

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-512950
(P2025-512950A)

(43)公表日 令和7年4月22日(2025.4.22)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	45/06 (2006.01)	A 6 1 K	45/06		4 C 0 8 4
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	Z N A	4 C 0 8 5
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1	4 C 0 8 6
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	4 C 2 0 6
A 6 1 K	38/17 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全77頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-559130(P2024-559130)			(71)出願人	524252194
(86)(22)出願日	令和5年4月7日(2023.4.7)				インヒブルクス バイオサイエンシズ インコーポレイテッド
(85)翻訳文提出日	令和6年11月26日(2024.11.26)				アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 1 1 0 2 5 スイート 1 4 0
(86)国際出願番号	PCT/US2023/065489			(74)代理人	110000796
(87)国際公開番号	WO2023/196943				弁理士法人三枝国際特許事務所
(87)国際公開日	令和5年10月12日(2023.10.12)			(72)発明者	クラゴ ウィリアム
(31)優先権主張番号	63/328,951				アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 1 1 0 2 5 スイート 1 4 0 シー／オー インヒブルクス バイオサイエンシズ インコーポレイテッド
(32)優先日	令和4年4月8日(2022.4.8)			(72)発明者	エッケルマン ブレンダン ピー。
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				最終頁に続く
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV				最終頁に続く

(54)【発明の名称】 D R 5 アゴニストと P L K 1 阻害剤又は C D K 阻害剤との併用療法

(57)【要約】
D R 5 アゴニストと P L K 1 阻害剤との組合せを用いて癌を治療する方法を本明細書で提供する。D R 5 アゴニストと C D K 阻害剤との組合せを用いて癌を治療する方法も本明細書で提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

治療を必要とする被験体において癌を治療する方法であって、該被験体に（a）細胞死受容体 5（DR5）アゴニスト及び（b）ポロ様キナーゼ 1（PLK1）阻害剤を投与することを含む、方法。

【請求項 2】

前記 DR5 アゴニストが、INBRX-109、エフトザネルミンアルファ（ABBV-621）、IGM-8444（IGM Biosciences）、BI 905711（Boehringer Ingelheim）、GEN1029（HexaBody（商標）-DR5/DR5；Genmab）、TAS266（Novartis）、MM-201a（Merrimack Pharmaceuticals）又は MM201-b（Merrimack Pharmaceuticals）である、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

前記 DR5 アゴニストが INBRX-109 である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記 DR5 アゴニストが DR5 結合性ポリペプチドである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 DR5 結合性ポリペプチドが少なくとも四価である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記 DR5 結合性ポリペプチドが、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む CDR1 と、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む CDR2 と、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む CDR3 とを含む少なくとも 1 つの VHH ドメインを含む、請求項 3～5 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 7】

前記少なくとも 1 つの VHH ドメインが、配列番号 4 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % 又は 100 % 同一のアミノ酸配列を含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記 DR5 結合性ポリペプチドが、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む VHH ドメインを含む、請求項 3～7 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 9】

前記 DR5 結合性ポリペプチドが Fc 領域を含む、請求項 3～8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記 Fc 領域が配列番号 6 のアミノ酸配列を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記 DR5 結合性ポリペプチドが、VHH-リンカー-VHH-リンカー-Fc の構造を有する、請求項 3～10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

各 VHH ドメインが、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む CDR1 と、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む CDR2 と、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む CDR3 とを含む、請求項 3～11 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 13】

VHH-リンカー-VHH が、配列番号 5 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % 又は 100 % 同一のアミノ酸配列を含む、請求項 3～12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

VHH-リンカー-VHH が配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

50

前記 D R 5 結合性ポリペプチドが、配列番号 7 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % 又は 100 % 同一のアミノ酸配列を含む、請求項 3 ~ 14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

前記 D R 5 結合性ポリペプチドが配列番号 7 のアミノ酸配列を含む、請求項 3 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

前記 D R 5 結合性ポリペプチドが配列番号 7 のアミノ酸配列からなる、請求項 3 ~ 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記 P L K 1 阻害剤が小分子又は干渉 RNA (s i R N A) である、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

前記 P L K 1 阻害剤が、オンバンセルチブ、ボラセルチブ、リゴセルチブ、B I 2 5 3 6 (Boehringer Ingelheim)、N - [[4 - [(6 - クロロ - 3 - ピリジニル) メトキシ] - 3 - メトキシフェニル] メチル] - 3 , 4 - ジメトキシベンゼンエタンアミン塩酸塩 (S B E 1 3 H C l)、M L N 0 9 0 5 (Takeda Oncology)、G S K 4 6 1 3 6 4 (GlaxoSmithKline)、ポロキシシン、ポロキシシン - 2 H T、R O 3 2 8 0 (C A S 番号 1 0 6 2 2 4 3 - 5 1 - 9)、H M N - 2 1 4 (C A S 番号 1 7 3 5 2 9 - 4 6 - 9)、H M N - 1 7 6 (C A S 番号 1 7 3 5 2 9 - 1 0 - 7)、2 - シアノ - 2 - [3 - エチル - 4 - オキソ - 5 - [[3 - (2 - ピロリジン - 1 - イルエチル) アニリノ] メチル] - 1 , 3 - チアゾリジン - 2 - イル] - N - (2 , 2 , 2 - トリフルオロエチル) アセトアミド (Z K - チアゾリジノン) 又はシクラポリン 9 (C A S 番号 4 0 5 3 3 - 2 5 - 3)、5 - (5 , 6 - ジメトキシ - 1 H - ベンズイミダゾール - 1 - イル) - 3 - [[2 - (トリフルオロメチル) フェニル] メトキシ] - 2 - チオフェンカルボキサミド (G W 8 4 3 6 8 2 X) である、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記 P L K 1 阻害剤が、オンバンセルチブ、ボラセルチブ、リゴセルチブ、B I 2 5 3 6 (Boehringer Ingelheim)、M L N 0 9 0 5 (Takeda Oncology)、G S K 4 6 1 3 6 4 (GlaxoSmithKline)、C Y C 1 4 0 (Cyclacel)、T K M - 0 8 0 3 0 1 (T K M - P L K 1 ; Arbutus Biopharma) 又は T A K - 9 6 0 (武田薬品工業株式会社) である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記 P L K 1 阻害剤がオンバンセルチブである、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記 D R 5 アゴニスト及び前記 P L K 1 阻害剤を別々に投与する、請求項 1 ~ 21 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

前記 D R 5 アゴニスト及び前記 P L K 1 阻害剤を順次投与する、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記 D R 5 アゴニストの少なくとも 1 つの用量又は最初の用量を前記 P L K 1 阻害剤の前に投与する、請求項 22 又は 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記 D R 5 アゴニストの少なくとも 1 つの用量又は最初の用量を前記 P L K 1 阻害剤の後に投与する、請求項 22 又は 23 に記載の方法。

【請求項 26】

前記 D R 5 アゴニスト及び前記 P L K 1 阻害剤を併用投与する、請求項 1 ~ 21 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 27】

前記 DR5 アゴニスト及び前記 PLK1 阻害剤が相乗的に作用する、請求項 1～26 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

相乗作用を *in vitro* 細胞生存アッセイにおいて決定する、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記 DR5 アゴニスト及び前記 PLK1 阻害剤の投与が、各作用物質の単独投与と比較して相乗効果をもたらす、請求項 1～28 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

治療を必要とする被験体において癌を治療する方法であって、該被験体に (a) 細胞死受容体 5 (DR5) アゴニスト及び (b) サイクリン依存性キナーゼ (CDK) 阻害剤を投与することを含む、方法。

【請求項 31】

前記 DR5 アゴニストが、INBRX-109、エフトザネルミンアルファ (ABBV-621)、IGM-8444 (IGM Biosciences)、BI 905711 (Boehringer Ingelheim)、GEN1029 (HexaBody (商標)-DR5/DR5; Genmab)、TAS266 (Novartis)、MM-201a (Merrimack Pharmaceuticals) 又は MM201-b (Merrimack Pharmaceuticals) である、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記 DR5 アゴニストが INBRX-109 である、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 33】

前記 DR5 アゴニストが DR5 結合性ポリペプチドである、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 34】

前記 DR5 結合性ポリペプチドが少なくとも四価である、請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

前記 DR5 結合性ポリペプチドが、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む CDR1 と、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む CDR2 と、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む CDR3 とを含む少なくとも 1 つの VHH ドメインを含む、請求項 32～34 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 36】

前記少なくとも 1 つの VHH ドメインが、配列番号 4 のアミノ酸配列と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 99 % 又は 100 % 同一のアミノ酸配列を含む、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

前記 DR5 結合性ポリペプチドが、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む VHH ドメインを含む、請求項 32～36 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

前記 DR5 結合性ポリペプチドが Fc 領域を含む、請求項 32～37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

前記 Fc 領域が配列番号 6 のアミノ酸配列を含む、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 40】

前記 DR5 結合性ポリペプチドが、VHH-リンカー-VHH-リンカー-Fc の構造を有する、請求項 32～39 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 41】

各 VHH ドメインが、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む CDR1 と、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む CDR2 と、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む CDR3 とを含む、請求項 32～40 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 4 2】

V H H－リンカー－V H Hが、配列番号 5 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 %又は 1 0 0 %同一のアミノ酸配列を含む、請求項 3 2～4 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 3】

V H H－リンカー－V H Hが配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記 D R 5 結合性ポリペプチドが、配列番号 7 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 9 %又は 1 0 0 %同一のアミノ酸配列を含む、請求項 3 2～4 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記 D R 5 結合性ポリペプチドが配列番号 7 のアミノ酸配列を含む、請求項 3 2～4 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記 D R 5 結合性ポリペプチドが配列番号 7 のアミノ酸配列からなる、請求項 3 2～4 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記 C D K 阻害剤が C D K 9 阻害剤である、請求項 3 0～4 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記 C D K 阻害剤が小分子である、請求項 3 0～4 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記 C D K 阻害剤が、フラボピリドール、セリシクリブ、ジナシクリブ、アツベシクリブ、エニトシクリブ、A Z D 4 5 7 3、i－C D K 9 又は N V P－2 である、請求項 3 0～4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記 C D K 阻害剤が、ジナシクリブ、N V P－2、フラボピリドール、エニトシクリブ又は A Z D 4 5 7 3 である、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記 D R 5 アゴニスト及び前記 C D K 阻害剤を別々に投与する、請求項 3 0～5 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記 D R 5 アゴニスト及び前記 C D K 阻害剤を順次投与する、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記 D R 5 アゴニストの少なくとも 1 つの用量又は最初の用量を前記 C D K 阻害剤の前に投与する、請求項 5 1 又は 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記 D R 5 アゴニストの少なくとも 1 つの用量又は最初の用量を前記 C D K 阻害剤の後に投与する、請求項 5 1 又は 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記 D R 5 アゴニスト及び前記 C D K 阻害剤を併用投与する、請求項 3 0～5 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記 D R 5 アゴニスト及び前記 C D K 阻害剤が相乗的に作用する、請求項 3 0～5 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 7】

相乗作用を i n v i t r o 細胞生存アッセイにおいて決定する、請求項 5 6 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 58】

前記 DR5 アゴニスト及び前記 CDK 阻害剤の投与が、各作用物質の単独投与と比較して相乗効果をもたらす、請求項 30～57 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 59】

前記癌が、副腎癌、星状細胞腫、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳癌及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、結腸直腸癌（大腸癌）、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃部癌、胃腸癌、膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓癌又は腎癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口及び／又は咽頭）、卵巣癌、膵臓腺癌等の膵臓癌、下垂体癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、中皮腫、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌又は子宮内膜癌、泌尿器系癌及び外陰癌、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B 細胞リンパ腫、低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球（SL）NHL、中悪性度／濾胞性 NHL、中悪性度びまん性 NHL、高悪性度免疫芽球性 NHL、高悪性度リンパ芽球性 NHL、高悪性度小型非分割細胞 NHL、巨大病変 NHL、マントル細胞リンパ腫、AIDS 関連リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、慢性リンパ性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞白血病、慢性骨髄芽球性白血病、並びにその他の癌腫及び肉腫、並びに移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、並びに母斑症、浮腫（脳腫瘍に関連する浮腫等）及びメイグス症候群に関連する異常血管増殖である、請求項 1～58 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

【請求項 60】

癌を治療する方法に使用される DR5 アゴニストであって、該方法が該 DR5 アゴニストを PLK1 阻害剤と組み合わせて投与することを含む、DR5 アゴニスト。

【請求項 61】

癌を治療するための薬剤の製造への DR5 アゴニストの使用であって、該薬剤が PLK1 阻害剤とともに投与される、使用。

【請求項 62】

癌を治療する方法に使用される DR5 アゴニストであって、該方法が DR5 アゴニストを CDK9 阻害剤等の CDK 阻害剤と組み合わせて投与することを含む、DR5 アゴニスト。

30

【請求項 63】

癌を治療するための薬剤の製造への DR5 アゴニストの使用であって、該薬剤が CDK9 阻害剤等の CDK 阻害剤とともに投与される、使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

【関連出願の相互参照】

本願は、2022 年 4 月 8 日付で出願された米国仮出願第 63／328,951 号の優先権の利益を主張し、その全体があらゆる目的で引用することにより本明細書の一部をなす。

40

【0002】

本発明は、DR5 アゴニストと PLK1 阻害剤との組合せ又は DR5 アゴニストと CDK9 阻害剤等の CDK 阻害剤との組合せを用いた癌の治療に関する。

【背景技術】

【0003】

細胞死受容体 5（DR5；TNFRSF10B 又は TRAILR2 としても知られている）は、TNF 受容体スーパーファミリー（TNFRSF）のメンバーであり、TNF 関連アポトーシス誘導リガンド（TRAIL）に結合する TNF 受容体スーパーファミリーの細胞表面受容体である。TRAIL は、健康な細胞集団から不要な細胞、感染細胞及び

50

悪性細胞を選択的に除去することにより、哺乳動物の発生及び宿主防御において重要な役割を果たすように進化した。T R A I L は、T N F 受容体ファミリーのメンバーである D R 4 又は D R 5 に結合することで、カスパーゼ依存性アポトーシスにより細胞死を誘導する。D R 5 は、T R A I L 経路で観察される腫瘍偏向活性を促進する腫瘍細胞上の主要な受容体のようである。D R 5 は、天然のリガンド T R A I L によって活性化され、3 つの D R 5 受容体を近接させることで、細胞内カスパーゼ-8 を活性化し、カスパーゼ-9 及びカスパーゼ-3 等の他の細胞死誘導カスパーゼの活性化を開始する。このため、この細胞死経路の開始には、効率的な細胞死のための D R 5 受容体のクラスター化が必要とされる。D R 5 アゴニストは、癌の治療に有望な治療候補である。

【0004】

ポロ様キナーゼは、細胞周期進行、中心体周期、有糸分裂、及び D N A 損傷に対する細胞応答に関与する有糸分裂セリン／トレオニンキナーゼファミリーに属する。これまで、P L K 1、P L K 2、P L K 3、P L K 4 及び P L K 5 の 5 つのポロ様キナーゼが哺乳動物細胞において同定されている。ポロ様キナーゼは、多くの真核細胞において高度に保存され、N 末端セリン／トレオニンプロテインキナーゼドメイン（P L K 5 を除く）及びポロボックス（P B）と呼ばれる 1 つ又は 2 つの C 末端類似領域の存在を特徴とする。ポロ様キナーゼファミリーのメンバーのうち、P L K 1 が最もよく特徴付けられている。P L K 1 は、有糸分裂の開始、G 2 / M チェックポイント、紡錘体集合の成熟、染色体の分離、及び有糸分裂の終了を含む細胞周期進行及び有糸分裂の種々の段階において役割を果たす。P L K 1 は、幾つかの腫瘍型において過剰発現され、増殖の増進を引き起こすようである。P L K 1 は、殆どの正常成体組織ではほぼ検出されない。P L K 1 の阻害は、細胞増殖を停止させ、分裂期崩壊を引き起こすため、癌の治療のための治療標的となる。

【0005】

サイクリン依存性キナーゼ（C D K）は、調節サイクリンタンパク質によって活性化されるセリン／トレオニンプロテインキナーゼである。ヒトゲノムには 20 種の C D K がコードされており、細胞内外のシグナルに応答して細胞分裂及び転写等の多数の細胞プロセスにおいて特別な役割を果たす。C D K 9 は転写調節因子であり、或る特定の癌細胞により、癌細胞の生存を維持するタンパク質の持続的な産生に利用される。C D K 9 は、その主要なサイクリンパートナーであるサイクリン T 1 とともに、転写伸長因子 b（Positive Transcription Elongation Factor b；P - T E F b）を形成する。P - T E F b の真核細胞における主な機能は、R N A ポリメラーゼ I I（R N A P I I）の C 末端ドメイン（C T D）にある Y S P T S P S タンデムリピートの S 2 残基をリン酸化することにより、新生 m R N A 鎖の転写伸長を媒介することである。C D K 9 は、骨髄細胞白血病-1（M C L - 1）の発現に必要とされる。C D K 9 経路の調節異常は、多数の癌型における予後及び抗癌治療法に対する抵抗性に関与するため、癌の治療のための治療標的となる。

【発明の概要】

【0006】

細胞死受容体 5（D R 5）アゴニスト及びポロ様キナーゼ 1（P L K 1）阻害剤を用いて被験体における癌を治療する方法が本明細書で提供される。幾つかの実施の形態において、方法は、多価細胞死受容体 5（D R 5）結合性ポリペプチド及びポロ様キナーゼ 1（P L K 1）阻害剤を投与することを含む。細胞死受容体 5（D R 5）アゴニスト及びサイクリン依存性キナーゼ 9（C D K 9）阻害剤を用いて被験体における癌を治療する方法も本明細書で提供される。幾つかの実施の形態において、方法は、多価細胞死受容体 5（D R 5）結合性ポリペプチド及び C D K 9 阻害剤を投与することを含む。幾つかの実施の形態において、多価 D R 5 結合性ポリペプチドは少なくとも四価である。様々な実施の形態において、D R 5 結合性ポリペプチドは D R 5 アゴニストである。

【0007】

実施の形態 1．治療を必要とする被験体において癌を治療する方法であって、該被験体に（a）細胞死受容体 5（D R 5）アゴニスト及び（b）ポロ様キナーゼ 1（P L K 1）

10

20

30

40

50

阻害剤を投与することを含む、方法。

【0008】

実施の形態2．前記DR5アゴニストが、INBRX-109、エフトザネルミンアルファ（ABBV-621）、IGM-8444（IGM Biosciences）、BI 905711（Boehringer Ingelheim）、GEN1029（HexaBody（商標）-DR5/DR5；Genmab）、TAS266（Novartis）、MM-201a（Merrimack Pharmaceuticals）又はMM201-b（Merrimack Pharmaceuticals）である、実施の形態1に記載の方法。

【0009】

実施の形態3．前記DR5アゴニストがINBRX-109である、実施の形態2に記載の方法。

10

【0010】

実施の形態4．前記DR5アゴニストがDR5結合性ポリペプチドである、実施の形態1に記載の方法。

【0011】

実施の形態5．前記DR5結合性ポリペプチドが少なくとも四価である、実施の形態4に記載の方法。

【0012】

実施の形態6．前記DR5結合性ポリペプチドが、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDR3とを含む少なくとも1つのVHHドメインを含む、実施の形態3～5のいずれか一項に記載の方法。

20

【0013】

実施の形態7．前記少なくとも1つのVHHドメインが、配列番号4のアミノ酸配列と少なくとも90％、少なくとも95％、少なくとも99％又は100％同一のアミノ酸配列を含む、実施の形態6に記載の方法。

【0014】

実施の形態8．前記DR5結合性ポリペプチドが、配列番号4のアミノ酸配列を含むVHHドメインを含む、実施の形態3～7のいずれか一項に記載の方法。

【0015】

実施の形態9．前記DR5結合性ポリペプチドがFc領域を含む、実施の形態3～8のいずれか一項に記載の方法。

30

【0016】

実施の形態10．前記Fc領域が配列番号6のアミノ酸配列を含む、実施の形態9に記載の方法。

【0017】

実施の形態11．前記DR5結合性ポリペプチドが、VHH-リンカー-VHH-リンカー-Fcの構造を有する、実施の形態3～10のいずれか一項に記載の方法。

【0018】

実施の形態12．各VHHドメインが、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDR1と、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDR2と、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDR3とを含む、実施の形態3～11のいずれか一項に記載の方法。

40

【0019】

実施の形態13．前記VHH-リンカー-VHHが、配列番号5のアミノ酸配列と少なくとも90％、少なくとも95％、少なくとも99％又は100％同一のアミノ酸配列を含む、実施の形態3～12のいずれか一項に記載の方法。

【0020】

実施の形態14．前記VHH-リンカー-VHHが配列番号5のアミノ酸配列を含む、実施の形態13に記載の方法。

【0021】

50

実施の形態 15. 前記 DR5 結合性ポリペプチドが、配列番号 7 のアミノ酸配列と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 99% 又は 100% 同一のアミノ酸配列を含む、実施の形態 3～14 のいずれか一項に記載の方法。

【0022】

実施の形態 16. 前記 DR5 結合性ポリペプチドが配列番号 7 のアミノ酸配列を含む、実施の形態 3～15 のいずれか一項に記載の方法。

【0023】

実施の形態 17. 前記 DR5 結合性ポリペプチドが配列番号 7 のアミノ酸配列からなる、実施の形態 3～15 のいずれか一項に記載の方法。

【0024】

実施の形態 18. 前記 PLK1 阻害剤が小分子又は干渉 RNA (siRNA) である、実施の形態 1～17 のいずれか一項に記載の方法。

【0025】

実施の形態 19. 前記 PLK1 阻害剤が、オンバンセルチブ、ボラセルチブ、リゴセルチブ、BI2536 (Boehringer Ingelheim)、N-[[4-[(6-クロロ-3-ピリジニル)メトキシ]-3-メトキシフェニル]メチル]-3,4-ジメトキシベンゼンエタンアミン塩酸塩 (SBE 13 HCl)、MLN0905 (Takeda Oncology)、GSK461364 (GlaxoSmithKline)、ポロキシン、ポロキシン-2HT、RO3280 (CAS 番号 1062243-51-9)、HMN-214 (CAS 番号 173529-46-9)、HMN-176 (CAS 番号 173529-10-7)、2-シアノ-2-[3-エチル-4-オキソ-5-[[3-(2-ピロリジン-1-イルエチル)アニリノ]メチル]-1,3-チアゾリジン-2-イル]-N-(2,2,2-トリフルオロエチル)アセトアミド (ZK-チアゾリジノン) 又はシクラポリン 9 (CAS 番号 40533-25-3)、5-(5,6-ジメトキシ-1H-ベンズイミダゾール-1-イル)-3-[[2-(トリフルオロメチル)フェニル]メトキシ]-2-チオフエンカルボキサミド (GW 843682X) である、実施の形態 1～18 のいずれか一項に記載の方法。

【0026】

実施の形態 20. 前記 PLK1 阻害剤が、オンバンセルチブ、ボラセルチブ、リゴセルチブ、BI2536 (Boehringer Ingelheim)、MLN0905 (Takeda Oncology)、GSK461364 (GlaxoSmithKline)、CYC140 (Cyclacel)、TKM-080301 (TKM-PLK1; Arbutus Biopharma) 又は TAK-960 (武田薬品工業株式会社) である、実施の形態 19 に記載の方法。

【0027】

実施の形態 21. 前記 PLK1 阻害剤がオンバンセルチブである、実施の形態 1～18 のいずれか一項に記載の方法。

【0028】

実施の形態 22. 前記 DR5 アゴニスト及び前記 PLK1 阻害剤を別々に投与する、実施の形態 1～21 のいずれか一項に記載の方法。

【0029】

実施の形態 23. 前記 DR5 アゴニスト及び前記 PLK1 阻害剤を順次投与する、実施の形態 22 に記載の方法。

【0030】

実施の形態 24. 前記 DR5 アゴニストの少なくとも 1 つの用量又は最初の用量を前記 PLK1 阻害剤の前に投与する、実施の形態 22 又は 23 に記載の方法。

【0031】

実施の形態 25. 前記 DR5 アゴニストの少なくとも 1 つの用量又は最初の用量を前記 PLK1 阻害剤の後に投与する、実施の形態 22 又は 23 に記載の方法。

【0032】

実施の形態 26. 前記 DR5 アゴニスト及び前記 PLK1 阻害剤を併用投与する、実施

10

20

30

40

50

の形態 1 ～ 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 0 3 3 】

実施の形態 2 7 . 前記 D R 5 アゴニスト及び前記 P L K 1 阻害剤が相乗的に作用する、実施の形態 1 ～ 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 0 3 4 】

実施の形態 2 8 . 相乗作用を *in vitro* 細胞生存アッセイにおいて決定する、実施の形態 2 7 に記載の方法。

【 0 0 3 5 】

実施の形態 2 9 . 前記 D R 5 アゴニスト及び前記 P L K 1 阻害剤の投与が、各作用物質の単独投与と比較して相乗効果をもたらす、実施の形態 1 ～ 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

10

【 0 0 3 6 】

実施の形態 3 0 . 治療を必要とする被験体において癌を治療する方法であって、該被験体に (a) 細胞死受容体 5 (D R 5) アゴニスト及び (b) サイクリン依存性キナーゼ (C D K) 阻害剤を投与することを含む、方法。

【 0 0 3 7 】

実施の形態 3 1 . 前記 D R 5 アゴニストが、 I N B R X - 1 0 9 、エフトザネルミンアルファ (A B B V - 6 2 1) 、 I G M - 8 4 4 4 (I G M Biosciences) 、 B I 9 0 5 7 1 1 (Boehringer Ingelheim) 、 G E N 1 0 2 9 (H e x a B o d y (商 標) - D R 5 / D R 5 ; Genmab) 、 T A S 2 6 6 (Novartis) 、 M M - 2 0 1 a (Merrimack Pharmaceuticals) 又は M M 2 0 1 - b (Merrimack Pharmaceuticals) である、実施の形態 3 0 に記載の方法。

20

【 0 0 3 8 】

実施の形態 3 2 . 前記 D R 5 アゴニストが I N B R X - 1 0 9 である、実施の形態 3 1 に記載の方法。

【 0 0 3 9 】

実施の形態 3 3 . 前記 D R 5 アゴニストが D R 5 結合性ポリペプチドである、実施の形態 3 0 に記載の方法。

【 0 0 4 0 】

実施の形態 3 4 . 前記 D R 5 結合性ポリペプチドが少なくとも四価である、実施の形態 3 3 に記載の方法。

30

【 0 0 4 1 】

実施の形態 3 5 . 前記 D R 5 結合性ポリペプチドが、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R 3 とを含む少なくとも 1 つの V H H ドメインを含む、実施の形態 3 2 ～ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 0 4 2 】

実施の形態 3 6 . 前記少なくとも 1 つの V H H ドメインが、配列番号 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 、少なくとも 9 5 % 、少なくとも 9 9 % 又は 1 0 0 % 同一のアミノ酸配列を含む、実施の形態 3 5 に記載の方法。

40

【 0 0 4 3 】

実施の形態 3 7 . 前記 D R 5 結合性ポリペプチドが、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む V H H ドメインを含む、実施の形態 3 2 ～ 3 6 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 0 4 4 】

実施の形態 3 8 . 前記 D R 5 結合性ポリペプチドが F c 領域を含む、実施の形態 3 2 ～ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 0 4 5 】

実施の形態 3 9 . 前記 F c 領域が配列番号 6 のアミノ酸配列を含む、実施の形態 3 8 に記載の方法。

【 0 0 4 6 】

50

実施の形態 40. 前記 DR5 結合性ポリペプチドが、VHH-リンカー-VHH-リンカー-Fc の構造を有する、実施の形態 32～39 のいずれか一項に記載の方法。

【0047】

実施の形態 41. 各 VHH ドメインが、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む CDR1 と、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む CDR2 と、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む CDR3 とを含む、実施の形態 32～40 のいずれか一項に記載の方法。

【0048】

実施の形態 42. 前記 VHH-リンカー-VHH が、配列番号 5 のアミノ酸配列と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 99% 又は 100% 同一のアミノ酸配列を含む、実施の形態 32～41 のいずれか一項に記載の方法。

【0049】

実施の形態 43. 前記 VHH-リンカー-VHH が配列番号 5 のアミノ酸配列を含む、実施の形態 42 に記載の方法。

【0050】

実施の形態 44. 前記 DR5 結合性ポリペプチドが、配列番号 7 のアミノ酸配列と少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 99% 又は 100% 同一のアミノ酸配列を含む、実施の形態 32～43 のいずれか一項に記載の方法。

【0051】

実施の形態 45. 前記 DR5 結合性ポリペプチドが配列番号 7 のアミノ酸配列を含む、実施の形態 32～44 のいずれか一項に記載の方法。

【0052】

実施の形態 46. 前記 DR5 結合性ポリペプチドが配列番号 7 のアミノ酸配列からなる、実施の形態 32～44 のいずれか一項に記載の方法。

【0053】

実施の形態 47. 前記 CDK 阻害剤が CDK9 阻害剤である、実施の形態 30～46 のいずれか一項に記載の方法。

【0054】

実施の形態 48. 前記 CDK 阻害剤が小分子である、実施の形態 30～47 のいずれか一項に記載の方法。

【0055】

実施の形態 49. 前記 CDK 阻害剤が、フラボピリドール、セリシクリブ、ジナシクリブ、アツベシクリブ、エニトシクリブ、AZD4573、i-CDK9 又は NVP-2 である、実施の形態 30～48 のいずれか一項に記載の方法。

【0056】

実施の形態 50. 前記 CDK 阻害剤が、ジナシクリブ、NVP-2、フラボピリドール、エニトシクリブ又は AZD4573 である、実施の形態 49 に記載の方法。

【0057】

実施の形態 51. 前記 DR5 アゴニスト及び前記 CDK 阻害剤を別々に投与する、実施の形態 30～50 のいずれか一項に記載の方法。

【0058】

実施の形態 52. 前記 DR5 アゴニスト及び前記 CDK 阻害剤を順次投与する、実施の形態 51 に記載の方法。

【0059】

実施の形態 53. 前記 DR5 アゴニストの少なくとも 1 つの用量又は最初の用量を前記 CDK 阻害剤の前に投与する、実施の形態 51 又は 52 に記載の方法。

【0060】

実施の形態 54. 前記 DR5 アゴニストの少なくとも 1 つの用量又は最初の用量を前記 CDK 阻害剤の後に投与する、実施の形態 51 又は 52 に記載の方法。

【0061】

実施の形態 55. 前記 DR5 アゴニスト及び前記 CDK 阻害剤を併用投与する、実施の

10

20

30

40

50

形態 30～51 のいずれか一項に記載の方法。

【0062】

実施の形態 56．前記 DR5 アゴニスト及び前記 CDK 阻害剤が相乗的に作用する、実施の形態 30～55 のいずれか一項に記載の方法。

【0063】

実施の形態 57．相乗作用を *in vitro* 細胞生存アッセイにおいて決定する、実施の形態 56 に記載の方法。

【0064】

実施の形態 58．前記 DR5 アゴニスト及び前記 CDK 阻害剤の投与が、各作用物質の単独投与と比較して相乗効果をもたらす、実施の形態 30～57 のいずれか一項に記載の方法。

【0065】

実施の形態 59．前記癌が副腎癌、星状細胞腫、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳癌及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、結腸直腸癌（大腸癌）、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃部癌、胃腸癌、膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓癌又は腎癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口及び／又は咽頭）、卵巣癌、膵臓腺癌等の膵臓癌、下垂体癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、中皮腫、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌又は子宮内膜癌、泌尿器系癌及び外陰癌、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B 細胞リンパ腫、低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球（SL）NHL、中悪性度／濾胞性 NHL、中悪性度びまん性 NHL、高悪性度免疫芽球性 NHL、高悪性度リンパ芽球性 NHL、高悪性度小型非分割細胞 NHL、巨大病変 NHL、マントル細胞リンパ腫、AIDS 関連リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、慢性リンパ性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞白血病、慢性骨髄芽球性白血病、並びにその他の癌腫及び肉腫、並びに移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、並びに母斑症、浮腫（脳腫瘍に関連する浮腫等）及びメイグス症候群に関連する異常血管増殖である、実施の形態 1～58 のいずれか一項に記載の方法。

【0066】

実施の形態 60．癌を治療する方法に使用される DR5 アゴニストであって、該方法が該 DR5 アゴニストを PLK1 阻害剤と組み合わせて投与することを含む、DR5 アゴニスト。

【0067】

実施の形態 61．癌を治療するための薬剤の製造への DR5 アゴニストの使用であって、該薬剤が PLK1 阻害剤とともに投与される、使用。

【0068】

実施の形態 62．癌を治療する方法に使用される DR5 アゴニストであって、該方法が DR5 アゴニストを CDK9 阻害剤等の CDK 阻害剤と組み合わせて投与することを含む、DR5 アゴニスト。

【0069】

実施の形態 63．癌を治療するための薬剤の製造への DR5 アゴニストの使用であって、該薬剤が CDK9 阻害剤等の CDK 阻害剤とともに投与される、使用。

【図面の簡単な説明】

【0070】

【図 1A～1F】種々の癌細胞株を様々な濃度の INBRX-109（0.00001 nM、0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM 又は 10 nM）及びオンバンセルチブ（0.32 nM、1.6 nM、8 nM、40 nM、200 nM 又は 1000 nM）と接触させた滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率（％）を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 HT-29（図 1A）、LS174T（図 1B）、S

10

20

30

40

50

W620 (図1C)、SW837 (図1D)、SW1463 (図1E) 及びLS411N (図1F) についての結果を示す。

【図2A-2F】種々の癌細胞株を様々な濃度のINBRX-109 (0.0001nM、0.001nM、0.01nM、0.1nM、1nM又は10nM) と、単独で又は200nMオンバンセルチブと組み合わせて接触させたINBRX-109滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。癌細胞株HT-29 (図2A)、LS174T (図2B)、SW620 (図2C)、SW837 (図2D)、SW1463 (図2E) 及びLS411N (図2F) についての結果を示す。「Cpd単独」と表示された点線は、200nMオンバンセルチブ単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

10

【図3A-3F】種々の癌細胞株を様々な濃度のオンバンセルチブ (0.32nM、1.6nM、8nM、40nM、200nM又は1000nM) と、単独で又は1nM INBRX-109と組み合わせて接触させたオンバンセルチブ滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。癌細胞株HT-29 (図3A)、LS174T (図3B)、SW620 (図3C)、SW837 (図3D)、SW1463 (図3E) 及びLS411N (図3F) についての結果を示す。「Ab単独」と表示された点線は、1nM INBRX-109単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

【図4A-6L】種々の大腸癌細胞株を様々な濃度のオンバンセルチブ (274pM、823pM、2.47nM、7.41nM、22.22nM、66.67nM、200nM、600nM及び1.8μM) と、単独で又は1nM INBRX-109と組み合わせて接触させたオンバンセルチブ滴定実験の結果を示す図である。癌細胞株SK-CO-1 (図4A)、SNU-C5 (図4B)、LS1034 (図4C)、LS123 (図4D)、LS180 (図4E)、T84 (図4F)、SW-48 (図4G)、SW01116 (図4H)、SW-1463 (図4I)、SW-837 (図5A)、SW-948 (図5B)、LS513 (図5C)、NCI-H716 (図5D)、HCT116 (図5E)、DLD-1 (図5F)、HCT-15 (図5G)、LS174T (図5H)、Ht-55 (図5I)、SNU-81 (図6A)、HT-29 (図6B)、SW-620 (図6C)、HuTu80 (図6D)、SW-480 (図6E)、SW-403 (図6F)、LoVo (図6G)、SNU-C2A (図6H)、NCI-H747 (図6I)、COLO320DM (図6J)、RKO (図6K)、HCT-8 (図6L) についての結果を示す。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。「Ab単独」と表示された点線は、1nM INBRX-109単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

20

30

【図7A-8H】種々の膵癌細胞株を様々な濃度のオンバンセルチブ (274pM、823pM、2.47nM、7.41nM、22.22nM、66.67nM、200nM、600nM及び1.8μM) と、単独で又は1nM INBRX-109と組み合わせて接触させたオンバンセルチブ滴定実験の結果を示す図である。癌細胞株MIPaCa-2 (図7A)、Panc05.24 (図7B)、SW-1990 (図7C)、HuPRT4 (図7D)、BxPC-3 (図7E)、Capan-2 (図7F)、KP4 (図7G)、AsPC-1 (図7H)、PSN-1 (図7I)、HPAF-II (図8A)、PANC-1 (図8B)、Capan-1 (図8C)、CFPAC-1 (図8D)、Panc03.27 (図8E)、SU.86.86 (図8F)、PL45 (図8G)、Panc10.05 (図8H) についての結果を示す。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。「Ab単独」と表示された点線は、1nM INBRX-109単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

40

【図9A-9E】種々の癌細胞株を様々な濃度のINBRX-109 (0.00001nM、0.0001nM、0.001nM、0.01nM、0.1nM、1nM又は10nM) 及びジナシクリブ (0.2nM、1nM、5nM、25nM、125nM又は625nM) と接触させた滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。癌細胞株CAL-78 (図9A)、OUMS-27 (図9B)、SW1353 (図9C)、H-EMC-SS (図9D) 及びSW620 (図9E) についての結果を

50

示す。

【図10A-10E】種々の癌細胞株を様々な濃度のINBRX-109 (0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM又は10 nM) と、単独で又は25 nMジナシクリブと組み合わせて接触させたINBRX-109 滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。癌細胞株CAL-78 (図10A)、OUMS-27 (図10B)、SW1353 (図10C)、H-EMC-SS (図10D) 及びSW620 (図10E) についての結果を示す。「Cpd単独」と表示された点線は、25 nMジナシクリブ単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

【図11A-11E】種々の癌細胞株を様々な濃度のジナシクリブ (0.2 nM、1 nM、5 nM、25 nM、125 nM又は625 nM) と、単独で又は1 nM INBRX-109 と組み合わせて接触させたジナシクリブ 滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。癌細胞株CAL-78 (図11A)、OUMS-27 (図11B)、SW1353 (図11C)、H-EMC-SS (図11D) 及びSW620 (図11E) についての結果を示す。「Ab単独」と表示された点線は、1 nM INBRX-109 単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

【図12A-12E】種々の癌細胞株を様々な濃度のINBRX-109 (0.0001 nM、0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM又は10 nM) 及びNVP-2 (0.2 nM、1 nM、5 nM、25 nM、125 nM又は625 nM) と接触させた滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。癌細胞株CAL-78 (図12A)、OUMS-27 (図12B)、SW1353 (図12C)、H-EMC-SS (図12D) 及びSW620 (図12E) についての結果を示す。

【図13A-13E】種々の癌細胞株を様々な濃度のINBRX-109 (0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM又は10 nM) と、単独で又は125 nM NVP-2 と組み合わせて接触させたINBRX-109 滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。癌細胞株CAL-78 (図13A)、OUMS-27 (図13B)、SW1353 (図13C)、H-EMC-SS (図13D) 及びSW620 (図13E) についての結果を示す。「Cpd単独」と表示された点線は、125 nM NVP-2 単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

【図14A-14E】種々の癌細胞株を様々な濃度のNVP-2 (0.2 nM、1 nM、5 nM、25 nM、125 nM又は625 nM) と、単独で又は1 nM INBRX-109 と組み合わせて接触させたNVP-2 滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。癌細胞株CAL-78 (図14A)、OUMS-27 (図14B)、SW1353 (図14C)、H-EMC-SS (図14D) 及びSW620 (図14E) についての結果を示す。「Ab単独」と表示された点線は、1 nM INBRX-109 単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

【図15A-15F】種々の癌細胞株を様々な濃度のINBRX-109 (0.0001 nM、0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM又は10 nM) 及びフラボピリドール (0.2 nM、1 nM、5 nM、25 nM、125 nM又は625 nM) と接触させた滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。癌細胞株CAL-78 (図15A)、OUMS-27 (図15B)、HS-SY-II (図15C)、SW1353 (図15D)、H-EMC-SS (図15E) 及びSW620 (図15F) についての結果を示す。

【図16A-16F】種々の癌細胞株を様々な濃度のINBRX-109 (0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM又は10 nM) と、単独で又は125 nMフラボピリドールと組み合わせて接触させたINBRX-109 滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフのy軸に示す。癌細胞株CAL-78 (図16A)、OUMS-27 (図16B)、HS-SY-II (図16C)、SW1353 (図16D)、H-EMC-SS (図16E) 及びSW620 (図16F) についての結果を示す。「Cpd単独」と表示された点線は、125 nMフラボピリドール単

10

20

30

40

50

独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

【図 17 A - 17 F】種々の癌細胞株を様々な濃度のフラボピリドール (0.2 nM、1 nM、5 nM、25 nM、125 nM 又は 625 nM) と、単独で又は 1 nM INBRX-109 と組み合わせて接触させたフラボピリドール滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 CAL-78 (図 17 A)、OUMS-27 (図 17 B)、HS-SY-II (図 17 C)、SW1353 (図 17 D)、H-EMC-SS (図 17 E) 及び SW620 (図 17 F) についての結果を示す。「Ab 単独」と表示された点線は、1 nM INBRX-109 単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

【図 18 A - 18 F】種々の癌細胞株を様々な濃度の INBRX-109 (0.00001 nM、0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM 又は 10 nM) 及び エニトシクリブ (0.2 nM、1 nM、5 nM、25 nM、125 nM 又は 625 nM) と接触させた滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 CAL-78 (図 18 A)、OUMS-27 (図 18 B)、HS-SY-II (図 18 C)、SW1353 (図 18 D)、H-EMC-SS (図 18 E) 及び SW620 (図 18 F) についての結果を示す。

【図 19 A - 19 F】種々の癌細胞株を様々な濃度の INBRX-109 (0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM 又は 10 nM) と、単独で又は 125 nM エニトシクリブ と組み合わせて接触させた INBRX-109 滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 CAL-78 (図 19 A)、OUMS-27 (図 19 B)、HS-SY-II (図 19 C)、SW1353 (図 19 D)、H-EMC-SS (図 19 E) 及び SW620 (図 19 F) についての結果を示す。「Cpd 単独」と表示された点線は、125 nM エニトシクリブ 単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

【図 20 A - 20 F】種々の癌細胞株を様々な濃度の エニトシクリブ (0.2 nM、1 nM、5 nM、25 nM、125 nM 又は 625 nM) と、単独で又は 1 nM INBRX-109 と組み合わせて接触させた エニトシクリブ 滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 CAL-78 (図 20 A)、OUMS-27 (図 20 B)、HS-SY-II (図 20 C)、SW1353 (図 20 D)、H-EMC-SS (図 20 E) 及び SW620 (図 20 F) についての結果を示す。「Ab 単独」と表示された点線は、1 nM INBRX-109 単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

【図 21 A - 21 B】種々の癌細胞株を様々な濃度の INBRX-109 (0.00001 nM、0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM 又は 10 nM) 及び AZD-5991 (0.0032 nM、0.016 nM、0.08 nM、0.4 nM、2.0 nM、10 nM) と接触させた滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 CAL-78 (図 21 A)、OUMS-27 (図 21 B)、HS-SY-II (図 21 C)、SW1353 (図 21 D)、H-EMC-SS (図 21 E) 及び SW620 (図 21 F) についての結果を示す。

【図 22 A - 22 F】種々の癌細胞株を様々な濃度の INBRX-109 (0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM 又は 10 nM) と、単独で又は 2 nM AZD-5991 と組み合わせて接触させた INBRX-109 滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 CAL-78 (図 22 A)、OUMS-27 (図 22 B)、HS-SY-II (図 22 C)、SW1353 (図 22 D)、H-EMC-SS (図 22 E) 及び SW620 (図 22 F) についての結果を示す。「Cpd 単独」と表示された点線は、2 nM AZD-5991 単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

【図 23 A - 23 F】種々の癌細胞株を様々な濃度の AZD-5991 (0.0032 nM、0.016 nM、0.08 nM、0.4 nM、2.0 nM、10 nM) と、単独で又は 1 nM INBRX-109 と組み合わせて接触させた AZD-5991 滴定実験の結果を示す図である。癌細胞の生存率 (%) を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 CAL-78 (図 23 A)、OUMS-27 (図 23 B)、HS-SY-II (図 23 C)、SW1353 (図 23 D)、H-EMC-SS (図 23 E) 及び SW620 (図 23 F) についての結果を示す。

果を示す。癌細胞の生存率 (%) を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 CAL-78 (図 23A)、OUMS-27 (図 23B)、HS-SY-II (図 23C)、SW1353 (図 23D)、H-EMC-SS (図 23E) 及び SW620 (図 23F) についての結果を示す。「Ab 単独」と表示された点線は、1 nM INBRX-109 単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

【発明を実施するための形態】

【0071】

本明細書に示される実施形態は、細胞死受容体 5 (DR5) アゴニストとポロ様キナーゼ 1 (PLK1) 阻害剤との組合せを用いて癌を治療する方法、及び／又は細胞死受容体 5 (DR5) アゴニストと CDK9 阻害剤等のサイクリン依存性キナーゼ (CDK) 阻害剤との組合せを用いて癌を治療する方法に関する。

【0072】

定義及び様々な実施形態

本明細書に使用されるセクションの見出しは編成のみを目的とし、記載される主題を限定すると解釈されるものではない。

【0073】

特許出願、特許公報、及び Genbank アクセション番号を含む本明細書で引用される全ての参考文献は、各個別の参考文献が、引用することによりその全体が本明細書の一部をなすと具体的かつ個別に示されているかのように、引用することにより本明細書の一部をなす。

【0074】

本明細書に記載又は参照される技術及び手順は、一般に十分に理解されており、通常、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3rd. edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (F. M. Ausubel, et al. eds., (2003)), the series METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.), PCR 2: A PRACTICAL APPROACH (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL、及び ANIMAL CELL CULTURE (R. I. Freshney, ed. (1987)), Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984)、Methods in Molecular Biology, Humana Press、Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press、Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed., 1987)、Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mathers and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press、Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell eds., 1993-8) J. Wiley and Sons、Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.)、Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987)、PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994)、Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991)、Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999)、Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997)、Antibodies (P. Finch, 1997)、Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989)、Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000)、Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)、The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)、及び Cancer: Principles and Practice of Oncology (V. T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993)並びにそれらの最新版に記載される広く利用されている方法論等の当業者による慣例的な方法論を用いて使用される。

10

20

30

40

50

【0075】

別段の規定がない限り、本開示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に理解される意味を有するものとする。さらに、文脈により別段の要求がない限り、又は明白に特段の指示がない限り、単数名詞は複数を含み、複数名詞は単数を含むものとする。様々な出典又は参考文献の間での定義の矛盾については、本明細書に示される定義が優先される。

【0076】

一般に、免疫グロブリン重鎖における残基の番号付けは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)でのようなE Uインデックスの番号付けである。「KabatでのようなE Uインデックス」は、ヒトIgG1 E U抗体の残基番号付けを指す。

10

【0077】

本明細書に記載される本発明の実施形態は、「からなる (consisting)」実施形態及び／又は「から本質的になる (consisting essentially of)」実施形態を含むと理解される。本明細書で使用される場合に、単数形 ("a", "an", and "the") は、特段の指示がない限り複数の参照を含む。本明細書での「又は」という用語の使用は、選択肢が互いに排他的であることを意味すると解釈されない。

【0078】

本願では、「又は」の使用は、明白に特段の指定がない限り又は当業者によって理解されない限り、「及び／又は」を意味する。多項従属請求項の文脈では、「又は」の使用は、2項以上の先行する独立請求項又は従属請求項を引用する。

20

【0079】

「参照試料」、「参照細胞」、又は「参照組織」という語句は、少なくとも1つの未知の特徴を有する試料との比較として使用され得る少なくとも1つの既知の特徴を有する試料を示す。幾つかの実施形態においては、参照試料は、陽性又は陰性の指標として使用され得る。参照試料を使用することで、未知の特徴を有する試料中に存在するタンパク質及び／又はmRNAのレベルに対して、例えば、健康な組織中に存在するタンパク質及び／又はmRNAのレベルを確立することができる。幾つかの実施形態においては、参照試料は、同じ被験体に由来するが、試験される部分とは異なる被験体の部分に由来する試料である。幾つかの実施形態においては、参照試料は、癌を取り囲む又は癌に隣接する組織領域に由来する試料である。幾つかの実施形態においては、参照試料は、試験される被験体に由来するものではなく、対象の障害（例えば、特定の癌又はDR5関連障害）を有する又は有しないことが既知の被験体に由来する試料である。幾つかの実施形態においては、参照試料は、同じ被験体に由来するものであるが、被験体が癌を発症する前の時点での試料である。幾つかの実施形態においては、参照試料は、同じ被験体又は異なる被験体からの良性癌試料に由来する試料である。比較のために陰性参照試料が使用される場合に、陰性参照試料における対象の分子の発現レベル又は量は、当業者が本開示を考慮して、該分子が存在しない及び／又は低いレベルの該分子が存在することを認識するレベルを示す。比較のために陽性参照試料が使用される場合に、陽性参照試料における対象の分子の発現レベル又は量は、当業者が本開示を考慮して、或るレベルの該分子が存在することを認識するレベルを示す。

30

40

【0080】

治療剤の投与から恩恵を受ける又は治療剤の投与に応答するという文脈において本明細書で使用される「便益」、「臨床的便益」、「応答性」、及び「治療的応答性」という用語は、様々なエンドポイント、例えば、減速及び完全な停止を含む疾患進行の或る程度の障害、疾患エピソード及び／又は症状の数の減少、病変サイズの縮小、隣接する末梢器官及び／又は末梢組織内への疾患細胞浸潤の障害（すなわち、減少、減速、又は完全な停止）、病気蔓延の障害（すなわち、減少、減速、又は完全な停止）、障害に関連する1つ以上の症状の或る程度の軽減、治療後の無病提示、例えば無増悪生存期間の長さの増加、全

50

生存期間の延長、より高い奏効率、及び／又は治療後の所与の時点での死亡率の低下を評価することによって推し量ることができる。「非応答性」又は「応答しない」被験体又は癌は、「応答する」という上記の条件を満たさないものである。

【0081】

「核酸分子」、「核酸」、及び「ポリヌクレオチド」という用語は、区別なく使用され、ヌクレオチドのポリマーを指し得る。そのようなヌクレオチドのポリマーは、天然及び／又は非天然のヌクレオチドを含み、限定されるものではないが、DNA、RNA、及びPNAを含み得る。「核酸配列」は、核酸分子又はポリヌクレオチドに含まれるヌクレオチドの線状配列を指す。

【0082】

「ポリペプチド」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すために区別なく使用され、最小の長さに限定されない。そのようなアミノ酸残基のポリマーは、天然又は非天然のアミノ酸残基を含み、限定されるものではないが、ペプチド、オリゴペプチド、アミノ酸残基の二量体、三量体、及び多量体を含み得る。この定義には、完全長タンパク質及びその断片の両方が含まれる。これらの用語はまた、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、リン酸化等を含む。さらに、本開示の目的で、「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、及び置換等の修飾（一般に性質について保存的）を含むタンパク質を指す。これらの修飾は、部位特異的突然変異誘発によるような意図的なものであり得る、又はタンパク質を産生する宿主の突然変異若しくはPCR増幅によるエラーによるような偶発的なものであり得る。

【0083】

本明細書において使用される場合、「DR5」、「細胞死受容体5」、「TNFRSF10B」及び「TRAILR2」という用語は、細胞内でのDR5前駆体のプロセッシングから生ずるあらゆる天然の成熟DR5を指す。この用語は、特段の指示がない限り、霊長類（例えば、ヒト及びカニクイザル又はアカゲザル）及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含むあらゆる脊椎動物起源からのDR5を含む。この用語はまた、スプライス変異体又はアレル変異体等のDR5の天然に存在する変異体を含む。非限定的な例示的な前駆体ヒトDR5アミノ酸配列は、例えば、NCBIアクセッション番号NP_003833.4に示されている。配列番号8を参照されたい。非限定的な例示的な前駆体ヒトDR5アミノ酸配列は、例えば配列番号9に示されている。

【0084】

本明細書において使用される場合、「PLK1」及び「ポロ様キナーゼ1」という用語は、あらゆる天然の成熟PLK1を指す。この用語は、特段の指示がない限り、霊長類（例えば、ヒト及びカニクイザル又はアカゲザル）及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含むあらゆる脊椎動物起源からのPLK1を含む。この用語はまた、スプライス変異体又はアレル変異体等のPLK1の天然に存在する変異体を含む。非限定的なPLK1アミノ酸配列は、例えば、UniProtKB/Swiss-Protアクセッション番号P53350.1に示されている。配列番号10を参照されたい。

【0085】

本明細書において使用される場合、「CDK9」及び「サイクリン依存性キナーゼ9」という用語は、あらゆる天然の成熟CDK9を指す。この用語は、特段の指示がない限り、霊長類（例えば、ヒト及びカニクイザル又はアカゲザル）及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含むあらゆる脊椎動物起源からのCDK9を含む。この用語はまた、スプライス変異体又はアレル変異体等のCDK9の天然に存在する変異体を含む。非限定的なアミノ酸配列は、例えば、UniProtKB/Swiss-Protアクセッション番号P50750-1に示されている。配列番号11を参照されたい。

【0086】

抗原又はエпитープに「特異的に結合する」という用語は、当該技術分野で十分に理解されている用語であり、そのような特異的な結合を決定する方法も当該技術分野で十分に

10

20

30

40

50

知られている。別の細胞又は物質と反応又は会合するよりも特定の細胞又は物質とより頻繁に、より迅速に、より長い持続時間及び／又はより高い親和性で反応又は会合する場合に、分子は「特異的な結合」又は「優先的な結合」を示すと言及される。シングルドメイン抗体（s d A b）又はV H H含有ポリペプチドは、他の物質に結合するよりも高い親和性、アビディティーで、より容易に、及び／又はより長い持続時間で結合する場合に、標的に「特異的に結合」又は「優先的に結合」する。例えば、D R 5 エピトープに特異的に又は優先的に結合するs d A b又はV H H含有ポリペプチドは、他のD R 5 エピトープ又は非D R 5 エピトープに結合するよりも高い親和性、アビディティーで、より容易に、及び／又はより長い持続時間でこのエピトープに結合するs d A b又はV H H含有ポリペプチドである。また、この定義を解釈することにより、例えば、第1の標的に特異的又は優先的に結合するs d A b又はV H H含有ポリペプチドが、第2の標的に特異的又は優先的に結合することもあれば又は結合しないこともあることが理解される。したがって、「特異的な結合」又は「優先的な結合」は、排他的な結合を（含み得るものの）必ずしも必要としない。一般に、必ずしもそうとは限らないが、結合への言及は優先的な結合を意味する。「特異性」は、結合性タンパク質が抗原に選択的に結合する能力を指す。

10

20

30

40

50

【0087】

「阻害」又は「阻害する」という用語は、任意の表現型特徴の減少若しくは停止、又はその特徴の発生率、程度、若しくは可能性の減少若しくは停止を指す。「低減する」又は「阻害する」とは、参照と比較して、活性、機能、及び／又は量を減少させる、低減する、又は停止することである。幾つかの実施形態においては、「低減する」又は「阻害する」とは、10%以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。幾つかの実施形態においては、「低減する」又は「阻害する」とは、50%以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。幾つかの実施形態においては、「低減する」又は「阻害する」とは、75%、85%、90%、95%以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。幾つかの実施形態においては、上記の量は、或る期間にわたって、同じ期間にわたる対照に対して阻害又は減少される。

【0088】

本明細書で使用される場合に、「エピトープ」という用語は、抗原結合分子（例えば、s d A b又はV H H含有ポリペプチド）が結合する標的分子（例えば、タンパク質、核酸、炭水化物、又は脂質等の抗原）上の部位を指す。エピトープは、しばしば、アミノ酸、ポリペプチド、又は糖側鎖等の分子の化学的に活性な表面編成物を含み、特定の三次元構造的特徴及び特定の電荷特徴を有する。エピトープは、標的分子の連続残基及び／又は並置された非連続残基（例えば、アミノ酸、ヌクレオチド、糖、脂質部分）の両方から形成され得る。連続残基（例えば、アミノ酸、ヌクレオチド、糖、脂質部分）から形成されるエピトープは、通常、変性溶剤への曝露で保持されるが、三次フォールディングにより形成されるエピトープは、通常、変性溶剤による処理で失われる。エピトープは、限定されるものではないが、少なくとも3個、少なくとも5個、又は8個～10個の残基（例えば、アミノ酸又はヌクレオチド）を含み得る。幾つかの実施形態においては、エピトープは、20残基（例えば、アミノ酸又はヌクレオチド）未満、15残基未満、又は12残基未満の長さである。2つの抗体は、それらが抗原に対して競合的結合を示す場合に、抗原内の同じエピトープに結合し得る。幾つかの実施形態においては、エピトープは、抗原結合分子上のC D R残基との或る特定の最小距離によって特定され得る。幾つかの実施形態においては、エピトープは、上記距離によって特定され得て、抗原結合分子の残基と抗原残基との間の結合（例えば、水素結合）に関与するそれらの残基に更に限定され得る。エピトープは、様々なスキャンによっても同様に特定され得る。例えば、アラニンスキャン又はアルギニンスキャンは、抗原結合分子が相互作用し得る1つ以上の残基を示すことができる。明示的に示されない限り、エピトープとしての残基のセットは、他の残基が特定の抗原結合分子に対するエピトープの一部であることを除外するものではない。むしろ、そのようなセットの存在は、最小のエピトープの列（又は種類のセット）を示す。したがって、幾つかの実施形態においては、エピトープとして特定された残基のセットは、抗原上

のエピトープについての残基の排他的リストではなく、抗原に関連する最小のエピトープを示す。

【0089】

「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、限定されるものではないが、慣例的な抗体（典型的には、少なくとも1つの重鎖及び少なくとも1つの軽鎖を含む）、シングルドメイン抗体（s d A b、少なくとも1つのV H Hドメイン及びF c領域を含む）、V H H含有ポリペプチド（少なくとも1つのV H Hドメインを含むポリペプチド）、及び所望の抗原結合活性を示す限り上述のいずれかの断片を含む抗体様抗原結合ドメインを含む様々なポリペプチドを包含する。幾つかの実施形態においては、抗体は二量体化ドメインを含む。そのような二量体化ドメインとしては、限定されるものではないが、重鎖定常ドメイン（C H 1、ヒンジ、C H 2、及びC H 3を含み、C H 1は典型的には、軽鎖定常ドメインC Lと対をなす一方で、ヒンジは二量体化を介在する）及びF c領域（ヒンジ、C H 2、及びC H 3を含み、ヒンジは二量体化を介在する）が挙げられる。

10

【0090】

抗体という用語には、限定されるものではないが、キメラ抗体、ヒト化抗体、及びラクダ（ラマを含む）、サメ、マウス、ヒト、カニクイザル等の様々な種の抗体も含まれる。

【0091】

本明細書で使用される「抗原結合ドメイン」という用語は、抗原に結合するのに十分な抗体の部分を目指す。幾つかの実施形態においては、慣例的な抗体の抗原結合ドメインは、3つの重鎖C D R及び3つの軽鎖C D Rを含む。したがって、幾つかの実施形態においては、抗原結合ドメインは、C D R 1－F R 2－C D R 2－F R 3－C D R 3と、抗原への結合を維持するのに必要とされるF R 1及び／又はF R 4の任意の部分とを含む重鎖可変領域、並びにC D R 1－F R 2－C D R 2－F R 3－C D R 3と、抗原への結合を維持するのに必要とされるF R 1及び／又はF R 4の任意の部分とを含む軽鎖可変領域を含む。幾つかの実施形態においては、s d A b又はV H H含有ポリペプチドの抗原結合ドメインは、V H Hドメインの3つのC D Rを含む。したがって、幾つかの実施形態においては、s d A b又はV H H含有ポリペプチドの抗原結合ドメインは、C D R 1－F R 2－C D R 2－F R 3－C D R 3と、抗原への結合を維持するのに必要とされるF R 1及び／又はF R 4の任意の部分とを含むV H Hドメインを含む。

20

【0092】

本明細書で使用される「V H H」又は「V H Hドメイン」又は「V H H抗原結合ドメイン」という用語は、ラクダ抗体又はサメ抗体等のシングルドメイン抗体の抗原結合部分を目指す。幾つかの実施形態においては、V H Hは、F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、及びF R 4と表される3つのC D Rと4つのフレームワーク領域とを含む。幾つかの実施形態においては、V H Hは、V H Hが実質的に抗原結合及び特異性を維持する限り、部分的なF R 1及び／又はF R 4のみを含むように又はそれらのフレームワーク領域の一方若しくは両方を欠くように、N末端又はC末端で切断されていてもよい。

30

【0093】

「シングルドメイン抗体」及び「s d A b」という用語は、軽鎖及びF c領域を有しないV H Hドメイン等の少なくとも1つの単量体ドメインを含む抗体を指すために、本明細書において区別なく使用される。幾つかの実施形態においては、s d A bは、それぞれのポリペプチドが少なくとも1つのV H Hドメイン及びF c領域を含む2つのポリペプチドの二量体である。本明細書で使用される場合に、「シングルドメイン抗体」及び「s d A b」という用語は、多重V H Hドメインを含むポリペプチド、例えば、構造V H H₁－V H H₂－F c又はV H H₁－V H H₂－V H H₃－F cを有し、ここで、V H H₁、V H H₂、及びV H H₃が同じか又は異なる場合があるポリペプチドを包含する。

40

【0094】

「V H H含有ポリペプチド」という用語は、少なくとも1つのV H Hドメインを含むポリペプチドを指す。幾つかの実施形態においては、V H Hポリペプチドは、2つ、3つ、

50

又は4つ以上のVHHドメインを含み、ここで、各VHHドメインは、同じ又は異なっているてもよい。幾つかの実施形態においては、VHH含有ポリペプチドは、Fc領域を含む。幾つかのそのような実施形態においては、VHH含有ポリペプチドは、sdAbと称され得る。さらに、幾つかのそのような実施形態においては、VHHポリペプチドは、二量体を形成し得る。sdAbとも称されるVHH含有ポリペプチドの非限定的な構造としては、VHH₁-Fc、VHH₁-VHH₂-Fc、及びVHH₁-VHH₂-VHH₃-Fcが挙げられ、ここで、VHH₁、VHH₂、及びVHH₃は、同じ又は異なっているてもよい。そのような構造の幾つかの実施形態においては、或るVHHは、リンカーによって別のVHHに連結され得る、又は或るVHHは、リンカーによってFcに連結され得る。幾つかのそのような実施形態においては、リンカーは、1個〜20個のアミノ酸、好ましくは、主にグリシン及び任意にセリンから構成される1個〜20個のアミノ酸を含む。幾つかの実施形態においては、VHH含有ポリペプチドがFcを含む場合に、それは二量体を形成する。したがって、構造VHH₁-VHH₂-Fcは、それが二量体を形成する場合に、四価であるとみなされる（すなわち、二量体は4つのVHHドメインを有する）。同様に、構造VHH₁-VHH₂-VHH₃-Fcは、それが二量体を形成する場合に、六価であるとみなされる（すなわち、二量体は6つのVHHドメインを有する）。

10

20

30

40

50

【0095】

「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体集団の抗体（sdAb又はVHH含有ポリペプチドを含む）を指す。すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る天然に生じる可能性のある突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は非常に特異的であり、単一の抗原部位に対するものである。さらに、典型的には、異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対する抗体である。したがって、モノクローナル抗体の試料は、抗原上の同じエピトープに結合することができる。「モノクローナル」という修飾成句は、抗体の実質的に均一な集団から得られる抗体の性質を示し、何らかの特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈されるべきではない。例えば、モノクローナル抗体は、Kohler and Milstein, 1975, Nature 256:495により最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製され得る、又は米国特許第4,816,567号に記載されるような組換えDNA法によって作製され得る。モノクローナル抗体はまた、例えば、McCafferty et al., 1990, Nature 348:552-554に記載される技術を使用して作製されたファージライブラリーから単離され得る。

【0096】

「CDR」という用語は、少なくとも1つの当業者に対する特定様式によって定義される相補性決定領域を示す。幾つかの実施形態においては、CDRは、Chothia番号付けスキーム、Kabatt番号付けスキーム、KabattとChothiaとの組合せ、AbM定義、及び／又は接触定義（contact definition）のいずれかに従って定義され得る。VHHは、CDR1、CDR2、及びCDR3と表される3つのCDRを含む。

【0097】

本明細書で使用される「重鎖定常領域」という用語は、少なくとも3つの重鎖定常ドメイン、すなわち、CH1、ヒンジ、CH2、及びCH3を含む領域を指す。当然ながら、ドメイン内の機能を変えない欠失及び改変は、特段の指定がない限り、「重鎖定常領域」という用語の範囲内に含まれる。非限定的な例示的な重鎖定常領域としては、 γ 、 δ 、及び α が挙げられる。非限定的な例示的な重鎖定常領域としては、 ϵ 及び μ も挙げられる。それぞれの重鎖定常領域は、1つの抗体アイソタイプに対応する。例えば、 γ 定常領域を含む抗体はIgG抗体であり、 δ 定常領域を含む抗体はIgD抗体であり、 α 定常領域を含む抗体はIgA抗体である。さらに、 μ 定常領域を含む抗体はIgM抗体であり、 ϵ 定常領域を含む抗体はIgE抗体である。或る特定のアイソタイプは、更にサブクラスに細分化され得る。例えば、IgG抗体としては、限定されるものではないが、IgG1抗体（ γ_1 定常領域を含む）、IgG2抗体（ γ_2 定常領域を含む）、IgG3抗体（ γ_3 定常領域を含む）、及びIgG4抗体（ γ_4 定常領域を含む）が挙げられ、IgA抗体とし

ては、限定されるものではないが、I g A 1 抗体 (α_1 定常領域を含む) 及び I g A 2 抗体 (α_2 定常領域を含む) が挙げられ、I g M 抗体としては、限定されるものではないが、I g M 1 及び I g M 2 が挙げられる。

【0098】

本明細書で使用される「F c 領域」は、C H 2 及び C H 3 を含む重鎖定常領域の一部を指す。幾つかの実施形態においては、F c 領域は、ヒンジ、C H 2、及び C H 3 を含む。様々な実施形態において、F c 領域がヒンジを含む場合に、ヒンジは、2つの F c 含有ポリペプチド間の二量体化を介在する。F c 領域は、本明細書で論じられる任意の抗体重鎖定常領域アイソタイプのものであり得る。幾つかの実施形態においては、F c 領域は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、又は I g G 4 である。

10

【0099】

本明細書で使用される「アクセプターヒトフレームワーク」は、本明細書で論じられるように、ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークに由来する重鎖可変ドメイン (V_H) フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークに由来するアクセプターヒトフレームワークは、その同じアミノ酸配列を含むことができる、又はアミノ酸配列の変化を含み得る。幾つかの実施形態においては、アミノ酸の変化の数は、 V_H 等の単一の抗原結合ドメイン内の全てのヒトフレームワークにわたって10個未満、又は9個未満、又は8個未満、又は7個未満、又は6個未満、又は5個未満、又は4個未満、又は3個未満である。

20

【0100】

「親和性」は、分子 (例えば、s d A b 等の抗体又は V_H 含有ポリペプチド) の単一の結合部位及びその結合相手 (例えば、抗原) の間の非共有結合的相互作用の合計の強さを指す。分子 X のその相手 Y に対する親和性又は見かけの親和性は、一般に、それぞれ解離定数 (K_D) 又は K_D (見かけ) によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載されている方法を含む、当該技術分野で既知の通常の方法 (例えば、E L I S A K_D 、K i n E x A、フローサイトメトリー、及び／又は表面プラズモン共鳴デバイス等) によって測定され得る。このような方法としては、限定されるものではないが、B I A c o r e (商標)、O c t e t (商標)、又はフローサイトメトリーを要する方法が挙げられる。

30

【0101】

本明細書で使用される「 K_D 」という用語は、抗原結合分子／抗原相互作用の平衡解離定数を指す。本明細書で「 K_D 」という用語が使用される場合に、それには、 K_D 及び K_D (見かけ) が含まれる。

【0102】

幾つかの実施形態においては、抗原結合分子の K_D は、フローサイトメトリーによって、抗原発現細胞株を使用し、各抗体濃度で測定された平均蛍光を非線形1サイト結合方程式 (graphpadのP r i s m S o f t w a r e) にフィッティングして測定される。幾つかのそのような実施形態においては、 K_D は K_D (見かけ) である。

【0103】

40

「生物学的活性」という用語は、分子の任意の1つ以上の生物学的特性 (*i n v i v o* で見られるように天然に存在するか、又は組換え手段によって提供される若しくは可能となるかどうか) を指す。生物学的特性としては、限定されるものではないが、リガンドの結合、細胞増殖の誘導又は増加、及びサイトカインの発現の誘導又は増加が挙げられる。

【0104】

「アゴニスト」抗体若しくはポリペプチド又は「活性化」抗体若しくはポリペプチドは、標的抗原の生物学的活性を増加及び／又は活性化する抗体又はポリペプチドである。幾つかの実施形態においては、アゴニスト抗体又はポリペプチドは、抗原に結合し、その生物学的活性を少なくとも約20%、40%、60%、80%、85%以上増加させる。

50

【0105】

「アンタゴニスト」抗体、「ブロッキング」抗体、又は「中和」抗体は、標的抗原の生物学的活性を阻害、低下及び／又は不活性化する抗体である。幾つかの実施形態においては、中和抗体は、抗原に結合し、その生物学的活性を少なくとも約20%、40%、60%、80%、85%、90%、95%、99%以上低下させる。

【0106】

「親和性成熟」s d A b又はV H H含有ポリペプチドは、s d A b又はV H H含有ポリペプチドの抗原に対する親和性に改善をもたらすような改変を有しない親s d A b又はV H H含有ポリペプチドと比較して1つ以上のC D Rに1つ以上のそのような改変を有するs d A b又はV H H含有ポリペプチドを指す。

10

【0107】

本明細書で使用される「ヒト化V H H」は、1つ以上のフレームワーク領域が実質的にヒトフレームワーク領域で置き換えられたV H Hを指す。幾つかの場合には、ヒト免疫グロブリンの或る特定のフレームワーク領域（F R）残基が、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。さらに、ヒト化V H Hは、当初のV H Hにもヒトフレームワーク配列にも見られないが、s d A b又はV H H含有ポリペプチドの性能を更に改良及び最適化するために含まれる残基を含み得る。幾つかの実施形態においては、ヒト化s d A b又はV H H含有ポリペプチドは、ヒトF c領域を含む。理解されるように、ヒト化配列は、その一次配列によって特定され得て、必ずしも抗体が作製された過程を示すわけではない。

【0108】

「エフェクター陽性F c領域」は、天然配列のF c領域の「エフェクター機能」を有する。例示的な「エフェクター機能」としては、F c受容体結合、C l q結合及び補体依存性細胞傷害作用（C D C）、F c受容体結合、抗体依存性細胞介在性細胞傷害作用（A D C C）、食作用、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）の下方調節、並びにB細胞活性化等が挙げられる。このようなエフェクター機能は、一般に、F c領域を結合ドメイン（例えば、抗体可変ドメイン）と組み合わせることを要し、様々なアッセイを使用して評価することができる。

20

【0109】

「天然配列のF c領域」は、天然に見られるF c領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。天然配列のヒトF c領域としては、天然配列のヒトI g G 1 F c領域（非Aアロタイプ及びAアロタイプ）、天然配列のヒトI g G 2 F c領域、天然配列のヒトI g G 3 F c領域、及び天然配列のヒトI g G 4 F c領域、並びにそれらの天然に存在する変異体が挙げられる。

30

【0110】

「変異型F c領域」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾により天然配列のF c領域のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態においては、「変異型F c領域」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾により天然配列のF c領域のアミノ酸配列とは異なるが、天然配列のF c領域の少なくとも1つのエフェクター機能を保持するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態においては、変異型F c領域は、天然配列のF c領域又は親ポリペプチドのF c領域と比較して、天然配列のF c領域又は親ポリペプチドのF c領域において、少なくとも1個のアミノ酸置換、例えば、約1個～約10個のアミノ酸置換、好ましくは、約1個～約5個のアミノ酸置換を有する。幾つかの実施形態においては、本明細書の変異型F c領域は、天然配列のF c領域及び／又は親ポリペプチドのF c領域と少なくとも約80%の配列同一性、それらと少なくとも約90%の配列同一性、それらと少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有する。

40

【0111】

「F c受容体」又は「F c R」は、抗体のF c領域に結合する受容体を記載している。幾つかの実施形態においては、F c γ Rは、天然のヒトF c Rである。幾つかの実施形態においては、F c Rは、I g G抗体（ガンマ受容体）に結合するものであり、F c γ R I

50

サブクラス、FcγRIIサブクラス、及びFcγRIIIサブクラスを受容体であって、これらの受容体のアレル変異体及び選択的スプライシングされた形態を含む受容体を含む。FcγRII受容体には、FcγRIIA（「活性化受容体」）及びFcγRIIB（「阻害受容体」）が含まれ、これらは同様のアミノ酸配列を有するが、主にその細胞質ドメインが異なる。活性化受容体FcγRIIAは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ（ITAM）を含む。阻害受容体FcγRIIBは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベースの阻害モチーフ（ITIM）を含む（例えば、Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)を参照されたい）。FcRは、例えば、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991)、Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994)、及びde Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)でレビューされている。他のFcRは、将来特定されるものを含めて、本明細書では「FcR」という用語によって包含される。例えば、「Fc受容体」又は「FcR」という用語はまた、胎児性受容体FcRnを含み、これは、母体のIgGの胎児への移動（Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976)及びKim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)）及び免疫グロブリンの恒常性の調節の役割を担う。FcRnへの結合を測定する方法は既知である（例えば、Ghetie and Ward, Immunol. Today 18(12):592-598 (1997)、Ghetie et al., Nature Biotechnology, 15(7):637-640 (1997)、Hinton et al., J. Biol. Chem. 279(8):6213-6216 (2004)、国際公開第2004/92219号（Hintonら）を参照されたい）。

10

20

【0112】

本明細書で使用される「実質的に同様」又は「実質的に同じ」という用語は、当業者が2つ以上の値の間の差を、上記値によって測定される生物学的特徴の文脈内で生物学的及び／又は統計学的な有意性が殆どない又は全くないとみなすような、2つ以上の数値の間の十分に高度な類似性を示す。幾つかの実施形態においては、2つ以上の実質的に同様の値は、5%、10%、15%、20%、25%、又は50%のいずれか1つの概数以下だけ異なる。

【0113】

ポリペプチド「変異体」とは、配列をアラインメントし、必要に応じてギャップを導入して最大パーセントの配列同一性を達成した後に、配列同一性の部分として保存的置換を一切考慮せずに、天然配列のポリペプチドと少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有する生物学的に活性なポリペプチドを意味する。そのような変異体としては、例えば、ポリペプチドのN末端又はC末端で1つ以上のアミノ酸残基が付加又は欠失されているポリペプチドが挙げられる。幾つかの実施形態においては、変異体は、少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有する。幾つかの実施形態においては、変異体は、少なくとも約90%のアミノ酸配列同一性を有する。幾つかの実施形態においては、変異体は、天然配列のポリペプチドと少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性を有する。

30

【0114】

本明細書で使用される場合に、ペプチド配列、ポリペプチド配列、又は抗体配列に関する「パーセント(%)のアミノ酸配列同一性」及び「ホモロジー」は、配列をアラインメントし、必要に応じてギャップを導入して最大パーセントの配列同一性を達成した後に、配列同一性の部分として保存的置換を一切考慮せずに、特定のペプチド配列又はポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアラインメントは、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、又はMEGALIGN（商標）（DNASTAR）ソフトウェア等の公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、当業者の技能の範囲内である様々な方法で達成され得る。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメーターを決定することができる。

40

【0115】

アミノ酸置換には、限定されるものではないが、ポリペプチド中の或るアミノ酸を別の

50

アミノ酸により置き換えることが含まれ得る。例示的な置換を表 1 に示す。アミノ酸置換を対象の抗体に導入し、産物を所望の活性、例えば、抗原結合の保持／改善、免疫原性の減少、又は A D C C 若しくは C D C の改善についてスクリーニングすることができる。

【 0 1 1 6 】

表 1

当初の残基	例示的な置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn; Glu
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Val; Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン

10

20

【 0 1 1 7 】

共通の側鎖特性に従ってアミノ酸をグループ分けすることができる：

- (1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile、
- (2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln、
- (3) 酸性：Asp、Glu、
- (4) 塩基性：His、Lys、Arg、
- (5) 鎖の配向に影響する残基：Gly、Pro、
- (6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe。

30

【 0 1 1 8 】

非保存的置換は、これらのクラスの 1 つのメンバーを別のクラスに交換することを伴う。

【 0 1 1 9 】

「ベクター」という用語は、宿主細胞内で増殖され得る、クローニングされたポリヌクレオチド（単数又は複数）を含むように操作することができるポリヌクレオチドを記載するために使用される。ベクターは、以下のエレメントのうちの 1 つ以上を含み得る：複製起点、対象のポリペプチドの発現を調節する 1 つ以上の調節配列（例えば、プロモーター及び／又はエンハンサー等）、及び／又は 1 つ以上の選択可能なマーカー遺伝子（例えば、抗生物質耐性遺伝子及び比色アッセイで使用することができる遺伝子、例えば、β-ガラクトシダーゼ等）。「発現ベクター」という用語は、宿主細胞において対象のポリペプチドを発現するために使用されるベクターを指す。

40

【 0 1 2 0 】

「宿主細胞」は、ベクター又は単離されたポリヌクレオチドのレシピエントであり得る又はレシピエントであった細胞を指す。宿主細胞は、原核細胞又は真核細胞であり得る。

50

例示的な真核細胞としては、霊長類動物細胞又は非霊長類動物細胞等の哺乳動物細胞、酵母等の真菌細胞、植物細胞、及び昆虫細胞が挙げられる。非限定的な例示的な哺乳動物細胞としては、限定されるものではないが、NSO細胞、PER.C6（商標）細胞（Cru cell）、並びに293細胞及びCHO細胞、並びにそれらの派生物、例えば293-6E細胞、CHO-DG44細胞、CHO-K1細胞、CHO-S細胞、及びCHO-DS細胞が挙げられる。宿主細胞には、単一の宿主細胞の子孫が含まれるが、自然突然変異、偶発突然変異、又は意図的突然変異のため、子孫は必ずしも当初の親細胞と完全に同一（形態又はゲノムDNA相補において）であるとは限らない。宿主細胞には、本明細書で提供されるポリヌクレオチド（複数の場合もある）と共に *in vivo* でトランスフェクションされた細胞も含まれる。

10

【0121】

本明細書で使用される「単離された」という用語は、典型的に天然に一緒に見出される又は一緒に産生される成分の少なくとも幾つかから分離された分子を指す。例えば、ポリペプチドは、それを産生した細胞の成分の少なくとも一部から分離される場合に、「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に、ポリペプチドを含む上清を、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」とみなされる。同様に、ポリヌクレオチドは、それが典型的に天然に見られるより大きなポリヌクレオチド（例えば、DNAポリヌクレオチドの場合に、ゲノムDNA又はミトコンドリアDNA等）の一部ではない場合に、又は例えば、RNAポリヌクレオチドの場合に、それを産生した細胞の成分の少なくとも一部から分離される場合に、「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まれるDNAポリヌクレオチドは、「単離された」と称され得る。

20

【0122】

「個体」及び「被験体」という用語は、動物、例えば哺乳動物を指すために本明細書では区別なく使用される。幾つかの実施形態においては、限定されるものではないが、ヒト、齧歯類、サル、ネコ、イヌ、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、哺乳動物実験動物、哺乳動物家畜、哺乳動物競技用動物（sport animals）、及び哺乳動物ペットを含む哺乳動物を治療する方法が提供される。幾つかの例では、「個体」又は「被験体」は、疾患又は障害の治療を必要とする個体又は被験体を指す。幾つかの実施形態においては、治療を受ける被験体は、被験体が治療に関連する障害を有する又は障害を患う十分なリスクがあると特定されたことを表す患者であり得る。

30

【0123】

本明細書で使用される「疾患」又は「障害」は、治療が必要とされる及び／又は所望される状態を指す。

【0124】

「腫瘍細胞」、「癌細胞」、「癌」、「腫瘍」、及び／又は「新生物」という用語は、特段の指定がない限り、本明細書では区別なく使用され、身体器官及び系の正常な機能を妨げる制御不能な増殖及び／又は異常な細胞生存の増加及び／又はアポトーシスの阻害を示す細胞（又は複数の細胞）を指す。この定義には、良性及び悪性の癌、ポリープ、過形成、並びに潜伏腫瘍又は微小転移が含まれる。

40

【0125】

「癌」及び「腫瘍」という用語は、固形癌及び血液癌／リンパ腺癌を包含するとともに、異形成等の悪性腫瘍、前悪性腫瘍、及び良性腫瘍も包含する。例示的な癌としては、限定されるものではないが、副腎癌、星状細胞腫、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、結腸及び直腸癌（大腸癌）、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃癌（胃腸癌を含む）、膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓癌又は腎癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、及び肺扁平上皮癌）、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口、及び咽頭）、卵巣癌、脾臓腺癌等の脾臓癌、下垂体癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器

50

系癌、中皮腫、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃部癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮又は子宮内膜癌、泌尿器系癌、外陰癌、ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫を含むリンパ腫、並びにB細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球（SL）NHL、中悪性度／濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非分割細胞NHL、巨大病変NHLを含む）、マントル細胞リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、及びワルデンストレーママクログロブリン血症、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞白血病、慢性骨髄芽球性白血病、並びにその他の癌腫及び肉腫、並びに移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、並びに母斑症、浮腫（脳腫瘍に関連する浮腫等）及びメイグス症候群に関連する異常血管増殖が挙げられる。

10

【0126】

幾つかの実施形態においては、「増加」又は「減少」は、それぞれ、統計学的に有意な増加又は減少を指す。当業者に明らかであるように、「調節」はまた、試験作用物質が存在しないことを除き同じ条件と比較した、標的又は抗原のそのリガンド、結合相手、ホモ多量体形若しくはヘテロ多量体形へと会合する相手又は基質の1つ以上に対する親和性、アビディティ、特異性及び／又は選択性の変化（増加又は減少のいずれかであり得る）を引き起こすこと、標的又は抗原が存在する培地又は環境における1つ以上の条件（pH、イオン強度、補因子の存在等）に対する標的又は抗原の感受性の変化（増加又は減少のいずれかであり得る）を引き起こすこと、及び／又は細胞増殖若しくはサイトカイン産生を含み得る。これは、関与する標的に応じて、それ自体が既知の又は本明細書に記載される任意の適切な方法で及び／又は任意の適切なアッセイを使用して決定され得る。

20

【0127】

本明細書で使用される場合に、「治療」は、有益な又は所望の臨床結果を得るための手法である。本明細書で使用される「治療」は、ヒトを含む哺乳動物における疾患用の療法薬の任意の投与又は適用を対象とする。本開示の目的では、有益な又は所望の臨床結果としては、限定されるものではないが、1つ以上の症状の緩和、疾患の程度の減少、疾患の進展（例えば、転移、例えば肺又はリンパ節への転移）の未然防止又は遅延、疾患の再発の未然防止又は遅延、疾患の進行の遅延又は減速、疾患状態の改善、疾患又は疾患の進行の阻害、疾患又はその進行の阻害又は減速、その発達の阻止、及び寛解（部分的でも全体的でも）のいずれか1つ以上が挙げられる。「治療」には、増殖性疾患の病理学的結果の軽減も含まれる。本明細書で提供される方法は、治療のこれらの側面のいずれか1つ以上を企図している。上記に従って、治療という用語は、障害の全ての側面を100パーセント除去する必要はない。

30

【0128】

「改善」とは、治療剤を投与しない場合と比べて、1つ以上の症状が軽減又は向上することを意味する。「改善」には、症状の持続期間が短縮又は減少することにも含まれる。

【0129】

「抗癌剤」という用語は、本明細書では、その最も広い意味で、1つ以上の癌の治療に使用される作用物質を指すために使用される。そのような作用物質の例示的なクラスとしては、限定されるものではないが、化学療法剤、抗癌生物製剤（サイトカイン、受容体細胞外ドメイン-Fc融合物、及び抗体等）、放射線療法薬、CAR-T療法薬、治療用オリゴヌクレオチド（アンチセンスオリゴヌクレオチド及びsiRNA等）、及び腫瘍溶解性ウイルスが挙げられる。

40

【0130】

本明細書において使用される場合、「相乗的な」、「相乗的に」及び「相乗作用」という用語は、2つ以上の作用物質の相加効果を超える効果を指す。DR5アゴニストとPLK1阻害剤との間、又はDR5アゴニストとCDK9阻害剤等のCDK阻害剤との間の相乗効果の決定は、本明細書に記載されるアッセイを用いて行うことができる。

【0131】

「生体試料」という用語は、生きているもの又はかつて生きていたものからの或る量の

50

物質を意味する。そのような物質としては、限定されるものではないが、血液（例えば、全血）、血漿、血清、尿、羊水、滑液、内皮細胞、白血球、単球、他の細胞、器官、組織、骨髓、リンパ節、及び脾臓が挙げられる。

【0132】

「対照」又は「参照」という用語は、分析物を含まないことが既知の組成物（「陰性対照」）又は分析物を含むことが既知の組成物（「陽性対照」）を指す。陽性対照は、既知の濃度の分析物を含み得る。

【0133】

本明細書で使用される場合に、「疾患の発症を遅延させる」とは、疾患（癌等）の発症を遅らせる、妨げる、減速させる、遅滞させる、安定化させる、抑制する、及び／又は引き延ばすことを意味する。この遅延は、疾患の病歴及び／又は治療される個体に応じて、様々な長さの時間となり得る。当業者に明らかであるように、十分な又は大幅な遅延は、事実上、個体が疾患を発症しないという点で未然防止を包含し得る。例えば、転移の発生等の末期癌を遅延させることができる。

【0134】

本明細書で使用される「未然防止」は、疾患の素因を有し得るが、まだ疾患と診断されていない被験体における疾患の発生又は再発に対する予防をもたらすことを含む。特段の指示がない限り、「低減する」、「阻害する」、又は「未然防止する」という用語は、全期間にわたる完全な未然防止を示すのではなく又は必要とするのではなく、測定される期間だけにわたる未然防止を示す又は必要とする。

【0135】

物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストの「治療有効量」は、個体の疾患状態、年齢、性別、及び体重、並びに物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストが個体において所望の応答を誘発する能力等の要因によって変動し得る。治療有効量はまた、治療的に有益な作用が物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストの任意の有毒作用又は有害作用を上回る量である。治療有効量は、1回以上の投与で送達され得る。治療有効量は、必要な投与量で必要な時間にわたって、所望の治療的結果及び／又は予防的結果を達成するのに有効な量を指す。

【0136】

「医薬製剤」及び「医薬組成物」という用語は、区別なく使用され、有効成分（複数の場合もある）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、製剤を投与する被験体に対して許容不可能なほど有毒な追加の成分を含まない調製物を指す。そのような製剤は滅菌され得る。

【0137】

「薬学的に許容可能な担体」は、被験体に投与するための「医薬組成物」を一緒に含む治療剤とともに使用される当該技術分野において慣用の非毒性の固体、半固体又は液体の充填剤、希釈剤、カプセル化材料、製剤補助剤、又は担体を指す。薬学的に許容可能な担体は、使用さ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、製剤の他の成分と適合性がある。薬学的に許容可能な担体は、使用される製剤にとって適切である。

【0138】

1つ以上の更なる治療剤と「組み合わせて」の投与には、同時（併用）投与及び任意の順序での順次投与が含まれる。

【0139】

「併用して」という用語は、本明細書では、2つ以上の治療剤の投与であって、投与の少なくとも一部が時間的に重複する、又は1つの治療剤の投与が他の治療剤の投与に対して短い期間に含まれる、又は両方の治療剤の治療効果が少なくとも或る期間にわたり重複する、投与を指すために使用される。

【0140】

「順次」という用語は、本明細書では、2つ以上の治療剤の投与であって、時間的に重複しない、又は治療剤の治療効果が重複しない、投与を指すために使用される。

10

20

30

40

50

【0141】

本明細書で使用される場合に、「～と組み合わせて」は、或る治療法の施与に別の治療法を加えることを指す。したがって、「～と組み合わせて」は、或る治療法を、個体に他の治療法を施す前、その間、又はその後に施すことを指す。

【0142】

「添付文書」という用語は、治療製品の市販パッケージに通例含まれる使用説明書であって、そのような治療製品の使用に関する指示、使用法、投与量、投与、併用療法、禁忌及び／又は警告に関する情報を含む、使用説明書を指すために使用される。

【0143】

「製造品」は、少なくとも1つの試薬、例えば、疾患若しくは障害（例えば、癌）の治療用の薬剤、又は本明細書に記載されるバイオマーカーを特異的に検出するプローブを含む任意の製造物（例えば、パッケージ又は容器）又はキットである。幾つかの実施形態においては、製造物又はキットは、本明細書に記載される方法を実施するユニットとして宣伝、配送、又は販売される。

10

【0144】

「標識」及び「検出可能な標識」という用語は、例えば、抗体又は抗原に結合されて、特異的結合ペアのメンバー間の反応（例えば、結合）を検出可能にする部分を意味する。特異的結合ペアの標識されたメンバーは、「検出可能に標識された」と称される。したがって、「標識された結合性タンパク質」という用語は、結合性タンパク質の特定をもたらす標識が組み込まれたタンパク質を指す。幾つかの実施形態においては、標識は、視覚的に又は機器的手段により検出可能なシグナルを生成し得る検出可能なマーカー、例えば、放射性標識されたアミノ酸の組み込み又はマーキングされたアビジン（例えば、蛍光マーカー又は光学的方法若しくは比色法により検出され得る酵素活性を含むストレプトアビジン）によって検出され得るビオチニル部のポリペプチドへの結合である。ポリペプチドの標識の例としては、限定されるものではないが、放射性同位体又は放射性核種（例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 、又は ^{153}Sm ）、色素原、蛍光標識（例えば、FITC、ローダミン、ランタニド蛍光体）、酵素標識（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、化学発光マーカー、ビオチニル基、二次レポーターによって認識される予め決められたポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパーペア配列、二次抗体のための結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）、及びガドリニウムキレート等の磁性剤が挙げられる。イムノアッセイに通常使用される標識の代表的な例としては、光を発する部分、例えば、アクリジニウム化合物、及び蛍光を発する部分、例えば、フルオレセインが挙げられる。この点について、その部分自体は検出可能に標識されていない場合もあるが、更に別の部分と反応すると検出可能になり得る。

20

30

【0145】

例示的なDR5アゴニスト

DR5アゴニストを投与することを含む、癌を治療する方法が本明細書で提供される。非限定的な例示的なDR5アゴニストとしては、INBRX-109、エフトザネルミンアルファ（ABBV-621）、IGM-8444（IGM Biosciences）、BI 905711（Boehringer Ingelheim）、GEN1029（HexaBody（商標）-DR5/DR5；Genmab）、TAS266（Novartis）、MM-201a（Merrimack Pharmaceuticals）及びMM201-b（Merrimack Pharmaceuticals）が挙げられる。幾つかの実施形態において、DR5アゴニストはDR5結合性ポリペプチドである。幾つかの実施形態において、本明細書で提供されるDR5結合性ポリペプチドは多価である。幾つかの実施形態において、本明細書で提供されるDR5結合性ポリペプチドは少なくとも四価である。

40

【0146】

様々な実施形態において、DR5結合性ポリペプチドは、配列番号1の配列を含むCDR1と、配列番号2の配列を含むCDR2と、配列番号3の配列を含むCDR3とを含む

50

少なくとも1つのVHHドメインを含む。幾つかの実施形態において、少なくとも1つのVHHドメインはヒト化されている。幾つかの実施形態において、DR5結合性ポリペプチドは、配列番号4のアミノ酸配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%又は100%同一のアミノ酸配列を含む少なくとも1つのVHHドメインを含む。幾つかの実施形態において、DR5結合性ポリペプチドは、配列番号4のアミノ酸配列を含む少なくとも1つのVHHドメインを含む。

【0147】

幾つかの実施形態においては、DR5結合性ポリペプチドは、DR5に結合する少なくとも1つのVHHドメインとFc領域とを含む。幾つかの実施形態においては、本明細書で提供されるDR5結合性ポリペプチドは、DR5に結合する2つのVHHドメインとFc領域とを含む。幾つかの実施形態においては、Fc領域は、生理学的条件でDR5結合性ポリペプチドの二量体化を介在し、こうして二量体が形成されることにより、DR5結合部位の数が2倍となる。例えば、DR5に結合する2つのVHHドメインとFc領域とを含むDR5結合性ポリペプチドは、単量体としては二価であるが、生理学的条件では、Fc領域が二量体化を介在することができ、こうしてDR5結合性ポリペプチドは、そのような条件下で四価の二量体である。

【0148】

様々な実施形態において、各VHHドメインが、配列番号1の配列を含むCDR1と、配列番号2の配列を含むCDR2と、配列番号3の配列を含むCDR3とを含むDR5結合性ポリペプチドが提供される。幾つかの実施形態において、各VHHドメインはヒト化されている。

【0149】

幾つかの実施形態において、DR5結合性ポリペプチドは、VHH-リンカー-VHH-リンカー-Fcの構造を含む。幾つかの実施形態において、DR5結合性ポリペプチドのVHH-リンカー-VHH部分は、配列番号5のアミノ酸配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%又は100%同一のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、DR5結合性ポリペプチドのVHH-リンカー-VHH部分は、配列番号5のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、Fcはヒンジを含む。幾つかのそのような実施形態において、Fcは配列番号6のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、DR5結合性ポリペプチドは、2つのVHHドメインとFc領域とを含む配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%又は100%同一のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、DR5結合性ポリペプチドは、2つのVHHドメインとFc領域とを含む配列番号7のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態において、DR5結合性ポリペプチドは、配列番号7のアミノ酸配列からなる。配列番号7、又は末端リジンを除く配列番号7のアミノ酸配列からなるDR5結合性ポリペプチドは、INBRX-109と称され得る。

【0150】

幾つかの実施形態においては、DR5に結合するVHHドメインはヒト化され得る。ヒト化抗体(s d A b又はVHH含有ポリペプチド等)は、治療分子として有用である。それというのも、ヒト化抗体は、抗体療法薬に対する免疫応答をもたらして療法薬の有効性を低下させ得る非ヒト抗体に対するヒト免疫応答を低減又は排除するからである。一般に、ヒト化抗体は、CDR(又はその一部)が非ヒト抗体に由来し、FR(又はその一部)がヒト抗体配列に由来する1つ以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体はまた、任意に、ヒト定常領域の少なくとも一部を含む。幾つかの実施形態においては、ヒト化抗体における幾つかのFR残基は、例えば、抗体の特異性又は親和性を回復又は改善するために、非ヒト抗体(例えば、CDR残基の元となる抗体)からの対応する残基で置換される。

【0151】

ヒト化抗体及びその作製方法は、例えば、Almagro and Fransson, (2008) Front. Biosci. 13: 1619-1633においてレビューされており、例えば、Riechmann et al., (1988) Nature 332:323-329、Queen et al., (1989) Proc. Natl Acad. S

10

20

30

40

50

ci. USA 86: 10029-10033、米国特許第5,821,337号、米国特許第7,527,791号、米国特許第6,982,321号、及び米国特許第7,087,409号、Kashmiri et al., (2005) Methods 36:25-34、Padlan, (1991) Mol. Immunol. 28:489-498 (「リサーフェイシング (resurfacing)」を記載している)、Dall'Acqua et al., (2005) Methods 36:43-60 (「FRシャッフリング (FR shuffling)」を記載している)、並びにOsourn et al., (2005) Methods 36:61-68及びKlimka et al., (2000) Br. J. Cancer, 83:252-260 (FRシャッフリングに対する「ガイド選択 (guided selection)」アプローチを記載している)で更に記載されている。

【0152】

ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域としては、限定されるものではないが、「ベストフィット (best-fit)」法を使用して選択されたフレームワーク領域 (例えば、Sims et al. (1993) J. Immunol. 151:2296を参照されたい)、重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域 (例えば、Carter et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285、及びPresta et al. (1993) J. Immunol, 151:2623を参照されたい)、ヒト成熟 (体細胞突然変異した) フレームワーク領域又はヒト生殖細胞系フレームワーク領域 (例えば、Almagro and Fransson, (2008) Front. Biosci. 13:1619-1633を参照されたい)、及びFRライブラリーのスクリーニングから得られるフレームワーク領域 (例えば、Baca et al., (1997) J. Biol. Chem. 272: 10678-10684、及びRosok et al., (1996) J. Biol. Chem. 271: 22611-22618を参照されたい) が挙げられる。典型的には、VHHのFR領域をヒトFR領域と置き換えることで、ヒト化VHHが作製される。幾つかの実施形態においては、ヒトFRの或る特定のFR残基を置き換えることで、ヒト化VHHの1つ以上の特性が改善される。そのような置き換えられた残基を有するVHHドメインも、本明細書では更に「ヒト化」と称される。

【0153】

様々な実施形態において、DR5結合性ポリペプチドに含まれるFc領域は、ヒトFc領域であるか、又はヒトFc領域に由来する。

【0154】

幾つかの実施形態においては、DR5結合性ポリペプチドに含まれるFc領域は、ヒトFc領域に由来し、IgG1 E233、L234、及びL235に対応する3つのアミノ酸欠失を下部ヒンジに含み、本明細書で「Fc xELL」と称される。Fc xELLポリペプチドはFcγRと結合しないため、「エフェクターサイレント」又は「エフェクターナル」と称されるが、幾つかの実施形態においては、xELL Fc領域はFcRnに結合するため、半減期の延長及びFcRn媒介性リサイクリング (FcRn mediated recycling) と関連したトランスサイトーシスを伴う。幾つかの実施形態においては、Fc領域は、ヒトIgG1 xELL Fc領域である。

【0155】

例示的なPLK1阻害剤

PLK1阻害剤を投与することを含む、癌を治療する方法が本明細書で提供される。幾つかの実施形態において、PLK1阻害剤は小分子である。幾つかの実施形態において、PLK1阻害剤はRNAiである。幾つかの実施形態において、PLK1阻害剤はオンバネルチブ、ボラセルチブ、リゴセルチブ、BI2536 (Boehringer Ingelheim)、N-[4-[(6-クロロ-3-ピリジニル)メトキシ]-3-メトキシフェニル]メチル]-3,4-ジメトキシベンゼンエタンアミン塩酸塩 (SBE 13 HCl)、MLN0905 (Takeda Oncology)、GSK461364 (GlaxoSmithKline)、CYC140 (Cyclacel)、TKM-080301 (TKM-PLK1; Arbutus Biopharma)、TAK-960 (武田薬品工業株式会社)、ポロキシン、ポロキシン-2HT、RO3280 (CAS番号1062243-51-9)、2-シアノー-2-[3-エチル-4-オキソ-5-[[3-(2-ピロリジン-1-イルエチル)アニリノ]メ

10

20

30

40

50

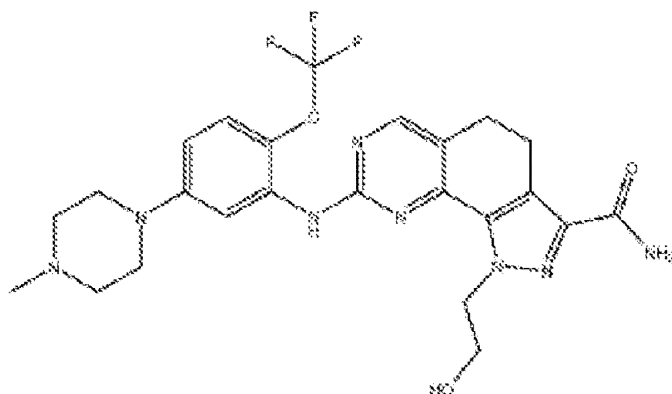
チル] - 1, 3-チアゾリジン-2-イル] - N - (2, 2, 2-トリフルオロエチル) アセトアミド (ZK-チアゾリジノン)、シクラポリン9 (CAS番号40533-25-3)、5-(5, 6-ジメトキシ-1H-ベンズイミダゾール-1-イル)-3-[[2-(トリフルオロメチル)フェニル]メトキシ]-2-チオフエンカルボキサミド (GW 843682X)、HMN-214 (CAS番号173529-46-9) 又はHMN-176 (CAS番号173529-10-7) である。幾つかの実施形態において、PLK1阻害剤はオンバンセルチブ、ボラセルチブ、リゴセルチブ、BI2536 (Boehringer Ingelheim)、MLN0905 (Takeda Oncology)、GSK461364 (GlaxoSmithKline)、CYC140 (Cyclacel)、TKM-080301 (TKM-PLK1; Arbutus Biopharma) 又はTAK-960 (武田薬品工業株式会社) である。

10

【0156】

幾つかの実施形態において、PLK1阻害剤はオンバンセルチブである。オンバンセルチブ (PCM-075又はNMS-1286937としても知られる) は、構造：

【化1】



20

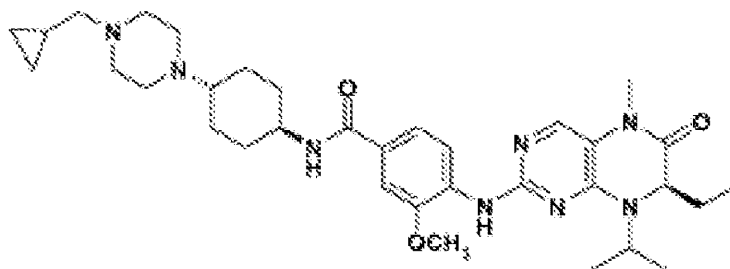
を有する選択的ATP競合型PLK1阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。例えば、米国特許第8,927,530号を参照されたい。オンバンセルチブは、PLK1に特異的であり、固形悪性腫瘍及び血液悪性腫瘍の両方のモデルにおいて強力な*in vitro*及び*in vivo*抗腫瘍活性を有する。

30

【0157】

幾つかの実施形態において、PLK1阻害剤はボラセルチブである。ボラセルチブは、構造：

【化2】



40

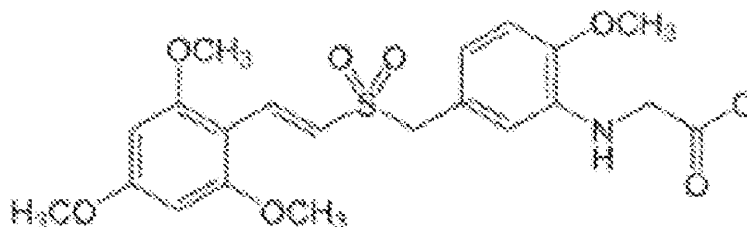
を有する選択的PLK1阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。例えば、国際公開第04/076454号及び国際公開第07/090844号を参照されたい。

【0158】

幾つかの実施形態において、PLK1阻害剤はリゴセルチブである。リゴセルチブは、構造：

50

【化 3】



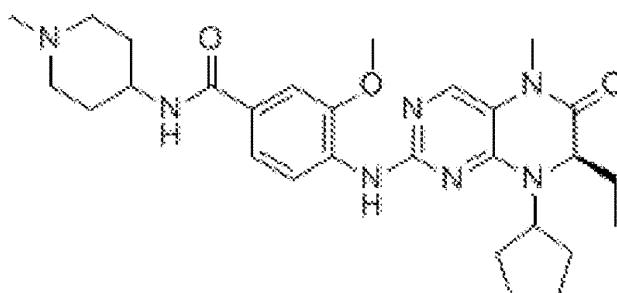
を有する、P I 3 - K 及び P L K 1 を含む複数のキナーゼの阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。例えば、米国特許第 7, 5 9 8, 2 3 2 号（化合物 4）を参照されたい。

10

【0159】

幾つかの実施形態において、P L K 1 阻害剤は B I 2 5 3 6 である。B I 2 5 3 6 は、構造：

【化 4】



20

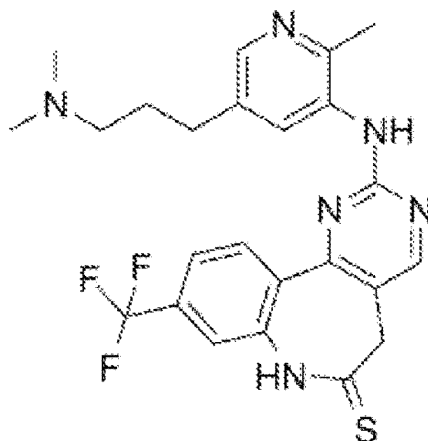
を有する P L K 1 の選択的阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。例えば、Steegmaier et al., Current Biology, 17: 316-322 (2007) を参照されたい。

【0160】

幾つかの実施形態において、P L K 1 阻害剤は M L N 0 9 0 5 である。M L N 0 9 0 5 は、構造：

30

【化 5】



40

を有する P L K 1 の選択的阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。例えば、Mol Cancer Ther, 11: 2045-53 (2012) を参照されたい。

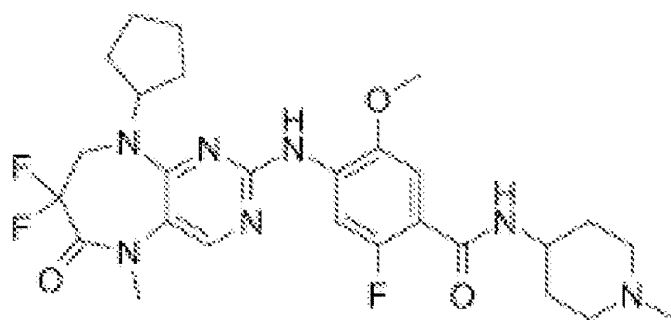
【0161】

幾つかの実施形態において、P L K 1 阻害剤は T A K - 9 6 0 である。T A K - 9 6 0

50

は、構造：

【化 6】



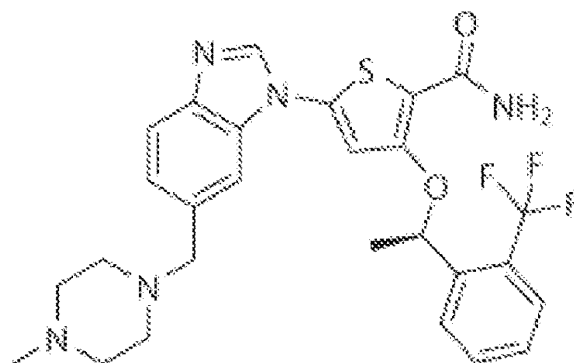
10

を有する P L K 1 の選択的阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。例えば、Mol Cancer Ther, 11: 700-9 (2012)を参照されたい。

【0162】

幾つかの実施形態において、P L K 1 阻害剤は G S K 4 6 1 3 6 4 である。G S K 4 6 1 3 6 4 は、構造：

【化 7】



20

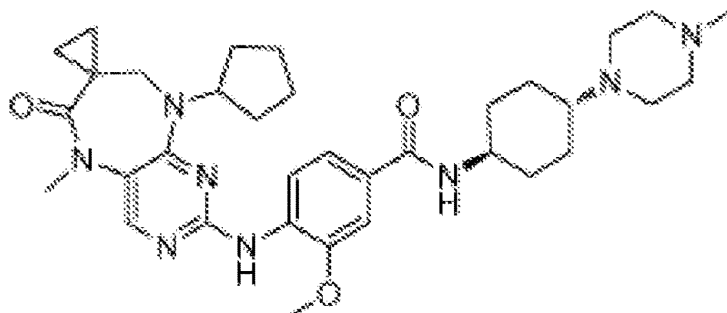
を有する A T P 競合型 P L K 1 阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。例えば、Clin Cancer Res. 17(10):3420-30 (2011)を参照されたい。

30

【0163】

幾つかの実施形態において、P L K 1 阻害剤は C Y C 1 4 0 である。幾つかの実施形態において、この P L K 1 阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物は、構造：

【化 8】



40

(9)

を有する。例えば、国際公開第 2009 / 040556 号を参照されたい。

【0164】

幾つかの実施形態において、P L K 1 阻害剤は T K M - 0 8 0 3 0 1 である。T K M -

50

080301は、4種の脂質とヒトPLK1 mRNAに対する合成二本鎖siRNAとを含む脂質ナノ粒子（LNP）製剤である。合成siRNAは、RNA干渉機構により転写後遺伝子抑制を達成するように設計された相補的RNAオリゴヌクレオチドの二重鎖である。例えば、Oncologist, 24(6):747-e218 (2019)、国際公開第2008/342535号を参照されたい。

【0165】

例示的なCDK阻害剤

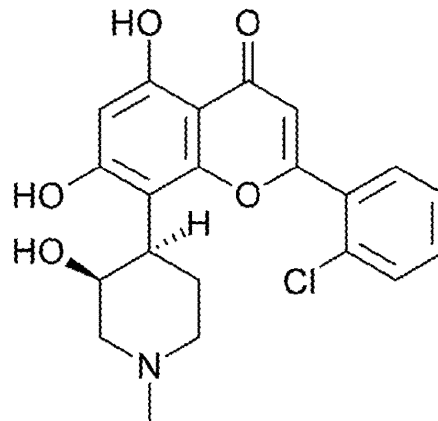
CDK9阻害剤等のCDK阻害剤を投与することを含む、癌を治療する方法が本明細書で提供される。幾つかの実施形態において、CDK阻害剤は小分子である。幾つかの実施形態において、CDK阻害剤はフラボピリドール（Tolero Pharmaceuticals）、セリシクリブ（ロスコビチン／CYC202）、ジナシクリブ（Merck）、アツベシクリブ（Bayer）、エニトシクリブ（Vincerx Pharma）、AZD4573（AstraZeneca）、i-CDK9又はNVP-2である。

10

【0166】

幾つかの実施形態において、CDK阻害剤はフラボピリドールである。フラボピリドール（L86-8275、アルボシジブ、NSC 649890又はHMR-1275としても知られる；Tolero Pharmaceuticals）は、構造：

【化9】



20

30

を有する選択的ATP競合型CDK9阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。フラボピリドールは、CDK9の強力な選択的阻害剤であり、ヒトの肺癌及び乳癌等の様々な腫瘍細胞株に対して抗腫瘍活性を有し、異種移植片モデルにおいても腫瘍成長を阻害する。例えば、Anshabo, et al., Frontiers in Oncology, 11 (2021)を参照されたい。

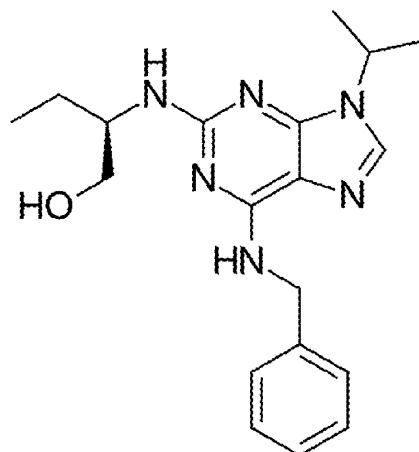
【0167】

幾つかの実施形態において、CDK阻害剤は、セリシクリブ（ロスコビチン又はCYC202としても知られる）である。セリシクリブは、構造：

40

50

【化 1 0】



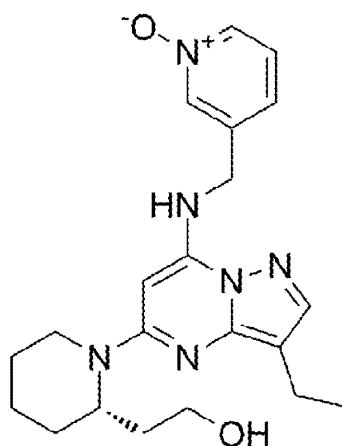
10

を有する選択的CDK阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。例えば、Anshabo, et al., *Frontiers in Oncology*, 11 (2021)を参照されたい。

【0168】

幾つかの実施形態において、CDK阻害剤は、ジナシクリブ（SCH 727965としても知られる；Merck）である。ジナシクリブは、構造：

【化 1 1】



20

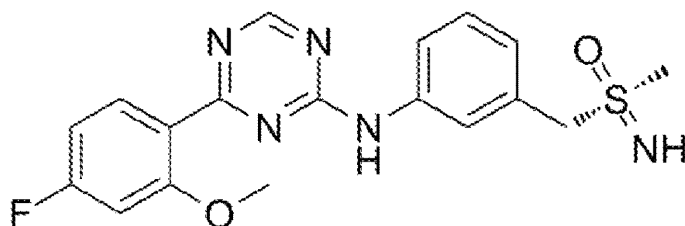
30

を有する、CDK1、CDK2、CDK5及びCDK9を含むCDKの強力な選択的小分子阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。例えば、Anshabo, et al., *Frontiers in Oncology*, 11 (2021)を参照されたい。

【0169】

幾つかの実施形態において、CDK阻害剤は、アツベシクリブ（BAY 1143572としても知られる；Bayer）である。アツベシクリブは、構造：

【化 1 2】



40

を有する、CDK9とサイクリン-T（CycT）とから構成される、転写伸長因子b（PTEF-b）の強力な高選択的阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物で

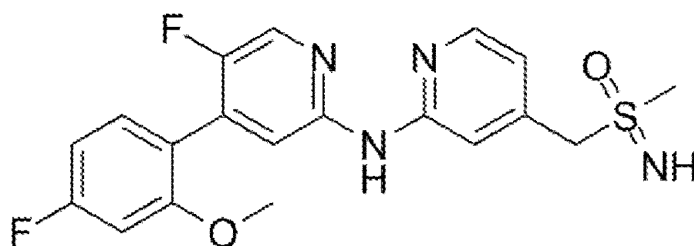
50

ある。例えば、Anshabo, et al., *Frontiers in Oncology*, 11 (2021)を参照されたい。

【0170】

幾つかの実施形態において、CDK阻害剤は、エニトシクリブ（BAY 1251152又はVIP 152としても知られる；Vincerx Pharma）である。エニトシクリブは、構造：

【化13】



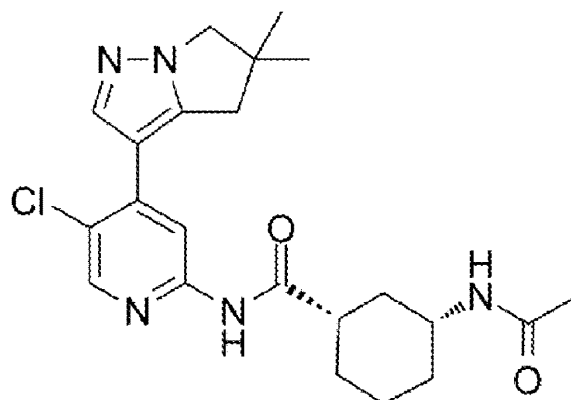
10

を有する強力な高選択的PTEF-b/CDK9阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。例えば、Anshabo, et al., *Frontiers in Oncology*, 11 (2021)を参照されたい。

【0171】

幾つかの実施形態において、CDK阻害剤は、AZD 4573（AstraZeneca）である。AZD 4573は、構造：

【化14】



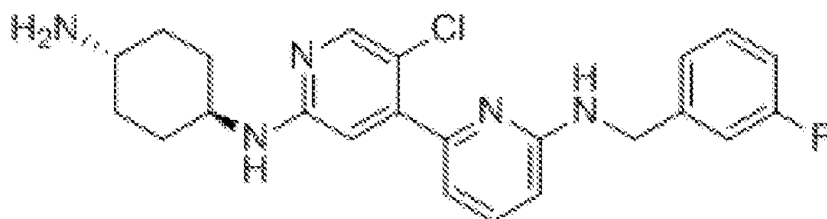
30

を有するCDK9の選択的阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。例えば、Anshabo, et al., *Frontiers in Oncology*, 11 (2021)を参照されたい。

【0172】

幾つかの実施形態において、CDK阻害剤はi-CDK9である。i-CDK9は、構造：

【化15】



40

を有する、他のCDKよりもCDK9に対して600倍の選択性を有するCDK阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物である。i-CDK9は、二重特異性チロシンリン酸化調節キナーゼ（DYRK）1A及び1Bを阻害するが、CDK9と比較して効

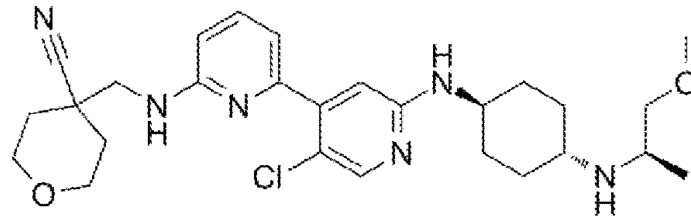
50

力は低い。例えば、Anshabo, et al., *Frontiers in Oncology*, 11 (2021)を参照されたい。

【0173】

幾つかの実施形態において、CDK阻害剤はNVP-2である。NVP-2は、ATP競合型アミノピリミジン系阻害剤又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物であり、i-CDK9の化学アナログであり、構造：

【化16】



10

を有する。例えば、*Nat Chem Biol* 14, 163-170 (2018)を参照されたい。

【0174】

ポリペプチドの発現及び産生

DR5結合性ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸分子が提供される。幾つかの実施形態において、核酸分子はまた、DR5結合性ポリペプチドの分泌を指示するリーダー配列もコードすることができ、そのリーダー配列は、典型的には、これが分泌されたポリペプチド中に存在しないように切断される。リーダー配列は、天然の重鎖（又はVHH）リーダー配列であり得る、又は別の異種リーダー配列であり得る。

20

【0175】

核酸分子は、当該技術分野で慣用の組換えDNA技術を使用して構築され得る。幾つかの実施形態においては、核酸分子は、選択された宿主細胞における発現に適した発現ベクターである。

【0176】

本明細書に記載されるDR5結合性ポリペプチドをコードする核酸を含むベクターが提供される。そのようなベクターとしては、限定されるものではないが、DNAベクター、ファージベクター、ウイルスベクター、レトロウイルスベクター等が挙げられる。幾つかの実施形態においては、CHO細胞若しくはCHO由来細胞等の所望の細胞型、又はNSO細胞におけるポリペプチドの発現のために最適化されたベクターが選択される。例示的なそのようなベクターは、例えば、*Running Deer et al., Biotechnol. Prog.* 20:880-889 (2004)に記載されている。

30

【0177】

幾つかの実施形態においては、DR5結合性ポリペプチドは、細菌細胞等の原核細胞において、又は真菌細胞（酵母等）、植物細胞、昆虫細胞、及び哺乳類細胞等の真核細胞において発現され得る。そのような発現は、例えば、当該技術分野で既知の手順に従って実施され得る。ポリペプチドの発現に使用され得る例示的な真核細胞としては、限定されるものではないが、COS7細胞を含むCOS細胞、293-6E細胞を含む293細胞、CHO-S、DG44、Lec13 CHO細胞及びFUT8 CHO細胞を含むCHO細胞、PER.C6（商標）細胞（Crucell）、並びにNSO細胞が挙げられる。幾つかの実施形態においては、DR5結合性ポリペプチドは、酵母において発現され得る。例えば、米国特許出願公開第2006/0270045号を参照されたい。幾つかの実施形態においては、特定の真核宿主細胞は、ポリペプチドに対して所望の翻訳後修飾を行うその能力に基づいて選択される。例えば、幾つかの実施形態においては、CHO細胞は、293細胞で産生される同じポリペプチドよりも高レベルのシアル化を有するポリペプチドを産生する。

40

【0178】

所望の宿主細胞への1つ以上の核酸（ベクター等）の導入は、限定されるものではない

50

が、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、感染等を含むあらゆる方法によって達成され得る。非限定的な例示的な方法は、例えば Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001) に記載されている。核酸は、任意の適切な方法に従って、所望の宿主細胞に一過的又は安定的にトランスフェクションされ得る。

【0179】

本明細書に記載される核酸又はベクターのいずれかを含む宿主細胞も提供される。幾つかの実施形態においては、本明細書に記載されるDR5結合性ポリペプチドを発現する宿主細胞が提供される。宿主細胞で発現されたDR5結合性ポリペプチドは、任意の適切な方法によって精製され得る。そのような方法としては、限定されるものではないが、親和性マトリックス又は疎水性相互作用クロマトグラフィーの使用が挙げられる。適切なアフィニティリガンドとしては、ROR1 ECD及びFc領域に結合する作用物質が挙げられる。例えば、プロテインA、プロテインG、プロテインA/G、又は抗体アフィニティカラムを使用して、Fc領域に結合することで、Fc領域を含むDR5結合性ポリペプチドを精製することができる。疎水性相互作用クロマトグラフィー、例えば、ブチルカラム又はフェニルカラムもまた、抗体等の幾つかのポリペプチドを精製するのに適切であり得る。イオン交換クロマトグラフィー（例えば、陰イオン交換クロマトグラフィー及び／又は陽イオン交換クロマトグラフィー）もまた、抗体等の幾つかのポリペプチドを精製するのに適切であり得る。混合モードクロマトグラフィー（例えば、逆相／陰イオン交換、逆相／陽イオン交換、親水性相互作用／陰イオン交換、親水性相互作用／陽イオン交換等）も、抗体等の幾つかのポリペプチドを精製するのに適切であり得る。ポリペプチドを精製する多くの方法が当該技術分野で知られている。

【0180】

幾つかの実施形態においては、DR5結合性ポリペプチドは、無細胞系において產生される。非限定的な例示的な無細胞系は、例えば、Sitaraman et al., *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009)、Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004)、Endo et al., *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003) に記載されている。

【0181】

幾つかの実施形態においては、上記の方法によって作製されたDR5結合性ポリペプチドが提供される。幾つかの実施形態においては、DR5結合性ポリペプチドは、宿主細胞において作製される。幾つかの実施形態においては、DR5結合性ポリペプチドは、無細胞系において作製される。幾つかの実施形態においては、DR5結合性ポリペプチドは精製される。幾つかの実施形態においては、DR5結合性ポリペプチドを含む細胞培養培地が提供される。

【0182】

幾つかの実施形態においては、上記の方法によって作製された抗体を含む組成物が提供される。幾つかの実施形態においては、該組成物は、宿主細胞において作製されたDR5結合性ポリペプチドを含む。幾つかの実施形態においては、該組成物は、無細胞系において作製されたDR5結合性ポリペプチドを含む。幾つかの実施形態においては、該組成物は、精製されたDR5結合性ポリペプチドを含む。

【0183】

医薬組成物

幾つかの実施形態においては、DR5アゴニスト、PLK1阻害剤及び／又はCDK阻害剤を含む組成物は、多種多様な薬学的に許容可能な担体を含む製剤で提供される（例えば、Gennaro, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts 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)を参照されたい）。ビヒクル

、アジュバント、及び希釈剤を含む様々な薬学的に許容可能な担体が利用可能である。さらに、pH調整剤及び緩衝剤、張性調整剤、安定剤、湿潤剤等の様々な薬学的に許容可能な補助物質も利用可能である。

【0184】

幾つかの実施形態において、INBRX-109は、50mg/mL INBRX-109、10mMヒスチジンHCl、8% (w/v) スクロース、0.2% (w/v) ポロキサマー88 (pH6.0) を含む製剤で提供される。

【0185】

DR5アゴニスト及びPLK1阻害剤を用いて癌を治療する例示的な方法

幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びPLK1阻害剤を投与することを含む、個体における癌を治療する方法が提供される。

【0186】

幾つかの実施形態において、方法は、有効量のDR5アゴニスト及びPLK1阻害剤を個体に投与することを含む。そのような治療方法は、ヒト又は動物における治療方法であり得る。幾つかの実施形態において、ヒトを治療する方法が提供される。本明細書で提供されるDR5アゴニストとPLK1阻害剤との組合せを用いて治療され得る非限定的な例示的な癌としては、副腎癌、星状細胞腫、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳癌及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、結腸直腸癌（大腸癌）、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃部癌、胃腸癌、膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓癌又は腎癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口及び咽頭）、卵巣癌、膵臓腺癌等の膵臓癌、下垂体癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、中皮腫、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌又は子宮内膜癌、泌尿器系癌及び外陰癌、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞リンパ腫、低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球（SL）NHL、中悪性度／濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非分割細胞NHL、巨大病変NHL、マントル細胞リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、慢性リンパ性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞白血病、慢性骨髄芽球性白血病、並びにその他の癌腫及び肉腫、並びに移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、並びに母斑症、浮腫（脳腫瘍に関連する浮腫等）及びメイグス症候群に関連する異常血管増殖が挙げられる。

【0187】

DR5アゴニスト及びPLK1阻害剤は、必要に応じて被験体に投与され得る。各作用物質の投与の頻度の決定は、治療される病態、治療される被験体の年齢、治療される病態の重症度、治療される被験体の全般的健康状態等の考慮に基づいて、主治医等の当業者によって行われ得る。幾つかの実施形態において、有効用量の1つ以上の治療剤が被験体に1回以上投与される。幾つかの実施形態において、有効用量のDR5アゴニスト及び／又はPLK1阻害剤が、被験体に毎日、週に2回、毎週、2週間ごとに、月に1回等で投与される。有効用量のDR5アゴニスト及び／又はPLK1阻害剤が被験体に少なくとも1回投与される。幾つかの実施形態において、有効用量のDR5アゴニスト及び／又はPLK1阻害剤が、少なくとも1ヶ月、少なくとも6ヶ月、又は少なくとも1年間にわたる複数回を含む複数回で投与され得る。

【0188】

幾つかの実施形態において、DR5アゴニストは、癌を治療（癌の予防を含む）するのに有効な量で投与される。治療有効量は、典型的には、治療される被験体の体重、その被験体の身体的状態若しくは健康状態、治療される病態の広範さ、又は治療される被験体の年齢に依存する。一般に、DR5結合性ポリペプチドは、用量あたり約0.05mg/kg（体重）～約100mg/kg（体重）の範囲、又は用量あたり約10µg/kg（体

10

20

30

40

50

重) ~ 約 100 mg/kg (体重) の範囲、又は用量あたり約 $50 \mu\text{g/kg}$ (体重) ~ 約 5 mg/kg (体重) の範囲、又は用量あたり約 $100 \mu\text{g/kg}$ (体重) ~ 約 10 mg/kg (体重) の範囲、又は用量あたり約 0.5 mg/kg (体重) ~ 約 20 mg/kg (体重) の範囲、又は用量あたり約 1 mg/kg (体重) ~ 約 10 mg/kg (体重) の範囲の量で投与され得る。

【0189】

幾つかの実施形態において、PLK1阻害剤(又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物)は、例えば、 $10 \text{ mg/m}^2 \sim 500 \text{ mg/m}^2$ 、 $10 \text{ mg/m}^2 \sim 300 \text{ mg/m}^2$ 又は $10 \text{ mg/m}^2 \sim 200 \text{ mg/m}^2$ を含む $1 \text{ mg/m}^2 \sim 1000 \text{ mg/m}^2$ の用量で投与される。幾つかの実施形態において、PLK1阻害剤(又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物)は、例えば、 $10 \text{ mg} \sim 5000 \text{ mg}$ 又は $10 \text{ mg} \sim 1000 \text{ mg}$ 又は $10 \text{ mg} \sim 500 \text{ mg}$ を含む $1 \text{ mg} \sim 10000 \text{ mg}$ の用量で投与される。

10

【0190】

幾つかの実施形態において、オンバンセルチブは、 $2 \text{ mg/m}^2 \sim 100 \text{ mg/m}^2$ の用量で投与される。幾つかの実施形態において、ボラセルチブは、 $10 \text{ mg} \sim 500 \text{ mg}$ の用量で投与される。幾つかの実施形態において、リゴセルチブは、 $10 \text{ mg} \sim 1000 \text{ mg}$ の用量で投与される。

【0191】

幾つかの実施形態において、治療剤は、限定されるものではないが、経口、筋肉内、静脈内、動脈内、非経口、腹腔内又は皮下を含む様々な経路によって *in vivo* で投与され得る。意図される用途に応じて、適切な製剤及び投与経路を選択することができる。

20

【0192】

幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びPLK1阻害剤は、別々に投与される。幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びPLK1阻害剤は、順次投与される。幾つかの実施形態において、DR5アゴニストの少なくとも1つの用量がPLK1阻害剤の前に投与される。幾つかの実施形態において、DR5アゴニストの少なくとも1つの用量がPLK1阻害剤の後に投与される。

【0193】

幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びPLK1阻害剤は、併用投与される。

30

【0194】

幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びPLK1阻害剤は、相乗的に作用する。幾つかの実施形態において、相乗作用は、*in vitro* 細胞生存アッセイにおいて決定される。幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びPLK1阻害剤の投与は、各作用物質の単独投与と比較して相乗効果をもたらす。

【0195】

幾つかの実施形態において、癌を治療する方法に使用されるDR5アゴニストであって、該方法がDR5アゴニストをPLK1阻害剤と組み合わせて投与することを含む、DR5アゴニストが提供される。

40

【0196】

幾つかの実施形態において、癌を治療するための薬剤の製造へのDR5アゴニストの使用であって、該薬剤がPLK1阻害剤とともに投与される、使用が提供される。

【0197】

DR5アゴニスト及びCDK阻害剤を用いて癌を治療する例示的な方法

幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びCDK9阻害剤等のCDK阻害剤を投与することを含む、個体における癌を治療する方法が提供される。

【0198】

幾つかの実施形態において、方法は、有効量のDR5アゴニスト及びCDK阻害剤を個体に投与することを含む。そのような治療方法は、ヒト又は動物における治療方法であり

50

得る。幾つかの実施形態において、ヒトを治療する方法が提供される。本明細書で提供されるDR5アゴニストとCDK阻害剤との組合せを用いて治療され得る非限定的な例示的な癌としては、副腎癌、星状細胞腫、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳癌及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、結腸直腸癌（大腸癌）、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃部癌、胃腸癌、膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓癌又は腎癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口及び咽頭）、卵巣癌、膵臓腺癌等の膵臓癌、下垂体癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、中皮腫、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌又は子宮内膜癌、泌尿器系癌及び外陰癌、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞リンパ腫、低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球（SL）NHL、中悪性度／濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非分割細胞NHL、巨大病変NHL、マントル細胞リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、慢性リンパ性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞白血病、慢性骨髄芽球性白血病、並びにその他の癌腫及び肉腫、並びに移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、並びに母斑症、浮腫（脳腫瘍に関連する浮腫等）及びメイグス症候群に関連する異常血管増殖が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0199】

DR5アゴニスト及びCDK阻害剤は、必要に応じて被験体に投与され得る。各作用物質の投与の頻度の決定は、治療される病態、治療される被験体の年齢、治療される病態の重症度、治療される被験体の全般的健康状態等の考慮に基づいて、主治医等の当業者によって行われ得る。幾つかの実施形態において、有効用量の1つ以上の治療剤が被験体に1回以上投与される。幾つかの実施形態において、有効用量のDR5アゴニスト及び／又はCDK阻害剤が、被験体に毎日、週に2回、毎週、2週間ごとに、月に1回等で投与される。有効用量のDR5アゴニスト及び／又はCDK阻害剤が被験体に少なくとも1回投与される。幾つかの実施形態において、有効用量のDR5アゴニスト及び／又はCDK阻害剤が、少なくとも1ヶ月、少なくとも6ヶ月、又は少なくとも1年間にわたる複数回を含む複数回で投与され得る。

【0200】

幾つかの実施形態において、DR5アゴニストは、癌を治療（癌の予防を含む）するのに有効な量で投与される。治療有効量は、典型的には、治療される被験体の体重、その被験体の身体的状態若しくは健康状態、治療される病態の広範さ、又は治療される被験体の年齢に依存する。一般に、DR5結合性ポリペプチドは、用量あたり約0.05mg/kg（体重）～約100mg/kg（体重）の範囲、又は用量あたり約10µg/kg（体重）～約100mg/kg（体重）の範囲、又は用量あたり約50µg/kg（体重）～約5mg/kg（体重）の範囲、又は用量あたり約100µg/kg（体重）～約10mg/kg（体重）の範囲、又は用量あたり約100µg/kg（体重）～約20mg/kg（体重）の範囲、又は用量あたり約0.5mg/kg（体重）～約20mg/kg（体重）の範囲、又は用量あたり約1mg/kg（体重）～約10mg/kg（体重）の範囲の量で投与され得る。

【0201】

幾つかの実施形態において、CDK阻害剤（又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物）は、例えば、10mg/m²～500mg/m²、10mg/m²～300mg/m²又は10mg/m²～200mg/m²を含む1mg/m²～1000mg/m²の用量で投与される。幾つかの実施形態において、CDK阻害剤（又はその薬学的に許容可能な塩若しくは水和物）は、例えば、10mg～5000mg又は10mg～1000mg又は10mg～500mgを含む1mg～10000mgの用量で投与される。

【0202】

幾つかの実施形態において、フラボピリドールは、 $2\text{ mg}/\text{m}^2 \sim 100\text{ mg}/\text{m}^2$ の用量で投与される。幾つかの実施形態において、セリシクリブは、 $10\text{ mg} \sim 500\text{ mg}$ の用量で投与される。幾つかの実施形態において、ジナシクリブは、 $10\text{ mg} \sim 2000\text{ mg}$ の用量で投与される。幾つかの実施形態において、アツベシクリブは、 $10\text{ mg} \sim 1000\text{ mg}$ の用量で投与される。幾つかの実施形態において、エニトシクリブは、 $10\text{ mg} \sim 500\text{ mg}$ の用量で投与される。幾つかの実施形態において、AZD4573は、 $1\text{ mg} \sim 100\text{ mg}$ の用量で投与される。

【0203】

幾つかの実施形態において、治療剤は、限定されるものではないが、経口、筋肉内、静脈内、動脈内、非経口、腹腔内又は皮下を含む様々な経路によって *in vivo* で投与され得る。意図される用途に応じて、適切な製剤及び投与経路を選択することができる。

10

【0204】

幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びCDK阻害剤は、別々に投与される。幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びCDK阻害剤は、順次投与される。幾つかの実施形態において、DR5アゴニストの少なくとも1つの用量がCDK阻害剤の前に投与される。幾つかの実施形態において、DR5アゴニストの少なくとも1つの用量がCDK阻害剤の後に投与される。

【0205】

幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びCDK阻害剤は、併用投与される。

【0206】

20

幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びCDK阻害剤は、相乗的に作用する。幾つかの実施形態において、相乗作用は、*in vitro* 細胞生存アッセイにおいて決定される。幾つかの実施形態において、DR5アゴニスト及びCDK阻害剤の投与は、各作用物質の単独投与と比較して相乗効果をもたらす。

【0207】

幾つかの実施形態において、癌を治療する方法に使用されるDR5アゴニストであって、該方法がDR5アゴニストをCDK阻害剤と組み合わせて投与することを含む、DR5アゴニストが提供される。

【0208】

幾つかの実施形態において、癌を治療するための薬剤の製造へのDR5アゴニストの使用であって、該薬剤がCDK阻害剤とともに投与される、使用が提供される。

30

【0209】

キット

本明細書で提供されるDR5アゴニスト及び／又はPLK1阻害剤のいずれかと適切な包装とを含む製造品及びキットも提供される。幾つかの実施形態において、本発明は、(i) DR5アゴニストを含む製剤と、(ii) PLK1阻害剤を含む製剤と、(iii) キットを使用して製剤を個体に投与するための使用説明書とを含むキットを含む。幾つかの実施形態において、本発明は、(i) DR5アゴニストを含む製剤と、(ii) キットを使用して製剤をPLK1阻害剤と組み合わせて個体に投与するための使用説明書とを含むキットを含む。幾つかの実施形態において、本発明は、(i) PLK1阻害剤を含む製剤と、(ii) キットを使用して製剤をDR5アゴニストと組み合わせて個体に投与するための使用説明書とを含むキットを含む。

40

【0210】

本明細書で提供されるDR5アゴニスト及び／又はCDK阻害剤のいずれかと適切な包装とを含む製造品及びキットも提供される。幾つかの実施形態において、本発明は、(i) DR5アゴニストを含む製剤と、(ii) CDK阻害剤を含む製剤と、(iii) キットを使用して製剤を個体に投与するための使用説明書とを含むキットを含む。幾つかの実施形態において、本発明は、(i) DR5アゴニストを含む製剤と、(ii) キットを使用して製剤をCDK阻害剤と組み合わせて個体に投与するための使用説明書とを含むキットを含む。幾つかの実施形態において、本発明は、(i) CDK阻害剤を含む製剤と、(

50

i i) キットを使用して製剤を D R 5 アゴニストと組み合わせて個体に投与するための使用説明書とを含むキットを含む。

【0211】

本明細書に記載される組成物に適切な包装は、当該技術分野で知られており、例えば、バイアル（例えば、密封バイアル）、容器、アンプル、ボトル、広口瓶、フレキシブルな包装（例えば、密封マイラー又はプラスチックバッグ）等が含まれる。これらの製造品は、更に滅菌及び／又は密封され得る。本明細書に記載される組成物を含む単位剤形も提供される。これらの単位剤形は、単回又は多回単位剤形で適切な包装内で保存され得て、更に滅菌及び密封もされ得る。本発明のキットに提供される使用説明書は、典型的には、ラベル又は添付文書（例えば、キットに含まれる紙シート）に書かれた指示であるが、機械可読の指示（例えば、磁気記憶ディスク又は光学記憶ディスクに保持された指示）も許容可能である。D R 5 アゴニスト、P L K 1 阻害剤及び／又は C D K 阻害剤の使用に関する使用説明書は一般に、意図された治療又は工業的使用のための投与量、投与スケジュール、及び投与経路に関する情報を含む。キットは、個々の適切な治療を選択することの説明を更に含み得る。

10

【0212】

容器は、単位用量、バルク包装（例えば、多回用量包装）又はサブユニット用量であり得る。例えば、1週間、2週間、3週間、4週間、6週間、8週間、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月以上のいずれかの概数の期間等の長期間にわたって個体に効果的な治療をもたらすのに十分な投与量の本明細書に開示される分子を含むキットも提供され得る。キットはまた、多回単位用量の分子及び使用説明書を含むことができ、薬局、例えば、病院薬局及び調剤薬局での保存及び使用に十分な量で包装され得る。幾つかの実施形態においては、キットは、再構成、再懸濁、又は再水和することで、一般的に D R 5 アゴニストの安定な水溶液を形成することができる乾燥（例えば、凍結乾燥）組成物を含む。

20

【実施例】

【0213】

以下で論じられる実施例は、本発明を純粹に例示することが意図され、決して本発明を限定するとみなされるべきではない。これらの実施例は、以下の実験が、実施された全て又は唯一の実験であることを表すとは意図されない。使用される数値（例えば、量、温度等）に関して正確さを保証するための努力がなされたが、幾らかの実験誤差及び偏差が考慮に入れられるべきである。特段の指示がない限り、部は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏温度であり、圧力は大気圧であるか又は近大気圧である。

30

【0214】

実施例 1：I N B R X - 1 0 9 と オンバンセルチブ との 組合せ 活性

I N B R X - 1 0 9 と オンバンセルチブ との 組合せを 様々な 癌細胞株で 試験し、癌細胞 に対する 細胞傷害性 を 決定した。

【0215】

アッセイプロトコル

1 日目に、細胞を以下のように播種した。各細胞株の単層培養物を、以下に詳述する化合物スクリーニングのために採取した。培養培地を吸引し、細胞を P B S で 1 回洗浄した。A c c u t a s e を添加し、細胞が剥離するまでフラスコを 3 7 °C でインキュベートした。等容量の完全培地を添加して A c c u t a s e をクエンチした後、細胞をピペットで数回上下させ、均一な単一細胞懸濁液を生成した。細胞の密度及び生存率は、T C 2 0 A u t o m a t e d C e l l C o u n t e r を用いてトリパンブルーにより決定した。実験細胞を E a g l e ' s M i n i m u m E s s e n t i a l M e d i u m (E M E M) / 1 0 % F B S / A n t i - A n t i 培地（完全 E M E M ）中で 0.17×10^6 個/mL の濃度に再懸濁し、3 8 4 ウェル発光プレートの内側ウェルに 1 5 μ L / ウェル（最終 2 5 0 0 個 / ウェル）で播種した。各細胞株を別々のプレートに二連でプレーティングした。外側ウェルを 5 0 μ L の P B S で満たした後、プレートを 5 % C O ₂ の加湿温

40

50

度制御 37℃組織培養インキュベーター内で一晚、16時間にわたってインキュベートした。

【0216】

2日目に、以下の被験物質及び対照物質を調製した：オンバンセルチブ、INBRX-109及びスタウロスポリン。

【0217】

オンバンセルチブ：オンバンセルチブの10mgストックをSelleck Chemicalsから購入し、DMSO中で10mMに再懸濁した。次いで、これを分注し、-80℃で保存した。アリコートは、希釈してアッセイに使用する直前に融解した。段階希釈（500μMから始まる100%DMSOでの6点5倍希釈+DMSOのみの対照）の500倍マスタープレート（working）希釈プレートを作製するために、500倍プレートから完全培地（EMEM）で100倍希釈を行った。

【0218】

INBRX-109：INBRX-109アッセイ濃度範囲は、幾つかの癌性細胞株を用いた先の細胞傷害性アッセイで見られた最小活性及び最大活性を含むように選択し、1nMを最大有効濃度と規定した。INBRX-109段階希釈（500nMから始まる完全EMEMでの6点10倍希釈+完全EMEMのみの対照）の50倍マスタープレートを作製し、ピペットで穏やかに混合した。INBRX-109の5倍標準希釈プレートを作製するために、50倍マスタープレートの各ウェルを完全EMEMで10倍希釈した。

【0219】

スタウロスポリン：スタウロスポリンを細胞傷害性の陽性対照としてアッセイに含めた。製造業者から購入した10mM DMSOストックを融解し、分注し、-80℃で保存した。アリコートは、希釈してアッセイに使用する直前に融解した。5倍スタウロスポリン標準希釈液（100μM）は、5μLの10mMスタウロスポリンストック溶液を495μLの完全EMEMに添加した後、十分に混合して作製した。

【0220】

また、2日目に被験物質及び対照物質を添加した。オンバンセルチブ小分子標準希釈液（5倍を5μL）、INBRX-109標準希釈液（5倍を5μL）又はスタウロスポリン陽性対照（5倍を5μL）をそれぞれの実験ウェルに添加した。オンバンセルチブ滴定をプレートの横方向に行い、INBRX-109滴定をプレートの縦方向に行って、2つの被験物質のあらゆる可能な組合せの行列を得た。これらの被験物質を各細胞株に二連で添加した。次いで、プレートを400×gで1分間遠心分離した後、37℃の湿度制御組織培養インキュベーター（5%CO₂）内で48時間インキュベートした。

【0221】

4日目に生存率測定を行った。プレートを10分間室温に平衡化した後、25μLのCellTiter-Glo 2.0（商標）を各ウェルに添加した。プレートを400×gで1分間回転させた後、蓋をして暗所にて室温で10分間インキュベートした。目に見える泡を全て100%エタノール蒸気で除去した後、発光（RLU）をSpectraMax M5eプレートリーダーにて、384ウェル不透明プレート設定及びSoftMax Pro v5.4ソフトウェアを用いて積分時間50ミリ秒で読み取った。細胞生存率に対する被験物質の影響を決定するために、生のRLU値をExcelにエクスポートし、生存率（%）をビヒクル対照（EMEM中の0.5%DMSO）に対するパーセンテージとして算出した（ビヒクル対照を100%とする）。データはGraphPad Prism 9でグラフ化した。

【0222】

結果

図1A～図1Fは、様々な癌細胞株を異なる濃度のINBRX-109（0.0001nM、0.001nM、0.01nM、0.1nM、1nM又は10nM）及びオンバンセルチブ（0nM、0.32nM、1.6nM、8nM、40nM、200nM又は10

0.0 nM) と接触させた滴定実験の結果を示す。癌細胞の生存率 (%) を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 HT-29、LS174T、SW620、SW837、SW1463 及び LS411N についての結果を示す。

【0223】

図2A～図2Fは、様々な癌細胞株を異なる濃度の INBRX-109 (0.0001 nM、0.001 nM、0.01 nM、0.1 nM、1 nM 又は 10 nM) と、単独で又は 200 nM オンバンセルチブと組み合わせて接触させた INBRX-109 滴定実験の結果を示す。癌細胞の生存率 (%) を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 HT-29、LS174T、SW620、SW837、SW1463 及び LS411N についての結果を示す。「Cpd 単独」と表示された点線は、200 nM オンバンセルチブ単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

10

【0224】

図3A～図3Fは、様々な癌細胞株を異なる濃度の オンバンセルチブ (0.32 nM、1.6 nM、8 nM、40 nM、200 nM 又は 1000 nM) と、単独で又は 1 nM INBRX-109 と組み合わせて接触させた オンバンセルチブ 滴定実験の結果を示す。癌細胞の生存率 (%) を各グラフの y 軸に示す。癌細胞株 HT-29、LS174T、SW620、SW837、SW1463 及び LS411N についての結果を示す。「Ab 単独」と表示された点線は、INBRX-109 単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

20

【0225】

表1は、200 nM オンバンセルチブを用いた場合及び用いない場合の INBRX-109 滴定曲線の EC₅₀ 値を示す。最大細胞傷害性は、100 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

【0226】

表 1

細胞株	INBRX-109 のみ		INBRX-109 + 200 nM オンバンセルチブ	
	EC ₅₀ (pM)	最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (pM)	最大細胞傷害性 (%)
HT-29	11.58	71.42	0.0554	94.94
LS174T	10.65	59.68	90.66	79.32
SW620	4.775	20.25	0.965	88.56
SW837	1.234	6.43	0.371	80.64
SW1463	65.98	38.14	4.946	73.74
LS411N	不安定	13.27	0.687	88.9

30

【0227】

表2は、1 nM INBRX-109 を用いた場合及び用いない場合の オンバンセルチブ 滴定曲線の EC₅₀ 値を示す。最大細胞傷害性は、100 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

【0228】

40

表 2

細胞株	オンバンセルチブのみ		オンバンセルチブ + 1 nM INBRX-109	
	EC ₅₀ (nM)	200 nMでの最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (nM)	200 nMでの最大細胞傷害性 (%)
HT-29	約2.296	5.54	21.41	94.63
LS174T	約196.7	16.93	約54.73	79.32
SW620	31.3	51.37	30.45	87.53
SW837	27247	27.17	約43.16	80.64
SW1463	124.3	25.79	約38.19	74.39
LS411N	約4145862	12.35	約10.27	84.45

10

20

30

40

50

【0229】

INBRX-109とオンバンセルチブとの組合せは、このスクリーニングにおいて試験した全ての癌細胞株で細胞死滅の増加を示した。概して、より大きな利点が、40 nMよりも高いオンバンセルチブ濃度で観察された。これらの濃度では、INBRX-109処理単独のEC₅₀と比較したINBRX-109のEC₅₀のシフトによって明らかのように、組合せが相乗効果をもたらした。例えば、図2及び表1を参照されたい。さらに、この組合せは、どちらかの薬物単独での処理と比較して全細胞生存率の低下をもたらした。

【0230】

付加的な癌細胞株を、実質的に上記のように、1 nM INBRX-109単独、オンバンセルチブ単独、又は1 nM INBRX-109と異なる濃度のオンバンセルチブ（274 pM、823 pM、2.47 nM、7.41 nM、22.22 nM、66.67 nM、200 nM、600 nM及び1.8 µM）との組合せの存在下で細胞死滅についてアッセイした。表3及び表4並びに図4～図8は、1 nM INBRX-109単独の最大細胞傷害性、並びに1 nM INBRX-109を用いた場合及び用いない場合のオンバンセルチブ滴定曲線のEC₅₀値を示す。大腸癌細胞株のパネルについての結果を表3及び図4～図6に示し、膵臓細胞株のパネルについての結果を表4並びに図7及び図8に示す。

【0231】

表 3

細胞株	1 n M I N B R X - 1 0 9 のみ		オンバンセルチブのみ		オンバンセルチブ + 1 n M I N B R X - 1 0 9	
	EC ₅₀ (n M)	1 n Mでの最大細 胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (nM)	6 0 0 n Mでの 最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (nM)	6 0 0 n Mでの 最大細胞傷害性 (%)
SK-CO-1	N/A	92.2	113.4	52.8	111.0	94.2
SNU-C5	N/A	48.6	95.6	42.9	57.7	87.7
LS 1034	N/A	56.9	236.6	38.8	199.4	85.8
LS 123	N/A	3.1	150.1	9.6	171.6	24.1
LS 180	N/A	27.2	505.0	42.9	196.6	86.2
T84	N/A	9.1	355.3	32.1	297.2	62.9
SW-48	N/A	93.9	37.3	76.6	28.3	99.4
SW-1116	N/A	15.3	441.4	10.4	411.1	39.4
SW-1463	N/A	28.5	201.1	21.0	98.0	64.2
SW-837	N/A	7.1	226.7	24.5	183.5	73.5
SW-948	N/A	98.5	97.0	43.2	23.3	99.0
LS 513	N/A	92.3	215.0	39.6	100.9	93.7
NCI-H716	N/A	9.2	81.3	34.8	83.6	51.2
HCT 116	N/A	54.4	112.0	76.0	66.8	96.6
DLD-1	N/A	41.9	280.0	45.8	183.6	90.4
HCT-15	N/A	49.6	268.0	61.4	175.3	94.9
LS174T	N/A	41.2	251.7	59.5	109.1	94.1
HT-55	N/A	48.4	51.4	41.8	44.1	87.9
SNU-81	N/A	82.1	187.3	24.3	71.9	92.3
HT-29	N/A	19.9	61.6	45.6	43.0	98.3
SW620	N/A	19.4	62.1	61.8	54.6	90.4
Hutu 80	N/A	4.0	137.8	85.4	133.4	86.5
SW-480	N/A	19.7	126.0	40.7	93.3	86.3
SW-403	N/A	15.7	62.5	46.4	64.9	89.0
LoVo	N/A	16.2	34.1	29.6	41.8	90.8
SNU-C2A	N/A	41.4	72.7	42.9	42.9	78.0
NCI-H747	N/A	13.4	71.6	17.4	78.7	44.5
COL0320DM	N/A	4.7	382.5	58.3	283.0	79.6
RK0	N/A	3.6	85.9	65.7	54.7	93.8
HCT-8	N/A	6.7	205.0	52.7	200.0	81.3

10

20

30

40

50

【 0 2 3 2 】

表 4

細胞株	1 nM INBRX-109のみ		オンバンセルチブのみ		オンバンセルチブ + 1 nM INBRX-109	
	EC ₅₀ (nM)	1 nMでの最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (nM)	600 nMでの最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (nM)	600 nMでの最大細胞傷害性 (%)
MIA PaCa-2	N/A	77.9	179.0	67.0	81.3	96.4
Panc 05.04	N/A	97.0	204.9	44.4	61.1	97.4
SW-1990	N/A	54.7	699.7	13.4	598.4	68.7
HuP-T4	N/A	80.7	138.1	33.7	35.1	85.3
BxPC-3	N/A	51.3	139.4	70.1	119.3	91.8
Capan-2	N/A	11.1	149.7	3.9	134.5	46.2
KP4	N/A	7.8	104.7	74.7	82.4	97.8
AsPC-1	N/A	14.5	444.3	19.9	230.3	60.0
PSN-1	N/A	91.9	85.3	83.2	63.0	98.0
HPAF-II	N/A	22.8	63.3	27.2	51.9	68.2
PANC-1	N/A	32.6	152.1	36.2	120.8	87.2
Capan-1	N/A	86.9	186.2	27.8	79.0	94.3
CFPAC-1	N/A	23.8	134.5	45.3	153.7	86.4
Panc 03.27	N/A	53.2	121.5	36.7	90.0	87.5
SU.86.86	N/A	92.5	629.1	30.5	91.4	98.9
PL45	N/A	14.1	83.6	56.5	68.1	82.2
Panc 10.05	N/A	23.8	81.9	47.2	81.7	83.3

10

20

30

40

50

【0233】

INBRX-109とオンバンセルチブとの組合せは、どちらかの作用物質単独と比較して、このスクリーニングにおいて試験した癌細胞株で細胞死滅の増加を示し、場合によっては、1 nM INBRX-109の添加により、オンバンセルチブ単独と比較してEC₅₀が大幅に低下した。

【0234】

このデータから、INBRX-109等のDR5アゴニストとオンバンセルチブ等のPLK1阻害剤との組合せが、個々の薬物単体と比較して改善された又は相乗的な癌細胞死滅をもたらすことが示唆される。

【0235】

実施例2：INBRX-109とCDK9阻害剤との組合せ活性

INBRX-109とサイクリン依存性キナーゼ9 (CDK9) 阻害剤 (ジナシクリブ、NVP-2、フラボピリドール及びエニトシクリブ) 又は下流のMCL-1の阻害剤 (AZD5991) との組合せを様々な細胞株で試験して、癌細胞に対する細胞傷害性を決定するために、付加的なアッセイを行った。

【0236】

アッセイプロトコル

1日目に、細胞を以下のように播種した。各細胞株 (軟骨肉腫：CAL-78、OUMS-27、SW1353及びH-EMC-SS、大腸癌：SW620、並びに滑膜肉腫：HS-SY-II) の単層培養物を化合物スクリーニングのために採取した。培養培地を吸引し、細胞をPBSで1回洗浄した。Accutaseを添加し、細胞が剥離するまでフラスコを37℃でインキュベートした。等容量の完全培地を添加してAccutaseをクエンチした後、細胞をピペットで数回上下させ、均一な単一細胞懸濁液を生成した。細胞の密度及び生存率は、TC20 Automated Cell Counterを用いてトリパブルーにより決定した。実験細胞をEagle's Minimum E

essential Medium (EMEM) / 10% FBS / Anti-Anti 培地 (完全EMEM) 中で 0.17×10^6 個/mL の濃度に再懸濁し、384 ウェル発光プレートの内側ウェルに 15 mL / ウェル (最終 2500 個 / ウェル) で播種した。各細胞株を別々のプレートに二連でプレーティングした。外側ウェルを 50 mL の PBS で満たした後、プレートを 5% CO₂ の加湿温度制御 37℃ 組織培養インキュベーター内で一晚、16 時間にわたってインキュベートした。

【0237】

2 日目に、以下の被験物質及び INBRX-109 を下記のように調製した：

ジナシクリブ (MedChemExpress から購入)：完全培地 (EMEM) 中で 5 倍標準段階希釈プレートを調製した (最終濃度範囲 625 nM ~ 0.2 nM で 312.5 μM から始まる 6 点 5 倍希釈)。

NVP-2 (MedChemExpress から購入)：完全培地 (EMEM) 中で 5 倍標準段階希釈プレートを調製した (最終濃度範囲 625 nM ~ 0.2 nM で 312.5 μM から始まる 6 点 5 倍希釈)。

フラボピリドール (MedChemExpress から購入)：完全培地 (EMEM) 中で 5 倍標準段階希釈プレートを調製した (最終濃度範囲 625 nM ~ 0.2 nM で 312.5 μM から始まる 6 点 5 倍希釈)。

エニトシクリブ (MedChemExpress から購入)：完全培地 (EMEM) 中で 5 倍標準段階希釈プレートを調製した (最終濃度範囲 625 nM ~ 0.2 nM で 312.5 μM から始まる 6 点 5 倍希釈)。

AZD-5991 (MedChemExpress から購入)：完全培地 (EMEM) 中で 5 倍標準段階希釈プレートを調製した (最終濃度範囲 10 μM ~ 3.2 nM で 5 mM から始まる 6 点 5 倍希釈)。

INBRX-109：完全培地 (EMEM) 中の 5 倍標準段階希釈プレート (最終濃度範囲 10 nM ~ 0.0001 nM で 50 nM から始まる 6 点 10 倍希釈)。

【0238】

被験物質は、以下のように細胞に添加した：小分子化合物標準希釈液 (5 倍を 5 μL)、INBRX-109 標準希釈液 (5 倍を 5 μL) 又は培地のみをそれぞれの実験ウェルに添加した。小分子化合物滴定をプレートの横方向に行い、INBRX-109 滴定をプレートの縦方向に行って、2 つの被験物質のあらゆる可能な組合せの行列を得た。これらの被験物質を各細胞株に二連で添加した。次いで、プレートを 400 × g で 1 分間遠心分離した後、37℃ の湿度制御組織培養インキュベーター (5% CO₂) 内で 48 時間インキュベートした。

【0239】

被験物質とのインキュベーション後に、生存率測定を短時間行った。プレートを 10 分間室温に平衡化した後、25 μL の CellTiter-Glo 2.0 (商標) を各ウェルに添加した。プレートを 400 × g で 1 分間回転させた後、蓋をして暗所にて室温で 10 分間インキュベートした。目に見える泡を全て 100% エタノール蒸気で除去した後、発光 (RLU) を Spectra Max M5e プレートリーダーにて、384 ウェル不透明プレート設定及び SoftMax (商標) Pro v5.4 ソフトウェアを用いて積分時間 50 ミリ秒で読み取った。細胞生存率に対する被験物質の影響を決定するために、生の RLU 値を Excel にエクスポートし、生存率 (%) をビヒクル対照 (EMEM 中の 0.5% DMSO) に対するパーセンテージとして算出した (ビヒクル対照を 100% とする)。データは GraphPad Prism 9 でグラフ化した。

【0240】

結果

これらの滴定実験の結果を図 9A ~ 図 9E (INBRX-109 及びジナシクリブを滴定)、図 10A ~ 図 10E (INBRX-109 を単独で又は 25 nM ジナシクリブとともに滴定)、図 11A ~ 図 11E (ジナシクリブを単独で又は 1 nM INBRX-109 とともに滴定)、図 12A ~ 図 12E (INBRX-109 及び NVP-2 を滴定)、

図 13 A～図 13 E (INBRX-109 を単独で又は 125 nM NVP-2 とともに滴定)、図 14 A～図 14 E (NVP-2 を単独で又は 1 nM INBRX-109 とともに滴定)、図 15 A～図 15 F (INBRX-109 及びフラボピリドールを滴定)、図 16 A～図 16 F (INBRX-109 を単独で又は 125 nM フラボピリドールとともに滴定)、図 17 A～図 17 F (フラボピリドールを単独で又は 1 nM INBRX-109 とともに滴定)、図 18 A～図 18 F (INBRX-109 及びエニトシクリブを滴定)、図 19 A～図 19 F (INBRX-109 を単独で又は 125 nM エニトシクリブとともに滴定)、図 20 A～図 20 F (エニトシクリブを単独で又は 1 nM INBRX-109 とともに滴定)、図 21 A～図 21 F (INBRX-109 及び AZD-5991 を滴定)、図 22 A～図 22 F (INBRX-109 を単独で又は 2 nM AZD-5991 とともに滴定) 及び図 23 A～図 23 F (AZD-5991 を単独で又は 1 nM INBRX-109 とともに滴定) に示す。「Ab 単独」と表示された点線は、1 nM INBRX-109 単独で処理した癌細胞の生存率 (%) を示し、「Cpd 単独」と表示された点線は、指定の小分子阻害剤で処理した癌細胞の生存率 (%) を示す。

10

【0241】

表 5 は、25 nM ジナシクリブを用いた場合及び用いない場合の INBRX-109 滴定曲線の EC₅₀ 値を示す。最大細胞傷害性は、100 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

【0242】

表 5

細胞株	INBRX-109 のみ		INBRX-109 + 25 nM ジナシクリブ	
	EC ₅₀ (pM)	1 nM での最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (pM)	最大細胞傷害性 (%)
CAL-78	>3597	9.3	0.16	91.7
OUMS-27	982.2	6.4	0.68	86.1
SW1353	不安定	6.9	0.81	84.6
H-EMC-SS	2.2	99.1	0.22	99.7
SW620	7.8	27.6	0.20	99.1

20

30

【0243】

表 6 は、1 nM INBRX-109 を用いた場合及び用いない場合のジナシクリブ滴定曲線の EC₅₀ 値を示す。最大細胞傷害性は、100 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

【0244】

表 6

細胞株	ジナシクリブのみ		ジナシクリブ + 1 nM INBRX-109	
	EC ₅₀ (nM)	25 nM での最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (nM)	最大細胞傷害性 (%)
CAL-78	5.76	47.1	3.70	91.4
OUMS-27	不安定	15.1	6.18	86.13
SW1353	8.23	58.0	7.38	85.11
H-EMC-SS	4.62	54.0	7.61	99.62
SW620	3.82	46.2	4.80	99.52

40

【0245】

表 7 は、25 nM NVP-2 を用いた場合及び用いない場合の INBRX-109 滴定曲線の EC₅₀ 値を示す。最大細胞傷害性は、100 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

50

【0246】

表 7

細胞株	I N B R X - 1 0 9 のみ		I N B R X - 1 0 9 + 1 2 5 n M N V P - 2	
	EC ₅₀ (pM)	1 n Mでの最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (pM)	最大細胞傷害性 (%)
CAL-78	不安定	9.3	0.13	82.2
OUMS-27	>4090	4.2	0.42	84.3
SW1353	不安定	0.8	0.50	71
H-EMC-SS	1.96	96.5	0.17	98.8
SW620	98.06	20.8	0.11	98.1

10

【0247】

表 8 は、1 n M I N B R X - 1 0 9 を用いた場合及び用いない場合の N V P - 2 滴定曲線の E C ₅₀ 値を示す。最大細胞傷害性は、1 0 0 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

【0248】

表 8

細胞株	N V P - 2 のみ		N V P - 2 + 1 n M I N B R X - 1 0 9	
	EC ₅₀ (nM)	1 2 5 n Mでの最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (nM)	最大細胞傷害性 (%)
CAL-78	23.25	42.2	26.44	92.4
OUMS-27	9.0	20.4	16.31	88.5
SW1353	30.63	52.8	22.28	79.5
H-EMC-SS	23.51	46.4	24.46	98.7
SW620	12.57	39.5	4.91	98.7

20

【0249】

表 9 は、2 5 n M フラボピリドールを用いた場合及び用いない場合の I N B R X - 1 0 9 滴定曲線の E C ₅₀ 値を示す。最大細胞傷害性は、1 0 0 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

30

【0250】

表 9

細胞株	I N B R X - 1 0 9 のみ		I N B R X - 1 0 9 + 1 2 5 n M フラボピリドール	
	EC ₅₀ (pM)	1 n Mでの最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (pM)	最大細胞傷害性 (%)
CAL-78	17.19	11	0.60	77.3
OUMS-27	0.95	6.2	0.89	61.3
HS-SY-II	不安定	8.5	1.93	64.1
SW1353	不安定	4.1	2.81	39.8
H-EMC-SS	9.25	96.2	1.46	98.5
SW620	1.37	8.2	0.90	90.8

40

【0251】

表 1 0 は、1 n M I N B R X - 1 0 9 を用いた場合及び用いない場合のフラボピリドール滴定曲線の E C ₅₀ 値を示す。最大細胞傷害性は、1 0 0 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

【0252】

50

表 1 0

細胞株	フラボピリ ドールのみ		フラボピリ ドール + 1 n M I N B R X - 1 0 9	
	EC ₅₀ (nM)	1 2 5 n Mでの最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (nM)	最大細胞傷害性 (%)
CAL-78	145.5	10.9	114.6	94
OUMS-27	109.1	24.0	118.2	87.8
HS-SY-II	108.4	55.8	102.6	95.1
SW1353	201.8	21.7	133.4	88.3
H-EMC-SS	114.4	21.9	53.94	99
SW620	不安定	21.7	50.20	98.7

10

【 0 2 5 3 】

表 1 1 は、1 2 5 n M エニトシクリブを用いた場合及び用いない場合の I N B R X - 1 0 9 滴定曲線の E C _{5 0} 値を示す。最大細胞傷害性は、1 0 0 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

【 0 2 5 4 】

表 1 1

細胞株	I N B R X - 1 0 9 のみ		I N B R X - 1 0 9 + 1 2 5 n M エニトシクリブ	
	EC ₅₀ (pM)	1 n Mでの最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (pM)	最大細胞傷害性 (%)
CAL-78	28.95	11.2	0.68	72.6
OUMS-27	不安定	約0	0.93	56.5
HS-SY-II	11.02	7.4	646.0	71.0
SW1353	9.1	8.8	1.05	45.1
H-EMC-SS	9.26	95.8	2.33	98.2
SW620	1.98	10.6	0.67	93.0

20

【 0 2 5 5 】

表 1 2 は、1 n M I N B R X - 1 0 9 を用いた場合及び用いない場合のエニトシクリブ滴定曲線の E C _{5 0} 値を示す。最大細胞傷害性は、1 0 0 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

【 0 2 5 6 】

表 1 2

細胞株	エニトシクリブのみ		エニトシクリブ + 1 n M I N B R X - 1 0 9	
	EC ₅₀ (nM)	1 2 5 n Mでの最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (nM)	最大細胞傷害性 (%)
CAL-78	144.2	10.9	108.5	90.8
OUMS-27	51.00	25.6	90.36	81
HS-SY-II	73.95	73.2	89.10	94
SW1353	102.2	28.0	102.7	64.6
H-EMC-SS	123.6	15.8	113.8	99.2
SW620	25.76	27.3	39.27	97.6

40

【 0 2 5 7 】

表 1 3 は、2 μ M A Z D - 5 9 9 1 を用いた場合及び用いない場合の I N B R X - 1 0 9 滴定曲線の E C _{5 0} 値を示す。最大細胞傷害性は、1 0 0 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

50

【0258】

表 1 3

細胞株	I N B R X - 1 0 9 のみ		I N B R X - 1 0 9 + 2 μ M A Z D - 5 9 9 1	
	EC ₅₀ (pM)	1 n Mでの最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (pM)	最大細胞傷害性 (%)
CAL-78	0.62	12.9	3.93	64.9
OUMS-27	8872.0	7.0	8.71	8.2
HS-SY-II	0.83	27.5	不安定	92.1
SW1353	不安定	6.6	5.33	27.7
H-EMC-SS	10.19	96.2	2.59	99.6
SW620	9.84	9.9	5.78	23.2

10

【0259】

表 1 4 は、1 n M I N B R X - 1 0 9 を用いた場合及び用いない場合の A Z D - 5 9 9 1 滴定曲線の E C ₅₀ 値を示す。最大細胞傷害性は、1 0 0 から生存率 (%) を減算することによって算出した。

【0260】

表 1 4

細胞株	A Z D - 5 9 9 1 のみ		A Z D - 5 9 9 1 + 1 n M I N B R X - 1 0 9	
	EC ₅₀ (μ M)	2 μ Mでの最大細胞傷害性 (%)	EC ₅₀ (μ M)	最大細胞傷害性 (%)
CAL-78	0.084	37.2	0.096	64.9
OUMS-27	>5000	約0	0.015	13.3
HS-SY-II	0.04	87.5	0.13	88.6
SW1353	10.12	約0	0.58	30.8
H-EMC-SS	0.18	11.9	0.007	99.5
SW620	285.7	7.6	不安定	64.1

20

30

【0261】

I N B R X - 1 0 9 と試験した C D K 9 阻害剤であるジナシクリブ、N V P - 2、フラボピリドール及びエニトシクリブのそれぞれとの組合せは、これらのスクリーニングにおいて試験したほぼ全ての癌細胞株で細胞死滅の増加を示した。I N B R X - 1 0 9 と、M C L - 1 (C D K 9 の下流の標的) の阻害剤である A Z D - 5 9 9 1 との組合せも、多数の細胞株で細胞死滅の増加を示した。より大きな利点が、概して、ジナシクリブ及び N V P - 2 については 2 5 n M よりも高い濃度、フラボピリドール及びエニトシクリブについては 1 2 5 n M 以上の濃度、A Z D - 5 9 9 1 は 0 . 4 μ M よりも高い濃度で観察された。これらの濃度では、I N B R X - 1 0 9 処理単独の死滅曲線と比較した、I N B R X - 1 0 9 と C D K 9 及び下流の M C L - 1 の阻害剤との組合せの死滅曲線のシフトによって明らかなように、組合せが相乗効果をもたらした。例えば、図 9 ~ 図 2 3 及び表 5 ~ 表 1 4 を参照されたい。さらに、この組合せは、どちらかの薬物単独での処理と比較して全細胞生存率の低下をもたらした。

40

【0262】

本開示は、本発明の趣旨又は本質的な特徴から逸脱することなく、他の特定の形態で具体化され得る。したがって、上述の実施形態は、全ての点で例示としてみなされるべきであって、本開示を限定するものとはみなされない。したがって、本開示の範囲は、上述の詳細な説明ではなく、添付の特許請求の範囲によって示されるため、特許請求の範囲の意味及び均等の範囲内にある全ての変更は、本明細書に含まれることが意図される。

【0263】

50

或る特定の配列の表

配列番号	説明	配列
1	I N B R X - 1 O 9 C D R 1	SGLTFPNYGM
2	I N B R X - 1 O 9 C D R 2	AIYWSGGTVY
3	I N B R X - 1 O 9 C D R 3	AVTIRGAATQTWKYDYW
4	I N B R X - 1 O 9 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGLTFPNYGMGWFRQAPGKEREFVSAIYWSGG TVYYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCAVTIRGAATQTWKYDY WGQGTLLTVKPGG
5	I N B R X - 1 O 9 V H H - リンカー - V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGLTFPNYGMGWFRQAPGKEREFVSAIYWSGG TVYYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCAVTIRGAATQTWKYDY WGQGTLLTVKPGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGLTFPNYGMGWFRQ APGKEREFVSAIYWSGGTVYYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYY CAVTIRGAATQTWKYDYWGQGTLLTVKPGG
6	F c (ヒンジを 有する)	DKHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
7	I N B R X - 1 O 9	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGLTFPNYGMGWFRQAPGKEREFVSAIYWSGG TVYYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYYCAVTIRGAATQTWKYDY WGQGTLLTVKPGSGGSEVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGLTFPNYGMGWFRQ APGKEREFVSAIYWSGGTVYYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLRAEDTAVYY CAVTIRGAATQTWKYDYWGQGTLLTVKPGGGDKHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
8	ヒトDR5 (シ グナルペプチド 、アミノ酸1～ 55を有する)	MEQRGQNAPA ASGARKRHGP GPREARGARP GPRVPKTLVL VVAVLLLVS A ESALITQQD LAPQQRAAPQ QKRSSPSEGL CPPGHHISED GRDCISCKYG QD YSTHWNDL LFCLRCTRCD SGEVELSPCT TTRNTVCQCE EGTFREEDSP EMC RKCRGTC PRGMVKVGDC TPWSDIECVH KESGTHKSGE VPAVEETVTS SPGT PASPCS LSGIIGVTV AAVVLIVAVF VCKSLLWKKV LPYLGICSG GGGDP ERVDR SSQRPGAEDN VLNEIVSILQ PTQVPEQEME VQEPAEPTGV NMLSPG ESEH LLEPAEAERS QRRRLVPAN EGDPTETLRQ CFDDFADLVP FDSWEPL MRK LGLMDNEIKV AKAEAAGHRD TLYTMLIKWV NKTGRDASVH TLLDALET

10

20

30

40

50

		LG ERLAKQKIED HLLSSGKFMY LEGNADSAMS
9	成熟ヒトDR5	ITQQD LAPQQRAAPQ QKRSSPSEGL CPPGHHISED GRDCISCKYG QDYSTH WNDL LFCLRCTRCD SGEVELSPCT TTRNTVCQCE EGTFREEDSP EMCRKCR TGC PRGMVKVGDC TPWSDIECVH KESGTKHSGE VPAVEETVTS SPGTPASP CS LSGIIGVTV AAVVLIVAVF VCKSLLWKKV LPYLKGICSG GGGDPERVD R SSQRPGAEDN VLNEIVSILQ PTQVPEQEME VQEPAEPTGV NMLSPGESEH LLEPAEAERS QRRRLVPAN EGDPTETLRQ CFDDFADLVP FDSWEPLMRK LGLMDNEIKV AKAEAAGHRD TLYTMLIKWV NKTGRDASVH TLLDALETLG E RLAKQKIED HLLSSGKFMY LEGNADSAMS
10	ヒトPLK1	MSAAVTAGKL ARAPADPGKA GVPGVAAPGA PAAAPPAKEI PEVLVDPRSR R RYVRGRFLG KGGFAKCFEI SDADTKEVFA GKIVPKSLLL KPHQREKMSM EI SIHRSLAH QHVVGFGHGF EDNDFVFFVL ELCRRRSLE LHKRRKALTE PEA RYYLQI VLGCQYLHRN RVIHRDLKLG NLFLNEDLEV KIGDFGLATK VEYD GERKKT LCGTPNYIAP EVLSKKGHSF EVDVWSIGCI MYTLLVGKPP FETSC LKETY LRIKKNEYSI PKHINPVAAS LIQKMLQTDPTARPTINELL NDEFFT SGYI PARLPITCLT IPPRFSIAPS SLDPSNRKPL TVLNKGLENP LPERPRE KEE PVVRETGEVV DCHLSDMLQQ LHSVNASKPS ERGLVRQEEA EDPACIPI FW VSKWVDYSDK YGLGYQLCDN SVGVLFDNDST RLILYNDGDS LQYIERDGT E SYLTVSSHPN SLMKKITLLK YFRNYMSEHL LKAGANITPR EGDELARLPY LRTWFRTRSA IILHLSNGSV QINFFQDHTK LILCPLMAAV TYIDEKRDFR TYRLSLLEEY GCCKELASRL RYARTMVDKL LSSRSASNRL KAS
11	ヒトCDK9	MAKQYDSVECPFCDEVSKYEKLAKIGQGTGFEVFKARHRKTGQKVALKKVLMENEK EGFPITALREIKILQLLKHENVVNLIEICRTKASPYNRCKGSIYLVFDFCEHDLAG LLSNVLVKFTLSEIKRVMQMLNGLYYIHRNKILHRDMKAANVLITRDGVLKLADF GLARAFSLAKNSQPNRYTNRVVTWYRPPPELLLGERDYGPPIDLWGAGCIMAEMWT RSPIMQGNTEQHQLALISQLCGSITPEVWPVNDNYELYEKLELVKGQKRKVKDRLK AYVRDPYALDLIDKLLVLDPAQRIDSDDALNHDFWSDPMPSDLKGMLSTHLTSMF EYLAPPRRKGSQITQQSTNQSRNPATTNQTEFERVF

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1 A B C D】

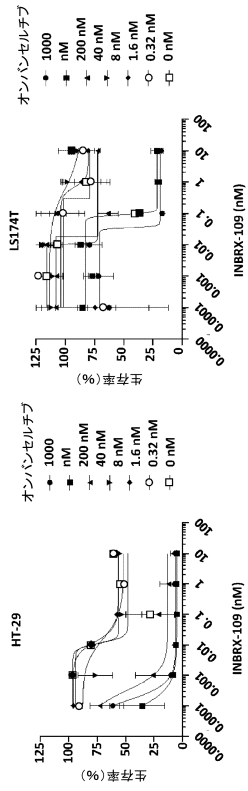


Fig. 1A

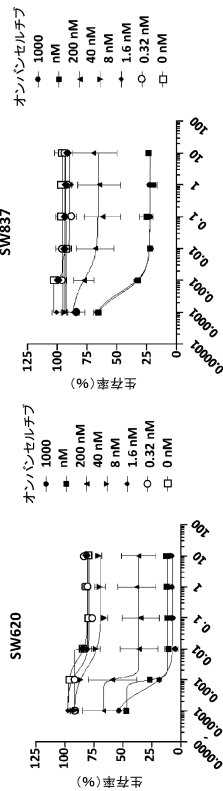


Fig. 1B

Fig. 1C

Fig. 1D

【図 2 A B C D】

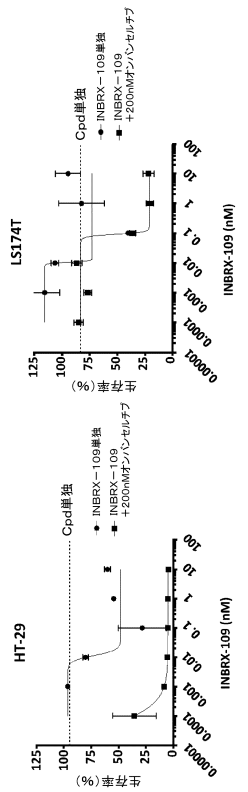


Fig. 2A

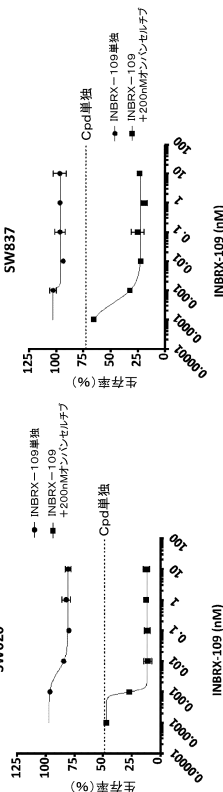


Fig. 2B

Fig. 2C

Fig. 2D

【図 1 E F】

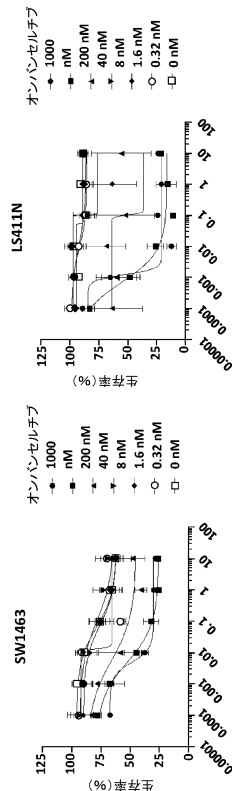


Fig. 1E

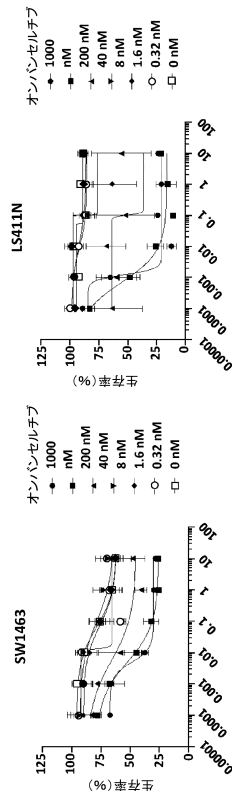


Fig. 1F

【図 2 E F】

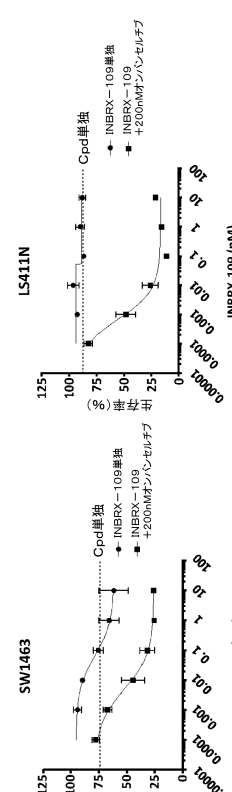


Fig. 2E

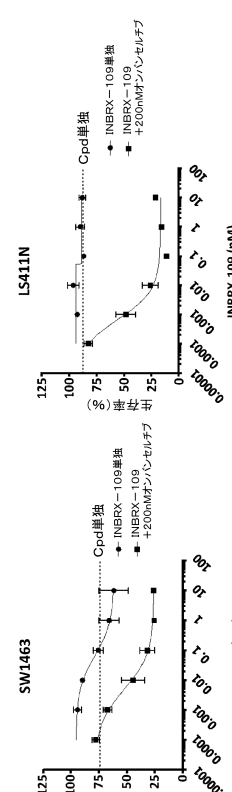


Fig. 2F

10

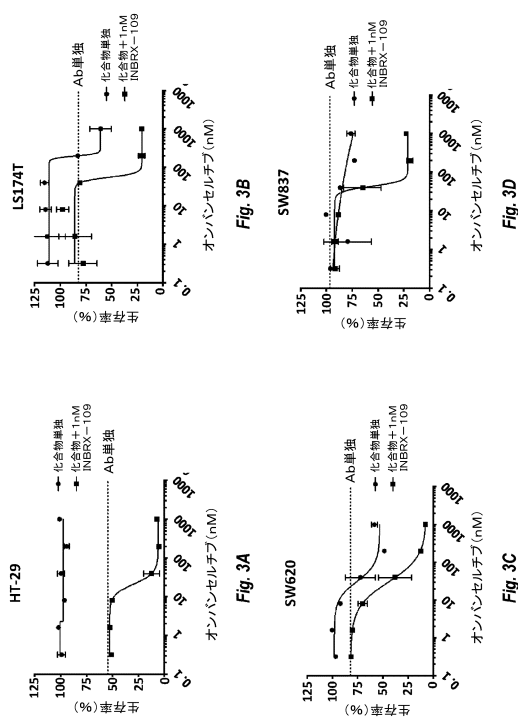
20

30

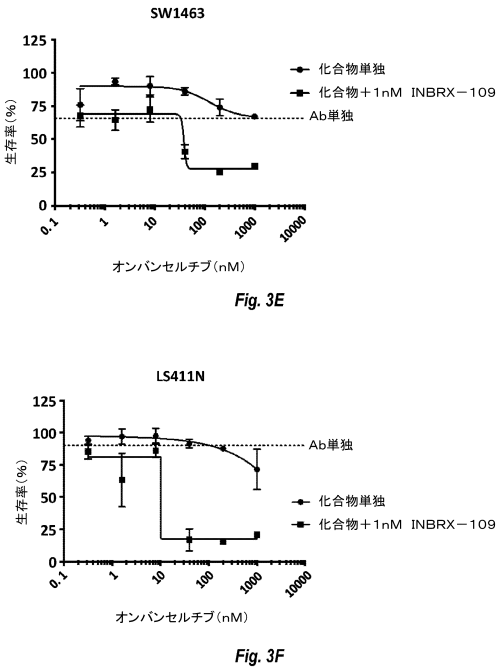
40

50

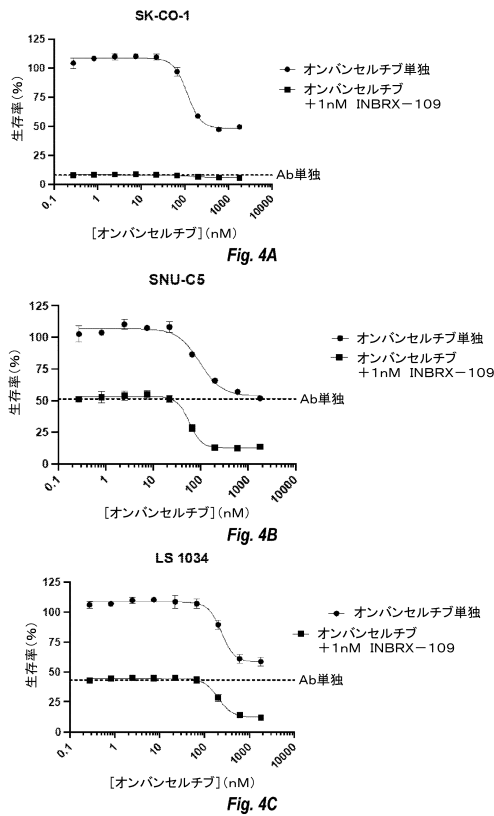
【図 3 A B C D】



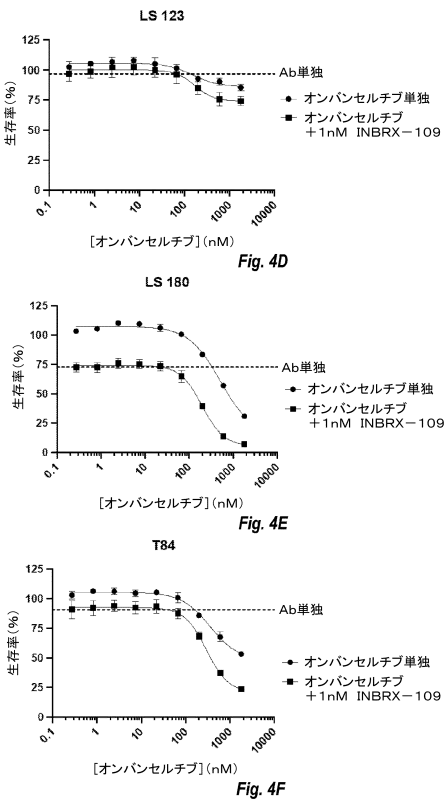
【図 3 E F】



【図 4 A B C】



【図 4 D E F】



10

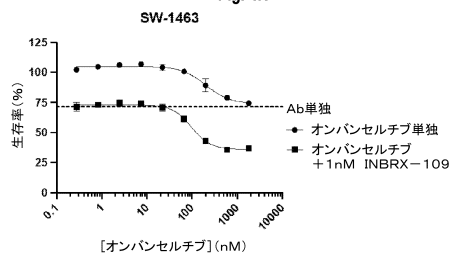
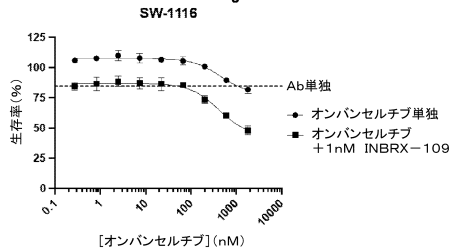
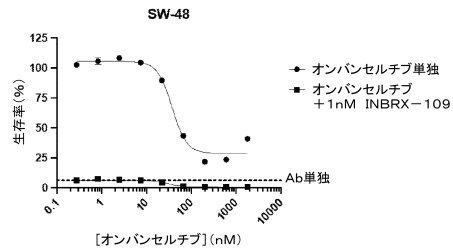
20

30

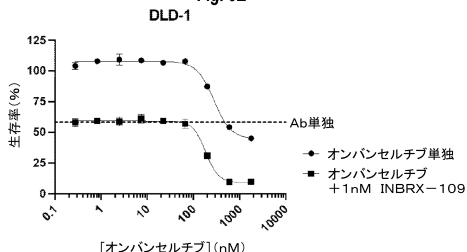
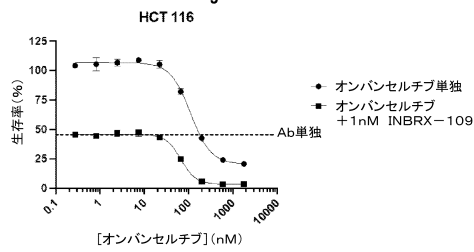
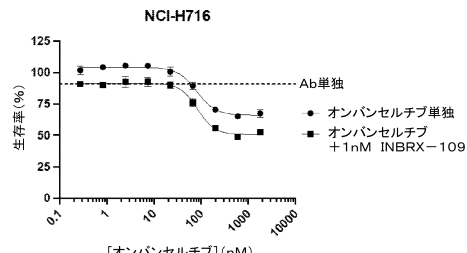
40

50

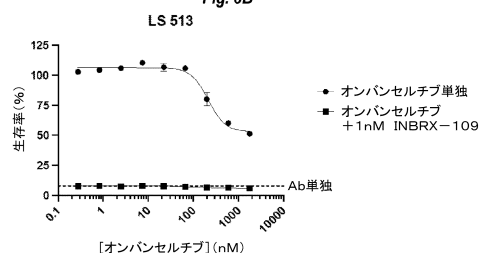
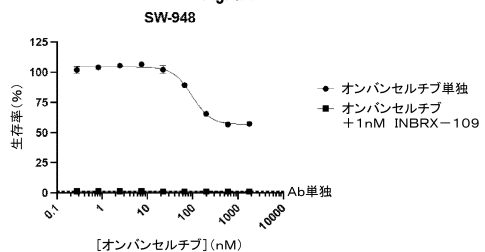
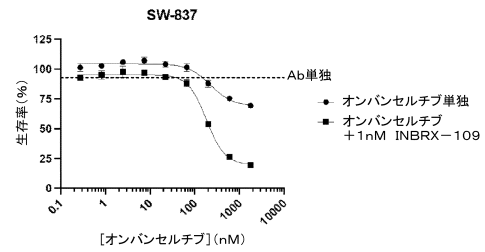
【図 4 G H I】



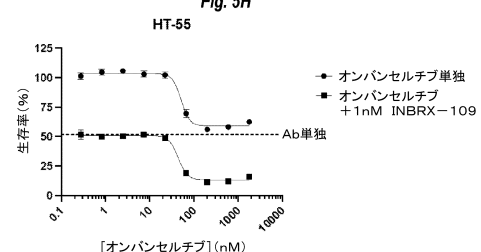
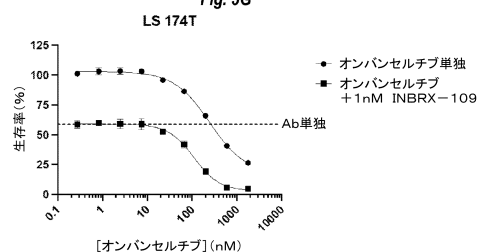
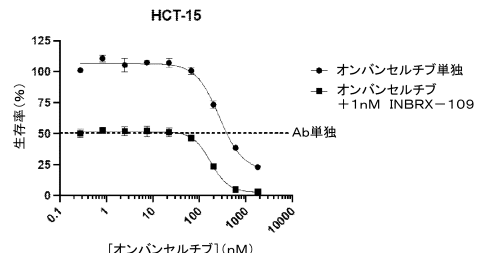
【図 5 D E F】



【図 5 A B C】



【図 5 G H I】



10

20

30

40

50

【図 6 A B C】

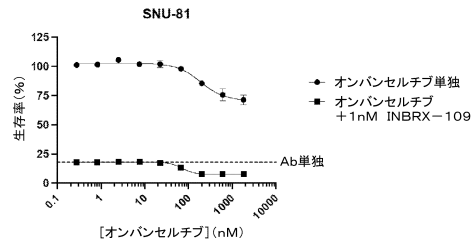


Fig. 6A

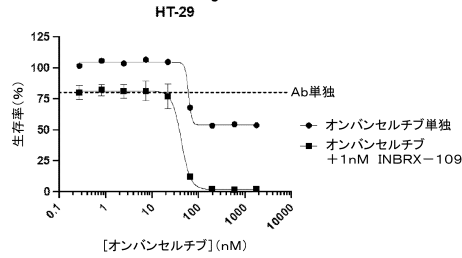


Fig. 6B

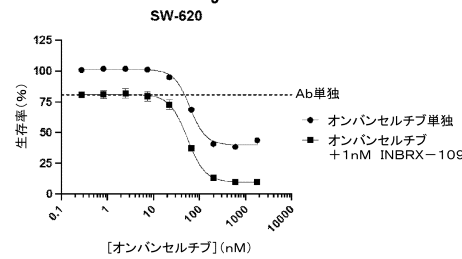


Fig. 6C

【図 6 D E F】

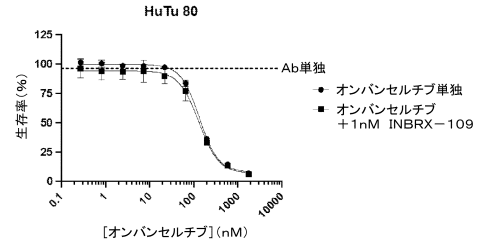


Fig. 6D

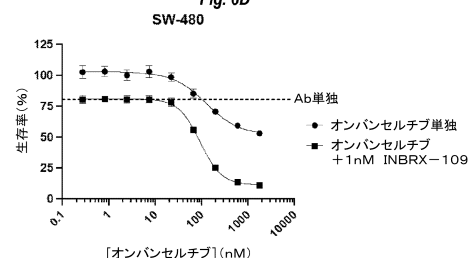


Fig. 6E

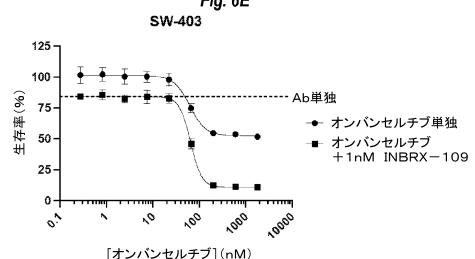


Fig. 6F

【図 6 G H I】

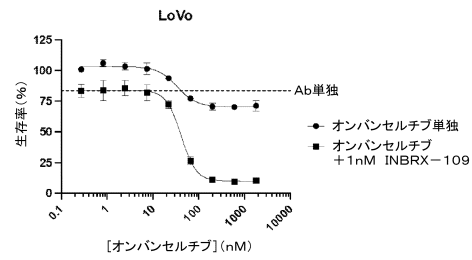


Fig. 6G

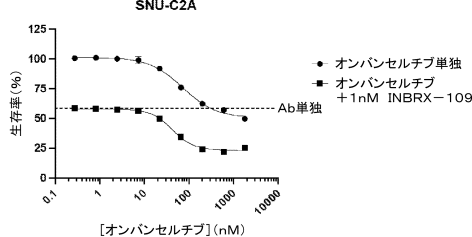


Fig. 6H

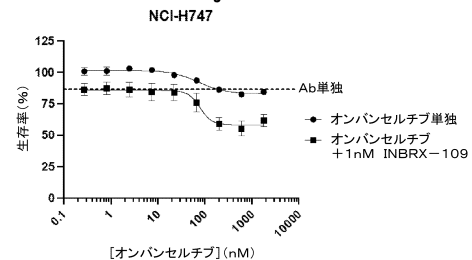


Fig. 6I

【図 6 J K L】

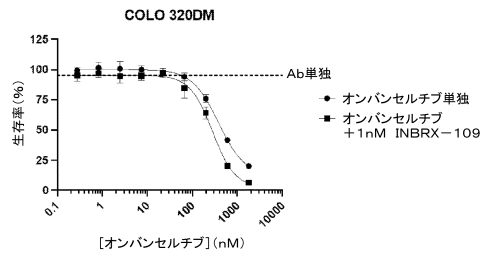


Fig. 6J

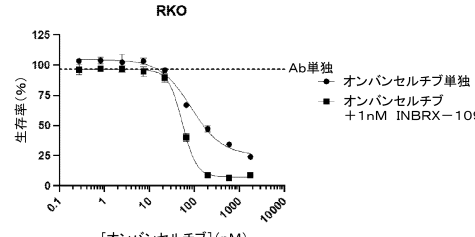


Fig. 6K

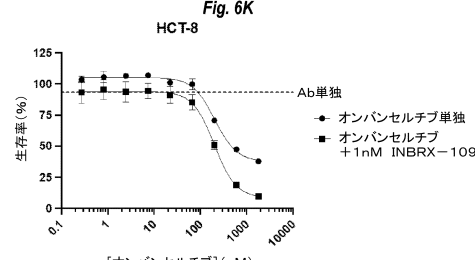


Fig. 6L

10

20

30

40

50

【図 7 A B C】

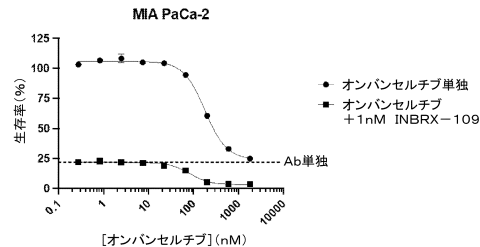


Fig. 7A

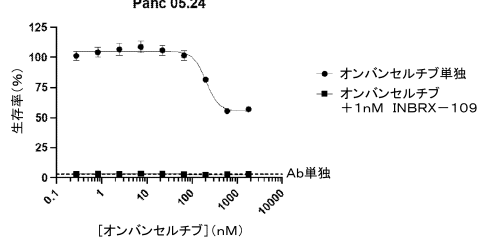


Fig. 7B

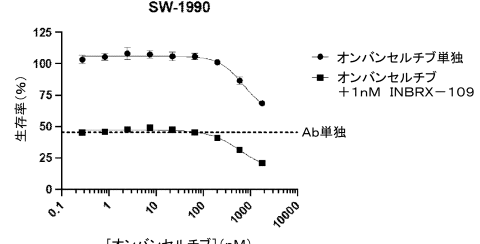


Fig. 7C

【図 7 D E F】

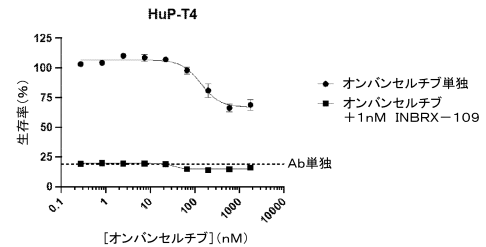


Fig. 7D

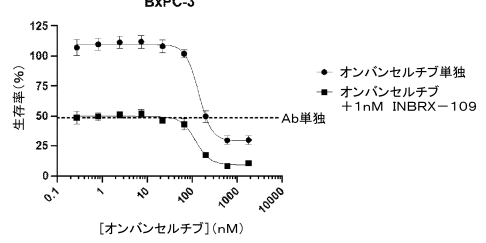


Fig. 7E

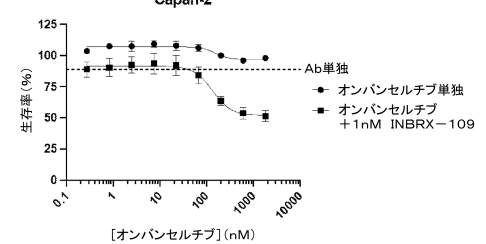


Fig. 7F

【図 7 G H I】

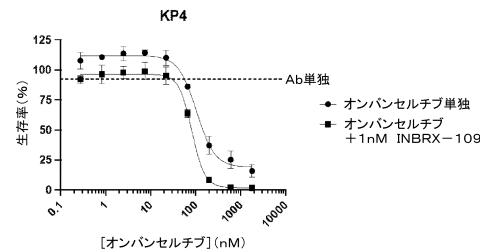


Fig. 7G

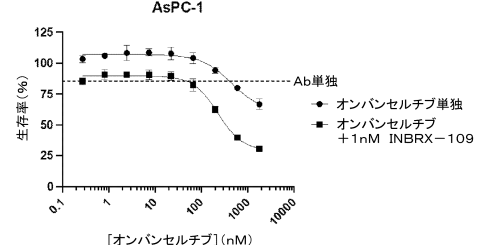


Fig. 7H

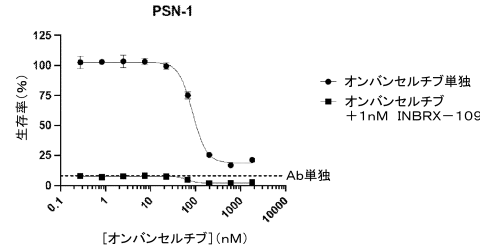


Fig. 7I

【図 8 A B C】

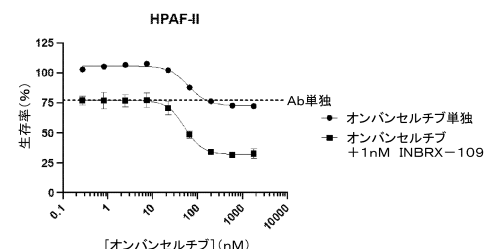


Fig. 8A

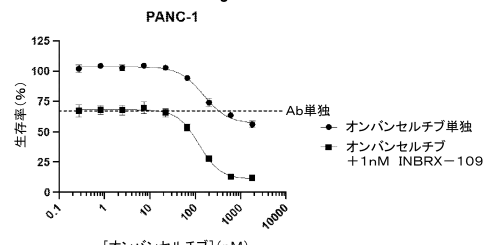


Fig. 8B

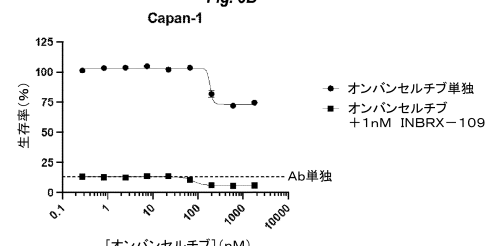


Fig. 8C

10

20

30

40

50

【図 8 D E F】

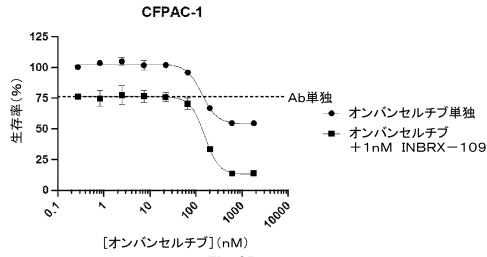


Fig. 8D

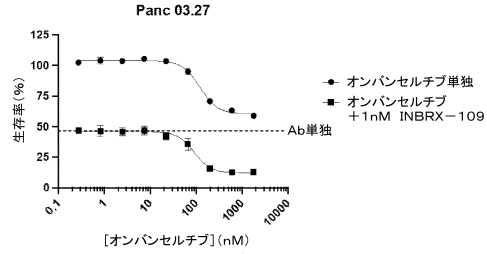


Fig. 8E

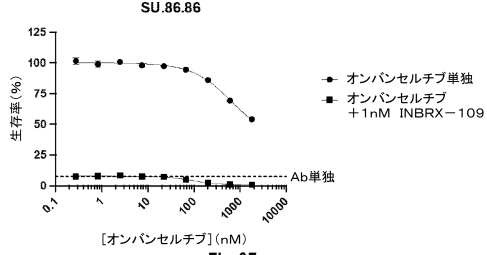


Fig. 8F

【図 8 G H】

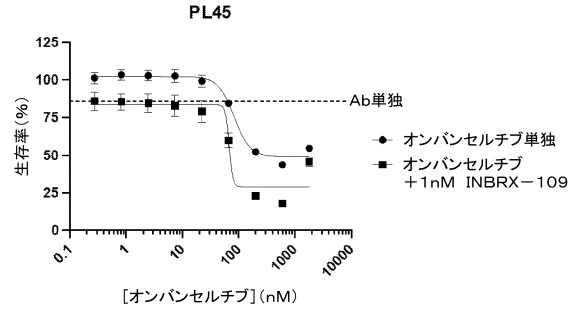


Fig. 8G

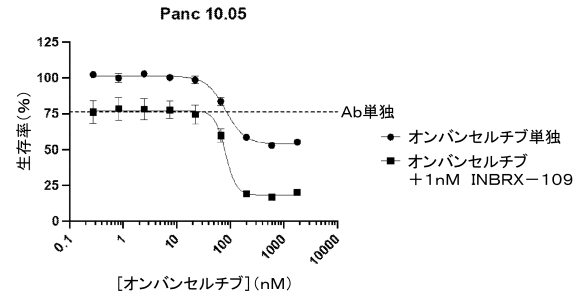
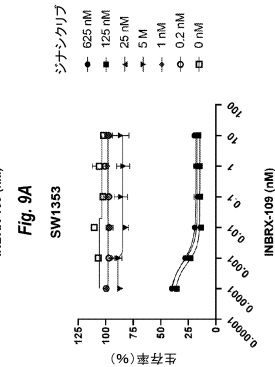
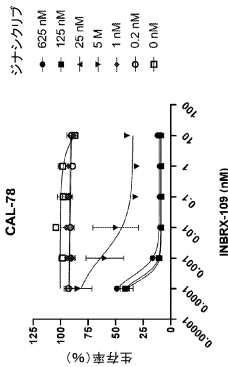
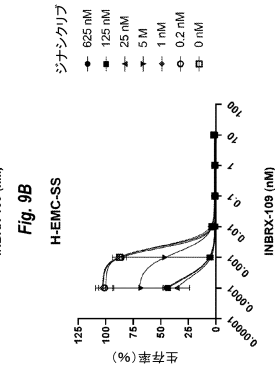
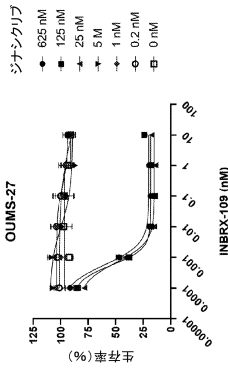


Fig. 8H

【図 9 A B C D】



【図 9 E】

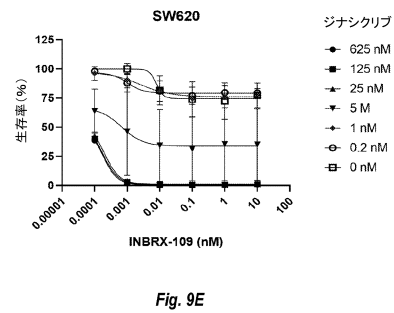


Fig. 9E

10

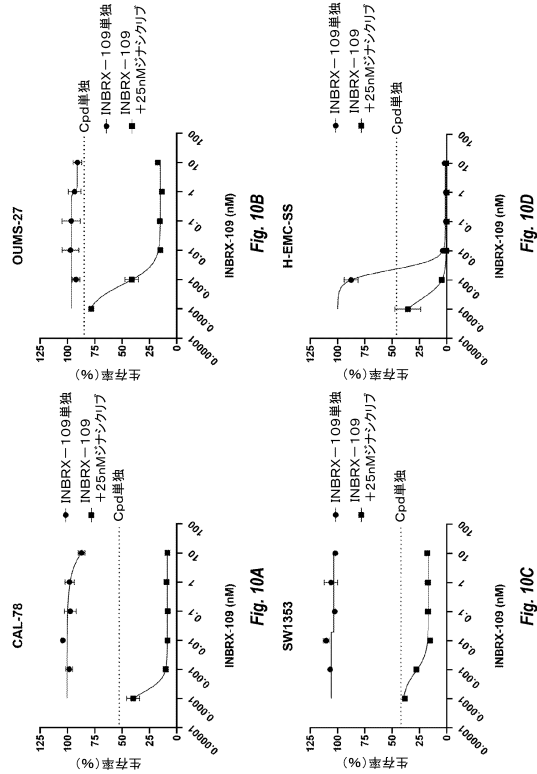
20

30

40

50

【図 10 A B C D】



【図 10 E】

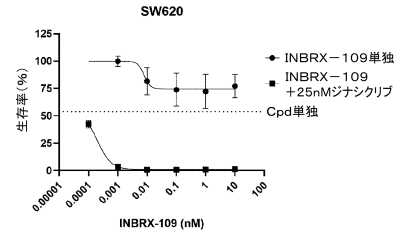
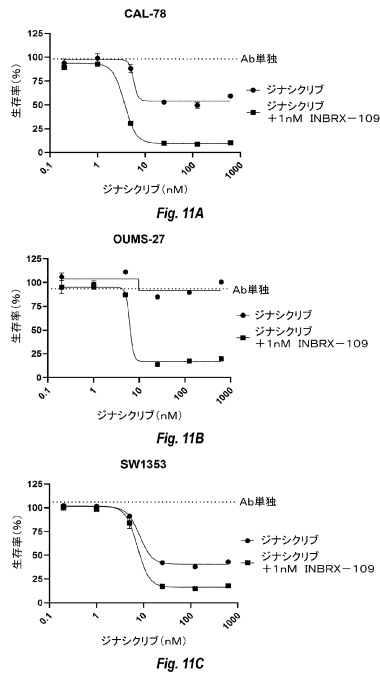


Fig. 10E

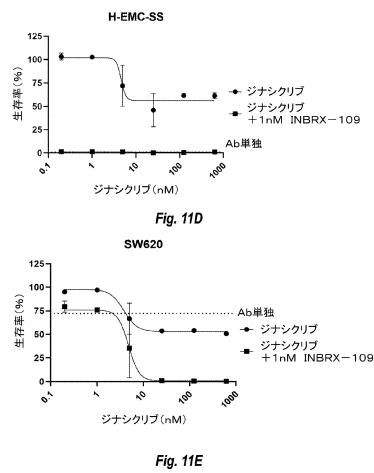
10

20

【図 11 A B C】



【図 11 D E】

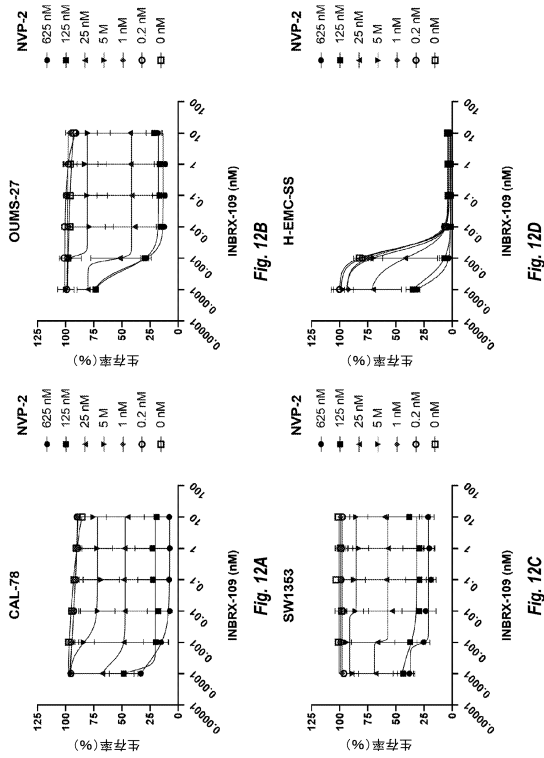


30

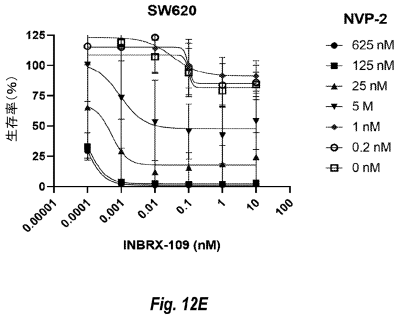
40

50

【図 1 2 A B C D】

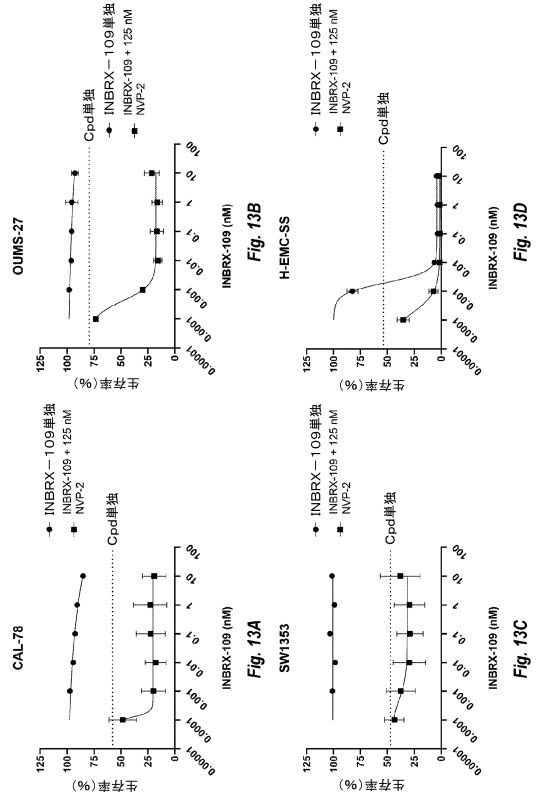


【図 1 2 E】

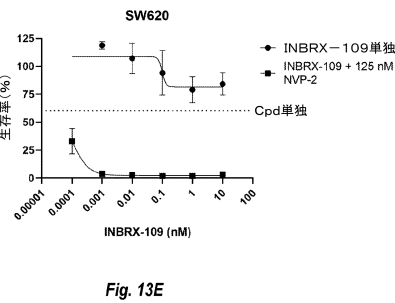


10

【図 1 3 A B C D】



【図 1 3 E】

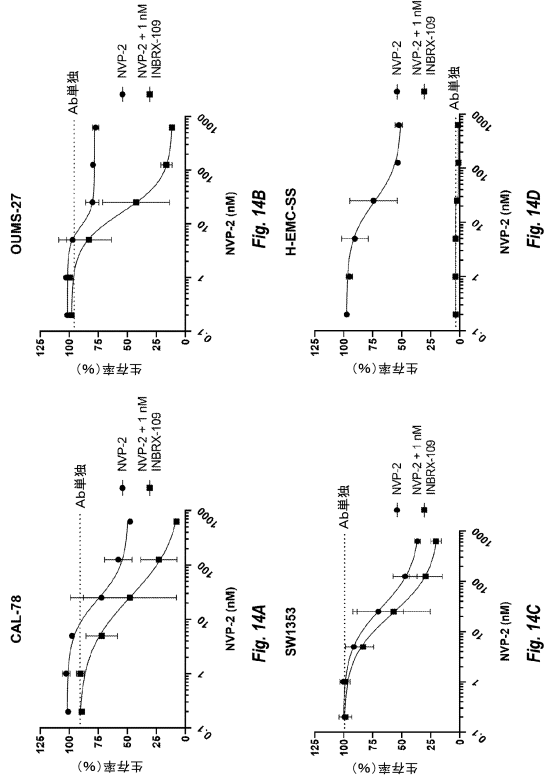


30

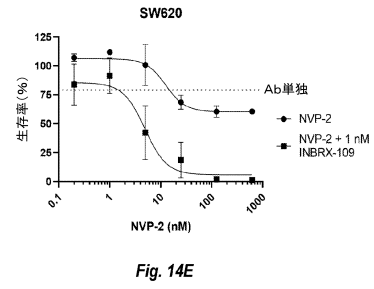
40

50

【図 14 A B C D】

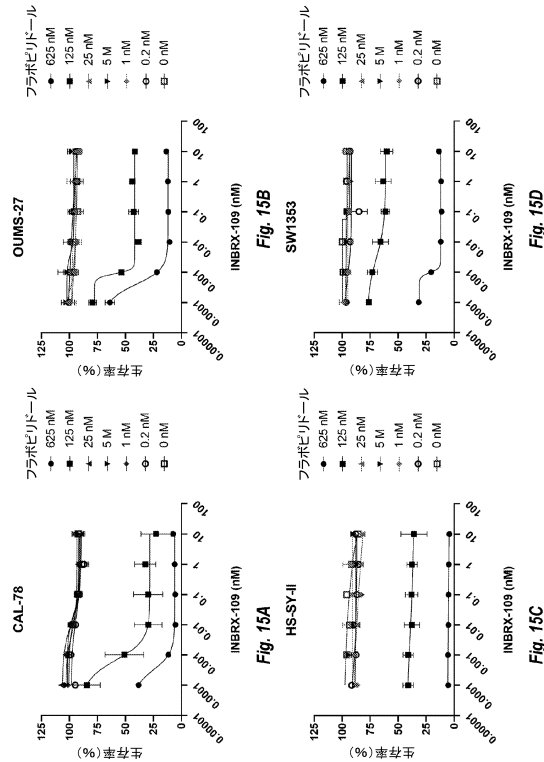


【図 14 E】

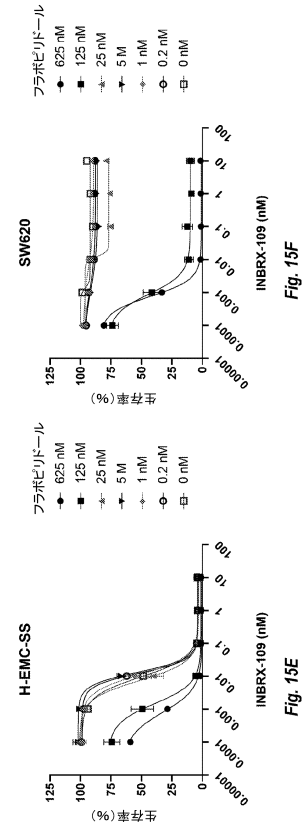


10

【図 15 A B C D】



【図 15 E F】

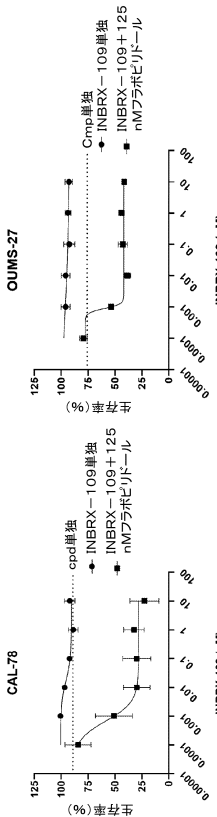


30

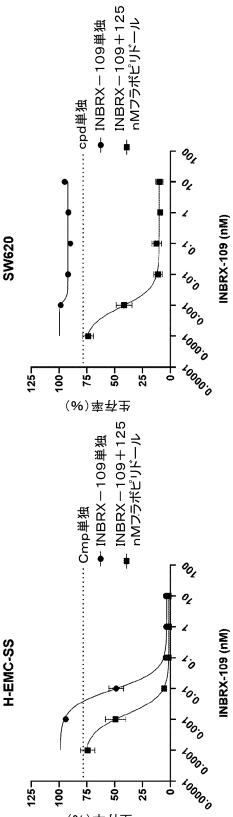
40

50

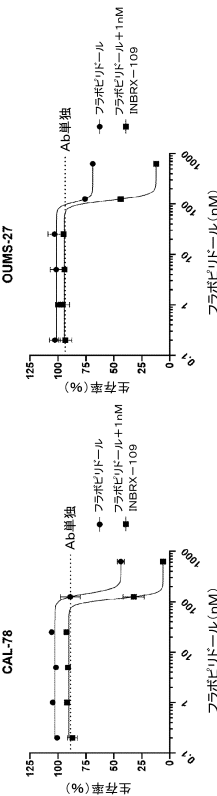
【図 16 A B C D】



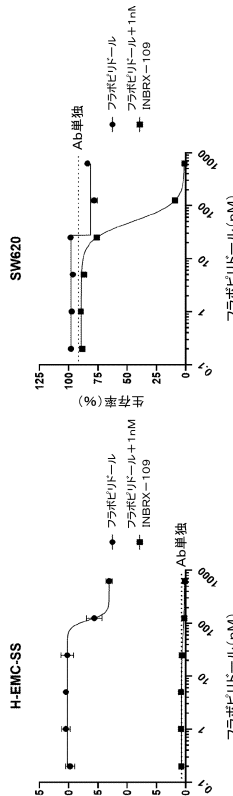
【図 16 E F】



【図 17 A B C D】



【図 17 E F】



10

20

30

40

50

【図 18 A B C D】

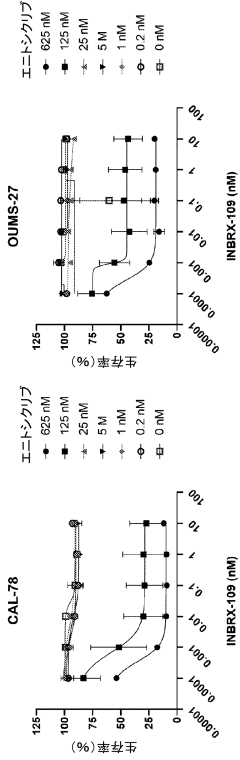


Fig. 18B

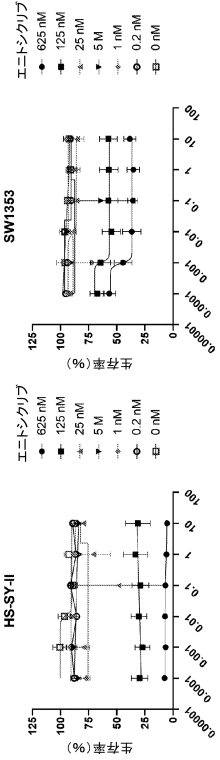


Fig. 18D

【図 18 E F】

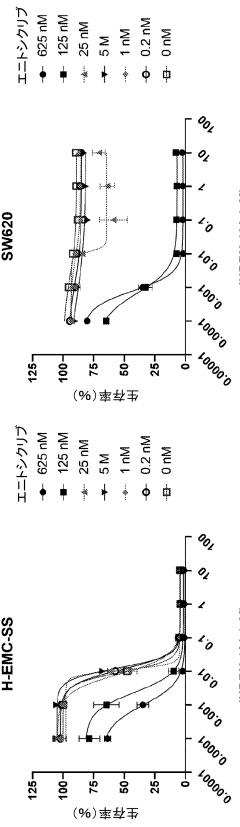


Fig. 18F

【図 19 A B C D】

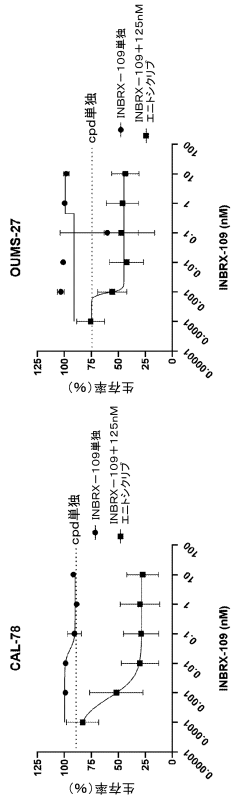


Fig. 19B

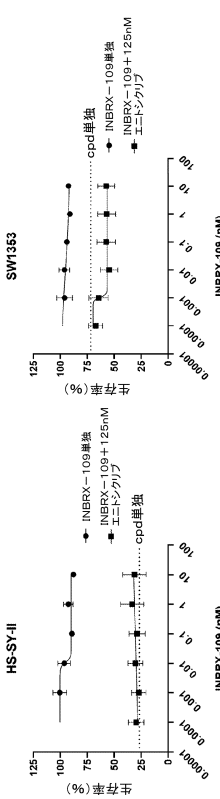


Fig. 19D

【図 19 E F】

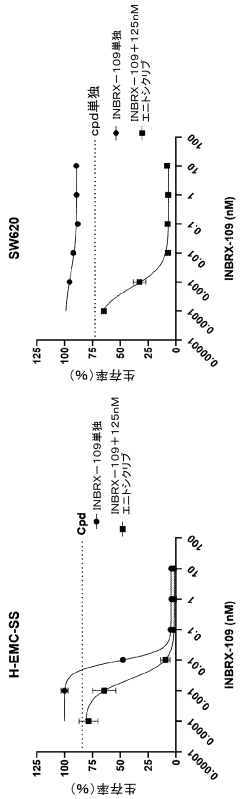


Fig. 19F

10

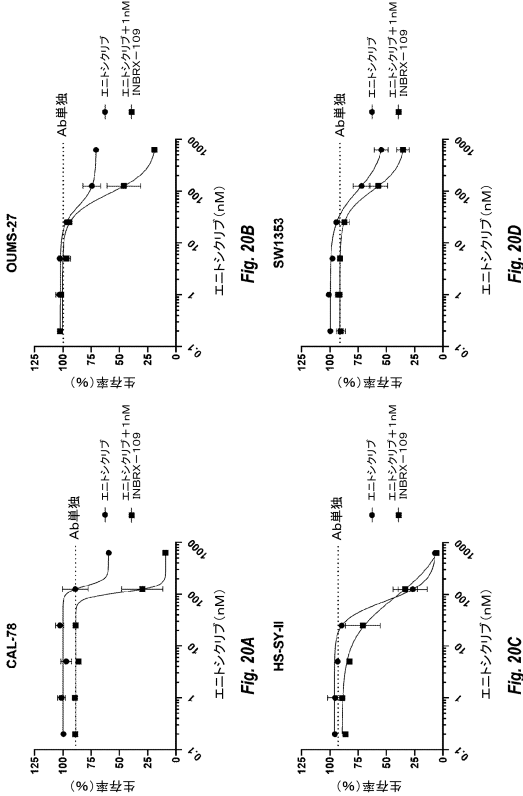
20

30

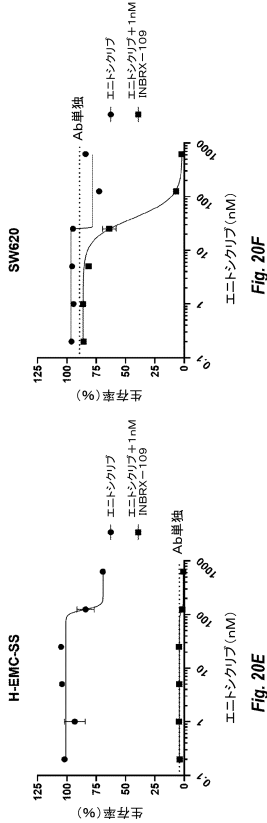
40

50

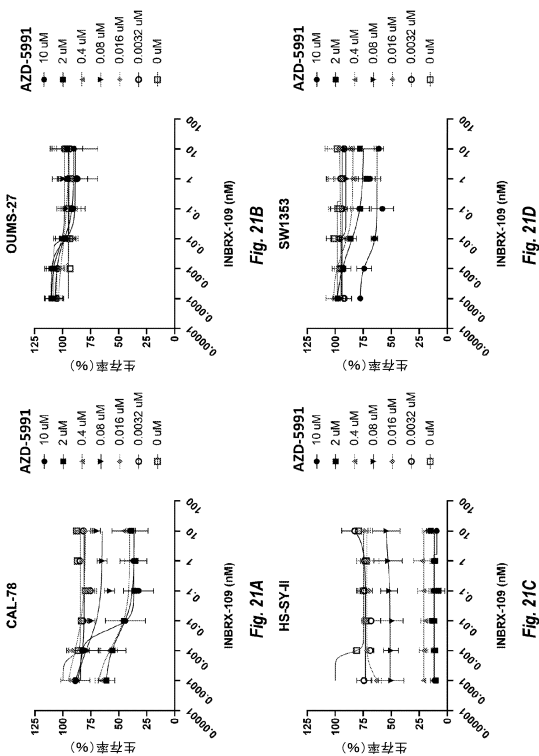
【図 20 A B C D】



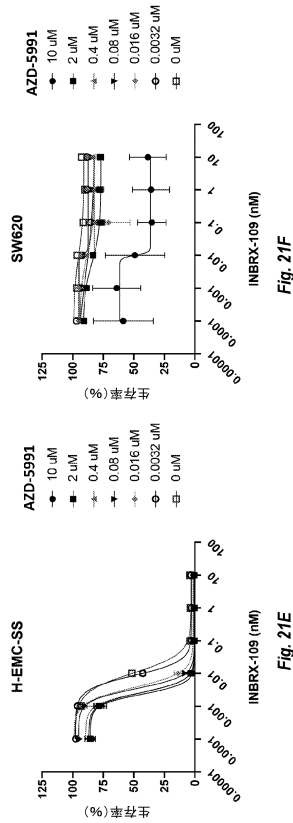
【図 20 E F】



【図 21 A B C D】



【図 21 E F】



10

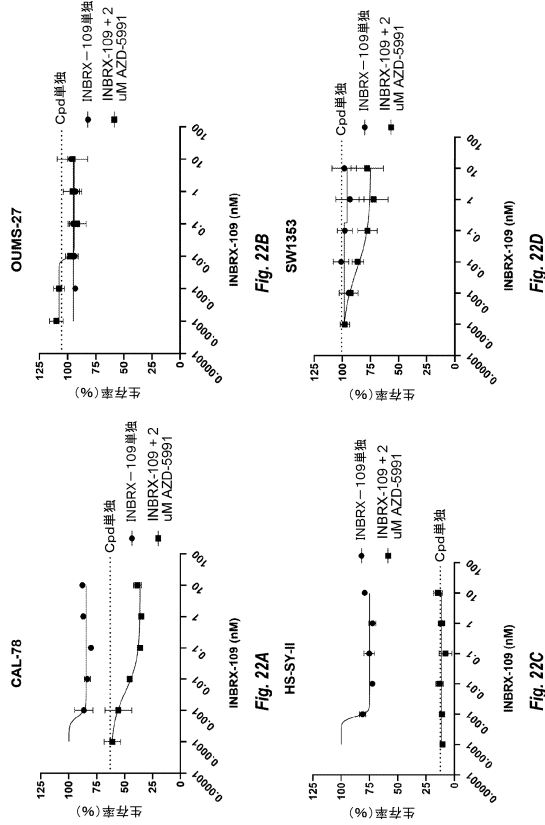
20

30

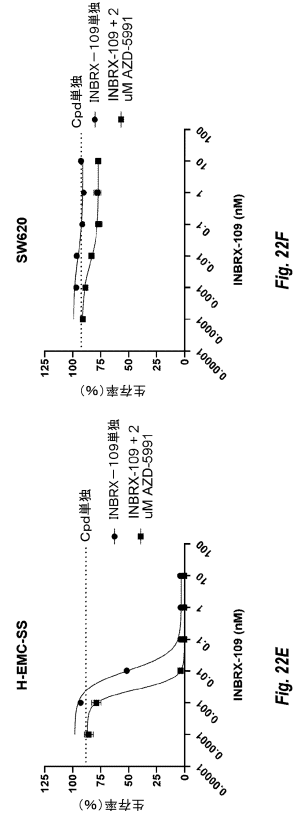
40

50

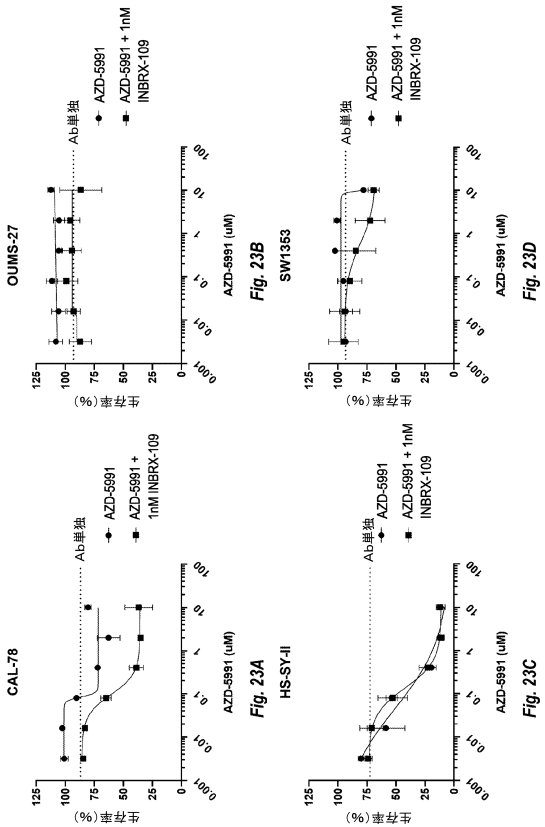
【図 2 2 A B C D】



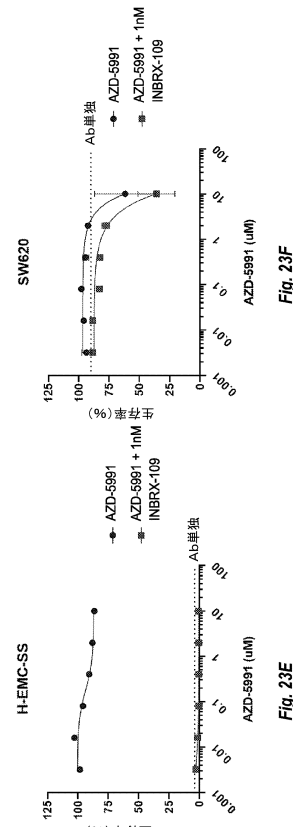
【図 2 2 E F】



【図 2 3 A B C D】



【図 2 3 E F】



10

20

30

40

50

【配列表】

2025512950000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/065489

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/28 A61K39/00 A61P35/00 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) C07K A61K 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		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Anonymous ET AL: "Phase 1 Study of INBRX-109 in Subjects With Locally Advanced or Metastatic Solid Tumors Including Sarcomas", / 30 September 2020 (2020-09-30), XP093061849, Retrieved from the Internet: URL:https%3A%2F%2Fclinicaltrials.gov%2Fstudy%2FNCCT03715933%3Ftab%3Dhistory%26a%3D23 [retrieved on 2023-07-06] study change dated 03.09.2020 -----	1-29, 59-61
A	WO 2017/011837 A2 (INHIBRX LP [US]; TIMMER JOHN C [US] ET AL.) 19 January 2017 (2017-01-19) paragraph [0010] sequences 128, 131, 130, 113 ----- -/--	1-29, 59-61
☒ 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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 7 July 2023		Date of mailing of the international search report 11/09/2023
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 Pflug, Alexander

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/065489

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ADJEI ALEX A.: "Pharmacology and Mechanism of Action of Pemetrexed", CLINICAL LUNG CANCER, vol. 5, 1 April 2004 (2004-04-01), pages S51-S55, XP093061964, US ISSN: 1525-7304, DOI: 10.3816/CLC.2004.s.003 Retrieved from the Internet: URL: http://dx.doi.org/10.3816/CLC.2004.s.003 Introduction -----	1-29, 59-61
A, P	WO 2022/178223 A1 (INHIBRX INC [US]) 25 August 2022 (2022-08-25) examples 1-5 paragraph [0004] paragraphs [0110] - [0113] -----	1-29, 59-61

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/065489

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/065489**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:
1-29, 60, 61 (completely); 59 (partially)

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2023/065489

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-29, 60, 61(completely); 59(partially)

A Death Receptor 5 (DR5) agonist in combination with a Polo-Like Kinase 1 (PLK1) inhibitor for use in the treatment of cancer.

2. claims: 30-58, 62, 63(completely); 59(partially)

A Death Receptor 5 (DR5) agonist in combination with a Cyclin-Dependent Kinase (CDK) inhibitor for use in the treatment of cancer.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/065489

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017011837 A2	19-01-2017	AU 2016291701 A1	25-01-2018
		AU 2022291498 A1	02-02-2023
		BR 112018000584 A2	11-09-2018
		CA 2991634 A1	19-01-2017
		CN 107922491 A	17-04-2018
		CN 114106178 A	01-03-2022
		DK 3322734 T3	26-10-2020
		EP 3322734 A2	23-05-2018
		EP 3798232 A1	31-03-2021
		ES 2833773 T3	15-06-2021
		HK 1254433 A1	19-07-2019
		HR P20201785 T1	22-01-2021
		HU E051896 T2	29-03-2021
		IL 256772 A	29-03-2018
		IL 292037 A	01-06-2022
		JP 6807606 B2	06-01-2021
		JP 7244938 B2	23-03-2023
		JP 2018522888 A	16-08-2018
		JP 2021046414 A	25-03-2021
		JP 2023022214 A	14-02-2023
		KR 20180030518 A	23-03-2018
		LT 3322734 T	10-02-2021
		PL 3322734 T3	04-05-2021
		PT 3322734 T	30-11-2020
		RU 2018102803 A	19-08-2019
		RU 2021111382 A	21-05-2021
		SG 10201912410T A	27-02-2020
		SI 3322734 T1	26-02-2021
		US 2017015753 A1	19-01-2017
		US 2019309083 A1	10-10-2019
		US 2022064318 A1	03-03-2022
		WO 2017011837 A2	19-01-2017
		ZA 201800238 B	28-07-2021
WO 2022178223 A1	25-08-2022	AU 2022223977 A1	17-08-2023
		CA 3208641 A1	25-08-2022
		TW 202245839 A	01-12-2022
		WO 2022178223 A1	25-08-2022

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	31/713 (2006.01)	A 6 1 K	38/17	
A 6 1 K	31/519 (2006.01)	A 6 1 K	31/713	
A 6 1 K	31/198 (2006.01)	A 6 1 K	31/519	
A 6 1 K	31/55 (2006.01)	A 6 1 K	31/198	
A 6 1 K	31/551 (2006.01)	A 6 1 K	31/55	
A 6 1 K	31/496 (2006.01)	A 6 1 K	31/551	
A 6 1 K	31/453 (2006.01)	A 6 1 K	31/496	
A 6 1 K	31/53 (2006.01)	A 6 1 K	31/453	
A 6 1 K	31/444 (2006.01)	A 6 1 K	31/53	
A 6 1 K	31/4439 (2006.01)	A 6 1 K	31/444	
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 K	31/4439	
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	A 6 1 P	35/02	
C 1 2 N	9/99 (2006.01)	C 1 2 N	15/113	1 4 0 Z
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 1 2 N	9/99	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	
		C 0 7 K	16/46	

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 1 1 0 2 5 スイート 1 4 0 シー／オー インヒブルクス バイオサイエンシズ インコーポレイテッド

(72)発明者 ウィリス ケイトリン エム.

アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 1 1 0 2 5 スイート 1 4 0 シー／オー インヒブルクス バイオサイエンシズ インコーポレイテッド

F ターム (参考)

4C084	AA02 AA20 BA04 BA41 BA44 DC50 MA02 NA14 ZB26 ZB27
	ZC02 ZC20 ZC41 ZC75
4C085	AA13 AA14 BB31 BB42 CC23 EE03 GG01 GG02 GG03 GG04
	GG06 GG08
4C086	AA01 AA02 BC17 BC21 BC50 BC64 CB03 CB05 CB06 CB07
	CB09 CB11 EA16 GA02 GA03 GA07 GA08 GA12 GA16 MA02 MA52
	MA56 MA66 NA14 ZB26 ZB27 ZC02 ZC20 ZC41 ZC75
4C206	AA01 AA02 JA19 KA01 MA02 MA04 MA72 MA76 MA86 NA14
	ZB26 ZB27 ZC02 ZC20 ZC41 ZC75
4H045	AA11 AA30 BA10 BA41 CA40 DA76 EA20 FA74