

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-527570

(P2018-527570A)

(43) 公表日 平成30年9月20日(2018.9.20)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
G01N 33/53 (2006.01)	G01N 33/53	K 4B063
C12Q 1/06 (2006.01)	G01N 33/53	D 4C076
A61K 31/4406 (2006.01)	C12Q 1/06	4C084
A61K 45/00 (2006.01)	A61K 31/4406	4C085
A61P 43/00 (2006.01)	A61K 45/00	4C086

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 53 頁) 最終頁に続く

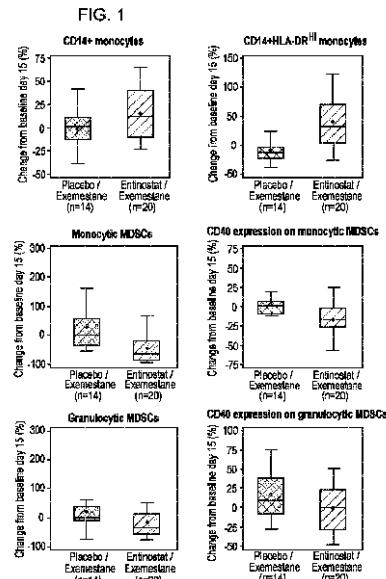
(21) 出願番号	特願2018-511233 (P2018-511233)	(71) 出願人	514054683 シンダックス ファーマシューティカルズ , インク. アメリカ合衆国 O 2 4 5 1 マサチュー セツツ州 ウォルサム スイート 110 トッテン・pond・ロード 400
(86) (22) 出願日	平成28年9月2日 (2016.9.2)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(85) 翻訳文提出日	平成30年3月27日 (2018.3.27)	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(86) 國際出願番号	PCT/US2016/050274	(74) 代理人	100181674 弁理士 飯田 貴敏
(87) 國際公開番号	W02017/041043	(74) 代理人	100181641 弁理士 石川 大輔
(87) 國際公開日	平成29年3月9日 (2017.3.9)		
(31) 優先権主張番号	62/213,288		
(32) 優先日	平成27年9月2日 (2015.9.2)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	62/219,612		
(32) 優先日	平成27年9月16日 (2015.9.16)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】併用療法のための患者の選択

(57) 【要約】

本明細書では、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法による処置についてがん患者を選択する方法について記載する。特に、エンチノstatt併用療法による療法において、治療指標として、非がん細胞型の骨髄由来のサブレッサー細胞、例えば、CD14陽性かつHLA-D R - (10 / 陰性)細胞を検査する方法が提供される。第2の治療剤は、抗PD-1抗体、例えば、ニボルマブおよびペンプロリズマブ；抗PD-L1抗体、例えばMPDL3280A；ならびにエキセメスタンであり得る。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

エンチノスタッフと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法であつて、

がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、

前記末梢血液試料中の骨髓由来のサプレッサー細胞および末梢血液単核細胞の数を測定することと、

骨髓由来のサプレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比が、1：200から1：4の間にある場合に、前記併用療法を前記患者に投与することと
を含む前記方法。

10

【請求項 2】

エンチノスタッフと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法であつて、

がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、

前記末梢血液試料から得られた1つまたは複数の骨髓由来のサプレッサー細胞を第1の結合剤と接触させて、1つまたは複数の第1の結合剤 - 骨髓由来のサプレッサー細胞複合体を生成することと、

前記末梢血液試料中の、前記第1の結合剤 - 骨髓由来のサプレッサー細胞複合体と前記第2の結合剤 - 末梢血液単核細胞複合体との比を測定することと、

20

第1の結合剤 - 骨髓由来のサプレッサー細胞複合体と第2の結合剤 - 末梢血液単核細胞複合体との前記比が、1：200から1：4の間にある場合に、前記患者に前記併用療法を投与することと
を含む前記方法。

【請求項 3】

患者におけるがんについて予後を提供する方法であつて、

がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、

前記末梢血液試料中の骨髓由来のサプレッサー細胞および末梢血液単核細胞の数を測定することと
を含み、

30

骨髓由来のサプレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比が1：200から1：4の間にある場合に、エンチノスタッフと第2の治療剤とを含む併用療法を前記患者に投与すること
と
をさらに含む、前記方法。

【請求項 4】

前記末梢血液試料が、抗凝固剤で処置される、請求項1から3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記抗凝固剤が、EDTAまたはヘパリンである、請求項4に記載の方法。

40

【請求項 6】

前記骨髓由来のサプレッサー細胞の集団および前記PBM Cの集団を測定することが、フローサイトメトリーにより実施される、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記骨髓由来のサプレッサー細胞の個数および前記PBM Cの個数を測定することが、サイトスピンにより実施される、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記骨髓由来のサプレッサー細胞の集団が、細胞表面マーカーにより同定される、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

50

前記細胞表面マーカーが、CD11b、CD33、およびCD40のうちの少なくとも1つである、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

前記末梢血液単核細胞の集団が、細胞表面マーカーにより同定される、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

前記細胞表面マーカーが、CD3、CD14、CD19、CD56、およびHLA-DRのうちの少なくとも1つである、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

前記骨髄由来のサプレッサー細胞が、多形核MDS-Cである、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法。 10

【請求項13】

前記多形核MDS-Cが、細胞表面マーカーにより同定される、請求項12に記載の方法。
。

【請求項14】

前記細胞表面マーカーが、CD15である、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

前記骨髄由来のサプレッサー細胞が、単球MDS-Cである、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項16】

前記単球MDS-Cが、細胞表面マーカーにより同定される、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記細胞表面マーカーが、CD14である、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記比が、1：100から1：4の間にある、請求項1から17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

前記比が、1：50から1：4の間にある、請求項1から17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

前記比が、1：20から1：4の間にある、請求項1から17のいずれか一項に記載の方法。 30

【請求項21】

前記比が、1：10から1：4の間にある、請求項1から17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項22】

前記比が、1：5から1：4の間にある、請求項1から17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項23】

前記エンチノスタッフが、経口投与される、請求項1から22のいずれか一項に記載の方法。 40

【請求項24】

前記エンチノスタッフが、最初に投与される、請求項1から22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項25】

前記エンチノスタッフが、毎週投与される、請求項1から22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項26】

前記エンチノスタッフが、2週毎に投与される、請求項1から22のいずれか一項に記載の方法。 50

【請求項 27】

前記第2の治療剤が、抗P D - 1抗体である、請求項1から26のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記抗P D - 1抗体が、ベンプロリズマブである、請求項27に記載の方法。

【請求項 29】

前記抗P D - 1抗体が、ニボルマブである、請求項27に記載の方法。

【請求項 30】

前記がんが、肺がんである、請求項28に記載の方法。

【請求項 31】

前記肺がんが、非小細胞性肺がん、扁平上皮癌、または大細胞癌である、請求項30に記載の方法。 10

【請求項 32】

前記がんが、メラノーマである、請求項28または29に記載の方法。

【請求項 33】

前記メラノーマが、転移性メラノーマである、請求項32に記載の方法。

【請求項 34】

前記第2の治療剤が、抗P D - L 1抗体である、請求項1から26のいずれか一項に記載の方法。 20

【請求項 35】

前記抗P D - L 1抗体が、M P D L 3 2 8 0 Aである、請求項34に記載の方法。

【請求項 36】

前記第2の治療剤が、エキセメスタンである、請求項1から26のいずれか一項に記載の方法。 20

【請求項 37】

前記がんが、乳がんである、請求項34から36のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

前記第2の治療剤が、M P D L 3 2 8 0 Aであり、前記乳がんが、三種陰性乳がんである、請求項37に記載の方法。 30

【請求項 39】

前記第2の治療剤が、エキセメスタンであり、前記乳がんが、ホルモン受容体陽性乳がんである、請求項37に記載の方法。

【請求項 40】

前記抗P D - 1抗体または前記抗P D - L 1抗体が、輸液により投与される、請求項27または34に記載の方法。 30

【請求項 41】

前記エキセメスタンが、経口投与される、請求項36に記載の方法。

【請求項 42】

前記第1および第2の結合剤が、それぞれ独立して抗体である、請求項2から41のいずれか一項に記載の方法。 40

【請求項 43】

前記第1および第2の結合剤が、細胞表面マーカーとそれぞれ独立して結合する、請求項2から42のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 44】

前記第1の結合剤が結合した前記細胞表面マーカーが、C D 1 1 b、C D 3 3、およびC D 4 0のうちの少なくとも1つである、請求項43に記載の方法。

【請求項 45】

前記第2の結合剤が結合した前記細胞表面マーカーが、C D 3、C D 1 4、C D 1 9、C D 5 6、およびH L A - D Rのうちの少なくとも1つである、請求項43に記載の方法。
。

【請求項 4 6】

エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法であつて、

がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、

前記末梢血液試料中の、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の数を測定することと、

前記末梢血液試料中の、CD14陽性細胞の数を測定することと、

CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞とCD14陽性細胞との比が、1:100から99:1の間にある場合に、併用療法を投与することとを含む方法。

10

【請求項 4 7】

エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法であつて、

がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、

前記末梢血液試料中の、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の数を測定することと、

前記末梢血液試料中の末梢血液単核細胞の数を測定することと、

CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と末梢血液単核細胞との比が、1:200から1:1の間にある場合に、併用療法を投与することとを含む方法。

20

【請求項 4 8】

患者におけるがんについて予後を提供する方法であつて、

がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、

前記末梢血液試料中の、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の数を測定することと、

前記末梢血液試料中の、CD14陽性細胞の数を測定することとを含み、

CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞とCD14陽性細胞との比が、1:100から99:1の間にある場合に、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法を前記患者に投与すること

30

をさらに含む方法。

【請求項 4 9】

患者におけるがんについて予後を提供する方法であつて、

がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、

前記末梢血液試料中の、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の数を測定することと、

前記末梢血液試料中の末梢血液単核細胞の数を測定することとを含み、

CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と末梢血液単核細胞との比が、1:200から1:1の間にある場合に、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法を患者に投与すること

40

をさらに含む方法。

【請求項 5 0】

前記末梢血液試料が、抗凝固剤で処置される、請求項46から49のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記抗凝固剤が、EDTAまたはヘパリンである、請求項50に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記末梢血液試料中の、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の数を測定することが、フローサイトメトリーにより実施される、請求項46から51のいずれか

50

一項に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記末梢血液単核細胞の集団が、細胞表面マーカーにより同定される、請求項 4 6 から 5 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記細胞表面マーカーが、CD3、CD14、CD19、CD56、およびHLA-DRのうちの少なくとも1つである、請求項 5 3 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記比が、1：50から99：1の間にある、請求項 4 6 、4 8 、および 5 0 から 5 4 のいずれか一項に記載の方法。 10

【請求項 5 6】

前記比が、1：20から99：1の間にある、請求項 4 6 、4 8 、および 5 0 から 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記比が、1：10から99：1の間にある、請求項 4 6 、4 8 、および 5 0 から 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記比が、1：5から99：1の間にある、請求項 4 6 、4 8 、および 5 0 から 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記比が、1：50から1：4の間にある、請求項 4 7 および 4 9 から 5 4 のいずれか一項に記載の方法。 20

【請求項 6 0】

前記比が、1：20から1：4の間にある、請求項 4 7 および 4 9 から 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記比が、1：10から1：4の間にある、請求項 4 7 および 4 9 から 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記比が、1：5から1：4の間にある、請求項 4 7 および 4 9 から 5 4 のいずれか一項に記載の方法。 30

【請求項 6 3】

前記エンチノstattが、経口投与される、請求項 4 6 から 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記エンチノstattが、最初に投与される、請求項 4 6 から 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記エンチノstattが、毎週投与される、請求項 4 6 から 6 2 のいずれか一項に記載の方法。 40

【請求項 6 6】

前記エンチノstattが、2週間毎に投与される、請求項 4 6 から 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記第2の治療剤が、抗PD-1抗体である、請求項 4 6 から 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 8】

前記抗PD-1抗体が、ペンブロリズマブである、請求項 6 7 に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記抗PD-1抗体が、ニボルマブである、請求項 6 7 に記載の方法。 50

【請求項 7 0】

前記がんが、肺がんである、請求項 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 1】

前記肺がんが、非小細胞性肺がん、扁平上皮癌、または大細胞癌である、請求項 7 0 に記載の方法。

【請求項 7 2】

前記がんが、メラノーマである、請求項 6 8 または 6 9 に記載の方法。

【請求項 7 3】

前記メラノーマが、転移性メラノーマである、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 4】

前記第 2 の治療剤が、抗 P D - L 1 抗体である、請求項 4 6 から 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 5】

前記抗 P D - L 1 抗体が、M P D L 3 2 8 0 A である、請求項 7 4 に記載の方法。

【請求項 7 6】

前記第 2 の治療剤が、エキセメスタンである、請求項 4 6 から 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 7】

前記がんが、乳がんである、請求項 7 4 から 7 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 8】

前記第 2 の治療剤が、M P D L 3 2 8 0 A であり、前記乳がんが、三種陰性乳がんである、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 7 9】

前記第 2 の治療剤が、エキセメスタンであり、前記乳がんが、ホルモン受容体陽性乳がんである、請求項 7 7 に記載の方法。

【請求項 8 0】

前記抗 P D - 1 抗体または前記抗 P D - L 1 抗体が、輸液により投与される、請求項 6 7 または 7 4 に記載の方法。

【請求項 8 1】

前記エキセメスタンが、経口投与される、請求項 7 6 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0 0 0 1】****関連出願**

本出願は、2015年9月2日に出願された米国仮出願番号第 6 2 / 2 1 3 , 2 8 8 号および2015年9月16日に出願された米国仮出願番号第 6 2 / 2 1 9 , 6 1 2 号の利益および優先権を主張しており、これら仮出願の各々の内容は、それらの全体が参考として本明細書中に援用される。

【背景技術】**【0 0 0 2】****背景**

がん、腫瘍、腫瘍関連障害、および腫瘍性疾患の状態は重篤であり、また多くの場合、生命を脅かす状態である。これらの疾患および障害は、急速増殖性の細胞増殖により特徴付けられ、その処置に有効である治療剤の同定に向けられた研究努力の対象としてなおも存続している。そのような薬剤は、患者の生存を延ばし、新生物と関連した急速増殖性の細胞増殖を阻害するか、または新生物の退縮をもたらす。

【0 0 0 3】

H D A C 阻害剤 (H D A C i) は、クロマチンリモデリングおよび遺伝子発現調節を通じて、血液学的悪性疾患および固形悪性疾患における分化およびアポトーシスを促進する新興のクラスの治療剤である。H D A C i の抗腫瘍効果は研究されてきたが、がん患者の

全身性免疫に対するH D A C iの影響は不明確なままである。

【0004】

例えば、抗腫瘍剤の有効性を向上させ、典型的には従来の処置に伴う副作用を低下させ、そして／または除去するために、複数の適応症におけるがん免疫療法が必要とされている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

概要

一つの態様では、本明細書において、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法が提供される。この方法は、がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、前記末梢血液試料中の骨髓由来のサプレッサー細胞および末梢血液単核細胞の数を測定することと、骨髓由来のサプレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比が、1：200から1：4の間にある場合に、前記併用療法を投与することとを含む。

10

【0006】

別の態様では、本明細書において、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法が提供される。この方法は、がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、前記末梢血液試料から得られた1つまたは複数の骨髓由来のサプレッサー細胞を第1の結合剤と接触させて、1つまたは複数の第1の結合剤・骨髓由来のサプレッサー細胞複合体を生成することと、前記末梢血液試料から得られた1つまたは複数の末梢血液単核細胞を第2の結合剤と接触させて、1つまたは複数の第2の結合剤・末梢血液単核細胞複合体を生成することと、前記末梢血液試料中の、前記第1の結合剤・骨髓由来のサプレッサー細胞複合体と前記第2の結合剤・末梢血液単核細胞複合体との比を測定することと、第1の結合剤・骨髓由来のサプレッサー細胞複合体と第2の結合剤・末梢血液単核細胞複合体との前記比が、1：200から1：4の間にある場合に、前記併用療法を投与することとを含む。

20

【0007】

別の態様では、本明細書において、患者におけるがんについて予後を提供する方法であって、がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、前記末梢血液試料中の骨髓由来のサプレッサー細胞および末梢血液単核細胞の数を測定することとを含み、骨髓由来のサプレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比が1：200から1：4の間にある場合に、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法を前記患者に投与することをさらに含む、前記方法が提供される。

30

【0008】

なお別の態様では、本明細書において、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法であって、がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、前記末梢血液試料中の、CD14陽性かつHLA-DR-(10/陰性)細胞の数を測定することと、前記末梢血液試料中の、CD14陽性細胞の数を測定することと、CD14陽性かつHLA-DR-(10/陰性)細胞とCD14陽性細胞との比が、1：100から99：1の間にある場合に、併用療法を投与することとを含む方法が提供される。

40

【0009】

別の態様では、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法であって、がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、前記末梢血液試料中の、CD14陽性かつHLA-DR-(10/陰性)細胞の数を測定することと、前記末梢血液試料中の末梢血液単核細胞の数を測定することと、CD14陽性かつHLA-DR-(10/陰性)細胞と末梢血液単核細胞との比が、1：200から1：1の間にある場合に、併用療法を投与することとを含む方法が提供される。

【0010】

50

さらに別の態様では、本明細書において、患者におけるがんについて予後を提供する方法であって、がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、前記末梢血液試料中の、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の数を測定することと、前記末梢血液試料中の、CD14陽性細胞の数を測定することとを含み、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞とCD14陽性細胞との比が、1:100から99:1の間にある場合に、エンチノスタッフと第2の治療剤とを含む併用療法を前記患者に投与することをさらに含む方法が提供される。

【0011】

また本明細書において、患者におけるがんについて予後を提供する方法であって、がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、前記末梢血液試料中の、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の数を測定することと、前記末梢血液試料中の末梢血液単核細胞の数を測定することとを含み、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と末梢血液単核細胞との比が、1:200から1:1の間にある場合に、エンチノスタッフと第2の治療剤とを含む併用療法を患者に投与することをさらに含む方法が提供される。10

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図1は、ENCORE301トライアルに由来する選択された患者から得られた血液試料中のCD14+細胞数、CD14+HLA-DR^{hi}単球細胞数、単球のMDS-C細胞数、単球MDS-C上のCD40発現、顆粒球MDS-C細胞数、および単球MDS-C上のCD40発現について、ベースラインから、エンチノスタッフおよびエキセメスタン(EE)の組合せ、またはエキセメスタンおよびプラセボの組合せによる処置の15日目の間に生じた変化の百分率を表す。20

【0013】

【図2A】図2は、エンチノスタッフが、乳がん患者のCD14+単球上でHLA-DR発現を増加させることを表す。(A)乳がん患者のPBMCにおいて、CD14+単球(左側パネル)、CD14+HLA-DR^{hi}単球(赤色のボックス、右上側パネル)、およびCD14+HLA-DR^{low/ neg}単球(青色のボックス、右下側パネル)を分析するためのゲーティング戦略。単一のCD45+生存細胞について最初にゲーティングした。(B)エキセメスタン+プラセボ(EP)群(n=14)およびエキセメスタン+エンチノスタッフ(EE)群(n=20)におけるベースラインからC1D15への単一のCD45+生存PBMCの中のCD14+HLA-DR^{hi}単球の変化の%。CD14+HLA-DR^{hi}単球のレベルは、EP群と比較して、EE群において有意に増加した(P=0.0004)。(C)EP群(n=14)およびEE群(n=20)において、ベースラインからC1D15へのCD14+単球上のHLA-DR発現の変化(蛍光強度中央値、MFI)。CD14+単球上のHLA-DR発現のレベルは、EP群と比較して、EE群において有意に増加した(P=0.015)。(D)in vitroでのCD14+単球上のHLA-DR発現。新鮮なPBMCを、DMSOまたはエンチノスタッフ(0.5μM)を用いて2日間培養した。左側のパネルは、DMSO(青色のヒストグラム)またはエンチノスタッフ(赤色のヒストグラム)を用いて培養したCD14+単球上のHLA-DR発現の代表的なヒストグラムを示す。黒色のヒストグラムは、アイソタイプ対照を示す。右側のパネルは、DMSOまたはエンチノスタッフを用いて培養したCD14+単球上のHLA-DR発現レベルの差異を示す。各ラインは、異なる健常ドナーを表す(n=8、P=0.008)。蛍光強度中央値、MFI。30

【図2B-D】図2は、エンチノスタッフが、乳がん患者のCD14+単球上でHLA-DR発現を増加させることを表す。(A)乳がん患者のPBMCにおいて、CD14+単球(左側パネル)、CD14+HLA-DR^{hi}単球(赤色のボックス、右上側パネル)、およびCD14+HLA-DR^{low/ neg}単球(青色のボックス、右下側パネル)を分析するためのゲーティング戦略。単一のCD45+生存細胞について最初にゲーティングした。(B)エキセメスタン+プラセボ(EP)群(n=14)およびエキセメスタン40

10

20

30

40

50

ン+エンチノスタッフ(EE)群($n=20$)におけるベースラインからC1D15への単一のCD45⁺生存PBM C中のCD14⁺HLA-DR hi单球の変化の%。CD14⁺HLA-DR hi单球のレベルは、EP群と比較して、EE群において有意に増加した($P=0.0004$)。(C)EP群($n=14$)およびEE群($n=20$)において、ベースラインからC1D15へのCD14⁺单球上のHLA-DR発現の変化(蛍光強度中央値、MFI)。CD14⁺单球上のHLA-DR発現のレベルは、EP群と比較して、EE群において有意に増加した($P=0.015$)。(D)in vitroでのCD14⁺单球上のHLA-DR発現。新鮮なPBM Cを、DMSOまたはエンチノスタッフ(0.5 μM)を用いて2日間培養した。左側のパネルは、DMSO(青色のヒストグラム)またはエンチノスタッフ(赤色のヒストグラム)を用いて培養したCD14⁺单球上のHLA-DR発現の代表的なヒストグラムを示す。黒色のヒストグラムは、アイソタイプ対照を示す。右側のパネルは、DMSOまたはエンチノスタッフを用いて培養したCD14⁺单球上のHLA-DR発現レベルの差異を示す。各ラインは、異なる健常ドナーを表す($n=8$ 、 $P=0.008$)。蛍光強度中央値、MFI。

【0014】

【図3A】図3は、エンチノスタッフが、乳がん患者において、单球MDSCおよび顆粒球MDSCを減少させることを示す。(A)乳がん患者のPBM CのMDSC表現型を分析するためのゲーティング戦略。最初のゲーティングを単一のCD45⁺生存細胞上で行った。系列(CD3、CD19、CD56)⁻HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺細胞を、Lin⁻MDSCとして定義した。Lin⁻MDSCを、单球MDSC(Lin⁻HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD14⁺細胞)と未成熟MDSC(Lin⁻HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD14⁻細胞)とにさらに分割した。CD14⁻CD11b⁺CD33⁺細胞を顆粒球MDSCとして定義した。(B)エキセメスタン+プラセボ(EP)群($n=14$)およびエキセメスタン+エンチノスタッフ(EE)群($n=20$)におけるベースラインからC1D15への単一のCD45⁺生存PBM C中の单球MDSCの変化の%。单球MDSCのレベルは、EP群と比較して、EE群において有意に低下した($P=0.002$)。(C)EP群($n=14$)およびEE群($n=20$)におけるベースラインからC1D15への単一のCD45⁺生存PBM C中の顆粒球MDSCの変化の%。顆粒球MDSCのレベルは、EP群と比較して、EE群において有意に低下した($P=0.029$)。

【図3B-C】図3は、エンチノスタッフが、乳がん患者において、单球MDSCおよび顆粒球MDSCを減少させることを示す。(A)乳がん患者のPBM CのMDSC表現型を分析するためのゲーティング戦略。最初のゲーティングを単一のCD45⁺生存細胞上で行った。系列(CD3、CD19、CD56)⁻HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺細胞を、Lin⁻MDSCとして定義した。Lin⁻MDSCを、单球MDSC(Lin⁻HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD14⁺細胞)と未成熟MDSC(Lin⁻HLA-DR⁻CD11b⁺CD33⁺CD14⁻細胞)とにさらに分割した。CD14⁻CD11b⁺CD33⁺細胞を顆粒球MDSCとして定義した。(B)エキセメスタン+プラセボ(EP)群($n=14$)およびエキセメスタン+エンチノスタッフ(EE)群($n=20$)におけるベースラインからC1D15への単一のCD45⁺生存PBM C中の单球MDSCの変化の%。单球MDSCのレベルは、EP群と比較して、EE群において有意に低下した($P=0.002$)。(C)EP群($n=14$)およびEE群($n=20$)におけるベースラインからC1D15への単一のCD45⁺生存PBM C中の顆粒球MDSCの変化の%。顆粒球MDSCのレベルは、EP群と比較して、EE群において有意に低下した($P=0.029$)。

【0015】

【図4A-B】図4は、エンチノスタッフが、乳がん患者において、MDSC上でCD40発現を低下させることを示す。(A)エキセメスタン+プラセボ(EP)群($n=14$)およびエキセメスタン+エンチノスタッフ(EE)群($n=20$)におけるベースラインからC1D15への单球MDSC上のCD40発現の変化(MFI)。单球MDSC上

10

20

30

40

50

の C D 4 0 のレベルは、 E P 群と比較して、 E E 群において有意に低下した (P = 0 . 0 1 1)。 (B) E P 群 (n = 1 4) および E E 群 (n = 2 0) におけるベースラインから C 1 D 1 5 への顆粒球 M D S C 上の C D 4 0 発現の変化 (M F I)。顆粒球 M D S C 上の C D 4 0 のレベルは、 E P 群と比較して、 E E 群において統計的に有意な低下を示さなかった (P = 0 . 2 2)。 (C) M D S C の絶対生存細胞数 (上側パネル、単球 M D S C ; 下段パネル、顆粒球 M D S C)。新鮮な P B M C (P B M C 2 × 1 0 ⁶ 個 / ウエル) を、 I L - 6 (1 0 n g / m l) および G M - C S F (1 0 n g / m l) を用いて培養した。5日目に、 D M S O またはエンチノstatt (0 . 5 μ M) を添加し、細胞を 3 ~ 4 日間培養した。各ラインは、異なる健常ドナーを表す (n = 7 ; 単球 M D S C 、 P = 0 . 0 0 4 ; 顆粒球 M D S C 、 P = 0 . 0 0 4)。 (D) 単球 M D S C (赤色のライン) 、顆粒球 M D S C (青色のライン) 、および系列細胞 (黒色のライン) における死細胞色素陽性細胞の百分率。新鮮な P B M C (P B M C 2 × 1 0 ⁶ 個 / ウエル) を、 I L - 6 および G M - C S F を用いて培養し、次に、 D M S O またはエンチノstatt (0 . 5 μ M) を 2 または 3 日間添加し、次に細胞を収集し、 L I V E / D E A D F i x a b l e A q u a Dead Cell Stain および抗体で染色した。各集団 (単球 M D S C 、顆粒球 M D S C 、および系列細胞) における死細胞色素陽性細胞の百分率を計算した。平均値 ± S D を示す (n = 7)。死亡単球 M D S C および死亡顆粒球 M D S C の百分率は、エンチノstattにより増加したが、死亡系列細胞の百分率は増加しなかった。単球 M D S C 、 P = 0 . 0 1 6 ; 顆粒球 M D S C 、 P = 0 . 0 1 6 ; 系列細胞 (C D 3 ⁺ 、 C D 1 9 ⁺ 、または C D 5 6 ⁺) 、 P = 0 . 7 。

【図 4 C - D】図 4 は、エンチノstattが、乳がん患者において、 M D S C 上で C D 4 0 発現を低下させることを示す。 (A) エキセメスタン + プラセボ (E P) 群 (n = 1 4) およびエキセメスタン + エンチノstatt (E E) 群 (n = 2 0) におけるベースラインから C 1 D 1 5 への単球 M D S C 上の C D 4 0 発現の変化 (M F I)。単球 M D S C 上の C D 4 0 のレベルは、 E P 群と比較して、 E E 群において有意に低下した (P = 0 . 0 1 1)。 (B) E P 群 (n = 1 4) および E E 群 (n = 2 0) におけるベースラインから C 1 D 1 5 への顆粒球 M D S C 上の C D 4 0 発現の変化 (M F I)。顆粒球 M D S C 上の C D 4 0 のレベルは、 E P 群と比較して、 E E 群において統計的に有意な低下を示さなかった (P = 0 . 2 2)。 (C) M D S C の絶対生存細胞数 (上側パネル、単球 M D S C ; 下段パネル、顆粒球 M D S C)。新鮮な P B M C (P B M C 2 × 1 0 ⁶ 個 / ウエル) を、 I L - 6 (1 0 n g / m l) および G M - C S F (1 0 n g / m l) を用いて培養した。5日目に、 D M S O またはエンチノstatt (0 . 5 μ M) を添加し、細胞を 3 ~ 4 日間培養した。各ラインは、異なる健常ドナーを表す (n = 7 ; 単球 M D S C 、 P = 0 . 0 0 4 ; 顆粒球 M D S C 、 P = 0 . 0 0 4)。 (D) 単球 M D S C (赤色のライン) 、顆粒球 M D S C (青色のライン) 、および系列細胞 (黒色のライン) における死細胞色素陽性細胞の百分率。新鮮な P B M C (P B M C 2 × 1 0 ⁶ 個 / ウエル) を、 I L - 6 および G M - C S F を用いて培養し、次に、 D M S O またはエンチノstatt (0 . 5 μ M) を 2 または 3 日間添加し、次に細胞を収集し、 L I V E / D E A D F i x a b l e A q u a Dead Cell Stain および抗体で染色した。各集団 (単球 M D S C 、顆粒球 M D S C 、および系列細胞) における死細胞色素陽性細胞の百分率を計算した。平均値 ± S D を示す (n = 7)。死亡単球 M D S C および死亡顆粒球 M D S C の百分率は、エンチノstattにより増加したが、死亡系列細胞の百分率は増加しなかった。単球 M D S C 、 P = 0 . 0 1 6 ; 顆粒球 M D S C 、 P = 0 . 0 1 6 ; 系列細胞 (C D 3 ⁺ 、 C D 1 9 ⁺ 、または C D 5 6 ⁺) 、 P = 0 . 7 。

【 0 0 1 6 】
D e a d C e l l S t a i n および抗体で染色した。各集団 (単球 M D S C 、顆粒球 M D S C 、および系列細胞) における死細胞色素陽性細胞の百分率を計算した。平均値 ± S D を示す (n = 7)。死亡単球 M D S C および死亡顆粒球 M D S C の百分率は、エンチノstattにより増加したが、死亡系列細胞の百分率は増加しなかった。単球 M D S C 、 P = 0 . 0 1 6 ; 顆粒球 M D S C 、 P = 0 . 0 1 6 ; 系列細胞 (C D 3 ⁺ 、 C D 1 9 ⁺ 、または C D 5 6 ⁺) 、 P = 0 . 7 。

【 0 0 1 6 】

【図 5】図 5 は、乳がん患者の P B M C における T 細胞サブセットを分析するためのゲーティング戦略を示す。 (A) 最初のゲーティングを、单一の生存細胞上で行った。 C D 4 ⁺ T 細胞を、 T r e g (C D 8 ⁻ C D 4 ⁺ C D 2 5 ^{hi} F o x p 3 ⁺ 細胞) および F o x p 3 ⁻ C D 4 ⁺ T 細胞 (C D 8 ⁻ C D 4 ⁺ F o x p 3 ⁻ 細胞) にさらに分割した。 (B) C D 8 ⁺ T 細胞、 F o x p 3 ⁻ C D 4 ⁺ T 細胞、および T r e g について、免疫チェック

10

20

30

40

50

ポイント受容体の発現を評価した。P D - 1 (左側)、C T L A - 4 (中央)、およびT I M - 3 (右側)に関する代表的なヒストグラムを示す。

【発明を実施するための形態】

【0017】

詳細な説明

併用療法についてがん患者を選択する従来のアプローチは、組織学または分子分析に関するがんの評価に依拠する。本開示は、エンチノstattと第2の治療剤との併用療法について患者を選択するための予測および予後バイオマーカーとしての、がん患者から得られた生体試料中の非腫瘍性骨髄由来のサブレッサー細胞、例えば、C D 1 4 陽性かつH L A - D R - (1 o / 陰性)細胞のレベルに依拠する方法を提供する。

10

【0018】

一態様では、本開示は、患者から収集された末梢血液試料中で測定された、骨髄由来のサブレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比に基づき、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法であって、骨髄由来のサブレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比が、1 : 2 0 0 から 1 : 4 の間にある場合に、併用療法が投与される方法に関する。本明細書における別の態様では、患者から収集された末梢血液試料中で測定された、骨髄由来のサブレッサー細胞 - 第1の結合剤複合体と、末梢血液単核細胞 - 第2の結合剤複合体との比に基づき、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法であって、複合体が、骨髄由来のサブレッサー細胞および末梢血液単核細胞を第1のおよび2の結合物質とそれぞれ接触させることにより形成され、ならびに骨髄由来のサブレッサー細胞 - 第1の結合剤複合体と末梢血液単核細胞 - 第2の結合剤複合体との比が1 : 2 0 0 から 1 : 4 の間にある場合に、併用療法が投与される方法が提供される。別の態様では、患者から収集された末梢血液試料中で測定された、骨髄由来のサブレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比に基づき、患者のがんの診断および/または予測を提供する方法であって、骨髄由来のサブレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比が1 : 2 0 0 から 1 : 4 の間にある場合に、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法を投与することをさらに含む方法がさらに提供される。

20

【0019】

なお別の態様では、本明細書において、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法であって、がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、前記末梢血液試料中の、C D 1 4 陽性かつH L A - D R - (1 o / 陰性)細胞の数を測定することと、前記末梢血液試料中の、C D 1 4 陽性細胞の数を測定することと、C D 1 4 陽性かつH L A - D R - (1 o / 陰性)細胞とC D 1 4 陽性細胞との比が、1 : 1 0 0 から 9 9 : 1 の間にある場合に、併用療法を投与することとを含む方法が提供される。別の態様において、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法について患者を選択する方法であって、がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、前記末梢血液試料中の、C D 1 4 陽性かつH L A - D R - (1 o / 陰性)細胞の数を測定することと、前記末梢血液試料中の末梢血液単核細胞の数を測定することと、C D 1 4 陽性かつH L A - D R - (1 o / 陰性)細胞と末梢血液単核細胞との比が、1 : 2 0 0 から 1 : 1 の間にある場合に、併用療法を投与することとを含む方法が提供される。なお別の態様において、本明細書において、患者におけるがんについて予後を提供する方法であって、がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、前記末梢血液試料中の、C D 1 4 陽性かつH L A - D R - (1 o / 陰性)細胞の数を測定することと、前記末梢血液試料中の、C D 1 4 陽性細胞の数を測定することとを含み、C D 1 4 陽性かつH L A - D R - (1 o / 陰性)細胞とC D 1 4 陽性細胞との比が、1 : 1 0 0 から 9 9 : 1 の間にある場合に、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法を前記患者に投与することをさらに含む方法が提供される。別の態様において、本明細書において、患者におけるがんについて予後を提供する方法であって、がんと診断された前記患者から末梢血液試料を取得することと、前記末梢血液試料中の、C D 1 4 陽性かつH L A - D R - (1 o / 陰性)細胞の数を測定することと、前記末梢血液試料中の末梢血液単核細

30

40

50

胞の数を測定することとを含み、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と末梢血液単核細胞との比が、1:200から1:1の間にある場合に、エンチノスタッフと第2の治療剤とを含む併用療法を患者に投与することをさらに含む方法が提供される。

【0020】

一部の実施形態では、前記末梢血液試料が、抗凝固剤で処置される。一部の実施形態では、前記抗凝固剤が、EDTAまたはヘパリンである。一部の実施形態では、前記末梢血液試料中の、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の数を測定することが、フローサイトメトリーにより実施される。一部の実施形態では、前記末梢血液単核細胞の集団が、細胞表面マーカーにより同定される。一部の実施形態では、前記細胞表面マーカーが、CD3、CD14、CD19、CD56、およびHLA-DRのうちの少なくとも1つである。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞とCD14陽性細胞との比は、1:50から99:1の間にある。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞とCD14陽性細胞との比は、1:20から99:1の間にある。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞とCD14陽性細胞との比は、1:10から99:1の間にある。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と末梢血単核細胞との比は、1:5から99:1の間にある。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と末梢血単核細胞との比は、1:50から1:4の間にある。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と末梢血単核細胞との比は、1:20から1:4の間にある。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と末梢血単核細胞との比は、1:10から1:4の間にある。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と末梢血単核細胞との比は、1:5から1:4の間にある。

10

20

30

40

【0021】

一部の実施形態では、前記エンチノスタッフは、経口投与される。一部の実施形態では、前記エンチノスタッフは、最初に投与される。一部の実施形態では、前記エンチノスタッフは、毎週投与される。一部の実施形態では、前記エンチノスタッフは、2週間毎に投与される。一部の実施形態では、前記エンチノスタッフは、5mgの用量で投与される。一部の実施形態では、前記エンチノスタッフは、5mgの用量で毎週投与される。一部の実施形態では、前記エンチノスタッフは、5mgの用量で2週間毎に投与される。

【0022】

一部の実施形態では、前記第2の治療剤が、抗PD-1抗体である。一部の実施形態では、前記抗PD-1抗体が、ベンプロリズマブである。一部の実施形態では、前記抗PD-1抗体が、ニボルマブである。一部の実施形態では、前記がんが、肺がんである。一部の実施形態では、前記肺がんが、非小細胞性肺がん、扁平上皮癌、または大細胞癌である。一部の実施形態では、前記がんが、メラノーマである。一部の実施形態では、前記メラノーマが、転移性メラノーマである。一部の実施形態では、前記第2の治療剤が、抗PD-L1抗体である。一部の実施形態では、前記抗PD-L1抗体が、MPDL3280Aである。一部の実施形態では、前記第2の治療剤が、エキセメスタンである。一部の実施形態では、前記がんが、乳がんである。一部の実施形態では、前記第2の治療剤が、MPDL3280Aであり、前記乳がんが、三種陰性乳がんである。一部の実施形態では、前記第2の治療剤が、エキセメスタンであり、前記乳がんが、ホルモン受容体陽性乳がんである。一部の実施形態では、前記抗PD-1抗体または前記抗PD-L1抗体が、輸液により投与される。一部の実施形態では、前記エキセメスタンが、経口投与される。

【0023】

本明細書に記載されている開示を理解しやすくするために、いくつかの用語を以下に定義する。

【0024】

本明細書で使用する場合、「異常な細胞増殖」とは、正常細胞の異常増殖および異常細胞の増殖を含む、正常な調節機構と独立した細胞増殖（例えば、接触阻害の喪失）を意味

50

する。

【0025】

「新生物」とは、本明細書に記載されている場合、自律的増殖および体細胞変異により、正常な細胞とは区別される、異常な、未調節の、および無秩序な細胞の増殖である。腫瘍性細胞が増殖および分裂する際には、その遺伝子変異および増殖特性が子孫細胞に受け継がれる。新生物または腫瘍は、腫瘍性細胞の蓄積である。一部の実施形態では、新生物は、良性である場合もあれば、悪性である場合もある。

【0026】

「転移」とは、本明細書で使用する場合、リンパ管または血管を経由する腫瘍細胞の拡散を指す。また、転移は、漿膜腔 (serous cavity)、またはクモ膜下腔もしくは他の腔を通じて、直接広がることによる腫瘍細胞の移動を指す。転移プロセスを通じて、腫瘍細胞が身体の他の部位に移動すると、当初の出現部位から離れた領域に新生物がもたらされる。

10

【0027】

本明細書で議論される場合、「血管形成」が腫瘍形成および転移において顕著である。血管新生因子が、いくつかの固形腫瘍、例えば横紋筋肉腫、網膜芽細胞腫、ユーリング肉腫、神経芽細胞腫、および骨肉腫と関連することが判明した。腫瘍は、栄養分を提供し、細胞の老廃物を取り除く血液供給無くして増殖することはできない。血管形成が重要である腫瘍として、固形腫瘍、例えば腎細胞癌、肝細胞癌、および良性腫瘍、例えば聴神経腫瘍、および神経線維腫が挙げられる。血管形成は、血液由来の腫瘍、例えば白血病と関連している。血管形成は、白血病を起こす骨髄の異常ににおいて役割を果たすと考えられている。血管形成を防止すれば、がん性腫瘍の増殖や腫瘍の存在に起因して生じた被験体への損傷を止め得る。

20

【0028】

用語「被験体」とは、靈長類（例えば、ヒト）、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット、またはマウスを含むがこれらに限定されない動物を指す。用語「被験体」および「患者」は、例えば哺乳動物被験体、例えばヒト被験体と関連して、本明細書で交換可能に使用される。

【0029】

用語「処置する (treat)」、「処置すること (treating)」、および「処置 (treatment)」は、障害、疾患、もしくは状態；または障害、疾患、もしくは状態と関連した1つもしくは複数の症状の緩和または抑制；あるいは障害、疾患、または状態そのものの原因（複数可）の緩和または根絶を含むことを意味する。

30

【0030】

用語「治療有効量」とは、投与したとき、処置される障害、疾患、または状態の1つまたは複数の症状の発症を防止する、またはそのような症状をある程度緩和するのに十分である化合物の量を指す。また、用語「治療有効量」は、研究者、獣医師、医師、または臨床医によって求められる細胞、組織、システム、動物、またはヒトの生物学的または医学的応答を誘発するのに十分である化合物の量を指す。

40

【0031】

用語「薬学的に許容される担体」、「薬学的に許容される賦形剤」、「生理学的に許容される担体」、または「生理学的に許容される賦形剤」とは、薬学的に許容される物質、組成物、またはビヒクリル、例えば液体もしくは固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、溶媒、または被包材料を指す。各成分は、医薬製剤の他の成分との適合性の意味で、「薬学的に許容され」なければならない。また、過剰の毒性、刺激、アレルギー反応、免疫原性、または他の問題もしくは合併症を引き起こすことなく、ヒトおよび動物の組織または臓器との接触した使用に適し、合理的な利益／リスク比と釣り合わなければならない。Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第21版；Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005年；Handbook of Pharma

50

ceutical Excipients、第5版；Roweら編、The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association：2005年；およびHandbook of Pharmaceutical Additives、第3版；AshおよびAsh編、Gower Publishing Company：2007年；Pharmaceutical Preformulation and Formulation、Gibson編、CRC Press LLC：Boca Raton、FL、2004年を参照。

【0032】

用語「医薬組成物」とは、本明細書に開示の化合物と、他の化学成分、例えば希釈剤または担体との混合物を指す。医薬組成物は、生物への化合物の投与を促進する。化合物を投与する複数の技法が、経口、注射、エアゾール、非経口、および局所投与を含め、当技術分野に存在するが、これらに限定されない。また、医薬組成物は、化合物を、無機酸または有機酸、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸等と反応させることによって得ることができる。

【0033】

用語「10/陰性」とは、細胞上の細胞表面マーカーの発現について記載するために使用されるとき、未染色の対照細胞に対して、細胞上の細胞表面マーカーの発現の低いレベルから非存在のレベルに対応する。発現の低いレベルから非存在のレベルとは、未染色の対照細胞に対して、約1倍の増加、約2倍の増加、約3倍の増加、約4倍の増加、約5倍の増加、約6倍の増加、約7倍の増加、約8倍の増加、約9倍の増加、約10倍の増加であり得、約11倍の増加、約12倍の増加、約13倍の増加、約14倍の増加、約15倍の増加、約16倍の増加、約17倍の増加、約18倍の増加、約19倍の増加、または約20倍の増加であり得る。発現の低いレベルから非存在のレベルとは、約1倍の増加から約2倍の増加、約2倍の増加から約3倍の増加、約3倍の増加から約4倍の増加、約4倍の増加から約5倍の増加、約5倍の増加から約6倍の増加、約6倍の増加から約7倍の増加、約7倍の増加から約8倍の増加、約8倍の増加から約9倍の増加、約9倍の増加から約10倍の増加、約10倍の増加から約11倍の増加、約11倍の増加から約12倍の増加、約12倍の増加から約13倍の増加、約13倍の増加から約14倍の増加、約14倍の増加から約15倍の増加、約15倍の増加から約16倍の増加、約16倍の増加から約17倍の増加、約17倍の増加から約18倍の増加、約18倍の増加から約19倍の増加、または約19倍の増加から約20倍の増加であり得る。

【0034】

がん、腫瘍、腫瘍関連障害、および腫瘍性疾患の状態は重篤であり、多くの場合、生命を脅かす状態である。これらの疾患および障害は、急速増殖性の細胞増殖により特徴付けられ、その処置に有効である治療剤の同定に向けられた研究努力の対象としてなおも存続している。そのような薬剤は、患者の生存期間を延ばし、新生物と関連した急速増殖性の細胞増殖を阻害するか、または新生物の退縮をもたらす。

【0035】

H D A C 阻害剤は、クロマチンリモデリングおよび遺伝子発現調節を通じて、血液学的悪性疾患および固形悪性疾患における分化およびアポトーシスを促進する新たなクラスの治療剤である。いくつかのH D A C 阻害剤が同定されており、これには、ベンズアミド（エンチノstatt）、短鎖脂肪酸（すなわち、フェニル酪酸ナトリウム）；ヒドロキサム酸（すなわち、スペロイルアニリドヒドロキサミン酸およびトリコスタチン（t h r i c h o s t a t i n ）A）；2-アミノ-8-オキソ-9, 10-エポキシ-デカノイル部分を含有する環状テトラペプチド（すなわち、トラボキシンA）、および2-アミノ-8-オキソ-9, 10-エポキシ-デカノイル部分を有さない環状ペプチド（すなわち、F K 2 2 8 ）が含まれる。エンチノstattは、複数種の固形腫瘍および血液のがんにおいて臨床試験が実施されたベンズアミド H D A C 阻害剤である。エンチノstattは、急速

10

20

30

40

50

に吸収され、約100時間の半減期を有し、重要なこととして、ヒストンアセチル化の変化が、エンチノstatt投与後の数週間にわたり持続する。

【0036】

いずれの理論にも拘束されるものではないが、骨髓由来のサプレッサー細胞は、エフェクター抗腫瘍T細胞活性を遮断し、免疫回避を促進するものと考えられている。骨髓由来のサプレッサー細胞は、乳がん患者で増加し、転移性の疾患を有する患者において、最高レベルの循環性骨髓由来のサプレッサー細胞が存在する。転移性乳がんの状況において、対症的全身治療後の末梢血骨髓由来のサプレッサー細胞の平均レベルよりも高い患者ほど、全生存期間は短かった。乳がんのアジュバント化学療法の状況において、循環性骨髓由来のサプレッサー細胞のレベルが低下すると、臨床的有効性の向上と相關することが明らかにされている。乳がんのマウスモデルにおける機能試験により、骨髓由来のサプレッサー細胞が枯渇または不活性化すれば、抗腫瘍性免疫応答の発生により、腫瘍増殖および進行が抑えられることが見出された。

10

【0037】

いずれの理論にも拘束されるものではないが、骨髓由来のサプレッサー細胞が枯渇すると腫瘍に対する免疫応答が生じることにより、がんを処置するように作用し得るものと考えられる。

骨髓由来のサプレッサー細胞

【0038】

骨髓由来のサプレッサー細胞は、先天免疫および適応免疫を阻害する未成熟骨髓細胞の不均質な集団である。骨髓由来のサプレッサー細胞は、アルギニンの枯渇、反応性窒素および酸素種の生成、ならびに阻害性サイトカインの分泌を含む機構を通じて、先天免疫および適応免疫を阻害し得る。

20

【0039】

骨髓由来のサプレッサー細胞は、細胞表面マーカーCD33およびCD11bを一般的に発現し、ならびにHLA-DRの発現は低下している(HLA-DR 10/陰性)。骨髓由来のサプレッサー細胞の非限定的な例として、単球系骨髓由来のサプレッサー細胞(M-MDSC)および多形核骨髓由来のサプレッサー細胞(PMN-MDSC)が挙げられる。M-MDSCは、細胞表面マーカーCD14を発現し、HLA-DR 10/陰性であり、ヒトでは細胞表面マーカーCD15を発現しない。PMN-MDSCは、細胞表面マーカーCD14を発現しないが、ヒトでは細胞表面マーカーCD15を発現する。

30

【0040】

骨髓由来のサプレッサー細胞は、免疫賦活細胞、例えばTリンパ球、ナチュラルキラー(NK)細胞、および樹状細胞(DC)の阻害を引き起こす。反対に、骨髓由来のサプレッサー細胞は、免疫サプレッサー細胞、例えば T_h 2 Tリンパ球、T調節細胞(T_{reg})、および腫瘍関連のマクロファージ(TAM)に対して刺激性であり得る。骨髓由来のサプレッサー細胞は、MDSCの増殖を促進するサイトカイン、例えばIL-6も分泌し得る。骨髓由来のサプレッサー細胞が増殖すると、必須アミノ酸、例えばTリンパ球の生存に必要なアルギニンおよびシステインの封鎖を引き起こす可能性がある。骨髓由来のサプレッサー細胞は、Tリンパ球に対して強力な毒性を有する活性酸素種、例えば一酸化窒素の生成を通じて免疫を阻害する。

40

【0041】

ヒストンデアセチラーゼ

HDACは、少なくとも18種類の酵素を含むファミリーであり、3クラスにグループ化される(クラスI、II、およびIII)。クラスIのHdacには、Hdac1、2、3、および8が含まれるが、これらに限定されない。クラスIのHdacは核に見出され得るが、転写制御リプレッサーと関係すると考えられている。クラスIIのHdacには、Hdac4、5、6、7、および9が非限定的に含まれ、細胞質および核の両方に見出され得る。クラスIIIのHdacは、NAD依存性タンパク質であると考えられており、サーチュインファミリーのタンパク質のメンバーが含まれるが、これらに限定されな

50

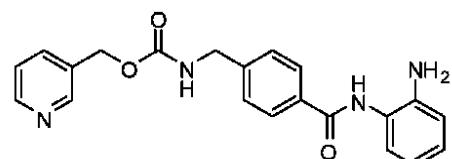
い。サーチュインタンパク質の非限定的な事例として、SIRT1～7が挙げられる。本明細書で使用する場合、用語「選択的HDAC」とは、HDACの3クラスすべてとは相互作用しないHDAC阻害剤を指す。

【0042】

HDAC阻害剤

HDAC阻害剤は、汎HDAC阻害剤と選択的HDAC阻害剤とに、おおむね分類され得る。公知のHDAC阻害剤には多くの構造的多様性が認められるものの、共通した特徴も共有する：酵素活性部位と相互作用する部分、および活性部位に至るチャネル内側に位置する側鎖。これは、ヒドロキサメート基が活性部位と相互作用すると考えられているヒドロキサメート、例えばSAHAと共に認められ得る。デプシペプチドの場合、ジスルフィド結合が細胞内で還元されると、4-炭素アルケニル鎖に結合した遊離型チオール基（活性部位と相互作用する）が作り出されると考えられている。HDAC阻害剤間の差異は、活性部位に対して反対側のチャネル端部にあるHDACチャネルの縁と相互作用するという点にある。HDAC阻害剤とチャネルの縁との間のこの相互作用こそが、SAHA等の汎HDAC阻害剤とデプシペプチド等の選択的HDAC阻害剤との間で、HDACの選択性について認められた一部の差異を、少なくともある程度説明すると考えられている。特に好ましいHDAC阻害剤は、エンチノstattである。エンチノstattは、化学名N-(2-アミノフェニル)-4-[N-(ピリジン-3-イル)メトキシカルボニルアミノ-メチル]-ベンズアミド、および以下に示す化学構造を有する。

【化1】



エンチノstattの化学構造

【0043】

プログラム細胞死-1(PD-1)

PD-1は、受容体の免疫グロブリンスーパーファミリーに属するT細胞調節因子のCD28ファミリーのメンバーである細胞表面受容体である。ヒトPD-1遺伝子は、染色体2q37に位置し、また完全長PD-1 cDNAは、288個のアミノ酸残基を有するタンパク質をコードし、マウスPD-1と60%の相同性を有する。同遺伝子は、胸腺の発生中にCD4+CD8+（ダブルネガティブ）胸腺細胞上に存在し、長期抗原曝露後に、TおよびB細胞等の成熟した造血細胞、NK T細胞、および単球における活性化の際に発現する。

【0044】

いかなる理論にも縛られるつもりはないが、リガンドPD-L1のPD-1への結合は、エフェクター抗腫瘍T細胞活性を下方調節し、免疫回避を容易にすることが予期される。これは、PD-1/PD-L1発現と、胃癌、卵巣癌、肺癌および腎臓癌などの数種の腫瘍タイプにおける予後不良との関連の発見によって裏付けられている。PD-1は、黒色腫において腫瘍浸潤性Tリンパ球により優勢に発現されることが報告されている。

【0045】

PD-1-特異的抗体によりPD-1を遮断するin vitro試験では、IFN- γ 分泌性抗原特異的細胞の頻度の増加を含む、メラノーマ特異抗原に対する細胞傷害性T細胞応答が増強することが示された。

【0046】

いずれの理論にも拘束されるものではないが、PD-1を標的とすれば、がんに対する有効な治療戦略として作用し得るものと考えられる。

【0047】

10

20

30

40

50

P D - 1 を臨床的に標的とする主たる方法は、 P D - 1 または P D - L 1 の機能を阻害する遺伝子工学的に作出されたモノクロナール抗体の開発によるものであった。

【 0 0 4 8 】

P D - L 1 はまた、 B 7 - 1 (C D 8 0) に結合することも示されており、これも T 細胞増殖およびサイトカイン産生を抑制する相互作用であるが、がんにおける P D - L 1 : P D - 1 および P D - L 1 : B 7 - 1 経路の正確な相対的寄与率は不明確なままである。現在開発中の P D - 1 標的化薬剤は、両方の経路を阻害する。しかしながら、 P D - 1 および B 7 - 1 の結合部位は隣接しているがオーバーラップしていないため、一方または他方を特異的に標的化する薬剤が開発される可能性がある。

【 0 0 4 9 】

がん細胞は、それらの表面上で高い発現レベルの P D - L 1 を駆動させて、腫瘍微小環境に浸潤するあらゆる T 細胞上で阻害性 P D - 1 受容体を活性化させ、効果的にそれらの細胞をスイッチオフすることができる。実際に、 P D - L 1 発現レベルの上方調節が、多くの様々ながんタイプで実証されており（例えば、黒色腫 [4 0 % ~ 1 0 0 %] 、 N S C L C [3 5 % ~ 9 5 %] 、および多発性骨髄腫 [9 3 %] ）、高レベルの P D - L 1 発現は、不良な臨床転帰との関連が示されている。さらに、腫瘍浸潤 T 細胞は、正常な組織に浸潤する T 細胞より有意に高いレベルの P D - 1 を発現することが示されている。腫瘍微小環境は、インターフェロン - ガンマ (I F N) などの炎症促進性サイトカインを分泌して、それらが腫瘍で発現された高レベルの P D - L 1 に確實に応答できるように腫瘍浸潤 T 細胞上で P D - 1 の発現を上方調節する可能性があると考えられる。

10

20

30

40

【 0 0 5 0 】

ペンプロリズマブ

ペンプロリズマブは、安定化するために操作された F c 領域を有するヒト I g G 4 免疫グロブリン分子上にグラフト化された高親和性マウス抗 P D - 1 由来の可変領域からなる、ヒト化モノクロナール I g G 4 抗 P D - 1 抗体である。前臨床抗腫瘍活性が、複数の腫瘍型の動物モデルにおいて実証されている。ヒト初回、第 I 相用量漸増試験を、進行した難治性の悪性腫瘍を有する患者において、用量レベル 1 、 3 、および 1 0 m g / k g において、初回、および 4 週間後、次に 2 週間毎に静脈内投与して実施した。認められた最大毒性は、グレード 2 の搔痒であり、薬物関連のグレード 3 またはそれよりも高い有害事象 (A E) は認められなかった。したがって、最大耐用量には到達しなかった。半減期は、 1 3 . 6 ~ 2 1 . 7 日であり、用量との関連性は明確ではなかった。患者 4 例において多少の腫瘍退化が生じた。次に、この試験を、非ランダム化コホートにおいて、 2 週間毎に 1 0 m g / k g または 3 週間毎に 2 もしくは 1 0 m g / k g でペンプロリズマブを受ける患者について拡大した；合計 1 3 5 例のメラノーマを有する患者が参加した。登録には、事前のイピリムマブを受けた患者 4 8 例が含まれたが、免疫関連の重度有害事象 (i r A E) を経験することはなかった。患者の 7 9 % は、いくつかの A E を有したが、皮膚発疹または搔痒、疲労、下痢、腹痛、および肝機能障害を含む、重度（グレード 3 または 4 ）の薬物関連の毒性を有した患者は 1 3 % にすぎなかった。最高頻度 (2 3 %) の重度毒性は、最高用量 (2 週間毎に 1 0 m g / k g) を受けた患者に認められたのに対して、用量がそれほど高くないコホートでは < 1 0 % であった。自己免疫的と思われる A E として、線維性肺炎、腎臓損傷、肝炎、下痢、甲状腺機能低下症、甲状腺機能亢進症、および副腎機能不全の孤立した事例が含まれた。免疫関連の応答基準に基づく奏効率 (O R R) は、 3 8 % (1 1 7 例中 4 4 例) であり、さらなる患者 8 例が未確認の応答を経験した。合計 7 7 % が、 2 4 週間にわたり疾患が安定した患者 8 例を含め、ある程度の腫瘍退縮を認めた。大部分の応答は、 1 2 週目の初回放射線学的評価時までに立証された。無増悪生存期間中央値は、 7 ヶ月まで伸びた。応答性腫瘍の生検は、 C D 8 + T 細胞による密な浸潤を示した。事前にイピリムマブに曝露しても、有効性または毒性転帰に明らかな影響は有さないと思われた。

【 0 0 5 1 】

M P D L 3 2 8 0 A

50

M P D L 3 2 8 0 A は、抗体依存性細胞傷害（A D C C）を最小化することによって効能および安全性を最適化するように設計された、操作された結晶化可能断片（F c）ドメインを含有するヒト抗P D - L 1 m A b である。いかなる具体的な理論にも縛られるつもりはないが、この構造は、有効な抗腫瘍免疫応答に必要な活性化T細胞のA D C C が媒介する枯渇を最小化しながら、P D - 1 / P D - L 1 相互作用の阻害を可能にすると理解されている。

【0 0 5 2】

M P D L 3 2 8 0 A は、局所進行性または転移性の固形腫瘍を有する患者での第I相試験において評価されている。これまで合計175人の患者が採用されてきた。抗体を、単一の薬剤として、127日の期間中央値において 1、3、10、15、および 20 mg / kg の漸増用量で投与した。2つの拡大コホート；扁平上皮または非扁平N S C L C を有する85人の患者のコホート（そのうち53人が効能について評価可能であった）および45人の転移性黒色腫患者のコホート（そのうち35人が効能について評価可能であった）の結果も報告されている。両方のコホートにおいて、3週間毎に1年まで、1、10、15、および 25 mg / kg のM P D L 3 2 8 0 A の用量を投与した。M P D L 3 2 8 0 A は、持続的応答を実証し、十分に忍容された；有効性のデータを表1にまとめた。
NSCLC コホート中の85人の患者のうち、55%が少なくとも3回の先行療法で強い強度で前処置を受けており、81%が喫煙者または元喫煙者であり、19%が喫煙未経験者であった。24週のPFS率は、扁平上皮細胞NSCLCでは44%、非扁平上皮細胞NSCLCでは46%であった。

10

20

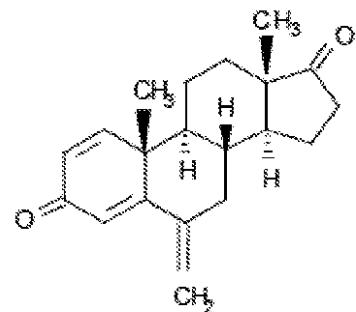
30

【0 0 5 3】

エキセメスタン

エキセメスタンは、乳がんを処置するために使用される薬物である。エキセメスタンは、アロマターゼ阻害剤として知られている薬物のクラスのメンバーである。一部の乳がんは、増殖するためにホルモンを必要とする。ホルモン受容体陽性乳がんとして知られているそれらのがんは、エストロゲン受容体（E R）またはプロゲステロン受容体（P R）を発現し、したがってE R陽性またはP R陽性乳がんと呼ばれる。エストロゲンの主要供給源は、閉経前の女性では卵巣であるが、一方、閉経後の女性の場合、身体のエストロゲンのほとんどは、末梢組織、例えば乳房脂肪組織および脳内で、アロマターゼ酵素がアンドロゲンをエストロゲンに変換することにより産生される。エキセメスタンは、閉経後の女性において、手術または放射線に加えてE R陽性乳がんで使用されるアロマターゼ阻害剤である。エキセメスタンは、不可逆性の経口ステロイド系アロマターゼ不活化剤であり、天然基質のアンドロステンジオンと構造的に関連する。エキセメスタンは、アロマターゼ酵素に対する偽の基質として作用し、処理を受けてアロマターゼ活性部位に不可逆的に結合する中間体となり、自殺的阻害によりアロマターゼを遮断する。

【化 2】



40

エキセメスタンの化学構造

【0 0 5 4】

エキセメスタンは、タモキシフェンを2～3年受けた初期のE R陽性乳がんを有する閉経後の女性のアジュバント処置のために適応される。被験体は、合計5年連続のアジュバ

50

ントホルモン療法を完了するためにエキセメスタンに切替える。また、エキセメスタンは、疾患がタモキシフェン療法後に進行した閉経後の女性において、進行した乳がんの処置にも適応される。1日当たり25mgで、2~3年間行われるアジュvant療法の経口エキセメスタンは、ER陽性または受容体の状態が不明の初期段階乳がんを有する閉経後の女性の処置において、5年連続のアジュvantタモキシフェンよりも一般的に有効であった。また、1日当たりの25mgのエキセメスタンは、閉経後の女性における初期段階乳がんの一次アジュvant療法においても有効である。

【0055】

肺がん

肺がんは、米国内および世界全体のいずれにおいても、女性および男性の主たるがん死亡原因である。肺がんは、女性の主たるがん死亡原因として、乳がんを凌駕する。2014年の米国内では、158,040名が肺がんによって死亡すると予測され、結腸および直腸のがん、乳がん、ならびに前立腺がんによる死亡数の合計を上回る。最初期段階において診断された肺がんの生存率は高めで、およそ49%が5年またはそれより長く生存するものの、身体の他の部位に広がった肺がんと診断された者では、約2%が診断から5年後に生存するに過ぎない。

10

【0056】

正常細胞が制御無しにその成長および増殖を引き起こす変換を受けたときに、がんが生ずる。細胞は、それが発生した周辺組織と異なる塊または腫瘍を形成する。腫瘍は、健常細胞から酸素、栄養分、および空間を奪うので、かつ浸潤し、正常組織が機能する能力を破綻または低下させて危険である。

20

【0057】

大半の肺腫瘍は悪性である。これは、腫瘍がその周辺の健康な組織に浸潤し、それを破壊し、身体全体を通じて広がる可能性があることを意味する。腫瘍は、近隣のリンパ節に、または血流を通じて他の臓器に広がる可能性がある。このプロセスは転移と呼ばれる。肺がんが転移したとき、肺内の腫瘍は原発腫瘍と呼ばれ、身体の他の部分の腫瘍は、続発性腫瘍または転移性腫瘍と呼ばれる。

20

【0058】

一部の肺内の腫瘍は、身体内の別の場所にあるがんからの転移である。肺は、転移の一般的な部位である。この場合には、がんは、肺がんとはみなされない。例えば、前立腺がんが血流により肺に広がった場合には、それは肺内の転移性前立腺がん（続発性のがん）であり、肺がんとは呼ばれない。

30

【0059】

肺がんは、異なる種類の腫瘍の群を含む。肺がんは、全症例の約95%を占める2つの主要な群に通常分割される。群への分割は、がんを構成する細胞の種類に基づく。2つの主要な種類の肺がんが、顕微鏡下で観察したときの腫瘍の細胞サイズにより特徴付けられる。それらは、小細胞肺がん（SCLC）および非小細胞肺がん（NSCLC）と呼ばれる。NSCLCには、いくつかの腫瘍のサブタイプが含まれる。SCLCはあまり一般的ではないが、より急速に増殖し、NSCLCよりも転移する可能性が高い。多くの場合、SCLCは、がんと診断されたときに身体の他の部分にすでに広がっている。約5%の肺がんが、カルチノイド腫瘍、リンパ腫等を含む稀な細胞型を有する。本明細書で使用する場合、用語「肺がん」には、SCLC、NSCLC、カルチノイド腫瘍、リンパ腫、およびその様々なサブタイプが含まれるが、これらに限定されない。

40

【0060】

骨髄由来のサプレッサー細胞は、肺がんにおいていくつかの重要な機能を有する。前臨床的には、マウスモデルにより、骨髄由来のサプレッサー細胞と肺腫瘍は、疾患の発端および進行の過程で共進化することが実証されている。臨床的NSCLCでは、循環性骨髄由来のサプレッサー細胞の数は、全生存と逆に相関することが明らかにされている。M-MDSCは、活性酸素種を生成し、T細胞の増殖を阻害し、インターフェロン-（IFN-）を分泌することが明らかにされている。循環性骨髄由来のサプレッサー細胞のレ

50

ベルおよびその活性の上昇は、治療応答と逆の相関を示し、NSCLCの再発と正に相関する。

【0061】

非小細胞肺がん

NSCLCは、小細胞癌（燕麦細胞癌）型に該当しない肺のがんである。用語「非小細胞肺がん」は、様々な種類の気管支原性癌（気管支の内層に起因する癌）に適用される。特別な種類のNSCLCの例として、腺癌、扁平上皮癌、および大細胞がん（すなわち、大細胞未分化癌）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0062】

腺癌は、臓器の内層または内面に発現するがんである。腺癌は、最も一般的な種類の肺がんであり、肺がんの全症例の30%～40%を占める。腺癌のサブタイプは、気管支肺胞細胞癌と呼ばれ、胸部X線では肺炎様の外観を呈する。

【0063】

扁平上皮癌は、扁平上皮細胞において始まるがんである。扁平上皮細胞（squamous cells）は、顕微鏡下では魚鱗のように見える、薄く扁平な細胞である。扁平上皮細胞は、身体の中空臓器の内層である皮膚の表面、および気道および消化管の通路を形成する組織内に見出される。扁平上皮癌は、これらの組織のいずれにも発生しえる。扁平上皮癌は、2番目に最も一般的な種類の肺がんであり、全症例の約30%を占める。

【0064】

大細胞癌は、扁平上皮または腺の成熟のエビデンスを示さない。したがって、これらの腫瘍では、多くの場合、すべての他の可能性が排除される場合、既定により診断が下される。これらの腫瘍は、生検前には、その診断を示唆するようなあらゆる診断上の特徴を欠く。これらは、急速に増殖し、早期に転移する傾向を有し、喫煙と強く関連する。大細胞腫瘍は、通常、大型で、かさ高く、境界明瞭な、灰色がかかったピンク色の塊であり、広範な出血および壊死を伴う。これらは、一般的に中心壊死を有するが、稀に空洞形成する。これらは、中央から末梢の肺領域中に存在する傾向を有する。これらは、区域気管支または亜区域気管支を含めて局所的に広がる場合もある。大細胞癌の変形体として、巨細胞癌がある。このサブタイプは特に侵襲的であり、予後も極めて不良である。これらの腫瘍は、大型の末梢性の塊として一般的に存在し、局所的な壊死性成分を有する。これらの腫瘍は、直接広がらない限り、太い気道とは関係しない。大細胞がんは、肺がんの全症例の10%～20%を占める。

【0065】

メラノーマ

メラノーマは、メラニン色素を作製する細胞であり、神経堤に由来するメラニン形成細胞の悪性腫瘍である。大半のメラノーマは皮膚に発生するが、粘膜表面またはぶどう膜を含む、神経堤細胞が移動する他の部位にも生ずる可能性がある。ぶどう膜メラノーマは、発生数、予後因子、分子的特徴、および処置において、皮膚のメラノーマとは顕著に異なる。

【0066】

2014年の米国内では、9,710名がメラノーマにより死亡すると予測され、新規症例数は76,100例に登ると見積もられた。皮膚がんは、米国内で診断が下された最も一般的な悪性疾患であり、毎年、2百万人において3.5百万個のがんが診断されている。メラノーマは、皮膚がんのうち5%未満を占めるに過ぎないが、最も多くの死亡を引き起こす。発生数は、過去40年間にわたり増加している。高齢の男性が最も高いリスクに晒されている；ただし、メラノーマが25～29歳の若年成人における最も一般的ながんであり、15～29歳の若年者における2番目に最も一般的ながんである。眼のメラノーマが、最も一般的な眼のがんであり、毎年、およそ2,000症例が診断を下される。

【0067】

メラノーマは、主として成人に生ずるが、症例の50%超が、皮膚の見かけ上正常な領域に発生する。メラノーマは粘膜表面やぶどう膜を含む、あらゆる場所に生ずる可能性が

10

20

30

40

50

あるが、女性では、メラノーマは、四肢により一般的に生じ、また男性では、体幹または頭頸部上に最も一般的に生ずる。

【0068】

予後は、原発性および転移性の腫瘍の特徴により影響を受ける。最も重要な予後因子として、メラノーマの厚さまたは浸潤レベル、1ミリメーター当たりの有糸分裂として定義された分裂指数、原発部位における潰瘍形成または出血、マクロ転移およびミクロ転移の特質を備えた関係する局部リンパ節の数、全身転移、部位 - 非内臓 対 肺 対 他のすべての内臓部位、血清乳酸脱水素酵素レベルの上昇が挙げられるが、これらに限定されない。いずれの理論にも拘束されるものではないが、腫瘍浸潤リンパ球の存在は、潜在的な予後因子であり得ると考えられる。

10

【0069】

骨髄由来のサプレッサー細胞は、メラノーマにおいていくつかの重要な臨床的相関を有することが明らかにされている。臨床では、循環性M-MDSCおよびPMN-MDSCのレベルは、悪性メラノーマにおける疾病負荷と正に相関する。後期段階メラノーマ（段階3～4）を有する患者は、より高レベルの循環性M-MDSCを有する。M-MDSCの循環レベルは、進行したメラノーマにおける全生存と逆に相関する。M-MDSCの循環レベルは、進行したメラノーマを有する患者における活性化抗原特異的Tリンパ球のレベル低下と逆に相関する。M-MDSCおよびPMN-MDSCの活性化の低下は、イピリムマブ(ipilimumab)で処置されたメラノーマ患者における治療応答の改善と正に相関する。イピリムマブ処置は、循環性PMN-MDSCのレベルを低下させることも示されている。

20

乳がん

【0070】

乳がんは、乳房組織から発症するがんである。乳がんの兆候として、乳房内のしこり、乳房形状の変化、皮膚の陥凹形成、乳首からの液漏出、または皮膚の鱗状の紅斑を挙げることができる。疾患が遠隔転移した患者において、骨痛、リンパ節腫脹、呼吸困難、または黄疸を認める場合がある。乳がんの転帰は、癌型、疾患の範囲、および被験体の年齢に応じて変化する。世界的には、乳がんは、女性におけるがんの主要タイプであり、全症例の25%を占める。2012年には、1億6800万件の症例、および522,000件の死亡が生じた。先進国でより一般的であり、男性よりも女性において100倍超より一般的である。乳がんは、いくつかの評定システムにより分類される。これらのシステムのそれぞれは、予後を左右する可能性があり、処置にも影響を及ぼし得る。乳がんは、通常、その組織学的外観により主に分類される。ほとんどの乳がんは、腺管または小葉の内壁を覆う上皮に由来し、これらのがんは、腺管癌または小葉癌として分類される。非浸潤性の癌腫は、低グレードのがん性または前がん状態の細胞が、特定の組織コンパートメント、例えば乳腺管内で、周辺組織への浸潤を伴わずに増殖することである。対照的に、浸潤癌は、最初の組織コンパートメントにそれ自体を限局させない。

30

【0071】

TNMシステムを使用する乳がんのステージ分類は、腫瘍(T)のサイズ、腫瘍が隣接したリンパ節(N)まで広がっているかどうか、および腫瘍が身体のより遠隔部位に転移(M)しているかどうかに基づく。より大きなサイズ、節浸潤、および転移は、より大きなステージ番号およびより不良な予後を有する。主たるステージは、ステージ0、ステージ1～3、およびステージ4である。ステージ0は、前がんまたはマーカー状態、すなわち非浸潤性腺管癌(DCIS)または非浸潤性小葉癌(LCIS)である。ステージ1～3は、乳房または局部リンパ節内に留まる。ステージ4は、予後があまり好ましくない転移がんである。

40

【0072】

乳がん細胞は、その表面上ならびにその細胞質および核内に受容体を有する。化学的メッセンジャー、例えばホルモンは、受容体に結合するが、これは細胞において変化を引き起こす。乳がん細胞は、3つの重要な受容体：エストロゲン受容体(ER)、プログステ

50

ロン受容体（P R）、およびH E R 2 を有する場合と、有さない場合がある。これより、乳がんは、ホルモン受容体陽性乳がんまたはE R - / P R 陽性乳がん、H E R 2 陽性乳がん、およびE R 、P R 、およびH E R 2 について陰性である三種陰性乳がんに分割される。

【 0 0 7 3 】

骨髓由来のサプレッサー細胞は、乳がんにおいていくつかの重要な臨床的相関を有することが示されている。乳がんの前臨床モデルでは、骨髓由来のサプレッサー細胞のレベルは、腫瘍サイズと正の相関し、T 細胞と逆に相関する。臨床では、循環性骨髓由来のサプレッサー細胞のベースラインレベルは、転移性乳がんにおける疾病負荷、転移拡散、および生存率の低下と相関する。循環性骨髓由来のサプレッサー細胞のベースラインレベルは、H E R 2 陰性乳がんにおけるアジュバント化学療法に対する応答と相関することが示されており、レベルの増加は化学療法に対するより不良な応答を示す。

ホルモン受容体陽性乳がん

【 0 0 7 4 】

ホルモン、例えばエストロゲンおよびプロゲステロンは、ホルモン受容体陽性であるがんの増殖を促進する。乳がん3例のうち約2例は、ホルモンのエストロゲン（E R 陽性乳がん）またはプロゲステロン（P R 陽性乳がん）に対する受容体を含有するので、ホルモン受容体陽性である。これらの乳がんは、増殖に関してホルモンに依存するので、療法は、乳がん細胞のエストロゲンレベルを低下させるか、またはエストロゲン活性を停止させるように設計してきた。

【 0 0 7 5 】

エストロゲン活性を停止させる療法の非限定的な例として、タモキシフェン、トレミフェン、およびフルベストラントが挙げられる。タモキシフェンは、エストロゲンが乳がん細胞内でエストロゲン受容体に結合するのを遮断する。タモキシフェンは、乳房細胞内で抗エストロゲンのように作用するが、子宮および骨等のその他の組織内ではエストロゲンのように機能する。タモキシフェンは、いくつかの組織内ではエストロゲンのように作用するが、別の組織内では抗エストロゲンのように作用するので、選択的エストロゲン受容体モジュレーター（S E R M ）と呼ばれる。トレミフェンは、転移性乳がんの処置について承認されている別のS E R M である。フルベストラントは、エストロゲン受容体を最初に遮断し、その分解を引き起こすきっかけとなる薬物である。フルベストラントは、身体全体を通じて抗エストロゲンのように作用するので、S E R M ではない。その他のホルモン療法後、例えば、タモキシフェンが効かなくなった後に、フルベストラントが、転移性乳がんを処置するために使用される。

【 0 0 7 6 】

アロマターゼ阻害剤（A I ）は、閉経後の女性において、エストロゲン産生を遮断するように機能する。アロマターゼ阻害剤は、脂肪組織および脳で生成したアンドロゲンを変換するアロマターゼを遮断することにより作動する。アロマターゼ阻害剤の非限定的な例として、レトロゾール、アナストロゾール、およびエキセメスタンが挙げられる。

【 0 0 7 7 】

三種陰性乳がん

三種陰性乳がんは、エストロゲン受容体（E R ）、プロゲステロン受容体（P R ）、またはH E R - 2 遺伝子を発現しない腫瘍によって特徴付けられ、これらのがんは内分泌療法または他の利用可能な標的化薬剤に応答しないことから、重要な臨床的課題の1つである。三種陰性乳がんにおける転移可能性は、他の乳がんサブタイプの転移可能性に類似しているが、これらの腫瘍は、より短い再発および死亡までの期間中央値を伴う。したがって、1つの重要な目標は、特定の薬剤に対して差次的な応答性を有するサブタイプの異なる処置アプローチに関して、三種陰性疾患有する患者の高いおよび低いリスクのサブセットを確実に選択するための予後因子およびマーカーを同定することである。しかしながら、信頼できる予後マーカーは見つけにくく、マーカーの有用性は一貫性がない。例えば、上皮増殖因子受容体（E G F R ）が研究されているが、予後に関する標準的アッセイま

10

20

30

40

50

たは E G F R 発現レベルのカットオフについて未だ一致が見られない。同様に、三種陰性のステータスは、時には基底様乳がんの代用として使用されるため、特異的な基底試験マーカーが調査されている。実際に、E R / P R および H E R - 2 陰性を使用して基底様乳がんを有する患者を集めるように設計された試験は、三種陰性集団に近いものしか提供できず、時には C K 5 / 6 、 E G F R ステータス等のようなより特異的なインジケーターを使用して再分析されるが、それでも不一致に見舞われる。

【 0 0 7 8 】

化学療法が三種陰性乳がん処置の頼みの綱であり続いているが、たとえ顕著な臨床上の進歩がなされたとしても、なお数年以内に重要な制限を克服する必要がある。現在の三種陰性疾患の処置戦略としては、アントラサイクリン、タキサン、イキサベピロン、白金剤、および生物学的薬剤が挙げられる。つい最近になって、三種陰性乳がんにおける治療メカニズムとして E G F R 阻害が提唱されているが、ここでも結果は一貫していない。また、ポリ (A D P - リボース) ポリメラーゼおよびアンドロゲン受容体を標的化する薬剤もこれらの患者またはそれらのサブセットにおいて提唱されており、進行中の試験から、三種陰性疾患におけるこれらの薬剤の価値に関して確定的な指針がもたらされると予想される。三種陰性乳がんは、明らかに、E R および H E R - 2 発現の両方の観点から別個の臨床サブタイプであるが、さらなる下位分類が必要である。今のところ、三種陰性乳がんの決定的な弱点を標的化する、明確な、証明済みの有効な単一の薬剤はない。

10

【 0 0 7 9 】

三種陰性乳がんの様々なサブタイプとしては、基底様 T N B C (基底様 1 および 2 (B L - 1 、 B L - 2) 、免疫調節 (I M)) および間葉系幹細胞様三種陰性乳がん (M S L) 、および管腔アンドロゲン受容体 (L A R) サブタイプが挙げられる。

20

【 0 0 8 0 】

P D - L 1 は、腎細胞癌、膵臓がん、卵巣がん、胃がん、食道がん、および肝細胞癌などの多くのがんで発現される。調査によれば、50% (乳がん研究で評価した 44 種の腫瘍のうち 22 種) で P D - L 1 の発現が確認された。15 種 (34%) において、発現は腫瘍上皮に限定されたが、それに対して 18 種 (41%) において腫瘍浸潤リンパ球で確認された。さらに、P D - L 1 の腫瘍内発現は、高い組織学的グレードおよび陰性ホルモン受容体のステータスに関連することが見出された。別の研究でも、以前の研究と一致して、T N B C 腫瘍のおよそ 20% が P D - L 1 を発現することがあった。これらの T N B C 腫瘍の大多数 (95%) がグレード 3 であった。

30

【 0 0 8 1 】

いかなる具体的な理論にも縛られるつもりはないが、腫瘍が P D - L 1 発現を駆動させることができる可能性のあるメカニズムは、腫瘍形成性のシグナル伝達経路によるという仮説が立てられる。これは、P T E N 損失が P D - L 1 発現増加に関連することが観察された膠芽腫で最初に実証され、P I 3 K 経路の関与が示唆される。P T E N 損失は T N B C で一般的に見られるため、P T E N と P D - L 1 発現との関係を研究で調査した。> 5% の P D - L 1 発現がある乳がん組織マイクロアレイに含まれる T N B C 腫瘍のおよそ 50% において、P T E N 染色の損失が観察された。同様に、T N B C 細胞株のパネルにおいて、P T E N 損失を示す 2 つの例示的な細胞株、M D A - M B - 4 6 8 および B T - 5 4 9 は、高い細胞表面における P D - L 1 発現を有していたことが見出された。まとめると、これらのデータから、T N B C には、P D - L 1 調節の複数のメカニズムが存在する可能性があることが示唆された。

40

【 0 0 8 2 】

併用療法について患者を選択する方法

ある特定の実施形態では、本開示の方法は、骨髄由来のサプレッサー細胞および末梢血液単核細胞を測定して、がんと診断された患者に、エンチノスタッフと第 2 の治療剤とを含む併用療法の投与を決定することを含む。一部の実施形態では、方法は、骨髄由来のサプレッサーと末梢血液単核細胞との比が 1 : 2 0 0 から 1 : 4 の間にある場合に、併用療法について患者を選択することをさらに含む。

50

【0083】

ある特定の実施形態では、本開示の方法は、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞を測定し、CD14陽性細胞を測定し、または末梢血液単核細胞を測定して、がんと診断された患者に、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法の投与を決定することを含む。一部の実施形態では、方法は、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と末梢血液単核細胞との比が、1:200から1:1の間にある場合に、併用療法について患者を選択することをさらに含む。一部の実施形態では、方法は、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞とCD14陽性細胞との比が、1:100から99:1の間にある場合に、併用療法について患者を選択することをさらに含む。

10

【0084】

第2の治療剤の非限定的な例として、抗PD-1抗体、例えば、ニボルマブおよびペンプロリズマブ；抗PD-L1抗体、例えばMPDL3280A；ならびにエキセメスタンが挙げられる。がんの非限定的な例として、乳がん、例えば、ホルモン受容体陽性乳がんおよび三種陰性乳がん；肺がん、例えば、非小細胞性肺がん、扁平上皮癌、および大細胞癌；ならびにメラノーマ、例えば、転移性メラノーマが挙げられる。一部の実施形態では、第2の治療剤はMPDL3280Aであり、がんは乳がんである。一部の実施形態では、第2の治療剤はMPDL3280Aであり、乳がんは三種陰性乳がんである。一部の実施形態では、第2の治療剤はエキセメスタンであり、がんは乳がんである。一部の実施形態では、第2の治療剤はエキセメスタンであり、乳がんはホルモン受容体陽性乳がんである。

20

【0085】

一部の実施形態では、エンチノstattおよびエキセメスタンは、経口投与される。一部の実施形態では、エンチノstattは、経口投与され、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体は、輸液により投与される。輸液の非限定的な例として、皮下輸液、静脈内輸液、腹腔内輸液、および浸透圧ポンプによる輸液が挙げられる。

【0086】

一部の実施形態では、エンチノstattは、併用療法において最初に投与される。一部の実施形態では、エンチノstattは、毎週投与される。一部の実施形態では、エンチノstattは、2週毎に投与される。

30

【0087】

エンチノstatt、エキセメスタン、抗PD-1抗体、または抗PD-L1抗体は、約毎日、約2日毎に、約3日毎に、約4日毎に、約5日毎に、約6日毎に、約毎週、約2週毎に、約3週毎に、約4週毎に、約毎月、約5週毎に、約6週毎に、約7週毎に、約8週毎に、または約2ヶ月毎に投与可能である。エンチノstatt、エキセメスタン、抗PD-1抗体、または抗PD-L1抗体は、約毎日～約2日毎に、約2日毎～約3日毎に、約3日毎～約4日毎に、約4日毎～約5日毎に、約5日毎～約6日毎に、約6日毎～約毎週、約毎週～約2週毎に、約2週毎～約3週毎に、約3週毎～約4週毎に、約4週毎～約毎月、約毎月～約5週毎に、約5週毎～約6週毎に、約6週毎～約7週毎に、約7週毎～約8週毎に、または約8週毎～約2ヶ月毎に投与可能である。

【0088】

一部の実施形態では、骨髄由来のサプレッサー細胞および末梢血液単核細胞は循環性であり、末梢血液試料を取得することにより、末梢血液中でそれぞれ測定される。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞、CD14陽性細胞、および末梢血液単核細胞は、循環性であり、末梢血液試料を取得することにより末梢血液中でそれぞれ測定される。一部の実施形態では、末梢血液試料は、抗凝固剤で処置される。一部の実施形態では、末梢血液試料は、抗凝固剤含有容器内に収集される、または移される。抗凝固剤の非限定的な例として、ヘパリン、ヘパリンナトリウム、シウ酸カリウム、EDTA、およびクエン酸ナトリウムが挙げられる。一部の実施形態では、末梢血液試料は、赤血球溶解剤で処置される。一部の実施形態では、骨髄由来のサプレッサー細胞および末梢血液単核細胞は、組織生検中で測定される。

40

50

【0089】

一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞および末梢血液単核細胞の数は、末梢血液試料中で測定され、末梢血液単核細胞に対する骨髓由来のサプレッサー細胞の百分率が決定される。一部の実施形態では、末梢血液試料から得た1つまたは複数の骨髓由来のサプレッサー細胞は、第1の結合剤と接触して、1つまたは複数の第1の結合剤・骨髓由来のサプレッサー細胞複合体を生成する。一部の実施形態では、末梢血液試料由来の1つまたは複数の末梢血液単核細胞は、第2の結合剤と接触して、1つまたは複数の第2の結合剤・末梢血液単核細胞複合体を生成する。一部の実施形態では、末梢血液試料中の、第2の結合剤・末梢血液単核細胞複合体に対する第1の結合剤・骨髓由来のサプレッサー細胞複合体の百分率が測定される。

10

【0090】

一部の実施形態では、末梢血液単核細胞に対する骨髓由来のサプレッサー細胞の百分率、または末梢血液試料中もしくは組織生検中の第1の結合剤・骨髓由来のサプレッサー細胞複合体および第2の結合剤・末梢血液単核細胞複合体の百分率が、エンチノスタッフと第2の治療剤とを含む併用療法を投与するために患者を選択するのに利用される。

【0091】

一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサーもしくは末梢血液単核細胞の百分率、または末梢血液試料中もしくは組織生検中の、第1の結合剤・骨髓由来のサプレッサー細胞複合体および第2の結合剤・末梢血液単核細胞複合体の百分率は、少なくとも約0.1%、少なくとも約0.2%、少なくとも約0.3%、少なくとも約0.4%、少なくとも約0.5%、少なくとも約0.6%、少なくとも約0.7%、少なくとも約0.8%、少なくとも約0.9%、少なくとも約1%、少なくとも約1.1%、少なくとも約1.2%、少なくとも約1.3%、少なくとも約1.4%、少なくとも約1.5%、少なくとも約1.6%、少なくとも約1.7%、少なくとも約1.8%、少なくとも約1.9%、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約21%、少なくとも約22%、少なくとも約23%、少なくとも約24%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%または少なくとも約50%である。

20

【0092】

一部の実施形態では、末梢血液単核細胞に対する骨髓由来のサプレッサー細胞の百分率、または末梢血液試料もしくは組織生検骨髓由来のサプレッサー細胞中の第1の結合剤・骨髓由来のサプレッサー細胞複合体および第2の結合剤・末梢血液単核細胞複合体の百分率は、約0.1%～約0.2%、約0.2%～約0.3%、約0.3%～約0.4%、約0.4%～約0.5%、約0.5%～約0.6%、約0.6%～約0.7%、約0.7%～約0.8%、約0.8%～約0.9%、約0.9%～約1%、約1%～約1.1%、約1.1%～約1.2%、約1.2%～約1.3%、約1.3%～約1.4%、約1.4%～約1.5%、約1.5%～約1.6%、約1.6%～約1.7%、約1.7%～約1.8%、約1.8%～約1.9%、約1.9%～約2%、約2%～約3%、約3%～約4%、約4%～約5%、約5%～約6%、約6%～約7%、約7%～約8%、約8%～約9%、約9%～約10%、約10%～約11%、約11%～約12%、約12%～約13%、約13%～約14%、約14%～約15%、約15%～約16%、約16%～約17%、約17%～約18%、約18%～約19%、約19%～約20%、約20%～約21%、約21%～約22%、約22%～約23%、約23%～約24%、約24%～約25%、約25%～約30%、約30%～約35%、約35%～約40%、約40%～約45%または約45%～約50%である。

30

【0093】

40

50

一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞および末梢血液単核細胞の数は、末梢血液試料中で測定され、骨髓由来のサプレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比が決定される。一部の実施形態では、末梢血液試料から得た1つまたは複数の骨髓由来のサプレッサー細胞は、第1の結合剤と接触して、1つまたは複数の第1の結合剤-骨髓由来のサプレッサー細胞複合体を生成する。一部の実施形態では、末梢血液試料から得た1つまたは複数の末梢血液単核細胞は、第2の結合剤と接触して、1つまたは複数の第2の結合剤-末梢血液単核細胞複合体を生成する。一部の実施形態では、末梢血液試料中の第1の結合剤-骨髓由来のサプレッサー細胞複合体と第2の結合剤-末梢血液単核細胞複合体との比が測定される。一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比、または第1の結合剤-骨髓由来のサプレッサー細胞複合体と第2の結合剤-末梢血液単核細胞複合体との比は、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法を投与するために患者を選択するために利用される。

10

[0 0 9 4]

一部の実施形態では、第1の結合剤 - 骨髄由来のサプレッサー細胞複合体と第2の結合剤 - 末梢血液単核細胞複合体との比は、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法を投与するために患者を選択するために利用される。

[0 0 9 5]

一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比、または末梢血液試料中もしくは組織生検中の第1の結合剤 - 骨髓由来のサプレッサー細胞複合体と第2の結合剤 - 末梢血液単核細胞複合体との比は、1 : 1 0 0 0 0、1 : 5 0 0 0、1 : 4 0 0 0、1 : 3 0 0 0、1 : 2 0 0 0、1 : 1 0 0 0、1 : 5 0 0、1 : 4 0 0、1 : 3 0 0、1 : 2 5 0、1 : 2 0 0、1 : 1 5 0、1 : 1 0 0、1 : 9 0、1 : 8 0、1 : 7 0、1 : 6 0、1 : 5 0、1 : 4 9、1 : 4 8、1 : 4 7、1 : 4 6、1 : 4 5、1 : 4 4、1 : 4 3、1 : 4 2、1 : 4 1、1 : 4 0、1 : 3 9、1 : 3 8、1 : 3 7、1 : 3 6、1 : 3 5、1 : 3 4、1 : 3 3、1 : 3 2、1 : 3 1、1 : 3 0、1 : 2 9、1 : 2 8、1 : 2 7、1 : 2 6、1 : 2 5、1 : 2 4、1 : 2 3、1 : 2 2、1 : 2 1、1 : 2 0、1 : 1 9、1 : 1 8、1 : 1 7、1 : 1 6、1 : 1 5、1 : 1 4、1 : 1 3、1 : 1 2、1 : 1 1、1 : 1 0、1 : 9、1 : 8、1 : 7、1 : 6、1 : 5、1 : 4、1 : 3、1 : 2 または 1 : 1 である。

20

[0 0 9 6]

一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比、または末梢血液試料中もしくは組織生検中の第1の結合剤 - 骨髓由来のサプレッサー細胞複合体と第2の結合剤 - 末梢血液単核細胞複合体との比は、1 : 1 0 0 0 0 ~ 1 : 5 0 0 0 、 1 : 5 0 0 0 ~ 1 : 4 0 0 0 、 1 : 4 0 0 0 ~ 1 : 3 0 0 0 、 1 : 3 0 0 0 ~ 1 : 2 0 0 0 、 1 : 2 0 0 0 ~ 1 : 1 0 0 0 、 1 : 1 0 0 0 ~ 1 : 5 0 0 、 1 : 5 0 0 ~ 1 : 4 0 0 、 1 : 4 0 0 ~ 1 : 3 0 0 、 1 : 3 0 0 ~ 1 : 2 0 0 、 1 : 2 0 0 ~ 1 : 1 0 0 、 1 : 1 0 0 ~ 1 : 9 0 、 1 : 9 0 ~ 1 : 8 0 、 1 : 8 0 ~ 1 : 7 0 、 1 : 7 0 ~ 1 : 6 0 、 1 : 6 0 ~ 1 : 5 0 、 1 : 5 0 ~ 1 : 4 9 、 1 : 4 9 ~ 1 : 4 8 、 1 : 4 8 ~ 1 : 4 7 、 1 : 4 7 ~ 1 : 4 6 、 1 : 4 6 ~ 1 : 4 5 、 1 : 4 5 ~ 1 : 4 4 、 1 : 4 4 ~ 1 : 4 3 、 1 : 4 3 ~ 1 : 4 2 、 1 : 4 2 ~ 1 : 4 1 、 1 : 4 1 ~ 1 : 4 0 、 1 : 4 0 ~ 1 : 3 9 、 1 : 3 9 ~ 1 : 3 8 、 1 : 3 8 ~ 1 : 3 7 、 1 : 3 7 ~ 1 : 3 6 、 1 : 3 6 ~ 1 : 3 5 、 1 : 3 5 ~ 1 : 3 4 、 1 : 3 4 ~ 1 : 3 3 、 1 : 3 3 ~ 1 : 3 2 、 1 : 3 2 ~ 1 : 3 1 、 1 : 3 1 ~ 1 : 3 0 、 1 : 3 0 ~ 1 : 2 9 、 1 : 2 9 ~ 1 : 2 8 、 1 : 2 8 ~ 1 : 2 7 、 1 : 2 7 ~ 1 : 2 6 、 1 : 2 6 ~ 1 : 2 5 、 1 : 2 5 ~ 1 : 2 4 、 1 : 2 4 ~ 1 : 2 3 、 1 : 2 3 ~ 1 : 2 2 、 1 : 2 2 ~ 1 : 2 1 、 1 : 2 1 ~ 1 : 2 0 、 1 : 2 0 ~ 1 : 1 9 、 1 : 1 9 ~ 1 : 1 8 、 1 : 1 8 ~ 1 : 1 7 、 1 : 1 7 ~ 1 : 1 6 、 1 : 1 6 ~ 1 : 1 5 、 1 : 1 5 ~ 1 : 1 4 、 1 : 1 4 ~ 1 : 1 3 、 1 : 1 3 ~ 1 : 1 2 、 1 : 1 2 ~ 1 : 1 1 、 1 : 1 1 ~ 1 : 1 0 、 1 : 1 0 ~ 1 : 9 、 1 : 9 ~ 1 : 8 、 1 : 8 ~ 1 : 7 、 1 : 7 ~ 1 : 6 、 1 : 6 ~ 1 : 5 、 1 : 5 ~ 1 : 4 、 1 : 4 ~ 1 : 3 、 1 : 3 ~ 1 : 2 または 1 : 2 ~ 1 : 1 である。

30

40

50

【0097】

一部の実施形態では、生体試料の単位体積当たりの骨髓由来のサプレッサー細胞の数が決定される。単位体積の非限定的な例として、ピコリットル (pL)、ナノリットル (nL)、マイクロリットル (μL)、ミリリットル (mL)、デシリットル (dL)、およびリットル (L) が挙げられる。一部の実施形態では、末梢血液試料から得たいくつかの骨髓由来のサプレッサー細胞は、結合剤と接触して、単位体積当たり、いくつかの結合剤 - 骨髓由来のサプレッサー細胞複合体を生成する。一部の実施形態では、生体試料の単位体積当たりの骨髓由来のサプレッサー細胞または結合剤 - 骨髓由来のサプレッサー細胞複合体の数が、エンチノスタットと第2の治療剤とを含む併用療法を投与するために患者を選択するために利用される。一部の実施形態では、生体試料は末梢血液試料である。

10

【0098】

一部の実施形態では、生体試料の単位体積当たりの骨髓由来のサプレッサー細胞または結合剤 - 骨髓由来のサプレッサー細胞複合体は、単位体積当たり約1個、約2個、約3個、約4個、約5個、約6個、約7個、約8個、約9個、約10個、約15個、約20個、約25個、約30個、約35個、約40個、約45個、約50個、約60個、約70個、約80個、約90個、約100個、約150個、約200個、約250個、約300個、約350個、約400個、約450個、約500個、約600個、約700個、約800個、約900個、約1000個、約1500個、約2000個、約2500個、約3000個、約3500個、約4000個、約4500個、約5000個、約6000個、約7000個、約8000個、約9000個、約10000個、約15000個、約20000個、約25000個、約30000個、約35000個、約40000個、約45000個、約50000個、約60000個、約70000個、約80000個、約90000個または約100000個である。

20

【0099】

一部の実施形態では、生体試料の単位体積当たりの骨髓由来のサプレッサー細胞または結合剤 - 骨髓由来のサプレッサー細胞複合体は、単位体積当たり約1個～約2個、約2個～約3個、約3個～約4個、約4個～約5個、約5個～約6個、約6個～約7個、約7個～約8個、約8個～約9個、約9個～約10個、約10個～約15個、約15個～約20個、約20個～約25個、約25個～約30個、約30個～約35個、約35個～約40個、約40個～約45個、約45個～約50個、約50個～約55個、約55個～約60個、約60個～約70個、約70個～約80個、約80個～約90個、約90個～約100個、約100個～約110個、約110個～約120個、約120個～約130個、約130個～約140個、約140個～約150個、約150個～約160個、約160個～約170個、約170個～約180個、約180個～約190個、約190個～約200個、約200個～約210個、約210個～約220個、約220個～約230個、約230個～約240個、約240個～約250個、約250個～約260個、約260個～約270個、約270個～約280個、約280個～約290個、約290個～約300個、約300個～約310個、約310個～約320個、約320個～約330個、約330個～約340個、約340個～約350個、約350個～約360個、約360個～約370個、約370個～約380個、約380個～約390個、約390個～約400個、約400個～約410個、約410個～約420個、約420個～約430個、約430個～約440個、約440個～約450個、約450個～約460個、約460個～約470個、約470個～約480個、約480個～約490個、約490個～約500個、約500個～約510個、約510個～約520個、約520個～約530個、約530個～約540個、約540個～約550個、約550個～約560個、約560個～約570個、約570個～約580個、約580個～約590個、約590個～約600個、約600個～約610個、約610個～約620個、約620個～約630個、約630個～約640個、約640個～約650個、約650個～約660個、約660個～約670個、約670個～約680個、約680個～約690個、約690個～約700個、約700個～約710個、約710個～約720個、約720個～約730個、約730個～約740個、約740個～約750個、約750個～約760個、約760個～約770個、約770個～約780個、約780個～約790個、約790個～約800個、約800個～約810個、約810個～約820個、約820個～約830個、約830個～約840個、約840個～約850個、約850個～約860個、約860個～約870個、約870個～約880個、約880個～約890個、約890個～約900個、約900個～約910個、約910個～約920個、約920個～約930個、約930個～約940個、約940個～約950個、約950個～約960個、約960個～約970個、約970個～約980個、約980個～約990個、約990個～約1000個または約100000個～約1000000個である。

30

【0100】

一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞、CD14陽性細胞、および末梢血液単核細胞の数が、末梢血液試料中で測定され、そしてCD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞、CD14陽性細胞、および末梢血液単核細胞の百分率が決定される。

40

50

【0101】

一部の実施形態では、CD14陽性細胞または末梢血液単核細胞に対するCD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の百分率が、エンチノstattと第2の治療剤とを含む併用療法を投与するために患者を選択するために利用される。

【0102】

一部の実施形態では、末梢血液試料中または組織生検中のCD14陽性細胞または末梢血液単核細胞に対するCD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の百分率は、少なくとも約0.1%、少なくとも約0.2%、少なくとも約0.3%、少なくとも約0.4%、少なくとも約0.5%、少なくとも約0.6%、少なくとも約0.7%、少なくとも約0.8%、少なくとも約0.9%、少なくとも約1%、少なくとも約1.1%、少なくとも約1.2%、少なくとも約1.3%、少なくとも約1.4%、少なくとも約1.5%、少なくとも約1.6%、少なくとも約1.7%、少なくとも約1.8%、少なくとも約1.9%、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約21%、少なくとも約22%、少なくとも約23%、少なくとも約24%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%または少なくとも約99%である。
10

【0103】

一部の実施形態では、末梢血液試料中または組織生検中のCD14陽性細胞または末梢血液単核細胞に対するCD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の百分率は、約0.1%～約0.2%、約0.2%～約0.3%、約0.3%～約0.4%、約0.4%～約0.5%、約0.5%～約0.6%、約0.6%～約0.7%、約0.7%～約0.8%、約0.8%～約0.9%、約0.9%～約1%、約1%～約1.1%、約1.1%～約1.2%、約1.2%～約1.3%、約1.3%～約1.4%、約1.4%～約1.5%、約1.5%～約1.6%、約1.6%～約1.7%、約1.7%～約1.8%、約1.8%～約1.9%、約1.9%～約2%、約2%～約3%、約3%～約4%、約4%～約5%、約5%～約6%、約6%～約7%、約7%～約8%、約8%～約9%、約9%～約10%、約10%～約11%、約11%～約12%、約12%～約13%、約13%～約14%、約14%～約15%、約15%～約16%、約16%～約17%、約17%～約18%、約18%～約19%、約19%～約20%、約20%～約21%、約21%～約22%、約22%～約23%、約23%～約24%、約24%～約25%、約25%～約30%、約30%～約35%、約35%～約40%、約40%～約45%、約45%～約50%、約50%～約60%、約60%～約70%、約70%～約80%、約80%～約90%、約90%～約95%、約95%～約96%、約96%～約97%、約97%～約98%または約98%～約99%である。
20
30

【0104】

一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞、CD14陽性細胞、および末梢血液単核細胞の数は、末梢血液試料中で測定され、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と、CD14陽性細胞または末梢血液単核細胞のいずれかとの比が決定される。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞と、CD14陽性細胞または末梢血液単核細胞のいずれかとの比が、エンチノstattおよび第2の治療剤を含む併用療法を投与するために患者を選択するために利用される。
40

【0105】

一部の実施形態では、末梢血液試料中または組織生検中の、CD14陽性かつHLA-

D R - (1 o / 隆性) 細胞と、 C D 1 4 陽性細胞または末梢血液単核細胞のいずれかとの比は、 1 : 1 0 0 0 0 、 1 : 5 0 0 0 、 1 : 4 0 0 0 、 1 : 3 0 0 0 、 1 : 2 0 0 0 、 1 : 1 0 0 0 、 1 : 5 0 0 、 1 : 4 0 0 、 1 : 3 0 0 、 1 : 2 5 0 、 1 : 2 0 0 、 1 : 1 5 0 、 1 : 1 0 0 、 1 : 9 0 、 1 : 8 0 、 1 : 7 0 、 1 : 6 0 、 1 : 5 0 、 1 : 4 9 、 1 : 4 8 、 1 : 4 7 、 1 : 4 6 、 1 : 4 5 、 1 : 4 4 、 1 : 4 3 、 1 : 4 2 、 1 : 4 1 、 1 : 4 0 、 1 : 3 9 、 1 : 3 8 、 1 : 3 7 、 1 : 3 6 、 1 : 3 5 、 1 : 3 4 、 1 : 3 3 、 1 : 3 2 、 1 : 3 1 、 1 : 3 0 、 1 : 2 9 、 1 : 2 8 、 1 : 2 7 、 1 : 2 6 、 1 : 2 5 、 1 : 2 4 、 1 : 2 3 、 1 : 2 2 、 1 : 2 1 、 1 : 2 0 、 1 : 1 9 、 1 : 1 8 、 1 : 1 7 、 1 : 1 6 、 1 : 1 5 、 1 : 1 4 、 1 : 1 3 、 1 : 1 2 、 1 : 1 1 、 1 : 1 0 、 1 : 9 、 1 : 8 、 1 : 7 、 1 : 6 、 1 : 5 、 1 : 4 、 1 : 3 、 1 : 2 、 1 : 1 、 2 : 1 、 3 : 1 、 4 : 1 、 9 : 1 、 1 9 : 1 、 2 4 : 1 、 9 7 : 1 、 4 9 : 1 または 9 9 : 1 である。 10

〔 0 1 0 6 〕

一部の実施形態では、末梢血液試料中または組織生検中の、CD14陽性かつHLA-DR-(10/陰性)細胞と、CD14陽性細胞または末梢血液単核細胞のいずれかとの比は、1:10000~1:5000、1:5000~1:4000、1:4000~1:3000、1:3000~1:2000、1:2000~1:1000、1:1000~1:500、1:500~1:400、1:400~1:300、1:300~1:200、1:200~1:100、1:100~1:90、1:90~1:80、1:80~1:70、1:70~1:60、1:60~1:50、1:50~1:49、1:49~1:48、1:48~1:47、1:47~1:46、1:46~1:45、1:45~1:44、1:44~1:43、1:43~1:42、1:42~1:41、1:41~1:40、1:40~1:39、1:39~1:38、1:38~1:37、1:37~1:36、1:36~1:35、1:35~1:34、1:34~1:33、1:33~1:32、1:32~1:31、1:31~1:30、1:30~1:29、1:29~1:28、1:28~1:27、1:27~1:26、1:26~1:25、1:25~1:24、1:24~1:23、1:23~1:22、1:22~1:21、1:21~1:20、1:20~1:19、1:19~1:18、1:18~1:17、1:17~1:16、1:16~1:15、1:15~1:14、1:14~1:13、1:13~1:12、1:12~1:11、1:11~1:10、1:10~1:9、1:9~1:8、1:8~1:7、1:7~1:6、1:6~1:5、1:5~1:4、1:4~1:3、1:3~1:2、1:2~1:1、1:1~2:1、2:1~3:1、3:1~4:1、4:1~9:1、9:1~19:1、19:1~24:1、24:1~97:1、97:1~49:1または49:1~99:1である。

〔 0 1 0 7 〕

一部の実施形態では、生体試料の単位体積当たりの C D 1 4 陽性かつ H L A - D R - (1 o / 陰性) 細胞の数が決定される。単位体積の非限定的な例として、ピコリットル (p L) 、ナノリットル (n L) 、マイクロリットル (μ L) 、ミリリットル (m L) 、デシリットル (d L) 、およびリットル (L) が挙げられる。一部の実施形態では、生体試料の単位体積当たりの C D 1 4 陽性かつ H L A - D R - (1 o / 陰性) 細胞の数が、エンチノスタットと第 2 の治療剤とを含む併用療法を投与するために患者を選択するために利用される。一部の実施形態では、生体試料は末梢血液試料である。

【 0 1 0 8 】

一部の実施形態では、生体試料の単位体積当たりの C D 1 4 陽性かつ H L A - D R - (10 / 陰性) 細胞の数は、単位体積当たり約 1 個、約 2 個、約 3 個、約 4 個、約 5 個、約 6 個、約 7 個、約 8 個、約 9 個、約 10 個、約 15 個、約 20 個、約 25 個、約 30 個、約 35 個、約 40 個、約 45 個、約 50 個、約 60 個、約 70 個、約 80 個、約 90 個、約 100 個、約 150 個、約 200 個、約 250 個、約 300 個、約 350 個、約 400 個、約 450 個、約 500 個、約 600 個、約 700 個、約 800 個、約 900 個、約 1000 個、約 1500 個、約 2000 個、約 2500 個、約 3000 個、約 3500 個、約 4000 個、約 4500 個、約 5000 個、約 6000 個、約 7000 個、約 8000 個

個、約9000個、約10000個、約15000個、約20000個、約25000個、約30000個、約35000個、約40000個、約45000個、約50000個、約60000個、約70000個、約80000個、約90000個または約10000個である。

【0109】

一部の実施形態では、生体試料の単位体積当たりのCD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞の数は、単位体積当たり約1個～約2個、約2～約3個、約3個～約4個、約4個～約5個、約5個～約6個、約6個～約7個、約7個～約8個、約8個～約9個、約9個～約10個、約10個～約15個、約15個～約20個、約20個～約25個、約25個～約30個、約30個～約35個、約35個～約40個、約40個～約45個、約45個～約50個、約50個～約60個、約60個～約70個、約70個～約80個、約80個～約90個、約90個～約100個、約100個～約150個、約150個～約200個、約200個～約250個、約250個～約300個、約300個～約350個、約350個～約400個、約400個～約450個、約450個～約500個、約500個～約600個、約600個～約700個、約700個～約800個、約800個～約900個、約900個～約1000個、約1000個～約1500個、約1500個～約2000個、約2000個～約2500個、約2500個～約3000個、約3000個～約3500個、約3500個～約4000個、約4000個～約4500個、約4500個～約5000個、約5000個～約6000個、約6000個～約7000個、約7000個～約8000個、約8000個～約9000個または約10000個である。
10

【0110】

一部の実施形態では、骨髄由来のサプレッサー細胞、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞、CD14陽性細胞、および/または末梢血液単核細胞は、フローサイトメトリー、マスサイトメトリー、サイトスピニン、または免疫組織化学を使用して測定される。
30

【0111】

フローサイトメトリーは、細胞を液体の流れの中で懸濁させ、電子検出装置に細胞を通過させることによって、細胞計測、セルソーティング、およびバイオマーカーの検出において使用される、レーザーに基づく技術である。フローサイトメトリーは、1秒間当たり最大数千個の粒子について、その物理的および化学的特徴の同時マルチパラメトリック解析を可能にする。

【0112】

マスサイトメトリーは、細胞の同一性および機能を決定するための誘導結合プラズマ質量分析に基づく質量分析技術である。この技術では、結合剤は、同位体として純粋な希土類元素でタグ化されている。これらの結合剤は、次にタグ細胞およびその構成成分に適用される。細胞は噴霧され、そして多原子希土類元素タグをイオン化させるアルゴンプラズマレーザーを通じて送られる。イオン化したタグ化細胞は、次に飛行時間型質量分析計により分析される。マスサイトメトリーの長所として、フローサイトメトリーではスペクトルオーバーラップにより限界が生じてしまうが、その限界を克服する能力が挙げられる。

【0113】

サイトスピニンは、細胞染色および細胞計測のための塗抹として、懸濁細胞をガラススライド上で遠心分離する技術である。低粘度培地中に存在する濃縮した細胞懸濁物は、塗抹調製物としての優良候補となる。希薄な培地中に存在する希薄な細胞懸濁物は、細胞遠心分離を通じたサイトスピニンの調製物として最適である。高粘度培地中に存在する細胞懸濁

10

20

30

40

50

物は、スワブ調製物として試験するのに最適である。これらの調製物で共通する点として、細胞全体がスライド表面上に存在することが挙げられる。免疫組織化学は、生物学的組織中の抗原と特異的に結合する抗体の原理を利用することにより、組織切片の細胞内の抗原を検出するための組織学的染色の一種である。抗体 - 抗原相互作用の可視化は、いくつかの方法で実現可能である。抗体は、発色反応を触媒し得る酵素、例えばペルオキシダーゼに結合し得る。あるいは、抗体は、蛍光物質、例えばフルオレセインまたはローダミンにタグ化され得る。

【0114】

一部の実施形態では、フローサイトメトリー、マスサイトメトリー、サイトスピニ、または免疫組織化学が、細胞、例えば骨髓由来のサプレッサー細胞または末梢血液単核細胞を検出するために使用される。一部の実施形態では、フローサイトメトリー、マスサイトメトリー、サイトスピニ、または免疫組織化学には、結合剤 - 骨髓由来のサプレッサー細胞、および結合剤 - 末梢血液単核細胞複合体を形成する結合剤の使用が含まれる。一部の実施形態では、結合剤は、細胞表面マーカーにより骨髓由来のサプレッサー細胞および末梢血液単核細胞を同定するために使用される。一部の実施形態では、結合剤は抗体である。

10

【0115】

一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞または末梢血液単核細胞と結合する結合剤の数は、少なくとも約1、少なくとも約2、少なくとも約3、少なくとも約4、少なくとも約5、少なくとも約6、少なくとも約7、少なくとも約8、少なくとも約9、少なくとも約10、少なくとも約11、少なくとも約12、少なくとも約13、少なくとも約14、少なくとも約15、少なくとも約16、少なくとも約20、少なくとも約30、少なくとも約40、少なくとも約50、少なくとも約60、少なくとも約70、少なくとも約80、少なくとも約90、少なくとも約100、少なくとも約125、少なくとも約150、少なくとも約175または少なくとも約200である。一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞または末梢血液単核細胞と結合する結合剤の数は、約1～約2、約2～約3、約3～約4、約4～約5、約5～約6、約6～約7、約7～約8、約8～約9、約9～約10、約10～約11、約11～約12、約12～約13、約14～約15、約15～約16、約16～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約125、約125～約150、約150～約175または約175～約200である。

20

【0116】

一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞および末梢血液単核細胞、M-MDSC、またはPMN-MDSCは、細胞表面マーカーにより同定される。骨髓由来のサプレッサー細胞を同定する細胞表面マーカーの非限定的な例として、CD11b、CD33、およびCD40が挙げられる。末梢血液単核細胞を同定する細胞表面マーカーの非限定的な例として、CD3、CD14、CD19、CD56、およびHLA-DRが挙げられる。M-MDSCは、CD14と組み合わせた骨髓由来のサプレッサー細胞マーカーの任意の組合せにより同定され得る。PMN-MDSCは、CD15と組み合わせた骨髓由来のサプレッサー細胞マーカーの任意の組合せにより同定され得る。一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞、末梢血液単核細胞、M-MDSC、またはPMN-MDSCは、結合剤と接触して、細胞 - 結合剤複合体を形成する。結合剤は、上記細胞表面マーカーのいずれか、または任意のこれらの組合せと結合する。

30

【0117】

一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞がCD11bにより同定され、末梢血液単核細胞がCD3により同定される。一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞がCD11bにより同定され、末梢血液単核細胞がCD14により同定される。一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞がCD11bにより同定され、末梢血液単核細胞がCD19により同定される。一部の実施形態では、骨髓由来のサプレッサー細胞

40

50

【 0 1 1 8 】

一部の実施形態では、M - M D S C が C D 1 1 b および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 3 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 1 1 b および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 1 4 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 1 1 b および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 1 9 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 1 1 b および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 5 6 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 1 1 b および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が H L A - D R により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 3 3 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 3 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 3 3 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 1 4 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 3 3 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 1 9 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 3 3 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 5 6 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 3 3 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が H L A - D R により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 4 0 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 3 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 4 0 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 1 4 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 4 0 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 1 9 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 4 0 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 5 6 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が C D 4 0

および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が H L A - D R により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が、C D 1 1 b および C D 3 3 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 3 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が、C D 1 1 b および C D 3 3 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 1 4 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が、C D 1 1 b および C D 3 3 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 1 9 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が、C D 1 1 b および C D 3 3 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が C D 5 6 により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が、C D 1 1 b および C D 3 3 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が H L A - D R により同定される。一部の実施形態では、M - M D S C が、C D 1 1 b および C D 3 3 および C D 1 4 により同定され、末梢血液単核細胞が、C D 3 、 C D 1 4 、 C D 1 9 、 C D 5 6 、および H L A - D R により同定される。

【 0 1 1 9 】

[0 1 2 0]

一部の実施形態では、PMN-MDSC細胞が、CD11bおよび細胞表面にCD14が存在しないことにより同定され、末梢血液単核細胞がCD3により同定される。一部の

【 0 1 2 1 】

一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(10/陰性)細胞、CD14陽性細胞、および末梢血液単核細胞が、細胞表面マーカーにより同定される。末梢血液単核細胞を同定する細胞表面マーカーの非限定的な例として、CD3、CD14、CD19、CD56、およびHLA-DRが挙げられる。

【 0 1 2 2 】

一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(lo/陰性)細胞が、CD14および低レベルのHLA-DRまたはその不存在により同定され、末梢血液単核細胞がCD3により同定される。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(lo/陰性)細胞が、CD14および低レベルのHLA-DRまたはその不存在により同定さ

れ、末梢血液単核細胞がCD14により同定される。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞が、CD14および低レベルのHLA-DRまたはその不存在により同定され、末梢血液単核細胞がCD19により同定される。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞が、CD14および低レベルのHLA-DRまたはその不存在により同定され、末梢血液単核細胞がCD56により同定される。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞が、CD14および低レベルのHLA-DRまたはその不存在により同定され、末梢血液単核細胞がHLA-DRにより同定される。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞が、CD14および低レベルのHLA-DRまたはその不存在により同定され、末梢血液単核細胞が、CD3、CD14、CD19、CD56、およびHLA-DRにより同定される。一部の実施形態では、CD14陽性かつHLA-DR-(1o/陰性)細胞が、CD14および低レベルのHLA-DRまたはその不存在により同定され、CD14陽性細胞がCD14により同定される。
10

【0123】

さらなる療法

三種陰性乳がんのための、本明細書に開示の療法と併用して有利に採用され得る、利用可能なさらなる処置として、非限定的に、アジュvant療法としての放射線療法、化学療法、抗体療法、およびチロシンキナーゼ阻害剤が挙げられる。

【0124】

放射線療法は、がん細胞を殺傷するかまたはがん細胞が増殖するのを防ぐために、高エネルギーX線または他の種類の放射線を使用するがん処置である。化学療法は、細胞を殺傷することにより、または細胞が分裂するのを停止させることにより、がん細胞の増殖を停止させる薬物を使用するがん処置である。化学療法が、経口により摂取されるか、または血管もしくは筋肉に注射される場合、薬物は血流に進入し、全身にわたり、がん細胞に到達することができる（全身化学療法）。化学療法が、脊柱、臓器、または体腔、例えば腹部に直接施される場合、薬物は、そのような領域内のがん細胞に主に影響を及ぼす（局所化学療法）。化学療法を与える方法は、処置されるがんの型および病期に依存する。

20

【0125】

肺がんを処置するために、異なる化学療法剤が当技術分野において公知である。肺がんを処置するために使用される細胞毒性剤（cytotoxic agent）として、カルボプラチニン（例えば、Paraplatin（登録商標）、Paraplat（登録商標））、シスプラチニン（例えば、Platinol（登録商標）、Platinol-Aq（登録商標））、クリゾチニブ（例えば、Xalkori（登録商標））、エトポシド（例えば、Toposar（登録商標）、VePesid（登録商標））、リン酸エトポシド（例えば、Etopophos（登録商標））、塩酸ゲムシタビン（例えば、Gemzar（登録商標））、ゲムシタビン・シスプラチニン、メトトレキサート（例えば、Abiraterexate（登録商標）、Fol'ex（登録商標）、Fol'ex Pf's（登録商標）、Methotrexate Lpf（登録商標）、Mexate（登録商標）、Mexate-Aq（登録商標））、パクリタキセル（例えば、Taxol（登録商標））、ペメトレキセドニナトリウム（例えば、Alimta（登録商標））、および塩酸トポテカン（例えば、Hycamtin（登録商標））が挙げられる。

30

【0126】

メラノーマを処置するために、アルデスロイキン（例えば、Proleukin（登録商標））、ダブラフェニブ（例えば、Tafinlar（登録商標））、ダカルバジン（例えば、DTIC-Dome（登録商標））、組換えインターフェロンアルファ-2b（例えば、Intron A（登録商標））、イピリムマブ（例えば、Yervoy（登録商標））、ペンプロリズマブ（例えば、Keytruda（登録商標））、トラメチニブ（例えば、Mekinist（登録商標））、ニボルマブ（例えば、Opdivo（登録商標））、ペグインターフェロンアルファ-2b（例えば、Pegintrom（登録商標））、Sylatron（登録商標））、ベムラフェニブ（例えば、Zelboraf（登

40

50

録商標)) を含む、異なる薬剤が当技術分野において公知である。

【0127】

モノクロナール抗体療法は、一種類の免疫系細胞から、研究室内で作成された抗体を使用するがん処置である。これらの抗体は、がん細胞が増殖するのを支援し得るがん細胞上の物質、または正常な物質を同定することができる。抗体は、物質に結合するか、がん細胞を殺傷するか、がん細胞が増殖するのを遮断するか、またはがん細胞が広がるのを防ぐ。モノクロナール抗体は、輸液により与えられる。モノクロナール抗体は、単独で、または薬物、毒素、もしくは放射性物質をがん細胞に直接運ぶために使用することができる。また、モノクロナール抗体は、アジュバント療法として、化学療法と組み合わせても使用される。

10

【0128】

本明細書に開示の組成物および療法と有利に組み合わせることができる、さらなる実例的な処置として、ラバチニブ単独、あるいはカペシタビン、ドセタキセル、エピルビシン、エボチロンA、B、もしくはD、酢酸ゴセレリン、パクリタキセル、パミドロネート、ベバシズマブ、またはトラスツズマブと組み合わせたラバチニブを含むが、これらに限定されない薬剤の投与を非限定的に挙げることができる。

【0129】

一部の実施形態では、さらなる療法は、ドキソルビシン、シクロホスファミド、パクリタキセル、ラバチニブ、カペシタビン、トラスツズマブ、ベバシズマブ、ゲムシタビン、エリブリン、またはnab - パクリタキセルのうちの1つまたは複数を、被験体に投与することを含む化学療法を含む。

20

【0130】

経口製剤

本明細書に記載されている薬学的な有効成分を含有する経口製剤は、錠剤、カプセル剤、丸剤、トローチ、ロゼンジ、香錠、カシェ剤、ペレット、薬用チューンガム、顆粒、バルク粉末、発泡性または非発泡性の粉末または顆粒、液剤、エマルジョン、懸濁剤、液剤、オブラー、散布剤(sprinkle)、エリキシル剤、シロップ剤、口腔用形態(buccal form)、および経口液体を含む、任意の慣習的に使用される経口形態を含み得る。カプセル剤は、活性化合物(複数可)と、不活性な充填剤または希釈剤、例えば薬学的に許容されるデンプン(例えば、トウモロコシ、ジャガイモ、またはタピオカのデンプン)、糖、人工甘味料、粉末化セルロース、例えば結晶および微結晶セルロース、フラワー、ゼラチン、ガム等との混合物を含有してよい。有用な錠剤製剤は、従来の圧縮法、湿式造粒法または乾式造粒法により作製され得るが、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルク、ラウリル硫酸ナトリウム、微結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、アルギン酸、アカシアガム、キサンタンガム、クエン酸ナトリウム、複合ケイ酸塩、炭酸カルシウム、グリシン、デキストリン、スクロース、ソルビトール、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、ラクトース、カオリノン、マンニトール、塩化ナトリウム、タルク、乾燥デンプン、および粉末化された糖を含むが、これらに限定されない、薬学的に許容される希釈剤、結着剤(binding agent)、滑沢剤、崩壊剤、表面改質剤(surface modifying agent)(界面活性剤を含む)、懸濁剤または安定化剤を利用する。一部の実施形態では、表面改質剤として、非イオン性および陰イオン性の表面改質剤が挙げられる。例えば、表面改質剤として、ポロキサマー188、塩化ベンザルコニウム、ステアリン酸カルシウム、セトステアリルアルコール、セトマクロゴール乳化ワックス、ソルビタンエステル、コロイド状二酸化ケイ素、ホスフェート、ドデシル硫酸ナトリウム、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、およびトリエタノールアミンが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書の経口製剤は、活性化合物(複数可)の吸収を変化させるために、標準的な遅延放出型または限時放出型(time release)の製剤を利用し得る。また、経口製剤は、必要に応じて、適する可溶化剤または乳化剤を含有する水または果汁中の有効成分を投与することから構成される場合もある。

30

40

40

50

【0131】

経口投与

本明細書に記載されているように、本明細書に記載されている併用療法は、同時に与えることができるか、または互い違いのレジメン (staggered regimen) で与えることができ、エンチノstattが、化学療法の過程で、EGFR阻害剤とは異なる時期に与えられる。この時期的な相違は、2つの化合物の投与間で、数分間、数時間、数日間、数週間の範囲、またはそれより長い範囲に及ぶ可能性がある。したがって、併用という用語は、同時に、または単一の用量として投与されることを必ずしも意味しないが、各成分は、所望の処置期間内に投与される。また、薬剤は、異なる経路によって投与され得る。化学療法レジメンとして一般的なように、化学療法の過程は、数週間後に反復されてもよく、2つの化合物の投与について、同一の時間枠に従ってもよく、また患者の応答に基づき修正を加えてよい。

10

【0132】

他の実施形態では、本明細書において提供される医薬組成物は、経口投与用の固体、半固体、または液体の剤形で提供され得る。本明細書で使用する場合、経口投与として、口腔、舌側、および舌下投与が挙げられる。適する経口剤形として、錠剤、カプセル剤、丸剤、トローチ、ロゼンジ、香錠、カシェ剤、ペレット、薬用チューインガム、顆粒、バルク粉末、発泡性または非発泡性の粉末、または顆粒、液剤、エマルジョン、懸濁剤、液剤、オブラーート、散布剤、エリキシル剤、およびシロップ剤が挙げられるが、これらに限定されない。有効成分（複数可）に加えて、医薬組成物は、結合剤、充填剤、希釈剤、崩壊剤、湿潤剤、滑沢剤、流動促進剤（glidant）、着色剤、色素移動阻害剤（dye-migration inhibitor）、甘味料、および矯味矯臭剤を含むが、これらに限定されない1つまたは複数の薬学的に許容される担体または賦形剤を含有してよい。

20

【0133】

結合剤または造粒剤（granulator）は、錠剤に粘着性を付与し、圧縮後に錠剤が無傷のままであることを確実にする。適する結合剤または造粒剤として、デンプン、例えばトウモロコシデンプン、ジャガイモデンプン、およびアルファ化デンプン（例えば、STARCH 1500）；ゼラチン；糖、例えばスクロース、グルコース、デキストロース、糖蜜、およびラクトース；天然および合成ガム、例えばアカシア、アルギン酸、アルギネット、トチャカの抽出物、パンワールガム、ガッヂゴム、イサゴールハスク（isabgol husk）の漿剤、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン（PVP）、ビーガム、カラマツアラビノガラクタン（larch arabogalactan）、粉末化されたトラガント、およびグアーガム；セルロース、例えばエチルセルロース、セルロースアセテート、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシルメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース（HEC）、ヒドロキシプロビルセルロース（HPC）、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）；微結晶セルロース、例えばAVICEL-PH-101、AVICEL-PH-103、AVICEL RC-581、AVICEL-PH-105（FMC Corp.、Marcus Hook、PA）；およびその混合物が挙げられるが、これらに限定されない。適する充填剤として、タルク、炭酸カルシウム、微結晶セルロース、粉末化セルロース、デキストレート、カオリン、マンニトール、ケイ酸、ソルビトール、デンプン、アルファ化デンプン、およびその混合物が挙げられるが、これらに限定されない。結合剤または充填剤は、本明細書において提供される医薬組成物中に、約50重量%～約99重量%存在し得る。

30

【0134】

適する希釈剤として、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、ラクトース、ソルビトール、スクロース、イノシトール、セルロース、カオリン、マンニトール、塩化ナトリウム、乾燥デンプン、および粉末化された糖が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の希釈剤、例えばマンニトール、ラクトース、ソルビトール、スクロース、およびイノ

40

50

シトールは、十分な量で存在する場合、一部の圧縮錠剤に、咀嚼により口内で崩壊可能にする特性を付与し得る。そのような圧縮錠剤は、咀嚼可能な錠剤として使用することができる。

【0135】

適する崩壊剤として、寒天；ベントナイト；セルロース、例えばメチルセルロースおよびカルボキシメチルセルロース；木質生成物(wood product)；天然のスponジ；陽イオン交換樹脂；アルギン酸；ガム、例えばグアーガムおよびビーガムHV；かんきつ類の髓質(citrus pulp)；架橋セルロース、例えばクロスカルメロース；架橋ポリマー、例えばクロスポビドン；架橋デンプン；炭酸カルシウム；微結晶セルロース、例えばデンブングリコール酸ナトリウム；ポラクリリンカリウム(polaclilin potassium)；デンプン、例えばトウモロコシデンプン、ジャガイモデンプン、タピオカデンプン、およびアルファ化デンプン；粘土；アライン(aligin)；ならびにその混合物が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書において提供される医薬組成物内の崩壊剤の量は、製剤の種類によって変化し、当業者にとって容易に識別可能である。本明細書において提供される医薬組成物は、約0.5重量%～約15重量%、または約1重量%～約5重量%の崩壊剤を含有し得る。

10

【0136】

適する滑沢剤として、ステアリン酸カルシウム；ステアリン酸マグネシウム；鉛油；軽油(light mineral oil)；グリセリン；ソルビトール；マンニトール；グリコール、例えばベヘン酸グリセリルおよびポリエチレングリコール(PEG)；ステアリン酸；ラウリル硫酸ナトリウム；タルク；ピーナッツ油、綿実油、ヒマワリ油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油、およびダイズ油を含む水添植物油；ステアリン酸亜鉛；オレイン酸エチル；ラウリン酸エチル；寒天；デンプン；リコボディウム(lycopolodium)；シリカまたはシリカゲル、例えばAEROSIL(登録商標)200(W.R.Grace Co.、Bal timore、MD)およびCAB-O-SIL(登録商標)(Cabot Co. of Boston、MA)；ならびにその混合物が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書において提供される医薬組成物は、約0.1重量%～約5重量%の滑沢剤を含有し得る。

20

【0137】

適する流動促進剤として、コロイド状二酸化ケイ素、CAB-O-SIL(登録商標)(Cabot Co. of Boston、MA)、およびアスペストを含まないタルクが挙げられる。着色剤として、任意の承認済みの認可された水溶性FD&C色素、およびアルミナ水和物に懸濁した水不溶性FD&C色素、およびレーク顔料、ならびにその混合物が挙げられる。レーク顔料は、水溶性色素を重金属の水和酸化物に吸着させた組合せであり、その結果、不溶性形態の色素が生ずる。矯味矯臭剤として、植物、例えば果物から抽出される天然の着香剤、および口当たりのよい味覚を生じる化合物、例えばペパーミントおよびサルチル酸メチルの合成ブレンドが挙げられる。甘味料として、スクロース、ラクトース、マンニトール、シロップ、グリセリン、および人工甘味料、例えばサッカリンおよびアスパルテームが挙げられる。適する乳化剤として、ゼラチン、アカシア、トラガント、ベントナイト、および界面活性剤、例えばポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート(TWEEN(登録商標)20)、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート80(TWEEN(登録商標)80)、およびトリエタノールアミンオレエートが挙げられる。懸濁化剤および分散剤として、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ペクチン、トラガント、ビーガム、アカシア、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、およびポリビニルピロリドンが挙げられる。防腐剤として、グリセリン、メチルおよびプロピルパラベン、安息香酸(benzoic acid)、安息香酸ナトリウム、ならびにアルコールが挙げられる。湿潤剤として、プロピレングリコールモノステアレート、ソルビタンモノオレエート、ジエチレングリコールモノラウレート、およびポリオキシエチレンラウリルエーテルが挙げられる。溶媒として、グリセリン、ソルビトール、エチルアルコール、およびシロップが挙げられる。エマルジョンで利

30

40

50

用される非水性液体の例としては、鉛油および綿実油が挙げられる。有機酸として、クエン酸および酒石酸が挙げられる。二酸化炭素供給源としては、重炭酸ナトリウムおよび炭酸ナトリウムが挙げられる。

【0138】

多くの担体および賦形剤が、同一の製剤内であっても、いくつかの機能を担い得ると理解すべきである。

【0139】

さらなる実施形態では、本明細書において提供される医薬組成物は、圧縮錠剤、すりこみ錠剤、咀嚼可能なロゼンジ、速溶性錠剤、多重圧縮錠剤、または腸溶性コーティング錠剤、糖コーティングもしくはフィルムコーティングされた錠剤として提供され得る。腸溶性コーティング錠剤は、胃酸の作用に耐性であるが、腸内で溶解または崩壊し、したがって胃の酸性環境から有効成分を保護する物質でコーティングされた圧縮錠剤である。腸溶性コーティングとして、脂肪酸、脂肪、フェニルサリチレート、ワックス、シェラック、アンモニア含有シェラック、およびセルロースアセテートフタレートが挙げられるが、これらに限定されない。糖コーティング錠剤は、不快な味または臭気を隠蔽し、錠剤を酸化から保護する上で有益であり得る糖コーティングで囲まれた圧縮錠剤である。フィルムコーティング錠剤は、水溶性物質の薄層またはフィルムで覆われた圧縮錠剤である。フィルムコーティングとして、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリエチレングリコール4000、およびセルロースアセテートフタレートが挙げられるが、これらに限定されない。フィルムコーティングは、糖コーティングと同じ一般的特徴を付与する。多重圧縮錠剤は、2以上の圧縮サイクルにより作製される圧縮錠剤であり、層状化錠剤、およびプレスコーティング錠剤または乾燥コーティング錠剤が含まれる。10

【0140】

錠剤剤形は、粉末形態、結晶形態、または顆粒形態の有効成分を単独で、あるいは有効成分を結合剤、崩壊剤、制御放出型ポリマー、滑沢剤、希釈剤または着色料を含む、本明細書に記載されている1つもしくは複数の担体または賦形剤と組み合わせて調製され得る。矯味矯臭剤および甘味料は、咀嚼可能な錠剤およびロゼンジを形成する上で特に有用である。20

【0141】

本明細書で提供される医薬組成物は、ゼラチン、メチルセルロース、デンプン、またはアルギン酸カルシウムから作製可能な軟質カプセル剤または硬質カプセル剤として提供され得る。硬質ゼラチンカプセルは、乾燥充填カプセル(DFC)としても知られており、一方が他方の上をスライドする2つのセクションから構成され、したがって有効成分を完全に封入する。軟質弾性カプセル(SEC)は、柔らかく球形のシェル、例えばゼラチンシェルであり、グリセリン、ソルビトール、または類似するポリオールの添加により可塑化される。軟質ゼラチンシェルは、微生物の増殖を防止する防腐剤を含有してよい。適する防腐剤は、メチルおよびプロピルパラベン、ならびにソルビン酸を含む、本明細書に記載されているような防腐剤である。本明細書において提供される液体、半固体、および固体剤形は、カプセル内に被包され得る。適する液体および半固体剤形として、プロピレンカーボネート、植物油、またはトリグリセリドにおける液剤および懸濁剤が挙げられる。そのような液剤を含有するカプセル剤は、米国特許第4,328,245号、同第4,409,239号、および同第4,410,545号の記載に従い調製可能である。カプセル剤は、有効成分の溶解を改変または維持するために、当業者に公知であるようにコーティングすることも可能である。40

【0142】

他の実施形態では、本明細書において提供される医薬組成物は、エマルジョン、液剤、懸濁剤、エリキシル剤、およびシロップ剤を含む、液体および半固体の剤形で提供され得る。エマルジョンは、一方の液体が他方の液体全体にわたり、小球体の形態で分散している二相系であり、水中油型または油中水型であり得る。エマルジョンは、薬学的に許容さ50

れる非水性液体または溶媒、乳化剤、および防腐剤を含み得る。懸濁剤は、薬学的に許容される懸濁化剤および防腐剤を含み得る。アルコール水溶液は、薬学的に許容されるアセタール、例えば低級アルキルアルデヒド（用語「低級」とは、1から6個の間の炭素原子を有するアルキルを意味する）のジ（低級アルキル）アセタール、例えば、アセトアルデヒドジエチルアセタール；および1つまたは複数のヒドロキシル基、例えばプロピレングリコールおよびエタノールを有する水混和性溶媒を含み得る。エリキシル剤は、甘くされた透明な含水アルコール溶液である。シロップ剤は、糖、例えば、スクロースの濃縮水溶液であり、防腐剤を含有してもよい。液体剤形の場合、例えば、ポリエチレングリコールの溶液は、投与のための測定に便利なように、十分な量の薬学的に許容される液体担体、例えば、水で希釈され得る。

10

【0143】

他の有用な液体および半固体の剤形として、本明細書において提供される有効成分（複数可）、および1,2-ジメトキシメタン、ジグリム、トリグリム、テトラグリム、ポリエチレングリコール-350-ジメチルエーテル、ポリエチレングリコール-550-ジメチルエーテル、ポリエチレングリコール-750-ジメチルエーテルを含み、350、550、および750がポリエチレングリコールのおよその平均分子量を表す、ジアルキル化されたモノ-またはポリ-アルキレンゲリコールを含有する剤形が挙げられるが、これらに限定されない。これらの製剤は、1つまたは複数の酸化防止剤、例えばブチル化ヒドロキシトルエン（BHT）、ブチル化ヒドロキシアニソール（BHA）、没食子酸プロピル、ビタミンE、ヒドロキノン、ヒドロキシクマリン、エタノールアミン、レシチン、セファリン、アスコルビン酸、リンゴ酸、ソルビトール、リン酸、亜硫酸水素塩、メタ亜硫酸水素ナトリウム、チオジプロピオン酸、およびそのエステル、ならびにジチオカーバメートをさらに含み得る。

20

【0144】

経口投与のために本明細書において提供される医薬組成物は、リポソーム、ミセル、マイクロスフェア、またはナノシステムの形態でも提供され得る。ミセル型の剤形は、米国特許第6,350,458号の記載に従い調製可能である。

30

【0145】

他の実施形態では、本明細書において提供される医薬組成物は、液体剤形に再構成される非発泡性または発泡性の顆粒および粉末として提供され得る。非発泡性顆粒または粉末で使用される薬学的に許容される担体および賦形剤は、希釈剤、甘味料、および湿润剤を含み得る。発泡性の顆粒または粉末において使用される薬学的に許容される担体および賦形剤は、有機酸および二酸化炭素供給源を含み得る。

【0146】

着色剤および矯味矯臭剤は、上記剤形のいずれにおいても使用することができる。

【0147】

本明細書において提供される医薬組成物は、遅延式、持続式、パルス式、制御式、標的化式、およびプログラム式の放出形態を含む、即時型または変換型の放出剤形として製剤化され得る。

40

【0148】

さらなる実施形態では、本明細書において提供される医薬組成物は、所望の治療作用を損なわない他の有効成分、または所望の作用を補完する物質と共に製剤化され得る。

【0149】

本明細書で引用されたすべての刊行物および特許文書は、そのような刊行物または文書のそれぞれが、参照により本明細書に組み込まれることを、具体的かつ個別に明示されたかのように、参照により本明細書に組み込まれる。刊行物および特許文書の引用は、そのいずれかが関連する先行技術であるとの承認を意図するものではなく、刊行物および特許文書の内容または日付に対する何らかの承認にも該当しない。本開示は、書面による明細としてここに記載されているが、本開示は、様々な実施形態で実践可能であること、ならびに上記説明および下記の実施例は説明を目的としたものであり、下記の特許請求の範囲

50

の限定でもないものと、当業者は認識する。

【実施例】

【0150】

(実施例1)

エンチノstattによる骨髄由来のサプレッサー細胞の調節

血液試料を、ENCORE301臨床トライアルに登録した一連の患者49例から取得したが、そのすべての患者は、進行性のホルモン受容体陽性乳がんを有し、非ステロイド系アロマターゼ阻害剤を投与しても進行した。患者27例が、エキセメスタンおよびエンチノstatt(「EE」)を受け、22例が、エキセメスタンおよびプラセボ(「EP」)を受けた。血液試料を、サイクル1の第1日目(C1D1;治療前)、C1D2、C1D8、およびC1D15に、バイオマーカー分析用として取得した。これらの患者試料のうち、34例(EEの20例およびEPの14例)を、循環性免疫サブセットについて分析した。細胞集団は、下記の表面マーカーに基づき、その場合、「X-」とはマーカーXについて陰性を意味し、「X+」とはマーカーXについて陽性を意味し、「Xlow/-」とはマーカーXが低レベルであることまたはその不存在を意味し、および「Xhi」とはマーカーXの高レベル発現を意味する：

【0151】

骨髄由来のサプレッサー細胞：CD3-、CD19-、CD56-、HLA-DR-、CD11b+、CD33+。

【0152】

PMN-MDSC：CD14-、CD11b+、CD33+。

【0153】

M-MDSC：CD3-、CD19-、CD56-、HLA-DR-、CD11b+、CD33+、CD14+。

【0154】

未成熟のMDSC：CD3-、CD19-、CD56-、HLA-DR-、CD11b+、CD33+、CD14-。

【0155】

CD8+T細胞：CD4-、CD8+、Foxp3-。

【0156】

CD4+T細胞：CD8-、CD4+、Foxp3-。

【0157】

T_{reg}：CD4+、CD8-、CD25hi、Foxp3+。

【0158】

3集団について単球を分析した：(1) CD14+；(2) CD14+、HLA-DRhi；および(3) CD14+、HLA-DRlow/-。PD-1、CTLA-4、およびTIM-3を、CD8+T細胞、CD4+T細胞、およびT_{reg}上で測定し、CD40を骨髄由来のサプレッサー細胞上で測定した。

【0159】

すべての比較を、C1D1の時点とC1D15の時点との間で、EEおよびEP処置群において実施した。PMN-MDSCの場合、EE処置は、-14.67%の変化を引き起こした一方、EP処置は、+20.56%の変化を引き起こした。M-MDSCの場合、EE処置は-62.3%の変化を引き起こした一方、EP処置は+1.97%の変化を引き起こした。未成熟のMDSCの場合、EE処置は、-20.9%の変化を引き起こした一方、EP処置は、-15.0%の変化を引き起こした。骨髄由来のサプレッサー細胞、M-MDSC、PMN-MDSC、および未成熟の骨髄由来のサプレッサー細胞では、CD40のレベルは、EP処置群と比較して、EE処置群において低下した。HLA-DR+単球の場合、EE処置は、+34.1%の変化を引き起こした一方、EP処置は、-11.38%の変化を引き起こした。単球上では、HLA-DRのレベルは、EE処置群において+16.3%、およびEP処置群では-4.7%であった。

10

20

30

40

50

【0160】

(実施例2)

エンチノスタッフ併用療法によるCD14⁺-HLA-DR(10/陰性)骨髓由来のサブレッサー細胞の調節

クラスIのHDAC阻害剤(HDACi)であるエンチノスタッフは、非ステロイド系アロマターーゼ阻害剤を投与しても進行した進行性のホルモン受容体陽性乳がんを対象として、エンチノスタッフ+エキセメスタン(「EE」)とエキセメスタン+プラセボ(「EP」)とを比較するENCORE301、ランダム化、プラセボ対照、第I/I相トライアルにおいて有望な活性を示した。ENCORE301は、一次無増悪生存率エンドポイントを満たし、EE群について全生存(OS)エンドポイントにおいて8.3ヶ月の中央値の改善を示した。これらの結果に基づき、エンチノスタッフには、画期的治療薬指定が認められ、そしてEPに対してEEを比較する第I/I相トライアル、E2112が現在登録中である。新規の前臨床研究から、エンチノスタッフは調節性T細胞(Treg)および骨髓由来のサブレッサー細胞(MDSC)を含む免疫サブレッサー細胞に対して免疫調節効果を有し、免疫チェックポイント遮断剤と組み合わせて、免疫原性マウス腫瘍をある程度消滅可能であることが示唆される。この活性は、MSDCの低下により媒介されることが明らかにされた(Kimら、PNAS、2014年、111巻：11774～9頁)。これらの結果は、そのようなクラス1のHDAC酵素であるエンチノスタッフの選択的標的により説明され得るが、同酵素は、Tregの分化および活性化において役割を演じていることが明らかにされている(Shenら、PLoS One、2012年、7巻：e30815；Wangら、JCI、2015年、125巻：11111～1123頁)、およびMDSC(Younら、Nat. Immunol、2013年、14巻：211～220頁)。

10

20

30

【0161】

これらのデータに基づき、ENCORE301の乳がん患者から得た血液試料中の免疫サブセットについて、分析を実施した。

【0162】

ENCORE301に登録した患者130例を代表する患者49例のサブセット(EEの27例およびEPの22例)から、サイクル1の第1日目(C1D1；治療前)、C1D2、C1D8、およびC1D15に、バイオマーカー分析用として血液を収集した。これら49例のうち、患者34例(EEの20例およびEPの14例)から得たC1D1およびC1D15の試料が、循環性免疫サブセットのさらなる分析用として利用可能であった。無増悪生存率(PFS)に関する臨床転帰が、患者34例において、EE(エンチノスタッフ+エキセメスタン)の患者について4.9ヶ月、(エキセメスタン+プラセボ)について1.8ヶ月、そのハザード比(HR)は0.62ヶ月であることが判明し、全生存(OS)は、EEについて28.1ヶ月、EPについて20.3ヶ月、そのHRは0.62ヶ月であることが判明し、ならびにベースライン時の人口統計学は包括解析母集団と一致した。

【0163】

C1D15とベースラインにおけるサブセットの百分率変化を、下記の表面マーカーに基づき評価した：Lin-MDSC(Lin；CD3、CD19、CD56)-HLA-DR-CD11b+CD33+、顆粒球MDSC(CD14-CD11b+CD33+)、単球のMDSC(Lin-HLA-DR-CD11b+CD33+CD14+)、未成熟のMDSC(Lin-HLA-DR-CD11b+CD33+CD14-)、CD8+T細胞(CD4-CD8+)、Foxp3-CD4+T細胞(CD8-CD4+Foxp3-)、およびTreg(CD4+CD8-CD25hiFoxp3+)。単球を3集団：CD14+、CD14+HLA-DRhi、およびCD14+HLA-DR-低い/陰性について分析した。さらに、PD-1、CTLA-4、およびTIM-3をT細胞サブセット上で測定し、CD40をMDSC上で測定した。

40

【0164】

前臨床データと整合して、顆粒球MDSC(-14.67%と+20.56%、P=0

50

. 0 3)、および単球 M D S C (- 6 2 . 3 % と + 1 . 9 7 %、 P = 0 . 0 0 2)の低下が E E に認められた。興味深いことに、M D S C 媒介型の免疫抑制に必要とされる共刺激受容体 C D 4 0 も、すべての M D S C サブセットにおいて下方制御されていた。エンチノスタットは、C D 8 + T 細胞と C D 4 + T 細胞との比に有意に影響を及ぼさなかった、または T 細胞サブセット上の C T L A - 4 、 P D - 1 、もしくは T I M - 3 の発現を変化させなかった。単球上の H L A - D R の発現低下は、がんにおける不良な予後と関連した。エンチノスタット媒介型の免疫調節性効果と整合して、H L A - D R + 単球の数 (3 4 . 1 % と - 1 1 . 3 8 %、 P = 0 . 0 0 0 4)、および単球上の H L A - D R 発現のレベル (1 6 . 3 % と - 4 . 7 % ; P = 0 . 0 1 5) の増加が認められた。C 1 D 1 5 の免疫細胞変化とこの患者の部分集団における臨床転帰との間で、相関は識別されなかった。

10

【 0 1 6 5 】

結果を、下記の表 1 に示す。

【 0 1 6 6 】

【表1】

表1:表面マーカー上のEEとEP処置の効果

検査室における試験の名称	EP (n=14;ベースラインからC1D15の変化(%))		EE (n=20;ベースラインからC1D15の変化(%))		p値(EEとEP)
	平均(SD)	中央値(最小、最大)	平均(SD)	中央値(最小、最大)	
CD14+	-0.58 (22.73)	1.90 (-38.67, 42.09)	15.71 (28.49)	13.12 (-22.76, 65.47)	0.16
CD14+HLA-DR [#]	-8.63 (17.77)	-11.38 (-37.35, 25.37)	41.76 (44.28)	34.08 (-25.35, 123.84)	0.0004
CD14+HLA-DR ^{LO/NEG}	13.45 (43.11)	1.55 (-41.10, 93.38)	3.56 (42.07)	-3.46 (-47.33, 66.14)	0.45
CD14+上のHLA-DR発現	-6.23 (18.77)	-4.74 (-32.46, 29.94)	23.20 (36.69)	16.26 (-36.75, 89.30)	0.02
g-MDSCs	20.56 (68.45)	3.82 (-72.47, 224.31)	-14.67 (65.78)	-34.53 (-77.75, 220.55)	0.03
g-MDSC上のCD40	16.52 (32.07)	10.52 (-27.59, 75.76)	-0.35 (30.88)	-0.72 (-47.74, 50.00)	0.22
m-MDSCs	28.24 (86.60)	1.97 (-55.05, 241.46)	-44.94 (50.22)	-62.33 (-92.81, 85.71)	0.002
m-MDSC上のCD40	3.37 (25.69)	1.57 (-45.55, 73.91)	-16.75 (21.37)	-17.18 (-61.05, 25.29)	0.011
Lin-MDSCs	1.28 (83.31)	-22.11 (-58.15, 274.45)	-13.26 (58.66)	-29.03 (-83.61, 120.51)	0.611
Lin-MDSC上のCD40	14.85 (34.92)	3.37 (-26.61, 97.78)	-16.67 (26.47)	-15.38 (-71.05, 21.82)	0.02
未成熟MDSC	4.92 (94.50)	-20.94 (-68.27, 306.60)	18.75 (130.14)	-14.95 (-89.23, 467.57)	0.93
未成熟MDSC上のCD40	18.64 (35.15)	9.00 (-32.58, 86.36)	-11.61 (21.90)	-8.51 (-49.30, 31.25)	0.007

10

20

30

40

50

【0167】

さらに、図1に認められるように、HLA-DR⁺単球の場合、EE処置は、+34.1%の変化を引き起こした一方、EP処置は、-11.38%の変化を引き起こした。単球上では、HLA-DRレベルは、EE処置群において+16.3%、およびEP処置群において-4.7%であった。より多くのデータを図2～5に示す。方法および結果は、Tomitaらの「The interplay of epigenetic therapy and immunity in locally

recurrent or metastatic estrogen receptor-positive breast cancer: Correlative analysis of ENCORE 301, a randomized, placebo-controlled phase II trial of exemestane with or without entinostat」、ONCOIMMUNOLOGY、Taylor and Francis Online、2016年にも記載されており、その全内容は、本明細書によりそのまま参照により組み込まれる。

【0168】

まとめとして、ENCORE 301において、エキセメスタンと組み合わせたエンチノスタッフで処置されたER+乳がん患者から得られた血液試料に由来するデータは、患者における、免疫抑制MDSCのHDACi媒介型の低下、および免疫担当CD14+HLA-DR^HI単球の増加に関する第1のエビデンスをもたらした。これらの所見は、ENCORE 301のEEで認められたOSの改善を一部説明し、エンチノスタッフと免疫チェックポイント遮断薬との組合せ試験計画に対する強力な根拠を提供し得る。

10

【0169】

エンチノスタッフで処置された患者におけるMDSCの低下は、MDSCの低下を通じて、免疫チェックポイント阻害剤の抗腫瘍活性を増強するエンチノスタッフの能力を実証する、最近公表された前臨床研究(Kimら、PNAS、2014年)と整合する。組合せの安全性および臨床的有用性を明確にするために、NSCLCおよびメラノーマを対象として、ペンブロリズマブと組み合わせたエンチノスタッフの第I相b/IІ相トライアルが開始されている。

20

【0170】

TNBCを対象として、アテゾリズマブと組み合わせたエンチノスタッフの第I相b/IІ相トライアルが計画されている。

【0171】

さらなる前臨床および臨床試験が、エンチノスタッフの免疫調節活性をさらに探索するために進行中である。

(実施例3)

エキセメスタンとのエンチノスタッフ併用療法のための患者選択

【0172】

エキセメスタンと組み合わせたエンチノスタッフによる処置を目的として患者を選択するに、末梢血液試料を患者から採取する。患者は、転移性のホルモン受容体陽性乳がんを有すると診断された閉経後の女性であって、非ステロイド系アロマターゼ阻害剤による治療期間中に進行した女性である。末梢血液試料5ミリリットル(mL)をEDTA採血チューブに採取し、それを氷上で急速に冷却する。血液試料を、コニカルチューブに移し、そして赤血球溶解バッファー15mLで稀釀し、そして室温で10分間インキュベートする。赤血球の溶解物を、リン酸緩衝化生理食塩水(PBS)30mLで稀釀することによりクエンチする。細胞懸濁物を、400×g、4で5分間遠心分離し、そして上清を廃棄する。ペレットをPBS、5mL中で再懸濁し、そして新しいコニカルチューブに移す。再懸濁した試料を、フィコール(登録商標)5mLで沈降させる。細胞を、遠心機のブレーキをかけずに400×gで20分間遠心分離する。PBSとフィコール(登録商標)層との界面で有核細胞を採取して新品のコニカルチューブに入れる。

30

【0173】

オリジナルの血液採取量と等しい容積を、新品のコニカルチューブ内のペレットに添加して細胞を洗浄する。細胞懸濁物を、400×g、4で5分間遠心分離し、そして上清を廃棄する。細胞を、オリジナルの血液採取量と等しい容積の、1%ウシ血清アルブミンおよび0.5%EDTA(染色バッファー)を含むPBS中で再懸濁する。生存細胞を次に血球計算機を使用して計測する。細胞懸濁物を400×g、4で5分間遠心分離し、上清を廃棄し、そして細胞を染色バッファー中で、1mL当たり細胞約10⁷個の細胞濃度に再懸濁し、そして一定分量1mLを、新しいチューブに移す。

40

【0174】

第1の試験では、下記の抗体を再懸濁した細胞に添加する：FITC結合抗CD11b

50

; P E 結合抗 C D 3 3 ; P e r C P - C y (商標) 5 . 5 結合抗 C D 1 4 ; ならびに A P C 結合抗 C D 3 、抗 C D 1 9 、抗 C D 5 6 、および抗 H L A - D R 。第 2 の試験では、下記の抗体を再懸濁した細胞に添加する： F I T C 結合抗 C D 1 4 ; P E 結合抗 H L A - D R ; ならびに A P C 結合抗 C D 3 、抗 C D 1 9 、および抗 C D 5 6 。第 3 の試験では、下記の抗体を再懸濁した細胞に添加する： F I T C 結合抗 C D 1 4 および P E 結合抗 H L A - D R 。対照試料は、未染色細胞および蛍光色素抗体の各セットのうちの 1 つが除去された染色細胞を含む。細胞を遮光して露光を最低限に抑え、そして室温で 2 0 分間放置する。4 0 0 × g 、 4 で 5 分間遠心分離することにより、染色した細胞を染色バッファー中に再懸濁する。染色した細胞を、次にフローサイトメーターで使用するためにポリプロピレンチューブに移す。

10

【 0 1 7 5 】

チューブ毎にフローサイトメトリーデータ取得を自動で行う C y t o m i c s F C 5 0 0 フローサイトメーター上で、フローサイトメトリーを実施する。自動測定を行った後、バックグラウンド蛍光（未染色試料を使用）および蛍光色素補償（個別に除去された蛍光色素試料を使用）の両方について、試料を補正する。第 1 の試験では、次に、抗体 - 細胞複合体を、 C D 1 1 b 、 C D 3 3 陽性、および C D 3 、 C D 1 9 、 C D 5 6 、 H L A - D R 陰性により同定される骨髄由来のサプレッサー細胞、ならびに C D 3 、 C D 1 4 、 C D 1 9 、 C D 5 6 、 H L A - D R 陽性、および C D 1 1 b 、 C D 3 3 陰性により同定される末梢血液単核細胞について計測した。抗体 - 細胞複合体に関するこれらの数値が、骨髄由来のサプレッサー細胞と末梢血液単核細胞との比を計算するために使用される。この療法では、患者が 1 : 1 0 0 から 1 : 1 の間の比を有する場合、骨髄由来のサプレッサー細胞数增加の存在を示唆し、患者はエンチノスタットとエキセメスタンとを用いた併用療法のために選択される。第 2 の試験では、 C D 1 4 陽性かつ H L A - D R - 1 o / 陰性細胞が、 C D 1 4 陽性、 H L A - D R の低発現または陰性、ならびに C D 3 、 C D 1 9 、および C D 5 6 陰性により同定される。末梢血液単核細胞は、 C D 3 、 C D 1 9 、 C D 5 6 、および H L A - D R 陽性により同定される。これらの数値が、 C D 1 4 陽性かつ H L A - D R - 1 o / 陰性細胞と末梢血液単核細胞との比を計算するために使用される。この療法では、患者が 1 : 2 0 0 から 1 : 1 の間の比を有する場合、 C D 1 4 陽性かつ H L A - D R - 1 o / 陰性細胞数增加の存在を示唆し、患者はエンチノスタットとエキセメスタンとを用いた併用療法のために選択される。第 3 の試験では、 C D 1 4 陽性かつ H L A - D R - 1 o / 陰性細胞が、 C D 1 4 陽性、および H L A - D R の低発現または陰性により同定される。 C D 1 4 陽性細胞は、 H L A - D R 発現とは独立して C D 1 4 陽性により同定される。これらの数値は、 C D 1 4 陽性かつ H L A - D R - 1 o / 陰性細胞と C D 1 4 陽性細胞との比を計算するために使用される。この療法では、患者が 1 : 1 0 0 から 9 9 : 1 の間の比を有する場合、 C D 1 4 陽性かつ H L A - D R - 1 o / 陰性細胞数增加の存在を示唆し、患者はエンチノスタットとエキセメスタンとを用いた併用療法のために選択される。

20

【 0 1 7 6 】

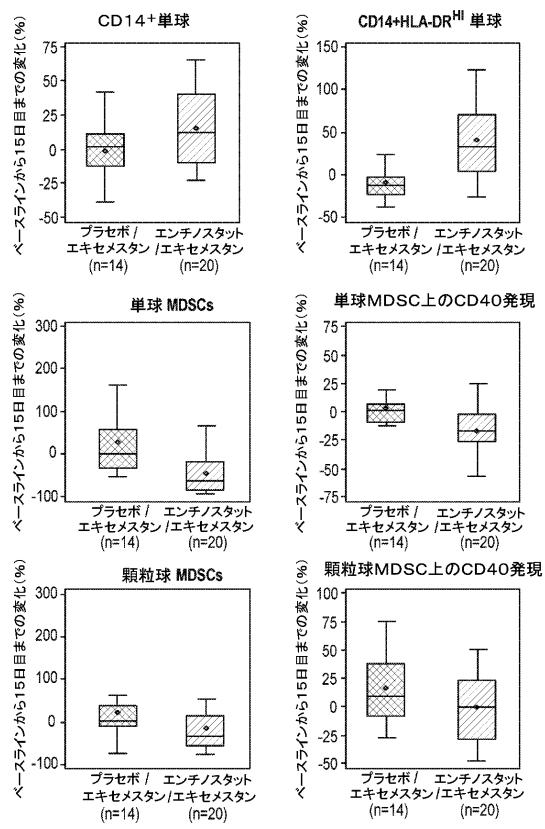
本発明は、その詳細な説明と共に記載されてきたが、上記説明は、本発明を説明するよう意図されており、添付の特許請求の範囲により定義される本発明の範囲を限定する意図を有さない。その他の態様、長所、および修正も、特許請求の範囲内である。

30

40

【図1】

FIG. 1



【図2A】

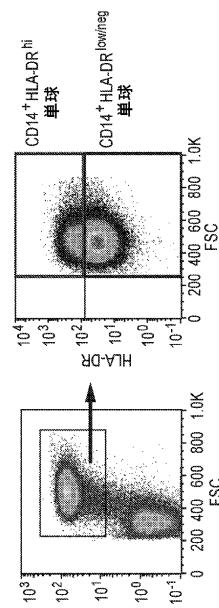


FIG. 2A

【図2B - D】

FIG. 2B

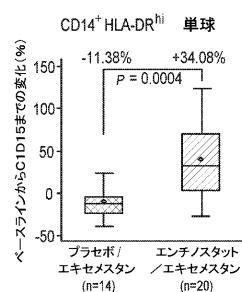


FIG. 2C

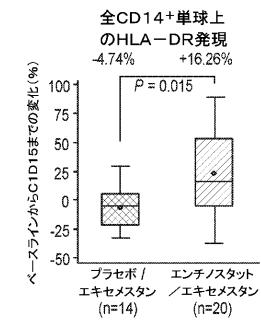
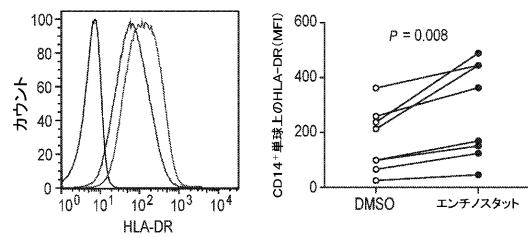


FIG. 2D



【図3A】

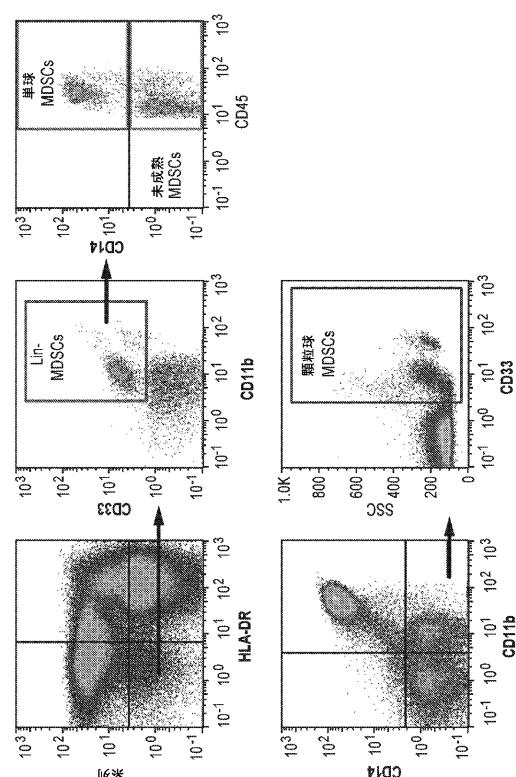
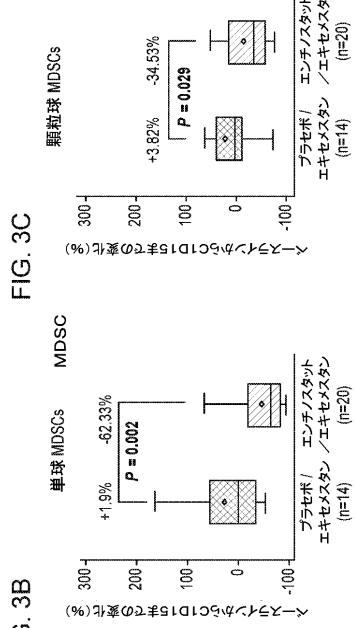


FIG. 3A

【図 3 B - C】



【図 4 A - B】

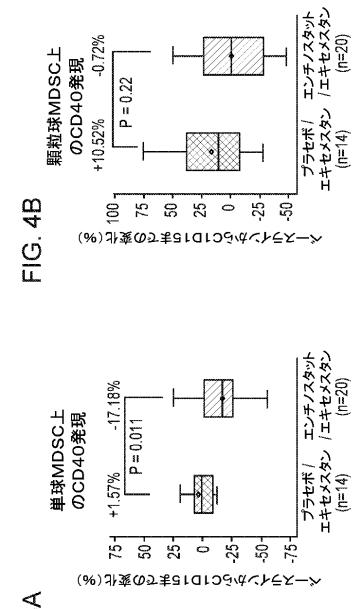
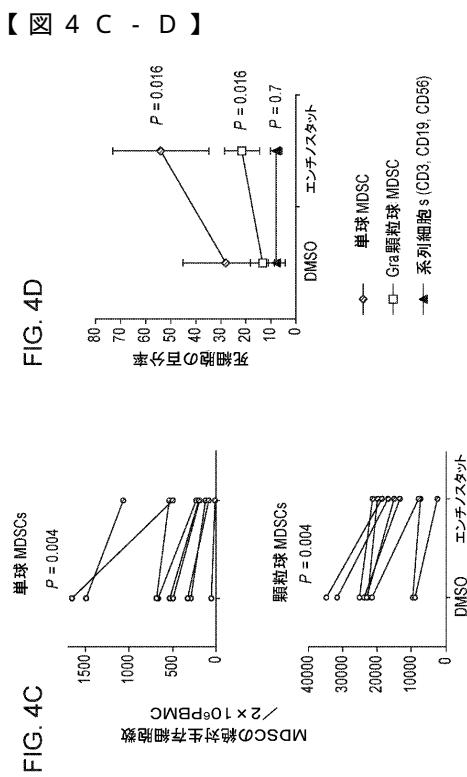
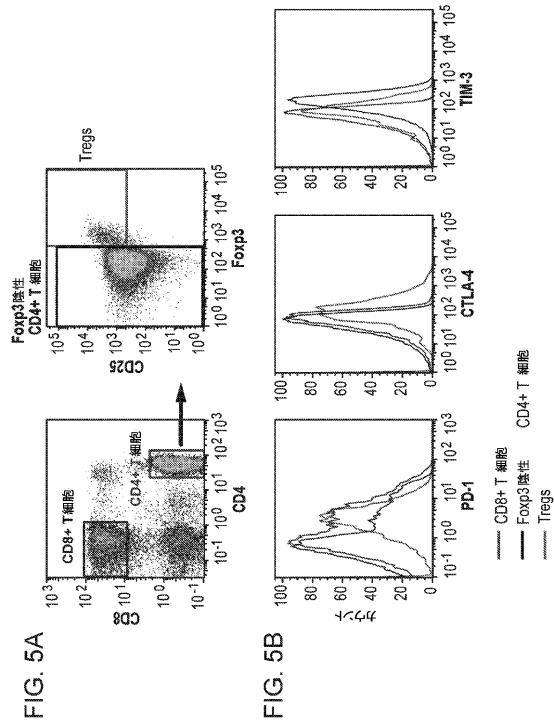


FIG. 3B



【図 5】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US16/50274															
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - G01N 33/574, 33/487; C07C 223/06; C12N 5/0786 (2017.01) CPC - G01N 33/57407, 33/487, 33/5011; C07C 223/06 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) IPC(8): G01N 33/574, 33/487, 33/483, 33/50; C07C 223/06; C12N 5/0786; A61K 31/4406, 31/245; C07D 213/30, 213/56 (2016.01) CPC: G01N 33/57407, 33/487, 33/5011, 33/4833, 33/5094; C07C 223/06; A61K 31/4406, 31/245; C07D 213/30, 213/56																	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched																	
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatSeer (US, EP, WO, JP, DE, GB, CN, FR, KR, ES, AU, IN, CA, INPADOC Data); Google Scholar; PubMed; EBSCO Keywords: cancer, combination, therapy, entinostat, MS275, SNDX-275, CD14, HLA-DR, blood, heparin, EDTA																	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Category*</th> <th style="text-align: left;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>(LIN, Y et al.) Immunosuppressive CD14 HLADR Monocytes In B-cell non-Hodgkin Lymphoma. Blood. 20 January 2011; Vol. 117, No. 3; pages 1-19; page 2, paragraph 3; page 3, paragraph 3; page 6, paragraphs 2, 4; page 9, paragraph 4; figure 3D; DOI: 10.1182/blood-2010-05-283820</td> <td>1-3, 4/1-3, 5/4/1-3, 46-49, 50/46-49, 51/50/46-49</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>(THURN, KT et al.) Rational Therapeutic Combinations with Histone Deacetylase Inhibitors for the Treatment of Cancer. Future Oncology. February 2011; Vol. 7, No. 2; pages 1-34; page 14, paragraph 3; DOI: 10.2217/fon.11.2.</td> <td>1-3, 4/1-3, 5/4/1-3, 46-49, 50/46-49, 51/50/46-49</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 8,500,712 B2 (POLETTINI, M et al.) 6 August 2013; column 4, lines 26-35</td> <td>4/1-3, 5/4/1-3, 50/46-49, 51/50/46-49</td> </tr> <tr> <td>P,X</td> <td>WO 2016/154068 A1 (SYNDAX PHARMACEUTICALS, INC.) 29 September 2016; whole document</td> <td>1-3, 46-49</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	(LIN, Y et al.) Immunosuppressive CD14 HLADR Monocytes In B-cell non-Hodgkin Lymphoma. Blood. 20 January 2011; Vol. 117, No. 3; pages 1-19; page 2, paragraph 3; page 3, paragraph 3; page 6, paragraphs 2, 4; page 9, paragraph 4; figure 3D; DOI: 10.1182/blood-2010-05-283820	1-3, 4/1-3, 5/4/1-3, 46-49, 50/46-49, 51/50/46-49	Y	(THURN, KT et al.) Rational Therapeutic Combinations with Histone Deacetylase Inhibitors for the Treatment of Cancer. Future Oncology. February 2011; Vol. 7, No. 2; pages 1-34; page 14, paragraph 3; DOI: 10.2217/fon.11.2.	1-3, 4/1-3, 5/4/1-3, 46-49, 50/46-49, 51/50/46-49	Y	US 8,500,712 B2 (POLETTINI, M et al.) 6 August 2013; column 4, lines 26-35	4/1-3, 5/4/1-3, 50/46-49, 51/50/46-49	P,X	WO 2016/154068 A1 (SYNDAX PHARMACEUTICALS, INC.) 29 September 2016; whole document	1-3, 46-49
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.															
Y	(LIN, Y et al.) Immunosuppressive CD14 HLADR Monocytes In B-cell non-Hodgkin Lymphoma. Blood. 20 January 2011; Vol. 117, No. 3; pages 1-19; page 2, paragraph 3; page 3, paragraph 3; page 6, paragraphs 2, 4; page 9, paragraph 4; figure 3D; DOI: 10.1182/blood-2010-05-283820	1-3, 4/1-3, 5/4/1-3, 46-49, 50/46-49, 51/50/46-49															
Y	(THURN, KT et al.) Rational Therapeutic Combinations with Histone Deacetylase Inhibitors for the Treatment of Cancer. Future Oncology. February 2011; Vol. 7, No. 2; pages 1-34; page 14, paragraph 3; DOI: 10.2217/fon.11.2.	1-3, 4/1-3, 5/4/1-3, 46-49, 50/46-49, 51/50/46-49															
Y	US 8,500,712 B2 (POLETTINI, M et al.) 6 August 2013; column 4, lines 26-35	4/1-3, 5/4/1-3, 50/46-49, 51/50/46-49															
P,X	WO 2016/154068 A1 (SYNDAX PHARMACEUTICALS, INC.) 29 September 2016; whole document	1-3, 46-49															
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 "R" 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																	
Date of the actual completion of the international search 05 January 2017 (05.01.2017)	Date of mailing of the international search report 01 FEB 2017																
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 PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774																

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US16/50274

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.: 6-45, 52-81 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:

****Please See Supplemental Page-*****

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No. PCT/US16/50274

Continued from Box No. III: Observations where unity of invention is lacking.

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I. Claims 1-5 are directed toward a method of selecting a patient for combination therapy comprising entinostat and a second therapeutic agent comprising measuring the number of myeloid derived suppressor cells and peripheral blood mononuclear cells in a peripheral blood sample from the patient; and a related method of providing a prognosis for cancer.

Group II. Claims 46-51 are directed toward a method of selecting a patient for combination therapy comprising entinostat and a second therapeutic agent comprising measuring the number of which are CD14-positive and HLA-DR-(lo/negative) cells in a peripheral blood sample from the patient; and a related method of providing a prognosis for cancer.

The inventions listed as Groups I and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Group I include myeloid-derived suppressor cells, not present in Group II; the special technical features of Group II include CD14-positive cells, not present in Group I.

Groups I and II share the technical features including: a method of selecting a patient for combination therapy comprising entinostat and a second therapeutic agent comprising: obtaining a peripheral blood sample from the patient, wherein the patient is diagnosed with a cancer; measuring the number of at least two different types of cells in the peripheral blood sample, and administering the combination therapy if the ratio of the first type of cells to the second type of cells is within a specified range; and a method of providing a prognosis for cancer in a patient comprising: obtaining a peripheral blood sample from the patient, wherein the patient is diagnosed with a cancer; measuring the number of at least two different types of cells in the peripheral blood sample, wherein the method further comprises, administering a combination therapy comprising entinostat and a second therapeutic agent to the patient, if the ratio of first type of cells to the second type of cells is within a specified range.

However, these shared technical features are previously disclosed by WO 2014/011713 A2 to Dana-Farber Cancer Institute Inc. (hereinafter 'Dana-Farber') in view of US 2014/0378420 A1 to Goodenow et al. (hereinafter 'Goodenow').

Dana Farber discloses a method of selecting a patient for combination therapy comprising an MDSC inhibitor (a method of determining a treatment regimen appropriate for a patient, wherein the regimen includes an MDSC inhibitor (a method of selecting a patient for combination therapy comprising an MDSC inhibitor); paragraphs [0264]) and a second therapeutic agent (and a second therapeutic agent; paragraphs [0070], [0263], [0283]) comprising: obtaining a peripheral blood sample from the patient (obtaining a peripheral blood sample from the patient; paragraphs [0079], [0305]), wherein the patient is diagnosed with a cancer (wherein the patient has multiple myeloma (is diagnosed with cancer); paragraph [0305]); measuring the number of at least two different types of cells in the peripheral blood sample (measuring the number of at least two different types of cells in the peripheral blood sample; paragraphs [0305], [0309]). Dana-Farber further discloses wherein HDAC inhibitors are also MDSC inhibitors (wherein HDAC inhibitors are also MDSC inhibitors; paragraph [0002]); determining a ratio of T cells to MDSCs in a peripheral blood sample from a patient (determining a ratio of T cells to MDSCs in a peripheral blood sample from a patient; paragraph [0309]); and wherein the numbers of MDSCs in cancers correlate with disease prognosis and clinical stage (wherein the numbers of MDSCs in cancers correlate with disease prognosis and clinical stage; paragraph [0002]).

Dana-Farber does not disclose comprising entinostat; and administering the combination therapy if the ratio of the first type of cells to the second type of cells is within a specified range; and a method of providing a prognosis for cancer in a patient comprising: obtaining a peripheral blood sample from the patient, wherein the patient is diagnosed with a cancer; measuring the number of at least two different types of cells in the peripheral blood sample, and administering a combination therapy comprising entinostat and a second therapeutic agent to the patient, if the ratio of first type of cells to the second type of cells is within a specified range.

Goodenow discloses therapy for cancer in a subject, wherein said therapy includes entinostat and a second therapeutic agent (therapy for cancer in a subject, wherein said therapy includes entinostat and a second therapeutic agent; abstract), as well as wherein entinostat is an HDAC inhibitor (wherein entinostat is an HDAC inhibitor; paragraph [0006]); and a method for selecting a patient for combination therapy with entinostat and a second therapeutic agent (a method for selecting a patient for combination therapy with entinostat and a second therapeutic agent; paragraph [0018]), comprising determining the level of a marker in a tissue sample (comprising determining the level of a marker in a tissue sample; paragraph [0018]).

It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time of the invention was made to have modified the disclosure of Dana-Farber to have included the use of an appropriate level of a marker or indicator of the presence of immune suppression in a patient, including determining the ratio of a first cell type, such as T cells, as disclosed by Dana-Farber, to MDSCs, as disclosed by Dana-Farber, to select a patient for therapy including the use of an MDSC inhibitor and a second compound, as disclosed by Dana-Farber, including the use of a known HDAC inhibitor, such as entinostat, as disclosed by Goodenow, in order to provide a combined effect between the compounds disclosed by Dana-Farber and the entinostat, to provide more effective therapy for a patient demonstrating a relative increase in the level of MDSCs, as disclosed by Dana-Farber. It further would have been obvious to a person of ordinary skill in the art at the time of the invention was made to have determined the prognosis for a patient with multiple myeloma, as disclosed by Dana-Farber, based on the relative level or a relative increase in the numbers of MDSCs in a sample from a patient, as disclosed by Dana-Farber, in order to enable the selection of an appropriate course of treatment for said patient, including the use of the compounds disclosed by Dana-Farber in combination with an additional MDSC inhibitor, such as an HDAC inhibitor, as disclosed by Dana-Farber, including entinostat, as disclosed by Goodenow, in order to provide more effective treatment based on the combined effect of the inhibitors on the MDSCs.

Since none of the special technical features of the Groups I and II inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by a combination of the Dana-Farber and Goodenow references, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 H 0 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 K 31/5685 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K 31/5685	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
	A 6 1 K 9/08	
	A 6 1 P 17/00	
	C 0 7 K 16/28	

(81) 指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,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,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(74) 代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72) 発明者 オルデントリッヒ, ピーター

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 2 1 , レキシントン , スローカム ロード 2 8

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA18 QQ08 QR48 QS33 QX01
 4C076 AA12 BB01 BB17 CC15 CC17 CC18 CC27 CC50 FF67
 4C084 AA19 MA52 MA66 NA06 ZA59 ZA81 ZA89 ZB26 ZC75
 4C085 AA14 AA15 BB01 BB11 EE03 GG02 GG08
 4C086 AA01 AA02 AA10 BC17 MA02 MA04 MA17 MA52 MA66 NA06
 ZA59 ZA81 ZA89 ZB26 ZC75
 4H045 AA11 AA30 DA76 EA20 FA74