

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7608357号
(P7608357)

(45)発行日 令和7年1月6日(2025.1.6)

(24)登録日 令和6年12月20日(2024.12.20)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	35/768 (2015.01)	A 6 1 K	35/768
A 6 1 K	38/21 (2006.01)	A 6 1 K	38/21
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02
C 1 2 N	7/01 (2006.01)	C 1 2 N	7/01
請求項の数 19 (全20頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-560234(P2021-560234)	(73)特許権者	501083115
(86)(22)出願日	令和2年3月27日(2020.3.27)		メイヨ・ファウンデーション・フォー・
(65)公表番号	特表2022-527631(P2022-527631		メディカル・エデュケーション・アンド
	A)		・リサーチ
(43)公表日	令和4年6月2日(2022.6.2)		アメリカ合衆国、ミネソタ州 5 5 9 0
(86)国際出願番号	PCT/US2020/025409		5、ロチェスター、ファースト・ストリ
(87)国際公開番号	WO2020/198652		ート・サウスウエスト 2 0 0
(87)国際公開日	令和2年10月1日(2020.10.1)	(73)特許権者	521439936
審査請求日	令和5年3月24日(2023.3.24)		ピリアド、インコーポレーテッド
(31)優先権主張番号	62/825,482		アメリカ合衆国 5 5 9 0 1-4 4 4 4
(32)優先日	平成31年3月28日(2019.3.28)		ミネソタ州、ロチェスター、3 7 ティー
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		エイチ ストリート エヌダブリュ 2 9
		(74)代理人	0 0 , ビルディング 1 1 0
			110002572
			弁理士法人平木国際特許事務所
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 V S V- I F N β- N I S 腫瘍溶解療法における薬力学マーカーとしての I F N β

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

腫瘍溶解性ウイルスプローブを含む抗癌組成物の製造方法であって、癌組織を有する対象における癌組織が癌療法レジメンの投与に対して反応する可能性の決定方法に使用され、前記決定方法が、

(a) 可溶性インターフェロンベータ (I F N β) をコードする核酸を含む腫瘍溶解性ウイルスプローブの治療用量以下の診断用量を癌組織に腫瘍内投与すること、および

(b) 腫瘍溶解性ウイルスの投与後の対象における I F N β の循環レベルを測定し、癌組織が、 1 0 0 0 p g / m L 超の血漿中 I F N β レベルを有する強レスポンドー、1 0 p g / m L ~ 1 0 0 0 p g / m L の血漿中 I F N β レベルを有する中程度レスポンドー、1 0 p g / m L 未満の血漿中 I F N β レベルを有する低レスポンドーまたはノンレスポンドーであるかを決定すること

を含む、

製造方法。

【請求項 2】

前記癌療法レジメンが、(a) において腫瘍内投与される腫瘍溶解性ウイルスプローブを含む、請求項 1 に記載の製造方法。

【請求項 3】

前記癌療法レジメンが、(a) において腫瘍内投与されるものと異なる腫瘍溶解性ウイルスプローブを含む、請求項 1 に記載の製造方法。

【請求項 4】

前記癌療法レジメンが、免疫腫瘍溶解療法である、請求項 1 に記載の製造方法。

【請求項 5】

前記癌療法レジメンが、抗体または小分子抗癌治療である、請求項 1 に記載の製造方法。

【請求項 6】

前記腫瘍溶解性ウイルスプローブが、非傷害性用量および非治療用量で投与される、請求項 1 に記載の製造方法。

【請求項 7】

非治療用量および非傷害性用量が、 10^5 TCID₅₀ ~ 3×10^9 TCID₅₀ である、請求項 1 に記載の製造方法。

【請求項 8】

非治療用量および非傷害性用量が、 10^8 TCID₅₀ ~ 5×10^8 TCID₅₀ である、請求項 7 に記載の製造方法。

【請求項 9】

前記腫瘍溶解性ウイルスプローブが、GMPグレードのウイルスである、請求項 1 に記載の製造方法。

【請求項 10】

前記腫瘍溶解性ウイルスプローブが、水疱性口内炎ウイルス (VSV) である、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の製造方法。

【請求項 11】

前記腫瘍溶解性ウイルスプローブが、ナトリウムヨードシンポーター (NIS) をコードする核酸をさらに含む、請求項 10 に記載の製造方法。

【請求項 12】

前記腫瘍溶解性ウイルスプローブが、N-P-M-IFN β -G-NIS-L の構築物を有する、請求項 11 に記載の製造方法。

【請求項 13】

前記 IFN β の循環レベルが、腫瘍溶解性ウイルスの投与後 12 時間 ~ 45 日の間の対象において測定される、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の製造方法。

【請求項 14】

前記 IFN β の循環レベルが、腫瘍溶解性ウイルスの投与後 12 時間 ~ 3 日の間の対象において測定される、請求項 13 に記載の製造方法。

【請求項 15】

前記 IFN β の循環レベルが、腫瘍溶解性ウイルスの投与後 48 時間の対象において測定される、請求項 14 に記載の製造方法。

【請求項 16】

前記 IFN β の循環レベルが、腫瘍溶解性ウイルスの投与後 24 時間の対象において測定される、請求項 14 に記載の製造方法。

【請求項 17】

前記 IFN β の循環レベルが、免疫学的アッセイにより測定される、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の製造方法。

【請求項 18】

前記癌組織が、固形腫瘍または血液悪性腫瘍である、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の製造方法。

【請求項 19】

前記癌組織が、頭頸部癌、結腸癌、直腸癌、膵臓癌、膀胱癌、乳癌、肝細胞癌、肺癌、髄芽腫、非定型奇形腫瘍／ラブドイド腫瘍、白血病、リンパ腫、または骨髄腫である、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

20

30

40

50

関連出願の参照

本願は、2019年3月28日に出願された米国仮出願シリアル番号第62/825,482号に基づく優先権の主張を伴うものである。先願の開示内容は、本願の開示内容の一部とみなされる（かつ引用することにより本明細書の一部とされる）。

【0002】

政府利益の記載

本発明は、米国国立衛生研究所(National Institutes of Health)により授与されたCA015083の下での政府支援により行われた。政府は、本発明における特定の権利を有する。

【背景技術】

【0003】

本発明は、一般に、治療レジメンおよび癌を治療する方法のための薬物動態マーカーおよび薬力学マーカーに関する。

【0004】

癌は、依然として世界中で死の主因となっている。2015年に、米国において、推定1,658,370例の癌の新症例が診断され、589,430例の癌死亡が生じた。2004~2010年における全癌診断に対する5年相対生存率は、わずか68%であった。さらに、いくつかの癌は特に不良な予後を有し、5年相対生存率は、膵臓癌で7%、肝臓癌、肺癌および食道癌で20%未満であり；遠隔転移を有する進行期悪性腫瘍の生存率は、膵臓癌での2%から甲状腺癌での55%の範囲である。

【0005】

化学療法は、転移性癌および／または進行癌を有する患者の大部分にとって標準的な治療選択肢である。残念ながら、多くの患者にとって、化学療法は治療的ではなく、それらの疾患は、療法に対して抵抗性となる。抵抗性の転移性固形腫瘍を有する患者には、治療選択肢がほとんどない。

【0006】

癌免疫療法は、化学療法が無効となる場合に臨床的利益の可能性をもたらす急速に進出してきた治療クラスである。過去10年間で、イピリマブ、ペムブロリズマブ、アテゾリズマブおよびニボルマブなどの免疫チェックポイント阻害剤が承認されている。これらの承認は、最初は黒色腫に対するものであったが、より最近に他の病型に拡大されており、アベルマブおよびデュルバルマブなどの追加の剤が、最近承認されている。これらの剤は、臨床パイプラインにおける免疫療法の復活を促進している。多数の剤が開発中であり、それには、腫瘍溶解性ウイルス療法が含まれる。

【0007】

腫瘍溶解性ウイルス療法は、特に、既に2以上の系統の癌療法に失敗している抵抗性または再発性疾患を有する患者における、化学療法の有望な代替である。腫瘍溶解性ウイルスの治療効果は、多面的な攻撃を引き起こすそれらの能力により決定される。腫瘍溶解性ウイルスは、癌細胞において選択的に複製し、炎症促進性細胞溶解および腫瘍関連抗原の曝露を誘導しながら、微小環境免疫抑制を逆転させ、かつ宿主エフェクター細胞を再活性化して、全身的かつ持続的な抗癌免疫を助長することに役立つ。

【0008】

2015年に、最初の腫瘍溶解性ウイルス療法であるImlygic（タリモジーン・ラハーパレブベック）が、局所進行黒色腫を有する患者における使用に対して承認された。それらの安全性および有効性をさらに理解するために、腫瘍溶解性ウイルスは、抵抗性の固形腫瘍を有する患者において評価されなければならない。最近、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子をコードする腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルス1型であるT-Vecが、外科的に切除不能な黒色腫の治療に対してFDAにより承認され、米国において承認されたファースト・イン・クラスとなった（Andtbacka 2015）。腫瘍溶解性ウイルス療法を試験する3件の他の第III相試験が進行中である：肝細胞癌の治療のためのGMCSFをコードする腫瘍溶解性ワクシニアウイルス（Pexa-Vec）の腫瘍内投与、膀

10

20

30

40

50

膀胱癌の治療のための、これもまたG M C S Fをコードするアデノウイルス（C G 0 0 7 0）の膀胱内投与、および頭頸部癌に対するレオウイルス（R e o l y s i n）のI V治療。他の腫瘍溶解性ウイルスの臨床試験のうち、肝細胞癌の治療のためのI F N β を発現する（共輸送体を発現しない）腫瘍溶解性V S Vの腫瘍内投与を用いた第1相試験が、オープンであり、募集中である。

【0009】

腫瘍溶解性ウイルス療法は、化学療法または免疫療法などの他の癌療法と組み合わせることもできる。新たに得られたデータからは、腫瘍溶解性ウイルスと組み合わせたチェックポイント阻害剤の使用は、ネオアンチゲンの放出を介した抗腫瘍免疫応答を増強することができ、チェックポイント阻害剤単独で予想されるものよりも、患者のより大きな割合において持続的な客観的反応がもたらされることが示唆されている。いくつかの試験は、チェックポイント阻害剤および腫瘍溶解性ウイルスの組合せが有用であり得ることを示唆しているが、現在のところ、ヒトにおける転移性結腸癌に対するチェックポイント阻害剤および腫瘍溶解性ウイルスから構成される併用療法を検討した試験は存在しない。

【0010】

腫瘍溶解性ウイルス療法は、最適化またはカスタマイズすることができる。例えば、抗ウイルス欠損を有する癌細胞は、ウイルス療法許容性の遺伝子発現シグネチャーの存在に基づき同定することができる。このような一式のマーカーは、W O 2 0 1 7 2 1 8 7 5 7 A 1に示されている。腫瘍の遺伝子発現シグネチャーは、実用的な情報をもたらす。しかしながら、これは静的であるため、治療中に生じ得る状況の変化を考慮に入れることができない。さらに、遺伝子発現シグネチャーは、腫瘍負荷を考慮に入れることができない。

【0011】

このため、動的な臨床環境におけるリアルタイムの測定およびモニタリング、ならびに各患者における個々の反応および状況の変化に基づいた治療決定を適用する必要性が存在する。

【発明の概要】

【0012】

本発明は、一般に、診断の方法に関する。特定の実施形態において、本発明は、癌組織を有する対象における癌組織が癌療法レジメンの投与に対して反応する可能性を決定する方法に関する。前記方法は、一般に、（a）可溶性インターフェロンベータ（I F N β ）をコードする核酸を含む腫瘍溶解性ウイルスプローブの治療用量以下の診断用量を癌組織に腫瘍内投与すること、および（b）腫瘍溶解性ウイルスの投与後の対象におけるI F N β の循環レベルを測定し、癌組織が、強レスポンド、中程度レスポンド、低レスポンドまたはノンレスポンドであるかを決定することを含む。

【0013】

本発明はまた、癌と診断されている対象を治療する方法に関する。前記治療方法は、（a）インターフェロンベータ（I F N β ）をコードする核酸を含む腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量を対象に投与すること、および（b）対象が腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンに対する強レスポンドまたは中程度レスポンドとして同定されている場合に、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの少なくとも第2の用量を投与することを含む。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】図1は、腫瘍内注射されたV o y a g e r - V 1ウイルス濃度が、反応と関連することを示す。I F N β レベルは、V o y a g e r - V 1に対する患者の反応を予測するものである。

【図2】図2は、V o y a g e r - V 1の用量レベル（D L）1、2、または3を投与された患者における血漿中I F N β レベルを示す。D L 1、D L 2、およびD L 3は、それぞれ 5×10^9 、 1.7×10^{10} 、および 5×10^{10} T C I D $_{50}$ に相当する。S Dは、病状安定を意味する。P Rは、部分奏効を意味する。

【図3】図3は、29日目（投与後28日目）における抗VSV抗体価に対する2日目（投与後24時間）における血漿中IFN β レベルのプロットを示す。

【図4】図4A～4Fは、患者における相対的なIFN β およびIFN α の傾向の比較を示す。図4A～4Cは、IFN β レベル（濃い線）が、投与後24時間において増加することを示す。図4D～4Fは、IFN α レベル（濃い線）が、投与後24時間において減少することを示す。データは、IFN β 導入遺伝子レベルが、ウイルス感染のバイオマーカーとしての役割を果たし得ることを示す。

【図5】図5A～5Fは、血清中で検出されたIFN β の循環レベルが、個々の患者におけるVoyager-V1の感染および伝播の変動性の指標であることを示す。特に、図5A～5Cは、IFN β の循環レベルが、およそ $10^6 \sim 10^8$ TCID $_{50}$ の範囲の用量を腫瘍内注射された患者において検出され得ることを示す。

【図6】図6は、Voyager-V1（VSV-IFN β -NIS、VV1）の構築物の説明を示す。

【図7】図7は、実施例1において提供されるVoyager-V1全身ウイルス療法試験において使用された方法のフローチャートの概要を示す。

【図8】図8Aおよび8Bは、Voyager-V1の単回静脈内投与後の臨床活性を示す。具体的には、図8Aは、子宮内膜癌を有する対象における治療前およびVoyager-V1治療後3ヵ月におけるCTスキャンを示す。全体的な腫瘍減少は、29日目の直径において16.5%である。図8Bは、T細胞リンパ腫を有する対象において腫瘍径の75%の減少が認められることを示す。

【図9】図9Aおよび9Bは、NISイメージングにより、2例の対象、対象105-021（図9A）および対象105-020（図9B）においてVoyager-V1による腫瘍感染が確認されることを示す。

【図10】図10Aおよび10Bは、Voyager-V1治療が、静脈内注射（対象6、図10A）または腫瘍内注射（対象103-014、図10B）後1ヵ月においてCD8腫瘍浸潤細胞を増加させることを示す。

【発明を実施するための形態】

【0015】

発明の詳細な説明

本発明は、一般に、診断の方法に関する。特定の実施形態において、本発明は、癌組織を有する対象における癌組織が癌療法レジメンの投与に対して反応する可能性を決定する方法に関する。前記方法は、一般に、（a）可溶性インターフェロンベータ（IFN β ）をコードする核酸を含む腫瘍溶解性ウイルスプローブの治療用量以下の診断用量を癌組織に腫瘍内投与すること、および（b）腫瘍溶解性ウイルスの投与後の対象におけるIFN β の循環レベルを測定し、癌組織が、強レスポンド、中程度レスポンド、低レスポンドまたはノンレスポンドであるかを決定することを含む。

【0016】

特定の実施形態において、前記方法の癌療法レジメンは、（a）において腫瘍内投与される腫瘍溶解性ウイルスプローブを含む。特定の実施形態において、前記方法の癌療法レジメンは、（a）において腫瘍内投与されるものと異なる腫瘍溶解性ウイルスプローブを含む。特定の実施形態において、癌療法レジメンは、免疫腫瘍溶解療法である。特定の実施形態において、癌療法レジメンは、抗体または小分子抗癌治療である。

【0017】

特定の実施形態において、前記腫瘍溶解性ウイルスプローブは、非傷害性用量および非治療用量で投与される。特定の実施形態において、非治療用量および非傷害性用量は、約 10^5 TCID $_{50} \sim$ 約 3×10^9 TCID $_{50}$ である。特定の実施形態において、非治療用量および非傷害性用量は、約 10^8 TCID $_{50} \sim$ 約 5×10^8 TCID $_{50}$ である。

【0018】

他の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスプローブは、任意のGMPグレードのウイ

10

20

30

40

50

ルスであり得る。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスプローブは、水疱性口内炎ウイルス（VSV）である。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスプローブは、ナトリウムヨードシンポーター（NIS）をコードする核酸をさらに含む。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスプローブは、N-P-M-IFN β -G-NIS-Lの構築物を有する。

【0019】

特定の実施形態において、IFN β の循環レベルは、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約12時間～約45日の間の対象において測定される。特定の実施形態において、IFN β の循環レベルは、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約12時間～約3日の間の対象において測定される。特定の実施形態において、IFN β の循環レベルは、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約48時間の対象において測定される。特定の実施形態において、IFN β の循環レベルは、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約24時間の対象において測定される。

10

【0020】

特定の実施形態において、IFN β の循環レベルは、免疫学的アッセイにより測定される。

【0021】

特定の実施形態において、癌組織は、固形腫瘍または血液悪性腫瘍である。特定の実施形態において、癌組織は、頭頸部癌、結腸癌、直腸癌、膵臓癌、膀胱癌、乳癌、肝細胞癌、肺癌、髄芽腫、非定型奇形腫瘍／ラブドイド腫瘍、白血病、リンパ腫、または骨髄腫である。

20

【0022】

本発明はまた、癌と診断されている対象を治療する方法に関する。前記治療方法は、（a）インターフェロンベータ（IFN β ）をコードする核酸を含む腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量を対象に投与すること、および（b）対象が腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンに対する強レスポnderまたは中程度レスポnderとして同定されている場合に、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの少なくとも第2の用量を投与することを含む。

【0023】

特定の実施形態において、癌療法レジメンは、2以上の抗癌組成物の投与を含む。特定の実施形態において、癌組織は固形腫瘍であり、かつ癌療法レジメンは、腫瘍の単位容積あたりのウイルス粒子の数に基づく用量で腫瘍内投与される腫瘍溶解性ウイルスである。

30

【0024】

特定の実施形態において、腫瘍内投与される腫瘍溶解性ウイルスの治療用量は、標準的な用量範囲内で投与される。特定の実施形態において、癌療法レジメンは、静脈内投与される腫瘍溶解性ウイルスである。

【0025】

特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量は、静脈内投与である。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量は、腫瘍内投与である。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量は、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの非治療用量および非傷害性用量である。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第2の用量の投与は、静脈内投与または腫瘍内投与である。

40

【0026】

特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンは、ナトリウムヨードシンポーター（NIS）をコードする核酸を含む。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスは、RNAウイルスである。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスは、水疱性口内炎ウイルス（VSV）である。特定の実施形態において、VSVは、N-P-M-IFN β -G-NIS-Lの構築物を有する。

【0027】

特定の実施形態において、治療の方法は、対象が腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンに

50

対する中程度レスポnderとして同定されている場合に、前記対象に1以上のさらなる免疫腫瘍療法剤を投与することをさらに含む。

【0028】

特定の実施形態において、治療の方法は、対象が腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンに対する強レスポnderとして同定されている場合に、前記対象にヤヌスキナーゼ阻害剤（JAK阻害剤）を投与することをさらに含む。特定の実施形態において、JAK阻害剤はルキソリチニブである。

【0029】

特定の実施形態において、IFN β のレベルは、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量の投与後約0.5～45日の間に評価される。特定の実施形態において、IFN β のレベルは、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量の投与後約0.5～3日の間に評価される。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第2の用量は、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量の投与後約1～10日以内に投与される。特定の実施形態において、IFN β の循環レベルは、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量の投与後約12～24時間以内に評価される。特定の実施形態において、IFN β の循環レベルは、免疫学的アッセイにより評価される。

【0030】

特定の実施形態において、癌は、固形腫瘍または血液悪性腫瘍である。特定の実施形態において、固形腫瘍は、頭頸部癌、結腸癌、直腸癌、膵臓癌、膀胱癌、乳癌、肝細胞癌、肺癌、髄芽腫、または非定型奇形腫瘍／ラブドイド腫瘍である。特定の実施形態において、血液悪性腫瘍は、白血病、リンパ腫、または骨髄腫である。

【0031】

特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第2の投与は、腫瘍内注射によるものである。特定の実施形態において、第2の腫瘍内注射は、腫瘍の単位容積あたりのウイルス粒子の数に基づき対象に投与される。特定の実施形態において、第2の腫瘍内注射は、標準的な用量範囲内で対象に投与される。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスの治療用量は、静脈内投与される。

【0032】

本発明は、一般に、癌を診断および治療する方法に関する。特定の実施形態において、本発明は、癌療法に対する個々の患者の反応を早期評価して、各患者における個々の反応および状況の変化に基づいた治療決定を適用する方法を提供する。特定の実施形態において、本発明は、癌組織の微小環境および個々の患者における癌治療剤の潜在的な免疫応答を調べるための方法を提供する。このような方法は、特定の個人に合わせた最も有効な治療レジメンの選択を知らせることができる。

【0033】

本明細書において互換的に使用される「サンプル」、「試験サンプル」、または「生体サンプル」は、特定の実施形態において、哺乳動物由来のものなど、生物学的起源のものである。特定の例において、サンプルは、対象から得られた組織または体液である。他の特定の例において、サンプルは、ヒトサンプルまたは動物サンプルである。サンプルの限定されない源としては、血液、血漿、血清、尿、脊髄液、リンパ液、滑液、脳脊髄液、涙、唾液、乳汁、粘膜分泌物、滲出液、汗、生検吸引液、腹水または流体抽出物が挙げられる。具体例において、サンプルは、液体サンプルである。具体例において、サンプルは、癌組織である。いくつかの実施形態において、サンプルは、本明細書に記載の異なるサンプル源を含む対象（例えば、ヒト）に由来する。いくつかの実施形態において、サンプルは、さらなる処理に供される。サンプルを処理するための例示的な手順は、本願全体を通じて、例えば、実施例の項において提供される。

【0034】

用語「対象」は、任意の動物、例えば、哺乳動物を指し、限定されるものではないが、特定の治療のレシピエントとなるヒトおよび非ヒト霊長類が挙げられる。

【0035】

本明細書で使用する場合、治療用量以下の用量は、特定の適応症、または特定の個人に対して通常投与される用量レベルまたは用量範囲より低い用量レベルまたは用量範囲を意味する。特定の実施形態において、治療用量以下の用量は、剤、例えば、任意の癌治療剤のラベルに記載のものより低い用量レベルまたは用量範囲である。特定の実施形態において、治療用量以下の用量は、対象において傷害性または治療反応を誘発しない用量レベルまたは用量範囲を意味する。特定の実施形態において、治療用量以下の用量は、非傷害性用量および非治療用量である。

【0036】

腫瘍溶解性ウイルスは、本明細書で使用する場合、通常のウイルス複製および生活環を通じて癌細胞を感染および死滅させるが、正常細胞を感染および死滅させないウイルスを意味する。いくつかの例において、腫瘍溶解性ウイルス療法(oncolytic virus therapy)は、他の癌療法、例えば、化学療法および放射線療法で腫瘍細胞を死滅させることをより容易にし得る。腫瘍溶解性ウイルス療法は、標的療法的一种である。これは、腫瘍溶解性ウイルス療法(oncolytic virotherapy)、ウイルス療法(viral therapy)、およびウイルス療法(virotherapy)ともいい、本明細書において互換的に使用される。

【0037】

腫瘍溶解性ウイルスプローブは、本明細書で使用する場合、癌組織の特異的な特徴、例えば、ウイルスに対する免疫応答、組織もしくは腫瘍の微小環境、または癌組織の防御能に関して、癌組織、例えば、腫瘍を調べるために、治療剤として使用される場合よりも低い用量で使用される腫瘍溶解性ウイルスを意味する。いくつかの実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスプローブは、癌と診断されている個々の対象を調べるために使用される。腫瘍溶解性ウイルスプローブは、任意のGMPグレードのウイルスであり得る。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスプローブは、水疱性口内炎ウイルス(VSV)である。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスプローブは、ナトリウムヨードシンポーター(NIS)をコードする核酸をさらに含む。いくつかの実施形態において、プローブは、十分な用量で提供された場合に治療的となるウイルスである。

【0038】

特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスプローブの治療用量以下の用量は、約 10^5 TCID₅₀～約 3×10^9 TCID₅₀である。特定の実施形態において、治療用量以下の用量は、約 10^8 TCID₅₀～約 5×10^8 TCID₅₀である。特定の

【0039】

特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスプローブは、N-P-M-IFN β -G-NIS-Lの構築物を有する。特定の実施形態において、腫瘍溶解性ウイルスプローブの非治療用量および非傷害性用量は、約 10^5 TCID₅₀～約 3×10^9 TCID₅₀である。特定の実施形態において、非治療用量および非傷害性用量は、約 10^8 TCID₅₀～約 5×10^8 TCID₅₀である。

【0040】

用語「循環レベル」は、循環液中に存在するマーカーの量または濃度を指すものとする。循環レベルは、例えば、絶対量、濃度、対象の単位質量あたりの量で表すことができ、また、相対量として表すことができる。マーカーのレベルは、限定されるものではないが、内部標準、もしくはベースラインレベルと比較した場合などの相対量であってもよく、あるいは、ある範囲の最小量および／もしくは最大量、平均量、中央値量、またはマーカーの存在もしくは非存在として表すことができる。

【0041】

特定の実施形態において、IFN β の循環レベルは、腫瘍溶解性ウイルスの投与前の対象において測定される。腫瘍溶解性ウイルスは、治療用量以下の用量で投与されるウイルスプローブ、またはウイルス療法剤であり得る。特定の実施形態において、IFN β の循環レベルは、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約12時間～約45日の間の対象において測定

される。特定の実施形態において、 $IFN\beta$ の循環レベルは、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約12時間～約3日の間の対象において測定される。特定の実施形態において、 $IFN\beta$ の循環レベルは、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約48時間の対象において測定される。特定の実施形態において、 $IFN\beta$ の循環レベルは、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約24時間の対象において測定される。対象における循環 $IFN\beta$ のレベルは、対象を、腫瘍溶解性ウイルスの投与に対する強レスポonder、中程度レスポonder、低レスポonderまたはノンレスポonderとして同定するものである。

【0042】

強レスポonder、中程度レスポonder、低レスポonder、またはノンレスポonderにおける循環 $IFN\beta$ のレベルは、2以上の因子により決定され、重複してもよい。例えば、対象において産生される $IFN\beta$ の実際の量は、使用されるウイルスベクターの種類、ベクターにより運ばれるマーカー遺伝子またはタンパク質、投与される初回量、個々の腫瘍微小環境、および個々の免疫防御機構に依存する。ここで使用されるマーカー遺伝子またはタンパク質は、そのレベル、すなわち、循環レベルまたは発現レベルが、一般的な技術により検出可能である遺伝子またはタンパク質を意味する。いくつかの実施形態において、それは、可溶性 $IFN\beta$ である。いくつかの実施形態において、それは、NISである。

【0043】

Voyager-V1などのVSVウイルスにより発現される可溶性 $IFN\beta$ の場合、0～100pg/mLの循環 $IFN\beta$ レベルは、プローブの初回量に応じて低いとみなしてもよく、対象を低レスポonderまたはノンレスポonderとして同定するものである。いくつかの実施形態において、10pg/mL以上の循環 $IFN\beta$ レベルは、プローブの初回量に応じて高いとみなしてもよく、対象を強レスポonderとして同定するものである。しかしながら、異なる初回量は、異なる高いおよび低い範囲を誘発する。

【0044】

用語「癌」は、当技術分野におけるその通常の意味を有する。一般に、癌は、異常細胞が制御されずに分裂し、近傍の組織を浸潤し得る疾患に対する用語である。癌にはいくつかの主な種類がある。例えば、癌腫は、皮膚、または内臓を裏打ちするもしくは覆う組織において始まる癌である。肉腫は、骨、軟骨、脂肪、筋肉、血管、または他の結合組織もしくは支持組織において始まる癌である。白血病は、骨髄などの造血組織において始まり、多数の異常血液細胞が産生され、血液に入る癌である。リンパ腫および多発性骨髄腫は、免疫系の細胞において始まる癌である。中枢神経系癌は、脳および脊髄の組織において始まる癌である。悪性腫瘍ともいう。本明細書で使用する場合の癌には、それが固形腫瘍であろうとまたは血液癌であろうと、および癌の起源にかかわらず、あらゆる種類の癌が含まれる。いくつかの実施形態において、癌は、頭頸部癌、結腸癌、直腸癌、膵臓癌、膀胱癌、乳癌、肝細胞癌、肺癌、髄芽腫、非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍、白血病、リンパ腫、または骨髄腫である。

【0045】

癌組織は、同定可能な癌細胞を有する組織を意味する。いくつかの実施形態において、癌組織は、固形腫瘍である。

【0046】

本明細書で使用する場合の投与には、対象に薬剤を供与する任意の方法が含まれ、限定されるものではないが、腫瘍内投与および静脈内投与が挙げられる。静脈内(IV)注射または注入は、薬剤が、針またはチューブを使用して対象の静脈内に直接送られることを意味する。いくつかの実施形態において、IVカテーテルと呼ばれる細いプラスチックチューブが、静脈内に挿入される。腫瘍内投与は、薬剤が腫瘍または癌組織内に直接供与されることを意味する。

【0047】

本発明はまた、治療レジメンおよび癌を治療する方法のための薬力学(PD)マーカーに関し、前記方法は、インターフェロンベータおよびナトリウムヨードシンポーター(例えば、VSV- $IFN\beta$ -NIS)を発現するように設計されている組換え水疱性口内炎

10

20

30

40

50

ウイルスを対象に投与することを含む。本発明において、対象および患者という用語は、互換的に使用される。

【0048】

野生型VSVのヒトへの感染は、通常、無症候性であるが、発熱、悪寒、悪心、嘔吐、頭痛、球後痛、筋肉痛、胸骨下痛、倦怠感、咽頭炎、結膜炎およびリンパ節炎を特徴とする、3～6日間続く急性かつ熱性のインフルエンザ様の疾患を引き起こし得る。合併症は、野生型VSVに感染したヒトにおいて一般に認められず、致死は記録されていないが、3歳のパナマ人の小児における非致死性髄膜脳炎の公表された症例は、VSV感染に起因するものであった。改変インディアナ株VSVが、エボラワクチン接種プログラムにおいて17,000例超の健常志願者において使用されており、研究者らが、安全性プロファイルは健常成人において許容可能であるとみなされると結論付けるに至った。VSVベースのワクチンは、一般に忍容性が良好であり、ワクチンに関連した有害事象はほとんど報告されていない。一般的な有害事象としては、頭痛、発熱、疲労、および筋肉痛が挙げられ、その大部分が軽度から中等度であり、一般に、持続時間が短い。生ウイルスの排出もヒトからヒトへの伝播も確認されていない。

【0049】

水疱性口内炎ウイルスは、ラブドウイルス科ファミリーのメンバーである。VSVゲノムは、5つの主要なポリペプチド：ヌクレオカプシド（N）ポリペプチド、リンタンパク質（P）ポリペプチド、基質（M）ポリペプチド、糖タンパク質（G）ポリペプチド、およびウイルスポリメラーゼ（L）ポリペプチドをコードするマイナス鎖RNAの単一分子である。VSV Nポリペプチド、VSV Pポリペプチド、VSV Mポリペプチド、VSV GポリペプチドおよびVSV Lポリペプチドをコードする本明細書において提供される水疱性口内炎ウイルスの核酸配列は、GenBankアクセス番号NC_001560（GI No. 9627229）に示されるVSVインディアナ株由来のものであり得るか、またはVSVニュージャージー株由来のものであり得る。

【0050】

一つの実施形態において、本発明の方法およびレジメンは、Voyager-V1（VSV-IFN β -NIS、VV1）の投与を含む。VSV-IFN β -NISは、ヒトインターフェロン β （hIFN β ）遺伝子および甲状腺ナトリウムヨードシンポーター（NIS）の両方を発現するように設計された生ウイルスである。このウイルスは、Gタンパク質に関してM遺伝子の下流のhIFN β 遺伝子およびその遺伝子の下流のNIS遺伝子（cDNA）を、インディアナ株水疱性口内炎ウイルス（VSV）の全長感染性分子クローンに挿入することにより、構築した。VSV-IFN β -NISは、PCT/US2011/050227に記載されており、これは、引用することにより本明細書の一部とされる。Voyager-V1の構築物の説明を図6に示す。

【実施例】

【0051】

実施例1. Voyager-V1全身ウイルス療法

Voyager-V1（VSV-IFN β -NIS、VV1）は、直接的な腫瘍崩壊および免疫活性化を介して腫瘍細胞を選択的に破壊するように設計された、武装した追跡可能な腫瘍溶解性水疱性口内炎ウイルス（VSV）である。VV1は、ヒトインターフェロンベータ（IFN β ）およびNISナトリウムヨードシンポーターを発現する。試験中、IFN β は、in vivoにおけるウイルス複製をモニタリングするための可溶性バイオマーカーとしての役割も果たし得ることが発見された。本発明者らはここで、抵抗性癌を有する患者（n=51）におけるVoyager-V1の3件の第1相試験の相関データを使用した、ウイルスにコードされたIFN β の新規な使用を報告し、症例研究は、Voyager-V1の作用機序（MOA）を示している。Voyager-V1構築物の説明を図6に示す。

【0052】

この試験の第1の目的としては、再燃したまたは再発性の血液悪性腫瘍または固形腫瘍

を有する患者における腫瘍内（IT）または静脈内（IV）投与後のVoyager-V1の安全性および忍容性が挙げられる。

【0053】

この試験の第2の目的としては、概念実証を確立すること（例えば、NISイメージング、免疫活性化、および腫瘍選択性による）、Voyager-V1のPKおよびPD、ウイルス排出、免疫応答、ならびに奏効率が挙げられる。試験デザインの模式的フローチャートを図7に示す。

【0054】

51例の患者が、 $3 \times 10^6 \sim 5 \times 10^{10}$ TCID₅₀の範囲の用量で、ITまたはIVのいずれかでVoyager-V1の単回投与を受けた。

【0055】

ウイルスの投与前（IVおよびITの両方）、注入後4時間（IV）、2日目（24時間；ITおよびIVの両方）、3、8、および15日目（ITおよびIVの両方）、22日目（IVのみ）ならびに29日目（ITのみ）に、血液を採取した。ヒトIFN β に対して特異的な標準ELISAキット（PBL Assay Science社、ニュージャージー州）を使用して、IFN β レベルを測定した。複数のサイトカインアッセイキット（R&D Systems社、ミネソタ州）を使用して、サイトカインレベルを試験した。例示的なプロトコルを、以下の実施例3および4に示す。

【0056】

Voyager-V1全身ウイルス療法の有効性を、図8A、8B、9A、9B、10A、および10Bに例示する。具体的には、図8Aは、子宮内膜癌を有する対象における治療前およびVoyager-V1治療後3ヵ月におけるCTスキャンを示す。全体的な腫瘍減少は、29日目において直径16.5%である。図8Bは、T細胞リンパ腫を有する対象において腫瘍径の75%の減少が認められることを示す。図9Aおよび9Bは、NISイメージングにより、2例の対象、対象105-021（図9A）および対象105-020（図9B）においてVoyager-V1による腫瘍の感染が確認されることを示す。図10Aおよび10Bは、Voyager-V1治療が、静脈内注射（対象6、図10A）または腫瘍内注射（対象103-014、図10B）後1ヵ月においてCD8腫瘍浸潤細胞を増加させることを示す。

【0057】

実施例2．ウイルス濃度は反応を予測する

種々の固形腫瘍適応症を有する患者に対し、Voyager-V1を腫瘍内注射した。Voyager-V1の用量は、 $3 \times 10^6 \sim 3 \times 10^9$ TCID₅₀の範囲であり、注入量は、注射病変のサイズに応じて、0.5～4.0mLの範囲であった。n=27例の患者に対して注射されたウイルス濃度は、 $7.5 \times 10^5 \sim 1.5 \times 10^9$ TCID₅₀/mLの範囲であり、注入量中にいくつかのインターフェロンベータを含有していた（臨床製品は、 $8 \times 10^5 \sim 1.2 \times 10^6$ pg/mLインターフェロンベータを含有し、これは、院内薬局で薬剤調製中に希釈される）。全患者が、血清を治療前1日目、ならびに治療後2、3、8、および15日目に採取された。血清中IFN β レベルを各時点において評価し、検出可能な（1.2pg/mL超）インターフェロンベータを有する全患者に関するピーク血清中インターフェロンベータレベルを、各患者（n=18）に関して、注射されたウイルスの濃度に対してプロットした。ピーク血清中IFN β レベルは、注射されたウイルス濃度に関して鐘形曲線をたどった。

【0058】

IFN β の読み取り値が最大となったのは、 $1 \times 10^8 \sim 2.5 \times 10^8$ TCID₅₀/mLの濃度範囲で治療された患者からのものであった（他の全患者（n=19）に対するこの濃度範囲内で治療された患者（n=8）のピークインターフェロンベータレベルを評価したスチューデントの両側t検定、P=0.031）。

【0059】

病状安定（stable disease（SD））患者の78%が、 $1 \times 10^8 \sim 2$

10

20

30

40

50

・ 5×10^8 TCID₅₀/mL の濃度範囲で治療された（9 例の患者が、Voyager-V1 療法後 6 週において SD を示した。これらの患者のうち、7/9 例（78%）が、 $1 \times 10^8 \sim 2.5 \times 10^8$ TCID₅₀/mL の濃度範囲で治療された）。

【0060】

ウイルス調製において IFN β の濃度を増加させると、ウイルス複製に対して阻害的となり得る。Voyager-V1 投与後 24 時間に測定した平均血清中インターフェロンベータレベルは、 7.5×10^6 TCID₅₀/mL での 2.0 pg/mL IFN β から 2.5×10^8 TCID₅₀/mL での 219.5 pg/mL IFN β に増加し（平均）、それを超えると、ピーク IFN β レベルは減少し始めた（ 5×10^8 TCID₅₀/mL で 77 pg/mL IFN β ; 7.5×10^8 TCID₅₀/mL で 23 pg/mL IFN β 、および 1×10^9 TCID₅₀/mL 以上で 11 pg/mL IFN β ）。より高いウイルス濃度は、ウイルスの成長および伝播を阻害し得る、注射されたウイルス調製物におけるより高い IFN β 濃度を意味する。

10

【0061】

図 1 に示すように、腫瘍内注射された Voyager-V1 ウイルスの濃度は、2 日目（投与後 24 時間）において、治療に対する患者の反応と相関している。IFN β レベルは、Voyager-V1 に対する患者の反応を予測するものである。検出可能なレベルの IFN β を有する患者は、病状安定を示す傾向にある。さらに、図 2 は、Voyager-V1 の単回静脈内投与を受けた患者における 2 日目（24 時間）での血漿中 IFN β レベルを示す。Voyager-V1 の用量レベル（DL）1、2、または 3。DL 1、DL 2、および DL 3 は、各対象に IV 経路により投与されたウイルスのそれぞれ 5×10^9 、 1.7×10^{10} 、および 5×10^{10} TCID₅₀ に相当する。SD は、病状安定を意味する。PR は、部分奏効を意味する。各菱形は、単一の治療された対象を表す。

20

【0062】

VSV 感染は、適応宿主免疫応答をもたらし、中和抗ウイルス抗体を産生すると思われる（図 3）。ピーク IFN β レベル（図 3 に示される 2 日目）は、抗 VSV 抗体価と相関しており、治療用ウイルスの注入後早期（24 時間）の IFN β レベルは、Voyager-V1 ウイルスの複製および感染ならびにウイルス療法に対する腫瘍の許容性の良好な指標であり得ることが示された。

【0063】

IFN β （増加）および IFN α （減少）の動態は、2 日目が、腫瘍における Voyager-V1 感染の薬力学（PD）マーカーとしての IFN β を測定するのに好適な時点であり得ることを示すものである。特に、図 4A~4F は、患者における相対的な IFN β および IFN α の傾向の比較を示す。図 4A~4C は、IFN β レベル（濃い線）が、投与後 24 時間において増加することを示す。図 4D~4F は、同じ患者における IFN α レベル（濃い線）が、投与後 24 時間において減少することを示す。データは、IFN β 導入遺伝子レベルが、腫瘍におけるウイルス感染の PD マーカーとしての役割を果たし得ることを示す。

30

【0064】

結論として、Voyager-V1 は、IT または IV 経路により 51 例の対象に投与された。頬スワブまたは尿においてウイルス排出は認められなかった。IFN β の血漿中レベルは、ウイルス複製の良好な早期の指標であり、Voyager-V1 に対する腫瘍感受性に関する良好な PD マーカーであり得る。

40

【0065】

実施例 3．癌療法における診断検査のためのウイルスの IT 投与の治療用量以下の用量

癌療法に対する個々の患者の反応の早期評価、ならびに各患者における個々の反応および状況の変化に基づいた治療決定を適合させることの長期にわたる必要性が存在する。個々の患者の腫瘍微小環境および癌治療剤に対する免疫応答を理解すると、特定の個人に合わせた最も有効な治療レジメンの選択を知らせることができる。

【0066】

50

さらに、実施例2において上記に示すように、IFN β の血漿中レベルは、ウイルス複製の良好な早期の指標であり、Voyager-V1に対する腫瘍感受性に関する良好なPDマーカーである。このため、容易に入手可能なサンプル、例えば、血液、血清、または血漿からIFN β の検出可能なシグナルを生成することができるVoyager-V1の最低用量を知ることが重要である。

【0067】

様々な用量のVoyager-V1を、種々の固形腫瘍を有する患者に腫瘍内投与した。試験した用量は、 $3 \times 10^6 \sim 3 \times 10^9$ TCID₅₀の範囲であった。血清中のIFN β の循環レベルは、約 3×10^7 TCID₅₀という低い治療用量以下の非傷害性用量を腫瘍内投与された患者においてすら検出され得る。例えば、図5A～5Cを参照のこと。さらに、DL4以降（ 1×10^8 TCID₅₀）では、検出可能な循環IFN β レベルの頻度の増加、および用量レベルの増加に伴う循環IFN β のレベルの増加の両方が認められた。例えば、図5B～5Eを参照のこと。このため、傷害性ではなく、かつ治療的ではない低用量のVoyager-V1を使用して、患者における癌組織が癌療法レジメンの投与に対して反応する可能性を同定することができる。

【0068】

さらに、この方法は、Voyager-V1だけでなく、可溶性IFN β をコードする核酸を含む、任意の腫瘍溶解性ウイルスプロブ、特に、GMPグレードのウイルスとともに使用することができる。上記に示した実施例において、循環IFN β レベルは、個々の患者におけるウイルスの感染および伝播の変動性の良好な指標であり得ることが確立された。Voyager-V1の場合、治療用量以下の探索用量は、およそ 10^6 TCID₅₀～約 10^8 TCID₅₀という低い用量とすることができ、腫瘍内投与（図5A～5Fに示すように）、またはより好都合には、静脈内投与することができる。

【0069】

実施例4．サンプルの採取および調製

患者由来のサンプルは、当技術分野で利用可能な適当なプロトコールを使用して採取することができる。試験で使用した例示的なサンプル採取手順は、本明細書において提供される。

【0070】

血液（ 1×1.5 mL）を、1つの5 mLレッドトップチューブに採取した。サンプルを、以下の間隔で採取した：治療前1日目、2、3、4（IT+IV患者のみ）、8および15日目。15日目が陽性である場合、サンプルは、22日目および43日目にのみ採取すべきである。

【0071】

サンプルを、以下のプロトコールに従って処理した。チューブを緩やかに5回反転させる。サンプルを30～60分間静置する。次いで、2200～2500 RPMで15分間遠心沈殿する。1～2 mLの血清（上清）を2 mLプラスチッククライオバイアルに移す。サンプルは、 -80°C の冷凍庫に移すべきである。次いで、サンプルを保存し、試験のために施設に輸送した。出荷のためにサンプルを準備する際、全サンプルを完全に凍結させておくことが重要である。 -80°C の冷凍庫外のサンプルの一時的な保存／操作のために、ドライアイスを含むポリスチレン容器を使用することができる。

【0072】

実施例5．IFN β 用のアッセイ

患者サンプル由来のIFN β レベルを、プロトコールA（血清評価における改善された遂行のための強化プロトコール）において提供される製造業者の説明書に従って、VeriKine-HS（商標）Human IFN Beta Serum ELISA Kit（カタログ番号41415-1、PBL Assay Science社、ピスカタウェイタウンシップ、ニュージャージー州）を使用した標準的なELISAアッセイにより評価した。

【0073】

例示的なプロトコールを、以下に示す。各ウェルにおいて、以下のものを逐次的に加える：50 μ l サンプル緩衝液、50 μ l 希釈抗体、および50 μ l 試験サンプル、IFN- β 標準品、またはブランク。450 rpmで振とうしながら、2時間インキュベートする。吸引し、3回洗浄する。100 μ l 希釈HRP溶液を加える。450 rpmで振とうしながら、30分間インキュベートする。吸引し、4回洗浄する。次いで、100 μ l TMB基質を加える。暗所にて60分間インキュベートする。密封、振とう、または洗浄をしてはならない。100 μ l 停止液を加える。450 nmで5分以内にプレートを読み取る。総てのインキュベーションは、室温（22℃～25℃）で行う。総アッセイ時間は、約3時間30分である。

【0074】

以下のプロトコールに従って、標準曲線を作成した：a) 8個のポリプロピレンチューブ（S1～S8）にラベルする。b) プロトコールAにおいて提供される製造業者の説明書に従って、ラベルされたチューブに指示量の標準希釈液またはサンプルマトリックスを加える。c) ポリプロピレンチップを使用して、10 μ LのIFN標準品を、90 μ Lの標準希釈液またはサンプルマトリックスに加える。容量を80 μ Lに設定し、100 μ Lまたは200 μ Lピペットを使用して、上下に10回ピペット操作することにより、よく混合する。d) 7.5 μ Lの1：10前希釈標準品をS8に加え、よく混合し、ピペットチップの内側に付着した全材料を回収する。e) 250 μ Lに設定したピペットを使用して、上下に10回ピペット操作することにより、S8をよく混合する。250 μ LのS8をS7に移し、上下に5回ピペット操作することにより、よく混合する。繰り返し、S1に対して一連の操作を完了する。f) アッセイ手順の工程1において使用するまで、取っておく。

【0075】

実施例6．ウイルス療法に対してレスポnderである可能性が高い癌患者を治療する

癌と診断された対象におけるVoyager-V1の第1の治療用量または治療用量以下の用量の投与後、上記に示した方法を使用して、対象から得たサンプルから循環IFN β レベルを検出することができる。

【0076】

約1000 pg/mL超の血漿中IFN β レベルを有する対象は、ウイルス療法に対して非常に感受性が高い腫瘍を有する。これらの対象は、強レスポnderとして同定することができ、例えば、1週間以内に、追加の治療用量のVoyager-V1または別の腫瘍溶解性ウイルス投与することができる。約10 pg/mL～約1000 pg/mLの血漿中IFN β レベルを有する対象は、測定時点において免疫学的にウイルスにより感染した腫瘍を有する。これらの対象は、この用量における中程度レスポnderとして同定され、追加の治療用量のVoyager-V1、または別の腫瘍溶解性ウイルスを、他の癌治療剤と組み合わせて投与するべきである。約10 pg/mL未満の血漿中IFN β レベルを有する対象は、ウイルス療法に対して反応しない腫瘍を有する。これらの対象は、低レスポnderとして同定することができ、他の癌治療剤または追加免疫剤を投与するべきである。他の癌治療剤は、例えば、免疫療法、化学療法剤、放射線療法、ホルモン療法などであり得る。免疫療法は、免疫チェックポイント阻害剤、例えば、PD-L1阻害剤であり得る。

【0077】

循環IFN β のレベルは、Voyager-V1の第1の治療用量または治療用量以下の用量の投与後12時間～10日の間の任意の時点で評価することができる。例えば、循環IFN β レベルは、投与後約12～24時間、または投与後約24～48時間において評価することができる。

【0078】

Voyager-V1の第1の投与後約12～48時間以内に、IFN β の循環レベルが高すぎる、例えば、10,000 pg/mL以上である場合、患者に対し、1以上の治療用量のヤヌスキナーゼ阻害剤（JAK阻害剤）を投与する。JAK阻害剤は、例えば、

10

20

30

40

50

ルキソリチニブ、または一般的に使用される任意の J A K 阻害剤であり得る。

本発明は以下の実施形態を包含する。

〔1〕癌組織を有する対象における癌組織が癌療法レジメンの投与に対して反応する可能性を決定する方法であって、前記方法が、

（a）可溶性インターフェロンベータ（IFN β ）をコードする核酸を含む腫瘍溶解性ウイルスプローブの治療用量以下の診断用量を癌組織に腫瘍内投与すること、および

（b）腫瘍溶解性ウイルスの投与後の対象における IFN β の循環レベルを測定し、癌組織が、強レスポnder、中程度レスポnder、低レスポnderまたはノンレスポnderであるかを決定すること

を含む、方法。

〔2〕前記癌療法レジメンが、（a）において腫瘍内投与される腫瘍溶解性ウイルスプローブを含む、〔1〕に記載の方法。

〔3〕前記癌療法レジメンが、（a）において腫瘍内投与されるものと異なる腫瘍溶解性ウイルスプローブを含む、〔1〕に記載の方法。

〔4〕前記癌療法レジメンが、免疫腫瘍溶解療法である、〔1〕に記載の方法。

〔5〕前記癌療法レジメンが、抗体または小分子抗癌治療である、〔1〕に記載の方法。

〔6〕前記腫瘍溶解性ウイルスプローブが、非傷害性用量および非治療用量で投与される、〔1〕に記載の方法。

〔7〕非治療用量および非傷害性用量が、約 10^5 TCID₅₀ ~ 約 3×10^9 TCID₅₀ である、〔1〕に記載の方法。

〔8〕非治療用量および非傷害性用量が、約 10^8 TCID₅₀ ~ 約 5×10^8 TCID₅₀ である、〔7〕に記載の方法。

〔9〕前記腫瘍溶解性ウイルスプローブが、GMP グレードのウイルスである、〔1〕に記載の方法。

〔10〕前記腫瘍溶解性ウイルスプローブが、水疱性口内炎ウイルス（VSV）である、〔1〕 ~ 〔9〕のいずれか一項に記載の方法。

〔11〕前記腫瘍溶解性ウイルスプローブが、ナトリウムヨードシンポーター（NIS）をコードする核酸をさらに含む、〔10〕に記載の方法。

〔12〕前記腫瘍溶解性ウイルスプローブが、N-P-M-IFN β -G-NIS-L の構築物を有する、〔12〕に記載の方法。

〔13〕前記 IFN β の循環レベルが、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約 12 時間 ~ 約 45 日の間の対象において測定される、〔1〕 ~ 〔12〕のいずれか一項に記載の方法。

〔14〕前記 IFN β の循環レベルが、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約 12 時間 ~ 約 3 日の間の対象において測定される、〔13〕に記載の方法。

〔15〕前記 IFN β の循環レベルが、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約 48 時間の対象において測定される、〔14〕に記載の方法。

〔16〕前記 IFN β の循環レベルが、腫瘍溶解性ウイルスの投与後約 24 時間の対象において測定される、〔14〕に記載の方法。

〔17〕前記 IFN β の循環レベルが、免疫学的アッセイにより測定される、〔1〕 ~ 〔16〕のいずれか一項に記載の方法。

〔18〕前記癌組織が、固形腫瘍または血液悪性腫瘍である、〔1〕 ~ 〔17〕のいずれか一項に記載の方法。

〔19〕前記癌組織が、頭頸部癌、結腸癌、直腸癌、膵臓癌、膀胱癌、乳癌、肝細胞癌、肺癌、髄芽腫、非定型奇形腫瘍／ラブドイド腫瘍、白血病、リンパ腫、または骨髄腫である、〔1〕 ~ 〔18〕のいずれか一項に記載の方法。

〔20〕対象における癌を治療する方法であって、

（a）〔1〕 ~ 〔19〕のいずれか一項の方法に従って、癌組織を有する対象における癌組織が癌療法レジメンの投与に対して反応する可能性を同定すること、および

（b）癌組織が強レスポnderまたは中程度レスポnderであると決定された場合に、癌療法レジメンを投与すること

10

20

30

40

50

を含む、方法。

〔21〕前記癌療法レジメンが、2以上の抗癌組成物の投与を含む、〔20〕に記載の方法。

〔22〕前記癌組織が固形腫瘍であり、かつ前記癌療法レジメンが、腫瘍の単位容積あたりのウイルス粒子の数に基づく用量で腫瘍内投与される腫瘍溶解性ウイルスである、〔20〕に記載の方法。

〔23〕腫瘍内投与される腫瘍溶解性ウイルスの治療用量が、標準的な用量範囲で投与される、〔22〕に記載の方法。

〔24〕前記癌療法レジメンが、静脈内投与される腫瘍溶解性ウイルスである、〔19〕～〔23〕のいずれか一項に記載の方法。

〔25〕癌と診断されている対象を治療する方法であって、前記方法が：インターフェロンベータ（IFN β ）をコードする核酸を含む腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量を対象に投与すること、および対象が腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンに対する強レスポンドーまたは中程度レスポンドーとして同定されている場合に、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの少なくとも第2の用量を投与することを含む、方法。

〔26〕前記腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量の投与が、静脈内投与である、〔25〕に記載の方法。

〔27〕前記腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量の投与が、腫瘍内投与である、〔25〕に記載の方法。

〔28〕前記腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量が、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの非治療用量および非傷害性用量である、〔25〕～〔27〕のいずれか一項に記載の方法。

〔29〕前記腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第2の用量の投与が、静脈内投与または腫瘍内投与である、〔25〕～〔28〕のいずれか一項に記載の方法。

〔30〕前記腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンが、ナトリウムヨードシンポーター（NIS）をコードする核酸を含む、〔25〕～〔29〕のいずれか一項に記載の方法。

〔31〕前記腫瘍溶解性ウイルスが、RNAウイルスである、〔25〕～〔30〕のいずれか一項に記載の方法。

〔32〕前記腫瘍溶解性ウイルスが、水疱性口内炎ウイルス（VSV）である、〔25〕～〔31〕のいずれか一項に記載の方法。

〔33〕前記VSVが、N-P-M-IFN β -G-NIS-Lの構築物を有する、〔32〕に記載の方法。

〔34〕対象が腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンに対する中程度レスポンドーとして同定されている場合に、前記対象に1以上のさらなる免疫腫瘍療法剤を投与することをさらに含む、〔25〕～〔33〕のいずれか一項に記載の方法。

〔35〕対象が腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンに対する強レスポンドーとして同定されている場合に、前記対象にヤヌスキナーゼ阻害剤（JAK阻害剤）を投与することをさらに含む、〔25〕～〔34〕のいずれか一項に記載の方法。

〔36〕前記JAK阻害剤がルキソリチニブである、〔35〕に記載の方法。

〔37〕IFN β のレベルが、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量の投与後約0.5～45日の間の評価される、〔25〕～〔36〕のいずれか一項に記載の方法。

〔38〕IFN β のレベルが、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量の投与後約0.5～3日の間に評価される、〔25〕～〔37〕のいずれか一項に記載の方法。

〔39〕前記腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第2の用量が、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量の投与後約1～10日以内に投与される、〔25〕～〔38〕のいずれか一項に記載の方法。

〔40〕IFN β の循環レベルが、腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第1の用量の投与後約12～24時間以内に評価される、〔39〕に記載の方法。

〔41〕IFN β の循環レベルが、免疫学的アッセイにより評価される、〔25〕～〔4

10

20

30

40

50

0] のいずれか一項に記載の方法。

[42] 前記癌が、固形腫瘍または血液悪性腫瘍である、[25]～[41]のいずれか一項に記載の方法。

[43] 前記固形腫瘍が、頭頸部癌、結腸癌、直腸癌、膵臓癌、膀胱癌、乳癌、肝細胞癌、肺癌、髄芽腫、または非定型奇形腫瘍／ラブドイド腫瘍である、[42]に記載の方法。

[44] 前記血液悪性腫瘍が、白血病、リンパ腫、または骨髄腫である、[42]に記載の方法。

[45] 腫瘍溶解性ウイルス癌療法レジメンの第2の投与が、腫瘍内注射によるものである、[25]～[43]のいずれか一項に記載の方法。

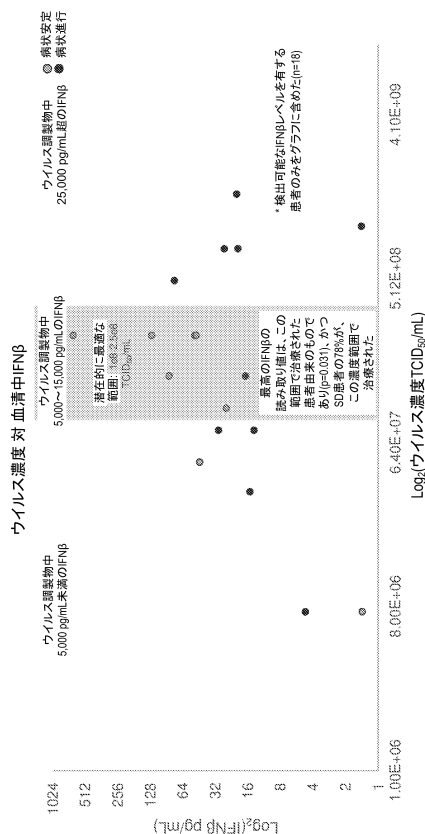
[46] 第2の腫瘍内注射が、腫瘍の単位容積あたりのウイルス粒子の数に基づき対象に投与される、[45]に記載の方法。

[47] 第2の腫瘍内注射が、標準的な用量範囲内で対象に投与される、[46]に記載の方法。

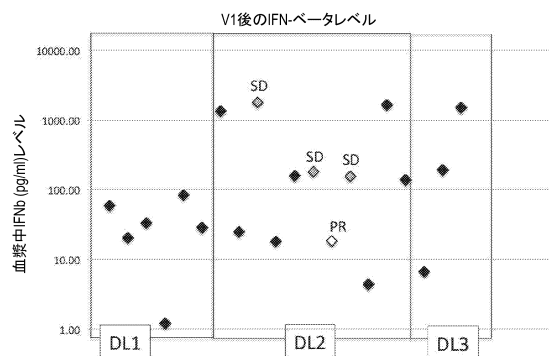
[48] 腫瘍溶解性ウイルスの治療用量が、静脈内投与される、[25]～[44]のいずれか一項に記載の方法。

【図面】

【図1】



【図2】



10

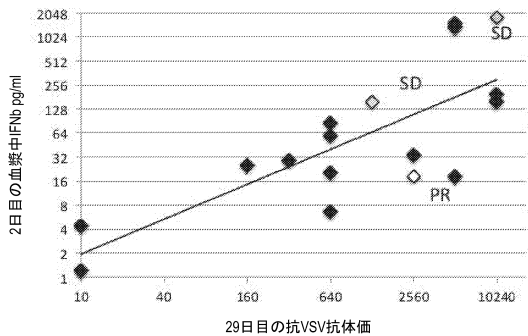
20

30

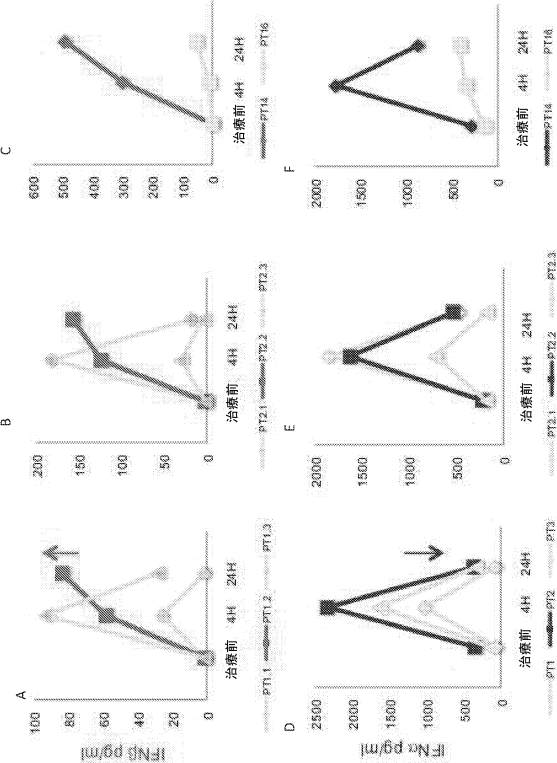
40

50

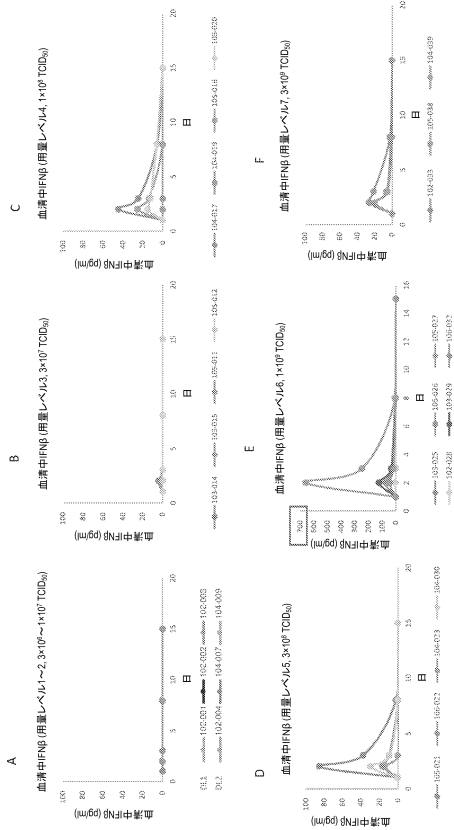
【図 3】



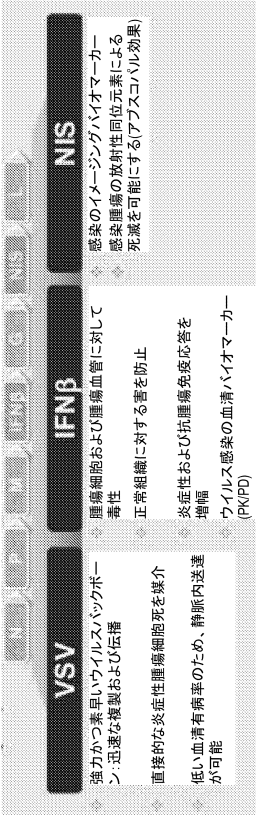
【図 4】



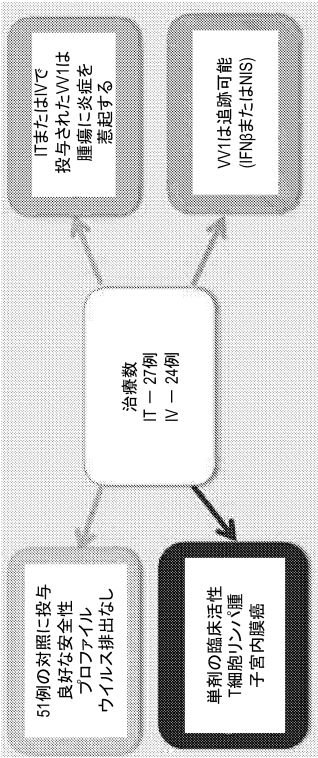
【図 5】



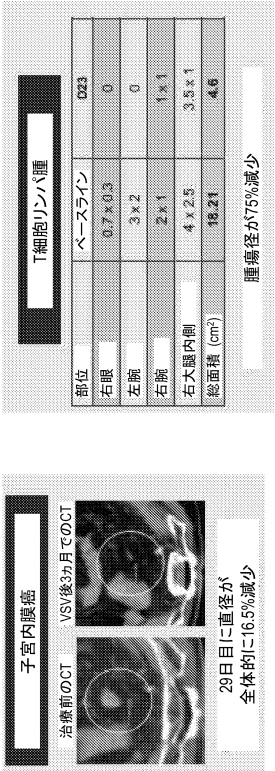
【図 6】



【図 7】



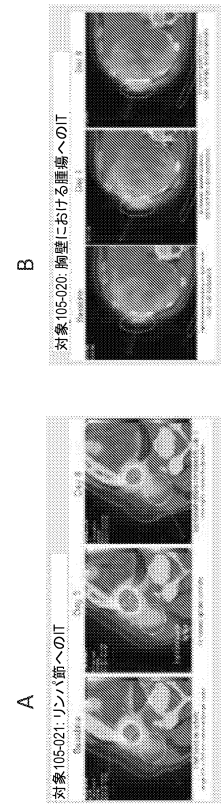
【図 8】



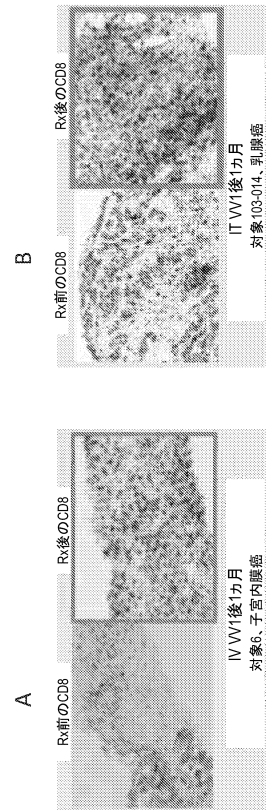
10

20

【図 9】



【図 10】



30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/86 (2006.01)
C 1 2 N 15/22 (2006.01)
C 1 2 Q 1/70 (2006.01)
G 0 1 N 33/68 (2006.01)

C 1 2 N 15/86 Z
C 1 2 N 15/22
C 1 2 Q 1/70
G 0 1 N 33/68

(72)発明者 ラッセル, ルーク

アメリカ合衆国 5 5 9 0 6 ミネソタ州, ロチェスター, 1 0 ティーエイチ エスティー エヌイー
7 0 6

(72)発明者 ペン, カーウィエ

アメリカ合衆国 5 5 9 0 1 ミネソタ州, ロチェスター, レイクリッジ ドライブ エヌダブリュ
3 2 2 6

(72)発明者 ラッセル, スティーヴン ジェームズ

アメリカ合衆国 5 5 9 0 2 - 6 3 4 9 ミネソタ州, ロチェスター, メモリアル パークウェイ
エヌダブリュ 6 0 6

審査官 吉門 沙央里

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 7 / 2 1 8 7 5 7 (WO, A 1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 1 2 Q 1 / 0 0 - 3 / 0 0

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)