

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7544728号
(P7544728)

(45)発行日 令和6年9月3日(2024.9.3)

(24)登録日 令和6年8月26日(2024.8.26)

(51)国際特許分類	F I		
A 6 1 K 38/17 (2006.01)	A 6 1 K 38/17		
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 38/17	1 0 0	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 35/00		
G 0 1 N 33/533(2006.01)	G 0 1 N 33/53		N
C 1 2 Q 1/6844(2018.01)	G 0 1 N 33/533		
請求項の数 102 (全38頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2021-549275(P2021-549275)	(73)特許権者	515302853
(86)(22)出願日	令和2年2月21日(2020.2.21)		ファイヴ プライム セラピューティクス
(65)公表番号	特表2022-521299(P2022-521299		インク
	A)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3
(43)公表日	令和4年4月6日(2022.4.6)		2 0 - 1 7 9 9 , サウザンド オークス
(86)国際出願番号	PCT/US2020/019135		, ワン アムジェン センター ドライブ
(87)国際公開番号	WO2020/172482	(74)代理人	100078282
(87)国際公開日	令和2年8月27日(2020.8.27)		弁理士 山本 秀策
審査請求日	令和5年2月16日(2023.2.16)	(74)代理人	100113413
(31)優先権主張番号	62/809,319		弁理士 森下 夏樹
(32)優先日	平成31年2月22日(2019.2.22)	(72)発明者	バービー, スザンナ ディー .
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0
(31)優先権主張番号	62/815,249		8 0 , サウス サンフランシスコ, オ
(32)優先日	平成31年3月7日(2019.3.7)	(72)発明者	イスター ポイント ブールバード 1 1 1
	最終頁に続く		ブレナン, トーマス
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 P D - L 1 陰性腫瘍を治療するための C D 8 0 細胞外ドメイン - F C 融合タンパク質

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象における P D - L 1 陰性腫瘍を治療する方法における使用のための組成物であって、前記組成物が、C D 8 0 細胞外ドメイン (E C D) 融合分子を含み、前記方法が、前記組成物を前記対象に投与することを含み、前記 C D 8 0 E C D 融合分子が、ヒト C D 8 0 E C D とヒト I g G 1 F c ドメインとを含む、前記組成物。

【請求項 2】

前記腫瘍が、前記投与前に P D - L 1 陰性であると決定されている、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記方法は、前記腫瘍が前記投与前に P D - L 1 陰性であることを決定することをさらに含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

対象から得られた腫瘍試料の P D - L 1 の状態を、C D 8 0 E C D 融合分子を含む組成物による治療のために前記対象を選択するための指標とする方法であって、前記方法が、前記対象から得られた腫瘍試料が P D - L 1 陰性であるかどうかを決定することを含み、前記腫瘍試料が P D - L 1 陰性であるという決定は、前記対象が、前記組成物による治療のために選択されるべきであることを示し、前記 C D 8 0 E C D 融合分子が、ヒト C D 8 0 E C D とヒト I g G 1 F c ドメインとを含む、前記方法。

【請求項 5】

腫瘍試料のPD-L1の状態を、CD80 ECD融合分子を含む組成物による治療に対して応答性である腫瘍を有する対象を特定するための指標とするインビトロでの方法であって、前記方法が、前記対象から得られた腫瘍試料がPD-L1陰性であるかどうかを決定することを含み、前記腫瘍試料がPD-L1陰性であるという決定は、前記対象が、前記組成物による治療に対して応答性であることを示し、前記CD80 ECD融合分子が、ヒトCD80 ECDとヒトIgG1 Fcドメインとを含む、前記方法。

【請求項6】

前記腫瘍が、PD-L1タンパク質に特異的に結合する抗体を使用してPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項4または5に記載の方法。

【請求項7】

前記腫瘍が、PD-L1タンパク質に特異的に結合する抗体を使用してPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項2または3に記載の組成物。

【請求項8】

前記腫瘍が、ウエスタンブロットによってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項6に記載の方法。

【請求項9】

前記腫瘍が、ウエスタンブロットによってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項7に記載の組成物。

【請求項10】

前記腫瘍が、蛍光活性化細胞選別(FACS)によってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項6に記載の方法。

【請求項11】

前記腫瘍が、蛍光活性化細胞選別(FACS)によってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項7に記載の組成物。

【請求項12】

前記腫瘍が、免疫組織化学(IHC)によってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定され、任意で、前記試料が、パラフィン包埋試料である、請求項10に記載の方法。

【請求項13】

前記腫瘍が、免疫組織化学(IHC)によってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定され、任意で、前記試料が、パラフィン包埋試料である、請求項11に記載の組成物。

【請求項14】

前記腫瘍が、定量逆転写(RT)-ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項4または5に記載の方法。

【請求項15】

前記腫瘍が、定量逆転写(RT)-ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項2または3に記載の組成物。

【請求項16】

前記腫瘍が、RNAシーケンシングを使用してPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項4または5に記載の方法。

【請求項17】

前記腫瘍が、RNAシーケンシングを使用してPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項2または3に記載の組成物。

【請求項18】

前記腫瘍が、マイクロアレイを使用してPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項4または5に記載の方法。

【請求項19】

前記腫瘍が、マイクロアレイを使用してPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される、請求項2または3に記載の組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 20】

前記腫瘍が、固形腫瘍である、請求項 4 ~ 6、8、10、12、14、16 および 18 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 21】

前記腫瘍が、固形腫瘍である、請求項 1 ~ 3、7、9、11、13、15、17 および 19 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 22】

前記対象が、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、黒色腫、頭頸部扁平上皮癌、卵巣癌、膵臓癌、腎細胞癌、肝細胞癌、膀胱癌、及び子宮内膜癌からなる群から選択されるがん罹患している、請求項 4 ~ 6、8、10、12、14、16、18 および 20 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 23】

前記対象が、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、黒色腫、頭頸部扁平上皮癌、卵巣癌、膵臓癌、腎細胞癌、肝細胞癌、膀胱癌、及び子宮内膜癌からなる群から選択されるがん罹患している、請求項 1 ~ 3、7、9、11、13、15、17、19 および 21 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 24】

前記対象が、外科手術、化学療法、放射線療法、またはそれらの組み合わせからなる療法後、再発性または進行性であるがん罹患している、請求項 4 ~ 6、8、10、12、14、16、18、20 および 22 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 25】

前記対象が、外科手術、化学療法、放射線療法、またはそれらの組み合わせからなる療法後、再発性または進行性であるがん罹患している、請求項 1 ~ 3、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 26】

前記組成物が、シアル化 CD80 ECD 融合分子を含む、請求項 4 ~ 6、8、10、12、14、16、18、20、22 および 24 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】

前記組成物が、シアル化 CD80 ECD 融合分子を含む、請求項 1 ~ 3、7、9、11、13、15、17、19、21、23 および 25 のいずれか 1 項に記載の組成物。

30

【請求項 28】

前記シアル化 CD80 ECD 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり少なくとも 15 モルのシアル酸 (SA) を含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 29】

前記シアル化 CD80 ECD 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり少なくとも 15 モルのシアル酸 (SA) を含む、請求項 27 に記載の組成物。

【請求項 30】

前記シアル化 CD80 ECD 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり 15 ~ 60 モルの SA を含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 31】

前記シアル化 CD80 ECD 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり 15 ~ 60 モルの SA を含む、請求項 27 に記載の組成物。

40

【請求項 32】

前記シアル化 CD80 ECD 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり 15 ~ 40 モルの SA を含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 33】

前記シアル化 CD80 ECD 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり 15 ~ 40 モルの SA を含む、請求項 27 に記載の組成物。

【請求項 34】

前記シアル化 CD80 ECD 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり 15 ~ 30 モ

50

ルのSAを含む、請求項26に記載の方法。

【請求項35】

前記シアル化CD80 ECD融合分子が、融合タンパク質1モルあたり15～30モルのSAを含む、請求項27に記載の組成物。

【請求項36】

前記シアル化CD80 ECD融合分子が、融合タンパク質1モルあたり20～30モルのSAを含む、請求項26に記載の方法。

【請求項37】

前記シアル化CD80 ECD融合分子が、融合タンパク質1モルあたり20～30モルのSAを含む、請求項27に記載の組成物。

10

【請求項38】

前記CD80 ECD融合分子が、配列番号1のアミノ酸配列を含むヒトCD80 ECDを含む、請求項4～6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34および36のいずれか1項に記載の方法。

【請求項39】

前記CD80 ECD融合分子が、配列番号1のアミノ酸配列を含むヒトCD80 ECDを含む、請求項1～3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35および37のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項40】

前記CD80 ECD融合分子が、配列番号3のアミノ酸配列を含むヒトIgG1 Fcドメインを含む、請求項4～6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36および38のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項41】

前記CD80 ECD融合分子が、配列番号3のアミノ酸配列を含むヒトIgG1 Fcドメインを含む、請求項1～3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項42】

前記ヒトIgG1のFcドメインが、前記ヒトCD80のECDのカルボキシ末端に連結されている、請求項4～6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38および40のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項43】

前記ヒトIgG1のFcドメインが、前記ヒトCD80のECDのカルボキシ末端に連結されている、請求項1～3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39および41のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項44】

前記CD80 ECD融合分子が、配列番号5のアミノ酸配列を含む、請求項4～6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40および42のいずれか1項に記載の方法。

【請求項45】

前記CD80 ECD融合分子が、配列番号5のアミノ酸配列を含む、請求項1～3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41および43のいずれか1項に記載の組成物。

40

【請求項46】

前記PD-L1陰性腫瘍が、5%未満または1%未満のTPSスコアを有する、請求項4～6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42および44のいずれか1項に記載の方法。

【請求項47】

前記PD-L1陰性腫瘍が、5%未満または1%未満のTPSスコアを有する、請求項1～3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43および45のいずれか1項に記載の組成物。

50

【請求項 4 8】

前記組成物単独が、インビトロでのT細胞からのインターフェロンガンマまたはTNFアルファの有意な放出を引き起こさない、請求項 4 ~ 6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44 および 4 6 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記組成物単独が、インビトロでのT細胞からのインターフェロンガンマまたはTNFアルファの有意な放出を引き起こさない、請求項 1 ~ 3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45 および 4 7 のいずれか1項に記載の組成物。

10

【請求項 5 0】

前記組成物単独が、TGN1412単独よりも、インビトロでのT細胞からのインターフェロンガンマまたはTNFアルファの放出が少ない、請求項 4 ~ 6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46 および 4 8 のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記組成物単独が、TGN1412単独よりも、インビトロでのT細胞からのインターフェロンガンマまたはTNFアルファの放出が少ない、請求項 1 ~ 3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47 および 4 9 のいずれか1項に記載の組成物。

20

【請求項 5 2】

前記組成物単独が、TGN1412単独と比較して、インターフェロンガンマまたはTNFアルファ放出の誘導における効力が少なくとも1000倍低い、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記組成物単独が、TGN1412単独と比較して、インターフェロンガンマまたはTNFアルファ放出の誘導における効力が少なくとも1000倍低い、請求項 5 1 に記載の組成物。

【請求項 5 4】

前記組成物が、0.3 ~ 0.6 mg / kgの単回用量の前記組成物の投与後、少なくとも1週間、10日間、2週間、または3週間の期間にわたって、少なくとも1つのマウス同系がんモデルにおいて少なくとも90%の腫瘍増殖阻害が可能である、請求項 4 ~ 6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50 および 5 2 のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項 5 5】

前記組成物が、0.3 ~ 0.6 mg / kgの単回用量の前記組成物の投与後、少なくとも1週間、10日間、2週間、または3週間の期間にわたって、少なくとも1つのマウス同系がんモデルにおいて少なくとも90%の腫瘍増殖阻害が可能である、請求項 1 ~ 3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51 および 5 3 のいずれか1項に記載の組成物。

40

【請求項 5 6】

前記マウス同系がんモデルが、CT26腫瘍モデルである、請求項 5 4 に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記マウス同系がんモデルが、CT26腫瘍モデルである、請求項 5 5 に記載の組成物。

【請求項 5 8】

前記治療が、約0.07 mg ~ 約70 mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項 4 ~ 6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54 および 5 6 のいずれか1項に記載の方法。

50

よび56のいずれか1項に記載の方法。

【請求項59】

前記治療が、約0.07mg～約70mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項1～3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55および57のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項60】

前記治療が、約7.0mg～約70mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項58に記載の方法。

【請求項61】

前記治療が、約7.0mg～約70mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項59に記載の組成物。

【請求項62】

前記治療が、約70mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項60に記載の方法。

【請求項63】

前記治療が、約70mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項61に記載の組成物。

【請求項64】

前記治療が、約42mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項60に記載の方法。

【請求項65】

前記治療が、約42mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項61に記載の組成物。

【請求項66】

前記治療が、約21mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項60に記載の方法。

【請求項67】

前記治療が、約21mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項61に記載の組成物。

【請求項68】

前記治療が、約7mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項60に記載の方法。

【請求項69】

前記治療が、約7mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項61に記載の組成物。

【請求項70】

前記治療が、約2.1mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項58に記載の方法。

【請求項71】

前記治療が、約2.1mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項59に記載の組成物。

【請求項72】

前記治療が、約0.7mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項58に記載の方法。

【請求項73】

前記治療が、約0.7mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項59に記載の組成物。

【請求項74】

前記治療が、約0.21mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、請求項58

10

20

30

40

50

に記載の方法。

【請求項 75】

前記治療が、約 0.21 mg の前記 CD80 ECD 融合分子の投与を含む、請求項 59
に記載の組成物。

【請求項 76】

前記治療が、約 0.07 mg の前記 CD80 ECD 融合分子の投与を含む、請求項 60
に記載の方法。

【請求項 77】

前記治療が、約 0.07 mg の前記 CD80 ECD 融合分子の投与を含む、請求項 61
に記載の組成物。

10

【請求項 78】

前記治療が、3週間に1回の投与を含む、請求項 4～6、8、10、12、14、16
、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、
44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、7
0、72、74および76のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 79】

前記治療が、3週間に1回の投与を含む、請求項 1～3、7、9、11、13、15、1
7、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43
、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、
71、73、75および77のいずれか1項に記載の組成物。

20

【請求項 80】

前記治療が、前記 CD80 ECD 融合分子の静脈内投与を含む、請求項 4～6、8、
10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、3
6、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62
、64、66、68、70、72、74、76および78のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 81】

前記治療が、前記 CD80 ECD 融合分子の静脈内投与を含む、請求項 1～3、7、9
、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、
37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、6
3、65、67、69、71、73、75、77および79のいずれか1項に記載の組成
物。

30

【請求項 82】

前記対象が、PD-1/PD-L1アンタゴニストによる先行療法を受けていない、請
求項 4～6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30
、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、
58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78および80のい
ずれか1項に記載の方法。

【請求項 83】

前記対象が、PD-1/PD-L1アンタゴニストによる先行療法を受けていない、請
求項 1～3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、3
1、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57
、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79および81のい
ずれか1項に記載の組成物。

40

【請求項 84】

前記患者が、少なくとも1つの抗血管新生剤による先行療法を受けている、請
求項 4～
6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、
34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、6
0、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80および82のい
ずれか1項に記載の方法。

【請求項 85】

50

前記患者が、少なくとも1つの抗血管新生剤による先行療法を受けている、請求項1～3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81および83のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項86】

前記抗血管新生剤が、スニチニブ、ソラフェニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、チボザニブ、ラムシルマブ、またはベバシズマブである、請求項84に記載の方法。

【請求項87】

前記抗血管新生剤が、スニチニブ、ソラフェニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、チボザニブ、ラムシルマブ、またはベバシズマブである、請求項85に記載の組成物。

10

【請求項88】

前記抗血管新生剤が、進行性または転移性の設定で投与された、請求項84または86に記載の方法。

【請求項89】

前記抗血管新生剤が、進行性または転移性の設定で投与された、請求項85または87に記載の組成物。

【請求項90】

前記対象が、BRAF変異を有する黒色腫に罹患している、請求項4～6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86および88のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項91】

前記対象が、BRAF変異を有する黒色腫に罹患している、請求項1～3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87および89のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項92】

前記対象が、少なくとも1つのBRAF阻害剤による先行療法を受けている、請求項90に記載の方法。

30

【請求項93】

前記対象が、少なくとも1つのBRAF阻害剤による先行療法を受けている、請求項91に記載の組成物。

【請求項94】

前記BRAF阻害剤が、ベムラフェニブまたはダブラフェニブである、請求項92に記載の方法。

【請求項95】

前記BRAF阻害剤が、ベムラフェニブまたはダブラフェニブである、請求項93に記載の組成物。

40

【請求項96】

前記BRAF阻害剤が、進行性または転移性の設定で投与された、請求項92または94に記載の方法。

【請求項97】

前記BRAF阻害剤が、進行性または転移性の設定で投与された、請求項93または95に記載の組成物。

【請求項98】

前記腫瘍が、外科手術、化学療法、放射線療法、及びそれらの組み合わせから選択される療法後、再発性または進行性である、請求項4～6、8、10、12、14、16、1

50

8、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94および96のいずれか1項に記載の方法。

【請求項99】

前記腫瘍が、外科手術、化学療法、放射線療法、及びそれらの組み合わせから選択される療法後、再発性または進行性である、請求項1～3、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95および97のいずれか1項に記載の組成物。

10

【請求項100】

ヒト患者におけるPD-L1陰性腫瘍を治療するための組成物であって、前記組成物は、配列番号5のアミノ酸配列を含むCD80細胞外ドメイン(ECD)融合分子を含み、約0.07mg～約70mgの前記CD80細胞外ドメイン(ECD)融合分子が前記患者に投与されることを特徴とする、前記組成物。

【請求項101】

前記腫瘍が、前記投与前にIHCによってPD-L1陰性であると決定されている、請求項100に記載の組成物。

【請求項102】

前記組成物が、シアル化CD80 ECD融合分子を含み、前記シアル化CD80 ECD融合分子が、融合タンパク質1モルあたり15～60モルのSAを含む、請求項100または101に記載の組成物。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、CD80(B7-1)細胞外ドメイン(ECD)及び免疫グロブリン結晶化可能フラグメント(Fc)ドメインを含む融合タンパク質が、PD-L1の状態にかかわらず、腫瘍の治療において有効であることを実証する。したがって、そのような融合タンパク質を有利に使用して、PD-L1陰性腫瘍を治療することができる。

30

【背景技術】

【0002】

PD-1(プログラム細胞死タンパク質1)は、活性化T細胞において発現される免疫学的チェックポイントである。PD-1経路は、腫瘍によって発現されるPD-L1(プログラム細胞死タンパク質1リガンド)がPD-1と相互作用して、T細胞エフェクタ機能を抑制し、それによって免疫監視及び腫瘍細胞致死を凌ぐ腫瘍微小環境において重要である。腫瘍細胞に加えて、PD-L1はまた、腫瘍微小環境における抗原提示細胞によっても発現され得る。PD-1アンタゴニストとPD-L1アンタゴニストの両方が、がんの治療に承認されている。

【0003】

PD-L1は、CD80(B7-1)に結合し、CD28、及びCD80のCTLA-4受容体の非存在下で、双方向の阻害性シグナル伝達を誘導すると報告されている(Liet al., JBC 292:6799-6809(2017))。したがって、CD80タンパク質は、阻害性PD-L1/PD-1経路に拮抗して、強力な抗腫瘍免疫を促進することにより、治療的に作用し得ることが提唱されている(Swanson et al., Cancer Research 78:Abstract 4550(2018))。実際、CD80細胞外ドメイン(ECD)-Fc融合タンパク質は、強力な抗腫瘍活性を誘発することが示されている。

40

しかしながら、PD-L1は、全ての腫瘍において発現されるものではない。結果として、PD-1またはPD-L1の阻害剤によるある特定の適応症の治療には、PD-L1

50

試験が必要であり、PD-L1を発現しない腫瘍は、治療の対象とならない場合がある。したがって、PD-L1陰性腫瘍の治療法が必要とされている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【文献】Li et al., JBC 292:6799-6809 (2017)

【文献】Swanson et al., Cancer Research 78: Abstract 4550 (2018)

【発明の概要】

【0005】

本明細書に実証されるように、ヒト表面抗原分類80(CD80)の細胞外ドメイン(ECD)及びヒト免疫グロブリンG1(IgG1)の結晶化可能フラグメント(Fc)ドメインを含む融合タンパク質によって誘発される抗腫瘍効果は、CD28及びCTLA-4を介して媒介されるが、PD-L1を介しては媒介されない。したがって、これらの融合タンパク質は、PD-L1の状態にかかわらず、驚くほど腫瘍を治療することができる。したがって、本明細書に提供されるのは、CD80 ECD及びヒトIgG1のFcドメインを含む融合タンパク質を投与することを含む、PD-L1陰性腫瘍を治療する方法である。

10

【0006】

ある特定の態様では、対象におけるPD-L1陰性腫瘍を治療する方法は、CD80細胞外ドメイン(ECD)融合分子を含む組成物を対象に投与することを含む。ある特定の態様では、腫瘍は、投与前にPD-L1陰性であると決定されている。ある特定の態様では、この方法は、腫瘍が投与前にPD-L1陰性であることを決定することをさらに含む。

20

【0007】

ある特定の態様では、CD80 ECD融合分子を含む組成物による治療のために腫瘍を有する対象を選択する方法は、対象から得られた腫瘍試料がPD-L1陰性であるかどうかを決定することと、腫瘍試料がPD-L1陰性であると決定された場合、組成物による治療のために対象を選択することを含む。

【0008】

ある特定の態様では、CD80 ECD融合分子を含む組成物は、対象におけるPD-L1陰性がん腫瘍の治療に使用するためのものである。使用のための組成物のある特定の態様では、対象は、対象から得られた腫瘍試料がPD-L1陰性であることを決定することによって、治療のために選択される。

30

【0009】

ある特定の態様では、CD80 ECD融合分子を含む組成物は、対象における腫瘍の治療に使用するためのものであり、腫瘍は、PD-L1陰性であると決定されている。

【0010】

ある特定の態様では、CD80 ECD融合分子を含む組成物による治療に対して応答性である腫瘍を有する対象を特定するためのインビトロでの方法は、対象から得られた腫瘍試料がPD-L1陰性であるかどうかを決定することを含み、対象は、腫瘍試料がPD-L1陰性であると決定された場合、CD80 ECD融合分子による治療に対して応答性であると特定される。

40

【0011】

ある特定の態様では、腫瘍試料がPD-L1陰性であることを決定することができる少なくとも1つの薬剤のピトロでの使用は、CD80 ECD融合分子を含む組成物による治療に対して応答性である腫瘍を有する対象を特定するためのものである。

【0012】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、腫瘍は、PD-L1タンパク質を検出することができる薬剤を使用してPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される。ある特定の態様では、薬剤は、PD-L1タンパク質に

50

特異的に結合する抗体である。ある特定の態様では、腫瘍は、ウエスタンブロットによってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される。ある特定の態様では、腫瘍は、蛍光活性化細胞選別(FACS)によってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される。ある特定の態様では、腫瘍は、免疫組織化学(IHC)によってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される。ある特定の態様では、試料は、パラフィン包埋試料である。

【0013】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、腫瘍は、PD-L1 mRNAを検出することができる薬剤を使用してPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される。ある特定の態様では、腫瘍は、定量逆転写(RT)-ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によってPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される。ある特定の態様では、腫瘍は、RNAシーケンシングを使用してPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される。ある特定の態様では、腫瘍は、マイクロアレイを使用してPD-L1陰性であると決定されているか、または決定される。

10

【0014】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、腫瘍は、固形腫瘍である。本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、対象は、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、黒色腫、頭頸部扁平上皮癌、卵巣癌、膵臓癌、腎細胞癌、肝細胞癌、膀胱癌、及び子宮内膜癌からなる群から選択されるがん罹患している。本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、対象は、外科手術、化学療法、放射線療法、またはそれらの組み合わせからなる療法後、再発性または進行性であるがん罹患している。

20

【0015】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、CD80 ECD融合分子は、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含む。

【0016】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、組成物は、シアル化CD80 ECD融合分子を含む。ある特定の態様では、シアル化CD80 ECD融合分子は、融合タンパク質1モルあたり少なくとも15モルのシアル酸(SA)を含む。ある特定の態様では、シアル化CD80 ECD融合分子は、融合タンパク質1モルあたり15~60モルのSAを含む。ある特定の態様では、シアル化CD80 ECD融合分子は、融合タンパク質1モルあたり15~40モルのSAを含む。ある特定の態様では、シアル化CD80 ECD融合分子は、融合タンパク質1モルあたり15~30モルのSAを含む。ある特定の態様では、シアル化CD80 ECD融合分子は、融合タンパク質1モルあたり20~30モルのSAを含む。

30

【0017】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、CD80 ECD融合分子は、配列番号1のアミノ酸配列を含むヒトCD80 ECDを含む。本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、CD80 ECD融合分子は、配列番号3のアミノ酸配列を含むヒトIgG1 Fcドメインを含む。本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、ヒトIgG1のFcドメインは、ヒトCD80のECDのカルボキシ末端に連結されている。本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、CD80 ECD融合分子は、配列番号5のアミノ酸配列を含む。

40

【0018】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、PD-L1陰性腫瘍は、5%未満または1%未満のTPSスコアを有する。

【0019】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、組成物単独は、インビトロでのT細胞からのインターフェロンガンマまたはTNFアルファの有意な放

50

出を引き起こさない。本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、組成物単独は、TGN1412単独よりも、インビトロでのT細胞からのインターフェロンガンマまたはTNFアルファの放出が少ない。本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、組成物単独は、TGN1412単独と比較して、インターフェロンガンマまたはTNFアルファ放出の誘導における効力が少なくとも1000倍低い。方法、組成物、または本明細書に提供されるもののある特定の態様では、組成物は、0.3~0.6mg/kgの単回用量の組成物の投与後、少なくとも1週間、10日間、2週間、または3週間の期間にわたって、少なくとも1つのマウス同系がんモデルにおいて少なくとも90%の腫瘍増殖阻害が可能である。ある特定の態様では、マウス同系がんモデルは、CT26腫瘍モデルである。

10

【0020】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、治療は、約0.07mg~約70mgのCD80 ECD融合分子の投与を含む。ある特定の態様では、治療は、約7.0mg~約70mgのCD80 ECD融合分子の投与を含む。ある特定の態様では、治療は、約70mgのCD80 ECD融合分子の投与を含む。ある特定の態様では、治療は、約42mgのCD80 ECD融合分子の投与を含む。ある特定の態様では、治療は、約21mgのCD80 ECD融合分子の投与を含む。ある特定の態様では、治療は、約7mgのCD80 ECD融合分子の投与を含む。ある特定の態様では、治療は、約2.1mgのCD80 ECD融合分子の投与を含む。ある特定の態様では、治療は、約0.7mgのCD80 ECD融合分子の投与を含む。ある特定の態様では、治療は、約0.21mgのCD80 ECD融合分子の投与を含む。ある特定の態様では、治療は、約0.07mgのCD80 ECD融合分子の投与を含む。

20

【0021】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、治療は、3週間に1回の投与を含む。

【0022】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、治療は、CD80 ECD融合分子の静脈内投与を含む。

【0023】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、対象は、PD-1/PD-L1アンタゴニストによる先行療法を受けていない。

30

【0024】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、患者は、少なくとも1つの抗血管新生剤による先行療法を受けている。ある特定の態様では、抗血管新生剤は、スニチニブ、ソラフェニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、チボザニブ、ラムシルマブ、またはベバシズマブである。ある特定の態様では、抗血管新生剤は、進行性または転移性の設定で投与された。

【0025】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、対象は、BRAF変異を有する黒色腫に罹患している。ある特定の態様では、患者は、少なくとも1つのBRAF阻害剤による先行療法を受けている。ある特定の態様では、BRAF阻害剤は、ベムラフェニブまたはダブラフェニブである。ある特定の態様では、BRAF阻害剤は、進行性または転移性の設定で投与された。

40

【0026】

本明細書に提供される方法、組成物、または使用のある特定の態様では、腫瘍は、外科手術、化学療法、放射線療法、及びそれらの組み合わせから選択される療法後、再発性または進行性である。

【0027】

ある特定の態様では、ヒト患者におけるPD-L1陰性腫瘍を治療する方法は、配列番号5のアミノ酸配列を含む約0.07mg~約70mgのCD80細胞外ドメイン(ECD

50

D) 融合分子を含む組成物を患者に投与することを含む。ある特定の態様では、腫瘍は、投与前に IHC によって PD-L1 陰性であると決定されている。ある特定の態様では、組成物は、シアル化 CD80 ECD 融合分子を含み、シアル化 CD80 ECD 融合分子は、融合タンパク質 1 モルあたり 15 ~ 60 モルの SA を含む。

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

(項目 1)

対象における PD-L1 陰性腫瘍を治療する方法であって、前記方法が、CD80 細胞外ドメイン (ECD) 融合分子を含む組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

(項目 2)

前記腫瘍が、前記投与前に PD-L1 陰性であると決定されている、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記腫瘍が前記投与前に PD-L1 陰性であることを決定することをさらに含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 4)

CD80 ECD 融合分子を含む組成物による治療のために腫瘍を有する対象を選択する方法であって、前記方法が、前記対象から得られた腫瘍試料が PD-L1 陰性であるかどうかを決定することと、前記腫瘍試料が PD-L1 陰性であると決定される場合、前記組成物による治療のために前記対象を選択することと、を含む、前記方法。

(項目 5)

対象における PD-L1 陰性がん腫瘍の治療に使用するための CD80 ECD 融合分子を含む、組成物。

(項目 6)

前記対象が、前記対象から得られた腫瘍試料が PD-L1 陰性であることを決定することによって、前記治療のために選択される、項目 5 に記載の使用のための組成物。

(項目 7)

対象における腫瘍の治療に使用するための CD80 ECD 融合分子を含む組成物であって、前記腫瘍が、PD-L1 陰性であると決定されている、前記組成物。

(項目 8)

CD80 ECD 融合分子を含む組成物による治療に対して応答性である腫瘍を有する対象を特定するためのインビトロでの方法であって、前記方法が、前記対象から得られた腫瘍試料が PD-L1 陰性であるかどうかを決定することを含み、前記対象が、前記腫瘍試料が PD-L1 陰性であると決定された場合、CD80 ECD 融合分子による治療に対して応答性であると特定される、前記方法。

(項目 9)

CD80 ECD 融合分子を含む組成物による治療に対して応答性である腫瘍を有する対象を特定するための、腫瘍試料が PD-L1 陰性であることを決定することができる少なくとも 1 つの薬剤のインビトロでの使用。

(項目 10)

前記腫瘍が、PD-L1 タンパク質を検出することができる薬剤を使用して PD-L1 陰性であると決定されているか、または決定され、任意で、前記薬剤が、PD-L1 タンパク質に特異的に結合する抗体である、項目 2 ~ 4 及び 6 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 11)

前記腫瘍が、ウエスタンブロットによって PD-L1 陰性であると決定されているか、または決定される、項目 10 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 12)

前記腫瘍が、蛍光活性化細胞選別 (FACS) によって PD-L1 陰性であると決定されているか、または決定される、項目 10 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 13)

10

20

30

40

50

前記腫瘍が、免疫組織化学 (I H C) によって P D - L 1 陰性であると決定されているか、または決定され、任意で、前記試料が、パラフィン包埋試料である、項目 1 0 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 1 4)

前記腫瘍が、P D - L 1 m R N A を検出することができる薬剤を使用して P D - L 1 陰性であると決定されているか、または決定される、項目 2 ~ 4 及び 6 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 1 5)

前記腫瘍が、定量逆転写 (R T) - ポリメラーゼ連鎖反応 (P C R) によって P D - L 1 陰性であると決定されているか、または決定される、項目 1 4 に記載の方法、組成物、または使用。

10

(項目 1 6)

前記腫瘍が、R N A シーケンシングを使用して P D - L 1 陰性であると決定されているか、または決定される、項目 1 4 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 1 7)

前記腫瘍が、マイクロアレイを使用して P D - L 1 陰性であると決定されているか、または決定される、項目 1 4 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 1 8)

前記腫瘍が、固形腫瘍である、項目 1 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

20

(項目 1 9)

前記対象が、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、黒色腫、頭頸部扁平上皮癌、卵巣癌、膵臓癌、腎細胞癌、肝細胞癌、膀胱癌、及び子宮内膜癌からなる群から選択されるがん罹患している、項目 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 2 0)

前記対象が、外科手術、化学療法、放射線療法、またはそれらの組み合わせからなる療法後、再発性または進行性であるがん罹患している、項目 1 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 2 1)

前記 C D 8 0 E C D 融合分子が、ヒト C D 8 0 E C D 及びヒト I g G 1 F c ドメインを含む、項目 1 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

30

(項目 2 2)

前記組成物が、シアル化 C D 8 0 E C D 融合分子を含む、項目 1 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 2 3)

前記シアル化 C D 8 0 E C D 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり少なくとも 1 5 モルのシアル酸 (S A) を含む、項目 2 2 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 2 4)

前記シアル化 C D 8 0 E C D 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり 1 5 ~ 6 0 モルの S A を含む、項目 2 2 に記載の方法、組成物、または使用。

40

(項目 2 5)

前記シアル化 C D 8 0 E C D 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり 1 5 ~ 4 0 モルの S A を含む、項目 2 2 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 2 6)

前記シアル化 C D 8 0 E C D 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり 1 5 ~ 3 0 モルの S A を含む、項目 2 2 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 2 7)

前記シアル化 C D 8 0 E C D 融合分子が、融合タンパク質 1 モルあたり 2 0 ~ 3 0 モルの S A を含む、項目 2 2 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 2 8)

50

前記CD80 ECD融合分子が、配列番号1のアミノ酸配列を含むヒトCD80 ECDを含む、項目1～27のいずれか1項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目29)

前記CD80 ECD融合分子が、配列番号3のアミノ酸配列を含むヒトIgG1 Fcドメインを含む、項目1～28のいずれか1項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目30)

前記ヒトIgG1のFcドメインが、前記ヒトCD80のECDのカルボキシ末端に連結されている、項目1～29のいずれか1項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目31)

前記CD80 ECD融合分子が、配列番号5のアミノ酸配列を含む、項目1～30のいずれか1項に記載の方法、組成物、または使用。

10

(項目32)

前記PD-L1陰性腫瘍が、5%未満または1%未満のTPSスコアを有する、項目1～31のいずれか1項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目33)

前記組成物単独が、インビトロでのT細胞からのインターフェロンガンマまたはTNFアルファの有意な放出を引き起こさない、項目1～32のいずれか1項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目34)

前記組成物単独が、TGN1412単独よりも、インビトロでのT細胞からのインターフェロンガンマまたはTNFアルファの放出が少ない、項目1～33のいずれか1項に記載の方法、組成物、または使用。

20

(項目35)

前記組成物単独が、TGN1412単独と比較して、インターフェロンガンマまたはTNFアルファ放出の誘導における効力が少なくとも1000倍低い、項目34に記載の方法、組成物、または使用。

(項目36)

前記組成物が、0.3～0.6mg/kgの単回用量の前記組成物の投与後、少なくとも1週間、10日間、2週間、または3週間の期間にわたって、少なくとも1つのマウス同系がんモデルにおいて少なくとも90%の腫瘍増殖阻害が可能である、項目1～35のいずれか1項に記載の方法、組成物、または使用。

30

(項目37)

前記マウス同系がんモデルが、CT26腫瘍モデルである、項目36に記載の方法、組成物、または使用。

(項目38)

前記治療が、約0.07mg～約70mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、項目1～37のいずれか1項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目39)

前記治療が、約7.0mg～約70mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、項目38に記載の方法、組成物、または使用。

40

(項目40)

前記治療が、約70mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、項目39に記載の方法、組成物、または使用。

(項目41)

前記治療が、約42mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、項目39に記載の方法、組成物、または使用。

(項目42)

前記治療が、約21mgの前記CD80 ECD融合分子の投与を含む、項目39に記載の方法、組成物、または使用。

(項目43)

50

前記治療が、約 7 mg の前記 C D 8 0 E C D 融合分子の投与を含む、項目 3 9 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 4 4)

前記治療が、約 2 . 1 mg の前記 C D 8 0 E C D 融合分子の投与を含む、項目 3 8 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 4 5)

前記治療が、約 0 . 7 mg の前記 C D 8 0 E C D 融合分子の投与を含む、項目 3 8 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 4 6)

前記治療が、約 0 . 2 1 mg の前記 C D 8 0 E C D 融合分子の投与を含む、項目 3 8 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 4 7)

前記治療が、約 0 . 0 7 mg の前記 C D 8 0 E C D 融合分子の投与を含む、項目 3 8 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 4 8)

前記治療が、3 週間に 1 回の投与を含む、項目 1 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 4 9)

前記治療が、前記 C D 8 0 E C D 融合分子の静脈内投与を含む、項目 1 ~ 4 8 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 5 0)

前記対象が、P D - 1 / P D - L 1 アンタゴニストによる先行療法を受けていない、項目 1 ~ 4 9 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 5 1)

前記患者が、少なくとも 1 つの抗血管新生剤による先行療法を受けている、項目 1 ~ 5 0 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 5 2)

前記抗血管新生剤が、スニチニブ、ソラフェニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、チボザニブ、ラムシルマブ、またはベバシズマブである、項目 5 1 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 5 3)

前記抗血管新生剤が、進行性または転移性の設定で投与された、項目 5 1 または 5 2 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 5 4)

前記対象が、B R A F 変異を有する黒色腫に罹患している、項目 1 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 5 5)

前記対象が、少なくとも 1 つの B R A F 阻害剤による先行療法を受けている、項目 5 4 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 5 6)

前記 B R A F 阻害剤が、ベムラフェニブまたはダブラフェニブである、項目 5 5 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 5 7)

前記 B R A F 阻害剤が、進行性または転移性の設定で投与された、項目 5 5 または 5 6 に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 5 8)

前記腫瘍が、外科手術、化学療法、放射線療法、及びそれらの組み合わせから選択される療法後、再発性または進行性である、項目 1 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の方法、組成物、または使用。

(項目 5 9)

10

20

30

40

50

ヒト患者におけるPD-L1陰性腫瘍を治療する方法であって、前記方法が、配列番号5のアミノ酸配列を含む約0.07mg～約70mgのCD80細胞外ドメイン(ECD)融合分子を含む組成物を前記患者に投与することを含む、前記方法。

(項目60)

前記腫瘍が、前記投与前にIHCによってPD-L1陰性であると決定されている、項目59に記載の方法。

(項目61)

前記組成物が、シアル化CD80-ECD融合分子を含み、前記シアル化CD80-ECD融合分子が、融合タンパク質1モルあたり15～60モルのSAを含む、項目59または60に記載の方法。

10

【図面の簡単な説明】

【0028】

【図1A】マウス脾細胞を、mCD80-Fc関与及び受容体占有について評価した。(A)脾臓免疫細胞サブセットを、フローサイトメトリーによって、CD11b+DC(B220-Thy1.2-CD49b-CD11c+CD11b+)、CD11b-DC(B220-Thy1.2-CD49b-CD11c+CD11b-)、マクロファージ(B220-Thy1.2-CD49b-CD11c-CD11b+)、NK細胞(B220-Thy1.2-CD49b+)、及びT細胞(CD3+CD4+またはCD3+CD8+)として特定した。代表的なフローサイトメトリープロットは、ゲーティング戦略を示す。(B)増加濃度のmCD80-Fcを、マウス脾細胞(上段:BALB/c系統、下段:C57BL/6系統)とともにインキュベートし、mCD80-Fc関与を、ビオチン標識抗mIgGとそれに続くstreptavidinAlexa488(「結合薬物」)を介して、及び抗体結合能力(ABC)値として列挙された競合するAbクローン(「遊離」PD-L1またはCD28)を有するCD80リガンドの検出によって、の両方で測定した。CTLA-4は、評価したいずれの免疫細胞においても検出されなかった(データは図示せず)。L.D.は、ABCの検出限界である。グラフは、技術的反復で測定したn=3匹の動物/系統の平均±SDを示す。ANOVAに基づく統計学的試験を、*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001、****p<0.0001が有意であると見なされる薬物なし(0µg/mL)に対する薬物濃度について実施した。(実施例1を参照。)

20

30

【図1B】マウス脾細胞を、mCD80-Fc関与及び受容体占有について評価した。(A)脾臓免疫細胞サブセットを、フローサイトメトリーによって、CD11b+DC(B220-Thy1.2-CD49b-CD11c+CD11b+)、CD11b-DC(B220-Thy1.2-CD49b-CD11c+CD11b-)、マクロファージ(B220-Thy1.2-CD49b-CD11c-CD11b+)、NK細胞(B220-Thy1.2-CD49b+)、及びT細胞(CD3+CD4+またはCD3+CD8+)として特定した。代表的なフローサイトメトリープロットは、ゲーティング戦略を示す。(B)増加濃度のmCD80-Fcを、マウス脾細胞(上段:BALB/c系統、下段:C57BL/6系統)とともにインキュベートし、mCD80-Fc関与を、ビオチン標識抗mIgGとそれに続くstreptavidinAlexa488(「結合薬物」)を介して、及び抗体結合能力(ABC)値として列挙された競合するAbクローン(「遊離」PD-L1またはCD28)を有するCD80リガンドの検出によって、の両方で測定した。CTLA-4は、評価したいずれの免疫細胞においても検出されなかった(データは図示せず)。L.D.は、ABCの検出限界である。グラフは、技術的反復で測定したn=3匹の動物/系統の平均±SDを示す。ANOVAに基づく統計学的試験を、*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001、****p<0.0001が有意であると見なされる薬物なし(0µg/mL)に対する薬物濃度について実施した。(実施例1を参照。)

40

【図2A】hCD80-Fc受容体占有実験を、ヒトCTLA-4、PD-L1、CD28、または3つ全てのCD80リガンド(CHO-CTLA4/PDL1/CD28、「

50

CHO-3」)を発現する、レンチウイルス形質導入CHO細胞において実施した。非形質導入CHO親細胞を、陰性対照として使用した。(A)CD80リガンドの発現を、フローサイトメトリーによってCHO細胞株において評価した。代表的な千鳥状のヒストグラムを示し、細胞あたりのAb結合部位数を決定するための抗体結合能力(ABC)値を、右側の棒グラフに列挙する。(B)CHO細胞を、増加濃度のhCD80-Fc(塗りつぶされた形状)またはhIgG1-Fc対照(白抜きの形状)とともにインキュベートした。hCD80-Fc結合を、ビオチン標識抗hIgG-Fcとそれに続くストレプトアビジンBV605(「結合薬物」)を介して、及び競合するAbクローン(「遊離」CTLA-4、PD-L1、CD28)を有するCD80リガンドの検出によって、の両方で検出した。L.D.は、ABCの検出限界である。グラフは、技術的反復からの平均±SEMを示す。ANOVAに基づく統計学的試験を、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ が有意であると見なされる薬物なし(0 μ g/mL)に対する薬物濃度について実施した。(実施例2を参照。)

10

【図2B】hCD80-Fc受容体占有実験を、ヒトCTLA-4、PD-L1、CD28、または3つ全てのCD80リガンド(CHO-CTLA4/PDL1/CD28、「CHO-3」)を発現する、レンチウイルス形質導入CHO細胞において実施した。非形質導入CHO親細胞を、陰性対照として使用した。(A)CD80リガンドの発現を、フローサイトメトリーによってCHO細胞株において評価した。代表的な千鳥状のヒストグラムを示し、細胞あたりのAb結合部位数を決定するための抗体結合能力(ABC)値を、右側の棒グラフに列挙する。(B)CHO細胞を、増加濃度のhCD80-Fc(塗りつぶされた形状)またはhIgG1-Fc対照(白抜きの形状)とともにインキュベートした。hCD80-Fc結合を、ビオチン標識抗hIgG-Fcとそれに続くストレプトアビジンBV605(「結合薬物」)を介して、及び競合するAbクローン(「遊離」CTLA-4、PD-L1、CD28)を有するCD80リガンドの検出によって、の両方で検出した。L.D.は、ABCの検出限界である。グラフは、技術的反復からの平均±SEMを示す。ANOVAに基づく統計学的試験を、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ が有意であると見なされる薬物なし(0 μ g/mL)に対する薬物濃度について実施した。(実施例2を参照。)

20

【図3A】PBMCを、hCD8-Fc関与及び受容体占有について評価した。(A)末梢免疫細胞サブセットを、フローサイトメトリーによって、B細胞(CD19+)、単球(CD14+)、NK細胞(CD56+CD3-)、及びT細胞(CD56-CD3+及びCD4+またはCD8+)として特定した。代表的なフローサイトメトリープロットは、ゲーティング戦略を示す。(B)増加濃度のhCD80-Fcを、PBMCとともにインキュベートし、hCD80-Fc関与を、ビオチン標識抗hIgG-Fcとそれに続くストレプトアビジンAlexa488(「結合薬物」)を介して、及び抗体結合能力(ABC)値として列挙された競合するAbクローン(「遊離」PD-L1またはCD28)を有するCD80リガンドの検出によって、の両方で測定した。CTLA-4は、評価したいずれの免疫細胞においても検出されなかった(データは図示せず)。L.D.は、ABCの検出限界である。グラフは、 $n = 3$ 人のドナーの平均±SDを示す。ANOVAに基づく統計学的試験を、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ が有意であると見なされる薬物なし(0 μ g/mL)に対する薬物濃度について実施した。(実施例2を参照。)

30

40

【図3B】PBMCを、hCD8-Fc関与及び受容体占有について評価した。(A)末梢免疫細胞サブセットを、フローサイトメトリーによって、B細胞(CD19+)、単球(CD14+)、NK細胞(CD56+CD3-)、及びT細胞(CD56-CD3+及びCD4+またはCD8+)として特定した。代表的なフローサイトメトリープロットは、ゲーティング戦略を示す。(B)増加濃度のhCD80-Fcを、PBMCとともにインキュベートし、hCD80-Fc関与を、ビオチン標識抗hIgG-Fcとそれに続くストレプトアビジンAlexa488(「結合薬物」)を介して、及び抗体結合能力(ABC)値として列挙された競合するAbクローン(「遊離」PD-L1またはCD28)

50

を有するCD80リガンドの検出によって、の両方で測定した。CTLA-4は、評価したいずれの免疫細胞においても検出されなかった（データは図示せず）。L.D.は、ABCの検出限界である。グラフは、n=3人のドナーの平均±SDを示す。ANOVAに基づく統計学的試験を、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ が有意であると見なされる薬物なし（ $0 \mu\text{g}/\text{mL}$ ）に対する薬物濃度について実施した。（実施例2を参照。）

【図4A】インビトロで増殖させたCD4+Teff及びCD4+Tregを、hCD80-Fc関与及び受容体占有について評価した。（A）CD80リガンドの発現を、フローサイトメトリーによって評価した。代表的なヒストグラムを、未染色T細胞、CD4+Teff、及びCD4+Treg間のリガンド発現を比較して示す。（B）増加濃度のhCD80-Fcを、T細胞とともにインキュベートし、hCD80-Fc関与を、ビオチン標識抗hIgG-Fc結合とそれに続くストレプトアビジンAlexa488（「結合薬物」）を介して、及び抗体結合能力（ABC）値として列挙された競合するAbクローン（「遊離」CTLA-4、PD-L1またはCD28）を有するCD80リガンドの検出によって、の両方で測定した。L.D.は、ABCの検出限界である。グラフは、n=2~3人のドナーの平均±SDを示す。ANOVAに基づく統計学的試験を、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ が有意であると見なされる薬物なし（ $0 \mu\text{g}/\text{mL}$ ）に対する薬物濃度について実施した。（実施例2を参照。）

10

【図4B】インビトロで増殖させたCD4+Teff及びCD4+Tregを、hCD80-Fc関与及び受容体占有について評価した。（A）CD80リガンドの発現を、フローサイトメトリーによって評価した。代表的なヒストグラムを、未染色T細胞、CD4+Teff、及びCD4+Treg間のリガンド発現を比較して示す。（B）増加濃度のhCD80-Fcを、T細胞とともにインキュベートし、hCD80-Fc関与を、ビオチン標識抗hIgG-Fc結合とそれに続くストレプトアビジンAlexa488（「結合薬物」）を介して、及び抗体結合能力（ABC）値として列挙された競合するAbクローン（「遊離」CTLA-4、PD-L1またはCD28）を有するCD80リガンドの検出によって、の両方で測定した。L.D.は、ABCの検出限界である。グラフは、n=2~3人のドナーの平均±SDを示す。ANOVAに基づく統計学的試験を、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ が有意であると見なされる薬物なし（ $0 \mu\text{g}/\text{mL}$ ）に対する薬物濃度について実施した。（実施例2を参照。）

20

【図5】21日目の全ての群の平均腫瘍増殖及び個々の腫瘍体積を示す。免疫適格性BALB/cマウスに、CT26 PD-L1 KO腫瘍細胞を接種した。接種の4日後、腫瘍がおよそ 80mm^3 に達したときに、治療を開始した。マウスを、4、7、及び11日目に、 $0.3 \text{mg}/\text{kg}$ のmCD80-Fcによって治療した。mCD80-Fcは、腫瘍増殖を有意に阻害した（mIgG2a対照に対して $p = 0.0004$ 、未治療群に対して $p < 0.0001$ ）。（実施例3を参照。）

30

【発明を実施するための形態】

【0029】

1. 定義

別途定義されない限り、本発明に関連して使用される科学用語及び技術用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するものとする。さらに、文脈上別途要求されない限り、単数形用語は、複数形を含むものとし、複数形用語は、単数形を含むものとする。

40

【0030】

具体的に記載されない限り、または文脈から明らかでない限り、本明細書で使用される場合、「または」という用語は、包括的であることが理解される。「及び/または」という用語は、本明細書で「A及び/またはB」などの語句で使用される場合、「A及びB」の両方、「AまたはB」、「A」、及び「B」を含むことが意図されている。同様に、「及び/または」という用語は、「A、B、及び/またはC」などの語句で使用される場合、以下の実施形態：A、B、及びC；A、B、またはC；AまたはC；AまたはB；Bま

50

たはC；A及びC；A及びB；B及びC；A（単独）；B（単独）；ならびにC（単独）の各々を包含することが意図されている。

【0031】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指して互換的に使用され、最少長に限定されない。アミノ酸残基のそのようなポリマーは、天然または非天然のアミノ酸残基を含有し得、これらのポリマーとしてはアミノ酸残基のペプチド、オリゴペプチド、二量体、三量体、及び多量体が挙げられるが、これらに限定されない。全長タンパク質とそのフラグメントの両方が定義に包含される。この用語はまた、ポリペプチドの発現後修飾、例えば、グリコシル化、シアル化、アセチル化、リン酸化なども含む。さらに、本発明の目的において、「ポリペプチド」は、タンパク質が所望の活性を維持する限り、天然配列に対する欠失、付加、及び置換（一般に本質的に保存的）などの修飾を含むタンパク質を指す。これらの修飾は、部位特異的変異誘発によるものなどの意図的なものであり得るか、またはタンパク質を産生する宿主の変異もしくはPCR増幅に起因するエラーによるものなどの偶発的なものであり得る。

10

【0032】

本明細書で使用される場合、「融合分子」は、自然界では一緒に発生せず、共有結合または非共有結合して新しい分子を形成する2つ以上の異なる分子から構成される分子を指す。例えば、融合分子は、ポリペプチド及びPEGなどのポリマー、または2つの異なるポリペプチドから構成され得る。「融合タンパク質」は、自然界では単一の分子に存在しない2つ以上のポリペプチドから構成される融合分子を指す。

20

【0033】

「CD80細胞外ドメイン」または「CD80 ECD」は、CD80の細胞外ドメインポリペプチドを指し、これには、その天然のバリエーション及び操作されたバリエーションが含まれる。CD80 ECDは、例えば、配列番号1または2に記載のアミノ酸配列を含み得るか、それから本質的になり得るか、またはそれからなり得る。「CD80 ECD融合分子」は、CD80 ECD及び融合パートナーを含む分子を指す。融合パートナーは、例えば、CD80 ECDのN末端もしくはC末端に、または内部位置で共有結合され得る。「CD80 ECD融合タンパク質」は、CD80 ECD、ならびにFcドメインなどのCD80 ECDとは自然に会合しない別のポリペプチドを含む、CD80 ECD融合分子である。CD80 ECD融合タンパク質は、例えば、配列番号4または5に記載のアミノ酸配列を含み得るか、それから本質的になり得るか、またはそれからなり得る。

30

【0034】

本明細書で使用される場合、「単離された」という用語は、自然界で通常見られる成分の少なくともいくつかから分離されている分子を指す。例えば、ポリペプチドは、それが産生された細胞の成分のうち少なくともいくつかから分離されている場合、「単離された」と称される。ポリペプチドが発現後に細胞によって分泌される場合、ポリペプチドを含有する上清を、それを産生した細胞から物理的に分離することは、ポリペプチドを「単離すること」であると見なされる。同様に、ポリヌクレオチドは、自然界で通常見られる、より大きなポリヌクレオチド（例えば、ゲノムDNA、またはDNAポリヌクレオチドの場合にはミトコンドリアDNAなど）の一部ではない場合に、または、例えば、RNAポリヌクレオチドの場合には、それが産生された細胞の成分のうち少なくともいくつかから分離されている場合に、「単離された」と称される。したがって、宿主細胞内のベクターに含有されるDNAポリヌクレオチドは、そのポリヌクレオチドが自然界でそのベクター内に見られない限り、「単離された」と称され得る。

40

【0035】

「対象」及び「患者」という用語は、本明細書では、ヒトを指して互換的に使用される。いくつかの実施形態では、げっ歯類、サル、ネコ、イヌ、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、哺乳動物の実験動物、哺乳動物の家畜、哺乳動物のスポーツ用動物、及び哺乳動物のペットを含むがこれらに限定されない、他の哺乳動物を治療する方法も提供される。

【0036】

50

「がん」という用語は、本明細書では、異常に高いレベルの増殖及び成長を示す細胞の群を指して使用される。がんは、固形腫瘍、例えば、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、黒色腫、頭頸部扁平上皮癌、卵巣癌、膵臓癌、腎細胞癌、肝細胞癌、膀胱癌、または子宮内膜癌であり得る。

【0037】

「治療すること」、「治療」、及び「治療する」など用語は、病的状態または障害を治癒し、遅延させ、その症状を軽減し、及び/またはその進行を停止する、治療手段を指す。したがって、治療を必要とする者には、その障害を有するとすでに診断されたか、またはその疑いがある者が含まれる。ある特定の実施形態では、対象は、患者が以下：がん細胞の数の減少または完全な非存在；腫瘍サイズの縮小；例えば、軟組織及び骨へのがんの広がりを含む、末梢臓器へのがん細胞の浸潤の阻害または非存在；腫瘍転移の阻害または非存在；腫瘍増殖の阻害または非存在；特定のがんに関連する1つ以上の症状の緩和；罹患率及び死亡率の低下；生活の質の向上；腫瘍の腫瘍形成性、腫瘍形成頻度、または腫瘍形成能の低下；腫瘍におけるがん幹細胞の数または頻度の低下；腫瘍原性細胞の非腫瘍原性状態への分化；無増悪生存期間（PFS）、無病生存期間（DFS）、全生存期間（OS）、完全奏効（CR）、部分奏効（PR）、安定（SD）の増加、進行の低下（PD）、無増悪期間までの時間の短縮（TTP）、またはそれらの任意の組み合わせのうちの1つ以上を示す場合、本発明の方法に従ってがんについて首尾よく「治療」されている。

10

【0038】

本明細書で使用される場合、「投与する」、「投与すること」、「投与」などの用語は、薬物、例えば、抗CD80 ECD融合タンパク質の、生物学的作用の所望の部位への送達を可能にするために使用され得る方法（例えば、静脈内投与）を指す。本明細書に説明される薬剤及び方法とともに用いられ得る投与技法は、例えば、Goodman and Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, current edition, Pergamon、及びRemington's Pharmaceutical Sciences, current edition, Mack Publishing Co., Easton, Pa.に見出される。

20

【0039】

「治療有効量」という用語は、対象において疾患または障害を治療するのに有効な薬物、例えば、CD80 ECD融合タンパク質の量を指す。がんの場合には、治療有効量の薬物は、がん細胞の数を減少させ、腫瘍のサイズもしくは負荷を低減し、末梢臓器へのがん細胞の浸潤をある程度阻害し、腫瘍転移をある程度阻害し、腫瘍の増殖をある程度阻害し、がんに関連する症状のうちの1つ以上をある程度緩和し得るか、及び/または無増悪生存期間（PFS）、無病生存期間（DFS）、全生存期間（OS）、完全奏効（CR）、部分奏効（PR）、もしくは場合によっては安定（SD）の増加、進行の低下（PD）、無増悪期間までの時間の短縮（TTP）、もしくはそれらの任意の組み合わせなどの好ましい応答をもたらし得る。

30

【0040】

治療剤による治療の文脈で使用される場合、「耐性」または「非応答性」という用語は、対象が、標準用量の治療剤に対する対象の過去の反応と比較して、または標準用量の治療剤に対する、同様の障害を有する同様の対象の予想される反応と比較して、標準用量の治療剤に対する反応の低下または反応の欠如を示すことを意味する。したがって、いくつかの実施形態では、対象は、以前に治療剤を投与されていなくてもその治療剤に対して耐性である場合があるか、または対象は、以前に1回以上の機会に薬剤に応答した後にその治療剤に対する耐性ができる場合がある。

40

【0041】

「不応性」がんとは、がん患者に化学療法などの抗腫瘍治療が投与されているにもかかわらず進行するがんである。

【0042】

「再発性」がんとは、初期療法に応答した後に、初期部位または遠位部位のいずれかで

50

再増殖しているがんである。

【0043】

「プログラム細胞死1リガンド1」及び「PD-L1」という用語は、PD-1に結合した際のT細胞の活性化及びサイトカイン分泌を下方調節する、PD-1の2つの細胞表面糖タンパク質リガンドのうち的一方（他方はPD-L2）を指す。本明細書で使用される場合、「PD-L1」という用語は、ヒトPD-L1（hPD-L1）、hPD-1の天然に存在するバリエーション及びアイソフォーム、ならびにhPD-L1の種相同体を含む。成熟hPD-L1配列は、配列番号6として提供される。

【0044】

「PD-L1陰性腫瘍」という用語は、細胞表面上にPD-L1を有意に発現しない腫瘍を指す。PD-L1の有無は、例えば、免疫組織化学を使用して決定され得る。免疫組織化学は、腫瘍割合スコア（TPS）を使用して定量化され得る。TPS（%）は、[PD-L1で染色された腫瘍細胞の数/生存可能な腫瘍細胞の総数]×100に等しい。したがって、PD-L1陰性腫瘍は、5%未満または1%未満のTPSスコアを有する腫瘍であり得る。

10

【0045】

「PD-1/PD-L1アンタゴニスト」という用語は、PD-1/PD-L1シグナル伝達経路を破壊する部分を指す。いくつかの実施形態では、アンタゴニストは、PD-1及び/またはPD-L1に結合することによって、PD-1/PD-L1シグナル伝達経路を阻害する。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、PD-L2にも結合する。いくつかの実施形態では、PD-1/PD-L1アンタゴニストは、PD-1のPD-L1及び任意でPD-L2への結合を遮断する。非限定的な例示的なPD-1/PD-L1アンタゴニストとしては、PD-1に結合する抗体などのPD-1アンタゴニスト（例えば、ニボルマブ及びペンプロリズマブ）、PD-L1に結合する抗体などのPD-L1アンタゴニスト（例えば、アテゾリズマブ、デュルバルマブ及びアベルマブ）、AMP-224などの融合タンパク質、及びAUR-012などのペプチドが挙げられる。

20

【0046】

「抗血管新生剤」または「血管新生阻害剤」は、血管新生、脈管形成、または望まれない血管透過性を、直接的または間接的のいずれかで阻害する、低分子量物質、ポリヌクレオチド（例えば、阻害性RNA（RNAiまたはsiRNA）を含む）、ポリペプチド、単離されたタンパク質、組み換えタンパク質、抗体、またはこれらの抱合体もしくは融合タンパク質などの因子を指す。抗血管新生剤には、血管新生因子またはその受容体に結合し、その血管新生活性を遮断する薬剤が含まれることを理解すべきである。例えば、抗血管新生剤は、血管新生剤に対する抗体または血管新生剤の他のアンタゴニスト、例えば、VEGF-A（例えば、ベパシズマブ（Avastin（登録商標））に対する、もしくはVEGF-A受容体（例えば、KDR受容体またはFlt-1受容体）に対する抗体、抗PDGFR阻害剤、例えばGleevec（登録商標）（メシル酸イマチニブ）、VEGF受容体シグナル伝達を遮断する低分子（例えば、PTK787/ZK2284、SU6668、Sutent（登録商標）/SU11248（リンゴ酸スニチニブ）、AMG706、または、例えば、国際特許出願WO2004/113304に説明されるもの）である。また、抗血管新生剤には、例えば、アンギオスタチン、エンドスタチン等の天然の血管新生阻害剤も含まれる。例えば、Klagsbrun and D'Amore (1991) *Annu. Rev. Physiol.* 53: 217-39、Streit and Detmar (2003) 22: 3172-3179（例えば、悪性黒色腫における抗血管新生療法を列挙する表3）、Ferrara & Alitalo (1999) *Nature Medicine* 5(12): 1359-1364、Tonini et al. (2003) *Oncogene* 22: 6549-6556（例えば、既知の抗血管新生因子を列挙する表2）、Sato (2003) *Int. J. Clin. Oncol.* 8: 200-206（例えば、臨床治験に使用される抗血管新生剤を列挙する表1）、及びJa

30

40

50

yson (2016) Lancet 338 (10043) : 518 - 529 を参照されたい。

【0047】

「医薬組成物」という用語は、有効成分の生物学的活性が有効になることを可能にするような形態であり、かつその製剤が投与される対象に対して許容できないほど毒性である追加の成分を含有しない、調製物を指す。製剤は、無菌であり得る。医薬組成物は、「医薬担体」を含有し得、これは、用いられる投与量及び濃度でレシピエントに対して無毒であり、かつこの製剤の他の成分と適合性である担体を指す。薬学的に許容される担体は、用いられる製剤に適切である。例えば、治療剤が静脈内投与される場合、担体は、理想的には、皮膚に対して過敏性ではなく、かつ注射部位反応を引き起こさない。

10

【0048】

本明細書で使用される場合、「約」及び「およそ」という用語は、数値または数値範囲を修正するために使用される場合、その値または範囲の5%~10%を上回る、及び5%~10%を下回る偏差が、その言及された値または範囲の意図された意味の範囲内にとどまることを示す。

【0049】

本明細書に提供される任意の組成物または方法は、本明細書に提供される他の組成物及び方法のうちのいずれかの1つ以上と組み合わせられ得る。

【0050】

2. CD80 細胞外ドメイン Fc 融合タンパク質

20

本明細書に提供されるのは、CD80 ECD 及び Fc ドメインを含む CD80 ECD 融合タンパク質（「CD80 ECD Fc 融合タンパク質」）を投与する方法である。例示的な CD80 ECD 融合タンパク質は、例えば、WO2017/079117 に提供されており、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0051】

CD80 ECD は、例えば、ヒト CD80 ECD であり得る。ある特定の態様では、ヒト CD80 ECD は、配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなる。

【0052】

Fc ドメインは、IgG の Fc ドメインであり得る。Fc ドメインは、ヒト免疫グロブリンの Fc ドメインであり得る。ある特定の態様では、Fc ドメインは、ヒト IgG Fc ドメインである。ある特定の態様では、Fc ドメインは、ヒト IgG1 Fc ドメインである。ある特定の態様では、ヒト IgG1 Fc ドメインは、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなる。

30

【0053】

CD80 ECD 及び Fc ドメインは、Fc ドメインの N 末端アミノ酸が CD80 ECD の C 末端アミノ酸の直後に続くように、直接連結され得る。ある特定の態様では、CD80 ECD 及び Fc ドメインは、CD80 ECD と Fc ドメインの両方をコードするコード配列から単一のポリペプチドとして翻訳される。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc 融合タンパク質は、ヒト CD80 ECD 及びヒト IgG1 Fc ドメインを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc 融合タンパク質は、配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなる。

40

【0054】

CD80 ECD Fc 融合タンパク質は、それらがどのように産生されたかに応じて、異なるレベルの特定のグリコシル化修飾を有し得る。例えば、CD80 ECD Fc 融合タンパク質は、シアル化され得、異なる量のシアル酸 (SA) 残基を有し得る。

【0055】

ある特定の態様では、CD80 ECD Fc 融合タンパク質（例えば、ヒト CD80 ECD 及びヒト IgG1 Fc ドメインを含むか、または配列番号 5 を含む）は、10~60 分子の SA を含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc 融合タンパク質（例

50

例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、15~60分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、10~40分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、15~30分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、15~25分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、20~40分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、20~30分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、30~40分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、10、15、20、25、30、35、または40分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、少なくとも15分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、少なくとも20分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、少なくとも25分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、少なくとも30分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、少なくとも35分子のSAを含む。ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)は、少なくとも40分子のSAを含む。

【0056】

3. CD80細胞外ドメインFc融合タンパク質を含む医薬組成物

本明細書に提供されるのは、例えば、生理学的に許容される担体、賦形剤、または安定剤において所望の純度を有する、CD80 ECD Fc融合タンパク質を含む医薬組成物を投与方法である(Remington's Pharmaceutical Sciences(1990) Mack Publishing Co., Easton, PA)。許容される担体、賦形剤、または安定剤は、用いられる投与量及び濃度でレシipientに対して無毒である。(例えば、Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drug Facts Plus, 20th ed. (2003)、Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins(2004)、Kibbe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd ed., Pharmaceutical Press(2000)を参照)。インピボ投与に使用される組成物は、無菌であり得る。これは、例えば、無菌濾過膜を通した濾過によって、容易に達成される。

【0057】

10

20

30

40

50

ある特定の態様では、CD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む医薬組成物は、静脈内投与用に製剤化される。

【0058】

ある特定の態様では、医薬組成物は、70mgのCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、42mgのCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、21mgのCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、7mgのCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、2.1mgのCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、0.7mgのCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、0.21mgのCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、0.07mgのCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。

10

20

【0059】

ある特定の態様では、医薬組成物は、0.07~70mgのCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、7~70mgのCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。

【0060】

ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり10~60モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり15~60モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり10~40モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり15~30モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり15~25モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり20~40モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり20~30モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質（例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む）を含む。

30

40

50

。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり30~40モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり10、15、20、25、30、35、または40モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり少なくとも15モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり少なくとも20モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり少なくとも25モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり少なくとも30モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり少なくとも35モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)を含む。ある特定の態様では、医薬組成物は、CD80 ECD Fc融合タンパク質1モルあたり少なくとも40モルのSAを含むCD80 ECD Fc融合タンパク質(例えば、ヒトCD80 ECD及びヒトIgG1 Fcドメインを含むか、または配列番号5を含む)を含む。)を含む。

10

20

【0061】

4. CD80細胞外ドメインFc融合タンパク質の方法及び使用

本明細書に提示されるのは、(例えば、ヒトにおける)PD-L1陰性腫瘍を治療するための方法であり、この方法は、それを必要とする対象にCD80 ECD Fc融合タンパク質またはその医薬組成物を投与することを含む。CD80 ECD Fc融合タンパク質は、ヒトCD80の細胞外ドメイン及びヒトIgG1のFcドメインを含み得る。いくつかの実施形態では、CD80 ECD Fc融合タンパク質は、配列番号5の配列を含む。

30

【0062】

PD-L1の有無は、抗PD-L1抗体などのPD-L1タンパク質を検出することができる薬剤を使用して決定され得る。したがって、いくつかの実施形態では、腫瘍は、そのような薬剤を使用して、腫瘍試料をウエスタンブロット、蛍光活性化細胞選別(FACS)、または免疫組織化学(IHC)に供することによって、PD-L1陰性腫瘍として特定され得る。

【0063】

いくつかの実施形態では、IHCは、例えば、腫瘍割合スコア(TPS)を使用して、腫瘍試料中のPD-L1の量を定量化するために使用され得る。TPS(%)は、[PD-L1染色腫瘍細胞の数/生存腫瘍細胞の総数]×100に等しい。本明細書に提供される場合、PD-L1陰性腫瘍は、5%未満のTPSスコアを有する腫瘍であり得る。本明細書に提供される場合、PD-L1陰性腫瘍は、1%未満のTPSスコアを有する腫瘍であり得る。

40

【0064】

PD-L1の有無は、PD-L1 mRNAを検出することができる薬剤を使用して決定され得る。したがって、いくつかの実施形態では、腫瘍は、腫瘍試料を定量逆転写(RT)-ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)、RNAシーケンシング、またはマイクロアレイに供することによって、PD-L1陰性腫瘍として特定され得る。

50

1回、患者に投与することを含む。

【0068】

本明細書に提供される方法によれば、CD80 ECD融合タンパク質（例えば、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含む）は、静脈内投与され得る。

【0069】

本明細書に提供される方法によれば、PD-L1陰性腫瘍は、例えば、固形腫瘍であり得、これには、例えば、進行性または転移性の固形腫瘍が含まれる。ある特定の事例では、PD-L1陰性腫瘍は、原発性中枢神経系腫瘍ではない。

【0070】

ある特定の事例では、PD-L1陰性腫瘍は、腎細胞癌である。

10

【0071】

ある特定の事例では、PD-L1陰性腫瘍は、黒色腫である。

【0072】

ある特定の事例では、PD-L1陰性腫瘍は、結腸直腸癌、乳癌、胃癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、黒色腫、頭頸部扁平上皮癌、卵巣癌、膵臓癌、腎細胞癌、肝細胞癌、膀胱癌、または子宮内膜癌である。

【0073】

本明細書に提供される方法に従って治療される患者は、PD-1アンタゴニスト及びPD-L1アンタゴニストから選択される少なくとも1つのPD-1/PD-L1アンタゴニストによる先行療法を受けている場合がある。PD-1/PD-L1アンタゴニストは、例えば、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブであり得る。PD-1/PD-L1アンタゴニストは、進行性または転移性の設定で投与されている場合がある。いくつかの実施形態では、腫瘍は、そのような治療に対して非応答性であるか、またはそのような治療中もしくは治療後に再発性である。他の事例では、本明細書に提供される方法に従って治療される患者は、PD-1/PDL-1アンタゴニストによる先行療法を受けていない。

20

【0074】

本明細書に提供される方法に従って治療される患者は、抗血管新生剤による先行療法を受けている場合がある。抗血管新生剤は、例えば、スニチニブ、ソラフェニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、チボザニブ、ラムシルマブ、またはベバシズマブであり得る。抗血管新生剤は、進行性または転移性の設定で投与されている場合がある。

30

【0075】

本明細書に提供される方法に従って治療される患者、例えば、黒色腫を有する患者は、BRA F変異を有し得る。患者は、BRA F阻害剤による先行療法を受けている場合がある。BRA F阻害剤は、例えば、ベムラフェニブ及びダブラフェニブであり得る。BRA F阻害剤は、進行性または転移性の設定で投与されている場合がある。

【0076】

本明細書に提供される方法に従って治療される腫瘍は、外科手術、化学療法、放射線療法、及びそれらの組み合わせから選択される療法後、再発性または進行性であり得る。

【0077】

本明細書に提供される方法に従って治療される腫瘍は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブなどのPD-1/PD-L1アンタゴニストに対して耐性または非応答性であり得る。本明細書に提供される方法に従って治療される腫瘍は、スニチニブ、ソラフェニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、チボザニブ、ラムシルマブ、またはベバシズマブなどの抗血管新生剤に対して耐性または非応答性であり得る。本明細書に提供される方法に従って治療される腫瘍は、ベムラフェニブまたはダブラフェニブなどのBRA F阻害剤に対して耐性または非応答性であり得る。

40

【0078】

本明細書に提供される方法に従って治療される腫瘍は、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブなどのPD-1/PD-L1アン

50

タゴニストに対して不応性であり得る。本明細書に提供される方法に従って治療される腫瘍は、スニチニブ、ソラフェニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、チボザニブ、ラムシルマブ、またはベバシズマブなどの抗血管新生剤に対して不応性であり得る。本明細書に提供される方法に従って治療される腫瘍は、ベムラフェニブまたはダブラフェニブなどのBRAF阻害剤に対して不応性であり得る。

【0079】

本明細書に提供される方法に従って治療される腫瘍は、ニボルマブ、ペンプロリズマブ、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブなどのPD-1/PD-L1アンタゴニストによる治療後に再発性であり得る。本明細書に提供される方法に従って治療される腫瘍は、スニチニブ、ソラフェニブ、パゾパニブ、アキシチニブ、チボザニブ、ラムシルマブ、またはベバシズマブなどの抗血管新生剤による治療後に再発性であり得る。本明細書に提供される方法に従って治療される腫瘍は、ベムラフェニブまたはダブラフェニブなどのBRAF阻害剤による治療後に再発性であり得る。

10

【実施例】

【0080】

以下に考察される実施例は、単に本発明の例示であることが意図されており、決して本発明を限定するものと見なされるべきではない。本実施例は、以下の実験が、実施された全ての実験または唯一の実験であることを表すことを意図していない。使用される数（例えば、量、温度等）に対する正確さを確保するよう努力がなされているが、いくつかの実験誤差及び偏差が考慮されるべきである。別途示されない限り、部は重量部であり、分子量は重量平均分子量であり、温度は摂氏温度であり、圧力は大気圧であるか、または大気圧付近である。

20

【0081】

実施例1：マウスCD80 ECD融合分子(mCD80-Fc)はPD-L1に関与しない

BALB/c系統とC57BL/6系統の両方からの成体マウス脾細胞を使用して、マウスIgG2a野生型(mCD80-Fc)のFcドメインに結合したマウスCD80の細胞外ドメイン(ECD)を含むマウス代理融合タンパク質がCD80リガンドに関与するかどうかを決定した。

【0082】

マウス脾細胞を、当業者に既知の方法によって、成体BALB/c及びC56BL/6マウスから調製した。脾細胞($2 \sim 4 \times 10^6$ 個の細胞/mL)を、遠心分離によってペレット化し、培地を廃棄した。mCD80-Fcを様々な濃度($0 \sim 1000 \mu\text{g/mL}$)で添加し、氷上で40分間インキュベートした。パラホルムアルデヒド(4%)を脾細胞に添加し、室温で10分間インキュベートした。脾細胞を洗浄し、遠心分離によってペレット化し、続いてFACS緩衝液中のビオチン標識抗マウスIgGを添加し、室温で20分間さらにインキュベートした。ストレプトアビジンAlexa488と、CTLA-4、PD-L1、及びCD28に対する抗体との混合物を添加した。Quantum Simply Cellular Bangビーズを使用して、mCD80-Fc分子の検量線を作成した。試料からのデータを、BD LSRIIまたはBD LSRFortessa上で取得し、FlowJo、Excel、及びGraphpad Prismを使用して分析した。

30

40

【0083】

FACS分析を実施して、mCD80-FcのCD11b+樹状細胞、CD11b-樹状細胞、マクロファージ、NK細胞、CD4+T細胞、CD8+T細胞への関与を決定した。図1Aは、この実施例に使用されるゲーティング戦略の例を示す。

【0084】

図1Bは、mCD80-Fcが、両種類の脾細胞において主にCD4+T細胞及びCD8+T細胞に濃度依存的に結合したことを実証する。しかしながら、mCD80-Fcは、C57BL/6由来の脾細胞よりもBALB/c由来の脾細胞のT細胞に結合する割合

50

のほうが大きかった。さらに、両種類の脾細胞においてマクロファージに結合する mCD80-Fc の割合は小さかった。したがって、mCD80-Fc は、CD4+T細胞、CD8+T細胞、及びマクロファージに結合することが示されたが、CD11b+またはCD11b-樹状細胞には結合しない。

【0085】

PD-L1は、試験した全ての免疫細胞において検出され、マクロファージにおいて最も高い発現を示した。遊離PD-L1の量は、増加濃度のmCD80-Fcを用いても変化せず、mCD80-FcとPD-L1との間に相互作用がないことを実証している(図1B)。

【0086】

対照的に、CD4+及びCD8+T細胞は、CD28発現を呈したと評価された唯一の免疫細胞である。遊離CD28の量は、増加濃度のmCD80-Fcを用いると有意に減少し、mCD80-FcがCD28に結合することを実証している(図1B)。CTLA-4は、評価したいずれの免疫細胞型においても検出されなかった。

【0087】

これらの結果は、mCD80-Fcが、主に、PD-L1関与ではなくCD28関与を介して、BALB/c及びC57Bl/6脾細胞からのCD4+T細胞及びCD8+T細胞に結合することを実証する。

【0088】

実施例2：ヒトCD80-ECDF融合分子(hCD80-Fc)はPD-L1に関与しない

チャイニーズハムスター卵巣(「CHO」)細胞を、ヒトCD80リガンドのhCD80-Fc関与について評価した。CHO細胞を操作して、ヒトCTLA-4、PD-L1、CD28、または3つ全てのCD80リガンド(すなわち、CHO-CTLA4/PD-L1/CD28、「CHO-3」)を発現させた。リガンドへのhCD80-Fc関与を決定するためのプロトコルは、実施例1で実施したものと同一である。

【0089】

図2Aは、フローサイトメトリーによる全てのCHO細胞株におけるCD80リガンド発現を示す。代表的な千鳥状のヒストグラムを示し、細胞あたりのAb結合部位数を決定するための抗体結合能力(ABC)値を、右側の棒グラフに列挙する。図2Bは、hCD80-Fcが、CHO-CTLA4、CHO-CD28、及びCHO-3細胞に濃度依存的に結合し、hCD80-Fcが0.5µg/mL程度の低さでCD80リガンドに結合したことを示す。さらに、CD80リガンドへのhCD80-Fcの結合は、それぞれの細胞株において遊離CTLA-4及びCD28の減少を引き起こした(図2B)。しかしながら、hCD80-Fcは、CHO-PD-L1または親CHO細胞に結合しなかった。これは、hCD80-Fcが、PD-L1に関与しないことを実証する。

【0090】

これらの結果は、hCD80-Fcが、CTLA-4及びCD28に関与するが、PD-L1には関与しないことを示す。CHO-3細胞株に関して、hCD80-Fcは、単独で発現するCHO細胞株と同様のレベルで、CTLA-4とCD28の両方に結合した。

【0091】

ヒトPBMCを、B細胞(CD19+)、単球(CD14+)、NK細胞(CD56+)、及びT細胞(CD3+CD4+またはCD3+CD8+)におけるhCD80-Fc関与について評価した。図3Aは、この研究についての例示的なFACSゲーティング戦略を実証する。

【0092】

PD-L1はT細胞及び単球において検出されたが、CD28は主にCD4+及びCD8+T細胞において検出された。図3Bは、hCD80-Fcが、CD4+とCD8+T細胞の両方に濃度依存的に結合し、100µg/mL程度の低い濃度で、結合薬物の有意な検出を示したことを示す。hCD80-Fcの結合により、CD4+及びCD8+T細胞における遊離CD28の減少が明らかになったが、T細胞または単球においてPD-L

10

20

30

40

50

1レベルの変化は検出されなかった。CTLA-4は、評価したいずれの免疫細胞型においても検出されなかった。したがって、これらの結果は、hCD80-Fcが、主に、CD28関与を介してヒトPBMCからのCD4+及びCD8+T細胞に結合することを実証する。

【0093】

ヒトのインビトロで増殖させたCD4+Teff及びCD4+Tregを、CTLA-4、PD-L1、及びCD28のhCD80-Fc関与について評価した。ヒトのインビトロで増殖させたCD4+Teff及びCD4+Tregは、CTLA-4、PD-L1、及びCD28を発現することが示されている(図4A)。hCD80-Fcは、CD4+TeffとTregの両方に濃度依存的に結合し、hCD80-Fc結合は50µg/mL程度の低さで検出され、飽和結合はおよそ400µg/mLであった(図4B)。この結合は、CD4+Tregのみにおいて遊離CTLA-4の減少傾向を引き起こしたが、CD4+Teff及びTreg細胞において遊離CD28の減少が検出された(図4B)。遊離PD-L1レベルは、増加濃度のhCD80-Fcに曝露しても変化しなかった(図4B)。このデータは、hCD80-Fcが、CD4+Teff及びCD4+Treg細胞においてCTLA-4とCD28の両方に関与することを実証する。

10

実施例3：mCD80-FcはCT26同系マウスモデルにおいてPD-L1を発現しない腫瘍の増殖を阻害する

【0094】

実施例1及び2からのデータは、CD80がPD-L1に関与しないことを実証する。したがって、mCD80-Fcがその抗腫瘍活性を発揮するためにPD-L1関与を必要とするかどうかを決定するために、CT26 PD-L1ノックアウト腫瘍細胞をインビボ同系マウスモデルに使用した。異種移植モデルとは異なり、同系マウスモデルは機能的な免疫系を保有しており、したがって、内因性免疫応答を利用することによって機能するがん免疫療法の評価に有用である。CT26は、高レベルのPD-L1を発現するBALB/cマウス由来のマウス結腸直腸癌である。この研究では、PD-L1を発現しない遺伝子操作されたCT26腫瘍(CT26 PD-L1 KO)を使用した。免疫適格性BALB/cマウスに、CT26 PD-L1 KO腫瘍細胞を接種した。マウスを、以下：(1)マウスIgG2a(対照)、(2)mCD80-Fc、または(3)未治療対照による治療のために3つの群に分けた。マウスを、4、7、及び11日目(接種後の日数)に、静脈内注射により、0.3mg/kgのマウスIgG2a(群1)または0.3mg/kgのmCD80-Fc(群2)によって治療した。表1を参照されたい。治療開始時の平均腫瘍サイズは、90mm³であった。研究を、21日目に終了した。

20

30

【表1】

表1

群	治療	投薬 (mg/kg、スケジュール、経路)	マウス (n)
1	マウスIgG2a	D4、D7、D11に0.3mg/kg、200µLをIV	15
2	mCD80-Fc	D4、D7、D11に0.3mg/kg、200µLをIV	15
3	該当なし	該当なし	15

40

【0095】

図5は、平均腫瘍体積がmIgG2a群及び未治療対照群で増加したが、mCD80-Fc群は腫瘍増殖の有意な阻害を示したことを示す(マウスIgG2a対照に対してp=0.0004、未治療群に対してp<0.0001)。また、mIgG2aまたはmCD

50

80 - Fcによる治療からは、体重の変化を含むいかなる有害作用も検出されなかった（データは図示せず）。これらのデータは、mCD80 - Fc治療が、驚くべきことに、腫瘍細胞におけるPD - L1発現に依存していないということの、インビボでの実証を提供する。

* * *

【0096】

本発明は、本明細書に説明される特定の実施形態によって範囲を限定されるものではない。実際、説明されるものに加えて、本発明の様々な改変が上記の説明及び添付の図面から当業者に明らかとなるであろう。そのような改変は、添付の特許請求の範囲の範囲内に含まれることが意図されている。

10

【0097】

本明細書に引用される全ての参照文献（例えば、出版物または特許または特許出願）は、あたかも各個々の参照文献（例えば、出版物または特許または特許出願）が、あらゆる目的のためにその全体が参照によって組み込まれることが具体的かつ個々に示されているのと同じように、あらゆる目的のためにそれらの全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【0098】

他の実施形態は、以下の特許請求の範囲の範疇である。

配列表

【0099】

以下の表は、本明細書で参照されているある特定の配列の列挙を提供する。

20

30

40

50

【表 2 - 1】

配列番号	説明	配列
1	ヒトCD80 ECD配列 (シグナル配 列なし)	V I H V T K E V K E V A T L S C G H N V S V E E L A Q T R I Y W Q K E K K M V L T M M S G D M N I W P E Y K N R T I F D I T N N L S I V I L A L R P S D E G T Y E C V V L K Y E K D A F K R E H L A E V T L S V K A D F P T P S I S D F E I P T S N I R R I I C S T S G G F P E P H L S W L E N G E E L N A I N T T V S Q D P E T E L Y A V S S K L D F N M T T N H S F M C L I K Y G H L R V N Q T F N W N T T K Q E H F P D N
2	マウスCD80 ECD配列 (シグナル 配列なし)	V D E Q L S K S V K D K V L L P C R Y N S P H E D E S E D R I Y W Q K H D K V V L S V I A G K L K V W P E Y K N R T L Y D N T T Y S L I I L G L V L S D R G T Y S C V V Q K K E R G T Y E V K H L A L V K L S I K A D F S T P N I T E S G N P S A D T K R I T C F A S G G F P K P R F S W L E N G R E L P G I N T T I S Q D P E S E L Y T I S S Q L D F N T T R N H T I K C L I K Y G D A H V S E D F T W E K P P E D P P D S K N
3	FcヒトIg G1	E P K S S D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K
4	マウスCD80 ECDマ ウスFc I gG2a (Fc 部分に下線 付き)	V D E Q L S K S V K D K V L L P C R Y N S P H E D E S E D R I Y W Q K H D K V V L S V I A G K L K V W P E Y K N R T L Y D N T T Y S L I I L G L V L S D R G T Y S C V V Q K K E R G T Y E V K H L A L V K L S I K A D F S T P N I T E S G N P S A D T K R I T C F A S G

10

20

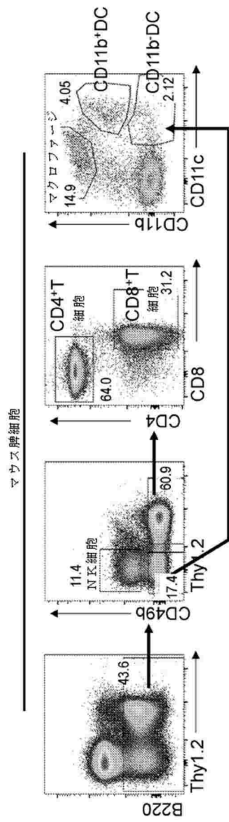
30

40

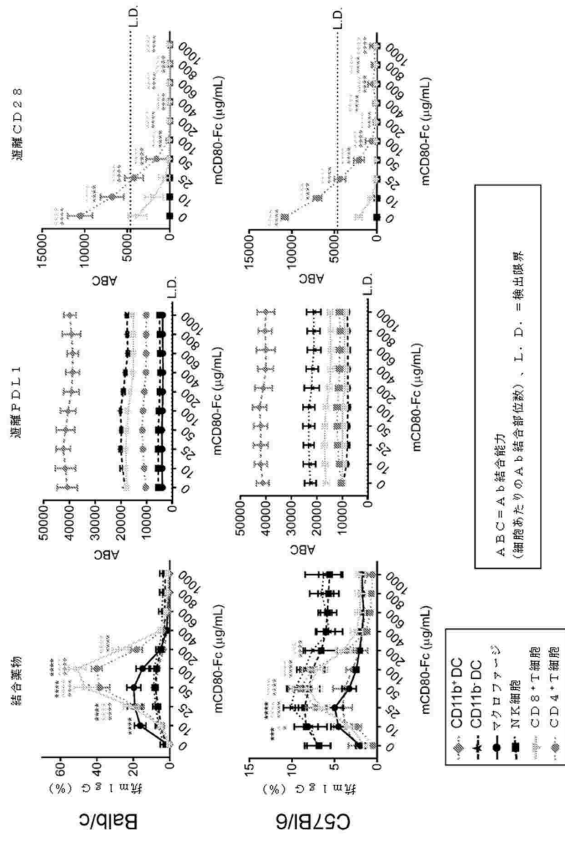
50

【図面】

【図 1 A】



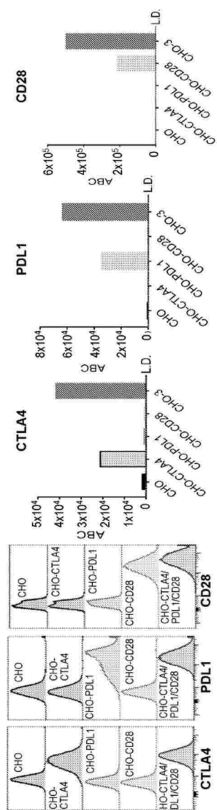
【図 1 B】



10

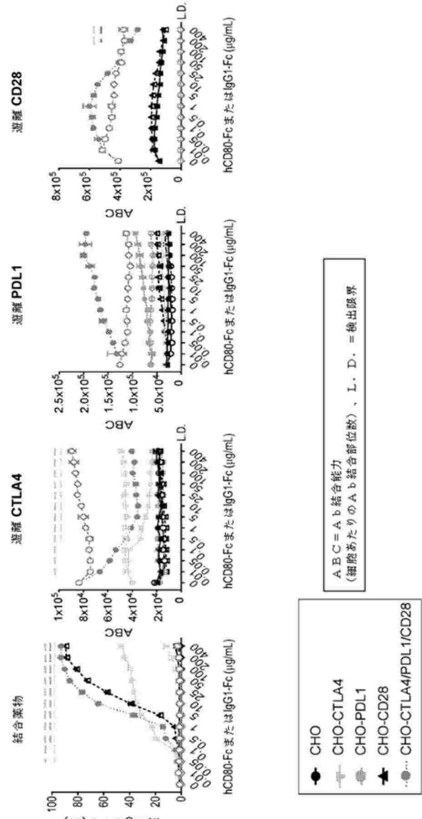
20

【図 2 A】



ABC = A 結合能力 (細胞あたりの A 結合部位数)、L、D、 = 検出限界

【図 2 B】

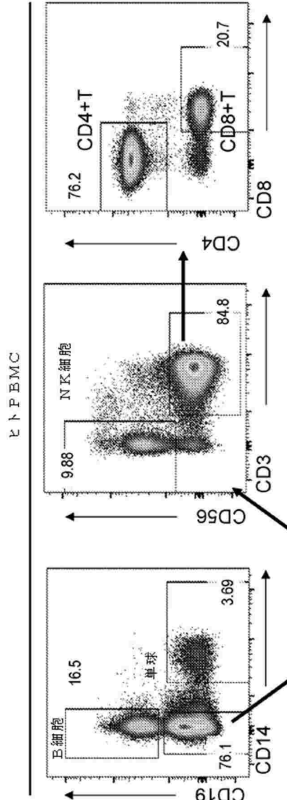


30

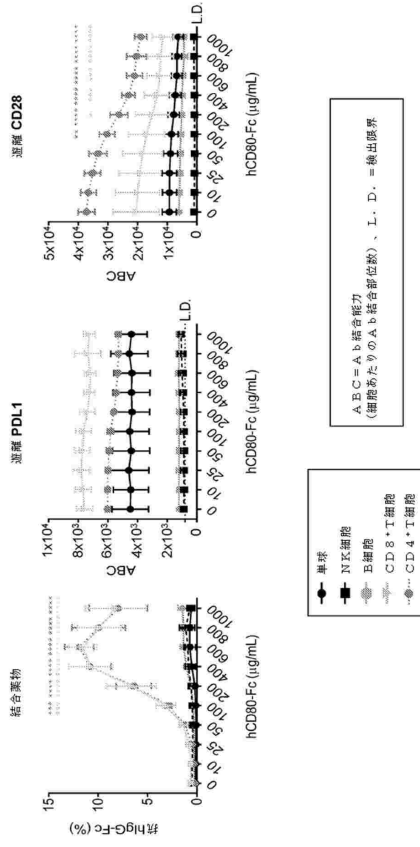
40

50

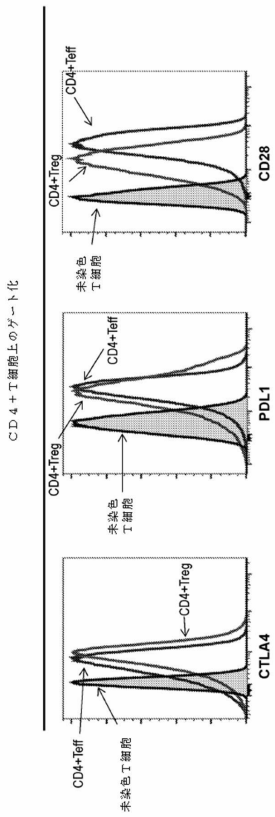
【図 3 A】



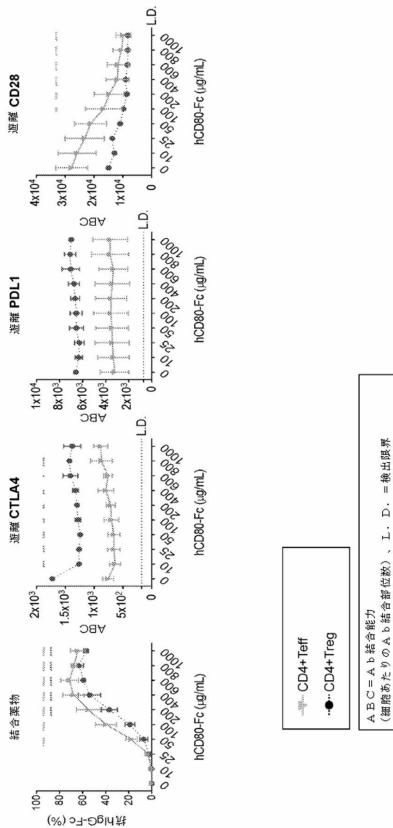
【図 3 B】



【図 4 A】



【図 4 B】



10

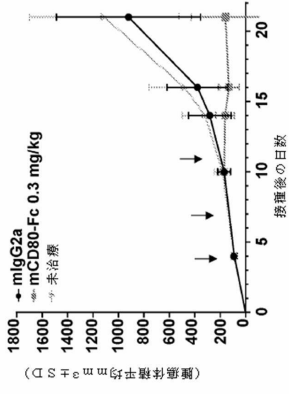
20

30

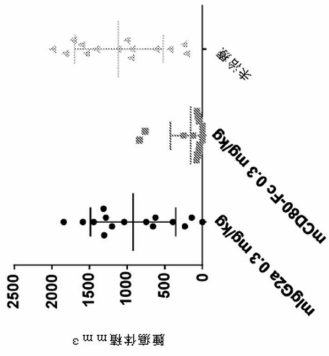
40

50

【 図 5 】



10



20

【 配列表 】

[0007544728000001.app](#)

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)
 C 1 2 Q 1/6837(2018.01)
 C 0 7 K 19/00 (2006.01)
 C 0 7 K 14/47 (2006.01)
 C 0 7 K 14/705 (2006.01)
 C 0 7 K 16/18 (2006.01)

F I

C 1 2 Q 1/6844 Z
 C 1 2 Q 1/68
 C 1 2 Q 1/6837
 C 0 7 K 19/00 Z N A
 C 0 7 K 14/47
 C 0 7 K 14/705
 C 0 7 K 16/18

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
 ブールバード 1 1 1

(72)発明者

センニーノ, バーバラ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0 , サウス サンフランシスコ, オイスター ポイント
 ブールバード 1 1 1

審査官 六笠 紀子

(56)参考文献 特表 2 0 1 8 - 5 3 5 2 0 4 (J P , A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 8 / 5 8

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