

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6847846号
(P6847846)

(45) 発行日 令和3年3月24日(2021.3.24)

(24) 登録日 令和3年3月5日(2021.3.5)

(51) Int.Cl.

F 1

A 61 K 39/395	(2006.01)	A 61 K 39/395	Z N A N
A 61 K 38/16	(2006.01)	A 61 K 38/16	Z M D T
A 61 P 35/00	(2006.01)	A 61 P 35/00	
A 61 P 13/10	(2006.01)	A 61 P 13/10	
A 61 K 47/65	(2017.01)	A 61 P 47/65	

請求項の数 13 (全 36 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-548142 (P2017-548142)
(86) (22) 出願日	平成28年3月11日 (2016.3.11)
(65) 公表番号	特表2018-512402 (P2018-512402A)
(43) 公表日	平成30年5月17日 (2018.5.17)
(86) 國際出願番号	PCT/US2016/022085
(87) 國際公開番号	W02016/145354
(87) 國際公開日	平成28年9月15日 (2016.9.15)
審査請求日	平成31年3月8日 (2019.3.8)
(31) 優先権主張番号	62/132, 251
(32) 優先日	平成27年3月12日 (2015.3.12)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)
(31) 優先権主張番号	62/267, 386
(32) 優先日	平成27年12月15日 (2015.12.15)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)

(73) 特許権者	514241526 セセン バイオ、インコーポレイテッド カナダ国 マニトバ州 ウィニペグ ハメ リン ストリート 147
(74) 代理人	100079108 弁理士 稲葉 良幸
(74) 代理人	100109346 弁理士 大貫 敏史
(74) 代理人	100117189 弁理士 江口 昭彦
(74) 代理人	100134120 弁理士 内藤 和彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 E P C A M陽性膀胱癌を標的とする投薬戦略

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

免疫複合体を含む、それを必要とする対象において、膀胱癌を処置する方法に使用するための医薬組成物であって、前記免疫複合体が、(i)ヒトE p - C A Mの細胞外ドメインに結合する配列番号3のアミノ酸配列を有するs c F Vと、(ii)配列番号11のアミノ酸配列を有する切断された外毒素Aとを含み；

前記医薬組成物が、前記対象に、少なくとも6週連続の第1の投薬期間、週2回投与され、その後、第2の投薬期間、前記医薬組成物が、少なくとも6週連続の期間、週1回投与され、

前記対象に投与される各用量が、1用量あたり10m g ~ 60m g の用量レベルである
、医薬組成物。

【請求項 2】

投薬スケジュールが、前記医薬組成物を前記対象に第3の投薬期間投与することをさらに含み、前記医薬組成物が、少なくとも6週連続の前記第3の投薬期間、隔週で週1回投与される、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

前記免疫複合体が配列番号2のアミノ酸配列を有する、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

前記s c F Vが、配列番号10のアミノ酸配列を含むペプチドリンクによって、前記切断された外毒素Aに接続している、請求項1に記載の医薬組成物。

10

20

【請求項 5】

前記医薬組成物が、前記対象に、1用量あたり30 mgの用量レベルにて投与される、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

(a) 前記第1の投薬期間の用量が、少なくとも48時間の間隔を空けて投与される、または

(b) 前記第1の投薬期間におけるいずれか7日の期間内に、2回以下の用量が投与される。

請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記医薬組成物が、膀胱中への滴下注入によって投与される、請求項1に記載の医薬組成物。

10

【請求項 8】

前記医薬組成物が膀胱内に2時間保持される、請求項7に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記医薬組成物が膀胱内にある間、前記対象が、立位、腹臥位、背臥位、ならびに左側臥位および右側臥位の姿勢にあり、任意に、前記対象が、前記姿勢に、1姿勢あたり少なくとも15分間ある、請求項7に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

(a) 前記膀胱癌が、B C G レフラクティブまたはB C G 抵抗性である；または前記対象が、B C G および/またはインターフェロンで以前に処置されている；あるいは

(b) 前記膀胱癌が、非筋肉侵襲性膀胱癌(N M I B C)であり、任意に、前記N M I B Cが、上皮内癌(C I S)、T a、またはT 1と分類される；

請求項1に記載の医薬組成物。

20

【請求項 11】

前記対象に少なくとも1つの更なる治療剤がさらに投与される、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

前記更なる治療剤が、化学療法薬または放射線療法薬であり、任意に、シスプラチン、カルボプラチニン、パクリタキセル、ドセタキセル、5-フルオロウラシル、ブレオマイシン、メトトレキサート、イホスファミド、またはそれらの任意の組合せからなる群から選択される、請求項11に記載の医薬組成物。

30

【請求項 13】

前記方法が、前記医薬組成物の投与に先立って、前記対象の膀胱から、経尿道切除を介してN M I B C腫瘍を除去することをさらに含む、請求項2に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】****[0001] 関連出願の相互参照**

本出願は、2015年3月12日出願の米国仮特許出願第62/132,251号および2015年12月15日出願の米国仮特許出願第62/267,386号の優先権を主張し、これらの出願のそれぞれの内容は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

40

【0002】**[0002] 電子的に提出されるテキストファイルの説明**

本明細書と共に電子的に提出されるテキストファイルの内容は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる：配列表のコンピュータ可読フォーマットコピー（ファイル名：VIVE_029_00US_SeqList_ST25.txt）；記録日：2015年3月6日；ファイルサイズ25KB）。

【背景技術】

50

【0003】

[0003] 膀胱癌は、米国で6番目に一般的な癌である；膀胱癌は、男性では3番目に一般的であり、女性では11番目に一般的な癌である。膀胱癌のおよそ75%は、非筋肉侵襲型のものである（Babjukら、2013）。非筋肉侵襲性膀胱癌（NMIBC）は、Ta（非侵襲性乳頭状癌）、T1（腫瘍が、固有層または上皮下結合組織に侵入する）、およびTis（上皮内癌）に分類される。Ta腫瘍が最も一般的であり、NMIBCの約70%を代表するが、この約7%しか高悪性度と分類されない（Sylvesterら、2005）。NMIBCの約20%がT1腫瘍である（Anastasiadisら、2012）。T1腫瘍は、Ta腫瘍よりも攻撃的であり、リスクが高いと考えられている（Babjukら、2013; American Urological Association、2014）。粘膜に限局する（非侵襲性）平坦な、高悪性度の腫瘍は、上皮内癌（CIS (Carcinoma in situ)）と特徴付けられ（Babjukら、2013）、これは、NMIBCのおよそ10%を代表する（Anastasiadisら、2012）。

【0004】

[0004] NMIBC（高悪性度Ta、T1、およびCIS）の通常の第1の処置は、膀胱腫瘍の経尿道切除（TURBT）に続く、最も一般的には桿菌Calmette-Guerin（BCG）による膀胱内免疫療法である（Babjukら、2013、American Urological Association 2014）。T1腫瘍患者において、第2のTURBTが推奨される（Babjukら、2013、American Urological Association 2014）。膀胱内BCG治療による局所副作用および全身性副作用は、一般的であり、患者のおよそ20%において、処置の中止の原因となる（Sylvesterら、2011）。患者のおよそ75%が局所副作用（膀胱炎、刺激性排尿症状、および血尿症を含む）を経験する一方、40%が全身倦怠感および発熱を含む全身性副作用を報告している（Sylvesterら、2011）。膀胱内BCGの失敗は、患者の最大40%で起こる（Sylvesterら、2011）。筋肉侵襲性疾患の発症のリスクが高いため、膀胱内治療の後に疾患の再発を経験したCIS患者、ならびに高悪性度のTa患者およびT1患者に、膀胱切除（cystectomy）が推奨される。膀胱切除を受けることができない、またはその気がない患者にとって、処置オプションは限定される。ゆえに、当該技術において、膀胱癌のための安全かつ有効な治療、および安全かつ有効な治療の最適な投薬レジメンが必要とされている。

【発明の概要】**【0005】**

[0005] 一態様において、本開示は、それを必要とする対象において、膀胱癌を処置する方法であって、対象に、第1の投薬期間に続く第2の投薬期間、免疫複合体を投与することを含み、第1の投薬期間は、週2回の免疫複合体の投与を含み、第2の投薬期間は、週1回の免疫複合体の投与を含む、方法を提供する。一部の実施形態において、第1の投薬期間および第2の投薬期間は、処置の誘導相である。一部の実施形態において、第1の投薬期間および第2の投薬期間はそれぞれ、約4、約5、約6、約7、または約8週の長さから独立して選択される。一部の実施形態において、第1の投薬期間は、少なくとも約6週連続の期間であり、第2の投薬期間は、少なくとも約6週連続の期間である。

【0006】

[0006] 一態様において、本方法はさらに、第3の投薬期間、免疫複合体を対象に投与することを含み、免疫複合体は、隔週で週1回投与される。一部の実施形態において、第3の投薬期間は、処置の維持相である。一部の態様において、第3の投薬期間は、第2の投薬期間後に、高悪性度の疾患の組織学的証拠がない対象において始まる。他の実施形態において、第3の投薬期間は、低悪性度のT1疾患で研究に入り、かつ第2の投薬期間の終わりに、低悪性度のT1疾患または任意の高悪性度の疾患の証拠がない対象において始まる。ゆえに、一部の実施形態において、第3の投薬期間または維持相は、本明細書中で定義される事象が起こらなかった対象で；かつ／または本明細書中で定義される完全奏功（complete response）が、処置の誘導相の後に達成されている対象で、開始される。一部の実施形態において、第3の投薬期間は、第2の投薬期間の終了から少なくとも1週または少なくとも2週後に開始される。一部の実施形態において、第3の投薬期間は、第2の投

薬期間の終了後、3週以内に開始される。一部の実施形態において、維持期間は、少なくとも約6週、少なくとも約8週、少なくとも約10週、少なくとも約12週、少なくとも約14週、少なくとも約16週、少なくとも約6カ月、少なくとも約12カ月、少なくとも約18カ月、または少なくとも約24カ月の期間続けられる。他の実施形態において、維持相は、疾患の再発または疾患の進行まで続けられる。

【0007】

[0007] 一態様において、本方法はさらに、免疫複合体の第1の投与の前に膀胱腫瘍を除去することを含む。一部の実施形態において、膀胱腫瘍は、経尿道切除または高周波療法によって除去される。

【0008】

[0008] 一部の実施形態において、免疫複合体は、結合タンパク質および毒素を含む。更なる実施形態において、結合タンパク質は、ヒトE p - C A Mの細胞外ドメインに結合する。一部の実施形態において、免疫複合体は、E p - C A Mの細胞外結合ドメインに結合する結合タンパク質を含み、結合タンパク質は、免疫グロブリン結合タンパク質または非免疫グロブリンポリペプチドリガンドである。

【0009】

[0009] 一部の実施形態において、免疫グロブリン結合タンパク質は、抗体またはその抗原結合フラグメントである。更なる実施形態において、結合タンパク質は、モノクローナル抗体、F a b、F a b'、(F a b')₂、単鎖フラグメント(scFv)、ジスルフィド安定化フラグメント(dsFv)、または單ードメイン抗体(sdAb)である。一部の実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、マウス抗体、キメラ抗体、もしくはヒト化抗体、またはその抗原結合フラグメントである。特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されている。

【0010】

[0010] 一部の実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号7で示されるアミノ酸配列に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%である重鎖C D R 1領域；配列番号8で示されるアミノ酸配列に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%である重鎖C D R 2領域；および、配列番号9で示されるアミノ酸配列に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%である重鎖C D R 3領域を含む。一部の実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号4で示されるアミノ酸配列に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%である軽鎖C D R 1領域；配列番号5で示されるアミノ酸配列に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%である軽鎖C D R 2領域；および、配列番号6で示されるアミノ酸配列に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%である軽鎖C D R 3領域を含む。一部の実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号7、8、および9からそれぞれなる重鎖C D R 1、C D R 2、およびC D R 3；ならびに、配列番号4、5、および6からそれぞれなる軽鎖C D R 1、C D R 2、およびC D R 3を含む。

【0011】

[0011] 一部の実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号12で示されるアミノ酸配列に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%である軽鎖可変領域を含む。一部の実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号13で示されるアミノ酸配列に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%である重鎖

10

20

30

40

50

可変領域を含む。一部の実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号3で示されるアミノ酸配列に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%であるアミノ酸配列を含む。ゆえに、一部の実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒトE p - C A Mに結合するs c F vであり、s c F vのアミノ酸配列は、配列番号3に相当する。一部の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、配列番号3に対する相同性が、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%、または100%であるアミノ酸配列を含み、そして配列番号4、5、6、7、8、および9を含む。

【0012】

10

[0012] ある実施形態において、本開示の方法に有用な免疫複合体は、毒素を含む。一部の実施形態において、毒素は、*Pseudomonas*外毒素A(ETA)またはその変異体、ゲロニン、ボウガニン、サポリン、リシン、リシンA鎖、ブリオジン、ジフテリア毒素、およびレストリクトシンから選択される。一部の実施形態において、毒素は、*Pseudomonas*外毒素A(ETA)またはその変異体である。更なる実施形態において、毒素は、ETA(242-608)である。一部の実施形態において、毒素は、配列番号11に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%であるアミノ酸配列を含む。

【0013】

20

[0013] 一部の実施形態において、本開示の方法に有用な免疫複合体は、ペプチドリンカーによって毒素に接続する結合タンパク質を含む。ペプチドリンカーは、切断可能リンカーであっても切断可能でないリンカーであってもよい。一部の実施形態において、リンカーは、フーリン感受性リンカー、カテプシン感受性リンカー、メタロプロテイナーゼリンカー、またはリソソーム加水分解酵素感受性リンカーからなる群から選択される切断可能リンカーである。一部の実施形態において、リンカーはフレキシブルリンカーである。一部の実施形態において、リンカーは、約5から約50個のアミノ酸長である。更なる実施形態において、リンカーは、約10から約30個のアミノ酸長である。更なる実施形態において、リンカーは、約20個のアミノ酸長である。一部の実施形態において、リンカーは、配列番号10に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%である。

30

【0014】

[0014] 一部の実施形態において、本明細書中で提供される方法に有用な免疫複合体は、配列番号2に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、免疫複合体は、配列番号2で示されるアミノ酸配列からなる。一部の実施形態において、本明細書中で提供される方法に有用な免疫複合体は、配列番号2のアミノ酸23～665に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、本明細書中で提供される方法に有用な免疫複合体は、配列番号2のアミノ酸23～665として示されるアミノ酸配列からなる。一部の実施形態において、本明細書中で提供される方法に有用な免疫複合体は、配列番号2のアミノ酸23～669に対する相同性が、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、本明細書中で提供される方法に有用な免疫複合体は、配列番号2のアミノ酸23～669として示されるアミノ酸配列からなる。

40

【0015】

[0015] 一部の実施形態において、免疫複合体は、対象に、第1の投薬期間および第2の投薬期間において同じ用量レベルにて、対象が、第1の投薬期間において免疫複合体の特定の用量を週2回、そして第2の投薬期間において免疫複合体の同じ用量を週1回受けるように、投与される。他の実施形態において、免疫複合体は、対象に、第2の投薬期間に

50

おいて、第1の投薬期間に対してより高い、またはより低い用量レベルにて投与される。他の実施形態において、免疫複合体は、対象に、第1の投薬期間、第2の投薬期間、および第3の投薬期間において同じ用量レベルにて、対象が、第1の投薬期間において週2回、第2の投薬期間において週1回、そして第3の投薬期間において隔週で1回、免疫複合体の同じ用量を受けるように、投与される。更なる実施形態において、免疫複合体は、対象に、第1の投薬期間、第2の投薬期間、および／または第3の投薬期間において異なる用量レベルにて投与される。一部の実施形態において、免疫複合体は、対象に、1用量あたり約5mg～約75mgの用量レベルにて投与される。更なる実施形態において、免疫複合体は、対象に、1用量あたり約10mg～約60mgの用量レベルにて投与される。更なる実施形態において、免疫複合体は、対象に、1用量あたり約20mg～約40mgの用量レベルにて投与される。更なる実施形態において、免疫複合体は、対象に、約30mgの用量レベルにて投与される。一部の実施形態において、免疫複合体は、対象に、第1の投薬期間および第2の投薬期間において30mgの用量レベルにて投与される。更なる実施形態において、免疫複合体は、対象に、第1の投薬期間、第2の投薬期間、および第3の投薬期間において30mgの用量レベルにて投与される。一部の実施形態において、当該方法はさらに、投薬レベルおよび／または投薬の頻度がさらに改変されている、更なる投薬期間を含む。
10

【0016】

[0016] 一部の実施形態において、免疫複合体の用量は、対象に、少なくとも48時間の間隔を空けて投与される。一部の実施形態において、免疫複合体の2回以下の用量が、対象に、いずれか7日の期間内に投与される。
20

【0017】

[0017] 一部の実施形態において、免疫複合体は、膀胱中への滴下注入(instillation)によって投与される。更なる実施形態において、免疫複合体は、カテーテルを介して投与される。一部の実施形態において、膀胱は、免疫複合体の投与前に空にされる。例えば、一部の実施形態において、膀胱は、排尿することによって対象によって空にされ、かつ／または膀胱は、カテーテルを介して空にされてから、免疫複合体が投与される。一部の実施形態において、免疫複合体は、膀胱内に、少なくとも約15分間、少なくとも約30分間、少なくとも約45分間、少なくとも約1時間、少なくとも約1.5時間、少なくとも約2時間、少なくとも約2.5時間、少なくとも約3時間、またはそれ以上、保持される。一部の実施形態において、免疫複合体が膀胱内にある間、対象は、以下の1つまたは複数の姿勢にある：立位、腹臥位、背臥位、ならびに左側臥位および右側臥位。更なる実施形態において、免疫複合体が膀胱内にある間、対象は、立位、腹臥位、背臥位、ならびに左側臥位および右側臥位の各姿勢にある。
30

【0018】

[0018] 一態様において、膀胱癌は、非筋肉侵襲性膀胱癌(NMIBC)である。一部の実施形態において、NMIBCは、上皮内癌(CIS)、Ta、またはT1と分類される。一部の実施形態において、対象は、BCGレフラクティブ(BCG refractive)膀胱癌またはBCG抵抗性膀胱癌を有する。一部の実施形態において、対象は、BCG、インターフェロン、またはそれらの組合せで以前に処置されている。一部の実施形態において、対象は、更なる膀胱内治療、例えばマイトイシン、ゲムシタビン、タキサン、インターフェロン、バルルビシン、またはそれらの組合せで以前に処置されている。一部の実施形態において、対象は、インターフェロン治療を伴うかまたは伴わない以前のBCGに反応しなかった。他の実施形態において、対象は、インターフェロン治療を伴うかまたは伴わない以前のBCGに反応したが、疾患がその後、再発した。一部の実施形態において、対象は、インターフェロン治療を伴うかまたは伴わないBCGに反応しなかった後、マイトイシン、ゲムシタビン、タキサン、インターフェロン、バルルビシン、またはそれらの組合せで処置されている。他の実施形態において、対象は、インターフェロン治療を伴うかまたは伴わないBCG後の再発後、マイトイシン、ゲムシタビン、タキサン、インターフェロン、バルルビシン、またはそれらの組合せで処置されている。一部の実施形態において、対
40
50

象は、B C G の少なくとも 6 回、少なくとも 7 回、少なくとも 8 回、または少なくとも 9 回の滴下注入を受けた。更なる実施形態において、B C G の少なくとも 6 回、少なくとも 7 回、少なくとも 9 回、または少なくとも 9 回の滴下注入は、B C G の 2 サイクルにわたった。

【 0 0 1 9 】

[0019] 一部の実施形態において、本明細書中で提供される膀胱癌を処置する方法はさらに、対象に、少なくとも 1 つの更なる治療剤を投与することを含む。更なる実施形態において、更なる治療剤は、化学療法薬または放射線療法薬である。一部の実施形態において、化学療法薬として、限定されないが、シスプラチニン、カルボプラチニン、パクリタキセル、ドセタキセル、5 - フルオロウラシル、ブレオマイシン、メトトレキサート、イホスファミド、オキサリプラチニン、シクロホスファミド、ダカルバジン、テモゾロミド、ゲムシタビン、カペシタビン、クラドリビン、クロファラビン、シタラビン、フロキシウリジン、フルダラビン、ヒドロキシウレア、ペメトレキセド、ペントスタチン、チオグアナジン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エビルビシン、イダルビシン、トボテカン、イリノテカン、エトポシド、エニポシド、コルヒチン、ビンクリスチン、ビンプラスチン、およびビノレルビンが挙げられる。癌特異的な例示的な剤および抗体として、限定されないが、アファチニブ、アルデスロイキン、アレムツズマブ、アキシチニブ、ベリムマブ、ベバシズマブ、ボルテゾミブ、ボスチニブ、ブレンツキシマブベドチニブ、カボザンチニブ、カナキヌマブ、カルフィルゾミブ、セツキシマブ、クリゾチニブ、ダプラフェニブ、ダサチニブ、デノスマブ、エルロチニブ、エベロリムス、ゲフィチニブ、イブリツモマブチウキセタン、イブルチニブ、イマチニブ、イピリムマブ、ラバチニブ、ニロチニブ、オビヌツズマブ、オファツムマブ、パニツムマブ、パゾパニブ、ペルツズマブ、ポナチニブ、レゴラフェニブ、リツキシマブ、ロミデプシン、ルキソリチニブ、シプリューセル - T、ソラフェニブ、テムシロリムス、トシリズマブ、トファシチニブ、トシツモマブ、トラメチニブ、トラスツズマブ、バンデタニブ、ベムラフェニブ、ビスマデギブ、ボリノスタット、Z i v - アフリベルセプト、およびそれらの任意の組合せが挙げられる。一部の実施形態において、更なる治療剤は、対象に、免疫複合体の投与の前に、当該投与と同時に、または当該投与の後に投与される。一部の実施形態において、更なる治療剤は、全身投与される。例えば、一部の実施形態において、更なる治療剤は、静脈内滴下注入によって投与される。

10

20

30

40

【 0 0 2 0 】

[0020] 膀胱癌を処置する開示の方法であって、免疫複合体の投与を含む方法に関して考察される特徴は、癌の処置における免疫複合体の医学的使用にも応用可能である。

【 0 0 2 1 】

[0021] 一部の実施形態において、膀胱癌の処置に使用するための免疫複合体が提供される。一部の実施形態において、免疫複合体は、ヒト E p - C a m の細胞外ドメインに結合する結合タンパク質および毒素を含む。ある実施形態において、当該使用は、少なくとも 6 週連続の第 1 の投薬期間、少なくとも週 2 回の免疫複合体の投与を含み、その後、第 2 の投薬期間、免疫複合体は、少なくとも 6 週連続の期間、週 1 回投与される。ある実施形態において、当該使用は、免疫複合体が隔週で週 1 回投与される第 3 の投薬期間を含む。ある実施形態において、第 3 の投薬期間は、最大 2 4 カ月の長さであり、または疾患の再発もしくは疾患の進行までである。ある実施形態において、免疫複合体は、第 1 の投薬期間の前に、膀胱から N M B I C 腫瘍を除去するための経尿道切除を経験した対象に投与される。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 2 】

【 図 1 】 [0022] 誘導投薬相および維持投薬相を含む、V i c i n i u m の投薬スキームを試験する臨床プロトコルにおける工程を示す概略フロー図である。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 3 】

50

[0023] 膀胱癌およびE p C A M

本開示は、膀胱癌の処置方法であって、処置が必要な対象に、E p - C A Mに特異的な結合タンパク質および毒素を含む免疫複合体を投与することを含み、免疫複合体は、誘導相と、任意選択により維持相と、を含む投薬レジメンで投与される方法を提供する。一部の実施形態において、膀胱癌は、非筋肉侵襲性膀胱癌(NMIBC)である。他のタイプの膀胱癌として、初期ステージの膀胱癌、非転移性膀胱癌、原発性膀胱癌、進行(advanced)膀胱癌、局所進行(advanced)膀胱癌(例えば切除不能な局所進行(advanced)膀胱癌)、転移性膀胱癌、寛解期にある膀胱癌、進行性(progressive)膀胱癌、または再発膀胱癌が挙げられる。一部の実施形態において、対象は、膀胱癌であると診断されたか、膀胱癌を発症するリスクがある。一部の実施形態において、膀胱癌は、他の処置オプション、例えば桿菌C a l m e t t e - G u e r i n (BCG) 処置またはインターフェロン処置に難治性である(refractory)、または不耐性であるN M I B Cである。

【0024】

[0024] E p - C A M(上皮細胞接着分子。17-1A、KSA、EGP-2、およびGA733-2としても知られている)。E p - C A Mは、膀胱、肺、乳房、卵巣、大腸の癌、ならびに頭部および頸部の扁平上皮細胞癌を含む多くの固体腫瘍において高度に発現される膜貫通タンパク質であるが、殆どの正常な上皮組織においては、僅かにしか発現されない。癌形成におけるE p - C A Mの役割は不明なままである。しかしながら、その発現は、細胞の増殖速度と相關する。小細胞肺癌の患者および非小細胞肺癌の患者における原発腫瘍および転移を画像化し、かつ検出するのに、E p - C A M特異的抗体が用いられてきた。抗E p - C A M M A bのうち、P A N O R E X(登録商標)は、エドレコロマブとしても知られているマウスモノクローナル抗体であり、独国において結腸癌の処置用に承認されており、米国において臨床試験中である。しかしながら、注意すべきこととして、P A N O R E X(登録商標)処置は、腹部の痙攣、吐き気、一時的な下痢および皮膚蕁麻疹の病変を含む不所望の副作用を伴った。他のE p - C A M標的抗体による臨床試験は、あまりうまくいっていない；抗体B I S - 1は、末梢血管収縮、呼吸困難、および発熱を伴い、抗体3622W94は、急性壊死性肺炎を伴った。有効な、低毒性の抗E p - C A M抗体の探索が続いている：抗体依存性細胞障害(「ADCC」)を介して作用するとされている完全ヒト化抗E p - C A M抗体、M T 2 0 1が報告されている。マウスモノクローナル抗体M O C 3 1に由来するヒト化、安定化、単鎖、抗E p - C A M抗体、4 D 5 M O C - Bもまた開発されており、2000年4月10日出願、2000年10月19日公開の国際特許出願P C T / E P 0 0 / 0 3 1 7 6号、国際公開第00/61635号、ならびにW i l l u d aら(Cancer Research 59, 5758-5767, 1999)に記載されている。E p - C A M免疫複合体V i c i n i u mの第I相用量漸増試験が、K o w a l s k i ら(Drug Des Devel Ther. 2010;4:313-20(2012))に報告され；V i c i n i u mの週1回の投与の第I I相研究が、K o w a l s k i ら(J Urol. 188(5): 1712-82012(2012))に報告された。

【0025】

[0025] E p - C A M結合タンパク質

一態様において、本開示は、E p - C A Mに結合する結合タンパク質および毒素を含む免疫複合体を提供する。一実施形態において、結合タンパク質は、抗体またはそのフラグメントである。抗体およびそのフラグメントは、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、F a b、F a b'、(F a b')₂、単鎖フラグメント(scFv)、ジスルフィド安定化フラグメント(dsFv)、單一ドメイン抗体(sdAb)、ダイアボディ、およびc y s - ダイアボディ(システインで修飾されたダイアボディ)から選択される。一部の実施形態において、ダイアボディとして、二価抗体、二重特異的抗体、または抗体フラグメントが挙げられる。一部の実施形態において、ダイアボディとして、同じ、または異なる抗体ポリペチドまたは抗体フラグメントポリペチドで構成される二価抗体が挙げられる；ゆえに、一部の実施形態において、ダイアボディは、ホモマルチマーまたはヘテロマルチマーである。抗体およびそのフラグメントは、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、I g A 2、I g D、I g E、およびI g Mからなる群から選択される免疫グロブリン

10

20

30

40

50

定常領域を含んでよい。抗体またはそのフラグメントは、マウス、ラット、ウサギ、ハムスター、およびヒトを含む任意の種由来であってよい。一実施形態において、抗体またはフラグメントはキメラである。キメラ抗体またはそのフラグメントは、非ヒト動物の可変領域、およびヒトの定常領域または定常領域の一部を組み合わせた抗体分子である。

【0026】

[0026] 一部の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、ヒト化されている。本明細書中で用いられる、ヒト化抗体またはヒト化抗体フラグメントは、抗体またはフラグメントが、非ヒト抗体に由来する C D R、およびヒト抗体に由来するフレームワーク領域を含むことを意味する。非ヒト種由来の抗体のヒト化は、文献に十分に記載されている。例えば、欧州特許第 0 2 3 9 4 0 0 号、ならびに Carter および Merchant 1997 (Curr Opin Biotechnol 8, 449-454, 1997) 参照。

【0027】

[0027] 上記のモノクローナル抗体、キメラ抗体、またはヒト化抗体のいずれかの抗原結合フラグメントは、当該技術において知られている手段を用いて、例えば、酵素的分解または好都合の制限酵素を用いたネスト欠失を調製することによって、調製される。一部の実施形態において、ヒト化抗体、キメラ抗体、またはその免疫反応フラグメントは、抗原結合が、親モノクローナル抗体のヒト化、キメラ化、またはフラグメント化によって破壊されていないことを確実にするために、スクリーニングされる。これは、例えば、ファージディスプレイライブラリの使用を含む、当該技術において知られている種々の手段のいずれかによって達成され得る。

【0028】

[0028] 一態様において、結合タンパク質は、非免疫グロブリンポリペプチドリガンド、例えばタンパク質足場である。タンパク質足場は、当該技術において知られており、1つまたは複数の抗原に結合するタンパク質またはポリペプチドを含む。そのような分子は、標的腫瘍抗原、例えば E p C A M に結合するように設計され得、かつ所望の親和性もしくはアビディティに操作され得、または種々の物理的条件、例えば極端な pH 範囲および高温に耐えるように設計され得る。タンパク質足場として、例えば、当該技術において知られているアフィボディ、アドネクチン、アンチカリン、クニッツドメインタンパク質、ならびに他の非免疫グロブリン結合タンパク質、例えば Gebauer および Kerr a、Curr. Opin. Chem. Biol. 13 ; 245 (2009) に開示されるものを含む。

【0029】

【0029】 毒素

一態様において、本開示は、ヒト E p - C A M の細胞外ドメインに結合する抗体フラグメントおよび毒素を含む免疫複合体を提供する。一部の実施形態において、免疫毒素は、複数の毒素を含む。例えば、一部の実施形態において、免疫複合体は、複数の毒素を含むダイアボディを含む。

【0030】

[0030] 一部の実施形態において、毒素は、標的細胞中のタンパク質合成をその内で阻止する分子であり、細胞死の原因となる。ゆえに、一部の実施形態において、毒素は細胞毒素である。細胞毒素は、当該技術において知られており、例えば、P seudomonas 属外毒素 A (ETA) またはその変異体；ゲロニン、ボウガニン、サポリン、リシン、リシン A 鎖、ブリオジン、ジフテリア毒素、およびレストリクトシンを含む。

【0031】

[0031] 一部の実施形態において、毒素は、P seudomonas 属外毒素 A (ETA) の毒性部分またはその変異体である。毒性部分は、当該技術において知られている 1 つまたは複数の P seudomonas 属外毒素を含んでよい。例えば、P seudomonas 属外毒素の変異体、ならびに P seudomonas 属外毒素を含む構築体および変異体の製造法および使用法が、Kreitman, 1995、「Targeting p seudomonas exotoxin to hematologic malign」

10

20

30

40

50

nancies」、Seminars in Cancer Biology 6:29
7-306; Pastan、2003、「Immunotoxins containing pseudomonas exotoxin A: a short history」、Cancer Immunol. Immunother. 52:338-341、米国特許出願公開第2003054012号; 米国特許第6,531,133号; 米国特許第6,426,075号; 米国特許第6,423,513号; 米国特許第6,074,644号; 米国特許第5,980,895号; 米国特許第5,912,322号; 米国特許第5,854,044号; 米国特許第5,821,238号; 米国特許第5,705,163号; 米国特許第5,705,156号; 米国特許第5,621,078号; 米国特許第5,602,095号; 米国特許第5,512,658号; 米国特許第5,458,878号; 米国特許第5,082,927号; 米国特許第4,933,288号; 米国特許第4,892,827号; 米国特許第4,677,070号; 米国特許第4,545,985号; 国際出願国際公開第98/20135号、国際公開第93/25690号; 国際公開第91/18100号; 国際公開第91/18099号; 国際公開第91/09949; および国際公開第88/02401号; Kondoら、1988、「Activity of immunotoxins constructed with modified pseudomonas exotoxin lacking the cell recognition domain.」J Biol Chem. 263:9470-9475; Batraら、1989、「Antitumor activity in mice of an immunotoxin made with an anti-transferring receptor and a recombinant form of pseudomonas exotoxin.」Proc Natl Acad Sci USA 86:8545-8549; Purisら、1991、「Expression of high-affinity interleukin 4 receptors on murine sarcoma cells and receptor-mediated cytotoxicity of tumor cells to chimeric protein between interleukin 4 and Pseudomonas exotoxin.」Cancer Res 51:3011-3017; Siegalら、1992、「Cytotoxicity of chimeric (human murine) monoclonal antibody BR96 IgG, F(ab')2, and Fab' conjugated to Pseudomonas exotoxin.」Bioconjug Chem 3:302-307; Hallら、1994、「In vivo efficacy of intrathecal transferrin-Pseudomonas exotoxin A immunotoxin against LOX melanoma.」Neurosurgery 34:649-655; KuanおよびPai、1995、「Immunotoxins containing pseudomonas exotoxin that target Ley damage human endothelial cells in an antibody-specific mode: relevance to vascular leak syndrome.」Clin Cancer Res 1:1589-1594; Kreitman、1995、「Targeting pseudomonas exotoxin to hematologic malignancies.」Sem Cancer Biol 6:297-306; Kawooyaら「The expression, affinity purification and characterization of recombinant pseudomonas exotoxin 40(PE40) secreted from Escherichia coli.」J Biotechnol 42:9-22; KaunおよびPai、1995、「Immunotoxins containing pseudomonas exotoxin that target Ley damage human 10 20 30 40 50

endothelial cells in an antibody-specific mode: Relevance to vascular leak syndrome.」*Clin Cancer Res* 1:1589-1594; Puris、1996、「Preclinical development of a recombinant toxin containing circularly permuted interleukin 4 and truncated Pseudomonas exotoxin for therapy of malignant astrocytoma.」*Cancer Res* 56:5631-5637; Paiš、1996、「Treatment of advanced solid tumors with immunotoxin LMB-1: An antibody linked to Pseudomonas exotoxin.」*Nature Med.* 3:350-353; Paiš、1998、「Clinical Trials with pseudomonas exotoxin immunotoxins.」*Curr Top. Microbiol. Immunol.* 234:83-96; Klimkaš、1999、「An anti-CD30 single chain Fv selected by phage display and fused to pseudomonas exotoxin A(Ki-4(scFv)-ETA') is a potent immunotoxin against a Hodgkin-derived cell line.」*British J Cancer* 80:1214-1222; Randš、2000、「Intratumoral administration of recombinant circularly permuted interleukin-4-Pseudomonas exotoxin in patients with high-grade glioma.」*Clin Cancer Res* 6:2157-2165; Lelandš、2000、「Human breast carcinoma cells express type II IL-4 receptors and are sensitive to antitumor activity of chimeric IL-4-pseudomonas exotoxin fusion protein in vitro and in vivo.」*Molecular Medicine Today* 6:165-178; Turš、2001、「An anti-GD2 single chain Fv selected by phage display and fused to Pseudomonas exotoxin A develops specific cytotoxic activity against neuroblastoma derived cell lines.」*Int J Mol Med* 8:579-584; Ondaš、2001、「Cytotoxicity of osteosarcoma recombinant immunotoxins composed of TP-3 Fv fragments and a truncated pseudomonas exotoxin A.」*J Immunother* 24:144-150; 18. 「Synergistic interaction between an anti-p185her-2 pseudomonas exotoxin fusion protein[scfv(frp5)-eta] and ionizing radiation for inhibiting growth of ovarian cancer cells that overexpress HER-2.」Schmidtš、2001、「Synergistic interaction between an anti-p185HER-2 pseudomonas exotoxin fusion protein[scFv(FRP5)-ETA] and ionizing radiation for inhibiting growth of ovarian cancer cells that overexpress HER-2.」*Gynecol Oncol* 80:145-155; Pastan、2003、「Immunotoxins containing 10 20 30 40 50

pseudomonas exotoxin A: a short history.
 」Cancer Immunol Immunother 52:338-341; Li
 ら、1996、「Crystal structure of the catalytic
 domain of *Pseudomonas exotoxin A* com-
 plexed with a nicotinamide adenine dinucleo-
 tide analog: implications for the activation
 process and for ADP ribosylation.」
 Proc Natl Acad Sci USA. 9:6902-6906; Kreit
 manおよびPastan、2003、「Immunobiological trea-
 tments of hairy-cell leukaemia.」Best Pra-
 ct Res Clin Haematol. 16:117-33に記載されている。
 10

【0032】

[0032] 一部の実施形態において、毒素は、単独で投与される場合に細胞に結合することが実質的につかないETA変異体を含む。一部の実施形態において、細胞毒性部分は、ETA(252-608)を含む。細胞結合ドメインを欠くETAの切断型形態であるETA(252-608)は、単一の構築体の連続する翻訳によって產生される単一のポリペプチド融合タンパク質である。一部の実施形態において、ETA(252-608)は、配列番号11のアミノ酸配列を含む。

【0033】

[0033] 他の非限定的な実施形態において、免疫複合体は、ヒトEpcAMに特異的に結合する結合タンパク質および毒素を含み、毒素は、DNAを破壊するように作用する剤を含む。ゆえに、毒素は、限定されないが、エンジイン(例えば、カリケアマイシンおよびエスペラミシン)および非エンジイン小分子剤(例えば、ブレオマイシン、メチジウムプロピル-EDTA-Fe(II))を含んでよい。本発明における有用な他の毒素として、限定されないが、ダウノルビシン、ドキソルビシン、ジスタマイシンA、シスプラチン、マイトイシンC、エクティナシン、デュオカルマイシン/CC-1065、およびブレオマイシン/ペブレオマイシンを含む。他の非限定的な実施形態において、毒素は、チューブリンを破壊するように作用する剤を含む。そのような毒素は、限定されないが、リゾキシン/マイタンシン、パクリタキセル、ビンクリスチンおよびビンプラスチン、コルヒチン、オーリスタチンドラスタチン10 MMAE、ならびにペロルシドAを含んでよい。他の非限定的な実施形態において、本発明の免疫毒素の毒素部分は、アルキル化剤を含んでよく、限定されないが、Asaley NSC 167780、AZQ NSC 182986、BCNU NSC 409962、ブスルファンNSC 750、カルボキシフタラート白金NSC 271674、CBDDCA NSC 241240、CCNU NSC 79037、CHIP NSC 256927、クロラムブシリルNSC 3088、クロロゾトシンNSC 178248、シス白金NSC 119875、クロメソンNSC 338947、シアノモルホリノドキソルビシンNSC 357704、シクロジソンNSC 348948、ジアンヒドロガラクチトールNSC 132313、フルオロドパンNSC 73754、ヘプスルファムNSC 329680、ヒカントンNSC 142982、メルファランNSC 8806、メチルCCNU NSC 95441、マイトイシンC NSC 26980、ミトゾールアミドNSC 353451、ナイトロジエンマスターD NSC 762、PCNU NSC 95466、ピペラジンNSC 344007、ピペラジンジオンNSC 135758、ピポプロマンNSC 25154、ポルフィロマイシンNSC 56410、スピロヒダントインマスターD NSC 172112、テロキシロンNSC 296934、テトラプラチンNSC 363812、チオテバNSC 6396、トリエチレンメラミンNSC 9706、ウラシルナイトロジエンマスターD NSC 34462、およびYoshi-864 NSC 102627を含む。他の非限定的な実施形態において、本発明の免疫毒素の毒素部分は、抗有糸分裂剤を含んでよく、制限されないが、アロコルヒチンNSC 406042、ハリコンドリンB NSC 609395、コルヒチンNSC 757、コルヒチン誘導体N 20
 30
 40
 50

SC 33410、ドラスタチン10 NSC 376128(NG-オーリスタチン由来)、マイタンシンNSC 153858、リゾキシンNSC 332598、タキソールNSC 125973、タキソール誘導体NSC 608832、チオコルヒチンNSC 361792、トリチルシスティンNSC 83265、硫酸ビンプラスチンNSC 49842、および硫酸ビンクリスチンNSC 67574を含む。

【0034】

[0034] 他の非限定的な実施形態において、本発明の免疫毒素の毒素部分は、トポイソメラーゼI阻害剤を含んでよく、限定されないが、カンプトセシンNSC 94600、カンプトセシン、Na塩NSC 100880、アミノカンプトセシンNSC 603071、カンプトセシン誘導体NSC 95382、カンプトセシン誘導体NSC 10711024、カンプトセシン誘導体NSC 643833、カンプトセシン誘導体NSC 629971、カンプトセシン誘導体NSC 295500、カンプトセシン誘導体NSC 249910、カンプトセシン誘導体NSC 606985、カンプトセシン誘導体NSC 374028、カンプトセシン誘導体NSC 176323、カンプトセシン誘導体NSC 295501、カンプトセシン誘導体NSC 606172、カンプトセシン誘導体NSC 606173、カンプトセシン誘導体NSC 610458、カンプトセシン誘導体NSC 618939、カンプトセシン誘導体NSC 610457、カンプトセシン誘導体NSC 610459、カンプトセシン誘導体NSC 606499、カンプトセシン誘導体NSC 610456、カンプトセシン誘導体NSC 364830、カンプトセシン誘導体NSC 606497、およびモルホリノドキソルビシンNSC 354646を含む。 20

【0035】

[0035] 他の非限定的な実施形態において、本発明の免疫毒素の毒素部分は、トポイソメラーゼII阻害剤を含んでよく、限定されないが、ドキソルビシンNSC 123127、アモナフィドNSC 308847、m-AMSA NSC 249992、アントラピラゾール誘導体NSC 355644、ピラゾロアクリジンNSC 366140、ビサントレンHC1 NSC 337766、ダウノルビシンNSC 82151、デオキシドキソルビシンNSC 267469、ミトキサントロンNSC 301739、メノガリルNSC 269148、N,N-ジベンジルダウノマイシンNSC 268242、オキサントラゾールNSC 349174、ルビダゾンNSC 164011、VM-26 NSC 122819、およびVP-16 NSC 141540を含む。 30

【0036】

[0036] 他の非限定的な実施形態において、本発明の免疫毒素の毒素部分は、RNA代謝拮抗薬またはDNA代謝拮抗薬を含んでよく、限定されないが、L-アラノシンNSC 153353、5-アザシチジンNSC 102816、5-フルオロウラシルNSC 19893、アシビシンNSC 163501、アミノブテリン誘導体NSC 132483、アミノブテリン誘導体NSC 184692、アミノブテリン誘導体NSC 134033、アンチフォールNSC 633713、アンチフォールNSC 623017、Bakerの可溶性アンチフォールNSC 139105、ジクロロアリルローソンNSC 126771、ブレキナルNSC 368390、フトラフル(プロドラッグ)NSC 148958、5,6-ジヒドロ-5-アザシチジンNSC 264880、メトレキサートNSC 740、メトレキサート誘導体NSC 174121、N-(ホスホノアセチル)-L-アスパルテート(PALA)NSC 224131、ピラゾフリンNSC 143095、トリメトレキセートNSC 352122、3-HP NSC 95678、2'-デオキシ-5-フルオロウリジンNSC 27640、5-HP NSC 107392、アルファ-TGDR NSC 71851、アフィディコリングリシネットNSC 303812、ara-C NSC 63878、5-アザ-2'-デオキシシチジンNSC 127716、ベータ-TGDR NSC 71261、シクロシチジンNSC 145668、グアナゾールNSC 1895、ヒドロキシウレアNSC 32065、イノシングリコジアルデヒドNSC 118994、マクベシンII N 40

S C 330500、ピラゾロイミダゾールNSC 51143、チオグアニンNSC
752、およびチオプリンNSC 755を含む。

【0037】

[0037] さらに、毒素は、免疫複合体の文脈を離れて、結合を弱め、もしくは阻害するよう、または特定のタイプの毒性を引き下げるよう、変更されてもよい。例えば、毒素は、肝臓毒性が低下するよう、等電点をおおよそ7.0に調整するように変更されてもよい。

【0038】

[0038] リンカー

本発明に有用な免疫複合体は、リンカー、例えばペプチドリンカーを含んでよい。例えば、一部の実施形態において、免疫複合体は、毒素分子にペプチドリンカーを介して連結されたEp-CAM結合タンパク質を含む。ペプチドリンカーは、切断可能リンカーであっても切断可能でないリンカーであってもよい。切断可能ペプチドリンカーは、当該技術において知られており、フーリン感受性リンカー、カテブシン感受性リンカー、メタロプロテイナーゼリンカー、およびリソソーム加水分解酵素感受性リンカーを含むが、これらに限定されない。一部の実施形態において、リンカーは、フレキシブルリンカーである。ペプチドリンカーは、約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30個以上のアミノ酸長であってよい。ある実施形態において、本開示は、膀胱癌を処置する方法であって、処置が必要な対象に、Ep-CAMに特異的に結合する結合タンパク質、毒素分子、および結合タンパク質を毒素分子に連結するペプチドリンカーを含む免疫複合体を投与することを含む方法を提供する。

10

【0039】

[0039] V B 4 - 8 4 5

本開示の一態様において、免疫複合体はViciniumである。Viciniumは、活性医薬成分V B 4 - 8 4 5を含有し、これは、ETA(252-608)に連結された、上皮細胞接着分子(EpCAM)抗原に特異的なヒト化単鎖抗体フラグメント(scFv)を発現する大腸菌(Escherichia coli)中で産生される、組換え融合タンパク質である。V B 4 - 8 4 5は、米国特許第8,545,840号に開示されており、この特許は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。V B 4 - 8 4 5の配列が、以下の表1に記載される。

20

【0040】

30

【表1-1】

表 1.VB4-845 配列

説明	配列	配列番号
VB4-845 免疫複合体	MKYLLPTAAAGLLLLAAQPAMAHHHHHDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKPGKAPKLLIYQMSNLASG VPSRFSSSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCAQNLEIPRTFGQGT KVELKRATPSHNSHQVPSAGGPTANSGBTSGSEVQLVQSGPGLVQP GGSVRISCAASGYFTFTNYGMNWVKQAPGKGLEWMGWINTYTGEST YADSFKGRFTFSLDTSSAAYLQINSRAEDTAVYYCARFAIKGD YWQGTLLTVSSEFGGAPEFPKPSTPPGSSGLEGGLAALTAAHQA CHLPLETFTRHRQPRGWEQLEQCGYPVQRLVALYLAARLSWNQVD QVIRNALASPGSGGDILGEAIRREQPEQARLALTAAAESERFVRQG TGNDEAGAASADVVSITCPVAAGECAGPADSGDALLERNYPTGAE FLGDGGDVSFSTRGTQNWTVERLLQAHQLEERGYVFVGYHGTFL EAAQSIVFGGVRARSQDLDIAIWRFYIAGDPALAYGYAQDQEPA RGRIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTGLTLAAPEAAGEVERLIGHP LPLRLDAITGPPEEEGGRLETIILGWPLAERTVVVIPSAIPTDPRNVG GDLDPSSIPDKEQAI SALPDYASQPGKPPHHHHKDEL	10 2
Ep-CAM scFv	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKP GKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTDFLTISLQPEDFAT YYCAQNLEIPRTFGQGTKVELKRATPSHNSHQVPSAGGPTANSBT SGSEVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYFTFTNYGMNWVKQAPG KGLEWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSSAAYLQINSRA EDTAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLTVSS	20 3
VB4-845 LCDR1	RSTKSLLHSNGITYLY	4
VB4-845 LCDR2	QMSNLAS	5
VB4-845 LCDR3	AQNLEIPRT	6
VB4-845 HCDR1	NYGMN	7
VB4-845 HCDR2	WINTYTGESTYADSFKG	8
VB4-845 HCDR3	FAIKGDY	9
VB4-845 scFv-毒素 リンカー	EFGGAPEFPKPSTPPGSSGL	10
ETA(252-608)	EGGLAALTAAHQAACHLPLETFTRHRQPRGWEQLEQCGYPVQRLVA LYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDILGEAIRREQPEQARLALT AAAESERFVRQGTGNDEAGAASADVVSITCPVAAGECAGPADSG DALLERNYPTGAEFLGDGGDVSFSTRGTQNWTVERLLQAHQLEE RGYVFVGYHGTFLLEAAQSIVFGGVRARSQDLDIAIWRFYIAGDPA LAYGYAQDQE PDARGIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTGLTLAAP EAAGEVERLIGHPLPLRLDAITGPPEEEGGRLETIILGWPLAERTVV IPSAIPTDPRNVGGDLDPSSIPDKEQAI SALPDYASQPGKPP	40 11

【0041】

【表1-2】

VB4-845 軽鎖 可変領域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHSNGITYLYWYQQKP GKAPKLLIYQMSNLASGVPSRFSSSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCAQNLEIPRTFGQGTKVELKR	12
VB4-845 重鎖 可変領域	EVQLVQSGPGLVQPGGSVRISCAASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGL EWMGWINTYTGESTYADSFKGRFTFSLDTSASAAYLQINSLRAED TAVYYCARFAIKGDYWGQGTLLTVSS	13
VB4-845 軽鎖-重鎖 リンカー	ATPSHNSHQVPSAGGPTANSGTSGS	14

10

【0042】

[0040] 一態様において、*Vicinium*の作用機構は、VB4-845の2つの成分に依存する。癌細胞の表面上のEpCAM抗原に結合すると、VB4-845は、エンドサイトーシス経路を通して内在化される。エンドソーム区画内に含有されるフーリンが、ETA(252-608)の表面上のタンパク質分解部位を切断して、ETA(252-608)を放出する。ETA(252-608)は、ジフタミドと呼ばれる伸長因子2(EF-2)の、翻訳後修飾されるヒスチジン残基のアデノシン二リン酸(ADP)リボシル化によるタンパク質合成を不可逆的に阻止することによって、細胞死を誘導する(Oppenheimerら、1981)。ETAの切断型バージョン、ETA(252-608)は、細胞死を誘導するのに必須の活性ドメインを保持するように操作されているが、細胞結合ドメインは除去されているので、何らかの代わりのビヒクリの不在下では、ETA(252-608)部分が、例えば抗体介在性の内在化を介して、細胞に入るのが防止される。ETA(252-608)介在性の効果を得るために、EpCAMへの結合が起こらなければならぬ。

20

【0043】

[0041] *Vicinium*融合タンパク質のETA(252-608)成分は、ヒトに全身投与される場合、免疫原性反応を引き起こすことができる。一態様において、*Vicinium*は、その全身曝露を制限するために、かつその標的細胞における薬物の濃度を最大にするために、局所標的により投与される。例えば、一部の実施形態において、*Vicinium*は、膀胱内滴下注入を介して投与される。更なる実施形態において、*Vicinium*は、カテーテル挿入を介して、空の膀胱中に投与される。一部の実施形態において、滴下注入を介した投与によって、全身曝露、およびその後の中和抗体の生成の可能性は低くなる。さらに、一部の実施形態において、*Vicinium*の局所濃度が高いと、治療の利点を達成する可能性が最大になる。

30

【0044】

[0042] 前臨床研究データにより、*Vicinium*は、EpCAM発現腫瘍の選択性により、多数のEpCAM陽性の細胞系統に対して、強力な活性[阻止濃度50%(IC₅₀)=0.001~10pm]を示すことが示された。インビボ薬理学により、*Vicinium*は、いくつかのヒト異種移植片動物モデルにおいて、腫瘍増殖を効果的に阻害することが実証された。ラットでの研究により、*Vicinium*の毒性効果は、腫瘍細胞での活性について、IC₅₀の1,000倍を超える用量にて起こり、安全マージンが少なくとも5倍~100倍であることが見出された。

40

【0045】

[0043] 本開示は、一態様において、非筋肉侵襲性膀胱癌の対象における*Vicinium*の投薬レジメンの改善を実現する。投薬レジメンは、週に2回の*Vicinium*投薬を6週、その後週に1回の投薬を6週含む誘導相期間を含む。一実施形態において、誘導相の後に、維持相が続く。一部の実施形態において、維持相は、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも6、少なくとも8、少なくとも10、少なくとも12、少なくとも18、少なくとも24、少なくとも36、少なくとも48、少なくとも60、少なくとも72、少なくとも84、または少なくとも90週、隔週で1回の*Vicini*

50

um投薬を含む。一部の実施形態において、維持相は、最大91週のVicinium投薬を含む。一態様において、本明細書中で開示される投薬レジメンは、例えば、疾患の再発を予防することによって、治療結果の改善を実現する。

【0046】

[0044] 定義

本明細書中で用いられる用語「動物」は、ヒトを含む動物界の全メンバーを含む。本明細書中で用いられる用語「対象」または「患者」は、脊索動物亜門の任意のメンバーを指し、限定されないが、ヒト、ならびに、非ヒト霊長目、例えばチンパンジーおよび他の類人猿、ならびにサル種を含む他の霊長目を含む。用語「哺乳類」および「動物」は、この定義に含まれる。特定の実施形態において、本明細書中で用いられる用語「対象」は、膀胱癌、例えば非筋肉侵襲性膀胱癌と診断されたヒトを指す。10

【0047】

[0045] 本明細書中で用いられるフレーズ「有効な量」は、「治療的に有効な量」または「治療的に有効な用量」等と互換的に用いられて、癌を処置するのに有効な治療剤の量を意味する。本明細書中で用いられるフレーズ「癌を処置する」は、癌細胞の増殖の阻害、癌の広がり(転移)の阻害、腫瘍増殖の阻害、癌細胞数もしくは腫瘍増殖の減少、癌の悪性度(例えば、分化の増大)の低下、または癌関連症候の改善を指す。本明細書で提供される免疫毒素の有効な量は、動物の疾患状態、年齢、性別、体重等の因子に従って変動してよい。20

【0048】

[0046] 本明細書中で用いられる用語「誘導相」は、本明細書中で提供される免疫複合体による治療の最初のコースを指す。本明細書中で提供される免疫複合体についての誘導相は、週2回の投薬レジメンの第1の投薬期間、および週1回の投薬レジメンの第2の投薬期間を含む。20

【0049】

[0047] 本明細書中で用いられる用語「維持相」は、治療の誘導相の後に続く投薬期間を指す。ゆえに、本明細書中に記載されるように、維持相は、誘導相の第2の投薬期間の後に、対象において開始される。本明細書中で提供される免疫複合体についての維持相は、隔週で1回の投薬レジメンを含む。一部の実施形態において、維持相は、治療の誘導相に対して完全奏功を示す対象において開始される。本明細書中で用いられる用語「完全奏功」は、対象における治療に対する反応を指す。例えば、誘導相の後に高悪性度の疾患の組織学的証拠を示さない対象は、誘導相に対して完全奏功を示した。一部の実施形態において、誘導相に対して完全奏功を示した対象は、維持相に入る。誘導相の後に高悪性度の疾患の証拠が組織学的に確認された対象は、維持相に入ることとはならない。誘導相の後、研究に入って、T1疾患の悪性度が低く、かつ、T1疾患の再発を経験もしないし、高悪性度の疾患の証拠もない対象は、維持相に入る。疾患の再発(すなわち、組織学的に確認されたCIS、高悪性度の乳頭状TaもしくはT1疾患、またはベースライン疾患の場合、低悪性度のT1を、対象が再発する)、疾患の進行(組織学的に確認された疾患ステージT2)、膀胱切除、研究の開始から24ヶ月、または死亡のどれが最初に来ようと、それまで、維持治療は続く。疾患の再発または進行があった対象は、研究から取り消される。低悪性度の乳頭状疾患を再発した対象は、対象が低悪性度のT1疾患を有さず、かつ低悪性度のT1疾患を再発しない限り、腫瘍除去の後に維持治療を続けることが認められる。3040

【0050】

[0048] 一部の実施形態において、膀胱癌は、非筋肉侵襲性膀胱癌(NMIBC)であり、本明細書中で提供される方法に曝された対象は、免疫複合体の第1の投薬の後に、無イベント生存期間を示す。本明細書中で用いられる「無イベント生存期間」は、本明細書中で提供される免疫複合体の第1の投薬の日付から、事象までの間隔を指す。本明細書中の「事象」は、高悪性度の疾患、高悪性度の疾患腫瘍の再発、筋肉侵襲性膀胱癌への腫瘍の進行、任意の理由のための膀胱切除、低悪性度のT1疾患で研究に入った対象において見られる低悪性度のT1疾患、または死亡と定義される。50

【0051】

[0049] 一部の実施形態において、膀胱癌は、上皮内癌（CIS）と分類されるN M I B Cであり、本明細書中で提供される方法に曝された対象は、免疫複合体の投与の後に、完全奏功を示す。本明細書中で用いられる「完全奏功」は、以下のa)正常な膀胱鏡検査、および非陽性もしくは疑わしくない尿細胞診、または異常な膀胱鏡検査であるが陰性生検（または低悪性度の疾患のみ明らかにする生検）、および非陽性もしくは疑わしくない尿；b)陰性生検（または低悪性度の疾患のみ明らかにする生検）および非陽性反復尿細胞診；あるいはc)膀胱腫瘍の経尿道切除（TURBT）によって管理され得、かつ膀胱切除または他の化学療法を必要としない、低悪性度の乳頭状疾患のみ明らかにする膀胱鏡検査または生検、の1つと定義される。

10

【0052】

[0050] 本明細書中で用いられる用語「高悪性度の疾患の証拠なし」は、以下の少なくとも1つを含む：a)正常な膀胱鏡検査、および非陽性もしくは疑わしくない尿細胞診、または陰性生検もしくは低悪性度の乳頭状疾患のみ明らかにする生検；b)陰性生検（または低悪性度の乳頭状疾患のみ明らかにする生検）および非陽性反復尿細胞診；あるいはc)膀胱腫瘍の経尿道切除（TURBT）によって管理され得、かつ膀胱切除を必要としない、低悪性度の乳頭状疾患のみ明らかにする膀胱鏡検査または生検。ゆえに、「高悪性度の疾患」は、例えば、低悪性度の乳頭状疾患よりも重篤度が高い何かを明らかにする生検によって、同定されてもよい。

20

【0053】

[0051] 本明細書中で用いられる用語「疾患の再発」または「腫瘍の再発」は、組織学的に確認されたC I S、または高悪性度の乳頭状T AもしくはT 1疾患の再発を指す。本明細書中で用いられる「疾患再発までの時間」は、高悪性度の疾患の組織学的証拠がないことが最初に記録された日付から、組織学的に確認された高悪性度の疾患の最初の再発の日付までの間隔と定義される。一部の実施形態において、本明細書中で提供される免疫複合体を受けた、または受けている対象における疾患再発までの時間は、他の利用可能な膀胱内治療を受けた対象において起こるであろう疾患の再発までの時間に対して、延びる。

【0054】

[0052] 本明細書中で用いられる用語「疾患進行」は、ステージがT 2以上であると組織学的に確認された疾患を指す。本明細書中で用いられる「進行までの時間」は、免疫複合体の第1の投薬の日付から、組織学的に確認された、ステージ T 2の侵襲性疾患の日付までの時間と定義される。一部の実施形態において、疾患進行までの時間は、他の利用可能な膀胱内治療を受けた対象において起こるであろう疾患の進行までの時間に対して、延びる。

30

【0055】

[0053] 「無増悪生存期間(progression-free survival)」は、本明細書中で、免疫複合体の第1の投薬の日付から、(i)ステージ T 2の侵襲性疾患である判定が組織学的に確認された日付、または(ii)死亡の日付のより早い方までの時間と定義される。「全生存」は、本明細書中で、免疫複合体の第1の投薬の日付から、任意の原因に起因する死亡までの時間と定義される。

40

【0056】

[0054] 用語「V B 4 - 8 4 5」および「V i c i n i u m」は、本明細書中で互換的に用いられて、a) s c F v ヒト化抗体 4 D 5 M O C - B であって、b) アミノ酸 2 5 2 - 6 0 8 からなるP s e u d o m o n a s 属外毒素Aの切断型形態に融合されているものを含む免疫毒素を指す。一部の実施形態において、V i c i n i u mは、本明細書中でオポルツズマブモナトックスと呼ぶ。

【0057】

[0055] 用語「医薬的に許容可能な賦形剤」および「医薬的に許容可能な担体」は、本明細書中で互換的に用いられ、全ての任意の溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤、吸収遅延剤等を含む。医薬的に活性がある物質用のそのような媒質およ

50

び剤の使用は、当該技術において周知である。追加の活性成分が、組成物中に組み込まれてもよい。本明細書中で提供される抗体およびその抗原結合フラグメントは、他の生物学的に活性な剤と一緒に投与されてもよい。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 1995, Gennaro編参照。医薬的に許容可能な担体は、一般的臨床に用いられており、かつ／あるいは連邦もしくは州政府の規制当局による承認を得、米国薬局方にリストされ、または関連技術の当業者によって一般的に容認されている。

【0058】

[0056] 本明細書中で用いられる「BCG治療の失敗」は、膀胱癌用のBCG治療により処置された対象において、結果が改善しないBCG治療による処置と定義される。一部の実施形態において、BCG治療の失敗は、2サイクル（少なくとも3用量の1誘導コース+1維持サイクル、または完全な2誘導コース）にわたるBCGの少なくとも9回の滴下注入に対する反応が不十分であったこと、またはBCGの少なくとも9回の滴下注入の後に再発性の疾患を呈したことを意味する。他の実施形態において、BCG治療の失敗は、2サイクル（少なくとも5用量の1誘導コース+少なくとも2用量の1維持サイクル、または2誘導コース）にわたるBCGの少なくとも7回の滴下注入に対する反応が不十分であったことを意味する。BCG治療に対してもはや応答しない疾患の非筋肉侵襲性膀胱癌を患う対象は、難治性であり得、または早期再発し得る。BCG治療に対して難治性の、高悪性度の疾患の対象において、適切なBCG処置の後にも評価可能な高悪性度の疾患が残存する。高悪性度の疾患がBCG治療の後に早期再発する対象において、対象は、適切なBCG処置の後に完全奏功を経験したが、BCGの最後の投薬の6ヶ月以内に、完全奏功の後に高悪性度の疾患の出現があった。T1疾患の再発が起こる低悪性度のT1疾患の対象もまた、早期再発とみなされる。10

【0059】

[0057] 本明細書中で用いられる用語「変異体」は、本明細書中に記載される免疫毒素、抗体もしくは抗体フラグメント、毒素（例えば、Pseudomonas属毒素）、または癌治療薬の任意の医薬的に許容可能な誘導体、類似体、またはフラグメントを指す。変異体はまた、マルチマーの1つまたは複数の成分、個々の成分を含むマルチマー、複数の個々の成分を含むマルチマー（例えば、基準分子のマルチマー）、化学的分解生成物、および生物学的分解生成物を包含する。特定の、非限定的な実施形態において、免疫毒素は、E p - C A M結合部分および／または基準免疫毒素の毒素部分の変更による、基準免疫毒素に対しての「変異体」であってよい。例えば、変異体の免疫毒素は、抗体部分および／または毒素部分のマルチマーを含有してよい。分子の毒素部分の変異体は、基準毒素の調製物の毒性を計測するのに用いられる標準的なアッセイにおいて、少なくとも10パーセント、好みしくは少なくとも30パーセントの毒性を保持する。20

【0060】

[0058] 本明細書中で用いられるフレーズ「癌治療薬」等は、癌を処置または予防するのに有効な化合物または処置を指し、限定されないが、化学剤、他の免疫治療薬、癌ワクチン、抗血管形成化合物、特定のサイトカイン、特定のホルモン、遺伝子治療、放射線療法、外科手術、および食事療法を含む。化学療法薬および癌特異的抗体を含む1つまたは複数の更なる癌治療剤が、免疫複合体投与の前に、その間に、またはその後に、本明細書中で提供される免疫複合体に加えて投与されてよい。例示的な治療剤として、限定されないが、2,2,2トリクロロトリエチルアミン、3-HP、5,6-ジヒドロ-5-5-アザシチジン、5-アザ-2'-デオキシシチジン、5-アザシチジン、5-フルオロウラシル、5-HP、5-プロパゲルマニウム、6-アザウリジン、6-ジアゾ-5-0×0-L-ノルロイシン、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、アブリン、アセグラロン、アシビシン、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アクチノマイシンD、アルデスロイキン、アレムツズマブ、アロコルヒチン、アルタミン、アルファ-フェトプロテイン、アルファ-T G D R、アルトレタミン、アミノカンプトテシン、アミノグルテチミド、アミノブテリン誘導体、アモナフィド、アムサクリン、アンチフォール、アナストロゾ40

ール、アンシタビン、アンジオゲニンアンチセンスオリゴヌクレオチド、アンギオスタチン、アントラマイシン、アントラピラゾール誘導体、抗トロンбин、アフィディコリングリシネット、a r a - C、アスパラギナーゼ、オーリスタチン、自己細胞または自己組織、アバスチン、アザシチジン、アザセリン、アジリジン、アキシチニブ、ベリムマブ、ベバシズマブ、ボルテゾミブ、ボスチニブ、ブレンツキシマブペドチン、カボザンチニブ、カナキヌマブ、カルフィルゾミブ、セツキシマブ、クリゾチニブ、ダプラフェニブ、A Z Q、B a c i l l u s 属、B a k e r の可溶性アンチフォール、バチマスタッフ、B C G 生ワクチン、b c l - 2 アンチセンスオリゴヌクレオチド、B C N U、ベンゾデパ、ベタメタゾン、ベータ - T G D R、ビアオマイシン、ビカルタミド、ビサントレン、ブレオマイシン、ブレキナル、ブセレリン、ブスルファン、カクチノマイシン、カリケアマイシン、カルステロン、キャンパス - 1、カンプトセシン、カンプトセシンN a 塩、カペシタビン、カルボブレイン、カルボプラチニン、カルボコン、カルボキシフタラート白金、癌胎児性抗原、カルモフル、カルマスティン、カンプトセシン誘導体、カルビシン、カルジノフィリン、C B D C A、C C N U、C H I P、クロラブシン、クロラムブシリ、酢酸クロルマジノン、クロルナファジン、クロロゾトシン、クロモマイシン、シスプラチニン、シス白金、クラドリビン、クロメソニン、コルヒチン、コルヒチン誘導体、コラーゲン 1 4 - アミノ酸ペプチド、コルチゾール、コーチゾン、シアノモルホリノドキソルビシン、シクララビン、シクロシチジン、シクロジソニン、シクロホスファミド、シクロトスファミド、シタラビン、サイトカラシンB、シトシンアラビノシド、ダカルバジン、ダクリノマイシン、ダクチノマイシン、ダサチニブ、ダウノルビシン、デホスファミド、デヒドロテストステロン、デメコルシン、デノブテリン、デオキシドキソルビシン、デキサメタゾン、ジアンヒドロガラクチトール、ジアジクォン、ジクロロアリルローソン、ジフテリア毒素、ジスタマイシンA、ドセタキセル、ドラスタチン 1 0、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、ドロロキシフェン、ドロモスタノロン、デュオカルマイシン / C C - 1 0 6 5、エクティナシジン、エダトレキサート、エフロルニチニン、酢酸エリプチニウム、エメチニン、エミテフル、エンドスタチン、エノシタビン、エピポドフィロトキシン、エビルビシン、エピチオスタノール、アービタックス、エルロチニブ、エスペラミシン、エストラムスチン、エストロゲン、臭化工チジウム、エトグルシド、エトポシド、ファドロゾール、フェンレチニド、フィプロネクチン 2 9 k D a N 末端タンパク質分解フラグメント、フィプロネクチン 4 0 k D a C 末端N 末端タンパク質分解フラグメント、フロラフブル（プロドラング）、フロキスリデ、フロキシウリジン、フルダラビン、フルオロドパン、フルタミド、フォリン酸、ホルメスタン、ホスフェストロール、ホテムスチニン、硝酸ガリウム、ゲフィチニブ、ゲムシタビン、ゲムシチビン、ゲムツズマブ、グルココルチコイド、ゴセレリン、グラミシジンD、顆粒球単球コロニー刺激因子、グアナゾールN S C 1 8 9 5、グラン、ハリコンドリンB、ヘプスルファム、ヘキサメチルメラミン、ヘキセストロール、ヒト絨毛ゴナドトロピン、ヒカントン、ヒドロキシウレア、イダルビシン、イフォサミド、イマチニブ、インプロスルファン、イノシングリコジアルデヒド、インターフェロン、インターフェロン - アルファ、インターフェロン - ベータ、インターフェロン - ガンマ、インターロイキン - 1 2、インターロイキン - 1 5、インターロイキン - 1 8、インターロイキン - 1、インターロイキン - 2、インターロイキン - 2、インターロイキン - 6、インターロイキン、イリノテカン、イウビダゾン、クリングル 5、L - アラノシン、ラパチニブ、L - アスパラギナーゼ、酢酸ラウブロリド、レンチナン、レトロゾール、ロイブロリド、酢酸ロイブロリド（LUPRON）、レバミゾール、リドカイン、リポソームのジヒドロキシアントラシンジオン、ロムスリン、ロムスチニン、ロニダミン、リンホカイン、リンホトキシン、L Y S O D R E N、マクベシン、マクロファージ炎症性タンパク質、m - A M S A、マンノムスチニン、マイタンシン、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メドロキシプロゲステロン、酢酸メゲストロール、メラニン細胞系統のタンパク質、メレンゲストロール、メルファラン、メノガリル、メピチオスタン、メルカブトプリン、メスナ、メチジウムプロピル - E D T A - F e (I I)、メトトレキサート、メトトレキサート誘導体、メツレデパ、ミボプラチニン、ミルテフォシン、ミネラルコルチコ

10

20

30

40

50

イド、ミトラマイシン、ミトプロニトール、ミトグアゾン、ミトラクトール、ミトランク、マイトイマイシンC、ミトタン、ミトキサンtron、ミトゾールアミド、モピダモール、モルホリノドキソルビシン、変異した腫瘍特異的抗原、ミコフェノール酸、N-(ホスホノアセチル)-L-アスパルテート(PALA)、N,N-ジベンジルダウノマイシン、神経成長因子、ニロチニブ、ニルタミド、ニムスチン、ニトラシン、ナイトロジエンマスター¹⁰ド、ノガラマイシン、非自己細胞または非自己組織、ノベンビチン、オリボマイシン、オントック、オニキス-015、オキサリプラチン、オキサントラゾール、パクリタキセル、P C N U、ペガスペルガーゼ、ペロルシドA、ペントスタチン、ペプロマイシン、ペルホスファミド、フェナメット、フェネステリン、ピカマイシン、ピペラジン、ピペラジンジオン、ピボプロマン、ピボスルファン、ピラルビシン、ピリトレキシム、血小板由來の成長因子、血小板因子-4 7.8 kDaタンパク質分解フラグメント、血小板因子-4 13アミノ酸ペプチド、ブリカマイシン、ポドフィリン酸2-エチルヒドラジド、ポドフィロトキシン、リン酸ポリエストラジオール、ポルフィマー、ポルフィロマイシン、ブレドニマスチン、ブレドニゾン、プロカバジン、プロカイン、プロゲスチン、プロラクチ²⁰ン16 kDaタンパク質分解フラグメント、プロプラノロール、Pseudomonas属外毒素、PSK、プロテロブテリン、ピューロマイシン、ピラゾフリン、ピラゾロアクリジン、ピラゾロイミダゾール、ラニムスチン、ラゾキサン、レチノイド、リゾキシン、リゾキシンマイタンシン、リシンA、リツキサン、リツキシマブ、リウキシルマブ、ロキニメクス、セルピン(セリンプロテアーゼ阻害剤)、シゾフィカン、ソブゾキサン、ソラフェニブ、SPARC、20アミノ酸ペプチド、スピロゲルマニウム、スピロヒダントインマスター³⁰ド、ストラプトゾシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、スニチニブ、タモキシフェン、タキソール、タキソール誘導体、テガフルール、テモゾアミド、テニボシド、テヌアゾン酸、テロキシロン、テストラクトン、テトラカイン、テトラプラチン、サリドマイド、チアミプリン、チオコルヒチン、チオエバ、チオプリン、チオテバ、トロンボスポンジンI 19アミノ酸ペプチド、組織プラスミノゲン活性化因子、トムデックス、トポテカン、トレミフェン、トラスツズマバン、トレチノイン、トリアジクオン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、トリロスタン、トリメトレキセート、トリプトレリン、トリチルシスティン、トロホスファミド、トロンテカン、ツベルシジン、腫瘍壞死因子様サイトカイン、腫瘍壞死因子、ウベニメクス、ウラシルマスター⁴⁰ド、ウラシルナイトロジエンマスター^ド、ウレデバ、ウレタン、バンデタニブ(ZD6474)、VEGFアンチセンスオリゴヌクレオチド、ビンプラスチン、硫酸ビンプラスチン、ビンクリスチン、硫酸ビンクリスチン、ビンデシン、ビノレルビン、VM-26、VP-16、Yoshi-864、ジノスタチン、ゾルビシン、アファチニブ、デノスマブ、エベロリムス、イブリツモマブチウキセタン、イブルチニブ、イマチニブ、イピリムマブ、ラパチニブ、ニロチニブ、オビヌツズマブ、オファツムマブ、パニツムマブ、パゾパニブ、ペルツズマブ、ポナチニブ、レゴラフェニブ、ロミデプシン、ルキソリチニブ、シプリューセル-T、ソラフェニブ、テムシロリムス、トリリズマブ、トファシチニブ、トシツモマブ、トラメチニブ、トラスツズマブ、バンデタニブ、ベムラフェニブ、ビスモデギブ、ボリノstatt、Ziv-Aflibercept、およびそれらの任意の組合せを含む。

【0061】

[0059] 特に定義されない限り、本明細書中で用いられる全ての技術用語および科学用語は一般的に、本発明が属する技術の当業者によって理解されるのと同じ意味を有する。特に明記されない限り、本発明の実施は、当該技術において周知であり、例えば、Methods in Molecular Biology, Human Press; Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版(Sambrookら、1989)、Current Protocols in Immunology(J. E. Coliganら編、1991); Immunobiology(C. A. JanewayおよびP. Travers、1997); Antibodies(P. Finch、1997)、Antibodies: a practical approach(D. Catty編、IRL Press、1988-1989)、M⁵⁰

onoclonal antibodies: a practical approach (P. ShepherdおよびC. Dean編、Oxford University Press、2000) ; Phage display: a laboratory manual (C. Barbas IIIら、Cold Spring Harbor Laboratory Press、2001) ; およびUsing antibodies: a laboratory manual (E. HarlowおよびD. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press、1999))に記載される従来の分子生物学、細胞生物学、生化学、および免疫学の技術を使用する。当業者であれば、本明細書中に記載されるのと類似する、または等価の任意の方法および材料が、本発明の実施または試験において用いられ得ることを認識するであろう。

【0062】

10

[0060] 本明細書中で参照される全ての刊行物は、全ての目的について、それらの全体が参考によって組み込まれる。本開示に包含される組成物および方法は、以下の実施例に関してさらに記載される；しかしながら、本発明の範囲は、実施例によって限定されるものではない。

【実施例】

【0063】

[0061] 実施例1. Viciniumの週2回の投薬に続く週1回の投薬による、非筋肉侵襲性膀胱癌の処置の臨床研究。

以前にBCGによる処置が失敗した対象において、非筋肉侵襲性CISおよび/または膀胱の高悪性度の乳頭状疾患の処置についてのVicinium治療の有効性および耐性を評価する研究を行う。

20

【0064】

【0062】 エンドポイント

一態様において、研究のプライマリエンドポイントは、Vicinium治療の18カ月後の無イベント生存期間である。無イベント生存期間を、免疫複合体(Vicinium)の第1の投薬の日付から、事象までの間隔と定義する。事象を、持続性の高悪性度の疾患、高悪性度の腫瘍の再発、筋肉侵襲性膀胱癌への腫瘍の進行、任意の理由のための膀胱切除、または死亡と定義する。腫瘍の再発または進行を、膀胱生検によって組織学的に確認する。

【0065】

30

[0063] 別の態様において、研究のプライマリエンドポイントは、Vicinium治療の開始の後に、乳頭状疾患を切除した、または切除していないCIS患者における完全奏功率である。完全奏功を、以下の1つと定義する：a) 正常な膀胱鏡検査、および非陽性もしくは疑わしくない尿細胞診；b) 隆起性生検（または低悪性度の疾患のみ明らかにする生検）および非陽性反復尿細胞診；またはc) 膀胱腫瘍の経尿道切除(TURBT)によって管理され得、かつ膀胱切除もしくは他の化学療法を必要としない、低悪性度の(Ta)乳頭状疾患を明らかにする膀胱鏡検査もしくは生検。完全奏功を示す対象において、奏功の期間が推定される（カプラン・マイヤー推定値）。この態様において、セカンダリエンドポイントは、無イベント生存期間を含む。

【0066】

40

[0064] 研究のセカンダリエンドポイントは、i) 膀胱切除までの時間（免疫複合体(Vicinium)の第1の投薬の日付から、膀胱の物理的除去までの時間として定義する）；ii) Viciniumの治療の3、6、9、12、15、18、21、および24カ月後の高悪性度の疾患（高悪性度の疾患は、直接の検査によって、または組織構造によって判定する）の証拠なし；疾患再発までの時間；進行までの時間；無進行生存割合；全生存率；ならびにViciniumの安全性および耐性を含む。

【0067】

[0065] 高悪性度の疾患の証拠なしは、以下の1つと定義する：a) 正常な膀胱鏡検査、および非陽性もしくは疑わしくない尿細胞診、または陰性生検もしくは低悪性度の乳頭状疾患のみ明らかにする生検；b) 隆起性生検（または低悪性度の乳頭状疾患のみ明らかにす

50

る生検)および非陽性反復尿細胞診; c)陰性生検(または低悪性度の乳頭状疾患のみ明らかにする生検)および陽性の反復尿細胞診、ならびに上部尿路における移行上皮癌(TC C)の発見;あるいはd)膀胱腫瘍の経尿道切除(TURBT)によって管理され得、かつ膀胱切除を必要としない、低悪性度の乳頭状疾患のみ明らかにする膀胱鏡検査または生検。疾患の再発までの時間を、高悪性度の疾患の組織学的証拠がないことが最初に記録された日付から、組織学的に確認された高悪性度の疾患の最初の再発の日付までの週の数と定義する。進行までの時間を、免疫複合体(Vicinium)の第1の投薬の日付から、組織学的に確認した、ステージT2の侵襲性疾患の日付までの時間と定義する。無増悪生存期間を、免疫複合体(Vicinium)の第1の投薬の日付から、ステージT2の侵襲性疾患である判定を組織学的に確認した日付、または死亡の日付までの時間と定義する。全生存を、免疫複合体(Vicinium)の第1の投薬の日付から、任意の原因に起因する死亡までの時間と定義する。

【0068】

[0066] 研究設計

研究は、以前のBCG処置が失敗した、非筋肉侵襲性膀胱癌(上皮内癌(CIS)、高悪性度Taもしくは任意の悪性度のT1乳頭状疾患、またはCISプラス乳頭状疾患)を組織学的に確認した対象における、Viciniumの非盲検非ランダム化多施設反復投薬研究である。対象として、BCG(インターフェロンを伴うかまたは伴わない)の2サイクルにわたる少なくとも7回の滴下注入(少なくとも5用量の1誘導コース+少なくとも2用量の1維持サイクル、または2誘導コース)を受けて反応しなかった対象(BCG難治性の対象)、または、先に述べたように、BCG治療の少なくとも9回の滴下注入後の、無病状態を達成した後に再発した対象(BCG再発対象)を含むであろう。

【0069】

[0067] 研究設計は、期間が12週ある誘導相、および維持相を含む。処置の総量は、誘導相および維持相を含む最大104週であってよい。研究は外来患者の研究であるが、膀胱内投薬は研究クリニックにおいて実行する。Viciniumは単剤療法として施され、そして有効性および耐性/安全性が評価される。

【0070】

[0068] 対象は、誘導相における合計18用量について、6週間の週2回(BIW)に続く、6週間の週1回の膀胱内Vicinium滴下注入を受ける。週2回の用量が、少なくとも48時間の間隔を空けて投与される(そして、2回以下の用量を、いずれか7日の期間内に投与してよい)。誘導相の完了後、対象は、試験を続けるための適格性を判定する試験を受ける。高悪性度の疾患の組織学的証拠がなければ、対象は、維持相に入る。低悪性度のT1疾患で研究に入って、低悪性度のT1疾患の再発がある対象は、維持相に入ることにはならない。維持相の間、Viciniumを、最大21カ月間、隔週で1回投与する。高悪性度の疾患を組織学的に確認した証拠がある対象は、処置失敗として研究から取り消される。

【0071】

[0069] 研究の概略フロー図を、図1に示す。

【0072】

[0070] Viciniumの投与前に、対象に、彼/彼女の膀胱を空にすることを依頼する。適切な研究従事者はその後、カテーテルを挿入され、そしてカテーテルをドレーンされる。その後、カテーテルを通して膀胱中にViciniumを滴下注入する。対象は、Viciniumを膀胱内に2時間保持するように指示される。この期間中に、尿流量を引き下げるために流体摂取量を控えることも依頼される。対象は、自身が立位(座位または起立位)、背臥位、腹臥位、ならびに左側臥位および右側臥位の姿勢を、それぞれ少なくとも15分間、任意の順序でとるように要求される。2時間の期間の終了後、対象は、膀胱を空にするために排尿することとなり、さもなければ膀胱を、カテーテルドレナージによって空にする。

【0073】

10

20

30

40

50

[0071] 適切な局所麻酔薬および滅菌潤滑剤を、カテーテルの挿入時に用いてよい。また、調査者の判断で、抗生物質の単回用量を、カテーテルの挿入時に予防的に与えてよい。

【0074】

[0072] 研究の全体を通したViciniumの各用量についての投与手順は、先に記載したのと同じである。

【0075】

[0073] Viciniumは、1～6週において、先に記載したように、膀胱滴下注入を介して週2回投与する。各処置を、少なくとも48時間隔てる（そして、2回以下の用量を、いずれか7日の期間内に投与してよい）。一例として、月曜日／木曜日または火曜日／金曜日が最適であろう一方、月曜日／水曜日または火曜日／木曜日の投薬スケジュールを用いることができる。付随する医薬品を、投薬前に記録する。SAEを含むAEのバイタルサインおよび収集を、投薬前、そしてクリニック退院前に行う。6週目における最後の投薬後に、クリニックからの退院前に、臨床検査評価を実行する：血液サンプルを血液学的検査および化学検査のために収集し、尿サンプルを尿検査のために収集する。

10

【0076】

[0074] 7～11週の間に、先に記載したように、膀胱滴下注入を介してViciniumを週1回投与する。付随する医薬品を、投薬前に記録する。SAEを含むAEのバイタルサインおよび収集を、投薬前、そしてクリニック退院前に行う。

【0077】

[0075] 以下の評価を、12週目に実行する。尿細胞診、付随する医薬品、バイタルサイン、およびSAEを含むAEを、投薬前に収集する。12週目における投薬後に、そして退院前に、以下の臨床検査評価を実行する：バイタルサイン、SAEを含むAE、身体診察、血液学的検査および化学検査、尿検査、ならびにQTc分析のための三反復のECG（1分間の間隔を空けた）。

20

【0078】

[0076] 13～16週の間に、膀胱鏡検査および生検を実行する。生検は、ランダム生検であっても直接生検であってもよい。試験を続けるための対象の適格性を判定するために、中心的な病理医がサンプルを収集して、等級分けする。維持相に入るために、対象は、高悪性度の疾患の組織学的証拠があつてはならない。高悪性度の疾患の組織学的証拠がある対象はいずれも、処置失敗として試験を中止する。

30

【0079】

[0077] 14週が、対象が維持治療投薬を始めてよい最も早い週である。全ての試験手順が完了し、かつ高悪性度の疾患の組織学的証拠なしの確認が中心的な病理医によって提供されるまでは、維持治療を開始することはできない。17週が、対象が維持治療を始めてよい最も遅い週である。

【0080】

[0078] 誘導相後に高悪性度の疾患の組織学的証拠がない対象は、維持相に入る資格がある。維持相にある対象に、隔週で1回投薬する。第1の維持投与は、14週以降に（すなわち、少なくとも1週は、誘導治療の終了と維持治療の開始を隔てなければならない）、かつ17週（すなわち、誘導相の完了後4週）以前に始める。

40

【0081】

[0079] 維持治療は、疾患の再発（対象は、組織学的に確認されたCISまたは高悪性度の乳頭状TaもしくはT1疾患を再発）、疾患の進行（組織学的に確認された疾患ステージT2）、または研究の開始から最大24ヶ月まで、続ける。疾患の再発または進行があつた対象は、研究から取り消される。低悪性度の乳頭状疾患を再発した対象に、腫瘍除去後の維持治療を続けることを認める。少なくとも2週、しかし3週以下の期間、腫瘍除去とViciniumの投薬を隔てなければならない。

【0082】

[0080] 悪性疾患の膀胱鏡証拠のない陽性の細胞診を評価することにし（適切な撮像技術による上部尿路の完全な評価；両側尿管細胞診；膀胱盲目生検；尿道評価および生検）、

50

そして臨床的に必要であれば、調査者の判断が続く。対象は、調査者の判断で、研究に留めてよい。第2の細胞診が連続して陽性である対象は、その後の追跡調査が高悪性度の疾患の再発を発見するならば、第2の陽性時に事象を有すると、または、非細胞診ではあるが疑わしいとみなす。しかし、当該対象を、高悪性度の疾患の当該判定前に、調査者の判断で研究に留めてよい。

【0083】

[0081] プライマリエンドポイントを、直接生検によって17カ月目に評価する。免疫組織化学によるEpCAM判定を、全ての陽性の生検について得る。また、以下の手順を、最終の研究来院の2週以内に完了する：身体診察（身長および体重を含む）；QTC分析のための三反復ECG（1分間の間隔を空けた）；バイタルサイン；付随する医薬品；SAEを含むAE；臨床検査サンプルの収集（血液学的検査および化学検査用の血液サンプル、ならびに尿検査用の尿サンプル）；膀胱鏡検査；および尿細胞診。10

【0084】

[0082] 誘導相中の来院のスケジュールおよび評価を、以下の表2に記載する。維持相中の来院のスケジュールおよび評価を、以下の表3に記載する。用語「研究薬物」は、Viniumを指す。

【0085】

【表2-1】

表2.スクリーニング/ベースラインおよび誘導相

評価	スクリーニングおよ びベースライン		誘導相 1~12週				13~16週
	週	-8~0	-1~0	1	2~6	7~11	12
インフォームドコンセント	X						
組み入れ/除外基準	X						
TURBT	X ¹						X ¹¹
膀胱鏡検査	X ²						X
生検(直接)	X ^{2,3}						X
細胞診	X			X ⁷			X ⁹
患者背景	X						
病歴(以前の抗腫瘍治療を含む)	X						
身体診察	X			X ⁷			X ¹⁰
体重および身長				X ⁷			
前立腺部尿道生検(男性のみ)	X						
上部尿路放射線イメージング	X ⁴						
三反復 ECG	X ⁵						X ¹⁰
バイタルサイン	X			X ⁸	X ⁸	X ⁸	X ⁸
臨床検査(血液学的検査、化 学検査、尿検査)		X		X ⁷	X ¹⁰		X ¹⁰
抗 Vicinium 抗体試験		X					
血清 Vicinium レベル ¹³		X	X	X	X		
尿妊娠試験		X ⁶					
付随する医薬品	X	X	X ⁹	X ⁹	X ⁹	X ⁹	
有害事象(AE/SAE)	X	X	X ⁸	X ⁸	X ⁸	X ⁸	
薬物投与(BIW) ¹²				X	X		
薬物投与(1回/週)						X	X

¹ 研究薬物投与の少なくとも 2 週前に実行しなければならない;全ての乳頭状疾患は、完全に切除されていなければならぬ。T1 疾患の対象において、研究登録の資格を得るために、第 2 の TURBT を実行していなければならぬ。

² 研究薬物の第 1 の投薬の前に、プロトコルで規定した、独立した中心的な病状レビューによって組織学的に確認された非筋肉侵襲性尿路上皮膀胱癌が、記録されなければならない。

³ ランダム生検は、研究薬物投与前に必要でない。

⁴ 投薬の開始前の 6 カ月以内に実行するならば、必要でない。

⁵ スクリーニング時ののみの単回の追跡;その後、三反復 ECG を実行することにする。

⁶ 出産能のある女性のみ(以下の基準の少なくとも 1 つを満たすと定義する:a)両側卵管卵巣摘出、卵管結紮、およびまたは子宮摘出を経験していない;b)50 歳を超え、かつ最近の 24 カ月にわたって少なくとも 1 回の月経期間があった)。

⁷ 評価を、1 週目における第 1 の投薬前に実行した。注:研究医薬品の第 1 の投薬の>7 日前にベースライン臨床検査評価を実行する場合のみ、1 週目の臨床検査評価を実行する必要がある。

⁸ 評価を、投薬前に、そしてクリニックを出る前に、実行した。

⁹ 評価を投薬前に実行した。

¹⁰ 評価を、6 週目(臨床検査のみ)、そして 12 週目(臨床検査、身体診察、および ECG)の最後の投薬後に、クリニックを出る前に実行した。

【表2-2】

¹¹ 低悪性度の乳頭状疾患の対象でのみ、維持の開始前に実行した。少なくとも2週、しかし3週以下の期間、腫瘍除去とVicinium維持治療の開始を隔てなければならない。

¹² 少なくとも48時間隔てて(そして、2回以下の用量を、いずれか7日の期間以内に)各用量を、週2回(BIW)投薬。

一例として、月曜日/木曜日または火曜日/金曜日が最適であろう一方、月曜日/水曜日または火曜日/木曜日の投薬スケジュールを用いることができる。

¹³ ベースライン(第1の注入の投薬前)にて、そして最初の注入、週2回の注入の最終(12回目の注入で予定)および週1回の注入の最終(18回目に予定)の1時間後にレベルを測定することにする。

10

【0087】

【表3】

表3.維持相

評価	誘導相 処置後	維持相(17~104週)						最終の 来院 24カ月 (研究の 最後)
		14週目	月1回	3カ月毎	6カ月毎	12カ月	18カ月	
維持投薬を始める最も早い週		14週目						
維持投薬を始める最も遅い週		17週目						
細胞診				X ⁵				X ⁷
膀胱鏡検査	X ¹			X ⁵				X ⁷
生検(直接)	X ^{1,2}						X ²	X ²
身体診察					X ⁴			X ⁷
三反復ECG								X ⁷
バイタルサイン			X ³					X ⁷
体重および身長						X ⁴		X ⁷
抗Vicinium抗体試験 ⁴		24週目						
臨床検査(血液学的検査、化学検査、尿検査)				X ⁵				X ⁷
TURBT ⁶	X			X				
付随する医薬品			X ⁴					X ⁷
有害事象(AE/SAE)			X ³					X ⁷
薬物投与(隔週で1回)			X					

¹ 誘導相の完了後、維持相についての資格取得を判定するために実行した。

² 投薬後、できるだけ早く、2週以内に評価を実行した。

³ 評価を、投薬前に、そしてクリニックを出る前に実行した。

⁴ 評価を、投薬前に実行した。

⁵ 評価を、投薬の1週後に、かつ2週以内に実行した。

⁶ 低悪性度の乳頭状疾患の対象についてのみ、TURBT。維持治療中に低悪性度の乳頭状疾患を再発した対象において、少なくとも2週、しかし3週以下の期間、腫瘍除去と、誘導の完了後のVicinium維持治療の開始を、またはVicinium維持治療の再開始を隔てなければならない。

⁷ 研究の最後の2週以内に評価を実行した。

20

30

40

【0088】

[0084] ViciniumおよびViciniumの投与

対象は、誘導相中の6週の間に週2回(BIW)、かつ6週の間に週1回、Viciniumを受け、そしてその後、資格があるならば、維持相に入る。誘導相の後に高悪性度の疾患の組織学的証拠がない対象のみ、維持相に入る資格がある。誘導相および維持相用の処置レジメンを、以下の表4に記載する。

【0089】

【表4】
表4.処置レジメン

研究相	処置レジメン	
誘導相 (1~12週)	50mL 中 Vicinium 30mg の生理食塩水の一膀胱内用量を、6週間の週2回(BIW)に統いて、6週間の週1回、合計12週間、注入する。週2回の用量を、少なくとも48時間の間隔を空けて投与する(そして、2回以下の用量を、いずれか7日の期間内に投与してよい)。一例として、月曜日/木曜日または火曜日/金曜日が最適であろう一方、月曜日/水曜日または火曜日/木曜日の投薬スケジュールを用いることができる。誘導相の12週間にわたって合計18用量とする。	10
維持相 (最大104週)	50mL 中 Vicinium 30mg の生理食塩水の一膀胱内用量を、誘導相の開始から最大24カ月(104週)間、隔週で注入する。 誘導相の後に高悪性度の疾患の組織学的証拠がない対象のみ、維持相に入る資格がある。 第1の維持サイクル用の投薬を、誘導相の完了後に、以下の時間枠の範囲内で、可及的速やかに始める:14週以降(すなわち、少なくとも1週は、誘導治療の終了と維持治療の開始を隔てなければならない)、かつ17週以前。	20

【0090】

[0085] 滴下注入中に、尿流量を引き下げて、膀胱内にViciniumを留めるために、Vicinium滴下注入の開始2時間前から、薬物が膀胱内に保持される2時間が満了するまで、いかなる液体も飲むことを控えることを対象に依頼する。膀胱カテーテル挿入の直前に、対象は、自身の膀胱を空にする。適切な研究従事者はその後、カテーテルを膀胱中に挿入し、そしてカテーテルをドレーンする。適切な局所麻酔薬および滅菌潤滑剤を、カテーテルの挿入時に用いてよい。また、調査者の判断で、経口抗生物質の単回用量を、カテーテルの挿入時に予防的に与えてよい。あらゆる医薬品の使用を、対象の症例報告書上に記録しなければならない。

【0091】

[0086] 50mL中Vicinium 30mgの生理食塩水を、カテーテル中に滴下注入する。対象に、Viciniumを膀胱内に2時間保持するように指示して、この期間中、尿流量を引き下げるために流体摂取量を控えることを依頼する。対象に、立位(座位または起立位)、腹臥位、背臥位、ならびに左側臥位および右側臥位の姿勢を、それぞれ少なくとも15分間、任意の順序でとるように要求する。身体的に可能でないならば、これをCRFに記録しなければならない。2時間の期間の終了後、カテーテルを取り外し、対象は、膀胱を空にするために排尿する。

【0092】

[0087] この臨床研究において、Viciniumを単剤療法として投与する。Viciniumの最初の投与の開始2週前に、そして24カ月の研究期間の全体を通して、ホルモン治療、放射線治療、免疫療法、ワクチン治療、生物学的治療、または遺伝子ベースの治療を含む抗癌治療は、許可されない。加えて、他の治験薬も、Viciniumの開始前の4週以内に、そして24カ月の研究期間の全体を通して、許可しない。対象を健康な状態にするのに必須であると考えられ、そしてViciniumの評価に干渉すると予想されない他の任意の医薬品を、調査者の判断で与えてよい。

【0093】

[0088] 維持相の間、低悪性度の乳頭状疾患を呈する対象において、維持治療を再開する前の腫瘍除去の後に、Viciniumを、少なくとも2週、しかし3週以下の間、中断

10

20

30

40

50

しなければならない。対象が、米国国立癌研究所の有害事象共通用語規準 (NCI-CTCAE) バージョン 4.03 を用いて定義されるいずれかの局所 Grade 3 Adverse Event を呈するならば、Vicinium 投与を、最大 2 週間延期してよい。また、Vicinium 投与を、任意の全身性 Grade 3 AE について、調査者の判断で、最大 2 週間延期してもよい。これらの 2 週の間に、症候が Grade 1 以下にまで改善するならば、投薬を再開してよい。2 週後に症候が改善しないならば、処置を再開するべきでない。しかしながら、AE が、Vicinium に関係していないと調査者が評価して、継続的な処置が対象にとって臨床的に有利な結果をもたらすと予想されるならば、ケースバイケースで医学モニターと相談して決定するようにして、処置を再開してよい。

10

【0094】

[0089] Vicinium (商標) (オポルツズマブモナトックス) は、膀胱内投与用の透明な、無色の溶液である。これは、ガラスバイアル内の凍結産物として提供され、その後、投与のために調製前に室温にて解凍される。混濁、色の変化、および / または微粒子物質の存在は、製品が悪化したことを示し得る。50 mL 中 Vicinium 30 mg の生理食塩水を、膀胱内に投与する。

【0095】

[0090] 各用量について、5 mg / mL の濃度にて Vicinium を含有する 7 mL の Vicinium の 1 バイアルを、フリーザから取り出して、まっすぐに立てて 1 時間 ± 15 分間、室温 (20 ~ 25 、 15 ~ 30 までのエクスカーションが可能) にて解凍する。大きな粒子が観察され、または溶液が外観上濁っているならば、30 分の最大追加時間、または透明な溶液が観察されるまで、どちらかに最初に到達するまで、バイアルを静置させる。微粒子が 30 分後に依然として観察されるならば、Vicinium の新しいバイアルをフリーザから得る。バイアルは、解凍プロセスの間に、逆さにも、振盪も、横にもすることはない。バイアルを光または熱源に直接曝すべきでない。

20

【0096】

[0091] 研究集団

参加資格を得るために、対象は、スクリーニング / ベースライン来院時に、以下の組み入れ基準の全てを満たさなければならない：

1. 組織学的に確認される高悪性度の非筋肉侵襲性膀胱癌 - CIS、Ta もしくは T1 乳頭状疾患、または両方。この診断は、試験、および研究処置の開始において、対象の登録の前に、プロトコルで規定した、独立した中心的な病状レビューによって確認される。

30

2. CIS、または膀胱の高悪性度の Ta もしくは任意の悪性度の T1、または BCG 難治性もしくは BCG 抵抗性疾患のための BCG 治療 (インターフェロンを伴うかまたは伴わない) の受入れおよび失敗 (すなわち、不耐性でない) が記録される。男性、または同意の日に妊娠していない、授乳していない、18 歳以上の女性。

3. 出産能のある女性、および妊娠可能年齢のパートナーがいる全ての男性は、24 カ月の研究期間中に適切な避妊技術を用いること、または自制に同意する場合にのみ、資格がある。出産能がある女性は、以下の基準の少なくとも 1 つを満たすと定義する： a) 両側卵管卵巣摘出、卵管結紮、および / または子宮摘出を経験していない； b) 50 歳を超える、かつ最近の 24 カ月以内に少なくとも 1 回の月経期間があった。

40

4. 膀胱生検が、Vicinium の投与前の 8 週以内に、腫瘍の位置をマッピングし、かつ膀胱の患部を定量化している。

5. 少なくとも 4 年の余命。

6. 適切な器官は、以下の基準によって定義されるように、機能する：

a. 血清アスパルテートアミノトランスフェラーゼ (AST) およびアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) $3.0 \times$ 正常な上限 (ULN) ;

b. 総血清ビリルビン $1.5 \times$ ULN (CTCAE Grade 1) ;

c. 血清クレアチニン $2.0 \times$ ULN ; 血清クレアチニン $> 1 \times$ ULN の対象はまた、クレアチニクリアランスが $50 \text{ mL} / \text{分}$ でなければならない；

50

d . ヘモグロビン 8 . 0 g / d L ; 治療薬エリトロポイエチン調製物（すなわち、エポエチンアルファ、ダーベポエチンアルファ）を受けている対象は、登録する資格がある；

e . 好中球の絶対数 $1500 \times 10^9 / L$;

f . 血小板 $75,000 \times 10^9 / L$ 。

7 . 対象（または法定代理人）が、登録前に試験の全ての関連する事項について知られ、そして予定された来院、処置計画、臨床検査、および他の研究手順に応じる気があり、かつそうすることができることを示す、独立倫理委員会、または治験審査委員会が承認したインフォームドコンセント文書を理解し、かつ署名する能力がある。

【0097】

10

[0092] 対象は、以下の基準のいずれか1つまたは複数が当てはまれば、参加の資格がなくなる。

8 . 対象が妊娠中であり、または授乳している。

9 . 生検もしくは上部尿路放射線イメージング（例えば、静脈内腎孟像影、コンピュータ断層撮影尿路造影図、または逆行性腎孟造影）による尿道もしくは上部尿路移行上皮癌（TCC）の証拠、または過去2年以内の骨盤イメージングによるより高ステージの疾患の証拠。

10 . 水腎症の対象。但し、水腎症が以前からあり（すなわち、2年超、CIS、Ta、またはT1の診断に先行する）、そして、スクリーニング時の診断評価が腫瘍の証拠を示さない対象を除く。

20

11 . Vincriniumの最初の投与前の2週以内の任意の膀胱内処置もしくは他の化学療法処置、または4週以内の任意の治験薬。

12 . 現在の重篤な尿路感染症、または再発性の重篤な細菌性膀胱炎の病歴。

13 . 調査者の見解では、対象の、膀胱内治療および／または全身麻酔の施与からの合併症の発症の素因となるであろう、泌尿生殖器系、腎臓系、肝胆道系、心血管系、消化管系、神経系、または造血系の、活動性の、コントロールされていない障害。

14 . 研究の24カ月の間に、付随する癌治療を必要とすることとなる他の原発性悪性腫瘍（扁平上皮癌または基底細胞癌以外）の病歴。

15 . ECGスクリーニング時の、男性について > 450 ミリ秒、または女性について > 470 ミリ秒のQTc間隔。発見が、治療可能な原因（例えば、低カリウム血症、低マグネシウム血症）に起因するならば、対象の適格性を判定するために、治療直後の反復ECGを実行してよい。

30

16 . 調査者の見解では、重症の合併状態（例えば、コントロールされていない心臓障害または呼吸器障害）の存在に起因して、膀胱内投与または膀胱内外科操作（膀胱鏡検査、生検）に耐えることができない対象。

【0098】

[0093] 有効性の評価

標準的な膀胱鏡検査を実行する。資格取得のために研究に用いる診断サンプルについて蛍光ガイド下で生検を受けた任意の対象が、研究の全体を通して、この形式を膀胱鏡検査に用い続けなければならない。各膀胱鏡評価の間、各腫瘍位置の記録、および影響が及ぶ膀胱の領域全体の定量化を含む膀胱マッピングを実行しなければならない。膀胱鏡検査を、誘導相の終わりに、そして維持相中に3カ月毎に実行する。膀胱鏡検査を、上記の各時点での最後の投薬の少なくとも1週、しかし2週以内にすべきである。Vincrinium投与の最後の投薬後の2週以内に、膀胱鏡検査を最終の来院時にも実行する。

40

【0099】

[0094] Vincriniumの最初の（第1の）投薬前の1週目に、そして12週目の投薬前に、誘導相細胞診サンプルを収集する。また、細胞診サンプルを、維持相中の3カ月毎（月の第1の投薬の直前）に、そして最終の来院時（Vincrinium投与の最後の投与後の2週以内）に、収集する。

【0100】

50

[0095] 誘導相の完了後の全ての対象について、維持相中の18カ月目に、そして最終の来院時に、直接生検を必要とする。ランダム生検は必要ではないが、明らかな解剖学的異常がなく、疑わしいかまたは陽性の細胞診の精密検査中に入手してもよい。各時点での最後の投薬の後、できるだけ早く、しかし2週以内に、生検を得て等級分けする。膀胱鏡検査中に、明らかな、もしくは疑わしい病変が見られるならば、または陽性の、もしくは疑わしい細胞診が、ネガティブ膀胱鏡検査のケースで観察される場合にのみ、全ての他の時点での生検を入手する。

【0101】

[0096] 明らかな持続性疾患の任意の領域および／または炎症の任意の領域を含む、疾患が疑わしい全ての領域から、直接生検をとるべきである。最低でも2つの生検を、各生検時点にて各対象について得るべきである。10

【0102】

[0097] 安全性／耐性の評価

有害事象（AE）は、医薬品が投与された対象における、任意の好ましくない医学的な出来事と定義され、処置との因果関係を有する必要が必ずしもあるわけではない。したがって、AEは、医薬品の使用と時間的に関連するが、医薬品に関係しているか否かを問わない、好適でなく、かつ予想外の任意の徴候（異常な臨床検査の知見を含み得る）、症候、または疾患であり得る。また、対象が疾患変動の正常な範囲内になければ、研究または他の医学的条件下での当該対象の疾患の任意の悪化を、AEとみなす。臨床検査異常は、臨床徴候もしくは臨床症候を誘導し、ベースラインにて存在しないで、積極的処置中にGrade 3もしくはGrade 4の毒性度に悪化する新たな診断に至り、または治療を必要とするほどに臨床的に重大である場合についてのみ、AEを構成する。重大な有害事象（SAE）を構成し、またはViciniumの中止の原因となる異常な臨床検査値を、AEとして報告し、かつ記録しなければならない。全AEを適切に処置するべきである。インフォームドコンセントの署名時から、研究の中止後の30日まで起こる、疑わしい因果関係を問わない全AEを、以下の最小の情報と共に、有害事象CRF（AE CRF）上に記録しなければならない：事象のタイプ、期間（開始日および終了日）、重篤度、重大性、Viciniumとの因果関係、とられた措置、および結果。NCI-CTCAE（バージョン4.03）を用いて、全AEを評価する；該当する場合、同じスケールを用いて、研究前の症状を等級分けする。各事例について、到達した最も高い重篤度を記録するべきである。NCI-CTCAEに含まれない有害事象を記録する。強度（軽度、中等度、または重度）、およびViciniumとの関係（関係なし、関係なさそう、もしかしたら関係している、おそらく関係している、または明らかに関係している）を、調査者が等級分けする。20

【0103】

[0098] 調査者またはスポンサーの見解で、以下の結果のいずれかが起こるならば、重大な有害事象（SAE）または重大な疑わしい有害反応を、重大とみなす：

- ・死亡；
- ・調査者またはスポンサーの見解で、死亡の緊急のリスクにあると患者または対象を評価するAEと定義される、致命的AE。これは、より重篤な形態で起こって、死亡を引き起こす虞があったAEまたは疑わしい有害反応を含まない；40
- ・正常な生活機能を行う能力の、持続性障害または重大な障害／能力欠如または実質的破壊；
- ・先天異常／先天性欠陥；
- ・入院患者の入院または既存の入院の延長。以下を入院とみなすことはない：
 - インフォームドコンセント前に存在し、悪化しなかった症状についての選択的な、もしくは事前に計画された病院滞在、または社会的理由のための病院滞在。
 - 上記のSAEの定義のいずれかを満たしておらず、かつ病院の承認が出ていない事象についての、緊急外来患者に基づく処置。観察のための「23時間」入院は、SAE報告の適切さを判定するために、医学モニターと議論するべきである。

○ 症状の任意の悪化に関連しない、研究される徵候のルーチンの処置または監視。
 ・ 適切な医学的判断に基づいて、先に記載した結果の 1 つを予防するために、患者または対象を危険に曝し得、かつ医学的介入または外科的介入を必要とし得る場合に、死亡に至り得ず、致命的であり得ず、または入院を必要とし得ない重要な医学的事象を、重大とみなしてよい。

【 0 1 0 4 】

[0099] ベースラインにて、そして誘導相における以下の時間にて、臨床検査評価を実行する： 1 週目の第 1 の投薬の前（ベースライン評価を、1 週目のViciniumの第 1 の投薬の > 7 日前に実行する場合）、6 週目の最後の投薬後、そして 12 週目の最後の投薬後。維持相の間、臨床検査評価を 3 カ月毎に（最後の投与の 1 週、しかし 2 週以内に収集）、そして最終の来院時に（最後の投薬後 2 週以内に収集）実行する。以下の臨床検査評価を実行する：

- ・ 総ビリルビン、ALT、AST、アルカリホスファターゼ、アルブミン、ラクテートデヒドロゲナーゼ、BUN、クレアチニン、グルコース、ナトリウム、カリウム、カルシウム、リンを含む血清化学
- ・ 全血球数 (CBC) と分画、ヘモグロビン、ヘマトクリット、および血小板を含む血液学的検査
- ・ 赤血球 (RBC) および白血球 (WBC) の計数による尿検査

【 0 1 0 5 】

[0100] 出産能のある女性の全対象（以下の基準の少なくとも 1 つを満たす任意の女性と定義した： a) 両側卵管卵巣摘出、卵管結紉、および / または子宮摘出を経験していない； b) 50 歳を超える、かつ最近の 24 カ月にわたって少なくとも 1 回の月経期間があった）が、ベースライン時に尿妊娠試験を受ける。

【 0 1 0 6 】

[0101] また、血漿抗 Vicinium の判定用に、ベースライン時、そして治療の 6 カ月時に、血液を収集する。

【 0 1 0 7 】

[0102] スクリーニング時に、そして誘導相における Vicinium の最初の投与前の 1 週目に、調査者、またはクリニックの研究スタッフの有資格メンバーが、身体診察を実行しなければならない。また、誘導相における最後の投与の後、維持相の間の 6 カ月毎に、そして EOS（または初期の取消し）時に、身体診察を実行する。

【 0 1 0 8 】

[0103] 誘導相における Vicinium の最初の投与前の 1 週目に、12 カ月目の第 1 の投薬前の 12 カ月目に、そして EOS（または初期の取消し）時に、体重および身長を測定する。

【 0 1 0 9 】

[0104] スクリーニング時に、そして EOS 時に、完全な身体診察を実行する。調査者の判断で、他の全ての調査を省略して、対象の臨床状態、以前の来院からの任意の変化、および起こり得る任意の AE の評価に集中する。

【 0 1 1 0 】

[0105] 対象の適格性を判定するために、単回の 12 誘導 ECG をスクリーニング時に実行する。QTc 分析のための三反復 ECG（1 分の間隔を空けた 3 回の個々の ECG からなる）を、クリニックからの退院前の誘導相における最後の投与後に、そして、EOS または初期の取消し時に（Vicinium 投与の最後の投与後の 2 週以内に）実行する。ECG は、仰臥位で静かに休息した少なくとも 10 分後に開始するべきである。

【 0 1 1 1 】

[0106] バイタルサイン（血圧、脈、呼吸、および温度）を、以下の時に測定する：スクリーニング、各誘導相投薬来院（投薬前、そしてクリニックからの退院前）、各維持相投薬来院（投薬前、そしてクリニックからの退院前）、および EOS（または初期の取消し）。各バイタルサイン評価は、2 回の測定からなる。第 1 の測定値を記録する前に、対象

10

20

30

40

50

を 5 分間仰臥位にするべきである。第 2 の測定値を記録する前に、対象を 3 分間起立させるべきである。

【 0 1 1 2 】

[0107] 統計

全ての仮説検定についての第 I 種（アルファエラー）を 0 . 0 5 に設定することにし、全ての統計試験は両側である。全ての信頼区間は、95%両側信頼区間である。カテゴリ尺度および順序尺度についての各カテゴリにおける対象の頻度およびパーセンテージ、ならびに連続尺度についての平均、標準偏差（SD）、中央値、最小値、および最大値を報告することによって、データを要約する。

【 0 1 1 3 】

10

[0108] 改変治療意図（mITT）集団：mITT 集団は、研究医薬品の少なくとも 1 回の用量を受けて、疾患の評価可能なベースライン評価（生検、膀胱鏡検査、および細胞診）がなされる任意の対象を含む。mITT 集団は、有効性の主要分析集団となる。

【 0 1 1 4 】

[0109] 安全性集団：安全性集団は、研究医薬品の少なくとも 1 回の用量を受ける任意の対象を含む。

【 0 1 1 5 】

[0110] 完全奏功を示す、乳頭状疾患に苦しむ、またはこれに罹っていない CIS 対象の数およびパーセンテージを、各評価で別々に要約する。完全奏功率の 95 パーセント（95%）信頼区間を、C l o p p e r - P e a r s o n 法を用いて算出する。完全奏功を達成する、乳頭状疾患に苦しむ、またはこれに罹っていない CIS 対象について、反応の期間を、完全奏功の開始から、進行または死亡の第 1 の記録される事例までと定義し、K a p l a n - M e i e r 法を用いて推定する。進行も死亡も経験しない任意の患者を、最後の非欠評価(non-missing assessment)にて検閲する。

20

【 0 1 1 6 】

[0111] 無イベント生存期間を、K a p l a n - M e i e r 法を用いて推定する。事象を経験しない対象は、最後の非欠評価にて検閲する。誘導相中に持続性疾患に罹った対象は、1 日目に事象が発生したと処理する。18カ月目の無イベント生存割合の 95 パーセント（95%）信頼区間を示す。95% 信頼区間の下限が 20% を除外するならば、研究は成功したと考える。他の事象発生時間有効性エンドポイント（膀胱切除までの時間、疾患再発までの時間、進行までの時間、無進行生存、および全生存）の分析を、同様に分析する。

30

【 0 1 1 7 】

[0112] 高悪性度の疾患の証拠のない対象の数およびパーセンテージを、各評価で別々に要約する。高悪性度の疾患割合の証拠なしの 95 パーセント（95%）信頼区間を、C l o p p e r - P e a r s o n 法を用いて算出する。

【 0 1 1 8 】

[0113] 研究登録時の病状によるサブセット分析を、最終分布の決定に従って実行する。

【 0 1 1 9 】

[0114] M e d i c a l D i c t i o n a r y f o r R e g u l a t o r y A c t i v i t i e s (MedDRA) の最新の利用可能バージョンを用いて、有害事象をコード化する。N C I - C T C A E 4 . 0 3 の用語を、M e d D R A P r i m a r y S O C によってグループ化する。最大強度、処置によって発生した A E、研究医薬品との関係、研究医薬品の中止、および死亡による A E について、別々の表および / またはリストを与える。バイタルサインおよび臨床検査についての値の要約表およびリストを示す。臨床検査の要約表は、正常範囲を上回り、下回り、または当該範囲内に収まると分類される。追跡調査 E C G および身体診察データを、表形式で要約する。

40

【 0 1 2 0 】

[0115] 無イベント生存期間および追跡調査の長さについてのノンパラメトリック分布が 24 カ月であるとすれば、18 カ月目の無イベント生存割合が 20% である帰無仮説、対

50

、18カ月目の無イベント生存割合が30%である対立仮説を検証するのに、134人の対象のサンプルサイズが、少なくとも80%の検出力を提供する(SWOG One Sample Non-Parametric Survival Calculator https://www.swogstat.org/stat/public/one_nonparametric_survival.htm)。

【0121】

参考文献

1. American Urological Association. Guideline for the management of noninvasive bladder cancer: (stages Ta, T1, Tis): 2007 update. Updated February 2014. Available at: <https://www.auanet.org/education/guidelines/bladder-cancer.cfm>. Last accessed April 25, 2014.

10

2. Anastasiadis A, de Reijke TM. Best practice in the treatment of nonmuscle invasive bladder cancer. Ther Adv Urol. 2012;4(1):13-32.

3. Babjuk M, Burger M, Zigeuner R, et al. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2013. Eur Urol. 2013;64(4):639-53.

4. Bladder cancer treatment (PDQ(R)). General information about bladder cancer. Available at: <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/bladder/HealthProfessional/page1>. Last accessed April 25, 2014.

20

5. Kowalski M, Entwistle J, Cizeau J, et al. A phase I study of an intravesically administered immunotoxin targeting EpCAM for the treatment of nonmuscle-invasive bladder cancer in BCG-refractory and BCG-intolerant patients. Drug Des Develop Ther. 2010;4:313-20.

6. Kowalski M, Guindon J, Brazas L, et al. A phase II study of oportuzumab monatix: an immunotoxin therapy for patients with noninvasive urothelial carcinoma in situ previously treated with bacillus Calmette-Guerin. J Urol. 2012;188(5):1712-8.

30

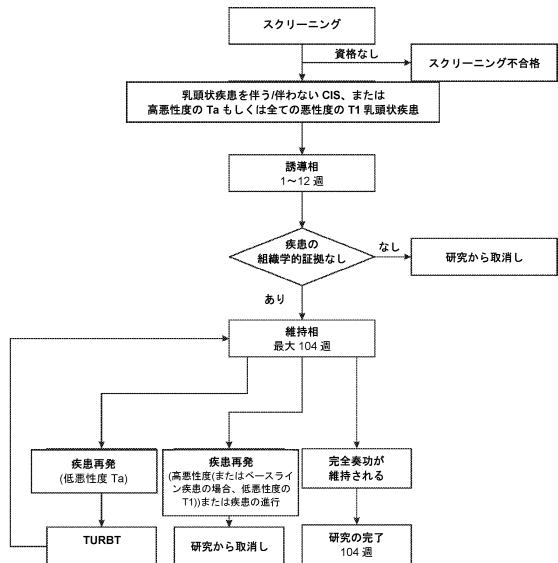
7. Oppenheimier NJ, Bodley JW. Diphteria toxin. Site and configuration of ADP-ribosylation diphthamide in elongation factor 2. J Biol Chem. 1981;256(16):8579-81.

8. Sylvester RJ, van der Meijden A, Witjes JA, et al. High-grade Ta urothelial carcinoma and carcinoma in situ of the bladder. Urology. 2005;66(6 Suppl 1):90-107.

9. Sylvester RJ. Bacillus Calmette-Guerin treatment of non-muscle invasive bladder cancer. Int J Urol. 2011;18(2):113-20.

40

【図1】



【配列表】

0006847846000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K	45/06	(2006.01) A 6 1 K 47/65
C 0 7 K	16/30	(2006.01) A 6 1 K 45/06
C 1 2 N	15/00	(2006.01) C 0 7 K 16/30 C 1 2 N 15/00

(72)発明者 マクドナルド, グレン

カナダ国, マニトバ州 アール3ジー3イー4, ウィニペグ, ラグラン ロード 475

(72)発明者 ハーリー, スティーブン

アメリカ合衆国, ニュージャージー州 08033, ハドンフィールド, ワシントン アベニュー
411

審査官 菊池 美香

(56)参考文献 特表2006-526576 (JP, A)

THE JOURNAL OF UROLOGY, 2012, Vol.188, p.1712-1718

Drug Design, Development and Therapy, 2010, Vol.4, p.313-320

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 39 / 395
A 6 1 K 38 / 16
A 6 1 K 45 / 06
A 6 1 K 47 / 65
A 6 1 P 13 / 10
A 6 1 P 35 / 00
C 0 7 K 16 / 30
C 1 2 N 15 / 00

JSTPlus / JMEDPlus / JST7580 (JDreamIII)

Caplus / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS / WPIDS (STN)