

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-510624

(P2020-510624A)

(43) 公表日 令和2年4月9日(2020.4.9)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	4 C 0 8 7
A 6 1 P 31/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 78 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2019-531308 (P2019-531308)	(71) 出願人	518158868
(86) (22) 出願日	平成29年12月12日 (2017.12.12)		マルチビア インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	令和1年7月30日 (2019.7.30)		アメリカ合衆国 テキサス 77010-
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/065861		1028, ヒューストン, ファニン
(87) 国際公開番号	W02018/111902		ストリート 909, ヒューストン セ
(87) 国際公開日	平成30年6月21日 (2018.6.21)		ンター 2, スイート 2100
(31) 優先権主張番号	62/438, 273	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成28年12月22日 (2016.12.22)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100113413
(31) 優先権主張番号	62/433, 075		弁理士 森下 夏樹
(32) 優先日	平成28年12月12日 (2016.12.12)	(74) 代理人	100181674
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		弁理士 飯田 貴敏
		(74) 代理人	100181641
			弁理士 石川 大輔
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 がんおよび感染性疾患の治療および予防のための、ウイルス遺伝子治療および免疫チェックポイント阻害剤を含む方法および組成物

(57) 【要約】

個体に有効量の少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤およびウイルス組成物を投与することを含み、ウイルス組成物が、N1L遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質遺伝子、アデノウイルス死タンパク質 (ADP) 遺伝子、および/またはシトクロム p 450 遺伝子を含むように操作された1つまたは複数のウイルスを含む、個体においてがんを治療するための方法および組成物が本明細書で提供される。個体に有効量のウイルス組成物を投与することを含み、ウイルス組成物が、N1L遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質遺伝子、アデノウイルス死タンパク質 (ADP) 遺伝子、および/またはシトクロム p 450 遺伝子を含むように操作された2つまたはそれより多くのウイルスを含む、個体においてがんを治療するための方法および組成物も本明細書で提供される。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象においてがんを治療する方法であって、前記対象に、有効量の

(a) N1L 遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質遺伝子、アデノウイルス死タンパク質 (ADP) 遺伝子、および / またはシトクロム p450 遺伝子を含むように操作された 1 つまたは複数のウイルス、および

(b) 少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤を投与することを含む、方法。

【請求項 2】

対象においてがんを治療する方法であって、前記対象に、有効量の、N1L 遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質遺伝子、アデノウイルス死タンパク質 (ADP) 遺伝子、および / またはシトクロム p450 遺伝子を含むように操作された 2 つまたはそれより多くのウイルスを投与することを含む、方法。

10

【請求項 3】

対象においてがんまたは感染性疾患を治療または予防する方法であって、前記対象に、有効量の

(a) 少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現するワクシニアウイルスであって、N1L 遺伝子の欠失を含む、ワクシニアウイルス、および

(b) 少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現する少なくとも第 2 のウイルス

20

を投与することを含む、方法。

【請求項 4】

前記腫瘍関連抗原が、メソテリン、黒色腫関連遺伝子 (MAGE)、癌胎児性抗原 (CEA)、変異型 Ras、または変異型 p53 である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記病原体関連抗原が、感染性ウイルス、細菌、真菌、プリオン、または寄生虫生物により発現される抗原である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6】

前記ワクシニアウイルスにより発現される前記少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原および前記第 2 のウイルスにより発現される前記少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原が同じである、請求項 3 に記載の方法。

30

【請求項 7】

前記ワクシニアウイルスにより発現される前記少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原および前記第 2 のウイルスにより発現される前記少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原が異なる、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 8】

前記ウイルスが局所および / またはアブスコパル効果を誘導する、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 9】

少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤を投与することをさらに含む、請求項 2 または 3 に記載の方法。

40

【請求項 10】

2 つ、3 つ、または 4 つのウイルスが投与される、請求項 1 または請求項 2 または請求項 3 に記載の方法。

【請求項 11】

前記ウイルスが、アデノウイルス、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、水胞性口内炎ウイルス、および / または口内炎ウイルスを含む、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 12】

前記ウイルスが 1 つまたは複数のアデノウイルスを含む、請求項 1 または 2 に記載の方

50

法。

【請求項 1 3】

少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現する前記第 2 のウイルスが、アデノウイルス、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、水胞性口内炎ウイルス、および / または口内炎ウイルスである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 1 4】

少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現する前記第 2 のウイルスがアデノウイルスである、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記アデノウイルスが、少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現する前記 N 1 L を欠失したワクシニアウイルスの投与の前に投与される、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記アデノウイルス死タンパク質遺伝子が過剰発現される、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記マトリックス分解タンパク質遺伝子が、リラキシン、ヒアルロニダーゼ、またはデコリンである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記マトリックス分解タンパク質遺伝子がリラキシンである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記シトクロム p 4 5 0 遺伝子がシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記シトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子がラットシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子である、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記 N 1 L の欠失を含むように操作された前記ウイルスがワクシニアウイルスである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記シトクロム p 4 5 0 遺伝子を含むように操作された前記ウイルスが単純ヘルペスウイルスである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記マトリックス分解タンパク質および / またはアデノウイルス死タンパク質遺伝子を含むように操作された前記ウイルスがアデノウイルスである、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記ウイルスが、治療用核酸を発現するようにさらに操作される、請求項 1 または請求項 2 または請求項 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記治療用核酸が p 5 3 および / または I L - 2 4 をコードする、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

p 5 3 および / または I L - 2 4 の機能を回復または増進させることをさらに含む、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記少なくとも 1 つのチェックポイント阻害剤が、C T L A - 4、P D - 1、P D - L 1、P D - L 2、L A G - 3、B T L A、B 7 H 3、B 7 H 4、T I M 3、K I R、または A 2 a R の阻害剤から選択される、請求項 1 または 9 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 28】

前記少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤がヒトプログラム細胞死 1 (PD-1) 軸結合アンタゴニストである、請求項 1 または 9 に記載の方法。

【請求項 29】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが、PD-1 結合アンタゴニスト、PDL1 結合アンタゴニストおよび PDL2 結合アンタゴニストからなる群から選択される、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記 PD-1 軸結合アンタゴニストが PD-1 結合アンタゴニストである、請求項 28 に記載の方法。

10

【請求項 31】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、PDL1 および / または PDL2 への PD-1 の結合を阻害する、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 32】

前記 PD-1 結合アンタゴニストがモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片である、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 33】

前記 PD-1 結合アンタゴニストが、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピジリズマブ (pidilizumab)、AMP-514、REGN2810、CT-011、BMS 936559、MPDL3280A または AMP-224 である、請求項 29 に記載の方法。

20

【請求項 34】

前記少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤が抗 CTLA-4 抗体である、請求項 1 または 9 に記載の方法。

【請求項 35】

前記抗 CTLA-4 抗体がトレメリマブまたはイピリマブである、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

前記少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤が抗キラー細胞免疫グロブリン様受容体 (KIR) 抗体である、請求項 1 または 9 に記載の方法。

【請求項 37】

前記抗 KIR 抗体がリリルマブである、請求項 36 に記載の方法。

30

【請求項 38】

1 つより多くのチェックポイント阻害剤が投与される、請求項 1 または 9 に記載の方法。

【請求項 39】

前記免疫チェックポイント阻害剤が全身投与される、請求項 1 または 9 に記載の方法。

【請求項 40】

前記ウイルスが複製コンピテントまたは腫瘍溶解性である、請求項 1 または請求項 2 または請求項 3 に記載の方法。

【請求項 41】

前記ウイルスが複製インコンピテントである、請求項 1 または請求項 2 または請求項 3 に記載の方法。

40

【請求項 42】

前記ウイルスが、複製コンピテントウイルスと複製インコンピテントウイルスとの組合せを含む、請求項 1 または請求項 2 または請求項 3 に記載の方法。

【請求項 43】

前記ウイルスおよび / または前記少なくとも 1 つのチェックポイント阻害剤が、腫瘍内に、動脈内に、静脈内に、血管内に、胸膜内に、腹腔内に、気管内に、髄腔内に、筋肉内に、内視鏡的に、病巣内に、経皮的に、皮下に、局部的に、定位的に、または直接的な注射もしくは灌流により投与される、請求項 1 または 9 に記載の方法。

50

【請求項 4 4】

前記ウイルスが腫瘍内に投与される、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記ウイルスが、皮内に、皮下に、筋肉内に、腹腔内に、経口的に、吸入により、または他の形態の粘膜曝露により投与される、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記がんが、黒色腫、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺癌、肝細胞癌、網膜芽腫、星状細胞腫、膠芽腫、白血病、神経芽腫、頭部がん、頸部がん、乳がん、膵臓がん、前立腺がん、腎臓がん、骨がん、精巣がん、卵巣がん、中皮腫、子宮頸がん、胃腸がん、泌尿生殖器がん、気道がん、造血性がん、筋骨格がん、神経内分泌がん、癌腫、肉腫、中枢神経系がん、末梢神経系がん、リンパ腫、脳がん、結腸がんまたは膀胱がんである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

10

【請求項 4 7】

前記がんが転移性である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記ウイルスおよび / または前記少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤がアブスコパル効果を誘導する、請求項 1 または 9 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記対象が、前記ウイルスおよび / または前記少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤を 1 回より多く投与される、請求項 1 または 9 に記載の方法。

20

【請求項 5 0】

前記対象が、前記少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤の前に、同時に、または後に前記ウイルスを投与される、請求項 1 または 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

投与が局所または局部注射を含む、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 5 2】

投与が、連続注入、腫瘍内注射、静脈注射、動脈注射、腹腔内注射、胸膜内注射、または髄腔内注射を介して為される、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記対象がヒトである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

30

【請求項 5 4】

前記対象が健康な対象である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記対象が前がん病変を含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記前がん病変が白斑または形成異常病変である、請求項 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記対象ががんを発症するリスクを有する、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記対象が喫煙者である、請求項 5 7 に記載の方法。

40

【請求項 5 9】

前記対象ががんの家族歴を有する、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 6 0】

有効量の免疫アジュバントを投与することをさらに含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6 1】

少なくとも 1 つの追加の抗がん治療を投与することをさらに含む、請求項 1 または請求項 2 または請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記少なくとも 1 つの追加の抗がん治療が、外科療法、化学療法、放射線療法、ホルモン療法、免疫療法、小分子療法、受容体キナーゼ阻害剤療法、抗血管新生療法、サイトカ

50

イン療法、寒冷療法または生物学的療法である、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 3】

前記生物学的療法が、モノクローナル抗体、s i R N A、m i R N A、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイムまたは遺伝子療法である、請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記少なくとも 1 つの追加の抗がん治療がプロテインキナーゼ阻害剤である、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記プロテインキナーゼ阻害剤がチロシンキナーゼ阻害剤である、請求項 6 4 に記載の方法。

【請求項 6 6】

前記チロシンキナーゼ阻害剤が、ブルトン型チロシンキナーゼ (B T K) 阻害剤としてさらに定義される、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記 B T K 阻害剤が、イブルチニブ、アカラブルチニブ (A C P - 1 9 6)、O N O - 4 0 5 9、スベブルチニブ (C C - 2 9 2)、H M - 7 1 2 2 4、C G - 0 3 6 8 0 6、G D C - 0 8 3 4、O N O - 4 0 4 9、R N - 4 8 6、S N S - 0 6 2、T A S - 5 5 6 7、A V L - 1 0 1、A V L - 2 9 1、P C I - 4 5 2 6 1、H C I - 1 6 8 4、P L S - 1 2 3、および B G B - 3 1 1 1 からなる群から選択される、請求項 6 6 に記載の方法。

【請求項 6 8】

前記少なくとも 1 つの追加の抗がん治療が H D M 2 および / または H D M 4 の阻害剤である、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記 H D M 2 の阻害剤が H D M 2 0 1 である、請求項 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 0】

前記少なくとも 1 つの追加の抗がん治療が複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスである、請求項 6 1 に記載の方法。

【請求項 7 1】

前記複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスが、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、レンチウイルス、ヘルペスウイルス、ボックスウイルス、ワクシニアウイルス、水胞性口内炎ウイルス、ポリオウイルス、ニューカッスル病ウイルス、エプスタイン・バーウイルス、インフルエンザウイルスまたはレオウイルスである、請求項 7 0 に記載の方法。

【請求項 7 2】

前記複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスが、治療用核酸を発現するように操作される、請求項 7 0 に記載の方法。

【請求項 7 3】

前記治療用核酸が p 5 3 および / または I L - 2 4 をコードする、請求項 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 4】

前記複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスが単純ヘルペスウイルスである、請求項 7 0 に記載の方法。

【請求項 7 5】

前記複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスが、サイトカインを発現するように操作される、請求項 7 0 に記載の方法。

【請求項 7 6】

前記サイトカインが顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (G M - C S F) である、請求項 7 5 に記載の方法。

【請求項 7 7】

10

20

30

40

50

前記複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスが、タリモジーン・ラハーパレブベック（T - V E C）としてさらに定義される、請求項 70 に記載の方法。

【請求項 78】

前記少なくとも 1 つの追加の抗がん治療がプロテインキナーゼまたは成長因子シグナル伝達経路阻害剤である、請求項 61 に記載の方法。

【請求項 79】

前記プロテインキナーゼまたは成長因子シグナル伝達経路阻害剤が、アフアチニブ、アキシチニブ、ペバシズマブ、ボスチニブ、セツキシマブ、クリゾチニブ、ダサチニブ、エルロチニブ、フォスタマチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、ラパチニブ、レンバチニブ、ムブリチニブ、ニロチニブ、パニツムマブ、パゾパニブ、ペガブタニブ、ラニビズマブ、ルキソリチニブ、サラカチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、トラスツズマブ、バンデタニブ、A P 2 3 4 5 1、ベムラフェニブ、C A L 1 0 1、P X - 8 6 6、L Y 2 9 4 0 0 2、ラパマイシン、テムシロリムス、エベロリムス、リダホロリムス、アルボシジブ、ゲニステイン、セルメチニブ、A Z D - 6 2 4 4、パタラニブ、P 1 4 4 6 A - 0 5、A G - 0 2 4 3 2 2、Z D 1 8 3 9、P 2 7 6 - 0 0 または G W 5 7 2 0 1 6 である、請求項 78 に記載の方法。

10

【請求項 80】

前記プロテインキナーゼ阻害剤が P I 3 K 阻害剤である、請求項 78 に記載の方法。

【請求項 81】

前記 P I 3 K 阻害剤が P I 3 K デルタ阻害剤である、請求項 80 に記載の方法。

20

【請求項 82】

前記免疫療法がサイトカインを含む、請求項 62 に記載の方法。

【請求項 83】

前記サイトカインが顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（G M - C S F）である、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 84】

前記サイトカインがインターロイキンおよび / またはインターフェロンである、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 85】

前記インターロイキンが I L - 2 である、請求項 84 に記載の方法。

30

【請求項 86】

前記インターフェロンが I F N である、請求項 84 に記載の方法。

【請求項 87】

前記免疫療法が、共刺激受容体アゴニスト、自然免疫細胞の刺激因子、または自然免疫の活性化因子を含む、請求項 62 に記載の方法。

【請求項 88】

前記共刺激受容体アゴニストが、抗 O X 4 0 抗体、抗 G I T R 抗体、抗 C D 1 3 7 抗体、抗 C D 4 0 抗体、または抗 C D 2 7 抗体である、請求項 87 に記載の方法。

【請求項 89】

前記免疫細胞の刺激因子が、細胞傷害性阻害受容体の阻害剤または免疫刺激 t o l l 様受容体（T L R）のアゴニストである、請求項 87 に記載の方法。

40

【請求項 90】

前記細胞傷害性阻害受容体が、N K G 2 A / C D 9 4 または C D 9 6 T A C T I L E の阻害剤である、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 91】

前記 T L R アゴニストが T L R 7 アゴニスト、T L R 8 アゴニスト、または T L R 9 アゴニストである、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 92】

前記免疫療法が、P D - L 1 阻害剤、4 - 1 B B アゴニスト、および O X 4 0 アゴニストの組合せを含む、請求項 62 に記載の方法。

50

【請求項 9 3】

前記免疫療法がインターフェロン遺伝子の刺激因子 (S T I N G) アゴニストを含む、請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 9 4】

前記自然免疫の活性化因子が、 I D O 阻害剤、 T G F 阻害剤、または I L - 1 0 阻害剤である、請求項 8 7 に記載の方法。

【請求項 9 5】

前記化学療法が D N A 損傷剤を含む、請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 9 6】

前記 D N A 損傷剤が、ガンマ照射、X 線、U V 照射、マイクロ波、電子放射、アドリアマイシン、5 - フルオロウラシル (5 F U)、カペシタビン、エトポシド (V P - 1 6)、カンプトテシン、アクチノマイシン D、ミトマイシン C、シスプラチン (C D D P)、または過酸化水素である、請求項 9 4 に記載の方法。

10

【請求項 9 7】

前記 D N A 損傷剤が 5 F U またはカペシタビンである、請求項 9 4 に記載の方法。

【請求項 9 8】

前記化学療法が、シスプラチン (C D D P)、カルボプラチン、プロカルバジン、メクロレタミン、シクロホスファミド、カンプトテシン、イホスファミド、メルファラン、クロラムブシル、ブスルファン、ニトロソウレア、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ドキシソルビシン、ブレオマイシン、プリカマイシン、ミトマイシン、エトポシド (V P 1 6)、タモキシフェン、タキソテル、タキソール、トランス白金、5 - フルオロウラシル、ビンクリスチン、ビンブラスチン、メトトレキサート、またはこれらの任意のアナログもしくは誘導体バリエーションを含む、請求項 6 2 に記載の方法。

20

【請求項 9 9】

(a) N 1 L 遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質遺伝子、アデノウイルス死タンパク質 (A D P) 遺伝子、および / またはシトクロム p 4 5 0 遺伝子を含むように操作された 1 つまたは複数のウイルス、および (b) 少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤を含む、医薬組成物。

【請求項 1 0 0】

前記 1 つまたは複数のウイルスが、リラキシンを発現するように操作されたウイルス、アデノウイルス死タンパク質 (A D P) 遺伝子を過剰発現するように操作されたウイルス、N 1 L 遺伝子を欠失するように操作されたワクシニアウイルス、およびラットシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子を発現するように操作された単純ヘルペスウイルスからなる群から選択される、請求項 9 9 に記載の組成物。

30

【請求項 1 0 1】

N 1 L 遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質遺伝子、アデノウイルス死タンパク質 (A D P) 遺伝子、および / またはシトクロム p 4 5 0 遺伝子を含むように操作された 2 つまたはそれより多くのウイルスを含む、医薬組成物。

【請求項 1 0 2】

前記 2 つまたはそれより多くのウイルスが、リラキシンを発現するように操作されたウイルス、前記アデノウイルス死タンパク質 (A D P) 遺伝子を過剰発現するように操作されたウイルス、前記 N 1 L 遺伝子を欠失するように操作されたワクシニアウイルス、およびラットシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子を発現するように操作された単純ヘルペスウイルスからなる群から選択される、請求項 1 0 1 に記載の組成物。

40

【請求項 1 0 3】

前記ウイルスが、アデノウイルス、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、水胞性口内炎ウイルス、および / または口内炎ウイルスを含む、請求項 9 9 または 1 0 1 に記載の組成物。

【請求項 1 0 4】

前記ウイルスが 1 つまたは複数のアデノウイルスを含む、請求項 9 9 または 1 0 1 に記

50

載の組成物。

【請求項 105】

前記アデノウイルス死タンパク質が過剰発現される、請求項 99 または 101 に記載の組成物。

【請求項 106】

前記マトリックス分解タンパク質が、リラキシン、ヒアルロニダーゼ、またはデコリンである、請求項 99 または 101 に記載の組成物。

【請求項 107】

前記マトリックス分解タンパク質がリラキシンである、請求項 99 または 101 に記載の組成物。

10

【請求項 108】

前記シトクロム p 450 遺伝子がシトクロム p 450 2 B 1 遺伝子である、請求項 99 または 101 に記載の組成物。

【請求項 109】

前記シトクロム p 450 2 B 1 遺伝子がラットシトクロム p 450 2 B 1 遺伝子である、請求項 108 に記載の組成物。

【請求項 110】

前記 N 1 L の欠失を含むように操作された前記ウイルスがワクシニアウイルスである、請求項 99 または 101 に記載の組成物。

【請求項 111】

前記シトクロム p 450 遺伝子を含むように操作された前記ウイルスが単純ヘルペスウイルスである、請求項 99 または 101 に記載の組成物。

20

【請求項 112】

前記マトリックス分解タンパク質および / またはアデノウイルス死タンパク質を含むように操作された前記ウイルスがアデノウイルスである、請求項 105 に記載の組成物。

【請求項 113】

(a) 少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原および N 1 L 遺伝子の欠失を発現するワクシニアウイルス、および (b) 少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現する少なくとも第 2 のウイルスを含む、医薬組成物。

【請求項 114】

前記腫瘍関連抗原が、メソテリン、黒色腫関連遺伝子 (M A G E)、癌胎児性抗原 (C E A)、変異型 R a s、または変異型 p 53 である、請求項 113 に記載の組成物。

30

【請求項 115】

前記病原体関連抗原が、感染性ウイルス、細菌、真菌、プリオン、または寄生虫生物により発現される抗原である、請求項 113 に記載の組成物。

【請求項 116】

少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現する前記第 2 のウイルスがアデノウイルスである、請求項 113 に記載の組成物。

【請求項 117】

前記ワクシニアウイルスにより発現される前記少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原および前記第 2 のウイルスにより発現される前記少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原が同じである、請求項 113 に記載の組成物。

40

【請求項 118】

前記ワクシニアウイルスにより発現される前記少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原および前記第 2 のウイルスにより発現される前記少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原が異なる、請求項 113 に記載の組成物。

【請求項 119】

免疫アジュバントをさらに含む、請求項 113 に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

50

【 0 0 0 1 】

本出願は、2016年12月12日に出願された米国仮出願第62/433,075号、2016年12月22日に出願された米国仮出願第62/438,273号、2017年1月9日に出願された米国仮出願第62/444,160号の優先権の利益を主張し、各出願の内容全体は、本明細書において参考として援用される。

【 背景技術 】

【 0 0 0 2 】

1. 発明の分野

本発明は、概して、生物学および薬剤の分野に関する。より具体的には、本発明は局所および/またはアブスコパル効果を誘導する遺伝子操作されたウイルスを組み合わせた方法および組成物に関する。

10

【 0 0 0 3 】

2. 関連技術の説明

がんの現行の療法は、局所領域の治療、例えば手術または放射線、および全身投与される剤、例えば化学療法およびモノクローナル抗体を含む。

【 0 0 0 4 】

アブスコパル効果は、転移がんの治療においてまれな現象であり、腫瘍の局在化された治療が、治療された腫瘍および局在化された治療の範囲外の追加の腫瘍の退縮を引き起こす。この現象は、医師であるR. H. Moleにより放射線療法について1953年に最初に定義され、彼は、治療された体積から距離があるが、同じ生物内での治療効果を指すために「アブスコパル」(a b s c o p a l ; 「a b」-離れて、「s c o p u s」-標的)(Mole、1953年)という用語を提案した。

20

【 0 0 0 5 】

局所領域および全身の両方のがん治療の進歩にかかわらず、米国において年間約500,000人のがんによる死亡が推定されている。それゆえ、局所およびアブスコパルの有効性を増加させることができる改善されたがん療法の満たされていない必要性が存在する。

【 発明の概要 】

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 6 】

ある特定の実施形態では、本開示は、ウイルス組成物を投与して対象においてがんを治療することによるがんを治療する方法を提供する。一実施形態では、本開示は、対象においてがんを治療する方法および組成物であって、対象にN1L遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質(matrix-degrading protein)遺伝子、アデノウイルス死タンパク質(adenoviral death protein; ADP)遺伝子、および/またはシトクロムp450遺伝子を含むように操作された有効量の2つまたはそれより多くのウイルスを投与することを含む、方法および組成物を提供する。ある特定の態様では、アデノウイルス死タンパク質は過剰発現される。特定の態様では、N1Lの欠失を含むように操作されたウイルスはワクシニアウイルスである。一部の態様では、シトクロムp450遺伝子を含むように操作されたウイルスは単純ヘルペスウイルスである。ある特定の態様では、マトリックス分解タンパク質および/またはアデノウイルス死タンパク質を含むように操作されたウイルスはアデノウイルスである。

30

40

【 0 0 0 7 】

別の実施形態では、本開示は、対象においてがんを治療する方法および組成物であって、対象に、有効量の(a)N1L遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質遺伝子、アデノウイルス死タンパク質(ADP)遺伝子、および/またはシトクロムp450遺伝子を含むように操作された1つまたは複数のウイルス1つまたは複数のウイルス、および(b)少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤を投与することを含む、方法および組成物を提供する。ある特定の態様では、1つより多くのチェックポイント阻害剤が投与される。特定の態様では、ウイルスの1つ、2つ、3つ、または4つ全てが投与される。あ

50

る特定の態様では、アデノウイルス死タンパク質は過剰発現される。特定の態様では、N 1 L の欠失を含むように操作されたウイルスはワクシニアウイルスである。一部の態様では、シトクロム p 4 5 0 遺伝子を含むように操作されたウイルスは単純ヘルペスウイルスである。ある特定の態様では、マトリックス分解タンパク質および / またはアデノウイルス死タンパク質を含むように操作されたウイルスはアデノウイルスである。

【 0 0 0 8 】

1 つの特定の態様では、上記実施形態におけるウイルス組成物は、以下のウイルス： (a) リラキシン遺伝子を発現するように操作されたウイルス、 (b) アデノウイルス死タンパク質 (A D P) 遺伝子を過剰発現するように操作されたウイルス、 (c) N 1 L 遺伝子を欠失するように操作されたワクシニアウイルス、および (d) ラットシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子を発現するように操作された単純ヘルペスウイルスの 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つを含んでよい。

10

【 0 0 0 9 】

一実施形態では、本開示は、対象においてがんまたは感染性疾患を治療または予防するための方法および組成物であって、対象に、有効量の (a) 少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現するワクシニアウイルスであって、N 1 L 遺伝子の欠失を含む、ワクシニアウイルス、および (b) 少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現する少なくとも第 2 のウイルス、好ましくはアデノウイルスを投与することを含む、方法および組成物を提供する。ある特定の態様では、腫瘍関連抗原は、メソテリン、黒色腫関連遺伝子 (melanoma-associated gene ; M A G E) 、癌胎児性抗原 (C E A) 、変異型 R a s 、または変異型 p 5 3 である。ある特定の態様では、病原体関連抗原は、感染性ウイルス、細菌、真菌、プリオン、または寄生虫生物により発現される抗原である。一部の態様では、ワクシニアウイルスにより発現される少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原および第 2 のウイルスにより発現される少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原は同じである。他の態様では、ワクシニアウイルスにより発現される少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原および第 2 のウイルスにより発現される少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原は異なる。ある特定の態様では、第 2 のウイルス、好ましくはアデノウイルスは、少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現する N 1 L を欠失したワクシニアウイルスの投与の前に投与される。ある特定の態様では、対象は、開始プライミングワクチン接種の後に 1 つまたは複数のブースターワクチン接種を提供するように 1 回より多くウイルス組成物を投与される。一部の態様では、対象は、腫瘍抑制因子免疫遺伝子療法をさらに投与される (P C T / U S 2 0 1 6 / 0 6 0 8 3 3 を参照 ; 参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる) 。

20

30

【 0 0 1 0 】

一部の態様では、上記実施形態のウイルスは、アデノウイルス、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、水胞性口内炎ウイルス、および / または口内炎ウイルスを含む。ある特定の態様では、ウイルスは 1 つまたは複数のアデノウイルスを含む。

【 0 0 1 1 】

一部の態様では、マトリックス分解タンパク質は、リラキシン、ヒアルロニダーゼ、またはデコリンである。特定の態様では、マトリックス分解タンパク質はリラキシンである。

40

【 0 0 1 2 】

ある特定の態様では、シトクロム p 4 5 0 遺伝子はシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子である。特定の態様では、シトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子はラットシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子である。

【 0 0 1 3 】

一部の態様では、ウイルス組成物は局所および / またはアブスコパル効果を誘導する。一部の態様では、ウイルス組成物は局所およびアブスコパル効果を誘導する。

【 0 0 1 4 】

50

ある特定の態様では、ウイルスは複製コンピテントまたは腫瘍溶解性である。ある特定の態様では、ウイルスは複製インコンピテントである。ある特定の態様では、ウイルス組成物は、複製コンピテントウイルスと複製インコンピテントウイルスとの組合せを含む。

【0015】

一部の態様では、リラキシンを発現するように操作されたウイルスおよび/またはアデノウイルス死タンパク質 (ADP) を過剰発現するように操作されたウイルスは、アデノウイルス、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、水胞性口内炎ウイルス、または口内炎ウイルスである。特定の態様では、リラキシンを発現するように操作されたウイルスおよび/またはアデノウイルス死タンパク質 (ADP) を過剰発現するように操作されたウイルスはアデノウイルスである。

10

【0016】

特定の態様では、治療される対象は哺乳動物またはヒトである。ある特定の態様では、治療は、前がん性または悪性の過剰増殖状態を予防または治療するために提供される。予防のある特定の態様では、対象は健康な対象である。予防の他の態様では、対象は、前がん病変、例えば、白斑または形成異常病変を含む。予防の他の態様では、対象は、例えば、喫煙者であることまたはがんの家族歴を有することなどにより、がんを発症するリスクを有する。ある特定の態様では、治療は、最初または再発性の過剰増殖状態のためのものである。一部の態様では、治療は、別の療法への抵抗性を増大または後退させるために投与される。ある特定の態様では、治療への抵抗性は、過剰増殖状態患者の特定の集団について歴史により既知である。ある特定の態様では、治療への抵抗性は、個々の過剰増殖状態患者において観察される。

20

【0017】

ある特定の態様では、対象に投与されるウイルスは、リラキシンを発現するように操作される。一部の態様では、リラキシンは全長リラキシンである。他の態様では、リラキシンは、生物学的活性を保持するリラキシン分子の断片である (例えば、米国特許第5,023,321号に記載されている)。特定の態様では、リラキシンは、組換えヒトリラキシ (H2) またはリラキシン様活性を有する他の活性剤、例えば、結合したリラキシンを受容体から競合的に解離させる剤である。

【0018】

ある特定の態様では、ADPを過剰発現するように操作されたウイルスは、VRX-007と称される血清型5アデノウイルス (すなわち、E3領域のほとんどを欠失し、E3-11.6Kアデノウイルス死タンパク質 (ADP) を過剰発現するように操作された腫瘍溶解性アデノウイルスベクター) である。VRX-007はまた、他の治療遺伝子を発現するように改変されてもよい。VRX-007の構築は以前に記載されている (Doronin 2003年; Tollefson 1996年; Lichtenstein 2004年)。

30

【0019】

ある特定の態様では、N1Lを欠失するように操作されたワクシニアウイルスは、Western Reserve株、Wyeth株およびLyster株に由来する。これらの各株の様々な欠失変異体が生産されている。ある特定の態様では、用いられるN1L欠失誘導体VV15N1Lは、Wangら、2015年に記載されるものである (特許WO 2015/150809A1)。VV15N1Lベクターはまた、IL-12および/またはリラキシンが挙げられるがこれらに限定されない治療遺伝子を発現するように改変されてもよい。一部の態様では、VV15N1Lベクターはまた、免疫チェックポイント阻害剤およびPI3K阻害剤と組み合わせられる。特定の態様では、PI3KデルタまたはPI3Kガンマ/デルタ阻害剤が、ウイルスベクターの静脈内投与を増進させるために投与される。1つの特定の態様では、対象は、静脈内VV15N1Lベクターの前 (例えば、数時間前) にPI3Kデルタ阻害剤を投与される。

40

【0020】

ある特定の態様では、ラットシトクロムp450 2B1遺伝子を発現するように操作された単純ヘルペスウイルスは、欠失したICP6遺伝子を有し、(Aghiら、1999年

50

）にさらに記載されるように r R p 4 5 0 と称される。ベクターは、シクロホスファミド（C P A）感受性ラットシトクロム p 4 5 0 2 B 1、およびガンシクロビル（G C V）感受性単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（H S V - T K）遺伝子の発現をコードする。シトクロム p 4 5 0 および H S V - T K 遺伝子の発現は、それぞれ C P A および G C V プロドラッグのそれらの治療活性代謝物への変換を結果としてもたらす。特定の態様では、r R p 4 5 0 は、C P A および G C V と組み合わせて投与される。

【0021】

ある特定の態様では、少なくとも1つのチェックポイント阻害剤は、C T L A - 4、P D - 1、P D - L 1、P D - L 2、L A G - 3、B T L A、B 7 H 3、B 7 H 4、T I M 3、K I R、または A 2 a R の阻害剤から選択される。一部の態様では、少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤は抗 C T L A - 4 抗体である。一部の態様では、抗 C T L A - 4 抗体はトレメリムマブまたはイビリムマブである。ある特定の態様では、少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤は抗キラー細胞免疫グロブリン様受容体（K I R）抗体である。一部の実施形態では、抗 K I R 抗体はリリルマブである。一部の態様では、P D - L 1 の阻害剤は、デュルバルマブ、アテゾリズマブ、またはアベルマブである。一部の態様では、P D - L 2 の阻害剤は r H I g M 1 2 B 7 である。一部の態様では、L A G 3 阻害剤は I M P 3 2 1、または B M S - 9 8 6 0 1 6 である。一部の態様では、A 2 a R の阻害剤は P B F - 5 0 9 である。

10

【0022】

一部の態様では、少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤はヒトプログラム細胞死 1（P D - 1）軸結合アンタゴニストである。ある特定の態様では、P D - 1 軸結合アンタゴニストは、P D - 1 結合アンタゴニスト、P D L 1 結合アンタゴニストおよび P D L 2 結合アンタゴニストからなる群から選択される。一部の態様では、P D - 1 軸結合アンタゴニストは P D - 1 結合アンタゴニストである。ある特定の態様では、P D - 1 結合アンタゴニストは、P D L 1 および / または P D L 2 への P D - 1 の結合を阻害する。特に、P D - 1 結合アンタゴニストは、モノクローナル抗体またはその抗原結合性断片である。一部の実施形態では、P D - 1 結合アンタゴニストは、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピジリズマブ、A M P - 5 1 4、R E G N 2 8 1 0、C T - 0 1 1、B M S 9 3 6 5 5 9、M P D L 3 2 8 O A または A M P - 2 2 4 である。

20

【0023】

一部の態様では、ウイルス組成物は、腫瘍内に、動脈内に、静脈内に、血管内に、胸膜内に、腹腔内に、気管内に、髄腔内に、筋肉内に、内視鏡的に、病巣内に、経皮的に、皮下に、局部的に、定位的に、または直接的な注射もしくは灌流により投与される。一部の態様では、投与は、連続注入、腫瘍内注射、静脈注射、動脈注射、腹腔内注射、胸膜内注射、または髄腔内注射を介して為される。一部の態様では、ウイルス組成物は、皮内に、皮下に、筋肉内に、腹腔内に、経口的に、吸入により、または他の形態の粘膜曝露により投与される。

30

【0024】

ある特定の態様では、対象は、少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤の後にウイルス組成物を投与される。ある特定の態様では、対象は、少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤の前にウイルス組成物を投与される。ある特定の態様では、対象は、少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤と同時にウイルス組成物を投与される。一部の態様では、ウイルス組成物は、対象の局所領域に投与され、処置されていない遠位の腫瘍に対してアブスコパル効果を誘導する。一部の態様では、ウイルス組成物および少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤は、ウイルス組成物を注射されていない遠位の腫瘍に対してアブスコパル効果を誘導する。

40

【0025】

ある特定の態様では、がんは、黒色腫、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺癌、肝細胞癌、網膜芽腫、星状細胞腫、膠芽腫、白血病、神経芽腫、頭部がん、頸部がん、乳がん、膵臓がん、前立腺がん、腎臓がん、骨がん、精巣がん、卵巣がん、中皮腫、子宮頸がん

50

、胃腸がん、泌尿生殖器がん、気道がん、造血性がん、筋骨格がん、神経内分泌がん、癌腫、肉腫、中枢神経系がん、末梢神経系がん、リンパ腫、脳がん、結腸がんまたは膀胱がんである。一部の態様では、がんは転移性である。

【0026】

ある特定の態様では、ウイルス組成物は、約 10^3 ~ 約 10^{13} 個のウイルス粒子で投与される。一部の態様では、ウイルス組成物は、対象に、静脈内に、動脈内に、血管内に、胸膜内に、腹腔内に、気管内に、腫瘍内に、髄腔内に、筋肉内に、内視鏡的に、病巣内に、経皮的に、皮下に、局部的に、定位的に、または直接的な注射もしくは灌流により投与される。ある特定の態様では、対象は、1回より多くウイルス組成物を投与される。ウイルス組成物は、治療される対象中の1つまたは複数の腫瘍に投与されてもよい。

10

【0027】

一部の態様では、ウイルス組成物は、治療用核酸を発現するようにさらに操作されている。ある特定の態様では、治療用核酸は、腫瘍抑制因子遺伝子、免疫刺激遺伝子、放射線増進遺伝子、または化学療法増進遺伝子である。ある特定の態様では、治療用核酸はまた、他の遺伝子、例えば siRNA または miRNA の発現を調節してもよい。一部の態様では、治療遺伝子は、p53 および / もしくは IL-24 または類似のもしくは改善された機能を有するそのバリエーションをコードする。他の態様では、p53 または IL-24 の機能を回復または増進させる方法およびこれらの方法は当該技術分野において公知であり、これらもまた本発明の実施形態において使用するために想定される。

20

【0028】

ある特定の態様では、投与は、局所 (local) または局部 (regional) 注射を含む。他の態様では、投与は、連続注入、腫瘍内注射、静脈注射または動脈注射を介して為される。

【0029】

一部の態様では、方法は、少なくとも1つの追加の抗がん治療を施すことをさらに含む。ある特定の態様では、少なくとも1つの追加の抗がん治療は、外科療法、化学療法 (例えば、プロテインキナーゼ阻害剤または EGFR 標的化療法の投与)、塞栓療法、化学塞栓療法、放射線療法、寒冷療法、ハイパーサーミア治療、光線療法、ラジオ焼灼療法、ホルモン療法、免疫療法、小分子療法、受容体キナーゼ阻害剤療法、抗血管新生療法、サイトカイン療法または生物学的療法、例えば、モノクローナル抗体、siRNA、miRNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイムもしくは遺伝子療法である。特定の態様では、少なくとも1つの追加の抗がん治療は、プロテインキナーゼ阻害剤、例えばチロシンキナーゼ阻害剤である。1つの特定の態様では、プロテインキナーゼ阻害剤は、ブルトン型チロシンキナーゼ (BTK) 阻害剤 (例えば、イブルチニブ、アカラブルチニブ (ACP-196)、ONO-4059、スベブルチニブ (CC-292)、HM-71224、CG-036806、GDC-0834、ONO-4049、RN-486、SNS-062、TAS-5567、AVL-101、AVL-291、PCI-45261、HCI-1684、PLS-123、または BGB-3111) である。一部の態様では、1つまたは複数の BTK 阻害剤は、ウイルス組成物と組み合わせて投与される。ある特定の態様では、1つまたは複数の BTK 阻害剤は、ウイルス組成物および少なくとも1つ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。一部の態様では、少なくとも1つの追加の抗がん治療は、p53 活性の阻害を後退させるものなどの、HDM2 (MDM2 としても公知) および / または HDM4 の阻害剤 (例えば、小分子阻害剤) である。特定の態様では、HDM2 の小分子阻害剤は、HDM201、シス-イミダゾリン (例えば、ヌトリン)、ベンゾジアゼピン (BDP)、スピロオキシインドールである。

30

40

【0030】

一部の態様では、免疫療法はサイトカインを含む。特定の態様では、サイトカインは、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、インターロイキン、例えば IL-2、および / またはインターフェロン、例えば IFN- α である。腫瘍標的化免疫応答を増強させる追加のアプローチとしては、追加の免疫チェックポイント阻害が挙

50

げられる。一部の態様では、免疫チェックポイント阻害は、抗CTLA4、抗PD-1、抗PD-L1、抗PD-L2、抗TIM-3、抗LAG-3、抗A2aR、または抗KIR抗体を含む。一部の態様では、免疫療法は、共刺激受容体アゴニスト、例えば、抗OX40抗体、抗GITR抗体、抗CD137抗体、抗CD40抗体、および抗CD27抗体を含む。ある特定の態様では、免疫療法は、制御性T細胞(Treg)、骨髄由来抑制細胞(MDSC)およびがん関連線維芽細胞(CAF)の抑制を含む。さらなる態様では、免疫療法は、自然免疫細胞、例えば、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、および樹状細胞の刺激を含む。追加の免疫刺激治療としては、IDO阻害剤、TGF-β阻害剤、IL-10阻害剤、インターフェロン遺伝子の刺激因子(stimulator of interferon genes; STING)アゴニスト、tol様受容体(TLR)アゴニスト(例えば、TLR7、TLR8、またはTLR9)、腫瘍ワクチン(例えば、全腫瘍細胞ワクチン、ペプチド、および組換え腫瘍関連抗原ワクチン)、および養子細胞療法(ACIT)(例えば、T細胞、ナチュラルキラー細胞、TIL、およびLAK細胞)を挙げることができる。ある特定の態様では、これらの剤の組合せ、例えば、免疫チェックポイント阻害剤、チェックポイント阻害+T細胞共刺激受容体のアゴニズム、およびチェックポイント阻害+TIL ACITを組み合わせ使用することができる。ある特定の態様では、追加の抗がん治療としては、抗PD-L1免疫チェックポイント阻害剤(例えば、アベルマブ)、4-1BB(CD-137)アゴニスト(例えば、ウトミルマブ(Utomilumab))、およびOX40(TNFRS4)アゴニストの組合せが挙げられる。

10

20

【0031】

一部の態様では、化学療法はDNA損傷剤を含む。一部の実施形態では、DNA損傷剤は、ガンマ照射、X線、UV照射、マイクロ波、電子放射、アドリアマイシン、5-フルオロウラシル(5FU)、カペシタビン、エトポシド(VP-16)、カンプトテシン、アクチノマイシンD、ミトマイシンC、シスプラチン(CDDP)、または過酸化水素である。特定の態様では、DNA損傷剤は5FUまたはカペシタビンである。一部の態様では、化学療法は、シスプラチン(CDDP)、カルボプラチン、プロカルバジン、メクロレタミン、シクロホスファミド、カンプトテシン、イホスファミド、メルファラン、クロラムブシル、ブスルファン(bisulfan)、ニトロソウレア(nitrosurea)、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ドキシソルビシン(doxorubicin)、ブレオマイシン、プリカマイシン(plicomycin)、ミトマイシン、エトポシド(VP16)、タモキシフェン、タキソテール、タキソール、トランス白金、5-フルオロウラシル、ビンクリスチン(vincristin)、ビンブラスチン(vinblastin)、メトトレキサート、HDAC阻害剤またはこれらの任意のアナログもしくは誘導体バリエーションを含む。

30

【0032】

一部の態様では、少なくとも1つの追加の抗がん治療は複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスである。ある特定の態様では、複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスは、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、レンチウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、ワクシニアウイルス、水胞性口内炎ウイルス、ポリオウイルス、ニューカッスル病ウイルス、エプスタイン・バーウイルス、インフルエンザウイルス、またはレオウイルスである。特定の態様では、複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスは単純ヘルペスウイルスである。一部の態様では、複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスは、導入遺伝子、例えば腫瘍抑制因子(例えば、p53)および/またはサイトカイン(例えば、IL-24)を発現するように操作されている。一部の実施形態では、サイトカインは顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)である。一部の実施形態では、複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスは、タリモジーン・ラハーパーレブベック(T-VEC)(例えば、IMLYGIC(商標))としてさらに定義される。一部の実施形態では、追加の複製コンピテントまたは複製インコンピテントウイルスは、局所/アブスコパルウイルス組成物および免疫チェックポイント阻害剤の前に、同時に、または後に投与される。

40

【0033】

50

一部の態様では、少なくとも1つの追加のがん治療は、プロテインキナーゼまたは成長因子シグナル伝達経路に關与する受容体を阻害するプロテインキナーゼ阻害剤またはモノクローナル抗体である。例えば、プロテインキナーゼまたは受容体阻害剤は、EGFR、VEGFR、AKT、Erb1、Erb2、ErbB、Syk、Bcr-Ab1、JAK、Src、GSK-3、PI3K、Ras、Raf、MAPK、MAPKK、mTOR、c-Kit、ephr受容体またはBRAF阻害剤であり得る。特定の態様では、プロテインキナーゼ阻害剤はPI3K阻害剤である。一部の実施形態では、PI3K阻害剤はPI3Kデルタ阻害剤である。例えば、プロテインキナーゼまたは受容体阻害剤は、アフマチニブ、アキシチニブ、ベバシズマブ、ボスチニブ、セツキシマブ、クリゾチニブ、ダサチニブ、エルロチニブ、フォスタマチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、ラパチニブ、レンパチニブ、ムブリチニブ、ニロチニブ、パニツムマブ、パゾパニブ、ペガブタニブ、ラニビズマブ、ルキシロチニブ、サラカチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、トラスツズマブ、バンデタニブ、AP23451、ベムラフェニブ、CAL101、PX-866、LY294002、ラパマイシン、テムシロリムス、エベロリムス、リダホロリムス、アルボシジブ、ゲニステイン、セルメチニブ、AZD-6244、パタラニブ、P1446A-05、AG-024322、ZD1839、P276-00、GW572016、またはこれらの混合物であり得る。ある特定の態様では、プロテインキナーゼ阻害剤はAKT阻害剤（例えば、MK-2206、GSK690693、A-443654、VQD-002、ミルテホシンまたはベリホシン）である。ある特定の態様では、実施形態にしたがって使用するためのEGFR標的化療法としては、EGFR/ErbB1/HER、ErbB2/Neu/HER2、ErbB3/HER3、および/またはErbB4/HER4の阻害剤が挙げられるがこれらに限定されない。広範なそのような阻害剤が公知であり、該阻害剤としては、該受容体に対して活性のチロシンキナーゼ阻害剤およびEGFR結合抗体またはアプタマーが挙げられるがこれらに限定されない。例えば、EGFR阻害剤は、ゲフィチニブ、エルロチニブ、セツキシマブ、マツズマブ、パニツムマブ、AEE788；CI-1033、HKI-272、HKI-357、またはEKB-569であり得る。プロテインキナーゼ阻害剤は、BRAF阻害剤、例えばダブラフェニブ、またはMEK阻害剤、例えばトラメチニブであってよい。

【0034】

さらなる実施形態では、(a) N1L遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質遺伝子、アデノウイルス死タンパク質(ADP)遺伝子、および/またはシトクロムp450遺伝子を含むように操作された1つまたは複数のウイルス、および(b)少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤を含む医薬組成物が提供される。ある特定の態様では、アデノウイルス死タンパク質は過剰発現される。特定の態様では、N1Lの欠失を含むように操作されたウイルスはワクシニアウイルスである。一部の態様では、シトクロムp450遺伝子を含むように操作されたウイルスは単純ヘルペスウイルスである。ある特定の態様では、マトリックス分解タンパク質および/またはアデノウイルス死タンパク質を含むように操作されたウイルスはアデノウイルスである。

【0035】

1つの特定の態様では、1つまたは複数のウイルスは、リラキシン遺伝子を発現するように操作されたウイルス、アデノウイルス死タンパク質(ADP)遺伝子を過剰発現するように操作されたウイルス、N1L遺伝子を欠失するように操作されたワクシニアウイルス、およびラットシトクロムp450 2B1遺伝子を発現するように操作された単純ヘルペスウイルスからなる群から選択される。

【0036】

一部の態様では、上記実施形態のウイルスは、アデノウイルス、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、水胞性口内炎ウイルス、および/または口内炎ウイルスを含む。ある特定の態様では、ウイルスは1つまたは複数のアデノウイルスを含む。

【0037】

10

20

30

40

50

一部の態様では、マトリックス分解タンパク質は、リラキシン、ヒアルロニダーゼ、またはデコリンである。特定の態様では、マトリックス分解タンパク質はリラキシンである。

【0038】

ある特定の態様では、シトクロム p 4 5 0 遺伝子はシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子である。特定の態様では、シトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子はラットシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子である。

【0039】

さらに別の実施形態では、N 1 L 遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質遺伝子、アデノウイルス死タンパク質 (A D P) 遺伝子、および / またはシトクロム p 4 5 0 遺伝子を含むように操作された 2 つまたはそれより多くのウイルスを含む医薬組成物が提供される。一部の態様では、組成物は、3 つまたは 4 つのウイルスを含む。

10

【0040】

1 つの特定の態様では、2 つまたはそれより多くのウイルスは、リラキシン遺伝子を発現するように操作されたウイルス、アデノウイルス死タンパク質 (A D P) 遺伝子を過剰発現するように操作されたウイルス、N 1 L 遺伝子を欠失するように操作されたワクシニアウイルス、およびラットシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子を発現するように操作された単純ヘルペスウイルスからなる群から選択される。

【0041】

一部の態様では、ウイルスは、アデノウイルス、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、水胞性口内炎ウイルス、および / または口内炎ウイルスを含む。ある特定の態様では、ウイルスは 1 つまたは複数のアデノウイルスを含む。

20

【0042】

一部の態様では、マトリックス分解タンパク質は、リラキシン、ヒアルロニダーゼ、またはデコリンである。特定の態様では、マトリックス分解タンパク質はリラキシンである。

【0043】

ある特定の態様では、シトクロム p 4 5 0 遺伝子はシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子である。特定の態様では、シトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子はラットシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子である。

30

【0044】

さらに別の実施形態では、(a) 少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原および N 1 L 遺伝子の欠失を発現するワクシニアウイルス、および (b) 少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現する少なくとも第 2 のウイルスを含む医薬組成物が提供される。ある特定の態様では、組成物は、免疫アジュバント、例えば、抗抗原免疫応答を増加させることが公知のアジュバントをさらに含む。一部の態様では、腫瘍関連抗原は、メソテリン、黒色腫関連遺伝子 (M A G E)、癌胎児性抗原 (C E A)、変異型 R a s、または変異型 p 5 3 である。一部の態様では、病原体関連抗原は、感染性ウイルス、細菌、真菌、プリオン、または寄生虫生物により発現される抗原である。一態様では、少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原を発現する第 2 のウイルスはアデノウイルスである。様々な態様では、ワクシニアウイルスにより発現される少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原および第 2 のウイルスにより発現される少なくとも 1 つの腫瘍関連または病原体関連抗原は同じまたは異なる。

40

【0045】

本発明の他の目的、特徴および利点は、以下の詳細な説明から明らかとなるであろう。しかしながら、詳細な説明および特定の例は、本発明の好ましい実施形態を指し示すが、説明のためにのみ与えられるものであり、本発明の精神および範囲内での様々な変更および改良がこの詳細な説明から当業者に明らかとなるであろうことが理解されるべきである。

50

【 0 0 4 6 】

以下の図面は本明細書の部分を形成し、本発明のある特定の態様をさらに実証するために含まれる。本明細書に提示される特定の実施形態の詳細な説明と組み合わせてこれらの図面の1つまたは複数を参照することにより本発明はより良好に理解され得る。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 7 】

【図1】A d - リラキシン + 抗 P D - 1 の局所有効性：腫瘍体積。リン酸緩衝生理食塩水（P B S）対照、抗 P D - 1、A d - リラキシン、またはA d - リラキシン + 抗 P D - 1 の組合せのいずれかを与えた齧歯動物における経時的な腫瘍体積を示すグラフ。A d - リラキシン療法により誘導された抗 P D - 1 抵抗性の後退と共に抗 P D - 1 療法の間に重篤な腫瘍進行があった。抗 P D - 1 またはA d - リラキシン療法のいずれか単独と比較してA d - リラキシン + 抗 P D - 1 治療には相乗的に増進された有効性があった。8日目までに、A d - リラキシン + 抗 P D - 1 の組合せ治療は、抗 P D - 1 またはA d - リラキシン療法のいずれか単独と比較して腫瘍体積の大きい減少を誘導した。T 検定の統計分析はA d - リラキシン + 抗 P D 1 の抗腫瘍効果を決定し、それはA d - リラキシン単独（p 値 0 . 0 2 5 4）または抗 P D - 1 単独（p 値 0 . 0 2 3 1）と比較して有意であった。組み合わせたA d - リラキシンおよび抗 P D - 1 の増加した有効性は、P B S 対照での処置と統計的に異ならなかったA d - リラキシンおよび抗 P D - 1 療法単独の小さい効果と比較して相加より大きかった。

【 0 0 4 8 】

【図2】A d - リラキシン + 抗 P D - 1 のアブスコパル有効性：対側の腫瘍体積。A d - リラキシンまたはA d - リラキシン + 抗 P D - 1 治療の組合せのいずれかを原発性腫瘍に与えた齧歯動物における経時的な対側の腫瘍体積。抗 P D - 1 単独で治療した原発性腫瘍の成長速度と比較して減少した腫瘍成長を有するT 検定による統計的に有意なアブスコパル効果は、ウイルス療法注射を与えなかった対側の（二次）腫瘍においても観察された。これらの発見は、ウイルス治療（A d - リラキシン単独およびA d - リラキシン + 抗 P D 1）はアブスコパル効果を誘導したことを指し示す。A d - リラキシン単独で原発性腫瘍を治療した動物における対側の腫瘍は、抗 P D - 1 単独で治療した原発性腫瘍の成長速度と比較して有意に遅延した腫瘍成長（p = 0 . 0 2 7 3）を示した。原発性腫瘍成長の抑制において観察された相乗効果に合致して、対側の腫瘍成長に対するいっそう大きいアブスコパル効果（p = 0 . 0 0 0 9）が、組み合わせたA d - リラキシン + 抗 P D - 1 で原発性腫瘍を治療したマウスにおいて観察された。

【 0 0 4 9 】

【図3】A d - リラキシン + 抗 P D 1 の有効性：生存。P B S、抗 P D - 1、A d - リラキシンまたはA d - リラキシン + 抗 P D - 1 の組合せのいずれかで治療したマウスのカプラン・マイヤー生存曲線。抗 P D - 1 単独での治療と比較して組み合わせたA d - リラキシン + 抗 P D - 1 で原発性腫瘍を治療したマウスにおいてログランク検定により生存の統計的に有意な増加があった（p = 0 . 0 0 1 0）。組み合わせたA d - リラキシン + 抗 P D - 1 群についてのメジアン生存の増加は、A d - リラキシン単独および抗 P D - 1 単独について観察された別々の効果の相加より大きかった。抗 P D - 1 単独と比較してA d - リラキシン単独で治療したマウスについて生存の統計的に有意な増加はなかった。相加より大きいA d - リラキシン + 抗 P D - 1 による増加した生存という発見は、組み合わせたA d - リラキシン + 抗 P D - 1 療法についての原発性腫瘍成長の抑制において観察された相乗効果および対側の腫瘍成長に対するより大きなアブスコパル効果に合致し、組合せ治療の予想外の相乗効果を反映する。

【 0 0 5 0 】

【図4】アデノウイルス死タンパク質を過剰発現するV R X - 0 0 7 + 抗 P D - L 1 の有効性：腫瘍体積。アデノウイルス死タンパク質（A D P）遺伝子療法と組み合わせた免疫チェックポイント阻害剤抗 P D - L 1 治療の有効性をA D S 免疫適格動物腫瘍モデルにおいて評価した。V R X - 0 0 7 は、A D P 遺伝子を過剰発現するように操作されたアデノ

ウイルスである。PBS ビヒクル対照 (N = 10)、抗PD-L1 免疫チェックポイント阻害剤 (N = 10)、VRX-007 (N = 4) および VRX-007 + 抗PD-L1 (N = 4) を含む4つの治療群を比較した。ベースライン値と比べた療法開始の15日後(または動物の屠殺時)の腫瘍体積の変化のパーセンテージを比較することにより治療有効性を評価した。クラスカル・ウォリス一元配置分散分析(ランクでの一元配置分散分析)により、治療群間の統計的有意差が実証された(p値 = 0.0258)。組み合わせたVRX-007 + 抗PD-L1療法の統計的に有意な抗腫瘍効果(p = 0.0047)は予想外かつ驚くべきことに相乗的であり、VRX-007 (p = 0.1232) および抗PD-L1 (p = 0.5866) のいずれも別々ではビヒクル対照での処置と統計的に異ならなかった。組み合わせたVRX-007 および抗PD-L1の増加した有効性は相加より大きく、組合せ治療はまた、抗PD-L1療法単独より統計的に優れていた(p = 0.0157)。さらには、T検定の統計分析により、VRX-007 + 抗PD-L1の抗腫瘍効果はVRX-007単独と比較して有意であることが明らかになった(対応のないp値 = 0.0356)。組み合わせたVRX-007 + 抗PD-L1療法の有効性および相乗作用は、いずれの治療も別々では統計的に有意な有効性を実証しなかったので予想外であった。

10

【発明を実施するための形態】

【0051】

腫瘍は開始および進行の間に進化して免疫系による破壊を回避することが周知である。この抵抗性を後退させるための免疫チェックポイント阻害剤の最近の使用はある程度の成功を実証してきたが、患者の大部分はこれらの治療に应答しない。ある特定の実施形態では、本開示は、腫瘍の微環境を変化させて、抵抗性を克服し、抗腫瘍免疫応答を増進させるための方法および組成物を提供する。一実施形態では、ウイルス組成物を単独でまたは少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与することによるがんの治療方法が提供される。ウイルス組成物は、N1L遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質遺伝子、アデノウイルス死タンパク質(ADP)遺伝子、および/またはシトクロムp450遺伝子を含むように操作された1つまたは複数のウイルスを含んでよい。1つの方法では、細胞外マトリックス分解療法は、リラキシン遺伝子療法、例えばアデノウイルスのリラキシンである。特に、アデノウイルスのリラキシンは腫瘍内または動脈内に投与される。

20

30

【0052】

例示的な方法では、ウイルス組成物は、リラキシン遺伝子を発現するように操作されたウイルス、アデノウイルス死タンパク質(ADP)遺伝子を過剰発現するように操作されたウイルス、N1L遺伝子を欠失するように操作されたワクシニアウイルス、および/またはラットシトクロムp450 2B1遺伝子を発現するように操作された単純ヘルペスウイルスを含んでよい。

【0053】

特に、ウイルス組成物は複製コンピテントまたは腫瘍溶解性である。ある特定の態様では、ウイルス組成物は複製インコンピテントであり、または複製コンピテントウイルスと複製インコンピテントウイルスとの組合せを含む。特に、ウイルス組成物は局所および/またはアブスコパル効果を誘導する。

40

【0054】

1つの方法では、ウイルス組成物は、免疫チェックポイント阻害剤、例えば抗PD1抗体または抗KIR抗体と組み合わせて投与されて、適応抗腫瘍免疫応答を誘導するウイルス組成物の投与の前に自然抗腫瘍免疫を増進させる。または、ウイルス組成物は、免疫チェックポイント阻害剤と並行して投与されてもよい。

【0055】

さらに、治療方法は、本明細書で提供される併用療法の抗腫瘍効果を増進させる追加の抗がん療法、例えばサイトカインまたは化学療法薬を含むことができる。例えば、サイトカインは顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)であってよく、化学療

50

法は、5 - フルオロウラシル (5 F U) またはカペシタビンまたはシクロホスファミドまたは P I 3 K 阻害剤であってよい。

【 0 0 5 6 】

本研究では、局所領域のウイルス組成物治療は、全身性の免疫チェックポイント阻害剤療法への抵抗性を後退させ、免疫チェックポイント阻害剤治療との予想外の相乗作用を実証し、併用療法はウイルス組成物で処置されていない遠位の腫瘍に対して優れたアブスコパル効果を誘導した。これらの予想外の全身性治療効果は、骨髄由来抑制細胞 (M D S C)、T - R e g および樹状細胞をモジュレートすることが公知の化学療法、サイトカイン療法および剤と組み合わせることで増進されることが発見された。したがって、本開示は、自然および適応抗腫瘍免疫応答を増進させる他に、免疫チェックポイント療法への抵抗性を克服し、アブスコパル全身性治療効果を誘導することによるがんの治療方法を提供する。

10

I . 定義

【 0 0 5 7 】

本明細書で使用される場合、特定の成分に関する「本質的に含まない」は、特定の成分のいずれも組成物中に意図的に配合されておらず、および / または汚染物としてもしくは微量でのみ存在することを意味するために本明細書で使用される。したがって、組成物の任意の意図しない汚染の結果としてもたらされる特定の成分の総量は、0 . 0 5 % より十分に低く、好ましくは0 . 0 1 % より低い。特定の成分が標準的な分析方法で全く検出できない組成物が最も好ましい。

【 0 0 5 8 】

本明細書で使用される場合、「 a 」または「 a n 」は1つまたは複数を意味することができる。特許請求の範囲において使用される場合、「含む」という語と組み合わせる使用された場合の「 a 」または「 a n 」という語は、1つまたは1つより多くを意味することができる。

20

【 0 0 5 9 】

特許請求の範囲における「または」という用語の使用は、選択肢のみを指すことを明示的に指し示しまたは選択肢が互いに排他的である場合を除いて、「および / または」を意味するために使用されるが、本開示は、選択肢のみおよび「および / または」を指すという定義を支持する。本明細書で使用される場合、「別の」は、少なくとも2つ目またはそれより多くを意味することができる。

30

【 0 0 6 0 】

本出願の全体を通じて、「約」という用語は、値が、その値を決定するために用いられるデバイス、方法に本来備わっている誤差のばらつき、または研究対象間に存在するばらつきを含むことを指し示すために使用される。

【 0 0 6 1 】

本明細書で使用される場合、「野生型」は、生物のゲノム中の遺伝子座における核酸の天然に存在する配列、およびそのような核酸から転写または翻訳される配列を指す。したがって、「野生型」という用語はまた、核酸によりコードされるアミノ酸配列を指すことができる。遺伝子座は1つより多くの配列または個体の集団におけるアレルを有するので、「野生型」という用語は、全てのそのような天然に存在するアレルを包含する。本明細書で使用される場合、「多型」 (polymorphic) という用語は、集団の個体において遺伝子座にバリエーションが存在する (すなわち、2つまたはそれより多くのアレルが存在する) ことを意味する。本明細書で使用される場合、「変異体」は、組換え D N A 技術の結果としての、核酸またはそれがコードするタンパク質、ポリペプチド、もしくはペプチドの配列の変化を指す。

40

【 0 0 6 2 】

細胞または生物中のタンパク質、遺伝子、核酸、またはポリヌクレオチドとの関連で使用された場合の「外因性」という用語は、人工的または天然の手段により細胞または生物中に導入されたタンパク質、遺伝子、核酸、またはポリヌクレオチドを指し、または細胞との関連で、該用語は、単離された後、人工的または天然の手段により他の細胞または生

50

物に導入された細胞を指す。外因性核酸は、異なる生物または細胞からのものであってよく、またはそれは生物または細胞内で天然に生じる核酸の1つまたは複数の追加のコピーであってよい。外因性細胞は異なる生物からのものであってよく、またはそれは同じ生物からのものであってよい。非限定的な例として、外因性核酸は、天然細胞中にそれがあるであろう場所とは異なる染色体位置にあるか、またはそうでなければ天然に見出されるものとは異なる核酸配列に挟まれた核酸である。

【0063】

「発現構築物」または「発現カセット」は、転写を指示することができる核酸分子を意味する。発現構築物は、最小で、1つまたは複数の所望の細胞種、組織または臓器中で遺伝子発現を指示する1つまたは複数の転写制御エレメント（例えば、プロモーター、エンハンサーまたはこれらと機能的に同等の構造物）を含む。追加のエレメント、例えば転写終結シグナルも含まれてよい。

10

【0064】

「ベクター」または「構築物」（遺伝子送達システムまたは遺伝子移入「ビヒクル」と称することもある）は、*in vitro*または*in vivo*のいずれかで宿主細胞に送達されるポリヌクレオチドを含む高分子または分子の複合体を指す。

【0065】

一般的な種類のベクターである「プラスミド」は、染色体DNAとは独立して複製することができる染色体DNAから分離した染色体外DNA分子である。ある特定の場合、それは環状および二本鎖である。

20

【0066】

「複製起点」（*origin of replication*）（「ori」）または「複製起点」（*replication origin*）は、細胞中のプラスミド中に存在する時にプラスミド中の連結した配列を維持することができる、例えばリンバ球向性ヘルペスウイルス中の、DNA配列、および/またはDNA合成が開始する位置にあるもしくはその近くの部位である。一例としては、EBVのoriは、FR配列（30bpのリピートの20個の不完全なコピー）、好ましくはDS配列を含むが、EBV中の他の部位はEBNA-1に結合し、例えば、Rep*配列は複製起点としてDSを置換することができる（KirshmaierおよびSugden、1998年）。したがって、EBVの複製起点は、FR、DSもしくはRep*配列またはこれらに由来する核酸改変もしくは合成の組合せを通じて任意の機能的に同等の配列を含む。例えば、本発明は、Lindnerら、2008年に具体的に記載されるように、個々のエレメントの挿入または変異などにより、EBVの遺伝子操作された複製起点を使用することもできる。

30

【0067】

特定のタンパク質を「コード」する「遺伝子」、「ポリヌクレオチド」、「コーディング領域」、「配列」、「セグメント」、「断片」または「導入遺伝子」は、適切な調節配列の制御下に置かれた時に、*in vitro*または*in vivo*で、転写され、任意選択でさらに遺伝子産物、例えばポリペプチドに翻訳される核酸分子である。コーディング領域は、cDNA、ゲノムDNA、またはRNAのいずれかの形態で存在することができる。DNAの形態で存在する場合、核酸分子は一本鎖（すなわち、センス鎖）または二本鎖であってよい。コーディング領域の境界は、5'（アミノ）末端の開始コドンおよび3'（カルボキシ）末端の翻訳終止コドンにより決定される。遺伝子としては、原核性または真核性mRNAからのcDNA、原核性または真核性DNAからのゲノムDNA配列、および合成DNA配列を挙げることができるがこれらに限定されない。転写終結配列は、通常、遺伝子配列の3'に位置する。

40

【0068】

「制御エレメント」という用語は、プロモーター領域、ポリアデニル化シグナル、転写終結配列、上流の調節ドメイン、複製起点、内部リボソーム進入部位（IRES）、エンハンサー、スプライスジャンクションなどを総称的に指し、これらはレシピエント細胞中でコーディング配列の複製、転写、転写後プロセッシング、および翻訳を共同で提供する。

50

選択されたコーディング配列が適切な宿主細胞中で複製、転写、および翻訳され得る限り、これらの制御エレメントの全てが存在する必要はない。

【0069】

「プロモーター」という用語はその通常の意味で本明細書において使用され、RNAポリメラーゼに結合して下流（3'方向）のコーディング配列の転写を開始させることができる遺伝子に由来するDNA調節配列を含むヌクレオチド領域を指す。それは、調節タンパク質および分子が例えばRNAポリメラーゼおよび他の転写因子にそこで結合して核酸配列の特異的転写を開始させることができる遺伝学的エレメントを含有することができる。「作動可能に配置された」、「作動可能に連結された」、「制御下」および「転写制御下」という語句は、核酸配列の転写開始および/または発現を制御するためにその配列に対してプロモーターが正しい機能的な位置および/または配向にあることを意味する。

10

【0070】

「エンハンサー」は、プロモーターに近接して配置された時に、エンハンサードメインの非存在下のプロモーターの結果としてもたらされる転写活性と比べて増加した転写活性を付与する核酸配列を意味する。

【0071】

核酸分子に関する「作動可能に連結される」または「共発現される」は、2つまたはそれより多くの核酸分子（例えば、転写される核酸分子、プロモーター、およびエンハンサーエレメント）が、核酸分子の転写を可能にするように接続されていることを意味する。ペプチドおよび/またはポリペプチド分子に関する「作動可能に連結される」または「共発現される」は、2つまたはそれより多くのペプチドおよび/またはポリペプチド分子が、融合物の各ペプチドおよび/またはポリペプチド成分の少なくとも1つの特性を有する単一のポリペプチド鎖、すなわち融合ポリペプチドをもたらしように接続されていることを意味する。融合ポリペプチドは、好ましくはキメラ、すなわち異種の分子から構成される。

20

【0072】

「相同性」は、2つのポリヌクレオチドまたは2つのポリペプチド間の同一性のパーセントを指す。1つの配列と別の配列との対応関係は、当該技術分野において公知の技術により決定することができる。例えば、相同性は、配列情報をアライメントすることおよび容易に利用可能なコンピュータープログラムを使用することにより2つのポリペプチド分子間の配列情報の直接的な比較により決定することができる。または、相同性は、相同領域間の安定なデュプレックスの形成を促進する条件下でのポリヌクレオチドのハイブリダイゼーション、その後の一本鎖特異的ヌクレアーゼによる消化、および消化された断片のサイズ決定により決定することができる。2つのDNA、または2つのポリペプチドの配列は、上記方法を使用する決定で、分子の定義された長さにわたってそれぞれヌクレオチド、またはアミノ酸の少なくとも約80%、好ましくは少なくとも約90%、最も好ましくは少なくとも約95%が一致する時に互いに「実質的に相同」である。

30

【0073】

「核酸」という用語は、一般に、少なくとも1つの核酸塩基、例えば、DNA（例えば、アデニン「A」、グアニン「G」、チミン「T」、およびシトシン「C」）またはRNA（例えば、A、G、ウラシル「U」、およびC）中に見出される天然に存在するプリンまたはピリミジン塩基を含む、DNA、RNAまたはこれらの誘導体もしくは模倣体の少なくとも1つの分子または鎖を指す。「核酸」という用語は「オリゴヌクレオチド」および「ポリヌクレオチド」という用語を包含する。「オリゴヌクレオチド」という用語は、約3～約100核酸塩基の長さの少なくとも1つの分子を指す。「ポリヌクレオチド」という用語は、約100核酸塩基を超える長さの少なくとも1つの分子を指す。これらの定義は、通常、少なくとも1つの一本鎖分子を指すが、特定の実施形態では、少なくとも1つの一本鎖分子に部分的、実質的または全体的に相補的な少なくとも1つの追加の鎖も包含する。したがって、核酸は、1つまたは複数の相補鎖または分子の鎖を構成する特定の配列の「相補体」を含む少なくとも1つの二本鎖分子または少なくとも1つの三本鎖分子

40

50

を包含することができる。

【0074】

本出願の全体を通じて使用される「治療的利益」という用語は、がんの医学的治療に関して患者の健康な状態を促進または増進させることを指す。この非網羅的な例のリストには、患者の寿命の任意の期間の延長、疾患の新生物発生の減少または遅延、過剰増殖の減少、腫瘍成長の低減、転移の遅延、がん細胞または腫瘍細胞の増殖速度の低減、任意の処置された細胞または処置された細胞に影響される任意の細胞におけるアポトーシスの誘導、および患者の状態に起因し得る患者にとっての痛みの減少が含まれる。

【0075】

「有効量」は、特定の障害の測定可能な改善または予防をもたらすために必要とされる少なくとも最小量である。本明細書における有効量は、患者の病態、年齢、性別、および体重、ならびに個体において所望の応答を誘発する抗体の能力などの要因にしたがって変化し得る。有効量はまた、治療の任意の毒性のまたは有害な効果が治療的に有益な効果より小さい量である。予防的使用について、有益なまたは所望の結果としては、リスクの除去または低減、重篤度の縮小、または疾患の発症の遅延などの結果が挙げられ、該疾患には、疾患の生化学的、組織学的および/または行動的症状、その合併症および疾患の発生の間に現れる中間的な病理学的表現型が含まれる。治療的使用について、有益なまたは所望の結果としては、疾患の結果としてもたらされる1つまたは複数の症状の減少、疾患を患う者のクオリティオブライフの増加、疾患を治療するために必要とされる他の医薬の用量の減少、標的化などを介して別の医薬の効果の増進、疾患の進行の遅延、および/または生存の長期化などの臨床結果が挙げられる。がんまたは腫瘍の場合、有効量の薬物は、がん細胞の数を低減させ、腫瘍サイズを低減させ、末梢臓器へのがん細胞浸潤を阻害し（すなわち、ある程度まで緩慢化させまたは望ましくは停止させ）、腫瘍転移を阻害し（すなわち、ある程度まで緩慢化させまたは望ましくは停止させ）、腫瘍成長をある程度まで阻害し、および/または障害に関連付けられる症状の1つまたは複数にある程度まで緩和する効果を有し得る。有効量は、1つまたは複数の投与において投与することができる。本発明の目的のために、薬物、化合物、または医薬組成物の有効量は、直接的または間接的のいずれかで予防または治療処置を達成するために十分な量である。臨床的な文脈において理解されるように、薬物、化合物、または医薬組成物の有効量は、別の薬物、化合物、または医薬組成物との組合せで達成されてもよいし、そうでなくてもよい。したがって、「有効量」は、1つまたは複数の治療剤を投与する文脈で考慮されてよく、1つまたは複数の他の剤との組合せで望ましい結果が達成され得るまたは達成される場合、単一の剤は有効量で与えられると考慮することができる。

【0076】

本明細書で使用される場合、「担体」には、任意のおよび全ての溶媒、分散媒体、ビヒクル、コーティング、希釈剤、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤、緩衝剤、担体溶液、懸濁液、コロイドなどが含まれる。医薬活性物質のためのそのような媒体および剤の使用は当該技術分野において周知である。任意の従来の媒体または剤が活性成分と不適合である場合を除いて、治療用組成物におけるその使用が想定される。補助的活性成分も組成物中に組み込むことができる。

【0077】

「医薬配合物」という用語は、活性成分の生物学的活性を有効なものとすることができる形態であり、配合物が投与される対象に許容できない程に毒性である追加の成分を含有しない調製物を指す。そのような配合物は滅菌されている。「薬学的に許容される」賦形剤（ビヒクル、添加剤）は、用いられる活性成分の有効な用量を提供するために対象哺乳動物に合理的に投与できるものである。

【0078】

本明細書で使用される場合、「治療」という用語は、臨床的な病理の経過中に治療されている個体または細胞の自然経過を変化させるように設計された臨床的介入を指す。治療の望ましい効果としては、疾患進行の速度の減少、病態の改善または緩和、および寛解ま

10

20

30

40

50

たは予後の改善が挙げられる。例えば、個体は、がんに関連付けられる1つまたは複数の症状が軽減されまたは取り除かれる場合、「治療」が成功しており、これには、がん細胞の増殖の低減（または破壊）、疾患の結果としてもたらされる症状の減少、疾患を患う者のクオリティオブライフの増加、疾患を治療するために必要とされる他の医薬の用量の減少、および/または個体の生存の長期化が挙げられるがこれらに限定されない。

【0079】

「抗がん」剤は、例えば、がん細胞の殺傷の促進、がん細胞のアポトーシスの誘導、がん細胞の増殖速度の低減、転移の発生もしくは数の低減、腫瘍サイズの低減、腫瘍成長の阻害、腫瘍もしくはがん細胞への血液供給の低減、がん細胞もしくは腫瘍に対する免疫応答の促進、がんの進行の予防もしくは阻害、またはがんを有する対象の寿命の増加により、対象中のがん細胞/腫瘍に負に影響することができる。

10

【0080】

本明細書における「抗体」という用語は最も広い意味において使用され、具体的には、それらが所望の生物学的活性を呈する限り、モノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多重特異的抗体（例えば、二重特異的抗体）、および抗体断片を包含する。

【0081】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を指し、例えば、集団を構成する個々の抗体は、微量で存在することがある起こり得る変異、例えば天然に存在する変異を除いて同一である。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、別々の抗体の混合物ではないという抗体の特徴を指し示す。ある特定の実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、典型的に、標的に結合するポリペプチド配列を含む抗体を含み、標的結合ポリペプチド配列は、複数のポリペプチド配列から単一の標的結合ポリペプチド配列を選択することを含む方法により得られたものである。例えば、選択方法は、複数のクローン、例えば、ハイブリドーマクローン、ファージクローン、または組換えDNAクローンのプールからの独特のクローンの選択であり得る。選択した標的結合配列をさらに変化させて、例えば、標的に対する親和性を向上させ、標的結合配列をヒト化し、細胞培養でのその産生を向上させ、*in vivo*での免疫原性を低減させ、多重特異的抗体を作出することなどができること、および、変化した標的結合配列を含む抗体もまた本発明のモノクローナル抗体であることが理解されるべきである。異なる決定基（エピトープ）を対象とする異なる抗体を典型的に含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基を対象とする。特異性に加えて、モノクローナル抗体調製物は、典型的に他の免疫グロブリンにより汚染されていないという点で有利である。

20

30

【0082】

「免疫チェックポイント」という用語は、免疫反応を均衡させるために免疫系の成分に阻害シグナルを提供する免疫系中のタンパク質などの分子を指す。公知の免疫チェックポイントタンパク質には、CTLA-4、PD-1ならびにそのリガンドPD-L1およびPD-L2に加えて、LAG-3、BTLA、B7H3、B7H4、TIM3、KIRが含まれる。LAG3、BTLA、B7H3、B7H4、TIM3、およびKIRを含む経路は、CTLA-4およびPD-1依存性経路に類似する免疫チェックポイント経路を構成することが当該技術分野において認識されている（例えば、Pardoll、2012年、*Nature Rev Cancer* 12巻：252～264頁；Mellmanら、2011年、*Nature* 480巻：480～489頁を参照）。

40

【0083】

「PD-1軸結合アンタゴニスト」という用語は、その結合パートナーの1つまたは複数のいずれかとのPD-1軸結合パートナーの相互作用を阻害して、PD-1シグナル伝達軸でのシグナル伝達の結果としてもたらされるT細胞機能障害を除去し、結果としてT細胞機能（例えば、増殖、サイトカイン産生、標的細胞殺傷）を回復または増進させる分子を指す。本明細書で使用される場合、PD-1軸結合アンタゴニストとしては、PD-

50

1 結合アンタゴニスト、PD-L1 結合アンタゴニストおよび PD-L2 結合アンタゴニストが挙げられる。

【0084】

「PD-1 結合アンタゴニスト」という用語は、その結合パートナー、例えば PD-L1 および / または PD-L2 の 1 つまたは複数との PD-1 の相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を減少させ、遮断し、阻害し、妨げ、またはそれに干渉する分子を指す。一部の実施形態では、PD-1 結合アンタゴニストは、その結合パートナーの 1 つまたは複数への PD-1 の結合を阻害する分子である。特定の態様では、PD-1 結合アンタゴニストは、PD-L1 および / または PD-L2 への PD-1 の結合を阻害する。例えば、PD-1 結合アンタゴニストとしては、抗 PD-1 抗体、その抗原結合性断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチドならびに PD-L1 および / または PD-L2 との PD-1 の相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を減少させ、遮断し、阻害し、妨げまたはそれに干渉する他の分子が挙げられる。一実施形態では、PD-1 結合アンタゴニストは、PD-1 により媒介されるまたは PD-1 を通じた T リンパ球媒介性のシグナル伝達で発現される細胞表面タンパク質を通じた負の共刺激シグナルを低減させて、機能障害の T 細胞の機能障害を小さくさせる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増進させる）。一部の実施形態では、PD-1 結合アンタゴニストは抗 PD-1 抗体である。特定の態様では、PD-1 結合アンタゴニストは MDX-1106（ニボルマブ）である。別の特定の態様では、PD-1 結合アンタゴニストは MK-3475（ペムブロリズマブ）である。別の特定の態様では、PD-1 結合アンタゴニストは CT-011（ビジリズマブ）である。別の特定の態様では、PD-1 結合アンタゴニストは AMP-224 である。

10

20

【0085】

「PD-L1 結合アンタゴニスト」という用語は、その結合パートナー、例えば PD-1 または B7-1 の 1 つまたは複数のいずれかとの PD-L1 の相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を減少させ、遮断し、阻害し、妨げ、またはそれに干渉する分子を指す。一部の実施形態では、PD-L1 結合アンタゴニストは、その結合パートナーへの PD-L1 の結合を阻害する分子である。特定の態様では、PD-L1 結合アンタゴニストは、PD-1 および / または B7-1 への PD-L1 の結合を阻害する。一部の実施形態では、PD-L1 結合アンタゴニストとしては、抗 PD-L1 抗体、その抗原結合性断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチドおよびその結合パートナー、例えば PD-1 または B7-1 の 1 つまたは複数との PD-L1 の相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を減少させ、遮断し、阻害し、妨げまたはそれに干渉する他の分子が挙げられる。一実施形態では、PD-L1 結合アンタゴニストは、PD-L1 により媒介されるまたは PD-L1 を通じた T リンパ球媒介性のシグナル伝達で発現される細胞表面タンパク質を通じた負の共刺激シグナルを低減させて、機能障害の T 細胞の機能障害を小さくさせる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増進させる）。一部の実施形態では、PD-L1 結合アンタゴニストは抗 PD-L1 抗体である。特定の態様では、抗 PD-L1 抗体は YW243.55.S70 である。別の特定の態様では、抗 PD-L1 抗体は MDX-1105 である。さらに別の特定の態様では、抗 PD-L1 抗体は MPDL3280A である。さらに別の特定の態様では、抗 PD-L1 抗体は MEDI4736 である。

30

40

【0086】

「PD-L2 結合アンタゴニスト」という用語は、その結合パートナー、例えば PD-1 の 1 つまたは複数のいずれかとの PD-L2 の相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を減少させ、遮断し、阻害し、妨げ、またはそれに干渉する分子を指す。一部の実施形態では、PD-L2 結合アンタゴニストは、その結合パートナーの 1 つまたは複数への PD-L2 の結合を阻害する分子である。特定の態様では、PD-L2 結合アンタゴニストは、PD-1 への PD-L2 の結合を阻害する。一部の実施形態では、PD-L2 アンタゴニストとしては、抗 PD-L2 抗体、その抗原結合性断片、イムノアドヘシン、

50

融合タンパク質、オリゴペプチドおよびその結合パートナー、例えばPD-1の1つまたは複数のいずれかとのPD-L2の相互作用の結果としてもたらされるシグナル伝達を減少させ、遮断し、阻害し、妨げまたはそれに干渉する他の分子が挙げられる。一実施形態では、PD-L2結合アンタゴニストは、PD-L2により媒介されるまたはPD-L2を通じたTリンパ球媒介性のシグナル伝達で発現される細胞表面タンパク質を通じた負の共刺激シグナルを低減させて、機能障害のT細胞の機能障害を小さくさせる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増進させる）。一部の実施形態では、PD-L2結合アンタゴニストはイムノアドヘシンである。

【0087】

「免疫チェックポイント阻害剤」は、免疫チェックポイントタンパク質の機能を阻害する任意の化合物を指す。阻害には、機能の低減および完全な遮断が含まれる。特に、免疫チェックポイントタンパク質はヒト免疫チェックポイントタンパク質である。したがって、免疫チェックポイントタンパク質阻害剤は、特に、ヒト免疫チェックポイントタンパク質の阻害剤である。

【0088】

「細胞外マトリックス分解タンパク質」(extracellular matrix degradative protein) または「細胞外マトリックス分解タンパク質」(extracellular matrix degrading protein) は、細胞マトリックスの完全性に作用する任意のタンパク質を指し、これは特に、完全もしくは部分的な分解または前記マトリックスの構成要素の少なくとも1つもしくはこれらの様々な構成要素を統合する結合への不安定化作用を発揮する。

【0089】

本明細書において「アブスコパル効果」は、腫瘍の局在化された治療の範囲の外側での腫瘍の縮小として言及される。例えば、免疫チェックポイント療法での全身性治療と組み合わせた本明細書で提供されるウイルス組成物での局在化された治療は、ウイルス組成物を注射されていない遠位の腫瘍においてアブスコパル効果を結果としてもたらすことができる。

II. ウイルス組成物

【0090】

本開示の実施形態は、N1L遺伝子の欠失、マトリックス分解タンパク質遺伝子、アデノウイルス死タンパク質(ADP)遺伝子、および/またはシトクロムp450遺伝子を含むように操作された1つまたは複数のウイルスを含むウイルス組成物に関する。特定の態様では、ウイルス組成物は、リラキシン遺伝子を発現するように操作されたウイルス、アデノウイルス死タンパク質(ADP)遺伝子を過剰発現するように操作されたウイルス、N1L遺伝子を欠失するように操作されたワクシニアウイルス、および/またはラットシトクロムp450 2B1遺伝子を発現するように操作された単純ヘルペスウイルスを含む。対象は、局所および/またはアブスコパル効果を誘導するためにこれらのウイルスの1つ、2つ、3つ、または4つを投与されてよい。ウイルス組成物は、免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与されてよい。

A. 細胞外マトリックスタンパク質を発現するウイルス

【0091】

一態様では、遺伝子療法の送達(例えば、ウイルスの分配)および腫瘍内侵入は、腫瘍細胞の細胞外マトリックス(ECM)またはその成分を分解するタンパク質または剤により増進される。

【0092】

細胞外マトリックス(ECM)は、周囲の細胞への構造的および生化学的なサポートを提供する細胞により分泌される細胞外分子の集合体である。多細胞性は異なる多細胞系列で独立して進化したので、ECMの組成は多細胞構造間で異なるが、細胞接着、細胞間通信および分化はECMの共通の機能である。細胞外マトリックス分解タンパク質により標的化され得るECMの成分としては、コラーゲン、エラスチン、ヒアルロン酸、フィブロネクチンおよびラミニンが挙げられる。

1. リラキシン

【0093】

本明細書で提供される方法に使用できる1つの細胞外マトリックス分解タンパク質はリラキシンである。リラキシンは、インスリンおよびインスリン様成長因子に構造的に関連する6 kDaのペプチドホルモンである。それは主に黄体および子宮内膜中で産生され、その血清レベルは妊娠中に大きく増加する（Sherwoodら、1984年）。リラキシンは、コラーゲンが過剰発現された時のコラーゲン発現の強力な阻害剤であるが、他のコラーゲンとは対照的に、コラーゲン発現の基礎レベルを著しく変化させない。それは様々なMMP、例えば、MMP2、MMP3、およびMMP9の発現を促進させてコラーゲンを分解し、それにより結合組織および基底膜が分解されて産道の細胞外マトリックスの破壊に繋がる。これに加えて、リラキシンによるMMP1およびMMP3の発現の促進もまた肺、心臓、皮膚、腸、乳腺、血管および精管において観察されており、これらにおいてリラキシンはコラーゲンの過剰発現を防止する阻害剤としての役割を果たす（Qin, X.ら、1997年a；Qin, X.ら、1997年b）。

10

【0094】

リラキシンタンパク質またはリラキシンタンパク質をコードする核酸の投与は、腫瘍細胞の周囲の細胞外マトリックスの主成分であるコラーゲンの分解を誘導して結合組織および基底膜を破壊し、それにより細胞外マトリックスの分解を結果としてもたらしることができる。特に、結合組織により堅固に取り囲まれた腫瘍組織に投与された時に、リラキシンと組み合わせた腫瘍抑制因子遺伝子療法の投与は、向上した抗腫瘍有効性を呈する。

20

【0095】

リラキシンタンパク質は、全長リラキシンまたは米国特許第5,023,321号に記載されるように生物学的活性を保持するリラキシン分子の部分であってよい。特に、リラキシンは、組換えヒトリラキシン（H2）またはリラキシン様活性を有する他の活性剤、例えば、結合したリラキシンを受容体から競合的に解離させる剤である。リラキシンは当業者に公知の任意の方法により調製することができ、好ましくは米国特許第4,835,251号に記載されるように為される。リラキシンアナログまたはその誘導体は米国特許第5,811,395号に記載されており、ペプチド合成は米国特許出願公開第20110039778号に記載されている。

30

【0096】

本明細書で提供される方法に使用され得る例示的なアデノウイルスのリラキシンは、Kimら（2006年）に記載されている。簡潔に述べれば、リラキシン発現、複製コンピテント（Ad-E1B-RLX）アデノウイルスは、リラキシン遺伝子をE3アデノウイルス領域に挿入することにより生成される。

2. ヒアルロニダーゼ

【0097】

一部の実施形態では、ヒアルロン酸などの細胞外マトリックス中に通常存在する多糖を加水分解できる任意の物質を投与することができる。特に、本発明において使用される細胞外マトリックス分解タンパク質はヒアルロニダーゼであり得る。ヒアルロナン（またはヒアルロン酸）は、脊椎動物の細胞外マトリックスの遍在的な構成要素である。グルクロン酸およびグルコサミン〔D-グルクロン酸1-3）N-アセチル-D-グルコサミン（1-b-4）〕に基づくこの線状多糖は、非常に粘性の溶液を形成するその特性によりマトリックスの物理化学的特徴に影響を及ぼすことができる。ヒアルロン酸はまた、細胞の表面上に位置する様々な受容体および結合タンパク質と相互作用する。それは、多数の生物学的プロセス、例えば、受精、胚発生、細胞の遊走および分化、創傷治癒、炎症、腫瘍成長および転移の形成に関与する。

40

【0098】

ヒアルロン酸はヒアルロニダーゼにより加水分解され、その加水分解は細胞外マトリックスの解体に繋がる。したがって、ヒアルロニダーゼ活性を持つ任意の物質、例えば、Kreil（Protein Sci.、1995年、4巻：1666～1669頁）に記載されるようなヒ

50

アルロニダーゼが本発明の方法において使用するために好適であると想定される。ヒアルロニダーゼは、哺乳動物、爬虫類動物または膜翅目動物のヒアルロン酸グリカノヒドロラーゼ、ヒルの唾液腺のヒアルロン酸グリカノヒドロラーゼ、または細菌、特にstreptococcus、pneumococcusおよびclostridiumのヒアルロン酸リアーゼに由来するヒアルロニダーゼであり得る。ヒアルロニダーゼの酵素活性は、従来技術、例えば、HynesおよびFerretti (Methods Enzymol、1994年、235巻：606～616頁) またはBaileyおよびLevine (J. Pharm. Biomed. Anal.、1993年、11巻：285～292頁) に記載される従来技術により評価することができる。

3. デコリン

【0099】

小さいロイシンリッチのプロテオグリカンであるデコリンは、細胞外マトリックスの遍在的な成分であり、コラーゲン原線維との会合状態で優先的に見出される。デコリンはコラーゲン原線維に結合し、個々の三重らせんコラーゲン分子の横方向の組立てを遅延させ、原線維の直径の減少を結果としてもたらす。加えて、デコリンは、細胞外マトリックス成分、例えばフィブロネクチンおよびトロンボスポンジンの細胞との相互作用をモジュレートすることができる。さらには、デコリンは、マトリックスメタロプロテアーゼコラゲナーゼの誘導により細胞外マトリックスのリモデリングに影響することができる。これらの観察は、デコリンがいくつものレベルで細胞外マトリックスの産生および組立てを調節し、それゆえChoiら (Gene Therapy、17巻：190～201頁、2010年) およびXuら (Gene Therapy、22巻(3号)：31～40頁、2015年) に記載されるように結合組織のリモデリングにおいて目立った役割を有することを示唆する。

【0100】

本明細書で提供される方法に使用され得る例示的なアデノウイルスのデコリンはChoiら (Gene Therapy、17巻：190～201頁、2010年) に記載されている。簡潔に述べれば、デコリンを発現する複製コンピテント (Ad - E1B - D C N G) アデノウイルスは、デコリン遺伝子をE3アデノウイルス領域に挿入することにより生成される。本明細書で提供される方法に使用され得る別の例示的なアデノウイルスのデコリンはXuら (Gene Therapy、22巻(3号)：31～40頁、2015年) に記載されている。同様に、デコリンを発現する複製コンピテント (Ad . d c n) アデノウイルスは、デコリン遺伝子をE3アデノウイルス領域に挿入することにより生成される。

【0101】

米国特許第8,067,567号に記載される改変TERTプロモーター腫瘍溶解性アデノウイルス、PCT/KR2011/004693に記載されるHRE-E2F-TERTハイブリッドプロモーター腫瘍溶解性アデノウイルス、米国特許出願第11/816,751号に記載されるデコリン遺伝子を発現するウイルス、米国特許出願第10/599,521号に記載されるリラキシン遺伝子を発現するウイルスを含む追加の例示的なアデノウイルスを方法において使用することができる(これらの全ては参照することにより組み込まれる)。

B. ADPの過剰発現を含むウイルス

【0102】

本開示のある特定の実施形態は、アデノウイルス死タンパク質 (ADP) (すなわち、E3 11.6Kタンパク質) を過剰発現するように操作されたウイルスに関する。

【0103】

ウイルスが組換えアデノウイルスである場合、ADPの過剰発現は数多くの方法で達成することができる(例えば、US20100034776に記載されている; 参照することにより本明細書に組み込まれる)。一般に、E3 mRNAのいずれかについてスプライス部位を除去するE3領域中の任意の種類の欠失は、E3プレmRNA分子のより多くがADPのmRNAにプロセシングされる限り、ADPのmRNAの過剰発現に繋がる。AdベクターにおいてADPの過剰発現を達成する他の手段としては、ADPの遺伝子を挟む部位におけるプレmRNAのスプライシングおよび切断/ポリアデニル化シグナルの

挿入；A d ゲノム中の様々な部位に挿入された別のプロモーター、例えばヒトサイトメガロウイルスプロモーターからのA D Pの発現；およびA D Pの翻訳の内部からの開始を可能とするA D P配列、例えばA dトリパータイトリダーまたはウイルス内部リボソーム開始配列の5'側の配列と共に、別のA d M R N Aの遺伝子の後ろにA D Pの遺伝子を挿入することが挙げられるがこれらに限定されない。

【0104】

本開示によるベクターにより発現されるA D Pは、天然に存在する全長A D Pアミノ酸配列またはA D Pを発現するベクターにベクターを含有する細胞を溶解する能力を付与して、ベクターの複製されたコピーが感染された細胞から放出されるようにするそのバリエーションを含む任意のポリペプチドである。好ましい全長A D Pは、A d 1、A d 2、A d 5またはA d 6によりコードされるA D Pのアミノ酸配列を含む。A D Pバリエーションとしては、そのようなバリエーションが細胞内でベクターにより発現された時に細胞を溶解する能力を保持する限り、天然に存在するアデノウイルス死タンパク質の断片および欠失変異体の他に、全長分子、断片および保存的アミノ酸置換を含有する欠失変異体が挙げられる。

【0105】

ある特定の態様では、A D Pを過剰発現するように操作されたウイルスは、V R X - 007と称される血清型5アデノウイルス（すなわち、E3領域のほとんどを欠失し、E3-11.6 Kアデノウイルス死タンパク質（A D P）を過剰発現するように操作された腫瘍溶解性アデノウイルスベクター）である。V R X - 007はまた、他の治療遺伝子を発現するように改変されてもよい。V R X - 007の構築は以前に記載されている（Doroni 2003年；Tollefson 1996年；Lichtenstein 2004年）。

C . N 1 Lの欠失を含むワクシニアウイルス

【0106】

本開示のある特定の実施形態は、N 1 Lの欠失を含むワクシニアウイルスに関する。ある特定の態様では、N 1 Lを欠失するように操作されたワクシニアウイルスは、W e s t e r n R e s e r v e株、W y e t h株およびL i s t e r株に由来する。これらの各株の様々な欠失変異体が作出されている。ある特定の態様では、用いられるN 1 L欠失誘導体V V L 15 N 1 Lは、Wangら、2015年に記載されている（P C T公開WO2015/150809A1）。V V L 15 N 1 Lベクターはまた、I L - 12および/またはリラキシンが挙げられるがこれらに限定されない治療遺伝子を発現するように改変されてもよい。一部の態様では、V V L 15 N 1 Lベクターはまた、免疫チェックポイント阻害剤およびP I 3 K阻害剤と組み合わせられる。特定の態様では、P I 3 KデルタまたはP I 3 Kガンマ/デルタ阻害剤が、ウイルスベクターの静脈内投与を増進させるために投与される。1つの特定の方法では、対象は、静脈内V V L 15 N 1 Lベクターの前（例えば、数時間前）にP I 3 Kデルタ阻害剤を投与される。

D . シトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子を発現する単純ヘルペスウイルス

【0107】

本開示の実施形態は、一部の態様では、シトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子を発現するウイルス（例えば、単純ヘルペスウイルス）に関する。ある特定の態様では、ラットシトクロム p 4 5 0 2 B 1 遺伝子を発現するように操作された単純ヘルペスウイルスは、欠失したI C P 6 遺伝子を有し、（Aghiら 1999年）にさらに記載されるようにr R p 4 5 0と称される。ベクターは、シクロホスファミド（C P A）感受性ラットシトクロム p 4 5 0 2 B 1、およびガンシクロビル（G C V）感受性単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（H S V - T K）遺伝子の発現をコードする。シトクロム p 4 5 0およびH S V - T K遺伝子の発現は、それぞれC P AおよびG C Vプロドラッグのそれらの治療活性代謝物への変換を結果としてもたらす。特定の態様では、r R p 4 5 0は、C P AおよびG C Vと組み合わせられて投与される。使用され得るヘルペスウイルスの追加の例は米国特許第6,602,499号（参照することにより本明細書に組み込まれる）に記載されている。

I I I . 核酸

【0108】

核酸は、当業者に公知の任意の技術により調製することができる。合成核酸、特に合成オリゴヌクレオチドの非限定的な例としては、欧州特許出願第266,032号に記載されるものなどのリン酸トリエステル、亜リン酸塩またはホスホロアミダイト化学および固相技術を使用して、またはFroehlerら、1986年、および米国特許第5,705,629号に記載されるデオキシヌクレオシドH-ホスホネート中間体を介して*in vitro*化学合成により調製された核酸が挙げられる。酵素的に製造される核酸の非限定的な例としては、PCR（商標）などの増幅反応（例えば、米国特許第4,683,202号および米国特許第4,682,195号を参照）、または米国特許第5,645,897号に記載されるオリゴヌクレオチドの合成において酵素により製造されるものが挙げられる。生物学的に製造される核酸の非限定的な例としては、生細胞中での組換え核酸の製造、例えば、細菌中での組換えDNAベクターの製造が挙げられる（例えば、Sambrookら、1989年を参照）。

10

【0109】

核酸は、配列自体の長さにかかわらず、プロモーター、エンハンサー、ポリアデニル化シグナル、制限酵素部位、マルチクローニングサイト、コーディングセグメントなどが挙げられるがこれらに限定されない他の核酸配列と組み合わせられて、1つまたは複数の核酸構築物を作成することができる。全体の長さは、核酸構築物の間でかなり変動し得る。したがって、ほぼあらゆる長さの核酸セグメントを用いることができ、全体の長さは、好ましくは、意図する組換え核酸プロトコールにおける調製または使用の容易さにより限定される。

20

A．発現ベクターによる核酸送達

【0110】

本明細書で提供されるベクターは主に、調節された真核性プロモーター（すなわち、構成的、誘導性、抑制可能、組織特異的）の制御下で治療遺伝子（例えば、IL-12などの免疫刺激因子遺伝子および/またはシトクロムp450のようなプロドラッグ変換遺伝子および/またはADPのようなウイルス由来溶解促進遺伝子）および/または細胞外マトリックス分解遺伝子（例えば、リラキシン）を発現するように設計される。一部の態様では、治療遺伝子は、ベクター中で共発現されてよい。別の態様では、治療遺伝子は、細胞外マトリックス分解遺伝子と共発現されてよい。また、ベクターは、他の理由がなければ、*in vitro*でのそれらの取り扱いを容易にする選択可能マーカール含有してよい。

30

【0111】

当業者は、標準的な組換え技術を通じてベクターを構築する能力を十分に備えている（例えば、Sambrookら、2001年およびAusubelら、1996年を参照；共に参照することにより本明細書に組み込まれる）。ベクターとしては、プラスミド、コスミド、ウイルス（バクテリオファージ、動物ウイルス、および植物ウイルス）、および人工染色体（例えば、YAC）、例えば、レトロウイルスベクター（例えば、モロニー Maus 白血病ウイルスベクター（MoMLV）、MSCV、SFFV、MPSV、SNVなどに由来する）、レンチウイルスベクター（例えば、HIV-1、HIV-2、SIV、BIV、FIVなどに由来する）、アデノウイルス（Ad）ベクター（その複製コンピテント、複製欠損およびガットレス（gutless）形態を含む）、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター、シミアンウイルス40（SV-40）ベクター、ウシバビローマウイルスベクター、エプスタイン・バーウイルスベクター、ヘルペスウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、Harvey Maus 肉腫ウイルスベクター、マウス乳腺腫瘍ウイルスベクター、ラウス肉腫ウイルスベクター、パルボウイルスベクター、ポリオウイルスベクター、水胞性口内炎ウイルスベクター、マラバウイルスベクターおよびB群アデノウイルスであるエンアデノツシレブ（enadenotucirev）ベクターが挙げられるがこれらに限定されない。

40

1．ウイルスベクター

【0112】

50

本開示のある特定の態様において、治療遺伝子をコードするウイルスベクターが提供され得る。組換えウイルスベクターの生成において、非必須遺伝子は、典型的に、異種（または非天然）タンパク質の遺伝子またはコーディング配列と置き換えられる。ウイルスベクターは、ウイルス配列を利用して細胞中に核酸および場合によりタンパク質を導入する発現構築物の一種である。ある特定のウイルスが受容体媒介性のエンドサイトーシスを介して細胞に感染しまたは細胞内に入り、宿主細胞のゲノムに組み込まれてウイルス遺伝子を安定的かつ効率的に発現できることにより、それらは細胞（例えば、哺乳動物細胞）中への外来核酸の移入のための魅力的な候補となった。本発明のある特定の態様の核酸を送達するために使用され得るウイルスベクターの非限定的な例が以下に記載される。

【0113】

レンチウイルスは複雑なレトロウイルスであり、一般的なレトロウイルス遺伝子 *gag*、*pol*、および *env* に加えて、調節または構造機能を有する他の遺伝子を含む。レンチウイルスベクターは当該技術分野において周知である（例えば、Naldiniら、1996年；Zuffereyら、1997年；Blomerら、1997年；米国特許第6,013,516号および同第5,994,136号を参照）。

【0114】

組換えレンチウイルスベクターは非分裂細胞に感染することができ、核酸配列の *in vivo* および *ex vivo* の両方での遺伝子移入および発現のために使用することができる。例えば、非分裂細胞に感染することができる組換えレンチウイルスであって、パッケージング機能、すなわち *gag*、*pol* および *env* の他に、*rev* および *tat* を持つ2つまたはそれより多くのベクターにより好適な宿主細胞にトランスフェクトされる、組換えレンチウイルスが米国特許第5,994,136号（参照することにより本明細書に組み込まれる）に記載されている。

a. アデノウイルスベクター

【0115】

腫瘍抑制因子および/または細胞外マトリックス分解遺伝子の1つの送達方法はアデノウイルス発現ベクターの使用を含む。アデノウイルスベクターはゲノムDNAへの組込み能力が低いことが公知であるが、この特徴は、これらのベクターによりもたらされる遺伝子移入の高い効率により埋め合わせされる。アデノウイルス発現ベクターとしては、(a) 構築物のパッケージングをサポートし、(b) その中にクローニングされた組換え遺伝子構築物を最終的に発現するために十分なアデノウイルス配列を含む構築物が挙げられる。

【0116】

アデノウイルスの増殖および取り扱い当業者に公知であり、*in vitro* および *in vivo* で広範な宿主の範囲を呈する。この群のウイルスは、高力価、例えば、1ml当たり $10^9 \sim 10^{11}$ のプラーク形成単位で得ることができ、高度に感染性である。アデノウイルスのライフサイクルは、宿主細胞ゲノムへの組込みを必要としない。アデノウイルスベクターにより送達される外来遺伝子はエピソーム性であり、したがって宿主細胞に対して低い遺伝毒性を有する。野生型アデノウイルスを用いるワクチン接種の研究において副作用は報告されておらず（Couchら、1963年；Topら、1971年）、*in vivo* での遺伝子移入ベクターとしてのそれらの安全性および治療可能性を実証している。

【0117】

36 kbの線状の二本鎖DNAウイルスというアデノウイルスの遺伝学的編成の知識は、最大7 kbの外来配列によるアデノウイルスDNAの大きい部分の置換を可能とする（GrunhausおよびHorwitz、1992年）。レトロウイルスとは対照的に、アデノウイルスDNAは潜在的な遺伝毒性なしにエピソームとして複製できるので、宿主細胞のアデノウイルス感染は染色体への組込みを結果としてもたらさない。また、アデノウイルスは構造的に安定であり、大規模な増幅後にゲノム再構成は検出されていない。

【0118】

アデノウイルスは、その中間的なサイズのゲノム、取り扱いの容易さ、高力価、標的細胞の広い範囲および高い感染力のため、遺伝子移入ベクターとして使用するために特に好適である。ウイルスゲノムの両末端は、ウイルスDNAの複製およびパッケージングのために必要なシスエレメントである100～200塩基対の逆位反復（ITR）を含有する。ゲノムの初期（E）および後期（L）領域は、ウイルスDNA複製が始まることにより分割される異なる転写単位を含有する。E1領域（E1AおよびE1B）は、ウイルスゲノムおよび小数の細胞遺伝子の転写の調節に関与するタンパク質をコードする。E2領域（E2AおよびE2B）の発現は、ウイルスDNA複製のためのタンパク質の合成を結果としてもたらす。これらのタンパク質はDNA複製、後期遺伝子の発現および宿主細胞の遮断に関与する（Renan、1990年）。ウイルスカプシドタンパク質の大部分を含む後期遺伝子の産物は、後期主要プロモーター（MLP）により生じる単一の一次転写物の著しいプロセッシング後に初めて発現される。（16.8m.u.に位置する）MLPは、感染の後期に特に効率的であり、このプロモーターから生じる全てのmRNAは、それらを翻訳のための特定のmRNAとする5'-トリパータイトリダー（TPL）配列を持つ。

10

20

30

40

50

【0119】

本明細書で提供される組換えアデノウイルスは、シャトルベクターとプロウイルスベクターとの相同組換えにより生成することができる。2つのプロウイルスベクター間の組換えが可能により、野生型アデノウイルスはこのプロセスから生成することができる。したがって、ウイルスの単一のクローンが個々のブラックから単離され、そのゲノム構造が調べられる。

【0120】

アデノウイルスベクターは、複製コンピテント、複製欠陥型、または条件付き欠陥型のものであってよく、アデノウイルスベクターの性質は本発明の実施の成功にとって極めて重要であるとは思われない。アデノウイルスは、42の異なる公知の血清型または亜群A～Fのいずれであってもよい。亜群Cのアデノウイルス5型は、本発明において使用するための条件付き複製欠陥型アデノウイルスベクターを得るための特定の出發材料である。この理由は、アデノウイルス5型は多くの生化学的および遺伝学的情報が公知のヒトアデノウイルスであり、ベクターとしてアデノウイルスを用いるほとんどの構築のために歴史的に使用されてきたからである。しかしながら、アデノウイルスの他の血清型を同様に利用することができる。

【0121】

コーディング配列が除去された位置でアデノウイルスベクターに核酸を導入することができる。例えば、複製欠陥型アデノウイルスベクターは、E1コーディング配列が除去されていてもよい。目的の遺伝子をコードするポリヌクレオチドは、Karlssonら（1986年）に記載されるようにE3置換ベクター中の欠失したE3領域の代わりにまたはE4領域中に挿入されてよく、ヘルパー細胞株またはヘルパーウイルスがE4の欠陥を補完する。

【0122】

複製欠損アデノウイルスベクターの生成および繁殖は、ヘルパー細胞株を用いて行うことができる。293と称される1つの独特のヘルパー細胞株は、Ad5 DNA断片によりヒト胎児腎臓細胞から形質転換されたものであり、E1タンパク質を構成的に発現する（Grahamら、1977年）。E3領域はアデノウイルスゲノムに必ずしも必要でない（JonesおよびShenk、1978年）、293細胞の助けと共にアデノウイルスベクターは、E1、E3、または両方の領域のいずれかに外来DNAを持つ（GrahamおよびPrevec、1991年）。

【0123】

ヘルパー細胞株は、ヒト細胞、例えば、ヒト胎児腎臓細胞、筋肉細胞、造血細胞または他のヒト胚性間葉もしくは上皮細胞に由来するものであってよい。または、ヘルパー細胞は、ヒトアデノウイルスに許容的な他の哺乳動物種の細胞に由来するものであってよい。

そのような細胞としては、例えば、V e r o 細胞または他のサル胚性間葉もしくは上皮細胞が挙げられる。上記の通り、特定のヘルパー細胞株は 2 9 3 である。

【 0 1 2 4 】

組換えアデノウイルスを製造する方法は、米国特許第 6 7 4 0 3 2 0 号（参照することにより本明細書に組み込まれる）など、当該技術分野において公知である。また、Racher ら（1995 年）は、293 細胞を培養し、アデノウイルスを繁殖させる改良された方法を開示している。1つのフォーマットにおいて、天然細胞凝集物は、100～200 ml の培地を含有する 1 リットルのシリコン処理したスピナーフラスコ（T e c h n e 、 C a m b r i d g e 、 U K ）中に個々の細胞を接種することにより生育される。40 rpm の撹拌後、トリパンブルーを用いて細胞生存能力が推定される。別のフォーマットでは、F i b r a - C e l マイクロキャリア（B i b b y S t e r l i n 、 S t o n e 、 U K ）（5 g / l ）が以下の通りに用いられる。5 ml の培地中に再懸濁した細胞接種物を 250 ml のエルレンマイヤーフラスコ中の担体（50 ml ）に加え、時々かき混ぜて 1～4 時間静置する。次に培地を 50 ml の新鮮な培地で置き換え、振とうを開始させる。ウイルスの産生のために、細胞を約 80 % コンフルエンスまで生育させた後、培地を（25 % の最終体積まで）置き換え、0.05 の M O I でアデノウイルスを加える。培養物を終夜静置した後、体積を 100 % まで増加させ、さらに 72 時間の振とうを開始させる。

b . レトロウイルスベクター

【 0 1 2 5 】

さらに、ウイルス組成物はレトロウイルスベクターを含んでよい。レトロウイルスは、逆転写のプロセスにより感染した細胞中でそれらの R N A を二本鎖 D N A に変換する能力により特徴付けられる一群の一本鎖 R N A ウイルスである（Coffin、1990 年）。次に、結果として生じる D N A は、細胞染色体中にプロウイルスとして安定的に組み込まれ、ウイルスタンパク質の合成を指示する。組込みは、レシピエント細胞およびその子孫においてウイルス遺伝子配列の保持を結果としてもたらす。レトロウイルスゲノムは、3つの遺伝子、g a g 、p o l 、および e n v を含有し、これらはカプシドタンパク質、ポリメラーゼ酵素、およびエンベロープ成分をそれぞれコードする。g a g 遺伝子の上流に見出される配列は、ピリオンへのゲノムのパッケージングのためのシグナルを含有する。2つの長鎖末端反復（L T R ）配列がウイルスゲノムの 5 ' および 3 ' 末端に存在する。これらは強いプロモーターおよびエンハンサー配列を含有し、宿主細胞ゲノム中への組込みのために必要とされる（Coffin、1990 年）。

【 0 1 2 6 】

レトロウイルスベクターを構築するために、目的の遺伝子をコードする核酸はある特定のウイルス配列の位置においてウイルスゲノム中に挿入されて、複製欠陥型のウイルスが製造される。ピリオンを製造するために、g a g 、p o l 、および e n v 遺伝子を含有するが L T R およびパッケージング成分を有しないパッケージング細胞株が構築される（Mann ら、1983 年）。レトロウイルスの L T R およびパッケージング配列と共に c D N A を含有する組換えプラスミドが（例えばリン酸カルシウム沈殿により）この細胞株中に導入される場合、パッケージング配列により、組換えプラスミドの R N A 転写物がウイルス粒子中にパッケージングされ、次にそれが培養培地中に分泌されることが可能となる（Nicolas および Rubenstein、1988 年；Temin、1986 年；Mann ら、1983 年）。組換えレトロウイルスを含有する培地が次に回収され、任意選択で濃縮され、遺伝子移入のために使用される。レトロウイルスベクターは広範な細胞種に感染することができる。しかしながら、組込みおよび安定発現は宿主細胞の分裂を必要とする（Paskind ら、1975 年）。

【 0 1 2 7 】

欠陥型レトロウイルスベクターの使用に関する懸念は、パッケージング細胞中で野生型複製コンピtentウイルスが現れる可能性があることである。これは、g a g 、p o l 、e n v 配列の上流の組換えウイルス挿入物からのインタクトな配列が宿主細胞ゲノム中に組み込まれる組換え事象の結果としてもたらされ得る。しかしながら、組換えの可能性を

大きく減少させるパッケージング細胞株が利用可能である (Markowitzら、1988年; Hersdorfferら、1990年)。

c. アデノ随伴ウイルスベクター

【0128】

アデノ随伴ウイルス (AAV) は、高頻度に組み込まれ、非分裂細胞に感染することができ、したがって哺乳動物細胞への遺伝子の送達のために有用であるので、本開示において使用するための魅力的なベクター系である (Muzyczka、1992年)。AAVは、広範な宿主範囲に感染力を有し (Tratschinら、1984年; Laughlinら、1986年; Lebkowskiら、1988年; McLaughlinら、1988年)、すなわち本発明と共に使用するために適用可能である。r AAVベクターの生成および使用に関する詳細は米国特許第5, 139, 941号および米国特許第4, 797, 368号に記載されている。

10

【0129】

AAVは、培養細胞において生産的な感染を遂げるために別のウイルス (アデノウイルスまたはヘルペスウイルスファミリーのメンバーのいずれか) との共感染を必要とする点で、従属的なパルボウイルスである (Muzyczka、1992年)。ヘルパーウイルスとの共感染がない場合、野生型 AAVゲノムはその末端を通じてヒト第19染色体に組み込まれ、そこでプロウイルスとして潜伏状態で存在する (Kotinら、1990年; Samulskiら、1991年)。しかしながら、AAV Repタンパク質も発現されない場合、r AAVの組み込みは第19染色体に制約されない (ShellingおよびSmith、1994年)。AAVプロウイルスを持つ細胞がヘルパーウイルスに重感染した場合、AAVゲノムは染色体または組換えプラスミドから「レスキュー」され、正常な生産的な感染が確立される (Samulskiら、1989年; McLaughlinら、1988年; Kotinら、1990年; Muzyczka、1992年)。

20

【0130】

典型的に、組換え AAV (r AAV) ウイルスは、2つの AAV末端反復に挟まれた目的の遺伝子を含むプラスミド (McLaughlinら、1988年; Samulskiら、1989年; それぞれは参照することにより本明細書に組み込まれる) および末端反復を有しない野生型 AAVコーディング配列を含む発現プラスミド、例えば pIM45 (McCartyら、1991年) を共トランスフェクトさせることにより調製される。細胞はまた、アデノウイルスまたは AAVヘルパー機能のために必要とされるアデノウイルス遺伝子を持つプラスミドに感染させまたはそれをトランスフェクトされる。そのような方法で調製された r AAVウイルスストックは、アデノウイルスで汚染されており、アデノウイルスは (例えば、塩化セシウム密度遠心分離により) r AAV粒子から物理的に分離されなければならない。または、AAVコーディング領域を含むアデノウイルスベクターまたは AAVコーディング領域およびアデノウイルスヘルパー遺伝子の一部または全てを含む細胞株を使用することができる (Yangら、1994年; Clarkら、1995年)。組み込まれたプロウイルスとして r AAV DNAを持つ細胞株も使用することができる (Flotteら、1995年)。

30

d. 他のウイルスベクター

【0131】

本開示における構築物として他のウイルスベクターを用いてもよい。ワクシニアウイルス (Ridgeway、1988年; BaichwalおよびSugden、1986年; Couparら、1988年) およびヘルペスウイルスなどのウイルスに由来するベクターを用いてもよい。それらは、様々な哺乳動物細胞にとっていくつもの魅力的な特徴を与える (Friedmann、1989年; Ridgeway、1988年; BaichwalおよびSugden、1986年; Couparら、1988年; Horwichら、1990年)。

40

【0132】

ベネズエラウマ脳炎 (VEE) ウイルスの分子クローン株は、異種ウイルスタンパク質の発現用の複製コンピテントワクチンベクターとして遺伝学的に精密化されている (Davisら、1996年)。VEE感染は強力なCTL応答を刺激することが研究により実証さ

50

れており、V E E は免疫化のために極めて有用なベクターであり得ることが示唆されている (Caleyら、1997年)。

【0133】

さらなる実施形態では、核酸は、特定の結合リガンドを発現するように操作された感染性ウイルス内に収容される。したがって、ウイルス粒子は、標的細胞のコグネイト受容体に特異的に結合し、内容物を細胞に送達する。レトロウイルスベクターの特異的標的化を可能とするように設計された新規のアプローチが、ウイルスエンベロープへのラクトース残基の化学的付加によるレトロウイルスの化学修飾に基づいて最近開発された。この修飾は、シアロ糖タンパク質受容体を介して肝細胞への特異的感染を可能とすることができる。

10

【0134】

例えば、レトロウイルスエンベロープタンパク質および特定の細胞受容体に対するピオチン化抗体が使用される組換えレトロウイルスの標的化が設計された。抗体は、ストレプトアビジンを使用することによりピオチン成分を介して連結された (Rouxら、1989年)。主要組織適合複合体クラス I およびクラス II 抗原に対する抗体を使用して、彼らは *in vitro* でエコトロピックウイルスによるそれらの表面抗原を持つ様々なヒト細胞への感染を実証した (Rouxら、1989年)。

2. 調節エレメント

【0135】

本開示において有用なベクター中に含まれる発現カセットは特に、(5' から 3' への方向に) タンパク質コーディング配列に作動可能に連結された真核性転写プロモーター、介在配列を含むスプライスシグナル、および転写終結 / ポリアデニル化配列を含有する。真核細胞中でタンパク質をコードする遺伝子の転写を制御するプロモーターおよびエンハンサーは複数の遺伝学的エレメントから構成される。細胞機構は、各エレメントが伝達する調節情報を集めて統合することができ、異なる遺伝子が転写調節の別個の、多くの場合複雑なパターンを進化させることを可能とする。本発明の文脈において使用されるプロモーターとしては、構成的、誘導性、および組織特異的プロモーターが挙げられる。

20

a. プロモーター / エンハンサー

【0136】

本明細書で提供される発現構築物は、腫瘍抑制因子および / または細胞外マトリックス分解遺伝子の発現を推進するためのプロモーターを含む。プロモーターは、通常、RNA 合成のための開始部位を位置付けるように機能する配列を含む。これの最もよく知られた例は T A T A ボックスであるが、例えば、哺乳動物の末端デオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ遺伝子のプロモーターおよび S V 40 後期遺伝子のプロモーターなどの、T A T A ボックスを欠く一部のプロモーターでは、開始部位自体にある別々のエレメントが開始の場所を定めることを助ける。追加のプロモーターエレメントは転写開始の頻度を調節する。典型的に、これらは、開始部位の 30 ~ 110 b p 上流の領域に位置するが、多数のプロモーターが開始部位の下流に機能的エレメントを含有することも示されている。コーディング配列をプロモーターの「制御下」にもたらしために、選択されたプロモーターの「下流」(すなわち、3') に転写リーディングフレームの転写開始部位の 5' 末端を位置付ける。「上流」のプロモーターは、DNA の転写を刺激し、コードされた RNA の発現を促進する。

30

40

【0137】

プロモーターエレメント間の間隔は多くの場合柔軟であり、エレメントが互いに対して逆転または移動した時にプロモーター機能は保存される。t k プロモーターにおいて、活性が低下し始めるまで、プロモーターエレメント間の間隔を 50 b p まで増加させることができる。プロモーターに応じて、個々のエレメントは共同してまたは独立して転写を活性化させるように機能できるようである。プロモーターは、核酸配列の転写活性化に関与するシス作用性調節配列を指す「エンハンサー」と組み合わせて使用してもよいし、そうしなくてもよい。

50

【0138】

プロモーターは、コーディングセグメントおよび/またはエクソンの上流に位置する5'非コーディング配列を単離することにより得られ得るような、核酸配列に天然に関連付けられるものであってよい。そのようなプロモーターを「内因性」と称することができる。同様に、エンハンサーは、その核酸配列の下流または上流のいずれかに位置する、その配列に天然に関連付けられるものであってよい。または、その天然の環境において核酸配列に通常関連付けられないプロモーターを指す組換えまたは異種プロモーターの制御下にコーディング核酸セグメントを配置することによりある特定の利点を得られる。組換えまたは異種エンハンサーはまた、その天然の環境において核酸配列に通常関連付けられないエンハンサーを指す。そのようなプロモーターまたはエンハンサーとしては、他の遺伝子のプロモーターまたはエンハンサー、および任意の他のウイルス、または原核もしくは真核細胞から単離されたプロモーターまたはエンハンサー、ならびに「天然に存在する」ものではない、すなわち、異なる転写調節領域の異なるエレメント、および/または発現を変化させる変異を含有するプロモーターまたはエンハンサーを挙げることができる。例えば、組換えDNA構築において最もよく使用されるプロモーターとしては、 ϕ -ラクタマーゼ（ペニシリナーゼ）、ラクトースおよびトリプトファン（trp）プロモーターシステムが挙げられる。プロモーターおよびエンハンサーの核酸配列の合成による製造に加えて、配列は、本明細書に開示される組成物との関連で、組換えクロニングおよび/またはPCR（商標）などの核酸増幅技術を使用して製造されてもよい（米国特許第4,683,202号および同第5,928,906号を参照；それぞれは参照することにより本明細書に組み込まれる）。さらには、非核細胞小器官、例えば、ミトコンドリア、葉緑体などの中で配列の転写および/または発現を指示する制御配列も用い得ることが想定される。

10

20

30

40

50

【0139】

当然、発現のために選択された細胞小器官、細胞種、組織、臓器、または生物中でDNA断片の発現を効果的に指示するプロモーターおよび/またはエンハンサーを用いることが重要である。分子生物学の当業者は、一般に、タンパク質発現のためのプロモーター、エンハンサー、および細胞種の組合せの使用を分かっている（例えばSambrookら、1989年を参照；参照することにより本明細書に組み込まれる）。用いられるプロモーターは、構成的、組織特異的、誘導性、および/または組換えタンパク質および/もしくはペプチドの大規模製造において有利なものなどの、導入されるDNA断片の高レベルの発現を指示するために適切な条件下で有用なものであってよい。プロモーターは、異種または内因性のものであってよい。

【0140】

さらにまた、（例えば、ワールドワイドウェブepd.isb-sib.ch/のEukaryotic Promoter Data Base EPDBにしたがって）任意のプロモーター/エンハンサーの組合せを、発現を推進するために使用することができる。T3、T7またはSP6細胞質発現系の使用は別の可能な実施形態である。真核細胞は、送達複合体の部分または追加の遺伝子発現構築物のいずれかとして適切な細菌ポリメラーゼが提供された場合に、ある特定の細菌プロモーターからの細胞質での転写をサポートすることができる。

【0141】

プロモーターの非限定的な例としては、初期または後期ウイルスプロモーター、例えば、SV40初期または後期プロモーター、サイトメガロウイルス（CMV）最初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルス（RSV）初期プロモーター；真核細胞プロモーター、例えば、ベータアクチンプロモーター（Ng、1989年；Quitscheら、1989年）、GADPHプロモーター（Alexanderら、1988年、Ercolaniら、1988年）、メタロチオネインプロモーター（Karinら、1989年；Richardsら、1984年）；ならびに連結応答因子プロモーター、例えば、サイクリックAMP応答因子プロモーター（cre）、血清応答因子プロモーター（sre）、ホルボールエステルプロモーター（TPA）およ

び最小TATAボックスの近くの応答因子プロモーター (t r e) が挙げられる。ヒト成長ホルモンプロモーター配列 (例えば、G e n b a n k、受託番号X 0 5 2 4 4、ヌクレオチド2 8 3 ~ 3 4 1に記載されるヒト成長ホルモン最小プロモーター) またはマウス乳腺腫瘍プロモーター (A T C C、カタログ番号A T C C 4 5 0 0 7から入手可能) を使用することもできる。ある特定の実施形態では、プロモーターは、C M V I E、デクチン1、デクチン2、ヒトC D 1 1 c、F 4 / 8 0、S M 2 2、R S V、S V 4 0、A d M L P、ベータアクチン、M H C クラスI またはM H C クラスI I のプロモーターであるが、治療遺伝子の発現を推進するために有用な任意の他のプロモーターを本発明の実施に適用することができる。

【0142】

ある特定の態様では、本開示の方法はまた、エンハンサー配列にも関し、これはすなわち、プロモーターの活性を増加させ、比較的長距離であっても (標的プロモーターから最大数千塩基離れていても)、方向にかかわらず、シスで作用する能力を有する核酸配列である。しかしながら、エンハンサー機能はそのような長距離に必ずしも制約されず、それらはまた、所与のプロモーターに近接して機能するものであってもよい。

b . 開始シグナルおよび連結された発現

【0143】

特定の開始シグナルもまた、コーディング配列の効率的な翻訳のために本開示で提供される発現構築物において使用することができる。これらのシグナルとしては、A T G 開始コドンまたは隣接配列が挙げられる。A T G 開始コドンなどの外因性翻訳制御シグナルの提供が必要とされることがある。当業者は容易にこれを判定し、必要なシグナルを提供することができる。挿入物全体の翻訳を確実にするために、開始コドンは所望のコーディング配列のリーディングフレームと「インフレーム」でなければならないことは周知である。外因性翻訳制御シグナルおよび開始コドンは天然または合成のいずれであってもよい。適切な転写エンハンサーエレメントを含めることにより発現の効率を増進させてもよい。

【0144】

ある特定の実施形態では、内部リボソーム進入部位 (I R E S) エレメントの使用が、複数遺伝子、またはポリシストロン性の、メッセージを作出するために使用される。I R E S エレメントは、5'メチル化キャップ依存性の翻訳のリボソームスキニングモデルを回避して内部部位で翻訳を開始させることができる (PelletierおよびSonenberg、1988年)。ピコルナウイルスファミリーの2つのメンバー (polioおよびencephalomyocarditis) からのI R E S エレメント (PelletierおよびSonenberg、1988年) の他に、哺乳動物メッセージからのI R E S (MacejakおよびSarnow、1991年) が記載されている。I R E S エレメントを異種のオープンリーディングフレームに連結することができる。それぞれがI R E S により分離された複数のオープンリーディングフレームと一緒に転写させて、ポリシストロン性のメッセージを作出することができる。I R E S エレメントにより、各オープンリーディングフレームは、効率的な翻訳のためにリボソームが接近可能である。単一のプロモーター/エンハンサーを使用して単一のメッセージを転写することで複数の遺伝子を効率的に発現させることができる (米国特許第5, 925, 565号および同第5, 935, 819号を参照; それぞれは参照することにより本明細書に組み込まれる) 。

【0145】

さらに、ある特定の2A配列エレメントを使用して、本開示で提供される構築物中の遺伝子の連結または共発現を作出してもよい。例えば、単一のシストロンを形成するようにオープンリーディングフレームを連結させることにより、切断配列を使用して遺伝子を共発現させることができる。例示的な切断配列は、F 2 A (口蹄病ウイルス2A) または「2A様」配列 (例えば、T h o s e a a s i g n a ウイルス2A; T 2 A) である (M i n s k a i a およびRyan、2013年) 。

c . 複製起点

宿主細胞中でベクターを繁殖させるために、1つまたは複数の複製起点部位 (多くの場

10

20

30

40

50

合、「ori」と称される)、例えば、上記のEBVのoriPまたはプログラミングにおいて類似のまたは向上した機能を有する遺伝子操作されたoriPに対応する核酸配列を含有してもよく、これは、複製が開始される特定の核酸配列である。または、上記される他の染色体外複製ウイルスまたは自律複製配列(ARS)の複製起点を用いることができる。

3. 選択およびスクリーニング可能マーカー

【0146】

一部の実施形態では、本開示の構築物を含有する細胞は、発現ベクター中にマーカーを含めることによりin vitroまたはin vivoで同定することができる。そのようなマーカーは、その発現ベクターを含有する細胞の容易な同定を可能とする同定可能な変化を細胞に付与する。一般に、選択マーカーは、選択を可能とする特性を付与するものである。陽性選択マーカーはマーカーの存在がその選択を可能とするものであり、陰性選択マーカーはその存在がその選択を防止するものである。陽性選択マーカーの例は薬物耐性マーカーである。

10

【0147】

通常、薬物選択マーカーを含めることは、形質転換体のクローニングおよび同定を補助し、例えば、ネオマイシン、ピューロマイシン、ハイグロマイシン、DHFR、GPT、ゼオシンおよびヒスチジノールに対して抵抗性を付与する遺伝子は有用な選択マーカーである。条件の履行に基づいて形質転換体の識別を可能とする表現型を付与するマーカーに加えて、比色分析に基づくGFPなどのスクリーニング可能マーカーなどの他の種類のマーカーも想定される。または、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ(tk)またはクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ(CAT)などの陰性選択マーカーとしてスクリーニング可能な酵素を利用してよい。当業者はまた、場合によりFACS分析と組み合わせて、免疫学的マーカーをどのように用いるべきかを分かっている。遺伝子産物をコードする核酸と同時に発現できる限り、使用されるマーカーは重要でないと思われる。選択およびスクリーニング可能マーカーのさらなる例は当業者に周知である。

20

B. 核酸送達の方法

【0148】

治療遺伝子および/または細胞外マトリックス分解遺伝子をコードする核酸のウイルス送達に加えて、以下は、所与の宿主細胞への組換え遺伝子送達の追加の方法であり、したがって本開示において考慮される。したがって、遺伝子編集方法、例えば、メガヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレアーゼ(ZFN)、転写活性化因子様エフェクターベースのヌクレアーゼ(TALEN)、およびCRISPR-Casシステムなどの他の形態の遺伝子療法を治療用ウイルス組成物と組み合わせてもよい。

30

【0149】

核酸、例えばDNAまたはRNAの導入は、本明細書に記載されるまたは当業者に公知の、細胞の形質転換のための核酸送達の任意の好適な方法を使用することができる。そのような方法としては、DNAの直接的な送達、例えば、ex vivoトランスフェクション(Wilsonら、1989年、Nabelら、1989年)、注射(米国特許第5,994,624号、同第5,981,274号、同第5,945,100号、同第5,780,448号、同第5,736,524号、同第5,702,932号、同第5,656,610号、同第5,589,466号および同第5,580,859号;それぞれは参照することにより本明細書に組み込まれる)、例えば、マイクロインジェクション(HarlandおよびWeintraub、1985年;米国特許第5,789,215号;参照することにより本明細書に組み込まれる);エレクトロポレーション(米国特許第5,384,253号;参照することにより本明細書に組み込まれる;Tur-Kaspaら、1986年;Potterら、1984年);リン酸カルシウム沈殿(GrahamおよびVan Der Eb、1973年;ChenおよびOkayama、1987年;Rippeら、1990年);DEAEデキストラン、続いてポリエチレングリコールの使用(Gopal、1985年);ダイレクトソニックローディング(Fecheimerら、1987年);リボソーム媒介性のトランスフェクション(NicolauおよびSe

40

50

ne、1982年；Fraleyら、1979年；Nicolauら、1987年；Wongら、1980年；Kanedaら、1989年；Katoら、1991年）および受容体媒介性のトランスフェクション（WuおよびWu、1987年；WuおよびWu、1988年）；微粒子銃（PCT出願番号WO94/09699および同95/06128；米国特許第5,610,042号；同第5,322,783号、同第5,563,055号、同第5,550,318号、同第5,538,877号および同第5,538,880号；それぞれは参照することにより本明細書に組み込まれる）；炭化ケイ素繊維との攪拌（Kaepplerら、1990年；米国特許第5,302,523号および同第5,464,765号；それぞれは参照することにより本明細書に組み込まれる）；Agrobacterium媒介性の形質転換（米国特許第5,591,616号および同第5,563,055号；それぞれは参照することにより本明細書に組み込まれる）；乾燥/阻害媒介性のDNA取込み（Potrykusら、1985年）、およびそのような方法の任意の組合せが挙げられるがこれらに限定されない。これらのような技術の応用を通じて、細胞小器官、細胞、組織または生物を安定的にまたは一過的に形質転換することができる。

10

1. エレクトロポレーション

【0150】

本開示のある特定の実施形態では、遺伝子構築物は、エレクトロポレーションを介して標的過剰増殖性細胞中に導入される。エレクトロポレーションは、高電圧放電への細胞（または組織）およびDNA（またはDNA複合体）の曝露を含む。

20

【0151】

エレクトロポレーションを使用する真核細胞のトランスフェクションはかなり成功してきた。この方法でマウスプレBリンパ球にヒトカッパー免疫グロブリン遺伝子がトランスフェクトされており（Potterら、1984年）、ラット肝細胞にクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ遺伝子がトランスフェクトされている（Tur-Kaspaら、1986年）。

【0152】

異なる供給源からの過剰増殖性細胞のためにエレクトロポレーション条件を最適化してもよいことが想定される。電圧、キャパシタンス、時間およびエレクトロポレーション培地組成などのパラメーターの最適化が特に望まれ得る。他のルーチンの調整の実行は当業者に公知であろう。例えば、Hoffman、1999年；Hellerら、1996年を参照。

30

2. 脂質媒介性の形質転換

【0153】

さらなる実施形態では、腫瘍抑制因子および/または細胞外マトリックス分解遺伝子は、リポソームまたは脂質配合物中に封入され得る。リポソームは、リン脂質二重層膜および内部水性媒体により特徴付けられる小胞構造物である。マルチラメラリポソームは、水性媒体により分離された複数の脂質層を有する。それらは、リン脂質が過剰の水溶液中に懸濁された時に自然に形成される。脂質成分は、閉じた構造の形成前に自己再構成を遂げ、脂質二重層の間に水および溶解した溶質を封入する（GhoshおよびBachhawat、1991年）。リポフェクタミンと複合体化した遺伝子構築物も想定される（Gibco BRL）。

40

【0154】

in vitroでの外来DNAの脂質媒介性の核酸送達および発現は非常に成功している（NicolauおよびSene、1982年；Fraleyら、1979年；Nicolauら、1987年）。Wongら（1980年）は、培養されたニワトリ胚、HeLaおよびヘパトーマ細胞中での外来DNAの脂質媒介性の送達および発現の実行可能性を実証した。

【0155】

脂質ベースの非ウイルス配合物は、アデノウイルス遺伝子療法の代替を提供する。多くの細胞培養研究で脂質ベースの非ウイルス遺伝子移入が報告されてきたが、脂質ベースの配合物を介する全身性の遺伝子送達は限定されている。非ウイルス性の脂質ベースの遺伝子送達の大きな制限は、非ウイルス送達ビヒクルを含むカチオン性脂質の毒性である。リ

50

ポソームの *in vivo* での毒性は、*in vitro* と *in vivo* との間の遺伝子移入の結果の不一致を部分的に説明する。この矛盾するデータに寄与する別の要因は、血清タンパク質の存在下および非存在下での脂質ビヒクルの安定性の差異である。脂質ビヒクルと血清タンパク質との相互作用は、脂質ビヒクルの安定性の特徴に対して劇的な影響力を有する (Yang および Huang、1997 年)。カチオン性脂質は負に荷電した血清タンパク質を誘引してそれに結合する。血清タンパク質に会合した脂質ビヒクルは、溶解するか、またはマクロファージにより取り去られ、循環からの除去に繋がる。現行の *in vivo* 脂質送達方法は、循環中のカチオン性脂質に関連付けられる毒性および安定性の問題を回避するために、皮下、皮内、腫瘍内、または頭蓋内注射を使用する。脂質ビヒクルと血漿タンパク質との相互作用は、*in vitro* (Felgner ら、1987 年) および *in vivo* での遺伝子移入 (Zhu ら、1993 年; Philip ら、1993 年; Solodin ら、1995 年; Liu ら、1995 年; Thierry ら、1995 年; Tsukamoto ら、1995 年; Aksentijevich ら、1996 年) の効率の不均衡に關与する。

10

20

30

40

50

【0156】

脂質配合物の進歩により、*in vivo* での遺伝子移入の効率が改善された (Templeton ら、1997 年; WO 98/07408)。等モル比の 1, 2 - ビス (オレオイルオキシ) - 3 - (トリメチルアンモニオ) プロパン (DOTAP) およびコレステロールから構成される新規の脂質配合物は、全身性の *in vivo* 遺伝子移入を有意に約 150 倍増進させる。DOTAP: コレステロール脂質配合物は、「サンドイッチリポソーム」と称される独特の構造を形成する。この配合物は、嵌入した二重層または「瓶」構造の間に DNA を「サンドイッチ」することが報告されている。これらの脂質構造物の有益な特徴としては、正の、コレステロールによるコロイドの安定化、二次元の DNA パッキングおよび増加した血清安定性が挙げられる。特許出願第 60/135, 818 号および同第 60/133, 116 号には、本発明と共に使用され得る配合物が議論されている。

【0157】

脂質配合物の製造は、多くの場合、(I) 逆相蒸発、(II) 脱水 - 再水和、(III) 界面活性剤透析および (IV) 薄膜水和の後のリポソーム混合物の超音波処理または連続押出しにより達成される。脂質構造物が製造されたら、それを使用して、循環中にある時に毒性 (化学療法薬) または不安定 (核酸) な化合物をカプセル化することができる。脂質カプセル化は、そのような化合物についてより低い毒性およびより長い血清半減期を結果としてもたらしてきた (Gabizon ら、1990 年)。多数の疾患治療は、従来の療法を増進させるためまたは新規の療法を確立するために (特に過剰増殖性疾患を治療するための療法)、脂質ベースの遺伝子移入戦略を使用している。

IV. 免疫チェックポイント阻害剤

【0158】

本開示は、免疫チェックポイントの遮断をウイルス組成物と組み合わせる方法を提供する。免疫チェックポイントは、シグナル (例えば、共刺激分子) を大きくするまたはシグナルを小さくする免疫系中の分子である。免疫チェックポイントの遮断により標的化され得る阻害性チェックポイント分子としては、アデノシン A2A 受容体 (A2AR)、B7 - H3 (CD276 としても公知)、B および T リンパ球アテニュエーター (BTLA)、細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4 (CTLA-4、CD152 としても公知)、インドールアミン 2, 3 - ジオキシゲナーゼ (IDO)、キラー細胞免疫グロブリン (KIR)、リンパ球活性化遺伝子 3 (LAG3)、プログラム死 1 (PD-1)、T 細胞免疫グロブリンドメインおよびムチンドメイン 3 (TIM-3) および V ドメイン Ig T 細胞活性化抑制因子 (V-domain Ig suppressor of T cell activation; VISTA) が挙げられる。特に、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1 軸および/または CTLA-4 を標的化する。

【0159】

免疫チェックポイント阻害剤は、薬物、例えば、小分子、組換え型のリガンドもしくは受容体であってよく、または、特に、抗体、例えばヒト抗体である (例えば、国際特許出

願公開WO2015016718; Pardoll、2012年; 共に参照することにより本明細書に組み込まれる)。免疫チェックポイントタンパク質の公知の阻害剤またはそのアナログを使用することができ、特に、キメラ化、ヒト化またはヒト型の抗体を使用することができる。当業者に公知のように、本開示に記載されるある特定の抗体について代替的なおよび/または同等の名称が使用されることがある。そのような代替的なおよび/または同等の名称は、本発明の文脈において交換可能である。例えば、ランプロリズマブは、MKK-3475およびベムプロリズマブという代替的なおよび同等の名称でも公知であることが知られている。

【0160】

免疫応答を刺激することが当該技術分野において公知である免疫チェックポイント阻害剤のいずれを使用してもよいことが想定される。これには、抗原特異的Tリンパ球を直接的または間接的に刺激または増進させる阻害剤が含まれる。これらの免疫チェックポイント阻害剤としては、PD-L2、LAG3、BTLA、B7H4およびTIM3を含む免疫チェックポイントタンパク質および経路を標的化する剤が挙げられるがこれらに限定されない。例えば、当該技術分野において公知のLAG3阻害剤としては、可溶性LAG3(WO2009044273に開示されているIMP321、またはLAG3-Ig)の他に、ヒトLAG3を遮断するマウスもしくはヒト化抗体(例えば、WO2008132601に開示されているIMP701)、またはヒトLAG3を遮断する完全ヒト抗体(EP2320940に開示されるものなど)が挙げられる。別の例は、BTLAに対する遮断剤の使用により提供され、これには、ヒトBTLAのそのリガンドとの相互作用を遮断する抗体(WO2011014438に開示されている4C7など)が含まれるがこれに限定されない。さらに別の例は、B7H4を中和する剤の使用により提供され、これには、ヒトB7H4に対する抗体(WO2013025779、およびWO2013067492に開示されているもの)または可溶性組換え型のB7H4(米国特許出願公開第20120177645号に開示されているものなど)が含まれるがこれらに限定されない。さらに別の例は、B7-H3を中和する剤により提供され、これには、ヒトB7-H3を中和する抗体(例えば、米国特許出願公開第20120294796号においてBRCA84Dとして開示されるMGA271および誘導体)が含まれるがこれに限定されない。さらに別の例は、TIM3を標的化する剤により提供され、これには、ヒトTIM3を標的化する抗体(例えば、WO2013006490A2に開示されるものまたはJonesら、2008年に開示される抗ヒトTIM3遮断抗体F38-2E2)が含まれるがこれに限定されない。

【0161】

加えて、1つより多くの免疫チェックポイント阻害剤(例えば、抗PD-1抗体および抗CTLA-4抗体)を局所/アブスコパルウイルス組成物と組み合わせて使用してもよい。例えば、局所/アブスコパルウイルス組成物および免疫チェックポイント阻害剤(例えば、抗KIR抗体および/または抗PD-1抗体)は、自然抗腫瘍免疫を増進させるために投与することができ、続いて局所/アブスコパルウイルス組成物および免疫チェックポイント阻害剤(例えば、抗PD-1抗体)は、適応抗腫瘍免疫応答を誘導するために投与することができる。

A. PD-1軸アンタゴニスト

【0162】

T細胞機能障害またはアネルギーは、阻害性受容体、プログラム死1ポリペプチド(PD-1)の誘導された持続した発現と並行して起こる。したがって、PD-1およびPD-1との相互作用を通じてシグナル伝達する他の分子、例えば、プログラム死リガンド1(PD-L1)およびプログラム死リガンド2(PD-L2)を標的化する治療薬が本明細書で提供される。PD-L1は多くのがんにおいて過剰発現され、多くの場合に予後不良と関連付けられている(Okazaki トラ、2007年)。したがって、腫瘍のCD8⁺T細胞媒介性の殺傷を増進させるためなどの、局所/アブスコパルウイルス組成物療法と組み合わせたPD-L1/PD-1相互作用の阻害が本明細書で提供される。

【 0 1 6 3 】

個体においてがんを治療しまたはその進行を遅延させる方法であって、個体に有効量の P D - 1 軸結合アンタゴニストを局所 / アプスコパルウイルス組成物と組み合わせて投与することを含む、方法が本明細書で提供される。それを必要とする個体において免疫機能を増進させる方法であって、個体に有効量の P D - 1 軸結合アンタゴニストおよび局所 / アプスコパルウイルス組成物を投与することを含む、方法も本明細書で提供される。

【 0 1 6 4 】

例えば、P D - 1 軸結合アンタゴニストとしては、P D - 1 結合アンタゴニスト、P D L 1 結合アンタゴニストおよび P D L 2 結合アンタゴニストが挙げられる。「P D - 1」の代替的な名称としては、C D 2 7 9 および S L E B 2 が挙げられる。「P D L 1」の代替的な名称としては、B 7 - H 1、B 7 - 4、C D 2 7 4、および B 7 - H が挙げられる。「P D L 2」の代替的な名称としては、B 7 - D C、B t d c、および C D 2 7 3 が挙げられる。一部の実施形態では、P D - 1、P D L 1、および P D L 2 は、ヒト P D - 1、P D L 1 および P D L 2 である。

10

【 0 1 6 5 】

一部の実施形態では、P D - 1 結合アンタゴニストは、P D - 1 のそのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する分子である。特定の態様では、P D - 1 リガンド結合パートナーは P D L 1 および / または P D L 2 である。別の実施形態では、P D L 1 結合アンタゴニストは、P D L 1 のその結合パートナーへの結合を阻害する分子である。特定の態様では、P D L 1 結合パートナーは P D - 1 および / または B 7 - 1 である。別の実施形態では、P D L 2 結合アンタゴニストは、P D L 2 のその結合パートナーへの結合を阻害する分子である。特定の態様では、P D L 2 結合パートナーは P D - 1 である。アンタゴニストは、抗体、その抗原結合性断片、イムノアドヘシン (immunoadhesion)、融合タンパク質、またはオリゴペプチドであってよい。例示的な抗体は、米国特許第 8 7 3 5 5 5 3 号、同第 8 3 5 4 5 0 9 号、および同第 8 0 0 8 4 4 9 号 (これらの全ては参照することにより本明細書に組み込まれる) に記載されている。米国特許出願第 2 0 1 4 0 2 9 4 8 9 8 号、同第 2 0 1 4 0 2 2 0 2 1 号、および同第 2 0 1 1 0 0 0 8 3 6 9 号 (これらの全ては参照することにより本明細書に組み込まれる) に記載されるものなどの、本明細書で提供される方法において使用するための他の P D - 1 軸アンタゴニストが当該技術分野において公知である。

20

30

【 0 1 6 6 】

一部の実施形態では、P D - 1 結合アンタゴニストは抗 P D - 1 抗体 (例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体) である。一部の実施形態では、抗 P D - 1 抗体は、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、および C T - 0 1 1 からなる群から選択される。一部の実施形態では、P D - 1 結合アンタゴニストはイムノアドヘシン (例えば、定常領域 (例えば、免疫グロブリン配列の F c 領域) に融合した P D L 1 または P D L 2 の細胞外または P D - 1 結合部分を含むイムノアドヘシン) である。一部の実施形態では、P D - 1 結合アンタゴニストは A M P - 2 2 4 である。M D X - 1 1 0 6 - 0 4、M D X - 1 1 0 6、O N O - 4 5 3 8、B M S - 9 3 6 5 5 8、および O P D I V O (登録商標) としても公知のニボルマブは、W O 2 0 0 6 / 1 2 1 1 6 8 に記載されている抗 P D - 1 抗体である。M K - 3 4 7 5、M e r c k 3 4 7 5、ランブロリズマブ、K E Y T R U D A (登録商標)、および S C H - 9 0 0 4 7 5 としても公知のペムブロリズマブは、W O 2 0 0 9 / 1 1 4 3 3 5 に記載されている抗 P D - 1 抗体である。h B A T または h B A T - 1 としても公知の C T - 0 1 1 は、W O 2 0 0 9 / 1 0 1 6 1 1 に記載されている抗 P D - 1 抗体である。B 7 - D C I g としても公知の A M P - 2 2 4 は、W O 2 0 1 0 / 0 2 7 8 2 7 および W O 2 0 1 1 / 0 6 6 3 4 2 に記載されている P D L 2 - F c 融合可溶性受容体である。追加の P D - 1 結合アンタゴニストとしては、C T - 0 1 1 としても公知のピジリズマブ、A M P - 5 1 4 としても公知の M E D I 0 6 8 0、および R E G N 2 8 1 0 が挙げられる。

40

【 0 1 6 7 】

50

一部の態様では、免疫チェックポイント阻害剤はPD-L1アンタゴニスト、例えば、MED14736としても公知のデュルバルマブ、MPDL3280Aとしても公知のアテゾリズマブ、またはMSB00010118Cとしても公知のアベルマブである。ある特定の態様では、免疫チェックポイント阻害剤はPD-L2アンタゴニスト、例えばrHIGM12B7である。一部の態様では、免疫チェックポイント阻害剤はLAG-3アンタゴニスト、例えば、以下に限定されないが、IMP321、およびBMS-986016である。免疫チェックポイント阻害剤は、アデノシンA2a受容体(A2aR)アンタゴニスト、例えばPBF-509であってよい。

【0168】

一部の態様では、本明細書に記載される抗体(抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、または抗PD-L2抗体など)は、ヒトまたはマウス定常領域をさらに含む。またさらなる態様では、ヒト定常領域は、IgG1、IgG2、IgG2、IgG3、IgG4からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、ヒト定常領域はIgG1である。またさらなる態様では、マウス定常領域はIgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3からなる群から選択される。またさらなる特定の態様では、抗体は、低減したまたは最小のエフェクター機能を有する。またさらなる特定の態様では、最小のエフェクター機能は、原核細胞中での製造の結果としてもたらされる。またさらなる特定の態様では、最小のエフェクター機能は、「エフェクターレスFc変異」またはアグリコシル化(aglycosylation)の結果としてもたらされる。

【0169】

したがって、本明細書で使用される抗体は、アグリコシル化されたものであり得る。抗体のグリコシル化は、典型的に、N連結またはO連結のいずれかである。N連結は、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の結合を指す。トリペプチド配列アスパラギン-X-セリンおよびアスパラギン-X-スレオニン(Xはプロリンを除く任意のアミノ酸である)は、アスパラギン側鎖への炭水化物部分の酵素結合のための認識配列である。したがって、ポリペプチド中のこれらのトリペプチド配列のいずれかの存在は、潜在的なグリコシル化部位を作出する。O連結グリコシル化は、糖N-アセチルガラクトサミン(N-acetyl galactosamine)、ガラクトース、またはキシロースの1つの、ヒドロキシアミノ酸への結合を指し、該ヒドロキシアミノ酸は、最も多くはセリンまたはスレオニンであるが、5-ヒドロキシプロリンまたは5-ヒドロキシリシンを使用することもできる。抗体からのグリコシル化部位の除去は、簡便には、上記のトリペプチド配列(N連結グリコシル化部位について)の1つが除去されるようにアミノ酸配列を変化させることにより達成される。変化は、グリコシル化部位内のアスパラギン、セリンまたはスレオニン残基を別のアミノ酸残基(例えば、グリシン、アラニンまたは保存的置換)で置換することにより行うことができる。

【0170】

抗体またはその抗原結合性断片は、当該技術分野において公知の方法、例えば、そのような抗体または断片を製造するために好適な条件下で、発現のために好適な形態で以前に記載された抗PD-L1、抗PD-1、または抗PD-L2抗体または抗原結合性断片のいずれかをコードする核酸を含有する宿主細胞を培養すること、および抗体または断片を回収

B・CTLA-4

【0171】

本明細書で提供される方法において標的化できる別の免疫チェックポイントは、CD152としても公知の細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4(CTLA-4)である。ヒトCTLA-4の完全なcDNA配列はGenbank受託番号U15006を有する。CTLA-4は、T細胞の表面上に見出され、抗原提示細胞の表面上のCD80またはCD86に結合した時に「オフ」スイッチとして作用する。CTLA-4は、ヘルパーT細胞の表面上で発現される免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーであり、阻害シグナルをT細胞に伝達する。CTLA-4はT細胞共刺激タンパク質CD28に類似しており、

両方の分子は、抗原提示細胞上のそれぞれ B 7 - 1 および B 7 - 2 と呼ばれる C D 8 0 および C D 8 6 に結合する。C T L A 4 は阻害シグナルを T 細胞に伝達し、C D 2 8 は刺激シグナルを伝達する。細胞内 C T L A 4 も制御性 T 細胞中に見出され、これはそれらの機能にとって重要であり得る。T 細胞受容体および C D 2 8 を通じた T 細胞活性化は、B 7 分子の阻害性受容体である C T L A - 4 の増加した発現に繋がる。

【 0 1 7 2 】

一部の実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は抗 C T L A - 4 抗体（例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体）、その抗原結合性断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、またはオリゴペプチドである。

【 0 1 7 3 】

本発明の方法において使用するために好適な抗ヒト C T L A - 4 抗体（またはそれに由来する V H および / または V L ドメイン）は、当該技術分野において周知の方法を使用して生成することができる。または、当該技術分野で認識される抗 C T L A - 4 抗体を使用することができる。例えば、米国特許第 8 , 1 1 9 , 1 2 9 号、W O 0 1 / 1 4 4 2 4 、W O 9 8 / 4 2 7 5 2 ; W O 0 0 / 3 7 5 0 4 (C P 6 7 5 , 2 0 6 、トレメリムマブとしても公知 ; 旧チシリムマブ) 、米国特許第 6 , 2 0 7 , 1 5 6 号 ; Hurwitz ら、1 9 9 8 年 ; Camacho ら、2 0 0 4 年 ; および Mokyr ら、1 9 9 8 年に開示される抗 C T L A - 4 抗体を本明細書に開示される方法において使用することができる。上述の各刊行物の教示は、参照することにより本明細書に組み込まれる。これらの当該技術分野で認識される抗体のいずれかと C T L A - 4 への結合について競合する抗体もまた使用することができる。例えば、ヒト化 C T L A - 4 抗体が国際特許出願番号 W O 2 0 0 1 0 1 4 4 2 4 、W O 2 0 0 0 0 3 7 5 0 4 、および米国特許第 8 0 1 7 1 1 4 号（これらの全ては参照することにより本明細書に組み込まれる）に記載されている。

【 0 1 7 4 】

例示的な抗 C T L A - 4 抗体は、イピリムマブ（1 0 D 1 、M D X - 0 1 0 、M D X - 1 0 1 、および Y e r v o y （登録商標）としても公知）またはその抗原結合性断片およびバリエーションである（例えば、W O 0 1 / 1 4 4 2 4 を参照）。他の実施形態では、抗体は、イピリムマブの重鎖および軽鎖 C D R または V R を含む。したがって、一実施形態では、抗体は、イピリムマブの V H 領域の C D R 1 、C D R 2 、および C D R 3 ドメイン、ならびにイピリムマブの V L 領域の C D R 1 、C D R 2 および C D R 3 ドメインを含む。別の実施形態では、抗体は、上記の抗体と同じ C T L A - 4 上のエピトープと結合について競合し、および / またはそれに結合する。別の実施形態では、抗体は、上記の抗体と少なくとも約 9 0 % の可変領域アミノ酸配列の同一性（例えば、イピリムマブと少なくとも約 9 0 % 、9 5 % 、または 9 9 % の可変領域同一性）を有する。

【 0 1 7 5 】

C T L A - 4 をモジュレートするための他の分子としては、C T L A - 4 リガンドおよび受容体、例えば、米国特許第 5 8 4 4 9 0 5 号、同第 5 8 8 5 7 9 6 号および国際特許出願 W O 1 9 9 5 0 0 1 9 9 4 および同 W O 1 9 9 8 0 4 2 7 5 2 （これらの全ては参照することにより本明細書に組み込まれる）に記載されるもの、およびイムノアドヘシン、例えば、米国特許第 8 3 2 9 8 6 7 号（参照することにより本明細書に組み込まれる）に記載されているものが挙げられる。

C . キラー免疫グロブリン様受容体（K I R）

【 0 1 7 6 】

本発明において使用するための別の免疫チェックポイント阻害剤は抗 K I R 抗体である。本発明において使用するために好適な抗ヒト K I R 抗体（またはそれに由来する V H / V L ドメイン）は、当該技術分野において周知の方法を使用して生成することができる。

【 0 1 7 7 】

または、当該技術分野で認識される抗 K I R 抗体を使用することができる。抗 K I R 抗体は、複数の阻害性 K I R 受容体と交差反応性であってよく、これらの受容体の 1 つまたは複数を持つ N K 細胞の細胞傷害性を増強するものであってよい。例えば、抗 K I R 抗体

は、K I R 2 D 2 D L 1、K I R 2 D L 2、およびK I R 2 D L 3のそれぞれに結合するものであってよく、これらのK I Rのいずれかまたは全てにより媒介されるN K細胞の細胞傷害性の阻害を低減させ、中和し、および/または後退させることによりN K細胞活性を増強するものであってよい。一部の態様では、抗K I R抗体は、K I R 2 D S 4および/またはK I R 2 D S 3に結合しない。例えば、W O 2 0 0 6 / 0 0 3 1 7 9 (その教示は参照することにより本明細書に組み込まれる)に記載されているモノクローナル抗体1 - 7 F 9 (I P H 2 1 0 1としても公知)、1 4 F 1、1 - 6 F 1および1 - 6 F 5を使用することができる。これらの当該技術分野で認識される抗体のいずれかとK I Rへの結合について競合する抗体も使用することができる。使用できる追加の当該技術分野で認識される抗K I R抗体としては、例えば、W O 2 0 0 5 / 0 0 3 1 6 8、W O 2 0 0 5 / 0 0 9 4 6 5、W O 2 0 0 6 / 0 7 2 6 2 5、W O 2 0 0 6 / 0 7 2 6 2 6、W O 2 0 0 7 / 0 4 2 5 7 3、W O 2 0 0 8 / 0 8 4 1 0 6、W O 2 0 1 0 / 0 6 5 9 3 9、W O 2 0 1 2 / 0 7 1 4 1 1およびW O / 2 0 1 2 / 1 6 0 4 4 8に開示されているものが挙げられる。

【0178】

例示的な抗K I R抗体はリリルマブである(B M S - 9 8 6 0 1 5またはI P H 2 1 0 2とも称される)。他の実施形態では、抗K I R抗体は、リリルマブの重鎖および軽鎖相補性決定領域(C D R)または可変領域(V R)を含む。したがって、一実施形態では、抗体は、リリルマブの重鎖可変(V H)領域のC D R 1、C D R 2、およびC D R 3ドメイン、ならびにリリルマブの軽鎖可変(V L)領域のC D R 1、C D R 2およびC D R 3ドメインを含む。別の実施形態では、抗体は、リリルマブと少なくとも約90%の可変領域アミノ酸配列の同一性を有する。

V. 治療方法

【0179】

個体においてがんを治療し、その進行を遅延させ、または予防する方法であって、個体に有効量のウイルス組成物を単独でまたは少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤(例えば、P D - 1軸結合アンタゴニストおよび/またはC T L A - 4抗体)と組み合わせることを含む、方法が本明細書で提供される。

【0180】

一部の実施形態では、治療は、治療の中止後に個体において持続的な応答を結果としてもたらす。本明細書に記載される方法は、がんの治療のための腫瘍免疫原性の増加など、免疫原性の増進が所望される状態の治療において使用されてよい。がんを有する個体などにおいて免疫機能を増進させる方法であって、個体に有効量の免疫チェックポイント阻害剤(例えば、P D - 1軸結合アンタゴニストおよび/またはC T L A - 4抗体)および局所/アブスコパルウイルス組成物療法を投与することを含む、方法も本明細書で提供される。一部の実施形態では、個体はヒトである。

【0181】

治療のために想定されるがんの例としては、肺がん、頭頸部がん、乳がん、膵臓がん、前立腺がん、腎臓がん、骨がん、精巣がん、子宮頸がん、胃腸がん、リンパ腫、肺における前新生物性病変、結腸がん、黒色腫、および膀胱がんが挙げられる。

【0182】

一部の実施形態では、個体は、1つまたは複数の抗がん療法に抵抗性の(抵抗性であることが実証されている)がんを有する。一部の実施形態では、抗がん療法への抵抗性は、がんの再発または難治性がんを含む。再発は、治療後に元々の部位または新たな部位においてがんが再出現することを指し得る。一部の実施形態では、抗がん療法への抵抗性は、抗がん療法での治療中のがんの進行を含む。一部の実施形態では、がんは初期ステージまたは後期ステージにある。

【0183】

個体は、P D - L 1バイオマーカーを発現する(例えば診断試験においてそれを発現することが示されている)がんを有し得る。一部の実施形態では、患者のがんは、低いP D

- L 1 バイオマーカーを発現する。一部の実施形態では、患者のがんは、高い P D - L 1 バイオマーカーを発現する。P D - L 1 バイオマーカーは、F A C S、ウエスタンブロット、E L I S A、免疫沈降、免疫組織化学、免疫蛍光、ラジオイムノアッセイ、ドットブロットティング、免疫検出法、H P L C、表面プラズモン共鳴、分光法、質量分析法、H P L C、q P C R、R T - q P C R、マルチプレックス q P C R または R T - q P C R、R N A - s e q、マイクロアレイ分析、S A G E、M a s s A R R A Y 技術、および F I S H、ならびにこれらの組合せからなる群から選択される方法を使用して試料中で検出することができる。

【0184】

本明細書に記載される方法のいずれか（例えば、有効量のウイルス組成物療法を単独でまたは少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせて投与することを含む組合せ治療）の有効性は、当該技術分野において公知の様々なモデル、例えば、臨床または前臨床モデルにおいて試験することができる。好適な前臨床モデルは本明細書に例示されており、さらに、I D 8 卵巣がん、G E M モデル、B 1 6 黒色腫、R E N C A 腎臓細胞がん、C T 2 6 結腸直腸がん、M C 3 8 結腸直腸がん、およびがんの C l o u d m a n 黒色腫モデルを挙げることができるがこれらに限定されない。

【0185】

本開示の方法の一部の実施形態では、がんは、低いレベルの T 細胞浸潤を有する。一部の実施形態では、がんは、検出可能な T 細胞浸潤を有しない。一部の実施形態では、がんは非免疫原性がん（例えば、非免疫原性結腸直腸がんおよび / または卵巣がん）である。理論によって縛れるものではないが、組合せ治療は、組合せの投与の前と比べて T 細胞（例えば、C D 4 + T 細胞、C D 8 + T 細胞、メモリー T 細胞）のプライミング、活性化および / または増殖を増加させ得る。

【0186】

本開示の方法の一部の実施形態では、個体中の活性化した C D 4 および / または C D 8 T 細胞は、組合せの投与の前と比べて - I F N 産生 C D 4 および / もしくは C D 8 T 細胞ならびに / または増進された細胞溶解活性により特徴付けられる。- I F N は、当該技術分野において公知の任意の手段により測定することができ、該手段としては、例えば、細胞固定、透過処理、および - I F N に対する抗体での染色を含む細胞内サイトカイン染色（I C S）が挙げられる。細胞溶解活性は、当該技術分野において公知の任意の手段、例えば、混合されたエフェクターおよび標的細胞を用いる細胞殺傷アッセイを使用する手段により測定することができる。

【0187】

本開示は、免疫系の標的としてまたは外来の標的への免疫系の応答の部分として免疫反応に参加する任意のヒト細胞のために有用である。方法としては、e x v i v o の方法、i n v i v o の方法、および宿主細胞へのポリヌクレオチドまたはベクターの注射を含む様々な他の方法が挙げられる。方法としてはまた、腫瘍または腫瘍床への直接的な注射の他に、腫瘍への局所または局部注射が挙げられる。

A . 投与

【0188】

本明細書で提供される療方は、有効量のウイルス組成物を単独でまたは少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤（例えば、P D - 1 軸結合アンタゴニストおよび / または C T L A - 4 抗体）と組み合わせて投与することを含む。併用療方は、当該技術分野において公知の任意の好適な方法で投与することができる。例えば、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、P D - 1 軸結合アンタゴニストおよび / または C T L A - 4 抗体）およびウイルス組成物は、逐次的に（異なる時点に）または並行して（同時に）投与されてよい。一部の実施形態では、1つまたは複数の免疫チェックポイント阻害剤は、局所 / アプスコパルウイルス組成物療法またはその発現構築物とは別々の組成物中にある。一部の実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、局所 / アプスコパルウイルス組成物療法と同じ組成物中にある。ある特定の態様では、対象は、少なくとも1つの免疫チェックポイン

10

20

30

40

50

ト阻害剤の前に、同時に、または後に、p 5 3をコードする核酸および/またはMDA - 7をコードする核酸を投与される。

【0189】

1つまたは複数の免疫チェックポイント阻害剤およびウイルス組成物療法の成分は、同じ投与経路で投与されてよく、または異なる投与経路で投与されてよい。一部の実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、静脈内に、筋肉内に、皮下に、局所的に、経口的に、経皮的に、腹腔内に、眼窩内に、インプラント挿入により、吸入により、髄腔内に、脳室内に、または鼻腔内に投与される。一部の実施形態では、局所/アブスコパルウイルス組成物療法は、静脈内に、筋肉内に、皮下に、局所的に、経口的に、経皮的に、腹腔内に、眼窩内に、インプラント挿入により、吸入により、髄腔内に、脳室内に、または鼻腔内に投与される。一部の態様では、投与は、連続注入、腫瘍内注射、静脈注射、動脈注射、腹腔内注射、胸膜内注射、または髄腔内注射を介して為される。有効量の免疫チェックポイント阻害剤および局所/アブスコパルウイルス組成物療法は、疾患の予防または治療のために投与されてよい。免疫チェックポイント阻害剤および/または局所/アブスコパルウイルス組成物療法の適切な投与量は、治療される疾患の種類、疾患の重篤度および経過、個体の臨床的状態、個体の臨床的な歴史および治療への応答、および主治医の裁量に基づいて決定することができる。一部の実施形態では、少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤（例えば、PD - 1軸結合アンタゴニストおよび/またはCTLA - 4抗体）および局所/アブスコパルウイルス組成物療法を用いる組合せ治療は相乗的であり、それにより、組合せ中の局所/アブスコパルウイルス組成物療法の有効用量は、単剤としての少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤（例えば、PD - 1軸結合アンタゴニストおよび/またはCTLA - 4抗体）の有効用量と比べて低減される。

10

20

【0190】

例えば、ヒトに投与される治療有効量の免疫チェックポイント阻害剤、例えば抗体、ならびに/またはp 5 3および/もしくはMDA - 7をコードする核酸もしくはその発現構築物は、1回の投与であっても複数回の投与であっても、患者の体重1 kg当たり約0.01 ~ 約50 mg / kgの範囲内である。一部の実施形態では、使用される抗体は、約0.01 ~ 約45 mg / kg、約0.01 ~ 約40 mg / kg、約0.01 ~ 約35 mg / kg、約0.01 ~ 約30 mg / kg、約0.01 ~ 約25 mg / kg、約0.01 ~ 約20 mg / kg、約0.01 ~ 約15 mg / kg、約0.01 ~ 約10 mg / kg、約0.01 ~ 約5 mg / kg、または約0.01 ~ 約1 mg / kgが例えば連日投与される。一部の実施形態では、抗体は15 mg / kgで投与される。しかしながら、他の投与量レジメンが有用なことがある。一実施形態では、本明細書に記載される抗PD L 1抗体は、21日サイクルの1日目に約100 mg、約200 mg、約300 mg、約400 mg、約500 mg、約600 mg、約700 mg、約800 mg、約900 mg、約1000 mg、約1100 mg、約1200 mg、約1300 mgまたは約1400 mgの用量でヒトに対して投与される。用量は、注入などで、単回用量として、または複数回用量（例えば、2回または3回用量）として投与されてよい。この療法の進行は従来技術により容易にモニターされる。

30

【0191】

腫瘍内注射、または腫瘍血管系への注射が、離散的な、固形の、接近可能な腫瘍のために具体的に想定される。局所、局部または全身性の投与も適切なことがある。4 cmより大きい腫瘍について、投与される体積は約4 ~ 10 ml（特に、10 ml）であり、4 cmより小さい腫瘍について、約1 ~ 3 mlの体積（特に、3 ml）が使用されるであろう。単回用量として送達される複数の注射は、約0.1 ~ 約0.5 mlの体積を含む。例えば、アデノウイルス粒子は、腫瘍に複数の注射を投与することにより有利なことに接触させることができる。

40

【0192】

治療レジメンは様々であってもよく、それは多くの場合、腫瘍の種類、腫瘍の位置、疾患進行、ならびに患者の健康および年齢に依存する。明らかなことに、ある特定の種類の

50

腫瘍はより侵攻性の治療を必要とするが、それと同時にある特定の患者はより負荷の大きいプロトコルに耐えることができない。臨床医は治療用配合物の既知の有効性および（それがあ

【0193】

ある特定の実施形態では、治療されている腫瘍は、少なくとも最初に、切除可能でなくてもよい。治療用ウイルス構築物での治療は、縁での縮小に起因してまたはある特定の特に浸潤性の部分の除去により腫瘍の切除可能性を増加させることがある。治療後に、切除が可能なが

【0194】

治療は、様々な「単位用量」を含んでよい。単位用量は、予め決定された量の治療用組成物を含有するものとして定義される。投与される量、ならびに特定の経路および配合物は、臨床技術における当業者の技術的範囲内である。単位用量は単一の注射として投与される必要はなく、設定された期間にわたる連続注入を含んでよい。本発明の単位用量は、ウイルス構築物のプラーク形成単位（p f u）として記載されることが簡便なことがある。単位用量は、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 、 10^{12} 、 10^{13} p f u およびより高いものに及ぶ。または、ウイルスの種類および達成可能な力価に応じて、 $1 \sim 100$ 、 $10 \sim 50$ 、 $100 \sim 1000$ 、または最大約 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 、 1×10^9 、 1×10^{10} 、 1×10^{11} 、 1×10^{12} 、 1×10^{13} 、 1×10^{14} 、または 1×10^{15} またはより高い感染性ウイルス粒子（v p）が患者または患者の細胞に送達される。

B．注射用組成物および配合物

【0195】

本明細書で提供されるウイルス組成物および／または免疫チェックポイント阻害剤の過剰増殖性細胞への送達のための本開示における1つの方法は、腫瘍内注射を介する。しながら、本明細書に開示される医薬組成物は、代替的に、米国特許第5,543,158号、米国特許第5,641,515号および米国特許第5,399,363号（これらの全ては参照することにより本明細書に組み込まれる）に記載されるように、非経口的に、静脈内に、皮内に、筋肉内に、経皮的にまたはさらには腹腔内に投与されてよい。

【0196】

核酸構築物の注射は、発現構築物が注射のために必要とされる針の特定のゲージを通してできる限り、注射器または溶液の注射のために使用される任意の他の方法により送達されてよい。溶液を保持するためのアンブルチャンバーを画定するノズルおよび送達の部位へノズルから溶液を押し出すためのエネルギーデバイスを有する新規の針なしの注射システムが記載されている（米国特許第5,846,233号）。精密に任意の深さに予め決定された量の溶液の複数の注射を可能とする遺伝子療法において使用するための注射器システムも記載されている（米国特許第5,846,225号）。

【0197】

遊離塩基または薬理学的に許容される塩としての活性化合物の溶液を、好適には界面活性剤、例えばヒドロキシプロピルセルロースと混合された水中で調製してもよい。分散液をグリセロール、液体ポリエチレングリコール、およびこれらの混合物中および油中で調製することもできる。貯蔵および使用の通常の条件下で、これらの調製物は、微生物の増殖を予防する防腐剤を含有する。注射用の使用のために好適な医薬剤形としては、滅菌水溶液または分散液および滅菌注射溶液または分散液の即席の調製のための滅菌粉末が挙げられる（米国特許第5,466,468号）。全ての場合に、剤形は滅菌されていなければならない、容易な注射針通過性が存在する程度まで液体でなければならない。製造および貯蔵の条件下で安定でなければならない、微生物、例えば細菌および真菌の汚染作用から保護されなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、好適なこ

これらの混合物、および/または植物油を含有する溶媒または分散媒体であってよい。例えば、コーティング、例えばレシチンの使用により、分散液の場合は必要とされる粒径の維持により、および界面活性剤の使用により、適切な流動性を維持することができる。微生物の作用の予防は、様々な抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサルなどによりもたすことができる。多くの場合、等張剤、例えば、糖または塩化ナトリウムを含めることが好ましい。注射用組成物の持続吸収は、組成物中に吸収を遅延させる剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを使用することによりもたすことができる。

【0198】

例えば水溶液中での非経口投与のために、溶液は、必要であれば好適には緩衝化されるべきであり、液体希釈剤は最初に十分な食塩水またはグルコースで等張にされるべきである。これらの特定の水溶液は、静脈内、筋肉内、皮下、腫瘍内および腹腔内投与のために特に好適である。これに関連して、用いることができる滅菌水性媒体は、本開示に照らして当業者に公知であろう。例えば、1つの投与量を1mlの等張NaCl溶液中に溶解し、1000mlの皮下注射液に加えるか、または提案される注入部位に注射することができる(例えば、「Remington's Pharmaceutical Sciences」第22版を参照)。投与量におけるいくつかのバリエーションが、治療されている対象の状態に応じて必要により行われる。いずれにしても、投与に関与する人が、個々の対象にとって適切な用量を決定する。さらに、ヒトへの投与のために、調製物は、FDA生物学的製剤基準局により必要とされる滅菌状態、発熱原性、一般的安全性および純度基準を満たすべきである。

10

20

【0199】

滅菌注射溶液は、必要とされる量の活性化合物を、必要に応じて上記に列挙した様々な他の成分と共に適切な溶媒中に組み込んだ後、濾過滅菌することにより調製される。一般に、分散液は、様々な滅菌された活性成分を、基本的な分散媒体および上に列挙したもののからの必要とされる他の成分を含有する滅菌されたビヒクル中に組み込むことにより調製される。滅菌注射溶液の調製用の滅菌粉末の場合、調製の好ましい方法は、活性成分と、以前に滅菌濾過されたその溶液からの任意の追加の所望の成分との粉末をもたす真空乾燥(vacuum-drying)およびフリーズドライ技術である。

【0200】

本明細書に開示される組成物は、中性または塩の形態で配合されてよい。薬学的に許容される塩としては、無機酸、例えば塩酸またはリン酸、または有機酸、例えば、酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸などと形成された(タンパク質の遊離アミノ基と形成された)酸付加塩が挙げられる。遊離カルボキシル基と形成された塩はまた、無機塩基、例えば、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、または水酸化第二鉄、および有機塩基、例えば、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、プロカインなどに由来してもよい。配合されると、溶液は、投与配合物と適合する方法および治療的に有効な量で投与される。配合物は、様々な投与剤形、例えば、注射溶液、薬物放出カプセルなどで容易に投与される。

30

C. 追加の抗がん療法

【0201】

本明細書で提供されるウイルス組成物、および一部の態様では少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤の有効性を増加させるために、それらのがんの治療において有効な少なくとも1つの追加の剤と組み合わせることができる。より一般には、これらの他の組成物は、細胞を殺傷しまたはその増殖を阻害するために有効な合わせた量で提供される。この方法は、細胞をウイルス組成物および剤または複数の因子に同時に接触させることを含み得る。これは、細胞を両方の剤を含む単一の組成物または薬理的配合物と接触させることにより、または1つの組成物がウイルス組成物を含み、他の組成物が第2の剤を含む2つの別個の組成物または配合物に細胞を同時に接触させることにより達成することができる。または、ウイルス組成物は増殖する細胞と接触されてよく、追加の療法は、抗腫瘍免疫応答および治療有効性を増進させるために免疫系の他の細胞または腫瘍微環境に影

40

50

響してよい。

【0202】

少なくとも1つの追加の抗がん療法は、外科療法、化学療法（例えば、プロテインキナーゼ阻害剤またはEGFR標的化療法の投与）、放射線療法、寒冷療法、ハイパーサーミア治療、光線療法、ラジオ焼灼療法、ホルモン療法、免疫療法、小分子療法、受容体キナーゼ阻害剤療法、抗血管新生療法、サイトカイン療法または生物学的療法、例えば、モノクローナル抗体、siRNA、miRNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイムもしくは遺伝子療法であってよいがこれらに限定されない。非限定的に、生物学的療法は、遺伝子療法、例えば、腫瘍抑制因子遺伝子療法、細胞死タンパク質遺伝子療法、細胞周期調節因子遺伝子療法、サイトカイン遺伝子療法、毒素遺伝子療法、免疫遺伝子療法、自殺遺伝子療法、プロドラッグ遺伝子療法、抗細胞増殖遺伝子療法、酵素遺伝子療法、または抗血管新生因子遺伝子療法であってよい。

10

【0203】

遺伝子療法は、数分から数週に及ぶ間隔で他の剤での治療に先立ってよく、またはその後であってよい。他の剤および発現構築物が別々に細胞に適用される実施形態では、通常、各送達の時点の間に長い期間が過ぎないようにして、剤および発現構築物が細胞に対して有利に組合せ効果をなおも発揮できることを確実にする。そのような例では、細胞を両方のモダリティと互いに約12～24時間以内、より好ましくは、互いに約6～12時間以内に接触させ得ることが想定される。しかしながら、一部の状況では、治療の期間を大幅に延長させて、数日（例えば、2、3、4、5、6または7）から数週（例えば、1、2、3、4、5、6、7または8）が各々の投与の間に過ぎるようにすることが望ましいことがある。

20

【0204】

ウイルス組成物および一部の実施形態では免疫チェックポイント阻害剤を「A」とし、二次的な剤、すなわち化学療法を「B」とする様々な組合せを用いることができる：

A / B / A B / A / B B / B / A A / A / B A / B / B B / A / A A / B / B / B B / A / B / B

B / B / B / A B / B / A / B A / A / B / B A / B / A / B A / B / B / A B / B / A / A

B / A / B / A B / A / A / B A / A / A / B B / A / A / A A / B / A / A A / A / B / A

30

1. 化学療法

【0205】

がん療法はまた、一般に、化学的治療および放射線ベースの治療の両方との様々な併用療法を含む。併用化学療法としては、例えば、シスプラチン（CDDP）、カルボプラチン、プロカルバジン、メクロレタミン、シクロホスファミド、カンプトテシン、イホスファミド、メルファラン、クロラムブシル、ブスルファン、ニトロソウレア、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、ブレオマイシン、プリカマイシン、ミトマイシン、エトポシド（VP16）、タモキシフェン、ラロキシフェン、エストロゲン受容体結合剤、タキソール、ゲムシタビン（gemcitabine）、ナベルピン、ファルネシル（farnesyl）タンパク質トランスフェラーゼ阻害剤、トランス白金、5-フルオロウラシル、ビンクリスチン、ビンブラスチンおよびメトトレキサート、テモゾロミド（Temazolomide）（DTICの水性形態）、または以上の任意のアナログもしくは誘導体バリエーションが挙げられる。生物学的療法との化学療法の組合せは生化学療法として公知である。化学療法は、メトロノミック化学療法として公知の低い連続的な用量で投与されてもよい。

40

【0206】

またさらなる併用化学療法としては、例えば、アルキル化剤、例えばチオテパおよびシクロホスファミド（cyclophosphamide）；アルキルスルホネート、例えば、ブスルファン、インプロスルファンおよびピボスルファン；アジリジン、例えば、ベンゾドーパ（benzodopa）、カルボコン、メツレドーパ（meturedopa）、およびウレドーパ（uredopa）；

50

エチレンイミンおよびメチラメラミン、例えば、アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド (trietylenephosphoramidate)、トリエチレンチオホスホラミド (triethiylenethiophosphoramidate) およびトリメチロールメラミン (trimethylolomelamine) ; アセトゲニン (特にブラタシンおよびブラタシノン) ; カンプトテシン (合成アナログであるトポテカンを含む) ; プリオスタチン ; カリスタチン ; CC - 1065 (そのアドゼレシン、カルゼレシンおよびビゼレシン合成アナログを含む) ; クリプトフィシン (特にクリプトフィシン1およびクリプトフィシン8) ; ドラスタチン ; デュオカルマイシン (合成アナログKW - 2189およびCB1 - TM1を含む) ; エリユテロビン ; パンクラチスタチン ; サルコジクチン (sarcodictyin) ; スポンギスタチン ; ナイトロジェンマスタード、例えば、クロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド (cholophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミン酸化物塩酸塩、メルファラン、ノベンピチン (novembichin)、フェネステリン (phenesterine)、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード ; ニトロソウレア、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、およびラニムスチン (ranimustine) ; 抗生物質、例えば、エンジイン抗生物質 (例えば、カリケアマイシン、特にカリケアマイシガンマ1IおよびカリケアマイシンオメガI1 ; ダイネマイシン (ダイネマイシンAを含む) ; ビスホスホネート、例えばクロドロネート ; エスペラマイシン ; ならびにネオカルジノスタチン発色団および関連する色素タンパク質エンジイン抗生物質 (antibiotic) 発色団、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アウスラマイシン (authrarnycin)、アザセリン、プレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン (carabycin)、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン (chromomycinis)、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、ドキシソルピシン (モルホリノ - ドキシソルピシン、シアノモルホリノ - ドキシソルピシン、2 - ピロリノ - ドキシソルピシンおよびデオキシドキシソルピシンを含む)、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、ミトマイシン、例えばミトマイシンC、ミコフェノール酸、ノガラマイシン (nogalarnycin)、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン (potfiromycin)、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルピシン (rodorubicin)、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン ; 抗代謝物、例えば、メトトレキサートおよび5 - フルオロウラシル (5 - FU) ; 葉酸アナログ、例えば、デノブテリン、プテロブテリン、トリメトトレキサート ; プリンアナログ、例えば、フルダラビン、6 - メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン ; ピリミジンアナログ、例えば、アンシタビン、アザシチジン、6 - アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン ; アンδροゲン、例えば、カルステロン、ドロスタノロンプロピオネート (dromostanolone propionate)、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン ; 抗アドレナル、例えば、ミトタン、トリロスタン ; 葉酸補充剤 (folic acid replenisher)、例えばフロリン酸 (frolinic acid) ; アセグラトン ; アルドホスファミドグリコシド ; アミノレブリン酸 ; エニルウラシル ; アムサクリン ; ベストラブシル ; ビサントレン ; エダトレキサート (edatraxate) ; デホファミン (defofamine) ; デメコルシン ; ジアジコン ; エルホルミチン (elformithine) ; エリプチニウム酢酸塩 ; エボチロン ; エトグルシド ; ガリウム硝酸塩 ; ヒドロキシウレア ; レンチナン ; ロニダミン (lonidainine) ; メイタンシノイド、例えば、メイタンシンおよびアンサミトシン ; ミトグアゾン ; ミトキサントロン ; モピダンモール (mopidanmol) ; ニトラエリン (nitraerine) ; ペントスタチン ; フェナメット ; ピラルピシン ; ロソキサントロン ; ポドフィリン酸 ; 2 - エチルヒドラジド ; プロカルバジン ; PSK多糖複合体 ; ラゾキサン ; リゾキシン ; シゾフィラン ; スピログエルマニウム ; テヌアゾン酸 ; トリアジクオン ; 2, 2', 2'' - トリクロロトリエチルアミン ; トリコテセン (特に、T - 2毒素、ベラクリンA (verracurin A)、ロリジンAおよびアングジン (anguidine)) ; ウレタン (urethan) ; ピンデシン ; ダカルバジン ; マンノムスチン ; ミトプロニトール ; ミトラクトール ; ビボプロマン ; ガシトシン (gacy

10

20

30

40

50

tosine) ; アラビノシド (「A r a - C」) ; シクロホスファミド ; タキソイド、例えば、パクリタキセルおよびドセタキセル・ゲムシタピン ; 6 - チオグアニン ; メルカプトプリン ; 白金配位複合体、例えば、シスプラチン、オキサリプラチンおよびカルボプラチン ; ビンブラスチン ; 白金 ; エトポシド (V P - 1 6) ; イホスファミド ; ミトキサントロン ; ビンクリスチン ; ビノレルビン ; ノバントロン ; テニポシド ; エダトレキセート ; ダウノマイシン ; アミノプテリン ; ゼローダ ; イバンドロネート ; イリノテカン (例えば、C P T - 1 1) ; トポイソメラーゼ阻害剤 R F S 2 0 0 0 ; ジフルオロメチルオルニチン (difluoromethylornithine) (D M F O) ; レチノイド、例えばレチノイン酸 ; カペシタピン ; カルボプラチン、プロカルバジン、プリカマイシン、ゲムシタピン、ナベルピン、ファルネシル - タンパク質トランスフェラーゼ阻害剤、トランス白金 ; および上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸または誘導体が挙げられる。ある特定の実施形態では、本明細書で提供される組成物は、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤と組み合わせて使用されてよい。ある特定の実施形態では、本明細書で提供される組成物は、ゲフィチニブと組み合わせて使用されてよい。他の実施形態では、本発明の実施形態は、グリベックと組み合わせて実施されてよい (例えば、約 4 0 0 ~ 約 8 0 0 m g / 日のグリベックが患者に投与されてよい) 。ある特定の実施形態では、1 つまたは複数の化学療法薬は、本明細書で提供される組成物と組み合わせて使用されてよい。

2 . 放射線療法

【 0 2 0 7 】

D N A 損傷を引き起こす広く使用されてきた他の因子としては、一般に γ 線として公知のもの、X 線、および / または腫瘍細胞への放射性同位体の方向付けられた送達が挙げられる。マイクロ波および U V 照射などの他の形態の D N A 損傷因子もまた公知である。これらの因子の全ては、D N A、D N A の前駆体、D N A の複製および修復、ならびに染色体のアセンブリおよび維持に対して広範な範囲の損傷をもたらす可能性が最も高い。X 線の線量範囲は、長期の期間 (3 ~ 4 週) にわたる 1 日当たり 5 0 ~ 2 0 0 レントゲンの線量から単回の 2 0 0 0 ~ 6 0 0 0 レントゲンの線量の範囲に及ぶ。放射性同位体の線量範囲は広範に変動し、同位体の半減期、放出される放射線の強度および種類、ならびに新生物細胞による取込みに依存する。

3 . 免疫療法

【 0 2 0 8 】

免疫療法薬は、一般に、免疫エフェクター細胞ならびにがん細胞を標的化および破壊する分子の使用に依拠する。免疫エフェクターは、例えば、腫瘍細胞の表面上の一部のマーカーに特異的な抗体であってよい。抗体は、単独で療法のエフェクターとして働く場合もあるし、または他の細胞を動員して実際に細胞殺傷をもたらすこともある。抗体はまた、薬物または毒素 (化学療法薬、放射性核種、リシン A 鎖、コレラ毒素、百日咳毒素など) にコンジュゲートされて単に標的化剤として働いてもよい。または、エフェクターは、腫瘍細胞標的と直接的または間接的に相互作用する表面分子を持つリンパ球であってよい。様々なエフェクター細胞としては、細胞傷害性 T 細胞および N K 細胞の他に、キメラ抗原受容体を発現するように改変されたこれらの細胞種の遺伝子操作されたバリエーションが挙げられる。

【 0 2 0 9 】

他の補完的な免疫療法を上記のレジメンに加えてそれらの有効性をさらに増進させてもよく、それらとしては、骨髄由来の自然免疫系細胞の数を増加させる G M - C S F、自然および適応免疫を阻害する制御性 T 細胞を取り除く低用量シクロホスファミドまたは P I 3 K 阻害剤 (例えば、P I 3 K デルタ阻害剤) ならびに阻害性骨髄由来抑制細胞を除去する 5 F U (例えば、カペシタピン)、P I 3 K 阻害剤またはヒストンデアセチラーゼ阻害剤が挙げられるがこれらに限定されないことががん免疫療法の当業者により理解されるであろう。例えば、P I 3 K 阻害剤としては、L Y 2 9 4 0 0 2、ペリホシン、B K M 1 2 0、デュベリシブ、P X - 8 6 6、B A Y 8 0 - 6 9 4 6、B E Z 2 3 5、S F 1 1 2 6、G D C - 0 9 4 1、X L 1 4 7、X L 7 6 5、パロミド 5 2 9、G S K 1 0 5 9 6 1

5、PWT33597、IC87114、TG100-15、CAL263、PI-103、GNE-477、CUDC-907、およびAEZS-136が挙げられるがこれらに限定されない。一部の態様では、PI3K阻害剤はPI3Kデルタ阻害剤、以下に限定されないが例えば、イデラリシブ、RP6530、TGR1202、およびRP6503である。追加のPI3K阻害剤は、米国特許出願第20150291595号、同第20110190319号、および国際特許出願WO2012146667、WO2014164942、WO2012062748、およびWO2015082376に開示されている。免疫療法はまた、インターロイキン、例えばIL-2、またはインターフェロン、例えばINFの投与を含んでもよい。

【0210】

局所/アブスコパルウイルス組成物療法および免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせることができる免疫療法の例は、免疫アジュバント（例えば、Mycobacterium bovis、Plasmodium falciparum、ジニトロクロロベンゼンおよび芳香族化合物）（米国特許第5,801,005号；米国特許第5,739,169号；HuiおよびHashimoto、1998年；Christodoulidesら、1998年）、サイトカイン療法（例えば、インターフェロン、および；インターロイキン（IL-1、IL-2）、GM-CSFおよびTNF）（Bukowskiら、1998年；Davidsonら、1998年；Hellstrandら、1998年）遺伝子療法（例えば、TNF、IL-1、IL-2、p53）（Qinら、1998年；Austin-WardおよびVillaseca、1998年；米国特許第5,830,880号および米国特許第5,846,945号）およびモノクローナル抗体（例えば、抗ガングリオシドGM2、抗HER-2、抗p185）（Pietrasら、1998年；Hanibuchiら、1998年；米国特許第5,824,311号）である。ハーセプチン（トラスツズマブ）は、HER2-neu受容体を遮断するキメラ（マウス-ヒト）モノクローナル抗体である。それは抗腫瘍活性を持ち、悪性腫瘍の治療において使用するために承認されている（Dillman、1999年）。ハーセプチンおよび化学療法を用いるがんの併用療法は、個々の療法よりも有効であることが示されている。したがって、1つまたは複数の抗がん療法を本明細書に記載されるAd-mda7療法と共に用いてよいことが想定される。

【0211】

局所/アブスコパルウイルス組成物療法および免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせる追加の免疫療法としては、共刺激受容体アゴニスト、自然免疫細胞の刺激因子、または自然免疫の活性化因子が挙げられる。共刺激受容体アゴニストは、抗OX40抗体（例えば、MEDI6469、MEDI6383、MEDI0562、およびMOXR0916）、抗GITR抗体（例えば、TRX518、およびMK-4166）、抗CD137抗体（例えば、ウレルマブ、およびPF-05082566）、抗CD40抗体（例えば、CP-870,893、およびChilob 7/4）、または抗CD27抗体（例えば、CDX-1127としても公知のバルリルマブ）であってよい。自然免疫細胞の刺激因子としては、KIRモノクローナル抗体（例えば、リリルマブ）、細胞傷害性阻害受容体の阻害剤（例えば、KLRCおよびCD94としても公知のNKG2A、例えば、モノクローナル抗体モナリズマブ、およびTACTILEとしても公知の抗CD96）、およびtoll様受容体（TLR）アゴニストが挙げられるがこれらに限定されない。TLRアゴニストは、BCG、TLR7アゴニスト（例えば、poly0ICLC、およびイミキモド）、TLR8アゴニスト（例えば、レシキモド）、またはTLR9アゴニスト（例えば、CPG 7909）であってよい。自然免疫細胞、例えば、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、および樹状細胞の活性化因子としては、IDO阻害剤、TGF阻害剤、IL-10阻害剤が挙げられる。自然免疫の例示的な活性化因子はインドキシモドである。一部の態様では、免疫療法はインターフェロン遺伝子の刺激因子（STING）アゴニスト（Corralesら、2015年）である。

【0212】

本開示の方法において使用するために想定される他の免疫療法としては、Tchekmedyianら、2015年（参照することにより本明細書に組み込まれる）に記載されるものが挙げ

10

20

30

40

50

られる。免疫療法は、制御性T細胞（Treg）、骨髄由来抑制細胞（MDSC）およびがん関連線維芽細胞（CAF）の抑制を含んでよい。一部の実施形態では、免疫療法は、腫瘍ワクチン（例えば、全腫瘍細胞ワクチン、ペプチド、および組換え腫瘍関連抗原ワクチン）、または養子細胞療法（ACT）（例えば、T細胞、ナチュラルキラー細胞、TIL、およびLAK細胞）である。T細胞は、特定の腫瘍抗原に対するキメラ抗原受容体（CAR）またはT細胞受容体（TCR）を有するように操作されてよい。本明細書で 사용되는場合、キメラ抗原受容体（またはCAR）は、T細胞中で発現された時にCARの特異性をT細胞に付与する目的の抗原に特異的な任意の操作された受容体を指すことができる。標準的な分子技術を使用して作出されたら、キメラ抗原受容体を発現するT細胞は、養子細胞移入などの技術を用いて患者中に導入することができる。一部の態様では、T細胞は、IFN産生CD4および/もしくはCD8 T細胞ならびに/または組合せの投与の前と比べて増進した細胞溶解活性により特徴付けられる個体中の活性化されたCD4および/またはCD8 T細胞である。CD4および/またはCD8 T細胞は、IFN-、TNF- およびインターロイキンからなる群から選択されるサイトカインの放出の増加を呈し得る。CD4および/またはCD8 T細胞はエフェクターメモリーT細胞であってよい。ある特定の実施形態では、CD4および/またはCD8エフェクターメモリーT細胞は、CD44^h1g^h CD62L^lowの発現を有することにより特徴付けられる。

【0213】

ある特定の態様では、2つまたはそれより多くの免疫療法を局所/アブスコパルウイルス組成物療法および免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせてよく、免疫チェックポイント阻害剤は、T細胞共刺激受容体のアゴニストと組み合わせて、またはTIL ACTと組み合わせて追加の免疫チェックポイント阻害剤を含む。他の組合せとしては、T細胞チェックポイント遮断+共刺激受容体アゴニスト、自然免疫細胞機能を向上させるためのT細胞チェックポイント遮断、チェックポイント遮断+IDO阻害、またはチェックポイント遮断+養子T細胞移入が挙げられる。ある特定の態様では、免疫療法は、抗PD-L1免疫チェックポイント阻害剤（例えば、アベルマブ）、4-1BB（CD-137）アゴニスト（例えば、ウトミルマブ）、およびOX40（TNFRS4）アゴニストの組合せを含む。免疫療法は、ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）阻害剤、例えば5-アザシチジンおよびエンチノスタットと組み合わせてよい。

【0214】

免疫療法は、1つまたは複数のがん抗原、特にタンパク質またはその免疫原性断片、前記がん抗原、特にタンパク質またはその免疫原性断片をコードするDNAまたはRNA、がん細胞溶解液、および/または腫瘍細胞からのタンパク質調製物を含むがんワクチンであってよい。本明細書で 사용되는場合、がん抗原は、がん細胞中に存在する抗原物質である。原理的に、変異により異常な構造を有するがん細胞中で産生される任意のタンパク質はがん抗原として作用することができる。原理的に、がん抗原は、変異したがん遺伝子および腫瘍抑制因子遺伝子の産物、他の変異した遺伝子の産物、過剰発現または異常発現した細胞タンパク質、発がん性ウイルスにより産生されたがん抗原、がん胎児性抗原、変化した細胞表面糖脂質および糖タンパク質、または細胞種特異的分化抗原であってよい。がん抗原の例としては、rasおよびp53遺伝子の異常な産物が挙げられる。他の例としては、組織分化抗原、変異体タンパク質抗原、発がん性ウイルス抗原、がん精巢抗原および血管または間質特異的抗原が挙げられる。組織分化抗原は、ある特定の種類の組織に特異的な抗原である。変異体タンパク質抗原は、正常細胞はこれらのタンパク質を含有しないはずであるので、がん細胞にはるかに特異的であると考えられる。正常細胞はそれらのMHC分子に対して正常なタンパク質抗原を提示するのに対し、がん細胞は変異体バージョンを提示する。一部のウイルスタンパク質はがんの形成に関与し、一部のウイルス抗原はがん抗原でもある。がん精巢抗原は、主に精巢の生殖細胞中で発現されるが、胎児卵巣およびトロホプラスト中でも発現される抗原である。一部のがん細胞はこれらのタンパク質を異常に発現し、したがってこれらの抗原を提示し、これらの抗原に特異的なT細胞

による攻撃を可能とする。この種類の例示的な抗原は、C T A G 1 B および M A G E A 1 の他に、上皮成長因子受容体 (E G F R) v 1 1 1 バリエーションを標的化する 1 4 - m e r の皮内注射用ペプチドワクチンであるリンドペピムトである。リンドペピムトは、本明細書に記載される C D 9 5 / C D 9 5 L シグナル伝達系の阻害剤と組み合わせて使用された時に膠芽腫を治療するために特に好適である。また、通常は非常に低い量で産生されるが、がん細胞中でその産生が劇的に増加するタンパク質は、免疫応答を誘発し得る。そのようなタンパク質の例は、メラニン産生のために必要とされる酵素チロシナーゼである。通常、チロシナーゼは微量で産生されるが、そのレベルは黒色腫細胞中で非常に大きく上昇する。がん胎児性抗原は別の重要なクラスのがん抗原である。例としては、アルファフェトプロテイン (A F P) および癌胎児性抗原 (C E A) である。これらのタンパク質は、通常、胚発生の初期に産生され、免疫系が十分に発生するまでに消失する。したがって、自己寛容はこれらの抗原に対して発生しない。異常なタンパク質はまた、がんウイルス、例えば E B V および H P V に感染した細胞により産生される。これらのウイルスにより感染された細胞は、転写され、結果として生じたタンパク質が免疫応答を生じさせる潜伏性のウイルス D N A を含有する。がんワクチンはペプチドがんワクチンを含んでよく、これは、一部の実施形態では、個別化ペプチドワクチンである。一部の実施形態では、ペプチドがんワクチンは、多価長鎖ペプチドワクチン、マルチペプチドワクチン、ペプチドカクテルワクチン、ハイブリッドペプチドワクチン、またはペプチドパルス樹状細胞ワクチンである。

10

20

【 0 2 1 5 】

免疫療法は、抗体、例えばポリクローナル抗体調製物の部分であってよく、またはモノクローナル抗体であってよい。抗体は、ヒト化抗体、キメラ抗体、抗体断片、二重特異的抗体または一本鎖抗体であってよい。本明細書に開示される抗体は、抗体断片、以下に限定されないが例えば、F a b、F a b' および F (a b')₂、F d、一本鎖 F v (s c F v)、一本鎖抗体、ジスルフィド連結 F v (s d f v) および V L または V H ドメインのいずれかを含む断片を含む。一部の態様では、抗体またはその断片は、上皮成長因子受容体 (E G F R 1、E r b - B 1)、H E R 2 / n e u (E r b - B 2)、C D 2 0、血管内皮増殖因子 (V E G F)、インスリン様成長因子受容体 (I G F - 1 R)、T R A I L 受容体、上皮細胞接着分子、癌胎児性抗原、前立腺特異的膜抗原、ムチン 1、C D 3 0、C D 3 3、または C D 4 0 に特異的に結合する。

30

【 0 2 1 6 】

本明細書で提供される組成物と組み合わせて使用されてよいモノクローナル抗体の例としては、トラスツズマブ (抗 H E R 2 / n e u 抗体) ; ペルツズマブ (抗 H E R 2 m A b) ; セツキシマブ (上皮成長因子受容体 E G F R に対するキメラモノクローナル抗体) ; パニツムマブ (抗 E G F R 抗体) ; ニモツズマブ (抗 E G F R 抗体) ; ザルツムマブ (抗 E G F R m A b) ; ネシツムマブ (抗 E G F R m A b) ; M D X - 2 1 0 (ヒト化抗 H E R - 2 二重特異的抗体) ; M D X - 2 1 0 (ヒト化抗 H E R - 2 二重特異的抗体) ; M D X - 4 4 7 (ヒト化抗 E G F 受容体二重特異的抗体) ; リツキシマブ (キメラマウス / ヒト抗 C D 2 0 m A b) ; オビヌツズマブ (抗 C D 2 0 m A b) ; オファツムマブ (抗 C D 2 0 m A b) ; トシツモマブ (Tositumumab) - I 1 3 1 (抗 C D 2 0 m A b) ; イブリツモマブチウキセタン (抗 C D 2 0 m A b) ; ベバシズマブ (抗 V E G F m A b) ; ラムシルマブ (抗 V E G F R 2 m A b) ; ラニビズマブ (抗 V E G F m A b) ; アフリベルセプト (I g G 1 F c に融合した V E G F R 1 および V E G F R 2 の細胞外ドメイン) ; A M G 3 8 6 (I g G 1 F c に融合したアンジオポエチン 1 および 2 結合ペプチド) ; ダロツズマブ (抗 I G F - 1 R m A b) ; ゲムツズマブオゾガマイシン (抗 C D 3 3 m A b) ; アレムツズマブ (抗 キャンパス 1 / C D 5 2 m A b) ; プレンツキシマブベドチン (抗 C D 3 0 m A b) ; カツマキシマブ (上皮細胞接着分子および C D 3 を標的化する二重特異的 m A b) ; ナブツモマブ (抗 5 T 4 m A b) ; ギレンツキシマブ (抗炭酸脱水酵素 i x) ; またはファルレツズマブ (抗葉酸受容体) が挙げられるがこれらに限定されない。他の例としては、P a n o r e x (商標) (1 7

40

50

- 1 A) (マウスモノクローナル抗体) ; P a n o r e x (@ (1 7 - 1 A) (キメラマウスモノクローナル抗体) ; B E C 2 (G D エピトープを模倣する抗イディオタイプ m A b) (B C G を伴う) ; オンコリム (Oncolym) (L y m - 1 モノクローナル抗体) ; S M A R T M 1 9 5 A b 、 ヒト化 1 3 ' 1 L Y M - 1 (オンコリム) 、 O v a r e x (B 4 3 . 1 3 、 抗イディオタイプマウス m A b) ; 腺癌上の E G P 4 0 (1 7 - 1 A) 汎癌性抗原 (pancarcinoma antigen) に結合する 3 6 2 2 W 9 4 m A b ; ゼナバックス (S M A R T A n t i - T a c (I L - 2 受容体) ; S M A R T M 1 9 5 A b 、 ヒト化 A b 、 ヒト化) ; N o v o M A b - G 2 (汎癌性特異的 A b) ; T N T (ヒストン抗原に対するキメラ m A b) ; T N T (ヒストン抗原に対するキメラ m A b) ; G l i o m a b - H (モノクローナルヒト化 A b) ; G N I - 2 5 0 M a b ; E M D - 7 2 0 0 0 (キメラ E G F アントゴニスト) ; L y m p h o C i d e (ヒト化 I L . L . 2 抗体) ; および M D X - 2 6 0 二重特異的、 G D - 2 標的化、 A N A A b 、 S M A R T I D I O A b 、 S M A R T A B L 3 6 4 A b または I m m u R A I T - C E A などの抗体が挙げられる。抗体の例としては、米国特許第 5 , 7 3 6 , 1 6 7 号、米国特許第 7 , 0 6 0 , 8 0 8 号、および米国特許第 5 , 8 2 1 , 3 3 7 号に開示されているものが挙げられる。

10

20

30

40

50

【 0 2 1 7 】

抗体のさらなる例としては、ザヌリムマブ (Z a n u l i m u m a b) (抗 C D 4 m A b) 、 ケリキシマブ (抗 C D 4 m A b) ; イピリムマブ (M D X - 1 0 1 ; 抗 C T L A - 4 m A b) ; トレメリムマブ (T r e m i l i m u m a b) (抗 C T L A - 4 m A b) ; (ダクリズマブ (抗 C D 2 5 / I L - 2 R m A b) ; バシリキシマブ (抗 C D 2 5 / I L - 2 R m A b) ; M D X - 1 1 0 6 (抗 P D 1 m A b) ; G I T R に対する抗体 ; G C 1 0 0 8 (抗 T G F - 抗体) ; メテリムマブ (m e t e l i m u m a b) / C A T - 1 9 2 (抗 T G F - 抗体) ; レルデリムマブ (l e r d e l i m u m a b) / C A T - 1 5 2 (抗 T G F - 抗体) ; I D 1 1 (抗 T G F - 抗体) ; デノスマブ (抗 R A N K L m A b) ; B M S - 6 6 3 5 1 3 (ヒト化抗 4 - 1 B B m A b) ; S G N - 4 0 (ヒト化抗 C D 4 0 m A b) ; C P 8 7 0 , 8 9 3 (ヒト抗 C D 4 0 m A b) ; インフリキシマブ (キメラ抗 T N F m A b ; アダリムマブ (ヒト抗 T N F m A b) ; セルトリズマブ (ヒト化 F a b 抗 T N F) ; ゴリムマブ (抗 T N F) ; エタネルセプト (I g G 1 F c に融合した T N F R の細胞外ドメイン) ; ベラタセプト (F c に融合した C T L A - 4 の細胞外ドメイン) ; アバタセプト (F c に融合した C T L A - 4 の細胞外ドメイン) ; ベリムマブ (抗 B リンパ球刺激剤) ; ムロモナブ - C D 3 (抗 C D 3 m A b) ; オテリキシズマブ (抗 C D 3 m A b) ; テプリズマブ (抗 C D 3 m A b) ; トシリズマブ (抗 I L 6 R m A b) ; R E G N 8 8 (抗 I L 6 R m A b) ; ウステキヌマブ (抗 I L - 1 2 / 2 3 m A b) ; プリアキヌマブ (抗 I L - 1 2 / 2 3 m A b) ; ナタリズマブ (抗 4 インテグリン) ; ベドリズマブ (抗 4 7 インテグリン m A b) ; T 1 h (抗 C D 6 m A b) ; エプラツズマブ (抗 C D 2 2 m A b) ; エファリズマブ (抗 C D 1 1 a m A b) ; およびアタシセプト (F c と融合した膜貫通活性化因子およびカルシウムモジュレトリガン相互作用因子の細胞外ドメイン) が挙げられる。

a . 受動免疫療法

【 0 2 1 8 】

がんの受動免疫療法のための多数の異なるアプローチが存在する。それらは大まかに以下に分類することができる : 抗体単独の注射 ; 毒素または化学療法剤に連結した抗体の注射 ; 放射活性同位体に連結した抗体の注射 ; 抗イディオタイプ抗体の注射 ; そして最後に、骨髄中の腫瘍細胞のバージング。

【 0 2 1 9 】

ヒトモノクローナル抗体は患者においてほとんどまたは全く副作用を生じさせないため、好ましくは、ヒトモノクローナル抗体が受動免疫療法において用いられる。皮膚再発性黒色腫を患う患者の病巣内にガングリオシド抗原に対するヒトモノクローナル抗体が投与されている (I r i e および M o r t o n , 1 9 8 6 年) 。連日または週毎の病巣内注射後に 1 0 人

の患者のうち6人において退縮が観察された。別の研究では、2つのヒトモノクローナル抗体の病巣内注射により中等度の成功が達成された (Irieら、1989年)。

【0220】

2つの異なる抗原を対象とする1つより多くのモノクローナル抗体またはさらには複数の抗原特異性を有する抗体を投与することが好都合なことがある。治療プロトコールはまた、リンホカインまたはBajorinら (1988年) に記載される他の免疫エンハンサーの投与を含んでもよい。ヒトモノクローナル抗体の開発は本明細書の他の箇所にさらに詳細に記載される。

b. 能動免疫療法

【0221】

能動免疫療法では、通常、別個の細菌アジュバントと共に、抗原ペプチド、ポリペプチドもしくはタンパク質、または自己もしくは同種の腫瘍細胞組成物または「ワクチン」が投与される (RavindranathおよびMorton、1991年; MortonおよびRavindranath、1996年; Mortonら、1992年; Mitchellら、1990年; Mitchellら、1993年)。黒色腫の免疫療法では、高いIgM応答が誘発される患者は、多くの場合、IgM抗体が誘発されないまたはその誘発が低い患者より生存が良好である (Mortonら、1992年)。IgM抗体は、多くの場合、一過性の抗体であり、この規則の例外は、抗ガングリオシドまたは抗炭水化物抗体であると思われる。

c. 養子免疫療法

【0222】

養子免疫療法では、患者の循環リンパ球、または腫瘍浸潤リンパ球が *in vitro* で単離され、リンホカイン、例えばIL-2により活性化されまたは腫瘍壊死のための遺伝子を導入され、再投与される (Rosenbergら、1988年; 1989年)。これを達成するために、動物、またはヒト患者に、本明細書に記載されるアジュバントを組み込んだ抗原ペプチド組成物と組み合わせて免疫学的に有効量の活性化リンパ球が投与される。活性化リンパ球は、最も好ましくは、血液または腫瘍試料から以前に単離され、*in vitro* で活性化 (または「増幅」) された患者自身の細胞である。この形態の免疫療法は、いくつかの症例で黒色腫および腎臓癌の退縮を生じさせたが、レスポンスのパーセンテージは、応答しなかった者と比較してわずかであった。より最近では、キメラ抗原受容体 (CAR) T細胞療法と称される、CARを発現する遺伝子操作されたT細胞をそのような養子免疫細胞療法に組み込んだ時に、より高い奏効率が観察されている。同様に、自己および同種の両方のナチュラルキラー細胞が単離され、増幅され、受容体またはリガンドを発現するように遺伝子改変されて、それらの結合性および腫瘍細胞の殺傷が促進されている。

4. 他の剤

【0223】

処置の治療効果を向上させるために、本明細書で提供される組成物と組み合わせて他の剤を使用してもよいことが想定される。これらの追加の剤としては、免疫調節剤、細胞表面受容体およびGAPジャンクションの上方調節に影響する剤、細胞増殖抑制剤および分化剤、細胞接着の阻害剤、またはアポトーシス誘導因子への過剰増殖性細胞の感受性を増加させる剤が挙げられる。免疫調節剤としては、腫瘍壊死因子; インターフェロナルファ、ベータ、およびガンマ; IL-2および他のサイトカイン; F42Kおよび他のサイトカインアナログ; またはMIP-1、MIP-1ベータ、MCP-1、RANTES、および他のケモカインが挙げられる。細胞表面受容体またはそれらのリガンド、例えば、Fas/Fasリガンド、DR4またはDR5/TRAILの上方調節は、過剰増殖性細胞に対するオートクラインまたはパラクライン効果の確立により、本明細書で提供される組成物のアポトーシス誘導能力を増強することがさらに想定される。GAPジャンクションの数を上昇させることによる細胞間シグナル伝達の増加は、隣接する過剰増殖性細胞集団に対する抗過剰増殖効果を増加させる。他の実施形態では、細胞増殖抑制剤または分化剤は、治療の抗過剰増殖 (anti-hyperproliferative) 有効性を向上させるために本明細

10

20

30

40

50

書で提供される組成物と組み合わせて使用することができる。細胞接着の阻害剤は、本発明の有効性を向上させることが想定される。細胞接着阻害剤の例は、焦点接着キナーゼ（FAK）阻害剤およびロバスタチンである。アポトーシスへの過剰増殖性細胞の感受性を増加させる他の剤、例えば抗体c 2 2 5を本明細書で提供される組成物と組み合わせて使用して治療有効性を向上できることがさらに想定される。

【0224】

さらなる実施形態では、他の剤は、1つまたは複数の腫瘍溶解性ウイルス、例えば、p 5 3 および / または I L 2 4 以外の遺伝子、例えばサイトカインを発現するように操作された腫瘍溶解性ウイルスであってよい。腫瘍溶解性ウイルスの例としては、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、レンチウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、ワクシニアウイルス、水胞性口内炎ウイルス、ポリオウイルス、ニューカッスル病ウイルス、エプスタイン・バーウイルス、インフルエンザウイルスおよびレオウイルスが挙げられる。特定の実施形態では、他の剤は、GM-CSFを発現するように遺伝子操作された腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルスであるタリモジーン・ラハーパレブベック（T-VEC）である。タリモジーン・ラハーパレブベック、HSV-1 [株JS1] IC P 3 4 . 5 - / IC P 4 7 - / h GM-CSF（以前にはOncoVEX^{GM-CSF}として公知）は、固形腫瘍中で選択的に複製される免疫増進型HSV-1を含む腫瘍内に送達される腫瘍溶解性免疫療法である。（Luiら、Gene Therapy、10巻：292～303頁、2003年；米国特許第7,223,593号および米国特許第7,537,924号；参照することにより本明細書に組み込まれる）。2015年10月に、米国食品医薬品局は、手術不能の腫瘍を有する患者における黒色腫の治療について、商標名IMLYGIC（商標）の下でT-VECを承認した。T-VECの投与の特徴および方法は、例えば、IMLYGIC（商標）パッケージ挿入物（Amgen、2015年）および米国特許出願公開第2015/0202290号（これらの両方は参照することにより本明細書に組み込まれる）に記載されている。例えば、タリモジーン・ラハーパレブベックは、典型的に、1週目の1日目に最大4.0mLの10⁶ プラーク形成単位/mL（PFU/mL）の用量の後、4週目の1日目およびその後2週毎（±3日）に最大4.0mLの10⁸ PFU/mLの用量で、注射可能な皮膚、皮下、および結節性腫瘍への腫瘍内注射により投与される。腫瘍に注射されるタリモジーン・ラハーパレブベックの推奨される体積は腫瘍の大きさに依存し、注射体積ガイドラインにしたがって決定されるべきである。T-VECは黒色腫患者において臨床活性が実証されているが、多くのがん患者はT-VEC治療に応答しないか、または応答を止める。一実施形態では、局所/アブスコパルウイルス組成物および少なくとも1つの免疫チェックポイント阻害剤は、T-VEC療法の後、間または前に投与されて、治療抵抗性を後退させることができる。例示的な腫瘍溶解性ウイルスとしては、Ad5-yCD/mutTKSR39rep-hIL12、Cavatak（商標）、CG0070、DNX-2401、G207、HF10、IMLYGIC（商標）、JX-594、MG1-MA3、MV-NIS、OBP-301、Reolysin（登録商標）、Toca 511、オンコリン（Oncorine）、およびRIGVIRが挙げられるがこれらに限定されない。他の例示的な腫瘍溶解性ウイルスは、例えば、国際特許出願公開WO2015/027163、WO2014/138314、WO2014/047350、およびWO2016/009017（これらの全ては参照することにより本明細書に組み込まれる）に記載されている。

【0225】

ある特定の実施形態では、本発明の実施形態と組み合わせてまたは以前に記載された任意の他のがん療法と組み合わせてホルモン療法が使用されてもよい。ホルモンの使用は、ある特定のホルモン、例えばテストステロンまたはエストロゲンのレベルを低下させまたはその効果を遮断するためにある特定のがん、例えば、乳がん、前立腺がん、卵巣がん、または子宮頸がんの治療において用いることができる。この治療は、多くの場合、治療オプションとしてまたは転移のリスクを低減させるために少なくとも1つの他のがん療法と組み合わせて使用される。

10

20

30

40

50

【0226】

一部の態様では、少なくとも1つの追加の抗がん治療は、p53活性を遮断するためなどの、HDM2(MDM2としても公知)および/またはHDM4の阻害剤(例えば、小分子阻害剤)である。特定の態様では、HDM2の小分子阻害剤は、HDM201、シス-イミダゾリン(例えば、ヌトリン)、ベンゾジアゼピン(BDP)、およびスピロオキシンドールである。本発明の方法において使用するための他の例示的なHDM2および/またはHDM4阻害剤は、例えば、Carryら、2013年;PatelおよびPlayer、2008年;米国特許第8,846,657号;国際特許出願公開WO2014123882;米国特許第9,073,898号;および国際特許出願公開WO2014115080(これらの全ては参照することにより本明細書に組み込まれる)に記載されている。

10

【0227】

一部の態様では、追加の抗がん剤は、プロテインキナーゼまたは成長因子シグナル伝達経路に關与する受容体を阻害するプロテインキナーゼ阻害剤またはモノクローナル抗体、例えば、EGFR、VEGFR、AKT、Erb1、Erb2、ErbB、Syk、Bcr-Abl、JAK、Src、GSK-3、PI3K、Ras、Raf、MAPK、MAPKK、mTOR、c-Kit、eph受容体またはBRAF阻害剤である。プロテインキナーゼまたは成長因子シグナル伝達経路阻害剤の非限定的な例としては、アファチニブ、アキシチニブ、ペバシズマブ、ボスチニブ、セツキシマブ、クリゾチニブ、ダサチニブ、エルロチニブ、フォスタマチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、ラバチニブ、レンバチニブ、ムブリチニブ、ニロチニブ、パニツムマブ、パゾパニブ、ペガブタニブ、ラニビズマブ、ルキソリチニブ、サラカチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、トラスツズマブ、パンドタニブ、AP23451、ベムラフェニブ、MK-2206、GSK690693、A-443654、VQD-002、ミルテホシン、ペリホシン、CAL101、PX-866、LY294002、ラパマイシン、テムシロリムス、エベロリムス、リダホロリムス、アルボシジブ、ゲニステイン、セルメチニブ、AZD-6244、バタラニブ、P1446A-05、AG-024322、ZD1839、P276-00、GW572016またはこれらの混合物が挙げられる。ある特定の態様では、追加の抗がん剤はチロシンキナーゼ阻害剤、例えばブルトン型チロシンキナーゼ(BTK)阻害剤である。一部の態様では、本発明において用いられる小分子BTK阻害剤は、BTKタンパク質を(例えば、非可逆的に)阻害する通常500ダルトンまたはそれ未満の分子量を有する化学合成された分子を指す。例示的なBTK阻害剤としては、イブルチニブ、アカラブルチニブ(ACP-196)、ONO-4059、スぺブルチニブ(CC-292)、HM-71224、CG-036806、GDC-0834、ONO-4049、RN-486、SNS-062、TAS-5567、AVL-101、AVL-291、PCI-45261、HCI-1684、PLS-123、およびBGB-3111が挙げられる。本発明の方法において使用するための追加のBTK阻害剤は、例えば、PCT国際公開WO2014210255、WO2016087994、WO2013010380、WO2015061247、WO2013067274、およびWO1999054286ならびに米国特許第6,160,010号(これらの全ては参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)に記載されている。

20

30

40

【0228】

一部の態様では、PI3K阻害剤は、ブパルリシブ、イデラリシブ、BYL-719、ダクトリシブ、PF-05212384、ピクチリシブ、コパンリシブ、コパンリシブジヒドロクロリド、ZSTK-474、GSK-2636771、デュベリシブ、GS-9820、PF-04691502、SAR-245408、SAR-245409、ソノリシブ(sonolisib)、Archexin、GDC-0032、GDC-0980、アピトリシブ、ピララリシブ(pilaralisib)、DLBS1425、PX-866、ボクスタリシブ(voxtalisib)、AZD-8186、BGT-226、DS-7423、GDC-0084、GSK-2126458、INK-1117、SAR-260301、SF-1126、AMG-319、BAY-1082439、CH-5132799、GS

50

K - 2 2 6 9 5 5 7、P - 7 1 7 0、PWT - 3 3 5 9 7、CAL - 2 6 3、RG - 7 6 0 3、LY - 3 0 2 3 4 1 4、RP - 5 2 6 4、RV - 1 7 2 9、タセリシブ、TGR - 1 2 0 2、GSK - 4 1 8、INCB - 0 4 0 0 9 3、パヌリシブ (Panulisib)、GSK - 1 0 5 9 6 1 5、CNX - 1 3 5 1、AMG - 5 1 1、PQR - 3 0 9、1 7 ベータ - ヒドロキシウォルトマンニン、AEZS - 1 2 9、AEZS - 1 3 6、HM - 5 0 1 6 6 9 9、IPI - 4 4 3、ONC - 2 0 1、PF - 4 9 8 9 2 1 6、RP - 6 5 0 3、SF - 2 6 2 6、X - 3 3 9、XL - 4 9 9、PQR - 4 0 1、AEZS - 1 3 2、CZC - 2 4 8 3 2、KAR - 4 1 4 1、PQR - 3 1 1、PQR - 3 1 6、RP - 5 0 9 0、VS - 5 5 8 4、X - 4 8 0、AEZS - 1 2 6、AS - 6 0 4 8 5 0、BAG - 9 5 6、CAL - 1 3 0、CZC - 2 4 7 5 8、ETP - 4 6 3 2 1、ETP - 4 7 1 8 7、GNE - 3 1 7、GS - 5 4 8 2 0 2、HM - 0 3 2、KAR - 1 1 3 9、LY - 2 9 4 0 0 2、PF - 0 4 9 7 9 0 6 4、PI - 6 2 0、PKI - 4 0 2、PWT - 1 4 3、RP - 6 5 3 0、3 - HOI - BA - 0 1、AEZS - 1 3 4、AS - 0 4 1 1 6 4、AS - 2 5 2 4 2 4、AS - 6 0 5 2 4 0、AS - 6 0 5 8 5 8、AS - 6 0 6 8 3 9、BCCA - 6 2 1 C、CAY - 1 0 5 0 5、CH - 5 0 3 3 8 5 5、CH - 5 1 0 8 1 3 4、CUDC - 9 0 8、CZC - 1 9 9 4 5、D - 1 0 6 6 6 9、D - 8 7 5 0 3、DPT - NX7、ETP - 4 6 4 4 4、ETP - 4 6 9 9 2、GE - 2 1、GNE - 1 2 3、GNE - 1 5 1、GNE - 2 9 3、GNE - 3 8 0、GNE - 3 9 0、GNE - 4 7 7、GNE - 4 9 0、GNE - 4 9 3、GNE - 6 1 4、HMPL - 5 1 8、HS - 1 0 4、HS - 1 0 6、HS - 1 1 6、HS - 1 7 3、HS - 1 9 6、IC - 4 8 6 0 6 8、INK - 0 5 5、KAR 1 1 4 1、KY - 1 2 4 2 0、ウォルトマンニン、Lin - 0 5、NPT - 5 2 0 - 3 4、PF - 0 4 6 9 1 5 0 3、PF - 0 6 4 6 5 6 0 3、PGNX - 0 1、PGNX - 0 2、PI 6 2 0、PI - 1 0 3、PI - 5 0 9、PI - 5 1 6、PI - 5 4 0、PIK - 7 5、PWT - 4 5 8、RO - 2 4 9 2、RP - 5 1 5 2、RP - 5 2 3 7、SB - 2 0 1 5、SB - 2 3 1 2、SB - 2 3 4 3、SHBM - 1 0 0 9、SN329 7 6、SR - 1 3 1 7 9、SRX - 2 5 2 3、SRX - 2 5 5 8、SRX - 2 6 2 6、SRX - 3 6 3 6、SRX - 5 0 0 0、TGR - 5 2 3 7、TGX - 2 2 1、UCB - 5 8 5 7、WAY - 2 6 6 1 7 5、WAY - 2 6 6 1 7 6、EI - 2 0 1、AEZS - 1 3 1、AQX - MN100、KCC - TGX、OXY - 1 1 1 A、PI - 7 0 8、PX - 2 0 0 0、および WJD - 0 0 8 からなる PI 3 K 阻害剤の群から選択される。

10

20

30

【 0 2 2 9 】

追加のがん療法は、例えば、上皮成長因子受容体 (EGFR、EGFR1、ErbB - 1、HER1)、ErbB - 2 (HER2 / neu)、ErbB - 3 / HER3、ErbB - 4 / HER4、EGFR リガンドファミリー；インスリン様成長因子受容体 (IGFR) ファミリー、IGF 結合タンパク質 (IGFBP)、IGFR リガンドファミリー (IGF - 1 R)；血小板由来増殖因子受容体 (PDGFR) ファミリー、PDGFR リガンドファミリー；線維芽細胞増殖因子受容体 (FGFR) ファミリー、FGFR リガンドファミリー、血管内皮増殖因子受容体 (VEGFR) ファミリー、VEGF ファミリー；HGF 受容体ファミリー；TRK 受容体ファミリー；エフリン (EPH) 受容体ファミリー；AXL 受容体ファミリー；白血球チロシンキナーゼ (LTK) 受容体ファミリー；TIE 受容体ファミリー、アンジオポエチン 1、2；受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体 (ROR) 受容体ファミリー；ジスコイジンドメイン受容体 (DDR) ファミリー；RET 受容体ファミリー；KLG 受容体ファミリー；RYK 受容体ファミリー；MUSK 受容体ファミリー；トランスフォーミング増殖因子アルファ (TGF -)、TGF - 受容体；トランスフォーミング増殖因子ベータ (TGF -)、TGF - 受容体；インターロイキン 1 3 受容体アルファ 2 鎖 (IL 1 3 R アルファ 2)、インターロイキン 6 (IL - 6)、IL - 6 受容体、インターロイキン 4、IL - 4 受容体、サイトカイン受容体、クラス I (ヘマトポエチンファミリー) およびクラス II (インターフェロン / IL - 1 0 ファミリー) 受容体、腫瘍壊死因子 (TNF) ファミリー、TNF - 、腫瘍壊死因子 (TNF) 受容体スーパーファミリー (TNTRSF)、死受容体ファミリー、T

40

50

R A I L 受容体；がん精巢（C T）抗原、系列特異的抗原、分化抗原、アルファ - アクチニン 4、A R T C 1、切断点クラスター領域 - エーベルソン（B c r - a b l）融合産物、B - R A F、カスパーゼ 5（C A S P - 5）、カスパーゼ 8（C A S P - 8）、ベータカテニン（C T N N B 1）、細胞分裂周期 2 7（C D C 2 7）、サイクリン依存性キナーゼ 4（C D K 4）、C D K N 2 A、C O A - 1、d e k - c a n 融合タンパク質、E F T U D - 2、伸長因子 2（E L F 2）、E t s バリアント遺伝子 6 / 急性骨髄性白血病 1 遺伝子 E T S（E T C 6 - A M L 1）融合タンパク質、フィブロネクチン（F N）、G P N M B、低密度脂質受容体 / G D P - L フコース：ベータ - D ガラクトース 2 - アルファ - L フコシルトランスフェラーゼ（L f u c o s y l t r a n s f e r a s e）（L D L R / F U T）融合タンパク質、H L A - A 2、H L A - A 2 遺伝子中のアルファ 2 ドメインのアルファヘリックスの残基 1 7 0 におけるアルギニンからイソロイシンへの交換（H L A - A * 2 0 1 - R 1 7 0 I）、M L A - A 1 1、変異型熱ショックタンパク質 7 0 - 2（H S P 7 0 - 2 M）、K I A A 0 2 0 5、M A R T 2、黒色腫遍在性変異型（melanoma ubiquitous mutated）1、2、3（M U M - 1、2、3）、前立腺酸ホスファターゼ（P A P）、n e o - P A P、ミオシンクラス 1、N F Y C、O G T、O S - 9、p m 1 - R A R アルファ融合タンパク質、P R D X 5、P T P R K、K - r a s（K R A S 2）、N - r a s（N R A S）、H R A S、R B A F 6 0 0、S I R T 2、S N R P D 1、S Y T - S S X 1 または - S S X 2 融合タンパク質、トリオースリン酸イソメラーゼ、B A G E、B A G E - 1、B A G E - 2、3、4、5、G A G E - 1、2、3、4、5、6、7、8、G n T - V（異常な N - アセチルグルコサミニル（N-acetyl giucosaminyI）トランスフェラーゼ V、M G A T 5）、H E R V - K - M E L、K K - L C、K M - H N - 1、L A G E、L A G E - 1、黒色腫上の C T L 認識抗原（C A M E L）、M A G E - A 1（M A G E - 1）、M A G E - A 2、M A G E - A 3、M A G E - A 4、M A G E - A 5、M A G E - A 6、M A G E - A 8、M A G E - A 9、M A G E - A 1 0、M A G E - A 1 1、M A G E - A 1 2、M A G E - 3、M A G E - B 1、M A G E - B 2、M A G E - B 5、M A G E - B 6、M A G E - C 1、M A G E - C 2、ムチン 1（M U C 1）、M A R T - 1 / M e l a n - A（M L A N A）、g p 1 0 0、g p 1 0 0 / P m e 1 1 7（S 1 L V）、チロシナーゼ（T Y R）、T R P - 1、H A G E、N A - 8 8、N Y - E S O - 1、N Y - E S O - 1 / L A G E - 2、S A G E、S p 1 7、S S X - 1、2、3、4、T R P 2 - 1 N T 2、癌胎児性抗原（C E A）、カリクレイン（Kallikfein）4、マンマグロビン A（m m a g l o b m - A）、O A 1、前立腺特異的抗原（P S A）、前立腺特異的膜抗原、T R P - 1 / g p 7 5、T R P - 2、アディポフィリン、黒色腫（nielanorna）に存在しないインターフェロン誘導性タンパク質 2（A I M - 2）、B I N G - 4、C P S F、サイクリン D 1、上皮細胞接着分子（E p - C A M）、E p b A 3、線維芽細胞増殖因子 5（F G F - 5）、糖タンパク質 2 5 0（g p 2 5 0 腸カルボキシルエステラーゼ（i C E）、アルファ - フェトプロテイン（A F P）、M - C S F、m d m - 2、M U C I、p 5 3（T P 5 3）、P B F、F R A M E、P S M A、R A G E - 1、R N F 4 3、R U 2 A S、S O X 1 0、S T E A P 1、サバイピン（B I R C S）、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素（h T E R T）、テロメラーゼ、ウィルムス腫瘍遺伝子（W T 1）、S Y C P 1、B R D T、S P A N X、X A G E、A D A M 2、P A G E - 5、L I P 1、C T A G E - 1、C S A G E、M M A 1、C A G E、B O R I S、H O M - T E S - 8 5、A F 1 5 q 1 4、H C A 6 6 I、L D H C、M O R C、S G Y - 1、S P O 1 1、T P X 1、N Y - S A R - 3 5、F T H L I 7、N X F 2 T D R D 1、T E X 1 5、F A T E、T P T E、免疫グロブリンイディオタイプ、ベンス・ジョーンズタンパク質、エストロゲン受容体（E R）、アンドロゲン受容体（A R）、C D 4 0、C D 3 0、C D 2 0、C D 1 9、C D 3 3、C D 4、C D 2 5、C D 3、がん抗原 7 2 - 4（C A 7 2 - 4）、がん抗原 1 5 - 3（C A 1 5 - 3）、がん抗原 2 7 - 2 9（C A 2 7 - 2 9）、がん抗原 1 2 5（C A 1 2 5）、がん抗原 1 9 - 9（C A 1 9 - 9）、ベータ - ヒト絨毛性ゴナドトロピン、1 - 2 ミクログロブリン、扁平細胞癌抗原、ニューロン特異的エノラーゼ（enoJase）、熱ショックタンパク質 g p 9 6、G M 2、サルグラモスチム、C T L A - 4、7 0 7 アラニン

プロリン (7 0 7 - A P)、T細胞により認識される腺癌抗原 4 (adenocarcinoma antigen recognized by T cells 4) (A R T - 4)、癌胎児性抗原ペプチド 1 (C A P - 1)、カルシウム活性化クロライドチャネル 2 (C L C A 2)、シクロフィリン B (C y p - B)、ヒト印環腫瘍 2 (H S T - 2)、ヒトパピローマウイルス (H P V) タンパク質 (H P V - E 6、H P V - E 7、メジャーまたはマイナーカプシド抗原、その他)、エプスタイン・バーウイルス (Epstein-Barr vims) (E B V) タンパク質 (E B V 潜伏性膜タンパク質 L M P 1、L M P 2 ; その他)、B 型または C 型肝炎ウイルスタンパク質、および H I V タンパク質を標的化する抗体、ペプチド、ポリペプチド、小分子阻害剤、s i R N A、m i R N A または遺伝子療法を含むことができると想定される。

V I . 製品またはキット

10

【 0 2 3 0 】

ウイルス組成物および一部の実施形態では少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤 (例えば、抗 P D - 1 抗体および / または抗 C T L A - 4 抗体) を含む製品またはキットも本明細書で提供される。製品またはキットは、個体においてがんを治療もしくはその進行を遅延させるためまたはがんを有する個体の免疫機能を増進させるためにウイルス組成物と組み合わせて少なくとも 1 つのチェックポイント阻害剤を使用するための使用説明書を含むパッケージ挿入物をさらに含むことができる。免疫チェックポイント阻害剤および本明細書に記載されるウイルス組成物のいずれも製品またはキットに含めることができる。

【 0 2 3 1 】

20

一部の実施形態では、少なくとも 1 つの免疫チェックポイント阻害剤 (例えば、抗 P D - 1 抗体および / または抗 C T L A - 4 抗体) およびウイルス組成物は、同じ容器中または別々の容器中にある。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、バッグおよび注射器が挙げられる。容器は、様々な材料、例えば、ガラス、プラスチック (ポリ塩化ビニルまたはポリオレフィンなど)、または金属合金 (ステンレス鋼またはハステロイなど) から形成されてよい。一部の実施形態では、容器は配合物を保持し、容器上、または容器に付随するラベルが、使用のための指示を指し示してよい。製品またはキットは、商業的およびユーザーの見地から望ましい他の材料をさらに含んでよく、これには、他の緩衝剤、希釈剤、フィルター、針、注射器、および使用のための使用説明書を有するパッケージ挿入物が含まれる。一部の実施形態では、製品は、1 つまたは複数の別の剤 (例えば、化学療法剤、および抗新生物剤) をさらに含む。1 つまたは複数の剤のための好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、バッグおよび注射器が挙げられる。

30

【 実施例 】

【 0 2 3 2 】

V I I . 実施例

以下の実施例は、本発明の好ましい実施形態を実証するために含めたものである。以下の実施例に開示される技術は、本発明の実施においてよく機能することが本発明者により発見された技術を提示するものであり、したがってその実施のための好ましい態様を構成すると考えられることが当業者により理解されるべきである。しかしながら、開示される特定の実施形態において多くの変更を行うことができ、それでもなお本発明の精神および範囲から離れることなく同様または類似の結果を得ることができることを当業者は本開示に照らして理解するべきである。

40

(実施例 1)

局所およびアブスコパル効果ならびに以前の免疫療法への抵抗性の後退の誘導のための免疫チェックポイント阻害剤治療と組み合わせたリラキシンウイルス療法

【 0 2 3 3 】

以前の免疫療法に抵抗性の腫瘍についての局所およびアブスコパル効果の誘導のためのリラキシンウイルス療法の有効性を免疫適格動物腫瘍モデルにおいて実証した。以下の治療方法、用量、およびスケジュールを利用した。

【 0 2 3 4 】

50

動物、腫瘍接種および測定：C57BL/6 (B6) マウス (6 ~ 8 週齢) を利用した。動物の右の脇腹に B16F10 黒色腫細胞 (ATCC、 5×10^5 細胞/マウス) を皮下注射して「原発性腫瘍」を形成させた。腫瘍が約 50 mm^3 の大きさに達した時に原発性局所腫瘍治療を開始し、これを治療 1 日目とした。ウイルス治療注射を与えなかったその後に移植した対側の腫瘍の成長を評価することによりアブスコバル治療効果を決定した。腫瘍の長さ (L) および幅 (w) を測定することにより腫瘍成長をモニターし、以下の式：体積 = $0.523 L (w)^2$ を使用して腫瘍体積を算出した。60 日まで動物をモニターし、腫瘍が約 2000 mm^3 に達した時に屠殺した。

【0235】

ウイルスベクター：使用したリラキシン発現ウイルスは Kimら、2006 年に記載された通りであった。簡潔に述べれば、リラキシン遺伝子を E3 アデノウイルス領域に挿入することによりリラキシン発現複製コンピテント (Ad-E1B-RLX) アデノウイルスを生成した。4 用量のウイルスベクターを 48 時間間隔で腫瘍内に投与した。各ウイルス用量は、 $50 \mu\text{l}$ の体積中に 5×10^{10} 個のウイルス粒子を含有した。

【0236】

免疫チェックポイント阻害剤：免疫チェックポイント阻害剤療法の間の腫瘍進行の一般的な臨床条件を模倣するために、腹腔内への 10 mg/kg の用量の抗 PD-1 治療を 1 日目に開始し、3 日毎に 31 日目まで投与した。一部の実験では、以前の免疫療法に抵抗性の腫瘍における腫瘍抑制因子療法の効果を評価するために、抗 PD-1 療法での腫瘍進行後に腫瘍抑制因子治療を開始し、抗 PD-1 治療の開始の 2 ~ 3 日後に最初の腫瘍抑制因子療法の用量を与えた。他の実験では、初期治療として免疫チェックポイント阻害剤と並行して腫瘍抑制因子治療を開始した。これらの研究は、免疫チェックポイント阻害剤療法に対して高度に抵抗性であることが公知の腫瘍において行った。B16F10 黒色腫モデルは免疫療法に対して高度に抵抗性であることが公知である。これらのモデルでは、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) での対照治療と類似して免疫チェックポイント阻害剤療法で腫瘍は進行する。in vivo で使用するために特異的に製造された抗マウス PD-1 抗体 (CD279) は BioXcell (商品番号 BE0146) から購入し、抗 PD-L1 および免疫モジュレーター抗LAG-3 の抗体も同様であった。驚くべきことに、局所領域リラキシンウイルス治療は全身性の免疫チェックポイント阻害剤療法への抵抗性を後退させ、免疫チェックポイント阻害剤治療との予想外の相乗作用を実証し、併用療法はウイルス療法で処置されていない遠位の腫瘍に対して優れたアブスコバル効果を誘導した。これらの予想外の治療効果は、手術、放射線、化学療法、サイトカイン療法ならびに骨髓由来抑制細胞 (MDSC)、T-Reg および樹状細胞をモジュレートすることが公知の剤と組み合わせた時に増進されることが発見された。

【0237】

以前の免疫療法で進行している腫瘍における Ad-リラキシン + チェックポイント阻害剤：抗 PD-1 と組み合わせた Ad-リラキシンの治療有効性を (原発性腫瘍および対側の腫瘍における) 腫瘍体積、および生存により評価した。原発性腫瘍体積 (図 1) に関して、抗 PD-1 単剤療法で治療された動物において重篤な腫瘍進行があり、PBS 処置対照において観察された成長とほとんど差がなかった。対照的に、動物を併用療法 (Ad-リラキシン + 抗 PD-1) で治療した時に抗 PD-1 抵抗性の後退が観察された。8 日目までに、Ad-リラキシン + 抗 PD-1 での組合せ治療は、抗 PD-1 または Ad-リラキシン療法のいずれか単独と比較して腫瘍体積の大きい減少を誘導した。T 検定の統計分析により、Ad-リラキシン + 抗 PD-1 の抗腫瘍効果は Ad-リラキシン単独 (p 値 0.0254) または抗 PD-1 単独 (p 値 0.0231) と比較して有意であると決定された。組み合わせた Ad-リラキシンおよび抗 PD-1 の増加した有効性は、PBS 対照での処置と統計的に異ならなかった Ad-リラキシンおよび抗 PD-1 療法単独での小さい効果と比較して相加より大きかった。

【0238】

アブスコバル有効性の Ad-リラキシン + 抗 PD-1 を図 2 に示し、Ad-リラキシン

10

20

30

40

50

または A d - リラキシン + 抗 P D - 1 治療の組合せのいずれかを原発性腫瘍に与えた齧歯動物において経時的な対側の腫瘍体積を評価した。抗 P D - 1 単独で処置した原発性腫瘍の成長速度と比較して減少した腫瘍成長を有する T 検定による統計的に有意なアブスコパル効果は、ウイルス療法注射を与えなかった対側の（二次）腫瘍においても観察された。これらの発見は、ウイルス治療（A d - リラキシン単独および A d - リラキシン + 抗 P D - 1）はアブスコパル効果を誘導したことを指し示す。A d - リラキシン単独で原発性腫瘍を処置した動物における対側の腫瘍は、抗 P D - 1 単独で処置した原発性腫瘍の成長速度と比較して有意に遅延した腫瘍成長（ $p = 0.0273$ ）を示した。原発性腫瘍成長の抑制において観察された相乗効果に合致して、対側の腫瘍成長に対するいっそう大きいアブスコパル効果（ $p = 0.0009$ ）が、組み合わせた A d - リラキシン + 抗 P D - 1 で原発性腫瘍を治療したマウスにおいて観察された。

10

【0239】

組み合わせた A d - リラキシン + 抗 P D - 1 療法についての増加した生存有効性を図 3 に示し、図 3 は、P B S、抗 P D - 1、A d - リラキシンまたは A d - リラキシン + 抗 P D - 1 の組合せのいずれかで治療したマウスのカプラン・マイヤー生存曲線を示す。抗 P D - 1 単独での治療と比較して組み合わせた A d - リラキシン + 抗 P D - 1 で原発性腫瘍を治療したマウスにおいてログランク検定により生存の統計的に有意な増加があった（ $p = 0.0010$ ）。組み合わせた A d - リラキシン + 抗 P D - 1 群についてのメジアン生存の増加は、A d - リラキシン単独および抗 P D - 1 単独について観察された別々の効果の相加より大きかった。抗 P D - 1 単独と比較して A d - リラキシン単独で治療したマウスについて生存の統計的に有意な増加はなかった。相加より大きい A d - リラキシン + 抗 P D - 1 による増加した生存という発見は、組み合わせた A d - リラキシン + 抗 P D - 1 療法についての原発性腫瘍成長の抑制において観察された相乗効果および対側の腫瘍成長に対するより大きなアブスコパル効果に合致し、組合せ治療の予想外の相乗効果を反映する。

20

【0240】

対側の腫瘍はいかなる治療剤も注射されなかったことを指摘することは重要である。以上を合わせると、免疫チェックポイント阻害剤療法と組み合わせた特定のウイルスを用いる局所領域治療の組合せは全身性の免疫チェックポイント阻害剤への抵抗性を後退させ、免疫チェックポイント阻害剤治療との予想外の相乗作用を実証し、併用療法はウイルス療法で処置されていない遠位の腫瘍に対して優れたアブスコパル効果を誘導したことをこれらの結果は実証する。

30

（実施例 2）

免疫療法への抵抗性の後退のための免疫チェックポイント阻害剤療法と組み合わせた V R X - 007（A D P を過剰発現するように操作されたアデノウイルス）

【0241】

アデノウイルス死タンパク質（A D P）遺伝子療法と組み合わせた免疫チェックポイント阻害剤療法の有効性を免疫適格動物腫瘍モデルにおいて評価した。V R X - 007 は、A D P 遺伝子を過剰発現するように操作されたアデノウイルスである。以下の治療方法、用量、およびスケジュールを利用した。

40

【0242】

動物、腫瘍接種および測定：A D S 免疫適格腫瘍モデル（Zhang ら、2015 年）をこれらの研究のために利用した。大きい十分に確立された腫瘍において V R X - 007 および V R X - 007 + 抗 P D - L 1 治療の効果を評価および比較するために、V R X - 007 治療群の動物は 100 mm^3 より大きい腫瘍を有した。P B S ビヒクル対照（ $N = 10$ ）、抗 P D - L 1 免疫チェックポイント阻害剤（ $N = 10$ ）、V R X - 007（ $N = 4$ ）または V R X - 007 + 抗 P D - L 1（ $N = 4$ ）を含む 4 つの治療群を比較した。V R X - 007 遺伝子療法を計 3 回の投与で連日 10^9 プラーク形成単位（p f u）の用量で腫瘍内に与えた。抗 P D - L 1 で治療した群の動物に 3 日毎に腹腔内注射（i . p .）で $200\text{ }\mu\text{g}$ を与えた。抗マウス P D - L 1 抗体（C D 274）は B i o X c e l l（商品番

50

号 B E 0 1 0 1) から購入した。

【 0 2 4 3 】

ベースライン値と比べた療法開始の 1 5 日後 (または動物の屠殺時) の腫瘍体積の変化のパーセンテージを比較することにより治療有効性を評価した (図 4) 。 V R X - 0 0 7 治療群の動物の数が少ないことから、クラスカル・ウォリス一元配置分散分析 (ランクでの一元配置分散分析) を使用し、治療群間の統計的有意差が実証された (p 値 = 0 . 0 2 5 8) 。 V R X - 0 0 7 (p = 0 . 1 2 3 2) および抗 P D - L 1 (p = 0 . 5 8 6 6) のいずれも別々ではビヒクル対照での処置と統計的に異ならなかったもので、組み合わせた V R X - 0 0 7 + 抗 P D - L 1 療法の統計的に有意な抗腫瘍効果 (p = 0 . 0 0 4 7) は予想外かつ驚くべきことに相乗的であった (図 4) 。組み合わせた V R X - 0 0 7 および抗 P D - L 1 の増加した有効性は相加より大きく、組合せ治療はまた、抗 P D - L 1 療法単独より統計的に優れていた (p = 0 . 0 1 5 7) 。さらには、T 検定の統計分析により、V R X - 0 0 7 + 抗 P D 1 の抗腫瘍効果は V R X - 0 0 7 単独と比較して有意であることが明らかになった (対応のない p 値 = 0 . 0 3 5 6) 。よって、組み合わせた V R X - 0 0 7 + 抗 P D - L 1 療法の有効性および相乗作用は、いずれの治療も単独では統計的に有意な有効性を実証しなかったもので予想外であった。

10

【 0 2 4 4 】

上記実施例 1 および実施例 2 の発見に基づいて、ウイルス組成物療法の臨床応用は初期がん治療として応用され、またはそれらは、免疫療法、例えば、T V E C もしくは免疫チェックポイント阻害剤療法、またはサイトカインもしくはインターロイキンまたは養子細胞療法または放射線または化学療法または小分子療法を含む他の療法への抵抗性の発生後に投与される。

20

【 0 2 4 5 】

要約：実施例に記載される動物研究は、チェックポイント阻害剤療法に抵抗性であることが公知の、がんの高度に侵襲性のモデルを使用している。驚くべきことに、ウイルス組成物治療の局所領域投与は、全身性の免疫チェックポイント阻害剤療法への抵抗性を後退させ、免疫チェックポイント阻害剤治療との予想外の相乗作用を実証し、併用療法はウイルス組成物療法で処置されていない遠位の腫瘍に対して優れたアブスコパル効果を誘導した。これらの予想外の全身性治療効果は、放射線、手術、化学療法、サイトカイン療法、骨髓由来抑制細胞 (M D S C) (5 F U) 、 T - R e g (C T X) および樹状細胞 (抗 P D - 1 および抗 L A G - 3) をモジュレートすることが公知の標的化療法および剤などの追加の療法と組み合わせた時に増進されることが見出される。

30

【 0 2 4 6 】

本明細書において開示および特許請求された全ての方法は、本開示を考慮して過度の実験なく製造および実施することができる。本発明の組成物および方法を好ましい実施形態に関して記載したが、本発明の概念、精神および範囲から離れることなく、方法に、また本明細書に記載される方法のステップまたはステップの順序においてバリエーションを適用してもよいことが当業者に明らかであろう。より具体的には、同じまたは類似の結果を達成しながら、化学的および生理学的の両方で関連するある特定の剤により本明細書に記載される剤を置換してもよいことが明らかであろう。当業者に明らかな全てのそのような類似の置換および改変は、添付の特許請求の範囲により定義される本発明の精神、範囲および概念に含まれると考えられる。

40

参考文献

以下の参考文献は、本明細書に記載されるものに対してそれらが例示的な手順または他の詳細の補足を提供する程度まで、参照することにより本明細書に具体的に組み込まれる。

Aghi et al., Cancer Res., 59:3861-3865, 1999.

Aksentijevich et al. Human Gene Ther. 7:1111, 1996.

Baichwal and Sugden, In: Gene Transfer, Kucherlapati R, ed., New York, Plenum Press, pp. 1 17-148, 1986.

50

- Bailey and Levine, J. Pharm. Biomed. Anal., 11: 285-292, 1993.
- Bouvet et al., Cancer Res., 58:2288-2292, 1998.
- Buller et al., Cancer Gene Therapy, 9: 553-566, 2002.
- Camacho et al. J Clin Oncology, 22(145), 2004.
- Carroll et al., Mol Cancer Therapeutics, 1:49-60, 2001.
- Carry et al., Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 23(9):2480-2485, 2013.
- Caudell et al., J Immunol., 168:6041-6046, 2002.
- Chada et al., Cancer Gene Ther., 13:490-502, 2006.444-448, 1998.
- Chada et al., Cancer Gene Ther., 13:490-502, 2006.444-448, 1998. 10
- Chase et al., Nat. Biotechnol., 16:
- Chen and Okayama, Mol. Cell. Biol. 7:2745-2752, 1987.
- Choi et al. Gene Therapy, 17: 190-201, 2010.
- Corrales et al., Cell Reports, 11, 1018-1030, 2015.
- Couch et al, Am. Rev. Resp. Dis., 88:394-403, 1963.
- Doronin et al., Virology, 305:378-387, 2003.
- Fraley et al, Proc. Nat 'l Acad. Sci. 76:3348-3352, 1979.
- Fujiwara et al., J Natl Cancer Inst, 86: 1458-1462, 1994.
- Ghiringhelli et al., Biomed. J., 38:111-116, 2015.
- Graham and Van Der Eb, Virology, 52:456-467, 1973. 20
- Gurnani et al., Cancer Chemother Pharmacol., 44(2): 143-151, 1999.
- Harland and Weintraub, J. Cell Biol, 101:1094-1099, 1985.
- Hartwell et al., Science, 266: 1821-1828, 1994.
- Hurwitz et al. Proc Natl Acad Sci. 95(17): 10067-10071, 1998.
- Hynes and Ferretti, Methods Enzymol., 235: 606-616, 1994.
- Iannello et al., J Experimental Medicine, 210(10):2057-2069.
- IMLYGIC™ [package insert]. Amgen, Inc., Thousand Oaks, CA; October 2015.
- Inoue et al., Cancer Letters, 157:105-112, 2000.
- 国際特許出願第WO1995001994号 30
- 国際特許出願第WO1998042752号
- 国際特許出願第WO1999054286号
- 国際特許出願第WO2000037504号
- 国際特許出願第WO2001014424号
- 国際特許出願第WO2004058801号
- 国際特許出願公開第WO2005/003168号
- 国際特許出願公開第WO2005/009465号
- 国際特許出願公開第WO2006/003179号
- 国際特許出願公開第WO2006/072625号
- 国際特許出願公開第WO2006/072626号 40
- 国際特許出願公開第WO2007/042573号
- 国際特許出願公開第WO2008/084106号
- 国際特許出願公開第WO2010/065939号
- 国際特許出願公開第WO2012/071411号
- 国際特許出願公開第WO2012/160448号
- 国際特許出願公開第WO2012009703号
- 国際特許出願公開第WO2013067274号
- 国際特許出願公開第WO1995011986号
- 国際特許出願公開第WO2013010380号
- 国際特許出願公開第WO2014/047350号 50

国際特許出願公開第WO2014/115080号
 国際特許出願公開第WO2014210255号
 国際特許出願公開第WO2014/123882号
 国際特許出願公開第WO2014/138314号
 国際特許出願公開第WO2015/016718号
 国際特許出願公開第WO2015/027163号
 国際特許出願公開第WO2015061247号
 国際特許出願公開第WO2015/150809号
 国際特許出願公開第WO2016/009017号
 国際特許出願公開第WO2016087994号

10

- Jiang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 93:9160-9165.
 Jones et al., *J Exp Med.* 205(12):2763-79, 2008.
 Kawabe et al., *Mol Ther.* 6(5):637-44, 2002.
 Kawabe et al., *Mol. Ther.* 6(5): 637-644, 2002.
 Kim et al. *Journal of the National Cancer Institute*, 98(20): 1482-1493, 2006.
 Kotin et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87:221 1-2215, 1990.
 Kreil, *Protein Sci.*, 4:1666-1669, 1995.
 Lichtenstein et al, *Int. Rev. Immunol.*, 23:75-111, 2004.
 Liu et al *J. Biol. Chem.*, 270:24864, 1995.
 Lui et al., *Gene Therapy*, 10:292-303, 2003.
 Mann et al, *Cell*, 33:153-159, 1983.
 Markowitz et al., *J. Virol.*, 62: 1 120-1 124, 1988.
 McLaughlin et al, *J. Virol.*, 62:1963-1973, 1988.
 Mellman et al., *Nature* 480:480- 489, 2011.
 Mellman et al., *Nature*, 480:480- 489, 2011.
 Mhashilkar et al., *Mol. Medicine* 7(4): 271-282, 2001.
 Miyahara et al., *Cancer Gene Therapy*, 13:753-761, 2006.
 Mokyr et al., *Cancer Res.*, 58:5301-5304, 1998.
 Mole, *British Journal of Radiology*, 26(305): 234-241, 1953.
 MultiVir Inc., Form S-1 Registration Statement, U.S. Securities and Exchange Commission, 2015
 Muzyczka, *Curr. Top. Microbiol Immunol*, 158:97-129, 1992.
 Nicolas and Rubenstein, In: *Vectors: A survey of molecular cloning vectors and their uses*, Rodriguez and Denhardt (eds.), Stoneham: Butterworth, pp. 493-513, 1988.
 Nicolau and Sene, *Biochim. Biophys. Acta*, 721:185-190, 1982.
 Nicolau et al. *Methods Enzymol*, 149:157-176, 1987.
 Nishikawa et al., *Mol. Ther.*, 9(8):818-828, 2004b.
 Nishikawa et al., *Oncogene*, 23(42): 7125-7131, 2004a.
 Nishizaki M, et al., *Clin. Can. Res.*, 5: 1015-1023, 1999.
 Ohashi M, et al., *Gut*, 44:366-371, 1999.
 Okazaki T et al., *Intern. Immun.* 19(7):813, 2007.
 Pardoll, *Nat Rev Cancer*, 12(4): 252-64, 2012.
 Pardoll, *Nature Rev Cancer*, 12:252-264, 2012.
 Patel and Player, *Expert Opin Investig Drugs*, 17(12):1885-82, 2008.
 Philip et al. *J. Biol. Chem.*, 268: 16087, 1993.
 Qin, X., et al., *Biol Reprod.*, 56:800-11, 1997a.
 Qin, X., et al., *Biol Reprod.*, 56:812-20, 1997b.
 Ridgeway, In: *Vectors: A survey of molecular cloning vectors and their*

20

30

40

50

- uses, Rodriguez RL. Denhardt DT, ed., Stoneham: Butterworth, pp. 467-492, 1988.
- Rippe et al, Mol. Cell Biol, 10:689-695, 1990.
- Rosenberg et al., Nat Med., 10(19): 909-15, 2004.
- Samulski et al, EMBO J. 10:3941-3950, 1991.
- Samulski et al, J Virol, 63:3822-3828, 1989.
- Sherwood et al., Endocrinology 114:806-13, 1984.
- Sobol RE, et al., Chapter 11: Tp53 Gene Therapy for Cancer Treatment and Prevention, NY: Springer Science + Business Media, 2013.
- Solodin et al, Biochemistry, 34: 13537, 1995. 10
- Spitz et al., Clin Cancer Research, 2: 1665-1671, 1996.
- Swisher et al., Clin Cancer Research, 9:93-101, 2003.
- Tatebe S, et al., Int. J Oncol., 15: 229-235, 1999.
- Tatebe S, et al., Int. J Oncol., 15: 229-235, 1999.
- Tchekmedyan et al., Oncology, 29(12):990-1002, 2015.
- Temin, n: Gene Transfer, Kucherlapati (ed.), New York: Plenum Press, p. 149-188, 1986.
- Textor et al., Cancer Res., 71(18):5998-6009, 2011.
- Thierry et al. Proc. Natl. Acad. Sci., 92(21):9742-6, 1995.
- Timiryasova et al., Biotechniques. 31:534, 6, 8-40, 2001. 20
- Toda et al., Mol. Therapy, 2(4): 324-329, 2000.
- Tollefson et al., J. Virol., 70: 2296-2306, 1996.
- Top et al, J. Infect. Dis., 124:155-160, 1971.
- Tsukamoto et al, Nature Genetics, 9:243, 1995.
- 米国特許出願第US20110008369号
- 米国特許出願第US2014022021号
- 米国特許出願第US20140294898号
- 米国特許第4,797,368号
- 米国特許第4,835,251号
- 米国特許第5,023,321号 30
- 米国特許第5,139,941号
- 米国特許第5,302,523号
- 米国特許第5,384,253号
- 米国特許第5,464,765号
- 米国特許第5,580,859号
- 米国特許第5,589,466号
- 米国特許第5,656,610号
- 米国特許第5,702,932号
- 米国特許第5,736,524号
- 米国特許第5,780,448号 40
- 米国特許第5,789,215号
- 米国特許第5,811,395号
- 米国特許第5,925,565号
- 米国特許第5,935,819号
- 米国特許第5,945,100号
- 米国特許第5,981,274号
- 米国特許第5,994,136号
- 米国特許第5,994,624号
- 米国特許第6,013,516号
- 米国特許第6,160,010号 50

米国特許第6,207,156号
 米国特許第7,223,593号
 米国特許第7,537,924号
 米国特許第8,017,114号
 米国特許第8,119,129号
 米国特許第8,329,867号
 米国特許第8,354,509号
 米国特許第8,846,657号
 米国特許第9,073,898号

米国特許出願公開第US2011/0039778号

米国特許出願公開第US2015/0202290号

Vincent et al., Cancer Res., 70(8):3052-3061, 2010.

Waku et al., J Immunol., 165:5884-5890, 2000.

Xu et al. Gene Therapy, 22(3): 31-40, 2015.

Xu et al., J Gastroenterol., 48(2):203-13, 2013.

Xue et al., Nature, 445(7128):656-660, 2007.

Young et al., Cancer Gene Ther., 20(9): 531-537, 2013.

Zeimet and Marth, The Lancet Oncology, 7:415-422, 2003.

Zhang et al., Cancer Gene Ther., 22:17-22, 2015.

Zhang et al., Cancer Gene Ther., 1:5-13, 1994.

10

20

【図1】

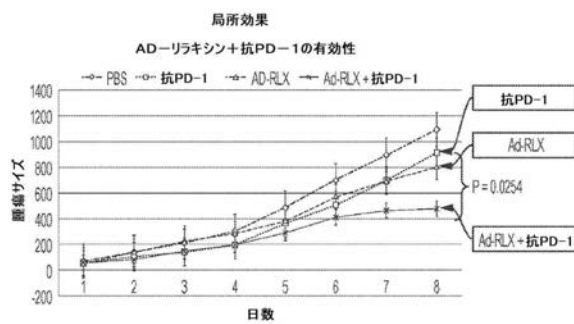


FIG. 1

【図3】

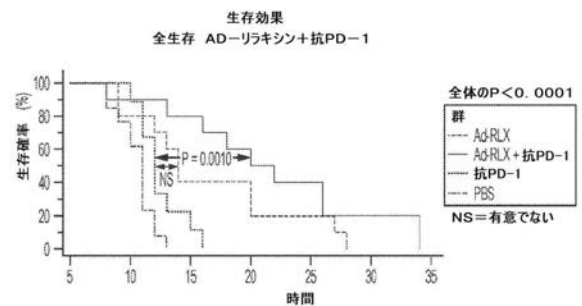


FIG. 3

【図2】

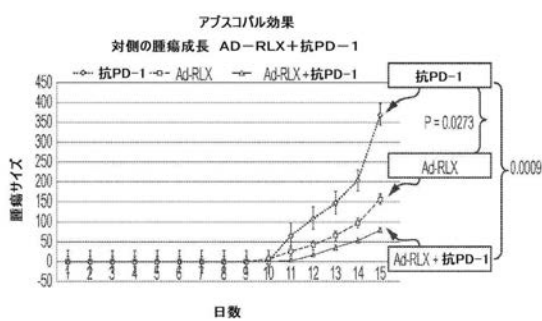


FIG. 2

【図4】

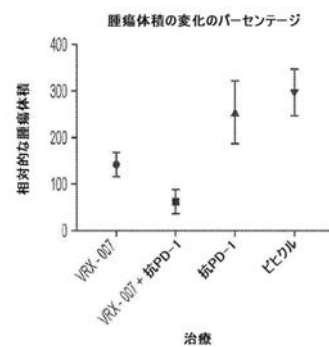


FIG. 4

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/065861

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/395 A61K35/76 A61K35/761 A61P35/00 A61K35/763
A61P35/04

ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61P A61K

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

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

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2013/112942 A1 (DNA TRIX INC [US]; MD ANDERSON CANCER CT [US]) 1 August 2013 (2013-08-01) claims	1-119
Y	----- DMITRIY ZAMARIN ET AL: "Potentiation of immunomodulatory antibody therapy with oncolytic viruses for treatment of cancer", MOLECULAR THERAPY - ONCOLYTICS, vol. 1, 1 January 2014 (2014-01-01), page 14004, XP055452406, ISSN: 2372-7705, DOI: 10.1038/mto.2014.4 page 6 ----- -/--	1-119

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

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 March 2018

Date of mailing of the international search report

22/05/2018

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Büttner, Ulf

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/065861

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	D. ZAMARIN ET AL: "Localized Oncolytic Virotherapy Overcomes Systemic Tumor Resistance to Immune Checkpoint Blockade Immunotherapy", SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE, vol. 6, no. 226, 5 March 2014 (2014-03-05), pages 226ra32-226ra32, XP055296235, US ISSN: 1946-6234, DOI: 10.1126/scitranslmed.3008095 figure 1 -----	1-119
Y	SHEN W. ET AL: "Regular Article Immunovirotherapy with vesicular stomatitis virus and PD-L1 blockade enhances therapeutic outcome in murine acute myeloid leukemia", BLOOD, vol. 127, no. 11, 28 December 2014 (2014-12-28), pages 1449-1458, XP055449354, DOI: 10.1182/blood-2015-figure 1 -----	1-119
Y	KARISHMA RAJANI ET AL: "Combination Therapy With Reovirus and Anti-PD-1 Blockade Controls Tumor Growth Through Innate and Adaptive Immune Responses", MOLECULAR THERAPY, vol. 24, no. 1, 1 January 2016 (2016-01-01), pages 166-174, XP055375845, & 15TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-GENE-AND-CELL-THERAPY (ASGCT); PHILADELPHIA, PA, USA; MAY 16 -19, 2012 ISSN: 1525-0016, DOI: 10.1038/mt.2015.156 figures 1,2 -----	1-119
Y	J. J. ROJAS ET AL: "Defining Effective Combinations of Immune Checkpoint Blockade and Oncolytic Virotherapy", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 21, no. 24, 15 December 2015 (2015-12-15), pages 5543-5551, XP055452395, US ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2009 page 5545 ----- -/--	1-119

1

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/065861

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	NORMAN WOLLER ET AL: "Viral Infection of Tumors Overcomes Resistance to PD-1-immunotherapy by Broadening Neoantigenome-directed T-cell Responses", MOLECULAR THERAPY, vol. 23, no. 10, 1 October 2015 (2015-10-01), pages 1630-1640, XP055452398, & 15TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-SOCIETY-OF-GENE-AND-CELL-THERAPY (ASGCT); PHILADELPHIA, PA, USA; MAY 16-19, 2012 ISSN: 1525-0016, DOI: 10.1038/mt.2015.115 figure 5	1-119
Y	----- BORIS MINEV ET AL: "Combination immunotherapy with oncolytic vaccinia virus and checkpoint inhibitor following local tumor irradiation", JOURNAL FOR IMMUNOTHERAPY OF CANCER, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 2, no. Suppl 3, 6 November 2014 (2014-11-06), page P112, XP021202373, ISSN: 2051-1426, DOI: 10.1186/2051-1426-2-S3-P112 page 2	1-119
Y	----- WO 2015/150809 A1 (UNIV LONDON QUEEN MARY [GB]) 8 October 2015 (2015-10-08) cited in the application claims	1-119
Y	----- HONGWEI REN ET AL: "Enhancement of CD8 + T-cell memory by removal of a vaccinia virus nuclear factor- [kappa] B inhibitor", IMMUNOLOGY, vol. 145, no. 1, 14 April 2015 (2015-04-14), pages 34-49, XP055452419, GB ISSN: 0019-2805, DOI: 10.1111/imm.12422 figure 6 ----- -/--	1-119

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/065861

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	REBECCA P. SUMNER ET AL: "Increased attenuation but decreased immunogenicity by deletion of multiple vaccinia virus immunomodulators", VACCINE, vol. 34, no. 40, 1 September 2016 (2016-09-01), pages 4827-4834, XP055452435, AMSTERDAM, NL ISSN: 0264-410X, DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.08.002 page 4832	1-119
Y	----- WO 2015/077624 A1 (DNATRIX INC [US]; UNIV TEXAS [US]) 28 May 2015 (2015-05-28) claims	1-119
Y	----- WO 2016/008976 A1 (TRANSGENE SA [FR]) 21 January 2016 (2016-01-21) claims -----	1-119

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2017/065861**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-119(partially)

Remark on Protest

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

International Application No. PCT/ US2017/ 065861

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-119(partially)

A method of treating cancer in a subject comprising administering to the subject an effective amount of:(a) one or more viruses engineered to comprise an NIL gene deletion, and(b) at least one immune checkpoint inhibitor.

2. claims: 1-119(partially)

A method of treating cancer in a subject comprising administering to the subject an effective amount of:(a) one or more viruses engineered to comprise a matrix-degrading protein gene, and(b) at least one immune checkpoint inhibitor.

3. claims: 1-119(partially)

A method of treating cancer in a subject comprising administering to the subject an effective amount of:(a) one or more viruses engineered to comprise a adenoviral death protein (ADP) gene, and(b) at least one immune checkpoint inhibitor.

4. claims: 1-119(partially)

A method of treating cancer in a subject comprising administering to the subject an effective amount of:(a) one or more viruses engineered to comprise a cytochrome p450 gene, and(b) at least one immune checkpoint inhibitor.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/065861

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013112942 A1	01-08-2013	AU 2013211871 A1	14-08-2014
		AU 2018201776 A1	05-04-2018
		CA 2862390 A1	01-08-2013
		CN 104427992 A	18-03-2015
		EP 2806883 A1	03-12-2014
		HK 1204577 A1	27-11-2015
		HK 1208349 A1	04-03-2016
		JP 2015508156 A	16-03-2015
		KR 20150008846 A	23-01-2015
		SG 10201604654R A	28-07-2016
		SG 11201404313Y A	30-10-2014
		US 2014377221 A1	25-12-2014
		WO 2013112942 A1	01-08-2013
WO 2015150809 A1	08-10-2015	CN 106795527 A	31-05-2017
		EP 3126505 A1	08-02-2017
		JP 2017511136 A	20-04-2017
		KR 20170003920 A	10-01-2017
		US 2017020938 A1	26-01-2017
		WO 2015150809 A1	08-10-2015
WO 2015077624 A1	28-05-2015	AU 2014352749 A1	09-06-2016
		CA 2931322 A1	28-05-2015
		CN 106029889 A	12-10-2016
		EP 3071697 A1	28-09-2016
		JP 2016540505 A	28-12-2016
		KR 20160137946 A	02-12-2016
		US 2016289645 A1	06-10-2016
		WO 2015077624 A1	28-05-2015
WO 2016008976 A1	21-01-2016	AU 2015289125 A1	02-02-2017
		CA 2954841 A1	21-01-2016
		CN 107208069 A	26-09-2017
		EP 3169341 A1	24-05-2017
		JP 2017522025 A	10-08-2017
		US 2017157188 A1	08-06-2017
		WO 2016008976 A1	21-01-2016

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 35/761 (2015.01)	A 6 1 K 35/761	
A 6 1 K 35/763 (2015.01)	A 6 1 K 35/763	
A 6 1 K 35/766 (2015.01)	A 6 1 K 35/766	
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 35/76	
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	H
A 6 1 K 39/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/39	
A 6 1 K 38/44 (2006.01)	A 6 1 K 38/44	
A 6 1 K 38/24 (2006.01)	A 6 1 K 38/24	
A 6 1 K 39/12 (2006.01)	A 6 1 K 39/12	
A 6 1 K 39/002 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	K
A 6 1 K 39/02 (2006.01)	A 6 1 K 39/002	
	A 6 1 K 39/02	

(31)優先権主張番号 62/444,160

(32)優先日 平成29年1月9日(2017.1.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, 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, 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

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ソボリ, ロバート イー.

アメリカ合衆国 テキサス 77010-1028, ヒューストン, ファニン ストリート
909, スイート 2100, マルチピア インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 メナンダー, カースティン ビー.

アメリカ合衆国 テキサス 77010-1028, ヒューストン, ファニン ストリート
909, スイート 2100, マルチピア インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ウィーダーホールド, ドラ

アメリカ合衆国 テキサス 77010-1028, ヒューストン, ファニン ストリート
909, スイート 2100, マルチピア インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 チャダ, スニル

アメリカ合衆国 テキサス 77010-1028, ヒューストン, ファニン ストリート
909, スイート 2100, マルチピア インコーポレイテッド 気付

F ターム(参考) 4C084 AA02 AA13 AA19 AA23 BA44 DB48 DC23 MA56 MA57 MA66

NA05 NA14 ZB261 ZB262 ZC751

4C085 AA14 AA38 BA02 BA07 BA49 BA51 BB01 BB02 EE03 EE06

FF24

4C087 AA01 AA02 MA52 MA56 MA57 MA66 NA05 NA14 ZB26 ZC75