイツ) を用いて、濾過 ( 0 . 2 ~ 1 . 2  $\mu$ m ) することが推奨される。抗体の体積を 100 mL の 0 . 9 % NaCl および 5 mL の 20 % ヒトアルブミンを含有する輸液バッグに加える。

#### 【 0 1 1 6 】

希釈する ch 14 . 18 / CHO ( APN311 ) 量の計算

投与する ch 14 . 18 / CHO ( APN311 ) の量は以下のとおり計算する :

: 投与量 : 10 mg / m<sup>2</sup> / 日、8 - 17 日目、24 時間の輸注として。

計算例 : 患者の体表面積 ( BSA ) が 0 . 7 の場合、その患者は 1 日あたり 7 mg ( 10  $\times$  0 . 7 )、即ち 10 日間の処置 ( 1 サイクル ) で 70 mg を必要とする。

#### 【 0 1 1 7 】

##### 実施例 2 : CDC アッセイ法

CDC の原理 ( 補体依存性細胞傷害 )

GD2 抗原陽性の LAN - 1 神経芽細胞腫瘍細胞株 ( 標的細胞 ) に対する APN301 または APN311 の存在下での、正常なヒト血清または血漿の、またはこれら抗体の輸注後の患者の血清または血漿の、腫瘍細胞細胞毒性の誘導について、<sup>51</sup>クロム放出アッセイにて測定した。

#### 【 0 1 1 8 】

標的細胞を、 $\text{Na}_2^{51}\text{Cr}(\text{VI})\text{O}_4$  (細胞膜を透過し、細胞質タンパク質に還元型の  $\text{Cr} - \text{III}$  価の形で結合し、それによってもはやインタクトな細胞から漏出しない) とともにインキュベーションした。これらの細胞が、血清または血漿及び抗体または患者の血清または血漿とのインキュベーション後に溶解する場合は、試験した試料中の溶解能に依存して、放射能が上清中に放出される。

#### 【0119】

界面活性剤による自発的なバックグラウンド溶解及び全溶解 (最大達成可能な細胞溶解または最大限可能な標的細胞溶解) を各実験について測定した。自発的な溶解を差し引いた後、試験した試料により誘導される溶解を全溶解の % として計算した。

#### 【0120】

血清または血漿のサンプリング：

血漿にはヘパリン処理したバキュテナーバイアルを、または血清には血清凝固バイアルを用いて、正常なヒトのドナーまたは患者からの全血を採取した。バイアルを 2000 g で 20 分間遠心分離した。上清の血漿または血清を直ちにアッセイに使用するか、または -20 で保存した (融解 - 再凍結はできない)。

#### 【0121】

$^{51}\text{Cr}$  クロムによる標的細胞の標識：

LAN-1 細胞を、10 % 熱不活化 FCS を添加した RPMI 1640 中で培養した。アッセイの前日に細胞を新しいフラスコと新しい培地に移した。

#### 【0122】

アッセイは、96 ウェル平底細胞培養プレートにて、各ウェルあたり 800 nCi の  $^{51}\text{Cr}$  活性を有する  $4 \times 10^4$  個 / ウェルの標識細胞を用いて、行った。

#### 【0123】

必要な量の細胞を培養フラスコから回収し、上清を遠心し、0.1 % EDTA、1 % FCS を添加した PBS 1 ml 中に再懸濁した。計算された体積の  $^{51}\text{Cr}$  溶液を添加し、細胞を 37 で 90 分間、5 %  $\text{CO}_2$  にて、試験管を穏やかに回転させながらインキュベーションした。

#### 【0124】

次いで、細胞懸濁液を、細胞培養培地で 2 回洗浄して、細胞外の放射能を除去した。この培地にはさらに、100 U / mL のペニシリン G および 100  $\mu\text{g}$  / mL の硫酸ストレプトマイシンを含有させた。洗浄後の標識細胞のペレットを、所望の  $4 \times 10^5$  / mL の濃度になるように再懸濁した。

#### 【0125】

アッセイ手順：

抗体の細胞溶解能を評価するために、下記をピペットで加えた。

50  $\mu\text{L}$  の試料 (抗体希釈液)

100  $\mu\text{L}$  の 1 : 4 に予め希釈した正常なヒト血清または血漿

100  $\mu\text{L}$  の  $^{51}\text{Cr}$  標識細胞懸濁液 ( $4 \times 10^5$  / mL)

CDC 用のアッセイプレートを  $\text{CO}_2$  インキュベーター内で 37、5 %  $\text{CO}_2$  にて 4 時間、あるいは WBT と直接比較する場合は 20 時間インキュベーションした。

#### 【0126】

次いで、各ウェルの上清を吸着カートリッジおよびハーベスティング・プレス (スカトロ) 付きの回収フレームを用いて回収する。これらのカートリッジを細胞上清に浸し、ガンマカウンターの計数バイアルに移した。すべてのサンプルからの放射能 (標識した標的細胞の損傷後のクロムの放出に比例する) を測定し、1 分あたりのカウント (cpm) で表す。結果は、界面活性剤用いて達成可能な最大の溶解の cpm を 100 % とした場合の、全てのサンプル値から自然溶解の cpm を引いた % 溶解として計算される。

10

20

30

40

50

$100 \times (\text{試料の c p m} - \text{自然溶解の c p m}) / (\text{最大溶解の c p m} - \text{自然溶解の c p m}) = \text{試料の \% 溶解}$

図 1、図 2、図 3、及び図 5 に示す結果は、上述の C D C アッセイ法を用いて得られた。

図 7 に示す結果は、同様の C D C アッセイ法を用いて得たが、L A N - 1 細胞のラベルとしてクロムの代わりにカルセインを使用した。

【 0 1 2 7 】

実施例 3 : W B T 方法

W B T (全血試験) の原理 :

10

G D 2 抗原陽性の L A N - 1 神経芽細胞腫瘍細胞株 (標的細胞) に対する A P N 3 0 1 または A P N 3 1 1 の存在下での、正常なヒト全血の、またはこれら抗体の輸注後の患者の全血の、腫瘍細胞細胞毒性の誘導について、 $^{51}$ クロム放出アッセイにて測定した。

【 0 1 2 8 】

標的細胞を、 $\text{Na}_2^{51}\text{Cr}(\text{VI})\text{O}_4$  (細胞膜を透過し、細胞質タンパク質に還元型の Cr - I I I 価の形で結合し、それによってもはやインタクトな細胞から漏出しない) とともにインキュベーションした。これらの細胞が、全血及び抗体または患者の全血とのインキュベーション後に溶解する場合は、試験した試料中の溶解能に依存して、放射能が上清中に放出される。

【 0 1 2 9 】

20

界面活性剤による自発的なバックグラウンド溶解及び全溶解 (最大達成可能な細胞溶解または最大限可能な標的細胞溶解) を各実験について測定した。自発的な溶解を差し引いた後、試験した試料により誘導される溶解を全溶解に対する % として計算した。

【 0 1 3 0 】

採血 :

正常なヒトのドナーまたは患者からの全血をヘパリン処理したバキュテナーバイアルを使用して採取した。

【 0 1 3 1 】

$^{51}$ クロムによる標的細胞の標識 :

L A N - 1 細胞を、10 % 熱不活化 F C S を添加した R P M I 1 6 4 0 中で培養した。アッセイの前日に細胞を新しいフラスコと新しい培地に移した。

30

【 0 1 3 2 】

アッセイは、96 ウェル平底細胞培養プレートにて、各ウェルあたり 800 n C i の  $^{51}$  Cr 活性を有する  $4 \times 10^4$  個 / ウェルの標識細胞を用いて行った。

【 0 1 3 3 】

必要な量の細胞を培養フラスコから回収し、上清を遠心し、0.1 % E D T A、1 % F C S を添加した P B S 1 m l 中に再懸濁した。計算された体積の  $^{51}$  Cr 溶液を添加し、細胞を 37 ° で 90 分間、5 % C O<sub>2</sub> にて、試験管を穏やかに回転させながらインキュベーションした。

【 0 1 3 4 】

40

次いで、細胞懸濁液を、細胞培養培地で 2 回洗浄して、細胞外の放射能を除去した。この培地にはさらに、100 U / m l のペニシリン G および 100  $\mu$  g / m l の硫酸ストレプトマイシンを含有させた。洗浄後の標識細胞のペレットを、所望の  $4 \times 10^5$  / m l の濃度になるように再懸濁した。

【 0 1 3 5 】

アッセイ手順 :

抗体の細胞溶解能を評価するために、下記をピペットで加えた。

50  $\mu$  L の試料 (抗体希釈液)

100  $\mu$  L の 1 : 2 に予め希釈した正常なヒト全血

50

100  $\mu$ L の  $^{51}\text{Cr}$  標識細胞懸濁液 (  $4 \times 10^5 / \text{mL}$  )

患者の全血の細胞溶解能を評価するために、下記をピペットで加えた。

50  $\mu$ L の培地

100  $\mu$ L の 1 : 2 に予め希釈した正常なヒト全血

100  $\mu$ L の  $^{51}\text{Cr}$  標識細胞懸濁液 (  $4 \times 10^5 / \text{mL}$  )

アッセイプレートを  $\text{CO}_2$  インキュベーター内で 37 、 5 %  $\text{CO}_2$  にて 20 時間インキュベーションした。

10

【 0 1 3 6 】

次いで、各ウェルの上清を吸着カートリッジおよびハーベスティング・プレス ( スカトロ ) 付きの回収フレイムを用いて回収する。これらのカートリッジを細胞上清に浸し、ガンマカウンターの計数バイアルに移した。すべてのサンプルからの放射能 ( 標識した標的細胞の損傷後のクロムの放出に比例する ) を測定し、1分あたりのカウント ( c p m ) で表す。結果は、界面活性剤用いて達成可能な最大の溶解の c p m を 100 % とした場合の、全てのサンプル値から自然溶解の c p m を引いた % 溶解として計算される。

$100 \times (\text{試料の c p m} - \text{自然溶解の c p m}) / (\text{最大溶解の c p m} - \text{自然溶解の c p m}) = \text{試料の \% 溶解}$

20

図 1、図 2、図 3、及び図 4 に示す結果は、上述の W B T 法を用いて得られた。

【 0 1 3 7 】

実施例 4 : 抗 G D 2 抗体を含む調製物の連続静脈内輸注による患者の処置

再発性または難治性の神経芽細胞腫患者 41 例に対し、c h 1 4 . 1 8 / C H O ( A P N 3 1 1 ) による処置の例外的使用を実施するに際し、抗 G D 2 抗体免疫療法に常に伴う痛みを軽減するために、持続輸注様式を、皮下 I L 2 およびイソトレチノインと組み合わせで行った。臨床応答は、メタヨードベンジルグアニジンシンチグラフィ ( m l B G )、磁気共鳴画像法 ( M R I ) または X 線コンピュータ断層撮影 ( C T )、骨髓組織学 ( 穿刺又はトレフィン生検によって評価 ) およびカテコールアミンの評価に基づいて、地元の

30

m l B G : 患者 41 名のうち 31 名が免疫療法の前に m l B G で検出された疾患を有していた。

これら 31 名の患者のうち 5 名 ( 16 % ) が完全寛解 ( C R )、7 名 ( 23 % ) が部分寛解 ( P R )、4 名 ( 13 % ) が疾患の安定 ( S D )、および 13 名 ( 42 % ) が疾患の進行 ( P D ) を示した。2名の患者 ( 6 % ) は評価不能であった。1名は免疫療法が利用可能であったが m l B G 検査を実施せず、もう 1 名の患者は免疫療法を実施した後に評価を行う前に、手術によって残っていた腫瘍を切除していた。

【 0 1 3 8 】

全体として、免疫療法前に m l B G で検出可能な疾患を有する 31 名の患者のうち 12 名 ( 39 % ) について、免疫療法後の寛解 ( C R または P R ) が検出された。

40

さらに、31名の患者のうち免疫療法の完了後に疾患の進行を示した 3 名 ( 23 % ) では、3回目の免疫療法サイクルの後に部分寛解が検出された。

【 0 1 3 9 】

M R I / C T : 41 名の患者のうち 13 名は、免疫療法の前に、軟組織に M R I または C T で検出可能な疾患を有していた。

ベースライン時に陽性の M R I の示したもう 1 名の患者は、最終的なステージ再評価の前に、残っていた腫瘍を完全に切除していたために評価不能であった。3回の免疫療法サイクルの後、この患者は疾患の安定 ( S D ) を示した。

M R I または C T で検出可能な疾患を持つ 13 名の患者のうち 5 名 ( 38 % ) が部分寛

50

解 ( P R )、4 名 ( 3 1 % ) が疾患の安定 ( S D )、および 3 名 ( 2 3 % ) が疾患の進行 ( P D ) を示した。1 名 ( 8 % ) の評価は保留されている。

#### 【 0 1 4 0 】

骨髄：患者 4 1 名のうち 1 9 名は、免疫療法の前に骨髄に検出可能な疾患を持っていた。これらの 1 9 名のうち 4 名 ( 2 1 % ) は各試験において免疫療法後の寛解を示した。さらに、6 名 ( 3 2 % ) は 3 回の免疫療法サイクル後に寛解が検出された。しかし、3 回のサイクル後、これら患者のうち 4 名 ( 2 1 % ) は他の検査で、2 名は免疫療法の終了時に、疾患の進行 ( P D ) を示した。

#### 【 0 1 4 1 】

カテコールアミン：患者 4 1 名のうち 1 8 名は、免疫療法の前に、カテコールアミンレベル ( バニルマンデル酸 ( V M A ) および / またはホモバニリン酸 ( H V A ) ) が増加していた。これらの 1 8 名のうち 7 名 ( 3 9 % ) で、正常なカテコールアミンレベルが、3 回の免疫療法サイクル後および / または免疫療法の終了後に検出された。

#### 【 0 1 4 2 】

持続輸注様式での例外的使用の設定で処置した再発 / 難治性の患者において観察されるこれらの顕著な寛解率に加え、これらの患者のすべてにおいて、モルヒネによる処置を実質的に減少あるいはさらには完全に回避することを可能にする、痛みの副作用の優れた減少が認められた：

このスケジュールのモルヒネの静脈投与の標準用量は、 $30 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{時}$ である。c h 1 4 . 1 8 / C H O ( A P N 3 1 1 ) の連続輸注を受けている患者では、c h 1 4 . 1 8 / C H O ( A P N 3 1 1 ) のボラス輸注を受けた患者に比べて、静脈内投与に使用したモルヒネは有意に少なかった。多くの患者では、静脈内モルヒネ投与を完全に中止し、経口ガバペンチンのみで痛みを治療することも可能であった。c h 1 4 . 1 8 / C H O ( A P N 3 1 1 ) 連続輸注中に用いたモルヒネは、図 1 0 および表 9 に示す。抗体輸注は常に 8 日目に開始した。いずれも非連続的な抗体輸注スケジュールによる、以前の I 相臨床試験での既定のモルヒネ用量  $13.5 \text{ mg} / \text{kg}$  (  $0.9 \text{ mg} / \text{kg} / \text{日}$ 、1 サイクルにつき、1 日 8 時間の輸注を 5 日間、これを 3 サイクル)、実施中の第 I I I 相臨床試験の  $10 \text{ mg} / \text{kg}$  ( 初日に  $8 \text{ mg} / \text{kg} / \text{日}$ 、その後の処置日に  $0.38 \text{ mg} / \text{kg} / \text{日}$ 、1 サイクルにつき、1 日 8 時間の輸注を 5 日間、これを 5 サイクル) と比較して、全処置期間 ( 全 6 処置サイクルからなる ) あたりの実際のモルヒネ用量 ( 3 7 名の患者の平均 ) は  $5.4 \text{ mg} / \text{kg}$  であった。

#### 【 0 1 4 3 】

また、第 I / I I 相試験 ( 原発性の難治性または再発神経芽腫の患者における皮下アルデスロイキン ( I L - 2 ) と組み合わせた連続輸注による A P N 3 1 1 投与 ) を下記のとおり設定した：

- ・固定した用量の皮下 I L 2 と組み合わせて c h 1 4 . 1 8 / C H O モノクローナル抗体 ( A P N 3 1 1 ) 処置の免疫調節効果を維持しつつ、毒性 ( 痛み ) プロファイルを減らす。
- ・最大 3 つの用量レベル ( 総用量 :  $100 \text{ mg} / \text{m}^2$  -  $150 \text{ mg} / \text{m}^2$  -  $200 \text{ mg} / \text{m}^2$  ) までの、1 0 ~ 2 1 日間の持続輸注スキームを確立することにより、毒性 ( 痛み ) を低減する。
- ・患者のコンプライアンスを改善する。
- ・免疫療法の有効性を維持あるいはさらに改善する。

#### 【 0 1 4 4 】

この第 I / I I 相試験の予備的結果は、G D 2 特異的抗体 ( A P N 3 1 1 含む ) を用いた治療中に頻繁に発生する動けない程の強い痛みを抑えるためのオピオイド、特にモルヒネ、の使用が、これらの患者において、最初の輸注サイクル中既に有意に少ないことを示している。3 回目のサイクル以降は、改善された適用スキームにより患者の投薬に対する認容性が高まり、モルヒネを必要としなくなるため標準のモルヒネ投与を完全にやめることも可能である。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 4 5 】

モルヒネの有意に減少した投与量は、オピオイド治療に関連する副作用を少なくし、従って、したがって外来治療さえも可能になり、ひいては小児患者が普通の子ども生活を送れる能力（例えば遊んだり学校に通うなど）に良い影響を与える。

## 【 0 1 4 6 】

## 【表 8】

表 8：図 1 1 ～ 1 6 に示した W B T で分析した血液試料

患者	処置日（処置サイクル内の）	サイクル
MJ	15	I
	8	II
	10	II
NG	実施前	-
	8	I
	10	I
	15	I
JK	8	III
	10	III
	15	III
MM	15	III
GA	8	V
	10	V
CJJ	10	V

10

20

30

A P N 3 1 1 による処置期間の初め（即ち第 1 日目）（処置サイクルの 8 日目に相当）に採取した血液試料は、A P N 3 1 1 治療の開始前に採取した。



【表 9】

表 9：モルヒネ投与

サイクル	第 8 日	第 9 日	第 10 日	第 11 日	第 12 日	第 13 日	第 14 日	第 15 日	第 16 日	第 17 日	用量 (mg/kg/サイクル)
1	100%	96%	84%	65%	41%	14%	5%	3%	2%	1%	
輸注速度 (mcg/kg/h)	30.04	28.93	25.19	19.56	12.26	4.10	1.60	1.00	0.60	0.29	
日用量 (mg/kg)	0.72	0.69	0.60	0.47	0.29	0.10	0.04	0.02	0.01	0.01	2.97
2	72%	59%	38%	19%	9%	3%	0%	0%	0%	0%	
輸注速度 (mcg/kg/h)	21.61	17.13	9.53	3.73	1.06	0.13	0.01	0	0	0	
日用量 (mg/kg)	0.52	0.41	0.23	0.09	0.03	0.00	0.00	0	0	0	1.28
3	30%	28%	18%	10%	3%	1%	0%	0%	0%	0%	
輸注速度 (mcg/kg/h)	9.01	8.10	4.53	1.96	0.37	0.04	0	0	0	0	
日用量 (mg/kg)	0.22	0.19	0.11	0.05	0.01	0.00	0	0	0	0	0.58
4	22%	15%	8%	2%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
輸注速度 (mcg/kg/h)	6.61	4.34	2.02	0.39	0	0	0	0	0	0	
日用量 (mg/kg)	0.16	0.10	0.05	0.01	0	0	0	0	0	0	0.32
5	18%	14%	8%	4%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
輸注速度 (mcg/kg/h)	5.41	4.05	2.02	0.78	0	0	0	0	0	0	
日用量 (mg/kg)	0.13	0.10	0.05	0.02	0	0	0	0	0	0	0.29
6	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
輸注速度 (mcg/kg/h)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
日用量 (mg/kg)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00

10

20

30

40

【 図 1 】

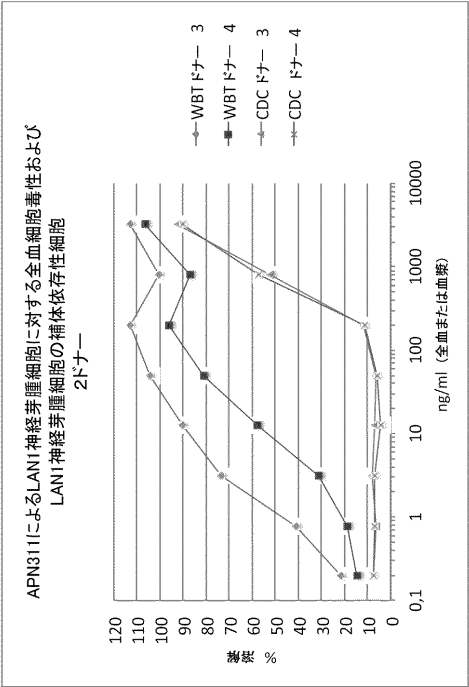


Fig. 1

【 図 2 】

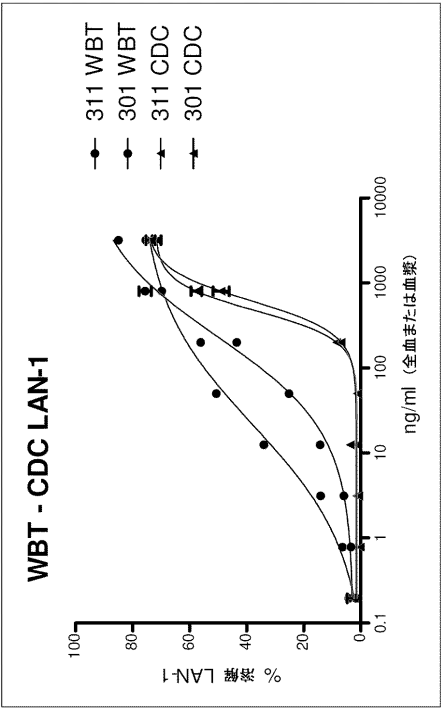


Fig. 2

【 図 3 】

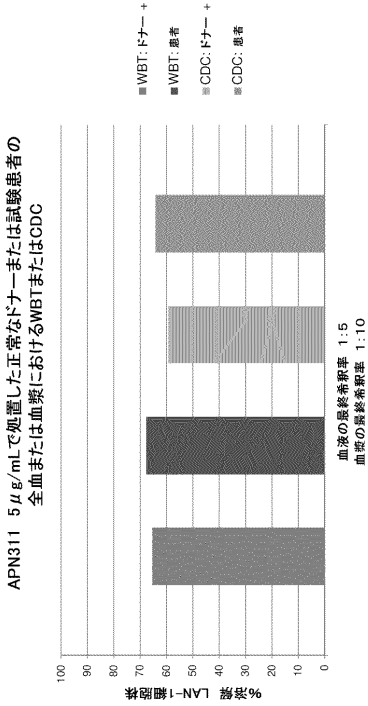


Fig. 3

【 図 4 】

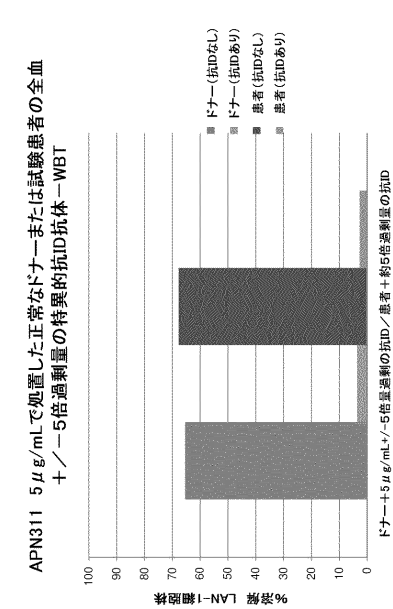


Fig. 4

【 図 5 】

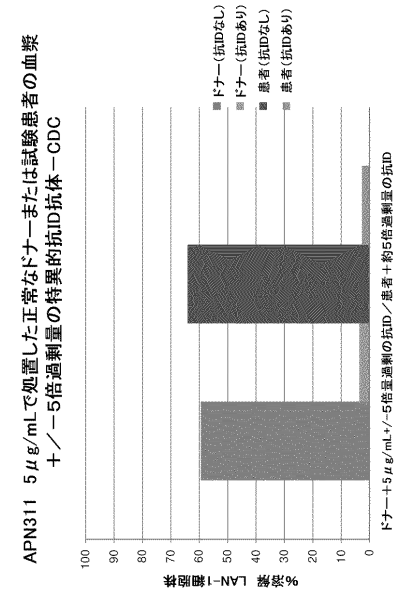


Fig. 5

【 図 6 】

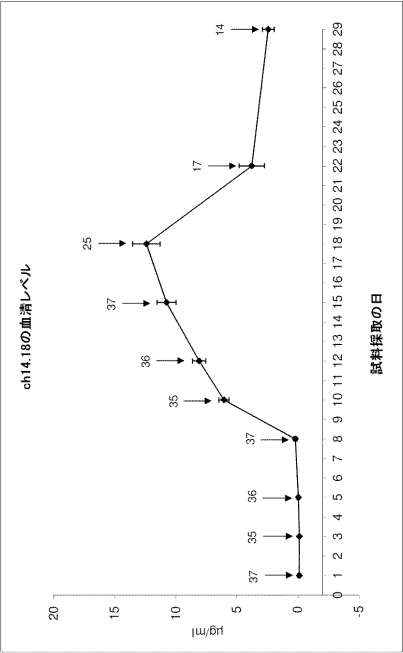


Fig. 6

【 図 7 】

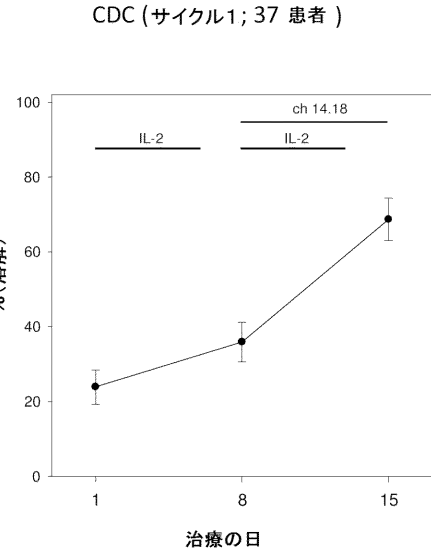


Fig. 7

【 図 8 】

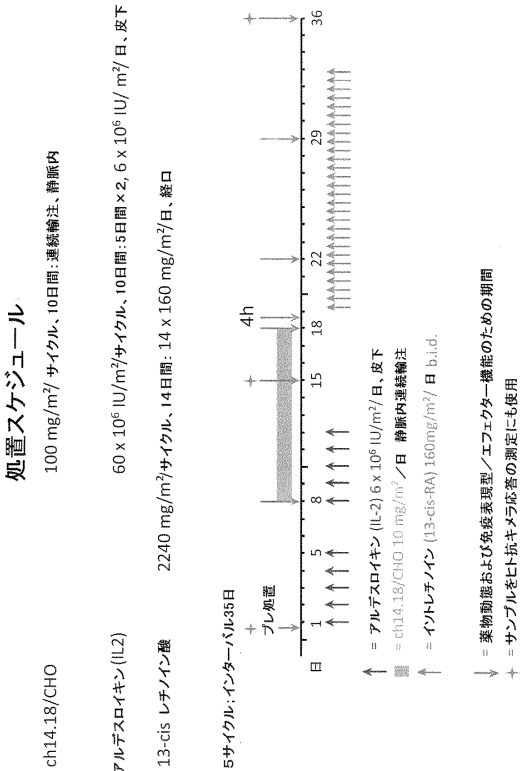


Fig. 8

【図 9】

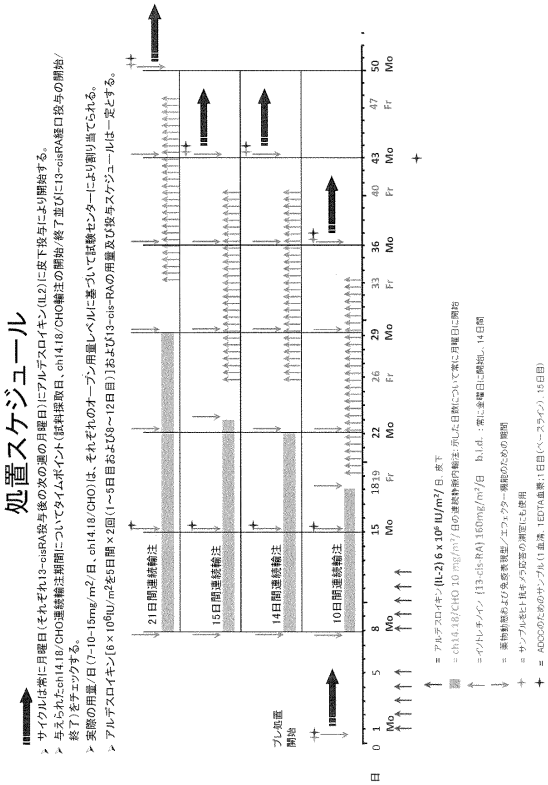
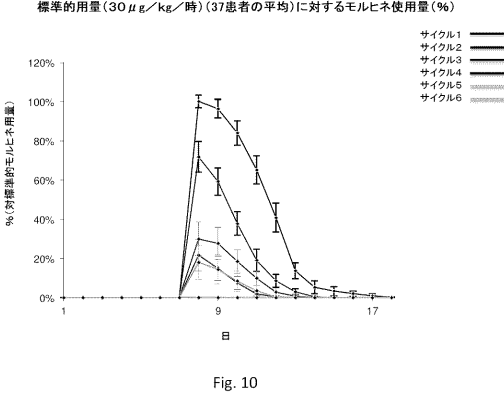
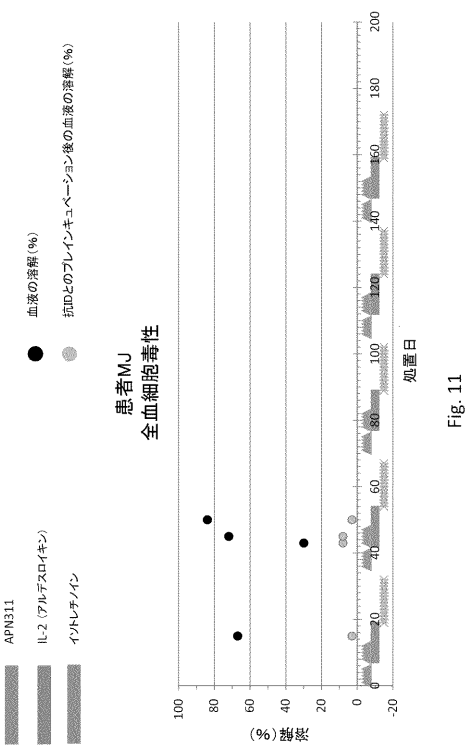


Fig. 9

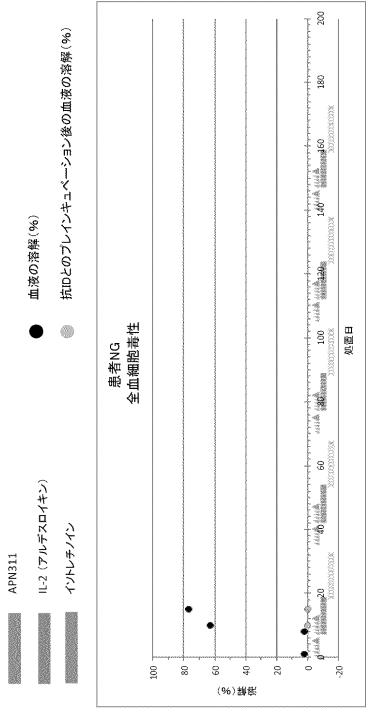
【図 10】



【図 11】



【図 12】



【図 1 3】

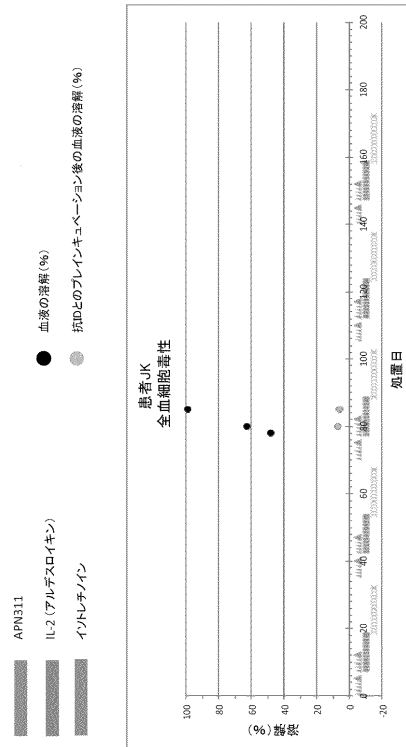


Fig. 13

【図 1 4】

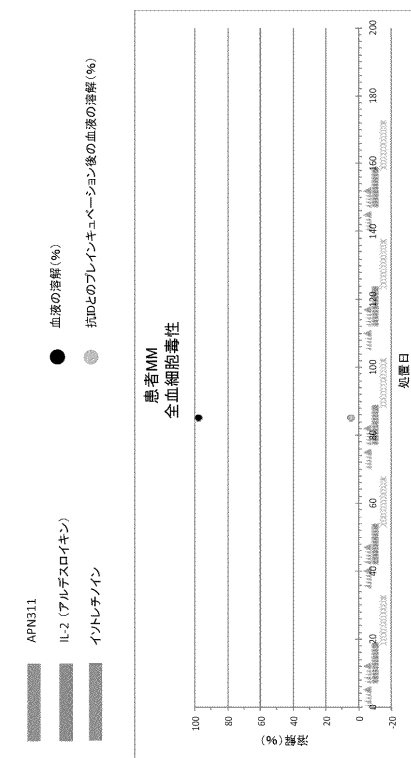


Fig. 14

【図 1 5】

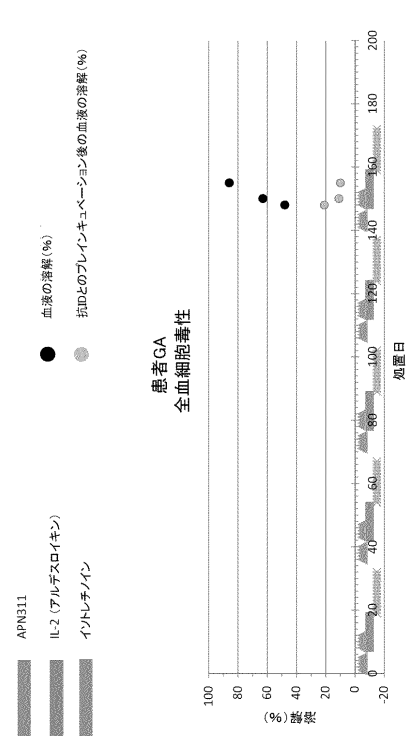


Fig. 15

【図 1 6】

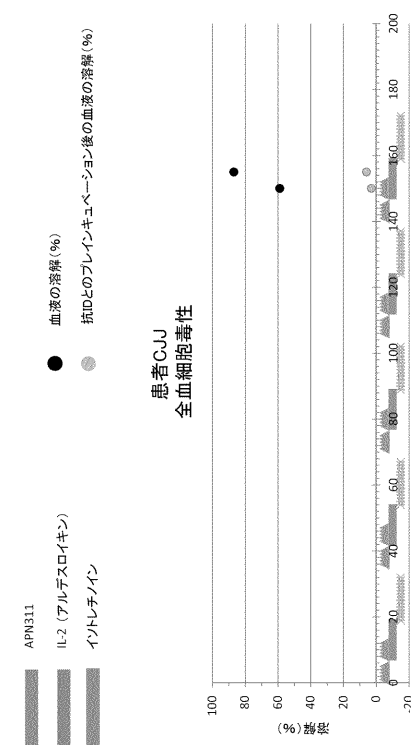


Fig. 16

【図 17】

非連続輸注に対する連続静脈内輸注によるモルヒネ用量の減少			
モルヒネ適用	SIOPEN 第I相試験 (n = 16)	連続輸注パイロット試験 (n = 37)	
開始輸注速度	50 µg/kg KG/h	30 µg/kg KG/h	
追加適用 (ボーナス)	63%	14%	
用量増加	50%	16%	

Fig. 17

【配列表】

0006283665000001.app

## フロントページの続き

特許法第30条第2項適用 [http://www.kinderkrebsinfo.de/health\\_professionals/clinical\\_trials/phase\\_i\\_ii\\_trials\\_in\\_the\\_gpoh/longterminfusion\\_study\\_lti\\_ch1418/index\\_eng.html](http://www.kinderkrebsinfo.de/health_professionals/clinical_trials/phase_i_ii_trials_in_the_gpoh/longterminfusion_study_lti_ch1418/index_eng.html)、2012年6月13日掲載

## 前置審査

- (72)発明者 マンフレート・シュースター  
オーストリア、アー - 1030 ヴィエナ、シュロートガッセ5 / 2 番
- (72)発明者 エヴェリネ・ヤンツェク - ハヴラト  
オーストリア、アー - 1230 ヴィエナ、コルプガッセ2 - 4 / 1 / 2 番
- (72)発明者 ズザンネ・ヴィーダークム  
オーストリア、アー - 8223 シュトゥーベンベルク・アム・ゼー、シュトゥーベンベルク148 番
- (72)発明者 ベルンハルト・ペバル  
オーストリア、アー - 1160 ヴィエナ、リンダウアーガッセ38 / 10 番
- (72)発明者 シュテファン・シュトランナー  
オーストリア、アー - 1120 ヴィエナ、タンブルックガッセ31 / 23 番
- (72)発明者 オリヴァー・ムツチュレヒナー  
オーストリア、アー - 2351 ヴィーナー・ノイドルフ、ライゼンバウアーリング8 / 2 / 21 番
- (72)発明者 フランツ・グロイス  
オーストリア、アー - 2103 ランゲンツァースドルフ、シュタイラーガッセ12 番
- (72)発明者 ルート・ラデンシュタイン  
オーストリア、アー - 1160 ヴィエナ、ロータートシュトラッセ7 - 9 / 1 / 2 / 5 番
- (72)発明者 ホルガー・ローデ  
ドイツ17493 グライフスヴァルト、アムゼルヴェーク20 番

審査官 菊池 美香

- (56)参考文献 特表2006-521085 (JP, A)  
MURRAY JAMES L, PHASE I TRIAL OF MURINE MONOCLONAL ANTIBODY 14G2A ADMINISTERED 以下備考, JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, 1994年, V12 N1, P184-193, BY PROLONGED INTRAVENOUS INFUSION IN PATIENTS WITH NEUROECTODERMAL TUMORS  
Molecular Immunology, 2005, Vol.42, p.1311-1319  
Journal of Clinical Oncology, 2009, Vol.27, No.1, p.85-91

## (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 39 / 395  
A61K 31 / 485  
A61P 35 / 00  
A61P 43 / 00  
C07K 16 / 30  
JSTPlus / JMEDPlus / JST7580 (JDreamIII)  
Caplus / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)