

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-518236

(P2022-518236A)

(43)公表日 令和4年3月14日(2022.3.14)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088		4 C 0 8 4
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 C 0 8 5
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00		4 C 0 8 6
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	35/04 (2006.01)	A 6 1 P	35/04		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全204頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2021-541607(P2021-541607)	(71)出願人	504456798		
(86)(22)出願日	令和2年1月17日(2020.1.17)		サノファイ		
(85)翻訳文提出日	令和3年8月31日(2021.8.31)		SANOFI		
(86)国際出願番号	PCT/US2020/014039		フランス国、エフ - 7 5 0 0 8 ・パリ、		
(87)国際公開番号	WO2020/154189		リュ・ラ・ボエティ・5 4		
(87)国際公開日	令和2年7月30日(2020.7.30)		5 4 rue La Bo▲e▼tie,		
(31)優先権主張番号	62/794,896		F - 7 5 0 0 8 Paris, Fran		
(32)優先日	平成31年1月21日(2019.1.21)		ce		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100127926		
(31)優先権主張番号	62/926,379		弁理士 結田 純次		
(32)優先日	令和1年10月25日(2019.10.25)	(74)代理人	100140132		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 竹林 則幸		
(31)優先権主張番号	19306471.4	(72)発明者	ティモシー・アール・ヴァヘナール		
	最終頁に続く		アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8		
			8 0 7 . ブリッジウォーター . メールコ		
			最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 進行期固形腫瘍がんに対する治療用RNAおよび抗PD1抗体

(57)【要約】

本開示は、先天性および後天性PD-1および／またはPD-L1療法を含む、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死1リガンド1 (PD-L1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている対象を治療するための、ならびに抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死1リガンド1 (PD-L1) 療法が失敗しているか、不耐容であるか、抵抗性であるか、または不応性であるかを問わず、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを有する対象を治療するための治療用RNAの分野に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

固形腫瘍がんを有する対象を治療するための方法であって、IL-12 s c タンパク質をコードするRNA、IL-15 s タンパク質をコードするRNA、IFN α タンパク質をコードするRNA、およびGM-CSF タンパク質をコードするRNAを含む有効量のRNA、ならびに抗プログラム細胞死1 (PD-1) 抗体を投与することを含み、対象は、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死1リガンド1 (PD-L1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっているか、前記方法。

【請求項 2】

対象は、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっているか、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

対象は、抗プログラム細胞死1リガンド1 (PD-L1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっているか、請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

対象は、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死1リガンド1 (PD-L1) 療法に失敗しているか、請求項1に記載の方法。

【請求項 5】

対象は、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死1リガンド1 (PD-L1) 療法に不耐容になっているか、請求項1に記載の方法。

【請求項 6】

対象は、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死1リガンド1 (PD-L1) 療法に抵抗性になっているか、請求項1に記載の方法。

【請求項 7】

対象は、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死1リガンド1 (PD-L1) 療法に不応性になっているか、請求項1に記載の方法。

【請求項 8】

対象は、抗PD-1および／または抗PD-L1抵抗性固形腫瘍がんを有する、請求項1に記載の方法。

【請求項 9】

対象は、抗PD-1療法および／または抗PD-L1療法に対して後天的抵抗性を有する固形腫瘍がんを有する、請求項1に記載の方法。

【請求項 10】

対象は、抗PD-1療法および／または抗PD-L1療法に対して先天的抵抗性を有する固形腫瘍がんを有する、請求項1に記載の方法。

【請求項 11】

対象は、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを有する、請求項1に記載の方法。

【請求項 12】

不応性または抵抗性がんは、指定の治療に応答しないがんである、請求項1に記載の方法。

【請求項 13】

不応性は、治療のまさに最初から生じる、請求項1に記載の方法。

【請求項 14】

不応性は、治療中に生じる、請求項1に記載の方法。

【請求項 15】

がんは、治療が始まる前に抵抗性である、請求項1に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 16】

対象は、抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 療法および／または抗プログラム細胞死 1 リガンド 1 (PD-L1) 療法に応答しないがんを有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 17】

対象は、指定の治療に不応性または抵抗性になりつつあるがんを有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 18】

指定の治療は、抗 PD 1 療法または抗 PD-L1 療法としてである、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

対象は、療法を最初に受けて以来、該療法に対する応答性が低下している、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 20】

対象は、療法を受けたことがないが、典型的には該療法に応答しないタイプのがんを有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 21】

抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死 1 リガンド 1 (PD-L1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている対象を選択することをさらに含む、請求項 1～20 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 22】

対象はヒトである、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】

対象は、転移性固形腫瘍を有する、請求項 1～22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

対象は、切除不能な固形腫瘍を有する、請求項 1～23 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 25】

対象は、ベーター 2-ミクログロブリン (B2M) 機能の部分的または完全な喪失を含むがん細胞を有する、請求項 1～24 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】

がん細胞は、B2M 機能の部分的喪失を有する、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

がん細胞は、B2M 機能の完全な喪失を有する、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 28】

B2M 機能の部分的または完全な喪失は、がん細胞を、同じ対象に由来する非がん細胞と比較することにより評価され、場合により、該非がん細胞は、該がん細胞が由来したのと同じ組織に由来する、請求項 25～27 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 29】

対象は、B2M 遺伝子に突然変異を含む細胞を含む、請求項 25～28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

突然変異は、置換、挿入、または欠失である、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

B2M 遺伝子は、ヘテロ接合性の喪失 (LOH) を含む、請求項 25～30 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 32】

突然変異は、フレームシフト突然変異である、請求項 29 または 30 に記載の方法。

【請求項 33】

フレームシフト突然変異は、B2M のエクソン 1 に存在する、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

フレームシフト突然変異は、p . L e u 1 3 f s および／または p . S e r 1 4 f s を含む、請求項 3 2 または請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

対象は、B 2 M 機能の部分的または完全な喪失を有しない対象と比較して、低減されたレベルの B 2 M タンパク質を有する、請求項 2 5 ～ 3 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 6】

対象は、対照と比較して低減されたレベルの表面発現主要組織適合遺伝子複合体クラス I (M H C I) を有し、場合により、該対照は、同じ対象に由来する非がん性サンプルである、請求項 1 ～ 3 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 7】

固形腫瘍がんは、上皮腫瘍、前立腺腫瘍、卵巣腫瘍、腎細胞腫瘍、胃腸管腫瘍、肝腫瘍、結腸直腸腫瘍、脈管構造を有する腫瘍、中皮腫瘍、膵臓腫瘍、乳房腫瘍、肉腫腫瘍、肺腫瘍、結腸腫瘍、黒色腫瘍、小細胞肺腫瘍、非小細胞肺がん、神経芽細胞腫瘍、精巣腫瘍、癌腫瘍、腺癌腫瘍、精上皮腫瘍、網膜芽細胞腫、皮膚扁平上皮癌 (C S C C) 、頭頸部扁平上皮癌 (H N S C C) 、頭頸部がん、骨肉腫腫瘍、腎臓腫瘍、甲状腺腫瘍、未分化甲状腺がん (A T C) 、肝臓腫瘍、結腸腫瘍、または腫瘍内注射に適した他の固形腫瘍である、請求項 1 ～ 3 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 8】

固形腫瘍がんは、リンパ腫である、請求項 1 ～ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 9】

リンパ腫は、非ホジキンリンパ腫である、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

固形腫瘍がんは、ホジキンリンパ腫である、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 1】

固形腫瘍がんは、黒色腫である、請求項 1 ～ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 2】

固形腫瘍がんは、黒色腫であり、該黒色腫は、ブドウ膜黒色腫または粘膜黒色腫である、請求項 1 ～ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 3】

固形腫瘍がんは、腫瘍内注射に適した表在性転移、皮下転移、および／またはリンパ節転移を含む黒色腫である、請求項 1 ～ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 4】

固形腫瘍がんは、H N S C C および／または粘膜部位のみを有する粘膜黒色腫である、請求項 1 ～ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 5】

固形腫瘍がんは、黒色腫である、請求項 1 ～ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 6】

固形腫瘍がんは、黒色腫ではない、請求項 1 ～ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 7】

対象は、1 つよりも多くの固形腫瘍を有する、請求項 1 ～ 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 8】

少なくとも 1 つの腫瘍は、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法に抵抗性であるか、不応性であるか、または不耐容であり、少なくとも 1 つの腫瘍はそうではない、請求項 4 7 に記載の方法。

【請求項 4 9】

抵抗性腫瘍および非抵抗性腫瘍の治療が両方とも成功する、請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 0】

固形腫瘍がんは、ステージ I I I 、ステージ I I I のサブセット、ステージ I V 、またはステージ I V のサブセットである、請求項 1 ～ 4 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 5 1】

固形腫瘍がんは、進行期であり切除不能である、請求項 1 ～ 5 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 2】

固形腫瘍がんは、その発生源から対象の別の部位に広がっている、請求項 1 ～ 5 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 3】

固形腫瘍がんは、1 つまたはそれ以上の皮膚病変または皮下病変を有し、場合により、該がんは皮膚がんではない、請求項 1 ～ 5 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 4】

固形腫瘍がんは、ステージ I I I B、ステージ I I I C、またはステージ I V の黒色腫である、請求項 1 ～ 4 5 および 4 7 ～ 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 5】

対象は、以前に抗 P D - 1 療法でも抗 P D - L 1 療法でも治療されることがない、請求項 1 ～ 5 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 6】

固形腫瘍がんは、抗 P D - 1 療法も抗 P D - L 1 療法も常用的に使用されない固形腫瘍がんである、請求項 1 ～ 5 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 7】

固形腫瘍がんは、黒色腫でもなく、非小細胞肺がんでもなく、腎臓がんでもなく、頭頸部がんでもなく、乳がんでもなく、C S C C でもない、請求項 5 6 に記載の方法。

【請求項 5 8】

対象は、他の治療選択肢を有してない、請求項 1 ～ 5 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 9】

i . 固形腫瘍がんは、黒色腫でもなく、C S C C でもなく、H N S C C でもなく；
i i . 抗 P D - 1 療法も抗 P D - L 1 療法も常用的に使用されず；
i i i . 他の好適な治療選択肢がない、請求項 1 ～ 4 0、4 6 ～ 5 3、および 5 5 ～ 5 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 0】

固形腫瘍がんは、抗 P D 1 療法または抗 P D - L 1 療法が常用的に使用される固形腫瘍がんであるが、該療法でまだ治療されていない、請求項 1 ～ 5 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 1】

固形腫瘍がんは、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法に対して抵抗性および／または不応性の、ステージ I I I B、I I I C、または切除不能なステージ I V の黒色腫である、請求項 1 ～ 6 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 2】

固形腫瘍がんは、表在性または皮下の病変および／または転移を含む、請求項 1 ～ 6 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 3】

対象は、2 つまたは 3 つの腫瘍病変を有する、請求項 1 ～ 6 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 4】

対象は、固形腫瘍効果判定基準（R E C I S T）1 . 1 基準に従って測定可能な疾患を有する、請求項 1 ～ 6 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 5】

対象は、3 か月よりも長い平均余命を有する、請求項 1 ～ 6 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 6】

対象は、少なくとも 1 8 歳である、請求項 1 ～ 6 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 67】

進行期黒色腫を治療するための方法であって、進行期黒色腫を有する対象に、IL-12 s c タンパク質をコードする RNA、IL-15 スシタンパク質をコードする RNA、IFN α タンパク質をコードする RNA、および GM-CSF タンパク質をコードする RNA を含む有効量の RNA、ならびに抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 抗体を投与することを含み、

- i. 対象は、少なくとも 18 歳であり；
- ii. 対象は、以前の抗 PD-1 療法または抗 PD-L1 療法に失敗しており；
- iii. 対象は、最低で 2 つの病変を有し；および
- iv. 黒色腫は、直接腫瘍内注射に適した腫瘍を含む、前記方法。

10

【請求項 68】

i. IL-12 s c タンパク質をコードする RNA は、配列番号 17 もしくは 18 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 17 もしくは 18 のヌクレオチド配列と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは 80% 同一性を有するヌクレオチド配列を含み；ならびに／または

ii. IL-12 s c タンパク質は、配列番号 14 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 14 のアミノ酸配列と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは 80% 同一性を有するアミノ酸配列を含み；ならびに／または

iii. IL-12 s c タンパク質をコードする RNA は、IL-12 s c の p40 部分（配列番号 17 もしくは 18 のヌクレオチド 1～984）と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは 80% 同一性、および IL-12 s c の p30 部分（配列番号 17 もしくは 18 のヌクレオチド 1027～1623）と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは 80% 同一性を有するヌクレオチド配列を含み、該 p40 部分と該 p35 部分との間に、リンカーポリペプチドをコードするヌクレオチドをさらに含む、請求項 1～67 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 69】

i. IL-15 スシタンパク質をコードする RNA は、配列番号 26 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 26 のヌクレオチド配列と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは 80% 同一性を有するヌクレオチド配列を含み；ならびに／または

30

ii. IL-15 スシタンパク質は、配列番号 24 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 24 のアミノ酸配列と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは 80% 同一性を有するアミノ酸配列を含み；ならびに／または

iii. IL-15 スシタンパク質をコードする RNA は、IL-15 受容体アルファのスシドメイン（配列番号 26 のヌクレオチド 1～321）と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは 80% 同一性、および成熟 IL-15（配列番号 26 のヌクレオチド 382～729）と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは 80% 同一性を有するヌクレオチド配列を含み、場合により、該 IL-15 のスシドメインと該成熟 IL-15 との間に、リンカーポリペプチドをコードするヌクレオチドをさらに含む、請求項 1～68 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 70】

i. IFN α タンパク質をコードする RNA は、配列番号 22 もしくは 23 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 22 もしくは 23 のヌクレオチド配列と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは 80% 同一性を有するヌクレオチド配列を含み、および／または

ii. IFN α タンパク質は、配列番号 19 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 19 のアミノ酸配列と少なくとも 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは 80% 同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1～69 のいずれか 1 項に記載

50

載の方法。

【請求項 7 1】

i . G M - C S F タンパク質をコードする R N A は、配列番号 2 9 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 2 9 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み、および／または

i i . G M - C S F タンパク質は、配列番号 2 7 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 2 7 のアミノ酸配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 ～ 7 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 7 2】

少なくとも 1 つの R N A は、少なくとも 1 つのウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、請求項 1 ～ 7 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 3】

少なくとも 1 つの R N A は、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、請求項 1 ～ 7 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 4】

各 R N A は、少なくとも 1 つのウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、請求項 1 ～ 7 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 5】

各 R N A は、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、請求項 1 ～ 7 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 7 6】

修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N 1 - メチル - プソイドウリジン (m 1 Ψ)、および 5 - メチル - ウリジン (m 5 U) から独立して選択される、請求項 7 2 ～ 7 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7 7】

少なくとも 1 つの R N A は、1 つよりも多くのタイプの修飾ヌクレオシドを含み、該修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N 1 - メチル - プソイドウリジン (m 1 Ψ)、および 5 - メチル - ウリジン (m 5 U) から独立して選択される、請求項 1 ～ 7 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 7 8】

修飾ヌクレオシドは、N 1 - メチル - プソイドウリジン (m 1 Ψ) である、請求項 7 7 に記載の方法。

【請求項 7 9】

少なくとも 1 つの R N A は、5' キャップ m 2 7, 3' - G p p p (m 1 2' - G A p G または 3' - O - Me - m 7 G (5') p p p (5') G) を含む、請求項 1 ～ 7 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8 0】

各 R N A は、5' キャップ m 2 7, 3' - G p p p (m 1 2' - G A p G または 3' - O - Me - m 7 G (5') p p p (5') G) を含む、請求項 1 ～ 7 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 8 1】

少なくとも 1 つの R N A は、配列番号 4 および 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または配列番号 4 および 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含む 5' U T R を含む、請求項 1 ～ 8 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8 2】

各 R N A は、配列番号 4 および 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または配

50

列番号 4 および 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含む 5' UTR を含む、請求項 1 ~ 81 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 83】

少なくとも 1 つの RNA は、配列番号 8 のヌクレオチド配列、または配列番号 8 のヌクレオチド配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含む 3' UTR を含む、請求項 1 ~ 82 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 84】

各 RNA は、配列番号 8 のヌクレオチド配列、または配列番号 8 のヌクレオチド配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含む 3' UTR を含む、請求項 1 ~ 83 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 85】

少なくとも 1 つの RNA は、ポリ A テールを含む、請求項 1 ~ 84 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 86】

各 RNA は、ポリ A テールを含む、請求項 1 ~ 85 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 87】

ポリ A テールは、少なくとも 100 個のヌクレオチドを含む、請求項 85 または 86 に記載の方法。

【請求項 88】

ポリ A テールは、配列番号 30 に示されているポリ A テールを含むかまたはからなる、請求項 85 ~ 87 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 89】

1 つまたはそれ以上の RNA は、

i. $m_2 7, 3' - \text{O} \text{G p p p} (m_1 2' - \text{O} \text{A p G} \text{または} 3' - \text{O} - \text{Me} - m_7 \text{G} (5') \text{ p p p} (5') \text{G}$ を含む 5' キャップ；

ii. (i) 配列番号 4 および 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または (ii) 配列番号 4 および 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含む 5' UTR；

iii. (i) 配列番号 8 のヌクレオチド配列、または (ii) 配列番号 8 のヌクレオチド配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含む 3' UTR；ならびに

iv. 少なくとも 100 個のヌクレオチドを含むポリ A テール

を含む、請求項 1 ~ 88 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 90】

ポリ A テールは、配列番号 30 を含むかまたはからなる、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 91】

固形腫瘍がんの治療は、対象において、腫瘍のサイズを低減することまたはがん転移を予防することを含む、請求項 1 ~ 90 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 92】

RNA は、同時に投与される、請求項 1 ~ 91 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 93】

RNA は、注射により投与される、請求項 1 ~ 92 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 94】

RNA は、注射前に液体溶液中で一緒に混合される、請求項 92 または 93 に記載の方法。

【請求項 95】

抗PD1抗体は、セミプリマブ、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、MED10608、PDR001、PF-06801591、BGB-A317、ピジリズマブ、TSR-042、AGEN-2034、A-0001、BGB-108、BI-754091、CBT-501、ENUM-003、ENUM-388D4、IBI-308、JNJ-63723283、JS-001、JTX-4014、JY-034、CLA-134、STIA-1110、244C8、または388D4である、請求項1～94のいずれか1項に記載の方法。

【請求項96】

抗PD1抗体は、セミプリマブである、請求項1～95のいずれか1項に記載の方法。

【請求項97】

抗PD1抗体は、約0.1～600mgの用量で投与される、請求項1～96のいずれか1項に記載の方法。

【請求項98】

抗PD1抗体は、200mg、240mg、または350mgの用量で投与される、請求項1～97のいずれか1項に記載の方法。

【請求項99】

抗PD1抗体は、注射により投与される、請求項1～98のいずれか1項に記載の方法。

【請求項100】

抗PD1抗体は、静脈内投与される、請求項1～99のいずれか1項に記載の方法。

【請求項101】

抗PD-1抗体は、3週毎に1回投与される、請求項1～100のいずれか1項に記載の方法。

【請求項102】

RNAおよび抗PD-1抗体は、約8か月間投与される、請求項1～101のいずれか1項に記載の方法。

【請求項103】

RNAは、ネオアジュバント設定で投与される、請求項1～102のいずれか1項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2019年1月21日に出願された米国特許仮出願第62/794,896号、2019年10月25日に出願された米国特許仮出願第62/926,379号、および2019年11月14日に出願された欧州特許出願第19306471.4号に対する優先権の利益を主張するものである。これらの文献の各々の内容は、あらゆる目的のためにそれらの全体が参照により組み込まれる。

【0002】

本開示は、例えば、抗プログラム細胞死1(PD-1)療法または抗プログラム細胞死1リガンド(PD-L1)療法に対して後天的または先天的抵抗性を有する対象、および進行期または転移性固形腫瘍を有する対象を含む、抗プログラム細胞死1(PD-1)療法または抗プログラム細胞死1リガンド(PD-L1)療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている対象におけるものを含む、固形腫瘍がんを治療するための治療用RNAの分野に関する。

【背景技術】

【0003】

国立がん研究所は、固形腫瘍を、通常は嚢胞または液体領域を含まない組織の異常な塊であると定義している。固形腫瘍は、卵巣、乳房、結腸、および他の組織を含む任意の組織または臓器に物理的に位置することができ、黒色腫、皮膚扁平上皮がん(CSCC)、頭頸部扁平上皮癌(HNSCC)、非小細胞肺癌、腎臓がん、頭頸部がん、甲状腺がん、結腸がん、肝臓がん、卵巣がん、乳がんが挙げられる。

10

20

30

40

50

【0004】

抗PD-1療法および抗PD-L1療法などによる免疫チェックポイント遮断は、臨床にて抗がん応答を誘発するが、患者の大部分は治療から利益を得ることがない。チェックポイント遮断に対する先天的および後天的抵抗性の幾つかの機序が明らかにされており、そうした機序としては、MHC IおよびIFN γ シグナル伝達経路の突然変異が挙げられる。例えば、非特許文献1を参照されたい。また非特許文献2を参照されたい。

【0005】

進行期固形腫瘍がんは、治療が特に困難である。現行の治療としては、外科手術、放射線療法、免疫療法、および化学療法が挙げられる。小さな局所腫瘍の場合は、外科手術のみで適切に治療することができるが、大きな浸潤腫瘍は、外科手術では切除できない場合がある。放射線療法および化学療法などの他の一般的治療は、望ましくない副作用および健康な細胞に対する損傷に関連する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Sade-Feldmanら（2017年）Nature Communications 8巻：1136頁

【非特許文献2】Sharmaら（2017年）Cell 168巻：707～723頁

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

外科手術および現行療法は、固形腫瘍の大部分を死滅させることができることがあるものの、追加の細胞（がん幹細胞を含む可能性がある）が療法を生き伸びる場合がある。こうした細胞は、時間の経過と共に、がん再発に結びつく新しい腫瘍を形成することができる。集学的従来療法にも関わらず、多くのタイプの固形腫瘍で無病生存率は25%未満である。集学的療法に抵抗性であるかまたは療法後に再発した固形腫瘍は、治療がさらにより困難であり、長期生存率は10%未満である。特に、例えば、抗プログラム細胞死タンパク質1またはそのリガンドに対するモノクローナル抗体を使用した免疫療法（抗PD-1療法または抗PD-L1療法）に失敗した患者には高度な必要性が存在する。

【0008】

本明細書には、抗プログラム細胞死1（PD-1）療法または抗プログラム細胞死1リガンド（PD-L1）療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている対象におけるものを含む、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんなどの固形腫瘍の治療における現在の欠点を克服することができる組成物、使用、および方法が開示されている。本明細書に開示の通りの治療用RNAの投与は、腫瘍サイズを低減し、進行疾患までの時間を延長し、ならびに／または腫瘍の転移および／もしくは再発を防ぎ、最終的には生存期間を延長することができる。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本明細書には、とりわけ、固形腫瘍がんを有する対象を治療するための方法であって、IL-12s α タンパク質をコードするRNA、IL-15s α タンパク質をコードするRNA、IFN α タンパク質をコードするRNA、およびGM-CSFタンパク質をコードするRNAを含む有効量のRNAを投与すること、ならびに有効量の抗プログラム細胞死1（PD-1）抗体を投与することを含み、対象は、抗プログラム細胞死1（PD-1）療法または抗プログラム細胞死1リガンド（PD-L1）療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている、方法が提供される。

【0010】

一部の実施形態では、抗プログラム細胞死1（PD-1）療法または抗プログラム細胞死1リガンド（PD-L1）療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性

10

20

30

40

50

になっているか、もしくは不応性になっている患者の固形腫瘍がんを治療するための方法であって、抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死 1 リガンド (PD-L1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている患者に、IL-12sc タンパク質をコードする RNA、IL-15 スシタンパク質をコードする RNA、IFN α タンパク質をコードする RNA、および GM-CSF タンパク質をコードする RNA を含む有効量の RNA を投与すること、ならびに有効量の抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 抗体を投与することを含む方法が提供される。

【0011】

抗 PD-1 および／または抗 PD-L1 抵抗性固形腫瘍がんを有する対象を治療するための方法であって、抗 PD-1 および／または抗 PD-L1 抵抗性固形腫瘍がんを有する対象に、IL-12sc タンパク質をコードする RNA、IL-15 スシタンパク質をコードする RNA、IFN α タンパク質をコードする RNA、および GM-CSF タンパク質をコードする RNA を含む有効量 RNA を投与すること、ならびに有効量の抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 抗体を投与することを含む方法が提供される。

10

【0012】

本明細書には、抗 PD-1 療法および／または抗 PD-L1 療法に対して後天的抵抗性を示す固形腫瘍がんを有する対象を治療するための方法であって、抗 PD-1 療法および／または抗 PD-L1 療法に対して後天的抵抗性を示す固形腫瘍がんを有する対象に、IL-12sc タンパク質をコードする RNA、IL-15 スシタンパク質をコードする RNA、IFN α タンパク質をコードする RNA、および GM-CSF タンパク質をコードする RNA を含む有効量の RNA を投与すること、ならびに有効量の抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 抗体を投与することを含む方法が包含される。

20

【0013】

一部の実施形態では、抗 PD-1 療法および／または抗 PD-L1 療法に対して先天的抵抗性を示す固形腫瘍がんを有する対象を治療するための方法であって、抗 PD-1 療法および／または抗 PD-L1 療法に対して先天的抵抗性を示す固形腫瘍がんを有する対象に、IL-12sc タンパク質をコードする RNA、IL-15 スシタンパク質をコードする RNA、IFN α タンパク質をコードする RNA、および GM-CSF タンパク質をコードする RNA を含む有効量の RNA を投与すること、ならびに有効量の抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 抗体を投与することを含む方法が提供される。

30

【0014】

本明細書に提供されている実施形態は、不耐容性、抵抗性、または不応性に関して、いかなる科学理論にも限定されない。

【0015】

一部の実施形態では、抗 PD-1 療法および／または抗 PD-L1 療法に対する不耐容、抵抗性、不応性（後天的および先天的抵抗性を含む）は、ベーター 2-ミクログロブリン (B2M) 機能の部分的または完全な喪失を含むがん細胞に起因する。一部の実施形態では、対象は、ベーター 2-ミクログロブリン (B2M) 機能の部分的または完全な喪失を含むがん細胞を有する。一部の実施形態では、がん細胞は、B2M 機能の部分的な喪失を有する。一部の実施形態では、がん細胞は、B2M 機能の完全な喪失を有する。一部の実施形態では、B2M 機能の部分的または完全な喪失は、がん細胞を、同じ対象に由来する非がん細胞と比較することにより評価し、場合により、非がん細胞は、がん細胞が由来したのと同じ組織に由来する。一部の実施形態では、がん細胞は、正常な B2M 機能を有するがん細胞を含む固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の 25% またはそれよりも多くが B2M 機能の部分的または完全な喪失を有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の 50% またはそれよりも多くが B2M 機能の部分的または完全な喪失を有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の 75% またはそれよりも多くが B2M 機能の部分的または完全な喪失を有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の 95% または

40

50

それより多くが B 2 M 機能の部分的または完全な喪失を有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、固形腫瘍は全体が（例えば、固形腫瘍から採取された生検で評価して）、固形腫瘍が由来する正常な細胞または組織と比較して、B 2 M 機能の部分的または完全な喪失を有する。一部の実施形態では、対象は、B 2 M 遺伝子に突然変異（例えば、機能の部分的または完全な喪失をもたらすもの）を含む。突然変異は、置換、挿入、または欠失であってもよい。一部の実施形態では、B 2 M 遺伝子は、ヘテロ接合性の喪失（LOH）を含む。

【0016】

一部の実施形態では、突然変異はフレームシフト突然変異である。一部の実施形態では、フレームシフト突然変異は、B 2 M のエクソン 1 に存在する。一部の実施形態では、フレームシフト突然変異は、p . L e u 1 3 f s および／または p . S e r 1 4 f s を含む。一部の実施形態では、対象は、B 2 M 機能の部分的または完全な喪失を示さない対象と比較して、低減されたレベルの B 2 M タンパク質を有する。

10

【0017】

一部の場合では、固形腫瘍（例えば、固形腫瘍内のがん細胞）は、低減されたレベルの細胞表面発現（本明細書では「表面発現」とも呼ばれる）主要組織適合遺伝子複合体クラス I（MHC I）を有する。一部の実施形態では、固形腫瘍サンプル（例えば、固形腫瘍のがん細胞を含む生検）は、対照と比較して、低減されたレベルの細胞表面発現 MHC I を有し、場合により対照は、同じ対象に由来する対応する非がん性サンプルである。一部の実施形態では、固形腫瘍のがん細胞の表面に発現される MHC I のレベルは、B 2 M 遺伝子の突然変異の結果として低減される。一部の実施形態では、対象は、低減されたレベルの表面発現 MHC I を含むがん細胞を有する。一部の実施形態では、がん細胞は、表面発現 MHC I を有していない。一部の実施形態では、低減されたレベルの表面発現 MHC I は、がん細胞を、同じ対象に由来する非がん細胞と比較することにより評価され、場合により非がん細胞は、がん細胞が由来したのと同じ組織に由来する。一部の実施形態では、がん細胞は、正常レベルの表面発現 MHC I を有するがん細胞を含む固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の 2 5 % またはそれよりも多くが、低減されたレベルの表面発現 MHC I を有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の 5 0 % またはそれよりも多くが、低減されたレベルの表面発現 MHC I を有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の 7 5 % またはそれよりも多くが、低減されたレベルの表面発現 MHC I を有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の 9 5 % またはそれよりも多くが、低減されたレベルの表面発現 MHC I を有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、固形腫瘍は全体が（例えば、固形腫瘍から採取された生検で評価して）、固形腫瘍が由来する正常な細胞または組織と比較して、低減されたレベルの表面発現 MHC I を有する。

20

30

【0018】

一部の実施形態では、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを有する対象を治療するための方法であって、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを有する対象に、I L - 1 2 s c タンパク質をコードする RNA、I L - 1 5 スシタンパク質をコードする RNA、I F N α タンパク質をコードする RNA、および G M - C S F タンパク質をコードする RNA を含む有効量の RNA を投与すること、ならびに有効量の抗プログラム細胞死 1（PD-1）抗体を投与することを含む方法が提供される。

40

【0019】

一部の実施形態では、対象は、抗プログラム細胞死 1（PD-1）療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている。一部の実施形態では、対象は、抗プログラム細胞死 1 リガンド（PD-L1）療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている。

【0020】

50

一部の実施形態では、対象は、抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死 1 リガンド (PD-L1) 療法に失敗している。

【0021】

一部の実施形態では、対象は、抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死 1 リガンド (PD-L1) 療法に対して不耐容になっている。

【0022】

一部の実施形態では、対象は、抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 療法および／または抗プログラム細胞死 1 リガンド (PD-L1) 療法に対して抵抗性になっている。

【0023】

一部の実施形態では、対象は、抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 療法または抗プログラム細胞死 1 リガンド (PD-L1) 療法に対して不応性になっている。一部の実施形態では、不応性または抵抗性がんは、指定の治療に应答しないがんである。一部の実施形態では、不応性は、治療のまさに最初から生じる。一部の実施形態では、不応性は治療中に生じる。

10

【0024】

一部の実施形態では、がんは、治療が始まる前に抵抗性である。一部の実施形態では、対象は、抗プログラム細胞死 1 (PD-1) 療法および／または抗プログラム細胞死 1 リガンド (PD-L1) 療法に应答しないがんを有する。一部の実施形態では、対象は、指定の治療に対して不応性または抵抗性になりつつあるがんを有する。一部の実施形態では、指定の治療は、抗 PD-1 療法としてである。一部の実施形態では、特定の治療は、抗 PD-L1 療法としてである。一部の実施形態では、対象は、療法を最初に受けて以来、療法に対する应答性が低下している。一部の実施形態では、対象は、療法を受けたことがないが、典型的には療法に应答しないタイプのがんを有する。

20

【0025】

一部の実施形態では、対象はヒトである。

【0026】

一部の実施形態では、対象は、以前に抗 PD-1 療法でも抗 PD-L1 療法でも治療されたことがない。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、抗 PD-1 療法も抗 PD-L1 療法も常用的に使用されないがんである。

【0027】

一部の実施形態では、対象は、転移性固形腫瘍を有する。一部の実施形態では、対象は、非転移性固形腫瘍を有する。一部の実施形態では、対象は、切除不能な固形腫瘍を有する。一部の実施形態では、対象は、転移性で切除不能な固形腫瘍を有する。一部の実施形態では、対象は、非転移性で切除不能な固形腫瘍を有する。

30

【0028】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、上皮腫瘍、前立腺腫瘍、卵巣腫瘍、腎細胞腫瘍、胃腸管腫瘍、肝腫瘍、結腸直腸腫瘍、脈管構造を有する腫瘍 (tumor with vasculature)、中皮腫瘍、脾臓腫瘍、乳房腫瘍、肉腫腫瘍、肺腫瘍、結腸腫瘍、黒色腫瘍、小細胞肺腫瘍、神経芽細胞腫瘍、精巣腫瘍、癌腫瘍、腺癌腫瘍、精上皮腫瘍、網膜芽細胞腫、皮膚扁平上皮癌 (CSCC)、頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC)、頭頸部がん、骨肉腫腫瘍、皮膚扁平上皮がん (CSCC)、非小細胞肺がん、腎臓腫瘍、甲状腺腫瘍、肝臓腫瘍、または腫瘍内注射に適した他の固形腫瘍である。

40

【0029】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、非ホジキンリンパ腫またはホジキンリンパ腫を含むリンパ腫である。

【0030】

一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、黒色腫である。一部の実施形態では、黒色腫は、ブドウ膜黒色腫または粘膜黒色腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、黒色腫、場合によりブドウ膜黒色腫または粘膜黒色腫であり、腫瘍内注射に適した表在性転移、皮下転移、および／またはリンパ節転移を含む。

50

【0031】

一部の実施形態では、腫瘍内注射は、リンパ節内の固形腫瘍転移への注射を含む。一部の実施形態では、腫瘍内注射は、リンパ節内のリンパ腫腫瘍への注射を含む。一部の実施形態では、腫瘍内注射は、対象の皮膚表面から10cm以内にある原発性または二次性固形腫瘍への注射を含む。一部の実施形態では、腫瘍内注射は、対象の皮膚表面から5cm以内にある原発性または二次性固形腫瘍への注射を含む。一部の実施形態では、腫瘍内注射は、皮膚固形腫瘍への注射を含む。一部の実施形態では、皮膚固形腫瘍は、転移したものである。一部の実施形態では、皮膚固形腫瘍は、皮膚がんである。一部の実施形態では、皮膚固形腫瘍は、皮膚がんではない。一部の実施形態では、腫瘍内注射は、皮下固形腫瘍への注射を含む。一部の実施形態では、皮下固形腫瘍は、転移したものである。一部の実施形態では、皮下固形腫瘍は、皮膚がんである。一部の実施形態では、皮下固形腫瘍は、皮膚がんではない。

10

【0032】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、上皮腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、前立腺腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、卵巣腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、腎細胞腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、胃腸管腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、肝腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、結腸直腸腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、脈管構造を有する腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、中皮腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、脾臓腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、乳房腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、肉腫腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、肺腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、結腸腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、黒色腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、小細胞肺腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、非小細胞肺がん腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、神経芽細胞腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、精巣腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、癌腫腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、腺癌腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、精上皮腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、網膜芽細胞腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、皮膚扁平上皮癌(CSCC)である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、頭頸部扁平上皮癌(HNSCC)である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、HNSCCである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、頭頸部がんである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、骨肉腫腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、腎臓がんである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、甲状腺がんである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、未分化甲状腺がん(ATC)である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、肝臓がんである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、結腸腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、上記のいずれか2つである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、上記のいずれか2つまたはそれ以上である。

20

30

【0033】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、リンパ腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、非ホジキンリンパ腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、ホジキンリンパ腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍リンパ腫は、中枢神経系リンパ腫ではない。

40

【0034】

一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、HNSCCである。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、粘膜部位のみを有する粘膜黒色腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、HNSCCおよび粘膜部位のみを有する粘膜黒色腫である。

【0035】

一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、ブドウ膜黒色腫または粘膜黒色腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、乳がんである。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、乳房肉腫またはトリプルネガティブ乳がんである。

【0036】

一部の実施形態では、RNAは、抗PD-1抗体と組み合わせて投与される。

50

【0037】

一部の実施形態では、対象は、1つよりも多くの固形腫瘍を有する。一部の 경우에는、少なくとも1つの腫瘍は、PD-1療法またはPD-L1療法に抵抗性、不応性、または不耐容である。一部の実施形態では、少なくとも1つの腫瘍は、PD-1療法またはPD-L1療法に抵抗性、不応性、または不耐容であり、少なくとも1つの腫瘍はそうではない。1つよりも多くの固形腫瘍が存在する一部の実施形態では、抵抗性腫瘍および非抵抗性腫瘍が存在する場合、その両方とも治療が成功する。

【0038】

一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、ステージIII、ステージIIIのサブセット、ステージIV、またはステージIVのサブセットである。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、ステージIIIB、ステージIIIC、またはステージIVのがんである。

10

【0039】

一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、進行期である。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、切除不能である。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、進行期および切除不能である。

【0040】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、その発生源から対象の別の部位へと広がっている。

【0041】

一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、1つまたはそれ以上の皮膚病変または皮下病変を有する。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、転移している。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、転移しているが、皮膚がんではない。

20

【0042】

一部の実施形態では、対象には、他の治療選択肢がない。

【0043】

一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、抗PD1療法または抗PD-L1療法が常用的に使用されるが、こうした療法ではまだ治療されていない固形腫瘍がんである。

【0044】

一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に抵抗性および／または不応性であるステージIIIB、IIIC、または切除不能なステージIVの黒色腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、表在性または皮下の病変および／または転移を含む。

30

【0045】

一部の実施形態では、対象は、固形腫瘍効果判定基準(RECIST、Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) 1.1基準に従って測定可能な疾患を有する。一部の実施形態では、対象は、3か月よりも長い平均余命を有する。一部の実施形態では、対象は、少なくとも18歳である。

【0046】

一部の実施形態では、RNAは、腫瘍内注射される。

【0047】

一部の実施形態では、RNAは、固形腫瘍がんの粘膜部位のみに腫瘍内注射される。

40

【0048】

一部の実施形態では、RNAは、約5か月間投与される。一部の実施形態では、RNAは、毎週1回投与される。一部の実施形態では、RNAは、最大で52週間投与される。

【0049】

一部の実施形態では、IFN α タンパク質は、IFN α 2bタンパク質である。

【0050】

一部の実施形態では、IL-12scタンパク質をコードするRNAは、配列番号17もしくは18のヌクレオチド配列、もしくは配列番号17もしくは18のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含み；ならびに／またはIL-12scタンパク質

50

は、配列番号 14 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 14 のアミノ酸配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するアミノ酸配列を含み；ならびに／または IL-12sc タンパク質をコードする RNA は、IL-12sc の p40 部分（配列番号 17 もしくは 18 のヌクレオチド 1～984）と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性および IL-12sc の p30 部分（配列番号 17 もしくは 18 のヌクレオチド 1027～1623）と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み、p40 部分と p35 部分との間に、リンカーポリペプチドをコードするヌクレオチドをさらに含む。

【0051】

一部の実施形態では、IL-15 スシタンパク質をコードする RNA は、配列番号 26 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 26 のヌクレオチド配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み；ならびに／または IL-15 スシタンパク質は、配列番号 24 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 24 のアミノ酸配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するアミノ酸配列を含み；ならびに／または IL-15 スシタンパク質をコードする RNA は、IL-15 受容体アルファのスドメイン（配列番号 26 のヌクレオチド 1～321）と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性および成熟 IL-15（配列番号 26 のヌクレオチド 382～729）と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み、場合により IL-15 のスドメインと成熟 IL-15 との間に、リンカーポリペプチドをコードするヌクレオチドをさらに含む。

【0052】

一部の実施形態では、IFN α タンパク質をコードする RNA は、配列番号 22 もしくは 23 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 22 もしくは 23 のヌクレオチド配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み；および／または IFN α タンパク質は、配列番号 19 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 19 のアミノ酸配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0053】

一部の実施形態では、GM-CSF タンパク質をコードする RNA は、配列番号 29 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 29 のヌクレオチド配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み；および／または GM-CSF タンパク質は、配列番号 27 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 27 のアミノ酸配列と少なくとも 99 %、98 %、97 %、96 %、95 %、90 %、85 %、もしくは 80 % 同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0054】

一部の実施形態では、少なくとも 1 つの RNA は、少なくとも 1 つのウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、少なくとも 1 つの RNA は、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、各 RNA は、少なくとも 1 つのウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、各 RNA は、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン（ Ψ ）、N1-メチルプソイドウリジン（m1 Ψ ）、および 5-メチルウリジン（m5U）から独立して選択される。一部の実施形態では、少なくとも 1 つの RNA は、1 つよりも多くのタイプの修飾ヌクレオシドを含み、修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン（ Ψ ）、N1-メチルプソイドウリジン（m1 Ψ ）、および 5-メチルウリジン（m5U）から独立して選択される。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン（m1 Ψ ）である。

10

20

30

40

50

【0055】

一部の実施形態では、少なくとも1つのRNAは、5'キャップ m_2^7 , 3'-OGppp (m_1^2 -OApG (m_2^7 , 3'-OG (5')ppp (5')) m_1^2 -OApGとも呼ばれることがある)を含む。一部の実施形態では、各RNAは、5'キャップ m_2^7 , 3'-OGppp (m_1^2 -OApG (m_2^7 , 3'-OG (5')ppp (5')) m_1^2 -OApGとも呼ばれることがある)を含む。

【0056】

一部の実施形態では、少なくとも1つのRNAは、配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む5'UTRを含む。一部の実施形態では、各RNAは、配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む5'UTRを含む。

10

【0057】

一部の実施形態では、少なくとも1つのRNAは、配列番号8のヌクレオチド配列、または配列番号8のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む3'UTRを含む。一部の実施形態では、各RNAは、配列番号8のヌクレオチド配列、または配列番号8のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む3'UTRを含む。

20

【0058】

一部の実施形態では、少なくとも1つのRNAは、ポリAテールを含む。一部の実施形態では、各RNAは、ポリAテールを含む。一部の実施形態では、ポリAテールは、少なくとも100個のヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ポリAテールは、配列番号30に示されているポリAテールを含むかまたはからなる。

【0059】

一部の実施形態では、1つまたはそれ以上のRNAは、

i. m_2^7 , 3'-OGppp (m_1^2 -O)ApGまたは3'-O-Me- m_7^G (530')ppp (5')Gを含む5'キャップ；

ii. (i) 配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または(ii) 配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む5'UTR；

iii. (i) 配列番号8のヌクレオチド配列、または(ii) 配列番号8のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む3'UTR；ならびに

iv. 少なくとも100個のヌクレオチドを含むポリAテールを含む。

40

【0060】

一部の実施形態では、ポリAテールは、配列番号30を含むかまたはからなる。

【0061】

一部の実施形態では、固形腫瘍の治療は、対象において腫瘍のサイズを低減することまたはがん転移を予防することを含む。

【0062】

一部の実施形態では、RNAは、同時に投与される。一部の実施形態では、RNAは、注射により投与される。一部の実施形態では、RNAは、注射前に液体溶液中で一緒に混合される。

【0063】

50

一部の実施形態では、抗PD1抗体は、セミプリマブ、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、MED10608、PDR001、PF-06801591、BGB-A317、ピジリズマブ、TSR-042、AGEN-2034、A-0001、BGB-108、BI-754091、CBT-501、ENUM-003、ENUM-388D4、IBI-308、JNJ-63723283、JS-001、JTX-4014、JY-034、CLA-134、STIA-1110、244C8、または388D4である。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、セミプリマブである。

【0064】

一部の実施形態では、抗PD1抗体は、約0.1～600mgの用量で投与される。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、200mgの用量で投与される。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、240mgの用量で投与される。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、350mgの用量で投与される。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、注射により投与される。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、静脈内に投与される。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、3週間毎に1回投与される。一部の実施形態では、RNAおよび抗PD1抗体は、約8か月間投与される。

【0065】

本出願のさらなる実施形態は、以下の通りである：

実施形態A1. 抗プログラム細胞死1 (PD-1) 抗体と組み合わせて、固形腫瘍がんを有する対象の治療に使用するための、IL-12scタンパク質をコードするRNA、IL-15シタンパク質をコードするRNA、IFN α タンパク質をコードするRNA、およびGM-CSFタンパク質をコードするRNAを含む組成物であって、対象は、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法もしくは抗プログラム細胞死1リガンド (PD-L1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっているか、組成物。

実施形態A2. 抗プログラム細胞死1 (PD-1) 抗体と組み合わせて、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法もしくは抗プログラム細胞死1リガンド (PD-L1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている対象の治療に使用するための、IL-12scタンパク質をコードするRNAを含む組成物であって、このRNAは、IL-15シタンパク質をコードするRNA、IFN α タンパク質をコードするRNA、およびGM-CSFタンパク質をコードするRNAと同時に投与される、組成物。

実施形態A3. 抗プログラム細胞死1 (PD-1) 抗体と組み合わせて、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法もしくは抗プログラム細胞死1リガンド (PD-L1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている対象の治療に使用するための、IL-15シタンパク質をコードするRNAを含む組成物であって、このRNAは、IL-12scタンパク質をコードするRNA、IFN α タンパク質をコードするRNA、およびGM-CSFタンパク質をコードするRNAと同時に投与される、組成物。

実施形態A4. 抗プログラム細胞死1 (PD-1) 抗体と組み合わせて、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法もしくは抗プログラム細胞死1リガンド (PD-L1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている対象の治療に使用するための、IFN α タンパク質をコードするRNAを含む組成物であって、このRNAは、IL-12scタンパク質をコードするRNA、IL-15シタンパク質をコードするRNA、およびGM-CSFタンパク質をコードするRNAと同時に投与される、組成物。

実施形態A5. 抗プログラム細胞死1 (PD-1) 抗体と組み合わせて、抗プログラム細胞死1 (PD-1) 療法もしくは抗プログラム細胞死1リガンド (PD-L1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている対象の治療に使用するための、GM-CSFタンパク質をコードするRNAを含む組成物であって、このRNAは、IL-12scタンパク質をコードするRNA、

I L - 1 5 スシタンパク質をコードする R N A、および I F N α タンパク質をコードする R N A と同時投与される、組成物。

実施形態 A 6 . 対象は、抗プログラム細胞死 1 (P D - 1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている、実施形態 A 1 ~ A 5 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 7 . 対象は、抗プログラム細胞死 1 リガンド (P D - L 1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている、実施形態 A 1 ~ A 6 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 8 . 対象は、抗プログラム細胞死 1 (P D - 1) 療法または抗プログラム細胞死 1 リガンド (P D - L 1) 療法に失敗している、実施形態 A 1 ~ A 7 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 9 . 対象は、抗プログラム細胞死 1 (P D - 1) 療法または抗プログラム細胞死 1 リガンド (P D - L 1) 療法に不耐容になっている、実施形態 A 1 ~ A 8 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 1 0 . 対象は、抗プログラム細胞死 1 (P D - 1) 療法または抗プログラム細胞死 1 リガンド (P D - L 1) 療法に抵抗性になっている、実施形態 A 1 ~ A 9 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 1 1 . 対象は、抗プログラム細胞死 1 (P D - 1) 療法または抗プログラム細胞死 1 リガンド (P D - L 1) 療法に不応性になっている、実施形態 A 1 ~ A 1 0 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 1 2 . 不応性または抵抗性がんは、指定の治療に应答しないがんである、実施形態 A 1 ~ A 1 1 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 1 3 . 不応性は、治療のまさに最初から生じる、実施形態 A 1 ~ A 1 2 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 1 4 . 不応性は、治療中に生じる、実施形態 A 1 ~ A 1 3 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 1 5 . がんは、治療が始まる前に抵抗性である、実施形態 A 1 ~ A 1 4 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 1 6 . 対象は、抗プログラム細胞死 1 (P D - 1) 療法および／または抗プログラム細胞死 1 リガンド (P D - L 1) 療法に应答しないがんを有する、実施形態 A 1 ~ A 1 5 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 1 7 . 対象は、指定の治療に不応性または抵抗性になりつつあるがんを有する、実施形態 A 1 ~ A 1 6 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 1 8 . 指定の治療は、抗 P D 1 療法または抗 P D - L 1 療法としてである、実施形態 A 1 7 に記載の組成物。

実施形態 A 1 9 . 対象は、療法を最初に受けて以来、療法に対する应答性が低下している、実施形態 A 1 ~ A 1 8 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 2 0 . 対象は、療法を受けたことがないが、典型的には療法に应答しないタイプのがんを有する、実施形態 A 1 ~ A 1 9 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 2 1 . 対象は、抗 P D - 1 および／または抗 P D - L 1 抵抗性固形腫瘍がんを有する、実施形態 A 1 ~ A 2 0 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 2 2 . 対象は、抗 P D - 1 療法および／または抗 P D - L 1 療法に対して後天的抵抗性を示す固形腫瘍がんを有する、実施形態 A 1 ~ A 2 1 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 2 3 . 対象は、抗 P D - 1 療法および／または抗 P D - L 1 療法に対して先天的抵抗性を示す固形腫瘍がんを有する、実施形態 A 1 ~ A 2 2 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 2 4 . 対象は、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを有する、実施形態 A 1 ~ A 2 3 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 2 5 . 抗プログラム細胞死 1 (P D - 1) 療法もしくは抗プログラム細胞死

10

20

30

40

50

1 リガンド (P D - L 1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている対象を選択する初期ステップをさらに含む、実施形態 A 1 ~ A 2 4 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 2 6 . 対象はヒトである、実施形態 A 1 ~ A 2 5 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 2 7 . 対象は、転移性固形腫瘍を有する、実施形態 A 1 ~ A 2 6 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 2 8 . 対象は、切除不能な固形腫瘍を有する、実施形態 A 1 ~ A 2 7 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 2 9 . 対象は、ベーター 2 - ミクログロブリン (B 2 M) 機能の部分的または完全な喪失を含むがん細胞を有する、実施形態 A 1 ~ A 2 8 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 3 0 . がん細胞は、B 2 M 機能の部分的喪失を有する、実施形態 A 2 9 に記載の組成物。

実施形態 A 3 1 . がん細胞は、B 2 M 機能の完全な喪失を有する、実施形態 A 2 9 に記載の組成物。

実施形態 A 3 2 . B 2 M 機能の部分的または完全な喪失は、がん細胞を、同じ対象に由来する非がん細胞と比較することにより評価され、場合により非がん細胞は、がん細胞が由来したのと同じ組織に由来する、実施形態 A 1 ~ A 3 1 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 3 3 . 対象は、B 2 M 遺伝子に突然変異を含む、実施形態 A 1 ~ A 3 2 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 3 4 . 突然変異は、置換、挿入、または欠失である、実施形態 A 1 ~ A 3 3 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 3 5 . B 2 M 遺伝子は、ヘテロ接合性の喪失 (L O H) を含む、実施形態 A 1 ~ A 3 4 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 3 6 . 対象は、フレームシフト突然変異を含む、実施形態 A 1 ~ A 3 5 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 3 7 . 対象は、B 2 M のエクソン 1 にフレームシフト突然変異を含む、実施形態 A 1 ~ A 3 6 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 3 8 . 対象は、p . L e u 1 3 f s および / または p . S e r 1 4 f s を含むフレームシフト突然変異を含む、実施形態 A 1 ~ A 3 7 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 3 9 . 対象は、B 2 M 機能の部分的または完全な喪失を有していない対象と比較して、低減されたレベルの B 2 M タンパク質を有する、実施形態 A 1 ~ A 3 8 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 4 0 . 対象は、対照と比較して、低減されたレベルの表面発現主要組織適合遺伝子複合体クラス I (M H C I) を有し、場合により対照は、同じ対象に由来する非がん性サンプルである、実施形態 A 1 ~ A 3 9 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 4 1 . 固形腫瘍がんは、上皮腫瘍、前立腺腫瘍、卵巣腫瘍、腎細胞腫瘍、胃腸管腫瘍、肝腫瘍、結腸直腸腫瘍、脈管構造を有する腫瘍、中皮腫瘍、膵臓腫瘍、乳房腫瘍、肉腫腫瘍、肺腫瘍、結腸腫瘍、黒色腫瘍、小細胞肺腫瘍、非小細胞肺がん、神経芽細胞腫瘍、精巣腫瘍、癌腫瘍、腺癌腫瘍、精上皮腫瘍、網膜芽細胞腫、皮膚扁平上皮癌 (C S C C) 、頭頸部扁平上皮癌 (H N S C C) 、頭頸部がん、骨肉腫腫瘍、腎臓腫瘍、甲状腺腫瘍、未分化甲状腺がん (A T C) 、肝臓がん、結腸腫瘍、または腫瘍内注射に適した他の固形腫瘍である、実施形態 A 1 ~ A 4 0 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 4 2 . 固形腫瘍がんは、黒色腫である、実施形態 A 1 ~ A 4 1 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 4 3 . 固形腫瘍がんは、黒色腫ではない、実施形態 A 1 ~ A 4 2 のいずれか 1 つに記載の組成物。

10

20

30

40

50

実施形態 A 4 4 . 固形腫瘍がんは黒色腫であり、黒色腫は、ブドウ膜黒色腫または粘膜黒色腫である、実施形態 A 1 ~ A 4 2 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 4 5 . 固形腫瘍がんが、腫瘍内注射に適した表在性転移、皮下転移、および／またはリンパ節転移を含む黒色腫である、実施形態 A 1 ~ A 4 3 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 4 6 . 固形腫瘍がんは、HNSCC および／または粘膜部位のみを有する粘膜黒色腫である、実施形態 1 5 に記載の組成物。

実施形態 A 4 7 . RNA は、単独療法として投与される、実施形態 A 1 ~ A 4 6 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 4 8 . 対象は、1 つよりも多くの固形腫瘍を有する、実施形態 A 1 ~ A 4 7 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 4 9 . 少なくとも 1 つの腫瘍は、抗 PD - 1 療法または抗 PD - L 1 療法に抵抗性であるか、不応性であるか、または不耐容であり、少なくとも 1 つの腫瘍はそうではない、実施形態 A 1 ~ A 4 8 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 5 0 . 抵抗性腫瘍および非抵抗性腫瘍の治療が両方とも成功する、実施形態 A 4 9 に記載の組成物。

実施形態 A 5 1 . 固形腫瘍がんは、ステージ III、ステージ III のサブセット、ステージ IV、またはステージ IV のサブセットである、実施形態 A 1 ~ A 5 0 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 5 2 . 固形腫瘍がんは、進行期であり切除不能である、実施形態 A 1 ~ A 5 1 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 5 3 . 固形腫瘍は、その発生源から対象の別の部位に広がっている、実施形態 A 1 ~ A 5 2 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 5 4 . 固形腫瘍がんは、1 つまたはそれ以上の皮膚病変または皮下病変を有し、場合により、がんは皮膚がんではない、実施形態 A 1 ~ A 5 3 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 5 5 . 固形腫瘍がんは、ステージ IIIB、ステージ IIIC、またはステージ IV の黒色腫である、実施形態 A 1 ~ A 5 4 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 5 6 . 対象は、以前に抗 PD - 1 療法でも抗 PD - L 1 療法でも治療されることがない、実施形態 A 1 ~ A 5 5 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 5 7 . 固形腫瘍がんは、抗 PD - 1 療法も抗 PD - L 1 療法も常用的に使用されない固形腫瘍がんである、実施形態 A 1 ~ A 5 6 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 5 8 . 固形腫瘍がんは、黒色腫でもなく、非小細胞肺がんでもなく、腎臓がんでもなく、頭頸部がんでもなく、乳がんでもなく、CSCC でもない、実施形態 A 1 ~ 5 7 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 5 9 . 対象は、他の治療選択肢を有していない、実施形態 A 1 ~ A 5 8 のいずれか 1 つの組成物。

実施形態 A 6 0 .

a . 固形腫瘍がんは、黒色腫でもなく、CSCC でもなく、HNSCC でもなく、および

b . 抗 PD - 1 療法も抗 PD - L 1 療法も常用的に使用されず、および

c . 他の好適な治療選択肢がない、

実施形態 A 1 ~ A 5 9 のいずれか 1 つの組成物。

実施形態 A 6 1 . 固形腫瘍がんは、抗 PD 1 療法または抗 PD - L 1 療法が常用的に使用される固形腫瘍がんであるが、こうした療法でまだ治療されていない、実施形態 A 1 ~ A 6 0 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 6 2 . 固形腫瘍がんは、抗 PD - 1 療法または抗 PD - L 1 療法に対して抵抗性および／または不応性である、ステージ IIIB、IIIC、または切除不能なステージ IV の黒色腫である、実施形態 A 1 ~ A 6 1 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 6 3 . 固形腫瘍がんは、表在性または皮下の病変および／または転移を含む、実施形態 A 1 ~ 6 2 のいずれか 1 つに記載の組成物。

10

20

30

40

50

実施形態 A 6 4 . 対象は、2 つまたは 3 つの腫瘍病変を有する、実施形態 A 1 ~ A 6 3 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 6 5 . 対象は、固形腫瘍効果判定基準 (R E C I S T) 1 . 1 基準に従って測定可能な疾患を有する、実施形態 A 1 ~ A 6 4 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 6 6 . 対象は、3 か月よりも長い平均余命を有する、実施形態 A 1 ~ A 6 5 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 6 7 . 対象は、少なくとも 1 8 歳である、実施形態 A 1 ~ A 6 6 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 6 8 .

a . I L - 1 2 s c タンパク質をコードする R N A は、配列番号 1 7 もしくは 1 8 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 1 7 もしくは 1 8 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み；ならびに／または

b . I L - 1 2 s c タンパク質は、配列番号 1 4 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 1 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含み；ならびに／または

c . I L - 1 2 s c タンパク質をコードする R N A は、I L - 1 2 s c の p 4 0 部分 (配列番号 1 7 もしくは 1 8 のヌクレオチド 1 ~ 9 8 4) と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性および I L - 1 2 s c の p 3 0 部分 (配列番号 1 7 もしくは 1 8 のヌクレオチド 1 0 2 7 ~ 1 6 2 3) と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み、p 4 0 部分と p 3 5 部分との間に、リンカーポリペプチドをコードするヌクレオチドをさらに含む、

実施形態 A 1 ~ A 6 7 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 6 9 .

a . I L - 1 5 スシタンパク質をコードする R N A は、配列番号 2 6 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 2 6 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み；ならびに／または

b . I L - 1 5 スシタンパク質は、配列番号 2 4 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 2 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するアミノ酸配列を含み；ならびに／または

c . I L - 1 5 スシタンパク質をコードする R N A は、I L - 1 5 受容体アルファのスシドメイン (配列番号 2 6 のヌクレオチド 1 ~ 3 2 1) と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性および成熟 I L - 1 5 (配列番号 2 6 のヌクレオチド 3 8 2 ~ 7 2 9) と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み、場合により、I L - 1 5 のスシドメインと成熟 I L - 1 5 との間に、リンカーポリペプチドをコードするヌクレオチドをさらに含む、

実施形態 A 1 ~ A 6 8 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 7 0 .

a . I F N α タンパク質をコードする R N A は、配列番号 2 2 もしくは 2 3 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 2 2 もしくは 2 3 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み；ならびに／または

b . I F N α タンパク質は、配列番号 1 9 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 1 9 のアミノ酸配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するアミノ酸配列を含む、

実施形態 A 1 ~ A 6 9 のいずれか 1 つに記載の組成物。

実施形態 A 7 1 .

10

20

30

40

50

- a. GM-C-S-Fタンパク質をコードするRNAは、配列番号29のヌクレオチド配列、もしくは配列番号29のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含み；ならびに／または
- b. GM-C-S-Fタンパク質は、配列番号27のアミノ酸配列、もしくは配列番号27のアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するアミノ酸配列を含む、
実施形態A1～A70のいずれか1つに記載の組成物。
- 実施形態A72. 少なくとも1つのRNAは、少なくとも1つのウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、実施形態A1～A71のいずれか1つに記載の組成物。 10
- 実施形態A73. 少なくとも1つのRNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、実施形態A1～A72のいずれか1つに記載の組成物。
- 実施形態A74. 各RNAは、少なくとも1つのウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、実施形態A1～A73のいずれか1つに記載の組成物。
- 実施形態A75. 各RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、実施形態A1～A74のいずれか1つに記載の組成物。
- 実施形態A76. 修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチル-プソイドウリジン(m¹Ψ)、および5-メチル-ウリジン(m⁵U)から独立して選択される、実施形態A72～A75のいずれか1つに記載の組成物。
- 実施形態A77. 少なくとも1つのRNAは、1つよりも多くのタイプの修飾ヌクレオシドを含み、修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチル-プソイドウリジン(m¹Ψ)、および5-メチル-ウリジン(m⁵U)から独立して選択される、実施形態A1～A76のいずれか1つに記載の組成物。 20
- 実施形態A78. 修飾ヌクレオシドは、N1-メチル-プソイドウリジン(m¹Ψ)である、実施形態A77に記載の組成物。
- 実施形態A79. 少なくとも1つのRNAは、5'キャップm⁷G, 3'-O₆ppp(m¹2'-OApGまたは3'-O-Me-m⁷G(5'))ppp(5')Gを含む、実施形態A1～A78のいずれか1つに記載の組成物。
- 実施形態A80. 各RNAは、5'キャップm⁷G, 3'-O₆ppp(m¹2'-OApGまたは3'-O-Me-m⁷G(5'))ppp(5')Gを含む、実施形態A1～A79のいずれか1つに記載の組成物。 30
- 実施形態A81. 少なくとも1つのRNAは、配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む5'UTRを含む、実施形態A1～A80のいずれか1つに記載の組成物。
- 実施形態A82. 各RNAは、配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む5'UTRを含む、実施形態A1～A81のいずれか1つに記載の組成物。 40
- 実施形態A83. 少なくとも1つのRNAは、配列番号8のヌクレオチド配列、または配列番号8のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む3'UTRを含む、実施形態A1～A82のいずれか1つに記載の組成物。
- 実施形態A84. 各RNAは、配列番号8のヌクレオチド配列、または配列番号8のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む3'UTRを含む、実施形態A1～A83のいずれか1つに記載の組成物。
- 実施形態A85. 少なくとも1つのRNAは、ポリAテールを含む、実施形態A1～A 50

84のいずれか1つに記載の組成物。

実施形態A86. 各RNAは、ポリAテールを含む、実施形態A1～A85のいずれか1つに記載の組成物。

実施形態A87. ポリAテールは、少なくとも100個のヌクレオチドを含む、実施形態A84またはA85に記載の組成物。

実施形態A88. ポリAテールは、配列番号30に示されているポリAテールを含む、実施形態A85～A87のいずれか1つに記載の組成物。

実施形態A89. 1つまたはそれ以上のRNAは、

a. $m_2 7, 3' - \text{O}G p p p (m_1 2' - \text{O} A p G \text{ または } 3' - \text{O} - \text{Me} - m_7 G (5') p p p (5') G$ を含む5'キャップ；

b. (i) 配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または(ii) 配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む5'UTR；

c. (i) 配列番号8のヌクレオチド配列、または(ii) 配列番号8のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む3'UTR；ならびに

d. 少なくとも100個のヌクレオチドを含むポリAテールを含む、実施形態A1～A88のいずれか1つに記載の組成物。

実施形態A90. ポリAテールは配列番号30を含む、実施形態A89に記載の組成物。

実施形態A91. ヒトの進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんの治療に使用される、実施形態A1～A90のいずれか1つに記載の組成物。

実施形態A92. 固形腫瘍の治療は、対象において腫瘍のサイズを低減することまたはがん転移を予防することを含む、実施形態A1～A91のいずれか1つに記載の組成物。

実施形態A93. RNAは同時に投与される、実施形態A1～A92のいずれか1つに記載の組成物。

実施形態A94. RNAは注射により投与される、実施形態A1～A93のいずれか1つに記載の組成物。

実施形態A95. RNAは、注射前に液体溶液中で一緒に混合される、実施形態A93またはA94に記載の組成物。

実施形態A96. 固形腫瘍がんはリンパ腫を含む、実施形態A1～A96のいずれか1つに記載の組成物。

実施形態A97. 固形腫瘍がんはホジキンリンパ腫を含む、実施形態A1～A96のいずれか1つに記載の組成物。

実施形態A98. 固形腫瘍がんは非ホジキンリンパ腫を含む、実施形態A1～A96のいずれか1つに記載の組成物。

【0066】

本出願のさらなる実施形態は、以下の通りである：

実施形態B1. 進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを治療するための方法であって、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを有する対象に、

i. IL-12scタンパク質をコードするRNA、IL-15スシタンパク質をコードするRNA、IFN α タンパク質をコードするRNA、およびGM-CSFタンパク質をコードするRNA；ならびに

ii. 抗プログラム細胞死1(PD-1)抗体を投与し、

それにより、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを治療することを含む方法。

実施形態B2. 固形腫瘍がんは、ステージIII、ステージIIIのサブセット、ステージIV、またはステージIVのサブセットである、実施形態B1に記載の方法。

実施形態B3. 固形腫瘍がんは、進行期であり切除不能である、実施形態B1またはB2に記載の方法。

実施形態B4. 固形腫瘍は、その発生源から対象の別の部位に広がっている、実施形態

10

20

30

40

50

B 1 ～ B 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 5 . 固形腫瘍がんは、ステージ I I I 、ステージ I I I B 、ステージ I I I C 、またはステージ I V のがんである、実施形態 B 1 ～ B 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 6 . ステージ I V のがんは、切除不能である、実施形態 B 5 に記載の方法。

実施形態 B 7 . 固形腫瘍がんは、黒色腫、皮膚扁平上皮がん (C S C C) 、頭頸部扁平上皮癌 (H N S C C) 、非小細胞肺がん、腎臓がん、頭頸部がん、甲状腺がん、結腸がん、肝臓がん、卵巣がん、乳がん、または腫瘍内注射に適した他の固形腫瘍である、実施形態 B 1 ～ B 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 8 . 固形腫瘍がんは、黒色腫である、実施形態 B 1 ～ B 7 のいずれか 1 つに記載の方法。 10

実施形態 B 9 . 固形腫瘍がんは、乳がん、例えば、乳房肉腫、トリプルネガティブ乳がんである、実施形態 B 1 ～ B 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 1 0 . 固形腫瘍がんは、卵巣がんである、実施形態 B 1 ～ B 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 1 1 . 卵巣がんは、白金ベースの化学療法に抵抗性である、実施形態 B 1 0 に記載の方法。

実施形態 B 1 2 . 固形腫瘍がんは、甲状腺がんである、実施形態 B 1 ～ B 1 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 1 3 . 甲状腺がんは、未分化甲状腺がん (A T C) である、実施形態 B 1 2 に記載の方法。 20

実施形態 B 1 4 . 固形腫瘍がんは、1 つまたはそれ以上の皮膚病変または皮下病変 (例えば、転移) を有するが、皮膚がんではない、実施形態 B 1 ～ B 1 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 1 5 . 固形腫瘍がんは、ステージ I I I B 、ステージ I I I C 、またはステージ I V の黒色腫である、実施形態 B 1 ～ B 1 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 1 6 . 対象は、抗プログラム細胞死 1 (P D - 1) 療法または抗プログラム細胞死 1 リガンド (P D - L 1) 療法に失敗しているか、または不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっている、実施形態 B 1 ～ B 1 5 のいずれか 1 つに記載の方法。 30

実施形態 B 1 7 . 固形腫瘍がんは、黒色腫、非小細胞肺がん、腎臓がん、頭頸部がんである、実施形態 B 1 ～ B 1 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 1 8 . 対象は、以前に抗 P D - 1 療法でも抗 P D - L 1 療法でも治療されることがない、実施形態 B 1 ～ B 1 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 1 9 . 固形腫瘍がんは、抗 P D - 1 療法も抗 P D - L 1 療法も常用的に使用されない固形腫瘍がんである、実施形態 B 1 ～ B 1 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 2 0 . 固形腫瘍がんは、黒色腫、非小細胞肺がん、腎臓がん、頭頸部がん、皮膚扁平上皮癌 (C S C C) 、頭頸部扁平上皮癌 (H N S C C) ではない、実施形態 B 1 9 に記載の方法。

実施形態 B 2 1 . 対象は、他の治療選択肢を有していない、実施形態 B 1 ～ B 2 0 のいずれか 1 つに記載の方法。 40

実施形態 B 2 2 .

- a . 固形腫瘍がんは、黒色腫でも、皮膚扁平上皮癌でも、頭頸部扁平上皮癌でもなく ;
- b . 抗 P D - 1 療法も抗 P D - L 1 療法も常用的に使用されず ;
- c . 他の好適な治療選択肢がない、

実施形態 B 1 に記載の方法。

実施形態 B 2 3 . 固形腫瘍がんは、抗 P D 1 療法または抗 P D - L 1 療法が常用的に使用されるが、こうした療法でまだ治療されていない固形腫瘍がんである (例えば、頭頸部がん、H N S C C 、または C S C C) 、実施形態 B 1 ～ B 2 2 のいずれか 1 つに記載の方法。 50

実施形態 B 2 4 . 固形腫瘍がんは、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法に対して抵抗性および／または不応性である、ステージ I I I B、I I I C、または切除不能なステージ I V の黒色腫である、実施形態 B 1 に記載の方法。

実施形態 B 2 5 . 固形腫瘍がんは、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法に対して抵抗性および／または不応性である、ステージ I I I または切除不能なステージ I V の皮膚扁平上皮癌または頭頸部扁平上皮癌である、実施形態 B 1 に記載の方法。

実施形態 B 2 6 . 固形腫瘍がんは、表在性または皮下の病変および／または転移を含む、実施形態 B 1 ～ B 2 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 2 7 . 固形腫瘍がんは、上皮腫瘍、前立腺腫瘍、卵巣腫瘍、腎細胞腫瘍、胃腸管腫瘍、肝腫瘍、結腸直腸腫瘍、脈管構造を有する腫瘍、中皮腫瘍、膵臓腫瘍、乳房腫瘍、肉腫腫瘍、肺腫瘍、結腸腫瘍、黒色腫、小細胞肺腫瘍、神経芽細胞腫瘍、精巣腫瘍、癌腫腫瘍、腺癌腫瘍、精上皮腫瘍、網膜芽細胞腫、皮膚扁平上皮癌 (C S C C)、頭頸部扁平上皮癌 (H N S C C)、頭頸部がん、または骨肉腫腫瘍である、実施形態 B 1 ～ B 2 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 2 8 . 対象は、2 つまたは 3 つの腫瘍病変を有する、実施形態 B 1 ～ B 2 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 2 9 . 対象は、固形腫瘍効果判定基準 (R E C I S T) 1 . 1 基準に従って測定可能な疾患を有する、実施形態 B 1 ～ B 2 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 3 0 . 対象は、3 か月よりも長い平均余命を有する、実施形態 B 1 ～ B 2 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 3 1 . 対象は、少なくとも 1 8 歳である、実施形態 B 1 ～ B 3 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 3 2 . 進行期黒色腫、皮膚扁平上皮癌、または頭頸部扁平上皮癌を治療するための方法であって、

進行期黒色腫、皮膚扁平上皮癌、または頭頸部扁平上皮癌を有する対象に、

i . I L - 1 2 s c タンパク質をコードする R N A、I L - 1 5 スシタンパク質をコードする R N A、I F N α タンパク質をコードする R N A、および G M - C S F タンパク質をコードする R N A ; ならびに

i i . 抗 P D 1 抗体

を投与することを含み、

a . 対象は、少なくとも 1 8 歳であり；

b . 対象は、以前の抗 P D 1 療法または抗 P D - L 1 療法に失敗しており；

c . 対象は、最低で 2 つの病変を有し；および

d . 黒色腫は、直接腫瘍内注射に適した腫瘍を含む、方法。

実施形態 B 3 3 . 対象は、固形腫瘍効果判定基準 (R E C I S T) 1 . 1 基準に従って測定可能な疾患を有する、実施形態 B 3 2 に記載の方法。

実施形態 B 3 4 . 対象は、3 か月よりも長い平均余命を有する、実施形態 B 3 2 に記載の方法。

実施形態 B 3 5 . 抗 P D 1 抗体は、セミプリマブ、ペムブロリズマブ、ニボルマブ、M E D I 0 6 0 8、P D R 0 0 1、P F - 0 6 8 0 1 5 9 1、B G B - A 3 1 7、ピジリズマブ、T S R - 0 4 2、A G E N - 2 0 3 4、A - 0 0 0 1、B G B - 1 0 8、B I - 7 5 4 0 9 1、C B T - 5 0 1、E N U M - 0 0 3、E N U M - 3 8 8 D 4、I B I - 3 0 8、J N J - 6 3 7 2 3 2 8 3、J S - 0 0 1、J T X - 4 0 1 4、J Y - 0 3 4、C L A - 1 3 4、S T I A - 1 1 1 0、2 4 4 C 8、または 3 8 8 D 4 である、実施形態 B 1 ～ B 3 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 3 6 . 抗 P D 1 抗体は、セミプリマブである、実施形態 B 1 ～ B 3 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 3 7 . 抗 P D 1 抗体は、約 0 . 1 ～ 6 0 0 m g の用量で投与される、実施形態 B 1 ～ B 3 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 3 8 . 抗 P D 1 抗体は、2 0 0 m g、2 4 0 m g、または 3 5 0 m g の用量

10

20

30

40

50

で投与される、実施形態 B 1 ～ B 3 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 3 9 . 抗 P D 1 抗体は、注射により投与される、実施形態 B 1 ～ B 3 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 4 0 . 抗 P D 1 抗体は、静脈内に投与される、実施形態 B 1 ～ B 3 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 4 1 . 抗 P D - 1 抗体は、3 週間毎に 1 回投与される、実施形態 B 1 ～ B 4 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 4 2 . R N A は、腫瘍内に注射される、実施形態 B 1 ～ B 4 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 4 3 . R N A および抗 P D - 1 抗体は、約 8 か月間投与される、実施形態 B 1 ～ B 4 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 4 4 . R N A は、毎週 1 回投与される、実施形態 B 1 ～ B 4 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 4 5 . R N A は、最大で 5 2 週間投与される、実施形態 B 1 ～ B 4 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 4 6 . I F N α タンパク質は、I F N α 2 b タンパク質である、実施形態 B 1 ～ B 4 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 4 7 .

a . I L - 1 2 s c タンパク質をコードする R N A は、配列番号 1 7 もしくは 1 8 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 1 7 もしくは 1 8 のヌクレオチド配列の少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み；ならびに／または

b . I L - 1 2 s c タンパク質は、配列番号 1 4 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 1 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含み；ならびに／または

c . I L - 1 2 s c タンパク質をコードする R N A は、I L - 1 2 s c の p 4 0 部分（配列番号 1 7 もしくは 1 8 のヌクレオチド 1 ～ 9 8 4）と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性および I L - 1 2 s c の p 3 0 部分（配列番号 1 7 もしくは 1 8 のヌクレオチド 1 0 2 7 ～ 1 6 2 3）と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み、p 4 0 部分と p 3 5 部分との間に、リンカーポリペプチドをコードするヌクレオチドをさらに含む、

実施形態 B 1 ～ B 4 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 4 8 .

a . I L - 1 5 スシタンパク質をコードする R N A は、配列番号 2 6 のヌクレオチド配列、もしくは配列番号 2 6 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み；ならびに／または

b . I L - 1 5 スシタンパク質は、配列番号 2 4 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 2 4 のアミノ酸配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するアミノ酸配列を含み；ならびに／または

c . I L - 1 5 スシタンパク質をコードする R N A は、I L - 1 5 受容体アルファのスシドメイン（配列番号 2 6 のヌクレオチド 1 ～ 3 2 1）と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性および成熟 I L - 1 5 （配列番号 2 6 のヌクレオチド 3 8 2 ～ 7 2 9）と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含み、場合により、I L - 1 5 のスシドメインと成熟 I L - 1 5 との間に、リンカーポリペプチドをコードするヌクレオチドをさらに含む、

実施形態 B 1 ～ B 4 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 4 9 .

10

20

30

40

50

a. IFN α タンパク質をコードするRNAは、配列番号22もしくは23のヌクレオチド配列、もしくは配列番号22もしくは23のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含み、ならびに／または

b. IFN α タンパク質は、配列番号19のアミノ酸配列、もしくは配列番号19のアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するアミノ酸配列を含む、

実施形態B1～B48のいずれか1つに記載の方法。

実施形態B50.

a. GM-CSFタンパク質をコードするRNAは、配列番号29のヌクレオチド配列、もしくは配列番号29のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含み、ならびに／または

b. GM-CSFタンパク質は、配列番号27のアミノ酸配列、もしくは配列番号27のアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するアミノ酸配列を含む、

実施形態B1～B49のいずれか1つに記載の方法。

実施形態B51. 少なくとも1つのRNAは、少なくとも1つのウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、実施形態B1～B50のいずれか1つに記載の方法。

実施形態B52. 少なくとも1つのRNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、実施形態B1～B51のいずれか1つに記載の方法。

実施形態B53. 各RNAは、少なくとも1つのウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、実施形態B1～B52のいずれか1つに記載の方法。

実施形態B54. 各RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む、実施形態B1～B53のいずれか1つに記載の方法。

実施形態B55. 修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン ($m1\Psi$)、および5-メチルウリジン ($m5U$) から独立して選択される、実施形態B51～B54のいずれか1つに記載の方法。

実施形態B56. 少なくとも1つのRNAは、1つよりも多くのタイプの修飾ヌクレオシドを含み、修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン ($m1\Psi$)、および5-メチルウリジン ($m5U$) から独立して選択される、実施形態B1～B55のいずれか1つに記載の方法。

実施形態B57. 修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン ($m1\Psi$) である、実施形態B56に記載の方法。

実施形態B58. 少なくとも1つのRNAは、5'キャップ $m27$, 3'-OGpppp ($m12'$ -O)ApGまたは3'-O-Me- $m7G(5')$ ppp ($5')$ Gを含む、実施形態B1～B57のいずれか1つに記載の方法。

実施形態B59. 各RNAは、5'キャップ $m27$, 3'-OGpppp ($m12'$ -O)ApGまたは3'-O-Me- $m7G(5')$ ppp ($5')$ Gを含む、実施形態B1～B58のいずれか1つに記載の方法。

実施形態B60. 少なくとも1つのRNAは、配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む5'UTRを含む、実施形態B1～B59のいずれか1つに記載の方法。

実施形態B61. 各RNAは、配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む5'UTRを含む、実施形態B1～B60のいずれか1つに記載の方法。

10

20

30

40

50

実施形態 B 6 2 . 少なくとも 1 つの R N A は、配列番号 8 のヌクレオチド配列、または配列番号 8 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含む 3 ' U T R を含む、実施形態 B 1 ~ B 6 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 6 3 . 各 R N A は、配列番号 8 のヌクレオチド配列、または配列番号 8 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含む 3 ' U T R を含む、実施形態 B 1 ~ B 6 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 6 4 . 少なくとも 1 つの R N A は、ポリ A テールを含む、実施形態 B 1 ~ B 6 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 6 5 . 各 R N A は、ポリ A テールを含む、実施形態 B 1 ~ B 6 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 6 6 . ポリ A テールは、少なくとも 1 0 0 個のヌクレオチドを含む、実施形態 B 6 4 または B 6 5 に記載の方法。

実施形態 B 6 7 . ポリ A テールは、配列番号 3 0 に示されているポリ A テールを含む、実施形態 B 6 4 または B 6 5 に記載の方法。

実施形態 B 6 8 . 1 つまたはそれ以上の R N A は、

a . m 2 7 , 3 ' - O G p p p (m 1 2 ' - O) A p G または 3 ' - O - M e - m 7 G (5 ') p p p (5 ') G を含む 5 ' キャップ ;

b . (i) 配列番号 4 および 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または (i i) 配列番号 4 および 6 からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含む 5 ' U T R ;

c . (i) 配列番号 8 のヌクレオチド配列、または (i i) 配列番号 8 のヌクレオチド配列と少なくとも 9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 0 %、8 5 %、もしくは 8 0 % 同一性を有するヌクレオチド配列を含む 3 ' U T R ; ならびに

d . 少なくとも 1 0 0 個のヌクレオチドを含むポリ A テールを含む、実施形態 B 1 ~ B 6 7 に記載の方法。

実施形態 B 6 9 . ポリ A テールは、配列番号 3 0 を含む、実施形態 B 6 8 に記載の方法。

実施形態 B 7 0 . 対象はヒトである、実施形態 B 1 ~ B 6 9 に記載の方法。

実施形態 B 7 1 . 固形腫瘍の治療は、対象において腫瘍のサイズを低減することまたはがん転移を予防することを含む、実施形態 B 1 ~ B 7 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 7 2 . R N A は、同時に投与される、実施形態 B 1 ~ B 7 1 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 7 3 . R N A は、注射により投与される、実施形態 B 1 ~ B 7 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

実施形態 B 7 4 . R N A は、注射前に液体溶液中で一緒に混合される、実施形態 B 7 2 または B 7 3 に記載の方法。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 6 7 】

【図 1 A】図 1 A は、治療の例示的な全体設計を示す図である。

【図 1 B】図 1 B は、単独療法としてのサイトカイン R N A 混合物の投与のための例示的治療スケジュールを示す図である。

【図 1 C】図 1 C は、抗 P D - 1 抗体との併用療法としてのサイトカイン R N A 混合物の投与のための例示的治療スケジュールを示す図である。

【図 2 - 1】図 2 A ~ 2 I は、抗 P D - 1 療法に対して後天的抵抗性のマウスモデルの作出および特性決定を示す図である。図 2 A ~ 2 B は、P D - 1 抵抗性腫瘍株の生成を示す。図 2 A は、i n v i v o 継代アプローチの図である。手短には、M C 3 8 腫瘍を有する C 5 7 B L 6 マウスを抗 P D - 1 抗体で治療し（クローン R M P 1 - 1 4）、増殖する腫瘍を切り出し、腫瘍から得た細胞を e x v i v o で培養し、その後、ナイーブマウス

10

20

30

40

50

に移植した。図 2 B は、 10 mg/kg の抗 PD-1 抗体で治療された C57BL/6/J マウスに移植された MC38 および MC38 抵抗性腫瘍細胞株の腫瘍成長曲線を示す ($n = 5$ / 群)。抗体治療は矢印によって示されるように投与された。図 2 C ~ 2 E は、MC38 抵抗性細胞が PD-1 抵抗性の既知分子機構を示さないことを示す。MC38 および MC38 抵抗性細胞を *in vitro* で培養し、フローサイトメトリーによって種々のタンパク質の発現をアッセイした。図 2 C は、PD-L1、B2M ならびに IFNGR1 および IFNGR2 の表面発現を示す一連のグラフである。線、染色されていない；塗りつぶし、染色されたサンプル。図 2 D は、*in vitro* での IFN γ 治療後の PD-L1 発現を示すグラフである。図 2 E は、OVA 形質導入細胞における SIINFEKL-MHC I 複合体の発現を示すグラフである。細胞にオボアルブミンを発現するように形質導入し、MHC I における SIINFEKL の提示についてアッセイした。図 2 F ~ 2 I は、切り出され、RNA シーケンシングによってプロファイリングされた皮下腫瘍を示す。図 2 F は、親 MC38 ($n = 16$) と比較した、抵抗性腫瘍において調節不全の多数の遺伝子の全体的な遺伝子発現を示す ($n = 13$)。図 2 G は、MC38 抵抗性腫瘍において IFN γ 標的遺伝子の発現が低減されることを示す。図 2 H は、相対免疫量を推定し、有意に低減した T、NK、B 細胞系統および単球系統細胞を示す MCP Counter 分析を示す。*、 $p < 0.05$ 。図 2 I は、CD8 $^{+}$ T 細胞 (CD45 $^{+}$ CD3 $^{+}$ CD4 $^{-}$ CD8 $^{+}$)、CD4 $^{+}$ T 細胞 (CD45 $^{+}$ CD3 $^{+}$ CD4 $^{+}$ CD8 $^{-}$)、マクロファージ (CD45 $^{+}$ CD11b $^{+}$ F4/80 $^{+}$) およびナチュラルキラー細胞 (CD45 $^{+}$ CD3 $^{-}$ CD49b $^{+}$ NK1.1 $^{+}$) におけるフローサイトメトリーによる免疫浸潤を示す。結果は、2つの独立実験を代表するものである、群あたり $n = 9$ 。* は $p < 0.05$ 、** は $p < 0.01$ 、*** は $p < 0.001$ および **** は $p < 0.0001$ を示す。

10

20

30

40

50

【図 2-2】図 2-1 の続き。

【図 2-3】図 2-2 の続き。

【図 2-4】図 2-3 の続き。

【図 2-5】図 2-4 の続き。

【図 2-6】図 2-5 の続き。

【図 3】図 3 は、MC38 抵抗性細胞が PD-L2 を発現しないことを示す図である。MC38 および MC38 抵抗性細胞を *in vitro* で培養し、種々のタンパク質の発現をフローサイトメトリーによってアッセイした。IFN γ 治療後の PD-L2 発現が示されている。

【図 4】図 4 A ~ 4 B は、免疫組織化学的染色による抵抗性腫瘍における免疫細胞の低減した頻度を示す図である。パラフィン包埋された MC38 および MC38 抵抗性腫瘍を、CD45 $^{+}$ 細胞の浸潤（暗色）について免疫組織化学的染色によって分析した。結果は、2つの独立実験を代表するものである；群あたり $n = 10$ 腫瘍。図 4 A は、代表的画像である。図 4 B は、定量化を示す。

【図 5】図 5 A ~ 5 B は、抵抗性腫瘍の低減した免疫原性を示す図である。PD-1 遮断に応じて完全退縮を示した親 MC38 腫瘍を有する 5 個体の C57BL/6 マウスから、細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) 培養物を作成した。CTL を MC38 および抵抗性腫瘍細胞とともに同時培養し、死滅させ（図 4 A）、IFN γ 放出を測定した（図 5 B）。

【図 6】図 6 A ~ 6 D は、腫瘍量によって測定されるように、皮下 MC38 または MC38 抵抗性腫瘍を有する C57BL/6/J マウスをサイトカイン RNA 混合物の腫瘍内注射で成功裏に治療したことを示す図である（図 6 B および 6 D）。mRNA 治療は、 $40 \mu\text{g}$ の総 mRNA の用量で 4 日毎に（矢印によって示されるように）投与した。「Luc」（図 6 A および 6 C）は、ルシフェラーゼ対照 mRNA を示す。

【図 7】図 7 は、全生存によって測定されるように、皮下 MC38 または MC38 抵抗性腫瘍を有する C57BL/6/J マウスをサイトカイン RNA 混合物の腫瘍内注射で成功裏に治療したことを示す図である。mRNA 治療は、 $40 \mu\text{g}$ の総 mRNA の用量で 4 日毎に（矢印によって示されるように）投与した。「Luc」は、ルシフェラーゼ対照 mRNA

Aを示す。

【図8】図8A～8Bは、MC38（図8A）およびB2Mの欠失したMC38（図8B）におけるベータ2ミクログロブリン（B2M）表面発現のフローサイトメトリー分析を示す図である。

【図9】図9A～9Dは、サイトカインRNA混合物の抗PD-1抗体との組合せが、両側側腹部B16F10がんモデル（図9A）およびMC38腫瘍モデル（図9B）において生存を高めたことを示す図である。サイトカインRNA混合物で治療された片側側腹部MC38-B2Mノックアウト（図9C）またはMC38-B2Mノックアウト／MC38-WT腫瘍を有する異種両側側腹部モデル（図9D）における全生存。

【図10】図10は、種々の*in vivo*固形腫瘍がんモデルにおけるサイトカインmRNA混合物、抗PD-1またはサイトカインmRNA混合物および抗PD-1療法の組合せ後の腫瘍体積における変化を示す図である。数値は、ベースラインからの腫瘍体積変化（ $\Delta T / \Delta C$ 、%）に対応している。各動物の治療された（T）群および媒体対照（C）群各々の腫瘍体積の変化は、すべての対照マウスがまだ生存していた最終日の腫瘍体積から第1の治療当日の腫瘍体積を差し引くことによって算出されている。治療された群の中央値 ΔT が算出され、媒体対照群の中央値 ΔC が算出されている。比 $\Delta T / \Delta C$ が算出され、パーセンテージとして表されている。

【図11】図11は、約2mm幅であり、腫瘍周辺の浸潤前部に隣接する、「腫瘍周囲に」または「腫瘍周囲の」領域を示す図である。腫瘍周囲の領域は、宿主組織を含む。

【発明を実施するための形態】

【0068】

配列の説明

表1は、本明細書で参照されているある特定の配列のリストを提供する。

【0069】

10

20

30

40

50

【表 1】

[illegible]

30

40

【表 3】

17 ヒト最適化 IL-12sc (CDs をコードする RNA)	AUGGUCACACGACGUGUGCAUCUCUUGGUUUUCCUGGUUUUUCUGGCCAUCUCCCGUCUGGCCCAUAUAGGGAACUGAAGAAAGAUUUU AUGUCUAGAUAUGGAUUGUAUCCGGAUGCCCGUCGAGAAAUUGGUGGUUCCUACACUUGUGACACCCUCUGAAGAAAGAUUGUAUCACCCUGGAC CUTGGCCAGACGAGUGUCUUAAGGUCUUGGCAAAACCCGACCAUCCAGAGAAAGAUUUUGGAGGUCCACUGAUUUUAUAAAGGACGACGAAG AAAGGAGCGGAGUUAAGCCAUUGCUCUUGCUCUUCACAAAGGAAGAUUGGUUCCAGUGAUUUUAUAAAGGACGACGAAG AACCCAAAAAAGACUUUAAGUACGAGCCAGAAUAUUAUUGGAGUUUACUGGAGUUUCCAGUCUGUGGCGUGGACGACAAUACGUAUCGAUUA GACAUUCAGUUCAAAAGCAGCAGAGGUCUUCUGACCCCAAGGGGUGACGUGCGGAGUUAACUUCUGCAGAGAGAGUACGACGAGG GACCAACAGGUAUCAGACUGGCGCAGCAGAGUGUCUGCGACGUGUCUGCGCAGCAGAGAGUUCUGGCCCAUUGAGGUCUGUGUGG AUGCCGUCACAGAUAGUAAGAAACUACACACGACGUCUUCUAUCCAGGGAUAUCAGUACAAUCCACCCACCCCAAGAAAUUGGACUC GAAGCCAUUAAAGAAUUCUGGCGAGGAGGUCAGCUGGGAGUACCCUGACACCGGAGAGUCCACAUUCCUACUUCUCCUGACAU UUGGUUAGGUCCAGGCGCAGACAGAGAGAGAAAGAAUAGAGUUCUACGACGACAGACUCCAGCCACGGUUAUCUGCCGCCAAAAAUG CCAGCAUAGGUGCGGGCCCGAGGACCGCUAUUAGUCUUCUUGGAGCGGAUUGGGCAUCUGGCCUUGCAGUGGCUUAGCGGAGGGG AGGUCUUCUGGGGGGGAUAGAGAAACUCCCGGUGGCACUCACAGCCAGGAUUUUCCAGAGGCUUCCACUCCACUCCCAACAAACCG CUGAGGCGGUCAGCAACUGUCUCCAGAGGCGACAAACUUAAGAAUUUACCUUGGCAUUUCUGAGGAUUUAUUGAAGAAUUAUUGAAGUAUUA CAAAAGUAAAAACAGCACAGUGGAGCCUGUUUACCAUUGAAUUAACCAAGAACAGAGUUGCCUAAAUCAGAGACACCCUUCUUAU AACTUAUGGAGUUGCCUGGCCUCCAGAAAGCCUUAUUGAUGGCCUUGGCUUAUAGUAUUUAUGAAGAAUUAUUGAAGUAUUAUGAAG GUGGAGUUAACACCAUGAAGCAAGCTUCUGAUGAUCUUAAGAGCAGACUUCUUGAUGACAAACAUUGCGGCGAGUUAUUGAUGAGC UGAUGAGGCGCUGAAUUUACACAGUGAGCUGUGGCCACAAAUUCCUUGAAGAACCGGAUUUUUAUAAAUUAAAUUACAAAGACCCUG CAUACUUCUACUUCAGAAUUCGGGCGAGUCUAUUAUGAUGAGUGAGUGAUCUGGAUUGCUUCUGGAUGA
18 ヒト最適化 IL-12sc (CDs をコードする RNA)	AUGGUCACACGACGUGUGCAUCUCUUGGUUUUCCUGGUUUUUCUGGCCAUCUCCCGUCUGGCCCAUAUAGGGAACUGAAGAAAGAUUUU AUGUCUAGAUAUGGAUUGUAUCCGGAUGCCCGUCGAGAAAUUGGUGGUUCCUACACUUGUGACACCCUCUGAAGAAAGAUUGUAUCACCCUGGAC CUTGGCCAGACGAGUGUCUUAAGGUCUUGGCAAAACCCGACCAUCCAGAGAAAGAUUUUGGAGGUCCACUGAUUUUAUAAAGGACGACGAAG AAAGGAGCGGAGUUAAGCCAUUGCUCUUGCUCUUCACAAAGGAAGAUUGGUUCCAGUGAUUUUAUAAAGGACGACGAAG AACCCAAAAAAGACUUUAAGUACGAGCCAGAAUAUUAUUGGAGUUUACUGGAGUUUCCAGUCUGUGGCGUGGACGACAAUACGUAUCGAUUA GACAUUCAGUUCAAAAGCAGCAGAGGUCUUCUGACCCCAAGGGGUGACGUGCGGAGUUAACUUCUGCAGAGAGAGUACGACGAGG GACCAACAGGUAUCAGACUGGCGCAGCAGAGUGUCUGCGACGUGUCUGCGCAGCAGAGAGUUCUGGCCCAUUGAGGUCUGUGUGG AUGCCGUCACAGAUAGUAAGAAACUACACACGACGUCUUCUAUCCAGGGAUAUCAGUACAAUCCACCCACCCCAAGAAAUUGGACUC GAAGCCAUUAAAGAAUUCUGGCGAGGAGGUCAGCUGGGAGUACCCUGACACCGGAGAGUCCACAUUCCUACUUCUCCUGACAU UUGGUUAGGUCCAGGCGCAGACAGAGAGAGAAAGAAUAGAGUUCUACGACGACAGACUCCAGCCACGGUUAUCUGCCGCCAAAAAUG CCAGCAUAGGUGCGGGCCCGAGGACCGCUAUUAGUCUUCUUGGAGCGGAUUGGGCAUCUGGCCUUGCAGUGGCUUAGCGGAGGGG AGGUCUUCUGGGGGGGAUAGAGAAACUCCCGGUGGCACUCACAGCCAGGAUUUUCCAGAGGCUUCCACUCCACUCCCAACAAACCG CUGAGGCGGUCAGCAACUGUCUCCAGAGGCGACAAACUUAAGAAUUUACCUUGGCAUUUCUGAGGAUUUAUUGAAGAAUUAUUGAAGUAUUA CAAAAGUAAAAACAGCACAGUGGAGCCUGUUUACCAUUGAAUUAACCAAGAACAGAGUUGCCUAAAUCAGAGACACCCUUCUUAU AACTUAUGGAGUUGCCUGGCCUCCAGAAAGCCUUAUUGAUGGCCUUGGCUUAUAGUAUUUAUGAAGAAUUAUUGAAGUAUUAUGAAG GUGGAGUUAACACCAUGAAGCAAGCTUCUGAUGAUCUUAAGAGCAGACUUCUUGAUGACAAACAUUGCGGCGAGUUAUUGAUGAGC UGAUGAGGCGCUGAAUUUACACAGUGAGCUGUGGCCACAAAUUCCUUGAAGAACCGGAUUUUUAUAAAUUAAAUUACAAAGACCCUG CAUACUUCUACUUCAGAAUUCGGGCGAGUCUAUUAUGAUGAGUGAGUGAUCUGGAUUGCUUCUGGAUGA

10

20

30

40

【表 4】

19	ヒト IFN α 2b (7 ミノ酸)	MALTFALLVALLVLSCKSSSVGCDLPQTHSLGSRRTMLLAQMRRI SLFSCLDRHDFGFQBEFGNQFKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSAAWDETLIDKFYTELYQQINDLEACVIOGVGVTEFLMKEDSILLAVRYFQRIITLYLKEKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSSTNLQESLRSKE
20	ヒト未最適化 IFN α 2b (CDS DNA)	ATGGCCTTGACCTTTGCTTTACTGGTGGCCCTCCTGGTGTCTAGCTGCAAGTCAAGTGTCTGTGGGCTGTGTCTGCTCAAAACCCACA GCCCTGGGTAGCAGGAGGACCTTGCTCTCTGGCAGATGAGAGAAATCTCTCTTTTCTCTGCTTGAAGGACAGACATGACATTTGGATT TCCCAGGAGGAGTTGGCAACCCATTCCAAAAGGCTGAACCCATCCCTGTCTCCATGATGATCCAGCAGATCTTCAACCTTTTCAGC ACAAAGGACTCATCTGCTGCTTGGATGAGACCCCTCTAGACAAATTCACACTGAATTCACGACAGCTGAATCACCTTGAAGCCTGTG TGATACAGGGGTGGGGTGACGACCTCCCTGTATGAGGAGGACTCCATTTGGCTGTGAGGAAATCTTCCAAAGAAATCACTCTCTA TCTGAAAGAGAGAAATACAGCCCTTGTGCTGGGAGGTGTGTCAGAGCAGAAATCATGATCTCTTTTCTTGTCAACAACTTGCAGAGAA AGTTTAAGAGTAAGGAATGATGA
21	ヒト最適化 IFN α 2b (CDS DNA)	ATGGCCCTGACTTTTGGCCCTTCTGCTGGCTTGTGGTGTGCTGAGTTGCAAAATCTTCTCTGTAGTGTGGGATGTGATCTGCTCAAAACCCACA GTCCTGGGATCTAGGAGAACACTGATGCTGTGGCAGATGAGAGAAATGAGCCCTCTTTCTCTGCTTGAAGGATGACATGACATCTGGGCTT TCCCAGAGGAGTTTGGCAATCATGTTCCAGAAAGCGGAAACGATTCCTGCTTCTGCAAGATGATCCAGCAGATCTTCAACCTCTTTTCA ACCAAGACAGCTCAGCAGCCTGGGATGAGACACTGCTGGACAAATTCACACAGAACTCTATCAGACAGCTTAACGATCTGGAGGCGATGCG TGATCCAAAGGGGTGGTGTGACTGAAACTCCGCTTATGAGGAGGACTCCATTTGGCTGTACGGAAGTACTTCCAGAGAAATAACCTCTTA TCTGAAGGAGAGAGTACTCACCATTGCTTGGGAAGTCTGTGAGAGCCGAAATCATGATCTCTCAGCTTAGCACCAATCTCCAGGAA TCTCTGAGAGCAAGAGTCAATGA
22	ヒト未最適化 IFN α 2b (CDS を コードする RNA)	AUGGCCUUGACCUUUUGCUUUAUGGUGGCCCUUCUGUGUCAGUCUGAAGUCUGUCUGUGGCGUGUGAUCUGCCUCAAAACCCACA GCCUGGUGUAGCAGGAGGACCUUGAUGUCUCUGGACAGAGAGAGAAUCUCUUCUUCUGUGAGAGGACAGACAUUGGUAU UCCCCAGGAGAGUUUGGCAACCCAGUUCCAAAGGUCUGAACCAUCCUGUCUCCCAUGAGAGAUCCAGCAGAUUCUCAAACCUUUUCAGC ACAAAGGACUCUACUCUGUCUGUGGAGAGACCCUCCUAGACAAAUUCACUACUGAACUCUACAGCAGCUGAUAUGACCGUGAAGCCUGUG UGAUAACAGGGGGUGGGGUGACAGACUCCCGUGAUGAAGGAGGACUCCAUUCUGGCGUGUGAGGAAUAUCUCCAAAGAAUACUCUCUA UCUGAAAGAGAGAAUAACAGCCCUUUGUGUGGAGGUGUUCAGAGCAGAAAUCAUGAGAUUUUUUUGUGUCAAACAACUUGCAAGAA AGUUUAAGAGAGAAAGGAUGAUGA
23	ヒト最適化 IFN α 2b (CDS を コードする RNA)	AUGGCCUUGACCUUUUGCUUUAUGGUGGCCCUUUGUGUGUCAGUUGCAAAUUCUUCUGUAGUGUGGAGUGAUCUGCCUCAAAACCCACA GUCUGGGAUCUAGGAGAACACUAGUGUGUGGACAGAGAGAGAAUAGCCUUCUUCUGGAGAGGAAUAGCAGAUACACAUUGGCUU UCCCCAGAGGAGUUUGGCAAAUAGUUCAGAAACGAAUCCCGUGUCUGCAGAGAGAUCCAGCAGAUUCUCAAACCUUUUUA ACCAAGACAGCUCAGCAGCUGGAGAGACACUUGUGGACAAAUUCACACAGAACUAGUACAGCAGUUAACGAUCUGGAGGCAUGCG UGAUCCAGGGGUGUGUGACUGAAACUCCCGUUAUGAAGGAGGACUCCAUUCUGGCGUGUACGGAAGUACUCCAGAGAAUAACCCUUA UCUGAAGGAGAGAGUACUACCAUGUGUGGAGAGUUGUGAGAGCCGCAAUCAUGAGAUCCUUCAGCCUUCAGCAACCAUUCUCCAGGAA UCUCUGAGAGCAAGAGUGAUGA
IL-15 スシ		
24	ヒト IL-15 スシ (7ミノ酸)	MAPRRAGCRTLGLPALLILLRPPATRGITCPPPMSTEHADIWVKSYSLSYRERYICNSGFKKAGTSSLTETCVLNKATNVAHWTTPSL KCTRDPPALVHORPAPPPGGSGGGSGGGSGGSIQNWNVISDLKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLLELQVISLESG DASITHDTVENLIILANSLSSNGNVTESCCKECEELEKNIKEFLQSFVHIVQMEINTS

10

20

30

40

50

40

50

【表 6】

32	抗 PD1 Mab 軽鎖	DIQMTQSPSS LSASVGDST ITCRASLSIN TFLNYYQQKP GKAPNLLIYA ASSLHGGVPS RFSGSGGTD FTLTIRTLQP EDFATYYCQQ SSNTFTTGP GTVYDFRRIV AAFSVFIETPP SDEQLKSGTA SVVCLINNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEK
33	HCDR1	GTFTSNFG
34	HCDR2	ISGGGRDI
35	HCDR3	VKGNIIYFDY
36	LCDR1	LSINTF
37	LCDR2	AAS
38	LCDR3	QSSNTPTT
39	抗 PD1 Mab VH	EVQLLESGV LVQPGSLRL SCAASGFTS NFGMTWVRQA PKGLEWVSG ISGGGRDTYF ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY IQMNSLKGED TAVYICVKWG NIYFDYWGQG TLVTVSS
40	抗 PD1 Mab VL	DIQMTQSPSS LSASVGDST ITCRASLSIN TFLNYYQQKP GKAPNLLIYA ASSLHGGVPS RFSGSGGTD FTLTIRTLQP EDFATYYCQQ SSNTFTTGP GTVYDFR
41	実施例 3 の sgRNA	GGCGTATGATCAGTCTCAG

10

20

30

40

【0070】

詳細な説明

1. 定義

本明細書で使用される場合、「サイトカイン mRNA 混合物」、「mRNA サイトカイン混合物」、または「RNA サイトカイン混合物」とも呼ばれることがある「サイトカイン RNA 混合物」は、本明細書に記載の通り、IFN α をコードする RNA、IL-15 スシをコードする RNA、IL-12 sc をコードする RNA、および GM-CSF をコードする RNA を含む。

【0071】

50

「PD-1」は、「プログラム細胞死1」または「プログラム細胞死-1」とも呼ばれる場合がある。また、「PD-L1」は、「プログラム細胞死1リガンド」、「プログラム細胞死-1リガンド1」、または「プログラム細胞死-リガンド1」とも呼ばれる場合がある。

【0072】

本明細書で使用される場合、本明細書では「進行性固形腫瘍」または「進行性固形腫瘍がん」とも呼ばれることがある「進行期固形腫瘍がん」は、公知の方式、例えば、対がん米国合同委員会（AJCC、American Joint Committee on Cancer）により開発された、腫瘍、リンパ節、および転移（TNM）病期分類方式（tumor, node, and metastasis (TNM) staging system）（AJCC Cancer Staging Manual、第8版を参照）により評価して、その病期がステージII、ステージIIIのサブセット、ステージIV、またはステージIVのサブセットであると識別される固形腫瘍がんを含む。一部の実施形態では、TNM病期分類方式は、黒色腫以外の固形腫瘍がんの使用される。一部の実施形態では、がんは、AJCC黒色腫病期分類（第8版、2018年）により評価して、ステージIIIB、ステージIIIC、またはステージVを含む黒色腫または進行性黒色腫である。AJCC黒色腫病期分類に関連する非限定的な説明は、Gershenwald JE、Scolyer RA、Hess KRら、Melanoma of the skin. In: Amin MB編、AJCC Cancer Staging Manual. 第8版、シカゴ、イリノイ州：AJCC-Springer；2017年：563～585頁などに記載されている。これらの文献は、それらの内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、がんは、皮膚扁平上皮癌（CSCC）、または頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）であり、これらは両方とも進行性であってもよい。すべての主要ながんには同様の病期分類方式が存在し、一般に、腫瘍の臨床的および／または病理学的詳細に基づき、そうした要因が如何に生存に影響を及ぼすかが示されている。

【0073】

「腫瘍」は、本明細書では「新生物」とも呼ばれる場合がある。例えば、「固形腫瘍」および「固形新生物」という用語は、同義的である。

【0074】

「切除不能な」（例えば、進行期の切除不能な）がんは、典型的には外科手術で除去することができない。

【0075】

RECIST（固形腫瘍効果判定基準（腫瘍も同様））は、固形腫瘍において、がん療法の活性および効能を評価するための方法論を提供する。RECISTガイドラインは、欧州がん研究治療機構（European Organization for Research and Treatment of Cancer）、米国国立がん研究所（National Cancer Institute of the United States）、およびカナダがん治験グループ（Canadian Cancer Trials Group）、ならびに幾つかの製薬会社からの代表者で構成されるRECISTワーキンググループにより作成され、Eisenhauer EA、Therasse P、Bogaerts Jら、New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1) Eur J Cancer. 45巻（2009年）228～247頁に発表された。この文献の内容は全体が参照により本明細書に組み込まれる。ガイドラインのセクション4.3.1（Eisenhauerの232～233頁）は、標的病変の評価に関して以下を提供する。

完全奏功（CR）：すべての標的病変が消失。あらゆる病理学的リンパ節（標的または非標的に関わらず）は、短軸が＜10mmに退縮していなければならない。

部分奏功（PR）：基線合計直径を基準として、標的病変の直径の合計の少なくとも30

%減少。

進行疾患（PD）：治験での最小値合計を基準として、標的病変の直径の合計の少なくとも20%増加（これは、その値が治験での最小値である場合、基線合計を含む）。20%の相対的増加に加えて、合計は、少なくとも5mmの絶対的増加も示さなければならない。（注：1つまたはそれ以上の新しい病変の出現も進行とみなされる）。

安定疾患（SD）：治験中の最小合計直径を基準として、PRに値する十分な縮小もPDに値する十分な増加もみられない。

ガイドラインのセクション4.3.3（Eisenhauerの233頁）は、非標的病変の評価に関して以下を提供する。

一部の非標的病変は実際に測定可能であってもよいが、それらを測定する必要はなく、代わりにプロトコールで指定された時点で定性的に評価すれば事足りる。

完全奏功（CR）：すべての非標的病変の消失および腫瘍マーカーレベルの正常化。すべてのリンパ節は、サイズが非病理学的でなければならない（<10mm短軸）。

非CR／非PD：1つまたはそれ以上の非標的病変の持続、および／または正常限界を上回る腫瘍マーカーレベルの維持。

進行疾患（PD）：既存非標的病変の明白な進行。（注：1つまたはそれ以上の新しい病変の出現も進行とみなされる）。

【0076】

抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対して「先天的」または「一次的」抵抗性を有する対象は、初めから抗PD-1療法にも抗PD-L1療法にも応答しない。先天的または一次的抵抗性を有する対象は、PD-1遮断／PD-L1遮断に対する臨床応答を全く示さなかった。例えば、Sharmaら（2017年）Cell 168巻：707～723頁の709頁目を参照された。また、Hugoら（2016年）Cell 165巻（1号）35～44頁を参照されたい。また、Nowickiら（2018年）Cancer J. 24巻（1号）：47～53頁を参照されたい。これらの文献の内容は全体が参照により本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対して先天的抵抗性を有する対象は、抗PD-1療法または抗PD-L1療法による治療後に（任意の期間）、RECIST基準（バージョン1.1）による進行疾患または安定疾患を有すると特徴付けられる。一部の実施形態では、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対して先天的抵抗性を有する対象は、抗PD-1療法または抗PD-L1療法による治療後に（任意の期間）、生存がん細胞を含む非標的病変が非CR／非PDであることにより特徴付けられる。一部の実施形態では、抗PD-1療法に対して先天的抵抗性を有する対象は、抗PD-1療法による治療後に（任意の期間）、RECIST基準（バージョン1.1）による進行疾患を有すると特徴付けられる。一部の実施形態では、抗PD-L1療法に対して先天的抵抗性を有する対象は、抗PD-L1療法による治療後に（任意の期間）、RECIST基準（バージョン1.1）による安定疾患を有すると特徴付けられる。一部の実施形態では、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対する先天的抵抗性を有する対象は、抗PD-1療法または抗PD-L1療法による治療後に（任意の期間）、固形腫瘍の最長直径の少なくとも20%増加および／または1つもしくはそれ以上の新しい固形腫瘍の出現を示すと特徴付けられる。一部の実施形態では、抗PD-1療法に対する先天的抵抗性を有する対象は、抗PD-1療法による治療後に（任意の期間）、固形腫瘍の最長直径の少なくとも20%増加および／または1つもしくはそれ以上の新しい固形腫瘍の出現を示すと特徴付けられる。一部の実施形態では、抗PD-L1療法に対する先天的抵抗性を有する対象は、抗PD-L1療法による治療後に（任意の期間）、固形腫瘍の最長直径の少なくとも20%増加および／または1つもしくはそれ以上の新しい固形

10

20

30

40

50

腫瘍の出現を示すと特徴付けられる。一部の実施形態では、最長直径の増加は、少なくとも5 mmの増加である。一部の実施形態では、期間は、約6週間、約8週間、または少なくとも6週間もしくは8週間である。一部の実施形態では、期間は、2、3、6、12か月、またはそれよりも長い月数である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、原発腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、注射可能な腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍には、サイトカインmRNA混合物が注射されている。一部の実施形態では、固形腫瘍は、サイトカインmRNA混合物を注射するために選択されている。一部の実施形態では、固形腫瘍は、最長直径が ≥ 0.5 cmの皮下病変である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、コンフルエントである複数の注射可能な併合病変の群内に存在する。一部の実施形態では、固形腫瘍は、コンフルエントであり、 ≥ 0.5 cmの最長直径（すべての関与する標的病変の直径の合計）を有する複数の注射可能な併合病変の群内に存在する。一部の実施形態では、固形腫瘍は、出血性でも浸出性でもない。一部の実施形態では、固形腫瘍の最長直径は、少なくとも10 mmである（例えば、コンピュータ断層撮影（CT）スキャンまたはカリパスにより測定して）。一部の実施形態では、固形腫瘍は対象の胸部に存在し、固形腫瘍の最長直径は少なくとも20 mmである（例えば、胸部X線で測定して）。一部の実施形態では、固形腫瘍は、リンパ節に存在する。一部の実施形態では、リンパ節は、短軸が少なくとも15 mmである（例えば、CTスキャンにより評価した場合）。一部の実施形態では、固形腫瘍は、リンパ腫である。一部の実施形態では、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対して先天的抵抗性を有する対象は、抗PD-1療法または抗PD-L1療法による治療後に（任意の期間）、Lugano分類による応答も安定疾患も有しないと特徴付けられる。本明細書で参照されているLugano分類のバージョンは、Chesonら、2014年、J Clin Oncol. 32巻（27号）：3059～68頁に記載されている。この文献の内容は全体が参照により本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対して先天的抵抗性を有する対象は、抗PD-1療法または抗PD-L1療法による治療後に（任意の期間）、Lugano分類による進行疾患を有すると特徴付けられる。一部の実施形態では、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対して先天的抵抗性を有する対象は、抗PD-1療法または抗PD-L1療法による治療後に（任意の期間）、リンパ節内にリンパ腫腫瘍を有すると特徴付けられる。一部の実施形態では、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対して先天的抵抗性を有する対象は、抗PD-1療法または抗PD-L1療法による治療後に（任意の期間）、リンパ節内にリンパ腫腫瘍を有し、リンパ節は、（i）最長直径が1.5 cmよりも大きく、（ii）直交直径の積（PPD）が最低値から少なくとも50%増加すると特徴付けられる。一部の実施形態では、最長直径の増加は、少なくとも5 mmの増加である。一部の実施形態では、期間は、約6週間、約8週間、または少なくとも6週間もしくは8週間である。一部の実施形態では、期間は、2、3、6、12か月、またはそれよりも長い月数である。

10

20

30

40

50

【0077】

抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対して「後天的」または「適応的」抵抗性を有する対象は、初期には療法に応答するが（例えば、任意のレベルの応答）、一定期間後に再発し、進行する。一部の実施形態では、療法に対する応答は、RECIST基準（バージョン1.1）に従って評価される。一部の実施形態では、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対する後天的または適応的抵抗性は、すべてRECIST基準（バージョン1.1）により初期に完全奏功したかまたは部分奏功したかに関わらず、療法中に最終的に進行する対象にみられる。一部の実施形態では、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対する後天的または適応的抵抗性は、抗PD-1療法または抗PD-L1療法を再開しても応答しない対象にみられる。例えば、Sharmaら（2017年）Cell 168巻：707～723頁の708頁を参照されたい。また、Nowickiら（2018年）Cancer J. 24巻（1号）：47～53頁を参照されたい。これらの文献の内容は全体が参照により本明細書に組み込まれる。一部の実施形態では、抗PD-1療法に対する適応的抵抗性を有する対象は、その体積が（i）抗PD-1療法を始めた一定

期間後に減少し、次いで (i i) 抗 P D - 1 療法を継続したにも関わらず一定期間後に増加した固形腫瘍を含む。一部の実施形態では、抗 P D - L 1 療法に対する適応的抵抗性を有する対象は、その体積が (i) 抗 P D - L 1 療法を始めた一定期間後に減少し、次いで (i i) 抗 P D - L 1 療法を継続したにも関わらず一定期間後に増加した固形腫瘍を含む。一部の実施形態では、適応的抵抗性は、根底にある後天的抵抗性機序に関連する。実施形態では、適応的抵抗性は、突然変異または後成的変化に関連する。一部の実施形態では、適応的抵抗性は、B 2 M 遺伝子の突然変異に関連する。一部の実施形態では、一定期間は、6 ~ 12 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、6 ~ 18 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、6 ~ 36 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、3 ~ 9 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、3 ~ 24 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、12 ~ 24 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、少なくとも約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 11、約 12、約 13、約 14、約 15、約 16、約 17、約 18、約 19、約 20、約 21、約 22、約 23、または約 24 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、少なくとも約 4 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、少なくとも約 6 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、少なくとも約 12 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、少なくとも約 24 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、少なくとも約 30 か月である。一部の実施形態では、一定期間は、少なくとも約 36 か月である。一部の実施形態では、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法に対する適応的抵抗性を有する対象は、R E C I S T 基準 (バージョン 1.1) により、治療中の任意の時点で完全奏功を有すると特徴付けられ、その後 (および治療中)、進行疾患を有すると特徴付けられた。一部の実施形態では、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法に対する適応的抵抗性を有する対象は、すべて R E C I S T 基準 (バージョン 1.1) により、治療中の任意の時点で部分奏功を有すると特徴付けられ、その後 (および治療中)、進行疾患または安定疾患を有すると特徴付けられた。一部の実施形態では、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法に対する適応的抵抗性を有する対象は、R E C I S T 基準 (バージョン 1.1) により、治療中の任意の時点で部分奏功を有すると特徴付けられ、その後 (および治療中)、進行疾患を有すると特徴付けられた。一部の実施形態では、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法に対する適応的抵抗性を有する対象は、R E C I S T 基準 (バージョン 1.1) により、治療中の任意の時点で部分奏功を有すると特徴付けられ、その後 (および治療中)、安定疾患を有すると特徴付けられた。一部の実施形態では、対象における固形腫瘍の最長直径は、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法を始めた後に少なくとも 30 % 減少し、次いで増加した。一部の実施形態では、対象における固形腫瘍の最長直径は、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法を始めた後に少なくとも 30 % 減少し、次いで少なくとも 20 % 増加した。一部の実施形態では、対象における固形腫瘍の最長直径は、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法を始めた後に少なくとも 30 % 減少し、次いで 1 つまたはそれ以上の新しい腫瘍が出現した。一部の実施形態では、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法に対する適応的抵抗性を有する対象は、治療中の任意の時点で固形腫瘍の最長直径が少なくとも 30 % 減少し、その後 (および治療中に) 固形腫瘍の最長直径が少なくとも 20 % 増加し、および / または 1 つもしくはそれ以上の新しい固形腫瘍が出現すると特徴付けられた。一部の実施形態では、最長直径の増加は、少なくとも 5 mm の増加である。一部の実施形態では、抗 P D - 1 療法または抗 P D - L 1 療法に対する適応的抵抗性を有する対象は、治療中の任意の時点で固形腫瘍 (例えば、1 つよりも多くの腫瘍が存在した場合、存在したすべての固形腫瘍) が消失したと特徴付けられ、その後 (および治療中に) 固形腫瘍が再発し (例えば、消失した固形腫瘍と同じ場所に)、および / または 1 つもしくはそれ以上の新しい固形腫瘍が出現すると特徴付けられた。一部の実施形態では、固形腫瘍は、原発腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、注射可能な腫瘍である。一部の実施形態では、腫瘍には、サイトカイン m R N A 混合物が注射されている。一部の実施形態では、腫瘍は、サイトカイン m R N A 混合物を注射するために選択されている。一部の実施形態では、固形腫瘍は、最長直径が ≥ 0.5 cm の皮下病変である。一部の実施形態では、

10

20

30

40

50

固形腫瘍は、コンフルエントである複数の注射可能な併合病変の群内に存在する。一部の実施形態では、固形腫瘍は、コンフルエントであり、 ≥ 0.5 cmの最長直径（すべての関与する標的病変の直径の合計）を有する複数の注射可能な併合病変の群内に存在する。一部の実施形態では、固形腫瘍は、出血性でも浸出性でもない。一部の実施形態では、固形腫瘍の最長直径は、少なくとも10 mmである（例えば、コンピュータ断層撮影（CT）スキャンまたはカリパスにより測定して）。一部の実施形態では、固形腫瘍は対象の胸部に存在し、固形腫瘍の最長直径は少なくとも20 mmである（例えば、胸部X線で測定して）。一部の実施形態では、固形腫瘍は、リンパ節に存在する。一部の実施形態では、リンパ節は、短軸が少なくとも15 mmである（例えば、CTスキャンにより評価した場合）。一部の実施形態では、固形腫瘍は、リンパ腫である。一部の実施形態では、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対する適応的抵抗性を有する対象は、Lugano分類により、治療中の任意の時点で完全奏功を示すと特徴付けられ、その後（および治療中）進行疾患を有すると特徴付けられた。一部の実施形態では、抗PD-1療法または抗PD-L1療法に対する適応的抵抗性を有する対象は、治療中の任意の時点で、複数の病変（例えば、1、2、3、4、5、または6つのリンパ節またはリンパ節外部位）の直交直径の積（PPD）の合計が少なくとも50%減少すると特徴付けられ、その後（および治療中）リンパ節内にリンパ腫腫瘍を有し、リンパ節は、（i）1.5 cmよりも大きな最長直径および（ii）PPD最低値から少なくとも50%の増加を有すると特徴付けられた。

10

20

30

40

50

【0078】

「不応性」または「抵抗性」がんは、指定の治療に应答しないがんである。一部の実施形態では、不応性は、治療のまさに最初から生じる。一部の実施形態では、不応性は治療中に生じる。一部の実施形態では、がんは、治療が始まる前に抵抗性である。一部の実施形態では、がんは、抗PD-1療法に対して不応性または抵抗性である（つまり、がんはこの療法に应答しない）。一部の実施形態では、がんは、抗PD-L1療法に対して不応性または抵抗性である（つまり、がんはこの療法に应答しない）。一部の実施形態では、対象は、指定の治療（抗PD1療法または抗PD-L1療法など）に対して不応性または抵抗性になりつつあるがんを有し、例えば、対象は、最初に治療を受けて以来、治療に対する応答性が低下している。一部の実施形態では、対象は、治療を受けたことがないが、典型的には治療に应答しないタイプのがんを有する。

【0079】

「表在性」（「皮膚性」とも呼ばれることがある）病変または転移は、皮膚内に存在するかまたは皮膚の表面に存在する病変または転移である。一部の実施形態では、表在性病変または転移は、皮膚内に存在する。一部の実施形態では、表在性病変または転移は、真皮内に存在する。一部の実施形態では、表在性病変または転移は、上皮内に存在する。

【0080】

「皮下」病変または転移は、皮膚の下に存在する。一部の実施形態では、皮下病変または転移は、皮下組織と共に存在する。

【0081】

一部の実施形態では、および固形腫瘍がんの状況では、「腫瘍病変」または「病変」は、固形腫瘍、例えば、原発性固形腫瘍または別の固形腫瘍からの転移から生じた固形腫瘍である。

【0082】

「扁平上皮細胞」という用語は、例えば、皮膚、眼、種々の内臓の表面、ならびに中空器官および一部の腺の管の裏層に見出される任意の薄く平坦な細胞を指す。

【0083】

「皮膚扁平上皮癌」（または「CSCC」）という用語は、表皮（皮膚の外側層）を形成する細胞で発症する、すべての病期およびすべての形態のがんを指す。「皮膚扁平上皮癌」という用語は、皮膚の「扁平上皮癌」という用語と同義的に使用される。

【0084】

「頭頸部の扁平上皮癌」（または「頭頸部扁平上皮癌」または「HNSCC」または「頭頸部に関する扁平上皮癌」という用語は、扁平上皮細胞で発症する、すべての病期およびすべての形態の頭頸部がんを指す。頭頸部の扁平上皮癌としては、鼻腔、副鼻腔、唇、口、唾液腺、喉、および喉頭（発声器）のがんが挙げられる（しかしながら、これらに限定されない）。

【0085】

「黒色腫」という用語は、メラノサイトで発症する、すべての病期およびすべての形態のがんを指す。黒色腫は、典型的にはほくろで発症するが（皮膚黒色腫）、目または腸などの他の色素組織でも発症する場合がある。

【0086】

「腫瘍関与領域リンパ節」または「腫瘍関与節」は、転移含有領域リンパ節を指す。一部の実施形態では、腫瘍関与領域リンパ節は、臨床的に潜在性の腫瘍関与領域リンパ節である。一部の実施形態では、腫瘍関与領域リンパ節は、臨床的に検出可能な腫瘍関与領域リンパ節である。「臨床的に潜在性の」腫瘍関与領域リンパ節は、領域リンパ節転移の臨床的証拠もX線撮影的証拠も無い、顕微鏡的に識別された領域リンパ節転移を記述する。一部の実施形態では、臨床的に潜在性の腫瘍関与領域リンパ節は、センチネルリンパ節（SLN）生検により検出され、領域リンパ節転移の臨床的証拠もX線撮影的証拠も無い。一部の実施形態では、「臨床的に検出可能な」リンパ節転移は、臨床検査、X線撮影検査、または超音波検査により識別可能であり、通常は（必ずではないが）生検により確認される領域リンパ節転移を有する患者を記述する。

【0087】

「非結節性局所領域部位」は、リンパ内のまたは血管栄養的な腫瘍の広がり、帰結である転移を指し、マイクロサテライト転移（microsatellite metastase）、衛星転移、およびイントランジット転移（in-transit metastase）が挙げられる。「衛星」転移は、原発性黒色腫の2cm以内に生じる臨床的に明白な皮膚転移および／または皮下転移を指す。

【0088】

「マイクロサテライト」転移は、原発部位の病理学的検査において原発性黒色腫に隣接してまたはその深部に見出される顕微鏡的な皮膚転移および／または皮下転移を指す。一部の実施形態では、マイクロサテライト転移は、原発性黒色腫とは完全に非連続性であり、影響を受けていない間質がその間の空間を占めている。

【0089】

「イントランジット」転移は、領域リンパ節の原発層と第1の層との間の領域にて原発性黒色腫から2cmを上回る距離において識別される臨床的に明白な皮膚転移および／または皮下転移を指す。一部の実施形態では、衛星転移またはイントランジット（in-transmit）転移は、原発性黒色腫の遠位で生じる場合がある。

【0090】

「密集節（Matted nodes）」は、転移性疾患の関与により互いに接着している2つまたはそれ以上の節を指す。一部の実施形態では、密集節は、標本を病理検査室で肉眼的に検査する際に識別される。

【0091】

「遠隔転移」は、原発腫瘍から遠隔臓器または遠隔リンパ節へと広がったがんを指す。一部の実施形態では、遠隔転移は、皮膚、皮下組織、筋肉、または遠隔リンパ節で検出可能である。一部の実施形態では、遠隔転移は、肺で検出可能である。一部の実施形態では、遠隔転移は、中枢神経系（CNS）で検出可能である。一部の実施形態では、遠隔転移は、肺、心臓、または消化器系、排泄系、生殖器系、もしくは循環器系の臓器を含む、CNS以外の任意の他の内臓部位で検出可能である。一部の実施形態では、遠隔転移は、原発腫瘍を含む組織または臓器に直接接触していない（例えば、触れていないかまたは直接継続されていない）組織または臓器に存在する。

【0092】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、転移（例えば、遠隔転移）は、肝臓内に存在する（例えば、検出可能である）。

【0093】

「リンパ節外進展」（ENE、extranodal extension）は、リンパ節転移中に結節被膜からリンパ節周囲組織へと転移細胞が進展することを指す。リンパ節被膜が伸びるが破れはしない嚢胞性転移は、ENE陰性として分類することができる。一部の実施形態では、ENE陽性は、大きな結節外血管を含む。一部の実施形態では、ENE陽性は、結節被膜からの進展が2mm未満である。一部の実施形態では、ENE陽性は、リンパ節被膜からの進展が2mmを越えているか、または切開時に肉眼で明らかである。

10

【0094】

「深部浸潤」は、厚さが6mmを上回るか、または皮下脂肪よりも深い浸潤を指す。一部の実施形態では、浸潤は、真皮よりも0.1mm深い神経に存在する。

【0095】

「阻害する」および「阻害性」などは、相互作用の完全なもしくは部分的な遮断、または生物学的効果の低減を指す。例えば、PD-1とPD-L1との結合を阻害する抗PD1抗体は、相互作用を完全にまたは部分的に遮断することができる。T細胞活性化の抑制の阻害は、任意の量の抑制の低減を含む。腫瘍成長または転移の阻害は、退縮または完全停止を含む。

【0096】

「有効量」という用語は、所望の生物学的、療法的、および／または予防的結果を提供する作用剤（RNAの混合物など）の量を指す。その結果は、疾患（進行期固形腫瘍がんなど）の徴候、症状、または原因の1つまたはそれ以上の低減、改善、鎮静、軽減、遅延、予防、および／または緩和であってもよい。一部の実施形態では、有効量は、固形腫瘍／病変の縮小を引き起こすのに十分な量を含む。一部の実施形態では、有効量は、固形腫瘍の成長速度の減少（例えば、腫瘍成長の抑制など）に十分な量である。一部の実施形態では、有効量は、腫瘍発達の遅延に十分な量である。一部の実施形態では、有効量は、腫瘍再発の予防または遅延に十分な量である。一部の実施形態では、有効量は、腫瘍の成長および／またはサイズおよび／または転移が低減、遅延、改善、および／または予防されるように、腫瘍に対する対象の免疫応答を増加させるのに十分な量である。有効量は、1つまたはそれ以上の投与で投与することができる。一部の実施形態では、有効量（例えば、mRNAを含む組成物の）の投与は、（i）がん細胞の数を低減すること；（ii）腫瘍のサイズを低減すること；（iii）末梢器官へのがん細胞浸潤を、ある程度まで阻害、減速、緩徐させること、および停止させること；（iv）転移を阻害すること（例えば、ある程度まで緩徐させること、および／または遮断もしくは予防すること）；（v）腫瘍成長を阻害すること；（vi）腫瘍の発生および／もしくは再発を予防または遅延させること；ならびに／または（vii）がんに関連する症状の1つもしくはそれ以上をある程度まで和らげることができる。

20

30

【0097】

「同時投与される」または「同時投与」などの用語は、本明細書で使用される場合、単一製剤の一部として、または同じもしくは異なる経路で投与される複数の製剤としてのいずれかで、2つまたはそれ以上の作用剤を時を同じくして、同時に、または本質的に同時に投与することを意味する。「本質的に同時に」とは、本明細書で使用される場合、互いに約1分、5分、10分、15分、30分、1時間、2時間、または6時間の期間以内であることを意味する。

40

【0098】

一部の実施形態では、RNAは、少なくとも1つの（例えば、すべての）ウリジンの代わりに修飾核酸塩基を含む。一部の実施形態では、RNAは、RNAの5'末端にCap1構造を含む。一部の実施形態では、RNAは、少なくとも1つの（例えば、すべての）ウリジンの代わりに修飾核酸塩基を、およびRNAの5'末端にCap1構造を含む。一部

50

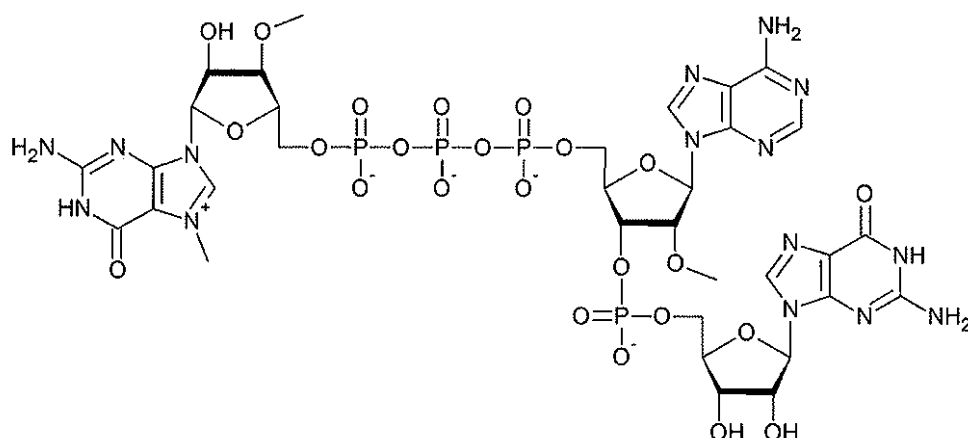
の実施形態では、5' UTRは、配列番号4または6を含む。一部の実施形態では、RNAは、例えば、セルロースでの精製（実施例に記載の通りのおよび当技術分野で公知の通りの）または高速液体クロマトグラフィー（HPLC）などにより、二本鎖RNA（dsRNA）を低減するように処理されている。「Cap1」構造は、酵素キャッピングによる*in-vitro*転写後に生成してもよく、または*in-vitro*転写中に生成してもよい（同時転写キャッピング）。

【0099】

一部の実施形態では、同時転写キャッピング時に使用される修飾RNAの基本単位キャップは以下の通り：

$m_2 7, 3' - \text{OG ppp} (m_1 2' - \text{OApG} (m_2 7, 3' - \text{OG} (5') \text{ ppp} (5') m_2' - \text{OApG})$ とも呼ばれることがある）であり、以下の構造を有する。

【化1】

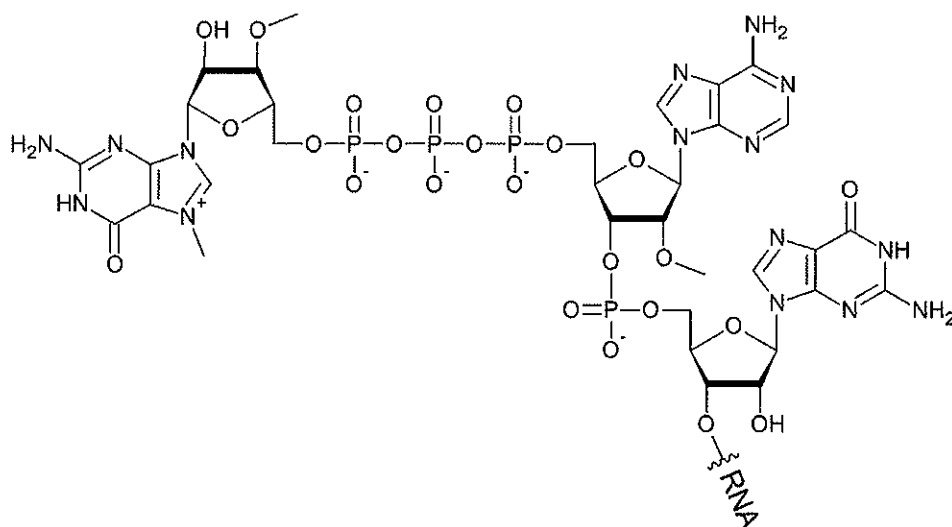


20

【0100】

下記は、同時転写キャッピング後の例示的なCap1 RNAであり、このCap1 RNAは、RNAおよび $m_2 7, 3' - \text{OG} (5') \text{ ppp} (5') m_2' - \text{OApG}$ ：

【化2】



40

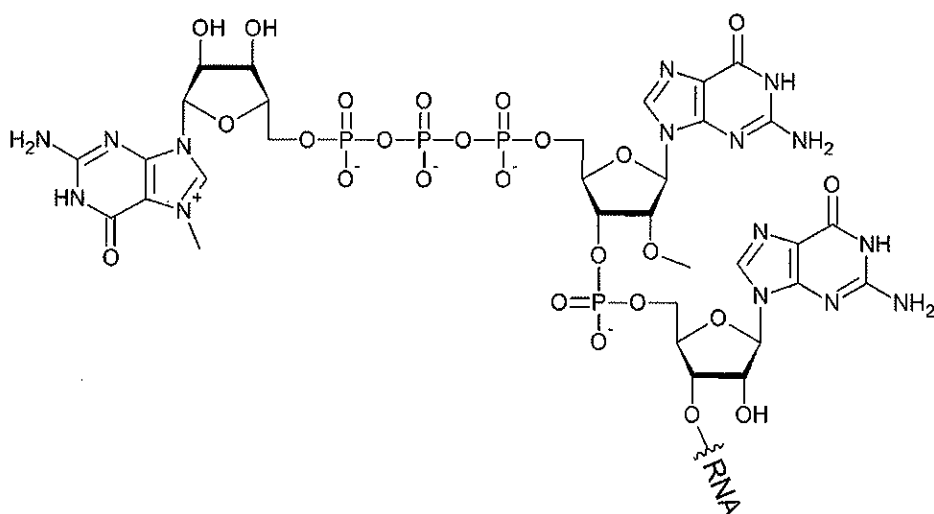
を含む。

【0101】

下記は、酵素キャッピング後の別の例示的なCap1 RNAである（キャップアナログ無し）。

50

【化 3】



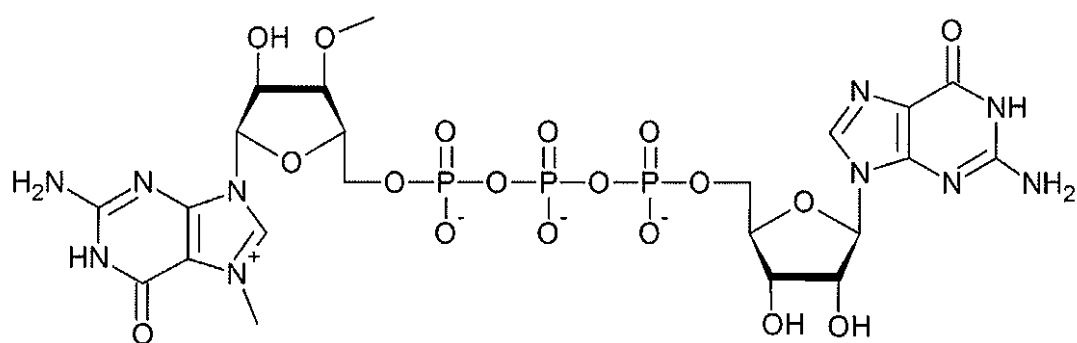
10

【0102】

一部の実施形態では、RNAは、一実施形態では、下記の構造を有するキャップアナログであるアンチリバースキャップ (anti-reverse cap) (ARCAキャップ (m₂7, 3'-OG (5') ppp (5') G)) を使用して、in-vitro転写中に生成される (同時転写キャッピング) 「Cap 0」構造で修飾される。

20

【化 4】



30

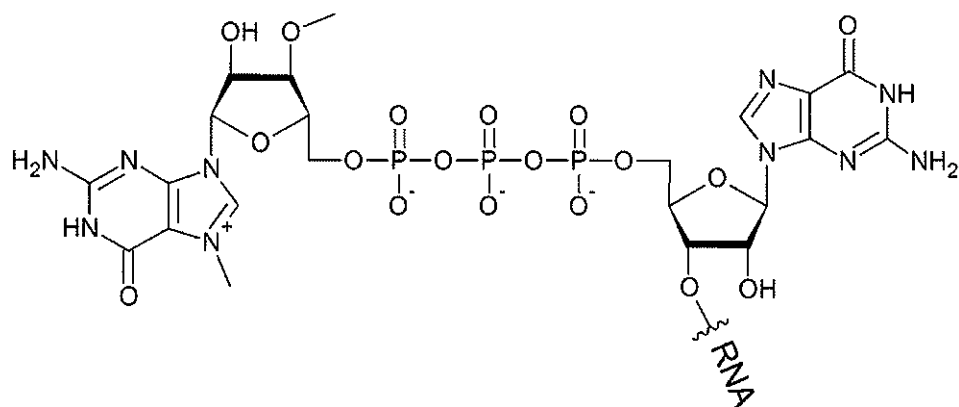
【0103】

下記は、RNAおよびm₂7, 3'-OG (5') ppp (5') Gを含む例示的なCap 0 RNAである。

40

50

【化 5】

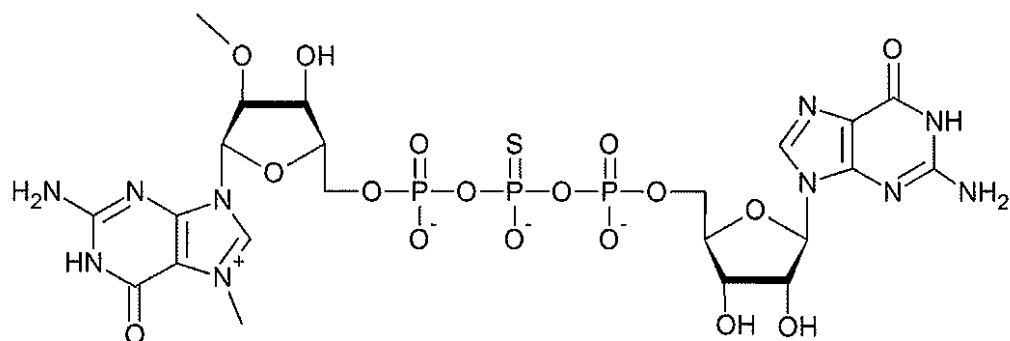


10

【0104】

一部の実施形態では、「Cap0」構造は、以下の構造を有するキャップアナログであるベータ-S-ARCA (m₂7, 2'-OG (5') ppSp (5') G) を使用して、*in vitro* 転写中に生成される (同時転写キャッピング)。

【化 6】



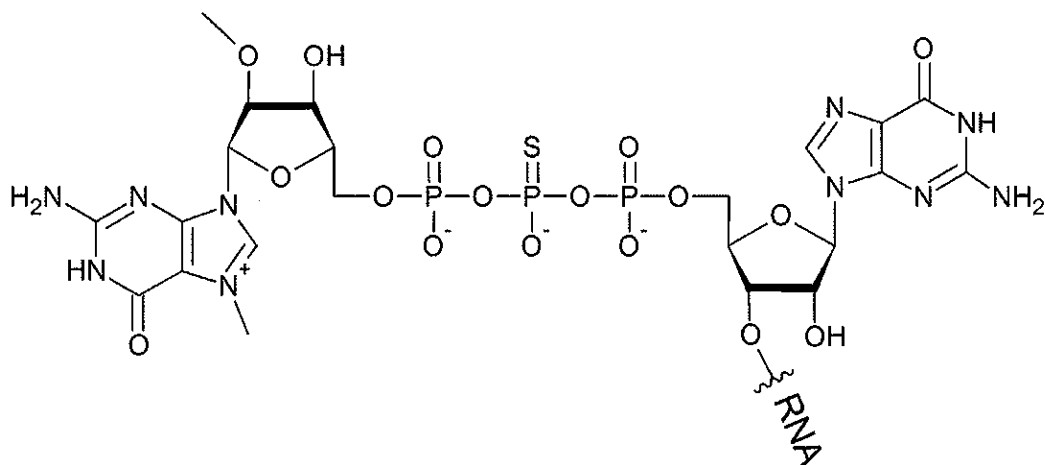
20

30

【0105】

下記は、ベータ-S-ARCA (m₂7, 2'-OG (5') ppSp (5') G) および RNAを含む例示的な Cap0 RNAである。

【化 7】



40

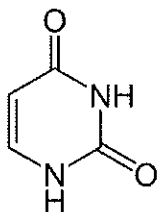
【0106】

「ウラシル」という用語は、本明細書で使用される場合、RNAの核酸に生じ得る核酸塩

50

基の 1 つを記述する。ウラシルの構造は以下の通りである。

【化 8】

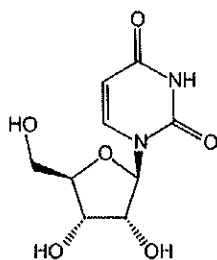


10

【0107】

「ウリジン」という用語は、本明細書で使用される場合、RNA に生じ得るヌクレオシドの 1 つを記述する。ウリジンの構造は以下の通りである。

【化 9】

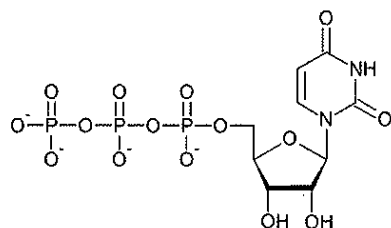


20

【0108】

UTP (ウリジン 5' - 三リン酸) は、以下の構造を有する。

【化 10】

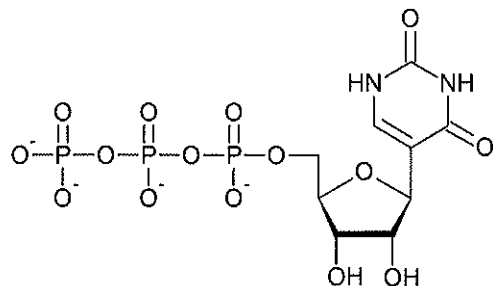


30

【0109】

プソイド - UTP (プソイドウリジン 5' - 三リン酸) は、以下の構造を有する。

【化 11】



40

【0110】

「プソイドウリジン」は、ウリジンの異性体であり、ウラシルが、窒素 - 炭素グリコシド結合の代わりに炭素 - 炭素結合を介してペントース環に付着している修飾ヌクレオシドの

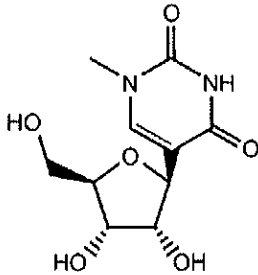
50

一例である。プソイドウリジンは、例えば、CharetteおよびGray、Life；49巻：341～351頁（2000年）に記載されている。

【0111】

別の例示的な修飾ヌクレオシドは、以下の構造を有するN1-メチル-プソイドウリジン（m1Ψ）である。

【化12】

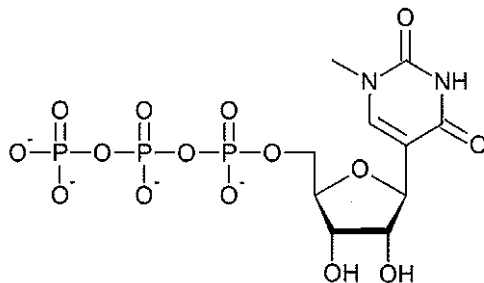


10

【0112】

N1-メチル-プソイド-UTPは、以下の構造を有する。

【化13】

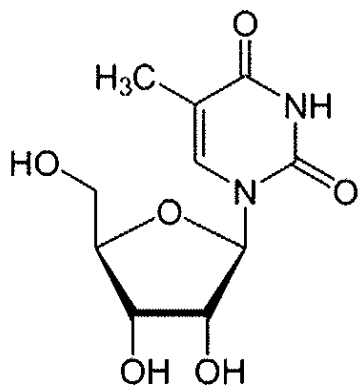


20

【0113】

別の例示的な修飾ヌクレオシドは、以下の構造を有する5-メチルウリジン（m5U）である。

【化14】



40

【0114】

本明細書で使用される場合、「ポリAテール」または「ポリA配列」という用語は、典型的にはRNA分子の3'末端に位置するアデニル酸残基の中断されていないかまたは中断されている配列を指す。ポリAテールまたはポリA配列は当業者に公知であり、本明細書に記載のRNAの3'UTRの後に続いていてもよい。中断されていないポリAテールは

50

、連続したアデニル酸残基により特徴付けられる。自然界では、中断されていないポリ A テールが典型的である。本明細書に開示の RNA は、転写後にテンプレート非依存性 RNA ポリメラーゼにより RNA の遊離 3' 末端に付着されるポリ A テールを有していてもよく、または DNA によりコードされ、テンプレート依存性 RNA ポリメラーゼにより転写されるポリ A テールを有していてもよい。

【0115】

約 120 個の A ヌクレオチドのポリ A テールは、トランスフェクトされた真核細胞における RNA のレベル、ならびにポリ A テールの上流 (5') に存在するオープンリーディングフレームから翻訳されるタンパク質のレベルに有益な影響を及ぼすことが実証されている (Holtkamp ら、2006 年、Blood、108 巻、4009~4017 頁)。

10

【0116】

ポリ A テールは、任意の長さであってもよい。一部の実施形態では、ポリ A テールは、少なくとも 20 個、少なくとも 30 個、少なくとも 40 個、少なくとも 80 個、または少なくとも 100 個、および最大で 500 個、最大で 400 個、最大で 300 個、最大で 200 個、または最大で 150 個の A ヌクレオチド、特に約 120 個の A ヌクレオチドを含むか、から本質的になるか、またはからなる。この状況では、「から本質的になる」は、ポリ A テールのほとんどのヌクレオチド、典型的には、ポリ A テールのヌクレオチド数の少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、または少なくとも 99% が、A ヌクレオチドであるが、残りのヌクレオチドは、U ヌクレオチド (ウリジル酸)、G ヌクレオチド (グアニル酸)、または C ヌクレオチド (シチジル酸) などの、A ヌクレオチド以外のヌクレオチドであることが許容されることを意味する。この状況では、「からなる」は、ポリ A テールのすべてのヌクレオチド、つまり、ポリ A テールのヌクレオチド数の 100% が A ヌクレオチドであることを意味する。「A ヌクレオチド」または「A」という用語は、アデニル酸を指す。

20

【0117】

一部の実施形態では、ポリ A テールは、コード鎖に相補的な鎖に繰返し dT ヌクレオチド (デオキシチミジル酸) を含む DNA テンプレートに基づき、RNA 転写中に、例えば *in vitro* 転写 RNA の製造中に付着する。ポリ A テールをコードする DNA 配列 (コード鎖) は、ポリ (A) カセットと呼ばれる。

30

【0118】

一部の実施形態では、DNA のコード鎖に存在するポリ (A) カセットは、dA ヌクレオチドから本質的になるが、4 つのヌクレオチド (dA、dC、dG、および dT) のランダム配列により中断されている。そのようなランダム配列は、5~50、10~30、または 10~20 ヌクレオチド長であってもよい。そのようなカセットは、国際公開第 2016/005324 号 (A1) パンフレットに開示されている。この文献は、参照により本明細書に組み込まれる。国際公開第 2016/005324 号 (A1) パンフレットに開示の任意のポリ (A) カセットを、本発明に使用することができる。dA ヌクレオチドから本質的になるが、4 つのヌクレオチド (dA、dC、dG、dT) が等しく分布しており、例えば 5~50 個ヌクレオチドの長さを有するランダム配列により中断されており、DNA レベルでは、大腸菌におけるプラスミド DNA の常時増幅を示し、RNA レベルでは、RNA 安定性および翻訳効率の支持に関する有益な特性とさらに関連するポリ (A) カセットが包含される。したがって、一部の実施形態では、本明細書に記載の RNA 分子に含まれるポリ A テールは、A ヌクレオチドから本質的になるが、4 つのヌクレオチド (A、C、G、U) のランダム配列により中断されている。このようなランダム配列は、5~50、10~30、または 10~20 ヌクレオチド長であってもよい。

40

【0119】

一部の実施形態では、ポリ A テールの 3' 末端は、A ヌクレオチド以外のヌクレオチドではフランキングされておらず、つまりポリ A テールは、その 3' 末端が A 以外のヌクレオ

50

チドで遮蔽されてもおらず、A以外のヌクレオチドがその後に続いてもない。

【 0 1 2 0 】

一部の実施形態では、ポリAテールは、配列：AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA（配列番号30）を含み、この配列は表1にも示されている。

【 0 1 2 1 】

一般に、「RNA」および「mRNA」は、他のタイプのRNA（rRNAまたはtRNA）と区別するために「mRNA」を使用することが適切である場合、およびmRNAを形成するための5'キャッピング前の転写産物の構造を指すために「RNA」が適切である場合など、状況により一方または他方が適切であることが明らかである場合を除いて、同義的に使用される。

【 0 1 2 2 】

「IFN α 」は、本明細書では概して、IFN $\alpha 2b$ およびIFN $\alpha 4$ を含む任意のインターフェロナルファI型サイトカインを記述するために使用される。

【 0 1 2 3 】

「治療」という用語は、本明細書で使用される場合、対象の疾患に対する療法薬のあらゆる投与または塗布を包含し、疾患を阻害すること、その発生を停止させること、疾患の1つまたはそれ以上の症状の和らげること、疾患を治癒すること、または疾患の再発を予防することを含む。例えば、固形腫瘍の治療は、固形腫瘍の症状を緩和すること、固形腫瘍のサイズを減少させること、固形腫瘍を排除すること、腫瘍のさらなる成長を低減すること、または治療後の固形腫瘍の再発を低減もしくは排除することを含んでいてもよい。また、治療は、有効性のバイオマーカーの変化として、または画像診断測定もしくはX線撮影測定の変化として測定することができる。

【 0 1 2 4 】

「単独療法」という用語は、本明細書で使用される場合、ある特定の疾患または状態（がんなど）を治療するために、例えば、RNA療法のみ、放射線療法のみ、または外科手術のみなど、1つのタイプの治療が使用される療法を意味する。薬物療法では、単独療法は、疾患または状態を治療するための、単一薬物（例えばRNAの混合物など、複数の活性作用剤を含んでもよい）の使用を指す。一部の実施形態では、単独療法は、がんを治療するために使用される他の療法を一切用いずに、がんを治療するために施される療法である。一部の実施形態では、がんを治療するための単独療法は、場合により、がんの症状を改善するが、がん自体は治療しない別の治療（例えば、治療は、固形腫瘍の成長またはサイズに影響を及ぼすことが意図されていないかまたは予想されていない）と組み合わせることができるが、例えば、化学療法剤または放射線療法など、がんに対するあらゆる他の療法とは組み合わせることができない。そのような実施形態では、RNAの混合物を単独療法として投与することは、例えば、放射線療法もいかなる化学療法剤も用いずに、RNAの混合物を投与することを意味する。しかしながら、そのような実施形態では、RNAの混合物を単独療法として投与することは、例えば痛みを低減する作用剤など、がんに対するものではない作用剤を、RNAの混合物と時を同じくしてまたは同時に投与することを除外しない。

【 0 1 2 5 】

「予防」という用語は、本明細書で使用される場合、がんがないとみなされる対象において、固形腫瘍を含むがんの発生を阻害するかまたは停止させることを意味する。

【 0 1 2 6 】

「転移」は、がんが、原発腫瘍として最初に生じた場所から体内の他の場所へと広がるプロセスを意味する。

【0 1 2 7】

「腫瘍内に」または「腫瘍内の」という用語は、本明細書で使用される場合、「腫瘍の中へ」を意味する。例えば、腫瘍内注射は、腫瘍に触れている任意の場所に療法薬を注射す

ることを意味する。

【0128】

本明細書で使用される場合、「リンパ腫」は、リンパ球に由来する固形腫瘍がんである。リンパ腫としては、ホジキンリンパ腫および非ホジキンリンパ腫が挙げられる。リンパ腫は、リンパ節内に固形腫瘍／新生物を形成し、転移すると非リンパ節組織にも見出すことができる。

【0129】

「腫瘍周囲的に (peri-tumorally)」または「腫瘍周囲の (peri-tumoral)」または「腫瘍周囲的に (peritumorally)」という用語は、本明細書で使用される場合、幅が約 2mm であり、腫瘍周囲の浸潤最前部に隣接する領域である。腫瘍周囲領域は宿主組織を含む。例えば、図 11 を参照されたい。

10

【0130】

「投与すること」は、医薬作用剤または医薬組成物を対象に提供することを意味し、医療専門家による投与および自己投与を含むが、それらに限定されない。

【0131】

本開示は、所与の核酸配列またはアミノ酸配列（参照配列）に対してそれぞれある度合いの同一性を有する核酸配列およびアミノ酸配列を記述する。

【0132】

2つの核酸配列間の「配列同一性」は、配列間で同一であるヌクレオチドのパーセンテージを示す。2つのアミノ酸配列間の「配列同一性」は、配列間で同一であるアミノ酸のパーセンテージを示す。

20

【0133】

「%同一の」、「%同一性」という用語、または類似の用語は、特に、最適にアラインメントした際に、比較しようとする配列間で同一であるヌクレオチドまたはアミノ酸のパーセンテージを指すことが意図されている。上記パーセンテージは、純粋に統計的であり、2つの配列間の差異は、比較しようとする配列の長さ全体にわたってランダムに分布してもよいが、必ずしもそうとは限らない。2つの配列の比較は、通常、対応する配列の局所領域を識別するために、最適にアラインメントした後でセグメントまたは「比較窓」に関して配列を比較することにより実施される。比較のための最適なアラインメントは、手作業で、または Smith および Waterman、1981 年、Ads App. Math. 2 巻、482 頁による局所相同性アルゴリズムの助けをかりて、Neddleman および Wunsch、1970 年、J. Mol. Biol. 48 巻、443 頁による局所相同性アルゴリズムの助けをかりて、Pearson および Lipman、1988 年、Proc. Natl Acad. Sci. USA 88 巻、2444 頁による類似性検索アルゴリズムの助けをかりて、もしくは上記アルゴリズムが使用されているコンピュータプログラム (Wisconsin Genetics Software Package、Genetics Computer Group、575 サイエンスドライブ、マジソン、米国ウィスコンシン州の GAP、BESTFIT、FASTA、BLASTP、BLASTN、および TFASTA) の助けをかりて実施することができる。一部の実施形態では、2つの配列の同一性パーセントは、米国国立バイオテクノロジー情報センター (NCBI) のウェブサイト (例えば、blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE__TYPE=blastsearch&BLAST__SPEC=blast2seq&LINK__LOC=align2seq) にて利用可能なような、BLASTN または BLASTP アルゴリズムを使用して決定される。一部の実施形態では、NCBI ウェブサイトの BLASTN アルゴリズムに使用されるアルゴリズムパラメータとしては、以下のものが挙げられる：(i) 閾値期待値 (Expect Threshold) を 10 に設定する；(ii) ワードサイズ (Word Size) を 28 に設定する；(iii) クエリ範囲の最大一致を 0 に設定する；(iv) 一致／不一致スコアを 1、-2 に設定する；(v) ギャップコスト (Gap Cost) を線

30

40

50

形に設定する；および（v i）低複雑性領域のフィルターを使用する。一部の実施形態では、NCBIウェブサイトのBLASTPアルゴリズムに使用されるアルゴリズムパラメータとしては、以下のものが挙げられる：（i）閾値期待値を10に設定する；（ii）ワードサイズを3に設定する；（iii）クエリ範囲の最大一致を0に設定する；（iv）マトリックスをBLOSUM62に設定する；（v）ギャップコストを存在（Existence）：11 伸長（Extension）：1に設定する；および（vi）条件付き構成スコアマトリックス調整（conditional compositional score matrix adjustment）。

【0134】

同一性パーセンテージは、比較しようとする配列が対応する同一位置の数を決定し、その数を、比較しようとする位置の数（例えば、参照配列中の位置の数）で除算し、その結果に100を乗算することにより得られる。

【0135】

一部の実施形態では、同一性の度合いは、参照配列の長さ全体の少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または約100%である領域について求められる。例えば、参照核酸配列が200個のヌクレオチドからなる場合、同一性の度合いは、少なくとも約100個、少なくとも約120個、少なくとも約140個、少なくとも約160個、少なくとも約180個、または約200個のヌクレオチド、一部の実施形態では連続したヌクレオチドについて求められる。一部の実施形態では、同一性の度合いは、参照配列の長さ全体について求められる。

【0136】

それぞれ、所与の核酸配列またはアミノ酸配列に対して特定の度合いの同一性を有する核酸配列またはアミノ酸配列は、上記所与の配列の少なくとも1つの機能的特性を有してもよく、例えば、一部の場では、上記の所与の配列と機能的に等価である。1つの重要な特性は、特に対象に投与された場合にサイトカインとして作用する能力を含む。一部の実施形態では、所与の核酸配列またはアミノ酸配列に対して特定の度合いの同一性を有する核酸配列またはアミノ酸配列は、上記の所与の配列と機能的に等価である。

【0137】

「抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、それらが所望の活性を呈する限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性および三重特異性抗体）、および抗体断片を含む、種々の抗体構造を包含する。

【0138】

抗体という用語は、Fv、単鎖Fv（scFv）、Fab、Fab'、disCFv、sdAb（単ドメイン抗体）、および（Fab'）₂（化学的に連結されたF（ab'）₂を含む）などの、抗原に結合することが可能な断片を含む。また、抗体という用語は、それらがヒト投与に好適である限り、キメラ抗体およびヒト化抗体を含む。抗体断片としては、いずれの配向性の単鎖scFv、タンデムdisCFv、ダイアボディ、タンデムtrisdCFv、ミニボディなども挙げられる。抗体断片としては、ナノボディ（軽鎖を有さない、重鎖の可変ドメインの対など、単一の単量体ドメインを有する抗体であるsdAb）も挙げられる。

【0139】

「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の抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在する場合のある天然に存在する可能性のある突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は、単一の抗原性部位に対して高度に特異的である。さらに、典型的には異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原の単一決定基に対するものである。したがって、モノクローナル抗体のサンプルは、抗原の同じエピトープに結合することができる。「モノクローナル」という修飾語は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈されるべきではない。例えば、モノクローナル抗体は、KohlerおよびMi

10

20

30

40

50

l s t e i n、1975年、Nature 256巻：495頁に最初に記載されたハイブリドーマ法により製作してもよく、または米国特許第4,816,567号明細書に記載の通りの組換えDNA法により製作してもよい。また、モノクローナル抗体は、例えば、McCaffertyら、1990年、Nature 348巻：552～554頁に記載の技法を使用して生成されるファージライブラリーから単離してもよい。

【0140】

「CDR」という用語は、当技術分野の技術の1つに対する少なくとも1つの識別様式により規定される通りの相補性決定領域を指す。抗体内の様々のCDRは、限定ではないが、a) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3；b) CDRL1、CDRL2、CDRL3、CDRH1、CDRH2、およびCDRH3；c) LCDR-1、LCDR-2、LCDR-3、HCDR-1、HCDR-2、およびHCDR-3；またはd) LCDR1、LCDR2、LCDR3、HCDR1、HCDR2、およびHCDR3；等を含む、それらの適切な番号および鎖タイプにより指定することができる。また、「CDR」という用語は、本明細書では、超可変ループ(ChothiaおよびLesk、J. Mol. Biol. 196巻：901～917頁(1987年).)を含む、HVRまたは「超可変領域」を包含するように使用される。

10

【0141】

「重鎖可変領域」という用語は、本明細書で使用される場合、少なくとも3つの重鎖CDRを含む領域を指す。一部の実施形態では、重鎖可変領域は、3つのCDRならびに少なくともFR2およびFR3を含む。一部の実施形態では、重鎖可変領域は、少なくとも重鎖HCDR1、フレームワーク(FR)2、HCDR2、FR3、およびHCDR3を含む。また、一部の実施形態では、重鎖可変領域は、FR1の少なくとも部分および／またはFR4の少なくとも部分を含む。

20

【0142】

「重鎖定常領域」という用語は、本明細書で使用される場合、少なくとも3つの重鎖定常ドメインCH1、CH2、およびCH3を含む領域を指す。無論、ドメイン内の機能を変更しない欠失および変更は、別様の指定がない限り、「重鎖定常領域」という用語の範囲内に包含される。非限定的で例示的な重鎖定常領域としては、 γ 、 δ 、および α が挙げられる。非限定的で例示的な重鎖定常領域としては、 ϵ および μ も挙げられる。各重鎖定常領域は、抗体アイソタイプに対応する。例えば、 γ 定常領域を含む抗体はIgG抗体であり、 δ 定常領域を含む抗体はIgD抗体であり、 α 定常領域を含む抗体はIgA抗体である。さらに、 μ 定常領域を含む抗体はIgM抗体であり、 ϵ 定常領域を含む抗体はIgE抗体である。ある特定のアイソタイプは、さらにサブクラスに分類することができる。例えば、IgG抗体としては、これらに限定されないが、IgG1(γ 1定常領域を含む)、IgG2(γ 2定常領域を含む)、IgG3(γ 3定常領域を含む)、およびIgG4(γ 4定常領域を含む)抗体が挙げられ；IgA抗体としては、これらに限定されないが、IgA1(α 1定常領域を含む)およびIgA2(α 2定常領域を含む)抗体が挙げられ；IgM抗体としては、これらに限定されないが、IgM1およびIgM2が挙げられる。

30

40

【0143】

「重鎖」という用語は、本明細書で使用される場合、リーダー配列の有無を問わず、少なくとも重鎖可変領域を含むポリペプチドを指す。一部の実施形態では、重鎖は、重鎖定常領域の少なくとも部分を含む。「全長重鎖」という用語は、本明細書で使用される場合、リーダー配列の有無を問わず、重鎖可変領域および重鎖定常領域を含むポリペプチドを指す。

【0144】

「軽鎖可変領域」という用語は、本明細書で使用される場合、少なくとも3つの軽鎖CDRを含む領域を指す。一部の実施形態では、軽鎖可変領域は、3つのCDRならびに少なくともFR2およびFR3を含む。一部の実施形態では、軽鎖可変領域は、少なくとも軽

50

鎖LCDR1、フレームワーク(FR)2、LCDR2、FR3、およびLCDR3を含む。例えば、軽鎖可変領域は、軽鎖CDR1、フレームワーク(FR)2、CDR2、FR3、およびCDR3を含んでいてもよい。また、一部の実施形態では、軽鎖可変領域は、FR1の少なくとも部分および／またはFR4の少なくとも部分を含む。

【0145】

「軽鎖定常領域」という用語は、本明細書で使用される場合、軽鎖定常ドメインCLを含む領域を指す。非限定的で例示的な軽鎖定常領域としては、 λ および κ が挙げられる。無論、ドメイン内の機能を変更しない欠失および変更は、別様の指定がない限り、「軽鎖定常領域」という用語の範囲内に包含される。

【0146】

「軽鎖」という用語は、本明細書で使用される場合、リーダー配列の有無を問わず、少なくとも軽鎖可変領域を含むポリペプチドを指す。一部の実施形態では、軽鎖は、軽鎖定常領域の少なくとも部分を含む。「全長軽鎖」という用語は、本明細書で使用される場合、リーダー配列の有無を問わず、軽鎖可変領域および軽鎖定常領域を含むポリペプチドを指す。

【0147】

本明細書で使用される場合、「エピトープ」という用語は、抗体が結合する標的分子の部位を指す。エピトープは、アミノ酸、ポリペプチド、または糖側鎖などの、分子の化学的活性表面基を含むことが多く、特定の三次元構造的特徴ならびに特定の電荷特徴を有することが多い。

【0148】

本明細書の上記に別様の記載がない限り、種々の成分を「含む」と記載されている本明細書の実施形態は、記載の成分「からなる」または「から本質的になる」ことも企図されており；種々の成分「からなる」と記載されている本明細書の実施形態は、記載の成分を「含む」または「から本質的になる」ことも企図されており；種々の成分「から本質的になる」と記載されている本明細書の実施形態は、記載の成分「からなる」または「含む」ことも企図されている（この同義性は、特許請求の範囲におけるこうした用語の使用には適用されない）。請求項の条項で使用される場合、「含む(comprising)」という移行用語は、「含む(including)」、「含有する(containing)」、または「により特徴付けられる(characterized by)」と同義であり、包括的または非限定的であり、追加の記載されていない要素または方法ステップを除外しない。請求項の条項で使用される場合、「からなる」という移行句は、その請求項で指定されていないあらゆる要素、ステップ、または成分を除外し、「から本質的になる」という移行句は、請求項用語の範囲を、記載されている成分、および本明細書から理解される通りの特許請求されている用語の根本的で新規の特徴に実質的に影響を及ぼさないものに限定する。

【0149】

2. 投与されるRNA

一部の実施形態では、進行期固形腫瘍がんを治療するための方法は、進行期固形腫瘍がんを有する対象に、IL-12s cタンパク質をコードするRNA、IL-15スシタンパク質をコードするRNA、IFN α タンパク質をコードするRNA、GM-CSFタンパク質をコードするRNAを、抗PD-1抗体と組み合わせて投与することを含む。投与されるRNAの詳細は以下の通りである。

【0150】

一部の実施形態では、RNAの投与は、IFN α をコードするRNA、IL-15スシをコードするRNA、IL-12s cをコードするRNA、およびGM-CSFをコードするRNAであって、場合により各ウリジンの代わりに修飾核酸塩基を有し、RNAの5'末端にCap1構造を有するように修飾されているRNAを投与することを含む。

【0151】

一部の実施形態では、RNAの投与は、IL-12s cをコードするRNAを投与するこ

10

20

30

40

50

と、ならびにIFN α 、IL-15スシ、およびGM-CSFをコードするRNAをさらに投与することを含む。

【0152】

一部の実施形態では、RNAの投与は、IFN α をコードするRNAを投与すること、ならびにIL-12sc、IL-15スシ、およびGM-CSFをコードするRNAをさらに投与することを含む。

【0153】

一部の実施形態では、RNAの投与は、IL-15スシをコードするRNAを投与すること、ならびにIL-12sc、IFN α 、およびGM-CSFをコードするRNAをさらに投与することを含む。

【0154】

一部の実施形態では、RNAの投与は、GM-CSFスシをコードするRNAを投与すること、ならびにIL-12sc、IFN α 、およびIL-15スシをコードするRNAをさらに投与することを含む。

【0155】

一部の実施形態では、サイトカインRNA混合物中のIFN α タンパク質は、IFN α 2bタンパク質であり、本方法は、IFN α 2bタンパク質をコードするRNAを投与することを含む。

【0156】

一部の実施形態では、(i) IL-12scタンパク質をコードするRNAは、配列番号17もしくは18のヌクレオチド配列、もしくは配列番号17もしくは18のヌクレオチド配列の少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含み、および／または(ii) IL-12scタンパク質は、配列番号14のアミノ酸配列、もしくは配列番号14のアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0157】

一部の実施形態では、(i) IL-15スシタンパク質をコードするRNAは、配列番号26のヌクレオチド配列、もしくは配列番号26のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含み、および／または(ii) IL-15スシタンパク質は、配列番号24のアミノ酸配列、もしくは配列番号24のアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0158】

一部の実施形態では、(i) IFN α タンパク質をコードするRNAは、配列番号22もしくは23のヌクレオチド配列、もしくは配列番号22もしくは23のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含み、および／または(ii) IFN α タンパク質は、配列番号19のアミノ酸配列、もしくは配列番号19のアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0159】

一部の実施形態では、(i) GM-CSFタンパク質をコードするRNAは、配列番号29のヌクレオチド配列、もしくは配列番号29のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含み、および／または(ii) GM-CSFタンパク質は、配列番号27のアミノ酸配列、もしくは配列番号27のアミノ酸配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

【0160】

A. インターロイキン-12単鎖 (IL-12sc)

一部の実施形態では、インターロイキン-12単鎖 (IL-12sc) をコードするRNAが提供される。一部の実施形態では、インターロイキン-12単鎖 (IL-12sc) RNAは、IL-12 p40 (IL-12Bと呼ばれることがあり；配列番号15のヌクレオチド1～984によりコードされる)、GSリンカーなどのリンカー、およびIL-12 p35 (IL-12Aと呼ばれることがあり；配列番号15のヌクレオチド1027～1623によりコードされる) を含むインターロイキン-12単鎖 (IL-12sc) (例えば、配列番号14) をコードするDNA配列によりコードされる。一部の実施形態では、IL-12 p40、リンカー、およびIL-12 p35は連続しており、介在するヌクレオチドはない。IL-12scをコードする例示的なDNA配列は、配列番号15に提供されている。一部の実施形態では、インターロイキン-12単鎖 (IL-12sc) RNAは、配列番号17または18に提供され、これらは両方とも、配列番号14のタンパク質をコードする。IL-12 p40のRNA配列は、配列番号17または18のヌクレオチド1～984に示されており、IL-12 p35のRNA配列は、配列番号17または18のヌクレオチド1027～1623に示されている。

10

【0161】

一部の実施形態では、IL-12sc RNAは、IL-12scをコードするコドン最適化DNA配列によりコードされる。一部の実施形態では、IL-12sc RNAは、IL-12 p40をコードするコドン最適化DNA配列によりコードされる。一部の実施形態では、IL-12sc RNAは、IL-12 p35をコードするコドン最適化DNA配列によりコードされる。一部の実施形態では、コドン最適化DNA配列は、配列番号16を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、DNA配列は、配列番号16と70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一性を有するコドン最適化DNA配列を含む。一部の実施形態では、IL-12 p40をコードするコドン最適化DNA配列は、IL-12sc-p40をコードするヌクレオチド (配列番号16のヌクレオチド1～984) を含む。一部の実施形態では、IL-12 p35をコードするコドン最適化DNA配列は、IL-12sc-p35をコードするヌクレオチド (配列番号16のヌクレオチド1027～1623) を含む。一部の実施形態では、IL-12scをコードするコドン最適化DNA配列は、配列番号16の、IL-12sc-p40 (配列番号16のヌクレオチド1～984) 部分およびIL-12sc-p35 (配列番号16のヌクレオチド1027～1623) 部分をコードするヌクレオチドを含み、p40部分とp35部分との間に、p40部分およびp35部分を接続するリンカーポリペプチドをコードするヌクレオチド (例えば、配列番号16のヌクレオチド985～1026) をさらに含む。当業者に公知の任意のリンカーを使用することができる。p40部分は、p35部分に対して5'であってもよく、または3'であってもよい。

20

30

【0162】

一部の実施形態では、IL-12sc RNAは、例えば、IL-12scをコードするDNA配列から転写されるRNA配列を含む。また、RNAは、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、RNA配列は、配列番号15または16を含むヌクレオチド配列から転写される。一部の実施形態では、RNA配列は、配列番号17または18を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、RNA配列は、配列番号17または18と70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一性を有するRNA配列を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、RNA配列は、配列番号17または18の、IL-12sc-p40部分 (配列番号17または18のヌクレオチド1～984) およびIL-12sc-p35部分 (配列番号17または18のヌクレオチド1027～1623) をコードするヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、IL-12scをコードするコドン最適化RNA配列は、配列番号18のIL-12sc-p40部分 (配列番号18のヌクレオチド1～984) およびIL-

40

50

1 2 s c - p 3 5 部分（配列番号 1 8 のヌクレオチド 1 0 2 7 ~ 1 6 2 3）をコードするヌクレオチドを含み、p 4 0 部分と p 3 5 部分との間に、p 4 0 部分および p 3 5 部分を接続するリンカーポリペプチドをコードするヌクレオチドをさらに含む。当業者に公知の任意のリンカーを使用することができる。

【0163】

一部の実施形態では、I L - 1 2 s c RNA の 1 つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン（Ψ）、N 1 - メチルプソイドウリジン（m¹Ψ）、または 5 - メチルウリジン（m⁵U）である。一部の実施形態では、RNA は、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N 1 - メチルプソイドウリジン（m¹Ψ）である。 10

【0164】

一部の実施形態では、I L - 1 2 s c RNA は、変更されたヌクレオチドを 5' 末端に含む。一部の実施形態では、RNA は 5' キャップを含む。当技術分野で公知の任意の 5' キャップを使用することができる。一部の実施形態では、5' キャップは、5' - 5' トリリン酸連結を含む。一部の実施形態では、5' キャップは、チオホスフェート修飾を含む 5' - 5' トリリン酸連結を含む。一部の実施形態では、5' キャップは、2' - O または 3' - O - リボース - メチル化ヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、5' キャップは、修飾グアノシンヌクレオチドまたは修飾アデノシンヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、5' キャップは、7 - メチルグアニレートを含む。一部の実施形態では、5' キャップは 20、Cap 0 または Cap 1 である。例示的なキャップ構造としては、m⁷G (5') p p p (5') G、m⁷, 2' - O - mG (5') p p s p (5') G、m⁷G (5') p p p (5') 2' - O - mG、および m⁷, 3' - O - mG (5') p p p (5') 2' - O - mA が挙げられる。

【0165】

一部の実施形態では、I L - 1 2 s c RNA は、5' 非翻訳領域（UTR）を含む。一部の実施形態では、5' UTR は、開始コドンの上流にある。一部の実施形態では、5' UTR は、RNA の翻訳を調節する。一部の実施形態では、5' UTR は、安定化配列である。一部の実施形態では、5' UTR は、RNA の半減期を増加させる。当技術分野で公知の任意の 5' UTR を使用することができる。一部の実施形態では、5' UTR RNA 30配列は、配列番号 3 または 5 から転写される。一部の実施形態では、5' UTR RNA 配列は、配列番号 4 または 6 を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、5' UTR RNA 配列は、配列番号 4 または 6 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一である。

【0166】

一部の実施形態では、I L - 1 2 s c RNA は、3' UTR を含む。一部の実施形態では、3' UTR は、翻訳終止コドンに後に続いている。一部の実施形態では、3' UTR は、RNA のポリアデニル化、翻訳効率、局在化、または安定性を調節する。一部の実施形態では、3' UTR RNA 配列は、配列番号 7 から転写される。一部の実施形態では、3' UTR RNA 配列は、配列番号 8 を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、3' UTR RNA 配列は、配列番号 8 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一である。 40

【0167】

一部の実施形態では、I L - 1 2 s c RNA は、5' UTR および 3' UTR を両方とも含む。一部の実施形態では、I L - 1 2 s c RNA は、5' UTR のみを含む。一部の実施形態では、I L - 1 2 s c RNA は、3' UTR のみを含む。

【0168】

一部の実施形態では、I L - 1 2 s c RNA は、ポリ A テールを含む。一部の実施形態では、RNA は、少なくとも約 25 個、少なくとも約 30 個、少なくとも約 50 個のヌクレオチド、少なくとも約 70 個のヌクレオチド、または少なくとも約 100 個のヌクレオ 50

チドのポリ A テールを含む。一部の実施形態では、ポリ A テールは、200 個またはそれ以上のヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ポリ A テールは、配列番号 30 を含むかまたはからなる。

【0169】

一部の実施形態では、RNA は、5' キャップ、5' UTR、IL-12sc をコードする核酸、3' UTR、およびポリ A テールをこの順序で含む。

【0170】

一部の実施形態では、IL-12sc RNA は、配列番号 15 または 16 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり、配列番号 3 または 5 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である核酸配列を含むかまたはからなる DNA 配列によりコードされる。

10

【0171】

一部の実施形態では、IL-12sc RNA は、例えば、配列番号 15 または 16 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり、配列番号 3 または 5 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である核酸配列を含むかまたはからなる DNA 配列から転写される RNA 配列を含む。また、RNA は、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、IL-12sc RNA の 1 つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$)、または 5-メチルウリジン (m^5U) である。一部の実施形態では、RNA は、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$) である。

20

【0172】

一部の実施形態では、IL-12sc RNA は、配列番号 15 または 16 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり、配列番号 7 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である核酸配列を含むかまたはからなる DNA 配列によりコードされる。

30

【0173】

一部の実施形態では、IL-12sc RNA は、例えば、配列番号 15 または 16 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり、配列番号 7 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である核酸配列を含むかまたはからなる DNA 配列から転写される RNA 配列を含む。また、RNA は、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、IL-12sc RNA の 1 つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$)、または 5-メチルウリジン (m^5U) である。一部の実施形態では、RNA は、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$) である。

40

【0174】

一部の実施形態では、IL-12sc RNA は、配列番号 15 または 16 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；配列番号 3 または 5 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり；配列番号 7 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、

50

97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列によりコードされる。

【0175】

一部の実施形態では、IL-12sc RNAは、例えば、配列番号15または16と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号3または5と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列から転写されるRNA配列を含む。また、RNAは、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、IL-12sc RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン(m1Ψ)、または5-メチルウリジン(m5U)である。一部の実施形態では、RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン(m1Ψ)である。

10

【0176】

一部の実施形態では、IL-12sc RNAは、配列番号17または18と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号4または6と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号8と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるRNA配列を含む。一部の実施形態では、IL-12sc RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン(m1Ψ)、または5-メチルウリジン(m5U)である。

20

【0177】

B. インターフェロナルファ(IFNα)

一部の実施形態では、インターフェロナルファ(IFNα) RNAは、インターフェロナルファ(IFNα)をコードするDNA配列によりコードされる(例えば、配列番号19)。このIFNαをコードする例示的なDNA配列は、配列番号20に提供されている。

30

【0178】

一部の実施形態では、IFNα RNAは、IFNαをコードするコドン最適化DNA配列によりコードされる。一部の実施形態では、コドン最適化DNA配列は、配列番号21のヌクレオチドを含むかまたはからなる。一部の実施形態では、DNA配列は、配列番号21と70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一性を有するコドン最適化DNA配列を含むかまたはからなる。

40

【0179】

一部の実施形態では、IFNα RNAは、例えば、IFNαをコードするDNA配列から転写されるRNA配列を含む。また、RNAは、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、RNA配列は、配列番号20または21を含むヌクレオチド配列から転写される。一部の実施形態では、RNA配列は、配列番号22または23を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、RNA配列は、配列番号22または23と70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一性を有するRNA配列を含むかまたはからなる。

【0180】

50

一部の実施形態では、IFN α RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$)、または5-メチルウリジン (m^5U) である。一部の実施形態では、RNAの各ウリジンは修飾されている。一部の実施形態では、RNAの各ウリジンは、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$) で修飾されている。

【0181】

一部の実施形態では、IFN α RNAは、変更されたヌクレオチドを5'末端に含む。一部の実施形態では、IFN α RNAは、5'キャップを含む。当技術分野で公知の任意の5'キャップを使用することができる。一部の実施形態では、5'キャップは、5'-5'三リン酸連結を含む。一部の実施形態では、5'キャップは、チオホスフェート修飾を含む5'-5'三リン酸連結を含む。一部の実施形態では、5'キャップは、2'-Oまたは3'-O-リボース-メチル化ヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、5'キャップは、修飾グアノシンヌクレオチドまたは修飾アデノシンヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、5'キャップは、7-メチルグアニレートを含む。一部の実施形態では、5'キャップは、Cap0またはCap1である。例示的なキャップ構造としては、 $m^7G(5')ppp(5')G$ 、 $m^7,2\text{'-}O-mG(5')ppsp(5')G$ 、 $m^7G(5')ppp(5')2\text{'-}O-mG$ 、および $m^7,3\text{'-}O-mG(5')ppp(5')2\text{'-}O-mA$ が挙げられる。

【0182】

一部の実施形態では、IFN α RNAは、5'非翻訳領域(UTR)を含む。一部の実施形態では、5'UTRは、開始コドンの上流にある。一部の実施形態では、5'UTRは、RNAの翻訳を調節する。一部の実施形態では、5'UTRは、安定化配列である。一部の実施形態では、5'UTRは、RNAの半減期を増加させる。当技術分野で公知の任意の5'UTRを使用することができる。一部の実施形態では、5'UTR RNA配列は、配列番号3または5を含むヌクレオチド配列から転写される。一部の実施形態では、5'UTR RNA配列は、配列番号4または6を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、5'UTR RNA配列は、配列番号4または6と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である。

【0183】

一部の実施形態では、IFN α RNAは、3'UTRを含む。一部の実施形態では、3'UTRは、翻訳終止コドンの後に続く。一部の実施形態では、3'UTRは、RNAのポリアダニル化、翻訳効率、局在化、または安定性を調節する。一部の実施形態では、3'UTR RNA配列は、配列番号7を含むヌクレオチド配列から転写される。一部の実施形態では、3'UTR RNA配列は、配列番号8を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、3'UTR RNA配列は、配列番号8と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である。

【0184】

一部の実施形態では、IFN α RNAは、5'UTRおよび3'UTRを両方とも含む。一部の実施形態では、組成物は、5'UTRのみを含む。一部の実施形態では、組成物は、3'UTRのみを含む。

【0185】

一部の実施形態では、IFN α RNAは、ポリAテールを含む。一部の実施形態では、IFN α RNAは、少なくとも約25個、少なくとも約30個、少なくとも約50個のヌクレオチド、少なくとも約70個のヌクレオチド、または少なくとも約100個のヌクレオチドのポリAテールを含む。一部の実施形態では、ポリAテールは、200個またはそれ以上のヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ポリAテールは、配列番号30を含むかまたはからなる。

【0186】

一部の実施形態では、RNAは、5'キャップ、5'UTR、IFN α をコードする核酸、

3' UTR、およびポリAテールをこの順序で含む。

【0187】

一部の実施形態では、IFN α RNAは、配列番号20または21と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり、配列番号3または5と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列によりコードされる。

【0188】

一部の実施形態では、IFN α RNAは、例えば、配列番号20または21と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり、配列番号3または5と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列から転写されるRNA配列を含む。また、RNAは、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、IFN α RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン($m^1\Psi$)、または5-メチルウリジン(m^5U)である。一部の実施形態では、RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン($m^1\Psi$)である。

10

20

【0189】

一部の実施形態では、IFN α RNAは、配列番号20または21と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり、配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列によりコードされる。

【0190】

一部の実施形態では、IFN α RNAは、例えば、配列番号20または21と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり、配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列から転写されるRNA配列を含む。一部の実施形態では、IFN α RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン($m^1\Psi$)、または5-メチルウリジン(m^5U)である。一部の実施形態では、RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン($m^1\Psi$)である。

30

【0191】

一部の実施形態では、IFN α RNAは、配列番号20または21と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号3または5と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列によりコードされる。

40

【0192】

一部の実施形態では、IFN α RNAは、例えば、配列番号20または21と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号3または5と少なくとも70%、75%、80%

50

、 85 %、 90 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 99 %、 または 100 % 同一であり； 配列番号 7 と少なくとも 70 %、 75 %、 80 %、 85 %、 90 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 99 %、 または 100 % 同一である核酸配列を含むかまたはからなる DNA 配列から転写される RNA 配列を含む。また、 RNA は、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、 IFN α RNA の 1 つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$)、または 5-メチルウリジン (m^5U) である。一部の実施形態では、RNA は、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$) である。一部の実施形態では、組成物は、配列番号 22 または 23 と少なくとも 70 %、 75 %、 80 %、 85 %、 90 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 99 %、 または 100 % 同一であり； 配列番号 4 または 6 と少なくとも 70 %、 75 %、 80 %、 85 %、 90 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 99 %、 または 100 % 同一であり； 配列番号 8 と少なくとも 70 %、 75 %、 80 %、 85 %、 90 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 99 %、 または 100 % 同一である核酸配列を含むかまたはからなる RNA 配列を含む。一部の実施形態では、 IFN α RNA の 1 つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$)、または 5-メチルウリジン (m^5U) である。

10

20

【0193】

C. インターロイキン 15 (IL-15) スシ

一部の実施形態では、インターロイキン-15 (IL-15) スシをコードする RNA が投与される。本明細書で使用される場合、「IL-15 スシ」という用語は、可溶性インターロイキン 15 (IL-15) 受容体アルファスシドメインおよび成熟インターロイキンアルファ (IL-15) を融合タンパク質として含む構築物を記述する。一部の実施形態では、IL-15 スシ RNA は、可溶性 IL-15 受容体アルファ鎖 (スシ) およびそれに続くグリシン-セリン (GS) リンカーおよびそれに続く IL-15 の成熟配列を含む IL-15 スシ (配列番号 24) をコードする DNA 配列によりコードされる。この IL-15 スシをコードする DNA 配列は、配列番号 25 に提供されている。

30

【0194】

一部の実施形態では、IL-15 スシ RNA は、例えば、IL-15 スシをコードする DNA 配列から転写される RNA 配列である。また、RNA は、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、RNA 配列は、配列番号 25 を含むヌクレオチド配列から転写される。一部の実施形態では、リンカーをコードするヌクレオチドは、完全に存在しなくともよく、または好適なリンカーをコードする任意のヌクレオチドで部分的にもしくは全体が置き換えられていてもよい。一部の実施形態では、RNA 配列は、配列番号 26 を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、RNA 配列は、配列番号 26 と 70 %、 75 %、 80 %、 85 %、 90 %、 95 %、 96 %、 97 %、 98 %、 または 99 % 同一性を有する RNA 配列を含む。一部の実施形態では、IL-15 スシをコードする DNA または RNA 配列は、IL-15 受容体アルファのスシドメイン (例えば、配列番号 25 または 26 のヌクレオチド 1 ~ 321) および成熟 IL-15 (例えば、配列番号 25 または 26 のヌクレオチド 382 ~ 729) をコードするヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、IL-15 スシをコードする DNA または RNA 配列は、IL-15 受容体アルファのスシドメイン (例えば、配列番号 25 または 26 のヌクレオチド 1 ~ 321) および成熟 IL-15 (例えば、配列番号 25 または 26 のヌクレオチド 382 ~ 729) をコードするヌクレオチドを含み、こうした部分の間に、こうした部分を接続するリンカーポリペプチドをコードするヌクレオチドをさらに含む。一部の実施形態では、リンカーは、配列番号 25 または 26 のヌクレオチド 322 ~ 381 を含む。当業者に公知の任意のリンカーを使用することができる。

40

50

【0195】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン(m¹Ψ)、または5-メチルウリジン(m⁵U)である。一部の実施形態では、RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン(m¹Ψ)である。

【0196】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、変更されたヌクレオチドを5'末端に含む。一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、5'キャップを含む。当技術分野で公知の任意の5'キャップを使用することができる。一部の実施形態では、5'キャップは、5'-5'三リン酸連結を含む。一部の実施形態では、5'キャップは、チオホスフェート修飾を含む5'-5'三リン酸連結を含む。一部の実施形態では、5'キャップは、2'-Oまたは3'-O-リボースメチル化ヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、5'キャップは、修飾グアノシンヌクレオチドまたは修飾アデノシンヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、5'キャップは、7-メチルグアニレートを含む。一部の実施形態では、5'キャップは、Cap0またはCap1である。例示的なキャップ構造は、m⁷G(5')ppp(5')G、m⁷, 2'-O-mG(5')ppsp(5')G、m⁷G(5')ppp(5')2'-O-mG、およびm⁷, 3'-O-mG(5')ppp(5')2'-O-mAが挙げられる。

【0197】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、5'非翻訳領域(UTR)を含む。一部の実施形態では、5'UTRは、開始コドンの上流にある。一部の実施形態では、5'UTRは、RNAの翻訳を調節する。一部の実施形態では、5'UTRは、安定化配列である。一部の実施形態では、5'UTRは、RNAの半減期を増加させる。当技術分野で公知の任意の5'UTRを使用することができる。一部の実施形態では、5'UTR RNA配列は、配列番号3または5から転写される。一部の実施形態では、5'UTR RNA配列は、配列番号4または6を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、5'UTR RNA配列は、配列番号4または6と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である。

【0198】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、3'UTRを含む。一部の実施形態では、3'UTRは、翻訳終止コドンに後にある。一部の実施形態では、3'UTRは、RNAのポリアデニル化、翻訳効率、局在化、または安定性を調節する。一部の実施形態では、3'UTR RNA配列は、配列番号7から転写される。一部の実施形態では、3'UTR RNA配列は、配列番号8を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、3'UTR RNA配列は、配列番号8と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一である。

【0199】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、5'UTRおよび3'UTRを両方とも含む。一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、5'UTRのみを含む。一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、3'UTRのみを含む。

【0200】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、ポリAテールを含む。一部の実施形態では、RNAは、少なくとも約25個、少なくとも約30個、少なくとも約50個のヌクレオチド、少なくとも約70個のヌクレオチド、または少なくとも約100個のヌクレオチドのポリAテールを含む。一部の実施形態では、ポリAテールは、200個またはそれ以上のヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ポリAテールは、配列番号30を含むかまたはからなる。

【0201】

一部の実施形態では、RNAは、5'キャップ、5'UTR、IL-15スシをコードする核酸、3'UTR、およびポリAテールをこの順序で含む。

【0202】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、配列番号25と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり、配列番号3または5と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列によりコードされる。

【0203】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、例えば、配列番号25と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり、配列番号3または5と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列から転写されるRNA配列を含む。また、RNAは、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、IFN α RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン($m1\Psi$)、または5-メチルウリジン($m5U$)である。一部の実施形態では、RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン($m1\Psi$)である。

【0204】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、配列番号25と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり、配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列を含む。

【0205】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、例えば、配列番号25と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり、配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列から転写されるRNA配列を含む。また、RNAは、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、IFN α RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン($m1\Psi$)、または5-メチルウリジン($m5U$)である。一部の実施形態では、RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン($m1\Psi$)である。

【0206】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、配列番号25と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号3または5と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列を含む。

【0207】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、例えば、配列番号25と少なくとも70

%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号3または5と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列から転写されるRNA配列を含む。一部の実施形態では、IFN α RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ウリジンにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン($m^1\Psi$)、または5-メチルウリジン(m^5U)である。一部の実施形態では、RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン($m^1\Psi$)である。

10

【0208】

一部の実施形態では、IL-15スシRNAは、例えば、配列番号26と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号4または6と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号8と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるRNA配列を含む。一部の実施形態では、IFN α RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン($m^1\Psi$)、または5-メチルウリジン(m^5U)である。

20

【0209】

D. 顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)

一部の実施形態では、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)をコードするRNAが投与される。一部の実施形態では、GM-CSF RNAは、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)(例えば、配列番号27)をコードするDNA配列によりコードされる。一部の実施形態では、GM-CSFをコードするDNA配列は、配列番号28に提供されている。

30

【0210】

一部の実施形態では、GM-CSF RNAは、例えば、GM-CSFをコードするDNA配列から転写されるRNA配列を含む。一部の実施形態では、RNA配列は、配列番号28から転写される。また、RNAは、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、RNA配列は、配列番号29を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、RNA配列は、配列番号29と70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一性を有するRNA配列を含む。

【0211】

一部の実施形態では、GM-CSF RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン(Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン($m^1\Psi$)、または5-メチルウリジン(m^5U)である。一部の実施形態では、RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン($m^1\Psi$)である。一部の実施形態では、GM-CSF RNAは、変更されたヌクレオチドを5'末端を含む。一部の実施形態では、RNAは5'キャップを含む。当技術分野で公知の任意の5'キャップを使用することができる。一部の実施形態では、5'キャップは、5'-5'三リン酸連結を含む。一部の実施形態では、5'キャップは、チオホスフェート修飾を含む5'-5'三リン酸連結を含む。一部の実施形態では、5'キャップは、2'-Oまたは3'-O-リボース-メチル化ヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、5'キャップは、修飾グアノシン

40

50

ヌクレオチドまたは修飾アデノシンヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、5' キャップは、7-メチルグアニレートを含む。一部の実施形態では、5' キャップは、Cap 0 または Cap 1 である。例示的なキャップ構造は、m7G (5') ppp (5') G、m7, 2'-O-mG (5') ppsp (5') G、m7G (5') ppp (5') 2'-O-mG、および m7, 3'-O-mG (5') ppp (5') 2'-O-mA が挙げられる。

【0212】

一部の実施形態では、GM-CSF RNA は、5' 非翻訳領域 (UTR) を含む。一部の実施形態では、5' UTR は、開始コドンの上流にある。一部の実施形態では、5' UTR は、RNA の翻訳を調節する。一部の実施形態では、5' UTR は、安定化配列である。一部の実施形態では、5' UTR は、RNA の半減期を増加させる。当技術分野で公知の任意の 5' UTR を使用することができる。一部の実施形態では、5' UTR RNA 配列は、配列番号 3 または 5 から転写される。一部の実施形態では、5' UTR RNA 配列は、配列番号 4 または 6 を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、5' UTR RNA 配列は、配列番号 4 または 6 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一である。

【0213】

一部の実施形態では、GM-CSF RNA は、3' UTR を含む。一部の実施形態では、3' UTR は、翻訳終止コドンに後にある。一部の実施形態では、3' UTR は、RNA のポリアデニル化、翻訳効率、局在化、または安定性を調節する。一部の実施形態では、3' UTR RNA 配列は、配列番号 7 から転写される。一部の実施形態では、3' UTR RNA 配列は、配列番号 8 を含むかまたはからなる。一部の実施形態では、3' UTR RNA 配列は、配列番号 8 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% 同一である。

【0214】

一部の実施形態では、GM-CSF RNA は、5' UTR および 3' UTR を両方とも含む。一部の実施形態では、RNA は、5' UTR のみを含む。一部の実施形態では、組成物は、3' UTR のみを含む。

【0215】

一部の実施形態では、GM-CSF RNA は、ポリA テールを含む。一部の実施形態では、RNA は、少なくとも約 25 個、少なくとも約 30 個、少なくとも約 50 個のヌクレオチド、少なくとも約 70 個のヌクレオチド、または少なくとも約 100 個のヌクレオチドのポリA テールを含む。一部の実施形態では、ポリA テールは、200 個またはそれ以上のヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ポリA テールは、配列番号 30 を含むかまたはからなる。

【0216】

一部の実施形態では、GM-CSF RNA は、5' キャップ、5' UTR、GM-CSF をコードするヌクレオチド、3' UTR、およびポリA テールをこの順序で含む。

【0217】

一部の実施形態では、GM-CSF RNA は、配列番号 28 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり、配列番号 3 または 5 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である核酸配列を含むかまたはからなる DNA 配列によりコードされる。

【0218】

一部の実施形態では、GM-CSF RNA は、例えば、配列番号 28 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一であり、配列番号 3 または 5 と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または 100% 同一である核酸配列を含むかまたはからなる DNA 配列から転写される RNA 配列を含む。また、RNA は、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、GM-CSF RNA の 1

つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$)、または5-メチルウリジン (m^5U) である。一部の実施形態では、RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$) である。

【0219】

一部の実施形態では、GM-CSF RNAは、配列番号28と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり、配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列によりコードされる。

10

【0220】

一部の実施形態では、GM-CSF RNAは、例えば、配列番号28と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり、配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列から転写されるRNA配列を含む。また、RNAは、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、GM-CSF RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$)、または5-メチルウリジン (m^5U) である。一部の実施形態では、RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$) である。

20

【0221】

一部の実施形態では、GM-CSF RNAは、配列番号28と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号3または5と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列を含む。

30

【0222】

一部の実施形態では、GM-CSF RNAは、例えば、配列番号28と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号3または5と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一であり；配列番号7と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一である核酸配列を含むかまたはからなるDNA配列から転写されるRNA配列を含む。また、RNAは、組換え的に産生することができる。一部の実施形態では、GM-CSF RNAの1つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオシドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$)、または5-メチルウリジン (m^5U) である。一部の実施形態では、RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチルプソイドウリジン ($m^1\Psi$) である。

40

【0223】

一部の実施形態では、GM-CSF RNAは、配列番号29と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%

50

% 同一であり；配列番号 4 または 6 と少なくとも 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一であり；配列番号 8 と少なくとも 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % 同一である核酸配列を含むかまたはからなる RNA 配列を含む。一部の実施形態では、GM-CSF RNA の 1 つまたはそれ以上のウリジンは、本明細書に記載の通りの修飾ヌクレオチドにより置き換えられている。一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ヌクレオチドは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン (m1Ψ)、または 5-メチルウリジン (m5U) である。

【0224】

E. 修飾

本明細書に記載の RNA の各々は、当業者に公知である任意の方法で修飾することができる。一部の実施形態では、各 RNA は、以下の通り修飾されている：

- ・各ウリジンの代わりの修飾核酸塩基；
- ・RNA の 5' 末端の Cap 1 構造。

【0225】

一部の実施形態では、5' UTR は、配列番号 4 または 6 を含む。一部の実施形態では、RNA は、上記に記載の通り二本鎖 RNA (dsRNA) を低減するように処理されている。「Cap 1」構造は、酵素キャッピングにより *in-vitro* 転写後に生成されてもよく、または *in-vitro* 転写中に生成されてもよい (同時転写キャッピング)。

【0226】

一部の実施形態では、RNA の 1 つまたはそれ以上のウリジンは、修飾ヌクレオチドにより置き換えられている。一部の実施形態では、修飾ヌクレオチドは、修飾ウリジンである。

【0227】

一部の実施形態では、ウリジンを置き換える修飾ウリジンは、プソイドウリジン (Ψ)、N1-メチルプソイドウリジン (m1Ψ)、または 5-メチルウリジン (m5U) である。

【0228】

一部の実施形態では、RNA の 1 つまたはそれ以上のシトシン、アデニン、またはグアニンが、修飾核酸塩基により置き換えられている。一実施形態では、シトシンを置き換える修飾核酸塩基は、5-メチルシトシン (m5C) である。別の実施形態では、アデニンを置き換える修飾核酸塩基は、N6-メチルアデニン (m6A) である。別の実施形態では、分子の免疫原性を低減するための当技術分野で公知の任意の他の修飾核酸塩基を使用することができる。

【0229】

一部の実施形態では、RNA の 1 つまたはそれ以上のウリジンを置き換える修飾ヌクレオチドは、以下のものの任意の 1 つまたはそれ以上であってもよい：3-メチルウリジン (m3U)、5-メトキシウリジン (mo5U)、5-アザウリジン、6-アザウリジン、2-チオ-5-アザウリジン、2-チオウリジン (s2U)、4-チオウリジン (s4U)、4-チオプソイドウリジン、2-チオプソイドウリジン、5-ヒドロキシウリジン (ho5U)、5-アミノアシルウリジン、5-ハロウリジン (例えば、5-ヨードウリジン 5-ブロモウリジン)、ウリジン 5-オキシ酢酸 (cmo5U)、ウリジン 5-オキシ酢酸メチルエステル (mcmo5U)、5-カルボキシメチルウリジン (cm5U)、1-カルボキシメチルプソイドウリジン、5-カルボキシヒドロキシメチルウリジン (chm5U)、5-カルボキシヒドロキシメチルウリジンメチルエステル (mchm5U)、5-メトキシカルボニルメチルウリジン (mcm5U)、5-メトキシカルボニルメチル-2-チオウリジン (mcm5s2U)、5-アミノメチル-2-チオウリジン (nm5s2U)、5-メチルアミノメチルウリジン (mn5U)、1-エチルプソイドウリジン、5-メチルアミノメチル-2-チオウリジン (mn5s2U)、5-メチルアミノメチル-2-セレノウリジン (

10

20

30

40

50

mnm^5se^2U ）、5-カルバモイルメチル-ウリジン (ncm^5U)、5-カルボキシメチルアミノメチル-ウリジン ($cmnm^5U$)、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオ-ウリジン ($cmnm^5s^2U$)、5-プロピニル-ウリジン、1-プロピニル-プソイドウリジン、5-タウリノメチル-ウリジン (τm^5U)、1-タウリノメチル-プソイドウリジン、5-タウリノメチル-2-チオ-ウリジン (τm^5s^2U)、1-タウリノメチル-4-チオ-プソイドウリジン)、5-メチル-2-チオ-ウリジン (m^5s^2U)、1-メチル-4-チオ-プソイドウリジン ($m^1s^4\psi$)、4-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、3-メチル-プソイドウリジン ($m^3\psi$)、2-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン、ジヒドロウリジン (D)、ジヒドロプソイドウリジン、5, 6-ジヒドロウリジン、5-メチル-ジヒドロウリジン (m^5D)、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-ジヒドロプソイドウリジン、2-メトキシ-ウリジン、2-メトキシ-4-チオ-ウリジン、4-メトキシ-プソイドウリジン、4-メトキシ-2-チオ-プソイドウリジン、N1-メチル-プソイドウリジン、3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)ウリジン (acp^3U)、1-メチル-3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)プソイドウリジン ($acp^3-\psi$)、5-(イソペンテニルアミノメチル)ウリジン (inm^5U)、5-(イソペンテニルアミノメチル)-2-チオ-ウリジン (inm^5s^2U)、 α -チオ-ウリジン、2'-O-メチル-ウリジン (Um)、5, 2'-O-ジメチル-ウリジン (n^5Um)、2'-O-メチル-プソイドウリジン (ψm)、2-チオ-2'-O-メチル-ウリジン (s^2Um)、5-メトキシカルボニルメチル-2'-O-メチル-ウリジン (mcn^5Um)、5-カルバモイルメチル-2'-O-メチル-ウリジン (ncn^5Um)、5-カルボキシメチルアミノメチル-2'-O-メチル-ウリジン ($cmnn^5Um$)、3, 2'-O-ジメチル-ウリジン (m^3Um)、5-(イソペンテニルアミノメチル)-2'-O-メチル-ウリジン (inm^5Um)、1-チオ-ウリジン、デオキシチミジン、2'-F-アラ-ウリジン、2'-F-ウリジン、2'-OH-アラ-ウリジン、5-(2-カルボメトキシビニル)ウリジン、5-[3-(1-E-プロベニルアミノ)ウリジン、または当技術分野で公知である任意の他の修飾ウリジン。

【0230】

一部の実施形態では、少なくとも1つのRNAは、少なくとも1つのウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、少なくとも1つのRNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、各RNAは、少なくとも1つのウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。一部の実施形態では、各RNAは、各ウリジンの代わりに修飾ヌクレオシドを含む。

【0231】

一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (ψ)、N1-メチル-プソイドウリジン ($m^1\psi$)、および5-メチル-ウリジン (m^5U) から独立して選択される。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (ψ) を含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチル-プソイドウリジン ($m^1\psi$) を含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、5-メチル-ウリジン (m^5U) を含む。一部の実施形態では、少なくとも1つのRNAは、1つよりも多くのタイプの修飾ヌクレオシドを含んでいてもよく、修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (ψ)、N1-メチル-プソイドウリジン ($m^1\psi$)、および5-メチル-ウリジン (m^5U) から独立して選択される。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (ψ) およびN1-メチル-プソイドウリジン ($m^1\psi$) を含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (ψ) および5-メチル-ウリジン (m^5U) を含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、N1-メチル-プソイドウリジン ($m^1\psi$) および5-メチル-ウリジン (m^5U) を含む。一部の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、プソイドウリジン (ψ)、N1-メチル-プソイドウリジン ($m^1\psi$)、および5-メチル-ウリジン (m^5U) を含む。

【0232】

一部の実施形態では、本方法で使用される少なくとも1つのRNAは、5'キャップ m_2^7 , 3'- $Qgppp(m_1^2 - 9ApG$ または3'- $O-Me-m_1^7G(5')$ ppp(5')Gを含む。一部の実施形態では、本方法で使用される各RNAは、5'キャップ m_2^7 , 3'- $Qgppp(m_1^2 - 9ApG$ または3'- $O-Me-m_1^7G(5')$ ppp(5')Gを含む。一部の実施形態では、本方法で使用される各RNAは、5'キャップ m_2^7 , 3'- $Qgppp(m_1^2 - 9ApG$ を含む。一部の実施形態では、本方法で使用される各RNAは、3'- $O-Me-m_1^7G(5')$ ppp(5')Gを含む。一部の実施形態では、本方法で使用される各RNAは、5'キャップ m_2^7 , 3'- $Qgppp(m_1^2 - 9ApG$ および3'- $O-Me-m_1^7G(5')$ ppp(5')Gを含む。

10

【0233】

一部の実施形態では、少なくとも1つのRNAは、配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む5'UTRを含む。一部の実施形態では、各RNAは、配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む5'UTRを含む。

【0234】

一部の実施形態では、少なくとも1つのRNAは、配列番号8のヌクレオチド配列、または配列番号8のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む3'UTRを含む。一部の実施形態では、各RNAは、配列番号8のヌクレオチド配列、または配列番号8のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む3'UTRを含む。

20

【0235】

一部の実施形態では、少なくとも1つのRNAは、ポリAテールを含む。一部の実施形態では、各RNAは、ポリAテールを含む。一部の実施形態では、ポリAテールは、少なくとも20個、少なくとも30個、少なくとも40個、少なくとも80個、または少なくとも100個、および最大で500個、最大で400個、最大で300個、最大で200個、または最大で150個のヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ポリAテールは、少なくとも20個、少なくとも30個、少なくとも40個、少なくとも80個、または少なくとも100個、および最大で500個、最大で400個、最大で300個、最大で200個、または最大で150個のAヌクレオチドから本質的になっていてもよい。一部の実施形態では、ポリAテールは、少なくとも20個、少なくとも30個、少なくとも40個、少なくとも80個、または少なくとも100個、および最大で500個、最大で400個、最大で300個、最大で200個、または最大で150個のヌクレオチドからなっている。一部の実施形態では、ポリAテールは、配列番号30に示されているポリAテールを含んでもよい。一部の実施形態では、ポリAテールは、少なくとも100個のヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ポリAテールは、約150個のヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ポリAテールは、約120個のヌクレオチドを含む。

30

40

【0236】

一部の実施形態では、1つまたはそれ以上のRNAは、(1) m_2^7 , 3'- $Qgppp(m_1^2 - 9ApG$ または3'- $O-Me-m_1^7G(5')$ ppp(5')Gを含む5'キャップ; (2) (i) 配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列、または(ii) 配列番号4および6からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む5'UTR; (3) (i) 配列番号8のヌクレオチド配列、または(ii) 配列番号8のヌクレオチド配列と少なくとも99%、98%、97%、

50

96%、95%、90%、85%、もしくは80%同一性を有するヌクレオチド配列を含む3'UTR；ならびに(4)少なくとも100個のヌクレオチドを含むポリAテールを含む。

【0237】

3. 投与される抗-PD-1抗体

がん細胞には、活性化されたBおよびTリンパ球ならびに骨髄細胞上に発現されるプログラム細胞死1受容体(PD-1)の主要リガンドであるプログラム細胞死-1リガンド1(PD-L1)の発現を含む、抗腫瘍宿主免疫応答を回避するための複数の機序が関与する。PD-L1とPD-1との相互作用は、免疫応答が減少をもたらし、腫瘍回避に寄与する。抗PD-1抗体は、PD-1に結合し、PD-1とPD-L1との相互作用を阻害する抗体である。対象に投与すると、抗PD-1抗体はPD-1に結合し、PD-1とPD-L1との結合を阻害し、T細胞の活性化を含む、PD-1の下流シグナル伝達経路の活性化を防止することができる。一部の実施形態では、サイトカインRNA混合物は、抗PD1抗体と組み合わせて投与される。

10

【0238】

本明細書には、PD-1とPD-L1との相互作用を阻害し、PD-1がPD-L1と相互作用する際に誘発される免疫応答の抑制を阻害する抗PD1抗体が包含される。

【0239】

一部の実施形態では、抗PD1抗体が免疫応答の抑制を阻害するか否かは、T細胞活性化(T細胞増殖とも呼ばれることがある)を測定することにより評価される。そのような測定は、*in vivo*で(例えば、抗PD1抗体をヒト対象に投与した後で)または*in vitro*で(例えば、細胞ベースのアッセイにて)評価することができる。一部の実施形態では、免疫応答の抑制を阻害する抗PD1抗体の能力は、Burovaら、(2017年)Mol. Cancer 16巻(5号)；861~70頁の方法に従って、遺伝子操作T細胞株または初代ヒトT細胞のいずれかを使用した細胞ベースのアッセイで決定される。例えば、ヒトPD-1タンパク質およびレポーターをT細胞で発現させ、T細胞を、例えば抗CD3×抗CD20二重特異性抗体で活性化する。ヒトCD20およびヒトPD-L1を発現する、HEK293細胞などの抗原提示細胞(APC)を生成する。系列希釈した試験抗PD1抗体を適用し、レポーターの発現を分析する。

20

【0240】

一部の実施形態では、抗PD1抗体は、PD-1がPD-L1と相互作用すると誘発される免疫応答の抑制を、センプリマブの場合に見られる阻害と比較して、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも95%阻害する。一部の実施形態では、抗体が、PD-1がPD-L1と相互作用すると誘発される免疫応答の抑制を、センプリマブの場合に見られる阻害と比較して少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも95%阻害するか否かは、本明細書に記載の通り、T細胞活性化を測定することにより評価される。

30

【0241】

一部の実施形態では、抗PD1抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体、またはヒト抗体である。一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、単離されており、および／または組換えである。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、例えば、三重特異性抗体または二重特異性抗体などの、多重特異性抗体である。

40

【0242】

抗PD-1抗体の非限定的な例としては、以下のものが挙げられる：センプリマブ(例えば、米国特許第9,987,500号(B2)明細書、REGN2810とも呼ばれる。例えば、CAS番号1801342-60-8、およびFalchookら、J Immunother Cancer. 2016年11月；4巻：70頁を参照)、ニボルマブ(例えば、米国特許第8,008,449号明細書を参照)、ペムブロリズマブ(例えば、米国特許第8,354,509号明細書を参照)、MED10608(以前はAMP-514；例えば、米国特許第8,609,089号明細書および米国特許第9,205,

50

148号明細書を参照)、スパルタリズマブ(PDR001としても知られている(例えば、国際公開第2015/112900号パンフレットを参照)、PF-06801591(例えば、国際公開第2016/092419号パンフレットを参照)、およびチスレリズマブ(BGB-A317としても知られている。例えば、国際公開第2015/035606号パンフレットを参照)、カムレリズマブ(SHR-1210としても知られている;例えば、国際公開第2015/085847号パンフレットを参照)、ドスタリマブ(TSR-042としても知られている;例えば、国際公開第2014/179664号パンフレットを参照)、シンチリマブ(IBI308としても知られている;例えば、国際公開第2017/025016号パンフレットを参照)、JS001(例えば、国際公開第2014/206107号パンフレットを参照)、MGA012(例えば、国際公開第2017/019846号パンフレットを参照)、AGEN2034(例えば、国際公開第2017/040790号パンフレットを参照)、およびJNJ-63723283(例えば、国際公開第2017/079112号パンフレットを参照)。センプリマブという用語には、センプリマブ-rwlcが含まれる。

10

20

30

40

50

【0243】

一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、国際公開第2015/112800号パンフレットに開示されているもの(このPCT公報の表1にあるH1M7789N、H1M7799N、H1M7800N、H2M7780N、H2M7788N、H2M7790N、H2M7791N、H2M7794N、H2M7795N、H2M7796N、H2M7798N、H4H9019P、H4xH9034P2、H4xH9035P2、H4xH9037P2、H4xH9045P2、H4xH9048P2、H4H9057P2、H4H9068P2、H4xH9119P2、H4xH9120P2、H4xH9128P2、H4xH9135P2、H4xH9145P2、H4xH8992P、H4xH8999P、およびH4xH9008Pと呼ばれているもの、ならびにこのPCT公報の表3にあるH4H7798N、H4H7795N2、H4H9008P、およびH4H9048P2と呼ばれているものなど)の1つである。国際公開第2015/112800号パンフレットの開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。例えば、国際公開第2015/112800号パンフレットに開示の抗体、ならびにこのPCT公報に開示のCDR、VH配列、およびVL配列、または重鎖配列および軽鎖配列を有する抗体および抗原結合性断片を含む関連する抗体、ならびにこのPCT公報に開示の抗体と同じPD-1エピトープに結合する抗体および抗原結合性断片は、がんを治療および/または予防するためにRNAサイトカイン混合物と併せて使用することができる。

【0244】

一部の実施形態では、抗PD-1抗体としては、以下のものが挙げられる:ピジリズマブ(CT-011とも呼ばれる)(Bergerら、2008年、Clin Cancer Res. 14巻(10号):3044~51頁)、PF-06801591(ClinicalTrials.gov 識別番号:NCT02573259)、mDX-400(Merck&Co)、MEDI0680(AMP-514とも呼ばれる)(ClinicalTrials.gov 識別番号:NCT02013804)、PDR001(ClinicalTrials.gov 識別番号:NCT02678260)、スパルタリズマブ(Novartis AG、CAS番号1935694-88-4)、SHR-1210(Incyte Corp、Jiangsu Hengrui Medicine Co Ltd、ClinicalTrials.gov 識別番号:NCT02742935)、TSR-042(ClinicalTrials.gov 識別番号:NCT02715284)、ANA011(AnaptysBio, Inc.)、AGEN-2034(Agenus, Inc.)、AM-0001(ARMO Biosciences)、BGB-108(Beigene)、AK-104およびAK-105(Akeso Biopharma)、ABBV-181(Abbvie)、BAT-1306(Bio-Thera Solutions)、AMP-224(MedImmune)、LZM-009(Livzon Pha

rmaceutical Group)、GLS-010 (Arcus Biosciences)、ドスタリマブ (Tesarco Inc、CAS番号2022215-59-2)、MGA-012 (Incyte Corp)、チスレリズマブ (BGB-A317、BeiGene、CAS番号1858168-59-8)、BI-754091 (Boehringer Ingelheim)、CBT-501 (CBT Pharmaceuticals, Inc.)、ENUM-003 (Enumeral Biomedical Holdings Inc)、ENUM-388D4 (Enumeral Biomedical Holdings Inc)、ENUM-244C8 (Enumeral Biomedical Holdings Inc)、IBI-308 (Eli Lilly Innovent Biologics, Inc.)、JNJ-63723283 (Johnson & Johnson Janssen Research & Development, LLC、ClinicalTrials.gov 識別番号NCT02908906)、CS-1003 (CStone Pharmaceuticals)、Sym-016およびSym-021 (Symphogen)、JS-001 (Shanghai Junshi Bioscience Co., Ltd.、ClinicalTrials.gov 識別番号NCT02857166)、JTX-4014 (Jounce Therapeutics, Inc.)、JY-034 (Beijing Eastern Biotech Co)、SSI-361 (Lyvgen Biopharma Ltd)、YBL-006 (Y-Biologics)、AK-103 (Akeso Biopharma Inc)、MCLA-134 (Merus)、HAB-21 (Suzhou Stainwei Biotech Inc)、CX-188 (CytomX Therapeutics Inc)、PF-06801591 (Pfizer、ClinicalTrials.gov 識別番号NCI-2016-00704)、HEISCOIII-003 (Sichuan Haisco Pharmaceutical Co)、XmAb-20717 (Xencor Inc、二重特異的、CTLA-4およびPD1を認識する)、XmAb-23104 (Xencor Inc)、MGD-019 (MacroGenics Inc、二重特異的、CTLA4およびPD1を認識する)、AK-112 (Akeso Biopharma、二重特異的)、AT-16201 (AIMM Therapeutics BV)、BCD-100 (Biocard)、TSR-075 (Tesarco Inc、二重特異的、LAG3およびPD1を認識する)、MGD-013 (MacroGenics; 二重特異的; PD-1およびLAG-3を認識する)、BH-2922 (Beijing Hanmi Pharmaceutical Co、二重特異的、EGFRおよびPD1を認識する)、BH-2941 (Beijing Hanmi Pharmaceutical Co、二重特異的、PDL1およびPD1を認識する)、BH-2950 (Beijing Hanmi Pharmaceutical Co、二重特異的、Her2およびPD1を認識する)、BH-2954 (Beijing Hanmi Pharmaceutical Co、二重特異的)、STIA-1110 (Les Laboratoires Servier SAS Sorrento Therapeutics)、244C8および388D4 (Scheuplein F [抄録]. Proc 107th Ann Meet Am Ass Cane Res; 2016年4月16~20日; ニューオリンズ、LA・フィラデルフィア (ペンシルベニア州): AACR; Cancer Res 2016年; 76巻 (増補14): 抄録番号4871を参照)。

【0245】

一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、それぞれ配列番号31および32として下記に示されている重鎖および軽鎖アミノ酸配列; 配列番号39および40のVH配列およびVL配列 (斜体字で示されている)、または配列番号31および32の1つもしくはそれ以上 (例えば、6つすべて) のCDR (太字ボックスに示されている) を含む。一部の実施形態では、以下のCDRを含む抗体が包含される:

HCDR1=GFTFSNFG (配列番号33)

HCDR2 = ISGGGRDT (配列番号 34)
 HCDR3 = VKWGNIFYFDY (配列番号 35)
 LCDR1 = LSINTF (配列番号 36)
 LCDR2 = AAS (配列番号 37)
 LCDR3 = QQSSNTPFT (配列番号 38)。
 【0246】

一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、HCDR3 (配列番号 35) を含む。一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、LCDR3 (配列番号 38) を含む。一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、HCDR3 (配列番号 35) およびLCDR3 (配列番号 38) を含む。

10

【0247】

一部の実施形態では、抗PD1抗体は、HCDR3 (配列番号 35) および／またはLCDR3 (配列番号 38) を含み、PD-1とPD-L1との相互作用を阻害する。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、HCDR3 (配列番号 35) および／またはLCDR3 (配列番号 38) を含み、PD-1がPD-L1と相互作用すると誘発される免疫応答の抑制を阻害する。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、HCDR3 (配列番号 35) および／またはLCDR3 (配列番号 38) を含み、PD-1とPD-L1との相互作用を阻害し、PD-1がPD-L1と相互作用すると誘発される免疫応答の抑制を阻害する。

【0248】

例示的な抗PD-1 Mab重鎖

20

【化15】

EVQLLESQGV LVQPGGSLRL SCAASGFTFSNFGMTWVRQA PGKGLEWVSG ISGGGRDTYF
 ADSVKGRFTI, SRDNSKNTLY LQMNSLKGED TAVYYCVKVGNIYFDYWGQG TLVTVSSAST
 KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY
 SLSSVTVTPS SSLGKITYTC NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF
 PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSDQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV
 SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV
 SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF
 SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK (配列番号 31)

30

HCDR1 = GFTFSNFG (配列番号 33)
 HCDR2 = ISGGGRDT (配列番号 34)
 HCDR3 = VKWGNIFYFDY (配列番号 35)

【0249】

例示的な抗PD-1 Mab軽鎖

【化16】

DIQMTQSPSS LSASVGDSTI ITCRASLSIN TFLNWIYQQKPKAPNLLIYAASLHGGVPS
 RFGSGSGSTD FTLTIRTLQP EDFATYYCQQSSNTPFTFGP GTVVDFRRTV AAPSVFIFPP
 SDEQLKSGTA SVVCLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT
 LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGE (配列番号 32)

40

LCDR1 = LSINTF (配列番号 36)
 LCDR2 = AAS (配列番号 37)
 LCDR3 = QQSSNTPFT (配列番号 38)

50

【0250】

一部の実施形態では、抗PD1抗体は、セミプリマブである。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、セミプリマブと同じエピトープに結合する抗体である。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、PD-1結合をセミプリマブと競合する。一部の実施形態では、抗体がPD-1結合をセミプリマブと競合するかどうかは、例えば、Burovaら（2017年）Mol. Cancer 16巻（5号）；861～70頁のような、当業者に公知の方法によりELISAで決定される。手短に言えば、試験抗体、セミプリマブ、および陰性アイソタイプ対照抗体を、PD-1と共にインキュベートし、PD-L1でコーティングされたELISAプレートのウェルに移す。適切に洗浄し、標識二次抗体を適用した後で、結合した抗体を検出する。

10

【0251】

一部の実施形態では、抗PD1抗体は、PD-1とPD-L1との相互作用を、セミプリマブの場合に見られる阻害のレベルと比較して、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも95%阻害する。一部の実施形態では、抗体が、PD-1とPD-L1との相互作用を、セミプリマブの場合に見られる阻害のレベルと比較して、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも95%阻害するかどうかは、本明細書に記載の通り、ELISAにより評価される。

【0252】

セミプリマブは、現在、単独療法としておよび他の抗がん療法との組合せで第1相臨床試験において、ならびに進行皮膚扁平上皮癌、基底細胞癌、非小細胞肺癌、子宮頸がん、および他の固形腫瘍を有する患者での第2相および第3相臨床試験において調査中である。非小細胞肺癌を含む幾つかの腫瘍タイプにおいて、2週間毎に投与した（Q2W）1 mg/kg用量および3 mg/kg Q2W用量の両方で予備的効能が観察された。

20

【0253】

2018年3月27日の時点で、757人の患者が登録され、単独療法として、ならびに放射線療法および／または他のがん療法と組み合わせて、様々な用量レベル（1、3、もしくは10 mg/kg、または200 mg Q2W；および3 mg/kg、250 mg、または350 mg Q3W）のセミプリマブで治療された。進行CSCCに対するセミプリマブの効能は、第2相試験で明らかに記録されており、セミプリマブは、2018年9月28日に、治療的外科手術または治療的放射線の候補ではない転移性CSCCまたは局所進行CSCCの患者の治療について米国の承認を受けた。セミプリマブは、2019年6月28日に、同じ適応症で欧州でも承認された。

30

【0254】

セミプリマブは、他のPD-1阻害剤の安全性プロファイルと同様の安全性プロファイルを有する。患者の10%またはそれ以上で生じる最も一般的な、治療中に発生した有害事象（TEAE）は、倦怠感、悪心、貧血、食欲減退、関節痛、便秘、咳、嘔吐、および腹痛だった。

【0255】

セミプリマブを使用および製作するための組成物および方法は、例えば、米国特許出願公開第2015/0203579号明細書に開示されており、その内容は、あらゆる目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

40

【0256】

抗PD-1抗体は、好適な担体、賦形剤、および好適な移送、送達、および耐容性などを提供する他の作用剤と共に製剤化することができる。多数の適切な製剤は、あらゆる製薬化学者に公知である製剤集：Remington's Pharmaceutical Sciences、Mack Publishing Company、イーストン、ペンシルベニア州に見出すことができる。そうした製剤としては、例えば、粉末、ペースト、軟膏、ゼリー、ワックス、油、脂質、脂質（カチオン性またはアニオン性）含有ベシクル、DNAコンジュゲート、無水吸収ペースト、水中油型および油中水型エマルジョン、エマルジョンカーボワックス（種々の分子量のポリエチレングリコール）、半固体ゲル、

50

およびカーボワックスを含む半固体混合物が挙げられる。Powellら、「Compendium of excipients for parenteral formulations」PDA（1998年）J Pharm Sci Technol 52巻：238～311頁を参照されたい。

【0257】

4. 治療法

本明細書で提供されるサイトカインRNA混合物は、抗PD-1抗体と組み合わせて、方法に、例えば治療法に使用することができる。一部の実施形態では、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを治療するための方法であって、サイトカインRNA混合物および抗PD-1抗体を投与することを含み、進行期固形腫瘍がんは、上皮腫瘍、前立腺腫瘍、卵巣腫瘍、腎細胞腫瘍、胃腸管腫瘍、肝腫瘍、結腸直腸腫瘍、脈管構造を有する腫瘍、中皮腫瘍、膵臓腫瘍、乳房腫瘍、肉腫腫瘍、肺腫瘍、結腸腫瘍、黒色腫瘍、小細胞肺腫瘍、神経芽細胞腫瘍、精巣腫瘍、癌腫瘍、腺癌腫瘍、精上皮腫瘍、網膜芽細胞腫、皮膚扁平上皮癌（CSCC）、非ホジキンリンパ腫およびホジキンリンパ腫を含むリンパ腫、頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）、頭頸部がん、骨肉腫腫瘍、非小細胞肺がん、腎臓腫瘍、甲状腺腫瘍、肝臓腫瘍、腫瘍内注射に適した他の固形腫瘍、またはそれらの組合せを含む、方法が包含される。

10

【0258】

一部の実施形態では、進行期固形腫瘍がんは、上皮腫瘍、前立腺腫瘍、卵巣腫瘍、腎細胞腫瘍、胃腸管腫瘍、肝腫瘍、結腸直腸腫瘍、脈管構造を有する腫瘍、中皮腫瘍、膵臓腫瘍、乳房腫瘍、肉腫腫瘍、肺腫瘍、結腸腫瘍、黒色腫瘍、小細胞肺腫瘍、神経芽細胞腫瘍、精巣腫瘍、癌腫瘍、腺癌腫瘍、精上皮腫瘍、網膜芽細胞腫、皮膚扁平上皮癌（CSCC）、頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）、頭頸部がん、骨肉腫腫瘍、非小細胞肺がん、腎臓腫瘍、甲状腺腫瘍、肝臓腫瘍、腫瘍内注射に適した他の固形腫瘍、またはそれらの組合せを含む。

20

【0259】

一部の実施形態では、進行期固形腫瘍がんは、非ホジキンリンパ腫またはホジキンリンパ腫などのリンパ腫を含む。

【0260】

一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、黒色腫である。一部の実施形態では、黒色腫は、ブドウ膜黒色腫または粘膜黒色腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、黒色腫、場合によりブドウ膜黒色腫または粘膜黒色腫であり、腫瘍内注射に適した表在性転移、皮下転移、および／またはリンパ節転移を含む。

30

【0261】

一部の実施形態では、腫瘍内注射は、リンパ節内の固形腫瘍転移への注射を含む。一部の実施形態では、腫瘍内注射は、リンパ節内のリンパ腫腫瘍への注射を含む。一部の実施形態では、腫瘍内注射は、対象の皮膚表面の10cm以内にある原発性または二次性固形腫瘍への注射を含む。一部の実施形態では、腫瘍内注射は、対象の皮膚表面の5cm以内にある原発性または二次性固形腫瘍への注射を含む。一部の実施形態では、腫瘍内注射は、皮膚固形腫瘍への注射を含む。一部の実施形態では、皮膚固形腫瘍は、転移したものである。一部の実施形態では、皮膚固形腫瘍は、皮膚がんではない。一部の実施形態では、腫瘍内注射は、皮下固形腫瘍への注射を含む。一部の実施形態では、皮下固形腫瘍は、転移したものである。一部の実施形態では、皮下固形腫瘍は、皮膚がんではない。

40

【0262】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、上皮腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、前立腺腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、卵巣腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、腎細胞腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、胃腸管腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、肝腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍

50

は、結腸直腸腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、脈管構造を有する腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、中皮腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、膵臓腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、乳房腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、肉腫腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、肺腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、結腸腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、黒色腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、小細胞肺腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、非小細胞肺がん腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、神経芽細胞腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、精巣腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、癌腫腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、腺癌腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、精上皮腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、網膜芽細胞腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、皮膚扁平上皮癌（C S C C）である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、頭頸部扁平上皮癌（H N S C C）である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、H N S C Cである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、頭頸部がんである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、骨肉腫腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、腎臓がんである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、甲状腺がんである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、未分化甲状腺がん（A T C）である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、肝臓がんである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、結腸腫瘍である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、上記のいずれか2つである。一部の実施形態では、固形腫瘍は、上記のいずれか2つまたはそれ以上である。

10

20

【0263】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、リンパ腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、非ホジキンリンパ腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍は、ホジキンリンパ腫である。

【0264】

一部の実施形態では、本方法は、場合により、各ウリジンの代わりに修飾核酸塩基を有し、およびRNAの5'末端にCap1構造を有するように修飾された、IFN α をコードするRNA、IL-15スシをコードするRNA、IL-12scをコードするRNA、およびGM-CSFをコードするRNAを含むサイトカインRNA混合物の、PD-1抗体と組み合わせた使用を含む。

30

【0265】

一部の実施形態では、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを治療するための方法であって、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを有する対象に、IL-12scタンパク質をコードするRNA、IL-15スシタンパク質をコードするRNA、IFN α タンパク質をコードするRNA、およびGM-CSFタンパク質をコードするRNAを、抗PD-1抗体と組み合わせて投与することを含む方法が提供される。

【0266】

一部の実施形態では、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを治療するための方法であって、進行期固形腫瘍がんを有する対象に、IL-12scタンパク質をコードするRNA、IL-15スシタンパク質をコードするRNA、IFN α タンパク質をコードするRNA、およびGM-CSFタンパク質をコードするRNAを含む治療有効量のRNA、ならびに治療有効量の抗PD-1抗体を投与することを含む方法が包含される。

40

【0267】

一部の実施形態では、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを治療するための方法であって、IL-12scをコードするRNAを投与すること、ならびにIFN α 、IL-15スシ、およびGM-CSFをコードするRNAをさらに投与すること、ならびに抗PD-1抗体をさらに投与することを含む方法が包含される。

【0268】

一部の実施形態では、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを治療するための方法であって、IFN α をコードするRNAを投与すること、ならびにIL-12sc、IL-15スシ、およびGM-CSFをコードするRNAをさらに投与すること、ならびに

50

抗PD-1抗体をさらに投与することを含む方法が包含される。

【0269】

一部の実施形態では、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを治療するための方法であって、IL-15スシをコードするRNAを投与すること、ならびにIL-12sc、IFN α 、およびGM-CSFをコードするRNAをさらに投与すること、ならびに抗PD-1抗体をさらに投与することを含む方法が包含される。

【0270】

一部の実施形態では、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを治療するための方法であって、GM-CSFスシをコードするRNAを投与すること、ならびにIL-12sc、IFN α 、およびIL-15スシをコードするRNAをさらに投与すること、ならびに抗PD-1抗体をさらに投与することを含む方法が包含される。

10

【0271】

一部の実施形態では、進行期、切除不能、または転移性固形腫瘍がんを治療するための方法であって、進行期固形腫瘍がんを有する対象に、1) IL-12scタンパク質をコードするRNA、IL-15スシタンパク質をコードするRNA、IFN α タンパク質をコードするRNA、およびGM-CSFタンパク質をコードするRNAを含む治療有効量のRNA、ならびに2) 治療有効量の抗PD-1抗体を投与することを含む方法が包含される。

【0272】

本明細書で使用される場合、「RNA／抗PD-1抗体組合せ」は、RNAサイトカイン混合物を抗PD-1抗体と組み合わせて投与することを指す。

20

【0273】

一部の実施形態では、RNAおよび抗PD-1抗体の同時投与は、以下の1つまたはそれ以上をもたらす：(a) がんの症状の重症度または継続期間の低減；(b) 腫瘍成長の阻害、もしくは腫瘍壊死、腫瘍退縮、および／もしくは腫瘍消失の増加；(c) 腫瘍成長および／もしくは発生の遅延；(d) 腫瘍転移の阻害もしくは減速もしくは停止；(e) 腫瘍成長の再発の予防もしくは遅延；(f) 対象の生存率の増加；ならびに／または(g) 未治療の対象もしくはRNAもしくは抗PD-1抗体が単独療法として投与された対象と比較して、従来の抗がん療法の使用または必要性の低減（例えば、化学療法剤または細胞毒性剤の使用の低減または排除）。

30

【0274】

固形腫瘍を治療するための当技術分野で公知である任意の他の治療選択肢を、本明細書に開示の方法と組み合わせることができる。一部の場合では、サイトカインRNA混合物および抗PD-1抗体は、1つまたはそれ以上の他の治療選択肢（例えば、別の免疫刺激因子、免疫療法、もしくはチェックポイント修飾因子を含む化学療法剤、または放射線）と組み合わせて投与される。

【0275】

A. 投与経路およびタイミング

一部の実施形態では、RNAまたはサイトカインRNA混合物は、腫瘍への（例えば、腫瘍内）または腫瘍付近（腫瘍周囲）への注射により送達され、抗PD-1抗体は、注射、輸注、および移植によることを含む、同じ様式で、または全身性に、例えば、静脈内に、経腸的に、または非経口で送達される。RNAおよび抗体は、同時投与、例えば、時を同じくして、同時に、または順次に投与してもよい。順次の場合、投与は、当業者に公知の任意の順序および任意の適切な時間間隔であってもよい。

40

【0276】

一部の実施形態では、RNAは、腫瘍内または腫瘍周囲に注射され、抗PD-1抗体は、静脈内に投与される。一部の実施形態では、RNAは、腫瘍内に注射され、抗PD-1抗体は、静脈内に投与される。

【0277】

一部の実施形態では、サイトカインRNA混合物は、3または4週間サイクルで週1回腫

50

瘍内投与され（つまり、21日毎に3回投薬または28日毎に4回投薬）、抗PD1抗体は、この21日または28日サイクル中に1回だけ、場合により治療の初日に、全身性に、例えば静脈内に投与される。一部の実施形態では、サイトカインRNA混合物は、腫瘍内または腫瘍周囲に週1回投与され、抗PD1抗体は、3週間サイクルの1日目に静脈内投与される（つまり、21日毎に3用量のサイトカインRNA混合物および1用量の抗PD1抗体）。一部の実施形態では、サイトカインRNA混合物は、腫瘍内または腫瘍周囲に週1回投与され、抗PD1抗体は、4週間サイクルの1日目に静脈内投与される（つまり、28日毎に4用量のサイトカインRNA混合物および1用量の抗PD1抗体）。一部の実施形態では、第2の腫瘍評価まで腫瘍内注射を毎週継続し、第2の腫瘍評価の時点で、サイトカインRNA混合物の投薬間隔を3週間毎に変更してもよい。一部の実施形態では、RNAおよび抗PD-1抗体は、同じ投薬頻度で投与される（例えば、同じ日に一緒にまたは別々に投薬される）。一部の実施形態では、RNAおよび抗PD-1抗体は、異なる投薬頻度で投与される（例えば、異なる日に）。一部の実施形態では、RNAは毎週1回投与され、抗PD-1抗体は3週毎に1回投与される。

10

【0278】

一部の実施形態では、サイトカインRNA混合物および抗PD1は、3または4週間サイクルで同時投与され、サイトカインRNA混合物は、毎週1回投与され、抗PD1抗体は1回のみ投与される。

【0279】

一部の実施形態では、サイトカインRNA混合物および抗PD1は、3または4週間サイクルで同時投与され、サイトカインRNA混合物は、2週毎に1回投与され、抗PD1抗体は1回のみ投与される。一部の実施形態では、サイトカインRNA混合物および抗PD1は、3または4週間サイクルで同時投与され、サイトカインRNA混合物は、3週毎に1回投与され、抗PD1抗体は1回のみ投与される。

20

【0280】

一部の実施形態では、サイトカインRNA混合物および抗PD1は、3または4週間サイクルで同時投与され、サイトカインRNA混合物は、4週毎に1回投与され、抗PD1抗体は1回のみ投与される。

【0281】

一部の実施形態では、RNAの組合せは、等しいRNA質量に基づき1:1:1:1の比で投与される（つまり、1:1:1:1%（重量/重量/重量/重量））。

30

【0282】

一部の実施形態では、本明細書に記載のRNA/抗PD-1抗体の組合せは、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12か月間投与される。一部の実施形態では、RNA/抗PD-1抗体の組合せは、約8か月間投与される。一部の実施形態では、RNA/抗PD-1抗体の組合せは、最大で52週にわたって投与される。

【0283】

一部の実施形態では、抗PD1抗体は、注射により投与される。一部の実施形態では、抗PD1抗体は、静脈内投与される。一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、3週毎に1回静脈内投与され、サイトカインRNA混合物は、腫瘍内または腫瘍周囲に毎週1回投与される。

40

【0284】

一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、3週毎に1回静脈内投与され、サイトカインRNA混合物は、腫瘍内または腫瘍周囲に毎週1回投与される。

【0285】

一部の実施形態では、RNAは、治療有効量で投与される。一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、治療有効量で投与される。一部の実施形態では、治療有効量は、単独療法としての個々の各成分の治療有効量とは異なる量である。

【0286】

一部の実施形態では、抗PD1抗体は、約0.05mg～約600mg、例えば、約0.

50

0.5 mg、約 0.1 mg、約 1.0 mg、約 1.5 mg、約 2.0 mg、約 10 mg、約 20 mg、約 30 mg、約 40 mg、約 50 mg、約 60 mg、約 70 mg、約 80 mg、約 90 mg、約 100 mg、約 110 mg、約 120 mg、約 130 mg、約 140 mg、約 150 mg、約 160 mg、約 170 mg、約 180 mg、約 190 mg、約 200 mg、約 210 mg、約 220 mg、約 230 mg、約 240 mg、約 250 mg、約 260 mg、約 270 mg、約 280 mg、約 290 mg、約 300 mg、約 310 mg、約 320 mg、約 330 mg、約 340 mg、約 350 mg、約 360 mg、約 370 mg、約 380 mg、約 390 mg、約 400 mg、約 410 mg、約 420 mg、約 430 mg、約 440 mg、約 450 mg、約 460 mg、約 470 mg、約 480 mg、約 490 mg、約 500 mg、約 510 mg、約 520 mg、約 530 mg、約 540 mg、約 550 mg、約 560 mg、約 570 mg、約 580 mg、約 590 mg、または約 600 mg の用量で投与される。

10

【0287】

一部の実施形態では、200 mg の抗 PD-1 抗体が投与される。一部の実施形態では、240 mg の抗 PD-1 抗体が投与される。一部の実施形態では、350 mg の抗 PD-1 抗体が投与される。一部の実施形態では、抗 PD-1 抗体はセンプリマブであり、350 mg のセンプリマブが投与される。

【0288】

個々の用量内に含まれる抗 PD-1 抗体の量は、対象の体重 1 キログラム当たりのミリグラム抗体（つまり、mg/kg）で表すことができる。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法で使用される抗 PD-1 抗体は、約 0.0001～約 100 mg/kg 対象体重の用量で対象に投与することができる。例えば、抗 PD-1 抗体は、約 0.1 mg/kg～約 20 mg/kg 患者体重の用量で投与することができる。

20

【0289】

一部の実施形態では、抗 PD-1 抗体はセンプリマブであり、約 3 mg/kg 患者体重の用量で投与される。

【0290】

一部の実施形態では、複数用量の抗 PD-1 を、規定の時間経過にわたって対象に投与してもよい。一部の実施形態では、方法は、1 つまたはそれ以上の用量の抗 PD-1 抗体を対象に順次投与することを含む。本明細書で使用される場合、「順次投与する」は、抗体の各用量が、所定の間隔（例えば、時、日、週、または月）で隔てられた異なる時点で、例えば異なる日に対象に投与されることを意味する。一部の実施形態では、本方法は、単一初期用量の抗 PD-1 抗体、続いて 1 つまたはそれ以上の二次用量の抗 PD-1 抗体、および場合により続いて 1 つまたはそれ以上の三次用量の抗 PD-1 抗体を患者に順次投与することを含む。

30

【0291】

「初期用量」、「二次用量」、および「三次用量」という用語は、投与の時間的順序を指す。したがって、「初期用量」は、治療レジメンの最初に投与される用量（「基線用量」とも呼ばれる）であり；「二次用量」は、初期用量の後に投与される用量であり；「三次用量」は、二次用量の後に投与される用量である。初期、二次、および三次用量はすべて、同量の抗体（抗 PD-1 抗体）を含んでもよい。しかしながら、ある特定の実施形態では、初期、二次、および／または三次用量に含まれる量は、治療の過程中互いに変動する（例えば、必要に応じて上方にまたは下方に調整される）。ある特定の実施形態では、1 つまたはそれ以上（例えば、1、2、3、4、または 5 つ）の用量は、「負荷用量」として治療レジメンの最初に投与され、続いてより少ない頻度で投与される後続の用量（例えば、「維持用量」）で投与される。例えば、抗 PD-1 抗体は、約 1～3 mg/kg の負荷用量で患者に投与し、続いて約 0.1～約 20 mg/kg 患者体重の 1 つまたはそれ以上の維持用量で患者に投与してもよい。

40

【0292】

一部の実施形態では、各二次および／または三次用量は、直前の投薬の 0.5～14 週間

50

(例えば、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5週間、またはそれよりも長い期間)後に投与される。「直前の用量」という語句は、本明細書で使用される場合、複数投与の連続において、この連続のすぐ次の用量の投与前に患者に投与される抗PD-1抗体の用量を意味し、その間に介在する用量はない。

【0293】

一部の実施形態では、本方法は、任意の数の二次および／または三次用量の抗PD-1抗体を患者に投与することを含んでいてもよい。例えば、一部の実施形態では、単一の二次用量のみが患者に投与される。他の実施形態では、2つまたはそれ以上の(例えば、2、3、4、5、6、7、8つ、またはそれ以上の)の二次用量が患者に投与される。同様に、ある特定の実施形態では、単一の三次用量のみが患者に投与される。他の実施形態では、2つまたはそれ以上の(例えば、2、3、4、5、6、7、8つ、またはそれ以上の)三次用量が患者に投与される。

10

【0294】

複数の二次用量を含む一部の実施形態では、各二次用量は、他の二次用量と同じ頻度で投与してもよい。例えば、各二次用量は、直前の用量の1～2週間後に患者に投与してもよい。同様に、複数の三次用量を含む一部の実施形態では、各三次用量は、他の三次用量と同じ頻度で投与してもよい。例えば、各三次用量は、直前の用量の2～4週間後に患者に投与してもよい。その代わりに、二次および／または三次用量が患者に投与される頻度を、治療レジメンの過程にわたって変動させてもよい。また、投与の頻度は、臨床検査後の個々の患者の必要性に応じて、医師により治療の経過中に調整することができる。

20

【0295】

一部の実施形態では、1つまたはそれ以上の用量の抗PD-1抗体は、治療レジメンの最初に「誘導容量」としてより頻繁に(週2回、週1回、または2週に1回)、続いてより少ない頻度で(例えば、4～12週に1回)投与されるその後の用量(「強化用量」または「維持用量」)で投与される。

【0296】

一部の実施形態では、RNAは、ネオアジュバント設定で投与される。「ネオアジュバント設定」は、本方法が、一次／根治療法(例えば、腫瘍の外科的切除)の前に実施される臨床設定を指す。

30

【0297】

抗PD-1抗体投薬

一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、約0.05mg～約600mg、例えば、約0.05mg、約0.1mg、約1.0mg、約1.5mg、約2.0mg、約10mg、約20mg、約30mg、約40mg、約50mg、約60mg、約70mg、約80mg、約90mg、約100mg、約110mg、約120mg、約130mg、約140mg、約150mg、約160mg、約170mg、約180mg、約190mg、約200mg、約210mg、約220mg、約230mg、約240mg、約250mg、約260mg、約270mg、約280mg、約290mg、約300mg、約310mg、約320mg、約330mg、約340mg、約350mg、約360mg、約370mg、約380mg、約390mg、約400mg、約410mg、約420mg、約430mg、約440mg、約450mg、約460mg、約470mg、約480mg、約490mg、約500mg、約510mg、約520mg、約530mg、約540mg、約550mg、約560mg、約570mg、約580mg、約590mg、または約600mgの用量で投与される。

40

【0298】

一部の実施形態では、200mgの抗PD-1抗体が投与される。一部の実施形態では、240mgの抗PD-1抗体が投与される。一部の実施形態では、350mgの抗PD-1抗体が投与される。一部の実施形態では、抗PD-1抗体はセンプリマブであり、35

50

0 mg のセンプリマブが投与される。

【0299】

個々の用量内に含まれる抗PD-1抗体の量は、対象体重1キログラム当たりのミリグラム抗体（つまり、mg/kg）で表すことができる。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法で使用される抗PD-1抗体は、約0.0001～約100mg/kg対象体重の用量で対象に投与することができる。例えば、抗PD-1抗体は、約0.1mg/kg～約20mg/kg患者体重の用量で投与することができる。

【0300】

一部の実施形態では、抗PD-1抗体はセンプリマブであり、約3mg/kg患者体重の用量で投与される。

【0301】

一部の実施形態では、複数用量の抗PD-1を、規定の時間経過にわたって対象に投与してもよい。一部の実施形態では、方法は、1つまたはそれ以上の用量の抗PD-1抗体を対象に順次投与することを含む。本明細書で使用される場合、「順次投与する」は、抗体の各用量が、所定の間隔（例えば、時、日、週、または月）で隔てられた異なる時点で、例えば異なる日に、対象に投与されることを意味する。一部の実施形態では、本方法は、単一の初期用量の抗PD-1抗体、続いて1つまたはそれ以上の二次用量の抗PD-1抗体、および場合により続いて1つまたはそれ以上の三次用量の抗PD-1抗体を患者に順次投与することを含む。

【0302】

「初期用量」、「二次用量」、および「三次用量」という用語は、投与の時間的順序を指す。したがって、「初期用量」は、治療レジメンの最初に投与される用量（「基線用量」とも呼ばれる）であり；「二次用量」は、初期用量の後に投与される用量であり；「三次用量」は、二次用量の後に投与される用量である。初期、二次、および三次用量はすべて、同量の抗体（抗PD-1抗体）を含んでいてもよい。しかしながら、ある特定の実施形態では、初期、二次、および／または三次用量に含まれる量は、治療の経過中に互いに変動する（例えば、必要に応じて上方にまたは下方に調整される）。ある特定の実施形態では、1つまたはそれ以上（例えば、1、2、3、4、または5つ）の用量は、「負荷用量」として治療レジメンの最初に、続いてより少ない頻度で投与されるその後の用量（例えば、「維持用量」）で投与される。例えば、抗PD-1抗体は、約1～3mg/kgの負荷用量で投与し、続いて約0.1～約20mg/kg患者体重の1つまたはそれ以上の維持用量で患者に投与してもよい。

【0303】

一部の実施形態では、各二次および／または三次用量は、直前の投与の0.5～14週間（例えば、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5週間、またはそれよりも長い期間）後に投与される。「直前の用量」という語句は、本明細書で使用される場合、複数投与の連続において、この連続のすぐ次の用量の投与前に患者に投与される抗PD-1抗体の用量を意味し、その間に介在する用量はない。

【0304】

一部の実施形態では、本方法は、任意の数の二次および／または三次用量の抗PD-1抗体を患者に投与することを含んでいてもよい。例えば、一部の実施形態では、単一の二次用量のみが患者に投与される。他の実施形態では、2つまたはそれ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8つ、またはそれ以上）の二次用量が患者に投与される。同様に、ある特定の実施形態では、単一の三次用量のみが患者に投与される。他の実施形態では、2つまたはそれ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8つ、またはそれ以上）の三次用量が患者に投与される。

【0305】

複数の二次用量を含む一部の実施形態では、各二次用量は、他の二次用量と同じ頻度で投

10

20

30

40

50

与してもよい。例えば、各二次用量は、直前の用量の1～2週間後に患者に投与してもよい。同様に、複数の三次用量を含む一部の実施形態では、各三次用量は、他の三次用量と同じ頻度で投与してもよい。例えば、各三次用量は、直前の用量の2～4週間後に患者に投与してもよい。その代わりに、二次および／または三次用量が患者に投与される頻度は、治療レジメンの経過にわたって変動させてもよい。また、投与の頻度は、臨床検査後の個々の患者の必要性に応じて、医師により治療の経過中に調整することができる。

【0306】

一部の実施形態では、1つまたはそれ以上の用量の抗PD-1抗体は、治療レジメンの最初に「誘導容量」としてより頻繁に（週2回、週1回、または2週に1回）、続いてより少ない頻度で（例えば、4～12週に1回）投与されるその後の用量（「強化用量」または「維持用量」）で投与される。

10

【0307】

B. 適応症および患者集団

一部の実施形態では、本明細書中で提供されるRNA／抗PD-1抗体組合せは、固形腫瘍を有する対象を治療するための方法で使用される。一部の実施形態では、対象は、

i. 抗プログラム細胞死1（PD-1）療法もしくは抗プログラム細胞死1リガンド（PD-L1）療法に失敗しているか、もしくは不耐容になっているか、抵抗性になっているか、もしくは不応性になっており；ならびに／または

ii. PD-1および／もしくはPD-L1抵抗性固形腫瘍を有し；ならびに／または

iii. 抗PD-1療法および／もしくは抗PD-L1療法に対して後天的抵抗性を有し；ならびに／または

20

iv. 抗PD-1療法および／もしくは抗PD-L1療法に対して先天的抵抗性を有する。

【0308】

一部の実施形態では、本明細書で提供されるRNA／抗PD-1抗体組合せは、抗プログラム細胞死1（PD-1）療法または抗プログラム細胞死1リガンド（PD-L1）療法に失敗している対象の固形腫瘍を治療するための方法で使用される。

【0309】

一部の実施形態では、本明細書で提供されるRNA／抗PD-1抗体組合せは、抗プログラム細胞死1（PD-1）療法または抗プログラム細胞死1リガンド（PD-L1）療法に不耐容になっている対象の固形腫瘍を治療するための方法で使用される。

30

【0310】

一部の実施形態では、本明細書で提供されるRNA／抗PD-1抗体組合せは、抗プログラム細胞死1（PD-1）療法または抗プログラム細胞死1リガンド（PD-L1）療法に抵抗性になっている対象の固形腫瘍を治療するための方法で使用される。

【0311】

一部の実施形態では、本明細書で提供されるRNA／抗PD-1抗体組合せは、抗プログラム細胞死1（PD-1）療法または抗プログラム細胞死1リガンド（PD-L1）療法に不耐容になっている対象の固形腫瘍を治療するための方法で使用される。

40

【0312】

一部の実施形態では、本明細書で提供されるRNA／抗PD-1抗体組合せは、PD-1および／またはPD-L1抵抗性固形腫瘍を有する対象の固形腫瘍を治療するための方法で使用される。

【0313】

一部の実施形態では、本明細書で提供されるRNA／抗PD-1抗体組合せは、対象の固形腫瘍を治療する方法であって、対象は、抗PD-1療法および／または抗PD-L1療法に対して後天的抵抗性を有する方法で使用される。

【0314】

一部の実施形態では、本明細書で提供されるRNA／抗PD-1抗体組合せは、対象の固形腫瘍を治療する方法であって、対象は、抗PD-1療法および／または抗PD-L1療

50

法に対して先天的抵抗性を有する方法で使用される。

【0315】

一部の実施形態では、対象は、転移性固形腫瘍を有する。一部の実施形態では、対象は、切除不能な固形腫瘍を有する。一部の実施形態では、対象は、進行期固形腫瘍を有する。一部の実施形態では、対象は、転移性固形腫瘍がんを有する。一部の実施形態では、対象は、進行期の切除不能で転移性の固形腫瘍を有する。一部の実施形態では、対象は、進行期の切除不能な固形腫瘍を有する。一部の実施形態では、対象は、転移性固形腫瘍を有する。一部の実施形態では、対象は、切除不能な転移性固形腫瘍を有する。

【0316】

一部の実施形態では、対象は、ベーター2-ミクログロブリン (B2M) 機能の部分的または完全な喪失を含むがん細胞を有する。一部の実施形態では、対象は、B2M機能の部分的な喪失を示すがん細胞を有する。一部の実施形態では、対象は、B2M機能の完全な喪失を有するがん細胞を有する。一部の実施形態では、B2M機能の部分的または完全な喪失は、がん細胞を、同じ対象に由来する非がん細胞と比較することにより評価し、非がん細胞は、がん細胞が由来したのと同じ組織に由来する。一部の実施形態では、B2M機能の部分的または完全な喪失は、がん細胞を、同じ対象に由来する非がん細胞と比較することにより評価し、非がん細胞は、がん細胞が由来したのと同じ組織に由来しない。一部の実施形態では、B2M機能の部分的または全体的な喪失は、がん細胞を、異なる対象に由来する非がん細胞と比較することにより評価される。一部の実施形態では、B2M機能の部分的または全体的な喪失は、がん細胞を、非がん細胞対照と比較することにより評価される。

【0317】

一部の実施形態では、がん細胞は、正常なB2M機能を有するがん細胞を含む固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の25%またはそれより多くが、B2M機能の部分的または完全な喪失を有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の50%またはそれより多くが、B2M機能の部分的または完全な喪失を有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の75%またはそれより多くが、B2M機能の部分的または完全な喪失を有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の95%またはそれより多くが、B2M機能の部分的または完全な喪失を有する固形腫瘍に存在する。

【0318】

一部の実施形態では、対象は、B2M遺伝子に突然変異を含む細胞を含む。

【0319】

一部の実施形態では、突然変異は、置換、挿入、または欠失である。一部の実施形態では、B2M遺伝子は、ヘテロ接合性の喪失 (LOH) を含む。一部の実施形態では、突然変異は、フレームシフト突然変異である。一部の実施形態では、突然変異は、欠失突然変異である。一部の実施形態では、フレームシフト突然変異は、B2Mのエクソン1に存在する。一部の実施形態では、フレームシフト突然変異は、B2Mの短縮をもたらす。一部の実施形態では、突然変異は、B2Mの完全なまたは部分的な欠失 (例えば、短縮) である。一部の実施形態では、欠失突然変異は、B2Mのエクソン1に存在する。一部の実施形態では、フレームシフト突然変異は、p. Leu13fsおよび/またはp. Ser14fsを含む。一部の実施形態では、フレームシフト突然変異は、Middhaら (2019年) JCO Precis Oncol. (doi: 10.1200/P0.18.00321) による、V69Wfs*34、L15fs*41、L13P、L15fs*41、および/またはp. S31*を含む。一部の実施形態では、突然変異は、JAK1および/またはJAK2のキナーゼドメインの上流にフレームシフト突然変異および/または欠失 (例えば、短縮) 突然変異を含む。

【0320】

一部の実施形態では、対象は、B2M機能の部分的または完全な喪失を有しない対象と比較して、低減されたレベルのB2Mタンパク質を有する。

【0321】

一部の実施形態では、対象は、ベーター２－ミクログロブリン（B2M）機能の部分的または完全な喪失を含む。一部の実施形態では、対象は、B2M機能の部分的喪失を含む。一部の実施形態では、対象は、B2M機能の完全な喪失を含む。B2M機能の部分的または完全な喪失は、同じ対象に由来する組織サンプルと比較することにより評価することができる。B2M機能の部分的または完全な喪失は、腫瘍に由来する組織サンプルを、腫瘍サンプルが由来したのと同じ組織に由来する組織サンプルと比較することにより評価することができる。

【0322】

一部の実施形態では、固形腫瘍は全体が（例えば、固形腫瘍から採取された生検で評価して）、固形腫瘍が由来する正常な細胞または組織と比較して、B2M機能の部分的または完全な喪失を有する。一部の実施形態では、対象は、B2M遺伝子に突然変異（例えば、機能の部分的または完全な喪失がそれからもたらされる）を含む。

【0323】

一部の実施形態では、腫瘍内のある特定の細胞は、B2M機能の喪失を示す。一部の実施形態では、腫瘍内のある特定の細胞は、B2M機能の部分的または完全な喪失を示すが、腫瘍内の他の細胞はそうではない。

【0324】

一部の実施形態では、対象は、対照と比較して低減されたレベルの表面発現主要組織適合遺伝子複合体クラスⅠ（MHCⅠ）を有し、場合により、対照は、同じ対象に由来する非がん性サンプルである。一部の実施形態では、対象は、低減されたレベルの表面発現MHCⅠを含むがん細胞を有する。一部の実施形態では、がん細胞は、表面発現MHCⅠを有していない。一部の実施形態では、低減されたレベルの表面発現MHCⅠは、がん細胞を、同じ対象に由来する非がん細胞と比較することにより評価され、場合により、非がん細胞は、がん細胞が由来したのと同じ組織に由来する。一部の実施形態では、がん細胞は、正常レベルの表面発現MHCⅠを有するがん細胞を含む固形腫瘍内に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の25%またはそれよりも多くが、低減されたレベルの表面発現MHCⅠを有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の50%またはそれよりも多くが、低減されたレベルの表面発現MHCⅠを有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の75%またはそれよりも多くが、低減されたレベルの表面発現MHCⅠを有する固形腫瘍に存在する。一部の実施形態では、がん細胞は、がん細胞の95%またはそれよりも多くが、低減されたレベルの表面発現MHCⅠを有する固形腫瘍に存在する。

【0325】

一部の実施形態では、固形腫瘍は全体が（例えば、固形腫瘍から採取された生検で評価して）、固形腫瘍が由来する正常な細胞または組織と比較して、低減されたレベルの表面発現MHCⅠを有する。

【0326】

一部の実施形態では、本明細書で提供されるRNA／抗PD-1抗体組合せは、進行期固形腫瘍がんを治療するための方法で使用される。

【0327】

一部の実施形態では、本明細書で提供されるRNA／抗PD-1抗体組合せは、切除不能な固形腫瘍がんを治療するための方法で使用される。

【0328】

一部の実施形態では、本明細書で提供されるRNA／抗PD-1抗体組合せは、転移性固形腫瘍がんを治療するための方法で使用される。

【0329】

一部の実施形態では、サイトカインRNA混合物は、リンパ節内の1つまたはそれ以上の固形腫瘍がんに注射される。

【0330】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、進行期固形腫瘍がんは、直接腫瘍内注射に好適な腫瘍を含む。一部の実施形態では、進行期固形腫瘍がんは、ステージⅡⅡ、ステージⅡⅡのサブセット、ステージⅤ、またはステージⅤのサブセットである。一部の実施形態では、がんは、黒色腫である。一部の実施形態では、黒色腫は、ステージⅡⅡⅡⅡ、ステージⅡⅡⅡⅡ、またはステージⅤである。一部の実施形態では、がんは、皮膚扁平上皮癌（ＣＳＣＣ）である。一部の実施形態では、がんは、頭頸部扁平上皮癌（ＨＮＳＣＣ）である。一部の実施形態では、ＣＳＣＣまたはＨＮＳＣＣは、ステージⅡⅡⅡまたはステージⅤである。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、黒色腫であり、場合により黒色腫はブドウ膜黒色腫または粘膜黒色腫であり；腫瘍内注射に適した表在性転移、皮下転移、および／またはリンパ節転移を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、粘膜部位のみを有するＨＮＳＣＣおよび／または粘膜黒色腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、ＨＮＳＣＣである。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、ブドウ膜黒色腫または粘膜黒色腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、ブドウ膜黒色腫である。一部の実施形態では、固形腫瘍がんは、粘膜黒色腫である。一部の実施形態では、ＲＮＡは、固形腫瘍がんの粘膜部位のみに腫瘍内注射され、固形腫瘍がんは、ＨＮＳＣＣまたは粘膜黒色腫である。

10

【０３３１】

一部の実施形態では、対象は、以前の抗プログラム細胞死１（ＰＤ－１）療法または抗プログラム細胞死１リガンド（ＰＤ－Ｌ１）療法に失敗している。他の実施形態では、対象は、以前に抗ＰＤ－１療法でも抗ＰＤ－Ｌ１療法でも治療されたことがない。一部の実施形態では、対象には、他の治療選択肢がない。

20

【０３３２】

一部の実施形態では、本方法は、腫瘍のサイズを低減すること、または対象におけるがん転移を予防することを含んでいてもよい。

【０３３３】

一部の実施形態では、対象は、少なくとも２つの腫瘍病変または少なくとも３つの腫瘍病変を有する。一部の実施形態では、対象は、２つの腫瘍病変を有する。一部の実施形態では、対象は、３つの腫瘍病変を有する。

【０３３４】

一部の実施形態では、対象は、本明細書に記載の通り、固形腫瘍効果判定基準（ＲＥＣＩＳＴ）１．１基準に従って測定可能な疾患を有する。

30

【０３３５】

一部の実施形態では、対象は、直接腫瘍内注射に好適な腫瘍を有する。一部の実施形態では、腫瘍が直接腫瘍内注射に好適であるか否かは、用量容積に基づいてもよい。一部の実施形態では、腫瘍は、最長直径が ≥ 0.5 cmの皮膚病変もしくは皮下病変、またはコンフルエントになっており、注射に好適な（つまり、出血性でも浸出性でもない）、 ≥ 0.5 cmの最長直径（すべての関与する標的病変の直径の合計）を有する複数の注射可能な併合病変を含む場合、サイトカインＲＮＡ混合物の直接腫瘍内注射に好適である。一部の実施形態では、超音波（ＵＳＧ）誘導腫瘍内注射に好適であり、転移性疾患であると確認されている ≥ 1.5 cmのリンパ節も好適である。一部の実施形態では、腫瘍は、ブドウ膜黒色腫または粘膜黒色腫である。一部の実施形態では、腫瘍は、ブドウ膜黒色腫または粘膜黒色腫であり；腫瘍内注射に適した表在性転移、皮下転移、および／またはリンパ節転移を含む。

40

【０３３６】

一部の実施形態では、対象はヒトである。一部の実施形態では、対象は、３か月、４か月、５か月、または６か月よりも長い平均余命を有してもよい。一部の実施形態では、対象は、３か月よりも長い平均余命を有する。一部の実施形態では、対象は、少なくとも１８歳である。

【０３３７】

一部の実施形態では、進行期黒色腫、皮膚扁平上皮癌（ＣＳＣＣ）、または頭頸部扁平上

50

皮膚癌（HNSCC）を治療するための方法であって、進行期黒色腫を有する対象に、IL-12タンパク質をコードするRNA、IL-15タンパク質をコードするRNA、IFN α タンパク質をコードするRNA、およびGM-CSFタンパク質をコードするRNA、ならびに抗PD-1抗体を投与することを含む方法が提供される。一部の実施形態では、（a）対象は、少なくとも18歳であり；（b）対象は、以前の抗PD1療法または抗PD-L1療法に失敗しており；（c）対象は、最低で2つの病変を有し；および（d）黒色腫、CSCC、またはHNSCCは、直接腫瘍内注射に好適な腫瘍を含む。

【0338】

一部の実施形態では、対象は、固形腫瘍効果判定基準（RECIST）1.1基準に従って測定可能な疾患を有する。一部の実施形態では、対象は、3か月よりも長い平均余命を有する。

【0339】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、上皮腫瘍、前立腺腫瘍、卵巣腫瘍、腎細胞腫瘍、胃腸管腫瘍、肝腫瘍、結腸直腸腫瘍、脈管構造を有する腫瘍、中皮腫瘍、脾臓腫瘍、乳房腫瘍、肉腫腫瘍、肺腫瘍、結腸腫瘍、黒色腫瘍、小細胞肺腫瘍、神経芽細胞腫瘍、精巣腫瘍、癌腫瘍、腺癌腫瘍、精上皮腫瘍、網膜芽細胞腫、皮膚扁平上皮癌（CSCC）、頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）、頭頸部がん、または骨肉腫腫瘍である。

【0340】

一部の実施形態では、固形腫瘍は、任意のサイズの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、腫瘍厚測定値は、最も近い0.1mmに丸められて報告されている。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが ≤ 1.0 mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、または1.0mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが < 0.8 mm（すなわち、0.8mm未満）であり、潰瘍化を示さない原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが < 0.8 mm（すなわち、0.8mm未満）であり、潰瘍化を示す原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが0.8～1.0mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが0.8、0.9、または1.0mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、潰瘍化の有無を問わず、厚さが0.8～1.0mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが $> 1.0 \sim 2.0$ mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、または2.0mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、潰瘍化の有無を問わず、厚さが $> 1.0 \sim 2.0$ mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが $> 2.0 \sim 4.0$ mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが $> 3.0 \sim 4.0$ mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、または4.0mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、潰瘍化の有無を問わず、厚さが $> 2.0 \sim 4.0$ mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが > 4.0 mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、厚さが4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、7.0、8.0、9.0、または10.0mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、固形腫瘍は、潰瘍化の有無を問わず、厚さが > 4.0 mmの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、厚さは、腫瘍の最も厚い（つまり、最大の）寸法である。一部の実施形態では、腫瘍は皮膚がん腫瘍であり、厚さは、皮膚表面から腫瘍の最深部までである（例えば、厚さは、腫瘍の横方向の広がりではない）。一部の実施形態では、腫瘍は、皮膚がん以外のがんの皮膚転移であり、腫瘍の厚さは、皮膚表面から腫瘍の最深部までである（例えば、厚さは、腫瘍の横方向の広がりではない）。

【0341】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、固形腫瘍は、黒色腫固形腫瘍である。一部の実施形態では、黒色腫は、任意のサイズの原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、腫瘍厚測定値は、最も近い 0.1 mm に丸められて報告されている。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが ≤ 1.0 mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、または 1.0 mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが < 0.8 mm (すなわち、0.8 mm 未満) であり、潰瘍化を示さない原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが < 0.8 mm (すなわち、0.8 mm 未満) であり、潰瘍化を示す原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが 0.8 ~ 1.0 mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが 0.8、0.9、または 1.0 mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、潰瘍化の有無を問わず、厚さが 0.8 ~ 1.0 mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが $> 1.0 \sim 2.0$ mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが 1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、または 2.0 mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、潰瘍化の有無を問わず、厚さが $> 1.0 \sim 2.0$ mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが $> 2.0 \sim 4.0$ mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが $> 3.0 \sim 4.0$ mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが 2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、または 4.0 mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、潰瘍化の有無を問わず、厚さが $> 2.0 \sim 4.0$ mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが > 4.0 mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、厚さが 4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、7.0、8.0、9.0、または 10.0 mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、潰瘍化の有無を問わず、厚さが > 4.0 mm の原因腫瘍を含む。一部の実施形態では、厚さは、皮膚表面から腫瘍の最深部までである (厚さは、腫瘍の横方向の広がりではない)。

10

20

30

40

50

【0342】

一部の実施形態では、黒色腫は、1つの腫瘍関与領域リンパ節、または腫瘍関与節を有さない任意の数のイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、1つの臨床的に潜在的な腫瘍関与領域リンパ節を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、1つの臨床的に検出可能な腫瘍関与領域リンパ節を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、腫瘍関与節を有さない任意の数のイントランジット転移、衛星転移、および／またはマイクロサテライト転移を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、2つもしくは3つの腫瘍関与領域リンパ節、または腫瘍関与節を有さない任意の数のイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、2つまたは3つの臨床的に潜在的な腫瘍関与領域リンパ節を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、2つまたは3つの腫瘍関与領域リンパ節を含み、そのうちの少なくとも1つは、臨床的に検出可能である。一部の実施形態では、黒色腫は、2つまたは3つの腫瘍関連領域リンパ節を含み、そのうちの1つは、臨床的に潜在的または臨床的に検出可能であり、イントランジット転移、衛星転移、および／またはマイクロサテライト転移の存在を伴う。一部の実施形態では、黒色腫は、1つの腫瘍関与節を有する任意の数のイントランジット転移、衛星転移、および／またはマイクロサテライト転移を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、4つもしくはそれ以上の腫瘍関与領域リンパ節、または2つもしくはそれ以上の腫瘍関与節を有する任意の数のイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移、またはイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移の有無を問わない任意の数の密集節を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、4つまたはそれ以上の臨床的に潜在的な腫瘍関与領域リンパ節を含む。一部の実施形態では、黒色腫は、4つまたは

それ以上の臨床的に潜在的な腫瘍関与領域リンパ節を含み、そのうちの少なくとも1つは、臨床的に検出可能であるか、または任意の数の密集節の存在を伴う。一部の実施形態では、黒色腫は、2つまたは3つの腫瘍関与領域リンパ節を含み、そのうちの1つは、臨床的に潜在的であるか、または臨床的に検出可能である。一部の実施形態では、黒色腫は、4つもしくはそれ以上の臨床的に潜在的な腫瘍関与領域リンパ節を含み、そのうちの2つもしくはそれ以上は、臨床的に潜在的であるかもしくは臨床的に検出可能であり、ならびに／または任意の数の密集節の存在を伴い、ならびにイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移の存在を伴う。

【0343】

一部の実施形態では、黒色腫は、

- a. 任意のサイズの原因腫瘍を含み；
- b. 1つもしくはそれ以上の腫瘍関与領域リンパ節；または腫瘍関与領域リンパ節を有しないイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移を含み；
- c. 検出可能な遠隔転移を含まない。

【0344】

一部の実施形態では、黒色腫は、検出可能な遠隔転移を有する。

【0345】

一部の実施形態では、黒色腫は、

- a. 潰瘍化を示さない厚さが<0.8mmの原因腫瘍；または厚さが0.8～1.0mmの原因腫瘍および潰瘍化を示す厚さが0.8mm未満の原因腫瘍；または潰瘍化を示さない厚さが>1.0～2.0mmの原因腫瘍を含み；
- b. 1つまたは2つまたは3つの臨床的に潜在的な腫瘍関与領域リンパ節を含み；
- c. 検出可能な遠隔転移を含まない。

【0346】

一部の実施形態では、黒色腫は、

- a. 潰瘍化を示さない厚さが<0.8mmの原因腫瘍；または厚さが0.8～1.0mmの原因腫瘍および潰瘍化を示す厚さが0.8mm未満の原因腫瘍；または潰瘍化を示さない厚さが>1.0～2.0mmの原因腫瘍を含み；
- b. 1つの臨床的に検出可能な腫瘍関与領域リンパ節を含むか；またはイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移の存在を伴う腫瘍関与領域リンパ節を含まず；または2つもしくは3つの腫瘍関連領域リンパ節であって、そのうちの少なくとも1つは臨床的に検出可能である腫瘍関連領域リンパ節を含み；
- c. 検出可能な遠隔転移を含まない。

【0347】

一部の実施形態では、黒色腫は、

- a. 潰瘍化を示す厚さが>1.0～2.0mmの原因腫瘍；または潰瘍化を示さない厚さが>2.0～4.0mmの原因腫瘍を含み；
- b. 1つの臨床的に検出可能なもしくは臨床的に潜在的な腫瘍関与領域リンパ節を含むか；またはイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移を有する腫瘍関与領域リンパ節を含まないかもしくは1つ含み；
- c. 検出可能な遠隔転移を含まない。

【0348】

一部の実施形態では、黒色腫は、

- a. 1つの臨床的に検出可能な腫瘍関与領域リンパ節を含むか；またはイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移の存在を伴う腫瘍関与領域リンパ節を含まず；
- b. 検出可能な遠隔転移を含まない。

【0349】

一部の実施形態では、黒色腫は、検出可能な遠隔転移を有さず；

- a. 2つもしくは3つの腫瘍関与領域リンパ節であって、そのうちの少なくとも1つは臨床的に検出可能である腫瘍関与領域リンパ節；
- b. イントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移の存在を伴う1つの臨床的に潜在的なもしくは検出可能な腫瘍関与領域リンパ節；
- c. 4つもしくはそれ以上の腫瘍関与領域リンパ節であって、そのうちの少なくとも1つは臨床的に検出可能である腫瘍関与領域リンパ節、もしくは1つもしくはそれ以上の密集節の存在；または
- d. 2つもしくはそれ以上の臨床的に潜在的なもしくは臨床的に検出可能な腫瘍関連領域リンパ節、ならびに／もしくはイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移の存在を伴う1つもしくはそれ以上の密集節の存在を含む。

10

【0350】

- 一部の実施形態では、黒色腫は、潰瘍化を示さない厚さが $< 0.8\text{ mm}$ または $> 1.0 \sim 2.0$ または $> 2.0 \sim 4.0\text{ mm}$ の原発腫瘍を含み；検出可能な遠隔転移を含まず；
- a. イントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移の存在を伴う1つの臨床的に潜在的なもしくは臨床的に検出可能な腫瘍関与領域リンパ節；または
 - b. 4つもしくはそれ以上の腫瘍関与領域リンパ節；もしくは2つもしくはそれ以上の腫瘍関与節を有する1つもしくはそれ以上のイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移；もしくはイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移の有無を問わない1つもしくはそれ以上の密集節を含む。

20

【0351】

- 一部の実施形態では、黒色腫は、
- a. 潰瘍化を示す厚さが $> 2.0 \sim 4.0\text{ mm}$ の原発腫瘍；または潰瘍化を示さない厚さが $> 4.0\text{ mm}$ の原発腫瘍を含み；
 - b. 1つもしくはそれ以上の腫瘍関与領域リンパ節；または場合により1つもしくはそれ以上の腫瘍関与リンパ節を有する1つもしくはそれ以上のイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移；またはイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移の有無を問わない1つもしくはそれ以上の密集節を含み；
 - c. 検出可能な遠隔転移を含まない。

30

【0352】

- 一部の実施形態では、黒色腫は、
- a. 潰瘍化を示さない厚さが $> 4.0\text{ mm}$ の原発腫瘍を含み；
 - b. 1つもしくは2つもしくは3つの腫瘍関与領域リンパ節；または腫瘍関与領域リンパ節を有しないかもしくは1つ有する1つもしくはそれ以上のイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移を含み；
 - c. 検出可能な遠隔転移を含まない。

40

【0353】

- 一部の実施形態では、黒色腫は、
- a. 潰瘍化を示す厚さが $> 4.0\text{ mm}$ の原発腫瘍を含み；
 - b. 4つもしくはそれ以上の腫瘍関与領域リンパ節；または2つもしくはそれ以上の腫瘍関与領域リンパ節を有する1つもしくはそれ以上のイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移、またはイントランジット転移、衛星転移、および／もしくはマイクロサテライト転移の有無を問わない1つもしくはそれ以上の密集節を含み；
 - c. 検出可能な遠隔転移を含まない。

【0354】

- 一部の実施形態では、皮膚扁平上皮癌（CSCC）または頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）

50

）は、任意のサイズの腫瘍を含む。一部の実施形態では、C S C CまたはH N S C Cは、識別される腫瘍を含まない。一部の実施形態では、C S C CまたはH N S C Cは、その最大寸法が2 c mまたはそれよりも小さい腫瘍を含む。一部の実施形態では、C S C CまたはH N S C Cは、その最大寸法が2 c mよりも大きい4 c mより大きくない腫瘍を含む。一部の実施形態では、C S C CまたはH N S C Cは、最大寸法が4 c mよりも大きいか、または骨侵食もしくは神経周囲浸潤もしくは深部浸潤が最小限である腫瘍を含む。一部の実施形態では、C S C CまたはH N S C Cは、広範な皮質骨もしくは髄質骨の関与または頭蓋底の浸潤または頭蓋底孔を介した浸潤を有する腫瘍を含む。

【0355】

一部の実施形態では、皮膚扁平上皮癌（C S C C）または頭頸部扁平上皮癌（H N S C C）は、領域リンパ節転移を含まない。一部の実施形態では、C S C CまたはH N S C Cは、単一の同側リンパ節に転移を含み、最大寸法が3 c mまたはそれよりも小さく、E N E陰性である。一部の実施形態では、C S C CまたはH N S C Cは、単一の同側リンパ節に、最大寸法が3 c mよりも大きい6 c mより大きくはなく、E N E陰性である転移を含む。一部の実施形態では、C S C CまたはH N S C Cは、複数の同側リンパ節に、最大寸法が6 c mよりも大きくはない転移を含み、E N E陰性である。一部の実施形態では、C S C CまたはH N S C Cは、両側または対側リンパ節に最大寸法が6 c mよりも大きくない転移を含み、E N E陰性である。一部の実施形態では、C S C CまたはH N S C Cは、リンパ節に最大寸法が6 c mよりも大きな転移を含み、E N E陰性であるか；または任意のリンパ節に転移を含み、E N E陰性である。一部の実施形態では、皮膚扁平上皮癌（C S C C）または頭頸部扁平上皮癌（H N S C C）は、

a. 最大寸法が4 c mよりも大きい腫瘍を含むか、または骨侵食もしくは神経周囲浸潤もしくは深部浸潤が最小限であり；

b.

i. 領域リンパ節転移を含まないか；または

i i. 単一の同側リンパ節に、最大寸法が3 c mもしくはそれよりも小さく、E N E陰性である転移を含み；および

c. 検出可能な遠隔転移を含まない。

【0356】

一部の実施形態では、皮膚扁平上皮癌（C S C C）または頭頸部扁平上皮癌（H N S C C）は、

a. 最大寸法が2 c mまたはそれよりも小さい腫瘍を含み；

b. 単一の同側リンパ節に、最大寸法が3 c mまたはそれよりも小さい転移を含み、E N E陰性であり；

c. 検出可能な遠隔転移を含まない。

【0357】

一部の実施形態では、皮膚扁平上皮癌（C S C C）または頭頸部扁平上皮癌（H N S C C）は、

a. 最大寸法が2 c mよりも大きい4 c mより大きくない腫瘍を含み；

b. 単一の同側リンパ節に、最大寸法が3 c mまたはそれよりも小さい転移を含み、E N E陰性であり；

c. 検出可能な遠隔転移を含まない。

【0358】

一部の実施形態では、皮膚扁平上皮癌（C S C C）または頭頸部扁平上皮癌（H N S C C）は、

a.

i. 最大寸法が2 c mもしくはそれよりも小さい腫瘍；または

i i. 最大寸法が2 c mよりも大きい4 c mより大きくはない腫瘍；または

i i i. 最大寸法が4 c mよりも大きいか、もしくは骨侵食もしくは神経周囲浸潤もしくは深部浸潤が最小限である腫瘍を含み；および

10

20

30

40

50

b .

i . 最大寸法が 3 c m よりも大きい が 6 c m よりも大きくない単一の同側リンパ節における転移を含み、リンパ節外進展 (E N E) 陰性であるか ; または

i i . 複数の同側リンパ節に最大寸法が 6 c m よりも大きくはない転移を含み、 E N E 陰性であるか ; または

i i i . 両側もしくは対側リンパ節に最大寸法が 6 c m よりも大きくはない転移を含み、 E N E 陰性であり ;

c . 検出可能な遠隔転移を含まない。

【 0 3 5 9 】

一部の実施形態では、皮膚扁平上皮癌 (C S C C) または頭頸部扁平上皮癌 (H N S C C) は、 10

a .

i . 最大寸法が 2 c m もしくはそれよりも小さい腫瘍 ; または

i i . 最大寸法が 2 c m よりも大きい が 4 c m よりも大きくない腫瘍 ; または

i i i . 最大寸法が 4 c m よりも大きい か、もしくは骨侵食もしくは神経周囲浸潤もしくは深部浸潤が最小限である腫瘍 ; または

i v . 広範な皮質骨もしくは髄質骨の関与もしくは頭蓋底の浸潤もしくは頭蓋底孔を介した浸潤を有する腫瘍

を含み ; および

b . リンパ節に最大寸法が 6 c m よりも大きい転移を含み、 E N E 陰性であるか ; 任意のリンパ節に転移を含み、 E N E 陰性であり ; 20

c . 検出可能な遠隔転移を含まない。

【 0 3 6 0 】

一部の実施形態では、皮膚扁平上皮癌 (C S C C) または頭頸部扁平上皮癌 (H N S C C) は、

a . 広範な皮質骨もしくは髄質骨の関与または頭蓋底の浸潤または頭蓋底孔を介した浸潤を有する腫瘍を含み ;

b .

i . 領域リンパ節転移を含まないか ; または

i i . 単一の同側リンパ節に、最大寸法が 3 c m もしくはそれよりも小さく E N E 陰性である転移を含むか ; または 30

i i i . 最大寸法が 3 c m よりも大きい が 6 c m よりも大きくなく、 E N E 陰性である、単一の同側リンパ節における転移 ; もしくは最大寸法が 6 c m よりも大きくはなく E N E 陰性である、複数の同側リンパ節における転移 ; もしくは最大寸法が 6 c m よりも大きくはなく E N E 陰性である、両側もしくは対側リンパ節における転移を含むか ; または

i v . 最大寸法が 6 c m よりも大きく E N E 陰性である、リンパ節における転移 ; もしくは E N E 陰性である、任意のリンパ節における転移を含み ; および

c . 検出可能な遠隔転移を含まない。

【 0 3 6 1 】

一部の実施形態では、皮膚扁平上皮癌 (C S C C) または頭頸部扁平上皮癌 (H N S C C) は、 40

a . 広範な皮質骨もしくは髄質骨の関与または頭蓋底の浸潤または頭蓋底孔を介した浸潤を有する腫瘍を含み ; および

b . 検出可能な遠隔転移を含まない。

【 0 3 6 2 】

一部の実施形態では、皮膚扁平上皮癌 (C S C C) または頭頸部扁平上皮癌 (H N S C C) は、

a .

i . 最大寸法が 2 c m もしくはそれよりも小さい腫瘍 ; または

i i . 最大寸法が 2 c m よりも大きい が 4 c m よりも大きくない腫瘍 ; または 50

i i i . 最大寸法が 4 c m よりも大きい、もしくは骨侵食もしくは神経周囲浸潤もしくは深部浸潤が最小限である腫瘍；または

i v . 広範な皮質骨もしくは髄質骨の関与もしくは頭蓋底の浸潤もしくは頭蓋底孔を介した浸潤を有する腫瘍を含み；

b .

i . 領域リンパ節転移を含まないか；または

i i . 単一の同側リンパ節に、最大寸法が 3 c m もしくはそれよりも小さく E N E 陰性である転移を含むか；または

i i i . 最大寸法が 3 c m よりも大きい、6 c m より大きくなく E N E 陰性である、単一の同側リンパ節における転移；もしくは最大寸法が 6 c m よりも大きくなく E N E 陰性である、複数の同側リンパ節における転移；もしくは最大寸法が 6 c m よりも大きくなく E N E 陰性である、両側もしくは対側リンパ節における転移を含むか；または

i v . 最大寸法が 6 c m よりも大きく E N E 陰性である、リンパ節における転移；もしくは E N E 陰性である、任意のリンパ節における転移を含み；および

c . 検出可能な遠隔転移を含む。

【0363】

一部の実施形態では、皮膚扁平上皮癌（C S C C）または頭頸部扁平上皮癌（H N S C C）は、検出可能な遠隔転移を含まない。

【0364】

一部の実施形態では、治療有効量の R N A は、以下の 1 つまたはそれ以上をもたらす：（a）がんの症状の重症度もしくは継続期間の低減；（b）腫瘍成長の阻害、もしくは腫瘍壊死、腫瘍退縮、および／もしくは腫瘍消失の増加；（c）腫瘍成長および／もしくは発生の遅延；（d）腫瘍転移の阻害もしくは減速もしくは停止；（e）腫瘍成長の再発の予防もしくは遅延；（f）対象の生存率の増加；ならびに／または（g）場合により未治療の対象もしくは R N A 混合物中の R N A の 1 つ、2 つ、もしくは 3 つのみが投与された対象と比較して、従来の抗がん療法の使用または必要性の低減（例えば、化学療法剤または細胞毒性剤の使用の低減または排除）。

【0365】

本記載および例示的な実施形態は、限定として解釈されるべきではない。本明細書および添付の特許請求の範囲の目的では、別様の指示がない限り、量、パーセンテージ、または割合を表すすべての数値、ならびに本明細書および特許請求の範囲で使用される他の数値は、それらがすでにそのように修飾されていない限り、すべての場合において「約」という用語により修飾されていると理解されるべきである。「約」は、記載されている主題の特性に実質的に影響を及ぼさない、例えば、10%、5%、2%、または 1% 以内の変動の度合いを示す。したがって、矛盾しない限り、以下の仕様および添付の特許請求の範囲に示されている数値パラメータは、得ることが求められている所望の特性に応じて変動し得る近似値である。少なくとも、および均等論の適用を本特許の範囲に限定する試みとしてではなく、各数値パラメータは、少なくとも、報告されている有効数字に照らして、および通常の丸め技法を適用することにより解釈されるべきである。

【0366】

なお、本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「a」、「an」、および「the」、ならびに任意の単語の任意の単数形使用は、明示的にかつ疑いの余地なく 1 つの指示対象に限定されていない限り、複数の指示対象を含むことに留意されたい。本明細書で 사용되는場合、「含む」という用語およびその文法的変化形は、リストにある項目の列挙が非限定的であることが意図されており、リストされている項目を置換またはそれらに追加することができる他の類似項目を除外しない。

【実施例】

【0367】

以下の実施例は、ある特定の公開の実施形態を説明するために提供されており、いかな

10

20

30

40

50

る点においても本開示の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。以下で論じる実施例では、上記で規定のサイトカインRNA混合物は、「混合物」、「サイトカイン混合物」、「組成物」、または「薬物」と同義的に呼ばれる場合もある。

【0368】

実施例1 - 単独療法としてのおよびセミプリマブと組み合わせたサイトカインRNA混合物の用量漸増および用量拡大。

全体的なデザイン：単剤としておよびセミプリマブと組み合わせて腫瘍内投与されるサイトカインRNA混合物の最大耐容量および最大投与量、安全性、耐容性、薬物動態、薬物動力学、ならびに抗腫瘍活性を評価するための、ヒトでの最初の非盲検用量漸増および拡大試験。

【0369】

参加者数：サイトカインRNA混合物が単剤として投与される場合、漸増期中の調査用量レベルに応じて、最大72人の参加者の登録が計画される。サイトカインRNA混合物をセミプリマブと組み合わせて投与する場合、漸増期中の調査用量レベルおよび拡大期中の各コホートの完了段階に応じて、最大192人の参加者の登録が計画される。合わせて、最大264人の参加者の登録が計画される。

【0370】

用量漸増期（単独療法）：用量漸増期では、正式なサンプルサイズの計算はない。サイトカインRNA混合物を、以前の抗PD-1もしくは抗PD-L1ベースの治療に失敗している進行固形腫瘍を有する患者、および／または抗PD-1が常用的に使用されない適応症に対して他の選択肢を有していない患者に投与する。最大38人の用量制限毒性（DLT）評価可能参加者を、予想評価が約8用量レベルである用量漸増期に登録する。実際のサンプルサイズは、観察されたDLTと実際に探求された用量レベルの数に応じて異なる。

【0371】

用量拡大期（単独療法）：拡大期ではサイモンの2段階デザインを使用し、以前の抗PD-1療法／抗PD-L1療法に失敗した進行黒色腫を有するおよそ34人の参加者を登録する。最初の16人の参加者を治療した後で中間分析を行い、少なくとも2人の参加者に応答が観察された場合、34人の参加者の完全サンプルサイズまで増加を継続する。

【0372】

用量漸増期（併用療法）：セミプリマブと組み合わせたサイトカインRNA混合物の用量漸増での実際のサンプルサイズは、観察されたDLTおよび実際に探索された用量レベルの数に応じて異なる（およそ18～36人のDLT評価可能参加者）

【0373】

用量拡大期（併用療法）：セミプリマブと組み合わせたサイトカインRNA混合物の拡大期ではサイモンの2段階デザインを使用し、進行黒色腫、CSCC、またはHNSCCを有する約156人の参加者を4つのコホートに登録する。サイモンの2段階デザインの段階1の終了時に各コホートの中間分析を実施する（コホートAは26人の患者、コホートBは14人の患者、コホートCは10人の患者、コホートDは26人の患者）。コホート（A、B、C、およびD）の登録はすべて並行して実施する。

【0374】

介入群および介入継続期間：参加者の試験継続期間は、最大28日間のスクリーニング期間を含む。スクリーニングが成功したら、参加者は、疾患が進行するまで、許容できないAEが生じるまで、参加者が治療中止を決断するまで、または疾患進行が生じない場合は最大1年間にわたって試験介入を受けることができる。単剤としてのおよびセミプリマブと組み合わせたサイトカインRNA混合物の継続は、毒性が合理的であり安全な様式で臨床的利益を明らかに引き出し続けている参加者の場合、1年を超える継続を試験委員会が個別に考慮することになる。試験介入を中止した後、参加者は、最終IMP投与のおよそ30日後、または参加者が別の抗がん療法を受ける前のいずれか早い方で、治療終了時評価のために試験施設に戻る。参加者が進行以外の理由で試験介入を中止した場合、疾患が

10

20

30

40

50

進行するまで、別の抗がん治療を開始するまで、または死亡するまで（いずれか早い方）3 か月毎に追跡調査来院を実施する。

【0375】

サイトカインRNA混合物および／またはセミプリマブから利益を得る参加者の予想治療継続期間は、進行日に基づき様々であり得るが；参加者1人当たりの予想治療継続期間中央値は、9 か月間（スクリーニングに1 か月間、治療に5 か月間、治療終了追跡調査に3 か月間）および併用療法では12 か月（スクリーニングに1 か月間、治療に8 か月間、および治療終了追跡調査に3 か月間）であると推定される。

【0376】

単独療法では、サイトカインRNA混合物を、4週間サイクルで週1回腫瘍内投与する（つまり、28日毎に4回の投薬）。併用療法では、サイトカインRNA混合物を週1回腫瘍内投与すると共に、セミプリマブを3週間サイクルの1日目に静脈内投与する（つまり、21日毎に、サイトカインRNA混合物を3回投薬し、セミプリマブを1回投薬する）。2回目の腫瘍評価まで腫瘍内注射を毎週継続し、2回目の腫瘍評価の時点では、サイトカインRNA混合物の投薬間隔を月2回または1回（単独療法の場合）または3週間毎（併用療法の場合）に変更することを考慮してもよく；また、利用可能なデータに応じて、サイトカインRNA混合物投与のより柔軟な投薬間隔を考慮してもよい。

【0377】

単独療法および併用療法における漸増期中のより高い用量レベルへの進行は、毒性に基づいて行う。また、中間用量を考慮してもよい。単独療法では、安全であると宣言された用量レベルで初期効能シグナルが見られたら、それを拡大して効能を確認してもよい。

【0378】

治験全体にわたって投薬省略または投薬遅延を行ってもよく；こうした改変の必要性は、用量制限毒性（DLT）の発生により決定される。参加者がDLTを経験したら、治療（単独療法または併用療法のいずれかでの）を中止し、グレード ≤ 1 または基線状態へと解消するまで追跡する。DLT観察期間中にDLTが観察された場合は、治験介入を完全に中止する。AEが、DLT基準を満たし、DLT観察期間後に生じた場合、個別にベネフィットリスク評価を行って、治療を継続するか否かを決定する。2週間を超えないサイトカインRNA混合物の投薬省略から回復した後（つまり、2投薬省略）、参加者は、同じまたはより低い用量レベルでの新しい治療サイクルで治療を再開することができ；より低い用量レベルで再投薬されるそのような参加者の場合、用量の再漸増は許可されない。参加者が同じAEを経験し、第2の2週間にわたる投薬省略（つまり、2回の投薬省略）に結び付いた場合、参加者の治験は恒久的に中止してもよい。セミプリマブが投与された参加者は、治療の過程全体にわたって割り当てられた用量（350mg Q3W）が維持され、安全性プロファイルのために必須要件であるとみなされない限り、セミプリマブの用量改変は許可されない。しかしながら、毒性のために必要とされる場合は、治療サイクルの遅延またはセミプリマブ投与の省略が許可される。参加者がセミプリマブ治療の中止に結び付くセミプリマブ輸注関連アレルギー性薬物反応を示す場合、参加者は、単独療法として割り当てられた用量レベルでのサイトカインRNA混合物治療を継続することができる。

【0379】

治験医薬品：サイトカインRNA混合物

- ・投与経路：腫瘍内注射
- ・投与計画：サイトカインRNA混合物は、割り当てられた投与量レベルで週1回28日間サイクルで4回注射される。

【0380】

治験医薬品：セミプリマブ

- ・製剤：セミプリマブ製剤は、10mMヒスチジン、5%（重量／容積）スクロース、1.5%（重量／容積）L-プロリン、および0.2%（重量／容積）ポリソルベート80を含むpH6.0の濃縮溶液（50mg/mL）として提供され、2つの異なる取出可能

10

20

30

40

50

量のいずれかが充填された10mL単回使用バイアルで提供される。

ー 5.0mL取出可能(250mg/バイアルに対応する)

ー 7.0mL取出可能(350mg/バイアルに対応する)

・投与経路：IV輸注用の溶液。

・投薬レジメン：350mgを1回の投与当たり30分かけてQ3Wで静脈内輸注する。

【0381】

併用コホートの場合、セミプリマブを、350mg Q3Wの固定推奨用量で静脈内投与し、続いてサイトカインRNA混合物を毎週腫瘍内投与する。セミプリマブおよびサイトカインRNA混合物の両方で治療する日では、セミプリマブを最初に投与し、続いてサイトカインRNA混合物を投与する(同じ日に)。

【0382】

非治験医薬品：事前に規定された前投薬は投与されない。

【0383】

治験薬剤への治験後のアクセス：本治験に登録された参加者はすべて、1年間にわたってまたは疾患が進行するまでのいずれか早い方で治療される。

【0384】

統計的考察：単独療法および併用療法のデータは、別々に分析される。併用療法では、用量拡大中に各コホートについて別々の分析を行う。

【0385】

a. 一次分析：

用量漸増(単独療法および併用療法)：用量漸増期では、DLTは用量レベル毎に要約される。DLTの詳細は参加者が提供する。治療中に発生したAE/SAEおよび治療実施期間中の検査異常は、記述統計を使用して用量レベル毎に要約される。

【0386】

用量拡大(単独療法および併用療法)：客観的奏功率(ORR)は、RECIST 1.1に従って記述統計で要約される。90%両側信頼区間は、Clopper-Pearson法を使用して算出する。統計的推論は、サンプルサイズ計算セクションで規定されている仮説およびアルファレベルに基づく。

【0387】

b. 二次エンドポイントの分析：

用量漸増(単独療法および併用療法)：サイトカインRNA混合物によりコードされたサイトカインの濃度およびPKパラメータならびにセミプリマブの濃度およびPKパラメータは、PKが評価されるサイクル中の記述統計と共に要約される。サイトカインRNA混合物によりコードされたサイトカインに対する抗薬物抗体(ADA)およびセミプリマブに対するADAは記述的に要約される。

【0388】

用量拡大(単独療法および併用療法)：治療中に発生したAE/SAEおよび治療実施期間中の検査異常は、記述統計を使用して要約される。RECIST 1.1およびiRECISTによるDoRおよびPFSは、 Kaplan-Meier法を使用して要約される。RECIST 1.1およびiRECISTによるDCR、ならびにiRECISTによるORRについては、RECIST 1.1によるORRと同様の分析が提供される。サイトカイン混合物によりコードされたサイトカインの濃度およびPKパラメータならびにセミプリマブの濃度およびPKパラメータは、PKが評価されるサイクル中の記述統計と共に要約される。サイトカインRNA混合物によりコードされたサイトカインに対するADAおよびセミプリマブに対するADAは記述的に要約される。

【0389】

図1Aは、治療の全体的デザインの説明図を示し(上段：単独療法；下段：併用療法)、図1Bおよび図1Cは、それぞれ単独療法および併用療法の治療スケジュールの説明図を示す。

【0390】

10

20

30

40

50

単独療法における用量漸増期は、単独療法として毎週投与されるサイトカインRNA混合物のMTDまたはMADを決定することを目的とする。(図1A、「a」)。毎週投与した固定用量のMTD/MADを、拡大期でさらに試験する。抗PD-1または抗PD-L1が失敗した後のステージIIIB～CまたはステージIVの黒色腫が適格である。含まれる参加者の数は、最初の16人の治療を受けた参加者で少なくとも2つの応答が観察された場合は、最大34人の参加者である。(図1A、「b」)。加速漸増期中は、サイクル1で観察された毒性の発生を、1コホート当たり1人の参加者で評価する。(図1A、「c」)。関連グレード ≥ 2 のAEまたはDLTの発生が、加速漸増DLのいずれか1つ(DL1またはDL2のいずれか早い方)で生じた後、またはDL3で始まった後、過量投与制御によるベジアン漸増を開始し、1コホート当たり少なくとも3人の参加者を評価する。(図1A、「d」)。用量漸増期が終了したら、拡大期で評価することになるMTD/MADを、安全性に基づいて決定する。(図1A、「e」)。

10

【0391】

併用療法での用量漸増期は、3週毎に1回IV投与されるセンプリマブと組み合わせて毎週投与されるサイトカインRNA混合物のMTDまたはMADを決定することを目的とする。単独療法において、用量レベルが安全であり耐受性であることが実証されたら(28日間のDLT観察期間に基づき)；PK、PDy、および/または臨床応答(全身および/または局所)の徴候が示されたら、進行中の単独療法用量漸増中に、センプリマブと組み合わせたサイトカインRNA混合物の用量漸増を開始する。併用漸増期を始めた後の併用で探索されるDLは、単独療法の場合と同じである。施設が、用量漸増期(つまり、試験の単独療法部分および併用療法部分の両方における用量漸増)の両方に参加している場合、試験の単独療法部分における用量漸増期が優先される。(図1A、「f」)。併用試験部分の拡大期では、MTDに達したら、以下のコホートを開始する。コホートA：抗PD-1/PD-L1失敗後の黒色腫、コホートB：黒色腫抗PD-1/PDL1未経験、コホートC：CSCC抗PD-1/PDL1未経験、コホートD：HNSCC抗PD-1/PDL1未経験。(図1A、「g」)。

20

【0392】

表2および表3は、単独療法の試験実施スケジュール(SOA)を示し、表2は、治療フローチャートを示し、表3は、用量漸増期および用量拡大期のPKおよびPDyフローチャートを示す。表4および表5は、併用療法の試験実施スケジュール(SOA)を示し、表4は治療フローチャートを示し、表5は用量漸増期および用量拡大期のPKおよびPDyフローチャートを示す。

30

【0393】

40

50

【表 7】

表 2: 治療実施スケジュール(SOA)および治療フローチャート - 単独療法

評価 ^a	スクリーニング	治療 ^b サイクル1 単独療法でのサイクル長 28 日								治療サイクル2およびそれ以降 単独療法でのサイクル長 28 日				EOT ^c	FU ^d
		1 週目	2 週目	3 週目	4 週目	1 週目	2 週目	3 週目	4 週目	1 週目	2 週目	3 週目	4 週目		
	初回投薬前の日数	D1	D2	D8	D9	D15	D16	D22	D23	D1	D2	D8	D15	D22	D24
選択基準(除外基準/インフォームドコンセント)	≤28														
デモグラフィックスおよび診療歴 ^e	≤28														
ECOG PS, 体重 ^g , 身長 ^g (基線のみ)	≤28	X		X		X		X		X		X		X	
生命徴候 ^f	≤7	X	X	X		X		X		X		X		X	
身体検査 ^g	≤7	X		X		X		X		X		X		X	
デジタル写真 ^h	≤7														
血清妊娠検査 ⁱ	≤7									X					
HBsAg & HCV 血清学(およびドイトン治療施設の参加者のみのHIV 検査)	≤28														
血液血液学 ^j	≤7	X		X		X		X		X		X		X	
凝固 ^k	≤7	X		X		X		X		X		X		X	
血清化学 ^l	≤7	X		X		X		X		X		X		X	
CRP/フェリチン ^m	≤28	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X ^m	X	X	X	X

デジタル写真は、X線撮影評価時点と対応していないなければならない

10

20

30

40

50

【表 8】

評価 ^a	スクリーニング	治療 ^b サイクル 1 単独療法でのサイクル長 28 日				治療 サイクル 2 およびそれ以降 単独療法でのサイクル長 28 日				EOT ^x	FU ^y				
		1 週目	2 週目	3 週目	4 週目	1 週目	2 週目	3 週目	4 週目						
	初回投薬前の日数	D1	D2	D8	D9	D15	D16	D22	D23	D1	D2	D8	D15	D22	D24
二次血漿サイトカイン ^m		X	X	X	X					X ^m	X ^m				X
12 誘導 EDG ⁿ	≤28	X								X ⁿ					X
Lugano 2014 分類による(本明細書を参照)															
骨髄生検/穿刺液。 首部、胸部、腹部、骨盤 FDG PET/CT, CT ^p	<28	FDG PET-CT/CT スキャンを、およそ 12 週毎におよび臨床的に適応される場合に行つて、CR または PD を 確認する(本明細書を参照)													
リンパ腫 B 症状の評 価	<28	疾患応答評価による													
尿検査 ^q	<28	X	X	X	X	X		X		X	X	X	X	X	X
尿バイオマーカー ^r		X ^t	X	X											
眼科検査 ^s	X														
有害事象評価 ^t	X	治療介入全体にわたつて継続													
併用薬剤 ^u		治療介入全体にわたつて継続													
治療薬物投与 ^v															
サイトカイン RNA 混合物		X		X		X		X		X		X	X	X	
腫瘍評価 ^w															
RECIST1.1 および iRECIST	≤28														X ^{w,y}
薬物動態(PK)															
サイトカイン RNA 混合物 PK 評価		詳細は単独療法 PK/PDy フローチャートを参照(表 3)													
薬物動力学															

10

20

30

40

50

評価 ^a	スクリーニング	治療 ^b サイクル1 単独療法でのサイクル長 28 日								治療サイクル2 およびそれ以降 単独療法でのサイクル長 28 日				EOT ^c	FUP ^d
		1 週目	2 週目	3 週目	4 週目	1 週目	2 週目	3 週目	4 週目	1 週目	2 週目	3 週目	4 週目		
薬物動力学(PDy) 評価	初回投薬前の 日数	D1	D2	D8	D9	D15	D16	D22	D23	D1	D2	D8	D15	D22	D24
詳細は単独療法 PK/PDy フローチャートを参照(表 3)															
免疫原性															
サイトカイン RNA 混合物によりコードされたサイトカインに対する抗体のための血液															
詳細は単独療法 PK/PDy フローチャートを参照(表 3)															

- a 評価評価は、別様の指示がない限り、試験薬物の投与前に実施する。結果は、次の用量の投与前に試験責任医師が審査する。免疫組織化学、ゲノム、RNA 配列決定、およびネオ抗原分析の場合は、腫瘍生検を収集する。
- b サイクルは 28 日間であり、サイトカイン RNA 混合物を単独療法として毎週腫瘍内投与する。
- c デモグラフィ:年齢、性別、人種、および民族を含む。診療歴/手術歴:以前の病理および外科手術の関連病歴を含む。病歴:診断時および試験登録時の病期、ならびに以前の抗腫瘍療法(タイプ、継続期間、中止の理由、および療法への応答)を含む。加えて、腫瘍タイプに応じて特定の突然変異。
- d 体重は、各サイクル初日の治療前に測定する。
- e 身長は、基線中においてのみ測定する。
- f 生命徴候としては、体温、血圧、心拍数、呼吸数が挙げられる。生命徴候は、各々の新しい用量レベルにおける CID1 中は入院期間各 24 時間中 6 時間毎にチェックしなければならない。その間、参加者は急性毒性を評価するためにモニターされる。
- g 身体検査は、心血管系、消化器系、中枢神経系、呼吸器系、造血系(肝腫大、脾腫大、リンパ節腫大)、および皮膚を含む。主要な身体系の検査を含む。兆候および症状は、最初の IMP 投与前に依然として存在している場合のみ、AE であると eCRF に報告される。
- h 適度な薬理学的効果(例えば、サイトカイン RNA 混合物を注射した腫瘍病変の発赤、浮腫、または扁平化)が DL3 後に生じると予想されることを考慮すると、カラードジタル写真(単利増の DL4 から開始し、併用増および拡大期中は最初の DL から開始することが必須である。デジタル写真は、サイトカイン RNA 混合物の初回投与前のスクリーニング時に、ならびに薬性およびまたは可視的な皮下注射病変の X 線撮影腫瘍評価時に撮影して、全体的な疾患状態を記録し、応答を記録することが必須である。加えて、皮膚発赤およびまたは浮腫など、サイトカイン RNA 混合物により誘発される可能性のある他の変化を捕捉するために、スクリーニング窓と腫瘍評価窓との間は、随機応変にカラードジタル写真を撮影しなければならない。臨床施設で収集されたものはすべて、治療リアレンスマニキュアルに従って審査するために試験依頼者と体系的に共有しなければならない。
- i 血清妊娠検査は、出産の可能性のある女性を対象に実施する。基線評価には 7 日間窓が許容可能である。

【表 10】

- j 血液血液学:ヘモグロビン、ヘマトクリット、WBC 分類(絶対好中球数[ANC]を含む)、血小板数。こうした試験は、各 IMP 投与の前にに行われる(-1 日窓が許容可能である)。グレード 4 の好中球減少症の場合、ANC $\geq 0.5 \times 10^9/L$ までは 2~3 日毎に、次いで回復するまでは毎週、ANC を評価する。サイクル 1 の 1 日目の評価は、基線において異常である場合、IMP 投与から 2 日以内に行われる。
- k 凝固:活性化部分トロンボプラスチン時間(aPTT)、PT、国際標準比(INR)、フィブリノゲン(およびスクリーニング時の D-二量体)。サイクル 1 の 1 日目の評価は、基線において異常である場合、IMP 投与から 2 日以内に行われる。
- l 血清化学:肝機能検査:AST、ALT、総ビリルビン、直接型ビリルビン、アルカリホスファターゼ(ALP)。腎機能検査:尿素または BUN & クレアチニン、および必要に応じて推定 GCL の決定(クレアチニンが $1.0 \sim 1.5 \times ULN$ の場合)。電解質:ナトリウム、カリウム、総カルシウム、リン、塩化物、マグネシウム、および重炭酸塩。その他:グルコース、乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)、アルブミン、総タンパク質、およびアミラーゼ。肝機能検査、腎機能検査、電解質、グルコース、LDH、アルブミン、および総タンパク質は、臨床的に適応しない限り、IMP 投与前に実施される(-1 日窓が許容可能である)。肝機能異常検査値がグレード ≥ 3 の場合、基線値に回復するまで 2~3 日毎に追加の検査を繰り返す。サイクル 1 の 1 日目の血清化学評価は、基線において異常である場合、IMP 投与から 2 日以内に行われる。
- m 指定の時点で、および CRS グレード ≥ 2 の症状が発生した場合に、血清 C 反応性タンパク質(CRP)、フェリチン、および二次血漿サイトカイン(インターロイキン-6 およびインターフェロン- α 、アルファを含む)を収集することになる。各治療介入(DI)の直前にならびにサイクル 1 中(各 1~4 週目)およびサイクル 3 の 1 週目の 24 時(D2)に、血清 CRP およびフェリチンサンプルを収集する。他の治療介入日では、投与前サンプルのみを収集する。グレード ≥ 2 の CRS 症状が現れる毎に、追加のサンプルを採取する。二次血漿サイトカインの定期的なサンプリングは、サイクル 1 および 3 ならびに EOT 時にのみ行われる。サイクル 1 の 1 週目および 2 週目ならびにサイクル 3 の 1 週目の投与前ならびにサイトカイン RNA 混合物投与の 6 時間後および 24 時間後に EOT 時に、ならびにグレード ≥ 2 の CRS 症状がある場合に、サンプルを収集する。
- n 12 誘導 ECG:スクリーニング時に、およびサイクル 1 の 1 日目、サイクル 3 の 1 日目、サイクル 7 の 1 日目の治療前に、および EOT 時に、および臨床的に適応される場合に行われる。
- o 骨髄穿刺液:リンパ腫を有する患者のみ。
- p FDG-PET-CT/CT:FDG PET は、Lugano 分類によるリンパ腫を有する患者にのみ適用可能であり、CR および PD を確認するために、IMP 投与から 28 日以内(-7 日間)およびおよそ 12 週毎(±7 日間)に、ならびに臨床的に適応する場合に実施される。
- q 尿検査:尿試験紙による早朝スポットに対する尿試験紙(定性的)検査を、基線時、各 IMP 投与前、および EOT 時に実施する。早朝スポット尿の白血球および赤血球に関する定量的尿検査は、基線時、奇数サイクル時、治療の終了時、および尿試験紙検査(定性的)に異常がある場合に実施する。タンパク尿 $\geq ++$ (尿試験紙)の場合、タンパク尿(24 時間尿)によるタンパク尿定量を実施する。
- r 尿バイオマーカー:腎臓傷分子-1(KIM-1)、尿中微量アルブミン、および尿中クレアチニン(スポット尿)を、サイクル 1 の 1 日目の投与前に(事前の 7 日間以内)が許容可能である。最初の IMP 投与 24 時間後に、および最初の IMP 投与後 8 日目の投与前に評価する。
- s シルマー検査を含む眼科検査を、基線時に、および療法中に眼症状がある場合に実施する。眼および視覚症状を各サイクルの 1 日目に評価する。
- t 有害事象評価:有害事象収集の観察期間は、インフォームドコンセントフォーム(ICF)に署名してから、治療薬物の最終投与の 30 日後にまで及ぶ。重度の有害事象は、プロトコールに記載の通りに評価および報告される。EOT 来院後、進行中の SAE および AESI、関連 AE、ならびに新しい関連 AE は、安定化するまで、回復するまで、またはさらなる療法を開始されるまで追跡されることになる。
- u 併用薬剤評価:併用薬剤は、治療薬物の初回投与の 14 日前から、治療薬物の最終投与の 30 日後まで、進行中の治療薬物関連有害事象が解決するまで、または別の抗がん療法を受ける時まで記録する。

10

20

30

40

50

【表 1 1】

- v 試験薬物投与:参加者は、本明細書に指定の通りの前投薬を受けていてもよい。サイクル1および1日目で用量レベルが新しくなる毎に、参加者を病院で少なくとも24時間モニターして急性毒性を評価する。その後の投与では、参加者は4〜6時間の観察を受け、場合により試験責任医師の裁量で最大24時間の入院が行われる。サイトカインRNA混合物は、サイクル1中は+/-1日の窓で、サイクル2からは+/-3日の窓で投与することができる。
- w 腫瘍評価:CT スキャンまたは磁気共鳴画像法(MRI)および最終サイクルが任意の場合には任意の他の検査を実施して、基線時(IMP 投与の28日+/-7日以内)、IMP投与後24日目までは8週毎に(-/+7日)、次いで12週毎に(+/-7日)、および最終サイクルが既に行われている場合を除き治験介入の終了時に、疾患状態を評価する。治験介入を中止した進行性疾患を有しない患者は、進行性疾患が記録されるまで12週毎に追跡する。腫瘍評価を繰り返して、部分奏功または完全奏功ならびに進行性疾患を確認する(最初に応答が記録されてから少なくとも4週間)。内臓/深部リンパ系病変を有していない参加者の場合、腹部および胸部の放射線腫瘍評価を、転移性疾患の臨床的兆候がない場合には24週目に、および最終サイクルがまだ行われていない場合はEOT時に実施する。臨床徴候がある場合、または検査異常、主に肝機能検査に異常がある場合、転移性疾患の可能性を除外するために、断続的な超音波検査(USG)または臨床的に適応される評価を行うことを考慮してもよい。
- x 治療の終了(最後の治療の30±5日後):治験の最後週中に実施されなかった場合、治療終了時評価を得る。
- y 疾患状態の治験後追跡調査:別の抗がん療法にまだ開始していない、治療来院の終了時に疾患進行が記録されていない参加者は、別の抗がん療法を開始、疾患進行、死亡、または治験締切日(いずれか早い方)まで3か月間の追跡調査来院を継続する。

【 0 3 9 4 】

10

20

30

40

50

【表 1 2】

表 3:用量漸増期および用量拡大期の PK および PDy フローチャート - 単独療法

サイクル	スクリーニング	サイクル 1 の 1 週目およびサイクル 3 の 1 週目										サイクル 1 (2 週目)				サイクル 1 (3,4 週目)		以降のサイクルの 1 週目		サイクル 1 の 1 週目の最初の投与後の週	サイクル 6	治療の終了	追跡調査
日		D1		D2	D3	D5/6	D8		D9	D10	D15, D22		D1	D1	5Wk	8Wk							
時間(時/分)=RNT		0H	1H	2H	6H	24H	48H	96/120H	0H	2H	6H	24H	48H	0H	8:00	8:00	8:00	10:00	14:00	8:00	14:00		
標準時計時間		8:00	9:00	10:00	14:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	10:00	14:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	14:00				
治療治療投与																							
サイトカイン RNA 混合物		X															X	X					
薬物動態																							
サイトカイン RNA 混合物にコードされたサイトカインの標的発現のための血液 ^a		X ^b	X	X	X ^b	X	X	X	X	X ^a	X	X	X ^c	X	X ^b	X ^b	X ^d	X ^d	X ^a	X ^a	X	X ^a	
薬物動力学																							
PDy サイトカインのための血液 ^e		X															X ^d	X ^d			X	X ^c	
HLA 型判定および遺伝子分析のための血液 ^e	X																						
抗原特異的 T 細胞のための血液 ^f	X																		X ^f		X		
免疫評価および RNA 配列分析のための腫瘍生検 ^g	X																		X ^g	X ^g			

10

20

30

40

50

【表 13】

サイクル	スクリーニング	サイクル1の1週目およびサイクル3の1週目										サイクル1(2週目)				サイクル1(3,4週目)		以降のサイクルの1週目		治療の終了	追跡調査		
		D1					D2		D3		D5/6		D8	D9	D10	D15, D22	D1	D1	以降のサイクルの1週目				
日	時間(時/分)=RNT	0H	1H	2H	6H	24H	48H	96/120H	0H	2H	6H	24H	48H	D15, D22	0H	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	5Wk	8Wk
表示時間	時間																						
免疫原性																							
サイクル1のRNA混合物によるコードされるサイトカインに対する抗体(ADA) ^a																							
a すべての登録参加者におけるサイトカイン RNA 混合物にコードされたサイトカインの標的発現を評価するために、サイクル1の1週目の投与前に、ならびにIMP 投与の1、2、6、24、48、および96、または120時間後にPKのための血液サンプルを収集する。用量増大期のサイクル1の2週目では、サンプルを投与前および投与の2、6、24、および48時間後に収集し、用量増大期では、サイクル1の2週目のサンプリングは、投与前、投与時、EOT時、および最初の追跡調査来院時にも収集される。さらなる情報は、治療マニキュアルに詳しく説明されている。第2の追跡調査来院後はPKサンプルを収集しない(本明細書参照)。																							
b PKの場合、サイクル3の1週目(つまり、最初の投与から9週目)では、サイクル1の1週目のスクリーンを繰り返す。サイクル3以降、PKサンプリングは、各奇数サイクルの1週目の0時および6時に行うことになる。サイクル3以降、利用可能なデータが十分であると考慮される場合、治療依順者に通知することにより奇数サイクルのPKサンプルを省略することができる。																							
c 免疫評価および免疫因子のための血液サンプルは、IFN γ およびIP10を含む全身性免疫調節を評価するために、投与前、サイクル1の1週目および2週目の6時および24時、EOT時、ならびにFU時に全参加者から収集する。さらなる情報は、治療マニキュアルに詳しく説明されている。																							
d サイクル3の1週目のみでは、免疫評価および免疫因子のためのサイクル1の1週目のサンプリングスケジュールを繰り返す。サイクル3以降、PDy サンプリングは、各奇数サイクルの1週目の0時および6時で行うことになる。治療の単独療法部分中の偶数サイクル中は、PDy サイトカインのための血液サンプリングを行わない。																							
e 遺伝子分析のための血液を使用して、生殖系DNA配列及びHLA型判定を確立する。																							
f 抗原特異的T細胞を分析するための血液サンプル(白血球アフェリシスまたは80mLの血液)は、サイクル1の1週目の投与前、サイクル2の2週目の投与前(つまり、サイクル1の投与5週間後)、およびEOT時に収集する。この分析は、単独療法増大期では黒色腫を有する参加者に対してのみ、単独療法増大期では全参加者(黒色腫)に対して行われることになる。																							

10

20

30

40

50

【表 1 4】

- g

免疫評価のための腫瘍生検・免疫調節を評価するため、スクリーニング期間中(サイクル1の11日目のIMP投与前、5週目〜8週目、およびサイクル6、または疾患進行時(いずれか早い方)に生検を収集する。また、サンプル入手可能性に応じて、腫瘍トランスクリプトミクス(RNA配列決定)、ゲノミクス、ネオ抗原、およびTIL単離(黒色腫患者では拡大期のみ)を実施してもよい(本明細書を参照)。黒色腫患者の場合のみ、5週目〜8週目に実施される単一の腫瘍コア生検は、TIL単離目的である。これは、限られた人数(TIL単離に成功した患者は10人以下が目標)の選択された黒色腫患者(単独療法の大群および併用療法大群の両方)に適用されます。このために追加の生検を行うことはなく、代わりにゲノムの評価目的のサンプルをTIL単離のために使用するようになる(ホルマリン固定ではない特殊な条件下で取り扱う)。この種類のサンプルおよび試験は、治療担当医師により決定される治療に対する応答の臨床的兆候(腫瘍サイズ退縮および/または腫瘍部位の発赤)を有する患者に適用される。
- h

サイトカイン RNA 混合物にコードされたサイトカインに対する抗体の発生のモニタリングのための血漿サンプルは、サイクル1、3、6、9、12の1日目の投与前、およびまたはEOT時、およびFU時(最終IMP投与後の90日目)に収集する。参加者が追跡調査来院を継続する場合、こうした時点以降の追加の収集は3か月毎である。第2の締切日後はADA サンプルを収集しない。

【 0 3 9 5 】

10

20

30

40

50

【表 15】

表 4: 治験実施スケジュール(SOA)および治療フローチャート - 単独療法

評価 ^a	スクリーニング	治療 ^b サイクル 1 併用療法でのサイクル長 21 日						治療 サイクル 2 およびそれ以降 併用療法でのサイクル長 21 日			EOT ^{bb}	FU ^{was}
		1 週目	2 週目	3 週目	1 週目	2 週目	3 週目	1 週目	2 週目	3 週目		
	初回投薬前の 日数	D1	D2	D8	D9	D15	D16	D1	D2	D8	D15	
選択基準/除外基準/インフォームドコン セント	≤28											
デモグラフィックスおよび診療歴/病歴 ^c	≤28											
ECOG PS, 体重 ^d , 身長 (基線のみ)	≤28	X		X		X		X		X	X	
生命徴候 ^e	≤7	X	X	X		X		X		X	X	
身体検査 ^g	≤7	X		X		X		X		X	X	
デジタル写真 ^h	≤7	デジタル写真は、X 線撮影評価時点に対応していなければならない										
血清妊娠検査 ⁱ	≤7							X			X	
HBsAg & HCV 血清学 (およびドイツ研究 施設の参加者のみの HIV 検査)	≤28											
血液血液学 ^j	≤7	X		X	X	X		X		X	X	
凝固 ^k	≤7	X		X	X	X		X		X	X	
血清化学 ^l	≤7	X		X	X	X		X		X	X	
TSH/遊離 T4/ANA/RF ^m	≤7	X						X			X	X
TMB ⁿ	≤7											
CRP/フェリチン ^o	≤28	X	X	X	X	X	X	X	X ^o	X	X	
二次血漿サイトカイン ^p		X	X	X	X			X ^o	X ^o		X	
12 誘導 ECG および心エコー図または MUGA スキャン ^p	≤28	X						X ^p			X	
肺機能検査 ^q												
骨髄生検/穿刺液 ^r	≤28											
Lugano 2014 分類による (本明細書を参照)												

10

20

30

40

50

【表 16】

評価 ^a	スクリーニング	治療 ^b サイクル 1 併用療法でのサイクル長 21 日						治療 サイクル 2 およびそれ以降 併用療法でのサイクル長 21 日			EOT ^{bb}	FU ^{wcc}	
		1 週目	2 週目	3 週目	1 週目	2 週目	3 週目	1 週目	2 週目	3 週目			
	初回投薬前の 日数	D1	D2	D8	D9	D15	D16	D1	D2	D8	D15		
首部,胸部,腹部,骨盤 FDG PET/CT,CT ^s	≤8	FDG PET-CT/CT スキャンを、およそ 12 週毎におよび臨床的に適応される 場合に行って、CR または PD を確認する(本明細書を参照)											
リンパ ^g 腫 B 症状の評価	≤8	疾患応答評価による											
尿検査 ^t	≤8	X	X	X		X		X	X	X	X	X	
尿 ^h バイオマーカー ^u		X ^u	X	X									
眼科検査 ^v	X												
有害事象評価 ^w	X	試験介入全体にわたって継続											
併用薬剤 ^x		試験介入全体にわたって継続											
試験薬物投与													
サイトカイン RNA 混合物 ^y		X		X		X		X	X	X	X		
セミブリマブ(併用) ^y		X						X					
腫瘍評価 ^{aa}													
RECIST1.1 および iRECIST	≤8												X ^{aa,bb}
薬物動態													
サイトカイン RNA 混合物 PK 評価		詳細は併用療法 PK/PDy フローチャートを参照,表 5											
セミブリマブ PK 評価		詳細は併用療法 PK/PDy フローチャートを参照,表 5											
薬物動力学													
薬物動力学評価		詳細は併用療法 PK/PDy フローチャートを参照,表 5											
免疫原性													
サイトカイン RNA 混合物によりコード されたサイトカインに対する抗体のため の血液		詳細は併用療法 PK/PDy フローチャートを参照,表 5											
セミブリマブに対する抗体のための血液		詳細は併用療法 PK/PDy フローチャートを参照,表 5											

10

20

30

40

50

- a 評価評価は、別様の指示がない限り、治療薬物の投与前に実施される。結果は、次の用量の投与前に治験責任医師が審査する。免疫組織化学、ゲノム、RNA 配列決定、およびネオオ抗原分析のために腫瘍生検を収集する
- b セミブリマブとの組合せでは、サイクルは21日であり、サイトカインRNA 混合物を腫瘍内に毎週投与し、セミブリマブを350mg の固定用量で3週毎に1回静脈内投与する。
- c デモグラフィー:年齢、性別、および人種を含む。診療歴(手術歴以前の病理および外科手術の関連病歴を含む)。病歴:診断時および治験登録時の病期、および以前の抗腫瘍療法(タイプ、継続期間、中止の理由、および療法への応答)を含む。加えて、腫瘍タイプに応じた特定の突然変異。
- d 体重は、各サイクル初日の治療前に測定する。
- e 身長は、基線中においてのみ測定する。
- f 生命徴候としては、体温、血圧、心拍数、呼吸数が挙げられる。加えて、パルスオキシメトリを、治験の併用療法部分の参加者の基線と評価する。生命徴候は、各々の新しい用量レベルにおけるCID1 中は各24時間入院期間中6時間毎にチェックする。その間、参加者は急性毒性を評価するためにモニターされる。パルスオキシメトリは、24時間入院患者入院期間中は必要ではない。
- g 身体検査は、心血管系、消化器系、中枢神経系、呼吸器系、造血系(肝腫大、脾腫大、リンパ節腫大)、および皮膚を含む。主要な身体系の検査を含む。兆候および症状は、最初のIMP 投与時に依然として存在している場合にのみ、AE であるとeCRF に報告される。
- h 適度な薬理学的効果(例えば、サイトカインRNA 混合物を注射した腫瘍病変の発赤、浮腫、または扁平化)がDL3 後に生じると予想されることを考慮すると、カラーデジタル写真は、単剤増強のDL4 から開始し、併用増強および増大期中は最初のDL から開始することが必須である。デジタルRNA 混合物の初回投与前のスクリーニング時に、ならびに表在性およびまたは可視的な皮下注射病変のX 線撮影腫瘍評価時に撮影して、全体的な疾患状態を記録し、応答を記録することが必須である。加えて、皮膚発赤およびまたは浮腫など、サイトカインRNA 混合物により誘発される可能性のある他の変化を捕捉するために、スクリーニング窓と腫瘍評価窓との間には、臨機応変にカラーデジタル写真を撮影しなければならぬ。臨床施設で収集されたものはすべて、治験リファレンスマニュアルに従って審査するために治験依頼者と体系的に共有される。
- i 血清妊娠検査は、出産の可能性のある女性を対象に実施する。基線評価には7日間窓が許容可能である。
- j 血液血液学:ヘモグロビン、ヘマトクリット、WBC 分類(絶対好中球数[ANC]を含む)、血小板数。こうした試験は、各IMP 投与の前に行われる(1日窓が許容可能である)。グレード4 の好中球減少症の場合、ANC $\geq 0.5 \times 10^9/L$ までは2~3日毎に、次いで回復するまでは毎週、ANC を評価する。サイクル1 の1日目の場合、IMP 投与から2日以内に行われる。
- k 凝固(1日窓が許容可能である)活性部分(プロトロンボラスチン時間(aPTT)、PT、国際標準化(INR)、フィブリノゲン(およびスクリーニング時のD-二量体)、サイクル1 の1日目の評価は、基線において異常である場合、IMP 投与から2日以内に行われる。
- l 血清化学(1日窓が許容可能である)肝機能検査:AST、ALT、総ビリルビン、直接型ビリルビン、アルカリホスファターゼ(ALP)。腎機能検査:尿素またはBUN&クレアチニン、および必要に応じて推定CrCL の決定(クレアチニンが $1.0 \sim 1.5 \times ULN$ の場合)。電解質:ナトリウム、カリウム、総カルシウム、リン、塩化物、マグネシウム、重炭酸塩、および尿酸。その他:グルコース、乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)、アルブミン、総タンパク質、電解質、グルコース、LDH、アルブミン、および総タンパク質は、臨床的に適応しない限り、IMP 投与前に実施される(1日窓が許容可能である)。肝機能異常検査値がグレード ≥ 3 の場合、基線値に回復するまで2~3日毎に追加の検査を繰り返す。サイクル1 の1日目の血清化学評価は、基線において異常である場合、IMP 投与から2日以内に行われる。
- m セミブリマブ投与の安全性については、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、遊離チロキシン(遊離T4)抗核抗体(ANA)、およびリウマチ因子(RF)を評価する。
- n 腫瘍突然変異負荷(TMB)は、治療の併用療法部分の参加者に対してのみ基線で評価する。
- o 指定の時点で、およびCRS グレード ≥ 2 の症状が発生した場合に、血清C反応性タンパク質(CRP)、フェリチン、および二次血漿サイトカイン(インターロキン-6およびインターフェロニン- γ を含む)本明細書を参照)を収集する。各治療介入(D1)の直前にならびにサイクル1 中(各1~3週目およびサイクル3 の1週目中の24時(D2))に、血清CRP およびフェリチンサンプルを収集する。他の治療介入日では、投与前サンプルのみを収集し、グレード ≥ 2 のCRS 症状が現れる毎に、追加のサンプルを採取する。二次血漿サイトカインの定期的なサンプリングは、サイクル1 および3ならびにEOT 時にのみ行われる。サイクル1 の1週目および2週目ならびにサイクル3 の1週目の投与前ならびにサイクル1 インRNA 混合物投与の6時間後および24時間後にEOT 時にならびにグレード ≥ 2 のCRS 症状がある場合に、サンプルを収集する。
- p 12誘導ECG:スクリーニング時に、およびサイクル1 の1日目、サイクル3 の1日目、サイクル7 の1日目の治療前に、およびEOT 時に、ならびに臨床的に適応される場合に、心エコー検査またはMUGA スキャンはスクリーニング時でのみ行われる。

10

20

30

40

50

- q 以前にブレオマイシンで治療されたリンパ腫を有する参加者に対して、一酸化炭素の肺拡散能(DLCO)を基線において実施する。
- r 骨髄穿刺液:リンパ腫を有する患者のみ。
- s FDG-PET-CT/CT:FDG PET は、Lugano 分類によるリンパ腫を有する患者にのみ適用可能であり、CR およびPD を確認するために IMP 投与から 28 日以内(+7 日間)およびおよそ 12 週毎(+7 日間)に、ならびに臨床的に適応する場合に実施される。
- t 尿検査:尿試験紙による早朝スボットに対する尿試験紙(定性的)検査を、基線時、各 IMP 投与前、およびEOT 時に実施する。早朝スボット尿の白血球および赤血球に関する定量的尿検査は、基線時、奇数サイクル時、治療の終了時、および尿試験紙検査(定性的)に異常がある場合に実施する。タンパク尿 $\geq$ ++(尿試験紙)の場合、タンパク尿/24 時間尿によるタンパク尿定量化を実施する。
- u 尿バイオマーカー:腎臓傷分子-1(KIM-1)、尿中微量アルブミン、および尿中クレアチニン(スボット尿中)、サイクル1 の1 日目の投与前に(事前の7 日間以内が許容可能である)、最初の IMP 投与 24 時間後に、および最初の IMP 投与後 8 日目の投与前に評価する。
- v シルマー検査を含む眼科検査を、基線時に、および療法中に眼症状がある場合に実施する。眼症状および視覚症状を各サイクルの1 日目に評価する。
- w 有害事象評価:有害事象収集の観察期間は、インフォームドコンセントフォーム(ICF)に署名してから、治療薬物の最終投与 30 日後にまで及ぶ。重度の有害事象は、プロトコールに記載の通りに評価および報告される。EOT 来院後、進行中の SAE および AESI、関連 AE、ならびに新しい関連 AE は、安定化するまで、回復するまで、またはさらなる療法が開始されるまで追跡されることになる。サイトカイン RNA 混合物+セミプリマブによる治療終了(EOT)後、別の IMP によるその後の臨床試験にまだ登録されていないか、または任意の他の標準治療法を受けたことがある治療参加者は、以下の治療手順に従って2 週間毎に腎臓傷について継続的なモニタリングを受ける。腎機能検査(尿素または BUN&クレアチニン、および必要に応じて)クレアチニンが 1.0~1.5 $\times$ ULN の場合(推定 CrCL の決定)、尿検査(定性的尿検査紙検査で異常があった場合、早朝スボット尿の白血球および赤血球の定量的尿検査を実施する)。タンパク尿 $\geq$ ++(尿試験紙)の場合、タンパク尿/24 時間尿によるタンパク尿定量化を実施し、投与前の 8 日目以降の尿バイオマーカー(腎臓傷分子-1(KIM-1)、尿中アルブミン対クレアチニン比)を、最初の IMP 投与後に試験する。
- x 併用薬剤評価:併用薬剤は、治療薬物の初回投薬の 14 日前から、治療中の治療薬物関連有害事象が解決するまで、または別の抗がん療法を受ける時まで記録する。
- y サイトカイン RNA 混合物の投与参加者は、治療プロトコールで指定の通りに前投薬を受けることができる。サイクル1 および1 日目において用最レベルが新しくなる毎に、参加者を病院で少なくとも 24 時間モニターして急性毒性を評価する。その後の投与では、参加者は4~6 時間の観察を受け、場合により治療責任医師の裁量で最大 24 時間の入院が行われる。同時投与日では、セミプリマブ投与完了後にサイトカイン RNA 混合物を投与する。サイトカイン RNA 混合物は、サイクル1 中は+/-1 日の窓で、サイクル2 から +/-3 日の窓で投与することができる。
- z セミプリマブは、治療の併用療法部分では3 週間サイクルでサイトカイン RNA 混合物と組み合わせ投与される。脚注3 に記載されている通り、セミプリマブは、サイトカイン RNA 混合物の前に投与される。
- aa 腫瘍評価:CT スキャンまたは磁気共鳴画像法(MRI)および臨床的に適応される場合は任意の他の検査を実施して、基線時(IMP 投与の 28 日 +/-7 日以内)、IMP 投与後 24 週目までは9 週毎に(+/-7 日)、次いで12 週毎に(+/-7 日)、および最終サイクルが既に行われている場合を除き治療介入の終了時に、疾患状態を評価する。治療介入を中止した進行性疾患を有しない患者は、進行性疾患が記録されるまで12 週毎に追跡する。腫瘍評価を繰り返して、部分奏功または完全奏功ならびに進行性疾患を確認する(最初に応答が記録されてから少なくとも 4 週間)。内臓深部リンパ病変を有していない参加者の場合、腹部および胸部の放射線腫瘍評価を、転移性疾患の臨床的兆候がない場合は24 週目に、最終サイクルがまだ行われていない場合は EOT 時に実施する。臨床徴候がある場合、または検査異常、主に肝機能検査に異常がある場合、転移性疾患の可能性を除外するために、断続的な超音波検査(USG)または臨床的に適応される評価を行うことを考慮してもよい。
- bb 治療の終了(最後の治療の 30 $\pm$ 5 日後):治療の最後週中に実施されなかった場合、治療終了時評価を得る。
- cc 疾患状態の治験後追跡調査:別の抗がん療法による治療をまだ開始していない、治療終了来院時に疾患進行が記録されていない参加者は、別の抗がん療法の開始、疾患進行、死亡、または治療断切日(いずれか早い方)まで3 か月間の追跡調査来院を継続する。

【表 19】

表 5: 用量漸増期および用量拡大期の PK および PDy フローチャート - 併用療法

サイクル	スクリーン ング	サイクル1の1週目およびサイクル3の1週目	サイクル1の2週目										サイクル1の3週目	サイクル2の1週目 (およびサイクル3以降 のその後の奇数サイク ルの1週目)	サイクル1の 1週目の最初の 投与後の週		EOT	FU
			D1					D8	D9	D15	SOI	EOI			0H	6H		
			SOI	EOI	0H	1H	2H	6H	D2	D3								
時間(時/ 分)-RNT																		
標示時間		7:30	8:00	8:00	9:00	10:00	14:00	8:00	8:00	8:00	8:00	14:00	8:00	7:30	8:00	8:00	14:00	
治療投与 ^a																		
サイトカイン RNA 混合物			X								X				X ^a			X ^a
セミプリマブ(併 用) ^a	X													X ^a				X ^a
薬物動態																		
密間隔サンブリ ンニングサブセット: サイトカイン RNA 混合物に コードされている サイトカイン の標的発現のため血液 ^b																		
			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X ^b	X ^b	X ^b	X	X

【表 20】

サイクル 日	スク リーニ ング	サイクル1の1週目およびサイクル3の1週目										サイクル1の 2週目				サイクル1の3週目		サイクル2の1週目 (およびサイクル3以降 のその後の奇数サイク ルの1週目)				サイクル1の 1週目の最初の週 の投与後の週		EOT	FU					
		D1			D2			D3		D5/6		D8		D9		D15		D1		5Wk		8Wk								
		SOI	EOI	0H	1H	2H	6H	24H	48H	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00	8:00			8:00				
時間(時/分)=RNT																														
標準時計時間																														
疎間隔サブプリ ングサブセット: サイトカイン RNA 混合物に コードされたサ イトカインの標 的発現のための 血液 ^c																														
密間隔サブプリ ングサブセット: セミサブマップの ための血液 ^d																														
疎間隔サブプリ ングサブセット: セミサブマップの ための血液 ^d																														
薬物動力学																														
PDy サイトカイ ンのための血液 ^f																														
HLA 型判定およ び遺伝子分析の ための血液 ^h	X																													
腫瘍生検	X ⁱ																													

10

20

30

40

50

【表 2 1】

サイクル 日	スク リー ン グ	サイクル1の1週目およびサイクル3の1週目												サイクル1の 2週目				サイクル 1の1週目 3週目		サイクル2の1週目 (およびサイクル3以降 のその後の奇数サイク ルの1週目)				サイクル1の 1週目の最初の 投与後の週		サイク ル6	EOT	FU	
		D1				D2	D3	D5%	D8				D9	D15	D1				5Wk	8Wk									
		SOI	EOI	0H	1H	2H	6H	24H	48H	96/120H	0H	6H	24H	0H	SOI	EOI	0H	6H											
時間(時/分)-RNT																													
標準時計時間																													
抗原特異的 T 細胞のための血液 (コホート A のみ)	X																							X ^j				X	
RNA 配列決定のための血液サン プリング ^k	X			X							X					X											X	X	X
免疫原性																													
サイトカイン RNA 混合物により コードされた サイトカインに 対する抗体 (ADA) ^l																											X ^l	X	X ^l
セミブリマブに 対する抗体 ^m																											X ^m	X	X ^m

略語: SOI: セミブリマブ輸注の開始; EOI: セミブリマブ輸注の終了

- a サイトカイン RNA 混合物は、3 週間サイクルで毎週投与する。セミブリマブは、治療の併用療法部分においてサイトカイン RNA 混合物と組み合わせて 3 週間サイクルで投与する(つまり、セミブリマブの投与日は、サイクル1の1日目、サイクル2の1日目、およびそれ以降である)。同時投与日では、セミブリマブを最初に静脈内投与し、続いてサイトカイン RNA 混合物を腫瘍内投与することになる。
- b サイトカイン RNA 混合物 PK の場合、併用療法漸増期では、すべての参加者が密間隔サンプリングを受ける。拡大期コホート A、B、C、および D では、各コホートの最初の 10 人の参加者のみが、密間隔サンプリングを受ける(本明細書を参照)(拡大期の残りの参加者は、疎間隔サンプリングを受ける)。サイクル3以降、PK サンプリングは、各奇数サイクルの1週目の0時および6時、最初の投与後の5週目〜8週目、およびサイクル6で行われ、PK サンプリングは、腫瘍生検の直前に行われる。他のサイクル中はサンプリングを行わない。サンプルは、EOT 時および最初の追跡調査来院時にも収集される。さらなる情報は、治療検査マニュアルに詳しく説明されている。第2の治療締切日後は PK サンプルを収集しない。

10

20

30

40

50

【表 2 2】

- c サイトカイン RNA 混合物 PK の場合、疎間隔サンプリングは、併用療法拡大期コホート A、B、C、および D の最初の 10 人の参加者に続く参加者に対してのみ行う。サイクル 3 以降、PK サンプリングは、各奇数サイクルの 1 週目の 0 時および 6 時最初の投与後の 5 週目～8 週目およびサイクル 6 で行われ、PK サンプリングは、腫瘍生検の直前に行われる。他のサイクル中はサンプリングを行わない。サンプルは、EOT 時および最初の追跡調査来院時にも収集される。第 2 の治療締切日後は PK サンプルを収集しない。
- d 参加者が密間隔サンプリング PK サブセットに含まれている場合、密間隔サンプリングのスケジュールに従い、参加者が密間隔サンプリングサブセットの一部ではない場合、疎間隔サンプリングのスケジュールに従う。併用療法治療部分のセミブリマブ PK は、サイクル 1 の 1 週目、サイクル 2 の 1 週目、およびその後のすべての奇数サイクルで測定される。サイクル 3 中は、SOI および EOI でのみセミブリマブのための血液を収集する。SOI サンプルの場合はすべて、セミブリマブ PK サンプルは、厳密にセミブリマブ輸注開始前(15 分以内)に収集する。EOI サンプルの場合はすべて、セミブリマブのための血液は、セミブリマブ輸注が実際に終了する直前(5 分以内)に収集する。
- e 患者がサイクル 1 の終了時に治療を離脱する場合に備えて、セミブリマブの 2 回目の輸注を投与しない場合でも、セミブリマブサンプルのためにサイクル 2 の 1 日(0 時)の輸注前血液を収集する。
- f 免疫評価および循環因子のための血液サンプルは、IFN γ および IP10 を含む全身性免疫調節剤を評価するために、投与前、サイクル 1 の 1 週目および 2 週目の 6 時および 24 時、EOT 時、ならびに FU 時に全参加者から収集する。さらなる情報は、治療検査マニュアルに詳しく説明されている。
- g サイクル 3 の 1 週目のみでは、免疫評価および循環因子のためのサイクル 1 の 1 週目のサンプリングスケジュールを繰り返す。サイクル 3 以降、PDy サンプリングは、各奇数サイクルの 1 週目の 0 時および 6 時で行うことになる。PDy サイトカインサンプルのための血液は、サイクル 2 中も、いかなる偶数サイクルでも収集しない。
- h 遺伝子分析のための血液は、生殖系列 DNA 配列及び HLA 型判定を確立するために使用する。
- i 免疫評価のための腫瘍生検免疫調節剤を評価するため、スクリーニング期間中(サイクル 1 の 1 日目の IMP 投与前)、5 週目～8 週目、およびサイクル 6、または疾患進行時(いずれか早い方)に対する腫瘍生検を収集する。また、サンプルの入手可能性に応じて、腫瘍トランスクリプトミクス(RNA 配列決定)、ゲノミクス、ネオ抗原、および TIL 単離を実施してもよい。黒色腫患者の場合のみ、拡大中、5 週目～8 週目に実施される単一の腫瘍コア生検は、TIL 単離目的である。これは、限られた人数の選択された黒色腫患者(TIL 単離に成功した患者は 10 人以下が目標)に適用される。このために追加の生検は行わないが、代わりにゲノムの評価目的のサンプルを TIL 単離のために使用する(ホルマリン固定ではない特殊な条件下で取り扱う)。この種類のサンプルおよび生検は、治療担当医師により決定される治療に対する応答の臨床的兆候(腫瘍サイズ退縮およびまたは腫瘍部位の発赤)を有する患者に適用される。腫瘍入手可能性および医学的実現可能性に応じて、腫瘍生検はすべての参加者に義務付けられる。さらなる情報は、治療マニュアルに提供されている。
- j 抗原特異的 T 細胞分析のための血液サンプル(白血球アフェレーシスまたは 80mL の血液)は、コホート A(黒色腫 PD-1/PD-L1 不応性)では、拡大期のみにおいて、サイクル 1 の 1 週目の投与前、サイクル 2 の 3 週目の投与前、サイクル 1 の 1 週目の初回投与の 5 週間後、および EOT 時に収集する。
- k RNA 配列決定のための血液サンプリング:末梢血を使用して検査用の RNA を抽出する。
- l サイトカイン RNA 混合物にコードされたサイトカインに対する ADA の発生をモニターするためのサンプリングは、サイクル 1、5、9、13、17 の輸注前、およびまたは EOT 時、および最終 IMP 投与後 90 日目に収集する。参加者が追跡調査来院を継続する場合、こうした時点以降の追加の収集は 3 か月毎である。第 2 の締切日後は ADA サンプルを収集しない。
- m セミブリマブに対する抗体の発生をモニターするためのサンプルは、サイクル 1(基線)の輸注前、およびサイクル 5、9、13、17 の輸注前、EOT 時、および FU 時に収集する。ADA サンプルを保管し、治療の終了時まで分析してもよい。免疫関連有害事象、即時治療を必要とする過敏反応、およびまたはアナフィラキシーが参加者に発生した場合、可能であれば、血清中の機能的セミブリマブ濃度の分析およびセミブリマブに対する ADA 評価のために、事象の発症および完了の時点または時点付近で血液サンプルを収集する。

10

20

30

40

【0397】
治療の目的およびエンドポイントを表 6 に示す。
【0398】

50

【表 2 3】

表 6:目的およびエンドポイント

目的	エンドポイント
一次	
用量漸増(単独療法):以前の抗PD-1もしくは抗PD-1ベースの療法に失敗した進行固形腫瘍を有する患者および/または抗PD-1が常用的に使用されない適応症に対して他の治療選択肢を有していない患者に単独療法として腫瘍内投与した際の、サイトカインRNA混合物の最大耐容量(MTD)または最大投与用量(MAD)ならびに全体的安全性および耐容性プロファイルを決定すること。	治療の最初の28日間にDLTが発生する。 MTDは、治療の最初の28日間の真のDLT率が16%~33%の目標範囲内であり、真のDLT率が33%を超える確率が0.25未満である最も高い用量レベルであると規定される。DL8を上回る用量は試験せず、このMADが安全である場合、それをMTDみなすことになる。 有害事象(AE)/重度有害事象(SAE)および検査異常。
用量拡大(単独療法):以前の抗PD-1または抗PD-L1ベースの療法に失敗した進行黒色腫を有する患者に単独療法で腫瘍内投与されるサイトカインRNA混合物の客観的奏効率を決定すること。	客観的奏効率(ORR)は、RECIST 1.1に従って抗腫瘍応答情報を評価することにより評価する。
用量漸増(併用療法):進行固形腫瘍を有する患者に3週毎1回(Q3W)静脈内投与される固定用量のセミプリマブ350mgと組み合わせて腫瘍内投与した際のサイトカインRNA混合物の最大耐容量(MTD)または最大投与用量(MAD)ならびに全体的安全性および耐容性プロファイルを決定すること。	治療の最初の28日間にDLTが発生する。 MTDは、治療の最初の28日間の真のDLT率が16%~33%の目標範囲内であり、真のDLT率が33%を超える確率が0.25未満である最も高い用量レベルであると規定される。セミプリマブとの組合せでDL8を上回る用量は試験せず、このMADが安全であると見出された場合、それをMTDみなす。有害事象(AE)/重度有害事象(SAE)および検査異常。
用量拡大(併用療法):黒色腫、皮膚扁平上皮癌(CSCC)、または頭頸部扁平上皮癌(HNSCC)を有する患者にQ3Wで静脈内投与される固定用量のセミプリマブ350mgと組み合わせて腫瘍内投与されるサイトカインRNA混合物の客観的奏効率を決定すること。	客観的奏効率(ORR)は、RECIST 1.1に従って抗腫瘍応答情報を評価することにより評価する。

10

20

30

40

50

【表 2 4】

二次	
用量漸増および用量拡大(単独療法および併用療法):単独療法としておよびセミプリマブと組み合わせで投与される、混合物によりコードされたサイトカインの薬物動態(PK)プロファイルの特徴付けること。サイトカインRNA混合物と組み合わせたセミプリマブのPKプロファイルの特徴付けること。 用量漸増および用量拡大(単独療法および併用療法):単独療法としておよびセミプリマブと組み合わせで投与した際の、サイトカインRNA混合物によりコードされたサイトカインの免疫原性を評価すること;ならびに併用療法におけるセミプリマブの免疫原性を評価すること。 用量拡大(単独療法および併用療法):進行黒色腫を有する患者において単独療法として、ならびにHNSCC、CSCC、および黒色腫においてセミプリマブとの併用治療として腫瘍内投与した際のサイトカインRNA混合物の安全性を特徴付けること。 用量拡大(単独療法および併用療法):単独療法の場合の、およびセミプリマブと組み合わせた場合の、サイトカインRNA混合物の病勢コントロール率(DCR)、奏功期間(DoR)、および無進行生存(PFS)を決定すること。 用量漸増(単独療法および併用療法):単独療法の場合の、および拡大期ではセミプリマブと組み合わせた場合のサイトカインRNA混合物の推奨用量を決定すること。	サイクル1の1週目およびサイクル3の1週目の、RNA混合物によりコードされたサイトカインのCmaxおよびAUC;各サイクルにおけるIMP投与前の、RNA混合物によりコードされたサイトカインのCtrough。 混合物によりコードされたサイトカインに対するヒト抗体を、治験介入の終了までおよび追跡調査中に評価することになる。 AE/SAEおよび検査異常。 DCR、DoR、およびPFSは、RECIST 1.1およびiRECIST基準に従って評価し;ORRは、iRECIST基準に従って評価する。 ベイズモデルにより規定されるMTD/MAD、全体的安全性、活性、およびPK/PDyデータに基づく推奨用量。
三次/探索的	
用量漸増(単独療法および併用療法):RECIST 1.1およびiRECIST基準に従ってサイトカインRNA混合物の抗腫瘍活性を評価することにより予備的臨床利益を評価すること。	予備的臨床的利益は、RECIST 1.1およびiRECIST基準に従ってサイトカインRNA混合物単独療法の抗腫瘍応答を評価することにより評価する。ORRおよびDCRの評価のために、参加者の完全奏効(CR)、部分奏効(PR)、最良奏効としての安定疾患または進行性疾患などの奏効のカテゴリーを得る。

10

20

30

40

50

【表 2 5】

用量漸増期および用量拡大(単独療法および併用療法): サイトカイン、ケモカイン、および他の可溶性タンパク質を含む循環因子の変化を測定することにより、末梢血中のサイトカインRNA混合物の免疫調節関連薬物動力学(PDy)効果を評価すること、ならびに臨床パラメータと相関付けること。	サイクル1およびその後のサイクル中の治療前および治療後に血液サンプルを収集して、免疫調節関連薬物動力学(PDy)効果(例えば、IFNγおよびIP10)を評価し、循環サイトカインのパネルを測定して安全性をモニターし、臨床パラメータと相関させる。	10
用量漸増および用量拡大(単独療法および併用療法): トランスクリプトームプロファイルおよび腫瘍免疫浸潤の治療関連変化を、それぞれRNA配列決定(RNAseq)および免疫組織化学(IHC)により評価する。	腫瘍生検を治療前および治療後に収集して、以下を規定する: ・ RNA配列決定による遺伝子発現プロファイルおよび腫瘍抗原発現の変化 ・ IHCによる、腫瘍微小環境における免疫細胞のタイプ、量、および位置の変化 ・ ELISPOTによる、発現サイトカインの発現の変化	20
用量漸増および用量拡大(単独療法および併用療法): 末梢血(黒色腫患者の)から抗原特異的T細胞応答を検出することにより、対応する腫瘍実体に関連する腫瘍抗原に対する免疫応答を評価すること。	最初のIMP投与前およびサイクル1後に血液サンプルを収集して、共通抗原および腫瘍特異的ネオ抗原に対する抗原特異的T細胞応答を検出することにより免疫応答を評価する。	30
用量漸増および用量拡大(併用療法): PBMCにおけるサイトカインRNA混合物に対する免疫応答を、RNA配列決定により評価すること。	最初のIMP投与前、サイクル1の後、および腫瘍生検収集時に凍結保存PBMCを収集して、遺伝子発現プロファイルおよび腫瘍抗原発現の変化をRNA配列決定により評価する。	40
用量漸増および用量拡大(単独療法および併用療法): 腫瘍突然変異負荷(TMB; 併用療法でのみ評価する)およびHLA型判定(単独療法および併用療法の両方で評価する)を含む、基線の腫瘍遺伝子マーカーを探索すること。	末梢血および腫瘍生検組織からゲノムDNAおよびRNAを抽出し、全エクソーム解析およびRNA配列決定により分析する。各サンプルの一塩基多型の総数を決定することにより腫瘍突然変異負荷を算出する。DNAベースの方法を使用して、HLA対立遺伝子および対立遺伝子群を決定する。	50

【0399】

実施例 1. 2 - 漸増期および拡大期におけるサイトカインRNA混合物の用量漸増および用量拡大

サイトカインRNA混合物の用量漸増および用量拡大試験を、臨床評価、薬物動態 [PK] 評価、薬物動力学 [PDy] 評価、およびバイオマーカー評価に基づき、漸増期では進行固形腫瘍および拡大期では進行黒色腫を有する患者で実施して、単独療法としておよびセンプリマブと組み合わせて腫瘍内投与した場合のサイトカインRNA混合物の安全性および予備活性を評価し、単剤としておよびセンプリマブと組み合わせた場合の最適薬物用量を規定する。

【0400】

参加者がサイトカインRNA混合物の初回投薬を受け取る前に最大28日間にわたってスクリーニングを行い、4週間サイクルの1、8、15、および22日目に、セミプリマブと組み合わせる場合は3週間サイクルで毎週（セミプリマブは3週間毎に投与する）薬物を腫瘍内投与するスケジュールで評価を行う。単独療法および併用療法では、疾患が進行するまでまたはAEが恒久的中止に結びつくまで治療を継続し；それ以外の場合は、最大1年まで治療を継続する（単独療法の場合は13サイクル、併用療法の場合は17サイクル）。併用療法漸増期および拡大期では、事前規定の用量で毎週腫瘍内投与されるサイトカインRNA混合物と組み合わせ、セミプリマブを350mg Q3Wの固定推奨用量で静脈内投与する。併用療法では、サイトカインRNA混合物は、セミプリマブ輸注の終了時に投与されることになる。単独療法漸増期では、単一参加者用量漸増を漸増期の最初の2つの用量レベル（DL）に使用し、続いて合理的デザインを使用してより高い用量へと漸増させる。

10

【0401】

実施例1. 2A. 用量漸増期

単独療法およびセミプリマブとの併用療法における用量漸増中に、抗PD-1/PD-L1に基づく以前の療法に失敗した、腫瘍内注射に適した進行固形腫瘍を有する参加者を登録する。抗PD-1療法/PD-L1療法が常用的に使用されない固形腫瘍（黒色腫を除く）を有する参加者も、他に適切な治療選択肢がない場合、治験責任医師の裁量に基づき適格である。参加者は、単独療法としてまたはセミプリマブと組み合わせ毎週投与されるサイトカインRNA混合物の腫瘍内注射で治療される。

20

【0402】

単独療法では、開始用量レベル（DL1）は、サイトカインRNA混合物によりコードされたサイトカインのPKをヒト異種移植モデルにおいて調査し、モデリングおよびシミュレーションを使用してマウスからヒトへとアロメトリ的にスケールする種々の前臨床研究の結果から決定される。

【0403】

実験は、最初の2つのDL（DL1およびDL2）の加速用量漸増デザインを含み、1人の参加者をDLで治療し、IMP関連グレード ≥ 2 のAEまたは用量制限毒性（DLT）が観察されるまで、2つの用量レベル間の漸増を適用する。IMP関連グレード ≥ 2 のAEが最初の2つのDLのいずれかで観察された場合、2人の追加の参加者を同じDLで治療し、アダプティブ合理的デザイン（adaptive rational design）を使用して用量漸増を進行させる。最初の2つのDLでIMP関連グレード ≥ 2 のAEまたはDLTが生じない場合、アダプティブ用量漸増をDL3から開始する。その後のコホート（DL3～DL8）では用量漸増を進行させる。次のDLへの登録は、その前のDLで治療した少なくとも3人の参加者を、少なくとも1サイクル（つまり28日間）の継続期間にわたって追跡し、DLT評価でDLTが無いと評価可能になるまで進行させない。参加者内での用量漸増は許可されない。

30

【0404】

安全であると宣言されたDLで初期効能シグナルが見られたら、それを拡大して効能を確認することができる。用量漸増は、より低いレベルの用量拡大と並行して継続させる。

40

【0405】

併用療法では、セミプリマブと組み合わせるためのサイトカイン混合物の予定開始用量をDLTについて評価し、サイトカイン混合物単独療法でのDLT観察期間を首尾よく通過した場合、進行中の単独療法用量漸増と並行して、セミプリマブを伴うサイトカイン混合物の用量漸増を開始する。サイトカイン混合物単独療法のDLを首尾よく通過した場合（単独療法用量のDLT観察期間〔28日〕が完了した場合）、ならびに単独療法用量でのPK、PDy、および／または臨床応答（全身または局所）の徴候が観察された場合、セミプリマブと組み合わせ使用するためのサイトカイン混合物の開始用量を選択する。

【0406】

50

センプリマブと組み合わせたサイトカイン混合物のこの開始用量は、単独療法で投与されたサイトカイン混合物のMTDまたは最大投与用量（MAD）のいずれかよりも1用量少ないか、または単独療法を首尾よく通過したDLのいずれかである。全身性臨床応答は、RECIST 1.1に従って抗腫瘍応答情報を評価することにより単独療法で腫瘍内投与されたサイトカイン混合物の客観的奏功率を測定することにより評価する。局所的臨床応答は、RECIST 1.1基準、ならびに病変の扁平化および炎症の徴候を含む局所応答の追加の徴候により測定する。サイトカイン混合物は、350mg Q3Wの固定推奨用量のセンプリマブと組み合わせて静脈内投与する。

【0407】

センプリマブと組み合わせた用量漸増は、アダプティブ用量漸増で進行させる。用量は、併用療法における同じDLでの登録前に、まず単独療法を首尾よく通過している。

10

【0408】

センプリマブと組み合わせた用量漸増は、アダプティブ用量漸増で進行させる。用量は、併用療法での同じDLでの登録前に、まず単独療法を首尾よく通過している。次のDLへの登録は、その前のDLで治療した少なくとも3人の参加者を、併用では少なくとも28日間の継続期間にわたって追跡し、DLT評価でDLTが無いと評価可能になるまで進行させない。センプリマブと組み合わせたサイトカイン混合物の用量漸増における実際のサンプルサイズは、観察されたDLTおよび実際に探索された用量レベルの数に応じて異なっている（およそ18～36人のDLT評価可能な参加者）。

【0409】

同じ用量レベルで治療した第1の参加者と第2の参加者との間には、少なくとも1週間の隔たりが存在する。

20

【0410】

実施例1.2B. 注射しようとする病変

すべての用量レベル（DL1～DL8）は、表5に提供されている病変サイズに関する指針に従う。参加者は、固形腫瘍効果判定基準（RECIST 1.1）基準（選択基準I 05を参照）による標的病変として最低で1つの測定可能な病変を有し、注射および腫瘍生検のための最低で1つまたはそれ以上の皮膚病変／皮下病変を有する。参加者は、基線時の1つの病変の生検、ならびに初回投与の5週目～8週目の治療中評価としての1つの病変の生検を考慮して、その所与の用量レベル（表5）の注射容積に十分でなければならない腫瘍病変のサイズに基づいて選択する。

30

【0411】

漸増期においてのみ、非標的病変が応答評価のシグナルを可能にする場合、測定可能な病変を有していない参加者を、治験委員会の同意を得て個別に適格性について評価してもよい。注射のために粘膜部位のみを有する患者の登録は、気道閉塞のリスクを最小限に抑えるために、サイトカインRNA混合物による、表在性転移、皮下転移、および／またはリンパ節転移の著しい炎症が観察されていない用量レベルでのみ行われる。

【0412】

実施例1.2C. 治療

最初の治療では、3つの最小病変のうち、1つの測定可能な病変（皮膚、内臓、またはリンパ節）を、RECIST 1.1基準に従って測定するためにそのまま残し、1つの病変を生検に使用する。注射しようとする病変が、生検での使用に十分な大きさであり、計画用量レベルでの用量投与に影響を及ぼさない場合、適格性のためには2つの病変で十分である。最低で1つの病変が、サイトカインRNA混合物の投与の対象である（病変のサイズは、参加者の適格性について用量レベル毎に評価されるべきである）。まず最も大きな病変にサイトカインRNA混合物を注射する。残りの病変については、注射の順位は、最大注射容積が使用されるまで、病変のサイズに基づく（以下の表7を参照）。

40

【0413】

50

【表 2 6】

表 7- 注射容積

病変サイズ (最長直径)	注射容積
> 5 cm	最大 4mL
>2.5cm～5cm	最大 2mL
>1.5cm～2.5cm	最大 1mL
>0.5cm～1.5cm	最大 0.5mL

10

【0 4 1 4】

すべてのその後の治療（毎週）では、病変の注射は、最大注射容積が使用されるまで、またはすべての注射可能な病変が治療されるまで、病変サイズに基づいて順位付けられる。

【0 4 1 5】

注射しようとする容積は病変のサイズに基づき、各治療来院での最大注射容積は、すべての注射した病変を一緒にした、そのDLに割り当てられた容積を超えるべきではない。DL 8で許容される最大注射容積は4mLである。

20

【0 4 1 6】

病変は、一緒にクラスター化されている場合、上記の表および指針に従って単一病変として注射される。

【0 4 1 7】

表5の病変の容積およびサイズ比に基づき、1回の治療当たり1つの病変のみに注射することが好ましい。1つの病変のみに注射することが可能でない場合、容積／用量を複数の病変に分割する。各来院時に、注射するための病変は、まず最も大きな病変から開始して、サイズに基づき優先順位をつける。最も大きな病変には、病変サイズおよび用量レベルに基づき最も大きな注射容積を注射する。容積のすべてが使用されていない場合、次の病変には、病変サイズに許容される最も大きな注射容積を投与する。投与容積が全部投与されるまで、最も大きなものから最も小さなものまで投与を継続する。

30

【0 4 1 8】

各治療来院時にまたは治療の全過程にわたってすべての病変に注射することが可能でない場合、その後の治療来院時に、以前に注射したおよび／または注射していない病変に注射する。病変毎のサイトカイン混合物投与の詳細は、電子症例報告フォーム（eCRF）に収集される。

【0 4 1 9】

実施例 1. 2 D. 用量漸増判断

40

漸増の判断には、臨床安全性の結果を考慮する。DLT観察期間は、治療の最初の4週間である（サイクル1）。参加者は、最初の治療サイクル（つまり、DLT期間）中に、各々のコホートの計画サイトカイン混合物用量（単独療法）の少なくとも70%、または計画サイトカイン混合物用量の少なくとも70%、および計画セミプリマブ用量（併用療法）の少なくとも70%を受けた場合、DLT評価が評価可能であるとみなされ、1サイクルにわたって評価されるか、またはより初期にDLTが発生した場合、DLT評価が評価可能であるとみなされる。用量漸増期にてDLT評価が評価可能でない参加者（例えば、サイクル1の28日目以前の早期進行性疾患；任意のDLT評価パラメータの欠落）は入れ換える。

【0 4 2 0】

50

単独療法：最初の2つのDLの漸増の場合、2番目のDLは、最初の参加者のDLT観察期間がIMP関連AEグレード ≥ 2 またはDLTを伴わずに完了した後に始める。IMP関連AEグレード ≥ 2 または任意のDLTが最初の2つのDLのいずれかで観察された場合、2人の追加の参加者を同じDLで治療し、アダプティブデザインを使用して用量漸増を進行させる。IMP関連AEグレード ≥ 2 が最初の2つのDLで生じない場合、アダプティブベジアンEWCをDL3から開始する。治験の単独療法部分のDL2またはDL3への登録は、DL1またはDL2に登録された患者が28日間追跡されるまで進行させなくてもよく、IMP関連グレード2のAEを伴わないAE評価が評価可能である。

【0421】

MTDが決定されたら直ちに用量漸増を停止させる。MTDが決定されない場合、MADが達成されるまで用量漸増を継続する。

10

【0422】

センプリマブとの併用療法：初期加速用量漸増ステップは実施しない。単独療法の場合と同じアダプティブ合理的デザインを使用する。

【0423】

実施例1.2E. 用量拡大期

単独療法：MTD/MAD、全体的な安全性、活性、およびPK/PDyデータに基づき、拡大期の推奨用量を決定する。

【0424】

抗PD-1/PD-L1に基づく以前の治療に失敗している進行黒色腫を有する最大34人の参加者をMADまたはMTDに登録し、安全性（特にあらゆる累積毒性）、抗腫瘍活性、PDy、およびPK活性をさらに評価する。

20

【0425】

センプリマブとの併用療法：拡大期にセンプリマブと共に投与されるサイトカインRNA混合物の併用用量は、併用療法用量漸増期の安全性データならびに利用可能なPKおよび/またはPDyデータに基づき決定する。併用での用量拡大は、以下にリストされている最大で4つのコホートを含み（黒色腫、CSCC、およびHNSCC腫瘍を有する患者を含む）；すべてのコホート（A、B、C、およびD）への登録を並行して実施する。

【0426】

併用療法拡大期コホートには、以下のものが含まれる：

30

- ・コホートA（以前の抗PD-1療法または抗PD-L1療法が失敗した進行黒色腫患者）：最大で40人の参加者がこのコホートに登録される。

- ・コホートB（以前に抗PD-1療法または抗PD-L1療法で治療されていない黒色腫患者〔抗PD-1/PD-L1未経験〕）：最大で28人の参加者がこのコホートに登録される。

- ・コホートC（以前に抗PD-1療法または抗PD-L1療法で治療されていないCSCCを有する患者〔抗PD-1/PD-L1未経験〕）：最大で29人の参加者がこのコホートに登録される。

- ・コホートD（以前に抗PD-1療法または抗PD-L1療法で治療されていないHNSCC腫瘍を有する患者〔抗PD-1/PD-L1未経験〕）：最大で59人の参加者がこのコホートに登録されることが予想される。

40

【0427】

実施例1.2F. 治験期間の継続期間

各参加者の継続期間には、最大28日間のスクリーニング期間が含まれる。サイクル継続期間は、単独療法では28日間、併用療法では21日間である。最初のサイクルの完了後、この投薬レジメンが安全であるとみなされ、参加者が臨床的利益を達成しつつある場合、参加者は、同じDLのサイトカインRNA混合物の追加投与を毎週受け続けることができる。単独療法としてのまたはセンプリマブと組み合わせたサイトカインRNA混合物から利益を得る参加者の予想治療期間は、進行日に基づき様々であってもよい。

【0428】

50

介入中止後、参加者は、最終IMP投与の30日後（治療終了時〔EOT〕評価のため）および90日後（ADAサンプルのため）または別の抗がん療法の開始前のいずれか早い方で戻ってくる。

【0429】

EOT来院後、すべての進行中の関連AEおよび新しい関連AEを、解消または安定化するまで（つまり、事象の進行に少なくとも3か月間にわたっていかなる変化もない）モニターするために、追加の追跡調査来院が必要となる場合がある。EOT後、安全性追跡調査期間中に、報告、モニター、および解消または安定化するまで追跡調査が行われる事象は以下の通りである：関係性に関わらず、すべての進行中のAE、SAE、または特に注目すべき事象、および関連事象による死亡を含む、関連すると見なされるすべての新しいAE、SAE、または特に注目すべき事象。

10

【0430】

加えて、参加者が進行以外の理由で介入を中止した場合、疾患進行を記録するために、進行するまで、別の抗がん治療を開始するまで、または死亡するまで（いずれか早い方）3か月毎の追跡調査来院を実施する。

【0431】

登録の合計推定継続期間中央値は、およそ24か月である。サイトカインRNA混合物から利益を得る参加者の予想治療継続期間は、進行日に基づき様々であり得るが；参加者1人当たりの予想治療継続期間中央値は、単独療法では9か月間（スクリーニングに1か月間、治療に5か月間、EOTおよび最初の追跡調査来院に3か月間）および併用療法では12か月（スクリーニングに1か月間、治療に8か月間、および治療終了追跡調査に3か月間）であると推定される。

20

【0432】

停止規則：治療の30日以内のあらゆる死亡（進行性疾患（PD）に関連する死亡以外）、またはある特定の用量レベルに登録された患者の3分の1よりも多く（例えば、3人の患者のうち2人）がグレード4のTEAEである場合、治験委員会により死亡の原因および毒性の適切な評価が行われ、修正計画が確立されるまで、治験登録を一時停止することになる。

【0433】

実施例1.2G. 開始用量の選択

30

サイトカインRNA混合物：抗がん化合物の開始用量は、一般に、げっ歯動物種および非げっ歯動物種における毒性研究の結果に基づいて確立される。サイトカインRNA混合物は腫瘍内注射により投与され、その生物学的活性は、投与されるmRNAの取込みおよび翻訳に依存する。前臨床毒性試験は、腫瘍を有していないげっ歯動物種および非げっ歯動物種で実施した。代用投与経路は、腫瘍内投与経路を正確に反映しない可能性がある。そのため、げっ歯動物において動物の10%に重篤な毒性を発現する用量（STD10）1/10の医薬品規制調和国際会議（ICH）S9推奨に基づくヒトに初めて投与する開始用量および無毒性量（NOAEL）を決定するための従来の手順は、局所投与される腫瘍内mRNA剤には適切ではない。

【0434】

40

ヒトでの開始用量を決定するために、ヒトA375黒色腫異種移植片を有する免疫無防備状態マウスで*in vivo*実験を実施する。A375異種移植片におけるサイトカインRNA混合物の腫瘍内投与は、サイトカインRNA混合物のサイトカイン成分の各々の翻訳に結び付く。サイトカイン混合物は腫瘍内で局所的に発現されるが、コードされたサイトカインは分泌されて循環へと進入し、サイトカインの全身性曝露に結び付く。サイトカインRNA混合物によりコードされたサイトカインのPKパラメータを評価する。A375異種移植片における、サイトカインRNA混合物によりコードされたサイトカインの血清PKパラメータは、用量依存的発現関係性を示した。

【0435】

サイトカインRNA混合物によりコードされたサイトカインの腫瘍発現能力がマウスとヒ

50

トとの間で同等であると仮定して、マウスでの個々のPKモデルをアロメトリーを使用してヒトへとスケールし、シミュレーションを実施して、様々な用量レベルのサイトカインRNA混合物でのヒト全身性サイトカイン曝露を予測する。ヒト対動物の薬理学的活性の不確実性およびサイトカインに関連する種間差異のため、広い安全域を適用し、ヒト用量を選択する。

【0436】

センプリマブ：Regeneron社の以前の臨床試験に基づき、350mg Q3W投薬レジメンを選択する。Q3W投薬間隔を選択した。

【0437】

実施例1.2H – 試験終了の定義

参加者は、最大1年間（治療終了を含む）までの試験介入のすべての期を完了した場合、または別の理由で治療が中止された場合、および参加者が進行性疾患までの追跡調査来院を終了した場合、試験は終了したとみなされる。

【0438】

試験には2つの締切日がある：

【0439】

単独療法または併用療法の第1の試験締切日は、すべての参加者のMTD/MADを決定するための評価可能なDLTデータを得るために、それぞれの用量漸増期で治療した最後の参加者のサイクル1の終了時である。

【0440】

第2の締切日は、拡大期治療の最終参加者が、腫瘍応答を評価するために、2回の基線後腫瘍評価を受けることになる際または治療終了時評価を受けることになる際のいずれか早い方である。

【0441】

用量漸増期または拡大期のいずれかで治療された参加者が、第2の試験締切後も治療から利益を受け続ける場合、参加者は、試験介入を継続することができ（最大で1年間の治療）、IMP関連のAE、SAE、および該当する場合は免疫原性をアッセイするための血液サンプルの評価を受けることになる。

【0442】

試験終了は、試験の最終参加者の最終来院の日であると規定される。

【0443】

実施例1.3 – 試験集団

実施例1.3A – 選択基準

参加者は、表8に示されている通り、以下の基準のすべてが該当する場合にのみ、試験への参加に適格である。

【0444】

10

20

30

40

50

【表 27】

表 8 - 選択基準

カテゴリー	基準	
年齢	I 01. 参加者は、インフォームドコンセントに署名した時点で 18 歳以上でなければならない。	
参加者のタイプおよび疾患特徴	I 02. 用量漸増期(単独療法および併用療法):国際治療ガイドラインおよび治験責任医師の見解により代替の好適な治療選択肢が存在しないとされる、リンパ腫を含む組織学的に確認された進行性の切除不能または転移性の固形腫瘍を有する参加者。 I 03. 用量拡大期(単独療法および併用療法): - 単独療法および併用療法コホート A: 対がん米国合同委員会の黒色腫病期分類第 8 版により評価してステージ IIIB~C または切除不能なステージ IV(基準 E09 が満たされる場合は、M1a-c および M1d)を含む、BRAF 状態に関わらず組織学的に確認された進行性または転移性の黒色腫を有し、代替の好適な治療選択肢が存在しない参加者。適格患者は、利用可能な標準治療(SOC)を受けることが適格ではないか、または受けることを拒否してなければならない。治験責任医師は、治験参加前に、現行の SOC 治療選択肢の利用可能性を予定患者参加者に通知しなければならない。 - 併用療法コホート B:対がん米国合同委員会の黒色腫病期分類第 8 版により評価してステージ IIIB~C もしくは切除不能なステージ IV(基準 0 が満たされる場合は、M1a-c および M1d)を含む、BRAF 状態に関わらず組織学的に確認された進行性もしくは転移性の黒色腫を有し、抗 PD1 療法/抗 PD-L1 療法で治療されたことがなく、臨床利益を付与する可能性が高い利用可能な標準療法が存在しない参加者、またはそのような利用可能な療法の候補ではなく、治験責任医師の見解では、サイトカイン RNA 混合物単独療法によるかもしくはセミプリマブとの併用による実験的療法が有益であり得る参加者。 - 併用療法コホート C:I 12 による、組織学的に確認された転移性皮膚扁平上皮癌(CSCC)または切除不能な局所のおよび/または領域的進行 CSCC を有する参加者。 - 併用療法コホート D:I 13 による、組織学的に確認された再発性もしくは転移性の頭頸部扁平上皮癌(HNSCC;口腔、中咽頭、下咽頭、喉頭)を有し、臨床利益を付与する可能性が高い利用可能な標準療法がない参加者、またはそのような利用可能な療法の候補者ではなく、治験責任医師の見解では、サイトカイン RNA 混合物の単独療法によるかもしくはセミプリマブとの併用による実験的療法が有益であり得る参加者。	10 20 30 40

【表 28】

カテゴリー	基準	
104.	黒色腫抗 PD-1/PD-L1 失敗(単独療法での拡大期および拡大期併用療法コホート A)の場合、参加者は、以前に抗 PD-1/PD-L1 で治療されており、進行性疾患が確認されていた。 - 単独療法用量拡大期のみ:黒色腫では、抗 PD-1/PD-L1 療法に不耐容になった患者も適格である。	
105.	参加者は、登録時に最低 3 つの病変を有し(または下記に記載の通りの選択された症例では 2 つ)、測定可能な疾患は以下の通り規定される: - 以下の通りに規定される、測定可能な疾患*の標的病変としての 1 つの病変: - RECIST 基準に従って測定される標的病変として少なくとも 1cm である 1 つの皮膚病変 または 少なくとも 2 次元で正確におよび連続的に測定することができ、内臓もしくは柔組織疾患の場合は最長直径が$\geq 1\text{cm}$ であり(造影もしくはスパイラルコンピューター断層撮影 [CT] スキャンで測定)、もしくはリンパ節の場合は短軸が$\geq 1.5\text{cm}$ である、1 つもしくは複数の内臓病変。こうした内臓病変は、RECIST 基準測定に使用されることになる。 - 非 FDG 集積リンパ腫(non-FDG avid lymphoma)を有する患者は、LDi(最長直径)$>1.5\text{cm}$ を有していなければならない少なくとも 1 つの測定可能な節であると規定される測定可能な疾患、および/または Lugano 分類(29)(本明細書を参照)に従って造影 CT により LD$>1\text{cm}$ を有していなければならない測定可能な節外病変を有することが求められた。FDG 集積リンパ腫(FDG-avid lymphoma)を有する患者は、測定可能な疾患を有することは求められなかった。 *漸増期のみでは、非標的病変が代用応答評価に好適である場合、測定可能な疾患を有していない参加者も、治験依頼者との個別の話し合いに基づき適格であるとするようになる。 - 生検のための 1 つの病変(生検に適した皮膚、皮下、もしくはリンパ節);この病変は、実施可能であれば、注射にも使用でき、その場合、参加者の適格性は 2 つの病変で十分であり得る。 - 106 に詳述されている通りの、腫瘍内注射に適した少なくとも 1 つの病変。	10
106.	参加者は、最長直径が$\geq 0.5\text{cm}$ の皮膚病変もしくは皮下病変であると規定される、注射を実施することができる(つまり、各コホートの用量レベル容積に基づき、および治験責任医師の判断により、直接腫瘍内注射に好適である)病変、またはコンフルエントになっており、$\geq 0.5\text{cm}$ の最長直径(すべての関与する標的病変の直径の合計)を有し、各来院時に注射してサイトカイン RNA 混合物で治療するのに好適な(つまり、出血性でも滲出性でもない)複数の注射可能な併合病変を有する。超音波(USG)誘導腫瘍内注射に好適であり、転	40

【表 29】

カテゴリー	基準	
	移行疾患であると確認されている$\geq 1.5\text{cm}$のリンパ節も許容可能である。 I 07. 参加者は、治験介入の前および後に必須の腫瘍生検を提供する能力および意志を有していなければならない。 I 08. 任意の利用可能な治療選択肢(併用療法拡大期コホート B、C、および D における抗 PD-1 治療/抗 PD-L1 治療を除く)に適格な参加者であって、任意の利用可能な治療選択肢が、腫瘍特徴のため、併存症のため、既存の自己免疫疾患のため、薬物が入手できないため、または各国では標準治療ではないため、最良の選択肢ではない(治験責任医師の裁量に基づき)参加者、ならびに参加者が透明性を持って開示されたこうした選択肢を拒否した場合。 I 09. 3 か月よりも長い平均余命を有する参加者。	10
性別	I 10. 男性または女性 1)男性参加者:男性参加者は、介入期間中および治験介入の最終投薬後の少なくとも 6 か月間は避妊の使用に同意し、この期間中は精子提供を控えなければならない。 2)女性参加者:女性参加者は、妊娠しておらず、授乳しておらず、以下の条件の少なくとも 1 つが該当する場合、参加に適格である: - 出産可能性な女性(WOCBP)ではないこと、または - 介入期間中および治験介入の最終投薬後少なくとも 6 か月間は避妊指針に従うことに同意する WOCBP であること。 I 11. 転移性のブドウ膜黒色腫および粘膜黒色腫 - 転移性のブドウ膜黒色腫および粘膜黒色腫を有する参加者は、腫瘍内注射に適した表在性転移、皮下転移、および/またはリンパ節転移を有する場合、治験の単独療法の用量漸増部分に適格である。腫瘍内注射のために粘膜部位のみを有する HNSCC および粘膜黒色腫を有する参加者は、治験依頼者と話し合っ承認を受ければ、治験の単独療法の用量漸増部分に適格である。 I 12. 参加者は、左心室駆出率(LVEF)が少なくとも 50%である適切な心機能を有していなければならない。	20
インフォームドコンセント	I 13. インフォームドコンセントフォーム(ICF)およびこのプロトコールに列挙されている要件および制限に従うことを含む、署名されたインフォームドコンセントを与えることが可能である。	
併用療法部分にのみ適用される選択基準	I 14. 抗 PD-1/PD-L1 治療未経験である CSCC を有する参加者の場合(併用療法コホート C):下記に規定の通り治癒的外科手術または治癒的放射線療法の候補ではなく、I 08 に記載の通り他の全身性治療選択肢に好適でない、組織学的に確認された転移性 CSCC または局所のおよび/もしくは領域的進行 CSCC。	40

【表 3 0】

カテゴリー	基準	
	- 外科手術が不適切であるとみなされる許容可能な理由としては、以下のものが挙げられる: - a)2 回またはそれ以上の外科手技後に CSCC が再発したこと、および治癒的切除の可能性が低いと予想されること、ならびに/または - b)相当な病的状態もしくは奇形が外科手術から予測されること	10
	- 参加者は、以下の基準の少なくとも1つを満たすことにより明白である通り、放射線療法に適切でないとみなされなければならない(登録から 60 日以内の臨床来院での学際的評価に関する放射線腫瘍医の記録または治験責任医師の記録のコピーを提出しなければならない): - a)以前に CSCC の放射線療法を受けており、放射線腫瘍医によると、さらなる放射線療法が許容可能な累積線量の閾値を超えてしまうことになる患者。 - b)そのような腫瘍が療法に応答する可能性が低いという放射線腫瘍医の判断。 - c)放射線療法が、禁忌であるとみなされたこと。個別のベネフィットリスク評価が学際的チームにより実施されたことを示す治験責任医師の臨床記録。	20
	I 15. 抗 PD-1/PD-L1 治療未経験である HNSCC を有する参加者の場合(併用療法コホート D):	
	- a)治癒目的の療法(化学療法を伴うかまたは伴わない外科手術または放射線療法)に適しておらず、頸動脈などの重要な構造に隣接する腫瘍病変を有していない、組織学的に確認された再発性または転移性の HNSCC(口腔、中咽頭、下咽頭、喉頭)。 - b)参加者は、最後の以前の治療時または治療後に進行性疾患が記録されている再発性または転移性疾患について、白金含有レジメン、タキサン含有レジメン、代謝拮抗剤含有レジメン、またはセツキシマブを含む(しかしながら、これらに限定されない)、少なくとも1つの、しかしながら3つ以下の以前の全身性治療レジメンを受けていなければならない(補助療法および維持療法は、1つの治療選択の一部とみなされる)。	30
		40

【0 4 4 5】

実施例 1 . 3 B - 除外基準

参加者は、表 9 に示されている通り、以下の基準のいずれかが該当する場合、治験から除外される。

【0 4 4 6】

【表 3 1】

表 9 - 除外基準

カテゴリー	基準	
医学的状态	E 01. 東海岸がん臨床試験グループ(ECOG)パフォーマンスステータス >1。	10
	E 02. 治験責任医師または治験依頼者の見解で、参加者の治験への参加に悪影響を及ぼすと思われる任意の精神医学的状态を含む、重大で制御不能の併発疾病。	
	E 03. 原因不明の発熱(体温>38.1℃)を含む活動性感染症、または登録前1週間以内の抗生物質療法。	
	E 04. 同種骨髄移植を受けた者を含む、あらゆる以前の臓器移植。	
	E 05. 切除/切断された皮膚の基底細胞癌もしくは皮膚扁平上皮癌、または子宮頸部上皮内癌、または局所治療により治癒したとみなされる他の局所腫瘍を除き、本治験で治療されたもの以外の浸潤性悪性腫瘍の過去5年以内の病歴。	20
	E 06. 既知の後天性免疫不全症候群(AIDS)関連疾病もしくは抗レトロウイルス治療を必要とする既知の HIV 疾患、または活動性 A 型肝炎、B 型肝炎(陽性 HBsAg もしくは HBc 抗体が陽性である陰性 HBsAg のいずれかであると規定される)もしくは活動性 C 型肝炎(既知の陽性 C 型肝炎抗体結果および既知の定量的 HCV RNA 結果がアッセイの検出下限よりも大きいと規定される)感染。スクリーニング時の HIV 血清学は、ドイツの研究施設の参加者に対してのみ実施されることになる。	
	E 07. 脾臓摘出術を受けた参加者。	
	E 08. 注射しようとする腫瘍病変が、粘膜領域、または気道、主要血管、もしくは脊髄付近に位置し、治験責任医師の見解では、腫瘍膨潤すると閉塞もしくは圧迫を、または壊死すると主要血管への浸食を引き起こす可能性がある。	
	E 09. 活動性であるとみなすことができる未治療の脳転移。脳転移が以前に治療された患者は、安定しており(つまり、治験治療の最初の投薬前に少なくとも6週間にわたって画像診断により進行の証拠がなく、あらゆる神経学的症状が基線に戻っている)、新しい脳転移の証拠も脳転移拡大の証拠もなく、患者は、サイトカイン RNA 混合物の最初の投薬前の4週間以内に脳転移を管理するために全身性コルチコステロイドを一切必要としない場合、参加することができる。	30
	E 10. 症候性うっ血性心不全(NYHA 3 または 4)、心筋炎の病歴、重度の制御不能な心不整脈、治験登録6か月前の心筋梗塞、不安定狭心症、制御不能もしくは未解決の急性腎不全、または以下のものなどの重大な肺状態: - 制御不能な慢性肺疾患 - 間質性肺疾患の既知病歴(過去5年)またはそのあらゆる証拠	

【表 3 2】

カテゴリ	基準	
	- 活動性非感染性肺炎。	
	E 11. 全身性免疫抑制治療による治療を必要とした重大な自己免疫疾患が進行中であることまたは最近(5 年以内)あったことの証拠。これは、免疫関連有害事象のリスクを示唆する可能性がある。以下のものは除外しない: 白斑、解決した小児喘息、ホルモン補充のみを必要とした残存甲状腺機能低下症、または全身性治療を必要としない乾癬。	
	E 12. 国立がん研究所の有害事象共通用語基準(NCI CTCAE)バージョン 5.0 による、脱毛症、白斑、倦怠感、および活動性甲状腺機能低下症を除く、グレード<2 に対する任意の以前の治療関連毒性が未解決である。	10
	E 13. 任意の生物学的薬物に対する、局所注射部位反応以外の全身性過敏反応の病歴、およびサイトカイン RNA 混合物の任意の成分に対する既知の過敏症。	
	E 14. 注射可能な表在性転移性疾患、皮下転移性疾患、またはリンパ節転移性疾患を伴わない原発性ブドウ膜黒色腫。	
事前/付随療法	E 15. 任意の他の抗がん療法(放射線療法または研究中の作用剤を含む)との同時治療または別の介入的臨床治験への参加。	20
	E 16. 以前の抗がん療法(化学療法、標的化作用剤、放射線療法、免疫療法、ワクチン接種、または任意の研究中の作用剤を含む)のウォッシュアウト期間が 3 週間未満であるか、または半減期の 5 倍未満であるか、いずれか短い方。以前に免疫療法(抗 PD-1 療法を含む)を受けた参加者の場合、参加者が IMP を受ける前に、少なくとも 4 週間のウォッシュアウト期間が必要である。	
	E 17. IMP の初回投薬前 2 週間以内の免疫抑制性コルチコステロイド投薬(1 日 1 回プレドニゾン>7.5mg 経口[PO]、または静脈内[IV]、または当量)、および治験中のプレドニゾン>7.5mg/日経口または当量による維持療法。	
	E 18. IMP の初回投薬前 4 週間または作用剤の 5 半減期(いずれか短い方)未満以内の他の免疫調節剤による以前の治療。免疫調節剤の例としては、CTLA-4、4-1BB(CD137)、OX-40 の遮断剤、治療用ワクチン、またはサイトカイン治療が挙げられる。	30
	E 19. 治験介入開始前 4 週間以内、治療中、および IMP の最終投薬後 3 か月間の、弱毒生ワクチンによる以前の治療。	
以前の/同時的な臨床治験経験	E 20. 本治験に以前に登録されている。	
	E 21. 参加者が、治験責任医師、または任意の副治験責任医師、研究助手、薬剤師、研究コーディネーター、他のスタッフ、またはプロトコールの実施に直接関与するそれらの関係者である。	40

【表 3 3】

カテゴリー	基準	
診断評価	E 22. 好中球$<1.5\times 10^9/L$;ヘモグロビン$<9.0g/dL$;血小板数$<100\times 10^9/L$を含む不十分な血液学的機能。 E 23. クレアチニン$\geq 1.5\times ULN$、または aMDRD 式を使用することにより推定した CrCl が$<60mL/分/1.73m^2$である場合は $1.0\sim 1.5\times ULN$ である不十分な腎機能。 E 24. 不十分な肝機能または凝固検査値:ジルベール症候群 (この状況では、総ビリルビン$>2.5\times ULN$)でない限り、総ビリルビンは$>1.5\times ULN$ であるか、または肝転移がない場合、ALT、AST、もしくは ALP は$>2.5\times ULN$ である。肝転移が存在する場合、$<3\times ULN$ の総ビリルビン、および$<5\times ULN$ の AST または ALT は許容可能である。グレード 2 までの、つまり$<5\times ULN$ のアルカリホスファターゼ(ALP)は、治験責任医師による判断の通り、骨転移の存在に関連する場合にのみ許容可能であろう。プロトロンビン時間(PT)または国際標準化比(INR)$>1.5\times ULN$。抗凝固療法を受けている参加者は除外されることになる。低用量アスピリン(1 日 1 回$\leq 100mg$)および予防的低用量ヘパリンの投与を受けている参加者は除外されない。	10
他の除外基準	E 25. 法的に収容されている囚人もしくは対象、または予定された来院、薬物投与計画、臨床検査、他の研究手順、および研究制限を遵守する意志または能力を有していない者。 E 26. 中枢神経系リンパ腫 E 27. リンパ腫を有する患者に対する以前の同種 HSCT。 E 28. 治験介入開始前 90 日未満の自己 HSCT。	20
併用療法部分にのみ適用される除外基準	E 29. 黒色腫、CSCC、および HNSCC 抗 PD-1/PD-L1 未経験参加者の場合(コホート B、C、および D):抗 PD-1/PD-L1 阻害剤を含むあらゆる以前の併用療法。 E 30. セミブリマブの初回投薬前 90 日以内にグレード≥ 2 あった免疫関連有害事象(ir-AE)に関連していたか、または免疫調節剤の中止をもたらした毒性に関連していた他の免疫調節剤による以前の治療。 E 31. 以前にブレオマイシンで治療されたリンパ腫参加者の DLCO が$<60\%$である。この除外基準は、セミブリマブと併用した漸増にのみ適用可能である。 E 32. リンパ腫を有する患者に対するイデラリシブによる以前の治療。この除外基準は、併用漸増に登録されているリンパ腫患者にのみ適用される。	30
		40

【0447】

実施例 1. 4 - 研究介入

研究介入は、研究プロトコルに従って研究参加者に投与されるように意図される治験介入、市販の製品、プラセボまたは医学デバイスとして定義される。

【0448】

実施例 1. 4 A - 投与される研究介入

【0449】

【表 3 4】

表 10-投与される研究介入の概要

研究介入名	サイトカイン RNA 混合物	セミプリマブ(組合せのみ)
投与形製剤	注射用溶液の濃縮物	注射用溶液
		350mg/バイアルまたは 250mg/バイアル
投与の経路	腫瘍内注射	静脈内注射
投薬指示	1 週間に 1 回、28 日周期内で 4 用量の割り当てられた用量レベルで 投与される注射 ^a	3 週間毎に 1 回、350mg の 固定された推奨された用量

^a すべての参加者に予め定義された事前医薬品が投与されるわけではないが、一部の参加者に二次事前医薬品が推奨される場合がある。

10

20

30

40

50

【0 4 5 0】

サイトカイン RNA 混合物は、治験医薬製品であり、ヒトサイトカイン IL-15 スシ、IL-12 sc、GM-CSF および IFN α 2b をコードする合成化学改変 mRNA の 1:1:1:1 重量比である。

【0 4 5 1】

サイトカイン RNA 混合物は、4 週間周期で週に 1 回（すなわち、28 日毎に 4 用量）腫瘍内に投与される。治療の各サイクル後に、腫瘍内注射の頻度が毎週続く。しかし、研究の実施中、腫瘍量減少に基づいて用量投与頻度がより少ない頻度の投与に低減される場合があり、これは、意図される用量の投与に干渉される。

【0 4 5 2】

投与の経路が腫瘍内注射であるので、急性アレルギー反応は予測されず、そのため、すべての参加者に予め定義された事前医薬品が投与されるわけではないが、一部の参加者には事前医薬品が推奨される場合がある。事前医薬品として使用されるすべての薬物は、併用医薬品ページに入力される。

【0 4 5 3】

実施例 1. 4 A 1 - 潜在的腫瘍崩壊症候群 (T L S) の管理のためのガイドライン
T L S の場合には、研究治療 (サイトカイン mRNA 混合物) は、すべての血液生化学検査が解明されるまで維持されなければならない。正常な水分補給を確実にするために、検査の異常、水分過負荷、電解質または酸-塩基の逸脱を補正する。管理は、ローカルサイトガイドラインに従って行わなければならない。阻害剤 (例えば、アロプリノール) または尿酸オキシダーゼ (例えば、ラスブリカーゼ) の使用は、許可されている。腎機能を含む T L S 合併症はモニタリングされなければならない、研究治療は、解明後に総量で再開される。

【0 4 5 4】

通常 T L S に関連する検査の異常および T L S に関連する可能性ある臨床症状が、表 I I に提示されている。

【0 4 5 5】

【表 3 5】

表 11-TLS と一致する可能性のある検査室および臨床異常

検査室	臨床
尿酸>8mg/dL(>475.8 μmol/L)カリウム >6.0mmol/L リン>4.5mg/dL(>1.5mmol/L) 補正されたカルシウム ^a <7.0mg/dL(<1.75mmol/L)または カルシウムイオン <1.12mg/dL(<0.3mmol/L) 血清クレアチニンレベルの増大(≧正常の 上限[ULN]の 1.5 倍	急性腎傷害:(ULN の≧1.5 倍)の血清クレアチニンレ ベルの増大または 6 時間の<0.5mL/kg/1 時間の平均尿 アウトプットとして定義される乏尿の存在。けいれ ん発作、不整脈、心筋易刺激性(テタニー、知覚異 常、筋攣縮、手足痙縮、トルソー徴候、クボステッ ク徴候、喉頭痙攣、気管支痙攣)、低血圧症またはお そらくもしくは確実に低カルシウム血症によって引 き起こされる心不全。 おそらくもしくは確実に高カリウム血症によって引 き起こされる不整脈。
^a デシリットルあたりのミリグラムでの補正されたカルシウムレベル=デシリットルあたりのミ リグラムでの測定されたカルシウムレベル+0.8×(デシリットルあたりのグラムでの 4-アルブミ ン)	

10

【0 4 5 6】

20

実施例 1. 4 B — 併用療法 (Concomitant Therapy)

参加者が登録時に受け取っているか、または研究の間に受け取る任意の医薬品（一般用ま
たは処方医薬、ビタミンおよび／またはハーブサプリメントを含む）は、使用理由ならび
に開始および終了日時を含む投与の日付とともに記録されなければならない。

【0 4 5 7】

併用医薬品は、研究薬物の最初の用量の 1 4 日前から研究薬物の最後の投与の 3 0 日後ま
で、進行中の研究薬物が関連する有害事象の解消または別の抗がん療法が受けられる場合
に e C R F に記録される。

【0 4 5 8】

併用医薬品は、以下のガイドラインに従ってケースバイケースで考慮される：

30

・全身性ステロイドおよび T N F - α アンタゴニストは、I M P の潜在的利益を減弱する
が、緊急事態の状況では、治療を行っている治験責任医師はこれらの薬物を適用するこ
とが許可されている。それにもかかわらず、これはできるだけ早くスポンサーに伝えられな
ければならず、参加者が研究参加を進めることができるかどうか、およびどのように進め
るかの共通の決定。

・実現可能である場合には、副腎皮質ステロイドの代替物が常に考慮されるべきである。
副腎皮質ステロイドまたは代替ステロイドの生理学的用量は、スポンサーとの相談後に許
可される。吸入ステロイドおよび経口ミネラルコルチコイド（例えば、起立性低血圧症ま
たは副腎皮質機能不全を有する参加者のためのフルドコルチゾン）の使用が許可されて
いる。

40

ー参加者は、緊急事態、アレルギー反応または同様のもののために副腎皮質ステロイドを
急性的に受け取る場合がある；参加者は、研究の間にプレドニゾロン> 7 . 5 m g / 日（
P O または I V）または等価物を用いる維持療法を受けない場合がある。副腎不全症のた
めに与えられる副腎皮質ステロイドの同等に生理学的な用量が許可されている。

・骨髄抑制性化学療法との併用治療は、治療相ならびに治療開始前 3 週間または 5 半減期
のいずれか短い方の間すべての参加者について禁止される。

・解熱剤との併用治療（例えば、参加者が発熱≧ 3 8 . 5 °C を発生した場合に、1 g のア
セトアミノフェン／パラセタモール）は許可されている。

・対症目的のために疼痛の制御のために対症放射線療法が与えられてもよい。スポンサー
は、対症放射線療法が考慮されている場合には治療の前に、および研究で療法を再開する

50

前に事前の承認を得るために通知されなければならない。照射される領域はできる限り小さくあるべきであり、任意の所与の3週間において決して骨髄の20%より多くを含んではならない。すべてのこのような場合において、腫瘍進行の可能性は、腫瘍の物理的および放射線学的評価によって除外されるべきである。評価可能な病変のみが照射されるべきである場合には、参加者は研究介入を停止する。照射される領域を応答評価のパラメータとして使用することはできない。

・呼吸困難、低血圧症、喘鳴音、気管支痙攣、頻脈、酸素飽和の低減または呼吸促進によって現れる重篤事象は、臨床的に示されるように（例えば、追加の酸素およびβ₂アドレナリン作動性アゴニスト）支持療法を用いて管理されなければならない。

・がん以外の併発疾病のために参加者によって取られる任意の背景療法（例えば、ホルモン置換療法、スタチン、抗高血圧薬医薬品）は、安定用量で継続されることが許可されている。

・選択参加者において事前医薬品が必要である場合もある。

【0459】

実施例1.4C – 事前療法

この研究の開始前に参加者が受けた任意の以前の抗がん療法（医薬品および放射線療法を含む療法）は、eCRFに入力されなければならない。

【0460】

任意の以前の治療は、以下のタイムラインに従って終了しているべきである：

・化学療法、ホルモン療法および／または放射線療法を含む、治験のものまたは承認されたものに関与しない任意の以前の抗がん療法は、研究介入の開始の少なくとも3週間前に終了されなくてはならない。

・参加者がこの研究に入る前に治験療法を受けていた場合には、この研究に入る前に少なくとも3週間または5半減期が経過してなければならない。

・任意のハーブ療法は、IMPの投与の少なくとも1週間前に終了されなくてはならない。

・IMPの計画された最初の投与の最後の用量の間で少なくとも4週間または薬物の5半減期のいずれか短い方が経過しているという条件で、サイトカインを用いる以前の治療は許可されている。

・療法の開始までに4週間または5半減期（いずれか短い方）が経過しているという条件で、免疫チェックポイント阻害剤、免疫調節性モノクローナル抗体（mAb）、および／またはmAb由来療法を用いる以前の治療は許可されている。

【0461】

参加者が副腎皮質ステロイドを用いる維持療法を受ける場合には、参加者は、用量をIMPの最初の投与の2週間前までに<7.5mg／日に漸減できる場合にのみ適格であり、参加者は、研究介入期間を通じて用量増大のリスクを有さないはずである。

【0462】

実施例1.4D – 事前医薬品

投与の経路が腫瘍内注射であるので、急性アレルギー反応は予測されず、そのため、すべての患者に予め定義された事前医薬品が投与されるわけではないが、セミプリマブ静脈内投与を用いた場合の重大な同定されたリスクとして、免疫関連反応および注入関連過敏症が挙げられる。第2の周期時におよびその後に事前医薬品は、参加者が最初の投与後に炎症反応を経験したか否かに応じて推奨される。

【0463】

参加者が、薬物誘導性関連アレルギー反応（すなわち、IMP投与の24時間以内に生じた軽度そう痒から中程度の症状）を以前に経験した場合には、ヒスタミンH₁アンタゴニスト（サイトカインRNA混合物の投与のおよそ30～60分前に与えられる、ジフェンヒドラミン50mg経口または等価物〔例えば、デクスクロルフェニラミン〕）を用いる事前医薬品が、サイトカインRNA混合物の投与の前に考慮される。参加者が、過敏症またはCRSを含むグレード2事象を有していた場合には、事前医薬品はまた将来の投与の

10

20

30

40

50

ために経口ステロイド（デキサメタゾン 20 mg または等価物）を含むことができる。副腎皮質ステロイド使用は、重症薬物誘導性アレルギー反応または命を脅かす状態の治療に制限されるべきである。

【0464】

解熱剤を用いる事前医薬品は、IMP の第 1 の投与後に炎症症状、例えば、発熱および震えを発生した参加者のために許可されている。局所麻酔は、注射されるべき病変の位置に基づいて使用される。

【0465】

実施例 1. 4 E – 禁止された療法

以下の療法の使用は、研究の間禁止されている：

- ・対症放射線療法を除く、がんの治療のために意図される併用療法（Concomitant Therapy）（例えば、化学療法または免疫療法）は治験の間許可されない。
- －参加者が別の方法で利益を導き出している場合には、放射線療法が症状緩和（例えば、有痛性骨転移、閉塞性肺病変の治療）のために考慮される。

- ・減弱生ワクチンは、研究介入の開始前 4 週間以内、治療の間および IMP の最後の用量後 3 カ月間禁止されている。すべての他のワクチンは、これらが参加者の状態にとって最良の解決策ではない場合には避けられるべきである。

- ・IFN を用いる併用治療は、研究の参加の間すべての参加者にとって禁止されている。

- ・全身性免疫賦活剤（それだけには限らないが、IFN および IL-2 を含む）は、相互作用を排除できず、参加者のリスクの増大が結果として生じるかもしれないので、介入の開始前の 4 週間または薬物の 5 半減期（いずれか長い方である）内および介入の間は禁止されている。

- ・それだけには限らないが、シクロホスファミド、アザチオプリン、メトトレキサートおよびサリドマイドを含む免疫抑制医薬品。これらの薬剤は、活性を潜在的に変更する可能性がある。

- ・プレドニゾロン > 7.5 mg / 日（PO または IV）または等価物を用いる維持療法が禁止されている。

- ・全身性顆粒球コロニー刺激因子（例えば、顆粒球コロニー刺激因子、GM-CSF および／またはペグフィルグラスチム）、これは IMP の活性を変更する可能性があるため。

- ・この研究における参加者は、任意の他の IMP を同時に受けることは許可されていない。

【0466】

実施例 1. 4 F – 用量改変

サイトカイン RNA 混合物の用量改変

必要な場合または IMP 関連グレード ≥ 2 の AE の場合には、サイトカイン RNA 混合物の開始を、任意の週で治療の予測日を超えて最大 3 日まで遅延でき、2 または 3 日の遅延は用量遅延と考えられる。次の用量は、用量間の 7 日間隔を尊重するために最後の用量の 7 日後に計画されなければならない。

【0467】

サイトカイン RNA 混合物用量が、毎週用量について、治療の予測日を ≥ 4 日越えて遅延される必要がある場合には、用量はスキップされる必要があり、したがって、用量省略と考えられる。参加者は、IMP 関連グレード ≥ 2 の AE が許容される期間内にグレード ≤ 1 （または置換療法を用いて管理される場合にはグレード 2）に解消される場合に、サイトカイン RNA 混合物を再開できる。2 回の連続用量省略の場合には、AE が命を脅かすものでなく、治療の継続が患者の状態にとって最良と考えられる場合には、患者をサイトカイン RNA 混合物を用いて再治療できる。2 回よりも多い連続用量省略の場合には、サイトカイン RNA 混合物は決定的に終結される。

【0468】

研究の単独療法用量漸増部分において DLT を起こす参加者は、その研究介入を停止し、毒性が解消されるまで追跡される。

10

20

30

40

50

・DLTがサイトカインRNA混合物の開始から最初の28日の間に起こる場合には（漸増相におけるDLT観察期間）、サイトカインRNA混合物は決定的に終結される。

・サイトカインRNA混合物の開始から28日後（DLT観察期間）にDLT定義を満たすAEが生じる場合には、サイトカインRNA混合物は、以下の基準が満たされることを確実にした後、スポンサーとの議論および研究委員会による潜在的推奨後に再開できる：

・AEがグレード ≤ 1 （または置換療法を用いて管理される場合にはグレード2）に解消した

・治験責任医師が、研究介入を再開することが患者の最良の利益であると考えている。

【0469】

用量漸増にのみ適用可能であり（拡大相ではない）、参加者は、スポンサーとの同意に基づいて、予防的治療と同一用量レベルのサイトカインRNA混合物での（利用可能である場合）、またはより低い用量レベルでの新規周期の治療を用いる療法を再開する。用量再漸増は許可されていない。

【0470】

その再発が必ずしも命を脅かすものではない（すなわち、CRSと関連しない皮疹、内分泌疾患、例えば、甲状腺機能低下症、発熱、疲労、関節筋痛、頭痛）、またCTCAEグレード ≤ 1 への回復またはベースライン値が迅速に生じるサイトカインRNA混合物に起因するDLTの事象では、状況はケースバイケースで評価され、同一用量レベルで、またはより低い用量レベルで再開することが安全であるか否か、および参加者の利益／リスクバランスに従っているか否かが決定される。それどころか、その再発が潜在的に命を脅かすものであり得るDLTの事象（すなわち、サイトカイン放出症候群、間質性肺炎）では、参加者はさらなる治療から除外され、置き換えられない。

【0471】

センプリマブの用量改変

センプリマブ注入は、本明細書において記載されるような有害事象のために中断、保留または永久的に中止されなければならない（有害反応に対するセンプリマブ推奨投与量改変）。センプリマブは、副腎皮質ステロイド漸減後に完全または部分解消を有する患者（グレード0～1）において再開できる。

【0472】

センプリマブが、サイトカインRNA混合物も受け取っている参加者において特定のAE（例えば、薬物誘導性注入関連アレルギー反応）のために永久的に中止される場合には、参加者は、サイトカインRNA混合物の永久研究治療中止の定義された基準が満たされるまでサイトカインRNA混合物を受け取ることを継続する。

【0473】

サイトカインRNA混合物が任意の週で治療の予測日を越えて最大3日まで遅延されるか否かに関わらず、センプリマブはサイトカインRNA混合物と同日に投与されるべきである。

【0474】

センプリマブの治療投与窓は ± 3 日である。センプリマブが保留される場合には、センプリマブの開始を、任意の週で治療の予測日を越えて最大3日まで遅延でき、2または3日の遅延は用量遅延と考えられる。センプリマブの次の用量は、用量間の21日間隔を尊重するために最後の用量の21日後に計画されなければならない。

【0475】

センプリマブ用量が、治療の予測日を ≥ 4 日越えて遅延される必要がある場合には、その用量はスキップされる必要があり、したがって、用量省略と考えられ、サイトカインRNA混合物は、次の計画された日に投与される。参加者は、推奨副腎皮質ステロイド漸減後に毒性が完全にまたは部分的に解消された（グレード0～1）場合にセンプリマブを再開できる。2回の連続用量省略の場合には、AEが命を脅かすものでなく、治療の継続が患者の状態にとって最良と考えられる場合には、患者をセンプリマブを用いて再治療できる。2回よりも多い連続用量省略の場合には、センプリマブは不確定に終結される。

10

20

30

40

50

【0476】

研究の組合せ用量漸増部分においてDLTを起こす参加者は、サイトカインRNA混合物およびセミプリマブの両方が停止され、患者は、毒性が解消されるまで追跡される。

【0477】

・サイトカインRNA混合物およびセミプリマブの開始から最初の28日の間（DLT観察期間）にDLTが生じる場合には、サイトカインRNA混合物およびセミプリマブは両方とも停止される。セミプリマブのみは、以下の基準が満たされることを確実にした後、スポンサーとの議論および研究委員会による潜在的推奨後に再開できる：

－DLTは、セミプリマブ単独と決定的に関連しており、サイトカインmRNA混合物とは関連していなかった

－AEは、付属書14のとおりグレード ≤ 1 に迅速に解消された（または置換療法を用いて管理される場合にはグレード2）。

－治験責任医師が、研究介入を再開することが患者の最良の利益であると考えている。

・サイトカインRNA混合物およびセミプリマブの開始から28日後（DLT観察期間）にDLTが生じる場合には、サイトカインRNA混合物およびセミプリマブの両方は、以下の基準が満たされることを確実にした後、スポンサーとの議論および研究委員会による潜在的推奨後に再開できる：

－AEがグレード ≤ 1 （または置換療法を用いて管理される場合にはグレード2）に解消した。

－治験責任医師が、研究介入を再開することが患者の最良の利益であると考えている。

【0478】

用量漸増にのみ適用可能であり（拡大相ではない）、参加者は、スポンサーとの同意に基づいて、予防的治療と同一用量レベルのサイトカインRNA混合物および固定用量のセミプリマブ（350mg）での（利用可能である場合）、またはより低い用量レベルでの新規周期の治療を用いる療法を再開する。サイトカインRNA混合物について用量再漸増は許可されていない。

【0479】

セミプリマブに決定的に関連するDLTが、サイトカインRNA混合物も受け取っている参加者において生じ、セミプリマブを不確定に終結させる場合には、参加者はサイトカインRNA混合物の永久研究治療中止の定義された基準が満たされるまでサイトカインRNA混合物を受け取ることを継続できる。

【0480】

セミプリマブを受け取っている参加者は、研究治療の過程にわたって割り当てられた投与量（350mg Q3W）のままであり、このIMPについて用量改変は許可されない。治療周期は遅延される場合があり、または研究介入に干渉する進行中のAEの場合にはセミプリマブは省略される場合もある。

【0481】

注入関連アレルギー反応がセミプリマブ治療の間に生じる可能性がある。これらの潜在的有害事象の治療のための緊急事態装置および医薬品（例えば、抗ヒスタミン剤、気管支拡張剤、IV生理食塩水、副腎皮質ステロイド、アセトアミノフェンおよび／またはエピネフリン）が、即時使用のために利用可能である。

【0482】

セミプリマブ注入は、以下のAEのうちのいずれかが観察される場合には中断される：咳、悪寒（rigor）／悪寒（chills）、発疹、そう痒症、蕁麻疹（urticaria）（例えば、蕁麻疹（hives）、みみず腫れまたは膨疹）、発汗（diaphoresis）（発汗（sweating））、低血圧、呼吸困難（息切れ）、嘔吐または潮紅。反応は症候的治療され、注入は、元の速度の50%で再開される。

【0483】

セミプリマブ注入の間のまたはその直後のグレード ≥ 3 の重症度の注入反応の事象では、投薬が停止され、患者はセミプリマブ治療を永久的に中止する。バイタルサインは入念に

10

20

30

40

50

モニタリングされる。

【0484】

参加者が、セミプリマブ治療の終結につながるセミプリマブ注入関連アレルギー性薬物反応を有する場合には、ケースバイケースの評価に基づいて、療法の継続が参加者の最良の選択肢であると考えられる場合には、参加者は、サイトカイン混合物治療を単独療法として割り当てられた用量レベルで継続できる。

【0485】

実施例 1. 4 G – 研究介入および参加者の中断

中断／撤回。IMPが中止される場合には、この中断が一時的であるか（すなわち、用量省略または周期遅延）、1年の治療期間の最後に到達しない限り、疾患進行の前の永久的IMP中断が最後の手段であるかどうかが決定的にされる。任意のIMP中断は、eCRFに十分に文書化されなくてはならない。いずれの場合も、参加者は進行性疾患の文書化まで研究中のままでなくてはならない。

10

【0486】

研究介入の決定的な中断：永久的な介入中断は、研究の間の任意の時間で参加者をIMPに対して再曝露しないための治験責任医師からの、またはいかなる理由であろうとIMPに対して再曝露しないための参加者からの決定的な決定と関連する任意の介入中断である。

【0487】

治験責任医師の意見において、以下の場合のいずれかにおけるように研究介入の継続が参加者の幸福にとって有害である場合には、研究介入は中止される：

20

1. 許容されない有害事象。
2. 確認された疾患進行。
3. 研究プロトコルへの不十分なコンプライアンス。
4. 1年の治療期間の完了。
5. 研究介入のさらなる投与を妨げる併発疾病などの他の条件。

【0488】

参加者が臨床上安定であり、最小の毒性しか伴わずに臨床利益を導き出す場合には、それらは、進行性疾患まで、または1年の最大治療のためのいずれか最初に来る方で治療中で維持される。併用療法を受けた参加者において特定のAE（例えば、薬物誘導性注入関連アレルギー反応）のためにIMPのうち1つのみが永久的に中止される場合には、参加者は、永久的な研究治療中断のための定義された基準が満たされるまで他のIMPを受け取ることを継続する。

30

【0489】

異常な肝臓機能についての研究介入の中断は、増大が基礎疾患と関連しない場合に、および治験責任医師が参加者の安全性の最良の利益にあると考える場合に治験責任医師によって考慮される。

【0490】

参加者は、いつでも理由に関わらず、そうすると決定する場合にIMPを用いる治療から離脱できる、またはこれは治験責任医師の裁量で行うことができる。IMPを用いる治療は、以下の場合のいずれにおいても中止されるべきである：参加者の要求時には、いつでも理由に関わらず（同意の撤回）、または法的に許可された代表者の要求時に。

40

【0491】

「法的に許可された代表者」は、調査に関与する手順への参加者の参加に、参加予定者に代わって同意することを適用法の下で認可された個人または司法またはその他の機関と考えられる。治療のための同意の撤回は、フォローアップ訪問のための同意の撤回とは、および非参加者接触フォローアップ、例えば、医学記録チェックのための同意の撤回とは区別される。

【0492】

撤回を要求する参加者は、フォローアップのための同意の撤回は、研究の公衆衛生の価値

50

を危険にさらす可能性がある」と告げられる。撤回する参加者は、A Eの可能性の、同意を撤回するその決定への寄与について明確に尋ねられ、引き出されたあらゆるA E情報が文書化される。好ましくは、参加者は書面で同意を撤回し、参加者または参加者の代表者が拒絶するか、または身体的に利用可能ではない場合には、サイトが参加者の書面で同意を引き出すことができなかった理由を文書化し、署名する。

【0493】

参加者は、このプロトコールに明記された研究手順に従って、このプロトコールに明記されたように研究完了の予定された日まで、またはフォローアップされるべき任意のA Eの回復もしくは安定化までのいずれか最後に来る方でフォローアップされる。

【0494】

可能であれば、介入の永久的中断後、参加者は、適切な場合、薬物動態学サンプルを含むIMPを用いて最後の投薬日のために正常に計画された手順を使用して評価される。

【0495】

永久的介入中断のすべての場合が、確認されたと考えられた時点でe C R Fの適切なページに治験責任医師によって記録される。

【0496】

実施例1.4H – フォローアップの喪失

参加者は、予定された訪問のために反復して戻ることができず、研究サイトによって接触されることができない場合にフォローアップを喪失したと考えられる。

【0497】

参加者が要求される研究訪問のためにクリニックに戻ることができない場合、以下の措置がとられる：

- ・サイトは、参加者に接触し、できる限り早く失われた訪問を再度予定し、参加者に割り当てられた訪問スケジュールを維持することの重要性に関して助言し、参加者が研究の継続を望むか否か、および／または研究の継続をすべきか否かを確認しようとする。
- ・参加者がフォローアップを失ったとみなされる前に、治験責任医師または被指名人は、参加者との接点を取り戻すためのあらゆる試みを行う（可能であれば、3回の電話および必要に応じて、参加者の最後の既知郵送先住所への公証書簡または地方の同等の方法）。これらの接触の試みは、参加者の医学記録に文書化される。
- ・継続が到達不可能である参加者は、研究から離脱したと考えられる。

【0498】

実施例1.4I – 研究評価および手順

参加者の日常的な臨床的管理の一部（例えば、血球数）として実施され、ICFの署名前に得られた手順は、プロトコールに明記された基準を満たすという条件でスクリーニングまたはベースライン目的で利用することができ、SOAにおいて定義される時間枠内で実施される。

【0499】

安全性の理由のために、またはサンプルを用いる場合の技術的問題のために、反復または予定されないサンプルが採取される場合がある。

【0500】

実施例1.5 – 有効性評価

漸増相では、RECIST 1.1に基づいて測定可能な無傷の病変がある場合に、RECIST 1.1に基づいて客観的応答情報が得られる。

【0501】

拡大相では、サイトカインRNA混合物に対する応答の評価が主目的である。拡大相で治療されたすべての参加者は、組み入れのために少なくとも1つの測定可能な無傷の病変を有さなくてはならない（上記の組み入れ基準I 05を参照されたい）。腫瘍評価は、表2および3における活動のスケジュール（SOA）に記載されるような固定された間隔で実施され、評価窓は、用量遅延または用量省略によって影響を受けない。

【0502】

10

20

30

40

50

すべての腫瘍評価データは、RECIST 1.1 基準に基づいて関連 eCRF ページに記録される。療法に対する確認された応答として文書化されるためには、RECIST 1.1 基準の必要条件として、少なくとも4週間間隔で行われた第2の検査で部分または完全奏効が確認されなくてはならない。免疫療法のためのRECIST (iRECIST) に基づいて、進行性疾患はまた、臨床的に進行性ではない疾患の場合に偽進行を除外するために、少なくとも4週間間隔で行われた第2の検査で確認されなくてはならない。

【0503】

腫瘍応答の評価のためにはRECIST 1.1 基準に従い、二次／探索的エンドポイントとして応答基準を報告するためにはiRECIST 基準にも従う。進行性疾患の場合には、第2の評価で確認され、最初の評価に基づいて進行の日付が記録される。疾患進行が確認されない場合には、参加者は治療を継続し、未確定の進行性疾患 (iUPD) が記録される。

10

【0504】

すべての測定可能な病変 (RECIST 1.1 に基づく測定可能性の閾値未満のものでさえ) が研究介入の最適化のために測定される。ORRの点での有効性評価の一部としての探索的分析は、非標的病変の大きさを考慮して総腫瘍体積の評価によって実施され、注射された病変対注射されない病変の分析は、この探索的評価の一部となる。測定手順およびeCRFにおける文書化は、SRMにおいて詳述され、統計解析計画はSAPにおいて詳述される。

【0505】

二次的有効性変数として、疾患制御率、応答の持続期間および無増悪生存期間が挙げられる。すべてのこれらのパラメータは、SAPにいて詳述される。

20

【0506】

実施例 1.5A – リンパ腫患者のFDG-PET-CTおよび／または造影CT
ORRは、Lugano分類2014 (Cheson BDら (2014) J Clin Onc 32 (27) : 3059~68頁) のように5段階評価を使用して評価されたような応答に基づいて、CRおよびPRを有する参加者の割合として定義される。

【0507】

腫瘍評価は、FDG-avidリンパ腫の場合のFDG-PET-CTスキャンおよび非FDG-avidリンパ腫の場合の造影CTを含む。腫瘍評価は、SoAに記載されるような固定間隔で実施され、評価窓は、用量遅延または用量省略によって影響を受けない。

30

【0508】

スクリーニング時のCTおよび／またはPETスキャンが頸部における疾患の関与について陰性である場合、その後のCTスキャンは、頸部領域を含まない場合がある。スクリーニング時のPETおよび／またはCTスキャンが頸部における疾患の関与について陽性である場合、その後のCTスキャンは頸部領域を含まなくてはならない。腫瘍応答評価は、スクリーニング時 (第1のIMPの28日前 [-7日] 以内) およびその後12週毎 (±7日) に行うべきである。画像診断のタイミングは暦日に従うべきであり、周期中の遅延のために調整されてはならない。PD以外の理由のために中止した参加者については、評価は、参加者がPDを文書化するか、または新規抗がん療法を開始するまで継続すべきである。治験責任医師の意見において参加者が臨床的に進行している場合には、第1の評価は12週より早く実施される。

40

【0509】

参加者がPRまたはCRを有する場合には、確認のために4週間間隔の反復スキャンが必要であり、患者は12週毎の評価スケジュールで継続しなくてはならない。参加者が臨床的に安定であるが、画像診断が12週でのPDを示す状況では、研究薬物は、次の疾患応答評価まで治験責任医師の裁量で継続できる。しかし、進行の臨床的疑いがある場合には画像診断は任意の時点で行うべきである。

【0510】

リンパ腫B症状の評価は、各疾患応答評価を用いて行うべきである。

50

【0511】

12週でPDを有し、12週を越えて研究療法を継続する参加者では、治療中断の時点で放射線学的評価が実施される。これまでのスキャンが、中断日の4週間前以内に得られた場合には、治療中断時の反復スキャンは必須ではない。

【0512】

実施例1.5B – リンパ腫患者の骨髄生検&吸引物

すべての参加者が、Lugano 2014基準（Cheson BDら（2014））のとおりに臨床的に示されたように実施された骨髄生検／吸引物を有することができる。FDG-PET-CTは、骨髄関与の決定にとって適切であり、骨髄の関与を高度に示唆すると考慮される。骨髄生検確認は、ベースラインで必要である場合（FDG-PET-CTが骨髄部位で陰性であり、次いで関与を同定するために生検／吸引物が実施される場合）に考慮される。その後の骨髄評価は、ベースラインで骨髄関与を有する参加者においてのみ実施される。

10

【0513】

実施例1.5C – 安全性評価

このFIH研究の主目的は、DLTに基づいて、毎週の腫瘍内注射として投与される場合のサイトカインRNA混合物の生物学的に最適な用量を確立することである。したがって、安全性は主な研究エンドポイントであり、継続的に評価される。安全性プロファイルは、身体検査（好ましくは、同一医師による）および臨床検査の所見から評価され、発生率、重症度（NCI CTCAEバージョン5.0によってグレード付けされるような）およびAEの累積性質に基づく。すべての安全性評価の計画された時点がSOAで提供される。

20

【0514】

実施例1.5D – 身体検査

完全身体検査は、最小で、中枢神経系および心血管系、呼吸器系、胃腸管系、造血系（肝腫大、脾腫大、リンパ節腫大）および皮膚科系の評価を含む。身長（ベースラインでのみ）および体重（各周期の投与前時）が測定され、eCRFに記録される。

【0515】

ECOG実施状態は、各IMP投与の前に評価され、eCRFに記録される。治験責任医師は、これまでの重篤疾病に関連する臨床徴候ならびに皮膚病変の進行に注意を払う。任意の新規所見またはこれまでの所見の悪化は、新規有害事象として報告される。身体検査のスケジュールは、SOAに記載されている。

30

【0516】

実施例1.5E – バイタルサイン

治療相の間、IMPの注入の開始直前および注射の終了時にバイタルサインがモニタリングされる。モニタリングはまた、臨床的に指示されるときに実施される。体温、脈拍数、呼吸速度および血圧が評価される。血圧および脈拍測定には、気を散らすもの（例えば、テレビ、携帯電話）のない静かな状況で参加者が少なくとも5分休息することが先行されるべきである。

【0517】

実施例1.5F – 心電図、心エコー図およびMUGAスキャン

単一12リードECGが、SOAに概説されるように得られる。臨床的に重大な異常は、ICFの署名後に発生したAEとして報告されなければならない。既存の状態は、参加者の病歴に記録されるべきである。心エコー図またはMUGAスキャンは、研究の組合せ部分において患者のスクリーニング時にのみ、SOAにおいて概説されるように（本明細書を参照されたい）得られる。

40

【0518】

実施例1.5G – 肺機能検査

DLCOは、プレオマイシンを用いてこれまでに治療されたリンパ腫を有する参加者についてベースラインで実施される。肺機能検査は、セミプリマブとの組合せ漸増アームの患

50

者についてのみ必要である。

【0519】

実施例 1. 5 H – 臨床安全性検査室評価

治験責任医師は、検査報告書を概説し、この概説を文書化する。この検査報告書は原文書とともに提出される。検査異常は、以下の事象においてのみ A E として報告される：

- 治験医薬製品中断、治療または用量変更につながる。
- 重篤なまたは特に興味深い A E (A E S I) の定義を満たす（注記：残りの臨床検査は、e C R F 検査室のページで報告される）。
- これまでの m R N A およびインターロイキントリガー試験が、血液学的パラメータの一時的な変化を示している；作用様式の一部としてのこれらの一時的な変化は、デフォルトで A E として登録されるべきではない。しかし、臨床治験責任医師は、特定の場合には、検査室の変化が臨床的に重大なものとしておよび／または A E として報告されるべきか否かを決定する。
- 研究における参加の間に、または研究介入の最後の用量の 30 日後以内に（すなわち、E O T 評価）値が臨床的に重大な異常と考えられるすべての臨床検査は、値が、正常もしくはベースラインに戻るまで、または治験責任医師もしくは医療用モニターによってもはや臨床的に重大と考えられなくなるまで反復される。
- このような値が、治験責任医師によって合理的と判断される期間内に正常／ベースラインに戻らない場合、病因が同定され、スポンサーに通知される。

10

【0520】

すべてのプロトコールによって必要とされる検査室評価は、検査室マニュアルおよび S o A に従って実施される。

20

【0521】

施設の地方の検査室で実施されたプロトコールによって指定されない検査室の評価から得た検査室の値が、参加者の管理の変更を必要とする、または治験責任医師によって臨床的に重大と考えられる（例えば、S A E または A E または用量変更）場合は、結果は e C R F に記録される。安全性フォローアップのために、または A E のさらなる調査のために実施されたすべての計画されない臨床検査は、e C R F で報告される。

【0522】

実施例 1. 5 I – 用量制限毒性 (D L T)

D L T は、反対の明確な証拠がない場合で、研究委員会による検証後、N C I C T C A E バージョン 5.0 を使用してグレード付けする疾患進行に関連しない場合、I M P に関連する以下の A E のいずれかとして定義される。D L T 観察期間の期間は、事象が D L T であるか否かを決定するために期間は評価されなければならない、治療関連 A E のために周期 2 の開始を遅延する参加者についてより長い。A E の重症度を評価するために N C I C T C A E バージョン 5.0 が使用される。

30

【0523】

血液学的毒性：

- ・グレード ≥ 3 の発熱性好中球減少症またはグレード ≥ 3 の感染が実証されている好中球減少症。
- ・グレード ≥ 3 の > 72 時間持続する血液学的毒性。
- ・グレード 4 の血小板減少症または出血を伴う、もしくは輸血を必要とするグレード 3。

40

【0524】

非血液学的毒性：

- ・任意のグレード ≥ 3 の免疫関連 A E、グレード 3 の皮膚反応を除く。
- ・i r A E は、第 1 の用量後短時間で、または治療の最後の用量後数か月で生じる可能性がある。潜在的免疫病因を決定するために、薬物曝露に関連する未知病因のすべての A E が評価される。i r A E が疑われる場合には、新生物性、感染性、代謝的、毒素または他の病因的原因を除外するための試みが行われ、その後、A E を i r A E として分類する。任意の他のグレード ≥ 3 の非血液学的毒性：

50

－適切な止痢療法を用いて管理され、48時間以内にグレード ≤ 1 に解消される場合には、グレード3の悪心、嘔吐および下痢を排除する。

－既知肝臓転移を有する参加者が、ベースラインでグレード2のASTまたはALT異常を有すると登録された場合には、ASTまたはALTの増大が、増大がベースラインの > 3 倍であり、上昇が ≥ 5 日後に確認された場合にのみDLTと考えられる。

－ジルベール症候群を有する参加者が、ベースラインでグレード2のビリルビン異常を有すると登録された場合には、ビリルビンの増大が、増大がベースラインの > 3 倍であり、上昇が ≥ 5 日後に確認された場合にのみDLTと考えられる。

・グレード ≥ 2 のブドウ膜炎

【0525】

他の「グレード付け可能ではない」毒性：

・研究委員会の意見ではさらなる用量漸増が参加者を許容されないリスクに曝すような潜在的に臨床的に重大なものである治療によって出現する有害事象。

・ベースラインまたはグレード ≤ 1 への回復がない場合の、1より多い用量省略につながるIMPに関連する毒性（脱毛症、白斑、疲労および甲状腺機能低下症を除く）。

【0526】

漸増相のための治療の第1の28日の間のDLTの発生は、MTDまたはMADを規定するために使用される。周期1では、およびその後の周期では、DLTの発生によって、用量省略または低減の必要性が決定される（DLTがDLT観察期間の間に生じる場合、研究介入は決定的に終結される；DLT観察期間を超えて）。

【0527】

DLTを経験する参加者は、サイトカインRNA混合物が停止した療法を有することとなり、彼らは、この毒性がCTCAEグレード ≤ 1 に、またはより高い場合には参加者のベースライン値に解消されるまで追跡される。最大2回の用量省略を用いる問題の毒性からの回復および研究委員会の同意後、治験責任医師がサイトカインRNA混合物を用いる療法を再開することが参加者の最良の利益であると考えている場合に、参加者は、スポンサーとの同一に基づいて、同一用量レベルでの、またはより低い用量レベルでの新規周期の治療を用いる療法を再開できる。このような再投薬される参加者には用量再漸増は許可されていない。

【0528】

実施例1.5J – 全身反応

関連用量改変とともに過敏症およびアナフィラキシー反応の管理が以下に詳述されている。

【0529】

全身性炎症反応

サイトカインRNA混合物投与を用いた場合に、炎症反応による全身反応が生じる可能性がある。抗原特異的Tリンパ球応答、TLR媒介性シグナル伝達および炎症性サイトカインの一時的な放出は、全身性炎症反応を引き起こす可能性がある。全身性炎症反応の通常の臨床症状には、頻脈、血圧の低減、呼吸困難、震え、嘔吐、めまいおよび発熱が含まれる。

【0530】

全身性炎症反応の場合の可能性ある行動として以下がある：

・生体機能（BP、HR、呼吸、体温）の評価

・パラセタモールおよび／または非ステロイド系抗炎症薬（NSAID）を用いる治療

・IL-6、IFN γ 、TNF α 、IL-2、GM-CSF、IL-10、IL-8、IL-5、CRPおよびフェリチンのための血液サンプル収集、これらに加えて、併用療法を受けている参加者はまた、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、遊離チロキシン（T4）、抗核抗体（ANA）およびリユーマチ因子（RF）のための血液サンプル収集を有する

・治験責任医師の裁量で回復まで入院が必要である場合があり、例えば、以下を伴う：

・生体機能（BP、HR、呼吸、体温）の入念なモニタリング

10

20

30

40

50

- ・ N S A I D の投与
- ・ 単回の高用量の静脈内コルチゾン
- ・ 単回用量のトシリズマブ 8 m g / k g 注入（回復しない場合）

【 0 5 3 1 】

サイトカイン放出症候群

サイトカイン関連毒性は C R S としても知られ、強力な免疫活性化の結果として生じる非抗原特異的毒性である。C R S は、多数のリンパ球（B 細胞、T 細胞および／または N K 細胞）および／または骨髄系細胞（マクロファージ、樹状細胞および単球）が活性化になり、炎症性サイトカインを放出する場合に臨床的に現れる。C R S は、治療的モノクローナル抗体注入と古典的には関連しており、これらの状況では、症状発生は通常、注入開始後数分～数時間以内に生じる。サイトカイン R N A 混合物を用いる腫瘍内注射後の血清サイトカインレベルは、組換えサイトカインの直接注射後に参加者によって観察されたレベルに近づくことは予測されないが、臨床的利益を提供する持続された腫瘍内サイトカインレベルの過程で、参加者が、有害作用を引き起こす可能性がある持続されたレベルの全身サイトカインレベルを有する可能性がある。したがって、サイトカイン R N A 混合物の腫瘍内注射を受け取っている参加者は、サイトカイン関連毒性の徴候について入念にモニタリングされる。C R S のグレード 2 またはそれより高い徴候および症状を発生する患者の場合には、入院することを必要とする。C R S グレード ≥ 2 が発生する場合には、バイタルサインモニタリングは継続的に行われなくてはならない。参加者は、血行動態または呼吸器の障害を発生する場合には集中治療室（I C U）に移されなければならない。I C U には、C R S の治療で経験を有する集中治療医を配置していなくてはならない。さらに、I C U は、C R S グレード ≥ 2 を有する参加者が I C U に入れられる前に、その緊急治療およびモニタリングを開始するための必要な装備を備えなくてはならない。

10

20

【 0 5 3 2 】

C R S と関連する臨床徴候および症状については、以下を参照されたい。

【 0 5 3 3 】

症状発生のタイミングおよび C R S 重症度は、作用因子および免疫細胞活性化の規模に応じて変わる。症候群の発生率および重症度はまた、患者が大きな腫瘍量を有する場合には、おそらくは、これがより高いレベルの T 細胞活性化につながるのにより大きく現れる。モノクローナル抗体療法と関連する C R S と同様に、養子 T 細胞療法と関連する C R S は、I F N γ 、I L - 6 および T N F α レベルの上昇と関連しており、I L - 2、G M - C S F、I L - 1 0、I L - 8、I L - 5 およびフラクタルカイン（f r a c k t a l k i n e）の増加も報告されている。新たに出現した証拠は、I L - 6 を C R S における毒性の中心的なメディエーターとして意味づけ、I L - 6 は、抗炎症および炎症促進特性を有する多面的サイトカインである。しかし、サイトカインの広いパネルのリアルタイム分析は、現時点での C R S を有する個々の患者の管理に大幅に影響を及ぼさず、治療決定は通常、臨床パラメータに基づいている。

30

【 0 5 3 4 】

血清 C 反応性タンパク質（C R P）およびフェリチンのアッセイが実施される。I L - 6 および I F N γ を含むサイトカインの血漿レベルが集められ、C R S グレード ≥ 2 症状の発生の場合にのみ遡及的に分析される。サンプリングは、C R S の徴候について評価するために最初の用量後に、および各用量増大後に、および C R S グレード ≥ 2 症状の発生の場合に実施される。C R P は、大部分は、I L - 6 に応じて肝臓によって生成される急性相反応物である。血清 C R P レベルは、I L - 6 生物活性の増大の代替物として働く。C R S の間、血清 C R P レベルは、数ログ増大する。血清 C R P アッセイは、迅速で、高価でなく、ほとんどの病院で容易に利用可能である。いくつかのシリーズでは、ピーク C R P レベルおよび C R P の変化倍数によって重症 C R S のリスクにある患者が同定されてきた。しかし、C R P レベルは感染の際にも上昇し、感染によって引き起こされた炎症と C R S と関連する炎症の間を区別するためには使用できないことを強調することは重要である。キメラ抗原受容体（C A R）T 細胞注入後に C R S を有する多数の患者において血清

40

50

フェリチンの極端な上昇が観察されており、これは、CRSおよびマクロファージ活性化症候群／血球貪食性リンパ組織球症（HLH）の間の類似点を支持する。

【0535】

個々の参加者におけるCRSの重症度を評価するために、2014 NCIコンセンサスガイドラインに基づくCRSのグレード付けシステムおよび緩和戦略が使用される。このグレード付けシステムは、誘発物質に関わらず軽度、中程度、重症および命を脅かすCRSを定義するように、また副腎皮質ステロイドおよび／または抗ヒトIL-6モノクローナル抗体、例えば、トシリズマブを用いる治療推奨を導くように改変された。

【0536】

実施例1.6 - 有害事象および重篤有害事象

特に興味深い有害事象

AE S Iは、スポンサーの製品またはプログラムに対して特異的な化学的および医学的懸念のあるAE（重篤または非重篤）であり、これに対して進行中のモニタリングおよびスポンサーへの治験責任医師による即時通知が必要である。このような事象は、それらを特性決定し、理解するためにさらなる調査を必要する場合がある。プロトコル修正によって研究の間に特に興味深い有害事象が付加、改変または除去される場合がある。

・研究に参加した女性の対象の妊娠ならびにIMPを用いる研究に参加した男性対象の女性のパートナーに生じている妊娠は、重篤度基準のうちの1つを満たす場合にのみSAEと認定される（以下を参照されたい）。

－女性参加者における妊娠の事象では、IMPは中止される。女性参加者における、または男性参加者の女性パートナーにおける妊娠のフォローアップは、アウトカムが決定されるまで必須である。

・IMP／非治験医薬製品（NIMP）を用いる症候性過剰投与（重篤または非重篤）

－IMP／NIMPを用いる過剰投与（偶発的または意図的）は、治験責任医師によって疑われる、または参加者によって自発的に気づかれ、意図された投与用量を少なくとも30%を上回ると定義された事象である。

－注目すべきことに、無症候性過剰投与は標準AEとして報告される。

・他のプロジェクト特有のAE S I

－すべてのプロトコルによって定義される潜在的またはIMP関連DLTは、発生の周期にかかわらず（すなわち、漸増および拡大相の両方における最初の28日の治療後）AE S Iと考えられる、

－サイトカイン放出症候群（任意のグレード）

－研究の併用療法部分におけるグレード ≥ 2 注入関連反応

－任意のグレード ≥ 2 自己免疫反応

【0537】

AEは、参加者によって（または適当な場合には、介護者、代理人または参加者の法的に許可された代表者によって）報告される。

【0538】

治験責任医師および任意の認定された被指名人は、AEまたはSAEの定義を満たす事象を検出、文書化および記録することの責任を負い、重篤であり、研究介入もしくは研究手順と関連すると考えられる、または参加者にサイトカインRNA混合物を中止させたAEをフォローアップする責任を引き続き負う。

【0539】

有害事象（AE）

AEは、研究介入と関連すると考えられるか否かに関わらず、研究介入の使用と時間的に関連する、参加者または臨床研究参加者における任意の都合の悪い医学的発生である。したがってAEは、研究介入の使用と時間的に関連している、任意の好ましくないおよび意図されない徴候（異常な検査所見を含む）、症状または疾患（新規のまたは悪化した）である。

【0540】

10

20

30

40

50

重篤有害事象（S A E）

S A Eは、任意の用量で以下である任意の都合の悪い医学的発生である：

- －死亡をもたらす、
 - －命を脅かすものである（注記：用語「命を脅かす」とは、参加者が事象／反応の時点で死亡のリスクにあった事象／反応を指す、仮定的に、より重症であったなら死亡を引き起こしたかもしれない事象／反応は指さない）、
 - －入院患者の入院を必要とするか、または既存の入院の延長をもたらす、
 - －持続的なまたは重大な身体障害／無能力、正常な生活機能を実施する能力の永久的または重大な（一時的な場合）および実質的な混乱をもたらす。身体障害は、相対的に小さい重要性の経験、例えば、頭痛、悪心、嘔吐または偶発的な小さい外傷を含むように意図されない、
 - －先天性異常／出生時欠損、胎児乳児の異常または胎児消失をもたらす任意の異常である、
 - －医学的に重要な事象または反応である。他の状況が重篤と考えられるべきであるか否かを決定することにおいて医学的および科学的判断が下されなければならない、例えば、直ちに命を脅かすものではない、または死亡もしくは入院をもたらすものではない可能性があるが、参加者を危険にさらす可能性がある、または上記の定義において列挙される他のアウトカムの中の1つを防ぐために介入を必要とする可能性がある重要な医学的事象。治験責任医師は、医学的に重要なA Eを重篤A E（S A E）として評価する責任を負う。
- 例：アレルギー性気管支痙攣のための救急治療室における、または家での集中治療、入院を伴わない血液悪液質、入院を伴わない10×ULNを上回る無症候性ALT増加）

10

20

【0541】

治療によって出現する有害事象（T E A E）は、研究介入の最後の用量の30日後までの治療期間中の間に報告されるA Eとして定義される。

【0542】

関連有害事象：治験責任医師が後援する研究（I S S）によると、製品が事象を引き起こした可能性があるという合理的な可能性がある。S A Eの因果関係（すなわち、研究介入とのその関連性）は、C R Fを完成している医師によって評価される。規制報告目的のために、関連性が未知であるか、または記載されていない場合には、それは有害薬物反応の定義を満たす（疑わしい関連－A D R）。

30

【0543】

免疫関連有害事象（i r - A E）：治療関連有害事象のサブセットは、免疫ベースの療法（例えば、免疫チェックポイント阻害剤曝露）と関連している、未知病因論の、免疫媒介性機構と一致する任意の臓器の臨床的に重大な有害事象として定義される。

【0544】

特に興味深い有害事象（A E S I）：スポンサーの製品またはプログラムに特有の科学的および医学的に懸念される有害事象（重篤または非重篤）、そのためには、進行中のモニタリングおよび治験責任医師によるスポンサーへの迅速な伝達が適切である。このような事象は、それらを特性決定し、理解するためのさらなる調査を必要とする場合がある。A E S Iは、プロトコル修正によって研究の間に付加または除去される場合がある。

40

【0545】

新規安全性所見：報告可能な個別の症例安全性報告（I C S R）または製品の公知のリスクベネフィットバランスもしくは安全性プロファイルに影響を及ぼす可能性がある安全性の問題以外の任意の所見。

【0546】

予測されたA E／S A E：製品の承認された適応症およびレジメン下での予測可能の決定は、地域の表示（利用可能な場合）または欧州製品情報概要（E U Summary o f P r o d u c t C h a r a c t e r i s t i c s）（S m P C）に基づいて決定されるべきである。製品が任意の承認されていない組合せ／レジメンで、または承認されていない適応症／集団のために、または承認されていない投薬のために投与される場合には

50

、予測可能の決定は、IBに基づくべきである（研究プロトコルにおいて定義されたような参照文書に基づいて、組合せ内の指定の市販の薬物各々の表示を考慮すること）。

【0547】

予期せぬ重篤な有害反応の疑い（SUSAR）：因果関係、重篤度および予測可能は、独立基準である。保健機関への迅速な報告を定義する組合せである。

【0548】

AE定義を満たす事象：

- ・治験責任医師の医学的および科学的判断において臨床的に重大と考えられる（すなわち、基礎疾患の進行と関連しない）ベースラインから悪化したものを含む、任意の異常な臨床検査結果（例えば、血液学、臨床化学または尿検査）または他の安全性評価（例えば、ECG、放射線学的スキャン、バイタルサイン測定）。
- ・状態の頻度および／または強度の増大のいずれかを含む、慢性のまたは断続的な既存の状態の増悪。
- ・研究の開始前に存在していた可能性があるとしても、研究介入投与後に検出または診断される新規状態。
- ・薬物－薬物相互作用の疑いの徴候、症状または臨床的後遺症。
- ・研究介入または併用投薬のいずれかの過剰投与の疑いの徴候、症状または臨床的後遺症。

10

【0549】

AE定義を満たさない事象：

- ・参加者の状態について予測されるものよりも重症でない限り、研究されている疾患／障害または研究されている疾患／障害の予測される進行、徴候もしくは症状。
- ・医学的または外科的手順（例えば、内視鏡検査、虫垂切除術）：手順につながる状態がAEである。
- ・都合の悪い医学的発生が生じなかった状況（社会的なおよび／または便利な入院）。
- ・悪化しない、研究の開始時に存在したまたは検出された既存の疾患または状態の予想される日々の変動。

20

【0550】

事象が上記の定義によってAEではない場合には、重篤条件が満たされる場合（例えば、研究下の疾患の徴候／症状のための入院、疾患の進行による死亡）であってもSAEではない。

30

【0551】

AEおよび／またはSAEの記録およびフォローアップ

AEおよびSAEの記録

AE／SAEが生じる場合、事象に関連するすべての文書（例えば、病院の進捗記録、検査報告書および診断報告書）が再調査され、すべての関連AE／SAE情報がeCRFに記録される。ある特定の場合の医学的記録のコピーがスポンサーによって要求される場合がある。この場合には、スポンサーへの提出の前に、参加者番号を除くすべての参加者の識別子が医学的記録のコピーに編集される。治験責任医師は、徴候、症状および／または他の臨床情報に基づいて事象の診断を確立しようとする。可能な限り常に、診断（個々の徴候／症状ではない）は、AE／SAEとして文書化される。

40

【0552】

強度の評価

AE／SAEの強度は、NCI CTCAEバージョン5.0に基づいて評価される。

【0553】

因果関係の評価

治験責任医師は、研究介入と各AE／SAEの各発生の間に関連性を評価する義務がある。関連性の「合理的な可能性」は、除外することができない関連性というよりも原因となる関連性を示唆する事実、証拠および／または議論があることを伝える。治験責任医師は、関連性を決定するために臨床的判断を使用する。基礎疾患、併用療法（concomi

50

tant therapy) および他のリスク因子ならびに研究介入投与に対する事象の時間的関連性などの代替原因が考慮され、調査される。治験責任医師はまた、その評価において、治験薬概要書 (IB) および／または市販の製品の製品情報も参考にする。

【0554】

各 AE / SAE について、治験責任医師は、AE / SAE を再調査し、因果関係の評価を提供したという医学的記録に文書化しなくてはならない。SAE が生じており、治験責任医師が、スポンサーへの最初の報告書に含めるための最小の情報しか有さない状況がある。しかし、スポンサーへの SAE データの最初の伝達の前に治験責任医師があらゆる事象の因果関係を常に評価することは極めて重要である。治験責任医師は、フォローアップ情報を考慮して因果関係の意見を変更し、更新された因果関係評価を有する SAE フォローアップ報告書を送る場合がある。

10

【0555】

AE および SAE のフォローアップ

治験責任医師は、AE または SAE の性質および／または因果関係をできる限り完全に解明するために、医学的に指示されるように、またはモニタリングチームの代表者によって要求されるように追加の測定および／または評価の実施を実行または手配する義務がある。これは、追加の臨床検査または調査、病理組織学的検査または他の医療専門家との相談を含む可能性がある。新規または更新された情報が、最初に完成された eCRF に記録される。

20

【0556】

SAE の報告

電子データ収集ツールによるスポンサーへの SAE 報告。スポンサーへ SAE を報告する主な機構は、電子データ収集ツールである。電子システムが 24 時間をこえて利用可能ではない場合には、サイトは紙の SAE データ収集ツール (次の節を参照されたい) を使用する。サイトは、SAE データを電子システムが利用可能になればすぐに電子システムに入力する。所与のサイトで研究が完了した後、電子データ収集ツールは、既存のデータへの新規データまたは変更の入力を防ぐためにオフラインにされる。電子データ収集ツールがオフラインにされた後に、サイトが研究参加者から新規 SAE の報告書を受け取るか、またはこれまでに報告された SAE で更新されたデータを受け取る場合には、サイトはこの情報を紙の SAE 形式 (次の節を参照されたい) で、またはファクシミリによってスポンサーもしくは代表者に報告できる。

30

【0557】

紙 CRF によってスポンサーに報告する SAE

SAE 紙 CRF のファクシミリ伝達は、この情報をスポンサーまたは代表者に伝達するための好ましい方法である。稀な状況では、およびファクシミリ装置の不在下では、電話による通知は、翌日配達便または国際宅配便によって送られた SAE データ収集ツールのコピーとともに受け入れられる。電話による最初の通知は、治験責任医師が指定された報告時間枠内に SAE CRF ページを完了し、署名する必要性と置き換わるものではない。

【0558】

実施例 1. 6A - AE および SAE 情報を収集する期間および頻度

40

すべての AE (SAE を含む) は、SOA において指定された時点で ICF の署名から EOT まで収集される。EOT 後は、IMP 関連または予測されない事象 (IMP との関連性が明確ではないものを含む) のみが報告される。

【0559】

以下に示されるように、すべての SAE および AESI が記録され、24 時間以内にスポンサーまたは被指名人に報告される。治験責任医師は、入手可能になった 24 時間以内に任意の更新された SAE データをスポンサーに提出する。

【0560】

治験責任医師は、研究参加の結論後に AE または SAE を積極的に探す義務はない。しかし、治験責任医師が、参加者が研究から離脱した後の任意の時点での死亡を含む任意の S

50

A Eを知り、事象が研究介入または研究参加と合理的に関連していると考えられる場合には、治験責任医師は、迅速にスポンサーに通知しなくてはならない。

【0561】

A EおよびS A Eの因果関係を記録し、評価し（evaluating）、評価する（assessing）方法ならびにS A E報告書を完了し、伝達する手順が以下に提供される。

【0562】

実施例1.6B – A EおよびS A Eを検出する方法

A Eおよび／またはS A Eを検出するときにバイアスを導入しないように注意すること。A E発生について尋ねるには、参加者の自由な、主要でない口頭での質問が好ましい方法である。

【0563】

実施例1.6C – A EおよびS A Eのフォローアップ

最初のA E／S A E報告書の後、治験責任医師は、その後の訪問で各参加者を積極的に追跡する必要がある。E O T後、安全フォローアップ期間の間、解消または安定化のために報告、モニタリングおよびフォローアップされるべき事象は、以下のとおりである：

- ・関連性に関わらず、すべての進行中のA E、S A Eまたは特に興味深い事象
- ・関連事象による死亡を含む、関連していると考えられる、すべての新規A E、S A Eまたは特に興味深い事象

【0564】

フォローアップ手順に関するさらなる情報は以下に示されている。

【0565】

実施例1.6D – A EまたはS A Eとして適格ではない疾患関連事象および／または疾患関連アウトカム

以下の疾患関連事象（D R E）は、がんを有する参加者において一般的であり、重篤なもの／命を脅かすものである可能性がある：

- ・エンドポイントであるような、基礎疾患の進行。
- ・最後のI M P投与の30日後に生じる場合には基礎疾患の進行による死亡。最後の研究介入の30日以内に生じるすべての死亡は、S A Eとして報告されなければならない。

【0566】

これらの事象は通常、研究下の疾患と関連しているので、事象がS A Eの定義を満たす可能性があっても、S A Eの迅速な報告のための標準プロセスに従ってそれらは報告されない。これらの事象は、適切な時間枠内に参加者のe C R Fの対応するページに記録される。

【0567】

しかし、以下の条件のうちいずれかが当てはまる場合には、事象はS A Eとして（D R Eの代わりに）記録および報告されなければならない：事象が、治験責任医師の意見では、個々の参加者について予測されるものよりも大きな強度、頻度または期間である；または治験責任医師が、事象が研究介入と関連していたという合理的な可能性があると考えられる。

【0568】

妊娠：

女性参加者および示される場合には男性参加者の女性のパートナーにおけるすべての妊娠の詳細が、研究介入の開始後および研究介入の最後の用量後少なくとも6カ月収集される。

【0569】

妊娠が報告される場合には、治験責任医師は、妊娠を知った24時間以内にスポンサーに通知する。異常妊娠アウトカム（例えば、自然流産、胎児死亡、死産、先天性異常、異所性妊娠）は、S A Eと考えられる。妊娠フォローアップには、任意の自発的または自然終結、誕生の詳細、任意の先天性異常の有無、出生時欠損、母体または新生児合併症および研究薬物との推定される関係を含む妊娠のアウトカムが記載される。

10

20

30

40

50

【0570】

実施例 1.7 - 薬物動態

実施例 1.7A - サンプルング時間

血漿中のサイトカインRNA混合物によってコードされるサイトカインの濃度を測定するために、およびPK分析を実施するために以下の血液収集時間点が定義される：

【0571】

血液収集のためのサンプルング時間は、PK/PDy1フローチャート（表3）に見出すことができる。指定の時間に、仕様に従ってすべての血液サンプルを収集することが最大に重要である。

【0572】

任意の理由のために欠損したまたは消失したサンプルは記録される。血液収集の実際の時間がeCRFに記録される。サンプルングおよび薬物投与の日付および時間も正確に記録される。

【0573】

併用療法のサンプルングサブセット

併用療法拡大相におけるコホートA、B、CおよびDについて、密なサンプルングサブセットは、周期1第1週および周期3第1週の間の密なサンプルングを有する各コホートについて最小10人の参加者からなる（表4および5）。併用療法拡大相中のすべての参加者は、まばらなサンプルングを経験する。

【0574】

実施例 1.7B - 生物分析法

生物分析法は表9にまとめられている。手短には、血漿中のサイトカインRNA混合物から翻訳された4種の標的サイトカイン（IL-12sc、IL-15スシ、GM-CSFおよびIFN α 2b）の全身レベルが、各参加者コホートにおいて週及的にモニタリングされる。これらのサイトカインアッセイ（IL-12sc、GM-CSF、IFN α およびIL-15スシ）は、検出感度の必要性に基づいてMSDまたはQuanterix SIMOAプラットフォームのいずれかで実施される。併用療法を受けている参加者については、血清中のセミプリマブ濃度が、Regeneronによって開発され、検証されたイムノアッセイを使用してPK/PDyフローチャート（表5）に従ってモニタリングされる。

【0575】

【表36】

表 12-サイトカイン RNA 混合物によってコードされるサイトカインの、および

セミプリマブの PK 分析の生物分析法

分析物	IL-15 スシ	IL-12sc	GM-CSF	IFN α 2b	セミプリマブ
マトリックス	血漿	血漿	血漿	血漿	血清
分析技術	MSD での 単回または マルチプ レックス化 サイトカイン アッセイ または同様の もの	MSD での 単回または マルチプ レックス化 サイトカイン アッセイ または同様の もの	MSD での 単回または マルチプ レックス化 サイトカイン アッセイ または同様の もの	MSD での 単回または マルチプ レックス化 サイトカイン アッセイ または同様の もの	イムノアッセイ

10

20

30

40

50

【0576】

実施例 1.7C – PKパラメータ

サイトカインRNA混合物によってコードされるサイトカインの集中的にサンプリングされた血漿濃度から得られる、およびセミプリマブの集中的にサンプリングされた血清濃度の薬物動態パラメータは、非コンパートメント法を使用してPKDMSソフトウェア（Pharsight）を用いて算出される。

【0577】

サイトカインRNA混合物によってコードされるサイトカインのPKパラメータとして、それだけには限らないが、表13に列挙されるものが挙げられる。

【0578】

【表37】

10

表 13-薬物動態パラメータおよび定義のリスト

パラメータ	分析物				定義
	IL-15 スシ	IL-12sc	GM-CSF	IFN α 2b	
$C_{\max}$	X	X	X	X	投薬間隔にわたって観察された最大血漿濃度
$t_{\max}$	X	X	X	X	$C_{\max}$ に到達する時間
C_{last}	X	X	X	X	投薬間隔にわたって定量の下限を上回って観察された最終濃度
t_{last}	X	X	X	X	C_{last} の時間
C_{trough}	X	X	X	X	反復投薬の間の治療投与の直前に観察された血漿濃度
AUC_{0-7d}	X	X	X	X	投薬間隔(7日)にわたって台形法を使用して算出された時間対する血漿濃度曲線下の面積

20

30

【0579】

サイトカインRNA混合物によってコードされるサイトカインのために集団PKアプローチが使用される。行われた場合には、生成されたデータはスタンドアロン報告書で報告される。

【0580】

セミプリマブのPKパラメータとして、それだけには限らないが、表14に列挙されるものが挙げられる。

【0581】

40

50

【表 3 8】

表 14-薬物動態パラメータおよび定義のリスト-セミプリマブ

パラメータ	分析物	定義
	セミプリマブ	
C_{EOI}	X	静脈内注入の最後に観察された血清濃度
C_{max}	X	第 1 の注入後に観察された最大血清濃度
t_{max}	X	C_{max} に到達する時間
C_{trough}	X	反復投薬の間の治療投与の直前に観察された血清濃度
AUC_{0-21d}	X	投薬間隔(21 日)にわたって台形法を使用して算出された時間対する血漿濃度曲線下の面積

10

【0582】

実施例 1. 8 - 薬動力学

サイトカイン RNA 混合物およびセミプリマブの標的管理、PDy および安全性バイオマーカーは、用量漸増および POC 試験成功にとって重要である。定量的または半定量的バイオマーカーは、用量レベルの、標的発現、PDy および PK パラメータとの相関を確立するのに役立ち、MTD / MAD の決定を補助できる。サイトカイン RNA 混合物単独療法およびサイトカイン RNA 混合物 / セミプリマブ併用療法プログラムのバイオマーカーは、循環標的発現、PDy / 安全性マーカーおよび組織由来 PDy マーカーに広く分類される。

20

【0583】

可能であれば、PDy サンプル収集は、予定された PK サンプルングと同時に行う。

【0584】

実施例 1. 8 A - 循環標的管理および安全性バイオマーカーモニタリングプラン

サイトカイン RNA 混合物から翻訳された 4 種の標的サイトカイン (IL-12sc、IL-15 スシ、GM-CSF および IFN α 2b) およびその下流の PDy 標的 (IFN γ および IFN γ 誘導性タンパク質 10 [IP10]) の全身レベルおよび血漿中のセミプリマブは、各参加者コホートにおいて遡及的にモニタリングされる。

30

【0585】

臨床 AE の同定を補助するために、安全性バイオマーカー CRP およびフェリチンは、臨床パラメータ (例えば、発熱、悪心、疲労、頭痛、筋肉痛、倦怠、低酸素症、低血圧症) とともに使用される。続発的 CRS のモニタリングのためにサンプルが収集される。6 種のサイトカイン (IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-8、IL-10 および TNF α) のパネルは、CRS グレード ≥ 2 症状の発生の場合においてのみ研究の実施の間に遡及的に評価される。併用療法について自己免疫の可能性についてモニタリングするためにサンプルが収集される; ANA、RF、TSH および遊離 T4 が、研究の併用療法部分について遡及的に評価される。

40

【0586】

実施例 1. 8 B - 免疫評価のための腫瘍生検

第 1 の IMP 投与の前、5 週と 8 週の間および周期 6 または疾患進行時 (いずれか最初に生じる方) に必須腫瘍生検が収集される。治療中生検サンプルについて (すなわち、5 週 ~ 8 週のものおよび他の周期 6 のものまたは疾患進行時のもの)、注射されたおよび注射されていない病変の両方から生検サンプルを得ることが必要である。好ましくは、治療中の生検されるべき病変のものは、ベースラインで生検されているものであるべきである。

50

これが実現可能ではない場合には、別の注射された病変から得た組織サンプルが考慮される。生検されるべき病変の制限がある場合、同一部位から得た別のサンプルがこれまでに収集されているか、またはサンプリング時点の後に収集される場合には、注射されていない病変のみの生検が考慮される。

【0587】

すべての参加者の生検がヘマトキシリンおよびエオシン染色を受け、CD3、CD8および腫瘍細胞の標準IHCが、調べられた腫瘍種に対して、SOX10マーカー（黒色腫のため）またはパンサイトケラチン（pancytokeratin）（上皮性腫瘍HNSCCおよびCSCCを有する患者のための[CK]）およびリンパ腫マーカーによって決定され、併用療法コホートについては、標準IHCはまたCD68およびPD-L1を含む。参加者生検（応答者および非応答者の両方から得た）のサブセットは、12種のマーカーのマルチプレックスIHCを受ける。研究の単独療法部分については、マルチプレックスパネルは、CD3、CD4、CD8、CD38、CD45、CD45RO、CD56、CD68、FoxP3、PD-1、PD-L1およびSOX10またはPanCKまたはリンパ腫マーカーからなる。研究の併用療法部分については、マルチプレックスパネルは、CD3、CD4、CD8、CD38、CD56、CD68、グランザイムB（GZMB）、コロニー刺激因子1受容体（CSF-1R）、リンパ球活性化遺伝子3（LAG-3）、PD-1、PD-L1およびSOX10（黒色腫のため）またはPanCK（上皮性腫瘍HNSCCおよびCSCCを有する患者のため）またはリンパ腫マーカーからなる。治療前または治療後生検でのIHCが収集され、腫瘍微小環境の変化を評価する、具体的には、腫瘍および間質中の浸潤T細胞の頻度および密度を評価するために使用される。前および後生検の間のT細胞の増加は、機構の証明を定義するのに役立つように使用される正の免疫関連物である。

10

20

【0588】

単独療法および併用療法両方の拡大の間のみの黒色腫患者について、5～8週の間の実施された単回腫瘍コア生検がTIL単離に充てられる。これは、制限された数（例えば、10人以下のTIL単離に成功した患者）の選択された黒色腫患者に適用される。これは追加の生検ではないが、代わりに、ゲノム評価に充てられたサンプルがTIL単離のために使用される（特別の条件下で取り扱われる－ホルマリン固定されない）。この種のサンプルおよび試験は、治療を行っている治験責任医師によって決定されるような治療に対する応答の臨床徴候（腫瘍サイズ低減および／または腫瘍部位での発赤）を有する患者に適用される。

30

【0589】

腫瘍トランスクリプトミクス（RNAシーケンシング）ゲノミクスおよびネオ抗原もサンプル利用可能性に応じて分析される。

【0590】

実施例1.9 – ゲノミクス

治療との関連でゲノミクスを分析するために、PBMCでの体細胞突然変異およびHLAタイピング、腫瘍でのRNAシーケンシング（RNAseq）、血液でのRNAseq（併用療法についてのみ）を含むいくつかの分析が実施される。サンプル利用可能性に応じて腫瘍トランスクリプトームのおよびゲノムの分析も実施される。遺伝子シグネチャー、腫瘍内のネオ抗原、TMBおよびTCR多様性を決定するために、腫瘍RNAseqデータ（バイオマーカー分析の一部としても計画される）が必要である。HLAタイピングは、血液中で実施される。適切なサンプル材料が利用可能である場合には、これらの分析における参加は必須である。

40

【0591】

研究の単独療法部分については、黒色腫参加者においてのみネオ抗原が評価される。研究の併用療法部分については、コホートAの参加者の拡大相（PD-1／PD-L1不応性）でのみネオ抗原が評価される。

【0592】

50

DNA または RNA 抽出失敗の事象では、代替サンプル（腫瘍または血液）が参加者に要求される。元のコンセンツに含まれない限り、代替サンプルを得るためには署名されたインフォームドコンセンツが必要である。サンプル取り扱いおよび発送に関して実現可能性の制約の場合には、関連臨床部位から得たサンプルはこれらの（またはこれらの一部の）分析のために評価されない。

【0593】

実施例 1.9A – 免疫原性評価

サイトカイン RNA 混合物によってコードされるサイトカインに対する抗体は、単独療法および併用療法の両方について評価されるが、センプリマブに対する抗体は、併用療法コホートにおいて評価される。

【0594】

サイトカイン RNA 混合物によってコードされるサイトカインに対する抗体は、SOA に従ってすべての参加者から収集された血漿サンプルにおいて評価される。さらに、血漿サンプルはまた、研究介入を中止したか、または研究から離脱した参加者から最後の訪問時に収集される。これらのサンプルは、スポンサーまたはスポンサーの被指名人によって試験される。センプリマブに対する抗体は、血清サンプル中で評価される。センプリマブに対する ADA のサンプルが試験される。

【0595】

血漿サンプルは、4 種のサイトカイン RNA 混合物から発現されたサイトカイン各々に結合する抗体についてスクリーニングされ、確認された陽性サンプルの力価が報告される。サイトカイン RNA 混合物の免疫原性をさらに特性決定するために他の分析が実施される。

【0596】

スポンサーの監視下で検証されたアッセイ法を使用してサイトカイン RNA 混合物に対する抗体の検出および特性決定が実施される。抗体は、研究介入の活性を中和するその能力についてさらに特性決定および／または評価される。サンプルは、サイトカイン RNA 混合物および／またはセンプリマブに対する免疫応答のさらなる分析を可能にするためにスポンサーによって選択された施設での研究のための参加者の最後の訪問後最大 5 年（または地方の規制に従って）保管される。

【0597】

実施例 1.9B – RNA トランスクリプトーム調査

探索的トランスクリプトーム研究は、マイクロアレイおよび／または各組織生検サンプルのトランスクリプトームプロファイルをもたらす数千の RNA 種の関連存在量の同時測定を容易にする代替等価技術を使用して実施される。IHC 後に残存する腫瘍組織は、特に、炎症促進性および／または IFN γ 遺伝子シグネチャーの発生を探しながら、腫瘍環境内での全体的な遺伝子発現変化を分析するために、RNA シーケンシング分析に付される。これによって、サイトカイン RNA 混合物および／またはセンプリマブの作用に関連する適応免疫応答と相関するトランスクリプトームプロファイルの変化の評価が可能となる。

【0598】

同一サンプルがまた、代替技術の適用による知見を確認するために使用される。

【0599】

同一 RNA seq 分析が、研究の併用療法部分の間に血液サンプルで行われる。

【0600】

実施例 1.10 – 統計的考察

実施例 1.10A – 統計的仮説

用量漸増

この研究の用量漸増相に正式な統計的仮説はない。この研究は、観察された DLT に従ってサイトカイン RNA 混合物の MTD または MAD を確立することを目的とする。用量漸増は、最初の 2 つの DL の単一参加者用量漸増と、それに続く合理的設計を使用して進行

10

20

30

40

50

する。

【0601】

セミプリマブとの併用療法については、この研究は、観察されたDLTに従ってセミプリマブと組み合わせたサイトカインRNA混合物のMTDまたはMADを確立することを目的とする。用量漸増は合理的設計を使用して進行する。

【0602】

用量拡大

単独療法については、帰無仮説は、RECIST 1.1あたりの真のORRが $\leq 10\%$ であるということであり、対立仮説は、RECIST 1.1あたりの真のORRが $\geq 26\%$ であるということである。

【0603】

併用療法について：

- ・コホートA：帰無仮説は、RECIST 1.1あたりの真のORRが $\leq 10\%$ であるということであり、対立仮説は、RECIST 1.1あたりの真のORRが $\geq 26\%$ であるということである。

- ・コホートB：帰無仮説は、RECIST 1.1あたりの真のORRが $\leq 30\%$ であるということであり、対立仮説は、RECIST 1.1あたりの真のORRが $\geq 55\%$ であるということである。

- ・コホートC：帰無仮説は、RECIST 1.1あたりの真のORRが $\leq 45\%$ であるということであり、対立仮説は、RECIST 1.1あたりの真のORRが $\geq 70\%$ であるということである。

- ・コホートD：帰無仮説は、RECIST 1.1あたりの真のORRが $\leq 15\%$ であるということであり、対立仮説は、RECIST 1.1あたりの真のORRが $\geq 30\%$ であるということである。

【0604】

実施例1.10B – サンプルサイズ決定

サイトカインRNA混合物が単一薬剤として投与される) 場合には、漸増相の間の調査される用量レベルに応じて合計最大72人の参加者が登録される。サイトカインRNA混合物がセミプリマブとの組合せで投与される場合には、漸増相の間の調査される用量レベルおよび拡大相の間の各コホートの完了段階に応じて合計最大192人の参加者が登録される。研究に登録されるべき患者の最大数は、以下の節にさらに詳細に記載されるように最大264人の患者であると予測される。

【0605】

用量漸増相

単独療法用量漸増相には正式なサンプルサイズ算出はない。およそ38人のDLT評価可能参加者が、約8のDLの評価を有する用量漸増相に登録される。実際のサンプルサイズは、観察されたDLTおよび実際に調査された用量レベルの数に応じて変わる。

【0606】

併用療法について、セミプリマブと組み合わせたサイトカインRNA混合物の用量漸増における実際のサンプルサイズは、観察されたDLTおよび実際に調査された用量レベルの数に応じて変わる(およそ18~36人のDLT評価可能参加者)。

【0607】

用量拡大相

単独療法用量拡大相では合理的設計が使用される。真の奏効率が 10% であるという帰無仮説が、片側対立に対して試験される。第1の段階では、16人の参加者が集められる。これら16人の参加者においてRECIST 1.1基準に従って1またはそれより小さい応答がある場合には、研究は停止される。そうではなければ、18人の追加の参加者が集められ、合計34人とされる。抗PD-1または抗PD-L1に基づく以前の療法が失敗している進行型黒色腫を有する34人の参加者において7またはそれより多い応答が観察される場合には、帰無仮説は棄却される。この設計は、真の奏効率が 26% である場合

10

20

30

40

50

に 5 % の片側第一種過誤および 80 % の検出力をもたらす。

【0608】

併用療法拡大相のサンプルサイズは、5 % の片側アルファレベルおよび 85 % の検出力を有する合理的設計に基づいて算出される；進行型固形腫瘍を有するおよそ 156 人の参加者が登録されると予測される。各段階での ORR の仮定、必要なサンプルサイズおよび応答者の必要な数が表 15 に提供されている：

【0609】

【表 39】

表 15-サンプルサイズの決定

治療	適応症	H ₀	H ₁	サンプルサイズ		必要な応答の数(%)	
				段階 1	最終	段階 1	最終
サイトカイン混合物	抗 PD-1/抗 PD-L1 失敗後の黒色腫	10%	26%	16	34	≥2 (12.5%)	≥7 (20.6%)
サイトカイン混合物 +セミプリマブ	コホート A:抗 PD-1/抗 PD-L1 失敗後の黒色腫	10%	26%	26	40	≥3 (11.5%)	≥8 (20.0%)
サイトカイン混合物 +セミプリマブ	コホート B:黒色腫 抗 PD-1/抗 PD-L1 ナイーブ	30%	55%	14	28	≥5 (35.7%)	≥13 (46.4%)
サイトカイン混合物 +セミプリマブ	コホート C:CSCC 抗 PD-1/抗 PD-L1 ナイーブ	45%	70%	10	29	≥5 (50.0%)	≥18 (62.1%)
サイトカイン混合物 +セミプリマブ	コホート D:HNSCC 抗 PD-1/抗 PD-L1 ナイーブ	15%	30%	26	59	≥5 (19.2%)	≥14 (23.7%)

略語:CSCC=皮膚扁平上皮癌、HNSCC=頭頸部扁平上皮癌

注記:段階 1 における治療コホート内で観察された客観的応答数およびデータの全体性に基づいて、治療コホートの段階 2 への進行が決定される。

【0610】

実施例 1. 10C - 分析のための集団

表 16 に示されるように、分析目的で、以下の集団が定義される：

【0611】

10

20

30

40

50

【表 4 0】

表 16-分析のための集団

集団	説明
治療されるすべて	研究の用量漸増および用量拡大相の両方について、すべての治療された集団は、インフォームドコンセントを与え、サイトカイン RNA 混合物を用いる少なくとも 1 用量(不完全であっても)の治療を受けたすべての参加者を含む。 この集団は、有効性および安全性パラメータの分析のための主な集団である。この集団を使用するすべての分析は、第 1 の周期において実際に受けた用量レベルに基づく。
DLT 評価可能(用量漸増相)	DLT 評価可能な集団は、治療の最初の 28 日の間にサイトカイン RNA 混合物の計画された用量の少なくとも 70%を受けしており、DLT のために研究介入を中止しない限り第 1 の IMP 投与後に DLT 観察期間を完了した、用量漸増相における参加者として定義される。用量拡大相のために推奨される用量は、DLT 評価可能な集団に基づいて決定される。
PK	PK 集団は、研究介入の第 1 の用量後にサイトカイン RNA 混合物濃度によってコードされる、少なくとも 1 回の測定可能なサイトカインを用いて治療されたすべての集団に由来するすべての参加者を含むこととなる。
PDy	薬理学的集団は、研究介入の第 1 の用量後に少なくとも 1 種の薬理学的マーカー結果を有するすべての治療された集団に由来するすべての参加者を含むこととなる。
ADA 評価可能	ADA 評価可能な集団は、研究介入の第 1 の用量後に少なくとも 1 つの欠損していない ADA 結果を有するすべての治療された集団に由来するすべての参加者を含む。
安全性	安全性集団は、すべての治療された集団と同一である。

10

20

30

【0 6 1 2】

実施例 1. 1 0 D - 統計分析

有効性分析

注射されたおよび注射されていない病変を含む事前選択された病変に基づく、RECIST 1.1あたりの客観的奏効率 (ORR) が、記述統計学を用いてまとめられている。90%の両側信頼区間は、C l o p p e r - P e a r s o n法を使用してコンピュータで計算される。統計的推定は、サンプルサイズ算出の節で定義される仮説およびアルファレベルに基づいている。同様の分析は、RECIST 1.1およびiRECISTあたりのDCR およびiRECISTあたりのORRについて提供される。さらに、腫瘍量変化のまとめは、支持的分析として注射されたおよび注射されていない病変について別個に提供されている。DoRおよびPFSは、K a p l a n - M e i e r法を使用してまとめられている。

40

【0 6 1 3】

50

【表 4 1】

表 17-有効性分析

エンドポイント	統計分析法
主要	
用量拡大:RECIST 1.1T あたりの ORR	記述統計学および Clopper-Pearson 法
副次的	
用量拡大:RECIST 1.1 および iRECIST あたりの DoR および PFS	Kaplan-Meier 法
用量拡大:RECIST 1.1 および iRECIST あたりの DCR および iRECIST あたりの ORR	記述統計学および Clopper-Pearson 法
探索的	データベースロック前に終了された統計分析計画に記載される

10

【0 6 1 4】

安全性分析

20

すべての安全性分析は、すべての治療された集団で実施される。

【0 6 1 5】

【表 4 2】

表 18-安全性分析

エンドポイント	統計分析法
主要	
用量漸増:DLT	記述統計学
用量漸増:AE/SAE および検査の異常	記述統計学
副次的	
用量漸増:免疫原性	記述統計学
用量拡大:免疫原性	記述統計学
用量拡大:AE/SAE および検査の異常	記述統計学

30

【0 6 1 6】

用量制限毒性

40

用量漸増像（単独療法および併用療法）では、DLTは、単独療法および併用療法および用量レベルによってまとめられている。DLTの詳細は、参加者によって提供される。DLTは、上記のように、NCI CTCAE バージョン 5.0 を使用して定義される。

【0 6 1 7】

有害事象の分析

観察期間は、3つのセグメントにわけられる：スクリーニング、TEAE および 治療後。スクリーニング期間は、研究介入の第1の用量の投与までのインフォームドコンセントが署名される時間として定義される。治療によって出現する有害事象（TEAE）期間は、研究介入の第1の用量から研究介入の最後の用量後最大30の日期间として定義される。

50

治療後期間は、研究介入の最後の用量後 31 日から始まり研究閉鎖または死亡のいずれか早い方までとして定義される。

【0618】

治療前 A E は、スクリーニング期間の間の任意の A E として定義される。治療によって出現する A E は、T E A E 期間の間に発生し、悪化し（治験責任医師の意見に従って）または重篤になる A E として定義される。治療後 A E は、治療後期間の間に報告される A E として定義される。A E 報告の主な焦点は T E A E にある。治療前および治療後 A E は別個に記載される。

【0619】

T E A E は、国際医薬用語集（Medical Dictionary for Regulatory Activities）（MedDRA）に従ってコード化される。A E は、NCI CTCAE バージョン 5.0 に従ってグレード付けされる。グレードは、まとめて考慮される。同じ基本語（PT）が複数回発生する参加者については、最大グレードが使用される。

【0620】

T E A E の全体的なまとめを提供する。以下のうちいずれかを経験した参加者の数およびパーセンテージが提供されている：

- ・ T E A E。
- ・ グレード ≥ 3 の T E A E。
- ・ グレード 3 または 4 の T E A E。
- ・ グレード 5 の T E A E（治療期間の間に致死性アウトカムを有する任意の T E A E）。
- ・ 重篤な T E A E。
- ・ 重篤な治療関連 T E A E。
- ・ 治療中断につながる T E A E。
- ・ A E S I。
- ・ 治療関連 T E A E。
- ・ グレード ≥ 3 の治療関連 T E A E。

【0621】

主要器官別大分類（SOC）および PT による T E A E を経験している参加者の数およびパーセンテージが、NCI CTCAE グレード（すべてのグレードおよびグレード ≥ 3 ）によってまとめられている。同様の表が、治療関連 T E A E、A E S I、治療中断につながる T E A E、用量改変につながる T E A E、重篤 T E A E、致死性アウトカムを有する T E A E および治療後投薬器官の間に生じる A E / S A E について用意されている。研究介入後の治療関連 T E A E のサブセットとしての免疫関連 A E（ir A E）は、研究の単独療法および組合せ部分について別個にまとめられている。

【0622】

臨床検査評価

臨床検査結果は、利用可能な場合には NCI CTCAE バージョン 5.0 に従ってグレード付けされる。T E A E 期間の間の最悪のグレードを使用して検査の異常を有する（すなわち、すべてのグレードおよびグレード ≥ 3 ）参加者の数（%）が、すべて治療される集団に提供される。

【0623】

上記で説明したように、行動様式に基づく臨床検査値のすべてではない一時的な変化は、T E A E として文書化されるわけではない；治験責任医師は、T E A E として文書化するために検査の変化が臨床的に関連しているか否かを評価する。

【0624】

NCI CTCAE バージョン 5.0 スケールが適用可能ではない場合には、正常検査範囲から外れた検査の異常を有する参加者の数が示される。

【0625】

実施例 1.11 - 臨床検査試験

実施された表 19 および 20 に詳述された試験および結果が、e C R F に入力される。参加者を組み入れるまたは除外するためのプロトコール特異的必要条件は、プロトコールに詳述されている。追加の試験は、治験責任医師によって必要と決定されるような、または地域の規制によって必要とされるような研究の間の任意の時間で実施される。治験責任医師は、各実験室安全性報告書の概説を文書化しなくてはならない。

【 0 6 2 6 】

【 表 4 3 】

表 19-プロトコールによって必要とされる安全性実験室評価

検査室評価		パラメータ		
血液学	血小板数	鑑別を用いる白血球(WBC)数:		
	赤血球(RBC)数	好中球		
	ヘモグロビン	リンパ球		
	ヘマトクリット	単球		
		好酸球		
		好塩基球		
臨床化学 ^a	尿素または血中尿素窒素(BUN)	カリウム	重炭酸塩	リン
	クレアチニン	ナトリウム	マグネシウム	塩化物
	グルコース	総カルシウム	アルカリホスファターゼ	総および直接ビリルビン
	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)/血清	アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)/血清	総タンパク質	アルブミン
	グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(SGOT)	清グルタミン酸-ピルビン酸トランスアミナーゼ(SGPT)		
	乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)	アミラーゼ		
	通例の尿検査			
	- 以下の尿試験紙評価 - 尿試験紙による pH、グルコース、タンパク質、血液、ケトン - 白血球および RBC - ミクロアルブミン - 顕微鏡検査(血液またはタンパク質が異常である場合)			
	他の試験			
	- 血清ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン(hCG)妊娠検査(妊娠の可能性のある女性について必要に応じて) - CRP、フェリチン - 凝固:活性化部分トロンボプラスチン時間(aPTT)、PT、国際標準化比(INR)およびフィブリノゲン			
	スクリーニング試験			
	- 血清学(B 型肝炎表面抗原[HBsAg]、肝炎コア抗体[HBcAb]C 型肝炎ウイルス抗体、HCV RNA およびドイツの研究サイトの参加者のみの、HIV 抗体) - 凝固:D 二量体			

注記:

a 肝臓停止またはモニタリング事象後の肝臓化学停止基準および必要な行動およびフォローアップ評価の詳細は以下に示されている。測定された INR が重症肝傷害(Hy's Law の可能性)を示す可能性がある、ALT $\geq 3 \times$ 正常の上限(ULN)およびビリルビン $\geq 2 \times$ ULN(>35%直接ビリルビン)または ALT $\geq 3 \times$ ULN および国際標準化比(INR)>1.5 のすべての事象は、SAE として報告されなければならない。

【 0 6 2 7 】

10

20

30

40

50

【表 4 4】

表 20-プロトコールによって必要とされる評価

検査室評価		パラメータ				
二次的血漿サイトカイン	IL-6	IL-1 β	IL-2	IL-8		
	IL-10	TNF α				
PK サイトカイン (サイトカイン RNA 混合物によってコードされるサイトカインの発現)	IL-12sc	IFN α	IL-15 スシ	GM-CSF		
PDy サイトカイン	IP-10	IFN γ				
PDy 抗原特異的 T 細胞評価	十分に発現された免疫原性 黒色腫関連抗原に対する CD4/CD8 T 細胞応答 ^a		HLA 表現型			
腫瘍突然変異状態	TMB ^b					
併用療法の安全性 マーカー	TSH	遊離 T4	ANA	RF		
免疫原性	サイトカイン RNA 混合物によってコードされるサイトカインに対する抗体 (すなわち、IL-12sc、IFN α 、IL-15 スシおよび GM-CSF に対する ADA)およびセミプリマブに対する抗体					
免疫評価のための 腫瘍生検	標準 IHC(すべての参加者) ^c			マルチプレックス IHC(参加者のサブセット) ^c		
	CD3	CD8	SOX10 または CK ^d	CD3	CD4	CD8
				CD38	CD45	CD45RO
	CD68	PD-L1		CD56	CD68	FoxP3
				GZMB	CSF-1R	LAG-3
			PD-1	PD-L1	SOX10 または CK ^d	
尿バイオマーカー	KIM-1 尿中クレアチニン		尿中マイクロアルブミン			

- a 併用療法については、これらの評価は、コホート A(抗 PD-1/PD-L1 療法を失敗している黒色腫を有する参加者)のみで行う。
- b TMB は、研究の併用療法部分で評価される。この分析は、残りのサンプルにおける単独療法の患者について考慮される。
- c 研究の単独療法および併用療法部分で評価されるべき単回およびマルチプレックス IHC パネルの説明については実施例 1.8B を参照されたい。
- d SOX10 は、黒色腫腫瘍細胞の検出のためのマーカーである;上皮性腫瘍(HNSCC および CSCC)については、パンサイトケラチン(pancytokeratin)(CK)によって置き換えられる。

【0628】

実施例 1. 12 - 避妊ガイダンスおよび妊娠情報の収集

妊娠の可能性のある女性 (WOCBP) : 妊娠の可能性のある女性とは、以下の女性である :

1. ある時点で初潮に達した、
2. 子宮摘出術もしくは両側卵巣摘出術を受けていない、または
3. 少なくとも連続 24 カ月 (すなわち、先行する連続 24 カ月中の任意の時間に月経を有していた) 自然閉経後ではない (がん療法後の無月経は、妊娠の可能性を除外しない)

。

10

20

30

40

50

【0629】

避妊ガイドンス

- ・男性参加者
- ・妊娠の可能性のある女性パートナーを有する男性参加者は、介入期間の間および研究介入の最後の用量後6カ月間に以下のうち1つに同意する場合に、参加するのに適格である：
 - ・彼らの通常の好ましいライフスタイルとしての陰茎-膣性交を控える（長期で、持続的に控える）、控えたままにすることに同意する
 - ・現在妊娠していない妊娠可能な女性との陰茎-膣性交を行う場合には、男性用コンドームを使用することおよび以下に記載されるような年あたり<1%の失敗率の避妊法のパートナーの使用に同意すること
 - ・さらに、男性参加者は、研究の期間および研究介入の最後の用量後6カ月間、精子提供を控えなければならない。
 - ・妊娠中または授乳中のパートナーを有する男性参加者は、介入期間の間および研究介入の最後の用量後6カ月間、陰茎膣性交を控えたままにしているか、または陰茎の浸透の各エピソードの間男性用コンドームを使用すると同意しなくてはならない。
- ・女性参加者
- ・妊娠の可能性のある女性参加者は、以下に記載されるような高度に効果的な避妊方法を一貫して正しく使用することに同意する場合に、参加するのに適格である：

10

【0630】

ユーザー依存性である高度に有効な避妊法：一貫して正しく使用される場合の年あたり<1%の失敗率。

20

i) 排卵の阻害と関連する組み合わされた（エストロゲンおよびプロゲステゲン含有）ホルモン性避妊：経口、膣内または経皮

i i) 排卵の阻害と関連するプロゲステゲンのみのホルモン性避妊：経口または注射用

【0631】

ユーザー独立的である高度に有効な方法：

i i i) 排卵の阻害と関連する埋め込み可能なプロゲステゲンのみのホルモン性避妊：子宮内デバイス（IUD）、子宮内ホルモン放出システム（IUS）または両側卵管閉塞術

30

【0632】

精管切除されたパートナー：精管切除されたパートナーは、パートナーがWOCBPの唯一の男性の性的パートナーであり、精子が存在しないことが確認されている限り、高度に有効な避妊法である。そうではない場合には、追加の高度に有効な避妊の方法が使用される。

【0633】

性的禁欲：性的禁欲は、研究介入と関連するリスクの全期間の間、異性性交を控えることと定義される場合にのみ高度に有効な方法と考えられる。性的禁欲の信頼性は、研究期間および参加者の好ましい普通のライフスタイルに関連して評価される。

【0634】

注記：通常使用の失敗率は、一貫して正しく使用された場合のものと異なる場合がある。使用は、臨床研究に参加する参加者の避妊法の使用に関する地域の規制と一致しなくてはならない。ホルモン性避妊は、研究介入との相互作用に感受性である場合があり、これが、避妊法の有効性を低減する場合がある。この場合には、2つの高度に有効な避妊の方法が、介入期間の間および研究介入の最後の用量後少なくとも6カ月間利用される。経口ホルモン性避妊は、研究介入との相互作用に感受性である場合があり、これが、避妊法の有効性を低減する場合がある。この場合には、経口避妊薬を、異なる投与経路を有する別の高度に有効な避妊の方法と置き換えることができない場合には、ホルモン性避妊法は、研究期間の間および研究介入の最後の用量後少なくとも6カ月間、男性用コンドーム（パートナーのための）で補完されなければならない。

40

【0635】

50

妊娠検査：WOCBPは、確認された月経期間および陰性の高感度血清妊娠検査の後のみ組み入れられる。追加の妊娠検査は、介入期間の間の各治療周期の開始時およびEOT時に実施される。妊娠検査は、月経周期が欠損している場合にはいつでも、またはそうではなく妊娠が疑われる場合に実施される。妊娠検査は、地域の検査室手順に従って実施される。研究に参加しながら妊娠中になった任意の女性参加者は、研究介入を中止し、研究から離脱するものとする。

【0636】

妊娠情報の収集：

妊娠中になったパートナーを有する男性参加者－治験責任医師は、男性参加者がこの研究にありながら妊娠中になった任意の男性参加者の女性のパートナーに関する妊娠情報を収集しようとする。これは、サイトカインRNA混合物を受け取る男性参加者にのみ当てはまる。妊娠中の女性パートナーから直接、必要な署名されたインフォームドコンセントを得た後、治験責任医師は、適切な形式で妊娠情報を記録し、パートナーの妊娠を知った24時間以内にそれをスポンサーに提出する。女性パートナーはまた、妊娠のアウトカムを決定するために追跡される。母体および子供の状態に関する情報はスポンサーに送付される。一般に、フォローアップは、出産予定日後6～8週間よりも長くない。胎児の状態（異常の有無）または手順の適応症に関わらず、妊娠のあらゆる終結が報告される。

10

【0637】

妊娠中になった女性参加者－治験責任医師は、研究に参加しながら妊娠中になった任意の女性参加者に関する妊娠情報を収集する。情報は適切な形式で記録され、参加者の妊娠を知った24時間以内にスポンサーに提出される。参加者は、妊娠のアウトカムを決定するために追跡される。治験責任医師は、参加者および新生児に関するフォローアップ情報を収集し、情報はスポンサーに送付される。一般に、フォローアップは、出産予定日を超えて6～8週間よりも長く必要ではない。胎児の状態（異常の有無）または手順の適応症に関わらず、妊娠のあらゆる終結が報告される。あらゆる妊娠合併症または妊娠の選択的中絶が、AEまたはSAEとして報告される。自然流産は、SAEであると常に考えられ、そのようなものとして報告される。治験責任医師によって研究介入と関連すると合理的に考えられる任意の研究後妊娠関連SAEが、スポンサーに報告される。治験責任医師は、前者の研究参加者においてこの情報を積極的に探す義務はないが、自発的な報告によってSAEを知る場合がある。

20

30

【0638】

研究に参加しながら妊娠中になった任意の女性参加者は、研究介入を中止し、研究から離脱する。

【0639】

実施例1.13　－　薬物関連の有害事象に対する推奨される支持療法または用量改変ガイドライン

【0640】

40

50

【表 4 5】

表 21-CTCAE v. 5.0 に基づく過敏症に対するグレード付けシステムおよび

緩和戦略

重症度	CTCAE v.5.0 による グレード	毒性	介入
軽度過敏症	「アレルギー反応」 グレード 1	一時的な潮紅または 発疹、発熱<38℃ (<100.4° F)	全身的介入は示されてい ない。参加者の入念な直 接モニタリング後の治験 責任医師の判断による継 続治療。治療は、必要 であると思われる場合には 任意の時点で停止され る。介入は指示されてい ないが、治療は、参加者 が回復した後にのみ再開 される場合があり、入念 なモニタリングが継続さ れる。
中程度の過敏症	「アレルギー反応」 グレード 2	症候性治療に対して 迅速に応答する中程 度の過敏症	治療の停止; ≤24 時間の 予防的経口介入(例え ば、抗ヒスタミン剤、 NSAID)が指示される。 治療は、参加者が回復し た後にのみ再開される場 合があり*、入念なモニ タリングおよび研究委員 会による追跡評価を伴 う。
*参加者が、セミプリマブに対する注入関連反応 ^a から回復した場合には、セミプリマブ は、元の割合の 50%で投与される。 予防的事前医薬品の実施後に生じる再発性グレード 2 事象に対してセミプリマブを決定 的に停止する。			

10

20

30

40

50

【表 4 6】

重症度	CTCAE v.5.0 による グレード	毒性	介入
重症/命を脅かす 過敏症	「アレルギー反応」 グレード 3&4	グレード 3-蕁麻疹を 伴うか、伴わない、 症候性気管支痙攣、 非経口介入が指示さ れる、アレルギー関 連浮腫/血管性浮腫、 低血圧症 グレード 3 症状に加 えてグレード 4、命 を脅かす結果を有す る。	<u>決定的な治療中断(治療 を停止する)。</u> 緊急介入が指示される。 臨床的後遺症のために入 院が指示される。静脈内 介入が指示される。 必要に応じてジフェンヒ ドラミン 25mg IV(または 等価物)および/またはメ チルプレドニゾロン 100mg IV(または等価物) および/またはエピネフ リンを用いて追加の医薬 品を与える。
毒性が、セミプリマブに対する注入関連反応によるものである場合には、セミプリマブを 決定的に停止する。サイトカイン RNA 混合物治療の継続は、リスク-ベネフィット評価に 基づいてケースバイケースで評価されなければならない。 注入関連反応は、セミプリマブ注入の間または注入の完了後 24 時間以内に生じる任意の AE として定義される。セミプリマブ注入は、本明細書に記載されるように必要である場 合には停止されなければならない。			
重症/命を脅かす 過敏症	「アナフィラキ シー」グレード 3&4	蕁麻疹を伴うか、伴 わない、症候性気管 支痙攣、非経口介入 が指示される、アレ ルギー関連浮腫/血管 性浮腫、低血圧症。 グレード 4 は、命を 脅かす結果を有す る。	<u>決定的な治療中断(治療 を停止する)。</u> 緊急介入 が指示される。 必要に応じてジフェンヒ ドラミン 25mg IV(または 等価物)および/またはメ チルプレドニゾロン 100mg IV(または等価物) および/またはエピネフ リンを用いて追加の医薬 品を与える。

【0641】

CRS の症状、グレード付けおよび管理

CRS と関連する臨床徴候および症状

- ・心血管：頻脈、脈圧拡大、低血圧、心拍出量の増大（初期）、心拍出量の潜在的減少（後期）
- ・凝固：D 二量体の上昇、低フィブリノゲン血症±出血
- ・胃腸管：悪心、嘔吐、下痢
- ・全身：発熱±悪寒（rigor）、倦怠、疲労、拒食症、筋肉痛、関節痛、頭痛
- ・肝臓：高トランスアミナーゼ血症、高ビリルビン血症
- ・神経学的：頭痛、精神状態変化、錯乱、せん妄、喚語困難または明らかな失語症、幻覚、振戦、測定障害、歩行運動の変化、てんかん発作
- ・腎臓：高窒素血症
- ・呼吸器：頻呼吸、低酸素血症
- ・皮疹

【0642】

10

20

30

40

50

CRS のグレード付けおよび管理は表 22 に提供されている。

【0643】

【表 47】

表 22-2014 NCI コンセンサスガイドラインに基づく CRS のグレード付けシステム

および緩和戦略

グレード	毒性	介入
グレード 1	全身症状(命を脅かす合併症を伴わない、悪心、疲労、頭痛、筋肉痛、倦怠)を伴うか、伴わない発熱	- 注意深い支持療法。 - 存在する場合には感染の評価および治療。 - 補液蘇生。 - 必要に応じて解熱剤および鎮痛薬を提供する
グレード 2	- 酸素要求量<40% FiO2 - 低用量または単回の昇圧剤に応答性の低血圧症 - グレード 2 臓器毒性	- グレード 1 についてと同様であるが、心臓および他の臓器機能を入念にモニタリングする - 高齢の、または複数の併存症を有する参加者については副腎皮質ステロイドおよび/または抗 IL6 療法を考慮する - 研究介入の継続は、研究委員会によってケースバイケースで評価されなければならない
グレード 3	- 酸素要求量>40% FiO2 - 高用量または複数回の昇圧剤に対して応答性の低血圧症 - グレード 3 臓器毒性 - ALT または AST におけるグレード 4 増加	- グレード 2 についてと同様であるが、副腎皮質ステロイドおよび/または抗 IL6 療法を追加する - 決定的な治療中断(治療を停止する)
グレード 4	- 命を脅かす症状 - 機械的換気の必要条件。 - ALT または AST における増加を除くグレード 4 臓器毒性	- グレード 2 についてと同様であるが、副腎皮質ステロイドおよび/または抗 IL6 療法を追加する - 決定的な治療中断(治療を停止する)
グレード 5	死亡	

【0644】

他の A E のガイダンス

表 23 は、ブドウ膜炎管理のガイドラインを提供する；すべての試みは、転移性疾患、感染または他の眼の疾患（例えば、緑内障または白内障）などの他の原因を除外するために行われることに留意すること。

【0645】

表 24 は、サイトカイン RNA 混合物に起因する有害事象の管理のためのガイダンスおよび支持療法戦略を提供する。

【0646】

さらに、具体的には、研究の組合せ部分については、報告された A E が 1 つの IMP と関連していると考えられる場合には、研究の単独療法部分から入手可能なデータに基づいて

、および現在のケースバイケースのベネフィットーリスク評価に基づいてIMPの継続が参加者にとって最良の選択肢と考えられる場合に、関連IMPおよび他のIMPを用いる継続研究介入が停止される。セミプリマブと関連していると考えられる可能性があるirAEの管理のためには、「免疫療法関連毒性（免疫チェックポイント阻害剤関連毒性）の管理」に関するセミプリマブIBおよび全米総合がん情報ネットワーク（National Comprehensive Cancer Network）（NCCN）ガイドンス（www.nccn.orgで入手可能）に従う。

【0647】

48～72時間以内に早期に（すなわち、72時間以内に）ステロイドに応答しない重症irAEを有する参加者について、関連する専門医との相談によって抗TNF α 療法の開始が保証される場合がある。

【0648】

【表48】

表 23-眼科(ブドウ膜炎)AE 管理

ブドウ膜炎 CTCAE v5.1	サイトカイン混合物 投薬管理	セミプリマブ投薬管理	行動およびガイドライン
グレード1 (軽度)		免疫療法を継続する	人工涙液を開始し、眼科医に問い合わせる。 局所ステロイド、例えば、1%酢酸プレドニゾン懸濁液を用いて治療する。
グレード2 (前部ブドウ膜炎)	用量の変化なし	グレード1への回復まで治療を遅延する。局所免疫抑制療法を用いる治療にも関わらず症状が持続し、再治療期間内にグレード1に改善しない、または全身性治療を必要とする場合には、治療を中止する。	緊急眼科医相談 眼科用および全身用副腎皮質ステロイドを含むように眼科医によって誘導される治療。
グレード $\geq$ 3 (後部または汎ブドウ膜炎)	グレード $\leq$ 2まで用量を遅延または省略する	治療を中止する	緊急眼科医相談 眼科用および全身用副腎皮質ステロイドを含むように眼科医によって誘導される治療。症状がグレード $\leq$ 1に改善される場合には、ステロイド漸減を開始し、4週間以下にわたって継続する。

すべての試みは、転移性疾患、感染または他の眼の疾患(例えば、緑内障または白内障)などの他の原因を除外するために行われる。

【0649】

10

20

30

40

50

【表 4 9】

表 24-有害事象のための支持療法および用量改変のためのガイダンス

説明	グレード付け	支持療法/治療	IMP 投薬の管理
注射部位反応	グレード 1～2	症状(例えば、疼痛、紅斑、膨潤、重なった細菌感染)の治療。	実現可能である場合には、同一病変への注射を防ぎ、そうでなければ、同一病変に注射するために完全回復が必要である。
	グレード 3～4	手術的介入が指示される。	グレード 3 または 4 事象に対して治療を決定的に停止する。
ドライアイ(涙腺萎縮)	最小化	- ベースライン Schirmer 試験 - 眼の徴候および症状のための各訪問時に参加者をモニタリングする	

10

20

30

40

50

【表 50】

説明	グレード付け	支持療法/治療	IMP 投薬の管理
	グレード 2(症候性)	眼科医相談および多剤治療。	用量変更なし
	グレード 3	眼科医相談および多剤治療。	• グレード≤ 1まで回復するまで用量を省略する • 再発性グレード 3 事象の場合には、サイトカイン RNA 混合物投与の決定的な中断
肝炎	AST または ALT $>3\sim 5\times$ ULN(ベースラインが異常である場合には $>3.0\sim 5.0\times$ ベースライン) または総ビリルビン $>1.5\sim 3\times$ ULN(ベースラインが異常である場合には $>1.5\sim 3.0\times$ ベースライン) を伴うグレード 2	• 肝臓酵素、ビリルビンおよびアルブミンを 3 日毎に再度調べる。 • 関連付けられる可能性のある医薬品(スタチン、抗生物質、アルコール消費など)を再調査する。 • ウイルス血清学。 • 転移性疾患のイメージングを考慮する。	グレード <1 への回復まで保留する
	グレード 3:AST または ALT $>5.0\sim 20.0\times$ ULN(ベースラインが異常であった場合には、 $>5.0\sim 20.0\times$ ベースライン)	• 上記のとおりであるが、肝臓酵素、ビリルビンおよびアルブミン試験を毎日反復する。 • ドプラを用いて USG を実施する	• グレード≤ 1 またはベースラインまで回復するまで治療を保留する。 • IMP と関連していると確認された場合には、再負荷が研究委員会によって議論される。再発性 G3 事象の場合には、永久的に中断する。
	グレード 4 AST または ALT $>20.0\times$ ULN(ベースラインが異常であった場合には $>20.0\times$ ベースライン)	グレード 3 に加えて: • 肝臓学の相談 • 参加者の状態が適している場合には肝臓生検を考慮する	サイトカイン RNA 混合物投与を決定的に中止する。

10

20

30

40

50

【表 5 2】

説明	グレード付け	支持療法/治療	IMP 投薬の管理
	- グレード 3:クレアチニン >3×ベースライン;>3.0 ~6.0ULN - グレード 4:クレアチニン >6.0ULN(グレード 4 急性腎傷害としての命を脅かす結果報告書)	入院が指示される;一時的透析は、流体と電解質のバランスをとることができる。透析が指示される。可能な場合には、病態形成を確実にするために腎生検が推奨される。	グレード 3~4:サイトカイン RNA 混合物を中止する。
免疫媒介性事象(各事象の NCI CTCAE v5.0 グレード付けに従うグレード付け) 間質性肺炎 甲状腺機能低下症 (Hypothyroiditis)	最小化:	- 基礎自己免疫疾患を有する参加者を排除する。 - 参加者を徴候および症状についてモニタリングする	
	グレード 1 (無症候性、自己免疫疾患の血清学的またはその他の証拠)	介入なし、症候性管理	グレード 1-用量改変なし
	グレード 2 (中程度の症状)	医学的介入が指示される。	グレード 2-用量改変なし
	グレード 3 (重症症状医学的介入および/または入院が指示される)	主要臓器関与(例えば、間質性肺炎)の場合にはメチルプレドニゾロン 1~2mg/kg/日を用いるパルス療法;追加の免疫抑制療法が指示される場合もある	グレード 3-症状がグレード ≤1 事象に解消されるまで用量を遅延する;グレード 3 事象が >1 の用量省略につながる場合には決定的に中断する。
	グレード 4(命を脅かす)		決定的な中断。

10

20

30

40

50

【表 5 3】

説明	グレード付け	支持療法/治療	IMP 投薬の管理
局所腫瘍反応の報告を臨床部位全体に調和させる試みにおいて、サイトカイン mRNA 混合物腫瘍内注射後の注射されたおよび注射されていない病変における腫瘍(皮膚、皮下またはリンパ節腫瘍)炎症の任意の局所徴候は、CTCAE バージョン 5.0 用語:皮膚および皮下組織または「注射部位反応」を使用して報告される。			

10

【0650】

実施例 1. 14 - 固形腫瘍バージョン 1. 1 における応答評価基準

詳細は、Eisenhauer EA、Therasse P、Bogaerts J、Schwartz LH、Sargent D、Ford R、New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). Eur J Cancer、2009 年 1 月; 45 巻 (2 号): 228~47 頁に提供される。

【0651】

ベースラインでの腫瘍の測定可能性

ベースラインで、腫瘍病変／リンパ節は、以下のとおりに測定可能または測定不可能に分類される。

20

【0652】

測定可能病変は、少なくとも 1 つの寸法 (記録されるべき測定面での最長直径) で正確に測定され、以下の最小サイズを有する:

- ・CT スキャンによる 10 mm (CT スキャン切片厚が 5 mm 以下である)。
- ・臨床検査による 10 mm ノギス測定 (ノギスで正確に測定できない病変は、測定不可能と記録されなければならない)。
- ・胸部 X 線による 20 mm。

【0653】

悪性リンパ節: リンパ節は、病理学的に拡大した、測定可能であると考えられるには、CT スキャンによって評価される場合に短軸で ≥ 15 mm でなくてはならない (CT スキャン切片厚は 5 mm 以下であることが推奨される)。ベースラインで、およびフォローアップでは、短軸のみが測定され、追跡される。

30

【0654】

測定不可能な病変は、小さい病変 (最長直径 < 10 mm または $\geq 10 \sim < 15$ mm の短軸を有する病理学的リンパ節) ならびに測定不可能な病変を含むすべての他の病変である。測定不可能と考えられる病変として、再現性のあるイメージング技術によって測定可能ではない理学的検査によって同定される軟髄膜疾患、腹水、胸腔または心膜滲出液、炎症性胸部疾患、皮膚または肺のリンパ管性関与、腹部腫瘍／腹部臓器肥大が挙げられる。

40

【0655】

病変測定可能性に関する特別な考慮事項:

骨の病変:

- ・骨スキャン、陽電子放射型断層撮影スキャンまたはプレーンフィルムは、骨病変を測定するための適切なイメージング技術とは考えられない。しかし、これらの技術は、骨病変の存在または消失を確認するために使用できる。
- ・同定可能な軟部組織構成成分を有する、断面イメージング技術、例えば、CT または MRI によって評価できる溶解性骨病変または混合溶解性-芽細胞性病変は、軟部組織構成成分が上記の測定可能性の定義を満たす場合には測定可能な病変と考えることができる。
- ・芽細胞性骨病変は測定不可能である。

50

【0656】

嚢胞性病変：

- ・ X線検査で規定される単純性嚢胞の基準を満たす病変は、定義によって単純性嚢胞であるので悪性病変と考えられない（測定可能でも測定不可能でもない）。
- ・ 嚢胞性転移を表すと考えられる「嚢胞性病変」は、上記の測定可能性の定義を満たす場合、測定可能病変と考えることができる。しかし、同一患者において非嚢胞性病変が存在する場合には、これらは標的病変として選択にとって好ましい。

【0657】

以前の局所治療を受けた病変：

- ・ 依然に照射された領域中に、または他の局所領域的療法に付された領域中に位置する腫瘍病変は、病変の進行が実証されない限り、普通は測定可能と考えられない。

【0658】

評価の方法

すべての測定値は、臨床的に評価される場合にはノギスを使用してメートル表記法で記録される。すべてのベースライン評価は、治療開始にできる近くに、治療の開始前4週を決して超えずに実施される。

【0659】

ベースラインで、およびフォローアップの間に各々同定され、報告された病変を特性決定するために、同一評価方法および同一技術が使用される。追跡されている病変をイメージングできないが、臨床検査によって評価可能である場合を除いて、臨床検査ではなくイメージングに基づく評価が常に実施される。

【0660】

臨床病変：臨床病変は、表面上にあり、ノギスを使用して評価されるように $\geq 10\text{ mm}$ 直径である場合にのみ測定可能と考えられる。皮膚病変の場合については、病変のサイズを推定するために定規を含めるカラー写真撮影による文書化が提案されている。上記のように、病変を臨床検査およびイメージングの両方によって評価できる場合には、イメージングはより客観的であり、研究の最後で再調査されるのでイメージング評価が行われる。

【0661】

胸部 X線：CTは、特に新規病変の同定においてX線よりも感度が高いので、特に進行が重要なエンドポイントである場合には、胸部 X線を上回って胸部 CTが好ましい。しかし、胸部 X線での病変は、それらが明確に定義され、通気された肺によって囲まれている場合には測定可能と考えられる。

【0662】

CT、MRI：CTは、応答評価について選択された病変を測定するための最良の現在利用可能な、再現性のある方法である。CTスキャンでの病変の測定可能性は、CT切片厚は5 mm以下であるという仮定に基づいている。CTスキャンが5 mmより大きい切片厚を有する場合には、測定可能な病変の最小サイズは切片厚の2倍でなくてはならない。

【0663】

超音波：超音波は、病変サイズの評価では有用ではなく、測定の方法として使用されてはならない。新規病変が、研究の過程で超音波によって同定される場合には、CTまたはMRIによる確認が勧められる。

【0664】

内視鏡検査、腹腔鏡検査：客観的腫瘍評価のためのこれらの技術の利用は勧められない。

【0665】

腫瘍マーカー：腫瘍マーカー単独を、客観的腫瘍応答を評価するために使用できない。

【0666】

細胞学、組織学：これらの技術を使用して、プロトコールによって必要とされる稀な場合にPRとCRの間を識別できる。

【0667】

FDG PET-CT／CTスキャン：CRまたはPDを確認するためにおよそ12週毎

にリンパ腫患者において実施される。

【0668】

「標的」および「非標的」病変のベースライン文書化

ベースラインで1つより多い測定可能な病変が存在する場合には、すべての関与する臓器を代表する最大で合計5つの病変までのすべての病変（臓器あたり最大2つの病変）が、標的病変として同定されなければならない、記録され、ベースラインで測定される。

【0669】

標的病変は、そのサイズに基づいて選択され（最長の直径を有する病変）、すべての関与する臓器を代表し、再現性のある反復測定に役立つ。

【0670】

リンパ節は、腫瘍によって含まれなくてもイメージングによって可視化される正常な解剖学的構造であるので特筆に値する。測定可能と定義され、標的病変として同定される病理学的リンパ節は、CTスキャンによる $\geq 15\text{ mm}$ の短軸という基準を満たさなければならない。これらのリンパ節の短軸のみがベースライン合計に寄与する。すべての他の病理学的リンパ節（ $\geq 10\text{ mm}$ であるが $< 15\text{ mm}$ の短軸を有するもの）を非標的病変と考えるのではない。 $< 10\text{ mm}$ の短軸を有するリンパ節は、非病理学的と考えられ、記録され、追跡されるべきではない。

【0671】

すべての標的病変の直径の合計（非リンパ節性病変の最長、リンパ節性病変の短軸）が算出され、ベースライン合計直径として報告される。ベースライン合計直径は、疾患の測定可能な寸法で任意の客観的腫瘍退縮をさらに特性決定するための参照として使用される。

【0672】

病理学的リンパ節を含むすべての他の病変（または疾患の部位）は、非標的病変として同定され、ベースラインで同様に記録される。測定は必要ではなく、これらの病変は、「存在する」、「存在しない」または「明確な進行」として追跡される。さらに、この症例の単一項目と同一の臓器に関与する複数の非標的病変（例えば、「複数の拡大された骨盤リンパ節」または「複数の肝臓転移」）を記録することが可能である。

【0673】

応答基準が表25に記載されている。

【0674】

【表54】

表 25-応答基準

応答基準	標的病変の評価
CR	すべての標的病変の消失。任意の病理学的リンパ節(標的であろうと、非標的であろうと)は、短軸の $<10\text{ mm}$ への低減を有さなくてはならない。
PR	ベースライン合計直径を参照として、標的病変の直径の合計の少なくとも30%の減少。
PD	研究での最小の合計(これは、研究時に最小である場合にベースライン合計を含む)を参照として、標的病変の直径の合計の少なくとも20%の増加。20%の相対増加に加えて、合計はまた、少なくとも5mmの絶対増加を実証しなくてはならない。(注記:1つまたはそれより多い新規病変の出現も進行と考えられる)。
SD	研究の間の最小合計直径を参照として、PRの資格を得るベースライン研究からの十分な収縮も、PDの資格を得る十分な増加もない。

略語:CR=完全奏功、PD=進行性疾患、PR=部分奏功、SD=安定疾患。

【0675】

標的病変の評価に関する特記事項

標的病変と同定されるリンパ節は、実際の短軸測定が常に記録され、リンパ節が研究時に10mm未満に後退する場合であってもベースライン検査と同一の解剖学的面で測定される。これは、リンパ節が標的病変として含まれる場合には、CR基準が満たされる場合であっても、正常リンパ節は<10mmの短軸を有すると定義されるので、病変の「合計」はゼロではない可能性があるということを意味する。PR、SDおよびPDについては、リンパ節の実際の短軸測定は、標的病変の合計に含まれるべきである。

【0676】

「測定するには小さすぎる」ようになった標的病変：ベースラインで記録されたすべての病変（リンパ節性および非リンパ節性）はその実際の測定が、極めて小さい（例えば、2mm）場合であってもその後の評価各々で記録される。しかし、ベースラインで標的病変として記録される病変またはリンパ節が、CTスキャンで極めて薄くなり、その結果、放射線科医が正確な測定値を割り当てることに抵抗を感じることもあり、「測定するには小さすぎる」と報告する場合がある。これが生じる場合には、値がCRFに記録されることが重要である。放射線科医の意見が、病変が消失した可能性があるである場合、測定値は0mmと記録される。病変が存在し、薄く見えるが、測定するには小さすぎると考えられる場合には、5mmのデフォルト値が割り当てられる。

【0677】

非リンパ節性病変「断片」の場合には、標的病変合計を算出するために断片化された部分の最長直径が一緒に加えられる。同様に、病変が癒合するときは、個々の病変各々の最大直径測定値を得ることを補助するそれらの間の面が維持される。病変が、それらがもはや分けることができないように真に癒合された場合には、この場合の最長直径のベクトルは、「癒合した病変」の最大最長直径である。

【0678】

非標的病変の評価

一部の非標的病変が測定可能であるが、それらは測定される必要はなく、代わりに、プロトコルで指定された時点で定性的にのみ評価される。

【0679】

CR：すべての非標的病変の消失および腫瘍マーカーレベルの正規化。すべてのリンパ節が、サイズが非病理学的でなくてはならない(<10mm短軸)。

【0680】

非CR／非PD：1つまたはそれより多い非標的病変の持続および／または正常限界を上回る腫瘍マーカーレベルの維持。

【0681】

進行性疾患：既存の非標的病変の明確な進行。（注記：1つまたはそれより多い新規病変の出現も進行と考えられる）。

【0682】

非標的疾患の進行という概念は、以下のとおりのさらなる説明を必要とする：

参加者が測定可能な疾患も有する場合、この設定では、非標的疾患に基づいて「明確な進行」を達成するために、標的疾患におけるSDまたはPRの存在下でさえ、全体的な腫瘍量が療法の中断に値するほど十分に増大するように、非標的疾患において全体的なレベルの実質的な悪化がなくてはならない。1つまたはそれより多い非標的病変のサイズの中程度の「増大」は、明確な進行状態の資格を得るほど普通十分ではない。

【0683】

参加者が測定不可能な疾患のみを有する場合、非標的疾患に基づいて「明確な進行」を達成するために、全体的な腫瘍量が療法の中断に値するほど十分に増大するように、全体的なレベルの実質的な悪化がなくてはならない。1つまたはそれより多い非標的病変のサイズの中程度の「増大」は、明確な進行状態の資格を得るほど普通十分ではない。非標的疾患における悪化は容易に認定されない（定義によって：すべての病変が真に測定不可

10

20

30

40

50

能である場合）、明確な進行について患者を評価する場合に適用される有用な試験は、測定不可能な疾患の変化に基づく全体的な疾患の負荷の増大が、測定可能な疾患のPDを宣言するに必要とされる増大：すなわち、「体積」でのさらなる73%の増大を表す腫瘍量の増大（測定可能な病変における20%増大の直径と同等である）に規模で匹敵するか否かを考慮することである。例として、胸腔滲出液の「微量」から「多い」までの増加、リンパ管性疾患の限局性から広汎性への増加が挙げられ、または「療法の変化を必要とするほど十分」としてプロトコールに記載される。「明確な進行」が見られる場合には、患者はその時点で全体的なPDを有すると考えられる。

【0684】

新規病変

新規悪性病変の出現は、疾患進行を表す。新規病変の所見は、明確でなくてはならない：すなわち、スキャン技術の相違、イメージングモダリティの変更または腫瘍以外の何かを表すと考えられる所見（例えば、幾分か「新しい」骨病変は、単純に治癒または既存の病変の発赤である可能性がある）に起因しない。これは、参加者のベースライン病変がPRまたはCRを示す場合には特に重要である。例えば、肝臓病変の壊死は、CTスキャン報告書で「新規」嚢胞性病変として報告される場合があるが、そうではない。

【0685】

ベースラインでスキャンされなかった解剖学的位置においてフォローアップ研究で同定された病変は新規病変と考えられ、疾患進行を示す。この例として、研究で転移を明らかにするCTまたはMRI脳をオーダーした、ベースラインで内臓疾患を有する患者がある。参加者の脳転移は、ベースラインで脳イメージングを有していなかったとしてもPDを構成すると考えられる。

【0686】

新規病変が、例えば、その小さいサイズのために曖昧である場合には、継続療法およびフォローアップ評価によって、それが新規疾患を表すか否かが明らかとなる。反復スキャンによって、新規病変があることが確認される場合には、最初のスキャンの日付を使用して進行が宣言される。

【0687】

フルオロデオキシグルコース-陽電子放射型断層撮影（FDG-PET）応答評価は、追加の研究を必要とするが、進行（特に、可能性がある「新規」疾患）の評価においてCTスキャンを補完するためにFDG-PETスキャンの使用を組み込むことが合理的であることがある。以下のアルゴリズムに従って、FDG-PETイメージングに基づいて新規病変が同定される：

A. ベースラインで陰性FDG-PETおよびフォローアップで陽性FDG-PETは、新規病変に基づくPDの徴候である。

B. ベースラインでFDG-PETなしおよびフォローアップで陽性FDG-PET：フォローアップで陽性FDG-PETが、CTによって確認された疾患の新規部位に対応する場合には、これはPDである。

フォローアップで陽性FDG-PETが、CTで疾患の新規部位として確認されない場合には、真にその部位で発生している進行があるか否かを決定するために追加のフォローアップCTスキャンが必要である（その場合には、PDの日付は、最初の異常なFDG-PETスキャンの日付となる）。フォローアップで陽性FDG-PETが、解剖学的画像に基づいて進行していないCTでの既存の疾患の部位に対応する場合には、これはPDではない。

【0688】

最良の全体的な応答の評価

時点の応答：各プロトコールによって指定される時点で、応答評価を行わなくてはならない。表26は、ベースラインで測定可能な疾患を有する患者の各時点での全体的な応答状態算出の概要を提供する。

【0689】

【表 5 5】

表 26-標的疾患を有する患者における応答

標的病変	非標的病変	新規病変	全体的応答
CR	CR	無	CR
CR	非 CR/非 PD	無	PR
CR	評価されていない	無	PR
PR	非 PD またはすべてが 評価されていない	無	PR
SD	非 PD またはすべてが 評価されていない	無	SD
すべてが評価されて いない	非 PD	無	評価不能
PD	任意	有または無	PD
任意	PD	有または無	PD
任意	任意	有	PD

略語:CR=完全奏功、PD=進行性疾患、PR=部分奏功、SD=安定疾患。

10

20

【0 6 9 0】

患者が測定不可能な（従って、非標的）疾患のみを有する場合には、表 2 7 が使用されるべきである。

【0 6 9 1】

【表 5 6】

表 27-非標的疾患のみを有する患者における応答

非標的病変	新規病変	全体的応答
CR	無	CR
非 CR/非 PD	無	非 CR/非 PD
すべてが評価されていない	無	評価不能
明確な PD	有または無	PD
任意	有	PD

略語:CR=完全奏功、PD=進行性疾患、PR=部分奏功、SD=安定疾患。

30

40

【0 6 9 2】

欠損している評価および評価不能指定：イメージング／測定を特定の時点ですべてで行わない場合には、患者は、その時点で評価可能な（NE）ではない。

【0 6 9 3】

評価時に病変測定のサブセットのみが行われる場合には、普通、その症例は、個々の欠損している病変の寄与は、割り当てられた時点の応答を変更しないという確信的な議論を行うことができない限り、その時点でNEと考えられる。これは、PDの症例において起こる可能性が高い。イメージング／測定が、特定の時点ですべてで行われない場合患者はその時点でNEである。

【0 6 9 4】

50

評価時に病変測定サブセットのみが行われる場合には、普通、その症例はまた、個々の欠損している病変の寄与は、割り当てられた時点の応答を変更しないという確信的な議論を行うことができない限り、その時点でNEと考えられる。これは、PDの症例において起こる可能性が高い。

【0695】

応答評価に関する特記事項

リンパ節性疾患が標的病変の合計に含まれ、リンパ節が「正常な」サイズ(<10mm)に減少する場合には、それらは、依然としてスキャンで報告された測定値を有する場合がある。この測定値は、リンパ節のサイズの増大に基づいている場合、進行を誇張しないようにリンパ節が正常であっても記録される。前記のように、これは、CRを有する患者がCRFで「ゼロ」の総合計を有さない場合があることを意味する。

10

【0696】

応答の確認が必要である治験では、反復された「NE」時点評価は、最良の応答決定を複雑にする場合がある。治験の分析プランは、欠損しているデータ／評価が、応答および進行の決定において対応される方法に対応しなくてはならない。例えば、ほとんどの治験では、PR-NE-PRの時点の応答を有する患者を、確認された応答と考えることは合理的である。

【0697】

その時間で疾患進行の客観的証拠なしで治療の中断を必要とする健康状態の全体的な悪化を有する患者は、「症候性悪化」として報告される。治療の中断後でさえ客観的進行を文書化するためにあらゆる努力が行われなければならない。症候性悪化は、客観的応答の記述子ではない：それは研究療法を停止する理由である。

20

【0698】

このような患者の客観的応答状態は、標的および非標的疾患の評価によって決定される。進行の曖昧な所見（例えば、極めて小さいおよび不確かな新規病変；嚢胞性変化または既存の病変における壊死）については、治療は次の予定された評価まで継続できる。次の予定された評価で、進行が確認される場合には、進行の日付は、進行が疑われたより早い日付である。

【0699】

応答の持続期間

全体的な応答の持続期間は、CR／PRの測定値基準が最初に満たされた時間（どちらか最初に記録される方）から再発性またはPDが客観的に文書化される最初の日付まで測定される（PDの参照として研究で記録された最小測定値をとって）。

30

【0700】

全体的なCRの持続期間は、CRの基準が最初に満たされた時間から再発性疾患が客観的に文書化される最初の日付まで測定される。

【0701】

安定疾患は、参照として研究での最小の合計をとりながら治療の開始から進行の基準が満たされるまで測定される（ベースライン合計が最小である場合には、これはPDの算出のための参照である）。

40

【0702】

RECISTガイドラインに関する限定されない説明が、その全開示内容が参照により本明細書に組み込まれる、Eisenhauer EA、Therasse P、Bogaerts Jら New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). Eur J Cancer. 2009年; 45巻: 228~47頁に提供されている。

【0703】

実施例 1.15 — 免疫ベースの治療薬の、固形腫瘍における改変された応答基準

【0704】

50

詳細は、Seymour L、Bogaerts J、Perrone A、Ford R、Schwartz LH、Mandrekar SのiRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. Lancet Oncol. 2017年3月; 18巻(3号): e143~52頁に提供されている。

【0705】

【表57】

表 28-固形腫瘍における応答評価基準(RECIST)1.1 と、免疫ベースの療法のための固形腫瘍における改変応答評価基準(iRECIST)の比較

	RECIST 1.1	iRECIST
測定可能なおよび測定不可能な疾患の定義;標的疾患の数および部位	測定可能な病変は、直径 $\geq 10\text{mm}$ (リンパ節性病変については $\geq 15\text{mm}$);最大5の病変(臓器あたり2);すべての他の疾患は、非標的と考えられる(リンパ節性病変については短軸が $\geq 10\text{mm}$ でなくてはならない)	RECIST 1.1 から変化なし;しかし、新規病変は RECIST 1.1 によって評価されるが、症例報告書で別個に記録される(しかし、ベースラインで同定された標的病変の病変の合計には含まれない)
完全奏功、部分奏功または安定疾患	完全奏功、部分奏功または安定疾患の前に進行の基準を満たすことはできない	iCR、iPR または iSD の前に iUPD(1 つまたはそれ以上の例)を有していた可能性があるが、iCPD は有していた可能性はない。
完全奏功または部分奏功の確認	非ランダム化治験のためにのみ必要とされる	RECIST 1.1 のとおり
安定疾患の確認	必要とされない	RECIST 1.1 のとおり
新規病変	進行をもたらす;記録されるが測定されない	iUPD をもたらすが、iCPD は、このカテゴリーに基づいてのみ割り当てられ、次の評価で追加の新規病変が現れるか、または新規病変のサイズの増大が見られる(新規病変標的の合計について $\geq 5\text{mm}$ または新規病変非標的における任意の増大)場合には、新規病変の出現は、これまでに何も記録されていない場合、iCPD を確認することもできる
スキャンの独立した盲検にされた概説および中央収集	一部の状況-例えば、マーケティング承認のために計画された進行ベースのエンドポイントを用いる一部の治験において推奨される	すべての治験について推奨されるスキャンの収集(しかし独立した概説ではない)
進行の確認	必要とされない(曖昧でない限り)	必要とされる
臨床状態の考慮	評価に含まれない	iUPD 後に治療が継続されるか否かを決定する場合に臨床安定性が考慮される

「i」は、iRECIST を使用して割り当てられた免疫応答を示した。

略語:iCPD=確認された進行、iCR=完全奏功、iPR=部分奏功、iSD=安定疾患、iUPD=未確定の進行、RECIST=固形腫瘍における応答評価基準

【0706】

10

20

30

40

50

【表 5 8】

表 29-免疫ベースの療法のための固形腫瘍における改変応答評価基準(iRECIST)を使用
する時点応答の評価

標的 病変	非標的病変	新規病変	任意のカ テゴリー における 以前の iUPD を 有さない 時点応答	任意のカテゴリーにおける以前の iUPD を 有する時点応答 ^a
iCR	iCR	無	iCR	iCR
iCR	非 iCR/非 iUPD	無	iPR	iPR
iPR	非 iCR/非 iUPD	無	iPR	iPR
iSD	非 iCR/非 iUPD	無	iSD	iSD
変化な しまたは最後 の時点 から減少した iUPD	変化なしま たは最後の 時点から減 少した iUPD	有	適用でき ない	新規病変が以前に同定されており、それ らのサイズ(新規病変標的の測定値の合計 で $\geq 5\text{mm}$ または新規病変非標的の任意の 増大)または数が増大した場合に、最後の 時点から新規病変(サイズまたは数)におい て変化なしが見られ、割り当てが iUPD の ままである場合に、新規病変は iCPD を確 認する
iSD, iPR, iCR	iUPD	無	iUPD	iCPD が非標的疾患のサイズのさらなる増 大に基づいて確認されない限り(明確な進 行のために RECIST 1.1 基準を満たす必要 はない)iUPD のままである
iUPD	非 iCR/非 iUPD また は iCR	無	iUPD	iCPD が、 $\geq 5\text{mm}$ の測定値の合計のさらな る増大に基づいて確認されない限り、 iUPD のままである、そうでなければ、割 り当ては iUPD のままである。
iUPD	iUPD	無	iUPD	$\geq 5\text{mm}$ の測定値の合計における以前に同 定された標的病変 iUPD のさらなる増大ま たは非標的病変 iUPD に基づいて iCPD が 確認されない限り、iUPD のままである(以 前の評価が明確な進行を示したことは必 要ではない)

10

20

30

40

50

【表 5 9】

標的 病変	非標的病変	新規病変	任意のカ テゴリー における 以前の iUPD を 有さない 時点応答	任意のカテゴリーにおける以前の iUPD を 有する時点応答 ^a
iUPD	iUPD	有	iUPD	≥ 5mm の測定値の合計における以前に同 定された標的病変 iUPD 合計のさらなる増 大、以前に同定された非標的病変 iUPD(明 確である必要はない)、または以前に同定 された新規病変のサイズもしくは数の増 大に基づいて iCPD が確認されない限り、 iUPD のままである
非 iUPD または 進行	非 iUPD ま たは進行	有	iUPD	以前に同定された新規病変のサイズまた は数の増大に基づいて iCPD が確認されな い限り、iUPD のままである

^a この時点の直前の評価において以前に同定された。

「i」は、RECIST 1.1 原理に従って定義された iRECIST 標的病変、非標的病変および新規病変を使用して割り当てられた免疫応答を示す、偽進行が生じない場合は、完全奏功、部分奏功および安定疾患の RECIST 1.1 および iRECIST カテゴリーは、同一であろう。

略語:iCPD=確認された進行、iCR=完全奏功、iPR=部分奏功、iSD=安定疾患、iUPD=未確定の進行、非 iCR/非 iUPD=CR も PD も満たされなかった基準、RECIST=固形腫瘍における応答評価基準。

【 0 7 0 7 】

【表 6 0】

表 30-東部共同腫瘍学グループ(Eastern Cooperative Oncology Group)パフォーマンスステータススケール

パフォーマンス ステータス	説明	
0	完全に活動的であり、制限なしにすべての疾患前のパフォーマンスを実行できる。	
1	身体的に激しい活動では制限されるが、歩行可能で、軽いまたは座位の性質の仕事、例えば、軽い家事、事務の仕事を行うことができる。	10
2	歩行可能で、すべてのセルフケアが可能であるが、何らかの作業活動を実行することはできない。覚醒時間の 50%以上は起き上がって動き回れる。	
3	限られたセルフケアしかできない。覚醒時間の 50%以上はベッドまたは椅子に閉じ込められている。	
4	完全に動けない。セルフケアを全く実施できない。完全にベッドまたは椅子に閉じ込められている。	
5	死亡。	20

東部共同腫瘍学グループ、Robert L.Comis、MD、グループ長によって開発された。

【 0 7 0 8】

30

40

50

【表 6 1】

表 31-皮膚黒色腫 TNM ステージ(AJCC Cancer Staging 第 8 版)

黒色腫 TNM 分類			
T 分類	厚み	潰瘍状態	
Tis	適用できない	適用できない	
T1	≤1.0mm	a:<0.8mm 潰瘍無し b:<0.8mm 潰瘍有り潰瘍の有無に関わらず 0.8～1.0mm	10
T2	1.01～2.0mm	a:潰瘍無し b:潰瘍有り	
T3	2.01～4.0mm	a:潰瘍無し b:潰瘍有り	
T4	>4.0mm	a:潰瘍無し b:潰瘍有り	
N 分類	転移性リンパ節の数	リンパ節転移性腫瘍	
N1	1 リンパ節	a:臨床的にオカルト <i>a</i> b:臨床的に検出された <i>b</i> c:転移性リンパ節を伴わないイントランジット転移/サテライト	20
N2	2～3 リンパ節	a:臨床的にオカルト <i>a</i> b:臨床的に検出された <i>b</i> c:1 つの転移性リンパ節を伴うイントランジット転移/サテライト	
N3	4 またはそれ以上の転移性リンパ節またはもつれたリンパ節(matted nodes)または転移性リンパ節を伴うイントランジット転移/サテライト		30
M 分類	部位	血清 LDH	
M1a (0)	遠位皮膚、皮下またはリンパ節性転移	正常	
M1a (1)		上昇	
M1b (0)	肺転移	正常	
M1b (1)		上昇	
M1c (0)	すべての他の内臓転移	正常	
M1c (1)		上昇	40

【表 6 2】

黒色腫 TNM 分類	
M1d	中枢神経への転移
a 臨床的にオカルトは、センチネルまたは待機リンパ節切除術後に診断される。 b 臨床的に検出されるは、治療的リンパ節切除術によって確認されるか、またはリンパ節性転移が肉眼的被膜外伸展を示した場合に臨床的に検出可能なリンパ節性転移として定義される。	
出展:Amin MB 編 AJCC Cancer Staging Manual.第 8 版 Chicago、IL:AJCC-Springer;2017 年:563～585 頁における Gershenwald JE、Scolyer RA、Hess KR ら Melanoma of the skin。	

10

【0709】

【表 6 3】

表 32-黒色腫ステージ/予後群—ステージ IIIB およびそれ以上

黒色腫ステージ/予後群(ステージ IIIB およびそれ以上)			
ステージ	T	N	M
ステージ IIIB	T1-4b	N1a	M0
	T1-4b	N1b	M0
	T1-4a	N1b	M0
	T1-4a	N2c	M0
ステージ IIIC	T1-4b	N1b	M0
	T1-4b	N2b	M0
	T1-4b	N2c	M0
	任意の T	N3	M0
ステージ IV	任意の T	任意の N	M1

出展:Amin MB 編 AJCC Cancer Staging Manual.第 8 版 Chicago、IL:AJCC-Springer;2017 年:563～585 頁における Gershenwald JE、Scolyer RA、Hess KR ら Melanoma of the skin。

20

30

【0710】

疾患応答は、Lugano 分類 2014 年 (Cheson BD ら (2014 年) J. Clinical Oncology 32 巻 (27 号) 3059～3068 頁) を使用して評価される。応答評価は、スクリーニング時および 12 週毎 (±7 日) に行う。

【0711】

40

【表 6 4】

表 33-疾患評価および Lugano 分類

Lugano 分類 2014 年、Cheson ら 2014 年、 表 3.応答評価のための改訂された基準から複製された		
応答および部位	PET-CT ベースの応答	CT ベースの応答
完全	完全代謝性応答	完全放射線学的応答(以下のうちすべて)
リンパ節およびリンパ管外部位	5PS**上の残存腫瘍に関わらずスコア 1、2 または 3* 高い生理学的取り込みを行う、または脾臓もしくは骨髄内活性化を有する(例えば、化学療法または骨髄系コロニー刺激因子を用いて)Waldayer 輪またはリンパ節外部位中では、取り込みは、縦隔および/または肝臓よりも大きいものであり得ると認識される。この状況では、完全代謝的応答は、組織が高い生理学的取り込みを有する場合でさえ最初の関与の部位での取り込みが、周囲の正常組織よりも大きくない場合に推測され得る。	標的リンパ節/リンパ節腫瘍は、LDi において $\leq 1.5\text{cm}$ に後退しなくてはならない 疾患のリンパ管外部位なし
測定されない病変	適用できない	存在しない
臓器拡大	適用できない	正常までの後退
新規病変 骨髄	無 骨髄における FDG-avid 疾患の証拠なし	無 形態学で正常;未定である場合には、IHC 陰性
部分	部分代謝的応答	部分緩解(以下のうちすべて)
リンパ節およびリンパ管外部位	ベースラインと比較して取り込みが低減し、任意のサイズの残存腫瘍を有する、スコア 4 または 5** 中間で、これらの所見は応答性疾患を示す 治療の最後で、これらの所見は残存病変を示す	最大 6 の標的測定可能リンパ節およびリンパ節外部位の SPD の $\geq 50\%$ 減少 病変が CT で測定するには小さすぎる場合には、デフォルト値として $5\text{mm}\times 5\text{mm}$ を割り当てる もはや目に見えない場合には、 $0\times 0\text{mm}$ リンパ節には $>5\text{mm}\times 5\text{mm}$ であるが、正常より小さい場合には、算出のために実際の測定値を使用する 存在しない/正常、後退されるが増大しない 脾臓は正常を超えて長さで $>50\%$ まで後退していなくてはならない
測定されない病変	適用できない	存在しない/正常、後退されるが増大しない
臓器拡大	適用できない	脾臓は正常を超えて長さで $>50\%$ まで後退していなくてはならない
新規病変	無	無

10

20

30

40

50

【表 6 5】

骨髄	正常骨髄における取り込みよりも高いが、ベースラインと比較して低減している残存取り込み(化学療法からの反応性変化と匹敵するびまん性取り込みが可能)。リンパ節応答との関連で骨髄に持続的な限局性変化がある場合は、MRI または生検またはインターバルスキャンを用いたさらなる評価が考慮されるべきである。	適用できない
応答なしまたは安定疾患	代謝的応答なし	安定疾患
標的リンパ節/リンパ節腫瘍、リンパ節外病変	中間または治療の最後で FDG 取り込みにベースラインから有意な変化がないスコア 4 または 5	最大 6 の優勢で、測定可能なリンパ節およびリンパ節外部位の SPD のベースラインからの<50%減少;進行性疾患の基準が満たされるものなし
測定されない病変	適用できない	進行と一致する増大なし
臓器拡大 新規病変 骨髄	適用できない 無 ベースラインからの変化なし	進行と一致する増大なし 無 適用できない
進行性疾患	進行性代謝性疾患	進行性疾患は、以下のうち少なくとも 1 つを必要とする
個々の標的リンパ節/リンパ節腫瘍	ベースラインからの取り込みの強度の増大を有するスコア 4 または 5 および/または	PPD 進行:
リンパ節外病変	中間または治療の最後の評価でリンパ腫と一致する新規 FDG-avid 病巣	個々のリンパ節/病変は、LDi>1.5cm および PPD 最下点からの $\geq 50\%$ の増大および最下点からの LDi または SDi の増大病変 $\leq 2\text{cm}$ について 0.5cm 病変>2cm について 1.0cm を有し異常でなくてはならない 脾腫大の設定では、脾臓の長さはベースラインを超えて以前の増大の程度 of >50%増大しなくてはならない(例えば、15cm 脾臓は>16cm に増大しなくてはならない)。以前の脾腫大がない場合には、ベースラインから少なくとも 2cm 増大しなくてはならない 新規または再発性脾腫大 既存の測定されない病変の新規または明らかな進行
測定されない病変	無	
新規病変	別の病因論(例えば、感染、炎症)よりもリンパ腫と一致する新規 FDG-avid 病巣。新規病変の病因論に関して不確かである場合には、生検またはインターバルスキャンが考慮される	以前に解消した病変の再成長 任意の軸が>1.5cm の新規リンパ節 任意の軸が>1.0cm の新規リンパ節外部位;任意の軸が<1.0cm である場合には、その存在は、明確でなくてはならず、リンパ腫に起因しなくてはならない 任意のサイズの評価可能疾患は、リンパ腫に明確に起因する 新規または再発性関与
骨髄	新規または再発性 FDG-avid 病巣	

10

20

30

40

【表 6 6】

略語:SPS、5段階評価;CT、コンピュータ断層撮影法;FDG、フルオロデオキシグルコース;IHC、免疫組織化学;LDi、病変の最長横径;MRI、磁気共鳴イメージング;PET、陽電子放射型断層撮影;PPD、LDiと垂直直径の外積;SDi、LDiに対して垂直な最短軸;SPD、複数の病変の垂直直径の積の合計。

*多数の患者における3のスコアは、特に、中間スキャンの時間では標準治療を用いた場合の良好な予後を示す。しかし、漸減が調査されるPETが関与する治験では、3のスコアを不適切な応答と考えることは好ましいことである(処置不十分を避けるために)。測定された優勢な病変:2つの直径で明らかに測定可能であるように選択された最大6の最大の優勢のリンパ節、リンパ節性腫瘍およびリンパ節外病変。リンパ節は、好ましくは、身体完全に異なる領域に由来しなくてはならず、適用可能であれば、縦隔および後腹膜領域を含まなければならない。非リンパ節病変は、固形臓器(例えば、肝臓、脾臓、腎臓、肺)中のもの、GI関与、皮膚病変または触診で気づかれたものを含む。測定されない病変:測定される、優勢の疾患および真に評価可能な疾患として選択されない任意の疾患は、測定されないと考えられるべきである。これらの部位は、優勢のまたは測定可能なものとして選択されない、または測定可能性の必要条件を満たさないが依然として異常である任意のリンパ節、リンパ節腫瘍およびリンパ節外部位ならびに胸腔滲出液、腹水、骨病変、軟髄膜疾患、腹部腫瘍ならびにイメージングによって確認および追跡することができない他の病変を含む、測定を用いて定量的に追跡することが困難であろう疑わしい疾患の任意の部位である真に評価可能な疾患を含む。Waldayer輪またはリンパ節外部位(例えば、GI管、肝臓、骨髄)中では、FDG取り込みは、完全代謝的応答を有する縦隔においてよりも大きい場合があるが、周囲の正常な生理学的取り込み(例えば、化学療法または骨髄系成長因子の結果として骨髄活性化を有する)よりも高くはない。

**PET SPS:1、バックグラウンドを上回る取り込みなし;2、取り込み $\leq$ 縦隔;3、取り込み $>$ 縦隔であるが、 $\leq$ 肝臓;4、取り込み中程度 $>$ 肝臓;5、肝臓および/または新規病変よりも著しく高い取り込み;X、リンパ腫と関連する可能性が低い取り込みの新規領域

10

20

【0712】

イメージングのタイミングは、暦日に従うべきであり、周期中の遅延のために調整されてはならない。PD以外の理由のために中止した参加者については、評価は、参加者がPDを文書化するまで継続するべきである。治験責任医師の意見において参加者が臨床的に進行している場合には、第1の評価は12週より早く実施される。

30

【0713】

40

50

【表 6 7】

表 34-略語

ADA:抗薬物抗体	
ALT:アラニンアミノトランスフェラーゼ	
ANC:絶対好中球数	
AST:アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	
CAR:キメラ抗原受容体	
CK:パンサイトケラチン(pancytokeratin)	
CRP:C 反応性タンパク質	10
DL:用量レベル	
DL1:出発用量レベル	
DLT:用量制限毒性	
DoR:応答の持続期間	
DRE:疾患関連事象	
ECOG:東部共同腫瘍学グループ	
eCRF:電子症例報告書	
EOT:治療の最後	
HBsAg:B 型肝炎表面抗原	
hCG:ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン	
HLH:血球貪食性リンパ組織球症	20
ICF:インフォームドコンセント形式	
ICH:調和国際会議	
IP10:INFγ 誘導性タンパク質 10	
iRECIST:免疫療法のための RECIST	
iUPD:未確定の進行性疾患	
IV:静脈内に	
KIM-1:腎臓傷害分子-1	
LDH:乳酸デヒドロゲナーゼ	
MRI:磁気共鳴イメージング	
NCI CTCAE:有害事象についての国立がん研究所の共通用語基準	
NOAEL:観察されない有害作用レベル	30
NSAID:非ステロイド系抗炎症薬	
PDy:薬動力学	
PFS:無増悪生存期間	
PK:薬物動態	
PO:経口で	
RNAseq:RNA シーケンシング	
SAE:重篤有害事象	
STD 10:動物の 10%における重度の毒性用量	
USG:超音波検査	
WOCBP:妊娠の可能性のある女性	40

【0714】

実施例 2 - 抗 PD 1 抵抗性腫瘍を獲得したマウスにおける抗腫瘍活性

抗 PD 1 療法に対する後天的抵抗性のマウスモデル

抗 PD-1 抗体治療に対して後天的抵抗性を示すマウス腫瘍モデルを、本質的に以下のとおり生成した。Dunn ら (2002 年) Nature Immunology 3 巻: 991~998; および Wang X ら (2017 年) Cancer Res 77 巻 (4 号): 839~850 頁も参照されたい。MC38 腫瘍を有する雌の C57BL/6/J マウス (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA) を、抗 PD-1 抗体 (クローン RMP1-14; 方法で Yamazaki ら (2

005年) J Immunol 175巻(3号): 1586~1592頁に記載されるような)を用いて治療し、増殖する腫瘍を切り出し、細胞を10% FBSを補給したL-グルタミン(Life Technologies)を有するRPMI-1640中でex vivoで培養した。6~8週齢の雌のC57BL6/Jマウスを12時間明周期で温度管理された環境に収容し、食物および滅菌水を自由に利用させた。すべてのマウスを実験の前に少なくとも3日間順化させた。測定される場合には、体重および腫瘍体積を実験のエンドポイントまで週に2回測定した。腫瘍体積は、以下の式を使用して垂直直径の積として表される： $a^2 * b / 2$ 、ここで $a < b$ 。

【0715】

図2A~3について、100万個のMC38またはMC38抵抗性細胞を200μlのDPBSに懸濁し、各マウスの右側腹部に皮下注射した。

【0716】

in vivo薬物投与

4用量のマウスサイトカインmRNA混合物またはルシフェラーゼをコードする対照mRNA(Luc mRNA)を、腫瘍が平均60mm³に到達した時点で出発して腫瘍あたり50μl中の40μgで腫瘍内(IT)注射によって4日毎(Q4D)に投与した。マウス体重および腫瘍体積を実験のエンドポイントまで週に2回測定した。腫瘍体積は、以下の式を使用して垂直直径の積として表された： $a^2 * b / 2$ 、ここで $a < b$ 。すべての手順は、施設内動物管理使用委員会によって承認され、実験動物の世話と使用のためのNIHガイドに従って実施した。

【0717】

mRNAの調製

目的の遺伝子をコードする合成DNA断片を、合計で110ヌクレオチドの5'-非翻訳領域(UTR)および3'UTR、3'UTRおよびポリ(A)テールを含む一般的な出発ベクターにクローニングした。プラスミドDNAの線形化を、class IIS制限酵素を用いてポリ(dA:dT)の下流で実施して、ポリ(dA:dT)を超えるさらなるヌクレオチドのない鑄型を生成した(例えば、Holtkampら(2006年) Blood 12月15日; 108巻(13号): 4009~17頁を参照されたい)。線形化されたプラスミドDNAを、7.5mM ATP、CTP、GTPおよびN1-メチル-シユードウリジントリホスフェートの存在下で、Grudzien-Nogalskaら(2013年) Methods Mol Bio. 969巻: 55~72頁に記載されるようにT7 RNAポリメラーゼ(Thermo Fisher、ウォルサム、米国マサチューセッツ州)を用いたin vitro転写に付した。RNAを磁性粒子(Berensmeier S. (2006年) Applied Microbiology and Biotechnology 73巻(3号): 495~504頁)を使用して精製し、その後、ワクシニアキャッピングシステム(New England Biolabs、イプスウィッチ、米国マサチューセッツ州)およびmRNAキャップの2'-O-メチル化を使用してCap1構造を導入した。セルロースベースのクロマトグラフィーを使用してRNAをさらに精製して、二本鎖RNA(dsRNA)不純物を除去した(Day PRら(1977) Phytopathology 67巻: 1393頁; Morris TJら(1979年) Phytopathology 69巻: 854~858頁; およびCastillo Aら(2011年) Virol J. 8巻: 38頁を参照されたい)。分光光度法およびキャピラリーゲル電気泳動システムを使用してRNA濃度および品質を評価した。dsRNAの存在は、Karikoら(2011年) Nucleic Acids Res. Nov; 39巻(21号): e142によって記載されたようなdsRNA特異的J2 mAb(English & Scientific Consulting、KFt. ジロック(Szirak)、ハンガリー)を使用するノースウェスタンドットプロットアッセイで評価した。

【0718】

結果

10

20

30

40

50

チェックポイント遮断に対する先天的および後天的抵抗性のいくつかの機序が定義されており、MHC IおよびIFN γ シグナル伝達経路の突然変異を含む。例えば、Sharmaら(2017年) Cell 168巻(4号):707~723頁; Sade-Feldman Mら(2017年) Nat Commun 8巻(1号):1136頁; Zaretsky JMら(2016年) N Engl J Med 375巻(9号):819~29頁; Gettinger S.ら(2017年) 7巻(12号):1420~1435頁; Rodig SJら(2018年) Sci Transl Med 10巻(450)を参照されたい。しかし、このような突然変異は、低頻度の患者において生じており、追加の機序はまだ定義されていない。チェックポイント遮断に対する後天的抵抗性をより良好に理解しようとして、本発明者らは、抗PD-1抗体治療に対してin vivo抵抗性を示すマウス腫瘍モデルを生成した。MC38腫瘍は、一連のin vivo継代後にPD-1遮断に対する抵抗性を獲得した(図2A、B)。PD-1遮断に対する感受性の欠如は、PD-L1またはB2M発現の調節不全に起因するものではなかったが、これは、両方とも、親および抵抗性細胞において同様のレベルで発現されたからである(図2C)。同様に、IFN γ シグナル伝達および抗原プロセッシングおよび提示経路は、親および抵抗性細胞株の両方において機能的であった(図2D、2E)。偏りのない遺伝子発現分析を使用して、潜在的な抵抗性機序をさらに特性決定した。RNAシーケンシングによって、親のMC38腫瘍に対して免疫関連遺伝子の発現の著しい低減を示すPD-1抵抗性腫瘍を用いるグローバルな遺伝子発現において大幅な相違が示された(図2F、2G)。実際、PD-1抵抗性腫瘍は、TおよびNK細胞を含む複数の細胞種にわたって免疫浸潤の低減を示す(図2H、2I)。

10

20

【0719】

モデルのさらなる検証を実施し、結果が図3~5に示されている。手短には、MC38抵抗性細胞は、PD-L2を発現しないことが示され、発現は、IFN γ 治療後に誘導されなかった(図3)。免疫組織化学的染色によって、抵抗性腫瘍における免疫細胞の頻度の低減が示された(図4A)。パラフィン包埋されたMC38およびMC38抵抗性腫瘍を、CD45+細胞の浸潤(暗色)について免疫組織化学的染色によって分析した。結果は、2回の独立実験の代表である; 群あたりn=10腫瘍。図4Aは、代表的な画像を示す。図4Bは、定量化を示す。図5A~5Bは、抵抗性腫瘍の免疫原性の低減を示す。手短には、5個体の、PD-1遮断に応じて完全退縮を示した親のMC38腫瘍を有するC57BL/6マウスから、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)培養物を生成した。CTLをMC38および抵抗性腫瘍細胞と同時培養し、死滅させ(図5A)、IFN γ 放出(図5B)を測定した。

30

【0720】

この検証されたモデルを使用して、サイトカインRNA混合物を、単独療法として腫瘍内に投与した。マウスサイトカインRNA混合物を用いる単独療法は、対照と比較してMC38およびMC38抵抗性腫瘍両方の成長を示した。図6A~6Dを参照されたい。マウスサイトカインRNA混合物を用いる単独療法はまた、MC38およびMC38抵抗性腫瘍を有するマウスの生存を大幅に延長した。図7を参照されたい。8個体のうち5個体(62.5%)のMC38腫瘍を有するマウス(図6B)および8個体のうち3個体(37.5%)のMC38抵抗性腫瘍を有するマウス(図6D)が完全腫瘍緩解を示し、実験の最後には腫瘍を有さなかった図7も参照されたい。

40

【0721】

実施例3 ー 抗PD1抵抗性腫瘍を有するマウスにおける抗腫瘍活性

抗PD1療法に対する抵抗性についてのマウスモデル

MC38細胞、Dr. S. A. Rosenberg(米国国立衛生研究所、ベセスダ、米国メリーランド州)、からの寄贈されたものを、10% FBSを補給したL-グルタミン(Life Technologies)を有するRPMI-1640中で培養した。一般に、単一側腹部腫瘍モデルのためには、MC38細胞をDPBSに懸濁し、200 μ l中の 1×10^6 個細胞をC57BL/6Jマウスの右側腹部中にSC移植した。一般に

50

、二重側腹部腫瘍MC38モデルのためには、0日目に 1×10^6 個の細胞を右側に、および 0.5×10^6 個の細胞を左側にSC移植した。

【0722】

抗PD-1療法に対する抵抗性の*in vivo*腫瘍モデルを生成するために、sgRNA 5'-GGCGTATGTATCAGTCTCAG-3'（配列番号41）を使用するCRISPRを使用してMC38-B2M-ノックアウト細胞を生成した。MC38細胞を、事前に複合化されたCas9およびsgRNA（GeneArt（商標）Platinum（商標）Cas9ヌクレアーゼV.2；ThermoFisher Scientific）を、製造業者の使用説明書に従って用いて一過性にトランスフェクトした（Lipofectamine（商標）CRISPRMAX（商標）；ThermoFisher Scientific、ウォルサム、米国マサチューセッツ州）。B2M-ノックアウト細胞を、MACS技術（Miltenyi Biotec、ベルギッシュ・グラートバッハ、ドイツ）を使用して濃縮し、次いで、単一細胞コロニーを単離し、フローサイトメトリーによってノックアウトを確認した。

10

【0723】

*in vivo*薬物投与

サイトカインRNA混合物を腫瘍内注射によって投与した。イソフランを用いてマウスに麻酔し、特に明記しない限り、生理食塩水溶液中の $50 \mu\text{L}$ 中の $80 \mu\text{g}$ のmRNAを、合計4用量の間4日毎に右腫瘍中に腫瘍内に（IT）注射した。抗体は、別に記載されない限りBioXcell（ウエストレバノン、米国ニューハンプシャー州）から入手し、IP注射によって投与した。対照（MOPC-21）および抗PD-1（RMP1-14）は、3日毎（Q3D）に 5 mg/kg の用量で投与した。

20

【0724】

結果

チェックポイント抵抗性設定においてサイトカインmRNA治療の治療効力を調べるためにMC38細胞においてB2Mを遺伝的に欠失させ（図8）、抗PD-1療法に対する*in vivo*抵抗性につながった（図9C）が、一方で、親の腫瘍を有するマウスは、抗PD-1療法に対して依然として部分的に応答した（図9B）。サイトカインRNA混合物治療単独は、B2Mノックアウト腫瘍を有する動物において生存の延長を与えたが、サイトカインmRNAを抗PD-1チェックポイント遮断と組み合わせることによって生存のさらなる増大は観察されなかった（図9C）。

30

【0725】

ヒト悪性腫瘍においてよく観察される腫瘍内不均一性をモデル化するために、片側でMC38-B2Mノックアウトを、対側性側腹部でMC38-WT腫瘍を用いて二重側腹部設定を確立した（図9D）。MC38-B2Mノックアウト腫瘍をサイトカインRNA混合物とともに注射し、一方で、対側性MC38-WT腫瘍は未処置のままとした。抗PD-1療法単独を用いる治療は、腫瘍を有するマウスの生存に対して効果がなかったが、サイトカインRNA混合物単独は生存を延長したものの、すべてのマウスは最終的には腫瘍量に屈した（図9D）。組合せ治療は、この設定で全生存をさらに増大し、サイトカインRNA混合物および抗PD-1抗体を用いる組合せ治療が、治療された病変がMHC I発現の欠如のためにT細胞媒介性死滅に対して抵抗性である場合であっても、アブスコパル効果を有することを示した（図9D）。

40

【0726】

実施例4 — 追加のマウスモデルにおける抗腫瘍活性

材料および方法

12の同質遺伝子的細胞株を、異なる培地（以下に示される）を用い、大気中5% CO_2 の雰囲気中 37°C で*in vitro*で維持した。腫瘍細胞は、週に2回日常的に継代される。腫瘍接種のために指数増殖期の細胞を回収し、計数した。腫瘍発生のために、各マウスに 0.1 mL のPBS中の腫瘍細胞を用いて皮下接種した。腫瘍細胞接種後、動物を罹病率および死亡率について毎日チェックした。日常的なモニタリングの間に、可動性

50

、食物および水の消費、体重増加／減少（体重は、ランダム化後週に2回測定される）、眼／毛の艶消しおよび任意の他の異常のような挙動に対する腫瘍成長および治療の何らかの作用について動物をチェックした。死亡率および観察された臨床徴候を、個々の動物について詳細に記録した。ランダム化後、ノギスを使用して2つの寸法で腫瘍体積を週に2回測定し、体積を以下の式を使用して mm^3 表した： $V = (L \times W \times W) / 2$ 、ここで、 V は腫瘍体積であり、 L は腫瘍の長さであり（最長腫瘍寸法）、 W は腫瘍幅である（ L に対して垂直な最長腫瘍寸法）。投薬ならびに腫瘍および体重測定をLaminarフローキャビネット中で実施した。体重および腫瘍体積は、Study DirectorTMソフトウェア（バージョン3.1.399.19）を使用して測定した。

【0727】

【表68】

10

表 35. 培地および細胞株情報

細胞株	細胞株のベンダー	培地	細胞量/マウス	接種部位
CT26	SIBS, Shanghai Institutes for Biological Sciences	RPMI1640+10%FBS	5×10^5	右下側腹部
Pan02	NIH	RPMI1640+10%FBS	1×10^6	右前側腹部
H22	CCTCC, China Center for Type Culture Collection	RPMI1640+10%FBS	3×10^6	右前側腹部
MC38	FDCC, Fudan Cell Center	DMEM+10%FBS	1×10^6	右下側腹部
A20	ATCC	RPMI1640+10%FBS	5×10^5	右下側腹部
B16BL6	Nanjing Keygen biotech	RPMI1640+10%FBS	2×10^5	右下側腹部
Renca	ATCC	DMEM+10%FBS	1×10^6	右下側腹部
LL/2	SIBS, Shanghai Institutes for Biological Sciences	DMEM+10%FBS	5×10^5	右下側腹部
EMT-6	ATCC	DMEM+10%FBS	3×10^5	右下側腹部
RM-1	SIBS, Shanghai Institutes for Biological Sciences	RPMI1640+10%FBS	1×10^6	右下側腹部
B16F10	SIBS, Shanghai Institutes for Biological Sciences	DMEM+10%FBS	2×10^5	右下側腹部
Hepa 1-6	SIBS, Shanghai Institutes for Biological Sciences	DMEM+10%FBS	5×10^6	右前側腹部

20

30

【0728】

40

50

【表 6 9】

表 36.研究デザイン

N	治療	用量レベル (mg/kg)	投薬溶液 (mg/ml)	投薬容量 (μ L/g)	ROA	投薬頻度&期間*
10	サイトカイン mRNA混合物	40 μ g/腫瘍	40 μ g/50 μ l	50 μ l/腫瘍	腫瘍内	Q4D×4(1、5、 9、13日目)
10	抗PD-1	10	1	10	i.p.	BIW×3 週間(1、 4、8、11、15、 18 日目)
10	抗PD-1 + サイトカイン mRNA 混合物	40 μ g/腫瘍	40 μ g/50 μ l	50 μ l/腫瘍	腫瘍内	BIW×3 週間(1、 4、8、11、15、 18 日目) Q4D×4(1、5、 9、13日目)

10

20

【 0 7 2 9 】

結果

腫瘍不均一性の影響をさらに理解するために、12個体のマウスモデルをサイトカインmRNA混合物または抗PD-1抗体とのコンビナトリアル治療に対する感受性について試験した。抗PD-1抗体単独とは対照的に、ほとんどの腫瘍種は、単剤mRNA療法に対して感受性があった。さらに、すべてのモデルが、サイトカインmRNAおよび抗PD-1を用いる組み合わせられた治療の際に腫瘍成長減速を示し（図10）、サイトカインをコードする局所mRNA療法の多用途性をさらに強調した。

30

40

50

【凶面】

【図 1 A】

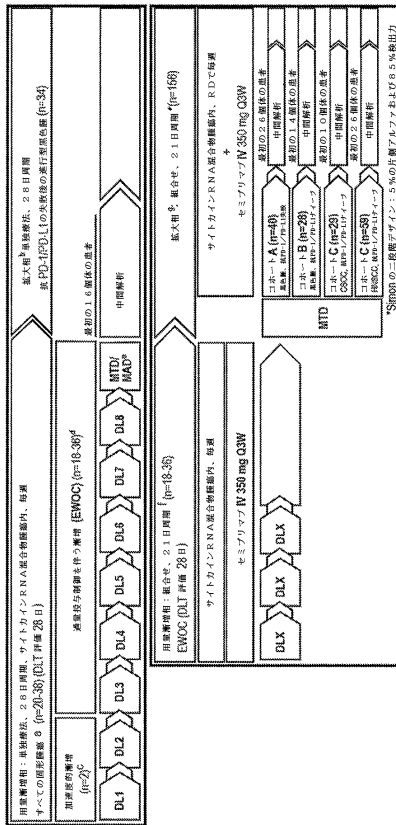


Fig. 1A

【図 1 B】

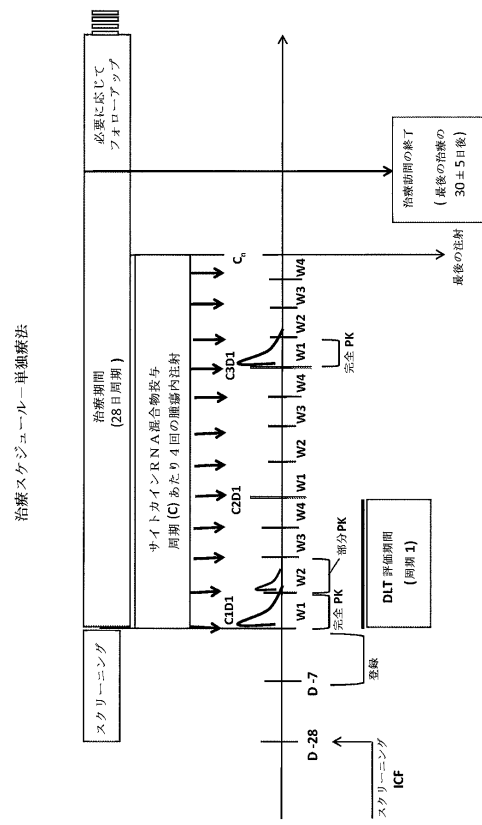


Fig. 1B

【図 1 C】

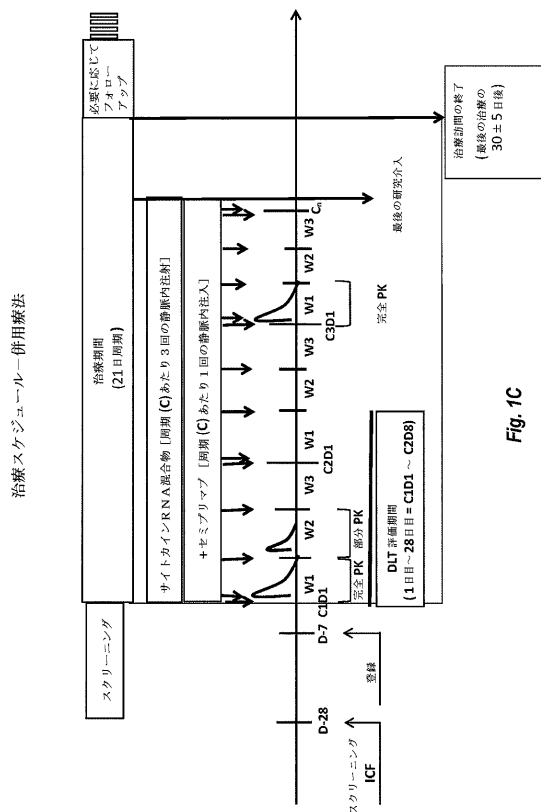


Fig. 1C

【図 2 - 1】



Fig. 2A

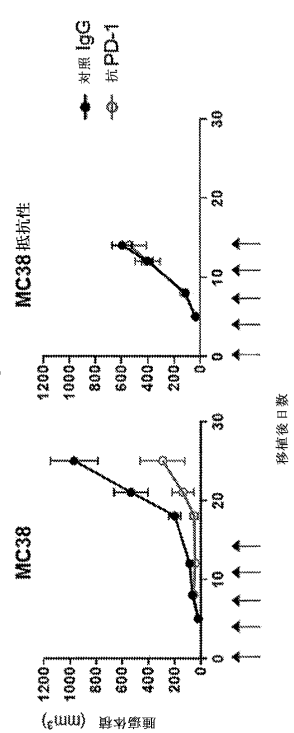


Fig. 2B

【図 2 - 2】

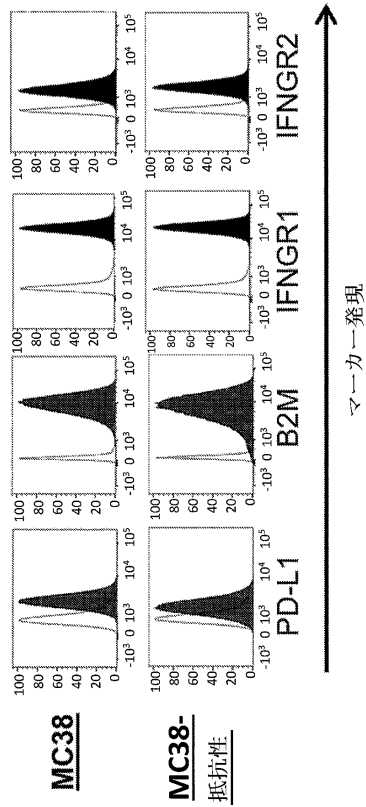


Fig. 2C

【図 2 - 3】

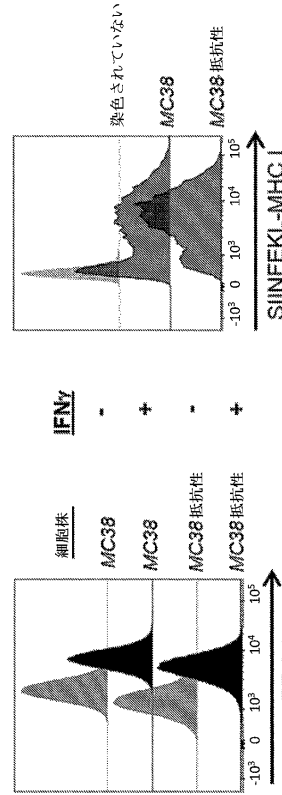


Fig. 2E

Fig. 2D

【図 2 - 4】

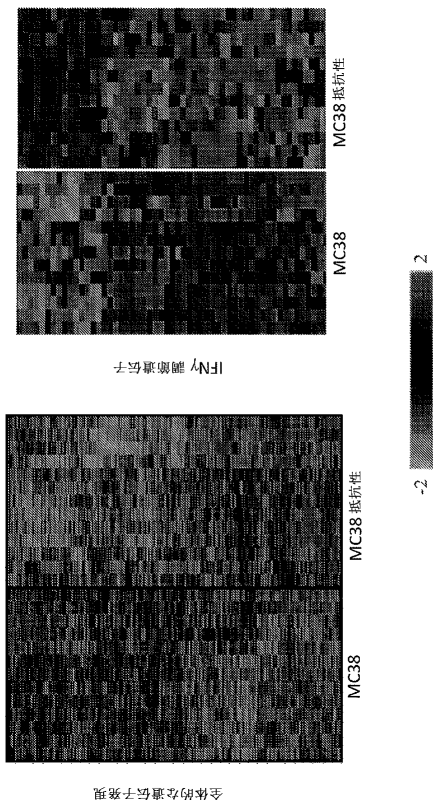


Fig. 2F

Fig. 2G

【図 2 - 5】

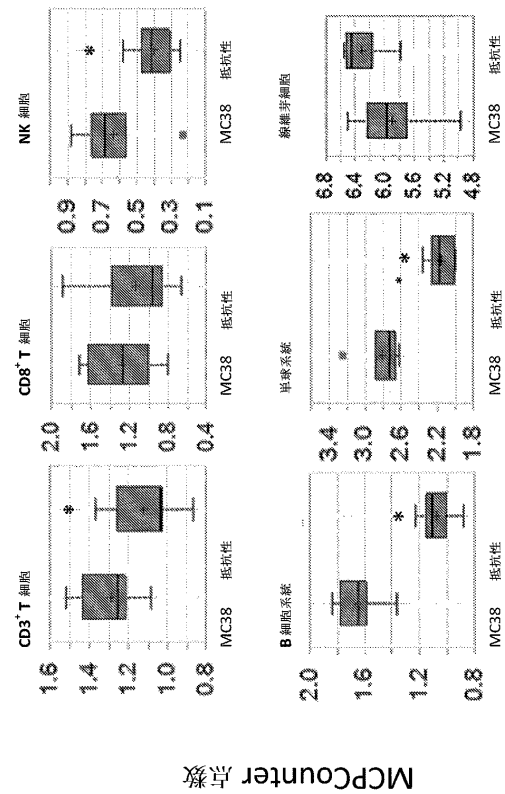


Fig. 2H

10

20

30

40

50

【図 2 - 6】

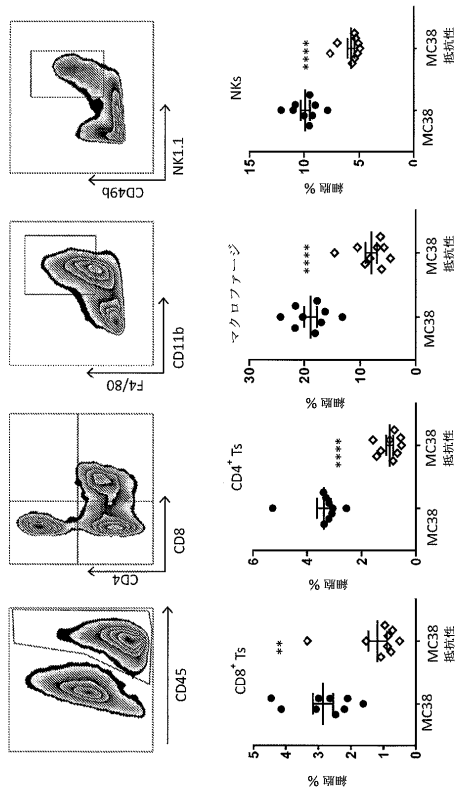


Fig. 2I

【図 3】

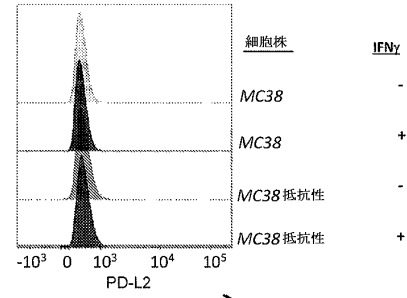


Fig. 3

【図 4】

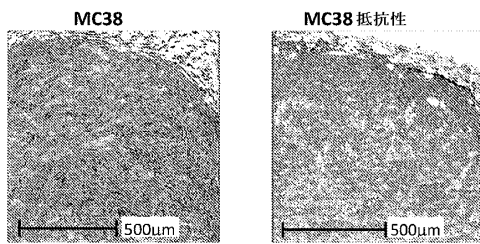


Fig. 4A

【図 5】

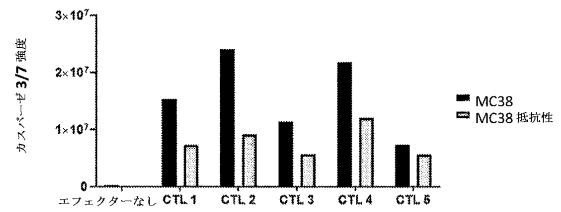


Fig. 5A

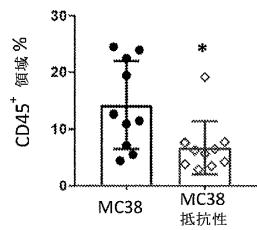


Fig. 4B

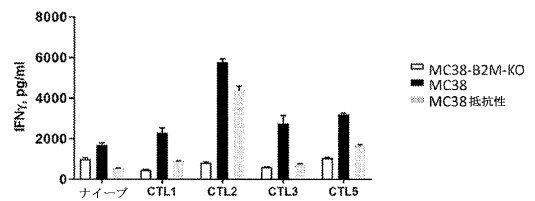


Fig. 5B

10

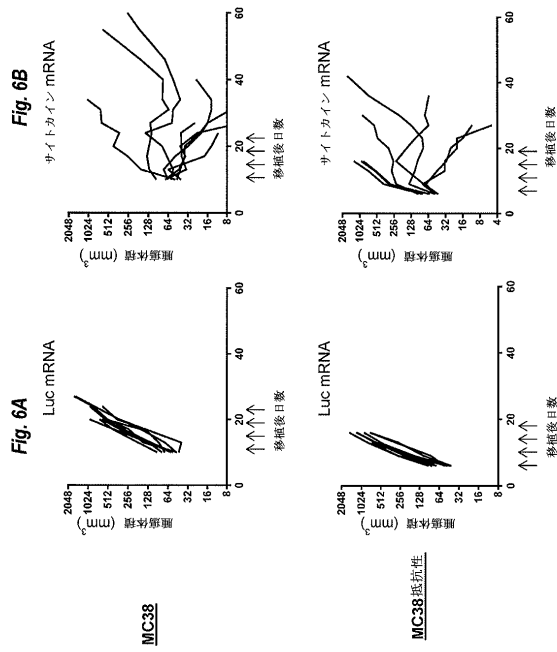
20

30

40

50

【図 6】



【図 7】

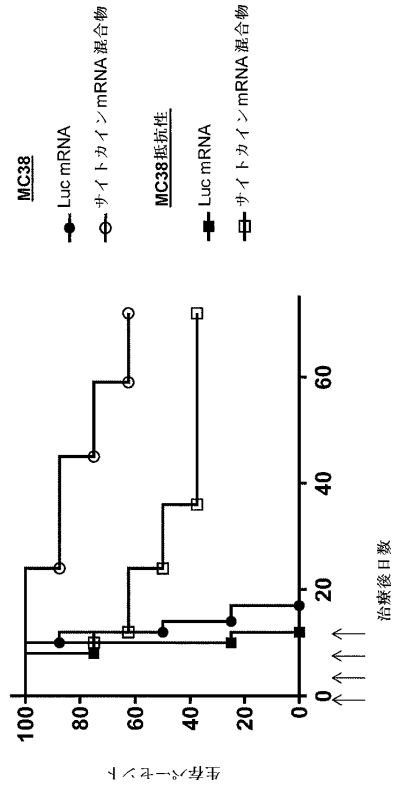


Fig. 7

【図 8】

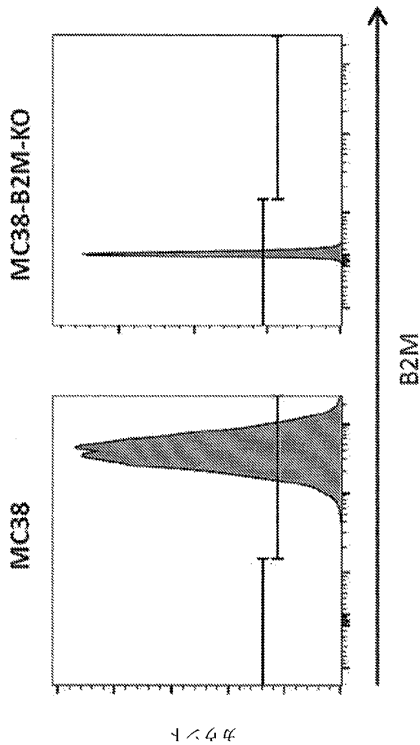


Fig. 8B

Fig. 8A

【図 9】

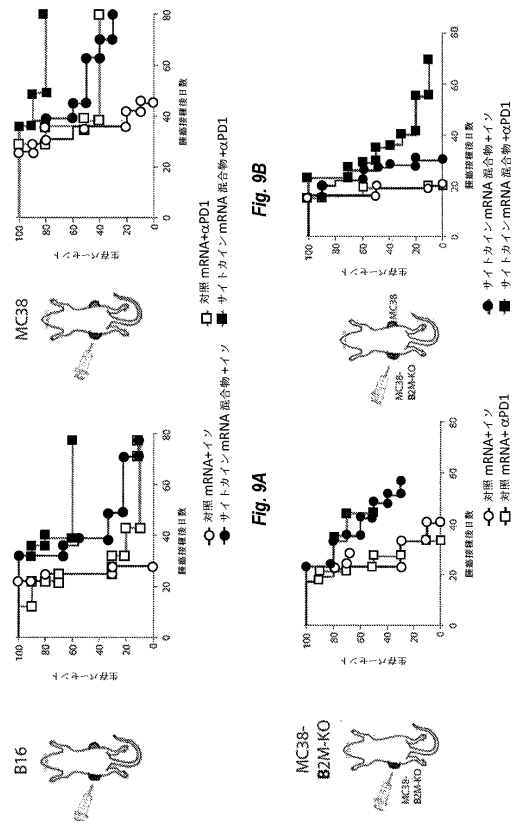


Fig. 9D

Fig. 9C

Fig. 9B

Fig. 9A

10

20

30

40

50

【図 1 0】

治療	CT26	H22	Pan02	B16B16	RM-1	Renca	B16F10	MC38	Hepa1-6	LL/2	A20	EMT-6
サイトカイン mRNA 混合物	114	81	10	34	36	74	24	13	19	61	21	18
抗 PD1	64	65	55	82	91	109	93	59	37	103	119	57
サイトカイン mRNA 混合物 および抗 PD1	38	33	-1	32	35	62	21	2	17	61	37	2

Fig. 10

【図 1 1】

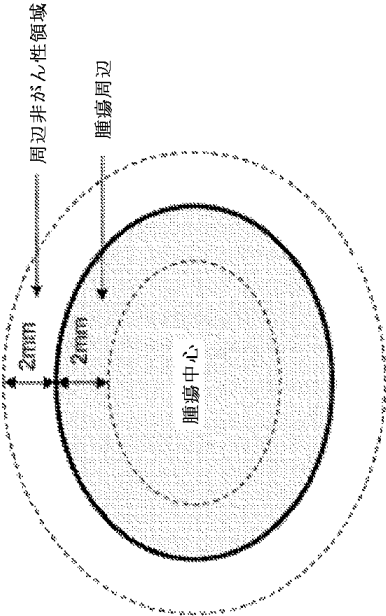


Fig. 11

【配列表】

2022518236000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH I	International application No. PCT/US2020/014039
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.: 1-103(partially) 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: see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210 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: 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.: 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.	

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2020/014039

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61P35/00 A61K48/00 C07K16/28
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 C07K

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, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2018/160540 A1 (SANOFI SA [FR]; BIONTECH RNA PHARMACEUTICALS GMBH [DE]) 7 September 2018 (2018-09-07)	1-103
Y	abstract; figure 20; example 8; sequences SEQ ID NO: 4, 8, 16, 17, 20, 23, 26, 28, 29, 73 page 1, paragraph [0004]	1, 67
X	WO 2018/033254 A2 (CUREVAC AG [DE]) 22 February 2018 (2018-02-22) abstract; figures 2, 4, 8; examples 2, 4 6, 9, 10, 12; tables 5, 7, 11, 12, 14 page 162 - page 164	1-103
	----- -/-	

☒ 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 doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 April 2020

Date of mailing of the international search report

29/04/2020

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

Schulz, Regine

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2020/014039

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	RUSSELL W. JENKINS ET AL: "Ex Vivo Profiling of PD-1 Blockade Using Organotypic Tumor Spheroids", CANCER DISCOVERY, vol. 8, no. 2, 3 November 2017 (2017-11-03), pages 196-215, XP055686756, US ISSN: 2159-8274, DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-0833 abstract; figure 2	1,67
T	SHARMA PADMANEE ET AL: "Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy", CELL, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 168, no. 4, 9 February 2017 (2017-02-09), pages 707-723, XP029935389, ISSN: 0092-8674, DOI: 10.1016/J.CELL.2017.01.017 page 198 - page 199	
T	BERNARDO, M. ET AL.: "Generation and characterization of a PD-1 resistant mouse tumormodel. 34th Annual Meeting & Pre-Conference Programs of the Society for Immunotherapy of Cancer (SITC 2019): part 1," JOURNAL FOR IMMUNOTHERAPY OF CANCER, vol. 7, no. S1, P283, 6 November 2019 (2019-11-06), pages 152-153, XP55686773, DOI: 10.1186/s40425-019-0763-1 the whole document	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2020/014039

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018160540 A1	07-09-2018	TW 201842921 A UY 37621 A WO 2018160540 A1	16-12-2018 28-09-2018 07-09-2018
WO 2018033254 A2	22-02-2018	AU 2017314067 A1 BR 112019000598 A2 CA 3025812 A1 CN 109715205 A EP 3500295 A2 JP 2019526556 A KR 20190039969 A SG 11201811432W A US 2019185859 A1 WO 2018033254 A2	20-12-2018 02-07-2019 22-02-2018 03-05-2019 26-06-2019 19-09-2019 16-04-2019 28-03-2019 20-06-2019 22-02-2018

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/ US2020/ 014039

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

10

Claims Nos.: 1-103(partially)

The subject-matter of claim 1, i.e. a method of treating a subject having a solid tumor cancer, comprising administering an effective amount of RNAs comprising RNA encoding an IL-12sc protein, RNA encoding an IL-15 sushi protein, RNA encoding an IFN α protein, and RNA encoding a GM-CSF protein, and an anti-programmed cell death 1 (PD-1) antibody, wherein the subject has failed, or become intolerant, resistant, or refractory to an anti-PD-1 or anti-programmed cell death 1 ligand 1 (PD-L1) therapy relates to an extremely large number of possible combinations of compounds, i.e. not further defined RNAs, anti-PD1 antibodies for use in any method of treating any not further defined subject having any not further defined solid tumor cancer that has failed, or become intolerant, resistant, or refractory to any not further anti-PD-1 or any not further anti-PD-L1 therapy. The wording of claim 1 moreover does not specify whether 'administering' had to be construed as concomitant administration of any of the compounds referred to in claim 1 or instead separately or in an alternating regimen.

20

The set of claims of the present application moreover contains 103 claims.

There are so many dependent claims, and they are drafted in such a way that the claims as a whole are not in compliance with the provisions of clarity and conciseness of Art. 6 PCT, as they create a smoke screen in front of the skilled reader when assessing what should be the subject-matter to search.

While dependent

claims 2 - 21 all refer back to claim 1, in fact none of them can be considered as further defining any of the subjects, and/or any of the anti-PD-1 or the anti-PD-L1 therapies by concrete technical features, so it is unclear what kind of methods of treating a subject having a solid tumor cancer were encompassed.

30

The use of such vague expressions (cf. e.g. subject-matter of claim 13, 20, 56, 58) in the present context is considered to lead to a lack of clarity because the claims do not clearly identify the method/compounds/subjects encompassed and the respective 'features' cannot be clearly and reliably determined by indications in the description or by objective procedures which form part of the state of the art.

This makes it impossible to compare the claims to the prior art.

As a result, the set of claims does not comply with the requirement of clarity under Art. 6 PCT and/or Art. 5 PCT.

40

The non-compliance with the substantive provisions is to such an extent, that the search was performed taking into consideration the non-compliance in determining the extent of the search (PCT Guidelines 9.19).

Support and disclosure in the sense of Art. 6 PCT and Art. 5 PCT can only be found for a small proportion of combinations of compounds.

Therefore, the search of claims

1 - 103 was restricted to the embodiments of the examples clearly defined

International Application No. PCT/ US2020/ 014039

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

in, and supported and disclosed by the description (cf. application: Examples 2 - 4, p. 231, [00730] - p. 236, [00750], Fig. 2 - 11)).

10

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/20 (2006.01)	A 6 1 K 38/20	
A 6 1 K 38/21 (2006.01)	A 6 1 K 38/21	
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	
	A 6 1 K 39/395 T	
(32)優先日	令和1年11月14日(2019.11.14)	
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)	
(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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW	
	ード：5 5 エー— 5 0 5 エー。コーポレートドライブ 5 5。サノフィ	
(72)発明者	セレナ・マシヤリ アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 8 0 7。ブリッジウォーター。メールコード：5 5 エー— 5 0 5 エー。コーポレートドライブ 5 5。サノフィ	
(72)発明者	セムラ・ヨルク アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 8 0 7。ブリッジウォーター。メールコード：5 5 エー— 5 0 5 エー。コーポレートドライブ 5 5。サノフィ	
(72)発明者	カール・スー アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 8 0 7。ブリッジウォーター。メールコード：5 5 エー— 5 0 5 エー。コーポレートドライブ 5 5。サノフィ	
(72)発明者	ニコラス・アクアヴェラ アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 8 0 7。ブリッジウォーター。メールコード：5 5 エー— 5 0 5 エー。コーポレートドライブ 5 5。サノフィ	
(72)発明者	マリエ・ベルナルド アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 8 0 7。ブリッジウォーター。メールコード：5 5 エー— 5 0 5 エー。コーポレートドライブ 5 5。サノフィ	
(72)発明者	ローベルト・ヤブロウスキー ドイツ連邦共和国 5 5 1 3 1 マインツ。アン・デア・ゴルトグラーベ 1 2。ピオンテック・アーゲー	
(72)発明者	ウグア・シャヒン ドイツ連邦共和国 5 5 1 3 1 マインツ。アン・デア・ゴルトグラーベ 1 2。ピオンテック・アーゲー	
(72)発明者	フリーデリーケ・ギーゼケ ドイツ連邦共和国 5 5 1 3 1 マインツ。アン・デア・ゴルトグラーベ 1 2。ピオンテック・アーゲー	
(72)発明者	ズザナ・ジラコヴァ・トルンコヴァ ドイツ連邦共和国 5 5 1 3 1 マインツ。アン・デア・ゴルトグラーベ 1 2。ピオンテック・アーゲー	
F ターム (参考)	4C084 AA02 AA03 AA13 BA44 DA12 DA19 DA21 MA02 NA05 ZB261 ZC751 4C085 AA14 AA15 CC23 EE03 4C086 AA01 AA02 EA16 MA03 MA04 NA05 ZB26 ZC75	