

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-516969

(P2018-516969A)

(43) 公表日 平成30年6月28日(2018.6.28)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A 61 K 39/395 (2006.01)	A 61 K 39/395	N 4 C 0 8 5
A 61 P 35/00 (2006.01)	A 61 K 39/395	D
A 61 P 43/00 (2006.01)	A 61 P 35/00	
A 61 P 35/02 (2006.01)	A 61 P 43/00	1 1 1
A 61 P 35/04 (2006.01)	A 61 P 35/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 72 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-564421 (P2017-564421)	(71) 出願人	391015708 ブリストル・マイヤーズ スクイブ カンパニー B R I S T O L - M Y E R S S Q U I B B C O M P A N Y アメリカ合衆国O 8 5 4 3 ニュージャージー州 プリンストン、ルート206アンド ・プロビンス・ライン・ロード
(86) (22) 出願日	平成28年6月13日 (2016. 6. 13)	(74) 代理人	100100158 弁理士 鮫島 瞳
(85) 翻訳文提出日	平成30年2月8日 (2018. 2. 8)	(74) 代理人	100123201 弁理士 富田 慎史
(86) 國際出願番号	PCT/US2016/037207	(74) 代理人	100157956 弁理士 稲井 史生
(87) 國際公開番号	W02016/201425		
(87) 國際公開日	平成28年12月15日 (2016. 12. 15)		
(31) 優先権主張番号	62/174, 931		
(32) 優先日	平成27年6月12日 (2015. 6. 12)		
(33) 優先権主張國	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 P D - 1 および C X C R 4 シグナル伝達経路の組合せ遮断による癌の処置

## (57) 【要約】

本願は、癌に罹患している対象を処置するための方法であって、治療有効量のプログラム死 - 1 ( P D - 1 ) またはプログラム死リガンド - 1 ( P D - L 1 ) に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分および C - X - C ケモカイン受容体 4 ( C X C R 4 ) または C - X - C モチーフケモカイン 12 ( C X C L 12 ) に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分の組合せを対象に投与することを含む方法を提供する。本願はまた、癌に罹患している対象を処置するためのキット、1つ以上の用量の P D - 1 または P D - L 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分、1つ以上の用量の C X C R 4 または C X C L 12 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分、および対象を処置するための該抗体またはその部分を使用するための指示書を含むキットを提供する。

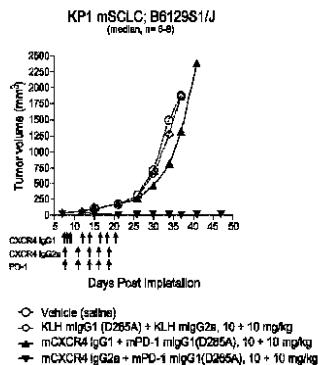


FIG. 4B

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

癌に罹患している対象を処置するための方法であって、治療有効量の、  
(a) プログラム死 - 1 (PD-1) またはプログラム死リガンド - 1 (PD-L1) に  
特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分；および  
(b) C-X-Cケモカイン受容体4 (CXCR4) またはC-X-Cモチーフケモカイ  
ン12 (CXCL12) に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分  
の組合せを対象に投与することを含む、方法。

**【請求項 2】**

PD-1に結合する抗体またはその抗原結合部分が、PD-1およびPD-L1間の相  
互作用を破壊し、PD-1 / PD-L1シグナル伝達を阻害する、請求項1に記載の方法  
。

**【請求項 3】**

PD-1に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、ヒトPD-1への結合に  
対してニボルマブと交差競合する、請求項1または2に記載の方法。

**【請求項 4】**

PD-1に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、キメラ、ヒト化またはヒ  
トモノクローナル抗体またはその部分である、請求項1-3のいずれかに記載の方法。

**【請求項 5】**

PD-1に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、ヒトIgG1またはIg  
G4アイソタイプの重鎖定常領域を含む、請求項1-4のいずれかに記載の方法。

**【請求項 6】**

PD-1に特異的に結合する抗体が、ニボルマブ(nivolumab)である、請求項1-5の  
いずれかに記載の方法。

**【請求項 7】**

PD-1に特異的に結合する抗体が、ペムブロリズマブ(pembrolizumab)である、請求  
項1-5のいずれかに記載の方法。

**【請求項 8】**

PD-L1に結合する抗体またはその抗原結合部分が、PD-1およびPD-L1間の相  
互作用を破壊し、PD-1 / PD-L1シグナル伝達を阻害する、請求項1に記載の方法。

**【請求項 9】**

PD-L1に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、ヒトPD-L1への結合に  
対してBMS-936559と指定された抗体と交差競合する、請求項1または8に記載の方法。

**【請求項 10】**

PD-L1に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、キメラ、ヒト化またはヒ  
トモノクローナル抗体またはその部分である、請求項1、8および9のいずれかに記載  
の方法。

**【請求項 11】**

PD-L1に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、ヒトIgG1またはIg  
G4アイソタイプの重鎖定常領域を含む、請求項1および8-10のいずれかに記載の  
方法。

**【請求項 12】**

PD-1に特異的に結合する抗体が、BMS-936559と指定された抗体である、  
請求項1および8-11のいずれかに記載の方法。

**【請求項 13】**

PD-L1に特異的に結合する抗体が、アテゾリズマブ(atezolizumab)、デュルバルマ  
ブ(durvalumab)、アベルマブ(avelumab)、またはS T I - A 1 0 1 4と指定された抗体で  
ある、請求項1および8-11のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

**【請求項 1 4】**

C X C R 4 に結合する抗体またはその抗原結合部分が、C X C R 4 および C X C L 1 2 間の相互作用を破壊し、C X C R 4 / C X C L 1 2 シグナル伝達を阻害する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 1 5】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、ヒト C X C R 4 への結合に対してウロクプルマブ(ulocoplumab)と交差競合する、請求項 1 または 1 4 に記載の方法。

**【請求項 1 6】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、キメラ、ヒト化またはヒトモノクローナル抗体またはその部分である、請求項 1、1 4 および 1 5 のいずれかに記載の方法。 10

**【請求項 1 7】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 アイソタイプの重鎖定常領域を含む、請求項 1 および 1 4 - 1 6 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 1 8】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、ヒト I g G 1 アイソタイプの重鎖定常領域を含む、請求項 1 7 に記載の方法。

**【請求項 1 9】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、ヒト I g G 3 アイソタイプの重鎖定常領域を含む、請求項 1 7 に記載の方法。 20

**【請求項 2 0】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体が、ウロクプルマブである、請求項 1 および 1 4 - 1 7 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 2 1】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体が、ウロクプルマブのヒト I g G 1 変異体である、請求項 1 および 1 4 - 1 7 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 2 2】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体が、ウロクプルマブのヒト I g G 3 変異体である、請求項 1 および 1 4 - 1 7 のいずれかに記載の方法。 30

**【請求項 2 3】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体が、c 4 1 4 H 5、c 5 1 5 H 7、A n t i b o d y I、6 C 7、および h 3 G 1 0 . A 5 7 . A 5 8 と指定された抗体から選択される、請求項 1 および 1 4 - 1 7 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 2 4】**

C X C L 1 2 に結合する抗体またはその抗原結合部分が、C X C R 4 および C X C L 1 2 間の相互作用を破壊し、C X C R 4 / C X C L 1 2 シグナル伝達を阻害する、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 2 5】**

C X C L 1 2 に結合する抗 - C X C L 1 2 抗体またはその抗原結合部分が、2 A 5 と指定された抗体または 1 H 2 と指定された抗体と同じ C X C L 1 2 a のエピトープ領域に結合する、請求項 1 または 2 4 に記載の方法。 40

**【請求項 2 6】**

C X C L 1 2 に結合する抗体またはその抗原結合部分が、キメラ、ヒト化またはヒトモノクローナル抗体またはその部分である、請求項 1、2 4 および 2 5 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 2 7】**

C X C L 1 2 に結合する抗体またはその抗原結合部分が、ヒト I g G 1 または I g G 4 アイソタイプの重鎖定常領域を含む、請求項 1 および 2 4 - 2 6 のいずれかに記載の方法

。

【請求項 2 8】

C X C L 1 2 に結合する抗体が、 2 A 5 と指定された抗体である、 請求項 1 および 2 4 - 2 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 2 9】

C X C L 1 2 に結合する抗体が、 1 H 2 と指定された抗体である、 請求項 1 および 2 4 - 2 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 3 0】

癌が、 固形腫瘍である、 請求項 1 - 2 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 3 1】

固形腫瘍が、 脾臓癌 ( P A C ) 、 小細胞肺癌 ( S C L C ) または肝細胞癌腫 ( H C C ) である、 請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

固形腫瘍が、 扁平上皮癌、 非小細胞性肺癌、 扁平上皮非小細胞性肺癌 ( N S C L C ) 、 非扁平上皮 N S C L C 、 神経膠腫、 消化器癌、 腎臓癌、 卵巣癌、 肝臓癌、 結腸直腸癌、 子宮内膜癌、 腎臓癌、 前立腺癌、 甲状腺癌、 神経芽腫、 グリア芽腫、 胃癌、 膀胱癌、 肝臓癌、 乳癌、 大腸癌腫、 頭頸部癌、 胃癌、 胚細胞腫瘍、 小児肉腫、 副鼻腔ナチュラルキラー、 黒色腫、 皮膚癌、 骨癌、 子宮頸癌、 子宮癌、 卵管の癌腫、 子宮内膜の癌腫、 頸部の癌腫、 腹の癌腫、 外陰の癌腫、 肛門領域の癌、 精巣癌、 食道癌、 小腸の癌、 内分泌系の癌、 副甲状腺の癌、 副腎の癌、 軟組織の肉腫、 尿道の癌、 尿管の癌、 陰茎の癌、 腎孟の癌腫、 中枢神経系 ( C N S ) の新生物、 原発性 C N S リンパ腫、 腫瘍の血管形成、 脊髄の腫瘍、 脳の癌、 脳幹神経膠腫、 下垂体腺腫、 カポジ肉腫、 類表皮癌、 扁平上皮癌、 小児固形腫瘍、 環境誘発性の癌、 ウィルス関連の癌、 およびウィルス起源の癌から選択される癌である、 請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 3】

癌が、 血液悪性腫瘍である、 請求項 1 - 2 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 3 4】

血液悪性腫瘍が、 急性リンパ芽球性白血病 ( A L L ) 、 急性骨髓性白血病 ( A M L ) 、 慢性リンパ性白血病 ( C L L ) 、 慢性骨髓性白血病 ( C M L ) 、 ホジキンリンパ腫 ( H L ) 、 非ホジキンリンパ腫 ( N H L ) 、 多発性骨髓腫、 くすぶり型骨髓腫、 意義不明の単クローニングガンマグロブリン血症 ( M G U S ) 、 進行性、 転移性、 難治性および / または再発性血液悪性腫瘍、 および該血液悪性腫瘍の任意の組合せから選択される、 請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

P D - 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、 2 、 3 または 4 週毎に 1 回、 約 0 . 1 から約 2 0 . 0 m g / k g 体重の範囲である用量で投与される、 請求項 1 - 3 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 3 6】

P D - 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、 2 または 3 週毎に 1 回、 約 2 または約 3 m g / k g 体重の用量で投与される、 請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

P D - L 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、 2 、 3 または 4 週毎に 1 回、 約 0 . 1 から約 2 0 . 0 m g / k g 体重の範囲である用量で投与される、 請求項 1 - 3 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 3 8】

P D - L 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、 2 または 3 週毎に 1 回、 約 3 、 約 1 0 または約 1 5 m g / k g 体重の用量で投与される、 請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、 1 週または 2 週毎に 1

10

20

30

40

50

回、約 100 から約 2000 mg の均一用量で投与される、請求項 1 - 38 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 40】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、1週毎に1回、約 200、約 400、約 800、または約 1600 mg の均一用量で投与される、請求項 39 に記載の方法。

**【請求項 41】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、1週毎に1回、約 200 または約 400 mg の均一用量で投与される、請求項 40 に記載の方法。

**【請求項 42】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、2週毎に1回、約 800 または約 1600 mg の均一用量で投与される、請求項 39 に記載の方法。

**【請求項 43】**

C X C L 12 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、1週毎に1回、約 100 から約 2000 mg の均一用量で投与される、請求項 1 - 38 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 44】**

C X C L 12 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、1週毎に1回、約 200、約 400、約 800、または約 1600 mg の均一用量で投与される、請求項 43 に記載の方法。

**【請求項 45】**

C X C L 12 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、2週毎に1回、約 1600 mg の均一用量で投与される、請求項 43 に記載の方法。

**【請求項 46】**

C X C L 12 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、2、3 または 4 週毎に1回、約 0.1 から約 20.0 mg / kg 体重の範囲である用量で投与される、請求項 1 - 38 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 47】**

C X C L 12 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、2 または 3 週毎に1回、約 3 または約 10 mg / kg 体重の用量で投与される、請求項 46 に記載の方法。

**【請求項 48】**

(a) P D - 1 に特異的に結合し、P D - 1 / P D - L 1 シグナル伝達を阻害する抗体またはその抗原結合部分、ここで、抗 P D - 1 抗体またはその部分が、2 または 3 週毎に1回、約 2 または約 3 mg / kg 体重の用量で投与される；および

(b) C X C R 4 に特異的に結合し、C X C R 4 / C X C L 12 シグナル伝達を阻害する抗体またはその抗原結合部分、ここで、抗 - C X C R 4 抗体またはその部分が、1 週毎に1回、約 200、約 400 または約 800 mg の均一用量で投与される  
の組合せを対象に投与することを含む、請求項 1 - 34 のいずれかに記載の方法。

**【請求項 49】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体が、エフェクター機能を媒介する Fc 領域を含む抗体である、請求項 48 に記載の方法。

**【請求項 50】**

エフェクター機能が、抗体依存性細胞毒性 (ADCC)、抗体依存性細胞食作用 (ADCP) および / または補体依存性細胞毒性 (CDC) を含む、請求項 49 に記載の方法。

**【請求項 51】**

P D - 1 に特異的に結合する抗体が、2 週毎に1回、約 3 mg / kg 体重の用量で投与されるニボルマブであり、C X C R 4 に特異的に結合する抗体が、1 週毎に1回、約 200 から約 800 mg の均一用量で投与されるウロクブルマブである、請求項 48 に記載の方法。

**【請求項 52】**

10

20

30

40

50

P D - 1 に特異的に結合する抗体が、3週毎に1回、約 2 m g / k g 体重の用量で投与されるペムブロリズマブであり、C X C R 4 に特異的に結合する抗体が、1週毎に1回、約 2 0 0 から約 8 0 0 m g の均一用量で投与されるウロクプルマブである、請求項 4 8 に記載の方法。

**【請求項 5 3】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体が、ウロクプルマブのヒト I g G 1 変異体である、請求項 5 1 または 5 2 に記載の方法。

**【請求項 5 4】**

C X C R 4 に特異的に結合する抗体が、ウロクプルマブのヒト I g G 3 変異体である、請求項 5 1 または 5 2 に記載の方法。

10

**【請求項 5 5】**

P D - 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分および C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、静脈内投与のために製剤化される、請求項 4 8 に記載の方法。

**【請求項 5 6】**

P D - 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分および C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、連続して対象に投与される、請求項 4 8 に記載の方法。

20

**【請求項 5 7】**

P D - 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分および C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、互いに 3 0 分以内に投与される、請求項 5 6 に記載の方法。

**【請求項 5 8】**

( a ) C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分の前に、P D - 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が投与されるか；または  
 ( b ) P D - 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分の前に、C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が投与される  
 請求項 5 6 に記載の方法。

**【請求項 5 9】**

P D - 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分および C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、別々の組成物において同時に投与される、請求項 4 8 に記載の方法。

30

**【請求項 6 0】**

P D - 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分および C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、同時投与のために単一の組成物として混合される、請求項 4 8 に記載の方法。

**【請求項 6 1】**

P D - 1 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分および / または C X C R 4 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分が、治療量以下の用量で投与される、請求項 4 8 に記載の方法。

40

**【請求項 6 2】**

( a ) プログラム死 - 1 ( P D - 1 ) またはプログラム死リガンド - 1 ( P D - L 1 ) に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分；および  
 ( b ) C - X - C ケモカイン受容体 4 ( C X C R 4 ) または C - X - C モチーフケモカイン 1 2 ( C X C L 1 2 ) に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分  
 の組合せを対象に投与することを含む癌に罹患している対象を処置するための方法であつて、少なくとも 1 つの抗体またはその部分が、治療量以下の用量で投与され、治療量以下の用量（单数）または用量（複数）が、対象における有害事象を低下させる、方法。

**【請求項 6 3】**

( a ) プログラム死 - 1 ( P D - 1 ) またはプログラム死リガンド - 1 ( P D - L 1 )

50

に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分；および

(b) C-X-Cケモカイン受容体4(CXCR4)またはC-X-Cモチーフケモカイン12(CXCL12)に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分

の組合せを対象に投与することを含む癌に対する処置を受けている対象における有害事象を低下させるための方法であって、少なくとも1つの抗体またはその部分が、治療量以下の用量で投与される、方法。

【請求項64】

抗体の組合せの投与が、臨床的利益が観察される限り、または管理し難い毒性または疾患進行が起こるまで、継続される、請求項1-63のいずれかに記載の方法。

【請求項65】

対象が、ヒトである、請求項1-64のいずれかに記載の方法。

【請求項66】

癌に罹患している対象を処置するためのキットであって、

(a) 約0.1から約20mg/kg体重の範囲である1つ以上の用量のPD-1またはPD-L1に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分；

(b) 約200から約1600mgの範囲である1つ以上の用量のCXCR4またはCXCL12に特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分；および

(c) 請求項1-34のいずれかに記載の方法において、PD-1またはPD-L1に特異的に結合する抗体またはその部分およびCXCR4またはCXCL12に特異的に結合する抗体またはその部分を使用するための指示書

を含む、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願を通じて、種々の文献が、括弧書きで著者名および日付によって、または特許番号または特許公報番号によって引用される。これらの文献の全引用は、特許請求の範囲の直前の明細書の最後に見出すことができる。これらの文献の開示は、本願に記載されている、および本願に請求されている本願発明の日付の時点で、当業者に知られている最先端をより完全に記載するために、出典明示により本願明細書にそれらの全体を包含させる。しかしながら、出典の引用は、かかる出典が本願発明の先行技術である認識として解釈されるべきではない。

【0002】

関連出願に対する相互参照

本願は、35 U.S.C. § 119(e)の下に、2015年6月12日に出願された米国仮出願第62/174,931号について優先権を有し、その全体が本願明細書に包含される。

【0003】

技術分野

本願発明は、プログラム死-1(PD-1)/プログラム死リガンド-1(PD-L1)シグナル伝達経路を遮断する抗体およびC-X-Cケモカイン受容体4(CXCR4)/C-X-Cモチーフケモカイン12(CXCL12)シグナル伝達経路を遮断する抗体の組合せを対象に投与することを含む対象において癌を処置するための方法に関する。

【背景技術】

【0004】

発明の背景

ヒトの癌は、免疫系によって認識できる可能性のある新抗原を産生する多数のジェネティックおよびエピジェネティックな変化を有する(Sjoblom et al., 2006)。TおよびBリンパ球で構成される適応免疫系は、種々の腫瘍抗原に応答する広範な能力および精巧な特異性で強力な抗癌力を有する。さらに、免疫系は、かなりの可塑性および記憶成分を示す。適応免疫系のこれらの全ての特性の上手な利用は、全ての癌処置様式の中で、免疫

10

20

30

40

50

療法をユニークにさせる。

【0005】

最近まで、癌免疫療法は、活性化エフェクター細胞の養子免疫伝達、関連抗原に対する免疫化、またはサイトカインのような非特異的免疫刺激剤を提供することによって、抗腫瘍免疫応答を増強するアプローチに対して実質的な努力を集中させていた。しかしながら、過去10年間に、特異的な免疫チェックポイント経路インヒビターを開発するための徹底した努力により、進行性黒色腫を有する患者の処置のための細胞毒性Tリンパ球抗原-4 (CTLA-4) に結合し、阻害する抗体 (Ab) であるイピリムマブ (YERVOY (登録商標)) の開発 (Hodi et al., 2010)、および、活性化TおよびBリンパ球によって発現される細胞表面の負の調節分子であるPD-1受容体に特異的に結合し、阻害性PD-1/PD-1リガンド経路をブロックするAb、例えばニボルマブ (nivolumab) (OPDIVO (登録商標)) およびペムブロリズマブ (pembrolizumab) (KEYTRUDA (登録商標)) の開発を含む癌を処置するための新規な免疫治療アプローチを提供された (Topalian et al., 2012a, b; Topalian et al., 2014; Hamid et al., 2013; Hamid and Carvajal, 2013; McDermott and Atkins, 2013)。この経路はまた、BMS-936559 (PCT公開WO 2013/173223) およびアテゾリズマブ (atezolizumab) (TECENTRIQ (登録商標); Fehrenbacher et al., 2016) を含むPD-L1に特異的に結合するAbによって破壊することができる。10

【0006】

(以前にBMS-936558、MDX-1106またはONO-4538と指定され、米国特許第8,008,449号で5C4と指定された)ニボルマブは、PD-1リガンドであるPD-L1およびPD-L2との相互作用を選択的に防止し(米国特許第8,008,449号; Wang et al., 2014)、それにより(腫瘍を含む)外来および自己抗原の両方に対する抗原特異的T細胞応答の下方制御をブロックし、これらの抗原に対する免疫応答を増強する (McDermott and Atkins, 2013) 完全ヒト免疫グロブリン (Ig) G4 (S228P) モノクローナル抗体 (mAb) である。ニボルマブは、転移性黒色腫、扁平上皮非小細胞性肺癌 (NSCLC)、腎細胞癌腫 (RCC) および古典的なホジキンリンパ腫 (CHL) に対して最近承認を受けており、単剤療法として、またはイピリムマブまたは他の抗癌剤と組み合わせて、膵臓癌 (PAC)、小細胞肺癌 (SCLC)、頭頸部癌、膀胱癌および血液悪性腫瘍を含む種々の腫瘍型における有効性について現在臨床的に評価されている(例えば、Topalian et al., 2012b; WO 2013/173223; Ansell et al., 2015; および臨床試験ウェブサイト、<http://www.clinicaltrials.gov>上のNCT02309177、NCT01928394、NCT02105636、NCT02387996およびNCT02329847参照)。しかしながら、ニボルマブと他の標的療法との組合せは、応答率をさらに改善し、より高いパーセントの患者において生存を延長し得る。具体的には、例えば、ニボルマブと腫瘍を取り囲む保護的間質微小環境を標的とする治療との組合せは、活性化免疫細胞の腫瘍部位への浸潤を増強し、それにより腫瘍細胞死滅を増加させ、当該治療から利益を得ることができる患者の範囲を広げることができる。20

【0007】

(以前にBMS-936564またはMDX-1338と指定された、およびWO 2008/060367においてF7と指定された)ウロクプルマブ (ulocuplumab) は、白血球、血小板および他の非造血細胞(腫瘍間質微小環境を含む)上に発現されるCXCR4に特異的な完全ヒトIgG4 (S224P) mAbである (Balkwill, 2004)。CXCR4はまた、大多数のヒト癌において内因性リガンドであるCXCL12とともに過剰発現され、増殖、接着、転移、血管形成および生存を含む癌の病因において基本的な役割を果たす (Domanska et al., 2013; Duda et al., 2011; Balkwill, 2004; Pitt et al., 2015; Passoro et al., 2015; WO 2008/060367)。ウロクプルマブは、安全および許容プロフィールで、急性骨髓性白血病 (AML)、多発性骨髓腫 (MM)、慢性リンパ性白血病 (CLL)、濾胞性リンパ腫 (FL) およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL) を含む種々の血液悪性腫瘍を有する対象において2つのフェーズ130

10

20

30

40

50

臨床試験において評価されている。AMLおよびMMコホートからの有効性データが、示されており、標準治療へのウロクプルマブの追加についての有望な結果を示している(Becker et al., 2014; Ghobrial et al., 2014)。

#### 【0008】

証拠は、CXCL12が免疫抑制性であり得、腫瘍を取り囲む間質を支持し得、他の点では腫瘍細胞死滅をもたらす免疫メカニズムから腫瘍を保護することを示唆することが示されている(Domanska et al., 2013; Duda et al., 2011; Burger and Kipps, 2006)。PACおよびSCLCを含む多数の転移性腫瘍の難治性は、活性化リンパ球が腫瘍部位に接近することを妨げる腫瘍を取り囲む免疫抑制性環境から生じ得る。したがって、抗-CXCR4 AbでのCXCR4遮断を介する間質微小環境の破壊が免疫標的療法に対する腫瘍の感受性を増加させ、免疫細胞の腫瘍部位への浸透を可能にできるか否かを決定することは興味深い。さらに、ウロクプルマブは、CXCR4を発現する腫瘍細胞の直接的なインビトロでの細胞死滅活性が証明されているため(Kuhne et al., 2013; WO 2013/071068)、腫瘍に対する直接的な細胞毒性に関与し得る。CXCR4はまた、癌患者において免疫抑制性制御性T細胞(Treg)および骨髄由来抑制細胞(MDSC)上で過剰発現され(Wang et al., 2012; Obermajer et al., 2011; Katoh and Watanabe, 2015)、Tregおよび/またはMDSCの抗-CXCR4介在枯渇は抗腫瘍効果の増強に寄与し得る。

10

#### 【0009】

本願は、PD-1/PD-L1およびCXCR4/CXCL12シグナル伝達経路のAb介在デュアル遮断を評価する試験であって、これらの経路の組合せ阻害が標準治療によってあまり処置されない癌に対して利益をもたらすか否かを決定する試験に関する。抗-CXCR4/抗-CXCL12および抗-PD-1/抗-PD-L1の作用のメカニズムの組合せは、免疫抑制性腫瘍内微小環境およびT細胞活性化を同時に標的化し、したがって腫瘍細胞死滅を増加させるユニークな機会を提供する。

20

#### 【発明の概要】

#### 【0010】

##### 発明の概要

本願は、癌に罹患している対象を処置するための方法であって、治療有効量の、(a)PD-1またはPD-L1に特異的に結合するAbまたはその抗原結合部分；および(b)CXCR4またはCXCL2に特異的に結合するAbまたはその抗原結合部分の組合せを対象に投与することを含む、方法を提供する。1つの態様において、PD-1またはPD-L1に特異的に結合するAbは、PD-1およびPD-L1間の相互作用を破壊し、PD-1/PD-L1シグナル伝達を阻害する。他の態様において、CXCR4またはCXCL2に結合するAbは、CXCR4およびCXCL12間の相互作用を破壊し、CXCR4/CXCL12シグナル伝達を阻害する。さらなる態様において、癌は固形腫瘍、例えばPAC、SCLCまたは肝細胞癌腫(HCC)である。本願明細書に記載されている治療方法のいずれかの1つの態様において、PD-1に結合するAbは、ニボルマブまたはペムプロリズマブである。他の1つの態様において、PD-L1に特異的に結合するAbは、BMS-936559、アテゾリズマブ、デュルバルマブ(durvalumab)、STI-A1014またはアベルマブ(avelumab)である。さらに他の態様において、CXCR4に特異的に結合するAbは、ウロクプルマブ、または好ましくは、エフェクター機能を有するFc領域、例えばヒトIgG1またはヒトIgG3アイソタイプのFc領域を含むように修飾されたウロクプルマブである。さらなる態様において、CXCL2に特異的に結合するAbは、米国特許第8,496,931号において2A5と指定されたmAbである。

30

#### 【0011】

抗-CXCR4 Abと組み合わせての抗-PD-1 Abの使用を含む方法の1つの態様において、治療有効用量の抗-PD-1 Abまたはその抗原結合部分は、約2、3または4週毎に1回、静脈内注入によって投与される約0.1から約20mg/kg体重

40

50

の範囲である。1つの好ましい態様において、抗-PD-1 Abは、2または3週毎に1回、約2mg/kgまたは約3mg/kgの用量で投与される。これらの方法の他の1つの態様において、治療有効用量の抗-CXCR4 Abまたはその抗原結合部分は、静脈内注入によって1週毎に1回投与される約50から約2000mgの均一用量の範囲である。1つの好ましい態様において、抗-CXCR4 Abは、1週毎に1回、約400または約800mgの均一用量で投与される。

#### 【0012】

本願はまた、癌に罹患している対象を処置するためのキットであって、(a)約0.1から約20mg/kg体重の範囲である1つ以上の用量のPD-1またはPD-L1に特異的に結合するAbまたはその抗原結合部分；(b)約50から約2000mgの範囲である1つ以上の用量のCXCR4またはCXCL12に特異的に結合するAbまたはその抗原結合部分；および(c)PD-1またはPD-L1に特異的に結合するAbまたはその部分およびCXCR4またはCXCL12に特異的に結合するAbまたはその部分を使用するための指示書を含む、キットを提供する。

10

#### 【0013】

本願発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および限定として解釈すべきではない実施例から明らかになる。本願を通じて引用された科学論文、GenBankエントリー、特許および特許出願を含む全ての引用文献の内容は、出典明示により明白に本願明細書に包含させる。

20

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0014】

【図1】図1は、フローサイトメトリーによるマウスKp1およびKp3 SCLC細胞系におけるCXCR4発現の評価を示す。

#### 【0015】

【図2】図2は、フローサイトメトリーによるMC38マウス結腸腺癌細胞系におけるCXCR4発現の評価を示す。

#### 【0016】

【図3】図3は、フローサイトメトリーによるCD8+T細胞、Tエフェクター細胞および制御性T細胞(Treg)におけるCXCR4発現の評価を示す。

30

#### 【0017】

【図4】図4は、KP1腫瘍細胞系(p53; Rb1; p130nul1; B6129S1/J F1マウス)由来の同系内因性CXCR4を発現するマウスSCLPモデルにおいて、単独でまたは組合せて使用される抗-mCXCR4および抗-マウスPD-1 Abの腫瘍増殖に対する効果を示す。A、コントロールと比較して、单一のAbでの処置からの腫瘍容積の中央変化。B、コントロールと比較して、Abの組合せでの処置からの腫瘍容積の中央変化。ビヒクル：生理食塩水；KLH mIgG1(またはmIgG1 KLH)：マウスIgG1アイソタイプを有する抗-キーホールリンペットヘモシアニン(KLH)mAb；mIgG2a KLH：マウスIgG2aアイソタイプを有する抗-KLH mAb；mCXCR4 mIgG1(4.8)：マウスIgG1アイソタイプを有する抗-マウスCXCR4 Ab(クローン4.8)；mCXCR4 mIgG2a：

40

マウスIgG2aアイソタイプを有する抗-マウスCXCR4 Ab(クローン4.8)；mPD-1 mIgG1(または簡潔に「PD-1」)：マウスIgG1アイソタイプを有する抗-PD-1 mAb 4H2。同様の略語が、マウス腫瘍モデルにおいて抗腫瘍有効性試験に関する他の図において使用される。

#### 【0018】

【図5】図5は、Kp3腫瘍細胞系(P53; Rb1; p130nul1; B6129S1/J F1マウス)由来の同系内因性CXCR4を発現しないマウスSCLPモデルにおいて、単独でまたは組合せて使用される抗-mCXCR4 IgG2aおよび抗-マウスPD-1 Abの腫瘍増殖に対する効果を示す。A、コントロールと比較して、单一のAbでの処置からの腫瘍容積の中央変化。B、コントロールと比較して、Abの組合せでの処置からの腫瘍容積の中央変化。

50

せでの処置からの腫瘍容積の中央変化。

【0019】

【図6】図6は、MC38腫瘍細胞系(BC57BI/6マウス)由来のCXCR4を発現しないマウス大腸癌腫モデルにおいて、単独でまたは組合せて使用される抗-mCXCR4および抗マウスPD-1Abの効果を示す。A、コントロールと比較して、単一のAbでの処置からの腫瘍容積の中央変化。B、コントロールと比較して、Abの組合せでの処置からの腫瘍容積の中央変化。

【0020】

【図7】図7は、CXCR4を発現しないH22肝臓癌マウスマodelの増殖を阻害することにおける抗-mCXCR4 mIgG2aおよび抗-mPD-1 mIgG1D265Ab Abの組合せの効果を示す。A、抗-mCXCR4 プラス 抗-mPD-1での処置からの8匹の個々のマウスの腫瘍容積の変化。B、抗-mPD-1での処置からの8匹の個々のマウスの腫瘍容積の変化。C、アイソタイプコントロールの組合せでの処置からの8匹の個々のマウスの腫瘍容積の変化。D、(A)から(C)において示される処置に対する腫瘍容積の中央変化。

10

【0021】

【図8】図8は、SCLCおよびPACを有する対象において治療Abの組合せの安全性および有効性を評価するためのニボルマブと組み合わせてのウロクブルマブのフェーズ1/2試験の設計を要約する概略を示す。

20

【0022】

【図9】図9は、1週毎に1回、200mgのウロクブルマブおよび2週毎に1回、3mg/kgのニボルマブの組合せで投与される患者コホートにおいて循環CD3<sup>+</sup>細胞(T細胞)に対する受容体占有(RO)を示す。データは、循環CD3<sup>+</sup>細胞に対するウロクブルマブによる絶対%ROとして示される。灰色の水平線は中央値を示す。各ドットは対象サンプルを表す。

【発明を実施するための形態】

【0023】

発明の詳細な説明

本願発明は、対象において固体腫瘍を処置するための方法であって、抗-PD-1または抗-PDL1Abおよび抗-CXCR4または抗-CXCL12Abの組合せを対象に投与することを含む、方法に関する。

30

【0024】

用語

本願明細書がより容易に理解され得るために、特定の用語を最初に定義する。本願において使用されるとき、本願明細書において明示的に別段提供される場合を除き、以下の用語のそれぞれは、以下に説明されている意味を有する。さらなる定義は、本願中に説明されている。

【0025】

「投与」は、当業者に知られている種々の方法および送達系のいずれかを使用して、治療剤を含む組成物の対象への物理的導入を示す。治療Ab、例えば抗-PD-1および抗-CXCR4 Abの好ましい投与経路は、静脈内投与である。他の投与経路は、例えば注射または注入による、筋肉内、皮下、腹腔内、または他の非経口投与経路を含む。本願明細書において使用される「非経口投与」なるフレーズは、腸内および局所投与以外の投与様式を意味する。投与はまた、例えば、1回、複数回および/または長期間にわたって1回以上で行われ得る。

40

【0026】

「有害事象」(AE)は、試験薬を投与された臨床的研究対象におけるあらゆる新たな不都合な医学的発生または既存の医学的状態の悪化であり、この処置と因果関係を有する必要はない。したがって、AEは、試験薬に関連すると考えられるか否かにかかわらず、試験薬の使用と一時的に関連するあらゆる好ましくないおよび望ましくない徴候(例えば

50

検査所見異常)、症状、または疾患であってよい。試験薬に対する因果関係は、医師によって決定され、全ての A E を評価するために使用される。因果関係は、「関連している」(すなわち、試験薬投与および A E 間に合理的な因果関係がある)、または「関連していない」(すなわち、試験薬投与および A E 間に合理的な因果関係がない)のいずれかであってよい。「合理的な因果関係」なる用語は、因果関係を示唆があることを意味する。「有害事象を低下させる」ための方法または用量の言及は、異なる処置レジメン、例えば、抗 - P D - 1 / 抗 - P D - L 1 または抗 - C X C R 4 / 抗 - C X C L 1 2 A b での単剤療法の使用と関連する 1 つ以上の A E の発生率および / または重症度を減少させる、処置レジメン、例えば、抗 - P D - 1 / 抗 - P D - L 1 A b および抗 - C X C R 4 / 抗 - C X C L 1 2 A b の組合せを意味する。

10

#### 【0027】

「重篤な有害事象」(S A E )は、任意の用量で死に至るあらゆる不都合な医学的発生である、生命に関わる(事象の時点で対象が死亡する危険性がある事象として定義される;より深刻であった場合、死を仮説的に引き起こしたかもしれない事象を言及しない)、入院患者の入院を必要とするかまたは現在の入院の延長を引き起こす、持続的または重大な能力障害 / 無能をもたらす、先天異常 / 出生異常である、および / または重要な医学的事象である(直ちに生命に関わらないか、死または入院をもたらさないかもしれないが、適当な医学的および科学的判断に基づいて、対象を危険にさらし得るか、またはより重大な結果を防ぐために介入を必要とし得る、医学的事象として定義される)。かかる重要な医学的事象の例は、限定はしないが、アレルギー性気管支いれんに対する緊急治療室または在宅での集中治療、入院に至らない血液疾患または痙攣、および起り得る薬物性肝傷害(D I L I )を含む。

20

#### 【0028】

「抗体」(A b )は、限定はしないが、抗原に特異的に結合し、ジスルフィド結合により相互連結された少なくとも 2 つの重(H)鎖および 2 つの軽(L)鎖を含む糖タンパク質免疫グロブリンまたはその抗原結合部分を含む。それぞれの H 鎖は、重鎖可変領域(本明細書において V<sub>H</sub> と省略される)および重鎖定常領域を含む。I g G A b の重鎖定常領域は、3 つの定常ドメイン、C<sub>H</sub>1、C<sub>H</sub>2 および C<sub>H</sub>3 を含む。それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域(本明細書において V<sub>L</sub> と省略される)および軽鎖定常領域を含む。I g G

30

A b の軽鎖定常領域は 1 つの定常ドメイン、C<sub>L</sub> を含む。V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 領域は、フレームワーク領域(F R )と称されるより保存されている領域が組み入れられている相補性決定領域(C D R )と称される超可変領域にさらに分類することができる。それぞれの V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> は、以下の順番でアミノ末端からカルボキシ末端に配置されている、3 つの C D R および 4 つの F R を含む: F R 1 - C D R 1 - F R 2 - C D R 2 - F R 3 - C D R 3 - F R 4 。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。A b の定常領域は、免疫系の種々の細胞(例えば、エフェクター細胞)および古典的補体系の第 1 の成分(C 1 q)を含む、宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を介在し得る。

#### 【0029】

I g は、一般的に知られているアイソタイプのいずれか由来であってよく、限定はしないが、I g A 、分泌型 I g A 、I g G および I g M を含む。I g G サブクラスはまた、当業者によく知られており、限定はしないが、ヒト I g G 1 、I g G 2 、I g G 3 および I g G 4 を含む。「アイソタイプ」は、重鎖定常領域遺伝子によってコードされる A b クラスまたはサブクラス(例えば、I g M 、I g G 1 または I g G 4 )を示す。「抗体」なる用語は、一例として、天然および非天然 A b の両方;モノクローナルおよびポリクローナル A b ;キメラおよびヒト化 A b ;ヒトまたは非ヒト A b ;完全合成 A b ;および一本鎖 A b を含む。非ヒト A b は、ヒトにおけるその免疫原性を減少させるために、組換え方法により部分的または完全にヒト化され得る。明示的に記載されている場合を除き、文脈上他の意味を示す場合を除き、「抗体」なる用語はまた、前記免疫グロブリンのいずれかの抗原結合フラグメントまたは抗原結合部分を含み、一価および二価のフラグメントまたは

40

50

部分、および一本鎖 A b を含む。

【 0 0 3 0 】

「単離された」 A b は、異なる抗原特異性を有する他の A b を実質的に含まない A b を示す（例えば、 P D - 1 に特異的に結合する単離された A b は、 P D - 1 以外の抗原に特異的に結合する A b を実質的に含まない）。しかしながら、 P D - 1 に特異的に結合する単離された A b は、他の抗原、例えば、異なる種由来の P D - 1 分子に対する交差反応性を有し得る。さらに、単離された A b は、他の細胞物質および／または化学物質を実質的に含まないように精製され得る。

【 0 0 3 1 】

「モノクローナル」 A b ( m A b ) なる用語は、单一の分子組成の A b 分子、すなわち、一次配列が本質的に同一である A b 分子の非天然調製物を示し、特定のエピトープに対する単一の結合特異性および親和性を示す。 m A b は単離された A b の例である。 M A b は、ハイブリドーマ、組換え、トランスジェニックまたは当業者に知られている他の技術により生産され得る。

【 0 0 3 2 】

「キメラ」 A b は、可変領域がある種に由来であり、定常領域が別の種に由来である A b 、例えば、可変領域がマウス A b に由来であり、定常領域がヒト A b に由来である A b を示す。

【 0 0 3 3 】

「ヒト」 m A b ( H u M A b ) は、フレームワークおよび C D R 領域の両方がヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列由来である可変領域を有する m A b を示す。さらに、 A b が定常領域を含むとき、定常領域もまた、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に由来する。本願発明のヒト A b は、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、インビトロでのランダムまたは部位特異的突然変異誘発またはインビオでの体細胞突然変異により導入される突然変異）を含み得る。しかしながら、本願明細書において使用される「ヒト」 A b なる用語は、別の哺乳動物種、例えば、マウスの生殖細胞系列由来の C D R 配列が、ヒトフレームワーク配列上にグラフトされている A b を含むことを意図しない。「ヒト」 A b および「完全ヒト」 A b なる用語は同義的に使用される。

【 0 0 3 4 】

「ヒト化」 m A b は、非ヒト m A b の C D R ドメイン外のいくつか、ほとんど、または全てのアミノ酸がヒト免疫グロブリン由来の対応するアミノ酸で置換されている m A b を示す。 A b のヒト化形態の 1 つの態様において、 C D R ドメイン外のいくつか、ほとんど、または全てのアミノ酸は、ヒト免疫グロブリン由来のアミノ酸で置換されているが、 1 つ以上の C D R 領域内のいくつか、ほとんど、または全てのアミノ酸は変化していない。 A b が特定の抗原に結合する能力を破棄しない限り、アミノ酸のいくつかの付加、欠失、挿入、置換または修飾は許容される。「ヒト化」 A b は、元の A b と同様の抗原特異性を保持する。

【 0 0 3 5 】

「抗 - 抗原」 A b は、抗原に特異的に結合する A b を示す。例えば、抗 - P D - 1 A b は、 P D - 1 に特異的に結合する A b であり、抗 - C X C R 4 A b は、 C X C R 4 に特異的に結合する A b である。本願明細書において使用される、「抗 - P D - 1 / 抗 - P D - L 1 」 A b は、 P D - 1 / P D - L 1 シグナル伝達経路を破壊するために使用される A b であり、抗 - P D - 1 A b または抗 - P D - L 1 A b である。同様に、「抗 - C X C R 4 / 抗 - C X C L 1 2 」 A b は、 C X C R 4 / C X C L 1 2 シグナル伝達経路を破壊するために使用される A b であり、抗 - C X C R 4 A b または抗 - C X C L 1 2 A b である。

【 0 0 3 6 】

A b の「抗原結合部分」（「抗原結合フラグメント」とも称される）は、完全 A b により結合される抗原に特異的に結合する能力を保持する A b の 1 つ以上のフラグメントを示

10

20

30

40

50

す。

【0037】

「癌」は、身体における異常細胞のコントロールされない増殖により特徴付けられる種々の疾患の広範なグループを示す。制御されていない細胞分裂および増殖分裂および増殖は、隣接組織に浸潤し、リンパ系または血流を介して身体の遠隔部分に転移もし得る悪性腫瘍の形成を引き起こす。

【0038】

「C-X-Cケモカイン受容体4」(CXCR4; 例えば、LESTR、FusinまたはCD184とも当分野で知られている)は、白血球、血小板および他の非造血細胞(腫瘍間質微小環境を含む)上に発現される7回膜貫通G-タンパク質共役受容体を示す。それはまた、大多数のヒト癌において、およびTregおよびMDSC上で過剰発現される。CXCR4は、単一のリガンドであるCXCL12に結合する。本願明細書において使用される「CXCR4」なる用語は、ヒトCXCR4(hCXCR4)、hCXCR4の変異体、アイソフォームおよび種ホモログ、およびhCXCR4と少なくとも1つの共通のエピトープを有するアナログを含む。完全hCXCR4アミノ酸配列は、GENBANK(登録商標)受入番号CAA12166の下に見ることができる。

10

【0039】

「C-X-Cモチーフケモカイン12」(CXCL12; 間質細胞誘導因子1またはSDF-1としても知られている)は、CXCR4受容体に対する唯一公知のリガンドであるケモカインであるが、第2の受容体であるCXCR7(RDC1)に対するリガンドとしても役割を果たし得る。CXCL12は、リンパ球に対して強い走化性であり、CXCR4-依存性メカニズムを介して骨髄から内皮前駆細胞を補充することにより、血管形成に重要な役割を果たす。CXCL12を高度に発現する臓器、例えばリンパ節、肺、肝臓および骨へのCXCR4<sup>+</sup>腫瘍細胞の転移を指向することに関与するとも考えられる。本願明細書において使用される「CXCL12」なる用語は、ヒトCXCL12(hCXCL12)、hCXCL12の変異体、アイソフォームおよび種ホモログ、およびhCXCL12と少なくとも1つの共通のエピトープを有するアナログを含む。ヒトCXCL12は、同じ遺伝子の選択的スプライシングによって3つの形態CXCL12a、CXCL12bおよびCXCL12cで生産される。典型的なCXCL12a、CXCL12bおよびCXCL12cアイソフォームの完全アミノ酸配列は、それぞれ、GENBANK(登録商標)受託番号NP\_954637、NP\_000600およびNP\_001029058の下に見ることができる。

20

【0040】

「免疫療法」なる用語は、免疫応答を誘導、増強、抑制または修飾することを含む方法による、疾患に罹患している、または疾患に罹患する危険性を有する、または疾患の再発を有する対象の処置を示す。対象の「処置」または「療法」は、疾患と関連する症状、合併症、状態または生化学的徵候の発症、進行、発達、重症度または再発を逆転、緩和、改善、阻害、遅延または予防する目的を有する対象に対して、対象への活性剤の投与を含む実施されるあらゆる型の介入またはプロセスを示す。

30

【0041】

「プログラム死-1」(PD-1)は、インビボで以前に活性化されたT細胞上で主に発現され、2つのリガンドPD-L1およびPD-L2に結合する、CD28ファミリーに属する免疫抑制性受容体を示す。本願明細書において使用される「PD-1」なる用語は、ヒトPD-1(hPD-1)、hPD-1の変異体、アイソフォームおよび種ホモログ、およびhPD-1と少なくとも1つの共通のエピトープを有するアナログを含む。完全hPD-1アミノ酸配列は、GENBANK(登録商標)受入番号U64863の下に見ることができる。

40

【0042】

「プログラム死リガンド-1」(PD-L1)は、PD-1に対する2つの細胞表面糖タンパク質リガンドの1つ(もう1つはPD-L2)であり、PD-1に結合するとT細

50

胞活性化およびサイトカイン分泌を下方調節する。本願明細書において使用される「P D - L 1」なる用語は、ヒト P D - L 1 ( h P D - L 1 )、h P D - L 1 の変異体、アイソフォームおよび種ホモログ、および h P D - L 1 と少なくとも 1 つの共通のエピトープを有するアナログを含む。完全 h P D - L 1 配列は、G E N B A N K (登録商標) 受入番号 Q 9 N Z Q 7 の下に見ることができる。

#### 【 0 0 4 3 】

「対象」は、あらゆるヒトまたは非ヒト動物を含む。「非ヒト動物」なる用語は、限定はしないが、脊椎動物、例えば、非ヒト靈長類、ヒツジ、イヌ、および、齧歯動物、例えば、マウス、ラットおよびモルモットを含む。好ましい態様において、対象はヒトである。「対象」および「患者」なる用語は、本願明細書において互換的に使用される。

10

#### 【 0 0 4 4 】

薬物または治療剤の「治療有効量」または「治療有効用量」は、単独または別の治療剤と組み合わせて使用されるとき、疾患症状の重症度における減少、疾患症状のない期間の頻度および期間における増加、または疾患苦痛による損傷または能力障害の予防または低下により証明される、疾患の発症に対して対象を保護するか、または疾患の退縮を促進する、薬物または剤のあらゆる量である。加えて、処置に関して「有効」および「有効性」なる用語は、薬理学的有効性および生理学的安全性の両方を含む。薬理学的有効性は、薬物が患者における疾患の退縮、例えば癌の退縮を促進する能力を示す。生理学的安全性は、薬物の投与による細胞、臓器および / または生物体レベルでの許容されるレベルの毒性または他の有害な生理学的效果（副作用）を示す。治療剤の有効性は、例えば、臨床試験中でヒト対象において、ヒトにおける有効性を予測する動物モデルシステムにおいて、当業者に知られた種々の方法を使用して、または、インビトロアッセイにおいて薬剤の活性をアッセイすることにより評価することができる。

20

#### 【 0 0 4 5 】

腫瘍の処置のための一例として、治療有効量の抗癌剤は、好ましくは、未処置対象と比較して、少なくとも約 20 %、さらに好ましくは少なくとも約 40 %、よりさらに好ましくは少なくとも約 60 %、なおさらさらに好ましくは少なくとも約 80 %、細胞増殖または腫瘍増殖を阻害する。本願発明の他の好ましい態様において、腫瘍退縮は、少なくとも約 20 日間、さらに好ましくは少なくとも約 40 日間、またはよりさらに好ましくは少なくとも約 60 日間の期間、観察および持続され得る。治療効果のこれらの最終的な測定にもかかわらず、免疫治療薬物の評価はまた、「免疫関連」応答パターンを考慮に入れなければならない。

30

#### 【 0 0 4 6 】

「免疫関連」応答パターンは、癌特異的免疫応答を誘導すること、または天然の免疫プロセスを修飾することによる抗腫瘍効果を生じる免疫療法剤で処置された癌患者においてしばしば観察される臨床反応パターンを示す。この応答パターンは、従来の化学療法剤の評価において、疾患進行に分類され、薬物障害と同義である、腫瘍組織量の初期増加または新規の病変の出現に続く有益な治療効果により特徴付けられる。したがって、免疫療法剤の適切な評価は、標的疾患に対するこれらの薬剤の効果の長期モニタリングを必要とし得る。

40

#### 【 0 0 4 7 】

薬物の治療有効量は、疾患を発症するまたは疾患を再発する危険性がある対象（例えば、癌を発症する危険性がある前悪性状態を有する対象）に単独または別の治療剤と組み合わせて投与されたとき、疾患（例えば癌）の発生または再発を阻害する、薬物のあらゆる量である「予防有効量」を含む。好ましい態様において、予防有効量は、完全に疾患の発生または再発を予防する。疾患の発生または再発を「阻害」は、疾患の発生または再発の可能性を減少させる、または完全に疾患の発生または再発を予防するのいずれかを意味する。

#### 【 0 0 4 8 】

代替（例えば、「または」）の使用は、代替の 1 つ、両方またはそれらの任意の組合せ

50

のいずれかを意味すると理解されるべきである。本願明細書において使用される不定冠詞「a」または「a n」は、「1つ以上の」の任意の記載または列挙された要素を示すと理解されるべきである。

#### 【0049】

「約」なる用語は、当業者によって決定されるとき、数値、組成(composition)または数字が測定または決定される方法、すなわち測定システムの限界に部分的に依存する、特定の数値、組成または数字に対する許容される誤差範囲内である数値、組成または数字を示す。例えば、「約」は、当分野での実施ごとに1以内または1以上の標準偏差を意味することができる。あるいは、それは、プラスまたはマイナス20%の範囲、より通常プラスまたはマイナス10%の範囲を意味することができる。特定の数値、組成または数字が本願および特許請求の範囲において提供されるとき、特に明記されていない限り、「約」の意味は、特定の数値、組成または数字に対して許容される誤差の範囲内であると考えるべきである。

10

#### 【0050】

「実質的に同じ」または「本質的に同じ」なる用語は、当業者が、測定される特性の文脈において、ほとんどあるいは全く生物学的および/または統計学的有意性がないと数値、組成または数字間の差を考える、2つ以上の数値、組成または数字間の十分に高い程度の類似性を示す。測定される数値間の差は、例えば、約50%未満、好ましくは約30%未満、さらに好ましくは約10%未満であり得る。

20

#### 【0051】

本願明細書に記載されているとき、あらゆる濃度範囲、パーセンテージ範囲、比率範囲または整数範囲は、他に記載のない限り、記載の範囲内のあらゆる整数の値、および、適当なとき、その分数(例えば、整数の十分の一および百分の一)を含むと理解すべきである。

#### 【0052】

本願発明の様々な局面は、以下のサブセクションでさらに詳細に記載されている。

#### 【0053】

##### 治療方法

本願は、癌に罹患している対象を処置するための方法であって、治療有効量の、(a) P D - 1 または P D - L 1 に特異的に結合する A b またはその抗原結合部分；および(b) C X C R 4 または C X C L 2 に特異的に結合する A b またはその抗原結合部分の組合せを対象に投与することを含む、方法を提供する。本願発明の方法のいずれかの好ましい態様において、対象はヒト患者である。

30

#### 【0054】

本願は、癌に罹患している対象を処置するための方法であって、治療有効量の、(a) P D - 1 または P D - L 1 に特異的に結合する A b またはその抗原結合部分；および(b) C X C R 4 または C X C L 2 に特異的に結合する A b またはその抗原結合部分の組合せを対象に投与することを含む、方法を提供する。1つの態様において、P D - 1 または P D - L 1 に結合する A b は、P D - 1 間の相互作用を破壊し、P D - 1 / P D - L 1 シグナル伝達を阻害する。他の態様において、C X C R 4 または C X C L 2 に結合する A b は、C X C R 4 および C X C L 1 2 間の相互作用を破壊し、C X C R 4 / C X C L 1 2 シグナル伝達を阻害する。

40

#### 【0055】

本願発明の方法の1つの態様において、P D - 1 または P D - L 1 に結合する A b またはその抗原結合部分は、P D - 1 および P D - L 1 間の相互作用を破壊し、それにより P D - 1 / P D - L 1 シグナル伝達を阻害する。

#### 【0056】

他の1つの態様において、C X C R 4 または C X C L 1 2 に結合する A b またはその抗原結合部分は、C X C R 4 および C X C L 1 2 間の相互作用を破壊し、それにより C X C R 4 / C X C L 1 2 シグナル伝達を阻害する。他の態様において、免疫抑制性 T r e g o

50

よび／またはM D S C 上で発現されるC X C R 4 および腫瘍細胞上で発現されるC X L 1 2 間の相互作用の遮断は、これらの免疫抑制性細胞の腫瘍環境への輸送を減少させ、腫瘍増殖の低下を引き起こす。さらに他の態様において、C X C R 4 に特異的に結合するA b は、インビポでC X C R 4<sup>+</sup> 腫瘍細胞のアポトーシスを誘導する、および／または増殖を阻害する(WO 2013/071068に記載されている)。さらなる態様において、抗-C X C R 4 A b は、A b - 依存性細胞毒性(ADC C)、A b - 依存性細胞食作用(ADC P)および補体依存性細胞毒性(CDC)のようなエフェクター機能を媒介し(例えば、A b はヒトIgG1またはIgG3アイソトープのものである)、T reg および／またはM D S C 上のC X C R 4 に結合し、これらの免疫抑制性T reg および／またはM D S C の枯渇を媒介し、それにより抗腫瘍応答を増強する、F c 領域を含む。F c 領域によって介在されるエフェクター機能はまた、特定の変異によって増加させることができる。多数の変異は、IgGのC<sub>H</sub>2ドメインにおいて作製され、ADC C およびCDCについてのそれらの効果がインビトロで試験された。例えば、E333A またはE333S 変異は、ADC C およびCDC の両方を増加させることが報告された(Idusogie et al., 2001)。

10

## 【0057】

記載された方法における使用のために適当な抗-PD-1 および抗-PD-L1 A b

本願方法における使用のために適当な抗-PD-1 A b は、高い特異性およびアフィニティーでPD-1に結合し、PD-1へのPD-L1 および／またはPD-L2の結合をブロックし、PD-1シグナル伝達経路の免疫抑制効果を阻害するA b を含む。同様に、これらの方法における使用のために適当な抗-PD-L1 A b は、高い特異性およびアフィニティーでPD-L1に結合し、PD-1へのPD-L1の結合をブロックし、PD-1シグナル伝達経路の免疫抑制効果を阻害するA b である。本願明細書に記載されている治療方法のいずれかにおいて、抗-PD-1 または抗-PD-L1 A b はそれぞれ、PD-1受容体またはPD-L1リガンドに結合し、受容体-リガンド結合を阻害するおよびT細胞活性の阻害を逆転することにおいて全A b と同様の機能特性を示し、それにより免疫応答を上方制御する、抗原結合部分またはフラグメントを含む。

20

## 【0058】

## 抗-PD-1 A b

高親和性でPD-1に特異的に結合するMAbは、米国特許第8,008,449号に記載されている。他の抗-PD-1 mAbは、例えば、米国特許第7,488,802、8,168,757および8,354,509号、およびPCT公開第WO 2012/145493号に記載されている。米国特許第8,008,449号に記載されている抗-PD-1 mAbは、いくつかの、または全ての以下の特性：(a)表面プラズモン共鳴(Biacore)バイオセンサーシステムによって決定されるとき、約5×10<sup>-9</sup> M以下のK<sub>D</sub>でヒトPD-1に結合する；(b)ヒトCD28、CTLA-4またはICOSに実質的に結合しない；(c)混合リンパ球反応(MLR)アッセイにおいてT細胞増殖、インターフェロン- 生産およびIL-2 分泌を増加させる；(d)ヒトPD-1 およびカニクイザルPD-1に結合する；(e)PD-L1 およびPD-L2のPD-1への結合を阻害する；(f)CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> T細胞の増殖およびインターフェロン- 生産に対するT reg 細胞による阻害を放出する；(g)抗原特異的メモリー応答を刺激する；(h)A b 応答を刺激する；および(i)インビポで腫瘍細胞増殖を阻害する、を示すことが証明されている。記載された処置方法で使用できる抗-PD-1 A b は、高親和性でヒトPD-1に特異的に結合し、少なくとも5つの、および好ましくは全ての前記特性を示すmAbを含む。例えば、本願明細書に記載されている治療方法における使用のために適当な抗-PD-1 A b は、(a)表面プラズモン共鳴(Biacore)によって決定されるとき、約5×10<sup>-9</sup> から1×10<sup>-10</sup> MのK<sub>D</sub>でヒトPD-1に結合する；(b)MLRアッセイにおいてT細胞増殖、インターフェロン- 生産およびIL-2 分泌を増加させる；(c)PD-L1 およびPD-L2のPD-1への結合を阻害する；(d)CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> T細胞の増殖およびインターフェロン- 生

30

40

50

産に対する T reg による阻害を逆転させる；(e) 抗原特異的メモリー応答を刺激する；および(f) インビボで腫瘍細胞増殖を阻害する。

#### 【0059】

記載された方法で使用できる抗-PD-1 Ab はまた、ヒトPD-1に特異的に結合し、ヒトPD-1への結合に対して以下の抗-PD-1 参照Ab のいずれか 1 つと交差競合する単離されたAb を含む：ニボルマブ(5C4)、17D8、2D3、4H1、4A11、7D3 および 5F4 と指定された mAb ( 例えば、米国特許第 8,008,449 号 ; WO 2013/173223 参照 )、およびペムプロリズマブ ( 米国特許第 8,354,509 号において h409A11 と指定された )。Ab が抗原、例えば PD-1 への結合に対して交差競合する能力は、これらの Ab が、抗原の同じエピトープ領域に結合し、他の交差競合する Ab の特定のエピトープ領域への結合を立体的に妨害することを示す。これらの交差競合する Ab は、PD-1 の同じエピトープ領域に実質的に結合する理由で、参照 Ab の特性と非常に類似の機能特性を有することが予期される。抗原への結合に対して参照 Ab 、例えば、ニボルマブまたはペムプロリズマブと交差競合する Ab は、ヒトPD-1の場合、標準PD-1結合アッセイ、例えば、Biacore分析、ELISAアッセイまたはフローサイトメトリー ( 例えば、WO 2013/173223 参照 )において容易に同定することができる。

10

#### 【0060】

記載されている発明の方法で使用できる抗-PD-1 Ab はまた、上記 Ab の抗原結合部分を含む。Ab の抗原結合機能が全長 Ab のフラグメントにより実行することができることが詳細に証明されている。Ab の「抗原結合部分」なる用語内に含まれる結合フラグメントの例は、(i) VL、VH、CL および CH1 ドメインからなる一価のフラグメントである Fab フラグメント；(ii) ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結された 2 つの Fab フラグメントを含む二価フラグメントである F(ab')2 フラグメント；(iii) VH および CH1 ドメインからなる Fd フラグメント；および(iv) Ab の單一のアームの VL および VH ドメインからなる Fv フラグメントを含む。

20

#### 【0061】

酵素、例えばパパインおよびペプシンでのタンパク質分解を介して最初に得られるこれらのフラグメントは、次に、一価および多価の抗原結合フラグメントに操作されている。例えば、Fv フラグメントの 2 つのドメインの VL および VH が別々の遺伝子でコードされるが、それらは、VL および VH 領域が対となり、一本鎖可変フラグメント (scFv) として知られる一価の分子を形成する單一のタンパク質鎖として作製することを可能にする合成リンカーペプチドにより、組換え方法を使用して連結され得る。二価(divalent) または二価(bivalent) scFv ( di - scFv または bi - scFv ) は、2 つの VH および 2 つの VL 領域を含むタンデム scFv として知られる單一のペプチド鎖内で 2 つの scFv を連結することにより、操作することができる。scFv をダイマー化し、ダイアボディを生産するか、または他のマルチマーを形成するようにさせるように、2 つの可変領域に関して一緒に折り畳むためには短すぎる 10 個未満のアミノ酸のリンカーペプチドを使用して、scFv ダイマーおよびそれ以上のマルチマーも作製することができる。ダイアボディは、scFv に対する K<sub>D</sub> 値よりも最大 40 倍低い解離定数を有する、対応する scFv よりもはるかに高いアフィニティーで同種抗原に結合することが示されている。非常に短いリンカー (< 3 つのアミノ酸) は、ダイアボディよりも抗原に対してさらに高いアフィニティーを示す三価のトリアボディまたは四価のテトラボディの形成を生じた。他の変異体は、scFv - CH3 ダイマーであるミニボディ、およびより大きな scFv - FC フラグメント (scFv - CH2 - CH3 ダイマー) を含み、さらに、単離された CDR は抗原結合機能を示し得る。これらの Ab フラグメントは、当業者に知られている慣用の組換え技術を使用して操作され、該フラグメントは、無傷な Ab と同じ方法において有用性についてスクリーニングされる。Ab および関連変異体の上記タンパク質分解フラグメントおよび操作されたフラグメントの全て (さらなる詳細のために、Hollinger and Hudson, 2005; Olafsen and Wu, 2010 参照 ) は、Ab の「抗原結合部分」なる用

30

30

40

50

語内に包含されることを意図する。

**【 0 0 6 2 】**

1つの態様において、抗 - P D - 1 A b またはその抗原結合部分は、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 アイソタイプのものである重鎖定常領域を含む。1つの好ましい態様において、抗 - P D - 1 A b またはその抗原結合部分は、ヒト I g G 4 アイソタイプのものである重鎖定常領域を含む。他の態様において、抗 - P D - 1 A b またはその抗原結合部分は、ヒト I g G 1 アイソタイプのものである。他の1つの態様において、抗 - P D - 1 A b またはその抗原結合部分の I g G 4 重鎖定常領域は、I g G 1 アイソタイプ A b において対応する位置で通常見られるヒンジ領域におけるセリン残基のプロリン残基で置換される S 2 2 8 P 変異 (Kabat et al., 1991) を含む。ニボルマブに存在するこの変異は、野生型 I g G 4 A b と関連する F c 受容体を活性化させるための低い親和性を保持するが、内因性 I g G 4 A b での F a b アーム交換を妨げる (Wang et al., 2014)。さらに他の態様において、A b は、ヒトカッパまたはラムダ定常領域である軽鎖定常領域を含む。  
10

**【 0 0 6 3 】**

本願方法の他の態様において、抗 - P D - 1 A b またはその抗原結合部分は、m A b またはその抗原結合部分である。ヒト対象への投与において、抗 - P D - 1 A b は、好ましくはキメラ A b、またはさらに好ましくはヒト化またはヒト A b である。かかるキメラ、ヒト化またはヒト m A b は、例えば、米国特許第 8,008,449 号に記載されている、当分野でよく知られている方法によって製造し、単離することができる。  
20

**【 0 0 6 4 】**

抗 - P D - 1 A b の投与を含む本願明細書に記載されている治療方法のいずれかの1つの好ましい態様において、抗 - P D - 1 A b はニボルマブである。ニボルマブの V<sub>H</sub> アミノ酸配列は配列番号 1 として本願明細書において提供され、V<sub>L</sub> アミノ酸配列は配列番号 2 として本願明細書において提供される。ニボルマブの重鎖および軽鎖のアミノ酸配列は、それぞれ配列番号 3 および 4 において示される。(ニボルマブ重鎖について示される配列はコードされるカルボキシ - 末端リジン残基を含まない。このリジンは宿主細胞および培養条件に依存して様々な程度で切断され、A b 生産のために使用されるチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞系において本質的に完全に切断されるためである。同じことが、抗 - P D - L 1 m A b である B M S - 9 3 6 5 5 9、抗 - C X C R 4 m A b であるウロクプルマブ、および抗 - C X C L 1 2 m A b である 2 A 5 について本願明細書に記載されている重鎖配列に適用される。) 他の好ましい態様において、抗 - P D - 1 A b はペムブロリズマブ (米国特許第 8,354,509 号において h 4 0 9 A 1 1 ) である。他の態様において、抗 - P D - 1 A b は、米国特許第 8,008,449 号に記載されているヒト A b 1 7 D 8、2 D 3、4 H 1、4 A 1 1、7 D 3 および 5 F 4 から選択される。  
30

**【 0 0 6 5 】**

ニボルマブまたは上記抗 - P D - 1 A b のいずれかのアミノ酸配列と高度に類似または相同であり、これらの A b の機能特性を保持するアミノ酸配列を有する V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 領域を含む抗 - P D - 1 A b はまた、本願方法における使用のために適当である。例えば、適当な A b は、配列番号 1 および / または配列番号 2 に示されている配列とそれぞれ少なくとも 80% 同一性である配列を有する連続的に連結されたアミノ酸をそれぞれ含む V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 領域を含む m A b を含む。1つの態様において、V<sub>H</sub> および / または V<sub>L</sub> アミノ酸配列は、それぞれ配列番号 1 および / または配列番号 2 に示されている配列と少なくとも 85%、90%、95% または 99% 同一性を示す。本願明細書において使用されるとき、2つのアミノ酸配列間のパーセント配列同一性は、ギャップの数および各ギャップの長さを考慮して、2つの配列間の配列同一性の程度を最大化するように導入される、比較される配列の長さに対する配列で共有される同一位置の数の関数 (すなわち、% 同一性 = 同一位置の数 / 比較される位置の総数 × 100) である。配列の比較および2つの配列間の同一性パーセントの決定は、当業者によく知られている数学アルゴリズムを使用  
40

して成し遂げることができる（例えば、米国特許第8,008,449号参照）。

#### 【0066】

抗-PD-L1 Ab

抗-PD-1および抗-PD-L1が、同じシグナル伝達経路を標的とし、種々の癌において匹敵できるレベルの有効性を臨床試験にて示すことが示されているため（例えば、Brahmer et al., 2012; Topalian et al., 2012b; WO 2013/173223参照）、抗-PD-L1 Abは、本願明細書に記載されている併用療法において抗-PD-1 Abと置き換えてよい。

#### 【0067】

高親和性でPD-L1に特異的に結合するMAbは、米国特許第7,943,743号に記載されている。他の抗-PD-L1 mAbは、例えば、米国特許第8,217,149号およびPCT公開第WO 2011/066389、WO 2012/145493、WO 2013/079174およびWO 2013/181634号に記載されている。米国特許第7,943,743号に記載されている抗-PD-1 HuMAbは、1つ以上の以下の特性：(a)表面プラズモン共鳴によって決定されるとき、約 $5 \times 10^{-9}$ M以下のK<sub>D</sub>でヒトPD-L1に結合する；(b)MLRアッセイにおいてT-細胞増殖、インターフェロン- 生産およびIL-2分泌を増加させる；(c)Ab応答を刺激する；(d)PD-1へのPD-L1の結合を阻害する；および(e)T細胞エフェクター細胞および/または樹状細胞上のTregの抑制効果を逆転させる、を示すことが証明されている。本願明細書に記載されている治療方法における使用のための抗-PD-L1 Abは、高親和性でヒトPD-L1に特異的に結合し、少なくとも3つ、および好ましくは全ての前記特性を示すAbを含む。例えば、これらの方針における使用のために適当な抗-PD-L1 Abは、(a)表面プラズモン共鳴(Biacore)によって決定されるとき、約 $5 \times 10^{-9}$ から $1 \times 10^{-10}$ MのK<sub>D</sub>でヒトPD-1に結合する；(b)MLRアッセイにおいてT-細胞増殖、インターフェロン- 生産およびIL-2分泌を増加させる；(c)PD-1へのPD-L1の結合を阻害する；および(d)T細胞エフェクター細胞および/または樹状細胞上のTregの抑制効果を逆転させる。

#### 【0068】

本願方法における使用のための好ましい抗-PD-L1 Abは、BMS-936559（以前はMDX-1105；米国特許第7,943,743号において12A4と指定された）である。BMS-936559のV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>アミノ酸配列はそれぞれ配列番号5および6に示され、BMS-936559の重鎖および軽鎖の配列はそれぞれ配列番号7および8に示される。本願方法における使用のために適当な他の抗-PD-L1 Abは、それぞれ配列番号5および/または6に示されているアミノ酸配列と少なくとも80%同一であり、BMS-936559の機能特性を保持するアミノ酸配列を有するV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>領域をそれぞれ含むmAbを含む。1つの態様において、V<sub>H</sub>および/またはV<sub>L</sub>アミノ酸配列は、それぞれ配列番号5および/または6に示されている配列と少なくとも85%、90%、95%または99%同一性を示す。さらに他の適当な抗-PD-L1 Abは、アテゾリズマブ（以前はMPDL3280A；Herbst et al., 2014；米国特許第8,217,149号においてYW243.55S70と指定された）、デュルバルマブ（以前はMED14736；Segal et al., 2014；WO 2011/066389において2.14H9OPTと指定された）、STI-A1014（WO 2013/181634においてH6と指定された）、およびアベルマブ（WO 2013/079174においてA09-246-2と指定された）を含む。

#### 【0069】

記載された方法における使用のために適当な抗-PD-L1 Abはまた、ヒトPD-L1に特異的に結合し、ヒトPD-L1への結合に対して以下の参考Abのいずれか1つと交差競合する単離されたAbを含む：BMS-936559（12A4）、3G10、10A5、5F8、10H10、1B12、7H1、11E6、12B7および13G4と指定されたAb（例えば、米国特許第7,943,743号；WO 2013/173

10

20

30

40

50

223参照)、アテゾリズマブ(米国特許第8,217,149号においてYW243.55S70)、デュルバルマブ(WO 2011/066389において2.14H90PT)、STI-A1014(WO 2013/181634においてH6)、およびアルマブ(WO 2013/079174においてA09-246-2)。AbがヒトPD-L1への結合に対して参照Abと交差競合する能力は、これらのAbが、参照Abと同じPD-L1のエピトープ領域に結合し、同じPD-L1のエピトープ領域に実質的に結合する理由で、参照Abの特性と非常に類似の機能特性を有することが予期されるということを証明する。例えば、交差競合する抗-PD-L1 mAb 3G10、1B12、13G4、12A4(BMS-936559)、10A5、12B7、11E6および5F8(WO 2013/173223参照)は、類似の機能特性を有することが示され(米国特許第7,943,743号の実施例3-11)、異なるエピトープ領域に結合するmAb 10H10は(WO 2013/173223参照)異なって機能する(米国特許第7,943,743号の実施例11)。交差競合するAbは、当業者によく知られた標準PD-L1結合アッセイにおいて同定することができる。

10

20

30

40

50

## 【0070】

1つの好ましい態様において、本願方法における使用のための抗-PD-L1 Abは、mAbである。他の好ましい態様において、これらの交差競合するAbは、キメラAb、ヒト化またはヒトAbである。キメラ、ヒト化およびヒトAbは、例えば、米国特許第7,943,743号に記載されている、当分野でよく知られている方法によって製造し、単離することができる。

## 【0071】

1つの態様において、抗-PD-L1 Abまたはその抗原結合部分は、ヒトIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4アイソタイプのものである重鎖定常領域を含む。他の1つの態様において、抗-PD-L1 Abまたはその抗原結合部分は、IgG4アイソタイプのヒトIgG1のものである。さらなる態様において、抗-PD-L1 Abまたはその抗原結合部分のIgG4重鎖定常領域の配列は、S228P変異を含む。他の態様において、Abは、ヒトカッパまたはラムダ定常領域である軽鎖定常領域を含む。

## 【0072】

本願発明の抗-PD-L1 Abはまた、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fd、Fv、およびscFv、di-scFvまたはbi-scFv、およびscFv-Fcフラグメント、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、および単離されたCDRを含む、上記Abの抗原結合部分を含む。

## 【0073】

記載された方法における使用のために適当な抗-CXCR4および抗-CXCL12 Ab

記載された方法における使用のために適当な抗-CXCR4および抗-CXCL12 Abは、それぞれ高い特異性およびアフィニティーでCXCR4およびCXCL12に特異的に結合するAbである。1つの態様において、かかる抗-CXCR4 Abは、CXCR4およびCXCL12の結合をブロックし、CXCR4の活性を阻害する。他の1つの態様において、抗-CXCR4 Abは、インビポでCXCR4<sup>+</sup>腫瘍細胞のアポトーシスを誘導する、および/または増殖を阻害する。さらに他の態様において、抗-CXCR4 Abは、Tregおよび/またはMDSC上のCXCR4に結合し、ADCC、ADC-Pおよび/またはCDCメカニズムを介して、直接的なアポトーシスまたは枯渇のいずれかによってこれらの免疫抑制性細胞の破壊を媒介する。

## 【0074】

これらの方法で使用できる抗-CXCL12 Abは、高い特異性およびアフィニティーでCXCL12リガンドに結合する。抗-CXCR4と同様に、かかる抗-CXCL12 Abは、CXCR4およびCXCL12の結合をブロックし、CXCR4受容体の活性を阻害する。

## 【0075】

## 抗 - C X C R 4 A b

高親和性で C X C R 4 に特異的に結合する抗 - C X C R 4 m A b、具体的には m A b F 7 (ウロクブルマブ；以前に B M S - 9 3 6 5 6 4 および M D X - 1 3 3 8 とも指定された)、F 9、D 1 および E 2 は、W O 2 0 0 8 / 0 6 0 3 6 7 において例示されている。血液悪性腫瘍を処置するためにこれらの A b を使用する方法はまた、W O 2 0 0 8 / 0 6 0 3 6 7 および W O 2 0 1 3 / 0 7 1 0 6 8 に記載されている。他の抗 - C X C R 4 m A b は、例えば、W O 2 0 0 8 / 1 4 2 3 0 3 、W O 2 0 1 0 / 0 3 7 8 3 1 、W O 2 0 0 9 / 1 4 0 1 2 4 、W O 2 0 1 3 / 0 1 3 0 2 5 、および米国公開第 2 0 1 5 / 0 0 3 7 3 2 8 号に記載されている。

## 【 0 0 7 6 】

W O 2 0 0 8 / 0 6 0 3 6 7 に記載されている抗 - C X C R 4 m A b は、1つ以上の以下の特性：( a ) 約 1 0 0 n M 未満（例えば、約 2 0 - 8 0 n M ）の E C <sub>50</sub> で細胞の表面上のヒト C X C R 4 に結合する；( b ) 約 3 0 n M 未満（例えば、約 2 - 2 9 n M ）の E C <sub>50</sub> で C X C R 4 への C X C L 1 2 の結合を阻害する；( c ) 約 1 n M 未満（例えば、約 0 . 3 - 0 . 9 n M ）の E C <sub>50</sub> で C X C R 4 を発現する細胞において C X C L 1 2 誘導カルシウム流出を阻害する；( d ) 約 2 0 n M 未満（例えば、約 1 2 - 1 9 n M ）の E C <sub>50</sub> で C X C R 4 を発現する細胞の C X C L 1 2 誘導移動を阻害する；( e ) ヒト臍帯静脈内皮細胞による毛細血管形成を阻害する；( f ) C X C R 4 を発現する細胞においてアポトーシスを誘導する；( g ) インビボで C X C R 4<sup>+</sup> 腫瘍細胞の増殖を阻害する；( h ) インビボで C X C R 4<sup>+</sup> 腫瘍細胞増殖を阻害するおよび／または C X C R 4<sup>+</sup> 腫瘍細胞アポトーシスを誘導する；( i ) C X C R 4<sup>+</sup> 腫瘍細胞の転移を阻害する；および( j ) C X C R 4<sup>+</sup> 腫瘍を有する対象の生存時間を増加させる、を示すことが証明されている。本願発明の方法で使用できる抗 - C X C R 4 A b は、高親和性で、例えば、1 × 1 0<sup>-8</sup> M 以下の K<sub>D</sub> で、好ましくは 5 × 1 0<sup>-9</sup> M 以下の K<sub>D</sub> で、細胞表面上で発現されるヒト C X C R 4 に特異的に結合し、少なくとも 5 つの、好ましくは全ての他の前記特性を示す m A b を含む。

## 【 0 0 7 7 】

例えば、記載された処置方法における使用のために適当な抗 - C X C R 4 A b は、( a ) 表面プラズモン共鳴 ( Bi a c o r e ) によって決定されるとき、約 5 × 1 0<sup>-9</sup> から 1 × 1 0<sup>-10</sup> M の K<sub>D</sub> でヒト P D - 1 に結合する；( b ) 約 1 0 n M 未満（例えば、約 1 - 1 0 n M ）の E C <sub>50</sub> で C X C L 1 2 の C X C R 4 への結合を阻害する；( c ) C X C R 4 を発現する細胞においてアポトーシスを誘導する；( d ) インビトロで C X C R 4<sup>+</sup> 腫瘍細胞の増殖を阻害する；( e ) インビボで C X C R 4<sup>+</sup> 腫瘍細胞増殖を阻害するおよび／または C X C R 4<sup>+</sup> 腫瘍細胞アポトーシスを誘導する；および( f ) C X C R 4<sup>+</sup> 腫瘍細胞の転移を阻害する。1つの好ましい態様において、抗 - C X C R 4 A b は、A D C C 、A D C P および／または C D C を含むエフェクター機能を有し、免疫抑制性 T r e g および／または M D S C の枯渇を媒介する F c 領域（例えば、ヒト I g G 1 または I g G 3 ）を含む。これらの免疫抑制性細胞は、C X C R 4 を過剰発現することが知られている（図 3 参照）。したがって、好ましい抗 - C X C R 4 は、C D 4<sup>+</sup> C D 2 5<sup>-</sup> T 細胞の増殖およびインターフェロン - 生産に対する T r e g および／または M D S C による阻害を逆転させる。

## 【 0 0 7 8 】

本願明細書に記載されている方法における使用のための適当な抗 - C X C R 4 A b は、W O 2 0 0 8 / 0 6 0 3 6 7 において F 7 G L の V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 配列に対応する、それぞれ配列番号 9 および 1 0 に示されているアミノ酸配列を有する V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 領域を含むウロクブルマブである。（W O 2 0 0 8 / 0 6 0 3 6 7 に記載されているとおり、例示された抗 - C X C R 4 A b である F 7 、F 9 、D 1 および E 2 の V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 領域の N - 末端 ( F R 1 ) 領域は、これらの非生殖細胞系列残基が A b をコードする遺伝子が単離されたファージディスプレイライブリーアイブラリーを作製するために使用されるプライマーによってコードされたため、由來した生殖細胞系列配列と比較してアミノ酸置換を含んだ

10

20

30

40

50

。  $V_H$  および  $V_L$  領域の N - 末端領域における置換されたフレームワーク残基は、「復帰突然変異させ(back-mutated)」、生殖細胞系列配列を復元し(生殖細胞系列に関して「G L」形態と称される)、これらの「復帰突然変異させた」配列はウロクブルマブ中に含まれる。2A5重鎖および軽鎖について本願明細書に記載されている配列は、生殖細胞系列立体配置へのN - 末端 FR1領域の「復帰突然変異」を同様に反映する；米国特許第8,496,931号参照)。ウロクブルマブの完全な重鎖および軽鎖の配列は、それぞれ配列番号11および12に示されている。他の適当な抗-CXC R4 Abは、例えば、c414H5およびc515H7と指定されたAb(WO 2010/037831)、Antibody I、Antibody II、Antibody III、Antibody IV、およびAntibody Vと指定されたAb(米国特許第7,892,546号)、6C7と指定されたAb(WO 2013/013025)、およびヒト化3G10 Ab、例えば、h3G10.A57.A58、h3G10.1.91.A58Aおよびh3G10.1.91.A58Bと指定されたAb(米国公開第2015/0037328号)を含む。

10

## 【0079】

それぞれ配列番号11および/または配列番号12に示されているアミノ酸配列と少なくとも80%同一であり、ウロクブルマブの機能特性を保持するアミノ酸配列を有する  $V_H$  および  $V_L$  領域を含む関連抗-CXC R4 Abはまた、本願方法における使用のために適当である。1つの態様において、 $V_H$  および/または  $V_L$  アミノ酸配列は、それぞれ配列番号11および/または配列番号12に示されている配列と少なくとも85%、90%、95%または99%同一性を示す。

20

## 【0080】

本願明細書に記載されているマウス腫瘍モデルからのデータは、エフェクター機能を媒介するFc領域を含む抗-CXC R4 Abが、有意に増強された抗腫瘍効果を生じるように抗-PD-1 Abと相乗効果を生じることができることを示す(実施例2-5参照)。したがって、1つの好ましい態様において、記載された方法における使用のために適当な抗-CXC R4 Abは、エフェクター機能を有するFc領域(例えば、ヒトIgG1またはIgG3)を含む。例えば、ウロクブルマブのヒトIgG1f変異体の重鎖配列は配列番号13に示され、ウロクブルマブのヒトIgG3b0変異体の重鎖配列は配列番号14に示されている。これらのIgG1およびIgG3変異体の対応する軽鎖配列は、ウロクブルマブと同じ、すなわち配列番号12に示されている配列であろう。

30

## 【0081】

記載された方法で使用できるさらなる抗-CXC R4 Abは、ヒトCXC R4に特異的に結合し、ヒトCXC R4への結合に対してウロクブルマブ(F7)またはF9、D1およびE2と指定されたAbのいずれかである参照Abと交差競合するAbを含む(例えば、WO 2008/060367; WO 2013/071068参照)。これらの交差競合するAbは、CXC R4の同じエピトープ領域に実質的に結合する理由で、ウロクブルマブ、F9、D1またはE2のそれぞれの特性と非常に類似の機能特性を有することが予期される。交差競合するAbは、参照Ab、例えばウロクブルマブと交差競合する能力に基づいて、標準CXC R4結合アッセイ、例えば、Biacore分析、ELISAアッセイまたはフローサイトメトリーにおいて容易に同定することができる。

40

## 【0082】

記載された方法における使用のために適当な抗-CXC R4 Abは、好ましくはmA bである。1つの態様において、抗-CXC R4 Abまたはその抗原結合部分は、キメラ、ヒト化またはヒトモノクローナルAbまたはその部分である。ヒト対象を処置するための1つの好ましい態様において、Abはヒト化Abである。他の好ましい態様において、AbはヒトAbである。かかるキメラ、ヒト化またはヒトmA bは、当分野でよく知られている、例えば、WO 2008/060367に記載されている方法によって製造し、単離することができる。

## 【0083】

50

1つの態様において、抗 - C X C R 4 A b またはその抗原結合部分は、ヒト Ig G 1 、 Ig G 2 、 Ig G 3 または Ig G 4 アイソタイプのものである。さらなる態様において、 A b またはその抗原結合部分は、ヒト Ig G 1 または Ig G 4 アイソタイプのものである。1つの態様において、抗 - C X C R 4 A b またはその抗原結合部分の Ig G 4 重鎖定常領域は、 S 2 2 8 P 変異を含む。1つの好ましい態様において、 A b またはその抗原結合部分は、エフェクター機能を媒介する F c 領域を含む、例えば、それは、ヒト Ig G 1 またはヒト Ig G 3 アイソタイプのものであるか、またはエフェクター機能を増加させる変異（例えば、 E 3 3 3 A または E 3 3 3 S ; Idusogie et al., 2001 ）を含む。他の態様において、 A b は、ヒトカッパまたはラムダ定常領域である軽鎖定常領域を含む。

## 【 0084 】

10

記載されている発明の方法で使用できる抗 - C X C R 4 A b はまた、 F ab 、 F ( a b ' )<sub>2</sub> 、 F d 、 F v 、および s c F v 、 d i - s c F v または b i - s c F v 、および s c F v - F c フラグメント、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、および単離された C D R のような、上記 A b の抗原結合部分を含む。

## 【 0085 】

## 抗 - C X C L 1 2 A b

高親和性で C X C L 1 2 に特異的に結合する M A b は、米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号に記載されている。米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号に記載されているこれらの抗 - C X C L 1 2 m A b は、1つ以上の以下の特性：( a ) 表面プラズモン共鳴によって決定されるとき、約 1 . 3 × 1 0 <sup>-9</sup> M 以下の K <sub>D</sub> でヒト C X C L 1 2 に結合する；( b ) C X C L 1 2 の C E M (ヒト T 細胞白血病) 細胞への結合をブロックする；( c ) C E M 細胞において C X C L 1 2 誘導カルシウム流出をブロックする；( d ) C E M 細胞の C X C L 1 2 誘導移動をブロックする；および( e ) H u V E C 細胞において毛細血管形成をブロックする、を示すことが証明されている。これは、抗 - C X C L 1 2 が、いくつかの抗 - C X C R 4 の特性、例えば、 C X C L 1 2 の C X C R 4 への結合をブロックする、 C X C R 4 - 発現細胞において C X C L 1 2 誘導カルシウム流出をブロックする、および C X C R 4 - 発現細胞の C X C L 1 2 誘導移動をブロックする、を示すことを示す。しかしながら、抗 - C X C R 4 と異なって、抗 - C X C L 1 2 は、腫瘍増殖細胞を阻害しないことが示され、抗腫瘍コントロールが C X C L 1 2 / C X C R 4 軸の遮断に依存しないという結論を導いた (WO 2013 / 071068) 。対照的に、 P i t t e t a l . (2015) は、血管内皮細胞からの C x c l 1 2 欠失は、 T 細胞急性リンパ芽球性白血病 (T - A L L ) 肿瘍細胞の増殖を妨げたことを報告した。あらゆる事象において、本願明細書にて議論されているとおり、 P D - 1 および C X C R 4 シグナル伝達経路の遮断を組み合わせるための理論的根拠は、 C X C R 4 ブロッカーの抗腫瘍活性に依存しないが、 C X C R 4 / C X C L 1 2 インヒビターが活性化免疫細胞の腫瘍部位への浸透を増強する能力に多くを依存し得る (Feig et al., 2013 ; Fearon, 2014 ; WO 2015 / 01 9 2 8 4 ; Chen et al., 2015 も参照)。あらゆる特定の理論または作用機序によって拘束されることなく、本願明細書で使用できる抗 - C X C L 1 2 A b は、ヒト C X C L 1 2 に特異的に結合し、少なくとも 3 つ、および好ましくは全ての上記抗 - C X C L 1 2 m A b の特性を示す m A b を含む。本願明細書に記載されている方法における使用のための好ましい抗 - C X C L 1 2 A b は、米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号において 2 A 5 と指定された m A b である。 M A b 2 A 5 は、それぞれ配列番号 1 5 および 1 6 に示されている配列を有する連続的に連結されたアミノ酸を含む V <sub>H</sub> および V <sub>L</sub> 領域を含む（生殖細胞系列立体配置に「復帰突然変異させた」 F R 1 において 2 A 5 V <sub>H</sub> および V <sub>L</sub> 配列に対応する；米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号参照）。 m A b 2 A 5 の完全な重鎖および軽鎖の配列は、それぞれ配列番号 1 7 および 1 8 に示されている。他の使用できる A b は、米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号において 1 D 3 、 1 H 2 および 1 C 6 と指定された m A b を含む。

20

30

(2015) は、血管内皮細胞からの C x c l 1 2 欠失は、 T 細胞急性リンパ芽球性白血病 (T - A L L ) 肿瘍細胞の増殖を妨げたことを報告した。あらゆる事象において、本願明細書にて議論されているとおり、 P D - 1 および C X C R 4 シグナル伝達経路の遮断を組み合わせるための理論的根拠は、 C X C R 4 ブロッカーの抗腫瘍活性に依存しないが、 C X C R 4 / C X C L 1 2 インヒビターが活性化免疫細胞の腫瘍部位への浸透を増強する能力に多くを依存し得る (Feig et al., 2013 ; Fearon, 2014 ; WO 2015 / 01 9 2 8 4 ; Chen et al., 2015 も参照)。あらゆる特定の理論または作用機序によって拘束されることなく、本願明細書で使用できる抗 - C X C L 1 2 A b は、ヒト C X C L 1 2 に特異的に結合し、少なくとも 3 つ、および好ましくは全ての上記抗 - C X C L 1 2 m A b の特性を示す m A b を含む。本願明細書に記載されている方法における使用のための好ましい抗 - C X C L 1 2 A b は、米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号において 2 A 5 と指定された m A b である。 M A b 2 A 5 は、それぞれ配列番号 1 5 および 1 6 に示されている配列を有する連続的に連結されたアミノ酸を含む V <sub>H</sub> および V <sub>L</sub> 領域を含む（生殖細胞系列立体配置に「復帰突然変異させた」 F R 1 において 2 A 5 V <sub>H</sub> および V <sub>L</sub> 配列に対応する；米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号参照）。 m A b 2 A 5 の完全な重鎖および軽鎖の配列は、それぞれ配列番号 1 7 および 1 8 に示されている。他の使用できる A b は、米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号において 1 D 3 、 1 H 2 および 1 C 6 と指定された m A b を含む。

40

## 【 0086 】

それぞれ配列番号 1 5 および / または 1 6 に示されているアミノ酸配列と少なくとも 8

50

0 % 同一であり、2 A 5 m A b の機能特性を保持するアミノ酸配列を有する V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 領域を含む抗 - C X C L 1 2 A b はまた、本願方法における使用のために適当である。1つの態様において、V<sub>H</sub> および / または V<sub>L</sub> アミノ酸配列は、それぞれ配列番号 1 5 および / または 1 6 に示されている配列と少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 % または 9 9 % 同一性を示す。

#### 【 0 0 8 7 】

記載された方法における使用のために適當なさらなる抗 - C X C L 1 2 A b は、一方では m A b 2 A 5 および 1 C 6 、または他方では m A b 1 D 3 および 1 H 2 と、C X C L 1 2 a のモノマーまたはダイマーのいずれかの実質的に同じエピトープ領域に結合する A b を含む。m A b 1 C 6 および 2 A 5 は、2つのエピトープペプチドを認識し、1つが公知の受容体結合部位でもある N - 末端付近の領域のアミノ酸残基 7 - 1 9 であり、もう1つが残基 3 7 - 5 0 間の第3のベータストランドであるが、m A b 1 D 3 および 1 H 2 は、ヘパリン結合部位をブロックし、ヘパリンも結合する第1および第2のモノマーの残基 2 4 - 3 0 間の C X C L 1 2 a ダイマー接合面結合部位に主に結合するようである（米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号）。A r g 8 残基は、m A b 1 C 6 および 2 A 5 によるエピトープ結合において重要である。C X C L 1 2 の同じエピトープ領域に結合する A b は、それぞれ 1 C 6 / 2 A 5 および 1 D 3 / 1 2 参照 A b の特性と非常に類似の機能特性を有することが予期される。

#### 【 0 0 8 8 】

また、記載された方法における使用のために適當なものは、ヒト C X C L 1 2 に特異的に結合し、ヒト C X C L 1 2 への結合に対して 1 D 3 、 1 H 2 、 1 C 6 および 2 A 5 と指定された A b のいずれかと交差競合する A b である（米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号参照）。これらの交差競合する A b は、C X C L 1 2 の同じエピトープ領域に実質的に結合する理由で、それぞれ 1 D 3 、 1 H 2 、 1 C 6 および 2 A 5 の特性と非常に類似の機能特性を有することが予期される。かかる交差競合する抗 - C X C L 1 2 A b は、標準 C X C L 1 2 結合アッセイ、例えば、B i a c o r e 分析、E L I S A アッセイまたはフローサイトメトリー（米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号参照）において 1 D 3 、 1 H 2 、 1 C 6 または 2 A 5 と交差競合する能力に基づいて容易に同定することができる。

#### 【 0 0 8 9 】

好みしい態様において、記載された方法における使用のために適當な抗 - C X C L 1 2 A b は、m A b である。1つの態様において、これらの抗 - C X C L 1 2 A b は、キメラ A b 、好みしくはヒト化 A b 、またはさらに好みしくはヒト A b である。かかるキメラ、ヒト化またはヒト m A b は、例えば、米国特許第 8 , 4 9 6 , 9 3 1 号に記載されている、当分野でよく知られている方法によって製造し、単離することができる。

#### 【 0 0 9 0 】

1つの態様において、抗 - C X C L 1 2 A b またはその抗原結合部分は、ヒト I g G 1 、 I g G 2 、 I g G 3 または I g G 4 アイソタイプのものである重鎖定常領域を含む。他の1つの態様において、抗 - C X C L 1 2 A b またはその抗原結合部分は、I g G 4 アイソタイプのヒト I g G 1 のものである。さらなる態様において、A b またはその抗原結合部分の I g G 4 重鎖定常領域の配列は、S 2 2 8 P 変異を含む。さらに他の態様において、A b は、ヒトカッパまたはラムダ定常領域である軽鎖定常領域を含む。

#### 【 0 0 9 1 】

上記抗 - C X C L 1 2 A b の抗原結合部分はまた、例えば、F a b 、 F ( a b ' )<sub>2</sub> 、 F d 、 F v 、および s c F v 、 d i - s c F v または b i - s c F v 、および s c F v - F c フラグメント、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、および単離された C D R を使用してもよい。

#### 【 0 0 9 2 】

#### 交差競合する A b

抗原への結合に対して「交差競合する」 A b の対の能力は、第1の A b が、特定のエピトープ領域に結合する第2の A b と同じ抗原のエピトープ領域に実質的に結合し、特定の

10

20

30

40

50

エピトープ領域に結合する第2のA bの結合を低下させる、逆に、第2のA bが、エピトープ領域に結合する第1のA bと同じ抗原のエピトープ領域に実質的に結合し、エピトープ領域に結合する第1のA bの結合を低下させることを示す。したがって、例えばヒトP D - 1へのニボルマブの結合を競合的に阻害する試験A bの能力は、試験A bがニボルマブのものと同じヒトP D - 1のエピトープ領域に実質的に結合するということを証明する。

#### 【0093】

第1のA bが抗原への第2のA bの結合を少なくとも約40%低下させるとき、第1のA bは、第2のA bのものと「同じエピトープに実質的に」または「同じ決定因子に実質的に」結合すると考えられる。好ましくは、第1のA bは、抗原への第2のA bの結合を約50%以上（例えば、少なくとも約60%または少なくとも約70%）低下させる。さらに好ましい態様において、第1のA bは、抗原への第2のA bの結合を約70%以上（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または約100%）低下させる。第1および第2のA bの順番は逆転させることができる、すなわち「第2の」A bが表面に第1に結合することができ、「第1の」A bが「第2の」A bの存在下で表面とその後接觸させる。A bが固定された抗原に加えられる順番にかかわりなく、抗原への結合における競合的低下が観察されるとき、A bは「交差競合する」と考えられる。

10

#### 【0094】

交差競合するA bは、P D - 1またはC X C R 4受容体のような抗原の同じエピトープ領域に実質的に結合する理由で、類似の機能特性を有することが予期される。交差競合の程度が高いほど、機能特性はより類似している。例えば、2つの交差競合するA bは、それぞれエピトープへの他のものの結合を少なくとも約80%阻害するとき、同じ機能特性を本質的に有することが予期される。交差競合するA bが、解離定数( $K_D$ )により測定されるとき、エピトープへの結合に対して類似のアフィニティーを示すとき、この機能における類似性はより密接していると予期される。

20

#### 【0095】

交差競合する抗-抗原A bは、組み換え抗原分子または抗原分子を発現する細胞表面のいずれかを使用して、表面プラズモン共鳴(B I A c o r e(登録商標))分析、E L I S Aアッセイまたはフローサイトメトリーを含む標準抗原結合アッセイにおいて検出可能に競合する能力に基づいて、容易に同定することができる。一例として、ヒトP D - 1への結合に対してニボルマブと競合する試験A bが、(1)ヒトP D - 1が固定されるB I A c o r eチップ（または表面プラズモン共鳴分析のための適当な他の媒体）上への飽和濃度で適用されたニボルマブの結合を測定する、および(2)試験A bが以前に結合されているヒトP D - 1-被覆B I A c o r eチップ（または適当な他の媒体）へのニボルマブの結合を測定する、を含み得るか否かを同定する簡単な競合アッセイ。試験A bの存在および非存在下でのP D - 1-被覆表面へのニボルマブの結合を比較する。試験A bの存在下でニボルマブの結合における有意な（例えば、約40%以上）低下は、両方のA bが同じエピトープを実質的に認識し、K I R 2 D L 1標的への結合に対して競合することを示す。抗原への第1のA bの結合が第2のA bによって阻害されるパーセンテージは、[1 - (第2のA bの存在下で第1のA bの検出される結合) / (第2のA bの非存在下で第1のA bの検出される結合)] × 100として計算することができる。A bが交差競合するか否かを決定するために、ニボルマブの存在下でP D - 1-被覆チップへの試験A bの結合が測定されることを除いて、競合的結合アッセイは繰り返される。

30

#### 【0096】

記載された方法による処置に適している癌

癌細胞を攻撃および破壊する免疫系の実質的に無数の柔軟性を使用することに依存する免疫腫瘍学は、非常に広範囲な癌を処置するために適用できる（例えば、Callahan et al., 2016; Vick and Mahadevan, 2016; Lesokhin et al., 2015; Yao et al., 2013; Chen and Mellman, 2013; Pardoll, 2012参照）。抗-P D - 1 A bであるニボルマブは、多くの様々なタイプの癌を阻害することにおいて有効であることが示されており（例えば

40

50

、Topalian et al., 2012b ; WO 2013 / 173223 参照)、多数の 固形 および 血液学的 癌 において 臨床 試験 が 現在 行われ て いる。したがって、PD-1 / PD-L1 お び C X C R 4 / C X C L 1 2 シグナル 伝達 経路 の デュアル 遮断 を 使用する 記載された 方法 は、多種多様の 固形 および 血液腫瘍 の 両方 を 处置すること に おいて 適用できる。しかしながら、これら の方法 の 最初 の 焦点 は、有効な 治療 に 関して 大きな 満たされ ていない 要求 が 存在する 2つ の 固形腫瘍 である SCLC および PAC の 处置 のため である。

#### 【0097】

小細胞肺癌 (SCLC) における満たされ ていない 医薬的 要求

様々な タイプ の 癌 の 標準治療 が 当業者 に 周知 である。例えば、USA の 21 の 主要な 癌 センター の 提携 である 全米総合癌情報ネットワーク (NCCN) は、腫瘍学 において NCCN 標準的治療法ガイドライン を 発行 して おり (NCCN GUIDELINES (登録商標))、これは、多種多様な 癌 に対する 標準 处置 の 詳細な 最新の 情報 を 提供する (NCCN GUIDELINES (登録商標)、2015)。SCLC は 肺癌 の 新たな 症例 の 約 15% を 占め、推定 31,000 例 が 2015 年 に 米国 において 診断される ことが 予期される (Siegel et al., 2015; NCCN GUIDELINES (登録商標)、Version 1.2016 - Small Cell Lung Cancer)。NSCLC と 比較 したとき、SCLC は、一般的に、より迅速な 倍加時間 、より高い 増殖率 、および 広範な 転移 の 早期発生 を 有する。限局期 (LD) 疾患 を 有する 患者 において、 处置 の 目標 は、 化学療法 プラス 胸部 放射線治療 を 使用する ケア である (NCCN GUIDELINES (登録商標)、Version 1.2016 - Small Cell Lung Cancer; Sorensen et al., 2010)。進行期 (ED) 疾患 を 有する 患者 において、 化学療法 は、ほとんどの 患者 において 生存を 延長する こと が できる。しかしながら、長期生存 は 希 である (NCCN GUIDELINES (登録商標)、Version 1.2016 - Small Cell Lung Cancer; Sorensen et al., 2010; Janne et al., 2002; Chute et al., 1999)。SCLC における いくつか の 薬剤 の 活性 にもかかわらず、エトポシド および プラチナ (例えば、シスプラチニン) 含有 レジメン は、他の 化学療法 レジメン と 比較して 活性 が 高く、 放射線との組み合わせ が 容易 である ため、SCLC に対する 標準 のままである。初期 応答率 は、LD-SCLC において 70-90% の 応答者 および ED-SCLC において 50-70% の 応答者 で 強力 で あり 得る (Califano et al., 2012)。しかしながら、通常、疾患 は 迅速 に 再発し、これは ED-SCLC において 9 から 11 月 の 中央生存率 によって 反映され、2 年 生存率 が 5% 未満 である (NCCN GUIDELINES (登録商標)、Version 1.2016 - Small Cell Lung Cancer; Sorensen et al., 2010)。二次 (2L) 療法 は、一般的に、単剤 化学療法 を 含み、多くの 患者 において 緩和ケア を 提供する。SCLC における 臨床的 利益 を 増強させ、生存 および 生活の質 を 延長する こと が できる 革新的な 处置 戦略 が 緊急 に 必要 と さ れ て いる。

#### 【0098】

SCLC において PD-1 および CXC R 4 シグナル 伝達 の 組合せ 遮断 の 理論的 根拠

ニボルマブ および ペムプロリズマブ は、NSCLC の 处置 について 承認 されて おり、いくつか の チェックポイントインヒビター が NSCLC および SCLC の 両方 において 評価 さ れ て いる。観察される 予備的 有効性 は、両方 の 肺癌 形態 におけるさらなる 評価 を 支持 し て いる。SCLC における ランダム化 フェーズ 2 試験 は、イピリムマブ (10 mg / kg) が、パクリタキセル / カルボ プラチニン と組み合わせて、最先端の 設計 において 無進行生存 (PFS) を 有意に 延長させた ことを 証明 した (Reck et al., 2013)。フェーズ 3 試験 は、ED-SCLC において 一次 (1L) 处置 として、エトポシド / カルボ プラチニン または エトポシド / シス プラチニン と組み合わせられた イピリムマブ を 比較 する こと が 繼続 し て いる (NCT01450761)。同様に、ニボルマブ は 扁平上皮 および 非扁平上皮 NSCLC において 承認 さ れ て おり、早期 試験 が 以前 の 化学療法 に 失敗 した SCLC 患者 において 評価 さ れ て いる (Topalian et al., 2012b; NCT01928394)。これらの 試験 における チェックポイントインヒビター の 有効性 は 有望 である が、応答率 を 最大 に す

10

20

30

40

50

る、および／または生存結果を改善するために、他の新規の標的薬剤との組合せが必要とされ得る。

#### 【0099】

SCLCにおいて、腫瘍間質はSCLCの難治性に寄与し、間質区画を標的とする治療はこの疾患において評価されている(Burger and Kipps, 2006; Burger et al., 2011)。CXCR4は、高いパーセントの原発性腫瘍および細胞系で過剰発現される間質細胞マーカーであり、間質細胞によるそのリガンドであるCXCL12の構成性分泌は、CXCR4-依存性経路を介してSCLC細胞の移動および接着を誘導する(Burger et al., 2003; Gangadhar et al., 2010)。さらに、間質細胞は、CXCR4インヒビターによってアンタゴナイズされることができる化学療法誘導アポトーシスからSCLCを保護し得る(Hartmann et al., 2005)。前臨床マウスモデルにおいて、小ペプチド性CXCR4インヒビターは、サイズおよび数においてCXCR4を発現するSCLCの肺転移を抑制し(Otani et al., 2012)、SCLCの処置においてCXCR4遮断を支持した。しかしながら、対照的に、小分子CXCR4インヒビターは、化学療法と組み合わせたとき、ED-SCLC患者にて最近のフェーズ2臨床試験において有効性を証明しなかった(Spigel et al., 2014)。全体として、これらのデータは、CXCR4標的剤と組み合わせたさらなる免疫媒介メカニズムが、SCLC患者に対して耐性を克服し、臨床的利益を提供するために必要とされ得ることを示唆する。

10

#### 【0100】

本願明細書(実施例2-5)に記載されているマウスSCLC、大腸および肝臓癌モデルにおいて抗-PD-1および抗-CXCR4の組合せを評価する実験の結果は、SCLCを処置するためのこの組合せの有効性を支持する。これらの実験は、抗-PD-1および抗-CXCR4が相乗的に相互作用し、いずれかの抗体単独よりもより強力である抗腫瘍効果を生じることを示す。最も顕著な相乗作用は、CXCR4を発現する同系Kp1腫瘍モデルにおいて抗-PD-1と組み合わせての枯渇させるmIgG2a抗-CXCR4Abの組合せで観察された(図4B)。複数の作用メカニズムは、この強力な相乗的相互作用に寄与し得る。例えば、抗-CXCR4は、WO 2013/071068に示されるとおり腫瘍細胞のアポトーシスを直接的に誘導し得る。抗-CXCR4-mIgG2aはまた、ADC C、ADC Pおよび／またはCDCによる腫瘍細胞の枯渇を媒介し得る。抗-PD-1と組み合わせての枯渇させない抗-CXCR4-mIgG1Abで見られる非常に弱い抗腫瘍効果(図4B)は、SCLC細胞のアポトーシスがこのモデル系において主要な要因ではない可能性があるということを示唆する。

20

30

#### 【0101】

Kp3 CXCR4を発現しないSCLCマウスモデルにおいて、より低いレベルの相乗作用が観察された(図5B)。しかし、抗-CXCR4-mIgG2aが単剤療法として活性(図5A)および抗-PD-1と組み合わせて活性(図5B)を示すということを見いだしたことは、抗-CXCR4が腫瘍細胞それ自体以外のCXCR4-発現細胞に作用し得るということを示唆する。免疫抑制性Treg(図3; Wang et al., 2012; Obermaier et al., 2011; Katoh and Watanabe, 2015)およびMDSCが、CXCR4上で高レベルで発現することが知られているため、Tregおよび／またはMDSCの抗-CXCR4介在枯渇は、これらの細胞型による免疫抑制を逆転させ、抗腫瘍効果に寄与し得る。さらに、TregおよびMDSCがPD-1/PDL1シグナル伝達経路を含むメカニズムを介してT細胞機能を鈍化させ得るいくつかの証拠がある。抗-CXCR4 IgG2aのような枯渇させる抗-CXCR4抗体でのTregおよび／またはMDSCの枯渇は、PD-1/PDL1の免疫阻害効果を緩和し、それにより抗-PD-1または抗-PDL1Abの効果を増強することに間接的に寄与し得る。

40

#### 【0102】

CXCR4を発現しないMC38マウスモデルにおいて、抗-CXCR4 IgG1または抗-CXCR4 IgG2aのいずれかで低い抗腫瘍活性が観察されたが(図6A)、抗-PD-1と抗-CXCR4アイソタイプの両方(IgG1またはIgG2a)の組

50

合せで強力な活性が観察され(図6B)、抗-CXCR4 IgG2a プラス 抗-PD1は、抗-CXCR4 IgG1 プラス 抗-PD1よりもわずかにより顕著であった。抗-CXCR4 IgG2a プラス 抗-PD1の組合せはまた、H22肝臓癌モデルにおいて強力な抗腫瘍効果を生じた(実施例5;図7)。CXCR4<sup>-</sup>腫瘍モデルにおいて抗-PD-1との枯渇させない抗CXCR4 IgG1によって示される高レベルの相乗作用は、さらに別の起こり得る作用機序を示唆する。一方でTregおよび/またはMDSC上で発現されるCXCR4および他方で腫瘍において発現されるCXCL12間の相互作用の遮断は、腫瘍内微小環境へのTregまたはMDSCの輸送を減少させ、それにより免疫抑制のレベルを低下させ得る。

## 【0103】

10

特定の作用機序によって拘束されることなく、これらのマウスデータは、抗-PD-1および抗-CXCR4の組合せが、SCLC、大腸癌および肝臓癌を含む種々の癌を処置することに対して有効であり得ることを示す。これらのデータは、枯渇させる抗-CXCR4 Ab、例えばウロクブルマブのヒトIgG1またはヒトIgG3変異体のようなエフェクター機能を有するAbが、この組合せにおいて高度に有効であり得ることを示唆する。

## 【0104】

## PACで満たされていない医療ニーズ

膵臓癌は、過去数十年の間に発生率が上昇している米国における癌関連死の第4の最も一般的な原因である。推定48,960人がPACと診断され、約40,560人がこれらの疾患で死亡する(Siegel et al., 2015)。新たに診断された患者の1年生存率および5年生存率は、それぞれ15%と5%未満である。疾患が早期(ステージI、ステージII)に診断されるとき、治癒意図で根治手術が処置目標である(NCCN GUIDELINES(登録商標), Version 2.2015 - Pancreatic Adenocarcinoma; Tempero et al., 2012)。局所進行性または転移性疾患有する患者のために、以下の全身治療は臨床的利益が証明されている: FOLFIRINOX(フォリン酸[FOL]、フルオロウラシル[F]、イリノテカン[IRIN]およびオキサリプラチン[OX]の組合せ)、ゲムシタビンおよびゲムシタビン プラス アルブミン結合パクリタキセルの組合せ。ゲムシタビンでのフェーズ3試験は、6.2月の中央生存、20%の1年生存率を証明した。良い一般状態を有する転移性患者においてFOLFIRINOXとゲムシタビンを比較するフェーズ3PRODIGE試験は、ゲムシタビンと比較してFOLFIRINOXで、中央PFS(6.4対3.3月)および中央OS(11.1対6.8月)の有意な改善を示した(Conroy et al., 2011)。フェーズ3IMPACT試験は、ゲムシタビン/アルブミン結合パクリタキセルの組合せ 対 ゲムシタビン単剤療法で改善したPFSを証明した(5.5対3.7月)(Von Hoff et al., 2013)。PACにおいて二次選択肢は、1LにおいてFOLFIRINOXを受けた患者に対してゲムシタビンおよび1Lにおいてゲムシタビンベースのレジメンを受けた患者に対してフルオロピリミジンを含む選択肢を含む。しかしながら、進行性または転移性疾患設定において1L療法後に進行する対象に対して確立された標準治療は存在しない。

20

30

30

## 【0105】

40

## PACにおいてPD-1およびCXCR4シグナル伝達の組合せ遮断の理論的根拠

証拠は、膵臓腫瘍生検におけるPD-1経路の上方調節およびPD-L1発現と予後不良との相関関係のために、PACにおいて免疫チェックポイントを標的化することを支持する(Nomi et al., 2007)。SCLCと同様に、前臨床的な証拠は、標的薬剤との組合せ戦略が疾患の難治性を克服するために必要とされ得ることを示唆する。例えば、チェックポイントインヒビターと腫瘍内微小環境を標的化する治療との組合せは、活性化免疫細胞の腫瘍部位への浸透を増強し、それにより腫瘍細胞死滅を増加させ、生存を延長させができる可能性がある。膵臓腫瘍生検は高レベルのCXCR4を発現し、この発現は予後不良と関連する(Wang et al., 2013; Gao et al., 2010)。CXCL12は、膵臓腫瘍細胞の増殖を促進し、間質微小環境の免疫抑制成分でもあることも報告されている(Gao

50

et al., 2010; Feig et al., 2013)。PACの前臨床マウスモデルにおいて、PD-1/PD-L1経路を標的化することは、CXCR4/CXCL12経路の同時阻害の存在下でのみ有効であり、この仮説をさらに支持した(Feig et al., 2013; WO 2015/019284)。したがって、ウロクプルマブのような抗-CXCR4/抗-CXCL12 Abと組み合わせたニボルマブのような抗-PD-1/抗-PD-L1 Abが、革新的な組合せレジメンを提供し<sup>m</sup>PAC患者において応答率を改善するか否かを決定することに興味がある。特に、SCLC、大腸癌および肝臓癌のマウスモデルにおいて得られたデータ(実施例2-5)は、エフェクター機能を有する抗-CXCR4 Ab、例えばウロクプルマブのIgG1またはIgG3変異体が、腫瘍増殖を阻害することにおいて抗PD-1 Abと相乗作用を与えることにおいてより有効であり得ることを示す。

10

#### 【0106】

#### CXCR4およびPD-1シグナル伝達のデュアル阻害の前臨床的理論的根拠

前臨床異種移植片腫瘍モデル試験は、CLL、FL、DLBCLおよびバーキットリンパ腫のようなAML、MMおよび非ホジキンリンパ腫(NHL)を含む多くの血液学的悪性腫瘍を示すヒト癌細胞系で行われ、ウロクプルマブで処置された。腫瘍増殖阻害は、ウロクプルマブがこれらのモデルにおいて単一薬剤として投与されたときに観察された(Kuhne et al., 2013; WO 2013/071068)。対照的に、グリア芽腫、黒色腫、中皮腫、膵臓癌、乳房癌腫およびSCLCを含む固形腫瘍異種移植モデルにおいてウロクプルマブ単剤療法で弱い有効性が観察された(データは示していない)。これらの固形腫瘍試験において、腫瘍増殖阻害は、SCLCおよび3重のネガティブ乳房癌腫モデルで見られる最も説得力のある活性で、約0-40%の範囲であった。

20

#### 【0107】

いくつかの悪性腫瘍は、腫瘍内微小環境の主成分である線維芽細胞活性化タンパク質陽性(FAP<sup>+</sup>)癌腫関連線維芽細胞を含む腫瘍を示す。これらの悪性腫瘍は腫瘍上にCXCL12を発現し、腫瘍巣中にT細胞を欠く(Fearon, 2014)。標準処置に対して難治性である傾向があるこれらの腫瘍は、PAC、卵巣および結腸直腸癌を含む。PACモデルに基づいて、FAP<sup>+</sup>間質細胞によるCXCL12の分泌が、腫瘍細胞へのCXCL12結合をもたらし、その相互作用がT細胞の補充を阻害することにより免疫抑制性環境を提供すると仮定した。この免疫抑制は、小分子CXCR4アンタゴニストおよび抗PD-L1 Abの組合せを使用することによって克服され、CD3<sup>+</sup>T細胞の補充および有意な腫瘍増殖コントロールを引き起こした(Feig et al., 2013; WO 2015/019284)。

30

#### 【0108】

免疫監視においてCXCL12/CXCR4経路に関する重要な役割についての同様の見いだしたことおよび証拠はまた最近、HCCの同所性モデルを使用して報告された(Chen et al., 2015)。HCCに対する標準治療であるソラフェニブが、低酸素を誘導し、腫瘍細胞によるCXCL12およびPD-L1発現の上方調節を引き起こすことを示した。ソラフェニブでの処置後、小分子CXCR4インヒビターおよび抗-PD-1 mAbは、腫瘍増殖および肺転移の減少および腫瘍におけるCD8<sup>+</sup>T細胞補充の増加をもたらした。CXCR4およびPD-1経路の遮断が、免疫細胞機能の抑制を防止し、免疫細胞の腫瘍への補充を増加させ、最後にHCCの進行を遅延させると結論された(Chen et al., 2015)。

40

#### 【0109】

集合的に、固形腫瘍動物モデルにおいて抗-CXCR4で観察された弱い単剤療法活性および支持インビボ有効性データでの免疫監視におけるCXCR4/CXCL12の役割の表示は、抗-PD-1 Ab(例えば、ニボルマブ)と組み合わせての抗-CXCR4 Ab(例えば、ウロクプルマブ)の試験の理論的根拠を提供する。マウスデータは、ウロクプルマブのIgG1またはIgG3変異体がこの試験のためのより良い選択肢であり得るが、かかる変異体がまだ臨床試験のために利用できないことを示唆する。しかしながら、免疫治療が他の抗癌剤と組み合わせられたとき、驚くべき予期せぬ合併症がときどき

50

観察されている。例えば、抗 - P D - 1 剤（それぞれニボルマブおよびペムプロリズマブ）でのB R A F V 6 0 0 E 突然変異を有する2人の黒色腫患者の1 L 療法は有意な毒性を引き起こさなかったが、疾患進行時にベムラフェニブ（Z E L B O R A F（登録商標））での処置はそれらのベムラフェニブ処置過程において早期に多臓器傷害と共に重度の過敏性薬疹を生じた（Johnson et al., 2013）。次に、1人の患者は急性炎症性脱髓性多発ニューロパシーを発症し、もう1人は低用量のベムラフェニブ再チャレンジ時にアナフィラキシーを発症した。

#### 【 0 1 1 0 】

同様に、スニチニブ、抗血管形成チロシンキナーゼインヒビターおよび抗 - C T L A - 4 A b (Ribas, 2010 ; 米国特許第6,682,736号) であるトレメリムマブの組合せのフェーズ1用量漸増試験において、転移性R C C を有する28人の対象において、予期せぬ毒性の急激な腎不全がトレメリムマブを12週間に1回で10 m g / k g または15 m g / k g と組み合わせてスニチニブを毎日37.5 m g を受けた13人の対象のうち4人の対象において観察され、これらの患者の1人が突然死を受けた（Rini et al., 2011）。43%の部分的応答率が観察されたが、最大耐量（M T D；スニチニブ 37.5 m g 每日 プラス トレメリムマブ 10 m g / k g q 12週）での組合せの毒性は許容できないと考えられた。

10

#### 【 0 1 1 1 】

したがって、抗 - P D - 1 / 抗 - P D - L 1 A b のような免疫チェックポイントインヒビター薬物と抗 - C X C R 4 / 抗 - C X C L 1 2 A b のような別の抗癌療法との組合せは予測不可能である。このような薬物を組み合わせるための適切な根拠にもかかわらず、抗 - P D - 1 / 抗 - P D - L 1 A b およびC X C R 4 / C X C L 1 2 A b の組合せが個々の薬剤でのこれらの癌の処置よりも、ヒト対象において難治性癌を処置することにおいて有意により有効であるか否かは、本願明細書に記載されている試験の前に知られていなかつた。

20

#### 【 0 1 1 2 】

##### 全体的なリスク / 利益評価

1 L 化学療法に失敗したP A C 患者の処置はほとんど成功していない。二次処置選択肢は、生存利益を証明していないカペシタビンおよび他の化学療法ベースの選択肢を含む。さらに、標的薬剤は、この疾患に対して、新たに診断されたまたは難治性患者集団のいずれにおいても承認されていない。新たに診断されたS C L C 患者に対して、白金ベースの化学療法は有意な応答率で有効であるが、しかしながら、ほとんどの応答は永続性ではない。白金ベースの薬剤に対する一次応答後の再発までの時間は、後の処置選択肢に対する成功率を決定するときに有益である。進行している白金感受性患者において、いくつかの応答は2 L 化学療法後に見ることができるが、全ての患者が結局は再発する。しかしながら、白金難治性患者において、この患者集団において有意な満たされていない要求を示す、2 L 化学療法剤を使用したときほとんど成功しないと考えられる。P A C およびS C L C の難治性は、一つには、活性化リンパ球が腫瘍部位に浸潤することを防止する免疫抑制性間質微小環境の結果であり得る。抗 - P D - 1 / 抗 - P D - L 1 A b と抗 - C X C R 4 / 抗 - C X C L 1 2 A bとの組合せは、本願明細書に記載されているとおり、間質微小環境および腫瘍を殺すT細胞の活性化の両方を標的化するユニークな機会を提供する。抗 - P D - 1 / 抗 - P D - L 1 A b でのチェックポイント阻害に対するこれらの腫瘍型の感受性を増加させる抗 - C X C R 4 / 抗 - C X C L 1 2 A b の能力は、これらの難治性患者集団において処置選択肢を増加させ得る。

30

40

#### 【 0 1 1 3 】

ウロクプルマブは、血液悪性腫瘍において2つのフェーズ1臨床試験における管理可能な安全性プロフィールを証明している（Becker et al., 2014; Ghobrial et al., 2014）。承認された薬物プレリキサフォル（A M D 3 1 0 0 ; M O Z O B I L（登録商標））を含むC X C R 4 / C X C L 1 2 経路を標的とする他の治療剤は、同様の患者集団においてバックグラウンドS O C と組み合わせて許容される毒性プロフィールを証明している。S

50

C L Cにおいて、小ペプチドC X C R 4インヒビターは、大規模なランダム化フェーズ2 S C L C試験において、安全および許容であることが最近見いだされた(Spigal et al., 2014)。C X C R 4阻害の安全性は複数の薬剤で繰り返し証明されているが、限定された臨床活性が証明されている。血液学的適応における両方のウロクブルマブ試験において、全身性化学療法またはS O Cと組み合わせたとき、適度の予備的臨床活性が観察された。他のC X C R 4インヒビターは、ランダム化比較試験において主要評価項目を満たさず、プレリキサフォルは、主要な適応以外の非常に限られた有効性データを報告している。しかしながら、他のクラスの標的薬剤との組合せがC X C R 4アンタゴニストの活性を増強し得る可能性が存在する。本願は、免疫チェックポイントインヒビター、具体的にはニボルマブのような抗-P D - 1 A bまたはB M S - 9 3 6 5 5 9のような抗-P D - L 1 A b(WO 2 0 1 3 / 1 7 3 2 2 3)の活性を増加させ、腫瘍細胞死滅を増加させる手段として、固形腫瘍を取り囲む免疫抑制性間質微小環境をブロックするための、ウロクブルマブのような抗-C X C R 4 A bまたは2 A 5のような抗-C X C L 1 2 A b(米国特許第8,496,931号)での癌患者の処置に関する。  
10

#### 【0114】

ニボルマブは、数多くの早期および後期の臨床試験において4000人以上の患者に管理可能な安全性プロフィールを証明している。S C L CおよびP A Cにおけるニボルマブ単剤療法のフェーズ2試験からの予備的データは、他の固形腫瘍型と比較して同様の毒性プロフィールを示す。多数の癌患者においてニボルマブの明らかな利点があるが、かなりの割合の患者が単剤療法に応答しない。さらに、チェックポイント阻害に対する有意な応答をまだ示していないいくつかの腫瘍型が存在する。免疫抑制性微小環境を標的とする薬剤とニボルマブとの組合せは、ニボルマブ単剤療法に対する低い応答を示す腫瘍を有する対象に有益である可能性がある。

20

#### 【0115】

##### 処置に適している広範囲の癌

本願はP D - 1およびC X C R 4シグナル伝達経路のデュアル遮断によるS C L AおよびP A Cの処置を例示しているが、他の癌がこの併用療法に適している可能性がある。例えば、Chen et al. (2015)によって報告されたデータは、H C Cもまた処置に適している可能性があることを示唆する。加えて、広範囲の癌におけるニボルマブの証明された有効性を考慮して、多くの他の癌が本願のA bの組合せを使用して治療可能であり得る。したがって、1つの態様において、記載されている併用療法方法は、固形腫瘍である癌を処置するために使用され得る。1つの好ましい態様において、固形腫瘍はS C L CまたはP A Cである。他の好ましい態様において、固形腫瘍はH C Cである。さらなる態様において、固形腫瘍は、扁平上皮癌、非小細胞性肺癌、扁平上皮非小細胞性肺癌(N S C L C)、非扁平上皮N S C L C、神経膠腫、消化器癌、腎臓癌、卵巣癌、肝臓癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、前立腺癌、甲状腺癌、神経芽腫、グリア芽腫、胃癌、膀胱癌、肝臓癌、乳癌、大腸癌腫、頭頸部癌、胃癌、胚細胞腫瘍、小児肉腫、副鼻腔ナチュラルキラー、黒色腫、皮膚癌、骨癌、子宮頸癌、子宮癌、卵管の癌腫S、子宮内膜の癌腫、頸部の癌腫、膣の癌腫、外陰の癌腫、肛門領域の癌、精巣癌、食道癌、小腸の癌、内分泌系の癌、副甲状腺の癌、副腎の癌、軟組織の肉腫、尿道の癌、尿管の癌、陰茎の癌、腎盂の癌腫、中枢神経系(C N S)の新生物、原発性C N Sリンパ腫、腫瘍の血管形成、脊髄の腫瘍、脳の癌、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カポジ肉腫、類表皮癌、扁平上皮癌、小児固形腫瘍、環境誘発性の癌、ウイルス関連の癌、ウイルス起源の癌、およびこれらの癌の任意の組合せから選択される癌である。1つの態様において、癌は、進行性、切除不能、転移性、難治性癌および/または再発性癌である。

30

#### 【0116】

ニボルマブおよびウロクブルマブの両方は、血液悪性腫瘍に罹患している患者における早期臨床試験において有効性を示している(Ansell et al., 2015; Becker et al., 2014; Ghobrial et al., 2014)。最近、骨髄間質、内皮または骨芽細胞からのC X C L 1 2がT細胞急性リンパ芽球性白血病(T - A L L)生存を促進するが、C X C R 4はT - A

40

50

L-Lホーミングのために必要であり、マウスモデルにおけるCxcr4またはCxcl12遺伝子の欠失または小分子アンタゴニストでのCXCR4の阻害がT-ALL進行を阻害したことを証明した(Pitt et al., 2015; Passaro et al., 2015)。したがって、あらゆる特定の理論または作用機序によって拘束されることなく、PD-1およびCXCR4シグナル伝達経路の遮断を組み合わせる本願明細書に記載されている治療方法はまた、血液悪性腫瘍を処置するために使用され得る。

#### 【0117】

血液悪性腫瘍は、全ての型の白血病、リンパ腫および骨髓腫を含む、2つの主な血球系統、すなわち(顆粒球、赤血球、血小板、マクロファージおよび肥満細胞を産生する)骨髓細胞系または(B、T、NKおよび形質細胞を産生する)リンパ球細胞系、のいずれかに由来する液性腫瘍を含む。したがって、本願方法を使用して処置され得る血液悪性腫瘍は、例えば、急性、慢性、リンパ球(リンパ芽球)および/または骨髓性白血病、例えば、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性リンパ性白血病(CLL)および慢性骨髓性白血病(CML);リンパ腫、例えば、ホジキンリンパ腫(HL;ホジキン病)、約85%がB細胞リンパ腫である非ホジキンリンパ腫(NHL)、例えば、びまん性大B細胞リンパ腫(DLBCL)、濾胞性リンパ腫(FL)、慢性リンパ性白血病(CLL)/小リンパ球性リンパ腫(SLL)、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫(粘膜関連リンパ球組織(MALT)リンパ腫、節性辺縁帯B細胞リンパ腫および脾臓辺縁帯B細胞リンパ腫)、バーキットリンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫(LPL;ワルデンシュトーレムマクログロブリン血症(WM)としても知られている)、ヘアリー細胞リンパ腫、および原発性中枢神経系(CNS)リンパ腫、T細胞リンパ腫であるNHL、例えば、前駆T-リンパ芽球性リンパ腫/白血病、T-リンパ芽球性リンパ腫/白血病(T-Lbly/T-ALL)、末梢T細胞リンパ腫、例えば、皮膚T細胞リンパ腫(CTLC、すなわち、菌状息肉腫、セザリー症候群など)、成人T細胞リンパ腫/白血病、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫、節外ナチュラルキラー/T細胞リンパ腫鼻型、腸症関連腸管T細胞リンパ腫(EATL)、未分化大細胞リンパ腫(ALCL)および非特定型末梢T細胞リンパ腫、急性骨髓性リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、单球性B細胞リンパ腫、血管中心性リンパ腫、腸管T細胞リンパ腫、原発性縦隔B細胞リンパ腫、移植後のリンパ増殖性疾患、真性組織球性リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、びまん性組織球性リンパ腫(DHL)、免疫芽球性大細胞リンパ腫および前駆Bリンパ芽球性リンパ腫;骨髓腫、例えば、多発性骨髓腫、くすぶり型骨髓腫(無症候性骨髓腫とも称される)、意義不明の单クローン性ガンマグロブリン血症(MGUS)、孤立性形質細胞腫、IgG骨髓腫、軽鎖骨髓腫、非分泌性骨髓腫、およびアミロイドーシス;および該血液悪性腫瘍の任意の組合せから選択される癌を含む。本願方法はまた、進行性、転移性、難治性および/または再発性血液悪性腫瘍の処置に適用できる。

#### 【0118】

##### 試験設計の理論的根拠

本願明細書に記載されている臨床試験は、SCLCおよびPACを有する対象における安全性および有効性を評価するためのニボルマブと組み合わせられたウロクブルマブのフェーズ1/2オープンラベル試験である。固形腫瘍においてウロクブルマブを評価することが初めてであるため、用量制限毒性(DLT)評価期間は、最初に3-6人の対象についてそれぞれの用量(400mg、800mgおよび1600mg、1週毎に1回、ニボルマブと組み合わせられたウロクブルマブ)で実施される。センチネル用量レベル(400mg、1週毎に1回、ウロクブルマブ)について、両方の腫瘍型を安全性評価のために組み合わせる。800mgおよび1600mg、1週毎に1回、ウロクブルマブ用量レベルについて、腫瘍特異的AEが出現する可能性がある場合には、それぞれの腫瘍型を独立して安全性について評価する。Rolling-6設計は、DLT評価期間に利用され、様々な3-6人の評価できる対象が、どのくらいの対象が登録され、DLT期間中にまだ評価されているかに依存して、DLT評価に寄与することを可能にする(Skolnik et al., 2007)。この設計は、対象がDLT期間の完了前に疾患進行のためにしばしば中止する

10

20

30

40

50

SCLC および PACにおいて特に有用である。

【0119】

DLT期間の完了後、用量評価段階は、2つの異なるウロクブルマブ用量(800および1600mg)および1600mgについて2つの異なるウロクブルマブスケジュール(1週毎および2週毎に1回)を同時に評価する。推奨用量およびスケジュールは、用量拡張段階に選択され、それぞれの腫瘍型内で3つのコホートにわたる安全性および有効性データの全体に基づく。推奨用量での有効性のレベルはまた、用量拡張段階について選択される試験設計の型に影響する。わずかな有効性が用量評価段階中に観察されるとき、1つの選択肢は、推奨用量レベルでの単一アーム試験を続ける。しかしながら、実質的な有効性が観察されるとき、比較アームを有するランダム化フェーズ2設計を開始する。この適応アプローチは、これらの進行性腫瘍型についてこの組合せレジメンでの、確証的有効性試験の迅速な実施および最も有益である試験を実施する計画を積極的に立てることを可能にする。

10

【0120】

医薬組成物および投与レジメン

本願明細書に記載されている方法において使用されるAbは、組成物、例えば、Abおよび薬学的に許容される担体を含む医薬組成物中に構成され得る。本願明細書において使用される「薬学的に許容される担体」は、生理学的に適合性である、あらゆるおよび全ての溶媒、分散媒体、コーティング剤、抗菌および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などを含む。好ましくは、Abを含む組成物についての担体は、(例えば、注射または注入による)静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄または表皮投与のために適当である。本願発明の医薬組成物は、1つ以上の薬学的に許容される塩、酸化防止剤、水性および非水性担体、および/またはアジュバント、例えば、防腐剤、潤滑剤、乳化剤および分散剤を含み得る。

20

【0121】

投与レジメンは、最適な所望の応答、例えば、最大の治療応答および/または最小の副作用を提供するように調整される。組合せ使用を含む抗-PD-1、抗-PDL1、抗-CXCR4 Abまたは抗-CXCL12の投与において、用量は、約0.01から約20mg/kg、好ましくは約0.1から約15mg/kg対象の体重の範囲であり得る。例えば、用量は、約0.1、0.3、1、2、3、5、10または15mg/kg体重、さらに好ましくは、約0.3、1、3または10mg/kg体重であり得る。あるいは、固定または均一用量、例えば、約50-2000mgのAbは、体重に基づく用量の代わりに、1週毎に1回または2週間に1回投与され得る。投与スケジュールは、一般的に、Abの典型的な薬物動態学的特性に基づく持続的受容体占有(RO)を引き起こす暴露をなし遂げるよう設計される。典型的な処置レジメンは、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、1月に1回、3月から6月に1回またはそれ以上で1回の投与を必要とする。1つの好ましい態様において、抗-PD-1または抗-PDL1 Abは、2週間に1回対象に投与される。他の好ましい態様において、該Abは、3週間に1回投与される。用量およびスケジュールは、処置経過中に変化され得る。

30

【0122】

組み合わせて使用されるとき、1つまたは両方のAbの治療量以下の用量、例えば、典型的なまたは承認された単剤療法用量よりも低い抗-PD-1、抗-PDL1、抗-CXCR4および/または抗-CXCL12 Abの用量が、使用され得る。例えば、承認された2週間ごとに3mg/kg、例えば3または4週間ごとに1.0mg/kg以下よりも有意に低いニボルマブの用量が、治療量以下の用量と見なされる。ニボルマブを0.3mg/kgから10mg/kg用量で受けた15人の対象からのROデータは、PD-1占有がこの用量範囲において用量非依存的であるようであることを示す。全ての用量にわたって、平均占有率は85%(範囲、70%から97%)であり、平均プラト-占有は72%(範囲、59%から81%)であった(Brahmer et al., 2010)。したがって、0.3mg/kg用量は、有意な生物学的活性をもたらすのに十分な暴露を可能にし得る。

40

50

## 【0123】

抗-PD-1 / 抗-PD-L1 および抗-CXCR4 / 抗-CXCL12 Ab 間の相乘的相互作用は、治療量以下の用量、すなわち、癌の処置のために単剤療法として投与されるときに典型的なまたは承認された用量よりも有意に低い治療剤の用量で患者にこれらの治療剤の1つまたは両方の投与に都合が良い。記載されている併用療法方法の1つの態様において、抗-PD-1 / 抗-PD-L1 Ab またはそれらの抗原結合部分は、治療量以下の用量で癌患者に投与される。他の態様において、抗-CXCR4 / 抗-CXCL12 Ab は、治療量以下の用量で投与される。さらなる態様において、抗-PD-1 / 抗-PD-L1 および抗-CXCR4 / 抗-CXCL12 Ab またはそれらの抗原結合部分は、それぞれ治療量以下の用量で患者に投与される。

10

## 【0124】

1つまたは両方のAbのかかる治療量以下の用量の投与は、単剤療法における個々のAbのより高い用量の使用と比較して有害事象を低下させ得る。したがって、併用療法の記載された方法の成功は、これらのAbでの単剤療法と比較してAbの組合せの改善された有効性だけでなく、単剤療法用量と比較して組合せにおいて薬物のより低い用量の使用からの増加した安全性、すなわち、有害事象の低下した発生率を評価され得る。

## 【0125】

## ニボルマブの用量選択

ニボルマブについて、2週間ごとに3mg/kgの用量は、複数の固体腫瘍プログラムにおいて単剤療法として安全および許容であると決定されており、黑色腫およびNSCLCにおいて承認された用量である。この用量は、種々の血液悪性腫瘍およびPACおよびSCLCを含む他の固体腫瘍において複数の臨床試験にて評価されているところであり、何ら用量依存的毒性を証明されていない。ニボルマブはまた、この用量で種々の組合せパートナーで評価されており、予期しない安全性の懸念を示していない。したがって、2週間ごとに3mg/kgの用量は、抗-CXCR4 または抗-CXCL12 Abとの組合せパートナーとして許容されると予期される。

20

## 【0126】

## ウロクプルマブの用量選択

ウロクプルマブは、安全および許容プロフィールにて0.3mg/kgから10mg/kgの範囲である用量レベルで種々の血液悪性腫瘍にわたって140を超える対象において評価されている。大多数の対象は10mg/kg用量を受け、暴露関連AEは観察されていない。MTDは同定されなかった。予備的母集団PK分析からの結果は、ウロクプルマブの性質に対して体重がわずかな効果を与えたことを示唆している。ウロクプルマブクリアランス(CL)および中央分布容積(Vc)に対するベースライン体重の相対係数は、それぞれ0.33および0.41であると推定された。母集団PKモデルにおけるCLおよびVcの体重の推定相対指数が0.5未満であるとき、均一な投与レジメンはより一様な暴露を提供し得ることが報告されている(Bai et al., 2012)。この情報は、体重正規化用量と対照的に均一な用量スケジュールを支持する。母集団PKモデルに基づくシミュレーションは、1週毎に1回800mgの用量(80kg対象に対して1週毎に1回10mg/kgに相当)が、2つのフェーズ1試験において10mg/kgウロクプルマブを受けた対象において観察される濃度範囲内で暴露を広く提供するであろうことを示した(Becker et al., 2014; Ghobrial et al., 2014)。

30

## 【0127】

末梢ウロクプルマブCXCR4 ROはAMLを有する対象において測定され、暴露RO分析は、高いROが10mg/kg用量に続く多量の濃度にわたってなし遂げられたことを示した。これに対応して、母集団PKおよび暴露ROモデルに基づくシミュレーションは、1週毎に1回800mg用量に続くウロクプルマブ暴露がまた、投与期間を通して腫瘍組織において高い中央RO(90%以上)を提供し、したがって有効な用量であると予期されることを示唆している。

40

## 【0128】

50

### 本願方法において使用される投与レジメン

記載された方法の1つの態様において、抗-PD-1または抗-PDL1 Abまたはその抗原結合部分は、2、3または4週毎に1回約0.1から約20.0mg/kg体重の範囲である用量で対象に投与される。1つの好ましい態様において、抗-PD-1 Abまたはその抗原結合部分は2または3週毎に1回約2または約3mg/kg体重の用量で投与されるが、抗-PDL1 Abまたはその抗原結合部分は2または3週毎に1回約10または約15mg/kg体重の用量で投与される。ニボルマブを使用する方法の1つの態様において、このAbは、2週毎に1回3mg/kgの承認された用量で投与される。同様に、ペムプロリズマブを使用する1つの態様において、このAbは、3週毎に1回2mg/kgの承認された用量で投与される。

10

#### 【0129】

本願方法の1つの態様において、抗-CXCR4または抗-CXCL12 Abまたはその抗原結合部分は、1週毎に1回約50-2000mgの均一用量で対象に投与される。他の1つの態様において、抗-CXCR4 Abまたは抗-CXCL12またはその抗原結合部分は、1週毎に1回約200、約400、約800または約1600mgの均一用量で投与される。1つの好ましい態様において、抗-CXCR4 Abまたは抗-CXCL12またはその抗原結合部分は、1週毎に1回約400または約800mgの均一用量で投与される。他の1つの態様において、抗-CXCR4 Abまたは抗-CXCL12またはその抗原結合部分は、2週毎に1回約1600mgの均一用量で投与される。

20

#### 【0130】

さらなる態様において、抗-CXCR4 / 抗-CXCL12 Abまたはその抗原結合部分は、2、3または4週毎に1回約0.1から約20.0mg/kg体重の範囲である用量で投与される。1つの好ましい態様において、抗-CXCR4 / 抗-CXCL12 Abまたはその抗原結合部分は、2または3週毎に1回約3または約10mg/kg体重の用量で投与される。

#### 【0131】

本願明細書に記載されている組合せ臨床試験におけるニボルマブおよびウロクプルマブの組合せが重複または相乗的毒性をもたらすことを示唆する証拠は存在しないが、この組合せのヒトにおいて初回であることを考慮すると、投与はウロクプルマブについて1週毎に1回400mgで開始される（すなわち、今までの1週毎に1回800mgの最高耐用量の半分）。現在の試験において、1週毎に1回400mg開始用量についての安全性評価期間の後に、用量制限毒性(DLT)の事象において、1週毎に1回200mgのより小さい用量がまた評価される。逆に、1週毎に1回400mg用量が安全および許容であると考えられる事象において、1週毎に1回800mgおよび1週毎に1回1600mgのより高い用量レベルがまた連続して評価される。1週毎に1回1600mg用量は、現在のモデルおよび感度分析に基づいて、対象の大多数において持続的なほぼ最大のROを提供することが予期される。加えて、1週毎に1回1600mg用量がDLT期間後に安全であると決定される事象において、2週毎に1回1600mg投与されることを含むレジメンが評価される。2週毎に1回ウロクプルマブの投与は、ニボルマブに対する投与スケジュールと一致し、患者の便宜性を改善させる。

30

#### 【0132】

したがって、本願の併用療法方法の特定の態様は、(a) PD-1に結合し、PD-1 / PDL1シグナル伝達を阻害するAbまたはその抗原結合部分、ここで、抗-PD-1 Abまたはその部分が、2または3週毎に1回、約2または約3mg/kg体重の用量で投与される；および(b) CXCR4に結合し、CXCR4 / CXCL12シグナル伝達を阻害するAbまたはその抗原結合部分、ここで、抗-CXCR4 Abまたはその部分が、1週毎に1回、約400または約800mgの均一用量で投与される、の組合せを対象に投与することを含む。1つの好ましい態様において、抗-PD-1 Abは2週毎に1回約3mg/kg体重の用量で投与されるニボルマブであり、抗-CXCR4 Abは1週毎に1回約400-800mgの均一用量で投与されるウロクプルマブである。

40

50

他の1つの態様において、抗-PD-1 Abは3週毎に1回約2mg/kg体重の用量で投与されるペムプロリズマブであり、抗-CXCR4 Abは1週毎に1回約400-800mgの均一用量で投与されるウロクプルマブである。

#### 【0133】

本願明細書に記載されている方法のいずれかの1つの態様において、抗-PD-1、抗-PD-L1、抗-CXCR4および/または抗-CXCL12 Abは、静脈内投与のために製剤化される。1つの態様において、抗-PD-1/抗-PD-L1 Abまたはその抗原結合部分および抗-CXCR4/抗-CXCL12 Abまたはその抗原結合部分は連続して対象に投与される。「連続的な」投与は、抗-PD-1/抗-PD-L1および抗-CXCR4/抗-CXCL12 Abの一方が他方の前に投与されることを意味する。一般的に、第1に投与されたAbの活性は対象において継続している間に、第2に投与されるAbは投与される。いずれのAbも第1に投与され得る。すなわち、1つの態様において、抗-PD-1/抗-PD-L1 Abが抗-CXCR4/抗-CXCL12 Abの前に投与され、他の態様において、抗-CXCR4/抗-CXCL12が抗-PD-1/抗-PD-L1 Abの前に投与される。一般的に、それぞれのAbは約60分間にわたって静脈内注入によって投与される。10

#### 【0134】

患者の便宜性のために連続的な投与の1つの態様において、抗-PD-1/抗-PD-L1および抗-CXCR4/抗-CXCL12 Abまたはそれらの部分は互いに30分以内に投与される。一般的に、抗-PD-1/抗-PD-L1および抗-CXCR4/抗-CXCL12 Abの両方が同じ日に投与されるとき、別々の輸液バッグおよびフィルターがそれぞれののために使用される。第1のAb、例えばウロクプルマブの投与後、ウロクプルマブ注入は、第2のAb、例えばニボルマブの注入を開始する前に、ウロクプルマブのラインをクリアするために生理食塩水洗浄を即座に行う。他の態様において、2つのAbは、互いに1、2、4、8、24または48時間以内に投与される。20

#### 【0135】

チェックポイントインヒビターAbが、一つには免疫系の記憶成分によって、非常に永続性の応答を生じることが示されているため（例えば、WO 2013/173223；Lipson et al., 2013; Wolchok et al., 2013）、投与される抗-PD-1/抗-PD-L1 Abの活性は数週間、数ヶ月またはさらに数年間継続し得る。1つの態様において、連続的な投与を含む本願の併用療法方法は、抗-PD-1/抗-PD-L1 Abで以前に処置されている患者への抗-CXCR4/抗-CXCL12 Abの投与を必要とする。さらなる態様において、抗-CXCR4/抗-CXCL12 Abは、抗-PD-1/抗-PD-L1 Abで以前に処置され、進行している患者に投与される。他の態様において、連続的な投与を含む本願併用療法方法は、抗-CXCR4/抗-CXCL12 Abで以前に処置されている患者、所望により癌が抗-CXCR4/抗-CXCL12 Abでの処置後に進行している患者への抗-PD-1/抗-PD-L1 Abの投与を必要とする。30

#### 【0136】

他の1つの態様において、抗-PD-1/抗-PD-L1および抗-CXCR4/抗-CXCL12 Abは、同時投与のための薬学的に許容される製剤において単一の組成物として混合されて、または薬学的に許容される組成物において製剤されているそれぞれのAbを有する別々の組成物として同時にのいずれかで、同時に投与される。40

#### 【0137】

##### 投与レジメンに影響を及ぼす要因

用量および頻度は、対象においてAbの半減期に依存して変化する。一般的に、ヒトAbは最も長い半減期を示し、次にヒト化Ab、キメラAb、および非ヒトAbが続く。投与の用量および頻度は、処置が予防または治療であるか否かに依存して変化し得る。予防適用において、比較的低用量が、長期間にわたって比較的まれな間隔で一般的に投与される。いくつかの患者は、余生のために処置を受け続ける。治療的適応において、比較的短50

い間隔で比較的高用量が、疾患の進行が低下または終了するまで、好ましくは患者が疾患の症状の部分的または完全な改善を示すまで、ときどき必要とされる。その後、患者は予防レジメンを投与され得る。

#### 【0138】

本願発明の医薬組成物における活性成分の実際の用量レベルは、患者に過度の毒性を与えることなく、特定の患者、組成物および投与様式に対して所望の治療応答をなし遂げるために有効である活性成分の量を得るように変化され得る。選択される用量レベルは、種々の薬物動態学因子、例えば、使用される本願発明の特定の組成物の活性、投与経路、投与時間、使用される特定の化合物の排出速度、処置期間、使用される特定の組成物と組み合わせて使用される他の薬物、化合物および／または物質、処置される患者の年齢、性別、体重、状態、一般健康および過去の病歴、および医薬分野においてよく知られた因子などに依存する。

10

#### 【0139】

##### 有害事象を低下させる方法

本願方法の1つの態様において、抗-PD-1／抗-PD-L1 Abまたはその抗原結合部分は治療量以下の用量で投与される。他の1つの態様において、抗-CXCR4／抗-CXCL12 Abまたは抗原結合部分は治療量以下の用量で投与される。さらなる態様において、抗-PD-1／抗-PD-L1 Abまたはその抗原結合部分および抗-CXCR4／抗-CXCL12 Abまたはその抗原結合部分は、治療量以下の用量でそれぞれ投与される。治療量以下の用量での少なくとも1つのAbの投与は、例えばAbが単剤療法におけるその典型的なまたは承認された用量で投与されるときの有害事象の発生率と比較して、対象における有害事象を低下させ得る。したがって、本願は、(a) PD-1およびPD-L1間の相互作用を破壊し、PD-1／PD-L1シグナル伝達を阻害するAbまたはその抗原結合部分；および(b) CXCR4およびCXCL12間の相互作用を破壊し、CXCR4／CXCL12シグナル伝達を阻害するAbまたはその抗原結合部分の組合せを対象に投与することを含む癌に罹患している対象を処置するための方法であって、少なくとも1つのAbまたはその部分が、治療量以下の用量で投与され、治療量以下の用量が、対象における有害事象を低下させる、方法を提供する。

20

#### 【0140】

本願はまた、(a) PD-1およびPD-L1間の相互作用を破壊し、PD-1／PD-L1シグナル伝達を阻害するAbまたはその抗原結合部分；および(b) CXCR4およびCXCL12間の相互作用を破壊し、CXCR4／CXCL12シグナル伝達を阻害するAbまたはその抗原結合部分の組合せを対象に投与することを含む癌に対する処置を受けている対象における有害事象を低下させるための方法であって、少なくとも1つのAbまたはその部分が、治療量以下の用量で投与される、方法を提供する。

30

#### 【0141】

本願明細書に記載されている治療方法のいずれかの1つの態様において、Abの組合せの投与は、臨床的利益が観察される限り、または管理し難い毒性または疾患進行が起こるまで、継続される。

40

#### 【0142】

##### 抗-PD-1／抗-PD-L1および抗-CXCR4／抗-CXCL12 Abの医学的使用

本願はまた、PD-1／PD-L1およびCXCR4／CXCL12シグナル伝達経路のデュアル阻害を含む、癌に罹患している対象において組合せにおける使用のための抗-PD-1／抗-PD-L1 Abまたはその抗原結合部分および抗-CXCR4／抗-CXCL12 Abまたはその抗原結合部分を提供する。これらのAbは、本願明細書に記載されている癌のすべての範囲の併用療法において使用され得る。1つの好ましい態様において、癌はSCLCである。他の好ましい態様において、癌はPACである。さらに他の好ましい態様において、癌はHCCである。

#### 【0143】

50

記載されている発明の1つの局面は、癌に罹患している対象を処置するための医薬の製造のための抗-PD-1 / 抗-PD-L1 Ab またはその抗原結合部分および抗-CXCR4 / 抗-CXCL12 Ab またはその抗原結合部分の組合せ使用である。医薬の製造のための組合せにおけるかかる抗-PD-1 / 抗-PD-L1 Ab および抗-CXCR4 / 抗-CXCL12 Ab の使用は、本願明細書に記載されている癌のすべての範囲に広範に適用できる。これらの使用の特定の好ましい態様、癌はSCLC、PAC およびHCC である。

#### 【0144】

本願はまた、本願明細書に記載されているこのAbの組合せを使用する処置の方法の全ての態様に対応する抗-CXCR4 / 抗-CXCL12 Ab と組み合わせて抗-PD-1 / 抗-PD-L1 Ab の医学的使用を提供する。10

#### 【0145】

##### キット

治療的使用のための、抗-PD-1 / 抗-PD-L1 Ab および抗-CXCR4 / 抗-CXCL12 Ab を含むキットもまた、本願発明の範囲内である。キットは、一般的に、キットの内容物の意図される使用を支持するラベルおよび使用のための指示書を含む。ラベルなる用語は、あらゆる文書、またはキット上またはキットと共に提供される記録物質、またはキットに付されている他のものを含む。したがって、本願は、癌に罹患している対象を処置するためのキットであって、(a) 約0.1から約20mg/kg 体重の範囲である1つ以上の用量のPD-1 およびPD-L1 間の相互作用を破壊し、PD-1 / PD-L1 シグナル伝達を阻害するAb またはその抗原結合部分；(b) 約400から約800mg の範囲である1つ以上の用量のCXCR4 およびCXCL12 間の相互作用を破壊し、CXCR4 / CXCL12 シグナル伝達を阻害するAb またはその抗原結合部分；および(c) 本願明細書に記載されている併用療法方法のいずれかにおいて、PD-1 / PD-L1 シグナル伝達を阻害するAb またはその部分およびCXCR4 / CXCL12 シグナル伝達を阻害するAb またはその部分を使用するための指示書を含む、キットを提供する。1つの態様において、Ab は単位投与形態において共にパッケージされ得る。ヒト患者を処置するための特定の好ましい態様において、キットは、本願明細書に記載されている抗-ヒトPD-1 Ab、例えば、ニボルマブまたはペムブロリズマブを含む。他の好ましい態様において、キットは、本願明細書に記載されている抗-ヒトCXCR4 Ab、例えば、ウロクブルマブを含む。20

#### 【0146】

本願発明は以下の実施例によりさらに例示されるが、さらに限定するものとして解釈されるべきでない。本願を通して言及される全ての文献の内容は、出典明示により本願明細書に包含させる。30

##### 【実施例】

#### 【0147】

##### 実施例1

###### 抗体の抗腫瘍活性を試験するための同系マウス腫瘍モデルの使用

Kp1、Kp3 およびMC38 マウスにおける腫瘍有効性試験40

Kp1 およびKp3 細胞系は、3つの癌遺伝子、p53、Rb およびp130 が不活性化されたトランスジェニックマウスのSCLC 様肺腫瘍由来であった (Schaffer et al., 2010; Jahchan et al., 2013)。Kp1 およびKp3 マウスSCLC 細胞系 (Jahchan et al., 2013) は、Stanford University のDr. Julien Sage によって親切に提供された。

#### 【0148】

マウス細胞系Kp1 (SCLC) 、Kp3 (SCLC) またはMC38 (C57BL6 / Jマウス由来マウス大腸癌腫細胞) は、10%ウシ胎児血清を補ったダルベッコ変形イグル培地 (DMEM) (Corning Life Sciences, Manassas, VA) において培養された。細胞を37、5%CO<sub>2</sub> の加湿雰囲気において維持50

した。全ての細胞系を指數関数的増殖期に回収し、細胞数および生存能力を C e d e x 自動細胞計数器 (R o c h e D i a g n o s t i c s, I n d i a n a p o l i s, I N ) を使用して評価した。インビオ試験のための全ての細胞系は、マイコプラズマおよび齧歯動物ウイルス病原体を含まないことを確認した (I M P A C T 試験)。

#### 【0149】

腫瘍試験のために、 $5 \times 10^6$  個の細胞を、B 6 1 2 9 S 1 / J F 1 (K p 1 または K p 3 ) または C 5 7 B 1 6 マウス (M C 3 8 ) のいずれかの側面に、50% M A T R I G E L (登録商標) (B e c t o n D i c k i n s o n, S a n J o s e, C A ) で皮下に (s . c . ) 移植した。腫瘍が約 2 5 - 5 0 mm<sup>3</sup> の中央サイズに達したときには、マウスをコホート (一般的に 6 - 1 0 匹マウス / 群) にランダム化した。全ての試験薬剤 (単一薬剤または組合せ) を、図に示される用量およびスケジュールで腹腔内に (i . p . ) 投与した。腫瘍容積、体重および臨床観察を、試験薬剤の有効性および忍容性を確立するために注目した。腫瘍キャリパー測定を、式 : 容量 = 1 / 2 (長さ × 幅 × 高さ) を使用して腫瘍容積に変換した。腫瘍増殖および体重を最初の投薬後最大 4 7 日間モニターリングした。  
10

#### 【0150】

試験において、マウスに滅菌齧歯動物飼料および水を自由に与え、12時間の明 / 暗サイクルで滅菌フィルタートップケージに収容した。全ての実験を A s s o c i a t i o n f o r A s s e s s m e n t a n d A c c r e d i t a t i o n o f L a b o r a t o r y A n i m a l C a r e I n t e r n a t i o n a l のガイドラインにしたがって実施した。  
20

#### 【0151】

##### H 2 2 マウスにおける腫瘍有効性試験

H 2 2 (肝臓癌) マウス細胞系を、10% ウシ胎児血清を補った R P M I - 1 6 4 0 培地 (C o r n i n g L i f e S c i e n c e s ) においてインビトロで維持した。腫瘍細胞を、1週毎に2回定期的に継代培養した。細胞を、指數増殖期において回収し、腫瘍接種のために数えた。それぞれのマウスを腫瘍発達のために 0 . 1 m l の P B S 中で  $2 \times 10^6$  個の H 2 2 腫瘍細胞で右下側面領域に皮下接種した。腫瘍が約 1 6 9 mm<sup>3</sup> の平均サイズに達したとき、マウスを 8 匹マウス / 群のコホートにランダム化し、試験薬剤 (単一の薬剤または組合せ) を、0日として示される最初の投与日として 5 回投与のために 1 週間に二回、腫瘍を有するマウスに腹腔内投与した。アイソタイプコントロール群を、マウス I g G 2 a プラス マウス I g G 1 D 2 6 5 A (D 2 6 5 A 変異を含む F c R に結合しない変異 I g G 1 アイソタイプ; Clynes et al., 2000) でそれぞれ 1 0 m g / k g で処理した。P D - 1 群を、抗 - マウス P D - 1 マウス I g G 1 D 2 6 5 A で 1 0 m g / k g で処理した。C X C R 4 および P D - 1 組合せ群を、抗 - マウス C X C R 4 m I g G 2 a および抗 - マウス P D - 1 I g G 1 D 2 6 5 A でそれぞれ 1 0 m g / k g で処理した。最初の投与後、腫瘍増殖および体重を 4 2 日間モニタリングした。  
30

#### 【0152】

##### フローサイトメトリー

細胞系 (K P c e l l s, M C 3 8 ) を指數増殖期に回収し、細胞数および生存能力を C e d e x 自動細胞計数器を使用して評価した。F A C S 分析のために、細胞 (ウェルあたり  $10^6$  個) を U 底プレート (ポリスチレン 9 6 - ウェルプレート、F a l c o n R E F # 3 5 1 1 7 7 ) に移した。細胞を 2 0 0 μ l の F A C S バッファー (P B S、2% F B S、0 . 1 % N a N 3 ) で洗浄し、2 , 0 0 0 r p m で 1 分間遠心分離した。細胞を、精製ラット抗 - マウス C D 1 6 / C D 3 2 (M o u s e B D F c b l o c k ; B D C a t . N o . 5 5 3 1 4 2 (1 0 u g / m l ) ) で氷上で 1 0 分間 F c - ブロックした。C X C R 4 免疫染色を、マウス C X C R 4 に対する A b (抗 - マウス C X C R 4 P E、R & D C a t . N o . F A B 2 1 6 5 1 P ) またはアイソタイプ (ラット I g G 2 b アイソタイプコントロール P E、R & D C a t . N o . 1 C 0 1 3 P ) および生 / 死滅染色剤 (A q u a 蛍光反応色素、L i f e S c i e n c e  
40

10

20

30

40

50

Cat. No. L34957) (1:500)で行った。染色を暗所で氷上で(ウェル当たり $100\mu l$ にて)30分間行った。次に、細胞を以前に記載されているとおりFACSバッファーで2回洗浄した。細胞を、4%PFAで氷上で30分間固定し、次に $200\mu l$ のFACSバッファーでさらに洗浄した(2,000 rpmで1分間)。次に、FACS ArrayまたはBD Canto II分析の前に、細胞を $150\mu l$ のFACSバッファーに再懸濁した。flowjoソフトウェアを使用してデータ分析を行った。

#### 【0153】

Kp1、Kp3およびMC38細胞系におけるCXCR4の発現をフローサイトメトリーにより評価した。図1に示されるとおり、Kp1細胞系は細胞表面上でCXCR4を発現するが、Kp3は表面上でCXCR4の発現を示さない。図2は、MC38細胞系がまた細胞表面上にCXCR4を発現しないことを示す。種々の型のヒトT細胞上でのCXCR4の発現がまた、フローサイトメトリーにより測定された。図3に示されるとおり、ヒトTregは、CD8+T細胞およびTエフェクター細胞よりもかなり高いレベルのCXCR4を発現する。

10

#### 【0154】

##### 実施例2

CXCR4発現するマウスKP1腫瘍モデルにおいて抗-PD-1と組み合わせての抗-CXCR4の抗腫瘍活性

抗-マウスCXCR4 Abの抗腫瘍活性を、実施例1に記載されているKp1 CXCR4<sup>+</sup>マウスSCLCモデルにおいて、単独または抗-マウスPD-1 Abと組み合わせて評価した。

20

#### 【0155】

この実施例および後の実施例において使用されるCXCR4 Abは、Fc部分がマウスIgG1またはマウスIgG2aアイソタイプ由来のFc部分で置換された、ラットIgG2b抗-マウスCXCR4 mAbから構築されたマウス抗-マウスCXCR4 mAb、クローン4.8であった(Clone # 247506; Cat. No. MAB21651; R&D Systems, Minneapolis, MN)。抗-m CXCR4 mAbのmIgG1フォーマットは、ヒトIgG4アイソタイプを有するウロクブルマブの枯渇させない生物学的特性を模倣することを意図しており、(ヒトIgG1に対応する)mIgG2aフォーマットは、mAbが結合する細胞の枯渇を媒介する可能性があるように設計された。

30

#### 【0156】

実施例において使用されたPD-1 Abは、操作されたIgG1D265Aアイソタイプを有するmAb 4H2であった。Mab 4H2は、Fc部分がマウスIgG1アイソタイプ由来のFc部分で置換された、ラットIgG2a抗-マウスPD-1 Abから構築されたキメララット-マウス抗-mPD-1 mAbである(WO 2006/121168)。抗-マウスPD-1を使用した本願明細書に記載されているマウス腫瘍実験において、mIgG1D265A Fc部分を含むmAb 4H2を使用した。4H2-mIgG1D265Aは、mPD-1へのmPD-L1およびmPD-L2の結合をブロックし、T細胞応答刺激し、他のマウスアイソタイプと比較してMC38腫瘍増殖に対して最も強い阻害効果を示すことが示されている(WO 2006/121168)。

40

#### 【0157】

マウスの中央腫瘍容積における変化を図4Aおよび4Bにプロットした。抗-CXCR4 mIgG1アイソタイプはこのモデル系において腫瘍増殖の阻害を実質的に示さず、この中央腫瘍容積はマウス抗-キーホールリンペットヘモシアニン(KLH) IgG1 mAbおよびビヒクリ(生理食塩水)ネガティブコントロールで処置されたマウスのものと類似しているが(図4A)、抗-CXCR4 AbのmIgG2aアイソタイプはKP1腫瘍増殖に対して最も強力な阻害効果を示す(図4A)。抗-PD1(mAb 4H2 mIgG1)は低レベルの抗腫瘍活性を示す(図4A)。

50

## 【0158】

抗-PD-1と組み合わせたとき、抗-CXCR4 IgG1 Abは、コントロールと比較して低い程度の腫瘍阻害を示した(図4B)。対照的に、抗-CXCR4 IgG2a mAbと抗-PD-1との組合せは、モニタリング期間を通して腫瘍増殖の本質的に完全な阻害を生じた(図4B)。したがって、このKp1 CXCR4を発現するモデルにおいて、抗-CXCR4-IgG2aおよび抗-PD1の組合せは、マウスSCL5腫瘍細胞の増殖を阻害することにおいて強い相乗効果を示すが、抗-CXCR4-IgG1および抗-PD1の組合せは、このマウスマodelにおいて抗-PD-1の低いレベルの抗腫瘍活性を有意に増強しなかった(図4Aおよび4B)。Abの組合せの抗腫瘍効果が、より有効なAbでの単剤療法で観察される効果よりも高いか、またはそれぞれのAbによって個々に示される阻害のレベルの合計よりも高いとき、Abの組合せは相乗的であると考えられる。

10

## 【0159】

## 実施例3

CXCR4を発現しないマウスKP3腫瘍モデルにおいて抗-PD-1と組み合わせての抗-CXCR4の抗腫瘍活性

抗-マウスCXCR4 Abの種々のアイソタイプの抗腫瘍活性を、単独または抗-マウスPD-1と組み合わせて実施例1に記載されているCXCR4<sup>+</sup> KP3マウスSCLC腫瘍モデルにおいて評価した。ヒトIgG1 Fc領域を有する非フコシル化(nf)抗-ジフテリア毒素(DT)Ab、抗-KLH IgG1および抗-KLH IgG2a mAb(図5において「IgG1」または「IgG2a」と単に指定されている)を、結合しないコントロールAbとして使用した。nf修飾は、一般的に、ADCC活性を増強する。

20

## 【0160】

この実験において、低いレベルの腫瘍増殖阻害を、生理食塩水「ビヒクル」と比較して複数の結合しないコントロールAbで観察した。図5参照。コントロールAbおよび単一の薬剤(抗-CXCR4または抗-PD-1)に対する結果が図5Aに示される。この図は、単一の薬剤として投与された抗-CXCR4 mIgG2aが、Kp3細胞上のCXCR4の発現の欠如にもかかわらず、抗-PD-1で見られるレベルを超える顕著な抗腫瘍活性を示すことを示している。図5Bは、同じ実験において抗-CXCR4および抗-PD-1の組合せでの処置の効果を示す。抗-PD1処置に対して比較的難治性であるこのKp3腫瘍細胞モデルにおいて、抗-CXCR4 IgG2aまたは抗-PD-1単独での処置と比較して抗-CXCR4 IgG2a プラス抗-PD1併用療法での抗腫瘍活性のレベルにおいてそれでもなお適度の増強があることが明らかである(図5B)。このKp3モデルにおいて腫瘍細胞によるCXCR4発現の欠如は、抗-CXCR4が腫瘍自体以外のCXCR4を発現する標的、例えばTreregおよび/またはMDSCに作用し得ることを示唆する。TreregまたはMDSC上で発現されるCXCR4および腫瘍において発現されるCXCL12間の相互作用の遮断は、腫瘍へのTreregまたはMDSCの補充を減少させ、免疫抑制のレベルを低下させ得る。Treregおよび/またはMDSC上のCXCR4への抗-CXCR4 IgG2aの結合はまた、これらの免疫抑制剤細胞のアポトーシスおよびADCC-、ADCP-および/またはCDC-媒介枯渇をもたらし、それにより抗-PD-1の抗腫瘍応答を増強し得る。

30

## 【0161】

現在の結果は、抗腫瘍活性の大規模な増強によって証明される強い相乗的相互作用がCXCR4<sup>+</sup> Kp1腫瘍モデルにおいて抗-CXCR4 IgG2aおよび抗-PD1間で見られた図4Bにおいて示されるデータと対照的である。これは、Kp1モデルにおいて、抗-CXCR4作用のさらなるメカニズムが関与し得ることを示唆する。例えば、CXCR4を発現する腫瘍細胞は、抗-CXCR4 IgG2aによって、アポトーシスによって直接的におよび/またはADCC-および/またはCDC-媒介メカニズムによって破壊され得る。

40

50

## 【0162】

## 実施例4

C X C R 4 を発現しないマウスM C 3 8 腫瘍モデルにおいて抗 - P D - 1 と組み合わせての抗 - C X C R 4 の抗腫瘍活性

抗 - マウスC X C R 4 A b の種々のアイソタイプの抗腫瘍活性を、単独または抗 - マウスP D - 1 と組み合わせて実施例1に記載されているC X C R 4 + M C 3 8 マウス結腸腺癌モデルにおいて評価した。m I g G 1 およびm I g G 2 a m A b フォーマットにおいて抗 - K L H を、結合しないコントロールA b として単独または組み合わせて使用した。

## 【0163】

コントロールA b および单一の薬剤（抗 - C X C R 4 または抗 - P D - 1 ）に対する結果が図6 A に示されており、併用療法に対する結果が図6 B に示されている。一方、K p 3 腫瘍モデルと同様に、M C 3 8 細胞は細胞表面上でC X C R 4 を発現せず（実施例1参照）、M C 3 8 腫瘍は、K p 3 モデルとは異なり、W O 2 0 1 4 / 0 8 9 1 1 3 に記載されており、図6 A において確認されるとおり抗 - P D 1 I g G 1 処置に対してかなり感受性である（図5 A 参照）。低いレベルの単剤活性がC X C R 4 I g G 1 およびC X C R 4 I g G 2 a で観察された（図6 A ）。対照的に、抗 - P D - 1 は、抗 - C X C R 4 A b アイソタイプのいずれか（I g G 1 またはI g G 2 a ）と相乗的に相互作用し、このM C 3 8 腫瘍モデルにおいて、抗 - C X C R 4 I g G 1 組合せよりも抗 - C X C R 4 I g G 2 a 組合せでより有効である強力な抗腫瘍活性を生じた（図6 B ）。この結果は、抗 - C X C R 4 が、例えばT r e g および/ またはM D S C を含む、腫瘍細胞以外のC X C R 4 - 発現細胞を標的とし得ることを実施例3からの兆候を強化する。抗 - C X C R 4 のm I g G 2 a アイソタイプは、C X C L 1 2 を発現する腫瘍へのT r e g および/ またはM D S C の輸送を減少させるアポトーシスによる直接的な死滅を含む、I g G 1 アイソタイプによって使用されるメカニズムに加えて、マウスにおいてA D C C 、A D C P および/ またはC D C によってC X C R 4 + T r e g および/ またはM D S C を殺し得る。

## 【0164】

## 実施例5

C X C R 4 を発現しないマウスH 2 2 腫瘍モデルにおいて抗 - P D - 1 と組み合わせての抗 - C X C R 4 I g G 2 A の抗腫瘍活性

抗 - マウスC X C R 4 m I g G 2 a A b の抗腫瘍活性を、抗 - マウスP D - 1 m I g G 1 D 2 6 5 A と組み合わせて実施例1に記載されているC X C R 4 + H 2 2 マウス肝臓癌モデルにおいて評価した。組合せアームにおいて使用される抗 - C X C R 4 および抗 - P D 1 A b のアイソタイプに対応するm I g G 1 D 2 6 5 A およびm I g G 2 a フォーマットにおいて抗 - K L H を、アイソタイプ効果（二次F c - 媒介相互作用）に対するコントロールとして含めた。

## 【0165】

図7は、抗 - P D - 1 および抗 - C X C R 4 I g G 2 a の組合せ（A ）、抗 - P D - 1 単剤療法（B ）および抗 - K L H アイソタイプコントロールの組合せ（C ）で処置された個々のマウスに対する腫瘍増殖曲線を示し、中央腫瘍増殖曲線は、図7 D に示される。抗 - P D - 1 は、腫瘍増殖の最小阻害を示したコントロール（図7 C ）と比較して腫瘍増殖の強い阻害（図7 B ）を生じ、8匹のうち3匹の抗 - P D - 1 - 処置マウスが38日目までに腫瘍なし（T F ）であった。抗 - m C X C R 4 m I g G 2 a との組合せについて31日目までに8匹のうち7匹のマウスT F 対 P D - 1 単独について38日目までに8匹のうち3匹のT F マウス（図7 B ）で、抗 - m C X C R 4 m I g G 2 a との組合せはH 2 2 モデルにおいて抗 - P D 1 の有効性を増強する（図7 A ）。この増強は、図7 D に示される中央腫瘍増殖曲線に明確に記載されている。これらのデータは、恐らく免疫抑制性M D S C および/ またはT r e g の直接的なアポトーシスまたは枯渇を引き起こすことによって、抗 - C X C R 4 が、C X C R 4 を発現しない腫瘍のものでさえ腫瘍増殖の阻

10

20

30

40

50

害を増強させることにおいて抗-PD-1と相乗効果を与えることができる証拠を実証している、CXCR4-Kp3（実施例3）およびMC38（実施例4）腫瘍で得られたデータと一致している。

#### 【0166】

##### 実施例6

SCLCおよびPACを処置するためのニボルマブと組み合わせられたウロクプルマブのフェーズ1/2臨床試験の設計

##### 試験設計および期間

これは、SCLCおよびPACを有する対象において安全性および有効性を独立して評価するために設計されたニボルマブと組み合わせてのウロクプルマブのオープンラベル、多施設フェーズ1/2試験である。試験設計は、1週毎に1回400、800mgおよび1600mgの用量レベルに対するDLT評価、次に2つの用量レベル（1週毎に1回800mgおよび1600mg）および1600mgに対するさらなるスケジュール（2週毎）を評価するために3つのコホートの並行評価を含む用量評価フェーズ（段階1）からなる。2つ以上のDLTがDLT評価期間中に何らかの用量で見られるとき、より低い用量が単一アームとして評価される。推奨用量は、段階1からの安全性および有効性データに基づいて選択され、高い有効性が観察されるとき、Simon最適2段階様設計または比較アームを有するランダム化フェーズ2試験の形態（Simon、1989）において用量拡張を行う。

#### 【0167】

この試験は、スクリーニング、処置および追跡からなる。全ての対象は、最初の投与前の28日以内で適格性を決定するためにスクリーニング期間を受ける。処置フェーズ中、ウロクプルマブは1週毎に1回または2週毎に1回（1600mg用量のみ）投与され、ニボルマブは2週毎に1回投与される。処置期間は疾患進行または許容されない毒性の発生まで続く。追跡中、対象は疾患活動性および安全性についてモニタリングされる。試験期間は約2年と予測される。

#### 【0168】

試験設計概略は図8に示されている。

#### 【0169】

##### 用量評価フェーズ（段階1）

用量評価フェーズは、ニボルマブと組み合わせてのウロクプルマブの種々の用量およびスケジュールでのDLT評価期間、次に最大3つのコホートの評価からなる（表1参照）。DLT評価期間は、最初に3-6人の対象に用量レベル1（DL1；400mg、1週毎に1回、ニボルマブと組み合わせてウロクプルマブ）でPACまたはSCLCのいずれかで、次に3-6人の対象それぞれにDL2（800mg、1週毎に1回、ニボルマブと組み合わせてウロクプルマブ）でPACおよびSCLCで、次に3-6人の対象それぞれにDL3A（1600mg、1週毎に1回、ニボルマブと組み合わせてウロクプルマブ）で6週間PACおよびSCLCでそれぞれ処理される。DL1について、両方の腫瘍型が安全性評価のために混合される。DL2およびDL3Aについて、それぞれの腫瘍型が、万一腫瘍特異的AEが現れる場合には、安全性について独立して評価される。DLT評価フェーズ中の登録は、それぞれの用量/腫瘍コホートにおいて最大6人の対象の同時発生を可能にする（すなわち、Rolling Six設計）（Skolnik et al., 2007）。この設計は、3-6人の評価できる対象がDLT期間中に登録され、まだ評価されている人数に依存してDLT評価に寄与することを可能にする。新規参加者を現在の用量レベルまたは次に高い用量レベルに登録するか否かの決定は、新規参加者登録時に利用できるデータに基づく。DLT評価期間の試験停止規則および用量評価フェーズを行う決定は、以下を含む：

#### 【0170】

アクティブなコホートにおける登録は、登録されている3人未満の対象、最大の6人の対象まで；および毒性に対して評価できる2人または最大5人の対象において1のDLT

10

20

30

40

50

であるとき行う。

【0171】

アクティブなコホートにおける登録は、（評価できる、および評価できないを含む）登録されている最大の6人の対象であるとき停止する。

【0172】

毒性に対して評価できる最大6人の対象において2以上のDLTであるとき、アクティブなコホートは許容でないとみなし、登録は永久的に停止される。

【0173】

毒性に対して評価できる3人または最大6人の対象において0のDLT；および毒性に対して評価できる6人の対象において1のDLTであるとき、アクティブなコホートは許容とみなし、登録は次の工程に進む。

10

【0174】

DLTに対して評価できない対象（すなわち、疾患進行による中止）は、同時に登録された対象と置き換えられる。

【0175】

【表1】

表1. ウロクプルマブおよびニボルマブに対する用量レベル

用量レベル	ウロクプルマブ	ニボルマブ
DL-1	200mg、1週毎に1回	3mg/kg、2週毎に1回
DL1	400mg、1週毎に1回	3mg/kg、2週毎に1回
DL2	800mg、1週毎に1回	3mg/kg、2週毎に1回
DL3A	1600mg、1週毎に1回	3mg/kg、2週毎に1回
DL3B	1600mg、2週毎に1回	3mg/kg、2週毎に1回

【0176】

DLT評価期間中に観察されるDLTの数に依存して、ウロクプルマブの段階的漸増または段階的縮小が保証され得る。1週毎に1回、800mgおよび1週毎に1回、1600mgのウロクプルマブ用量レベルでの用量段階的漸増／段階的縮小は、それぞれの腫瘍型に対して独立して起こる。ニボルマブの用量修飾は、この試験において認められない。

20

【0177】

DL1およびDL2およびDL3Aでの毒性が許容されるとき、登録は3つのランダム化コホート(DL2、DL3AおよびDL3B)で行い、段階1を完了する。

【0178】

DL3Aでの毒性が許容されないとき、登録はDL2で行い、段階1を完了する。

【0179】

DL2での毒性が許容されないとき、登録はDL1で行い、段階1を完了する。

【0180】

DL1での毒性が許容されないとき、新規DLT評価期間がDL-1で開始される。

30

【0181】

DL-1の毒性が許容されないとき、登録はその腫瘍型に対して停止される。

【0182】

DL-1での毒性が許容されるとき、登録はDL-1で行い、単回投与レベルで段階1を完了する。

【0183】

用量拡張フェーズに進む決定ルール

個々の腫瘍型において用量評価フェーズにおける全ての対象が、少なくとも3月の処置を有するとき、または時期尚早に中止されるとき、中間分析(IA)を行う。このIAは、それぞれの腫瘍型に対して独立して実施される。治験担当医評価客観的応答率(ORR)は、試験の段階2部分の意思決定を導くために使用される。しかしながら、全ての利用

40

【0184】

50

できる有効性および安全性データは、用量拡張フェーズにおいてさらに評価される推奨用量を選択するために使用される。さらに、用量評価フェーズにおいて推奨用量で観察される有効性のレベルがその腫瘍型の評価を停止することを保証しないとき、Simons 2段階様設計を進めるか、または比較アームを有するランダム化フェーズ2試験を実施する、適当な拡張フェーズ試験設計を選択するために使用する。IA分析のために使用される有効性閾値（表2参照）は、SCLCおよびPACにおいてニボルマブ単剤療法を評価する継続フェーズ1/2試験からの予備的有効性データおよび2L選択肢に関して報告された活性のレベルに基づく（NCT01928394; Hurwitz et al., 2015）。低い、中程度の、または高い有効性の決定は、ウロクブルマブおよびニボルマブで観察される応答率に主に基づくが、利用できる安全性および有効性データの全体が考慮される。

10

## 【0184】

推奨用量レベルでの腫瘍型あたりの応答者の数が低い有効性と一致するとき、その腫瘍型の評価はデータの最終検討まで保留される。

## 【0185】

推奨用量レベルでの腫瘍型あたりの応答者の数が中程度の有効性と一致するとき、用量拡張フェーズは単一アーム評価を続ける。

## 【0186】

推奨用量レベルでの腫瘍型あたりの応答者の数が高い有効性と一致するとき、用量拡張フェーズは比較アームを有するランダム化フェーズ2試験を続ける。

20

## 【0187】

表2. それぞれの腫瘍型に対する段階1有効性閾値

## 【表2】

有効性閾値	SCLC	PAC
低い	$\leq 3$ 応答者／19対象	$\leq 1$ 応答者／21対象
中程度	4-8応答者／19対象	2-5応答者／21対象
高い	$\geq 9$ 応答者／19対象	$\geq 6$ 応答者／21対象

## 【0188】

## 用量拡張フェーズ（段階2）

30

IAの結果に基づいて、用量拡張フェーズは、Simons 2段階様単一アーム試験（適度の有効性）または比較アームを有するランダム化フェーズ2試験（高い有効性）の第2の段階からなる。

## 【0189】

Simons 2段階様設計の第2の段階は、単一アーム試験において推奨用量レベルでの登録を拡張する。さらなる25人のSCLC対象および20人のPAC対象を登録し、この評価を完了する。主要エンドポイントは両方の腫瘍型に対する治験担当医評価ORRであり、PFSは二次エンドポイントと考慮される。

## 【0190】

ランダム化フェーズ2試験は、推奨用量レベルでの併用療法 対 腫瘍型に適当な比較アームを比較する。この試験の主要エンドポイントは腫瘍型によって決まり、ORRがSCLCにおいてランダム化フェーズ2試験に対するエンドポイントであり、全生存(OS)がPACにおいてランダム化フェーズ2試験に対するエンドポイントである。ORRについて、独立放射線審査委員会(IRRCC)は、固体腫瘍(RECIST 1.1)基準の応答評価基準ごとに画像の盲目的な独立したレビューを行う。

40

## 【0191】

## SCLC

SCLCにおいて比較アームを有するランダム化フェーズ2試験は、ニボルマブと組み合わせられる推奨用量のウロクブルマブ 対 ニボルマブ単剤療法を比較する。この比較の主な目的は、併用療法がニボルマブ単剤療法よりも優れているか否かを決定することで

50

ある。この試験の主要エンドポイントは、I R R C 評価 O R R の評価である。安全性、忍容性およびP F S は、二次エンドポイントとして考慮される。ランダム化フェーズ2試験は、アームあたりさらなる50人の対象（すなわち、2つのアームに対して100）を必要とする。用量評価フェーズに含まれるS C L C 対象は、ランダム化フェーズ2試験の有効性分析の一部ではない。層別因子は、補充のバランスをとるために試験のこの部分のために使用され、一般状態を含む（E C O G 0 対 1）。

#### 【0192】

##### P A C

P A Cにおいて比較アームを有するランダム化フェーズ2試験は、ニボルマブと組み合わせられる推奨用量のウロクプルマブ 対 治験担当医の選択 2 L 化学療法を比較する。この比較の主な目的は、ウロクプルマブ プラス ニボルマブ併用療法が2 L 化学療法よりも優れているか否かを決定することである。この試験の主要エンドポイントはO S である。安全性、忍容性およびP F S は、二次エンドポイントとして考慮される。P A Cにおいて、ランダム化フェーズ2試験は、アームあたりさらなる125人の対象（すなわち、2つのアームのために250）を必要とする。I R R C 評価 O R R は、探索的エンドポイントとして考慮される。用量評価フェーズに含まれるP A C 対象は、ランダム化フェーズ2試験の分析において考慮されない。この試験において治験担当医の選択化学療法選択肢は、P A Cに対するN C C N ガイドラインに基づき、以下のものを含む（NCCN GUIDELINE S(登録商標), Version 2.2015 - Pancreatic Adenocarcinoma; Tempero et al., 2012）

:

#### 【0193】

F O L F I R I N O X または他のフルオロピリミジンベースのレジメンに失敗する対象は、この試験のためのゲムシタビンベースの治療を考慮することができる；そして

#### 【0194】

ゲムシタビンベースのレジメンに失敗する対象は、この試験のためのフルオロピリミジンベースのレジメンを考慮することができる。

#### 【0195】

層別因子は、試験のこの部分のために使用され、一般状態（E C O G 0 対 1）および1 L 設定において使用される化学療法のタイプ（フルオロピリミジン含有 対 ゲムシタビン含有 レジメン）を含む。

#### 【0196】

##### 用量制限毒性

最初の6週間の間に腫瘍型（適用できるとき）あたり最初の3 - 6の評価できる対象において評価されるD L T の発生率は、用量レベルが許容されるか否かを最初に決定するために使用される。対象は、6週投与期間中に6回のウロクプルマブ投与のうち少なくとも5回および3回のニボルマブ投与のうち少なくとも2回受けるとき、または、D L T を経験するとき、D L T について評価可能であると考えられる。D L T は、疾患関連であると治験担当医によって考慮されるA E ではない。以下の薬物関連A E（1つまたは両方の薬剤に関連するいざれか）は、D L T と考慮される：

#### 【0197】

研究室異常を含む、グレード $\geq 3$ の任意の薬物関連非血液学的A E。対象がグレード2毒性範囲内のベースラインA S T またはA L T を有するとき、D L T はA S T および/またはA L T  $> 2 \times$  ベースラインまたは $> 8 \times$  U L Nにおいて薬物関連上昇として考慮される；

#### 【0198】

グレード $\geq 4$ のあらゆる薬物関連血液学的A E；

ウロクプルマブの中止により管理されるあらゆる毒性；

ニボルマブの中止により管理されるあらゆる毒性

#### 【0199】

D L T 期間中、対象の離脱が、14日以上のあらゆるウロクプルマブの投与遅延のため

10

20

30

40

50

に必要とされる。

#### 【0200】

##### 疾患進行を超える処置

蓄積する証拠は、免疫療法で治療される対象が進行性疾患（PD）の証拠にもかかわらず臨床的利益を導き得ることを示す。したがって、対象が治験担当医評価臨床的利益を示し、対象が試験薬を許容している限り、対象は最初のRECIST 1.1 - 規定のPDを超える処置を継続することが許される。臨床的利益の評価は、対象が臨床的に悪化しており、継続処置からさらなる利益を受ける可能性がないか否かを考慮に入れる。

#### 【0201】

対象は、（全ての標的病変および新規な測定可能な病変を含む）最初の進行の時点から腫瘍組織量においてさらなる10%またはそれ以上の増加として定義される、さらなる進行の証拠に基づいて試験療法を中止する。最長直径が少なくとも10mmである（少なくとも15mmの短軸を有さなければならない病理学的リンパ節を除けば）とき、新規な病変は最初の進行の時点で測定可能と考えられる。最初の進行の時点で測定不能であると考えられるあらゆる新規な病変は測定可能となり得、したがって最長直径が少なくとも10mmに増加したとき（短軸において少なくとも15mmへの増加を有さなければならない病理学的リンパ節を除けば）、腫瘍組織量測定に含んだ。

10

#### 【0202】

治験担当医評価進行日を含む統計分析について、最初の治験担当医評価RECIST 1.1 - 規定の進行を超える処置を継続する対象は、最初の進行事象の時点で治験担当医評価進行性疾患を有すると考えられる。これらの免疫応答が用量拡張フェーズ（段階2）試験設計を選択するための決定ルールにおいて使用され得るため、RECIST 1.1 - 規定の進行に続いて腫瘍縮小を有する対象もまた別々に記述的に要約される。

20

#### 【0203】

##### 実施例7

##### 有効性評価

ベースライン腫瘍評価は、造影コンピュータートモグラフィー（CT）または磁気共鳴画像（MRI）スキャンを利用して、最初の投与前の28日間以内に実施される。胸部、腹部、骨盤および脳に加えて、全ての知られている疾患部位をベースラインで評価する。後の評価は、胸部、腹部および骨盤、および全ての知られている疾患部位を含み、ベースラインで使用されたのと同じ画像方法を使用する。対象は、腫瘍応答について、疾患進行が記録されるまたは処置が中止されるまで（いずれか遅い方）、第1の投与から6週（±1週）で開始し、最初の24週間6週（±1週）毎およびその後12週（±1週）毎継続し評価される。継続試験処置決定のための腫瘍評価は、RECIST 1.1 基準を使用して治験担当医によって完了される。

30

#### 【0204】

##### 一次有効性評価

一次有効性エンドポイントは、治験担当医によって決定されるとき、用量評価フェーズのために、Simon 2 - 段階様設計が拡張フェーズのために選択されるとき、ORRである。比較アームを有するオープンラベルランダム化フェーズ2が拡張フェーズのために選択されるとき、一次有効性エンドポイントはSCLCに対してORRおよびPACに対してOSである。ランダム化フェーズ2試験がいずれかの腫瘍型について開始されると、全ての画像スキャンの盲目的な独立した審査がORR、最良総合効果（BOR）および腫瘍容積における低下の大きさを決定するために使用される。OSについて、（あらゆる理由のために処置から離脱する対象を含む）試験に参加するために適格であり、生存データ回収のためにコンセントを撤回していない全てのランダム化対象に対して生存日を回収するために、あらゆる努力がなされる。対象の死が報告されないと、対象との接触日を表すこの試験において回収されたすべての日を、対象の最後の既知の生存日を決定することにおいて使用する。

40

#### 【0205】

50

## エンドポイント

### 主要エンドポイント

DLTの発生率はDLT評価フェーズ中の主要安全性エンドポイントである。

有効性に関して、SCLCに対する主要エンドポイントは、用量評価フェーズおよび単一アーム用量拡張フェーズに対する治験担当医評価ORRである。SCLC対象においてランダム化フェーズ2試験が誘発されるとき、IRRCはORRの評価のためにRECIST 1.1基準ごとに画像の盲目的な独立したレビューを行う。ORRは、処置される対象の数（比較アームを有するランダム化フェーズ2試験に対するランダム化対象の数）によって割られた完全応答（CR）または部分応答（PR）の最良総合効果（BOR）を有する対象の数として定義される。BORは、治験担当医によって決定されるとき、最初の投与日（比較アームを有するランダム化フェーズ2試験に対するランダム化日）と（いずれにせよ最初に起こる）RECIST 1.1ごとに客観的に記録された進行日または後の抗癌療法の日の間に記録される最も良い応答指定として定義される。BOR評価に含まれるCRまたはPR決定は、応答の基準が最初に満たされた4週間以上後に第2のスキャンにより確認される。記録される進行または後の療法がない対象について、全ての利用できる応答指定はBOR評価に寄与する。進行を過ぎて処置を続ける対象について、BORは、最初のRECIST 1.1-定義進行のときまでに記録された応答指定に基づいて決定される。

### 【0206】

PACについて、主要エンドポイントは、用量評価フェーズおよび単一アーム用量拡張フェーズに対する治験担当医評価ORRである。OSは、ランダム化2アームフェーズ2試験に対する主要エンドポイントである。ORRは上記のように定義され、OSはランダム化日およびあらゆる原因による死の日間の時間として定義される。死亡していない対象は、最後の知られる生存日で打ち切られる。

### 【0207】

### 二次エンドポイント

安全性および忍容性は、DLT、有害事象、重篤な有害事象、および特定の研究室異常（最悪のグレード）の発生率によって分析される。毒性は、NCI CTCAE version 4.0を使用してグレード付けされる。

### 【0208】

PFSは、治験担当医によって決定されとき（RECIST 1.1によって）、最初の投与日（比較アームを有するランダム化フェーズ2試験のためのランダム化日）から最初の記録される腫瘍進行の日またはあらゆる原因による死の日のいずれか最初に起こる日までの時間として定義される。報告された以前の進行なしで死亡する対象は、死の日に進行していると考えられる。進行または死亡しなかった対象は、最後の評価できる腫瘍評価の日に打ち切られる。あらゆる試験中の腫瘍評価を有さず、死亡しなかった対象は、最初の投与日（比較アームを有するランダム化フェーズ2試験のためのランダム化日）に打ち切られる。以前の報告された進行なしで抗癌療法を開始した対象は、後の抗癌療法の開始前に最後の評価できる腫瘍評価の日に打ち切られる。

### 【0209】

### 探索的エンドポイント

応答期間（DOR）は、PRまたはCRのBORを有する対象について計算され、測定基準がCRまたはPRについて最初に満たされるとき（最初に記録されるいずれかの状態）からRECIST 1.1基準を使用して決定されるとき最初の記録される腫瘍進行の日またはあらゆる原因による死の日のいずれか最初に起こる日までの時間として定義される。進行も死亡もしない対象について、DORは、最後の評価できる腫瘍評価の日に打ち切られる。

### 【0210】

疾患コントロール率は、処置される対象の数（比較アームを有するランダム化フェーズ2試験が開始されるときランダム化対象の数）によって割られたPRまたはCRのBOR

10

20

30

40

50

または安定な疾患（第2のスキャンがベースラインから最低10週間である、2回連続スキャンが存在する少なくとも6週間）を除いて、上記のORRとして定義される。

#### 【0211】

探索的エンドポイントとしてのOSは、比較アームを有するランダム化フェーズ2試験のためのランダム化日および他の設計のための投与開始日を考慮して、主要エンドポイントのものとして定義される。

#### 【0212】

ORRは、腫瘍容積における低下の大きさによりさらに特徴付けられる。腫瘍容積における低下の大きさは、ベースラインから最初の記録される腫瘍進行または死のときまでに観察される最下点までの腫瘍容積の減少パーセントとして定義される。PAC対象におけるランダム化フェーズ2試験のための探索的目的として、IRC評価ORRが使用される。

10

#### 【0213】

##### 分析

全ての分析は、腫瘍型によって別々に示されている。

#### 【0214】

##### 有効性分析

用量評価フェーズについて、ランダム化コホートによる全ての用量評価ランダム化処置対象（一次集団）を使用して有効性分析が要約される。さらに、全ての有効性データを含む分析は、全ての処置対象集団を使用するフェーズがレジメンによって提供される間に回収した。分析は、処置されるとき示される。

20

#### 【0215】

拡張フェーズの形態がSimon 2 - 段階様設計であるとき、有効性分析は、段階1中の全ての用量評価ランダム化処置対象から関連ランダム化コホートからにデータを段階2データ（一次集団）と共に貯めて、用量拡張フェーズのために推奨されるレジメンのために要約される。さらに、全ての処置対象を使用して全ての有効性データを含む分析は、用量評価および拡張フェーズ中のレジメンが提供するために回収した。分析は、処置されるとき示される。

20

#### 【0216】

比較アームを有するランダム化フェーズ2試験が開始されるとき、有効性分析は、全ての拡張フェーズランダム化対象を使用する処置アームによって別々に示される。分析は、ランダム化されるとき示される。

30

#### 【0217】

##### 主要エンドポイント方法

ORRは、二項応答率およびClopper and Pearson方法を使用する対応する両側90%正確CIによって要約される。比較アームを有するランダム化フェーズ2試験が開始されるとき、ORRはそれぞれの腫瘍型に対して定義される層別因子によって階層化されるCochran-Mantel-Haenszel(CMH)試験で0.10の片側アルファレベルを使用して処置アーム間で比較する。応答率の差に対する両側80%CIもまた、層別因子に対して調整して計算される。

40

#### 【0218】

PACに対する主要エンドポイントとしてのOSの主要分析は、それぞれの腫瘍型に対して定義される層別因子によって階層化される0.10ログランク検定の片側アルファレベルを使用して、ウロクプルマブ プラス ニボルマブに対してランダム化される対象のOSと治験担当医の選択化学療法に対してランダム化される対象のものとの比較である。ハザード比および関連両側80%信頼区間は、単一の共変量としての処置で一変量 Cox比例ハザードモデルを使用して計算される。OSのさらなる分析は、Kaplan-Meier方法論を使用して記述的に要約される。OSの中央値は、log-log変換を考慮するBrookmeyer and Crowley方法を使用する両側95%CIと共に計算される。3、6、9、12、18および24月でのOS率は、推定ならびに関連

50

される log - log 変換を考慮する両側 95% CI である。

【0219】

二次エンドポイント方法

二次エンドポイントとしての PFS は、OS と同様に記述的に要約される。3、6、9、12 および 18 月での PFS 率は、推定ならびに関連される log - log 変換を考慮する両側 95% CI である。

【0220】

探索的エンドポイント方法

探索的エンドポイントとしての ORR は、主要エンドポイントと同様に記述的に要約される。DOR は、Kaplan-Meier (KM) product-limit 方法を使用して確認される PR または CR をなし遂げる対象について要約される。中央値もまた、log - log 変換を考慮する Brookmeyer and Crowley 方法を使用する両側 95% CI と共に計算される。加えて、異なる時点 (3、6、12 および 18 月) での応答における応答者のパーセントは、KM プロットに基づいて示される。

【0221】

腫瘍組織量における低下の大きさは記述的に要約される。

【0222】

疾患コントロール率は、二項応答率および Clopper and Pearson 方法を使用する対応する両側 90% 正確 CI によって要約される。

【0223】

SCLC 対象に対する探索的エンドポイントとしての OS は、PAC 対象に対する主要エンドポイントと同様に記述的に要約される。

【0224】

安全性分析

指示されている場合を除いて、安全性分析は、全ての処置対象集団を使用して実施され、処置されるとき示される。

【0225】

DLT 評価フェーズ中、主要分析は DLT を評価できる対象の中で DLT の発生率からなるが、全ての利用できる安全性および忍容性データはレジメンの安全性を評価するために使用される。

【0226】

用量評価フェーズについて、安全性分析はランダム化コホートによって要約される。さらに、フェーズ中に回収される全ての安全性データを含む分析はレジメンによって提供される。

【0227】

拡張フェーズの形態が Simon 2 - 段階様設計であるとき、安全性分析は、試験の両方の段階からのデータを貯めて、用量拡張のために推奨されるレジメンのために要約される。さらに、用量評価および拡張フェーズ中にレジメンに対して回収される全ての安全性データを含む分析が提供される。

【0228】

比較アームを有するランダム化フェーズ 2 試験が開始されるとき、安全性分析は処置アームによって別々に示されている。

【0229】

ウロクリプルマブの最終投与の 100 日以内またはニボルマブの最終投与の 100 日以内のいずれか遅いほうに事象 (AE または研究室) が起こるとき、事象 (AE または研究室) は試験上として数えられる。全ての試験上の AE、処置関連 AE、SAE、処置関連 SAE、中止に至る AE および中止に至る処置関連 AE は、器官別大分類および好ましい用語によって NCI CTCAE v 4.0 基準による最悪グレードを使用して一覧にされる (全てのグレードおよびグレード 3 - 4)。血液学、化学、肝臓機能および腎臓機能を含む試験上の研究異常は、最悪グレード NCI CTCAE v 4.0 基準を使用し

10

20

30

40

50

て要約される（全てのグレードおよびグレード3 - 4）。

### 【0230】

#### 中間分析

それぞれの腫瘍型内で、用量評価フェーズにおいて全ての対象が最低3月の処置を有するか、または時期尚早に中止されたとき、中間分析（IA）が行われる。このIAの目的は、（1）ニボルマブと組み合わせられるウロクプルマブのさらなる試験が腫瘍型において保証されるか否かを決定するため；（2）さらなる試験が保証されるとき、用量拡張フェーズのための推奨用量を選択するため；および（3）用量拡張フェーズが完了されたとき、Simon最適2段階様設計の单一アーム第2段階または比較アームを有するオープンラベルランダム化フェーズ2設計を行うか否かを決定するため、である。

10

### 【0231】

それぞれの腫瘍型においてニボルマブと組み合わせられるウロクプルマブをさらに試験する決定は、用量評価フェーズに対する以前に定義されるSimon2-段階設計閾値（SCLCに対して少なくとも4応答者およびPACに対して少なくとも2応答者）に基づく。加えて、推奨用量の選択は、両方の腫瘍型からのIAに対する全ての利用できる安全性および有効性データに基づく。用量評価フェーズから用量拡張フェーズに進行する決定は、独立してそれぞれの腫瘍型に対して行われる。応答パターンの完全な特性化が評価されることを保証するために、決定が組合せのさらなる試験を止めるように至る前に、最終データを評価することが考慮され得る。

20

### 【0232】

用量評価フェーズ中に選択される推奨用量において処置される対象中で応答者の「高い」頻度が観察されるとき、拡張フェーズのためのSimon最適2-段階様設計の第2段階を完了することよりもむしろオープンラベルランダム化2-アームフェーズ2設計で進行する決定が取られる。SCLCについて、この「高い」数は少なくとも9応答者であり、PACについて、少なくとも6応答者である。

30

### 【0233】

この応答者の数は臨床的なインプットを考慮して定義されているが、応答者の関連割合がまたSCLCについて25%を超えるまたはPACについて12%を超える90%正確CIの下限を示すことを保証する。これらのパーセンテージは、薬物をさらに評価するためにSimon2-段階設計の最後に必要とされるであろう応答者の最小割合に対応する（SCLCについて、44対象中で11応答者が25%であり、PACについて、41対象中で5応答者が12%である）。

30

### 【0234】

拡張フェーズ中、Simon2-段階様設計の第2段階の全ての対象が最低3月の処置を有するか、または時期尚早に中止されたとき、IAが行われる。比較アームを有するランダム化フェーズ2試験が開始されるとき、IAは、定期的に、DMC許可書において特定されているとおりDMCに対して実施される。

40

### 【0235】

#### 実施例8

#### 薬物動態学および免疫原性評価

PKおよび免疫原性評価の詳細なスケジュールは表3および表4に提供される。投与前サンプルは、その日の最初の注入の開始前30分以内に取られる。注入サンプルの最後は、それぞれの試験薬の最後の注入の直前、好ましくは2分以内に取られる。全ての他の時点は、それぞれの試験薬に対する注入の開始と比べてである。全ての処置中のPK時点は、試験薬が投与される日と一致するように意図される。投与が小さなスケジュール変更のために異なる日に起こるとき、PKサンプリングがそれに応じて調整される。

40

### 【0236】

SCLCにおける比較アームを有するランダム化フェーズ2試験について、ニボルマブPKおよび免疫原性サンプル回収は、ニボルマブ単剤療法比較アームについて表4に従う。PACにおける比較アームを有するランダム化フェーズ2試験について、PKおよび免

50

疫原性サンプルは、治験担当医の選択 2 L 化学療法で比較アームについて回収されない。

【0237】

表3. 用量評価フェーズ(段階1)においてウロクブルマブおよびニボルマブに対する薬物動態学および免疫原性サンプリングスケジュール

【表3】

サンプル回収時間		時間 時：分 (ウロクブルマブ注入の開始と比べて)	時間 時：分 (ニボルマブ注入の開始と比べて)	PKサンプル		免疫原性サンプル <sup>a</sup>	
試験日	時間（事象）			ウロ クブルマ ブ	ニボ ルマ ブ	ウロ クブルマ ブ	ニボ ルマ ブ
1日、1週	0時(投与前)	00:00	00:00	X	X	X	X
	1時(EOI ウロクブルマブ) <sup>b</sup>	01:00		X			
	2. 5時(EOI ニボルマブ) <sup>c</sup>	02:30	01:00	X	X		
	4時	04:00		X			
	6時	06:00		X			
2日、1週	24時	24:00		X			
3日、1週	48時	48:00		X			
4、5または6日、1週	72-120時	72:00 -120: 00		X			
1日、2週	0時(投与前)／168時 <sup>d</sup>	00:00 ／168: 00 <sup>c</sup>		X			
1日、3、5、7、13、19、25週	0時(投与前)	00:00	00:00	X	X	X	X
	1時(EOI ウロクブルマブ) <sup>b</sup>	01:00		X			
	2. 5時(EOI ニボルマブ) <sup>c</sup>	02:30	01:00	X	X		
(37週から開始して)12週毎の1日	0時(投与前)	00:00	00:00	X	X	X	X
	1時(EOI ウロクブルマブ) <sup>b</sup>	01:00		X			
	2. 5時(EOI ニボルマブ) <sup>c</sup>	02:30	01:00	X	X		
処置の最後／中止				X	X	X	X
追跡 <sup>e</sup>				X	X	X	X

<sup>a</sup> 免疫原性評価のための血清サンプルは、最初の注入日の開始前30分以内に回収され

10

20

30

40

50

る。

<sup>b</sup> 注入（ウロクプルマブ）の最後：このサンプルは、ウロクプルマブ注入を停止する直前に取られる（好ましくは注入の最後の前2分以内）。ウロクプルマブ注入の最後が遅延されると、注入の回収がそれに応じて遅延される。

<sup>c</sup> 注入（ニボルマブ）の最後：このサンプルは、ニボルマブ注入を停止する直前に取られる（好ましくは注入の最後の前2分以内）。2.5時の時点はウロクプルマブおよびニボルマブ投与間での30分を考慮に入れる。ニボルマブ注入の最後が遅延されると、このサンプルの回収がそれに応じて遅延される。

<sup>d</sup> ウロクプルマブの1週毎に1回の投与について、投与前サンプル（相対時間が00:00である）を回収する；2週間ごとに与えられるウロクプルマブについて、168時サンプル（相対時間が168:00である）を回収する。

<sup>e</sup> 最初の2の追跡調査来院（コンセントを離脱する対象を除けば、処置来院の最後から最大100日間）。

#### 【0238】

表4. 用量拡張フェーズ（段階2）においてウロクプルマブおよびニボルマブに対する薬物動態学および免疫原性サンプリングスケジュール

【表4】

サンプル回収時間		時間 時:分（ウ ロクプルマ ブ注入の開 始と比べて ）	時間 時:分（ニ ボルマブ注 入の開始と 比べて）	PKサンプ ル		免疫原性サ ンプル <sup>a</sup>	
試験日	時間（事象）			ウロ クプ ルマ ブ	ニボ ルマ ブ	ウロ クプ ルマ ブ	ニボ ルマ ブ
1、3、5 、7、13 、19、2 5週の1日	0時（投与前）	00:00	00:00	X	X	X	X
	1時（EOI ウロ クプルマブ） <sup>b</sup>	01:00		X			
	2.5時（EOI ニボルマブ） <sup>c</sup>	02:30	01:00		X		
（37週か ら開始して ）12週毎 の1日	0時（投与前）	00:00	00:00	X	X	X	X
	1時（EOI ウロ クプルマブ） <sup>b</sup>	01:00		X			
	2.5時（EOI ニボルマブ） <sup>c</sup>	02:30	01:00		X		
処置の最後 ／中止				X	X	X	X
追跡 <sup>d</sup>				X	X	X	X

<sup>a</sup> 免疫原性評価のための血清サンプルは、最初の注入日の開始前30分以内に回収される。

<sup>b</sup> 注入（ウロクプルマブ）の最後：このサンプルは、ウロクプルマブ注入を停止する直前に取られる（好ましくは注入の最後の前2分以内）。ウロクプルマブ注入の最後が遅延されると、注入の回収がそれに応じて遅延される。

<sup>c</sup> 注入（ニボルマブ）の最後：このサンプルは、ニボルマブ注入を停止する直前に取られる（好ましくは注入の最後の前2分以内）。2.5時の時点はウロクプルマブおよびニボルマブ投与間での30分を考慮に入れる。ニボルマブ注入の最後が遅延されると、このサンプルの回収がそれに応じて遅延される。

<sup>d</sup> 追跡調査来院（コンセントを離脱する対象を除けば、処置来院の最後から最大100日間）。

10

20

30

40

50

## 【0239】

## 薬物動態学分析

この試験において得られるウロクブルマブおよびニボルマブ濃度データは、集団PKモデルを開発または精密化するために、臨床開発プログラムにおいて他の試験からのデータと組み合わされ得る。このモデルは、ウロクブルマブおよびニボルマブのPKに対する内因性および外因性共変量の効果を評価するため、および個々の暴露の規準（例えば、定常状態ピーク、トラフおよび時間平均濃度）を決定するために使用される。加えて、モデル決定暴露は、暴露応答分析のために使用され得る。集団PKおよび暴露応答分析の結果は、別々に報告される。

## 【0240】

## 実施例9

## バイオマーカー評価

末梢血および腫瘍組織は、療法の前および処置の選択された時点で回収される。バイオマーカーサンプリングスケジュールは、表5および表6に提供される。

## 【0241】

## 可溶性バイオマーカー

炎症性サイトカイン、ケモカインおよび他の予備的血清ベースのバイオマーカーは、潜在的なPDマーカーとして、処置前および処置後の選択された時点で特徴付けられ定量される。2つの癌関連バイオマーカーであるC反応性タンパク質(CRP)および癌抗原19.9(CA19.9)は、疾患活動性の潜在的なマーカーとして、処置前および処置後の選択された時点で評価される。

## 【0242】

## 免疫表現型検査

末梢血単核細胞(PBMC)調製物において特定のリンパ球サブセットおよびT細胞共刺激マーカーの発現レベルの割合は、フローサイトメトリーによって定量される。分析は、T、BおよびNK細胞の割合、骨髄由来抑制細胞(MDSC)の割合、記憶およびエフェクターT細胞サブセットの割合、およびPD-1、PD-L1、ICOS、およびKi67の発現レベルを含み得むが、必ずしも限定されない。

## 【0243】

## 表5. 用量評価フェーズ(段階1)のためのバイオマーカーサンプリングスケジュール

## 【表5】

サンプル回収時間		腫瘍生検	受容体占有およびT細胞数のための全血	CD34 <sup>+</sup> 細胞数のための全血
試験日	時間(事象)			
スクリーニング		X		
1日、1週	0時(投与前)		X	X
	4.0時		X	X
2日、1週	24時		X	X
3日、1週	48時		X	X
4、5または6日、1週	72-120時		X	X
1日、2週	0時(投与前)/168時 <sup>a</sup>		X	X
1日、3、5、7、13、19、25週	0時(投与前)		X	X
	1時(EOI)		X	X

<sup>a</sup> ウロクブルマブの1週毎に1回の投与について、投与前サンプル(相対時間が0.0:

00である)を回収する; 2週間ごとに与えられるウロクプルマブについて、168時サンプル(相対時間が168:00である)を回収する。

#### 【0244】

表6. 用量拡張フェーズ(段階2)のためのバイオマーカーサンプリングスケジュール  
【表6】

サンプル回収時間		腫瘍生検	RNAのための全血	PBMC単離のための全血	血清分析
試験日	時間(事象)				
スクリーニング		X			
1日、1週	0時(投与前)		X	X	X
1日、13週	0時(投与前)		X	X	X
1日、25週	0時(投与前)		X	X	X

#### 【0245】

##### 末梢血遺伝子発現

ニボルマブ単剤療法およびニボルマブ/ウロクプルマブ併用療法に対する応答に関連する遺伝子の発現レベルは、全血サンプルを使用して定量される。分析は、免疫関連経路と関連する遺伝子、例えばT細胞活性化および抗原プロセシングおよび提示を含み得むが、必ずしも限定されない。

#### 【0246】

##### 受容体占有分析

CXCR4 RO分析は、ウロクプルマブによる標的結合の代理バイオマーカーとして循環T細胞に対して行われる。これらの分析からのデータはまた、対応するPKデータの解釈を容易にするために使用される。絶対T細胞およびCD34<sup>+</sup>細胞数もまた評価される。投与後の絶対T細胞およびCD34<sup>+</sup>細胞数の増加は、ROアッセイと共に、CXCR4の関与およびウロクプルマブによる阻害を確認するために使用される。

#### 【0247】

予備的ROデータは、200mgウロクプルマブ用量コホートにおいて8対象に対してこの継続臨床試験において得られた。ウロクプルマブでの投与後4時間以内に、100%RO(中央値)が分析される本質的に全ての後の時点でなし遂げられ、維持された(図9)。1対象において、%ROは5週目の1日目に23%低下したが、これは4週目の1日目に試験薬と関連のないSAEによる投与の遅延によるものであった。

#### 【0248】

##### 腫瘍バイオマーカー

腫瘍生検標本(新鮮またはアーカイブの材料)は、免疫細胞集団、選択された腫瘍マーカーの発現および遺伝子発現分析を特徴付けるための処理の前に全ての対象から必要とされる。これらのサンプルはまた、腫瘍および周囲の間質内のCXCR4、技術的に実現可能であればFAPおよびCXCL12、の発現および局在化を評価するために使用される。生検サンプルは、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)および腫瘍抗原、T細胞レパートリーの分析、および遺伝子発現プロファイリングを特徴付けるために使用される。

#### 【0249】

##### TILおよび腫瘍抗原の特性化

免疫組織化学(IHC)は、療法への暴露前後の腫瘍組織内の免疫細胞サブセットを定義するために、免疫浸潤物の数および組成を評価するために使用される。これらのIHC分析は、以下のマーカー: CD4、CD8、FOXP3、PD-1、PD-L1およびPD-L2を含み得むが、必ずしも限定されない。

#### 【0250】

##### T細胞レパートリー分析

種々のT細胞レパートリーが療法に対する応答を予測するか否かを調べるために、腫瘍

10

20

30

40

50

組織から単離されたDNAを、単剤療法および併用療法の前および間にT細胞レパートリーの組成を定量するために配列決定する。

【0251】

遺伝子発現プロファイリング

腫瘍生検を、処置の前および後に選択された免疫関連遺伝子の発現について調べる。

【0252】

CXCL12、CXCR4およびFAP発現の特性化

CXCL12介在T細胞阻害が固形腫瘍において機能的であるか否かを確認するため、腫瘍組織においてCXCR4、技術的に実現可能であればFAPおよびCXCL12、の発現を処置の前および後に評価する。CXCR4およびFAPの発現はIHCにより評価され、CXCL12発現はRNAscopeを介して評価される。

10

【0253】

配列表要約

【表7】

配列番号:	説明
1	ニボルマブ(抗-PD-1)のV <sub>H</sub> アミノ酸配列
2	ニボルマブ(抗-PD-1)のV <sub>L</sub> アミノ酸配列
3	ニボルマブ(抗-PD-1)の重鎖アミノ酸配列
4	ニボルマブ(抗-PD-1)の軽鎖アミノ酸配列
5	BMS-936559(抗-PD-L1)のV <sub>H</sub> アミノ酸配列
6	BMS-936559(抗-PD-L1)のV <sub>L</sub> アミノ酸配列
7	BMS-936559(抗-PD-L1)の重鎖アミノ酸配列
8	BMS-936559(抗-PD-L1)の軽鎖アミノ酸配列
9	ウロクブルマブ(抗-CXCR4)のV <sub>H</sub> アミノ酸配列
10	ウロクブルマブ(抗-CXCR4)のV <sub>L</sub> アミノ酸配列
11	ウロクブルマブ(抗-CXCR4)の重鎖アミノ酸配列
12	ウロクブルマブ(抗-CXCR4)の軽鎖アミノ酸配列
13	ウロクブルマブ(抗-CXCR4)のIgG1f変異体の重鎖アミノ酸配列
14	ウロクブルマブ(抗-CXCR4)のIgG3b0変異体の重鎖アミノ酸配列
15	2A5(抗-CXCL12)のV <sub>H</sub> アミノ酸配列
16	2A5(抗-CXCL12)のV <sub>L</sub> アミノ酸配列
17	2A5(抗-CXCL12)の重鎖アミノ酸配列
18	2A5(抗-CXCL12)の軽鎖アミノ酸配列

20

30

【0254】

参考文献

## 【表8】

- Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, Halwani A, Scott EC (2015) PD-1 Blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 372:311-319.
- Bai S, Jorga K, Xin Y, Jin D, Zheng Y et al. (2012) A guide to rational dosing of monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet* 51(2):119-35.
- Balkwill F (2004) The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4. *Semin Cancer Biol* 14:171-9.
- Becker PS, Foran J, Altman J, Yacoub A, Castro J et al. (2014) Targeting the CXCR4 pathway: Safety, tolerability and clinical activity of BMS-936564 (ulocuplumab), an anti-CXCR4 Antibody, in Relapsed Refractory Acute Myeloid Leukemia. *56th American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting*, San Francisco, December 6-9, 2014, Oral Presentation No. 386. 10
- Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, Powderly JD, Picus J et al. (2010) Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol* 28:3167-75.
- Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL et al. (2012) Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 366:2455-65. 20
- Burger JA, Kipps TJ (2006) CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment. *Blood* 107:1761-7.
- Burger M, Glodeck A, Hartmann T, Schmitt-Graff A, Silberstein LE et al. (2003) Functional expression of CXCR4 (9CD184) on small-cell lung cancer cells mediates migration, integrin activation and adhesion to stromal cells. *Oncogene* 22: 8093-101.
- Burger JA, Stewart DJ, Wald O, Peled A (2011) Potential of CXCR4 antagonists for the treatment of metastatic lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 11(4):621-30.
- Califano R, Abidin AZ, Peck R, Faivre-Finn C, Lorigan P (2012) Management of small cell lung cancer: Recent developments for optimal care. *Drugs* 72: 471-90. 30
- Chen DS, Mellman I (2013) Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* 39(1):1-10.
- Chen Y, Ramjiawan RR, Reiberger T, Ng MR, Hato T et al. (2015) CXCR4 inhibition in tumor microenvironment facilitates anti-PD-1 immunotherapy in sorafenib-treated HCC in-mice. *Hepatology* 61(5):1591-602.
- Chute JP, Chen T, Feigal E, Simon R, Johnson BE (1999) Twenty years of phase III trials for patients with extensive-stage small-cell lung cancer: perceptible progress. *J Clin Oncol* 17:1794-801. 40

## 【表9】

- Clynes RA, Towers TL, Presta LG, Ravetch JV (2000) Inhibitory Fc receptors modulate *in vivo* cytotoxicity against tumor targets. *Nature Med* 6(4):443-6.
- Conroy T, Desseigne F, Ychou M *et al.* (2011) FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *New Engl J Med* 364(19):1817-25.
- Domanska UM, Kruizinga RC, Nagengast WB, Timmer-Bosscha H *et al.* (2013) A review on CXCR4/CXCL12 axis in oncology: No place to hide. *Eur J Cancer* 49:219-30.
- Duda DG, Kozin SV, Kirkpatrick ND, Xu L *et al.* (2011) CXCL12 (SDF-1)-CXCR4/CXCR7 pathway inhibition: An emerging sensitizer for anticancer therapies? *Clin Cancer Res* 17:2074-80.
- Fearon DT (2014) The carcinoma-associated fibroblast expressing fibroblast activation protein and escape from immune surveillance. *Cancer Immunol Res* 2(3):187-93.
- Feig C, Jones JO, Kraman M, Wells RJB, Deonarine A *et al.* (2013) Targeting CXCL12 from FAP-expressing carcinoma-associated fibroblasts synergizes with anti-PD-L1 immunotherapy in pancreatic cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 110 (50):20212-7.
- Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanetz M *et al.* (2016) Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* 387(10030):1837-46.
- Gangadhar T, Nandi S, Salgia R (2010) The role of chemokine receptor CXCR4 in lung cancer. *Cancer Biol Ther* 15:9(6):409-16.
- Gao Z, Wang X, Wu K, Zhao Y, Hu G (2010) Pancreatic stellate cells increase the invasion of human pancreatic cancer cells through the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 axis. *Pancreatology* 10(23):186-93.
- Ghobrial I, Perez R, Baz R, Richardson P, Anderson K *et al.* (2014) Phase Ib study of the novel anti-CXCR4 antibody ulocuplumab (BMS-936564) in combination with lenalidomide plus low-dose dexamethasone, or with bortezomib plus dexamethasone in subjects with relapsed or refractory multiple myeloma. *56th American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting*, San Francisco, December 6-9, 2014, Poster Presentation No. 3483.
- Hamid O, Carvajal RD (2013) Anti-programmed death-1 and anti-programmed death-ligand 1 antibodies in cancer therapy. *Expert Opin Biol Ther* 13(6):847-61.
- Hamid O, Robert C, Daud A, Hodi FS *et al.* (2013) Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *New Engl J Med* 369(2):134-44.
- Hartmann TN, Burger JA, Glodek A, Fujii N, Burger M *et al.* (2005) CXCR4 chemokine receptor and integrin signaling co-operate in mediating adhesion and chemoresistance in

10

20

30

40

## 【表10】

- small cell lung cancer (SCLC) cells. *Oncogene* 24:4462-71.
- Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O *et al.* (2014) Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 515: 563-7.
- Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW *et al.* (2010) Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 363:711-23.
- Hollinger P, Hudson PJ (2005) Engineered antibody fragments and the rise of single domains. *Nature Biotech* 23(9):1126-36. 10
- Hurwitz H, Uppal N, Wagner SA, Bendell JC, Beck JT *et al.* (2015) A randomized double-blind phase 2 study of ruxolitinib (RUX) or placebo (PBO) with capecitabine (CAPE) as second-line therapy in patients with metastatic pancreatic cancer. American Society of Clinical Oncology (ASCO) oral presentation , Chicago, IL, May 29-June 2, 2015.
- Idusogie EE, Wong PY, Presta LG, Gazzano-Santoro H *et al.* (2001) Engineered antibodies with increased activity to recruit complement. *J Immunol* 166(4):2571-5.
- Jänne PA, Freidlin B, Saxman S *et al.* (2002) Twenty-five years of clinical research for patients with limited-stage small cell lung carcinoma in North America. *Cancer* 95:1528-38. 20
- Johnson DB, Wallender EK, Cohen DN, Likhari SS, Zwerner JP *et al.* (2013) Severe cutaneous and neurologic toxicity in melanoma patients during vemurafenib administration following anti-PD-1 therapy. *Cancer Immunol Res* 1:373-77.
- Kabat EA, Wu TT, Perry H, Gottesman K, Foeller C *et al.* (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242.
- Katoh H, Watanabe M (2015) Myeloid-derived suppressor cells and therapeutic strategies in cancer. *Mediators of Inflammation* 2015, Article ID 159269, 12 pages. 30
- Kuhne MR, Mulvey T, Belanger B, Chen S *et al.* (2013) BMS-936564/MDX-1338: A fully human anti-CXCR4 antibody induces apoptosis *in vitro* and shows antitumor activity *in vivo* in hematologic malignancies. *Clin Cancer Res* 19:357-366.
- Lesokhin AM, Callahan MK, Postow MA, Wolchok JD (2015) On being less tolerant: enhanced cancer immuno-surveillance enabled by targeting checkpoints and agonists of T cell activation. *Sci Transl Med* 7(280):280sr1.
- Lipson EJ, Sharfman WH, Drake CG, Wollner I, Taube JM *et al.* (2013) Durable cancer regression off-treatment and effective reinduction therapy with an anti-PD-1 antibody. *Clin Cancer Res* 19:462-8. 40
- McDermott DF, Atkins MB (2013) PD-1 as a potential target in cancer therapy. *Cancer Med*

## 【表 1 1】

- 2(5):662-73.
- NCCN Guidelines Version 2.2015 – Pancreatic Adenocarcinoma.
- NCCN Guidelines Version 1.2016 – Small Cell Lung Cancer.
- NCCN GUIDELINES® (2015), available at:  
[http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp#site](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site), last accessed June 8, 2015.
- Nomi T, Sho M, Akahori T, Hamada K, Kubo A et al. (2007) Clinical significance and therapeutic potential of the Programmed Death-1 Ligand/Programmed Death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 13(7):2151-7.
- Obermajer N, Muthuswamy R, Odunsi K, Edwards RP, Kalinski P (2011) PGE<sub>2</sub>-induced CXCL12 production and CXCR4 expression controls the accumulation of human MDSCs in ovarian cancer environment. *Cancer Res* 71(24):7463-70.
- Olafsen T, Wu AM (2010) Antibody vectors for imaging. *Semin Nucl Med* 40(3):167-81.
- Otani Y, Kijima T, Kohno S, Oishi S, Minami T et al. (2012) Suppression of metastases of small cell lung cancer cells in mice by a peptidic CXCR4 inhibitor TF14016. *FEBS Lett* 586:3639-44.
- Pardoll DM (2012) The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 12:252-64.
- Passaro D, Irigoyen M, Catherinet C, Gachet S, Da Costa De Jesus C et al. (2015) CXCR4 is required for leukemia-initiating cell activity in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell* 27(6):769-79.
- PCT Publication No. WO 2008/060367, published May 22, 2008 by Medarex, Inc.
- PCT Publication No. WO 2008/142303, published November 27, 2008 by Pierre Fabre Medicament.
- PCT Publication No. WO 2009/140124, published November 19, 2009 by Eli Lilly and Co.
- PCT Publication No. WO 2010/037831, published April 8, 2010 by Pierre Fabre Medicament.
- PCT Publication No. WO 2011/066389, published June 3, 2011 by MedImmune Ltd. et al.
- PCT Publication No. WO 2012/145493, published October 26, 2012 by Amplimmune, Inc.
- PCT Publication No. WO 2013/013025, published January 24, 2013 by MedImmune Ltd.
- PCT Publication No. WO 2013/071068, published May 16, 2013 by Bristol-Myers Squibb Co.
- PCT Publication No. WO 2013/079174, published June 6, 2013 by Merck Patent GmbH.
- PCT Publication No. WO 2013/173223, published November 21, 2013 by Bristol-Myers

10

20

30

40

## 【表12】

- Squibb Co.  
 PCT Publication No. WO 2013/181634, published December 5, 2013 by Sorrento Therapeutics, Inc.  
 PCT Publication No. WO 2014/089113, published June 12, 2014 by Bristol-Myers Squibb Co.  
 PCT Publication No. WO 2015/019284, published February 12, 2015 by Cambridge Enterprise Ltd.
- Pitt LA, Tikhonova AN, Hu H, Trimarchi T, King B *et al.* (2015) CXCL12-Producing Vascular Endothelial Niches Control Acute T Cell Leukemia Maintenance. *Cancer Cell* 27(6):755-68.
- Reck M, Bondarenko I, Luft A, Serwatowski P, Barlesi F *et al.* (2013) Ipilimumab in combination with paclitaxel and carboplatin as first-line therapy in extensive-disease-small-cell-lung-cancer: results from a randomized, double-blind, multicenter phase 2 trial. *Ann Oncol* 24:75-83.
- Ribas A (2010) Clinical development of the anti-CTLA-4 antibody tremelimumab. *Semin Oncol* 37(5):450-4.
- Rini BI, Stein M, Shannon P, Eddy S, Tyler A *et al.* (2011) Phase 1 dose-escalation trial of tremelimumab plus sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Cancer* 117:758-67.
- Segal NH, Antonia SJ, Brahmer JR, Maio M, Blake-Haskins A *et al.* (2014) Preliminary data from a multi-arm expansion study of MEDI4736, an anti-PD-L1 antibody. *J Clin Oncol* 32 (suppl. 5S); abstr 3002.
- Siegel R, Miller KM, Jemal A (2015) Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 65(1):5-29.
- Sjöblom T, Jones S, Wood LD, Parsons DW *et al.* (2006) The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science* 314:268-74.
- Simon R (1989) Optimal two-stage designs for Phase II clinical trials. *Control Clin Trials* 10:1-10.
- Schaffer BE, Park KS, Yiu G, Conklin JF, Lin C *et al.* (2010) Loss of p130 accelerates tumor development in a mouse model for human small-cell lung carcinoma. *Cancer Res* 70(10):3877-83.
- Skolnik JM, Barrett JS, Jayaraman B, Patel D, Adams PC (2007) Shortening the timeline of pediatric Phase 1 trials: The Rolling Six design. *J Clin Oncol* 26 (2):190-195.
- Sorensen M, Pijls-Johannesma M, Felip E (2010) Small-cell lung cancer: ESMO clinical Practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* (Suppl 5):v120-5.

10

20

30

40

## 【表13】

- Spigal DR, Weaver R, McCleod M, Harrid O, Stille JR *et al.* (2014) Phase 2 study of carboplatin/etoposide plus LY2510924, a CXCR4 peptide antagonist, versus carboplatin/etoposide in patients with extensive stage small cell lung cancer. *Ann Oncol* 25 (Suppl. 4):iv511-iv516.
- Tempero MA, Arnoletti JP, Behrman SW, Ben-Josef E, Benson AB 3rd. (2012) Pancreatic Adenocarcinoma, version 2.2012: featured updates to the NCCN Guidelines. *J Natl Compr Canc Netw* 10:703-13. 10
- Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM (2012a) Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Curr Opin Immunol* 24(2):207-12.
- Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN *et al.* (2012b) Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *New Engl J Med* 366:2443-54.
- Topalian SL, Sznol M, McDermott DF, Kluger HM *et al.* (2014) Survival, durable tumor remission, and long-term safety in patients with advanced melanoma receiving nivolumab. *J Clin Oncol* 32(10):1020-30.
- U.S. Patent No. 6,682,736, issued January 27, 2004 to Hanson *et al.* 20
- U.S. Patent No. 7,488,802, issued February 10, 2009 to Collins *et al.*
- U.S. Patent No. 7,892,546, issued February 22, 2011 to Dickerson *et al.*
- U.S. Patent No. 7,943,743, issued May 17, 2011 to Korman *et al.*
- U.S. Patent No. 8,008,449, issued August 30, 2011 to Korman *et al.*
- U.S. Patent No. 8,168,757, issued May 1, 2012 to Finnefrock *et al.*
- U.S. Patent No. 8,217,149, issued July 10, 2012 to Irving *et al.*
- U.S. Patent No. 8,354,509, issued January 15, 2013 to Carven *et al.*
- U.S. Patent No. 8,496,931, issued July 30, 2013 to Pogue *et al.*
- U.S. Publication No. 2015/0037328, published February 5, 2015 by Pfizer, Inc. 30
- Vick E, Mahadevan D (2016) Programming the immune checkpoint to treat hematologic malignancies. *Expert Opin Investig Drugs* 2016 Apr 25:1-16. [Epub ahead of print].
- Von Hoff DD, Ervin T, Arena FP, Chiorean EG, Infante J *et al.* (2013) Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *New Engl J Med* 369:1691-702.
- Wang C, Lee JH, Kim CH (2012) Optimal population of FoxP3<sup>+</sup> T cells in tumors requires an antigen priming-dependent trafficking receptor switch. *PLoS One* 7, e30793.
- Wang C, Thudium KB, Han M, Wang XT *et al.* (2014) *In vitro* characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and *in vivo* toxicology in non-human primates. *Cancer Imm Res* 2(9):846-56. 40
- Wang Z, Ma Q, Li P, Sha H, Li X, Xu J (2013) Aberrant expression of CXCR4 and β-catenin

## 【表 1 4】

- in pancreatic cancer. *Anticancer Res* 33(9):4103-10.
- Wolchok JD, Weber JS, Maio M, Neyns B, Harmankaya K et al. (2013) Four-year survival rates for patients with metastatic melanoma who received ipilimumab in phase II clinical trials. *Ann Oncol* 24(8):2174-80.
- Yao S, Zhu Y, Chen L (2013) Advances in targeting cell surface signalling molecules for immune modulation. *Nature Rev Drug Discov* 12:130-46.

10

【図 1】

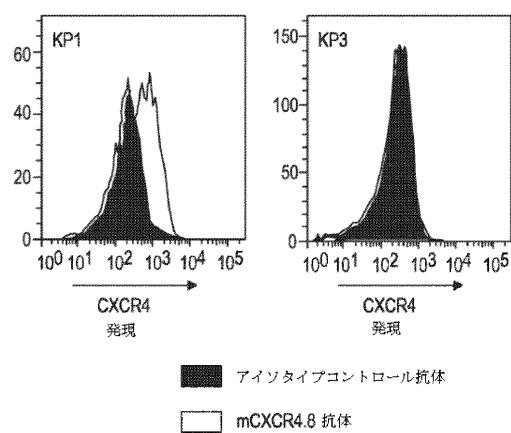


FIG. 1

【図 2】

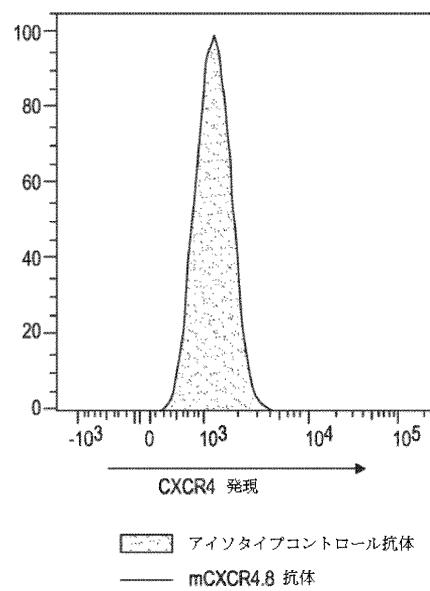


FIG. 2

【図3】

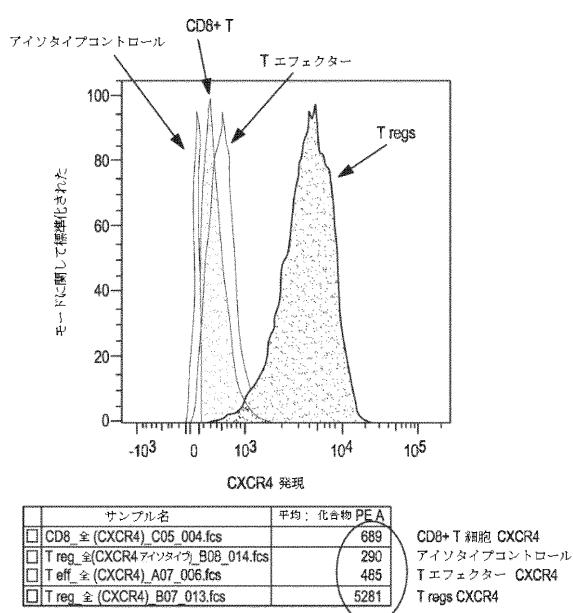


FIG. 3

【図4A】

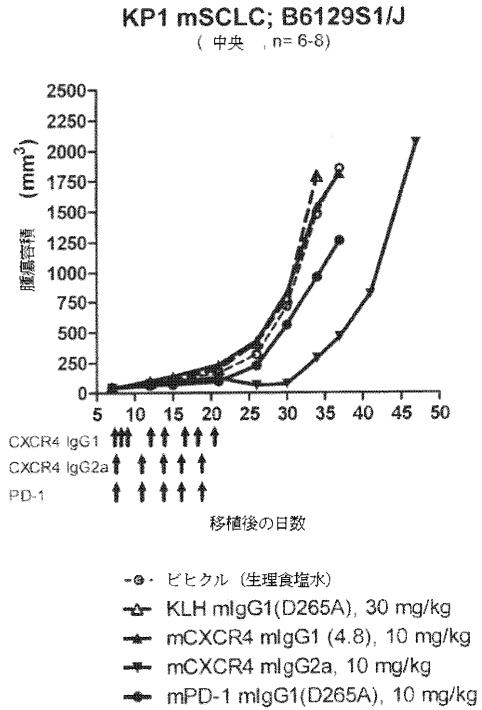


FIG. 4A

【図4B】

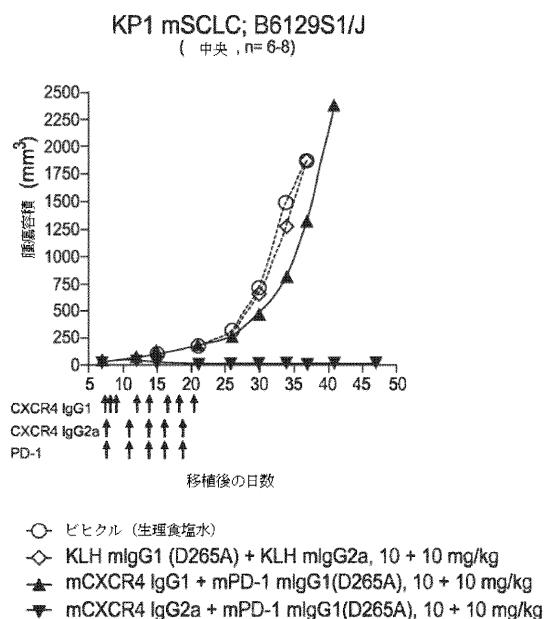


FIG. 4B

【図5A】

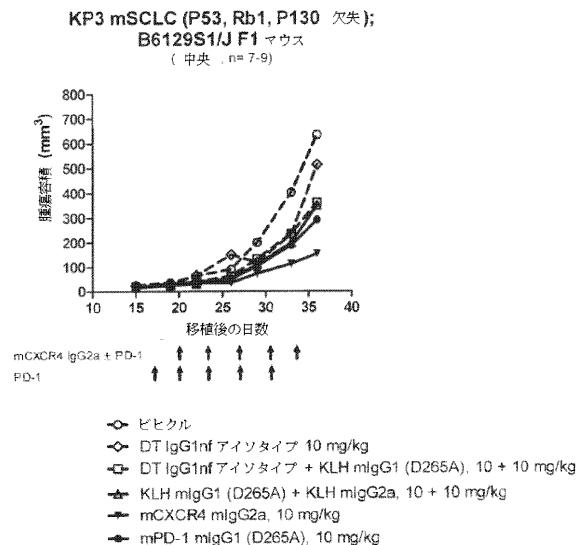


FIG. 5A

( 义 5 B )

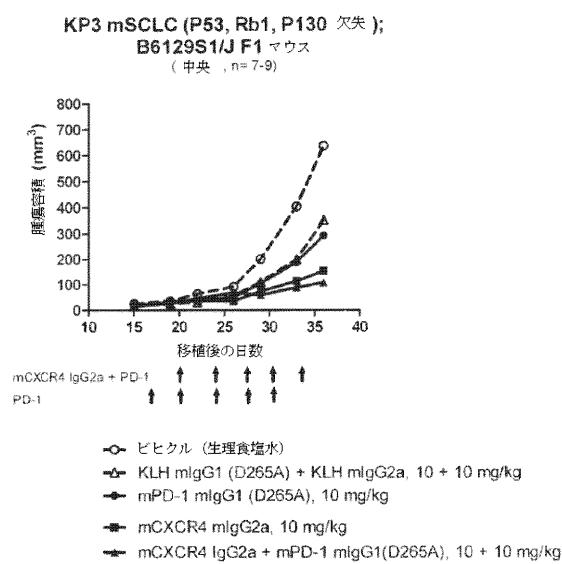
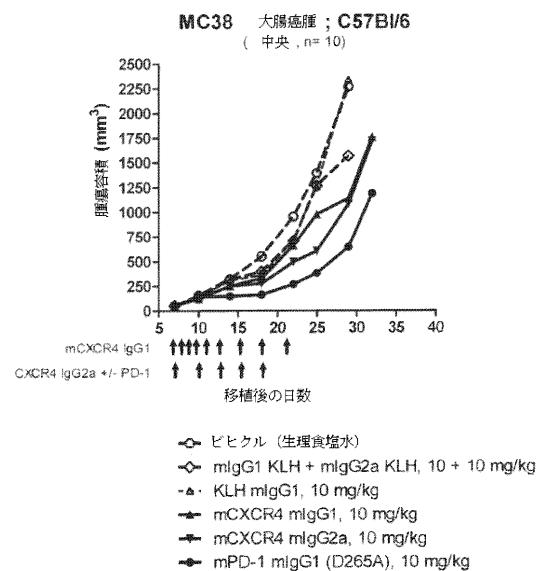


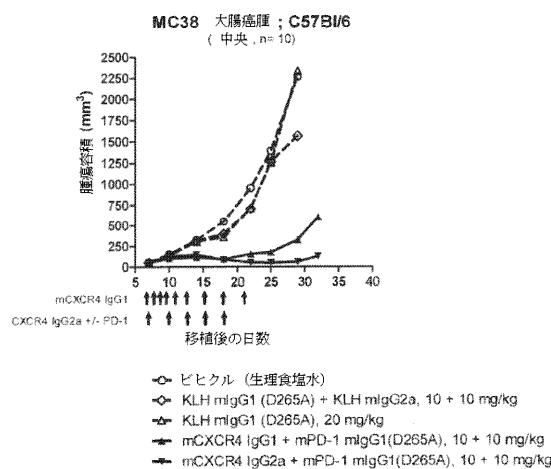
FIG. 5B

〔 6 A 〕



**FIG. 6A**

( 义 6 B )



**FIG. 6B**

〔 図 7 A 〕

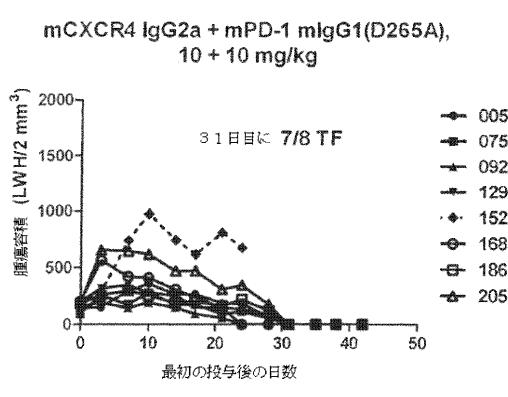


FIG. 7A

【 図 7 B 】

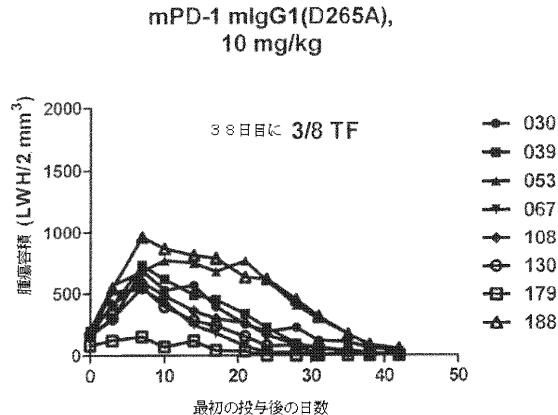


FIG. 7B

【 図 7 C 】

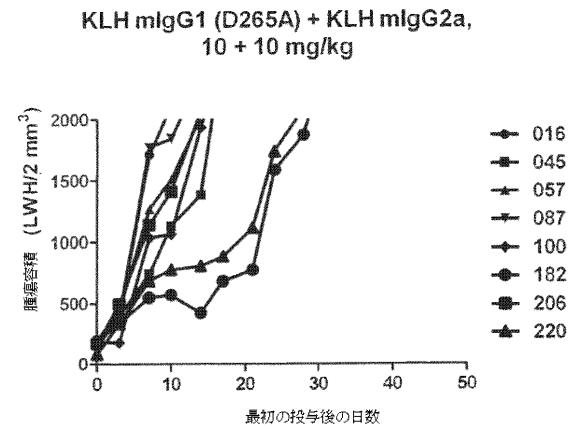


FIG. 7C

【 図 7 D 】

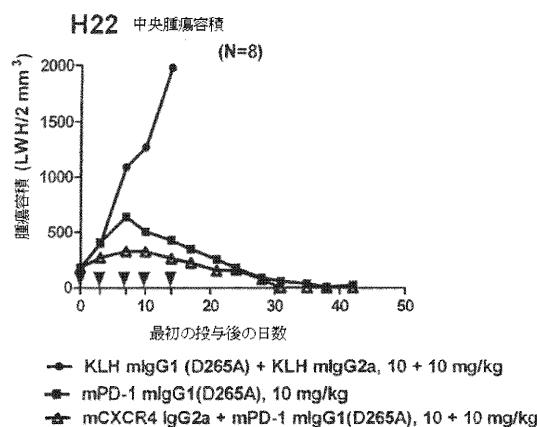


FIG. 7D

【 四 8 】

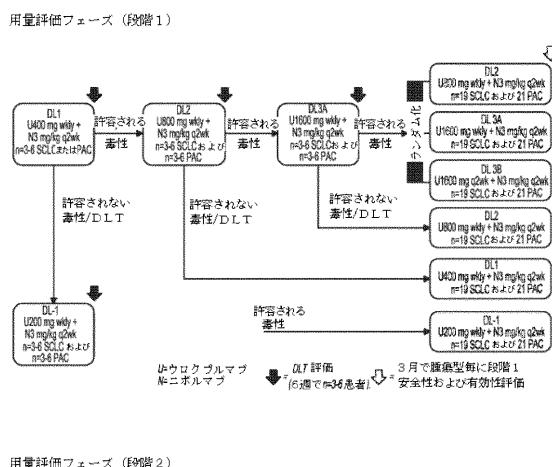


FIG. 9

【図 9】

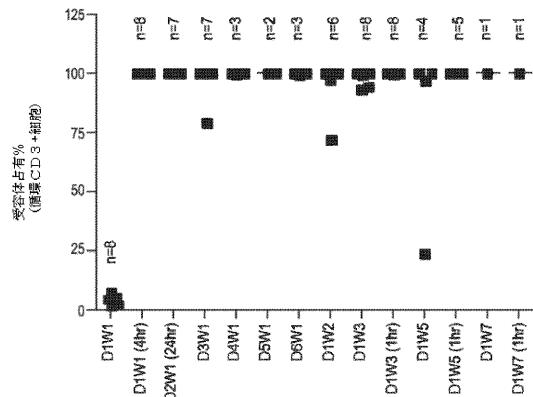


FIG. 9

【配列表】

2018516969000001.app

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2016/037207
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. C07K16/28 A61K39/395 ADD. A61P35/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPO		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/019284 A2 (CAMBRIDGE ENTPR LTD [GB]) 12 February 2015 (2015-02-12) cited in the application paragraphs [0015], [0066], [0018], [0024] paragraphs [0213], [0055], [0219] ----- -/-	1-48, 55-66
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
<p>* Special categories of cited documents :</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"A" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
28 July 2016	09/08/2016	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5018 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Bumb, Peter	

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No PCT/US2016/037207
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FEIG CHRISTINE ET AL: "Targeting CXCL12 from FAP-expressing carcinoma-associated fibroblasts synergizes with anti-PD-L1 immunotherapy in pancreatic cancer.", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 10 DEC 2013, vol. 110, no. 50, 10 December 2013 (2013-12-10), pages 20212-20217, XP002760317, ISSN: 1091-6490 the whole document -----	1-48, 55-66
X,P	Bristol-Myers Squibb: "View of NCT024772977 on 2016 03 11", ClinicalTrials.gov archive 11 March 2016 (2016-03-11), XPD02760318, Retrieved from the Internet: URL: <a href="https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02472977">https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02472977</a> [retrieved on 2016-07-28] the whole document -----	1-66

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No  
PCT/US2016/037207

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 2015019284	A2 12-02-2015	CA 2920377	A1 12-02-2015	
		EP 3030322	A2 15-06-2016	
		US 2015216843	A1 06-08-2015	
		US 2015352208	A1 10-12-2015	
		WO 2015019284	A2 12-02-2015	

Form PCT/I/SA/210 (patent family annex) (April 2006)

## フロントページの続き

(51) Int.CI. F I テーマコード(参考)  
A 6 1 P 35/04

(81) 指定国 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,R0,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,DK,DM,D0,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(74) 代理人 100170520

弁理士 笹倉 真奈美

(72) 発明者 ジョセフィン・エム・カルダレッリ

アメリカ合衆国 9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード 7 0 0 番、ブリストル -マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72) 発明者 ウェンディ・エル・クレメンス

アメリカ合衆国 0 8 5 4 3 ニュージャージー州プリンストン、ルート 2 0 6 アンド・プロビンス・ライン・ロード、ブリストル -マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72) 発明者 グレン・エス・クルーゲ

アメリカ合衆国 1 0 0 2 4 ニューヨーク州ニューヨーク、ウエスト・セブンティナインス・ストリート 1 7 5 番、アパートメント 5 エー

(72) 発明者 ダニエル・イー・ロペス・デ・メネゼス

アメリカ合衆国 9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード 7 0 0 番、ブリストル -マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72) 発明者 チン・パン

アメリカ合衆国 9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード 7 0 0 番、ブリストル -マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72) 発明者 ポール・ディ・ボナス

アメリカ合衆国 9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード 7 0 0 番、ブリストル -マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72) 発明者 ジャン・ビアレ

アメリカ合衆国 0 8 5 4 3 ニュージャージー州プリンストン、ルート 2 0 6 アンド・プロビンス・ライン・ロード、ブリストル -マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

F ターム(参考) 4C085 AA13 AA14 AA16 BB36 CC23 EE03