

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-540759

(P2022-540759A)

(43)公表日 令和4年9月20日(2022.9.20)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7105	4 C 0 8 4
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	4 C 0 8 6
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
		審査請求	未請求	予備審査請求
		有		(全29頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2021-576081(P2021-576081)	(71)出願人	520265930	
(86)(22)出願日	令和2年6月29日(2020.6.29)		イーザールエヌーエー イムノセラピ	
(85)翻訳文提出日	令和3年12月28日(2021.12.28)		ーズ エンヴェー	
(86)国際出願番号	PCT/EP2020/068217		ベルギー, 2 8 4 5 ニール, ガリレイ	
(87)国際公開番号	WO2020/260685		ラン 1 9	
(87)国際公開日	令和2年12月30日(2020.12.30)	(74)代理人	100088904	
(31)優先権主張番号	19182813.6		弁理士 庄司 隆	
(32)優先日	令和1年6月27日(2019.6.27)	(74)代理人	100124453	
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		弁理士 資延 由利子	
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く	(74)代理人	100135208	
			弁理士 大杉 卓也	
		(74)代理人	100183656	
			弁理士 庄司 晃	
		(74)代理人	100224786	
			弁理士 大島 卓之	最終頁に続く

(54)【発明の名称】 併用療法

(57)【要約】

本発明は概して、主に安定した悪性黒色腫疾患を有するが他の癌型にも及ぶ転移性癌患者の治療、及び前治療に対して疾患が部分奏効を示した患者に対する治療における治療ワクチンとして使用される、CD40、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、腫瘍関連抗原をコードするmRNA分子との組合せ物に関する。上記使用は、チェックポイント阻害剤の投与を更に包含し得る。さらに、本発明は、リンパ節への療法薬の投与、いわゆるリンパ節内療法に焦点を当てたそのような療法用の投与スキームを提供する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

第一選択チェックポイント阻害剤療法後に最良の客観的奏効として安定疾患を有する転移性癌患者の治療において使用される、

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードする1つ以上のmRNA分子と、

腫瘍関連抗原をコードする1つ以上のmRNA分子と、

を含む組合せ物。

【請求項 2】

チェックポイント阻害剤療法と組み合わせられる、請求項1に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 3】

前記腫瘍関連抗原は、黒色腫抗原、好ましくは、チロシナーゼ、糖タンパク質100 (gp100)、黒色腫関連抗原A3 (MAGE A3)、黒色腫関連抗原C2 (MAGEC2)、黒色腫で優先的に発現される抗原 (PRAME)、及びニューヨーク食道扁平上皮癌1 (NY-ESO-1) を含むリストから選択される黒色腫抗原である、請求項1又は2に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 4】

少なくとも6ヶ月の第一選択チェックポイント阻害剤療法後に最良の客観的奏効として安定疾患を有する転移性癌患者の治療における、請求項1～3のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 5】

前記チェックポイント阻害剤療法は、抗PD-1療法及び抗CTLA4療法、好ましくは、抗PD-1療法から選択される、請求項1～4のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 6】

前記抗PD-1療法は、ニボルマブ (BMS-936558/MDX1106)、ピジリズマブ (CT-011)、及びペムブロリズマブ (MK-3475)、好ましくはペムブロリズマブ (MK-3475) を含むリストから選択されるようなPD-1に対する拮抗抗体である、請求項5に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 7】

前記1つ以上のmRNA分子は、非経口投与用、より特に、静脈内投与用、腫瘍内投与用、皮内投与用、皮下投与用、腹腔内投与用、筋肉内投与用、又はリンパ節内投与用、好ましくは、リンパ節内投与用に製剤化される、請求項1～6のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 8】

リンパ節内投与による転移性癌患者の治療において使用される、

ペムブロリズマブと組み合わせられる、

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、

チロシナーゼ、糖タンパク質100 (gp100)、黒色腫関連抗原A3 (MAGEA3)、黒色腫関連抗原C2 (MAGE C2)、及び黒色腫で優先的に発現される抗原 (PRAME) をコードするmRNA分子と、

を含む組合せ物であって、

前記患者は、6ヶ月の第一選択ペムブロリズマブ療法後に最良の客観的奏効として安定疾患と診断されている、組合せ物。

【請求項 9】

リンパ節内投与による転移性癌患者の治療において使用される、

ペムブロリズマブと組み合わせられる、

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、

チロシナーゼ、糖タンパク質100 (gp100)、黒色腫関連抗原A3 (MAGEA3)、黒色腫関連抗原C2 (MAGE C2)、及びニューヨーク食道扁平上皮癌1 (NY-ESO-1) を

10

20

30

40

50

コードする mRNA 分子と、
を含む組合せ物であって、

前記患者は、6ヶ月の第一選択ペムブロリズマブ療法後に最良の客観的奏効として安定疾患と診断されている、組合せ物。

【請求項 10】

前記組合せ物は、以下の投与スキーム：

投与1～投与5：それぞれ約1週間の間隔で、

投与6：投与5の約2週間後、

投与7：投与6の約3週間後、

投与8：投与7の約6週間後、

投与9：投与8の約6週間後、

に従って投与される、請求項1～9のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 11】

前記組合せ物は、以下の投与スキーム：

投与1～投与5：それぞれ約1週間の間隔で、

投与6：投与5の約2週間後、

投与7：投与6の約3週間後、

投与8：投与7の約6週間後、

投与9：投与8の約6週間後、

に従って投与され、かつ前記チェックポイント阻害剤療法は、前記組合せ物と同日に、投与1、投与4、投与6、投与7、投与8、及び投与9の前に、それらと同時に、又はそれらの後に施される、請求項2～9のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 12】

前記チェックポイント阻害剤療法は、投与7と投与8との間、及び投与8と投与9との間に更に施される、請求項11に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 13】

前記組合せ物は、

CD40Lをコードする約300 µgのmRNAと、

caTLR4をコードする約300 µgのmRNAと、

CD70をコードする約300 µgのmRNAと、

腫瘍関連抗原（複数の場合もある）をコードする約900 µgのmRNAと、
を含む、請求項1～12のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 14】

前記組合せ物は、

CD40Lをコードする約600 µgのmRNAと、

caTLR4をコードする約600 µgのmRNAと、

CD70をコードする約600 µgのmRNAと、

腫瘍関連抗原（複数の場合もある）をコードする約1800 µgのmRNAと、
を含む、請求項1～12のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は概して、主に安定した悪性黒色腫疾患を有するが他の癌型にも及ぶ転移性癌患者の治療、及び前治療に対して疾患が部分奏効を示した患者に対する治療における治療ワクチンとして使用される、CD40、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、腫瘍関連抗原をコードするmRNA分子との組合せ物に関する。上記使用は、チェックポイント阻害剤の投与を更に包含し得る。さらに、本発明は、リンパ節への療法薬の投与、いわゆるリンパ節内療法に焦点を当てたそのような療法用の投与スキームを提供する。

【背景技術】

【0002】

10

20

30

40

50

黒色腫は、メラノサイトに由来する悪性の癌であり、皮膚癌の最も危険な形態である。黒色腫は典型的には皮膚に見られるが、口、腸、又は目にも発生する。過去数十年にわたって、悪性黒色腫の罹患率は増加している。世界保健機関（WHO）によると、世界中で毎年約132000件の新たな黒色腫の症例が診断されている。

【0003】

黒色腫が早期に検出され治療されるときに（切除可能疾患）、広範囲局所切除法に治効がある可能性がある。しかしながら、黒色腫患者の15%～20%は転移を発症し、その転移は局所領域的である場合があり、又は多くの臓器（典型的には、肺、肝臓、及び脳）に到達する場合があり、切除不能であるため予後が著しく悪化する可能性がある。

【0004】

欧州では、一次治療後にそれらの腫瘍が再燃するリスクが高い切除可能疾患を有する黒色腫患者には、長い間、限られた補助治療の選択肢（観察又はインターフェロン（IFN） α による補助療法）しかなかった。しかしながら、IFN α のベネフィットは控えめなようで、関連する副作用がベネフィットを上回る可能性がある。過去10年間に、最初は転移性疾患のために、そして今日では黒色腫患者の補助治療のためにも、新しい免疫療法が開発されてきた。

【0005】

進行期（切除不能な又は転移性の）黒色腫の第一選択治療のための抗細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質（CTLA）-4、抗プログラム細胞死タンパク質（PD）-1、及び抗プログラム細胞死タンパク質リガンド（PD-L）1の承認、並びにB-Raf及びマイトジェン活性化細胞外シグナル調節キナーゼ（MEK）阻害剤の承認により、転移性患者に新たな治療選択肢が開かれた。これらの療法は、切除不能な又は転移性の黒色腫を有する患者に、前例のない全客観的奏効率、無増悪生存期間、及び全生存期間を与えた。黒色腫における抗PD1抗体（すなわち、ニボルマブ及びペムブロリズマブ）による単剤療法の有効性は、イピリムマブとニボルマブとの組合せにより大幅に増加し得る。しかし、これらの印象的な改善には毒性という代償が伴い、これらは少数の患者（典型的には、25%未満）に対してのみ持続性があるにすぎない。したがって、同様の又はより良好な抗腫瘍活性及びはるかに良好なリスクベネフィットプロファイルを備えた代替治療が非常に望まれている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

特に本発明の目的は、抗PD1による治療を許容可能なように増強する代替治療を提供することであった。この目的は、別のモダリティを介してではあるが、更なる免疫刺激を加え、腫瘍関連抗原に対する樹状細胞のプライミングに焦点を当てることによって達成され得ることが判明した。

【課題を解決するための手段】

【0007】

第1の態様においては、本発明は、第一選択チェックポイント阻害剤療法後に最良の客観的奏効として安定疾患を有する転移性癌患者の治療において使用される、

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードする1つ以上のmRNA分子と、

腫瘍関連抗原（TAA）をコードする1つ以上のmRNA分子と、を含む組合せ物を提供する。

【0008】

本発明の特定の実施の形態においては、上記組合せ物は、チェックポイント阻害剤療法と更に組み合わせられ得る。

【0009】

本発明の更なる実施の形態においては、上記腫瘍関連抗原は、黒色腫抗原、好ましくは、チロシナーゼ、糖タンパク質100（gp100）、黒色腫関連抗原A3（MAGE A3）、黒色腫関連抗原C2（MAGEC2）、黒色腫で優先的に発現される抗原（PRAME）、及びニ

10

20

30

40

50

ューヨーク食道扁平上皮癌1（NY-ESO-1）を含むリストから選択される黒色腫抗原である。

【0010】

本発明のなおも更なる実施の形態においては、上記組合せ物は、少なくとも6ヶ月の第一選択チェックポイント阻害剤療法後に最良の客観的奏効として安定疾患を有する転移性癌患者の治療に使用される。

【0011】

別の特定の実施の形態においては、上記チェックポイント阻害剤療法は、抗PD-1療法及び抗CTLA4療法、好ましくは、抗PD-1療法、より特に、ニボルマブ（BMS-936558／MDX1106）、ピジリズマブ（CT-011）、及びペムブロリズマブ（MK-3475）、好ましくはペムブロリズマブ（MK-3475）を含むリストから選択されるようなPD-1に対する拮抗抗体から選択される。

10

【0012】

本発明の特定の実施の形態においては、上記1つ以上のmRNA分子は、非経口投与用、より特に、静脈内投与用、腫瘍内投与用、皮内投与用、皮下投与用、腹腔内投与用、筋肉内投与用、又はリンパ節内投与用、好ましくは、リンパ節内投与用に製剤化される。

【0013】

非常に特定の実施の形態においては、本発明は、リンパ節内投与による転移性癌患者の治療において使用される、

ペムブロリズマブと組み合わせられる、

20

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、

チロシナーゼ、糖タンパク質100（gp100）、黒色腫関連抗原A3（MAGE A3）、黒色腫関連抗原C2（MAGEC2）、及びNY-ESO-1をコードするmRNA分子と、を含む組合せ物であって、

上記患者は、6ヶ月の第一選択ペムブロリズマブ療法後に最良の客観的奏効として安定疾患と診断されている、組合せ物を提供する。

【0014】

別の非常に特定の実施の形態においては、本発明は、リンパ節内投与による転移性癌患者の治療において使用される、

ペムブロリズマブと組み合わせられる、

30

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、

チロシナーゼ、糖タンパク質100（gp100）、黒色腫関連抗原A3（MAGE A3）、黒色腫関連抗原C2（MAGEC2）、及び黒色腫で優先的に発現される抗原（PRAME）をコードするmRNA分子と、

を含む組合せ物であって、

上記患者は、6ヶ月の第一選択ペムブロリズマブ療法後に最良の客観的奏効として安定疾患と診断されている、組合せ物を提供する。

【0015】

別の特定の実施の形態においては、本発明の使用のための組合せ物は、以下の投与スキーム：

40

投与1～投与5：それぞれ約1週間の間隔で、

投与6：投与5の約2週間後、

投与7：投与6の約3週間後、

投与8：投与7の約6週間後、

投与9：投与8の約6週間後、

に従って投与されてもよい。

【0016】

なおも別の特定の実施の形態においては、本発明の使用のための組合せ物は、以下の投与スキーム：

投与1～投与5：それぞれ約1週間の間隔で、

50

投与6：投与5の約2週間後、
投与7：投与6の約3週間後、
投与8：投与7の約6週間後、
投与9：投与8の約6週間後、

に従って投与されてもよく、かつ上記チェックポイント阻害剤療法は、上記組合せ物と同日に、投与1、投与4、投与6、投与7、投与8、及び投与9の前に、それらと同時に、又はそれらの後に施される。

【0017】

チェックポイント阻害剤療法が使用される場合、該療法は、投与7と投与8との間、及び投与8と投与9との間に更に施されてもよい。

【0018】

本発明はまた、
CD40Lをコードする約300 µgのmRNAと、
caTLR4をコードする約300 µgのmRNAと、
CD70をコードする約300 µgのmRNAと、
腫瘍関連抗原（複数の場合もある）をコードする約900 µgのmRNAと、
を含む、本明細書に規定される使用のための組合せ物を提供する。

【0019】

非常に特定の実施の形態においては、本発明は、
CD40Lをコードする約600 µgのmRNAと、
caTLR4をコードする約600 µgのmRNAと、
CD70をコードする約600 µgのmRNAと、
腫瘍関連抗原（複数の場合もある）をコードする約1800 µgのmRNAと、
を含む、本明細書に規定される使用のための組合せ物を提供する。

【発明を実施するための形態】

【0020】

既に本明細書の上記で詳述したように、本発明は、第一選択チェックポイント阻害剤療法後に最良の客観的奏効として安定疾患を有する転移性癌患者の治療において使用される、

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードする1つ以上のmRNA分子と、
腫瘍関連抗原（TAA）をコードする1つ以上のmRNA分子と、
を含む組合せ物を提供する。

【0021】

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子の上記組合せ物は、本明細書においてはTriMixとも呼ばれる。特に、TriMixは、強力な樹状細胞（DC）及びT細胞活性化分子、すなわち構成的に活性なToll様受容体4（caTLR4）、ヒト分化抗原群40リガンド（CD40L）、及びT細胞共活性化分子（ヒトCD70）をコードするメッセンジャーリボ核酸（mRNA）の混合物である。基本的に、TriMixはDCで発現される場合に免疫活性化回路のショートカットを表す：caTLR4はDCに危険シグナルを与え、CD40Lは活性化Tヘルパー細胞の逆行性シグナルをDCに伝え、CD70は活性化されたDCにより分泌されるCD8⁺T細胞活性化因子である。

【0022】

本発明の文脈におけるこれらの分子のそれぞれの関連性は、以下のように定義される：
caTLR4（構成的に活性なToll様受容体4）：病原体関連分子パターンのToll様受容体（TLR）への結合は、DC成熟のシグナルをもたらす。TLRのライゲーションは、DCにおけるCD40ライゲーションと同様の効果、すなわち、共刺激分子の上方調節及びサイトカイン／ケモカイン分泌の増強を誘導する。TLRリガンドの中で、（TLR4に結合する）リポ多糖（LPS）は魅力的な候補である。それというのも、LPS成熟DCは、特定のT細胞を刺激する能力の強化を獲得することが分かっているからである。DCにおけるLPS結合の効果は、構成的に活性な形態のcaTLR4を発現するようにDCを操作することによって

10

20

30

40

50

安全に模倣することができ、このコンストラクトでは、遺伝子の細胞外ドメインが欠失されて、短縮型受容体の構成的活性化がもたらされる (Bonehill et al., 2008)。

CD40L (分化抗原群40リガンド) : CD40-CD40L相互作用は、最も強力なDC活性化シグナルの1つを媒介する。一般に、DCにおけるCD40ライゲーションは、CD40Lを発現する活性化CD4⁺T細胞によってもたらされる。この過程はCD40Lを発現するようにDCを操作することによって模擬することができ、これにより共刺激分子の上方調節及びサイトカイン／ケモカインの産生の増強がもたらされる。前臨床モデルでは、CD40ライゲーションはCD4⁺T細胞及びCD8⁺T細胞の増殖の規模を増大する。特にメモリーCD8⁺T細胞の誘導のためには、CD40ライゲーションが不可欠であると考えられている (Bonehill et al., 2008)。

10

CD70 (分化抗原群70) : CD40Lと同様に、CD70は共刺激分子の腫瘍壊死因子 (TNF) スーパーファミリーのメンバーである。CD70は、活性化B細胞、ナイーブT細胞、及びメモリーT細胞の幾つかのサブセットで発現されるCD27のリガンドである。CD27ライゲーションは、プライミングされたT細胞の生存及び増殖を促進することにより、エフェクターT細胞集団及びメモリーT細胞集団の形成に重要な貢献をする。最近、CD70はCD8⁺T細胞応答のプライミングのための重要な分子として浮上している。実際、マウスにおいて行われた幾つかの研究では、DCにおけるCD40ライゲーションが、TLRリガンドと組み合わせるか否かにかかわらず、これらのDCによるCD70発現を誘導すること、及びプライミング後のCD8⁺T細胞の指数関数的増殖が、CD70／CD27相互作用にほぼ完全に依存していることが記載されている (Bonehill et al., 2008)。

20

【0023】

本発明の更なる実施形態においては、上記腫瘍関連抗原は、黒色腫抗原、好ましくは、チロシナーゼ、糖タンパク質100 (gp100)、黒色腫関連抗原A3 (MAGE A3)、黒色腫関連抗原C2 (MAGEC2)、黒色腫で優先的に発現される抗原 (PRAME)、及びニューヨーク食道扁平上皮癌1 (NY-ESO-1) を含むリストから選択される黒色腫抗原である。より好ましい実施形態においては、腫瘍関連抗原は、上記のリストから選択される腫瘍抗原の組合せ物、更により好ましくは、チロシナーゼと、糖タンパク質100 (gp100) と、黒色腫関連抗原A3 (MAGE A3) と、黒色腫関連抗原C2 (MAGEC2) と、黒色腫で優先的に発現される抗原 (PRAME) との組合せ物、又はチロシナーゼと、糖タンパク質100 (gp100) と、黒色腫関連抗原A3 (MAGE A3) と、黒色腫関連抗原C2 (MAGEC2) と、ニューヨーク食道扁平上皮癌1 (NY-ESO-1) との組合せ物である5つの抗原の組合せ物である。

30

【0024】

本発明は、特に、3つの異なる免疫刺激性タンパク質 (構成的に活性なToll様受容体4 (caTLR4)、分化抗原群40リガンド (CD40L)、及び分化抗原群70 (CD70)) をコードするメッセンジャーリボ核酸 (mRNA) 以外にも腫瘍関連抗原 (TAA) をコードするmRNAを含む黒色腫に対する免疫療法薬に関する。3つのmRNAの混合物は、構造化された様式でDCを活性化及び「教育」して、局所的及び全身的の両方で免疫系の最適な刺激をもたらすように設計されている。挙げられる特定のTAAは、樹状細胞 (DC) リソソーム関連膜タンパク質 (LAMP) の操作版に融合されたチロシナーゼ、糖タンパク質100 (gp100)、黒色腫関連抗原 (MAGE) A3、MAGE C2、黒色腫で優先的に発現される抗原 (PRAME)、及び／又はニューヨーク食道扁平上皮癌1 (NY-ESO-1) である。

40

【0025】

腫瘍関連抗原：

チロシナーゼ：

本発明の組合せ物は、癌抗原のチロシナーゼ (Tyr)、その断片、又はその変異体を含み得る。チロシナーゼは、微生物並びに植物及び動物の組織に見出すことができるチロシンヒドロキシラーゼ及びドーパオキシダーゼの触媒活性を有する銅含有酵素である。具体的には、チロシナーゼは、チロシン等のフェノールの酸化によってメラニン及び他の色素

50

の産生を触媒する。TYR遺伝子における突然変異は、哺乳動物における眼皮膚白皮症を引き起こし、TYR遺伝子における非病理学的多型は、皮膚の色素沈着の変化に寄与する。さらに、黒色腫等の癌又は腫瘍においては、チロシナーゼが調節されなくなり、メラニン合成の増加が引き起こされる場合がある。したがって、チロシナーゼは黒色腫に関連する癌抗原である。黒色腫を患う被験体においては、チロシナーゼは細胞傷害性T細胞認識の標的となり得る。

【0026】

糖タンパク質100：

本発明の組合せ物は、癌抗原の糖タンパク質（gp100）、その断片、又はその変異体を含み得る。gp100はメラノサイトタンパク質PMELとしても知られており、メラノソームにおいて豊富な661アミノ酸長のI型膜貫通型糖タンパク質である。gp100は主に皮膚組織で発現され、例えば、肝臓、骨髄、筋肉等においては限定的な発現が見られる。

10

【0027】

MAGE A3：

本発明の組合せ物は、癌抗原の黒色腫関連抗原A3（MAGE A3）、その断片、又はその変異体を含み得る。MAGE-Aタンパク質は、精巣及び胎盤の腫瘍細胞及び非MHC発現生殖細胞でのみ発現される癌精巣抗原（CTA）である。MAGE-Aタンパク質は、限定されるものではないが、黒色腫、乳癌、白血病、甲状腺癌、胃癌、膵臓癌、肝臓癌（例えば、肝細胞癌）、肺癌（例えば、非小細胞肺癌）、卵巣癌、多発性骨髄腫、食道癌、腎臓癌、頭部癌（例えば、扁平上皮癌）、頸部癌（例えば、扁平上皮癌）、及び尿路上皮癌を含む様々なヒトの癌において発現される。

20

【0028】

MAGE C2：

本発明の組合せ物は、癌抗原の黒色腫関連抗原C2（MAGE C2）、その断片、又はその変異体を含み得る。「MAGE-C2」は黒色腫抗原ファミリーC2である。腫瘍試料の中でも、MAGE-C2は精上皮腫、黒色腫、及び膀胱癌において頻繁に発現される。MAGE-C2は、頭頸部癌、乳癌、非小細胞肺癌、及び肉腫のかなりの割合においても発現される。

【0029】

PRAME：

本発明の組合せ物は、癌抗原のPRAME、その断片、又はその変異体を含み得る。PRAMEは、PRAME遺伝子によってコードされ、509アミノ酸から構成されるタンパク質であり、精巣、胎盤、子宮内膜、卵巣、副腎、並びに黒色腫、肺癌、腎臓癌、及び頭頸部癌から取得された組織において発現される。

30

【0030】

NY-ESO-1：

本発明の組合せ物は、癌抗原のニューヨーク食道扁平上皮癌1（NY-ESO-1、またCTAG1とも呼ばれる）、その断片、又はその変異体を含み得る。NY-ESO-1は、CTAG1B遺伝子によってコードされ、180アミノ酸長のタンパク質であり、グリシンが豊富なN末端領域及び極めて疎水性のC末端領域を備えている。NY-ESO-1は正常組織では発現が制限されているが、癌においては頻繁に発生する。NY-ESO-1は、限定されるものではないが、膀胱癌、結腸直腸癌、食道癌、胃癌、肝癌、頭頸部癌、黒色腫、非小細胞肺癌、卵巣癌、膵臓癌、滑膜癌、及び前立腺癌を含む多くの癌において発現され得る。

40

【0031】

特定の実施形態においては、本明細書に規定される組合せ物は、抗PD-1療法及び抗CTLA4療法から選択されるようなチェックポイント阻害剤療法と更に組み合わせられる。上記チェックポイント阻害剤療法は、PD-1阻害剤又はCTLA4阻害剤の使用を包含し得る。

【0032】

本明細書において使用される場合に、「PD-1阻害剤」という用語には、例えば、PD-1の発現（すなわち、転写及び／又は翻訳）若しくはその天然のリガンドPD-L1／PD-L2の発現、又はPD-1活性を減少させることによって、PD-1の調節に直接的又は間接的に

50

影響を与えることができるあらゆる化合物が含まれる。この用語には、細胞内PD-1阻害剤（例えば、SHP-1及びSHP-2等のPD-1関連シグナル伝達分子又は経路を遮断する作用物質）だけでなく、細胞外PD-1阻害剤も含まれる。このように限定されることなく、そのような阻害剤には、siRNA、アンチセンス分子、タンパク質、ペプチド、小分子、抗体等が含まれる。

【0033】

したがって、特定の実施形態においては、上記PD-1経路阻害剤は、PD-1に対するナノボディ、PD-1に対する拮抗抗体、PDL1に対するナノボディ、PDL1に対する拮抗抗体、又はそれらの誘導体を含むリストから選択される。抗体の誘導体としては、例えば、scFv、二重特異性抗体等が挙げられ得る。

10

【0034】

実施形態においては、上述のPD-1阻害剤は、PD-1とPD-1リガンド（例えば、PD-L1、PD-L2）との間の相互作用を遮断／阻害する。そのような阻害剤は、例えば、PD-1及び／又はPD-L1及び／又はPD-L2のIgVドメイン、例えば、上記で論じられた相互作用に関与する1つ以上の残基を標的とし得る。

【0035】

実施形態においては、上述のPD-1阻害剤は、抗PD-1抗体又は抗PD-L1／PD-L2抗体等の遮断抗体である。抗PD-1抗体及び／又は抗PD-L1／PD-L2抗体の遮断は当該技術分野で既知である。他の遮断抗体は、上記で論じられたPD-1とPD-L1／PD-L2との間の相互作用の既知のドメインに基づいて、当業者によって容易に特定され作製され得る。例えば、PD-1又はPD-L1／PD-L2のIgV領域（又はこの領域の一部）に対応するペプチドを抗原として使用して、当該技術分野で既知の方法を使用して遮断抗体を開発することができる。

20

【0036】

本文脈における「抗PD-1抗体」又は「抗PD-L1」又は「抗PD-L2」とは、PD-1タンパク質、PD-L1タンパク質、若しくはPD-L2タンパク質、又はPD-1タンパク質断片、PD-L1タンパク質断片、若しくはPD-L2タンパク質断片を検出／認識する（すなわち、それらに結合する）ことができる抗体を意味する。実施形態においては、上述の抗体は、PD-1-PD-L1／PD-L2相互作用又はPD-1媒介性T細胞阻害等のPD-1の生物学的活性を阻害する。別の実施形態においては、PD-1タンパク質断片又はPD-L1／PD-L2タンパク質断片は、PD-1又はPD-L1／PD-L2の細胞外ドメイン（例えば、IgVドメイン）である。

30

【0037】

非常に特定の実施形態においては、上記抗PD-1療法薬は、ニボルマブ（BMS-936558／MDX1106）、ピジリズマブ（CT-011）、及びペムブロリズマブ（MK-3475）を含むリストから選択されるようなPD-1に対する拮抗抗体、好ましくはペムブロリズマブ（MK-3475）である。代替的には、PD-L1阻害剤であるアテゾリズマブも本発明の文脈内で適切に使用され得る。

【0038】

本明細書で使用される場合に、「CTLA4経路阻害剤」という用語には、CTLA4により開始されるシグナル伝達を妨害又は遮断するあらゆる化合物が含まれる。したがって、CTLA4経路阻害剤は、例えば、CTLA4受容体の発現（すなわち、転写及び／又は翻訳）若しくはその天然のリガンドB7-1（CD80）及びB7-2（CD86）の発現を減少させることによって、CTLA4の調節に直接的又は間接的に影響を与えることができる。このように限定されることなく、そのような阻害剤には、siRNA、アンチセンス分子、タンパク質、ペプチド、小分子、抗体、ナノボディ、及びこれらのいずれかの誘導体が含まれる。特定の実施形態においては、上記CTLA4阻害剤はまた、抗CTLA4抗体をコードするmRNA等の上記阻害剤をコードするmRNAの形態で提供され得る。

40

【0039】

好ましい抗CTLA4抗体は、ヒトCTLA4に特異的に結合するヒト抗体である。ヒト抗体

50

は、ヒト患者における非ヒト抗体の使用に関連する免疫原性応答及びアレルギー性応答を最小限に抑えることが期待されるため、本発明の治療方法において実質的な利点をもたらす。

【0040】

例示的なヒト抗CTLA4抗体は、例えば、国際公開第00/37504号に詳細に記載されている。このような抗体としては、限定されるものではないが、3.1.1、4.1.1、4.8.1、4.10.2、4.13.1、4.14.3、6.1.1、チシリムマブ、11.6.1、11.7.1、12.3.1.1、及び12.9.1.1、並びにトレメリムマブ及びイピリムマブが挙げられる。

【0041】

本発明のなおも更なる実施形態においては、上記組合せ物は、少なくとも6ヶ月（及び、好ましくは12ヶ月未満）の第一選択チェックポイント阻害剤療法後に最良の客観的奏効として安定疾患を有する転移性癌患者の治療に使用される。本発明の文脈において、「安定疾患」は、2回の連続した画像診断で評価されるRECIST 1.1（Schwartz et al., 2017）基準に従って定義される。

【0042】

手短にこれらの基準によれば、安定疾患は、「部分奏効又は完全奏効（CR又はPR）に適格となるのに十分な縮小（ベースラインと比較して）も、進行性疾患（PD）に適格となるのに十分な増大（ベースライン時又は研究中の最小の径和の、いずれか小さい方を基準とする）もない」と定義される。奏効の分類（CR又はPRのいずれか）は、ベースライン時の径和と比較して行われるが、増悪は、ベースライン時の径和の最小値又は試験中の最小の径和（最下点）との比較に基づいている。殆どのプロトコルでは、SDと判断される前に、指定された期間（例えば、少なくとも4週間）にわたってSDについての基準が必要とされる。したがって、研究中に2週間時及び4週間時に画像診断を行い、2週間時にはCR、PR、又はPDについての基準が満たされないが、4週間時にPDについての基準を満たす場合に、最良全奏効はSDではなくPDである。それというのも、この被験体はSDに適格となるほど十分長く研究中ではなかったからである。

【0043】

本発明の特定の実施形態においては、上記1つ以上のmRNA分子は、非経口投与用、より特に、静脈内投与用、腫瘍内投与用、皮内投与用、皮下投与用、腹腔内投与用、筋肉内投与用、又はリンパ節内投与用、好ましくは、リンパ節内投与用に製剤化される。

【0044】

特定の実施形態においては、本発明の上記組合せ物又はmRNA分子は、例えばリンゲル乳酸緩衝液等の適切な注射緩衝液中においてリンパ節内投与用に製剤化される。

【0045】

mRNAの直接的なin vivo投与のためには、mRNAがDCに送達されることが重要である。リンパ節は比較的多数のDCを含み、免疫誘導の主要な部位であるため（Van Lint et al., 2015）、これは最も好ましいアプローチである。マウスモデルにおいて、この投与経路がmRNAでエレクトロポレーションされたDCの注射と同様か又はそれより更に良好な結果をもたらすことが明らかとなった。このため、患者は、好ましくはリンパ節へのmRNAの直接的な投与を受ける（Van Lint et al., 2015）。

【0046】

非常に特定の実施形態においては、本発明は、リンパ節内投与による転移性癌患者の治療において使用される、

ペムブロリズマブと組み合わせられる、

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、

チロシナーゼ、糖タンパク質100（gp100）、黒色腫関連抗原A3（MAGE A3）、黒色腫関連抗原C2（MAGEC2）、及び黒色腫で優先的に発現される抗原（PRAME）をコードするmRNA分子と、

を含む組合せ物であって、

上記患者は、6ヶ月の第一選択ペムブロリズマブ療法後に最良の客観的奏効として安定

10

20

30

40

50

疾患と診断されている、組合せ物を提供する。

【0047】

別の非常に特定の実施形態においては、本発明は、リンパ節内投与による転移性癌患者の治療において使用される、

ペムブロリズマブと組み合わせられる、

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、

チロシナーゼ、糖タンパク質100 (gp100)、黒色腫関連抗原A3 (MAGE A3)、黒色腫関連抗原C2 (MAGEC2)、及びニューヨーク食道扁平上皮癌1 (NY-ESO-1) をコードするmRNA分子と、

を含む組合せ物であって、

上記患者は、6ヶ月の第一選択ペムブロリズマブ療法後に最良の客観的奏効として安定疾患と診断されている、組合せ物を提供する。

【0048】

別の特定の実施形態においては、本発明の使用のための組合せ物は、以下の投与スキーム：

投与1～投与5：それぞれ約1週間の間隔で、

投与6：投与5の約2週間後、

投与7：投与6の約3週間後、

投与8：投与7の約6週間後、

投与9：投与8の約6週間後、

に従って投与されてもよい。

【0049】

実用的な理由で、投与スキームにわずかな差異があってもよく、例えば、「約1週間」は、前回の投与の5日後～9日後（すなわち、±2日）が意図される。3週間～6週間間隔である投与についても、同様の差異が発生してもよい。

【0050】

なおも別の特定の実施形態においては、本発明の使用のための組合せ物は、以下の投与スキーム：

投与1～投与5：それぞれ約1週間の間隔で、

投与6：投与5の約2週間後、

投与7：投与6の約3週間後、

投与8：投与7の約6週間後、

投与9：投与8の約6週間後、

に従って投与されてもよく、かつ上記チェックポイント阻害剤療法は、上記組合せ物と同日に、投与1、投与4、投与6、投与7、投与8、及び投与9の前に、それらと同時に、又はそれらの後に施される。

【0051】

チェックポイント阻害剤療法が使用される場合、投与7と投与8との間、及び投与8と投与9との間に更に施されてもよい。

【0052】

好ましい実施形態においては、特許請求の範囲に記載される組合せ物は、チェックポイント阻害剤と同日に投与されるが、必要に応じてこれを変更してもよい。

【0053】

本発明はまた、

CD40Lをコードする約300 µgのmRNAと、

caTLR4をコードする約300 µgのmRNAと、

CD70をコードする約300 µgのmRNAと、

腫瘍関連抗原（複数の場合もある）をコードする約900 µgのmRNAと、を含む、本明細書に規定される使用のための組合せ物を提供する。

【0054】

10

20

30

40

50

非常に特定の実施形態においては、本発明は、
CD40Lをコードする約600 µgのmRNAと、
caTLR4をコードする約600 µgのmRNAと、
CD70をコードする約600 µgのmRNAと、
腫瘍関連抗原（複数の場合もある）をコードする約1800 µgのmRNAと、
を含む、本明細書に規定される使用のための組合せ物を提供する。

【実施例】

【0055】

実施例1：

この研究においては、6ヶ月の抗PD1療法後に安定疾患を有する進行期又は転移性の黒色腫患者において、標準治療の抗PD1（ペムブロリズマブ又はニボルマブ）に加えて、2つの異なる投与量のECI-006をリンパ節内に投与する：用量レベルII（1800 µgのmRNAの総用量）及び用量レベルIII（3600 µgのmRNAの総用量）。

【0056】

ECI-006

ECI-006は、3つの異なる免疫刺激性タンパク質（構成的に活性なToll様受容体4（caTLR4）、分化抗原群40リガンド（CD40L）、及び分化抗原群70（CD70））をコードするメッセンジャーリボ核酸（mRNA）以外にも腫瘍関連抗原（TAA）をコードするmRNAを含む黒色腫に対する免疫療法薬である。3つのmRNAの混合物（EIA-001）は、構造化された様式でDCを活性化及び「教育」して、局所的及び全身的の両方で免疫系の最適な刺激をもたらすように設計されている。挙げられる特定のTAAは、樹状細胞（DC）リソソーム関連膜タンパク質（LAMP）の操作版に融合されたチロシナーゼ、糖タンパク質100（gp100）、黒色腫関連抗原（MAGE）A3、MAGE C2、及び黒色腫で優先的に発現される抗原（PRAME）である。

【0057】

本明細書において使用されるmRNA分子は、国際公開第2015/071295号に記載されるベクター及び手順を使用して製造され、したがって、国際公開第2015/071295号に記載される翻訳エンハンサーエレメント及び核内保持エレメントを更に包含する。

【0058】

ECI-006 mRNA製品は、添加剤を含まない注射用水（WFI）中の非経口溶液であり、単回用量バイアルとして充填され、-20℃未満で貯蔵される。使用前に、ECI-006 mRNAはハルトマン緩衝液中で再構成される。

【0059】

使用直前に、バイアルを室温で解凍し、1 mLシリンジを使用してECI-006の入ったバイアルに880 µlのハルトマン液を加えて再構成する。これにより、総容量は1.1 mLとなり、80%のハルトマンの容量濃度を有する。ハルトマン液中で再構成した後に、このmRNAは微生物学的観点から直ちに使用されるべきである。しかしながら、管理及び検証された無菌条件（薬局の責任）で再構成が行われた場合には、使用時の貯蔵時間を延ばすことができる。再構成された医薬品の安定性は、15℃～25℃で6時間まで検証されている。

【0060】

抗PD1

ペムブロリズマブは、SmPCに従って患者に投与される。ペムブロリズマブ（Keytruda（商標））は、バイアルに注入する濃縮物用に50 mg又は100 mgの粉末として提供される。再構成後に、1 mLの濃縮物は25 mgのペムブロリズマブを含有している。

【0061】

ニボルマブは、SmPCに従って患者に投与される。ニボルマブ（Opdivo（商標））は、バイアルに注入する濃縮物用に40 mg、100 mg、又は240mgの粉末として提供される。再構成後に、1 mLの濃縮物は10mgのニボルマブを含有している。

【0062】

10

20

30

40

50

投与方式及び投与量

注射液は、好ましくは、超音波検査のガイド下に患者の鼠径リンパ節に注射される。1回目の注射は左側又は右側のリンパ節に行われ、2回目の注射は反対側のリンパ節、すなわち右側又は左側に交替される。3回目の注射は、1回目の注射について行われたように再び左側又は右側で、次に右側又は左側で行われる。最後の注射は反対側に行われる。鼠径リンパ節が注射に利用可能でない場合には、治療を行う医師の裁量で腋窩リンパ節を使用することができる。

【0063】

用量レベルIIの場合に、500 µLの注射緩衝液中のECI-006のリンパ節へのリンパ節内注射は、コホート1について記載したように実施される。用量レベルIIIの場合に、2つの異なるリンパ節に、好ましくは同じ側に1000 µLが注射される（各リンパ節に500 µL）。

10

【0064】

用量レベルII：900 µgのEIA-001と900 µgのTAAとの組合せ物を含む（1800 µgのmRNAの総用量）、

用量レベルIII：1800 µgのEIA-001と1800 µgのTAAとの組合せ物を含む（3600 µgのmRNAの総用量）。

【0065】

標準治療としてそれぞれ2 mg/kg又は400 mgのペムブロリズマブ（Keytruda（商標））が患者に投与される（21週間の期間にわたって3週間又は6週間の周期）。

20

【0066】

ペムブロリズマブは、3週間又は6週間ごとに30分間かけて静脈内注入として投与される。黒色腫患者に推奨される用量は、2 mg/kg（3週間ごと）又は400 mg（6週間ごとのレジメン）である。患者は、疾患の増悪又は許容不可能な毒性まで、ペムブロリズマブで治療されるべきである。ペムブロリズマブについての用量変更は、ペムブロリズマブを投与している患者の現在の臨床診療に基づいて行われるべきである。

【0067】

ニボルマブは、2週間ごとに30分間かけて240 mgの注入として静脈内に投与される、又は4週間ごとに60分間にわたって480 mgの注入として静脈内に投与される。

【0068】

30

治療スキーム

各患者は、最大9回のECI-006の投与を受ける：最初の5回はそれぞれ1週間の間隔が置かれる。6回目の投与は前回の投与の2週間後である。7回目の投与は前回の投与の3週間後である。8回目及び9回目の投与は前回の投与の6週間後である。患者は、以下のスケジュールに従って2つの異なる用量レベルに無作為化される：

用量レベルII（1800 µg）では、最初の3人の患者が登録される。登録は、それぞれ個々の患者の1回目の投与間で少なくとも1日置いてずらす。安全性観察期間は、各患者の1回目の治療後の6週間の期間からなる。3人目の患者が安全性観察期間を完了した後に安全性及び忍容性の全体的な評価を完了するために、薬物安全性モニタリング委員会（drug safety monitoring board）（DSMB）が召集される。

40

安全性観察期間中に手に負えない安全性問題（Unmanageable Safety Issue）（USI）が起こらず、DSMBがその推奨を与えた場合に、3人の患者は用量レベルIII（3600 µg）で登録される。上記のように、これらの3人の患者の登録は、各患者の1回目の投与間で少なくとも1日置いてずらす。この場合も、各患者についての安全性観察期間は6週間からなる。DSMBは、3人の患者の後に安全性及び忍容性の全体的な評価を完了する。

安全性観察期間中に用量レベルIII群で無作為化された最初の3人の患者においてUSIが起こらず、DSMBがその推奨を与えた場合に、コホート2の用量レベルIII群において追加の4人の患者が無作為化され得る。

最初の3人の患者のうちの1人が用量レベルII又は用量レベルIIIで安全性観察期間中に

50

USIを起こした場合に、追加の3人の患者はそれぞれ同じ用量レベルII又は用量レベルIIIで登録され、以下のように評定される：

治療の最初の6週間の間に追加の3人の患者において用量レベルII又は用量レベルIIIで新しいUSIが観察されない場合に（6人の患者において合計1つのUSI）、それぞれ、用量レベルIII群への登録が開始し得る、又は7人目の最後の患者の用量レベルIIIでの登録が開始し得る。

治療の最初の6週間の間に追加の3人の患者において1つ以上のUSIが観察された場合に（6人の患者において合計2つ以上のUSI）、用量の漸増は許可されない。その際、この用量は最大耐用量（MTD）を超えたと見なされ、治験依頼者は、用量レベルIIで観察された場合は研究を終了することを決断し得る、又は用量レベルIIIで観察された場合はより低い用量レベルで継続するように研究を修正することを決断し得る。

10

【0069】

ECI-006の最初の投与（1日目）と最後の投与（148日目）との間には、合計で最大148日間（21週間）ある。患者は合計9回のECI-006の投与を受ける。各患者は、週間隔でECI-006の5回の投与（最初の5回の投与）を受けた後に、5回目の投与の2週間後にECI-006の1回の投与を受け、6回目の投与の3週間後にECI-006の1回の投与を受け、6週間の間隔でECI-006の2回の投与を受け、こうして治療期間は21週間となり、24週間後に最終的な活性評価が行われる。1回目のECI-006の投与は、好ましくは、ペムブロリズマブ治療と同日及びその前に行われる。研究中のより後に該当する場合、ECI-006はペムブロリズマブと同日及びその前に投与され得る。

20

【0070】

したがって、詳細な治療スケジュールは以下の通りである：

1日目：治療の開始；ベースライン免疫モニタリング試料採取、安全性実験室検査、ECI-006及びペムブロリズマブの1回目の投与、
 8日目（±2日）：ECI-006の2回目の投与、
 15日目（±2日）：ECI-006の3回目の投与、
 22日目（±2日）：ECI-006の4回目の投与；ペムブロリズマブの投与（患者が6週間のペムブロリズマブ投薬中である場合を除く）、
 29日目（±2日）：ECI-006の5回目の投与；免疫モニタリング試料採取、
 43日目（±2日）：ECI-006の6回目の投与；ペムブロリズマブの投与；安全性実験室検査、
 64日目（±2日）：ECI-006の7回目の投与；ペムブロリズマブの投与（患者が6週間のペムブロリズマブ投薬中である場合を除く）、
 71日目（±2日）：免疫モニタリング試料採取、安全性実験室検査、腫瘍生検（任意）、
 85日目（±2日）：1回目の有効性評価；ペムブロリズマブの投与、
 106日目（±5日）：ECI-006の8回目の投与；ペムブロリズマブの投与（患者が6週間のペムブロリズマブ投薬中である場合を除く）、
 127日目（±5日）：2回目の有効性評価；ペムブロリズマブの投与；免疫モニタリング試料採取、安全性実験室検査、
 148日目（±5日）：ECI-006の9回目の投与；ペムブロリズマブの投与（患者が6週間のペムブロリズマブ投薬中である場合を除く）、
 169日目（±5日）：3回目の有効性評価、腫瘍生検（任意）、安全性実験室検査、免疫モニタリング試料採取、ペムブロリズマブの投与、
 176日目（±5日）：フォローアップの電話（治験薬の最後の投与の4週間後）。

30

40

【0071】

患者集団

ECI-006を使用して治療される患者は、ペムブロリズマブによる第一選択治療を少なくとも6ヶ月間受けた後に安定疾患を有するステージIII又はステージIVの切除不能な黒色腫患者と定義される。これらの患者は、ペムブロリズマブに対して遅くに部分奏効又は完全奏功を示す可能性は非常に低い、抗PD1が増悪に対して或る程度の抵抗性を与え

50

ると考えて、標準として抗PD1療法が続けられているが、これらの患者は、それほど遠くない将来に再燃する可能性が最も高いと認識される。aPD1療法中のSDの黒色腫患者が、部分奏効又は完全奏効の患者よりも高いレベルの免疫活性及びチェックポイント阻害剤レベルを有することを示唆し、治療ワクチンの使用が免疫の戦いを患者に有利に傾けるのに役立つ可能性を強調するデータが浮上している（ASCO 2019でのポスター2515）。

【0072】

実施例2：臨床データー第1b相

この実施例は、実施例1の詳細に従って治療される患者に関して得られた腫瘍評価プロトコル及びデータを提供する。

【0073】

2回の連続した画像診断により裏付けられた6ヶ月～12ヶ月の免疫療法後にRECIST1.1基準による安定疾患を有する黒色腫患者は、研究に参加する資格があった。安定疾患を確認する画像診断は、標準治療の一環として、施設のガイドラインを使用して研究の前に行われる。安定疾患を有する黒色腫患者の次に、治験責任医師により更に奏効する可能性が低いと思われる6ヶ月～12ヶ月の免疫療法後に部分奏効を有する患者も、研究に参加する資格があった。

【0074】

予定された時点（すなわち、スクリーニング来院、並びに来院10、来院12、及び来院14）であるとともに、疾患の増悪の疑いがある場合に、治験責任医師は、これが患者の最善の利益であれば、疑われる進行性疾患を文書化するのに必要とされるあらゆる追加の調査を行う。腫瘍評価は、施設のガイドライン又は現場の放射線科スタッフによる慣行に従って行われる。画像診断は、投与前（ECI-006による治療前の4週間以内）、何らかの治療の遅れの可能性にもかかわらず、治療開始の12週間（±2日）後、18週間（±5日）後、及び24週間（±5日）後に行われる。

【0075】

スクリーニング来院時に、腫瘍評価は、臨床的評価、実験室評価、及びCT評価（好ましい）、そして場合によってはMRIスキャンに基づく。胸部、腹部、骨盤、及び脳に加えて、全ての既知の疾患部位を評価する。全てのベースライン評価は、治療開始のできるだけ近くで、治療前の4週間以内に行われる。その後の評価には、胸部、腹部、及び骨盤、並びに全ての既知の疾患部位が含まれ、ベースライン時に使用されたのと同じ画像診断法が使用される。

【0076】

放射線療法及び化学療法の抗腫瘍活性を評価する至適診断基準は、固形腫瘍における奏効評価基準（RECIST）である。しかしながら、癌免疫療法の開発中に、RECISTが最適ではないことがすぐに明らかになった。腫瘍退縮に先立つ免疫細胞の浸潤（「腫瘍「フレア」」又は「偽増悪」と呼ばれる）による腫瘍サイズの増加が観察される場合がある。RECISTを使用すると、これは進行性疾患と見なされ、その後の臨床的奏効が見落とされることとなる。したがって、「偽増悪」を考慮して免疫関連基準を開発した。したがって、RECIST 1.1（Eisenhauer et al. 2009）による腫瘍評価の次に、腫瘍をiRECISTに従っても評価する。iRECISTは、RECISTワーキンググループに代わって免疫療法剤に対する奏効を評価するための規格化をもたらすために開発された（Seymour et al. 2017）。

【0077】

RECIST 1.1による有効性評価

全体的な腫瘍負荷及び測定可能な疾患の評価

療法に対する腫瘍奏効を評価するには、ベースライン時の全体的な腫瘍負荷を推定し、これをその後の測定についての比較器として使用することが不可欠である。測定可能な疾患は、少なくとも1つの測定可能な腫瘍病変の存在によって定義される。CTスキャンが5mmより大きなスライス厚を有する場合に、測定可能な病変の最小サイズはスライス厚の

10

20

30

40

50

2倍となるはずである。

【0078】

ベースライン時に、腫瘍病変／リンパ節は、以下のように測定可能又は測定不能として分類される。

【0079】

測定可能な病変

測定可能な病変を、少なくとも1つの寸法（記録される測定面の最長径）において、CT／MRIスキャン（5 mm以下のCT／MRIスキャンのスライス厚）による10 mm、臨床検査による10 mmのキャリパー測定値（キャリパーで正確に測定することができない病変は測定不能として記録されるべきである）、の最小サイズで正確に測定しなければならない。

10

【0080】

悪性リンパ節：病理学的に腫脹されて測定可能であると見なされるには、CTスキャンにより評価された場合にリンパ節の短径が15 mm以下でなければならない（CTスキャンのスライス厚は5 mm以下であることが推奨される）。ベースライン時及びフォローアップ中には、その短径のみが測定され、追跡される。

【0081】

測定不能な病変

小さな病変（10 mm未満の最長径又は10 mm以下～15 mm未満の短径を有する病理学的リンパ節）を含む他の全ての病変、及び真に測定不能な病変。

20

真に測定不能と見なされる病変としては、軟髄膜疾患、腹水、胸水又は心嚢液貯留、炎症性乳房疾患、皮膚又は肺のリンパ管病変、身体検査によって特定されるが、再現的な画像診断技術によっては測定不能な腹部腫瘍／腹部臓器腫大が挙げられる。

【0082】

測定方法による仕様

病変の測定

全ての測定値はmmで記録される。全てのベースライン評価は、治療開始のできるだけ近くで、かつ治療開始前の28日以内に行われる。

【0083】

評価方法

ベースライン時及びフォローアップ中に、特定され報告された各病変を特徴付けるのに、同じ評価方法及び同じ技術を使用する。追跡される病変（複数の場合もある）を画像診断することができないが、臨床検査によって評価可能であるという場合を除き、臨床検査よりも画像診断に基づく評価が好ましい。

30

【0084】

CT／MRIスキャン

CT／MRIは、奏効評価について選択された病変を測定するのに好ましい方法である。CT／MRIスキャンでの病変の測定可能性は、CT／MRIのスライスの厚さが5 mm以下であるという仮定に基づく。スキャンが5 mmのスライス厚を有する場合に、測定可能な病変の最小サイズはスライス厚の2倍となるはずである。

40

【0085】

胸部X線

胸部CTは、特に新病変の特定においてX線よりも感度が高いため、胸部X線よりも好ましい。

【0086】

臨床病変

臨床病変は、これらが表在性であり、キャリパーを使用して評価して10 mm以上の径である場合にのみ測定可能と見なされる。皮膚病変の場合については、病変のサイズを推定する目盛りを含むカラー写真による文書化が提案される。上記のように、病変を画像診断及び臨床検査の両方によって評価することができる場合には、画像診断による評価に取

50

り組むべきである。

【0087】

超音波検査

超音波検査は測定方法として使用されない。研究の実施中に超音波検査によって新病変が特定された場合には、CT又はMRIによる確認が推奨される。

【0088】

「標的病変」及び「非標的病変」のベースライン文書化

標的病変

ベースライン時に複数の測定可能な病変が存在する場合に、全ての病変から罹患された全ての臓器を表す合計最大5つまでの病変（及び臓器ごとに最大2つの病変）までが標的病変として特定され、ベースライン時に記録及び測定される。

10

【0089】

標的病変は、それらのサイズ（最長径を有する病変）に基づいて選択され、罹患された全ての臓器を表すものであり、再現性のある反復測定に適しているはずである。

【0090】

全ての標的病変についての径和（SoD、非リンパ節病変の場合に最長、リンパ節病変の場合に短径）を計算し、ベースライン径和として報告する。リンパ節を合計に含めるべきであれば、以下に示されるように短径のみを合計に加える。ベースラインSoDは、疾患の測定可能な寸法におけるあらゆる客観的な腫瘍退縮を更に特徴付ける基準として使用される。

20

【0091】

リンパ節

リンパ節は正常な解剖学的構造物であり、これらは腫瘍に罹患していなくても画像診断により視認可能である場合がある。測定可能と定義され、標的病変として特定され得る病理学的リンパ節は、CTスキャンによって15 mm以上の短径という基準を満たさなければならない。これらのリンパ節の短径のみがベースライン合計に寄与する。10 mm未満の短径を有するリンパ節は非病理学的と見なされ、記録又は追跡されるべきではない。

【0092】

非標的病変

病理学的リンパ節を含む他の全ての病変（又は疾患部位）は、非標的病変として特定され、またベースライン時に記録される。測定は必要とされず、これらの病変は「存在する」、「存在しない」、又は稀な場合に「明らかな増悪」として追跡される。さらに、症例報告書における単一の項目として、同じ臓器を罹患する複数の非標的病変を記録することが可能である。

30

【0093】

RECIST 1.1による腫瘍奏効評価

標的病変の評価

完全奏効（CR）：全ての標的病変の消失。病理学的リンパ節（標的又は非標的にかかわらず）は、10 mm未満の短径を有しなければならない。

部分奏効（PR）：ベースライン径和と比較した標的病変のSoDの少なくとも30%の減少。

40

進行性疾患（PD）：研究における最小合計（これは、研究における最小であればベースライン合計を含む）を基準とした標的病変のSoDの少なくとも20%の増加。20%の相対的な増加に加えて、合計は少なくとも5 mmの絶対的な増加も示さなければならない。

注：1つ以上の新病変の発生も増悪と見なされる。

安定疾患（SD）：研究中の最小の径和を基準として、PRに適格となるのに十分な収縮も、PDに適格となるのに十分な増加もない。

【0094】

「小さすぎて測定不能」な標的病変

ベースライン時に記録された全ての病変（リンパ節性及び非リンパ節性）は、その後の

50

各評定で記録されたそれらの実際の測定値を有するが、それでも非常に小さい。放射線科医が実際の測定値を提供することができる場合には、測定値は5 mm未満であっても記録される。

【0095】

治療において分裂又は融合する標的病変

非リンパ節病変が「断片化」する場合には、断片化された部分の最長径を足し合わせて、標的病変の合計を計算する。

【0096】

病変が融合すると、病変間の平面が維持される場合があり、これは個々の病変の最大径測定値の取得に役立つ。病変が真に融合して、もはや分離不可能である場合に、この場合の最長径のベクトルは「融合病変」の最大最長径である。

【0097】

非標的病変の評定

一部の非標的は実際には測定可能である場合があるが、これらを測定する必要はなく、代わりにプロトコルで指定された時点で定性的に評価するだけである。

CR：全ての非標的病変の消失。全てのリンパ節は非病理学的なサイズ（10 mm未満の短径）でなければならない。

非CR／非PD：正常限界を上回る1つ以上の非標的病変の残存、

PD：既存の非標的病変の明らかな増悪、

注：1つ以上の新病変の出現も増悪と見なされる。

【0098】

非標的疾患における明らかな増悪

非標的疾患に基づいて「明らかな増悪」に達するには、標的疾患においてSD又はPRが存在しても、全体的な腫瘍負荷が療法の中断に値するほど十分に増加するような、非標的疾患において全体的なレベルの実質的な悪化が見られなければならない。

【0099】

1つ以上の非標的病変のサイズにおける適度な「増加」は、通常は、明らかな増悪状態に適格となるほど十分ではない。

【0100】

新病変

新しい悪性病変の出現は、疾患の増悪を示す。新病変の所見は、明白であるべきである：すなわち、スキャン技術の違い、画像診断法の変化、又は腫瘍以外の何かを表すと考えられる所見（例えば、一部の「新しい」骨病変は、単に既存の病変の治癒又はフレアである可能性がある）に起因するべきでない。これは特に重要であり、その際、患者のベースライン病変はPR又はCRを示す。例えば、肝臓病変の壊死は、CTスキャンで「新しい」嚢胞性病変と報告される場合があるが、そうではない。

【0101】

ベースライン時にスキャンされなかった解剖学的位置におけるフォローアップ来院で特定された病変は、新病変と見なされ、疾患の増悪を示す。この一例は、ベースライン時に内臓疾患を患っていた、研究中にCR又はMRI脳スキャンが命じられて転移が明らかにされた患者である。患者の脳転移は、ベースライン時にその患者が脳画像診断を受けなかったとしても、PDの証拠であると見なされる。

【0102】

新病変が、例えば、その小さいサイズのため明確でない場合に、継続的な療法及びフォローアップ評定により、これが真に新しい疾患を表すかどうかを明らかにする。繰り返しのスキャンにより確実に新病変が見られることが確認されたら、最初のスキャンの日付を使用して増悪が表されるべきである。

【0103】

奏効基準（RECIST 1.1）

ベースライン時に測定可能な疾患を有する患者について、表1は、各時点での全体的な

10

20

30

40

50

奏効の計算の要約を示している。

【0104】

表1 時点奏効－標的疾患を有する（非標的疾患を有する又は有しない）患者

【表1】

標的病変	非標的病変	新病変	全奏効
CR	CR	No	CR
CR	Non-CR/non-PD	No	PR
CR	Not evaluated	No	PR
PR	Non-PD or not all evaluated	No	PR
SD	Non-PD or not all evaluated	No	SD
Not all evaluated	Non-PD	No	Not evaluable
PD	Any	Yes or No	PD
Any	PD	Yes or No	PD
Any	Any	Yes	PD

10

20

【0105】

スキヤンの確認

奏効の検証：奏効の確認は、RECIST 1.1による研究結果の解釈に付加価値を与えないため、必要とされない。

【0106】

増悪の検証：PDの最初の評価後の4週間から8週間の間で増悪が明確でない場合には、疾患の増悪を検証する。繰り返しのスキヤンによりPDが確認されたら、最初のスキヤンの日付を使用して増悪を表す。繰り返しのスキヤンによりPDが確認されなければ、患者はRECIST 1.1によるPDを有しないと見なされる。

30

【0107】

最良全奏効

患者についての全てのデータが分かったら、最良全奏効を決定する。最良全奏効は、治療開始の日付と、RECIST 1.1による客観的に文書化された増悪の日付又はその後の療法の日付のいずれか早い方の日付との間に記録された、治験責任医師によって決定される最良奏効の指定として定義される。文書化された増悪又はその後の療法を伴わない患者の場合は、利用可能なあらゆる奏効の指定がBOR評価に寄与する。患者のBOR評価は、標的疾患及び非標的疾患の両方の所見に依存し、新病変の出現も考慮に入れる。

40

【0108】

iRECISTによる有効性評価

iRECISTは古典的なRECISTに基づき、免疫療法の抗腫瘍活性を最適に評価するために改良されている。非標的病変及び標的病変の選択及び測定は、RECIST 1.1と同じである。しかしながら、新病変の評定及び管理は異なっている。

【0109】

RECISTに対するiRECISTの変化

新病変の管理

50

RECIST1.1においては、新病変は記録されるだけで、測定はされない。新病変の出現は常に、患者が進行性疾患（PD）を有することを意味する。iRECISTにおいて、全奏効は新病変が発生するか否かだけでなく、新病変の進展の有無に依存するため、新病変は測定され、フォローアップされる。

【0110】

これまで、新病変は、RECIST 1.1の原則を使用して評価されている：

新病変を、測定可能又は測定不能として分類する。

新しい標的病変（最大5つ、部位ごとに最大2つ）を選択する。新しい標的病変を測定する。新病変の径は、ベースライン時に特定された標的病変の測定値の合計に含まれるべきではないが、新しい標的病変の径和として記録される。

10

その他の新病変（測定可能／測定不能）を、新しい非標的病変として記録し、評価時点ごとに存在しない、存在する、増加する、明らかな増加として報告する。

次の評価により増悪が確認されなければ、新病変はその後の安定疾患又は部分奏効について解決する必要はない。

【0111】

奏効の評定

iRECISTの奏効の用語体系

接頭辞「i」が付いたRECIST 1.1と同様の奏効：

標的病変について：

iCR／iPR：免疫完全奏効／免疫部分奏効、

iSD：免疫安定疾患、

iUPD／iCPD：免疫未確定／確定進行性疾患（下記参照）

20

非標的病変について：

iCR：免疫完全奏効、

非iCR／非iPD：正常限界を上回る1つ以上の非標的病変の残存、

iPD：免疫進行性疾患。

【0112】

時点奏効

RECIST1.1においては、患者がPDを有すると評定されると、その患者は常にPDを有したままとなる。しかしながら、上記のように、免疫療法では、部分奏効又は完全奏効が後に続く偽増悪の可能性がある。この奏効は、RECIST 1.1では見落とされている。したがって、最初の時点で、患者はRECIST1.1によればPDで評定され、これはiRECISTにとっては「未確定」であり、iUPD（免疫未確定進行性疾患：immune Unconfirmed Progressive Disease）と呼ばれる。

30

【0113】

次いで、iUPDを、後続の腫瘍評価（iUPD評価の時点の後の4週間から8週間の間）で確定しなければならない。

【0114】

確定されたら、患者はiCPD（免疫確定進行性疾患：immune Confirmed Progressive Disease）を有している。

40

【0115】

確定されなければ、患者はiUPDのままであるか、又は安定疾患若しくは部分奏効若しくは完全奏効に進展するかのいずれかとなり得る。

【0116】

これは、時点奏効が動的であり、iCR、iPR、iSDについてはベースラインからの変化に基づき、又はPDについては最下点からの変化に基づくことを意味する。

【0117】

表2：iRECISTの奏効基準

50

【表 2】

標的病変	非標的病変	新病変	全奏効	
			以前にiUPDではない	以前にiUPDである
ICR	ICR	No	ICR	ICR
iCR	Non-iCR/non-iPD	No	iPR	iPR
iPR	Non-iCR/non-iPD	No	iPR	iPR
iSD	Non-iCR/non-iPD	No	iSD	iSD
最後の時点から変化又は減少を伴わないiUPD	最後の時点から変化又は減少を伴わないiUPD	Yes	NA	新病変が以前に特定され、数又はサイズが増加（新しい標的病変の場合は径和が5 mm以上、及び／又は新しい非標的病変の場合は増加）した場合に、新病変をiCPDと確定する。最後の時点から新病変（サイズ又は数）に変化がない場合に、iUPDのままである。
iSD, iPR, iCR	iUPD	No	iUPD	非標的病患のサイズの更なる増加に基づいてiCPDが確定されない限り、iUPDのままである（明らかなPDについてのRECIST 1.1基準を満たす必要はない）。
iUPD	Non-iCR/Non-iUPD; iCR	No	iUPD	少なくとも5 mmの径和の更なる増加（それ以外の場合はiUPDのままである）、に基づいてiCPDが確定されない限り、iUPDのままである。
iUPD	iUPD	No	iUPD	5 mm以上の径和で以前に特定された標的病変のiUPD、及び／又は、非標的病変のiUPD（事前評価-明らかなPDである必要はない）、の更なる増加に基づいてiCPDが確定されない限り、iUPDのままである。
iUPD	iUPD	Yes	iUPD	5 mm以上の径和で以前に特定された標的病変のiUPD、及び／又は、以前に特定された非標的病変のiUPD（明白である必要はない）、及び／又は、以前に特定された新病変のサイズ又は数、の更なる増加に基づいてiCPDが確定されない限り、iUPDのままである。
Non-iUPD/PD	Non-iUPD/PD	Yes	iUPD	以前に特定された新病変のサイズ又は数の増加に基づいてiCPDが確定されない限り、iUPDのままである。

10

20

30

40

【0118】

結果

最初の患者を研究に登録した。患者は76歳であり、ステージIVの肺、腺、及び腹部に転移した悪性黒色腫を有すると診断されている。患者は2019年3月にイピリマブ及びニボルマブに基づく組合せ免疫療法で始めて、ニボルマブ単剤療法（2週間ごとに240 mg）による維持療法を続けた。2019年12月から2020年5月まで、患者は実施例1で定義された現在の研究に用量レベルII（それぞれ1800 µgの9回の投与）で参加した。

【0119】

表3から明らかなように、患者の放射線学的な再評価により、安定疾患とともに、更に

50

8.6%の標的病変の減少が確認された。

【0120】

表3：様々な来院にわたる標的病変のサイズ

【表3】

標的病変	2019年12月10日の スクリーニング来院	2020年3月5日の来院10	2020年5月29日のEoS来院
右肺	12 mm	11 mm	09 mm
左肺	13 mm	13 mm	12 mm
リンパ節	25 mm	23 mm	23 mm
副腎	22 mm	22 mm	22 mm
合計	72 mm	69 mm	66 mm

10

【0121】

さらに、患者は、「これほど気分が良くなったことはない」、「とても気分が良い」等の、治療が患者の生活の質に良い影響を与えていることを確認する幾つかの発言をしていた。最後に、患者が最大40 kmの歩行が可能であり、疲れを感じることなく車で長距離（1000 km超）を運転することができるという事実によって確認されるように、患者は非常に活力を感じている。

【0122】

したがって、これらの結果により、本特許請求の範囲に記載される組合せ物が、第一選択チェックポイント阻害剤療法後に最良の客観的奏効として安定疾患を有する転移性癌患者の治療における有益なツールであることが確認される。

20

【0123】

参考文献

Bonehill A et al., 2008. Enhancing the T-cell stimulatory capacity of human dendritic cells by co-electroporation with CD40L, CD70 and constitutively active TLR4 encoding mRNA. *Mol Ther.* 2008 Jun;16(6):1170-80.

Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer.* 2009 Jan;45(2):228-47.

Schwartz LH et al., 2016. RECIST 1.1 - Update and Clarification: From the RECIST Committee. *Eur. J. Cancer.* 2016 Jul;62:132-37.

Seymour L, Bogaerts J, Perrone A, Ford R, Schwartz LH, Mandrekar S, Lin NU, Litiere S, Dancey J, Chen A, Hodi FS, Therasse P, Hoekstra OS, Shankar LK, Wolchok JD, Ballinger M, Caramella C, de Vries EG; RECIST working group. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trial testing immunotherapeutics. 2017 Mar;18(3):e143-e152

Van Lint S, Goyvaerts C, Maenhout S, Goethals L, Disy A, Benteyn D, et al. Preclinical evaluation of TriMix and antigen mRNA-based antitumor therapy. *Cancer Res.* 2012 Apr 1;72(7):1661-71.

Van Lint S, Renmans D, Broos K, Dewitte H, Lentacker I, Heirman C, et al. The ReNAissance of mRNA-based cancer therapy. *Expert Rev Vaccines.* 2015 Feb;14(2):235-51.

30

40

【手続補正書】

【提出日】令和3年4月27日(2021.4.27)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

第一選択チェックポイント阻害剤療法後に最良の客観的奏効として安定疾患を有する転移性黒色腫瘍患者の治療において使用される、 10

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードする1つ以上のmRNA分子と、
黒色腫瘍関連抗原をコードする1つ以上のmRNA分子と、
を含む組合せ物。

【請求項2】

チェックポイント阻害剤療法と組み合わせられる、請求項1に記載の使用のための組合せ物。

【請求項3】

前記黒色腫瘍関連抗原は、チロシナーゼ、糖タンパク質100(gp100)、黒色腫関連抗原A3(MAGE A3)、黒色腫関連抗原C2(MAGEC2)、黒色腫で優先的に発現される抗原(PRAME)、及びニューヨーク食道扁平上皮癌1(NY-ESO-1)を含むリストから選択される、請求項1又は2に記載の使用のための組合せ物。 20

【請求項4】

少なくとも6ヶ月の第一選択チェックポイント阻害剤療法後に最良の客観的奏効として安定疾患を有する転移性黒色腫瘍患者の治療における、請求項1～3のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

【請求項5】

前記チェックポイント阻害剤療法は、抗PD-1療法及び抗CTLA4療法、好ましくは、抗PD-1療法から選択される、請求項1～4のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。 30

【請求項6】

前記抗PD-1療法は、ニボルマブ(BMS-936558/MDX1106)、ピジリズマブ(CT-011)、及びペムブロリズマブ(MK-3475)、好ましくはペムブロリズマブ(MK-3475)を含むリストから選択されるようなPD-1に対する拮抗抗体である、請求項5に記載の使用のための組合せ物。

【請求項7】

前記1つ以上のmRNA分子は、非経口投与用、より特に、静脈内投与用、腫瘍内投与用、皮内投与用、皮下投与用、腹腔内投与用、筋肉内投与用、又はリンパ節内投与用、好ましくは、リンパ節内投与用に製剤化される、請求項1～6のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。 40

【請求項8】

請求項1に記載され、

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、

チロシナーゼ、糖タンパク質100(gp100)、黒色腫関連抗原A3(MAGEA3)、黒色腫関連抗原C2(MAGEC2)、及び黒色腫で優先的に発現される抗原(PRAME)をコードするmRNA分子と、

を含む組合せ物であって、

ペムブロリズマブと組み合わせられ、

リンパ節内投与による転移性黒色腫瘍患者の治療において使用される、前記患者は、6ヶ月の第一選択ペムブロリズマブ療法後に最良の客観的奏効として安定疾患と診断されてい 50

る、組合せ物。

【請求項 9】

請求項 1 に記載され、

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、

チロシナーゼ、糖タンパク質100 (gp100)、黒色腫関連抗原A3 (MAGEA3)、黒色腫関連抗原C2 (MAGE C2)、及びニューヨーク食道扁平上皮癌1 (NY-ESO-1) をコードするmRNA分子と、

を含む組合せ物であって、

ペムブロリズマブと組み合わせられ、

リンパ節内投与による転移性黒色腫癌患者の治療において使用される、前記患者は、6ヶ月の第一選択ペムブロリズマブ療法後に最良の客観的奏効として安定疾患と診断されている、組合せ物。

10

【請求項 10】

請求項 1 に記載され、

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、

チロシナーゼ、糖タンパク質100 (gp100)、黒色腫関連抗原A3 (MAGEA3)、黒色腫関連抗原C2 (MAGE C2)、及び黒色腫で優先的に発現される抗原 (PRAME) をコードするmRNA分子と、

を含む組合せ物であって、

ペムブロリズマブと組み合わせられ、

リンパ節内投与による転移性黒色腫癌患者の治療において使用される、前記患者は、6ヶ月の第一選択ニボルマブ療法後に最良の客観的奏効として安定疾患と診断されている、組合せ物。

20

【請求項 11】

請求項 1 に記載され、

CD40L、caTLR4、及びCD70をコードするmRNA分子と、

チロシナーゼ、糖タンパク質100 (gp100)、黒色腫関連抗原A3 (MAGEA3)、黒色腫関連抗原C2 (MAGE C2)、及びニューヨーク食道扁平上皮癌1 (NY-ESO-1) をコードするmRNA分子と、

を含む組合せ物であって、

ペムブロリズマブと組み合わせられ、

リンパ節内投与による転移性黒色腫癌患者の治療において使用される、前記患者は、6ヶ月の第一選択ニボルマブ療法後に最良の客観的奏効として安定疾患と診断されている、組合せ物。

30

【請求項 12】

前記組合せ物は、以下の投与スキーム：

投与1～投与5：それぞれ約1週間の間隔で、

投与6：投与5の約2週間後、

投与7：投与6の約3週間後、

投与8：投与7の約6週間後、

投与9：投与8の約6週間後、

40

に従って投与される、請求項1～11のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

【請求項 13】

前記組合せ物は、以下の投与スキーム：

投与1～投与5：それぞれ約1週間の間隔で、

投与6：投与5の約2週間後、

投与7：投与6の約3週間後、

投与8：投与7の約6週間後、

投与9：投与8の約6週間後、

に従って投与され、かつ前記チェックポイント阻害剤療法は、前記組合せ物と同日に、投

50

与1、投与4、投与6、投与7、投与8、及び投与9の前に、それらと同時に、又はそれらの後に施される、請求項2～11のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

【請求項14】

前記チェックポイント阻害剤療法は、投与7と投与8との間、及び投与8と投与9との間に更に施される、請求項13に記載の使用のための組合せ物。

【請求項15】

前記組合せ物は、

CD40Lをコードする約300 µgのmRNAと、

caTLR4をコードする約300 µgのmRNAと、

CD70をコードする約300 µgのmRNAと、

黒色腫瘍関連抗原（複数の場合もある）をコードする約900 µgのmRNAと、を含む、請求項1～14のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

10

【請求項16】

前記組合せ物は、

CD40Lをコードする約600 µgのmRNAと、

caTLR4をコードする約600 µgのmRNAと、

CD70をコードする約600 µgのmRNAと、

黒色腫瘍関連抗原（複数の場合もある）をコードする約1800 µgのmRNAと、を含む、請求項1～14のいずれか一項に記載の使用のための組合せ物。

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2020/068217

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/00 A61K31/7105 A61K39/395 A61P35/04
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K C07K A61P

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)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, FSTA, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	US 2014/056939 A1 (THIELEMANS KRIS MARIA MAGDALENA [BE] ET AL) 27 February 2014 (2014-02-27) paragraphs [0012], [0014], [0197] - [0203], [0044], [0290] - [0294], [0298], [0302]; claims 1-18; examples 11-13 ----- -/--	1-7, 10, 11 8, 9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 September 2020

Date of mailing of the international search report

12/10/2020

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

Habedanck, Robert

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2020/068217

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ANA MARIA ARANCE FERNANDEZ ET AL: "A phase I study (E011-MEL) of a TriMix-based mRNA immunotherapy (ECI-006) in resected melanoma patients: Analysis of safety and immunogenicity.", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 37, no. 15 suppl, 20 May 2019 (2019-05-20), pages 2641-2641, XP055648140, US ISSN: 0732-183X, DOI: 10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.2641	1-7, 10-14
A	abstract	8,9
A	Anonymous: "Safety of Intranodal ECI-006 in Melanoma Patients - Full Text View - ClinicalTrials.gov", 26 June 2019 (2019-06-26), XP055648144, Retrieved from the Internet: URL:https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03394937 [retrieved on 2019-12-02] page 2	1-14
A	KALIJN F BOL ET AL: "Intranodal vaccination with mRNA-optimized dendritic cells in metastatic melanoma patients", ONCOIMMUNOLOGY, vol. 4, no. 8, 3 August 2015 (2015-08-03), page e1019197, XP055647332, US ISSN: 2162-4011, DOI: 10.1080/2162402X.2015.1019197	1-14
A	abstract	
A	WILGENHOF SOFIE ET AL: "Therapeutic vaccination with an autologous mRNA electroporated dendritic cell vaccine in patients with advanced melanoma", JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, US, vol. 34, no. 5, 1 June 2011 (2011-06-01), pages 448-456, XP009174114, ISSN: 1537-4513, DOI: 10.1097/CJI.0B013E31821DCB31	1-14
	abstract	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2020/068217

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2014056939 A1	27-02-2014	US 2014056939 A1	27-02-2014
		US 2017000881 A1	05-01-2017
		US 2018133311 A1	17-05-2018
		US 2019216922 A1	18-07-2019

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	39/395	E
A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	39/395	T

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,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,K
G,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,N
I,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,
TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100225015

弁理士 中島 彩夏

(72)発明者 クールス, マリーナ

ベルギー, 2 8 4 5 ニール, ガリレイラーン 1 9

(72)発明者 ヴァン アッシュ, ティム

ベルギー, 2 8 4 5 ニール, ガリレイラーン 1 9

(72)発明者 デ ケースマーカー, ブレンダ

ベルギー, 2 8 4 5 ニール, ガリレイラーン 1 9

F ターム (参考) 4C084 AA13 AA22 MA02 NA05 ZB261 ZB262

4C085 AA13 AA14 BB11

4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA04 NA05 NA14 ZB26