

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年7月2日(02.07.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/136879 A1

(51) 国際特許分類:

C12Q 1/18 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *G01N 33/574* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *G01N 33/577* (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01) *C07K 16/46* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2018/048494

(22) 国際出願日: 2018年12月28日(28.12.2018)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(71) 出願人: 国立大学法人大阪大学 (**OSAKA UNIVERSITY**) [JP/JP]; 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 Osaka (JP).

(72) 発明者: 岩堀 幸太(**IWAHORI, Kota**); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所 (**SAEGUSA & PARTNERS**); 〒5410045 大阪府大阪市中央区道修町1-7-1 北浜T N Kビル Osaka (JP).

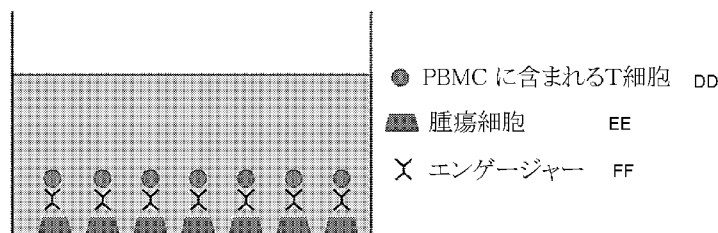
(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,

(54) **Title:** METHOD FOR PRESENTING EFFECTIVENESS OF IMMUNOTHERAPEUTIC AGENT FOR TREATING MALIGNANT TUMOR AND IMMUNOTHERAPEUTIC AGENT FOR TREATING MALIGNANT TUMOR

(54) 発明の名称: 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の提示方法及び悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤

AA 悪性腫瘍の治療対象患者の末梢血からPBMCを採取

BB 腫瘍細胞との共培養



CC 腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得

AA Collect PBMC from peripheral blood of target patient for malignant-tumor treatment
BB Culture PBMC together with tumor cells
CC Acquire value reflecting tumor-cell-damaging activity
DD T cells contained in PBMC
EE Tumor cells
FF Engager

(57) **Abstract:** The present invention addresses the problem of presenting information required in companion diagnostics for predicting the effectiveness of an immunotherapeutic agent for individual patients. To solve the problem, the present invention provides a method for presenting the effectiveness of an immunotherapeutic agent for treating a malignant tumor

[続葉有]

MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,
NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

規則4. 17に規定する申立て：

- 一 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て（規則4. 17(v)）

添付公開書類：

- 一 国際調査報告（条約第21条(3)）

for a patient having a malignant tumor, the method including the following steps 1 and 2. Step 1: a step for assessing whether tumor cells are damaged after directly or indirectly contacting, in vitro, peripheral blood mononuclear cells collected from the patient. Step 2: a step for presenting that the immunotherapeutic agent is effective for the patient if the assessment indicates that the tumor cells are damaged, and/or a step for presenting that the immunotherapeutic agent is not effective for the patient if the assessment indicates that the tumor cells are not damaged.

(57) 要約：本発明は、個々の患者について免疫療法剤の有用性を予測するためのコンパニオン診断に必要な情報を提示することを一課題とする。下記工程1、及び工程2を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法により前記課題を解決する：工程1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び工程2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

明 細 書

発明の名称：

悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の提示方法及び悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤

技術分野

[0001] 本開示は、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の提示方法、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について有用性の決定を補助する方法、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤、悪性腫瘍を治療するための免疫療法、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の提示装置、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について有用性の決定を補助する装置、及び悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性を評価するための検査試薬を含む。

背景技術

[0002] 腫瘍免疫療法は、腫瘍患者自身の腫瘍細胞に対する免疫応答を利用した腫瘍の治療方法である。腫瘍免疫療法の一例では、T細胞上の蛋白質に結合する抗C T L A－4抗体、抗P D－1抗体等を使って、腫瘍患者自身の細胞傷害性T細胞を活性化し、その機能によりがん細胞を殺傷する（非特許文献1及び非特許文献2）。

[0003] また、腫瘍組織内に存在する細胞傷害性T細胞が腫瘍細胞に対して効率よく細胞傷害活性を示すことができるよう、細胞傷害性T細胞を腫瘍細胞に特異的にエンゲージさせる方法も開発されている。そのエンゲージャーとして、現在、腫瘍細胞の細胞表面マーカーとT細胞の表面マーカーとを1分子で特異的に認識する二重特異性分子（バイスペシフィック抗体）が使用されている（非特許文献2及び3）。

先行技術文献

非特許文献

[0004] 非特許文献1：PD1/PD-L1 Combination Therapies, 2015, Evaluate Ltd.

非特許文献2：ONCOIMMUNOLOGY, 2016, VOL. 5, NO. 2, e1062969

非特許文献3 : Cancer Research, 2013, 73(15) August 1, p4663-4673

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 一方で、例えば、非小細胞肺癌で保険適用となっている腫瘍免疫療法治療薬ペムブロリズマブ（商品名キイトルーダ）は、奏効率19%であり、多くの患者には無効であるのが現状である。このため、当該腫瘍免疫療法治療薬が有効な患者群を選別するためコンパニオン診断が行われている。現在、ペムブロリズマブにおいては、生検検体を用いたPD-L1染色がコンパニオン診断薬として用いられているが、PD-L1染色で50%以上陽性の患者群でも奏効率は45%である。このことから、PD-L1染色より優れたコンパニオン診断の開発が切望されている。

[0006] さらに、腫瘍免疫療法治療薬の投与による悪性腫瘍の治療では、間質性肺疾患、脳炎等の治療中止となる有害事象を引き起こすケースがあるが、現時点では、腫瘍免疫療法治療薬の投与による重篤な有害事象を予測することはできない。

[0007] 上記のような奏効率、悪性腫瘍に対する免疫療法剤の効果予測、及び／又は悪性腫瘍に対する免疫療法を中止せざるを得ない有害事象の発生も含めた、悪性腫瘍を標的とする免疫療法の有用性を予測することの困難性は、多くの悪性腫瘍を標的とする免疫療法に共通の課題である。このような腫瘍免疫療法の現状から、本発明は、個々の患者について免疫療法剤の有用性を予測するためのコンパニオン診断に必要な情報を提示することを一課題とする。また、免疫療法剤が有用性であることが提示された患者に投与される、免疫療法剤を提供することを一課題とする。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者は、鋭意研究を重ねたところ、*in vitro*で、個々の患者から採取した末梢血中の単核細胞を使用して腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価することにより、免疫療法剤の有用性を各患者について提示できることを見出した。

[0009] 本明細書には、下記実施形態が開示される。

(1) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の提示方法、有用性の決定の補助方法及び検査試薬

(1-1) 下記工程1、及び工程2を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法：

工程1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(1-2) 前記有用性が、前記免疫療法剤に起因する、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であり、前記工程2が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示する工程、及び／又は

前記工程2が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示する工程、を含む、(1-1)に記載の提示方法。

(1-3) 前記有用性が、前記免疫療法剤の効果の有無であり、前記工程2が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有効であることを提示する工程、及び／又は

前記工程 2 が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が無効であることを提示する工程、

を含む、(1-1)又は(1-2)に記載の提示方法。

(1-4) 前記工程 1 の腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程が、

前記腫瘍細胞と接触した末梢血単核細胞の腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得する工程、及び

前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値を対応する基準値と比較し、前記値が対応する基準値より高い場合に前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す工程、及び／又は前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値を対応する基準値と比較し、前記値が対応する基準値より低い場合に前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す工程、

を含む、(1-1)から(1-3)のいずれか一項に記載の提示方法。

(1-5) 腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記腫瘍細胞の生細胞数又は死細胞数に基づいて算出された腫瘍細胞傷害活性の値である、(1-4)に記載の提示方法。

(1-6) 前記 *in vitro* における接触が培養培地内での接触であり、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記培養培地中のインターフェロン- γ の測定値である、(1-4)に記載の提示方法。

(1-7) 前記 *in vitro* における接触が、前記患者から採取された末梢血単核細胞と、腫瘍細胞との、エンゲージャーを介した間接的な接触である、(1-1)から(1-6)のいずれか一項に記載の提示方法。

(1-8) 前記エンゲージャーが、二重特異性分子である、(1-7)に記載の提示方法。

(1-9) 前記二重特異性分子が、T細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域と、前記腫瘍細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域とを含む分子である、(1-8)に記載の提示方法。

(1-10) 前記腫瘍細胞が、悪性腫瘍由来の培養細胞株である、(1-1) から (1-9) に記載のいずれか一項に提示方法。

(1-11) (1-7) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において、前記免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を評価するための、エンゲージャーを含む、検査試薬。

(1-12) 下記工程 i から工程 ii を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性の決定を補助する方法：

工程 i：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 ii：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(1-13) 前記有用性が、前記免疫療法剤に起因する、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であり、

工程 ii が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示する工程、及び／又は

工程 ii が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示する工程、を含む、(1-12) に記載の補助方法。

(1-14) 前記有用性が、前記免疫療法剤の効果の有無であり、

工程 i i が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていると決定された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有効であることを提示する工程、及び／又は

工程 i i が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないと決定された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が無効であることを提示する工程、

を含む、(1-12)又は(1-13)に記載の補助方法。

(1-15) 前記工程 i の腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程が、

前記腫瘍細胞と接触した末梢血単核細胞の腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得する工程、及び

前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値を対応する基準値と比較し、前記値が対応する基準値より高い場合に腫瘍細胞が傷害されていることを示す工程、及び／又は前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値を対応する基準値と比較し、前記値が対応する基準値より低い場合に前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す工程、

を含む、(1-12)から(1-14)のいずれか一項に記載の補助方法。

(1-16) 腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記腫瘍細胞の生細胞数又は死細胞数に基づいて算出された腫瘍細胞傷害活性の値である、(1-15)に記載の補助方法。

(1-17) 前記 *in vitro* における接触が培養培地内での接触であり、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記培養培地中のインターフェロン- γ の測定値である、(1-15)に記載の補助方法。

(1-18) 前記 *in vitro* における接触が、前記患者から採取された末梢血単核細胞と、腫瘍細胞との、エンゲージャーを介した間接的な接触である、(1-12)から(1-17)のいずれか一項に記載の補助方法。

(1-19) 前記エンゲージャーが、二重特異性分子である、(1-18)

）に記載の補助方法。

（１－２０） 前記二重特異性分子が、Ｔ細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域と、前記腫瘍細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域とを含む分子である、（１－１９）に記載の補助方法。

（１－２１） 前記腫瘍細胞が、悪性腫瘍由来の培養細胞株である、（１－１２）から（１－２０）に記載のいずれか一項に補助方法。

（１－２２） （１－１８）から（１－２１）のいずれか一項に記載の補助方法において、前記免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を評価するための、エンゲージャーを含む、検査試薬。

[0010] （１１）悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤

（１１－１） （１－１）から（１－１０）のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して投与される、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤。

（１１－２） （１－１）から（１－１０）のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して１次治療のために投与される、免疫療法剤。

（１１－３） （１－１）から（１－１０）のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して術前化学療法のために投与される、免疫療法剤。

（１１－４） （１－１）から（１－１０）のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して術後補助化学療法のために投与される、免疫療法剤。

（１１－５） （１－１）から（１－１０）のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者であって、放射線治療後の前記患者に投与される免疫療法剤。

（１１－６） （１－１）から（１－１０）のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者

であって、化学放射線治療後の前記患者に投与される免疫療法剤。

(11-7) 免疫療法剤が、免疫チェックポイント阻害剤である、(11-1) から (11-6) のいずれか一項に記載の免疫療法剤。

(11-8) 前記免疫チェックポイント阻害剤が、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体、抗Tim3抗体、又は抗LAG3抗体を含む、(11-7) に記載の免疫療法剤。

(11-9) 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、(11-1) から (11-8) のいずれか一項に記載の免疫療法剤。

(11-10) 前記肺癌が、前記免疫療法剤の投与開始時に間質性肺炎を合併している、(11-9) に記載の免疫療法剤。

(11-11) (1-1) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して投与される、免疫チェックポイント阻害剤であって、他の1種以上の免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される、免疫チェックポイント阻害剤。

(11-12) (1-1) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して投与される、免疫チェックポイント阻害剤であって、免疫チェックポイント阻害剤以外の1種以上の免疫療法剤と組み合わせて投与される、免疫チェックポイント阻害剤。

(11-13) 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、(11-11) 又は (11-12) に記載の免疫チェックポイント阻害剤。

(11-14) 免疫チェックポイント阻害剤が、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体、抗Tim3抗体、又は抗LAG3抗体を含む、(11-11) から (11-13) のいずれか一項に記載の免疫チェックポイント阻害剤。

(11-15) (1-1) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して、免疫療法剤以外の 1 種以上の抗がん剤と組み合わせて投与される免疫療法剤。

(11-16) 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、(11-15) に記載の免疫療法剤。

(11-17) 免疫療法剤が、免疫チェックポイント阻害剤である、(11-15) 又は (11-16) に記載の免疫療法剤。

[0011] (111) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法

(111-1) (1-1) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して、免疫療法剤を投与する、悪性腫瘍の免疫療法。

(111-2) (1-1) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して免疫療法剤を 1 次治療として投与する、悪性腫瘍を治療するための方法。

(111-3) (1-1) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して免疫療法剤を術前化学療法として投与する、悪性腫瘍の免疫療法。

(111-4) (1-1) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して免疫療法剤を術後補助化学療法として投与する、悪性腫瘍の免疫療法。

(111-5) (1-1) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者であって、放射線治療後の前記患者に免疫療法剤を投与する、悪性腫瘍の

免疫療法。

(111-6) (1-1) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者であって、化学放射線治療後の前記患者に免疫療法剤を投与する、悪性腫瘍の免疫療法。

(111-7) 免疫療法剤が、免疫チェックポイント阻害剤である、(111-1) から (111-6) のいずれか一項に記載の悪性腫瘍の免疫療法。

(111-8) 免疫チェックポイント阻害剤が、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体、抗Tim3抗体、又は抗LAG3抗体を含む、免疫療法剤を投与する、悪性腫瘍の免疫療法。

(111-9) 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、(111-1) から (111-8) のいずれか一項に記載の悪性腫瘍の免疫療法。

(111-10) 前記肺癌が、前記免疫療法剤の投与開始時に間質性肺炎を合併している、(111-9) に記載の悪性腫瘍の免疫療法。

(111-11) (1-1) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して、2種以上の免疫チェックポイント阻害剤を組み合わせ投与する、悪性腫瘍の免疫療法。

(111-12) (1-1) から (1-10) のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して、免疫チェックポイント阻害剤と、免疫チェックポイント阻害剤以外の1種以上の免疫療法剤と組み合わせ投与する、悪性腫瘍の免疫療法。

(111-13) 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、(111-11) 又は (111-12) に記載の悪性腫瘍の免疫療法。

(111-14) 前記免疫チェックポイント阻害剤が、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体、抗Tim3抗体、又は抗LAG3抗体を含む、(111-11)から(111-14)のいずれか一項に記載の悪性腫瘍の免疫療法。

(111-15) (1-1)から(1-10)のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して投与される、免疫療法剤及び免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤を組み合わせ投与する、悪性腫瘍の免疫療法。

(111-16) 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、(111-15)に記載の悪性腫瘍の免疫療法。

(111-17) 免疫療法剤が、免疫チェックポイント阻害剤である、(111-15)又は(111-16)に記載の悪性腫瘍の免疫療法。

[0012] (1V) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤

(1V-1) (1-1)から(1-10)のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して投与される、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤。

(1V-2) 悪性腫瘍の1次治療のために投与される、(1V-1)に記載の免疫療法剤。

(1V-3) 術前化学療法のために投与される、(1V-1)に記載の免疫療法剤。

(1V-4) 術後補助化学療法のために投与される、(1V-1)に記載の免疫療法剤。

(1V-5) 放射線治療後の前記患者に投与される、(1V-1)に記載の免疫療法剤。

(1V-6) 化学放射線治療後の前記患者に投与される、(1V-1)に記載の免疫療法剤。

(1V-7) 免疫療法剤が、免疫チェックポイント阻害剤である、(1V

－１）から（ＩＶ－６）のいずれか一項に記載の免疫療法剤。

（ＩＶ－８） 前記免疫チェックポイント阻害剤が、抗ＰＤ１抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、抗ＣＴＬＡ－４抗体、抗Ｔｉｍ３抗体、又は抗ＬＡＧ３抗体を含む、（ＩＶ－７）に記載の免疫療法剤。

（ＩＶ－９） 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、（ＩＶ－１）から（ＩＶ－８）のいずれか一項に記載免疫療法剤。

（ＩＶ－１０） 前記肺癌が、前記免疫療法剤の投与開始時に間質性肺炎を合併している、（ＩＶ－９）に記載の免疫療法剤。

（ＩＶ－１１） 前記免疫療法剤が免疫チェックポイント阻害剤であり、他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される、（ＩＶ－１１）から（ＩＶ－１０）のいずれか一項に記載の免疫治療剤。

（ＩＶ－１２） 前記免疫療法剤が免疫チェックポイント阻害剤であり、免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤と組み合わせて投与される、（ＩＶ－１１）から（ＩＶ－１０）のいずれか一項に記載の免疫治療剤。

（ＩＶ－１３） 免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤と組み合わせて投与される、（ＩＶ－１１）から（ＩＶ－１０）のいずれか一項に記載の免疫治療剤。

[0013] （Ｖ）悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の製造のための使用

（Ｖ－１） 下記工程１、及び工程２を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法によって、免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して投与される、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の製造のための有効成分の使用：

工程１：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(V-2) 下記工程 1、及び工程 2 を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法によって、免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して 1 次治療のために投与される、免疫療法剤の製造のための有効成分の使用：

工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(V-3) 下記工程 1、及び工程 2 を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法によって、免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して術前化学療法のために投与される、免疫療法剤の製造のための有効成分の使用：

工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(V-4) 下記工程 1、及び工程 2 を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法によって、免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して術後補助化学療法のために投与される、免疫療法剤の製造のための有効成分の使用：

工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(V-5) 下記工程 1、及び工程 2 を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法によって、免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者であって、放射線治療後の前記患者に投与される免疫療法剤の製造のための有効成分の使用：

工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(V-6) 下記工程 1、及び工程 2 を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法によって、免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者であって、化学放射線治療後の前記患者に投与される免疫療法剤の製造のための有効成分の使用：

工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(V-7) 免疫療法剤が、免疫チェックポイント阻害剤である、(V-1) から (V-6) のいずれか一項に記載の免疫療法剤の製造のための有効成分の使用。

(V-8) 前記有効成分が、抗 PD-1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 CTLA-4 抗体、抗 TIM-3 抗体、又は抗LAG-3 抗体に由来する、(V-1) から (V-7) のいずれか一項に記載の免疫療法剤の製造のための有効成分の使用。

(V-9) 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、(V-1) から (V-7) のいずれか一項に記載の免疫療法剤の製造のための有効成分の使用。

(V-10) 前記肺癌が、前記免疫療法剤の投与開始時に間質性肺炎を合併している、(V-9) に記載の免疫療法剤の製造のための有効成分の使用。

(V-11) 下記工程 1、及び工程 2 を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する

方法によって、免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して投与される、免疫チェックポイント阻害剤であって、他の1種以上の免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される免疫チェックポイント阻害剤の製造のための有効成分の使用：

工程1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(V-12) 下記工程1、及び工程2を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法によって、免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して投与される、免疫チェックポイント阻害剤であって、免疫チェックポイント阻害剤以外の1種以上の免疫療法剤と組み合わせて投与される免疫チェックポイント阻害剤の製造のための有効成分の使用：

工程1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(V-13) 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、(V-11) 又は (V-1

2) に記載の免疫チェックポイント阻害剤の製造のための有効成分の使用。

(V-14) 前記免疫チェックポイント阻害剤が、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体、抗Tim3抗体、又は抗LAG3抗体を含む、(V-11) から (V-13) のいずれか一項に記載の免疫チェックポイント阻害剤の製造のための有効成分の使用。

(V-15) 下記工程1、及び工程2を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法によって、免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して、免疫療法剤以外の1種以上抗がん剤と組み合わせて投与される免疫療法剤の製造のための有効成分の使用：

工程1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(V-15) 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、(V-14) に記載の免疫療法剤の製造のための有効成分の使用。

(V-16) 免疫療法剤が、免疫チェックポイント阻害剤である、(V-14) 又は (V-15) に記載の免疫療法剤の製造のための有効成分の使用。

[0014] (V1) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性を提示するために情報を取得する方法、及び検査試薬の製造のための使用

(V1-1) 下記工程を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示するための情報の取

得方法：

前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを示す情報を取得する工程。

(V1-2) 前記有用性が、前記免疫療法剤に起因する、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無である、(V1-1) に記載の取得方法。

(V1-3) 前記有用性が、前記免疫療法剤の効果の有無である、(V1-1) 又は (V1-2) に記載の取得方法。

(V1-4) 前記腫瘍細胞が傷害されているか否かを反映する情報を取得する工程が、

前記腫瘍細胞と接触した末梢血単核細胞の腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得する工程であって、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記腫瘍細胞の生細胞数又は死細胞数に基づいて算出された腫瘍細胞傷害活性の値である、工程

を含む、(V1-1) から (V1-3) のいずれか一項に記載の取得方法。

(V1-5) 腫瘍細胞が傷害されているか否かを反映する情報を取得する工程が、

前記腫瘍細胞と接触した末梢血単核細胞の腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得する工程であって、前記 *in vitro* における接触が培養培地内での接触であり、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記培養培地中のインターフェロン- γ の測定値である、工程

を含む、(V1-1) から (V1-3) のいずれか一項に記載の取得方法。

(V1-6) 前記 *in vitro* における接触が、前記患者から採取された末梢血単核細胞と、腫瘍細胞との、エンゲージャーを介した間接的な接触である、(V1-1) から (V1-5) のいずれか一項に記載の取得方法。

(V1-7) 前記エンゲージャーが、二重特異性分子である、(V1-6

)に記載の取得方法。

(V I - 8) 前記二重特異性分子が、T細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域と、前記腫瘍細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域とを含む分子である、(V I - 7)に記載の取得方法。

(V I - 9) 前記腫瘍細胞が、悪性腫瘍由来の培養細胞株である、(V I - 1)から(V I - 8)に記載のいずれか一項に取得方法。

(V I - 10) (V I - 6)から(V I - 9)のいずれか一項に記載の取得方法において、免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示するための情報を取得する検査試薬を製造するための、エンゲージャーの使用。

[0015] (V I I) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の提示装置

(V I I - 1) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する装置であって、

前記装置は処理部を備え、

前記処理部は、

前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価した評価結果を取得し、

前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する、及び／又は

前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する、

提示装置。

(V I I - 2) 前記有用性が、前記免疫療法剤に起因する、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であり、

前記処理部は、

前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可

能となる有害事象を起こさないことを提示する、及び／又は
前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示する、

(V I I - 1) に記載の提示装置。

(V I I - 3) 前記有用性が、前記免疫療法剤の効果の有無であり、
前記処理部は、

前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有効であることを提示する、及び／又は
前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が無効であることを提示する、

(V I I - 1) 又は (V I I - 2) に記載の提示装置。

(V I I - 4) 前記末梢血単核細胞と接触した腫瘍細胞が傷害されている
か否かが、

前記腫瘍細胞と接触した末梢血単核細胞の腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得し、前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値を対応する基準値と比較し、前記値が対応する基準値より高いか否かにより評価される、(V I I - 1) から (V I I - 3) のいずれか一項に記載の提示装置。

(V I I - 5) 前記値が対応する基準値より高いか否かの評価が、
前記値が対応する基準値より高い場合に腫瘍細胞が傷害されていることを示すこと、及び／又は、

前記値が対応する基準値より低い場合に腫瘍細胞が傷害されていないことを示すこと

を含む、(V I I - 6) に記載の提示装置。

(V I I - 6) 腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記腫瘍細胞の生細胞数又は死細胞数に基づいて算出された腫瘍細胞傷害活性の値である、(V I I - 5) に記載の提示装置。

(V I I - 7) 前記 *in vitro* における接触が培養培地内での接触

であり、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記培養培地中のインターフェロン- γ の測定値である、(V11-5)に記載の提示装置。

(V11-8) 前記 *in vitro* における接触が、前記患者から採取された末梢血単核細胞と、腫瘍細胞との、エンゲージャーを介した間接的な接触である、(V11-1) から (V11-7) のいずれか一項に記載の提示装置。

(V11-9) 前記エンゲージャーが、二重特異性分子である、(V11-8) に記載の提示装置。

(V11-10) 前記二重特異性分子が、T細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域と、前記腫瘍細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域とを含む分子である、(V11-9) に記載の提示装置。

(V11-11) 前記腫瘍細胞が、悪性腫瘍由来の培養細胞株である、(V11-1) から (V11-10) に記載のいずれか一項に提示装置。

[0016] (V111) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の決定補助装置

(V111-1) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を決定することを補助する装置であって、

前記装置は処理部を備え、

前記処理部は、

前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価した評価結果を取得し、

前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する、及び／又は

前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する、

決定補助装置。

(V I I I - 2) 前記有用性が、前記免疫療法剤に起因する、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であり、前記処理部は、

前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示する、及び／又は

前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示する、

(V I I I - 1) に記載の決定補助装置。

(V I I I - 3) 前記有用性が、前記免疫療法剤の効果の有無であり、前記処理部は、

前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有効であることを提示する、及び／又は

前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が無効であることを提示する、

(V I I I - 1) 又は (V I I I - 2) に記載の決定補助装置。

(V I I I - 4) 前記末梢血単核細胞と接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かが、

前記腫瘍細胞と接触した末梢血単核細胞の腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得し、前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値を対応する基準値と比較し、前記値が対応する基準値より高いか否かにより評価される、(V I I - 1) から (V I I I - 3) のいずれか一項に記載の決定補助装置。

(V I I I - 5) 前記値が対応する基準値より高いか否かの評価が、前記値が対応する基準値より高い場合に腫瘍細胞が傷害されていることを示すこと、及び／又は、

前記値が対応する基準値より低い場合に腫瘍細胞が傷害されていないことを示すこと

を含む、(V I I I - 4) に記載の決定補助装置。

(V I I I - 6) 腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記腫瘍細胞の生細胞数又は死細胞数に基づいて算出された腫瘍細胞傷害活性の値である、(V I I I - 5) に記載の決定補助装置。

(V I I I - 7) 前記 *in vitro* における接触が培養培地内での接触であり、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記培養培地中のインターフェロン- γ の測定値である、(V I I I - 5) に記載の決定補助装置。

(V I I I - 8) 前記 *in vitro* における接触が、前記患者から採取された末梢血単核細胞と、腫瘍細胞との、エンゲージャーを介した間接的な接触である、(V I I I - 1) から (V I I I - 7) のいずれか一項に記載の決定補助装置。

(V I I I - 9) 前記エンゲージャーが、二重特異性分子である、(V I I I - 8) に記載の決定補助装置。

(V I I I - 10) 前記二重特異性分子が、T細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域と、前記腫瘍細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域とを含む分子である、(V I I I - 9) に記載の決定補助装置。

(V I I I - 11) 前記腫瘍細胞が、悪性腫瘍由来の培養細胞株である、(V I I I - 1) から (V I I I - 10) に記載のいずれか一項に決定補助装置。

[0017] (I X) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の使用法

(I X - 1) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤を、下記工程 1、及び工程 2 を含む前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法において免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して投与される、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の使用：

工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(1X-2) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤を、下記工程 1、及び工程 2 を含む前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法において免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して 1 次治療のために投与する、免疫療法剤の使用：

工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(1X-3) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤を、下記工程 1、及び工程 2 を含む前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法において免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して術前化学療法のために投与する、免疫療法剤の使用：

工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、

前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(1X-4) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤を、下記工程1、及び工程2を含む、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法において免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して術後補助化学療法のために投与する、免疫療法剤の使用：

工程1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(1X-5) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤を、下記工程1、及び工程2を含む前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法において免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者であって、放射線治療後の前記患者に投与する、免疫療法剤の使用：

工程1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(1X-6) 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤を、下記工程1、及び工程2を含む前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法において免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者であって、化学放射

線治療後の前記患者に投与する、免疫療法剤の使用：

工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(IX-7) 免疫療法剤が、免疫チェックポイント阻害剤である、(IX-1) から (IX-6) のいずれか一項に記載の免疫療法剤の使用。

(IX-8) 前記免疫チェックポイント阻害剤が、抗 PD 1 抗体、抗 PD-L 1 抗体、抗 CTLA-4 抗体、抗 Tim 3 抗体、又は抗LAG3 抗体を含む、(IX-7) に記載の免疫療法剤の使用。

(IX-9) 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、又は腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、悪性胸膜中皮腫である、(IX-1) から (IX-8) のいずれか一項に記載免疫療法剤の使用。

(IX-10) 前記肺癌が、前記免疫療法剤の投与開始時に間質性肺炎を合併している、(IX-9) に記載の免疫療法剤の使用。

(IX-11) 下記工程 1、及び工程 2 を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法において免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して投与する、免疫チェックポイント阻害剤であって、他の 1 種以上の免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される、免疫チェックポイント阻害剤の使用：

工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(IX-12) 下記工程 1、及び工程 2 を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法において免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して投与する、免疫チェックポイント阻害剤であって、免疫チェックポイント阻害剤以外の 1 種以上の免疫療法剤と組み合わせて投与される、免疫チェックポイント阻害剤の使用：

工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

(IX-13) 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、(IX-11) 又は (IX-12) に記載の免疫チェックポイント阻害剤の使用。

(IX-14) 前記免疫チェックポイント阻害剤が、抗 PD1 抗体、抗 PDL1 抗体、抗 CTLA-4 抗体、抗 Tim3 抗体、又は抗LAG3 抗体を含む、(IX-11) から (IX-13) に記載の免疫チェックポイント阻害剤の使用。

(IX-15) 下記工程 1、及び工程 2 を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示す

る方法において免疫療法剤が有用であることが提示された前記患者に対して投与される、免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤免疫療法剤と組み合わせて使用される免疫療法剤の使用：

工程１：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程２：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

（１Ｘ－１６） 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、（１Ｘ－１４）又は（１Ｘ－１５）に記載の免疫療法剤の使用。

（１Ｘ－１７） 免疫療法剤が、免疫チェックポイント阻害剤である、（１Ｘ－１５）又は（１Ｘ－１６）に記載の免疫療法剤の使用。

発明の効果

[0018] 本発明によれば、*in vitro* で、個々の患者から採取された末梢血中の単核細胞（P B M C）を使用し腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価することにより、免疫療法剤の有用性を各患者について提示できる。免疫療法剤の有用性が評価された患者に対して投与される免疫療法剤を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0019] [図1]図１は、本発明の概要を示す。

[図2]図２は、提示装置及び決定補助装置の概略を例示す。

[図3]図３は、提示装置及び決定補助装置のハードウェアの構成を示すブロック図の例である。

[図4]図４は、提示装置の処理部が行う処理を示すフローチャートの例である

。

[図5]図5は、提示装置の処理部が行う処理を示すフローチャートの例である

。

[図6]図6は、決定補助装置の処理部が行う処理を示すフローチャートの例である。

[図7]図7は、決定補助装置の処理部が行う処理を示すフローチャートの例である。

[図8]図8は、検査試薬及び検査キットの構成の例を示す。

[図9]図9は、肺癌患者PBM Cの腫瘍細胞傷害活性を示す。

[図10]図10は、末梢血CD8陽性T細胞と肺癌組織内CD8陽性T細胞のレパトア解析の結果を示す。

[図11]図11は、腫瘍（肺癌）組織内T細胞の腫瘍細胞傷害活性とエンゲージャーを介したPBM CによるIFN γ 産生量（図11A）、又は末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性（図11B）との相関関係を示すグラフである。

[図12]図12は、腫瘍（肺癌）組織内T細胞のニボルマブの効果と末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性との相関関係（図12A）、又は末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性のカットオフ値を28%とした場合の各群の腫瘍（肺癌）組織内T細胞のニボルマブの効果（図12B）を示すグラフである。

[図13]（A）はPBM Cに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントのROC曲線を示す。（B）PD-L1発現細胞の陽性率のROC曲線を示す。

[図14]PBM Cに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントと腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率の比較結果を示す。

[図15]（A）ペムブロリズマブ又はニボルマブ投与患者における、腫瘍細胞傷害活性パーセントのカットオフ値18.98%以上の患者群と18.98%未満の患者群の無増悪生存期間を示す。（B）ペムブロリズマブ又はニボルマブ投与患者における、腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率のカットオフ値55.00%以上の患者群と55.00%未満の患者群の無増悪生存期間を示す。（C）ペムブロリズマブ又はニボルマブ投与患者における、腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞

胞の陽性率のカットオフ値50.00%以上の患者群と50.00%未満の患者群の無増悪生存期間を示す。

[図16] (A) ペムブロリズマブ投与患者における腫瘍細胞傷害活性パーセントのカットオフ値18.98%以上の患者群と18.98%未満の患者群の無増悪生存期間を示す。(B) ペムブロリズマブ投与患者における腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率のカットオフ値55.00%以上の患者群と55.00%未満の患者群の無増悪生存期間を示す。(C) ペムブロリズマブ投与患者における腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率のカットオフ値50.00%以上の患者群と50.00%未満の患者群の無増悪生存期間を示す。

[図17] (A) ニボルマブ投与患者における腫瘍細胞傷害活性パーセントのカットオフ値18.98%以上の患者群と18.98%未満の患者群の無増悪生存期間を示す。(B) ニボルマブ投与患者における腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率のカットオフ値55.00%以上の患者群と55.00%未満の患者群の無増悪生存期間を示す。(C) ニボルマブ投与患者における腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率のカットオフ値50.00%以上の患者群と50.00%未満の患者群の無増悪生存期間を示す。

[図18] (A) ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療中止となる有害事象が出現した患者群と治療中止となる有害事象が出現しなかった患者群のPBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントを示す。(B) ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療中止となる有害事象が出現した患者群と治療中止となる有害事象が出現しなかった腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率を示す。

[図19] (A) は有害事象の発生に関するPBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントのROC曲線を示す。(B) は有害事象の発生に関するPD-L1発現細胞の陽性率のROC曲線を示す。

[図20]末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントパーセントと培養上清のインターフェロナー γ 濃度の相関を示す。

発明を実施するための形態

[0020] 1. 腫瘍細胞の傷害の評価

本開示においては、図1に示すように、個々の患者から採取された末梢血単核細胞（Peripheral Blood Mononuclear Cells：P B M C）と、腫瘍細胞とを、直接又はエンゲージャー等を介して間接的に接触させ、前記腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価し、悪性腫瘍に対する免疫療法剤（以下、単に「免疫療法剤」ともいう）の有用性の評価に利用する。図1は、エンゲージャーを介してP B M Cに含まれるT細胞と、予めシャーレに播種されて培養された腫瘍細胞とを接触させ、腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得する例を示す。

[0021] 本実施形態は、具体的には、患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する。好ましくは、患者から採取された末梢血単核細胞と、腫瘍細胞とを、直接、又は間接的に *in vitro* で接触させる工程（工程1）と、前記工程1で末梢血単核細胞と接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程（工程2）により、前記腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する。本実施形態は、ヒトによって実施されても、後述する提示装置10又は補助装置20において実施されてもよい。

[0022] 「有用性」とは、患者に存在する悪性腫瘍を免疫療法剤を用いて治療するにあたり、前記免疫療法剤が患者にとって好ましい結果をもたらすことを意図する。有用性には、例えば、免疫療法剤に起因する、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の有無、及び／又は免疫療法剤の治療効果の有無等が含まれ得る。

[0023] 有害事象とは、免疫療法剤の投与に起因して起こる患者にとって有害な事象である。有害事象とは、例えば、間質性肺疾患（好ましくは、患者が免疫療法剤投与開始時に既に間質性肺炎を発症している場合には、間質性肺炎の増悪を含む、以下有害事象において同じ）等の肺障害；大腸炎、下痢、腸閉塞等の腸障害；皮膚粘膜眼症候群等の上皮系組織障害；多形紅斑；類天疱瘡；神経障害（末梢性ニューロパチー、ギラン・バレー症候群等）；肝機能障

害、肝炎、硬化性胆管炎等の肝胆管障害；甲状腺機能障害（症候性の甲状腺機能低下症、甲状腺機能亢進症、甲状腺炎等）、下垂体機能障害（症候性の下垂体炎、症候性の下垂体機能低下症等）、副腎機能障害（症候性の副腎機能不全、副腎クリーゼ等）等の内分泌障害；1 型糖尿病（劇症1 型糖尿病を含む）等の血糖値異常；腎障害（腎不全、尿細管間質性腎炎等）；脾炎；筋炎、横紋筋融解症、重症筋無力症、心筋炎等の筋障害；心臓障害；脳炎、髄膜炎、脳症、白質脳症等の中枢神経系障害；免疫性血小板減少性紫斑病、溶血性貧血、赤芽球癆等の造血器障害；中毒性表皮壊死融解症（T o x i c E p i d e r m a l N e c r o l y s i s : T E N）；I n f u s i o n r e a c t i o n（発熱、悪寒、そう痒、発疹、高血圧、低血圧、呼吸困難、過敏症（アナフィラキシーを含む）等）及び静脈血栓塞栓症（深部静脈血栓症、肺塞栓症）よりなる群から選択される少なくとも一種を挙げることができる。ここで、前記障害、又は疾患は無症候性であっても、症候性であってもよい。

[0024] 治療中断（若しくは治療中止）の必要がある有害事象とは、免疫療法剤による治療中断（若しくは治療中止）の必要がある有害事象であり、例えば、間質性肺疾患（CTCAE v4.0における肺臓炎のGrade 1、Grade 2、Grade 3、Grade 4、又はGrade 5）等の肺障害；大腸炎、下痢、腸閉塞（CTCAE v4.0における大腸炎及び下痢のGrade 2、Grade 3、Grade 4、又はGrade 5、腸閉塞のGrade 1、Grade 2、Grade 3、Grade 4、又はGrade 5）等の腸障害；皮膚粘膜眼症候群（Stevens-Johnson 症候群）等の上皮系組織障害（CTCAE v4.0におけるGrade 3、Grade 4、又はGrade 5）；多形紅斑（CTCAE v4.0におけるGrade 1、Grade 2、Grade 3、Grade 4、又はGrade 5）；類天疱瘡；神経障害（末梢性ニューロパチー、ギラン・バレー症候群等）（CTCAE v4.0における神経障害のGrade 2、Grade 3、Grade

4、又はGrade 5)；肝機能障害、肝炎、硬化性胆管炎（CTCAE v4.0における肝機能検査値上昇のGrade 2、Grade 3、Grade 4、又はGrade 5）等の肝胆管障害；甲状腺機能障害（症候性の甲状腺機能低下症、甲状腺機能亢進症、甲状腺炎等）、下垂体機能障害（症候性の下垂体炎、症候性の下垂体機能低下症等）、副腎機能障害（症候性の副腎機能不全、副腎クリーゼ等）等の内分泌障害；1型糖尿病（劇症1型糖尿病を含む）の血糖値異常；腎障害（腎不全、尿細管間質性腎炎等）（CTCAE v4.0における急性腎障害のGrade 2、Grade 3、Grade 4、又はGrade 5）；腓炎；筋炎、横紋筋融解症、重症筋無力症、心筋炎等の筋障害；心臓障害；脳炎、髄膜炎、脳症、白質脳症等の中枢神経系障害；免疫性血小板減少性紫斑病、溶血性貧血、赤芽球癆等の造血器障害；中毒性表皮壊死融解症（Toxic Epidermal Necrolysis: TEN）；Infusion reaction（発熱、悪寒、そう痒、発疹、高血圧、低血圧、呼吸困難、過敏症（アナフィラキシーを含む）等）、及び静脈血栓塞栓症（深部静脈血栓症、肺塞栓症）よりなる群から選択される少なくとも一種を挙げることができる。ここで、前記障害、又は疾患は無症候性であっても、症候性であってもよい。

[0025] 治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象（重篤な有害事象）とは、免疫療法剤による治療中断（若しくは治療中止）の必要があり、かつ免疫療法剤の投与再開が不可能となる有害事象であり、例えば、間質性肺疾患（CTCAE v4.0における肺臓炎のGrade 1、Grade 2、Grade 3、又はGrade 4の症状が出現し、悪性腫瘍の免疫療法剤の投与を中断しても、或いは投与を中断し対処療法を行っても症状が改善しない場合）等の肺障害；大腸炎、下痢、（CTCAE v4.0における大腸炎／下痢のGrade 2、Grade 3、又はGrade 4の症状が出現し、悪性腫瘍の免疫療法剤の投与を中断しても、或いは投与を中断し対処療法を行っても症状がGrade 1まで改善しない場

合)、腸閉塞等の腸障害;皮膚粘膜眼症候群(Stevens-Johnson 症候群)等の上皮系組織障害(CTCAE v4.0における発疹の Grade 3、又は Grade 4の症状が出現し、悪性腫瘍の免疫療法剤の投与を中断しても、或いは投与を中断し対処療法を行っても症状が Grade 1まで改善しない場合);多形紅斑;類天疱瘡;神経障害(末梢性ニューロパチー、ギラン・バレー症候群等)(CTCAE v4.0における神経障害の Grade 2、Grade 3、又は Grade 4の症状が出現し、悪性腫瘍の免疫療法剤の投与を中断しても、或いは投与を中断し対処療法を行っても症状がベースライン状態まで改善しない場合);肝機能障害、肝炎、硬化性胆管炎(CTCAE v4.0における肝機能検査値上昇の Grade 2、Grade 3、又は Grade 4の症状が出現し、悪性腫瘍の免疫療法剤の投与を中断しても、或いは投与を中断し対処療法を行っても肝機能がベースライン状態まで改善しない場合)等の肝胆管障害;甲状腺機能障害(症候性の甲状腺機能低下症、症候性の甲状腺機能亢進症、症候性の甲状腺炎等の症状が出現し、悪性腫瘍の免疫療法剤の投与を中断しても、或いは投与を中断し対処療法を行っても症状が改善しない場合)、下垂体機能障害(症候性の下垂体炎、症候性の下垂体機能低下症等)、副腎機能障害(症候性の副腎機能不全、副腎クリーゼ等)等の内分泌障害が出現し、悪性腫瘍の免疫療法剤の投与を中断しても、或いは投与を中断し対処療法を行っても症状が改善しない場合;1型糖尿病(劇症1型糖尿病を含む)の血糖値異常;腎障害(腎不全、尿細管間質性腎炎等)(CTCAE v4.0における急性腎障害の Grade 2、Grade 3、又は Grade 4の症状が出現し、悪性腫瘍の免疫療法剤の投与を中断しても、或いは投与を中断し対処療法を行っても症状が Grade 1まで改善しない場合);腓炎;筋炎、横紋筋融解症、重症筋無力症、心筋炎等の筋障害;心臓障害;脳炎、髄膜炎、脳症、白質脳症等の中枢神経系障害;免疫性血小板減少性紫斑病、溶血性貧血、赤芽球癆等の造血器障害;中毒性表皮壊死融解症(Toxic Epidermal Necrolysis: TEN);

高血圧（Grade 2、Grade 3、Grade 4、又はGrade 5）；低血圧（Grade 3、Grade 4、又はGrade 5）；呼吸困難（Grade 2、Grade 3、Grade 4、又はGrade 5）；アナフィラキシー及び静脈血栓塞栓症（深部静脈血栓症、肺塞栓症）よりなる群から選択される少なくとも一種を挙げることができる。また、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象（重篤な有害事象）には、死亡する場合を含む。

[0026] 本開示において、免疫療法剤は、T細胞の腫瘍細胞に対する傷害活性を高めることにより悪性腫瘍を治療ができる限り制限されない。ここで、治療することには、悪性腫瘍を改善すること、治癒すること及び／又は予防することが含まれ得る。好ましくは、治療することとは、悪性腫瘍を改善すること、及び／又は治癒することである。より好ましくは、治療することには、悪性腫瘍を改善すること、又は治癒することが含まれる。ここで改善することとは、悪性腫瘍の大きさの縮小又は拡大の抑制、及び／又は転移巣の縮小又は拡大の抑制等を含む。治癒することには、悪性腫瘍細胞の消失、好ましくは、1年間、2年間、3年間、5年間、又は7年間以上再発がないことを含む。予防することには、悪性腫瘍の再発を起こさないことが含まれる。前記再発は、悪性腫瘍の原発巣における再発であっても、転移巣における再発であってもよい。

[0027] 本開示における免疫療法剤は、悪性腫瘍の免疫療法に使用できる限り制限されない。免疫療法剤は、後述する「8. 免疫療法剤」で述べる免疫療法剤を挙げることができる。

[0028] 本開示において、悪性腫瘍には、上皮性悪性腫瘍及び非上皮性悪性腫瘍が含まれるが、好ましくは上皮性悪性腫瘍である。

[0029] 患者が有する悪性腫瘍としては、例えば、気管、気管支又は肺等から発生する呼吸器系悪性腫瘍；上咽頭、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、虫垂、上行結腸、横行結腸、S状結腸、直腸又は肛門部等から発生する消化管系悪性腫瘍；肝臓癌；膵臓癌；膀胱、尿管又は腎臓から発生する泌尿器系

悪性腫瘍；卵巣、卵管及び子宮等のから発生する女性生殖器系悪性腫瘍；乳癌：前立腺癌；皮膚癌；視床下部、下垂体、甲状腺、副甲状腺、副腎等の内分泌系悪性腫瘍；中枢神経系悪性腫瘍；骨軟部組織から発生する悪性腫瘍等の固形腫瘍、悪性黒色腫、及び骨髓異形成症候群、急性リンパ性白血病、急性骨髓性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髓性白血病、急性骨髓単球性白血病、慢性骨髓単球性白血病、急性単球性白血病、慢性単球性白血病、急性全骨髓性白血病、急性巨核球性白血病、赤白血病、好酸球性白血病、慢性好酸球性白血病、慢性好中球性白血病、成人T細胞白血病、ヘアリー細胞白血病、形質細胞性白血病、多発性骨髓腫、悪性リンパ腫等の造血系悪性腫瘍；リンパ系悪性腫瘍等の造血器腫瘍が挙げられる。より好ましくは、肺癌（扁平上皮癌、小細胞癌、大細胞癌、腺癌）等の呼吸器系上皮性悪性腫瘍；胃癌、十二指腸癌、大腸癌（S上結腸癌、直腸癌等）等の消化管系上皮性悪性腫瘍；肝臓癌；膵臓癌；膀胱癌；甲状腺癌；卵巣癌；乳癌：前立腺癌；頭頸部癌；悪性黒色腫；腎細胞癌、尿路上皮癌、古典的ホジキンリンパ腫、メルケル細胞癌又は悪性胸膜中皮腫を挙げることができる。最も好ましくは、肺癌である。肺癌は、免疫療法剤の投与開始時に間質性肺炎を伴っていてもよい。

[0030] また、肺癌には、扁平上皮癌、小細胞癌、大細胞癌又は腺癌を含む。好ましくは、非小細胞性の肺癌である。

[0031] 本発明において「患者」は、免疫療法剤が適用されうる者である限り制限されない。例えば、患者としては、上記に記載のいずれかの悪性腫瘍を有し、かつ未治療である患者、又は既に何らかの悪性腫瘍の治療を受けた患者、悪性腫瘍の治療中の患者、悪性腫瘍が再発又は転移している患者を挙げることができる。前記、悪性腫瘍の治療には、好ましくは、外科的腫瘍切除、化学療法（より好ましくは、免疫療法剤以外の抗がん剤投与による化学療法）、放射療法等を含む。また患者は、好ましくは、投与される免疫療法剤の適用に応じて、例えば非小細胞癌性の悪性腫瘍；切除不能な進行性の非小細胞癌性の悪性腫瘍、及び／又は再発性の非小細胞癌性の悪性腫瘍；切除不能な

悪性黒色腫；切除不能又は転移性の腎細胞癌）；再発又は難治性の古典的ホジキンリンパ腫；再発又は遠隔転移を有する頭頸部癌；がん化学療法後に増悪した治癒切除不能な進行又は再発の胃癌；がん化学療法後に増悪した切除不能な進行又は再発の悪性胸膜中脾腫；がん化学療法後に増悪した切除不能な尿路上皮癌；切除不能なメルケル細胞癌）を有する患者等から選択されてもよい。ここで、「切除不能」には、好ましくは根治切除不能又は治癒切除不能な状態を含む。具体的な免疫療法剤との組み合わせは、後述する「8. 免疫療法剤」で説明する。

[0032] 本発明において末梢血は、T細胞を含む単核細胞を取得できる限り制限されない。末梢血は、動脈血であっても静脈血であってもよいが、好ましくは静脈血である。末梢血の採血は、例えば四肢の血管から行うことができる。また、手術や生検の際に、四肢以外の血管から採血しても良い。

[0033] 末梢血の採血方法は、単核細胞を取得できる限り制限されないが、抗凝固剤を使用して採血することが好ましい。抗凝固剤としては、エチレンジアミン四酢酸塩、クエン酸塩、ヘパリン塩等を挙げることができる。好ましくはヘパリンである。

[0034] P B M Cは、公知の方法にしたがって取得することができる。例えば、ヒトリリンパ球分離用の比重液（ $1.077 \pm 0.001 \text{ g/ml}$ 程度の密度を有する）を使って遠心分離により取得することができる。また、溶血剤を使って末梢血中の赤血球を溶血させ、得られる有核細胞をP B M Cとして使用してもよい。あるいは、セルソータ、磁気細胞分離法を使って所望の細胞を取得してもよい。前記所望の細胞としては、例えば、T細胞、好ましくはCD3陽性T細胞又はCD8陽性T細胞を挙げることができる。取得されたP B M Cは、取得後培養等の工程を経ることなく腫瘍細胞と接触させることが好ましい。例えば、P B M Cを取得してから、24時間以内、18時間以内、12時間以内、6時間以内、4時間以内、3時間以内、2時間以内、1時間以内、30分以内、又は15分以内に腫瘍細胞と接触させることが好ましい。

- [0035] P B M Cと接触する腫瘍細胞は、上記腫瘍に由来する細胞である限り制限されない。腫瘍細胞として好ましくは、培養細胞株を挙げることができる。培養細胞株としては特に制限されないが、例えば、U 2 5 1細胞株、R E R F細胞株、A 5 4 9細胞株等の悪性腫瘍由来の培養細胞株を挙げることができる。前記腫瘍細胞は、患者が有する悪性腫瘍と同種の細胞である必要はないが、同種の細胞であってもよい。好ましくは、P B M Cと同じ培養条件下で発育できる細胞であることが好ましい。
- [0036] *i n v i t r o*におけるP B M Cと、腫瘍細胞との接触方法は、P B M Cと腫瘍細胞が直接、又は間接的に接触する限り制限されない。
- [0037] *i n v i t r o*において、P B M Cと腫瘍細胞とを接触させる際には、腫瘍細胞を予め*i n v i t r o*でプレート、又はカルチャーボトルに播種しておくことが好ましい。腫瘍細胞が接着性の細胞である場合には、前記腫瘍細胞が、*i n v i t r o*で生存可能な状態で、シャーレ、又はカルチャーボトルに接着している状態であることがより好ましい。さらには、前記腫瘍細胞が接着性の細胞である場合には、前記腫瘍細胞が発育可能な条件下（例えば、35℃～37℃、5％程度の炭酸ガス存在下）で12時間～48時間程度培養された状態であることが好ましい。前記腫瘍細胞を培養する培養培地は、腫瘍細胞が生存できる、又は発育できる培地である限り制限されない。例えば、ウシ胎児血清を8％～20％程度含む、R P M I 1 6 4 0培地（改変培地含む）、 α -M E M培地（改変培地含む）、ダルベッコM E M培地（改変培地含む）等を挙げることができる。
- [0038] P B M Cと腫瘍細胞を接触させる際のP B M Cの細胞数は、例えば96ウェルプレート1ウェルに対して、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$ 個程度、好ましくは $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$ 個程度の腫瘍細胞に対して、P B M Cが $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$ 個程度、好ましくは $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$ 個程度となるように接触させることが好ましい。
- [0039] P B M Cと腫瘍細胞を直接接触させる方法としては、腫瘍細胞が播種されたプレート、又はカルチャーボトルに、P B M Cを播種する方法を挙げるこ

とができる。好ましくは、播種したP B M Cが浮遊している場合には、1, 0 0 0から2, 0 0 0 r. p. m. 程度で5から1 0分程度遠心することができる。

[0040] P B M Cと腫瘍細胞を間接的に接触させる方法としては、エンゲージャーを介して接触させる方法を挙げることができる。本実施形態においてエンゲージャーとは、P B M Cを、好ましくはリンパ球を、より好ましくはT細胞を、さらに好ましくはC D 8陽性T細胞（細胞障害性T細胞）を腫瘍細胞にエンゲージできる分子である限り制限されない。エンゲージとは、少なくとも細胞同士（例えば、T細胞と腫瘍細胞）を架橋すること、好ましくは、T細胞と腫瘍細胞とをエンゲージャーを介して結合させることをいい、好ましくは、細胞障害性T細胞が架橋した腫瘍細胞に対して細胞傷害活性を示すことができる状態をいう。

[0041] エンゲージャーとして、好ましくは二重特異性分子、三重特異性分子等を挙げることができる。エンゲージャーとしてより好ましくは二重特異性分子である。二重特性分子及び三重特異性分子は、T細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域と、前記腫瘍細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域とを含む分子であることが好ましい。前記抗原結合領域は、標的とする抗原と結合する限り制限されない。前記抗原結合領域は、例えば、前記抗原に結合する免疫グロブリンの相補鎖決定領域1（C D R 1）、相補鎖決定領域2（C D R 2）及び相補鎖決定領域3（C D R 3）よりなる群からなる少なくとも一つのC D Rを含む。前記抗原結合領域は、好ましくは、C D R 1、C D R 2及びC D R 3よりなる群からなる少なくとも二つのC D Rを含み、より好ましくは、C D R 1、C D R 2及びC D R 3を含む。前記C D Rは、免疫グロブリンの重鎖由来であっても、免疫グロブリンの軽鎖由来であってもよい。さらに好ましくは、前記抗原結合領域において、各C D Rは、それぞれに対応するフレームワーク領域に隣接していてもよい。また、前記抗原結合領域は、免疫グロブリンの可変領域（V領域）、s c - F v、免疫グロブリンのF a b領域等であってもよい。

[0042] 表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域は、1つの抗原に対して、1つであっても2以上であってもよい。例えば、表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域は、同種のF a b領域の組み合わせ、同種の可変領域の組み合わせ、同種のs c - F vの組み合わせ、1種の抗体に由来する重鎖F a b領域と軽鎖F a b領域の組み合わせ1種の抗体に由来する重鎖可変領域と軽鎖可変領域の組み合わせ、1種の抗体に由来する重鎖s c - F vの組み合わせであってもよい。

[0043] T細胞の表面抗原は、T細胞の表面に存在し、二重特異性分子又は三重特異性分子に含まれる少なくとも一つの抗原結合領域が結合できる限り制限されない。T細胞の表面抗原として、好ましくは細胞障害性T細胞の表面抗原を挙げることができる。例えば、T細胞の表面抗原は、CD3、CD8、TCR、CTLA-4、PD1、Tim3、CD27、CD28、CD40、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD278 (ICOS)を挙げることができる。好ましくはCD3である。

[0044] 腫瘍細胞の表面抗原は、腫瘍細胞の表面に存在し、二重特異性分子又は三重特異性分子に含まれる少なくとも一つの抗原結合領域が結合できる限り制限されない。腫瘍細胞の表面抗原としては、EphA1 (ephrin type-A receptor 1)、EphA2、FolR1 (folate receptor 1)、EpCAM (Epithelial cell adhesion molecule)、CD19、Her1 (v-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 1: ErbB1)、Her2、CD20、EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)、CCR4 (C-C chemokine receptor type 4)、CEA (Carcinoembryonic antigen)、GD2、GD3、CD22、CD30、CD33、CD70、CD123、EGFRvIII、MUC1 (Mucin1)、PSCA (Prostate stem cell antigen)、PSM

A (Prostate-specific membrane antigen)、HLA-A1+NY-ESO1 (HLA-A1 restricted NY-ESO1)、HLA-A2+NY-ESO1 (HLA-A2 restricted NY-ESO1)、HLA-A3+NY-ESO1 (HLA-A3 restricted NY-ESO1)等を挙げることができる。

[0045] 二重特異性分子には、二重特異性T細胞エンゲージャー、二重特異性抗体等が含まれる。二重特異性T細胞エンゲージャーとしては、CD19とCD3を標的とするエンゲージャー、EphA2とCD3を標的とするエンゲージャーを挙げることができる。また二重特異性抗体としては、EpCAMとCD3を標的とする抗体を挙げることができる。

[0046] PBMCと腫瘍細胞を接触させる際の細胞数は、例えば96ウェルプレート1ウェルに対して、 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$ 個程度、好ましくは $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$ 個程度の腫瘍細胞に対して、PBMCが $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$ 個程度、好ましくは $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$ 個程度となるように接触させることが好ましい。二重特異性分子を添加する場合には、96ウェルプレート1ウェルに対して50～200 ng/mlの終濃度となるように添加することが好ましい。

[0047] PBMCと腫瘍細胞の直接又は間接的な接触は、PBMCと腫瘍細胞のそれぞれが、通常発育可能な条件で行うことが好ましい。例えば、発育可能な条件下（例えば、35℃～37℃、5%程度の炭酸ガス存在下）で16時間～72時間、好ましくは36～50時間程度行うことができる。前記PBMCと腫瘍細胞を接触させる時の培養培地は、PBMCと腫瘍細胞が生存できる、又は発育できる培地である限り制限されない。例えば、ウシ胎児血清を8%～20%程度含む、RPMI 1640培地（改変培地含む）を挙げることができる。

[0048] 前記腫瘍細胞が傷害されているか否かの評価には、前記腫瘍細胞が傷害されていること、及び／又は前記腫瘍細胞が傷害されていないことを評価する

ことが含まれる。好ましくは、前記腫瘍細胞が傷害されているか否かの評価には、前記腫瘍細胞が傷害されているか否かを決定することが含まれる。前記腫瘍細胞が傷害されているか否かを決定することには、前記腫瘍細胞が傷害されていると決定すること、及び／又は前記腫瘍細胞が傷害されていないと決定することが含まれる。前記腫瘍細胞が傷害されているか否かの評価結果には、腫瘍細胞が傷害されているか否かを示す情報として、後述する腫瘍細胞に対する細胞傷害活性（腫瘍細胞傷害活性）を反映する値と、前記値に対応する基準値に基づいて決定された腫瘍細胞が傷害されていることを示す情報（例えば「傷害あり」、「傷害陽性」、「+（プラス）」等）、又は腫瘍細胞が傷害されていないことを示す情報（例えば「傷害なし」、「傷害陰性」、「-（マイナス）」等）が含まれる。

[0049] 好ましくは、前記腫瘍細胞が傷害されているか否かの評価することには、腫瘍細胞が傷害されているか否かを示す情報を取得することと、取得した情報に基づいて、前記腫瘍細胞が傷害されていること、及び／又は前記腫瘍細胞が傷害されていないことを評価することが含まれ得る。

[0050] 腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価するために、前記患者から採取された末梢血単核細胞と、腫瘍細胞とを、直接、又は間接的に *in vitro* で接触させ後に、前記腫瘍細胞と接触した末梢血単核細胞の腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得する。

[0051] 取得された腫瘍細胞傷害活性を反映する値は、その対応する基準値と比較される。比較の結果、前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値が対応する基準値より高い場合、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す。比較の結果、前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値が対応する基準値より低い場合、前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す。

[0052] 前記基準値は、腫瘍細胞が傷害されているか否かを判定できる値である限り制限されない。例えば、基準値は、腫瘍免疫が活性化していない陰性対照のPBMCの腫瘍細胞傷害活性を反映する値や、腫瘍免疫が活性化している陽性対照のPBMCの腫瘍細胞傷害活性を反映する値から求めることができ

る。陰性対照のP B M Cの腫瘍細胞傷害活性を反映する値、及び陽性対照のP B M Cの腫瘍細胞傷害活性を反映する値を測定する方法は、治療対象患者のP B M Cの腫瘍細胞傷害活性を反映する値を測定する方法と同じであることが好ましい。基準値は、陰性対照のP B M Cの腫瘍細胞傷害活性を反映する値の上限値、陽性対照のP B M Cの腫瘍細胞傷害活性を反映する値、陰性対照のP B M Cの腫瘍細胞傷害活性を反映する値と陽性対照のP B M Cの腫瘍細胞傷害活性を反映する値の中央値、平均値、最頻値等とすることができる。あるいは、基準値は、R O C曲線 (Receiver Operatorating Characteristic curve、受信者動作特性曲線)、判別分析法、モード法、K i t t l e r法、3 σ 法、p - t i l e法等により算出してもよい。

[0053] 例えば、基準値は、腫瘍細胞傷害活性を反映する値として、例えば、後述する腫瘍細胞傷害活性の値を用いる場合には、前記基準値を生細胞数に基づく又は死細胞数に基づく腫瘍細胞傷害活性パーセントとして5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%又は50%から選択してもよい。基準値は、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の有無を決定する場合と、治療効果の有無を決定する場合とで、同じであっても、異なってもよい。基準値が異なる場合に、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の有無を決定する場合の基準値を20%、25%、30%、35%、40%、45%又は50%から選択してもよい。基準値が異なる場合に、治療効果の有無を決定する場合の基準値を10%、15%、20%、25%、30%、35%又は40%から選択してもよい。

[0054] また基準値は、腫瘍細胞傷害活性を反映する値として、例えば、後述するインターフェロナー γ の測定値を用いる場合には、1, 000 pg/ml、1, 500 pg/ml、2, 000 pg/ml、2, 500 pg/ml、3, 000 pg/ml、3, 500 pg/ml、4, 000 pg/ml、4, 500 pg/ml、5, 000 pg/ml、5, 500 pg/ml、6, 000 pg/ml、又は6, 500 pg/mlから選択しても良い。基準値は

、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の有無を決定する場合と、治療効果の有無を決定する場合とで、同じであっても、異なってもよい。基準値が異なる場合に、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の有無を決定する場合の基準値を3, 500 pg/ml、4, 000 pg/ml、4, 500 pg/ml、5, 000 pg/ml、5, 500 pg/ml、6, 000 pg/ml、又は6, 500 pg/mlから選択しても良い。基準値が異なる場合に、治療効果の有無を決定する場合の基準値を2, 000 pg/ml、2, 500 pg/ml、3, 000 pg/ml、3, 500 pg/ml、4, 000 pg/ml、4, 500 pg/ml、5, 000 pg/ml、5, 500 pg/ml、6, 000 pg/ml、又は6, 500 pg/mlから選択しても良い。

[0055] 腫瘍細胞に対する細胞傷害活性を反映する値には、例えば、腫瘍細胞傷害活性の値、又はインターフェロナー γ の測定値等が含まれ得る。

[0056] 例えば、腫瘍細胞傷害活性の値は、前記PBMCと接触後の腫瘍細胞の生細胞数を測定し、その測定結果から腫瘍細胞傷害活性を算出することにより求めることができる。腫瘍細胞の生細胞数の測定方法は、PBMCがどのくらい腫瘍細胞を傷害できたかを評価できる限り制限されない。例えば、PBMCと腫瘍細胞とを直接接触させる場合には、PBMCと腫瘍細胞とを接触させた直後の腫瘍細胞の生細胞数とPBMCと腫瘍細胞とを接触させてから48時間後の腫瘍細胞の生細胞数の値から求めることができる。また、PBMCと腫瘍細胞とをエンゲージャーを介して、間接的に接触させる場合には、PBMCと腫瘍細胞とを接触させる際にエンゲージャーを添加するウェル（測定ウェル）と、PBMCと腫瘍細胞とを接触させる際にエンゲージャーを添加しないウェル（陰性対照ウェル）を作成し、測定ウェルの生細胞数と、陰性対照ウェルの生細胞数とに基づいて、腫瘍細胞傷害活性の値を取得することができる。この場合、例えば、腫瘍細胞傷害活性の値は、生細胞に基づく腫瘍細胞傷害活性パーセント（％）として、下式により求めることができる。

[0057] [数 1]

生細胞に基づく腫瘍細胞傷害活性パーセント (%)

$$= \{ ([\text{陰性対照ウェルの生細胞数}] - [\text{測定ウェルの生細胞数}]) / [\text{陰性対照ウェルの生細胞数}] \} \times 100$$

[0058] また、例えばCellTiter 96 (登録商標) AQueous One Solution Reagent (MTS reagent: プロメガ) 等の生細胞染色試薬を用いて上記生細胞数を計数する場合には、上記生細胞数に変えて、各ウェルの吸光度に基づいて生細胞に基づく腫瘍細胞傷害活性パーセント (%) を算出してもよい。

[0059] さらに、上記生細胞数に変えて死細胞に基づいて、腫瘍細胞傷害活性パーセント (%) を算出し、この値を腫瘍細胞傷害活性の値として用いてもよい。P B M C と腫瘍細胞とをエンゲージャーを介して、間接的に接触させる場合において、死細胞に基づいて、腫瘍細胞傷害活性パーセント (%) を求める場合には、例えば以下の方法により、死細胞に基づく腫瘍細胞傷害活性パーセント (%) を算出することができる。具体的には、P B M C と腫瘍細胞とを接触させる際にエンゲージャーを添加するウェル (測定ウェル) と、P B M C と腫瘍細胞とを接触させる際にエンゲージャーを添加しないウェル (陰性対照ウェル) と、P B M C と腫瘍細胞とを接触させる際に過酸化水素等の細胞殺傷能力の高い物質を添加したウェル (陽性対照ウェル) を作成し、測定ウェルの死細胞数と、陰性対照ウェルの死細胞数と、陽性対照ウェルの死細胞数に基づいて、腫瘍細胞傷害活性の値を取得することができる。この場合、腫瘍細胞傷害活性の値は、死細胞に基づく腫瘍細胞傷害活性パーセント (%) として、下式で求めることができる。

[0060] [数 2]

死細胞に基づく腫瘍細胞傷害活性パーセント (%)

$$= \{ ([\text{測定ウェルの死細胞数}] - [\text{陰性対照ウェルの死細胞数}]) / [\text{陽性対照ウェルの死細胞数} - [\text{陰性対照ウェルの死細胞数}] \} \times 100$$

[0061] 例えばCytotoxicity LDH assay kit (株式会社同仁化学研究所) 等の死細胞測定キットを用いて上記死細胞数を計数する場合には、上記死細胞数に変え

て、各ウェルの吸光度に基づいて死細胞に基づく腫瘍細胞傷害活性パーセント（％）を算出してもよい。

[0062] インターフェロノン γ の測定値は、例えば、P B M Cと腫瘍細胞を接触させた後のウェル内から培養培地を採取し、その培養培地内のインターフェロノン γ のタンパク質濃度（あるいは量）を公知のE L I S A法等を使用して測定することにより取得することができる。

[0063] 本実施形態では、予め抗原捕捉用の抗インターフェロノン γ 抗体をマイクロプレート等の固相上に固定化し、固定化された抗インターフェロノン γ 抗体と検体中のインターフェロノン γ の複合体を形成させることができる。固相上に固定化された当該複合体又は固相上で形成された複合体を、当該技術において公知の方法で検出することにより、検体に含まれるインターフェロノン γ の量又は濃度を測定することができる。

[0064] 抗原捕捉用の抗インターフェロノン γ 抗体の固相への固定の方法は、特に限定されない。公知の方法を使用して、直接的に、又は別の物質を介して間接的に行うことができる。直接の結合としては、例えば、物理的吸着などが挙げられる。好ましくは、イムノプレート等を使用して、直接抗インターフェロノン γ 抗体をマイクロプレートに物理的に結合させることができる。

[0065] 固相の素材は特に限定されず、例えば、ポリスチレン、ポリプロピレンなどが挙げられる。固相の形状は特に限定されず、例えば、マイクロプレート、マイクロチューブ、試験管、ビーズなどが挙げられる。

[0066] 本方法においては、前記複合体の形成に続いて、固相を洗浄する操作を含んでもよい。洗浄する場合には、界面活性剤等を含むP B S等を使用することができる。

[0067] 本方法において、前記複合体の検出は、標識物質で標識された検出用抗インターフェロノン γ 抗体を使用して行うか、未標識の抗インターフェロノン γ 抗体と当該未標識の抗インターフェロノン γ 抗体と結合することができる標識物質で標識された抗イムノグロブリン抗体等を使用して行うことができるが、標識された検出用抗インターフェロノン γ 抗体を使用することが好ま

しい。また、検出用抗インターフェロノーγ抗体のインターフェロノーγにおけるエピトープと抗原捕捉用抗インターフェロノーγ抗体のインターフェロノーγにおけるエピトープとは異なることが好ましい。

[0068] 検出用抗インターフェロノーγ抗体又は標識抗イムノグロブリン抗体に用いられる標識物質は、検出可能なシグナルが生じる限り、特に限定されない。例えば、蛍光物質、放射性同位元素、及び酵素等が挙げられる。酵素としては、アルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼ等が挙げられる。蛍光物質としては、フルオレセインイソチオシアネート（FITC）、ローダミン、Alexa Fluor（登録商標）などの蛍光色素、GFPなどの蛍光タンパク質などが挙げられる。放射性同位元素としては、 ^{125}I 、 ^{14}C 、 ^{32}P などが挙げられる。それらの中でも、標識物質として、アルカリホスファターゼ、又はペルオキシダーゼが好ましい。

[0069] 検出用抗インターフェロノーγ抗体は、当該技術において公知の標識方法により、抗インターフェロノーγ抗体を上記の標識物質で標識して得られる。また、市販のラベリングキットなどを用いて標識してもよい。また、標識イムノグロブリン抗体は、抗インターフェロノーγ抗体の標識と同じ手法を用いてもよいし、市販のものを使用してもよい。

[0070] 本方法では、複合体に含まれる標識抗インターフェロノーγ抗体の標識物質により生じるシグナルを検出することにより、検体に含まれるインターフェロノーγの測定値を取得できる。ここで、「シグナルを検出する」とは、シグナルの有無を定性的に検出すること、シグナル強度を定量すること、及び、シグナルの強度を半定量的に検出することを含む。半定量的な検出とは、シグナルの強度を、「シグナル発生せず」、「弱」、「中」、「強」などのように段階的に示すことをいう。本工程では、シグナルの強度を定量的又は半定量的に検出することが好ましい。

[0071] シグナルを検出する方法は、公知の方法を使用することができる。本方法では、上記の標識物質に由来するシグナルの種類に応じた測定方法を適宜選択することができる。例えば、標識物質が酵素である場合、該酵素に対する

基質を反応させることによって発生する光、色などのシグナルを、ルミノメーター、分光光度計などの公知の装置を用いて測定することにより行うことができる。

[0072] 酵素の基質は、該酵素の種類に応じて公知の基質から適宜選択できる。例えば、酵素としてアルカリホスファターゼを用いる場合、基質としては、CDP-Star（登録商標）（4-クロロ-3-（メトキシスピロ[1,2-ジオキセタン-3,2'-(5'-クロロ)トリクシロ[3.3.1.1^{3,7}]デカン]-4-イル）フェニルリン酸2ナトリウム）等の化学発光基質、5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリルリン酸（BCIP）、5-ブロモ-6-クロロ-インドリルリン酸2ナトリウム、p-ニトロフェニルリン酸等の発色基質が挙げられる。標識物質がペルオキシダーゼである場合には、テトラメチルベンジジン（TMB）等を挙げることができる。

[0073] 標識物質が放射性同位体である場合は、シグナルとしての放射線を、シンチレーションカウンターなどの公知の装置を用いて測定できる。また、標識物質が蛍光物質である場合は、シグナルとしての蛍光を、蛍光マイクロプレートリーダなどの公知の装置を用いて測定できる。なお、励起波長及び蛍光波長は、用いた蛍光物質の種類に応じて適宜決定できる。

[0074] シグナルの検出結果は、インターフェロン- γ の測定値として用いることができる。例えば、シグナルの強度を定量的に検出する場合は、シグナル強度の測定値自体又は該シグナル強度の測定値から算出される値を、インターフェロン- γ のタンパク質の測定値として用いることができる。

[0075] 特に言及しない限り、本項における用語の説明は、本明細書における他の実施形態における説明、特許請求の範囲及び図面全体において援用される。

また、本項に記載される実施形態の別形態として、

[0076] 2. 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の提示方法

本明細書に開示されるある実施形態は、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法に関する。本実施形態は、ヒトによって実施されても、後述する提示装置10

において実施されてもよい。

[0077] 前記提示方法は、前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程（工程 1）と、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程（工程 2）を含みうる。

[0078] 工程 1 は、上記 1. で述べた通りである。

[0079] 工程 2 において、「提示する」とはヒトが把握できるように示すことを意図する。

[0080] 前記有用性が、前記免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記工程 2 は、より具体的には、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示する工程、及び／又は、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示する工程、を含む。前記治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示することには、例えば、紙媒体又は表示画面に、前記治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを示す情報（例えば「なし」、「陰性」、「－（マイナス）」等）を記載又は表示することを含む。前記治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示することには、例えば、紙媒体又は表示画面に、前記治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを示す情報（例えば「あり」、「陽性」、「＋（プラス）」等）を記載又は表示することを含む。

[0081] また、前記有用性が、前記免疫療法剤の効果の有無であるとき、前記工程 2 は、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有効であることを提示する工程、及び／又は、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が無効であることを提示する工程、を含む。前記免疫療法剤が有効であることを提示することには、例えば、紙媒体又は表示画面に、前記免疫療法剤が有効であることを示す情報（例えば「有効」、「○」、「+（プラス）」等）を記載又は表示することを含む。前記免疫療法剤が無効であることを提示することには、例えば、紙媒体又は表示画面に、前記免疫療法剤が無効であることを示す情報（例えば「無効」、「×」、「-（マイナス）」等）を記載又は表示することを含む。

[0082] 上記 1. で説明された、用語であって、本項においても使用される用語については、上記 1. の説明をここに援用する。

[0083] 3. 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の決定補助方法

本明細書に開示されるある実施形態は、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性の決定を補助する方法に関する。有用性を補助することとは、医師が有用性を決定することを補助することを含む。本実施形態は、ヒトによって実施されても、後述する補助装置 10 において実施されてもよい。

前記補助方法は、前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程（工程 i）と、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程（工程 ii）を含みうる。

[0084] 工程 i は、上記 1. で述べた通りである。

[0085] 工程 ii において、「提示する」とはヒトが把握できるように示すことを

意図する。

[0086] 前記有用性が、前記免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記工程 i i は、より具体的には、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示する工程、及び／又は、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示する工程、を含む。前記治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示することには、例えば、紙媒体又は表示画面に、前記治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを示す情報（例えば「なし」、「陰性」、「－（マイナス）」等）を記載又は表示することを含む。前記治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示することには、例えば、紙媒体又は表示画面に、前記治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを示す情報（例えば「あり」、「陽性」、「＋（プラス）」等）を記載又は表示することを含む。

[0087] また、前記有用性が、前記免疫療法剤の効果の有無であるとき、前記工程 i i は、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有効であることを提示する工程、及び／又は、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が無効であることを提示する工程、を含む。前記免疫療法剤が有効であることを提示することには、例えば、紙媒体又は表示画面に、前記免疫療法剤が有効であることを示す情報（例えば「有効」、「○」、「＋（プラス）」等）を記載又は表示することを含む。前記免疫療法剤が無効であることを提示することには、例えば、紙媒体又は表示画面に、前記免疫療法剤が無効であることを示す情報（例えば「

無効」、「×」、「－（マイナス）」等）を記載又は表示することを含む。

[0088] 上記１．で説明された、用語であって、本項においても使用される用語については、上記１．の説明をここに援用する。

[0089] ４．悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の提示装置

本明細書に開示されるある実施形態は、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する装置１０（以下、提示装置１０ともいう）に関する。

[0090] 図２及び図３に、提示装置１０のハードウェアの構成例を示す。提示装置１０は、入力部１１１と、出力部１１２と、記憶媒体１１３とに接続されていてもよい。また、マイクロプレートリーダ等により構成される測定部３０と接続されていてもよい。すなわち、提示装置１０は、測定部３０と直接又はネットワーク等を介して接続された、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する提示システム５０を構成することもある。

[0091] 提示装置１０において、処理部（ＣＰＵ）１０１と、主記憶部１０２と、ROM（read only memory）１０３と、補助記憶部１０４と、通信インタフェース（Ｉ／Ｆ）１０５と、入力インタフェース（Ｉ／Ｆ）１０６と、出力インタフェース（Ｉ／Ｆ）１０７と、メディアインターフェース（Ｉ／Ｆ）１０８は、バス１０９によって互いにデータ通信可能に接続されている。主記憶部１０２と補助記憶部１０４とを合わせて、単に記憶部と呼ぶこともある。

[0092] ＣＰＵ１０１は、提示装置１０の処理部１０１である。ＣＰＵ１０１が、補助記憶部１０４又はROM１０３に記憶されているコンピュータプログラムを実行し、取得されるデータの処理を行うことにより、提示装置１０が機能する。

[0093] ROM１０３は、マスクROM、PROM、EPROM、EEPROMなどによって構成され、ＣＰＵ１０１により実行されるコンピュータプログラム及びこれに用いるデータが記録されている。ＣＰＵ１０１はMPU１０１

としてもよい。ROM 103は、提示装置10の起動時に、CPU 101によって実行されるブートプログラムや提示装置10のハードウェアの動作に関連するプログラムや設定を記憶する。

[0094] 主記憶部102は、SRAM又はDRAMなどのRAM (Random access memory) によって構成される。主記憶部102は、ROM 103及び補助記憶部104に記録されているコンピュータプログラムの読み出しに用いられる。また、主記憶部102は、CPU 101がこれらのコンピュータプログラムを実行するときの作業領域として利用される。さらに主記憶部102は、処理部101が取得した腫瘍細胞が傷害されているか否かの評価結果を一時的に記憶してもよい。さらに、基準値がネットワークから又は補助記憶部104から提供される場合、これらを一時的に記憶してもよい。

[0095] 補助記憶部104は、ハードディスク、フラッシュメモリ等の半導体メモリ素子、光ディスク等によって構成される。補助記憶部104には、オペレーティングシステム及びアプリケーションプログラムなどの、CPU 101に実行させるための種々のコンピュータプログラム及びコンピュータプログラムの実行に用いる各種設定データが記憶されている。具体的には、基準値等を不揮発性に記憶していてもよい。

[0096] 通信I/F 105は、USB、IEEE 1394、RS-232Cなどのシリアルインタフェース、SCSI、IDE、IEEE 1284などのパラレルインタフェース、及びD/A変換器、A/D変換器などからなるアナログインタフェース、ネットワークインタフェースコントローラ (Network interface controller: NIC) 等から構成される。通信I/F 105は、CPU 101の制御下で、測定部30又は他の外部機器からのデータを受信し、必要に応じて提示装置10が保存又は生成する情報を、測定部30又は外部に送信又は表示する。通信I/F 105は、ネットワークを介して測定部30又は他の外部機器と通信を行ってもよい。また、基準値がネットワークから提供される場合には、通信I/F 105

は、CPU 101の制御下で、基準値を受信する。

[0097] 入力I/F 106は、例えばUSB、IEEE 1394、RS-232Cなどのシリアルインタフェース、SCSI、IDE、IEEE 1284などのパラレルインタフェース、及びD/A変換器、A/D変換器などからなるアナログインタフェースなどから構成される。入力I/F 106は、入力部111から文字入力、クリック、音声入力等を受け付ける。受け付けた入力内容は、主記憶部102又は補助記憶部104に記憶される。

[0098] 入力部111は、タッチパネル、キーボード、マウス、ペンタブレット、マイク等から構成され、提示装置10に文字入力又は音声入力を行う。入力部111は、提示装置10の外部から接続されても、提示装置10と一体となってもよい。

[0099] 出力I/F 107は、例えば入力I/F 106と同様のインタフェースから構成される。出力I/F 107は、CPU 101が生成した情報を出力部112に出力する。出力I/F 107は、CPU 101が生成し、補助記憶部104に記憶した情報を、出力部112に出力する。

[0100] 出力部112は、例えばディスプレイ、プリンター等で構成され、測定部30から送信される測定結果及び提示装置10における各種操作ウィンドウ、腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価した評価、有用性の提示内容等を表示する。

[0101] メディアI/F 108は、記憶媒体113に記憶された例えばアプリケーションソフト等を読み出す。読み出されたアプリケーションソフト等は、主記憶部102又は補助記憶部104に記憶される。また、メディアI/F 108は、CPU 101が生成した情報を記憶媒体113に書き込む。メディアI/F 108は、CPU 101が生成し、補助記憶部104に記憶した情報を、記憶媒体113に書き込む。

[0102] 記憶媒体113は、フレキシブルディスク、CD-ROM、又はDVD-ROM等で構成される。記憶媒体113は、フレキシブルディスクドライブ、CD-ROMドライブ、又はDVD-ROMドライブ等によってメディア

I / F 1 0 8 と接続される。記憶媒体 1 1 3 には、コンピュータがオペレーションを実行するためのアプリケーションプログラム等が格納されていてもよい。

[0103] CPU 1 0 1 は、提示装置 1 0 の制御に必要なアプリケーションソフトや各種設定を ROM 1 0 3 又は補助記憶部 1 0 4 からの読み出しに代えて、ネットワークを介して取得してもよい。前記アプリケーションプログラムがネットワーク上のサーバコンピュータの補助記憶部内に格納されており、このサーバコンピュータに提示装置 1 0 がアクセスして、コンピュータプログラムをダウンロードし、これを ROM 1 0 3 又は補助記憶部 1 0 4 に記憶することも可能である。

[0104] また、ROM 1 0 3 又は補助記憶部 1 0 4 には、例えば米国マイクロソフト社が製造販売する Windows（登録商標）などのグラフィカルユーザインタフェース環境を提供するオペレーションシステムがインストールされている。第 2 の実施形態に係るアプリケーションプログラムは、前記オペレーティングシステム上で動作するものとする。すなわち、提示装置 1 0 は、パーソナルコンピュータ等であり得る。

[0105] 次に、図 4 を用いて、提示装置 1 0 の動作の概略について説明する。提示装置 1 0 の動作は、後述する悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示するためのコンピュータプログラムの指令にしたがって、提示装置 1 0 の処理部 1 0 1 が制御する。

[0106] 初めに、処理部 1 0 1 は、検査者によって入力部 1 1 1 から入力される、若しくは処理部 1 0 1 が検査者の制御によって、上記 1. で述べた方法にしたがって患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価し、評価結果を取得する（ステップ S 1 1）。

[0107] 次に処理部 1 0 1 は、上記 1. で述べた方法にしたがって前記評価結果が、腫瘍細胞が傷害されていることを示しているか否かを決定する（ステップ 1 2）。

[0108] ステップ１２において、評価結果が、腫瘍細胞が傷害されていることを示している場合（ＹＥＳ）には、処理部１０１は、ステップＳ１３に進み、免疫療法剤が有用であると決定し、その結果を出力部１１２から出力することにより提示する。ステップＳ１２において、評価結果が、腫瘍細胞が傷害されていないことを示している場合（ＮＯ）には、処理部１０１は、ステップＳ１４に進み、免疫療法剤が有用でないと決定し、その結果を出力部１１２から出力することにより提示する。

[0109] 有用性が、免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記処理部１０１は、ステップＳ１２において、前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す（ＹＥＳ）場合に、ステップＳ１３において、患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示する。有用性が、免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記処理部１０１は、ステップＳ１２において、前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す（ＮＯ）の場合に、ステップＳ１４において、患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示する。

[0110] 有用性が、免疫療法剤の効果の有無であるとき、前記処理部１０１は、ステップＳ１２において、前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す（ＹＥＳ）場合に、ステップＳ１３において、患者に対して前記免疫療法剤が有効であることを提示する。有用性が、免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記処理部１０１は、ステップＳ１２において、前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す（ＮＯ）の場合に、ステップＳ１４において、患者に対して前記免疫療法剤が無効であることを提示する。

[0111] 処理部１０１は、上記ステップＳ１３、又はステップＳ１４で得られた結

果を記録媒体 113 に記録してもよい。

- [0112] 次に、図 5 を用いて、提示装置 10 の動作の別形態について説明する。初めに、処理部 101 は、検査者によって入力部 111 から入力される、上記 1. で述べた方法により取得された腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得する（ステップ S101）。又は、測定部 30 から腫瘍細胞傷害活性を算出するための情報を取得する。前記情報は、P B M C と接触した腫瘍細胞の生細胞数又は死細胞数を反映する情報であり、例えば生細胞染色試薬又は死細胞測定試薬の吸光度等である。あるいは、前記情報は、インターフェローン γ の測定した際の吸光度等である。
- [0113] 次に、処理部 101 は、ステップ S101 で取得した腫瘍細胞傷害活性を反映する値を主記憶部 102 又は補助記憶部 104 に記憶されている基準値と比較する（ステップ S102）。
- [0114] 続いて処理部 101 は、ステップ S102 の比較結果からステップ S101 で取得した腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも否かを決定する（ステップ S103）。
- [0115] 処理部 101 は、ステップ S103 において腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも高い（Y E S）と決定した場合には、ステップ S104 に進み、免疫療法剤が有用であると決定し、その結果を出力部 112 から出力することにより提示する。ステップ S103 において、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも低い（N O）と決定した場合には、処理部 101 は、ステップ S105 に進み、免疫療法剤が有用でないと決定し、その結果を出力部 112 から出力することにより提示する。
- [0116] 有用性が、免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記処理部 101 は、ステップ S103 において、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも高い（Y E S）と決定した場合に、ステップ S104 において、患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示する。有用性が、免疫療法剤に起因する治療中

断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記処理部101は、ステップS103において、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも低い（NO）と決定した場合に、ステップS105において、患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示する。

[0117] 有用性が、免疫療法剤の効果の有無であるとき、前記処理部101は、ステップS103において、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも高い（YES）と決定した場合に、ステップS104において、患者に対して前記免疫療法剤が有効であることを提示する。有用性が、免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記処理部101は、ステップS103において、前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す（NO）の場合に、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも低い（NO）と決定した場合に、ステップS105において、患者に対して前記免疫療法剤が無効であることを提示する。

[0118] 処理部101は、上記ステップS104、又はステップS105で得られた結果を記録媒体113に記録してもよい。

[0119] 上記1. 及び2. における用語の説明、各工程の説明は、ここに援用される。

[0120] 5. 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の提示装置を制御するためのコンピュータプログラム及び前記コンピュータプログラムを記憶した記憶媒体

本明細書に開示されるある実施形態は、コンピュータに実行させたときに、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示するためのコンピュータプログラムに関する。具体的には、上記4. で述べた悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する提示装置の動作を制御するコンピュータプログラムである。

- [0121] 本実施形態のコンピュータプログラムが実行する各ステップは、上記４．で述べたステップＳ１１～１４又はステップＳ１０１～１０５である。上記１．及び２．における用語の説明、各工程の説明は、ここに援用される。
- [0122] さらに、本明細書に開示されるある実施形態は、前記コンピュータプログラムを記憶した、記憶媒体に関する。すなわち、前記コンピュータプログラムは、ハードディスク、フラッシュメモリ等の半導体メモリ素子、光ディスク等の記憶媒体に記憶される。前記記憶媒体へのプログラムの記憶形式は、前記提示装置が前記プログラムを読み取り可能である限り制限されない。前記記憶媒体への記憶は、不揮発性であることが好ましい。
- [0123] ６．悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の決定補助装置
- 本明細書に開示されるある実施形態は、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を決定することを補助する装置２０（以下、補助装置２０ともいう）に関する。
- [0124] 補助装置２０のハードウェアの構成例は、図２及び図３に示す提示装置１０と同様である。補助装置２０は、マイクロプレートリーダ等により構成される測定部３０と接続されていてもよい。すなわち、補助装置２０は、測定部３０と直接又はネットワーク等を介して接続された、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性の決定を補助する補助システム５０を構成することもある。
- [0125] 補助装置２０のハードウェアの構成の説明は、提示装置１０の説明をここに援用する。ここでは、提示装置１０の説明における処理部（ＣＰＵ）１０１、主記憶部１０２、ＲＯＭ１０３、補助記憶部１０４、通信インタフェース（Ｉ／Ｆ）１０５、入力インタフェース（Ｉ／Ｆ）１０６、出力インタフェース（Ｉ／Ｆ）１０７、メディアインターフェース（Ｉ／Ｆ）１０８、バス１０９、入力部１１１、出力部１１２、及び記憶媒体１１３は、補助装置２０において、それぞれ、処理部（ＣＰＵ）２０１、主記憶部２０２、ＲＯＭ２０３、補助記憶部２０４、通信インタフェース（Ｉ／Ｆ）２０５、入力インタフェース（Ｉ／Ｆ）２０６、出力インタフェース（Ｉ／Ｆ）２０７、

メディアインターフェース（I/F）208、バス209、入力部211、出力部212及び記憶媒体213と読み替えるものとする。

[0126] 次に、図6を用いて、補助装置20の動作の概略について説明する。補助装置20の動作は、後述する悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示するためのコンピュータプログラムの指令にしたがって、補助装置20の処理部201が制御する。

[0127] 初めに、処理部201は、検査者によって入力部211から入力される、若しくは処理部201が検査者の制御によって、上記1.で述べた方法にしたがって患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価し、評価結果を取得する（ステップS21）。

[0128] 次に処理部201は、上記1.で述べた方法にしたがって前記評価結果が、腫瘍細胞が傷害されていることを示しているか否かを決定する（ステップ22）。

[0129] ステップ22において、評価結果が、腫瘍細胞が傷害されていることを示している場合（YES）には、処理部201は、ステップS23に進み、免疫療法剤が有用であると決定し、その結果を出力部212から出力することにより提示する。ステップS22において、評価結果が、腫瘍細胞が傷害されていないことを示している場合（NO）には、処理部201は、ステップS24に進み、免疫療法剤が有用でないと決定し、その結果を出力部212から出力することにより提示する。

[0130] 有用性が、免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記処理部201は、ステップS22において、前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す（YES）場合に、ステップS23において、患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないと決定する。有用性が、免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記

処理部201は、ステップS22において、前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す（NO）の場合に、ステップS24において、患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすと決定する。

[0131] 有用性が、免疫療法剤の効果の有無であるとき、前記処理部201は、ステップS22において、前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す（YES）場合に、ステップS23において、患者に対して前記免疫療法剤が有効であると決定する。有用性が、免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記処理部201は、ステップS12において、前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す（NO）の場合に、ステップS24において、患者に対して前記免疫療法剤が無効であると決定する。

[0132] 処理部201は、上記ステップS23、又はステップS24で得られた結果を記録媒体213に記録してもよい。

[0133] 次に、図5を用いて、補助装置20の動作の別形態について説明する。初めに、処理部201は、検査者によって入力部211から入力される、上記1.で述べた方法により取得された腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得する（ステップS201）。又は、測定部30から腫瘍細胞傷害活性を算出するための情報を取得する。前記情報は、PBMCと接触した腫瘍細胞の生細胞数又は死細胞数を反映する情報であり、例えば生細胞染色試薬又は死細胞測定試薬の吸光度等である。あるいは、前記情報は、インターフェロン γ の測定した際の吸光度等である。

[0134] 次に、処理部201は、ステップS201で取得した腫瘍細胞傷害活性を反映する値を主記憶部202又は補助記憶部204に記憶されている基準値と比較する（ステップS202）。

[0135] 続いて処理部201は、ステップS202の比較結果からステップS201で取得した腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも否かを決定する（ステップS203）。

[0136] 処理部201は、ステップS203において腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも高い（YES）と決定した場合には、ステップS204に進み、免疫療法剤が有用であると決定し、その結果を出力部212から出力することにより提示する。ステップS203において、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも低い（NO）と決定した場合には、処理部201は、ステップS205に進み、免疫療法剤が有用でないと決定し、その結果を出力部212から出力することにより提示する。

[0137] 有用性が、免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記処理部201は、ステップS203において、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも高い（YES）と決定した場合に、ステップS204において、患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示する。有用性が、免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記処理部201は、ステップS203において、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも低い（NO）と決定した場合に、ステップS205において、患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示する。

[0138] 有用性が、免疫療法剤の効果の有無であるとき、前記処理部201は、ステップS203において、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも高い（YES）と決定した場合に、ステップS204において、患者に対して前記免疫療法剤が有効であることを提示する。有用性が、免疫療法剤に起因する治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であるとき、前記処理部201は、ステップS203において、前記評価結果が、前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す（NO）の場合に、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が基準値よりも低い（NO）と決定した場合に、ステップS205において、患者に対して前記免疫療法剤が無効であることを提示する。

[0139] 処理部201は、上記ステップS204、又はステップS205で得られた結果を記録媒体113に記録してもよい。

[0140] 上記1. 及び2. における用語の説明、各工程の説明は、ここに援用される。

[0141] 7. 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤の有用性の決定を補助するためのコンピュータプログラム及び前記コンピュータプログラムを記憶した記憶媒体

本明細書に開示されるある実施形態は、コンピュータに実行させたときに、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性の決定を補助するためのコンピュータプログラムに関する。具体的には、上記4. で述べた悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性の決定を補助する補助装置20の動作を制御するコンピュータプログラムである。

[0142] 本実施形態のコンピュータプログラムが実行する各ステップは、上記4. で述べたステップS21～24又はステップS201～205である。上記1. 及び2. における用語の説明、各工程の説明は、ここに援用される。

[0143] さらに、本明細書に開示されるある実施形態は、前記コンピュータプログラムを記憶した、記憶媒体に関する。すなわち、前記コンピュータプログラムは、ハードディスク、フラッシュメモリ等の半導体メモリ素子、光ディスク等の記憶媒体に記憶される。前記記憶媒体へのプログラムの記憶形式は、前記提示装置が前記プログラムを読み取り可能である限り制限されない。前記記憶媒体への記憶は、不揮発性であることが好ましい。

[0144] 8. 免疫療法剤

本明細書に開示されるある実施形態は、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤に関する。好ましくは、上記2. （上記1. に記載した事項を援用する部分を含む）において述べた提示方法により、免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して投与される免疫療法剤に関する。言い換えると、免疫療法剤は、前記提示方法において免疫療法剤が有用で

あることが提示された悪性腫瘍を有する患者を治療するために使用されるものである。

[0145] 本開示における免疫療法剤は、悪性腫瘍の免疫療法に使用できる限り制限されない。免疫療法剤には、公知の薬剤、新規の薬剤、及びドラッグリポジショニングにより効能が再発見された薬剤等が含まれ得る。また、免疫療法剤は、所定の機関により医薬品として承認された薬剤であっても、未承認の薬剤であってもよい。好ましくは、本開示における免疫療法剤には、免疫チェックポイント阻害剤として投与される、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体、抗TIM3抗体、抗LAG3抗体等；養子免疫療法のために投与されるキメラ抗原受容体-T細胞等；サイトカイン療法のために投与されるインターロイキン2等；腫瘍ワクチン療法のために投与される腫瘍抗原由来の蛋白質又はペプチド（例えばWT-1、NY-ESO-1）等；二重特異性T細胞エンゲージャー（BiTE（登録商標）ともいう）、若しくは二重特性抗体（バイスペシフィック抗体）等を有効成分とする薬剤が含まれる。免疫療法剤としては、免疫チェックポイント阻害剤であることが好ましい。言い換えると、前記有効成分は、免疫療法剤を製造するために使用することができる。抗PD1抗体を含む免疫療法剤としては、ニボルマブ、ペムブロリズマブ等を挙げることができる。抗PD-L1抗体を含む免疫療法剤としては、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ等を挙げることができる。抗CTLA-4抗体を含む免疫療法剤としては、イピリムマブ等を挙げることができる。

[0146] エンゲージャーとしては、上記1.に記載のエンゲージャーを例示することができる。好ましくは、二重特異性T細胞エンゲージャーとしては、CD19とCD3を標的とするエンゲージャー（例えば、ブリナツモマブ等）、EphA2とCD3を標的とするエンゲージャーを挙げることができる。また二重特異性抗体としては、EpCAMとCD3を標的とする抗体を挙げることができる。

[0147] 免疫療法剤の有効成分が抗体である場合、前記抗体は、少なくとも前記抗

原結合領域を含んでいけばよい。前記抗原結合領域は、標的とする抗原と結合する限り制限されない。前記抗原結合領域は、例えば、前記抗原に結合する免疫グロブリンの相補鎖決定領域1（CDR1）、相補鎖決定領域2（CDR2）及び相補鎖決定領域3（CDR3）よりなる群からなる少なくとも一つのCDRを含む。前記抗原結合領域は、好ましくは、CDR1、CDR2及びCDR3よりなる群からなる少なくとも二つのCDRを含み、より好ましくは、CDR1、CDR2及びCDR3を含む。前記CDRは、免疫グロブリンの重鎖由来であっても、免疫グロブリンの軽鎖由来であってもよい。さらに好ましくは、前記抗原結合領域において、各CDRは、それぞれに対応するフレームワーク領域に隣接していてもよい。また、前記抗原結合領域は、免疫グロブリンの可変領域（V領域）、s c - F v、v - N A R、免疫グロブリンのF a b領域又はF a b'領域等であってもよい。また、前記抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体等であってもよい。前記抗体には、単ドメイン抗体、一本鎖抗体、マキシボディ、ミニボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ等を含む。

[0148] 免疫療法剤が、公知の薬剤である場合、又はドラッグリポジショニングにより効能が再発見された薬剤等であり、用法及び用量が決定されている場合には、前記免疫療法剤の用法及び用量は既知の用法及び用量にしたがって決定することができる。

[0149] 免疫療法剤は、有効成分100質量%からなるものであってもよいが、通常は有効成分に加えて、薬学的に許容される担体又は添加剤を含有するものである。後者の場合の免疫療法剤の有効成分の割合は、制限はされないものの、通常5～95質量%の範囲から選択することができる。好ましくは30～80質量%の割合である。

[0150] 免疫療法剤の投与形態としては、経口投与；並びに静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、経粘膜投与、経皮投与、及び直腸内投与等の非経口投与を挙げることができる。好ましくは経口投与及び静脈内投与であり、より好ましくは静脈内投与である。免疫療法剤は、かかる投与方法に応じて、種々の形

態の製剤（剤型）に調製することができる。

[0151] 以下に、各剤型について説明するが、本明細書において用いられる剤型はこれらに限定されるものではなく、医薬製剤分野において通常用いられる各種剤型を用いることができる。

[0152] 経口投与を行う場合の剤型として、散剤、顆粒剤、カプセル剤、丸剤、錠剤、エリキシル剤、懸濁剤、乳剤及びシロップ剤を挙げることができ、これらの中から適宜選択することができる。また、それらの製剤について徐放化、安定化、易崩壊化、難崩壊化、腸溶性化、易吸収化等の修飾を施すことができる。

[0153] また、静脈内投与、筋肉内投与、又は皮下投与を行う場合の剤型として、注射剤又は点滴剤（用時調製の乾燥品を含む）等があり、適宜選択することができる。

[0154] 経粘膜投与、経皮投与、又は直腸内投与を行う場合の剤型として、咀嚼剤、舌下剤、パッカル剤、トローチ剤、軟膏剤、貼布剤、液剤等があり、適用場所に応じて適宜選択することができる。また、それらの製剤について徐放化、安定化、易崩壊化、難崩壊化、易吸収化等の修飾を施すことができる。

[0155] 免疫療法剤にはその剤形（経口投与または各種の非経口投与の剤形）に応じて、薬学的に許容される担体及び添加剤を配合することができる。薬学的に許容される担体及び添加剤としては、溶剤、賦形剤、コーティング剤、基剤、結合剤、滑沢剤、崩壊剤、溶解補助剤、懸濁化剤、粘稠剤、乳化剤、安定剤、緩衝剤、等張化剤、無痛化剤、保存剤、矯味剤、芳香剤、着色剤が挙げられる。以下に、医薬上許容される担体及び添加剤の具体例を列挙するが、これらに制限されるものではない。

[0156] 溶剤としては、精製水、滅菌精製水、注射用水、生理食塩液、ラッカセイ油、エタノール、グリセリン等を挙げることができる。賦形剤としては、デンプン類（例えばバレイショデンプン、コムギデンプン、トウモロコシデンプン）、乳糖、ブドウ糖、白糖、結晶セルロース、硫酸カルシウム、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、塩化ナトリウム、タルク、酸化チタン、ト

レハロース、キシリトール等を挙げることができる。

[0157] 結合剤としては、デンプン及びその誘導体、セルロース及びその誘導体（例えばメチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース）、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、トラガント、アラビアゴム等の天然高分子化合物、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール等の合成高分子化合物、デキストリン、ヒドロキシプロピルスターチ等を挙げることができる。

[0158] 滑沢剤としては、軽質無水ケイ酸、ステアリン酸及びその塩類（たとえばステアリン酸マグネシウム）、タルク、ワックス類、コムギデンプン、マクロゴール、水素添加植物油、ショ糖脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール、シリコン油等を挙げることができる。

[0159] 崩壊剤としては、デンプン及びその誘導体、寒天、ゼラチン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、セルロース及びその誘導体、ヒドロキシプロピルスターチ、カルボキシメチルセルロース及びその塩類並びにその架橋体、低置換型ヒドロキシプロピルセルロース等を挙げることができる。

[0160] 溶解補助剤としては、シクロデキストリン、エタノール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール等を挙げることができる。懸濁化剤としては、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリビニルピロリドン、アラビアゴム、トラガント、アルギン酸ナトリウム、モノステアリン酸アルミニウム、クエン酸、各種界面活性剤等を挙げることができる。

[0161] 粘稠剤としては、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリビニルピロリドン、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルアルコール、トラガント、アラビアゴム、アルギン酸ナトリウム等を挙げることができる。

[0162] 乳化剤は、アラビアゴム、コレステロール、トラガント、メチルセルロース、レシチン、各種界面活性剤（例えば、ステアリン酸ポリオキシル40、セスキオレイン酸ソルビタン、ポリソルベート80、ラウリル硫酸ナトリウム）等を挙げることができる。

- [0163] 安定剤としては、トコフェロール、キレート剤（たとえばEDTA、チオグリコール酸）、不活性ガス（たとえば窒素、二酸化炭素）、還元性物質（例えば亜硫酸水素ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、アスコルビン酸、ロングリット）等を挙げることができる。
- [0164] 緩衝剤としては、リン酸水素ナトリウム、酢酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ホウ酸等を挙げることができる。
- [0165] 等張化剤としては、塩化ナトリウム、ブドウ糖等を挙げることができる。
無痛化剤としては、局所麻酔剤（塩酸プロカイン、リドカイン）、ベンジルアルコール、ブドウ糖、ソルビトール、アミノ酸等を挙げることができる。
- [0166] 矯味剤としては、白糖、サッカリン、カンゾウエキス、ソルビトール、キシリトール、グリセリン等を挙げることができる。芳香剤としては、トウヒチンキ、ローズ油等を挙げることができる。着色剤としては、水溶性食用色素、レーキ色素等を挙げることができる。
- [0167] 保存剤としては、安息香酸及びその塩類、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、逆性石けん、ベンジルアルコール、フェノール、チロメサル、デヒドロ酢酸、ホウ酸、等を挙げることができる。
- [0168] コーティング剤としては、白糖、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）、セラック、ゼラチン、グリセリン、ソルビトール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、エチルセルロース、ポリビニルピロリドン（PVP）、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート（HPMCP）、セルロースアセテートフタレート（CAP）、メチルメタアクリレート-メタアクリル酸共重合体及び上記記載した高分子等を挙げることができる。
- [0169] 基剤としては、ワセリン、流動パラフィン、カルナウバロウ、牛脂、硬化油、パラフィン、ミツロウ、植物油、マクロゴール、マクロゴール脂肪酸エステル、ステアリン酸、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ベントナイト、カカオ脂、ウイテップゾール、ゼラチン、ステアリルアルコール、加水ラノリン、セタノール、軽質流動パラフィン、親水ワセリン、単軟膏、白

色軟膏、親水軟膏、マクロゴール軟膏、ハードファット、水中油型乳剤性基剤、油中水型乳剤性基剤等を挙げることができる。

[0170] なお、上記の各剤型について、公知のドラッグデリバリーシステム（DDS）の技術を採用することができる。本明細書にいうDDS製剤とは、徐放化製剤、局所適用製剤（トローチ、バッカル錠、舌下錠等）、薬物放出制御製剤、腸溶性製剤及び胃溶性製剤等、投与経路、バイオアベイラビリティ、副作用等を勘案した上で、最適の製剤形態にした製剤である。

[0171] また、免疫療法剤が、新規の薬剤のように用法及び用量が決定されていない場合、その投与量は、治療対象とするがんの種類や場所、がんのステージ（進行度）、患者の病態、年齢、性別、体重、併用する抗がん剤の種類などに応じて、変動し得、これらの要因に応じて適宜設定することができる。免疫療法剤をヒトに経口投与する場合、その投与量は、有効成分の量に換算して0.03～300mg/kg/日の範囲から適宜設定することができる。免疫療法剤が静脈内投与剤である場合、の有効血中濃度が0.1～3000μg/mL、より好ましくは1～1000μg/mLの範囲となるような投与量で、1日当たりを0.5～50mg/kgとなるように投与することができる。

[0172] 本実施形態において、免疫療法剤は、好ましくは、前記提示方法により、免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者（以下、「投与対象患者」ともいう）に対して、一次治療のために投与される。ここで一次治療とは、悪性腫瘍を有する患者に初めて投与される化学療法のことである。投与方法は静脈内投与で2～4週間間隔で投与を行う。

[0173] 本実施形態において、免疫療法剤は、好ましくは対象患者に対して、外科的な手術の前の術前化学療法のために投与される。ここで、手術前とは、好ましくは、手術施行日の90日前～1日前、より好ましくは60日前～7日前をいう。投与方法は、静脈内投与で2～4週間間隔で投与を行う。

[0174] 本実施形態において、免疫療法剤は、好ましくは対象患者に対して、外科的な手術の後の術後補助化学療法のために投与される。ここで、手術後とは

、好ましくは、手術施行日から1日～180日間、より好ましくは7日間～90日間をいう。投与方法は、静脈内投与で2～4週間間隔で投与を行う。

[0175] 本実施形態において、免疫療法剤は、好ましくは放射線治療の施行前の対象患者に投与される。ここで、投与方法は、好ましくは、放射線治療の施行日から42日～1日前、より好ましくは30日間～7日前をいう。投与方法は、静脈内投与で2～4週間間隔で投与を行う。

[0176] 本実施形態において、免疫療法剤は、好ましくは放射線治療を受けた対象患者に投与される。ここで、投与方法は、好ましくは、放射線治療の施行日から1日～180日間、より好ましくは3日間～90日間をいう。投与方法は、静脈内投与で2～4週間間隔で投与を行う。

[0177] 前記放射線治療は、患部に、好ましくはリニア・アクセラレータを用いてエックス線照射若しくは電子線照射を行うことによって実施することができる。ここでエックス線照射の条件は、腫瘍の進行度や大きさなどによって異なるが、通常1回線量1.5～3 Gy、好ましくは2 Gy程度の照射を、週に2～5回、好ましくは週4～5回程度、1～5週間にわたって行う方法を挙げることができる。総線量としては20～70 Gy、好ましくは40～70 Gy程度、より好ましくは50～60 Gy程度を挙げることができる。また電子線照射の条件は、やはり腫瘍の進行度や大きさなどによって異なるが、通常1回線量2～5 Gy、好ましくは4 Gy程度の照射を、週1～5回、好ましくは週2～3回程度、1～5週間にわたって行う方法を挙げることができる。総線量としては30～70 Gy、好ましくは40～60 Gy程度を挙げることができる。

[0178] 本実施形態において、免疫療法剤は、好ましくは化学放射線治療の施行前の対象患者に投与される。ここで、投与方法は、好ましくは、放射線治療の施行日から42日～1日前、より好ましくは30日間～3日前をいう。投与方法は、静脈内投与で2～4週間間隔で投与を行う。

[0179] 本実施形態において、免疫療法剤は、好ましくは化学放射線治療を受けた対象患者に投与される。ここで、投与方法は、好ましくは、放射線治療の施

行日から1日～12か月間、より好ましくは3日間～240日間をいう。投与方法は、静脈内投与で2～4週間間隔で投与を行う。

[0180] 化学放射線療法とは、放射線治療と抗がん剤の併用療法である。放射線治療は1回線量2 Gy、週5回、6週間、総線量としては60 Gy、抗がん剤治療は白金系抗がん剤（例えば、シスプラチンまたはカルボプラチン）を含む2種類の抗がん剤治療を少なくとも2サイクル行う。

[0181] ここで、免疫療法剤によっては、国ごとに適用例が限定されている場合がある。例えば本願出願の時点での適用例を以下に示すが、本明細書に開示される実施形態は以下の形態に限定して解釈される必要はない：

イピリムマブ：悪性黒色腫、好ましくは根治切除不能な悪性黒色腫；及び腎細胞癌、根治切除不能又は転移性の腎細胞癌、

ニボルマブ：悪性黒色腫；非小細胞肺癌、好ましくは切除不能な進行又は再発の非小細胞肺癌；腎細胞癌、好ましくは根治切除不能又は転移性の腎細胞癌；ホジキンリンパ腫、好ましくは再発又は難治性の古典的ホジキンリンパ腫；頭頸部癌、好ましくは再発又は遠隔転移を有する頭頸部癌；胃癌、好ましくはがん化学療法後に増悪した治癒切除不能な進行又は再発の胃癌；悪性胸膜中皮腫、好ましくはがん化学療法後に増悪した切除不能な進行又は再発の悪性胸膜中皮腫、

ペムブロリズマブ：悪性黒色腫；非小細胞肺癌、好ましくは切除不能な進行又は再発の非小細胞肺癌；ホジキンリンパ腫、好ましくは再発又は難治性の古典的ホジキンリンパ腫；尿路上皮癌、好ましくはがん化学療法後に増悪した根治切除不能な尿路上皮癌、

アテゾリズマブ：非小細胞肺癌、好ましくは切除不能な進行又は再発の非小細胞肺癌、

デュルバルマブ：非小細胞肺癌、好ましくは切除不能な局所進行の非小細胞肺癌における根治的放射線療法後の維持療法、

アベルマブ：メルケル細胞癌、好ましくは根治切除不能なメルケル細胞癌。

[0182] 本実施形態において、免疫療法剤は、異なる2種以上を組み合わせる投与することができる。好ましくは、免疫チェックポイント阻害剤と、他の1種以上の免疫チェックポイント阻害剤以外の免疫療法剤とを組み合わせる投与することができる。また、より好ましくは、免疫チェックポイント阻害剤と、免疫チェックポイント阻害剤以外の1種以上の免疫療法剤を組み合わせる投与することができる。免疫チェックポイント阻害剤と、他の1種以上の免疫チェックポイント阻害剤とを組み合わせる例として、好ましくは、抗PD1抗体を含む免疫チェックポイント阻害剤と、他の抗体（例えば抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体、抗Tim3抗体、又は抗LAG3抗体を含む免疫チェックポイント阻害剤）との組み合わせることができる。より好ましくは、抗PD1抗体を含む免疫チェックポイント阻害剤と、抗CTLA-4抗体とを組み合わせることができる。1種以上とは、好ましくは2種以上、より好ましくは3種以上である。

[0183] 本実施形態において「組み合わせ」又は「組み合わせる」とは、

(i) 最初から免疫チェックポイント阻害剤の有効成分と免疫チェックポイント阻害剤以外の1種以上の免疫療法剤（又は他の1種以上の免疫チェックポイント阻害剤）の有効成分の両方が含まれている状態（配合剤）である場合、

(ii) 免疫チェックポイント阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤以外の1種以上の免疫療法剤（又は他の1種以上の免疫チェックポイント阻害剤）とがそれぞれ別個の包装形態で存在し、組み合わせ物（キット）として販売される場合、又は

(iii) 免疫チェックポイント阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤以外の1種以上の免疫療法剤（又は他の1種以上の免疫チェックポイント阻害剤）とがそれぞれ別個の包装形態で、また別個の流通経路で市場に存在し、使用時に組み合わせる使用される場合を包含する意味で用いられる。

[0184] また「免疫チェックポイント阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤以外の1種以上の免疫療法剤（又は他の1種以上の免疫チェックポイント阻害剤）」

とを組み合わせる」との表現には、「免疫チェックポイント阻害剤の有効成分と免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）の有効成分とを含む」、「実質的に免疫チェックポイント阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）とからなる」、「免疫チェックポイント阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）とからなる」のすべての意味が含まれるものとする。

[0185] 例えば、免疫チェックポイント阻害剤と、免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）との投与のタイミングは、免疫チェックポイント阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）とが別々に投与される形態を有するものとして、それぞれ別個の包装形態からなる免疫チェックポイント阻害剤と、免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）を、同時又は時間をずらして患者に投与する形態のものを挙げることができる。

[0186] 同時に投与する形態としては、経口投与形態を有する免疫チェックポイント阻害剤と、経口投与形態を有する免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）とを同時に経口投与する形態；非経口投与形態を有する免疫チェックポイント阻害剤と、非経口投与形態を有する免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）とを同時に非経口投与する形態を挙げることができる。

[0187] 時間をずらして投与する形態としては、経口投与形態を有する免疫チェックポイント阻害剤と、免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）をそれぞれ時間をずらして経口投与する形態；非経口投与形態を有する免疫チェックポイント

阻害剤と、非経口投与形態を有する免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）をそれぞれ時間をずらして非経口投与する形態を挙げることができる。

[0188] 一方が経口投与形態で、他方が非経口投与形態である場合に、両者を同時にまた並行して投与する形態を挙げることができる。両者を時間をずらして投与する形態としては、経口投与形態を有する免疫チェックポイント阻害剤と、非経口投与形態を有する免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）をそれぞれ時間をずらして投与する形態；非経口投与形態を有する免疫チェックポイント阻害剤と、経口投与形態を有する免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）をそれぞれ時間をずらして投与する形態を挙げることができる。

[0189] 時間をずらして投与する場合、免疫チェックポイント阻害剤に先立って免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）を投与しても、また免疫チェックポイント阻害剤投与後に免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）を投与しても、いずれの順番でもよい。

[0190] 具体的には、免疫チェックポイント阻害剤と、他の免疫療法剤とを組み合わせた治療剤が経口投与剤である場合、免疫チェックポイント阻害剤の投与量は、 $0.003 \sim 3000 \text{ mg/kg/日}$ の範囲から適宜設定することができる。また組み合わせる他の免疫療法剤の投与量も $0.1 \sim 5000 \text{ mg/kg/日}$ 、 $0.1 \sim 5000 \text{ mg/kg/回}$ 、 $0.1 \sim 5000 \text{ mg/m}^2/\text{回}$ 又は $10 \text{ 万} \sim 500 \text{ 万 JRU/回}$ から適宜設定することができる。また、投薬回数は１～８日間投与し、５日～９週間の休薬期間を設けることができる。

[0191] 免疫チェックポイント阻害剤と、免疫チェックポイント阻害剤以外の１種以上の免疫療法剤（又は他の１種以上の免疫チェックポイント阻害剤）を組

み合わせた治療剤が静脈内投与剤である場合、免疫チェックポイント阻害剤の有効成分の有効血中濃度が $0.1 \sim 3000 \mu\text{g/mL}$ 、より好ましくは $1 \sim 1000 \mu\text{g/mL}$ の範囲となるような投与量で、1日当たりを $0.5 \sim 50 \text{mg/kg}$ となるように投与することができる。また免疫チェックポイント阻害剤以外の1種以上の免疫療法剤（又は他の1種以上の免疫チェックポイント阻害剤）の投与量も通常投与する量の $10 \sim 100\%$ 、好ましくは $10 \sim 95\%$ の範囲において適宜設定することができる。

[0192] 本実施形態において、1種以上の免疫療法剤（免疫チェックポイント阻害剤と、免疫チェックポイント阻害剤以外の1種以上の免疫療法剤と投与する場合、又は免疫チェックポイント阻害剤と、他の1種以上の免疫チェックポイント阻害剤を投与する場合を含む）は、免疫療法剤以外の免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤（以下、単に「他の抗がん剤」ともいう）と組み合わせて投与されてもよい。本実施形態において、好ましくは、1種以上の免疫療法剤と免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤とを組み合わせた治療剤である。1種以上とは、好ましくは2種以上、より好ましくは3種以上である。

[0193] 本実施形態において「組み合わせる」又は「組み合わせる」とは、

（i）最初から免疫療法剤の有効成分と免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤の有効成分の両方が含まれている状態（配合剤）である場合、

（i i）免疫療法剤と免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤とがそれぞれ別個の包装形態で存在し、組み合わせ物（キット）として販売される場合、又は

（i i i）免疫療法剤と免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤とがそれぞれ別個の包装形態で、また別個の流通経路で市場に存在し、使用時に組み合わせて使用される場合を包含する意味で用いられる。

[0194] また「免疫療法剤と免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤とを組み合わせる」との表現には、「免疫療法剤の有効成分と免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤の有効成分とを含む」、「実質的に免疫療法剤と免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤とからなる」、「免疫療法剤と免疫療法剤以外の1種以

上の抗がん剤とからなる」のすべての意味が含まれるものとする。

[0195] 例えば、免疫療法剤と、免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤との投与のタイミングは、免疫療法剤と免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤とが別々に投与される形態を有するものとして、それぞれ別個の包装形態から免疫療法剤と、免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤を、同時又は時間をずらして患者に投与する形態のものを挙げることができる。

[0196] 同時に投与する形態としては、経口投与形態を有する免疫療法剤と、経口投与形態を有する免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤とを同時に経口投与する形態；非経口投与形態を有する免疫療法剤と、非経口形態を有する免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤とを同時に非経口投与する形態を挙げることもできる。

[0197] 時間をずらして投与する形態としては、経口投与形態を有する免疫療法剤と、経口投与形態を有する免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤をそれぞれ時間をずらして経口投与する形態；非経口投与形態を有する免疫療法剤と、非経口投与形態を有する免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤をそれぞれ時間をずらして非経口投与する形態を挙げることもできる。

[0198] 一方が経口投与形態で、他方が非経口投与形態である場合に、両者を同時にまた並行して投与する形態を挙げることもできる。両者を時間をずらして投与する形態としては、経口投与形態を有する免疫療法剤と、非経口投与する免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤をそれぞれ時間をずらしてする形態；非経口投与形態を有する免疫療法剤と、経口投与する免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤をそれぞれ時間をずらして投与する形態が含まれる。

[0199] 時間をずらして投与する場合、免疫療法剤に先立って免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤を投与しても、また免疫療法剤投与後に免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤を投与しても、いずれの順番でもよい。

[0200] 具体的には、免疫療法剤と、免疫療法剤以外の１種以上の抗がん剤とを組み合わせた治療剤が経口投与剤である場合、免疫療法剤の投与量は、 $0.003 \sim 3000 \text{ mg/kg/日}$ の範囲から適宜設定することができる。また

組み合わせる1種以上の抗がん剤の投与量も0.1～5000mg/kg/日、0.1～5000mg/kg/回、0.1～5000mg/m²/回又は10万～500万JRU/回から適宜設定することができる。また、投薬回数は1～8日間投与し、5日～9週間の休薬期間を設けることができる。

[0201] 免疫療法剤と、免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤とを組み合わせた治療剤が静脈内投与剤である場合、免疫療法剤の有効成分の有効血中濃度が0.1～3000μg/mL、より好ましくは1～1000μg/mLの範囲となるような投与量で、1日当たりを0.5～50mg/kgとなるように投与することができる。また1種以上の抗がん剤の投与量も通常投与する量の10～100%、好ましくは10～95%の範囲において適宜設定することができる。

[0202] 前記免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤は、腫瘍を治療することを目的とする薬剤である限り制限されない。例えば、前記他の抗がん剤として、アルキル化薬、代謝拮抗薬、抗腫瘍性抗生物質、微小血管阻害薬、ホルモン又はホルモン類似薬、白金製剤、トポイソメラーゼ阻害薬、サイトカイン、抗体薬、分子標的薬、ステロイド薬、非特異的免疫賦活薬、及びその他の抗がん剤の中から、対象とするがんに応じて適宜選択することができる。

[0203] アルキル化薬としては、例えば、シクロホスファミド、イホスファミド、ブスルファン、メルファラン、ベンダムスチン塩酸塩、ニムスチン塩酸塩、ラニムスチン、カルムスチン、ストレプトゾシン、ダガルバジン、プロカルバジン塩酸塩、テモゾロミド等；代謝拮抗薬としては、メトトレキサート、ペメトレキセドナトリウム、プラトトレキサート、フルオロウラシル、ドキシフルリジン、カペシタビン、テガフル、シタラビン、シタラビンオクホスファート水和物、エノシタビン、ゲムシタビン塩酸塩、メルカプトプリン水和物、フルダラビンリン酸エステル、ネララビン、ペントスタチン、クラドリビン、クロファラビン、フォロデシン塩酸塩、レボホリナートカルシウム、ホリナートカルシウム、ヒドロキシカルバミド、アナグレリド塩酸塩、クリサントスパーゼ、L-アスパラギナーゼ、アザシチジン、トリフルリジ

ン・チピラシル塩酸塩、ペメトレキセド等；抗腫瘍性抗生物質としては、マイトマイシンC、アクチノマイシンD、ブレオマイシン、ペプロマイシン硫酸塩、ジノスタチンスチラマー等；微小血管障害薬としては、ビンクリスチン硫酸塩、ビンブラスチン硫酸塩、ビンデシン硫酸塩、ビノレルビン酒石酸塩、パクリタキセル、ドセタキセル水和物、カバジタキセル、エリブリンメシル酸塩等；ホルモン又はホルモン類似薬（ホルモン剤）としては、アナストロゾール、エキセメスタン、レトロゾール、タモキシフェンクエン酸塩、トレミフェンクエン酸塩、フルベストラント、フルタミド、ビカルタミド、エンザルタミド、クロルマジノン酢酸エステル、アビラテロン酢酸エステル、メドロキシプロゲステロン酢酸エステル、エストラムスチンリン酸エステルナトリウム水和物、ゴセリリン酢酸塩、リュープロレリン酢酸塩、デガレリクス酢酸塩等；白金製剤としては、シスプラチン、ミリプラチン水和物、カルボプラチン、ネダプラチン、オキサリプラチン等；トポイソメラーゼ阻害薬としては、イリノテカン塩酸塩水和物、及びノギテカン塩酸塩等のトポイソメラーゼⅠ阻害薬、並びにドキソルビシン塩酸塩、ダウノルビシン塩酸塩、ピラルビシン、エピルビシン塩酸塩、イダルビシン塩酸塩、アクリルビシン塩酸塩、アムルビシン塩酸塩、ミトキサントロン塩酸塩、エトポシド、及びソブゾキサン等のトポイソメラーゼⅡ阻害薬；サイトカインとしては、インターフェロンガンマー1α、テセロイキン、セルモロイキン等；抗体薬としては、トラスツズマブ、リツキシマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、ベバシズマブ、セツキシマブ等；分子標的薬としては、セツキシマブ、バニツムマブ、トランスツズマブ、ペルツズマブ、ペバシズマブ、ラムシルマブ、リツキシマブ、オフアツムマブ、ダラツムマブ、アレムツズマブ、エロツズマブ、トランスツズマブ エムタンシン、ゲムツズマブオジガマイシン、イノツズマブオゾガマイシン、イブリツモマブ、ゲフィチニブ、エルロチニブ塩酸塩、アフアチニブマレイン酸塩、オチメルチニブメシル酸塩、イマチニブメシル酸塩、ボルテゾミブ、ボスチニブ、ボナチニブ、アキシチニブ、ブレンツキシマブベドチン、ソラフェニブトシル酸塩、スニチニブリング

酸塩、バゾパニブ塩酸塩、レゴラフェニブ、バンデタニブ、レンバチニブメシル酸塩、カルフィルゾミブ、イキサゾミブクエン酸塩、クチゾチニブ、アレクチニブ塩酸塩、セリチニブ、イブルチニブ、モガムリズマブ、ルキシロチニブリン酸塩、ベムラフェニブ、ダムラフェニブメシル酸塩、トラメチニブ、エベロリムス、テムシロリムス、シロリムス、アフリベルセプトベータ、パルボシクリブ、トレチノイン、タミバロテン、ベキサロテン、ボリノスタット、バノビノスタット乳酸塩、ロミデプシン、サリドマイド、ニロチニブ塩酸塩水和物、ポマリミド、ダサチニブ水和物、ラパチニブトシル酸塩水和物、エベロリムス、レナリドミド水和物、テムシロリムス、ボリノスタット、トレチノイン、及びタミバロテン等；ステロイド薬としては、デキサメタゾン等；非特異的免疫賦活薬としては、OK-432、乾燥BCG、かわらたけ多糖体制剤、レンチナン、ウベニメクス等；その他、トラベクテジン、アセグラトン、ポルフィマーナトリウム、タラポルフィンナトリウム、エタノール、三酸化ヒ素、タルク、デクスラゾキサソ、塩化ストロンチウム、メトロニダゾール、塩化ラジウム²²³Ra、ヒトチロトビンアルファ等を例示することができる。

- [0204] 悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤と、免疫療法剤以外の1種以上の抗がん剤を組み合わせる場合、例えば、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD1抗体を含む）と、白金製剤と、代謝拮抗剤（例えば、ペメトレキセド）等を挙げることができる。このような組み合わせは、非扁平上皮癌の治療に好ましい。また、別の例として、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD1抗体を含む）と、白金製剤（例えば、カルボプラチン）と、微小血管阻害薬（例えば、パクリタキセル又はnab-パクリタキセル）との組み合わせを挙げることができる。このような組み合わせは、扁平上皮癌の治療に好ましい。また、別の例として、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-L1抗体を含む）と、白金製剤（例えば、カルボプラチン）と、微小血管阻害薬（例えば、パクリタキセル又はnab-パクリタキセル）と、分子標的治療薬（例えば、血管新生阻害薬である、ベバシズマブ等）と

の組み合わせを挙げることができる。このような組み合わせは、非扁平上皮癌の治療に好ましい。

[0205] 9. 腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価するための検査試薬及びキット

(1) エンゲージャーを含む検査試薬及びキット

本開示のある実施形態は、エンゲージャーを含む、腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価するための検査試薬 8 1 に関する。前記検査試薬 8 1 は、上記 2. に記載の提示方法及び上記 3. に記載の補助方法を実施するためにも使用することができる。図 8 A に検査試薬 8 1 の構成を示す。図 8 B にキット 8 の構成を示す。検査試薬 8 1 は、エンゲージャーを溶解するための緩衝液等を含んでいてもよい。また緩衝液は、エンゲージャーを安定化させるための還元剤（ β -メルカプトエタノール、ジチオスレイトール等）、界面活性剤、アルブミン等を含んでいてもよい。また、アジ化ナトリウム等の防腐剤を含んでいても良い。エンゲージャーは、乾燥状態であっても、前記緩衝液に溶解されていてもよい。

[0206] 本開示のある実施形態は、検査試薬 8 1 を含む、腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価するためのキット 8 に関する。前記キット 8 は、上記 2 に記載の提示方法を実施するためにも使用することができる。本実施形態のキット 8 には、少なくとも検査試薬 8 1 と、前記検査試薬を使って行う測定方法を記載したプロトコール、又は前記プロトコールにアクセスするための URL、Qコード等の情報を記載した添付書類 8 2 等を含む。

[0207] (2) 抗インターフェロノー γ 抗体を含む検査試薬及びキット

本開示のある実施形態は、抗インターフェロノー γ 抗体を含む、腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価するための検査試薬 9 1 a 及びキット 9 に関する。前記検査試薬 9 1 a は、上記 2. に記載の提示方法及び上記 3. に記載の補助方法を実施するためにも使用することができる。図 8 C にキット 9 の構成を示す。キット 9 は ELISA キットの例であるが、これに制限されない。キット 9 には、抗インターフェロノー γ 抗体を含む検査試薬 9 1 a と、マイクロプレート 9 2（検査試薬 9 1 a に含まれる抗インターフェロン抗

体とはエピトープが異なる抗体が固定されていてもよい）と、抗インターフェロニー γ 抗体を検出するための酵素標識抗体、又は酵素標識検出体（検査試薬 9 1 a に含まれる抗インターフェロン抗体にビオチンが標識されている場合には、酵素標識アビジン、又は酵素標識ストレプトアビジン）等を含む検出試薬 9 1 b と、キット 9 を使って行う測定方法を記載したプロトコール、又は前記プロトコールにアクセスするための URL、Q コード等の情報を記載した添付書類 9 3 等を含む。なお、図示しないが、キット 9 には、前記酵素と反応する基質が含まれていてもよい。

[0208] 検査試薬 9 1 a に含まれる抗インターフェロニー γ 抗体は、上記 1. に記載したものを使用することができる。検査試薬 9 1 a には、少なくとも抗インターフェロニー γ 抗体が 1 種以上含まれていればよい。抗インターフェロニー γ 抗体がポリクローナル抗体である場合には、1 種の抗原で免疫して得られたポリクローナル抗体であってもよく、また 2 種以上の抗原で並行して同一個体に免疫して得られたポリクローナル抗体であってもよい。さらに、2 種以上の抗原をそれぞれ別の動物に接種して得られたそれぞれのポリクローナル抗体を混合してもよい。抗インターフェロニー γ 抗体がモノクローナル抗体である場合には、1 種のハイブリドーマから産生されるモノクローナル抗体であってもよいが、2 種以上のハイブリドーマから産生されたモノクローナル抗体であって、それぞれのモノクローナル抗体が同一又は異なるエピトープを認識する複数のモノクローナル抗体が 2 種以上含まれていてもよい。また、ポリクローナル抗体とモノクローナル抗体を 1 種以上ずつ混合して含んでもよい。

[0209] 当該検査試薬 9 1 a に含まれる抗インターフェロニー γ 抗体の形態は、特に制限されず、抗インターフェロニー γ 抗体を含む抗血清若しくは腹水等の乾燥状態又は液体状態であってもよい。また、抗インターフェロニー γ 抗体の形態は、精製抗インターフェロニー γ 抗体、抗インターフェロニー γ 抗体を含む免疫グロブリン画分若しくは抗インターフェロニー γ 抗体を含む Ig 画分の乾燥状態又は水溶液であってもよい。

[0210] 前記形態が、抗インターフェロナー γ 抗体を含む抗血清若しくは腹水の乾燥状態又は液体状態である場合、さらに β -メルカプトエタノール、DTT等の安定化剤；アルブミン等の保護剤；ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノラウレート、ポリオキシエチレン（10）オクチルフェニルエーテル等の界面活性剤、アジ化ナトリウム等の防腐剤等の少なくとも一つを含んでいてもよい。また、抗インターフェロナー γ 抗体の形態が、精製抗インターフェロナー γ 抗体、抗インターフェロナー γ 抗体を含む免疫グロブリン画分若しくは抗インターフェロナー γ 抗体を含むIgG画分の乾燥状態又は水溶液である場合、さらに、リン酸緩衝液等のバッファー成分； β -メルカプトエタノール、DTT等の安定化剤；アルブミン等の保護剤；塩化ナトリウム等の塩；ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノラウレート、ポリオキシエチレン（10）オクチルフェニルエーテル等の界面活性剤等、アジ化ナトリウム等の防腐剤の少なくとも一つを含んでいてもよい。

[0211] 本実施形態において、検査試薬91aが単体で供給される場合には、当該抗インターフェロナー γ 抗体は未標識であっても、上述の標識物質で標識されていてもよいが、上記1. で述べた標識物質で標識されていることが好ましい。また、抗原捕捉用の抗インターフェロナー γ 抗体が、固相表面等に固定化されたマイクロプレート92が検査試薬として提供されてもよい。

実施例

[0212] 以下に実施例を示して本明細書の開示内容を具体的に説明するが、本発明は実施例に限定し解釈されるものではない。

[0213] 1. 実施例1：末梢血単核細胞を用いた腫瘍細胞傷害活性パーセントの測定
1. 方法

（1）U251細胞株を、 1×10^5 個/mLとなるように10%FBSを添加したRPMI1640培地（10%FBS加RPMI1640培地）に懸濁した細胞懸濁液を調製した。前記細胞懸濁液を100 μ L/ウェルとなるように96ウェルプレートに播種し、5%炭酸ガスが存在する湿式インキュベータ内で、24時間、37°Cでインキュベーションした。

[0214] (2) 肺癌患者から末梢血（ヘパリン採血）を採取し、Lymphoprep™（Alere Technologies AS）を使って、添付のプロトコールにしたがって末梢血単核細胞を含む細胞群（「PBMC」とする）を回収した。前記PBMCの回収は、後述する（3）の工程の直前に行った。

[0215] (3) (1) でインキュベーションが終わった96ウェルプレートに、1ウェルあたり、前記PBMCの細胞数が 5×10^4 個、EphA2-CD3 BiTE（登録商標）が終濃度で100 ng/mLとなるように添加した。コントロールとして、(1) でインキュベーションが終わった96ウェルプレート内に前記PBMCのみを添加し、EphA2-CD3 BiTE（登録商標）を添加しないウェルを準備した。前記PBMCとEphA2-CD3 BiTE（登録商標）を添加した後の1ウェルあたりの10%FBS加RPMI培地の量は、総量が200 μ Lとなるようにした。PBMCとEphA2-CD3 BiTE（登録商標）を添加したあと、48時間インキュベーションした。

[0216] (4) インキュベーション終了後、10%FBS加RPMI培地で各ウェルを4回洗浄した。洗浄後培地が除去された各ウェルに、100 μ Lの10%FBS加RPMI培地と20 μ LのCellTiter 96（登録商標） Aqueous One Solution Reagent (MTS reagent: プロメガ)を添加した。その後、96ウェルマイクロプレートを5%炭酸ガスが存在する湿式インキュベータ内で、20分、37℃でインキュベーションした。

[0217] (5) (4) でインキュベーションが終了した96ウェルマイクロプレートについて、マイクロプレートリーダーを使って各ウェルの490 nmにおける吸光度を測定した。続いて、下式にしたがって、腫瘍細胞傷害活性パーセントを算出した。

U251細胞株とPBMCを含むウェルの吸光度=A

U251細胞株とPBMCとEphA2-CD3 BiTEを含むウェルの吸光度=B

[0218] 腫瘍細胞傷害活性パーセント (%) = $[(A-B)/A] \times 100$

[0219] 2. 結果

図9に各患者のPBMCの腫瘍細胞傷害活性パーセントを示す。BiTEとしてCD3に結合するものを使用していることから、このPBMCの腫瘍細胞傷害活性は、

末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性であると考えられる。図9からわかるように、肺癌患者の末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性は、患者によって異なり、腫瘍細胞傷害活性が数%しかない患者も存在する一方で、80%以上と高い値を示す患者も存在した。このことから、各患者の末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性には、個人差があることがわかった。

[0220] ⅠⅠ. 実験例1：肺癌組織内のT細胞の腫瘍細胞傷害活性

肺癌組織内のT細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントは、以下の方法にしたがって肺癌組織から細胞を回収し、その細胞群の細胞傷害活性として測定した。

癌組織を6 cm Dishに移して細断した後、組織攪拌溶液 (HBSS(-) + 2% FBS + 10mM HEPESにTumor Dissociation Kit (Miltenyi Biotec)を添加) に入れてgentleMACS™ Dissociator (Miltenyi Biotec)で攪拌後、37℃で維持したインキュベータ内で30分回転させながらインキュベーションした。その後、細胞を含む攪拌液を70 μmメッシュを通して、組織残渣を取り除き、濾液を600 xg、10分遠心して沈殿物を回収した。細胞を含む沈殿物にBD Pharm Lyse (BD Biosciences)を添加して2分間静置した。静置後の細胞を含む溶解液にHBSS Bufferを加えて600xg、10分遠心し、再度沈殿物を回収した。再回収された沈殿物に30% パーコール液を加えて12000xg、30秒遠心し、再度沈殿物を回収した。再回収された沈殿物をHBSS Bufferで洗浄し、12000xg、30秒遠心して組織内の細胞を回収した。回収された細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントは、上記Ⅰ. と同様の方法で測定した。BiTEとしてCD3に結合するものを使用していることから、この肺癌組織内から回収された細胞の腫瘍細胞傷害活性は、肺癌組織内T細胞の腫瘍細胞傷害活性であると考えられる。

[0221] ⅠⅠⅠ. 実施例2：T細胞レセプターレパトア解析

同一患者において腫瘍内と末梢血に共通するT細胞クローンが存在するかどうかを確認するため、T細胞レセプター (TCR) のレパトア解析を行った。

肺癌患者末梢血PBMC及び肺癌組織内の細胞からFACS Aria (Becton Dickinson) を用いてCD8陽性T細胞を採取した。採取したCD8陽性T細胞からRNAを抽出

し、Adaptor-Ligation PCR法を用いてTCR遺伝子を増幅した後に、次世代シーケンサーを用いて塩基配列を決定した。TCRレパトア解析はRepertoire Genes is株式会社 (http://www.repertoire.co.jp/detailed_repertoire.html) に外注した。

レパトア解析は、TCR α とTCR β それぞれについて行った。

患者1～4について、PBMCと肺癌組織内T細胞について出現頻度の高い上位30クローンのレパートリーを比較した。

[0222] 患者1は及び患者2は、肺癌組織内CD8陽性T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントが高かった例であり、患者3は、前記腫瘍細胞傷害活性パーセントが中程度であった例であり、患者4は前記腫瘍細胞傷害活性パーセントが低かった例である。

結果を図10に示す。

[0223] 出現頻度の高い上位30クローンのレパートリーを比較した結果、肺癌組織内T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントが高かった又は中程度であった患者1～3は、末梢血と肺癌組織内CD8陽性T細胞で複数種の共通クローンが認められた。これに対して、肺癌組織内T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントが低かった患者4では、末梢血と肺癌組織内CD8陽性T細胞で共通するクローンが1クローンのみ確認された。このことから、肺癌組織内T細胞の腫瘍細胞傷害活性が高い程、肺癌組織内で腫瘍細胞の抗原特異的に増殖した細胞障害性T細胞が末梢血にも多く出現することが示唆された。

[0224] I V. 実施例3：肺癌組織内T細胞の腫瘍細胞傷害活性と末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性の相関

次に、肺癌組織内T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントとPBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントの相関を求めた。結果を図11に示す。相関係数 R^2 とp値は統計ソフトJMPを用いて求めた。p値は、相関の有無の検定値を示す。

[0225] また、比較例として、患者から採取したPBMCとU251細胞株にEphA2-CD3 BiTEを加えて2日間培養した培養上清について、抗腫瘍作用を示すインターフェ

ロン γ (IFN γ) の濃度を求め、この結果と肺癌組織内 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントの相関を求めた。IFN γ の濃度は、Bio-Plex Pro ヒトサイトカイン GI 27-plex パネル (Bio-Rad) を使用して測定した。

[0226] その結果、肺癌組織内 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントと末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントの相関は $R^2=0.36$ であり、 $p=0.009$ となり、末梢血 T 細胞の細胞傷害活性は、肺癌組織内 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性を反映すると考えられた。これに対して、IFN γ は、 $R^2=0.22$ であり、 $p=0.048$ となり、IFN γ も肺癌組織内 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性と相関することが示された。しかし、IFN γ に比べ末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性の方が、肺癌組織内 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性とより強く相関することが示された。

[0227] 以上の結果から、末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性を測定することにより、腫瘍組織内の T 細胞の腫瘍細胞傷害活性を予測することができ、ひいては、末梢血中の PBMC の腫瘍細胞傷害活性を測定することにより、腫瘍免疫療法の効果を予測できると考えられた。

[0228] V. 実施例 4 : ニボルマブの効果と末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性との相関

1. 方法

18 人の患者について、実施例 1 にしたがって測定した PBMC に由来する末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントと、ニボルマブの効果とを比較した。ニボルマブの効果は以下の方法により評価した。実施例 1 に記載の方法にしたがって、U251 細胞株を 96 ウェルプレートに播種し、5 % 炭酸ガスが存在する湿式インキュベータ内で、24 時間、37°C でインキュベーションした。実施例 1 に記載の方法にしたがって回収した各患者の肺癌組織内の細胞 (細胞数は 5×10^4 個/ウェル) と、1 $\mu\text{g/ml}$ のニボルマブ (小野薬品工業株式会社より分与を受けた) とを 100 ng/ml の EphA2-CD3 BiTE (登録商標) とともに各ウェルに添加した。陰性コントロールとしてニボルマブに替えて 1 $\mu\text{g/ml}$ のヒト IgG4 (アブカム) を 100 ng/ml の EphA2-CD3 BiTE (登録商標) とともに培地に添加した。実施例 1 に記載の方法にしたがって、CellTiter 96 (登録商標) AQ

ueous One Solution Reagent (MTS reagent : プロメガ)を用いて吸光度を測定し、下式にしたがって腫瘍細胞傷害活性パーセントを算出した。

[0229] U251細胞株と肺癌組織内の細胞と陰性コントロールとEphA2-CD3 BiTEを含むウェルの吸光度=A

U251細胞株と肺癌組織内の細胞とニボルマブとEphA2-CD3 BiTEを含むウェルの吸光度=B

[0230] 腫瘍細胞傷害活性パーセント (%) = $[(A-B)/A] \times 100$

相関係数 R^2 と p 値は統計ソフトJMPを用いて求めた。p 値は、相関の有無の検定値を示す。

[0231] 2. 結果

ニボルマブの効果と末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントの相関を図 1 2 A に示す。 $R^2=0.27$ 、 $p=0.028$ であり、ニボルマブの効果とPBMCの腫瘍細胞傷害活性パーセントが相関することが示された。また、患者を末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントが高い方から 9 名と、残りの 9 名との 2 群に分け、ROC 曲線から暫定的なカットオフ値を求めたところ、28%となった。この 2 群間で、ニボルマブの効果について有意差検定を行ったところ、 $p=0.0005$ となり、末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントの高い群では有意にニボルマブの効果が高かった (図 1 2 B)。

[0232] このことから、PBMCを用いて測定される末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性は腫瘍免疫療法の効果との相関が高いことが示された。また、末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性は腫瘍免疫療法の効果の評価マーカーとして使用できることが示された。

[0233] V I. 実施例 5 : 末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性と腫瘍免疫療法の効果との相関

次に、肺癌患者のPBMCに由来する末梢血 T 細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントと、腫瘍免疫療法の効果との相関を検討した。患者から採取したPBMCについて実施例 1 にしたがって腫瘍細胞傷害活性パーセントを測定し、腫瘍細胞傷害活性パーセントが25%以上の患者 3 名を抽出した。前記 3 名の患者に

において、抗PD-1抗体を用いた腫瘍免疫療法により腫瘍の縮小が認められ、その治療継続期間は140日以上であり、長期間の治療が可能であった。このように腫瘍の縮小が認められ、治療を継続できたことは、腫瘍免疫療法が有効であることを意味する。

[0234] 現在、腫瘍免疫療法を適用するか否かを判断するにあたり、腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率が1つの指標とされている。前記3名の患者について、腫瘍組織におけるPD-L1発現肺癌細胞の陽性率を計測したところ、2名の患者については、陽性率が50%以上であったが、1名の患者は陽性率が2%と非常に低値であった。PD-L1発現細胞の陽性率は、PD-L1タンパク質の免疫染色（免疫抗体法）を行うことにより評価されている。PD-L1発現細胞が2%しかない患者はPD-L1タンパク質の免疫染色では、腫瘍免疫療法が有効な患者であるとは予測することができない。

[0235] 一方で、前記PD-L1発現細胞が2%しかない患者のPBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性を測定することにより、前記患者の末梢血T細胞が腫瘍細胞を傷害すると決定することができ、実際にそのような患者において腫瘍免疫療法の効果が認められた。従って、本開示における腫瘍免疫療法の効果を予測する方法によれば、PD-L1発現細胞の陽性率が低い患者についても、腫瘍免疫療法の適用できるか否かの予測があると考えられた。さらには、腫瘍免疫療法が有効な患者をPD-L1タンパク質の免疫染色よりも高い検出率で検出できると考えられた。

[0236] V I I . 実施例6：腫瘍細胞傷害活性とPD-L1発現細胞の陽性率との治療効果の予測精度の比較

1. 方法

30人の非小細胞肺癌患者について、ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療前のPBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントを測定し、その後の治療効果、無増悪生存期間及び治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象（重篤な有害事象）の出現との関係を調べた。PBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントは以下の方法によ

り評価した。現在、腫瘍免疫療法を適用するか否かを判断するにあたり、腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率（Tumor Proportion Score：TPS）が1つの指標とされており、これを比較対象とした。

[0237] 末梢血単核細胞を用いた腫瘍細胞傷害活性パーセントの測定

（１）U251細胞株を、 1×10^5 個/mLとなるように10%FBSを添加したRPMI1640培地（10%FBS加RPMI1640培地）に懸濁した細胞懸濁液を調製した。前記細胞懸濁液を100 μ L／ウェルとなるように96ウェルプレートに播種し、5%炭酸ガスが存在する湿式インキュベータ内で、24時間、37℃でインキュベーションした。

（２）肺癌患者から末梢血（ヘパリン採血）を採取し、Lymphoprep™（Alere Technologies AS）を使って、添付のプロトコールにしたがって末梢血単核細胞を含む細胞群（「PBMC」とする）を回収した。前記PBMCの回収は、後述する（３）の工程の直前に行った。

（３）（１）でインキュベーションが終わった96ウェルプレートに、1ウェルあたり、前記PBMCの細胞数が 5×10^4 個、EphA2-CD3 BiTE（登録商標）が終濃度で100 ng/mLとなるように添加した。コントロールとして、（１）でインキュベーションが終わった96ウェルプレート内に前記PBMCのみを添加し、EphA2-CD3 BiTE（登録商標）を添加しないウェルを準備した。前記PBMCとEphA2-CD3 BiTE（登録商標）を添加した後の1ウェルあたりの10%FBS加RPMI培地の量は、総量が200 μ Lとなるようにした。PBMCとEphA2-CD3 BiTE（登録商標）を添加したあと、48時間インキュベーションした。

（４）インキュベーション終了後、10%FBS加RPMI培地で各ウェルを4回洗浄した。洗浄後培地が除去された各ウェルに、100 μ Lの10%FBS加RPMI培地と20 μ LのCellTiter 96（登録商標） Aqueous One Solution Reagent（MTS reagent：プロメガ）を添加した。その後、96ウェルマイクロプレートを5%炭酸ガスが存在する湿式インキュベータ内で、20分、37℃でインキュベーションした。

（５）（４）でインキュベーションが終了した96ウェルマイクロプレートに

ついて、マイクロプレートリーダを使って各ウェルの490 nmにおける吸光度を測定した。続いて、下式にしたがって、腫瘍細胞傷害活性パーセントを算出した。

U251細胞株とPBMCを含むウェルの吸光度＝A

U251細胞株とPBMCとEphA2-CD3 BiTEを含むウェルの吸光度＝B

腫瘍細胞傷害活性パーセント (%) = $[(A-B)/A] \times 100$

[0238] 2. 結果

ニボルマブ又はペムブロリズマブの治療効果について、治療前の大きさの30%以下となった場合（部分奏功）及び病変の30%未満の縮小から20%未満の増大（安定）を陽性とし、20%以上の増大（進行）を陰性として、カットオフ値をROC曲線(Receiver Operator Characteristic Curve)を用いて算出して、感度及び特異度、ROC曲線の下面積（Area Under Curve : AUC）を比較した。カットオフ値について、「真陽性感度－（1－特異度）」の値が最大になる腫瘍細胞傷害活性パーセント値を最適なカットオフ値とした。その結果、本実施例においてはペムブロリズマブ又はニボルマブの治療前のPBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントのカットオフ値は18.98%と算出され、感度78.26%、特異度60.00%となり、AUCは0.65217であった（図13A）。これに対して、ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療前の腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率のカットオフ値は55.00%と算出され、感度69.57%、特異度60.00%となり、AUCは0.60870であった（図13B）。これらの結果から腫瘍細胞傷害活性がニボルマブ及びペムブロリズマブの治療効果予測に優れていることが示された。

[0239] なお、ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療前のPBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントと腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率を比較した結果、ピアソンの積率相関係数 $R^2=0.088$ 、 $p=0.1111$ であり、両者に相関は認められなかった（図14）。

[0240] 次に、図13で算出された、ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療前のPBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントのカットオフ値18

.98%について、18.98%以上の患者群（21名）と18.98%未満の患者群（9名）の無増悪生存期間を比較した結果、Log-rank testで $p=0.0006$ となり、18.98%以上の患者群が有意に無増悪生存期間の延長を示した（図15A）。これに対して、図13で算出された、ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療前の腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率のカットオフ値55.00%について、55.00%以上の患者群（19名）と55.00%未満の患者群（11名）の無増悪生存期間を比較した結果、Log-rank testで $p=0.6019$ となり、有意差は認められなかった（図15B）。ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療前の腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率のカットオフ値50.00%について、50.00%以上の患者群（22名）と50.00%未満の患者群（8名）の無増悪生存期間を比較した結果、Log-rank testで $p=0.8935$ となり、有意差は認められなかった（図15C）。

[0241] また、ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療を受けた患者を別々に解析した結果、ペムブロリズマブ及びニボルマブいずれについても、治療前のPBM Cに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントが18.98%以上の患者群が有意に無増悪生存期間の延長を示した（図16A及び図17A）。これに対して、PD-L1発現細胞の陽性率のカットオフ値55.00%以上、又は50.00%以上の患者は、ペムブロリズマブ及びニボルマブいずれについても、有意な無増悪生存期間の延長は認められなかった（図16B、C及び図17B、C）。

[0242] ニボルマブ又はペムブロリズマブの治療について、治療効果及び無増悪生存期間の他に、重篤な有害事象を発症する患者を治療前に予測することも重要であることから、ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療前のPBM Cに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性と重篤な有害事象の出現との関係を調べた。その結果、ペムブロリズマブ又はニボルマブの重篤な有害事象が出現した患者群（7名：肺炎3名、白質脳症1名、筋炎1名、肝機能障害1名、腸閉塞1名）は重篤な有害事象が出現しなかった患者群（23名）に比べて、有意に治療前のPBM Cに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性が低かった（t検定にて $p=0.0179$ ）（図18A）。これに対して、ペムブロリズマブ又はニボルマ

ブの治療前の腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率については、重篤な有害事象が出現した患者群（7名）と重篤な有害事象が出現しなかった患者群（23名）の間に有意差は認められなかった（t検定にて $p=0.2601$ ）（図18B）。

[0243] 次に、ペムブロリズマブ又はニボルマブの重篤な有害事象が出現しなかった場合を陽性とし、重篤な有害事象が出現した場合を陰性として、本実施例におけるカットオフ値をROC曲線(Receiver Operator Characteristic Curve)を用いて算出して、感度及び特異度、ROC曲線の下面積（Area Under Curve : AUC）を比較した。カットオフ値について、「真陽性感度－（1－特異度）」の値が最大になる腫瘍細胞傷害活性パーセント値を最適なカットオフ値とした。その結果、ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療前のPBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントのカットオフ値は35.60%と算出され、感度69.57%、特異度100.00%となり、AUCは0.77640であった（図19A）。これに対して、ペムブロリズマブ又はニボルマブの治療前の腫瘍組織におけるPD-L1発現細胞の陽性率のカットオフ値は65.00%と算出され、感度73.91%、特異度71.43%となり、AUCは0.65528であった（図19B）。これらの結果から腫瘍細胞傷害活性がニボルマブ及びペムブロリズマブの治療中止となる重篤な有害事象出現の予測に優れていることが示された。

[0244] V I I I . 実施例7：インターフェロナー γ の濃度による免疫療法剤の有用性の予測

1. 方法

非小細胞肺癌患者について、PBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントを測定し、培養上清のインターフェロナー γ （IFN γ ）の濃度との相関を求めた。PBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセント及び培養上清のインターフェロナー γ の濃度は以下の方法により評価した。

[0245] 末梢血単核細胞を用いた腫瘍細胞傷害活性パーセントと培養上清インターフェロナー γ 濃度の測定

(1) U251細胞株を、 1×10^5 個/mLとなるように10%FBSを添加したRPMI1640培地(10%FBS加RPMI1640培地)に懸濁した細胞懸濁液を調製した。前記細胞懸濁液を $100 \mu\text{L}$ /ウェルとなるように96ウェルプレートに播種し、5%炭酸ガスが存在する湿式インキュベータ内で、24時間、 37°C でインキュベーションした。

(2) 肺癌患者から末梢血(ヘパリン採血)を採取し、Lymphoprep™ (Alere Technologies AS)を使って、添付のプロトコールにしたがって末梢血単核細胞を含む細胞群(「PBMC」とする)を回収した。前記PBMCの回収は、後述する(3)の工程の直前に行った。

(3) (1)でインキュベーションが終わった96ウェルプレートに、1ウェルあたり、前記PBMCの細胞数が 5×10^4 個、EphA2-CD3 BiTE(登録商標)が終濃度で 100 ng/mL となるように添加した。コントロールとして、(1)でインキュベーションが終わった96ウェルプレート内に前記PBMCのみを添加し、EphA2-CD3 BiTE(登録商標)を添加しないウェルを準備した。前記PBMCとEphA2-CD3 BiTE(登録商標)を添加した後の1ウェルあたりの10%FBS加RPMI培地の量は、総量が $200 \mu\text{L}$ となるようにした。PBMCとEphA2-CD3 BiTE(登録商標)を添加したあと、48時間インキュベーションした。

(4) インキュベーション終了後、培養上清を採取保存(-20°C)したのちに、10%FBS加RPMI培地で各ウェルを4回洗浄した。洗浄後培地が除去された各ウェルに、 $100 \mu\text{L}$ の10%FBS加RPMI培地と $20 \mu\text{L}$ のCellTiter 96(登録商標)Aqueous One Solution Reagent (MTS reagent: プロメガ)を添加した。その後、96ウェルマイクロプレートを5%炭酸ガスが存在する湿式インキュベータ内で、20分、 37°C でインキュベーションした。

(5) (4)でインキュベーションが終了した96ウェルマイクロプレートについて、マイクロプレートリーダーを使って各ウェルの 490 nm における吸光度を測定した。続いて、下式にしたがって、腫瘍細胞傷害活性パーセントを算出した。

U251細胞株とPBMCを含むウェルの吸光度=A

U251細胞株とPBMCとEphA2-CD3 BiTEを含むウェルの吸光度=B

腫瘍細胞傷害活性パーセント (%) = $[(A-B)/A] \times 100$

(6) (4) で-20℃で保存した培養上清について、抗腫瘍作用を示すインターフェロン γ (IFN γ) の濃度を求めた。IFN γ の濃度は、Bio-Plex Proヒトサイトカイン GI 27-plexパネル (Bio-Rad) を使用して測定した。

[0246] 2. 結果

非小細胞肺癌患者のPBMCに由来する末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントと培養上清のインターフェロン γ 濃度を比較した結果、ピアソンの積率相関係数 $R^2=0.44$ 、 $p=0.0021$ であり、両者に相関が認められた (図20)。このことから、末梢血T細胞の腫瘍細胞傷害活性パーセントに代えて、培養上清のインターフェロン γ 濃度を測定しても免疫療法剤の有用性を評価できると考えられた。

符号の説明

- [0247] 101 処理部
10 提示装置
201 処理部
20 補助装置

請求の範囲

- [請求項1] 下記工程 1、及び工程 2 を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を提示する方法：
- 工程 1：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び
- 工程 2：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は
- 前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。
- [請求項2] 前記有用性が、前記免疫療法剤に起因する、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であり、
- 前記工程 2 が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示する工程、及び／又は
- 前記工程 2 が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示する工程、
- を含む、請求項 1 に記載の提示方法。
- [請求項3] 前記有用性が、前記免疫療法剤の効果の有無であり、
- 前記工程 2 が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有効であることを提示する工程、及び／又は

前記工程 2 が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が無効であることを提示する工程、

を含む、請求項 1 又は請求項 2 に記載の提示方法。

- [請求項4] 前記工程 1 の腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程が、前記腫瘍細胞と接触した末梢血単核細胞の腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得する工程、及び
前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値を対応する基準値と比較し、前記値が対応する基準値より高い場合に前記腫瘍細胞が傷害されていることを示す工程、及び／又は前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値を対応する基準値と比較し、前記値が対応する基準値より低い場合に前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す工程、
を含む、請求項 1 から請求項 3 のいずれか一項に記載の提示方法。

- [請求項5] 腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記腫瘍細胞の生細胞数又は死細胞数に基づいて算出された腫瘍細胞傷害活性の値である、請求項 4 に記載の提示方法。

- [請求項6] 前記 *in vitro* における接触が培養培地内での接触であり、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記培養培地中のインターフェローン γ の測定値である、請求項 4 に記載の提示方法。

- [請求項7] 前記 *in vitro* における接触が、前記患者から採取された末梢血単核細胞と、腫瘍細胞との、エンゲージャーを介した間接的な接触である、請求項 1 から請求項 6 のいずれか一項に記載の提示方法。

- [請求項8] 前記エンゲージャーが、二重特異性分子である、請求項 7 に記載の提示方法。

- [請求項9] 前記二重特異性分子が、T細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域と、前記腫瘍細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域とを含む分子である、請求項 8 に記載の提示方法。

- [請求項10] 前記腫瘍細胞が、悪性腫瘍由来の培養細胞株である、請求項 1 から請

求項 9 に記載のいずれか一項に提示方法。

[請求項11] 請求項 7 から請求項 10 のいずれか一項に記載の提示方法において、前記免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を評価するための、エンゲージャーを含む、検査試薬。

[請求項12] 下記工程 i から工程 i i を含む、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性の決定を補助する方法：

工程 i：前記患者から採取された末梢血単核細胞と、直接、又は間接的に *in vitro* で接触した腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程、及び

工程 i i：前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用であることを提示する工程、及び／又は

前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有用でないことを提示する工程。

[請求項13] 前記有用性が、前記免疫療法剤に起因する、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象の発生の有無であり、

工程 i i が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていることが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こさないことを提示する工程、及び／又は

工程 i i が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないことが示された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が、治療中断の必要があり、かつ投与再開が不可能となる有害事象を起こすことを提示する工程、

を含む、請求項 12 に記載の補助方法。

- [請求項14] 前記有用性が、前記免疫療法剤の効果の有無であり、
工程 i i が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていると決定された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が有効であることを提示する工程、及び／又は
工程 i i が、前記評価において前記腫瘍細胞が傷害されていないと決定された場合に、前記患者に対して前記免疫療法剤が無効であることを提示する工程、
を含む、請求項 1 2 又は請求項 1 3 に記載の補助方法。
- [請求項15] 前記工程 i の腫瘍細胞が傷害されているか否かを評価する工程が、
前記腫瘍細胞と接触した末梢血単核細胞の腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得する工程、及び
前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値を対応する基準値と比較し、前記値が対応する基準値より高い場合に腫瘍細胞が傷害されていることを示す工程、及び／又は前記腫瘍細胞傷害活性を反映する値を対応する基準値と比較し、前記値が対応する基準値より低い場合に前記腫瘍細胞が傷害されていないことを示す工程、
を含む、請求項 1 2 から請求項 1 4 のいずれか一項に記載の補助方法。
- [請求項16] 腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記腫瘍細胞の生細胞数又は死細胞数に基づいて算出された腫瘍細胞傷害活性の値である、請求項 1 5 に記載の補助方法。
- [請求項17] 前記 *in vitro* における接触が培養培地内での接触であり、腫瘍細胞傷害活性を反映する値が、前記培養培地中のインターフェロン- γ の測定値である、請求項 1 5 に記載の補助方法。
- [請求項18] 前記 *in vitro* における接触が、前記患者から採取された末梢血単核細胞と、腫瘍細胞との、エンゲージャーを介した間接的な接触である、請求項 1 2 から請求項 1 7 のいずれか一項に記載の補助方法。

- [請求項19] 前記エンゲージャーが、二重特異性分子である、請求項18に記載の補助方法。
- [請求項20] 前記二重特異性分子が、T細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域と、前記腫瘍細胞の表面抗原の少なくとも一種と結合する抗原結合領域とを含む分子である、請求項19に記載の補助方法。
- [請求項21] 前記腫瘍細胞が、悪性腫瘍由来の培養細胞株である、請求項12から請求項20に記載のいずれか一項に補助方法。
- [請求項22] 請求項18から請求項21のいずれか一項に記載の補助方法において、前記免疫療法剤について、前記悪性腫瘍を有する患者における有用性を評価するための、エンゲージャーを含む、検査試薬。
- [請求項23] 請求項1から請求項10のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して投与される、悪性腫瘍を治療するための免疫療法剤。
- [請求項24] 請求項1から請求項10のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して1次治療のために投与される、免疫療法剤。
- [請求項25] 請求項1から請求項10のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して術前化学療法のために投与される、免疫療法剤。
- [請求項26] 請求項1から請求項10のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して術後補助化学療法のために投与される、免疫療法剤。
- [請求項27] 請求項1から請求項10のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者であって、放射線治療後の前記患者に投与される免疫療法剤。
- [請求項28] 請求項1から請求項10のいずれか一項に記載の提示方法において免

疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者であって、化学放射線治療後の前記患者に投与される免疫療法剤。

[請求項29] 免疫療法剤が、免疫チェックポイント阻害剤である、請求項23から請求項28のいずれか一項に記載の免疫療法剤。

[請求項30] 前記免疫チェックポイント阻害剤が、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体、抗Tim3抗体、又は抗LAG3抗体を含む、請求項29に記載の免疫療法剤。

[請求項31] 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、請求項23から請求項30のいずれか一項に記載の免疫療法剤。

[請求項32] 前記肺癌が、前記免疫療法剤の投与開始時に間質性肺炎を合併している、請求項31に記載の免疫療法剤。

[請求項33] 請求項1から請求項10のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して投与される、免疫チェックポイント阻害剤であって、他の1種以上の免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与される、免疫チェックポイント阻害剤。

[請求項34] 請求項1から請求項10のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して投与される、免疫チェックポイント阻害剤であって、免疫チェックポイント阻害剤以外の1種以上の免疫療法剤と組み合わせて投与される、免疫チェックポイント阻害剤。

[請求項35] 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、請求項33又は請求項34に記載の免疫チェックポイント阻害剤。

[請求項36] 免疫チェックポイント阻害剤が、抗PD1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体、抗Tim3抗体、又は抗LAG3抗体を含む、請求項33から請求項35のいずれか一項に記載の免疫チェックポイ

ント阻害剤。

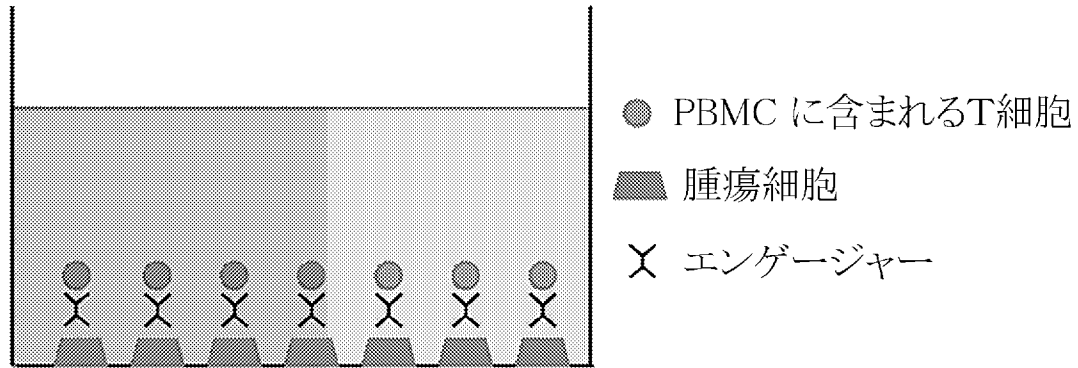
- [請求項37] 請求項 1 から請求項 10 のいずれか一項に記載の提示方法において免疫療法剤が有用であることが提示された悪性腫瘍を有する患者に対して、免疫療法剤以外の 1 種以上の抗がん剤と組み合わせて投与される免疫療法剤。
- [請求項38] 前記悪性腫瘍が、肺癌、頭頸部癌、悪性黒色腫、腎細胞癌、尿路上皮癌、胃癌、又は悪性胸膜中皮腫である、請求項 37 に記載の免疫療法剤。
- [請求項39] 免疫療法剤が、免疫チェックポイント阻害剤である、請求項 37 又は請求項 38 に記載の免疫療法剤。

[図1]

悪性腫瘍の治療対象患者の末梢血から PBMC を採取

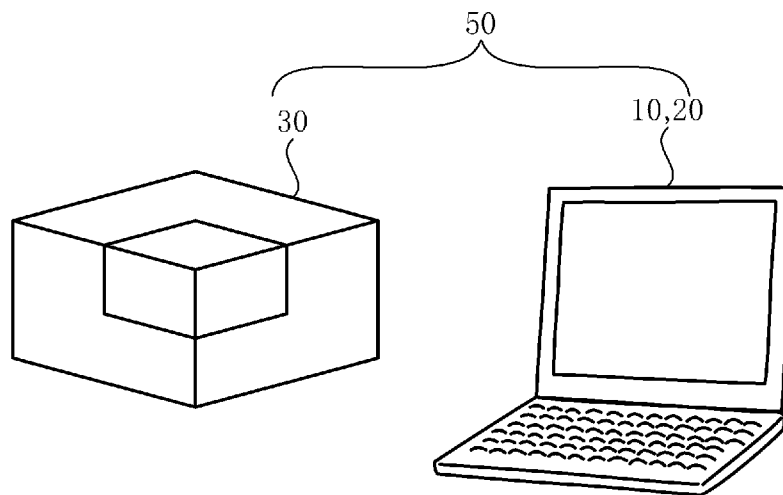


腫瘍細胞との共培養

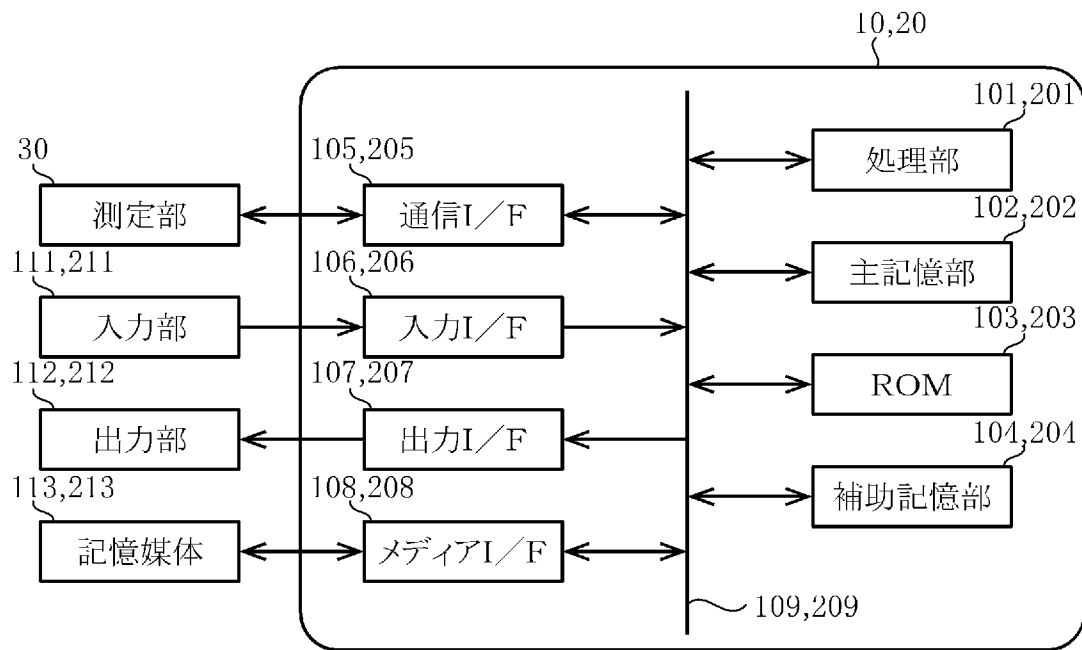


腫瘍細胞傷害活性を反映する値を取得

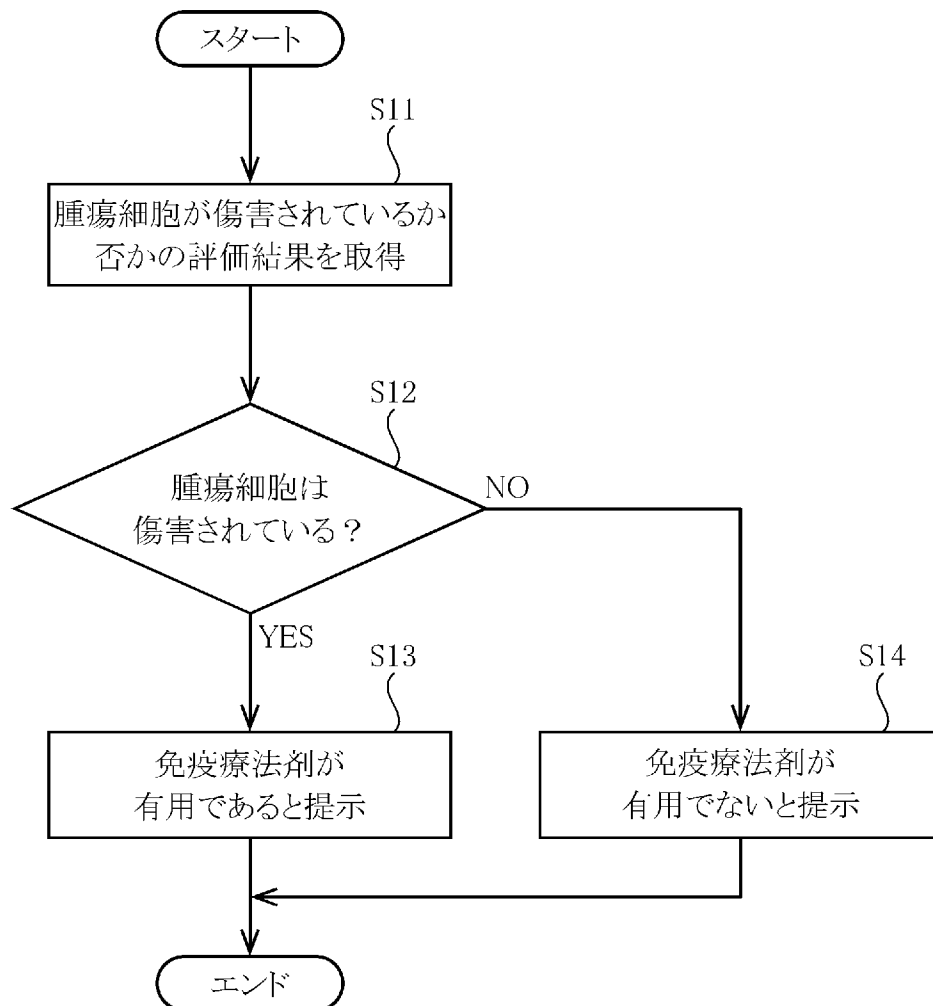
[図2]



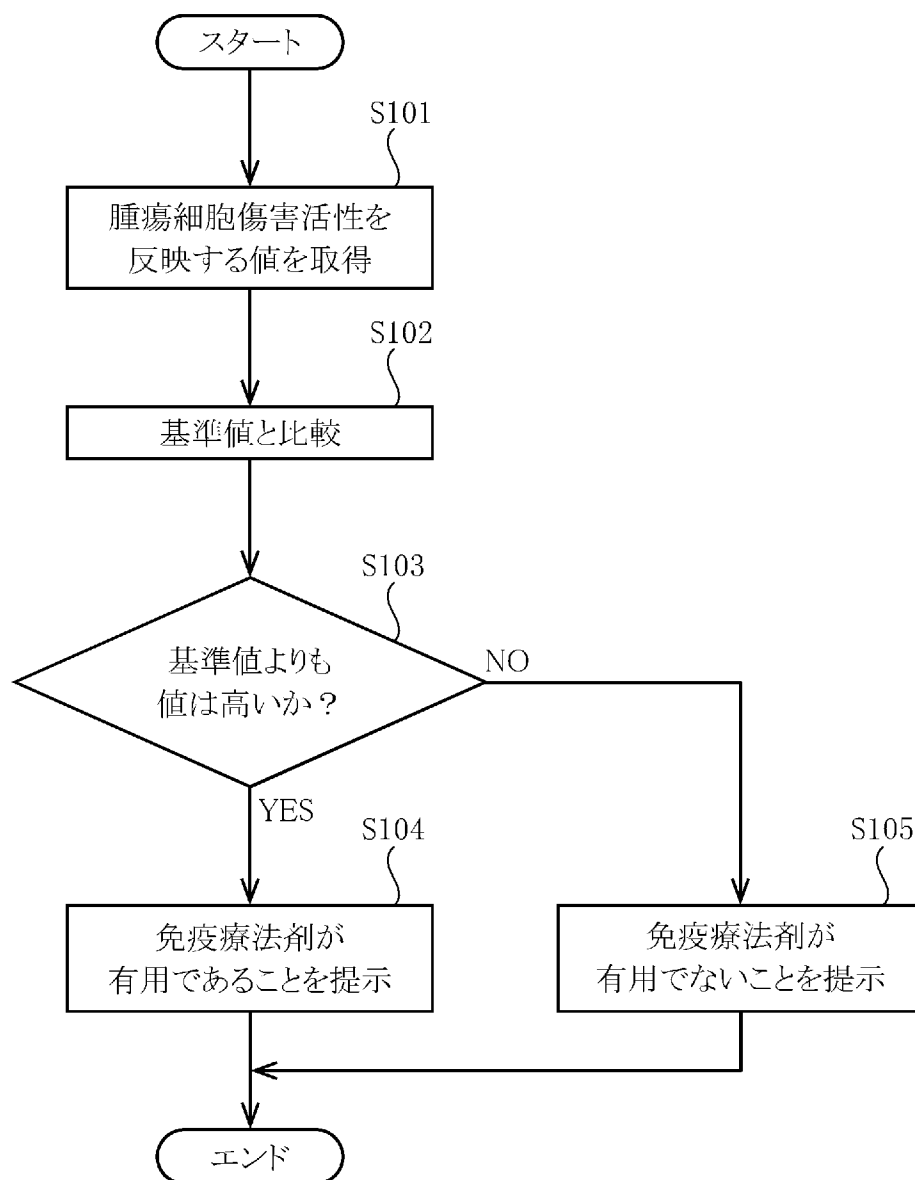
[図3]



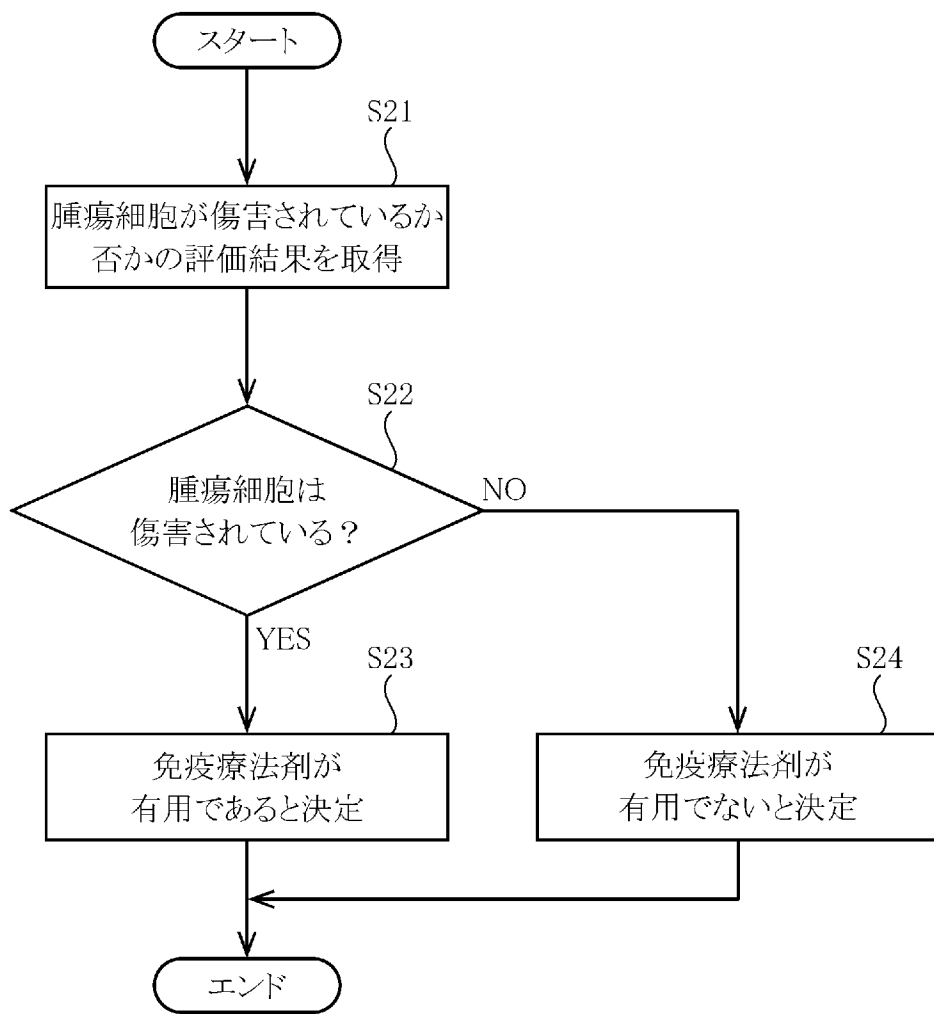
[図4]



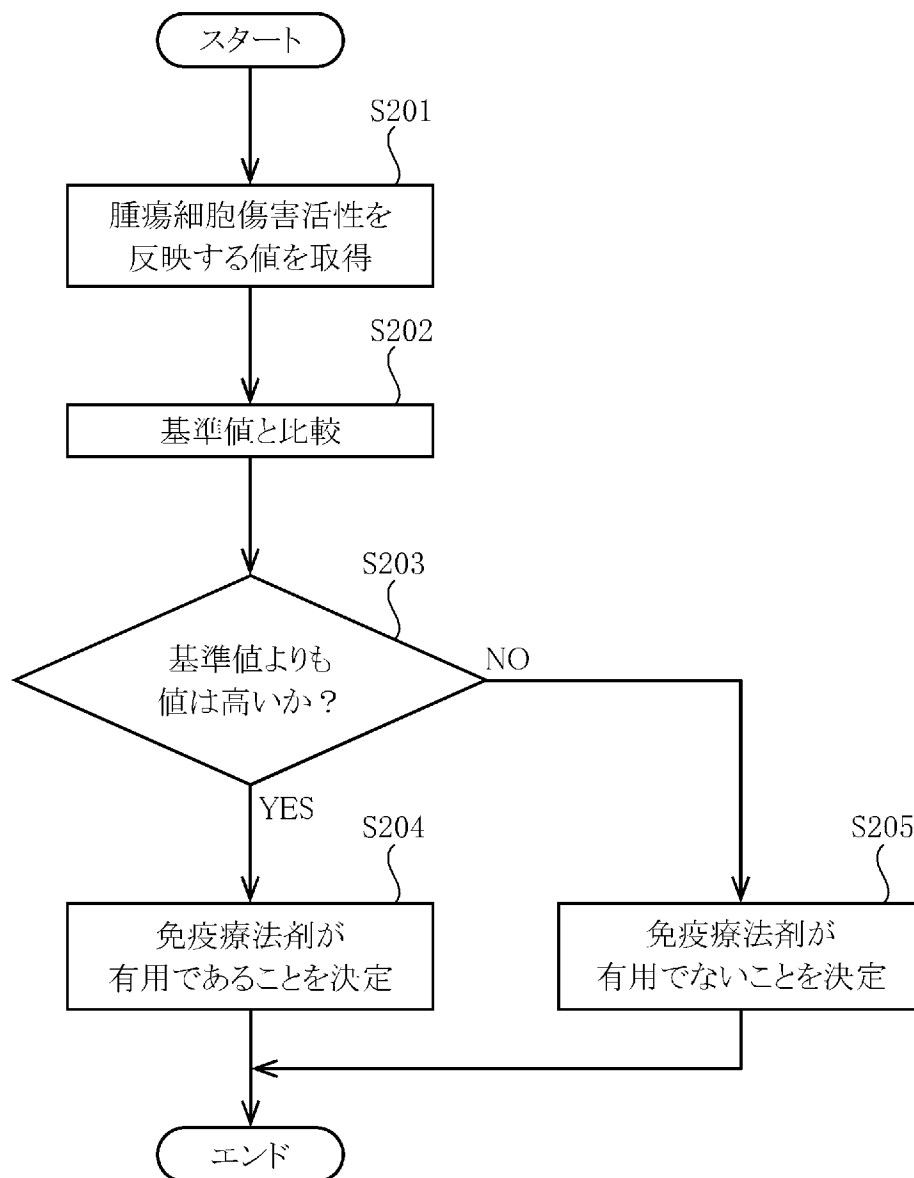
[図5]



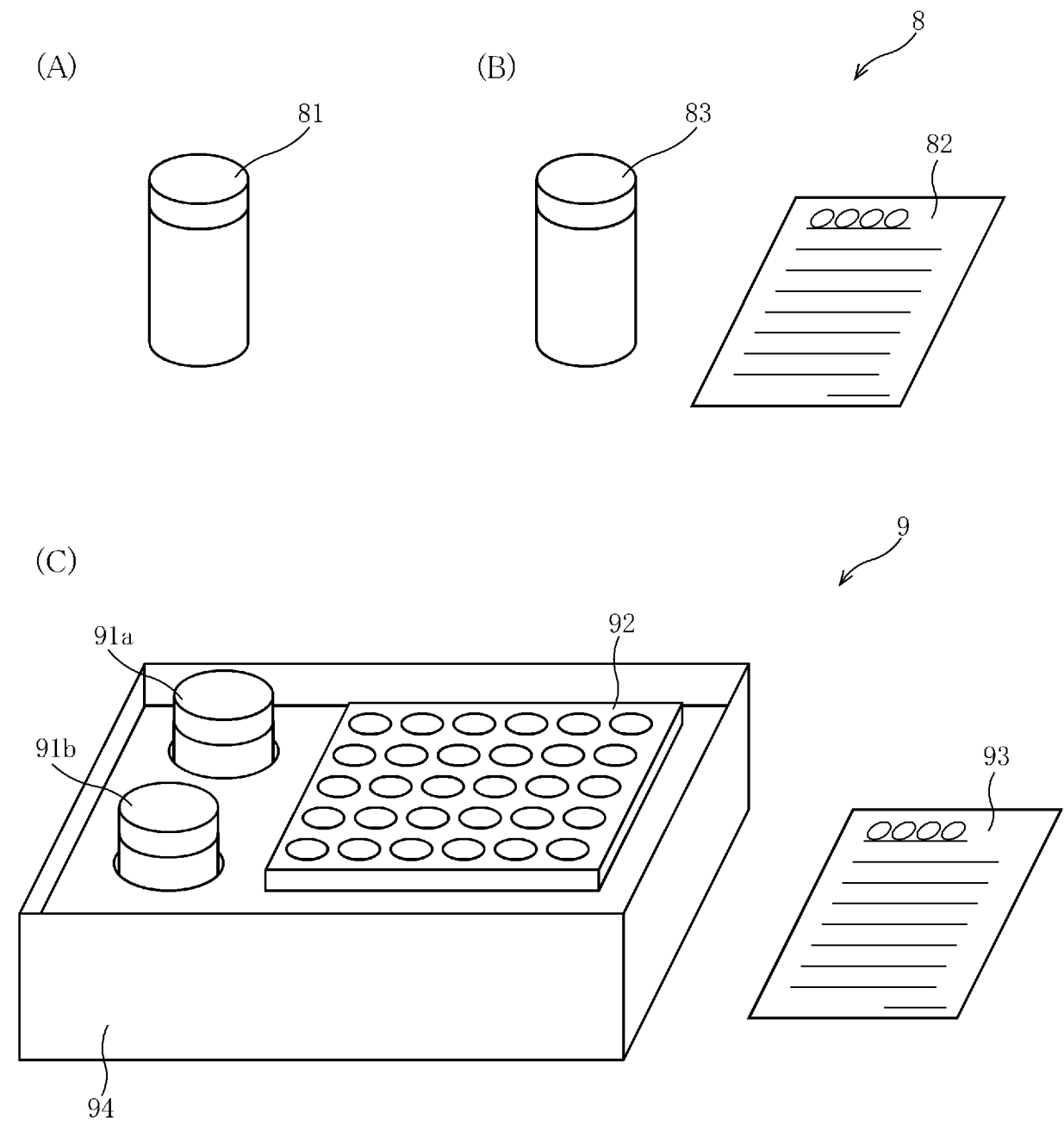
[図6]



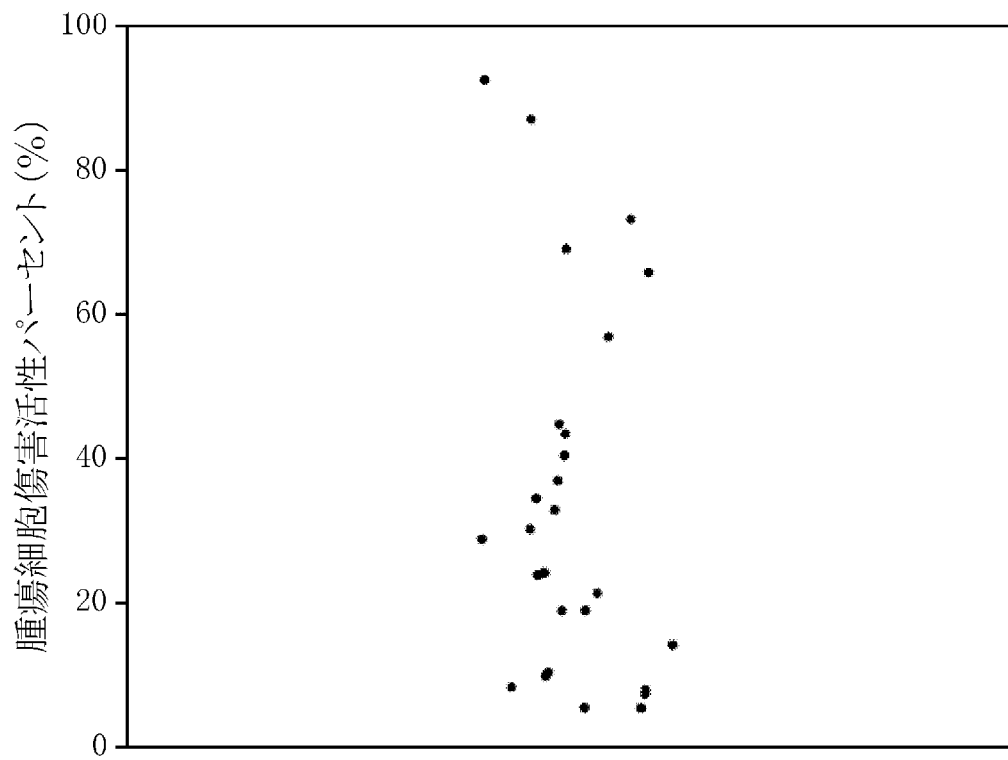
[図7]



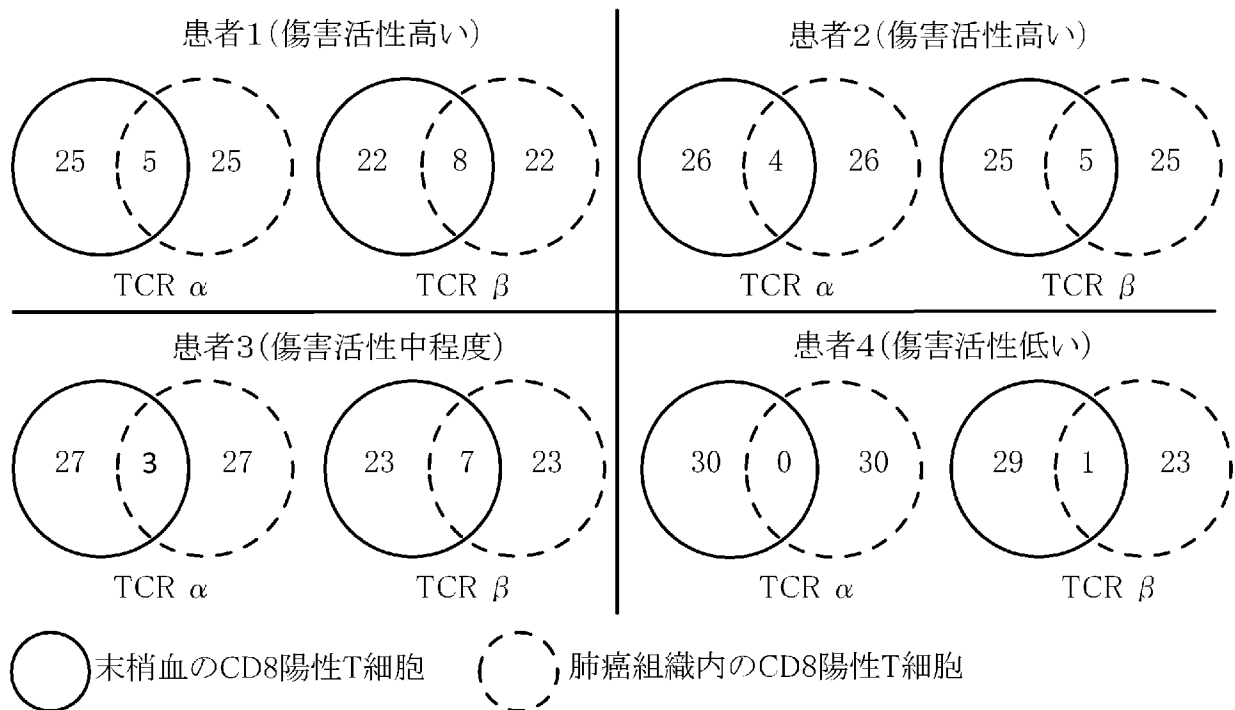
[図8]



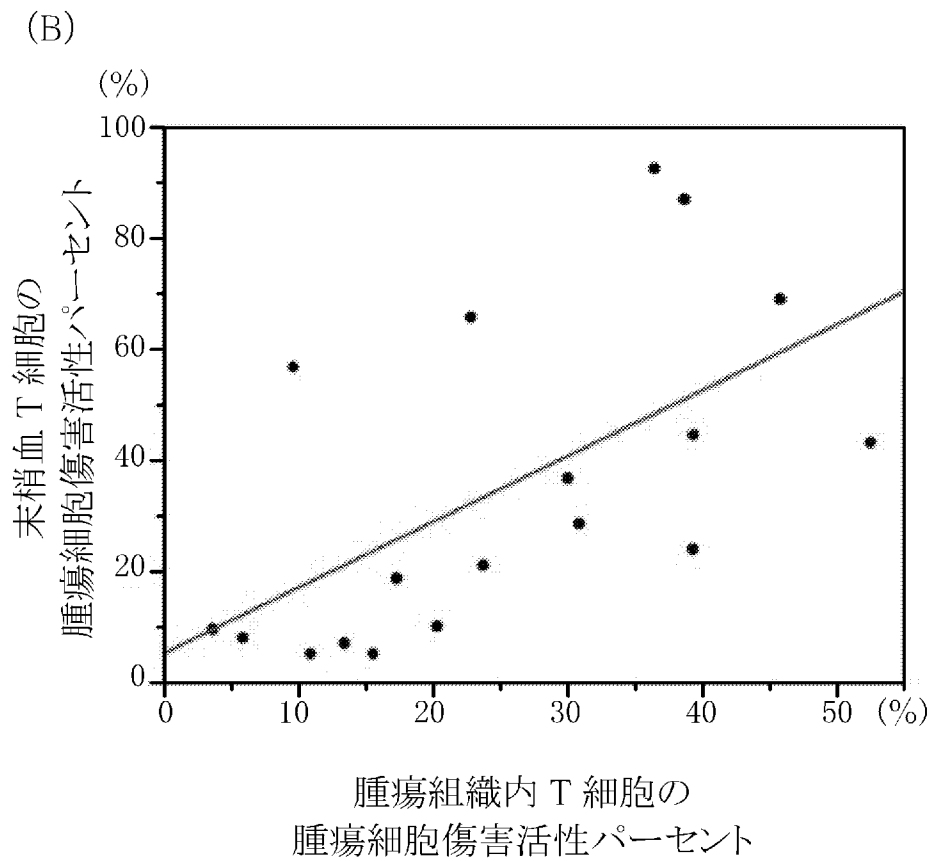
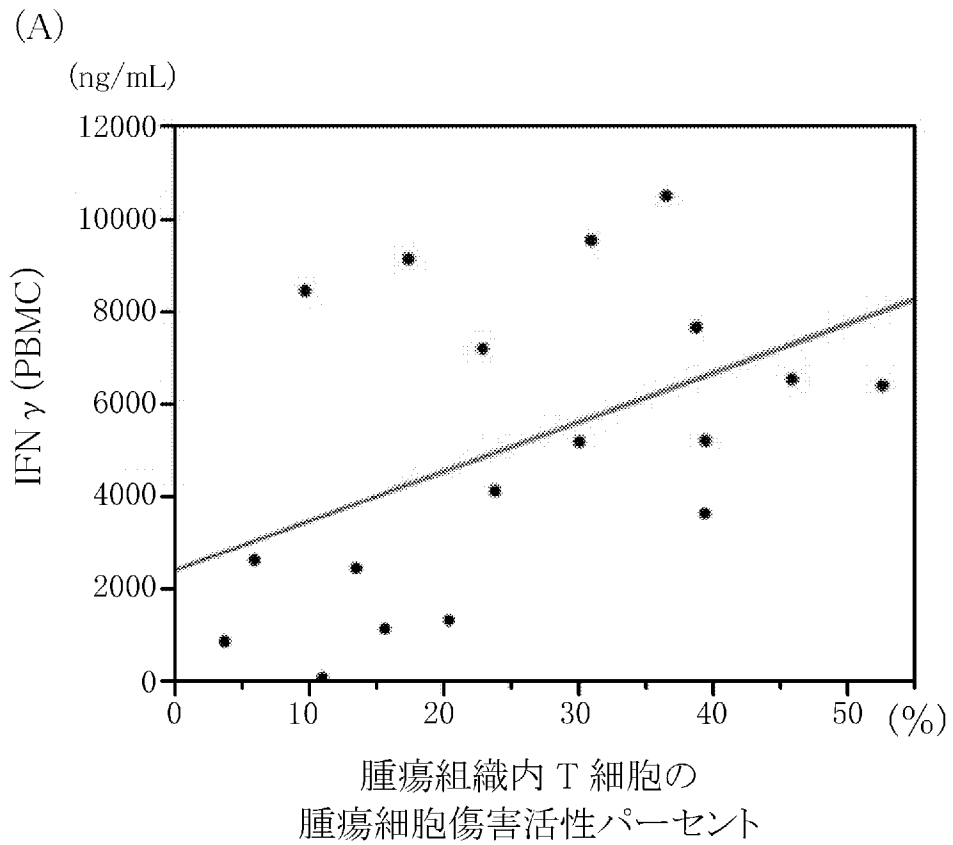
[図9]



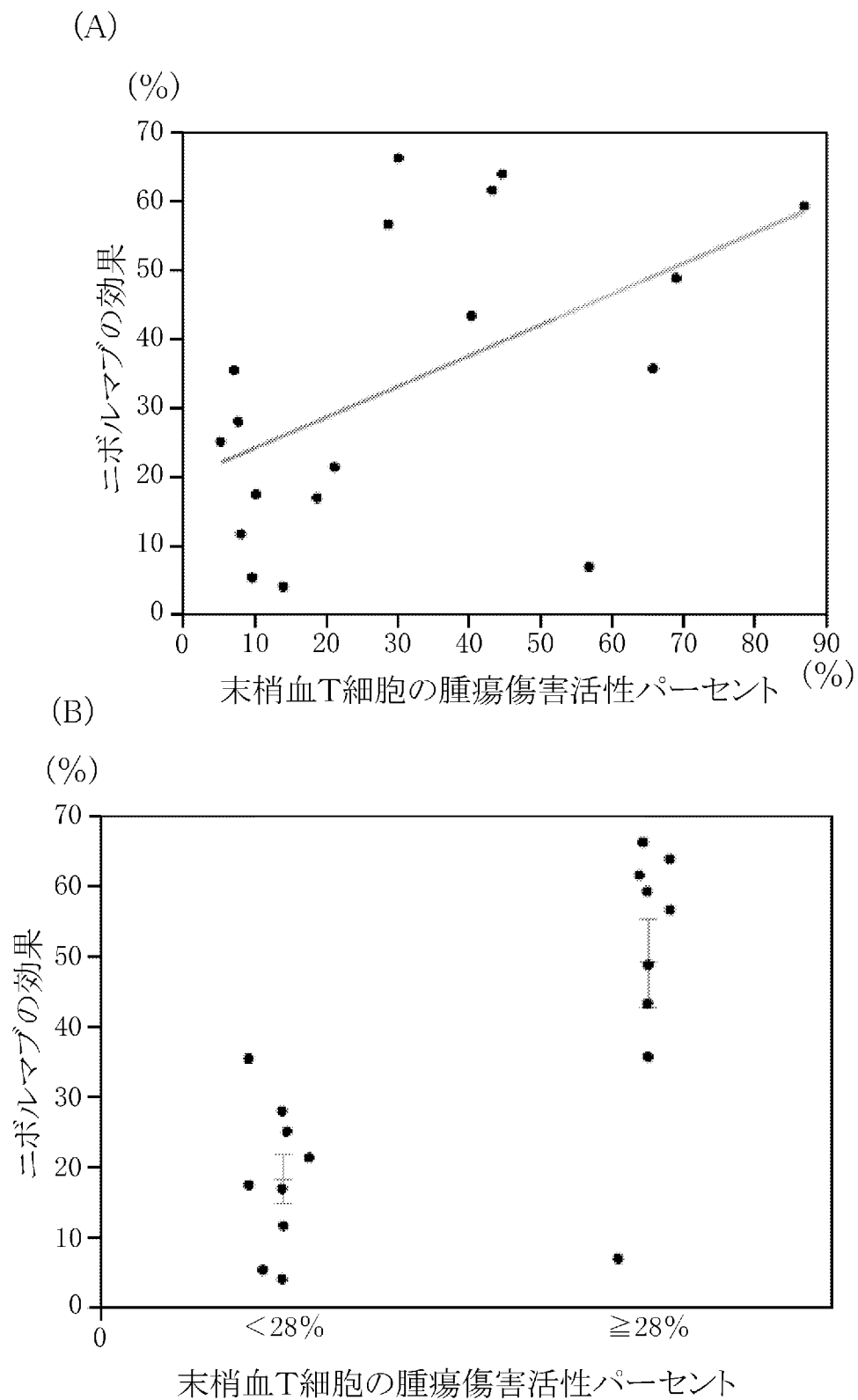
[図10]



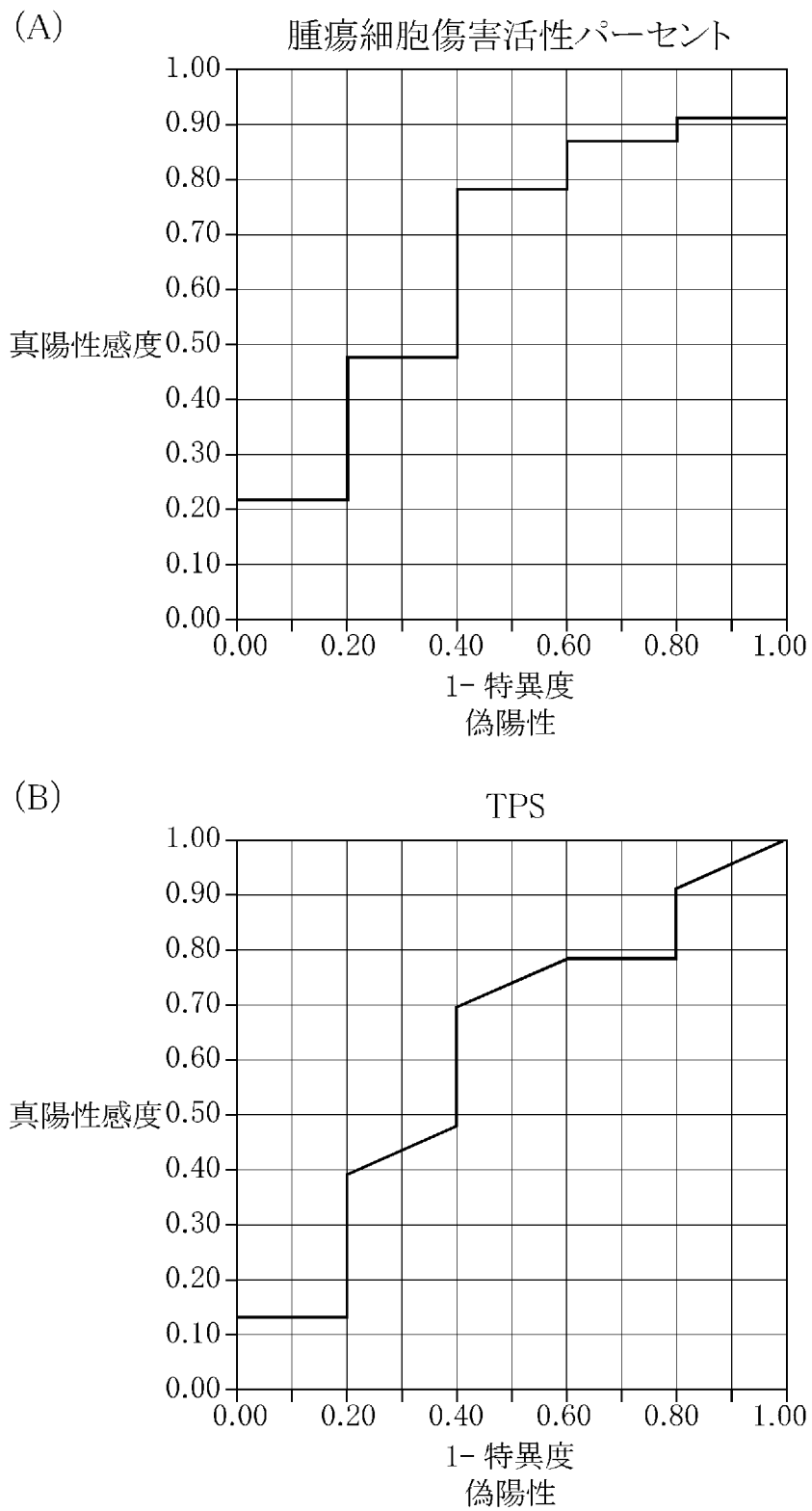
[図11]



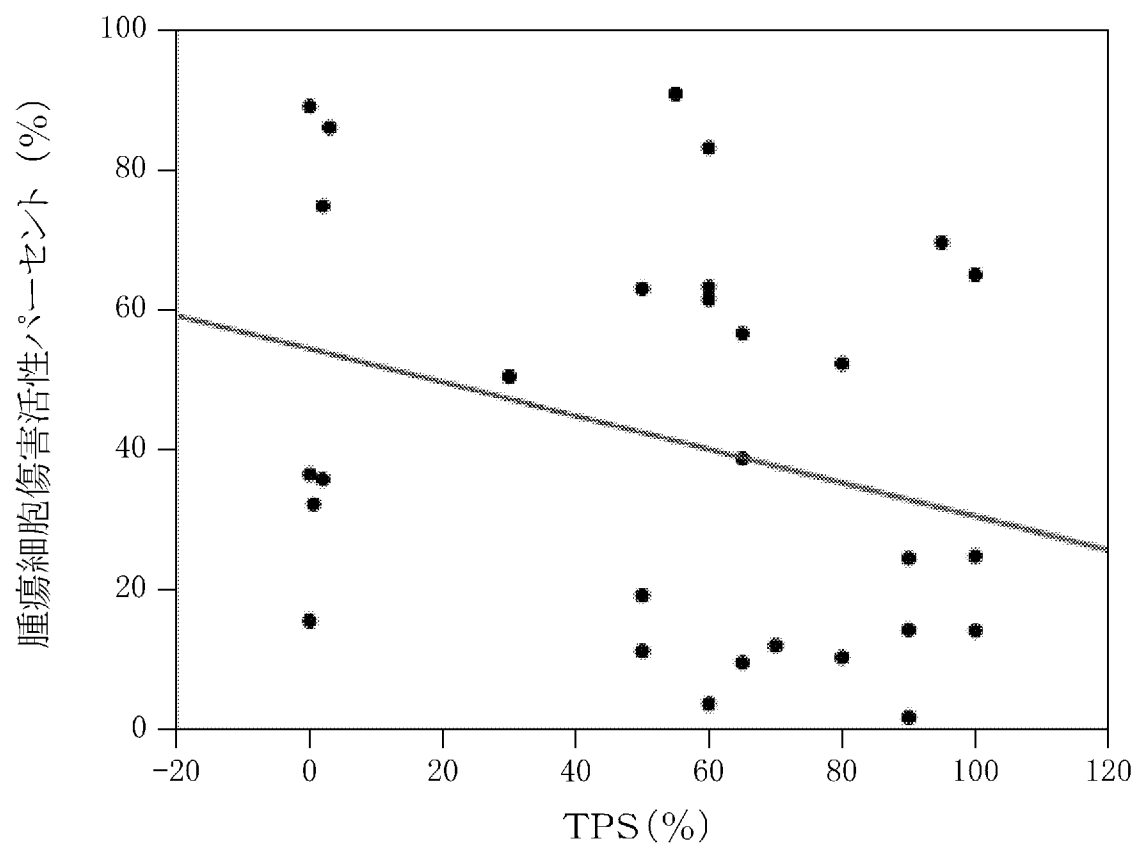
[図12]



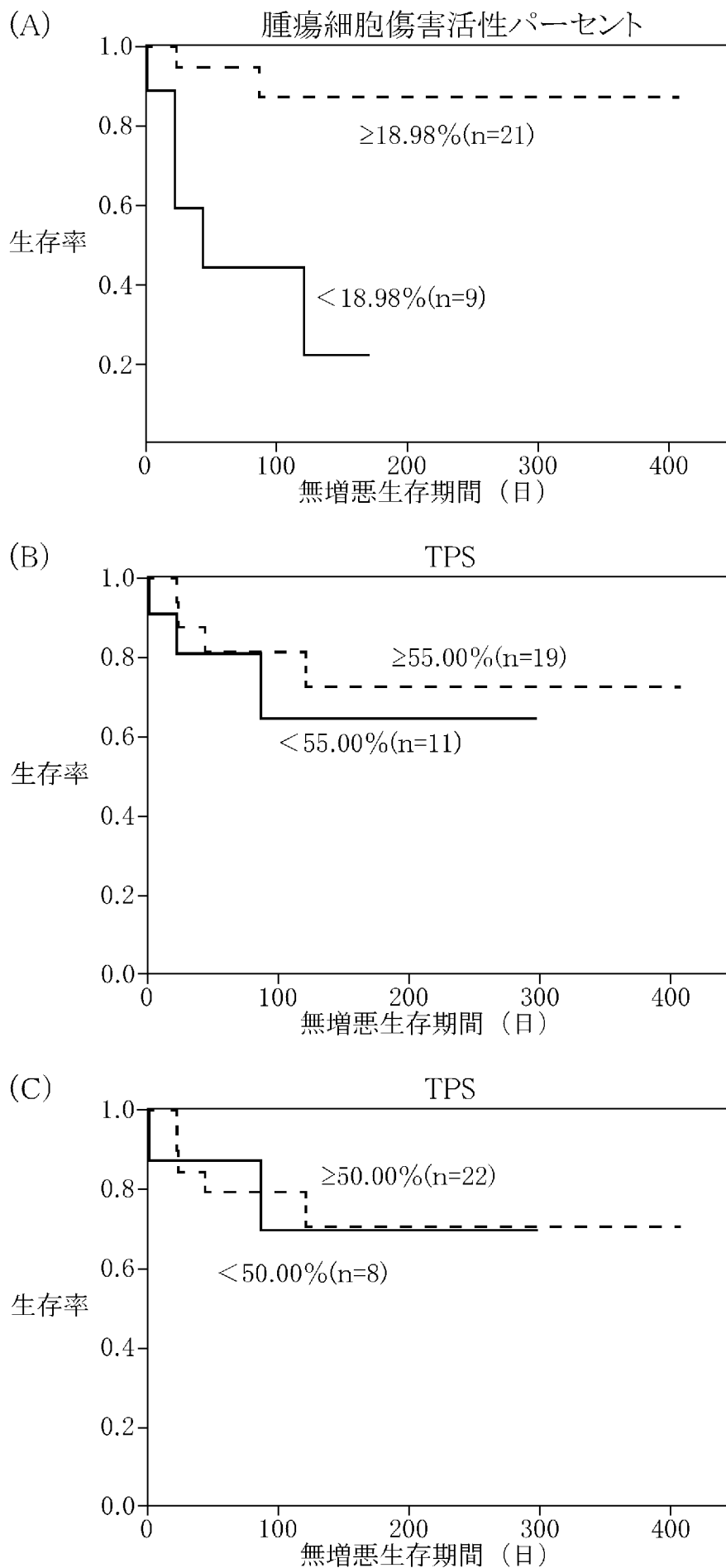
[図13]



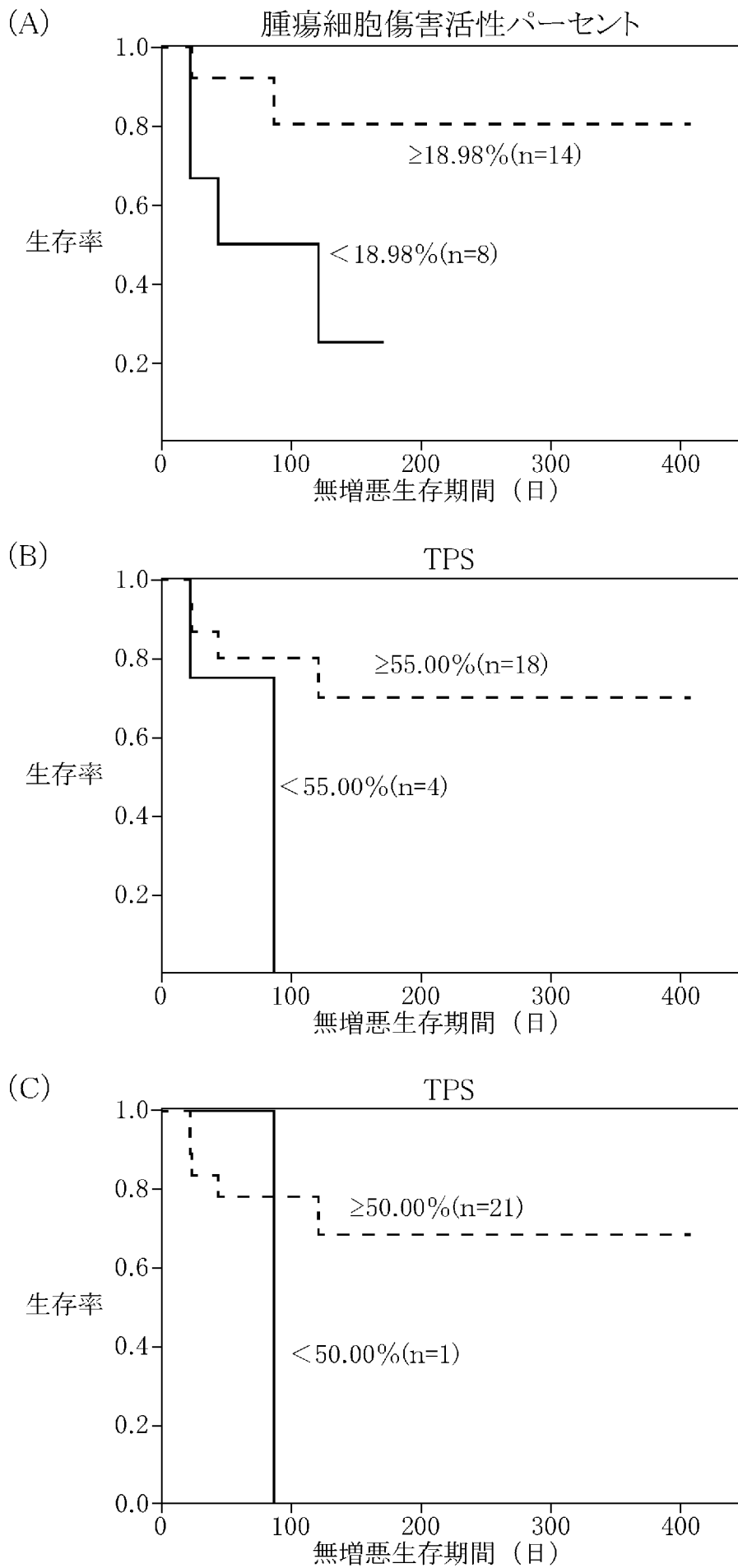
[図14]



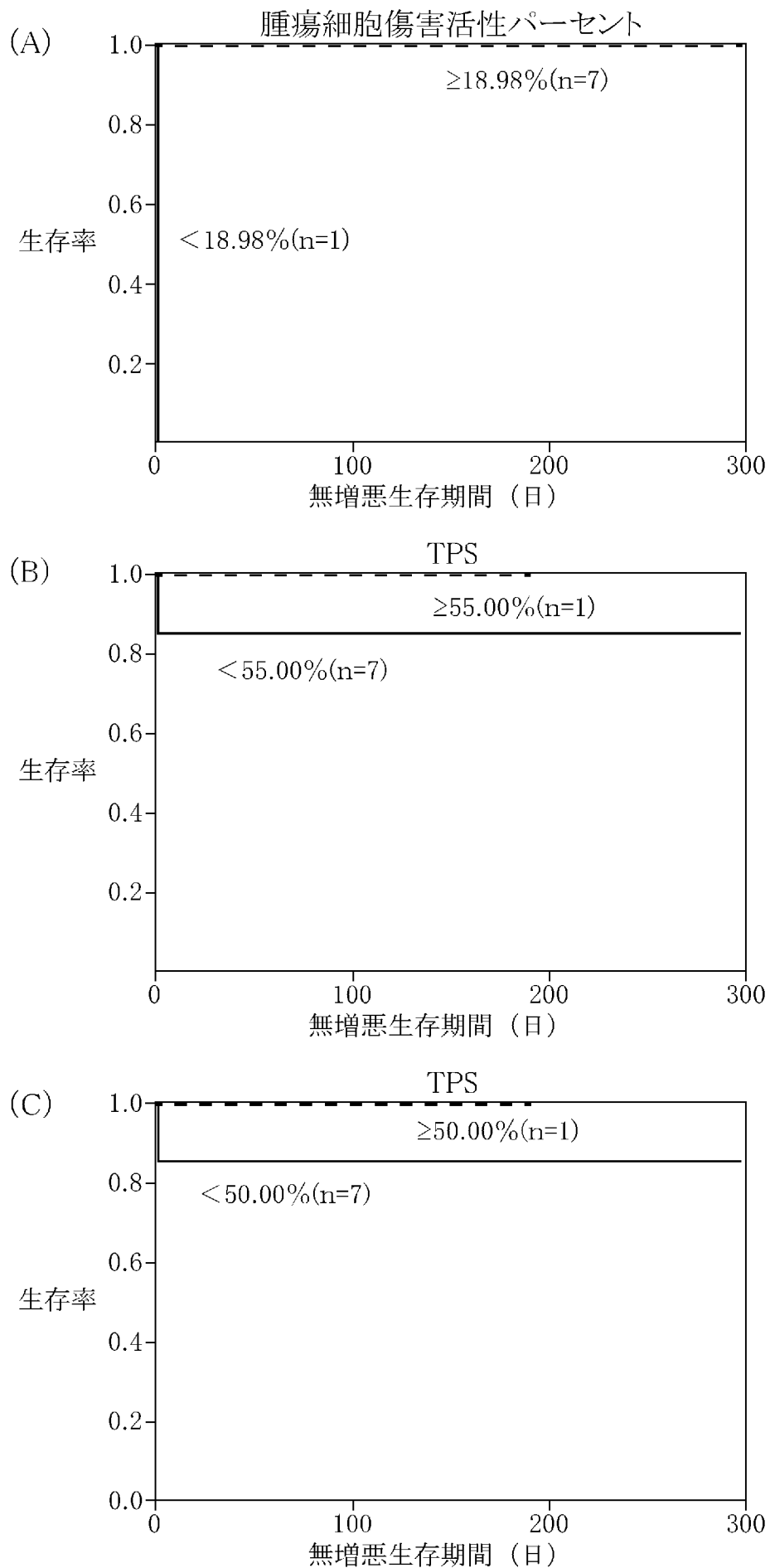
[図15]



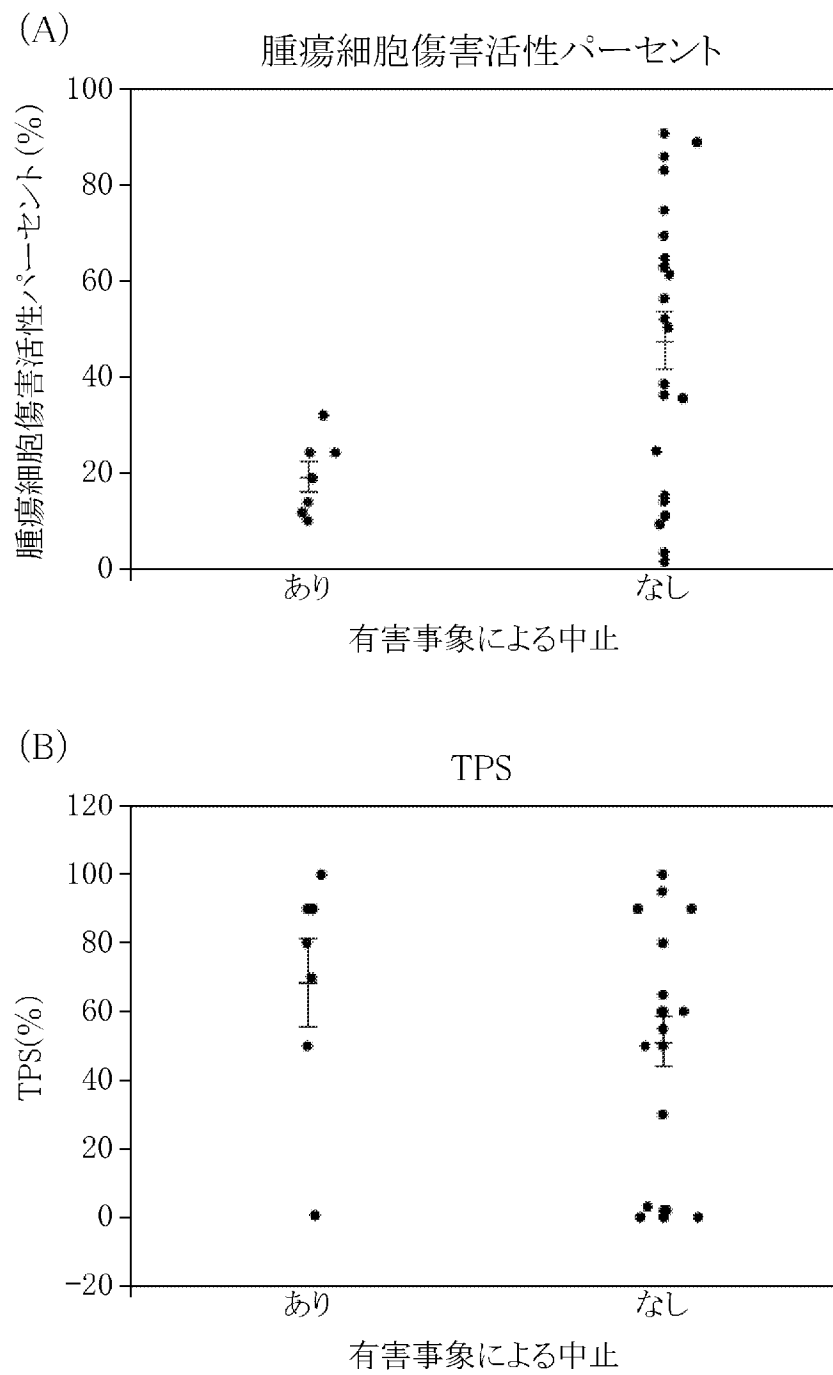
[図16]



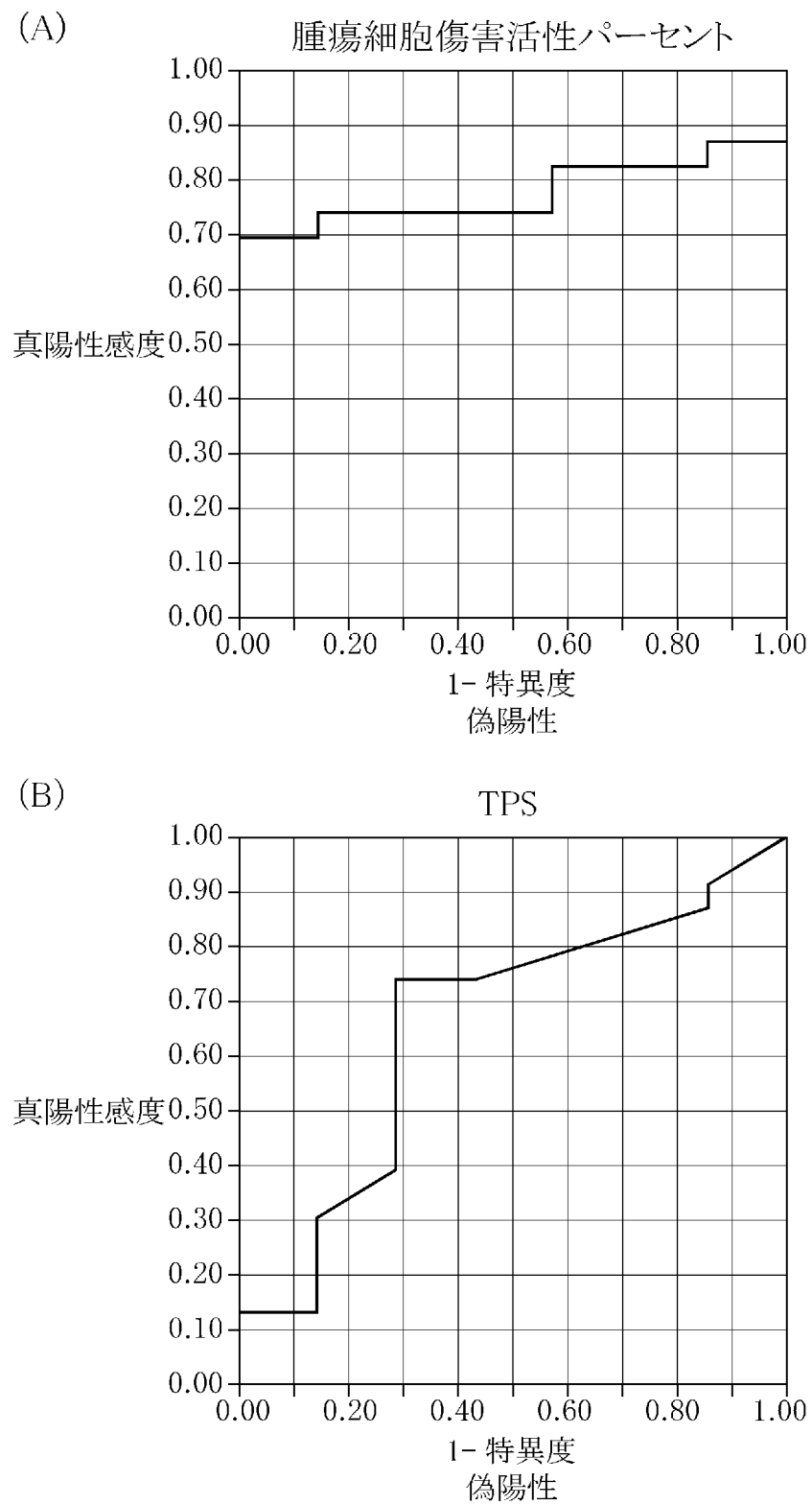
[図17]



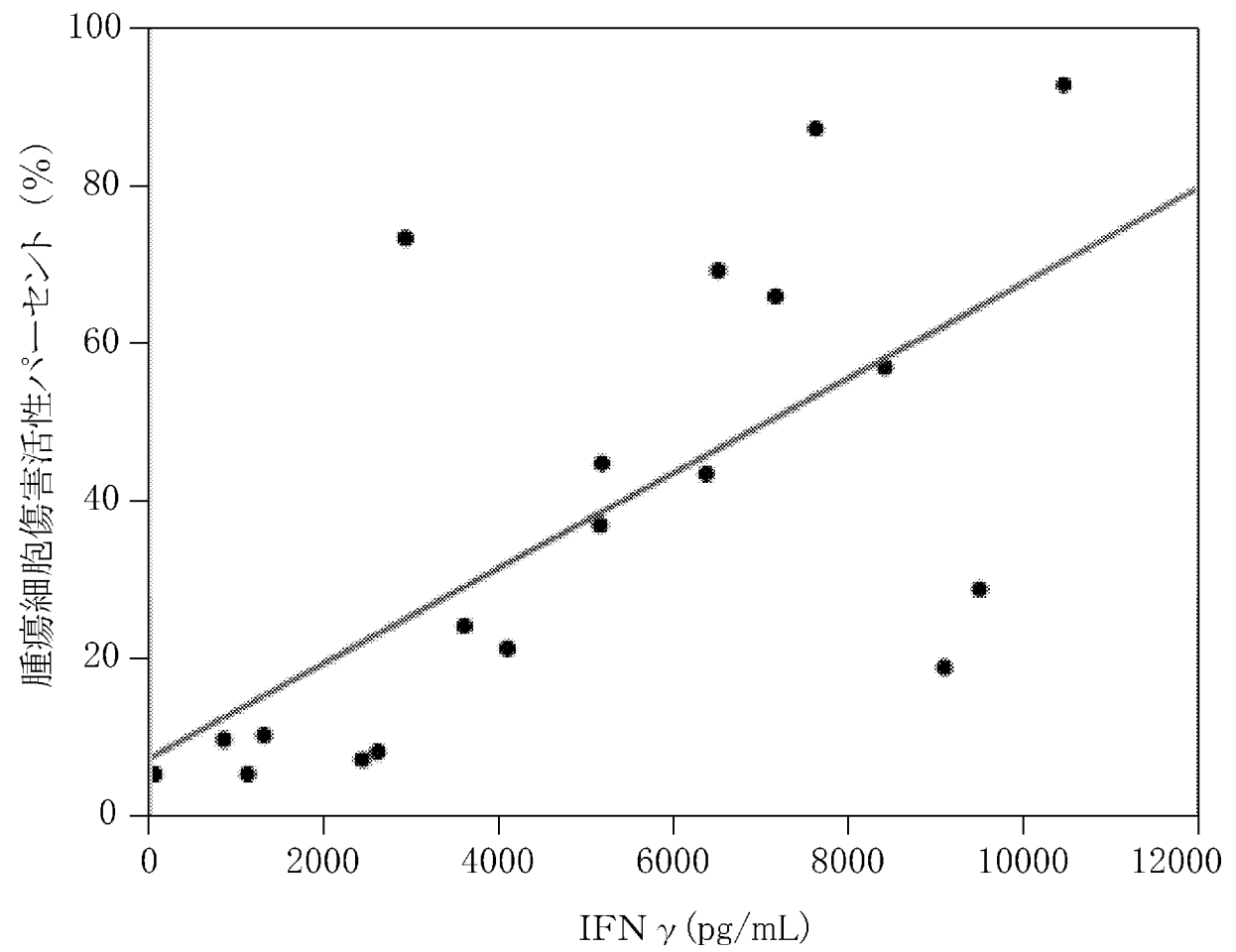
[図18]



[図19]



[図20]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2018/048494

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. C12Q1/18(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i,
C07K16/18(2006.01)i, C07K16/28(2006.01)i,
G01N33/574(2006.01)i, G01N33/577(2006.01)i,
C07K16/46(2006.01)n

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)

Int.Cl. C12Q1/18, A61K39/395, A61P35/00, C07K16/18, C07K16/28,
G01N33/574, G01N33/577, C07K16/46

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2018
Registered utility model specifications of Japan	1996-2018
Published registered utility model applications of Japan	1994-2018

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), PubMed

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y/A	DIJKSTRA, K. K. et al., "Generation of Tumor-Reactive T Cells by Co-culture of Peripheral Blood Lymphocytes and Tumor Organoids.", Cell, 2018, 174, [6], pp. 1586-1598, page 1589, left column, lines 2-3, fig. 2	1-6, 10, 12-17, 21, 23-39/7-9, 11, 18-20, 22
Y	茶本健司, 抗 PD-1/PD-L1 抗体治療におけるバイオマーカー, がん分子標的治療, 2016, vol. 13, no. 4, pp. 485-489, summary, (CHAMOTO, Kenji, "Predictive biomarkers for anti-PD-1/PD-L1 antibody therapy", Journal of Molecular Targeted Therapy for Cancer)	1-6, 10, 12-17, 21, 23-39

☒ 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

"I" 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
19 March 2019 (19.03.2019)

Date of mailing of the international search report
02 April 2019 (02.04.2019)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/048494

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2016-531907 A (ADURO BIOTECH HOLDINGS, EUROPE B.V.) 13 October 2016, claims, paragraphs [0042], [0043], [0078] & US 2016/0185870 A1, claims, paragraphs [0051], [0087] & WO 2015/016718 A1 & EP 3027210 A1 & KR 10-2016-0037989 A & CN 105682683 A	23-39

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C12Q1/18(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C07K16/18(2006.01)i, C07K16/28(2006.01)i, G01N33/574(2006.01)i, G01N33/577(2006.01)i, C07K16/46(2006.01)n

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C12Q1/18, A61K39/395, A61P35/00, C07K16/18, C07K16/28, G01N33/574, G01N33/577, C07K16/46

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2019年
日本国実用新案登録公報	1996-2019年
日本国登録実用新案公報	1994-2019年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), PubMed

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y/A	DIJKSTRA K.K., et al., Generation of Tumor-Reactive T Cells by Co-culture of Peripheral Blood Lymphocytes and Tumor Organoids., Cell, 2018, 174, [6], p.1586-1598, 第1589頁左欄第2-3段落、Figure 2	1-6, 10, 12-17, 21, 23-39/7-9, 11, 18-20, 22
Y	茶本健司, 抗PD-1/PD-L1抗体治療におけるバイオマーカー, がん分子標的治療, 2016, Vol.13, No.4, p.485-489, SUMMARY	1-6, 10, 12-17, 21, 23-39

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19.03.2019

国際調査報告の発送日

02.04.2019

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

柴原 直司

4 N

3 5 3 4

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2016-531907 A (アデュロ・バイオテック・ホールディングス・ヨーロッパ・ベスローテン・フエンノートシャップ) 2016.10.13, 特許請求の範囲、[0042], [0043], [0078]段落 & US 2016/0185870 A1, 特許請求の範囲、[0051], [0087]段落 & WO 2015/016718 A1 & EP 3027210 A1 & KR 10-2016-0037989 A & CN 105682683 A	23-39