

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7606471号
(P7606471)

(45)発行日 令和6年12月25日(2024.12.25)

(24)登録日 令和6年12月17日(2024.12.17)

(51)国際特許分類	F I	
C 0 7 K 7/08 (2006.01)	C 0 7 K 7/08	Z N A
C 0 7 K 14/00 (2006.01)	C 0 7 K 14/00	
C 1 2 N 15/11 (2006.01)	C 1 2 N 15/11	Z
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z
請求項の数 27 (全35頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2021-569065(P2021-569065)	(73)特許権者	519091317 レイドス, インコーポレイテッド アメリカ合衆国 バージニア 2 0 1 9 0 , レストン, フリーダム ドライブ 1 1 9 5 1
(86)(22)出願日	令和2年5月21日(2020.5.21)	(74)代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(65)公表番号	特表2022-533711(P2022-533711 A)	(74)代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(43)公表日	令和4年7月25日(2022.7.25)	(74)代理人	100181674 弁理士 飯田 貴敏
(86)国際出願番号	PCT/US2020/033996	(74)代理人	100181641 弁理士 石川 大輔
(87)国際公開番号	WO2020/237050	(74)代理人	230113332 弁理士 山本 健策
(87)国際公開日	令和2年11月26日(2020.11.26)		
審査請求日	令和5年4月5日(2023.4.5)		
(31)優先権主張番号	62/851,142		
(32)優先日	令和1年5月22日(2019.5.22)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
最終頁に続く			

(54)【発明の名称】 L A G 3 結合ペプチド

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 1、および 6 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むペプチド。

【請求項 2】

前記アミノ酸配列からなる、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 3】

請求項 1 に記載のペプチドをコードする核酸。

【請求項 4】

発現構築物である、請求項 3 に記載の核酸。

【請求項 5】

C A R - T 細胞または腫瘍溶解性ウイルスに存在する、請求項 4 に記載の核酸。

【請求項 6】

前記核酸は、DNA、cDNA、PNA、およびRNA からなる群より選択される、請求項 3 に記載の核酸。

【請求項 7】

請求項 3 または請求項 4 に記載の核酸を含む宿主細胞。

【請求項 8】

請求項 1 に記載の 1 またはこれより多くのペプチドを含む、ペプチド組成物。

【請求項 9】

(a) 以下からなる群より選択される活性薬剤：

- (i) 請求項 1 ~ 2 のいずれか 1 項に記載のペプチド；
 - (i i) 前記ペプチドをコードする核酸；
 - (i i i) 前記ペプチドを発現する C A R - T 細胞；および
 - (i v) 前記ペプチドを発現する腫瘍溶解性ウイルス；ならびに
- (b) 薬学的に受容可能なキャリア、
を含む、薬学的組成物。

【請求項 1 0】

前記活性薬剤は核酸であり、該核酸は、DNA、cDNA、PNA、およびRNAからなる群より選択される、請求項 9 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 1】

前記核酸はRNAである、請求項 9 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 2】

前記RNAは、(i) リボース糖の改変、(i i) リン酸結合の改変、および(i i i) 塩基の改変からなる群より選択される改変を含む、請求項 1 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 3】

前記改変は、リボ-ジフルオロトルイルヌクレオチド、4'-チオ改変RNA、ボラノリン酸結合、ホスホロチオエート結合、2'-O-メチル(2'-OMe)糖置換、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)糖置換、ロックド核酸(LNA)、およびL-RNAからなる群より選択される、請求項 1 2 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 4】

前記活性薬剤は前記ペプチドであり、該ペプチドは、微粒子、ポリマーナノ粒子、リボソーム、固体脂質ナノ粒子、親水性粘膜炎着性ポリマー、チオール化ポリマー、ポリマーマトリクス、ナノエマルジョン、およびヒドロゲルからなる群より選択されるペプチドキャリアシステムとともに提供される、請求項 9 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 5】

過剰増殖性障害の進行を阻害する、シヌクレイノパチーの進行を阻害する、敗血症の進行を阻害する、感染性疾患の進行を阻害する、またはワクチンに対する応答を増強するための、請求項 9 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 6】

前記薬学的組成物は、前記過剰増殖性障害の進行を阻害するために投与されることを特徴とする、請求項 1 5 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 7】

前記過剰増殖性障害はがんである、請求項 1 6 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 8】

前記がんは黒色腫である、請求項 1 7 に記載の薬学的組成物。

【請求項 1 9】

前記薬学的組成物は、第 2 の治療と組み合わせて投与されることを特徴とし、

前記第 2 の治療は、以下：

- (i) がんワクチン；
- (i i) キメラ抗原レセプター(CAR) T細胞療法；
- (i i i) PD-1、PD-L1、リンパ球活性化遺伝子-3(LAG3)、細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4(CTLA-4)、T細胞活性化のVドメイン免疫グロブリン抑制因子(VISTA)、T細胞免疫グロブリンドメインおよびムチンドメイン3(TIM-3)、キラー免疫グロブリン様レセプター(KIR)、インドールアミン(2,3)-ジオキシゲナーゼ(IDO)、BおよびTリンパ球アテニューエーター(BTLA)、A2Aアデノシンレセプター(A2AR)からなる群より選択される分子の活性を低減または遮断することを含む治療；
- (i v) サイトカイン；
- (v) CD40、OX40、グルココルチコイド誘導性腫瘍壊死因子関連タンパク質(GITR)、および誘導性T細胞共刺激因子(ICOS)からなる群より選択される分子

10

20

30

40

50

のアゴニスト；

(v i) 腫瘍溶解性ウイルス；ならびに

(v i i) 4 - 1 B B アゴニスト、4 - 1 B B アンタゴニスト、未分化リンパ腫キナーゼ (A L K) のインヒビター、ヒストンデアセチラーゼ (H D A C) のインヒビター、および V E G F R のインヒビターからなる群より選択される治療剤、からなる群より選択される、請求項 1 8 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 0】

前記薬学的組成物は、シヌクレイノパチーの進行を阻害するために投与されることを特徴とする、請求項 1 5 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 1】

前記シヌクレイノパチーは、パーキンソン病 (P D)、レビー小体型認知症 (D L B)、純粋自律神経不全症 (P A F)、および多系統萎縮症 (M S A) からなる群より選択される、請求項 2 0 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 2】

前記薬学的組成物は、敗血症の進行を阻害するために投与されることを特徴とする、請求項 1 5 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 3】

前記薬学的組成物は、感染性疾患の進行を阻害するために投与されることを特徴とする、請求項 1 5 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 4】

前記薬学的組成物は、ワクチンに対する応答を増強するために投与されることを特徴とする、請求項 1 5 に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 5】

過剰増殖性障害の進行を阻害する、シヌクレイノパチーの進行を阻害する、敗血症の進行を阻害する、感染性疾患の進行を阻害する、またはワクチンに対する応答を増強するための医薬の製造における、請求項 1 ~ 2 のいずれか 1 項に記載のペプチドまたは請求項 3 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の核酸の使用。

【請求項 2 6】

過剰増殖性障害の進行を阻害する、シヌクレイノパチーの進行を阻害する、敗血症の進行を阻害する、感染性疾患の進行を阻害する、またはワクチンに対する応答を増強するための組成物であって、請求項 1 ~ 2 のいずれか 1 項に記載のペプチドまたは請求項 3 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の核酸を含む組成物。

【請求項 2 7】

過剰増殖性障害の進行を阻害する、シヌクレイノパチーの進行を阻害する、敗血症の進行を阻害する、感染性疾患の進行を阻害する、またはワクチンに対する応答を増強するための、請求項 9 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本出願は、2 0 2 0 年 5 月 2 0 日に作成し、「P C T s e q u e n c e l i s t i n g . t x t」という名称の、本出願の配列表である、提出された 2 . 3 7 k b のテキストの内容を参考として援用する。

【0 0 0 2】

本開示で引用される各科学文献、特許、および公開特許出願は、その全体において本明細書に参考として援用される。

【0 0 0 3】

技術分野

本開示は一般に、免疫調節性ペプチドに関する。

【背景技術】

【0 0 0 4】

10

20

30

40

50

背景

リンパ球活性化遺伝子3 (LAG3 (LAG-3、LAG 3、Lag3、CD223、FDCタンパク質としても公知))は、レセプターの免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーである。

【0005】

LAG3は、免疫細胞(活性化T細胞、Huard et al., 1994; ナチュラルキラー細胞、Triebel et al., 1990; B細胞、Kisielow et al., 2005; 形質細胞様樹状細胞、Workman et al., 2009)上で発現し、ここでLAG3は、MHCクラスII (MHC-II)に結合し、免疫チェックポイントレセプターとして働く。LAG3はまた、フィブリノゲン様タンパク質 (FGL1)に結合し、この結合を破壊すると、抗腫瘍免疫が強化され得る (Wang et al., 2019)。免疫チェックポイント経路の有用な調節因子が継続して必要である。

LAG3は、ニューロン上でも発現され、ここでそれは、シヌクレイノパチーに特徴的な -シヌクレイン凝集体のレセプターとして働く (Mao et al., 2016)。シヌクレイノパチーは、ニューロン、神経線維、またはグリア細胞における -シヌクレインタンパク質の凝集体の異常な蓄積によって特徴づけられる障害である。シヌクレイノパチーとしては、以下が挙げられる: パーキンソン病 (PD) の特発性および遺伝性の形態; びまん性レビー小体 (DLB) 病 (レビー小体型認知症 (Dementia with Lewy Bodies) またはレビー小体型認知症 (Lewy body dementia) としても公知); 偶発的レビー小体病; アルツハイマー病のレビー小体バリエーション (Lewy body variant of Alzheimer's disease) (LBV); アルツハイマー病とパーキンソン病の併発 (Combined Alzheimer's and Parkinson disease) (CAPD); 純粋自律神経不全症 (PAF); 多系統萎縮症 (MSA) (例えば、オリブ橋小脳萎縮症、線条体黒質変性症、およびシャイ-ドレーガー症候群); パントテン酸キナーゼ関連神経変性症; ダウン症候群; ゴーシェ病関連シヌクレイノパチー; および脳の鉄蓄積を伴う神経変性症。シヌクレイノパチーの症状を処置または管理するための治療剤が継続して必要である。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【文献】Huard et al., "Cellular expression and tissue distribution of the human LAG-3-encoded protein, an MHC class II ligand," Immunogenetics 39 (3): 213 - 7, 1994

【文献】Triebel et al., "LAG3, a novel lymphocyte activation gene closely related to CD4," J. Exp. Med. 171, 1393-405, 1990

【文献】Kisielow et al., "Expression of lymphocyte activation gene 3 (LAG-3) on B cells is induced by T cells". European Journal of Immunology 35 (7): 2081 - 8, 2005

【文献】Workman et al., "LAG-3 regulates plasmacytoid dendritic cell homeostasis," Journal of Immunology 182 (4): 1885 - 91, 2009

【文献】Wang et al., "Fibrinogen-like Protein 1 is a Major Immune Inhibitory Ligand of LAG-3," Cell 176, 334-47, 2019

【文献】Mao et al., "Pathological -synuclein transmission initiated by binding lymphocyte-activation gene 3," Science 353, aah3374, 2016

【図面の簡単な説明】

【0007】

【図1A】図1Aおよび図1Bは、実施例2に記載されるLAG3遮断機能阻害アッセイの結果を示すグラフである。

【図1B】図1Aおよび図1Bは、実施例2に記載されるLAG3遮断機能阻害アッセイの結果を示すグラフである。

【0008】

【図2A】図2A、図2B、図2C、および図2Dは、ペプチドLAG3-11の4回の独立した等質性時間分解蛍光(homogeneous time-resolved fluorescence)(HTRF)アッセイの結果を示すグラフである。参照Ab-LAG3、抗LAG3抗体。OVA、オボアルブミン(OVA)ペプチド(ISQAVHAAHAEINEAGR、配列番号8)。「HTRF比(HTRF ratio)」とは、665nmでの発光(アクセプター)/620nmでの発光(ドナー)に係数すなわち 10^4 を乗算したものである。

10

【図2B】図2A、図2B、図2C、および図2Dは、ペプチドLAG3-11の4回の独立した等質性時間分解蛍光(homogeneous time-resolved fluorescence)(HTRF)アッセイの結果を示すグラフである。参照Ab-LAG3、抗LAG3抗体。OVA、オボアルブミン(OVA)ペプチド(ISQAVHAAHAEINEAGR、配列番号8)。「HTRF比(HTRF ratio)」とは、665nmでの発光(アクセプター)/620nmでの発光(ドナー)に係数すなわち 10^4 を乗算したものである。

【図2C】図2A、図2B、図2C、および図2Dは、ペプチドLAG3-11の4回の独立した等質性時間分解蛍光(homogeneous time-resolved fluorescence)(HTRF)アッセイの結果を示すグラフである。参照Ab-LAG3、抗LAG3抗体。OVA、オボアルブミン(OVA)ペプチド(ISQAVHAAHAEINEAGR、配列番号8)。「HTRF比(HTRF ratio)」とは、665nmでの発光(アクセプター)/620nmでの発光(ドナー)に係数すなわち 10^4 を乗算したものである。

20

【図2D】図2A、図2B、図2C、および図2Dは、ペプチドLAG3-11の4回の独立した等質性時間分解蛍光(homogeneous time-resolved fluorescence)(HTRF)アッセイの結果を示すグラフである。参照Ab-LAG3、抗LAG3抗体。OVA、オボアルブミン(OVA)ペプチド(ISQAVHAAHAEINEAGR、配列番号8)。「HTRF比(HTRF ratio)」とは、665nmでの発光(アクセプター)/620nmでの発光(ドナー)に係数すなわち 10^4 を乗算したものである。

30

【0009】

【図3】図3は、ペプチドLAG3-11のHTRFアッセイの結果を示すグラフである。抗LAG-3 GMP-A092は、抗LAG3抗体である。

【0010】

【図4】図4は、ペプチドLAG3-42のHTRFアッセイの結果を示すグラフである。

【0011】

【図5】図5は、ペプチドLAG3-48のHTRFアッセイの結果を示すグラフである。

【0012】

【図6】図6は、ペプチドLAG3-51のHTRFアッセイの結果を示すグラフである。

40

【0013】

【図7】図7は、ペプチドLAG3-54のHTRFアッセイの結果を示すグラフである。

【0014】

【図8】図8は、ペプチドLAG3-56のHTRFアッセイの結果を示すグラフである。

【0015】

【図9】図9は、ペプチドLAG3-60のHTRFアッセイの結果を示すグラフである。

【0016】

【図10】図10は、末梢血単核細胞(PBMC)アッセイの結果を示すグラフである。

【0017】

【図11】図11は、ヒトLAG3/FGL1 TR-FRET結合アッセイの結果を示

50

すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0018】

詳細な説明

本開示は、LAG3に結合するペプチドを提供し、MHC-II、FGL1、およびシヌクレインのような他の分子とのその相互作用を遮断するために使用され得る。

【表1】

表 1.

ペプチド	アミノ酸配列	配列番号
LAG3-11	SAPWEPLHWPEDWWQGTGEW	1
LAG3-42	DWNFQQWDWKKHNHLD SHVV	2
LAG3-48	FYSPNHEEYHDWNVDSSVNE	3
LAG3-51	KVWQVPQDTQHWLSPNFYSV	4
LAG3-54	ACGPGSFGDCGGG	5
LAG3-56	HIQNWSYWLNQDMMNQVWKS	6
LAG3-60	HESGSVPHPWQFFTHYVS	7

10

20

【0019】

いくつかの実施形態において、開示されるペプチドは、その安定性または他の薬物動態特性を増強するために、化学的方法または組換え方法を使用して改変される。例えば、US 2017/0020956を参照のこと。改変としては、1またはこれより多くのL-アミノ酸をその相当するD型で置き換えること、C末端および/またはN末端残基に対するアセチル化、C末端および/またはN末端残基に対するアミド化、環化、エステル化、グリコシル化、アシル化、ミリスチン酸もしくはパルミチン酸の結合、N末端グリシンの付加、親油性部分（例えば、長い脂肪酸鎖）の付加、およびPEG化が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0020】

ペプチドは、当該分野で公知の任意の方法（合成法、組換え法、または両方を含む）によって作製され得る。合成法としては、固相法または液相法が挙げられ、保護基の使用を含み得る。例えば、Bodanszky et al. (1976)、McOmie (1973)、Merrifield (1963)、Neurath et al. (1976)、Stuart & Young (1984)を参照のこと。

40

【0021】

ペプチドの組換え生成は、任意の適切な発現系においてそのペプチドをコードする任意のヌクレオチド配列（複数可）を使用して行われ得る。その開示されるペプチドのうちの1またはこれより多くをコードする核酸分子は、そのコード配列に作動可能に連結された制御エレメントを含む発現カセットへと組み込まれ得る。制御エレメントとしては、イニシエーター、プロモーター（誘導性、抑制性、および構成性のプロモーターを含む）、エンハンサー、およびポリアデニル化シグナルが挙げられるが、これらに限定されない。シグナル配列は含まれ得る。その発現カセットは、そのペプチド（複数可）の生成に適切な宿主細胞へと導入され得るベクターの中に提供され得る。発現カセットおよび発現ベクターを構築するための方法は、周知である。発現ベクターは、1またはこれより多くのペプ

50

チド（配列番号 1 ~ 7 のうちのいずれかを含むか、これらから本質的になるか、またはこれらからなる）をコードする 1 またはこれより多くの発現カセットを含み得る。

【0022】

いくつかの実施形態において、1 またはこれより多くのペプチドは、融合タンパク質の成分として発現される。その融合タンパク質の他の成分は、例えば、サイトカインまたは操作された T 細胞レセプター（TCR）であり得る。融合タンパク質は、その成分の間に 1 またはこれより多くのリンカーを含み得る。いくつかの実施形態において、ペプチドとその融合タンパク質の別の成分との間のリンカーは、その融合タンパク質の発現後にそのペプチドを放出するためのタンパク質分解切断部位を含み得る。例えば、US 2016 / 0138066 ; US 2018 / 0135060 ; US 2014 / 0343251 ; US 2012 / 0142891 ; Rodriguez et al. , 2014 を参照のこと。

10

【0023】

いくつかの実施形態において、融合タンパク質の成分は、そのペプチドの血漿半減期を増強し得る部分（例えば、アルブミンまたはトランスサイレチン）である。他の実施形態において、ペプチドまたはペプチドの改変されたバージョンは、その部分に結合体化される。このような結合体（conjugate）を調製するための方法は、当該分野で周知である（例えば、Penchala et al. , 2015 ; Kontermann , 2016 ; Zorzi et al. , 2017）。

【0024】

いくつかの実施形態において、融合タンパク質の成分は、パートナー分子（例えば、ペプチドまたはタンパク質（ペプチドもしくは改変されたペプチドの半減期をインビボで増加させる、および / または標的組織もしくは細胞への特異的送達を提供することが意図された抗体））である。あるいは、ペプチドまたはその改変されたバージョンは、そのパートナー分子へと結合体化され得る。結合体化は、直接であり得るか、またはリンカーを介するものであり得る。これらの実施形態のうちのいくつかにおいて、ペプチドまたはその改変されたバージョンは、1 またはこれより多くのアミノ酸を、パートナー分子に結合させるために使用されるアミノ酸（例えば、リジン）で置換するために、またはそのペプチドを、例えば、1 個、2 個、3 個、もしくは 4 個のグリンスペーサー分子で N 末端伸長することによって、変化させ得る。

20

【0025】

本開示はまた、その開示されるペプチドのうちの 1 またはこれより多くを発現する CAR - T 細胞を提供する。CAR - T 細胞を調製するための方法は、例えば、米国特許第 9 , 328 , 156 号 ; 米国特許第 9 , 845 , 362 号 ; および米国特許第 9 , 101 , 584 号に開示される。

30

【0026】

本開示はまた、その開示されるペプチドのうちの 1 またはこれより多くをコードする核酸分子を含む腫瘍溶解性ウイルスを提供する。US 2017 / 0157188 ; Lawler et al. , 2017 ; US 2015 / 0250837 を参照のこと。腫瘍溶解性ウイルスとしては、レオウイルス、セネカバレーウイルス、水疱性口内炎ウイルス、ニューカッスル病ウイルス、単純ヘルペスウイルス、モルビリウイルス属のウイルス（morbillivirus virus）、レトロウイルス、インフルエンザウイルス、シンドビスウイルス、ポックスウイルス、およびアデノウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0027】

腫瘍溶解性レオウイルスの例としては、REOLYSIN（登録商標）（pelareorep）および US 2017 / 0049829 で開示されるレオウイルスが挙げられる。

【0028】

腫瘍溶解性セネカバレーウイルスの例としては、NTX - 101（Rudin et a

50

1. , 2011) が挙げられる。

【0029】

腫瘍溶解性水疱性口内炎ウイルスの例は、Stojdl et al. , 2000 ; およびStojdl et al. , 2003で開示される。

【0030】

腫瘍溶解性ニューカッスル病ウイルスの例としては、73 - T PV701株およびHDV - HUJ株 (Phuangsab et al. , 2001 ; Lorence et al. , 2007 ; およびFreeman et al. , 2006もまた参照のこと) が挙げられる。

【0031】

腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルスの例としては、NV1020 (Geevarghese et al. , 2010) およびT - VEC (Andtbacka et al. , 2013) が挙げられる。

【0032】

腫瘍溶解性モルビリウイルス属のウイルスの例としては、腫瘍溶解性麻疹ウイルス (例えば、MV - Edm (McDonald et al. , 2006) およびHMWMAA (Kaufmann et al. , 2013) が挙げられる。

【0033】

腫瘍溶解性レトロウイルスの例は、Lu et al. , 2012で開示される。

【0034】

腫瘍溶解性インフルエンザウイルスの例は、例えば、US 2018 / 0057594で開示される。

【0035】

腫瘍溶解性シンドビスウイルスの例は、例えば、Lundstrom , 2017で開示される。

【0036】

腫瘍溶解性ボックスウイルスの例は、例えば、Chan & McFadden , 2014で開示される。

【0037】

腫瘍溶解性アデノウイルスの例としては、ONYX - 015 (Khuri et al. , 2000) およびH101またはOncorine (Liang , 2018) が挙げられる。

【0038】

治療的使用

本明細書で開示されるペプチドおよびその改変されたバージョンは、多くの治療適用 (過剰増殖性障害 (例えば、がん) を処置することが挙げられる) を有する。「処置する (treat)」とは、本明細書で使用される場合、ペプチドまたはその改変されたバージョンが投与される状態のうちの1またはこれより多くの症状の進行を低減または阻害することを含む。上記ペプチドおよびその改変されたバージョンはまた、シヌクレイノパチー (synucleopathies)、感染性疾患、および敗血症の1もしくはこれより多くの症状を低減する、またはシヌクレイノパチー、感染性疾患、および敗血症を処置する、ならびにワクチン接種への応答を増強するために有用であり得る。

【0039】

「投与する (administer)」とは、本明細書で使用される場合、開示されるペプチドまたはその改変されたバージョン自体を投与すること、ならびに以下に記載される種々のビヒクルによる投与を含む。

【0040】

いくつかの実施形態において、その開示されるペプチドおよび/またはその改変されたバージョンのうちの1またはこれより多くは、直接投与される。これらの実施形態のうちのいくつかにおいて、ペプチドキャリアシステムが使用される。多くのペプチドキャリア

10

20

30

40

50

システムが当該分野で公知である（微粒子、ポリマーナノ粒子、リポソーム、固体脂質ナノ粒子、親水性粘膜炎着性ポリマー、チオール化ポリマー、ポリマーマトリクス、ナノエマルジョン、およびヒドロゲルが挙げられる）。Patel et al. (2014)、Bruno et al. (2013)、Feridooni et al. (2016)を参照のこと。任意の適切なシステムが使用され得る。

【0041】

いくつかの実施形態において、1またはこれより多くの開示されるペプチドを発現および分泌する操作されたT細胞は、T細胞レセプターと抗原との結合（engagement）の部位においてLAG3阻害を果たすために使用され得る。そのT細胞ベースの治療は、例えば、その開示されるペプチドのうちの1またはこれより多くを発現するCAR-T細胞であり得る。誘導性または構成性のいずれかの発現が使用され得る。

10

【0042】

いくつかの実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスは、上記開示されるペプチドのうちの1またはこれより多くを送達するために使用され得る。誘導性または構成性のいずれかの発現が使用され得る。

【0043】

他の実施形態において、上記開示されるペプチドのうちの1またはこれより多くは、そのペプチド（複数可）をコードする1またはこれより多くの核酸（例えば、DNA、cDNA、PNA、RNAまたはこれらの組み合わせ）を使用して送達される；例えば、US 2017/0165335を参照のこと。1またはこれより多くのペプチドをコードする核酸は、当該分野で公知の種々の送達システムを使用して送達され得る。核酸送達システムとしては、遺伝子銃；カチオン性脂質およびカチオン性ポリマー；リポソーム、微粒子、またはマイクロカプセル中の被包；エレクトロポレーション；ウイルスベースのおよび細菌ベースの送達システムが挙げられるが、これらに限定されない。ウイルスベースのシステムとしては、改変されたウイルス、例えば、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、または1もしくはこれより多くのウイルスの要素を含むハイブリッドウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。US 2002/0111323は、ペプチドを投与するために、「裸のDNA」、すなわち、「トランスフェクション促進タンパク質、ウイルス粒子、リポソーム製剤、荷電した脂質およびリン酸カルシウム沈殿剤」を含まない「非感染性、非免疫原性、非組み込みDNA配列」の使用を記載する。細菌ベースの送達システムは、例えば、Van Dessel et al. (2015)およびYang et al. (2007)で開示される。

20

30

【0044】

いくつかの実施形態において、ペプチドは、そのペプチドをコードするRNA分子を介して投与される。いくつかの実施形態において、そのRNA分子は、ナノ粒子中に被包される。いくつかの実施形態において、そのナノ粒子は、カチオン性ポリマー（例えば、ポリ-L-リジン、ポリアミドアミン、ポリエチレンジイミン、キトサン、ポリ（-アミノエステル）を含む。いくつかの実施形態において、そのナノ粒子は、カチオン性脂質またはイオン化可能な脂質を含む。いくつかの実施形態において、そのRNA分子は、生体活性リガンド（例えば、N-アセチルガラクトサミン（GalNAc）、コレステロール、ビタミンE、抗体、細胞透過性ペプチド）に結合体化される。例えば、Akin et al. (2008)、Akin et al. (2009)、Anderson et al. (2003)、Behr (1997)、Boussif et al. (1995)、Chen et al. (2012)、Dahlman et al. (2014)、Desigaux et al. (2007)、Dong et al. (2014)、Dosta et al. (2015)、Fenton et al. (2016)、Guo et al. (2012)、Howard et al. (2006)、Kaczmarek et al. (2016)、Kanasty et al. (2013)、Kauffman et al. (2015)、Kozielski et al. (2013)、L

40

50

eus et al. (2014)、Lorenz et al. (2004)、Love et al. (2010)、Lynn & Langer (2000)、Moschos et al. (2007)、Nair et al. (2014)、Nishina et al. (2008)、Pack et al. (2005)、Rehman et al. (2013)、Schroeder et al. (2010)、Tsutsumi et al. (2007)、Tzeng et al. (2012)、Won et al. (2009)、Xia et al. (2009)、Yu et al. (2016)を参照のこと。

【0045】

いくつかの実施形態において、RNA分子は、免疫系によるその分解の機会または認識を低減するために改変され得る。リボース糖、リン酸結合、および/または個々の塩基は、改変され得る。例えば、Behlke (2008)、Bramsen (2009)、Chiu (2003)、Judge & MacLachlan (2008)、Kaufman (2016)、Li (2016)、Morrissey (2005)、Prakash (2005)、Pratt & MacRae (2009)、Sahin (2014)、Soutschek (2004)、Wittrup & Lieberman (2015)を参照のこと。いくつかの実施形態において、その改変は、リボ-ジフルオロトルイルヌクレオチド、4'-チオ改変RNA、ボラノリン酸結合、ホスホロチオエート結合、2'-O-メチル(2'-OMe)糖置換、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)糖置換、ロックド核酸(LNA)、およびL-RNAのうちの1またはこれより多くである。

【0046】

いくつかの実施形態において、投与は、1またはこれより多くの他の治療とともに行われる。「とともに(in conjunction with)」は、その1またはこれより多くの他の治療の投与と一緒に、その投与の前の、またはその投与の後の、投与を含む。

【0047】

薬学的組成物、投与経路、およびデバイス

1またはこれより多くのペプチド、改変されたペプチド、核酸分子、CAR-T細胞、および/または腫瘍溶解性ウイルス(上記で考察されるとおり)は、代表的には、薬学的に受容可能なビヒクルを含む薬学的組成物において投与される。「薬学的に受容可能なビヒクル」は、そのペプチドまたはその改変されたバージョンの生物学的活性に影響を及ぼさず、患者に投与される場合、有害反応を引き起こさない1またはこれより多くの物質を含み得る。薬学的組成物は、液体であってもよいし、凍結乾燥されていてもよい。凍結乾燥された組成物は、適切な液体(代表的には、その組成物を再構成するにあたって使用するための注射用水(WFI))とともにキットの中に提供され得る。薬学的組成物の他の適切な形態としては、懸濁剤、エマルジョン、および錠剤が挙げられる。

【0048】

薬学的組成物は、任意の適切な経路によって投与され得る(静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、皮下、硬膜外、腫瘍内、経皮(例えば、US 2017/0281672)、粘膜(例えば、鼻内または口腔)、肺、および局所(例えば、US 2017/0274010)の経路が挙げられるが、これらに限定されない)。例えば、US 2017/0101474を参照のこと。

【0049】

投与は、全身性または局所であり得る。局所の注入および注射に加えて、埋込物(implant)が局所投与を達成するために使用され得る。適切な材料の例としては、シラスティック膜(sialastic membrane)、ポリマー、線維性マトリクス、およびコラーゲンマトリクスが挙げられるが、これらに限定されない。

【0050】

局所投与は、クリーム剤、軟膏剤、ローション剤、経皮パッチ(例えば、マイクロニードルパッチ)、または当該分野で周知の他の適切な形態によるものであり得る。

【 0 0 5 1 】

投与はまた、制御放出によるもの、例えば、マイクロニードルパッチ、ポンプおよび/または適切なポリマー材料を使用するものであり得る。適切な材料の例としては、ポリ(メタクリル酸 2 - ヒドロキシエチル)、ポリ(メタクリル酸メチル)、ポリ(アクリル酸)、ポリ(エチレン - c o - 酢酸ビニル)、ポリ(メタクリル酸)、ポリグリコリド(P L G)、ポリ酸無水物、ポリ(N - ビニルピロリドン)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリアクリルアミド、ポリ(エチレングリコール)、ポリラクチド(P L A)、ポリ(ラクチド - c o - グリコリド)(P L G A)、およびポリオルトエステルが挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 0 5 2 】

上に記載されるペプチド、改変されたペプチド、核酸分子、C A R - T細胞、および/または腫瘍溶解性ウイルスのうちのいずれかを含むデバイスとしては、シリンジ、ポンプ、経皮パッチ、スプレーデバイス、腔リング、およびペッサリーが挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 0 5 3 】

過剰増殖性障害(がんを含む)の処置

いくつかの実施形態において、上に記載されるペプチド、改変されたペプチド、核酸分子、C A R - T細胞、および/または腫瘍溶解性ウイルスのうちの1またはこれより多くは、過剰増殖性障害(がんを含む)の進行を阻害するために患者に投与される。このような阻害としては、例えば、新生物または前新生物細胞の増殖を低減すること;新生物または前新生物細胞を破壊すること;および腫瘍の転移を阻害することまたは腫瘍のサイズを減少させることが挙げられ得る。

【 0 0 5 4 】

がんの例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: 黒色腫(皮膚または眼内の悪性黒色腫を含む)、腎臓がん、前立腺がん、乳がん、結腸がん、肺がん、骨がん、膵臓がん、皮膚がん、頭頸部のがん、子宮がん、卵巣がん、直腸がん、肛門領域のがん、胃がん、精巣がん、卵管の癌、子宮内膜の癌、子宮頸部の癌、膣の癌、外陰部の癌、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、食道のがん、小腸のがん、内分泌系のがん、甲状腺のがん、副甲状腺のがん、副腎のがん、軟部組織の肉腫、尿道のがん、陰茎のがん、慢性もしくは急性の白血病(急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ球性白血病、リンパ球性リンパ腫が挙げられる)、膀胱のがん、腎臓もしくは尿管のがん、腎盂の癌、中枢神経系(C N S)の新生物、原発性C N Sリンパ腫、腫瘍血管新生、脊髄軸の腫瘍(s p i n a l a x i s t u m o r)、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カボジ肉腫、類表皮がん、扁平上皮がん、およびT細胞リンパ腫。

【 0 0 5 5 】

がん併用療法

いくつかの実施形態において、上に記載されるペプチド、改変されたペプチド、核酸分子、C A R - T細胞、および/または腫瘍溶解性ウイルスのうちの1またはこれより多くは、1またはこれより多くの他のがん治療または免疫療法(例えば、以下で記載されるもの)とともに投与される。

【 0 0 5 6 】

いくつかの実施形態において、その第2の治療は、P D - 1の活性を低減または遮断するか(例えば、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、デュルバルマブ)またはC T L A - 4の活性を低減または遮断する(例えば、イピリムマブ、トレメリムマブ)第2の薬剤を含む。

【 0 0 5 7 】

いくつかの実施形態において、その第2の治療は、P D - L 1の活性を低減または遮断する薬剤(例えば、アテゾリズマブ)を含む。

【 0 0 5 8 】

いくつかの実施形態において、その第2の治療は、L A G 3または他の阻害性チェックポイント分子および/または免疫系を抑制する分子の活性を低減または遮断する薬剤を含

10

20

30

40

50

む。これらの分子としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：

1. T細胞活性化のVドメイン免疫グロブリン抑制因子(V-domain Immunoglobulin Suppressor of T cell Activation)(VISTA(c10orf54、PD-1H、DD1、Gi24、Dies1、およびSISP1としても公知)；US 2017/0334990、US 2017/0112929、Gao et al., 2017、Wang et al., 2011；Liu et al., 2015を参照のこと)；

2. T細胞免疫グロブリンドメインおよびムチンドメイン3(T-cell Immunoglobulin domain and Mucin domain 3)(TIM-3；US 2017/0198041、US 2017/0029485、US 2014/0348842、Sakuishi et al., 2010を参照のこと)；

3. キラー免疫グロブリン様レセプター(KIR；US 2015/0290316を参照のこと)；

4. インドールアミン(2,3)-ジオキシゲナーゼを阻害する薬剤(IDO；Mellemgaard et al., 2017を参照のこと)；

5. BおよびTリンパ球アテニュエーター(B and T Lymphocyte Attenuator)(BTLA；US 2016/09222114を参照のこと)；
；ならびに

6. A2Aアデノシンレセプター(A2AR；Beavis et al., 2015；US 2013/0267515；US 2017/0166878；Leone et al., 2015；Mediavilla-Varela et al., 2017；Young et al., 2016を参照のこと)。

【0059】

LAG3の活性を低減または遮断する薬剤としては、BMS-986016、IMP321、およびGSK2831781(He et al., 2016)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0060】

VISTAの活性を低減または遮断する薬剤としては、低分子(例えば、CA-170)および抗体(例えば、Le Mercier et al., 2014)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0061】

TIM-3の活性を低減または遮断する薬剤としては、抗体(例えば、MBG453およびTSR-022；Dempke et al., 2017を参照のこと)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0062】

KIRの活性を低減または遮断する薬剤としては、モノクローナル抗体(例えば、IPH2101およびリリルマブ(BMS-986015、以前のIPH2102)；Benson & Caligiuri, 2014を参照のこと)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0063】

IDOの活性を低減または遮断する薬剤としては、エパカドスタットおよびUS 2017/0037125に開示される薬剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0064】

BTLAの活性を低減または遮断する薬剤としては、ペプチド(例えば、Spodziej et al., 2017)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0065】

A2ARの活性を低減または遮断する薬剤としては、低分子(例えば、CPI-444およびピパデナント)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0066】

いくつかの実施形態において、その第2の治療は、サイトカイン(例えば、インターロ

10

20

30

40

50

イキン7)を含む。

【0067】

いくつかの実施形態において、その第2の治療は、刺激性チェックポイント分子のアゴニストを含む。これらの分子としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：

1. CD40；
2. OX40；
3. グルココルチコイド誘導性腫瘍壊死因子関連タンパク質 (GITR)；および
4. 誘導性T細胞共刺激因子 (ICOS)。

【0068】

CD40のアゴニストとしては、CD40アゴニストモノクローナル抗体(例えば、c p - 870, 893, ChiLob7/4、ダセツズマブ、およびルカツムマブ)が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Vonderheide et al., 2007; Khubchandani et al., 2009; Johnson et al., 2010; Bensinger et al., 2012; Vonderheide and Glennie, 2013; Johnson et al., 2015を参照のこと。

10

【0069】

OX40のアゴニストとしては、OX40アゴニスト抗体(例えば、MOXR0916、MED16469、MED10562、PF-045618600、GSK3174998、およびINCCAGN01949)、およびOX40L-Fc融合タンパク質(例えば、MEDI6383)が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Huseniet al., 2014; Lynch et al., 2015; Messenheimer et al., 2017を参照のこと。Shrimali et al., 2017もまた参照のこと。

20

【0070】

GITRのアゴニストとしては、MEDI1873が挙げられるが、これに限定されない。例えば、Schaer et al., 2012; Tigue et al., 2017を参照のこと。

【0071】

ICOSのアゴニストとしては、ICOSアゴニスト抗体JTX-2011およびGSK3359609が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Harvey et al., 2015; Michaelson et al., 2016を参照のこと。

30

【0072】

他の実施形態において、その第2の治療は、4-1BBアゴニスト(Shindo et al., 2015)(例えば、ウレルマブ)；4-1BBアンタゴニスト(US 2017/0174773を参照のこと)；未分化リンパ腫キナーゼのインヒビター(ALK; Wang et al., 2014; US 2017/0274074)(例えば、クリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブ、PF-06463922、NVP-TAE684、AP26113、TSR-011、X-396、CEP-37440、RXDX-101)；ヒストンデアセチラーゼのインヒビター(HDAC; US 2017/0327582を参照のこと)；VEGFRインヒビター(例えば、アキシチニブ、スニチニブ、ソラフェニブ、チボザニブ、ベバシズマブ)；および/または抗CD27抗体(例えば、バルリルマブ)を含む。

40

【0073】

いくつかの実施形態において、その第2の治療は、がんワクチン(例えば、Duraiswamy et al., 2013)を含む。「がんワクチン」は、そのがんワクチンが投与される個体において、特定の抗原に対して免疫応答を引き出すことが意図された免疫原性組成物である。がんワクチンは代表的には、腫瘍抗原に対する免疫応答を誘導または刺激し得る腫瘍抗原を含む。「腫瘍抗原」とは、標的腫瘍の表面上に存在する抗原である。腫瘍抗原は、非腫瘍細胞によって発現されていない分子であってもよいし、例えば、

50

非腫瘍細胞によって発現される分子の変化したバージョン (altered version) (例えば、誤って折りたたまれたか、短縮化されたか、または他の方法で変異したタンパク質) であってもよい。

【0074】

いくつかの実施形態において、その第2の治療は、キメラ抗原レセプター (CAR) T細胞療法を含む。例えば、John et al, 2013; Chong et al, 2016を参照のこと。

【0075】

いくつかの実施形態において、上に記載されるペプチド、改変されたペプチド、核酸分子、CAR-T細胞、および/または腫瘍溶解性ウイルスのうちの1またはこれより多くは、CAR-T細胞がん治療の有効性を増加させるために、そのCAR-T細胞がん治療とともに投与される。

10

【0076】

いくつかの実施形態において、上に記載されるペプチド、改変されたペプチド、核酸分子、CAR-T細胞、および/または腫瘍溶解性ウイルスのうちの1またはこれより多くは、例えば、US 2017/0143780で開示されるとおりの腫瘍溶解性ウイルスとともに投与される。腫瘍溶解性ウイルスの非限定的な例は、上に記載される。

【0077】

さらなる治療的使用

シヌクレイノパチー

20

いくつかの実施形態において、上記で記載されるペプチド、改変されたペプチド、核酸分子、CAR-T細胞、および/または腫瘍溶解性ウイルスのうちの1またはこれより多くは、シヌクレイノパチーの症状を、単独で、または他の治療介入 (例えば、L-DOPA、ドパミンアゴニスト (例えば、ロピニロール、プラミベキソール)、ドパミン再取り込みインヒビター (例えば、アマンタジン)、およびコリンエステラーゼインヒビター (例えば、ドネペジル、リバスチグミン、ガラントミン) との組み合わせとのいずれかで低減するために有用であり得る。シヌクレイノパチーの例としては、以下が挙げられる: パーキンソン病 (PD) の特発性および遺伝性の形態; びまん性レビー小体 (DLB) 病 (レビー小体型認知症またはレビー小体型認知症としても公知); 偶発的レビー小体病; アルツハイマー病のレビー小体バリエーション (LBV); アルツハイマー病およびパーキンソン病の併発 (CAPD); 純粋自律神経不全症 (PAF); 多系統萎縮症 (MSA) (例えば、オリブ橋小脳萎縮症、線条体黒質変性症、およびシャイ-ドレーガー症候群); パントテン酸キナーゼ関連神経変性症; ダウン症候群; ゴーシェ病関連シヌクレイノパチー; ならびに脳の鉄蓄積を伴う神経変性症。

30

【0078】

敗血症

LAG3発現は、敗血症においてアップレギュレートされる (Patil et al, 2017)。よって、上記で記載されるペプチド、改変されたペプチド、または核酸のうちの1またはこれより多くは、単独で、または他の治療介入 (例えば、抗生物質、静脈内流体、および昇圧剤) との組み合わせのいずれかで、敗血症を処置するために有用であり得る。

40

【0079】

感染性疾患

いくつかの実施形態において、上記で記載される開示されるペプチド、改変されたペプチド、または核酸のうちの1またはこれより多くが、感染性疾患 (例えば、ウイルス、真菌、細菌、および原生動物、ならびに蠕虫によって引き起こされる慢性感染が挙げられる) を、単独でまたは他の治療介入との組み合わせのいずれかで処置するために投与され得る。

【0080】

ウイルス因子の例としては、ヒト免疫不全ウイルス (HIV)、エプスタインバーウイ

50

ルス（EBV）、単純ヘルペスウイルス（HSV）（HSV1およびHSV2を含む）、ヒトパピローマウイルス（HPV）、水痘帯状疱疹ウイルス（VSV）、サイトメガロウイルス（CMV）、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、およびC型肝炎ウイルスが挙げられる。

【0081】

真菌因子の例としては、Aspergillus、Candida、Coccidioides、Cryptococcus、およびHistoplasma capsulatumが挙げられる。

【0082】

細菌因子の例としては、連鎖球菌（例えば、pyogenes、agalactiae、pneumoniae）、Chlamydia pneumoniae、Listeria monocytogenes、およびMycobacterium tuberculosisが挙げられる。

10

【0083】

原生動物の例としては、Sarcodina（例えば、Entamoeba）、Mastigophora（例えば、Giardia）、Ciliophora（例えば、Balantidium）、およびSporozoa（例えば、Plasmodium falciparum、Cryptosporidium）が挙げられる。

【0084】

蠕虫の例としては、Platyhelminths（例えば、吸虫、条虫）、Acanthocephalins、およびNematodesが挙げられる。

20

【0085】

ワクチンアジュバント

いくつかの実施形態において、上記で記載される開示されるペプチド、改変されたペプチド、または核酸のうちの1またはこれより多くは、ワクチン接種への応答を（例えば、エフェクターT細胞を増やすおよび/またはT細胞疲弊を低減することによって）増強するために、ワクチンとともにワクチンアジュバントとして投与され得る。そのワクチンは、例えば、RNAワクチン（例えば、US 2016/0130345、US 2017/0182150）、DNAワクチン、組換えベクター、タンパク質ワクチン、またはペプチドワクチンであり得る。このようなワクチンは、当該分野で周知であるように、例えば、ウイルス様粒子を使用して送達され得る。

30

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

（項目1）

配列番号1、2、3、4、5、6、および7からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むペプチド。

（項目2）

前記アミノ酸配列から本質的になる、項目1に記載のペプチド。

（項目3）

前記アミノ酸配列からなる、項目2に記載のペプチド。

（項目4）

項目1に記載のペプチドをコードする核酸。

40

（項目5）

発現構築物である、項目4に記載の核酸。

（項目6）

CAR-T細胞または腫瘍溶解性ウイルスに存在する、項目5に記載の核酸。

（項目7）

前記核酸は、DNA、cDNA、PNA、およびRNAからなる群より選択される、項目4に記載の核酸。

（項目8）

項目4または項目5に記載の核酸を含む宿主細胞。

50

(項目9)項目1に記載の1またはこれより多くのペプチドから本質的になる、ペプチド組成物。(項目10)(a)以下からなる群より選択される活性薬剤：(i)項目1～3のいずれか1項に記載のペプチド；(ii)前記ペプチドをコードする核酸；(iii)前記ペプチドを発現するCAR-T細胞；および(iv)前記ペプチドを発現する腫瘍溶解性ウイルス；ならびに(b)薬学的に受容可能なキャリア、を含む、薬学的組成物。

10

(項目11)前記活性薬剤は核酸であり、該核酸は、DNA、cDNA、PNA、およびRNAからなる群より選択される、項目10に記載の薬学的組成物。(項目12)前記核酸はRNAである、項目10に記載の薬学的組成物。(項目13)前記RNAは、(i)リボース糖の改変、(ii)リン酸結合の改変、および(iii)塩基の改変からなる群より選択される改変を含む、項目12に記載の薬学的組成物。(項目14)前記改変は、リボ-ジフルオロトルイルヌクレオチド、4'-チオ改変RNA、ボラノリン酸結合、ホスホロチオエート結合、2'-O-メチル(2'-OMe)糖置換、2'-フルオロ(2'-F)、2'-O-メトキシエチル(2'-MOE)糖置換、ロックド核酸(LNA)、およびL-RNAからなる群より選択される、項目13に記載の薬学的組成物。

20

(項目15)前記活性薬剤は前記ペプチドであり、該ペプチドは、微粒子、ポリマーナノ粒子、リボソーム、固体脂質ナノ粒子、親水性粘膜炎着性ポリマー、チオール化ポリマー、ポリマーマトリクス、ナノエマルジョン、およびヒドロゲルからなる群より選択されるペプチドキャリアシステムとともに提供される、項目10に記載の薬学的組成物。(項目16)過剰増殖性障害の進行を阻害する、シヌクレイノパチーの進行を阻害する、敗血症の進行を阻害する、感染性疾患の進行を阻害する、またはワクチンに対する応答を増強する方法であって、前記方法は、それを必要とする個体に、有効量の、項目10～15のいずれかに記載の薬学的組成物を投与する工程を包含する方法。

30

(項目17)前記薬学的組成物は、前記過剰増殖性障害の進行を阻害するために投与される、項目16に記載の方法。(項目18)前記過剰増殖性障害はがんである、項目17に記載の方法。(項目19)前記がんは黒色腫である、項目18に記載の方法。

40

(項目20)前記第2の治療は、以下：(i)がんワクチン；(ii)キメラ抗原レセプター(CAR) T細胞療法；(iii)PD-1、PD-L1、リンパ球活性化遺伝子-3(LAG3)、細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4(CTLA-4)、T細胞活性化のVドメイン免疫グロブリン抑制因子(VISTA)、T細胞免疫グロブリンドメインおよびムチンドメイン3(TIM-3)、キラー免疫グロブリン様レセプター(KIR)、インドールアミン(2,3)-ジオキシゲナーゼ(IDO)、BおよびTリンパ球アテニューエーター(BTLA)、A2Aアデノシンレセプター(A2AR)からなる群より選択される分子の活性を低減または

50

遮断することを含む治療；

(i v) サイトカイン；

(v) C D 4 0、O X 4 0、グルココルチコイド誘導性腫瘍壊死因子関連タンパク質 (G I T R)、および誘導性 T 細胞共刺激因子 (I C O S) からなる群より選択される分子のアゴニスト；

(v i) 腫瘍溶解性ウイルス；ならびに

(v i i) 4 - 1 B B アゴニスト、4 - 1 B B アンタゴニスト、未分化リンパ腫キナーゼ (A L K) のインヒビター、ヒストンデアセチラーゼ (H D A C) のインヒビター、および V E G F R のインヒビターからなる群より選択される治療剤、

からなる群より選択される、項目 1 9 に記載の方法。

(項目 2 1)

前記薬学的組成物は、シヌクレイノパチーの進行を阻害するために投与される、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 2)

前記シヌクレイノパチーは、パーキンソン病 (P D)、レビー小体型認知症 (D L B)、純粋自律神経不全症 (P A F)、および多系統萎縮症 (M S A) からなる群より選択される、項目 2 1 に記載の方法。

(項目 2 3)

前記薬学的組成物は、敗血症の進行を阻害するために投与される、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 4)

前記薬学的組成物は、感染性疾患の進行を阻害するために投与される、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 5)

前記薬学的組成物は、ワクチンに対する応答を増強するために投与される、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 6)

過剰増殖性障害の進行を阻害する、シヌクレイノパチーの進行を阻害する、敗血症の進行を阻害する、感染性疾患の進行を阻害する、またはワクチンに対する応答を増強するための医薬の製造における、項目 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のペプチドまたは項目 4 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の核酸の使用。

(項目 2 7)

過剰増殖性障害の進行を阻害する、シヌクレイノパチーの進行を阻害する、敗血症の進行を阻害する、感染性疾患の進行を阻害する、またはワクチンに対する応答を増強するための、項目 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のペプチドまたは項目 4 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の核酸の使用。

(項目 2 8)

過剰増殖性障害の進行を阻害する、シヌクレイノパチーの進行を阻害する、敗血症の進行を阻害する、感染性疾患の進行を阻害する、またはワクチンに対する応答を増強するための、項目 1 0 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【実施例】

【 0 0 8 6 】

実施例 1 . ペプチドライブラリースクリーニング

TriCo - 2 0 TM、TriCo - 1 6 TM、Ph . D . - 1 2 TM、および Ph . D . C 7 TM Phage Display Peptide Libraries (Creative Biolabs , 4 5 - 1 Ramsey Road , Shirley , NY 1 1 9 6 7) を、数回のバイオニングを行うことによってスクリーニングして、可溶性組換えヒト L A G 3 のバインダーを同定した。

【 0 0 8 7 】

4 回のスクリーニング後に、7 種のペプチドが、クローン性ファージ E L I S A におい

10

20

30

40

50

てコーティングされていないシグナルより2倍超高いコーティングされたシグナルによって定義されるとおりの、特異的バインダーの明らかな富化を示した(表2)。

【表2】

表2.

クローン	クローン性ファージELISA		ペプチド配列	配列番号
	コーティングされたシグナル	コーティングされていないシグナル		
LAG3-11	0.271	0.093	SAPWEPLHWPEDWWQGTGEW	1
LAG3-42	0.378	0.084	DWNEFQQWDWKKHNHLD SHVV	2
LAG3-48	0.227	0.094	FYSPNHEEYHDWNVDSSVNE	3
LAG3-51	0.234	0.076	KVWQVPQDTQHWLSPNFYSV	4
LAG3-54	0.417	0.103	ACGPGSFGDCGGG	5
LAG3-56	0.529	0.101	HIQNWSYWLNQDMMNQVWKS	6
LAG3-60	0.330	0.091	HESGSVPHWPQFFTHYVS	7

10

【0088】

20

実施例2. LAG3シグナル伝達のペプチド遮断

細胞ベースのレポーターアッセイを使用して、上記で同定したその7種のペプチドの結合が、LAG3およびそのリガンドMHC-IIの相互作用を遮断するために十分であるか否かを評価した。そのアッセイの構成要素は、(1)ヒトLAG3および安定なNFAT-1 luc2 PLシフェラーゼレポーターを安定して発現するJurkat T細胞株、(2)ヒトMHC-IIを発現するRaji細胞株、ならびに(3)LAG3およびMHC-IIの相互作用を遮断する陽性コントロール抗LAG3抗体を含む。簡潔には、LAG3を発現するJurkat細胞を、T細胞レセプター(TCR)アクチベーター分子で刺激し、ルシフェラーゼの発現を生じさせる。Jurkat細胞が、MHC-II分枝を発現するRaji細胞株と共培養される場合、Jurkat細胞の表面上のLAG3とRaji細胞の表面上のMHC-IIとの相互作用は、T細胞活性化を阻害し、ルシフェラーゼ発現の低減をもたらす。LAG3に対する中和抗体の添加は、阻害シグナルを遮断し、ルシフェラーゼ発現が進むことを可能にする。BIO-GLOTM(Promega)を使用して、ルシフェラーゼ発現を測定した。その7種のLAG3ペプチドを、0 μM、0.64 μM、1.6 μM、4 μM、10 μM、25 μMおよび100 μMの濃度で試験した。

30

【0089】

抗LAG3コントロール抗体を使用する陽性コントロールアッセイの結果を、図1Aに示す。これらの結果は、コントロール抗体が、用量依存性様式において、25 μg/mlの抗体濃度においてピーク倍率阻害およそ5でルシフェラーゼ発現を回復させることを示す。

40

【0090】

上記で同定したその7種のLAG3ペプチドおよび陰性コントロールペプチド(SSYHHFKMPELHFGKNTFHQ;配列番号9)を試験するアッセイの結果を、図1Bに示す。これらのデータは、ルシフェラーゼ活性の倍率増大として表され、ここで各ペプチドに関して、100 μMで測定される相対光単位(RLU)を、0.64 μMで測定したRLUと比較した。その結果は、上記ペプチドのうちの2種、LAG3-11およびLAG3-56が、100 μMの濃度において、それぞれ、およそ2.8および2.2の倍率阻害でルシフェラーゼ発現を回復させることを示す。

【0091】

50

実施例 3 . LAG3 - MHC - II 相互作用のペプチド破壊

等質性時間分解蛍光 (HTRF) LAG3 / MHC - II 結合アッセイ (Cisbio US Inc.) を使用して、ペプチドの存在下での MHC - II と LAG3 との間の相互作用を測定した。このアッセイにおいて、Tag 1 - LAG3 と Tag 2 - MHC - II との間の相互作用を、抗 Tag 1 - テルビウム (HTRF ドナー) および抗 Tag 2 - XL665 (HTRF アクセプター) を使用することによって検出する。上記ドナーおよびアクセプター抗体が、LAG3 および MHC - II 結合に起因して近接したとき、上記ドナー抗体の励起が、上記アクセプター抗体への蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を誘発し、これは、次に、665 nm において特異的に発光する。この特異的シグナルは、LAG3 / MHC - II 相互作用の程度に正比例する。従って、LAG3 と MHC - II との間の相互作用を遮断する薬剤は、HTRF 比の低減を引き起こす。

10

【0092】

抗ヒト LAG3 抗体 (Novoprotein #GMP - A092, Lot 0331158, 500 nM) を、100 nM で開始する、11 の点の連続希釈した片対数用量応答曲線で上記アッセイにおいて試験し、陽性コントロールとして供した。オボアルブミンペプチドを、陰性コントロールとして使用した。ペプチドを、100 μM DMSO において 20 mM の濃度で再構成し、100 μM で開始する 11 の点の用量応答曲線において試験し、続いて、4 倍希釈で試験した。各用量を、三連で試験した。

【0093】

図 2 A ~ D は、ペプチド LAG3 - 11 を試験する 4 回の独立した実験の結果を示すグラフである。これらの結果は、ペプチド LAG3 - 11 が、LAG3 および MHC - II の相互作用を破壊することを示す。

20

【0094】

図 3 ~ 9 は、ペプチド LAG3 - 11 (図 3)、LAG3 - 42 (図 4)、LAG3 - 48 (図 5)、LAG3 - 51 (図 6)、LAG3 - 54 (図 7)、LAG3 - 56 (図 8)、および LAG3 - 60 (図 9) を試験する実験の結果を示すグラフである。これら遺伝子を構築するために使用される個々の HTRF 比は、表 3 A および表 3 B に示される。

30

40

50

【表 3 A】

Abに關して 試験した LOG [化合物] M	抗LAG3 Ab プレート 1			抗LAG3 Ab プレート 2			OVA ペプチド			LAG3-11			LAG3-42		
	2261	2359	2383	2234	2090	2346	8492	8909	7154	3213	3460	3458	7234	7037	7142
-6.30103	2647	2555	2743	2551	2501	2502	8472	8683	8449	4749	5287	5014	8389	8097	8045
-6.90309	2867	2915	2884	2971	2846	2840	8616	8579	9015	6812	6892	6696	8629	8765	8733
-7.50515	3203	3242	3170	3397	3262	3125	8833	9374	9180	7774	8164	7993	9281	8905	8572
-8.10721	4160	4457	4334	4286	4196	4352	8634	9280	9189	8538	8718	8858	9189	8945	8784
-8.70927	7218	7408	7295	7240	7263	7467	8654	8970	8380	8794	8729	8889	9432	8649	9072
-9.31133	8483	8643	8452	8987	8533	8601	8776	8568	9015	9090	9036	9329	9209	8787	9109
-9.91339	9213	8795	8849	9499	9021	8595	8624	8987	9219	9012	9293	9067	9407	8205	9247
-10.5154	9027	9147	8987	9102	9305	8453	8724	8639	8684	8877	8955	8992	9579	9134	8703
-11.1175	9013	8676	8552	9004	9330	8893	8396	8788	8625	8591	6950	8287	9137	8550	8958
-11.7196	8724	8742	8355	8952	8717	8824	8986	8457	8356	8212	8748	8700	8860	8937	8907
-12.3216	8512	9425	9136	9058	8523	8363	9086	8892	8633	8886	8842	9097	9016	8914	9210
-12.9237															

表 3A.

10

20

30

40

50

【表 3 B】

Abに関して試験したLOG [化合物] M	ペプチドに関して試験したLOG [化合物] M	LAG3-48			LAG3-51			LAG3-54			LAG3-56			LAG3-60		
		3507	2809	3028	3058	2773	2875	4122	3912	2283	4194	4083	4373	2986		3079
-6.30103	-4	5662	5088	5724	6649	6521	6468	6709	6833	7055	6880	7058	7142	5934	5959	5991
-6.90309	-4.60206	8301	8213	8200	7908	8071	8322	8561	8512	8691	8218	8349	8414	8233	7988	7918
-7.50515	-5.20412	8663	9082	9045	8723	8946	8748	9205	9142	9156	8791	8658	8464	8525	8398	8342
-8.10721	-5.80618	9264	9194	9135	9265	8583	8662	9048	8773	9161	9040	9185	9082	8614	8929	9290
-8.70927	-6.40824	8727	9103	9142	8098	9193	9017	9141	9004	9105	8147	9275	9111	9142	8745	8892
-9.31133	-7.0103	8936	9357	9297	8762	9360	9173	9031	9075	8674	8935	9303	9093	8987	8983	9320
-9.91339	-7.61236	9082	9139	9095	8950	8608	8357	8645	8867	8996	8765	9591	9178	9275	8931	9366
-10.5154	-8.21442	8708	9153	8757	8834	8187	8957	8918	8630	8130	8856	8856	8869	9059	9248	8887
-11.1175	-8.81648	8564	8922	8442	8867	8809	8630	8930	8755	8942	9050	9029	9176	8772	8594	9169
-11.7196	-9.41854	8765	9097	8602	8784	8779	8696	9203	8748	8344	9022	8887	8540	8924	8349	8904
-12.3216	-10.0206	8663	8904	9303	9082	9104	9298	9262	8921	9100	8885	9204	8617	8795	9240	9350
-12.9237	-10.6227															

表 3B.

【 0 0 9 5 】

実施例 5 . CD 8 + T細胞応答のペプチド増強

この実施例は、IFN- γ 分泌に対するペプチドLAG3-11の効果およびヒト末梢血単核細胞(PBMC)ベースのリコールアッセイにおける増殖を示す。PBMCを、エプスタインバーウイルス(EBV)およびサイトメガロウイルス(CMV)のウイルス特異的ペプチドに対する陽性応答者として以前に同定されたことがあるヒトドナーから得た。200 μ Lの培地中の 5×10^5 PBMCを、LAG3-11の存在下または非存在下で、EBVおよびCMVのウイルス特異的ペプチドで刺激した。刺激の7日後に、ウイルス特異的CD8+ T細胞のパーセンテージを、MHC-I処置を使用するフローサイト

10

20

30

40

50

メトリーを介して同定した。上清をまた集め、IFN- γ の量を、ELISAを介して決定した。

【0096】

その結果(図11に示される)は、LAG3-11が、ヒトPBMCによるIFN- γ 分泌を、そのウイルス特異的ペプチド単独と比較して3倍増大させることを示す。テトラマー+CD8⁺T細胞のパーセンテージの約2倍の増大は、LAG3-11ペプチドがT細胞増殖を増強し得ることを示す。

【0097】

実施例6. ペプチドとFGL1との相互作用

この実施例は、LAG-11およびLAG-56がヒトLAG3とFGL1との間の相互作用を阻害する能力を示す。上記ペプチドを、製造業者の使用説明書に従って行うHuman LAG3/FGL1 TR-FRET Binding Assay(BPS Bioscience)を使用して試験した。

10

【0098】

LAG3-11、LAG3-42、LAG3-48、LAG3-51、LAG3-54、LAG3-56、LAG3-60およびOVAのペプチドストックを、1mMで調製し、続いて、プレート反応において1:5希釈した。LAG3-11およびOVAを、200 μ M、50 μ M、13 μ M、3 μ M、0.8 μ M、0.2 μ M、0.05 μ M、および0.01 μ Mで試験した。他のペプチドを、200 μ M、50 μ M、13 μ M、および3 μ Mで試験した。中和抗ヒトLAG3抗体(BPS Bioscience Cat. # 71219)を、陽性コントロールとして使用した。

20

【0099】

反応混合物を、発色前に、1時間、室温においてインキュベートした。発色後、プレートを、Tecan M1000 TR-FRET機器で読み取った。パーセント活性を、以下のように計算した:

$$\% \text{活性} = 100 \times [(\text{サンプル} - \text{最小}) / (\text{最大} - \text{最小})]$$

【0100】

結果を、図11に示す。

参考文献

Adams et al., "Big opportunities for small molecules in immuno-oncology," Nature Reviews Drug Discovery Advance Online Publication, July 31, 2016, 20 pages

30

Akinc et al., "A combinatorial library of lipid-like materials for delivery of RNAi therapeutics," Nat. Biotechnol. 26, 561-69, 2008

Akinc et al., "Development of lipidoid-siRNA formulations for systemic delivery to the liver," Mol. Ther. 17, 872-79, 2009

Alsaab et al., "PD-1 and PD-L1 Checkpoint Signaling Inhibition for Cancer Immunotherapy: Mechanism, Combinations, and Clinical Outcome," Front. Pharmacol. 8, 561, 2017

Anderson et al., "semi-automated synthesis and screening of a large library of degradable cationic polymers for gene delivery," Angew. Chem Int. Ed. 42, 3153-58, 2003

40

Andtbacka et al., "OPTiM: A randomized phase III trial of talimogene laherparepvec (T-VEC) versus subcutaneous (SC) granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) for the treatment (tx) of unresected stage IIIB/C and IV melanoma," J. Clin. Oncol. 31, abstract number LBA9008, 2013

Beavis et al., "Adenosine Receptor 2A Blockade Increases the Efficacy of Anti-PD-1 through Enhanced Antitumor T-cell Responses," Cancer Immunol. Res. 3, 506-17, 2015

50

- Behlke, "Chemical modification of siRNAs for in vivo use," *Oligonucleotides*. 2008;18:305 - 19.
- Behr, "The proton sponge: a trick to enter cells the viruses did not exploit," *Int. J. Chem.* 2, 34-36, 1997
- Bensinger et al., "A phase 1 study of lincatutumab, a fully human anti-CD40 antagonist monoclonal antibody administered intravenously to patients with relapsed or refractory multiple myeloma," *Br J Haematol.* 159, 58 - 66, 2012.
- Benson & Caligiuri, "Killer Immunoglobulin-like Receptors and Tumor Immunity," *Cancer Immunol Res* 2014;2:99-104 10
- Bodanszky et al., *Peptide Synthesis*, John Wiley and Sons, 2d ed. (1976)
- Boussif et al., "A versatile vector for gene and oligonucleotide transfer into cells in culture and in vivo: polyethylenimine," *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA)* 92, 7297-301, 1995
- Bramsen et al., "A large-scale chemical modification screen identifies design rules to generate siRNAs with high activity, high stability and low toxicity," *Nucleic Acids Res.* 2009;37:2867 - 81
- Bruno et al., "Basics and recent advances in peptide and protein drug delivery," *Ther. Deliv.* 4, 1443-67, 2013
- Bu et al., "Learning from PD-1 Resistance: New Combination Strategies," *Trends Mol. Med.* 22, 448-51, 2016 20
- Burnett & Rossi, "RNA-based Therapeutics- Current Progress and Future Prospects," *Chem Biol.* 19, 60-71, 2012
- Cao, "Advances in Delivering Protein and Peptide Therapeutics," *Pharmaceutical Technology* 40, 22-24, November 2, 2016
- Chan & McFadden, "Oncolytic Poxviruses," *Ann. Rev. Virol.* 1, 119-41, 2014
- Chen et al., "Rapid discovery of potent siRNA-containing lipid nanoparticles enabled by controlled microfluidic formulation," *J. Am. Chem. Soc.* 134, 6948-51, 2012
- Cherkassky et al., "Human CAR T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade resist tumor-mediated inhibition," *J. Clin. Invest.* 126, 3130-44, 2016 30
- Chiu et al., "siRNA function in RNAi: a chemical modification analysis," *RNA* 2003;9:1034 - 48.
- Chong et al., "PD-1 blockade modulates chimeric antigen receptor (CAR) - modified T cells: refueling the CAR," *Blood.* 129(8), 1039 - 41, 2017, published on-line December 28, 2016
- Chowdhury et al., "Combination therapy strategies for improving PD-1 blockade efficacy: a new era in cancer immunotherapy," *J. Int. Med.* doi: 10.1111/joim.12708, Epub ahead of print, October 26, 2017 40
- Creative Biolabs User Manual, "TriCo-20™ Phage Display 20-mer Random Peptide Library," 14 pages, August 4, 2009
- Dahlman et al., "In vivo endothelial siRNA delivery using polymeric nanoparticles with low molecular weight," *Nat. Nanotechnol.* 9, 648-55, 2014
- Dempke et al., "Second- and third-generation drugs for immuno-oncology treatment - The more the better?" *Eur. J. Cancer* 74, 55-72, March 2017
- Desigaux et al., "Self-assembled lamellar complexes of siRNA with lipidic aminoglycoside derivatives promote efficient siRNA delivery and interference," *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA)* 104, 16534-39, 2007
- Differding, "AUNP-12 - A Novel Peptide Therapeutic Targeting PD-1 I 50

immune Checkpoint Pathway for Cancer Immunotherapy - Structure Activity Relationships & Peptide/Peptidomimetic Analogs," available at differeading.com/data/AUNP_12_A_novel_peptide_therapeutic_targeting_PD_1_immune_checkpoint_pathway_for_cancer_immunotherapy.pdf, February 26, 2014

Dong et al., "Lipopeptide nanoparticles for potent and selective siRNA delivery in rodents and nonhuman primates," *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA)* 111, 3955-60, 2014

Dosta et al., "Surface charge tunability as a powerful strategy to control electrostatic interaction for high efficiency silencing, using tailored oligopeptide-modified poly(beta-amino ester)s (PBAEs)," *Acta Biomater.* 20, 82-93, 2015 10

Duraiswamy et al., "Dual Blockade of PD-1 and CTLA-4 Combined with Tumor Vaccine Effectively Restores T-Cell Rejection Function in Tumors," *Cancer Res* 73, 3591-603, 2013

Fenton et al., "Bioinspired alkenyl amino alcohol ionizable lipid materials for highly potent in vivo mRNA delivery," *Adv. Mater.* 28, 2939-43, 2016

Feridooni et al., "Noninvasive Strategies for Systemic Delivery of Therapeutic Proteins - Prospects and Challenges," Chapter 8 of Sezer, ed., *Smart Drug Delivery System*, available at <http://www.intechopen.com/books/smart-drug-delivery-system>, February 10, 2016 20

Freeman et al., "Phase I/II trial of intravenous NDV-HUJ oncolytic virus in recurrent glioblastoma multiforme," *Mol. Ther.* 13, 221-28, 2006

Gao et al., "VISTA is an inhibitory immune checkpoint that is increased after ipilimumab therapy in patients with prostate cancer," *Nature Med.* 23, 551-55, 2017

Geevarghese et al., "Phase I/II Study of Oncolytic Herpes Simplex Virus NV1020 in Patients with Extensively Pretreated Refractory Colorectal Cancer Metastatic to the Liver," *Hum. Gene Ther.* 21, 1119-28, 2010

Guo et al., "Systemic delivery of therapeutic small interfering RNA using a pH-triggered amphiphilic poly-L-lysinenanocarrier to suppress prostate cancer growth in mice," *Eur. J. Pharm. Sci.* 45, 521-32, 2012 30

Harvey et al., "Efficacy of anti-ICOS agonist monoclonal antibodies in preclinical tumor models provides a rationale for clinical development as cancer immunotherapeutics," *Journal for Immunotherapy of Cancer* 3(Suppl 2), O9, 2015

He et al., "Lymphocyte-activation gene-3, an important immune checkpoint in cancer," *Cancer Sci.* 107, 1193-97, 2016

Howard et al., "RNA interference in vitro and in vivo using a novel chitosan/siRNA nanoparticle system," *Mol. Ther.* 14, 476-84, 2006

Huard et al., "Cellular expression and tissue distribution of the human LAG-3-encoded protein, an MHC class II ligand," *Immunogenetics* 39 (3): 213 - 7, 1994 40

Huard et al., "CD4/major histocompatibility complex class II interaction analyzed with CD4- and lymphocyte activation gene-3 (LAG-3)-Ig fusion proteins," *J. Immunol.* 25, 2718-21, 1995

Huseni et al., "Anti-tumor efficacy and biomarker evaluation of agonistic anti-OX40 antibodies in preclinical models," *Journal for Immunotherapy of Cancer* 2(Suppl 3), P105, 2014

Infante et al., "A phase Ib dose escalation study of the OX40 agonist MOXR0916 and the PD-L1 inhibitor atezolizumab in patients with a 50

- dvanced solid tumors," *J Clin Oncol.* 34(suppl;abstr 101), 2016
- John et al., "Blockade of PD-1 immunosuppression boosts CAR T-cell therapy," *Oncolimmunology* 2, e26286, 3 pages, 2013
- Johnson et al., "A Cancer Research UK phase I study evaluating safety, tolerability, and biological effects of chimeric anti-CD40 monoclonal antibody (MAb), Chi Lob 7/4," *J Clin Oncol.* 28, 2507, 2010.
- Johnson et al., "Clinical and Biological Effects of an Agonist Anti-CD40 Antibody: A Cancer Research UK Phase I Study," *Clin Cancer Res* 21, 1321-28, 2015
- Judge & MacLachlan, "Overcoming the innate immune response to small interfering RNA," *Hum Gene Ther.* 2008;19:111 - 24. 10
- Kaczmarek et al., "Advances in the delivery of RNA therapeutics: from concept to clinical reality," *Genome Medicine* 2017; 9:60, 16 pages
- Kanasty et al., "Delivery materials for siRNA therapeutics," *Nat. Mater.* 12, 967-77, 2013
- Kauffman et al., "Optimization of lipid nanoparticle formulations for mRNA delivery in vivo with fractional factorial and definitive screening designs," *Nano Lett.* 15, 7300-06, 2015
- Kauffman et al., "Efficacy and immunogenicity of unmodified and pseudouridine-modified mRNA delivered systemically with lipid nanoparticles in vivo," *Biomaterials.* 2016;109:78 - 87. 20
- Kaufmann et al., "Chemovirotherapy of Malignant Melanoma with a Targeted and Armed Oncolytic Measles Virus," *J. Invest. Dermatol.* 133, 1034-42, 2013
- Kavikansky & Pavlick, "Beyond Checkpoint Inhibitors: The Next Generation of Immunotherapy in Oncology," *Amer. J. Hematol. Oncol.* 13, 9-20, 2017
- Khubchandani et al., "Dacetuzumab, a humanized mAb against CD40 for the treatment of hematological malignancies," *Curr Opin Investig Drugs* 10, 579 - 87, 2009. 30
- Khuri et al., "A controlled trial of intratumoral ONYX-015, a selectively-replicating adenovirus, in combination with cisplatin and 5-fluorouracil in patients with recurrent head and neck cancer," *Nat. Med.* 6, 879-85, 2000
- Kisielow et al., "Expression of lymphocyte activation gene 3 (LAG-3) on B cells is induced by T cells". *European Journal of Immunology* 35 (7): 2081 - 8, 2005
- Kontermann, "Half-life extended biotherapeutics," *Expert Opin. Biol. Ther.* 16, 903-15, 2016.
- Kozielski et al., "A bio-reducible linear poly(ε-amino ester) for siRNA delivery," *Chem. Commun. (Camb).* 49, 5319-21, 2013 40
- Lawler et al., "Oncolytic Viruses in Cancer Treatment," *JAMA Oncol.* 3, 841-49, 2017 (published on-line July 21, 2016)
- Le Mercier et al., "VISTA Regulates the Development of Protective Antitumor Immunity," *Cancer Res* 2014;74:1933-1944
- Leone et al., "A2aR antagonists: Next generation checkpoint blockade for cancer immunotherapy," *Computational and Structural Biotechnology Journal* 13, 265-72, 2015
- Leus et al., "VCAM-1 specific PEGylated SAINT-based lipoplexes deliver siRNA to activated endothelium in vivo but do not attenuate target 50

gene expression," *Int. J. Pharm.* 469, 121-31, 2014

Li et al., "Discovery of peptide inhibitors targeting human programmed death 1 (PD-1) receptor," *Oncotarget* 7, 64967-76, August 12, 2016

Li et al., "Effects of chemically modified messenger RNA on protein expression," *Bioconjug Chem.* 2016;27:849 - 53.

Liang, "Oncorine, the World First Oncolytic Virus Medicine and its Update in China," *Curr. Cancer Drug Targets* 18, 171-76, 2018

Lichtenegger et al., "Targeting LAG-3 and PD-1 to Enhance T Cell Activation by Antigen-Presenting Cells," *Front. Immunol.* 9, 385, doi: 10.3389/fimmu.2018.00385.

10

Linch et al., "OX40 agonists and combination immunotherapy: putting the pedal to the metal," *Frontiers in Oncology* 5, 14 pages, 2015

Liu et al., "Immune-checkpoint proteins VISTA and PD-1 nonredundantly regulate murine T-cell responses," *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 112, 6682-87, 2015

Lorence et al., "Phase 1 clinical experience using intravenous administration of PV701, an oncolytic Newcastle disease virus," *Curr. Cancer Drug Targets* 7, 157-67, 2007

Lorenz et al., "Steroid and lipid conjugates of siRNAs to enhance cellular uptake and gene silencing in liver cells," *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 14, 4975-77, 2004

20

Love et al., "Lipid-like materials for low-dose, in vivo gene silencing," *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA)* 107, 1864-69, 2010

Lu et al., "Replicating retroviral vectors for oncolytic virotherapy of experimental hepatocellular carcinoma," *Oncol. Rep.* 28, 21-26, 2012

Lundstrom, "Oncolytic Alphaviruses in Cancer Immunotherapy," *Vaccines* 5, pages 1-17, 2017

Lynn & Langer, "Degradable poly(ε-amino esters): synthesis, characterization, and self-assembly with plasmid DNA," *J. Am. Chem. Soc.* 122, 10761-18, 2000

30

Magiera-Mularz et al., "Bioactive macrocyclic inhibitors of the PD-1/PD-L1 immune checkpoint," *Angewandte Chemie Int. Ed.* 10.1002/anie.201707707, e-published September 26, 2017

Mao et al., "Pathological α-synuclein transmission initiated by binding lymphocyte-activation gene 3," *Science* 353, aah3374, 2016

Maute et al., "Engineering high-affinity PD-1 variants for optimized immunotherapy and immuno-PET imaging," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, E6506-E6514, published online November 10, 2015

McDonald et al., "A measles virus vaccine strain derivative as a novel oncolytic agent against breast cancer," *Breast Cancer Treat.* 99, 177-84, 2006

40

McOmie, *Protective Groups in Organic Chemistry*, Plenum Press, New York, N.Y., 1973

Mediavilla-Varela et al., "A Novel Antagonist of the Immune Checkpoint Protein Adenosine A2a Receptor Restores Tumor-Infiltrating Lymphocyte Activity in the Context of the Tumor Microenvironment," *Neoplasia* 19, 530-36, 2017

Mellemgaard et al., "Combination immunotherapy with IDO vaccine and PD-1 inhibitors in advanced HSCLC," DOI: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.TPS2610 *Journal of Clinical Oncology* 35, no. 15_suppl - published

50

online before print, 2017

Merrifield, "Solid phase peptide synthesis I: Synthesis of a tetrapeptide," *J. Am. Chem. Soc.* 85:2149-54, 1963

Messenheimer et al., "Timing of PD-1 Blockade Is Critical to Effective Combination Immunotherapy with Anti-OX40," *Clin. Cancer Res.* 23, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2677 Published October 2017

Michaelson et al., "Preclinical evaluation of JTX-2011, an anti-ICOS agonist antibody," , Abstract 573, Proceedings: AACR 107th Annual Meeting 2016; April 16-20, 2016; New Orleans, LA

Morrissey et al., "Immunotherapy and Novel Combinations in Oncology: Current Landscape, Challenges, and Opportunities," *Clinical and Translational Science* 9, 89-104, 2016 10

Morrissey et al., "Potent and persistent in vivo anti-HBV activity of chemically modified siRNAs," *Nat. Biotechnol.* 23, 1002-07, 2005

Moschos et al., "Lung delivery studies using siRNA conjugated to TAT(48-60) and penetratin reveal peptide induced reduction in gene expression and induction of innate immunity," *Bioconjug. Chem.* 18, 1450-59, 2007

Nair et al., "Multivalent N-acetylgalactosamine-conjugated siRNA localizes in hepatocytes and elicits robust RNAi-mediated gene silencing," *J. Am. Chem. Soc.* 136, 16958-61, 2014 20

Neurath et al., eds., *The Proteins*, Vol. II, 3d ed., pp. 105-237, Academic Press, New York, NY (1976)

Nishina et al., "Efficient in vivo delivery of siRNA to the liver by conjugation of alphatocopherol," *Mol. Ther.* 16, 734-40, 2008

Ott et al., "Combination immunotherapy: a road map," *J. Immunotherapy of Cancer* 5, 16, 2017

Pack et al., "Design and development of polymers for gene delivery," *Nat. Rev. Drug Discov.* 4, 581-93, 2005

Patel et al., "Recent Advances in Protein and Peptide Drug Delivery: A Special Emphasis on Polymeric Nanoparticles," *Protein. Pept. Lett.* 21, 1102-20, 2014 30

Patil et al., "Targeting Immune Cell Checkpoints During Sepsis," *Int. J. Mol. Sci.* 18, 2413, 2017.

Penchala et al., "A biomimetic approach for enhancing the in vivo half-life of peptides," *Nat. Chem. Biol.* 11, 793 - 98, 2015

Phuangsab et al., "Newcastle disease virus therapy of human tumor xenografts: antitumor effects of local or systemic administration," *Cancer Lett.* 172, 27-36, 2001

Prakash et al., "Positional effect of chemical modifications on short interference RNA activity in mammalian cells," *J Med Chem.* 2005;48:4 247 - 53 40

Pratt & MacRae, "The RNA-induced silencing complex: a versatile gene-silencing machine," *J Biol Chem.* 2009;284:17897 - 901

Rehman et al., "Mechanism of polyplex- and lipoplex-mediated delivery of nucleic acids: real-time visualization of transient membrane destabilization without endosomal lysis," *ACS Nano.* 7, 3767-77, 2013

Rivera et al., "Hair Repigmentation During Immunotherapy Treatment With an Anti-Programmed Cell Death 1 and Anti-Programmed Cell Death Ligand 1 Agent for Lung Cancer," *JAMA Dermatol.* 153, 1162-65, 2017 50

Rodriguez et al., "Design and implementation of a high yield production system for recombinant expression of peptides," *Microbial Cell Factories* 13, 65, 10 pages, 2014

Rudin et al., "Phase I clinical study of Seneca Valley Virus (SVV-001), a replication-competent picornavirus, in advanced solid tumors with neuroendocrine features," *Clin. Cancer Res.* 17, 888-95, 2011

Sahin et al., "mRNA-based therapeutics - developing a new class of drugs," *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13:759 - 80

Sakuishi et al., "Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity," *J. Exp. Med.* 20, 2187-94, 2010 10

Schaer et al., "Modulation of GITR for cancer immunotherapy," *Curr Opin Immunol.* 24, 217-24, 2012

Schroeder et al., "Lipid-based nanotherapeutics for siRNA delivery," *J. Int. Med.* 267, 9-21, 2010

Sharma & Allison, "Immune Checkpoint Targeting in Cancer Therapy: Toward Combination Strategies with Curative Potential," *Cell* 161, 205-14, 2015

Shindo et al., "Combination Immunotherapy with 4-1BB Activation and PD-1 Blockade Enhances Antitumor Efficacy in a Mouse Model of Subcutaneous Tumor," *Anticancer Res.* 35, 129-36, 2015 20

Shrimali et al., "Concurrent PD-1 Blockade Negates the Effects of OX40 Agonist Antibody in Combination Immunotherapy through Inducing T-cell Apoptosis," *Cancer Immunol Res* 5(9), pages OF1-12, August 28, 2017

Skalniak et al., "Small-molecule inhibitors of PD-1/PD-L1 immune checkpoint alleviate the PD-L1-induced exhaustion of T-cells," *Oncotarget*, Advance Publications, August 7, 2017, 15 pages

Smith, "Pigmented skin lesions lightened during melanoma immunotherapy," <http://www.mdedge.com/edermatologynews/article/132598/melanoma/pigmented-skin-lesions-lightened-during-melanoma>, March 2, 2017 30

Soutschek et al., "Therapeutic silencing of an endogenous gene by systemic administration of modified siRNAs," *Nature.* 2004;432:173 - 78

Spodzieja et al., "Design of short peptides to block BTLA/HVEM interactions for promoting anticancer T-cell responses," *PLoS ONE* 12(6): e0179201, 17 pages, 2017

Stojdl et al., "Exploiting tumor-specific defects in the interferon pathway with a previously unknown oncolytic virus," *Nat. Med.* 6, 821-25, 2000

Stojdl et al., "VSV strains with defects in their ability to shutdown innate immunity are potent systemic anti-cancer agents," *Cancer Cell* 4, 263-75, 2003 40

Stuart & Young, *Solid Phase Peptide Synthesis*, Pierce Chemical Company, Rockford, IL, 1984

Tigue et al., "MEDI1873, a potent, stabilized hexameric agonist of human GITR with regulatory T-cell targeting potential," *ONCOIMMUNOLOGY* 6(3), e1280645 (14 pages), February 3, 2017

Triebel et al., "LAG3, a novel lymphocyte activation gene closely related to CD4," *J. Exp. Med.* 171, 1393-405, 1990

Tsutsumi et al., "Evaluation of polyamidoamine dendrimer/alpha-cyclodextrin conjugate (generation 3, G3) as a novel carrier for small interfering RNA (siRNA)," *J. Control. Release* 119, 349-59, 2007 50

- Tuck, "Development of Small Molecule Checkpoint Inhibitors," Immune Checkpoint Inhibitors Symposium, 28 pages, March 14-16, 2017
- Tzeng et al., "Cystamine-terminated poly(beta-amino ester)s for siRNA delivery to human mesenchymal stem cells and enhancement of osteogenic differentiation," *Biomaterials* 33, 8142-51, 2012
- Tzeng et al., "PD-1 blockage reverses immune dysfunction and hepatitis B viral persistence in a mouse animal model," *PLoS One* 7(6):e39179, 2012
- Van Dessel et al., "Potent and tumor specific: arming bacteria with therapeutic proteins," *Ther. Deliv.* 6, 385-99, 2015
- Vonderheide and Glennie, "Agonistic CD40 antibodies and cancer therapy," *Clin. Cancer Res.* 19, 1035-43, 2013 10
- Vonderheide et al., "Clinical activity and immune modulation in cancer patients treated with CP-870,893, a novel CD40 agonist monoclonal antibody," *J Clin Oncol.* 25, 876 - 83, 2007
- Wang et al., "Anaplastic lymphoma kinase (ALK) inhibitors: a review of design and discovery," *Med. Chem. Commun.* 5, 1266-79, 2014
- Wang et al., "VISTA, a novel mouse Ig superfamily ligand that negatively regulates T cell responses," *J. Exp. Med.* 208, 577-92, 2011
- Wang et al., "Fibrinogen-like Protein 1 is a Major Immune Inhibitory Ligand of LAG-3," *Cell* 176, 334-47, 2019 20
- Wittrup & Lieberman, "Knocking down disease: a progress report on siRNA therapeutics," *Nat Rev Genet.* 2015;16:543 - 52
- Won et al., "Missing pieces in understanding the intracellular trafficking of polycation/DNA complexes," *J. Control. Release* 139, 88-93, 2009
- Workman et al., "LAG-3 regulates plasmacytoid dendritic cell homeostasis," *Journal of Immunology* 182 (4): 1885 - 91, 2009
- Xia et al., "Antibody-mediated targeting of siRNA via the human insulin receptor using avidin - biotin technology.," *Mol. Pharm.* 6, 747-51, 2009
- Yang et al., "Oral vaccination with salmonella simultaneously expressing Yersinia pestis F1 and V antigens protects against bubonic and pneumonic plague," *J Immunol.* 178, 1059-67, 2007 30
- Ye et al., "T-cell exhaustion in chronic hepatitis B infection: current knowledge and clinical significance," *Cell Death Dis.* 19, e1694, 2015
- Young et al., "Co-inhibition of CD73 and A2AR Adenosine Signaling Improves Anti-tumor Immune Responses," *Cancer Cell* 30, 391-403, 2016
- Yu et al., "Disposition and pharmacology of a GalNAc3-conjugated ASO targeting human lipoprotein(a) in mice," *Mol. Ther. Nucleic Acids* 5, e317, 2016
- Zarganes-Tzitzikas et al., "Inhibitors of programmed cell death 1 (PD-1): a patent review," *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 26, 973-77, published on-line July 6, 2016 40
- Zhan et al., "From monoclonal antibodies to small molecules: the development of inhibitors targeting the PD-1/PD-L1 pathway," *Drug Discovery Today* 21, 1027-36, June 2016
- Zorzi et al., "Acylated heptapeptide binds albumin with high affinity and application as tag furnishes long-acting peptides," *Nature Communications* 8, 16092, 2017

【図面】

【図 1 A】

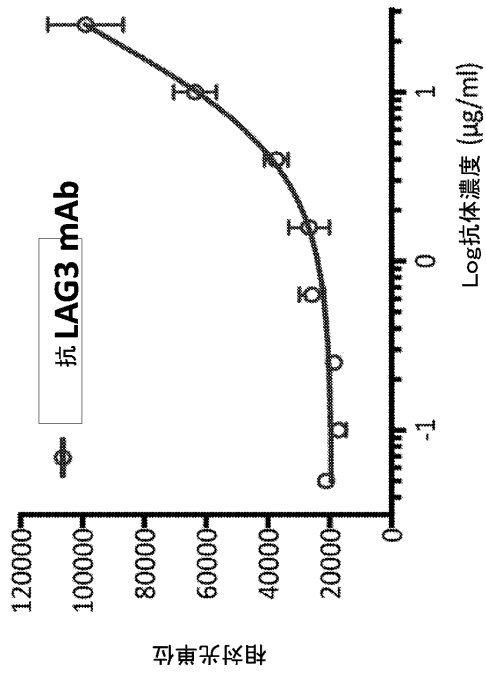


FIG. 1A

【図 1 B】

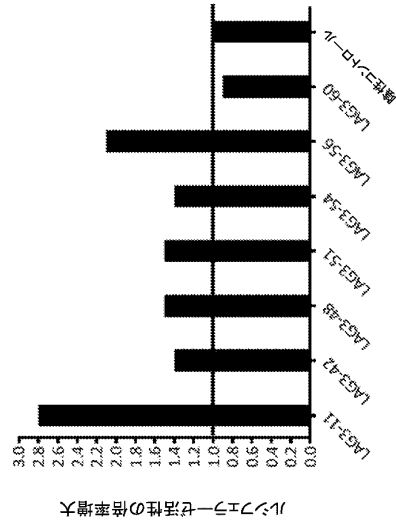


FIG. 1B

【図 2 A】

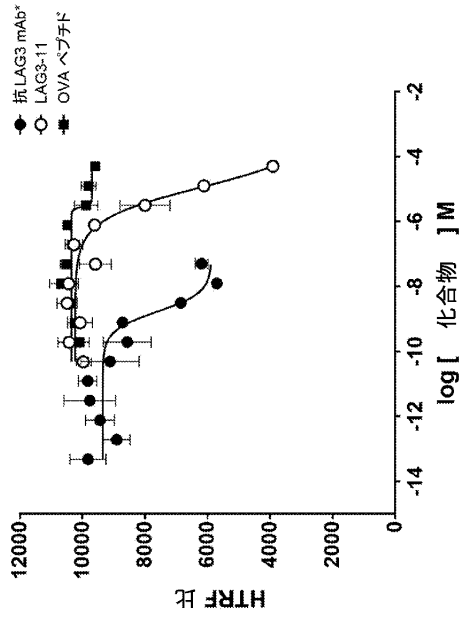


FIG. 2A

【図 2 B】

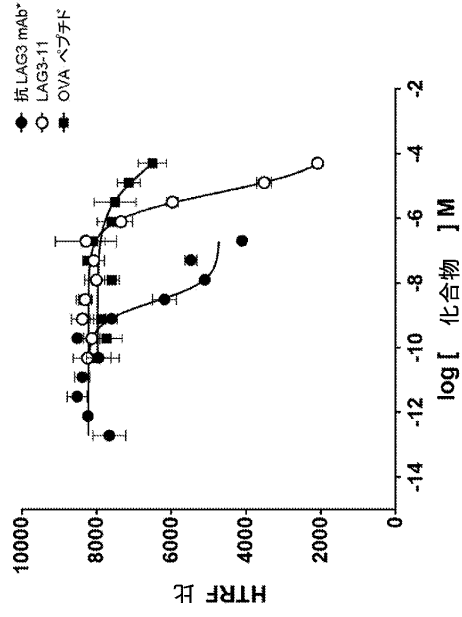


FIG. 2B

10

20

30

40

50

【 図 2 C 】

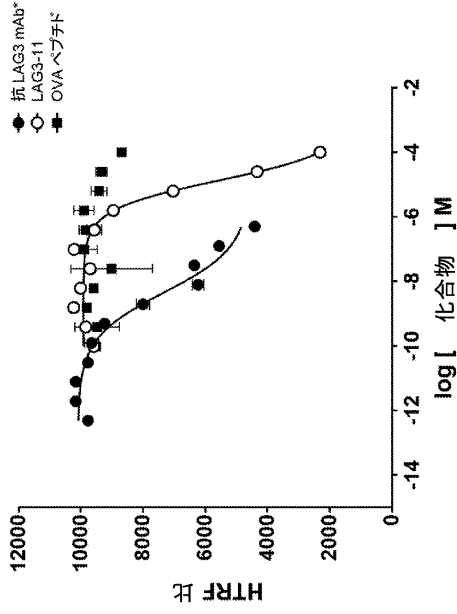


FIG. 2C

【 図 2 D 】

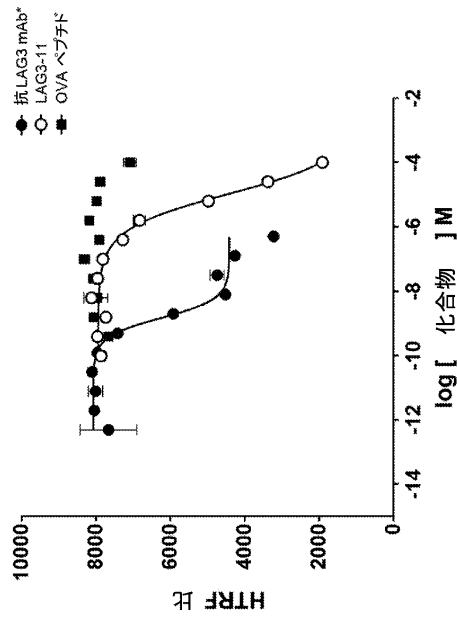


FIG. 2D

【 図 3 】

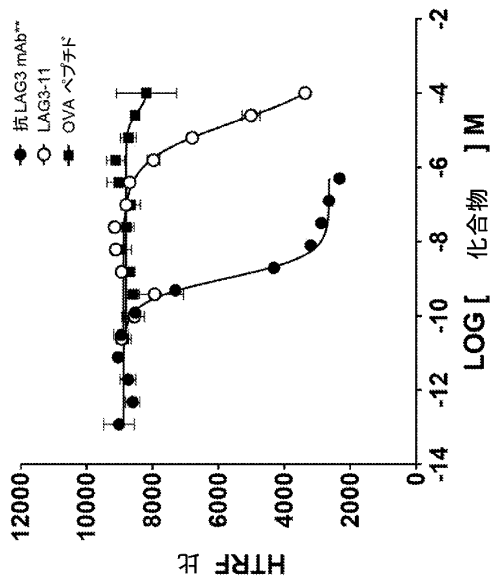


FIG. 3

【 図 4 】

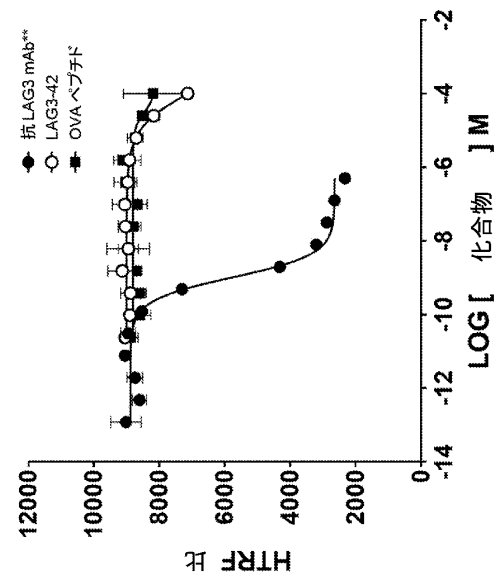


FIG. 4

10

20

30

40

50

【 図 5 】

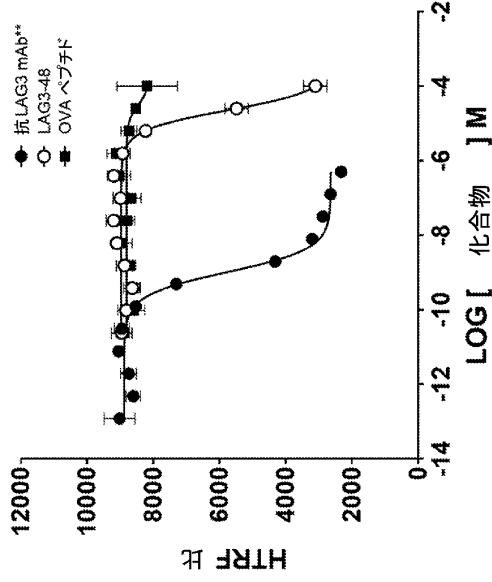


FIG. 5

【 図 6 】

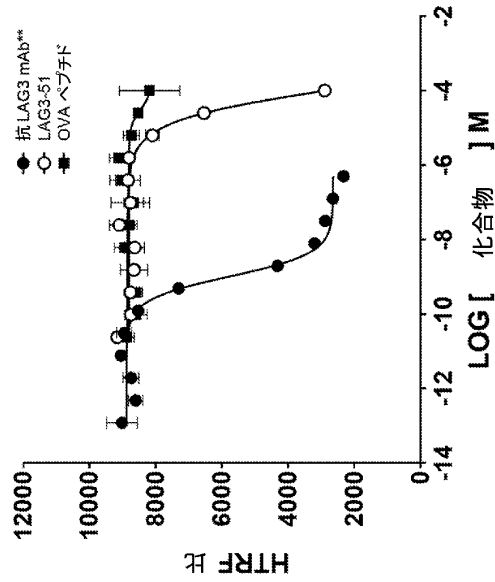


FIG. 6

【 図 7 】

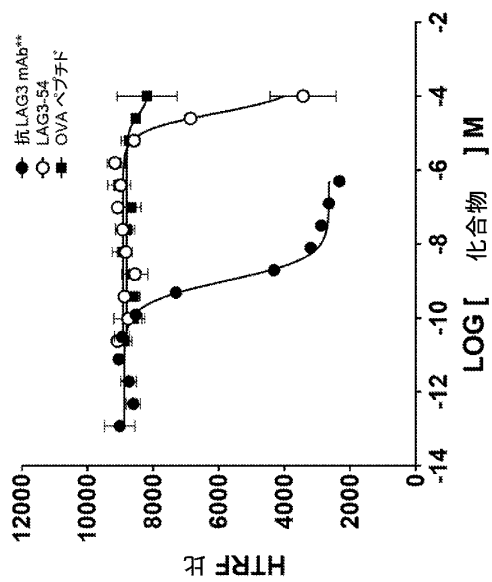


FIG. 7

【 図 8 】

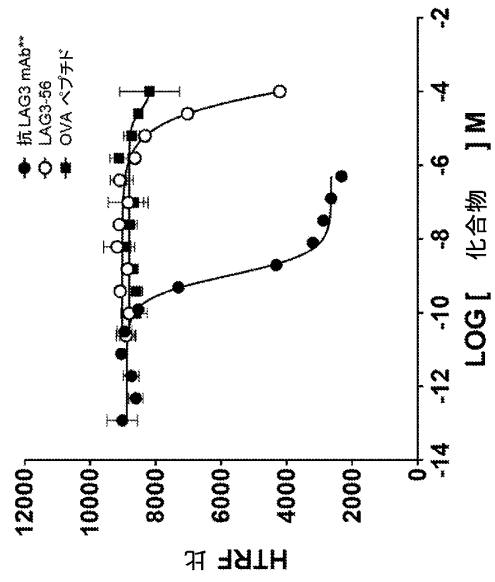


FIG. 8

10

20

30

40

50

【 図 9 】

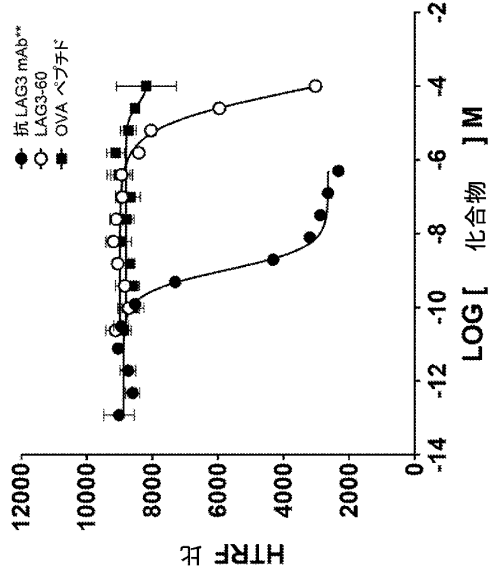


FIG. 9

【 図 10 】

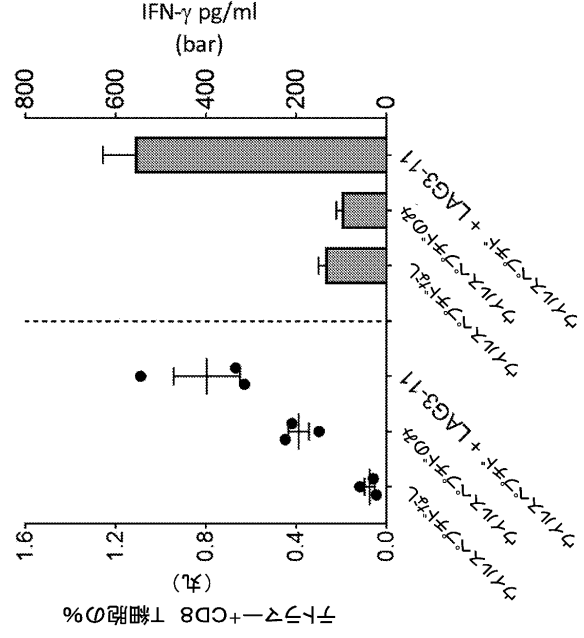


FIG. 10

【 図 11 】

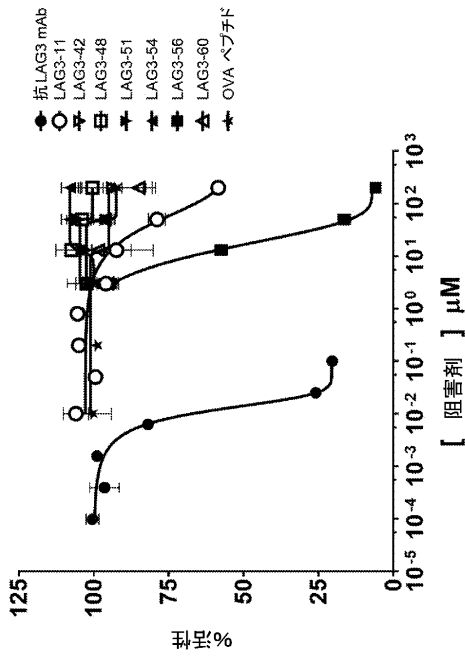


FIG. 11

10

20

30

40

50

【配列表】

0007606471000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 1 2 N 7/01 (2006.01)
 C 1 2 N 5/0783(2010.01)
 A 6 1 K 48/00 (2006.01)
 A 6 1 P 25/00 (2006.01)
 A 6 1 P 25/16 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 K 38/10 (2006.01)
 A 6 1 K 35/768(2015.01)
 A 6 1 K 35/17 (2015.01)
 A 6 1 K 45/00 (2006.01)
 A 6 1 P 31/00 (2006.01)
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)

F I

C 1 2 N 7/01
 C 1 2 N 5/0783
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 25/16
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 K 38/10
 A 6 1 K 35/768
 A 6 1 K 35/17
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 P 31/00
 A 6 1 P 43/00 1 2 1

- (72)発明者 グティエレス, ガブリエル エム.
 アメリカ合衆国 バージニア 20190, レストン, フリーダム ドライブ 11951, レイ
 ドス, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 コトラリア, ヴィナヤカ
 アメリカ合衆国 バージニア 20190, レストン, フリーダム ドライブ 11951, レイ
 ドス, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 ファレス, ティモシー ダブリュー.
 アメリカ合衆国 バージニア 20190, レストン, フリーダム ドライブ 11951, レイ
 ドス, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 バヌッチ, ジェイムズ
 アメリカ合衆国 バージニア 20190, レストン, フリーダム ドライブ 11951, レイ
 ドス, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 マンスール, マーク
 アメリカ合衆国 バージニア 20190, レストン, フリーダム ドライブ 11951, レイ
 ドス, インコーポレイテッド 気付

審査官 福澤 洋光

- (56)参考文献 中国特許出願公開第105504018(CN, A)
 国際公開第2018/167320(WO, A1)
 特表2017-532059(JP, A)
 国際公開第2018/039147(WO, A1)
 国際公開第2018/006005(WO, A1)
 Science, 2016年, Vol.353/No.6307, aah3374 (PP.1-3)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0
 C 1 2 N 1 / 0 0 - 1 5 / 9 0
 C A p l u s / B I O S I S / M E D L I N E / E M B A S E (S T N)
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
 U n i P r o t / G e n e S e q
 P u b M e d