

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6415437号
(P6415437)

(45) 発行日 平成30年10月31日(2018.10.31)

(24) 登録日 平成30年10月12日(2018.10.12)

(51) Int.Cl.	F I	
A 6 1 K 31/715 (2006.01)	A 6 1 K 31/715	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	

請求項の数 7 (全 30 頁)

(21) 出願番号	特願2015-532151 (P2015-532151)	(73) 特許権者	514065014
(86) (22) 出願日	平成25年9月17日(2013.9.17)		ガレクティン・セラピューティクス・インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2015-528514 (P2015-528514A)		GALECTIN THERAPEUTICS, INC.
(43) 公表日	平成27年9月28日(2015.9.28)		アメリカ合衆国30071ジョージア州ノ
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/060182		アクロス、ピーチトゥリー・インダストリアル・ブールバード4960番、スウィート240
(87) 国際公開番号	W02014/043708		
(87) 国際公開日	平成26年3月20日(2014.3.20)		
審査請求日	平成28年9月8日(2016.9.8)		
(31) 優先権主張番号	61/701, 914		
(32) 優先日	平成24年9月17日(2012.9.17)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	61/759, 532		
(32) 優先日	平成25年2月1日(2013.2.1)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌の処置における特異的免疫療法を向上する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

処置を必要とする対象における癌の処置のための非経腸投与用組成物であって、薬学的に許容される担体中にあり、

a. 治療有効量の、 - 1, 2 - 結合ラムノースおよび - 1, 4 - 結合ガラクトツロン酸(GalA)残基の交互オリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1, 4 - 結合GalAおよびガラクトツロン酸メチル(MeGalA)残基骨格を含み、該ラムノース残基が1, 4 - D - ガラクトース残基、1, 5 - L - アラビノース残基またはその組み合わせのオリゴマーの主な分枝を有するものであるガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネートを含み、

b. 治療有効量の、OX40、CTLA-4、PD-1、PD-L1もしくはPD-L2に結合できるモノクローナル抗体またはそれらの組み合わせである免疫調節剤をさらに含むか、または該免疫調節剤と組み合わせて投与される、組成物。

【請求項 2】

免疫調節剤が、OX40、CTLA-4もしくはPD-1に結合できるモノクローナル抗体またはそれらの組み合わせである、請求項1に記載の組成物。

【請求項 3】

(i) - 1, 2 - 結合ラムノースおよび - 1, 4 - 結合ガラクトツロン酸(GalA)残基の交互オリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1, 4 - 結合GalAおよびガラクトツロン酸メチル(MeGalA)残基骨格を含み、該ラムノース残基が1, 4 - D - ガラ

クトース残基、1,5-β-D-アラビノース残基またはその組み合わせのオリゴマーの主な分枝を有するものであるガラクトアラビノ-ラムノガラクトツロネート(GA-RG)を許容される医薬担体中に含む、癌の処置のための非経腸または経腸投与用組成物であって、

(ii) 治療有効量の、OX40、CTLA-4、PD-1、PD-L1もしくはPD-L2に結合できるモノクローナル抗体またはそれらの組み合わせである免疫調節剤をさらに含むか、または該免疫調節剤と組み合わせて投与され、

その投与により、

CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞またはCD8⁺ T細胞およびCD4⁺ T細胞の活性化において少なくとも10%増大；

腫瘍抗原特異的CD8⁺またはCD4⁺ T細胞の少なくとも10%増大；

腫瘍サイズの少なくとも10%減少；

転移サイズの少なくとも10%減少；

転移数の少なくとも10%減少；

治療有効量の免疫調節剤単独で処置したコントロール対象と比較したとき全腫瘍量の減少のうち少なくとも一つが得られる、組成物。

【請求項4】

さらに、治療有効量の、CD27もしくは4-1BBに結合できるモノクローナル抗体またはそれらの組み合わせを含むか、またはそれと組み合わせて投与される、請求項1～3のいずれかに記載の組成物。

【請求項5】

さらに、治療有効量の、OX40L、CD70もしくは4-1BBLに結合できるモノクローナル抗体またはそれらの組み合わせを含むか、またはそれと組み合わせて投与される、請求項1～3のいずれかに記載の組成物。

【請求項6】

ガラクトアラビノ-ラムノガラクトツロネートが、20 kDa～70 kDaの範囲の平均分子量を有する、請求項1～5のいずれかに記載の組成物。

【請求項7】

ガラクトアラビノ-ラムノガラクトツロネートが、さらに、キシロース、グルコース、フコース残基またはそれらの組み合わせを含む、請求項1～5のいずれかに記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、米国仮特許出願第61/701,914号(2012年9月17日出願)、米国仮特許出願第61/756,818号(2013年1月25日出願)、および、米国仮特許出願第61/759,532号(2013年2月1日出願)の優先権の利益を主張しており、各々は、その全体が、引用によって本明細書に組み込まれる。

【0002】

本発明の分野

本発明の方法および組成物は、癌の処置における特異的免疫療法の向上に関する。

【背景技術】

【0003】

本発明の背景

免疫系は、外来性抗原を認識し、外来性抗原または外来性抗原を発現する病原体もしくは細胞の除去をもたらす多数の細胞型を含む協調的応答を組織化する。免疫系は、細菌、ウイルスおよび寄生虫を含むがこれらに限定されない侵入微生物からの保護、異常なまたは変異した細胞(癌)の監視および除去に極めて重要である。免疫系はまた、身体への医学的デバイスの挿入または異種臓器もしくは細胞の移植に対する反応によって、治療介入の障害をもたらす。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 4 】

宿主動物を保護するという免疫系の基本的機能に加えて、疾患の処置のために免疫系を調節することはかなり有望である。これに関して、患者自身の免疫系を患者の癌を攻撃し処置するのに利用することは、多くの異なるタイプの癌に対する非常に有望な治療的方法であり得る。

【 0 0 0 5 】

癌の処置における免疫療法の近年の成功にもかかわらず、ヒト腫瘍の応答は、個体間でおよびそれが作用する場所において変わりやすく、しばしば部分的にしか成功しない。

そのため、免疫療法の癌を処置する能力を向上できる方法についての必要性がある。

【 発明の概要 】

【 0 0 0 6 】

本発明の概要

本発明の局面は、複合糖質医薬化合物を単独でまたは癌の免疫療法の有効性を増大させ得る他の標的化免疫療法と組み合わせて使用して免疫機能をブーストする新規方法に関する。

本発明の局面は、免疫機能をブーストできる組成物、組成物を使用する方法および製造する方法に関する。

【 0 0 0 7 】

本発明の他の局面は、処置を必要とする対象を処置する方法に関する。幾つかの態様において、本方法は、許容される医薬担体中に化合物を含む、静脈内、皮下、非経腸の他の経路または経口投与用組成物を得て、該組成物を処置を必要とする対象に投与する過程を含む。

【 0 0 0 8 】

或る態様において、本化合物は、ガラクト - ラムノガラクトツロネート (G R G)、ガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネート (G A - R G)、ガラクトマンナン (G M)、修飾合成二糖類 (M S D)、ペプチド / タンパク質阻害剤 (P I A)、ペプチド模倣薬 (P M A)、ガレクチン特異的抗体 (G S A) または有機小分子 (S O M)、または前述の何れかの組み合わせのうちの 1 個であり得る。

【 0 0 0 9 】

或る態様において、特異的な G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、ガレクチン 1 ~ 15 を含むガレクチンタンパク質のクラスの様々なドメインと相互作用する能力を有し、それによって、それらの機能を阻害し、増強し、または調節し得る。

【 0 0 1 0 】

或る態様において、特異的な G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、ガレクチン - 3 タンパク質の炭水化物の S 面および F 面認識ドメインおよび N 末端ドメインを含むがこれらに限定されない様々なドメインと相互作用する能力を有し、それによって、ガレクチン - 3 機能を阻害する天然リガンドとの相互作用を阻害し得る。

【 0 0 1 1 】

或る態様において、特異的な G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、ガレクチン - 1 タンパク質の炭水化物認識ドメインおよび二量化ドメインを含むがこれらに限定されない様々なドメインと相互作用する能力を有し、それによってガレクチン - 1 機能を阻害する天然リガンドとの相互作用を阻害し得る。

【 0 0 1 2 】

或る態様において、本化合物は、その骨格が主に 1, 4 - 結合ガラクトツロン酸 (G a l A) 部分からなり、交互の 1, 4 - 結合 G a l A および 1, 2 - 結合ラムノース (R h a) である少量の骨格組成を伴い、これが次に主に 1, 4 - b - D - ガラクトース (G a l) と少量の 1, 5 - a - L - アラビノース (A r a) 残基を含む任意の数の側鎖に結合している選択的脱重合分枝ヘテロポリマーである、ガラクト - ラムノガラクトツロネート (G R G) と化学

10

20

30

40

50

的に定義される多糖類であり得る。他の側鎖副構成要素は、キシロース(X y l)、グルコース(G l u)およびフコース(F u c)またはその組み合わせを含み得る。

【 0 0 1 3 】

或る態様において、G R G化合物は、米国特許出願公開第2008/0107622号、現米国特許第8,236,780号(全ての目的について引用によって明示的に組み込まれる)に記載された通りに製造できる。

【 0 0 1 4 】

或る態様において、G R G化合物は、米国特許第8,128,966号、第8,187,624号、米国特許出願公開第2012/0315309号および第2012/0309711号(全ての目的について引用によって明示的に組み込まれる)に記載された通りに製造できる。

10

【 0 0 1 5 】

或る態様において、本化合物は、その骨格が主に1,4-結合ガラクトツロン酸(G a l A)およびガラクトツロン酸メチル(M e G a l A)残基からなり、交互の1,4-結合G a l Aおよび1,2-結合ラムノース(R h a)である少量の骨格組成を伴い、これが次に主に1,4-b-D-ガラクトース(G a l)および1,5-a-L-アラビノース(A r a)残基を含む任意の数の側鎖に結合している選択的脱重合分枝ヘテロポリマーである、ガラクトアラビノ-ラムノガラクトツロネート(G A - R G)と化学的に定義される多糖類であり得る。他の側鎖副構成要素は、キシロース(X y l)、グルコース(G l u)およびフコース(F u c)またはその組み合わせを含み得る。

【 0 0 1 6 】

20

本発明の局面は、(a) - 1,2-結合ラムノースおよび - 1,4-結合G a l A残基の交互オリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1,4-結合ガラクトツロン酸(G a l A)およびガラクトツロン酸メチル(M e G a l A)残基骨格を含み、ラムノース残基が1,4-D-ガラクトース残基、1,5- - L-アラビノース残基またはそれらの組み合わせのオリゴマーの一次分枝を有するものであるガラクトアラビノ-ラムノガラクトツロネートおよび治療有効量の免疫調節剤を含む非経腸または経腸投与用組成物を得ること；および(b)処置を必要とする対象に、有効量の組成物を投与し、C D 8 + T細胞、C D 4 + T細胞またはC D 8 + T細胞およびC D 4 + T細胞の活性化について少なくとも10%増大、腫瘍抗原特異的C D 8 +またはC D 4 + T細胞の少なくとも10%増加；腫瘍サイズの少なくとも10%減少、転移サイズの少なくとも10%減少、転移数の少なくとも10%減少、治療有効量の免疫調節剤単独で処置したコントロール対象と比較したとき、全腫瘍量の減少のうち一つ以上の結果を得ることを含む方法に関する。或る態様において、処置を必要とする対象は、癌を有する対象である。或る態様において、投与過程は、対象の全腫瘍量の少なくとも50%減少をもたらす、癌を処置する。

30

【 0 0 1 7 】

或る態様において、ガラクトアラビノ-ラムノガラクトツロネートを得る工程において、ガスクロマトグラフィー/質量分析によって特性決定されたとき、1,4-結合ガラクトツロン酸およびガラクトツロン酸メチル残基骨格は55~85モル%の炭水化物総モル含量を表し得て、交互の - 1,2-結合ラムノースおよび - 1,4-結合G a l A残基の分枝ヘテロポリマーは1~6モル%の炭水化物総モル含量を表し得て、一次分枝のオリゴマー1,4- - D-ガラクトースは6~15モル%の炭水化物総モル含量を表し得て、一次分枝のオリゴマー1,5- - L-アラビノースは2~8モル%の炭水化物総モル含量を表し得る。

40

【 0 0 1 8 】

或る態様において、ガラクトアラビノ-ラムノガラクトツロネートは、20kDa~70kDaの範囲の平均分子量を有し得る。或る態様において、ガラクトアラビノ-ラムノガラクトツロネートは、さらに、キシロース、グルコース、フコース残基またはそれらの組み合わせを含む。

【 0 0 1 9 】

或る態様において、本化合物は、ガレクチンに結合し、ガレクチン機能を阻害し得るべ

50

プチド/タンパク質阻害剤(P I A)であり得る。或る態様において、ペプチド/タンパク質阻害剤は、anginexを含み、これに限定されない。Anginexは、或る態様において、米国特許第6,770,622号(全ての目的について引用によって明示的に組み込まれる)に記載された通りに製造できる。

【0020】

或る態様において、本化合物は、ガレクチンに結合でき、ガレクチン機能を阻害できるペプチド模倣薬(P M A)であり得る。或る態様において、P M Aは、OTX-008 (PTX-008としても知られる)であり得るが、これに限定されない。或る態様において、ペプチド模倣薬は、米国特許第8,207,228号(全ての目的について引用によって明示的に組み込まれる)に記載された通りに製造されるP M Aを含み得るが、これに限定されない。

10

【0021】

或る態様において、本化合物は、ガレクチン-3またはガレクチンファミリーのタンパク質の他のメンバーに結合し、阻害するモノクローナル抗体を含むがこれらに限定されないガレクチン特異的抗体(G S A)であり得る。

【0022】

或る態様において、本化合物は、ガレクチン分子の炭水化物結合ドメインおよびタンパク質二量体ドメインを含むがこれらに限定されない様々なドメインと相互作用し得る有機小分子(S O M)であり得る。

【0023】

或る態様において、本明細書に記載されたG R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S AまたはS O M化合物は、リンパ球同時刺激リガンドまたは受容体に結合し、同時刺激のアнтаゴニストまたはアゴニストの何れかとして作用する、治療有効量のモノクローナル抗体、ペプチドまたは他の薬物と組み合わせて使用できる。同時刺激受容体は、C D 2 8 およびI C O Sを含み得るが、これらに限定されない。同時刺激リガンドは、C D 8 0、C D 8 6 およびI C O Sリガンドを含み得るが、これらに限定されない。

20

【0024】

或る態様において、本明細書に記載されたG R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S AまたはS O M化合物は、リンパ球阻害リガンドまたは受容体に結合し、リンパ球阻害のアнтаゴニストまたはアゴニストの何れかとして作用する、治療有効量のモノクローナル抗体、ペプチドまたは他の薬物と組み合わせて使用できる。阻害受容体は、C T L A - 4 およびL A G - 3 (リンパ球活性化遺伝子3 ; C D 2 2 3とも示される)を含むが、これらに限定されない。阻害リガンドは、C D 8 0 およびC D 8 6を含むが、これらに限定されない。

30

【0025】

或る態様において、本明細書に記載されたG R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S AまたはS O M化合物は、治療有効量のC T L A - 4 に結合するモノクローナル抗体(抗C T L A 4)と組み合わせて使用できる。

【0026】

或る態様において、本明細書に記載されたG R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S AまたはS O M化合物は、リンパ球に発現する腫瘍壊死因子受容体(T N F R)スーパーファミリーの受容体またはそれらのリガンドに結合し、リンパ球同時刺激のアнтаゴニストまたはアゴニストの何れかとして作用する、治療有効量のモノクローナル抗体、ペプチドまたは他の薬物と組み合わせて使用できる。T N F Rスーパーファミリーの受容体のメンバーは、C D 1 3 4 (O X 4 0としても知られる)、C D 2 7 および4 - 1 B Bを含み得るがこれらに限定されず、T N F R受容体リガンドは、O X 4 0 L およびC D 7 0 および4 - 1 B B L (C D 1 3 7 L)を含むがこれらに限定されない。

40

【0027】

或る態様において、本明細書に記載されたG R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S AまたはS O M化合物は、治療有効量のO X 4 0 に結合するモノクローナル抗体(抗O X 4 0)と組み合わせて使用できる。或る態様において、本明細書に記載され

50

た G A - R G または G M 化合物は、治療有効量の組換え O X 4 0 L または他の O X 4 0 のアゴニストと組み合わせて使用できる。

【 0 0 2 8 】

或る態様において、本明細書に記載された G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、治療有効量の P D - リガンドに結合するモノクローナル抗体(抗 P D - L 1 および抗 P D - L 2)と組み合わせて使用できる。

【 0 0 2 9 】

或る態様において、本明細書に記載された G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、治療有効量の P D - 1 に結合するモノクローナル抗体(抗 P D - 1)と組み合わせて使用できる。

10

【 0 0 3 0 】

或る態様において、本明細書に記載された G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、樹状細胞の活性化または機能を修飾し、それによって抗原プロセッシングまたは応答を変化させる、治療有効量のモノクローナル抗体、ペプチドまたは他の薬物と組み合わせて使用できる。

【 0 0 3 1 】

或る態様において、本明細書に記載された G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、治療有効量の癌ワクチンと組み合わせて使用できる。或る態様において、本明細書に記載された G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、治療有効量の腫瘍抗原指向性ワクチンと組み合わせて使用できる。

20

【 0 0 3 2 】

或る態様において、本明細書に記載された G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、治療有効量の感染性疾患を処置または予防する目的で使用されるワクチンと組み合わせて使用できる。

【 0 0 3 3 】

本発明の或る局面において、癌を処置する方法は、(a)許容される医薬担体中にガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネートを含む非経腸または経腸投与用組成物を得ることであって、ここで、ガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネートは、 - 1, 2 - 結合ラムノースおよび - 1, 4 - 結合 G a l A 残基の交互オリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した 1, 4 - 結合ガラクトツロン酸(G a l A)およびガラクトツロン酸メチル(M e G a l A)残基骨格を含み、ラムノース残基は 1, 4 - - D - ガラクトース残基、1, 5 - - L - アラビノース残基またはそれらの組み合わせのオリゴマーの一次分枝を有し；(b)処置を必要とする対象に、有効量の組成物を投与し、C D 8 + T 細胞、C D 4 + T 細胞または C D 8 + T 細胞および C D 4 + T 細胞の活性化において少なくとも 1 0 % 増大、腫瘍抗原特異的 C D 8 + または C D 4 + T 細胞の少なくとも 1 0 % 増大；腫瘍サイズの少なくとも 1 0 % 減少、転移サイズの少なくとも 1 0 % 減少、転移数の少なくとも 1 0 % 減少、治療有効量の癌の処置のための承認された治療で処置したコントロール対象と比較したとき、全腫瘍量の減少のうち一つ以上の結果を得ることを含む。或る態様において、投与過程は、対象における全腫瘍量の少なくとも 5 0 % 減少をもたらして癌を処置し得る。

30

40

【 0 0 3 4 】

或る態様において、ガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネートを得る工程において、ガスクロマトグラフィー / 質量分析によって特性決定されたとき、1, 4 - 結合ガラクトツロン酸およびガラクトツロン酸メチル残基骨格は 5 5 ~ 8 5 モル % の炭水化物総モル含量を表し得て、 - 1, 2 - 結合ラムノースおよび - 1, 4 - 結合 G a l A 残基の交互分枝ヘテロポリマーは 1 ~ 6 モル % の炭水化物総モル含量を表し得て、一次分枝のオリゴマー 1, 4 - - D - ガラクトースは 6 ~ 1 5 モル % の炭水化物総モル含量を表し得て、一次分枝のオリゴマー 1, 5 - - L - アラビノースは 2 ~ 8 モル % の炭水化物総モル含量を表し得る。

【 0 0 3 5 】

50

或る態様において、ガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネートは、20 kDa ~ 70 kDa の範囲の平均分子量を有し得る。或る態様において、ガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネートは、さらに、キシロース、グルコース、フコース残基またはそれらの組み合わせを含み得る。

【0036】

本発明の或る局面において、本方法は、(i)ガラクト - ラムノガラクトツロネート(GRG)、ガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネート(GA - RG)、ガラクトマンナン(GM)、修飾合成二糖類(MSD)、ペプチド/タンパク質阻害剤(PIA)、ペプチド模倣薬(PMA)、ガレクチン特異的抗体(GSA)または有機小分子(SOM)または前述の何れかの組み合わせのうちの1個、および、(ii)治療有効量の、リンパ球同時刺激リガンドまたは受容体、リンパ球阻害リガンドまたは受容体、腫瘍壊死因子受容体(TNFR)スーパーファミリーの受容体、PDリガンド、または前述の何れかの組み合わせの1種以上に結合できるモノクローナル抗体、ペプチド、または薬物を含む免疫調節剤を含む非経腸または経腸投与用組成物であって、許容される医薬担体中である組成物を得ることを含む。本方法は、さらに、処置を必要とする対象に、CD8 + T細胞、CD4 + T細胞またはCD8 + T細胞およびCD4 + T細胞の活性化において少なくとも10%増大、腫瘍抗原特異的CD8 + またはCD4 + T細胞の少なくとも10%増大；腫瘍サイズの少なくとも10%減少、転移サイズの少なくとも10%減少、転移数の少なくとも10%減少、治療有効量の免疫調節剤のみで処置されたコントロール対象と比較したとき全腫瘍量の減少のうち少なくとも一つの結果を得ることができる組成物を有効量投与することを含む。或る態様において、投与過程は、対象における全腫瘍量の少なくとも50%減少をもたらし、癌を処置し得る。

【0037】

或る態様において、免疫調節剤は、抗OX40、抗CTLA - 4、抗PD - 1、抗PD - L2、4 - 1BB / 4 - 1BBLに対する抗体、LAG - 3に対する抗体またはそれらの組み合わせであり得る。

【0038】

本発明の他の局面は、許容される医薬担体中である組成物であって、(a)治療有効量の - 1, 2 - 結合ラムノースおよび - 1, 4 - 結合GalA残基の交互オリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1, 4 - 結合ガラクトツロン酸(GalA)およびガラクトツロン酸メチル(MeGalA)残基骨格を含み、ラムノース残基が1, 4 - - D - ガラクトース残基、1, 5 - - L - アラビノース残基またはそれらの組み合わせのオリゴマーの一次分枝を有するものであるガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネート、および、(b)治療有効量の免疫調節剤を含む非経腸投与用組成物に関する。或る態様において、本組成物は癌の処置に使用できる。

【0039】

或る態様において、免疫調節剤は、リンパ球同時刺激リガンドまたは受容体、リンパ球阻害リガンドまたは受容体、腫瘍壊死因子受容体(TNFR)スーパーファミリーの受容体、PD - リガンド、または前述の何れかの組み合わせの1種以上に結合できるモノクローナル抗体、ペプチド、または薬物を含み得る。或る態様において、免疫調節剤は、抗OX40、抗CTLA - 4、抗PD - 1、抗PD - L2、4 - 1BB / 4 - 1BBLに対する抗体、LAG - 3に対する抗体またはそれらの組み合わせであり得る。

【0040】

図面の簡単な説明

本発明は、さらに、添付の図面の記載で説明される。ここで、似た構造は、幾つかの図を通して似た数字によって記載される。示された図面は必ずしも縮尺通りではなく、むしろ本発明の原理を説明する上で一般に強調されている。

【図面の簡単な説明】

【0041】

10

20

30

40

50

【図 1】図 1 は、グランザイム B を発現する C D 8 + 細胞のパーセントについて分析した、様々な実験群の末梢血リンパ球のパーセンテージを表す。

【図 2】図 2 は、K i - 6 7 を発現する C D 8 + 細胞のパーセントについて分析した、様々な実験群の末梢血リンパ球のパーセンテージを表す。

【図 3】図 3 は、K i - 6 7 を発現する C D 4 + 細胞のパーセントについて分析した、様々な実験群の末梢血リンパ球のパーセンテージを表す。

【図 4】図 4 は、様々な実験群の 1 3 日目のマウスの T R A M P - C 1 前立腺腫瘍のサイズを表す。

【図 5】図 5 は、様々な実験群の 1 9 日目、2 5 日目、2 9 日目および 3 3 日目のマウスの T R A M P - C 1 前立腺腫瘍のサイズを表す。

【図 6】図 6 は、T R A M P - C 1 前立腺癌を有する様々な実験群についての生存曲線を表す。

【図 7】図 7 は、様々な実験群の 1 1 日目、1 4 日目、2 0 日目および 2 5 日目のマウスの乳癌のサイズを表す。

【図 8】図 8 A は、抗 O X 4 0 単独または G A - R G (M D 0 2 とラベルした)との組み合わせで治療したマウスにおいて、4 T 1 乳癌を使用した実験での生存率を記載している。図 8 B は、抗 O X 4 0 単独または G A - R G (M D 0 2 とラベルした)との組み合わせで治療したマウスにおいて、4 T 1 乳癌を使用した実験での肺転移数を記載している。

【図 9】図 9 A は、抗 O X 4 0 単独または G A - R G (M D 0 2 とラベルした)との組み合わせで処置した 4 T 1 乳癌を有するマウスの循環における G R - 1 陰性 / C D 1 1 b 陽性細胞のパーセンテージを表す。図 9 B は、抗 O X 4 0 単独または G A - R G (これらの図中で M D 0 2 とラベルした)との組み合わせで処置した 4 T 1 乳癌を有するマウスの循環における G R - 1 中間 / C D 1 1 b 陽性細胞のパーセンテージを表す。* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 。

【図 10】図 10 A は、抗 O X 4 0 単独または G A - R G (これらの図中で M D 0 2 とラベルした)との組み合わせによる処置に対する M C A - 2 0 5 肉腫を有するマウスの応答を示す。図 10 B は、同じ動物群における生存曲線を示す。

【図 11】図 11 A は、様々な腫瘍細胞株において、培地に分泌されたガレクチン - 3 タンパク質の発現を表す。図 11 B は、様々な腫瘍細胞株における全細胞ライセート中のガレクチン - 3 タンパク質の発現を表す。

【図 12】図 12 A は、様々なマーカーのフローサイトメトリー分析によるガレクチン - 3 欠損 C D 8 ナイーブ T 細胞 対 野生型 C D 8 T 細胞の表現型の比較を表す。図 12 B は、実験で使用されたモデルのスキームである。

【図 13】図 13 A ~ C は、ガレクチン - 3 欠損 C D 8 T 細胞がインビボでの抗原刺激後、低いエフェクター機能を示すことを示す。図 13 A は、野生型および g a l - 3 欠損動物における O T - 1 陽性 / 総 C D 8 細胞のパーセントを示す。図 13 B は、野生型および g a l - 3 欠損 C D 8 リンパ球におけるマーカー発現の相違を示す。図 13 C は、野生型および g a l - 3 欠損 C D 8 リンパ球におけるサイトカイン分泌の相違を示す。

【図 14】図 14 は、選択された遺伝子が、ガレクチン - 3 欠損 C D 8 T 細胞において下方制御されることを表す。図 14 A は、G a l 3 - / - O T - I 細胞において野生型細胞より下方制御されることが分かった幾つかの遺伝子のグラフ表示である。図 14 B は選択された遺伝子について相対単位および倍率変化を示す。

【図 15】図 15 は、フローサイトメトリーによる C D 2 5 (I L 2 - R a) または O X 4 0 の発現を示す。図 15 は、ガレクチン - 3 欠損 C D 8 T 細胞が抗原刺激後、低い C D 2 5 および O X 4 0 の発現量を有することを表す。

【図 16】図 16 A は、不処置マウス(黒色バー)または G a l - 3 阻害剤 G R - M D - 0 2 を投与されたマウスの 7 日目の末梢血または脾臓におけるドナー細胞の表現型を示す。図 16 B は、不処置マウス(黒色バー)または G a l - 3 阻害剤 G R - M D - 0 2 を投与したマウスの 2 9 日目の末梢血または脾臓におけるドナー細胞の表現型を示す。図 16 A ~ B は、G A - R G (この図では G R - M D - 0 2 とラベルされる)を使用したガレクチン -

10

20

30

40

50

3 阻害が、C D 8 T 細胞増殖およびエフェクター機能を亢進することを示す。

【図 1 7】図 1 7 は、抗 C T L A 4 治療と組み合わせたガレクチン - 3 阻害が、抗 C T L A 4 単独に対して、脾臓中の抗原特異的 C D 8 メモリー T 細胞の形成を増大させることを示す。G A - R G は図中で M D 0 2 と記される。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 4 2 】

本発明の詳細な説明

本発明の詳細な態様は、本明細書に開示される。しかし、開示された態様は、様々な形態で具体化され得る本発明の例にすぎない。さらに、本発明の様々な態様に関連して示される例はそれぞれ、例示であって、制限的でないことを意図される。さらに、図は必ずしも縮尺通りではなく、幾つかの特徴が特定の成分の詳細を示すために誇張され得る。さらに、図中に示された測定値、仕様などは何れも例示であって制限的でないことが意図される。そのため、本明細書に開示された具体的な構造上および機能上の詳細は、限定と解釈されるべきでなく、単に本発明を様々に使用する当業者への教示のための代表例と解釈される。

10

【 0 0 4 3 】

特記しない限り、本明細書で表された全てのパーセンテージは重量 / 重量である。

【 0 0 4 4 】

用語“対象”は、霊長類(例えばヒト)を含むがこれらに限定されない動物をいう。用語“対象”および“患者”は、本明細書で相互交換可能に使用され、例えば、哺乳動物の対象、例えばヒトの対象をいう。

20

【 0 0 4 5 】

癌免疫療法で進められている一つの方法は、腫瘍特異的抗原または過剰発現抗原での免疫化を含む用語“腫瘍ワクチン”によって包含される領域である。この方法では、腫瘍細胞に特異的なまたは腫瘍細胞で過剰発現される 1 種または複数種の抗原を、単独で、アジュバントと共に、抗原を送達する微生物(例えばリステリア・モノサイトゲネス)の一部として、または細胞および / または体液の免疫応答を誘発するために免疫細胞(樹状細胞を含むがこれに限定されない)と共にエキスピアでインキュベートした後に、注入される。

【 0 0 4 6 】

癌免疫療法で進められている他の方法は、特異的免疫細胞受容体またはそのリガンドの機能を調節を介する。これは、免疫細胞受容体および / またはリガンドを認識し、結合するモノクローナル抗体を使用して達成されている。モノクローナル抗体の標的受容体またはリガンドへの結合は、受容体またはリガンドの機能を阻害または増強することが示されている。

30

【 0 0 4 7 】

腫瘍に対する免疫応答を増強することが判明しているモノクローナル抗体は、C T L A - 4 (細胞毒性 T - リンパ球関係抗原 - 4)、P D - 1 受容体(プログラム死 - 1)および O X 4 0 (C D 1 3 4 としても知られる)に結合する抗体を含む。細胞実験および腫瘍を有する動物でのその活性に加えて、抗 C T L A - 4 および抗 P D - 1 モノクローナル抗体は、ヒトにおいて、重要な抗腫瘍活性を有することが示されている。

40

【 0 0 4 8 】

本発明の局面は、本明細書に記載された複合糖質医薬製品または他の薬物を、単独で、または、免疫系の活性化を利用する癌および他の疾患の免疫療法の有効性を増大させ得る他の標的化免疫療法と組み合わせて使用して、免疫機能をブーストする新規方法に関する。用語“標的化免疫療法”および“免疫調節剤”は、相互交換可能に使用される。

【 0 0 4 9 】

本発明の或る態様は、処置を必要とする対象を処置する方法に関する。或る態様において、本方法は、許容される医薬担体中に化合物を含む、静脈内、皮下、非経腸の他の経路または経口投与用組成物を得て、該組成物を処置を必要とする対象に投与する過程を含む。或る態様において、本組成物は、許容される医薬担体中に化合物および免疫調節剤を含

50

む。

【 0 0 5 0 】

本発明の他の局面は、許容される医薬担体中に治療有効量の化合物および治療有効量の免疫調節剤を含む非経腸投与用製剤に関する。

【 0 0 5 1 】

或る態様において、本化合物は、ガラクト - ラムノガラクトツロネート (G R G)、ガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネート (G A - R G)、ガラクトマンナン (G M)、修飾合成二糖類 (M S D)、ペプチド / タンパク質阻害剤 (P I A)、ペプチド模倣薬 (P M A)、ガレクチン特異的抗体 (G S A) または有機小分子 (S O M)、または前述の何れかの組み合わせの 1 個であり得る。

10

【 0 0 5 2 】

或る態様において、特異的な G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、ガレクチン 1 ~ 1 5 を含むガレクチンタンパク質のクラスの様々なドメインと相互作用する能力を有し、それによって、それらの機能を阻害し、増強し、または調節し得る。

【 0 0 5 3 】

或る態様において、特異的な G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、ガレクチン - 3 タンパク質の炭水化物認識ドメインの S - 面および F - 面および N - 末端ドメインを含むがこれらに限定されない様々なドメインと相互作用する能力を有し、それによって、ガレクチン - 3 機能を阻害する天然のリガンドとの相互作用を阻害し得る。

20

【 0 0 5 4 】

或る態様において、特異的な G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物は、ガレクチン - 1 タンパク質の炭水化物認識ドメインおよび二量化ドメインを含むがこれらに限定されない様々なドメインと相互作用する能力を有し、それによって、ガレクチン - 1 機能を阻害する天然のリガンドとの相互作用を阻害し得る。

【 0 0 5 5 】

用語 “ 有効量 ” は、動物またはヒトに非経腸投与として投与されたとき、免疫応答のマーカーの少なくとも 1 0 %、少なくとも 2 0 % または少なくとも 2 5 % の向上を伴って免疫応答を調節する 1 種以上の抗体、タンパク質または他の薬物との組み合わせにおける、本明細書に記載された G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A、P M A、G S A または S O M 化合物の量を意味する。免疫応答のマーカーは、C D 8 受容体を有する T リンパ球 (本明細書で C D 8 リンパ球という) の増殖 (K i - 6 7 の染色を含むがこれに限定されない様々な方法によって示される)、C D 8 細胞の活性化した機能のマーカー (グランザイム B の染色を含むがこれに限定されない様々な方法によって示される)、または他の細胞制御性細胞またはエフェクター細胞の変化を含むが、これらに限定されない。他の免疫マーカーは、G R - 1 + および C D 1 1 b + 単核細胞の相対発現および / または頻度を含むが、これらに限定されない。

30

【 0 0 5 6 】

免疫調節剤は、O X 4 0 に対する抗体 (抗 O X 4 0)、C T L A - 4 に対する抗体 (抗 C T L A - 4)、P D - 1 に対する抗体 (抗 P D - 1)、P D - 1 L / 2 L に対する抗体 (抗 P D - L 1 または抗 P D - L 2)、4 - 1 B B / 4 - 1 B B L に対する抗体、L A G - 3 に対する抗体または前述の抗体の 2 以上の組み合わせを含み得るがこれらに限定されない。

40

【 0 0 5 7 】

免疫調節剤は、免疫応答のプロセス、例えば抗原依存性認識、抗原プロセッシング、リンパ球同時刺激およびリンパ球阻害に影響を及ぼす抗体、タンパク質、ペプチドまたは有機小分子もまた含み得る。

【 0 0 5 8 】

用語 “ 有効性 ” は、本明細書に記載された G R G、G A - R G、G M、M S D、P I A

50

、PMA、GSAまたはSOM化合物単独またはその免疫調節剤または2以上の免疫調節剤の組み合わせとの組み合わせによる処置を使用して、免疫調節剤単独または2以上の免疫調節剤の組み合わせによる処置と比較して、少なくとも10%腫瘍の増殖、進行または転移を減少させることを証明することを意味する。

【0059】

本発明の局面は、免疫機能をブーストできる組成物および当該組成物を使用する方法に関する。

【0060】

本発明の局面は、処置を必要とする対象を処置する方法に関する。或る態様において、対象は癌に罹患している。或る態様において、本方法は、許容される医薬担体中に化合物を含む静脈内または皮下または経口投与用組成物を得る工程を含む。或る態様において、本方法は、非経腸投与用組成物を得る工程を含む。“非経腸投与”は、ボラス注射または注入による投与、ならびに静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、嚢下、くも膜下、脊髄内、硬膜外および胸骨内の注射および注入による投与を含む。

10

【0061】

或る態様において、本化合物は、その骨格が主に1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)部分およびガラクトツロン酸メチル(MeGalA)残基からなり、交互の1,4-結合GalAおよび1,2-結合ラムノース(Rha)である少量の骨格組成を伴い、これが次に主に1,4-b-D-ガラクトース(Gal)および1,5-a-L-アラビノース(Ara)残基を含む任意の数の側鎖に結合している選択的脱重合分枝ヘテロポリマーである、ガラクト-ラムノガラクトツロネート(GRG)と化学的に定義される多糖類である。他の側鎖副構成要素は、キシロース(Xyl)、グルコース(Glu)およびフコース(Fuc)またはそれらの組み合わせを含み得る。

20

【0062】

或る態様において、GRG化合物は、米国特許出願第2008/0107622号、現米国特許第8,236,780号(全ての目的について引用によって明示的に組み込まれる)に記載された通りに製造される。

【0063】

或る態様において、GRG化合物は、米国特許第8,128,966号、第8,187,624号、米国特許出願第2012/0315309号および第2012/0309711号(全ての目的について引用によって明示的に組み込まれる)に記載された通りに製造できる。

30

【0064】

或る態様において、本化合物は、その骨格が主に1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)部分からなり、交互の1,4-結合GalAおよび1,2-結合ラムノース(Rha)である少量の骨格組成を伴い、これが次に主に1,4-b-D-ガラクトース(Gal)および1,5-a-L-アラビノース(Ara)残基を含む任意の数の側鎖に結合している選択的脱重合分枝ヘテロポリマーである、ガラクトアラビノ-ラムノガラクトツロネート(GA-RG)と化学的に定義された多糖類である。或る態様において、ガスクロマトグラフィー/質量分析によって特性決定されたとき、1,4-結合ガラクトツロン酸およびガラクトツロン酸メチル残基骨格は55~85モル%の炭水化物総モル含量を表し、交互の1,2-結合ラムノースおよび1,4-結合GalA残基の分枝ヘテロポリマーは1~6モル%の炭水化物総モル含量を表し、一次分枝のオリゴマー1,4-b-D-ガラクトースは6~15モル%の炭水化物総モル含量を表し、一次分枝のオリゴマー1,5-a-L-アラビノースは2~8モル%の炭水化物総モル含量を表す。

40

【0065】

他のより少ない側鎖構成要素は、キシロース(Xyl)、グルコース(Glu)およびフコース(Fuc)またはそれらの組み合わせを含み得る。

【0066】

或る態様において、本発明のGA-RG化合物中の1,4-b-D-Gal残基および

50

1,5 - a - L - A r a 残基のモル%は21.5%であり、1,4 - b - D - G a l : 1,5 - a - L - A r a のモル比3 : 1である。

【0067】

或る態様において、本化合物は、ガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネート (G A - R G) と化学的に定義される多糖類であり、S E C - R I 法によって測定された分子量範囲20,000 ~ 70,000ダルトンである。或る態様において、ガラクトアラビノ - ラムノガラクトツロネートは、20 kDa ~ 70 kDaの範囲の平均分子量を有する。

【0068】

或る態様において、G A - R G 化合物は、国際特許出願PCT/US12/55311(全ての目的について引用によって明示的に組み込まれる)に記載された通りに製造できる。

10

【0069】

或る態様において、本化合物は、米国特許出願第20110077217号(その全体が全ての目的について引用によって明示的に組み込まれる)に記載された通りに製造されたガラクトマンナン(G M)多糖類組成物である。

【0070】

或る態様において、G M 化合物の平均分子量は、S E C - M A L L S 法によって測定されたとき、約4,000 kDおよび60,000 kDである。

【0071】

或る態様において、本化合物は、米国特許第6,444,655号、第7,230,096号、第7,638,623号、第7,700,763号および第8,092,825号(全ての目的について引用によって明示的に組み込まれる)に記載された通りに製造された修飾合成二糖類(M S D)である。

20

【0072】

或る態様において、本化合物は、ガレクチンに結合し、ガレクチンの機能を阻害し得るペプチド/タンパク質阻害剤(P I A)であり、米国特許第6,770,622号(全ての目的について引用によって明示的に組み込まれる)に記載された通りに製造されたP I Aを含み、これに限定されない。

【0073】

或る態様において、本化合物は、ガレクチンに結合し、ガレクチンの機能を阻害し得るペプチド模倣薬(P M A)であり、米国特許第8,207,228号(全ての目的について引用によって明示的に組み込まれる)に記載された通りに製造されるanginexおよびOTX-008(PTX-008としても知られる)を含み得るが、これらに限定されない。

30

【0074】

或る態様において、本化合物はガレクチン特異的モノクローナル抗体(G S A)である。

【0075】

或る態様において、本化合物は、ガレクチン分子の炭水化物結合ドメインおよびタンパク質二量化ドメインを含むがこれらに限定されない様々なドメインと相互作用する有機小分子(S O M)である。

【0076】

或る態様において、G R G および G A - R G は、b - サンドイッチ結合ドメインのS - 面上の標準的炭水化物認識ドメイン中の複数のアミノ酸残基およびタンパク質の反対側のF - 面上のアミノ酸でガレクチン - 3分子に結合する。

40

【0077】

或る態様において、G R G および G A - R G のガレクチン - 3分子中のアミノ酸残基への結合は、ガレクチン - 3分子の機能の妨害の原因である。

【0078】

或る態様において、修飾合成二糖類(M S D)は、ガレクチン - 3炭水化物ドメインのG A - R G と類似の部位に結合し、ガレクチン - 3分子の機能を阻害する点で類似の機能を有し得る。

【0079】

或る態様において、ペプチド/タンパク質阻害剤(P I A)は、ガレクチン - 3炭水化物

50

ドメインの G A - R G と類似の部位に結合し、ガレクチン - 3 分子の機能を阻害する点で類似の機能を有し得る。

【 0 0 8 0 】

或る態様において、ペプチド模倣薬 (P M A) は、ガレクチン - 3 炭水化物ドメインの G A - R G と類似の部位に結合し、ガレクチン - 3 分子の機能を阻害する点で類似の機能を有し得る。

【 0 0 8 1 】

或る態様において、ガレクチン特異的抗体 (G S A) は、ガレクチン - 3 炭水化物ドメインの G A - R G と類似の部位に結合し、ガレクチン - 3 分子の機能を阻害する点で類似の機能を有し得る。

【 0 0 8 2 】

或る態様において、有機小分子 (S O M) は、ガレクチン - 3 炭水化物ドメインの G A - R G と類似の部位に結合し、ガレクチン - 3 分子の機能を阻害する点で類似の機能を有し得る。

【 0 0 8 3 】

或る態様において、本明細書に記載された G R G 、 G A - R G 、 G M 、 M S D 、 P I A 、 P M A 、 G S A または S O M 化合物は、治療有効量の C T L A - 4 に結合するモノクローナル抗体 (抗 C T L A - 4) と組み合わせて使用される。 C D 1 5 2 (分化クラスター 1 5 2) としても知られる C T L A - 4 (細胞毒性 T リンパ球抗原 4) は、免疫系を下方制御し、抗原に対する細胞免疫攻撃をもたらす T 細胞の表面で発見され得るタンパク質受容体である。

【 0 0 8 4 】

或る態様において、本明細書に記載された G R G 、 G A - R G 、 G M 、 M S D 、 P I A 、 P M A 、 G S A または S O M 化合物は、治療有効量の O X 4 0 に結合するモノクローナルアゴニスト抗体 (抗 O X 4 0) またはアゴニストとして作用する組換え O X 4 0 L と組み合わせて使用される。 O X 4 0 は、腫瘍壊死因子 / 神経増殖因子受容体 (T N F R / N G F R) のファミリーのメンバーである。 O X 4 0 は、 T 細胞活性化ならびに正常および悪性リンパ細胞の分化、増殖またはアポトーシスの制御に役割を果たし得る。

【 0 0 8 5 】

或る態様において、本明細書に記載された G R G 、 G A - R G 、 G M 、 M S D 、 P I A 、 P M A 、 G S A または S O M 化合物は、治療有効量の P D - 1 に結合するモノクローナル抗体 (抗 P D - 1) と組み合わせて使用される。 P D - 1 は、 T 細胞制御因子の C D 2 8 / C T L A - 4 ファミリーのメンバーであるプログラム細胞死タンパク質 1 をいう。

【 0 0 8 6 】

或る態様において、本明細書に記載された G R G 、 G A - R G 、 G M 、 M S D 、 P I A 、 P M A 、 G S A または S O M 化合物は、リンパ球同時刺激リガンドまたは受容体に結合し、同時刺激のアンタゴニストまたはアゴニストの何れかとして作用する、治療有効量のモノクローナル抗体、ペプチドまたは他の薬物と組み合わせて使用できる。同時刺激受容体は、 C D 2 8 および I C O S を含むがこれらに限定されず、リガンドは、 C D 8 0 、 C D 8 6 および I C O S リガンドを含むがこれらに限定されない。

【 0 0 8 7 】

或る態様において、本明細書に記載された G R G 、 G A - R G 、 G M 、 M S D 、 P I A 、 P M A 、 G S A または S O M 化合物は、リンパ球阻害リガンドまたは受容体に結合し、リンパ球阻害のアンタゴニストまたはアゴニストの何れかとして作用する、治療有効量のモノクローナル抗体、ペプチドまたは他の薬物と組み合わせて使用できる。阻害受容体は、 C T L A - 4 を含むがこれに限定されず、リガンドは、 C D 8 0 および C D 8 6 を含むがこれらに限定されない。

【 0 0 8 8 】

或る態様において、本明細書に記載された G R G 、 G A - R G 、 G M 、 M S D 、 P I A 、 P M A 、 G S A または S O M 化合物は、治療有効量の C T L A - 4 に結合するモノクロー

10

20

30

40

50

ーナル抗体(抗CTLA-4)と組み合わせて使用できる。

【0089】

或る態様において、本明細書に記載されたGRG、GA-RG、GM、MSD、PIA、PMA、GSAまたはSOM化合物は、リンパ球で発現され、リンパ球同時刺激のアンタゴニストまたはアゴニストの何れかとして作用する腫瘍壊死因子受容体(TNFR)スーパーファミリーの受容体またはそれらのリガンドに結合する、治療有効量のモノクローナル抗体、ペプチドまたは他の薬物と組み合わせて使用できる。TNFRスーパーファミリーの受容体のメンバーは、CD134(OX40としても知られる)、4-1BB(CD137)およびCD27を含むがこれらに限定されず、TNFR受容体リガンドは、OX40L、4-1BBL(CD137L)およびCD70を含むがこれらに限定されない。

10

【0090】

或る態様において、本明細書に記載されたGRG、GA-RG、GM、MSD、PIA、PMA、GSAまたはSOM化合物は、治療有効量のOX40に結合するモノクローナル抗体(抗OX40)と組み合わせて使用でき、本明細書に記載されたGA-RGまたはGM化合物は、治療有効量の組換えOX40LまたはOX40の他のアゴニストと組み合わせて使用できる。

【0091】

或る態様において、本明細書に記載されたGRG、GA-RG、GM、MSD、PIA、PMA、GSAまたはSOM化合物は、治療有効量のPD-リガンドに結合するモノクローナル抗体(抗PD-L1およびPD-L2)と組み合わせて使用できる。

20

【0092】

或る態様において、本明細書に記載されたGRG、GA-RG、GM、MSD、PIA、PMA、GSAまたはSOM化合物は、治療有効量のPD-1に結合するモノクローナル抗体(抗PD-1)と組み合わせて使用できる。

【0093】

或る態様において、本明細書に記載されたGRG、GA-RG、GM、MSD、PIA、PMA、GSAまたはSOM化合物は、樹状細胞の活性化または機能を修飾し、それによって抗原プロセッシングまたは応答を変化させる、治療有効量のモノクローナル抗体、ペプチドまたは他の薬物と組み合わせて使用できる。

【0094】

30

或る態様において、本明細書に記載されたGRG、GA-RG、GM、MSD、PIA、PMA、GSAまたはSOM化合物は、治療有効量の腫瘍抗原指向性ワクチンまたは癌ワクチンと組み合わせて使用できる。或る態様において、本明細書に記載されたGRG、GA-RG、GM、MSD、PIA、PMA、GSAまたはSOM化合物は、アジュバントと組み合わせて使用できる。アジュバントは、或る態様において、TLRリガンド、例えばポリI:C、CpGなどを含み得る。

【0095】

或る態様において、本明細書に記載されたGRG、GA-RG、GM、MSD、PIA、PMA、GSAまたはSOM化合物は、単独で、または、治療有効量の腫瘍抗原指向性ワクチンまたは癌ワクチンと組み合わせて使用できる。

40

【0096】

或る態様において、本明細書に記載されたGRG、GA-RG、GM、MSD、PIA、PMA、GSAまたはSOM化合物は、治療有効量の感染性疾患を処置または予防する目的で使用されるワクチンと組み合わせて使用できる。

【0097】

或る態様において、本明細書に記載されたGRG、GA-RG、GM、MSD、PIA、PMA、GSAまたはSOM化合物は、単独で、または治療有効量の前述の薬物または前述の薬物の何れかの組み合わせと組み合わせて使用できる。

【0098】

治療有効量の抗OX40、抗CTLA4、抗PD-1または他の免疫調節剤、または前

50

述の何れかの組み合わせと組み合わせて使用される、実験動物(例えばマウス)への腹腔内または静脈内有効投与量の G R G または G A - R G 多糖は、10 ~ 120 mg/mg の間であって、週1回、週2回または週3回与えられ得る。

【0099】

治療有効量の抗 O X 40、抗 C T L A - 4、抗 P D - 1 または他の免疫調節剤または前述の何れかの組み合わせと組み合わせて使用される、ヒト対象への静脈内有効投与量の G R G または G A - R G は、動物投与量から等量を計算したとき、0.5 ~ 1.5 mg/kg の間であって、週1回、週2回または週3回与えられ得る。

【0100】

治療有効量の抗 O X 40、抗 C T L A - 4、抗 P D - 1 または他の免疫調節剤または前述の何れかの組み合わせと組み合わせて使用される、ヒト対象への有効投与量の G R G または G A - R G は、皮下、他の非経腸経路または経口で、静脈内投与量の 1 ~ 100 倍の量で投与できる。

【0101】

治療有効量の抗 O X 40、抗 C T L A - 4、抗 P D - 1 または他の免疫調節剤または前述の何れかの組み合わせと組み合わせて使用される、実験動物(例えばマウス)への腹腔内または静脈内有効投与量の G M 化合物は、10 ~ 180 mg/mg の間であって、週1回、週2回または週3回与えられ得る。

【0102】

治療有効量の抗 O X 40、抗 P D - 1 または他の免疫調節剤または前述の何れかの組み合わせと組み合わせて使用される、ヒト対象への静脈内有効投与量の G M は、動物投与量から等量を計算したとき、0.5 ~ 2.0 mg/kg であって、週1回、週2回または週3回与えられ得る。

【0103】

治療有効量の抗 O X 40、抗 C T L A - 4、抗 P D - 1 または他の免疫調節剤または前述の何れかの組み合わせと組み合わせて使用される、ヒト対象への有効投与量の G M 化合物は、皮下、他の非経腸経路または経口で、静脈内投与量の 1 ~ 100 倍で投与できる。

【0104】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、C D 8 + または C D 4 + T 細胞増殖の少なくとも 10 % 増加によって決定される。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、C D 8 + または C D 4 + T 細胞増殖の少なくとも 15 % 増加によって決定される。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、C D 8 + または C D 4 + T 細胞増殖の少なくとも 20 % 増加によって決定される。

【0105】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、K i - 67 発現によって測定される C D 8 + または C D 4 + T 細胞増殖の少なくとも 10 % 増加によって決定される。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、K i - 67 発現によって測定される C D 8 + または C D 4 + T 細胞増殖の少なくとも 15 % 増加によって決定される。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、K i - 67 発現によって測定される C D 8 + または C D 4 + T 細胞増殖の少なくとも 20 % 増加によって決定される。

【0106】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、C D 8 + または C D 4 + T 細胞の通常の増殖に関係しない。

【0107】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、C D 8 + T 細胞または C D 4 + T 細胞活性化の少なくとも 10 % ~ 25 % 以下の増加によって決定される。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、C D 8 + T 細胞または C D 4 + T 細胞活性化の少なくとも 15 % ~ 25 % 以下の増加によって決定される。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、C D 8 + T 細胞または C D 4 + T 細胞活性化の少なくとも 20 % 増加によって決定される。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 8 】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、グランザイム B の発現によって測定される C D 8 + T 細胞または C D 4 + T 細胞活性化の少なくとも 1 0 % 増加によって決定される。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、グランザイム B の発現によって測定される C D 8 + T 細胞または C D 4 + T 細胞活性化の少なくとも 1 5 % 増加によって決定される。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、グランザイム B の発現によって測定される C D 8 + T 細胞または C D 4 + T 細胞活性化の少なくとも 2 0 % 増加によって決定される。

【 0 1 0 9 】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、C D 8 + または C D 4 + T 細胞におけるグランザイム B 発現の通常の増加に関係しない。

10

【 0 1 1 0 】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、腫瘍抗原特異的 C D 8 + または C D 4 + T 細胞の少なくとも 1 0 % までの増加と関係する。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、腫瘍抗原特異的 C D 8 + または C D 4 + T 細胞の少なくとも 1 5 % までの増加と関係する。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、腫瘍抗原特異的 C D 8 + または C D 4 + T 細胞の少なくとも 2 0 % までの増加と関係する。

【 0 1 1 1 】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、G R - 1 陰性 / C D 1 1 b 陽性細胞の少なくとも 1 0 % までの増加と関係する。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、G R - 1 陰性 / C D 1 1 b 陽性細胞の少なくとも 1 5 % までの増加と関係する。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、G R - 1 陰性 / C D 1 1 b 陽性細胞の少なくとも 2 0 % までの増加と関係する。

20

【 0 1 1 2 】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、G R - 1 中間または陽性 / C D 1 1 b 陽性細胞の少なくとも 1 0 % までの減少と関係する。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、G R - 1 中間または陽性 / C D 1 1 b 陽性細胞の少なくとも 1 5 % までの減少と関係する。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、G R - 1 中間または陽性 / C D 1 1 b 陽性細胞の少なくとも 2 0 % までの減少と関係する。

【 0 1 1 3 】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、腫瘍サイズの少なくとも 1 0 % までの減少(処置開始時のサイズと比較したとき)と関係する。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、腫瘍サイズの少なくとも 1 5 % までの減少と関係する。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、腫瘍サイズの少なくとも 2 0 % までの減少と関係する。

30

【 0 1 1 4 】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、原発性腫瘍からの遠隔転移のサイズまたは数の少なくとも 1 0 % までの減少と関係する。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、原発性腫瘍からの遠隔転移のサイズまたは数の少なくとも 1 5 % までの減少と関係する。或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、原発性腫瘍からの遠隔転移のサイズまたは数の少なくとも 2 0 % までの減少と関係する。

40

【 0 1 1 5 】

或る態様において、全ての病変が占める体積の総計を、単数の用語で“全腫瘍量”(Total Tumor Burden)(T T B)と表し得る。そのようなものとして、腫瘍が選択された処置計画に応答したとき、T T B は変化する。或る態様において、T T B は、本明細書に記載された化合物(例えば炭水化物化合物)の免疫調節剤との組み合わせを含む併用治療で処置した後の対象で測定し、免疫調節剤単独で処置した対象の T T B と比較できる。また、他の態様において、T T B は、本明細書に記載された化合物(例えば炭水化物化合物)で処置した後の対象で測定し、標準治療(例えば癌処置用承認薬)で処置した対象の T T B と比較できる。

50

【 0 1 1 6 】

或る態様において、炭水化物化合物(例えば G A - R G)単独または他の免疫治療(例えば免疫調節剤)との組み合わせで処置した腫瘍は、固形腫瘍の免疫関連応答基準を使用して評価され得る。或る態様において、使用される免疫関連応答基準は、Hoos et al. (J Natl Cancer Inst. 102:1388-1397 および Clinical Cancer research 15:74, 2009)(引用によりその全体が本明細書に組み込まれる)によって記載された基準であり得る。腫瘍の測定可能性は、ヘリカルコンピュータ断層撮影スキャンで 5×5 mm以上と定義され得る。ベースラインでの指標病変の長径とそれに直交する径の総和(SPD)は、下記の式に従って全腫瘍量(TTB)を計算するために、新規病変のSPDに加算され得る：

全腫瘍量 = 指標病変のSPD + 測定可能な新規病変のSPD。

10

【 0 1 1 7 】

或る態様において、腫瘍量の変化は、ベースライン腫瘍量、すなわちベースラインでの全指標病変のSPDに対して評価できる。ベースラインでの腫瘍量に対して指標および新規の測定可能な腫瘍量が100%減少するならば、全応答はi r C R(免疫関連応答完全応答)である。ベースラインでの腫瘍量に対して指標および新規の測定可能な腫瘍量が50%以上減少するならば、全応答はi r P R(免疫関連応答部分応答)である。ベースラインでの腫瘍量に対して指標および新規の測定可能な腫瘍量の減少が50%未満ないしは増加が25%未満であるならば、全応答はi r S D(免疫関連応答安定疾患)である。ベースライン腫瘍量に対して指標および新規の測定可能な腫瘍量が25%以上増加するならば、応答および進行を少なくとも4週隔てて第2評価によって確認すると仮定して、全応答はi r P D(免疫関連応答進行性疾患)である。

20

【 0 1 1 8 】

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、腫瘍において増大したガレクチン - 3 発現に関係した増大した有効性で、腫瘍におけるガレクチン - 3 の発現レベルに直接関係する。

【 0 1 1 9 】

或る態様において、癌治療における非経腸投与用組成物の有効性は、腫瘍細胞中のガレクチン - 3 の発現レベルに直接関係し、増大したガレクチン - 3 レベルで腫瘍微小環境に分泌されたガレクチン - 3 は、良好な有効性に関する。

【 0 1 2 0 】

30

或る態様において、非経腸投与用組成物の有効性は、消化器の癌(食道、胃、小腸、大腸および肛門)、膵臓癌(内分泌性および腺癌)、胆管癌、様々なタイプの肝臓癌、肉腫、筋肉腫、乳癌、肺癌、頭頸部癌、口腔癌、皮膚癌、黒色腫、腎臓癌、泌尿器および膀胱の癌、前立腺癌、精巣癌、卵巣癌、子宮内膜癌、神経の癌(脳および神経)、内分泌腺の癌(甲状腺癌、腺癌、副甲状腺、下垂体)、骨の癌(骨肉腫)、血液の癌(リンパ腫、白血病)、多発性骨髄腫および骨髄線維症を含むがこれらに限定されない多くの癌の治療に使用され得る。

【 0 1 2 1 】

或る態様において、処置方法は、さらに、有効量の非経腸投与用組成物またはその免疫調節抗体との組み合わせを対象に投与する過程を含むか、または、

40

K i - 6 7 および / または グランザイム B 発現を含むがこれらに限定されない様々な方法によって示されるとき、循環 C D 8 + または C D 4 + T 細胞の活性化の証拠の少なくとも10%増加

腫瘍抗原特異的 C D 8 + または C D 4 + T 細胞の少なくとも10%増加

腫瘍サイズまたは進行の少なくとも10%応答速度

無増悪生存期間(癌が進行しない患者の生存期間)または患者の全生存期間の延長

原発性腫瘍から遠隔転移のサイズまたは数の少なくとも10%減少

標準治療のみ、治療せず、または免疫調節剤のみを含む治療と比較したとき、免疫関連応答基準によって評価した全腫瘍量について、統計学的に有意な差異

の少なくとも一つをもたらし得る。

50

【実施例】

【0122】

実施例1：抗CTLA-4、抗OX40または抗PD-1のGA-RGおよびGMとの組み合わせによる共処置後の免疫増強および前立腺腫瘍応答

本実施例では、マウスの癌の同系モデルで実験を行った。使用した腫瘍細胞は、マウスの前立腺癌に由来するTRAMP-C1細胞株であった。これらの細胞を導き出すために、SV40大T抗原をトランスジェニックマウスにおいて前立腺特異的遺伝子プロモーターで発現させ、それによって前立腺組織中で特異的にSV40大T細胞を発現させた。TRAMP-C1細胞株は、得られた前立腺腫瘍に由来した。重要なことに、当該細胞株はSV40大T抗原を発現しない。腫瘍モデルにおいて、TRAMP-C1細胞(1×10^6 細胞)を、皮下注射によって、正常なC57BL/6マウスに接種した。

10

【0123】

TRAMP-C1細胞を接種した後、マウスの群を、IgG(コントロールとして、接種後4日目、6日目および8日目)、または抗CTLA-4(200 μ g、接種後4日目、6日目および8日目)、または抗PD-1(200 μ g、接種後4日目、6日目および8日目)、または抗OX40(250 μ g、接種後4日目および8日目)の何れかを腹腔内注射により処置した。

【0124】

他の動物の群を、上記と同じ化合物+GA-RGまたはGMの何れかで下記の通り処置した：4日目、6日目および8日目にGA-RG 2.4mg/投与、または4日目、6日目および8日目にGM 2.4mg/投与、続いて28日目、30日目および32日目にGA-RG。

20

【0125】

図1は、実験動物の異なる群(群当たり5匹のマウス)についての実験結果を示す。y軸に表された測定値は、グランザイムBについても陽性である単離されたCD8+細胞のパーセントである。タンパク質グランザイムBは、CD8陽性リンパ球のエフェクター機能についてのマーカーである。グランザイムは、腫瘍細胞またはウイルス感染細胞のような標的細胞でアポトーシスを誘発できるCD8+細胞毒性T細胞内で細胞質顆粒によって放出されるセリンプロテアーゼである。ラットIgGのみ(コントロール)と、抗OX40(aOX40)、抗CTLA-4(aCTLA-4)または抗PD-1(aPD-1)で処置した動物との比較は、抗体コントロール処置が、グランザイムB発現CD8+細胞のパーセントについて統計学的に有意でない増大を起こすことを示す。

30

【0126】

また、図1は、抗OX40、抗CTLA-4または抗PD-1による処置にGM処置を追加した結果を示す。GMをIgGのみによる治療に追加したときCD8+細胞の幾分かの活性化が見られるが、これらの変化は有意でなく、GMを抗OX40、抗CTLA-4または抗PD-1による処置に追加したときグランザイムB陽性細胞のさらなる増大はない。

【0127】

対照的に、GA-RG処置の抗OX40、抗CTLA-4または抗PD-1による処置への追加は、CD8+細胞活性化の著しい増大を示した。GA-RGの抗OX40、抗CTLA-4または抗PD-1による処置への追加は、グランザイムB陽性CD8+細胞のパーセントを、それぞれ2倍、5倍および4倍まで増大させた。これは、GA-RGを処置に追加したとき、CD8+細胞活性化の非常に有意で、著しい増大を表す。

40

【0128】

図2は、異なる群の実験動物についてのCD8+T細胞の増殖マーカーの結果を示す。増殖マーカーは、細胞増殖と関係した核タンパク質であるKi-67である。抗OX40、抗CTLA-4または抗PD-1単独またはGMとの組み合わせによる処置の後、CD8+細胞増殖はほとんど変化しない。しかし、Ki-67は、GA-RGと共投与した抗OX40、抗CTLA-4または抗PD-1で、図1で見られるグランザイムB発現

50

のパーセントと非常に類似した程度まで著しく上昇した。

【0129】

図3は、異なる群の実験動物についてのCD4+ T細胞における増殖マーカーKi-67の結果を示す。抗OX40、抗CTLA-4または抗PD-1単独またはGMとの組み合わせによる処置の後、CD4+細胞増殖はほとんど変化しない。しかし、Ki-67は、GA-RGと共投与した抗OX40、抗CTLA-4または抗PD-1によって、CD8+細胞で見られるのと非常に類似した程度まで著しく増加した(図2)。

【0130】

図4は、様々な実験群における腫瘍増殖の結果を示す。GA-RG処置を抗CTLA4または抗PD-1の処置に追加したとき、抗体単独での治療と比較して、腫瘍増殖が著しく減少した。

10

【0131】

これらの実験結果は、抗OX40、抗CTLA-4または抗PD-1のGA-RGとの組み合わせでマウスを処置するとき、CD8+細胞毒性T細胞の増殖および活性化が著しく増強され、CD4+制御性T細胞の増殖が増大し、腫瘍サイズが減少することを証明している。

【0132】

実施例2：抗CTLA4または抗OX40のGA-RGとの組み合わせによる共投与後の免疫増強および前立腺腫瘍応答

本実施例では、マウスの癌の同系モデルで実験を行った。使用した腫瘍細胞は、実施例1に記載したマウスの前立腺癌に由来するTRAMP-C1細胞株であった。

20

【0133】

本実施例は、腫瘍を接種したマウスの次の3群中各2群ずつの6処置群を含む：接種後4日目、8日目、11日目および15日目に、GA-RG(1.2mg/投与)と共におよび無しで、IgG処置コントロールマウス；接種後4日目、8日目、11日目および15日目に、GA-RG(1.2mg/投与)と共におよび無しで、抗OX40(250μg)で処置したマウス；および、接種後4日目、8日目、11日目および15日目にGA-RG(1.2mg/投与)でおよびGA-RG無しで、4日目、6日目、8日目、11日目、13日目および15日目に、抗CTLA4(200μg)で処置したマウス。

【0134】

30

図5は、接種後の様々な時間点での腫瘍サイズに対するこれらの処置の結果を示す。抗OX40、抗CTLA4およびGA-RG単独による処置は腫瘍サイズに僅かな効果しかなかったが、抗OX40および抗CTLA4のGA-RGとの組み合わせは、腫瘍接種後33日目までの各時間点で腫瘍サイズの減少に大きな効果を有した。

図6は、6処置群のマウスの生存曲線を示す。抗OX40および抗CTLA4のGA-RGとの組み合わせにより処置された群は、生存率が二倍であった。

【0135】

これらの実験結果は、抗OX40または抗CTLA-4のGA-RGとの組み合わせでマウスを処置したとき、薬物単独より前立腺腫瘍の退縮が著しく大きく、生存率が増大したことを証明している。抗OX40または抗CTLA4の組み合わせで処置したマウスの20%が100日を越えて生存し、一方、何れかの薬物単独で処置したマウスは全て58日目までに死んだ。

40

【0136】

実施例3：抗CTLA4または抗OX40のGA-RGとの組み合わせで共処置した後の免疫増強および乳癌応答

本実施例では、マウスの乳癌の同系モデルで実験を行った。使用した腫瘍細胞は、自然発生的BALB/c乳癌に由来する同系乳癌細胞株である4T1であった。同所に導入されたとき、4T1株は、原発部位で急速に増殖し、3~6週に亘って肺、肝臓、骨および脳に転移を形成する。尾静脈または動脈を介して導入されたとき、転移は同じ臓器で1~2週後に見られる。ヒト乳癌で影響を受ける臓器への急速かつ効率的な転移は、4T1モ

50

デルをヒトの乳癌の転移性進行を調べるための優れたマウスモデルとする。モデルが B A L B / c マウスで同系であるため、それは腫瘍成長および転移における免疫系の役割を調べるために使用できる。これらの実験の腫瘍モデルのために、4 T 1 細胞 (5×10^4 細胞) を、正常な C 5 7 B L / 6 マウスに皮下注射によって接種した。

【0137】

本実施例は、腫瘍を接種したマウスの次の3群中各2群ずつの6処置群を含む：接種後4日目、8日目、11日目および15日目に、G A - R G (1.2 mg/投与) と共におよび無しで、I g G 処置コントロールマウス；接種後4日目、8日目、11日目および15日目に、G A - R G (1.2 mg/投与) と共におよび無しで、抗 O X 4 0 ($250 \mu g$) で処置されたマウス；および接種後4日目、8日目、11日目および15日目に G A - R G (1.2 mg/投与) と共におよび無しで、接種後4日目、6日目、8日目、11日目、13日目および15日目に、抗 C T L A 4 ($200 \mu g$) で処置されたマウス。

10

【0138】

図7は、接種後の様々な時間での腫瘍サイズに対するこれらの処置の結果を示す。抗 O X 4 0、抗 C T L A 4 および G A - R G 単独による処置は腫瘍サイズに幾らか効果を有したが、抗 O X 4 0 および抗 C T L A 4 の G A - R G との組み合わせは、腫瘍接種後25日目までの各時間点で腫瘍サイズの減少に非常に大きな効果を有した。

【0139】

これらの実験の結果は、抗 O X 4 0 または抗 C T L A - 4 の G A - R G との組み合わせでマウスを処置したとき、薬物単独よりも乳癌の退縮が著しく大きく、生存率が增大することを証明している。

20

【0140】

実施例4：抗 O X 4 0 の G A - R G との組み合わせで共処置後の生存率向上および肺転移数の減少

本実施例では、4 T 1 細胞を使用したマウスの乳癌の同系モデルで実験を行った。

本実施例は、腫瘍を接種したマウスの次の2群中各2群ずつの4処置群を含む：接種後4日目、8日目、11日目および15日目に、G A - R G (2.4 mg/投与) と共におよび無しで、I g G 処置コントロールマウス；および、接種後4日目、8日目、11日目および15日目に、G A - R G (2.4 mg/投与) と共におよび無しで、抗 O X 4 0 ($250 \mu g$) で処置されたマウス。

30

【0141】

図8Aに示された通り、抗 O X 4 0 および G A - R G の組み合わせで処置されたマウスは、抗 O X - 4 0 単独で処置されたマウスよりも高い生存率を有した。

肺転移数を、動物において、均一化した肺から増殖した独立細胞クローン数を評価するクローン原性アッセイを使用して評価した。図8Bに示した通り、抗 O X 4 0 および G A - R G の組み合わせで処置したマウスの肺転移数は、抗 O X - 4 0 単独で処置したマウスの10倍減少した。

【0142】

これらの結果は、抗 O X 4 0 および G A - R G の組み合わせで処置したマウスが、抗 O X - 4 0 単独で処置したマウスより大きい生存率を有することを示し、この作用は、転移性疾患の軽減に一部関係し得る。

40

【0143】

実施例5：単球集団の変化

本実施例では、4 T - 1 細胞を使用したマウスの乳癌の同系モデルで実験を行った。

本実施例は、腫瘍を接種したマウスの次の2群中各2群ずつの4処置群を含む：接種後4日目、8日目、11日目および15日目に、G A - R G (2.4 mg/投与) と共におよび無しで、I g G 処置コントロールマウス；および、接種後4日目、8日目、11日目および15日目に、G A - R G (2.4 mg/投与) と共におよび無しで、抗 O X 4 0 ($250 \mu g$) で処置されたマウス。

【0144】

50

図9Aに示した通り、抗OX-40およびGA-RG(このグラフでMD02とラベルした)の組み合わせで処置した動物の循環において、GR-1陰性/CD11b陽性細胞のパーセンテージが増大した。

対照的に、GR-1中間/CD11b陽性細胞の数は、抗OX40およびGA-RG(このグラフでMD02とラベルした)で処置した動物で、相反的に減少した。

【0145】

GR-1陰性/CD11b陽性細胞の増加は、腫瘍に対する治療効果に関係し得る免疫細胞抑制減少に関係する非抑制因子型単球細胞の増加を示す。

また、これらの結果は、単核細胞/マクロファージの表現型が、併用治療した腫瘍を有するマウスの循環および腫瘍微小環境で変化し得ることを示唆する。

【0146】

実施例6：抗OX40のGA-RGとの組み合わせで共処置後の、MCA205腫瘍、肉腫腫瘍細胞株への有効性の向上

本実施例ではMCA205細胞を使用したマウス肉腫癌の同系モデルで実験を行った。

本実施例は、腫瘍を接種した次の2群中各2群ずつの4処置群を含む：接種後4日目、6日目、8日目、11日目、13日目および15日目に、GA-RG(2.4mg/投与)と共におよび無しでIgG処置コントロールマウス(250μg；4日目、8日目)；および、接種後4日目、6日目、8日目、11日目、13日目および15日目に、GA-RG(2.4mg/投与)と共におよび無しで、抗OX40(250μg；4日目、8日目)で処置されたマウス。

【0147】

図10Aは、抗OX40をGA-RG(この図においてGR-MD-02とラベルした)と組み合わせで投与したとき、時間と共に腫瘍サイズが著しく減少し、組み合わせで処置された動物において腫瘍がほとんど増殖しないことを示す。

【0148】

図10Bは動物の生存曲線を示す。抗OX40のGA-RG(この図においてGR-MD-02とラベルした)との組み合わせを与えた動物において、生存率の統計学的に有意な改善があった。

【0149】

これは、前立腺癌細胞および乳癌細胞と同様に、肉腫腫瘍細胞でも同様の効果が見られること、幾つかの局面において、その効果はこれらの腫瘍モデルより強いことを証明している。

【0150】

実施例7：腫瘍細胞株におけるガレクチン-3の発現

ガレクチン-3の発現を、これらの実験に使用した腫瘍細胞株、ならびに他の腫瘍細胞株で評価した。

【0151】

図11Aは、複数の細胞株によって顕著な量のガレクチン-3タンパク質が培養培地に分泌され、NOP-17およびSCN細胞株ではほとんどまたは全く分泌されないことを示す。重要なことに、前述の実施例で使用した2つの細胞株、すなわち4T1およびTRAMP-C1は、多量のガレクチン-3を分泌した。これらのデータは、薬物有効性に関係し得る細胞株における異なるガレクチン-3の発現レベルを示す。

【0152】

図11Bは、複数の細胞株の全細胞ライセートで、顕著な量のガレクチン-3タンパク質があることを示し、NOP-17およびSCN細胞株で少量であることを示す。重要なことに、先の実施例で使用した3種の細胞株、すなわち4T1、TRAMP-C1およびMCA-205は、多量のガレクチン-3を発現した。

【0153】

注目すべきことは、多量のガレクチン-3を発現する細胞株MCA-205(図11B)は、抗OX40およびGA-RGによる組み合わせ治療に最も反応した(実施例6)。

これらの結果は、さらに、G A - R Gとの組み合わせ治療への腫瘍の応答がガレクチン - 3の発現レベルと相関していることを示唆している。

【0154】

実施例8：T細胞活性化におけるガレクチン - 3の二重の役割

腫瘍浸潤性リンパ球の免疫抑制および細胞溶解機能は、患者において有効な治療を作る際の主要な障害である。ガレクチン - 3は、レクチンファミリーのメンバーであり、乳癌および前立腺癌を含む多くの癌で発現される。さらに、それは、前立腺上皮、マクロファージおよび活性化リンパ球によって広範に発現される。

【0155】

内因性ガレクチン - 3は、代替マクロファージ活性化を促進し、抗腫瘍免疫を制限する T C R 介在 C D 4 T 細胞活性化を制限する。

10

ガレクチン - 3の炎症制御作用および C D 8 T 細胞機能が分からないため、この点を調べるために実験を行った。

【0156】

腫瘍微小環境内でガレクチン - 3は C D 8 T 細胞の機能を負に制御することによって腫瘍進行を促進すると仮定する。これを試験するために、C D 8 T 細胞中の内因性ガレクチン - 3欠損の効果を調べた。

【0157】

インビボで、抗原特異的 G a l 3 - / - C D 8 T 細胞は、野生型(W T)コントロールと比較してエフェクター機能の減少(増殖、グランザイム B、I F N - および I L - 2

20

の減少)を示した。

【0158】

抗原特異的 G a l 3 - / - または G a l 3 + / + C D 8 T 細胞における差次的遺伝子発現分析により、グランザイム B、C D 2 5、K L R G - 1および B l i m p - 1 遺伝子発現は、コントロールと比較して、G a l 3 - / - C D 8 T 細胞で減少することが分かった。

【0159】

インビトロ試験は、抗原特異的 G a l 3 - / - C D 8 T 細胞が、C D 2 5 および O X 4 0 発現を著しく減少させることを証明した。これらのデータは、新規の驚くべき発見であり、すなわち、ガレクチン - 3が、C D 4 機能を阻害する役割と対照的に、C D 8 T

30

細胞機能の促進に重要な役割を有することを示唆している。

【0160】

腫瘍微小環境におけるガレクチン - 3の役割を評価するために、前立腺癌の T R A M P モデルを使用して、腫瘍内のガレクチン - 3発現を調べた。ガレクチン - 3はマクロファージおよび腫瘍内の癌細胞で発現された。

【0161】

インビボでの G A - R G (G R - M D - 0 2)によるガレクチン - 3阻害は、C D 8 T 細胞増殖および C D 6 2 L 発現を亢進し、このことは、C D 8 T 細胞機能における G a l 3 の二重の役割を示唆している。

【0162】

40

図12は、フローサイトメトリーによるガレクチン - 3欠損 C D 8 ナイーブ T 細胞と野生型(W T)の C D 8 T 細胞の間の表現型の比較を示す。図12Aは、野生型、G a l 3 - / -、野生型 O T - 1 または G a l 3 - / - O T - 1 マウスにおける C D 8 および C D 4 ナイーブ上の表現型マーカーのベースライン発現を、不処置脾細胞で評価した。C D 8 および C D 4 において、記載した%発現は、C D 8 または C D 4 の何れかを発現する生存細胞のパーセントである。図12Bは、野生型 C 5 7 B L / 6 マウスに、 3×10^6 個のナイーブ W T または G a l 3 - / - O T - I C D 8 T 細胞(iv)を - 1 日目に与えるモデルを示す。ドナー O T - I T 細胞を、500 μ g の可溶性 O V A (s q ; d 0)で刺激した。

【0163】

50

図13は、ガレクチン-3欠損CD8 T細胞が、インビボで抗原刺激後にエフェクター機能を低下させることを示す。図13A~Cは、刺激後7日目にフローサイトメトリーによって測定した脾臓におけるドナーOT-I T細胞の表現型を示す。グラフは、3個の独立した実験の1個から、個々のマウス(n = 4 / 群)の平均値を表す(* P < 0.05 ; ** P < 0.01)。

【0164】

図14は、選択された遺伝子がガレクチン欠損CD8 T細胞で下方制御することを示す。野生型またはGal3-/- OT-1 T細胞を、野生型宿主細胞に養子性に導入し、OVAで刺激した。4日後、リンパ節を回収し、ドナーCD8 T細胞を細胞ソーティングによって精製した。RNAをこれらの細胞から抽出し、Affymetrix DNAマイクロアレイを使用して遺伝子発現の変化を評価した。図14Aは、野生型に対してGal3-/- OT-1で下方制御されることが分かった幾つかの遺伝子のグラフ表示を示す。図14Bは、選択された遺伝子の相対単位および倍率変化を示す。

【0165】

図15は、ガレクチン欠損CD8 T細胞が抗原刺激後のCD25およびOX40発現を減少させることを示す。インビトロで、精製野生型ナイーブまたはGal3-/- OT-1 CD8を、ペプチドパルス(5 µg/mlまたは0.0005 µg/ml) DC2.4樹状細胞で、IL-2(100 ng/ml)と共にまたは無しで刺激した。細胞を48時間後または72時間後に回収し、CD25(IL-2 Ra)またはOX40の発現をフローサイトメトリーによって調べた。

【0166】

図16は、ガレクチン-3阻害がCD8 T細胞エフェクター機能を亢進することを示す。野生型C57BL/6マウスに、-1日目に、 3×10^6 個の野生型OT-I CD8 ナイーブT細胞(iv)、ドナーOT-I T細胞、Gal-3阻害剤、GR-MD-02(特にGA-RG)(白色の棒グラフ)(sq; d0, 1)を与えた。7日後(図16A)または29日後(図16B)、末梢血または脾臓中のドナー細胞の表現型をそれぞれフローサイトメトリーによって測定した。Ki-67、グランザイム BまたはKLRG-1の発現について群の間で差はなかった。

【0167】

図17は、上に記載した通りに、29日目に摘出した脾細胞において、抗CTLA-4と組み合わせて使用したとき、GA-RG(GR-MD-02)によるガレクチン-3の阻害がCD8 T細胞増殖を亢進することを示す。

【0168】

これらの試験は、内因性ガレクチン-3欠損が、抗原に応答したCD8 T細胞増殖および活性化を減少させ、サイトカイン産生を減少させることを示す。

【0169】

ガレクチン-3欠損CD8 T細胞は、KLRG、CD25、IFNγ、グランザイムBおよびFasLを減少させ、これらは全てエフェクターCD8を増加させる。

【0170】

ガレクチン-3欠損CD8 T細胞はインビトロでCD25およびOX40発現を減少させる。CD25発現はIL-2の追加によってレスキューできるが、OX40発現はIL-2の追加によってレスキューできない。

【0171】

インビボでのGA-RG(GR-MD-02とも呼ぶ)を使用したガレクチン-3阻害は、抗原に応答したCD8 T細胞増殖および活性化を増強する。

【0172】

従って、実質的にまたは全く細胞外コンパートメントのみで作用する阻害剤でのガレクチン-3の阻害は、T細胞において内因的に生じるガレクチン-3の完全な欠落とは異なる作用を有するようである。

【0173】

10

20

30

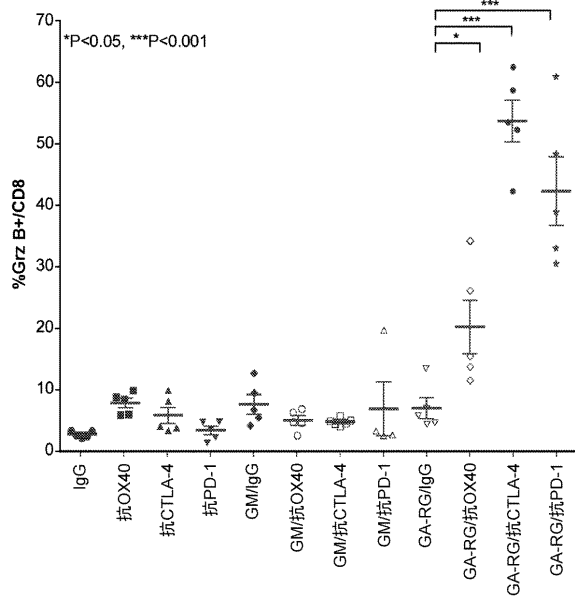
40

50

本発明は、好ましい態様の記載について特に示され記載されているが、当業者は、本発明の範囲から逸脱せずに、形態および詳細における様々な変更を行い得ることを理解するだろう。本明細書に記載された全ての文献、特許および配列データベースエントリーは、各文献または特許がそれぞれ引用により具体的かつ個別に示され組み込まれるかのように、その全体が引用によって本明細書に組み込まれる。

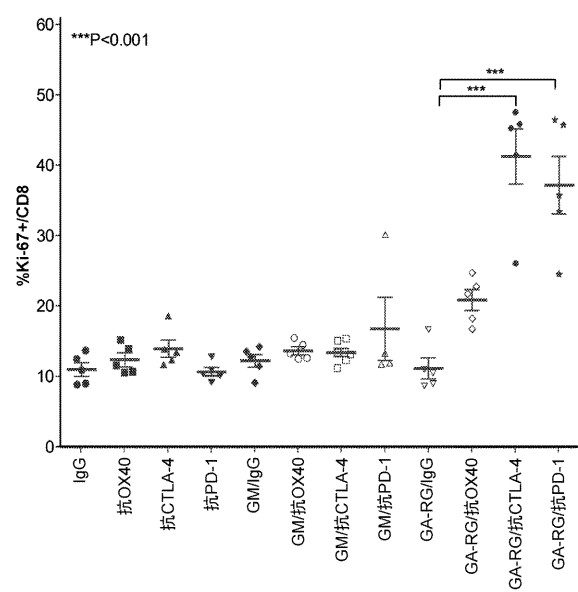
【 図 1 】

FIG. 1



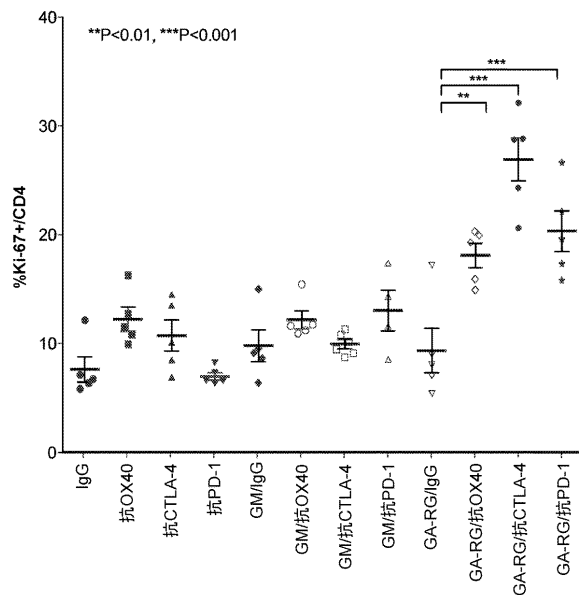
【 図 2 】

FIG. 2



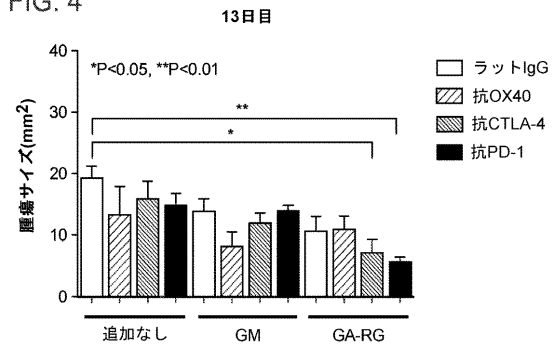
【図 3】

FIG. 3



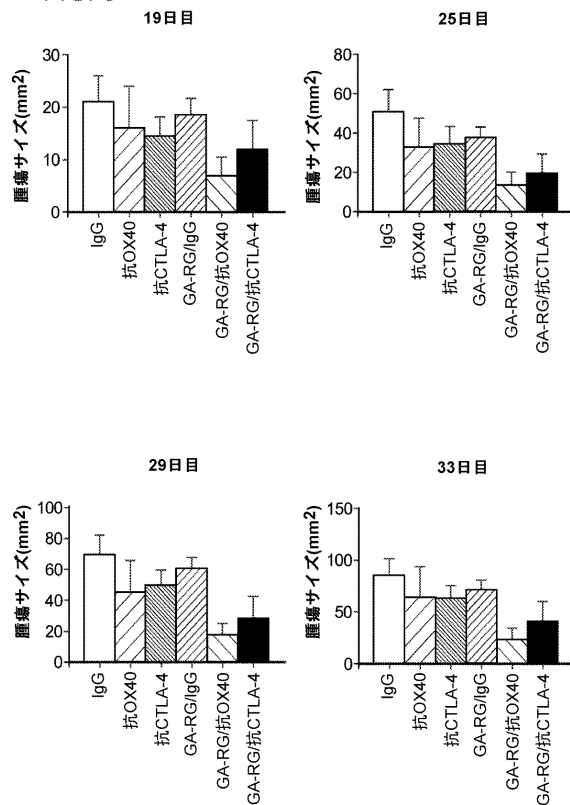
【図 4】

FIG. 4

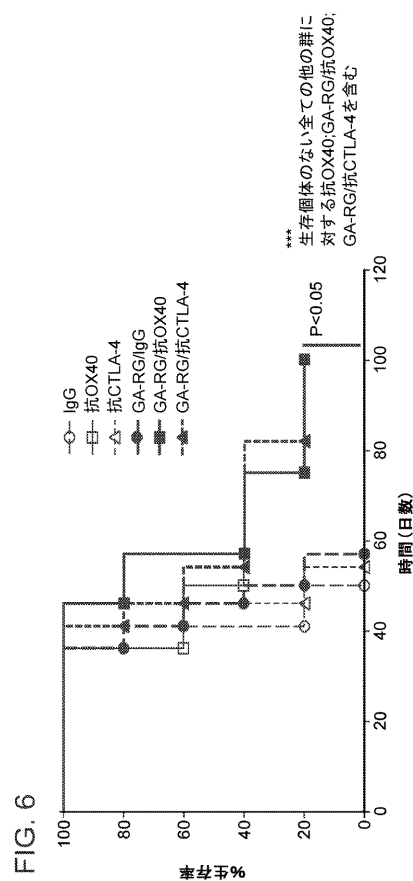


【図 5】

FIG. 5



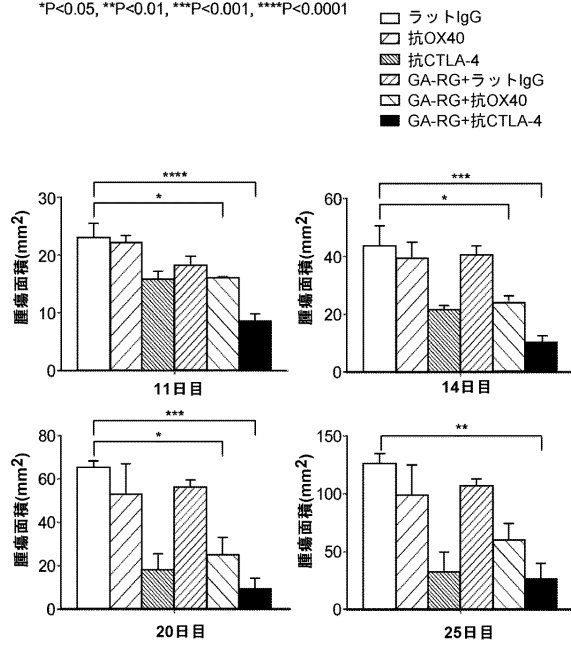
【図 6】



【図 7】

FIG. 7

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001



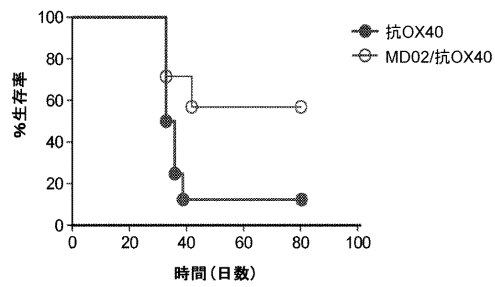
***GA-RG+抗CTLA-4は11日目で全ての群に対してP<0.05である

***GA-RG+抗CTLA-4は全ての時間点でGA-RG+ラットIgGに対してP<0.05である

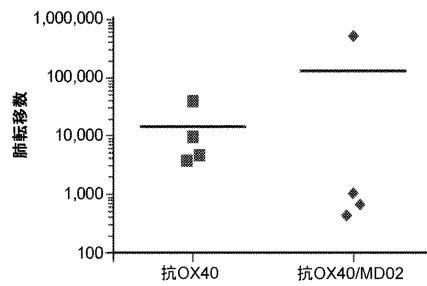
【図 8】

FIG. 8

A



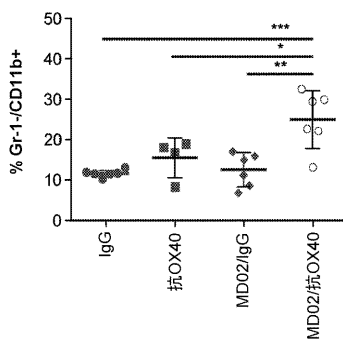
B



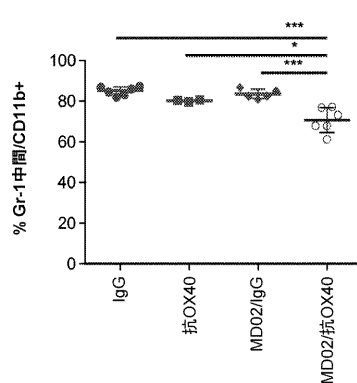
【図 9】

FIG. 9

A

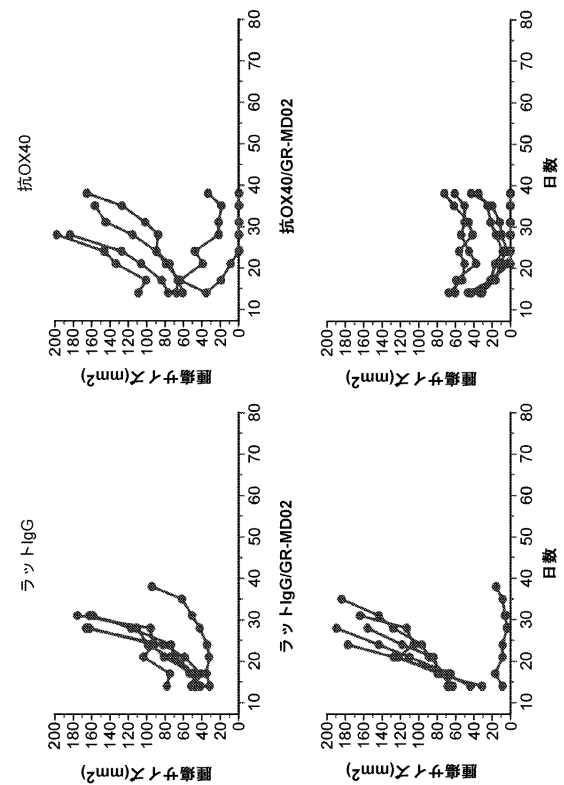


B

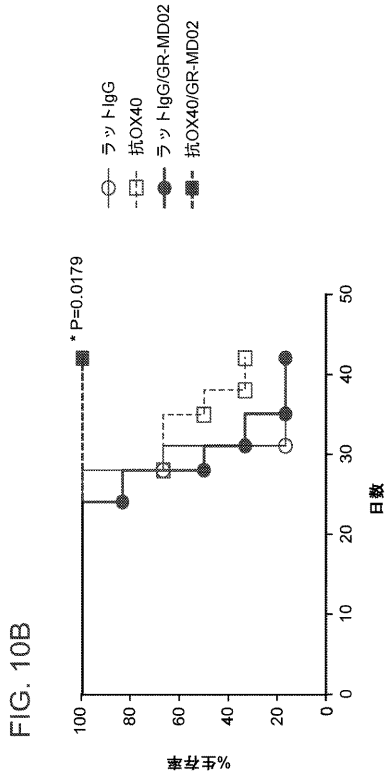


【図 10 A】

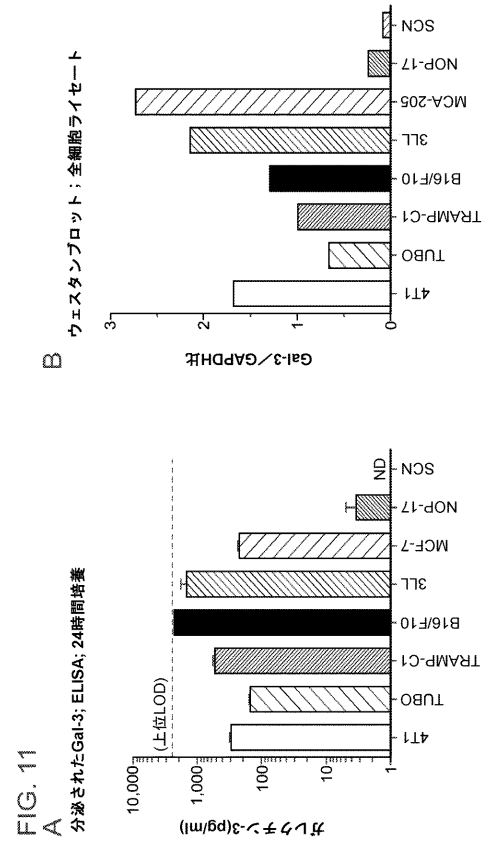
FIG. 10A



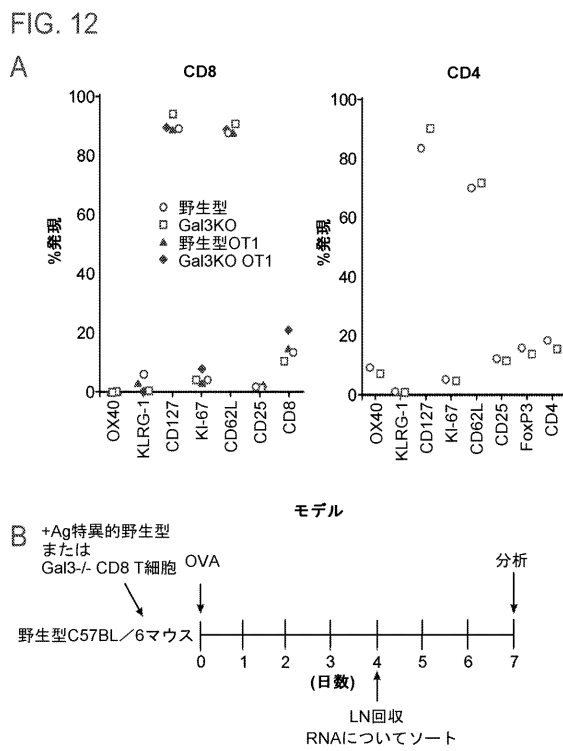
【図10B】



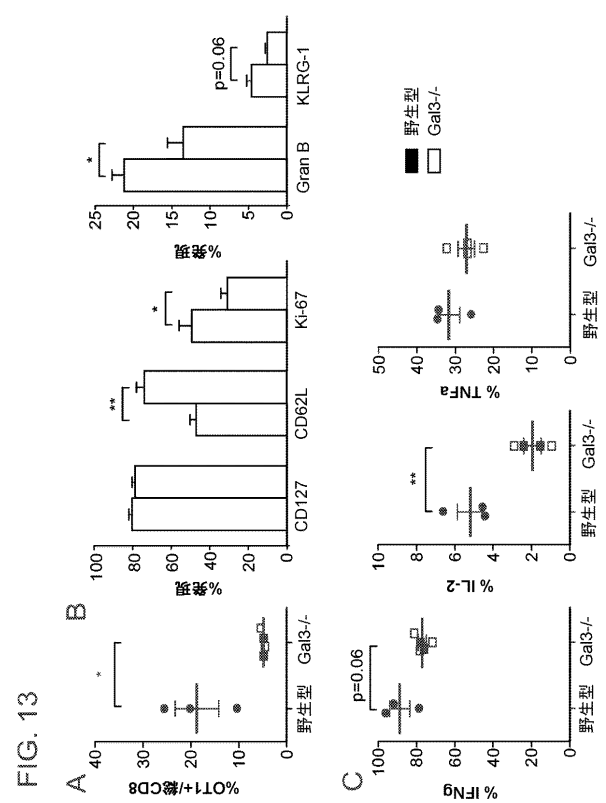
【図11】



【図12】

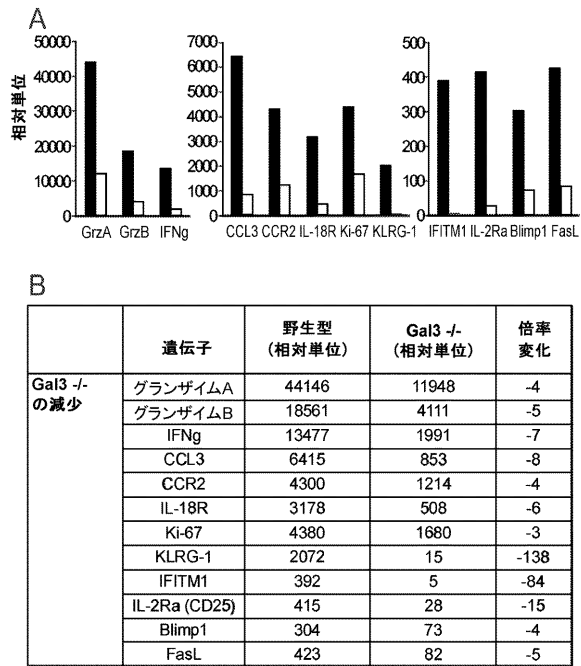


【図13】

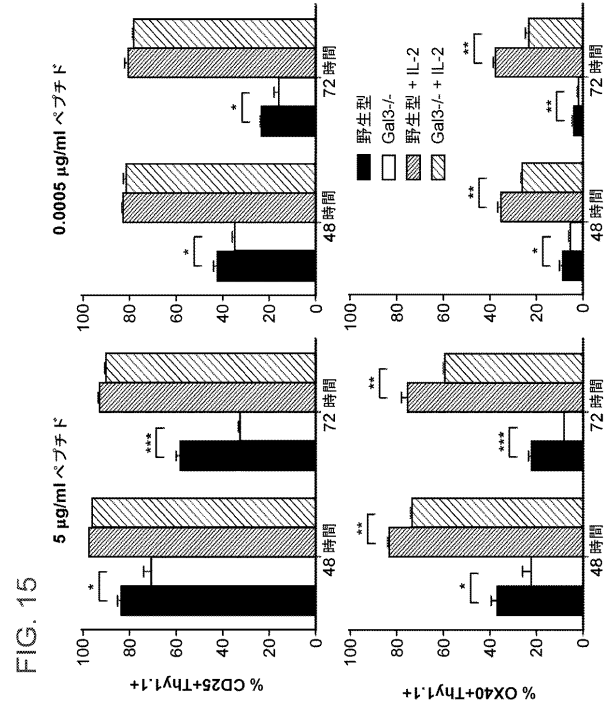


【図 14】

FIG. 14

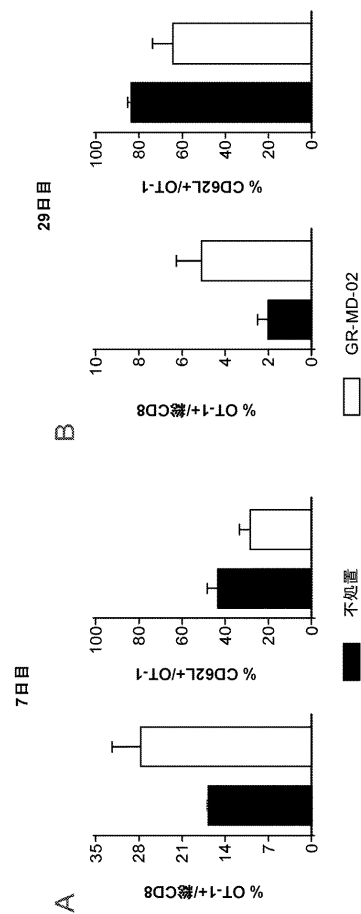


【図 15】



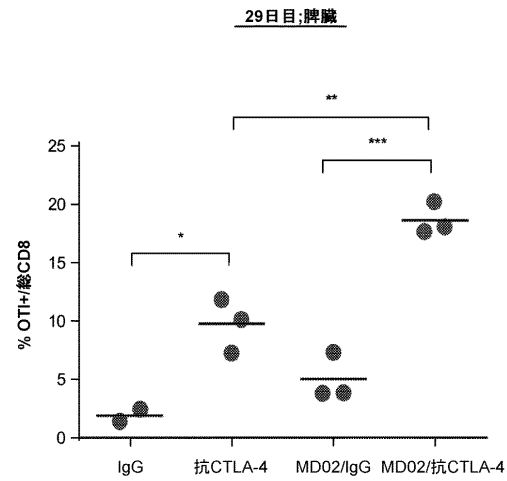
【図 16】

FIG. 16



【図 17】

FIG. 17



フロントページの続き

- (31)優先権主張番号 61/756,818
(32)優先日 平成25年1月25日(2013.1.25)
(33)優先権主張国 米国(US)

前置審査

- (73)特許権者 515071085
プロビデンス・ヘルス・アンド・サービシーズ・オレゴン・ディノビーノエイ・アール・エイ・チャイルズ・リサーチ・インスティテュート・オブ・ザ・ロバート・ダブリュー・フランツ・キャンサー・リサーチ・センター・アット・プロビデンス・ポートランド・メディカル・センター
Providence Health & Services Oregon d/b/a Earle A. Chiles Research Institute of the Robert W. Franz Cancer Research Center at Providence Portland Medical Center
アメリカ合衆国97213オレゴン州ポートランド、ノースイースト・ギルサン・ストリート4805番、2エヌ35
- (74)代理人 100101454
弁理士 山田 卓二
- (74)代理人 100106518
弁理士 松谷 道子
- (74)代理人 100138911
弁理士 櫻井 陽子
- (72)発明者 ピーター・ジー・トレーバー
アメリカ合衆国30097ジョージア州ダルース、ピーチトゥリー・パークウェイ4850番
- (72)発明者 ウィリアム・エル・レドモンド
アメリカ合衆国97124オレゴン州ヒルズボロ、ノースイースト・シックスティサード・ウェイ483番
- (72)発明者 エリーザー・ゾマー
アメリカ合衆国02459マサチューセッツ州ニュートン、ケンリック・ストリート374番
- (72)発明者 アナトール・クリヨソフ
アメリカ合衆国02459マサチューセッツ州ニュートン、ワルシュ・ロード36番
- (72)発明者 ステファニー・エヌ・リンチ
アメリカ合衆国97213オレゴン州ポートランド、ノースイースト・ギルサン・ストリート4805番、2エヌ35

審査官 小堀 麻子

- (56)参考文献 特表2006-522163(JP,A)
特表2005-531576(JP,A)
特開平07-109226(JP,A)
特表2001-519471(JP,A)
特表2007-521106(JP,A)
特表2010-518873(JP,A)
Cancer Res, 2010年, Vol.70, No.19, p.7476-7488
Immunol Rev, 2009年, Vol.229, No.1, p.126-144

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61K 31/00

A 6 1 K 3 9 / 3 9 5

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)