(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-519190
(P2024-519190A)
(43)公表日　令和6年5月8日(2024.5.8)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*38/46*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	38/46		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ	*35/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		４Ｃ０８５
Ａ６１Ｐ	*37/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/04		４Ｃ０８７
Ａ６１Ｋ	*45/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	45/00		
Ａ６１Ｐ	*43/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全49頁）　最終頁に続く

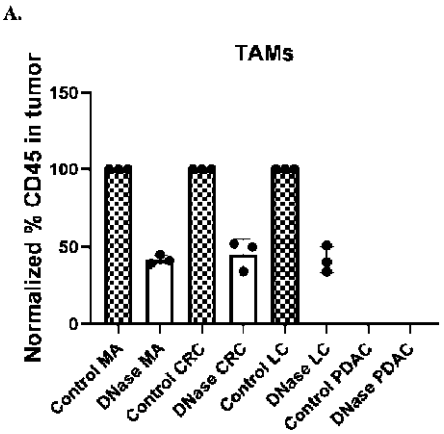
(21)出願番号　特願2024-516552(P2024-516552)
(86)(22)出願日　令和4年5月20日(2022.5.20)
(85)翻訳文提出日　令和6年1月18日(2024.1.18)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/030168
(87)国際公開番号　WO2022/246139
(87)国際公開日　令和4年11月24日(2022.11.24)
(31)優先権主張番号　63/191,551
(32)優先日　令和3年5月21日(2021.5.21)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　523441359
ゲンキン，ドミトリー，ドミトリエヴィチ
ロシア国，サンクト ペテルブルグ １９７１１０，コンスタンチノフスキー ピーアール．，ディー．２６，ケーブイ．１
(71)出願人　523440880
テトス，ジョージー，ヴィクトロヴィッチ
アメリカ合衆国，ニューヨーク州 １０１２８，ニューヨーク，アパートメント １０エー，４５ イースト ８９番 ストリート
(71)出願人　523440891
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　腫瘍微小環境の免疫調節

(57)【要約】
本発明は、ＤＮａｓｅ酵素療法による複数の経路を介する免疫抑制性腫瘍細胞微小環境の免疫調節および腫瘍微生物叢の影響の予防のための方法に関する。有効量のデオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素を、単独でまたは他の免疫調節剤と組み合わせて、投与することを含む、免疫抑制性腫瘍細胞微小環境の免疫調節のための方法。
【選択図】図１Ａ

FIGURE 1



【特許請求の範囲】
【請求項１】
デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素の有効量を対象に投与することを含む癌を有する対象における免疫抑制性腫瘍細胞微小環境の免疫調節の方法。
【請求項２】
前記免疫調節が、免疫抑制性腫瘍細胞微小環境内の細胞障害性ＣＤ８　Ｔ細胞および／またはＮＫ細胞および／またはＣＡＲ－Ｔ細胞による増加された腫瘍細胞殺傷を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素の有効量を対象に投与することを含む癌を有する対象における腫瘍関連微生物叢の調節の方法。
【請求項４】
デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素の有効量と第二の免疫調節物質を対象に投与することを含む、それを必要とする対象における癌を処置する方法。
【請求項５】
前記ＤＮａｓｅ酵素の投与が、免疫抑制性腫瘍細胞微小環境における腫瘍関連マクロファージ（ＴＡＭ）および／または腫瘍浸潤好中球（ＴＩＮ）の数および／または活性を低減するのに効果的である、請求項１～４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
前記第二の免疫調節物質が、免疫チェックポイント調節物質である、請求項４または請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記免疫チェックポイント調節物質が、ＰＤ－１、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ－４、ＣＤ１３７、ＣＤ４０、ＣＤ１３４（ＯＸ－４０）、ＩＣＯＳ、ＫＩＲ、ＬＡＧＳ、ＣＤ２７、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＧＩＴＲ、ＴＣＲ、４－１ＢＢ、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ９６、ＣＤ２２６、ＫＩＲ２ＤＬ、ＶＩＳＴＡ、ＨＬＬＡ２、ＴＬＩＡ、ＤＮＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＤ１５５、ＩＤＯ、ＴＧＦ－ベータ、ＩＬ－１０、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、ＣＳＦ－１、ＩＬ－６、アデノシンＡ２Ａ受容体（Ａ２ＡＲ）、およびそれらのリガンドから選択される免疫チェックポイント分子の調節物質である、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記免疫チェックポイント調節物質が、免疫チェックポイント阻害剤である、請求項６または請求項７に記載の方法。
【請求項９】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＯＸ－４０、ＰＤ－Ｌ１、またはＰＤ－Ｌ２を特異的に結合する抗体である、請求項８に記載の方法。
【請求項１０】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＩＤＯ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＮＯＸ２、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、またはＳＩＧＬＥＣ７に特異的に結合する抗体である、請求項８に記載の方法。
【請求項１１】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、イピリムマブ、トレメリムマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピジリズマブ、ＭＥＤＩ０６８０、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、およびそれらの任意の組合わせから選択される、請求項８に記載の方法。
【請求項１２】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ペムブロリズマブである、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ

１Ｌ３）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ ２（Ｄ１Ｌ２）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ １（Ｄ１Ｌ１）、ＤＮａｓｅ Ｘ、ＤＮａｓｅ γ、ＤＮａｓｅＩＩ、ＤＮａｓｅＩＩα、ＤＮａｓｅＩＩβ、およびカスパーゼ活性化ＤＮａｓｅ（ＣＡＤ）から選択される、請求項１～１２のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１４】

前記ＤＮａｓｅ酵素が、ヒトＤＮａｓｅ Ｉ酵素と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１～１２のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１５】

前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１４に記載の方法。

【請求項１６】

前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＤＮａｓｅ １－ｌｉｋｅ ３（Ｄ１Ｌ３）酵素のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１～１２のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１７】

前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１６に記載の方法。

【請求項１８】

前記ＤＮａｓｅ酵素が、アミノ酸配列ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２を含む、請求項１～１２のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１９】

前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質として投与される、請求項１～１８のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２０】

前記ＤＮａｓｅ酵素タンパク質が、少なくとも２日間静脈内に投与される、請求項１９に記載の方法。

【請求項２１】

前記ＤＮａｓｅ酵素タンパク質が、少なくとも７日間静脈内に投与される、請求項２０に記載の方法。

【請求項２２】

前記ＤＮａｓｅ酵素タンパク質が、少なくとも１４日間静脈内に投与される、請求項２１に記載の方法。

【請求項２３】

前記ＤＮａｓｅ酵素タンパク質が、少なくとも１６日間静脈内に投与される、請求項２２に記載の方法。

【請求項２４】

前記ＤＮａｓｅ酵素タンパク質が、２または３または４週間ごとに１～２日間静脈内に投与され、処置の合計の長さが、２週間～５０年である、請求項１９に記載の方法。

【請求項２５】

前記ＤＮａｓｅ酵素タンパク質が、２または３または４週間ごとに２～５日間静脈内に投与され、処置の合計の長さが、２週間～５０年である、請求項１９に記載の方法。

【請求項２６】

前記ＤＮａｓｅ酵素タンパク質が、２または３または４週間ごとに７～１４日間静脈内に投与され、処置の合計の長さが、２週間～５０年である、請求項１９に記載の方法。

【請求項２７】

前記第二の免疫調節物質を投与する前の１２０時間～１時間に前記ＤＮａｓｅ酵素タンパク質を前記対象に投与することを含む、請求項１９に記載の方法。

【請求項２８】

前記第二の免疫調節物質を投与した後の３０分～２時間に前記ＤＮａｓｅ酵素タンパク質を前記対象に投与することを含む、請求項１９に記載の方法。

【請求項２９】
前記第二の免疫調節物質を投与した後の２時間～３６０時間に前記ＤＮａｓｅ酵素タンパク質を前記対象に投与することを含む、請求項１９に記載の方法。
【請求項３０】
前記ＤＮａｓｅ酵素タンパク質が、１２５～２５０μｇ／ｋｇ／日で投与される、請求項１９～２９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３１】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、遺伝子療法ベクターによりコードされる、請求項１～１８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３２】
前記遺伝子療法ベクターが、前記対象に投与される、請求項３１に記載の方法。
【請求項３３】
前記遺伝子療法ベクターが、（ｉ）カプシドタンパク質と（ｉｉ）前記ＤＮａｓｅ酵素をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結されたプロモータを含む核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（ｒＡＡＶ）発現ベクターである、請求項３１または請求項３２に記載の方法。
【請求項３４】
前記プロモータが、肝臓特異的プロモータ、神経系特異的プロモータ、腸特異的プロモータ、肝臓特異的／神経系特異的タンデムプロモータ、および肝臓特異的／腸特異的タンデムプロモータから選択される、請求項３２に記載の方法。
【請求項３５】
前記プロモータが、腫瘍発生組織または転移標的組織に特異的である、請求項３３に記載の方法。
【請求項３６】
前記ＡＡＶが、血清型１（ＡＡＶ１）、ＡＡＶ２、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶ１１、ＡＡＶ１２、ＡＡＶｒｈ１０、ＡＡＶＬＫ０３、ＡＡＶＬＫ０６、ＡＡＶＬＫ１２、ＡＡＶ－ＫＰ１、ＡＡＶ－Ｆ、ＡＡＶＤＪ、ＡＡＶｈｕ３７、ＡＡＶｒｈ６４Ｒ１、およびＡｎｃ８０から選択される、請求項３３～３５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３７】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）またはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を含む細胞により発現され、かつ前記細胞が、前記対象に投与される、請求項１～１８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３８】
前記ＣＡＲを発現する細胞または前記ＴＣＲを発現する細胞が、前記腫瘍の部位に直接投与される、請求項３７に記載の方法。
【請求項３９】
前記ＣＡＲを発現する細胞またはＴＣＲを発現する細胞が、シングルターゲットまたはマルチターゲットである、請求項３７または請求項３８に記載の方法。
【請求項４０】
前記ＣＡＲが、１つまたは複数の腫瘍抗原への特異的結合が可能な抗原結合ドメインを含む、請求項３７～３９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項４１】
前記ＤＮａｓｅ酵素の投与が、前記第二の免疫調節物質の使用に関連する１つまたは複数の免疫関連有害事象の重症度を低減するのに効果的である、請求項４～４０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項４２】
前記免疫関連有害事象が、サイトカイン放出症候群（ＣＲＳ）である、請求項４１に記載の方法。
【請求項４３】

前記１つまたは複数の免疫関連有害事象が、ブドウ膜炎、シェーグレン症候群、結膜炎、眼瞼炎、上強膜炎、強膜炎、網膜炎、肺炎、胸膜炎、サルコイド様肉芽腫、肝炎、膵炎、自己免疫性糖尿病、間質性腎炎、糸球体腎炎、急性腎障害（ＡＫＩ）、皮膚発疹、掻痒症、白斑、ＤＲＥＳＳ、乾癬、スティーブン・ジョンソン症候群、関節痛、関節炎、筋炎、皮膚筋炎、貧血、好中球減少症、血小板減少症、血栓性微小血管障害症、後天性血友病、血管炎、大腸炎、腸炎、胃炎、心筋炎、心膜炎、下垂体炎、甲状腺炎、副腎炎、脳炎、髄膜炎、多発神経炎、ギラン・バレー症候群、および亜急性炎症性ニューロパチーから選択される、請求項４１に記載の方法。

【請求項４４】

前記ＤＮａｓｅ酵素の投与が、前記対象における腫瘍微生物叢の内容および／または活性の変化をもたらす、請求項１～４３のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４５】

前記腫瘍微生物叢が、アシドバクテリア門、アクチノバクテリア門、バクテロイデス門、クラミジア門、クリシオゲネス門、シアノバクテリア門、フィブロバクテル門、ファーミキューテス門、フソバクテリウム門、ゲンマティモナス門、レンティスファエラ門、プロテオバクテリア門、スピロヘータ門、シネルギステス門、テネリキューテス門、およびベルコミクロビウム門から選択される１種または複数の細菌分類群を含む、請求項４４に記載の方法。

【請求項４６】

前記ＤＮａｓｅ酵素が、細胞療法の前に、細胞療法と共にまたは細胞療法の後に投与される、請求項１～４５のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４７】

前記細胞療法が、（ｉ）キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）もしくはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を含む細胞、および／または（ｉｉ）ＮＫ細胞、および／または（ｉｉｉ）ＣＤ８　Ｔ細胞を投与することを含む、請求項４６に記載の方法。

【請求項４８】

前記対象が、ヒトである、請求項１～４７のいずれか１項に記載の方法。

【請求項４９】

デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素と、第二の免疫調節物質と、医薬的に許容できる担体または賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項５０】

前記第二の免疫調節物質が、免疫チェックポイント調節物質である、請求項４９に記載の医薬組成物。

【請求項５１】

前記免疫チェックポイント調節物質が、ＰＤ－１、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ－４、ＣＤ１３７、ＣＤ４０、ＣＤ１３４（ＯＸ－４０）、ＩＣＯＳ、ＫＩＲ、ＬＡＧＳ、ＣＤ２７、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＧＩＴＲ、ＴＣＲ、４－１ＢＢ、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ９６、ＣＤ２２６、ＫＩＲ２ＤＬ、ＶＩＳＴＡ、ＨＬＬＡ２、ＴＬＩＡ、ＤＮＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＤ１５５、ＩＤＯ、ＴＧＦ－ベータ、ＩＬ－１０、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、ＣＳＦ－１、ＩＬ－６、アデノシンＡ２Ａ受容体（Ａ２ＡＲ）、およびそれらのリガンドから選択される免疫チェックポイント分子の調節物質である、請求項５０に記載の医薬組成物。

【請求項５２】

前記免疫チェックポイント調節物質が、免疫チェックポイント阻害剤である、請求項５０または請求項５１に記載の医薬組成物。

【請求項５３】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＯＸ－４０、ＰＤ－Ｌ１、またはＰＤ－Ｌ２を特異的に結合する抗体である、請求５２に記載の医薬組成物。

【請求項５４】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＩＤＯ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＮＯＸ

２、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、またはＳＩＧＬＥＣ７に特異的に結合する抗体である、請求項５２に記載の医薬組成物。
【請求項５５】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、イピリムマブ、トレメリムマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピジリズマブ、ＭＥＤＩ０６８０、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、およびそれらの任意の組合わせから選択される、請求項５２に記載の医薬組成物。
【請求項５６】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ペムブロリズマブである、請求項５５に記載の医薬組成物。
【請求項５７】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　２（Ｄ１Ｌ２）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　１（Ｄ１Ｌ１）、ＤＮａｓｅ　Ｘ、ＤＮａｓｅ　γ、ＤＮａｓｅＩＩ、ＤＮａｓｅＩＩα、ＤＮａｓｅＩＩβ、およびカスパーゼ活性化ＤＮａｓｅ（ＣＡＤ）から選択される、請求項４９～５６のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項５８】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ酵素と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項４９～５６のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項５９】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項５８に記載の医薬組成物。
【請求項６０】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＤＮａｓｅ　１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）酵素のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項４９～５６のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項６１】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項６０に記載の医薬組成物。
【請求項６２】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、アミノ酸配列ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２を含む、請求項４９～５６のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項６３】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質の形態で前記組成物中に存在する、請求項４９～６２のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項６４】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、前記ＤＮａｓｅ酵素をコードする遺伝子療法ベクターの形態で前記組成物中に存在する、請求項４９～６２のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項６５】
前記遺伝子療法ベクターが、（ｉ）カプシドタンパク質と（ｉｉ）前記ＤＮａｓｅ酵素をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結されたプロモータを含む核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（ｒＡＡＶ）発現ベクターである、請求項６４に記載の医薬組成物。
【請求項６６】
前記プロモータが、肝臓特異的プロモータ、神経系特異的プロモータ、腸特異的プロモータ、肝臓特異的／神経系特異的タンデムプロモータ、および肝臓特異的／腸特異的タンデムプロモータから選択される、請求項６５に記載の医薬組成物。
【請求項６７】
前記プロモータが、腫瘍発生組織または転移標的組織に特異的である、請求項６５に記載の医薬組成物。

【請求項６８】
前記ＡＡＶが、血清型１（ＡＡＶ１）、ＡＡＶ２、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶ１１、ＡＡＶ１２、ＡＡＶｒｈ１０、ＡＡＶＬＫ０３、ＡＡＶＬＫ０６、ＡＡＶＬＫ１２、ＡＡＶ－ＫＰ１、ＡＡＶ－Ｆ、ＡＡＶＤＪ、ＡＡＶｈｕ３７、ＡＡＶｒｈ６４Ｒ１、およびＡｎｃ８０から選択される、請求項６５～６７のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項６９】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、前記ＤＮａｓｅを発現しかつまたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）またはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を含む細胞の形態で前記組成物中に存在する、請求項４９～６２のいずれか１項に記載の医薬組成物。
【請求項７０】
前記ＣＡＲを発現する細胞またはＴＣＲを発現する細胞が、シングルターゲットまたはマルチターゲットである、請求項６９に記載の医薬組成物。
【請求項７１】
前記ＣＡＲが、１つまたは複数の腫瘍抗原への特異的結合が可能な抗原結合ドメインを含む、請求項６９または請求項７０に記載の医薬組成物。
【請求項７２】
デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素と第二の免疫調節物質を含む医薬投与剤形。
【請求項７３】
前記第二の免疫調節物質が、免疫チェックポイント調節物質である、請求項７２に記載の医薬投与剤形。
【請求項７４】
前記免疫チェックポイント調節物質が、ＰＤ－１、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ－４、ＣＤ１３７、ＣＤ４０、ＣＤ１３４（ＯＸ－４０）、ＩＣＯＳ、ＫＩＲ、ＬＡＧＳ、ＣＤ２７、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＧＩＴＲ、ＴＣＲ、４－１ＢＢ、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ９６、ＣＤ２２６、ＫＩＲ２ＤＬ、ＶＩＳＴＡ、ＨＬＬＡ２、ＴＬＩＡ、ＤＮＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＤ１５５、ＩＤＯ、ＴＧＦ－ベータ、ＩＬ－１０、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、ＣＳＦ－１、ＩＬ－６、アデノシンＡ２Ａ受容体（Ａ２ＡＲ）、およびそれらのリガンドから選択される免疫チェックポイント分子の調節物質である、請求項７３に記載の医薬投与剤形。
【請求項７５】
前記免疫チェックポイント調節物質が、免疫チェックポイント阻害剤である、請求項７３または請求項７４に記載の医薬投与剤形。
【請求項７６】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＯＸ－４０、ＰＤ－Ｌ１、またはＰＤ－Ｌ２を特異的に結合する抗体である、請求項７５に記載の医薬投与剤形。
【請求項７７】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＩＤＯ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＮＯＸ２、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、またはＳＩＧＬＥＣ７に特異的に結合する抗体である、請求項７５に記載の医薬投与剤形。
【請求項７８】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、イピリムマブ、トレメリムマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピジリズマブ、ＭＥＤＩ０６８０、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、およびそれらの任意の組合わせから選択される、請求項７５に記載の医薬投与剤形。
【請求項７９】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ペムブロリズマブである、請求項７８に記載の医薬投与剤形。

【請求項８０】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　２（Ｄ１Ｌ２）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　１（Ｄ１Ｌ１）、ＤＮａｓｅ　Ｘ、ＤＮａｓｅ　γ、ＤＮａｓｅＩＩ、ＤＮａｓｅＩＩα、ＤＮａｓｅＩＩβ、およびカスパーゼ活性化ＤＮａｓｅ（ＣＡＤ）から選択される、請求項７２～７９のいずれか１項に記載の医薬投与剤形。
【請求項８１】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ酵素と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項７２～７９のいずれか１項に記載の医薬投与剤形。
【請求項８２】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項８１に記載の医薬投与剤形。
【請求項８３】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＤＮａｓｅ　１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）酵素のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項７２～７９のいずれか１項に記載の医薬投与剤形。
【請求項８４】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項８３に記載の医薬投与剤形。
【請求項８５】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、アミノ酸配列ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２を含む、請求項７２～７９のいずれか１項に記載の医薬投与剤形。
【請求項８６】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質の形態で前記投与剤形中に存在する、請求項７２～８５のいずれか１項に記載の医薬投与剤形。
【請求項８７】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、前記ＤＮａｓｅ酵素をコードする遺伝子療法ベクターの形態で前記投与剤形中に存在する、請求項７２～８５のいずれか１項に記載の医薬投与剤形。
【請求項８８】
前記遺伝子療法ベクターが、（ｉ）カプシドタンパク質と（ｉｉ）前記ＤＮａｓｅ酵素をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結されたプロモータを含む核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（ｒＡＡＶ）発現ベクターである、請求項８７に記載の医薬投与剤形。
【請求項８９】
前記プロモータが、肝臓特異的プロモータ、神経系特異的プロモータ、腸特異的プロモータ、肝臓特異的／神経系特異的タンデムプロモータ、および肝臓特異的／腸特異的タンデムプロモータから選択される、請求項８８に記載の医薬投与剤形。
【請求項９０】
前記プロモータが、腫瘍発生組織または転移標的組織に特異的である、請求項８８に記載の医薬投与剤形。
【請求項９１】
前記ＡＡＶが、血清型１（ＡＡＶ１）、ＡＡＶ２、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶ１１、ＡＡＶ１２、ＡＡＶｒｈ１０、ＡＡＶＬＫ０３、ＡＡＶＬＫ０６、ＡＡＶＬＫ１２、ＡＡＶ－ＫＰ１、ＡＡＶ－Ｆ、ＡＡＶＤＪ、ＡＡＶｈｕ３７、ＡＡＶｒｈ６４Ｒ１、およびＡｎｃ８０から選択される、請求項８８～９９のいずれか１項に記載の医薬投与剤形。
【請求項９２】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、前記ＤＮａｓｅを発現しかつまたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）またはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を含む細胞の形態で前記投与剤形中に存在する、請求項７２～８５のいずれか１項に記載の医薬投与剤形。

【請求項９３】
前記ＣＡＲを発現する細胞またはＴＣＲを発現する細胞が、シングルターゲットまたはマルチターゲットである、請求項９２に記載の医薬投与剤形。
【請求項９４】
前記ＣＡＲが、１つまたは複数の腫瘍抗原への特異的結合が可能な抗原結合ドメインを含む、請求項９２または請求項９３に記載の医薬投与剤形。
【請求項９５】
デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素と、第二の免疫調節物質と、任意に使用説明書を含むキット。
【請求項９６】
前記第二の免疫調節物質が、免疫チェックポイント調節物質である、請求項９５に記載のキット。
【請求項９７】
前記免疫チェックポイント調節物質が、ＰＤ－１、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ－４、ＣＤ１３７、ＣＤ４０、ＣＤ１３４（ＯＸ－４０）、ＩＣＯＳ、ＫＩＲ、ＬＡＧＳ、ＣＤ２７、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＧＩＴＲ、ＴＣＲ、４－１ＢＢ、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ９６、ＣＤ２２６、ＫＩＲ２ＤＬ、ＶＩＳＴＡ、ＨＬＬＡ２、ＴＬＩＡ、ＤＮＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＤ１５５、ＩＤＯ、ＴＧＦ－ベータ、ＩＬ－１０、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、ＣＳＦ－１、ＩＬ－６、アデノシンＡ２Ａ受容体（Ａ２ＡＲ）、およびそれらのリガンドから選択される免疫チェックポイント分子の調節物質である、請求項９６に記載のキット。
【請求項９８】
前記免疫チェックポイント調節物質が、免疫チェックポイント阻害剤である、請求項９６または請求項９７に記載のキット。
【請求項９９】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＯＸ－４０、ＰＤ－Ｌ１、またはＰＤ－Ｌ２を特異的に結合する抗体である、請求項９８に記載のキット。
【請求項１００】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＩＤＯ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＮＯＸ２、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、またはＳＩＧＬＥＣ７に特異的に結合する抗体である、請求項９８に記載のキット。
【請求項１０１】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、イピリムマブ、トレメリムマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピジリズマブ、ＭＥＤＩ０６８０、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、およびそれらの任意の組合わせから選択される、請求項９８に記載のキット。
【請求項１０２】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ペムブロリズマブである、請求項１０１に記載のキット。
【請求項１０３】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　２（Ｄ１Ｌ２）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　１（Ｄ１Ｌ１）、ＤＮａｓｅ　Ｘ、ＤＮａｓｅ　γ、ＤＮａｓｅＩＩ、ＤＮａｓｅＩＩα、ＤＮａｓｅＩＩβ、およびカスパーゼ活性化ＤＮａｓｅ（ＣＡＤ）から選択される、請求項９５～１０２のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１０４】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ酵素と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項９５～１０２のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１０５】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１と少なくとも９０％の配列同一性を有

するアミノ酸配列を含む、請求項１０４に記載のキット。
【請求項１０６】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＤＮａｓｅ　１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）酵素のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項９５～１０２のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１０７】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項１０６に記載のキット。
【請求項１０８】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、アミノ酸配列ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２を含む、請求項９５～１０２のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１０９】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質の形態で前記キット中に存在する、請求項９５～１０８のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１１０】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、前記ＤＮａｓｅ酵素をコードする遺伝子療法ベクターの形態で前記キット中に存在する、請求項９５～１０８のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１１１】
前記遺伝子療法ベクターが、（ｉ）カプシドタンパク質と（ｉｉ）前記ＤＮａｓｅ酵素をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結されたプロモータを含む核酸を含む組換えアデノ随伴ウイルス（ｒＡＡＶ）発現ベクターである、請求項１１０に記載のキット。
【請求項１１２】
前記プロモータが、肝臓特異的プロモータ、神経系特異的プロモータ、腸特異的プロモータ、肝臓特異的／神経系特異的タンデムプロモータ、および肝臓特異的／腸特異的タンデムプロモータから選択される、請求項１１１に記載のキット。
【請求項１１３】
前記プロモータが、腫瘍発生組織または転移標的組織に特異的である、請求項１１１に記載のキット。
【請求項１１４】
前記ＡＡＶが、血清型１（ＡＡＶ１）、ＡＡＶ２、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶ１１、ＡＡＶ１２、ＡＡＶｒｈ１０、ＡＡＶＬＫ０３、ＡＡＶＬＫ０６、ＡＡＶＬＫ１２、ＡＡＶ－ＫＰ１、ＡＡＶ－Ｆ、ＡＡＶＤＪ、ＡＡＶｈｕ３７、ＡＡＶｒｈ６４Ｒ１、およびＡｎｃ８０から選択される、請求項１１１～１１３のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１１５】
前記ＤＮａｓｅ酵素が、前記ＤＮａｓｅを発現しかつまたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）またはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を含む細胞の形態で前記キット中に存在する、請求項９５～１０８のいずれか１項に記載のキット。
【請求項１１６】
前記ＣＡＲを発現する細胞またはＴＣＲを発現する細胞が、シングルターゲットまたはマルチターゲットである、請求項１１５に記載のキット。
【請求項１１７】
前記ＣＡＲが、１つまたは複数の腫瘍抗原への特異的結合が可能な抗原結合ドメインを含む、請求項１１５または請求項１１６に記載のキット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本出願は、２０２１年５月２１日出願の米国特許仮出願第６３／１９１，５５１号の優先権を主張しており、この特許仮出願の開示は、全体として参照により本明細書に組み入れ

られる。
【０００２】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩフォーマットで電子的に提出された配列表を含み、それは全体として参照により本明細書に組み入れられる。２０２２年５月１９日に作成された上記ＡＳＣＩＩコピーは、２５２７３２＿０００００３８＿ＳＬ．ｔｘｔと命名され、１４，０９７バイトのサイズである。
【０００３】
発明の分野
本発明は、デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素を用いる、異なる癌を有する患者における免疫抑制性腫瘍細胞微小環境の免疫調節および腫瘍微生物叢の影響の予防のための新しい方法に関する。
【背景技術】
【０００４】
発明の背景
悪性腫瘍を有する患者は、健常な個体に比較して、血漿および血清中に高レベルの循環するセルフリーＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）を有する（Ｆｌｅｉｓｃｈｈａｃｋｅｒ，２００７）。癌患者において、循環するｃｆＤＮＡは、死滅する非腫瘍細胞、腫瘍細胞および好中球を起源とする。腫瘍は、癌患者において血栓形成促進性状態、悪液質および臓器不全の確立に寄与する好中球細胞外ＤＮＡトラップ（ＮＥＴｓ）を放出させ易くする（Ｄｅｍｍｅｒｓ，２０１２）。腫瘍を起源とするｃｆＤＮＡは、転移および化学療法抵抗性の発生に寄与し得る（Ｇａｒｃｉａ－Ｏｌｍｏ，２０１３）。循環するｃｆＤＮＡの量は、腫瘍の進行に伴って増加し（Ｓａｗｙｅｒｓ，２００８）、進行疾患および転移疾患を有する患者では最大レベルに達する（Ｂｕｔｔ，２００８）。より多量の循環ｃｆＤＮＡは患者の生存率の低さと有意に相関することが、示されている（Ｓｃｈｗａｒｚｅｎｂａｃｈ，２００８）。
【０００５】
本発明者らは、患者の循環中への高用量ＤＮａｓｅタンパク質の全身投与が、癌（例えば、癌腫、肉腫、リンパ腫、黒色腫；例えば、米国特許第７，６１２，０３２号；同第８，７１０，０１２号；同第９，２４８，１６６号を参照）、体細胞モザイクの発生（例えば、米国特許出願公開第２０１７００５６４８２号を参照）、および化学療法または放射線療法に関連する副作用（例えば、米国特許出願公開第２０１７０１００４６３号を参照）を含む、血中の増加されたレベルのｃｆＤＮＡと関連する多数の疾患および状態の処置に有用であり得ることを、過去に実証した。これらの特許および特許出願の全ては、全体として参照により本明細書に組み入れられる。他の者たちがのちに、類似の影響を実証した（Ｗｅｎ，２０１３；Ｃｅｄｅｒｖａｌ，２０１５；Ｔｏｈｍｅ，２０１６；Ｐａｔｕｔｉｎａ，２０１１；Ｌｉ，２０１５）。
【０００６】
免疫チェックポイント阻害剤（ＩＣＩ）は現在、多数の癌で認可されている。しかし、単剤療法への報告された奏効率は、２８～５２％の範囲である（Ｄａｒｖｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，２０１８）。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００７】
発明の概要
本発明は、癌の、特に免疫チェックポイント調節物質の単剤療法で効果的に処置されないそれらの癌の、新しくより効果的な処置のための当該技術分野での大きな要望に取り組む。
【課題を解決するための手段】
【０００８】

一態様において、本発明は、デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素の有効量を対象に投与することを含む、癌を有する対象における免疫抑制性腫瘍細胞微小環境の免疫調節の方法を提供する。幾つかの実施形態において、免疫調節は、免疫抑制性腫瘍細胞微小環境内の細胞障害性ＣＤ８　Ｔ細胞および／またはＮＫ細胞および／またはＣＡＲ－Ｔ細胞による増加された腫瘍細胞殺傷を含む。

【０００９】

別の態様において、本発明は、デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素の有効量を対象に投与することを含む、癌を有する対象における腫瘍関連微生物叢の調節の方法を提供する。

【００１０】

さらなる態様において、本発明は、デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素の有効量と第二の免疫調節物質を対象に投与することを含む、それを必要とする対象における癌を処置する方法を提供する。

【００１１】

上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素の投与は、免疫抑制性腫瘍細胞微小環境における腫瘍関連マクロファージ（ＴＡＭ）および／または腫瘍浸潤好中球（ＴＩＮ）の数および／または活性を低減するのに効果的である。

【００１２】

第二の免疫調節物質を投与することを含む上記方法の幾つかの実施形態において、第二の免疫調節物質は、免疫チェックポイント調節物質である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント調節物質は、ＰＤ－１、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ－４、ＣＤ１３７、ＣＤ４０、ＣＤ１３４（ＯＸ－４０）、ＩＣＯＳ、ＫＩＲ、ＬＡＧＳ、ＣＤ２７、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＧＩＴＲ、ＴＣＲ、４－１ＢＢ、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ９６、ＣＤ２２６、ＫＩＲ２ＤＬ、ＶＩＳＴＡ、ＨＬＬＡ２、ＴＬＩＡ、ＤＮＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＤ１５５、ＩＤＯ、ＴＧＦ－ベータ、ＩＬ－１０、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、ＣＳＦ－１、ＩＬ－６、アデノシンＡ２Ａ受容体（Ａ２ＡＲ）、およびそれらのリガンドから選択される免疫チェックポイント分子の調節物質である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント調節物質は、免疫チェックポイント阻害剤である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤は、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＯＸ－４０、ＰＤ－Ｌ１、またはＰＤ－Ｌ２を特異的に結合する抗体である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤は、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＩＤＯ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＮＯＸ２、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、またはＳＩＧＬＥＣ７に特異的に結合する抗体である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤は、イピリムマブ、トレメリムマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピジリズマブ、ＭＥＤＩ０６８０、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、およびそれらの任意の組合わせから選択される。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤は、ペムブロリズマブである。

【００１３】

本発明の上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　２（Ｄ１Ｌ２）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　１（Ｄ１Ｌ１）、ＤＮａｓｅ　Ｘ、ＤＮａｓｅ　γ、ＤＮａｓｅＩＩ、ＤＮａｓｅＩＩα、ＤＮａｓｅＩＩβおよびカスパーゼ活性化ＤＮａｓｅ（ＣＡＤ）から選択される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ酵素と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ　１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）酵素のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、

ＤＮａｓｅ酵素は、アミノ酸配列ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２を含む。

【００１４】

本発明の上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質として投与される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、少なくとも２日間、静脈内に投与される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、少なくとも７日間、静脈内に投与される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、少なくとも１４日間、静脈内に投与される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、少なくとも１６日間、静脈内に投与される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、２または３または４週間ごとに１～２日間、静脈内に投与され、処置の合計の長さは、２週間～５０年である。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、２または３または４週間ごとに２～５日間、静脈内に投与され、処置の合計の長さは、２週間～５０年である。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、２または３または４週間ごとに７～１４日間、静脈内に投与され、処置の合計の長さは、２週間～５０年である。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、１２５～２５０μｇ／ｋｇ／日で投与される。

【００１５】

第二の免疫調節物質の投与を含む方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、第二の免疫調節物質の投与の１２０時間～１時間前に投与される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、第二の免疫調節物質の投与の３０分～２時間後に投与される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、第二の免疫調節物質の投与の２時間～３６０時間後に投与される。

【００１６】

本発明の上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、遺伝子療法ベクターによりコードされる。幾つかの実施形態において、上記遺伝子療法ベクターは、対象に投与される。幾つかの実施形態において、上記遺伝子療法ベクターは、（ｉ）カプシドタンパク質と、（ｉｉ）ＤＮａｓｅ酵素をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結されたプロモータを含む核酸、を含む組換えアデノ随伴ウイルス（ｒＡＡＶ）発現ベクターである。幾つかの実施形態において、プロモータは、肝臓特異性プロモータ、神経系特異性プロモータ、腸特異性プロモータ、肝臓特異性／神経系特異性タンデムプロモータ、および肝臓特異性／腸特異性タンデムプロモータから選択される。幾つかの実施形態において、プロモータは、腫瘍発生組織または転移標的組織に特異的である。幾つかの実施形態において、ＡＡＶは、血清型１（ＡＡＶ１）、ＡＡＶ２、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶ１１、ＡＡＶ１２、ＡＡＶｒｈ１０、ＡＡＶＬＫ０３、ＡＡＶＬＫ０６、ＡＡＶＬＫ１２、ＡＡＶ－ＫＰ１、ＡＡＶ－Ｆ、ＡＡＶＤＪ、ＡＡＶｈｕ３７、ＡＡＶｒｈ６４Ｒ１、およびＡｎｃ８０から選択される。

【００１７】

本発明の上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）またはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を含む細胞により発現され、上記細胞が、対象に投与される。幾つかの実施形態において、ＣＡＲを発現する細胞またはＴＣＲを発現する細胞は、腫瘍の部位に直接投与される。幾つかの実施形態において、ＣＡＲを発現する細胞またはＴＣＲを発現する細胞は、シングルターゲットまたはマルチターゲットである。幾つかの実施形態において、ＣＡＲは、１つまたは複数の腫瘍抗原への特異的結合が可能な抗原結合ドメインを含む。

【００１８】

第二の免疫調節物質の使用を含む本発明の上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素の投与は、上記第二の免疫調節物質の使用に関連する１つまたは複数の免疫関連有害事象の重症度を低減するのに効果的である。幾つかの実施形態において、そのような免疫関連有害事象は、サイトカイン放出症候群（ＣＲＳ）である。幾つかの

実施形態において、１つまたは複数の免疫関連有害事象は、ブドウ膜炎、シェーグレン症候群、結膜炎、眼瞼炎、上強膜炎、強膜炎、網膜炎、肺炎、胸膜炎、サルコイド様肉芽腫、肝炎、膵炎、自己免疫性糖尿病、間質性腎炎、糸球体腎炎、急性腎障害（ＡＫＩ）、皮膚発疹、掻痒症、白斑、ＤＲＥＳＳ、乾癬、スティーブン・ジョンソン症候群、関節痛、関節炎、筋炎、皮膚筋炎、貧血、好中球減少症、血小板減少症、血栓性微小血管障害症、後天性血友病、血管炎、大腸炎、腸炎、胃炎、心筋炎、心膜炎、下垂体炎、甲状腺炎、副腎炎、脳炎、髄膜炎、多発神経炎、ギラン・バレー症候群、および亜急性炎症性ニューロパチーから選択される。

【００１９】

本発明の上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素の投与は、対象における腫瘍微生物叢の内容および／または活性の変化をもたらす。幾つかの実施形態において、腫瘍微生物叢は、アシドバクテリア門、アクチノバクテリア門、バクテロイデス門、クラミジア門、クリシオゲネス門、シアノバクテリア門、フィブロバクテル門、ファーミキューテス門、フソバクテリウム門、ゲンマティモナス門、レンティスファエラ門、プロテオバクテリア門、スピロヘータ門、シネルギステス門、テネリキューテス門、およびベルコミクロビウム門から選択される１種または複数の細菌分類群を含む。

【００２０】

本発明の上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、細胞療法の前に、それと共に、またはその後に投与される。幾つかの実施形態において、細胞療法は、（ｉ）キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）もしくはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を含む細胞、および／または（ｉｉ）ＮＫ細胞、および／または（ｉｉｉ）ＣＤ８　Ｔ細胞、を投与することを含む。

【００２１】

本発明の上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、対象は、ヒトである。

【００２２】

別の態様において、本発明は、デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素と、第二の免疫調節物質と、医薬的に許容できる担体または賦形剤、を含む医薬組成物を提供する。

【００２３】

関係する態様において、本発明は、デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素と、第二の免疫調節物質、を含む医薬投与剤形を提供する。

【００２４】

更なる態様において、本発明は、デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素と、第二の免疫調節物質と、任意に使用説明書、を含むキットを提供する。

【００２５】

上記医薬組成物、投与剤形、およびキットのいずれかの幾つかの実施形態において、第二の免疫調節物質は、免疫チェックポイント調節物質である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント調節物質は、ＰＤ－１、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ－４、ＣＤ１３７、ＣＤ４０、ＣＤ１３４（ＯＸ－４０）、ＩＣＯＳ、ＫＩＲ、ＬＡＧＳ、ＣＤ２７、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＧＩＴＲ、ＴＣＲ、４－１ＢＢ、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ９６、ＣＤ２２６、ＫＩＲ２ＤＬ、ＶＩＳＴＡ、ＨＬＬＡ２、ＴＬＩＡ、ＤＮＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＤ１５５、ＩＤＯ、ＴＧＦ－ベータ、ＩＬ－１０、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、ＣＳＦ－１、ＩＬ－６、アデノシンＡ２Ａ受容体（Ａ２ＡＲ）、およびそれらのリガンドから選択される免疫チェックポイント分子の調節物質である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント調節物質は、免疫チェックポイント阻害剤である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤は、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＯＸ－４０、ＰＤ－Ｌ１、またはＰＤ－Ｌ２を特異的に結合する抗体である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤は、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＩＤＯ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＮＯＸ２、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、またはＳＩＧＬＥＣ７に特異的に結合する抗体である。幾つかの実施形態

において、免疫チェックポイント阻害剤は、イピリムマブ、トレメリムマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピジリズマブ、ＭＥＤＩ０６８０、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、およびそれらの任意の組合わせから選択される。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤は、ペムブロリズマブである。

【００２６】

上記医薬組成物、投与剤形、およびキットのいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ　Ｉ、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　２（Ｄ１Ｌ２）、ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　１（Ｄ１Ｌ１）、ＤＮａｓｅ　Ｘ、ＤＮａｓｅ　γ、ＤＮａｓｅＩＩ、ＤＮａｓｅＩＩα、ＤＮａｓｅＩＩβおよびカスパーゼ活性化ＤＮａｓｅ（ＣＡＤ）から選択される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ酵素と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ　１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）酵素のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、アミノ酸配列ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２を含む。

【００２７】

上記医薬組成物、投与剤形、およびキットのいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質の形態で存在する。

【００２８】

上記医薬組成物、投与剤形、およびキットのいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、上記ＤＮａｓｅ酵素をコードする遺伝子療法ベクターの形態で存在する。幾つかの実施形態において、遺伝子療法ベクターは、（ｉ）カプシドタンパク質と、（ｉｉ）ＤＮａｓｅ酵素をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結されたプロモータを含む核酸、を含む組換えアデノ随伴ウイルス（ｒＡＡＶ）発現ベクターである。幾つかの実施形態において、プロモータは、肝臓特異性プロモータ、神経系特異性プロモータ、腸特異性プロモータ、肝臓特異性／神経系特異性タンデムプロモータ、および肝臓特異性／腸特異性タンデムプロモータから選択される。幾つかの実施形態において、プロモータは、腫瘍発生組織または転移標的組織に特異的である。幾つかの実施形態において、ＡＡＶは、血清型１（ＡＡＶ１）、ＡＡＶ２、ＡＡＶ３、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶ１１、ＡＡＶ１２、ＡＡＶｒｈ１０、ＡＡＶＬＫ０３、ＡＡＶＬＫ０６、ＡＡＶＬＫ１２、ＡＡＶ－ＫＰ１、ＡＡＶ－Ｆ、ＡＡＶＤＪ、ＡＡＶｈｕ３７、ＡＡＶｒｈ６４Ｒ１、およびＡｎｃ８０から選択される。

【００２９】

上記医薬組成物、投与剤形、およびキットのいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、上記ＤＮａｓｅを発現しかつまたキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）またはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を含む細胞の形態で存在する。幾つかの実施形態において、ＣＡＲを発現する細胞またはＴＣＲを発現する細胞は、シングルターゲットまたはマルチターゲットである。幾つかの実施形態において、ＣＡＲは、１つまたは複数の腫瘍抗原への特異的結合が可能な抗原結合ドメインを含む。

【００３０】

本明細書に記載されるこれらのおよび他の態様は、以下の記載、特許請求の範囲および図面において当業者に明白となろう。

【図面の簡単な説明】

【００３１】

【図１】乳腺腺癌（ＭＡ）、大腸癌（ＣＲＣ）、肺癌（ＬＣ）、膵臓腺癌（ＰＤＡＣ）のモデルでの（Ａ）ＴＡＭおよび（Ｂ）ＴＩＮに対するＤＮａｓｅの影響。ＴＡＭおよびＴＩＭの量は、各実験におけるＰＢＳ群（腫瘍中のＣＤ４５を１００％として設定された、

対照）の平均ＴＡＭおよびＴＩＭと比較したパーセンテージとして正規化された。
【図２】（Ａ）ＴＡＭおよび（Ｂ）ＴＩＮに対するＤＮａｓｅ投与の異なる治療レジメンの影響。ＴＡＭおよびＴＩＭの量は、各実験におけるＰＢＳ群（腫瘍中のＣＤ４５を１００％として設定された、対照）の平均ＴＡＭおよびＴＩＭと比較したパーセンテージとして正規化された。
【図３】腫瘍移植後の異なる期間での（Ａ）ＴＡＭおよび（Ｂ）ＴＩＮに対するＤＮａｓｅ投与の影響。ＴＡＭおよびＴＩＭの量は、各実験におけるＰＢＳ群（腫瘍中のＣＤ４５を１００％として設定された、対照）の平均ＴＡＭおよびＴＩＭと比較したパーセンテージとして正規化された。
【図４】腫瘍移植後の異なる期間でのチェックポイント阻害剤と組み合わせたＤＮａｓｅ投与のＴＡＭに対する影響。ＴＡＭの量は、各実験におけるＰＢＳ群（腫瘍中のＣＤ４５を１００％として設定された、対照）の平均ＴＡＭと比較したパーセンテージとして正規化された。
【図５】腫瘍微生物叢の腫瘍形成促進効果の調節に対するＤＮａｓｅの役割。腫瘍サイズは、各実験における群１（１００％として設定された対照）の平均サイズと比較したパーセンテージとして正規化された。
【図６】ＤＮａｓｅは、腫瘍微小環境によるチェックポイント阻害剤活性の阻害を予防する。腫瘍サイズは、各実験における群１（１００％として設定された対照）の平均サイズと比較したパーセンテージとして正規化された。
【図７】ＤＮａｓｅは、チェックポイント阻害剤処置に関連する毒性を予防する。グラフは、ＡＴ３腫瘍を担持するＣ５７ＢＬ／６マウスへのテスト物質の投与後の体重を示す。データポイントは、群平均体重を表す。エラーバーは、平均の標準誤差（ＳＥＭ）を表す。抗ＣＴＬＡ４抗体およびＦ．ヌクレアタムの投与は、処置動物の体重の成長を停止させる。ＣＴＬＡ４抗体とＦ．ヌクレアタムの組合せは、集中的な体重減量をもたらす。ＤＮａｓｅ　Ｉ処置は、抗ＣＴＬＡ４誘導および／またはＦ．ヌクレアタム誘導毒性を予防し、体重増加を救済する。
【発明を実施するための形態】
【００３２】
発明の詳細な説明
本発明は、好中球により腫瘍微小環境の中へ追い出されるＤＮＡおよびタンパク質の細胞外ネットワークである好中球細胞外トラップ（ＮＥＴｓ）を標的にすることが、免疫チェックポイント療法への奏効率を改善し得る、という本発明者らの仮説に基づく。具体的に、本発明者らは、ＮＥＴ除去剤であるＤＮａｓｅによる処置と免疫チェックポイント療法を組み合わせることにした。
【００３３】
定義
他に断りがなければ、本明細書で用いられる全ての技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者により通例どおり理解される意味と同じ意味を有する。
【００３４】
単数形体の「１つの（ａ）」、「１つの（ａｎ）」および「その（ｔｈｅ）」は、他に明確に示されない限り、複数の対象を含む。したがって、例えば「方法」への言及は、本明細書に記載された型、および／または本開示を読むことで当業者に明白となる型の１つまたは複数の方法および／またはステップを包含する。
【００３５】
用語「約」または「およそ」は、値の統計学的に意義のある範囲内にあることを包含する。そのような範囲は、所与の値または範囲の一桁以内、好ましくは５０％以内、より好ましくは２０％以内、より好ましくは１０％以内、より好ましくは５％以内であり得る。用語「約」または「およそ」により包含される許容できる変動は、試験を受けている個々の系に依存し、かつ当業者に容易に認識され得る。
【００３６】

用語「免疫抑制性の腫瘍細胞の微小環境」は、細胞障害性ＣＤ８　Ｔ細胞、ＮＫ細胞および／またはＣＡＲ－Ｔ細胞による腫瘍細胞殺傷を共同的に予防する腫瘍細胞内の非癌性常在性および浸潤性宿主細胞、分泌因子、ならびに細胞外マトリクスタンパク質を指す。

【００３７】

用語「腫瘍関連微生物叢」は、腫瘍内に局在する微生物、その細胞内部分、およびそれらの代謝産物を指す。

【００３８】

用語「細胞外ＤＮＡ」、「セルフリーＤＮＡ」および「ｃｆＤＮＡ」は、任意の体液および組織の中に見出される、細胞外小胞（例えば、エクソソームおよび微小胞）中のＤＮＡを含む、細胞外ＤＮＡ(例えば、真核生物の、ウイルスの、古細菌の、原核生物の、細胞内のまたは細胞外の寄生生物起源)を指すために互換的に用いられる。ｃｆＤＮＡは、これらの体液および組織の中に見出される細胞外小胞（例えば、エクソソームおよび微小胞）内のＤＮＡを含む、血液、リンパ、肝臓、神経組織、脳脊髄液（ＣＳＦ）、および／または腸で見出され得る。

【００３９】

状況、障害または状態の用語「処置する」または「処置」は、（１）状況、障害または状態に苦しめられ得る、またはその素因があり得るが、状況、障害または状態の臨床症状または亜臨床症状をまだ経験していない、または示していない対象において発生する状況、障害または状態の少なくとも１つの臨床状態または潜在性の症状の出現を予防すること、遅延させること、またはその発生率および／もしくは出現の確率を低減すること；あるいは（２）状況、障害または状態を阻害すること、即ち、疾患またはその再発またはその少なくとも１種の臨床症状もしくは潜在性の症状の発生を停止させること、低減すること、または遅延させること、あるいは（３）疾患を緩和すること、即ち、状況、障害もしくは状態、または臨床症状もしくは潜在性の症状の少なくとも１つの軽減を引き起こすこと、を包含する。処置される対象への利益は、統計学的に有意であるか、または患者もしくは医師に少なくとも知覚できるかのどちらかである。

【００４０】

用語「個体」、「対象」、「動物」、「患者」および「哺乳動物」は、ヒト、獣医学的動物（例えば、ネコ、イヌ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタなど）および疾患の実験動物モデル（例えば、マウス、ラット）を含む、哺乳動物を指すために互換的に用いられる。

【００４１】

用量または量に適用される用語「効果的な」は、それを必要とする対象への投与時に所望の活性をもたらすのに充分である化合物または医薬組成物の量を指す。有効成分の組合わせが投与される場合、その組合わせの効果的な量は、個別に投与されるならば効果的であろう各成分の量を含んでも、または含まなくてもよいことに、留意されたい。必要とされる厳密な量は、対象の種、年齢および全身状態、処置される状態の重症度、用いられる個々の薬物または複数の薬物、投与様式、ならびに同様のものに応じて、対象ごとに変わるであろう。

【００４２】

本明細書で用いられる、用量または量に適用される用語「治療的に有効な」は、それを必要とする対象への投与時に所望の活性をもたらすのに充分である化合物または医薬組成物の量を指す。有効成分の組合わせが投与される場合（例えば、ＤＮａｓｅと別の化合物の組合わせ）、その組合わせの有効な量は、個別に投与されるならば効果的であろう各成分の量を含んでも、または含まなくてもよいことに、留意されたい。

【００４３】

本明細書で用いられる用語「プロモータ」は、１つまたは複数のコード配列の転写を制御するように機能し、かつコード配列の転写開始部位の転写の方向に関して上流に位置し、かつＤＮＡ依存性ＲＮＡポリメラーゼの結合部位と、転写開始部位と、転写因子結合部位、レプレッサ、および活性化因子タンパク質結合部位を含むが限定されない、任意の他のＤＮＡ配列と、プロモータからの転写の量を直接的または間接的に調節するように作用

すると当業者に知られるヌクレオチドの任意の他の配列、の存在により構造的に同定される、核酸断片を指す。「組織特異的な」プロモータは、特異的な型の組織または細胞において優先的に活性であり得る。

【００４４】

本明細書で用いられる用語「肝臓特異的な発現」は、肝臓における主な発現または排他的発現、即ち、他の組織および臓器よりも実質的に大きな程度の発現を指す。

【００４５】

用語「肝臓特異的プロモータ」は、肝臓細胞（例えば、肝細胞）において主に、または排他的に活性であり、他の組織および臓器よりも実質的に大きな程度で肝臓内の転写を指導／開始するプロモータを指すために本明細書で用いられる。この文脈において、用語「主に」は、上記プロモータ駆動発現の少なくとも５０％、より典型的には上記プロモータ駆動発現の少なくとも９０％（上記プロモータ発現の１００％など）が肝臓細胞で起こることを意味する。非肝臓発現に対する肝臓発現の比は、異なる肝臓特異的プロモータ間で変わり得る。幾つかの実施形態において、肝臓特異的プロモータは、個々の肝臓細胞型（例えば、肝細胞、クッパー細胞、内皮細胞ほか）において転写を優先的に指導／開始し得る。本発明の発現カセットにおいて有用な幾つかの肝臓特異的プロモータとしては、少なくとも１つの、典型的には複数の肝臓核因子結合部位が挙げられる。本発明の発現カセットにおいて有用な肝臓特異的プロモータは、構成型または誘導型プロモータであり得る。本発明の発現カセットにおいて有用な肝臓プロモータの幾つかの非限定的例としては、アルブミンプロモータ（Ａｌｂ）、ヒトアルファ－１アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモータ、サイロキシン結合グロブリン（ＴＢＧ）、アポリポプロテインＥ肝臓制御領域プロモータ、アポリポプロテインＡ－ＩＩ（ＡＰＯＡ２）プロモータ、セルピンペプチダーゼ阻害剤・クレードＡ・メンバー１（ＳＥＲＰＩＮＡ１）（ｈＡＡＴ）プロモータ、チトクロムｐ４５０ファミリー３・サブファミリーＡポリペプチド４（ＣＹＰ３Ａ４）プロモータ、マイクロＲＮＡ１２２（ｍｉＲ－１２２）プロモータ、肝臓特異性ＩＧＦ－ＩＩプロモータＰ１、ネズミトランスサイレチン（ＭＴＴＲ）プロモータ、アルファ－フェトプロテイン（ＡＦＰ）プロモータ、レシチン－コレステロールアシルトランスフェラーゼ（ＬＣＡＴ）プロモータ、アポリポプロテインＨ（ＡｐｏＨ）プロモータ、およびマウスプレアルブミン遺伝子プロモータ、が挙げられる。

【００４６】

肝臓特異的プロモータの非限定的例としては、例えば、アルブミンプロモータ（Ａｌｂ）、ヒトアルファ－１アンチトリプシン（ｈＡＡＴ）プロモータ、サイロキシン結合グロブリン（ＴＢＧ）プロモータ、アポリポプロテインＥ肝臓制御領域プロモータ、アポリポプロテインＡ－ＩＩ（ＡＰＯＡ２）プロモータ、セルピンペプチダーゼ阻害剤・クレードＡ・メンバー１（ＳＥＲＰＩＮＡ１）（ｈＡＡＴ）プロモータ、チトクロムｐ４５０ファミリー３・サブファミリーＡポリペプチド４（ＣＹＰ３Ａ４）プロモータ、マイクロＲＮＡ１２２（ｍｉＲ－１２２）プロモータ、肝臓特異的ＩＧＦ－ＩＩプロモータＰ１、ネズミトランスサイレチン（ＭＴＴＲ）プロモータ、アルファ－フェトプロテイン（ＡＦＰ）プロモータ、甲状腺ホルモン結合グロブリンプロモータ、アルコールデヒドロゲナーゼプロモータ、第ＶＩＩＩ因子（ＦＶＩＩＩ）プロモータ、ＨＢＶベーシックコアプロモータ（ＢＣＰ）およびＰｒｅＳ２プロモータ、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ（ＰＥＰＣＫ）プロモータ、肝臓制御領域（ＨＣＲ）－アポＣＩＩハイブリッドプロモータ、マウスアルブミン遺伝子エンハンサ（Ｅａｌｂ）エレメントと組み合わせたＡＡＴプロモータ、低比重リポタンパク質プロモータ、ピルビン酸キナーゼプロモータ、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼプロモータ、レシチン－コレステロールアシルトランスフェラーゼ（ＬＣＡＴ）プロモータ、アポリポプロテインＨ（ＡｐｏＨ）プロモータ、トランスフェリンプロモータ、トランスサイレチンプロモータ、アルファ－フィブリノーゲンおよびベータ－フィブリノーゲンプロモータ、アルファ１－アンチキモトリプシンプロモータ、アルファ－２ＨＳ糖タンパク質プロモータ、ヘプトグロビンプロモータ、セルロプラスミンプロモータ、プラスミノーゲンプロモータ、補体タンパク質（例えば、Ｃ

ｌｑ、Ｃｌｒ、Ｃ２、Ｃ３、Ｃ４、Ｃ５、Ｃ６、Ｃ８、Ｃ９、補体Ｉ因子、およびＨ因子）のプロモータ、Ｃ３補体活性化因子および［アルファ］１酸性糖タンパク質プロモータが挙げられる。追加的な組織特異的プロモータは、Ｔｉｓｓｕｅ－Ｓｐｅｃｉｆｉｃ Ｐｒｏｍｏｔｅｒ Ｄａｔａｂａｓｅ，ＴｉＰｒｏＤ（Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｊ４：Ｄ１０４－Ｄ１０７（２００６）に見出され得る。

【００４７】

用語「神経系特異的プロモータ」は、神経系細胞において主に、または排他的に活性であり、他の組織および臓器よりも実質的に大きな程度で神経系（例えば、脳を含む、中枢神経系（ＣＮＳ）および／または腸管神経系（ＥＮＳ））での転写を指導／開始するプロモータを指すために本明細書で用いられる。この文脈において、用語「主に」は、上記プロモータ駆動発現の少なくとも５０％、より典型的には上記プロモータ駆動発現の少なくとも９０％（上記プロモータ発現の１００％など）が神経系の細胞で起こることを意味する。非神経系発現に対する神経系発現の比は、異なる神経系特異的プロモータ間で変わり得る。幾つかの実施形態において、神経系特異的プロモータは、個々のＣＮＳおよび／またはＥＮＳ細胞型（例えば、神経細胞、グリア細胞［例えば、希突起膠細胞、星状細胞、上衣細胞、ミクログリア、シュワン細胞、衛星細胞］、腸管神経細胞、内在性求心性神経、介在ニューロン、運動ニューロンほか）において優先的に転写を指導／開始し得る。本発明の発現カセットにおいて有用な神経系特異的プロモータは、構成型または誘導型プロモータであり得る。本発明の発現カセットにおいて有用な神経系プロモータの幾つかの非限定的例としては、ミクログリア特異的プロモータ（例えば、Ｆ４／８０、ＣＤ６８、ＴＭＥＭ１１９、ＣＸ３ＣＲ１、ＣＭＶ、およびＩｂａ１プロモータ）、骨髄特異的プロモータ（例えば、ＴＴＲ、ＣＤ１１ｂ、およびｃ－ｆｅｓプロモータ）、ニューロン特異性プロモータ（例えば、ＣＭＶ、ＮＳＥ、シナプシン［ＳｙｎＩ、ＳｙｎＩＩ］、ＣａｍＫＩＩ、α－ＣａＭＫＩＩ、およびＶＧＬＵＴ１プロモータ）、ならびに他の神経およびグリア細胞（例えば、希突起膠細胞、星状細胞）型特異的プロモータ（例えば、グリア線維性酸性タンパク質［ＧＦＡＰ］プロモータ）が挙げられる。

【００４８】

用語「腸特異的プロモータ」は、腸細胞において主に、または排他的に活性であり、他の組織および臓器よりも実質的に大きな程度で腸での転写を指導／開始するプロモータを指すために本明細書で用いられる。この文脈において、用語「主に」は、上記プロモータ駆動発現の少なくとも５０％、より典型的には上記プロモータ駆動発現の少なくとも９０％（上記プロモータ発現の１００％など）が腸細胞で起こることを意味する。非腸発現に対する腸発現の比は、異なる腸特異的プロモータ間で変わり得る。幾つかの実施形態において、腸特異的プロモータは、個々の腸細胞型（例えば、腸細胞、杯細胞、腸内分泌細胞）において転写を優先的に指導／開始し得る。本発明の発現カセットにおいて有用な腸特異的プロモータは、構成型または誘導型プロモータであり得る。本発明の発現カセットにおいて有用な腸プロモータの幾つかの非限定的例としては、ＣＢ／ＣＭＶ、ＧＦＡＰ、ｍｉＣＭＶ、ＣＭＶ＋Ｉ、ｔｅｔＯ－ＣＭＶ、β－アクチ－ＣＭＶ（β－ａｃｔｉ－ＣＭＶ）、ＭＵＣ２、ビリン、およびＴ３^{b}プロモータが挙げられる。

【００４９】

幾つかの実施形態において、例えば、組織の標的化が、ウイルスカプシドタンパク質により媒介される場合、ＤＮａｓｅをコードする核酸は、効率的な全身発現を可能にするプロモータ（例えば、ＣＭＶプロモータ、ニワトリβ－アクチンプロモータ（ＣＢＡ）、またはＥＦ１ａプロモータ）に動作可能に連結され得る。

【００５０】

本発明の組成物に連結して用いられる語句「医薬的に許容できる」は、対象（例えば、ヒトなどの哺乳動物）に投与された場合に、生理学的に許容でき、かつ不都合な反応を典型的には生じない、そのような組成物の分子実体および他の成分を指す。本明細書で用いられる用語「医薬的に許容できる」は、哺乳動物、より特にヒトにおける使用のために連邦政府もしくは州政府の規制当局により認可されていること、または米国薬局方もしくは

他の一般に認識される薬局方に列挙されていることを意味する。

【００５１】

本明細書で用いられる用語「ウイルスベクター」および「ウイルス構築物」は、１種または複数の異種ヌクレオチド配列（例えば、ＤＮａｓｅ酵素をコードするヌクレオチド配列）を含む組換えウイルス構築物を指す。幾つかの実施形態において、ウイルスベクターは、複製欠損である。幾つかの実施形態において、ウイルスの構造および非構造コード配列は、ウイルスベクター中に存在せず、プラスミドなどのベクターにより、またはパッケージング細胞株中に配列を安定に取り込むことによりトランスで（ｉｎ ｔｒａｎｓ）ウイルスベクター生成の間に提供される。ウイルスに応じて、ウイルスベクターは、カプシド（例えば、ＡＡＶベクター）および／または脂質エンベロープ（例えば、レンチウイルスベクター）内にパッケージされ得る。

【００５２】

本発明によれば、当該技術分野の技能内の従来の薬理学および分子生物学を用いてもよい。そのような技術は、文献において完全に説明される。中でも、例えばＳａｍｂｒｏｏｋ，Ｆｒｉｔｓｃｈ ＆ Ｍａｎｉａｔｉｓ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓｅｃｏｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ（１９８９）Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（本明細書では“Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，１９８９”）；ＤＮＡ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，Ｖｏｌｕｍｅｓ ＩおよびＩＩ（ｄ．Ｎ．Ｇｌｏｖｅｒ ｅｄ．１９８５）；Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（Ｍ Ｊ．Ｇａｉｔ ｅｄ．１９８４）；Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ（Ｂ．Ｄ．Ｈａｍｅｓ ＆ Ｓ．Ｊ．Ｈｉｇｇｉｎｓ ｅｄｓ．（１９８５））；Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ ａｎｄ Ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎ（Ｂ．Ｄ．Ｈａｍｅｓ ＆ Ｓ．Ｊ．Ｈｉｇｇｉｎｓ，ｅｄｓ．（１９８４））；Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌ Ｃｕｌｔｕｒｅ（Ｒ．Ｉ．Ｆｒｅｓｈｎｅｙ，ｅｄ．（１９８６）；Ｉｍｍｏｂｉｌｉｚｅｄ Ｃｅｌｌｓ ａｎｄ Ｅｎｚｙｍｅｓ（ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ，（１９８６））；Ｂ．Ｐｅｒｂａｌ，Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｇｕｉｄｅ Ｔｏ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ（１９８４）；Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．（１９９４）を参照されたい。

【００５３】

発明の方法

一態様において、本発明は、デオキシリボヌクレアーゼ（ＤＮａｓｅ）酵素を対象に投与することを含む、それを必要とする対象における腫瘍微小環境の免疫調節のおよび／または腫瘍微生物叢効果の予防の方法を提供する。別の態様において、本発明は、腫瘍微小環境の免疫調節および腫瘍微生物叢効果の予防を介して、免疫チェックポイント調節物質療法の免疫関連有害事象を含む有害事象の強度を低減する方法を提供する。

【００５４】

一態様において、本発明は、ＤＮａｓｅ酵素の有効量を対象に投与することを含む、癌を有する対象における免疫抑制性腫瘍細胞微小環境の免疫調節の方法を提供する。

【００５５】

別の態様において、本発明は、ＤＮａｓｅ酵素の有効量を対象に投与することを含む、癌を有する対象における腫瘍関連微生物叢の調節の方法を提供する。

【００５６】

さらなる態様において、本発明は、ＤＮａｓｅ酵素の有効量と第二の免疫調節物質を対象に投与することを含む、それを必要とする対象における癌を処置する方法を提供する。幾つかの実施形態において、第二の免疫調節物質は、免疫チェックポイント調節物質である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント調節物質は、ＰＤ－１、ＣＤ２８

、ＣＴＬＡ－４、ＣＤ１３７、ＣＤ４０、ＣＤ１３４（ＯＸ－４０）、ＩＣＯＳ、ＫＩＲ、ＬＡＧＳ、ＣＤ２７、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＧＩＴＲ、ＴＣＲ、４－１ＢＢ、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ９６、ＣＤ２２６、ＫＩＲ２ＤＬ、ＶＩＳＴＡ、ＨＬＬＡ２、ＴＬＩＡ、ＤＮＡＭ－１、ＣＥＡＣＡＭ１、ＣＤ１５５、ＩＤＯ、ＴＧＦ－ベータ、ＩＬ－１０、ＩＬ－２、ＩＬ－１５、ＣＳＦ－１、ＩＬ－６、アデノシンＡ２Ａ受容体（Ａ２ＡＲ）、およびそれらのリガンドから選択される免疫チェックポイント分子の調節物質である。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント調節物質は、免疫チェックポイント阻害剤である。有用な免疫チェックポイント阻害剤の非限定的例としては、例えば、ＣＴＬＡ－４、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ａ２ＡＲ、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、ＢＴＬＡ、ＩＤＯ、ＫＩＲ、ＬＡＧ３、ＮＯＸ２、ＴＩＭ－３、ＶＩＳＴＡ、またはＳＩＧＬＥＣ７に特異的に結合する抗体が挙げられる。幾つかの実施形態において、免疫チェックポイント阻害剤は、イピリムマブ、トレメリムマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピジリズマブ、ＭＥＤＩ０６８０、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、セミプリマブ、およびそれらの任意の組合わせから選択される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素の投与は、第二の免疫調節物質の使用に関連する１つまたは複数の免疫関連有害事象の重症度を低減するのに効果的である。幾つかの実施形態において、免疫関連有害事象は、サイトカイン放出症候群（ＣＲＳ）である。免疫関連有害事象の他の非限定的例としては、例えば、ブドウ膜炎、シェーグレン症候群、結膜炎、眼瞼炎、上強膜炎、強膜炎、網膜炎、肺炎、胸膜炎、サルコイド様肉芽腫、肝炎、膵炎、自己免疫性糖尿病、間質性腎炎、糸球体腎炎、急性腎障害（ＡＫＩ）、皮膚発疹、掻痒症、白斑、ＤＲＥＳＳ、乾癬、スティーブン・ジョンソン症候群、関節痛、関節炎、筋炎、皮膚筋炎、貧血、好中球減少症、血小板減少症、血栓性微小血管障害症、後天性血友病、血管炎、大腸炎、腸炎、胃炎、心筋炎、心膜炎、下垂体炎、甲状腺炎、副腎炎、脳炎、髄膜炎、多発神経炎、ギラン・バレー症候群、および亜急性炎症性神経炎が挙げられる。

【００５７】

本発明の方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素の投与は、対象における腫瘍微生物叢の内容および／または活性の変化をもたらす。幾つかの実施形態において、腫瘍微生物叢は、アシドバクテリア門、アクチノバクテリア門、バクテロイデス門、クラミジア門、クリシオゲネス門、シアノバクテリア門、フィブロバクテル門、ファーミキューテス門、フソバクテリウム門、ゲンマティモナス門、レンティスファエラ門、プロテオバクテリア門、スピロヘータ門、シネルギステス門、テネリキューテス門、およびベルコミクロビウム門から選択される１種または複数の細菌分類群を含む。

【００５８】

一態様において、本発明は、それを必要とする対象における腫瘍微小環境の免疫調節および腫瘍微生物叢効果の予防の方法を提供し、腫瘍微生物叢は、細菌、真菌、ウイルスにより代表される。

【００５９】

一態様において、本発明の態様は、腫瘍微小環境の免疫調節および腫瘍微生物叢効果の予防を介して、免疫チェックポイント調節物質療法の免疫関連有害事象を含む有害事象の強度を低減する方法を提供する。

【００６０】

一態様において、本発明は、それを必要とする対象における腫瘍微小環境の免疫調節および腫瘍微生物叢効果の予防の方法を提供し、腫瘍微生物叢の細菌は、アシドバクテリア門、アクチノバクテリア門、バクテロイデス門、クラミジア門、クリシオゲネス門、シアノバクテリア門、フィブロバクテル門、ファーミキューテス門、フソバクテリウム門、ゲンマティモナス門、レンティスファエラ門、プロテオバクテリア門、スピロヘータ門、シネルギステス門、テネリキューテス門、および／またはベルコミクロビウム門由来である。

【００６１】

一態様において、本発明は、それを必要とする対象における腫瘍微小環境の免疫調節お

よび腫瘍微生物叢効果の予防の方法を提供し、腫瘍微生物叢の細菌は、フソバクテリウム門、腸内細菌目、および／またはバチルス目の代表である。

【００６２】

上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素の投与は、免疫抑制性腫瘍細胞微小環境における腫瘍関連マクロファージ（ＴＡＭ）および／または腫瘍浸潤好中球（ＴＩＮ）の数および／または活性を低減するのに効果的である。

【００６３】

上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ Ｉ、ＤＮａｓｅ Ｘ、ＤＮａｓｅ γ、ＤＮａｓｅ１Ｌ１、ＤＮａｓｅ１Ｌ２、ＤＮａｓｅ１Ｌ３、ＤＮａｓｅＩＩ、ＤＮａｓｅＩＩα、ＤＮａｓｅＩＩβ、カスパーゼ活性化ＤＮａｓｅ（ＣＡＤ）、エンドヌクレアーゼＧ（ＥＮＤＯＧ）、グランザイムＢ（ＧＺＭＢ）、およびそれらの変異体または誘導体から選択される。

【００６４】

上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質として投与される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、非経口投与される。

【００６５】

上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ Ｉまたはその変異体もしくは誘導体である。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ Ｉ変異体は、アクチン結合部位に１つまたは複数の変異を含む。幾つかの実施形態において、アクチン結合部位中の１つまたは複数の変異は、Ｇｌｎ－９、Ｇｌｕ－１３、Ｔｈｒ－１４、Ｈｉｓ－４４、Ａｓｐ－５３、Ｔｙｒ－６５、Ｖａｌ－６６、Ｖａｌ－６７、Ｇｌｕ－６９、Ａｓｎ－７４、Ａｌａ－１１４、およびそれらの任意の組合わせでの変異から選択される。幾つかの実施形態において、アクチン結合部位中の変異の１つは、Ａｌａ－１１４での変異である。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ Ｉ変異体は、ＤＮａｓｅ活性を上昇させる１つまたは複数の変異を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ活性を上昇させる１つまたは複数の変異は、Ｑ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｅ１３Ｋ、Ｔ１４Ｒ、Ｔ１４Ｋ、Ｈ４４Ｒ、Ｈ４４Ｋ、Ｎ７４Ｋ、Ａ１１４Ｆ、およびそれらの任意の組合わせからなる群から選択される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ活性を上昇させる１つまたは複数の変異は、Ｑ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｎ７４ＫおよびＡ１１４Ｆ、ならびにそれらの任意の組合わせからなる群から選択される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ Ｉ変異体は、変異Ｑ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｎ７４Ｋ、およびＡ１１４Ｆを含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ Ｉ変異体は、Ｈ４４Ｃ、Ｈ４４Ｎ、Ｌ４５Ｃ、Ｖ４８Ｃ、Ｇ４９Ｃ、Ｌ５２Ｃ、Ｄ５３Ｃ、Ｄ５３Ｒ、Ｄ５３Ｋ、Ｄ５３Ｙ、Ｄ５３Ａ、Ｎ５６Ｃ、Ｄ５８Ｓ、Ｄ５８Ｔ、Ｙ６５Ａ、Ｙ６５Ｅ、Ｙ６５Ｒ、Ｙ６５Ｃ、Ｖ６６Ｎ、Ｖ６７Ｅ、Ｖ６７Ｋ、Ｖ６７Ｃ、Ｅ６９Ｒ、Ｅ６９Ｃ、Ａ１１４Ｃ、Ａ１１４Ｒ、Ｈ４４Ｎ：Ｔ４６Ｓ、Ｄ５３Ｒ：Ｙ６５Ａ、Ｄ５３Ｒ：Ｅ６９Ｒ、Ｈ４４Ａ：Ｄ５３Ｒ：Ｙ６５Ａ、Ｈ４４Ａ：Ｙ６５Ａ：Ｅ６９Ｒ、Ｈ６４Ｎ：Ｖ６６Ｓ、Ｈ６４Ｎ：Ｖ６６Ｔ、Ｙ６５Ｎ：Ｖ６７Ｓ、Ｙ６５Ｎ：Ｖ６７Ｔ、Ｖ６６Ｎ：Ｓ６８Ｔ、Ｖ６７Ｎ：Ｅ６９Ｓ、Ｖ６７Ｎ：Ｅ６９Ｔ、Ｓ６８Ｎ：Ｐ７０Ｓ、Ｓ６８Ｎ：Ｐ７０Ｔ、Ｓ９４Ｎ：Ｙ９６Ｓ、Ｓ９４Ｎ：Ｙ９６Ｔ、およびそれらの任意の組合わせからなる群から選択される１つまたは複数の変異を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ヒトＤＮａｓｅ Ｉ酵素と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ １－ｌｉｋｅ ３（Ｄ１Ｌ３）酵素のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００６６】

ＤＮａｓｅ酵素タンパク質を用いる上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、免疫チェックポイント調節物質の輸注に続いて少なくとも１４日間、静脈内に注射される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、免疫チェックポイント調節物質の輸注に続いて少なくとも１６日間、静脈内に注射さ

れる。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、免疫チェックポイント調節物質の輸注の前に、それと共に、またはそれに続いて、少なくとも２日間、静脈内に注射される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、免疫チェックポイント調節物質の輸注の前に、またはそれに続いて、少なくとも１日間、静脈内に注射される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、免疫チェックポイント調節物質の輸注に続いて、少なくとも７日間、静脈内に注射される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、免疫チェックポイント調節物質の輸注の前に、少なくとも７日間、静脈内に注射される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、免疫チェックポイント調節物質の輸注の前に、またはそれに続いて、１日おきに少なくとも２日間、静脈内に注射される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、免疫チェックポイント調節物質の輸注の前に、またはそれに続いて、１日おきに少なくとも５日間、静脈内に注射される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、免疫チェックポイント調節物質の輸注の前に、またはそれに続いて、１日おきに少なくとも７日間、静脈内に注射される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、免疫チェックポイント調節物質の輸注の前に、またはそれに続いて、１日おきに少なくとも１４日間、静脈内に注射される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、免疫チェックポイント調節物質の輸注前の合計２～７日または輸注後の合計２～７日の間欠的過程により静脈内に注射される。

【００６７】

本発明の方法によるＤＮａｓｅ酵素タンパク質の投与は、全身投与ならびに疾患部位への（例えば、原発腫瘍への）直接投与を含む、任意の適切な経路により実施され得る。有用な投与経路の非限定的例としては、静脈内（ＩＶ）、皮下（ＳＣ）、腹腔内（ＩＰ）、経口、および筋肉内が挙げられる。

【００６８】

特定の実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、医薬的に許容できる担体または賦形剤と共に医薬組成物中で配合される。

【００６９】

上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、遺伝子療法ベクターによりコードされる。幾つかの実施形態において、遺伝子療法ベクターは、対象に投与される。幾つかの実施形態において、遺伝子療法ベクターは、ウイルスベクターである。有用なウイルスベクターの非限定的例としては、例えばアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクター、アデノウイルスベクター、レトロウイルスベクター（例えば、レンチウイルスベクター）、および肝臓指向性ウイルスベクター（例えば、Ｂ型肝炎ウイルス（ＨＢＶ）ベクター）が挙げられる。

【００７０】

遺伝子療法ベクターを用いる上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、遺伝子療法ベクターは、（ｉ）カプシドタンパク質と、（ｉｉ）ＤＮａｓｅ酵素をコードするヌクレオチド配列に動作可能に連結されたプロモータを含む核酸、を含む組換えアデノ随伴ウイルス（ｒＡＡＶ）発現ベクターである。本発明のＡＶＶ発現ベクターを開発するために用いられ得るＡＡＶ血清型の非限定的例としては、例えばＡＡＶ血清型１（ＡＡＶ１）、ＡＡＶ２、ＡＡＶ３（３Ａ型および３Ｂ型を含む）、ＡＡＶ４、ＡＡＶ５、ＡＡＶ６、ＡＡＶ７、ＡＡＶ８、ＡＡＶ９、ＡＡＶ１０、ＡＡＶ１１、ＡＡＶ１２、ＡＡＶｒｈ１０、ＡＡＶ－ＬＫ０３、ＡＡＶ－ＬＫ０６、ＡＡＶ－ＬＫ－０１－１９、ＡＡＶ－ＬＫ１２、ＡＡＶ－ＫＰ１、ＡＡＶＫＰ２－ＫＰ１１、ＡＡＶ－Ｆ、ＡＡＶｒｈ６４Ｒ１、ＡＡＶｈｕ３７、Ａｎｃ８０、Ａｎｃ８０Ｌ６５、ＡＡＶ－ＤＪ、トリＡＡＶ、ウシＡＡＶ、イヌＡＡＶ、ウマＡＡＶ、ヒツジＡＡＶ、およびそれらのキメラが挙げられる。幾つかの実施形態において、プロモータは、腫瘍発生組織または転移標的組織に特異的である。幾つかの実施形態において、プロモータは、肝臓特異的プロモータ、神経系特異的プロモータ、腸特異的プロモータ、肝臓特異的／神経系特異的タンデムプロモータ、および肝臓特異的／腸特異的タンデムプロモータから選択される。

【００７１】
上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）またはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を含む細胞により発現され、上記細胞は、対象に投与される。幾つかの実施形態において、ＣＡＲを発現する細胞またはＴＣＲを発現する細胞は、腫瘍の部位に直接投与される。幾つかの実施形態において、ＣＡＲを発現する細胞またはＴＣＲを発現する細胞は、シングルターゲットまたはマルチターゲットである。幾つかの実施形態において、ＣＡＲは、１つまたは複数の腫瘍抗原への特異的結合が可能な抗原結合ドメインを含む。上記方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＣＡＲを発現する細胞またはＴＣＲを発現する細胞はさらに、免疫チェックポイント阻害分子を発現するように修飾される。幾つかの実施形態において、ＣＡＲを発現する細胞は、ＣＡＲ Ｔ細胞である。幾つかの実施形態において、ＣＡＲは、（ｉ）ＣＤ５、ＣＤ７，ＣＤ１９、ＣＤ２８、メソテリン、ＣＤ１２３、ＣＤ３０、ＣＤ１７１、ＣＳ－１、ＣＬＬ－１、ＣＤ３３、ＥＧＦＲＶＩＩＩ、ＧＤ２、ＧＤ３、ＢＣＭＡ、ＴＮ ＡＧ、ＰＳＭＡ、ＲＯＲ１、ＦＬＴ３、ＦＡＰ、ＴＡＧ７２、ＣＤ３８、ＣＤ４４Ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、Ｂ７Ｈ３、ＫＩＴ、ＩＬ－１３ＲＡ２、ＩＬ－１１ＲＡ、ＰＳＣＡ、ＰＲＳＳ２１、ＶＥＧＦＲ２、ルイスＹ、ＣＤ２４、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＳＳＥＡ－４、ＣＤ２０、葉酸受容体アルファ、ＦＲ－１、Ｃ－ＭＥＴ、ＥＧＦＲ／ＣＤ１３３、ＩＬ１３Ｒａ２、ＨＥＲ２、ＥＲＢＢ２（Ｈｅｒ２／ｎｅｕ）、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、プロスターゼ、ＰＡＰ、ＥＬＦ２Ｍ、エフリンＢ２、ＩＧＦ－Ｉ受容体、ＣＡＩＸ、ＬＭＰ２、ｇｐ１００、ｂｃｒ－ａｂｌ、チロシナーゼ、ＥｐｈＡ２、フコシルＧＭ１、ｓＬｅ、ＧＭ３、ＴＧＳ５、ＨＭＷＭＡＡ、ｏ－アセチル－ＧＤ２、葉酸受容体ベータ、ＴＥＭ１／ＣＤ２４８、ＴＥＭ７Ｒ、ＣＬＤＮ６、ＴＳＨＲ、ＧＰＲＣ５Ｄ、ＣＸＯＲＦ６１、ＣＤ９７、ＣＤ１７９ａ、ＡＬＫ、ポリシアル酸（Ｐｌｙｓｉａｌｉｃ ａｃｉｄ）、ＰＬＡＣ１、ＧｌｏｂｏＨ、ＮＹ－ＢＲ－１、ＵＰＫ２、ＨＡＶＣＲ１、ＡＤＲＢ３、ＰＡＮＸ３、ＧＰＲ２０、ＬＹ６Ｋ、ＯＲ５１Ｅ２、ＴＡＲＰ、ＷＴ１、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＬＡＧＥ－１ａ、ＭＡＧＥ－Ａ１、レグルミン、ＨＰＶ Ｅ６、Ｅ７、ＭＡＧＥ Ａ１、ＥＴＶ６－ＡＭＬ、精子タンパク質１７、ＸＡＧＥ１、Ｔｉｅ ２、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ＭＡＤ－ＣＴ－２、Ｆｏｓ関連抗原１、Ｐ５３、Ｐ５３変異体、プロステイン（Ｐｒｏｓｔｅｉｎ）、サバイビン、テロメラーゼ、ＰＣＴＡ－１／ガレクチン８、メランＡ／ＭＡＲＴ１、Ｒａｓ変異体、ｈＴＥＲＴ、肉腫転座切断点、ＭＬ－ＩＡＰ、ＥＲＧ(ＴＭＰＲＳＳ２ ＥＴＳ融合遺伝子)、ＮＡ１７、ＰＡＸ３、アンドロゲン受容体、サイクリンＢ１、ＭＹＣＮ、ＲｈｏＣ、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、ＢＯＲＩＳ、ＳＡＲＴ３、ＰＡＸ５、０Ｙ－ＴＥＳ１、ＬＣＫ、ＡＫＡＰ－４、ＳＳＸ２、ＲＡＧＥ－１、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、ＲＵ１、ＲＵ２、腸カルボシルエステラーゼ、およびｍｕｔ ｈｓｐ７０－２から選択される腫瘍抗原；（ｉｉ）固形腫瘍に関連する抗原；（ｉｉｉ）メソテリン、ＥＧＦＲｖＩＩＩ、ＧＤ２、ＣＬＤＮ６、Ｔｎ Ａｇ、ＰＳＭＡ、ＣＤ９７、ＴＡＧ７２、ＣＤ４４ｖ６、ＣＥＡ、ＥＰＣＡＭ、ＫＩＴ、ＩＬ－１３Ｒａ２、レグルミン、ＣＤ１７１、ＰＳＣＡ、ＴＡＲＰ、ＭＡＤ－ＣＴ－１、ルイスＹ、ＣＤ２４、葉酸受容体アルファ、葉酸受容体ベータ、ＥＲＢＢ、ＭＵＣ１、ＥＧＦＲ、ＮＣＡＭ、ＰＤＧＦＲ－ベータ、ＭＡＤ－ＣＴ－２、Ｆｏｓ関連抗原、ＳＳＥＡ－４、好中球エラスターゼ、ＣＡＩＸ、ＨＰＶ Ｅ６ Ｅ７、ＭＬ－ＩＡＰ、ＮＡ１７、ＡＬＫ、アンドロゲン受容体ポリシアル酸、ＴＲＰ－２、ＣＹＰ１Ｂ１、ＰＬＡＣ１、ＧｌｏｂｏＨ、ＮＹ－ＢＲ－１、精子タンパク質１７、ＨＭＷＭＡＡ、ベータヒト絨毛性ゴナドトロピン、ＡＦＰ、サイログロブリン、ＲＡＧＥ－１、ＭＮ－ＣＡ ＩＸ、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、腸カルボキシルエステラーゼ、およびｍｕｔ ｈｓｐ７０－２から選択される固形腫瘍関連抗原；（ｉｖ）中皮腫、肺癌、膵臓癌、食道腺癌、卵巣癌、乳癌、大腸癌、膀胱癌、またはそれらの任意の組合わせの中／表面に存在する固形腫瘍関連抗原;（ｖ）血液癌に関連する腫瘍抗原;（ｖｉ）Ｂ細胞急性リンパ性白血病（「ＢＡＬＬ」）、Ｔ細胞急性リンパ性白血病（「ＴＡＬＬ」）、および急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）を含む急性白血病；または慢性骨髄性白血病（ＣＩＶＩＬ）および慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）を含む１種もしくは複数の慢性白血病か

ら選択される疾患に存在する腫瘍抗原；ならびに（ｖｉ）治療抵抗性癌に存在する腫瘍抗原、から選択される１種または複数の抗原への特異的結合が可能な抗原結合ドメインを含む。

【００７２】

ＤＮａｓｅ酵素

本明細書で用いられる用語「デオキシリボヌクレアーゼ」および「ＤＮａｓｅ」は、ＤＮＡバックボーン中のホスホジエステル結合の加水分解性切断を触媒する任意の酵素を指すために用いられる。非常に様々なデオキシリボヌクレアーゼが、知られており、本発明の方法で用いられ得る。本発明の方法において有用なＤＮａｓｅの非限定的例としては、例えば、ＤＮａｓｅ　Ｉ（例えば、組換えヒトＤＮａｓｅ　Ｉ（ｒｈＤＮａｓｅ　Ｉ）またはウシ膵臓ＤＮａｓｅ　Ｉ）、ＤＮａｓｅ　Ｉの類似体（例えば、ＤＮａｓｅ　Ｘ、ＤＮａｓｅ　γ、ＤＮａｓｅ１Ｌ１、ＤＮａｓｅ１Ｌ２、ＤＮａｓｅ　１Ｌ３など)、ＤＮａｓｅ　ＩＩ（例えば、ＤＮａｓｅ　ＩＩα、ＤＮａｓｅ　ＩＩβ）、カスパーゼ活性化ＤＮａｓｅ（ＣＡＤ）、エンドヌクレアーゼＧ（ＥＮＤＯＧ）、グランザイムＢ（ＧＺＭＢ）、ホスホジエステラーゼＩ、ラクトフェリン、アセチルコリンエステラーゼ、およびそれらの変異体または誘導体が挙げられる。また本発明により包含されるのは、長期の半減期を有するＤＮａｓｅ酵素である（例えば、アルブミンおよび／もしくはＦｃ融合物、またはアクチン結合部位の修飾によりアクチンへの結合を防御されたもの；例えば、Ｇｉｂｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９２）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ，１５５，２４９－２５６を参照）。ＤＮａｓｅ　Ｉのアクチン結合部位は、例えば、以下の残基で変異され得る：組換えヒトＤＮａｓｅ　Ｉ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＧｌｎ－９、Ｇｌｕ－１３、Ｔｈｒ－１４、Ｈｉｓ－４４、Ａｓｐ－５３、Ｔｙｒ－６５、Ｖａｌ－６６、Ｖａｌ－６７、Ｇｌｕ－６９、Ａｓｎ－７４、Ａｌａ－１１４。例えば、１つのヒトＤＮａｓｅ　Ｉ過反応性バリアントは、変異されたＡｌａ－１１４残基を含む。他の例示的変異としては、例えば、Ｈ４４Ｃ、Ｈ４４Ｎ、Ｌ４５Ｃ、Ｖ４８Ｃ、Ｇ４９Ｃ、Ｌ５２Ｃ、Ｄ５３Ｃ、Ｄ５３Ｒ、Ｄ５３Ｋ、Ｄ５３Ｙ、Ｄ５３Ａ、Ｎ５６Ｃ、Ｄ５８Ｓ、Ｄ５８Ｔ、Ｙ６５Ａ、Ｙ６５Ｅ、Ｙ６５Ｒ、Ｙ６５Ｃ、Ｖ６６Ｎ、Ｖ６７Ｅ、Ｖ６７Ｋ、Ｖ６７Ｃ、Ｅ６９Ｒ、Ｅ６９Ｃ、Ａ１１４Ｃ、Ａ１１４Ｒ、Ｈ４４Ｎ：Ｔ４６Ｓ、Ｄ５３Ｒ：Ｙ６５Ａ、Ｄ５３Ｒ：Ｅ６９Ｒ、Ｈ４４Ａ：Ｄ５３Ｒ：Ｙ６５Ａ、Ｈ４４Ａ：Ｙ６５Ａ：Ｅ６９Ｒ、Ｈ６４Ｎ：Ｖ６６Ｓ、Ｈ６４Ｎ：Ｖ６６Ｔ、Ｙ６５Ｎ：Ｖ６７Ｓ、Ｙ６５Ｎ：Ｖ６７Ｔ、Ｖ６６Ｎ：Ｓ６８Ｔ、Ｖ６７Ｎ：Ｅ６９Ｓ、Ｖ６７Ｎ：Ｅ６９Ｔ、Ｓ６８Ｎ：Ｐ７０Ｓ、Ｓ６８Ｎ：Ｐ７０Ｔ、Ｓ９４Ｎ：Ｙ９６Ｓ、Ｓ９４Ｎ：Ｙ９６Ｔ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１の配列中で）が挙げられる。また包含されるのは、上昇したＤＮａｓｅ　Ｉ活性を有するＤＮａｓｅ　Ｉ中の変異である。そのような変異の非限定的例は、例えば、組換え体ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＱ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｅ１３Ｋ、Ｔ１４Ｒ、Ｔ１４Ｋ、Ｈ４４Ｒ、Ｈ４４Ｋ、Ｎ７４Ｋ、およびＡ１１４Ｆである。例えば、１つの過反応性ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、Ｑ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｎ７４ＫおよびＡ１１４Ｆ変異の組合わせを含む。ＤＮａｓｅ　Ｉは、ピリミジンヌクレオチドに隣接するホスホジエステル結合で優先的にＤＮＡを切断し、３’位に遊離ヒドロキシル基を有する５’－リン酸末端ポリヌクレオチドを生じ、平均でテトラヌクレオチドを生成する。ＤＮａｓｅ　Ｉは、一本鎖ＤＮＡ、二本鎖ＤＮＡ、およびクロマチンに作用する。

【００７３】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅは、ＤＮａｓｅ　Ｉまたはその変異体もしくは誘導体であってよい。

【００７４】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉは、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉまたはその変異体もしくは誘導体であってよい。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉは、非限定的にげっ歯類（例えば、マウス）ＤＮａｓｅ　Ｉまたはその変異体もしくは誘導体などの、非ヒトＤＮａｓｅ　Ｉまたはその変異体もしくは誘導体であってよい。

【００７５】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ酵素と少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ酵素変異体（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２）と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００７６】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）酵素のアミノ酸２１～３０５と少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ヒトＤＮａｓｅ１－ｌｉｋｅ　３（Ｄ１Ｌ３）酵素（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３）のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００７７】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ１－ｌｉｋｅ　２（Ｄ１Ｌ２）酵素のアミノ酸２１～３０５と少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ヒトＤＮａｓｅ１－ｌｉｋｅ　２（Ｄ１Ｌ２）酵素（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４）のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００７８】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ１－ｌｉｋｅ　１（Ｄ１Ｌ１）酵素のアミノ酸２１～３０５と少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ヒトＤＮａｓｅ１－ｌｉｋｅ　１（Ｄ１Ｌ１）酵素（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５）のアミノ酸２１～３０５と少なくとも９０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００７９】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅは、アクチン結合部位に１つまたは複数の変異を含むＤＮａｓｅ　Ｉ変異体である。幾つかの実施形態において、アクチン結合部位中の１つまたは複数の変異は、Ｇｌｎ－９、Ｇｌｕ－１３、Ｔｈｒ－１４、Ｈｉｓ－４４、Ａｓｐ－５３、Ｔｙｒ－６５、Ｖａｌ－６６、Ｖａｌ－６７、Ｇｌｕ－６９、Ａｓｎ－７４、Ａｌａ－１１４、およびそれらの任意の組合わせでの変異から選択される。幾つかの実施形態において、アクチン結合部位中の変異の１つは、Ａｌａ－１１４での変異である。

【００８０】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅは、ＤＮａｓｅ活性を上昇させる１つまたは複数の変異を含むＤＮａｓｅ　Ｉ変異体である。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ活性を上昇させる１つまたは複数の変異は、Ｑ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｅ１３Ｋ、Ｔ１４Ｒ、Ｔ１４Ｋ、Ｈ４４Ｒ、Ｈ４４Ｋ、Ｎ７４Ｋ、Ａ１１４Ｆ、およびそれらの任意の組合わせからなる群から選択される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ活性を上昇させる１つまたは複数の変異は、Ｑ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｎ７４ＫおよびＡ１１４Ｆからなる群から選択される。

【００８１】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅは、Ｈ４４Ｃ、Ｈ４４Ｎ、Ｌ４５Ｃ、Ｖ４８Ｃ、Ｇ４９Ｃ、Ｌ５２Ｃ、Ｄ５３Ｃ、Ｄ５３Ｒ、Ｄ５３Ｋ、Ｄ５３Ｙ、Ｄ５３Ａ、Ｎ５６Ｃ

、Ｄ５８Ｓ、Ｄ５８Ｔ、Ｙ６５Ａ、Ｙ６５Ｅ、Ｙ６５Ｒ、Ｙ６５Ｃ、Ｖ６６Ｎ、Ｖ６７Ｅ、Ｖ６７Ｋ、Ｖ６７Ｃ、Ｅ６９Ｒ、Ｅ６９Ｃ、Ａ１１４Ｃ、Ａ１１４Ｒ、Ｈ４４Ｎ：Ｔ４６Ｓ、Ｄ５３Ｒ：Ｙ６５Ａ、Ｄ５３Ｒ：Ｅ６９Ｒ、Ｈ４４Ａ：Ｄ５３Ｒ：Ｙ６５Ａ、Ｈ４４Ａ：Ｙ６５Ａ：Ｅ６９Ｒ、Ｈ６４Ｎ：Ｖ６６Ｓ、Ｈ６４Ｎ：Ｖ６６Ｔ、Ｙ６５Ｎ：Ｖ６７Ｓ、Ｙ６５Ｎ：Ｖ６７Ｔ、Ｖ６６Ｎ：Ｓ６８Ｔ、Ｖ６７Ｎ：Ｅ６９Ｓ、Ｖ６７Ｎ：Ｅ６９Ｔ、Ｓ６８Ｎ：Ｐ７０Ｓ、Ｓ６８Ｎ：Ｐ７０Ｔ、Ｓ９４Ｎ：Ｙ９６Ｓ、Ｓ９４Ｎ：Ｙ９６Ｔ、およびそれらの任意の組合わせからなる群から選択される１つまたは複数の変異を含むＤＮａｓｅ　Ｉ変異体である。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、長期作用型のＤＮａｓｅである。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、過反応性バリアント形態のＤＮａｓｅである。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、アミノ酸配列ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２を含む。

【００８２】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、変異Ｑ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｎ７４ＫおよびＡ１１４Ｆを含む。

【００８３】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、変異Ｑ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｎ７４ＫおよびＡ１１４Ｆを含む。

【００８４】

本発明の方法のいずれかの幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅをコードする配列は、分泌シグナル配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅが組換えベクターとして投与される場合、上記分泌シグナル配列は、対象へのベクターの投与時に肝臓の門脈洞様血管の循環中への酵素の効果的分泌を媒介する。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、ＤＮａｓｅ　Ｉ分泌シグナル配列、ＩＬ２分泌シグナル配列、アルブミン分泌シグナル配列、β－グルクロニダーゼ分泌シグナル配列、アルカリプロテアーゼ分泌シグナル配列、およびフィブロネクチン分泌シグナル配列からなる群から選択される。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、配列ＭＲＧＭＫＬＬＧＡＬＬＡＬＡＡＬＬＱＧＡＶＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６）と少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、配列ＭＲＧＭＫＬＬＧＡＬＬＡＬＡＡＬＬＱＧＡＶＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６）を含む。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、配列ＭＲＧＭＫＬＬＧＡＬＬＡＬＡＡＬＬＱＧＡＶＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６）からなる。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、配列ＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７）と少なくとも８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の同一性を有する配列を含む。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、配列ＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７）を含む。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、配列ＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７）からなる。

【００８５】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素は、ＤＮａｓｅ　Ｉ、ＤＮａｓｅ　Ｘ、ＤＮａｓｅ　γ、ＤＮａｓｅ１Ｌ１、ＤＮａｓｅ１Ｌ２、ＤＮａｓｅ１Ｌ３、ＤＮａｓｅＩＩ、ＤＮａｓｅＩＩα、ＤＮａｓｅＩＩβ、カスパーゼ活性化ＤＮａｓｅ（ＣＡＤ）、エンドヌクレアーゼＧ（ＥＮＤＯＧ）、グランザイムＢ（ＧＺＭＢ）、ホスホジエステラーゼＩ、ラクトフェリン、アセチルコリンエステラーゼ、およびそれらの変異体または誘導体からなる群から選択される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ活性を有する酵素は、ＤＮａｓｅ　Ｉまたはその変異体もしくは誘導体である。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉは、ヒトＤＮａｓｅ　Ｉまたはその変異体もしくは誘導体である。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、アクチン結合部位に１つまたは複数の

変異を含む。幾つかの実施形態において、アクチン結合部位中の１つまたは複数の変異は、Ｇｌｎ－９、Ｇｌｕ－１３、Ｔｈｒ－１４、Ｈｉｓ－４４、Ａｓｐ－５３、Ｔｙｒ－６５、Ｖａｌ－６６、Ｖａｌ－６７、Ｇｌｕ－６９、Ａｓｎ－７４、Ａｌａ－１１４、およびそれらの任意の組合わせでの変異から選択される。幾つかの実施形態において、アクチン結合部位中の変異の１つは、Ａｌａ－１１４での変異である。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、ＤＮａｓｅ活性を上昇させる１つまたは複数の変異を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ活性を上昇させる１つまたは複数の変異は、Ｑ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｅ１３Ｋ、Ｔ１４Ｒ、Ｔ１４Ｋ、Ｈ４４Ｒ、Ｈ４４Ｋ、Ｎ７４Ｋ、Ａ１１４Ｆ、およびそれらの任意の組合わせからなる群から選択される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ活性を上昇させる１つまたは複数の変異は、Ｑ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｎ７４ＫおよびＡ１１４Ｆ、ならびにそれらの任意の組合わせからなる群から選択される。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２の配列と少なくとも８０％または少なくとも８５％または少なくとも９０％または少なくとも９５％の配列同一性を有する配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、変異Ｑ９Ｒ、Ｅ１３Ｒ、Ｎ７４Ｋ、およびＡ１１４Ｆを含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２の配列を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２の配列からなる。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ　Ｉ変異体は、Ｈ４４Ｃ、Ｈ４４Ｎ、Ｌ４５Ｃ、Ｖ４８Ｃ、Ｇ４９Ｃ、Ｌ５２Ｃ、Ｄ５３Ｃ、Ｄ５３Ｒ、Ｄ５３Ｋ、Ｄ５３Ｙ、Ｄ５３Ａ、Ｎ５６Ｃ、Ｄ５８Ｓ、Ｄ５８Ｔ、Ｙ６５Ａ、Ｙ６５Ｅ、Ｙ６５Ｒ、Ｙ６５Ｃ、Ｖ６６Ｎ、Ｖ６７Ｅ、Ｖ６７Ｋ、Ｖ６７Ｃ、Ｅ６９Ｒ、Ｅ６９Ｃ、Ａ１１４Ｃ、Ａ１１４Ｒ、Ｈ４４Ｎ：Ｔ４６Ｓ、Ｄ５３Ｒ：Ｙ６５Ａ、Ｄ５３Ｒ：Ｅ６９Ｒ、Ｈ４４Ａ：Ｄ５３Ｒ：Ｙ６５Ａ、Ｈ４４Ａ：Ｙ６５Ａ：Ｅ６９Ｒ、Ｈ６４Ｎ：Ｖ６６Ｓ、Ｈ６４Ｎ：Ｖ６６Ｔ、Ｙ６５Ｎ：Ｖ６７Ｓ、Ｙ６５Ｎ：Ｖ６７Ｔ、Ｖ６６Ｎ：Ｓ６８Ｔ、Ｖ６７Ｎ：Ｅ６９Ｓ、Ｖ６７Ｎ：Ｅ６９Ｔ、Ｓ６８Ｎ：Ｐ７０Ｓ、Ｓ６８Ｎ：Ｐ７０Ｔ、Ｓ９４Ｎ：Ｙ９６Ｓ、Ｓ９４Ｎ：Ｙ９６Ｔ、およびそれらの任意の組合わせからなる群から選択される１つまたは複数の変異を含む。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ活性を有する酵素は、（ｉｉ）アルブミンまたはＦｃまたはそれらの断片、（ｉ）（ｉｉ）に連結されるＤＮａｓｅ酵素またはその断片、を含む融合タンパク質である。幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ活性を有する酵素をコードする配列は、分泌シグナル配列をコードする配列を含み、上記分泌シグナル配列は、酵素の効果的な分泌を媒介する。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、ＤＮａｓｅ　Ｉ分泌シグナル配列、ＩＬ２分泌シグナル配列、アルブミン分泌シグナル配列、β－グルクロニダーゼ分泌シグナル配列、アルカリプロテアーゼ分泌シグナル配列、およびフィブロネクチン分泌シグナル配列からなる群から選択される。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、配列ＭＲＧＭＫＬＬＧＡＬＬＡＬＡＡＬＬＱＧＡＶＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６）またはＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７）を含む。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、配列ＭＲＧＭＫＬＬＧＡＬＬＡＬＡＡＬＬＱＧＡＶＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６）またはＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７）からなる。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、ＭＲＧＭＫＬＬＧＡＬＬＡＬＡＡＬＬＱＧＡＶＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６）の配列と少なくとも８０％もしくは少なくとも８５％もしくは少なくとも９０％もしくは少なくとも９５％の配列同一性を有する配列、またはＭＹＲＭＱＬＬＳＣＩＡＬＳＬＡＬＶＴＮＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７）の配列と少なくとも８０％もしくは少なくとも８５％もしくは少なくとも９０％もしくは少なくとも９５％の配列同一性を有する配列を含む。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、配列ＭＲＹＴＧＬＭＧＴＬＬＴＬＶＮＬＬＱＬＡＧＴ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８）からなる。幾つかの実施形態において、分泌シグナル配列は、ＭＲＹＴＧＬＭＧＴＬＬＴＬＶＮＬＬＱＬＡＧＴ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８）の配列と少なくとも８０％または少なくとも８５％または少なくとも９０％または少なくとも９５％の配列同一性を有する配列を含む。

【００８６】

本発明の方法によるＤＮａｓｅ酵素の投与は、全身投与ならびに疾患部位への（例えば、原発腫瘍への）直接投与を含む、任意の適切な経路により実施され得る。有用な投与の経路の具体的な非限定的例としては、静脈内（ＩＶ）、皮下（ＳＣ）、腹腔内（ＩＰ）、経口、および筋肉内が挙げられる。

【００８７】

本発明の方法において有用なＤＮａｓｅ酵素タンパク質用量は、追加的治療のタイプ、患者の臨床歴およびＤＮａｓｅへの応答、ならびに担当医の裁量に依存する。有用な投与量範囲の非限定的例は、０．００５～１００ｍｇ／ｋｇ／日または１０～２０００００ＫＵ／ｋｇ／日、好ましくは０．０５～５０ｍｇ／ｋｇ／日または１０００～１０００００Ｋｕｎｉｔｚ単位（ＫＵ）／ｋｇ／日、より好ましくは１．５～５０ｍｇ／ｋｇ／日または３０００～１０００００ＫＵ／ｋｇ／日、最も好ましくは１０～５０ｍｇ／ｋｇ／日または２００００～１０００００ＫＵ／ｋｇ／日を含む。

【００８８】

幾つかの実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質は、２５０μｇ／ｋｇ／日で静脈内に注射される。幾つかの実施形態において、デオキシリボヌクレアーゼ酵素タンパク質は、２５０μｇ／ｋｇ／日で少なくとも１４日間、静脈内に注射される。

【００８９】

ＤＮａｓｅ組成物および配合物

特定の実施形態において、ＤＮａｓｅ酵素タンパク質、ＤＮａｓｅ酵素をコードするベクターまたはＤＮａｓｅ酵素を発現する細胞は、医薬的に許容できる担体または賦形剤と共に医薬組成物中に配合される。特定の実施形態において、そのような組成物はさらに、第二の免疫調節物質を含む。

【００９０】

本発明の方法で用いられる配合物は、単位投与剤形で従来どおり提示されてよく、かつ当該技術分野で公知の方法により調製されてよい。単一投与剤形を生成するために担体材料と組み合わされ得る活性成分の量は、処置される宿主および個々の投与様式に応じて変わるであろう。単一投与剤形を生成するために担体材料と組み合わされ得る活性成分の量は一般に、治療効果を生じる化合物の量であろう。

【００９１】

一般に、配合物は、液体担体、または微粉化された固体担体、またはその両方と共に調製され得、その後、必要ならば、生成物を成形する。

【００９２】

非経口投与に適する医薬組成物は、１種または複数の医薬的に許容できる滅菌等張水性もしくは非水性の溶液、分散液、懸濁液もしくはエマルジョン、または使用直前に滅菌注射可能溶液もしくは分散液中に構成され得る滅菌粉末と組み合わせて、１種または複数の活性成分（（ｉ）ＤＮａｓｅ酵素タンパク質、ＤＮａｓｅ酵素をコードするベクターまたはＤＮａｓｅ酵素を発現する細胞と、任意に、（ｉｉ）別の化合物［例えば、第二の免疫調節物質または別の抗癌性化合物］）を含んでよく、それらは、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、配合物を意図されるレシピエントの血液と等張にする溶質、または懸濁剤もしくは増粘剤を含有してよい。本発明の医薬組成物中で用いられ得る適切な水性および非水性担体の例としては、水、エタノール、ポリオール（グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、および同様のものなど）、およびそれらの適切な混合物、オリーブ油などの植物油、ならびにオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステルが挙げられる。適正な流動性が、例えば、レシチンなどのコーティング材料の使用により、分散液の場合に必要とされる粒度の維持により、および界面活性剤の使用により、維持され得る。

【００９３】

これらの組成物はまた、防腐剤、湿潤剤、乳化剤および分散剤を含有し得る。微生物の作用の予防が、様々な抗菌および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸、および同様のものの包含により確実にされてよい。また、糖、塩化ナトリウム、および同様のものなどの、等張剤を組成物中に含むことが、望ましいであろう。

加えて、注射可能医薬形態の長期吸収が、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンなどの吸収を遅延させる薬剤の包含によりもたらされてよい。

【００９４】

注射可能なデポ型が、ポリアクチドーポリグリコリドなどの生分解性ポリマー中で１種または複数の有効成分のマイクロカプセルマトリックスを形成することにより作製され得る。ポリマーに対する有効成分の比および用いられる個々のポリマーの性質に応じて、活性成分の放出の率が、制御され得る。他の生分解性ポリマーの例としては、ポリ（オルトエステル）およびポリ（酸無水物）が挙げられる。デポ型注射可能配合物はまた、活性成分を、身体組織と適合性があるリポソームまたはマイクロエマルジョン中に封入することにより調製される。

【００９５】

経口投与のための配合物は、カプセル、カシェ、丸薬、錠剤、粉末、顆粒の形態であってよく、または水性もしくは非水性液の中の溶液もしくは懸濁液（例えば、洗口液として、嚥下される組成物として、または浣腸として）として、または水中油もしくは油中水液体エマルジョン、および同様のものとして存在してよく、それぞれが、所定の量の１種または複数の活性成分を含有する。

【００９６】

経口投与用の固体投与剤形（カプセル、錠剤、丸薬、糖剤、粉末、顆粒、および同様のもの）において、１種または複数の活性成分が、クエン酸ナトリウムもしくはリン酸二カルシウム、および／または以下のもののいずれかなどの、１種または複数の医薬的に許容できる担体と混合され得る：（１）スターチ、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、および／またはケイ酸などの、充填剤または増量剤；（２）例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロース、および／またはアラビアゴムなどの、結合剤；（３）グリセロールなどの、保湿剤；（４）寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモまたはタピオカデンプン、アルギン酸、特定のケイ酸塩、および炭酸ナトリウムなどの、崩壊剤；（５）パラフィンなどの、溶解遅延剤；（６）第四級アンモニウム化合物などの、吸収促進剤；（７）例えば、セチルアルコールおよびモノステアリン酸グリセロールなどの、湿潤剤；（８）カオリンおよびベントナイトクレイなどの、吸収剤；（９） タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム、およびそれらの混合物などの、滑沢剤；ならびに（１０）着色剤。カプセル、錠剤および丸薬の場合、医薬組成物はまた、緩衝剤を含んでよい。類似のタイプの固体組成物もまた、ラクトースまたは乳糖ならびに、高分子量ポリエチレングリコールおよび同様のものなどの賦形剤を用いて、軟充填および硬充填ゼラチンカプセル中の充填剤として用いられてよい。

【００９７】

懸濁液は、１種または複数の有効成分に加えて、エトキシル化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトール、およびソルビタンエステル、微結晶セルロース、メタ水酸化アルミニウム（ａｌｕｍｉｎｕｍ ｍｅｔａｈｙｄｒｏｘｉｄｅ）、ベントナイト、寒天、およびトラガカント、ならびにそれらの混合物などの懸濁剤を含有し得る。

【００９８】

粉末およびスプレーは、１種または複数の有効成分に加えて、ラクトース、タルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム、およびポリアミド粉末、またはこれらの物質の混合物などの賦形剤を含有し得る。スプレーは追加で、クロロフルオロ炭化水素、ならびにブタンおよびプロパンなどの揮発性非置換炭化水素などの、慣用される噴射剤を含有し得る。

【００９９】

癌および他の処置

本発明の方法は、広範囲の癌に罹患した対象において用いられ得る。関連する癌の非限定的例としては、例えば、乳癌、前立腺癌、多発性骨髄腫、移行上皮癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ））、腎臓癌、甲状腺癌、白血病（例えば、慢性骨髄性白血病

、急性骨髄性白血病、慢性リンパ球性白血病、急性リンパ球性白血病）、リンパ腫（例えば、Ｂ細胞リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫）、頭頸部癌、食道癌、胃癌、結腸癌、腸癌、大腸癌、直腸癌、膵臓癌、肝臓癌、胆管の癌、胆嚢の癌、卵巣癌、子宮内膜癌、膣癌、子宮頸癌、膀胱癌、神経芽腫、肉腫、骨肉腫、悪性黒色腫、扁平上皮癌、原発性骨癌（例えば、骨肉腫、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、線維肉腫、悪性線維性組織球腫、アダマンチノーマ、巨細胞腫、コルドーマ）および続発性（転移性）骨癌の両方を含む骨癌、軟組織肉腫、基底細胞癌、脈管肉腫、血管肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、骨原性肉腫、脈管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、精巣癌、子宮癌、消化器癌、中皮腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、気管支原性癌、絨毛癌、セミノーマ、胎児癌、ウィルムス腫瘍、上皮癌、神経膠腫、神経膠芽腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果腫、血管芽腫、聴神経腫、乏突起神経膠腫、髄膜腫、網膜芽細胞腫、髄様癌、胸腺腫、肉腫などが挙げられる。

【０１００】

幾つかの実施形態において、本発明の処置方法は、ＤＮａｓｅ酵素および第二の免疫調節物質を投与することに加えて、非限定的に化学療法剤、放射線療法、細胞療法（例えば、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）またはＴ細胞受容体（ＴＣＲ）を含む細胞、ＮＫ細胞、ＣＤ８　Ｔ細胞ほか）、およびそれらの任意の組合わせを含む、追加的な抗癌剤および／または治療を施すこと、を含み得る。

【０１０１】

本発明の方法のいずれかの幾つかの実施形態において、対象は、ヒトである。

【０１０２】

実施例

本発明はまた、以下の実施例により説明されおよび実証される。しかし、これらのおよび本明細書のどこかでの実施例の使用は、例示に過ぎず、本発明の、またはいずれかの例証された用語の範囲および意味を限定するものではない。同様に、本発明は、本明細書で記載される任意の特別な好ましい実施形態に限定されない。実際には、本発明の多くの改良および変更が、本明細書を読むことで当業者に明白となり得、そのような変更は、主旨または範囲において本発明から逸脱することなく行われ得る。それゆえ本発明は、添付の特許請求の範囲と、それらの特許請求の範囲が権利を与えられる均等物の全範囲の用語によってのみ、限定される。

【０１０３】

実施例１．デオキシリボヌクレアーゼ酵素は、腫瘍組織内の腫瘍関連マクロファージ（ＴＡＭ）および腫瘍浸潤好中球（ＴＩＮ）の数を低減する

内部環境の条件に基づき、循環する単球は、成熟マクロファージを生じ、それらが腫瘍微小環境に動員されると、それらは腫瘍関連マクロファージ（ＴＡＭ）に変換される。ＴＡＭは、腫瘍細胞を貪食する機能を欠くだけでなく、これらの腫瘍細胞が殺傷されることから回避するのを支援し、かつそれらが他の組織および臓器に伝播するのを支援する。腫瘍浸潤好中球（ＴＩＮ）は、サイトカインおよびケモカインにより腫瘍微小環境中にエンゲージされる。ＴＡＮは、ＤＮＡ不安定性により、またはサイトカインおよび／もしくはケモカインの放出により、免疫抑制、腫瘍成長、血管形成および転移を刺激する。

【０１０４】

ＢＡＬＢ／ｃ乳腺腺癌、ＭＣ３８結腸癌、ルイス肺癌（ＬＬ２）、およびネズミ膵臓腺癌（Ｐａｎｃ２）の癌細胞株が、用いられた。ＲＰＭＩ　１００μｌ中の３×１０ｅ６の乳腺腺癌、１×１０ｅ６のＭＣ３８細胞、３×１０ｅ５のＬＬ２細胞、または２×１０ｅ５Ｐａｎｃ２細胞が、６～８週齢の同系Ｂａｌｂ／ｃまたは５７Ｂｌ／６雌マウスの乳房脂肪体中への皮下注射により投与された。

【０１０５】

腫瘍移植の６日後に、動物が、群（Ｎ＝３）に無作為に割り付けられ、マウスあたり７５μｇのヒト組換えＤＮａｓｅ　ＩのＩＶ注射により連日処置され、対照群は、同量のＰ

ＢＳを受けた。ＴＡＭおよびＴＩＮを単離するために、腫瘍が、抽出され、１２Ｕ／ｍＬコラーゲナーゼＩ（Ｓｉｇｍａ）、４５０Ｕ／ｍＬコラーゲナーゼＩＶ（Ｓｉｇｍａ）、および５０Ｕ／ｍｌ　ＤＮａｓｅ　Ｉ（Ｋｅｖｅｔ）で処置された。細胞片および死亡細胞が、密度勾配で除去された。ＴＡＭを精製するために、Ｆ４／８０細胞が、追加的にＭＡＣＳ濃縮された（抗ＣＤ１１ｂマイクロビーズを用いて）（Ｓｉｇｍａ）。

【０１０６】

ＤＮａｓｅによる処置後のＴＡＭおよびＴＩＮの量が、相対的対照（１００％と見なす）に対する％として、それぞれ、図１Ａおよび１Ｂに示される。データは、ＤＮａｓｅＩ酵素の連日のＩＶ注射がＴＡＭおよびＴＩＮの統計学的に有意な低減を提供することを、明確に実証する。

【０１０７】

実施例２．腫瘍組織内のＴＡＭおよびＴＩＮ存在量に対するデオキシリボヌクレアーゼ酵素の異なる投与レジメンの影響

ＲＰＭＩ　１００μｌ中の１×１０ｅ５のＰａｎｃ２細胞が、６～８週齢の同系Ｃ５７Ｂｌ／６雌マウスに皮下注射された。

【０１０８】

腫瘍移植の６日後に、動物は、群（Ｎ＝３）に無作為に割り付けられた：

群１：非処置対照；

群２：７日間連日の１ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；

群３：１４日間連日の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；

群４：７日間連日の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；

群５：２日間連日の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；

群６：３週間にわたり週に２日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；

群７：３週間のうち１週目および３週目に２日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射。

【０１０９】

ＴＡＭおよびＴＩＮを単離するために、腫瘍が、抽出され、１２Ｕ／ｍＬコラーゲナーゼＩ、４５０Ｕ／ｍＬコラーゲナーゼＩＶ、および５０Ｕ／ｍＬ　ＤＮａｓｅ　Ｉで処置された。細胞片および死亡細胞が、密度勾配で除去された。ＴＡＭを精製するために、Ｆ４／８０細胞が、追加的にＭＡＣＳ濃縮された（抗ＣＤ１１ｂマイクロビーズを用いて）。

【０１１０】

ＴＡＭおよびＴＩＮの量が、それぞれ、図２Ａおよび２Ｂに示される。

【０１１１】

驚くべきことに、ＤＮａｓｅ　Ｉ投与の用いられたレジメンの全てが、ＴＡＭおよびＴＩＮの統計学的に有意な（ｐ＜０．０５）低減を提供した。

【０１１２】

実施例３．腫瘍組織内のＴＡＭおよびＴＩＮ存在量に対するデオキシリボヌクレアーゼ酵素療法の異なる時間の影響

ＲＰＭＩ　１００μｌ中の３×１０ｅ６の乳腺腺癌細胞が、６～８週齢の同系Ｂａｌｂ／ｃ雌マウス中に皮下注射された。

【０１１３】

動物は、群（Ｎ＝３）に無作為に割り付けられた：

群１：非処置対照；

群２：腫瘍移植後２日目から開始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量での

ヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
　群３：腫瘍移植後６日目から開始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
　群４：腫瘍移植後１０日目から開始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
　群５：腫瘍移植後１４日目から開始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
　群６：腫瘍移植後１８日目から開始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
【０１１４】
　ＴＡＭおよびＴＩＮを単離するために、腫瘍が、抽出され、１２Ｕ／ｍＬコラーゲナーゼＩ、４５０Ｕ／ｍＬコラーゲナーゼＩＶ、および５０Ｕ／ｍＬ　ＤＮａｓｅ　Ｉで処置された。細胞片および死亡細胞が、密度勾配で除去された。ＴＡＭを精製するために、Ｆ４／８０細胞が、追加的にＭＡＣＳ濃縮された（抗ＣＤ１１ｂマイクロビーズを用いて）。
【０１１５】
　ＴＡＭおよびＴＩＮの量が、それぞれ、図３Ａおよび３Ｂに示される。
【０１１６】
　予想外に、ＤＮａｓｅ　Ｉの投与は、腫瘍発達の後期段階であっても、ＴＡＭおよびＴＩＮの統計学的に有意な（ｐ＜０．０５）低減を提供した。
【０１１７】
　実施例４．腫瘍組織内のＴＡＭおよびＴＩＮ存在量に対する、デオキシリボヌクレアーゼ酵素療法を免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせることの影響
　ＲＰＭＩ　１００μｌ中の１×１０ｅ６のＣＴ２６またはＭＣ３８が、６～８週齢の雌マウス中に注射された。
【０１１８】
　処置は、腫瘍移植後３日目または１０日目に開始された。
【０１１９】
　動物は、群（Ｎ＝３）に無作為に割り付けられた：
　群１：非処置対照；
　群２：腫瘍移植後３日目から開始して３日ごとの２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
　群３：腫瘍移植後１０日目から開始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
　群４：腫瘍移植後３日目から開始して３日ごとに合計２１日間の抗マウスＣＴＬＡ－４抗体（ＢＥＯ１６４、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射；
　群５：腫瘍移植後１０日目から開始して３日ごとに合計２１日間の抗マウスＣＴＬＡ－４抗体（ＢＥＯ１６４、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射；
　群６：腫瘍移植後３日目から開始して３日ごとの抗マウスＣＴＬＡ－４抗体（ＢＥＯ１６４、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射　＋　腫瘍移植後３日目から開始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
　群７：腫瘍移植後１０日目から開始して３日ごとの抗マウスＰＤ１抗体（ＢＥＯ１４６、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射　＋　腫瘍移植後１０日目から開

始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
　群８：腫瘍移植後３日目から開始して３日ごとに合計２１日間の抗マウスＰＤ１抗体（ＢＥＯ１４６、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射；
　群９：腫瘍移植後１０日目から開始して３日ごとに合計２１日間の抗マウスＰＤ１抗体（ＢＥＯ１４６、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射；
　群１０：腫瘍移植後３日目から開始して３日ごとの抗マウスＰＤ１抗体（ＢＥＯ１４６、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射　＋　腫瘍移植後３日目から開始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
　群１１：腫瘍移植後１０日目から開始して３日ごとの抗マウスＰＤ１抗体（ＢＥＯ１４６、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射　＋　腫瘍移植後１０日目から開始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
　群１２：腫瘍移植後３日目から開始して３日ごとに合計２１日間の抗マウスＯＸ－４０抗体（ＢＥ００３１、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射；
　群１３：腫瘍移植後３日目から開始して３日ごとの抗マウスＯＸ－４０抗体（ＢＥ００３１、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射　＋　腫瘍移植後３日目から開始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射；
　群１４：腫瘍移植後１０日目から開始して３日ごとに合計２１日間の抗マウスＯＸ－４０抗体（ＢＥ００３１、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射；
　群１５：腫瘍移植後１０日目から開始して３日ごとの抗マウスＯＸ－４０抗体（ＢＥ００３１、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）のＩＶ注射　＋　腫瘍移植後１０日目から開始して３日ごとに合計２１日間の２ｍｇ／ｋｇ用量でのヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）のＩＶ注射。
【０１２０】
　ＴＡＭが、以前に記載されたとおり腫瘍から抽出された。ＴＡＭおよびＴＩＮの量が、図４に示される。
【０１２１】
　単独で用いられる場合、チェックポイント阻害剤は、腫瘍進行の初期段階で腫瘍部位のＴＡＭ存在量を統計学的に有意に減少させたが、それらが疾患のより進行した段階で用いられた場合（腫瘍移植の１０日後の動物で用いられた場合）、減少させることができなかった。予想外に、ＤＮａｓｅ　Ｉと組み合わされると、免疫チェックポイント阻害剤は、ＴＡＭを有意に（ｐ＜０．０５）低減し続けた。
【０１２２】
　実施例５．腫瘍微生物叢に対するＤＮａｓｅ酵素の異なる型の影響
　フソバクテリウム・ヌクレアタム（Ｆ．ヌクレアタム）は、ヒト大腸癌（ＣＲＣ）、乳癌ならびに処置転帰および腫瘍免疫抑制環境の不良に関連する幾つかの他の癌において多く存在することが近年になり見出された口腔内嫌気性菌である。Ｆ．ヌクレアタムの接種は、腫瘍定着を導き、腫瘍浸潤Ｔ細胞の蓄積を抑制し、腫瘍成長および転移進行を促進する。例えば、Ｋｏｓｔｉｃ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｃｅｌｌ　ｈｏｓｔ　＆　ｍｉｃｒｏｂｅ，２０１３，　１４（２）：２０７－１５；Ｖａｎ　ｄｅｒ　Ｍｅｒｗｅ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　Ｌｅｔｔｅｒｓ，　２０２１，２３２：６０－６６を参照されたい。
【０１２３】
　Ｆ．ヌクレアタム（ＡＴＣＣ　２５５８６）が、５％ヒツジ赤血球を補充されたコロンビア寒天上、３７℃、５％CO_2で嫌気的に培養された。乳癌細胞株ＡＴ３（ＡＴＣＣ）が、６～８週齢のＣ５７ＢＬ／６の乳房脂肪体中に注射された。動物は、群（Ｎ＝３）に無作為に割り付けられた。試験終了日２４日目。

群１：非処置対照；
群２：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射された；
群３：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射され、腫瘍Ｆ．ヌクレアタム移植後２、３、４、６および７日目に、動物が１０ｍｇ／ｋｇメトロニダゾールで処置された。
群４：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射され、細菌注射後１日目から開始して３日ごとに与えられた２ｍｇ／ｋｇ用量のヒト組換えＤＮａｓｅＩ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）で処置された；
群５：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射され、細菌注射後１日目から開始して３日ごとに与えられた２ｍｇ／ｋｇ用量の変異体ＤＮａｓｅ　Ｉ酵素（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ）（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２）で処置された；
群６：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射され、細菌注射後１日目から開始して３日ごとに与えられた２ｍｇ／ｋｇ用量のＤＮａｓｅ　Ｉ－ｌｉｋｅ　３（Ｈｕｍａｎ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ、米国ＮＹ州）（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３）で処置された；
群７：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射され、細菌注射後１および４日目に与えられた２ｍｇ／ｋｇ用量のＤＮａｓｅ　Ｉ－ｌｉｋｅ　３（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３）で処置された；
群８：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射され、細菌注射後１日目から開始して３日ごとに与えられた２ｍｇ／ｋｇ用量のＤＮａｓｅ　Ｉ－ｌｉｋｅ　２（Ｈｕｍａｎ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ、米国ＮＹ州）（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４）で処置された；
群９：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射され、細菌注射後１日目から開始して３日ごとに与えられた２ｍｇ／ｋｇ用量のＤＮａｓｅ　Ｉ－ｌｉｋｅ　１（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ）（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５）で処置された。

【０１２４】

腫瘍体積が、カリパスで測定され、楕円体式を利用して推定された。データが、図５に示される。データは、異なる型のヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ酵素のＩＶ注射がＦ．ヌクレアタムに惹起された腫瘍成長の統計学的に有意な（ｐ＜０．０５）予防を提供し、かつＦ．ヌクレアタムの腫瘍形成促進効果を予防したことを、明確に示す。

【０１２５】

試験終了日に、腫瘍組織中のＦ．ヌクレアタムの存在が、腫瘍ホモジネートを栄養培地に播種し、嫌気的条件で３７℃で４８時間インキュベートすることにより確認された。成長を与えた腫瘍組織およびコロニーの両方の追加的ＰＣＲ解析が、実行された。データが、表１に示される。

【表１】

表1．腫瘍組織でのF．ヌクレアタムの定量

群	F．ヌクレアタムの成長	腫瘍組織1g内のF．ヌクレアタムの正規化された*量
1	−	0
2	+	100%
3	−	0
4	+	99% ± 5.568
5	+	100% ± 12.767
6	+	107.3% ± 14.012
7	+	92.33% ± 3.786
8	+	98.33% ± 6.807
9	+	107% ± 25.515

* F．ヌクレアタムの量は、各実験での群２（１００％に設定された陽性対照）の平均F．ヌクレアタムと比較されたパーセンテージとして正規化された。データは、±ＳＤとして示される。

【０１２６】

データは、ＤＮａｓｅが腫瘍においてＦ．ヌクレアタムの量を変化させなかったことおよびこれらの状況において抗菌活性を持たないことを、明確に示す。予想外に、ＤＮａｓｅ　Ｉは、Ｆ．ヌクレアタムのｐｒｏ腫瘍原性効果を有意に阻害した。この試験では、ＤＮａｓｅ　Ｉ投与のレジメンは、結果にほとんど影響せず、様々なタイプのＤＮａｓｅが同等に働いた。

【０１２７】

実施例６．免疫チェックポイント阻害剤の抗腫瘍活性に対する腫瘍微生物叢の影響

Ｆ．ヌクレアタムＡＴＣＣ　２５５８６が、５％ヒツジ赤血球を補充されたコロンビア寒天上、３７℃、５％CO_2で嫌気的に培養された。乳癌細胞株ＡＴ３が、１８～２２ｇ体重の６～８週齢Ｃ５７ＢＬ／６マウスの乳房脂肪体中に注射された。動物は、群（Ｎ＝５）に無作為に割り付けられた。試験は、２１日目に終了された。

群１：非処置対照；

群２：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射された；

群３：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射され、腫瘍Ｆ．ヌクレアタム移植後２、３、４、５、６、７日目に、動物が１０ｍｇ／ｋｇメトロニダゾール（Ｓｉｇｍａ）で処置された。

群４：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射され、細菌注射後１日目から開始して３日ごとに与えられた２ｍｇ／ｋｇ用量のヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）で処置された；

群５：抗マウスＣＴＬＡ－４抗体（ＢＥＯ１６４、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）を２日ごとに注射された；

群６：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射され、細菌注射から開始して２日ごとに与えられた抗マウスＣＴＬＡ－４抗体（ＢＥＯ１６４、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）で処置された；

群７：細菌注射後１日目から開始して３日ごとに２ｍｇ／ｋｇ用量のヒト組換えＤＮａｓｅ　Ｉ（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）で処置され、細菌注射後から開始して２日ごとに与えられた抗マウスＣＴＬＡ－４抗体（ＢＥＯ１６４、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）で処置された；

群８：７．５×１０ｅ７のＦ．ヌクレアタム　ＡＴＣＣ２３７２６を注射され、細菌注射後１日目から開始して３日ごとに与えられた２ｍｇ／ｋｇ用量のヒト組換えＤＮａｓｅＩ（Ｋｅｖｅｌｔ　ＡＳ；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１）で処置され、細菌注射後から開始して２日ごとに与えられた抗マウスＣＴＬＡ－４抗体（ＢＥＯ１６４、ＩｎＶｉｖｏＭＡｂ、２００μｇ／用量）で処置された。

【０１２８】

腫瘍体積が、カリパスで測定され、楕円体式を利用して推定された。データが、図６に示される。

【０１２９】

試験終了日に、腫瘍組織中のＦ．ヌクレアタムの存在が、腫瘍ホモジネートを栄養培地に播種し、嫌気的条件で３７℃で４８時間インキュベートすることにより確認された。成長を与えた腫瘍組織およびコロニーの両方の追加的ＰＣＲ解析が、実行された。データが、表２に示される。

【表２】

表2．腫瘍組織中のF．ヌクレアタムの定量

群	F．ヌクレアタムの成長	腫瘍組織1g内のF．ヌクレアタムの正規化された*量
1	−	0
2	+	100%
3	−	0
4	−	0
5	−	0
6	+	100.67% ± 13.503
7	−	0
8	+	108% ± 25.120

＊ F．ヌクレアタムの量は、各実験での群２（１００%に設定された陽性対照）の平均F．ヌクレアタムと比較されたパーセンテージとして正規化された。データは、±ＳＤとして示される。

【０１３０】

データは、Ｆ．ヌクレアタムが免疫チェックポイント阻害剤である抗ＣＴＬＡ－４抗体の抗癌活性を有意に阻害したことを実証する。予想外に、チェックポイント阻害剤とＤＮａｓｅ　Ｉ酵素による組合わされた処置は、Ｆ．ヌクレアタムの癌形成促進活性および抗癌免疫活性を軽減したが（ｐ＜０．０５）、この微生物の生存率に影響しなかった。

【０１３１】

この試験から得られた別の予測されなかった知見は、Ｆ．ヌクレアタムが抗ＣＴＬＡ－４抗体チェックポイント阻害剤処置の毒性効果を上昇させたこと、およびこのチェックポイント阻害剤とＤＮａｓｅ　Ｉによる組合わされた処置が、Ｆ．ヌクレアタム誘導毒性およびＣＴＬＡ－４抗体誘導毒性を軽減したこと、であった。具体的には、図７に示されるとおり、抗ＣＴＬＡ４抗体（３ｍｇ／ｋｇ）またはＦ．ヌクレアタム（７．５×１０ｅ７）の投与は、処置動物の体重の成長を個別に停止させ、抗ＣＴＬＡ４抗体とＦ．ヌクレアタムの組み合わせは、集中的な体重減量を導き、およびＤＮａｓｅ　Ｉ処置（２ｍｇ／ｋｇで）は、抗ＣＴＬＡ４抗体誘導および／またはＦ．ヌクレアタム誘導毒性を予防し体重増加をもたらした。

【０１３２】

配列

ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１－　成熟野生型（ＷＴ）ヒトＤＮａｓｅ　Ｉ（分泌シグナル配列

なし；Ｇｅｎｂａｎｋアクセション番号４ＡＷＮ＿Ａ）：
ＬＫＩＡＡＦＮＩＱＴＦＧＥＴＫＭＳＮＡＴＬＶＳＹＩＶＱＩＬＳＲＹＤＩＡＬＶＱＥＶ
ＲＤＳＨＬＴＡＶＧＫＬＬＤＮＬＮＱＤＡＰＤＴＹＨＹＶＶＳＥＰＬＧＲＮＳＹＫＥＲＹ
ＬＦＶＹＲＰＤＱＶＳＡＶＤＳＹＹＹＤＤＧＣＥＰＣＧＮＤＴＦＮＲＥＰＡＩＶＲＦＦＳ
ＲＦＴＥＶＲＥＦＡＩＶＰＬＨＡＡＰＧＤＡＶＡＥＩＤＡＬＹＤＶＹＬＤＶＱＥＫＷＧＬ
ＥＤＶＭＬＭＧＤＦＮＡＧＣＳＹＶＲＰＳＱＷＳＳＩＲＬＷＴＳＰＴＦＱＷＬＩＰＤＳＡ
ＤＴＴＡＴＰＴＨＣＡＹＤＲＩＶＶＡＧＭＬＬＲＧＡＶＶＰＤＳＡＬＰＦＮＦＱＡＡＹＧ
ＬＳＤＱＬＡＱＡＩＳＤＨＹＰＶＥＶＭＬＫ
ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２　－　成熟ヒトＤＮＡｓｅ　Ｉ変異体（分泌シグナル配列をなし
）；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１に比較して変異した残基が太字および下線で示されている：
ＬＫＩＡＡＦＮＩＲＴＦＧＲＴＫＭＳＮＡＴＬＶＳＹＩＶＱＩＬＳＲＹＤＩＡＬＶＱＥＶ
ＲＤＳＨＬＴＡＶＧＫＬＬＤＮＬＮＱＤＡＰＤＴＹＨＹＶＶＳＥＰＬＧＲＫＳＹＫＥＲＹ
ＬＦＶＹＲＰＤＱＶＳＡＶＤＳＹＹＹＤＤＧＣＥＰＣＧＮＤＴＦＮＲＥＰＦＩＶＲＦＦＳ
ＲＦＴＥＶＲＥＦＡＩＶＰＬＨＡＡＰＧＤＡＶＡＥＩＤＡＬＹＤＶＹＬＤＶＱＥＫＷＧＬ
ＥＤＶＭＬＭＧＤＦＮＡＧＣＳＹＶＲＰＳＱＷＳＳＩＲＬＷＴＳＰＴＦＱＷＬＩＰＤＳＡ
ＤＴＴＡＴＰＴＨＣＡＹＤＲＩＶＶＡＧＭＬＬＲＧＡＶＶＰＤＳＡＬＰＦＮＦＱＡＡＹＧ
ＬＳＤＱＬＡＱＡＩＳＤＨＹＰＶＥＶＭＬＫ
ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３　－　ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　３
ＭＳＲＥＬＡＰＬＬＬＬＬＬＳＩＨＳＡＬＡＭＲＩＣＳＦＮＶＲＳＦＧＥＳＫＱＥＤＫＮ
ＡＭＤＶＩＶＫＶＩＫＲＣＤＩＩＬＶＭＥＩ
ＫＤＳＮＮＲＩＣＰＩＬＭＥＫＬＮＲＮＳＲＲＧＩＴＹＮＹＶＩＳＳＲＬＧＲＮＴＹＫＥ
ＱＹＡＦＬＹＫＥＫＬＶＳＶＫＲＳＹＨＹＨＤＹＱＤＧＤＡＤＶＦＳＲＥＰＦＶＶＷＦＱ
ＳＰＨＴＡＶＫＤＦＶＩＩＰＬＨＴＴＰＥＴＳＶＫＥＩＤＥＬＶＥＶＹＴＤＶＫＨＲＷＫ
ＡＥＮＦＩＦＭＧＤＦＮＡＧＣＳＹＶＰＫＫＡＷＫＮＩＲＬＲＴＤＰＲＦＶＷＬＩＧＤＱ
ＥＤＴＴＶＫＫＳＴＮＣＡＹＤＲＩＶＬＲＧＱＥＩＶＳＳＶＶＰＫＳＮＳＶＦＤＦＱＫＡ
ＹＫＬＴＥＥＥＡＬＤＶＳＤＨＦＰＶＥＦＫＬＱＳＳＲＡＦＴＮＳＫＫＳＶＴＬＲＫＫＴ
ＫＳＫＲＳ
ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４　－　ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　２
ＭＧＧＰＲＡＬＬＡＡＬＷＡＬＥＡＡＧＴＡＡＬＲＩＧＡＦＮＩＱＳＦＧＤＳＫＶＳＤＰ
ＡＣＧＳＩＩＡＫＩＬＡＧＹＤＬＡＬＶＱＥＶＲＤＰＤＬＳＡＶＳＡＬＭＥＱＩＮＳＶＳ
ＥＨＥＹＳＦＶＳＳＱＰＬＧＲＤＱＹＫＥＭＹＬＦＶＹＲＫＤＡＶＳＶＶＤＴＹＬＹＰＤ
ＰＥＤＶＦＳＲＥＰＦＶＶＫＦＳＡＰＧＴＧＥＲＡＰＰＬＰＳＲＲＡＬＴＰＰＰＬＰＡＡ
ＡＱＮＬＶＬＩＰＬＨＡＡＰＨＱＡＶＡＥＩＤＡＬＹＤＶＹＬＤＶＩＤＫＷＧＴＤＤＭＬ
ＦＬＧＤＦＮＡＤＣＳＹＶＲＡＱＤＷＡＡＩＲＬＲＳＳＥＶＦＫＷＬＩＰＤＳＡＤＴＴＶ
ＧＮＳＤＣＡＹＤＲＩＶＡＣＧＡＲＬＲＲＳＬＫＰＱＳＡＴＶＨＤＦＱＥＥＦＧＬＤＱＴ
ＱＡＬＡＩＳＤＨＦＰＶＥＶＴＬＫＦＨＲ
ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５　－　ヒトＤＮａｓｅ－１－ｌｉｋｅ　１
ＭＨＹＰＴＡＬＬＦＬＩＬＡＮＧＡＱＡＦＲＩＣＡＦＮＡＱＲＬＴＬＡＫＶＡＲＥＱＶＭ
ＤＴＬＶＲＩＬＡＲＣＤＩＭＶＬＱＥＶＶＤＳＳＧＳＡＩＰＬＬＬＲＥＬＮＲＦＤＧＳＧ
ＰＹＳＴＬＳＳＰＱＬＧＲＳＴＹＭＥＴＹＶＹＦＹＲＳＨＫＴＱＶＬＳＳＹＶＹＮＤＥＤ
ＤＶＦＡＲＥＰＦＶＡＱＦＳＬＰＳＮＶＬＰＳＬＶＬＶＰＬＨＴＴＰＫＡＶＥＫＥＬＮＡ
ＬＹＤＶＦＬＥＶＳＱＨＷＱＳＫＤＶＩＬＬＧＤＦＮＡＤＣＡＳＬＴＫＫＲＬＤＫＬＥＬ
ＲＴＥＰＧＦＨＷＶＩＡＤＧＥＤＴＴＶＲＡＳＴＨＣＴＹＤＲＶＶＬＨＧＥＲＣＲＳＬＬ
ＨＴＡＡＡＦＤＦＰＴＳＦＱＬＴＥＥＥＡＬＮＩＳＤＨＹＰＶＥＶＥＬＫＬＳＱＡＨＳＶ
ＱＰＬＳＬＴＶＬＬＬＬＳＬＬＳＰＱＬＣＰＡＡ
【０１３３】
参考資料：
Ｓｏｎｇ，Ｌ．ｅｔ　ａｌ．，“ＮＬＲＰ３　Ｉｎｆｌａｍｍａｓｏｍｅ　ｉｎ　Ｎｅｕｒｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｄｉｓｅａｓｅｓ，　ｆｒｏｍ　Ｆｕｎｃｔｉｏｎｓ　ｔｏ　Ｔｈｅｒａｐｉｅｓ”　Ｆｒｏｎｔ．　Ｃｅｌｌ．　Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．，　２０１７，

Vol. 11, No. 63.
Fleischhacker M. et al., “Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer: a survey” Biochim biophys Acta, 2007, 1775(1): 181-232.
Demers, M. at al., “Cancers predispose neutrophils to release extracellular DNA traps that contribute to cancer-associated thrombosis” PNAS, 2012, 109(32):13076-13081.
Garcia-Olmo D.C. and Garcia-Olmo, D. “Biological role of cell-free nucleic acids in cancer: the theory of genometastasis” Crit Rev Oncolog., 2013, 18:153-161.
Sawyers 2008 C.L., “The cancer biomarker problem” Nature, 2008, 452(7187):548-552.
Butt A.N. et al. Overview of circulating nucleic acids in plasma/serum. Ann. N.Y. Acad. Sci., 2008, 1137:236-242.
Schwarzenbach H. et al., “Detection and monitoring of cell-free DNA in blood of patients with colorectal cancer” Ann. N.Y. Acad. Sci., 2008, 1137:190-196.
Zenaro E, et al., Neutrophils promote Alzheimer’s disease-like pathology and cognitive decline via LFA-1 integrin. Nat Rev Nephrol., 2015, Author manuscript; available in PMC 2017 Jul 14.
Fushi, W. et al., “Extracellular DNA in Pancreatic Cancer Promotes Cell Invasion and Metastasis” Cancer Res., 2013, 73:4256-4266.
Tohme, S. et al., “Neutrophil Extracellular Traps Promote the Development and Progression of Liver Metastases after Surgical Stress” Cancer Res., 2016, 76(6): 1367-1380.
Patutina, O. et al., Inhibition of metastasis development by daily administration of ultralow doses of RNase A and DNase I. Biochimie., 2011, 93(4): 689-96.
Dan Li, DNase I Treatment Reduces GVHD in Mice. Biology of Blood and Marrow Transplantation, Volume 21, Issue 2, Page S339.
Darvin, P. et al., “Immune checkpoint inhibitors: recent progress and potential biomarkers” Experimental & molecular medicine, 2018, 50(12):1-1.

【0134】

本発明は、本明細書に記載された具体的実施形態により範囲を限定されない。実際に、本明細書に記載された改良に加えて、本明細書の様々な改良が、前述の記載から当業者に

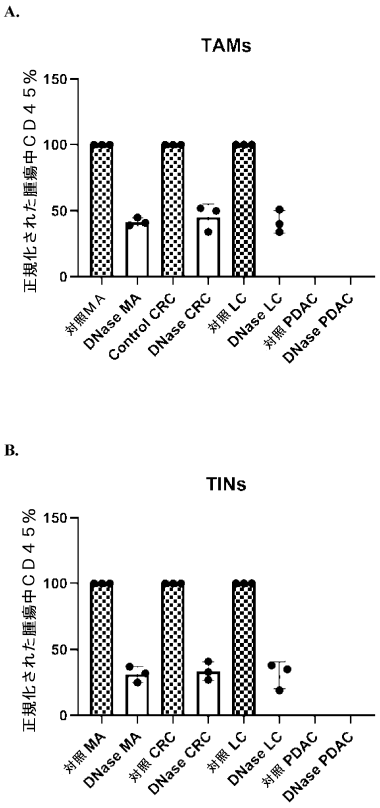
明白となろう。そのような改良は、添付の特許請求の範囲に含まれるものとする。

【０１３５】

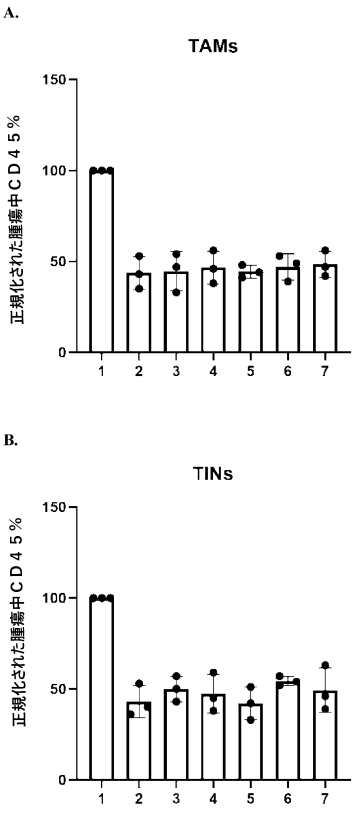
本明細書に引用された全ての特許、特許出願、発行物、検査法、文献、および他の材料は、この明細書に物理的に存在するかの如く、全体として参照により本明細書に組み入れられる。

【図面】

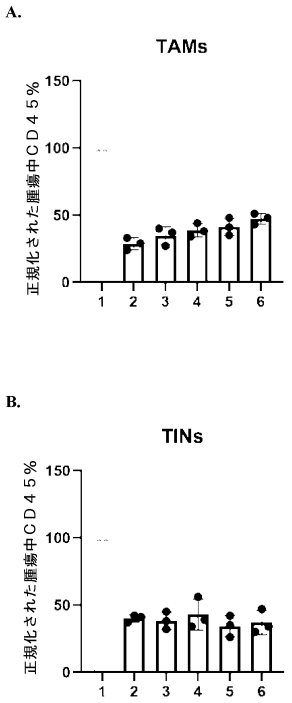
【図１】



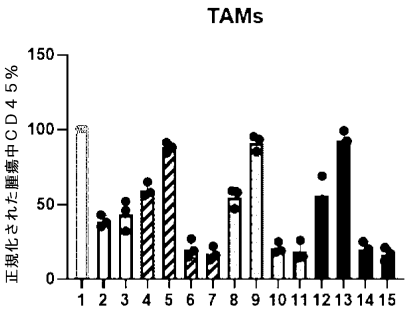
【図２】



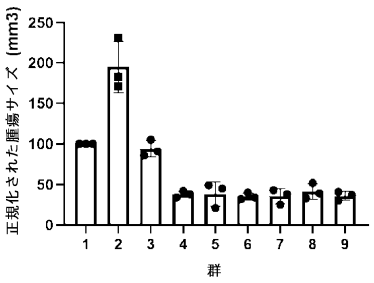
【図３】


A.
TAMs
正規化された腫瘍中ＣＤ４５％
150
100
50
0
1 2 3 4 5 6
B.
TINs
正規化された腫瘍中ＣＤ４５％
150
100
50
0
1 2 3 4 5 6

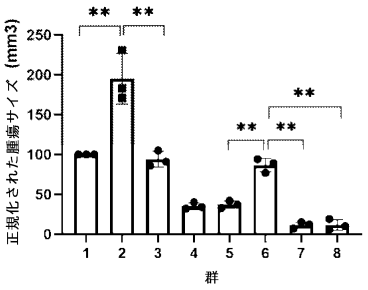
【図４】


TAMs
正規化された腫瘍中ＣＤ４５％
150
100
50
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

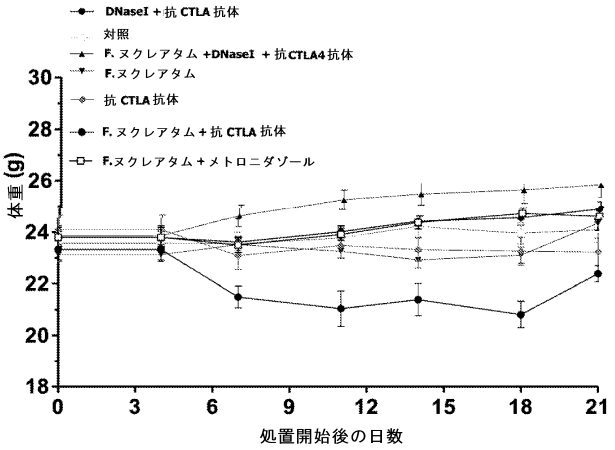
【図５】


正規化された腫瘍サイズ (mm3)
250
200
150
100
50
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9
群

【図６】


正規化された腫瘍サイズ (mm3)
**
**
**
**
**
250
200
150
100
50
0
1 2 3 4 5 6 7 8
群

【図７】


DNaseI＋抗 CTLA 抗体
対照
F. ヌクレアタム +DNaseI ＋抗CTLA4抗体
F.ヌクレアタム
抗 CTLA 抗体
F. ヌクレアタム＋抗 CTLA 抗体
F.ヌクレアタム＋メトロニダゾール
体重 (g)
30
28
26
24
22
20
18
0
3
6
9
12
15
18
21
処置開始後の日数

【手続補正書】
【提出日】令和６年４月１６日(２０２４.４.１６)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】配列表
【補正方法】追加
【補正の内容】
【配列表】
20245191900000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/30168

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - INV. A61K 38/46; C07K 16/28; C07K 16/30; C12N 9/22; A61K 39/00; A61P 35/00; A61P 35/04 (2022.01)
ADD. A61K 38/43 (2022.01)
CPC - INV. A61K 38/465; C07K 16/28; C07K 16/30; C12N 9/22; A61K 38/46; A61K 39/001102; A61K 39/001111; A61K 39/001119; A61K 39/001129; A61P 35/00; A61P 35/04
ADD. A61K 38/43
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)
See Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	XIA. "AAV mediated gene transfer of DNase I in the liver of mice with colorectal cancer reduces liver metastasis and restores local innate and adaptive immune response" 2920--2935. Molecular Oncology. Web. Retrieved Online [23.08.2022]. <URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7607180/?report=classic>. 05 September 2020; abstract; page 2930, column 2, paragraph 2, lines 4-7; page 2926; column 2, paragraph 1, lines 2-4; DOI: 10.1002/1878-0261.12787	1-3, 5/1-5/3
X	ONUMA. "Neutrophil extracellular traps blockade in combination with PD-1 inhibition in treatment of colorectal cancer metastasis" . Journal of Clinical Oncology. Web. Retrieved Online [23.08.2022]. <URL:https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.e16002>. 25 May 2020; abstract; DOI: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.e16002	4, 5/4
---	---	---
Y		49-56, 72-79, 95
Y	US 2017/0100463 A1 (CLS THERAPEUTICS LIMITED) 13 April 2017; paragraphs [0076] and [0079]	49-56, 72-79, 95-102
Y	RAEDLER. "Keytruda (Pembrolizumab): First PD-1 Inhibitor Approved for Previously Treated Unresectable or Metastatic Melanoma" 96--100. American Health Drug Benefits. Web. Retrieved Online [24.08.2022]. <URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4665064/>. March 2015; page 97; column 1; paragraph 3	53-56, 76-79
Y		95-102
P,X	WO 2018/150326 A1 (GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY DEVELOPMENT LIMITED) 23 August 2018; page 7, line 15; page 15, lines 24-29; page 23, lines 24-25	1-5, 49-56, 72-79, 95-102
	ZHANG. "Neutrophils Extracellular Traps Inhibition Improves PD-1 Blockade Immunotherapy in	

☒ 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	Date of mailing of the international search report
30 August 2022 (30.08.2022)	SEP 23 2022
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/30168

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8582562/>. 23 October 2021; Entire Document; DOI: 10.3390/cancers13215333 SUGIHARA. "Deoxyribonuclease treatment prevents blood-borne liver metastasis of cutaneously transplanted tumour cells in mice." 66-70. British Journal of Cancer. Web. Retrieved Online [23.08.2022]. <URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1968215/>. January 1993; Entire Document; DOI: 10.1038/bjc.1993.10	1-3
A	WO 2020/076817 A1 (NEUTROLIS, INC.) 16 April 2020	1-3
A	WO 2005/004903 A1 (GENKIN DMITRY DMITRIEVICH) 20 January 2005	1-3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/30168

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US22/30168

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 6-48, 57-71, 80-94, 103-117
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61P	43/00	111	
A61K 48/00	*(2006.01)*	A61K	39/395	U	
A61K 35/76	*(2015.01)*	A61K	48/00		
A61K 35/12	*(2015.01)*	A61K	35/76		
A61P 37/06	*(2006.01)*	A61K	35/12		
A61P 25/00	*(2006.01)*	A61P	37/06		
A61P 27/02	*(2006.01)*	A61P	25/00		
A61P 29/00	*(2006.01)*	A61P	27/02		
A61P 11/00	*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P 1/16	*(2006.01)*	A61P	11/00		
A61P 1/18	*(2006.01)*	A61P	1/16		
A61P 3/10	*(2006.01)*	A61P	1/18		
A61P 13/12	*(2006.01)*	A61P	3/10		
A61P 17/00	*(2006.01)*	A61P	13/12		
A61P 17/06	*(2006.01)*	A61P	17/00		
A61P 19/02	*(2006.01)*	A61P	17/06		
A61P 21/00	*(2006.01)*	A61P	19/02		
A61P 7/06	*(2006.01)*	A61P	21/00		
A61P 7/04	*(2006.01)*	A61P	7/06		
A61P 9/00	*(2006.01)*	A61P	7/04		
A61P 1/04	*(2006.01)*	A61P	9/00		
A61P 5/14	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P 5/00	*(2006.01)*	A61P	5/14		
A61P 5/38	*(2006.01)*	A61P	5/00		
A61K 35/17	*(2015.01)*	A61P	5/38		
		A61K	35/17		

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,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,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

テトス，ビクター，ヴェニアミノヴィッチ
アメリカ合衆国，ニューヨーク州 １０１２８，ニューヨーク，アパートメント １０エー，４５ イースト ８９番 ストリート
(74)代理人 100114775
弁理士 高岡 亮一
(74)代理人 100121511
弁理士 小田 直
(74)代理人 100202751
弁理士 岩堀 明代
(74)代理人 100208580
弁理士 三好 玲奈
(74)代理人 100191086
弁理士 高橋 香元
(72)発明者 ゲンキン，ドミトリー，ドミトリエヴィチ
ロシア国，サンクト ペテルブルグ １９７１１０，コンスタンチノフスキー ピーアール．，ディー．２６，ケーブイ．１
(72)発明者 テトス，ジョージー，ヴィクトロヴィッチ
アメリカ合衆国，ニューヨーク州 １０１２８，ニューヨーク，アパートメント １０エー，４５ イースト ８９番 ストリート
(72)発明者 テトス，ビクター，ヴェニアミノヴィッチ

アメリカ合衆国，ニューヨーク州 １０１２８，ニューヨーク，アパートメント １０エー，４５ イースト ８９番 ストリート

Ｆターム（参考） 4C084 AA02 AA13 AA19 BA44 DC22 MA02 MA66 NA05 NA14 ZA011 ZA012 ZA201 ZA202 ZA331 ZA332 ZA361 ZA362 ZA531 ZA532 ZA551 ZA552 ZA591 ZA592 ZA661 ZA662 ZA681 ZA682 ZA751 ZA752 ZA811 ZA812 ZA891 ZA892 ZA941 ZA942 ZA961 ZA962 ZB081 ZB082 ZB091 ZB092 ZB111 ZB112 ZB211 ZB212 ZB261 ZB262 ZC021 ZC022 ZC351 ZC352 ZC412 ZC75
4C085 AA14 BB11 EE03
4C087 AA01 BB37 BB65 BC83 MA02 NA05 NA14 ZA01 ZA20 ZA33 ZA36 ZA53 ZA55 ZA59 ZA66 ZA75 ZA89 ZA94 ZA96 ZB08 ZB09 ZB21 ZB26 ZC02 ZC35 ZC75