

(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2019-505488
(P2019-505488A)

(43) 公表日 平成31年2月28日 (2019. 2. 28)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006. 01)	A 6 1 K 45/00	Z N A 4 B 0 6 3
G O 1 N 33/574 (2006. 01)	G O 1 N 33/574	D 4 C 0 8 4
G O 1 N 33/53 (2006. 01)	G O 1 N 33/53	D 4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006. 01)	G O 1 N 33/574	A
A 6 1 K 39/395 (2006. 01)	G O 1 N 33/53	P

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 42 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-530686 (P2018-530686)
 (86) (22) 出願日 平成28年12月9日 (2016. 12. 9)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年8月2日 (2018. 8. 2)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/065780
 (87) 国際公開番号 W02017/100541
 (87) 国際公開日 平成29年6月15日 (2017. 6. 15)
 (31) 優先権主張番号 62/265, 638
 (32) 優先日 平成27年12月10日 (2015. 12. 10)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 504333972
 メディミュン, エルエルシー
 アメリカ合衆国 20878 メリーラン
 ド州, ゲイサーズバーグ, ワン メディミ
 ュン ウェイ
 (71) 出願人 518201496
 デフィニエンス アーゲー
 ドイツ連邦共和国 80636 ミュンヘ
 ン, ベルンハルトーヴィッキーシュトラ
 ー 5
 (74) 代理人 110002572
 特許業務法人平木国際特許事務所

最終頁に続く

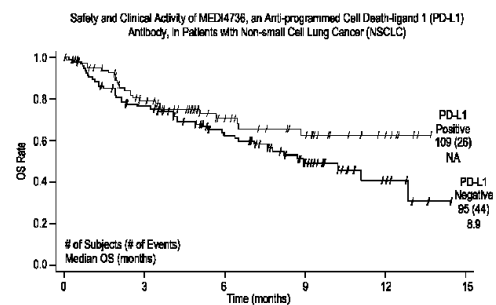
(54) 【発明の名称】 免疫介在性がん治療薬に対して応答性を示す患者の治療および選択のための方法

(57) 【要約】

本明細書に提供されるのは、腫瘍を治療する方法であり、デュルバルマブ (MEDI 4736) またはその抗原結合断片を含む1つ以上の免疫介在性がん治療薬を有効量で投与することを含む。画像分析を用いる腫瘍試料切片の分析および遺伝子発現により、免疫介在性がん治療薬が有効となるような患者が同定された。デュルバルマブは、腫瘍細胞および免疫細胞マーカー (例えば、PD-L1 および CD8) を用いる画像分析ならびに遺伝子発現 (例えば、IFN) によって特徴づけられた非小細胞肺がんの治療時に有効であった。

【選択図】 図 1

Figure 1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

免疫介在性がん治療薬を同定された腫瘍を有する患者に投与することを含む治療方法であって、ここで前記患者は、腫瘍細胞を含む前記患者の組織試料からの組織切片を特徴づけることによって同定され、ここで前記組織切片は、2つ以上の検出可能な親和性試薬と接触され、ここで前記特徴づけは、

(a) 前記組織切片の、癌マーカーに特異的に結合する第1の親和性試薬を検出する第1の画像チャンネル内の第1の検出可能なシグナルを測定するステップと；

(b) 前記組織切片の、免疫細胞マーカーに特異的に結合する第2の親和性試薬を検出する第2の画像チャンネル内の第2の検出可能なシグナルを測定するステップと；

(c) 腫瘍を特徴づけるため、第1の検出可能な親和性試薬からの検出可能なシグナルを含む前記組織切片の領域内の前記第2の画像チャンネル内の検出可能なシグナルの測定を用いるステップと、を含み、

ここで前記第2の画像チャンネル内での前記測定により、前記患者が免疫介在性がん治療薬を含む治療に対する応答性を示すとして同定される、治療方法。

【請求項 2】

腫瘍を、免疫介在性がん治療薬に対する応答性を示すとして特徴づける方法であって、

(a) 2つ以上の検出可能な親和性試薬と接触された、腫瘍細胞を含む組織試料からの組織切片の、癌マーカーに特異的に結合する第1の親和性試薬を検出する第1の画像チャンネル内の第1の検出可能なシグナルを測定するステップと；

(b) 前記組織切片の、免疫細胞マーカーに特異的に結合する第2の親和性試薬を検出する第2の画像チャンネル内の第2の検出可能なシグナルを測定するステップと；

(c) 腫瘍を特徴づけるため、前記第1の検出可能な親和性試薬からの検出可能なシグナルを含む組織切片の領域内の前記第2の画像チャンネル内の検出可能なシグナルの測定を用いるステップと、を含み、

ここで前記第2の画像チャンネル内での前記測定により、前記腫瘍が免疫介在性がん治療薬に対して応答性を示すことが示される、方法。

【請求項 3】

前記組織試料ががん患者に由来する、請求項 2 または 3 に記載の方法。

【請求項 4】

前記第2の画像チャンネル内での前記測定により、前記患者が免疫介在性がん治療薬向けの治療に対して応答性を示すことが示される、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

ステップ (a) が、デジタル画像の第1の画像チャンネルを生成することを含み、ここで前記第1の画像チャンネルのピクセル値が前記組織切片中の陽性染色腫瘍細胞の局所密度を示す、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

ステップ (b) が、前記デジタル画像の第2の画像チャンネルを生成することを含み、ここで前記第2の画像チャンネルのピクセル値が前記組織切片中の陽性染色免疫細胞の局所密度を示す、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

ステップ (c) が、前記第1の画像チャンネルを用いて、前記デジタル画像中の領域を分割することを含む、請求項 5 または 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記分割することにより、前記デジタル画像の総ピクセルが、前記第1の画像チャンネル内のピクセル値が所定の第1のチャンネルの閾値よりも大きい場合の前記領域に割り当てられる、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 9】

ステップ (c) が、前記がん患者が前記免疫介在性がん治療薬に対する応答性を有する

10

20

30

40

50

ことを、前記分割された領域内の前記第 2 の画像チャネルのピクセル値の統計学的特性を利用することにより予測することをさらに含む、請求項 7 または 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記統計学的特性が、前記第 2 の画像チャネル内のピクセル値が所定の第 2 のチャネルの閾値より大きい場合の前記領域内のピクセルの相対数である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記検出可能な親和性試薬の 1 つ以上が、抗体および検出可能なレポーターを含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記第 1 の親和性試薬が、PD-L1 に特異的に結合する抗体を含む、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 13】

前記第 2 の親和性試薬が、CD8、CD3、FOXP3、および CD4 からなる群から選択される免疫細胞マーカーに特異的に結合する抗体を含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記ピクセル値により細長い免疫細胞が同定される、請求項 6 ~ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

細長い免疫細胞が、前記細胞の境界ボックスの長さ対幅比により測定される、請求項 14 に記載の方法。

20

【請求項 16】

前記細長い免疫細胞が、約 2.3 より大きい長さ対幅比および 0.0000098 mm 未満の幅を有する、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

腫瘍細胞の近隣における免疫細胞のピクセル値が測定される、請求項 6 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記分割することにより、2つの部分領域からなる領域が生成され、ここで前記第 1 の部分領域は、前記第 1 および第 2 の画像チャネル内の共局在化されたピクセルを含み、前記第 2 の部分領域は、前記第 1 の閾値より大きい前記第 1 の画像チャネル内のピクセル値を有するピクセルまたは第 2 の閾値より大きい前記第 2 の画像チャネル内のピクセル値を有するピクセルの 1 つ以上を含み、かつ前記第 2 の部分領域内の前記ピクセル値は、前記第 1 の部分領域の前記ピクセル値を正規化するために用いられる、請求項 7 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 19】

前記閾値が、所定の閾値または参照値である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記正規化が、前記第 1 の部分領域の前記ピクセル値の合計を前記第 2 の部分領域の前記ピクセル値によって除することにより実施される、請求項 18 または 19 に記載の方法。

40

【請求項 21】

前記組織切片中の腫瘍細胞が、タンパク質の参照と比べての減少量によって同定される、請求項 4 ~ 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記タンパク質が MHC 複合体である、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記検出可能なレポーターが蛍光レポーターである、請求項 11 ~ 22 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

50

前記第 1 および第 2 の検出可能な親和性試薬が、異なる放射波長を有する蛍光レポーターを含む、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記検出可能な親和性試薬の 1 つ以上が核酸プローブを含む、請求項 1 ~ 1 0 および 1 4 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記第 1 および第 2 の検出可能な親和性試薬がオリゴヌクレオチドプローブである、請求項 1 ~ 1 0 および 1 4 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記組織切片を 1 つ以上の検出可能な親和性試薬と接触させることは、インサイチュハイブリダイゼーションを含む、請求項 1 ~ 1 0 および 1 4 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記オリゴヌクレオチドプローブが、第 1 の RNA および第 2 の RNA を検出する、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 9】

陽性細胞が、RNA の参照と比べての増加量によって同定される、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 3 0】

2 つ以上の検出可能な親和性試薬と接触された前記組織切片に隣接した組織切片内部で測定される遺伝子発現値の使用を含む、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 1】

IFN の遺伝子発現が測定される、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

非小細胞肺癌 (NSCLC) を、デュルバルマブ、またはその抗原結合断片を投与することを含む治療に対する応答性を示すとして特徴づける方法であって、

(a) 2 つ以上の検出可能な親和性試薬と接触された、組織切片の、PD-L1 に特異的に結合する第 1 の親和性試薬を検出する第 1 の画像チャンネル内の第 1 の検出可能なシグナルを測定するステップと；

(b) 第 2 の親和性試薬を検出する、前記組織切片の第 2 の画像チャンネル内の第 2 の検出可能なシグナルを測定するステップと；

(c) 前記腫瘍を特徴づけるため、前記第 1 の検出可能な親和性試薬からの検出可能なシグナルを含む前記組織切片の領域内の前記第 2 の画像チャンネル内での測定を用いるステップと、を含み、

ここで前記第 2 の画像チャンネル内での前記測定により、前記 NSCLC がデュルバルマブ療法を含む治療に対して応答性を示すことが示される、方法。

【請求項 3 3】

デュルバルマブ、またはその抗原結合断片を非小細胞肺癌 (NSCLC) 患者に投与することを含む治療方法であって、ここで前記患者は、腫瘍細胞を含む前記患者の組織試料からの組織切片を特徴づけることにより同定され、ここで前記組織切片は、2 つ以上の検出可能な親和性試薬と接触され、ここで前記特徴づけは、

(a) 前記組織切片の、PD-L1 に特異的に結合する第 1 の親和性試薬を検出する第 1 の画像チャンネル内の第 1 の検出可能なシグナルを測定するステップと；

(b) 前記組織切片の、免疫細胞マーカーに特異的に結合する第 2 の親和性試薬を検出する第 2 の画像チャンネル内の第 2 の検出可能なシグナルを測定するステップと；

(c) 前記腫瘍を特徴づけるため、前記第 1 の検出可能な親和性試薬からの検出可能なシグナルを含む組織切片の領域内の前記第 2 の画像チャンネル内の検出可能なシグナルの測定を用いるステップと、を含み、

ここで前記第 2 の画像チャンネル内での前記測定により、前記患者がデュルバルマブ療法を含む治療に対する応答性を示すとして同定される、方法。

10

20

30

40

50

【請求項 3 4】

免疫介在性がん治療薬を腫瘍を有する患者に投与することを含む治療方法であって、ここで前記患者は、腫瘍細胞を含む前記患者の組織試料からの組織切片を特徴づけることにより同定され、ここで前記特徴づけは、

(a) 腫瘍細胞を含む組織試料からの第 1 の組織切片中の PD - L 1 + 免疫細胞の密度を測定するステップと；

(b) 前記組織試料からの第 2 の切片中のタンパク質または遺伝子の発現レベルを測定するステップと；

(c) ステップ (a) および (b) にて得られた前記測定値に基づくスコアを生成するステップと、を含み、

ここで閾値よりも大きいスコアにより、前記患者が免疫介在性がん治療薬を含む治療に対する応答性を示すとして同定される、方法。

10

【請求項 3 5】

腫瘍を免疫介在性がん治療薬に対する応答性を示すとして特徴づける方法であって、

(a) 腫瘍細胞を含む組織試料からの第 1 の組織切片中の PD - L 1 + 免疫細胞の密度を測定するステップと；

(b) 前記組織試料からの第 2 の切片中のタンパク質または遺伝子の発現レベルを測定するステップと；

(c) ステップ (a) および (b) にて得られた前記測定値に基づくスコアを生成するステップと、を含み、

ここで閾値よりも大きいスコアは、前記腫瘍が免疫介在性がん治療薬に対して応答性を示すことを示す、方法。

20

【請求項 3 6】

タンパク質のレベルが、ステップ (a) における細胞の密度を示す、請求項 3 4 または 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記タンパク質が、抗 CD 8、抗 CD 3、抗 FOXP 3、および抗 CD 4 からなる群から選択される抗体を用いて検出される、請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 3 8】

細長い免疫細胞のみが測定される、請求項 3 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 3 9】

腫瘍細胞の近隣における免疫細胞のみが測定される、請求項 3 4 ~ 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 0】

IFN の遺伝子発現が、ステップ (b) において測定される、請求項 3 4 または 3 5 に記載の方法。

【請求項 4 1】

ステップ (a) および (b) における前記測定が、同じ組織切片に対して実施される、請求項 3 4 ~ 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 2】

ステップ (a) における前記測定が、抗 PD L 1 および抗 CD 8 を用いる二重免疫組織化学染色を含む、請求項 3 4 ~ 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 4 3】

非小細胞肺癌 (NSCLC) をデュルバルマブ、またはその抗原結合断片を投与することを含む治療に対する応答性を示すとして特徴づける方法であって、

(a) 腫瘍細胞を含む組織試料からの第 1 の組織切片中の PD - L 1 + 免疫細胞の密度を測定するステップと；

(b) 前記組織試料からの第 2 の切片中の IFN の発現レベルを測定するステップと；

(c) ステップ (a) および (b) にて得られた前記測定値に基づくスコアを生成する

50

ステップと、を含み、

ここで閾値よりも大きいスコアは、前記非小細胞肺癌（NSCLC）がデュルバルマブ療法を含む治療に対して応答性を示すことを示す、方法。

【請求項 4 4】

デュルバルマブ、またはその抗原結合断片を非小細胞肺癌（NSCLC）患者に投与することを含む治療方法であって、ここで前記患者は、腫瘍細胞を含む前記患者の組織試料からの組織切片を特徴づけることにより同定され、ここで前記特徴づけは、

(a) 腫瘍細胞を含む組織試料からの第 1 の組織切片中の PD-L1⁺ 免疫細胞の密度を測定するステップと；

(b) 前記組織試料からの第 2 の切片中の IFN の発現レベルを測定するステップと；

(c) ステップ (a) および (b) にて得られた前記測定値に基づくスコアを生成するステップと、を含み、

ここで閾値よりも大きいスコアにより、前記患者がデュルバルマブ療法を含む治療に対する応答性を示すとして同定される、方法。

【請求項 4 5】

免疫介在性がん治療薬を腫瘍を有する患者に投与することを含む治療方法であって、ここで前記患者は、腫瘍細胞を含む前記患者の組織試料からの組織切片を特徴づけることにより同定され、ここで前記特徴づけは、

(a) 腫瘍細胞を含む組織試料からの組織切片中の免疫細胞および PD-L1⁺ 細胞を含む領域の面積を測定するステップと；

(b) 前記面積を前記 PD-L1⁺ 細胞を含む面積に正規化するステップと、を含み、

ここで閾値よりも大きい正規化された面積により、前記患者が免疫介在性がん治療薬を含む治療に対する応答性を示すとして同定される、方法。

【請求項 4 6】

腫瘍を免疫介在性がん治療薬に対する応答性を示すとして特徴づける方法であって、

(a) 腫瘍細胞を含む組織試料からの組織切片中の免疫細胞および PD-L1⁺ 細胞を含む領域の面積を測定するステップと；

(b) 前記面積を前記 PD-L1⁺ 細胞を含む面積に正規化するステップと、を含み、

ここで閾値よりも大きい正規化された面積は、前記腫瘍が免疫介在性がん治療薬に対して応答性を示すことを示す、方法。

【請求項 4 7】

前記第 1 の組織切片に隣接した第 2 の組織切片中での遺伝子発現を測定するステップをさらに含み、ここで前記遺伝子は、腫瘍細胞 - 免疫細胞相互作用に関連する、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 8】

IFN の遺伝子発現が測定される、請求項 4 7 に記載の方法。

【請求項 4 9】

ステップ (a) における前記免疫細胞が CD8⁺ 免疫細胞である、請求項 4 5 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 0】

ステップ (a) における前記免疫細胞が細長い CD8⁺ 免疫細胞である、請求項 4 5 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 1】

ステップ (a) における前記免疫細胞が CD3⁺ 免疫細胞である、請求項 4 5 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 2】

ステップ (a) における前記免疫細胞が CD4⁺ 陽性免疫細胞である、請求項 4 5 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 3】

10

20

30

40

50

ステップ (a) における前記免疫細胞が F O X P 3 + 陽性免疫細胞である、請求項 4 5 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 4】

非小細胞肺がん (N S C L C) をデュルバルマブ、またはその抗原結合断片を投与することを含む治療に対する応答性を示すとして特徴づける方法であって、

(a) 腫瘍細胞を含む組織試料からの組織切片中の免疫細胞および P D - L 1 + 細胞を含む領域の面積を測定するステップと；

(b) 前記面積を前記 P D - L 1 + 細胞を含む面積に正規化するステップと、を含み、ここで閾値よりも大きい正規化された面積は、前記非小細胞肺がん (N S C L C) がデュルバルマブ療法を含む治療に対して応答性を示すことを示す、方法。

10

【請求項 5 5】

デュルバルマブ、またはその抗原結合断片を非小細胞肺がん (N S C L C) 患者に投与することを含む治療方法であって、ここで前記患者は、腫瘍細胞を含む前記患者の組織試料からの組織切片を特徴づけることにより同定され、ここで前記特徴づけは、

(a) 腫瘍細胞を含む組織試料からの組織切片中の免疫細胞および P D - L 1 + 細胞を含む領域の面積を測定するステップと；

(b) 前記面積を前記 P D - L 1 + 細胞を含む面積に正規化するステップと、を含み、ここで閾値よりも大きい正規化された面積により、前記患者がデュルバルマブ療法を含む治療に対する応答性を示すとして同定される、方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

配列表

本願は、A S C I I フォーマットで電子的に提出されている配列表を含み、本明細書でその全体が参照により援用される。2016年12月7日に作成された前記 A S C I I コピーは、B 7 H 1 - 4 5 5 - P C T _ S L . t x t という名称であり、サイズが 8 , 4 8 1 バイトである。

【背景技術】

【0002】

がんは、主要な地球規模での健康上の負担であり続けている。がんの治療が進歩しているにもかかわらず、より有効かつ低毒性な治療、特に既存の治療薬に対して耐性を示す進行性疾患またはがんを有する患者においては満たされない医学的必要性が存続している。

30

【0003】

腫瘍制御における免疫系、特に T 細胞媒介性細胞傷害性の役割は、十分に理解されている。がん患者においては、T 細胞が腫瘍成長および生存を疾患の初期および後期ステージの双方で制御するという証拠は増えつつある。しかし、がん患者において、腫瘍特異的 T 細胞応答は開始し、維持することが困難である。

【0004】

今日まで多大な関心が払われている 2 つの T 細胞経路は、細胞傷害性 T リンパ球抗原 - 4 (C T L A - 4、C D 1 5 2) およびプログラム死リガンド 1 (P D - L 1、B 7 - H 1 または C D 2 7 4 としても既知) を介してシグナル伝達する。

40

【0005】

C T L A 4 は、活性化 T 細胞で発現され、C D 2 8 媒介性 T 細胞活性化後、T 細胞応答を抑制するための共阻害剤 (c o - i n h i b i t o r) として機能する。C T L A 4 は、T C R の会合後、ナイーブおよびメモリ T 細胞の初期活性化の振幅を調節し、抗腫瘍免疫および自己免疫の双方に影響する中心的阻害経路の一部をなすと考えられる。C T L A 4 は、T 細胞で排他的に発現され、そのリガンドの C D 8 0 (B 7 . 1) および C D 8 6 (B 7 . 2) の発現は、主に抗原提示細胞、T 細胞、および他の免疫媒介性細胞に制限される。C T L A 4 シグナル伝達経路を遮断する拮抗性抗 C T L A 4 抗体は、T 細胞活性化を増強することが報告されている。かかる抗体の 1 つであるイピリムマブは、転移性メラ

50

ノーマの治療を目的として2011年に食品医薬品局(FDA)によって認可された。別の抗CTLA4抗体であるトレメリムマブは、進行性メラノーマの治療を目的として第II相試験で試験されたが、患者の全生存の増加は、当時の標準治療(テモゾロミドまたはダカルバジン)と比べて有意ではなかった。

【0006】

PD-L1はまた、T細胞活性化の制御に關与する受容体およびリガンドの複雑系の一部である。正常組織内では、PD-L1は、T細胞、B細胞、樹状細胞、マクロファージ、間葉幹細胞、骨髄由来肥満細胞、ならびに様々な非造血細胞で発現される。その正常な機能は、その2つの受容体であるプログラム死1(PD-1またはCD279としても既知)およびCD80(B7-1またはB7.1としても既知)との相互作用を介して、T細胞活性化および耐性の間での平衡を調節することである。PD-L1はまた、腫瘍によって発現され、複数の部位で作用し、宿主免疫系による検知および除去を腫瘍が回避することを助ける。PD-L1は、広範囲のがんにおいて高頻度で発現される。一部のがんでは、PD-L1の発現は、生存の低下および好ましくない予後に関連している。PD-L1とその受容体との相互作用を遮断する抗体は、インビトロでPD-L1依存性の免疫抑制効果を軽減し、抗腫瘍T細胞の細胞傷害性活性を増強することができる。デュルバルマブ(MEDI4736)は、ヒトPD-L1に特異的なヒトモノクローナル抗体であり、PD-L1のPD-1およびCD80受容体双方への結合を遮断することができる。

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

20

【0007】

肺がん患者の生存を改善することは、医学的治療法の改善にもかかわらず、困難なままである。肺がんを特徴づける方法は、患者を層別化し、それにより彼らを迅速に有効な治療法に導くために有用である。肺がんを有する対象の応答性を予測するための方法の改善は、肺がんを治療するための新たな組成物および方法として急務である。

【課題を解決するための手段】

【0008】

簡単な概要

一態様では、本発明は、免疫介在性がん治療薬(例えば、デュルバルマブ、トレメリムマブなどの1つ以上)を、腫瘍を有すると同定された患者(例えば、非小細胞肺がん(NSCLC)患者)に投与することを含む治療方法を提供し、ここで患者は、腫瘍細胞を含有する患者の組織試料からの組織切片を特徴づけることにより同定され、ここで組織切片は、2つ以上の検出可能な親和性試薬と接触され、ここで特徴づけは、(a)組織切片の、癌マーカー(例えばPD-L1)に特異的に結合する第1の親和性試薬を検出する第1の画像チャンネル内の第1の検出可能なシグナルを測定するステップと; (b)組織切片の、免疫細胞マーカー(例えば、CD8、CD3、FOXP3、およびCD4の1つ以上)に特異的に結合する第2の親和性試薬を検出する第2の画像チャンネル内の第2の検出可能なシグナルを測定するステップと; (c)腫瘍を特徴づけるため、第1の検出可能な親和性試薬からの検出可能なシグナルを有する組織切片の領域内の第2の画像チャンネル内の検出可能なシグナルの測定を用いるステップと、を含み、ここで第2の画像チャンネル内の測定により、患者(例えば、非小細胞肺がん(NSCLC)患者)は、免疫介在性がん治療薬(例えば、抗PD-L1または抗CTLA-4治療薬の1つ以上)を含む治療に対する応答性を示すとして同定される。

30

40

【0009】

別の態様では、本発明は、腫瘍(例えば、非小細胞肺がん(NSCLC))を、免疫介在性がん治療薬(例えば、デュルバルマブ、トレメリムマブなどの1つ以上)に対する応答性を示すとして特徴づける方法であって、(a)2つ以上の検出可能な親和性試薬と接触された、腫瘍細胞を含有する組織試料からの組織切片の、癌マーカー(例えばPD-L1)に特異的に結合する第1の親和性試薬を検出する第1の画像チャンネル内の第1の検出可能なシグナルを測定するステップと; (b)組織切片の、免疫細胞マーカー(例えば、

50

CD8、CD3、FOXP3、およびCD4の1つ以上)に特異的に結合する第2の親和性試薬を検出する第2の画像チャンネル内の第2の検出可能なシグナルを測定するステップと；(c)腫瘍(例えば非小細胞肺癌(NSCLC))を特徴づけるため、第1の検出可能な親和性試薬からの検出可能なシグナルを有する組織切片の領域内の第2の画像チャンネル内の検出可能なシグナルの測定を用いるステップと、を含み、ここで第2の画像チャンネル内の測定により、腫瘍が免疫介在性がん治療薬(例えば、抗PD-L1または抗CTLA-4治療薬の1つ以上)に対して応答性を示すことが示される、方法を提供する。

【0010】

別の態様では、本発明は、免疫介在性がん治療薬(例えば、デュルバルマブ、トレメリムマブなどの1つ以上)を、腫瘍を有する患者(例えば非小細胞肺癌(NSCLC)患者)に投与することを含む治療方法を提供し、ここで患者は、腫瘍細胞を含有する患者の組織試料からの組織切片を特徴づけることにより同定され、ここで特徴づけは、(a)腫瘍細胞を含有する組織試料からの第1の組織切片中のPD-L1⁺免疫細胞の密度を測定するステップと；(b)組織試料からの第2の切片中のタンパク質または遺伝子(例えばIFN γ)の発現レベルを測定するステップと；(c)ステップ(a)および(b)にて得られた測定値に基づくスコアを生成するステップと、を含み、ここで閾値よりも大きいスコアにより、患者(例えば非小細胞肺癌(NSCLC)患者)は、免疫介在性がん治療薬(例えば、抗PD-L1または抗CTLA-4治療薬の1つ以上)を含む治療に対する応答性を示すとして同定される。

10

【0011】

別の態様では、本発明は、腫瘍(例えば、非小細胞肺癌(NSCLC))を免疫介在性がん治療薬(例えば、デュルバルマブ、トレメリムマブなどの1つ以上)に対する応答性を示すとして特徴づける方法であって、(a)腫瘍細胞を含有する組織試料からの第1の組織切片中のPD-L1⁺免疫細胞の密度を測定するステップと；(b)組織試料からの第2の切片中のタンパク質または遺伝子(例えばIFN γ)の発現レベルを測定するステップと；(c)ステップ(a)および(b)にて得られた測定値に基づくスコアを生成するステップと、を含み、ここで閾値よりも大きいスコアは、腫瘍(例えば非小細胞肺癌(NSCLC))が免疫介在性がん治療薬(例えば、抗PD-L1または抗CTLA-4治療薬の1つ以上)に対して応答性を示すことを示す、方法を提供する。

20

【0012】

別の態様では、本発明は、免疫介在性がん治療薬(例えば、デュルバルマブ、トレメリムマブなどの1つ以上)を、腫瘍を有する患者(例えば、非小細胞肺癌(NSCLC)患者)に投与することを含む治療方法を提供し、ここで患者は、腫瘍細胞を含有する患者の組織試料からの組織切片を特徴づけることにより同定され、ここで特徴づけは、(a)腫瘍細胞を含有する組織試料からの組織切片中の免疫細胞およびPD-L1⁺細胞を含有する領域の面積を測定するステップと；(b)その面積をPD-L1⁺細胞を含有する面積に正規化するステップと、を含み、ここで閾値より大きい正規化された面積により、患者(例えば、非小細胞肺癌(NSCLC)患者)は、免疫介在性がん治療薬(例えば、抗PD-L1または抗CTLA-4治療薬の1つ以上)を含む治療に対する応答性を示すとして同定される。

30

40

【0013】

別の態様では、本発明は、腫瘍(例えば、非小細胞肺癌(NSCLC))を免疫介在性がん治療薬(例えば、デュルバルマブ、トレメリムマブなどの1つ以上)に対する応答性を示すとして特徴づける方法であって、(a)腫瘍細胞を含有する組織試料からの組織切片中の免疫細胞およびPD-L1⁺細胞を含有する領域の面積を測定するステップと；(b)その面積をPD-L1⁺細胞を含有する面積に正規化するステップと、を含み、ここで閾値より大きい正規化された面積は、腫瘍(例えば、非小細胞肺癌(NSCLC))が免疫介在性がん治療薬(例えば、抗PD-L1または抗CTLA-4治療薬の1つ以上)に対して応答性を示すことを示す、方法を提供する。

【0014】

50

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、組織試料は、がん患者に由来する。様々な実施形態では、第2の画像チャンネル内の測定は、患者が免疫介在性がん治療薬向けの治療に対して応答性を示すことを示す。

【0015】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ステップ(a)はデジタル画像の第1の画像チャンネルを生成することを含み、ここで第1の画像チャンネルのピクセル値は、組織切片中の陽性染色腫瘍細胞の局所密度を示す。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ステップ(b)は、デジタル画像の第2の画像チャンネルを生成することを含み、ここで第2の画像チャンネルのピクセル値は、組織切片中の陽性染色腫瘍細胞の局所密度を示す。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ステップ(c)は、デジタル画像中の領域を第1の画像チャンネルを用いて分割することを含む。様々な実施形態では、分割することにより、デジタル画像の総ピクセルが、第1の画像チャンネルにおけるピクセル値が所定の第1のチャンネルの閾値より大きいような領域に割り当てられる。

10

【0016】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ステップ(c)は、がん患者が免疫介在性がん治療薬に対する応答を有することを、分割された領域内の第2の画像チャンネルのピクセル値の統計学的特性を用いることにより予測することをさらに含む。様々な実施形態では、統計学的特性は、第2の画像チャンネル内のピクセル値が所定の第2のチャンネルの閾値よりも大きいような領域内のピクセルの相対数である。

20

【0017】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ピクセル値は、細長い免疫細胞を特定する。様々な実施形態では、細長い免疫細胞は、細胞の境界ボックスの長さ対幅比により評価される。特定の実施形態では、細長い免疫細胞は、約2.3より大きい長さ対幅比および0.0000098mm未満の幅を有する。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、腫瘍細胞の近隣における免疫細胞のピクセル値が測定される。

【0018】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、分割することにより、2つの部分領域からなる領域が生成され、ここで第1の部分領域は、第1および第2の画像チャンネル内の共局在化されたピクセルを含み、第2の部分領域は、第1の閾値より大きい第1の画像チャンネル内のピクセル値を有するピクセルまたは第2の閾値より大きい第2の画像チャンネル内のピクセル値を有するピクセルの1つ以上を含み、また第2の部分領域内のピクセル値は、第1の部分領域のピクセル値を正規化するため、用いられる。様々な実施形態では、閾値は、所定の閾値または参照値である。様々な実施形態では、正規化は、第1の部分領域のピクセル値の和を第2の部分領域のピクセル値で除することによってなされる。

30

【0019】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、検出可能な親和性試薬の1つ以上は、抗体および検出可能なレポーターを含む。様々な実施形態では、第1の親和性試薬は、PD-L1に特異的に結合する抗体を含む。様々な実施形態では、第2の親和性試薬は、CD8、CD3、FOXP3、および抗CD4からなる群から選択される免疫細胞マーカーに特異的に結合する抗体を含む。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、検出可能なレポーターは、蛍光レポーターである。様々な実施形態では、第1および第2の検出可能な親和性試薬は、異なる放射波長を有する蛍光レポーターを含む。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、組織切片中の腫瘍細胞は、参照と比べて量が減少したタンパク質により同定される。様々な実施形態では、タンパク質は、MHC複合体である。

40

【0020】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、検出可能な親和性試薬の1つ以上は、核酸プローブを含む。様々な実施形態では、第1および第2の検出可能な親和性

50

試薬は、オリゴヌクレオチドプローブである。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、組織切片を1つ以上の検出可能な親和性試薬と接触させることは、インサイチュハイブリダイゼーションを含む。様々な実施形態では、オリゴヌクレオチドプローブは、第1のRNAおよび第2のRNAを検出する。特定の実施形態では、陽性細胞は、参照と比べて量が増加したRNAにより同定される。

【0021】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、本方法は、2つ以上の検出可能な親和性試薬と接触された組織切片に隣接した組織切片内部で測定された遺伝子発現値の使用を含む。様々な実施形態では、IFNの遺伝子発現が測定される。

【0022】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、タンパク質のレベルは、ステップ(a)における細胞の密度を示す。様々な実施形態では、タンパク質は、抗CD8、抗CD3、抗FOXP3、および抗CD4からなる群から選択される抗体で検出される。

【0023】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、細長い免疫細胞のみが測定される。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、腫瘍細胞近辺の免疫細胞のみが測定される。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、IFNの遺伝子発現は、ステップ(b)で測定される。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ステップ(a)および(b)における測定は、同じ組織切片に対して実施される。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ステップ(a)における測定は、抗PD-L1および抗CD8での二重免疫組織化学染色を含む。

【0024】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、本方法は、第1の組織切片に隣接した第2の組織切片中での遺伝子発現を測定することをさらに含み、ここで遺伝子は、腫瘍細胞-免疫細胞相互作用に関連する。様々な実施形態では、IFNの遺伝子発現が測定される。

【0025】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ステップ(a)における免疫細胞は、CD8⁺免疫細胞である。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ステップ(a)における免疫細胞は、細長いCD8⁺免疫細胞である。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ステップ(a)における免疫細胞は、CD3⁺免疫細胞である。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ステップ(a)における免疫細胞は、CD4⁺陽性免疫細胞である。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、ステップ(a)における免疫細胞は、FOXP3⁺陽性免疫細胞である。

【0026】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、デュルバルマブ(MEDI4736)またはその抗原結合断片が、約1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、または20mg/kgの用量で、PD-L1⁻またはPD-L1⁺NSCLCを有すると同定された患者に投与される。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、トレメリムマブまたはその抗原結合断片が、約1mg/kg、3mg/kg、10mg/kgの用量で、PD-L1⁻またはPD-L1⁺NSCLCを有すると同定された患者に投与される。特定の実施形態では、デュルバルマブは20mg/kgで投与され、トレメリムマブは1mg/kgで投与される。特定の実施形態では、デュルバルマブは20mg/kgで4週毎に投与され、トレメリムマブは1mg/kgで投与される。

【0027】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、デュルバルマブは、4週毎に投与される。本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、デュルバルマブは、2週毎に投与される。

10

20

30

40

50

【0028】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、デュルバルマブ、またはその抗原結合断片、およびトレメリムマブ、またはその抗原結合断片は、同時に投与される。一部の実施形態では、デュルバルマブ、またはその抗原結合断片は、静脈内注射により投与される。他の実施形態では、トレメリムマブ、またはその抗原結合断片は、静脈内注射により投与される。

【0029】

本明細書で詳述される任意の態様の様々な実施形態では、投与の結果、デュルバルマブ、またはその抗原結合断片の単独投与と比べて、腫瘍応答が増強されるか、腫瘍サイズが減少するか、または目標応答速度が増加する。特定の実施形態では、投与により、腫瘍サイズが、ベースラインに対して、少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、90%またはそれ以上、例えば最大100%減少する。

10

【0030】

本特許または出願ファイルは、カラーで実行される少なくとも1つの図面を含む。カラー図面付きのこの特許または特許出願公開のコピーは、要求時および必要な料金の支払い時、特許庁によって提供される。

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図1】PD-L1の状態に基づく応答速度を表すグラフである。理論に拘束されない限り、PD-L1の状態単独に応じた層別化は、適中率および正確度に関する要求を満たすのに十分でない場合がある。

20

【図2】組織切片の画像分析（右パネル）を用いてのヒートマップ（左パネル）の作成を表す。

【図3】PD-L1およびCD8の細胞密度間の関係を表すグラフである。観察される最大に注意されたい。

【図4】PD-L1-CD8の関係を説明するために作成されたモデルであり、T細胞集団と腫瘍との相互作用についての単純な数値シミュレーションモデルが実行された。実行された主な機構は、腫瘍へのT細胞のフロー、T細胞によるインターフェロン（IFN）の産生と、その後のT細胞を殺滅するかまたはそれらの増殖を少なくとも低減する、腫瘍細胞によるPD-L1応答である。

30

【図5A-5C】患者応答に関する患者組織試料における測定値を選択するための例示的なプロトコルを表す。図5Aは、特定の陽性適中率（PPV）および陰性適中率（NPV）カットオフを有する決定木の選択を示すグラフ表示である。この特定例では、選択される決定木は、「病理学者のPD-L1腫瘍細胞膜スコアを用いて、 $3 \times M1 + 2 \times M2 + 1 \times M3$ と定義されるDef_Score_Simple」である。図5Bは、選択された決定木における患者応答を示す Kaplan-Meier プロットである。図5Cは、選択されたモデルの安定性を検証または評価するための一連のプロットである。

【図6A-6C】最適化された評価測定を伴うモデルを示す。図6Aは、最適なP値：「腫瘍コア（TC）内のCD8⁺細長いリンパ球（elongated lymphocytes）の密度およびTC内のPD-L1⁺浸潤リンパ球の密度の最小 $> 2.41 / \text{mm}^2$ 」を伴うモデルを示す Kaplan-Meier プロットである。図6Bは、CD8⁺細長いリンパ球またはPD-L1⁺浸潤リンパ球での層別化を示すグラフである。両密度（TC内のCD8⁺細長いリンパ球またはPD-L1⁺浸潤リンパ球）の少なくとも一方が高い（ $> 2.41 / \text{mm}^2$ ）場合、デュルバルマブ療法は有効である可能性が高い。図6Cは、応答者の最適な真陽性率（TPR）を伴うモデル「注釈付き領域（AA）内のPD-L1⁺浸潤リンパ球の密度 $> 2.41 / \text{mm}^2$ 」を示す Kaplan-Meier プロットである。

40

【図7A-7D】最適化された評価特徴量が最適化されたM-スコアおよびH-スコア3より上位であったことを示す。図7Aは、本試験からの読み取りを用いて模倣および最適

50

化された、病理学者によって用いられる層別子 (stratifier) M - スコアを示す Kaplan - Meier プロットである (PD - L1⁺ 対 PD - L1⁻)。図 7 B は、本試験からの読み取りを用いて模倣および最適化された層別子 H - スコア 3 を示す Kaplan - Meier プロットである。図 7 C は、M - スコア読み取り (x) と M - スコア病理学者 (y) とを比較するプロットである。M - スコア読み取りおよび M - スコア病理学者は、強力な一貫性を示した (スピアマン順位相関係数 = 0.83)。図 7 D は、H - スコア 3 読み取り (x) と H - スコア 3 病理学者 (y) とを比較するプロットである。H - スコア 3 読み取りおよび H - スコア 3 病理学者は、強力な一貫性を示した (スピアマン順位相関係数 = 0.85)。

【図 8 A - 8 C】免疫介在性がん治療薬に対する患者応答を示す測定のモデルの分析を示す。図 8 A は、モデル「細長い CD8⁺ 細胞または PD - L1⁺ 浸潤細胞の最小 > 2.41 / mm²」における Kaplan - Meier プロットである。図 8 B は、モデル「IFN > - 11.8 または TC 内の全 CD8⁺ 細胞 > 318.7 / mm²」における Kaplan - Meier プロットである。図 8 C は、モデル「IFN > - 12.2 または TC 内の CD8⁺ 細長い細胞 > 13 / mm²」における Kaplan - Meier プロットである。

【図 9】「Battle field 2 計算」測定値を判定する仕方を示す模式図を示す。

【図 10 A - 10 B】PD - L1 - high 群と PD - L1 - low 群との間の遺伝子発現における差異を示す。特に、これら 2 群間の遺伝子発現における差異は、免疫経路に關与する遺伝子において特に強化された。図 10 A は、モンテカルロシミュレーション群から有意に異なって発現された遺伝子の数を示すプロットである。図 10 B は、PD - L1 - high と PD - L1 - low との間で異なって発現されている遺伝子の発現値の例示的分布を示すプロットである。

【図 11 A - 11 B】全コホートおよび PD - L1 - high 群の有意な遺伝子発現のスピアマン相関係数および対応する遺伝子発現値 (IHC 染色 PD - L1⁺ 腫瘍細胞によって導かれた PD - L1 TuCETC を除く) を示す chord ダイアグラムを示す。80 の免疫関連遺伝子セットにおける発現値間で有意な相関 (絶対スピアマン順位相関係数 > 0.7 および P 値 < 0.05) が認められた。図 11 A は、全コホートにおける chord ダイアグラム可視化である。図 11 B は、PD - L1 - high における chord ダイアグラム可視化である。

【発明を実施するための形態】

【0032】

用語「a」または「an」の実体は、その実体の 1 つ以上を指すことは認められるべきであり、例えば「抗体 (an antibody)」は、1 つ以上の抗体を表すように理解される。このように、用語「a」(または「an」)、「1 つ以上 (one or more)」、および「少なくとも 1 つ (at least one)」は、本明細書中で交換可能に用いられ得る。

【0033】

本明細書に提供されるのは、非小細胞肺癌 (NSCLC) を含むがんを、免疫介在性がん治療薬 (例えば、デュルバルマブまたはデュルバルマブおよびトレメリムマブ) を用いて治療し、かつがんまたは腫瘍を 1 つ以上の免疫介在性がん治療薬を用いる治療に対する応答性を示すとして同定するための方法である。本明細書に記載の通り、がんが、がん患者からの腫瘍試料の組織切片の分析、例えば組織切片の画像分析 (例えば免疫組織化学染色) や遺伝子発現分析を用いて特徴づけられ得ることが見出されている。イメージング分析から得られる様々な測定値のモデリングにより、どの患者が免疫介在性がん治療薬 (例えば、デュルバルマブまたはデュルバルマブおよびトレメリムマブ) に応答する可能性を有するかが示された。特に、進行性 NSCLC 患者におけるデュルバルマブ療法に対して予測的な測定値は、CD8⁺ 細長いリンパ球の密度 (1 / mm²) (例えば、2.3 を超える長さ対幅比および 0.0000098 mm より小さい幅); CD8⁺ 細胞の密度 (1 / mm²); PD - L1⁺ リンパ球浸潤腫瘍領域 (腫瘍細胞の集団) の密度 (1 / mm

10

20

30

40

50

²) ; P D - L 1 + 腫瘍細胞の密度 (1 / m m ²) ; 「 B a t t l e f i e l d 2 」 と称される、 C D 8 + リンパ球および P D - L 1 + 腫瘍細胞の共局在スコア (図 9 を参照) ; I F N 遺伝子発現値 ; およびそれらの組み合わせを含んだ。本発明は、少なくとも一部にはこれらの発見に基づく。提供される方法は、有効量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片を単独でまたは別の免疫介在性がん治療薬 (例えばトレメリムマブ) と組み合わせ投与し、がん患者からの腫瘍試料の組織切片の画像分析から得られる測定値の 1 つ以上に応じて特徴づけられるがんを治療することを含む。本明細書で用いられるとき、用語「治療する (t r e a t) 」、「治療する (t r e a t i n g) 」、「治療」などは、それに関連した障害および / または症状を低減または寛解することを指す。不可能でないにせよ、障害または状態の治療が、それに関連した障害、状態または症状が完全に除去されることを要求しないことは理解されるであろう。

10

【 0 0 3 4 】

N S C L C には、扁平上皮がん、腺がん、および大細胞 (未分化) がんとという 3 つの主なサブタイプがある。他のサブタイプは、腺扁平上皮がんおよび肉腫様癌を含む。N S C L C は、K R A S または上皮成長因子受容体に突然変異を含み得る。かかる突然変異は、当該技術分野で公知であり、例えば、R i e l y e t a l . , P r o c A m T h o r a c S o c . 2 0 0 9 A p r 1 5 ; 6 (2) : 2 0 1 - 5 (参照により本明細書中に援用される) によって記載されている。

【 0 0 3 5 】

プログラム細胞死 - 1 / プログラム細胞死リガンド - 1 (P D - 1 / P D - L 1) 経路および細胞傷害性 T リンパ球関連抗原 4 (C T L A - 4) 経路ブロックの組み合わせは 2 つの区画を標的にする、すなわち、抗 P D - L 1 / 抗 P D - 1 は、腫瘍微小環境内で作用し、T 細胞機能の障害を遮断する一方で、抗 C T L A - 4 は、リンパ系区画内で作用し、腫瘍反応性 T 細胞の数およびレパートリーを拡大する (G a j e w s k i e t a l . N a t I m m u n o l 2 0 1 3 ; 1 4 : 1 0 1 4 - 2 2 ; K v i s t b o r g e t a l . S c i T r a n s l M e d 2 0 1 4 ; 6 : 2 5 4 r a 1 2 8) 。メラノーマに対するニボルマブ (3 週毎に 1 m g / k g) + イピリムマブ (3 週毎に 3 m g / k g) の試験では、P D - L 1 陽性 (P D - L 1 +) および P D - L 1 陰性 (P D - L 1 -) 双方の腫瘍において、組み合わせによる進行のない生存は、いずれかの薬剤単独による場合に匹敵するかまたはそれより大きい (L a r k i n e t a l . N E n g l J M e d 2 0 1 5 ; 3 7 3 : 2 3 - 3 4) 。しかし、組み合わせの場合、いずれかの薬剤単独を受ける場合と比べてより高い百分率の患者が、治療に関連したグレード 3 / 4 の有害事象 (A E) を経験した。さらに、同じ用量およびスケジュールが、N S C L C では耐容性があるように思われず (A n t o n i a e t a l . J C l i n O n c o l 2 0 1 4 ; 3 2 : S u p p l : 8 0 2 3 . a b s t r a c t) 、臨床活性を維持しながら、組み合わせレジメンの毒性を最小化するためのこの集団における至適用量選択の必要性が強調された。

20

30

【 0 0 3 6 】

デュルバルマブ (M E D I 4 7 3 6) は、P D - L 1 の P D - 1 および C D 8 0 への結合をブロックするが (A n t o n i a e t a l . J C l i n O n c o l 2 0 1 4 ; 3 2 : S u p p l : 8 0 2 3 . a b s t r a c t) 、プログラム細胞死リガンド 2 (P D - L 2) に結合しないことで、感受性動物モデルにて認められる P D - L 2 ブロックに起因する潜在的な免疫関連毒性を回避する (M a t s u m o t o e t a l . , B i o c h e m B i o p h y s R e s C o m m u n 2 0 0 8 ; 3 6 5 : 1 7 0 - 5 ; M a t s u m o t o e t a l . , J I m m u n o l 2 0 0 4 ; 1 7 2 : 2 5 3 0 - 4 1) 、選択的な高親和性ヒト I g G 1 モノクローナル抗体 (m A b) である。進行中の第 1 / 2 相試験では、デュルバルマブ単独療法は、管理しやすい耐容性特性を伴う、進行性 N S C L C を有する患者において耐久性応答をもたらしており、2 週毎 (q 2 w) の 1 0 m g / k g のデュルバルマブによる確認された / 未確認の客観的奏効率 (O R R) が、P D - L 1 + 患者において 2 7 % 、 P D - L 1 - 患者において 5 % であった (R i z v

40

50

i et al. J Clin Oncol 2015; 33: Suppl: 8032. abstract)。その試験では、用量漸増相中に最大耐容量 (MTD) に達することがなく、用量拡大コホートが 10 mg/kg の用量 (q2w) を用いて開始された。トレメリムマブ (CP-675, 206) は、CTLA-4 の選択的ヒト IgG2 mAb 阻害剤であり (Ribas et al. J Clin Oncol 2005; 23: 8968-77); それは CTLA-4 阻害を通じて T 細胞活性を促進するが、制御性 T 細胞を直接的に枯渇させるように思われぬ (Tarhini. Immunotherapy 2013; 5: 215-29)。デュルバルマブとトレメリムマブとの組み合わせは、強力な前臨床データに基づき、それは 2 つの経路が非重複性であることを示し、それは双方を標的化することが相加的または相乗的効果を有し得ることを示唆する (Stewart et al. J Immunol 2013; 190: Suppl: 214.7)。第 1 b 相試験の用量漸増部分の結果は、本明細書に記載され、それは進行性 NSCLC を有する患者におけるこの組み合わせの耐容性および抗腫瘍活性を PD-L1 の発現状態にかかわらず評価している。

10

【0037】

「デュルバルマブ」(「MEDI4736」とも呼ばれる) は、PD-L1 ポリペプチドに選択的に結合し、かつ配列番号 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域の少なくとも一部および/または配列番号 2 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域の少なくとも一部を含む抗体またはその抗原結合断片を意味する。

20

【0038】

本明細書に提供される方法において用いられるデュルバルマブ(またはその抗原結合断片)に関する情報は、米国特許第 8, 779, 108 号明細書(その開示はその全体が参照により本明細書中に援用される)中に見出され得る。デュルバルマブの結晶化可能断片(Fc)ドメインは、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害性(ADCC)の媒介に参与する補体成分 C1q および Fc 受容体への結合を低下させる IgG1 重鎖の定常ドメイン内に三重突然変異を有する。デュルバルマブは、PD-L1 に対して選択的であり、PD-L1 の PD-1 および CD80 受容体への結合を遮断する。デュルバルマブは、インビトロでヒト T 細胞活性化の PD-L1 媒介性抑制を軽減することができ、T 細胞依存性機構を介して異種移植片モデルでの腫瘍成長を阻害する。

30

【0039】

本明細書に提供される方法において用いられるデュルバルマブは、重鎖および軽鎖または重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。具体的な態様では、本明細書に提供される方法において用いられるデュルバルマブまたはその抗原結合断片は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域および配列番号 2 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。具体的な態様では、本明細書に提供される方法において用いられるデュルバルマブまたはその抗原結合断片は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域は配列番号 3 ~ 5 の Kabat 定義の CDR1、CDR2、および CDR3 配列を含み、またここで軽鎖可変領域は配列番号 6 ~ 8 の Kabat 定義の CDR1、CDR2、および CDR3 配列を含む。当業者であれば、当業者に公知の Chothia-定義、Abm-定義または他の CDR 定義を容易に同定できることになる。具体的な態様では、本明細書に提供される方法において用いられるデュルバルマブまたはその抗原結合断片は、米国特許第 8, 779, 108 号明細書(その全体が参照により本明細書に援用される)に開示される通りの 2.14H9OPT 抗体の可変重鎖 CDR 配列および可変軽鎖 CDR 配列を含む。

40

【0040】

「トレメリムマブ」は、CTLA4 ポリペプチドに選択的に結合し、かつ配列番号 9 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域の少なくとも一部および/または配列番号 10 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域の少なくとも一部を含む抗体またはその抗原結合断片を意味する。代表的な抗 CTLA4 抗体は、例えば、米国特許第 6, 682, 736 号明細書; 米国特許第 7, 109, 003 号明細書; 米国特許第 7, 123, 281 号明細書; 米国特

50

許第7, 411, 057号明細書; 米国特許第7, 824, 679号明細書; 米国特許第8, 143, 379号明細書; 米国特許第7, 807, 797号明細書; および米国特許第8, 491, 895号明細書(トレメリムマブはその中の11.2.1である)(参照により本明細書に援用される)に記載されている。トレメリムマブは、代表的な抗CTLA4抗体である。トレメリムマブ配列は下の配列表中に提供される。

【0041】

本明細書に提供される方法において用いられるトレメリムマブ(またはその抗原結合断片)に関する情報は、米国特許第6, 682, 736号明細書中に見出され得(ここでそれは11.2.1と称される)、その開示はその全体が参照により本明細書中に援用される。トレメリムマブ(CP-675、206、CP-675、CP-675206、およびチシリムマブとしても公知)は、CTLA4に対して高度に選択的であり、かつCTLA4のCD80(B7.1)およびCD86(B7.2)への結合を遮断するヒトIgG₂モノクローナル抗体である。トレメリムマブはインビトロでの免疫活性化をもたらすことが示されており、またトレメリムマブで治療された一部の患者が腫瘍退縮を示している。

10

【0042】

本明細書に提供される方法において用いられるトレメリムマブおよびその抗原結合断片は、重鎖および軽鎖または重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。具体的な態様では、本明細書に提供される方法において用いられるトレメリムマブまたはその抗原結合断片は、配列番号9のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域および配列番号10のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。具体的な態様では、本明細書に提供される方法において用いられるトレメリムマブまたはその抗原結合断片は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、ここで重鎖可変領域は配列番号11~13のKabatt定義のCDR1、CDR2、およびCDR3配列を含み、また軽鎖可変領域は配列番号14~16のKabatt定義のCDR1、CDR2、およびCDR3配列を含む。当業者であれば、当業者に公知のChothia-定義、Abm-定義または他のCDR定義を容易に同定できることになる。具体的な態様では、本明細書に提供される方法において用いられるトレメリムマブまたはその抗原結合断片は、米国特許第6, 682, 736号明細書(その全体が参照により本明細書に援用される)に開示される、11.2.1抗体の可変重鎖CDR配列および可変軽鎖CDR配列を含む。

20

30

【0043】

用語「抗原結合断片」はインタクトな抗体の一部を指し、および/またはインタクトな抗体の抗原決定可変領域を指す。抗体の抗原結合機能が完全長抗体の断片によって果たされ得ることは公知である。抗体断片の例として、限定はされないが、Fab、Fab'、F(ab')₂、およびFv断片、直鎖抗体、一本鎖抗体、二重特異性抗体、および抗体断片から形成される多特異性抗体が挙げられる。

【0044】

特定の態様では、NSCLCを呈する患者に、デュルバルマブまたはその抗原結合断片およびトレメリムマブまたはその抗原結合断片が投与される。デュルバルマブまたはその抗原結合断片およびトレメリムマブまたはその抗原結合断片は、患者に依然として利益をもたらす間、1回限りまたは低頻度に投与され得る。さらなる態様では、患者は追加的な継続用量での投与を受ける。継続用量は、患者の年齢、体重、臨床評価、腫瘍量、および/または主治医の判断を含む他の要素に応じて、様々な時間間隔で投与され得る。

40

【0045】

デュルバルマブまたはその抗原結合断片の投与間隔は4週毎であり得る。トレメリムマブまたはその抗原結合断片の投与間隔は4週毎であり得る。トレメリムマブまたはその抗原結合断片の投与間隔は12週毎であり得る。トレメリムマブまたはその抗原結合断片の投与間隔は6サイクルに対して4週毎、次いで12週毎であり得る。

【0046】

特定の態様では、デュルバルマブまたはその抗原結合断片は、トレメリムマブまたはそ

50

の抗原結合断片とほぼ同じ頻度で投与される。特定の態様では、デュルバルマブまたはその抗原結合断片は、トレメリムマブまたはその抗原結合断片の約3倍の頻度で投与される。

【0047】

一部の実施形態では、少なくとも2用量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片およびトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。一部の実施形態では、少なくとも3用量、少なくとも4用量、少なくとも5用量、少なくとも6用量、少なくとも7用量、少なくとも8用量、少なくとも9用量、少なくとも10用量、または少なくとも15回以上の用量が患者に投与され得る。一部の実施形態では、デュルバルマブまたはその抗原結合断片は、4週間の治療期間にわたり、8週間の治療期間にわたり、16週間の治療期間にわたり、20週間の治療期間にわたり、24週間の治療期間にわたり、または1年以上の治療期間にわたり投与される。一部の実施形態では、トレメリムマブまたはその抗原結合断片は、4週間の治療期間にわたり、8週間の治療期間にわたり、12週間の治療期間にわたり、16週間の治療期間にわたり、20週間の治療期間にわたり、24週間の治療期間にわたり、36週間の治療期間にわたり、48週間の治療期間にわたり、または1年以上の治療期間にわたり投与される。

10

【0048】

一部の実施形態では、デュルバルマブまたはその抗原結合断片およびトレメリムマブまたはその抗原結合断片は、同じ日に投与される。一部の実施形態では、デュルバルマブまたはその抗原結合断片は、トレメリムマブまたはその抗原結合断片と同時に投与される。他の実施形態では、デュルバルマブまたはその抗原結合断片は、トレメリムマブまたはその抗原結合断片の投与から約1時間後に投与される。

20

【0049】

患者に投与されるべきデュルバルマブまたはその抗原結合断片の量およびトレメリムマブまたはその抗原結合断片の量は、患者の年齢、体重、臨床的評価、腫瘍組織量および/または主治医の判断を含む他の要素などの様々なパラメータに依存することになる。

【0050】

特定の態様では、患者は、デュルバルマブまたはその抗原結合断片が1つ以上の用量で投与され、ここで用量は約1 mg / kgである。特定の態様では、患者は、デュルバルマブまたはその抗原結合断片が1つ以上の用量で投与され、ここで用量は約3 mg / kgである。特定の態様では、患者は、デュルバルマブまたはその抗原結合断片が1つ以上の用量で投与され、ここで用量は約10 mg / kgである。特定の態様では、患者は、デュルバルマブまたはその抗原結合断片が1つ以上の用量で投与され、ここで用量は約15 mg / kgである。特定の態様では、患者は、デュルバルマブまたはその抗原結合断片が1つ以上の用量で投与され、ここで用量は約20 mg / kgである。

30

【0051】

特定の態様では、患者は、デュルバルマブまたはその抗原結合断片が少なくとも2用量で投与され、ここで用量は約1 mg / kgである。特定の態様では、患者は、デュルバルマブまたはその抗原結合断片が少なくとも2用量で投与され、ここで用量は約3 mg / kgである。特定の態様では、患者は、デュルバルマブまたはその抗原結合断片が少なくとも2用量で投与され、ここで用量は約10 mg / kgである。特定の態様では、患者は、デュルバルマブまたはその抗原結合断片が少なくとも2用量で投与され、ここで用量は約15 mg / kgである。特定の態様では、患者は、デュルバルマブまたはその抗原結合断片が少なくとも2用量で投与され、ここで用量は約20 mg / kgである。一部の実施形態では、少なくとも2用量は、約4週離れて投与される。

40

【0052】

特定の態様では、患者には、少なくとも3用量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約1 mg / kgである。特定の態様では、患者には、少なくとも3用量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約3 mg / kgである。特定の態様では、患者には、少なくとも3用量のデュルバルマブまたはそ

50

の抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 10 mg / kg である。特定の態様では、患者には、少なくとも 3 用量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 15 mg / kg である。特定の態様では、患者には、少なくとも 3 用量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 20 mg / kg である。一部の実施形態では、少なくとも 3 用量は約 4 週毎に投与される。

【0053】

特定の態様では、患者には、1 用量以上のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 1 mg / kg である。特定の態様では、患者には、1 用量以上のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 3 mg / kg である。特定の態様では、患者には、1 用量以上のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 10 mg / kg である。

10

【0054】

特定の態様では、患者には、少なくとも 2 用量のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 1 mg / kg である。特定の態様では、患者には、少なくとも 2 用量のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 3 mg / kg である。特定の態様では、患者には、少なくとも 2 用量のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 10 mg / kg である。一部の実施形態では、少なくとも 2 用量は約 4 週毎に投与される。一部の実施形態では、少なくとも 2 用量は約 12 週毎に投与される。

【0055】

特定の態様では、患者には、少なくとも 3 用量のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 1 mg / kg である。特定の態様では、患者には、少なくとも 3 用量のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 3 mg / kg である。特定の態様では、患者には、少なくとも 3 用量のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が投与され、ここで用量は約 10 mg / kg である。一部の実施形態では、少なくとも 3 用量は約 4 週毎に投与される。一部の実施形態では、少なくとも 3 用量は約 12 週毎に投与される。

20

【0056】

特定の態様では、本明細書に提供される方法に従うデュルバルマブもしくはその抗原結合断片および / またはトレメリムマブもしくは抗原結合断片の投与は、非経口投与を介する。例えば、デュルバルマブもしくはその抗原結合断片および / またはトレメリムマブもしくは抗原結合断片は、静脈内注入または皮下注射により投与され得る。一部の実施形態では、投与は静脈内注入によるものである。

30

【0057】

特定の態様では、1 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および 1 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。特定の態様では、1 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および 3 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。特定の態様では、1 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および 10 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。

40

【0058】

特定の態様では、3 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および 1 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。特定の態様では、3 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および 3 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。特定の態様では、3 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および 10 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。

【0059】

特定の態様では、10 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および 1 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。特定の態様では

50

、10 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および3 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。特定の態様では、10 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および10 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。

【0060】

特定の態様では、15 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および1 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。特定の態様では、15 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および3 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。特定の態様では、15 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および10 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。

10

【0061】

特定の態様では、20 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および1 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。特定の態様では、20 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および3 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。特定の態様では、20 mg / kg のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および10 mg / kg のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が患者に投与される。

【0062】

本明細書に提供される方法は、腫瘍成長を低減、遅延または安定化させ得る。一部の態様では、低減または遅延は、統計学的に有意であり得る。腫瘍成長における低減は、ベースラインでの患者の腫瘍の成長の、予想される腫瘍成長に対する、大患者集団に基づく予想される腫瘍成長に対する、または対照集団の腫瘍成長に対する比較により、評価され得る。特定の態様では、腫瘍応答は、デュルバルマブまたはデュルバルマブおよびトレメリムマブの投与後、検出可能である。特定の態様では、腫瘍応答は、固形癌効果判定基準 (RECIST) を用いて評価される。

20

【0063】

特定の態様では、(抗腫瘍活性に関する)「客観的奏効」は、確認された完全または部分奏効 (CR または PR) と定義される。特定の態様では、24 週目の「疾病管理」は、CR、PR、または安定疾患 (SD) の 24 週の持続時間と定義される。24 週目の客観的奏効率 (ORR) および疾病管理率 (DCR) が評価され、95% 信頼区間 (CI) が正確な二項分布を用いて算出される。

30

【0064】

特定の態様では、患者は、疾病管理 (DC) を達成する。疾病管理は、完全奏効 (CR)、部分奏効 (PR)、または安定疾患 (SD) であり得る。

【0065】

「完全奏効」(CR)、「部分奏効」(PR)、および「安定疾患」(SD)は、下の表1に定義されるように判定され得る。

【0066】

【表 1】

表 1:全奏効の評価

標的病変	非標的病変	新しい病変	全奏効
完全奏効	完全奏効	無	完全奏効
標的病変なし ^a	完全奏効	無	完全奏効
完全奏効	評価不能 ^b	無	部分奏効
完全奏効	不完全奏効/ 非進行性疾患	無	部分奏効
部分奏効	非進行性疾患および 評価不能 ^b	無	部分奏効
安定疾患	非進行性疾患および 評価不能 ^b	無	安定疾患
評価の欠損あり	非進行性疾患	無	評価不能
標的病変なし ^a	評価の欠損あり	無	評価不能
標的病変なし ^a	不完全奏効/ 非進行性疾患	無	不完全奏効/ 非進行性疾患
進行性疾患	任意	有または無	進行性疾患
任意	進行性疾患	有または無	進行性疾患
任意	任意	有	進行性疾患
標的病変なし ^a	明らかな進行性疾患	有または無	進行性疾患
標的病変なし ^a	任意	有	進行性疾患

^a ベースラインで標的病変なしと定義される。

^b 評価不能は、病変測定値サブセットが評価時に作成されない時またはわずかに作成される時のいずれかとして定義される。

【0067】

特定の態様では、デュルバルマブまたはその抗原結合断片の投与により、進行のない生存（PFS）が増加し得る。

【0068】

特定の態様では、デュルバルマブまたはその抗原結合断片の投与により、全生存（OS）が増加し得る。

【0069】

一部の実施形態では、患者は、少なくとも1つの化学療法剤を用いる治療を予め受けている。一部の実施形態では、患者は、少なくとも2つの化学療法剤を用いる治療を予め受けている。化学療法剤として、例えば限定はされないが、ベムラフェニブ、エルロチニブ、アフアチニブ、セツキシマブ、カルボプラチン、ペバシズマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、および/またはペメトレキセドであり得る。

10

20

30

40

50

【0070】

一部の実施形態では、NSCLCは、少なくとも1つの化学療法剤に対して難治性または耐性を示す。一部の実施形態では、同腫瘍は、少なくとも2つの化学療法剤に対して難治性または耐性を示す。同腫瘍は、例えば限定はされないが、ベムラフェニブ、エルロチニブ、アファチニブ、セツキシマブ、カルボプラチン、ペバシズマブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、および/またはペメトレキセドのうちの一つ以上に対して難治性または耐性を示し得る。一部の実施形態では、NSCLCはPD-L1に対して陰性である。一部の実施形態では、NSCLCはPD-L1に対して陽性である。

【0071】

一部の実施形態では、患者は、デュルバルマブまたはその抗原結合断片およびトレメリムマブまたはその抗原結合断片の投与前に、米国東海岸がん臨床試験グループ(Eastern Cooperative Oncology Group)(ECOG)(Oken MM, et al. Am. J. Clin. Oncol. 5: 649-55 (1982))の0または1のパフォーマンスステータスを有する。

10

【0072】

本明細書に提供される方法によると、デュルバルマブまたはその抗原結合断片およびトレメリムマブまたはその抗原結合断片の投与により、一部の初期データ中に示されるような望ましい薬物動態学的パラメータが得られ得る。総薬物暴露は、「曲線下面積」(AUC)を用いて評価され得る。「AUC()」は時刻0から時刻 までの投与間隔のAUCを指す一方、「AUC(inf)」は無限時間までのAUCを指す。投与により、AUC()が約600~約3,000 $\mu\text{g}/\text{mL} \cdot \text{日}$ のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および約250~約350 $\mu\text{g}/\text{mL} \cdot \text{日}$ のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が得られ得る。投与により、最高観測濃度(C_{max})が約60~約300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および約25~約35 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が得られ得る。投与により、 C_{trough} (最低血漿薬物濃度)が約5~約40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のデュルバルマブまたはその抗原結合断片および約4~約6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のトレメリムマブまたはその抗原結合断片が得られ得る。

20

【0073】

本明細書に提供される通り、デュルバルマブまたはその抗原結合断片はまた、遊離(可溶性)PD-L1レベルを低下させ得る。遊離(可溶性)PD-L1は、(例えばデュルバルマブによって)結合されていないPD-L1を指す。一部の実施形態では、PD-L1レベルは少なくとも65%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは少なくとも80%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは少なくとも90%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは少なくとも95%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは少なくとも99%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは、デュルバルマブまたはその抗原結合断片およびトレメリムマブまたはその抗原結合断片の投与後、検出不能である。

30

【0074】

一部の実施形態では、PD-L1レベルは、デュルバルマブまたはその抗原結合断片の単回投与後、少なくとも65%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは、デュルバルマブまたはその抗原結合断片の単回投与後、少なくとも80%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは、デュルバルマブまたはその抗原結合断片の単回投与後、少なくとも90%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは、デュルバルマブまたはその抗原結合断片の単回投与後、少なくとも95%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは、デュルバルマブまたはその抗原結合断片の単回投与後、少なくとも99%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは、デュルバルマブまたはその抗原結合断片の単回投与後、検出不能である。

40

【0075】

一部の実施形態では、PD-L1レベルは、2用量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片の投与後、少なくとも65%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは

50

、2用量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片の投与後、少なくとも80%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは、2用量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片の投与後、少なくとも90%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは、2用量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片の投与後、少なくとも95%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは、2用量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片の投与後、少なくとも99%低下する。一部の実施形態では、PD-L1レベルは、2用量のデュルバルマブまたはその抗原結合断片の投与後、検出不能である。

【0076】

本明細書に提供されるデュルバルマブまたはその抗原結合断片およびトレメリムマブまたはその抗原結合断片の双方を用いた固形腫瘍を有する患者の治療（すなわち併用療法）は相乗効果をもたらし得る。本明細書で使用されるとき、用語「相乗」は、治療薬の組み合わせ（例えば、デュルバルマブまたはその抗原結合断片およびトレメリムマブまたはその抗原結合断片の組み合わせ）を指し、単一の治療薬の相加的効果より有効である。

10

【0077】

治療薬の組み合わせ（例えば、デュルバルマブまたはその抗原結合断片およびトレメリムマブまたはその抗原結合断片の組み合わせ）の相乗効果により、より低用量の1つ以上の治療薬の使用および/または前記治療薬の固形腫瘍を有する患者へのより低頻度の投与が許容される。より低用量の治療薬を利用する能力および/または前記治療薬をより低頻度に投与する能力により、固形腫瘍の治療における前記治療薬の有効性が低下することなく、前記治療薬の被験者への投与に関連した毒性が低下する。さらに、相乗効果により、固形腫瘍の管理、治療、または寛解における治療薬の改善された有効性がもたらされ得る。治療薬の組み合わせの相乗効果により、いずれかの単一治療の使用に関連した有害または不必要な副作用が回避または低減され得る。

20

【0078】

併用療法では、デュルバルマブまたはその抗原結合断片は、任意選択的にトレメリムマブまたはその抗原結合断片と同じ医薬組成物中に含まれ得るか、あるいは別の医薬組成物中に含まれ得る。この後者の場合、デュルバルマブまたはその抗原結合断片を含む医薬組成物は、トレメリムマブまたはその抗原結合断片を含む医薬組成物の投与に対する前投与、同時投与、または後投与に適している。特定の場合、デュルバルマブまたはその抗原結合断片は、別の組成物中のトレメリムマブまたはその抗原結合断片と重複する時点で投与される。

30

【0079】

一態様では、がん（例えば非小細胞肺癌）を患う対象は、治療方法を選択する過程で試験されてもよい。腫瘍試料切片は、画像分析（例えば、腫瘍細胞および免疫細胞マーカー、例えばPD-L1およびCD8を用いる）および遺伝子発現（例えばIFN γ ）を用いて評価される。免疫介在性がん治療薬が有効となるような患者は、かかる分析を用いて同定される。かかる患者は、デュルバルマブ、またはその抗原結合断片がトレメリムマブまたはその抗原結合断片と組み合わせて投与される。

【0080】

マーカー（例えば、PD-L1およびCD8）の発現を評価するため、腫瘍試料（例えば、ベースラインで実施された保存された（archival）腫瘍または新しい腫瘍生検）が用いられる。「マーカー」は、疾患または障害に関連した発現レベルまたは活性における改変を有する任意のタンパク質またはポリヌクレオチドを意味する。本発明の方法において有用なマーカーは、腫瘍細胞マーカー（例えばPD-L1）および免疫細胞マーカー（例えば、CD8、CD3、FOXP3、およびCD4）を含む。

40

【0081】

組織試料を処理するための方法は、当該技術分野で公知であり、免疫組織化学染色（IHC）およびインサイチュハイブリダイゼーションを含む。一般に、組織試料または組織試料切片は、固定され、検出可能な親和性試薬と接触され、それにより組織（例えば細胞）の1つ以上のマーカーまたは特徴の検出が可能になる。「検出する」は、検出されるべ

50

き分析物の存在、不在または量を同定することを指す。本明細書で用いられるとき、「検出可能な親和性試薬」は、標的に特異的に結合し、検出可能なシグナルを生成する組成物または化合物を意味する。一部の実施形態では、検出可能な親和性試薬は、(例えば、細胞または他の組織構造を検出する)色素または染色である。他の実施形態では、検出可能な親和性試薬は、検出可能な部分に共有結合された標的に特異的に結合する薬剤(例えば、化合物または組成物)を含む。特定の実施形態では、標的に特異的に結合する薬剤は、抗体または核酸(例えばオリゴヌクレオチドプローブ)である。「検出可能な部分」は、目的の分子に連結されるとき、分光学的、光化学的、生化学的、免疫化学的、または化学的手段を介して後者を検出可能にする組成物を意味する。例えば、有用な標識として、放射性同位体、磁気ビーズ、金属ビーズ、コロイド状粒子、蛍光色素、高電子密度試薬、酵素、ビオチン、ジゴキシゲニン、またはハプテンが挙げられる。

10

【0082】

一例では、ホルマリン固定パラフィン包埋試料のPD-L1免疫組織化学(IHC)染色が、Ventana PD-L1 SP263ウサギmAbアッセイを用いる自動化Benchmark ULTRA(登録商標)プラットフォーム上で実施された(Rebello et al. J Clin Oncol 2015; 33: Suppl: 8033. abstract)。NSCLC患者におけるデュルバルマブ単剤療法試験に基づき、臨床評価が行われた(Rizvi et al. J Clin Oncol 2015; 33: Suppl: 8032. abstract)。腫瘍細胞の25%が任意の強度でPD-L1についての膜染色を示した場合、試料は陽性とみなされた。CD8⁺リンパ球の自動化スコアリングでは、デジタル化IHCスライドに適用されるDefinens Developer XD2.1.4ソフトウェアが用いられた。

20

【0083】

画像分析の方法は、当該技術分野で公知であり、例えば、米国特許第8,699,769号明細書、米国特許第8,879,819号明細書、米国特許第9,060,672号明細書;および米国特許出願公開第20130016886号明細書、米国特許出願公開第20140169654号明細書、米国特許出願公開第20140228707号明細書、および米国特許出願公開第20130156279号明細書に記載され、それらの各々は参照により本明細書に援用される。本発明の方法では、画像分析は、がん患者の組織ブロックから生成される組織切片中の関連対象(例えば、CD8陽性および陰性免疫細胞、CD8陰性腫瘍細胞、PD-L1陽性および陰性腫瘍細胞、PD-L1陽性および陰性マクロファージ、線維芽細胞、ネクrosis領域)の定量化のために用いられる。組織切片は、2つの色(二重IHC染色)を用いて2つの抗体(PD-L1および抗CD8など)で染色されてもよい。あるいは、2つの連続切片は、1つの抗体で各々染色されたものを得てもよい。2つの連続切片は、仮想二重染色画像を生成するため、画像分析により自動的に整列される。レポーターからのシグナルは、(例えば、蛍光レポーターにおける放射波長による)シグナル検出に特異的な画像チャネルを用いることにより検出され得る。二重染色においては、各レポーターにおけるシグナルは、各レポーターのシグナル検出に特異的な画像チャネルを用いて検出される。

30

【0084】

使用可能な統計的測定は、限定はされないが、所与の領域内の所与のタイプの細胞の平均密度および平均百分率を含む。別の測定は、1つのバイオマーカーで染色された陽性細胞および別のバイオマーカーで染色された陽性細胞の空間発生率の測定を含む。この手法では、PD-L1陽性腫瘍浸潤性免疫細胞が測定される。これらは、近傍空間に少なくとも所定数の腫瘍細胞を有するPD-L1陽性免疫細胞である。用いられる領域は、病理学者による全スライドの注釈付き組織領域、病理学者による注釈付き腫瘍領域、細胞密度ヒートマップ画像を作成するための矩形小領域(20×スライド解像度で約64ピクセルサイズ)であり、ここで各ヒートマップのピクセル値は、組織切片の領域内の細胞のかかる測定値を表す。

40

【0085】

50

本明細書に記載の通り、「免疫細胞によって包含される陽性腫瘍内部の領域」のような新規な特徴や特徴の新しい組み合わせが導入され得る。この手法を用いて、デュルバルマブ（抗PD-L1）を用いる治療、ならびにデュルバルマブおよびトレメリマブ（抗CTLA4）の併用療法に対する患者の応答について予測的な染色組織スライドのデジタル画像から、新規な痕跡が抽出された。痕跡は、隣接組織切片の内部で測定される遺伝子発現値とさらに組み合わせることができる。これらの発現値は、腫瘍細胞-免疫細胞相互作用に關与する遺伝子から測定される。様々な実施形態では、痕跡は、染色PD-L1およびCD8陽性細胞および/またはIFNの遺伝子発現測定に基づく。例示的な痕跡は、CD8⁺細長いリンパ球の密度（1/mm²）（例えば、2.3を超える長さ対幅比および0.0000098mmより小さい幅）；CD8⁺細胞の密度（1/mm²）；PD-L1⁺リンパ球浸潤腫瘍領域（腫瘍細胞の集団）の密度（1/mm²）；PD-L1⁺腫瘍細胞の密度（1/mm²）；「Battle field 2」と称される、CD8⁺リンパ球およびPD-L1⁺腫瘍細胞の共同在スコア（図9参照）；IFN遺伝子発現値、の1つ以上を含んでもよい。特定の実施形態では、領域（例えば、Battle field 2内）は、少なくとも1つの特定タイプの細胞を含む0.00003136mm²タイルの倍数である。

【0086】

マーカー（例えばIFN）の遺伝子発現または活性の上方または下方制御は、当該技術分野で公知の任意の手段により測定されてもよい。例えば、遺伝子発現の上方または下方制御は、mRNAレベルを測定することにより検出されてもよい。mRNA発現は、ノーザンブロットング、スロットブロットング、定量的逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応、または遺伝子チップハイブリダイゼーション技術により測定されてもよい。遺伝子チップハイブリダイゼーション技術における核酸アレイを作製する例として、米国特許第5,744,305号明細書および米国特許第5,143,854号明細書を参照のこと。遺伝子発現を測定するためのTAQMAN（登録商標）法の使用法の例として、Establishing and functional characterization of an HEK-293 cell line expressing autofluorescently tagged -actin (pEYFP-ACTIN) and the neurokinin type 1 receptor (NK1-R) Hrovat, A; Zavec, AB; Pogacnik, A; Frangez, R; Vrecl, M 2010 Cellular & Molecular Biology Letters 1, 55-69、Expression profiles of proliferative and antiapoptotic genes in sporadic and colitis-related mouse colon cancer models Svec, J; Ergang, P; Mandys, V; Kment, M; Pacha, J 2010 International Journal of Experimental Pathology 1, 44-53、およびProtein kinase inhibitors emodin and dichloro-ribofuranosylbenzimidazole modulate the cellular accumulation and cytotoxicity of cisplatin in a schedule-dependent manner Kurokawa, T; He, GA; Siddik, ZH 2010 Cancer Chemotherapy and Pharmacology 3, 427-436を参照のこと。

【0087】

ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）において標的に選択的に結合するプライマーは、PCR反応においてハイブリダイズし、バックグラウンドを超える標的を検出するのに十分なシグナルを生成する経験的に決定するプライマーに基づいて選択され得るか、またはManiatis et al. Molecular Cloning, Second Edition, Section 11.46, 1989に記載のようにプライマー：標的二本

10

20

30

40

50

鎖の融解温度を用いて予測され得る。同様に、T A Q M A N（登録商標）または関連方法においてPCR産物を検出するためのプローブは、経験的に選択または予測され得る。かかるプライマーおよびプローブ（集散的に「オリゴヌクレオチド」）は、10～30の間またはそれを超えるヌクレオチド長であってもよい。

【0088】

マーカー（例えばIFN）の遺伝子発現または活性の上方または下方制御は、タンパク質レベルを検出することにより測定されてもよい。タンパク質発現レベルを検出するための方法は、酵素結合免疫吸着アッセイ、ウエスタンブロッティング、タンパク質アレイ、および銀染色などの免疫に基づくアッセイを含む。

【0089】

組織分析からの測定値を用いて、疾患応答における有病率および適中率を考慮することで、モデルを作成することができる。データモデリングの方法は、当該技術分野で公知であり、例えば、米国特許第8,699,769号明細書、米国特許第8,879,819号明細書、米国特許第9,060,672号明細書；および米国特許出願公開第20130016886号明細書、米国特許出願公開第20140169654号明細書、米国特許出願公開第20140228707号明細書、および米国特許出願公開第20130156279号明細書（それらの各々は参照により本明細書に援用される）において記載されている。様々な実施形態では、単純な数値シミュレーションモデルが、免疫細胞（例えばT細胞）集団と腫瘍細胞との相互作用に基づいて作成される。特定の実施形態では、以下の測定：腫瘍へのT細胞のフロー、T細胞によるIFNの産生と、その後のT細胞を殺滅しかつ/またはそれらの増殖を少なくとも低減する、腫瘍細胞によるPD-L1応答の1つ以上に関するデータがモデルに組み込まれる。モデルは、固定ステップサイズで単純な常（共役）微分方程式ソルバーを用いるソフトウェア（例えばDefiniens Miner）を用いて解析され得る。各モデルの実行においては、腫瘍細胞（例えばPD-L1⁺）および免疫細胞（例えばCD8⁺T細胞）の量などの定常状態パラメータが監視され得る。一実施形態では、免疫介在性がん治療薬（例えばデュルバルマブ）に対する患者応答は、交差検証（2倍）を用いて、浅い決定木の森によりすべての特徴に関して予測される。森は、訓練および試験される決定（回帰）木からなる。一実施形態では、訓練セットは、（それが応答者の50%を含むことを保証するため）層別化され、（応答者の試料を非応答者の試料のサイズまで引き上げるにより）平衡化されるような方法で作成される。深さ1または2の決定木は、訓練セットに対して訓練され、すべてのデータに適用される。このフレームワークは、評価値に応じて木を選択する可能性をもたらす。最終の木を選択するためのより系統的な方法は、評価特徴量を最適化することによる。後者においては、このルールセットは、閾値を適用し、評価特徴量の1つをさらに最適化する可能性をもたらす。特定の実施形態では、陽性適中率（PPV）、陰性適中率（NPV）、応答者の真陽性率（TPR）および対応するログランク検定のP値に対する1つ以上の閾値は、 $PPV > 0.4$ 、 $NPV > 0.9$ 、 $TPR > 0.7$ および $P < 0.01$ のように設定される。

【0090】

一部の実施形態では、選択されるモデルは、（例えば、データを2つの等しいサイズの層別化されたサブセットに無作為に1000回分割することにより）頑健性について確認される。次いで、モデルは、1000の試験セットについて適用および評価される。特定のPPVおよびNPVを念頭に置いて、木を選択することができる（Definiens Image Minerソフトウェア）。選択された決定木において患者応答を示す Kaplan-Meierプロットが作成される。加えて、選択されたモデルの安定性は、統計学的解析を用いて検証または評価される。木の深さは、2、3、4、5、6またはそれ以上、例えばすべてのパラメータに至るまで増加され、類似的に評価され得る。

【0091】

さらなる実施形態では、作成されるモデルは、最適化および評価される。様々な実施形態では、カットオフは、全患者生存率のKaplan-Meier分析のP値を0.05未満に

10

20

30

40

50

保持しながら有病率および適中率を最適化することによって決定される：1) 最小(注釈付き腫瘍コアにおけるA、注釈付き腫瘍コアにおけるC) > 2.4；2) 全スライドにおけるB > 700；3) 全スライドにおけるC > 5；4) 注釈付き腫瘍コアにおけるD > 75；5) E > 80；6) E > 81または - 1 / IFNG > 0.09756。

【0092】

特に定義されない限り、本明細書で用いられるすべての科学技術用語は、本発明が属する当該技術分野の当業者により一般的に理解されている意味を有する。以下の参考文献は、当業者に本発明で用いられる用語の多くの一般的定義を提供する：Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2nd ed., 1994)；The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988)；The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991)；およびHale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991)。

10

【0093】

本発明の実施には、別段の指示がない限り、当業者の範囲内に十分に含まれる、分子生物学(組換え技術を含む)、微生物学、細胞生物学、生化学および免疫学の通常の技術が用いられる。かかる技術は、文献、例えば、“Molecular Cloning: A Laboratory Manual”, second edition (Sambrook, 1989)；“Oligonucleotide Synthesis” (Gait, 1984)；“Animal Cell Culture” (Freshney, 1987)；“Methods in Enzymology” “Handbook of Experimental Immunology” (Weir, 1996)；“Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells” (Miller and Calos, 1987)；“Current Protocols in Molecular Biology” (Ausubel, 1987)；“PCR: The Polymerase Chain Reaction”, (Mullis, 1994)；“Current Protocols in Immunology” (Coligan, 1991)に十分に説明されている。これらの技術は、本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドの作製に適用可能であり、それ故、本発明の作製および実施において考慮されてもよい。特定の実施形態にとって特に有用な技術は、以下のセクションにて考察されることになる。

20

30

【0094】

以下の実施例は、本発明のアッセイ、スクリーニング、および治療方法の作製および使用方法についての完全な開示および説明を当業者に提供するために提示され、発明者がその発明とみなすような範囲を限定することは意図されない。

【実施例】

【0095】

実施例1：進行性非小細胞肺癌を有する患者におけるデュルバルマブおよびトレメリムマブの併用治療を評価する試験。

40

プログラム細胞死リガンド-1 (PD-L1) および細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4 (CTLA-4) 免疫チェックポイントは、抗腫瘍T細胞活性を阻害する。抗PD-L1抗体デュルバルマブ(MEDI4736) および抗CTLA-4抗体トレメリムマブは、PD-L1陰性腫瘍を有する患者において単独療法よりも大きい抗腫瘍活性を提供し得る。この試験では、過去に治療した局在進行性または転移性NSCLCを有する患者におけるCTLA-4阻害剤トレメリムマブと組み合わせたデュルバルマブの安全性および抗腫瘍活性を検討した。確認された局在進行性または転移性NSCLCを有する免疫療法 naïve 患者を試験に含めた。特に、患者は、(免疫組織化学アッセイを用いて評価した) PD-L1の発現とは無関係に適格であった。抗腫瘍活性においては、客観的奏効は確認さ

50

れた完全または部分奏効（CRまたはPR）と定義し、24週目の疾病管理はCR、PR、または安定疾患（SD）の持続時間が24週と定義した。24週目の客観的奏効率（ORR）および疾病管理率（DCR）を評価し、正確な二項分布を用いて95%信頼区間（CI）を算出した。試験薬は、13用量のデュルバルマブ（D）を4週毎（q4w）、6用量をq4w、次いで3用量のトレメリムマブ（T）を12週毎（q12w）、静脈内投与した。デュルバルマブ3mg/kg（D3）～20mg/kg（D20）とトレメリムマブ1mg/kg（T1）～3mg/kg（T3）との複数の組み合わせについて探索した。特に、4週毎（q4w）の3、10、15、もしくは20mg/kgまたはq2wの10mg/kgのデュルバルマブ用量は、1、3、もしくは10mg/kgをq4wの6用量として、次いでq12wの3用量としてのトレメリムマブと組み合わせた（例えば、D15 q4w/T10の組み合わせを含む）。漸増期の間、D10 q2wについても、T1またはT3と組み合わせて試験した。

10

【0096】

PD-L1⁺およびPD-L1⁺腫瘍の双方を有する患者において、抗腫瘍活性が認められ、投与コホート間で幾つかの差異が記録された。試験治療は、12か月間または進行性疾患まで、DLTもしくは他の許容できない毒性、中止された同意、または他の理由での中断であった。疾病管理（すなわち、完全奏効[CR]、部分奏効[PR]、または安定疾患[SD]）を12か月治療期間の終了まで達成し、維持した患者は、フォローアップに入った。フォローアップ期間中に進行性疾患が記録された場合、1回の再治療を施し、患者は、彼らの疾患に対して他の治療を受けていないが、試験の適格性判断基準を満たした。

20

【0097】

ベースラインで実施した保存された腫瘍または新しい腫瘍の生検は、PD-L1およびCD8の発現について評価した。ホルマリン固定パラフィン包埋試料のPD-L1免疫組織化学（IHC）染色は、Ventana PD-L1 SP263ウサギmAbアッセイを用いる自動化Benchmark ULTRA（登録商標）プラットフォーム上で実施した（Rebelatto et al. J Clin Oncol 2015; 33: Suppl: 8033. abstract）。臨床評価は、NSCLC患者におけるデュルバルマブ単独療法試験に基づいて行った（Rizvi et al. J Clin Oncol 2015; 33: Suppl: 8032. abstract）。腫瘍細胞の25%が任意の強度でPD-L1についての膜染色を示した場合、試料は陽性とみなされた。CD8⁺リンパ球の自動化スコアリングでは、デジタル化IHCスライドに適用されるDefiniens Developer XD2.1.4ソフトウェアを用いた。

30

【0098】

実施例2：デュルバルマブおよびトレメリムマブの組み合わせは腫瘍生検での痕跡を有する進行性非小細胞肺癌を有する患者を治療するために有効である。

がん患者に対する免疫療法は、有望な治療オプションを拓くが、それらに応答する患者の亜群を同定することは課題である。NSCLC後期患者においては、現在用いられる最良の層別子は、病理学者により手作業で判定される、膜上にPD-L1を発現している細胞の割合である、PD-L1状態に対するカットオフである。この方法の不便性および制限は過度の単純化を含むが、特に免疫系の重要性が最小化され、またそれがマニュアル試験であり、その課題によって代表される複雑性および統計学的精度をカバーしない可能性があることが理由である。さらに、PD-L1状態による層別化は、適中率および正確度に関する要件を満たすのに十分でない場合がある（Rizvi et al., J Clin Oncol 33, 2015 (suppl; abstr 8032); 図1）。

40

【0099】

臨床試験の患者をデュルバルマブ療法に対する彼らの応答に従って層別化するため、痕跡がPD-L1およびCD8染色組織試料に由来し得るか否かを検査するための試験を実施した。肺癌患者のコホートからの組織試料を、抗PD-L1に基づく免疫療法に対する彼らの薬剤応答を遡及的に予測するために検討した。陽性適中率は、PD-L1単独療

50

法においては約 0.5 であり、PD-L1 / CTLA4 併用療法においては約 0.7 に上昇し、有病率は 50% を超え、それはデータを組織試料から抽出する検出力を示している。

【0100】

試験の別の目的は、T細胞とがん細胞との相互作用、および特にはCD8⁺細胞傷害性T細胞とPD-L1⁺もしくはPD-L1⁻腫瘍細胞との相互作用への洞察を得ることであった。臨床試験の幾つかのモデル仮説を検証するため、単純であるが定量的なシステムの免疫学的モデルを開発し、定常状態の結果を、免疫組織化学(IHC)イメージングおよび経路相互作用データベース(PID)のデータに対する遺伝子発現の測定結果と比較した。

【0101】

方法

応答予測のための層別化アルゴリズムは、PD-L1染色組織切片の視覚的な病理学者スコアリング; Cognition Network Language スクリプトを用いて Definiens のデータフィケーションチームによって計算された、PD-L1 および CD8 の染色およびデジタル化組織切片の基本的読み取り; 基本的読み取りの様々な組み合わせ(例えば、掛け算、加算、最小値など); ならびに分割および分類された画像の画像マイニングを通じて得られるヒートマップからの特徴に対して実行した。

【0102】

データフィケーション

データフィケーションワークフローは、CD8⁺リンパ球、CD8⁺浸潤リンパ球、CD8⁺細長いリンパ球、PD-L1⁺腫瘍細胞(さらに、染色が弱い膜、中程度の膜および強い膜に対応するM1、M2、M3亜群)、PD-L1⁺リンパ球、およびPD-L1⁺浸潤リンパ球などの細胞集団の細胞密度(細胞/mm²)および百分率を含む、組織切片における基本的特徴を同定するようにセットアップした。密度および百分率は、病理学者からの注釈付き領域内部、すなわち注釈付き領域(AA)、腫瘍コア(TC)、侵襲性辺縁部(IM)および腫瘍領域(TR)内部(画像分析により誘導された)で測定した。

【0103】

ヒートマップの作成

ヒートマップは、以下のルールに従って定義される、腫瘍細胞(赤)、リンパ球CD8⁻(青)およびリンパ球CD8⁺(緑)の密度を計算することにより作成した(図2)。

【0104】

細胞数/タイル(128×128ピクセルすなわち約0.004mm²):

- ・リンパ球CD8⁺: データフィケーションのルールセットにより陽性と定義
- ・腫瘍細胞: リンパ球CD8⁺およびピクセル面積>120および絶対値(長さ-幅)<0.3×長さ
- ・リンパ球CD8⁻は、リンパ球CD8⁺およびピクセル面積<125およびピクセル面積>36および絶対値(長さ-幅)<0.3×長さとして定義した

【0105】

それらルールの理論的根拠は、リンパ球CD8⁺が褐色染色の腫瘍細胞によって認識され、大きく丸くて染色されないものと定義され、リンパ球CD8⁻が小さく丸くて染色されないものと定義される点である。

【0106】

画像マイニング

異なる細胞集団の相互作用によりスライドをスコア化するため、以下のステップに従い、空間統計学の計算を行った。1. ヒートマップをCD8画像分析(Definiens Image Miner Next Generation ツール)から作成し、CD8⁺/⁻T細胞および腫瘍細胞を同定した。2. 各ヒートマップのピクセルについて、その近隣を考慮することにより特徴ベクターを計算した。3. 目的変数なしのクラスター分析をヒートマップのピクセルのオブジェクトに対して実施した。4. 患者の特徴ベクター

10

20

30

40

50

を相対面積 / 集団 / 患者の計算により作成した。

【0107】

システム生物学およびモデリング

PD-L1-CD8 関係における観察される最大についての説明モデルを作成するため (図3)、T細胞集団と腫瘍との相互作用についての単純な数値シミュレーションモデルを実行した。実行した主な機構は、腫瘍へのT細胞のフロー、T細胞によるIFNの産生と、その後のT細胞を殺滅しかつ / またはそれらの増殖を少なくとも低減する、腫瘍細胞によるPD-L1応答であった。モデルの単純化したグラフ表示を図4に示す。

【0108】

モデルは、固定ステップサイズで単純な常 (共役) 微分方程式ソルバーを用いる *Definiens Miner* ソフトウェアにおいて解析した。各モデルの実行においては、PD-L1+腫瘍およびCD8+T細胞の量などの定常状態パラメータを報告する。

【0109】

デュルバルマブ治療応答予測における結果

デュルバルマブ療法に対する患者の応答は、2倍交差検証を用いる浅い決定木の森により、(上記の)すべての特徴に対して予測した。森は、次のように、訓練および試験した1000CART決定(回帰)木からなる。

【0110】

訓練セットは、(それが応答者の50%を含むことを保証するため)層別化し、(応答者の試料を非応答者の試料のサイズまで引き上げるにより)平衡化させるような方法で作成した。深さ1または2の決定木は、訓練セットに対して訓練し、すべてのデータに対して適用した。

【0111】

このフレームワークは、評価値に従う木を選択する可能性をもたらす。最終の木を選択するためのより系統的な方法は、評価特徴量を最適化することによる。後者においては、このルールセットは、閾値を適用し、評価特徴量の1つをさらに最適化する可能性をもたらす。陽性適中率 (PPV)、陰性適中率 (NPV)、応答者の真陽性率 (TPR) および対応するロジック検定のP値に対する閾値は、 $PPV > 0.4$ 、 $NPV > 0.9$ 、 $TPR > 0.7$ および $P \text{ 値} < 0.01$ のように設定した。

【0112】

さらに、選択したモデルは、データを2つの等しいサイズの層別化されたサブセットに無作為に1000回分割することにより、頑健性について確認した。次いで、モデルは、1000の試験セットに対して適用および評価した。特定のPPVおよびNPVを念頭に置いて、*Definiens Image Miner* ソフトウェアにおいて木を選択することができる (図5A)。選択した決定木において患者応答を示す Kaplan-Meier プロットを作成する (図5B)。最後に、選択したモデルの安定性は、統計学的解析を用いて検証または評価する (図5C)。木の深さは、2まで増加させ、類比的に評価することができる。

【0113】

上の画像マイニングの項で説明したヒートマップ特徴を含む手順を繰り返した。モデルによって選択したヒートマップ特徴は、CD8+細胞および腫瘍細胞の密度の合計に対する腫瘍細胞密度の平均比である (HM_Invasive Margin - org5)。

【0114】

作成したモデルを最適化および評価した。モデル「腫瘍コア (TC) 内のCD8+細長いリンパ球の密度およびTC内のPD-L1+浸潤リンパ球の密度の最小 $> 2.41 / \text{mm}^2$ 」は、最適なP値を有した (図6A)。この組み合わせた読み取り特徴に対する閾値の意味は、層別化をいかに適用するかによって示された。両密度 (腫瘍コア (TC) 内のCD8+細長いまたはPD-L1+浸潤リンパ球) の少なくとも一方が高い ($> 2.41 \text{ mm}^2$) 場合、デュルバルマブ療法は有効である可能性が高かった (図6B)。別モデル「CD8+細長いリンパ球またはPD-L1+浸潤リンパ球での層別化」においても、予

10

20

30

40

50

測される治療応答者が同定された(図6C)。これに関連して、そのルールセットは、最適化するための自由度を提供し、最適化にとって理想的な評価特徴量については考察可能である。

【0115】

他の特徴を試験することのないように、病理学者によって用いられる腫瘍細胞の染色の染色強度および割合(例えば、PD-L1⁺対PD-L1⁻)の半定量的尺度である層別子のM-スコアを模倣および最適化するため、データフィケーション結果を用いた(図7A)。しかし、上に示す最適化された評価特徴量は、最適化されたM-スコアを上回った。同様に、H-スコア3もまた評価した(図7B)。H-スコア3がM-スコアよりも正確な層別子であるが、H-スコア3がまた最適化されたP値または応答者の真陽性率(TPR)を伴うモデルの正確度に達しないことが認められた。実施した極めて多数の品質検査の1つが、病理学者によって評価されるスコアとデータフィケーションにより評価されるスコアとの間の関係の評価することであった。ここでM-スコアおよびH-スコア3は、病理学者により評価され、かつデータフィケーションにより評価されるとき、強力な一貫性が示した(図7Cおよび7D)。

10

【0116】

デュルバルマブおよびトレメリムマブに対する患者応答に十分に対応する測定値は、「細長いCD8⁺細胞またはPD-L1⁺浸潤細胞の最小 $> 2.41 / \text{mm}^2$ 」(図8A)；「IFN γ > -11.8 またはTC内のすべてのCD8⁺細胞 $> 318.7 / \text{mm}^2$ 」(図8B)；「IFN γ > -12.2 またはTC内のCD8⁺細長い細胞 $> 13 / \text{mm}^2$ 」(図8C)を含んだ。一実施形態では、PD-L1⁺浸潤細胞は、1つ以上のPD-L1⁺およびCD8⁺細胞が重複する場合、またはPD-L1⁺およびCD8⁺染色の重複が1つ以上のPD-L1⁺およびCD8⁺細胞もしくはPD-L1⁺およびCD8⁺染色の総ピクセル面積によって除される場合のピクセル面積である「Battle Field 2計算」測定値を用いて判定した(図9)。

20

【0117】

NSCLC PIDデータに対する遺伝子発現分析もまた実施した。免疫系経路に関する選択遺伝子について処理した遺伝子発現データをAffymetrix HG U133plus 2プラットフォーム上で生成するとともに、癌遺伝子および腫瘍サプレッサー遺伝子を分析に組み込んだ。

30

【0118】

遺伝子の発現は、IHCにより以前に定義した、PD-L1-highおよびPD-L1-lowの2群間で比較した。これら2群間での遺伝子発現における差異は、特に免疫経路に関連する遺伝子において強化された。事実、38中の12の免疫関連遺伝子は、PD-L1-highとPD-L1-lowとの間で差次的に発現され(マン・ホイットニー；P値 0.05)、それは群間での差異を示した。

【0119】

差異におけるこの強化が偶然に生じる可能性が極めて低いことを証明するため、モンテカルロシミュレーションを適用した。データをPD-L1-highおよびPD-L1-lowと同じサイズの2群に無作為に1000回分割し、それらの発現値における差異の有意性を毎回チェックした。有意に異なって発現された遺伝子の数の中央値は、38中2であった。PD-L1-highとPD-L1-lowとの間で有意に異なる発現値を有する遺伝子の数の偽発見率は、1%未満であった(図10Aに示す通り)。結果を解釈すると、PD-L1-high群における免疫系の活性が特に高いことが見出された(図10B)。

40

【0120】

PD-L1-high群は、遺伝子発現値間の正および負相関係数の数および強度がさらに異なった。全コホート(図11A)およびPD-L1-high(図11B)におけるchordダイアグラム可視化を用いて、80の免疫関連遺伝子セットにおける発現値間で有意な相関(絶対スピアマン順位相関係数 > 0.7 およびP値 < 0.05)が認めら

50

れた。PD-L1-highにおいて、全コホートと比べてより有意でかつ負の相関が認められ、PD-L1-highが特別な亜群を表すことがさらに示された。

【0121】

要するに、NSCLC患者のMEDI4736（デュルバルマブ）治療における異なる層別子の評価を可能にする、Image Minerによりアクセス可能なフレームワークを作成した。フレームワークでは、層別子を決定木の形態で生成し、それらの評価測定を最適化し、最適な層別子を、無作為に引き出されるサブセットに対するその安定性について試験する。T細胞-腫瘍相互作用の数値モデリングの結果によると、基本的な区画モデルが、以下のパラメータ：1．腫瘍に対するCD8⁺細胞の流動；2．PD-L1を生成可能な「活性」腫瘍サイズ；3．PD-L1⁺腫瘍細胞と接触状態にあるときのCD8⁺細胞の「死滅」率、により駆動されることが示された。

10

【0122】

CD8⁺細胞の流動がPD-L1⁺腫瘍サイズに比例する場合のパラメータ設定において、CD8-PD-L1の観測最大を再現することは可能であった。理論に拘束されない限り、免疫系の活性が増加されるとき、それは腫瘍のPD-L1回避能を増強する。この知見は、PD-L1回避を用いて免疫応答に迅速に適応させる腫瘍細胞の自然淘汰により、説明され得る。

【0123】

例えばPD-L1およびCD8染色画像を共記載することを含む、PD-L1およびCD8マーカー付近の情報を用いて追加的なヒートマップ特徴を作成するための画像マイニング手法を用いて、さらなる精緻化を行うことができる。理論に拘束されない限り、これは潜在的にはより精緻な層別化をもたらし得る。本試験の別の目標は、PIDデータ上に免疫療法に対する潜在的な応答者の痕跡を見出すことであった。PD-L1-highは、特に能動免疫系を有するコホートの特殊な亜群と定義した。この亜群にて認められる特殊な腫瘍微小環境は、免疫療法が有効である可能性が高い場合、適応免疫応答の特性を反映する。

20

【0124】

当業者は、本明細書に記載される開示の具体的態様に対する多数の均等物を理解するかまたは通常の実験を少し用いて確認することができるであろう。かかる均等物は、以下の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

30

【0125】

前述の発明は、理解を明瞭にすることを意図して、図面および実施例を介して、ある程度詳細に説明されているが、添付の特許請求の範囲の範囲内で特定の変更および修飾がなされ得ることは明白であろう。

【0126】

様々な出版物が本明細書に引用され、それらの開示はそれら全体が参照により援用される。

【0127】

配列表

配列番号1 デュルバルマブ(MEDI4736)VL

40

【化1】

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATG
IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWFQGGTKVEIK

配列番号2 デュルバルマブ(MEDI4736)VH

【化 2】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEK
 YYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGTL
 VTVSS

配列番号 3 - デュルバルマブ (M E D I 4 7 3 6) V H C D R 1

R Y W M S

配列番号 4 - デュルバルマブ (M E D I 4 7 3 6) V H C D R 2

N I K Q D G S E K Y Y V D S V K G

配列番号 5 - デュルバルマブ (M E D I 4 7 3 6) V H C D R 3

E G G W F G E L A F D Y

配列番号 6 - デュルバルマブ (M E D I 4 7 3 6) V L C D R 1

R A S Q R V S S S Y L A

配列番号 7 - デュルバルマブ (M E D I 4 7 3 6) V L C D R 2

D A S S R A T

配列番号 8 - デュルバルマブ (M E D I 4 7 3 6) V L C D R 3

Q Q Y G S L P W T

配列番号 9 トレメリムマブ V L

【化 3】

PSSLSASVGDRTTITCRASQSINSYLDWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS
 GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYSTPFTFGPGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
 QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV

配列番号 10 トレメリムマブ V H

【化 4】

GVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAWIWYDGSNKYYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDPRGATLYYYYYYGMVDVWGQGTITVTVSS
 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH

配列番号 11 - トレメリムマブ V H C D R 1

G F T F S S Y G M H

配列番号 12 - トレメリムマブ V H C D R 2

V I W Y D G S N K Y Y A D S V

配列番号 13 - トレメリムマブ V H C D R 3

T A V Y Y C A R D P R G A T L Y Y Y Y Y G M D V

配列番号 14 - トレメリムマブ V L C D R 1

R A S Q S I N S Y L D

配列番号 15 - トレメリムマブ V L C D R 2

A A S S L Q S

配列番号 16 - トレメリムマブ V L C D R 3

Q Q Y Y S T P F T

10

20

30

40

【 図 1 】

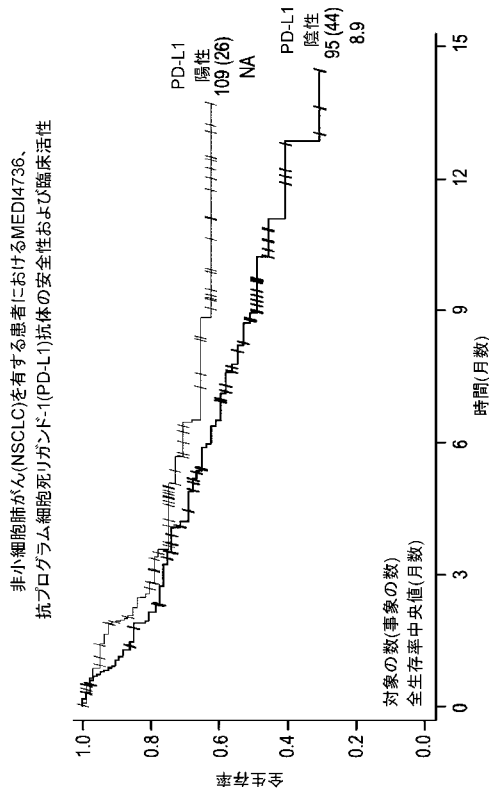
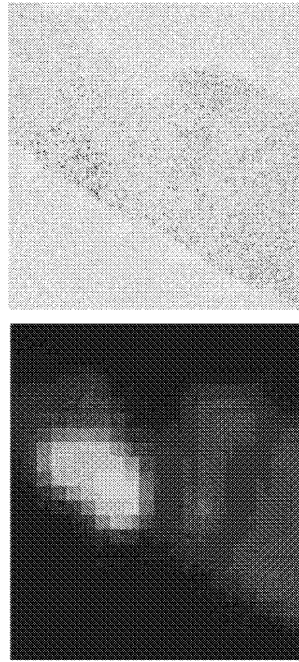


図 1

【 図 2 】



【 図 3 】

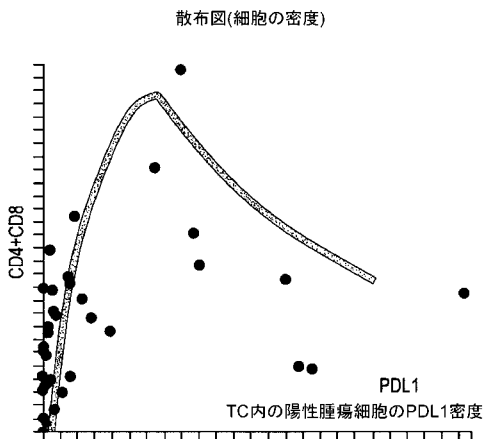


図 3

【 図 4 】

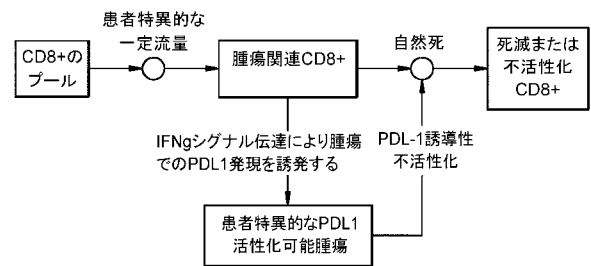
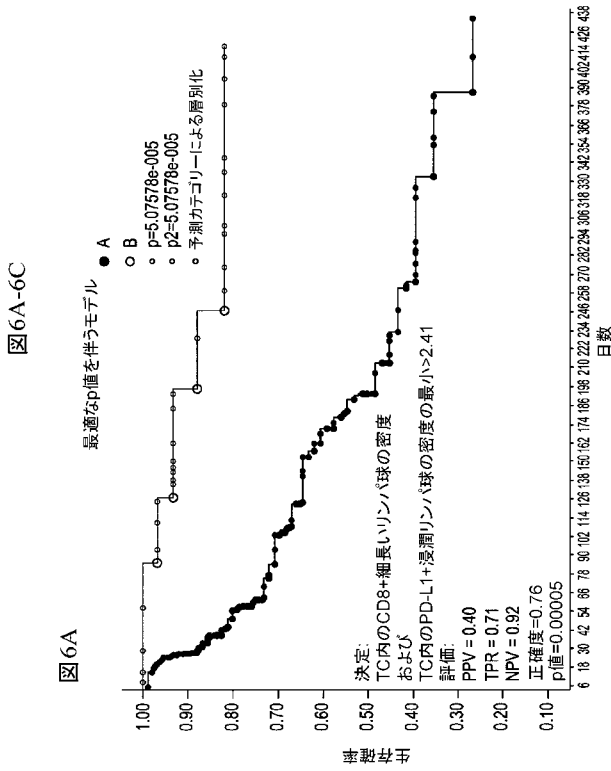
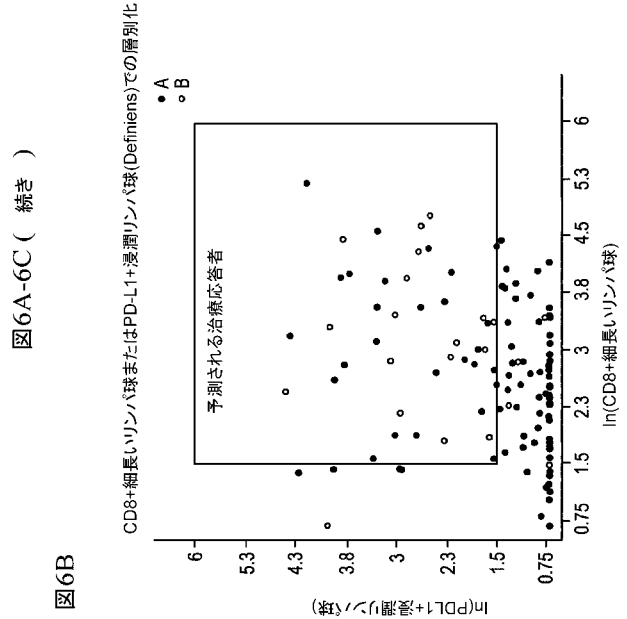


図 4

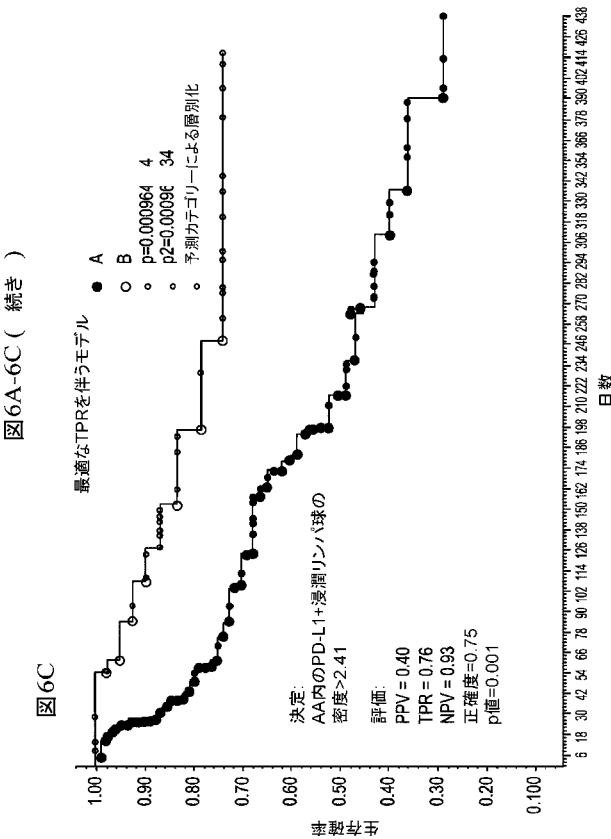
【 図 6 A 】



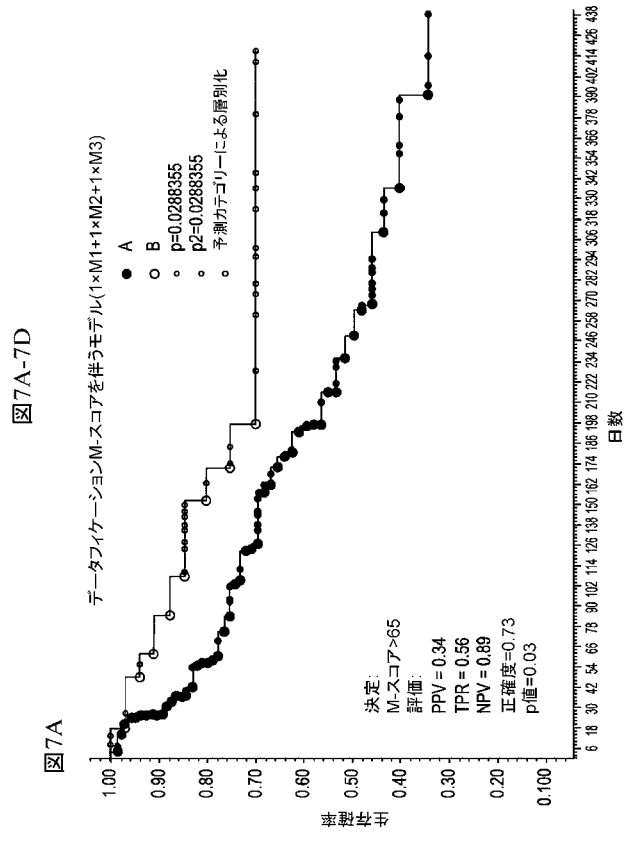
【 図 6 B 】



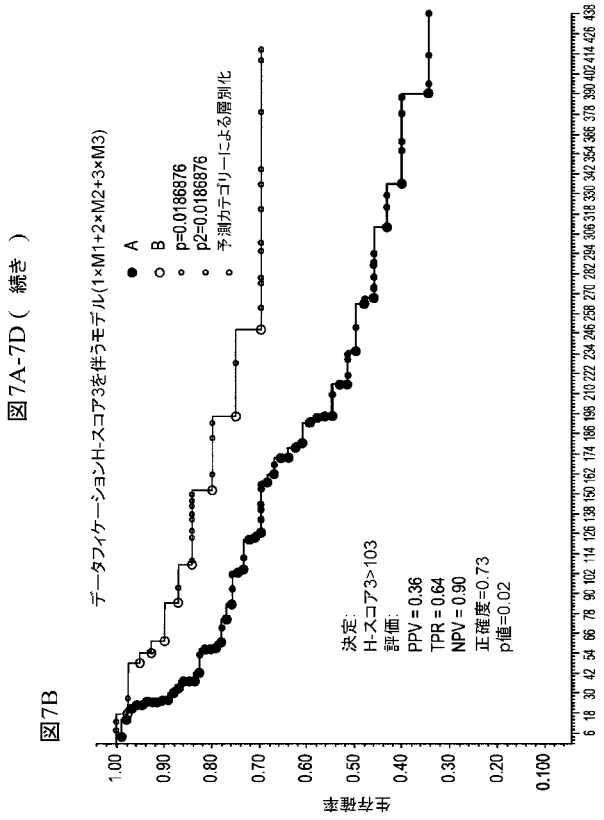
【 図 6 C 】



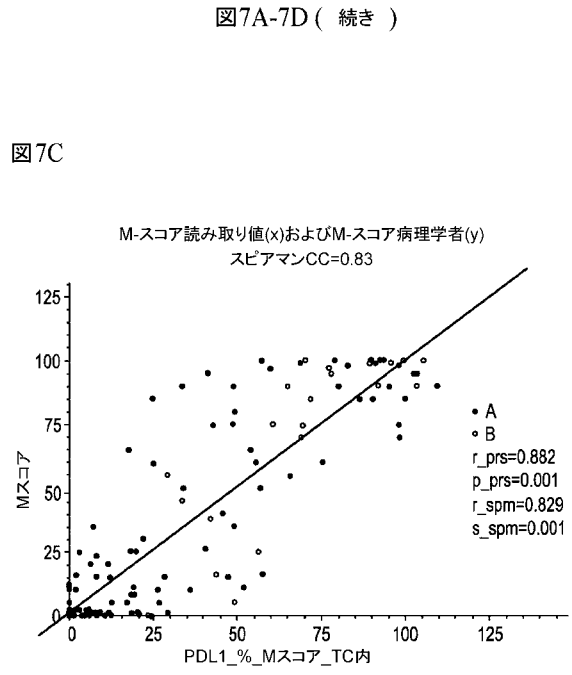
【 図 7 A 】



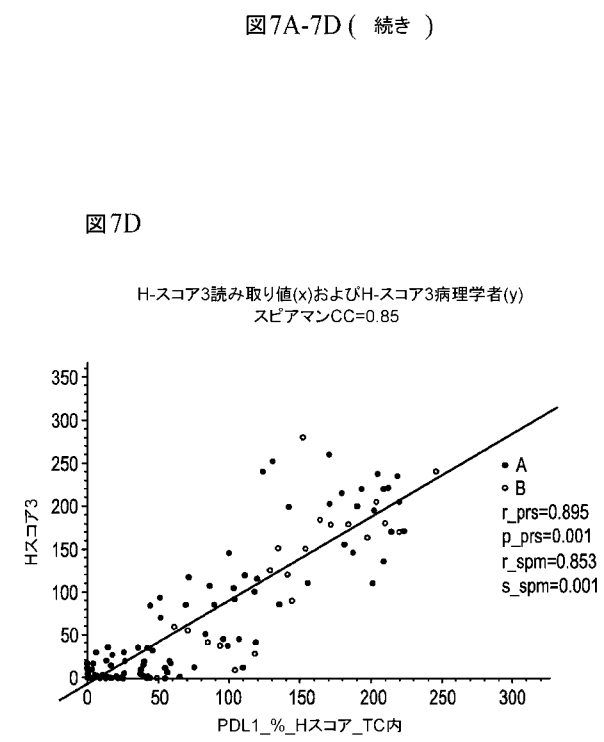
【 図 7 B 】



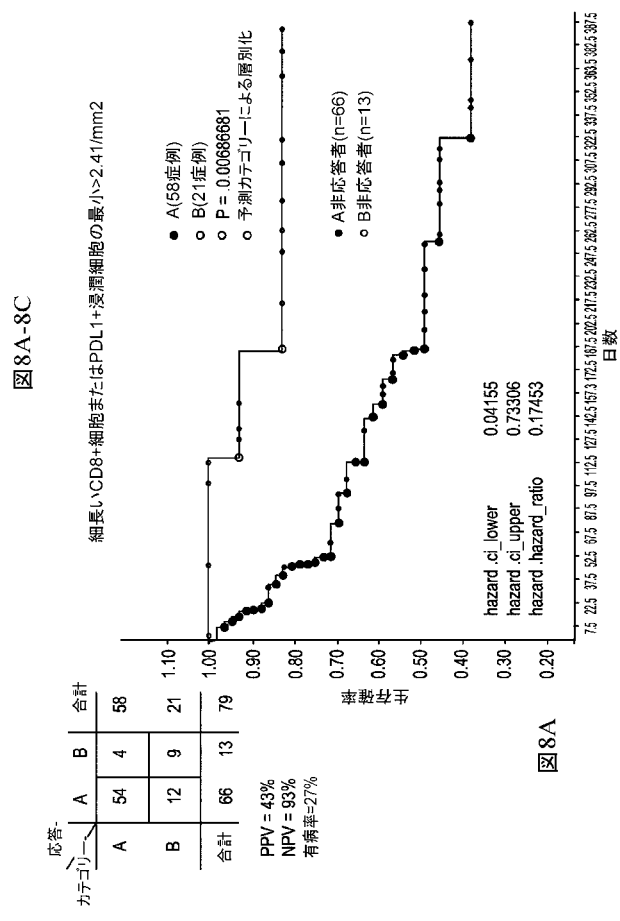
【 図 7 C 】



【 図 7 D 】



【 図 8 A 】



【 図 8 B 】

図 8A-8C (続き)

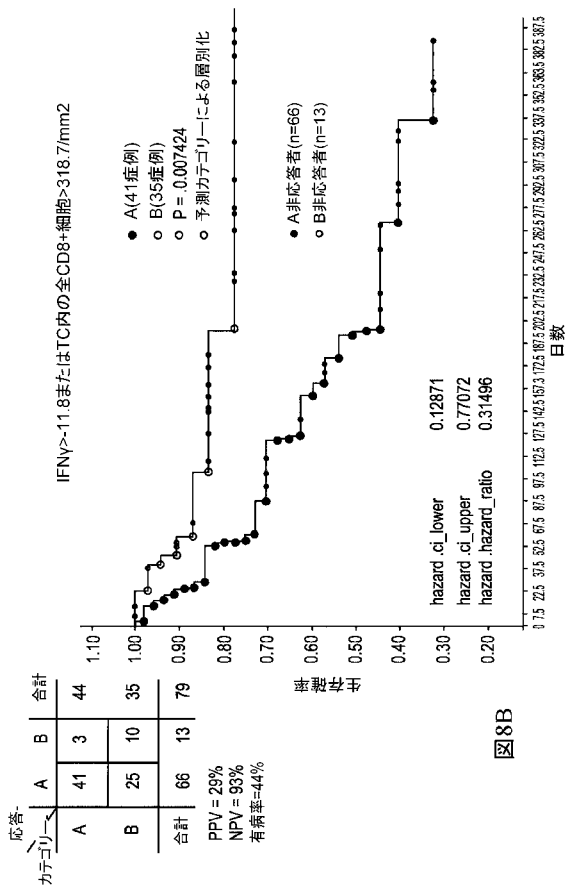


図 8B

【 図 8 C 】

図 8A-8C (続き)

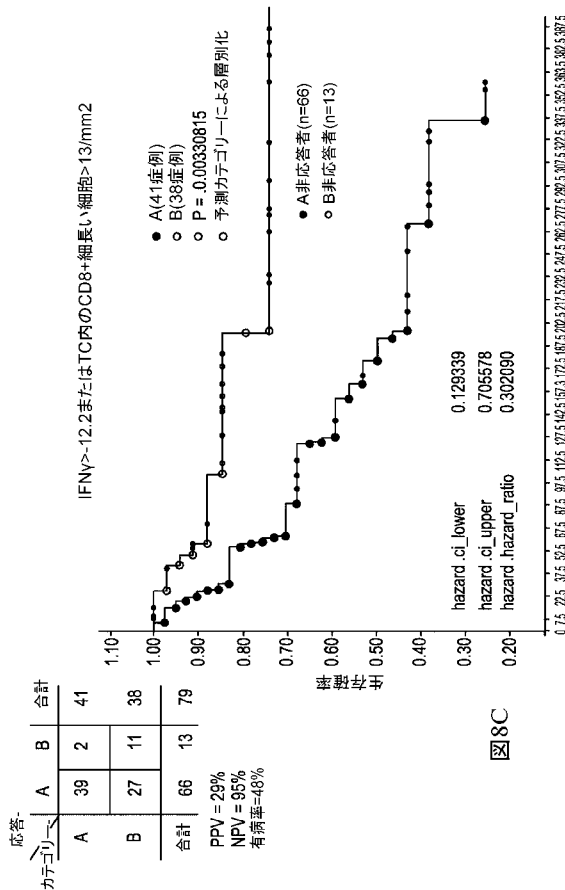
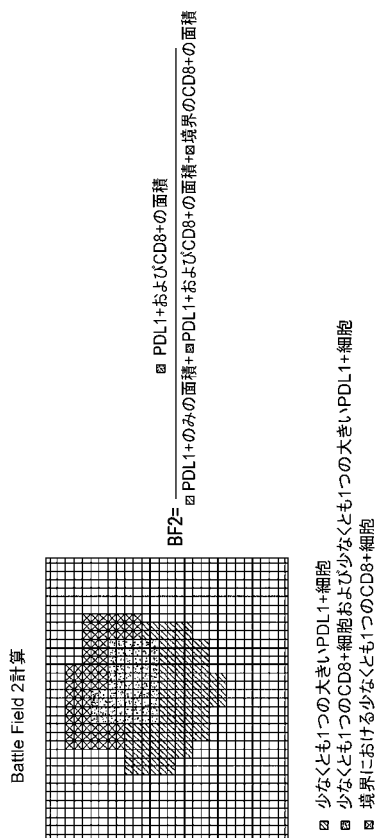


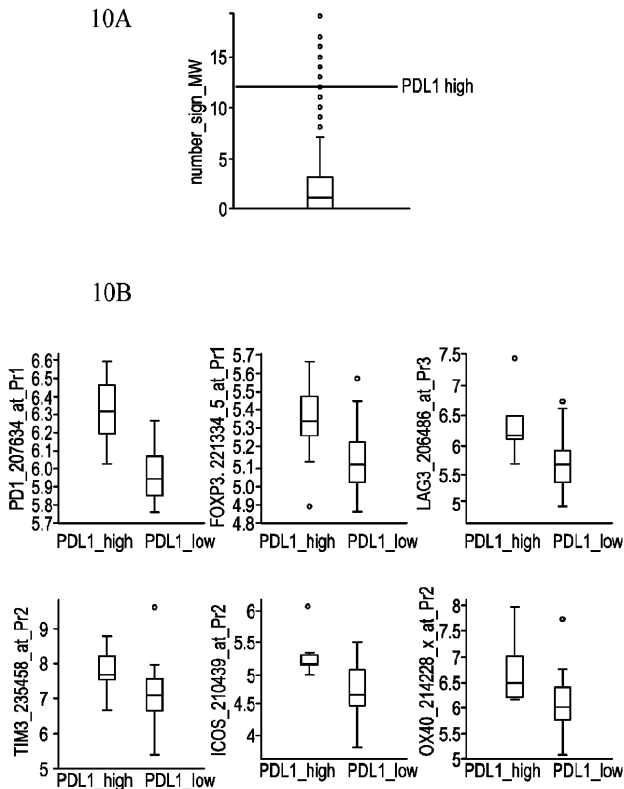
図 8C

【 図 9 】

図 9



【 図 1 0 】



【配列表】

2019505488000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US16/66780

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - C12Q 1/68; G01N 33/574 (2017.01) CPC - C12Q 1/6886; G01N 33/57492		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	WO 2014/151006 A2 (GENENTECH, INC.) September 25, 2014; paragraphs [002], [006]-[008], [0010]-[0011], [0018], [0020], [0026], [0028], [0035]-[0037], [0042], [0045], [0052], [0067]-[0068], [0072], [00180], [00209], [00236], [00486]-[00488]; figures 2-3, 15; claim 7	1, 2, 3/1-2, 34-35, 36/34-35, 37/36/34-35, 40/34-35 ----- 32, 33, 43, 44
Y	HIGGS, BW et al. 'High tumoral IFN-gamma mRNA, PD-L1 protein, and combined IFN-gamma mRNA/PD-L1 protein expression associates with response to durvalumab (anti-PD-L1) monotherapy in NSCLC patients'; September 2015, European Journal of Cancer; Volume 51, Supplement 3, page S717; page S717, first column, material and methods section; second column, conclusions	32, 33, 43, 44
A	US 2013/0034559 A1 (QUEVA, C et al.) 07 February 2013; entire document	1, 2, 3/1-2, 32-35, 36/34-35, 37/36/34-35, 40/34-35, 43, 44
A	US 2013/0016886 A1 (SCHOENMEYER, R et al.) 17 January 2013; entire document	1, 2, 3/1-2, 32-35, 36/34-35, 37/36/34-35, 40/34-35, 43, 44
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 06 April 2017 (06.04.2017)	Date of mailing of the international search report 01 MAY 2017	
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US16/65780

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. forming part of the international application as filed:
 in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 on paper or in the form of an image file.
- b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US16/65780

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: 4-31, 38, 39, 41, 42
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

-See Next Supplemental Box-

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-3, 32-37, 40, 43, 44

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/US16/65780

.-***-Continued from Box III: Lack of Unity of Invention-***-

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I, Claims 1-3, 32-37, 40, 43 and 44 are directed toward a method of treatment comprising administering durvalumab, or an antigen-binding fragment thereof, to a non-small cell lung cancer (NSCLC) patient, wherein the patient is identified by characterizing a tissue section from a tissue sample of the patient comprising a tumor cell, wherein the characterizing comprises: (a) measuring the density of PD-L1+ immune cells in a first tissue section from a tissue sample comprising a tumor cell; (b) measuring the expression level of IFN γ in a second section from the tissue sample; and (c) generating a score based on the measurements obtained in steps (a) and (b), wherein a score greater than a threshold identifies the patient as responsive to treatment comprising durvalumab therapy.

Group II, Claims 45-55 are directed toward a method of treatment comprising administering durvalumab to a patient having NSCLC, wherein the patient is identified by characterizing a tissue sample of the patient comprising a tumor cell, wherein the characterizing comprises: (a) measuring the area of a region comprising immune cells and PD-L1+ cells in a tissue section from a tissue sample comprising a tumor cell; and (b) normalizing the area to the area comprising the PD-L1+ cells, wherein a normalized area greater than a threshold identifies the patient as responsive to treatment comprising immune-mediated cancer therapy.

The inventions listed as Groups I and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Group I include measuring the expression level of IFN γ , not present in Group II; the special technical features of Group II include measuring the area of a region comprising immune cells, not present in Group I.

Groups I and II share the technical features including: a method of treatment comprising administering durvalumab, or an antigen-binding fragment thereof, to a non-small cell lung cancer (NSCLC) patient, wherein the patient is identified by characterizing a tissue section from a tissue sample of the patient comprising a tumor cell, wherein the characterizing comprises: (a) measurements associated with immune cells and PD-L1+ cells in a tissue section from a tissue sample comprising a tumor cell; and (b), wherein a measurement greater than a threshold identifies the patient as responsive to treatment comprising durvalumab therapy.

However, these shared technical features are previously disclosed by the abstract of the article 'High tumoral IFN γ mRNA, PD-L1 protein, and combined IFN γ mRNA/PD-L1 protein expression associates with response to durvalumab (anti-PD-L1) monotherapy in NSCLC patients' by Higgs et al. (hereinafter 'Higgs').

Higgs discloses a method of treatment comprising administering durvalumab (a method of treatment comprising administering durvalumab; page S717, first column, material and methods section; second column, conclusions), to a non-small cell lung cancer (NSCLC) patient (to a non-small cell lung cancer (NSCLC) patient; page S717, first column, material and methods section), wherein the patient is identified by characterizing a tissue section from a tissue sample of the patient comprising a tumor cell (wherein biopsies of tumor tissue were characterized (wherein the patient is identified by characterizing a tissue section from a tissue sample of the patient comprising a tumor cell); page S717, first column, material and methods section), wherein the characterizing comprises: (a) measurements of IFN γ expression (associated with immune cells) and PD-L1+ cells in a tissue section from a tissue sample comprising a tumor cell (wherein the characterizing comprises: (a) measurements associated with immune cells and PD-L1+ cells in a tissue section from a tissue sample comprising a tumor cell; page S717, first column, material and methods section; second column, Results section); and (b), wherein a measurement greater than a threshold identifies the patient as responsive to treatment comprising durvalumab therapy (wherein elevated baseline IFN γ mRNA expression and PD-L1 expression (a measurement greater than a threshold) identifies the patient as responsive to treatment comprising durvalumab therapy); page S717, second column, conclusions section).

Since none of the special technical features of the Groups I and II inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Higgs reference, unity of invention is lacking.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
C 1 2 Q 1/6874 (2018.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 7
C 1 2 Q 1/6841 (2018.01)	A 6 1 P 37/04	
	C 1 2 Q 1/6874	Z
	C 1 2 Q 1/6841	Z

(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, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ

- (72) 発明者 ビニヒ, ゲルト
ドイツ連邦共和国 8 0 6 3 6 ミュンヘン, ベルンハルト - ヴィッキ - シュトラーセ 5, デフ
ィニエンス アーゲー
- (72) 発明者 アルトハマー, ソーニャ
ドイツ連邦共和国 8 0 6 3 6 ミュンヘン, ベルンハルト - ヴィッキ - シュトラーセ 5, デフ
ィニエンス アーゲー
- (72) 発明者 シュミット, グンター
ドイツ連邦共和国 8 0 6 3 6 ミュンヘン, ベルンハルト - ヴィッキ - シュトラーセ 5, デフ
ィニエンス アーゲー
- (72) 発明者 ヒッグス, ブランドン
アメリカ合衆国 2 0 8 7 8 メリーランド州, ゲイサーズバーグ, ワン メディミューン ウェ
ィ, メディミューン, エルエルシー
- (72) 発明者 スティール, キース
アメリカ合衆国 2 0 8 7 8 メリーランド州, ゲイサーズバーグ, ワン メディミューン ウェ
ィ, メディミューン, エルエルシー

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA13 QQ02 QQ08 QQ52 QR32 QR48 QR56 QS10 QS14
QS34 QS39 QX02
4C084 AA17 MA66 NA14 ZB021 ZB022 ZB261 ZB262
4C085 AA14 CC23 EE01 GG02

专利名称(译)	治疗 and 选择对免疫介导的癌症治疗有反应的患者的方法		
公开(公告)号	JP2019505488A	公开(公告)日	2019-02-28
申请号	JP2018530686	申请日	2016-12-09
[标]申请(专利权)人(译)	免疫医疗公司		
申请(专利权)人(译)	MedImmune公司, 有限责任公司		
[标]发明人	ヒッグスブランドン		
发明人	ビニヒ,ゲルト アルトハマー,ソーニャ シュミット,グンター ヒッグス,ブランドン スティール,キース		
IPC分类号	A61K45/00 G01N33/574 G01N33/53 A61P35/00 A61K39/395 A61P11/00 A61P43/00 A61P37/04 C12Q1/6874 C12Q1/6841		
CPC分类号	G01N33/57423 A61K2039/505 A61P35/00 C07K16/2827 C07K2317/21 C12Q1/68 C12Q1/6886 C12Q2600/106 C12Q2600/158 G01N2800/52		
FI分类号	A61K45/00.ZNA G01N33/574.D G01N33/53.D G01N33/574.A G01N33/53.P A61P35/00 A61K39/395.T A61P11/00 A61P43/00.107 A61P37/04 C12Q1/6874.Z C12Q1/6841.Z		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA13 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ52 4B063/QR32 4B063/QR48 4B063/QR56 4B063/QS10 4B063/QS14 4B063/QS34 4B063/QS39 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZB021 4C084/ZB022 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C085/AA14 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/GG02		
优先权	62/265638 2015-12-10 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本文提供了一种治疗肿瘤的方法，其包括施用有效量的一种或多种免疫介导的癌症治疗剂，所述药物包括durvalumab (MEDI4736) 或其抗原结合片段。使用图像分析和基因表达对肿瘤样本进行分析，确定了免疫介导的癌症治疗有效的患者。Durvalumab可有效治疗非小细胞肺癌，其特征在于使用肿瘤细胞和免疫细胞标记物 (例如PD-L1和CD8) 和基因表达 (例如IFN γ) 进行图像分析。[选型图]图1

Figure 1

