

(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2016-511766

(P2016-511766A)

(43) 公表日 平成28年4月21日 (2016. 4. 21)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006. 01)	A 6 1 K 39/395	N 2 G 0 4 5
G 0 1 N 33/573 (2006. 01)	G 0 1 N 33/573	A 4 C 0 8 5
G 0 1 N 33/48 (2006. 01)	G 0 1 N 33/48	P 4 H 0 4 5
G 0 1 N 33/53 (2006. 01)	G 0 1 N 33/53	Y
A 6 1 P 35/00 (2006. 01)	A 6 1 P 35/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 26 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2015-558463 (P2015-558463)	(71) 出願人	512057208
(86) (22) 出願日	平成26年2月21日 (2014. 2. 21)		ウィレックス・アーゲー
(85) 翻訳文提出日	平成27年10月15日 (2015. 10. 15)		ドイツ・8 1 6 7 5・ミュンヘン・グリル
(86) 国際出願番号	PCT/EP2014/053420		パルツァーシュトラッセ・1 0
(87) 国際公開番号	W02014/128258	(74) 代理人	100113376
(87) 国際公開日	平成26年8月28日 (2014. 8. 28)		弁理士 南条 雅裕
(31) 優先権主張番号	61/768, 084	(74) 代理人	100179394
(32) 優先日	平成25年2月22日 (2013. 2. 22)		弁理士 瀬田 あや子
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100185384
(31) 優先権主張番号	61/829, 349		弁理士 伊波 興一朗
(32) 優先日	平成25年5月31日 (2013. 5. 31)	(74) 代理人	100137811
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 原 秀貢人
		(72) 発明者	ウィルヘルム オラフ
			ドイツ連邦共和国 8 1 5 4 5 ミュンヘン
			ン テレマンシュトラッセ 1 3
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 C A I X階層化に基づく癌治療

(57) 【要約】

本発明は、癌の治療での使用のための炭酸脱水酵素 I X 標的化合物に関し、その使用は、C A I X 発現の定量化および C A I X 発現に基づく C A I X スコアの決定を含む。本発明は、さらに、癌疾患を診断、予後判断および / または分類するための方法に関し、C A I X 発現の定量化、および C A I X スコアの決定を含む。

Figure 1

CAIX Cut-off		ITT	PP
>2.0	HR	0.76	0.70
	p-value	0.137	0.049
	sample size	362	332
	DPS events	145	127
>2.1	HR	0.80	0.70
	p-value	0.196	0.088
	sample size	322	295
	DPS events	130	114
>2.2	HR	0.73	0.65
	p-value	0.084	0.031
	sample size	291	268
	DPS events	117	103
>2.3	HR	0.74	0.63
	p-value	0.142	0.043
	sample size	234	213
	DPS events	94	82
>2.4	HR	0.77	0.67
	p-value	0.253	0.096
	sample size	200	184
	DPS events	80	72
>2.5	HR	0.64	0.55
	p-value	0.075	0.030
	sample size	166	153
	DPS events	65	59
>2.6	HR	0.54	0.48
	p-value	0.040	0.019
	sample size	117	107
	DPS events	51	47

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

癌の治療での使用のための炭酸脱水酵素 I X (C A I X) 標的化合物であって、
前記使用は、治療される対象から得られる少なくとも 1 つの腫瘍サンプルにおける C A I X 発現を定量化し、前記腫瘍サンプルにおける前記 C A I X 発現に基づいて C A I X スコアを決定することを含み、

前記対象は、事前に定義された C A I X スコアに到達する場合に治療される、炭酸脱水酵素 I X (C A I X) 標的化合物。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の C A I X 標的化合物であって、

C A I X 発現が、腫瘍細胞染色、好ましくは免疫組織化学染色によって、定量化される、
C A I X 標的化合物。

10

【請求項 3】

請求項 1 ~ 2 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、

前記の発現された C A I X が、C A I X ポリペプチドまたは C A I X ポリペプチドのフラグメントを含む、
C A I X 標的化合物。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、

前記の発現された C A I X が、C A I X ポリペプチドをコードする m R N A を含む、
C A I X 標的化合物。

20

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、

前記 C A I X スコアは、腫瘍細胞の程度および染色強度の組み合わせにより表される C A I X 発現を決定および / または計算される、
C A I X 標的化合物。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、

前記 C A I X スコアは、式：

$$\text{C A I X スコア} = (0 \times \text{染色強度がない生存可能腫瘍細胞のパーセンテージ}) + (1 \times \text{かすかに染色強度を有する生存可能腫瘍細胞のパーセンテージ}) + (2 \times \text{中程度の染色強度を有する生存可能腫瘍細胞のパーセンテージ}) + (3 \times \text{強い染色強度を有する生存可能腫瘍細胞のパーセンテージ})$$

によって決定および / または計算される、

C A I X 標的化合物。

30

【請求項 7】

請求項 1 ~ 6 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、

前記の事前に定義された C A I X スコアが 2 . 0 である、

C A I X 標的化合物。

40

【請求項 8】

請求項 1 ~ 7 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、

前記の事前に定義された C A I X スコアが 2 . 6 である、

C A I X 標的化合物。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 8 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、

前記標的化合物が抗 - C A I X 抗体である、

C A I X 標的化合物。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、

50

前記標的化合物が、アミノ酸配列 L S T A F A R V および / または A L G P G R E Y R A L に結合する、
C A I X 標的化合物。

【請求項 1 1】

請求項 1 ~ 1 0 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、
前記標的化合物が、抗体ギレンツシキマブおよび / またはそのフラグメントである、
C A I X 標的化合物。

【請求項 1 2】

請求項 1 ~ 1 1 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、
前記癌は、頸部癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌、肝臓癌、膀胱癌、肺癌、頭頸部癌、胆
道癌および腎細胞癌を含む群から選択される、
C A I X 標的化合物。 10

【請求項 1 3】

請求項 1 ~ 1 2 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、
前記癌は、腎明細胞癌 (R C C) である、
C A I X 標的化合物。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 1 3 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、
前記標的化合物は、治療される対象が原発性腫瘍切除術を受けた後に用いられる、
C A I X 標的化合物。 20

【請求項 1 5】

請求項 1 ~ 1 4 に記載の使用のための C A I X 標的化合物であって、
アジュバント療法における、
C A I X 標的化合物

【請求項 1 6】

C A I X を発現している癌の治療での使用のための C A I X 標的化合物であって、
癌細胞が、C A I X スコア 2 . 0、特に 2 . 6 によって特徴付けられる、
C A I X 標的化合物。

【請求項 1 7】

請求項 1 6 に記載の C A I X 標的化合物であって、
前記 C A I X 標的化合物が、G 2 5 0 および / またはそのエピトープ結合フラグメント
である、
C A I X 標的化合物。 30

【請求項 1 8】

請求項 1 6 ~ 1 7 に記載の C A I X 標的化合物であって、
前記癌が腎明細胞癌である、
C A I X 標的化合物。

【請求項 1 9】

請求項 1 から 1 8 のいずれか一項に記載の C A I X 標的化合物であって、
前記の治療される対象は、ヒトおよび / または 6 5 才未満の年齢である、
C A I X 標的化合物。 40

【請求項 2 0】

癌疾患を診断、予後判断および / または分類する方法であって、
(a) 染色によって、癌サンプル中の C A I X の発現を定量化するステップ、および
(b) 染色された癌細胞の程度および染色強度に従って、前記癌疾患を分類するステッ
プ、
を含む、
方法。

【請求項 2 1】

請求項 2 0 に記載の癌疾患を診断する方法であって、 50

C A I X スコアが決定される、
方法。

【請求項 2 2】

請求項 2 0 ~ 2 1 に記載の癌疾患を診断する方法であって、
前記癌は、腎明細胞癌であり、特に、C A I X スコアが 2 . 0 である、
方法。

【請求項 2 3】

癌を治療する方法であって、
前記方法は：
（a）染色によって、治療される対象から得られる癌細胞中の C A I X の発現を定義するステップ、
（b）前記癌細胞の程度および染色強度に従って、C A I X スコアを決定するステップ、
（c）ステップ（b）において、事前に定義された C A I X 閾値を超えた場合に、C A I X 標的化合物を投与するステップ、
を含む、
方法。

【請求項 2 4】

請求項 2 3 の方法であって、
前記の治療される対象はヒトであり、および / または、6 5 才未満の年齢である、
方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、癌の治療での使用のための炭酸脱水酵素 I X 標的化合物に関し、その使用は、C A I X 発現の定量化および C A I X 発現に基づく C A I X スコアの決定を含む。本発明は、さらに、癌疾患を診断、予後判断および / または分類するための方法に関し、C A I X 発現の定量化、および C A I X スコアの決定を含む。

【背景技術】

【0 0 0 2】

膜貫通タンパク質炭酸脱水酵素 I X (C A I X) は、炭酸脱水酵素の大きなファミリーのメンバーであり、二酸化炭素の炭酸への可逆的水和を触媒する能力を共有し、p H の低下をもたらす (O p a v s k y R , e t a l . , G e n o m i c s 1 9 9 6 , 3 3 : 4 8 0 - 4 8 7) 。 C A I X 遺伝子発現の上方制御は、低酸素誘導因子 - 1 α (H I F - 1 α) による直接的な転写活性化を介して、低酸素状態に応答して生じ、特に腫瘍の低酸素領域内において、低酸素細胞の酸性環境の検知および維持に関与すると考えられている (W y k o f f e t a l . , C a n c e r R e s 2 0 0 0 , 6 0 : 7 0 7 5 - 7 0 8 ; S v a s t o v a e t a l . , F E B S L e t t e r s 2 0 0 4 5 7 7 : 4 3 9 - 4 4 5) 。

【0 0 0 3】

G 2 5 0 抗原は、数多くの癌腫、例えば腎細胞癌と深く関連する。G 2 5 0 抗原は、最初は、腎臓癌に関係のある抗原として説明された (W O 8 8 / 0 8 8 5 4) 。後に、腫瘍関連抗原 M N (炭酸脱水酵素活性を有する細胞表面抗原であって、C A I X と呼ばれる) と同一であることが分かった。

【0 0 0 4】

通常 C A I X 発現は、胃、腸および胆管の粘膜に見られ、その生理学的役割は p H 制御である。その正常な発現パターンの他に、C A I X 発現は、様々な腫瘍 (頸部、食道、結腸直腸、肺、膵臓、胆管および腎細胞明細胞癌 (R C C) を含む) に見られる。

【0 0 0 5】

C A I X に対する抗体は、したがって、癌治療に用いることができる。抗 - G 2 5 0 抗

体は、例えば、EP 637 336、WO 93/18152、WO 95/34650、WO 00/24913、WO 02/063010、WO 04/025302、WO 05/037083、WO 2011/139375およびそれらの外国対応特許に記載されている。さらに、WO 02/062972には、モノクローナル抗体G250を産生するハイブリドーマ細胞株DSM ACC 2526が記載されている。モノクローナル抗体G250は、好ましくは、腎細胞癌細胞(RCC)の膜上に発現されるが正常な近位尿細管上皮には発現されない抗原を認識する。G250抗体は、抗原G250(MN抗原とも呼ばれる(例えばWO93/18152を参照))またはCAIX(炭酸脱水酵素IX)に結合する。

【0006】

CAIX発現を判定する方法は当業者に公知であり、限定されないが、組織断面の免疫組織化学染色を含み、例えば、Bui et al., Clinical Cancer Research 2003, 9:802-811、Atkins et al., Clin. Cancer Res 2005, 11:3714-3721、US 5,989,838、US 6,004,535、US 6,093,548、US 7,524,634、US 7,851,455に記載される。そのような方法は、ヒト腎明細胞癌の予後判断で用いられ得る。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明の目的は、CAIXに関連する癌疾患をさらに特徴付けて、CAIX標的化合物を用いた治療がどのくらい効率的であり、または成功するかを予測することを可能にする方法を提供することであった。本発明によれば、この目的は、新規のCAIXスコアの定義、および、癌の治療、診断、予後判断および分類におけるその使用によって、達成される。

【課題を解決するための手段】

【0008】

したがって、本発明の第1の態様は、癌の治療での使用のための炭酸脱水酵素IX(CAIX)標的化合物に関し、その使用は、治療される対象から得られる少なくとも1つの腫瘍サンプルにおけるCAIX発現を定量化し、腫瘍サンプルにおけるCAIX発現に基づいてCAIXスコアを決定することを含み、対象は、事前に定義されたCAIXスコアに到達する場合に治療される。したがって、治療される癌は、事前に定義されたCAIXスコアにより特徴付けられる。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】ITT(intended to treat)およびPP个体群(per protocol individual)に関する、増大するCAIX-スコア値のHR(ハザード比)およびp値

【図2】2.6のCAIXカットオフに関する、治療群(cG250対プラセボ)によるDFS

【図3】CAIXスコア 2.6を有するPP个体群に関する、DFS曲線

【図4】高いCAIXスコア(2.0)および年齢65才未満(ITT个体群)

【発明を実施するための形態】

【0010】

本発明の観点から、CAIXスコアは、好ましくは、腫瘍細胞の程度および染色強度の組み合わせにより表されるCAIX発現に基づいて、それぞれ決定または計算される。換言すれば、CAIX抗原を発現している腫瘍細胞の量/パーセンテージ、および、染色された腫瘍細胞の染色強度は、両方とも、本明細書で用いられるCAIXスコアに考慮される。CAIX発現は、治療されるべき癌(好ましくは、癌はRCCまたはccRCCである)を患っている患者の腫瘍組織内の抗原密度の尺度(好ましくは、CAIXポリペプチ

10

20

30

40

50

ド密度の尺度)と見なすことができる。CAIXスコアは、サンプル中のCAIXなどのマーカーの免疫活性の量を表す値である。スコアは、染色強度と、特定の強度範囲で染色される細胞のパーセンテージの、両方を考慮する。スコアは、サンプル(例えばccRC癌の組織断面)中の、所定の染色強度(0~100)で染色される細胞のパーセンテージおよび染色強度(0~3)の結果を合わせて決定される。好ましくは、スコアは、特定の区画(例えば細胞質、膜、核)に関して表すことができる。また、スコアは、染色強度に関して0~4の数字目盛りを利用して決定することもできる。スコアは、0~3の染色強度でのスコアの場合の0~300ではなく、0~400の範囲である(McClelland et al., Cancer Res. 50:3545-3550, 1990)。

10

【0011】

特に、CAIXスコアは、式: $CAIX \text{ スコア} = (0 \times \text{染色強度がない生存可能腫瘍細胞のパーセンテージ}) + (1 \times \text{かすかに見える染色強度を有する生存可能腫瘍細胞のパーセンテージ}) + (2 \times \text{中程度の染色強度を有する生存可能腫瘍細胞のパーセンテージ}) + (3 \times \text{強い染色強度を有する生存可能腫瘍細胞のパーセンテージ})$ により決定および/または計算される。例えば、1の染色強度が10%であり、2の染色強度が20%であり、3の染色が20%であり、染色されない細胞が20%であるサンプルは、 $(1 \times 10) + (2 \times 20) + (3 \times 20) + (0 \times 50) = 110$ のスコアを有し、または計算すると、 $(1 \times 10 / 100) + (2 \times 20 / 100) + (3 \times 20 / 100) + (0 \times 50 / 100) = 1.1$ である。

20

【0012】

CAIXスコアは、0(染色なし)と300(3+の強度スケールリングを有する生存可能腫瘍細胞が100%)との間、または0と3との間、好ましくは0.0と3.0との間の、任意の値をとることができる。

【0013】

本発明に照らして、「腫瘍細胞の程度」またはCAIX抗原を発現している腫瘍細胞の量は、生存可能腫瘍細胞のパーセンテージ率の示度およびそれらの染色強度による、本発明に係るCAIXスコアの式に考慮される。生存可能腫瘍細胞は、当業者に公知の方法により計測または決定してよい。例えば、細胞の数および/またはそれぞれのパーセンテージ率は、目視の計測または自動撮像システムのようなコンピュータ支援プログラムによ

30

【0014】

CAIXスコアの一部としての腫瘍細胞の程度は、4タイヤの(four-tired)スケールリングファクター(0、1+、2+および3+)に格付けされる。スケールリングファクター0は、コントロールサンプルと同程度のCAIX染色に由来し、CAIX発現がないことを表す。スケールリングファクター1+~3+は、CAIXを発現している腫瘍細胞の平均サンプルに由来し、「かろうじて見える」から「強い」までの腫瘍細胞の染色を示す。通常、当分野の平均的な技術を持つ組織学者または病理学者は、目による従来の分析によって分類することができる(Cregger et al., Arch. Pathol. Lab. Med., 2006, 130:1026-1030)。染色強度の絶対値は、例えば、用いた染色試薬、染色される腫瘍組織などに依存し得る。しかしながら、この問題は、とりわけ、グレード+1~+3を含む上記のスケールリング系を用いることにより克服することができる。

40

【0015】

腫瘍細胞での染色強度は、かろうじて見える染色から強い染色まで、ほぼ比例的に増大する。染色強度のこの線形の増大に沿って、CAIXを発現している腫瘍細胞は、1+から3+までのスケールリングを有する3つのグループ(それぞれのグループに関して、染色強度のそれぞれの増大は同一である)に分けられる。換言すれば、生存可能腫瘍細胞は、かすかに、または、かろうじて見える染色強度(スケールリング1+)、中程度の染色強度(2+)、および、強い染色強度(3+)を有する細胞に分けられる。

50

【 0 0 1 6 】

参照系を定義する腫瘍細胞の平均サンプルにおいて、特定の染色剤および特定の腫瘍細胞に関するスコア系が確立された時点で、それを、腫瘍細胞のさらなるサンプルに用いることができ、すなわち、もちろん、それぞれの C A I X スコア系は、腫瘍細胞の各サンプルに関して確立される必要はない。

【 0 0 1 7 】

本発明に係る「染色強度」は、4 タイプのスケーリングファクターそれぞれにおける、腫瘍細胞のパーセンテージを意味する。パーセンテージは、0 % と 1 0 0 % との間の任意であることができる。染色強度は、それぞれの組織サンプルに関して、かすかにまたははっきりと見える膜染色を示す腫瘍細胞のパーセンテージとしてスケーリング + 1、中程度の膜染色を示す腫瘍細胞のパーセンテージとしてスケーリング + 2、中程度の膜染色を示す腫瘍細胞のパーセンテージとしてスケーリング + 3 と決定される（表 1）。

10

【 0 0 1 8 】

【表 1】

表 1：染色強度

	スケーリング
かすかに／はっきりと見える膜染色を示した腫瘍細胞の%	1 +
中程度の膜染色を示した腫瘍細胞の%	2 +
強い膜染色を示した腫瘍細胞の%	3 +

20

【 0 0 1 9 】

それぞれのスケーリングのグループにおける、C A I X を発現している腫瘍細胞の分類は、サンプルの染色強度を、C A I X スコアリング系のベースとした参照腫瘍サンプルと比較することにより、簡単に行なうことができる。したがって、腫瘍細胞のサンプルが、3 つのスケーリングのグループをどれも含まない可能性がある。

【 0 0 2 0 】

当分野における平均的な技術を有する者は、スコア系を定義するため、または細胞の異なるサンプルを比較するため、または染色強度を比較する目的で細胞をスコア系に分類するためのいずれかの、染色強度を決定する方法を知っている（C r e g g e r e t a l . , 1 0 2 6 , A r c h . P a t h o l . L a b . M e d . , v o l . 1 3 0 , J u l y 2 0 0 6 を参照）。染色強度の決定またはスコア系への分類は、手作業で、またはコンピュータ支援プログラムまたは任意の他の適切な方法を介して、行なってもよい。好ましい実施態様では、定量的および客観的な結果を提供する装置と組み合わせて標準化コントロール腫瘍分析を用いて、スコア系が適用される。

30

【 0 0 2 1 】

中程度の染色強度が 4 0 % で強い染色強度が 6 0 % である、1 0 0 % の C A I X 抗原発現程度について、C A I X スコアを計算する例を以下に示す。異なる程度の C A I X 発現、異なる内訳の染色強度、およびそれぞれのスコアについて、さらなる例を表 2 に示す。

40

【 0 0 2 2 】

C A I X スコアの計算：

中程度が 4 0 % で強い染色強度が 6 0 % である、1 0 0 % の C A I X 抗原発現程度

【数 1】

$$(1*(0/100))+(2*(40/100))+(3*(60/100))$$

$$0 + 0.8 + 1.8 = 2.6$$

50

【 0 0 2 3 】

【 表 2 】

表 2

CAIX 発現程度	1+	2+	3+	スコア	
100	0	40	60	2.60	
100	10	60	30	2.20	10
100	5	25	70	2.65	
100	50	30	20	1.70	
100	0	10	90	2.90	
10	0	100	0	0.20	
10	100	0	0	0.10	20
50	100	0	0	0.50	
50	30	30	40	1.05	
50	50	30	20	0.85	
50	20	70	10	0.95	
50	70	20	10	0.70	

30

【 0 0 2 4 】

本発明によれば、CAIXスコアは、決定されるべきCAIX発現に基づく。本明細書において、用語「CAIX発現」および「CAIXタンパク質発現」は、相互交換可能に用いることができる。好ましくは、用語「CAIX発現」は、発現されるCAIXタンパク質の量に関する。したがって、本発明のさらなる態様は、癌の治療での使用のためのCAIX標的化合物に関し、その使用は、治療される対象から得られる少なくとも1つの腫瘍サンプルにおけるCAIXタンパク質を定量化し、腫瘍サンプルにおけるCAIXタンパク質に基づいてCAIXスコアを決定することを含み、対象は、事前に定義されたCAIXスコアに到達する場合に治療される。

40

【 0 0 2 5 】

本発明の別態様は、癌の治療での使用のための炭酸脱水酵素IX（CAIX）標的化合物に関し、患者の癌が2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5または2.6以上のCAIXスコアを有することが分かった場合に、治療的に有効量のCAIX拮抗薬を患者に投与することを含む。好ましい実施態様では、CAIXスコアは、200、210、220、230、240、250または260以上であり、最も好ましくは、CAIXスコアは260以上である。

【 0 0 2 6 】

本発明のさらなる実施態様は、癌の治療での使用のための炭酸脱水酵素IX（CAIX）標的化合物に関し、それにより、治療される対象の少なくとも1つの腫瘍組織サンプルは、少なくとも2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5または2.6のCAIX

50

Xスコア、より好ましくは、少なくとも200、210、220、230、240、250または260のCAIXスコア、最も好ましくは、少なくとも260のCAIXスコアによって特徴付けられる。

【0027】

その結果、もしあるのならば治療される対象から得られる1つまたは複数のサンプル中に存在する、発現されたCAIXが定量化される。好ましくは、治療される対象から得られるサンプルは、治療される癌の組織サンプルである。より好ましくは、治療される癌の組織サンプルは、腎細胞癌(RCC)由来の、最も好ましくは、腎明細胞癌(ccRCC)由来の、組織サンプルである。

【0028】

好ましくは、発現されたCAIXは、腫瘍細胞染色、好ましくは免疫組織化学染色、より好ましくは免疫組織化学染色によって定量化され、ここで、CAIXタンパク質またはCAIXポリペプチドは、モノクローナル抗体によって、より好ましくはCAIXのN-末端にエピトープ結合ドメインを有するモノクローナル抗体によって、さらにより好ましくはモノクローナル抗体M75によって、最も好ましくはアクセションナンバーATCC HB 11128を有するハイブリドーマVU-M75から分泌されるモノクローナル抗体によって、特異的に結合される。当業者は、免疫組織化学染色方法の適切な方法を知っている。免疫組織化学染色用のキットは市販されていて、限定されないが、Oncogene Science 100 Acorn Park Drive, Cambridge, MA 02140, USAにより提供されるCAIX IHC Kitを含む。免疫組織化学染色の方法に関する別の例は、例えば、EP 1 501 939 B1に記載されている。組織断面の免疫組織化学染色は、Dako染色システム(Dako Corporation, Carpinteria, CA)により記載される加熱処理を用いた抗原賦活化(antigen retrieval)によるペルオキシダーゼ技術を利用して、抗-CAIX抗体を用いて行なうことができる。免疫分析および/または免疫組織化学染色で用いられる抗体は、ポリクローナルまたはモノクローナルであってよい。好ましくは、モノクローナル抗体が用いられる。本発明に係る免疫組織化学染色の方法では、標識または無標識抗体を用いてよい。標識検出は、標識(蛍光手段、酵素、補酵素、放射性ヌクレオチド、化学発光手段、酵素基質、粒子、色素などを含んでよい)を含むことを意味する。それぞれの分析は、酵素免疫分析、蛍光免疫分析、放射免疫測定、ELISAなどを含む。免疫組織化学染色組織で使用される検出抗体は、モノクローナル抗体M75、MN9、MN、12、MN7を含む。本発明により好ましく用いられる検出抗体は、M75である。M75抗体は、US 5,981,711にさらに記載され、Oncogene Science(上記参照)により提供されるCAIX IHC Kitの一部である。特に好ましいのは、測定可能な、および/または、同等の結果(例えば色素強度、蛍光強度、電波信号、酵素活性など)を提供する染色方法である。

【0029】

好ましい実施態様によれば、発現されるCAIXは、CAIXポリペプチドまたはCAIXポリペプチドのフラグメントを含む。別の好ましい実施態様によれば、発現されるCAIXは、CAIXポリペプチドまたはCAIXポリペプチドのフラグメントをコードするmRNAを含む。当業者は、細胞のサンプル中のmRNA量を決定する方法、例えばノーザンブロット、マイクロアッセイ、リアルタイムPCRなどを知っている。

【0030】

好ましい実施態様によれば、対象から(好ましくは65才未満の年齢の対象から)得られる腫瘍サンプル中のCAIXスコアが2.0である場合に、対象は治療されるべきである。さらにより好ましい実施態様では、スコアは2.1、より好ましくは2.2、より好ましくは2.3、さらにより好ましくは2.4、さらにより好ましくは2.5である。0.0~3.0の全てのあり得るCAIXスコアに関する分析は、CAIXスコアが大きくなればなるほど、治療効果がより大きいことを明らかにする。CAIXスコアが2.6である患者は、CAIX標的化合物(特に抗-G250抗体)を用いて治療

10

20

30

40

50

すると、統計的に有意な治療効果を示す。したがって、CAIXスコア 2.6 は、最も好ましい実施態様と見なされる。好ましくは、対象から得られる腫瘍サンプルは、治療される対象の癌の少なくとも1つの組織サンプルである。より好ましくは、対象から得られる腫瘍サンプルは、治療される対象の腎細胞癌(RCC)由来の、最も好ましくは腎明細胞癌(ccRCC)由来の、少なくとも1つの組織サンプルである。

【0031】

さらに好ましい実施態様によれば、CAIXスコアまたは事前に定義されたCAIXスコアは、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5または2.6以上である。一部の実施態様では、CAIXスコアは、200、210、220、230、240、250または260以上である。好ましい実施態様では、CAIXスコアは、260以上である。

10

【0032】

CAIX標的化合物は任意の化合物であってよく、CAIXを特異的に認識して、その活性をCAIXまたはそのフラグメントまたはスプライス変異への結合により仲介し；活性部位への入口で不可逆的に結合し、および/または、CAIXの活性部位で亜鉛(zinc)イオンと調和することによりCAIXを阻害する。好ましくは、CAIX標的化合物は、CAIXポリペプチドと特異的に相互作用する。特異的に相互作用する(例えば認識する、または結合する)とは、CAIX標的化合物(例えば抗体)が、他のポリペプチドに対するよりも、CAIXに対して、より大きな親和力を有することを意味する。一実施態様では、CAIX標的化合物は、CAIXポリペプチドの活性を調節し、または、相互作用し(すなわち結合または認識し)、および/または、抗体依存性細胞毒性(ADCC)および/または補体仲介性細胞毒性(CDC)を仲介する。したがって、一実施態様によれば、標的化合物は、CAIX阻害剤である。前記CAIX阻害剤は、タンパク質レベルまたは核酸レベルで作用し得る。例えばタンパク質レベルで作用するCAIX阻害剤の例は、限定されないが、ペプチドおよび抗-CAIX抗体、ならびに、好ましくは分子量が500 g/molよりも低いこれらの抗体または有機小分子の機能性フラグメントを含む。抗-CAIX抗体またはCAIXに対する抗体の例は、EP 637 336、WO 93/18152、WO 95/34650、WO 00/24913、WO 02/063010、WO 04/025302、WO 05/037083、WO 2011/139375、Murri-Plesko et al., Eur J Pharm acol 2011, 657:173-183に記載される。有機小分子の例は、限定されないが、スルホンアミド類、複素芳香族スルホンアミド類、スルファメート類、クマリン類およびチオクマリン類およびBAY-79-4620を含む。核酸レベルで作用する阻害剤の例は、siRNA分子、リボザイムおよび/またはアンチセンス分子である。

20

30

【0033】

特に好ましい実施態様によれば、CAIX標的化合物および/または阻害剤は、抗-CAIX抗体および/またはそのような抗体の機能性フラグメントである。好ましい実施態様によれば、抗-CAIX抗体のフラグメントは、抗-CAIX抗体の全長と本質的に同じCAIX-結合および/または阻害活性を有し、および/または、抗-CAIX抗体のエピトープ-結合フラグメントである。

40

【0034】

別の好ましい実施態様では、抗体または/およびその抗体フラグメントは、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、それらの抗原結合フラグメント、例えば、F(ab')₂、Fab'、sFv、dsFv、および、それらのキメラ化、ヒト化および完全ヒト変異からなる群から選択される。さらに好ましい実施態様によれば、この抗-CAIX抗体またはそのエピトープ-結合フラグメントは、アミノ酸配列LSTAFARVおよび/またはALGPGREYRALに結合する。

【0035】

さらに特に好ましい実施態様によれば、CAIX標的化合物は、抗-G250抗体および/またはそのエピトープ-結合フラグメントである。抗-G250抗体は、例えば、E

50

P - B - 0 6 3 7 3 3 6 に記載されている。抗 - 腫瘍抗体は、キメラまたはヒト化 G 2 5 0 抗体および / またはそれらのフラグメントであることが特に好ましい。本発明での使用のための抗体は、制限されないが、P C T / E P 0 2 / 0 1 2 8 2 および P C T / E P 0 2 / 0 1 2 8 3 (参照により本明細書中に援用される) に記載の方法を含む、当技術分野で知られている任意の適切な方法により生産してよい。

【 0 0 3 6 】

特に好ましい抗体は c G 2 5 0 であり、好ましくはギレンツシキマブ (g i r e n t u x i m a b) (I N N) である。別の特に好ましい実施態様は、ハイブリドーマ細胞株 D S M A C C 2 5 2 6 により産生されるモノクローナル抗体 G 2 5 0 である。抗体 c G 2 5 0 は、ミューリンモノクローナル抗体 m G 2 5 0 が元の I g G 1 κ 軽鎖キメラ型である。

10

【 0 0 3 7 】

治療される癌は、C A I X を発現していることにより特徴付けられる癌である。特に、その癌は、本明細書において定義される C A I X スコアが 2 . 0 であることにより特徴付けられ (好ましくは 6 5 才未満の年齢の対象由来) 、そして、特に、上記に設定した C A I X スコアが 2 . 6 である。特に好ましい実施態様によれば、治療される対象は、6 5 才未満の年齢であり、C A I X スコアが 2 . 6 である。

【 0 0 3 8 】

好ましくは、癌または患者の癌は、頸部癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肺癌、頭頸部癌、胆道 (b i l l a r y) 癌、および腎細胞癌を含む群から選択される。

20

【 0 0 3 9 】

特に好ましい実施態様では、癌は腎明細胞癌 (R C C) である。

【 0 0 4 0 】

本発明の最も好ましい実施態様では、腎明細胞癌は、抗体 G 2 5 0 、特に c G 2 5 0 、好ましくはギレンツシキマブを投与することにより治療される。

【 0 0 4 1 】

治療される対象は、非転移型の癌または非転移性疾患と診断されていることが好ましく、より好ましくは非転移型の癌または非転移性疾患を有し、または / および、再発のリスクが高いと診断されるべきである。

30

【 0 0 4 2 】

さらなる実施態様によれば、C A I X 標的化合物 (特に抗 - G 2 5 0 抗体) は、治療される対象が、原発性腫瘍切除術、好ましくは腫瘍腎摘出術、より好ましくは腫瘍腎摘出術およびリンパ節切除術を受けた後に、用いられるべきである。好ましくは、この原発性腫瘍は、特に、頸部癌、食道癌、胃癌、結腸直腸癌、肝臓癌、膀胱癌、肺癌、胆道癌、頭頸部癌および腎明細胞癌 (c c R C C) の群から選択される、G 2 5 0 抗原を発現する腫瘍である。

【 0 0 4 3 】

したがって、さらに好ましい実施態様では、C A I X 標的化合物 (特に抗 - G 2 5 0 抗体) は、アジュバント療法として用いられる。本発明の観点から、アジュバント療法は、見ることのできない任意に残っている癌細胞を標的化する手段を表す。アジュバント療法は、通常、任意の癌再発を守るために、手術または放射線のような一次療法の後に用いられる。アジュバント療法の例は、手術後 (検出可能な疾患は全て取り除かれたが、潜在性疾患に起因して再発する統計的リスクが残っている) に通常は提供される、さらなる治療である。アジュバント療法のタイプは、化学療法、ホルモン療法、放射線療法および / または免疫療法を含む。例えば、放射線療法または全身療法は、一般に、乳癌のための手術後にアジュバント療法として提供される。全身療法は、化学療法、免疫療法または生物学的応答修正因子またはホルモン療法からなり得る。好ましくは、本発明に係る C A I X 標的化合物が用いられる場合、アジュバント療法は、任意のこれらの型の公知のアジュバント治療と組み合わせてよい。

40

50

【0044】

本発明のさらなる態様は、CAIXを発現している癌の治療での使用のためのCAIX標的化合物に関し、ここで、癌細胞は、CAIXスコアが2.0であること、特に2.6であることにより特徴付けられる。もちろん、上記に規定した任意のCAIX標的化合物を用いることができる。好ましくは、CAIX標的化合物は、抗-G250抗体、特にcG250抗体、および/または、それらのエピトープ結合フラグメントである。

【0045】

さらなる実施態様によれば、CAIX標的化合物、特に抗体cG250は、CAIXスコアが2.0、特に2.6である腎明細胞癌の治療での使用のためである。別の実施態様によれば、CAIX標的化合物、特に抗体cG250は、CAIXスコアが2.0であって治療される対象の年齢が65才未満である、および/または、CAIXスコアが2.6である、腎明細胞癌の治療での使用のためである。

10

【0046】

本発明のさらなる態様は、癌疾患を診断、予後判断および/または分類するための方法に関し、

(a) 染色によって、癌サンプル中のCAIXの発現を定量化するステップ、および
(b) 染色された癌細胞の程度および染色強度に従って、癌疾患を分類するステップ、を含む。

【0047】

診断方法は、上述のCAIXスコアの決定をさらに含んでよい。

20

【0048】

診断および/または分類される癌は、好ましくは上述の癌であり、特に、腎明細胞癌である。好ましくは、この癌は、CAIXスコアが2.0であり、さらにより好ましくは2.6である。

【0049】

予後判断の実施態様は、CAIX標的化合物を用いた治療（特に、抗-G250抗体を用いた治療）に、治療される患者が反応するかしないか予測するために、CAIXスコアの使用を含む。特に、cG250抗体を用いた治療（好ましくはギレンツシキマブを用いる）に患者が反応するかどうか予測するために用いられる。換言すれば、どの患者が、CAIX標的化合物を用いた治療の利益を受ける可能性があるか予知することができる。例えば、腎明細胞癌を有する患者（対応する腫瘍細胞サンプルはCAIXスコア2.6を示す）は、cG250抗体、好ましくはギレンツシキマブを用いた治療の利益を最も受けやすい。

30

【0050】

T-ステージが高く（T3/T4）、グレーディングが低く（G1/G2）、リンパ節転移がなく（N0/NX）、そして転移性疾患がない（M0）患者は、CAIXスコアが高い患者と比較して、CAIXスコアが低くて予後が悪い。

【0051】

本発明のさらなる態様は、癌を治療する方法に関し、前記方法は、

(a) 染色によって、治療される対象から得られる癌細胞中のCAIXの発現を定義するステップ、

40

(b) 癌細胞の程度および染色強度に従って、CAIXスコアを決定するステップ、および

(c) ステップ(b)において、事前に定義されたCAIX閾値を超えた場合に、CAIX標的化合物を投与するステップ、を含む。

【0052】

好ましい実施態様によれば、本発明のCAIX標的化合物、特に抗-G250抗体は、単剤療法プロトコルとして投与され、好ましくは、単剤療法として投与される。

【0053】

CAIX標的化合物、特に抗-G250抗体、好ましくはcG250抗体、より好まし

50

くは、ギレンツシキマブは、併用療法プロトコルで、または併用療法として投与してもよく、例えば、上記に既に概説されるとおり、アジュバント抗 - G 2 5 0 抗体治療は、任意の他のタイプのアジュバント療法と組み合わせでよい。好ましくは、抗体依存性細胞毒性 (A D C C) を高めるため、および / または、患者の免疫系 (例えば N K 細胞) を活性化するために、サイトカインを抗体とともに同時投与してよい。このサイトカインは、好ましくは、インターロイキン、例えば I L - 2、- 3、- 4、- 5、- 6、- 7、- 8、- 9、- 1 0、- 1 2、- 1 3、- 1 4、および - 1 5、インターフェロン、例えば、I F N - α 、I F N - β 、および I F N - γ 、T F N - α 、T N F - β 、神経成長因子、C D 4 0、F a s、C D 2 7 および C D 3 0 のリガンド、マクロファージ阻害タンパク質、R a n t e s、薬学的に許容できる類似体および誘導体の活性フラグメント、およびそれらの混合物、からなる群から選択される。より好ましくは、サイトカインは、I L - 2 および I F N - α から選択される。もちろん、さらなる細胞毒性手段、例えば、ドキソルビシン、シス - プラチンまたはカルボプラチンおよび他の腫瘍性手段との組み合わせが可能である。

【 0 0 5 4 】

当業者は、用いられる C A I X 標的化合物 (特に G 2 5 0 抗原特異抗体) の用量を、年齢、体重、疾患の状態および重症度などに基づいて、決定することができる。例えば、患者あたり 1 週間サイクルで、2 0 m g または 5 0 m g のいずれかの c G 2 5 0 抗体の投与レジメンは、0 . 5 μ g / m l 好ましくは 1 μ g / m l を超える濃度を送達し、したがって、効能に十分であるはずである。したがって、好ましい実施態様では、5 ~ 2 5 0 m g / 週、より好ましくは 1 0 ~ 1 0 0 m g / 週、最も好ましくは 2 0 m g / 週 ~ 5 0 m g / 週、G 2 5 0 特異抗体の毎週の投与量が投与される。

【 0 0 5 5 】

好ましい実施態様によれば、G 2 5 0 抗原特異抗体および / またはその抗体フラグメントは、それを必要とする対象に、少なくとも 2 つの治療ステージ (異なる、好ましくは減っていく量の抗体が投与される) において、投与される。

【 0 0 5 6 】

本発明の方法は、G 2 5 0 抗原特異抗体または / およびその抗体フラグメントを、それを必要とする対象に、2 つのステージで投与するステップを含むことがより好ましく、ここで、

(a) 1 0 ~ 2 5 0 m g / 週、好ましくは 2 0 ~ 1 0 0 m g / 週、より好ましくは 3 0 ~ 1 0 0 m g / 週、さらにより好ましくは 3 0 ~ 5 5 m g / 週、最も好ましくは 5 0 m g / 週の投与量の G 2 5 0 抗原特異抗体が、第一の治療ステージにおいて投与され、および

(b) 5 ~ 1 0 0 m g、好ましくは 1 0 ~ 5 0 m g、より好ましくは 1 5 ~ 2 5 m g、最も好ましくは 2 0 m g / 週の投与量の G 2 5 0 抗原特異抗体が、第二の治療ステージにおいて投与される。

【 0 0 5 7 】

第一の治療ステージは、5 0 m g / 週の G 2 5 0 特異抗体の投与を含み、第二の治療ステージは、2 0 m g / 週の投与を含むことが、さらにより好ましい。

【 0 0 5 8 】

抗腫瘍抗体は、好ましくは注入または静脈内注射によって、好ましくは静脈内に投与される。注入による抗体の投与は、好ましくは最高で約 3 0 分で、より好ましくは約 1 5 分で行なわれる。もちろん、C A I X 標的化合物は、腹腔内または筋肉内に適用することもできる。

【 0 0 5 9 】

2 0 m g または 5 0 m g のいずれかの c G 2 5 0 抗体の、最高で 2 0 週間の毎週の注入での投与スキームは、耐容性良好であり重大な H A C A 進行をもたらさないと考えられる。

【 0 0 6 0 】

したがって、第一の治療ステージは、最高で 1 2 週、好ましくは最高で 6 週、さらによ

10

20

30

40

50

り好ましくは最高で1週を含むことが好ましく、第二の治療ステージは、最高で156週、好ましくは最高で104週、より好ましくは最高で52週、さらにより好ましくは最高で12~24週を含むことが好ましい。

【0061】

最も好ましい実施態様では、腎明細胞癌の治療のために、第一の治療ステージは、最高で1週の、cG250抗体の50mg/週の単一負荷投与量の投与を含み、第二の治療ステージは、最高で24週の、cG250抗体の20mg/週の投与を含む。

【0062】

さらに好ましい実施態様では、腎明細胞癌の治療のために、第一の治療ステージは、最高で1週の、静脈内へcG250抗体の50mg/週の単一負荷投与量の投与を含み、第二の治療ステージは、最高で24週の、cG250抗体の20mg/週の投与を含み、好ましくは、腎明細胞癌の治療のために、第二の治療ステージは、cG250抗体の20mg/週の少なくとも8連続の静脈内投与を含む。

10

【0063】

CAIX標的化合物、特にcG250抗体は、もちろん、医薬組成物で投与してよい。この薬学的に許容できる組成物は、許容できる担体、希釈剤および/またはアジュバントを含んでよい。用語「担体」は、本明細書で用いられる場合、担体、賦形剤および/または安定剤（用いられる用量および濃度で、それに曝される細胞または哺乳類に非毒性である）を含む。生理的に許容できる担体は、pH緩衝水溶液またはリボソームであることが多い。生理的に許容できる担体の例は、バッファー、例えば、リン酸、クエン酸および他の有機酸；アスコルビン酸を含む抗酸化剤、低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリジンなどのアミノ酸；単糖類、二糖類、および、グルコース、マンノースまたはデキストリンを含む他の炭水化物、ゲル化剤、例えば、EDTA、糖、アルコール類、例えば、マンニトールまたはソルビトール；ナトリウムなどの塩形成対イオン；および/または、Tween、ポリエチレンまたはポリエチレングリコールなどの非イオン性界面活性剤、を含む。

20

【0064】

特に好ましい実施態様では、CAIX標的化合物は、通常の生理食塩水（水中0.9%滅菌塩化ナトリウム）で投与される。

30

【0065】

特に好ましい実施態様によれば、抗体cG250は、通常の生理食塩水で、静脈内注入（例えば100ml溶液）によって、15分にわたって投与される。

【0066】

用語「炭酸脱水酵素IX」および「CAIX」、「CA9」、「MN」および「G250」は、本明細書において同義であると見なされる。

【0067】

「cG250」およびギレンツシキマブは、相互交換可能に用いられる。

【0068】

「抗原」は、抗体などによって結合され得るリガンドを指す。抗体と接触する抗原の部分を「エピトープ」と呼ぶ。

40

【0069】

別段の言及がなければ、本明細書において用いられる「染色」は、腫瘍細胞を可視化する任意の方法を指す。好ましい「染色」方法は、上述の免疫組織化学染色である。

【実施例】

【0070】

以下の結果は、腎明細胞癌（ccRCC）を有する、および、再発のリスクが高い、患者における、プラセボに対するアジュバントcG250治療を評価するための、無作為化二重盲検フェーズIII試験に基づく。

50

【0071】

目的：

本研究における目的は、プラセボと比較した、ギレンツシキマブ療法における無病生存（DFS）を評価すること、および、プラセボと比較した、ギレンツシキマブ療法における全生存（OS）を評価することであった。

【0072】

患者：

864人の患者（ITT）は、プラセボをコントロールにした、前向き の二群の無作為化二重盲検試験に参加した。無病生存の評価は、独立の放射線審査委員会により評価した。855人の患者は、少なくとも1つの試験処置（cG250またはプラセボ）を受け、独立のデータモニタリング委員会によって安全性が分析された。

10

【0073】

患者に関する包含基準は以下であった：年齢 18才、文書化された明細胞組織学を有する原発性腎細胞癌の（部分的または全体的）腎摘出術の前、肉眼的および顕微鏡的残存病変の形跡がない。患者は、以下の高いリスク群（RG）（TNM分類、第6版、UICC、2002を参照）の1つを有する必要がある：

【0074】

RG I：T3a N0 / X M0またはT3b N0 / X M0またはT3c N0 / X M0またはT4 N0 / X M0

RG II：任意のTステージおよびN + 疾患およびM0

20

RG III：T1b N0 / X M0またはT2 N0 / X M0、それぞれグレーディングG3を有する（Fuhrmanまたは少なくとも3グレードを有する任意の他の核グレーディングシステム（nuclear grading system））、腎摘出術の日と無作為化との間は12週を超えず、0～1のECOG。

【0075】

試験薬：

ギレンツシキマブ（cG250；ミューリンモノクローナル抗体mG250が元のIgG1κ軽鎖キメラ型）を50mgの単一負荷投与量で適用し（1週）、その後、20mgのギレンツシキマブ（2～24週）を毎週注入した。100mlの通常の生理食塩水（水中0.9%滅菌塩化ナトリウム）に薬剤を希釈して、15分にわたって静脈内注入により適用した。プラセボ群は、有効成分を含まないポリソルベート20（Tween（登録商標）20）を含むリン酸緩衝生理食塩水を受けた。治療の持続時間は24週であった。

30

【0076】

免疫組織化学：

パラフィン包埋された腎摘出組織標本を、3～5μmの断面に切断して、個別の接着スライド上に集めた。脱パラフィンおよび脱水を、Ventana Medical Systems, Inc. が提供するEZ Prep混合物を用いて行なった。組織材料をブロックし、希釈抗体（CAIX M75, 1:150）の溶液を用いて染色した。ビオチン化IgG抗-マウスIgG抗体（Ventana Medical Systems, Inc.）の後に、コンジュゲートされたストレプトアビジンホースラディッシュペルオキシダーゼ（Ventana Medical Systems, Inc.）を用いて、抗体を検出した。ジアミノベンジジンおよび過酸化水素（Ventana Medical Systems, Inc.）を用いてシグナルを検出した。ポジティブおよびネガティブの組織コントロールを参照として含んだ。

40

【0077】

統計的方法：

効能評価は、無作為化された864人の患者全てからなるIntent-to-treat（ITT）個体群について一次解析した。さらに、766人の患者からなるPer Protocol（PP）個体群について解析を繰り返した。試験薬の少なくとも8連続の投与（1～8週）を受けて、非盲検の前に逸脱基準において定義される主なプロトコル

50

逸脱がない患者は、Per Protocol (PP) 個体群として評価された。

【0078】

サンプルサイズの計算は、プログラム Pass 2002 を用いて行なった。SAS (登録商標) ソフトウェアのバージョン 8.1 またはそれより上を用いて統計的概要を産出した。効能解析のために、不完全 / 部分的な日付 (dates) が補完された (imputed) ; 安全な日付がないもの (missing safety dates) は補完されなかった。医薬品規制用語集 (Medical Dictionary for Regulatory Activities) を用いて、有害事象および病歴をコード化した ; 世界保健機関医薬品辞書 (World Health Organisation Drug Dictionary) を用いて薬剤をコード化した。一次効能解析は、Intent-to-treat (ITT) 個体群に基づき、Per Protocol 個体群を用いて繰り返した。

10

【0079】

観察数、算術平均、標準偏差、最小値、中央値および最大値を用いて、連続変数を表した。観察数およびパーセンテージを用いてカテゴリ変数を示した。階層テストを DFS および OS に適用して、全体的な有意水準を両方に関して 5 % に維持した。DFS および OS の両方を、対数順位検定およびカプラン・マイヤー法を用いて、ギレンツシキマブ群とプラセボ群との間で比較した。全体の有意水準を 5 % で、群逐次法に関する O'Brien-Fleming 法を用いて、OS に関する有意水準を調整した。正確な方法 (Pearson-Clopper) を用いて、割合に関する 95 % 信頼区間を計算した。

20

【0080】

Cox 比例ハザードモデルを用いて、DFS および OS の両方についての予後因子の潜在的効果を試験した。比例ハザードモデルを用いて、ハザード比 (ギレンツシキマブ治療対プラセボ) を、その関連する 95 % 信頼区間および p 値と合わせて評価した。

【0081】

結果の概要：

データ解析のためのカットオフの時点で、局所的試験評価により、360 人の患者 (41.7 %) が DFS 事象を経験し、504 人 (58.3 %) は、まだ疾患が存在しなかった。DFS 患者の 0.6 % は、局所的に、ベースラインにおいて転移性疾患を有すると評価された。181 人の患者は全て死亡した。IRRC 中央リーディング評価 (central reading assessment) の後、DFS 事象は 389 人の患者 (45 %) に割り当てる (be assigned for) ことができ、一方で、打ち切り日 (censor date) は残りの 475 人の (55 %) 患者に割り当てることができた。ITT 個体群で生じた DFS 事象の数 (ベースラインにおいて転移性疾患を有する患者を除く 293 人) は、ギレンツシキマブ患者の 11.5 % およびプラセボ患者の 10.7 % で見られる、ベースライン (DFS = 0) における転移の割合のように、治療群間で同等であった (cG250 : 142, 32.8 % ; プラセボ : 151, 35.0 %)。

30

【0082】

ITT 個体群に関する IRRC 評価に基づく DFS の一次解析は、治療群間の全体的な中央値 DFS において統計的な有意差を示さなかった (ハザード比 [HR] = 0.999, p = 0.737)。ギレンツシキマブの中央値 DFS は 71.4 月であり、プラセボ群の中央値 DFS は到達されなかった (not reached)。

40

【0083】

高いリスク群 (RG) の分類にかかわらず、治療群間の DFS に統計的な有意差はなかった (RG I : HR = 0.934, p = 0.596 ; RG II : HR = 1.73, p = 0.084 ; RG III : HR = 0.984, p = 0.627)。

【0084】

さらに、Buiら (Bui et al, Clinical Cancer Research 2003, 9 : 802 - 811) による CAIX 抗原発現のみに基づく分類を用いて行なった予備解析は、予後判断に関しても治療効果に関しても、統計的に有意な結

50

果を生じなかった。しかしながら、驚くべきことに、抗原密度の尺度と見なすことができる、染色の強度とC A I X抗原の発現との組み合わせ（C A I Xスコア）は、治療効果および予後判断に関して有意な結果を示した。

【0085】

生存ツリー解析から得られたC A I Xスコアカットオフに関する多変量解析（I T Tに関して1.91、および、I T Tプラセボに関して1.52）は、D F S I T T、O S

I T TおよびO Sプラセボにおいて、C A I Xスコアは予後になるが、予後判断に関する独立したファクターではないことを示す。結果は、1.52のC A I Xスコアカットオフ（I T Tプラセボ）が予後判断に有用であり得ることを示唆する。

【0086】

C A I Xスコアが低い患者については、異なる治療群に関するカプラン・マイヤー曲線は、用いられるカットオフに関係なく重なる。これは、C A I Xスコアが低い患者は治療の利益を受けないことを明らかに示す。

【0087】

1.91の高いC A I Xスコアは、治療効果に好ましい傾向を示した（H R = 0.879, p値0.248）。0.0~3.0の全てのC A I Xスコアに関するサブグループ分析は、C A I Xスコアが増えれば増えるほど、治療効果がより大きくなることを示した（図1）。

【0088】

2.6のC A I Xスコアは、プラセボ群での51.2月から、c G 2 5 0患者での73.6月まで増加する中央値D F Sで、統計的に有意な治療効果をもたらす（患者個体群全体の17%、H R = 0.568; p = 0.022; 図2）。2.6の高いC A I Xスコアを有するI T T個体群中の151人の患者は、c G 2 5 0とプラセボ群との間で均一に分布した。興味深いことに、プラセボ群の患者は、治療群にかかわらず、C A I Xスコアが<2.6である患者と同様に5年のD F S期間（51.7月に対して48.4月）を示した。ベースラインで転移を有する患者の個体数、または陽性リンパ節を有する患者の個体数を調整しても、結果は変わらなかった。C A I Xスコアが2.6であるP P個体群（N = 139）を考慮すると、ハザード比および有意水準の両方とも改善した（H R = 0.508; p = 0.007; 図2）。

【0089】

概して、I T T個体群で見られる結果は、P P個体群での結果によって反映された（図3）。

【0090】

さらなるサブグループ分析は、プラセボ群での55.2月から、C A I Xスコアが2.0で65才未満のc G 2 5 0患者での70.9月まで増加する中央値D F Sで、統計的に有意な治療効果を示した（H R = 0.60; 95% C I 0.40~0.89; p値= 0.01; 図4）。

【0091】

さらに、分析は、T - ステージが高く（T 3 / T 4）、グレーディングが低く（G 1 / G 2）、リンパ節転移がなく（N 0 / N X）、そして転移性疾患がない、明細胞R C C患者は、C A I Xスコアが高い患者と比較して、C A I Xスコアが低く、有意により悪い予後を有することを示している。

10

20

30

40

【図 1】

CAIX カットオフ		ITT	PP
>2.0	HR	0.78	0.70
	p 値	0.137	0.049
	サンプルサイズ	362	332
	D F S 事象	145	127
>2.1	HR	0.80	0.70
	p 値	0.196	0.058
	サンプルサイズ	322	296
	D F S 事象	130	114
>2.2	HR	0.73	0.65
	p 値	0.094	0.031
	サンプルサイズ	291	268
	D F S 事象	117	103
>2.3	HR	0.74	0.63
	p 値	0.142	0.043
	サンプルサイズ	234	213
	D F S 事象	94	82
>2.4	HR	0.77	0.67
	p 値	0.253	0.098
	サンプルサイズ	200	184
	D F S 事象	80	72
>2.5	HR	0.64	0.55
	p 値	0.078	0.030
	サンプルサイズ	166	153
	D F S 事象	65	59
>2.6	HR	0.54	0.48
	p 値	0.040	0.019
	サンプルサイズ	117	107
	D F S 事象	51	47

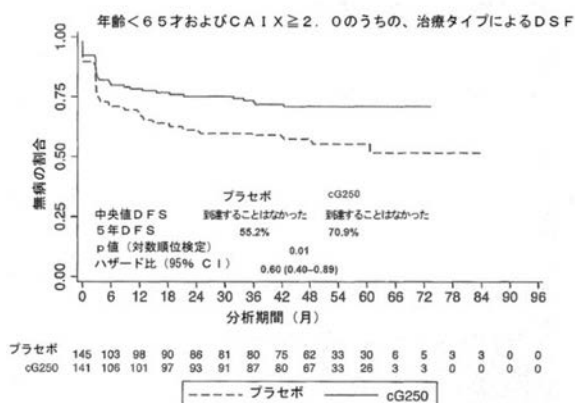
【図 2】



【図 3】



【図 4】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/053420

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/395 A61P35/00
ADD.

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)

A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

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

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Katja Arnold: "PRESS RELEASE FDA grants Fast Track designation to WILEX's RENCAREX for the adjuvant therapy of clear cell Renal Cell Carcinoma", 5 October 2011 (2011-10-05), pages 1-2, XP055110130, Retrieved from the Internet: URL: http://www.wilex.de/wp-content/uploads/2011/10/20111005_PR_WILEX_RENCAREX_Fast-track_engl.pdf [retrieved on 2014-03-26] ----- -/--	1-19, 23, 24

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ 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

28 March 2014

Date of mailing of the international search report

30/06/2014

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hars, Jesko

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/053420

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Katja Arnold: "PRESS RELEASE WILEX AG announces results of Phase III ARISER study with RENCAREX in clear cell renal cell carcinoma", 16 October 2012 (2012-10-16), pages 1-3, XP055110145, Retrieved from the Internet: URL:http://www.wilex.de/wp-content/uploads/2012/10/20121016-WILEX-RENCAREX-Phase-III_english1.pdf [retrieved on 2014-03-26] the whole document	1-19,23, 24
X	WO 2011/139375 A1 (LUDWIG INST FOR CANCER RES LTD [US]; UNIV OXFORD [GB]; UNIV ZUERICH [G] 10 November 2011 (2011-11-10) cited in the application paragraphs [0005], [0022], [0026], [0157], [0158], [0163] paragraphs [0252], [0253], [0281] page 54 claims 1,3,18,20,21	1,3,4,9, 12,13, 23,24
X,P	ARIE S BELLDEGRUN ET AL: "ARISER: A randomized double blind phase III study to evaluate adjuvant cG250 treatment versus placebo in patients with high-risk ccRCC-Results and implications for adjuvant clinical trials. Abstract 4507", 2013 ASCO ANNUAL MEETING, vol. 31, 1 June 2013 (2013-06-01), pages 1-3, XP055110195, the whole document	1-19,23, 24
X,P	Katja Arnold: "PRESS RELEASE - Further analysis of the ARISER study identifies a subgroup which shows significant improvement of disease-free survival with RENCAREX", 26 February 2013 (2013-02-26), pages 1-3, XP055110199, Retrieved from the Internet: URL:http://www.wilex.de/wp-content/uploads/2013/02/20130226_WILEX-RENCAREX_subgroup-analysis_english.pdf [retrieved on 2014-03-26] the whole document	1-19,23, 24

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/053420

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	Anonymous: "3-Month Financial Report 2013", 11 April 2013 (2013-04-11), pages 1-24, XP055110203, Retrieved from the Internet: URL:http://www.wilex.de/pdf/Berichte/20130411_WILEX_QR_01_2013_e.pdf [retrieved on 2014-03-26] pages 2,4 -----	1-19,23, 24
X,P	Anonymous: "Wilex - Company update German Equity Forum, Frankfurt", 1 November 2013 (2013-11-01), pages 1-24, XP055110207, Retrieved from the Internet: URL:http://www.eigenkapitalforum.com/132/representations/inv/WILEX_AG.pdf [retrieved on 2014-03-26] page 7 - page 10 -----	1-19,23, 24
A	BUI M H T ET AL: "Carbonic anhydrase IX is an independent predictor of survival in advanced renal clear cell carcinoma: implications for prognosis and therapy", CLINICAL CANCER RESEARCH, THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US, vol. 9, 1 February 2003 (2003-02-01), pages 802-811, XP002380265, ISSN: 1078-0432 cited in the application the whole document -----	1-19,23, 24
A	JOHN P KIRKPATRICK ET AL: "Elevated CAIX Expression is Associated with an Increased Risk of Distant Failure in Early-Stage Cervical Cancer", BIOMARKER INSIGHTS, vol. 3, 1 January 2008 (2008-01-01), pages 45-55, XP055110211, the whole document ----- -/--	1-19,23, 24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/053420

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ZHOU G X ET AL: "Quantification of Carbonic Anhydrase IX Expression in Serum and Tissue of Renal Cell Carcinoma Patients Using Enzyme-linked Immunosorbent Assay: Prognostic and Diagnostic Potentials", UROLOGY, BELLE MEAD, NJ, US, vol. 75, no. 2, 1 February 2010 (2010-02-01), pages 257-261, XP026885551, ISSN: 0090-4295, DOI: 10.1016/J.UROLOGY.2009.09.052 [retrieved on 2009-12-05] the whole document	1-19,23, 24
A	WO 2006/002889 A2 (WILEX AG [DE]; WILHELM OLAF [DE]; WARNAAR SVEN [NL]) 12 January 2006 (2006-01-12) the whole document	1-19,23, 24
A	SILVIA PASTOREKOVA: "Carbonic anhydrase IX is a clinically significant tissue and serum biomarker associated with renal cell carcinoma", ONCOLOGY LETTERS, 26 October 2012 (2012-10-26), XP055110444, ISSN: 1792-1074, DOI: 10.3892/ol.2012.1001 the whole document	1-19,23, 24
Y	US 2008/112960 A1 (DORAI THAMBI [US]) 15 May 2008 (2008-05-15) claims 17,21,24,25 paragraphs [0025], [0110], [0119] paragraphs [0162], [0175], [0194]	1-19,23, 24
X	WO 2005/108623 A2 (BAYER HEALTHCARE [US]; SOYUPAK BUELENT [TR]; ERDO GBREVE [TR] BAYER HE) 17 November 2005 (2005-11-17) pages 4,5,19; claims 1,3,5,14,17,18 pages 29,30,35	1-5, 9-15,17, 23,24 6-8,16, 19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2014/053420**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

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

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

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional 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 an 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.:
1-19, 23, 24

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 Application No. PCT/ EP2014/ 053420

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-19, 23, 24

A carbonic anhydrase IX (CAIX) targeting compound for use in the treatment of cancer, wherein the use comprises quantifying CAIX expression in at least one tumor sample provided from a subject to be treated, determining a CAIX score based on the CAIX expression in the tumor sample, and the subject is treated if a predefined CAIX score is reached. Also the CAIX targeting compound for use according to claim 16 and the method for treatment according to claim 23.

2. claims: 20-22

A method for diagnosing, prognosing and/or classifying a cancer disease comprising
(a) quantifying the expression of CAIX in a cancer sample by staining and
(b) classifying the cancer disease according to the extent and staining intensity of stained cancer cells.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2014/053420

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011139375 A1	10-11-2011	NONE	

WO 2006002889 A2	12-01-2006	AU 2005259481 A1	12-01-2006
		BR P10512854 A	08-04-2008
		CA 2566950 A1	12-01-2006
		CN 101052416 A	10-10-2007
		EP 1763367 A2	21-03-2007
		EP 2497497 A1	12-09-2012
		JP 2008505143 A	21-02-2008
		KR 20070036085 A	02-04-2007
		RU 2371198 C2	27-10-2009
		RU 2009122344 A	20-12-2010
		US 2007207157 A1	06-09-2007
		WO 2006002889 A2	12-01-2006

US 2008112960 A1	15-05-2008	US 2008112960 A1	15-05-2008
		US 2011027225 A1	03-02-2011
		US 2013209394 A1	15-08-2013

WO 2005108623 A2	17-11-2005	AU 2005241093 A1	17-11-2005
		CA 2564850 A1	17-11-2005
		EP 1743038 A2	17-01-2007
		JP 4426621 B2	03-03-2010
		JP 2007528737 A	18-10-2007
		US 2007224606 A1	27-09-2007
		US 2009191557 A1	30-07-2009
		WO 2005108623 A2	17-11-2005

フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/18 (2006.01) A 6 1 K 39/395 D
C 0 7 K 16/18

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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, 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, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72) 発明者 ビーバン ポール
英国 アールジー 9 3 ビーワイ ヘンリー = オン = テムズ ローワー シップレイク マナー
ウッド ゲート 1 5

(72) 発明者 フォール バーバラ
ドイツ連邦共和国 8 5 6 4 6 アンツィング アムセルベーク 9 エー

(72) 発明者 クロップファー ピア
ドイツ連邦共和国 8 1 6 6 7 ミュンヘン パリーザー シュトラッセ 3 4

F ターム (参考) 2G045 AA26 CB02 DA20 FB03
4C085 AA13 AA14 BB11 CC23 EE01 GG01 GG02 GG03 GG06
4H045 AA11 AA30 BA10 CA40 DA76 EA28 FA74

專利名称(译)	基于CAIX分层的癌症治疗		
公开(公告)号	JP2016511766A	公开(公告)日	2016-04-21
申请号	JP2015558463	申请日	2014-02-21
[标]申请(专利权)人(译)	威丽克斯股份公		
申请(专利权)人(译)	WE雷克斯AG		
[标]发明人	ウィルヘルムオラフ ビーバンポール フォールバーバラ クロップファーピア		
发明人	ウィルヘルム オラフ ビーバン ポール フォール バーバラ クロップファー ピア		
IPC分类号	A61K39/395 G01N33/573 G01N33/48 G01N33/53 A61P35/00 C07K16/18		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P35/00 C07K16/30 C07K16/40 C07K2317/24 A61K9/08 A61K39/395 G01N33/50 G01N33/57438 G01N2333/988		
FI分类号	A61K39/395.N G01N33/573.A G01N33/48.P G01N33/53.Y A61P35/00 A61K39/395.D C07K16/18		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/CB02 2G045/DA20 2G045/FB03 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/GG01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG06 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA28 4H045/FA74		
优先权	61/768084 2013-02-22 US 61/829349 2013-05-31 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及用于治疗癌症的碳酸酐酶IX靶化合物，其用途包括定量CA IX表达和基于CA IX表达确定CA IX评分。本发明进一步涉及用于诊断，预后和/或分类癌症疾病的方法，包括量化CAIX表达和确定CAIX评分。

(21) 出願番号	特願2015-558463 (P2015-558463)	(71) 出願人	512057208 ウィレックス・アーゲー
(86) (22) 出願日	平成26年2月21日 (2014. 2. 21)		ドイツ・81675・ミュンヘン・グリル
(85) 翻訳文提出日	平成27年10月15日 (2015. 10. 15)		バルツァーシュトラッセ・10
(86) 国際出願番号	PCT/EP2014/053420	(74) 代理人	100113376
(87) 国際公開番号	W02014/128258		弁理士 南条 隆裕
(87) 国際公開日	平成26年8月28日 (2014. 8. 28)	(74) 代理人	100179394
(31) 優先権主張番号	61/768, 084		弁理士 瀬田 あや子
(32) 優先日	平成25年2月22日 (2013. 2. 22)	(74) 代理人	100185384
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 伊波 興一朗
(31) 優先権主張番号	61/829, 349	(74) 代理人	100137811
(32) 優先日	平成25年5月31日 (2013. 5. 31)		弁理士 原 秀貴人
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	ウィルヘルム オラフ ドイツ連邦共和国 81545 ミュンヘン テレマントシュトラッセ 13