

(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2019-506454
(P2019-506454A)

(43) 公表日 平成31年3月7日(2019.3.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/417 (2006.01)	A 6 1 K 31/417	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 5
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	4 C 0 8 6
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T	4 H 0 4 5
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00 H	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 89 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-560269 (P2018-560269)
 (86) (22) 出願日 平成29年2月8日 (2017.2.8)
 (85) 翻訳文提出日 平成30年10月5日 (2018.10.5)
 (86) 国際出願番号 PCT/IL2017/050160
 (87) 国際公開番号 WO2017/137989
 (87) 国際公開日 平成29年8月17日 (2017.8.17)
 (31) 優先権主張番号 62/292,397
 (32) 優先日 平成28年2月8日 (2016.2.8)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 518280631
 イミューン ファーマシューティカルズ
 エルティーディー、
 イスラエル 9 1 1 2 0 エルサレム エ
 ン・カレム キルヤト・ハダサ 1 ミン
 ラブ・ビルディング 4階
 (74) 代理人 100082072
 弁理士 清原 義博
 (72) 発明者 マートナー, アンナ
 スウェーデン 4 0 5 3 0 イェーテボリ
 ボックス 4 2 5 シー/オー シャル
 グレンスカ・キャンサー・センター・メデ
 イシナレガタン 1階

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒスタミン二塩酸塩の併用およびその使用

(57) 【要約】

本発明は、被験体の癌を処置する方法、寛解にある被験体の癌の再発を予防または遅らせる方法、癌からの寛解を延長する方法、生存を増加させる方法、および癌の症状を低減または緩和する方法を提供し、これらの方法は、a) ヒスタミン二塩酸塩およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) /プログラム死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤を投与する工程、またはb) ヒスタミン受容体アゴニストと共に、活性酸素種 (ROS) を随意に減少させる薬剤を投与する工程を含む。本発明はさらに、細胞傷害性T細胞の再分布、NK細胞の頻度、または他の生化学的な変化に基づいて癌治療の有効性を予測する方法、ならびに癌の再発を防ぐための関連方法、および癌からの寛解を延長するための関連方法を提供する。関連するキットおよび組成物がさらに提供される。

【選択図】 図1

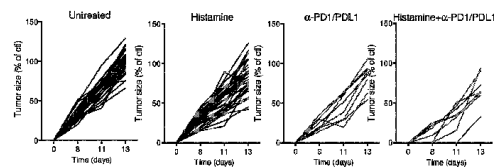


FIGURE 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

原発癌または転移癌を有する被験体の腫瘍量を減らす方法であって：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) の阻害剤を投与する工程であって、それにより前記被験体の腫瘍量を減らす、工程を含む方法。

【請求項 2】

活動的な癌を有する被験体の、転移性腫瘍の拡散リスクを減らす方法であって：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) の阻害剤を投与する工程であって、それにより前記被験体における転移性腫瘍の拡散リスクを減らす、工程を含む方法。

10

【請求項 3】

被験体における癌の再出現、再発または転移の拡大を防ぐ、または遅らせる方法であって：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) の阻害剤を投与する工程であって、それによって前記被験体における前記癌の再出現、再発または転移の拡大を防ぐ、または遅らせる、工程を含む方法。

【請求項 4】

被験体の癌の再発を防ぐ方法であって：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) の阻害剤を投与する工程であって、それによって前記被験体における前記癌の再発を防ぐ、工程を含む方法。

20

【請求項 5】

前記癌からの寛解にある被験体の癌の再発を遅らせる方法であって：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) の阻害剤を投与する工程であって、それによって前記癌からの寛解にある前記被験体における癌の再発を防ぐ、工程を含む方法。

【請求項 6】

被験体の癌からの寛解を延長する方法であって：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) の阻害剤を投与する工程であって、それによって前記被験体における前記癌からの寛解を延長する、工程を含む方法。

30

【請求項 7】

癌からの寛解にある被験体の生存を増加させる方法であって：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) の阻害剤を投与する工程であって、それによって前記被験体の生存を増加させる、工程を含む方法。

【請求項 8】

癌からの寛解にある被験体の生存期間を延長する方法であって：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) の阻害剤を投与する工程であって、それによって前記被験体の生存期間を延長する、工程を含む方法。

40

【請求項 9】

被験体における悪性腫瘍増殖を減らす方法であって：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) の阻害剤を投与する工程であって、それによって前記被験体における悪性腫瘍の増殖を減らす、工程を含む方法。

【請求項 10】

50

癌からの寛解にある被験体の癌症状を低減または緩和する方法であって：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤を投与する工程であって、それによって前記被験体における前記癌症状を低減または緩和する、工程を含む方法。

【請求項11】

前記PD-1またはPD-L1阻害剤は抗体である、請求項1-10のいずれか1つに記載の方法。

【請求項12】

前記抗体は、ニボルマブ、ペムプロリズマブ、ピジリズマブ、BMS 936559、およびMPDL3280Aから成る群から選択される、請求項11に記載の方法。

10

【請求項13】

前記ヒスタミン受容体アゴニストはヒスタミン二塩酸塩である、請求項5-12のいずれか1つに記載の方法。

【請求項14】

前記ヒスタミン受容体アゴニストは、N-メチル-ヒスタミンまたは4-メチル-ヒスタミンである、請求項5-12のいずれか1つに記載の方法。

【請求項15】

治療上有効な量の、追加の免疫増強薬を投与する工程をさらに含む、請求項1-14のいずれか1つに記載の方法。

20

【請求項16】

前記追加の免疫増強薬はインターロイキン2 (IL-2) である、請求項15に記載の方法。

【請求項17】

癌ワクチンを投与する工程をさらに含む、請求項1-16のいずれか1つに記載の方法。

【請求項18】

被験体における癌からの寛解を延長するためのキットであって、a) 治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤、および前記キットの使用に関する使用説明書を含むキット。

30

【請求項19】

前記PD-1またはPD-L1阻害剤は抗体である、請求項18に記載のキット。

【請求項20】

前記抗体は、ニボルマブ、ペムプロリズマブ、ピジリズマブ、BMS 936559、およびMPDL3280Aから成る群から選択される、請求項19に記載のキット。

【請求項21】

前記ヒスタミン受容体アゴニストはヒスタミン二塩酸塩である、請求項18-20のいずれか1つに記載のキット。

【請求項22】

前記ヒスタミン受容体アゴニストは、N-メチル-ヒスタミン、または4-メチル-ヒスタミンである、請求項18-20のいずれか1つに記載のキット。

40

【請求項23】

免疫増強薬をさらに含む、請求項18-22のいずれか1つに記載のキット。

【請求項24】

前記免疫増強薬はインターロイキン2 (IL-2) である、請求項23に記載のキット。

【請求項25】

被験体の癌治療の有効性を予測する方法であって、該方法は：

a. 前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；

50

- b. 前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；
- c. 前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；

および

d) 前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内の、CD8⁺細胞傷害性T細胞表現型の頻度を測定する工程を含み、

前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにTエフェクターメモリー細胞(T_{EM})の頻度の減少、およびTエフェクター細胞(T_{eff})の頻度の増加があるような、細胞傷害性T細胞の再分布がある場合、前記癌治療は被験体において有効であると予測され、および、

前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルに細胞傷害性T細胞の再分布がない場合、前記の癌治療は前記被験体において有効ではないと予測され、前記工程aからdによって前記被験体における前記癌治療の効果を予測する、方法。

10

【請求項26】

前記癌からの寛解にある被験体の癌の再発を防ぐ方法であって、該方法は：

- a. 前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；
- b. 前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；
- c. 前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；
- d. 前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内の、CD8⁺細胞傷害性T細胞表現型の頻度を測定する工程、および

e. 前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにTエフェクターメモリー細胞(T_{EM})の頻度の減少、およびTエフェクター細胞(T_{eff})の頻度の増加があるような、細胞傷害性T細胞の再分布がある場合、前記被験体に前記処置の追加のサイクルを施す工程を含み、

20

前記工程aからeによって前記被験体における前記癌の再発を防ぐ、方法。

【請求項27】

被験体の癌からの寛解を延長する方法であって、該方法は：

- a. 前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；
- b. 前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；
- c. 前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；
- d. 前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内の、CD8⁺細胞傷害性T細胞表現型の頻度を測定する工程、および

30

e. 前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにTエフェクターメモリー細胞(T_{EM})の頻度の減少、およびTエフェクター細胞(T_{eff})の頻度の増加があるような、細胞傷害性T細胞の再分布がある場合、前記被験体に前記処置の追加のサイクルを施す工程、を含み、

前記aからeの工程によって前記被験体における前記癌からの緩解を延長する、方法。

【請求項28】

前記癌は白血病である、請求項1-8、10-17および25-27のいずれか1つに記載の方法。

【請求項29】

40

前記白血病は急性骨髄性白血病(AML)である、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

前記癌は胸腺腫である、請求項1-8、10-17および25-27のいずれか1つに記載の方法。

【請求項31】

前記被験体は前記癌から完全寛解(CR)にある、請求項5-8、10-17および25-30のいずれか1つに記載の方法。

【請求項32】

前記癌治療は前記被験体へのサイトカインの投与を含む、請求項25-31のいずれか1つに記載の方法。

50

- 【請求項 33】
前記サイトカインはインターロイキンである、請求項 32 に記載の方法。
- 【請求項 34】
前記インターロイキンは I L - 2 を含む、請求項 33 に記載の方法。
- 【請求項 35】
前記インターロイキンは I L - 12 または I L - 15 を含む、請求項 33 に記載の方法。
- 【請求項 36】
前記インターロイキンは低用量で投与される、請求項 33 - 35 のいずれか 1 つに記載の方法。 10
- 【請求項 37】
前記 I L - 2 は、1日2回、16, 400 U / k g の用量で投与される、請求項 34 に記載の方法。
- 【請求項 38】
前記サイトカインはインターフェロンを含む、請求項 32 に記載の方法。
- 【請求項 39】
前記インターフェロンはインターフェロン を含む、請求項 38 に記載の方法。
- 【請求項 40】
前記インターフェロンはインターフェロン を含む、請求項 38 に記載の方法。
- 【請求項 41】 20
前記インターフェロンはインターフェロン を含む、請求項 38 に記載の方法。
- 【請求項 42】
前記サイトカインは造血成長因子を含む、請求項 32 に記載の方法。
- 【請求項 43】
前記造血成長因子は、エリトロポイエチン、I L - 11、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (G M - C S F)、および顆粒球コロニー刺激因子 (G - C S F)、またはそれらの組み合わせから成る群から選択される、請求項 42 に記載の方法。
- 【請求項 44】
前記癌治療は前記被験体へのヒスタミン受容体アゴニストの投与を含む、請求項 25 - 43 のいずれか 1 つに記載の方法。 30
- 【請求項 45】
前記ヒスタミン受容体アゴニストはヒスタミン二塩酸塩である、請求項 44 に記載の方法。
- 【請求項 46】
前記ヒスタミン受容体アゴニストは、N - メチル - ヒスタミンまたは 4 - メチル - ヒスタミンである、請求項 44 に記載の方法。
- 【請求項 47】
ヒスタミン二塩酸塩は、1日2回、0.5 m g 投与される、請求項 45 に記載の方法。
- 【請求項 48】 40
前記癌治療は、ヒスタミン二塩酸塩およびインターロイキン 2 (I L - 2) の投与を含む、請求項 25 - 47 のいずれか 1 つに記載の方法。
- 【請求項 49】
寛解にある前記被験体は、再発防止のための免疫療法を受けている、請求項 25 - 48 のいずれか 1 つに記載の方法。
- 【請求項 50】
前記癌治療は、プログラム細胞死タンパク質 1 (P D - 1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (P D - L 1) の阻害剤の投与を含む、請求項 25 - 49 のいずれか 1 つに記載の方法。
- 【請求項 51】 50
前記処置のサイクルは、前記処置の第 1 のサイクルである、請求項 25 - 50 のいずれ

か 1 つに記載の方法。

【請求項 5 2】

前記処置のサイクルは、前記処置の第 3 のサイクルである、請求項 2 5 - 5 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 5 3】

前記サイクルは、3 週間の処置のサイクルである、請求項 2 5 - 5 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 5 4】

前記血液サンプルは末梢血サンプルである、請求項 2 5 - 5 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

【請求項 5 5】

前記処置のサイクル、または提案された処置は皮下に施される、請求項 2 6 - 5 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 5 6】

完全寛解 (C R) にある、急性骨髄性白血病 (A M L) を有する被験体の A M L の再発を防ぐ方法であって、該方法は：

- a . 前記被験体から第 1 の血液サンプルを得る工程；
- b . 前記被験体にヒスタミン二塩酸塩およびインターロイキン 2 (I L - 2) の第 1 サイクルを投与する工程；
- c . 処置の前記第 1 サイクルの完了後に、前記被験体から第 2 の血液サンプルを得る工程；
- d . 前記血液サンプル内の C D 8 + 細胞傷害性 T 細胞表現型の頻度を測定する工程；および

20

e . T エフェクターメモリー細胞 (T _{E M}) の頻度の減少、および T エフェクター細胞 (T _{e f f}) の頻度の増加があるような、前記第 1 の血液サンプルと比較して前記第 2 の血液サンプルに細胞傷害性 T 細胞の再分布がある場合、前記被験体にヒスタミン二塩酸塩および I L - 2 の追加のサイクルを投与する工程を含み、前記工程 a から e によって前記被験体における A M L の再発を防ぐ、方法。

【請求項 5 7】

被験体における癌治療の有効性を予測するためのキットであって、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、免疫増強薬、C D 8 + 細胞傷害性表現型を測定する手段、および前記キットの使用に関する使用説明書を含むキット。

30

【請求項 5 8】

前記ヒスタミン受容体アゴニストはヒスタミン二塩酸塩である、請求項 5 7 に記載のキット。

【請求項 5 9】

前記ヒスタミン受容体アゴニストは、N - メチル - ヒスタミンまたは 4 - メチル - ヒスタミンである、請求項 5 7 に記載のキット。

【請求項 6 0】

前記免疫増強薬はサイトカインである、請求項 5 7 - 5 9 のいずれか 1 つに記載のキット。

40

【請求項 6 1】

前記サイトカインはインターロイキンである、請求項 6 0 に記載のキット。

【請求項 6 2】

前記インターロイキンは I L - 2 を含む、請求項 6 1 に記載のキット。

【請求項 6 3】

前記インターロイキンは I L - 1 2 または I L - 1 5 を含む、請求項 6 1 に記載のキット。

【請求項 6 4】

前記 C D 8 + 細胞傷害性表現型を測定する手段は、C D 2 5、C D 6 9、および I F N

50

- に対する抗体を含む、請求項 57 - 63 のいずれか 1 つに記載のキット。

【請求項 65】

前記 CD8⁺ 細胞傷害性表現型を測定する手段は、CD3 - FITC (HIT3a)、CD4 - APC - H7 (RPA - T4)、CD4 - Horizon V450 (RPA - T4)、CD8 - APC (RPA - T8)、CD8 - PerCP - Cy5.5 (RPA - T8 / SK1)、CD8 - Qdot705 (3B5)、CD16 - Horizon V450 (3G8)、CD25 - Brilliant Violet 421 (M - A251)、CD45RA - APC (HI100)、CD45RO - PE (UCHL1)、CD56 - PerCP - eFluor710 (CMSSB)、CD56 - PE - Cy7 (NCAM16.2)、CD69 - PE - Cy7 (FN50)、HLA - DR - FITC (L243)、CCR7 - PE - Cy7 (G043H7)、CD3 - Pacific Blue (S4.1)、CD14 - Qdot655 (TuK4)、およびストレプトアビジン - Qdot605、IFN - γ - PE - Cy7、またはそれらの組み合わせを含む、請求項 57 - 63 のいずれか 1 つに記載のキット。

10

【請求項 66】

血液サンプルを採取するための 1 つ以上の容器をさらに含む、請求項 57 - 65 のいずれか 1 つに記載のキット。

【請求項 67】

治療上有効な量の、プログラム細胞死タンパク質 1 (PD - 1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD - L1) の阻害剤をさらに含む、請求項 57 - 66 のいずれか 1 つに記載のキット。

20

【請求項 68】

前記 PD - 1 または PD - L1 の阻害剤は抗体である、請求項 67 に記載のキット。

【請求項 69】

前記抗体は、ニボルマブ、ペムプロリズマブ、ピジリズマブ、BMS 936559、および MPDL3280A から成る群から選択される、請求項 68 に記載のキット。

【請求項 70】

被験体の癌治療の有効性を予測する方法であって、該方法は：

- a . 前記被験体から第 1 の血液サンプルを得る工程；
- b . 前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；
- c . 前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第 2 の血液サンプルを得る工程；

30

および

d . 前記第 1 の血液サンプルおよび前記第 2 の血液サンプル内の NK 細胞の頻度を測定する工程、を含み、

前記第 1 の血液サンプルと比較して前記第 2 の血液サンプルに NK 細胞の頻度の増加がある場合、前記癌治療は前記被験体において効果的であると予測され、および、

前記第 1 の血液サンプルと比較して前記第 2 の血液サンプルに NK 細胞の頻度の増加がない場合、前記癌治療は前記被験体において効果的ではないと予測され、

前記工程 a から d によって前記被験体における前記癌治療の有効性を予測する、方法。

40

【請求項 71】

前記癌は急性骨髄性白血病である、請求項 70 に記載の方法。

【請求項 72】

前記 NK 細胞は、CD56^{bright} NL 細胞、CD16⁺ NK 細胞、またはその両方である、請求項 70 または 71 に記載の方法。

【請求項 73】

前記 NK 細胞のレベルは、NK 細胞に関連するバイオマーカーの検知を通じて測定される、請求項 70 - 72 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 74】

前記 NK 細胞に関連するバイオマーカーは NKp30 である、請求項 73 に記載の方法。

50

【請求項 75】

前記NK細胞に関連するバイオマーカーはNKp46である、請求項73に記載の方法。

【請求項 76】

被験体の癌治療の有効性を予測する方法であって、該方法は：

- a. 前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；
- b. 前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；
- c. 前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；

および

d. 前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内のバイオマーカーの発現レベルを測定する工程、を含み、

前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカーの発現レベルの増加がある場合、前記癌治療は前記被験体において効果的であると予測され、および、

前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカーの発現レベルの増加がない場合、前記癌治療は前記被験体において効果的ではないと予測され、前記工程aからdによって前記被験体における前記癌治療の有効性を予測する、方法。

【請求項 77】

前記バイオマーカーは白血球細胞表面受容体である、請求項76に記載の方法。

【請求項 78】

前記バイオマーカーは単球細胞表面受容体である、請求項76または77に記載の方法。

【請求項 79】

前記バイオマーカーはヒスタミン2型受容体(H2R)である、請求項76-78のいずれかに記載の方法。

【請求項 80】

被験体の癌治療の有効性を予測する方法であって、該方法は：

- a. 前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；
- b. 前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；
- c. 前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；

および

d. 前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内のバイオマーカーの発現レベルを測定する工程、を含み、

前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカーの発現レベルの低下がある場合、前記癌治療は前記被験体において効果的であると予測され、および、

前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカーの発現レベルの低下がない場合、前記癌治療は前記被験体において効果的ではないと予測され、前記工程aからdによって前記被験体における前記癌治療の有効性を予測する、方法。

【請求項 81】

前記バイオマーカーは白血球細胞表面受容体である、請求項80に記載の方法。

【請求項 82】

前記バイオマーカーはヒト白血球抗原(HLA)Aである、請求項80または81に記載の方法。

【請求項 83】

前記バイオマーカーはヒト白血球抗原(HLA)Bである、請求項80または81に記載の方法。

【請求項 84】

前記バイオマーカーはヒト白血球抗原(HLA)Cである、請求項80または81に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 85】

被験体の癌を処置する方法であって：活性酸素種（ROS）を減少させる治療上有効な量の薬剤を前記被験体に投与する工程を含む、方法。

【請求項 86】

前記薬剤は細胞外のROSを減少させる、請求項85に記載の方法。

【請求項 87】

前記薬剤はROS形成の阻害剤である、請求項85または86に記載の方法。

【請求項 88】

前記薬剤は細胞外のROSの消去剤である、請求項85または86に記載の方法。

【請求項 89】

ヒスタミン受容体アゴニストを投与する工程をさらに含む、請求項85 - 88のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 90】

前記ヒスタミン受容体アゴニストはヒスタミン二塩酸塩である、請求項89に記載の方法。

【請求項 91】

前記ヒスタミン受容体アゴニストは、N - メチル - ヒスタミンまたは4 - メチル - ヒスタミンである、請求項89に記載の方法。

【請求項 92】

前記癌治療は、ヒスタミン二塩酸塩およびインターロイキン2（IL - 2）の投与を含む、請求項70 - 91のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 93】

前記癌は白血病である、請求項70 - 92のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 94】

前記白血病は慢性骨髄単球性白血病（CMML）である、請求項93に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、被験体の癌を処置する方法、寛解にある被験体における癌の再発を予防または遅らせる方法、癌からの寛解を延長する方法、生存を増加させる方法、および癌の症状を低減または緩和する方法を提供し、これらの方法は、a) ヒスタミン二塩酸塩、およびプログラム細胞死タンパク質1（PD - 1）/プログラム死リガンド1（PD - L1）の阻害剤を投与する工程、またはb) ヒスタミン受容体アゴニストと共に、活性酸素種（ROS）を随意に減少させる薬剤を投与する工程、を含む。本発明はさらに、細胞傷害性T細胞の再分布、NK細胞の頻度、または他の生化学的な変化に基づいた癌治療の有効性を予測する方法、および癌の再発を防ぎ、かつ癌からの寛解を延長するための関連方法を提供する。関連するキットおよび組成物がさらに提供される。

【背景技術】

【0002】

ヒスタミン二塩酸塩は生体アミンヒスタミンに由来する。それは、免疫活性化サイトカインに対する応答を含む、T細胞およびナチュラルキラー（NK）細胞の機能を阻害する活性酸素種の生成を阻害する。サイトカインインターロイキン（IL） - 2およびヒスタミン二塩酸塩の同時投与は、IL - 2によるT細胞とNK細胞の活性化を助け、急性骨髄性白血病（AML）の癌細胞を含む癌細胞の破壊をもたらす。

【0003】

急性骨髄性白血病（AML）と診断された患者は、白血病細胞の微視的な消失および正常な再現造血（完全寛解、CR）に達することを目的とした導入化学療法を受ける。寛解後のフェーズには、検出不可能な白血病細胞を根絶する目的での地固め療法が含まれる。しかしながら、CRにおける再発は一般的であり、特に高齢の患者（> 60歳）においてはよくあることであり、成人のAML患者の少数のみが長期の白血病なしの生存（LFS

10

20

30

40

50

)を達成する理由を有意に説明する。AML再発後の長期生存の可能性は乏しい。したがって、CRにおけるAMLの再発および他の癌を防ぐ方法が非常に求められる。

【0004】

加えて、研究者は、腫瘍細胞が免疫系により認識され得るが、それにもかかわらず抗腫瘍反応を制限または遮断する阻害機構によって免疫系が休止したままであり得るために、癌治療が頻繁に、最良に効果的でないことに気づいている。例えば、負の調節性T細胞表面分子は、その活性を弱めるように活性化T細胞でアップレギュレートされ、結果として腫瘍細胞を死滅させる効果が弱くなることが発見された。これらの阻害分子は、T細胞共刺激分子CD28への相溶性ゆえに、負の共刺激分子と名付けられた。免疫チェックポイントタンパク質とも呼ばれるこれらのタンパク質は、初期活性化シグナルの減衰、正の共刺激に対する競合、および抗原提示細胞の直接阻害を含む多数の経路において機能する。

10

【0005】

ある免疫チェックポイントタンパク質PD-1(プログラム細胞死タンパク質1)は、CD279(表面抗原分類279)としても知られ、免疫活性化と免疫寛容との間のバランスの調節に関係する単球、活性化T細胞、およびB細胞に発現する。PD-1の主な役割はおそらく、感染に対する炎症反応中に末梢のT細胞の活性を制限し、および自己免疫を制限することである。PD-1リガンドB7-H1/PD-L1およびB7-DC/PD-L2は、様々な炎症誘導性サイトカインに反応してアップレギュレートされ、および炎症を起こした組織内の活性化T細胞においてPD-1に結合することができ、それによって免疫反応を制限する。

20

【0006】

PD-1リガンドは、肺、卵巣および結腸の細胞腫、および黒色腫などの、多くのヒト腫瘍に、正常レベルよりも高いレベルで発現し、それは腫瘍浸潤リンパ球においてPD-1に結合することにより局所の抗腫瘍T細胞応答を阻害する。PD-1とPD-L1との間の相互作用の阻害は、インビトロでのT細胞応答を増強し、および前臨床の抗腫瘍活性を媒介することができる。

【0007】

PD-1などの免疫チェックポイント阻害剤(ICI)の使用は、より良い癌免疫療法に対する有望な手法の代表であると思われる。しかしながら、ワクチンを含む免疫活性化の他の手段との、PD-1/PD-L1阻害剤の併用は、免疫療法の望ましい改善を大し

30

【0008】

したがって、ICIでの処置に基づく、特にPD-1経路阻害剤に基づく治療のための、安全かつ効果的な方法が必要であり、腫瘍、癌および/または感染症の治療に特に必要とされる。

【発明の概要】

【0009】

一実施形態では、本発明は、原発癌または転移癌を有する被験体の腫瘍量を減少させる方法を提供し、該方法は：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、およびプログラム細胞死タンパク質1(PD-1)またはプログラム細胞死リガンド1(PD-L1)の阻害剤を投与し、それによって前記被験体の腫瘍量を減少させる工程を含む。

40

【0010】

別の実施形態では、本発明は、活動的な癌を有する被験体における転移性腫瘍の拡散リスクを減らす方法を提供し、該方法は：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、およびプログラム細胞死タンパク質1(PD-1)またはプログラム細胞死リガンド1(PD-L1)の阻害剤を投与し、それによって前記被験体の転移性腫瘍のリスクを減らす工程を含む。

【0011】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌の再出現、再発または転移の拡大を防ぐ、または遅らせる方法を提供し、該方法は：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミ

50

ンニ塩酸塩、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD - 1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD - L 1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体における前記癌の再出現、再発または転移の拡大を防ぐ、または遅らせる工程を含む。

【0012】

別の実施形態では、本発明は、前記癌からの寛解にある被験体における癌の再発を防ぐ方法を提供し、該方法は：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD - 1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD - L 1) の阻害剤を投与し、それによって前記癌からの寛解にある前記被験体における癌の再発を防ぐ工程を含む。

【0013】

別の実施形態では、本発明は、前記癌からの寛解にある被験体における癌の再発を遅らせる方法を提供し、該方法は：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD - 1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD - L 1) の阻害剤を投与し、それによって前記癌からの寛解にある前記被験体における癌の再発を遅らせる工程を含む。

10

【0014】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌からの寛解を延長する方法を提供し、該方法は：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD - 1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD - L 1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体における前記癌からの寛解を延長する工程を含む。

20

【0015】

別の実施形態では、本発明は、癌からの寛解にある被験体における生存を増加させる方法を提供し、該方法は：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD - 1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD - L 1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体の生存を増加させる工程を含む。

【0016】

別の実施形態では、本発明は、癌からの寛解にある被験体の生存期間を延長する方法を提供し、該方法は：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD - 1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD - L 1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体の生存期間を延長する工程を含む。

30

【0017】

別の実施形態では、本発明は、被験体における悪性腫瘍の増殖を減らす方法を提供し、該方法は：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD - 1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD - L 1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体における悪性腫瘍の増殖を減らす工程を含む。

【0018】

別の実施形態では、本発明は、癌からの寛解にある被験体の癌の症状を低減または緩和する方法を提供し、該方法は：前記被験体に、治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD - 1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD - L 1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体における前記癌症状を低減または緩和する工程を含む。

40

【0019】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌からの寛解を延長するためのキットを提供し、該キットは：a) 治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質 1 (PD 1) またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD - L 1) の阻害剤、および前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

【0020】

50

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測する方法を提供し、該方法は：a)前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；b)前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；c)前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；およびd)前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内の、CD8⁺細胞傷害性T細胞表現型の頻度を測定する工程を含み、ここで前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにTエフェクターメモリー細胞(T_{EM})の頻度の減少、およびTエフェクター細胞(T_{eff})の頻度の増加があるような、細胞傷害性T細胞の再分布がある場合、前記癌治療は被験体において有効であると予測され、および、前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルに細胞傷害性T細胞の再分布がない場合、前記癌治療は前記被験体において有効ではないと予測され、それによって前記被験体における前記癌治療の効果が予測される。

10

【0021】

別の実施形態では、本発明は、前記癌からの寛解にある被験体における癌の再発を防ぐ方法を提供し、該方法は：a)前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；b)前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；c)前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；d)前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内の、CD8⁺細胞傷害性T細胞表現型の頻度を測定する工程、およびe)前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにTエフェクターメモリー細胞(T_{EM})の頻度の減少、およびTエフェクター細胞(T_{eff})の頻度の増加があるような、細胞傷害性T細胞の再分布がある場合、前記被験体に前記処置の追加のサイクルを施す工程を含み、それによって前記被験体における前記癌の再発を防ぐ。

20

【0022】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌からの寛解を延長する方法を提供し、該方法は：a)前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；b)前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；c)前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；d)前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内の、CD8⁺細胞傷害性T細胞表現型の頻度を測定する工程、およびe)前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにTエフェクターメモリー細胞(T_{EM})の頻度の減少、およびTエフェクター細胞(T_{eff})の頻度の増加があるような、細胞傷害性T細胞の再分布がある場合、前記被験体に前記処置の追加のサイクルを施す工程を含み、それによって前記被験体における前記癌からの寛解を延長する。

30

【0023】

別の実施形態では、本発明は、化学療法後の完全寛解(CR)にある、急性骨髄性白血病(AML)を有する被験体におけるAMLの再発を防ぐ方法を提供し、該方法は：a)前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；b)前記被験体にヒスタミン二塩酸塩およびインターロイキン2(IL-2)の第1サイクルを投与する工程；c)前記第1サイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；d)前記血液サンプル内のCD8⁺細胞傷害性T細胞表現型の分布を測定する工程；およびe)Tエフェクターメモリー細胞(T_{EM})の頻度の減少、およびTエフェクター細胞(T_{eff})の頻度の増加があるような、前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルに細胞傷害性T細胞の再分布がある場合、前記被験体にヒスタミン二塩酸塩およびIL-2の追加のサイクルを投与する工程を含み、それによって前記被験体におけるAMLの再発を防ぐ。

40

【0024】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測するためのキットを提供し、該キットは、ヒスタミン受容体アゴニスト、免疫増強薬、CD8⁺細胞傷害性の表現型を測定する手段、および前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

50

【 0 0 2 5 】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測する方法を提供し、該方法は：(a)前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；(b)前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；(c)前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；および(d)前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内のNK細胞の頻度を測定する工程を含み、ここで前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにNK細胞の頻度に増加がある場合、前記癌治療は前記被験体において効果的であると予測され、および、前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにNK細胞の頻度の増加がない場合、前記癌治療は前記被験体において効果的ではないと予測され、それによって前記被験体における前記癌治療の有効性が予測される。

10

【 0 0 2 6 】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測する方法を提供し、該方法は：(a)前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；(b)前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；(c)前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；および(d)前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプルにおけるバイオマーカーの発現レベルを測定する工程を含み、前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカーの発現レベルの増加がある場合、前記癌治療は前記被験体において効果的であると予測され、および前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカーの発現レベルの増加がない場合、前記癌治療は前記被験体において効果的ではないと予測され、それによって前記被験体における前記癌治療の有効性が予測される。

20

【 0 0 2 7 】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測する方法を提供し、該方法は：(a)前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；(b)前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；(c)前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；および(d)前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプルにおけるバイオマーカーの発現レベルを測定する工程を含み、ここで前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカーの発現レベルの低下がある場合、前記癌治療は前記被験体において効果的であると予測され、および、前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカーの発現レベルの低下がない場合、前記癌治療は前記被験体において効果的ではないと予測され、それによって前記被験体における前記癌治療の有効性が予測される。

30

【 0 0 2 8 】

別の実施形態では、本発明は、被験体の癌を処置する方法を提供し、該方法は：前記被験体に治療上有効な量の、活性酸素種(ROS)を低下させる薬剤を投与する工程を含む。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 9 】

本発明と見なされる主題が特に指摘され、本明細書の結論部分で明確に請求される。しかしながら、本発明は、その目的、特徴および利点と共に、実施の構成および方法の両方に関して、添付の図と共に読む時に、以下の詳細な説明を参照することによって最もよく理解され得る。

40

【 図 1 】 4つの処置グループにおける各被験体の個々の腫瘍サイズ。腫瘍増殖中の8、11および13日目の、対照(n=29)、ヒスタミン(n=29)、-PD1/PDL1(n=8)、およびヒスタミン+-PD1/PDL1(n=8)処置群の各被験体における腫瘍サイズが示される。腫瘍サイズは対照の%として示され、100%は腫瘍接種後2週間における対照腫瘍の平均サイズであった。

【 図 2 】 4つの処置群における平均腫瘍サイズ。腫瘍増殖中の8、11および13日目の

50

、対照 (n = 29)、ヒスタミン (n = 29)、 - PD1 / PDL1 (n = 8)、およびヒスタミン + - PD1 / PDL1 (n = 8) の処置群における平均腫瘍サイズの平均 ± 標準誤差 (s.e.m.) が示される。群は二元配置分散分析を使用して統計的に比較された。* p < 0.05、*** p < 0.001。示される全ての p 値は両側 p 値である。腫瘍サイズは対照の % として示され、100% は腫瘍接種後 2 週間における対照腫瘍の平均サイズであった。

【図 3】4 つの処置群における腫瘍サイズ。4 つの処置群における腫瘍サイズは、腫瘍測定それぞれの時点ごとに箱ひげ図で示される。箱は、水平線によって示された中間値の腫瘍サイズを有する、腫瘍サイズの第 25 および第 75 四分位を示す。ひげは、腫瘍サイズの最大値および最小値を示す。P 値はスチューデントの t 検定を使用して算出された。* p < 0.05、** p < 0.01、*** p < 0.001。示される全ての p 値は両側 p 値である。腫瘍サイズは対照の % として示され、100% は腫瘍接種後 2 週間における対照腫瘍の平均サイズであった。

10

【図 4】Re: Mission 第 I V 相試験の概観。第 1 の完全寛解 (CR) にある適格な AML 患者は、18 ヶ月間、3 週間サイクルの HDC / IL-2 を 10 回受けた。末梢血単核球 (PBMC) を、サイクル 1 およびサイクル 3 の前後に採取された血液から単離した。患者は最後の処置サイクルを完了した後、6 ヶ月間フォローアップされた。

【図 5】分析された患者。試験に含まれた患者の数、および成功裡に分析されたサンプルの数を示すフローチャート。

【図 6 A】HDC / IL-2 を用いた免疫療法中の、再発のないおよび再発を有する AML 患者における CD8⁺ サブセットの分布。HDC / IL-2 処置の第 1 および第 3 サイクルの前 (サイクル 1、1 日目、C1D1)、および後 (C1D21) における、CD8⁺ T 細胞の血球数測定。

20

【図 6 B】HDC / IL-2 を用いた免疫療法中の、再発のないおよび再発を有する AML 患者における CD8⁺ サブセットの分布。CD8⁺ T 細胞区画内の、ナイーブ細胞 (T_N; CD45RA⁺CCR7⁺)、中央メモリー細胞 (T_{CM}; CD45RO⁺CCR7⁺)、エフェクターメモリー細胞 (T_{EM}; CD45RO⁺CCR7⁻)、およびエフェクター細胞 (T_{eff}; CD45RA⁺CCR7⁻) を判定するためのゲーティング法。

【図 6 C】HDC / IL-2 を用いた免疫療法中の、再発のないおよび再発を有する AML 患者における CD8⁺ サブセットの分布。免疫療法の第 1 サイクルの開始 (C1D1) および末日 (C1D21) における、再発のない (n = 18) および再発を有する (n = 26) 患者の、CD8⁺ 部分母集団 T_N 細胞の頻度。統計的分析をスチューデントの対応のある t 検定によって行なった。

30

【図 6 D】HDC / IL-2 を用いた免疫療法中の、再発のないおよび再発を有する AML 患者における CD8⁺ サブセットの分布。免疫療法の第 1 サイクルの開始 (C1D1) および末日 (C1D21) における、再発のない (n = 18) および再発を有する (n = 26) 患者の、CD8⁺ 部分母集団 T_{CM} 細胞の頻度。統計的分析をスチューデントの対応のある t 検定によって行なった。

【図 6 E】HDC / IL-2 を用いた免疫療法中の、再発のないおよび再発を有する AML 患者における CD8⁺ サブセットの分布。免疫療法の第 1 サイクルの開始 (C1D1) および末日 (C1D21) における、再発のない (n = 18) および再発を有する (n = 26) 患者の、CD8⁺ 部分母集団 T_{EM} 細胞の頻度。統計的分析をスチューデントの対応のある t 検定によって行なった。

40

【図 6 F】HDC / IL-2 を用いた免疫療法中の、再発のないおよび再発を有する AML 患者における CD8⁺ サブセットの分布。免疫療法の第 1 サイクルの開始 (C1D1) および末日 (C1D21) における、再発のない (n = 18) および再発を有する (n = 26) 患者の、CD8⁺ 部分母集団 T_{eff} (F) 細胞の頻度。統計的分析をスチューデントの対応のある t 検定によって行なった。

【図 7 A】免疫療法の開始時の、LFS に対する CD8⁺ サブセットの影響。HDC / IL-2 の第 1 の処置サイクル前に採取された血液サンプル中の T_N CD8⁺ T 細胞の中

50

間パーセンテージに基づいて、患者を二分した。L F Sをログランク検定で分析した。

【図7B】免疫療法の開始時の、L F Sに対するC D 8 +サブセットの影響。H D C / I L - 2の第1の処置サイクル前に採取された血液サンプル中のT_{C M} C D 8 + T細胞の中間パーセンテージに基づいて、患者を二分した。L F Sをログランク検定で分析した。

【図7C】免疫療法の開始時の、L F Sに対するC D 8 +サブセットの影響。H D C / I L - 2の第1の処置サイクル前に採取された血液サンプル中のT_{E M} C D 8 + T細胞の中間パーセンテージに基づいて、患者を二分した。L F Sをログランク検定で分析した。

【図7D】免疫療法の開始時の、L F Sに対するC D 8 +サブセットの影響。H D C / I L - 2の第1の処置サイクル前に採取された血液サンプル中のT_{e f f} C D 8 + T細胞の中間パーセンテージに基づいて、患者を二分した。L F Sをログランク検定で分析した。

【図8A】H D C / I L - 2を受けている患者の臨床結果に対する、C D 8 +サブセットの変化させた分布の影響。全ての患者を、第1の処置サイクル中のC D 8 + T細胞サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によってL F SおよびO Sを分析した。患者は、第1の処置サイクル中のT_{E M}細胞の減少(%)およびT_{e f f}細胞の同時誘導(%)の発生によって、遷移に対し陽性であると見なされた。

【図8B】H D C / I L - 2を受けている患者の臨床結果に対する、C D 8 +サブセットの変化させた分布の影響。全ての患者を、第1の処置サイクル中のC D 8 + T細胞サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によってL F SおよびO Sを分析した。患者は、第1の処置サイクル中のT_{E M}細胞の減少(%)およびT_{e f f}細胞の同時誘導(%)の発生によって、遷移に対し陽性であると見なされた。

【図8C】H D C / I L - 2を受けている患者の臨床結果に対する、C D 8 +サブセットの変化させた分布の影響。全ての患者を、第1の処置サイクル中のC D 8 + T細胞サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によってL F SおよびO Sを分析した。患者は、第1の処置サイクル中のT_{E M}細胞の減少(%)およびT_{e f f}細胞の同時誘導(%)の発生によって、遷移に対し陽性であると見なされた。

【図8D】H D C / I L - 2を受けている患者の臨床結果に対する、C D 8 +サブセットの変化させた分布の影響。全ての患者を、第1の処置サイクル中のC D 8 + T細胞サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によってL F SおよびO Sを分析した。患者は、第1の処置サイクル中のT_{E M}細胞の減少(%)およびT_{e f f}細胞の同時誘導(%)の発生によって、遷移に対し陽性であると見なされた。

【図8E】H D C / I L - 2を受けている患者の臨床結果に対する、C D 8 +サブセットの変化させた分布の影響。全ての患者を、T_{E M}からT_{e f f}細胞への遷移(trans)または無遷移に基づいて二分し、およびL F SとO Sをログランク検定によって分析した。患者は、第1の処置サイクル中のT_{E M}細胞の減少(%)およびT_{e f f}細胞の同時誘導(%)の発生によって、遷移に対し陽性であると見なされた。

【図8F】H D C / I L - 2を受けている患者の臨床結果に対する、C D 8 +サブセットの変化させた分布の影響。> 60歳の患者を、第1の処置サイクル中のC D 8 + T細胞サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によってL F SおよびO Sを分析した。患者は、第1の処置サイクル中のT_{E M}細胞の減少(%)およびT_{e f f}細胞の同時誘導(%)の発生によって、遷移に対し陽性であると見なされた。

【図8G】H D C / I L - 2を受けている患者の臨床結果に対する、C D 8 +サブセットの変化させた分布の影響。> 60歳の患者を、第1の処置サイクル中のC D 8 + T細胞サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によってL F SおよびO Sを分析した。患者は、第1の処置サイクル中のT_{E M}細胞の減少(%)およびT_{e f f}細胞の同時誘導(%)の発生によって、遷移に対し陽性であると見なされた。

【図8H】H D C / I L - 2を受けている患者の臨床結果に対する、C D 8 +サブセットの変化させた分布の影響。> 60歳の患者を、第1の処置サイクル中のC D 8 + T細胞サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によってL F SおよびO Sを分析した。患者は、第1の処置サイクル中のT_{E M}細胞の減少(%)およ

10

20

30

40

50

び T_{eff} 細胞の同時誘導 (%) の発生によって、遷移に対し陽性であると見なされた。

【図 8 I】HDC / IL - 2 を受けている患者の臨床結果に対する、 $CD8^+$ サブセットの変化させた分布の影響。 > 60 歳の患者を、第 1 の処置サイクル中の $CD8^+$ T 細胞サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によって LFS および OS を分析した。患者は、第 1 の処置サイクル中の T_{EM} 細胞の減少 (%) および T_{eff} 細胞の同時誘導 (%) の発生によって、遷移に対し陽性であると見なされた。

【図 8 J】HDC / IL - 2 を受けている患者の臨床結果に対する、 $CD8^+$ サブセットの変化させた分布の影響。 > 60 歳の患者を、 T_{EM} から T_{eff} 細胞への遷移 (trans) または無遷移に基づいて二分し、および LFS と OS をログランク検定によって分析した。患者は、第 1 の処置サイクル中の T_{EM} 細胞の減少 (%) および T_{eff} 細胞の同時誘導 (%) の発生によって、遷移に対し陽性であると見なされた。

【図 9】免疫療法中の T_{EM} 細胞と T_{eff} 細胞の分布における変化の負の相関。 HDC / IL - 2 を用いた第 1 の処置サイクル中の、 $CD8^+$ T_{EM} (Y 軸) および T_{eff} (X 軸) の頻度における変化は、相関していた。再発のない患者は赤い点で示され、他方で再発している患者は黒い点で示される。

【図 10 A】HDC / IL - 2 を受けている若年の患者、および高齢の患者における $CD8^+$ T 細胞集団の分布。 HDC / IL - 2 免疫療法の前 (サイクル 1、1 日目; C1D1) または後 (C1D21) の、 < 60 歳の患者 (n = 17)、および > 60 歳の患者 (n = 27) における、 $CD8^+$ 部分母集団 T_N 細胞の頻度。統計的分析をスチューデントの対応のある t 検定によって行なった。

【図 10 B】HDC / IL - 2 を受けている若年の患者、および高齢の患者における $CD8^+$ T 細胞集団の分布。 HDC / IL - 2 免疫療法の前 (サイクル 1、1 日目; C1D1) または後 (C1D21) の、 < 60 歳の患者 (n = 17)、および > 60 歳の患者 (n = 27) における、 $CD8^+$ 部分母集団 T_{CM} 細胞の頻度。統計的分析をスチューデントの対応のある t 検定によって行なった。

【図 10 C】HDC / IL - 2 を受けている若年の患者、および高齢の患者における $CD8^+$ T 細胞集団の分布。 HDC / IL - 2 免疫療法の前 (サイクル 1、1 日目; C1D1) または後 (C1D21) の、 < 60 歳の患者 (n = 17)、および > 60 歳の患者 (n = 27) における、 $CD8^+$ 部分母集団 T_{EM} 細胞の頻度。統計的分析をスチューデントの対応のある t 検定によって行なった。

【図 10 D】HDC / IL - 2 を受けている若年の患者、および高齢の患者における $CD8^+$ T 細胞集団の分布。 HDC / IL - 2 免疫療法の前 (サイクル 1、1 日目; C1D1) または後 (C1D21) の、 < 60 歳の患者 (n = 17)、および > 60 歳の患者 (n = 27) における、 $CD8^+$ 部分母集団 T_{eff} の細胞の頻度。統計的分析をスチューデントの対応のある t 検定によって行なった。

【図 10 E】HDC / IL - 2 を受けている若年の患者、および高齢の患者における $CD8^+$ T 細胞集団の分布。 < 60 歳の患者を、第 1 の処置サイクル中の、異なる $CD8^+$ サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によって LFS および OS を分析した。

【図 10 F】HDC / IL - 2 を受けている若年の患者、および高齢の患者における $CD8^+$ T 細胞集団の分布。 < 60 歳の患者を、第 1 の処置サイクル中の、異なる $CD8^+$ サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によって LFS および OS を分析した。

【図 10 G】HDC / IL - 2 を受けている若年の患者、および高齢の患者における $CD8^+$ T 細胞集団の分布。 < 60 歳の患者を、第 1 の処置サイクル中の、異なる $CD8^+$ サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によって LFS および OS を分析した。

【図 10 H】HDC / IL - 2 を受けている若年の患者、および高齢の患者における $CD8^+$ T 細胞集団の分布。 < 60 歳の患者を、第 1 の処置サイクル中の、異なる $CD8^+$ サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によって LFS

10

20

30

40

50

SおよびOSを分析した。

【図10I】HDC/IL-2を受けている若年の患者、および高齢の患者におけるCD8⁺T細胞集団の分布。＜60歳の患者を、第1の処置サイクル中の、異なるCD8⁺サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によってLFSおよびOSを分析した。

【図10J】HDC/IL-2を受けている若年の患者、および高齢の患者におけるCD8⁺T細胞集団の分布。＜60歳の患者を、第1の処置サイクル中の、異なるCD8⁺サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によってLFSおよびOSを分析した。

【図10K】HDC/IL-2を受けている若年の患者、および高齢の患者におけるCD8⁺T細胞集団の分布。＜60歳の患者を、第1の処置サイクル中の、異なるCD8⁺サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によってLFSおよびOSを分析した。

【図10L】HDC/IL-2を受けている若年の患者、および高齢の患者におけるCD8⁺T細胞集団の分布。＜60歳の患者を、第1の処置サイクル中の、異なるCD8⁺サブセットの頻度の誘導または減少に基づいて二分し、続いてログランク検定によってLFSおよびOSを分析した。

【図10M】HDC/IL-2を受けている若年の患者、および高齢の患者におけるCD8⁺T細胞集団の分布。＜60歳の患者を、T_{EM}からT_{eff}細胞への遷移または無遷移に基づいて二分し、およびLFSとOSをログランク検定によって分析した。

【図10N】HDC/IL-2を受けている若年の患者、および高齢の患者におけるCD8⁺T細胞集団の分布。＜60歳の患者を、T_{EM}からT_{eff}細胞への遷移または無遷移に基づいて二分し、およびLFSとOSをログランク検定によって分析した。

【図11A】HDC/IL-2を用いた免疫療法中の、CD8⁺T細胞における活性化マーカーの発現。CD3⁺CD8⁺集団におけるCD25⁺細胞の頻度（サイクル1、1日目；C1D1 n=62；C1D21 n=63）。統計的分析をスチューデントの対応のあるt検定によって行なった。

【図11B】HDC/IL-2を用いた免疫療法中の、CD8⁺T細胞における活性化マーカーの発現。CD3⁺CD8⁺集団におけるCD69⁺細胞の頻度（サイクル1、1日目；C1D1 n=62；C1D21 n=63）。統計的分析をスチューデントの対応のあるt検定によって行なった。

【図11C】HDC/IL-2を用いた免疫療法中の、CD8⁺T細胞における活性化マーカーの発現。CD3⁺CD8⁺T細胞におけるHLA-DRの中間蛍光強度（MFI）（n=44）。統計的分析をスチューデントの対応のあるt検定によって行なった。サイクル1中のHLA-DR強度の減少は、ノンパラメトリック分析において統計的に有意なままであった（ウィルコクソンの符号順位検定、P=0.0003）。

【図11D】HDC/IL-2を用いた免疫療法中の、CD8⁺T細胞における活性化マーカーの発現。免疫療法の第1サイクルの開始時（C1D21）または末日（C1D1）に採取された血液サンプルを、PMA/イオノマイシンで刺激し、続いてIFN- γ の細胞内染色を行った。箱ひげ図は、第1の処置サイクル前後のIFN- γ 産生CD8⁺T細胞の頻度を示す（C1D1 n=58；C1D21 n=63）。統計的分析をスチューデントの対応のあるt検定によって行なった。

【図12A】HDC/IL-2を受けている患者における、HLA-DR発現および白血病に特異的なCD8⁺T細胞のLFSに対する影響。患者を、治療の開始時（C1D1；n=44）、または第1の処置サイクル後（C1D21；n=47）における、CD3⁺CD8⁺T細胞での中間値のHLA-DR発現によって二分した。LFSとOSをログランク検定で分析した。

【図12B】HDC/IL-2を受けている患者における、HLA-DR発現および白血病に特異的なCD8⁺T細胞のLFSに対する影響。HDC/IL-2処置を受けている患者からの血液サンプルを、白血病細胞関連抗原からのペプチドのプール（AML-ペプ

10

20

30

40

50

チド)、またはCMV、EBVおよびインフルエンザウイルスからのペプチドのプール(CEF-ペプチド)、またはペプチド無し(負の対照)で刺激した。IFN- γ 産生CD8⁺T細胞のパーセンテージをフローサイトメトリーによって判定した。代表的なドットプロットが、刺激なしのサンプル、およびAML-ペプチドまたはCEF-ペプチドで刺激されたサンプルにおけるIFN- γ 生成を示す。

【図12C】HDC/IL-2を受けている患者における、HLA-DR発現および白血病に特異的なCD8⁺T細胞のLFSに対する影響。HDC/IL-2処置を受けている患者からの血液サンプルを、白血病細胞関連抗原からのペプチドのプール(AML-ペプチド)、またはCMV、EBVおよびインフルエンザウイルスからのペプチドのプール(CEF-ペプチド)、またはペプチド無し(負の対照)で刺激した。IFN- γ 産生CD8⁺T細胞のパーセンテージをフローサイトメトリーによって判定した。AML特異的、またはCEF特異的なCD8⁺T細胞の有無に基づいて患者を二分し、続いてログランク検定によってLFSを分析した。抗原特異性T細胞の分析の最終時点(C3D21; 105日)前に起こる事象を伴わない患者のみを、後の分析において考慮した。

【図13】T_{EM}からT_{eff}細胞への遷移およびNK細胞NKp46発現の、臨床結果に対する影響。第1の処置サイクル中にT_{EM}細胞の減少(%)およびT_{eff}細胞の同時誘導(%)を示す場合に、患者を遷移陽性で見なし、および免疫療法の第1サイクル後(C1D21)に、CD16⁺NK細胞がNKp46の中間値レベルを超えて発現した場合、NKp46^{high}と見なした。データは、T_{EM}-T_{eff}遷移およびNKp46^{high}(両方)、遷移のみ、NKp46^{high}のみ、T_{EM}-T_{eff}無遷移および低いNKp46発現(両方)を伴う患者のLFSとOSを示す(傾向に関するログランク検定によって分析)。

【図14A】60歳未満および60歳を超える患者におけるNK細胞の誘導と活性化。箱ひげ図は、<60歳の患者(若年、白; NK細胞数、n=17、NCR発現、n=21)、および>60歳の患者(高齢、灰色; NK細胞数、n=30、NCR発現、n=35)における、HDC/IL-2を用いた第1の21日間の処置サイクルの前(C1D21)および後(C1D1)の、CD16⁺またはCD56^{bright}NK細胞における血液内のCD16⁺NK細胞の数を示す。NK細胞数の誘導およびNCR発現を、スチューデントの対応のあるt検定を使用して分析した。

【図14B】60歳未満および60歳を超える患者におけるNK細胞の誘導と活性化。箱ひげ図は、<60歳の患者(若年、白; NK細胞数、n=17、NCR発現、n=21)、および>60歳の患者(高齢、灰色; NK細胞数、n=30、NCR発現、n=35)における、HDC/IL-2を用いた第1の21日間の処置サイクルの前(C1D21)および後(C1D1)の、CD16⁺またはCD56^{bright}NK細胞におけるNKp30の中間蛍光強度(MFI)を示す。NK細胞数の誘導およびNCR発現を、スチューデントの対応のあるt検定を使用して分析した。

【図14C】60歳未満および60歳を超える患者におけるNK細胞の誘導と活性化。箱ひげ図は、<60歳の患者(若年、白; NK細胞数、n=17、NCR発現、n=21)、および>60歳の患者(高齢、灰色; NK細胞数、n=30、NCR発現、n=35)における、HDC/IL-2を用いた第1の21日間の処置サイクルの前(C1D21)および後(C1D1)の、CD16⁺またはCD56^{bright}NK細胞におけるNKp46の中間蛍光強度(MFI)を示す。NK細胞数の誘導およびNCR発現を、スチューデントの対応のあるt検定を使用して分析した。

【図14D】60歳未満および60歳を超える患者におけるNK細胞の誘導と活性化。箱ひげ図は、<60歳の患者(若年、白; NK細胞数、n=17、NCR発現、n=21)、および>60歳の患者(高齢、灰色; NK細胞数、n=30、NCR発現、n=35)における、HDC/IL-2を用いた第1の21日間の処置サイクルの前(C1D21)および後(C1D1)の、CD16⁺またはCD56^{bright}NK細胞における血液内のCD56^{bright}NK細胞の数を示す。NK細胞数の誘導およびNCR発現を、スチューデントの対応のあるt検定を使用して分析した。

10

20

30

40

50

【図14E】60歳未満および60歳を超える患者におけるNK細胞の誘導と活性化。箱ひげ図は、<60歳の患者（若年、白；NK細胞数、 $n = 17$ 、NCR発現、 $n = 21$ ）、および>60歳の患者（高齢、灰色；NK細胞数、 $n = 30$ 、NCR発現、 $n = 35$ ）における、HDC/IL-2を用いた第1の21日間の処置サイクルの前（C1D21）および後（C1D1）の、CD16⁺またはCD56^{bright}NK細胞におけるNKp30の中間蛍光強度（MFI）を示す。NK細胞数の誘導およびNCR発現を、スチューデントの対応のあるt検定を使用して分析した。

【図14F】60歳未満および60歳を超える患者におけるNK細胞の誘導と活性化。箱ひげ図は、<60歳の患者（若年、白；NK細胞数、 $n = 17$ 、NCR発現、 $n = 21$ ）、および>60歳の患者（高齢、灰色；NK細胞数、 $n = 30$ 、NCR発現、 $n = 35$ ）における、HDC/IL-2を用いた第1の21日間の処置サイクルの前（C1D21）および後（C1D1）の、CD16⁺またはCD56^{bright}NK細胞におけるNKp46の中間蛍光強度（MFI）を示す。NK細胞数の誘導およびNCR発現を、スチューデントの対応のあるt検定を使用して分析した。NK細胞数の誘導およびNCR発現を、スチューデントの対応のあるt検定を使用して分析した。

【図15A】高齢のAML患者における、白血病なしの生存（LFS）および全生存（OS）に対するNK細胞NCR発現の影響。高齢の患者（>60）に関するLFSおよびOSが示され、第1のHDC/IL-2処置サイクル前のCD16⁺NK細胞上でのNKp30発現の中央値以上（赤）または以下（黒色）に基づいて二分されている。

【図15B】高齢のAML患者における、白血病なしの生存（LFS）および全生存（OS）に対するNK細胞NCR発現の影響。高齢の患者（>60）に関するLFSおよびOSが示され、第1のHDC/IL-2処置サイクル前のCD16⁺NK細胞上でのNKp46発現の中間値以上（赤）または以下（黒色）に基づいて二分されている。

【図15C】高齢のAML患者における、白血病なしの生存（LFS）および全生存（OS）に対するNK細胞NCR発現の影響。高齢の患者（>60）に関するLFSおよびOSが示され、第1のHDC/IL-2処置サイクル後のCD16⁺NK細胞上でのNKp30の発現の中間値以上（赤）または以下（黒色）に基づいて二分されている。

【図15D】高齢のAML患者における、白血病なしの生存（LFS）および全生存（OS）に対するNK細胞NCR発現の影響。高齢の患者（>60）に関するLFSおよびOSが示され、第1のHDC/IL-2処置サイクル後の、CD16⁺NK細胞上でのNKp46発現の中間値以上（赤）または以下（黒色）に基づいて二分されている。

【図16A】HDC/IL-2を用いた免疫療法は、白血球数を増加させ、血液単球レベルを低下させる。HDC/IL-2による免疫療法のサイクル1（C1）および3（C3）の前（1日目；D1）および後（21日目；D21）の、白血球の末梢血球数を示す。スチューデントの対応のあるt検定を、時点間の違いを分析するために用いた。

【図16B】HDC/IL-2を用いた免疫療法は、白血球数を増加させ、血液単球レベルを低下させる。HDC/IL-2による免疫療法のサイクル1（C1）および3（C3）の前（1日目；D1）および後（21日目；D21）の、好酸球の末梢血球数を示す。スチューデントの対応のあるt検定を、時点間の違いを分析するために用いた。

【図16C】HDC/IL-2を用いた免疫療法は、白血球数を増加させ、血液単球レベルを低下させる。HDC/IL-2による免疫療法のサイクル1（C1）および3（C3）の前（1日目；D1）および後（21日目；D21）の、好中球の末梢血球数を示す。スチューデントの対応のあるt検定を、時点間の違いを分析するために用いた。

【図16D】HDC/IL-2を用いた免疫療法は、白血球数を増加させ、血液単球レベルを低下させる。HDC/IL-2による免疫療法のサイクル1（C1）および3（C3）の前（1日目；D1）および後（21日目；D21）の、単球の末梢血球数を示す。スチューデントの対応のあるt検定を、時点間の違いを分析するために用いた。

【図16E】HDC/IL-2を用いた免疫療法は、白血球数を増加させ、血液単球レベルを低下させる。サイクル1中の単球減少の中間値に基づいて患者を二分し、続いてロゲランク検定によりLFSおよびOSを分析した。

10

20

30

40

50

【図16F】HDC/IL-2を用いた免疫療法は、白血球数を増加させ、血液単球レベルを低下させる。サイクル1中の単球減少の中間値に基づいて患者を二分し、続いてログランク検定によりLFSおよびOSを分析した。

【図17A】LFSとOSへのヒスタミンH2R発現の影響。スチューデントの対応のあるt検定によって分析された、HDC/IL-2のサイクル中のCD14⁺単球のH2R発現を示す。

【図17B】LFSとOSへのヒスタミンH2R発現の影響。スチューデントの対応のあるt検定によって分析された、HDC/IL-2のサイクル中のCD16⁺単球のH2R発現を示す。

【図17C】LFSとOSへのヒスタミンH2R発現の影響。免疫療法のサイクル1の21日目(C1D21)における、CD14⁺単球の中間値H2R発現(MFI)に基づいて患者を二分し、続いてログランク検定によりLFSおよびOSを分析した。

【図17D】LFSとOSへのヒスタミンH2R発現の影響。免疫療法のサイクル1の21日目(C1D21)における、CD16⁺単球の中間値H2R発現(MFI)に基づいて患者を二分し、続いてログランク検定によりLFSおよびOSを分析した。

【図17E】LFSとOSへのヒスタミンH2R発現の影響。免疫療法のサイクル1の21日目(C1D21)における、CD14⁺単球の中間値H2R発現(MFI)に基づいて患者を二分し、続いてログランク検定によりLFSおよびOSを分析した。

【図17F】LFSとOSへのヒスタミンH2R発現の影響。免疫療法のサイクル1の21日目(C1D21)における、CD16⁺単球の中間値H2R発現(MFI)に基づいて患者を二分し、続いてログランク検定によりLFSおよびOSを分析した。

【図18A】HDC/IL-2免疫療法中の骨髄表面マーカーの再分布。サイクル1および3の1日目と21日目における、CD14⁺単球上でのHLA-DR、CD40およびCD86の発現(MFI)を示す。時間点間の違いを分析するためにスチューデントの対応のあるt検定を用いた。

【図18B】HDC/IL-2免疫療法中の骨髄表面マーカーの再分布。CD16⁺単球に関する対応する発現データを示す。時間点間の違いを分析するためにスチューデントの対応のあるt検定を用いた。

【図18C】HDC/IL-2免疫療法中の骨髄表面マーカーの再分布。CD1c⁺DCsに関する対応する発現データを示す。時間点間の違いを分析するためにスチューデントの対応のあるt検定を用いた。

【図18D】HDC/IL-2免疫療法中の骨髄表面マーカーの再分布。CD141⁺DCsに関する、対応する発現データを示す。時間点間の違いを分析するためにスチューデントの対応のあるt検定を用いた。

【図19A】骨髄性細胞におけるHLA-ABC発現は、HDC/IL-2を用いた処置中のLFSを予測する。CD14⁺単球の骨髄性細胞のサブセットに関し、示された時間点におけるHLA-ABC発現を示す。スチューデントの対応のあるt検定を、時間点間の違いを分析するために用いた。

【図19B】骨髄性細胞におけるHLA-ABC発現は、HDC/IL-2を用いた処置中のLFSを予測する。CD16⁺単球の骨髄性細胞のサブセットに関し、示された時間点におけるHLA-ABC発現を示す。スチューデントの対応のあるt検定を、時間点間の違いを分析するために用いた。

【図19C】骨髄性細胞におけるHLA-ABC発現は、HDC/IL-2を用いた処置中のLFSを予測する。CD1c⁺DCsの骨髄性細胞のサブセットに関し、示された時間点におけるHLA-ABC発現を示す。スチューデントの対応のあるt検定を、時間点間の違いを分析するために用いた。

【図19D】骨髄性細胞におけるHLA-ABC発現は、HDC/IL-2を用いた処置中のLFSを予測する。CD141⁺DCsの骨髄性細胞のサブセットに関し、示された時間点におけるHLA-ABC発現を示す。スチューデントの対応のあるt検定を、時間点間の違いを分析するために用いた。

10

20

30

40

50

【図19E】骨髄性細胞におけるHLA-ABC発現は、HDC/IL-2を用いた処置中のLFSを予測する。サイクル1の1日目(C1D1)における、CD14⁺単球の中間値HLA-ABC発現に基づいて患者を二分し、続いてログランク検定によってLFSを分析した。

【図19F】骨髄性細胞におけるHLA-ABC発現は、HDC/IL-2を用いた処置中のLFSを予測する。サイクル1の1日目(C1D1)における、CD14⁺単球の中間値HLA-ABC発現に基づいて患者を二分し、続いてログランク検定によってOSを分析した。

【図20A】免疫療法の開始時または免疫療法中のT_{EM}からT_{eff}への遷移において、高CD8⁺T_{EM}数を有する、または有さない患者の結果に対する、単球HLA-ABC発現の影響。サイクル1の1日目(C1D1)において、高い血液CD8⁺T_{EM}細胞数を有する患者を、C1D1におけるCD14⁺単球上の中間値HLA-ABC発現に基づいて二分し、続いてログランク検定によりLFSを分析した。

10

【図20B】免疫療法の開始時または免疫療法中のT_{EM}からT_{eff}への遷移において、高CD8⁺T_{EM}数を有する、または有さない患者の結果に対する、単球HLA-ABC発現の影響。サイクル1の1日目(C1D1)において、低い血液CD8⁺T_{EM}細胞数を有する患者を、C1D1におけるCD14⁺単球上の中間値HLA-ABC発現に基づいて二分し、続いてログランク検定によりLFSを分析した。

【図20C】免疫療法の開始時または免疫療法中のT_{EM}からT_{eff}への遷移において、高CD8⁺T_{EM}数を有する、または有さない患者の結果に対する、単球HLA-ABC発現の影響。サイクル1の1日目(C1D1)において、低い血液CD8⁺T_{EM}細胞数を有する患者を、C1D1におけるCD14⁺単球上の中間値HLA-ABC発現に基づいて二分し、続いてログランク検定によりOSを分析した。

20

【図20D】免疫療法の開始時または免疫療法中のT_{EM}からT_{eff}への遷移において、高CD8⁺T_{EM}数を有する、または有さない患者の結果に対する、単球HLA-ABC発現の影響。免疫療法のサイクル1中に、CD8⁺T_{EM}からT_{eff}細胞への遷移を達成した、またはしなかった患者に関する、対応する結果を示す。

【図20E】免疫療法の開始時または免疫療法中のT_{EM}からT_{eff}への遷移において、高CD8⁺T_{EM}数を有する、または有さない患者の結果に対する、単球HLA-ABC発現の影響。免疫療法のサイクル1中に、CD8⁺T_{EM}からT_{eff}細胞への遷移を達成した、またはしなかった患者に関する、対応する結果を示す。

30

【図20F】免疫療法の開始時または免疫療法中のT_{EM}からT_{eff}への遷移において、高CD8⁺T_{EM}数を有する、または有さない患者の結果に対する、単球HLA-ABC発現の影響。免疫療法のサイクル1中に、CD8⁺T_{EM}からT_{eff}細胞への遷移を達成した、またはしなかった患者に関する、対応する結果を示す。

【図21A】CMML患者は、免疫抑制特性を有する白血病細胞を宿す。末梢血中のCMML単核細胞に対する代表的なゲーティング法を示す。緑の集団は成熟した白血病CD14⁺細胞を含み、他方で未成熟のCD34⁺芽細胞は青色で描かれる。

【図21B】CMML患者は、免疫抑制特性を有する白血病細胞を宿す。CMML患者(n=11)および健康な対照(n=10)からの末梢血中のCD14⁺およびCD34⁺細胞における、gp91phoxおよびH2Rのフローサイトメトリー分析。

40

【図21C】CMML患者は、免疫抑制特性を有する白血病細胞を宿す。HDC(50 μM)、ラニチジン(10 μM)、およびAH202399AA(10 μM)による阻害の有無に応じた、FACS選別されたCD14⁺CMML細胞からの代表的なROS測定を示す。

【図21D】CMML患者は、免疫抑制特性を有する白血病細胞を宿す。NOX-2阻害剤HDCを使用した11の組み合わせ実験を示す(100 μM、p<0.001)。対応のあるウィルコクソンの符号付順位検定を使用した分析。

【図22A】ROSを産生するCMML細胞はNK細胞機能を損なう。NK細胞(左)とCD14⁺CMML細胞(右)間の相互作用を描く共焦点の顕微鏡写真図を示す。青変病

50

は核の D A P I 染色を表し、および緑色の染料は膜結合型の g p 9 1 p h o x に結合している。

【図 2 2 B】R O S を産生する C M M L 細胞は N K 細胞機能を損なう。抗 C D 3 3 抗体リンツズマブ (1 μ g / m l) および H D C (1 0 0 μ M) の有無に応じた、I L - 2 刺激された N K 細胞 (n = 9) による C D 1 4 + C M M L 細胞に対する脱顆粒。データを、ボンフェローニの補正とスチューデントの対応のある t 検定を使用して分析した。

【図 2 2 C】R O S を産生する C M M L 細胞は N K 細胞機能を損なう。1 6 : 1 から 1 : 1 の範囲の比率で、C M M L 細胞を用いて一晩インキュベーションした後の N K 細胞死 (n = 6) を示す。図に示されるのは、各ドナーごとに、少なくとも 5 0 % のアポトーシス N K 細胞を伴う最初の N K : C M M L 比率からのアポトーシス N K 細胞の割合である。示された時、N O X 2 阻害剤 H D C (1 0 0 μ M) 、 P A R P - 1 阻害剤 P J 3 4 (0 . 5 μ M) 、 N O X 2 阻害剤 D P I (3 μ M) またはカタラーゼ (2 0 0 U / m l) が、一晩のインキュベーション中に存在した。C M M L 誘導 N K 細胞アポトーシスに対する阻害剤の効果を、一元配置分散分析により分析し、続いてボンフェローニの多重比較検定によって分析した。

【図 2 3 A】C D 8 + T 細胞は、C M M L セル誘導 R O S 媒介細胞死に感受性がある。阻害剤 H D C (1 0 0 μ M) 、 P A R P - 1 阻害剤 P J 3 4 (0 . 5 μ M) 、 N O X 2 阻害剤 D P I (3 μ M) 、またはカタラーゼ (2 0 0 U / m l) の有無における、1 : 1 比率での C M M L 細胞を用いた一晩のインキュベーション後の C D 8 + T 細胞アポトーシス (n = 4) を示す。一元配置分散分析、続いてボンフェローニの多重比較検定によって分析した。

【図 2 3 B】C D 8 + T 細胞は、C M M L セル誘導 R O S 媒介細胞死に感受性がある。示された C D 8 + T 細胞サブセットを選別し、および 1 : 1 比率で、N O X 2 阻害剤 D P I (3 μ M 、 n = 3) の有無において、C M M L 細胞を用いて一晩インキュベートした。T N 細胞を C D 4 5 R A + C C R 7 + 、 T c m を C D 4 5 R O + C C R 7 + 、 T e m を C D 4 5 R O + C C R 7 、および T e f f を C D 4 5 R A + C C R 7 - と定義した。一元配置分散分析、続いてボンフェローニの多重比較検定によって分析した。

【図 2 4 A】C M M L 患者における活性化 N K 細胞受容体の発現。受容体 N K p 3 0 、 N K p 4 6 、 N K p 8 0 、 N K G 2 D 、 D N A M - 1 、および 2 B 4 の中間値蛍光強度 (M F I) を示す。C M M L 患者 (n = 1 0) を、P B M C 内の C D 3 4 + 芽細胞が 2 % より多い (n = 5) またはより少ない (n = 5) に分け、および年齢の一致している対称 (H . D ; n = 1 0) と比較した。データをスチューデントの t 検定によって分析した。

【図 2 4 B】C M M L 患者における活性化 N K 細胞受容体の発現。パネル A に対応する受容体に対して陽性の N K 細胞のパーセンテージを示す。C M M L 患者 (n = 1 0) を、P B M C 内の C D 3 4 + 芽細胞が 2 % より多い (n = 5) またはより少ない (n = 5) に分け、および年齢の一致している対称 (H . D ; n = 1 0) と比較した。データをスチューデントの t 検定によって分析した。

【図 2 5】活性化受容体の、R O S 媒介下方調節。(A) 健康なドナーからの N K 細胞および単球を、P A R P - 1 阻害剤 P J 3 4 (0 . 5 μ M) の有無において、一晩、共インキュベートした。受容体 N K p 4 6 、 N K p 8 0 、 D N A M - 1 および C D 1 6 に関する中間値の蛍光強度 (M F I) が表示される。データをスチューデントの t 検定によって分析した。

【 0 0 3 0 】

単純かつ明確に例示するために、図に示される要素は必ずしも正確な縮図ではないことが理解されよう。例えば、要素のいくつかの寸法は、明確にするために他の要素に比して誇張されている場合もある。さらに、適切であると考えられた場合、対応するまたは類似の要素を示すために、参照番号は図の間で重複している場合もある。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 3 1 】

以下の詳細な記載では、本発明を完全に理解するために、数々の特定の詳細が明らかに

10

20

30

40

50

される。しかしながら、本発明がこれらの特定の詳細なしで実行され得ることが当業者によって理解されるだろう。他の場合、周知の方法、手続きおよび構成要素は、本発明を不明瞭にしないように詳細に記載されてはいない。

【0032】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌を処置する方法を提供し、該方法は：前記被験体に別の治療薬と共に治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニストを投与し、それによって前記被験体の前記癌を治療する工程を含む。一実施形態では、治療薬はプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) 阻害剤である。別の実施形態では、治療薬はプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) 阻害剤である。

【0033】

一実施形態では、本発明は、原発癌または転移癌を有する被験体の腫瘍量を減少させる方法を提供し、該方法は、前記被験体に治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体の腫瘍量を減少させる工程を含む。

【0034】

別の実施形態では、本発明は、活動的な癌を有する被験体における転移性腫瘍の拡散リスクを減らす方法を提供し、該方法は、前記被験体に治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体における転移癌拡大のリスクを減らす工程を含む。

【0035】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌の再出現、再発または転移の拡大を防ぐまたは遅らせる方法を提供し、該方法は、前記被験体に治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体における前記癌の再出現、再発または転移の拡大を防ぐ、または遅らせる工程を含む。

【0036】

別の実施形態では、本発明は、前記癌からの寛解にある被験体における癌の再発を防ぐ方法を提供し、該方法は、前記被験体に治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤を投与し、それによって前記癌からの寛解にある前記被験体における癌の再発を防ぐ工程を含む。

【0037】

別の実施形態では、本発明は、前記癌からの寛解にある被験体における癌の再発を遅らせる方法を提供し、該方法は、前記被験体に治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤を投与し、それによって前記癌からの寛解にある前記被験体における癌の再発を遅らせる工程を含む。

【0038】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌からの寛解を延長する方法を提供し、該方法は、前記被験体に治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体における前記癌からの寛解を延長する工程を含む。

【0039】

別の実施形態では、本発明は、癌からの寛解にある被験体の生存を増加させる方法を提供し、該方法は、前記被験体に治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体の生存を増加させる工程を含む。

【0040】

10

20

30

40

50

別の実施形態では、本発明は、癌からの寛解にある被験体の生存期間を延長する方法を提供し、該方法は、前記被験体に治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体の生存期間を延長する工程を含む。

【0041】

別の実施形態では、本発明は、被験体における悪性腫瘍の増殖を減らす方法を提供し、該方法は、前記被験体に治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤を投与し、それによって前記被験体における悪性腫瘍の増殖を減らす工程を含む。

【0042】

別の実施形態では、本発明は、癌からの寛解にある被験体の癌の症状を低減または緩和する方法を提供し、該方法は、前記被験体に治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) を投与し、それによって前記被験体における前記癌の症状を低減または緩和する工程を含む。

【0043】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌からの寛解を延長するためのキットを提供し、該キットは、a) 治療上有効な量のヒスタミン受容体アゴニスト、およびプログラム細胞死タンパク質1 (PD-1) またはプログラム細胞死リガンド1 (PD-L1) の阻害剤、および前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

【0044】

< PD-1 阻害剤 >

一実施形態では、本発明の癌治療は、本明細書に記載されるような1つ以上の治療薬と併用したPD-1の阻害剤の投与を含む。一実施形態では、PD-1阻害剤は抗体である。一実施形態では、抗体はアンタゴニスト抗体または核酸コードされた抗体(細胞内抗体)である。別の実施形態では、PD-1阻害剤は、siRNA、アンチセンスRNA、PD-1に結合することができるがPD-1シグナルを防ぐことができるアミノ酸配列を含むタンパク質(またはそのようなアミノ酸配列をコードする核酸)(例えば、PD-L1またはPD-L2のフラグメントの融合タンパク質、および免疫グロブリンのFc部分)、リガンドPD-L1およびPD-L2の結合のための膜結合型PD-1と競合する可溶性タンパク質(または可溶性タンパク質をコードする核酸); またはPD-1経路シグナルを阻害することができる小分子阻害剤である。

【0045】

一実施形態では、PD-1阻害剤は、抗PD-1抗体ニボルマブ(MDX-1106/BMS-936558/ONO-4538)(Brahmer et al., 2010 . J Clin Oncol . 28(19) : 3167-75 ; PMID : 20516446) ; またはピジリズマブ(CT-011)(Berger et al., 2008 . Clin Cancer Res . 14(10) : 3044-51 ; PMID : 18483370) ; およびMK-3475(SCH 900475)である。別の実施形態では、抗PD-1抗体はペムプロリズマブである。

【0046】

別の実施形態では、PD-1経路阻害剤は、PD-1リガンドに向けられる抗体(または抗体をコードする核酸)であり、一実施形態では、PD-1またはPD-2リガンドの細胞外領域に特異的に結合する抗体である。一実施形態では、抗体はリガンド上のPD-1またはPD-2結合部位の近くに結合し、およびそれに対して破壊的である。

【0047】

< PD-L1 阻害剤 >

一実施形態では、抗PD-L1抗体はMDX-1105/BMS-936559(Brahmer et al., 2012 . N Engl J Med . 366(26) : 2455-65 ; PMID : 22658128) ; MPDL3280A/RG7446また

10

20

30

40

50

は M E D I 4 7 3 6 である。別の実施形態では、P D - 1 経路阻害剤は、P D - 1 に結合することができるが、P D - 1 経路シグナルを防ぐことができるアミノ酸配列を含むタンパク質、またはそのようなアミノ酸配列をコードする核酸である。一実施形態では、P D - 1 経路阻害剤は、P D - L 1 または P D - L 2 リガンドのフラグメントの融合タンパク質である。一実施形態では、P D - 1 経路阻害剤は、P D - 1 および免疫グロブリンの F c 部分に結合することができる、P D - L 1 または P D - L 2、またはそれらのフラグメントの細胞外の領域を含む融合タンパク質である。そのような融合タンパク質の一例は、A M P - 2 2 4 に代表される (e x t r a c e l l u l a r d o m a i n o f m u r i n e P D - L 2 / B 7 - D C f u s e d t o t h e u n m o d i f i e d F c p o r t i o n o f m u r i n e I g G 2 a p r o t e i n ; M k r t i c h y a n e t a l . , 2 0 1 2 . J I m m u n o l . 1 8 9 (5) : 2 3 3 8 - 4 7 ; P M I D : 2 2 8 3 7 4 8 3) 。

10

【0048】

<ヒスタミン>

一実施形態では、ヒスタミンは本発明の方法および組成物に使用される。別の実施形態では、ヒスタミン受容体アゴニストは本発明の方法および組成物に使用される。一実施形態では、本発明のヒスタミンはヒスタミン二塩酸塩である。別の実施形態では、本発明のヒスタミンは N - メチル - ヒスタミンである。別の実施形態では、本発明のヒスタミンは 4 - メチル - ヒスタミンである。別の実施形態では、本発明のヒスタミンは他のヒスタミン H 2 - 受容体アゴニストを含む。

20

【0049】

ヒスタミン二塩酸塩は市販で入手可能であり、およびヒスタミン二塩酸塩とヒスタミンの他の形態を作る方法は、当技術分野において既知である (例えば米国特許第 6 , 5 2 8 , 6 5 4、これは参照により本明細書に組み込まれる) 。

投与方法

【0050】

一実施形態では、P D - 1 または P D - L 1 の阻害剤およびヒスタミンの投与は、同時または時期をずらして、同じ投与部位または異なる投与部位に行ってもよい。

【0051】

別の実施形態では、本明細書に記載される治療または予防のための薬剤または化合物はいずれも同時に投与してもよい。別の実施形態では、それらを互いに異なる時期に投与してもよい。一実施形態では、それらを互いに対して数分以内に投与してもよい。別の実施形態では、それらを互いに対して数時間以内に投与してもよい。別の実施形態では、それらを互いに対して 1 時間以内に投与してもよい。別の実施形態では、それらを互いに対して 2 時間以内に投与してもよい。別の実施形態では、それらを互いに対して 5 時間以内に投与してもよい。別の実施形態では、それらを互いに対して 1 2 時間以内に投与してもよい。別の実施形態では、それらを互いに対して 2 4 時間以内に投与してもよい。

30

【0052】

一実施形態では、本明細書に記載される治療または予防のための薬剤または化合物はいずれも同じ投与部位に投与してもよい。別の実施形態では、それらを異なる投与部位に投与してもよい。

40

【0053】

<免疫増強薬>

別の実施形態では、P D - 1 または P D - L 1 の阻害剤およびヒスタミンを投与する本発明の方法は、さらに追加の免疫増強薬を投与する工程を含む。一実施形態では、追加の免疫増強薬はインターロイキン 2 (I L - 2) である。I L - 2 の投与は、P D - 1 または P D - L 1 の阻害剤およびヒスタミンのように、同時または時期をずらして、同じ投与部位または異なる投与部位に行ってもよい。

【0054】

別の実施形態では、P D - 1 または P D - L 1 の阻害剤およびヒスタミンは、L A G -

50

3の阻害剤、インドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ1(I DO 1)の阻害剤、シプロイセルT、または他のワクチン注射、またはそれらの組み合わせによる併用処置として投与される。別の実施形態では、PD-1またはPD-L1の阻害剤およびヒスタミンは、抗CD40、抗CD27、抗4-1BB、またはそれらの組み合わせを用いた併用処置として施される。別の実施形態では、PD-1またはPD-L1の阻害剤およびヒスタミンは、他の免疫賦活剤を用いた併用処置として投与される。一実施形態では、免疫増強薬は、IFN、IL-21、および抗キラー免疫グロブリン様受容体[KIR]、またはそれらの組み合わせである。

【0055】

別の実施形態では、PD-1またはPD-L1阻害剤およびヒスタミンの投与に加えて、癌ワクチンが本発明の方法において投与される。一実施形態では、ワクチンはGardasil(登録商標)である。別の実施形態では、ワクチンはCervarix(登録商標)である。別の実施形態では、ワクチンはシプロイセルTである。

10

【0056】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌からの寛解を延長するためのキットを提供し、該キットは：a)ヒスタミン二塩酸塩およびPD-1またはPD-L1の阻害剤、ならびに前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

【0057】

一実施形態では、ヒスタミンは免疫増強薬である。一実施形態では、キットは、ヒスタミン二塩酸塩に加えて追加の免疫増強薬を含む。一実施形態では、追加の免疫増強薬はIL-2である。別の実施形態では、キットは、ヒスタミン二塩酸塩およびPD-1またはPD-L1の阻害剤に加えて、上記に記載のものを含む追加の処置を含む。

20

【0058】

<癌治療の有効性の予測>

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測するための方法を提供する。

【0059】

一実施形態では、バイオマーカーは被験体における癌治療の有効性を予測するために使用される。一実施形態では、バイオマーカーはH2Rである。別の実施形態では、バイオマーカーはNKp30である。別の実施形態では、バイオマーカーはNKp46である。

30

【0060】

別の実施形態では、バイオマーカーはHLA-DR(Human Leukocyte Antigen-antigen D Related)、CD86、CD40、またはそれらの組み合わせである。別の実施形態では、バイオマーカーはHLA-ABCの低い発現である。別の実施形態では、血液単球数の減少は白血病なしの生存を予測する。

【0061】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測する方法を提供し、該方法は：(a)前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；(b)前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；(c)前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；および(d)前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内のNK細胞の頻度を測定する工程、を含み、ここで前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにNK細胞の頻度の増加がある場合、前記癌治療は前記被験体において効果的であると予測され、および、前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにNK細胞の頻度の増加がない場合、前記癌治療は前記被験体において効果的ではないと予測され、それによって前記被験体における前記癌治療の有効性が予測される。

40

【0062】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測する方法を提供し、該方法は：(a)前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；(b)前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；(c)前記処置のサ

50

イクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；および（d）前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内のバイオマーカの発現レベルを測定する工程を含み、ここで前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカの発現レベルの増加がある場合、前記癌治療は前記被験体において効果的であると予測され、および、前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカの発現レベルの増加がない場合、前記癌治療は前記被験体において効果的ではないと予測され、それによって前記被験体における前記癌治療の有効性が予測される。

【0063】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測する方法を提供し、該方法は：（a）前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；（b）前記癌に処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；（c）前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；および（d）前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内のバイオマーカの発現レベルを測定する工程を含み、ここで前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカの発現レベルの低下がある場合、前記癌治療は前記被験体において効果的であると予測され、および、前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにバイオマーカの発現レベルの低下がない場合、前記癌治療は前記被験体において効果的ではないと予測され、それによって前記被験体における前記癌治療の有効性が予測される。

10

【0064】

一実施形態では、本明細書に記載される癌治療の有効性を予測する方法は、前記癌からの寛解にある被験体の癌の再発を予防する方法、被験体における癌からの寛解を延長する方法、化学療法後の完全寛解（CR）にあるAMLを有する被験体における急性骨髄性白血病（AML）の再発を予防する方法、またはそれらの併用、と合わせて使用されてもよく、前記方法は：a）前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；b）前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；c）前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；d）被験体の癌治療の有効性を予測する方法において使用される、前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプル内のバイオマーカの測定、およびe）本明細書に記載される癌治療の有効性を予測する方法において、前記バイオマーカが前記第1の血液サンプルから前記第2の血液サンプルへと変化していたならば、前記処置の追加のサイクルを前記被験体に施す工程を含む。

20

30

【0065】

<細胞傷害性T細胞の再分布>

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測する方法を提供し、該方法は：a）前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；b）前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；c）前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；およびd）前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプルにおけるCD8⁺細胞傷害性T細胞表現型の頻度を測定する工程を含み、ここで前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにTエフェクターメモリー細胞（T_{EM}）の頻度の減少、およびTエフェクター細胞（T_{eff}）の頻度の増加があるような、細胞傷害性T細胞の再分布がある場合、前記癌治療は被験体において有効であると予測され、および、前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルに細胞傷害性T細胞の再分布がない場合、前記癌治療は前記被験体において有効ではないと予測され、それによって前記被験体における前記癌治療の効果が予測される。

40

【0066】

別の実施形態では、本発明は、前記癌からの寛解にある被験体における癌の再発を防ぐ方法を提供し、該方法は：a）前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；b）前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；c）前記処

50

置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；d)前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプルにおけるCD8⁺細胞傷害性T細胞表現型の頻度を測定する工程、およびe)前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにTエフェクターメモリー細胞(T_{EM})の頻度の減少、およびTエフェクター細胞(T_{eff})の頻度の増加があるような、細胞傷害性T細胞の再分布がある場合、前記被験体に前記処置の追加のサイクルを施す工程を含み、それによって前記被験体における前記癌の再発を防ぐ。

【0067】

別の実施形態では、本発明は、被験体における癌からの寛解を延長する方法を提供し、該方法は：a)前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；b)前記癌に対する処置のサイクル、または提案された処置を前記被験体に施す工程；c)前記処置のサイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；d)前記第1の血液サンプルおよび前記第2の血液サンプルにおけるCD8⁺細胞傷害性T細胞表現型の頻度を測定する工程、およびe)前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルにTエフェクターメモリー細胞(T_{EM})の頻度の減少、およびTエフェクター細胞(T_{eff})の頻度の増加があるような、細胞傷害性T細胞の再分布がある場合、前記被験体に前記処置の追加のサイクルを施す工程を含み、それによって前記被験体における前記癌からの寛解を延長する。

10

【0068】

別の実施形態において、本発明は、完全寛解(CR)にある急性骨髄性白血病(AML)を有する被験体におけるAMLの再発を防ぐ方法を提供し、該方法は：a)前記被験体から第1の血液サンプルを得る工程；b)前記被験体にヒスタミン二塩酸塩およびインターロイキン2(IL-2)の第1サイクルを投与する工程；c)前記第1サイクルの完了後に、前記被験体から第2の血液サンプルを得る工程；d)前記血液サンプル内のCD8⁺細胞傷害性T細胞表現型の頻度を測定する工程；およびe)Tエフェクターメモリー細胞(T_{EM})の頻度の減少、およびTエフェクター細胞(T_{eff})の頻度の増加があるような、前記第1の血液サンプルと比較して前記第2の血液サンプルに細胞傷害性T細胞の再分布がある場合、前記被験体にヒスタミン二塩酸塩およびIL-2の追加のサイクルを投与する工程を含み、それによって前記被験体におけるAMLの再発を防ぐ。

20

【0069】

< 活性酸素種(ROS) >

別の実施形態では、本発明は、被験体の癌を処置する方法を提供し、該方法は：治療上有効な量の、活性酸素種(ROS)を低下させる薬剤を投与する工程を含む。一実施形態では、該方法は、治療上有効な量の、細胞外のROSを低下させる薬剤を投与する工程を含む。

30

【0070】

一実施形態では、薬剤はROS形成の阻害剤である。別の実施形態において、薬剤は細胞外ROSの消去剤である。

【0071】

一実施形態では、該方法はさらに、ヒスタミン受容体アゴニストを投与する工程を含む。一実施形態では、癌は白血病である。一実施形態では、白血病は慢性骨髄単球性白血病(CMML)である。

40

【0072】

< 癌 >

一実施形態では、本明細書に記載される癌を治療する方法は、寛解にある被験体における癌の再発を予防または遅らせる方法、癌からの寛解を延長する方法、生存を増加させる方法、癌の症状を低減または緩和する方法、またはそれらの組み合わせを含む。別の実施形態では、本明細書に記載される癌を処置する方法は、原発癌または転移癌を有する被験体の腫瘍量を減少させる方法、活動的な癌を有する被験体における転移性腫瘍の拡散リスクを減らす方法、被験体における癌の再出現、再発または転移の拡大を予防または遅らせ

50

る方法、被験体における癌の再発を防ぐ方法、前記癌からの寛解にある被験体における癌の再発を遅らせる方法、被験体の癌からの寛解を延長する方法、癌からの寛解にある被験体の生存を増加させる方法、癌からの寛解にある被験体の生存期間を延長する方法、被験体の悪性腫瘍増殖を減らす方法、癌からの寛解にある被験体の癌の症状を低減または緩和する方法、またはそれらの組合せを含む。

【0073】

一実施形態では、本発明の方法によって処置される被験体は、癌または腫瘍を有するか、または患っている。別の実施形態では、本発明の方法によって処置される被験体は、癌または腫瘍からの寛解にある。別の実施形態では、被験体は完全寛解（CR）にある。一実施形態では、CRは白血病からのCRである。完全寛解を評価する方法は、当技術において周知である。

10

【0074】

別の実施形態において、本発明の方法によって処置された被験体は、固形腫瘍またはリンパ腫を有し、および初期の癌治療に対する「奏効」を示した。別の実施形態において、本発明の方法によって処置された被験体は、固形腫瘍またはリンパ腫を有し、および初期の癌治療に対して「完全寛解」を示した。

【0075】

一実施形態では、癌または腫瘍を有する被験体は、癌に対する免疫システムの反応を増大させることを意図した治療を含む、外科手術、化学療法、放射線治療、標的治療、またはそれらの組み合わせにより処置されている。別の実施形態では、癌または腫瘍を有する被験体は、ヒスタミンおよびPD-1またはPD-L1の阻害剤で処置されている。

20

【0076】

一実施形態では、本発明の方法における被験体は、癌を有する、または過去に癌を有していた。別の実施形態では、被験体は腫瘍を有する、または過去に腫瘍を有していた。別の実施形態では、被験体は腫瘍疾患を有する。別の実施形態では、被験体は悪性腫瘍を有する。別の実施形態では、被験体は、前癌性の疾病または前悪性の疾病を有する、または過去に有していた。

【0077】

一実施形態では、癌は白血病である。一実施形態では、白血病は急性骨髄性白血病（AML）である。別の実施形態では、白血病は慢性骨髄性白血病（CML）である。別の実施形態では、白血病は慢性骨髄単球性白血病（CMML）である。別の実施形態では、白血病は急性リンパ性白血病（ALL）である。別の実施形態では、白血病は慢性リンパ性白血病（CLL）である。別の実施形態では、白血病はヘアリー細胞白血病である。

30

【0078】

一実施形態では、腫瘍は固形腫瘍である。一実施形態では、固形腫瘍は、結腸癌、前立腺癌、乳癌、肺癌、皮膚癌、肝臓癌、骨癌、卵巣癌、膵臓癌、脳癌、頭頸部癌、または他の固形腫瘍である。

【0079】

一実施形態では、癌または腫瘍は、乳房、前立腺、肺、結腸、胃、膵臓、卵巣または脳にある。別の実施形態では、癌は造血癌、神経芽腫または悪性神経膠腫である。

40

【0080】

別の実施形態では、癌は以下の1つ以上から選択される：副腎皮質癌、AIDS関連癌、カポジ肉腫、AIDS関連リンパ腫、原発性CNSリンパ腫、肛門癌、虫垂癌、星細胞腫、非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍、中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍、基底細胞癌 - 皮膚癌（非黒色腫性）を参照、胆管癌、膀胱癌、骨癌、ユーイング肉腫ファミリー腫瘍、骨肉腫および悪性線維性組織球腫、脳幹神経膠腫、脳腫瘍、星細胞腫、脳腫瘍および脊髄腫瘍の治療の概要、脳幹神経膠腫、中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍、中枢神経系胚芽腫、中枢神経系胚細胞腫瘍、頭蓋咽頭腫、上衣腫、乳癌、気管支腫瘍、パーキットリンパ腫 - 非ホジキンリンパ腫を参照、カルチノイド、胃カルチノイド、原発不明癌腫、心臓腫瘍、中枢神経系、非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍、胚芽腫、胚細胞

50

腫瘍、リンパ腫、原発性リンパ腫、子宮頸癌、胆管癌、脊索腫、慢性脊髄増殖性腫瘍、結腸癌、大腸癌、頭蓋咽頭腫、皮膚T細胞リンパ腫 - 菌状息肉腫およびセザリー症候群を参照、非浸潤性乳癌 (DCIS)、胚芽腫、中枢神経系、子宮内膜癌、上衣腫、食道癌、鼻腔神経芽細胞腫、ユーイング肉腫、頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、眼癌、眼球内黒色腫、網膜芽細胞腫、ファロピウス管癌、骨の線維性組織球腫、悪性、および骨肉腫、胆嚢癌、胃癌、消化管カルチノイド、消化管間質腫瘍 (GIST)、中枢神経系胚細胞腫瘍、頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、卵巣胚細胞腫瘍、睾丸胚細胞腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、神経膠腫 - 脳腫瘍脳幹を参照、頭頸部癌、心臓腫瘍、肝細胞性 (肝臓) 癌、組織球症、ランゲルハンス細胞、ホジキンリンパ腫、下咽頭癌、眼球内黒色腫、島細胞腫、脾臓神経内分泌腫瘍、カボジ肉腫、腎臓、腎細胞、ウィルムス腫瘍および他の小児腎腫瘍、ランゲルハンス細胞組織球症、喉頭癌、急性リンパ性白血病 (ALL)、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性リンパ性白血病 (CLL)、慢性骨髄性白血病 (CML)、有毛細胞、口唇癌および口腔癌、肝臓癌 (原発性)、肺癌、非小細胞性リンパ腫、小細胞性リンパ腫、AIDS 関連リンパ腫、パーキットリンパ腫 - 非ホジキンリンパ腫を参照、皮膚T細胞リンパ腫 - 菌状息肉腫およびセザリー症候群を参照、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、中枢神経系原発性 (CNS) リンパ腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症 - 非ホジキンリンパ腫を参照、男性の乳癌、骨の悪性線維性組織球腫および骨肉腫、眼内 (ブドウ膜) 黒色腫、メルケル細胞癌、中皮腫、悪性原発不明転移性扁平上皮性頸部癌、NUT 遺伝子を含む中線管癌腫 (Midline Tract Carcinoma)、口腔癌、多発性内分泌腺腫症、多発性骨髄腫 / 形質細胞腫瘍、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成 / 脊髄増殖性腫瘍、骨髄腫、多発性脊髄増殖性腫瘍、慢性副鼻腔癌および鼻腔癌、鼻咽癌、神経芽腫、非ホジキンリンパ腫、非小細胞肺癌、口腔癌、口腔癌、口唇癌および口腔咽頭癌、骨肉腫および骨の悪性線維性組織球腫、上皮性卵巣癌、胚細胞腫瘍、低悪性度腫瘍、脾臓癌、脾臓神経内分泌腫瘍 (島細胞腫)、乳頭腫症、傍神経節腫、副鼻腔癌および鼻腔癌、副甲状腺癌、陰茎癌、咽頭癌、クロム親和細胞腫、下垂体腫瘍、形質細胞腫瘍 / 多発性骨髄腫、胸膜肺芽腫、妊娠および乳癌、原発性中枢神経系 (CNS) リンパ腫、原発性腹膜癌、前立腺癌、直腸癌、腎細胞 (腎臓) 癌、腎盂と尿管の移行上皮癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、ユーイング肉腫、カボジ肉腫、骨肉腫 (骨癌)、横紋筋肉腫、軟部組織肉腫、子宮肉腫、血管腫瘍、セザリー症候群、皮膚癌、黒色腫、メルケル細胞癌、非黒色腫性の小細胞肺癌、小腸癌、軟部組織肉腫、有棘細胞癌 - 皮膚癌 (非黒色腫性) を参照、原発不明転移性扁平上皮性頸部癌、胃癌、皮膚T細胞性リンパ腫 - 菌状息肉腫およびセザリー症候群を参照、精巣癌、喉頭癌、胸腺腫および胸腺癌、甲状腺癌、腎盂と尿管の移行上皮癌、原発癌、尿管と腎盂の移行細胞癌、尿道癌、子宮癌、子宮内膜癌、子宮肉腫、腔癌、血管腫瘍、外陰癌、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症 - 非ホジキンリンパ腫を参照、およびウィルムス腫瘍。

10

20

30

【0081】

一実施形態では、前癌性の疾病は、日光角化症、パレット食道、萎縮性胃炎、非浸潤性乳管癌、先天性角化異常症、鉄欠乏性嚥下困難、扁平苔癬、口腔粘膜下線維症、日光弾力線維症、子宮頸部異形成、白板症、紅板症、またはそれらの組み合わせである。一実施形態では、前癌性の疾病は異形成または良性の新生物である。一実施形態では、前癌性の疾病は、前立腺上皮内腫瘍 (PIN)、増殖性炎症性萎縮 (PIA)、異型小腺房増殖 (ASAP)、扁平上皮内病変 (SIL)、子宮内膜異型増殖症、卵巣上皮性形成異常、胸の石灰化、MGUS (monoclonal gammopathy of unknown significance)、外陰上皮内腫瘍 (VIN)、上皮内小葉癌 (LCIS) 腔上皮内腫瘍、またはVAIN外陰硬化性苔癬および扁平苔癬、子宮頸部上皮内腫瘍 (CIN)、パレット食道、またはそれらの組み合わせである。

40

【0082】

一実施形態では、本発明の方法に記載される癌治療を寛解期の被験体に与える。一実施形態では、被験体は造血癌からの寛解にある。一実施形態では、導入療法を受けた被験体にそれを与える。一実施形態では、導入補助化学療法はシタラピンとダウノルピシンの併

50

用を含む。一実施形態では、地固め療法を完了した被験体にそれを与える。一実施形態では、地固め療法はシタラビンとダウノルビシンの併用を含む。別の実施形態では、地固めフェーズは、2～4クールの高用量シタラビンの投与を含み、時にはアントラサイクリンが追加される（一実施形態ではダウノルビシン、または別の実施形態ではイダルビシン）。別の実施形態では、地固めフェーズは、アントラサイクリンの追加無しの、高用量シタラビン投与を含む。別の実施形態では、地固めフェーズは同種または自己由来の移植を含む。別の実施形態では、被験体は地固めフェーズの完了後に同種または自己由来の移植を受ける。

【0083】

一実施形態では、癌治療は免疫学的処置または免疫療法である。一実施形態では、該処置は被験体の癌に対する免疫反応を強化する。別の実施形態では、該処置は被験体の癌に対する免疫反応を誘導する。一実施形態では、該処置は、被験体へのサイトカインの投与を含む。一実施形態では、サイトカインは免疫増強薬である。

10

【0084】

<サイトカイン>

一実施形態では、サイトカインはインターロイキンである。一実施形態では、インターロイキンはIL-2である。別の実施形態では、インターロイキンはIL-12である。別の実施形態では、インターロイキンはIL-15である。一実施形態では、インターロイキンは低用量で投与される。

【0085】

一実施形態では、IL-2は、1日2回、16,400U/kgの用量で投与される。

20

【0086】

別の実施形態では、サイトカインはインターフェロンである。一実施形態では、インターフェロンはインターフェロンである。別の実施形態では、インターフェロンはインターフェロンである。別の実施形態では、インターフェロンはインターフェロンである。

【0087】

別の実施形態では、サイトカインは造血成長因子である。一実施形態では、造血成長因子は：エリトロポイエチン、IL-11、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）、および顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）、またはそれらの組み合わせから成る群から選択される。

30

【0088】

一実施形態では、本発明の方法は、抗CTLA-4を投与する工程を含み、および本発明の組成物は抗CTLA-4を含む。一実施形態では、CD152（表面抗原分類152）としても知られるCTLA4またはCTLA-4（細胞傷害性リンパ球関連タンパク質4）は、免疫チェックポイントとして機能して免疫系をダウンレギュレートするタンパク質受容体である。一実施形態では、癌治療の有効性を向上させるために、抗CTLA-4を被験体に投与する。

【0089】

一実施形態では、寛解にある被験体または癌を有する被験体に行われた地固め療法は、被験体へのヒスタミン受容体アゴニストの投与を含む。一実施形態では、ヒスタミンは免疫増強薬である。一実施形態では、ヒスタミンはヒスタミン二塩酸塩である。

40

【0090】

一実施形態では、0.5mgのヒスタミン二塩酸塩を投与する。

【0091】

一実施形態では、IL-2、ヒスタミン、およびPD-1またはPD-L1の阻害剤を含む、本明細書に記載される治療薬を、1日1回投与する。別の実施形態では、治療薬を1日2回、被験体に投与する。別の実施形態では、治療薬を1日3回、被験体に投与する。別の実施形態では、治療薬を1日4回、被験体に投与する。別の実施形態では、治療薬を1週間に1回、被験体に投与する。別の実施形態では、治療薬を1週間に2回、被験体

50

に投与する。別の実施形態では、治療薬を1週間に3回、被験体に投与する。別の実施形態では、治療薬を1週間に4回、被験体に投与する。別の実施形態では、治療薬を2週間に1回、被験体に投与する。

【0092】

一実施形態では、癌治療はヒスタミン二塩酸塩およびインターロイキン2 (IL-2) を投与する工程を含む。一実施形態では、以下の実施例3に記載されるように、1日2回、0.5mg投与されたヒスタミン二塩酸塩、および1日2回、16,400 Uで投与されたIL-2は、以下の実施例4に記載されるようにIL-2およびヒスタミンを用いた第1回または第3回の処置が、Tエフェクターメモリー細胞の頻度の減少および付随するTエフェクター細胞の増加が存在する細胞傷害性T細胞の再分布を誘導した時、AMLからの寛解にある患者の再発防止に非常に効果的であった。

10

【0093】

一実施形態では、図4に記載されるように、本明細書の方法に記載の癌治療は、地固め後の治療、または維持療法である。

【0094】

一実施形態では、本発明の方法のいくつかは、一連の地固め後の治療の前後に被験体から取り出された第1および第2のサンプルにおいて実行される。一実施形態では、地固め後の治療の完了前後にサンプルを採取する。別の実施形態では、第1回の地固め後の治療の前後にサンプルを採取する。別の実施形態では、第3回の地固め後の治療の前後にサンプルを採取する。別の実施形態では、第1回および第3回の地固め後の治療の前後にサンプルを採取する。別の実施形態では、第1回から第4回までの地固め後の治療の前後にサンプルを採取する。別の実施形態では、第2回の地固め後の治療の前後にサンプルを採取する。別の実施形態では、第4回の地固め後の治療の前後にサンプルを採取する。別の実施形態では、第1回の地固め後の治療の前、および第3回の地固め後の治療の後にサンプルを採取する。別の実施形態では、第1回の地固め後の治療の前、および第2回の地固め後の治療の後にサンプルを採取する。別の実施形態では、第1回の地固め後の治療の前、および第4回の地固め後の治療の後にサンプルを採取する。

20

【0095】

一実施形態では、実施例3に記載されるように各処置サイクルは3週間続く。別の実施形態では、各処置サイクルは1-5週間続く。別の実施形態では、各処置サイクルは1週間続く。別の実施形態では、各処置サイクルは2週間続く。別の実施形態では、各処置サイクルは4週間続く。

30

【0096】

一実施形態では、以下の実施例3に記載されるように、地固め後の治療は10のサイクルを含む。別の実施形態では、地固め療法は1-5のサイクルを含む。別の実施形態では、地固め療法は5-10のサイクルを含む。別の実施形態では、地固め療法は10-15のサイクルを含む。別の実施形態では、地固め療法は5のサイクルを含む。別の実施形態では、地固め療法は15のサイクルを含む。別の実施形態では、地固め療法は7のサイクルを含む。別の実施形態では、地固め療法は12のサイクルを含む。別の実施形態では、地固め療法は3のサイクルを含む。

40

【0097】

一実施形態では、被験体からのサンプルは組織サンプルである。別の実施形態では、被験体からのサンプルは血液サンプルである。一実施形態では、血液サンプルは末梢血サンプルである。別の実施形態では、被験体からのサンプルは脳脊髄液 (CSF) サンプルである。別の実施形態では、被験体からのサンプルは尿サンプルである。別の実施形態では、被験体からのサンプルは糞便サンプルである。

【0098】

<キット>

別の実施形態において、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測するためのキットを提供し、該キットは、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、免疫増強薬、CD8

50

+ 細胞傷害性表現型を測定する手段、および前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

【0099】

別の実施形態において、本発明は、前記癌からの寛解にある被験体における癌の再発を予防するためのキットを提供し、該キットは、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、免疫増強薬、CD8⁺細胞傷害性表現型を測定する手段、および前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

【0100】

別の実施形態において、本発明は、被験体における癌からの寛解を延長するためのキットを提供し、該キットは、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、免疫増強薬、CD8⁺細胞傷害性表現型を測定する手段、および前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

10

【0101】

別の実施形態では、本発明は、化学療法後に完全寛解(CR)にある、AMLを有する被験体における急性骨髄性白血病(AML)の再発を防ぐためのキットを提供し、該キットは、ヒスタミン二塩酸塩、免疫増強薬、CD8⁺細胞傷害性の表現型を測定する手段、および前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

【0102】

別の実施形態において、本発明は、被験体における癌治療の有効性を予測するためのキットを提供し、該キットは、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、免疫増強薬、本明細書に記載のバイオマーカーを測定する手段、および前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

20

【0103】

別の実施形態において、本発明は、前記癌からの寛解にある被験体における癌の再発を予防するためのキットを提供し、該キットは、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、免疫増強薬、本明細書に記載のバイオマーカーを測定する手段、および前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

【0104】

別の実施形態において、本発明は、被験体における癌からの寛解を延長するためのキットを提供し、該キットは、治療上有効な量のヒスタミン二塩酸塩、免疫増強薬、本明細書に記載のバイオマーカーを測定する手段、および前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

30

【0105】

別の実施形態では、本発明は、化学療法後に完全寛解(CR)にある、AMLを有する被験体における急性骨髄性白血病(AML)の再発を防ぐためのキットを提供し、該キットは、ヒスタミン二塩酸塩、免疫増強薬、本明細書に記載のバイオマーカーを測定する手段、および前記キットの使用に関する使用説明書を含む。

【0106】

一実施形態では、本発明の癌治療は癌の再発を予防する。別の実施形態では、本発明の癌治療は癌の再発生を予防する。別の実施形態では、本発明の癌治療は癌の再発を遅らせる。別の実施形態では、本発明の癌治療は癌の再発生を遅らせる。別の実施形態では、本発明の癌治療は癌からの寛解を延長する。別の実施形態では、本発明の癌治療は、癌を有する被験体の生存を増加させる。別の実施形態では、本発明の癌治療は、癌を有する被験体の生存期間を延長する。別の実施形態では、本発明の癌治療は被験体の癌を処置する。別の実施形態では、本発明の癌治療は被験体の癌の症状を低減する。別の実施形態では、本発明の癌治療は被験体の癌の症状を緩和する。別の実施形態では、本発明の癌治療は、癌のない寛解を延長する。別の実施形態では、本発明の癌治療は、被験体の悪性腫瘍のサイズを減少させる。別の実施形態では、本発明の癌治療は、原発癌または転移癌を有する患者の腫瘍量を減少させる。別の実施形態では、本発明の癌治療は、活動的な癌を有する被験体における転移性腫瘍の拡散リスクを減らす。別の実施形態では、本発明の癌治療は、癌の負荷を減らすための外科手術、化学療法、または他の処置を受けた患者における癌

40

50

の再出現、再発または転移の拡大を防ぐ、または遅らせる。

【0107】

一実施形態では、寛解は造血癌からの寛解を含む。一実施形態では、造血癌からの寛解は、正常な造血の再出現と共に、被験体に（骨髄、血液または他の器官に）微視的な癌細胞がない場合であり、一実施形態では導入補助化学療法後に上記の状態にある場合である。

【0108】

一実施形態では、癌の寛解は、癌の徴候および症状の減少または消失である。一実施形態では、寛解は部分的な部分寛解であり、一実施形態では、癌の徴候および症状の全てではないにしてもそのいくつかが消えた場合である。別の実施形態では、寛解は完全寛解であり、一実施形態では、癌は依然として体内に存在しているかもしれないが、癌の全ての徴候および症状が消えた状態である。

【0109】

一実施形態では、被験体は、外科手術、化学療法または腫瘍量を低減する他の方法を含む導入療法後に寛解期に入る。

【0110】

一実施形態では、「処置」は、治療的な処置、および予防的処置または再発防止処置の両方を指し、その目的は、上記に記載のような標的とされた病理状態または障害を予防すること、または低減することである。したがって一実施形態では、本発明の方法は、被験体が化学療法または外科手術または他の処置後に癌からの寛解にある間、被験体に投与する工程を含む。別の実施形態では、本発明の方法は、癌を再発した被験体に投与する工程を含む。別の実施形態では、本発明の方法は活動的な癌を有する被験体に投与する工程を含む。

【0111】

したがって一実施形態では、処置は、疾患、障害または疾病に関連する症状に直接影響を与えること、またはその治療、抑制、予防、阻害、その発生率を低下させること、その重症度の低減、その発症を遅らせること、そのような症状の低減、またはそれらの組み合わせを含み得る。したがって一実施形態では、「処置」はとりわけ進行を遅らせること、寛解の促進、寛解の誘導、寛解を増加させること、回復を早めること、代替的な治療の有効性を増大させること、またはそれに対する抵抗を低下させること、またはそれらの組み合わせを指す。別の実施形態では、処置は、被験体における癌の再発の病因を減らすこと、その症状の改善、その続発症状の改善、または再発への潜伏期の延長を指す。一実施形態では、「予防」はとりわけ、症状の発症を遅らせること、疾患の再発の予防、再発症状の数または頻度を減らすこと、徴候的な発症と発症の間の潜伏期を増やすこと、またはそれらの組み合わせを指す。一実施形態では、「抑制」または「阻害」はとりわけ、症状の重症度の低減、急性発症の重症度の低減、症状の数を減らすこと、疾患関連の症状の発生率を減らすこと、症状の潜伏期を減らすこと、症状の改善、続発症状の低減、二次感染を減らすこと、患者の生存期間の延長、またはそれらの組み合わせを指す。

【0112】

一実施形態では、本発明の方法は被験体の症状を緩和する。一実施形態では、症状は原発性であり、他方で別の実施形態においては、症状は続発性である。一実施形態では、「原発性」は癌に直接起因する症状を指し、他方で一実施形態では、「続発性」は原発性の要因に由来する症状、またはその結果として生じた症状を指す。一実施形態では、本発明の方法は、癌に関連する原発症状または続発症状、または続発性の合併症を処置する。

【0113】

別の実施形態では、「症状」は、筋肉の単攣縮、痙攣、硬直；腕または脚に影響する筋力低下；早口で不明瞭な話し方、または鼻声；嘔む、または呑み込むのが困難；一般的な脱力、萎縮、またはそれらの組み合わせを含む癌の発現で有り得る。

【0114】

本発明の方法のいずれかによれば、一実施形態において被験体はヒトである。別の実施

10

20

30

40

50

形態では、被験体はヒト以外の霊長類である。別の実施形態では、被験体はネズミ科であり、一実施形態ではマウスであり、および別の実施形態ではラットである。別の実施形態では、被験体はイヌ、ネコ科の動物、ウシ、ウマ、ウサギ (laprine)、またはブタである。別の実施形態では、被験体は哺乳類である。別の実施形態では、被験体は、癌または腫瘍に侵されやすい有機体である。

【0115】

< 治療組成物および投与の方法 >

一実施形態では、本発明の方法は、PD-1またはPD-L1の阻害剤、ヒスタミン二塩酸塩、およびIL-2、および薬学的に許容可能な担体を含む、本明細書に記載の治療薬を含む医薬組成物を投与する工程を含む。

10

【0116】

「医薬組成物」は、一実施形態では、薬学的に許容可能な担体または希釈剤と共に、治療上有効な量の有効成分、すなわちPD-1またはPD-L1の阻害剤、ヒスタミン二塩酸塩、またはIL-2を指す。「治療上有効な量」は、一実施形態では、所与の疾病に対して治療効果を提供する量、および投与レジメンを指す。

【0117】

治療薬を含む医薬組成物は、一実施形態では、非経口的に、経粘膜的に、経皮的に、筋肉内に、静脈内に、皮膚内に、腹腔内に、心室内に、頭蓋内に、腔内に、または腫瘍内などの、当業者に既知の任意の方法で被験体に投与することができる。一実施形態では、治療薬は皮下に投与される。

20

【0118】

別の実施形態では、本発明の方法および組成物に記載されるように、医薬組成物は経口で投与され、したがって経口投与に適した形態、すなわち固形または液状製剤で調剤される。適切な固形の経口製剤は、錠剤、カプセル剤、丸剤、顆粒剤、ペレットなどを含む。適切な液体の経口製剤は、液剤、懸濁剤、分散液、乳剤、油脂などを含む。本発明の別の実施形態では、有効成分はカプセルで調剤される。この実施形態によれば、本発明の組成物は、活性化化合物および不活性化担体または希釈剤に加えて、固いゲル化カプセルを含む。

【0119】

別の実施形態では、医薬組成物は、液体製剤の静脈内、動脈内、または筋肉内注射によって投与される。適切な液体製剤は液剤、懸濁剤、分散液、乳剤、油脂などを含む。別の実施形態では、医薬組成物は静脈内に投与され、したがって静脈内投与に適した形態で調剤される。別の実施形態では、医薬組成物は動脈内に投与され、したがって動脈内投与に適した形態で調剤される。別の実施形態では、医薬組成物は筋肉内に投与され、したがって筋肉内投与に適した形態で調剤される。

30

【0120】

別の実施形態では、医薬組成物は、体表面に局所的に投与され、したがって局所投与に適した形態で調剤される。適切な局所用製剤には、ゲル剤、軟膏剤、クリーム剤、ローション剤、点滴剤などが含まれる。局所投与のために、治療薬は、医薬担体の有無に関わらず、生理的に許容可能な希釈剤中の液剤、懸濁剤または乳剤として調製され、および投与される。

40

【0121】

別の実施形態では、本明細書で提供される医薬組成物は、徐放性の組成物、すなわち治療薬が投与後一定期間にわたって放出される組成物である。徐放性または持効性の組成物は、脂肪好性のデポー剤 (例えば脂肪酸、ワックス、油脂) での製剤を含む。別の実施形態では、組成物は即時放出性の組成物、つまり全ての治療薬が投与直後に放出される組成物である。

【0122】

上記の添加物、添加剤、製剤、および投与方法の各々は、本発明の別個の実施形態を表す。

【0123】

50

本明細書において引用された特許、特許出願、および自然科学に関する出版物は、参照によってそれらの全体が本書に組み込まれる。

【0124】

以下の例は、本発明の好ましい実施形態をより完全に例示するために示される。しかしながら、本発明の広い範囲を制限するように解釈されるべきものではない。

【実施例】

【0125】

<実施例1>

<抗PD-1/抗PDL-1およびヒスタミンの併用-方法>

EL-4胸腺腫細胞株(提供:Dr. Ingo Schmitz, Otto-von-Guericke-University, Magdeburg, Germany)を、Martner, A. et alに記載のように、10%のウシ胎児血清、100U/mlのペニシリン、100µg/mlのストレプトマイシン、および2mMのL-グルタミンを追加したDMEM培地(Sigma, Stockholm, Sweden)で培養した(The Journal of Immunology, volume 194, no. 10, pp. 5014-5021)。C57BL/6Jマウス(6-8週齢、Charles River Laboratories, Sulzfeld, Germanyから購入)に、 $1.75 - 2 \times 10^5$ のEL-4腫瘍細胞を皮下接種させ、および細胞接種の1日前に開始した週3回の腹腔内注射によって、食塩水(対照)または食塩水で希釈した1.5mgのヒスタミン二塩酸塩(Sigma-Aldrich, Stockholm, Swedenから購入)で処置した。プログラム細胞死-1受容体に対する240µgの抗体(抗マウスPD1、クローンRMP1-14、-PD1と呼ぶ)、およびプログラム死-リガンド1に対する240µgの抗体(抗マウスPD-L1、クローン10F.9G2、-PDL1と呼ぶ)(双方ともBioXcell, West Lebanon, NH, USAから購入し、それぞれのカタログNo.はBE0146とBE0101)を、腫瘍接種の3日、6日、および10日後に腹腔内注射により投与した。腫瘍を、2-3日ごとに手で測定した。腫瘍サイズを長さ×幅で算出した。腫瘍接種の2週間後、対照腫瘍がおよそ 1.5 cm^2 のサイズに達した時に、マウスを犠牲にした。

【0126】

<実施例2>

<抗PD-1/抗PDL1およびヒスタミンの併用-結果>

従来の研究(Martner, A. et al. The Journal of Immunology, volume 194, no. 10, pp. 5014-5021)と一致し、EL-4を有するマウスのヒスタミンを用いた処置は、有意に腫瘍成長率を減少させた(図1-3)。-PD1-+ -PDL1-阻害抗体は、結果として腫瘍成長の比較可能な減少をもたらした。ヒスタミンおよび抗PD1/抗PDL1の併用は、各処置(ヒスタミンまたは -PD1/ -PDL1)のみの場合よりも、EL-4腫瘍成長の低減を増加させた。図1-3では、腫瘍サイズを対照の%として示し、100%は実験の終了時(すなわち腫瘍接種の2週間後)における対照腫瘍の平均サイズであった。

【0127】

<実施例3>

<免疫療法中の細胞障害性T細胞サブセットの動態は、急性骨髄性白血病における結果を予測する>

<物質と方法>

<患者、研究デザインおよび目的>

この単一群の多施設のフェーズIV試験(Re:Mission, NCT01347996, registered at www.clinicaltrials.gov)は、第1のCRにおいてAMLを有する84人の患者(18-79歳)を登録した。図4に模式的に概説されるように、患者は、18カ月の間、または、再発または死亡するまでに、低用量IL-2と組み合わせてヒスタミン二塩酸塩(HDC; Ceplene)

10

20

30

40

50

の21日間のサイクルを10回連続して受けた。

【0128】

合計18ヶ月間、または、患者が再発、死亡、有害事象のために治療の中止、同意の撤回、またはフォローアップに影響を受けなくなるまで、治療は続けられた。サイクル1～3は、3週間の治療および3週間の治療を受けていない期間(off-treatment)からなり、サイクル4～10では、治療を受けていない期間が6週間に延長された。各サイクルにおいて、治療群の患者は、1日2回の皮下の0.5mgでのHDC(Maxim Pharmaceuticals, San Diego, CA)、およびヒト組換えIL-2(アルデスロイキン; 1600U/kg皮下、1日2回; Chiron Corporation, Emeryville, CA)を受けた。18か月の処置(HDC/IL-2群)の後に、患者はみな免疫療法が終わってからさらに少なくとも6か月間追跡された。

10

【0129】

用量、投与経路、排除基準などは、以前の第III相試験で記載されたものと同一であった[Blood, 2006; 108(1): 88-96, incorporated herein by reference]。Re: Mission試験における主要なエンドポイントは、処置サイクル前後にT細胞およびNK細胞の表現型をモニタリングすることによる、HDC/IL-2の量的および質的な薬力学的効果の評価を含んでいた。プロトコルには、これらの目的を支持するために収集されたすべてのデータは、登録時の患者の年齢(60歳未満および60歳超)に応じて集団全体として、かつサブグループごとに分析される、と示された。T細胞の生物学対臨床結果(LFSとOS)の本明細書に報告された態様は事後に行なわれた。患者の特徴は表1に示される。

20

【0130】

【表 1 - 1】

表 1：患者の特徴

	n (%)		LFS, n (%)		
	全患者 (n=84)	年齢>60 (n=47)	全患者	年齢>60	
性別					
女性	44 (52)	23 (49)	15/44 (34)	6/23 (26)	10
男性	40 (48)	24 (51)	20/40 (50)	10/24 (42)	
リスク群					
有利なリスク	34 (40)	17 (36)	18/34 (53)	8 /17 (47)	
中間 I	25 (30)	10 (21)	9/25 (36)	2/10 (20)	20
中間 II	13 (15)	9 (19)	6/13 (46)	4/9 (44)	
高リスク	7 (8)	6 (13)	1/7 (14)	1/6 (17)	
ND	5 (6)	5 (11)	1/5 (20)	1/5 (20)	
核型					
正常	44 (52)	23 (49)	19/44 (43)	9/23 (39)	30
有利	14 (17)	5 (11)	8/14 (57)	2/5 (40)	
不利	7 (8)	6 (13)	2/7 (29)	2/6 (33)	
他	15 (18)	10 (21)	5/15 (33)	3/10 (30)	
ND	4 (5)	3 (6)	1/4 (25)	0/3 (0)	
変異状態					
NPM1	n=69 25 (36)	n=39 14 (36)	12/25 (48)	6/14 (43)	40
FLT3	n=72 6 (8)	n=37 3 (8)	0/6 (0)	0/3 (0)	
CEBPA	n=42 3 (7)	n=23 1 (4)	1/3 (33)	0/1 (0)	

【表 1 - 2】

導入コース				
1	63 (75)	33 (70)	31/63 (49)	14/33 (44)
>1	21 (25)	14 (30)	4/21 (19)	2/14 (14)
地固めコース				
0-2	41 (49)	27 (57)	15/41 (37)	6/27 (22)
>2	43 (51)	20 (43)	20/43 (47)	10/20 (50)

略語: LFS 無白血病生存 ND 全生存

【 0 1 3 2 】

前の導入療法および地固め治療についてのより詳細な説明は他の所で見つけることができる。

【 0 1 3 3 】

<末梢血のサンプル採取とフローサイトメトリー>

末梢血を、第1および第3の処置サイクルの前後、すなわちサイクル1の1日目(C1D1)、サイクル1の21日目(C1D21)、サイクル3の1日目(C3D1)、サイクル3の21日目(C3D21)、で収集した。PBMCを局所で単離し凍結保存し、フローサイトメトリーの使用によって分析のために(Sahlgrenska Cancer Center, University of Gothenburg, Swedenの)中央検査室へドライアイスにのせて配送した。これらの分析のために、冷凍PBMCサンプルを10%FCSで補充したイスコフ培地中で急速に解凍した。続いて、細胞をイスコフ培地中で洗浄し、その後PBS中で洗浄した。細胞をPBS中で4で30分間インキュベートすることによりLIVE/DEAD固定可能黄色染色剤(LIVE/DEAD fixable yellow stain)(Life technologies、Grand Island、NY、USA)でまず染色し、続いて0.5%BSAおよび0.1%EDTAを含有するPBS中またはブリリアント染色緩衝液(brilliant stain buffer)(BD Biosciences、Stockholm、Sweden)中で4で30分間表面マーカーを染色した。以下の抗ヒトモノクローナル抗体が表現型を決定するために使用された: CD3 - FITC (HIT3a)、CD4 - APC - H7 (RPA - T4)、CD4 - Horizon V450 (RPA - T4)、CD8 - APC (RPA - T8)、CD8 - PerCP - Cy5.5 (RPA - T8 / SK1)、CD8 - Qdot705 (3B5)、CD16 - Horizon V450 (3G8)、CD25 - Brilliant Violet 421 (M - A251)、CD45RA - APC (HI100)、CD45RO - PE (UCHL1)、CD56 - PerCP - eFluor710 (CMSSB)、CD56 - PE - Cy7 (NCAM16.2)、CD69 - PE - Cy7 (FN50)、HLA - DR - FITC (L243)(すべてBD Biosciencesから)。Biolegend、San Diego、CA、USAからのCCR7 - PE - Cy7 (G043H7)。CD3 - Pacific Blue (S4.1)、CD14 - Qdot655 (TuK4)およびstreptavidin - Qdot605(すべてLife technologiesから)。IFN - - PE - Cy7 (B27; BD Biosciences)の細胞内染色を、製造業者の指示に従い、FoxP3固定化/透過処理キット(FoxP3 fixation/permeabilization kit)(eBioscience、

10

20

30

40

50

San Diego, CA, USA) を用いて、表面染色および固定化および透過処理を行った後に実行した。

【0134】

染色されたサンプルを、4レーザーBD LSRFortessa SORPフローサイトメーター(405、488、532および640nm; BD Biosciences)で分析した。FlowJoソフトウェアのバージョン7.6.5以降、(TreeStar, Ashland, OR, USA)、またはFACS Divaソフトウェアのバージョン6以降(BD Biosciences)を使用して、データを分析した。生存率が25%未満のサンプルは除外した。

【0135】

血液サンプルは84人の患者のうち81人の患者から利用可能だった。全血の微分計数(differential counts of whole blood)を局所で行い、血液CD8⁺T細胞の絶対数を計算するために利用した。全ての利用可能なサンプルを、T細胞内容物および発現活性化マーカー(CD25およびCD69ならびにPMAに应答するIFN- γ 産生を含む)について分析した。所定の基準(実験失敗、細胞が少ない、細胞生存率が劣悪)によれば分析が失敗であった場合、第2のサンプルを再分析のために解凍した。また、第2の試みもデータ生成に失敗した場合、これらのサンプルを分析から除外した。実験の第2のセットでは、利用可能なサンプルを、T細胞サブセットおよびHLA-DR発現の分布について分析した。上記の予め定義された基準に従って、すべての分析に成功したサンプルがこのレポートに含まれている。分析に含まれ、または分析から除外された患者のフローチャートが図5に示される。

【0136】

<PMA/イオノマイシンまたはペプチド刺激後のIFN- γ 産生>

HDC/IL-2免疫療法の第1および第3の処置サイクルの前後に採取した解凍したサンプルを、ウェル当たり 1×10^6 細胞の96ウェルプレートの10%FCsを補充したイスコフ培地に播種した。細胞は37度で一晩安置された。翌日、 $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ のイオノマイシン(Sigma-Aldrich)と $0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ のPMA(Sigma-Aldrich Munich, Germany)での5時間のインキュベーション、または、AML-ペプチド(白血病関連タンパク質WT1、PRAME、サバイピンおよびhTERTをカバーする重複するペプチド; Miltenyi Biotec)、または、対照として、CEF-ペプチド(ヒトサイトメガロウイルス(HCMV)、エプスタイン-バーウイルス(EBV)およびインフルエンザウイルス由来の配列を有するMHCクラスIに特異的な32のペプチド; Miltenyi Biotec)のプールでの6時間のインキュベーション、のいずれかからなる刺激の前に、温かい培地で細胞を洗浄した。

【0137】

各ペプチドの最終濃度は 0.6 nmol だった。それぞれ $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ の共刺激分子抗CD28(CD28.2; BD Biosciences)および抗CD49d(9F10; BD Biosciences)を、バックグラウンドシグナルを判定する役目をした、陰性の対照サンプルと同様に、ペプチド刺激があるウェルに加えた。すべての刺激について、Golgiplug(BD Biosciences)を、製造業者のプロトコルに従って刺激の最後の4時間の間に加えた。サンプルを、上記のように固定し、透過処理し、IFN- γ で細胞内染色する前に、LIVE/DEAD固定可能黄色染色剤および表面マーカーで染色した。IFN- γ 産生CD8⁺T細胞の発生頻度(陰性対照試料によって判定されたバックグラウンドを差し引いた後)が、いずれかの時点(C1D1、C1D21、C3D1、C3D21)で0.05%を超える場合、患者はAML-またはCEF-特異的CD8⁺T細胞を保持していると考えられた。選択バイアスを回避するために、これらの分析では、最後の時点(C3D21; 105日)前に起こった事象(再発)のない患者のみが考慮された。

【0138】

10

20

30

40

50

< 統計 >

統計的な分析の計画に従って、CD8⁺T細胞表現型の単一比較のために対応のあるt検定を使用した。結果に対するCD8⁺サブセットまたはマーカーの動態の影響を判定するために、サンプルを、単一の時点についての中間値によって、または、別段の記載がない限り第1の処置サイクル中の誘導/減少によって、二分した。細胞機能対結果の分析は、試験の終了日(2014年10月13日)、すなわちすべての患者が少なくとも24ヶ月間(18ヶ月の治療および6ヶ月の追加のフォローアップ)追跡された時点で利用可能な、HDC/IL-2による免疫療法の開始から任意の原因による再発または死亡までの日数として定義されるLFS、および、死亡までに対応する時間として定義されるOSについてのデータに基づく。再発は、骨髄における少なくとも5%の芽細胞または骨髄外白血病の存在として定義された。LFSおよびOSへのT細胞表現型の影響はログランク検定を使用して分析された。

10

【0139】

LFSおよびOSに対する、年齢の影響、European Leukemia Netの推奨に従ったリスク群の分類[Blood, 2010; 115(3): 453-474]、CRを達成するために必要とされる導入コースの数(1または>1)、および地固めコースの数(0-2または>2)を、Cox単変量回帰モデルを用いて評価した。Cox多変量回帰解析では、0.1未満のp値(年齢および導入サイクル数)を有する予後因子が潜在的な交絡因子として含まれていた(表2)。

【0140】

20

【表 2 - 1】

表 2 : LFS および OS に対する CD8⁺ T 細胞の表現型の態様の影響の単変量解析および多変量解析

Cox 回帰分析	単変量			多変量*		
	HR	信頼区間	p-値	HR	信頼区間	p-値
全患者 (n=44)						
導入 T _N vs LFS	0.45	0.20-0.98	0.04	0.47	0.21-1.06	0.07
導入 T _N vs OS	0.29	0.10-0.82	0.02	0.29	0.10-0.85	0.02
導入 T _{CM} vs LFS	1.08	0.50-2.36	0.84	1.46	0.64-3.32	0.37
導入 T _{CM} vs OS	1.43	0.52-3.93	0.49	2.65	0.91-7.76	0.08
減少 T _{EM} vs LFS	0.26	0.12-0.60	0.001	0.26	0.11-0.60	0.002
減少 T _{EM} vs OS	0.24	0.08-0.69	0.009	0.23	0.08-0.70	0.01
導入 T _{EFF} vs LFS	0.50	0.23-1.09	0.08	0.46	0.20-1.03	0.06
導入 T _{EFF} vs OS	0.35	0.12-0.99	0.048	0.27	0.09-0.80	0.02
遷移 vs LFS **	0.19	0.07-0.50	0.001	0.17	0.06-0.47	0.001
遷移 vs OS **	0.13	0.03-0.59	0.008	0.12	0.02-0.54	0.006
患者 >60 歳 (n=27)						
導入 T _N vs LFS	0.25	0.88-0.68	0.007	0.20	0.07-0.61	0.005
導入 T _N vs OS	0.17	0.04-0.67	0.01	0.13	0.03-0.59	0.008
導入 T _{CM} vs LFS	1.39	0.50-3.85	0.53	1.41	0.50-3.97	0.52
導入 T _{CM} vs OS	3.37	1.01-11.2	0.048	3.77	1.08-13.2	0.04
減少 T _{EM} vs LFS	0.10	0.03-0.38	0.001	0.10	0.03-0.39	0.001
減少 T _{EM} vs OS	0.14	0.03-0.57	0.006	0.13	0.03-0.57	0.006
導入 T _{EFF} vs LFS	0.22	0.07-0.68	0.009	0.26	0.08-0.87	0.03
導入 T _{EFF} vs OS	0.10	0.03-0.40	0.001	0.10	0.02-0.51	0.005
遷移 vs LFS **	<0.001	***		<0.001	***	

10

20

30

40

【 0 1 4 1 】

【表 2 - 2】

遷移 vs OS ** <0.001 *** <0.001 ***

略語: LFS 無白血病生存 ND 全生存

*年齢および導入サイクル数について調整

**遷移: T_{EFF}の同時誘導に伴う T_{EM}の減少

*** Cox 回帰分析のためのいくつかの事象

10

【0142】

示された P 値はすべて両側 P 値である。この試験はヘルシンキ宣言の原則に従って行われた。この試験は各参加機関の倫理委員会によって承認され、患者はすべて登録の前に書面によるインフォームドコンセントを行った。

【0143】

<実施例 4 >

<免疫療法中の細胞障害性 T 細胞サブセットの動態は、急性骨髄性白血病における結果を予測する - 結果 >

図 4 に概説されているように、最初の CR の AML 患者は、地固め後のフェーズで HDC / IL - 2 の連続 3 週間の 10 回のサイクルを受けた。第 1 のおよび第 3 の免疫療法のサイクルの前後に収集された末梢血を、CD 8⁺ T 細胞内容物および表現型について分析した。処置サイクル中、HDC / IL - 2 は、血中の CD 8⁺ T 細胞の絶対数を変化させなかった (図 6 A)。また、治療前または治療後の CD 8⁺ T 細胞数 (中間値の上または下) は、再発リスクに影響しなかった (データは示さず)。

20

【0144】

第 1 の処置サイクルの前後に CD 8⁺ T_N、T_{CM}、T_{EM} および T_{eff} の分布を比較すると、非再発性の患者は T_{eff} 細胞の導入とともに T_{EM} 細胞の画分の明確な減少を示した (図 6)。治療の開始時では、T_{EM} 細胞のパーセンテージが高い (中間値を超える) 患者は、わずかに高い LFS の可能性を示したが、一方で、T_N、T_{CM}、または T_{eff} 細胞の割合が (中間値につき) 高いか低い患者では、再発リスクの有意差は見られなかった (図 7)。サイクル 1 の間に T_{EM} 細胞の出現頻度の減少または T_{eff} 細胞の導入を経験した患者は、LFS および / または OS の有意な改善を示した (表 2 に示す多変量解析の結果を示す図 8 C - D)。また、第 1 の処置サイクル中のナイーブ T 細胞の出現頻度の導入は、LFS および OS を有意に予測した (図 8 A、表 2)。T_{CM} 細胞の分布は、免疫療法 (図 8 D) の間は一見不変であり、再発リスクに影響しなかった (図 8 B)。T 細胞サブセットの分布は、処置サイクル 3 の間は有意に変化しなかった (データは示さず)。

30

【0145】

CD 8⁺ T 細胞の抗原による刺激が、T_N T_{CM} T_{EM} T_{eff} 細胞の分化を促進するために提案されてきた [Current opinion in immunology . 2013 ; 25 (5) : 556 - 563 ; Vaccine . 2015 ; 33 (7) : 914 - 923]。したがって、HDC / IL - 2 の第 1 の処置サイクル中に T_{EM} 細胞から T_{eff} 細胞が導入されると推測した。確かに、サイクル 1 の間に T_{eff} の導入と T_{EM} の減少との間に相関性が見られた (図 9)。44 人の分析可能な患者のうち 18 人 (41%) が、CD 8⁺ T_{eff} 細胞の付随する増加を伴う CD 8⁺ T_{EM} 細胞の減少として定義される、メモリー T 細胞からエフェクター T 細胞への遷移 (transit ion) を示した。これらの患者は改善された LFS (HR 0.19 および P < 0.001) および OS (HR 0.13 および P = 0.002 ; 図 8 E、表 2) を示した。

40

【0146】

<高齢の患者の T 細胞表現型 >

50

試験プロトコルは、登録時の患者の年齢（60歳超および60歳未満）に従ってサブグループごとの結果の分析を特定した。免疫療法の開始時におけるCD8⁺T細胞数またはCD8⁺T_N/T_{CM}/T_{EM}/T_{eff}細胞の分布は、年齢群間で有意に異ならなかった（図10A-D）。第1のサイクル中に、HDC/IL-2での処置は、高齢患者においてのみT_{eff}細胞の出現頻度の有意な増加を導入した（図10D）。T_NおよびT_{eff}細胞の変化した分布、T_{EM}細胞の出現頻度の減少、および、結果に対するT_{EM}細胞のT_{EM}細胞への明らかな遷移の影響は、高齢の患者に顕著であった。このように、免疫療法に導入されるCD8⁺T細胞分化のこれらの態様のすべては、この年齢群（図8F-J）においてLFSおよび/またはOSを予告し、予後因子の補正後に有意に予測的なままであった（表2）。サイクル1におけるCD8⁺T細胞サブセットの動態は、若年の患者においてはLFSまたはOSを有意に予測しなかった（図10E-N）。

10

【0147】

< T細胞活性化の追加のマーカー >

T細胞表現型の分布に加え、細胞傷害性T細胞活性化マーカーに対する免疫療法の影響を分析した。活性化されたT細胞のマーカーとしてよく使用される、CD69とCD25の発現レベルは、HDC/IL-2処置に影響されず（図11A-B）、これらのマーカーの発現レベルは臨床の結果に影響を及ぼさなかった（データは示されていない）。これに対して、HLA-DRの発現は処置の第1のサイクル中に低減した（図11C）。HLA-DRは、主にメモリー集団によって発現され、その減少はT_{CM}およびT_{EM}細胞では有意であったが、T_NまたはT_{eff}細胞では有意ではなかった（データは示されていない）。第1のHDC/IL-2処置サイクルの終了時のCD8⁺T細胞上のHLA-DRの低発現は、良好な臨床結果を僅かに予測した（OSについての単変量Cox回帰分析はP=0.04であったが、OSの多変量Cox回帰分析はP=0.12だった；図12A）。

20

【0148】

< 白血病特異的T細胞の存在はCRの維持を予測する >

次に、免疫療法の前後でIFN- γ をエキスビオで産生するCD8⁺T細胞の能力を判定した。PMA/イオノマイシンで刺激した後に患者のCD8⁺T細胞がIFN- γ を産生する能力は、第1の処置サイクルの前後で同様であり（図11D）、臨床結果には影響しなかった（示さず）。白血病抗原と特異的に反応したCD8⁺T細胞を患者が有していたかどうかを判定するために、既知の白血病関連抗原（WT1、サバイピン、PRAMEおよびhTERT）を表すペプチドプールによってPBMCを刺激し、続いてIFN- γ 産生CD8⁺T細胞を定量した。PBMC由来の健康なドナーCD8⁺T細胞は、白血病由来のペプチドに应答して、バックグラウンドレベルより高いIFN- γ を産生しなかった（データを示さず）。分析された20人の患者のうち3人は、免疫療法の開始時にこれらの抗原のいずれかに対して抗原特異的CD8⁺T細胞を示した（C1D1）。これらの患者のうち2人は遅い再発（600日より後）を経験した。免疫療法（C1D21、n=2、C3D1、n=4、または、C3D21、n=1）中に7人の患者が白血病反応性T細胞を得た。 Kaplan-Meier分析によって、白血病特異的CD8⁺T細胞の存在はLFSを予測した（P=0.01）が、一方、ウイルスコントロールペプチド（CMV、EBVおよびインフルエンザ；CEF）に应答する抗原特異的CD8⁺T細胞の存在は予測しなかった（P=0.5；図12B-C）。

30

40

【0149】

この試験の結果は、免疫療法中の血中の細胞傷害性T細胞表現型の分布の変化が、CRにおける非移植AML患者の予後に関連することを初めて示した。主要な所見は、T細胞免疫のこれらの態様が、再発および死亡のリスクが高い高齢患者の再発リスクおよび生存率を決定する、ということであった。メモリーT細胞からエフェクターT細胞への遷移を評価することは、T細胞に基づく癌免疫療法において広く有用であり得る。若年の患者におけるCD8⁺T細胞サブセットの動態と結果との間に有意な相関がない理由は知られていないが、この年齢群における低い再発率および分析に利用可能なサンプル数が少ないこ

50

とに関連している可能性がある。

【0150】

HDC/IL-2免疫療法の第1のサイクル中に、AML患者の血中の T_{EM} 細胞から T_{eff} 細胞への遷移という所見を説明する正確なメカニズムは決定されていない。しかしながら、IL-2は $CD8^+$ T細胞のメモリーおよびエフェクター細胞集団への発達を促進することが報告されており、したがって、HDC/IL-2レジメンのIL-2成分が、観察されたメモリーT細胞からエフェクターT細胞への遷移にとって重要であることが考えられる。また、メモリー細胞からエフェクター細胞への遷移は、 T_{EM} 細胞が抗原暴露の後に T_{eff} 細胞に分化するという見解と両立する。免疫療法中のT細胞サブセットの溢出を含む代替の説明が可能であるが、HDC/IL-2による免疫療法がエフェクターT細胞の発生を促進すると仮定し、これは T_{EM} から T_{EF} への遷移を経験した患者の臨床結果の強力な予測を説明することができる。覚えておくべきことに、他のものは、AML特異的T細胞が T_{eff} 細胞表現型を有することを示している。免疫療法中の機能的なT細胞免疫の発達のさらなる支持においては、白血病のペプチドと反応した $CD8^+$ T細胞の検出可能なレベルが、治療の過程で7/20の患者に認められた。共通のウイルス抗原と反応する $CD8^+$ T細胞ではなく、白血病特異的 $CD8^+$ T細胞の存在が、LFSを有意に予測した。これらの結果は、AMLにおける免疫反応性白血病関連抗原の役割に関するこれまでの所見と一致し、白血病クローンのサーベイランスのための細胞傷害性T細胞の役割に対する支持を与える。

10

【0151】

HLA-DRはT細胞活性化マーカーと考えられるが、 $CD8^+$ T細胞上のHLA-DRの発現の増加はまた、癌、慢性ウイルス感染および老化におけるT細胞の抑制および枯渇に関連している。免疫療法中の T_{CM} と T_{EM} 細胞におけるHLA-DR発現の減少、および、発現が減少した患者の好ましい臨床結果の傾向は、 $CD8^+$ T細胞のメモリー集団が免疫療法中に改善されたエフェクター機能にシフトし得ることを示唆する。

20

【0152】

HDC/IL-2は、T細胞およびナチュラルキラー(NK)細胞(IL-2成分)の集団を拡大および活性化し、同時に、これらの抗白血病エフェクター細胞を骨髓細胞由来の活性酸素種(HDC成分)による不活性化から保護するためのAML免疫療法用に開発されている。Re:Mission試験の以前の結果は、HDC/IL-2での処置は、血液中のNK細胞数の増加とともに、異常細胞のNK細胞認識に重要な受容体を活性化する天然の細胞傷害性受容体(NCR)の発現を誘発した、ということを示した。Re:Mission試験の結果は、NCR発現およびNK細胞数のサイクル内での増加は、LFSおよびOSを弱く予測しただけということを示唆しているが、一方、本明細書に提示された結果は、第1の処置サイクル中の $CD8^+$ T細胞サブセットの分布の変化が予後にとって重要であることを示唆している。免疫療法後の細胞傷害性 $CD16^+$ NK細胞での高いNKp46発現とともに第1の処置サイクル中の T_{EM} 細胞から T_{EF} 細胞への遷移を有する患者は、有意に再発から保護された一方、 T_{EM} 細胞から T_{EF} 細胞への遷移またはNKp46高発現だけを有する患者は、部分的にしか防止されなかった(図13)、ということが観察された。これらのデータは、T細胞およびNK細胞のエフェクター機能が免疫療法中に同時に発達し、両方の細胞のサブセットが再発防止に貢献するという仮説を支持する。

30

40

【0153】

<実施例5>

<天然の細胞障害性受容体のNK細胞発現は、寛解維持のための免疫療法を受ける高齢のAML患者における再発リスクを判定しうる>

診断では、急性骨髄性白血病(AML)の患者のおよそ70%は60歳超である。高齢の患者が高い割合で化学療法後に完全寛解(CR)が達成される一方で、化学療法後のフェーズでは白血病の再発は一般的であり、高齢の患者の5年生存率が10-15%の範囲である理由を有意に説明する。ヒスタミン二塩酸塩および低用量インターロイキン-2(

50

HDC / IL - 2)を用いた免疫療法は、ナチュラルキラー (NK) 細胞の抗白血病機能を向上させ、残留白血病を軽減または根絶することを目的とする。第III相試験では、HDC / IL - 2での処置はCRにおけるAML患者の再発を予防すると示された。

【0154】

NK細胞機能のいくつかの態様は、AMLの予後と関連していることが報告されているが、高齢の患者におけるNK細胞生物学の態様の系統的な分析は実施されていない。ヒトNK細胞は2つの主な表現型を含む：細胞傷害性CD16⁺ / 56⁺ NK細胞 (ここではCD16⁺ NK細胞と呼ばれる) は、健康な被験者において血液NK細胞の90 - 95%を構成するが、しかし、弱い細胞傷害性CD16⁻ / 56^{brigt}細胞 (CD56^{brigt} NK細胞) はCD16⁺ NK細胞の前駆体と見なされる。NK細胞傷害性は、活性化および阻害性のNK細胞受容体およびそれらの同族リガンドにより悪性標的細胞上で調節される。主な活性化受容体は天然の細胞傷害性受容体 (NCR ; NKp46、NKp30およびNKp44) およびNKGD2を含む。我々は、以前、寛解維持のためにHDC / IL - 2を使用して、第IV相試験に参加したAML患者のNK細胞生物学の態様の中間報告を公表した。ここでは、我々は、高齢のAML患者 (60歳超) のサブグループに焦点を置いて、この試験の最終的な結果を報告する。

10

【0155】

別記されるように、第1のCRのAML患者は、18か月の間HDC / IL - 2の3週間の10回のサイクルを受けた。血液サンプルは、NK細胞の絶対数およびNCRのNK細胞発現の分析のために第1のサイクル前後に収集された。前の中間報告では、HDC / IL - 2による処置が、処置サイクル中にNKp30とNKp46のNK細胞発現が増加したとともに、血中のNK細胞数を増大させたことを示した。我々はまず、若年の患者 (< 60歳)、および、高齢の患者 (> 60歳) のNK細胞およびNCRの導入の程度をそれぞれ比較した。処置の開始時のNK細胞数およびNCR発現は、高齢の患者 (P = 0.045、マン - ホイットニー検定) においてCD56^{brigt}細胞対CD16⁺の比がより低かったことを除いて、これらの年齢群間で差はなく、これは健康な被験者における以前の所見と一致している。処置サイクル中の血中のCD16⁺ およびCD56^{brigt} NK細胞の蓄積 (図14A、14D)、または、NKp30とNKp46の受容体のNK細胞発現の誘導 (図14B - 14C、14E - 14F) に関して、若年の患者および高齢の患者には差がなかった。

20

30

【0156】

NK細胞数またはNK細胞NCR発現強度の (中間値につき) 高い値または低い値ごとに若年の患者および高齢の患者を二分することにより、結果に対するNK細胞関連マーカーの効果を判定し、続いて無白血球生存 (LFS) および全生存 (OS) の分析をすることを目的とした。NK細胞数は、若年の患者または高齢の患者の結果を有意には予測せず、NK細胞のNCR発現は若年の患者の結果を予測しなかった (LFSではP > 0.5、図示せず)。治療の開始時 (サイクル1の1日目 ; C1D1) にCD16⁺ NK細胞上でNKp30の中間値より高い発現を有する高齢の患者は、NKp46についての傾向と同様に、LFSおよびOSの改善を示した (図15Aおよび15C)。第1の処置サイクル後 (サイクル1の21日目 ; C1D21) のCD16⁺ NK細胞上のNKp46の高い発現は、NKp30についての傾向と同様に、LFSおよびOSと正の相関であった (図15Bおよび15D)。第1の処置サイクル中のNK細胞数の誘導またはNCRの誘導のレベル (つまりC1D21レベルからC1D1レベルを引いたレベル (示されない)) と、結果との間では有意な相関は見られなかった。年齢、リスク群の分類、CRを達成するのに必要な導入コースの数、および地固めコースの数を補正した多変量解析では、C1D1でのNKp30発現およびC1D21でのNKp46発現が、高齢の患者のLFSおよび/またはOSを独立して予測した (表3)。CRの1人の患者は敗血症で死亡したが、他のすべての死亡では再発が先行し、これは高齢のAML患者群においても地固め後のフェーズでの生存に対する再発の影響を示す。

40

【0157】

50

若年の患者のNCR発現と結果との間に相関がない理由は知られていないが、この年齢群における再発および死亡率が低いことに加えて、研究における若年患者数が少ないことに関連している可能性がある（データは示されていない）。NK細胞機能は、その後にNK細胞の細胞傷害性の活性化が続く、標的細胞上のNCRとそれらのリガンドとの間の相互作用に依存する。NCRのリガンドが有害なAML細胞によって頻繁に発現する一方、新しく診断されたAML患者のNK細胞はより低い密度のNCRを発現することがあり、これは、NK細胞の抗白血病効率ならびに生存率および化学療法後にCRを達成する可能性に影響する。この結果は、AMLの化学療法後のフェーズにおける再発を予防する際にNCRについての役割を指摘し、これらの以前の所見を拡大する。これらの結果を確認し、未治療の患者または他の免疫療法を受けている患者においてもNK細胞のNCR発現が再発の予告となるかどうかを確立するために、さらなる研究が必要である。

10

【0158】

【表3】

表3：LFSおよびOSに対するNKp30またはNKp46発現の影響の単変量解析および多変量解析

変数	単変量解析			多変量解析		
	ハザード比	信頼区間	p-値	ハザード比	信頼区間	p-値
NKp30, C1D1, LFS	0.24	0.099-0.61	0.002	0.14	0.043-0.43	0.001
NKp30, C1D1, OS	0.28	0.088-0.91	0.034	0.17	0.037-0.78	0.022
NKp46, C1D21, LFS	0.25	0.10-0.59	0.001	0.28	0.093-0.82	0.020
NKp46, C1D21, OS	0.21	0.067-0.66	0.007	0.22	0.047-1.05	0.058

20

【0159】

単変量および多変量Cox回帰分析を利用して、60歳を超える患者のLFSおよびOSに対するサイクル1の1日目（C1D1）のNKp30またはサイクル1の1日目（C1D21）のNKp46の発現レベルの中間値の上下の影響を判定した。多変量解析では、年齢、リスクグループの分類、CRを達成するために必要な導入コースの数、および、地固めコースの数についてハザード比を補正した。

【0160】

<物質と方法>

<患者>

この単一群の多施設の第IV相試験（Re: Mission, NCT01347996, registered at www.clinicaltrials.gov）は、18か月の間、または、再発または死亡までに、HDC/IL-2の21日間の10サイクルを受けた、第1のCRにおいてAMLを有する84人の患者（18-79歳）を登録した。主要なエンドポイントは、第1の処置サイクル前後に、NK細胞の表現型およびその機能をモニタリングすることによる、HDC/IL-2の量的および質的な薬力学的効果の評価を含んでいた。プロトコルには、これらの目的を支持するために収集されたデータは、登録時の患者の年齢（60歳未満および60歳超）に応じて集団全体として、かつサブグループごとに、定義された集団について分析される、と示された。NK細胞数およびNCRの発現対結果の分析は事後に行なわれた。高齢の患者（60歳超、中間値67.2、60-79の範囲）の登録時の特徴は、表4にて説明される。患者の特徴、導入療法および地固め療法、除外基準、処置および投薬の詳細は、前の中間報告（実施例4）で見られる。

30

40

【0161】

<末梢血のサンプル採取およびフローサイトメトリー>

末梢血を、処置サイクル1の前後、すなわちサイクル1の1日目（C1D1）、サイクル1の21日目（C1D21）、で収集し、PBMCを局所で単離し凍結保存し、フローサイトメトリー分析のために（Sahlgrenska Cancer Center,

50

University of Gothenburg, Sweden) 中央検査室へドライアイスにのせて配送した。PBMCサンプルを蛍光色素結合抗体および生存マーカーで染色し、他所(実施例4)で詳細に説明したように、4レーザーBD LSRFortessa SORP (BD Biosciences, San Diego, CA)を用いて分析した。

【0162】

サンプルは、37人の若年の患者のうち32人と、47人の高齢の患者のうち45人から入手可能であった。入手可能なサンプルはすべて分析された。所定の基準(実験失敗、細胞が少ない、細胞生存率が劣悪)によれば分析が失敗であった場合、第2のサンプルを再分析のために解凍した。C1D1サンプルの18ケース、およびC1D21サンプルの12ケースでもまた、第2の試みはデータの生成に失敗し、これらのサンプルは分析から除外された。全血の微分計数(differential counts of whole blood)を局所で行い、血液NK細胞の絶対数を計算するために利用した。微分計数は4人の若年の患者と5人の高齢の患者にはなかった。

【0163】

【表 4】

表 4 : 患者の特徴 (年齢 > 60)

	n (%)	LFS (%)
性別		
女性	23 (49)	6/23 (26)
男性	24 (51)	10/24 (42)
リスク群		
有利なリスク	17 (36)	8/17 (47)
中間 I	10 (21)	2/10 (20)
中間 II	9 (19)	4/9 (44)
ハイリスク	6 (13)	1/6 (17)
ND	5 (11)	1/5 (20)
核型		
正常	23 (49)	9/23 (39)
有利	5 (11)	2/5 (40)
不利	6 (13)	2/6 (33)
他	10 (21)	3/10 (30)
ND	3 (6)	0/3 (0)
変異状態		
NPM1 (n = 39)	14 (36)	6/14 (43)
FLT3 (n = 37)	3 (8)	0/3 (0)
CEBPA (n = 23)	1 (4)	0/1 (0)
導入コース (n = 46)		
1	32 (70)	14/32 (44)
>1	14 (30)	2/14 (14)
地固めコース (n = 46)		
0-2	26 (57)	6/26 (23)
>2	20 (43)	10/20 (50)

10

20

30

40

< 統計 >

統計的な計画に従って、対応のある t テストを NK 細胞表現型の単一の比較に使用した。NK 細胞マーカー対結果の分析は、試験の終了日（2014年10月13日）、すなわち、すべての患者が少なくとも24ヶ月間（18ヶ月の治療および6ヶ月の追加のフォローアップ）追跡された時点で利用可能な、HDC / IL - 2による免疫療法の開始から任意の原因による再発または死亡までの日数として定義されるLFS、および、OSについてのデータに基づく。再発は、骨髄における少なくとも5%の芽細胞または骨髄外白血病の発生として定義された。LFSは、HDC / IL - 2での処置の最初の日から任意の原因による再発または死亡までの時間として定義された。OSは、原因にかかわらず死亡までの対応する時間として定義された。ログランク検定を用いてLFSおよびOSを分析した。LFSおよび/またはOSを有意に予測したパラメータを、単変量および多変量のCox回帰分析によってさらに分析した。多変量解析では、年齢、リスク群の分類、CRを達成するために必要な導入コースの数（1または> 1）、および、地固めコースの数（0 - 2または> 2；表1）について、ハザード比を修正した。示されたP値はすべて2面がある。患者はEuropean Leukemia Netによる推奨にしたがってリスク分類された。この試みは各参加機関の倫理委員会によって承認され、患者はすべて登録の前に書面によるインフォームドコンセントを行った。

10

【0165】

< 実施例6 >

< 急性骨髄性白血病における再発予防免疫療法中の骨髄細胞集団の動態 >

20

急性骨髄性白血病（AML）の患者において、未成熟な骨髄性細胞は、急速に血液と骨髄に蓄積する。化学療法後に大多数のAML患者が白血病細胞の消失（完全寛解、CR）を達成するにもかかわらず、ほとんどの成人患者は長期生存の見通しが悪い白血病の再発を経験する。T細胞およびNK細胞を活性化するサイトカインIL - 2（HDC / IL - 2）と併用したヒスタミン二塩酸塩（HDC）による免疫療法は、現在、EU内およびイスラエル内で、地固め後のフェーズにおける再発防止のために使用されている。このレジメンの承認は、HDC / IL - 2を受ける患者における再発リスクの有意な低減を示す第III相試験結果に基づいており、IL - 2単独またはHDC / IL - 2によって達成される再発予防を比較するメタアナリシスは、HDC成分の臨床効果を支持する。

30

【0166】

NOX2は、骨髄細胞の活性酸素種（ROS）生成NADPHオキシダーゼである。HDCは、成熟骨髄細胞上のヒスタミンH₂受容体（H₂R）を標的にして、NOX2依存性ROS形成を抑制する。NOX2由来のROSの阻害は、隣接する抗白血病エフェクター細胞をROS誘導不活性化から保護することが見出されており、これはAMLにおけるHDCの再発予防特性と関連する機構として提示されている。加えて、従来の研究は骨髄細胞の分化促進剤としてHDCを示唆している。このように、Yangらはヒスタミン形成酵素の遺伝的破壊によりヒスタミンが欠乏したマウスは、化学的に導入される癌に対する感受性の増加とともに、骨髄細胞分化の障害を示す、と報告した。HDCはまた、単球由来樹状細胞（DC）上のCD86およびHLA - DRの発現を増強し、NOX2依存的な方法で骨髄細胞上のCD11bの発現を増強することも示された。

40

【0167】

これらの従来所見により、HDC / IL - 2を用いた免疫療法中に血中の骨髄細胞集団の動態を評価する（87）ことが駆り立てられた。骨髄細胞のサブセットおよびそれらの成熟マーカーの発現がHDCに基づく免疫療法中に調節され、血中の骨髄細胞の動態がAMLにおける臨床結果と関連し得ることを報告する。

【0168】

< 患者、物質、及び方法 >

患者、研究デザイン、及び目的。第1のCRにおける84人の成人のAML患者（18 - 79歳）を、Re : Mission試験（NCT01347996、www.clinicaltrials.govにて登録）に登録した。詳細な患者の特徴は、前述の刊行

50

物において説明されている。Re : Mission試験は、全ての患者が18か月間、又は再発或いは死亡まで、HDC及び少量のIL-2の10回連続の21日のサイクルを受ける、単群の多施設の第IV相研究(single-armed multicenter phase IV study)であった。レジメンは以前の第III相試験で利用されたものと同じであった。患者は、地固めの完了後46日の中間で登録され、免疫療法の開始後少なくとも24か月にわたりフォローアップを受けた。3人の患者が同意を撤回し、分析には含まれなかった。追加の14人の患者は、時期尚早に研究を中止し、最後の捕捉されたフォローアップ日に打ち切られた。骨髄中の少なくとも5%の芽球細胞又は髄外の白血病として、再発を定義した。主要な試験エンドポイントは、処置サイクル中の、末梢血におけるT細胞及びNK細胞の集団に対するHDC/IL-2の量的且つ質的な効果を含んでいた。骨髄性の集団に対する効果、及びそれらの臨床結果(無白血病生存、LFS、及び全生存、OS)に対する影響の分析を、事後に行なった。研究は、ヘルシンキ宣言に概説される原理に従って行なわれ、且つ関与する機関それぞれの倫理委員会により承認された。全ての患者が、登録前に書面による同意を提供した。

10

【0169】

PBMCの単離、染色、及びフローサイトメトリー。末梢血を、第1及び第3のHDC/IL-2処置サイクルの前後に集めた。PBMCを単離し、局所で凍結保存し、2つの骨髄パネルによる分析のためにヨーテボリ大学のTIMM研究所へとドライアイスの上に乗せて搬送した。2つの骨髄パネルのうち、一方は118の骨髄細胞による活性化マーカーの発現を判定するためのものであり、他方は単球上のH₂Rの発現レベルを判定するためのものである。解凍後、活性化パネル用に意図される凍結保存されたサンプルを、ヒトFCブロック(BD Biosciences, Stockholm, Sweden)において予めインキュベートした。H₂Rパネル用に意図されるサンプルを、LIVE/DEADの固定可能な黄色染色(Life Technologies, Grand Island, NY, USA)により染色した。その後、Brilliantの染色緩衝液(BD Biosciences)(活性化パネル)において、又は、0.5%のBSA及び0.1%のEDTAを含むPBS(H₂Rパネル)において、表面マーカー抗体のカクテルを用いて4で30分間、サンプルをインキュベートした。以下の抗ヒトモノクローナル抗体を利用した: CD3-PerCP-Cy5.5(HIT3A)、CD19-PerCP-Cy5.5(SJ25C1)、CD16-Brilliant Violet 605(3G8)、HLA-DR-APCH7(G46-6)、CD14-PE-Cy7(MP9)、CD141-APC(1A4)、HLA-ABC-FITC(G46-2、6)、CD40-PE(5C3)、CD86-Brilliant Violet 711(FUN1)、CD11b-Pacific Blue(ICRF44)、CD33-PE-Cy7(P67.6)(全てBD Biosciences由来)、CD56-PerCP-eFlour 710(CMSSB)(eBioscience, San Diego, CA, USA)、CD1c-Brilliant Violet 421(L161)(Biolegend, San Diego, CA, USA)、抗ヒスタミンH2受容体(多クローン性ウサギIgG)(MBL International, Woburn, MA, USA)、ヤギ抗ウサギ-APC及びCD14-Qdot655又はCD14-Pacific blue(共にクローンTueK4)(Life Technologies)。

20

30

40

【0170】

4-レーザーBD LSRFortessa SORPのフローサイトメーター(405、488、532、及び640nm; BD Biosciences)の上でサンプルを分析した。FlowJoソフトウェアのバージョン7.6.5、又はそれ以降のもの(TreeStar, Ashland, OR)を使用して、データ分析を行った。血液サンプルは、84人の患者のうち81人の患者から入手可能であった。上記の骨髄パネルを使用して、骨髄細胞の表現型分析をPBMC上で行った。H₂Rパネルを使用して49人の患者を分析し、活性化マーカーパネルを使用して59のサンプルを分析した。これらの

50

患者を、生存可能な状態の冷凍されたP B M Cの利用可能性に基づいて選択した。全血上で関与するセンターによって微分計数を行い、これは研究の継続を承諾した81人の患者に利用可能なものであった。微分係数143を使用して(The differential counts were used)、血液中の骨髄集団(好酸球、好中球、及び単球)の絶対数を判定した。

【0171】

統計分析。統計的な研究計画において明示されるように、免疫療法前後での血球数の比較及び骨髄細胞上での成熟マーカーの発現を、対応のあるスチューデントt検定によりブリズム6を使用して行った。対応のあるスチューデントt検定を使用して報告された全ての有意性は、ウィルコクソン符号順位和検定(Wilcoxon matched pairs test)によっても有意なままであった。試験の閉鎖日(2014年10月13日)でのLFS及びOSに対するこれら免疫パラメータの影響を、ログランク検定を使用して判定した。ログランク検定によりLFS又はOSを有意に予測したパラメータを、SPSS statistics 24のソフトウェアを使用したCoxの単変量及び多変量の回帰分析によって、更に分析した。多変量分析において、蛍光強度などの連続的なパラメータを、中間より上又は下の発現に基づいて公称値に変換した。単変量Cox分析を利用して、LFS及びOSに対する、年齢、リスクの群(European Leukemia Net(14)による推奨に従い分類)、CRの達成に必要な導入コースの数(1又は>1)、及び地固めコースの数(0-2又は>2)の影響を判定した。LFS(導入サイクルの年齢及び数)のための、0.1より下のP値を持つ予後因子を、多変量Cox分析において潜在的な交絡因子として含めた。

10

20

【0172】

結果

HDC/IL-2での免疫療法は、血液中の好酸球数を増大させる。第1のCRにおいてAMLを持つ84人の成人患者が、Re:Mission試験に参加した。患者は、地固め後のフェーズにおいてHDC/IL-2での免疫療法を、10回連続の3週間のサイクルで受けた。処置サイクル1と3の前後に末梢血を集め、微分計数により白血球集団の含有量を分析した。加えて、血液から単離されたP B M Cを、単球及びDCの集団の含有量、並びにそれらの活性化マーカーの発現のために、フローサイトメトリーによって分析した。

30

【0173】

処置サイクル中に、サイクル間で標準化された白血球の総数の著しい増加が見られた(図16A)。白血球の導入は主に好酸球によって寄与され、その数は典型的に、処置サイクル中に10倍増大した(図16B)。好酸球数は処置サイクル間に減ったが、サイクル3の開始時の好酸球数はサイクル1の開始前のほぼ2倍もの多さのままであった(図16B)。処置サイクルの前の好酸球数、処置サイクルの後の好酸球数、或いは処置サイクル中の好酸球の導入も、LFS又はOSに関する臨床結果に対し有意に影響を及ぼさなかった(データは示さず)。

【0174】

HDC/IL-2での処置は、血液中の単球数を減らす。HDC/IL-2治療中の好酸球数の増加とは対照的に、単球及び好中球の数は、第1の処置サイクル中に減少した(図16C-D)。サイクル3中では単球又は好中球の数は更に減少した。免疫療法の開始時のレベルと比較して、単球数はサイクル3において減少したままであった(図16D)。

40

【0175】

免疫療法193の前又は後の血液中の好中球数は、臨床結果に影響を与えなかった(データは示さず)。しかし、患者を、第1の処置サイクル中の単球数の減少が高いもの又は低いもの/無いものへと、中間で二分した時、LFSで強固な単球の減少が有意に予測され(図16E)、OSでは同様の傾向が見られた(図16F)。LFSに対する単球減少の影響は、単変量回帰分析では有意なままであったが、多変量回帰分析ではそうでなかつ

50

た (表 5)。

【 0 1 7 6 】

表 5 . L F S と O S に対する、単球数の減少、H₂R の単球発現、及び H L A - A B C の単球発現の影響の、単変量及び多変量の C o x 回帰分析

【 0 1 7 7 】

【 表 5 】

変数	単変量分析			多変量分析 ¹		
	ハザード比	信頼区間	p-値	ハザード比	信頼区間	p-値
C1 vs LFS中の単球減少	2.19	1.13-4.25	0.02	1.77	0.88-3.56	0.110
CD14 ⁺⁺ H ₂ R 発現 C1D21 vs LFS	2.98	1.36-6.50	0.006	2.82	1.27-6.28	0.011
CD16 ⁺ H ₂ R 発現 C1D21 vs LFS	3.11	1.43-6.76	0.004	3.13	1.43-6.87	0.004
CD14 ⁺⁺ H ₂ R 発現 C1D21 vs OS	3.71	1.18-11.70	0.025	3.40	1.07-10.82	0.038
CD16 ⁺ H ₂ R 発現 C1D21 vs OS	5.7	1.61-19.93	0.007	6.17	1.73-22.09	0.005
CD14 ⁺⁺ HLA-ABC 発現 C1D1 vs LFS	0.36	0.18-0.72	0.004	0.34	0.17-0.71	0.004
CD14 ⁺⁺ HLA-ABC 発現 C1D1 vs LFS ²	0.20	0.06-0.66	0.008	0.32	0.09-1.20	0.092
CD14 ⁺⁺ HLA-ABC 発現 C1D21 vs LFS ³	0.27	0.107-0.70	0.007	0.320	0.12-0.84	0.021

¹多変量分析を年齢及び導入サイクルの数について補正した。

²中間頻度より下のCD8⁺ T_{EM} C1D1を持つ患者を分析に含めた。

³サイクル1中にCD8⁺ T_{EM}からT_{eff}への細胞遷移を示さない患者を分析に含めた。

【 0 1 7 8 】

H₂R の単球発現は、HDC ベースの免疫療法を受ける患者における再発リスク及び生存を予測する。血液中の主な2つの単球集団である、CD14⁺⁺ CD16⁻ (CD14⁺⁺) 細胞及びCD14⁺ CD16⁺ (CD16⁺) 細胞は、HDC / IL - 2 での処置中に同じくらいの程度まで減少した (データは示さず)。初期の研究は、骨髄細胞の分化の促進に加えて、インピトロでのNOX2由来のROS形成を阻害するために、HDC がヒスタミン2型受容体 (H₂R) をライゲートすることを示している。CD14⁺⁺ 及びCD16⁺ の単球上でのH₂Rの発現を、免疫療法中に評価し、臨床結果に関連づけた。図17A - Bに示されるように、H₂Rの発現は、処置サイクル中及び処置サイクル間にはCD14⁺⁺ 単球上で、並びに、第1のHDC / IL - 2 処置サイクル中にはCD16⁺ 単球上で有意に増強した。第1の処置サイクル後のCD14⁺⁺ 又はCD16⁺ の単球上での高度のH₂R発現は、LFSとOSの兆候を強く示した (図17C - F)。高度の単球H₂R発現の有用な影響に関する同様の傾向を、免疫療法の開始時に観察した (データは示さず)。LFSとOSに対する単球H₂R発現の影響は、多変量分析では有意なままであった (表5)。

【 0 1 7 9 】

HDC / IL - 2 での処置は、単球及びDC上での活性化マーカーの発現を増大させる。骨髄由来の細胞に対するHDC / IL - 2 処置の効果を更に明らかにするために、活性化マーカーHLA - DR、CD40、及びCD86の発現を、処置サイクル1及び3の前後に判定した。結果は、処置サイクル中にCD14⁺⁺ 及びCD16⁺ の両単球上でのこれら活性化マーカーの発現の増加を示した (図18A - B)。CD14⁺⁺ 単球については、HLA - DR発現の有意な増加を、サイクル3中に観察し、及びCD40発現の有意な増加を両方の処置サイクル中に観察した (図18A)。CD16⁺ 単球については、全ての分析された活性化マーカーは、HDC / IL - 2 処置サイクルの少なくとも1つの間に著しく増大した (図18B)。

【 0 1 8 0 】

血液中の2つの主なDCの集団は、CD1c⁺ 及びCD141⁺ DCの表現型をそれぞれ運ぶ。単球と同様に、DCの数は、HDC / IL - 2 免疫療法中に減少した (データは示さず)。DC関連の活性化マーカーの発現に関して、CD1c⁺ DC集団とCD141

10

20

30

40

50

+ DC 集団との間に差異があった。CD40の発現は、CD1c+ DCの上でのみ、HDC/IL-2での処置中に増大したが、HLA-DR及びCD86の発現は、CD141+ DCの上でのみ誘導された(図18C-D)。HLA-DR及びCD86の発現は、対照的に、HDC/IL-2処置中にCD1c+ DCの上で僅かに減少した(図18C)。有意な相関性は、臨床結果と単球又はDC上でのHLA-DR、CD40、又はCD86の発現との間には観察されなかった(データは示さず)。

【0181】

骨髓細胞上での低度のHLA-ABC発現は、血液中の細胞障害性T細胞の変更された分配を伴う患者における好ましい臨床結果を告げる。HDC/IL-2での処置は、分析された全ての単球とDCの集団上での処置サイクル中のHLA-ABCの発現の増強を一貫して伴っていた(図19A-D)。免疫療法の開始時のCD14++単球上でのHLA-ABCの高度の発現は予後不良を予告し(図19E-F)、これは多変量分析において有意なままであった(表1)。CD14++単球上での高度のHLA-ABC発現を伴う患者の短いLFSに関する同様の傾向が、第1のHDC/IL-2処置サイクル(P=0.15、n=62、ログランク検定)の後に観察された。CD16+単球、CD1c+DC、及びCD141+ DC上でのHLA-ABCの発現を、CD14++単球のHLA-ABC発現に高度に関連づけた(データは示さず)。これら骨髓性集団上でのHLA-ABCの高度の処置前の発現も、乏しい臨床的結果を予測した(データは示さず)。

【0182】

残りの骨髓性の悪性細胞の上でのHLA-ABC発現が、単球及びDCの上でのHLA-ABC発現と同様な場合があることを、推測した。悪性細胞上での高度のHLA-ABC発現はしたがって、悪性細胞を認識且つ破壊するために細胞障害性T細胞との相互作用を促進するだけでなく、キラー細胞免疫グロブリン様受容体(KIR)との相互作用によってNK細胞の細胞傷害性の活性化を妨害する。Re:Mission試験からの以前の報告において、免疫療法の開始時に血液中に高頻度のCD8+エフェクターメモリー細胞(T_{EM}; CD45RO+CCR7-)を持つ患者、又は第1のHDC/IL-2処置サイクル中にCD8+Tエフェクター細胞(T_{eff}; CD45RA+CCR7-)へのCD8+T_{EM}細胞の遷移を受ける患者が、LFS及びOSの改善を示したことを、観察した。これらの要因は、減少した再発リスクと関連する機能的なT細胞免疫を示し得る。治療の開始時に中間頻度より上のCD8+T_{EM}細胞を持つ患者の中で、CD14++単球C1D1の上でのHLA-ABCの発現は再発リスクに影響を与えなかった(図20A)。対照的に、低度の単球HLA-ABC発現の好ましい影響は、免疫療法の開始時にCD8+T_{EM}細胞をほとんど持たない患者において明らかになった(pronounced)(図20B-C、表1)。同様に、T_{EM}からT_{eff}への遷移が観察された患者は、単球上での低度のHLA-ABC発現の明らかな利益を示さなかったが(図20D)、遷移陰性の患者は、C1D21で低度の単球HLA-ABC発現を持つことから有意に利益を得た(図20E-F、表5)。

【0183】

<考察>

AMLの化学療法後のフェーズにおける白血病の再発は、残りの悪性細胞の拡大から結果として生じると仮定され、地固め後の免疫療法の目標は、これらの残りの細胞を根絶することである。細胞障害性T細胞とNK細胞は、白血病細胞の監視のための主なエフェクター集団であると考えられるが、骨髓性免疫細胞の適切な機能化がこのようなリンパ球の活性に重要である。HDC/IL-2の併用免疫療法において、IL-2成分の提唱された機能は、細胞障害性リンパ球を活性化することである一方で、HDC成分は、免疫抑制性ROSの産生の阻害、及び骨髓細胞の成熟の促進によって骨髓誘導性の免疫抑制を標的とする。

【0184】

HDC/IL-2での処置サイクル中に観察された明白な好酸球増加症は、恐らくIL-5及びGM-CSFのIL-2により誘導された産生の結果としてIL-2での単独療

10

20

30

40

50

法が好酸球増加症を引き起こすと示されている、以前のAML試験に従っている。従って、HDC/IL-2での処置中に観察された好酸球の導入は、恐らくIL-2成分に起因する。著しいことに、我々の研究に使用されるIL-2の用量は、大半の以前の研究におけるよりも少なく、好酸球増加症のレベルに対するHDC成分による寄与は、形式的に除外することができない。再発リスク又は生存に関する好酸球数と臨床結果との間に相関性が無いことが観察された。

【0185】

好酸球増加症に加えて、IL-2の投与は、AML患者における好中球減少症を引き起こすと報告された。我々の研究において、HDCと併用した低用量のIL-2の使用により、血中好中球の軽度且つ一時的な減少を、第1の処置サイクル中に観察した。単球数の同様の及びより明白な減少を、HDC/IL-2の第1のサイクル中に観察した。好中球数ではなく単球数が、処置サイクル3の開始時に低いレベルのままであって。表現型分析により、CD14⁺⁺及びCD16⁺の両単球の血球数がHDC/IL-2治療中に減少することが明らかになった。以前のAML試験からの単球数に対するHDC又はIL-2の効果に関する情報が乏しい一方、転移性腎細胞癌(RCC)を患う患者における臨床試験の結果により、IL-2は血液中の単球数を少なくするのではなくIL-2を増大させることが示された。興味深いことに、DonskovらによるRCC試験において、IL-2レジメンへのHDCの追加は、単球増多症を防いだ。未熟骨髄細胞の阻害剤としてのHDCを更に支持して、マウスにおけるヒスタミン合成の遺伝子欠損は、未熟骨髄細胞の明白な堆積に関連付けられる。したがって、HDC/IL-2 HDC成分はAML試験において単球数の減少の観察に寄与したと仮定される。面白いことに、好中球及び単球と同様に、CD1c⁺及びCD141⁺DCの数も、試験中の免疫療法中に減少した。HDCの投与が癌を患うマウスにおけるDCの数を増やすと以前に示されているため、このことは予期されなかった。しかし、上述のRCC試験の1つにおいて、IL-2処置は血液DC数を減らすことが分かった。従って、単球の減少とは対照的に、DCの数の減少はIL-2に起因し得ることが推測される。しかし、CRにおけるAML患者は近年、強化化学療法を受けており、白血球数の観察された変動は、少なくとも部分的に、骨髄機能の回復中に生じる事象を反映し得ることに、注意されたい。

【0186】

癌の様々な形態において、不適当に活性化された単球及び好中球は免疫抑制に関連付けられ、血液及び他の組織中のそれらの存在は頻繁に、生存に関する予後不良を告げている。RCCにおいて、IL-2処置の前後の少ない単球及び/又は好中球の数、又はIL-2治療中の単球数の減少は、好ましい臨床結果を予測すると示されている。現在の研究において、第1のHDC/IL-2処置サイクル中の単球数の強固な減少は、LFSに関連付けられ、それにより、血液中の単球の存在が免疫療法の効力を弱め得るという考えが支持されている。

【0187】

骨髄細胞に対するHDCの提唱された効果は、NOX2依存性ROS形成の阻害及び骨髄細胞成熟の促進を含む。これら効果は厳密に、骨髄細胞上で発現されたH₂Rのライゲーションを介して媒介される。Re:Mission試験において、HDC/IL-2治療中、具体的には第1の処置サイクル中に、CD14⁺⁺単球の他にCD16⁺単球の上でもH₂Rの発現が強く増強されたことが観察された。CD1D21での高度の単球H₂R発現は、潜在的な交絡因子を考慮に入れる多変量分析において有意なままである、改善されたLFS及びOSを予告した。また、免疫療法の開始時に高密度のH₂Rを持つ患者の好ましい生存への傾向が観察された。H₂Rの高度の発現密度は、おそらくHDC処置に対する骨髄細胞の反応性を増強し、HDC/IL-2での免疫療法の有効性のバイオマーカーと見なされ得る。更なる研究が、免疫療法を受けない患者におけるH₂R発現の潜在的効果を含む、AMLの臨床経過に関する骨髄細胞H₂Rの発現の重要性を判定するために是認される。

【0188】

H₂Rに加えて、成熟の他の様々なマーカーの発現は、処置サイクル中に単球とDCの集団上で有意に増大し、このことは免疫療法がインビトロだけでなくインビボでヒト細胞の骨髄の成熟を引き起こすことを示している。しかし、予想外にも、HLA-DR、CD40、又はCD86の高度の骨髄細胞発現はLFSに影響を及ぼさず、一方でHLA-ABCの高度の発現は再発のリスクの増強に関連付けられた。HLA-DR、CD86、及びCD40の単球発現は、免疫療法の第1のサイクル前後での単球HLA-ABCの発現に強く相関した（データは示さず）。同様の相関性を、HDC/IL-2での処置の前後でのHLA-DR及びHLA-ABCのDC発現に見出した。したがって、HLA-DR、CD40、又はCD86の発現の正の影響の欠如は、負の予後のマーカーHLA-ABCとのこれら成熟マーカーの相関性に関連し得ることが、推測される。

10

【0189】

数連の証拠は、NK細胞とT細胞の機能がAMLの好ましい臨床結果に重要であることを示唆している。HDC/IL-2の免疫療法中に、天然の細胞傷害性受容体(NCR)のNK細胞数及びNK細胞発現を含む、NK細胞関連のパラメータは、地固め後のフェーズにおいて再発及び死亡を有意に予測することが、以前に報告されている。加えて、治療の開始時の多数のCD8⁺TEM細胞、TEM細胞からTEFF細胞へのCD8⁺T細胞遷移、及びAML由来の抗原に反応的なCD8⁺T細胞の存在を含む、機能的な細胞傷害性(CD8⁺)T細胞に関係するパラメータは、好ましい臨床結果の兆候を示す。以前の結果はまた、NK細胞及びCD8⁺T細胞がAMLの再発の予防において独立したエフェクターアーム(effector arms)を構成し得ることを示唆している。

20

【0190】

現在の研究において、骨髄細胞上のHLA-ABCの高度の発現は予後不良に関連付けられ、したがって考慮され得るバイオマーカーの場合がある。単球上のHLA-ABC発現と他の全ての分析された骨髄細胞集団との間の強固な相関性は、単球HLA-ABCの発現が残りの白血病性芽球上でのHLA発現も反映し得ることを示唆している。白血病性芽球上で発現されたHLA-ABCは、NK細胞により発現されたKIRのライゲーションを介してNK細胞の細胞傷害性を阻害し得る。興味深いことに、LFS上での低度のHLA-ABC発現の好ましい影響は、外見上、CD8⁺T細胞の好ましくない分布、即ち、低頻度のCD8⁺TEM細胞及びTEMからTEFFの遷移の欠如を示す患者に制限されていた。T細胞分布が好ましくない患者は、白血病細胞のNK細胞で媒介された監視に依存することもあり、これは故に、この群の患者における低度のHLA-ABC発現の好ましい臨床的な影響に対し考えられる説明を提供する。このような推定の予備的な性質は強調されなければならない、詳細な研究が、骨髄細胞HLA-ABCの発現とAMLにおけるNK細胞及びT細胞の抗白血病機能との間の起こり得る相互作用に対して是認される。

30

【0191】

骨髄細胞集団の表現型及び動力学は、AMLにおける再発リスクに関連し得ること、及び、骨髄細胞機能の態様を標的とするための戦略は再発を防ぐことを目的とする免疫療法の有効性を改善し得ることが、結論付けられた。

【0192】

<実施例7>

40

<慢性骨髄単球性白血病におけるNOX2依存性の免疫抑制>

慢性骨髄単球性白血病(CMML)は、処置の選択肢が少なく且つ予後が憂鬱なものである、骨髄増殖性且つ骨髄異形成の腫瘍である。CMMLにおけるナチュラルキラー(NK)細胞及び他の抗白血病リンパ球の役割の大部分が未知である。骨髄細胞NADPHオキシダーゼ(NOX2)により形成された免疫抑制性の活性酸素種(ROS)に焦点を当てることで、CMMLにおける免疫回避の機構に対する見識をもたらすことを目的とした。初代ヒトCMML細胞の支配的な集団は、共培養されたNK細胞、CD8⁺Tエフェクターメモリー細胞、及びCD8⁺Tエフェクター細胞における大規模なPARP1-依存性の細胞死を次々に誘発した、膜結合型のNOX2及び放出されたROSを発現することが分かった。ROS形成の阻害剤及び細胞外ROSの消去剤は、CMML細胞で誘導さ

50

れたリンパ球死を防ぎ、抗体が被覆された初代CMM L細胞へのNK細胞の脱顆粒を容易にした。CMM L患者において、血液中の未熟な細胞の数(CD34)の上昇は、様々なNK細胞を活性化する受容体の発現の減少に関連付けられた。CMM L細胞は、免疫回避の標的化可能な機構として細胞外のROSを利用し得ることが提唱される。

【0193】

CMM Lを患う患者は、血液と骨髄における芽球細胞の存在と共に、血液中の単球数の上昇($> 1 \times 10^9 / L$)を提示した。CMM Lは典型的に、骨髄増殖及び骨髄異形成の兆候と共にゆっくりと進行する。診断後の中間の生存は < 2 年であり、長期間の生存者はほとんどおらず、このことは、急性骨髄性白血病(AML)への高リスクの遷移によって部分的に説明される。CMM L患者の大部分は > 60 歳であり、且つ同種骨髄移植には不

10

【0194】

活性酸素種(ROS)は、微生物に対する防御戦略として様々な型の骨髄細胞によって産生される。しかし、単球と顆粒球のNADPHオキシダーゼ/NOX2(NOX2)によって形成されたROSも、免疫調節における役割を割り与えられてきた。故に、NOX2を介してROSを生成するための骨髄細胞の完全な能力は、報告によると、自己反応性T細胞の活性を弱めるのに重要である。癌において、NOX2由来のROSの細胞外放出は、抗腫瘍性のリンパ球、具体的にはNKナチュラルキラー(NK)細胞及びT細胞のサブセットの有意な機能不全に関連付けられる。NOX2媒介性のROS形成の阻害剤であるヒスタミン二塩酸塩(HDC)は、AMLの化学療法後のフェーズにおける再発防止のために、NK細胞及びT細胞を活性化するサイトカインインターロイキン2(IL-2)と組み合わせて使用される。第III相試験の結果の事後解析は、患者が機能的なNOX2及びヒスタミン2型受容体(H₂R)を共発現させる白血病細胞を持つ、HDC/IL-2の臨床適用が単球分化のAMLを患う患者の中で明らかにされることを示唆した。

20

【0195】

この研究のために、(1)初代ヒトCMM L細胞上のNOX2及びH₂Rの発現を判定し、(2)CMM L細胞の潜在的な免疫抑制特性を評価し、(3)CMM L患者からの循環するNK細胞及びCD8⁺T細胞のサブセットの表現型を判定した。結果は、NOX2由来のROSがCMM Lにおいて白血病関連の免疫抑制の標的化可能な機構を構成し得ることを示唆している。

30

【0196】

患者及び健康な給血者。スウェーデンのヴェストラ・イェータランド県とスコーネ県にある病院で確認されるCMM Lを患う患者の血液サンプルを、書面でのインフォームドコンセントを得た後に採取した。患者は、2008年のWHOの分類に従うCMM Lの基準を満たしていた。12人の患者のうち、10人(83%)にはCMM L-1(血液中の前単球を含む $< 5\%$ の芽細胞、又は骨髄中の $< 10\%$ の芽細胞として定義される)があったが、残り2人(17%)にはCMM L-2があった。10人の患者は男性であり、2人は女性であった(52-88歳、中間で70歳)。CMM L患者において循環する単球の絶対数は、9人の患者から利用可能であり、 $4.5 \times 10^9 / L$ から $29.6 \times 10^9 / L$ まで及び、中間は $10.0 \times 10^9 / L$ であった。健康な給血者のLeukopacks

40

【0197】

細胞の単離。患者及び健康なドナーから、末梢血単核細胞(PBMC)を記載される通りに単離した。簡潔に、血液サンプル又はパフィーコート白血球を、密度勾配遠心分離、続いてデキストラン沈降にさらした。健康なドナーのNK細胞、CD8⁺細胞、及び単球を、MACS NK細胞単離キット、CD8⁺単離キット、及びMACS単球単離キットII(Miltenyi Biotec, Stockholm, Sweden)をそ

50

れぞれ使用した免疫磁気単離により獲得した。主要な白血病性芽球及び単球を、FACSにより患者のPBMCから単離した。芽細胞をCD14⁻CD34⁺として定義し、単球をCD14⁺CD33⁺として定義した。

【0198】

ROSの産生。初代CMM L細胞の細胞外ROS産生を、記載されるようにイソルミノールを増強した化学発光により測定した。簡潔に、 2×10^5 の細胞を、イソルミノール(10 µg/ml)及びワサビペルオキシダーゼ(HRP; 4 U/ml)の存在下で96ウェルのプレートに加えて、NOX2誘発因子であるN-ホルミル-メチオニル-ロイシル-フェニルアラニン(fMLF; 0.1 µM)により刺激した。光の放射を、FLUOstar Omegaのプレートリーダー(BMG Labtech)を使用して記録した。

10

【0199】

リンパ球の死滅。単離したリンパ球のサブセットを、5%のCO₂において37°Cで、NOX2阻害剤又は他の抗酸化化合物を用いる又は用いないCMM L患者の初代白血病単球と共に、一晚共培養した。リンパ球の死滅を、LIVE/DEAD(登録商標)の固定可能な死細胞染色(Life Technologies)での染色後のフローサイトメトリーによって評価した。受容体発現アッセイにおいて、精製されたNK細胞を、PARP-1阻害剤PJ34(0.5 µM)の存在下又は不在下で単球と共に一晚共培養した。以下の抗体を、受容体発現の評価のために使用した: Miltenyi BiotecのNKp46-PE(クローン: 9E2)及びDNAM-1-PE-Cy7(クローン: DX11)。BD PharmingenのNKp80-APC(クローン: 4A4.D10)及びCD16-BV605(クローン: 3G8)。

20

【0200】

CD8⁺T細胞のサブセットを染色し、3種類のレーザーを用いるFACSARIA IIフローサイトメーター(BD Biosciences)上で選別した。T細胞集団を識別するために以下の抗体を使用した: Life technologiesのCD3-Pacific Blue(クローン: S4.1)。全てBD PharmingenのCD8-APC-H7(クローン: SK1)、CD45RA-APC(クローン: HI100)、CD45RO-PE(クローン: UCHL1)、及びCCR7-PE-Cy7(クローン: G043H7)。CD8⁺T細胞のサブセットを更に以下のように定義した: CD45RA⁺CCR7⁺としてナイーブT細胞(TN)、CD45RO⁺CCR7⁺としてT中央メモリー細胞(T central memory cells)(TCM)、CD45RO⁺CCR7⁻としてTエフェクター記憶細胞(TEM)、及びCD45RA⁺CCR7⁻としてTエフェクター細胞(Teff)。

30

【0201】

NK細胞の脱顆粒及びADCCのアッセイ。患者由来の悪性単球に対するNK細胞の脱顆粒及び細胞傷害性を、ヒト化抗CD33抗体であるリンツズマブ(Abbvie, Stockholm, Sweden)を使用する実験において評価した。健康なドナーのNK細胞を単球と共に共同インキュベートし、37°C及び5%のCO₂で4時間、抗-CD107a-PE-Cy7抗体(BD Pharmingen)及び抗酸化化合物の存在下で、CellTraceの紫色染色(Life Technologies)で標識した。その後、細胞を、LIVE/DEAD(登録商標)の固定可能な死細胞染色(Life Technologies)で染色し、フローサイトメトリーによって単球及びNK細胞の脱顆粒の溶解について評価した。培養実験、細胞傷害性アッセイ、及び共焦点顕微鏡のために、10%のヒトAB+血清で補足されたイスコフ改変ダルベッコ最少必須培地(IDMEM)を使用した。

40

【0202】

共焦点顕微鏡。CMM L患者の主要な白血病性単球を、Novus Biologicalsの抗フラボシトクロムb558(gp91^{phox})(クローン7D5、FITC)で染色し、続いて、リンツズマブ(1 µg/ml)の存在下で健康なNK細胞を用いて

50

1 : 2 の比率で 45 分間、共焦点スライド上でインキュベートした。その後、細胞を PBS 中で広範囲に洗浄し、DAPI を含む ProLong Gold の褐色防止封入剤 (ProLong Gold antifade reagent) (Invitrogen) でマウントした。Zeiss LSM700 共焦点顕微鏡を使用して顕微鏡写真を得て、Zeiss の ZEN Blue ソフトウェアを使用して分析した。

【0203】

化合物。以下の化合物を使用した：ヒスタミン二塩酸塩 (HDC ; 100 μ M ; Sigma - Aldrich)、H₂R 受容体アンタゴニストラニチジン (Glaxo, Molndal, Sweden)、AH202399AA (ラニチジンに対する化学対照、Glaxo)、カタラーゼ (200 U/ml ; Sigma - Aldrich)、インターロイキン 2 (IL - 2 ; 500 U/ml ; Chiron)、NOX2 阻害剤ジフェニレンヨードニウムクロリド (DPI ; 3 μ M ; Sigma - Aldrich)、及び PARP - 1 阻害剤 PJ34 (0.5 μ M ; Sigma - Aldrich)。

10

【0204】

フローサイトメトリーによるイムノフェノタイピング。細胞培養の前後の活性化受容体の NK 細胞発現を、10 人の CMMML 患者及び 10 人の健康な年齢の一致した対照におけるフローサイトメトリーによって測定した。これら試験において、細胞を、96 ウェルのプレート中で 3 日間、IL - 2 (500 u/ml) が存在する 200 μ l において 1 つのウェルにつき 1×10^6 細胞の濃度で培養した。その後、細胞を 1 日目と 3 日目に染色し、4 種類のレーザーを用いる BD LSRFortessa SORP のフローサイトメーターを使用して分析した。NK 細胞を CD3⁻/CD56⁺ 細胞として定義した。この分析は、NK 細胞の活性化又は成熟に関連する以下の受容体を含んでいた：全て Miltenyi Biotec の NKp30 - PE (クローン：AF29 - 4D12)、NKp80 - APC (クローン：4A4 . D10) 及び DNAM - 1 - PE - Cy7 (クローン：DX11)、NKp46 - PE (クローン：9E2)、NKG2D - PE - Cy7 (クローン：1D11)、LFA - 1b - APC (クローン：6.7)、CD57 - FITC (クローン：HNK - 1) は BD Pharmingen のものであった。2B4 - FITC は R&D systems のものであり、NKG2C - Pacific Blue (クローン：MM0488 - 9R17) は Novus Biologicals のものであった。

20

30

【0205】

CMMML 患者の単球及び芽細胞を、全て BD Pharmingen の抗 CD33 (クローン P67.6、PE - Cy7)、抗 CD34 (クローン 8G12、PE)、抗 CD56 (クローン NCAM16、PE - Cy7、APC)、抗 CD14 (クローン MP9、APC - Cy7)、抗 CD15 (クローン HI98、APC) から成るパネルを使用して分析した。抗フラボシトクロム b558 (gp91^{phox}) (クローン 7D5、FITC)。抗ヒスタミン H₂ 受容体 (多クローン性ウサギ IgG) は MBL International (Woburn, MA) のものであり、ヤギ抗ウサギ二次抗体 (PE - Cy5.5) は Invitrogen のものであった。

【0206】

統計分析及び倫理規定。一元配置分散分析、その後のボンフェローニの事後試験を多重比較のために使用し、対応のある t 検定を単一の比較のために使用した。P 値 < 0.05 を有意であると考慮した。図において、アスタリスクは以下のように使用される：* P < 0.05、** P < 0.01、*** P < 0.001。全ての示された P 値は全て両側性である。研究はゴセンバーグの倫理審査委員会により承認されており、全ての実験はヘルシンキ宣言に従って行なわれた。

40

【0207】

< 結果 >

単球性の CMMML 細胞は機能的な NOX2 及びヒスタミン H₂ 受容体を発現する。免疫抑制性の ROS は、慢性骨髄性白血病における悪性顆粒球によって、及び AML における

50

悪性単球細胞によって産生されるが、初代CMM L細胞の潜在的なROSを形成する能力は未知のままであった。初期実験において、細胞の膜結合型のNOX2特異的サブユニットgp91^{phox}の中央蛍光強度(MFI)によって反映されるように、NOX2の発現と併せたヒトCMM L細胞からのROSの産生を分析した。CMM L患者の末梢血における単球性のCD14+集団は、健康なドナーのCD14+単球が発現したように、同様のレベルのgp91^{phox}を発現した(図21A及びB)。gp91^{phox}に対し陽性であるCD14+単球の分画は、全てのCMM L患者について99%の過剰であった(データは示さず)。

【0208】

H₂-受容体(H₂R)を介したシグナル伝達は、ROS形成のヒスタミンで誘発される障害を変換することが示されている。初代単球性CMM L細胞は例外なく高レベルのH₂Rを発現し、このことは、NOX2活性がHDCによって標的とされ得ることを示唆している(図21A及びB)。大多数のCMM L細胞がCD33CD14+である一方、CD34+芽細胞のより小さな集団は大半の患者の血液中で検出された。より成熟した単球性のCMM L細胞とは対照的に、CD34芽球細胞は、低レベルのgp91^{phox}、及び中程度のレベルのH₂Rを発現した(図21A及びB)。gp91^{phox}の発現が機能的なNOX2を反映したかどうかを判断するために、患者のCD14+細胞を、fMLF、即ちヒト骨髄細胞においてROS形成を引き起こす細菌起源のホルミル化トリペプチドでの刺激後のROS産生の分析が後続するFACSによって選別した。選別された単球性のCMM L細胞は高レベルのROSを生成することが分かり、HDCの添加はROS産生を有意に抑えた(図21C及びD)。HDCのROS障害作用は、順に、ラニチジン、即ち特異的H₂Rアンタゴニストによって拮抗されたが、ラニチジンの化学対照、即ちAH202399AAによっては拮抗されず、そこでは、チオエーテル基がエーテルによって置き換えられ、それによりH₂R>50倍でその親和性を減らしている(図21C)。これらの効果は、H₂Rを標的とすることによってHDCがCMM L細胞におけるNOX2媒介性のROS産生を抑えることを示唆している。

【0209】

NOX2の障害は、抗体が被覆された初代CMM L細胞の方へとNK細胞脱顆粒及びADCCを促進する。健康な及び悪性の骨髄細胞は以前に、ROS[16]の産生によってNK細胞の抗腫瘍機能を損なうと示されている。共培養実験において、相互に作用する初代CD14+CMM L細胞及びNK細胞の共焦点顕微鏡写真を得た。CD14+CMM L細胞とNK細胞との相互作用を分析する時に、細胞と、NK細胞の方への膜結合型NOX2の極性化との間に、異なるシナプスを観察した(図22A)。単球性のCMM L細胞が高レベルのROSを産生する能力と共に免疫学的シナプスの付近でNOX2を発現したという発見により、CMM L細胞が免疫媒介性の死滅を逃れる機構がROS産生によって構築され得るかどうかについての研究が駆り立てられた。この目的のために、NK細胞とCMM L細胞との相互作用を増強するための結合抗体(linking antibody)としてのリンツズマブ(抗CD33)の存在下又は不在下で、IL-2で刺激されたNK細胞が初代CD14+CMM L細胞に応じて脱顆粒を行う能力を試験した。NK細胞だけが、初代CMM L細胞に対する脱顆粒をほとんど表示しなかった。リンツズマブの添加はNK細胞応答を有意に増大させ(p<0.01、n=9)、NOX2障害剤HDCの添加は初代白血病細胞に対する脱顆粒応答を増強させた(p<0.01、n=9;図22B)。

【0210】

CD14+CMM L細胞は、リンパ球におけるPARP-1依存性の細胞死を誘導する。一晚の共培養実験において、初代CD14+CMM L細胞は、健康なNK細胞(p<0.001、n=6、図22C)及びCD8⁺T細胞(p<0.001、n=4、図23A)において有意な細胞死を引き起こした。CMM Lで誘導されたリンパ球のアポトーシスは、NOX2障害剤HDC及びDPI、並びに、H₂O₂を分解することにより細胞外のROSを除去するカタラーゼによって妨げられた。リンパ球も、PARP-1の障害剤で

10

20

30

40

50

ある P J 3 4 によって C M M L 細胞誘導性の細胞死から救い出され、故にこのことは、C M M L 細胞により形成された R O S が、N K 細胞及び C D 8 + T 細胞において、パータナトスとしても知られる P A R P 1 依存性の細胞死を引き起こすことを示唆している (図 2 2 C 及び 2 3 A) 。

【 0 2 1 1 】

C M M L 細胞は、成熟した T 細胞サブセットに対して優先的に抑制作用がある。以前に、C D 8 + T エフェクターメモリー細胞 (T E M) の存在が、地固め後のフェーズにおける再発防止のために H D C / I L - 2 での免疫療法を受ける A M L 患者の好ましい予後に関連付けられることが、示されている。C M M L 細胞が特定の T 細胞サブセットを特異的に阻害するかどうかを判定するために、C D 8 + T 細胞サブセット (T N 、 T C M 、 T E M 、 及び T E f f) を F A C S で選別し、初代単球性 C M M L 細胞でこれらの部分母集団を一晩培養した。血液中の C D 8 + T 細胞サブセットの分布は、C M M L 患者、及び年齢が一致した健康な対照被験体において同様であった (データは示さず) 。 C M M L 細胞は、より成熟した C D 8 + T 細胞サブセット、即ち T E M 及び T E f f 細胞における細胞死を顕著に誘導し、一方で T N 細胞は、C M M L 細胞誘導性のアポトーシスに対する耐性が大きかった (図 2 3 B) 。 N O X 2 阻害剤 D P I が C M M L 細胞誘導性の細胞死から全ての T 細胞サブセットを効率的に救い出したため、T 細胞サブセットの細胞死の差は R O S 感度の差によって顕著に説明された。

10

【 0 2 1 2 】

C M M L 患者の N K 細胞における受容体発現の欠損。N K 細胞の機能は、N K 細胞表面上で発現された抑制性受容体を活性化することにより調節される。初期の研究は、A M L 及び M D S を含む骨髄性の悪性腫瘍における N K 細胞受容体を活性化する発現減少が生存に関する予後不良を告げることを示している。また、M D S の進行は以前に、活性化 N K 細胞受容体の下方調節 (d o w n - m o d u l a t i o n) に関連付けられていた。

20

【 0 2 1 3 】

末梢の C D 1 4 - C D 3 4 + 芽球細胞のパーセンテージに関して患者を分析すると、年齢が一致した健康な対照と比較して、より高い比率の循環 C D 3 4 + 芽細胞 (P B M C の > 2 %) を持つ患者の群は、かなり低い強度の活性化 N K 細胞受容体 N K p 3 0 、 N K p 8 0 、 及び 2 B 4 を示すことが分かった (図 2 4 A) 。 加えて、血液中の N K p 3 0 、 N K p 4 6 、 N K p 8 0 、 D N A M 1 、 及び 2 B 4 を発現する循環 N K 細胞の頻度は、健康な対照よりも C M M L 患者において低い (図 2 4 B) 。 また、7 2 時間、I L - 2 の存在下又は不在下で患者又は健康なドナーの P B M C を培養し、N K 細胞受容体の発現を判定した。I L - 2 刺激は患者由来の N K 細胞における N K p 3 0 、 N K p 4 6 、 及び D N A M 1 の発現を有意に増強したことを観察した (データは示さず) 。

30

【 0 2 1 4 】

初期の研究は、R O S を産生する単球がインビトロでの活性化 N K 細胞受容体の発現を下方調節することを示している。しかし、活性化受容体の観察された下方調節が、N K 細胞による受容体発現の直接的な R O S で誘導された減少ではなく、N K 細胞アポトーシスの開始に関係する第 2 の事象を反映するかどうかは、未知のままであった。それ故、P A R P - 1 阻害剤 P J 3 4 の存在下で健康なドナーからの R O S を産生する単球性細胞に、N K 細胞をさらし、これは、R O S への曝露にもかかわらず N K 細胞の生存度を支持している。図 2 5 A に示されるように、P J 3 4 の存在下で単球由来の R O S にさらされた N K 細胞は、N K p 8 0 及び D N A M - 1 に関して同様の傾向で N K p 4 6 及び C D 1 6 を有意にダウンレギュレートした。N K 細胞が R O S を産生する細胞の不在下で P J 3 4 にさらされた時、N K 細胞受容体発現のダウンレギュレーションは観察されなかった (データは示さず) 。

40

【 0 2 1 5 】

< 考察 >

N K 細胞と骨髄細胞は、免疫応答を開始するために双方向のクロストークに従事し、N K 細胞は、骨髄細胞のサブセットを死滅させることによって免疫応答を形成し、調節し、

50

及び終了させると提唱されている。NK細胞はまた、様々な悪性骨髄細胞に対して細胞傷害性を及ぼす。NK細胞機能の欠損は、骨髄性白血病において疾患の経過に影響を与えると提唱されている。例えば、血液中の少ないNK細胞数は、慢性骨髄性白血病患者におけるチロシンキナーゼ阻害剤の中止後の白血病の再発に関連し、貧しいNK細胞機能及び活性化NCRの発現の欠損は、AMLを患う患者における陰気な予後を告げる。

【0216】

骨髄性の悪性腫瘍におけるNK細胞欠損の基礎を成す機構に関する詳細が定義されているままである一方、骨髄細胞からの細胞外ROSのNOX2依存性の形成は、免疫抑制の貢献的な経路として提唱されている。この研究における主な発見は、CMM L患者が機能的なNOX2を発現する単球性の白血病細胞を持つこと、及び、白血病細胞からのNOX2由来のROSの放出が、NK細胞及びCD8⁺T細胞を含む、意図された(purported)抗白血病の機能を持つリンパ球において機能不全及び細胞死を引き起こしたことであった。また、CMM L細胞により産生されたNOX2由来のROSを標的とするための戦略が、NK細胞及びCD8⁺リンパ球のサブセットの生存度を維持し、NK細胞の抗白血病の機能を支持したことも示されている。これらの戦略は、NOX2機能を阻害するためにH₂RをライゲートするHDCと共に、細胞外のROS(カタラーゼ)の劣化及びNOX2(DPI)の特異的阻害を含んでいた。

10

【0217】

比較的わずかな研究が、疾患の経過にわたりCMM Lの免疫生物学又は抗白血病リンパ球の役割に対処してきた。41人のMDS患者(6人はCMM Lを患う)のコホートにおいて、Carlsten及びその同僚は、表示された骨髄サンプルに由来するNK細胞が、年齢が一致した健康な対照と比較して細胞傷害性の減少を示したことを観察した。これらの著者はまた、患者由来のNK細胞における活性化受容体(DNAM-1及びNKG2D)の表面発現の減少を実証し、このことは骨髄芽球数の上昇と関連した。これらの以前の研究がCMM LにおけるNK細胞区画の別個の分析を可能にしなかった一方で、結果は、CMM L患者、特に血液中のCD14-CD34⁺芽細胞の数が多い患者のNK細胞による様々な活性化受容体の発現減少の発見に適合可能である。以前の研究に従って、単球性の細胞によって産生されたROSは活性化NK細胞受容体のダウンレギュレーションを誘導することが観察された。PARP-1阻害剤PJ34を使用する実験は、ROSが細胞死の無い状態でもNK細胞受容体のダウンレギュレーションを引き起こすことを示唆しており、故に、初期のアポトーシスに関連した細胞的事象ではなくROSが活性化NK細胞受容体の発現を減らすことを支持している。結果はまた、NK細胞受容体の欠損がサイトカイン活性化によって少なくとも部分的に可逆的であることを示唆しており(データは示さず)、CMM L患者のNK細胞上でのNKp46、NKp30、及びDNAM-1の発現は、IL-2によって健康な年齢が一致したドナーのものに匹敵するMFIレベルに戻された。

20

30

【0218】

CMM Lにおける細胞障害性T細胞の役割は詳細に特徴付けられていない。同種幹細胞移植(allo-SCT)は、悪性細胞を除去する際にT細胞免疫が恐らく役割を果たすことを示唆している、CMM Lにおける唯一の潜在的に回復的な処置である。この意見は更に、allo-SCTの後に再発が生じたCMM L患者においてCD3⁺T細胞を使用するドナーリンパ球輸注療法(DLI)の臨床的有効度によって支持される。現在の研究において、初代CMM L細胞が、CD8⁺T細胞区画、特に白血病細胞のクリアランスを媒介すると仮定される非ナイーブ細胞において有意なROS依存性のアポトーシスを引き起こしたことが観察された。これらの発見は、CD8⁺T_{EM}が低レベルの外因性ROSによって誘導された細胞死に対し非常に敏感であることを示している初期の報告に適合可能である。CMM L細胞由来のROSに対するT細胞サブセットの分差感度を説明する機構は、更に定義されなければならない。また、更なる研究が、T細胞へのCMM L細胞誘導性の免疫抑制が疾患の経過に影響を与えるかどうか、及び、白血病細胞によるROS形成が、CMM Lにおけるallo-SCTの、報告によると制限のある利益に起因し得る

40

50

かどうかを明らかにするために、必要とされる。

【0219】

NOX2阻害剤HDCは、化学療法の完了後に少量のIL-2と共に使用した時にAMLの再発を防ぐと示されている。第III相試験結果の事後分析は、French-American-British(FAB)分類に従い、AMLのクラス4及び5を患う患者においてHDC/IL-2の臨床的有効度が公表されることを示唆した。AMLのこれら亜型は、H2Rと共にROSを産生且つ放出する能力を持つ機能的なNOX2を運ぶ単球分化を伴う、白血病の集団を含んでいる。これらの発見は、単球性のAML細胞によるROS産生が白血病誘起性の免疫回避の機構として役立ち得るといふ仮説に対する背景を形成した。現在の研究の結果は、同様の免疫抑制性の機構がCMMLにおいて手近にある

10

【0220】

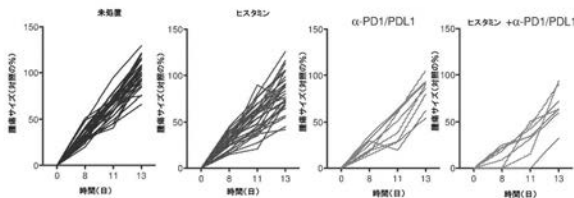
要するに、結果は、初代ヒトCMML細胞が、白血病細胞のNK細胞及びT細胞に依存するクリアランスに影響を与え得る免疫抑制性のROSを産生することを示唆している。細胞外のROSを標的とする戦略は、CMMLにおける抗白血病の細胞性免疫の改善において価値があり得ることが、提唱される。

【0221】

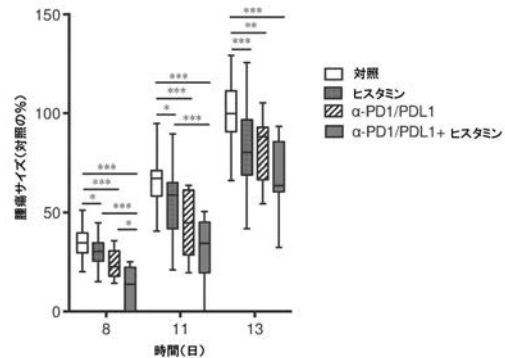
本発明の特定の特徴が本明細書で例示且つ記載されてきたが、多くの改変、置換、変更、及び同等物が、当業者により想到される。それ故、添付された請求項は、本発明の真の趣旨の中にあるものとしてこのような改変及び変更を全て包含するように意図されることを、理解されたい。

20

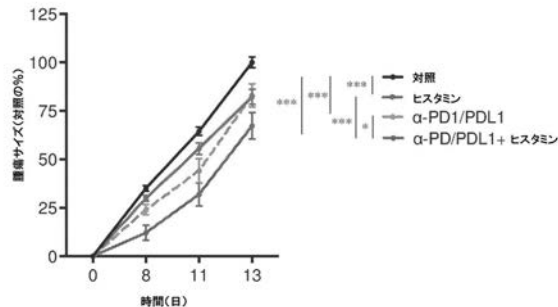
【図1】



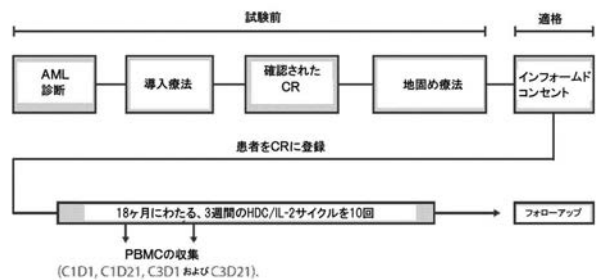
【図3】



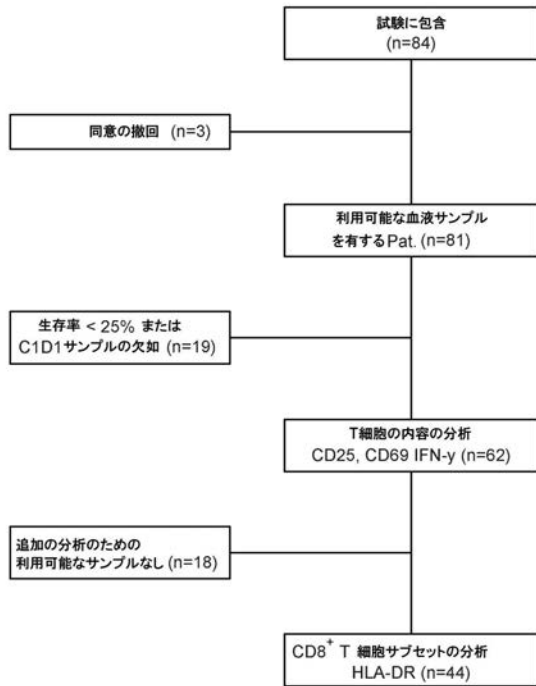
【図2】



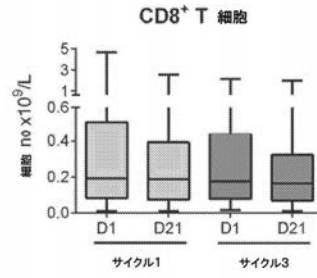
【図4】



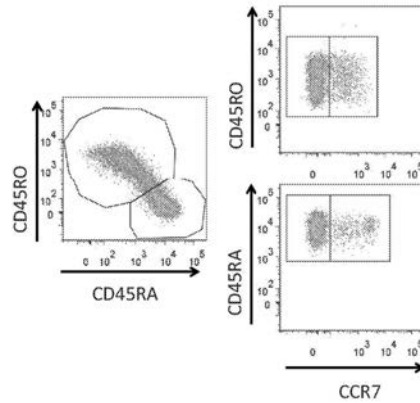
【 図 5 】



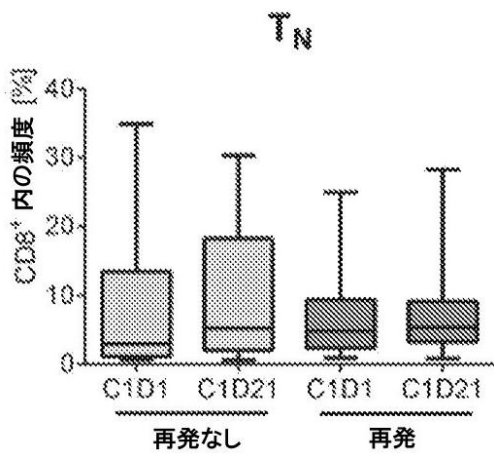
【 図 6 A 】



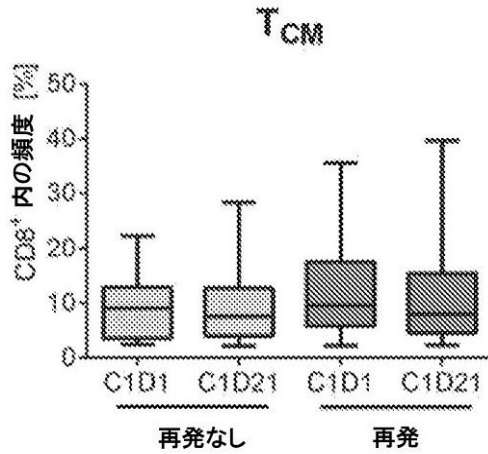
【 図 6 B 】



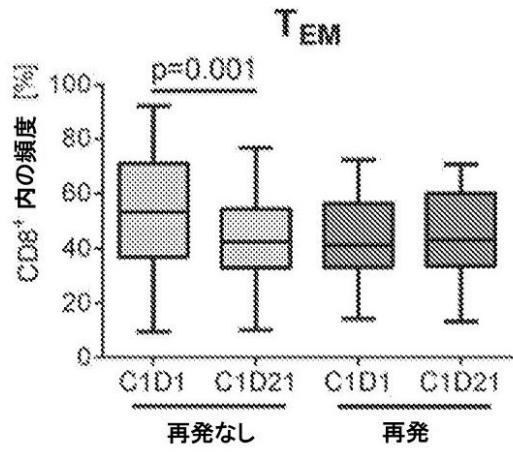
【 図 6 C 】



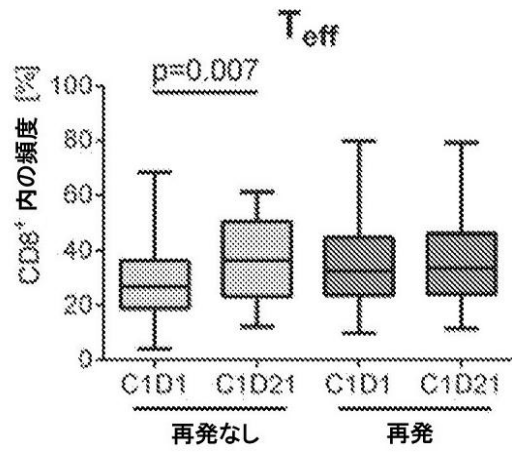
【 図 6 D 】



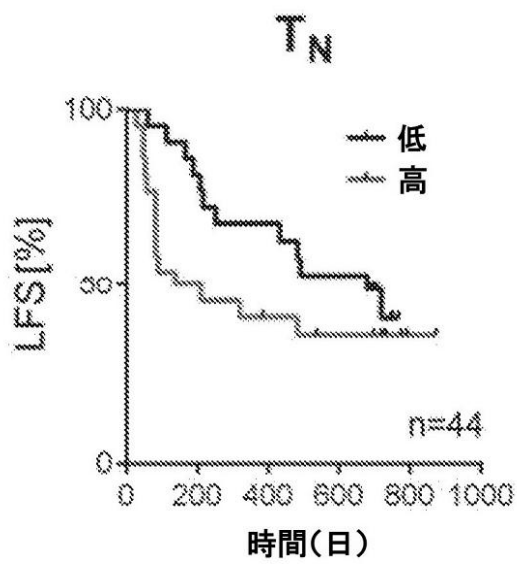
【 図 6 E 】



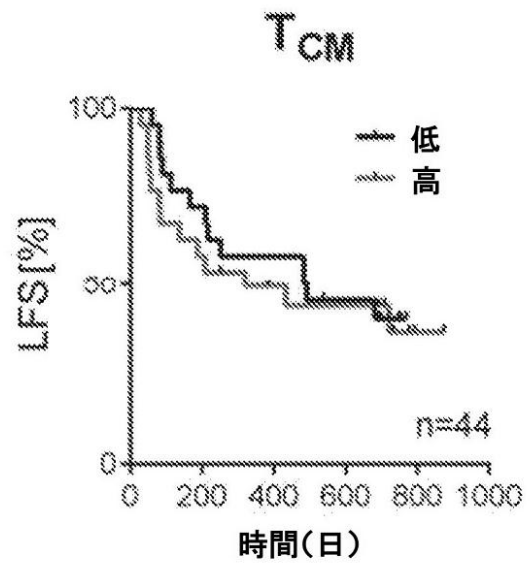
【 図 6 F 】



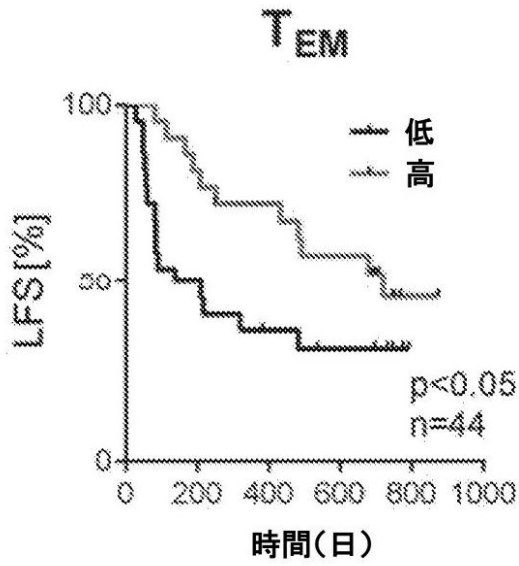
【 図 7 A 】



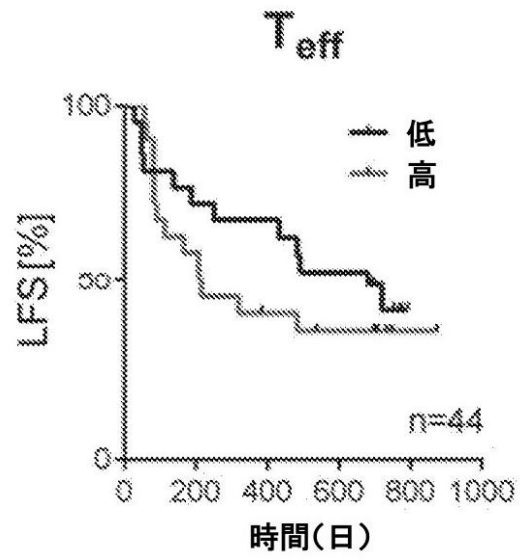
【 図 7 B 】



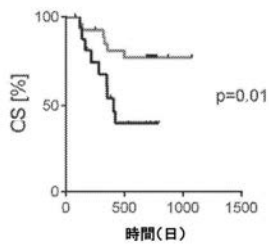
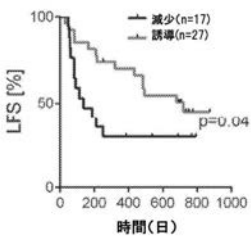
【 図 7 C 】



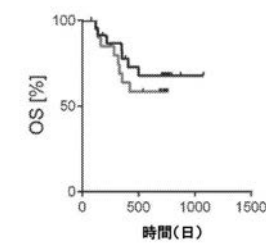
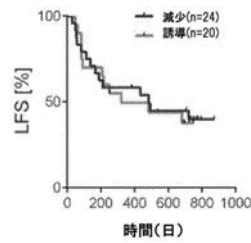
【 図 7 D 】



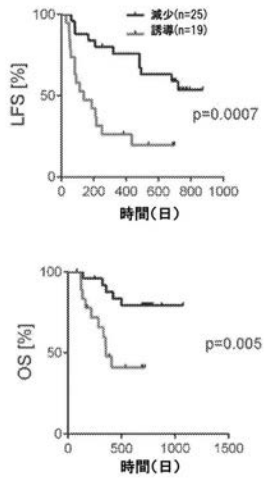
【 図 8 A 】



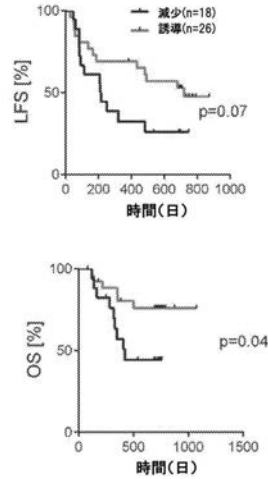
【 図 8 B 】



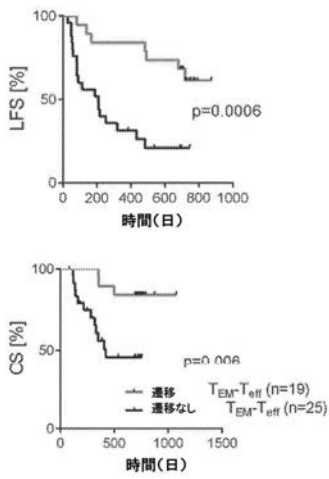
【 図 8 C 】



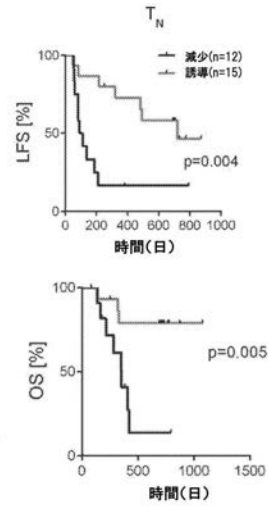
【 図 8 D 】



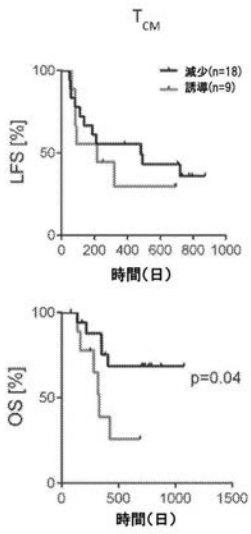
【 図 8 E 】



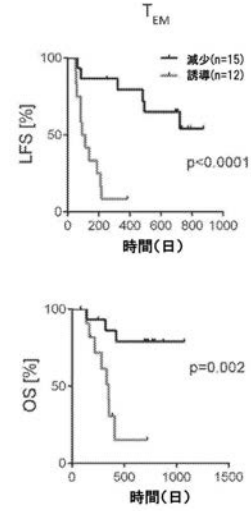
【 図 8 F 】



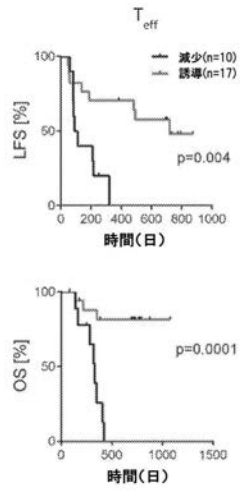
【 図 8 G 】



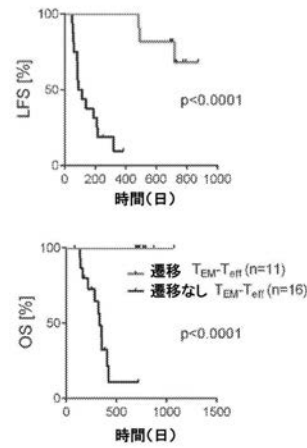
【 図 8 H 】



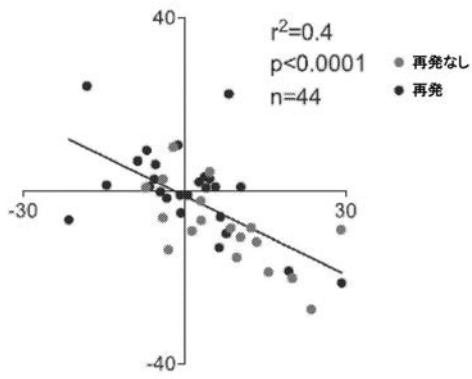
【 図 8 I 】



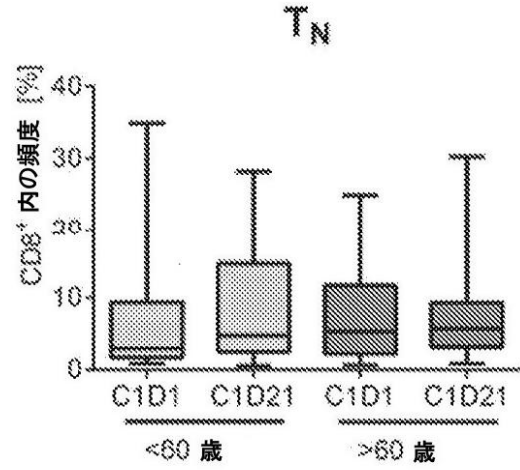
【 図 8 J 】



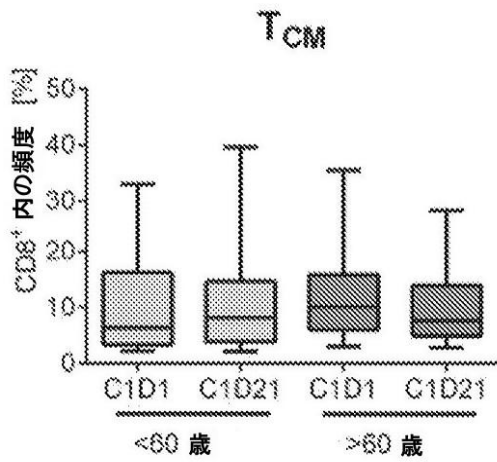
【 図 9 】



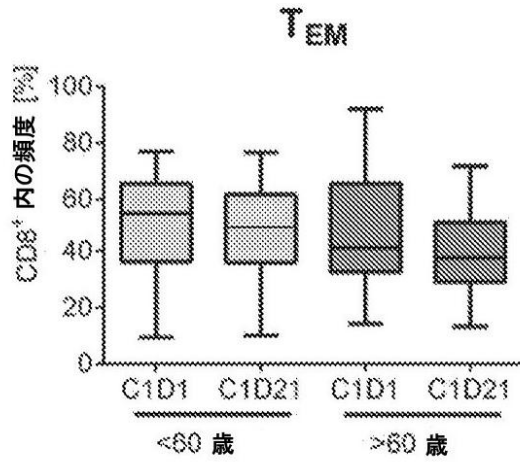
【 図 1 0 A 】



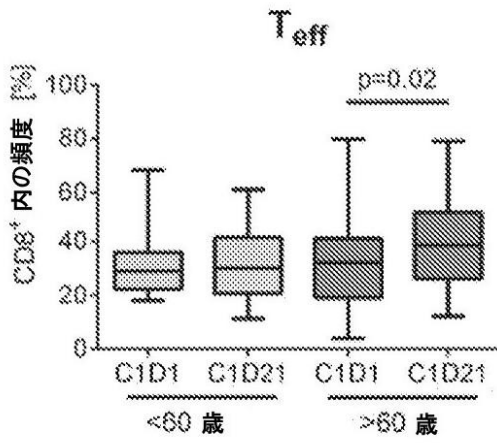
【 図 1 0 B 】



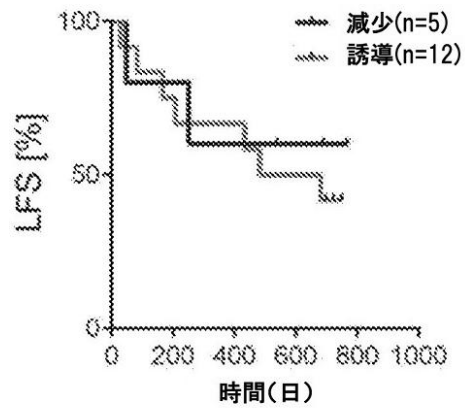
【 図 1 0 C 】



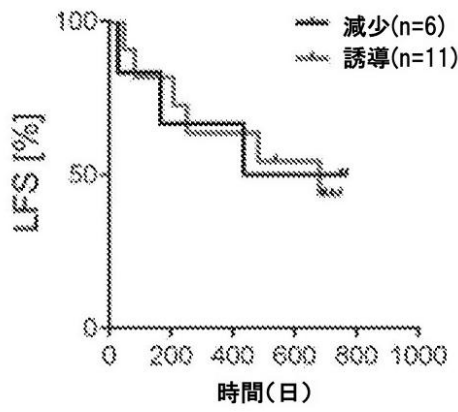
【 図 1 0 D 】



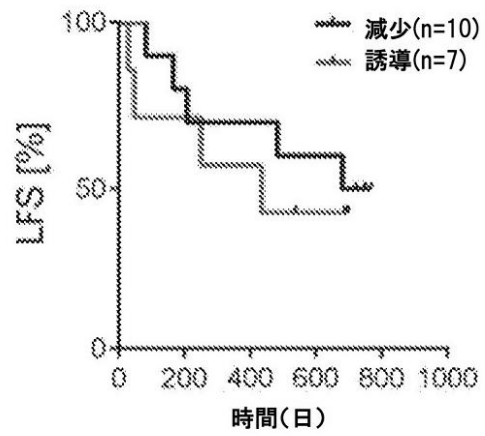
【 図 1 0 E 】



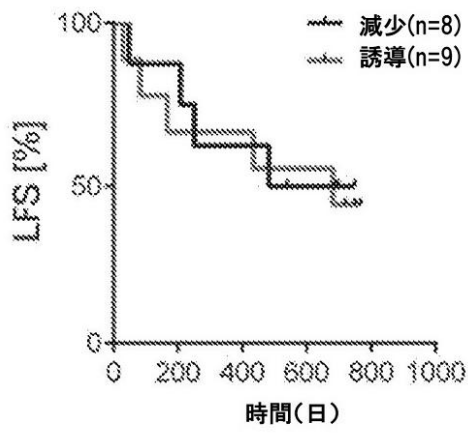
【 図 1 0 F 】



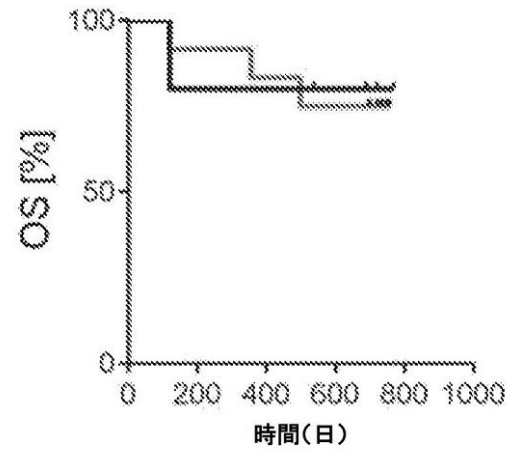
【 図 1 0 G 】



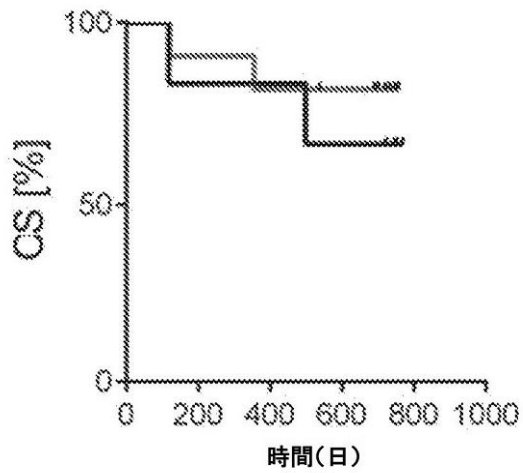
【図10H】



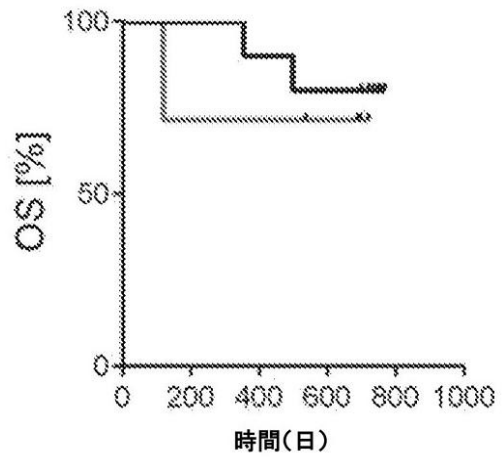
【図10I】



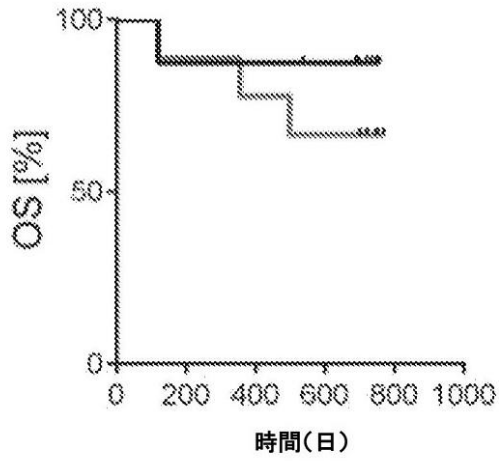
【図10J】



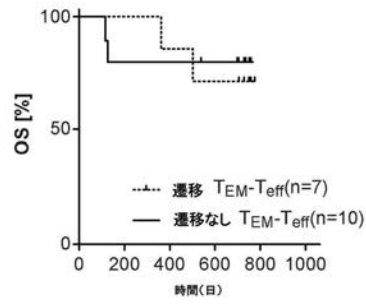
【図10K】



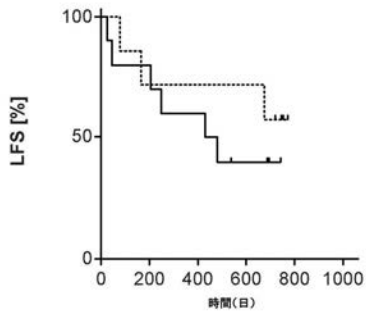
【図10L】



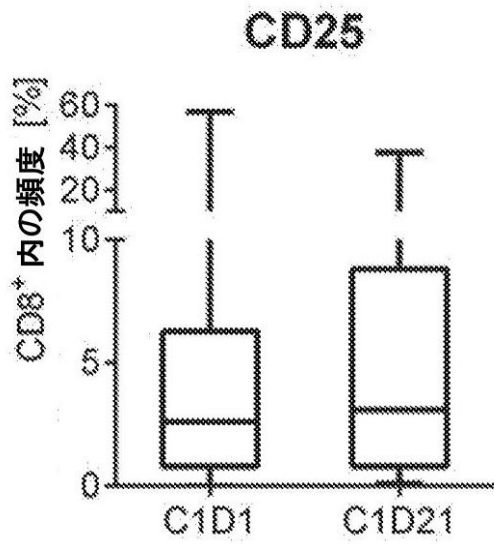
【図10N】



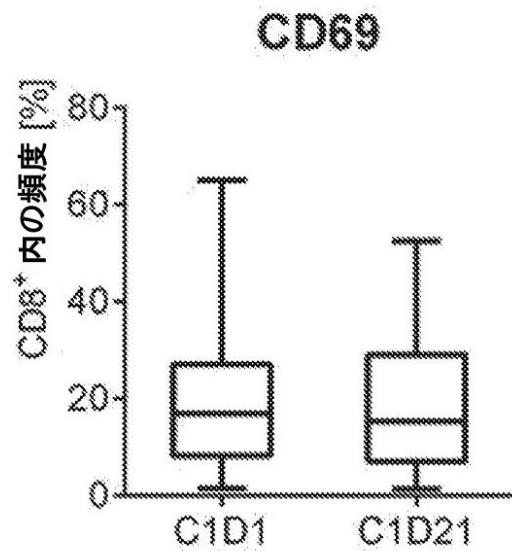
【図10M】



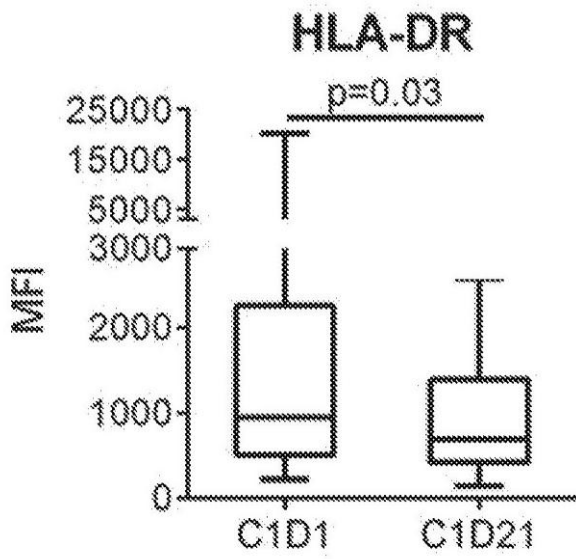
【図11A】



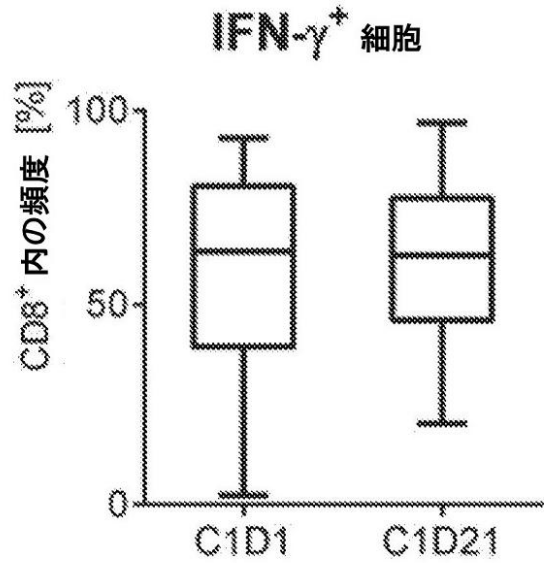
【図11B】



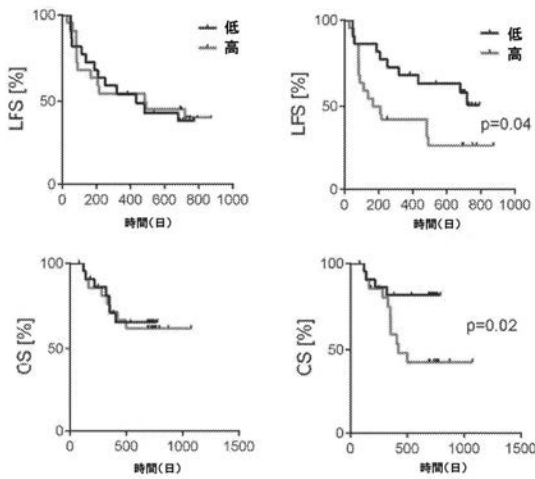
【 図 1 1 C 】



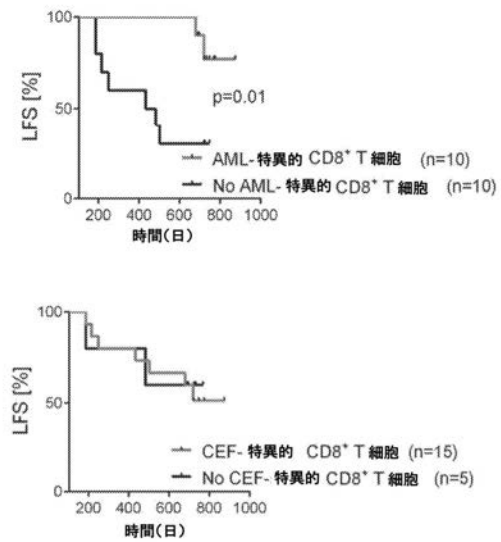
【 図 1 1 D 】



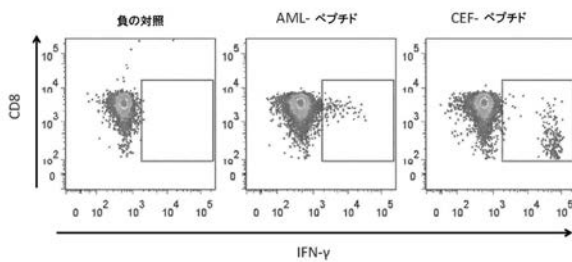
【 図 1 2 A 】



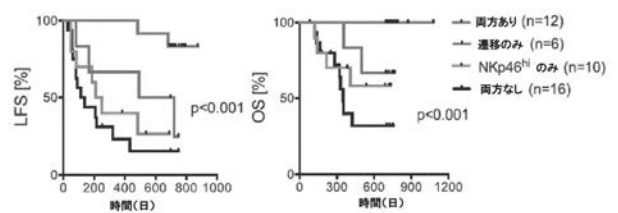
【 図 1 2 C 】



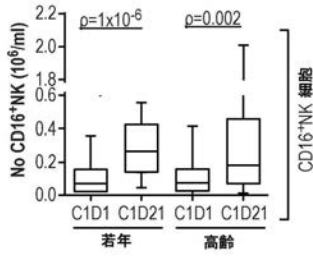
【 図 1 2 B 】



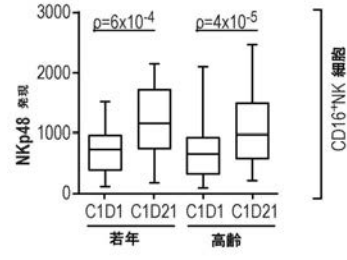
【 図 1 3 】



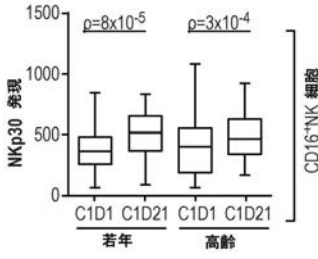
【 図 1 4 A 】



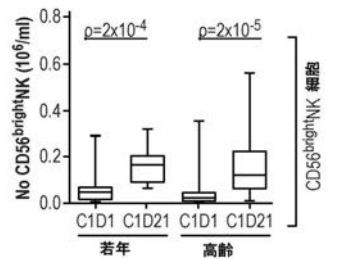
【 図 1 4 C 】



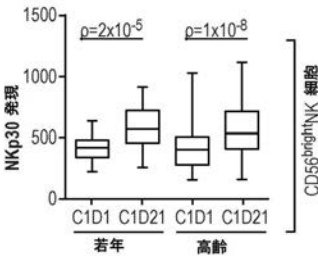
【 図 1 4 B 】



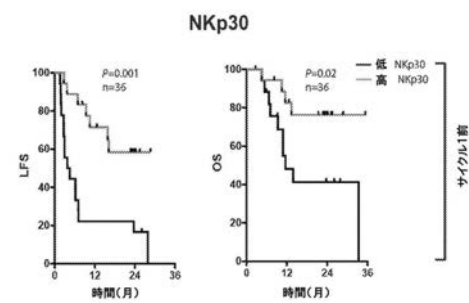
【 図 1 4 D 】



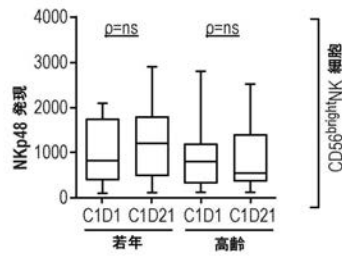
【 図 1 4 E 】



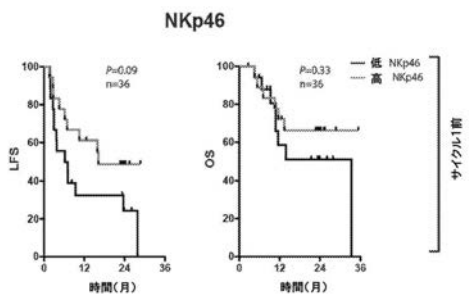
【 図 1 5 A 】



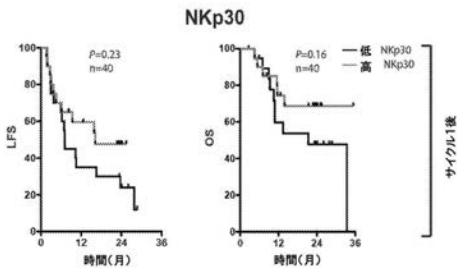
【 図 1 4 F 】



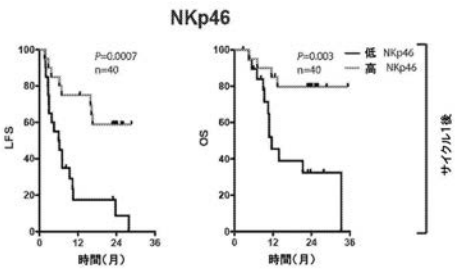
【 図 1 5 B 】



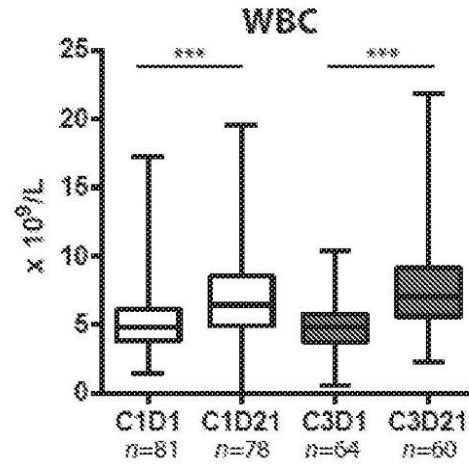
【 図 1 5 C 】



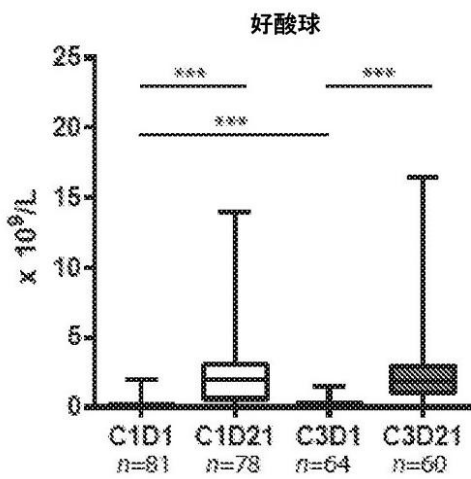
【 図 1 5 D 】



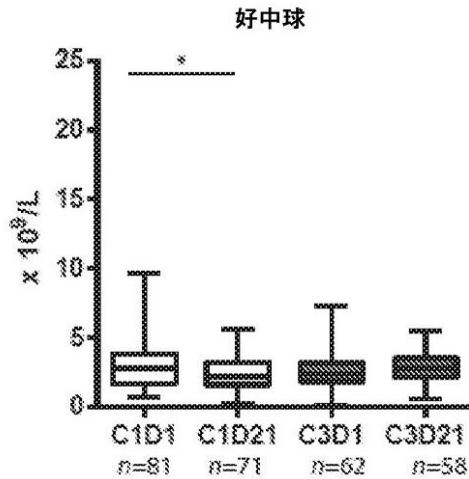
【 図 1 6 A 】



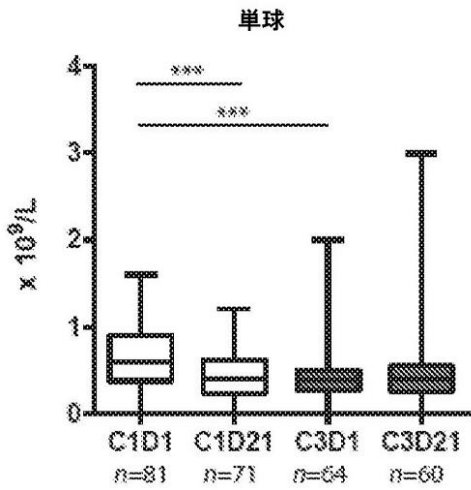
【 図 1 6 B 】



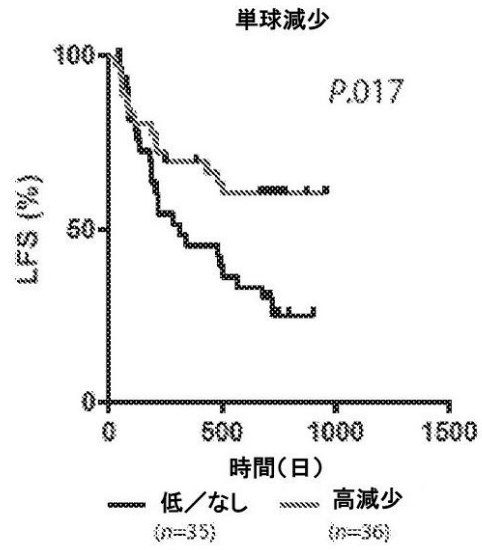
【 図 1 6 C 】



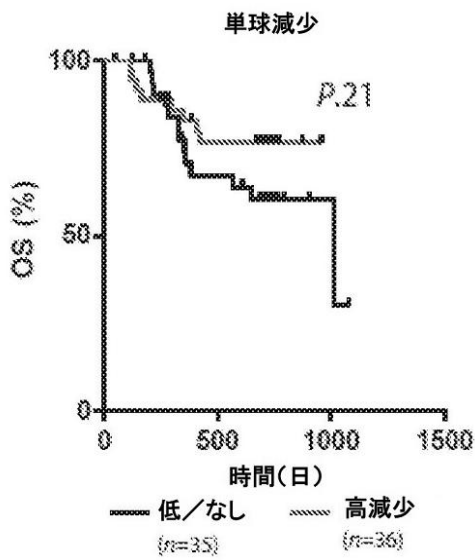
【 図 1 6 D 】



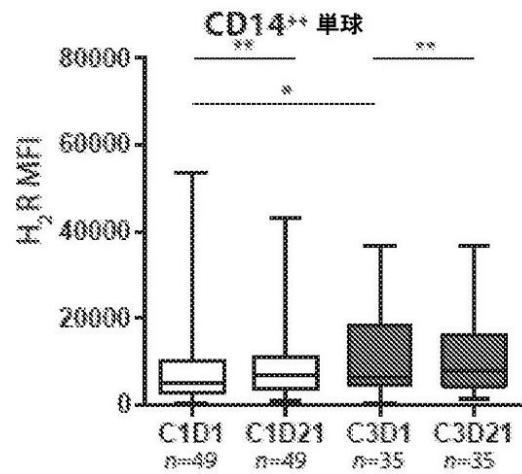
【 図 1 6 E 】



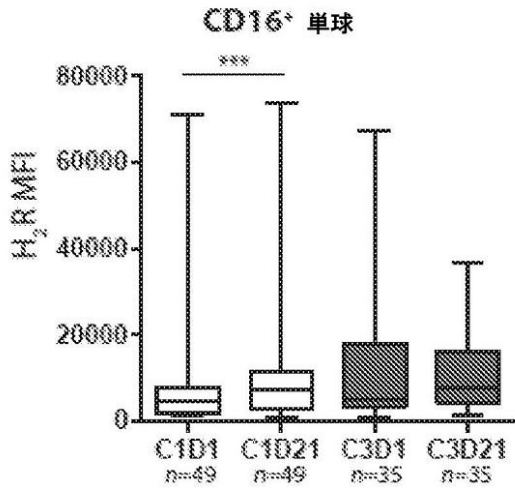
【 図 1 6 F 】



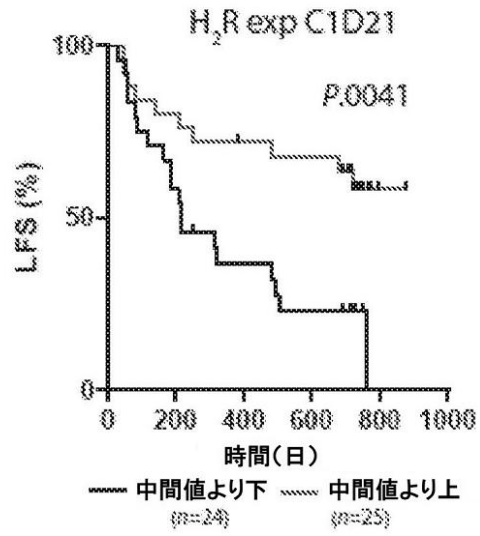
【 図 1 7 A 】



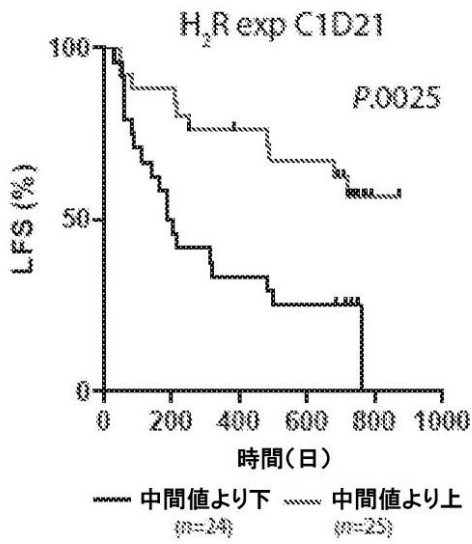
【 図 1 7 B 】



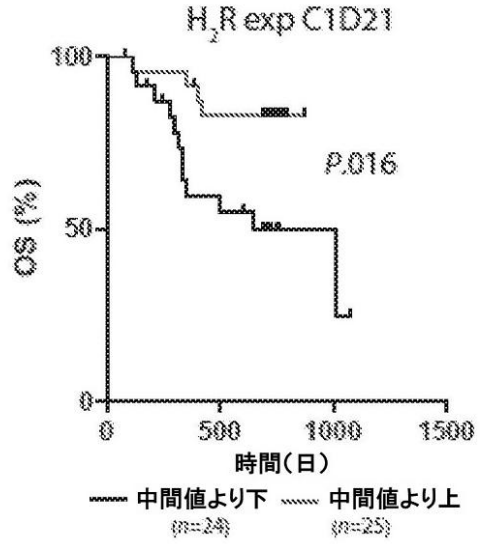
【 図 1 7 C 】



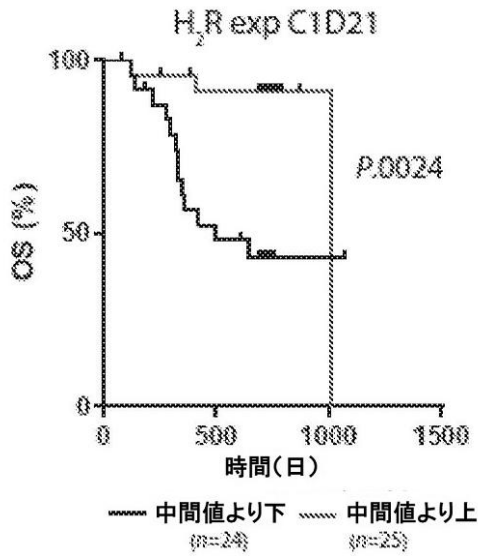
【 図 1 7 D 】



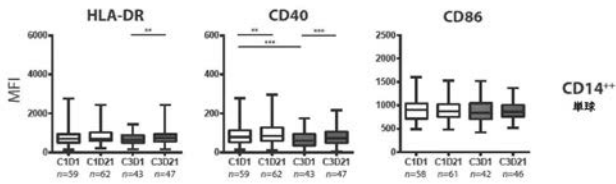
【 図 1 7 E 】



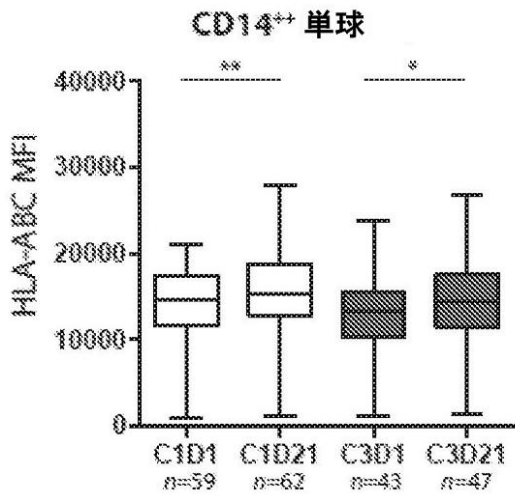
【図 17 F】



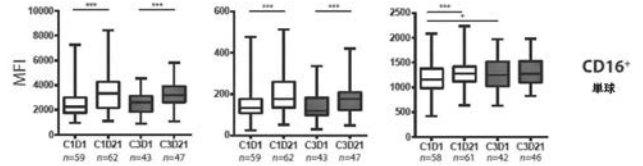
【図 18 A】



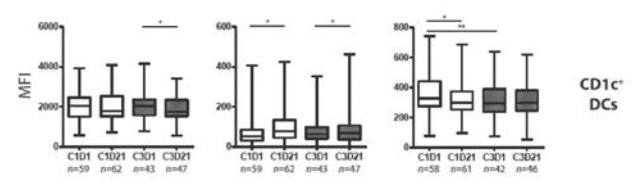
【図 19 A】



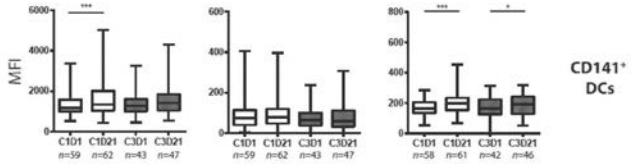
【図 18 B】



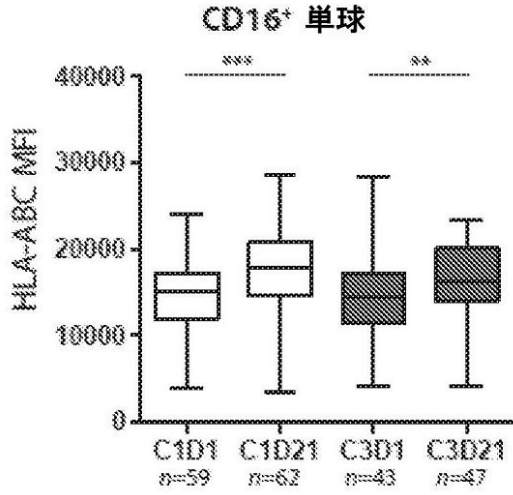
【図 18 C】



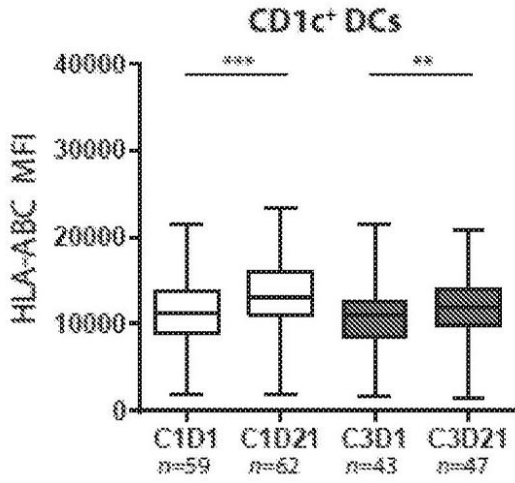
【図 18 D】



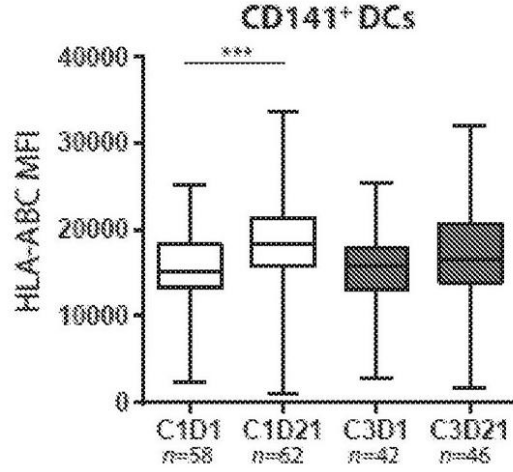
【図 19 B】



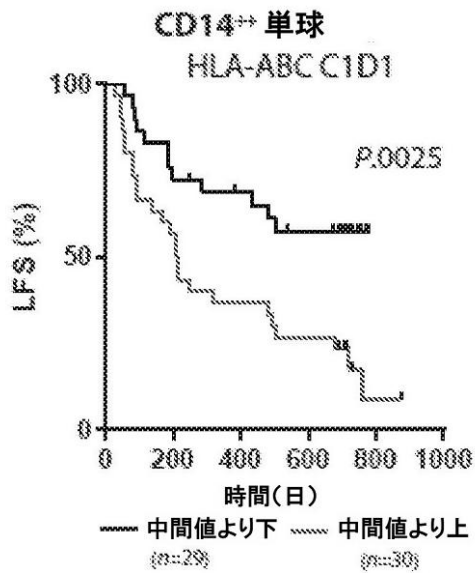
【 図 1 9 C 】



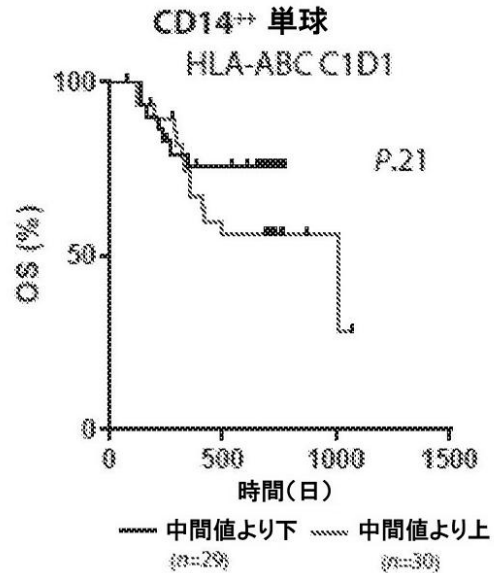
【 図 1 9 D 】



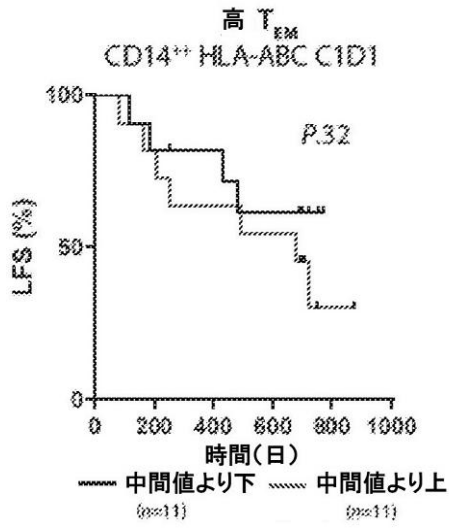
【 図 1 9 E 】



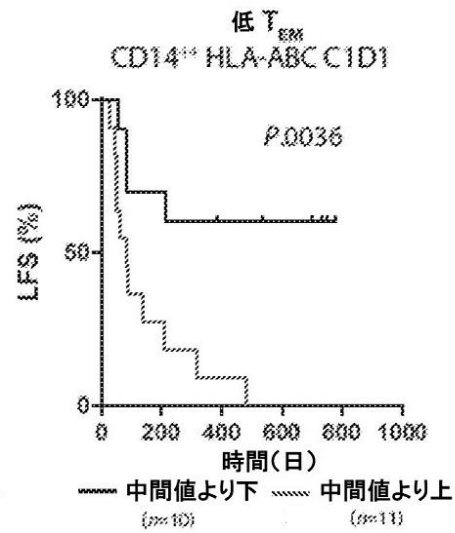
【 図 1 9 F 】



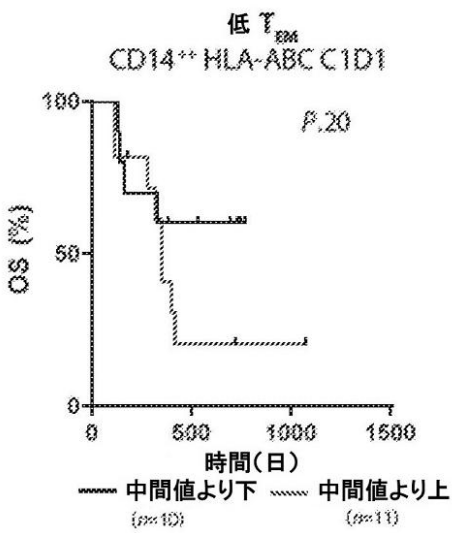
【図20A】



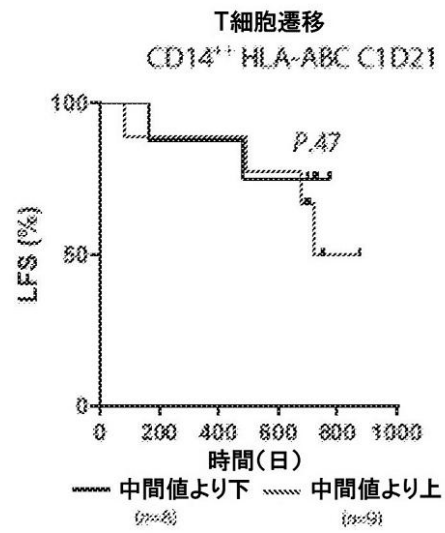
【図20B】



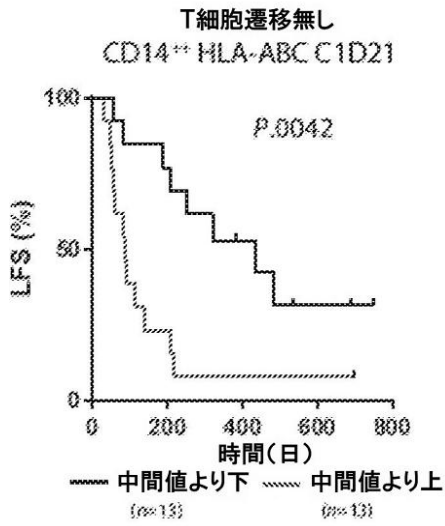
【図20C】



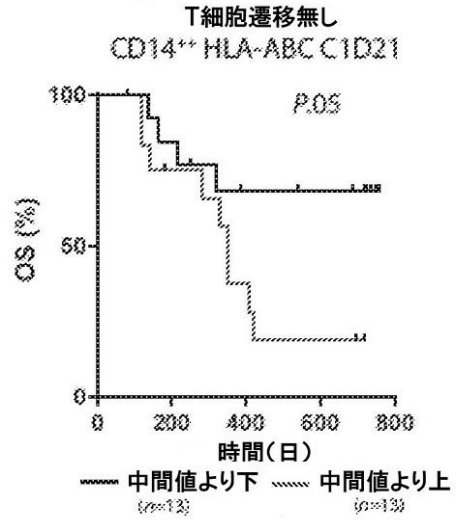
【図20D】



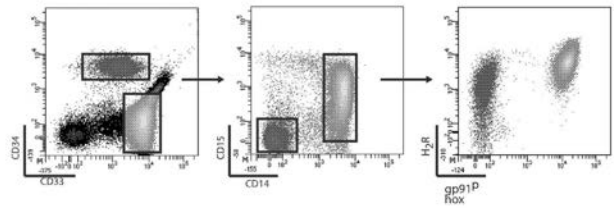
【 図 2 0 E 】



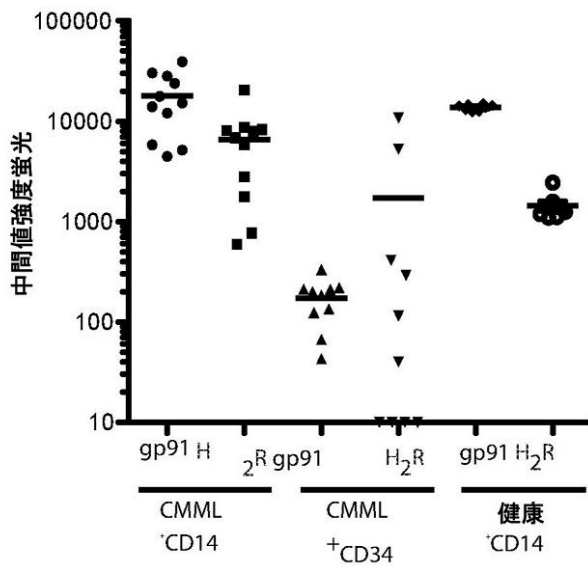
【 図 2 0 F 】



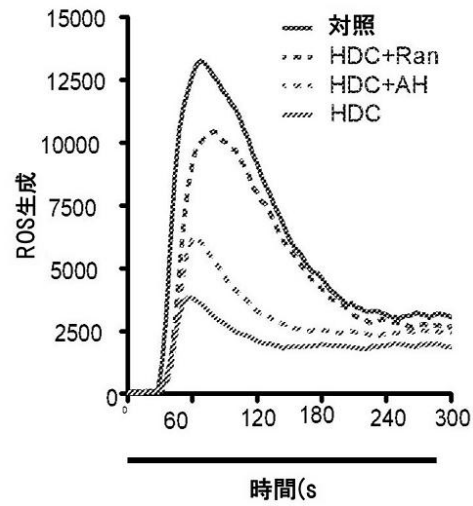
【 図 2 1 A 】



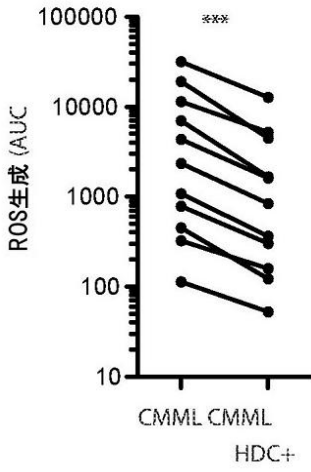
【 図 2 1 B 】



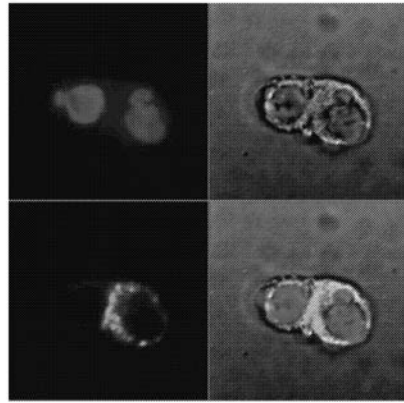
【 図 2 1 C 】



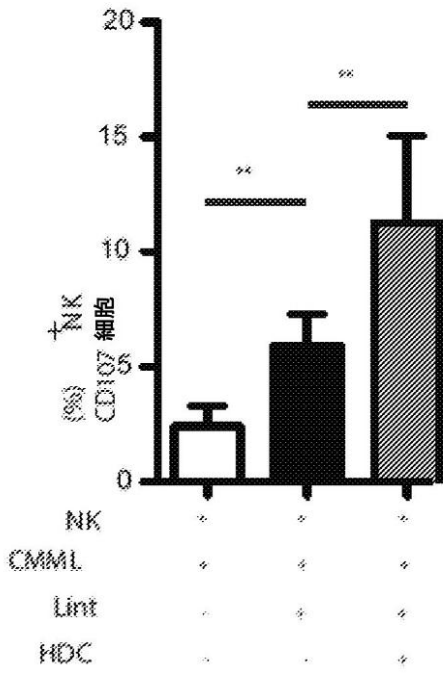
【 図 2 1 D 】



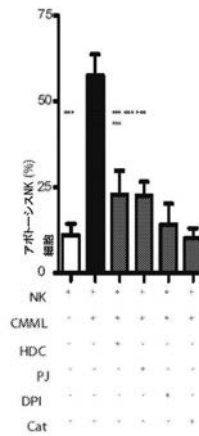
【 図 2 2 A 】



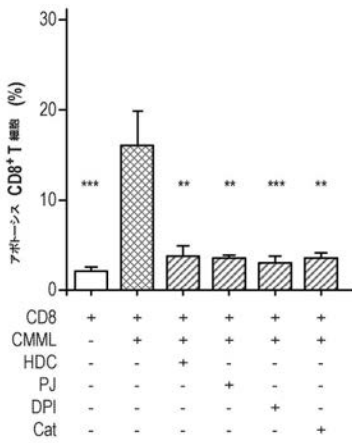
【 図 2 2 B 】



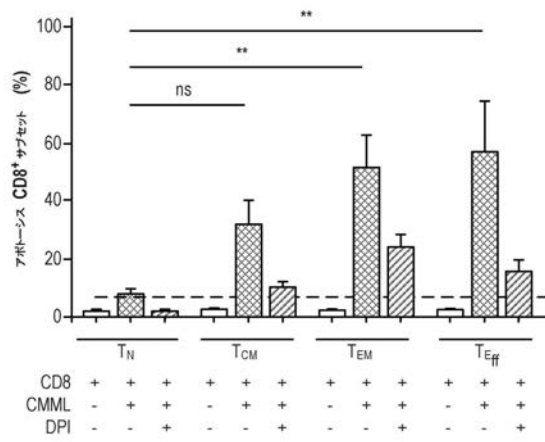
【 図 2 2 C 】



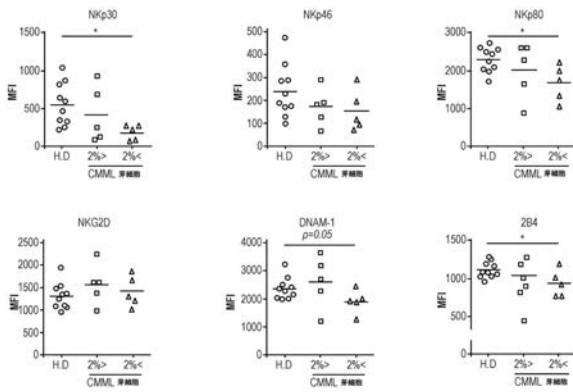
【 図 2 3 A 】



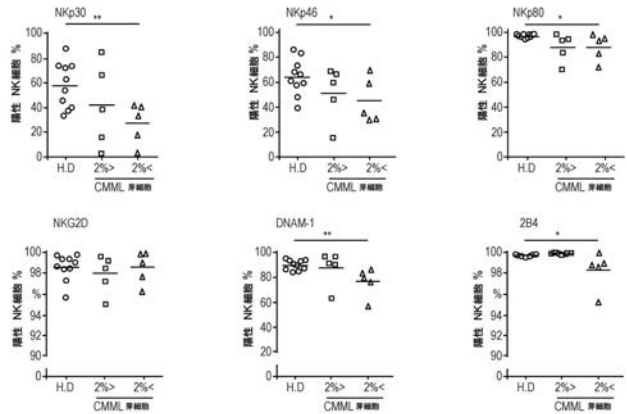
【 図 2 3 B 】



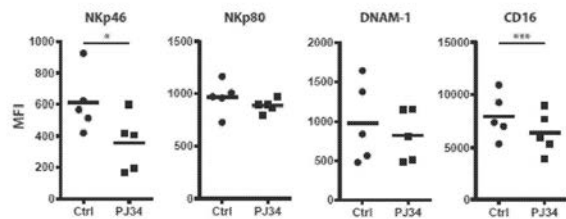
【 図 2 4 A 】



【 図 2 4 B 】



【 図 2 5 】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IL2017/050160
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC (2017.01) A61K 31/417, A61K 39/395, C07K 16/30, A61P 35/02, A61P 35/04 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) IPC (2017.01) A61K, C07K Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See extra sheet.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Anna Martner, Fredrik Bergh Thor?n, Johan Aurelius, Kristoffer Hellstrand. Immunotherapeutic strategies for relapse control in acute myeloid leukemia. Blood reviews, 2013, 27.5: 209-216. http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/43587939/Immunotherapeutic_strategies_for_relapse20160310-2977-1ky96xw.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1493636593&Signature=yhCfAYn5KG3RwShh4V1nD9HIQ84%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DImmunotherapeutic_strategies_for_relapse.pdf 30 Sep 2013 (2013/09/30) the whole document especially page 211 table 1	1-24,28-55
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" 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 04 May 2017		Date of mailing of the international search report 04 Jun 2017
Name and mailing address of the ISA: Israel Patent Office Technology Park, Bldg.5, Malcha, Jerusalem, 9695101, Israel Facsimile No. 972-2-5651616		Authorized officer AXELRAD Itschak Telephone No. 972-2-5651648

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IL2017/050160

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>Felix S Lichtenegger, Frauke M Schnorfeil, Wolfgang Hiddemann, and Marion Subklewe. Current strategies in immunotherapy for acute myeloid leukemia. Immunotherapy, January 2013 ,Vol. 5, No. 1, Pages 63-78 (doi: 10.2217/imt.12.145) http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/43587939/Immunotherapeutic_strategies_for_relapse20160310-2977-1ky96xw.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1493637258&Signature=k7%2BLHZ0caKl3QfdjCWbplhOagLk%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DImmunotherapeutic_strategies_for_relapse.pdf</p> <p>18 Jul 2012 (2012/07/18) page 7 left column, page 5 column bridges the left and right paragraphs, page 11, table).</p>	1-24,28-55
Y	<p>Blum, W. (2014). Novel therapies in AML: reason for hope or just hype? American Society of Clinical Oncology. http://meetinglibrary.asco.org/sites/meetinglibrary.asco.org/files/edbook/144/pdf/zds0011400e341.pdf</p> <p>31 Dec 2014 (2014/12/31) page E341 right column first and second paragraph</p>	1-24,28-55
Y	<p>LI, Yangqiu. T-cell immune suppression in patients with hematologic malignancies: clinical implications. International Journal, 2014, 3.4: 289-297. http://www.futuremedicine.com/doi/pdf/10.2217/ijh.14.23</p> <p>31 Aug 2014 (2014/08/31) page 294</p>	1-24,28-55
Y	<p>US 2004219153 A1 GEHLSSEN KURT R, ; HELLSTRAND KRISTOFFER, ; HERMODSSON SVANTE 04 Nov 2004 (2004/11/04) summary, examples</p>	1-24,28-55

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IL2017/050160

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 extra sheet.

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.:
1-24,28-55

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

International application No. PCT/IL2017/050160
--

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:

Invention/s 1	Claims Nos. 1 - 24 (whole), claims 28 - 55 (partially). Relate to administration of histamine receptor agonist which may be histamine dihydrochloride in combination with PD-1 or PD-L1 inhibitors in conditions related to cancer or tumor.	Claim/s 1-24,28-55
Invention/s 2	Claims Nos. 25 - 27, 56 (whole), claims 28 - 55 (partially). Relate to treatment or diagnostic condition of cancer or tumor by measuring the frequency of CD8+ cytotoxic T cell after a cycle of treatment for cancer.	Claim/s 25-56
Invention/s 3	Claims Nos. 57 - 69 (whole), claims 28 - 55 (partially). Relate to a kit for predicting the efficacy of a cancer treatment in a subject comprising a means for measuring CD8+ cytotoxic phenotypes	Claim/s 28-55,57-69
Invention/s 4	Claims Nos. 70 - 75 (whole). Relate to a method of predicting the efficacy of a cancer treatment by measuring frequency of NK cells after a cycle of treatment for cancer.	Claim/s 70-75
Invention/s 5	Claims Nos. 76 - 84 (whole). Relate to a method of predicting the efficacy of a cancer treatment by measuring frequency of biomarker expression after a cycle of treatment for cancer.	Claim/s 76-84
Invention/s 6	Claims Nos. 85 - 94 (whole). Relate to treating a cancer by administrating of agent that decreases reactive oxygen species.	Claim/s 85-94

B. FIELDS SEARCHED:

* Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Databases consulted: NCBI, THOMSON INNOVATION, Google Patents, CAPLUS, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, WPI Data, PubMed, Google Scholar, DWPI

Search terms used: Histamine, cancer, tumor, programmed, antibody, aml, Nivolumab, Pembrolizumab, Pidilizumab, BMS 936559, MPDL3280A, PD-1, PD-L1, MARTNER, SANDER, THOREN, HELLSTRAND, GRAUERS

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/IL2017/050160

Patent document cited search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication Date
US 2004219153 A1	04 Nov 2004	US 2004219153 A1	04 Nov 2004
		AU 3343500 A	24 Jul 2000
		AU 768868 B2	08 Jan 2004
		AU 2004201486 A1	06 May 2004
		CA 2358754 A1	13 Jul 2000
		CN 1342096 A	27 Mar 2002
		EP 1140290 A2	10 Oct 2001
		IL 143772 D0	21 Apr 2002
		JP 2002534378 A	15 Oct 2002
		KR 20010101379 A	14 Nov 2001
		US 6498181 B1	24 Dec 2002
		US 2002193416 A1	19 Dec 2002
		WO 0040229 A2	13 Jul 2000
		WO 0040229 A3	19 Jul 2001
		ZA 200104997 B	10 May 2002

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 K 38/20 (2006.01)	A 6 1 K 38/20	
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	
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
C 0 7 K 14/55 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	P
C 0 7 K 14/54 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	
C 0 7 K 14/56 (2006.01)	C 0 7 K 14/55	
C 0 7 K 14/565 (2006.01)	C 0 7 K 14/54	
C 0 7 K 14/57 (2006.01)	C 0 7 K 14/56	
C 0 7 K 14/505 (2006.01)	C 0 7 K 14/565	
C 0 7 K 14/535 (2006.01)	C 0 7 K 14/57	
	C 0 7 K 14/505	
	C 0 7 K 14/535	

(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 エワルド サンダー, フリーダ
スウェーデン 4 0 5 3 0 イェーテボリ ボックス 4 2 5 シーノオー シャルグレンスカ・
キャンサー・センター・メディシナレガタン 1階

(72)発明者 バーグ トーレン, フレデリック
スウェーデン 4 0 5 3 0 イェーテボリ ボックス 4 2 5 シーノオー シャルグレンスカ・
キャンサー・センター・メディシナレガタン 1階

(72)発明者 ヘルストランド, クリストファー
スウェーデン 4 0 5 3 0 イェーテボリ ボックス 4 2 5 シーノオー シャルグレンスカ・
キャンサー・センター・メディシナレガタン 1階

(72)発明者 ウィクトリン グラウアーズ, ハンナ
スウェーデン 4 0 5 3 0 イェーテボリ ボックス 4 2 5 シーノオー シャルグレンスカ・
キャンサー・センター・メディシナレガタン 1階

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA03 AA19 AA20 BA44 DA12 DA14 DA21 DA22 DA23
DA24 MA17 MA22 MA23 MA28 MA35 MA36 MA37 MA41 MA52
MA63 MA66 NA05 ZB26 ZB27 ZC02 ZC75
4C085 AA03 AA14 BB01 EE03 GG01 GG02 GG03 GG08 GG10
4C086 AA01 AA02 BC38 MA02 MA03 MA04 NA05 ZB26 ZB27 ZC02
ZC75
4H045 AA30 CA40 DA02 DA04 DA12 DA13 DA16 DA17 DA18 DA76
EA20

专利名称(译)	组胺使用二盐酸盐及其用途		
公开(公告)号	JP2019506454A	公开(公告)日	2019-03-07
申请号	JP2018560269	申请日	2017-02-08
[标]发明人	ヘルストランドクリストファー		
发明人	マートナー, アンナ エワルド サンダー, フリーダ バーグ トーレン, フレデリック ヘルストランド, クリストファー ウィクトリン グラウアーズ, ハンナ		
IPC分类号	A61K31/417 A61K45/00 A61K45/06 A61K39/395 A61K39/00 A61K38/20 A61K38/21 A61P35/00 A61P35/02 A61P35/04 A61P43/00 G01N33/53 C07K16/28 C07K14/55 C07K14/54 C07K14/56 C07K14/565 C07K14/57 C07K14/505 C07K14/535		
FI分类号	A61K31/417 A61K45/00 A61K45/06 A61K39/395.T A61K39/00.H A61K38/20 A61K38/21 A61P35/00 A61P35/02 A61P35/04 A61P43/00.111 A61P43/00.121 G01N33/53.D G01N33/53.P C07K16/28 C07K14/55 C07K14/54 C07K14/56 C07K14/565 C07K14/57 C07K14/505 C07K14/535		
F-TERM分类号	4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA19 4C084/AA20 4C084/BA44 4C084/DA12 4C084/DA14 4C084/DA21 4C084/DA22 4C084/DA23 4C084/DA24 4C084/MA17 4C084/MA22 4C084/MA23 4C084/MA28 4C084/MA35 4C084/MA36 4C084/MA37 4C084/MA41 4C084/MA52 4C084/MA63 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/ZB26 4C084/ZB27 4C084/ZC02 4C084/ZC75 4C085/AA03 4C085/AA14 4C085/BB01 4C085/EE03 4C085/GG01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG08 4C085/GG10 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BC38 4C086/MA02 4C086/MA03 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/ZB26 4C086/ZB27 4C086/ZC02 4C086/ZC75 4H045/AA30 4H045/CA40 4H045/DA02 4H045/DA04 4H045/DA12 4H045/DA13 4H045/DA16 4H045/DA17 4H045/DA18 4H045/DA76 4H045/EA20		
优先权	62/292397 2016-02-08 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明是在受试者中治疗癌症的方法，预防或延迟癌症的复发缓解的受试者的方法，从癌症延伸的缓解方法，该方法增加了存活和减少癌症的症状或包括给予组胺二盐酸盐抑制剂和程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1) / 程序性死亡配体1 (PD-L1)，或b) 与组胺受体激动剂一起，给予任选地降低活性氧 (ROS) 的试剂。本发明还涉及基于细胞毒性T细胞的重新分布，NK细胞的频率或其他生物化学变化来预测癌症疗法的功效的方法，以及用于预防癌症复发的相关方法。以及延长癌症缓解的相关方法。还提供了相关的试剂盒和组合物。点域1

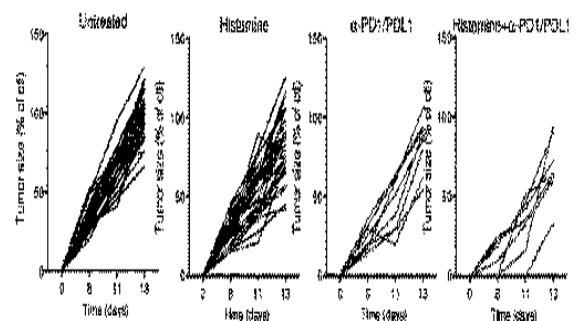


FIGURE 1