

(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2018-516244

(P2018-516244A)

(43) 公表日 平成30年6月21日 (2018. 6. 21)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 39/395 (2006. 01)</b>	A 6 1 K 39/395	Z N A T 4 B O 6 3
<b>G O 1 N 33/53 (2006. 01)</b>	G O 1 N 33/53	D 4 C O 7 6
<b>G O 1 N 33/574 (2006. 01)</b>	G O 1 N 33/53	Y 4 C O 8 4
<b>A 6 1 P 11/00 (2006. 01)</b>	G O 1 N 33/53	M 4 C O 8 5
<b>A 6 1 P 35/00 (2006. 01)</b>	G O 1 N 33/574	A 4 C O 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 42 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2017-554475 (P2017-554475)  
 (86) (22) 出願日 平成28年4月14日 (2016. 4. 14)  
 (85) 翻訳文提出日 平成29年12月13日 (2017. 12. 13)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/027497  
 (87) 国際公開番号 W02016/168440  
 (87) 国際公開日 平成28年10月20日 (2016. 10. 20)  
 (31) 優先権主張番号 62/149, 184  
 (32) 優先日 平成27年4月17日 (2015. 4. 17)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 513097920  
 モーフォテック, インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 ペンシルバニア 193  
 41, エクストン, ウェルシュ  
 ブールロード 210  
 (74) 代理人 100078282  
 弁理士 山本 秀策  
 (74) 代理人 100113413  
 弁理士 森下 夏樹  
 (74) 代理人 100181674  
 弁理士 飯田 貴敏  
 (74) 代理人 100181641  
 弁理士 石川 大輔  
 (74) 代理人 230113332  
 弁護士 山本 健策

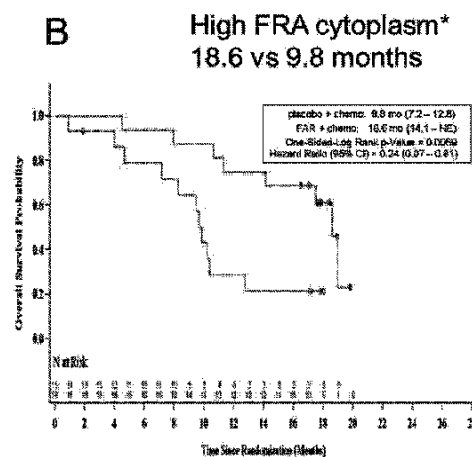
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 肺がんを処置するための方法

## (57) 【要約】

葉酸受容体アルファ (F R A) 発現肺がんを有する患者における F R A 標的化剤を用いた処置に対する応答性を見込みを予測するための方法が本明細書に提供されている。F R A 標的化剤を用いて患者における F R A 発現肺がんを処置するための方法も提供されている。本方法は、生体試料中の患者の F R A 発現レベルを定量化または決定するステップと、患者の F R A 発現レベルを、F R A 発現レベルを定量化するのに使用される参照標準と比較するステップとを伴い、患者の F R A 発現レベルが参照 F R A 発現レベルに等しい、またはそれを超える場合、患者は、F R A 標的化剤を用いた処置に応答する可能性がある。F R A 発現肺がん患者の同定された集団の応答の予測および処置のための関連したキットもさらに提供される。

Figure 5



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

葉酸受容体アルファ（F R A）に免疫特異的に結合する抗体を用いて患者における葉酸受容体アルファ（F R A）発現肺がんを処置するための方法であって、

前記患者の生体試料中の前記患者の F R A 発現レベルを決定するステップと；

前記患者の F R A 発現レベルを参照 F R A 発現レベルと比較するステップと；

前記患者の F R A 発現レベルが前記参照 F R A 発現レベルに等しい、またはそれを超える場合、前記患者に治療有効量の前記抗体を投与するステップとを含む、方法。

**【請求項 2】**

患者における葉酸受容体アルファ（F R A）発現肺がんを処置するための方法であって、前記方法は、前記患者に葉酸受容体アルファ（F R A）に免疫特異的に結合する抗体を投与するステップを含み、前記患者の F R A 発現レベルは、参照 F R A 発現レベルに等しい、またはそれを超える、方法。

**【請求項 3】**

葉酸受容体アルファ（F R A）発現肺がんを有する患者における、葉酸受容体アルファ（F R A）に免疫特異的に結合する抗体を用いた処置に対する応答性を見込みを予測するための方法であって、前記方法は、

前記患者の生体試料中の前記患者の F R A 発現レベルを決定するステップと；

前記患者の F R A 発現レベルを参照 F R A 発現レベルと比較するステップと；

を含み、前記患者の F R A 発現レベルが前記参照 F R A 発現レベルに等しい、またはそれを超える場合、前記患者は、F R A に免疫特異的に結合する前記抗体を用いた処置に応答する可能性がある、方法。

**【請求項 4】**

前記参照 F R A 発現レベルが、それより上で、F R A に免疫特異的に結合する前記抗体を投与される前記 F R A 発現肺がんに罹患している患者集団が、プラセボを投与される前記 F R A 発現肺がんに罹患している患者集団に対して少なくとも 1 つの臨床転帰の統計的に有意な改善を実証した F R A 発現レベルに対応する、前記請求項のいずれかに記載の方法。

**【請求項 5】**

前記患者集団が、化学療法剤をさらに投与された、請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記化学療法剤が、タキサン、シスプラチン、カルボプラチン、および / またはペメトレキセドを含む、請求項 5 に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記 F R A 発現レベルが、タンパク質定量化または R N A 定量化によって測定される、前記請求項のいずれかに記載の方法。

**【請求項 8】**

前記 F R A 発現レベルが、免疫組織化学的分析によって測定される、前記請求項のいずれかに記載の方法。

**【請求項 9】**

前記 F R A 発現レベルが、細胞質 F R A 発現である、前記請求項のいずれかに記載の方法。

**【請求項 10】**

前記 F R A 発現レベルが、膜性 F R A 発現である、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 11】**

F R A に免疫特異的に結合する前記抗体が、毒素にコンジュゲートされる、前記請求項のいずれかに記載の方法。

**【請求項 12】**

前記毒素が、微小管阻害剤、DNA損傷剤、DNA修復阻害剤、またはシグナル伝達阻害剤を含む、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記DNA損傷剤が、放射性核種を含む、請求項11に記載の方法。

【請求項14】

FRAに免疫特異的に結合する前記抗体が、以下：

CDRH1として配列番号1、CDRH2として配列番号2、CDRH3として配列番号3、CDRL1として配列番号4、CDRL2として配列番号5、およびCDRL3として配列番号6を含む抗体；

配列番号7のアミノ酸配列を含む成熟軽鎖可変領域および/もしくは配列番号8のアミノ酸配列を含む成熟重鎖可変領域を含む抗体；

ファルレッズマブ；

それぞれ配列番号7および配列番号8と少なくとも90%、好ましくは少なくとも95%もしくは99%の配列同一性を有する成熟した軽鎖可変領域および重鎖可変領域を含む、葉酸受容体アルファに特異的に結合する抗体；または

ファルレッズマブの葉酸受容体アルファへの結合を競合的に阻害することができる抗体もしくはその誘導体

である、前記請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項15】

治療有効量の化学療法剤を前記患者に投与するステップをさらに含む、前記請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項16】

前記化学療法剤が、白金含有化合物を含む、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

前記白金含有化合物が、シスプラチンまたはカルボプラチンを含む、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

治療有効量のタキサンを前記患者に投与するステップをさらに含む、前記請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項19】

前記タキサンが、パクリタキセルである、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

治療有効量のベメトレキセドを前記患者に投与するステップをさらに含む、請求項15、16、17、18、または19に記載の方法。

【請求項21】

カルボプラチンおよびパクリタキセルを前記患者に投与するステップをさらに含む、請求項1から14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項22】

カルボプラチンが前記患者に投与されて、約6またはそれ未満の曲線下面積(AUC)を達成する、請求項21に記載の方法。

【請求項23】

パクリタキセルが、約50mg/m<sup>2</sup>～約250mg/m<sup>2</sup>の用量で前記患者に投与される、請求項21または22に記載の方法。

【請求項24】

カルボプラチンおよびベメトレキセドを前記患者に投与するステップをさらに含む、請求項1から14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項25】

前記カルボプラチンが前記患者に投与されて、約5～6またはそれ未満の曲線下面積を達成する、請求項24に記載の方法。

【請求項26】

10

20

30

40

50

前記ペメトレキセドが、約 400 ~ 約 600 mg / m<sup>2</sup> の用量で前記患者に投与される、請求項 24 または 25 に記載の方法。

【請求項 27】

シスプラチンおよびペメトレキセドを前記患者に投与するステップをさらに含む、請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

シスプラチンが、約 50 mg / m<sup>2</sup> ~ 約 250 mg / m<sup>2</sup> の用量で前記患者に投与される、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

ペメトレキセドが、約 400 mg / m<sup>2</sup> ~ 約 600 mg / m<sup>2</sup> の用量で投与される、請求項 27 または 28 に記載の方法。

10

【請求項 30】

前記 FRA 発現レベルが、以下の抗体：

(a) ファルレッズマブと同じエピトープに結合する抗体；  
 (b) CDRH1 として配列番号 1 (GFTFSGYGLS)、CDRH2 として配列番号 2 (MISSGGSYTYADSVKG)、CDRH3 として配列番号 3 (HGDDPAWFAY)、CDRL1 として配列番号 4 (SVSSSISSNNLH)、CDRL2 として配列番号 5 (GTSNLAS)、および CDRL3 として配列番号 6 (QQWS SYPYMYT) を含む抗体；

(c) 配列番号 7 のアミノ酸配列を含む成熟軽鎖可変領域およびアミノ酸配列番号 8 を含む成熟重鎖可変領域を含む抗体；

20

(d) ファルレッズマブ；

(e) 548908 抗体；

(f) 548908 抗体と同じエピトープに結合する抗体；

(g) 6D398 抗体；

(h) 6D398 抗体と同じエピトープに結合する抗体；

(i) BN3.2 抗体；

(j) BN3.2 抗体と同じエピトープに結合する抗体；

(k) 26B3 抗体と同じエピトープに結合する抗体；

(l) CDRH1 として配列番号 14 (GYFMN)、CDRH2 として配列番号 15 (RIFPYNGDTFYNQKFKG)、CDRH3 として配列番号 16 (GTHYFDY)、CDRL1 として配列番号 17 (RTSENI FSYLA)、CDRL2 として配列番号 18 (NAKT LAE)、および CDRL3 として配列番号 19 (QH HYAF PWT) を含む抗体；

30

(m) 26B3 抗体；

(n) 19D4 抗体と同じエピトープに結合する抗体；

(o) CDRH1 として配列番号 20 (HPYMH)、CDRH2 として配列番号 21 (RIDPANGNTKYDPKFQG)、CDRH3 として配列番号 22 (EEVADYTMDY)、CDRL1 として配列番号 23 (RASESVDTYGN NF IH)、CDRL2 として配列番号 24 (LASNLES)、および CDRL3 として配列番号 25 (QQNNGDPWT) を含む抗体；

40

(p) 19D4 抗体；

(q) 9F3 抗体と同じエピトープに結合する抗体；

(r) CDRH1 として配列番号 26 (SGYYWN)、CDRH2 として配列番号 27 (YIKSDGSNNYNPSLKN)、CDRH3 として配列番号 28 (EWKAMDY)、CDRL1 として配列番号 29 (RASSTVSYSYLH)、CDRL2 として配列番号 30 (GTSNLAS)、および CDRL3 として配列番号 31 (QQYS GYPLT) を含む抗体；

(s) 9F3 抗体；

(t) 24F12 抗体と同じエピトープに結合する抗体；

50

(u) CDRH1として配列番号32 (SYAMS)、CDRH2として配列番号33 (EIGSGGSYTYPDTVTG)、CDRH3として配列番号34 (ETTAGYFDY)、CDRL1として配列番号35 (SASQGINNFLN)、CDRL2として配列番号36 (YTS SLHS)、およびCDRL3として配列番号37 (QHFSKL PWT)を含む抗体；

(v) 24F12抗体；

(w) (i) LK26HuVK；

(ii) LK26HuVKY；

(iii) LK26HuVKPW；および

(iv) LK26HuVKPW, Y；

10

からなる群より選択される可変領域軽鎖を含む抗体；

(x) (i) LK26HuVH；

(ii) LK26HuVH FAIS, N；

(iii) LK26HuVH SLF；

(iv) LK26HuVH I, I；

(v) LK26KOLHuVH；

からなる群より選択される可変領域重鎖を含む抗体；

(y) 重鎖可変領域LK26KOLHuVH (配列番号46) および軽鎖可変領域LK26HuVKPW, Y (配列番号41)を含む抗体；

(z) 重鎖可変領域LK26HuVH SLF (配列番号44) および軽鎖可変領域LK26HuVKPW, Y (配列番号41)を含む抗体；

20

(aa) 重鎖可変領域LK26HuVH FAIS, N (配列番号43) および軽鎖可変領域LK26HuVKPW, Y (配列番号41)を含む抗体；ならびに

(bb) マウスモノクローナルLK26抗体

の少なくとも1種を用いたイムノアッセイによって決定される、前記請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項31】

前記患者のFRA発現レベルが、デジタルイメージング技術またはマニュアル病理定量化によって評価される、前記請求項のいずれかに記載の方法。

【請求項32】

30

前記患者のFRA発現レベルが、FRAMSCORまたはHBSCORによって評価される、請求項7に記載の方法。

【請求項33】

前記参照FRA発現レベルが、42%の+1またはそれ超の抗FRA染色である、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

前記参照FRA発現レベルが、21%の+2またはそれ超の抗FRA染色である、請求項32に記載の方法。

【請求項35】

前記参照FRA発現レベルが、14%の+3またはそれ超の染色である、請求項32に記載の方法。

40

【請求項36】

前記参照FRA発現レベルが、7のFRAMSCORである、請求項32に記載の方法。

【請求項37】

前記参照FRA発現レベルが、0.25のHBSCORである、請求項32に記載の方法。

【請求項38】

前記生体試料が、全血、血清、血漿、循環細胞、循環腫瘍細胞、遊離細胞、組織、胸水、尿、唾液、痰、または気管支洗浄液である、前記請求項のいずれかに記載の方法。

50

## 【請求項 39】

前記生体試料が、胸膜組織を含む、前記請求項のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 40】

前記生体試料が、滲出液に由来する胸膜細胞を含む、前記請求項のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 41】

前記少なくとも 1 つの臨床転帰が、無増悪生存期間および / または全生存期間である、請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 42】

前記 F R A 発現肺がんが、F R A 発現非小細胞肺がん ( N S C L C ) である、前記請求項のいずれかに記載の方法。

10

## 【請求項 43】

前記 N S C L C が、腺癌である、請求項 42 に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

関連出願への相互参照

この出願は、2015 年 4 月 17 日に提出された米国仮出願第 62 / 149184 号 ( この内容は、その全体が参考として本明細書に援用される ) の利益を主張する。

## 【0002】

20

配列表

この出願は、A S C I I フォーマットで電子的に提出され、その全体が参考として本明細書に援用される配列表を含む。上記 A S C I I コピーは、2016 年 4 月 13 日に作成され、104018.000950 \_\_ S L . t x t という名称であり、サイズが 30,473 バイトである。

## 【0003】

本明細書に記載の主題は、葉酸受容体アルファ ( F R A ) 発現肺がんを有する患者における F R A 標的化剤を用いた処置に対する応答性を見込みを予測するための方法、および F R A 標的化剤を用いて患者における F R A 発現肺がんを処置する方法に関する。

## 【背景技術】

30

## 【0004】

米国がん協会によれば、肺および気管支がんの推定 221,200 件の新しい症例が、2015 年に米国で診断されるとされ、これはすべての新しいがん症例の約 14% に相当する。さらに、肺および気管支がんによる推定 158,040 件の死亡が、2015 年に米国で発生するとされ、これは、すべてのがんによる死亡の約 27% に相当する。すべての肺がんのおよそ 84% は、非小細胞肺がん ( N S C L C ) であり、5 年生存率は、わずか 18% である。American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2015. Atlanta: American Cancer Society. 2015 年。

## 【0005】

40

進行 N S C L C は、依然として持続性のある長期生存が非常に希有である処置困難ながんである。化学療法、特に、白金ベースのダブルット ( d o u b l e t ) は、標的化療法のための活性化変異が存在しない、または未知の患者のための確立された処置である。組織学は、進行 N S C L C を有する患者の化学療法を選択するときのますます重要な要因である ( L i ら、J Clin Oncol、2013 年; 31 巻: 1039 ~ 1049 頁 )。進行 N S C L C における大規模第 3 相研究により、シスプラチン + ペメトレキセドは、腺癌または大細胞癌を有する被験体において、シスプラチン + ゲムシタビンと比較したとき、統計的に優れた全生存期間 ( O S ) をもたらすことが見出された ( S c a g l i o t t i ら、J Clin Oncol、2008 年; 26 巻: 3543 ~ 3551 頁 )。しかし、同じ研究において、扁平上皮細胞組織学を有する被験体は、ゲムシタビン + シス

50

プラチンで処置したとき、良好な転帰を有した。

【0006】

いくつかのドライバー変異が最近同定され、NSCLCにおけるより良好な転帰を伴った標的化療法を可能にした。肺がん変異コンソーシアムは、彼らが評価した腺癌を有する1,007人の患者の64%においてこのような「対処可能な (actionable)」変異を見出し、最も一般的なのは、KRAS、EGFR、およびALKであった。この研究において標的化療法を使用すると、同定された変異を有するが標的化療法を用いなかった患者における2.4年および発癌性ドライバーを示さなかった者における2.1年のOSに対して、標的化療法を受けた発癌性ドライバーを有する患者のサブセットにおいて3.5年のOSの中央値がもたらされた ( $P = 0.001$ ) (Krisら、JAMA、2014年; 311巻: 1998~2006頁)。

10

葉酸受容体アルファ (FRA) は、発現および生物学がいくつかの悪性細胞型と関連する細胞表面 GPI - 係留型タンパク質である。FRA に対する抗体が開発され、前臨床および臨床研究において試験されて、腫瘍がこの抗原を発現する患者におけるがん成長の抑制に対するこれらの効果が評価された。最近、卵巣および肺がんにおける試験が行われてこれらの疾患に対する抗 FRA 抗体の効果が試験された (Armstrongら、Gynecol. Oncol., 2013年6月; 129巻(3号): 452~8頁; Thomasら、Lung Cancer., 2013年; 80巻(1号): 15~8頁)。これらの試験からの結果は、抗 FRA 療法が、様々なレベルの FRA 抗原および抗 FRA 抗体の薬理学的活性に影響し得る他の因子を呈するがんを有する患者から部分的になる広い、濃縮されていない (non-enriched) またはバイオマーカーにより選択された不均質処置企図集団において統計的に有意な臨床的利益をもたらすことに失敗したことを実証する (Vergoteら、Cancer Metastasis Rev., 2015年1月7日、DOI 10.1007/s10555-014-9539-8; Thomasら、Lung Cancer., 2013年; 80巻(1号): 15~8頁)。ほとんどの抗 FRA 抗体臨床研究は、すべての来訪者を含んでおり、一方、誰も、FRA 発現レベルに基づいて患者を選択して、腫瘍における FRA 発現の閾値レベルが抗 FRA 抗体療法に対する治療応答と相関し得るか否かを決定していない。現在、FRA の発現レベルの抗 FRA 抗体療法に対する治療応答との相関を示唆するデータは存在しない。実際に、腫瘍抗原発現と抗原標的化療法に対する応答との間の相関関係の知見は、いくつかの腫瘍抗原について確認することが困難である。最もよく研究された腫瘍抗原の1つ、HER2 は、発現 - 臨床的利益相関の欠如を実証する多くの例のうちの1つであり、それにより、抗 HER2 抗体ハーセプチン (トラスツズマブ) で処置された患者が、高または低腫瘍抗原にかかわらず臨床的利益を有することが見出された (Paikら; N Engl J Med, 2008年; 358巻: 1409~1411頁)。

20

30

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Liら、J Clin Oncol (2013年) 31巻: 1039~1049頁

40

【非特許文献2】Scagliottiら、J Clin Oncol (2008年) 26巻: 3543~3551頁

【非特許文献2】Krisら、JAMA (2014年) 311巻: 1998~2006頁

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

FRA を標的とする処置レジメンに応答性である NSCLC 患者を同定するための方法が差し迫って必要とされている。本明細書に記載の方法およびキットは、この必要を満たす。

【課題を解決するための手段】

50

## 【 0 0 0 9 】

葉酸受容体アルファ（F R A）発現肺がんを有する患者における葉酸受容体アルファ（F R A）標的化剤を用いた処置に対する応答性を見込みを予測するための方法が本明細書に提供されている。処置に対する応答性のこのような見込みを予測するための方法は、生体試料中の患者のF R A発現レベルを決定するステップと、患者のF R A発現レベルを参照F R A発現レベルと比較するステップとを伴う。患者のF R A発現レベルが参照F R A発現レベルに等しい、またはそれを超える場合、患者は、F R A標的化剤を用いた処置に応答する可能性がある。

## 【 0 0 1 0 】

F R A標的化剤を用いて患者における葉酸受容体アルファF R A発現肺がんを処置するための方法も、本明細書に提供されている。このような方法は、生体試料中の患者のF R A発現レベルを決定するステップと、患者のF R A発現レベルを参照F R A発現レベルと比較するステップと、患者のF R A発現レベルが参照F R A発現レベルに等しい、またはそれを超える場合、患者にF R A標的化剤を投与するステップとを伴う。一部の実施形態では、化学療法剤（例えば、本明細書に記載の標準治療化学療法）が、F R A標的化剤を伴ってまたはそれを伴わずに患者に投与される。

10

## 【 0 0 1 1 】

葉酸受容体アルファ（F R A）標的化剤を用いた処置に対する応答性を見込みを予測するための方法、および本明細書に記載のF R A標的化剤を用いて患者における葉酸受容体アルファF R A発現肺がんを処置するための方法の一部の実施形態では、F R A標的化剤は、F R Aに免疫特異的に結合する抗体、またはその抗原結合断片を含む。好適な態様では、F R Aに免疫特異的に結合するこのような抗体は、ファルレッツズマブを含む。一部の実施形態では、F R Aに免疫特異的に結合する抗体は、例えば、微小管阻害剤、DNA損傷剤（例えば、放射性核種）、DNA修復阻害剤、またはシグナル伝達阻害剤などの毒素にコンジュゲートされる。本明細書に記載の方法に従ってF R A標的化剤として用いられ得る例示的な抗体-薬物コンジュゲートは、I M G N 8 5 3である。本明細書に記載の方法の一部の実施形態では、F R A標的化剤は、ピンタフォリドである。

20

## 【 0 0 1 2 】

本明細書に記載の方法の一部の実施形態では、F R A発現肺がんは、F R A発現非小細胞肺がん（N S C L C）である。一部の実施形態では、N S C L Cは、腺癌である。

30

## 【 0 0 1 3 】

上述の方法のそれぞれについて、参照F R A発現レベルは、それより上で、F R A標的化剤を投与されるF R A発現肺がん罹患している患者集団が、プラセボを投与されるF R A発現肺がん罹患している患者集団に対して少なくとも1つの臨床転帰の統計的に有意な改善を実証するF R A発現レベルに対応する。改善される臨床転帰は、例えば、無増悪生存期間および/または全生存期間であり得る。一部の実施形態では、参照F R A発現レベルは、42%の+1またはそれ超の本明細書に記載の抗F R A染色に対応する。一部の実施形態では、参照F R A発現レベルは、21%の+2またはそれ超の本明細書に記載の抗F R A染色に対応する。一部の実施形態では、参照F R A発現レベルは、14%の+3またはそれ超の本明細書に記載の染色に対応する。一部の実施形態では、参照F R A発現レベルは、7のF R A M S C O R（またはMスコア）である。一部の実施形態では、参照F R A発現レベルは、0.25のH B S C O Rである。

40

## 【 0 0 1 4 】

一部の実施形態では、F R A発現肺がん罹患している患者集団は、化学療法剤、例えば、タキサン、白金含有化合物（例えば、シスプラチン、カルボプラチン）、および葉酸代謝拮抗薬（a n t i f o l a t e）（例えば、ペメトレキセド）、またはこれらの任意の組合せなどをさらに投与される。

## 【 0 0 1 5 】

F R A発現レベルは、タンパク質定量化またはRNA定量化によって本明細書に記載の方法に従って測定することができる。細胞質または膜性F R A発現を測定することができ

50



る。好適な実施形態では、FRA発現レベルは、免疫組織化学的分析によって測定される。好適な実施形態では、FRA発現レベルは、以下の抗体：

- (a) ファルレッズマブと同じエピトープに結合する抗体；
  - (b) CDRH1として配列番号1 (GFTFSGYGLS)、CDRH2として配列番号2 (MISSGGSYTYYSADSVKG)、CDRH3として配列番号3 (HGDDPAWFAY)、CDRL1として配列番号4 (SVSSSISSNNLH)、CDRL2として配列番号5 (GTSNLAS)、およびCDRL3として配列番号6 (QQWSYPYMYT)を含む抗体；
  - (c) 配列番号7のアミノ酸配列を含む成熟軽鎖可変領域およびアミノ酸配列番号8を含む成熟重鎖可変領域を含む抗体；
  - (d) ファルレッズマブ；
  - (e) 548908抗体；
  - (f) 548908抗体と同じエピトープに結合する抗体；
  - (g) 6D398抗体；
  - (h) 6D398抗体と同じエピトープに結合する抗体；
  - (i) BN3.2抗体 (Leica Biosystems)；
  - (j) BN3.2抗体と同じエピトープに結合する抗体；
  - (k) 26B3抗体と同じエピトープに結合する抗体；
  - (l) CDRH1として配列番号14 (GYFMN)、CDRH2として配列番号15 (RIFPYNGDTFYNQKFKG)、CDRH3として配列番号16 (GTHYFDY)、CDRL1として配列番号17 (RTSENI FSYLA)、CDRL2として配列番号18 (NAKT LAE)、およびCDRL3として配列番号19 (QH HYAFPWT)を含む抗体；
  - (m) 26B3抗体；
  - (n) 19D4抗体と同じエピトープに結合する抗体；
  - (o) CDRH1として配列番号20 (HPYMH)、CDRH2として配列番号21 (RIDPANGNTKYDPKFQG)、CDRH3として配列番号22 (EEVADYTMDY)、CDRL1として配列番号23 (RASESVDTYGN NF IH)、CDRL2として配列番号24 (LASNLES)、およびCDRL3として配列番号25 (QQNNGDPWT)を含む抗体；
  - (p) 19D4抗体；
  - (q) 9F3抗体と同じエピトープに結合する抗体；
  - (r) CDRH1として配列番号26 (SGYYWN)、CDRH2として配列番号27 (YIKSDGSNNYNPSLKN)、CDRH3として配列番号28 (EWKAMDY)、CDRL1として配列番号29 (RASSTVSYSYLH)、CDRL2として配列番号30 (GTSNLAS)、およびCDRL3として配列番号31 (QQYSGYPLT)を含む抗体；
  - (s) 9F3抗体；
  - (t) 24F12抗体と同じエピトープに結合する抗体；
  - (u) CDRH1として配列番号32 (SYAMS)、CDRH2として配列番号33 (EIGSGGSYTYYPDTVTG)、CDRH3として配列番号34 (ETTAGYFDY)、CDRL1として配列番号35 (SASQG INN FLN)、CDRL2として配列番号36 (YTS SLHS)、およびCDRL3として配列番号37 (QHFSKL PWT)を含む抗体；
  - (v) 24F12抗体；
  - (w) (i) LK26HuVK；
  - (ii) LK26HuVKY；
  - (iii) LK26HuVKPW；および
  - (iv) LK26HuVKPW, Y；
- からなる群より選択される可変領域軽鎖を含む抗体；

10

20

30

40

50

( x ) ( i ) L K 2 6 H u V H ;  
 ( i i ) L K 2 6 H u V H F A I S , N ;  
 ( i i i ) L K 2 6 H u V H S L F ;  
 ( i v ) L K 2 6 H u V H I , I ;  
 ( v ) L K 2 6 K O L H u V H ;

からなる群より選択される可変領域重鎖を含む抗体；

( y ) 重鎖可変領域 L K 2 6 K O L H u V H ( 配列番号 4 6 ) および軽鎖可変領域 L K 2 6 H u V K P W , Y ( 配列番号 4 1 ) を含む抗体；

( z ) 重鎖可変領域 L K 2 6 H u V H S L F ( 配列番号 4 4 ) および軽鎖可変領域 L K 2 6 H u V K P W , Y ( 配列番号 4 1 ) を含む抗体；

( a a ) 重鎖可変領域 L K 2 6 H u V H F A I S , N ( 配列番号 4 3 ) および軽鎖可変領域 L K 2 6 H u V K P W , Y ( 配列番号 4 1 ) を含む抗体；ならびに

( b b ) マウスモノクローナル L K 2 6 抗体

のうちの少なくとも 1 種を用いたイムノアッセイによって決定される。

#### 【 0 0 1 6 】

本明細書に記載の方法では、F R A 発現レベルは、デジタルイメージング技術またはマニュアル病理定量化によって評価することができる。一部の実施形態では、F R A 発現レベルは、F R A M S C O R または H B S C O R によって評価される。

#### 【 0 0 1 7 】

本明細書に記載の方法に従ってアッセイされる生体試料は、尿、血液、血清、血漿、唾液、循環細胞、循環腫瘍細胞、または腫瘍組織（例えば、胸膜組織）であり得る。一部の実施形態では、生体試料は、滲出液に由来する胸膜細胞を含む。

#### 【 0 0 1 8 】

記載した方法は、患者の F R A 発現レベルが、参照 F R A 発現レベルに等しい、またはそれを超えるか否かにかかわらず、患者に化学療法剤をさらに投与することを含み得る。好適な実施形態では、化学療法剤は、白金含有化合物、例えば、シスプラチンまたはカルボプラチンなど；タキサン（例えば、パクリタキセル）；葉酸代謝拮抗薬（例えば、ペメトレキセド）；またはこれらの任意の組合せを含む。例えば、本明細書に記載の方法では、患者は、カルボプラチンおよびパクリタキセル；カルボプラチンおよびペメトレキセド；またはシスプラチンおよびペメトレキセドを投与され得る。

#### 【 0 0 1 9 】

要約した主題の追加の態様は、詳細な説明および提供した実施例および添付の図面においてより詳細に提供されている。

#### 【 0 0 2 0 】

概要および以下の詳細な説明は、添付の図面と併せて読むとさらに理解される。開示された方法を例示する目的で、方法の例示的な実施形態が図面に示されているが、方法は、開示された具体的な実施形態に限定されない。

#### 【 図面の簡単な説明 】

#### 【 0 0 2 1 】

【 図 1 】 図 1 は、F R A M S C O R および H B S C O R を介した F R A 定量化についての胸膜組織適性を示す。正常（左上パネル）または悪性非小細胞肺癌（N S C L C）組織試料（すべての他のパネル）は、患者から調達した。組織をホルマリン固定し、ガラススライド上に切片化し、2 6 B 3 抗 F R A 抗体を使用して F R A 発現について染色した。染色したスライドを顕微鏡観察によって可視化し、写真撮影を介して記録した。この図は、胸膜組織検体および定量化された F R A 細胞質または膜染色に適した染色に適した染色を表す（上の行）。芳しくない組織保存、芳しくない組織形態、または過剰染色を伴った検体、および胸膜組織でなく、胸水中の悪性細胞からなるものは、F R A 発現臨床転帰相関研究から省略されている。後者の例は、最下行に示されている。滲出液に由来する細胞を使用して、抗 F R A 治療応答に必要とされる最小限の F R A レベルを測定することができる。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 2 2 】

【図 2】図 2 は、悪性胸膜組織内の F R A 発現の + 1（低発現）、+ 2（中レベル）、および + 3（高レベル）をスコアリングするのに使用した参照データセットの代表的な試料を示す。

## 【 0 0 2 3 】

【図 3】図 3 は、H B S C O R 法を使用して臨床転帰（全生存期間）に対する F R A の細胞質レベルを測定する代表的な発現カットポイント分析を示す。応答における有意な改善が、F R A 発現レベルが約 0 . 2 9 またはそれ超の H B S C O R を超える患者において観察される。このレベルで、有意な臨床応答（0 . 5 未満のハザード比）が、腫瘍 F R A 発現レベルがこの値未満である患者と比較した場合、観察される。ポジティブな臨床転帰（ハザード比 < 0 . 7）が、0 . 2 5 またはそれ超の H B S C O R を伴って、ファルレツズマブで処置された患者において観察される。

10

## 【 0 0 2 4 】

【図 4 A】図 4 A および 4 B は、標準治療（S O C）化学療法 + / - ファルレツズマブで処置され、高レベルの膜局在的（F R A M S C O R）F R A を発現する患者の臨床応答を例示する。パネル A は、F R A M S C O R 法を使用する高レベルの F R A を有する患者における全生存期間（O S）の代表的測定を示す。この測定によって、ファルレツズマブ + S O C で処置された患者（青線；三角形）および 7 超の F R A M S C O R は、プラセボ + S O C 処置患者（赤線；円）に対して、O S において臨床的に意味のある改善、それぞれ、1 8 . 3 カ月対 1 0 . 0 カ月（ハザード比 0 . 5 4 ;  $p = 0 . 0 2 6 6$ ）を示した。同様の臨床的利益が、P F S を測定したとき観察された。パネル B は、7 未満の F R A M S C O R を伴ったファルレツズマブ + S O C で処置された患者（青線；三角形）が、プラセボ + S O C 処置患者（赤線；円）に対して O S において臨床的に意味のある改善を有さなかったことを示す（ $p = 0 . 3 8 6$ ）。

20

【図 4 B】図 4 A および 4 B は、標準治療（S O C）化学療法 + / - ファルレツズマブで処置され、高レベルの膜局在的（F R A M S C O R）F R A を発現する患者の臨床応答を例示する。パネル A は、F R A M S C O R 法を使用する高レベルの F R A を有する患者における全生存期間（O S）の代表的測定を示す。この測定によって、ファルレツズマブ + S O C で処置された患者（青線；三角形）および 7 超の F R A M S C O R は、プラセボ + S O C 処置患者（赤線；円）に対して、O S において臨床的に意味のある改善、それぞれ、1 8 . 3 カ月対 1 0 . 0 カ月（ハザード比 0 . 5 4 ;  $p = 0 . 0 2 6 6$ ）を示した。同様の臨床的利益が、P F S を測定したとき観察された。パネル B は、7 未満の F R A M S C O R を伴ったファルレツズマブ + S O C で処置された患者（青線；三角形）が、プラセボ + S O C 処置患者（赤線；円）に対して O S において臨床的に意味のある改善を有さなかったことを示す（ $p = 0 . 3 8 6$ ）。

30

## 【 0 0 2 5 】

【図 5 A】図 5 A および 5 B は、H B S C O R 法を使用して決定した場合の、標準治療化学療法 + / - ファルレツズマブで処置され、高レベルの細胞質 F R A を発現する患者（パネル B）対 低レベルの細胞質 F R A を発現する患者（パネル A）の臨床応答を例示する。パネル A は、低レベルの F R A を有する患者における全生存期間（O S）の代表的測定を示す。この測定によって、最適以下の H B S C O R（ $H B S C O R < 0 . 3 8$ ）を有する患者は、プラセボ対照（白丸）と比較した場合に、ファルレツズマブ（黒丸）で処置されたとき、臨床的改善を有さなかった（ハザード比 1 . 0 3 ;  $p = 0 . 5 3 8 9$ ）。パネル B は、最適な H B S C O R（ $H B S C O R = 0 . 3 8$  ; ハザード比 0 . 2 4 ;  $p = 0 . 0 0 6 9$ ）を有する患者における全生存期間の統計的に有意な改善を示し、これは、全生存期間の 8 . 8 カ月の改善に解釈される。同様の効果が、P F S を測定したとき、観察された。

40

【図 5 B】図 5 A および 5 B は、H B S C O R 法を使用して決定した場合の、標準治療化学療法 + / - ファルレツズマブで処置され、高レベルの細胞質 F R A を発現する患者（パネル B）対 低レベルの細胞質 F R A を発現する患者（パネル A）の臨床応答を例示す

50

る。パネル A は、低レベルの F R A を有する患者における全生存期間 ( O S ) の代表的測定を示す。この測定によって、最適以下の H B S C O R ( H B S C O R < 0 . 3 8 ) を有する患者は、プラセボ対照 ( 白丸 ) と比較した場合に、ファルレツズマブ ( 黒丸 ) で処置されたとき、臨床的改善を有さなかった ( ハザード比 1 . 0 3 ;  $p = 0 . 5 3 8 9$  ) 。パネル B は、最適な H B S C O R ( H B S C O R 0 . 3 8 ; ハザード比 0 . 2 4 ;  $p = 0 . 0 0 6 9$  ) を有する患者における全生存期間の統計的に有意な改善を示し、これは、全生存期間の 8 . 8 カ月の改善に解釈される。同様の効果が、P F S を測定したとき、観察された。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 6 】

開示された方法は、本開示の一部を形成する添付の図面に関連して採用した以下の詳細な説明を参照することによってより容易に理解することができる。開示された方法は、本明細書に記載され、かつ / または示された具体的な方法に限定されず、本明細書で使用される専門用語は、単なる例として特定の実施形態を記載する目的のためであり、特許請求された方法を限定するように意図されていないことが理解されるべきである。

【 0 0 2 7 】

同様に、別段に具体的に述べられていない限り、可能な機構もしくは作用機序または改善の理由に関する任意の記載は、一例にすぎないように意味され、開示された方法は、任意のこのような示唆された機構もしくは作用機序または改善の理由の正確さまたは不正確さによって制約されるべきではない。

【 0 0 2 8 】

別個の実施形態の文脈で、明確にするために本明細書に記載されている開示された方法のある特定の特色はまた、単一の実施形態において組合せで提供され得ることが察知されるべきである。反対に、簡潔さのために、単一の実施形態の文脈で記載されている開示された方法の様々な特色は、別個に、または任意のサブコンビネーションでも提供され得る。

【 0 0 2 9 】

本明細書で使用される場合、単数形「 a 」、「 a n 」、および「 t h e 」は、複数形を含む。

【 0 0 3 0 】

用語「約」は、本明細書で使用される場合、量、時間上の継続時間などの測定可能な値に言及するとき、指定された値から最大で  $\pm 10\%$  の変動を包含するように意味する。なぜなら、このような変動は、開示された方法を実施するのに適切であるためである。別段に示されていない限り、明細書および特許請求の範囲で使用される成分の量、分子量などの性質、反応条件などを表すすべての数値は、用語「約」によってすべての事例において修飾されていると理解されるべきである。したがって、それとは反対に示されていない限り、以下の明細書および添付の特許請求の範囲で示される数値パラメータは、本発明が得ようとする所望の性質に応じて変動し得る近似である。最低限でも、かつ特許請求の範囲の範囲に対する均等物の原則の適用を限定する試みとしてではなく、各数値パラメータは、少なくとも、報告された有効数字を踏まえて、かつ通常の丸め技法を適用することによって解釈されるべきである。

【 0 0 3 1 】

用語「抗体」は、( a ) 免疫グロブリンポリペプチド、即ち、別段の指定のない限り、すべての免疫グロブリンアイソタイプ ( I g G 、 I g A 、 I g E 、 I g M 、 I g D 、および I g Y ) 、クラス ( 例えば、I g G 1 、 I g G 2 、 I g G 3 、 I g G 4 、 I g A 1 、 I g A 2 ) 、サブクラス、ならびに各アイソタイプの様々なモノマーおよびポリマー形態を含めた特異的抗原 ( 例えば、葉酸受容体アルファ ) に特異的に結合する抗原結合部位を含む免疫グロブリンファミリーのポリペプチド、ならびに ( b ) 抗原 ( 例えば、葉酸受容体アルファ ) に免疫特異的に結合するこのような免疫グロブリンポリペプチドの保存的に置換された改変体を指す。抗体は一般に、例えば、H a r l o w および L a n e 、 A n

10

20

30

40

50

tibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988年)に記載されている。文脈から別段に明らかでない限り、抗体への言及は、以下でより詳細に記載される抗体誘導体も含む。

【0032】

「抗体断片」は、全長抗体の部分、一般にその抗原結合領域または可変領域、例えば、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、およびFv断片など；ダイアボディ(diabody)；バイオボディ(biobody)；線状抗体；単鎖抗体分子；ならびに抗体断片から形成される多重特異性抗体を含む。抗体のタンパク質消化および宿主細胞内の組換え産生を含めた様々な技法が抗体断片を生成するために開発されているが、抗体断片を生成するための他の技法が、熟練した実施者に明らかとなるであろう。一部の実施形態では、最適な抗体断片は、単鎖Fv断片(scFv)である。「単鎖Fv」または「scFv」抗体断片は、抗体のV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>ドメインを含み、これらのドメインは、単一ポリペプチド鎖中に存在する。一般に、Fvポリペプチドは、V<sub>H</sub>とV<sub>L</sub>ドメインとの間にポリペプチドリンカーをさらに含み、これは、scFvが抗原結合のための所望の構造を形成することを可能にする。scFvおよび他の抗体断片の総説については、James D. Marks, Antibody Engineering, 2章, Oxford University Press (1995年) (Carl K. Borrebaeck 編)を参照。

10

【0033】

「抗体誘導体」は、異種分子の共有結合的付着、例えば、異種ポリペプチド(例えば、細胞毒)もしくは治療剤(例えば、化学療法剤)の付着、または抗体に通常付随していないグリコシル化、脱グリコシル化、アセチル化、もしくはリン酸化などによって修飾された、上記に定義された抗体を意味する。

20

【0034】

用語「モノクローナル抗体」は、任意の真核もしくは原核細胞クローン、またはファージクローンを含めた単一細胞クローンに由来し、それが生成される方法に由来しない抗体を指す。よって、用語「モノクローナル抗体」は、ハイブリドーマ技術によって生成される抗体に限定されない。

【0035】

「抗原」は、抗体が特異的に結合する実体である。例えば、葉酸受容体アルファは、抗葉酸受容体アルファ抗体が特異的に結合する抗原である。

30

【0036】

FRA標的化剤は、FRAを標的とし、またはFRAを通じてその効果を発揮する治療剤である。FRA標的化剤としては、それだけに限らないが、FRA結合タンパク質、例えば、ファルレッズマブなどのFRAに免疫特異的に結合する抗体およびその抗原結合断片など；IMGN853(Immunogen)などのこのような抗体および抗原結合断片の薬物コンジュゲート；ならびにピンタフォリド(EC145; Endocyte)などの小分子がある。ピンタフォリドは、葉酸-デスアセチルビンブラスチンモノヒドラジドコンジュゲートであり、これは、FRAおよびエンドサイトーシスを介してがん性細胞の細胞質内への薬物の遊離を可能にする。好適な実施形態では、FRA標的化剤は、ファルレッズマブである。

40

【0037】

用語「がん」および「腫瘍」は、当技術分野で周知であり、がんを引き起こす細胞に典型的な特性、例えば、制御されない増殖、不死、転移能、急速な成長および増殖速度、ならびにある特定の特徴的な形態学的特色などを有する細胞の、例えば被験体における存在を指す。がん細胞は、腫瘍の形態にあることが多いが、このような細胞は、被験体内に単独で存在する場合があります、または白血病細胞などの非腫瘍形成性がん細胞であり得る。本明細書で使用される場合、用語「がん」は、前悪性および悪性がんを含む。

【0038】

50

本明細書で使用される場合、用語「葉酸受容体アルファ」(FRA、FR-アルファ、FOLR-1、またはFOLR1とも呼ばれる)は、フォレートに対する高親和性受容体のアルファアイソフォームを指す。膜結合型FRAは、グリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)アンカーによって細胞表面に付着され、膜とエンドサイトーシス区画との間を循環し、細胞内にフォレートを輸送することができる。FRAは、女性生殖器官、胎盤、乳房、腎臓近位尿細管、脈絡叢、肺、および唾液腺のものを含めた様々な上皮組織内で発現される。FRAの可溶性形態としては、それだけに限らないが、膜係留型葉酸受容体上のプロテアーゼまたはホスホリパーゼの作用によって得られるものがある。

#### 【0039】

ヒトFRAのコンセンサスヌクレオチド配列およびアミノ酸配列は、それぞれ配列番号9および10として本明細書に示されている。

#### 【化1】

##### 配列番号 9

```
tcaagggttaa acgacaagga cagacatggc tcagcggatg acaacacagc tgetgctcct 60
tctagtgtgg gtggctgtag taggggaggg tcagacaagg attgcatggg ccaggactga 120
gtttctcaat gtctgcatga acgccaagca ccacaaggaa aagccaggcc ccgaggacaa 180
gttgcatgag cagtgtcgac cctggaggaa gaatgcctgc tgttctacca acaaccagcca 240
ggaagcccat aaggatgttt cctacctata tagattcaac tggaaacct gtggagagat 300
ggcacctgcc tgcacaaggg atttcatcca ggacacctgc ctctacgagt gctcccccaa 360
cttggggccc tggatccagc aggtggatca gagctggcgc aaagagcggg tactgaacgt 420
gcccctgtgc aaagaggact gtgagcaatg gtgggaagat tgtgcacct cctacacctg 480
caagagcaac tggcacaagg gctggaactg gacttcaggg tttacaagt gcgcagtggg 540
agctgcctgc caacctttcc atttctactt cccacacccc actgttctgt gcaatgaaat 600
ctggactcac tctacaagg tcagcaacta cagccgaggg agtggccgct gcctccagat 660
gtggttcgac ccagcccagg gcaaccccaa tgaggaggltg gcgaggttct atgctgcagc 720
catgagtggg gctggggcct gggcagcctg gcctttcctg cttagcctgg ccctaagtct 780
gctgtggctg ctcagetgac ctctttttac cttctgatac ctggaaatcc ctgccctgtt 840
cagccccaca gctcccaact atttggttcc tctccatgg tcgggcctct gacagccact 900
ttgaataaac cagacaccgc acatgigtct tgagaattat ttggaaaaaa aaaaaaaaaa 960
aa 962
```

##### 配列番号 10

```
Met Ala Gln Arg Met Thr Thr Gln Leu Leu Leu Leu Val Trp Val
Ala Val Val Gly Glu Ala Gln Thr Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu
Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly
Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala
```

## 【化 2】

Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr  
 Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys  
 Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn  
 Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg  
 Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu  
 Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp  
 Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys Cys Ala Val Gly Ala Ala Cys Gln  
 Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile  
 Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg  
 Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu  
 Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala  
 Ala Trp Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Leu Trp Leu Leu  
 Ser

10

20

改変体、例えば、少なくとも 1 個のアミノ酸置換を含有する天然に存在する対立遺伝子改変体または配列は、本明細書で使用される用語によって包含される。

## 【0040】

本明細書で使用される場合、用語「細胞に結合していない」は、がん性細胞などの細胞の細胞膜に付着していないタンパク質を指す。特定の実施形態では、細胞に結合していない F R A は、任意の細胞に結合せず、例えば、尿、血清、血漿、または胸水などの生体液中に自由に浮遊し、または可溶化している。例えば、細胞に結合していないタンパク質は、正常またはがん性細胞から、例えば、がん性細胞の表面から生体液中に脱落し、分泌され、または搬出され得る。

## 【0041】

指定された R N A の「レベル」または「発現レベル」は、本明細書で使用される場合、R N A レベルの測定について当技術分野で公知の任意の方法を使用して決定した場合の R N A のレベルを指す。このような方法としては、それだけに限らないが、分光光度法（例えば、紫外吸光度）、蛍光光度法、ハイブリダイゼーションアッセイ、およびマイクロキャピラリー電気泳動がある。

30

## 【0042】

指定されたタンパク質の「レベル」または「発現レベル」は、本明細書で使用される場合、タンパク質レベルの測定について当技術分野で公知の任意の方法を使用して決定した場合のタンパク質のレベルを指す。このような方法としては、例えば、電気泳動、キャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（H P L C）、薄層クロマトグラフィー（T L C）、超拡散クロマトグラフィー（h y p e r d i f f u s i o n c h r o m a t o g r a p h y）、流体またはゲル沈降反応、吸収分光法、比色アッセイ、分光光度アッセイ、フローサイトメトリー、免疫拡散法（一元または二元）、溶液相アッセイ、免疫蛍光定量法、免疫沈降、平衡透析、免疫拡散法、溶液相アッセイ、免疫電気泳動法、ウエスタンブロッティング、ラジオイムノアッセイ（R I A）、酵素結合免疫吸着測定法（E L I S A）、免疫蛍光アッセイ、および電気化学発光イムノアッセイ（以下に例示された）などがある。好適な実施形態では、レベルは、本明細書でより詳細に記載されている抗体ベース技法を使用して決定される。

40

## 【0043】

例えば、F R A などの指定されたタンパク質の発現のレベルを決定するのにイムノアッ

50

セイで使用される抗体は、検出可能な標識で標識することができる。用語「標識された」は、結合剤または抗体に関しては、結合剤または抗体に検出可能な物質をカップリングする（即ち、物理的に連結する）ことによる結合剤または抗体の直接標識、および直接的に標識される別の試薬との反応性による結合剤または抗体の間接標識を包含するように意図されている。間接標識の一例としては、蛍光標識二次抗体を使用する一次抗体の検出がある。一実施形態では、抗体は、標識され、例えば、放射標識され、発色団標識され、フルオロフォア標識され、または酵素標識される。別の実施形態では、抗体は、抗体誘導体（例えば、基質、またはタンパク質 - リガンド対（例えば、ビオチン - ストレプトアビジン）のタンパク質もしくはリガンドとコンジュゲートされた抗体）、あるいは抗体断片（例えば、単鎖抗体、単離抗体超可変ドメイン）である。

10

#### 【0044】

特異的マーカー（例えば、FRA）の発現レベルは、当技術分野で公知のRNAまたはタンパク質定量法の任意の方法によって決定することができる。このような方法としては、それだけに限らないが、分光光度法（例えば、紫外吸光度）、蛍光光度法、ハイブリダイゼーションアッセイ、電気泳動、キャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、薄層クロマトグラフィー（TLC）、超拡散クロマトグラフィー、流体またはゲル沈降反応、吸収分光法、比色アッセイ、分光光度アッセイ、フローサイトメトリー、免疫拡散法（一元または二元）、溶液相アッセイ、免疫蛍光定量法、免疫沈降、平衡透析、免疫拡散法、溶液相アッセイ、免疫電気泳動法、ウエスタンブロッティング、ラジオイムノアッセイ（RIA）、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）、免疫蛍光アッセイ、および電気化学発光イムノアッセイ（以下に例示された）などがある。好適な実施形態では、レベルは、本明細書でより詳細に記載されている抗体ベース技法を使用して決定される。好適な実施形態では、免疫組織化学的分析（例えば、腫瘍組織の）が用いられる。一実施形態では、プロテオミクス法、例えば、質量分析が使用される。質量分析は、化合物をイオン化して荷電分子（またはその断片）を生成すること、およびこれらの質量対電荷比を測定することからなる分析技法である。典型的な質量分析手順では、試料が被験体から得られ、質量分析にロードされ、その構成成分（例えば、FRA）が異なる方法によって（例えば、電子ビームでこれらに衝撃を与えることによって）イオン化され、荷電粒子（イオン）が形成される。次いで粒子の質量対電荷比が、粒子が電磁場を通過する際のイオンの動きから計算される。

20

30

#### 【0045】

例えば、尿または血清などの試料をタンパク質結合チップに適用することを含むマトリックス支援レーザー脱離/イオン化飛行時間型質量分析（MALDI-TOF MS）または表面増強レーザー脱離/イオン化飛行時間型質量分析法（SELDI-TOF MS）（Wright, G. L., Jr. ら（2002年）、Expert Rev Mol Diagn, 2巻：549頁；Li, J. ら（2002年）、Clin Chem, 48巻：1296頁；Laronga, C. ら（2003年）、Dis Markers, 19巻：229頁；Petricoin, E. F. ら（2002年）359巻：572頁；Adam, B. L. ら（2002年）、Cancer Res, 62巻：3609頁；Tolson, J. ら（2004年）、Lab Invest, 84巻：845頁；Xiao, Z. ら（2001年）、Cancer Res, 61巻：6029頁）を使用してFRAのレベルを決定することができる。

40

#### 【0046】

さらに、マーカー（例えば、FRA）のレベルを決定するためのin vivo技法は、マーカーに対する標識抗体であって、マーカーに結合してその検出を可能にする標識抗体を被験体中に導入することを含む。被験体中の検出可能なマーカーの存在、レベル、または場所は、標準的なイメージング技法（例えば、PET）を使用して決定することができる。

#### 【0047】

本明細書で使用される場合、肺がん「に罹患している」または肺がん「を有する」被験

50



体は、適格の臨床医によって任意の病期の肺がんと臨床的に診断された者、またはこのようながんの1つもしくは複数の徴候もしくは症状を呈し、適格の臨床医によってこのようながんと引き続いて臨床的に診断される者である。葉酸受容体アルファ発現肺がんの動物モデルとして機能を果たす非ヒト被験体も、「葉酸受容体アルファ発現肺がん」に罹患している」被験体の範囲内に入り得る。

【0048】

本明細書で使用される場合、「葉酸受容体アルファ発現肺がん」は、がん細胞がこれらの表面上で葉酸受容体アルファを発現させ、または提示することの特徴とする任意のタイプの肺がんを含む。肺がんは、FRAを発現して本明細書で使用する用語「葉酸受容体アルファ発現肺がん」によって包含されると臨床的に診断されている場合があるが、必ずしもそうである必要はない。語句「葉酸受容体アルファ発現肺がん」は、FRA発現非小細胞肺がん(NSCLC)およびFRA発現非小細胞肺腺癌を具体的に含む。

10

【0049】

用語「試料」または「生体試料」は、本明細書で使用される場合、被験体から単離された同様の流体、細胞、または組織、および被験体内に存在する流体、細胞、または組織のコレクションを指す。FRAの発現レベルについて評価される試料は、尿、血液、血清、血漿、胸水、痰、気管支洗浄液、循環細胞、循環腫瘍細胞、組織に付随してない細胞（即ち、遊離細胞）、組織（例えば、胸膜組織、手術で摘出した腫瘍組織、微細針吸引を含めた生検材料）、組織学的調製物などに由来し得る。

20

【0050】

一部の実施形態では、試料の一部のみが、マーカーのレベルを決定するのにアッセイに付され、または試料の様々な部分が、マーカーのレベルを決定するのに様々なアッセイに付される。また、多くの実施形態では、試料は、アッセイの前に物理的または化学的手段によって予め処理される場合がある。例えば、試料は、マーカーについて試料をアッセイする前に遠心分離、希釈、および/または可溶化物質での処理（例えば、グアニジン処理）に付される場合がある。このような技法は、アッセイの精度、信頼性、および再現性を増強するように機能を果たす。

【0051】

用語「参照発現レベル」は、マーカー（例えば、FRA）の発現のレベルを記載するのに使用されるとき、被験体に由来する試料中のマーカーのレベルと比較するのに使用されるマーカーの認められたまたは予め決定されたレベルを指す。一実施形態では、FRAの参照発現レベルは、FRA標的化剤の代わりにプラセボを受けるFRA発現肺がん」に罹患している患者の集団と比較して、FRA標的化剤（例えば、FRAに免疫特異的に結合する抗体）で処置されるFRA発現肺がん」に罹患している患者の集団を使用して予め決定される。患者集団は、抗体またはプラセボに加えて、このようなFRA発現肺がんの標準治療法を受けたことがある場合がある。

30

【0052】

本明細書で使用される場合、用語、特異的結合剤、例えば、抗体と「試料を接触させること」は、試料またはその任意の部分をその薬剤に曝露し、その結果、試料の少なくとも一部が薬剤と接触することを含む。試料またはその部分は、それを薬剤と接触させる行為の前に、それを物理的または化学的処理（例えば、希釈またはグアニン処理）に付すなどによって、何らかの方法で変更させることができる。

40

【0053】

用語「阻害する」または「～の阻害」は、測定可能な量だけ低減すること、または完全に防止することを意味する。

【0054】

用語「枯渇させる」は、葉酸受容体アルファ発現細胞に対する抗FRA治療剤の効果の文脈で、葉酸受容体アルファ発現細胞の数の低減または排除を指す。

【0055】

用語「機能的な」は、本明細書に記載の方法に従って使用される抗体の文脈で、抗体が

50

、(1) 抗原に結合することができ、かつ/または(2) 抗原発現細胞を枯渇させ、もしくはその増殖を阻害することを示す。

【0056】

用語「処置」または「処置する」または「ポジティブな治療応答」は、任意の臨床的病期において葉酸受容体アルファ発現肺がんの臨床的または診断的症状を発症した後に、被験体に F R A 標的化剤を投与することによる疾患の臨床的または診断的症状の低下または排除によって証明される、患者における葉酸受容体アルファ発現肺がんの進行の減速、停止、または反転を指す。処置は、例えば、症状の重症度、症状の数、もしくは再発の頻度の低下、F R A 発現肺がん細胞の枯渇、F R A 発現肺がん細胞の成長の阻害、または具体的な臨床転帰（例えば、無増悪生存期間、全生存期間）の統計的に有意なおよび/もしくは臨床的に妥当な改善を含むことができる。

10

【0057】

語句「F R A 標的化剤を用いた処置に応答性」は、候補被験体（即ち、F R A 発現肺がんを有する個体）が、F R A 標的化剤を投与した後に、肺がんに関してポジティブな治療応答を有することを意味するように意図されている。

【0058】

用語「薬学的に許容可能な」は、薬理的/毒物学的視点から患者に対して、かつ組成物、製剤、安定性、患者許容性、および生物学的利用能に関する物理的/化学的視点から製造薬剤師 (man u f a c t u r i n g p h a r m a c e u t i c a l c h e m i s t) に対して許容可能な性質および/または物質を指し、動物、より特定すれば、ヒトにおいて使用するのに連邦もしくは州政府の規制機関によって承認された、または米国薬局方もしくは他の一般に認知された薬局方で列挙された性質および/または物質を含む。用語「薬学的適合性成分」は、それを用いて抗葉酸受容体アルファ抗体が投与される薬学的に許容可能な希釈剤、アジュバント、賦形剤、またはビヒクルを指す。「薬学的に許容可能な担体」は、活性成分の生物活性の有効性を妨害せず、それが投与される宿主に毒性でない媒体を指す。

20

【0059】

用語「有効量」および「治療有効量」は、本明細書で互換的に使用され、医薬剤の投与の文脈で、患者における葉酸受容体アルファ発現肺がんの出現を阻害し、またはその1つもしくは複数の臨床的もしくは診断的症状を好転させる (a m e l i o r a t e) のに十分である薬剤（例えば、F R A 標的化剤）の量を指す。薬剤の治療有効量は、個体の疾患状態、年齢、性別、および体重、ならびに個体において所望の応答を誘発する薬剤の能力などの因子によって変動し得る。このような結果として、それだけに限らないが、当技術分野において適した任意の手段によって決定される、葉酸受容体アルファ発現肺がんの処置を挙げることができる。有効量の薬剤は、「有効レジメン」において本明細書に記載の方法によって投与される。用語「有効レジメン」は、葉酸受容体アルファ発現肺がんの処置を達成するのに適切な薬剤の量と投与頻度の組合せを指す。

30

【0060】

用語「患者」および「被験体」は、診断的、予防的、または治療的処置を受ける獣医学的被験体を含めたヒトおよび他の非ヒト動物を指すのに互換的に使用される。用語「非ヒト動物」は、すべての脊椎動物、例えば、哺乳動物および非哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類、マウス、ウサギ、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、および爬虫類などを含む。好適な実施形態では、被験体は、ヒトである。

40

【0061】

治療剤は、典型的には、望まれない混入物から実質的に純粋である。これは、薬剤が、典型的には、少なくとも約50重量%（重量/重量）純粋であり、かつ干渉するタンパク質および混入物を実質的に含まないことを意味する。時に薬剤は、少なくとも約80重量%、より好ましくは少なくとも90または約95重量%純粋である。しかし、従来のタンパク質精製技法を使用すると、少なくとも99重量%の純度の均質なペプチドを得ることができる。

50

## 【 0 0 6 2 】

F R A 標的化剤を用いた処置に対する応答性を見込みを予測するための方法

葉酸受容体アルファ ( F R A ) 発現肺がんを有する患者における F R A 標的化剤 ( 例えば、F R A に免疫特異的に結合する抗体 ) を用いた処置に対する応答性を見込みを予測するための方法が本明細書に提供されている。本明細書に記載の F R A 標的化剤を用いた処置に対する応答性を見込みを予測するための方法の一部の実施形態では、F R A 発現肺がんは、非小細胞肺がん ( N S C L C ) である。一部の実施形態では、N S C L C は、腺癌である。

## 【 0 0 6 3 】

葉酸受容体アルファ ( F R A ) 発現肺がんを有する患者における F R A 標的化剤を用いた処置に対する応答性を見込みを予測するための記載した方法では、患者の生体試料中の患者の F R A 発現レベルを決定することを含む。

## 【 0 0 6 4 】

患者の生体試料中の F R A 発現レベルの決定は、診断の際、外科的切除の際、第一選択療法の開始の際、第一選択療法の完了の際、がんの症候性進行、血清学的進行、および / もしくは放射線学的進行の際、第二選択もしくはそれ以降の療法の開始の際、かつ / またはこのような療法の完了の際に実施することができる。

## 【 0 0 6 5 】

葉酸受容体アルファ ( F R A ) 発現肺がんを有する患者における F R A 標的化剤を用いた処置に対する応答性を見込みを予測するための開示された方法では、F R A 発現レベルは、R N A またはタンパク質定量法の公知の方法を含めた当技術分野で公知の任意の手段によって決定することができる。このような方法としては、それだけに限らないが、タンパク質発現を検出するための抗体の使用、核酸ハイブリダイゼーション、定量的 R T - P C R、免疫沈降、平衡透析、免疫拡散法、免疫組織化学検査、蛍光活性化細胞分類 ( F A C S )、蛍光定量法、ハイブリダイゼーションアッセイ、電気泳動、キャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー ( H P L C )、薄層クロマトグラフィー ( T L C )、超拡散クロマトグラフィー、流体またはゲル沈降反応、吸収分光法、比色アッセイ、分光光度アッセイ、フローサイトメトリー、免疫拡散法 ( 一元または二元 )、溶液相アッセイ、免疫沈降、平衡透析、免疫拡散法、溶液相アッセイ、免疫電気泳動法、ウエスタンブロッティング、ラジオイムノアッセイ ( R I A )、酵素結合免疫吸着測定法 ( E L I S A )、免疫蛍光アッセイ、および電気化学発光イムノアッセイなどがある。好適な実施形態では、レベルは、本明細書でより詳細に記載されている抗体ベース技法を使用して決定される。好適な実施形態では、( 例えば、胸膜組織の ) 免疫組織化学的分析が用いられる。F R A の発現レベルを決定するステップは、e x v i v o または i n v i v o で実施することができる。

## 【 0 0 6 6 】

e x v i v o 評価に関して、F R A 発現のレベルの決定において使用される生体試料は、尿、全血、血清、血漿、胸水、痰、気管支洗浄液、循環細胞、循環腫瘍細胞、組織に付随していない細胞 ( 即ち、遊離細胞 )、組織 ( 例えば、胸膜組織、手術で摘出した腫瘍組織、微細針吸引を含めた生検材料 )、組織学的調製物などであり得る。アッセイが実施される組織試料は、固定または凍結して組織学的切片化を可能にすることができる。好ましくは、切り取られた組織試料は、アルデヒド固定液、例えば、ホルムアルデヒド、パラホルムアルデヒド、グルタルアルデヒドなど ; または塩化第二水銀などの重金属固定液中に固定される。より好ましくは、切り取られた組織試料は、抗体とのインキュベーションの前にホルマリン中に固定され、パラフィンワックス中に包埋される。任意選択で、F F P E 検体は、シトレート、E D T A、酵素消化で処理し、または加熱してエピトープのアクセシビリティを増大させることができる。代わりに、タンパク質画分を、公知のまたは疑われる肺がん由来の細胞から単離し、E L I S A、ウエスタンブロッティング、免疫沈降などによって分析することができる。別のバリエーションでは、細胞を、F A C S 分析によって葉酸受容体アルファの発現について分析することができる。さらなるバリエーショ

10

20

30

40

50

ンでは、mRNAを、公知のまたは疑われる肺がん由来の細胞から抽出することができる。次いでmRNA、またはcDNAなどのそれに由来する核酸を、葉酸受容体アルファをコードするDNAに結合している核酸プローブ(nucleic probe)へのハイブリダイゼーションによって分析することができる。

#### 【0067】

例えば、FRA発現レベルを決定するステップでは、被験体から得られた肺がん組織の生体試料中のFRA発現レベルを決定することを含み得る。FRA発現レベルは、免疫アッセイによって決定することができ、このアッセイでは、がん(例えば、肺がん)由来であることが公知であるまたは疑われる細胞を含有する試料が、抗FRA抗体または抗原結合断片と接触させられる。接触後、検体中の細胞への抗体または抗原結合断片の結合事象の有無が決定される。結合は、この検体中のがん性細胞上で発現される抗原の有無に関係する。一般に、試料は、検出可能なシグナルを生成することができる抗FRA抗体または抗原結合断片の標識された特異的結合パートナーと接触させられる。代わりに、抗FRA抗体または断片自体を標識することができる。標識のタイプの例としては、酵素標識、放射性同位体標識、非放射性標識、蛍光標識、毒素標識、および化学発光標識がある。多くのこのような標識は、当業者に容易に公知である。例えば、適当な標識としては、放射標識、蛍光標識(DyLight(登録商標)649など)、エピトープタグ、ビオチン、発色団標識、ECL標識、または酵素があるが、これらに限定されると見なされるべきでない。より具体的には、記載される標識としては、ルテニウム、<sup>111</sup>In-DOTA、<sup>111</sup>In-ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、西洋わさびペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼおよびベータ-ガラクトシダーゼ、ポリ-ヒスチジン(HISタグ)、アクリジン色素、シアニン色素、フルオロン色素、オキサジン(oxazin)色素、フェナントリジン色素、ローダミン色素、Alexafluor(登録商標)色素などがある。標識からのシグナルの検出は、試料中の葉酸受容体アルファに特異的に結合した抗体または断片の存在を示す。

#### 【0068】

上述したように、一部の実施形態では、FRA発現レベルは、免疫アッセイによって決定することができ、このアッセイでは、がん(例えば、肺がん)由来であることが公知であるまたは疑われる細胞を含有する試料が、抗FRA抗体または抗原結合断片と接触させられる。一部の実施形態では、FRAは、試料中で細胞に結合していない。被験体に由来する試料中のFRAの発現レベルを決定するための方法は、例えば、参照により本明細書に組み込まれている米国特許出願公開第20130017195号に開示されている。被験体に由来する試料中の細胞に結合していないFRAの発現レベルを決定するための方法は、例えば、参照により本明細書に組み込まれている米国特許出願公開第20120207771号に開示されている。FRAの発現レベルの決定において用いられる試料は、例えば、尿、血液、血清、血漿、胸水、痰、気管支洗浄液、循環細胞、循環腫瘍細胞、組織に付随していない細胞(即ち、遊離細胞)、組織(例えば、胸膜組織、手術で摘出した腫瘍組織、微細針吸引を含めた生検材料)、組織学的調製物などに由来し得る。好適な実施形態では、試料は、組織、尿、または血清である。

#### 【0069】

様々な態様では、FRAの発現レベルは、試料を、FRAに結合する抗体と接触させることによって決定される。例えば、抗FRA抗体は、以下：

- (a) MORAb-003抗体と同じエピトープに結合する抗体；
- (b) CDRH1として配列番号1(GFTFSGYGLS)、CDRH2として配列番号2(MISSGGSYTYADSVKG)、CDRH3として配列番号3(HGDDPAWFAY)、CDRL1として配列番号4(SVSSSISSNNLH)、CDRL2として配列番号5(GTSNLAS)、およびCDRL3として配列番号6(QQWSYPYMYT)を含む抗体；
- (c) 配列番号7のアミノ酸配列：

10

20

30

40

## 【化 3】

1 DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCVSSSSIS SNNLHWYQOK PGKAPKPIY  
 51 GTSNLASGVP SRFSGSGSGT DYTFTISSLO PEDIATYYCQ QWSSYPYMYT  
 101 FGQGTKVEIK RTVAAPSVEI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ  
 151 WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT  
 201 HQGLSSPVTK SFNRGEC

を含む成熟軽鎖可変領域、およびアミノ酸配列番号 8 :

## 【化 4】

1 EVQLVESGGG VVQPGRLRL SCSASGFTFS GYGLSWVRQA PGKGLEWVAM  
 51 ISSGGSYTYY ADSVKGRFAI SRDNAKNTLF LQMDSLRPED TGVYFCARHG  
 101 DDPWFAYWG QGTPVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD  
 151 YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFEAVLQSSG LYSLSVTV PSSLGTQTY  
 201 ICNVNHPKPSN TKVDKKEPK SCDKHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK  
 251 DTLMISRTPE VTCVVDVSH EDPEVKENWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS  
 301 TYRVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV  
 351 YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTFPVL  
 401 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVN HEALHNHYTQ KSLSLSPGK

10

( C D R に下線が引かれている )

20

を含む成熟重鎖可変領域を含む抗体 ;

( d ) そのそれぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれている米国特許出願公開第 2 0 0 9 0 2 7 4 6 9 7 号および米国特許第 8 , 1 2 4 , 0 8 3 号に記載されている M O R A b - 0 0 3 抗体 ( U S A N 名 : ファルレッズマブ ) ;

( e ) 5 4 8 9 0 8 抗体 ( N o v u s ; カタログ番号 M A B 5 6 4 6 ) ;

( f ) 5 4 8 9 0 8 抗体と同じエピトープに結合する抗体 ;

( g ) 6 D 3 9 8 抗体 ( U S B i o l o g i c a l L i f e S c i e n c e s ) ;

( h ) 6 D 3 9 8 抗体と同じエピトープに結合する抗体 ;

( i ) B N 3 . 2 抗体 ( L e i c a B i o s y s t e m s ) ;

( j ) B N 3 . 2 抗体と同じエピトープに結合する抗体 ;

30

( k ) 2 6 B 3 抗体と同じエピトープに結合する抗体 ;

( l ) C D R H 1 として配列番号 1 4 ( G Y F M N ) 、 C D R H 2 として配列番号 1 5 ( R I F P Y N G D T F Y N Q K F K G ) 、 C D R H 3 として配列番号 1 6 ( G T H Y F D Y ) 、 C D R L 1 として配列番号 1 7 ( R T S E N I F S Y L A ) 、 C D R L 2 として配列番号 1 8 ( N A K T L A E ) 、 および C D R L 3 として配列番号 1 9 ( Q H H Y A F P W T ) を含む抗体 ;

( m ) 2 6 B 3 抗体 ;

( n ) 1 9 D 4 抗体と同じエピトープに結合する抗体 ;

( o ) C D R H 1 として配列番号 2 0 ( H P Y M H ) 、 C D R H 2 として配列番号 2 1 ( R I D P A N G N T K Y D P K F Q G ) 、 C D R H 3 として配列番号 2 2 ( E E V A D Y T M D Y ) 、 C D R L 1 として配列番号 2 3 ( R A S E S V D T Y G N N F I H ) 、 C D R L 2 として配列番号 2 4 ( L A S N L E S ) 、 および C D R L 3 として配列番号 2 5 ( Q Q N N G D P W T ) を含む抗体 ;

40

( p ) 1 9 D 4 抗体 ( 米国特許第 8 , 4 7 5 , 7 9 5 号を参照 ) ;

( q ) 9 F 3 抗体と同じエピトープに結合する抗体 ;

( r ) C D R H 1 として配列番号 2 6 ( S G Y Y W N ) 、 C D R H 2 として配列番号 2 7 ( Y I K S D G S N N Y N P S L K N ) 、 C D R H 3 として配列番号 2 8 ( E W K A M D Y ) 、 C D R L 1 として配列番号 2 9 ( R A S S T V S Y S Y L H ) 、 C D R L 2 として配列番号 3 0 ( G T S N L A S ) 、 および C D R L 3 として配列番号 3 1 ( Q Q Y S G Y P L T ) を含む抗体 ;

50

- (s) 9 F 3 抗体 (米国特許第 8, 475, 795 号を参照) ;  
 (t) 2 4 F 1 2 抗体と同じエピトープに結合する抗体 ;  
 (u) CDRH1 として配列番号 32 (SYAMS)、CDRH2 として配列番号 33 (EIGSGGSYTYPDTVTG)、CDRH3 として配列番号 34 (ETTAGYFDY)、CDRL1 として配列番号 35 (SASQG INNFLN)、CDRL2 として配列番号 36 (YTSSLHS)、および CDRL3 として配列番号 37 (QHFSKL PWT) を含む抗体 ;  
 (v) 2 4 F 1 2 抗体 (米国特許第 8, 475, 795 号を参照) ;  
 (w) (i) 配列番号 38 :

## 【化 5】

10

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn  
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
 Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro  
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys,

に示した L K 2 6 H u V K

(i i) 配列番号 39 :

20

## 【化 6】

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn  
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
 Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro  
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys,

に示した L K 2 6 H u V K Y

30

(i i i) 配列番号 40 :

## 【化 7】

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn  
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp  
 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
 Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro  
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys,

40

に示した L K 2 6 H u V K P W、および

(i v) 配列番号 41 :

## 【化 8】

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn  
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp  
 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
 Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro  
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys;

に示した L K 2 6 H u V K P W , Y からなる群より選択される可変領域軽鎖を含む抗体  
 ( x ) ( i ) 配列番号 4 2 :

10

## 【化 9】

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr  
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val  
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser  
 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 Ser Leu Val Thr Val Ser Ser,

20

に示した L K 2 6 H u V H

( i i ) 配列番号 4 3 :

## 【化 1 0】

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr  
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val  
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Gln Phe Ser  
 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 Ser Leu Val Thr Val Ser Ser,

30

に示した L K 2 6 H u V H F A I S , N

( i i i ) 配列番号 4 4 :

## 【化 1 1】

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr  
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val  
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Ser Leu Phe  
 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser,

40

に示した L K 2 6 H u V H S L F

( i v ) 配列番号 4 5 :

## 【化 1 2】

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr  
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val  
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser  
 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Ile Cys  
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 Ser Leu Val Thr Val Ser Ser,

10

に示した L K 2 6 H u V H I , I

( v ) 配列番号 4 6 :

## 【化 1 3】

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr  
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe  
 Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys  
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 Thr Pro Val Thr Val Ser Ser;

20

に示した L K 2 6 K O L H u V H からなる群より選択される可変領域重鎖を含む抗体

( y ) 重鎖可変領域 L K 2 6 K O L H u V H ( 配列番号 4 6 ) および軽鎖可変領域 L K 2 6 H u V K P W , Y ( 配列番号 4 1 ) を含む抗体 ;

( z ) 重鎖可変領域 L K 2 6 H u V H S L F ( 配列番号 4 4 ) および軽鎖可変領域 L K 2 6 H u V K P W , Y ( 配列番号 4 1 ) を含む抗体 ;

( a a ) 重鎖可変領域 L K 2 6 H u V H F A I S , N ( 配列番号 4 3 ) および軽鎖可変領域 L K 2 6 H u V K P W , Y ( 配列番号 4 1 ) を含む抗体 ; ならびに

( b b ) その内容全体が参照により本明細書に組み込まれている欧州特許出願第 8 6 1 0 4 1 7 0 . 5 号 ( R e t t i g ) に記載されている、その重鎖および軽鎖が、それぞれ配列番号 1 1 および 1 2 :

30



## 【化 1 4】

## 配列番号 11

Gln Val Xaa Leu Gln Xaa Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly  
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr  
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val  
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe  
 Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Ile Cys  
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ala (式中、Xaaは、任意のアミノ酸を指す)

10

## 配列番号 12

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ala Ala Ser Pro Gly  
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn  
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Glu Thr Ser Pro Lys Pro Trp  
 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Leu Arg Phe Arg  
 Gly Phe Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu  
 Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro  
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

20

として本明細書に提示されている、マウスモノクローナル L K 2 6 抗体

からなる群より選択され得る。ある特定の実施形態では、抗 F R A 抗体は、( i ) 重鎖可  
 変領域 L K 2 6 K O L H u V H ( 配列番号 4 6 ) および軽鎖可変領域 L K 2 6 H u V K P  
 W , Y ( 配列番号 4 1 ) ; 重鎖可変領域 L K 2 6 H u V H S L F ( 配列番号 4 4 ) およ  
 び軽鎖可変領域 L K 2 6 H u V K P W , Y ( 配列番号 4 1 ) ; または重鎖可変領域 L K 2  
 6 H u V H F A I S , N ( 配列番号 4 3 ) および軽鎖可変領域 L K 2 6 H u V K P W ,  
 Y ( 配列番号 4 1 ) を含む。M O R A b - 0 0 3 を産生するチャイニーズハムスター卵巢  
 ( C H O ) 細胞が、2 0 0 6 年 4 月 2 4 日に A T C C ( 1 0 8 0 1 U n i v e r s i t y  
 B o u l e v a r d , M a n a s s a s , V A 2 0 1 1 0 ) に寄託され、受託番号  
 P T A - 7 5 5 2 を割り当てられた。

30

## 【0070】

葉酸受容体アルファに免疫特異的に結合する他の有用な抗体は、それぞれ配列番号 7 お  
 よび配列番号 8 と少なくとも 9 0 % 、好ましくは少なくとも 9 5 % または 9 9 % の配列同  
 一性を有する成熟した軽鎖可変領域および重鎖可変領域を含む。葉酸受容体アルファまた  
 はその誘導体に免疫特異的に結合する他の有用な抗体は、例えば、イムノアッセイによっ  
 て決定される場合、ファルレッズマブの葉酸受容体アルファへの結合を競合的に阻害する  
 ことができる。競合的阻害は、抗体が、少なくとも 2 倍および好ましくは 5 倍過剰で存在  
 するとき、ファルレッズマブの葉酸受容体アルファへの結合を、少なくとも 5 0 % 、より  
 典型的には、少なくとも 6 0 % 、なおより典型的には、少なくとも 7 0 % 、最も典型的に  
 は少なくとも 7 5 % 、少なくとも 8 0 % 、少なくとも 8 5 % 、少なくとも 9 0 % 、または  
 少なくとも 9 5 % 阻害することを意味する。

40

## 【0071】

葉酸受容体アルファに免疫特異的に結合する抗体は、上記に開示された抗葉酸受容体ア  
 ルファ抗体の誘導体であってもよい。典型的な修飾としては、例えば、グリコシル化、脱  
 グリコシル、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、公知の保護基/ブロッキング基  
 による誘導体化、タンパク質分解的切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への連結な  
 どがある。さらに、誘導体は、1 種または複数の非古典的アミノ酸を含有し得る。

## 【0072】

50

ある特定の実施形態では、抗 F R A 抗体は、マウス抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、二重特異性抗体、キメラ抗体、F a b、F a b' 2、S c F v、S M I P、アフィボディ ( a f f i b o d y )、アビマー ( a v i m e r )、ベルサボディ ( v e r s a b o d y )、ナノボディ、バイオボディ、およびドメイン抗体からなる群より選択される。代わりに、または組合せで、抗 F R A 抗体は、例えば、放射標識、ビオチン標識、発色団標識、フルオロフォア標識、または酵素標識からなる群より選択される標識で標識される。

#### 【 0 0 7 3 】

さらなる態様では、被験体に由来する試料中の葉酸受容体アルファ ( F R A ) 発現のレベルは、2 抗体サンドイッチアッセイによって評価される。サンドイッチアッセイの一部の実施形態では、試料は、( a ) 固体支持体に固定化された 9 F 3 抗体および標識 2 4 F 1 2 抗体、( b ) 固体支持体に固定化された 2 6 B 3 抗体および標識 1 9 D 4 抗体、ならびに ( c ) 固体支持体に固定化された 9 F 3 抗体および標識 2 6 B 3 抗体と接触させられる。例えば、試料は、尿、全血、血清、血漿、胸水、痰、気管支洗浄液、循環細胞、循環腫瘍細胞、組織に付随してない細胞 ( 即ち、遊離細胞 )、組織 ( 例えば、胸膜組織、手術で摘出した腫瘍組織、微細針吸引を含めた生検材料 )、組織学的調製物などであり得る。

10

#### 【 0 0 7 4 】

ある特定の実施形態では、試料は、試料中の F R A 発現のレベルを決定する前にグアニジンで処理される。代わりにまたは組合せで、試料は、試料中の F R A 発現のレベルを決定する前に希釈される。代わりに、または組合せで、試料は、試料中の F R A 発現のレベルを決定する前に遠心分離され、ボルテックスされ、または両方を行われる。

20

#### 【 0 0 7 5 】

別のバリエーションでは、公知のまたは疑われる肺がんにおける F R A 発現レベルは、標識抗 F R A 抗体またはその抗原結合断片を患者に投与し、i n v i v o イメージングによって抗体または断片を検出することによって i n v i v o で検出することができる。上述した抗体のいずれも、i n v i v o イメージング分析において同様に用いられ得る。

#### 【 0 0 7 6 】

肺組織試料中の F R A のレベルは、1 種または複数の標準物質に関して決定することができる ( しかし、必ずしもそうする必要はない )。標準物質は、歴史的にまたは同時に決定することができる。標準物質は、例えば、異なる被験体由来のがん性であることが公知の F R A 発現肺組織試料、異なる被験体由来のがん性でないことが公知の F R A 発現肺組織試料、F R A を発現しないことが公知の患者もしくは他の被験体由来の組織、または F R A 発現肺がん細胞株であり得る。

30

#### 【 0 0 7 7 】

標準物質 ( 使用される場合 ) と比べた抗 F R A 抗体または断片の F R A への結合からの検出可能なシグナルの存在は、組織試料中の F R A の存在を示し、検出可能な結合のレベルは、F R A 発現レベルの指標を提供する。組織切片に対して実施されるアッセイでは、発現のレベルは、F R A の検出可能な発現を示す試料の表面積のパーセンテージとして表すことができる。代替としてまたは追加的に、発現のレベル ( 強度 ) は、試料中の全発現または試料中の F R A を発現する細胞の尺度として使用することができる。発現の強度は、例えば、以前に記載された方法を使用して組織切片のデジタルイメージングまたはマニキュアル顕微鏡評価を介して決定することができる ( P o t t s、D r u g D i s c o v T o d a y、2 0 0 9 年 ; 1 4 巻 ( 1 9 ~ 2 0 号 ) : 9 3 5 ~ 4 1 頁 ; O ' S h a n n e s s y ら、O n c o t a r g e t、2 0 1 2 年 ; 3 巻 ( 4 号 ) : 4 1 4 ~ 2 5 頁 ; 米国特許第 8 , 4 7 5 , 7 9 5 号 ; 製造者の指示、カタログ番号 I P I 4 0 0 6 K G 1 0 ( B i o c a r e M e d i c a l ; C o n c o r d、C A )。F R A 発現の強度は、本明細書に記載の F R A M S C O R または H B S C O R を決定するのに使用することができる。特に、F R A M S C O R ( M - スコア ) は、以下の通り 0、1 +、2 +、3 + スコアリングシステムを仮定して加重平均として計算される ( 図 2 を参照 ) :

40

x = % 1 + の染色された腫瘍

50

y = % 2 + の染色された腫瘍  
z = % 3 + の染色された腫瘍

ここで、

【化 1 5】

$$M = \frac{x + 2y + 3z}{6}$$

である。例示の目的で、患者の腫瘍が、20%の+1のFRA染色、10%の+2のFRA染色、および20%の+3のFRA染色を有する場合、Mスコア = 16.6である。HBSCOR (H - スコア) は、標的組織区画内のすべての細胞から算出されるバイオマーカー染色 (この場合、FRAの染色) の平均光学密度値を報告する。これは、専売の組織認識特色を利用して、細胞を分類することなく、線形スコア、およびH - スコアの連続拡張を介して組織区画を決定する。H - スコアは、組織内のバイオマーカー発現をスコアリングするのに病理学者および当業者が一般に使用する標準的なスコアリング法であり、これは基本的に、すべての強度レベル (1 +、+ 2 × 2 +、+ 3 × 3 +) における強度スコアの和である。HBSCORは、細胞測定値 (光学密度) の和を細胞の総数で除すことによって導出される。HBSCORは、今度は、標的組織区画内のすべての細胞から算出されるバイオマーカー染色の値を報告する。この計算は、以下の式を使用して定量化される:

【化 1 6】

$$HBSCOR = \frac{\sum_{\text{細胞}} \text{細胞測定値}}{\text{細胞の数}}$$

【0078】

患者のFRA発現レベルが決定されると、これは、参照FRA発現レベルと比較される。好適な実施形態では、患者のFRA発現レベルは、参照FRA発現レベルと比較するためにFRAMSCOR (即ち、M - スコア) またはHBSCOR (即ち、H - スコア) の単位で提示される。好適な実施形態では、参照FRA発現レベルは、予め決定される。例えば、参照データセットは、低、中、および高FRA発現レベルを有する無関係の患者由来の試料を使用して確立することができる。このデータセットは、相対的なFRA発現レベルが患者の間で比較され、マニュアルおよびデジタル分析FRAMSCORおよびHBSCOR法を使用して定量化される標準を表す。一部の実施形態では、参照FRA発現レベルは、FRA標的化剤を投与されるFRA発現肺がん罹患している患者集団を、プラセボを投与されるFRA発現肺がん罹患している患者集団と比較することによって決定される。FRA発現肺がん罹患している患者集団は、標準治療化学療法も受けたことがある場合がある。FRA発現肺がん罹患しているそれぞれの集団における各患者のFRA発現レベルは、上述した方法に従って決定される。患者集団の臨床転帰 (例えば、無増悪生存期間または全生存期間) が監視される。次いで、FRA発現レベルに対する患者集団の臨床転帰が、以下に提供される実施例に記載されるように比較される。参照FRA発現レベルは、それより上で、FRA標的化剤 (例えば、FRAに免疫特異的に結合する抗体) を投与されるFRA発現肺がん罹患している患者集団が、プラセボを投与されるFRA発現肺がん罹患している患者集団に対して少なくとも1つの臨床転帰の統計的に有意な改善を実証するFRA発現レベルに対応する。参照FRA発現レベルに等しい、またはそれを超える患者FRA発現レベルは、患者がFRA標的化剤を用いた処置から利益を得ることになることを示す。

【0079】

処置の方法

## 【 0 0 8 0 】

葉酸受容体アルファ（F R A）発現肺がんを有する患者を処置する方法も本明細書に提供されている。F R A 発現肺がんを有する患者を処置するための方法の一部の実施形態では、がんは、N S C L C である。一部の実施形態では、N S C L C は、腺癌である。患者における F R A 発現肺がんを処置するための開示された方法は、葉酸受容体アルファ（F R A）に免疫特異的に結合する抗体が、F R A 発現レベルが参照 F R A 発現レベルに等しい、またはそれを超える患者に投与される方法を含む。

## 【 0 0 8 1 】

本明細書に記載の葉酸受容体アルファ（F R A）発現肺がんを有する患者を処置する方法によれば、患者の生体試料中の患者の F R A 発現レベルが、定量化され、上述した参照 F R A 発現レベルと比較される。患者の F R A 発現レベルが参照 F R A 発現レベルに等しい、またはそれを超える場合、患者は、F R A 標的化剤（例えば、F R A に免疫特異的に結合する抗体）を投与される。

10

## 【 0 0 8 2 】

本明細書に記載の処置の方法の一部の実施形態では、F R A 標的化剤は、ピンタフォリドである。一部の実施形態では、F R A 標的化剤は、F R A に免疫特異的に結合する抗体、例えば、それだけに限らないが、肺がん細胞上で発現される葉酸受容体アルファに免疫特異的に結合する抗体；このような抗体の抗原結合断片；誘導体；およびこれらの改変体である。好適な実施形態では、葉酸受容体アルファに免疫特異的に結合する抗体は、以下：

20

（a）C D R H 1 として配列番号 1、C D R H 2 として配列番号 2、C D R H 3 として配列番号 3、C D R L 1 として配列番号 4、C D R L 2 として配列番号 5、および C D R L 3 として配列番号 6 を含む抗体；

（b）配列番号 7 のアミノ酸配列を含む成熟軽鎖可変領域および / または配列番号 8 のアミノ酸配列を含む成熟重鎖可変領域を含む抗体；

（c）ファルレッズマブ；

（d）それぞれ配列番号 7 および配列番号 8 と少なくとも 9 0 %、好ましくは少なくとも 9 5 % または 9 9 % の配列同一性を有する成熟した軽鎖可変領域および重鎖可変領域を含む、葉酸受容体アルファに特異的に結合する抗体；

（e）例えば、イムノアッセイによって決定される場合、ファルレッズマブの葉酸受容体アルファへの結合を競合的に阻害することができる抗体またはその誘導体

30

からなる群より選択される抗体である。F R A に免疫特異的に結合する抗体の誘導体も、本方法の実施において使用することができる。典型的な修飾としては、例えば、グリコシル化、脱グリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、公知の保護基 / プロテクトン基による誘導体化、タンパク質分解的切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への連結などがある。さらに、誘導体は、1 種または複数の非古典的アミノ酸を含有し得る。一部の実施形態では、F R A に免疫特異的に結合する抗体は、毒素、例えば、それだけに限らないが、微小管阻害剤、D N A 損傷剤（例えば、放射性核種）、D N A 修復阻害剤、またはシグナル伝達阻害剤などにコンジュゲートされる。抗体コンジュゲーションのためのリンカーおよび抗体をコンジュゲートするための方法は、当技術分野で公知である。本明細書に記載の方法に従って F R A 標的化剤として用いられ得る例示的な抗体 - 薬物コンジュゲートは、I M G N 8 5 3 である。

40

## 【 0 0 8 3 】

本方法は、処置の他の手段、例えば、手術（例えば、減量手術）、放射線、標的化療法、化学療法、免疫療法、増殖因子阻害剤または抗血管新生因子の使用などと組み合わせることができる。F R A 標的化剤は、手術、化学療法、または放射線療法処置を受けている患者に同時的に投与することができる。代わりに、患者は、少なくとも 1 時間、最大で数カ月 F R A 標的化剤を投与する前または後に、例えば、少なくとも 1 時間、5 時間、1 2 時間、1 日、1 週間、1 カ月、または 3 カ月、F R A 標的化剤を投与する前または後に手術、化学療法、または放射線療法を受けることができる。例えば、本明細書に提供される

50

処置の方法の一部の実施形態では、さらに、治療有効量の白金含有化合物、葉酸代謝拮抗薬、および/またはタキサンを、FRA標的化剤に加えて被験体に投与することを伴う。例示的な白金含有化合物は、シスプラチンまたはカルボプラチンである。処置の方法において使用するためのタキサンの例としては、それだけに限らないが、パクリタキセル、ドセタキセル、ならびにそれだけに限らないが、nab-パクリタキセル(Abraxane(登録商標))、カバジタキセル(Jevtana(登録商標))、DJ-927(Tesetaxel(登録商標))、パクリタキセルポリグルメックス(Opaxio(登録商標))、XRP9881(Larotaxel(登録商標))、EndoTAG+パクリタキセル(EndoTAG(登録商標)-1)、ポリマー-ミセルパクリタキセル(Genexol-PM(登録商標))、DHA-パクリタキセル(Taxoprexin(登録商標))、BMS-184476を含めたこれらの半合成、合成、および/または修飾バージョンおよび製剤がある。例示的な葉酸代謝拮抗薬は、ペメトレキセドである。白金含有化合物は、患者に、毎週1回、2週間に1回、3週間に1回、または4週間に1回投与することができる。タキサンは、患者に、毎週1回、2週間に1回、3週間に1回、または4週間に1回投与することができる。葉酸代謝拮抗薬は、患者に、毎週1回、2週間に1回、3週間に1回、または4週間に1回投与することができる。白金含有化合物およびタキサンまたは葉酸代謝拮抗薬の両方が処置レジメンの一部として患者に投与される実施形態では、タキサンまたは葉酸代謝拮抗薬は、白金含有化合物の前、後、またはそれと同時に投与され得る。

10

20

**【0084】**

本明細書に記載の処置の方法の一部の実施形態では、患者は、患者のFRA発現レベルを定量化する前に、がんを処置するために肺がんの外科的切除、事前の白金ベース療法、事前のタキサンベース療法、および/または事前の白金およびタキサンベース療法を受けたことがある場合がある。患者が、患者のFRA発現レベルを決定する前に、がんを処置するためにがんの外科的切除、事前の白金ベース療法、事前のタキサンベース療法、および/または事前の白金およびタキサンベース療法を受けた、本方法の一部の実施形態では、患者は、患者のFRA発現レベルを決定するステップの前にがんの症候性進行、血清学的進行、および/または放射線学的進行を呈したことがある場合がある。

**【0085】**

本明細書に記載の処置の方法による治療剤(FRA標的化剤、タキサン、葉酸代謝拮抗薬、および/または白金含有化合物を含む)の投与は、当技術分野で公知の任意の手段によるものであり得る。

30

**【0086】**

皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、および経口経路を含めた様々な送達システムを、治療剤(FRA標的化剤、タキサン、葉酸代謝拮抗薬、および/または白金含有化合物を含む)を投与するのに使用することができる。薬剤は、例えば、注入またはボラス注射によって、上皮または粘膜皮膚内層(例えば、口腔粘膜、直腸、および腸粘膜など)を通じた吸収によって投与することができる。投与は、全身的または局所的であり得る。

**【0087】**

治療剤は、注射によって、カテーテルによって、坐剤によって、またはシラスティック膜(sialastic membrane)などの膜、もしくは繊維を含めた多孔質、非多孔質、もしくはゼラチン状材料のものであるインプラントによって投与することができる。本明細書に記載の使用のための治療剤およびこれらの医薬組成物は、任意の許容される剤形、例えば、カプセル剤、錠剤、水性懸濁剤、液剤などで経口投与することができる。

40

**【0088】**

治療剤を投与する好適な方法としては、それだけに限らないが、静脈内注射および腹腔内投与がある。

**【0089】**

50

代わりに、治療剤は、制御放出システムで送達することができる。例えば、ポンプを使用することができる (Langer、1990年、Science、249巻: 1527~1533頁; Sefton、1989年、CRC Crit. Ref Biomed. Eng.、14巻: 201頁; Buchwaldら、1980年、Surgery、88巻: 507頁; Saudekら、1989年、N. Engl. J. Med.、321巻: 574頁を参照)。代わりに、ポリマー材料を使用することができる (Medical Applications of Controlled Release (LangerおよびWise編、CRC Press、Boca Raton、Fla.、1974年); Controlled Drug Bioavailability、Drug Product Design and Performance (SmolenおよびBall編、Wiley、New York、1984年); RangerおよびPeppas、1983年、Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.、23巻: 61頁を参照。Levyら、1985年、Science、228巻: 190頁; Duringら、1989年、Ann. Neurol.、25巻: 351頁; Howardら、1989年、J. Neurosurg.、71巻: 105頁も参照)。他の制御放出システムは、例えば、Langer、上記に論じられている。

10

#### 【0090】

治療剤は、治療有効量または予防有効量の治療剤および1種または複数の薬学的に許容可能なまたは適合性の成分を含む医薬組成物として投与することができる。例えば、医薬組成物は、典型的には、1種または複数の薬学的担体 (例えば、滅菌液体、例えば、水、および石油、動物、植物、または合成起源のものを含めた油、例えば、ラッカセイ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油など) を含む。水は、医薬組成物が静脈内投与されるとき、より典型的な担体である。食塩溶液 (例えば、リン酸緩衝食塩水) ならびに水性デキストロスおよびグリセロール溶液も、特に注射用溶液のための液体担体として用いられ得る。適当な薬学的賦形剤としては、例えば、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、イネ、小麦粉、チョコク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどがある。組成物は、必要に応じて、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、pH緩衝剤 (例えば、アミノ酸)、および/または可溶化剤もしくは安定化剤 (例えば、tweenなどの非イオン性界面活性剤、もしくは糖、例えば、スクロース、トレハロースなど) も含有し得る。ファルレッツマブの好適な製剤は、ファルレッツマブ、リン酸ナトリウム、塩化ナトリウム (NaCl)、およびポリソルベート-80、pH 7.2を含有する。ファルレッツマブの好適な最終製剤は、5 mg/mL ファルレッツマブ、10 mM リン酸ナトリウム、150 mM NaCl、および0.01% ポリソルベート-80、pH 7.2を含有する。

20

30

#### 【0091】

本明細書に提供される医薬組成物は、液剤、懸濁剤、エマルジョン、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、持続放出製剤などの形態を採ることができる。使用直前に液体調製物に変換されるように意図されている固体形態調製物も含まれる。組成物は、トリグリセリドなどの伝統的なバインダーおよび担体とともに坐剤として製剤化され得る。経口製剤は、標準的な担体、例えば、医薬品グレードのマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどを含むことができる。適当な薬学的担体の例は、E. W. Martinによる「Remington's Pharmaceutical Sciences」に記載されている。このような組成物は、患者への適切な投与のための形態をもたらすように、適当な量の担体と一緒に、典型的には精製形態で治療有効量の核酸またはタンパク質を含有する。製剤は、投与様式に対応する。

40

#### 【0092】

典型的には、静脈内投与用組成物は、滅菌等張性水性緩衝液中の溶液である。必要な場

50

合、医薬品は、可溶化剤、および注射部位における痛みを和げるためのリグノカインなどの局所麻酔薬をも含むことができる。一般に、成分は、活性剤の量を示すアンプルまたはサッシェ (sachette) などの密封容器内に、例えば、乾燥凍結乾燥粉末 (dry lyophilized powder) または濃縮物として別個に、または単位剤形中に一緒に混合されて供給される。医薬組成物が注入によって投与される場合、これは、滅菌医薬品グレード水または生理食塩水を含む注入ボトルで分注することができる。医薬組成物が注射によって投与される場合、成分を投与前に混合することができるように、注射用滅菌水または生理食塩水のアンプルが提供され得る。

#### 【0093】

肺がんの処置に有効である治療剤の量は、標準的な臨床技法によって決定することができる。さらに、最適な投与量範囲の同定を助けるために、*in vitro* アッセイが任意選択で用いられ得る。製剤において用いられる正確な用量も、投与経路およびがんの病期に依存し、実施者の判断および各患者の状況によって決められるべきである。有効用量は、*in vitro* または動物モデル検定システムから導出される用量 - 応答曲線から外挿されてもよい。用量は、細胞培養において決定する場合、 $IC_{50}$  (即ち、症状の半最大阻害を実現する試験化合物の濃度) を含む循環血漿濃度範囲を達成するように動物モデルにおいて処方することができる。

#### 【0094】

例えば、薬剤の毒性および治療効力は、 $LD_{50}$  (集団の50%に致死性の用量) および  $ED_{50}$  (集団の50%において治療上有効な用量) を決定するための標準的な薬学的手順によって細胞培養または実験動物で決定することができる。毒性効果と治療効果との用量比は、治療指数であり、これは、 $LD_{50} / ED_{50}$  として表すことができる。大きい治療指数を呈する薬剤が好適である。薬剤が毒性副作用を呈する場合、薬剤を患部組織の部位を標的とする送達システムを使用して、葉酸受容体アルファを発現しない細胞への潜在的な損傷を最小限にし、それによって副作用を低減することができる。

#### 【0095】

一部の実施形態では、被験体は、被験体の体重  $1\text{ kg}$  当たり約  $0.01\text{ }\mu\text{g}$  ~ 約  $500\text{ mg}$  の範囲の一日用量で本明細書に記載の治療剤を投与され得る。典型的には、葉酸受容体アルファ発現肺がんを有する患者に投与される治療剤 (例えば、FRA に免疫特異的に結合する抗体などの FRA 標的化剤、好ましくはファルレツズマブ) の投与量は、被験体の体重  $1\text{ kg}$  当たり約  $0.1\text{ mg}$  ~ 約  $100\text{ mg}$  である。より典型的には、被験体に投与される投与量は、被験体の体重  $1\text{ kg}$  当たり約  $1.25\text{ mg}$  ~ 約  $12.5\text{ mg}$ 、またはさらにより典型的には、被験体の体重  $1\text{ kg}$  当たり約  $2.5\text{ mg}$  ~ 約  $10.0\text{ mg}$  である。一部の実施形態では、葉酸受容体アルファ発現肺がんを有する被験体に投与される FRA 標的化剤 (例えば、FRA に免疫特異的に結合する抗体、好ましくはファルレツズマブ) の投与量は、被験体の体重  $1\text{ kg}$  当たり約  $5.0\text{ mg}$  ~ 約  $7.5\text{ mg}$  である。本明細書に記載の処置の方法の一部の実施形態では、約  $7.5\text{ mg} / \text{kg}$  ~ 約  $12.5\text{ mg} / \text{kg}$ 、好ましくは約  $10\text{ mg} / \text{kg}$  の FRA 標的化剤 (例えば、FRA に免疫特異的に結合する抗体) の負荷用量が、被験体に投与される。本明細書に記載の処置の方法の一部の実施形態では、毎週約  $7.5\text{ mg} / \text{kg}$  ~ 約  $12.5\text{ mg} / \text{kg}$ 、好ましくは約  $10\text{ mg} / \text{kg}$  の FRA 標的化剤 (例えば、FRA に免疫特異的に結合する抗体) の2回の負荷用量が、処置の最初の2週間に被験体に投与される。一部の実施形態では、葉酸受容体アルファ発現肺がんを有する被験体に投与されるタキサン投与量は、被験体の体重の、約  $50\text{ mg} / \text{m}^2$  ~ 約  $250\text{ mg} / \text{m}^2$ 、好ましくは約  $75\text{ mg} / \text{m}^2$  ~ 約  $200\text{ mg} / \text{m}^2$  である。一部の実施形態では、葉酸受容体アルファ発現肺がんを有する被験体に投与されるカルボプラチンの投与量は、約  $AUC_3$ 、好ましくは約  $AUC_4$ 、より好ましくは約  $AUC_5 \sim 6$ 、一部の好適な実施形態では、約  $AUC_6$  である。一部の実施形態では、葉酸受容体アルファ発現肺がんを有する被験体に投与されるシスプラチンの投与量は、被験体の体重の、約  $50\text{ mg} / \text{m}^2$  ~ 約  $250\text{ mg} / \text{m}^2$ 、好ましくは約  $75\text{ mg} / \text{m}^2$  ~ 約  $200\text{ mg} / \text{m}^2$  である。一部の実施形態では、葉酸受容体アルファ発現肺がんを有する

被験体に投与される葉酸代謝拮抗薬の投与量は、約 400 ~ 約 600 mg / m<sup>2</sup> である。好適な実施形態では、FRA 標的化剤の投与と組み合わせた化学療法の少なくとも 4 ~ 6 サイクルが、患者に投与される。

【0096】

有効な処置のために、当業者は、処置されている被験体に適切な治療剤の投与スケジュールおよび投与量を推奨することができる。投薬は、必要とされる限り、毎日 1 ~ 4 回もしくはそれ超、1 週間当たり 1 回、2 週間毎に 1 回、3 週間毎に 1 回、または 4 週間毎に 1 回行われることが好適であり得る。典型的には、FRA 標的化剤は、毎週被験体に投与される。

【0097】

投薬は、組成物が持続送達ビヒクルで製剤化される場合、より少ない頻度で行うことができる。投与スケジュールは、被験体の必要性に依存し得る活性薬物濃度に応じて変動し得る。

【0098】

キット

【0099】

FRA 発現肺がんを有する患者における FRA 標的化剤を用いた処置に対する応答性の見込みを予測するためのキットが本明細書でさらに提供されている。一部の実施形態では、キットは、抗 FRA 抗体、使用していないとき抗体を収容するための容器、および被験体の FRA 発現のレベルを決定するのに抗 FRA 抗体を使用するための指示を含有する。1 つまたは複数の追加の容器が、マーカーアッセイで使用される試薬または緩衝液などの要素を封入する場合がある。このようなキットはまた、または代わりに、抗体結合の直接または間接検出に適したレポーター基を含有する検出試薬を含有し得る。

【0100】

患者における FRA 発現肺がんを処置するためのキットであって、FRA 標的化剤（例えば、ビンタフォリド、ファルレッズマブなどの FRA に免疫特異的に結合する抗体、または IMG N 853 などの抗体 - 薬物コンジュゲート）、使用していないとき FRA 標的化剤を収容するための容器、および FRA 標的化剤を使用するための指示を含む、キットも本明細書に提供されている。ファルレッズマブは、キットにおいて FRA に免疫特異的に結合する好適な抗体である。一部の実施形態では、FRA 発現肺がんを有する被験体を処置するためのキットは、患者の生体試料中の FRA 発現のレベルを定量化するのに使用するための抗 FRA 抗体も含有する。この後者の抗 FRA 抗体は、治療的に投与される FRA に免疫特異的に結合する抗体と同じであっても、異なってもよい。一部の実施形態では、キットは、使用していないとき抗 FRA 抗体を収容するための容器、および被験体の FRA の発現レベルを決定するのに抗 FRA 抗体を使用するための指示も含有する。

【0101】

FRA 発現肺がんを有する被験体を処置するためのキットは、本明細書に記載の追加の治療剤（例えば、白金含有化合物、タキサン、および / または葉酸代謝拮抗薬）も含有し得る。キットに含めるための白金含有化合物の例としては、それだけに限らないが、シスプラチンおよびカルボプラチンがある。キットに含めるためのタキサンの例としては、それだけに限らないが、パクリタキセル、ドセタキセル、ならびにそれだけに限らないが、nab - パクリタキセル（Abraxane（登録商標））、カバジタキセル（Jevtana（登録商標））、DJ - 927（Tese taxel（登録商標））、パクリタキセルポリグルメックス（Opaxio（登録商標））、XRP9881（Larotaxel（登録商標））、EndoTAG + パクリタキセル（EndoTAG（登録商標） - 1）、ポリマーミセルパクリタキセル（Genexol - PM（登録商標））、DHA - パクリタキセル（Taxoprexin（登録商標））、BMS - 184476 を含めたこれらの半合成、合成、および / または修飾バージョンおよび製剤がある。キットに含めるための葉酸代謝拮抗薬の一例は、ペメトレキセドである。治療剤は、キットに分配するのに適した様々な形態のいずれかにあり得る。キットに分配するのに適した治療剤の形態



として、液体剤 ( l i q u i d )、散剤、錠剤、懸濁剤、および治療剤を提供するための同様の製剤を挙げることができる。キットは、治療剤を注射、再構成、または希釈するための薬学的に許容可能な希釈剤 (例えば、滅菌水) も含み得る。1つまたは複数の追加の容器が、マーカーアッセイで使用される試薬または緩衝液などの要素を封入する場合がある。このようなキットはまた、または代わりに、抗体結合の直接または間接検出に適したレポーター基を含有する検出試薬を含有し得る。

#### 【0102】

キットはまた、典型的には、本明細書に記載の方法で使用するためのラベルまたは指示を含有する。ラベルまたは指示は、キットの製造、輸送、販売、または使用中どんな時もキットに付けられ、または別段に伴う任意の書面での、または記録された資料を指す。これは、医薬品または生物学的製品の製造、使用、または販売を規制する政府機関によって規定された形態での通知であり得、この通知は、ヒト投与のための製造、使用、または販売の機関による認可を反映する。ラベルまたは指示は、宣伝リーフレットおよびパンフレット、包装材料、指示、オーディオまたはビデオカセット、コンピューターディスク、ならびに医薬キットに直接印刷された書類も包含し得る。

10

#### 【0103】

以下の実施例は、本明細書に開示の実施形態の一部をさらに記載するために提供されている。実施例は、開示された実施形態を例示するように意図されているが、限定するように意図されていない。

20

#### 【実施例】

#### 【0104】

(実施例1)

#### 【0105】

患者

#### 【0106】

適格被験体は、免疫組織化学検査によって腫瘍細胞の少なくとも5%において、FRA発現(1+またはそれ超の膜染色によって定義される)を伴った、コンピューター断層撮影(CT)または磁気共鳴画像法(MRI)を使用して固形腫瘍における応答評価基準(RECIST)バージョン1.1によって少なくとも1つの一次元で測定可能な病変を有する病期IVと分類された、肺の新しく診断された、切除不能な、組織学的または細胞学的に確認された腺癌を有していたのでなければならない(ClinicalTrials.gov識別名NCT01218516)。理論的に最大抗FRA抗体薬理的効果に必要とされ得るFRA陽性の程度および頻度に関するデータは存在しないので、腫瘍が+1の強度の膜FRA発現について少なくとも5%陽性であった(当業者によって典型的に用いられる方法を使用して)患者を、FRA陽性腫瘍を有し、研究に含めるのに適格であると指定した。被験体は、彼らの肺がんについて治療目的で事前の化学療法も放射線療法も手術も受けていなかった。

30

#### 【0107】

処置

#### 【0108】

被験体を、ファルレッズマブまたはプラセボのいずれかとともに、選択されたプラチナダブレット(カルボプラチン 曲線下面積(AUC)薬物動態学的曝露レベル6およびパクリタキセル200mg/m<sup>2</sup>;カルボプラチンAUC 5~6およびペメトレキセド500mg/m<sup>2</sup>;またはシスプラチン75mg/m<sup>2</sup>およびペメトレキセド500mg/m<sup>2</sup>)を受けるように1:1の比でランダム化した。ランダム化は、米国東海岸がん臨床試験グループ(Eastern Cooperative Oncology Group)(ECOG)パフォーマンスステータス(0または1)および選択した化学療法レジメンのタイプによって階層化した。すべてのランダム化された被験体を、3つの許容される化学療法レジメンのうちの1つと組み合わせてファルレッズマブ7.5mg/kgまたはプラセボで処置し、ファルレッズマブまたはプラセボ単剤療法を負荷用量として8日目

40

50

に投与したとき、第1のサイクルを除いて、21日サイクルの1日目に静脈内（IV）投与した。サイクル2から始めて、ファルレツズマブまたはプラセボを、化学療法と組み合わせるすべての追加のサイクルの1日目に投与した。

【0109】

すべてのプロトコール許容プラチナダブレットを、少なくとも4、しかし6以下のサイクルについて3週間ごとに1回投与した。化学療法レジメンは、ひとたび開始したら変更しなかった。化学療法用量は、各国に特異的な承認された添付文書による毒性によって、かつ被験体が経験した毒性の程度に基づいて低減し、または遅延させることができる。化学療法が4番目のサイクルの前に中止され、または6週間超にわたって見合わされた事象では、被験体は、プロトコール処置を中止した。

10

【0110】

組合せ療法から臨床的利益を経験した被験体は、X線検査上での進行、または疾患進行の他のプロトコール承認尺度が記録されるまで、各21日サイクルの1日目にファルレツズマブまたはプラセボを受け続けることができる。ひとたび疾患進行が起こったら、各被験体を、生存状態および肺の病期IV腺癌のための追加の全身療法について経過観察した。この経過観察期間の後、最初の9カ月間に毎月、その後死亡するまで2カ月毎、被験体に接触した。

【0111】

評価

【0112】

X線検査での疾患評価を、組合せ療法中2サイクル毎および単剤療法中3サイクル毎に行い、独立した点検ごとに局所的に読み取った。CTスキャン（またはMRI）も、RECIST v. 1.1を使用して中央点検（central view）によって独立に評価した。何らかの理由でX線検査上での進行の前に研究処置を中止した被験体は、X線検査上での進行、または疾患進行の他のプロトコール承認尺度を記録するまで、9週間毎にX線検査で経過観察した。

20

【0113】

安全性評価は、研究全体にわたって行い、有害事象（AE）の点検、身体検査、実験室評価、抗薬物抗体（ADA）、および心電図検査（ECG）を含んでいた。

【0114】

PFSは、ランダム化の日付からRECISTによる放射線学的評価に基づく進行もしくは研究者によって評価される最終的な臨床的疾患進行の最初の観察（例えば、陽性の液体細胞診の新しい出現）の日付、または進行性疾患の非存在下での原因が何であれ死亡の日付までの（月数での）時間として定義した。

30

【0115】

腫瘍組織内の相対的FRA発現レベルまたは発現の閾値レベルが、標準治療化学療法（カルボプラチン+パクリタキセル；カルボプラチン+ペメトレキセド；またはシスプラチン+ペメトレキセド）と組み合わせた非小細胞肺癌（NSCLC）を有する患者における改善されたファルレツズマブ媒介臨床的改善に重要であることを実証するために、NSCLC腺癌を有する化学療法未施行、病期IV患者由来の腫瘍病変から調製した5μm組織切片スライドを、細胞質または膜FRA発現レベルについて分析した。

40

【0116】

FRAタンパク質レベルを、標準プロトコール指示に従って26B3抗FRA抗体（O'Shannessyら、Oncotarget、2012年；3巻（4号）：414～25頁；カタログ番号IPI4006K G10（Biocare Medical；Concord、CA）にも含まれている；米国特許第8,475,795号も参照）を使用して本研究について免疫組織学的（IHC）分析によって決定した。FRA発現を定量化するために、レベルを、2つの手順のうちの1つによって決定し、盲検様式で訓練された病理学者によって分析した。細胞質または膜FRA発現を、以前に記載された方法を使用して26B3染色組織切片のデジタルイメージングまたはマニュアル顕微鏡評価を介し

50

て決定した (P o t t s、D r u g D i s c o v T o d a y、2 0 0 9 年；1 4 巻 (1 9 ~ 2 0 号)：9 3 5 ~ 4 1 頁；O ' S h a n n e s s y、O n c o t a r g e t、2 0 1 2 年；3 巻 (4 号)：4 1 4 ~ 2 5 頁；米国特許第 8, 4 7 5, 7 9 5 号；製造者の指示、カタログ番号 I P I 4 0 0 6 K G 1 0 (B i o c a r e M e d i c a l；C o n c o r d、C A)。

【0 1 1 7】

2 6 B 3 染色切片化組織スライド中の F R A のデジタル分析を、F l a g s h i p B i o s c i e n c e s (W e s t m i n s t e r、C O) による C e l l M a p および / または S t a i n M a p アルゴリズムを介して画像分析を使用して行った。F R A 発現のマニュアル分析を、当技術分野で熟練した訓練された病理学者を有する 2 つの独立した研究所により、顕微鏡評価によって行った。

10

【0 1 1 8】

デジタルイメージングまたはマニュアル分析によって導出された膜または細胞質 F R A 発現レベルを定量化するために、腫瘍陽性およびシグナル強度のパーセンテージとして F R A 染色を定量化するアルゴリズムを開発した。マニュアル病理スコアリング法で使用するために同定したこれらの値を、膜染色の F R A M スコア (F R A M S C O R) として表した。デジタルイメージング分析で使用するために同定した値を、細胞質染色の H B S スコア (H B S C O R) として表した。バイオマーカー発現レベルを正確に定量化するのに使用される以前の方法は、高度に正確なスコアリングを達成するために、腫瘍切片が良好に画定されていなければならない、I H C 染色が均一である必要があることを決定した。本研究に患者を含めるために得た組織切片および染色の品質を評価するために、当技術分野で熟練した盲検化された病理学者が、F R A 2 6 B 3 染色 N S C L C 腫瘍組織切片の完全性を独立に評価して、胸膜組織由来標準物質を使用して胸膜組織内の F R A 発現を比較した。完全な評価の後、病理学者は、1 3 0 組織スライドのうち 8 5 が F R A M S C O R および H B S C O R 胸膜組織分析に適していると見なした。残りの 4 5 スライドは F R A 発現の「存在」を検出するのに適するものの、その詳細な発現分析は、1.) 膜発現を正確に分析する能力を妨げた芳しくない組織保存；2.) 胸膜組織内の F R A 発現を正確に決定することができない (スライドのサブセットは、胸水バックグラウンド内に悪性細胞のみを含有していた)；および / または 3.) 線形範囲内の正確な染色分析を禁じた甚だしい過剰染色に起因して可能でなかった。図 1 は、処置企図集団 (I T T) の元の臨床セットの一部であった F R A M S C O R または H B S C O R による F R A 発現定量化に適していないものの例に対する組織完全性 / 形態および染色の適性を示す。

20

30

【0 1 1 9】

8 5 の適当な胸膜腫瘍切片における F R A 染色強度を決定するために、胸膜組織参照データセットを、低、中、および高 F R A 発現レベルを有する無関係の患者由来の試料を使用して最初に確立した。このデータセットは、相対的な F R A 発現レベルが患者の間で比較され、マニュアルおよびデジタル分析 F R A M S C O R および H B S C O R 法を使用して定量化される標準を表す。図 2 は、N S C L C 腺癌試料における F R A の当業者に公知の + 1 (低発現)、+ 2 (中発現)、および + 3 (高発現) をスコアリングするのに使用される参照データセットの一例を提供する。さらに、腫瘍陽性のパーセンテージも、以下の式を使用して各方法のアルゴリズムの因子となっている (腫瘍表面積の 1 ~ 1 0 0 % 陽性) (図示せず)。

40

【0 1 2 0】

F R A M S C O R (M - スコア) は、以下の通り 0、1 +、2 +、3 + スコアリングシステムを仮定して加重平均として計算される (図 2 を参照)：

x = % 1 + の染色された腫瘍

y = % 2 + の染色された腫瘍

z = % 3 + の染色された腫瘍

ここで

## 【化 17】

$$M = \frac{x+2y+3z}{6}$$

である。例示の目的で、患者の腫瘍が、20%の+1の26B3-FRA染色、10%の+2の26B3-FRA染色、および20%の+3の26B3-FRA染色を有する場合、Mスコア=16.6である。

## 【0121】

HBSCORは、標的組織区画内のすべての細胞から算出されるバイオマーカー染色（この場合、FRAの26B3染色）の平均光学密度値を報告する。これは、専売の組織認識特色を利用して、細胞を分類することなく、線形スコア、およびH-スコアの連続拡張を介して組織区画を決定する。H-スコアは、組織内のバイオマーカー発現をスコアリングするのに病理学者および当業者が一般に使用する標準的なスコアリング法であり、これは基本的に、すべての強度レベル（1+、+2×2+、+3×3+）における強度スコアの和である。HBSCORは、細胞測定値（光学密度）の和を細胞の総数で除することによって導出される。HBSCORは、今度は、標的組織区画内のすべての細胞から算出されるバイオマーカー染色の値を報告する。この計算は、以下の式を使用して定量化される：

## 【化 18】

$$HBSCOR = \frac{\sum_{\text{細胞}} \text{細胞測定値}}{\text{細胞の数}}$$

## 【0122】

26B3抗体を使用してFRAについて染色された患者由来組織を含有する評価可能なスライドを、盲検化分析下で上述したFRAMSCORおよびHBSCOR法を使用して分析および定量化した。データを、発現カットポイント分析を使用して最初に分析した。全生存期間（OS）に対する葉酸受容体アルファ（FRA）発現相関を行って、高または低FRA発現がプラセボ対照処置患者に対してファルレツズマブ処置に対する治療応答と相関するか否かを決定した。図3は、患者検体がHBSCOR法を介してFRA発現について定量化されたこの分析の一例を示す。示したように、患者OSにおける有意な応答が観察された。なぜなら、臨床的に陽性のハザード比が、低発現を有する者に対してより高いレベルのFRAを発現するファルレツズマブ処置患者において発生するためである。無増悪生存期間（PFS）またはOSの関数としてFRA発現およびファルレツズマブ処置の患者臨床応答に対する全体的な影響を決定するために、カプランマイヤー分析を行った。図4に示したように、FRAMSCORを使用して高FRA膜発現について選択された患者は、プラセボ+SOCのみで処置された者（p=0.386）と比較してファルレツズマブ+SOCで処置されたとき、OSにおける統計的に有意な臨床的改善を示した（8.4カ月の改善、HR0.54；p=0.0266）。PFS応答の改善も、低膜染色に対して高FRA膜染色を呈する患者において見出された（図示せず）。同様の効果が、HBSCOR法を使用して最適なFRA細胞質発現を有する患者を使用したとき観察され、この効果によって、ファルレツズマブで処置された患者は、最適未満のFRAレベルを発現するファルレツズマブで処置された者（図5、パネルA）と比較して、PFSおよびOSにおいて統計的に有意な臨床的利益を有した（図5、パネルB）。これらの知見は、FRAMSCORまたはHBSCOR法を使用して最小限の閾値レベルを呈する者を決定するには、プラセボ+SOCで処置された者に対してファルレツズマブ+SOCで処置された患者における統計的臨床的利益を実証することに失敗した（PFS HR0.91、p=0.7045およびOS HR0.91、p=0.6525）ITT集団について行われたように任意のFRA発現を呈する腫瘍を有する患者を単に動員するより、治療上の利益を改善するための肺がん患者の生検材料中のFRA発現の同定の使用を教示する。

## 【 0 1 2 3 】

多変量分析を、S O C 処置に対するN S C L C 肺がん患者臨床応答に影響し得る標準的な因子、例えば、喫煙、年齢、またはE C O G ステータスを使用して行った。高レベルのF R A を有する患者における臨床応答に対するファルレッツマブの統計的にポジティブな効果に影響を与える効果は、多変量分析において見られなかった。

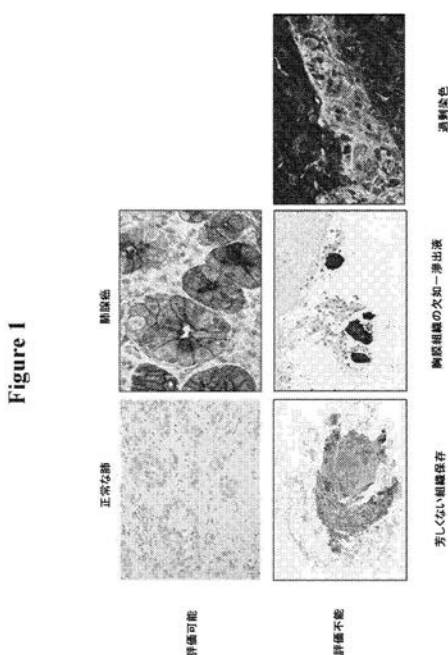
## 【 0 1 2 4 】

これらの知見は、胸膜悪性組織を含有し、抗葉酸受容体アルファ抗体療法に応答し得る患者を同定するのに使用するための膜に局在するか、または細胞質内のF R A 発現の定量化可能な分析を可能にする様式で染色された高品質組織生検材料を用いることの使用を教示する。後続の分析は、胸水および微細針吸引物に由来する患者試料も、定量化して抗F R A 治療効果に関して適当なF R A 発現を呈する者を同定することができることを見出した。これらの場合では、非胸膜ベース参照標準を比較のために開発することができる。さらに、これらの結果は、F R A M S C O R またはH B S C O R 法を介して決定した場合に、膜および/または細胞質内でより高いレベルのF R A を発現する腫瘍を有する患者が、P F S およびO S を含めた臨床転帰の有意な改善を有することを実証する。これらの教示によって、抗F R A 抗体療法に応答する可能性が最も高いN S C L C 患者における抗F R A 抗体療法の使用の位置付けが得られるはずである。F R A のレベルは、S O C と組み合わせた抗F R A 抗体療法に応答することになる患者を定義するのに重要である。将来の治療および臨床的有用性は、効力について最小カットポイントを上回るF R A の必要な閾値レベルを呈する患者の処置を組み入れるべきである。ここで定義したレベルには、7 またはそれ超のF R A M S C O R および0 . 2 5 またはそれ超のH B S C O R を有するものが含まれる(図3を参照)。平均で、これは、4 2 % 超の+ 1 の強度のF R A の発現、2 1 % の+ 2 の強度のF R A の発現を有するN S C L C 腫瘍および/または1 4 % 超の+ 3 の強度のF R A の発現を有する腫瘍と解釈される。

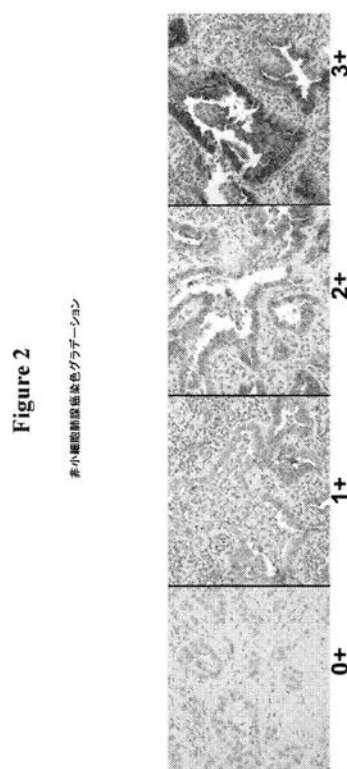
10

20

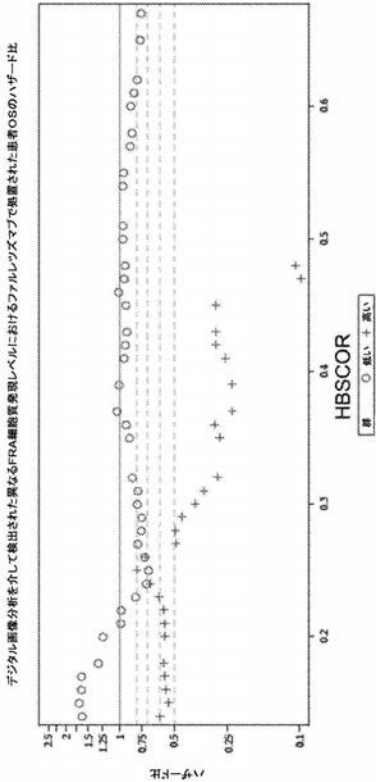
【 図 1 】



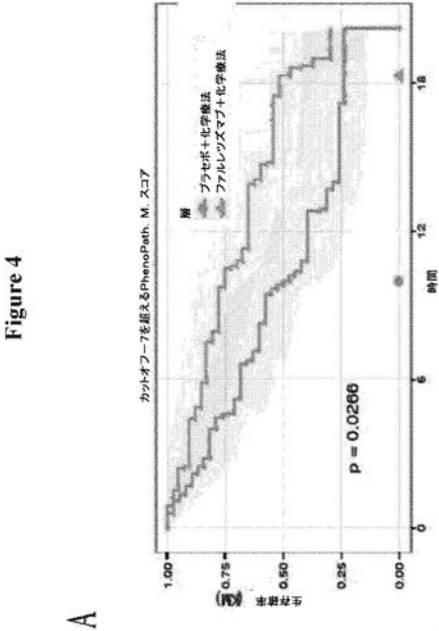
【 図 2 】



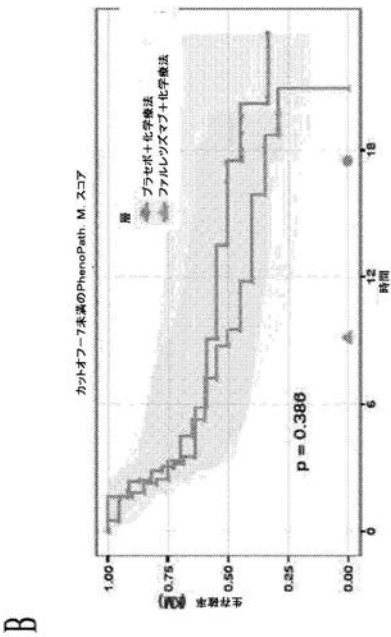
【 図 3 】



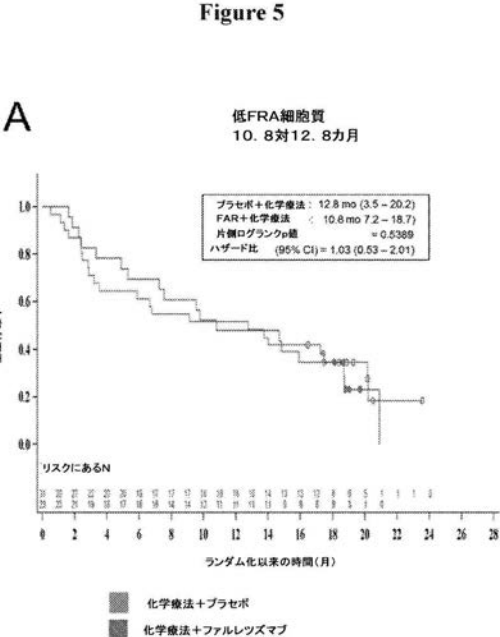
【 図 4 A 】



【 図 4 B 】

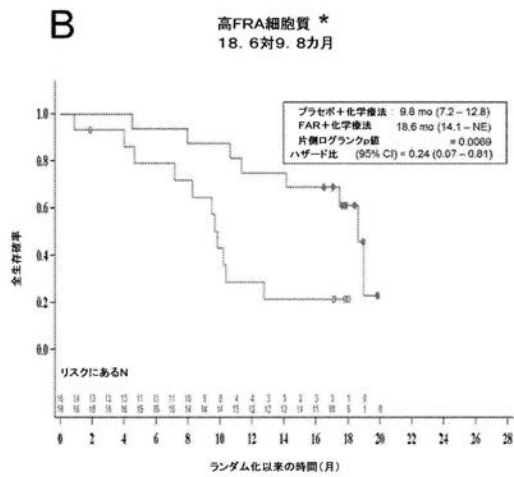


【 図 5 A 】



## 【図 5 B】

Figure 5



## 【配列表】

2018516244000001.app

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2016/027497

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. G01N33/574 A61K39/395 G01N33/82 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N A61K		
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) EP0-Internal, BIOSIS, EMBASE		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ANISH THOMAS ET AL: "Farletuzumab in lung cancer", LUNG CANCER., vol. 80, no. 1, 1 April 2013 (2013-04-01), pages 15-18, XP055283145, NL ISSN: 0169-5002, DOI: 10.1016/j.lungcan.2012.12.021 chapters 2-3, 7-8 abstract	1-43
X	----- DANIEL J O 'SHANNESSY ET AL: "Folate Receptor Alpha Expression in Lung Cancer: Diagnostic and Prognostic Significance", ONCOTARGET, 29 April 2012 (2012-04-29), XP055283147, abstract ----- -/--	1-43
<input checked="" 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 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
23 June 2016		15/07/2016
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Rosin, Oliver

1



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2016/027497

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DANIEL J O'SHANNESSEY ET AL: "Characterization of the Human Folate Receptor Alpha Via Novel Antibody-Based Probes", ONCOTARGET, vol. 2, no. 12, 27 December 2011 (2011-12-27), pages 1227-1243, XP055022611, figure 3; tables 3,4 -----	1,2,4-43
X	R Bremer ET AL: "Folate Receptor Alpha Expression in Lung and Ovarian Cancers by IHC Using a High Affinity Folate Receptor Alpha Antibody [26B3.F2]", As Presented at CAP, Poster Session #500, Poster Assignment #4, 20 September 2012 (2012-09-20), XP055283157, Retrieved from the Internet: URL:https://biocare.net/wp-content/uploads/AB-FRa100.pdf [retrieved on 2016-06-23] the whole document -----	1,2,4-43
X	JULIA D MALTZMAN ET AL: "Phase 2 double-blind, placebo-controlled study of three-weekly farletuzumab with a platinum containing doublet in subjects with previously untreated folate receptor alpha (FRA) expressing non-small-cell lung cancer (NSCLC).", 15TH WORLD CONFERENCE ON LUNG CANCER, 1 October 2013 (2013-10-01), XP055283207, abstract -----	1-43
T	DANIEL C CHRISTOPH ET AL: "Significance of Folate Receptor Alpha and Thymidylate Synthase Protein Expression in Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer Treated with Pemetrexed", JOURNAL OF THORACIC ONCOLOGY, vol. 8, no. 1, 1 January 2013 (2013-01-01), pages 19-30, XP055283219, -----	
T	MARIA INES NUNEZ ET AL: "High Expression of Folate Receptor Alpha in Lung Cancer Correlates with Adenocarcinoma Histology and Mutation", JOURNAL OF THORACIC ONCOLOGY, vol. 7, no. 5, 13 April 2012 (2012-04-13), pages 833-840, XP055283276, -----	

## 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 37/04 (2006.01)		G 0 1 N 33/574		D	4 C 2 0 6
A 6 1 K 47/68 (2017.01)		A 6 1 P 11/00			4 H 0 4 5
A 6 1 K 51/10 (2006.01)		A 6 1 P 35/00			
A 6 1 P 43/00 (2006.01)		A 6 1 K 39/395		E	
A 6 1 K 31/337 (2006.01)		A 6 1 P 37/04			
A 6 1 K 33/24 (2006.01)		A 6 1 K 39/395		C	
A 6 1 K 31/519 (2006.01)		A 6 1 K 39/395		L	
A 6 1 K 31/282 (2006.01)		A 6 1 K 47/68			
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)		A 6 1 K 51/10	1 0 0		
A 6 1 K 45/00 (2006.01)		A 6 1 P 43/00	1 1 1		
C 0 7 K 16/30 (2006.01)		A 6 1 K 31/337			
		A 6 1 P 43/00	1 2 1		
		A 6 1 K 33/24			
		A 6 1 K 31/519			
		A 6 1 K 31/282			
		C 1 2 Q 1/68		A	
		A 6 1 K 45/00			
		C 0 7 K 16/30			

(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, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, 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

(72)発明者 オシャネシー, ダニエル ジョン

アメリカ合衆国 ペンシルベニア 1 9 4 7 3, シュウェンクスビル, ガーロフ ロード 5 1 5

F ターム(参考) 4B063 QA05 QA13 QA19 QQ03 QQ08 QQ53 QQ79 QR36 QR48 QR55  
 QR72 QR77 QS33 QS34 QX01  
 4C076 AA95 CC15 CC27 CC29 CC41 EE59  
 4C084 AA02 AA03 AA12 AA17 BA44 DA32 NA05 NA13 ZA591 ZB021  
 ZB091 ZB212 ZB261 ZB262 ZC411 ZC412 ZC751  
 4C085 AA13 AA14 AA27 CC23 EE01  
 4C086 AA01 AA02 BA02 CB05 HA12 HA24 HA26 HA28 MA02 MA04  
 NA05 ZA59 ZB26 ZC75  
 4C206 AA01 AA02 JB16 KA01 MA02 MA04 NA05 ZA59 ZB26 ZC75  
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA72 CA40 DA76 EA28 FA74