

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6483082号
(P6483082)

(45) 発行日 平成31年3月13日(2019.3.13)

(24) 登録日 平成31年2月22日(2019.2.22)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 33/68 (2006.01)

GO 1 N 33/68

GO 1 N 33/574 (2006.01)

GO 1 N 33/574 Z N A A

GO 1 N 33/543 (2006.01)

GO 1 N 33/543 5 4 5 A

GO 1 N 33/53 (2006.01)

GO 1 N 33/53 D

GO 1 N 33/48 (2006.01)

GO 1 N 33/48 P

請求項の数 106 (全 104 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-501626 (P2016-501626)
 (86) (22) 出願日 平成26年3月12日 (2014.3.12)
 (65) 公表番号 特表2016-520800 (P2016-520800A)
 (43) 公表日 平成28年7月14日 (2016.7.14)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/024746
 (87) 国際公開番号 W02014/151006
 (87) 国際公開日 平成26年9月25日 (2014.9.25)
 審査請求日 平成27年11月12日 (2015.11.12)
 (31) 優先権主張番号 61/802,296
 (32) 優先日 平成25年3月15日 (2013.3.15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/812,678
 (32) 優先日 平成25年4月16日 (2013.4.16)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 509012625
 ジェネンテック, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス
 サンフランシスコ ディーエヌエー
 ウェイ 1
 (74) 代理人 110002077
 園田・小林特許業務法人
 (72) 発明者 チェン, ダニエル シン-ユイ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
 80, サウス サンフランシスコ, デ
 ィーエヌエー ウェイ 1, シー/オー
 ジェネンテック, インコーポレイテッ
 ド

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 PD-1 及び PD-L1 に関連する状態を治療するためのバイオマーカー及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

PD-L1 結合性アンタゴニストによる治療に応答する可能性がより高い、癌を有する
 個体を同定する方法であって、

a. 個体からの試料中の PD-L1 バイオマーカーの存在又はレベルを決定することであ
 って、

(1) 試料中の PD-L1 バイオマーカーの存在は、個体が PD-L1 結合性アンタゴニ
 ストによる治療に応答する可能性がより高いことを示すこと、又は

(2) 試料中の PD-L1 バイオマーカーのレベルの、参照試料のものと比較した増加は
 、個体が PD-L1 結合性アンタゴニストによる治療に応答する可能性がより高いことを
 示すこと、及び

b. 個体が PD-L1 結合性アンタゴニストによる治療に応答する可能性がより高いとの
 推奨を提供すること

を含む方法。

【請求項 2】

PD-L1 結合性アンタゴニストによる治療に対する癌を有する個体の応答を予測する
 方法であって、

a. 個体からの試料中の PD-L1 バイオマーカーの存在又はレベルを決定することであ
 って、

(1) 試料中の PD-L1 バイオマーカーの存在は、個体が PD-L1 結合性アンタゴニ

10

20

ストによる治療に応答性である可能性がより高いことを示すこと、又は

(2) 試料中のPD-L1バイオマーカのレベルの、参照試料のものと比較した増加は、個体がPD-L1結合性アンタゴニストによる治療に応答性である可能性がより高いことを示すこと及び

b. 個体がPD-L1結合性アンタゴニストによる治療に応答性である可能性の増加を有するとの推奨を提供すること

を含む方法。

【請求項3】

癌を有する個体がPD-L1結合性アンタゴニストによる治療の有益性を示す可能性を決定する方法であって、

a. 個体からの試料中のPD-L1バイオマーカの存在又はレベルを決定することであって、

(1) 試料中のPD-L1バイオマーカの存在は、個体がPD-L1結合性アンタゴニストによる治療が有益である可能性が高いことを示すこと、又は

(2) 試料中のPD-L1バイオマーカのレベルの、参照試料のものと比較した増加は、個体がPD-L1結合性アンタゴニストによる治療が有益である可能性が高いことを示すこと、及び

b. 個体がPD-L1結合性アンタゴニストによる治療が有益である可能性が高いとの推奨を提供すること

を含む方法。

【請求項4】

癌を有する個体のための療法を選択する方法であって、

a. 個体からの試料中のPD-L1バイオマーカの存在又はレベルを決定すること、及び

b. 試料中のPD-L1バイオマーカの存在又はレベルに基づいて、個体のために選択される療法がPD-L1結合性アンタゴニストによる治療を含むとの推奨を提供することを含む方法であって、

(1) 試料中のPD-L1バイオマーカの存在は、個体がPD-L1結合性アンタゴニストによる治療に応答性である可能性がより高いことを示す、又は、

(2) 試料中のPD-L1バイオマーカのレベルの、参照試料と比較した増加は、個体がPD-L1結合性アンタゴニストによる治療に応答性である可能性がより高いことを示す、

方法。

【請求項5】

個体からの試料中のPD-L1バイオマーカの存在又はレベルを決定することを含み、PD-L1結合性アンタゴニストを受けるための、癌を有する個体を同定するアッセイであって、

PD-L1バイオマーカの存在又はレベルに基づいて、PD-L1結合性アンタゴニストが推奨される、アッセイであって、

(1) 試料中のPD-L1バイオマーカの存在は、個体がPD-L1結合性アンタゴニストによる治療に応答性である可能性がより高いことを示す、又は、

(2) 試料中のPD-L1バイオマーカのレベルの、参照試料と比較した増加は、個体がPD-L1結合性アンタゴニストによる治療に応答性である可能性がより高いことを示す、

アッセイ。

【請求項6】

(a) 癌を有する個体からの試料中のPD-L1バイオマーカの存在を決定するための1つ又は複数の試薬を含む診断キットであって、

PD-L1バイオマーカの存在は、個体をPD-L1結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより高い可能性を意味し、PD-L1バイオマーカの不在は、癌を有

10

20

30

40

50

する個体を P D - L 1 結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより低い可能性を意味する診断キット、又は

(b) P D - L 1 バイオマーカーのレベルの、参照試料中の P D - L 1 バイオマーカーのレベルと比較した増加を決定するための 1 つ又は複数の試薬を含む診断キットであって、増加は、P D - L 1 結合性アンタゴニストで個体を治療した場合の有効性のより高い可能性を意味する診断キット、或いは

P D - L 1 バイオマーカーのレベルの、参照試料中の P D - L 1 バイオマーカーのレベルと比較した P D - L 1 バイオマーカーの減少を決定するための 1 つ又は複数の試薬を含む診断キットであって、減少は、P D - L 1 結合性アンタゴニストで癌を有する個体を治療した場合の有効性のより低い可能性を意味する診断キット。

10

【請求項 7】

P D - L 1 バイオマーカーが、P D - L 1、P D - 1、P D - L 2 又はその組合せである、請求項 1 から 4 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 8】

－以上の T 細胞関連マーカーの存在又はレベルを決定することを更に含む、請求項 1 から 4 及び 7 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 9】

－以上の T 細胞関連マーカーが、C D 8 A、I F N - g、E O M E S、グランザイム - A、グランザイム - B、C X C L 9 又はその組合せである、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

C X 3 C L 1、C D 4 5 R O、I D O 1、ガレクチン 9、M I C - A、M I C - B、C T L A - 4 又はその組合せの存在又はレベルを決定することを更に含む、請求項 1 から 4 及び 7 から 9 の何れか一項に記載の方法。

20

【請求項 11】

癌が、肺癌、腎臓癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、メラノーマ、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌又は血液悪性腫瘍である、請求項 1 から 4 及び 7 から 10 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 12】

- (a) 肺癌が非小細胞肺癌であるか、
- (b) 腎臓癌が腎細胞癌であるか、
- (c) 乳癌が三種陰性乳癌であるか、又は
- (d) 膀胱癌が尿路上皮膀胱癌である、請求項 11 に記載の方法。

30

【請求項 13】

個体から得られる試料が、組織試料、全血試料、血漿試料、及び血清試料又はその組合せである、請求項 1 から 4 及び 7 から 12 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 14】

- (a) 組織試料が腫瘍組織試料であるか、又は
- (b) 全血試料が免疫細胞、循環性腫瘍細胞、又は免疫細胞と循環性腫瘍細胞の両方を含む、請求項 13 に記載の方法。

40

【請求項 15】

(a) 腫瘍組織試料は、腫瘍試料中の腫瘍領域の 1 % をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞における検出可能な発現レベルの P D - L 1 バイオマーカーを有することが決定されるか、

(b) 腫瘍組織試料は、腫瘍試料中の腫瘍領域の 5 % をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞における検出可能な発現レベルの P D - L 1 バイオマーカーを有することが決定されるか、又は

(c) 腫瘍組織試料は、腫瘍試料中の腫瘍領域の 10 % をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞における検出可能な発現レベルの P D - L 1 バイオマーカーを有することが決定される、

50

請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

腫瘍組織試料が、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞又はその組合せを含む、請求項 1 4 又は 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

組織試料が、ホルマリン固定及びパラフィン包埋され、新鮮なままで又は凍結されて保管される、請求項 1 3 から 1 6 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

試料が P D - L 1 結合性アンタゴニストによる治療の前に得られる、請求項 1 から 4 及び 7 から 1 7 の何れか一項に記載の方法。

10

【請求項 1 9】

P D - L 1 が個体から得られる試料中に存在するか、個体から得られる試料が、参照試料中の P D - L 1 のレベルと比較して増加したレベルの P D - L 1 バイオマーカを有し、かつ P D - L 1 バイオマーカの存在又は増加したレベルが、個体を P D - L 1 結合性アンタゴニストで治療すると個体が臨床有益性の増加を有する可能性が高いことを示す、請求項 1 から 4 及び 7 から 1 8 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 0】

臨床有益性の増加が、全生存 (O S)、無進行生存 (P F S)、完全寛解 (C R)、部分寛解 (P R) 又はその組合せの相対的な増加を含む、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

20

臨床有益性の増加が、O S、P F S、又は O S と P F S の両方の相対的な増加を含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

P D - L 1 バイオマーカが、F A C S、ウェスタンブロット、E L I S A、免疫沈降、免疫組織化学法、免疫蛍光法、放射線免疫検定法、ドットブロット法、免疫検出方法、H P L C、表面プラズモン共鳴、光学分光法、質量分析、H P L C、q P C R、R T - q P C R、多重 q P C R 又は R T - q P C R、R N A - s e q、マイクロアレイ分析、S A G E、M a s s A R R A Y 技術、F I S H、又はその組合せを使用して試料中に検出される、請求項 1 から 4 及び 7 から 2 1 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

30

P D - L 1 バイオマーカの存在が試料中の免疫組織化学法 (I H C) により検出される、請求項 1 から 4 及び 7 から 2 2 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

P D - L 1 バイオマーカが抗 P D - L 1 抗体を使用して検出される、請求項 1 から 4 及び 7 から 2 3 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 5】

P D - L 1 バイオマーカが試料中の核酸発現により検出される、請求項 1 から 4 及び 7 から 2 2 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

P D - L 1 バイオマーカが、P D - L 1、P D - 1、P D - L 2 又はその組合せである、請求項 2 5 に記載の方法。

40

【請求項 2 7】

一以上の T 細胞関連マーカが核酸発現により検出される、請求項 8 から 2 2、2 5 及び 2 6 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 8】

C X 3 C L 1、C D 4 5 R O、I D O 1、ガレクチン 9、M I C - A、M I C - B、C T L A - 4 又はその組合せが、核酸発現により検出される、請求項 1 0 から 2 2 及び 2 5 から 2 7 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 9】

試料において検出された核酸発現のレベルの、参照試料のものと比較した増加が、個体

50

を P D - L 1 結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより高い可能性を意味し、

試料において検出された核酸発現のレベルの、参照試料のものと比較した減少が、癌を有する個体を P D - L 1 結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより低い可能性を意味する、請求項 2 5 から 2 8 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 3 0】

P D - L 1 バイオマーカーは R T - q P C R 又は R N A - s e q を使用して検出される、請求項 2 5 から 2 9 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 3 1】

P D - L 1 バイオマーカーが、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞又はその組合せにおいて検出される、請求項 1 から 4 及び 7 から 3 0 の何れか一項に記載の方法。

10

【請求項 3 2】

P D - L 1 結合性アンタゴニストが、P D - L 1 のそのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する、請求項 1 から 4 及び 7 から 3 1 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

P D - L 1 結合性アンタゴニストが、P D - L 1 の P D - 1 への結合、P D - L 1 の B 7 - 1 への結合、又は P D - L 1 の P D - 1 及び B 7 - 1 の両方への結合を阻害する、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

P D - L 1 結合性アンタゴニストが抗体である、請求項 1 から 4 及び 7 から 3 3 の何れか一項に記載の方法。

20

【請求項 3 5】

抗体が抗 P D - L 1 抗体である、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

抗 P D - L 1 抗体が M P D L 3 2 8 0 A である、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

抗体がモノクローナル、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である、請求項 3 4 又は 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 8】

参照試料が、

(a) 治療を受ける個体でない 1 以上の癌を有する個体からの試料

30

(b) 治療を受ける個体でない 1 以上の健康な個体からの試料、又は

(c) 治療を受ける個体からの試料

である、請求項 1 から 4 及び 7 から 3 7 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 3 9】

参照試料が、組織試料、血漿試料又は血清試料である、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

P D - L 1 バイオマーカーが、P D - L 1、P D - 1、P D - L 2 又はその組合せである、請求項 5 に記載のアッセイ。

【請求項 4 1】

一以上の T 細胞関連マーカーの存在又はレベルを決定することを更に含む、請求項 5 又は 4 0 に記載のアッセイ。

40

【請求項 4 2】

一以上の T 細胞関連マーカーが、C D 8 A、I F N - g、E O M E S、グランザイム - A、グランザイム - B、C X C L 9 又はその組合せである、請求項 4 1 に記載のアッセイ。

【請求項 4 3】

C X 3 C L 1、C D 4 5 R O、I D O 1、ガレクチン 9、M I C - A、M I C - B、C T L A - 4 又はその組合せの存在又はレベルを決定することを更に含む、請求項 5 及び 4 0 から 4 2 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 4 4】

50

癌が、肺癌、腎臓癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、メラノーマ、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、又は血液悪性腫瘍である、請求項 5 及び 4 0 から 4 3 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 4 5】

- (a) 肺癌が非小細胞肺癌であるか、
- (b) 腎臓癌が腎細胞癌であるか、
- (c) 乳癌が三種陰性乳癌であるか、又は
- (d) 膀胱癌が尿路上皮膀胱癌である、請求項 4 4 に記載のアッセイ。

【請求項 4 6】

個体から得られる試料が、組織試料、全血試料、血漿試料、血清試料又はその組合せである、請求項 5 及び 4 0 から 4 5 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 4 7】

- (a) 組織試料が腫瘍組織試料であるか、又は
- (b) 全血試料が免疫細胞、循環性腫瘍細胞、又は免疫細胞と循環性腫瘍細胞の両方を含む、請求項 4 6 に記載のアッセイ。

【請求項 4 8】

(a) 腫瘍組織試料は、腫瘍試料中の腫瘍領域の 1 % をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞における検出可能な発現レベルの P D - L 1 バイオマーカーを有することが決定されるか、

(b) 腫瘍組織試料は、腫瘍試料中の腫瘍領域の 5 % をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞における検出可能な発現レベルの P D - L 1 バイオマーカーを有することが決定されるか、又は

(c) 腫瘍組織試料は、腫瘍試料中の腫瘍領域の 1 0 % をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞における検出可能な発現レベルの P D - L 1 バイオマーカーを有することが決定される、
請求項 4 7 に記載のアッセイ。

【請求項 4 9】

腫瘍組織試料が、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞又はその組合せを含む、請求項 4 7 又は 4 8 に記載のアッセイ。

【請求項 5 0】

組織試料が、ホルマリン固定及びパラフィン包埋され、新鮮なままで又は凍結されて保管される、請求項 4 6 から 4 9 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 5 1】

試料が P D - L 1 結合性アンタゴニストによる治療の前に得られる、請求項 5 及び 4 0 から 5 0 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 5 2】

P D - L 1 が個体からの試料中に存在するか、個体からの試料が、参照試料中の P D - L 1 のレベルと比較して増加したレベルの P D - L 1 バイオマーカーを有し、P D - L 1 バイオマーカーの存在又は増加したレベルが、個体を P D - L 1 結合性アンタゴニストで治療すると個体が臨床有益性の増加を有する可能性が高いことを示す、請求項 5 及び 4 0 から 5 1 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 5 3】

臨床有益性の増加が、全生存 (O S)、無進行生存 (P F S)、完全寛解 (C R)、部分寛解 (P R) 又はその組合せにおける相対的な増加を含む、請求項 5 2 に記載のアッセイ。

【請求項 5 4】

臨床有益性の増加が、O S、P F S、又は O S と P F S の両方の相対的な増加を含む、請求項 5 3 に記載のアッセイ。

【請求項 5 5】

P D - L 1 バイオマーカーが、F A C S、ウェスタンブロット、E L I S A、免疫沈降、免疫組織化学法、免疫蛍光法、放射線免疫検定法、ドットブロット法、免疫検出方法、H P L C、表面プラズモン共鳴、光学分光法、質量分析、H P L C、q P C R、R T - q P C R、多重 q P C R 又は R T - q P C R、R N A - s e q、マイクロアレイ分析、S A G E、M a s s A R R A Y 技術、F I S H、又はその組合せを使用して試料中に検出される、請求項 5 及び 4 0 から 5 4 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 5 6】

P D - L 1 バイオマーカーの存在が試料中の免疫組織化学法 (I H C) により検出される、請求項 5 及び 4 0 から 5 5 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 5 7】

P D - L 1 バイオマーカーが抗 P D - L 1 抗体を使用して検出される、請求項 5 及び 4 0 から 5 6 のいずれか一項に記載のアッセイ。

【請求項 5 8】

P D - L 1 バイオマーカーが試料中の核酸発現により検出される、請求項 5 及び 4 0 から 5 5 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 5 9】

P D - L 1 バイオマーカーが、P D - L 1、P D - 1、及び P D - L 2 又はその組合せである、請求項 5 8 に記載のアッセイ。

【請求項 6 0】

一以上の T 細胞関連マーカーが核酸発現により検出される、請求項 4 1 から 5 5、5 8 及び 5 9 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 6 1】

C X 3 C L 1、C D 4 5 R O、I D O 1、ガレクチン 9、M I C - A、M I C - B、C T L A - 4 又はその組合せが、核酸発現により検出される、請求項 4 3 から 5 5 及び 5 8 から 6 0 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 6 2】

試料において検出された核酸発現のレベルの、参照試料のものと比較した増加が、個体を P D - L 1 結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより高い可能性を意味し、

試料において検出された核酸発現のレベルの、参照試料のものと比較した減少が、癌を有する個体を P D - L 1 結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより低い可能性を意味する、請求項 5 8 から 6 1 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 6 3】

P D - L 1 バイオマーカーは R T - q P C R 又は R N A - s e q を使用して検出される、請求項 5 8 から 6 2 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 6 4】

P D - L 1 バイオマーカーが、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞又はその組合せにおいて検出される、請求項 5 及び 4 0 から 6 3 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 6 5】

P D - L 1 結合性アンタゴニストが、P D - L 1 のそのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する、請求項 5 及び 4 0 から 6 4 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 6 6】

P D - L 1 結合性アンタゴニストが、P D - L 1 の P D - 1 への結合、P D - L 1 の B 7 - 1 への結合、又は P D - L 1 の P D - 1 及び B 7 - 1 の両方への結合を阻害する、請求項 6 5 に記載のアッセイ。

【請求項 6 7】

P D - L 1 結合性アンタゴニストが抗体である、請求項 5 及び 4 0 から 6 6 の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項 6 8】

抗体が抗 P D - L 1 抗体である、請求項 6 7 に記載のアッセイ。

【請求項 6 9】

10

20

30

40

50

抗PD-L1抗体がMPDL3280Aである、請求項68に記載のアッセイ。

【請求項70】

抗体がモノクローナル、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である、請求項67又は68に記載のアッセイ。

【請求項71】

細胞傷害剤、化学療法剤、増殖阻害剤、放射線療法剤、抗血管新生剤、又はその組合せは、PD-L1バイオマーカーの存在又はレベルに基づいてPD-L1結合性アンタゴニストとの組合せが推奨される、請求項5及び40から70の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項72】

10

参照試料が、

- (a) 治療を受ける個体でない1以上の癌を有する個体からの試料
- (b) 治療を受ける個体でない1以上の健康な個体からの試料、又は
- (c) 治療を受ける個体からの試料

である、請求項5及び40から71の何れか一項に記載のアッセイ。

【請求項73】

参照試料が、組織試料、血漿試料、又は血清試料である、請求項72に記載のアッセイ。

【請求項74】

20

PD-L1バイオマーカーが、PD-L1、PD-1、PD-L2又はその組合せである、請求項6に記載のキット。

【請求項75】

一以上のT細胞関連マーカーの存在又はレベルを決定するための一以上の試薬を更に含む、請求項6又は74に記載のキット。

【請求項76】

一以上のT細胞関連マーカーが、CD8A、IFN-γ、EOMES、グランザイム-A、グランザイム-B、CXCL9又はその組合せである、請求項75に記載のキット。

【請求項77】

CX3CL1、CD45RO、IDO1、ガレクチン9、MIC-A、MIC-B、CTLA-4又はその組合せの存在又はレベルを決定するための一以上の試薬を更に含む、請求項6及び74から76の何れか一項に記載のキット。

30

【請求項78】

癌が、肺癌、腎臓癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、メラノーマ、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌、又は血液悪性腫瘍である、請求項6及び74から77の何れか一項に記載のキット。

【請求項79】

- (a) 肺癌が非小細胞肺癌であるか、
- (b) 腎臓癌が腎細胞癌であるか、
- (c) 乳癌が三種陰性乳癌であるか、又は
- (d) 膀胱癌が尿路上皮膀胱癌であるか、

40

請求項78に記載のキット。

【請求項80】

個体から得られる試料が、組織試料、全血試料、血漿試料、血清試料又はその組合せである、請求項6及び74から79の何れか一項に記載のキット。

【請求項81】

- (a) 組織試料が腫瘍組織試料であるか、又は
- (b) 全血試料が免疫細胞、循環性腫瘍細胞、又は免疫細胞と循環性腫瘍細胞の両方を含む、請求項80に記載のキット。

【請求項82】

50

(a) 腫瘍組織試料は、腫瘍試料中の腫瘍領域の 1 % をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞における検出可能な発現レベルの PD - L 1 バイオマーカーを有することが決定されるか、

(b) 腫瘍組織試料は、腫瘍試料中の腫瘍領域の 5 % をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞における検出可能な発現レベルの PD - L 1 バイオマーカーを有することが決定されるか、又は

(c) 腫瘍組織試料は、腫瘍試料中の腫瘍領域の 10 % をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞における検出可能な発現レベルの PD - L 1 バイオマーカーを有することが決定される、請求項 8 1 に記載のキット。

【請求項 8 3】

10

腫瘍組織試料が、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞又はその組合せを含む、請求項 8 1 又は 8 2 に記載のキット。

【請求項 8 4】

組織試料が、ホルマリン固定及びパラフィン包埋され、新鮮なままで又は凍結されて保管される、請求項 8 0 から 8 3 の何れか一項に記載のキット。

【請求項 8 5】

試料が PD - L 1 結合性アンタゴニストによる治療の前に得られる、請求項 6 及び 7 4 から 8 4 の何れか一項に記載のキット。

【請求項 8 6】

PD - L 1 が個体からの試料中に存在するか、個体からの試料が、参照試料中の PD - L 1 のレベルと比較して増加したレベルの PD - L 1 バイオマーカーを有し、PD - L 1 バイオマーカーの存在又は増加したレベルが、個体を PD - L 1 結合性アンタゴニストで治療すると個体が臨床有益性の増加を有する可能性が高いことを示す、請求項 6 及び 7 4 から 8 5 の何れか一項に記載のキット。

20

【請求項 8 7】

臨床有益性の増加が、全生存 (OS)、無進行生存 (PFS)、完全寛解 (CR)、部分寛解 (PR) 又はその組合せの相対的な増加を含む、請求項 8 6 に記載のキット。

【請求項 8 8】

臨床有益性の増加が、OS、PFS、又は OS と PFS の両方の相対的な増加を含む、請求項 8 7 に記載のキット。

30

【請求項 8 9】

PD - L 1 バイオマーカーが、FACS、ウェスタンブロット、ELISA、免疫沈降、免疫組織化学法、免疫蛍光法、放射線免疫検定法、ドットブロット法、免疫検出方法、HPLC、表面プラズモン共鳴、光学分光法、質量分析、HPLC、qPCR、RT - qPCR、多重 qPCR 又は RT - qPCR、RNA - seq、マイクロアレイ分析、SAGE、MassARRAY 技術、FISH、又はその組合せを使用して試料中に検出される、請求項 6 及び 7 4 から 8 8 の何れか一項に記載のキット。

【請求項 9 0】

PD - L 1 バイオマーカーの存在が試料中の免疫組織化学法 (IHC) により検出される、請求項 6 及び 7 4 から 8 9 の何れか一項に記載のキット。

40

【請求項 9 1】

PD - L 1 バイオマーカーが抗 PD - L 1 抗体を使用して検出される、請求項 6 及び 7 4 から 9 0 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 9 2】

PD - L 1 バイオマーカーが試料中の核酸発現により検出される、請求項 6 及び 7 4 から 8 9 の何れか一項に記載のキット。

【請求項 9 3】

PD - L 1 バイオマーカーが、PD - L 1、PD - 1、PD - L 2 又はその組合せである、請求項 9 2 に記載のキット。

【請求項 9 4】

50

ー以上のT細胞関連マーカーが核酸発現により検出される、請求項7 5から8 9、9 2及び9 3の何れか一項に記載のキット。

【請求項 9 5】

C X 3 C L 1、C D 4 5 R O、I D O 1、ガレクチン 9、M I C - A、M I C - B、C T L A - 4 又はその組合せが、核酸発現により検出される、請求項7 7から8 9及び9 2から9 4の何れか一項に記載のキット。

【請求項 9 6】

試料において検出された核酸発現のレベルの、参照試料のものと比較した増加が、個体を P D - L 1 結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより高い可能性を意味し、

試料において検出された核酸発現のレベルの、参照試料のものと比較した減少が、癌を有する個体を P D - L 1 結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより低い可能性を意味する、請求項9 2から9 5の何れか一項に記載のキット。

10

【請求項 9 7】

P D - L 1 バイオマーカーは R T - q P C R 又は R N A - s e q を使用して検出される、請求項9 2から9 6の何れか一項に記載のキット。

【請求項 9 8】

P D - L 1 バイオマーカーが、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞又はその組合せにおいて検出される、請求項6及び7 4から9 7の何れか一項に記載のキット。

【請求項 9 9】

P D - L 1 結合性アンタゴニストが、P D - L 1 のそのリガンド結合パートナーへの結合を阻害する、請求項6及び7 4から9 8の何れか一項に記載のキット。

20

【請求項 1 0 0】

P D - L 1 結合性アンタゴニストが、P D - L 1 の P D - 1 への結合、P D - L 1 の B 7 - 1 への結合、又は P D - L 1 の P D - 1 及び B 7 - 1 の両方への結合を阻害する、請求項9 9に記載のキット。

【請求項 1 0 1】

P D - L 1 結合性アンタゴニストが抗体である、請求項6及び7 4から1 0 0の何れか一項に記載のキット。

【請求項 1 0 2】

抗体が抗 P D - L 1 抗体である、請求項1 0 1に記載のキット。

30

【請求項 1 0 3】

抗 P D - L 1 抗体が M P D L 3 2 8 0 A である、請求項1 0 2に記載のキット。

【請求項 1 0 4】

抗体がモノクローナル、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である、請求項1 0 1又は1 0 2に記載のキット。

【請求項 1 0 5】

参照試料が、

(a) 治療を受ける個体でない 1 以上の癌を有する個体からの試料

(b) 治療を受ける個体でない 1 以上の健康な個体からの試料、又は

(c) 治療を受ける個体からの試料

40

である、請求項6及び7 4から1 0 4の何れか一項に記載のキット。

【請求項 1 0 6】

参照試料が、組織試料、血漿試料又は血清試料である、請求項1 0 5に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願とのクロスリファレンス

本出願は、ここに出典明示により完全に援用される、2 0 1 3 年 3 月 1 5 日に出願の米国特許仮出願第 6 1 / 8 0 2 2 9 6 号；2 0 1 3 年 4 月 1 6 日に出願の第 6 1 / 8 1 2 6

50

78号；2013年5月30日に出願の第61/829236号及び2013年9月26日に出願の第61/883186号の優先権を主張する。

【0002】

本明細書において、病態、例えば癌の治療のためのバイオマーカー、及びPD-L1/PD-1経路アンタゴニストを使用する方法が提供される。詳細には、癌における患者選択及び予後診断のためのバイオマーカー、並びに治療処置方法、製品及びそれらの作製方法、診断キット、検出方法及びそれに関連する宣伝方法が提供される。

【背景技術】

【0003】

癌は、ヒトの健康への最も致命的な脅威の1つであり続ける。米国では、癌は毎年ほぼ1,300,000人の新規患者に影響を及ぼし、心疾患に次いで第2の主要な死因であり、4例中およそ1例の死亡を占める。例えば、肺癌は、アメリカの女性の間で最も一般的な形の癌であり、主要な癌キラーである。癌が、5年以内に第1の死因として心血管疾患を凌ぐ可能性があるとして予測されてもいる。固形腫瘍は、それらの死亡のほとんどの原因である。特定の癌の医療においてかなりの進歩があったが、全ての癌の全体的5年生存率は過去20年で約10%改善しただけである。癌又は悪性腫瘍は、転移し、無制限に速やかに増殖し、タイムリーな検出及び治療を極めて困難にする。

【0004】

癌の治療におけるかなりの進歩にもかかわらず、向上した療法がまだ求められている。

【0005】

特許出願及び公開を含む本明細書で引用される全ての参考文献は、出典明示により完全に援用される。

【発明の概要】

【0006】

本明細書において、PD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療にตอบสนองする可能性がより高い、疾患又は障害を有する個体を同定する方法であって、個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在を判定することであって、試料中のPD-L1バイオマーカーの存在は個体がPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療にตอบสนองする可能性がより高いことを示すこと、及び個体がPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療にตอบสนองする可能性がより高いとの推奨を提供することを含む方法が提供される。

【0007】

本明細書において、PD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療に対する疾患又は障害を有する個体の応答を予測する方法であって、個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在を判定することであって、試料中のPD-L1バイオマーカーの存在は個体がPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療に応答性である可能性がより高いことを示すこと、及び個体がPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療に応答性である可能性の増加を有するとの推奨を提供することを含む方法が提供される。

【0008】

本明細書において、疾患又は障害を有する個体がPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療の有益性を示す可能性を判定する方法であって、個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在を判定することであって、試料中のPD-L1バイオマーカーの存在は個体がPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療が有益である可能性の増加を有することを示すこと、及び個体がPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療が有益である可能性の増加を有するとの推奨を提供することを含む方法が提供される。

【0009】

本明細書において、疾患又は障害を有する個体のための療法を選択する方法であって、個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在を判定すること、及び試料中のPD-L1バイオマーカーの存在に基づいて、個体のために選択される療法がPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療を含むとの推奨を提供することを含む方法が提供される。

【0010】

一部の実施態様では、方法は、PD-L1軸結合性アンタゴニストの有効量を個体に投与することを更に含む。

【0011】

本明細書において、個体において疾患又は障害を治療する方法であって、個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在を判定すること、及びPD-L1軸結合性アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む方法が提供される。

【0012】

本明細書において、個体において疾患又は障害を治療する方法であって、PD-L1軸結合性アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含み、治療は個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在に基づく方法が提供される。

10

【0013】

本明細書において、PD-L1軸結合性アンタゴニストを宣伝する方法であって、PD-L1バイオマーカーの存在に基づいて、疾患又は障害を有する個体を治療するためのPD-L1軸結合性アンタゴニストの使用を対象オーディエンスに促進することを含む方法が提供される。

【0014】

本明細書において、PD-L1軸結合性アンタゴニストを受けるための、疾患又は障害を有する個体を同定するアッセイであって、個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在を判定すること、及びPD-L1バイオマーカーの存在に基づいてPD-L1軸結合性アンタゴニストを推奨することを含む方法が提供される。

20

【0015】

本明細書において、疾患又は障害を有する個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在を判定するための1つ又は複数の試薬を含む診断キットであって、PD-L1バイオマーカーの存在は、個体をPD-L1軸結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより高い可能性を意味し、PD-L1バイオマーカーの不在は、前記疾患を有する個体をPD-L1軸結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより低い可能性を意味する診断キットが提供される。

【0016】

本明細書において、一緒に包装されている、薬学的に許容される担体中のPD-L1軸結合性アンタゴニスト及び、PD-L1軸結合性アンタゴニストは、PD-L1バイオマーカーの発現に基づいて、疾患又は障害を有する患者を治療するためのものであることを示す添付文書を含む製品も提供される。治療方法には、本明細書に開示される治療方法の何れも含まれる。製品を製造する方法であって、PD-L1軸結合性アンタゴニストを含む薬学的組成物と、薬学的組成物は、PD-L1バイオマーカーの発現に基づいて疾患又は障害を有する患者を治療するためのものであることを示す添付文書とをパッケージ中に組み合わせることを含む方法も更に提供される。

30

【0017】

方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様において、PD-L1バイオマーカーは、PD-L1、PD-1、PD-L2及びその任意の組合せからなる群から選択される。

40

【0018】

方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様において、PD-L1バイオマーカーは免疫関連マーカーである。一部の実施態様では、免疫関連マーカーはT細胞関連マーカーである。一部の実施態様では、T細胞関連マーカーは、CD8A、IFN-g、EOMES、グランザイム-A、CXCL9及びその任意の組合せからなる群から選択される。一部の実施態様では、免疫関連マーカーは、CX3CL1、CD45RO、IDO1、ガレクチン9、MIC-A、MIC-B、CTLA-4及びその任意の組合せからなる群から選択される。

【0019】

方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、疾患又は障害は増殖

50

性の疾患又は障害である。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、疾患又は障害は免疫関連の疾患又は障害である。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、疾患又は障害は癌である。一部の実施態様では、癌は、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、メラノーマ、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌及び他の血液悪性腫瘍からなる群から選択される。

【 0 0 2 0 】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、個体から得られる試料は、組織、全血、血漿、血清及びその組合せからなる群から選択される。一部の実施態様では、組織試料は腫瘍組織試料である。一部の実施態様では、腫瘍組織試料は、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞及びその任意の組合せを含む。一部の実施態様では、組織試料は、ホルマリン固定及びパラフィン包埋され、新鮮なままで又は凍結されて保管される。一部の実施態様では、試料は全血である。一部の実施態様では、全血は、免疫細胞、循環性腫瘍細胞及びその任意の組合せを含む。

10

【 0 0 2 1 】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、試料は P D - L 1 軸結合性アンタゴニストによる治療の前に得られる。

【 0 0 2 2 】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカの存在は、個体を P D - L 1 軸結合性アンタゴニストで治療すると個体が臨床有益性の増加を有する可能性が高いことを示す。一部の実施態様では、臨床有益性の増加は、全生存 (O S)、無進行生存 (P F S)、完全寛解 (C R)、部分寛解 (P R) 及びその組合せの 1 つ又は複数の相対的な増加を含む。

20

【 0 0 2 3 】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカが試料の 0 % を構成する場合、P D - L 1 バイオマーカは試料中に存在しない。

【 0 0 2 4 】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカが試料の 0 % を超えて構成する場合、P D - L 1 バイオマーカは試料中に存在する。一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカは試料の少なくとも 1 % に存在する。一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカは試料の少なくとも 5 % に存在する。一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカは試料の少なくとも 1 0 % に存在する。

30

【 0 0 2 5 】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカは、F A C S、ウェスタンブロット、E L I S A、免疫沈降、免疫組織化学法、免疫蛍光法、放射線免疫検定法、ドットブロット法、免疫検出方法、H P L C、表面プラズモン共鳴、光学分光法、質量分析、H P L C、q P C R、R T - q P C R、多重 q P C R 又は R T - q P C R、R N A - s e q、マイクロアレイ分析、S A G E、M a s s A R R A Y 技術及び F I S H、及びその組合せからなる群から選択される方法を使用して試料中に検出される。

40

【 0 0 2 6 】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカはタンパク質発現によって試料中に検出される。一部の実施態様では、タンパク質発現は、免疫組織化学法 (I H C) によって判定される。一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカは抗 P D - L 1 抗体を使用して検出される。一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカは、I H C によって弱い染色強度として検出される。一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカは、I H C によって中程度の染色強度として検出される。一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカは、I H C によって強い染色強度として検出される。一部の実施態様では、P D - L 1 バイオマーカは、腫瘍細胞、腫瘍浸

50

潤免疫細胞、間質細胞及びその任意の組合せにおいて検出される。一部の実施態様では、染色は、膜染色、細胞質染色又はその組合せである。

【0027】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーの不在は試料中の不在又は無染色として検出される。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーの存在は試料中の任意の染色として検出される。

【0028】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様において、PD-L1バイオマーカーは核酸発現によって試料中に検出される。一部の実施態様では、核酸発現はqPCR、RT-qPCR、多重qPCR若しくはRT-qPCR、RNA-seq、マイクロアレイ分析、SAGE、MassARRAY技術又はFISHを使用して判定される。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞及びその任意の組合せにおいて検出される。

10

【0029】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストは、PD-L1結合性アンタゴニスト及びPD-1結合性アンタゴニストからなる群から選択される。

【0030】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストはPD-L1結合性アンタゴニストである。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、そのリガンド結合パートナーへのPD-L1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、PD-1へのPD-L1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、B7-1へのPD-L1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、PD-1及びB7-1へのPD-L1の結合を阻害する。

20

【0031】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは抗体である。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、抗体はモノクローナル抗体である。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、抗体は、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である。

30

【0032】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストはPD-1結合性アンタゴニストである。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、そのリガンド結合パートナーへのPD-1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L1へのPD-1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストはPD-L2へのPD-1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L1及びPD-L2の両方へのPD-1の結合を阻害する。

40

【0033】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは抗体である。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、抗体はモノクローナル抗体である。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、抗体は、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である。

【0034】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、細胞傷害剤、化学療

50

法剤、増殖阻害剤、放射線療法剤及び抗血管新生剤、及びその組合せからなる群から選択される第2の治療薬の有効量を更に含む。

【0035】

本明細書において、PD-L1軸結合性アンタゴニストによる個体の治療応答を評価する方法であって、(a)PD-L1軸結合性アンタゴニストの投与中又は投与後の時点で個体に由来する生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルを判定すること、及び(b)生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルと参照レベルとの比較に基づいて個体の治療を維持するか、調整するか、又は停止することを含み、参照レベルと比較した生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルの変化はPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療への応答の指標となる方法が提供される。

10

【0036】

本明細書において、PD-L1軸結合性アンタゴニストによって治療される個体の応答を監視する方法であって、(a)PD-L1軸結合性アンタゴニストの投与中又は投与後の時点で個体に由来する生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルを判定すること、及び(b)PD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療を受けている個体における応答を監視するために、生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルを参照レベルと比較することを含む方法が提供される。

【0037】

一部の実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーの参照レベルは、(1)PD-L1軸結合性アンタゴニストの投与前の個体からの1つ又は複数のバイオマーカーのレベル；(2)参照集団からの1つ又は複数のバイオマーカーのレベル；(3)1つ又は複数のバイオマーカーの前もって割り当てられたレベル；及び(4)第1の時点より前の第2の時点での個体からの1つ又は複数のバイオマーカーのレベルからなる群から選択される。

20

【0038】

一部の実施態様では、参照レベルと比較した生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルの変化は、レベルの増加である。

【0039】

一部の実施態様では、参照レベルと比較した生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルの変化は、レベルの低下である。

【0040】

一部の実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーは、PD-L1、PD-1、PD-L2及びその任意の組合せからなる群から選択される。

30

【0041】

一部の実施態様では、PD-L1、PD-1、PD-L2及びその任意の組合せからなる群から選択される1つ又は複数のバイオマーカーは、参照レベルと比較して生物学的試料中で増加する。一部の実施態様では、参照レベルと比較したPD-L1、PD-1、PD-L2及びその任意の組合せからなる群から選択される1つ又は複数のバイオマーカーの生物学的試料中の増加は、治療に対する陽性応答の指標となる。

【0042】

一部の実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーは免疫関連マーカーである。一部の実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーはT細胞関連マーカーである。

40

【0043】

一部の実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーはT細胞活性化マーカーである。

【0044】

一部の実施態様では、参照レベルと比較して、T細胞活性化マーカーは生物学的試料中で増加する。

【0045】

一部の実施態様では、T細胞活性化マーカーは、CD8、IFN- γ 、グランザイム-A、TNF- α 、パーフォリン及びその任意の組合せからなる群から選択される。一部の実施態様では、参照レベルと比較したCD8、IFN- γ 、グランザイム-A、TNF-

50

a、パーフォリン及びその任意の組合せからなる群から選択されるT細胞活性化マーカーの生物学的試料中の増加は、治療に対する陽性応答の指標となる。

【0046】

一部の実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーは活性化された増殖性T細胞である。

【0047】

一部の実施態様では、参照レベルと比較して、活性化された増殖性T細胞は生物学的試料中で増加する。

【0048】

一部の実施態様では、活性化された増殖性T細胞はCD8+/Ki67+細胞、CD8+/HLA-DR+/Ki67+細胞及びその任意の組合せである。

10

【0049】

一部の実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーはIL-6である。一部の実施態様では、参照レベルと比較してIL-6レベルは生物学的試料中で低下する。一部の実施態様では、参照レベルと比較した生物学的試料中のIL-6レベルの低下は、治療に対する陽性応答の指標となる。一部の実施態様では、参照レベルと比較してIL-6レベルは生物学的試料中で増加する。一部の実施態様では、参照レベルと比較した生物学的試料中のIL-6レベルの増加は、治療に対する陰性応答の指標となる。

【0050】

一部の実施態様では、個体に由来する生物学的試料は、細胞、組織、組織培養物、腫瘍、生体液及びその組合せからなる群から選択される。

20

【0051】

一部の実施態様では、生体液は、血漿、血清、全血、PBMC及びその組合せからなる群から選択される。

【0052】

一部の実施態様では、組織は腫瘍組織である。一部の実施態様では、腫瘍組織は、腫瘍細胞、腫瘍浸潤細胞、間質細胞及びその任意の組合せからなる群から選択される。

【0053】

一部の実施態様では、細胞は循環性腫瘍細胞(CTC)である。

【0054】

一部の実施態様では、個体は増殖性の疾患又は障害を患う。

30

【0055】

一部の実施態様では、個体は癌又は悪性腫瘍を患う。一部の実施態様では、癌又は悪性腫瘍は、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、メラノーマ、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髄腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌及び他の血液悪性腫瘍から選択される。

【0056】

一部の実施態様では、個体は免疫関連の疾患又は障害を患う。

【0057】

一部の実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストはPD-L1結合性アンタゴニストである。

40

【0058】

一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、そのリガンド結合パートナーへのPD-L1の結合を阻害する。

【0059】

一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、PD-1へのPD-L1の結合を阻害する。一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、B7-1へのPD-L1の結合を阻害する。一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、PD-1及びB7-1の両方へのPD-L1の結合を阻害する。

50

【0060】

一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは抗体である。一部の実施態様では、抗体はモノクローナル抗体である。一部の実施態様では、抗体は、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である。

【0061】

一部の実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストは、PD-1結合性アンタゴニストである。

【0062】

一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、そのリガンド結合パートナーへのPD-1の結合を阻害する。

10

【0063】

一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L1へのPD-1の結合を阻害する。一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L2へのPD-1の結合を阻害する。一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L1及びPD-L2の両方へのPD-1の結合を阻害する。

【0064】

一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは抗体である。一部の実施態様では、抗体はモノクローナル抗体である。一部の実施態様では、抗体は、ヒトの、ヒト化された又はキメラの抗体である。

【0065】

20

特許又は出願ファイルは、カラーで実行された少なくとも1つの図面を含有する。カラー図面を有する本特許又は特許出願公開のコピーは、要求及び必要な手数料の支払時にオフィスによって提供されることになる。

【図面の簡単な説明】

【0066】

【図1】コントロール細胞試料の例示的IHC分析を示す図である。(A)親HEK-293細胞のネガティブコントロールIHC染色；(B)弱い染色強度を有する組換えヒトPD-L1でトランスフェクトされたHEK-293細胞のIHC染色；(C)中程度の染色強度を有する組換えヒトPD-L1でトランスフェクトされたHEK-293細胞のIHC染色；(D)強い染色強度を有する組換えヒトPD-L1でトランスフェクトされたHEK-293細胞のIHC染色；(E)胎盤組織試料のポジティブ組織コントロールIHC染色；(F)扁桃組織試料のポジティブ組織コントロールIHC染色。全てのIHC染色を、専売の抗PD-L1抗体を使用して行った。

30

【図2】(A)三種陰性乳癌；(B)悪性メラノーマ；(C)NSCLC、腺癌からの腫瘍試料の例示的PD-L1陽性IHC染色を示す図である。

【図3】癌患者における抗PD-L1治療に対するPD又はPR/CR応答を有する腫瘍浸潤免疫細胞におけるPD-L1発現の相関を示す図である。PD=進行性疾患；PR=部分寛解；CR=完全寛解。(A)PD-L1 IHC分析を使用した、腫瘍試料領域内のPD-L1+腫瘍浸潤免疫細胞の%。(B)PD-L1 IHC分析を使用した、腫瘍試料内の総免疫浸潤物内のPD-L1+ICの%。

40

【図4】PD-L1 qPCR分析を使用した、癌患者における抗PD-L1治療に対するPD又はPR/CR応答を有する腫瘍試料中のPD-L1遺伝子発現の相関を示す図である。PD=進行性疾患；PR=部分寛解；CR=完全寛解。

【図5】癌患者における抗PD-L1治療に対するPD又はPR/CR応答を有する腫瘍試料中のPD-1遺伝子発現の相関を示す図である。PD=進行性疾患；PR=部分寛解；CR=完全寛解。

【図6】癌患者における抗PD-L1治療に対するPD又はPR応答を有する腫瘍試料中の様々な免疫遺伝子発現の相関を示す図である。PD=進行性疾患；PR=部分寛解。

【図7】抗PD-L1抗体で治療した患者からの連続的なプレ/オン治療腫瘍生検の概略図を示す図である。対ベースライン(プレ治療又はアーカイブ腫瘍組織を含む)、及びメ

50

メラノーマ、腎細胞癌（RCC）、非小細胞肺癌（NSCLC）、頭頸部癌（H&N）、結腸直腸癌（CRC）、胃、及び乳癌を含めた様々な徴候を患う抗PD-L1抗体で治療した患者（n = 26）からのオン治療腫瘍生検材料を査定した。

【図8】（a）CD8+T細胞浸潤の増加が、抗PD-L1抗体による治療に応答する患者からの腫瘍試料中のPD-L1発現の増加と関連していたこと；及び（b）抗PD-L1抗体による治療に応答する患者における抗PD-L1抗体による治療後の、グランザイムA、パーフォリン、IFN- γ 、TNF α 及びCD8を含めたT細胞活性化マーカーの増加を示す図である。

【図9】抗PD-L1抗体治療を受けている患者におけるPD-L1発現の変化を要約する図である。

10

【図10】抗PD-L1抗体による治療を受けている患者において、（a）CD8+/K κ 67+細胞であると同定された、血液中の増殖性T細胞の発生頻度の増加；及び（b）CD8+/HLA-DR+/K κ 67+細胞であると同定された、活性化された増殖性T細胞の発生頻度の増加を示す図である。

【図11】血漿中のIL-6レベルの低下が、抗PD-L1抗体治療に応答する患者と関連しており、血漿中のIL-6レベルの増加が、抗PD-L1抗体治療で進行する患者と関連していたことを示す図である。

【図12】癌患者における抗PD-L1治療に対するPD又はPR/CR応答を有する腫瘍試料中の様々な免疫遺伝子発現の相関を示す図である。PD = 進行性疾患；PR = 部分寛解；CR = 完全寛解。

20

【図13】癌患者における抗PD-L1治療に対するPD又はPR/CR応答を有するメラノーマ又はNSCLCからの腫瘍試料中のIDO1遺伝子発現の相関を示す図である。PD = 進行性疾患；PR = 部分寛解；CR = 完全寛解。

【図14】抗PD-L1抗体による治療に応答する患者から採取した血液中の循環性T細胞上のPD-L1発現の増加を示す図である。PD = 進行性疾患；PR = 部分寛解；CR = 完全寛解。

【図15】癌患者における抗PD-L1治療に対するPD又はPR/CR応答を有する腫瘍試料中の、細胞傷害性Th1細胞、IFN- γ 及びT細胞輸送マーカーの遺伝子発現の相関を示す図である。PD = 進行性疾患；PR = 部分寛解；CR = 完全寛解。

【図16】抗PD-L1抗体による治療に応答するメラノーマ患者におけるT細胞活性化マーカーの増加を示す図である。

30

【図17】抗PD-L1抗体による治療に応答しないメラノーマ患者におけるT細胞活性化マーカーにおける腫瘍内T細胞の低い発生頻度及びT細胞活性化の欠如を示す図である。

【図18】抗PD-L1抗体による治療に応答する患者の血液中のCD8+/HLA-DR+/K κ 67+活性化T細胞の発生頻度の一過性の増加を示す図である。

【図19】このT細胞集団の遅延性の増加が応答と相関し、低下が疾患進行と相関する、CD4+/ICOS+T細胞の増減（サイクル3後に起こる）を示す図である。

【図20】PD-L1発現の適応性の増加が、抗PD-L1抗体による治療に応答する患者において顕著であることを示す図である。

40

【図21】フラクタルカイン/CX3CL1の発現が進行と相関した一方、抗PD-L1抗体による治療に対する応答とCTLA4発現の相関を示す図である。

【図22】6つの癌徴候にわたって、Teff（Tエフェクター）細胞、Treg（T制御）細胞、及びTh17細胞と関連している遺伝子サインの相関を示す図である。

【図23】抗PD-L1治療に応答しない患者におけるIL17Fのより高い腫瘍遺伝子発現に向かう傾向を示す図である。R = 応答者；nR = 非応答者。

【図24】IL-17Fの腫瘍遺伝子発現が、抗PD-L1治療に対する遅い応答を有する患者においてより高いことを示す図である。

【図25】抗PD-L1抗体による治療を受けている患者における循環性CD8+/HLA-DR+/K κ 67+細胞の一過性の増加を示す図である。（a）UBC患者における

50

、(b)全ての患者における。

【図26】抗PD-L1抗体による治療を受けている患者における血漿IL-18の一過性の増加を示す図である。更に、ベースライン血漿MCP-1は、抗PD-L1治療に対する部分寛解/完全寛解(PR/CR)を有する患者においてより低かった。IL-18及びMCP-1の両方も、単球において主に発現された。

【図27】抗PD-L1抗体による治療後に進行した患者からのプレ治療腫瘍が、骨髄細胞(例えば、単球、樹状細胞)において主に発現された、比例的により高い骨髄遺伝子サイン(IL-8、CCL2、及びIL1B)を示したことを示す図である。

【図28】抗PD-L1抗体による治療に応答する患者の血液中の可溶性PD-L1の相関を示す図である。

10

【図29】腫瘍浸潤免疫細胞(IC)におけるPD-L1発現と抗PD-L1治療に対する応答の間の関連を示す図である。(a)NSCLCにおける、(b)全ての腫瘍における。

【図30】腫瘍細胞におけるPD-L1発現と抗PD-L1治療に対する応答の間の関連を示す図である。(a)NSCLCにおける、(b)全ての腫瘍における。

【発明を実施するための形態】

【0067】

定義

用語「PD-L1軸結合性アンタゴニスト」は、PD-1シグナル伝達軸でのシグナル伝達からもたらされるT細胞機能不全を取り除き、結果としてT細胞機能を回復又は増強するために、その結合パートナーの1つ又は複数とのPD-L1軸結合パートナーの相互作用を阻害する分子である。本明細書で用いるように、PD-L1軸結合性アンタゴニストには、PD-L1結合性アンタゴニスト及びPD-1結合性アンタゴニスト、並びにPD-L1とPD-1の間の相互作用(例えば、PD-L2-Fc融合)を妨害する分子が含まれる。

20

【0068】

用語「PD-L1結合性アンタゴニスト」は、PD-1、B7-1などのその結合パートナーの1つ又は複数とのPD-L1の相互作用からもたらされるシグナル伝達を低減、ブロック、阻害、抑止又は妨害する分子である。一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、その結合パートナーへのPD-L1の結合を阻害する分子である。具体的な態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、PD-1及び/又はB7-1へのPD-L1の結合を阻害する。一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストには、PD-1、B7-1などのその結合パートナーの1つ又は複数とのPD-L1の相互作用からもたらされるシグナル伝達を低減、ブロック、阻害、抑止又は妨害する、抗PD-L1抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド及び他の分子が含まれる。一実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、機能不全のT細胞をより非機能不全にさせないように、Tリンパ球及び他の細胞の上で発現される細胞表面タンパク質により又はそれを通して媒介される陰性シグナル、PD-L1又はPD-1を通して媒介されるシグナル伝達を低減する。

30

【0069】

用語「PD-1結合性アンタゴニスト」は、PD-L1、PD-L2などのその結合パートナーの1つ又は複数とのPD-1の相互作用からもたらされるシグナル伝達を低減、ブロック、阻害、抑止又は妨害する分子である。一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、その結合パートナーへのPD-1の結合を阻害する分子である。具体的な態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L1及び/又はPD-L2へのPD-1の結合を阻害する。例えば、PD-1結合性アンタゴニストには、PD-L1及び/又はPD-L2とのPD-1の相互作用からもたらされるシグナル伝達を低減、ブロック、阻害、抑止又は妨害する、抗PD-1抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド及び他の分子が含まれる。一実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、機能不全のT細胞をより非機能不全にさせないように、Tリンパ

40

50

球及び他の細胞の上で発現される細胞表面タンパク質により又はそれを通して媒介される陰性シグナル、PD-1又はPD-L1を通して媒介されるシグナル伝達を低減する。

【0070】

本明細書において用語「プログラム死リガンド1」及び「PD-L1」は、天然配列PD-L1ポリペプチド、ポリペプチド変異体並びに天然配列ポリペプチド及びポリペプチド変異体の断片（本明細書において更に規定される）を指す。本明細書に記載されるPD-L1ポリペプチドは、様々な供給源、例えばヒト組織型、又は別の供給源から単離されるか、又は組換え若しくは合成の方法によって調製されるものであってもよい。

【0071】

「天然配列PD-L1ポリペプチド」は、天然に由来する対応するPD-L1ポリペプチドと同じアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。

【0072】

「PD-L1ポリペプチド変異体」又はその変形は、本明細書に開示される天然の配列PD-L1ポリペプチド配列の何れかと少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有する、本明細書に規定されるPD-L1ポリペプチド、一般に活性PD-L1ポリペプチドを意味する。そのようなPD-L1ポリペプチド変異体には、例えば、天然のアミノ酸配列のN末端又はC末端で1つ又は複数のアミノ酸残基が付加されるか欠失している、PD-L1ポリペプチドが含まれる。通常、PD-L1ポリペプチド変異体は、本明細書に開示される天然の配列PD-L1ポリペプチド配列と少なくとも約80%の配列同一性、あるいは、少なくとも約81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%のアミノ酸配列同一性を有する。通常、PD-L1変異体ポリペプチドは、長さが少なくとも約10アミノ酸、あるいは長さが少なくとも約20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、281、282、283、284、285、286、287、288、289アミノ酸かそれ以上である。任意選択的に、PD-L1変異体ポリペプチドは、天然のPD-L1ポリペプチド配列と比較して1つ以下の保守的アミノ酸置換を、あるいは天然のPD-L1ポリペプチド配列と比較して2、3、4、5、6、7、8、9又は10個以下の保守的アミノ酸置換を有する。

【0073】

本明細書に規定される用語「PD-L1アンタゴニスト」は、天然の配列PD-L1によって媒介される生物活性及び/又は機能を部分的又は完全にブロック、阻害又は中和する任意の分子である。ある特定の実施態様では、そのようなアンタゴニストはPD-L1に結合する。一実施態様では、アンタゴニストはポリペプチドである。別の実施態様では、アンタゴニストは抗PD-L1抗体である。別の実施態様では、アンタゴニストは小分子アンタゴニストである。別の実施態様では、アンタゴニストはポリヌクレオチドアンタゴニストである。

【0074】

本明細書で互換的に使用されるように、「ポリヌクレオチド」又は「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、DNA及びRNAが含まれる。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾されたヌクレオチド又は塩基、及び/又はそれらのアナログ、又は、DNA若しくはRNAポリメラーゼによって、又は合成反応によってポリマーに組み込むことができる任意の基質であってもよい。ポリヌクレオチドは、修飾されたヌクレオチド、例えばメチル化ヌクレオチド及びそれらのアナログを含むことができる。存在するならば、ヌクレオチド構造の修飾はポリマーのアセンブリーの前後に付与することができる。ヌクレオチド配列には、非ヌクレオチド成分が割り込んでもよい。ポリヌクレオチドは、合成の後に、例えば標識とのコンジュゲーションによって更に修飾されてもよい。他のタイプの修飾には、例えば、天然に存在するヌクレオチドの1つ又は複数のアナログによる「キャップ」置換、インターヌクレオチド修飾、例えば

非荷電結合によるもの（例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホロアミデート、カルバメートなど）、及び荷電結合によるもの（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）、ペンダント部分、例えばタンパク質（例えばヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、 poly-L-リジン など）を含有するもの、インターカレーター（例えば、アクリジン、ソラレンなど）を有するもの、キレーター（例えば、金属、放射性金属、ホウ素、酸化金属など）を含有するもの、アルキル剤を含有するもの、修飾結合を有するもの（例えば、アルファアノマー核酸など）、並びにポリヌクレオチド（一又は複数）の非修飾型が含まれる。更に、糖に通常存在するヒドロキシル基の何れも、例えばホスホネート基、リン酸基と置き換えられるか、標準の保護基によって保護されるか、追加のヌクレオチドへの追加の結合を調製するために活性化されてもよく、又は、固体若しくは半固体の支持体にコンジュゲートされてもよい。5' 及び 3' 末端の OH は、リン酸化されるか、炭素原子数 1 から 20 のアミン又は有機キャップ形成基部分で置換されてもよい。他のヒドロキシルが、標準の保護基に誘導体化されてもよい。ポリヌクレオチドは、当技術分野で一般に公知であるリボース又はデオキシリボース糖の類似形、例えば、2'-O-メチル-、2'-O-アリル、2'-フルオロ-又は 2'-アジド-リボース、炭素環式糖アナログ、 α -アノマー糖、エピマー糖、例えばアラビノース、キシロース又はリキソース、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘブツロース、非環式アナログ及び無塩基ヌクレオシドアナログ、例えばメチルリボシドを含有することもできる。1つ又は複数のホスホジエステル結合が、代替の連結基と置き換えられてもよい。これらの代替の連結基には、限定されずに、リン酸が $\text{P}(\text{O})\text{S}$ （「チオエート」）、 $\text{P}(\text{S})\text{S}$ （「ジチオエート」）、 $(\text{O})\text{NR}_2$ （「アミデート」）、 $\text{P}(\text{O})\text{R}$ 、 $\text{P}(\text{O})\text{OR}'$ 、 CO 又は CH_2 （「ホルムアセタール」）で置き換えられ、そこで、各 R 又は R' は独立して H であるか、又はエーテル（-O-）結合、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル若しくはアラルジルを任意選択的に含有する置換型若しくは非置換型のアルキル（1-20C）である実施態様が含まれる。ポリヌクレオチドの全ての結合が同一である必要があるとは限らない。上の記載は、本明細書において言及される RNA 及び DNA を含む全てのポリヌクレオチドに適用される。

【0075】

本明細書で用いられるように、「オリゴヌクレオチド」は、そうとは限らないが長さが約 250 ヌクレオチド未満である、短い一本鎖ポリヌクレオチドを一般に指す。オリゴヌクレオチドは合成物であってもよい。用語「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」は、互いに排他的でない。ポリヌクレオチドの上の記載は、オリゴヌクレオチドに等しく及び完全に適用できる。

【0076】

用語「プライマー」は、核酸とハイブリダイズすること、及び、一般に遊離 3'-OH 基を提供することによって続く相補的な核酸の重合が可能である一本鎖ポリヌクレオチドを指す。

【0077】

用語「小分子」は、約 2000 ダルトン以下、好ましくは約 500 ダルトン以下の分子量の任意の分子を指す。

【0078】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞系」及び「宿主細胞培養物」は互換的に使用され、そのような細胞の子孫を含む、外因性の核酸が導入された細胞を指す。宿主細胞には「形質転換体」及び「形質転換細胞」が含まれ、それらには、一次形質転換細胞及び継代数に関係なくそれに由来する子孫が含まれる。子孫は親細胞と核酸内容が完全に同一でなくてもよく、突然変異を含有することができる。本明細書において、当初形質転換された細胞でスクリーニング又は選択されたのと同じ機能又は生物活性を有する突然変異体子孫が含まれる。

【0079】

本明細書で用いられるように、用語「ベクター」は、それが結合する別の核酸を増殖させる

10

20

30

40

50

ことが可能な核酸分子を指す。本用語は、自己複製する核酸構造としてのベクター、並びにそれが導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれるベクターを含む。ある特定のベクターは、それらが動作可能に連結された核酸の発現を導くことが可能である。そのようなベクターは、本明細書において「発現ベクター」と呼ばれる。

【0080】

「単離された」抗体は、その天然の環境の成分から分離されたものである。一部の実施態様では、抗体は、例えば電気泳動（例えば、SDS-PAGE、等電点電気泳動（IEF）、毛细管電気泳動）又はクロマトグラフィー（例えば、イオン交換又は逆相HPLC）によって判定したときに、95%を超える又は99%を超える純度まで精製される。抗体純度の評価方法のレビューについては、例えば、Flatman等、J. Chromatogr. B 848: 79-87 (2007)を参照。

10

【0081】

「単離された」核酸は、その天然の環境の成分から分離された核酸分子を指す。単離された核酸には、核酸分子を通常含有する細胞に含有される核酸分子が含まれるが、その核酸分子は染色体外に存在するかその天然の染色体位置と異なる染色体位置に存在する。

【0082】

本明細書において、用語「抗体」は最も広い意味で用いられ、様々な抗体構造物、例えば限定されずにモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異的抗体（例えば二重特異的抗体）、及び、それらが所望の抗原結合活性を示す限り抗体断片を包含する。

【0083】

20

用語「抗PD-L1抗体」及び「PD-L1に結合する抗体」は、PD-L1を標的にすることにおいて診断及び/又は治療用の薬剤として抗体が有益であるのに十分な親和性でPD-L1に結合することが可能な抗体を指す。一実施態様では、例えばラジオイムノアッセイ（RIA）で測定したときの、無関係な非PD-L1タンパク質への抗PD-L1抗体の結合の程度は、PD-L1への抗体の結合の約10%未満である。ある特定の実施態様では、抗PD-L1抗体は、異なる種からのPD-L1の間で保存されるPD-L1のエピトープに結合する。

【0084】

「ブロック」抗体又は「アンタゴニスト」抗体は、それが結合する抗原の生物活性を阻害又は低減するものである。好ましいブロック抗体又はアンタゴニスト抗体は、抗原の生物活性を実質的又は完全に阻害する。

30

【0085】

「親和性」は、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）の間の非共有相互作用の合計の強度を指す。特に明記しない限り、本明細書で用いるように、「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体及び抗原）の間の1:1の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。そのパートナーYへの分子Xの親和性は、解離定数（Kd）によって一般的に表すことができる。親和性は、本明細書に記載されるものを含む当技術分野で公知の一般方法を用いて測定することができる。結合親和性の測定のための具体的な例証的及び例示的な実施態様は、以下に記載される。

【0086】

40

「親和性成熟」抗体は、そのような改変を有しない親抗体と比較して、1つ又は複数の超可変領域（HVR）に1つ又は複数の改変を有する抗体を指し、そのような改変は抗原への抗体の親和性の向上をもたらすものである。

【0087】

「抗体断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原に結合するインタクトな抗体の一部を含む、インタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例には、限定されずにFv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；ダイアボディ；線状抗体；単鎖抗体分子（例えば、scFv）；及び抗体断片から形成される多重特異的抗体が含まれる。

【0088】

参照抗体と「同じエピトープに結合する抗体」は、競合アッセイにおいてその抗原への

50

参照抗体の結合を50%以上ブロックする抗体を指し、反対に、参照抗体は競合アッセイにおいてその抗原へのその抗体の結合を50%以上ブロックする。例示的な競合アッセイは本明細書で提供される。

【0089】

用語「キメラ」抗体は、重鎖及び／又は軽鎖の一部は特定の供給源又は種に由来するが、重鎖及び／又は軽鎖の残部は異なる供給源又は種に由来する抗体を指す。

【0090】

抗体の「クラス」は、その重鎖によって保有される定常ドメイン又は定常領域の種類を指す。抗体の5つの主要なクラス：IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMがあり、これらのいくつかはサブクラス（アイソタイプ）、例えばIgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及びIgA₂に更に分けることができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、α、δ、ε、γ及びμとそれぞれ呼ばれている。

【0091】

本明細書において、用語「完全長抗体」、「インタクトな抗体」及び「完全な抗体」は互換的に使用され、天然の抗体構造に実質的に類似した構造を有するか、本明細書に規定されるFc領域を含有する重鎖を有する抗体を指す。

【0092】

本明細書で用いられる用語「モノクローナル抗体」は、可能な変異体抗体、例えば天然に存在する突然変異を含有するか、モノクローナル抗体調製物の生成の間に生じる、一般に少量存在する変異体を除いて、実質的に均一な抗体の集団、すなわち集団を構成する個々の抗体が同一であり及び／又は同じエピトープに結合する集団から得られる抗体を指す。異なる決定因子（エピトープ）に向けられる異なる抗体を一般的に含むポリクローナル抗体調製物と対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定因子に向けられる。したがって、修飾子「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体集団から得られるという抗体の性格を示し、いかなる特定の方法による抗体の生成を必要とするものと解釈するべきでない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、様々な技術、例えば限定されずにハイブリドーマ方法、組換えDNA方法、ファージディスプレイ方法及びヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部又は一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法によって作製することができ、そのような方法及びモノクローナル抗体を作製するための他の例示的な方法は本明細書に記載されている。

【0093】

「ヒト抗体」は、ヒト若しくはヒト細胞によって生成されるか、又はヒト抗体レパートリー若しくは他のヒト抗体をコードする配列を利用するヒト以外の供給源に由来する抗体のそれに対応するアミノ酸配列を有するものである。ヒト抗体のこの定義は、ヒト以外の抗原に結合する残基を含むヒト化抗体を特異的に排除する。

【0094】

「ヒト化」抗体は、ヒト以外のHVRからのアミノ酸残基及びヒトFRからのアミノ酸残基を含むキメラ抗体を指す。ある特定の実施態様では、ヒト化抗体は、少なくとも1つの、及び一般的に2つの可変ドメインの実質的に全てを含み、そこにおいて、HVR（例えばCDR）の全て又は実質的に全てはヒト以外の抗体のそれらに対応し、FRの全て又は実質的に全てはヒト抗体のそれらに対応する。ヒト化抗体は、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部を任意選択的に含むことができる。抗体、例えばヒト以外の抗体の「ヒト化形」は、ヒト化を経た抗体を指す。

【0095】

「免疫複合体」は、限定されずに細胞傷害剤を含む1つ又は複数の異種分子にコンジュゲートされている抗体である。

【0096】

参照ポリペプチド配列に関して「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」は、最大の配列同一性パーセントを達成するために配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入した後の、参照ポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基の

10

20

30

40

50

百分率と規定され、いかなる保存的置換も配列同一性の一部とみなされない。アミノ酸配列同一性パーセントを判定するためのアラインメントは、当分野の技術の範囲内である様々な方法で、例えば公開されているコンピュータソフトウェア、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN又はMegalign(DNASTAR)ソフトウェアを用いて達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するのに必要な任意のアルゴリズムを含む、配列を整列させるための適当なパラメータを決定することができる。しかし、本明細書の目的では、アミノ酸配列同一性%値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を用いて生成されている。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムはGenentech, Inc.によって書かれ、ソースコードはU.S. Copyright Office、Washington D.C.、20559の利用者文書に申請され、そこにおいてそれは米国著作権登録番号TXU510087の下で登録されている。ALIGN-2プログラムは、Genentech, Inc.、South San Francisco、Californiaから公開されているか、ソースコードからコンパイルすることができる。ALIGN-2プログラムは、デジタルUNIX V4.0Dを含むUNIXオペレーティングシステムで用いるためにコンパイルされるべきである。全ての配列比較パラメータはALIGN-2プログラムによって設定され、変更されない。

【0097】

ALIGN-2がアミノ酸配列比較のために用いられる状況では、所与のアミノ酸配列Bへの、それとの又はそれに対する所与のアミノ酸配列Aのアミノ酸配列同一性%（それは、代わりに、所与のアミノ酸配列Bへの、それとの又はそれに対するある特定のアミノ酸配列同一性%を有するか含む所与のアミノ酸配列Aと言い表すことができる）は、以下の通りに計算され：

$$100 \times \text{分数} X / Y$$

上式で、XはAとBのそのプログラムのアラインメントにおいて配列アラインメントプログラムALIGN-2により同一の組合せとして評価されるアミノ酸残基の数であり、YはBにおけるアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さに等しくない場合、A対Bのアミノ酸配列同一性%はB対Aのアミノ酸配列同一性%に等しくないことが理解される。特記されていない限り、本明細書で用いられる全てのアミノ酸配列同一性%値は、ALIGN-2コンピュータプログラムを用いて直前の段落に記載の通りに得られる。

【0098】

用語「検出」には、直接的及び間接的な検出を含む、任意の検出手段が含まれる。

【0099】

本明細書で用いられる用語「バイオマーカー」は、試料中で検出することができる指標、例えば、予測的、診断的及び/又は予後診断的指標を指す。バイオマーカーは、ある特定の分子的、病理的、組織学的及び/又は臨床的特性によって特徴付けられる特定のサブタイプの疾患又は障害（例えば、癌）の指標の役割をすることができる。一部の実施態様では、バイオマーカーは遺伝子である。バイオマーカーには、限定されずに、ポリヌクレオチド（例えば、DNA及び/又はRNA）、ポリヌクレオチドコピー数の変化（例えば、DNAコピー数）、ポリペプチド、ポリペプチド及びポリヌクレオチドの修飾（例えば翻訳後修飾）、炭水化物、及び/又は糖脂質をベースとした分子マーカーが含まれる。

【0100】

本明細書において用語「バイオマーカーサイン」、「サイン」、「バイオマーカー発現サイン」又は「発現サイン」は互換的に使用され、その発現が指標である、例えば予測的、診断的及び/又は予後診断的指標であるバイオマーカーの1つ又は組合せを指す。バイオマーカーサインは、ある特定の分子的、病理的、組織学的及び/又は臨床的特性によって特徴付けられる特定のサブタイプの疾患又は障害（例えば、癌）の指標の役割をすることができる。一部の実施態様では、バイオマーカーサインは、「遺伝子サイン」である。用語「遺伝子サイン」は「遺伝子発現サイン」と互換的に使用され、その発現が指標であ

る、例えば予測的、診断的及び／又は予後診断的指標であるポリヌクレオチドの１つ又は組合せを指す。一部の実施態様では、バイオマーカーサインは、「タンパク質サイン」である。用語「タンパク質サイン」は「タンパク質発現サイン」と互換的に使用され、その発現が指標である、例えば予測的、診断的及び／又は予後診断的指標であるポリペプチドの１つ又は組合せを指す。

【 0 1 0 1 】

個体への臨床有益性の増加に関連したバイオマーカーの「量」又は「レベル」は、生物学的試料中で検出可能なレベルである。これらは、当業技術者に公知であり、本明細書に開示されてもいる方法によって測定することができる。評価されるバイオマーカーの発現レベル又は量は、治療への応答を判定するために使用することができる。

10

【 0 1 0 2 】

用語「発現のレベル」又は「発現レベル」は一般に互換的に使用され、生物学的試料中のバイオマーカーの量を一般に指す。「発現」は、情報（例えば、遺伝子によってコードされた及び／又は後成的な）が、細胞中に存在して作動する構造に変換される過程を一般に指す。したがって、本明細書で用いるように、「発現」は、ポリヌクレオチドへの転写、ポリペプチドへの翻訳、又はポリヌクレオチド及び／若しくはポリペプチドの修飾（例えば、ポリペプチドの翻訳後修飾）でさえも指すことができる。それらが選択的スプライシング若しくは分解された転写産物によって、又はポリペプチドの例えばタンパク質分解による翻訳後プロセッシングから生成される転写産物を起源とするかどうかにかかわらず、転写されたポリヌクレオチド、翻訳されたポリペプチド又はポリヌクレオチド及び／若しくはポリペプチドの修飾（例えば、ポリペプチドの翻訳後修飾）の断片も発現されたとみなすものとする。「発現遺伝子」には、mRNAとしてポリヌクレオチドに転写され、次にポリペプチドに翻訳されるもの、及びRNAに転写されるが、ポリペプチドに翻訳されないもの（例えば、転移及びリボソームRNA）も含まれる。

20

【 0 1 0 3 】

「上昇した発現」、「上昇した発現レベル」又は「上昇したレベル」は、コントロール、例えば疾患若しくは障害（例えば、癌）を患っていない個体（一又は複数）又は内部コントロール（例えば、ハウスキーピングバイオマーカー）と比較した、個体におけるバイオマーカーの発現の増加又はレベルの上昇を指す。

【 0 1 0 4 】

30

「低減した発現」、「低減した発現レベル」又は「低減したレベル」は、コントロール、例えば疾患若しくは障害（例えば、癌）を患っていない個体（一又は複数）又は内部コントロール（例えば、ハウスキーピングバイオマーカー）と比較した、個体におけるバイオマーカーの発現の減少又はレベルの低下を指す。一部の実施態様では、低減した発現は、発現がほとんどない又は全くない。

【 0 1 0 5 】

用語「ハウスキーピングバイオマーカー」は、全ての細胞型に一般に同じように存在するバイオマーカー（例えば、ポリヌクレオチド及び／又はポリペプチド）又はバイオマーカー群を指す。一部の実施態様では、ハウスキーピングバイオマーカーは、「ハウスキーピング遺伝子」である。本明細書において、「ハウスキーピング遺伝子」は、その活性が細胞機能の維持のために必須であり、全ての細胞型に一般に同じように存在するタンパク質をコードする遺伝子又は遺伝子群を指す。

40

【 0 1 0 6 】

本明細書で用いるように、「増幅」は、所望の配列の複数のコピーを生成する過程を一般に指す。「複数のコピー」とは、少なくとも２コピー数を意味する。「コピー」は、必ずしも鋳型配列との完全な配列相補性又は同一性を意味するとは限らない。例えば、コピーは、ヌクレオチドアナログ、例えばデオキシイノシン、意図的な配列改変（鋳型とハイブリダイゼーションが可能であるが相補的でない配列を含むプライマーを通して導入された配列改変など）、及び／又は増幅の間に起こる配列の誤り）を含むことができる。

【 0 1 0 7 】

50

用語「多重PCR」は、単一の反応で2個以上のDNA配列を増幅するために複数のプライマーセットを使用して、単一の供給源（例えば、個体）から得られる核酸で実行される単一のPCR反応を指す。

【0108】

ハイブリダイゼーション反応の「ストリンジェンシー」は、当業者が容易に判定でき、一般に、プローブ長、洗浄温度及び塩濃度に依存する実験的計算である。一般に、より長いプローブは適切なアニーリングのためにより高い温度を必要とするが、より短いプローブはより低い温度を必要とする。ハイブリダイゼーションは、それらの融点より下の環境に相補鎖が存在するときにリアニールする、変性DNAの能力に一般に依存する。プローブとハイブリダイゼーションが可能な配列の間の所望の相同性の程度がより高いほど、使用することができる相対温度はより高い。結果として、より高い相対温度は反応条件をよりストリンジェントにする傾向があり、より低い温度はよりそうでないということである。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーの追加の詳細及び説明については、Ausubel等、Current Protocols in Molecular Biology、Wiley Interscience Publishers、(1995)を参照する。

【0109】

本明細書に規定される「ストリンジェントな条件」又は「高ストリンジェンシー条件」は、(1)洗浄のために低いイオン強度及び高い温度、例えば50で0.015M塩化ナトリウム/0.0015Mクエン酸ナトリウム/0.1%ドデシル硫酸ナトリウムを用いるもの；(2)ハイブリダイゼーションの間に変性剤、例えばホルムアミド、例えば50(v/v)%ホルムアミドを、0.1%ウシ血清アルブミン/0.1%フィコール/0.1%ポリビニルピロリドン/750mM塩化ナトリウム、75mMクエン酸ナトリウムを含むpH6.5の50mMリン酸ナトリウムバッファーと42で用いるもの；又は(3)42での50%ホルムアミド、5×SSC(0.75MNaCl、0.075Mクエン酸ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH6.8)、0.1%ピロリン酸ナトリウム、5×デンハート液、超音波処理サーモン精子DNA(50µg/ml)、0.1%SDS及び10%硫酸デキストランを用いる溶液中での一晩のハイブリダイゼーションと、42での0.2×SSC(塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム)中での10分間の洗浄と、続く55でのEDTAを含有する0.1×SSCからなる10分間の高ストリンジェンシー洗浄によって識別することができる。

【0110】

「中程度ストリンジェント条件」は、Sambrook等、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、New York: Cold Spring Harbor Press、1989、によって記載される通りに識別することができる、上記のものよりストリンジェントでない洗浄液及びハイブリダイゼーション条件（例えば、温度、イオン強度及びSDS%）の使用を含む。中程度ストリンジェント条件の例は、20%ホルムアミド、5×SSC(150mMNaCl、15mMクエン酸三ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH7.6)、5×デンハート液、10%硫酸デキストラン及び20mg/mlの変性した剪断サーモン精子DNAを含む溶液中での37で一晩のインキュベーションと、続く約37-50の1×SSC中でのフィルター洗浄である。当業者は、プローブ長などの因子に適合するために、必要に応じて温度、イオン強度などを調整する方法を認める。

【0111】

本明細書で用いられる「ポリメラーゼ連鎖反応」又は「PCR」の技術は、1987年7月28日に公布された米国特許第4683195号に記載されている通り、核酸、RNA及び/又はDNAの微量の特異的断片が増幅される手順を一般に指す。一般に、オリゴヌクレオチドプライマーが設計できるように、対象領域の末端又はそれ以上からの配列情報を入手する必要性がある。これらのプライマーは、増幅される鋳型の反対側の鎖に配列が同一であるか類似している。2つのプライマーの5'末端のヌクレオチドは、増幅する

材料の末端と一致することができる。PCRは、全ゲノムDNAから特異的RNA配列、特異的DNA配列を、及び全細胞性RNA、バクテリオファージ又はプラスミド配列などから転写されたcDNAを増幅するために使用することができる。一般に、Mullis等、Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 51: 263 (1987); Erlich編、PCR Technology、(Stockton Press、NY、1989)を参照。本明細書で用いるように、PCRは、プライマーとして公知の核酸(DNA又はRNA)の使用を含む、核酸試験試料を増幅するための核酸ポリメラーゼ反応方法の唯一でないが1つの例であると考えられ、核酸の特異的断片を増幅若しくは生成するために、又は特定の核酸に相補的である核酸の特異的断片を増幅若しくは生成するために核酸ポリメラーゼを利用する。

10

【0112】

「定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応」又は「qRT-PCR」は、PCR生成物の量がPCR反応の各段階で測定されるPCRの形を指す。この技術は、Cronin等、Am. J. Pathol. 164(1): 35-42(2004); 及びMa等、Cancer Cell 5: 607-616(2004)を含む様々な刊行物に記載されている。

【0113】

用語「マイクロアレイ」は、基質上のハイブリダイゼーションが可能なアレイ要素、好ましくはポリヌクレオチドプローブの順序づけられた配置を指す。

【0114】

単数形又は複数形で使用されるとき、用語「ポリヌクレオチド」は任意のポリリボヌクレオチド又はポリデオキシリボヌクレオチドを一般に指し、それらは非修飾のRNA若しくはDNA又は修飾されたRNA若しくはDNAであってもよい。したがって例えば、本明細書に規定されるポリヌクレオチドには、限定されずに、一本鎖及び二本鎖のDNA、一本鎖及び二本鎖の領域を含むDNA、一本鎖及び二本鎖のRNA、並びに一本鎖及び二本鎖の領域を含むRNA、一本鎖であるかより一般的には二本鎖であってもよい、又は一本鎖及び二本鎖の領域を含むことができるDNA及びRNAを含むハイブリッド分子が含まれる。更に、本明細書で用いられる用語「ポリヌクレオチド」は、RNA若しくはDNA又はRNA及びDNAの両方を含む三本鎖の領域を指す。そのような領域中の鎖は、同じ分子又は異なる分子からであってもよい。領域は分子の1つ又は複数の全てを含むことができるが、より一般的には分子のいくつかの領域だけを含むことができる。三重螺旋領域の分子の1つは、しばしばオリゴヌクレオチドである。用語「ポリヌクレオチド」には、具体的にはcDNAが含まれる。本用語には、1つ又は複数の修飾塩基を含有するDNA(cDNAを含む)及びRNAが含まれる。したがって、安定性のために又は他の理由のために修飾された骨格を有するDNA又はRNAは、本明細書においてその用語が意図される「ポリヌクレオチド」である。更に、異常な塩基、例えばイノシン又は修飾塩基、例えばトリチウム化された塩基を含むDNA又はRNAは、本明細書に規定される用語「ポリヌクレオチド」の中に含まれる。一般に、用語「ポリヌクレオチド」は、非修飾のポリヌクレオチドの全ての化学的、酵素的及び/又は代謝的修飾形に加えて、ウイルス並びに単純及び複雑な細胞を含む細胞の特性を示すDNA及びRNAの化学形態を包含する。

20

30

40

【0115】

用語「オリゴヌクレオチド」は、比較的短いポリヌクレオチド、例えば限定されずに一本鎖のデオキシリボヌクレオチド、一本鎖又は二本鎖のリボヌクレオチド、RNA:DNAハイブリッド及び二本鎖のDNAを指す。オリゴヌクレオチド、例えば一本鎖DNAプローブオリゴヌクレオチドは、化学的方法によって、例えば市販されている自動オリゴヌクレオチド合成装置を用いてしばしば合成される。しかし、オリゴヌクレオチドは、インピトロ組換えDNA媒介技術を含む様々な他の方法によって、並びに細胞及び生物体でのDNAの発現によって作製することができる。

【0116】

本明細書において用語「診断」は、分子的若しくは病的な状態、疾患又は状況(例えば

50

、癌)の同定又は分類を指すために使用される。例えば、「診断」は特定の型の癌の同定を指すことができる。「診断」は、例えば組織病理学的基準による、又は分子的特徴による癌の特定のサブタイプの分類を指すこともできる(例えば、バイオマーカー(例えば、特定の遺伝子又は前記遺伝子によってコードされるタンパク質)の1つ又は組合せの発現によって特徴付けられるサブタイプ)。

【0117】

本明細書において用語「診断を助ける」ことは、疾患又は障害(例えば、癌)の特定の型の症状又は状態の存在又は性質に関して臨床判定を下すことにおいて支援する方法を指すために使用される。例えば、疾患又は状態(例えば、癌)の診断を助ける方法は、個体からの生物学的試料である特定のバイオマーカーを測定することを含むことができる。

10

【0118】

本明細書で用いる用語「試料」は、例えば物理的、生化学的、化学的及び/又は生理的特徴に基づいて特徴付ける及び/又は同定する細胞性及び/又は他の分子実体を含有する関心の対象及び/又は個体から得られるかそれに由来する組成物を指す。例えば、語句「疾患試料」及びその変形は、特徴付ける細胞性の及び/又は分子の実体を含有することが予想されるか公知である関心の対象から得られる任意の試料を指す。試料には、限定されずに、一次若しくは培養された細胞又は細胞系、細胞上清、細胞溶解物、血小板、血清、血漿、硝子体液、リンパ液、滑液、小胞液、精液、羊水、ミルク、全血、血液由来細胞、尿、脳脊髄液、唾液、痰、涙、汗、粘液、腫瘍溶解物及び組織培地、組織抽出物、例えばホモジナイズされた組織、腫瘍組織、細胞抽出物、及びその組合せが含まれる。

20

【0119】

「組織試料」又は「細胞試料」は、対象又は個体の組織から得られた類似の細胞の集合を意味する。組織又は細胞試料の供給源は、新鮮な凍結及び/又は保存された器官、組織試料、生検及び/又は吸引液からの固体組織；血液又は血漿などの任意の血液成分；体液、例えば脳脊髄液、羊水、腹水又は間質液；対象の妊娠又は発達期間中の任意の時期からの細胞であってもよい。組織試料は、一次若しくは培養された細胞又は細胞系であってもよい。任意選択的に、組織又は細胞試料は、疾患組織/器官から得られる。組織試料は、保存剤、抗凝固薬、バッファー、固定剤、栄養素、抗生物質などの天然において組織と本来混合していない化合物を含有することができる。

【0120】

本明細書で用いるように、「参照試料」、「参照細胞」、「参照組織」、「コントロール試料」、「コントロール細胞」又は「コントロール組織」は、比較目的のために使用される試料、細胞、組織、標準又はレベルを指す。一実施態様では、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織は、同じ対象又は個体の身体の高い健康な及び/又は病気に罹っていない部分(例えば、組織又は細胞)から得られる。例えば、病気に罹っている細胞又は組織に隣接している健康な及び/又は病気に罹っていない細胞又は組織(例えば、腫瘍に隣接した細胞又は組織)。別の実施態様では、参照試料は同じ対象又は個体の身体の高健康な組織及び/又は細胞から得られる。更に別の実施態様では、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織は、当該対象又は個体ではない個体の身体の高健康な及び/又は病気に罹っていない部分(例えば、組織又は細胞)から得られる。更に別の実施態様では、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織は、当該対象又は個体ではない個体の身体の高健康な組織及び/又は細胞から得られる。

30

40

【0121】

本明細書の目的のために、組織試料の「切片」は、組織試料の単一の部分又は断片、例えば組織試料から切り取られた組織又は細胞の薄片を意味する。組織試料の同じ切片を形態学的及び分子的レベルで分析することができるか、又はポリペプチド及びポリヌクレオチドに関して分析することができるものと理解される場合には、組織試料の複数の切片をとり、分析にかけることができるものと理解される。

50

【 0 1 2 2 】

「相関する」又は「相関している」は、どんな形であれ、第 1 の分析又はプロトコールの成績及び／又は結果を、第 2 の分析又はプロトコールの成績及び／又は結果と比較することを意味する。例えば、第 1 の分析若しくはプロトコールの結果を第 2 のプロトコールの実行で使用することができ、及び／又は、第 2 の分析若しくはプロトコールを実施すべきであるかどうか判定するために第 1 の分析若しくはプロトコールの結果を使用することができる。ポリペプチドの分析又はプロトコールの実施態様に関して、特定の治療レジメンを実施すべきであるかどうか判定するために、ポリペプチド発現の分析又はプロトコールの結果を使用することができる。ポリヌクレオチドの分析又はプロトコールの実施態様に関して、特定の治療レジメンを実施すべきであるかどうか判定するために、ポリヌクレオチド発現の分析又はプロトコールの結果を使用することができる。

10

【 0 1 2 3 】

「個体の応答」又は「応答」は、個体への有益性を示す任意のエンドポイント、例えば限定されずに、(1) 減速及び完全な停止を含む疾患進行（例えば、癌進行）のある程度の阻害；(2) 腫瘍サイズの縮小；(3) 隣接した末梢器官及び／又は組織への癌細胞浸潤の阻害（すなわち、低減、減速又は完全な阻止）；(4) 転移の阻害（すなわち、低減、減速又は完全な阻止）；(5) 疾患又は障害（例えば、癌）に伴う 1 つ又は複数の症状のある程度の軽減；(6) 全体的生存及び無進行生存を含む生存期間の長さの増加又は延長；及び／又は(9) 治療後の所与の時点での死亡率の低下を使用して評価することができる。

20

【 0 1 2 4 】

医薬による治療に対する患者の「有効応答」又は患者の「応答性」及び類似の言い回しは、癌などの疾患又は障害の危険があるかそれを持っている患者に付与される臨床的又は治療的な有益性を指す。一実施態様では、そのような有益性には、以下の任意の 1 つ又は複数が含まれる：生存（全体的生存及び無進行生存を含む）を延長すること；客観的な応答（完全寛解又は部分寛解を含む）をもたらすこと；又は癌の徴候若しくは症状を改善すること。一実施態様では、バイオマーカーを発現しない患者と比較して、医薬（例えば、抗 PD - L 1 抗体）による治療に応答性である可能性が増加すると予測される患者を同定するために、バイオマーカー（例えば IHC を用いて判定される PD - L 1 発現）が使用される。一実施態様では、バイオマーカーを同じレベルで発現しない患者と比較して、医薬（例えば、抗 PD - L 1 抗体）による治療に応答性である可能性が増加すると予測される患者を同定するために、バイオマーカー（例、例えば IHC を用いて判定される PD - L 1 発現）が使用される。一実施態様では、バイオマーカーの存在は、バイオマーカーが存在しない患者と比較して、医薬による治療に応答する可能性がより高い患者を同定するために使用される。別の実施態様では、バイオマーカーの存在は、患者が、バイオマーカーが存在しない患者と比較して医薬による治療が有益である可能性の増加を有することを決定するために使用される。

30

【 0 1 2 5 】

「生存」は生き続けている患者を指し、全体的生存並びに無進行生存を含む。

【 0 1 2 6 】

全体的生存は、時期（診断又は治療の時期から規定の期間、例えば 1 年、5 年などの間、生き続けている患者を指す。

40

【 0 1 2 7 】

無進行生存は、癌が進行しないか更に悪化せずに生き続けている患者を指す。

【 0 1 2 8 】

「生存を延長すること」は、未治療の患者と比較して（すなわち、医薬で治療されていない患者と比較して）、又は指定されたレベルでバイオマーカーを発現しない患者と比較して、及び／又は承認された抗腫瘍剤で治療された患者と比較して、治療された患者で全体的生存又は無進行生存を増加させることを意味する。客観的な応答は、完全寛解（CR）又は部分寛解（PR）を含む測定可能な応答を指す。

50

【 0 1 2 9 】

完全寛解又は「CR」は、治療に应答しての癌の全ての徴候の消失を意図する。これは、癌が治癒したことを必ずしも意味しない。

【 0 1 3 0 】

部分寛解又は「PR」は、治療に应答しての、身体における1つ又は複数の腫瘍若しくは病変のサイズの縮小、又は癌の範囲の減少を指す。

【 0 1 3 1 】

本明細書で用いられる用語「実質的に同じ」は、2つの値の間の差が、前記値（例えば、Kd値又は発現）で測定される生物学的特性の面で生物学的及び／又は統計的にほとんど又は全く有意でないと当業者がみなすような、2つの数値の間の十分に高い程度の類似性を表す。前記2つの値の間の差は、例えば、参照／コンパレーター値の関数として、約50%未満、約40%未満、約30%未満、約20%未満及び／又は約10%未満である。

10

【 0 1 3 2 】

本明細書で用いられる語句「実質的に異なる」は、2つの値の間の差が、前記値（例えば、Kd値）で測定される生物学的特性の面で統計的に有意であると当業者がみなすような、2つの数値の間の十分に高い程度の差を表す。前記2つの値の間の差は、例えば、参照／コンパレーター分子の値の関数として、約10%を超え、約20%を超え、約30%を超え、約40%を超え、及び／又は約50%を超える。

【 0 1 3 3 】

20

本明細書で用いるとき、語「標識」は、検出可能な化合物又は組成物を指す。標識は、一般的にポリヌクレオチドプローブ又は抗体などの試薬に直接的又は間接的にコンジュゲート又は融合され、それがコンジュゲート又は融合される試薬の検出を容易にする。標識はそれ自体検出可能であってもよく（例えば放射性同位体標識又は蛍光性標識）、又は酵素標識の場合は、検出可能な生成物をもたらす基質化合物又は組成物の化学変性を触媒することができる。

【 0 1 3 4 】

薬剤の「有効量」は、必要な投薬量及び期間で、所望の治療的又は予防的結果を達成するのに有効な量を指す。

【 0 1 3 5 】

30

「治療的有效量」は、哺乳動物で疾患又は障害を治療又は予防するための治療剤の量を指す。癌の場合、治療剤の治療的有效量は、癌細胞の数を低減すること；原発腫瘍のサイズを低減すること；末梢器官への癌細胞の浸潤を阻害すること（すなわち、ある程度遅らせること、好ましくは停止すること）；腫瘍転移を阻害すること（すなわち、ある程度遅らせること、好ましくは停止すること）；腫瘍増殖をある程度阻害すること；及び／又は障害に関連する症状の1つ又は複数にある程度軽減することができる。薬物が増殖を阻止することができ、及び／又は既存の癌細胞を死滅させることができる限り、それは細胞増殖抑制性及び／又は細胞傷害性であってもよい。癌療法については、インビボ有効性は、例えば、生存期間、疾患進行までの時間（TTP）、奏効率（RR）、応答期間、及び／又は生活の質を評価することによって測定することができる。

40

【 0 1 3 6 】

用語「癌」及び「癌性」は、無秩序な細胞増殖を一般に特徴とする哺乳動物の生理的状态を指すか記載する。良性及び悪性の癌がこの定義に含まれる。「初期の癌」又は「初期の腫瘍」は、侵襲的でも転移性でもないか、ステージ0、I又はIIの癌と分類される癌を意味する。癌の例には、限定されずに、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫（髄芽細胞腫及び網膜芽細胞腫を含む）、肉腫（脂肪肉腫及び滑膜細胞肉腫を含む）、神経内分泌腫瘍（カルチノイド腫瘍、ガストリン産生腫瘍及び島細胞癌を含む）、中皮腫、シュワン細胞腫（聴神経腫を含む）、髄膜腫、腺癌、メラノーマ及び白血病又はリンパ悪性腫瘍が含まれる。そのような癌のより詳細な例には、扁平細胞癌（例えば上皮扁平細胞癌）、肺癌、例えば小細胞肺癌（SCLC）、非小細胞肺癌（NSCLC）、肺の腺癌及び肺の扁平上皮癌、

50

腹膜の癌、肝細胞癌、胃腸癌を含む胃又は腹部の癌、膵癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝癌、膀胱癌、肝癌、乳癌（転移性乳癌を含む）、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜又は子宮の癌腫、唾液腺癌、腎又は腎性の癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝癌、肛門癌、陰茎癌、メルケル細胞癌、菌状息肉腫、精巣癌、食道癌、胆管の腫瘍、並びに頭頸部癌及び血液学的悪性腫瘍が含まれる。一部の実施態様では、癌は、局所的に再発性又は転移性の疾患（局所的に再発性の疾患は治療意図の切除に適合しない）を有する乳房の任意の組織学的に確認された三重陰性（E R -、P R -、H E R 2 -）腺癌を含む、三重陰性転移性乳癌である。

【0137】

用語「薬学的製剤」は、そこに含まれる有効成分の生物活性を有効にするような形であり、製剤が投与される対象に容認できないほど毒性である追加の成分を含有しない調製物を指す。

10

【0138】

「薬学的に許容される担体」は、薬学的製剤中の、有効成分以外の対象に無毒である成分を指す。薬学的に許容される担体には、バッファー、賦形剤、安定剤又は保存剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0139】

本明細書で用いるように、「治療」（及び「治療する」又は「治療すること」などの文法上のその変形）は、治療する個体の自然経過を変化させる企てにおける臨床介入を指し、予防のために、又は臨床病理の過程で実施することができる。治療の望ましい効果には、疾患の発生又は再発を予防すること、症状の緩和、疾患の任意の直接的又は間接的な病理学的帰結の減少、転移を予防すること、疾患進行の速度を低下させること、病態の改善又は緩和、及び寛解又は予後の改善が含まれるがこれらに限定されない。一部の実施態様では、疾患の発達を遅らせるか疾患の進行を減速するために、抗体が使用される。

20

【0140】

用語「抗癌療法」は、癌の治療で有益な療法を指す。抗癌治療剤の例には、限定されずに、例えば化学療法剤、増殖阻害剤、細胞傷害剤、放射線療法で使用する薬剤、抗血管形成剤、アポトーシス剤、抗チューブリン剤、及び癌を治療する他の薬剤、抗CD20抗体、血小板由来増殖因子阻害剤（例えば、G l e e v e c（商標）（イマチニブメシレート））、C O X - 2 阻害剤（例えば、セレコキシブ）、インターフェロン、サイトカイン、以下の標的P D G F R - ベータ、B l y S、A P R I L、B C M A 受容体（一又は複数）、T R A I L / A p o 2 の1つ又は複数に結合するアンタゴニスト（例えば、中和抗体）、並びに他の生物活性及び有機化学薬剤などが含まれる。その組合せも本発明に含まれる。

30

【0141】

本明細書で用いられる用語「細胞傷害剤」は、細胞の機能を阻害若しくは阻止し、及び/又は細胞の破壊を引き起こす物質を指す。本用語には、放射性同位体（例えば、A t ²¹¹、I ¹³¹、I ¹²⁵、Y ⁹⁰、R e ¹⁸⁶、R e ¹⁸⁸、S m ¹⁵³、B i ²¹²、P ³² 及びL u の放射性同位体）、化学療法剤、例えばメトトレキサート、アドリアマイシン、ピンカアルカロイド（ピンクリスチン、ピンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルビシン又は他の挿入剤、酵素及びその断片、例えば核酸分解酵素、抗生物質、並びに毒素、例えばその断片及び/又はその変異体を含む細菌、真菌、植物又は動物起源の小分子毒素又は酵素活性毒素、並びに下に開示される様々な抗腫瘍剤又は抗癌剤が含まれるものとする。他の細胞傷害剤は、下に記載される。殺腫瘍剤は、腫瘍細胞の破壊を引き起こす。

40

【0142】

「化学療法剤」は、癌の治療で有益な化合物を指す。化学療法剤の例には、チオテバ及びシクロホスファミド（C Y T O X A N（登録商標））などのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン及びピボスルファンなどのスルホン酸アルキル；ベンゾドパ、カルボコン、メツレドパ及びウレドパなどのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメ

50

ラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド及びトリメチロ
 メラミンを含むエチレンイミン及びメチラメラミン；アセトゲニン（特にブラタシン及び
 ブラタシノン）；デルタ - 9 - テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、MAR I
 N O L（登録商標））；ベータ - ラパコン；ラパコール；コルヒチン；ベツリン酸；カン
 プトセシン（合成アナログトボテカン（HYC A M T I N（登録商標））、C P T - 1 1
 （イリノテカン、C A M P T O S A R（登録商標））、アセチルカンプトセシン、スコボ
 レクチン及び9 - アミノカンプトセシンを含む）；プリオスタチン；カリスタチン；C C
 - 1 0 6 5（そのアドゼレシン、カルゼレシン及びビゼレシン合成アナログを含む）；ポ
 ドフィロトキシシン；ポドフィリン酸；テニポシド；クリプトフィシン（特にクリプトフィ
 シン1及びクリプトフィシン8）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成アナログ、
 K W - 2 1 8 9 及びC B 1 - T M 1を含む）；エレウテロピン；パンクラチスタチン；サル
 コジクチン；スポンジスタチン；クロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファ
 ミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロルエタミン、酸化メクロルエタミン
 塩酸塩、メルファラン、ノベンピチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホス
 ファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード；カルムスチン、クロロゾ
 トシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン及びラニムスチンなどのニトロソウレア
 ；エンジン抗生物質などの抗生物質（例えば、カリケアマイシン、特にカリケアマイシ
 ンガンマ1 1 及びカリケアマイシンオメガ1 1（例えば、Nicolaou等、Angew.Chem Intl.
 Ed.Engl., 33:183-186(1994)を参照）；C D P 3 2 3、経口アルファ - 4 インテグリン阻
 害剤；ジネミシンAを含むジネミシン；エスペラマイシン；並びにネオカルジノスタチン
 発色団及び関連する色素タンパク質エンジン抗生物質発色団、アクラシノマイシン、ア
 クチノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、
 カラピシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン
 、ダウノルピシン、デトルピシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、ドキシ
 ルピシン（A D R I A M Y C I N（登録商標））、モルホリノ - ドキシルピシン、シアノモ
 ルホリノ - ドキシルピシン、2 - ピロリノ - ドキシルピシン、ドキシルピシンH C 1 リボ
 ソーム注入（D O X I L（登録商標）を含む）、リボソームドキシルピシンT L C D -
 9 9（M Y O C E T（登録商標））、ペグ化リボソームドキシルピシン（C A E L Y X（
 登録商標））及びデオキシドキシルピシンを含む）、エピルピシン、エソルピシン、イダ
 ルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシンCなどのマイトマイシン、ミコフェノール
 酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロ
 マイシン、ケラマイシン、ロドルピシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベ
 ルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン；メトトレキサート、ゲムシタピン
 （G E M Z A R（登録商標））、テガフル（U F T O R A L（登録商標））、カペシタ
 ピン（X E L O D A（登録商標））、エポチロン及び5 - フルオロウラシル（5 - F U）
 などの代謝拮抗薬；デノブテリン、メトトレキサート、プテロブテリン、トリメトレキサ
 ートなどの葉酸アナログ；フルダラビン、6 - メルカプトプリン、チアミプリン、チオグ
 アニンなどのプリンアナログ；アンシタピン、アザシチジン、6 - アザウリジン、カルモ
 フール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクシ
 ウリジンなどのピリミジンアナログ；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エ
 ピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテ
 チミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗副腎；フロリン酸などの葉酸補充液；アセグラ
 トン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリ
 ン；ベストラブシル；ピサントレン；エダトラキセート；デフォファミン；デメコルチン
 ；ジアジクオン；エルフォルニチン；酢酸エリブチニウム；エポチロン；エトグルシド；
 硝酸ガリウム；ヒドロキシウレア；レンチナン；ロニダイニン；マイタンシン及びアンサ
 マイトシンなどのマイタンシノイド；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモル；
 ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメト；ピラルピシン；ロソキサントロン；2 - エ
 チルヒドラジド；プロカルバジン；P S K（登録商標）多糖複合体（J H S N a t u r a l
 P r o d u c t s、E u g e n e、O R）；ラゾキサン；リゾキシシン；シゾフィラ

10

20

30

40

50

ン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；2，2'，2'-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特にT-2毒素、ベラクリンA、ロリジンA及びアングイジン）；ウレタン；ビンデシン（ELDISEINE（登録商標）、FILDISEIN（登録商標））；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ara-C」）；チオテパ；タキソイド、例えばパクリタキセル（TAXOL（登録商標））、パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子製剤（ABRAXANE（商標））及びドセタキセル（TAXOTERE（登録商標））；クロランブシル；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン、オキサリプラチン（例えば、ELOXATIN（登録商標））及びカルボプラチンなどの白金剤；ピンブラスチン（VELBAN（登録商標））、ピンクリスチン（ONCOVIN（登録商標））、ビンデシン（ELDISEINE（登録商標）、FILDISEIN（登録商標））及びビノレルピン（NAVELBINE（登録商標））を含む、チューブリン重合が微小管を形成することを阻止するビンカ；エトポシド（VP-16）；イホスファミド；ミトキサントロン；ロイコボリン；ノバントロン；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；イバンドロネート；トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；ベキサロテン（TARGRETIN（登録商標））を含む、レチノイン酸などのレチノイド；クロドロネート（例えば、BONEFOS（登録商標）又はOSTAC（登録商標））、エチドロネート（DIDROCAL（登録商標））、NE-58095、ゾレドロ酸／ゾレドロネート（ZOMETA（登録商標））、アレンドロネート（FOSAMAX（登録商標））、パミドロネート（AREDIA（登録商標））、チルドロネート（SKELED（登録商標））又はリセドロネート（ACTONEL（登録商標））などのビスホスホネート；トロキサシタピン（1，3-ジオキサランヌクレオシドシトシンアナログ）；アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に異常な細胞増殖と関係づけられるシグナル伝達経路で遺伝子の発現を阻害するもの、例えばPKC-アルファ、Raf、H-Ras及び上皮増殖因子受容体（EGF-R）；THERATOPE（登録商標）ワクチン及び遺伝子療法ワクチン、例えばALLOVECTIN（登録商標）ワクチン、LEUVECTIN（登録商標）ワクチン及びVAXID（登録商標）ワクチンなどのワクチン；トポイソメラーゼ1阻害剤（例えば、LURTOTECAN（登録商標））；rmRH（例えば、ABARELIX（登録商標））；BAY439006（ソラフェニブ；Bayer）；SU-11248（スニチニブ、SUTENT（登録商標）、Pfizer）；ペリホシン、COX-2阻害剤（例えば、セレコキシブ又はエトリコキシブ）、プロテオゾーム阻害剤（例えば、PS341）；ボルテゾミブ（VELCADE（登録商標））；CCI-779；チピファルニブ（R11577）；オラフェニブ、ABT510；オブリメルセンナトリウム（GENASENSE（登録商標））などのBcl-2阻害剤；ピキサントロン；EGFR阻害剤（下の定義を参照する）；チロシンキナーゼ阻害剤（下の定義を参照する）；ラパマイシン（シロリムス、RAPAMUNE（登録商標））などのセリンスレオニンキナーゼ阻害剤；ロナファルニブ（SCH 6636、SARASAR（商標））などのファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤；並びに上記の何れかの薬学的に許容される塩、酸又は誘導体；並びに上記の2つ以上の組合せ、例えばCHOP、シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ピンクリスチン及びブレドニゾロンの併用療法の略記号；及びFOLFOX、オキサリプラチン（ELOXATIN（商標））と5-FU及びロイコボリンとを組み合わせた治療レジメンの略記号が含まれる。

【0143】

本明細書に規定される化学療法剤には、癌の増殖を促進することができるホルモンの効果を調節、低減、ブロック又は阻害する働きをする「抗ホルモン剤」又は「内分泌治療薬」が含まれる。それらはそれら自身、限定されずに以下を含むホルモンであってもよい：アゴニスト／アンタゴニストプロファイルが混合した抗エストロゲン、例えば、タモキシフェン（NOLVADEX（登録商標））、4-ヒドロキシタモキシフェン、トレミフェン（FARESTON（登録商標））、イドキシフェン、ドロロキシフェン、ラロキシフ

10

20

30

40

50

エン（E V I S T A（登録商標））、トリオキシフェン、ケオキシフェン及びS E R M 3などの選択的エストロゲン受容体モジュレーター（S E R M）；アゴニスト特性のない純粋な抗エストロゲン、例えばフルベストラント（F A S L O D E X（登録商標））及びE M 8 0 0（このような薬剤はエストロゲン受容体（E R）二量体化をブロックすること、DNA結合を阻害すること、E R代謝回転を増加させること及び／又はE Rレベルを抑制することができる）；アロマターゼ阻害薬、例えばホルメスタン及びエクセメスタン（A R O M A S I N（登録商標））などのステロイド性アロマターゼ阻害薬、並びに非ステロイド性アロマターゼ阻害薬、例えばアナストロゾール（A R I M I D E X（登録商標））、レトロゾール（F E M A R A（登録商標））及びアミノグルテチミド、及び他のアロマターゼ阻害薬、例えばボロゾール（R I V I S O R（登録商標））、酢酸メゲストロール（M E G A S E（登録商標））、ファドロゾール及び4（5）-イミダゾール；ロイプロリド（L U P R O N（登録商標））及びE L I G A R D（登録商標））、ゴセレリン、ブセレリン及びトリプテレリンを含む黄体形成ホルモン放出ホルモンアゴニスト；性ステロイド、例えば酢酸メゲストロール及び酢酸メドロキシプロゲステロンなどのプロゲステン、ジエチルスチルベストロール及びプレマリンなどのエストロゲン、並びにフルオキシメステロン、全てのトランスレチノイン酸及びフェンレチニドなどのアンドロゲン／レチノイド；オナプリストン；抗プロゲステロン；エストロゲン受容体下方調節因子（E R D）；フルタミド、ニルタミド及びピカルタミドなどの抗アンドロゲン；並びに上記の何れかの薬学的に許容される塩、酸又は誘導体；並びに前述の2つ以上の組合せ。

【0144】

本出願で用いられる用語「プロドラッグ」は、親薬物と比較して腫瘍細胞に対して細胞傷害性が低く、酵素によってより活性な親形態に活性化又は変換することが可能である、薬学的に活性な物質の前駆体又は誘導形を指す。例えば、Wilman、「Prodrugs in Cancer Chemotherapy」Biochemical Society Transactions、14、p375 - 382、615th Meeting Belfast（1986）及びStella等、「Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery」、Directed Drug Delivery、Borchardt等（編）、p247 - 267、Humana Press（1985）を参照。本発明のプロドラッグには、限定されずに、リン酸含有プロドラッグ、チオリン酸含有プロドラッグ、硫酸含有プロドラッグ、ペプチド含有プロドラッグ、D - アミノ酸修飾プロドラッグ、グリコシル化プロドラッグ、β - ラクタム含有プロドラッグ、任意選択的に置換されたフェノキシアセトアミドを含有するプロドラッグ又は任意選択的に置換されたフェニルアセトアミドを含有するプロドラッグ、5 - フルオロシトシン、及びより活性な細胞傷害性遊離薬物に変換することができる他の5 - フルオロウリジンプロドラッグが含まれる。本発明で使用するためにプロドラッグ形に誘導体化することができる細胞傷害薬の例には、限定されずに上記の化学療法剤が含まれる。

【0145】

本明細書で使用されるとき、「増殖阻害剤」は、細胞（例えば、インビトロ又はインビボにおいてその増殖がPD - L1発現に依存する細胞）の増殖を阻害する化合物又は組成物を指す。増殖阻害剤の例には、細胞周期の進行（S期以外の場所で）をブロックする薬剤、例えばG1期停止及びM期停止を誘導する薬剤が含まれる。古典的なM期ブロッカーには、ビンカ（ビンクリスチン及びビンブラスチン）、タキサン及びトポイソメラーゼII阻害剤、例えばドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド及びブレオマイシンが含まれる。G1を停止する薬剤、例えばDNAアルキル化剤、例えばタモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロルエタミン、シスプラチン、メトトレキサート、5 - フルオロウラシル及びara - Cは、S期停止にも波及する。更なる情報は、Murakami等によるThe Molecular Basis of Cancer、Mendelsohn及びIsrael編、Chapter 1、表題「Cell cycle regulation、oncogenes、and antineop

lastic drugs」(WB Saunders: Philadelphia、1995)、特にp13に見出すことができる。タキサン(パクリタキセル及びドセタキセル)は、両方ともイチイに由来する抗癌薬である。欧州イチイに由来するドセタキセル(TAXOTERE(登録商標)、Rhône-Poulenc Rorer))は、パクリタキセル(TAXOL(登録商標)、Bristol-Myers Squibb)の半合成アナログである。パクリタキセル及びドセタキセルはチューブリン二量体からの微小管の組立てを促進し、脱重合を阻止することによって微小管を安定させ、それは細胞での有糸分裂の阻害をもたらす。

【0146】

「放射線療法」は、正常に機能するその能力を制限するように、又は細胞を全滅させるように細胞への十分な傷害を誘導するための、誘導されたガンマ線又はβ線の使用を意味する。治療の投薬量及び持続期間を判定するために、当技術分野で公知である多くの方法があることが理解される。一般的な治療は1回投与で与えられ、一般的な投薬量は1日につき10から200単位(グレイ)である。

10

【0147】

「個体」又は「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物には、限定されずに、家畜(例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ及びウマ)、霊長類(例えば、ヒト及びサルなどのヒト以外の霊長類)、ウサギ及び齧歯動物(例えば、マウス及びラット)が含まれる。ある特定の実施態様では、個体又は対象はヒトである。

【0148】

20

本明細書において用語「同時に」は、投与の少なくとも一部が時間的に重複する、2個以上の治療剤の投与を指すために使用される。したがって、同時投与は、1つ又は複数の薬剤の投与が1つ又は複数の他の薬剤の投与を中止した後にも継続する投与レジメンを含む。

【0149】

「低減又は阻害する」は、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%又はそれ以上の全体の減少を引き起こす能力を意味する。低減又は阻害するは、治療されている障害の症状、転移の存在若しくはサイズ、又は原発腫瘍のサイズを指すことができる。

【0150】

30

用語「添付文書」は、適応症、使用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌症及び/又はそのような治療製品の使用に関する警告に関する情報を含む、治療製品の市販パッケージに慣習的に含まれる説明書を指すために使用される。

【0151】

「製造品」は、少なくとも1つの試薬、例えば、疾患若しくは障害(例えば、癌)の治療のための医薬又は本明細書に記載されるバイオマーカーを特異的に検出するためのプローブを含む任意の製造品(例えば、パッケージ又は容器)又はキットである。ある特定の実施態様では、製造品又はキットは、本明細書に記載される方法を実施するための単位として促進、配送又は販売される。

【0152】

40

「対象オーディエンス」は、特に特定の使用、治療又は適応症のために、マーケティング又は広告によって特定の医薬を促進するか促進する予定の一群の人々又は機関、例えば、個体、集団、新聞購読者、医学の文献及び雑誌、テレビ又はインターネット視聴者、ラジオ又はインターネットのリスナー、医師、製薬会社などである。

【0153】

本明細書で使用するとき、語句「基づく」は、治療決定、添付文書で提供される情報又はマーケティング/プロモーションの指針などを知らせるために、1つ又は複数のバイオマーカーに関する情報が使用されることを意味する。

【0154】

当業者が理解するように、本明細書で「約」のついた値又はパラメータへの言及は、そ

50

の値又はパラメータ自体を対象とする実施態様を含む（及び記載する）。例えば、「約 X」に言及する記載は、「X」の記載を含む。

【0155】

本明細書に記載される態様及び実施態様は、態様及び実施態様「からなる」及び/又は「から事実上なる」ことを含むものと理解される。本明細書で用いるように、単数形「a」、「an」及び「the」は、特に明記しない限り複数形を含む。

【0156】

I. 方法及び用途

PD-L1 バイオマーカーを利用する方法が本明細書で提供される。詳細には、PD-L1 軸結合性アンタゴニスト及びPD-L1 バイオマーカーを利用する方法が提供される。

10

【0157】

診断法

本明細書において、PD-L1 軸結合性アンタゴニストによる治療に应答する可能性がより高い、疾患又は障害を有する個体を同定する方法であって、個体からの試料中のPD-L1 バイオマーカーの存在を判定することであって、試料中のPD-L1 バイオマーカーの存在は個体がPD-L1 軸結合性アンタゴニストによる治療に应答する可能性がより高いことを示すこと、及び個体がPD-L1 軸結合性アンタゴニストによる治療に应答する可能性がより高いとの推奨を提供することを含む方法が提供される。

【0158】

20

本明細書において、PD-L1 軸結合性アンタゴニストによる治療に対する疾患又は障害を有する個体の应答を予測する方法であって、個体からの試料中のPD-L1 バイオマーカーの存在を判定することであって、試料中のPD-L1 バイオマーカーの存在は個体がPD-L1 軸結合性アンタゴニストによる治療に应答性である可能性がより高いことを示すこと、及び個体がPD-L1 軸結合性アンタゴニストによる治療に应答性である可能性の増加を有するとの推奨を提供することを含む方法が更に提供される。

【0159】

本明細書において、疾患又は障害を有する個体がPD-L1 軸結合性アンタゴニストによる治療の有益性を示す可能性を判定する方法であって、個体からの試料中のPD-L1 バイオマーカーの存在を判定することであって、試料中のPD-L1 バイオマーカーの存在は個体がPD-L1 軸結合性アンタゴニストによる治療が有益である可能性の増加を有することを示すこと、及び個体がPD-L1 軸結合性アンタゴニストによる治療が有益である可能性の増加を有するとの推奨を提供することを含む方法が更に提供される。

30

【0160】

疾患又は障害を有する個体のための療法を選択する方法であって、個体からの試料中のPD-L1 バイオマーカーの存在を判定すること、及び試料中のPD-L1 バイオマーカーの存在に基づいて、個体のために選択される療法がPD-L1 軸結合性アンタゴニストによる治療を含むとの推奨を提供することを含む方法が更に提供される。

【0161】

一部の実施態様では、方法は、PD-L1 軸結合性アンタゴニストの有効量を個体に投与することを更に含む。

40

【0162】

一部の実施態様では、PD-L1 バイオマーカーは、PD-L1、PD-1、PD-L2 及びその任意の組合せからなる群から選択される。

【0163】

一部の実施態様では、PD-L1 バイオマーカーは免疫関連マーカーである。免疫関連マーカーは、免疫細胞によって、又は他の細胞（例えば腫瘍細胞、内皮細胞、線維芽細胞又は他の間質細胞）によって発現されるマーカーを指す。免疫細胞以外によって発現される場合は、マーカーは、活性化、プライミング、抗原の認識及び提示、サイトカイン及びケモカインの生成、増殖、遊走、生存、抗体産生その他などの免疫細胞の生物学及び機能

50

の調節に關与することができる。一部の實施態様では、免疫關連マーカーはT細胞關連マーカーである。一部の實施態様では、T細胞關連マーカーは、CD8A、IFN-g、EOMES、グランザイム-A、CXCL9及びその任意の組合せからなる群から選択される。一部の實施態様では、免疫關連マーカーは、CX3CL1、CD45RO、IDO1、ガレクチン9、MIC-A、MIC-B、CTLA-4及びその任意の組合せからなる群から選択される。

【0164】

一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーの存在は、個体をPD-L1軸結合性アンタゴニストで治療すると個体が臨床有益性の増加を有する可能性が高いことを示す。一部の實施態様では、臨床有益性の増加は、以下の1つ又は複数の相対的な増加を含む：全生存(OS)、無進行生存(PFS)、完全寛解(CR)、部分寛解(PR)及びその組合せ。

10

【0165】

一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーが試料の0%を構成する場合、PD-L1バイオマーカーは試料中に存在しない。一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーが試料の0%を超えて構成する場合、PD-L1バイオマーカーは試料中に存在する。一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーは試料の少なくとも1%に存在する。一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーは試料の少なくとも5%に存在する。一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーは試料の少なくとも10%に存在する。

【0166】

20

一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーは、FACS、ウェスタンブロット、ELISA、免疫沈降、免疫組織化学法、免疫蛍光法、放射線免疫検定法、ドットブロット法、免疫検出方法、HPLC、表面プラズモン共鳴、光学分光法、質量分析、HPLC、qPCR、RT-qPCR、多重qPCR又はRT-qPCR、RNA-seq、マイクロアレイ分析、SAGE、MassARRAY技術及びFISH、及びその組合せからなる群から選択される方法を使用して試料中に検出される。一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーは、タンパク質発現によって試料中に検出される。一部の實施態様では、タンパク質発現は、免疫組織化学法(IHC)によって判定される。一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーは、抗PD-L1抗体を使用して検出される。

【0167】

30

一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHCによって弱い染色強度として検出される。一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHCによって中程度の染色強度として検出される。一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHCによって強い染色強度として検出される。

【0168】

一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHC分析などのタンパク質発現分析を使用して腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞又はその組合せで検出される。腫瘍浸潤免疫細胞には、限定されずに、腫瘍内免疫細胞、腫瘍周囲免疫細胞又はその任意の組合せ、他の腫瘍間質細胞(例えば線維芽細胞)が含まれる。そのような腫瘍浸潤免疫細胞は、Tリンパ球(例えばCD8+Tリンパ球及び/又はCD4+Tリンパ球)、Bリンパ球又は他の骨髓系細胞、例えば顆粒球(好中球、好酸球、好塩基球)、単球、マクロファージ、樹状細胞(すなわち、嵌合樹状細胞)、組織球及びナチュラルキラー細胞であってもよい。

40

【0169】

一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーのための染色は、膜染色、細胞質染色及びその組合せとして検出される。他の實施態様では、PD-L1バイオマーカーの不在は試料中の不在又は無染色として検出される。

【0170】

一部の實施態様では、PD-L1バイオマーカーは、核酸発現によって試料中に検出される。一部の實施態様では、核酸発現は、qPCR、rtPCR、RNA-seq、多重qPCR若しくはRT-qPCR、マイクロアレイ分析、SAGE、MassARRAY

50

技術又はFISHを用いて判定される。

【0171】

一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、qPCR分析などの核酸発現を用いて、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞及びその組合せで検出される。

【0172】

方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストは、PD-L1結合性アンタゴニスト及びPD-1結合性アンタゴニストからなる群から選択される。

【0173】

方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストはPD-L1結合性アンタゴニストである。方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、そのリガンド結合パートナーへのPD-L1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、PD-1へのPD-L1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、B7-1へのPD-L1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、PD-1及びB7-1の両方へのPD-L1の結合を阻害する。

10

【0174】

方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは抗体である。方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、抗体はモノクローナル抗体である。方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、抗体は、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である。

20

【0175】

方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストはPD-1結合性アンタゴニストである。方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、そのリガンド結合パートナーへのPD-1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L1へのPD-1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L2へのPD-1の結合を阻害する。方法、アッセイ及び/又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L1及びPD-L2の両方へのPD-1の結合を阻害する。

30

【0176】

一部の実施態様では、個体から得られる試料は、組織、全血、血漿、血清及びその組合せからなる群から選択される。一部の実施態様では、試料は組織試料である。一部の実施態様では、試料は腫瘍組織試料である。一部の実施態様では、腫瘍組織試料は、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞又はその任意の組合せを含む。

【0177】

一部の実施態様では、試料はPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療の前に得られる。一部の実施態様では、組織試料は、ホルマリン固定及びパラフィン包埋され、新鮮なままで又は凍結されて保管される。

40

【0178】

一部の実施態様では、試料は全血である。一部の実施態様では、全血は、免疫細胞、循環性腫瘍細胞及びその任意の組合せを含む。

【0179】

一部の実施態様では、疾患又は障害は増殖性の疾患又は障害である。一部の実施態様では、疾患又は障害は、免疫関連の疾患又は障害である。一部の実施態様では、疾患又は障害は癌である。一部の実施態様では、癌は、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、メラノーマ、頭頸部癌、

50

甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髓腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌及び他の血液悪性腫瘍である。

【0180】

バイオマーカー（例えば、PD-L1）の存在及び／又は発現のレベル／量は、限定されずにDNA、mRNA、cDNA、タンパク質、タンパク質断片及び／又は遺伝子コピー数を含む、当技術分野で公知である任意の適する基準に基づいて定性的及び／又は定量的に判定することができる。ある特定の実施態様では、第1の試料中のバイオマーカーの存在及び／又は発現のレベル／量は、第2の試料中の存在／不在及び／又は発現のレベル／量と比較して増加又は上昇する。ある特定の実施態様では、第1の試料中のバイオマーカーの存在／不在及び／又は発現のレベル／量は、第2の試料中の存在及び／又は発現のレベル／量と比較して減少又は低下する。ある特定の実施態様では、第2の試料は、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織である。遺伝子の存在／不在及び／又は発現のレベル／量を判定するための追加の開示は、本明細書に記載される。

10

【0181】

方法の何れかの一部の実施態様では、上昇した発現は、本明細書に記載されるものなどの標準の当技術分野で公知の方法によって検出される、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織と比較したときの、バイオマーカー（例えば、タンパク質又は核酸（例えば、遺伝子又はmRNA））のレベルの約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又はそれ以上の何れかの全体的増加を指す。ある特定の実施態様では、上昇した発現は、試料中のバイオマーカーの発現のレベル／量の増加を指し、そこにおいて、増加は、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織の中のそれぞれのバイオマーカーの発現のレベル／量の少なくとも約1.5×、1.75×、2×、3×、4×、5×、6×、7×、8×、9×、10×、25×、50×、75×又は100×の何れかである。一部の実施態様では、上昇した発現は、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞、コントロール組織又は内部コントロール（例えばハウスキーピング遺伝子）と比較したときの、約1.5倍、約1.75倍、約2倍、約2.25倍、約2.5倍、約2.75倍、約3.0倍又は約3.25倍を超える全体的増加を指す。

20

30

【0182】

方法の何れかの一部の実施態様では、低下した発現は、本明細書に記載されるものなどの標準の当技術分野で公知の方法によって検出される、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織と比較したときの、バイオマーカー（例えば、タンパク質又は核酸（例えば、遺伝子又はmRNA））のレベルの約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%又はそれ以上の何れかの全体的低下を指す。ある特定の実施態様では、低下した発現は、試料中のバイオマーカーの発現のレベル／量の減少を指し、そこにおいて、減少は、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織の中のそれぞれのバイオマーカーの発現のレベル／量の少なくとも約0.9×、0.8×、0.7×、0.6×、0.5×、0.4×、0.3×、0.2×、0.1×、0.05×又は0.01×の何れかである。

40

【0183】

試料中の様々なバイオマーカーの存在及び／又は発現のレベル／量はいくつかの方法によって分析することができ、その多くは当技術分野で公知であり、熟練者に理解され、例えば、限定されずに、免疫組織化学法（「IHC」）、ウェスタンブロット分析、免疫沈降、分子結合アッセイ、ELISA、ELIFA、蛍光活性化細胞分取（「FACS」）、MassARRAY、プロテオミクス、定量的な血液ベースのアッセイ（例えば血清ELISA）、生化学的酵素活性アッセイ、in situハイブリダイゼーション、サザン分析、ノーザン分析、全ゲノム配列決定、ポリメラーゼ連鎖反応（「PCR」）、例え

50

ば定量的リアルタイムPCR(「qRT-PCR」)及び他の増幅型検出方法、例えば分枝DNA、SISBA、TMAなど、RNA-Seq、FISH、マイクロアレイ分析、遺伝子発現プロファイリング、及び/又は遺伝子発現の連続分析(「SAGE」)、並びにタンパク質、遺伝子及び/又は組織アレイ分析によって実施することができる多種多様なアッセイの何れか1つが含まれる。生成物がそうである遺伝子及び遺伝子産物の状態を評価するための一般的なプロトコールは、例えばAusubel等編、1995、Current Protocols In Molecular Biology、ユニット2(ノーザンブロット)、4(サザンブロット)、15(イムノブロット)及び18(PCR分析)に見出される。Rules Based Medicine又はMeso Scale Discovery(「MSD」)から入手できるものなどの、多重化されたイムノアッセイを使用することもできる。

10

【0184】

一部の実施態様では、バイオマーカーの存在及び/又は発現のレベル/量は、以下を含む方法を用いて判定される:(a)試料(対象の癌試料など)に対して遺伝子発現プロファイリング、PCR(例えばrtPCR又はqRT-PCR)、RNA-seq、マイクロアレイ分析、SAGE、MassARRAY技術又はFISHを実施すること;並びに(b)試料中のバイオマーカーの存在及び/又は発現のレベル/量を判定すること。一部の実施態様では、マイクロアレイ方法は、上で指摘した遺伝子をコードするか、上で指摘した遺伝子によってコードされるタンパク質の1つ又は複数に結合することができる1つ又は複数のポリペプチド(ペプチド又は抗体など)を有する核酸分子に、ストリンジェント条件下でハイブリダイズすることができる1つ又は複数の核酸分子を有するマイクロアレイチップの使用を含む。一実施態様では、PCR方法は、qRT-PCRである。一実施態様では、PCR方法は、多重PCRである。一部の実施態様では、遺伝子発現はマイクロアレイによって測定される。一部の実施態様では、遺伝子発現はqRT-PCRによって測定される。一部の実施態様では、発現は多重PCRによって測定される。

20

【0185】

細胞中のmRNAの評価のための方法は周知であり、例には、相補的なDNAプローブを使用するハイブリダイゼーションアッセイ(1つ又は複数の遺伝子に特異的な標識リボプローブを使用するin situハイブリダイゼーション、ノーザンブロット及び関連する技術など)、及び様々な核酸増幅アッセイ(例えば、遺伝子の1つ又は複数に特異的

30

【0186】

哺乳動物からの試料は、ノーザン、ドットブロット又はPCR分析を用いて、mRNAについて都合よく分析することができる。更に、そのような方法は、生物学的試料中の標的mRNAのレベルを判定すること(例えば、アクチンファミリーメンバーなどの「ハウスキピング」遺伝子の比較用コントロールmRNA配列のレベルを同時に検査することによる)を可能にする、1つ又は複数の工程を含むことができる。任意選択的に、増幅された標的cDNAの配列を決定してもよい。

【0187】

任意選択の方法は、マイクロアレイ技術により組織又は細胞試料で標的mRNAなどのmRNAを検査又は検出するプロトコールを含む。核酸マイクロアレイを使用して、検査及びコントロール組織試料からの検査及びコントロールmRNA試料を逆転写し、標識し、cDNAプローブを生成する。次に固体支持体の上に固定化された核酸のアレイに、プローブをハイブリダイズさせる。アレイは、アレイの各メンバーの配列及び位置が既知であるように構成される。例えば、その発現が抗血管新生療法の臨床的利益の増加又は低減と相関する遺伝子のセレクションを、固体支持体の上に配列させることができる。標識プローブと特定のアレイメンバーとのハイブリダイゼーションは、プローブが由来する試料がその遺伝子を発現することを示す。

40

【0188】

50

一部の実施態様によると、存在及び／又は発現のレベル／量は、前記の遺伝子のタンパク質発現レベルを観察することによって測定される。ある特定の実施態様では、本方法は、バイオマーカーの結合を許容する条件下で、抗体を有する生物学的試料を本明細書に記載されるバイオマーカー（例えば、抗PD-L1抗体）と接触させること、及び複合体が抗体とバイオマーカーの間で形成されるかどうかを検出することを含む。そのような方法は、インビトロ又はインビボの方法であってもよい。一実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストによる療法に適格な対象を選択するために、抗体、例えば個体の選択のためのバイオマーカーが使用される。

【0189】

ある特定の実施態様では、試料中のバイオマーカータンパク質の存在及び／又は発現のレベル／量は、IHC及び染色プロトコールを使用して検査される。組織切片のIHC染色は、試料中のタンパク質の存在を判定又は検出する信頼できる方法であることが示されている。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーはPD-L1である。一部の実施態様では、PD-L1は免疫組織化学法によって検出される。一部の実施態様では、個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの発現の上昇は、タンパク質発現の上昇であり、更なる実施態様では、IHCを使用して判定される。一実施態様では、バイオマーカーの発現レベルは、以下を含む方法を用いて判定される：(a) 試料（対象の癌試料など）のIHC分析を抗体で実施すること；及び(b) 試料中のバイオマーカーの発現レベルを判定すること。一部の実施態様では、IHC染色強度は、参照と比較して判定される。一部の実施態様では、参照は参照値である。一部の実施態様では、参照は参照試料（例えば、癌以外の患者からのコントロール細胞系染色試料又は組織試料）である。

【0190】

IHCは、形態学的染色及び／又は蛍光in-situハイブリダイゼーションなどの追加の技術と組み合わせて実施することができる。IHCの2つの一般方法、直接的及び間接的アッセイが利用可能である。第1のアッセイによると、標的抗原への抗体の結合は、直接的に判定される。この直接的なアッセイは、蛍光性タグ又は酵素標識一次抗体などの、更なる抗体相互作用なしで可視化することができる標識試薬を使用する。一般的な間接測定法では、非コンジュゲート型一次抗体は抗原に結合し、次に標識二次抗体が一次抗体に結合する。二次抗体が酵素標識とコンジュゲートされる場合、抗原の可視化を提供するために発色性又は蛍光発生基質が加えられる。いくつかの二次抗体が一次抗体の上の異なるエピトープと反応することができるので、シグナル増幅が起こる。

【0191】

IHCのために使用される一次及び／又は二次抗体は、検出可能な部分で一般に標識される。多数の標識が利用可能であり、それらは以下のカテゴリーに一般に分類することができる：(a) 放射性同位体、例えば³⁵S、¹⁴C、¹²⁵I、³H及び¹³¹I；(b) コロイド金粒子；(c) 蛍光標識、例えば限定されずに、希土類キレート（ユウロピウムキレート）、テキサスレッド、ローダミン、フルオレセイン、ダンシル、リサミン、ウンベリフェロン、フィコクリセリン、フィコシアニン又は市販の蛍光団、例えばSPECTRUM ORANGE 7及びSPECTRUM GREEN 7及び／又は上記の何れか1つ又は複数の誘導体；(d) 様々な酵素基質標識が利用可能であり、米国特許第4275149号はこれらの一部のレビューを提供する。酵素標識の例には、ルシフェラーゼ（例えば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ；米国特許第4737456号）、ルシフェリン、2,3-ジヒドロフタラジンジオン、リンゴ酸脱水素酵素、ウレアーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRPO）などのペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、サッカライドオキシダーゼ（例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ及びグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ）、複素環式オキシダーゼ（ウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼなど）、ラクトペルオキシダーゼ、ミクロペルオキシダーゼなどが含まれる。

【0192】

酵素基質組合せの例には、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRPO）と基質としての水素ペルオキシダーゼ；アルカリ性ホスファターゼ（AP）と発色性基質としてのパラニトロフェニルホスフェート；及び β -D-ガラクトシダーゼ（ β -D-Gal）と発色性基質（例えば、p-ニトロフェニル- β -D-ガラクトシダーゼ）又は蛍光原基質（例えば、4-メチルウンベリフェリル- β -D-ガラクトシダーゼ）が含まれる。これらの総合レビューについては、米国特許第4275149号及び4318980号を参照する。

【0193】

方法の何れかの一部の実施態様では、PD-L1は、抗PD-L1診断用抗体（すなわち、一次抗体）を使用して免疫組織化学法によって検出される。一部の実施態様では、PD-L1診断用抗体は、ヒトPD-L1に特異的に結合する。一部の実施態様では、PD-L1診断用抗体はヒト以外の抗体である。一部の実施態様では、PD-L1診断用抗体は、ラット、マウス又はウサギの抗体である。一部の実施態様では、PD-L1診断用抗体はモノクローナル抗体である。一部の実施態様では、PD-L1診断用抗体は直接的に標識される。

10

【0194】

このように調製される検体は、マウントして、カバーガラスを載せることができる。次に、例えば顕微鏡を用いてスライドの評価を判定し、当技術分野で常套的に使用される染色強度基準を用いることができる。一実施態様では、腫瘍からの細胞及び／又は組織がIHCを用いて検査されるとき、染色は腫瘍細胞及び／又は組織（試料中に存在する可能性のある間質又は周囲の組織に対して）で一般に判定又は評価されるものと理解される。一部の実施態様では、腫瘍からの細胞及び／又は組織がIHCを用いて検査されるとき、染色は、腫瘍内又は腫瘍周囲免疫細胞を含む腫瘍浸潤免疫細胞での判定又は評価を含むものと理解される。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーの存在は、IHCによって試料の>0%で、試料の少なくとも1%で、試料の少なくとも5%で、試料の少なくとも10%で検出される。

20

【0195】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーの存在は、任意の強度のPD-L1染色によるIHCで検出される。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHCによって弱い染色強度として検出される。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHCによって中程度の染色強度として検出される。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHCによって強い染色強度として検出される。

30

【0196】

一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHCによって腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞及びその組合せで検出される。

【0197】

IHCで使用するのに適する抗PD-L1抗体は、当技術分野で周知である。当業者ならば、例えば本明細書に開示されるIHCプロトコールを使用して抗PD-L1抗体と比較することによって、追加の適する抗PD-L1抗体を同定及び特徴付けることができることを理解する。

40

【0198】

胎盤及び扁桃組織（強いPD-L1染色強度）；組換えヒトPD-L1でトランスフェクトさせたHEK-293細胞（弱から、中程度及び強い強度の様々な程度のPD-L1染色強度）を用いて陽性組織コントロールが例示される。以下は、例示的なPD-L1 IHC基準について参照することができる。

PD-L1状態	染色基準
陰性	任意の染色強度で0%の膜染色又は細胞質染色又は両方の組合せ
陽性	任意の染色強度で>0%の膜染色又は細胞質染色又は両方の組合せ
	任意の染色強度で $\geq 1\%$ の膜染色又は細胞質染色又は両方の組合せ
	任意の染色強度で $\geq 5\%$ の膜染色又は細胞質染色又は両方の組合せ
	任意の染色強度で $\geq 10\%$ の膜染色又は細胞質染色又は両方の組合せ

10

【 0 1 9 9 】

一部の実施態様では、PD-L1 IHC 診断評価のための基準は、以下の通りに提供される：

PD-L1 診断評価	IHC スコア
いかなる識別できる PD-L1 染色の不在 又は 腫瘍細胞、関連する腫瘍内の及び近接する腫瘍周囲癒着性の間質によって占められる腫瘍領域の<1%をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞での任意の強度の識別できる PD-L1 染色の存在	IHC 0
腫瘍細胞、関連する腫瘍内の及び近接する腫瘍周囲癒着性の間質によって占められる腫瘍領域の $\geq 1\%$ から<5%をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞での任意の強度の識別できる PD-L1 染色の存在	IHC 1
腫瘍細胞、関連する腫瘍内の及び近接する腫瘍周囲癒着性の間質によって占められる腫瘍領域の $\geq 5\%$ から<10%をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞での任意の強度の識別できる PD-L1 染色の存在	IHC 2
腫瘍細胞、関連する腫瘍内の及び近接する腫瘍周囲癒着性の間質によって占められる腫瘍領域の $\geq 10\%$ をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞での任意の強度の識別できる PD-L1 染色の存在	IHC 3

20

30

【 0 2 0 0 】

代替の方法では、抗体 - バイオマーカー複合体が形成するのに十分な条件下で前記バイオマーカーに特異的な抗体と試料を接触させ、次に前記複合体を検出することができる。バイオマーカーの存在は、血漿又は血清を含む各種の組織及び試料を分析するためのウェスタンブロット法及びELISA手順などのいくつかの方法で検出することができる。そのようなアッセイフォーマットを用いる各種のイムノアッセイ技術が利用でき、例えば米国特許第4016043号、4424279号及び4018653号を参照されたい。これらには、非競合型の単一部位及び2部位又は「サンドウィッチ」アッセイ、並びに伝統的な競合結合アッセイが含まれる。これらのアッセイには、標的バイオマーカーへの標識抗体の直接結合も含まれる。

40

【 0 2 0 1 】

組織又は細胞試料中の選択されたバイオマーカーの存在及び/又は発現のレベル/量は、機能的又は活性ベースのアッセイによって検査することもできる。例えば、バイオマーカーが酵素である場合は、組織又は細胞試料中の所与の酵素活性の存在を判定又は検出するために、当技術分野で公知のアッセイを実行することができる。

【 0 2 0 2 】

50

ある特定の実施態様では、分析するバイオマーカーの量の差及び使用する試料の品質の変動性について、並びに各アッセイ間の変動性について試料が標準化される。そのような標準化は、周知のハウスキーピング遺伝子を含むある特定の標準化バイオマーカーの発現を検出し、組み込むことによって達成することができる。あるいは、標準化は、分析した遺伝子の全て又はその大きなサブセット（大域的標準化手法）の平均又は中央シグナルに基づくことができる。遺伝子単位で、対象の腫瘍mRNA又はタンパク質の測定された標準化された量は、参照セットで見出される量と比較される。1対象あたりの1試験腫瘍あたりの各mRNA又はタンパク質の標準化された発現レベルは、参照セットで測定される発現レベルの百分率として表すことができる。分析する特定の対象試料で測定される存在及び/又は発現のレベル/量は、この範囲内の何らかのパーセンタイルにあり、それは当技術分野で周知である方法によって判定することができる。

10

【0203】

一実施態様では、試料は臨床試料である。別の実施態様では、試料は診断アッセイで用いられる。一部の実施態様では、試料は、原発腫瘍又は転移腫瘍から得られる。腫瘍組織の代表的断片を得るために、組織生検がしばしば使用される。あるいは、対象の腫瘍細胞を含有することが既知であるかそのように考えられている組織又は液の形で、腫瘍細胞を間接的に得ることができる。例えば、肺癌病変の試料は、切除、気管支鏡検査法、細針吸引、気管支擦過法によって、又は痰、胸膜液若しくは血液から得ることができる。遺伝子又は遺伝子産物は、癌若しくは腫瘍組織から、又は尿、痰、血清若しくは血漿などの他の体試料から検出することができる。癌試料中の標的遺伝子又は遺伝子産物の検出のための上述の同じ技術は、他の体試料に応用することができる。癌細胞は癌病変から脱却させることができ、そのような体試料に出現することができる。そのような体試料をスクリーニングすることによって、これらの癌のために簡単な早期診断を達成することができる。更に、そのような体試料を標的遺伝子又は遺伝子産物について試験することによって、療法の進行をより容易に監視することができる。

20

【0204】

ある特定の実施態様では、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織は、検査試料を得るときと異なる1時点又は複数時点で得られる、同じ対象又は個体からの単一の試料又は組み合わせた多重試料である。例えば、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織は、検査試料を得る時より早い時点で同じ対象又は個体から得られる。そのような参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織は、参照試料が癌の初期診断の間に得られ、その後癌が転移性になるときに検査試料が得られる場合に役立つことができる。

30

【0205】

ある特定の実施態様では、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織は、対象又は個体でない1人又は複数人の健康な個体からの組み合わせた多重試料である。ある特定の実施態様では、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織は、対象又は個体でない疾患又は障害（例えば、癌）を有する1人又は複数人の個体からの組み合わせた多重試料である。ある特定の実施態様では、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織は、対象又は個体でない1人又は複数人の個体からの正常な組織からのプールされたRNA試料又はプールされた血漿若しくは血清試料である。ある特定の実施態様では、参照試料、参照細胞、参照組織、コントロール試料、コントロール細胞又はコントロール組織は、対象又は個体でない疾患又は障害（例えば、癌）を有する1人又は複数人の個体からの腫瘍組織からのプールされたRNA試料又はプールされた血漿若しくは血清試料である。

40

【0206】

一部の実施態様では、試料は個体からの組織試料である。一部の実施態様では、組織試料は腫瘍組織試料（例えば、生検組織）である。一部の実施態様では、組織試料は肺組織

50

である。一部の実施態様では、組織試料は腎臓組織である。一部の実施態様では、組織試料は皮膚組織である。一部の実施態様では、組織試料はすい臓組織である。一部の実施態様では、組織試料は胃組織である。一部の実施態様では、組織試料は膀胱組織である。一部の実施態様では、組織試料は食道組織である。一部の実施態様では、組織試料は中皮組織である。一部の実施態様では、組織試料は乳房組織である。一部の実施態様では、組織試料は甲状腺組織である。一部の実施態様では、組織試料は結腸直腸組織である。一部の実施態様では、組織試料は頭頸部組織である。一部の実施態様では、組織試料は骨肉腫組織である。一部の実施態様では、組織試料は前立腺組織である。一部の実施態様では、組織試料は、卵巣組織、HCC（肝臓）、血液細胞、リンパ節、骨/骨髓である。

【0207】

方法の何れかの一部の実施態様では、疾患又は障害は腫瘍である。一部の実施態様では、腫瘍は悪性の癌性腫瘍（すなわち、癌）である。一部の実施態様では、腫瘍及び/又は癌は、固形腫瘍又は非固形若しくは軟組織腫瘍である。軟組織腫瘍の例には、白血病（例えば、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、成人急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、成熟B細胞急性リンパ芽球白血病、慢性リンパ球性白血病、多形球性（polymorphic）白血病又は毛様細胞性白血病）又はリンパ腫（例えば、非ホジキンリンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫又はホジキン病）が含まれる。固形腫瘍には、血液、骨髓又はリンパ系以外の体組織の任意の癌が含まれる。固形腫瘍は、上皮細胞起源のもの及び非上皮細胞起源のものに更に分割することができる。上皮細胞固形腫瘍の例には、胃腸管、結腸、結腸直腸（例えば、基底様の結腸直腸癌）、乳房、前立腺、肺、腎臓、肝臓、すい臓、卵巣（例えば、類子宮内膜卵巣癌）、頭頸部、口腔、胃、十二指腸、小腸、大腸、肛門、胆嚢、下唇、鼻咽頭、皮膚、子宮、雄性器、泌尿器（例えば、尿路上皮癌、形成異常尿路上皮癌、移行細胞癌）、膀胱及び皮膚の腫瘍が含まれる。非上皮起源の固形腫瘍には、肉腫、脳腫瘍及び骨腫瘍が含まれる。一部の実施態様では、癌は非小細胞肺癌（NSCLC）である。一部の実施態様では、癌は、二次又は三次の局所的に進行したか転移性の非小細胞肺癌である。一部の実施態様では、癌は腺癌である。一部の実施態様では、癌は扁平上皮癌である。

【0208】

一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、FACS、ウェスタンブロット、ELISA、免疫沈降、免疫組織化学法、免疫蛍光法、放射線免疫検定法、ドットブロット法、免疫検出方法、HPLC、表面プラズモン共鳴、光学分光法、質量分析、HPLC、qPCR、RT-qPCR、多重qPCR又はRT-qPCR、RNA-seq、マイクロアレイ分析、SAGE、MassARRAY技術及びFISH、及びその組合せからなる群から選択される方法を使用して試料中に検出される。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーはFACS分析を使用して検出される。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーはPD-L1である。一部の実施態様では、PD-L1発現は、血液試料中に検出される。一部の実施態様では、PD-L1発現は、血液試料中の循環性免疫細胞で検出される。一部の実施態様では、循環性免疫細胞は、CD3+/CD8+T細胞である。一部の実施態様では、免疫細胞は、分析の前に血液試料から単離される。そのような細胞集団を単離/濃縮するための、限定されずに細胞選別を含む任意の適する方法を使用することができる。一部の実施態様では、抗PD-L1抗体などのPD-L1/PD-1軸経路の阻害剤による治療に応答する個体からの試料中のPD-L1発現は上昇する。一部の実施態様では、PD-L1発現は、血液試料中の、CD3+/CD8+T細胞などの循環性免疫細胞で上昇する。

【0209】

治療方法

個体において疾患又は障害を治療する方法であって、個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在を判定すること、及びPD-L1軸結合性アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含む方法が提供される。

【0210】

本明細書において、個体における疾患又は障害の治療であって、PD-L1軸結合性アンタゴニストの有効量を個体に投与することを含み、個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在に基づく治療が更に提供される。

【0211】

一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、PD-L1、PD-1、PD-L2及びその任意の組合せからなる群から選択される。

【0212】

一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは免疫関連マーカーである。免疫関連マーカーは、免疫細胞によって、又は他の細胞（例えば腫瘍細胞、内皮細胞、線維芽細胞又は他の間質細胞）によって発現されるマーカーを指す。免疫細胞以外によって発現される場合は、マーカーは、活性化、プライミング、抗原の認識及び提示、サイトカイン及びケモカインの生成、増殖、遊走、生存、抗体産生その他などの免疫細胞の生物学及び機能の調節に關与することができる。一部の実施態様では、免疫関連マーカーはT細胞関連マーカーである。一部の実施態様では、T細胞関連マーカーは、CD8A、IFN- γ 、EOMES、グランザイム-A、CXCL9及びその任意の組合せからなる群から選択される。一部の実施態様では、免疫関連マーカーは、CX3CL1、CD45RO、IDO1、ガレクチン9、MIC-A、MIC-B、CTLA-4及びその任意の組合せからなる群から選択される。

10

【0213】

一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーの存在は、個体をPD-L1軸結合性アンタゴニストで治療すると個体が臨床有益性の増加を有する可能性が高いことを示す。一部の実施態様では、臨床有益性の増加は、以下の1つ又は複数の相対的な増加を含む：全生存(OS)、無進行生存(PFS)、完全寛解(CR)、部分寛解(PR)及びその組合せ。

20

【0214】

一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーが試料の0%を構成する場合、PD-L1バイオマーカーは試料中に不在である。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーが試料の0%を超えて構成する場合、PD-L1バイオマーカーは試料中に存在する。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは試料の少なくとも1%に存在する。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは試料の少なくとも5%に存在する。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは試料の少なくとも10%に存在する。

30

【0215】

一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、FACS、ウェスタンブロット、ELISA、免疫沈降、免疫組織化学法、免疫蛍光法、放射線免疫検定法、ドットブロット法、免疫検出方法、HPLC、表面プラズモン共鳴、光学分光法、質量分析、HPLC、qPCR、RT-qPCR、多重qPCR又はRT-qPCR、RNA-seq、マイクロアレイ分析、SAGE、MassARRAY技術及びFISH、及びその組合せからなる群から選択される方法を使用して試料中に検出される。

【0216】

一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、タンパク質発現によって試料中に検出される。一部の実施態様では、タンパク質発現は、免疫組織化学法(IHC)によって判定される。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは抗PD-L1抗体を使用して検出される。

40

【0217】

一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHCによって弱い染色強度として検出される。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHCによって中程度の染色強度として検出される。一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHCによって強い染色強度として検出される。

【0218】

一部の実施態様では、PD-L1バイオマーカーは、IHC分析などのタンパク質発現

50

分析を使用して、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞又はその組合せで検出される。腫瘍浸潤免疫細胞には、限定されずに、腫瘍内免疫細胞、腫瘍周囲免疫細胞又はその任意の組合せ、他の腫瘍間質細胞（例えば線維芽細胞）が含まれる。そのような腫瘍浸潤免疫細胞は、Ｔリンパ球（例えばＣＤ８＋Ｔリンパ球及び／又はＣＤ４＋Ｔリンパ球）、Ｂリンパ球又は他の骨髄系細胞、例えば顆粒球（好中球、好酸球、好塩基球）、単球、マクロファージ、樹状細胞（すなわち、嵌合樹状細胞）、組織球及びナチュラルキラー細胞であってもよい。

【０２１９】

一部の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカ－のための染色は、膜染色、細胞質染色及びその組合せとして検出される。他の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカ－の不在は、試料中の不在又は無染色として検出される。

10

【０２２０】

一部の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカ－は、核酸発現によって試料中に検出される。一部の実施態様では、核酸発現は、ｑＰＣＲ、ｒｔＰＣＲ、ＲＮＡ－ｓｅｑ、多重ｑＰＣＲ若しくはＲＴ－ｑＰＣＲ、マイクロアレイ分析、ＳＡＧＥ、ＭａｓｓＡＲＲＡＹ技術又はＦＩＳＨを用いて判定される。

【０２２１】

一部の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１バイオマーカ－は、ｑＰＣＲ分析などの核酸発現を用いて、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞及びその組合せで検出される。

【０２２２】

20

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１軸結合性アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１結合性アンタゴニスト及びＰＤ－１結合性アンタゴニストからなる群から選択される。

【０２２３】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１軸結合性アンタゴニストはＰＤ－Ｌ１結合性アンタゴニストである。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１結合性アンタゴニストは、そのリガンド結合パートナーへのＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１結合性アンタゴニストは、ＰＤ－１へのＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１結合性アンタゴニストは、Ｂ７－１へのＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１結合性アンタゴニストは、ＰＤ－１及びＢ７－１の両方へのＰＤ－Ｌ１の結合を阻害する。

30

【０２２４】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１結合性アンタゴニストは抗体である。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、抗体はモノクローナル抗体である。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、抗体は、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である。

【０２２５】

方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－Ｌ１軸結合性アンタゴニストはＰＤ－１結合性アンタゴニストである。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－１結合性アンタゴニストは、そのリガンド結合パートナーへのＰＤ－１の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－１結合性アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１へのＰＤ－１の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－１結合性アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ２へのＰＤ－１の結合を阻害する。方法、アッセイ及び／又はキットの何れかの一部の実施態様では、ＰＤ－１結合性アンタゴニストは、ＰＤ－Ｌ１及びＰＤ－Ｌ２の両方へのＰＤ－１の結合を阻害する。

40

【０２２６】

本発明の方法に有益な抗ＰＤ－Ｌ１抗体及びその作製方法の例は、ＰＣＴ特許出願国際

50

公開第2010/077634A1号に記載され、それらは出典明示により本明細書に援用される。

【0227】

一部の実施態様では、抗PD-L1抗体は、PD-L1とPD-1の間及び/又はPD-L1とB7-1の間の結合を阻害することが可能である。一部の実施態様では、抗PD-L1抗体はモノクローナル抗体である。一部の実施態様では、抗PD-L1抗体は、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及び(Fab')2断片からなる群から選択される抗体断片である。一部の実施態様では、抗PD-L1抗体はヒト化抗体である。一部の実施態様では、抗PD-L1抗体はヒト抗体である。

【0228】

一実施態様では、抗PD-L1抗体は、HVR-H1、HVR-H2及びHVR-H3配列を含む重鎖可変領域ポリペプチドを含有し：そこにおいて

(a) HVR-H1配列は、GFTFSX1SWIH(配列番号1)であり；

(b) HVR-H2配列は、AWIX2PYGGSX3YYADSVKG(配列番号2)であり；

(c) HVR-H3配列は、RHWPGGF DY(配列番号3)であり；

更に：X1は、D又はGであり；X2は、S又はLであり；X3は、T又はSである。

【0229】

具体的な一態様では、X1はDであり；X2はSであり、X3はTである。別の態様では、ポリペプチドは、式(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)によりHVRの間に並置されている可変領域重鎖フレームワーク配列を更に含む。更に別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。更なる態様では、フレームワーク配列は、VHサブグループIIIコンセンサスフレームワークである。更なる態様では、フレームワーク配列の少なくとも1つは以下の通りである：

HC-FR1は、EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS(配列番号4)であり

HC-FR2は、WVRQAPGKGLEWV(配列番号5)であり

HC-FR3は、RFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCAR(配列番号6)であり

HC-FR4は、WGQGTLVTVSA(配列番号7)である。

【0230】

更なる態様では、重鎖ポリペプチドは、HVR-L1、HVR-L2及びHVR-L3を含む可変領域軽鎖と更に組み合わせられ：そこにおいて

(a) HVR-L1配列は、RASQX4X5X6TX7X8A(配列番号8)であり；

(b) HVR-L2配列は、SASX9LX10S(配列番号9)であり；

(c) HVR-L3配列は、QQX11X12X13X14PX15T(配列番号10)であり；

更に：X4はD又はVであり；X5はV又はIであり；X6はS又はNであり；X7はA又はFであり；X8はV又はLであり；X9はF又はTであり；X10はY又はAであり；X11はY、G、F又はSであり；X12は、L、Y、F又はWであり；X13は、Y、N、A、T、G、F又はIであり；X14は、H、V、P、T又はIであり；X15は、A、W、R、P又はTである。

【0231】

更なる態様では、X4はDであり；X5はVであり；X6はSであり；X7はAであり；X8はVであり；X9はFであり；X10はYであり；X11はYであり；X12はLであり；X13はYであり；X14はHであり；X15はAである。更なる態様では、軽鎖は、式(LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)によりHVRの間に並置されて

10

20

30

40

50

いる可変領域軽鎖フレームワーク配列を更に含む。更なる態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。更なる態様では、フレームワーク配列は、V L カッパ I コンセンサスフレームワークである。更なる態様では、フレームワーク配列の少なくとも1つは以下の通りである：

LC - FR 1 は、DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC (配列番号 11) であり

LC - FR 2 は、WYQQKPGKAPKLLIY (配列番号 12) であり

LC - FR 3 は、GVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (配列番号 13) であり

LC - FR 4 は、FGQGTKVEIKR (配列番号 14) である。

10

【0232】

別の実施態様では、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む単離された抗PD - L1抗体又は抗原結合断片が提供され：そこにおいて

(a) 重鎖はHVR - H1、HVR - H2及びHVR - H3を含み、更に：

(i) HVR - H1配列は、GFTFSX1SWIH (配列番号 1) であり

(ii) HVR - H2配列は、AWIX2PYGGX3YYADSVK (配列番号 2) であり

(iii) HVR - H3配列は、RHWPGGFDY (配列番号 3) であり、

(b) 軽鎖はHVR - L1、HVR - L2及びHVR - L3を含み、更に：

(i) HVR - L1配列は、RASQX4X5X6TX7X8A (配列番号 8) であり

(ii) HVR - L2配列は、SASX9LX10S (配列番号 9) であり

(iii) HVR - L3配列は、QQX11X12X13X14PX15T (配列番号 10) であり

20

更に：X1はD又はGであり；X2はS又はLであり；X3はT又はSであり；X4はD又はVであり；X5はV又はIであり；X6はS又はNであり；X7はA又はFであり；X8はV又はLであり；X9はF又はTであり；X10はY又はAであり；X11はY、G、F又はSであり；X12はL、Y、F又はWであり；X13はY、N、A、T、G、F又はIであり；X14はH、V、P、T又はIであり；X15はA、W、R、P又はTである。

【0233】

30

具体的な一態様では、X1はDであり；X2はSであり、X3はTである。別の態様では、X4はDであり；X5はVであり；X6はSであり；X7はAであり；X8はVであり；X9はFであり；X10はYであり；X11はYであり；X12はLであり；X13はYであり；X14はHであり；X15はAである。更に別の態様では、X1はDであり；X2はSであり、X3はTであり、X4はDであり；X5はVであり；X6はSであり；X7はAであり；X8はVであり；X9はFであり；X10はYであり；X11はYであり；X12はLであり；X13はYであり；X14はHであり、X15はAである。

【0234】

更なる態様では、重鎖可変領域は、(HC - FR1) - (HVR - H1) - (HC - FR2) - (HVR - H2) - (HC - FR3) - (HVR - H3) - (HC - FR4) のようにHVRの間に並置されている1つ又は複数のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、(LC - FR1) - (HVR - L1) - (LC - FR2) - (HVR - L2) - (LC - FR3) - (HVR - L3) - (LC - FR4) のようにHVRの間に並置されている1つ又は複数のフレームワーク配列を含む。更なる態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列は、KabataサブグループI、II又はIII配列に由来する。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列は、VHサブグループIIコンセンサスフレームワークである。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列の1つ又は複数の通りである：

40

HC - FR1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (配列番号 4)

50

HC - FR 2 WVRQAPGKGLEWV (配列番号 5)
 HC - FR 3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC
 AR (配列番号 6)
 HC - FR 4 WGQGT L V T V S A (配列番号 7)。

【 0 2 3 5 】

更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、K a b a t のカップ I、II、II 又は IV サブグループ配列に由来する。更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、VL カップ I コンセンサスフレームワークである。更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列の 1 つ又は複数は以下の通りである：

LC - FR 1 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC (配列番号 10
 1 1)
 LC - FR 2 WYQQKPGKAPKLLIY (配列番号 1 2)
 LC - FR 3 GVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATY
 YC (配列番号 1 3)
 LC - FR 4 FGQGTKVEIKR (配列番号 1 4)。

【 0 2 3 6 】

更なる具体的態様では、抗体はヒト又はマウスの定常領域を更に含む。更なる態様では、ヒト定常領域は、IgG 1、IgG 2、IgG 2、IgG 3、IgG 4 からなる群から選択される。更なる具体的態様では、ヒト定常領域は、IgG 1 である。更なる態様では、マウス定常領域は、IgG 1、IgG 2 A、IgG 2 B、IgG 3 からなる群から選択される。更なる態様では、マウス定常領域は IgG 2 A である。更なる具体的態様では、抗体は低減されたか最小限のエフェクター機能を有する。更なる具体的態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターなしのFc突然変異」又は無グリコシル化からもたらされる。更なる実施態様では、エフェクターなしのFc突然変異は、定常領域での N 2 9 7 A 又は D 2 6 5 A / N 2 9 7 A 置換である。

【 0 2 3 7 】

更に別の実施態様では、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む抗 PD - L 1 抗体が提供され：そこにおいて

(a) 重鎖は、それぞれ GFTFSDSWIH (配列番号 1 5)、AWISPYGGSTYYADSVKKG (配列番号 1 6) 及び RHWPGGFDY (配列番号 3) と少なくとも 8 5 % の配列同一性を有する HVR - H 1、HVR - H 2 及び HVR - H 3 配列を更に含み、又は

(b) 軽鎖は、それぞれ RASQDVSTAVA (配列番号 1 7)、SASF LYS (配列番号 1 8) 及び QQYLYHPAT (配列番号 1 9) と少なくとも 8 5 % の配列同一性を有する HVR - L 1、HVR - L 2 及び HVR - L 3 配列を更に含む。

【 0 2 3 8 】

具体的な態様では、配列同一性は、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % 又は 1 0 0 % である。別の態様では、重鎖可変領域は、(HC - FR 1) - (HVR - H 1) - (HC - FR 2) - (HVR - H 2) - (HC - FR 3) - (HVR - H 3) - (HC - FR 4) のように HVR の間に並置されている 1 つ又は複数のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、(LC - FR 1) - (HVR - L 1) - (LC - FR 2) - (HVR - L 2) - (LC - FR 3) - (HVR - L 3) - (LC - FR 4) のように HVR の間に並置されている 1 つ又は複数のフレームワーク配列を含む。更に別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列は、K a b a t のサブグループ I、II 又は III 配列に由来する。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列は、VH サブグループ III コンセンサスフレームワークである。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列の 1 つ又は複数は以下の通りである：

HC - FR 1 EVQLVESGGGLVQP GGS LRLSCAAS (配列 50

番号 4)

H C - F R 2 W V R Q A P G K G L E W V (配列番号 5)

H C - F R 3 R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C

A R (配列番号 6)

H C - F R 4 W G Q G T L V T V S A (配列番号 7)。

【 0 2 3 9 】

更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、K a b a t のカップ I、I I、I I 又は I V サブグループ配列に由来する。更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、V L カップ I コンセンサスフレームワークである。更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列の 1 つ又は複数は以下の通りである：

L C - F R 1 D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C (配列番号 1 1)

L C - F R 2 W Y Q Q K P G K A P K L L I Y (配列番号 1 2)

L C - F R 3 G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C (配列番号 1 3)

L C - F R 4 F G Q G T K V E I K R (配列番号 1 4)。

【 0 2 4 0 】

更なる具体的態様では、抗体はヒト又はマウスの定常領域を更に含む。更なる態様では、ヒト定常領域は、I g G 1、I g G 2、I g G 2、I g G 3、I g G 4 からなる群から選択される。更なる具体的態様では、ヒト定常領域は、I g G 1 である。更なる態様では、マウス定常領域は、I g G 1、I g G 2 A、I g G 2 B、I g G 3 からなる群から選択される。更なる態様では、マウス定常領域は I g G 2 A である。更なる具体的態様では、抗体は低減されたか最小限のエフェクター機能を有する。更なる具体的態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターなしの F c 突然変異」又は無グリコシル化からもたらされる。更なる実施態様では、エフェクターなしの F c 突然変異は、定常領域での N 2 9 7 A 又は D 2 6 5 A / N 2 9 7 A 置換である。

【 0 2 4 1 】

更なる実施態様では、重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む単離された抗 P D - L 1 抗体が提供され：そこにおいて

(a) 重鎖配列は、重鎖配列：E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S D S W I H W V R Q A P G K G L E W V A W I S P Y G G S T Y Y A D S V K G R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R R H W P G G F D Y W G Q G T L V T V S A (配列番号 2 0) と少なくとも 8 5 % の配列同一性を有し、又は

(b) 軽鎖配列は、軽鎖配列：D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q D V S T A V A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y S A S F L Y S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y L Y H P A T F G Q G T K V E I K R (配列番号 2 1) と少なくとも 8 5 % の配列同一性を有する。

【 0 2 4 2 】

具体的な態様では、配列同一性は、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % 又は 1 0 0 % である。別の態様では、重鎖可変領域は、(H C - F R 1) - (H V R - H 1) - (H C - F R 2) - (H V R - H 2) - (H C - F R 3) - (H V R - H 3) - (H C - F R 4) のように H V R の間に並置されている 1 つ又は複数のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、(L C - F R 1) - (H V R - L 1) - (L C - F R 2) - (H V R - L 2) - (L C - F R 3) - (H V R - L 3) - (L C - F R 4) のように H V R の間に並置されている 1 つ又は複数のフレームワーク配列を含む。更に別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列は、K a b a t のサブグループ I、I I 又は I I I 配列に由来する。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列は、V H サブグループ I I I コンセンサスフレームワー

10

20

30

40

50

クである。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列の1つ又は複数は以下の通りである：

HC - FR 1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (配列番号4)

HC - FR 2 WVRQAPGKGLEWV (配列番号5)

HC - FR 3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYCAR (配列番号6)

HC - FR 4 WGQGT L V T V S A (配列番号7)。

【0243】

更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、Kababの kappa I、II、II又はIVサブグループ配列に由来する。更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、VL kappa I コンセンサスフレームワークである。更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列の1つ又は複数は以下の通りである：

LC - FR 1 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC (配列番号11)

LC - FR 2 WYQQKPGKAPKLLIY (配列番号12)

LC - FR 3 GVPSTRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATY YC (配列番号13)

LC - FR 4 FGQGTKVEIKR (配列番号14)。

【0244】

更なる具体的態様では、抗体はヒト又はマウスの定常領域を更に含む。更なる態様では、ヒト定常領域は、IgG1、IgG2、IgG2、IgG3、IgG4 からの群から選択される。更なる具体的態様では、ヒト定常領域は、IgG1である。更なる態様では、マウス定常領域は、IgG1、IgG2A、IgG2B、IgG3 からの群から選択される。更なる態様では、マウス定常領域はIgG2Aである。更なる具体的態様では、抗体は低減されたか最小限のエフェクター機能を有する。更なる具体的態様では、最小限のエフェクター機能は、原核細胞での生成からもたらされる。更なる具体的態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターなしのFc突然変異」又は無グリコシル化からもたらされる。更なる実施態様では、エフェクターなしのFc突然変異は、定常領域でのN297A又はD265A/N297A置換である。

【0245】

更なる実施態様では、本発明は、上記の抗PD-L1抗体の何れかを少なくとも1つの薬学的に許容される担体と一緒に含む組成物を提供する。

【0246】

更なる実施態様では、抗PD-L1抗体の軽鎖又は重鎖可変領域配列をコードする単離された核酸が提供され：そこにおいて

(a) 重鎖は、それぞれGFTFSDSWIH (配列番号15)、AWISPYGGSTYYADSVK G (配列番号16) 及びRHWPGGFDY (配列番号3) と少なくとも85%の配列同一性を有するHVR-H1、HVR-H2 及びHVR-H3 配列を更に含む、

(b) 軽鎖は、それぞれRASQDVSTAVA (配列番号17)、SASF LYS (配列番号18) 及びQQYLYHPAT (配列番号19) と少なくとも85%の配列同一性を有するHVR-L1、HVR-L2 及びHVR-L3 配列を更に含む。

【0247】

具体的な態様では、配列同一性は、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%である。一態様では、重鎖可変領域は、(HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4) のようにHVRの間に並置されている1つ又は複数のフレームワーク配列を含み、軽鎖可変領域は、(LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(

10

20

30

40

50

LC - FR 3) - (HVR - L 3) - (LC - FR 4) のように HVR の間に並置されている 1 つ又は複数のフレームワーク配列を含む。更に別の態様では、フレームワーク配列は、ヒトコンセンサスフレームワーク配列に由来する。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列は、K a b a t のサブグループ I、II 又は III 配列に由来する。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列は、VH サブグループ I II コンセンサスフレームワークである。更なる態様では、重鎖フレームワーク配列の 1 つ又は複数の以下の通りである：

HC - FR 1 EVQLVESGGGLVQP GGS LRLSCAAS (配列番号 4)

HC - FR 2 WVRQAPGKGLEWV (配列番号 5)

HC - FR 3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLR AEDTAVYYC AR (配列番号 6) 10

HC - FR 4 WGQGT LVT VSA (配列番号 7)。

【0248】

更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、K a b a t のカッパ I、II、III 又は IV サブグループ配列に由来する。更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列は、VL カッパ I コンセンサスフレームワークである。更なる態様では、軽鎖フレームワーク配列の 1 つ又は複数の以下の通りである：

LC - FR 1 DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITC (配列番号 11)

LC - FR 2 WYQQKPGKAPKLLIY (配列番号 12) 20

LC - FR 3 GVP SRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATY YC (配列番号 13)

LC - FR 4 FGQGT KVEIKR (配列番号 14)。

【0249】

更なる具体的態様では、抗体はヒト又はマウスの定常領域を更に含む。更なる態様では、ヒト定常領域は、Ig G 1、Ig G 2、Ig G 2、Ig G 3、Ig G 4 からなる群から選択される。更なる具体的態様では、ヒト定常領域は、Ig G 1 である。更なる態様では、マウス定常領域は、Ig G 1、Ig G 2 A、Ig G 2 B、Ig G 3 からなる群から選択される。更なる態様では、マウス定常領域は Ig G 2 A である。更なる具体的態様では、抗体は低減されたか最小限のエフェクター機能を有する。更なる具体的態様では、最小限のエフェクター機能は、原核細胞での生成からもたらされる。更なる具体的態様では、最小限のエフェクター機能は、「エフェクターなしのFc 突然変異」又は無グリコシル化からもたらされる。更なる態様では、エフェクターなしのFc 突然変異は、定常領域での N 297A 又は D 265A / N 297A 置換である。

【0250】

更なる態様では、核酸は、前に記載された抗 PD - L 1 抗体の何れかをコードする核酸の発現に適するベクターを更に含む。更なる具体的態様では、ベクターは、核酸の発現に適する宿主細胞を更に含む。更なる具体的態様では、宿主細胞は真核細胞又は原核細胞である。更なる具体的態様では、真核細胞は、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) などの哺乳動物細胞である。

【0251】

抗 PD - L 1 抗体又はその抗原結合断片は、当技術分野で公知の方法を用いて、例えば、発現に適する形の前記抗 PD - L 1 抗体又は抗原結合断片の何れかをコードする核酸を含有する宿主細胞を、そのような抗体又は断片を生成するのに適する条件下で培養し、抗体又は断片を回収することを含む方法によって作製することができる。更なる実施態様では、本発明は、本明細書で提供される抗 PD - L 1 抗体又はその抗原結合断片及び少なくとも 1 つの薬学的に許容される担体を含む組成物を提供する。

【0252】

A . 抗体

1 . 抗体親和性

ある特定の実施態様では、本明細書で提供される抗体は、 $1 \mu\text{M}$ の解離定数 (K_d) を有する。一実施態様では、 K_d は、以下のアッセイによって記載される対象の抗体の Fab バージョン及びその抗原で実施される放射標識抗原結合アッセイ (RIA) によって測定される。抗原への Fab の溶液結合親和性は、非標識抗原の滴定シリーズの存在下で最小限の濃度の (^{125}I) 標識抗原で Fab を平衡させ、結合した抗原を次に抗 Fab 抗体でコーティングしたプレートで捕捉することによって測定される (例えば、Chenら、*J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)を参照)。アッセイの条件を確立するために、*MICROTITER* (登録商標) マルチウェルプレート (*Thermo Scientific*) を 50 mM 炭酸ナトリウム ($\text{pH } 9.6$) 中の $5 \mu\text{g/ml}$ の捕捉抗 Fab 抗体 (*Cappele Labs*) で一晩コーティングし、その後室温 (およそ 23°C) で $2 - 5$ 時間、 PBS 中の $2 (\text{w/v})\%$ ウシ血清アルブミンでブロックする。非吸着プレート (*Nunc #269620*) において、 100 pM 又は 26 pM の [^{125}I] 抗原を対象の Fab の連続希釈と混合する (例えば、*Presta*ら、*Cancer Res.* 57:4593-4599 (1997) の、抗 $VEGF$ 抗体、 $Fab - 12$ の評価と一貫する)。対象の Fab を次に一晩インキュベートする; しかし、平衡に確実に到達するように、インキュベーションはより長い期間 (例えば、約 65 時間) 続けることができる。その後、室温でのインキュベーション (例えば、 1 時間) のために、混合液を捕捉プレートに移す。溶液を次に除去し、 PBS 中の 0.1% ポリソルベート 20 (*TWEEN 20* (登録商標)) でプレートを 8 回洗浄する。プレートが乾燥したとき、 $150 \mu\text{l}$ / ウェルのシンチラント (*MICROSCINT - 20* (商標); *Packard*) を加え、 10 分間、プレートを *TOPCOUNT* (商標) ガンマ計数器 (*Packard*) で計数する。最大結合の 20% 以下を与える各 Fab の濃度が、競合結合アッセイで使用するために選択される。

【0253】

別の実施形態により、*BIACORE* (登録商標) 2000 又は *BIACORE* (登録商標) 3000 (*BIACORE, Inc., Piscataway, NJ*) を、 ~ 10 反応単位 (RU) の固定化抗原 $CM5$ チップと 25°C で使用する表面プラズモン共鳴アッセイを用いて K_d を測定する。簡潔には、供給業者の指示に従って、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ ($CM5$ 、*BIACORE, Inc.*) を、 N -エチル- N' -(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩 (EDC) 及び N -ヒドロキシスクシンイミド (NHS) で活性化する。結合タンパク質のおよそ 10 反応単位 (RU) を達成するために、抗原を 10 mM 酢酸ナトリウム $\text{pH } 4.8$ で $5 \mu\text{g/ml}$ ($\sim 0.2 \mu\text{M}$) に希釈してから、 $5 \mu\text{l}$ / 分の流量で注入する。抗原の注射の後、 1 M のエタノールアミンを注入して未反応基をブロックする。反応速度論的測定のために、 Fab の二倍連続希釈 ($0.78 \text{ nM} - 500 \text{ nM}$) を、 25°C の 0.05% ポリソルベート 20 (*TWEEN - 20* (商標)) 界面活性剤を有する PBS ($PBST$) でおよそ $25 \mu\text{l}$ / 分の流速により注入する。会合及び解離センサーグラムを同時に取り付け、簡単な 1 対 1 の *Langmuir* 結合モデル (*BIACORE* (登録商標) *Evaluation* ソフトウェアバージョン 3.2) を用いることによって、会合速度 (k_{on}) 及び解離速度 (k_{off}) を計算する。平衡解離定数 (K_d) は、比 k_{off} / k_{on} で計算する。例えば、*Chen*ら、*J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999) を参照。上記の表面プラズモン共鳴アッセイにより会合速度が $106 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を超える場合は、会合速度は、 PBS 、 $\text{pH } 7.2$ 中の 20 nM 抗抗原抗体 (Fab 形) の蛍光放出強度 (励起 = 295 nm 、放出 = 340 nm 、 16 nm 帯域通過) の増加又は低下を、流動停止を備えた分光光度計 (*Aviv Instruments*) 又は攪拌キュベットを備えた 8000 シリーズ *SLM-AMINCO* (商標) 分光光度計 (*Thermo Spectronic*) などの分光計で測定される漸増濃度の抗原の存在下で、 25°C で測定する蛍光消光技術を用いて判定することができる。

【0254】

2. 抗体断片

ある特定の実施態様では、本明細書で提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片には、限定されずに、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv及びscFv断片、並びに下記の他の断片が含まれる。特定の抗体断片のレビューのために、Hudson等Nat. Med. 9:129-134(2003)を参照。scFv断片のレビューについては、例えばThe Pharmacology of Monoclonal Antibodies、第113巻、Rosenburg及びMoore編、(Springer-Verlag、New York)、p269-315(1994)のPluckthunを参照；国際公開第93/16185号；及び米国特許第5571894号及び5587458号も参照。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、増加したインビボ半減期を有するFab及びF(ab')₂断片の議論については、米国特許第5869046号を参照する。

10

【0255】

ダイアボディは、二価又は二重特異性であってよい、2つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州特許404097号；国際公開第1993/01161号；Hudson等、Nat. Med. 9:129-134(2003)；及びHollinger等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448(1993)を参照。トリアボディ及びテトラボディも、Hudson等、Nat. Med. 9:129-134(2003)に記載されている。

【0256】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全体若しくは一部又は軽鎖可変ドメインの全体若しくは一部を含む抗体断片である。ある特定の実施態様では、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である(Domantis, Inc.、Waltham、MA；例えば、米国特許第6248516B1号を参照)。

20

【0257】

本明細書に記載されるように、抗体断片は、限定されずに、インタクトな抗体のタンパク分解並びに組換え宿主細胞(例えば、大腸菌(E. coli)又はファージ)による生成を含む、様々な技術によって作製することができる。

【0258】

3. キメラ及びヒト化抗体

ある特定の実施態様では、本明細書で提供される抗体は、キメラ抗体である。ある特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第4816567号；及びMorrison等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、81:6851-6855(1984)に記載されている。一例では、キメラ抗体は、ヒト以外の可変領域(例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又はサルなどのヒト以外の霊長類に由来する可変領域)及びヒト定常領域を含む。更なる例では、キメラ抗体は、クラス又はサブクラスが親抗体のものから変化している「クラススイッチ」された抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合性断片を含む。

30

【0259】

ある特定の実施態様では、キメラ抗体はヒト化抗体である。一般的に、ヒト以外の抗体はヒトへの免疫原性を低減するためにヒト化されるが、その一方で親のヒト以外の抗体の特異性及び親和性を保持する。一般に、ヒト化抗体は、HVR、例えばCDR(又はその一部)がヒト以外の抗体に由来し、FR(又はその一部)がヒト抗体配列に由来する1つ又は複数の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、ヒト定常領域の少なくとも一部も任意選択的に含む。一部の実施態様では、例えば抗体の特異性又は親和性を回復又は改善するために、ヒト化抗体の一部のFR残基は、ヒト以外の抗体(例えば、HVR残基が由来する抗体)からの対応する残基で置換される。

40

【0260】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えば、Almagro及びFransson、Front. Biosci. 13:1619-1633(2008)でレビューされ、例えば、Riechmann等、Nature 332:323-329(1988)；Q

50

ueen等、Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033(1989); 米国特許第5821337号、7527791号、6982321号及び7087409号; Kashmiri等ら、Methods 36:25-34(2005)(SDR(a-CDR)移植を記載する); Padlan、Mol. Immunol. 28:489-498(1991)(「リサーフェシング」を記載する); Dall'Aqua等、Methods 36:43-60(2005)(「FRシャフリング」を記載する); 並びにOsbourne等、Methods 36:61-68(2005)及びKlimka等、Br. J. Cancer、83:252-260(2000)(FRシャフリングの「誘導選択」手法を記載する)で更に記載される。

【0261】

ヒト化のために使用することができるヒトフレームワーク領域には、限定されずに以下のものが含まれる:「最良適合」方法を用いて選択されるフレームワーク領域(例えば、Sims等、J. Immunol. 151:2296(1993)を参照); 軽鎖又は重鎖の可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域(例えば、Carter等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、89:4285(1992); 及びPresta等、J. Immunol.、151:2623(1993)を参照); ヒト成熟(体細胞突然変異した)フレームワーク領域又はヒト生殖細胞系フレームワーク領域(例えば、Almagro及びFransson、Front. Biosci. 13:1619-1633(2008)を参照); 及びFRライブラリーのスクリーニングに由来するフレームワーク領域(例えば、Baca等、J. Biol. Chem. 272:10678-10684(1997)及びRosok等、J. Biol. Chem. 271:22611-22618(1996)を参照)。

【0262】

4. ヒト抗体

ある特定の実施態様では、本明細書で提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当技術分野で公知である様々な技術を用いて生成することができる。ヒト抗体は、van Dijk及びvan de Winkel、Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74(2001)及びLonberg、Curr. Opin. Immunol. 20:450-459(2008)に一般に記載される。

【0263】

ヒト抗体は、抗原投与に応答してヒト可変領域を有するインタクトなヒト抗体又はインタクトな抗体を生成するように修飾されているトランスジェニック動物に、免疫原を投与することによって調製することができる。そのような動物はヒト免疫グロブリン遺伝子座の全体又は一部を一般に含有し、それらは内因性免疫グロブリン遺伝子座を置き換えるか、又はそれらは染色体外に存在するか若しくは動物の染色体にランダムに組み込まれる。そのようなトランスジェニックマウスでは、内因性免疫グロブリン遺伝子座は、一般に不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法のレビューについては、Lonberg、Nat. Biotech. 23:1117-1125(2005)を参照する。例えば、XENOMOUSE(商標)技術を記載する米国特許第6075181号及び6150584号; HuMab(登録商標)技術を記載する米国特許第5770429号; K-M MOUSE(登録商標)技術を記載する米国特許第7041870号及びVelociMouse(登録商標)技術を記載する米国特許出願公開第2007/0061900号も参照されたい。そのような動物によって生成されるインタクトな抗体からのヒト可変領域は、例えば異なるヒト定常領域と組み合わせることによって更に修飾することができる。

【0264】

ヒト抗体は、ハイブリドーマをベースとした方法によって作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体の生成のための、ヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロ骨髓腫細胞系が記載されている(例えば、Kozbor J. Immunol.、133:3001(1984); Brodeur等、Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications、p51-63(Marcel Dekker, Inc.、New York、1987); 及びBoerner等、J. Immunol.、147:86(1991)を参照。) ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を通して生成されるヒト抗体も、Li等、Proc. Natl. Acad. S

10

20

30

40

50

ci. USA、103:3557-3562(2006)に記載されている。追加の方法には、例えば、米国特許第7189826号(ハイブリドーマ細胞系からのモノクローナルヒトIgM抗体の生成を記載する)及びNi、Xiandai Mianyixue、26(4):265-268(2006)(ヒト-ヒトハイブリドーマを記載する)に記載されるものが含まれる。ヒトハイブリドーマ技術(トリオーマ技術)も、Vollmers及びBrandlein、Histology and Histopathology、20(3):927-937(2005)及びVollmers及びBrandlein、Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology、27(3):185-91(2005)に記載されている。

10

【0265】

ヒト抗体は、ヒト由来のファージディスプレイライブラリーから選択されるFvクローン可変ドメイン配列を単離することによって生成することもできる。そのような可変ドメイン配列は、所望のヒト定常ドメインと次に組み合わせることができる。抗体ライブラリーからヒト抗体を選択する技術は、下に記載される。

【0266】

5. ライブラリー由来の抗体

抗体は、所望の活性又は活性を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって単離することができる。例えば、ファージディスプレイライブラリーを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてそのようなライブラリーをスクリーニングするために、様々な方法が当技術分野で公知である。そのような方法は、例えば、Hoogenboom等、Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等編、Human Press、Totowa、NJ、2001)でレビューされ、例えば、McCafferty等、Nature 348:552-554; Clackson等、Nature 352:624-628(1991); Marks等、J. Mol. Biol. 222:581-597(1992); Marks及びBradbury、Methods in Molecular Biology 248:161-175(Lo編、Human Press、Totowa、NJ、2003); Sidhu等、J. Mol. Biol. 338(2):299-310(2004); Lee等、J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093(2004); Fellouse、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、101(34):12467-12472(2004); 及びLee等、J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132(2004)に更に記載されている。

20

30

【0267】

ある特定のファージディスプレイ方法では、VH及びVL遺伝子のレパートリーがポリメラーゼ連鎖反応(PCR)によって別々にクローニングされ、ファージライブラリーでランダムに再結合され、それらは、Winter等、Ann. Rev. Immunol.、(12):433-455(1994)に記載される通り抗原結合性ファージについて次にスクリーニングすることができる。ファージは、抗体断片を一般的に単鎖Fv(scFv)断片として又はFab断片として提示する。免疫化された供給源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要なしに、免疫原への高親和性抗体を提供する。あるいは、Griffiths等、EMBO J.、12:725-734(1993)に記載される通り、いかなる免疫化なしに広範囲の非自己及び自己抗原への抗体の単一供給源を提供するために、ナイーブレパートリーをクローニングすることができる(例えば、ヒトから)。最後に、Hoogenboom及びWinter、J. Mol. Biol.、227:381-388(1992)に記載される通り、幹細胞から再構成されていないV遺伝子セグメントをクローニングし、高度可変CDR3領域をコードし、インビトロで再構成を達成するためにランダム配列を含有するPCRプライマーを使用することによって、ナイーブライブラリーを合成することもできる。ヒト抗体ファージライブラリーを記載する特許公報には、例えば、米国特許第5750373号並びに米国特許出願公開第200

40

50

5 / 0 0 7 9 5 7 4 号、第 2 0 0 5 / 0 1 1 9 4 5 5 号、第 2 0 0 5 / 0 2 6 6 0 0 0 号、第 2 0 0 7 / 0 1 1 7 1 2 6 号、第 2 0 0 7 / 0 1 6 0 5 9 8 号、第 2 0 0 7 / 0 2 3 7 7 6 4 号、第 2 0 0 7 / 0 2 9 2 9 3 6 号及び第 2 0 0 9 / 0 0 0 2 3 6 0 号が含まれる。

【 0 2 6 8 】

ヒト抗体ライブラリーから単離される抗体又は抗体断片は、本明細書においてヒト抗体又はヒト抗体断片とみなされる。

【 0 2 6 9 】

6 . 多重特異性抗体

ある特定の実施態様では、本明細書で提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる部位に結合特異性を有するモノクローナル抗体である。ある特定の実施態様では、結合特異性の1つはPD-L1に対してであり、他は任意の他の抗原に対してである。ある特定の実施態様では、二重特異性抗体は、PD-L1の2つの異なるエピトープに結合することができる。二重特異性抗体は、PD-L1を発現する細胞に細胞傷害剤を局在化するために用いることもできる。二重特異性抗体は、完全長抗体又は抗体断片として調製することができる。

【 0 2 7 0 】

多重特異性抗体の作製技術には、限定されずに、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖 - 軽鎖対の組換え同時発現 (Milstein及びCuello, Nature 305:537(1983))、国際公開第93/08829号、及びTraunecker等、EMBO J.10:3655(1991)を参照)、及び「ノブ - イン - ホール」操作 (例えば、米国特許第5731168を参照) が含まれる。多重特異性抗体は、抗体Fcヘテロ二量体分子を作製するために静電ステアリング効果を操作すること (国際公開第2009/089004A1号) ; 2つ以上の抗体又は断片を架橋させること (例えば、米国特許第4676980号及びBrennan等、Science、229:81(1985)を参照) ; 二重特異性抗体を生成するためにロイシンジッパーを使用すること (例えば、Kostelny等、J.Immunol.、148(5):1547-1553(1992)を参照) ; 二重特異性抗体断片を作製するための「ダイアボディ」技術を使用すること (例えば、Hollinger等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、90:6444-6448(1993)を参照) ; 及び単鎖Fv (sFv) 二量体を使用すること (例えば、Gruber等、J.Immunol.、152:5368(1994)を参照) ; 及び、例えばTutt等、J. Immunol.、147:60(1991)に記載される三重特異性抗体を調製することによって作製することもできる。

【 0 2 7 1 】

「タコ抗体」を含む3つ以上の機能的抗原結合部位を有する操作された抗体も、本明細書に含まれる (例えば、米国特許出願公開第2006/0025576A1号を参照)。

【 0 2 7 2 】

本明細書において、抗体又は断片は、PD-L1並びに別の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む「二重作用Fab」又は「DAF」も含む。

【 0 2 7 3 】

7 . 抗体変異体

a) グリコシル化変異体

ある特定の実施態様では、本明細書で提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加又は減少させるように改変される。抗体に対するグリコシル化部位の付加又は欠失は、1つ又は複数のグリコシル化部位が形成又は除去されるように、アミノ酸配列を改変することによって都合よく達成することができる。

【 0 2 7 4 】

抗体がFc領域を含む場合、それに結合する炭水化物を改変することができる。哺乳動物細胞によって生成される天然抗体は、N結合によってFc領域のCH2ドメインのAsn297に一般に結合する、分枝状の二糖オリゴ糖を一般に含む。例えば、Wright等、TIBTECH 15:26-32(1997)を参照。オリゴ糖は、様々な炭水化物、例えば、マンノース、N - アセチルグルコサミン (GlcNAc)、ガラクトース

10

20

30

40

50

及びシアル酸、並びに二触覚オリゴ糖構造の「ステム」のG I c N A cに結合したフコースを含むことができる。一部の実施態様では、ある特定の向上した性質を有する抗体変異体を作製するために、抗体のオリゴ糖を修飾することができる。

【0275】

一実施態様では、F c領域に結合する(直接的又は間接的に)フコースを欠く炭水化物構造を有する抗体変異体が提供される。例えば、そのような抗体中のフコースの量は、1%から80%、1%から65%、5%から65%又は20%から40%であってもよい。例えば国際公開第2008/077546号に記載される通り、フコースの量は、MALDI-TOF質量分析によって測定される、Asn297に結合する全ての糖構造(例えば複合体、ハイブリッド及び高マンノース構造)の合計と比較した、Asn297の糖鎖中のフコースの平均量を計算することによって判定される。Asn297は、F c領域の297位(F c領域残基のEu番号付け)あたりに位置するアスパラギン残基を指す。しかし、抗体中の軽微な配列変動のために、Asn297は、297位から約±3アミノ酸上流又は下流に、すなわち294位から300位の間に位置することもできる。そのようなフコシル化変異体は、向上したADCC機能を有することができる。例えば、米国特許出願公開第2003/0157108号(Presta, L.);米国特許出願公開第2004/0093621号(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)を参照。「脱フコシル化」又は「フコース欠損」抗体変異体に関する刊行物の例には、以下のものが含まれる:米国特許出願公開第2003/0157108号;国際公開第2000/61739号;国際公開第2001/29246号;米国特許出願公開第2003/0115614号;米国特許出願公開第2002/0164328号;米国特許出願公開第2004/0093621号;米国特許出願公開第2004/0132140号;米国特許出願公開第2004/0110704号;米国特許出願公開第2004/0110282号;米国特許出願公開第2004/0109865号;国際公開第2003/085119号;国際公開第2003/084570号;国際公開第2005/035586号;国際公開第2005/035778号;国際公開第2005/053742号;国際公開第2002/031140号;Okazaki等、J. Mol. Biol. 336:1239-1249(2004);Yamane-Ohnuki等、Biotech. Bioeng. 87:614(2004)。脱フコシル化抗体の生成が可能な細胞系の例には、タンパク質フコシル化が欠損しているLec13 CHO細胞(Ripka等、Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545(1986));米国特許出願公開第2003/0157108A1号、Presta, L.;及び国際公開第2004/056312A1号、Adams等、特に実施例11)、並びにノックアウト細胞系、例えばアルファ-1,6-フコシル基転移酵素遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞(例えば、Yamane-Ohnuki等、Biotech. Bioeng. 87:614(2004);Kanda, Y.等、Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688(2006);及び国際公開第2003/085107号を参照)が含まれる。

【0276】

二分されたオリゴ糖を有する、例えば抗体のF c領域に結合する二触覚オリゴ糖がG I c N A cによって二分される抗体変異体が更に提供される。そのような抗体変異体の例は、例えば、国際公開第2003/011878号(Jean-Mairet等);米国特許第6602684号(Umana等);及び米国特許出願公開第2005/0123546号(Umana等)に記載されている。F c領域に結合するオリゴ糖に少なくとも1つのガラクトース残基を有する抗体変異体も、提供される。そのような抗体変異体は、向上したCDC機能を有することができる。そのような抗体変異体は、例えば、国際公開第1997/30087号(Patel等);国際公開第1998/58964号(Raju, S.);及び国際公開第1999/22764号(Raju, S.)に記載されている。

【0277】

b) F c領域変異体

ある特定の実施態様では、本明細書で提供される抗体のFc領域に1つ又は複数のアミノ酸修飾を導入し、それによってFc領域変異体を生成することができる。Fc領域変異体は、1つ又は複数のアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば、置換）を含むヒトFc領域配列（例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3又はIgG4 Fc領域）を含むことができる。

【0278】

ある特定の実施態様では、本発明は、それを抗体のインビボ半減期が重要であるが、ある特定のエフェクター機能（例えば補体及びADCC）が不要又は有害である適用のための望ましい候補にする、エフェクター機能の全てではなく一部を有する抗体変異体を企図する。CDC及び/又はADCC活性の低減/消失を確認するために、インビトロ及び/又はインビボ細胞傷害性アッセイを実行することができる。例えば、抗体がFcγR結合を欠いている（したがってADCC活性を欠いている可能性がある）がFcRn結合能力を保持することを確認するために、Fc受容体（FcR）結合アッセイを実行することができる。ADCCを媒介する一次細胞、NK細胞は、FcγRIIだけを発現するが、単球はFcγRI、FcγRII及びFcγRIIIを発現する。造血細胞でのFcR発現は、Ravetch及びKinet、Annu. Rev. Immunol. 9:457-492(1991)の464ページの表3で要約されている。対象の分子のADCC活性を評価するインビトロアッセイの非限定例は、米国特許第5500362号（例えば、Hellstrom、I.等、Proc.Natl'Acad.Sci.USA 83:7059-7063(1986)を参照）及びHellstrom、I等、Proc.Natl'Acad.Sci.USA 82:1499-1502(1985)；5821337号（Bruggemann、M.等、J.Exp.Med.166:1351-1361(1987)を参照）に記載されている。あるいは、非放射性アッセイ方法を用いることができる（例えば、フローサイトメトリーのためのACTI（商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（Cell Technology, Inc. Mountain View, CA；及びCytotox 96（登録商標）非放射性細胞傷害性アッセイ（Promega、Madison、WI）を参照）。そのようなアッセイのための有益なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞（PBMC）及びナチュラルキラー（NK）細胞が含まれる。あるいは、又は更に、対象の分子のADCC活性は、例えばClynes等、Proc.Natl'Acad.Sci.USA 95:652-656(1998)に開示されているものなどの動物モデルにおいてインビボで評価されてもよい。抗体はC1qに結合することができなく、したがってCDC活性を欠くことを確認するために、C1q結合アッセイを実行することもできる。例えば、国際公開第2006/029879号及び国際公開第2005/100402号のC1q及びC3c結合ELISAを参照。補体活性化を評価するために、CDCアッセイを実施することができる（例えば、Gazzano-Santoro等、J.Immunol.Methods 202:163(1996)；Cragg、M.S.等、Blood 101:1045-1052(2003)；及びCragg、M.S.及びM.J.Glennie、Blood 103:2738-2743(2004)を参照）。当技術分野で公知の方法を使用して、FcRn結合及びインビボでのクリアランス/半減期判定を実施することもできる（例えば、Petkova、S.B.等、Int'l.Immunol.18(12):1759-1769(2006)を参照）。

【0279】

エフェクター機能の低減した抗体には、Fc領域残基238、265、269、270、297、327及び329の1つ又は複数が置換されたものが含まれる（米国特許第6737056号）。そのようなFc突然変異体には、残基265及び297がアラニンに置換されたいわゆる「DANA」Fc突然変異体を含む、アミノ酸位置265、269、270、297及び327の2つ以上で置換されたFc突然変異体が含まれる（米国特許第7332581号）。

【0280】

FcRへの結合が向上又は減少したある特定の抗体変異体が記載される。（例えば、米国特許第6737056号；国際公開第2004/056312号及びShields等、J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001)を参照。）ある特定の実施態様では、抗体変異体は、ADCCを向上させる1つ又は複数のアミノ酸置換、例えばFc領域の298位、333位及

び / 又は 3 3 4 位 (E U の残基番号付け) の置換を有する F c 領域を含む。一部の実施態様では、例えば米国特許第 6 1 9 4 5 5 1 号、国際公開第 9 9 / 5 1 6 4 2 号及び I d u s o g i e 等、J . I m m u n o l . 1 6 4 : 4 1 7 8 - 4 1 8 4 (2 0 0 0) に記載されているように、改変された (すなわち、向上又は減少した) C 1 q 結合及び / 又は補体依存細胞傷害性 (C D C) をもたらす改変が F c 領域に加えられる。

【 0 2 8 1 】

増加した半減期、及び胎児への母体 I g G の移動の原因となる (Guyer 等、J . I m m u n o l . 1 7 : 5 8 7 (1 9 7 6) 及び Kim 等、J . I m m u n o l . 2 4 : 2 4 9 (1 9 9 4)) 新生児 F c 受容体 (F c R n) への結合の向上を有する抗体が、米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 0 1 4 9 3 4 A 1 号 (H i n t o n 等) に記載される。それらの抗体は、F c R n への F c 領域の結合を向上させる 1 つ又は複数の置換をその中に有する F c 領域を含む。そのような F c 変異体には、F c 領域残基 2 3 8、2 5 6、2 6 5、2 7 2、2 8 6、3 0 3、3 0 5、3 0 7、3 1 1、3 1 2、3 1 7、3 4 0、3 5 6、3 6 0、3 6 2、3 7 6、3 7 8、3 8 0、3 8 2、4 1 3、4 2 4 又は 4 3 4 の 1 つ又は複数の置換、例えば F c 領域残基 4 3 4 の置換を有するものが含まれる (米国特許第 7 3 7 1 8 2 6 号)。F c 領域変異体の他の例に関する、D u n c a n 及び W i n t e r、N a t u r e 3 2 2 : 7 3 8 - 4 0 (1 9 8 8) ; 米国特許第 5 6 4 8 2 6 0 号 ; 米国特許第 5 6 2 4 8 2 1 号 ; 及び国際公開第 9 4 / 2 9 3 5 1 号も参照。

【 0 2 8 2 】

c) システイン組入れ抗体変異体

ある特定の実施態様では、抗体の 1 つ又は複数の残基がシステイン残基で置換されるシステイン組入れ抗体、例えば「 t h i o M A b 」を作製することが望ましい。特定の実施態様では、置換される残基は、抗体のアクセス可能な部位に存在する。本明細書に更に記載されるように、それらの残基をシステインで置換することによって、反応性チオール基は抗体のアクセス可能な部位に置かれ、抗体を他の部分、例えば薬物部分又はリンカー - 薬物部分にコンジュゲートさせて免疫複合体を作製するために使用することができる。ある特定の実施態様では、以下の残基の任意の 1 つ又は複数のシステインで置換することができる : 軽鎖の V 2 0 5 (K a b a t 番号付け) ; 重鎖の A 1 1 8 (E U 番号付け) ; 及び重鎖 F c 領域の S 4 0 0 (E U 番号付け)。例えば米国特許第 7 5 2 1 5 4 1 に記載されるように、システイン組入れ抗体を生成することができる。

【 0 2 8 3 】

d) 免疫複合体

本明細書において、1 つ又は複数の細胞傷害剤、例えば化学療法剤若しくは薬物、増殖阻害剤、毒素 (例えば、細菌、真菌、植物又は動物起源のタンパク質毒素、酵素活性毒素、又はその断片)、又は放射性同位体にコンジュゲートされる本明細書の抗 P D - L 1 抗体を含む免疫複合体が更に提供される。

【 0 2 8 4 】

一実施態様では、免疫複合体は、抗体が 1 つ又は複数の薬物、例えば、限定されずに、マイタンシノイド (米国特許第 5 2 0 8 0 2 0 号、5 4 1 6 0 6 4 号及び欧州特許 0 4 2 5 2 3 5 B 1 号を参照) ; モノメチルオーリスタチン薬物部分 D E 及び D F (M M A E 及び M M A F) などのオーリスタチン (米国特許第 5 6 3 5 4 8 3 号及び 5 7 8 0 5 8 8 号及び 7 4 9 8 2 9 8 号を参照) ; ドラスタチン ; カリケアマイシン又はその誘導体 (米国特許第 5 7 1 2 3 7 4 号、5 7 1 4 5 8 6 号、5 7 3 9 1 1 6 号、5 7 6 7 2 8 5 号、5 7 7 0 7 0 1 号、5 7 7 0 7 1 0 号、5 7 7 3 0 0 1 号及び 5 8 7 7 2 9 6 号を参照 ; H i n m a n 等、C a n c e r R e s . 5 3 : 3 3 3 6 - 3 3 4 2 (1 9 9 3) ; 及び L o d e 等、C a n c e r R e s . 5 8 : 2 9 2 5 - 2 9 2 8 (1 9 9 8) を参照) ; ダウノマイシン又はドキソルピシンなどのアントラサイクリン (K r a t z 等、C u r r e n t M e d . C h e m . 1 3 : 4 7 7 - 5 2 3 (2 0 0 6) ; J e f f r e y 等、B i o o r g a n i c & M e d . C h e m . L e t t e r s 1 6 : 3 5 8 - 3 6 2 (2 0 0 6) ; T o r g o v 等、B i o c o n j . C h e m . 1 6 : 7 1 7 - 7 2 1 (2 0 0 5) ; N a g y 等、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 7 : 8 2 9 - 8 3 4 (2 0 0 0) ; D u b o w c h i k 等、B i o o r g . & M e d . C h e m . L e t t e r s 1 2 : 1 5 2 9 - 1 5 3 2 (2 0 0 2) ; K i n g 等、J . M e d . C h e m . 4 5 : 4 3 3 6 - 4 3 4 3 (2 0 0 2) ; 及び米国特許第 6 6 3 0 5 7 9 号を参照) ; メト

レキセート；ビンデシン；タキサン、例えばドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセル及びオルタタキセル；トリコテセン；並びにCC1065にコンジュゲートされる抗体-薬物コンジュゲート(ADC)である。

【0285】

別の実施態様では、免疫複合体は、限定されずに、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合性活性断片、外毒素A鎖(緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)から)、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデッシンA鎖、アルファ-サルシン、アブラギリ(*Aleurites fordii*)タンパク質、ダイアンシンタンパク質、フィトラカ・アメリカナ(*Phytolacca americana*)タンパク質(PAPI、PAPII及びPAP-S)、ツルレイシ(*Momordica charantia*)阻害剤、クルシン、クロチン、サパオナリア・オフィシナリス(*Saponaaria officinalis*)阻害剤、ゲロニン、マイトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン及びトリコテセンを含む、酵素活性毒素又はその断片にコンジュゲートされる本明細書に記載の抗体を含む。

【0286】

別の実施態様では、免疫複合体は、放射性原子にコンジュゲートされて放射性コンジュゲートを形成する、本明細書に記載の抗体を含む。放射性コンジュゲートの生成のために、様々な放射性同位体が利用できる。例には、 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 及びLuの放射性同位体が含まれる。放射性コンジュゲートが検出のために使用される場合は、それは、シンチグラフィ-研究のための放射性原子、例えば Tc^{99} 若しくは I^{123} 、又は核磁気共鳴(NMR)画像化(磁気共鳴画像化、*mri*としても知られる)のためのスピン標識、例えば、再度ヨウ素-123、ヨウ素-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガン若しくは鉄を含むことができる。

【0287】

抗体及び細胞毒性剤のコンジュゲートは、様々な二官能基タンパク質カップリング剤、例えば、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPDP)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(SMCC)、イミノチオラン(IT)、イミドエステルの二官能基誘導体(ジメチルアジピミデートHClなど)、活性エステル(スベリン酸ジスクシンイミジルなど)、アルデヒド(グルタルアルデヒドなど)、ビス-アジド化合物(ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサジアミンなど)、ビス-ジアゾニウム誘導体(ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミンなど)、ジイソシアネート(トルエン2,6-ジイソシアネートなど)及びビス活性フッ素化合物(1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼンなど)を用いて作製することができる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta等、*Science* 238:1098(1987)に記載のように調製することができる。炭素14標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸(MX-DTPA)は、抗体への放射性ヌクレオチドのコンジュゲーションのための例示的なキレート剤である。国際公開第94/11026号を参照する。リンカーは、細胞内で細胞傷害薬の放出を促進する「開裂可能なリンカー」であってもよい。例えば、酸に対して不安定なリンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、感光性リンカー、ジメチルリンカー又はジスルフィド含有リンカー(Chari等、*Cancer Res.*52:127-131(1992);米国特許第5208020号)を使用することができる。

【0288】

本明細書の免疫複合体又はADCは、限定されずに、市販されている(例えば、Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, U.S.Aから)架橋試薬、例えば、限定されずに、BMPS、EMCS、GMBs、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBs、スルホ-KMUS、スルホ-MBS

、スルホ - S I A B、スルホ - S M C C 及びスルホ - S M P B、及び S V S B (スクシンイミジル - (4 - ピニルスルホン) ベンゾエート) によって調製されるコンジュゲートを明示的に企図する。

【 0 2 8 9 】

C . 結合性ポリペプチド

結合性ポリペプチドは、本明細書に記載の P D - L 1 に、好ましくは特異的に結合するポリペプチドである。いくつかの実施態様では、結合性ポリペプチドは、P D - L 1 軸結合性アンタゴニストである。結合性ポリペプチドは、既知のポリペプチド合成手法を使用して化学的に合成することができるか又は組換えテクノロジーを使用して調製し、精製することができる。結合性ポリペプチドは、通常長さが少なくとも約 5 アミノ酸、代わりに長さが少なくとも約 6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、又は 100 アミノ酸以上であり、ここで、かかる結合性ポリペプチドは、本明細書に記載の標的、P D - L 1 に、好ましくは特異的に結合する能力がある。結合性ポリペプチドは、既知の技法を使用した過度の実験なしに同定することができる。この点で、ポリペプチド標的に特異的に結合する能力がある結合性ポリペプチドに関するポリペプチドライブラリーをスクリーニングするための技法が、当該技術分野で既知である (例えば、米国特許第 5 5 5 6 7 6 2 号、5 7 5 0 3 7 3 号、4 7 0 8 8 7 1 号、4 8 3 3 0 9 2 号、5 2 2 3 4 0 9 号、5 4 0 3 4 8 4 号、5 5 7 1 6 8 9 号、5 6 6 3 1 4 3 号 ; P C T 公開国際公開第 8 4 / 0 3 5 0 6 号及び国際公開第 8 4 / 0 3 5 6 4 号 ; Geysen 等 , Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81:3998-4002 (1984) ; Geysen 等 , Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82:178-182 (1985) ; Geysen 等 , in Synthetic Peptides as Antigens, 130-149 (1986) ; Geysen 等 , J. Immunol. Meth., 102:259-274 (1987) ; Schoofs 等 , J. Immunol., 140:611-616 (1988) , Cwirla, S. E. 等 (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6378 ; Lowman, H.B. 等 (1991) Biochemistry, 30:10832 ; Clackson, T. 等 (1991) Nature, 352: 624 ; Marks, J. D. 等 (1991), J. Mol. Biol., 222:581 ; Kang, A.S. 等 (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:8363 及び Smith, G. P. (1991) Current Opin. Biotechnol., 2:668 を参照されたい) ことは、注目される。

【 0 2 9 0 】

この点で、バクテリオファージ (ファージ) ディスプレイは、標的ポリペプチド、P D - L 1 に特異的に結合する能力があるそれらのライブラリーのメンバー (一又は複数) を同定するための大きいポリペプチドライブラリーをスクリーニングすることを可能にする 1 つの既知の技法である。ファージディスプレイは、それによって変異ポリペプチドが、バクテリオファージ粒子の表面上のコートタンパク質への融合タンパク質として提示される技法である (Scott, J.K. 及び Smith, G. P. (1990) Science, 249:386) 。ファージディスプレイの有用性は、選択的にランダム化されたタンパク質変異体 (又はランダムにクローン化された c D N A) の大きいライブラリーを、高親和性で標的分子に結合する配列に関して迅速にかつ効率的に分別することができるという事実にある。ペプチドのディスプレイ (Cwirla, S. E. 等 (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6378) 又はファージ上のタンパク質 (Lowman, H.B. 等 (1991) Biochemistry, 30:10832 ; Clackson, T. 等 (1991) Nature, 352: 624 ; Marks, J. D. 等 (1991), J. Mol. Biol., 222:581 ; Kang, A.S. 等 (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:8363) ライブラリーは、特異的な結合特質を有するものを求めて数百万のポリペプチド又はオリゴペプチドをスクリーニングするのに使用されてきた (Smith, G. P. (1991) Current Opin. Biotechnol., 2:668) 。ランダム突然変異体のファージライブラリーを分別することは、多数の変異体をコンストラクト

し、増殖するための戦略、標的受容体を使用した親和性精製のための手順、及び結合濃縮の結果を査定する手段を必要とする。米国特許第5 2 2 3 4 0 9号、第5 4 0 3 4 8 4号、第5 5 7 1 6 8 9号、及び第5 6 6 3 1 4 3号。

【0291】

大部分のファージディスプレイ方法は、繊維状ファージを使用してきたが、ラムドイドファージディスプレイ系（国際公開第9 5 / 3 4 6 8 3号；米国第5 6 2 7 0 2 4号）、T 4ファージディスプレイ系（Ren等, Gene, 215:439 (1998)；Zhu等, Cancer Research, 58(15):3209-3214 (1998)；Jiang等, Infection & Immunity, 65(11):4770-4777 (1997)；Ren等, Gene, 195(2):303-311 (1997)；Ren, Protein Sci., 5:1833 (1996)；Efimov等, Virus Genes, 10:173 (1995)）及びT 7ファージディスプレイ系（Smith及びScott, Methods in Enzymology, 217:228-257 (1993)；米国第5 7 6 6 9 0 5号）も既知である。

10

【0292】

追加の改善は、ディスプレイ系が、選択された標的分子への結合を求めてペプチドライブラリーをスクリーニングし、望ましい特質を求めてこれらのタンパク質をスクリーニングする潜在力を有する機能性タンパク質を提示する能力を増強する。ファージディスプレイ反応に関するコンビナトリアル反応デバイスが開発され（国際公開第9 8 / 1 4 2 7 7号）、ファージディスプレイライブラリーは、二分子相互作用（国際公開第9 8 / 2 0 1 6 9号；国際公開第9 8 / 2 0 1 5 9号）及び制約されたヘリックスペプチドの特質（国際公開第9 8 / 2 0 0 3 6号）を分析し、制御するために使用されてきた。国際公開第9 7 / 3 5 1 9 6号は、結合性リガンドを選択的に単離するために、ファージディスプレイライブラリーを、そこでリガンドが標的分子に結合することになる1つの溶液及びそこで親和性リガンドが標的分子に結合しないことになる第2の溶液と接触させる、親和性リガンドを単離する方法を記載している。国際公開第9 7 / 4 6 2 5 1号は、親和性精製抗体でランダムファージディスプレイライブラリーをバイオパンニングし、次いで結合性ファージを単離し、その後マイクロプレートウェルを使用したマイクロパンニングプロセスを行って、高親和性結合性ファージを単離する方法を記載している。親和性タグとしての黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）プロテインAの使用も報告されている（Li等 (1998) Mol Biotech., 9:187）。国際公開第9 7 / 4 7 3 1 4号は、ファージディスプレイライブラリーとすることができるコンビナトリアルライブラリーを使用して、酵素特異性を識別するための基質サブトラクションライブラリーの使用を記載している。ファージディスプレイを使用した洗剤における使用に適した酵素を選択する方法が、国際公開第9 7 / 0 9 4 4 6号に記載されている。特異的な結合性タンパク質を選択する追加の方法が、米国特許第5 4 9 8 5 3 8号、第5 4 3 2 0 1 8号、及び国際公開第9 8 / 1 5 8 3 3号に記載されている。

20

30

【0293】

ペプチドライブラリーを産出し、これらのライブラリーをスクリーニングする方法は、米国特許第5 7 2 3 2 8 6号、第5 4 3 2 0 1 8号、第5 5 8 0 7 1 7号、第5 4 2 7 9 0 8号、第5 4 9 8 5 3 0号、第5 7 7 0 4 3 4号、第5 7 3 4 0 1 8号、第5 6 9 8 4 2 6号、第5 7 6 3 1 9 2号、及び第5 7 2 3 3 2 3号にも開示されている。

【0294】

D．結合性小分子

P D - L 1小分子アンタゴニストとしての使用のための結合性小分子が、本明細書で提供される。

40

【0295】

結合性小分子は、好ましくは、本明細書に記載のP D - L 1に、好ましくは特異的に結合する本明細書で定義した結合性ポリペプチド又は抗体以外の有機分子である。結合性有機小分子は、既知の手法（例えば、P C T公開国際公開第0 0 / 0 0 8 2 3号及び国際公開第0 0 / 3 9 5 8 5号を参照されたい）を使用して、同定し、化学的に合成することができる。結合性有機小分子は、通常、サイズが約2 0 0 0ダルトン未満、代わりにサイズが約1 5 0 0、7 5 0、5 0 0、2 5 0又は2 0 0ダルトン未満であり、ここで、本明細

50

書に記載のポリペプチドに、好ましくは特異的に結合する能力があるかかる有機小分子は、既知の技法を使用した過度の実験なしに同定することができる。この点で、ポリペプチド標的に結合する能力がある分子を求めて有機小分子ライブラリーをスクリーニングするための技法が、当該技術分野で既知である（例えば、PCT公開国際公開第00/00823号及び国際公開第00/39585号を参照されたい）ことは注目される。結合性有機小分子は、例えば、アルデヒド、ケトン、オキシム、ヒドラゾン、セミカルバゾン、カルバジド、一級アミン、二級アミン、三級アミン、N-置換ヒドラジン、ヒドラジド、アルコール、エーテル、チオール、チオエーテル、ジスルフィド、カルボン酸、エステル、アミド、ウレア、カルバメート、カーボネート、ケタール、チオケタール、アセタール、チオアセタール、ハロゲン化アリール、アリールスルホネート、ハロゲン化アルキル、アルキルスルホネート、芳香族化合物、複素環式化合物、アニリン、アルケン、アルキン、ジオール、アミノアルコール、オキサゾリジン、オキサゾリン、チアゾリジン、チアゾリン、エナミン、スルホンアミド、エポキシド、アジリジン、イソシアネート、スルホニル塩化物、ジアゾ化合物、酸塩化物等とすることができる。

【0296】

E. アンタゴニストポリヌクレオチド

ポリヌクレオチドアンタゴニストが、本明細書で提供される。ポリヌクレオチドは、アンチセンス核酸及び/又はリボザイムとすることができる。アンチセンス核酸は、PD-L1遺伝子のRNA転写物の少なくとも一部に相補的な配列を含む。しかしながら、完全な相補性は、好ましくはあるが、必要ではない。

【0297】

本明細書で参照した「RNAの少なくとも一部に相補的な」配列は、RNAとハイブリダイズして、安定な二本鎖を形成することができるのに十分な相補性を有する配列を意味する；二本鎖PD-L1アンチセンス核酸の場合、したがって、二本鎖DNAの一本鎖を試験することができるか、又は三本鎖形成をアッセイすることができる。ハイブリダイズする能力は、相補性の程度及びアンチセンス核酸の長さの両方に依存することになる。一般的に、ハイブリダイズしている核酸が大きいほど、より多くの塩基が、それが含有し、なお安定な二本鎖（又は場合に応じて三本鎖）を形成することができるPD-L1 RNAとミスマッチする。当業者は、ハイブリダイズした複合体の融点を判定するための標準的な手順の使用によって、ミスマッチの許容できる程度を確かめることができる。

【0298】

メッセージの5'末端、例えば、AUG開始コドンまで及びこれを含む5'非翻訳配列に相補的なポリヌクレオチドは、翻訳を阻害するのに最も効率的に働くはずである。しかしながら、mRNAの3'非翻訳配列に相補的な配列は、mRNAの翻訳を阻害するのに効果的であることも示された。一般的に、Wagner, R., 1994, Nature 372: 333-335を参照されたい。したがって、PD-L1遺伝子の5'又は3'非翻訳、非コード化領域に相補的なオリゴヌクレオチドを、内因性のPD-L1 mRNAの翻訳を阻害するためのアンチセンス手法において使用することができる。mRNAの5'非翻訳領域に相補的なポリヌクレオチドは、AUG開始コドンの相補物を含むはずである。mRNAコード化領域に相補的なアンチセンスポリヌクレオチドは、効率性が低い翻訳の阻害剤であるが、本発明に従って使用される。PD-L1 mRNAの5'領域、3'領域にであらうと又はコード化領域にであらうとハイブリダイズするように設計されている、アンチセンス核酸は、長さが少なくとも6のヌクレオチドであるべきであり、好ましくは長さが6から約50のヌクレオチドにわたるオリゴヌクレオチドである。特定の実施態様では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも10ヌクレオチド、少なくとも17ヌクレオチド、少なくとも25ヌクレオチド又は少なくとも50ヌクレオチドである。

【0299】

一実施態様では、PD-L1アンチセンス核酸は、外来性配列からの転写によって、細胞内に作製される。例えば、ベクター又はその一部が転写され、PD-L1遺伝子のアンチセンス核酸（RNA）を作製する。かかるベクターは、PD-L1アンチセンス核酸を

コードする配列を含有する。かかるベクターは、それが望ましいアンチセンスRNAを複製するように転写され得る限り、エピソームのままであるか又は染色体性に組み込まれることができる。かかるベクターは、当該技術分野で標準的な組換えDNAテクノロジー方法によってコンストラクトすることができる。ベクターは、脊椎動物細胞における複製及び発現に使用される、プラスミド、ウイルス、又は当該技術分野で既知の他のものとするることができる。PD-L1をコードする配列、又はその断片の発現は、脊椎動物、好ましくはヒト細胞において作用する、当該技術分野で既知の任意のプロモーターによることができる。かかるプロモーターは、誘導性又は構成性とすることができる。かかるプロモーターは、SV40初期プロモーター領域(Bernoist及びChambon, Nature 29:304-310 (1981))、ラウス肉腫ウイルスの3'末端反復配列(Yamamoto等, Cell 22:787-797 (1980))中に含有されるプロモーター、ヘルペスチミジンプロモーター(Wagner等, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78:1441-1445 (1981))、メタロチオネイン遺伝子の調節配列(Brinster等, Nature 296:39-42 (1982))等を含むがこれらに限定されない。

10

【0300】

F. 抗体及び結合性ポリペプチド変異体

ある特定の実施態様では、本明細書で提供される抗体及び/又は結合性ポリペプチドのアミノ酸配列変異体が企図される。例えば、抗体及び/又は結合性ポリペプチドの結合親和性及び/又は他の生物学的特質を改善することが望まれ得る。抗体及び/又は結合性ポリペプチドのアミノ酸配列変異体は、抗体及び/若しくは結合性ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列中に適切な改変を導入することによって、又はペプチド合成によって調製することができる。かかる改変は、例えば、抗体及び/又は結合性ポリペプチドのアミノ酸配列内の残基の欠失及び/又はこれ中への挿入及び/又はこれの置換を含む。最終コンストラクトが望ましい特性、例えば、標的結合を所持するという条件で、欠失、挿入、及び置換の任意の組合せを行って、最終コンストラクトに到達することができる。

20

【0301】

ある特定の実施態様では、1つ又は複数のアミノ酸置換を有する抗体変異体及び/又は結合性ポリペプチド変異体が提供される。置換の突然変異生成に関する対象の部位は、HVR及びFRを含む。保存的置換を、「保存的置換」の見出しの下で表1に示す。より実質的な変化を、「例示的置換」の見出しの下で表1に提供し、アミノ酸側鎖クラスに関して以下で更に記載した。アミノ酸置換を、対象の抗体及び/又は結合性ポリペプチド並びに望ましい活性、例えば、保持された/改善された抗原結合、低下した免疫原性、又は改善されたADCC又はCDCを求めてスクリーニングされた産物中に導入することができる。

30

表1

本来の残基	例示的置換	好ましい置換
アラニン(A)	バリン;ロイシン;イソロイシン	バリン
アルギニン(R)	リジン;グルタミン;アスパラギン	リジン
アスパラギン(N)	グルタミン;ヒスチジン;アスパラギン酸 、リジン;アルギニン	グルタミン
アスパラギン酸(D)	グルタミン酸;アスパラギン	グルタミン酸
システイン(C)	セリン;アラニン	セリン
グルタミン(Q)	アスパラギン;グルタミン酸	アスパラギン
グルタミン酸(E)	アスパラギン酸;グルタミン	アスパラギン酸
グリシン(G)	アラニン	アラニン
ヒスチジン(H)	アスパラギン;グルタミン;リジン;アル ギニン	アルギニン
イソロイシン(I)	ロイシン;バリン;メチオニン;アラニン;フ ェニルアラニン;ノルロイシン	ロイシン
ロイシン(L)	ノルロイシン;イソロイシン;バリン;メチ オニン;アラニン;フェニルアラニン	イソロイシン
リジン(K)	アルギニン;グルタミン;アスパラギン	アルギニン
メチオニン(M)	ロイシン;フェニルアラニン;イソロイシ ン	ロイシン
フェニルアラニン(F)	トリプトファン;ロイシン;バリン;イソロイ シン;アラニン;チロシン	チロシン
プロリン(P)	アラニン	アラニン
セリン(S)	スレオニン	スレオニン
スレオニン(T)	バリン;セリン	セリン
トリプトファン(W)	チロシン;フェニルアラニン	チロシン
チロシン(Y)	トリプトファン;フェニルアラニン;スレオ ニン;セリン	フェニルアラニン
バリン(V)	イソロイシン;ロイシン;メチオニン;フェ ニルアラニン;アラニン;ノルロイシン	ロイシン

【 0 3 0 2 】

アミノ酸は、共通の側鎖の特質に従ってグループ化することができる：

(1) 疎水性：ノルロイシン、メチオニン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン
；

10

20

30

40

50

- (2) 中性の親水性：システイン、セリン、スレオニン、アスパラギン、グルタミン；
- (3) 酸性：アスパラギン酸、グルタミン酸；
- (4) 塩基性：ヒスチジン、リジン、アルギニン；
- (5) 鎖配向に影響を及ぼす残基：グリシン、プロリン；
- (6) 芳香族：トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン。

【0303】

非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴うことになる。

【0304】

置換の変異体の1つの型は、親抗体（例えば、ヒト化又はヒト抗体）の1つ又は複数の超可変領域残基を置換することに関与する。一般的に、別の研究のために選択された生じた変異体（一又は複数）は、親抗体に対していくつかの生物学的特質（例えば、親和性の増加、免疫原性の減少）における改変（例えば、改善）を有することになるかつ／又は親抗体の実質的に保持されたいくつかの生物学的特質を有することになる。例示的置換の変異体は、親和性成熟抗体であり、これは、例えば、本明細書で記載したもの等の、ファージディスプレイに基づく親和性成熟技法を使用して、簡便には産出することができる。簡潔に述べると、1つ又は複数のHVR残基を変異させ、変異抗体をファージ上に提示し、特定の生物活性（例えば、結合親和性）を求めてスクリーニングする。

【0305】

改変（例えば、置換）を、例えば、抗体親和性を改善するために、HVRにおいて行うことができる。かかる改変を、HVR「ホットスポット」、すなわち、体細胞の成熟プロセス中に高い発生頻度で突然変異を起こすコドンによってコードされる残基（例えば、Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)を参照されたい）、及び／又はSDR（a-CDR）において行うことができ、生じた変異VH又はVLを結合親和性に関して試験する。二次ライブラリーをコンストラクトし、再び選択することによる親和性成熟が、例えば、Hoogenboom等、Methods in Molecular Biology 178:1-37に記載されている（O'Brien等編, Human Press, Totowa, NJ, (2001)）。親和性成熟のいくつかの実施態様では、多様性が、いろいろな方法（例えば、エラーブローンPCR、チェインシャフリング、又はオリゴヌクレオチド指定突然変異）の何れかによって、成熟に関して選択された可変遺伝子中に導入される。次いで、二次ライブラリーを作る。次いで、ライブラリーをスクリーニングして、望ましい親和性を有する任意の抗体変異体を同定する。多様性を導入するための別の方法は、いくつかのHVR残基（例えば、1回に4-6残基）がランダム化される、HVR指定手法に関与する。抗原結合に関与するHVR残基は、例えば、アラニンスキャンニング突然変異生成又はモデル化を使用して、特異的に同定することができる。特に、CDR-H3及びCDR-L3は、しばしば標的とされる。

【0306】

ある特定の実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、かかる改変が、抗体が抗原に結合する能力を実質的に減少させない限り、1つ又は複数のHVR内で起こり得る。例えば、結合親和性を実質的に減少させない保存的改変（例えば、本明細書で提供される保存的置換）を、HVRにおいて行うことができる。かかる改変は、HVR「ホットスポット」又はSDRの外とすることができる。上で提供した変異VH及びVL配列のある特定の実施態様では、各HVRは、不変であるか、又は1つ、2つ若しくは3つ以下のアミノ酸置換を含有する。

【0307】

突然変異生成のための標的とすることができる抗体及び／又は結合性ポリペプチドの残基又は領域の同定のための有用な方法は、Cunningham及びWells (1989) Science, 244:1081-1085によって記載されている、「アラニンスキャンニング突然変異生成」と称される。この方法において、残基又は標的残基（例えば、アルギニン、アスパラギン酸、ヒスチジン、リジン、及びグルタミン酸等の荷電残基

）の群が、同定され、中性又は負荷電アミノ酸（例えば、アラニン又はポリアラニン）と置換されて、抗体と抗原の相互作用が影響されるかどうかを判定する。別の置換を、最初の置換に対する機能感受性を実証するアミノ酸位置で導入することができる。代わりに、又は追加的に、抗体と抗原の間の接触点を同定するための抗原抗体複合体の結晶構造。かかる接触残基及び隣接する残基は、置換のための候補として標的とする又は除去することができる。変異体を、スクリーニングして、それらが望ましい特質を含有するかどうかを判定することができる。

【0308】

アミノ酸配列挿入は、長さが1つの残基から100以上の残基を含有するポリペプチドにわたるアミノ及び／又はカルボキシル末端融合、及び単一又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例は、N末端メチオニル残基を有する抗体を含む。抗体分子の他の挿入変異体は、抗体の血清半減期を増加させる酵素（例えば、ADEPTに関する）又はポリペプチドへの抗体のN又はC末端への融合を含む。

【0309】

G．抗体及び結合性ポリペプチド誘導体

ある特定の実施態様では、本明細書で提供される抗体及び／又は結合性ポリペプチドは、更に改変されて、当該技術分野で既知であり、容易に入手可能である追加の非タンパク質部分を含有することができる。抗体及び／又は結合性ポリペプチドの誘導体化に適した部分は、水溶性ポリマーを含むが、これらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例は、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール／プロピレングリコールの共重合体、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸共重合体、ポリアミノ酸（ホモ重合体又はランダム共重合体）、及びデキストラン又はポリ（n-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモ重合体、プロピレノキシド／エチレノキシド共重合体、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、及びそれらの混合物を含むが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性により、製造における利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量のものとすることができ、分岐していても又は分岐していなくてもよい。抗体及び／又は結合性ポリペプチドに結合しているポリマーの数は、変動することができ、1つを超えるポリマーが結合している場合、それらは同じ又は異なる分子とすることができ、一般的に、誘導体化に使用するポリマーの数及び／又は型は、改善される抗体及び／又は結合性ポリペプチドの特定の特質又は機能、抗体誘導体及び／又は結合性ポリペプチド誘導体が定義された条件下で療法において使用されることになるかどうか等を含むがこれらに限定されない、考慮に基づいて判定することができる。

【0310】

別の実施態様では、照射への曝露によって選択的に加熱することができる非タンパク質部分への抗体及び／又は結合性ポリペプチドのコンジュゲートが提供される。一実施態様では、非タンパク質部分は、カーボンナノチューブである（Kam等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:11600-11605 (2005)）。照射は、任意の波長のものとすることができ、普通の細胞を害さないが、抗体及び／又は結合性ポリペプチド-非タンパク質部分の近位にある細胞が死滅される温度まで非タンパク質部分を加熱する波長を含むがこれらに限定されない。

【0311】

いくつかの実施態様では、試料は、組織試料である。いくつかの実施態様では、試料は、腫瘍組織試料である。いくつかの実施態様では、腫瘍組織試料は、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、腫瘍内免疫細胞、腫瘍周囲の免疫細胞又はそれらの任意の組合せ、腫瘍間質細胞（例えば線維芽細胞）を含む。いくつかの実施態様では、試料は、患者の癌のものである。いくつかの実施態様では、試料は、PD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療の前に得られる。いくつかの実施態様では、試料は、ホルマリン固定され、パラフィン包埋

されている。

【0312】

いくつかの実施態様では、疾患又は障害は、増殖性の疾患又は障害である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は、免疫関連の疾患又は障害である。いくつかの実施態様では、疾患又は障害は、癌である。いくつかの実施態様では、癌は、非小細胞肺癌、腎細胞癌、卵巣癌、膵癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、メラノーマ、乳癌、甲状腺癌、結腸直腸癌、頭頸部癌、骨肉腫、前立腺癌、又は膠芽細胞腫である。いくつかの実施態様では、癌は、非小細胞肺癌（NSCLC）である。いくつかの実施態様では、NSCLCは、二次又は三次局所進行性又は転移性NSCLCである。いくつかの実施態様では、NSCLCは、腺癌である。いくつかの実施態様では、NSCLCは、扁平上皮癌である。

10

【0313】

方法の何れかのいくつかの実施態様では、上記の実施態様の何れかによる個体は、ヒトとすることができる。

【0314】

別の実施態様では、癌を治療する方法が本明細書で提供される。一実施態様では、方法は、PD-L1軸結合性アンタゴニストの有効量を、かかる癌を有する個体に投与することを含む。1つのかかる実施態様では、方法は、少なくとも1つの追加の治療剤の有効量を個体に投与することを更に含む。いくつかの実施態様では、個体は、ヒトとすることができる。

【0315】

20

本明細書で記載したPD-L1軸結合性アンタゴニストを、療法において単独で又は他の薬剤と組み合わせて使用することができる。例えば、本明細書で記載したPD-L1軸結合性アンタゴニストを、少なくとも1つの追加の治療剤とともに共投与することができる。ある特定の実施態様では、追加の治療剤は、化学療法剤である。

【0316】

上記で注目したかかる併用療法は、併用投与（ここで2つ以上の治療剤が同じ又は別々の製剤に含まれる）、及びアンタゴニストの投与が、追加の治療剤及び/又はアジュバントの投与前に、これと同時に、及び/又はこの後で起こり得る別々の投与を包含する。本明細書で記載したPD-L1軸結合性アンタゴニストを、放射線療法と組み合わせて使用することもできる。

30

【0317】

本明細書で記載したPD-L1軸結合性アンタゴニスト（例えば、抗体、結合性ポリペプチド、及び/又は小分子）（及び任意の追加の治療剤）を、非経口、肺内、及び鼻腔内、並びに局所的治療に望ましい場合に病巣内投与を含めた、任意の適した手段によって投与することができる。非経口注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与を含む。投薬は、投与が短期的又は慢性的であるかどうかにより部分的に依存して、任意の適した経路による、例えば、静脈内又は皮下注射等の注射によることができる。単一の又は様々な時点にわたる複数の投与、ボーラス投与、及びパルスインフュージョンを含むが、これらに限定されない様々な投薬スケジュールが、本明細書で企図される。

【0318】

40

本明細書で記載したPD-L1軸結合性アンタゴニスト（例えば、抗体、結合性ポリペプチド、及び/又は小分子）を、医学行動規範と一致した様式で、製剤化し、投薬し、投与することができる。これに関連した考慮に関する因子は、治療される特定の障害、治療される特定の哺乳類、個々の患者の臨床的状態、障害の原因、薬剤の送達の部位、投与の方法、投与のスケジューリング、及び医療施術者に既知の他の因子を含む。PD-L1軸アンタゴニストは、問題の障害を予防する又は治療するために現在使用されている1つ又は複数の薬剤とともに製剤化されている必要はないが、任意選択的にこれらの薬剤とともに製剤化されている。かかる他の薬剤の有効量は、製剤中に存在するPD-L1軸結合性アンタゴニストの量、障害又は治療の型、及び上記で議論した他の因子に依存する。これらは、本明細書で記載したのと同じ用量及び投与経路、若しくは本明細書で記載した用量

50

の約 1 から 99 % で、又は適切であると経験的に / 臨床的に判定される任意の用量で及び任意の経路によって一般的に使用される。

【 0319 】

疾患の予防又は治療に関して、本明細書で記載した PD - L1 軸結合性アンタゴニストの適切な用量（単独で又は 1 つ若しくは複数の他の追加の治療剤と組み合わせて使用される場合）は、治療される疾患の型、疾患の重症度及び過程、PD - L1 軸結合性アンタゴニストが予防的目的で投与されるのか治療的目的で投与されるのか、以前の療法、患者の病歴及び PD - L1 軸結合性アンタゴニストに対する応答、及び主治医の裁量に依存することになる。PD - L1 軸結合性アンタゴニストは、単回で、又は一連の治療にわたって、患者に適切に投与される。1 つの典型的な 1 日の用量は、上記の因子に依存して、約 1 $\mu\text{g} / \text{kg}$ から 100 mg / kg 以上にわたる。数日以上にわたる反復投与に関して、状態に依存して、治療は、疾患症状の望ましい抑圧が生じるまで一般的に持続される。かかる用量を、断続的、例えば、週 1 回又は 3 週間に 1 回（例えば、患者が、PD - L1 軸結合性アンタゴニストの約 2 回から約 12 回、又は例えば、約 6 回の用量を受けるように）投与することができる。初回のより高い負荷用量、その後の 1 つ又は複数のより低い用量を投与することができる。例示的投薬計画は、投与することを含む。しかしながら、他の用量計画が有用であり得る。この療法の進行は、従来の技法及びアッセイによって容易に監視することができる。

【 0320 】

方法の何れかのいくつかの実施態様では、PD - L1 軸結合性アンタゴニスト（例えば、抗 PD - L1 抗体）を、約 0.3 - 30 mg / kg の用量で投与する。いくつかの実施態様では、PD - L1 軸結合性アンタゴニスト（例えば、抗 PD - L1 抗体）を、約 0.3 mg / kg 、0.5 mg / kg 、1 mg / kg 、2 mg / kg 、4 mg / kg 、8 mg / kg 、15 mg / kg 、20 mg / kg 、又は 30 mg / kg の何れかの用量で投与する。いくつかの実施態様では、PD - L1 軸結合性アンタゴニスト（例えば、抗 PD - L1 抗体）を、21 日サイクルで約 2 mg / kg 、4 mg / kg 、8 mg / kg 、15 mg / kg 、又は 30 mg / kg の何れかの用量で投与する。上記の製剤又は治療的方法の何れかを、PD - L1 軸結合性アンタゴニストの代わりに又はこれに加えて、イムノコンジュゲートを使用して実行することができることが理解されよう。

【 0321 】

本明細書に記載の PD - L1 軸結合性アンタゴニストの医薬製剤を、凍結乾燥製剤又は水溶液の形で、望ましい程度の純度を有するかかる抗体を 1 つ又は複数の任意選択の薬学的に許容される担体と混合することによって調製する（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)）。いくつかの実施態様では、PD - L1 軸結合性アンタゴニストは、結合性小分子、抗体、結合性ポリペプチド、及び / 又はポリヌクレオチドである。薬学的に許容される担体は、一般的に、用いる用量及び濃度でレシピエントに無毒であり、リン酸、クエン酸及び他の有機酸等のバッファー；アスコルビン酸及びメチオニンを含めた抗酸化剤；保存剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；ヘキサメトニウムクロライド；ベンザルコニウムクロライド；ベンゼトニウムクロリド；フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；メチル又はプロピルパラベン等のアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3 - ペンタノール；及び m - クレゾール等）；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、又は免疫グロブリン等のタンパク質；ポリビニルピロリドン等の親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、又はリジン等のアミノ酸；単糖類、二糖類、及びグルコース、マンノース、又はデキストリンを含めた他の炭水化物；EDTA 等のキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトール等の糖類；ナトリウム等の造塩対イオン；金属複合体（例えば、Zn - タンパク質複合体）；及び / 又はポリエチレングリコール（PEG）等の非イオン性界面活性剤を含むがこれらに限定されない。本明細書の例示的な薬学的に許容される担体は、可溶性中性の活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（SHASEGP）、例えば、rHuPH

20 (HYLENE X (登録商標), Baxter International, Inc.) 等のヒト可溶性 PH-20 ヒアルロニダーゼ糖タンパク質等の間質薬物分散剤を更に含む。rHuPH20 を含めた、いくつかの例示的 sHASEGP 及び使用の方法は、米国特許出願公開第 2005/0260186 号及び第 2006/0104968 号に記載されている。一実施態様では、sHASEGP は、コンドロイチナーゼ等の 1 つ又は複数の追加のグリコサミノグリカナーゼと組み合わせられる。

【0322】

例示的凍結乾燥製剤は、米国特許第 6267958 号に記載されている。水性抗体製剤は、米国特許第 6171586 号及び国際公開第 2006/044908 号に記載されているものを含み、後者の製剤は、ヒスチジン - アセートバッファーを含む。

10

【0323】

本明細書の製剤は、治療される特定の徴候に関して必要に応じて、1 つを超える活性成分、好ましくは互いに悪影響しない相補的な活性を有するものも含有することができる。かかる活性成分は、意図された目的に効果的である量で、組合せて適切に存在する。

【0324】

活性成分を、例えばコアセルベーション技法によって又は界面重合によって調製された、マイクロカプセル、例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロース又はゼラチンマイクロカプセル及びポリ - (メチルメタクリレート) マイクロカプセル中に、コロイド薬物送達系 (例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル) 中に又はマクロエマルジョン中に封入することができる。かかる技法は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980) に開示されている。

20

【0325】

徐放調製物を調製することができる。徐放調製物の適した例は、PD-L1 軸結合性アンタゴニストを含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスを含み、このマトリックスは、造形品、例えば、フィルム、又はマイクロカプセルの形である。

【0326】

インビボ投与に使用される製剤は、一般的に無菌である。無菌状態は、例えば、滅菌濾過膜を通した濾過によって、容易に達成することができる。

【0327】

30

上記の製品の何れかは、PD-L1 アンタゴニストの代わりに又はこれに加えて、本明細書で記載したイムノコンジュゲートを含むことができることが理解されよう。

【0328】

バイオマーカーを同定すること及びそれを使用する方法

治療応答性バイオマーカーを同定する方法が、本明細書で提供される。

【0329】

いくつかの実施態様では、薬力学的バイオマーカーを、被分析物発現レベルと、1 つ又は複数のプレ治療ベースライン応答と比較した、対象の応答における正又は負の変化の間の相関又は定義された関連に基づいて同定することができる。いくつかの実施態様では、被分析物発現レベルを、治療又は治療的介入の前、この間、及びこの後に対象から採取された試料において測定することができる。

40

【0330】

薬力学的バイオマーカーを、限定することなく、治療監視及び治療効率の評価に使用することができる。例えば、薬力学的バイオマーカーレベルを、対象に関する治療の過程の樹立又は改変における使用のために、臨床医に提供することができる。治療が選択され、治療が開始する場合、対象を、2 つ以上の間隔で生物学的試料を採取し、所与の時間間隔治療前、治療の間、治療後に相当する臨床応答を判定し、臨床応答を経時的に比較することによって、定期的に監視することができる。増加する、低下する又は安定化する臨床応答又は薬力学的バイオマーカーレベルにおける変化に関して観察されるこれらの応答及び任意の傾向に基づいて、臨床医、セラピスト、又は他の医療専門家は、治療を現状のまま

50

続けること、治療を中断すること、又は経時的に改善を見る目標に治療計画を適合させることを選択することができる。

【0331】

したがって、PD-L1軸結合性アンタゴニストによる個体の治療応答を評価する方法であって、(a)PD-L1軸結合性アンタゴニストの投与中又は投与後の時点で個体に由来する生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルを判定すること；及び(b)生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルと参照レベルとの比較に基づいて個体の治療を維持するか、調整するか、又は停止することを含み、参照レベルと比較した生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルの変化はPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療への応答の指標となる方法が本明細書で提供される。

10

【0332】

PD-L1軸結合性アンタゴニストで治療した個体の応答を監視する方法であって、(a)PD-L1軸結合性アンタゴニストの投与中又は投与後の時点での、個体に由来する生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルを判定すること；及び(b)PD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療を受けている個体における応答を監視するために、生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルを参照レベルと比較することを含む方法が本明細書で更に提供される。

【0333】

いくつかの実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーの参照レベルが、(1)PD-L1軸結合性アンタゴニストの投与前の個体からの1つ又は複数のバイオマーカーのレベル；(2)参照集団からの1つ又は複数のバイオマーカーのレベル；(3)1つ又は複数のバイオマーカーの前もって割り当てられたレベル；及び(4)第1の時点より前の第2の時点での個体からの1つ又は複数のバイオマーカーのレベルからなる群から選択される。

20

【0334】

参照集団と個体の生物学的試料の相関を示し、比較するために、PD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療前及び／又は後に、治療を受けた個体の集団、すなわち、臨床集団によって示された臨床応答に関するデータを得ることが必要である。この臨床データは、臨床治験（一又は複数）の結果のレトロスペクティブ分析によって得ることができる。代わりに、臨床データを、1つ又は複数の新しい臨床治験をデザインし、実行することによって得ることができる。臨床集団データの分析は、標準参照集団を定義するのに有用であり、これは次に、治療的治療の選択のために対象を分類するかつ／又はPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療に対する陽性応答を示すとして対象を分類するのに有用である。

30

【0335】

いくつかの実施態様では、参照レベルと比較した生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルの変化は、レベルの増加である。

【0336】

いくつかの実施態様では、参照レベルと比較した生物学的試料中の1つ又は複数のバイオマーカーのレベルの変化は、レベルの低下である。

40

【0337】

いくつかの実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーが、PD-L1、PD-1、PD-L2及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。いくつかの実施態様では、参照レベルと比較した、生物学的試料中のPD-L1、PD-1、PD-L2及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される1つ又は複数のバイオマーカーの増加は、治療に対する陽性応答の指標となる。

【0338】

いくつかの実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーは免疫関連マーカーである。

【0339】

いくつかの実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーはT細胞関連マーカーである

50

。

【0340】

いくつかの実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーはT細胞活性化マーカーである。

【0341】

いくつかの実施態様では、T細胞活性化マーカーは参照レベルと比較して生物学的試料で増加する。

【0342】

いくつかの実施態様では、T細胞活性化マーカーは、CD8、IFN- γ 、グランザイム-A、TNF- α 、パーフォリン及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。いくつかの実施態様では、参照レベルと比較した、生物学的試料中のCD8、IFN- γ 、グランザイム-A、TNF- α 、パーフォリン及びそれらの任意の組合せからなる群から選択されるT細胞活性化マーカーの増加は、治療に対する陽性応答の指標となる。

10

【0343】

いくつかの実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーは活性化された増殖性T細胞である。

【0344】

いくつかの実施態様では、活性化された増殖性T細胞は、参照レベルと比較して生物学的試料中で増加する。

【0345】

いくつかの実施態様では、活性化された増殖性T細胞は、CD8+/Ki67+細胞、CD8+/HLA-DR+/Ki67+細胞及びそれらの任意の組合せである。

20

【0346】

いくつかの実施態様では、1つ又は複数のバイオマーカーはIL-6である。

【0347】

いくつかの実施態様では、IL-6レベルは、参照レベルと比較して生物学的試料中で低下する。いくつかの実施態様では、参照レベルと比較した生物学的試料中のIL-6レベルの低下は、治療に対する陽性応答の指標となる。いくつかの実施態様では、IL-6レベルは、参照レベルと比較して生物学的試料中で増加する。いくつかの実施態様では、参照レベルと比較した生物学的試料中のIL-6レベルの増加は、治療に対する応答がないことを示す。

30

【0348】

いくつかの実施態様では、個体に由来する生物学的試料は、細胞、組織、組織培養物、腫瘍、生体液及びその組合せからなる群から選択される。

【0349】

いくつかの実施態様では、生体液は、血漿、血清、全血、PBMC及びその組合せからなる群から選択される。

【0350】

いくつかの実施態様では、組織は、腫瘍組織である。

【0351】

いくつかの実施態様では、腫瘍組織は、腫瘍細胞、腫瘍浸潤細胞、間質細胞及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される。

40

【0352】

いくつかの実施態様では、細胞は、循環性腫瘍細胞(CTC)である。

【0353】

いくつかの実施態様では、個体は、増殖性の疾患又は障害を患う。

【0354】

いくつかの実施態様では、個体は、癌又は悪性腫瘍を患う。

【0355】

いくつかの実施態様では、癌又は悪性腫瘍は、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、

50

結腸直腸癌、卵巣癌、乳癌、膵癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、メラノーマ、頭頸部癌、甲状腺癌、肉腫、前立腺癌、膠芽細胞腫、子宮頸癌、胸腺癌、白血病、リンパ腫、骨髓腫、菌状息肉腫、メルケル細胞癌及び他の血液悪性腫瘍から選択される。

【0356】

いくつかの実施態様では、個体は、免疫関連の疾患又は障害を患う。

【0357】

いくつかの実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストは、PD-L1結合性アンタゴニストである。

【0358】

いくつかの実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、そのリガンド結合パートナーへのPD-L1の結合を阻害する。

10

【0359】

いくつかの実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、PD-1へのPD-L1の結合を阻害する。

【0360】

いくつかの実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、B7-1へのPD-L1の結合を阻害する。

【0361】

いくつかの実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、PD-1及びB7-1の両方へのPD-L1の結合を阻害する。

20

【0362】

いくつかの実施態様では、PD-L1結合性アンタゴニストは、抗体である。

【0363】

いくつかの実施態様では、抗体は、モノクローナル抗体である。

【0364】

いくつかの実施態様では、抗体は、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である。

【0365】

いくつかの実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストは、PD-1結合性アンタゴニストである。

【0366】

いくつかの実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、そのリガンド結合パートナーへのPD-1の結合を阻害する。

30

【0367】

いくつかの実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L1へのPD-1の結合を阻害する。

【0368】

いくつかの実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L2へのPD-1の結合を阻害する。

【0369】

いくつかの実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、PD-L1及びPD-L2の両方へのPD-1の結合を阻害する。

40

【0370】

いくつかの実施態様では、PD-1結合性アンタゴニストは、抗体である。

【0371】

いくつかの実施態様では、抗体は、モノクローナル抗体である。

【0372】

いくつかの実施態様では、抗体は、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である。

【0373】

宣伝の方法

PD-L1軸結合性アンタゴニストを宣伝する方法であって、PD-L1バイオマーカ

50

ーの存在及び／又はレベルに基づいて、疾患又は障害を有する個体を治療するためのPD-L1軸結合性アンタゴニストの使用を対象オーディエンスに促進することを含む方法が、本明細書で更に提供される。いくつかの実施態様では、PD-L1軸結合性アンタゴニストの使用は、PD-L1バイオマーカーの上昇したレベルに基づく。

【0374】

宣伝は、一般的に、後援者が同定され、メッセージが制御されている非個人的媒体を通じた、有給の通信である。本明細書での目的のための宣伝は、広報、広報活動、間接的宣伝方式、後援、アンダーライティング、及び販売促進を含む。この用語は、本明細書の発明を購入し、支援し、又は承認する都合良いパターンに向かって、大衆を、説得し、情報提供し、促進し、動機付けし、又は行動を改変するようにアピールするように設計された印刷通信媒体の何れかにおいて現れる後援された情報公示も含む。

10

【0375】

本明細書の診断法の宣伝及び促進は、任意の手段によって達成することができる。これらのメッセージを送達するために使用される宣伝媒体の例は、放送媒体に現れるメッセージであるコマーシャルを含めた、テレビ、ラジオ、映画、雑誌、新聞、インターネット、及び看板を含む。宣伝は、食料品のカートの座席上、空港の通路の壁、及びバスの側面にあるもの、又は電話保留メッセージ、若しくは店舗内のPAシステムで聞こえるもの、又は視覚的若しくは聴覚的通信が配置され得る全ての場所のものも含む。

【0376】

促進又は宣伝手段のより特定の例は、テレビ、ラジオ、映画、ウェブキャスト及びウェブピナー等のインターネット、同時ユーザーに到達するように意図された相互作用的なコンピュータネットワーク、固定若しくは電光掲示板、及び他の公共看板、ポスター、雑誌及び新聞等の伝統的若しくは電子的な文献、他の報道発信地、プレゼンテーション、又は、例えば、電子メール、電話、インスタントメッセージ、郵便、宅配便、大量一斉メール若しくはキャリアメール、対面での訪問等による個々の接触を含む。

20

【0377】

使用される宣伝の型は、多くの因子、例えば、到達されるべき対象オーディエンス、例えば、病院、保険会社、クリニック、医師、看護師、及び患者の性質、並びに、コストの考慮、並びに医薬及び診断の宣伝を規制する関連法律及び規制等に依存することになる。宣伝は、サービスの相互作用並びに／又はユーザーの人口統計及び地理的な位置等の他のデータによって定義されたユーザーの特徴付けに基づいて、個別化又はカスタマイズすることができる。

30

【0378】

診断キット、アッセイ及び製品

疾患又は障害を有する個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在を判定するための1つ又は複数の試薬を含む診断キットであって、PD-L1バイオマーカーの存在は、個体をPD-L1軸結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより高い可能性を意味し、PD-L1バイオマーカーの不在は、疾患を有する個体をPD-L1軸結合性アンタゴニストで治療した場合の有効性のより低い可能性を意味する、診断キットが本明細書で提供される。任意選択的に、キットは、個体がPD-L1バイオマーカーを発現する場合に、疾患又は障害を治療するための医薬（例えば抗PD-L1抗体等のPD-L1軸結合性アンタゴニスト）を選択するためにキットを使用するための説明書を更に含む。別の実施態様では、説明書は、個体がPD-L1バイオマーカーを発現しない場合に、PD-L1軸結合性アンタゴニスト以外の医薬を選択するためにキットを使用するためのものである。

40

【0379】

PD-L1軸結合性アンタゴニストを受ける疾患又は障害を有する個体を同定するアッセイであって、個体からの試料中のPD-L1バイオマーカーの存在を判定すること、及びPD-L1バイオマーカーの存在に基づいてPD-L1軸結合性アンタゴニストを推奨することを含むアッセイも本明細書で提供される。

50

【0380】

一緒に包装された、薬学的に許容される担体中のPD-L1軸結合性アンタゴニスト（例えば、抗PD-L1抗体）、及びPD-L1軸結合性アンタゴニスト（例えば、抗PD-L1抗体）が、PD-L1バイオマーカーの発現に基づいて疾患又は障害を有する患者を治療するためのものであることを示す添付文書を含む製品も本明細書で提供される。治療方法は、本明細書で開示した治療方法の何れかを含む。PD-L1軸結合性アンタゴニスト（例えば、抗PD-L1抗体）を含む薬学的組成物、及び薬学的組成物が、PD-L1バイオマーカーの発現に基づいて疾患又は障害を有する患者を治療するためのものであることを示す添付文書をパッケージにおいて組み合わせることを含む、製品を製造する方法が更に提供される。

10

【0381】

製品は、容器、及び容器上に又は容器と結合したラベル又は添付文書を含む。適した容器は、例えば、ビン、バイアル、シリンジ等を含む。容器は、ガラス又はプラスチック等のいろいろな材料から形成されていてよい。容器は、活性薬剤として癌医薬を含む組成物を保持又は含有し、滅菌アクセスポートを有することができる（例えば容器は、静脈内溶液バッグ又は皮下注射針によって穿刺可能なストッパーを有するバイアルとすることができる）。

【0382】

製品は、静菌性の注射用水（BWF I）、リン酸緩衝食塩水、リンゲル液及びデキストロース溶液等の薬学的に許容される希釈剤バッファーを含む第2の容器を更に含むことができる。製品は、他のバッファー、希釈剤、フィルター、針、及びシリンジを含めた、商業及びユーザー観点から望ましい他の材料を更に含むことができる。

20

【0383】

本発明の製品は、例えば添付文書の形である、組成物が本明細書のバイオマーカー（一又は複数）の発現レベルに基づいて癌を治療するのに使用されることを示す情報も含む。挿入物又はラベルは、紙又は磁気的に記録された媒体（例えば、フロッピーディスク）若しくはCD-ROM等の電子媒体上等の、任意の形をとることができる。ラベル又は挿入物は、キット又は製品における薬学的組成物及び投与形態に関する他の情報も含むことができる。

【0384】

本発明は、PD-L1軸結合性アンタゴニスト（例えば、抗PD-L1抗体）を含む薬学的組成物、及び薬学的組成物が、PD-L1バイオマーカーの発現に基づいて癌（NSCLC等）を有する患者を治療するためのものであることを示す添付文書をパッケージにおいて組み合わせることを含む、製品を製造する方法にも関する。

30

【0385】

製品は、静菌性の注射用水（BWF I）、リン酸緩衝食塩水、リンゲル液、及び/又はデキストロース溶液等の薬学的に許容される希釈剤バッファーを含む追加の容器を更に含むことができる。製品は、他のバッファー、希釈剤、フィルター、針、及びシリンジを含めた、商業及びユーザー観点から望ましい他の材料を更に含むことができる。

【実施例】

40

【0386】

以下は、方法及び組成物の例である。上で提供した一般的な説明を考慮すると、様々な他の実施態様を実行することができることが理解されよう。

【0387】

実施例に関する材料及び方法

試料：腫瘍試料又は癌細胞株のホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）切片を分析した。

【0388】

免疫組織化学法（IHC）：ホルマリン固定、パラフィン包埋組織切片を、抗原回復、ブロッキング及び一次抗PD-L1抗体でのインキュベーション前に、脱パラフィンした

50

。二次抗体でのインキュベーション及び酵素発色後に、切片を対比染色し、カバースリッピングの前に、アルコール及びキシレンの連続で脱水した。

【0389】

以下のプロトコールを、IHCに関して使用した。Ventana Benchmark XT又はBenchmark Ultraシステムを使用して、以下の試薬及び材料を使用したPD-L1 IHC染色を行った。

一次抗体：抗PD-L1ウサギモノクローナル一次抗体

検体型：組織試料のホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)切片及び変動する染色強度のコントロール細胞ペレット

手順種：ヒト

10

装置：Benchmark XT又はBenchmark Ultra

エピトープ回復条件：細胞コンディショニング、スタンダード1(CC1、Ventana, cat#950-124)

一次抗体条件：1/100、36で6.5 µg/ml/16分

希釈剤：抗体希釈バッファー(担体タンパク質及びBrig-35を含有するトリス-バッファー生理食塩水)

ネガティブコントロール：6.5 µg/mlでのナイーブなウサギIgG(細胞シグナル伝達)又は希釈剤単独

検出：Optiview又はUltraview Universal DAB検出キット(Ventana)、及び増幅キット(適用可能な場合)を、製造者の説明書(Ventana)に従って使用した。

20

対比染色：VentanaヘマトキシリンII(cat#790-2208)/Bluing試薬(Cat#760-2037)とともに(それぞれ、4分及び4分)

Benchmarkプロトコールは、以下の通りであった：

1. パラフィン(選択された)
2. 脱パラフィン(選択された)
3. 細胞コンディショニング(選択された)
4. 調節器#1(選択された)
5. スタンダードCC1(選択された)
6. Abインキュベーション温度(選択された)
7. 36C Ab Inc.(選択された)
8. 滴定(選択された)
9. 自動分注(一次抗体)、及び(16分)間インキュベートする
10. 対比染色(選択された)
11. 1滴の(ヘマトキシリンII)(対比染色)を適用し、カバースリップを適用し、(4分)間インキュベートする
12. 対比染色後(選択された)
13. 1滴の(BLUEING試薬)(対比染色後)を適用し、カバースリップを適用し、(4分)間インキュベートする
14. 石けん水でスライドを洗浄して、油を除去する
15. 水でスライドをすすぐ
16. 95%エタノール、100%エタノールからキシレンを通してスライドを脱水する(Leica autostainer program#9)
17. カバースリップ。

30

40

【0390】

実施例1-IHCによってPD-L1発現をスコアリングする

腫瘍検体におけるPD-L1発現の存在又は不在を、IHCによって、ヒトホルマリン固定、パラフィン包埋(FFPE)組織におけるPD-L1を検出することができる抗PD-L1特異的抗体を使用して、査定した。腫瘍試料中のPD-L1の相対発現を測定し、定量化するために、PD-L1 IHCスコアリングシステムを開発して、腫瘍細胞及

50

び腫瘍浸潤免疫細胞におけるPD-L1特異的シグナルを測定した。免疫細胞は、リンパ球及び/又はマクロファージ/組織球形態を有する細胞と定義される。

【0391】

腫瘍細胞染色は、任意の強度の膜染色を示す全ての腫瘍細胞のパーセントとして表現される。浸潤免疫細胞染色は、任意の強度の染色を示す免疫細胞によって占められた総腫瘍領域のパーセントと定義される。総腫瘍領域は、悪性細胞及び主な腫瘍塊に直接隣接しており、近接している免疫浸潤物の領域を含めた、腫瘍関連ストロマを包含する。更に、浸潤免疫細胞染色は、全ての腫瘍浸潤免疫細胞のパーセントと定義される。

【0392】

腫瘍組織におけるPD-L1染色強度の広いダイナミックな範囲があった。細胞内局在にかかわらず、シグナルも、強い、中程度、弱い、又は陰性染色と分類した。

【0393】

図1に示すように、陰性シグナル強度は、HEK-293細胞を使用して例示したように、任意の検出可能なシグナルの不在によって特徴を明らかにされる。対照的に、陽性シグナル強度は、組換えヒトPD-L1でトランスフェクトされたHEK-293細胞を使用して例示したように、金から濃褐色の膜染色によって特徴を明らかにされる。最後に、陽性シグナル強度も、胎盤栄養芽細胞の染色及び扁桃陰窩の領域における、及びしばしば金から濃褐色染色によって特徴を明らかにされる膜パターンでの強い染色によって、例示される。腫瘍組織において、PD-L1陰性試料は、20×対物レンズを使用して査定した場合、検出可能なシグナルを有さない又は弱い細胞質バックグラウンド染色のみを有するとして認定される。対照的に、PD-L1陽性試料は、腫瘍細胞及び/又は浸潤免疫細胞における主要な膜染色を実証する。PD-L1染色は、薄い、明るい茶色の膜を有する弱いから低い倍率で容易に認識される濃褐色の濃い膜を有する強いまでの可変強度で観察される。図2に例示したように、3つの代表的なPD-L1陽性腫瘍試料を示す：(A)大部分の腫瘍細胞が、PD-L1に関して強く陽性であり、膜及び細胞質染色の組合せを示している、三種陰性乳癌(100×倍率)；(B)それらのいくらかがPD-L1に関する膜染色を有する、免疫細胞のクラスターが示されている、悪性メラノーマ；PD-L1に関する膜染色を有するまれな腫瘍細胞(矢印)(400×倍率)；(C)PD-L1に関する強い染色を有する免疫細胞のクラスターが示されている、NSCLC、腺癌；PD-L1に関する膜及び/又は細胞質染色を有するいくつかの腫瘍細胞(矢印)(400×倍率)。

【0394】

陽性の場合における染色は、空間分布及び強度に関して限局的である傾向がある。任意の強度の染色を示している腫瘍又は免疫細胞の百分率を、視覚的に推定し、使用して、PD-L1状態を判定した。アイソタイプネガティブコントロールを使用して、試験試料中のバックグラウンドの存在を査定した。

【0395】

染色は、H&Eに関する1つの連続的な組織切片、抗PD-L1に関する第2の連続的な組織切片、及びアイソタイプネガティブコントロールに関する第3の連続的な組織切片を必要とした。PD-L1-トランスフェクトHEK-293細胞株コントロール又は扁桃スライドを、ランコントロール及びアッセイ特異性に関する参照として使用した。

PDL-1状態基準

PD-L1状態	染色基準
陰性	任意の染色強度での0%膜染色若しくは細胞質染色又は両方の組合せ
陽性	任意の染色強度での>0%膜染色若しくは細胞質染色又は両方の組合せ
	任意の染色強度での $\geq 1\%$ 膜染色若しくは細胞質染色又は両方の組合せ
	任意の染色強度での $\geq 5\%$ 膜染色若しくは細胞質染色又は両方の組合せ
	任意の染色強度での $\geq 10\%$ 膜染色若しくは細胞質染色又は両方の組合せ

10

【0396】

いくつかの場合において、PD-L1陽性状態は、腫瘍細胞、関連する腫瘍内、及び近接する腫瘍周囲の線維増生ストロマによって占められた腫瘍領域の最大50%における腫瘍細胞又は腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能なPD-L1染色の存在を含むことができる。したがって、PD-L1陽性染色は、任意の強度の染色を示す腫瘍細胞又は腫瘍浸潤免疫細胞の50%までもを含む。

【0397】

20

抗PD-L1で染色された査定可能なスライドを、上記のように査定した。陰性染色強度は、任意の検出可能なシグナルの不在又は薄灰色から青（褐色又は黄褐色ではなく）として特徴を明らかにされたシグナル及び膜増強の不在によって、特徴を明らかにされた。膜染色がない（例えば、不在である）場合、そのケースは陰性であった。

【0398】

実施例2 - 抗PD-L1抗体を使用した治療

フェーズI研究デザインは、(a)抗PD-L1 IHC試薬(b)PD-L1 qPCR試薬によって測定されるPD-L1遺伝子発現(c)多重qPCR「免疫チップ」によって測定される免疫遺伝子サインによって評価されたPD-L1腫瘍状態と、(i)RECIST 1.1に基づく応答(ii)免疫関連応答基準(iii)PFS(iv)OS(v)完全寛解速度(vi)応答の耐久性(vii)6週でのPDによって測定されるPD-L1/PD-1経路の単剤療法阻害の臨床有益性の間の相関を特に査定した。拡大コホートにある患者に、PD-L1腫瘍状態の評価のための腫瘍組織を提供するように要求し、PD-L1腫瘍状態にかかわらず拡大コホートに登録するか、又はPD-L1に関するIHCアッセイによって測定されたPD-L1腫瘍状態に基づいて患者を予め選択した拡大コホートに登録した。登録された腫瘍型は、NSCLC（扁平上皮及び非扁平上皮組織構造）、メラノーマ、RCC、CRC、胃癌、乳癌、SCCHN、膵癌、膀胱癌及び血液悪性腫瘍を特に含んだ。追加的に、リンパ腫、骨髄腫、肉腫、卵巣癌、前立腺癌、食道癌、小細胞肺癌、菌状息肉症、メルケル細胞癌、子宮頸癌、HPV又はEBV+SCCHN、及び胸腺癌を有する患者も、登録した。

30

40

【0399】

PD-L1/PD-1経路の単剤療法阻害からの臨床有益性とベースラインPD-L1腫瘍状態の相関を評価することに加えて、研究は、(a)アーカイブ腫瘍試料対新鮮な又は最近の腫瘍生検試料中のPD-L1状態を測定すること、(b)抗CD8 IHC試薬を有する腫瘍におけるCD8+T細胞浸潤を査定すること、(c)種々の細胞型%におけるPD-L1染色、染色のコンパートメント又は強度を査定すること、(d)PD-L1又はCD8の腫瘍周囲対腫瘍内染色のインパクト、(e)PD-L1染色の増幅のインパクト、(f)qPCR又は免疫チップ評価の前の腫瘍のマクロダイセクションのインパクト、(g)PD-L1状態評価及び有益性との相関への組織試料年齢及び固定化のインパクト、(h)上記の腫瘍特徴付け方法を使用して臨床有益性又は毒性を評価するためのオ

50

ン治療腫瘍生検の値、(i) オン治療有益性を評価するための又は患者選択のための F D G P E T イメージング及び C T コントラスト強調の値、(j) 上記の治療に関する有益性を予測することにおける腫瘍突然変異性 / 癌遺伝子状態 (例えば、K R A S、b R A F、P I 3 K 経路突然変異状態、メチオニン状態、H e r 2 n e u 状態、P T E N 状態) の値、(k) C T C 数及び P D - L 1 特徴付け、(l) 循環性細胞型、サブセット及び数、(m) 循環性血漿 / 血清バイオマーカー、(n) 人種差、(o) 喫煙状態、(p) F c g R I I I 多型状態、(q) 免疫関連多型状態の有益性も査定した。

【 0 4 0 0 】

研究デザイン。この研究は、固形及び液性腫瘍における抗 P D - L 1 抗体 (M P D L 3 2 8 0 A) を使用した P D - L 1 / P D - 1 経路阻害による治療の予備活性及び安全性を査定するように設計されているフェーズ I 多施設試験であった。250 人を超える患者を、17 を超える多国籍の部位にわたって登録した。疾患の進行、患者の臨床状態に依存した容認できない毒性まで、M P D L 3 2 8 0 A による治療を続けた (すなわち、それらがそれらの E C O G P S を維持し、調査者によって評価される臨床有益性に関する潜在力がある場合、疾患進行の証拠を有する患者には、研究治療を続けておいた)。この研究からのデータの中間分析を、2012 年 7 月 1 日より前に登録された患者を含めた、研究に登録された患者に関して (n = 122)、研究の開始後、2013 年 1 月 10 日を含めた複数の時に行った。このデータは、研究において、その腫瘍がより低いレベルの P D - L 1 を発現した患者は、P D - L 1 / P D - 1 経路阻害から最小の有益性を引き出したが、腫瘍免疫浸潤細胞において特に測定される、それらの腫瘍におけるより高いレベルの P D - L 1 を有した患者は、耐久性のある応答によって測定される有益性の大部分を引き出したことを示唆している。

【 0 4 0 1 】

研究中、腫瘍測定値及び生存状態に関するデータを、P F S、全生存 (O S) 及び全奏効率 (O R R) 及び上記で注目した他の測定値の査定のために収集した。C T スキャンを、ベースラインで及び約 6 週間毎に得た。一部の患者におけるイメージングは、F D G - P E T イメージングを含んだ。血液バイオマーカーを、ベースラインで、並びに血液に基づく及び細胞サブセットに基づくバイオマーカーに関する研究において評価した。臨床成績とこれら及び他の腫瘍バイオマーカーの相関を示すことは、予測的バイオマーカー、例えば、薬物活性又は療法に対する応答を反映することができる循環しているマーカーを同定するのを補助することになる。血清及び血漿のための血液を、前もって指定した時に同意している患者から採取し、これらの探索性マーカーのレベルに関して査定した。

【 0 4 0 2 】

実施例 3 - 抗 P D - L 1 抗体で治療した個体からの試料の I H C によるスコアリングは、P D - L 1 発現と治療に対する応答の間の相関を示す

図 3 A に例示したように、腫瘍試料を、抗 P D - L 1 抗体 M P D L 3 2 8 0 A で治療したフェーズ I 患者からの P D - L 1 発現に関して分析した。データセットは、2012 年 7 月 1 日より前に登録された患者を含む。腫瘍試料中の P D - L 1 状態に関する染色を、上記の I H C プロトコールを使用して行った。

【 0 4 0 3 】

予備結果は、腫瘍浸潤細胞 (I C) における P D - L 1 発現と抗 P D - L 1 治療に対する患者の臨床応答の間の相関があることを示している。特に、抗 P D - L 1 治療に対する部分寛解 (P R) 又は完全寛解 (C R) を示した患者は、I H C によって検出された、腫瘍試料領域内の P D - L 1 発現腫瘍浸潤細胞の染色と相関した。腫瘍試料領域は、悪性細胞、及び主な腫瘍塊に直接隣接しており、近接している免疫浸潤物の領域を含めた、腫瘍関連ストロマを包含する。対照的に、抗 P D - L 1 治療に対する臨床応答を示さなかった患者の腫瘍 (例えば、進行性疾患 (P D) を示している) は、腫瘍試料領域内の腫瘍浸潤免疫細胞におけるより低い P D - L 1 発現を示した。p < 0 . 0001。

【 0 4 0 4 】

抗 P D - L 1 治療に対する患者の臨床応答と総免疫細胞内の P D - L 1 発現腫瘍浸潤免

疫細胞 (IC) の染色の間の相関も観察された。図 3 B に示したように、抗 PD - L 1 治療による治療に対する応答性を示した患者は、腫瘍試料内の総免疫浸潤物内の PD - L 1 発現腫瘍浸潤細胞の染色と相関した。腫瘍試料内の免疫浸潤物の総数を、H & E 染色によって判定した。抗 PD - L 1 治療に対する部分寛解 (PR) 又は完全寛解 (CR) を示した患者は、総免疫浸潤物内の PD - L 1 発現腫瘍浸潤細胞の染色と相関した。対照的に、抗 PD - L 1 治療に対する臨床応答を示さなかった患者の腫瘍 (例えば、進行性疾患 (PD) を示している) は、腫瘍試料領域内の腫瘍浸潤免疫細胞におけるより低い PD - L 1 発現を示した。 $p < 0.0005$ 。

【0405】

予備データは、PD - L 1 腫瘍状態が、抗 PD - L 1 抗体治療を使用した PD - L 1 / PD - 1 経路の阻害に関与する癌療法にตอบสนองする可能性がより高い患者を同定するための予測的マーカーであり得ることを示唆している。これまで観察された最初の臨床有益性は、PR 及び / 又は CR を含むが、持続的監視は、応答の耐久性、PFS、全生存 (OS) 及び全奏効率 (ORR) の査定を含めた追加の有益性を反映し得る。この予備データは、腫瘍浸潤免疫細胞 (IC) 上の発現を含めた、腫瘍試料中の PD - L 1 発現が、抗 PD - L 1 抗体治療を使用した PD - L 1 / PD - 1 経路の阻害に関与する癌療法に対する患者の応答性を予測することができるという支持を提供している。データは、PD - L 1 腫瘍状態が、患者が抗 PD - L 1 抗体による治療の有益性を示す可能性を判定することができることを更に支持している。

【0406】

実施例 4 - 抗 PD - L 1 抗体で治療した個体からの試料の qPCR によるスコアリングは、PD - L 1 発現と治療に対する応答の間の相関を示す

PD - L 1 遺伝子発現状態が、抗 PD - L 1 治療に対する患者応答と相関を示したかどうかを査定するために、腫瘍試料中の PD - L 1 の遺伝子発現レベルを qPCR によって判定した。フェーズ 1 患者からの組織をマクロダイセクションして、腫瘍含有量に関して濃縮した。RNA を、FFPE 切片から単離し、PD - L 1 遺伝子発現を、PCR に基づく手法 (Fluidigm) を使用して測定した。PD - L 1 発現をハウスキーピング遺伝子 (GusB) に基準化した。

【0407】

FFPE RNA 単離

FFPE 腫瘍検体からの H & E 側を、組織診断及び腫瘍含有量評価に関して、病理学者によって検証した。全体的な腫瘍含有量が 70 - 75 % 未満である場合、RNA を、マクロダイセクションした組織から単離して、腫瘍含有量に関して濃縮した。

【0408】

FFPE 組織切片を、組織溶解物を調製する前に、Envirogene 試薬 (Hardy Diagnostics, Santa Maria, CA, USA) を使用して脱パラフィンした。RNA 単離を、LCペルツズマブ FFPE RNA キット (Roche Diagnostic part # 06474 969 001) を使用して行った。RNA 濃度及び 260 / 280 比を、NanoDrop (登録商標) ND - 2000 / 8000 UV - Vis 分光光度計によって判定した。各試料に関して、20 ng - 200 ng RNA (体積で 2 μ L) を、BioMark リアルタイム PCR プラットフォーム (Immune Fluidigm パネル) を使用した、遺伝子発現分析に使用した。110 ng - 115 ng RNA を、PDL1 qPCR アッセイに使用した。

【0409】

PD - L 1 qPCR アッセイ

PD - L 1 qPCR を、Roche Molecular Science (RMS) によって開発された PDL1 mRNA qRT - PCR アッセイを使用して行った。PDL1 及び参照遺伝子 (GusB 又は TMEM55B) mRNA を、RMS によって提供された反応混合物及び Oligo Mix を使用し、製造者の説明書に従って、逆転写し、増幅し、検出した。熱サイクル条件は、以下の通りであった：50 で 5 分間の 1 サ

イクル、95 で1分間の1サイクル、61 で30分間の1サイクル、次いで95 で15秒間及び61 で30秒間の2サイクル、次いで92 で15秒間及び61 で30秒間の53サイクル、その後40 で30秒間及び25 で10秒間の1サイクル。反応を、Cobas z480 Analyzer (Roche) において行った。PD-L1発現レベルを、デルタCt (dCt) 方法を以下のように使用して判定した: Ct (PD-L1) - Ct (参照遺伝子)。データセットは、2012年11月1日より前に入手可能であった試料を有する患者を含む。

【0410】

図4に例示したように、予備結果は、腫瘍試料中の上昇したPD-L1遺伝子発現と抗PD-L1治療に対する患者の臨床応答の間に相関があることを示している。抗PD-L1治療に対する部分寛解 (PR) 又は完全寛解 (CR) を示した患者は、腫瘍試料内のPD-L1遺伝子発現と相関した。対照的に、抗PD-L1治療に対する臨床応答を示さなかった患者の腫瘍 (例えば、進行性疾患 (PD) を示している) は、腫瘍試料内のより低いPD-L1遺伝子発現を示した。p = 0.0037。

10

【0411】

この予備データは、PD-L1腫瘍遺伝子発現状態が、抗PD-L1抗体を使用したPD-L1/PD-1経路の阻害に關与する癌療法に対する患者の応答性を予測するための有用なバイオマーカーであり得ることを示唆している。PD-L1腫瘍遺伝子発現プロファイルは、腫瘍細胞、腫瘍浸潤細胞又は両方の組合せに由来し得る。

【0412】

実施例5 - 抗PD-L1抗体で治療した個体からの試料のqPCRによるスコアリングは、PD-1発現と治療に対する応答の間の相関を示す

20

腫瘍試料中のPD-L1遺伝子発現と患者臨床応答の間に観察された相関に加えて、PD-1遺伝子発現状態も、臨床応答と相関することが示された。図5に示したように、腫瘍試料中のPD-1遺伝子発現と抗PD-L1治療に対する患者の臨床応答の間の相関が観察された。抗PD-L1治療に対する部分寛解 (PR) を示した患者は、腫瘍試料内のPD-1遺伝子発現と相関した。対照的に、抗PD-L1治療に対する臨床応答を示さなかった患者 (例えば、PD) とPD-1遺伝子発現状態のより少ない相関があった。p = 0.0206。データセットは、2012年11月1日より前に入手可能であった試料を有する患者を含む。

30

【0413】

この予備データは、PD-1腫瘍状態が、抗PD-L1抗体治療を使用したPD-L1/PD-1経路の阻害に關与する癌療法に回答する可能性がより高い患者を同定するための別の予測的マーカーであり得ることを示唆している。腫瘍浸潤免疫細胞 (IC)、腫瘍細胞又は2つの組合せにおける発現を含めた、腫瘍試料中のPD-1遺伝子発現は、抗PD-L1抗体治療を使用したPD-L1/PD-1経路の阻害に關与する癌療法に対する患者の応答性を予測することができる。

【0414】

この予備データは、PD-1腫瘍状態が、抗PD-L1抗体治療を使用したPD-L1/PD-1経路の阻害に關与する癌療法に回答する可能性がより高い患者を同定するための別の予測的マーカーであり得ることを示唆している。腫瘍浸潤免疫細胞 (IC)、腫瘍細胞又は2つの組合せにおける発現を含めた、腫瘍試料中のPD-1遺伝子発現は、抗PD-L1抗体治療を使用したPD-L1/PD-1経路の阻害に關与する癌療法に対する患者の応答性を予測することができる。

40

【0415】

実施例6 - 抗PD-L1抗体で治療した個体からの試料の腫瘍免疫遺伝子サインは、治療に対する応答との相関を示す

いくつかの免疫遺伝子サインと抗PD-L1抗体による治療に対する患者の応答の間に相関があるかどうかを判定するために、以下のプロトコールを行った。

【0416】

50

Fluidigm遺伝子発現分析

遺伝子発現分析を、BioMarkリアルタイムPCRプラットフォーム (Immune Fluidigm) を使用して行った。2 μ l の総RNAをcDNAに逆転写し、Superscript III/Platinum Taq及び2 $\times$ 反応混合物 (Invitrogen) を使用して、単一反応でプレ増幅した。96 Taqmanプライマー/プローブセットを、0.2 $\times$ Taqmanアッセイ濃度の最終希釈でのプレ増幅反応に含んだ (Applied Biosystems)。熱サイクル条件は、以下の通りであった: 50 で15分間の1サイクル、70 で2分間の1サイクル、次いで95 で15秒間及び60 で4分間の18サイクル。

【0417】

プレ増幅したcDNAを、1.94倍に希釈し、次いで製造者の説明書に従って、BioMark BMK-M-96.96プラットフォーム (Fluidigm) 上でTaqman Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems) を使用して、増幅した。全ての試料を、3重でアッセイした。発現パネルにおける全てのTaqmanアッセイは、FAM-MGBであり、5つの参照遺伝子、GusB、SDHA、SP2、TMEM55B及びVPS-33Bを含めて、オーダーメイド又は特注設計でLife Technologiesを通して注文した。参照遺伝子に関するCt値の中央値を、各試料に関して計算し、発現レベルを、デルタCt (dCt) 方法を以下のように使用して判定した: Ct (標的遺伝子) - Ct 中央値 (参照遺伝子)。代わりに、示された場合はいつでも、発現レベルを、各標的遺伝子のCt値を全ての遺伝子のCt中央値に基準化した後、判定した。

【0418】

図6に例示したように、いくつかの免疫遺伝子サインと抗PD-L1抗体による治療に対する患者の応答の間に相関がある。結果は、いくつかの免疫遺伝子の発現が、抗PD-L1抗体による治療に対する患者応答と相関していたことを示している。例えば、IFN-g、CD8A、EOMES、グランザイムA及びCXCL9を含めたT細胞活性化免疫遺伝子は、抗PD-L1による治療に対する患者部分寛解と相関することが見出された。データセットは、2012年11月1日より前に入手可能であった試料を有する患者を含む。

【0419】

この予備データは、抗PD-L1抗体治療を使用したPD-L1/PD-1経路の阻害に関与する癌療法に应答する可能性がより高い患者を同定するのに役立ち得る追加の予測的バイオマーカーが同定されたことを示唆している。免疫遺伝子サインは、IFN-g、CD8A、EOMES、グランザイムA及びCXCL9を含むがこれらに限定されず、免疫細胞活性化と関連している。

【0420】

実施例7 - PD-L1及びPD-L2発現と抗PD-L1抗体治療に対する応答の相関

抗PD-L1抗体等のPD-L1軸結合性アンタゴニストで治療した局所進行性又は転移性腫瘍を有する患者の臨床活性、安全性及びバイオマーカー。

【0421】

PD-L1及びPD-L2は、Th1及びTh2免疫応答を調節することが報告されている。腫瘍発現PD-L1は、活性化T細胞上のPD-1又はB7.1に結合している場合、癌免疫回避を媒介することができる。その受容体へのPD-L1の結合を阻害することは、腫瘍特異的T細胞免疫を回復するための魅力的な戦略となる。しかしながら、腫瘍微小環境において発現されたPD-L2は、PD-1を発現しているT細胞にも結合することができ、それらの機能の勢いを弱める。MPDL3280A (抗PD-L1抗体)、有効性及び安全性を最適化するためのTh1駆動応答を促進するように設計された操作されたFcドメインを含有するヒトモノクローナル抗体を、フェーズI結果とともに本明細書で記載する。

【0422】

材料及び方法：研究を、3 + 3 用量増大及び拡大コホートを含めた、局所進行性又は転移性固形腫瘍を有する患者において、MPDL3280A 投与 IV q 3 wで行った。ORRは、RECIST v1.1によって評価し、u/cCR及びu/cPRを含む。PD-L1を、アーカイブ腫瘍検体におけるIHC（陽性対陰性）によって測定し、PD-L2を、qPCR（高対低）によって測定した。

【0423】

結果：2013年2月1日時点で、171人の患者が安全性に関して査定可能であった。投与された用量は、1（n = 9）、3（n = 3）、10（n = 35）、15（n = 57）及び20 mg / kg（n = 67）を含む。用量増大コホートにおける患者は、用量制限毒性（DLT）を経験しなかった。最大耐用量（MTD）は、同定されなかった。患者に、147日の期間中央値（1 - 450の範囲）の間、MPDL3280Aを与えた。41%の患者は、属性にかかわらず、G3 / 4AEを報告した。急性間質性肺炎は観察されなかった。2012年7月1日より前に登録された122人の患者が、有効性に関して査定可能であった。RECIST応答が、NSCLC（9 / 37）、RCC（5 / 39）、メラノーマ（9 / 35）、CRC（1 / 4）及び胃癌（1 / 1）を含めた複数の腫瘍型において観察された。21%（25 / 122）のORRが、1 + から253 + 日の奏功期間範囲で非選択固形腫瘍において観察された。他の患者は、明白なX線検査進行後、遅延応答を有した（ORRに含まれていない）。24週PFSは、42%であった。94人の患者は、PD-L1状態に関して査定可能な腫瘍を有し、81人の患者は、PD-L2に関して査定可能な腫瘍を有した。PD-L2発現中央値は、PD-L1陰性腫瘍に対してPD-L1陽性腫瘍において、~2×高かった。ORRは、PD-L1陽性腫瘍を有する患者に関して39%（13 / 33）であり、これに対して、PD-L1陰性腫瘍を有する患者に関して13%（8 / 61）であった。PD-L2高腫瘍を有する患者は、27%（11 / 41）のORRを示し、これに対して、PD-L2低腫瘍を有する患者は、13%（5 / 40）を示した。

【0424】

MPDL3280Aは、間質性肺炎関連死なく、良好な耐容性を示した。耐久性のある応答が、いろいろな腫瘍において観察された。PD-L1及びPD-L2腫瘍状態は、MPDL3280Aに対する応答と相関するように見える。この予備データは、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞（IC）上の、及び／又は間質細胞等の腫瘍微小環境内の及びそれらの任意の組合せでの発現を含めた、腫瘍試料中のPD-L1及びPD-L2発現が、PD-L1 / PD-L1経路の障害に關与する癌療法に対する患者の応答性を予測することができるという追加の支持を提供している。データは、PD-L1及びPD-L2腫瘍状態が、患者が抗PD-L1抗体等のPD-L1軸結合性アンタゴニストによる治療の有益性を示すことになる可能性を判定することができることを更に支持している。

【0425】

実施例8 - 抗PD-L1抗体治療は、治療に応答するPD-L1+患者におけるT細胞活性化の増加につながる

抗PD-L1抗体に応答する患者への臨床有益性を評価するためのオン治療腫瘍生検及び治療効率と関連している薬力学的（PD）バイオマーカーの同定の価値を査定した。

【0426】

図7に例示したように、進行中のフェーズI研究からの抗PD-L1抗体で治療した患者からの連続的なプレ/オン治療腫瘍生検材料を評価した。メラノーマ、RCC、NSCLC、H&N、CRC、胃、及び乳癌を含めた様々な徴候を患う、抗PD-L1抗体で治療した患者（n = 26）からの対ベースライン（プレ治療又はアーカイブ腫瘍組織を含む）及びオン治療腫瘍生検材料を、抗CD8 IHC試薬及び遺伝子発現分析を通した薬力学的バイオマーカーを使用して、CD8+T細胞浸潤に関して分析した。

【0427】

図8（a）に例示したように、CD8+T細胞浸潤の増加は、抗PD-L1抗体による治療に応答する患者からの腫瘍試料中のPD-L1発現の増加と関連していた。ベースラ

イン条件下で、T細胞及びPD-L1+腫瘍細胞は、共存することができ、限局的PD-L1発現は、癌細胞と免疫細胞間の接触面を表し得る（抗腫瘍T細胞攻撃は、腫瘍又は免疫細胞PD-L1発現によって制御され得る）。抗PD-L1抗体でのサイクル1デイ1（C1D1）治療後4週で、高密度なリンパ球浸潤、特にCD8+T細胞浸潤とともに、腫瘍試料内のPD-L1発現の増加が検出された。CD8+T細胞のこの増加は、腫瘍細胞のT細胞媒介死滅につながり得、これは次にT細胞増殖及び活性化につながり得る。かかる活性化T細胞は、IFN-gを遊離することができ、隣接する腫瘍細胞及び/又は免疫細胞におけるPD-L1発現を誘導することもできる。

【0428】

図8（b）に例示したように、いくつかのT細胞活性化マーカーは、抗PD-L1抗体治療に应答する患者において増加することが見出された。グランザイムA、パーフォリン、IFN-g、TNFα及びCD8を含めたT細胞活性化マーカーの遺伝子発現レベルは、プレ治療ベースラインレベルと比較して、抗PD-L1抗体による治療に应答する患者において抗PD-L1抗体による治療後に増加することが見出された。

10

【0429】

このデータは、CD8+T細胞浸潤の増加が、抗PD-L1抗体治療に应答する患者からの腫瘍試料中のPD-L1発現の増加と相関したことを示唆している。更に、グランザイムA、パーフォリン、IFN-g、TNFα及びCD8を含むがこれらに限定されないいくつかのT細胞活性化マーカーの発現が、抗PD-L1抗体治療に应答する患者からの腫瘍試料中で増加することが見出された。これらのマーカーは、抗PD-L1抗体を使用することを含むPD-L1/PD-1経路の阻害に関与する療法の臨床有益性及び有効性を評価するための有用な薬力学的バイオマーカーであり得る。

20

【0430】

実施例9-PD-L1発現の適応性の増加は、治療に应答する患者において顕著である

抗PD-L1抗体治療に应答する患者からの腫瘍試料中のCD8+T細胞浸潤及びT細胞活性化マーカーの発現の増加に加えて、腫瘍PD-L1発現の増加も、抗PD-L1抗体治療に应答する患者において観察された。

【0431】

図9に例示したように、対腫瘍生検材料における抗PD-L1抗体に対する应答の概要を示す。抗PD-L1抗体治療に应答する患者における標的病变（SLD）の最も長い直径の和の>30%減少があった全ての例（4/4患者；100%）において、PD-L1 IHCによって測定される腫瘍PD-L1発現の増加もあった。抗PD-L1抗体治療に应答する患者におけるSLDの0-30%減少でさえも、33%の患者（2/6患者）が、治療後の腫瘍PD-L1発現の増加を示した。

30

【0432】

対照的に、抗PD-L1抗体治療に应答せず、SLDの0-20%増加を示した患者において、1/10患者のみが、腫瘍PD-L1発現の増加を示した。更に、SLDの>20%増加を示した患者に関して、誰も（0/4患者）、腫瘍PD-L1発現の任意の測定可能な増加を示さなかった。

【0433】

この予備データは、腫瘍におけるPD-L1発現が、抗PD-L1抗体による治療に应答する患者において増加し得、かかる増加が、腫瘍を攻撃する局所的な腫瘍浸潤白血球（TIL）の指標である、薬力学的バイオマーカーとして、及び抗PD-L1抗体を使用することを含むPD-L1/PD-1経路の阻害に関与する療法の臨床有益性及び有効性を評価するためのマーカーとしても役立つ得る適応性の増加であり得ることを示唆している。

40

【0434】

実施例10-抗PD-L1抗体治療は、血液中の活性化T細胞の発生頻度の増加につながる

血液中の抗PD-L1抗体治療の薬力学的（PD）バイオマーカーの同定も査定した。

50

【0435】

フローサイトメトリー（FACS）分析：

全血を、ヘパリンナトリウム（NaHep）血液採取管において採取した。血液を、採取管をゆっくりと反転することによって混合した。細胞を、適切な抗体組合せで染色し、暗所で室温で30分間インキュベートした。インキュベーション後、FACS Lys eを全ての管に加えた。管を、ボルテックスし、暗所で室温で10分間インキュベートした。細胞を、1% BSAを有するPBSで洗浄した。洗浄後、FACS Perm 2を全ての管に加え、暗所で室温で10分間インキュベートした。インキュベーション後、細胞を、1% BSAを有するPBSで洗浄し、適用可能な場合、抗体でインキュベートした。インキュベーション後、細胞を、1% BSAを有するPBSで洗浄し、1% パラホルムアルデヒドに再懸濁した。管を、FACS Canto II フローサイトメーター上でそれらが獲得されるまで、2 - 8 で保管した。

10

【0436】

図10(a)に例示したように、CD8+ / Ki67+として同定される、血液中の増殖性T細胞は、C1D1（サイクル1、1日目）と比較して、C2D1（サイクル2、1日目）での～2倍の増加で、抗PD-L1抗体治療の過程に増加する。更に、図10(b)に例示したように、CD8+ / HLA-DR+ / Ki67+として同定される、血液中でも活性化される増殖性T細胞は、抗PD-L1治療の過程に増加し、C2D1でより高頻度である（～2倍の増加）。

20

【0437】

この予備データは、血液中の活性化T細胞増殖が、抗PD-L1抗体治療の過程に増加し得、抗PD-L1抗体を使用することを含むPD-L1 / PD-1経路の阻害に關する療法の薬力学的バイオマーカーとして役立ち得ることを示唆している。

【0438】

実施例11 - 血漿中のIL-6発現の低下は、治療に応答する患者と関連し得る

血漿中の抗PD-L1抗体治療の薬力学的（PD）バイオマーカーの同定も査定した。

【0439】

血漿分析

血液を、ヘパリンナトリウム採取管中に採取した。管を、採取管をゆっくりと反転することによって徹底的に混合した。その後、採取管を、最低1500 - 2000 × gで15分間、冷却遠心機で遠心分離した。血漿を、ポリプロピレンクライオバイアルに移し、分析まで凍結保存した。血漿を、製造者の推奨に従って、改変ELISAを使用して、IL-6及び他のサイトカインに関して分析した。

30

【0440】

図11に例示したように、血漿中のIL-6レベルの低下は、抗PD-L1抗体治療に応答する患者と関連していた。特に、治療の過程にわたって有利なPR / CR応答（部分寛解 / 完全寛解）を示した患者は、IL-6レベルの測定可能な低下も示した。

【0441】

対照的に、抗PD-L1抗体による治療が有益でなかった患者は、治療の過程にわたる血漿中のIL-6レベルの増加と関連していた。図11に例示したように、治療の過程にわたってPD応答（進行性疾患）を示した患者は、IL-6レベルの測定可能な増加を示した。

40

【0442】

この予備データは、血漿中のIL-6レベルが、抗PD-L1抗体を使用することを含むPD-L1 / PD-1経路の阻害に關する療法の臨床有益性及び有効性を評価するための薬力学的バイオマーカーとして役立ち得ることを示唆している。

【0443】

実施例12 - 抗PD-L1抗体で治療した個体からの試料中の腫瘍免疫遺伝子発現は、治療に対する応答との相関を示す

追加の免疫遺伝子サイン及びプロトコールによる治療に対する患者の応答性を更に査定

50

するために、遺伝子発現分析を、Fluidigm遺伝子発現分析を使用して、実施例6に前述したように行った。

【0444】

図12に例示したように、いくつかの追加の免疫関連遺伝子と抗PD-L1抗体による治療に対する患者の応答の間に相関がある。特に、CTLA4及びCD45ROの遺伝子発現レベルは、進行性疾患(PD)を有する患者と比較して、抗PD-L1抗体による治療後に部分寛解(PR)又は完全寛解(CR)を示した患者においてより高いことが観察された。図12は、CX3CL1(ケモカイン)、LGALS9(Gallectin-9)、MIC-A及びMIC-Bの遺伝子発現レベルが、PD.HK.を有する患者と比較して、抗PD-L1抗体による治療に応答する患者(PR/CR)においてより低いことが観察されたことも例示している。このデータは、以下の癌徴候：メラノーマ、RCC、NSCLC、CRC、胃癌、膀胱癌、卵巣癌、乳癌、頭頸部癌、脾癌、肉腫、食道癌、SCLC、多発性骨髄腫、NHL、及び子宮内膜癌を患う患者から採取した試料からのプールされた遺伝子発現レベルを表している。

10

【0445】

興味深いことに、いくつかの免疫関連遺伝子は、疾患徴候に依存して、抗PD-L1抗体による治療に対する患者の応答と種々の相関パターンを示す。図13に例示したように、IDO1(インドールアミン-ピロール2,3-ジオキシゲナーゼ)の遺伝子発現レベルは、進行性疾患(PD)を有する患者と比較して、抗PD-L1抗体による治療後に部分寛解(PR)又は完全寛解(CR)を示したメラノーマ患者においてより高かった。しかしながら、NSCLC患者において、IDO1の遺伝子発現レベルは、PDを有する患者と比較して、抗PD-L1抗体による治療後にPR又はCRを示した患者においてより低かった。したがって、これらのバイオマーカーが、疾患徴候に依存して、異なる相関プロファイルを示し得ることがあり得る。

20

【0446】

これらの結果は、抗PD-L1抗体を使用すること等の、PD-L1/PD-1経路の阻害に關与する癌療法に応答する可能性がより高い患者を同定するのに役立ち得る追加の予測的バイオマーカーが同定されたことを示唆している。

【0447】

実施例13 - 血液中の循環性T細胞上のPD-L1発現は、抗PD-L1抗体による治療に対する応答と相関する

30

循環性T細胞上のPD-L1発現が、抗PD-L1抗体による治療に対する患者応答と相関したかどうかを査定するために、血液試料を、治療の前60日以内に採取し、FACS解析を行って、試料中のT細胞上のPD-L1発現のレベルを判定した。

【0448】

簡潔に述べると、プレ治療患者からの血液試料を、抗凝固薬(例えばヘパリンナトリウム、EDTA、又はクエン酸塩)を含有する管に採取した。採取した血液を、少なくとも3回、採取管をゆっくりと反転することによって、徹底的に採取管において混合した。約100µLの抗凝固処理された全血を、適切に標識された試験管中にピペットで移した。血液を、以下の一次抗体で染色し、暗所で室温で30分間インキュベートした：抗CD3抗体、抗CD8抗体及び抗PD-L1抗体。一次抗体染色後、次いで赤血球を、例えば塩化アンモニウム溶解溶液を使用して溶解し、次いで細胞を、1%BSAを有する2mLPBSで洗浄した。次いで血液細胞を、暗所で室温で20分間、二次抗体又は適切な量のストレプトアビジン(色素)(ビオチン化された一次抗体を使用した場合)で染色した。次いで細胞を、1%BSAを含有するPBSで再び洗浄し、1%パラホルムアルデヒドに再懸濁し、フローサイトメーター上でそれらが獲得されるまで、2-8で保管した。

40

【0449】

図14に示したように、循環性T細胞(CD3+/CD8+)上の上昇したPD-L1発現と抗PD-L1治療に対する患者の臨床応答の間に相関がある。抗PD-L1治療後に部分寛解(PR)又は完全寛解(CR)を示した患者は、それらの循環性T細胞上のP

50

D - L 1 発現の上昇したレベルと相関した。対照的に、抗 P D - L 1 治療に対する臨床応答を示さなかった患者（例えば、進行性疾患（P D）を有する）は、それらの循環性 T 細胞上のより低い P D - L 1 発現を示した。

【 0 4 5 0 】

これらの結果は、循環性 T 細胞上の P D - L 1 発現が、例えば、抗 P D - L 1 抗体を使用した、P D - L 1 / P D - 1 経路の阻害に關与する癌療法に対する患者の応答性を予測するための価値のある有用なバイオマーカーであり得ることを示唆している。

【 0 4 5 1 】

実施例 1 4 - 抗 P D - L 1 抗体で治療した個体及び診断上の選択された個体における治療に対する応答との相関のフェーズ 1 a 研究

研究 P C D 4 9 8 9 g は、3 週毎に静脈内注入によって投与される抗 P D - L 1 抗体（M P D L 3 2 8 0 A）の安全性及び忍容性を査定するための、進行型固形腫瘍及び血液悪性腫瘍を有する患者における進行中のフェーズ I a 試験である。研究は、N S C L C 患者の大きいコホートを含有する（最低 6 ヶ月の追跡調査を有する 5 3 を含めて、n = 7 9）。

【 0 4 5 2 】

研究 P C D 4 9 8 9 g からのこれらの予備結果は、腫瘍浸潤免疫細胞における P D - L 1 発現が、M P D L 3 2 8 0 A に対する応答と関連していることを示唆している。N S C L C における P D - L 1 陽性は、腫瘍細胞、関連する腫瘍内、及び近接する腫瘍周囲の線維増生ストロマによって占められた腫瘍領域の 5 % をカバーする腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能な P D - L 1 染色と定義される。N S C L C における P D - L 1 診断評価に関する提案された基準を、以下に提供する：

PD-L1 診断評価	IHC スコア
任意の識別可能な PD-L1 染色の不在 又は 腫瘍細胞、関連する腫瘍内、及び近接する腫瘍周囲の線維増生ストロマによって占められた腫瘍領域の <1% をカバーする、腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能な PD-L1 染色の存在	IHC 0
腫瘍細胞、関連する腫瘍内、及び近接する腫瘍周囲の線維増生ストロマによって占められた腫瘍領域の $\geq 1\%$ から <5% をカバーする、腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能な PD-L1 染色の存在	IHC 1
腫瘍細胞、関連する腫瘍内、及び近接する腫瘍周囲の線維増生ストロマによって占められた腫瘍領域の $\geq 5\%$ から <10% をカバーする、腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能な PD-L1 染色の存在	IHC 2
腫瘍細胞、関連する腫瘍内、及び近接する腫瘍周囲の線維増生ストロマによって占められた腫瘍領域の $\geq 10\%$ をカバーする、腫瘍浸潤免疫細胞における任意の強度の識別可能な PD-L1 染色の存在	IHC 3

【 0 4 5 3 】

2 0 1 3 年 4 月 3 0 日のデータカットオフ時点で、最低 6 ヶ月の追跡調査を有し、2 0 1 2 年 1 0 月 1 日より前に投薬した、局所進行性又は転移性 N S C L C を有する 5 3 人の患者がいた。この群の年齢中央値は、6 2 歳（2 4 - 8 4 歳の範囲）であり、この群は、重度にプレ治療した患者集団を代表した：8 4 . 9 % が、2 の事前の全身療法を有し、5 2 . 8 % が、4 の事前の全身療法を有した。著しい応答が、複数の全身療法に失敗したかつ / 又は治療の開始前に症候性であった患者におけるものを含めて、N S C L C において観察された。応答への時間中央値は、1 1 . 7 週であり、約 9 0 % の応答が 2 4 週（6 ヶ月）までに観察された。最低 6 ヶ月の追跡調査を有する全ての N S C L C 患者におけ

る客観的奏効率 (O R R) は、 2 2 . 6 % (9 5 % C I : 1 2 . 3 % - 3 5 . 1 %) である。

【 0 4 5 4 】

腫瘍浸潤免疫細胞の P D - L 1 陽性は、 M P D L 3 2 8 0 A で治療した N S C L C 患者におけるより高い応答を予測するようには見えた。 5 % の P D - L 1 陽性腫瘍浸潤免疫細胞 (I H C 2 / 3) を有する N S C L C 患者は、 I H C 0 / 1 の診断プロファイルを有する患者における 1 8 . 2 % (9 5 % C I : 8 . 2 % - 3 3 . 8 %) と比較して、 4 6 . 2 % の O R R (9 5 % C I : 2 2 . 4 % - 7 4 . 0 %) を有した。 1 0 % の P D - L 1 陽性腫瘍浸潤免疫細胞 (I H C 3) のより高い診断閾値を使用した場合、 P D - L 1 陽性患者は、 I H C 0 / 1 の診断プロファイルを有する患者における 1 7 . 5 % (9 5 % C I : 7 . 8 % - 3 1 . 5 %) と比較して、 8 3 . 3 % (9 5 % C I : 4 0 . 2 % - 9 9 . 1 %) の O R R を有した。予備経験は、 I H C 2 / 3 の診断カットオフが、 M P D L 3 2 8 0 A で治療した N S C L C 患者に関する重要な臨床有益性と関連していることを示している。応答した患者は、全ての N S C L C 応答が、データカットオフの時点で研究における 1 7 0 から 5 3 4 日続き、耐久性のある抗腫瘍免疫を発達させたように見えた。

10

【 0 4 5 5 】

実施例 1 5 - 抗 P D - L 1 抗体で治療した個体からの試料の腫瘍免疫遺伝子サインは、治療に対する応答との相関を示す

免疫性薬力学的効果を、 M P D L 3 2 8 0 A で治療した患者からの腫瘍及び血液において査定した。治療において、応答する腫瘍は、腫瘍細胞の発現及び腫瘍浸潤免疫細胞 P D - L 1 発現、 C D 8 + T 細胞の浸潤及び T h 1 - 優性免疫浸潤物の増加を示し、これは適応性の P D - L 1 上方制御に関する証拠を提供している。非応答者は、最小の腫瘍 C D 8 + T 細胞浸潤及び T 細胞活性化の不在 (グランザイム、パーフォリン及び E O M E S 発現によって測定される) を示した。

20

【 0 4 5 6 】

図 1 5 に例示したように、 M P D L 3 2 8 0 A に対する抗腫瘍応答は、 T 細胞の生物学的特徴に関するマーカーと関連していた。特に、細胞傷害性 T h 1 細胞、 I F N - g 及び T 細胞輸送マーカーのより高い遺伝子発現が、ベースラインでの腫瘍組織において検出され、これは、 M P D L 3 2 8 0 A 活性と関連していた。例えば、 I F N - g 、 C D 8 A 、 グランザイム B 及び C X C L 9 を含めた、 T 細胞活性化免疫遺伝子は、 M P D L 3 2 8 0 A による治療に対する患者部分寛解 / 完全寛解と相関することが見出された。データセットは、 2 0 1 3 年 6 月 1 日時点で入手可能であった試料を有する患者を含む。

30

【 0 4 5 7 】

図 1 6 に例示したように、 M P D L 3 2 8 0 A は、治療に応答するメラノーマを有する患者における T 細胞活性化の増加につながる。特に、グランザイム A 、 グランザイム B 、 パーフォリン、 E O M E S 、 I F N - g 、 T N F 、 C X C L 9 、 C X C L 1 0 、 C D 8 A 及び I C O S を含めた、いくつかの T 細胞活性化マーカーが、 M P D L 3 2 8 0 A に応答する患者において増加することが見出された。

【 0 4 5 8 】

対照的に、図 1 7 に例示したように、 M P D L 3 2 8 0 A に応答しないメラノーマを有する患者は、腫瘍内 T 細胞の低発生頻度を示し、 T 細胞活性化を欠く。

40

【 0 4 5 9 】

臨床成績とのそれらの関連に関する循環性バイオマーカーも査定した。血液中の C D 8 + H L A - D R + K i 6 7 + T 細胞の発生頻度は、全ての患者において評価した場合、 M P D L 3 2 8 0 A の最初の投与後すぐに増加し、サイクル 2 の終わりまでにベースラインレベルに戻り、これは、 P D - L 1 阻害の一過性の薬力学的測定値を表している。図 1 8 に例示したように、 M P D L 3 2 8 0 A は、血液中の活性化 T 細胞の発生頻度の一過性の増加につながり、 C D 8 + H L A - D R + K i 6 7 + T 細胞が、 M P D L 3 2 8 0 A 治療の潜在的な薬力学的バイオマーカーであり得ることを示唆している。

【 0 4 6 0 】

50

図19に例示したように、CD4+/ICOS+T細胞の著しい増減が観察され、このT細胞集団の遅延性の増加が応答と相関し、低下が疾患進行と相関した(サイクル3後に生じる)。CD4+/ICOS+T細胞の増加は、MPDL3280Aによる治療後に強いCD8+抗腫瘍T細胞応答を開始する患者におけるヘルパーT細胞応答の付随的な活性化を反映している。

【0461】

更に、PD-L1発現の適応性の増加は、MPDL3280Aに应答する患者において顕著であった。図20に例示したように、対腫瘍生検材料におけるMPDL3280Aに対する応答の概要を示す。MPDL3280Aに应答する患者において、PD-L1 IHCアッセイによって測定される、腫瘍細胞PD-L1発現の増加及び腫瘍浸潤免疫細胞PD-L1発現の増加の両方があった。

10

【0462】

実施例16 - 抗PD-L1抗体治療後の応答又は進行とのCTLA4及びフラクタルカイン発現相関

複数の癌型にわたって、Th1関連遺伝子発現、CTLA4の存在、及びフラクタルカイン/CX3CL1の不在を示すプレ治療腫瘍は、活性と関連していた。特に、CTLA4の発現は、MPDL3280Aに対する応答と強く相関していた。一方、図21に例示したように、プレ治療腫瘍におけるフラクタルカイン/CX3CL1の発現は、MPDL3280Aに対する進行と強く相関していた。CTLA4の役割は、更なるT細胞活性化を阻害することにつながり得る、T細胞によって発現される因子としてよく樹立されている。種々の腫瘍型にわたるMPDL3280Aに应答した患者におけるより高いプレ治療CTLA4発現の相関は、CTLA4が、抗癌免疫応答における重要なフィードバック機構として役立ち、活性T細胞免疫及び炎症のマーカーとなることを示唆している。しかしながら、末梢において、負の制御因子としてのCTLA4の機能的役割は、PD-L1の機能的役割ほどには重要でないように見える。

20

【0463】

MPDL3280Aに対する疾患の進行を経験した患者におけるより高いプレ治療フラクタルカイン(CX3CL1)発現の相関も、このケモカインは、一般的にT細胞浸潤の駆動と関連しているもので、予想外であった。しかしながら、その切断されていない形において、フラクタルカインは、内皮細胞へのリンパ球接着を誘導し、したがって、腫瘍床中へのT細胞流入を事実上制限することができる。MPDL3280Aで治療した患者に関する腫瘍及び進行性疾患におけるフラクタルカイン発現の関連は、フラクタルカイン発現が、活性免疫応答を欠く腫瘍に関するフィードバック機構ともなる又は活性腫瘍免疫応答抑制因子となることを示唆している。

30

【0464】

これらの結果は、CTLA4及びフラクタルカインが、抗PD-L1抗体を使用すること等の、PD-L1/PD-1経路の阻害に關与する癌療法に应答する可能性がより高い患者を同定するのに役立つ、価値のある予測的バイオマーカーであり得ることを示唆している。

【0465】

40

実施例17 - 6つの癌型にわたる腫瘍浸潤リンパ球サイン及び疾患予後要因とのそれらの関連

抗腫瘍免疫を調節するか又は阻害し、したがって免疫調節性療法に対する応答又は抵抗性に寄与し得る因子の複雑さを更に査定するかつ理解するために、Fluidigm BioMarkプラットフォームを使用したいくつかの高感度な免疫遺伝子発現アッセイ(iCHIP)を使用して、CRC(n=48)、BC(n=126)、NSCLC(n=51)、メラノーマ(n=35)、RCC(n=48)、及び膀胱癌(n=42)を含めた6つの癌徴候にわたる免疫応答の質を調べた。iCHIPプラットフォームは、IFNγ経路、細胞傷害性T細胞、Th2細胞、Tエフェクター細胞、T-制御細胞、Th17細胞、骨髄細胞、樹状細胞、NK細胞、B-細胞及び免疫チェックポイントマーカーと関

50

連しているサインを示す96の遺伝子からなる。

【0466】

RNAを、臨床採取物に由来する又はMPDL3280A（抗PD-L1抗体）の進行中のフェーズI研究において採取したホルマリン固定パラフィン包埋アーカイブ組織から抽出した。適切な患者インフォームドコンセントを、バイオマーカーの探索性査定に関する機関審査委員会から得た。

【0467】

図22に示したように、Teff（Tエフェクター細胞）、Treg（T-制御細胞）、及びTh17と関連している遺伝子サインを示す。Teff細胞は、遺伝子クラスター：CD8A、GZMB、IFNG、EOMES、GZMA、パーフォリンによって定義され；Treg細胞は、遺伝子クラスター：FOXP3によって定義され；Th17細胞は、遺伝子クラスター：RORC、IL17F、IL17Aによって定義される。

10

【0468】

免疫遺伝子発現分析は、徴候にわたって、免疫抑制性及び免疫応答性因子並びに細胞型のユニークなパターンを示した。三種陰性乳癌（TNBC）、NSCLC及び膀胱癌を含む徴候が、IFN-gサインの最も高い普及を示す一方、CRC及びホルモン受容体-陽性乳癌は、最も低い発現を有する疾患を構成する。TNBCにおける高いIFN-gサインに加えて、乳癌のこの亜型はまた、メラノーマと比較した場合、高いTregサインからなり、これは、IFN-g：Treg遺伝子発現の最も高い比となる。Th17遺伝子サインは、全ての他の徴候と比較して、CRCにおいて最も普及している。疾患段階、成果（入手可能な場合）並びに分子亜型及びKRAS、BRAF、PIK3CA及びEGFRにおける突然変異を含めた他の疾患特異的な既知の予後因子とのこれらの遺伝子サインの関連は、現在進行中である。

20

【0469】

特に、抗PD-L1治療に対する応答者におけるより高いPD-L1（CD274）の腫瘍遺伝子発現にもかかわらず、図23に例示したように、CRC患者のコホートにおいて、抗PD-L1治療に応答しない患者におけるIL17Fのより高い腫瘍遺伝子発現への傾向が観察された。

【0470】

更に、IL-17Fの腫瘍遺伝子発現は、図24に例示したように、徴候（メラノーマ、肺癌、CRC）にわたって、抗PD-L1に対する遅い応答（療法の6ヶ月後の応答）を有する患者においてより高い。

30

【0471】

したがって、いくつかのバイオマーカーが、疾患段階及びPD-L1/PD-1経路の阻害に關与する療法のタイミングに依存して、異なる相関プロファイルを示し得ることがあり得る。

【0472】

実施例18-MPDL3280AによるPD-L1の阻害は、転移性尿路上皮膀胱癌（UBC）を有する患者における臨床活性につながる

転移性UBCは、予後不良及び限定された治療選択肢と関連している。PD-L1発現は、この疾患において普及しており、その受容体PD-1及びB7.1に結合することによって、免疫媒介破壊から癌細胞を保護することができる。

40

【0473】

フェーズI研究において、UBC患者は、最大1年間、MPDL3280A 15mg/kg IV q3wを受けた。客観的奏効率（ORR；未確定の応答を含めた）を、RECIST v1.1によって評価した。同時に、腫瘍及び循環性バイオマーカーを査定して、MPDL3280A免疫相関を研究した。

【0474】

2013年9月19日時点で、31人のPD-L1+UBC患者を、MPDL3280Aで治療した。患者は、84%が男性であり、66歳（42-86）の年齢中央値を有し

50

、57%がECOG PS 1であり、68%が内臓転移を有した。71%が、2の事前の療法を受け；97%が、事前の白金に基づく化学療法を受けた。患者は、データカットオフの時点で43日（1 - 153）の期間中央値の間、MPDL3280Aを受けた。2の患者において生じるG1 - 4治療関連AEは、発熱、貧血、食欲不振、疲労及び悪心であった。関連G3 - 4 AEは、3.2%の患者において生じた。免疫関連AEはなかった。20人の患者が、2.8ヶ月（1.4 - 5）の追跡調査中央値で、分析の時に有効性に関して査定可能であった。ORRは、43日（39 - 82）の応答への時間中央値で50%（1CR及び9PR）であり、これは最初のX線検査評価に相当し、ベースラインでCNS、肺及び骨転移を有する患者を含んだ。全ての応答者は、臨床カットオフの時にまだ応答していた。

10

【0475】

関連が、腫瘍浸潤免疫細胞上のPD - L1状態と抗PD - L1治療に対する応答の間に観察され、別の査定が、腫瘍細胞上のPD - L1状態と抗PD - L1治療に対する応答の関連を判定するために、進行中である。

【0476】

治療は、循環性Ki - 67 + CD8 + T細胞の一過性の増加をもたらし、PD - 1 / PD - L1経路の阻害剤でのUBCを有する患者における療法に対する活性の潜在的な薬力学的（PD）バイオマーカーを示している。図25に例示したように、循環性Ki - 67 + CD8 + T細胞は、MPDL3280Aによる治療中の一過性の上昇を実証した。

【0477】

20

治療は、図26に例示したように、IFN - gシグナル伝達の上流である、IL - 18等の血漿タンパク質の一過性の増加ももたらし、これは活性の別のPDバイオマーカーとなる。更に、ベースライン血漿MCP - 1は、部分寛解 / 完全寛解（PR / CR）を有する患者においてより低かった。IL - 18及びMCP - 1の両方は、骨髄細胞の成分である、単球において主に発現された（図26を参照されたい）。

【0478】

プレ治療腫瘍からの遺伝子発現データは、進行した患者が、比例的により高い骨髄遺伝子サインを有したことを示した。図27に例示したように、進行性疾患（PD）を有した患者は、IL - 8、CCL2、及びIL1Bの上昇したレベルを示し、これらは、骨髄型細胞（例えば、単球、樹状細胞）において主に存在していることと関連していた。

30

【0479】

MPDL3280Aは、このプレ治療したPD - L1 + UBC集団において良好な耐容性を示した。50%の治療した患者が、治療に応答した。応答は、急速であり、進行中であった。バイオマーカー分析は、PDマーカー及び療法に対する抵抗性の潜在的な機構のマーカーを明らかにした。

【0480】

実施例19 - 可溶型PD - L1の上昇したレベルは、治療に応答する患者において顕著である

可溶型PD - L1の上昇したベースライン血漿レベルも、進行中のフェーズ1研究における抗PD - L1抗体治療に応答する患者からの血液試料において観察された。

40

【0481】

血液を、ヘパリンナトリウム採取管中に採取した。管を、採取管をゆっくりと反転することによって、徹底的に混合した。その後、採取管を、最低1500 - 2000 × gで15分間、冷却遠心機において遠心分離した。血漿をポリプロピレンクライオバイアルに移し、分析まで凍結保管した。血漿を、製造者の推奨に従って、改変ELISAを使用して、IL - 6及び他のサイトカインに関して分析した。

【0482】

図28に例示したように、標的病変（SLD）の最も長い直径の和の30%減少を有する、抗PD - L1抗体治療に応答したRCCを有する患者は、SLDの20%減少のみを示した患者よりも、それらの血漿試料中の可溶型PD - L1（sPD L1）のより高

50

いレベルと相関することが見出された。

【 0 4 8 3 】

この予備データは、血漿中の可溶型 P D - L 1 発現が、P D - L 1 / P D - 1 経路の阻害に關与する癌療法に対する患者の応答性を予測するための価値のある有用なバイオマーカーであり得ることを示唆している。

【 0 4 8 4 】

実施例 2 0 - 腫瘍浸潤免疫細胞及び腫瘍細胞上の P D - L 1 発現と抗 P D - L 1 治療 1 に対する応答の関連

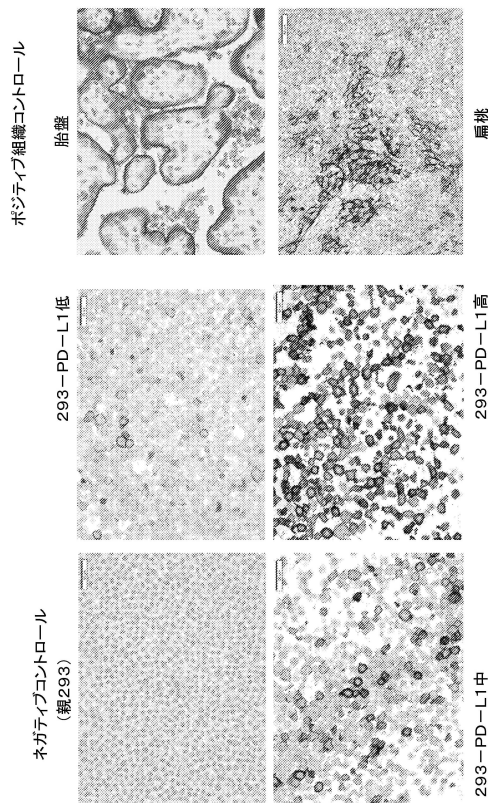
進行中のフェーズ 1 研究において、抗 P D - L 1 治療に対する応答と、腫瘍浸潤免疫細胞 (I C) 及び腫瘍細胞の両方における P D - L 1 発現の明白な関連が観察された。図 2 9 に例示したように、腫瘍浸潤免疫細胞 (I C) における P D - L 1 発現と抗 P D - L 1 治療に対する応答の間の関連が、N S C L C を有する患者 (図 2 9 (a)) 及び全ての患者 (図 2 9 (b)) において観察された。同様に、腫瘍細胞 (T C) における P D - L 1 発現と抗 P D - L 1 治療に対する応答の間の関連が、N S C L C を有する患者 (図 3 0 (a)) 及び全ての患者 (図 3 0 (b)) において観察された。

【 0 4 8 5 】

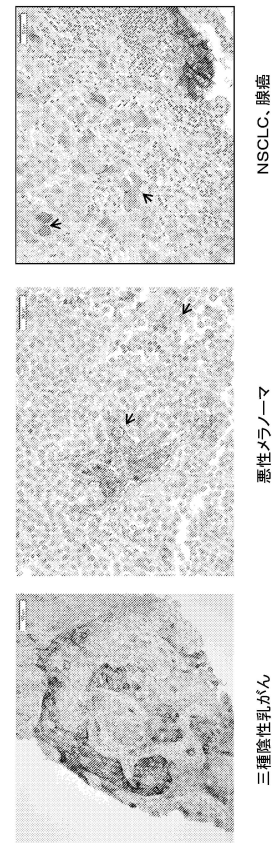
前述の発明を、理解の明確さの目的で、例示及び例として少し詳細に記載したが、記載及び例は、範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本明細書で引用した全ての特許及び科学文献の開示は、その全体がはつきりと出典明示により援用される。

10

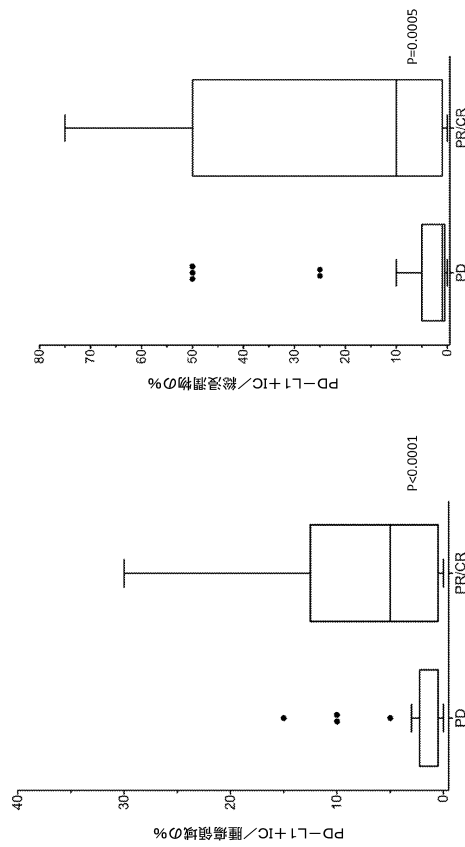
【 図 1 】



【 図 2 】



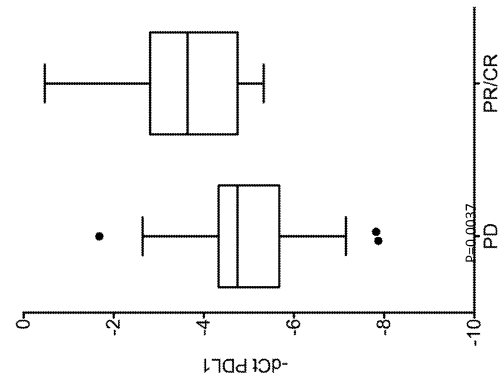
【図3】



ライン:中央値

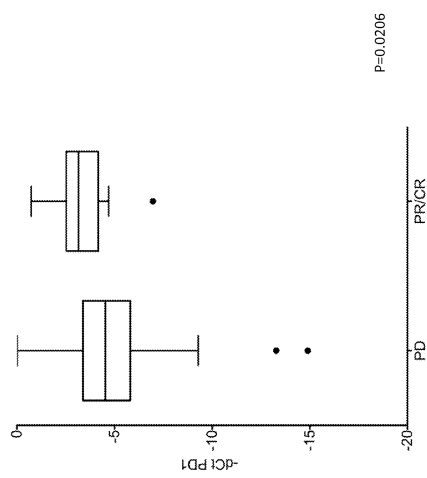
2012年7月1日より前に登録された患者のみ

【図4】



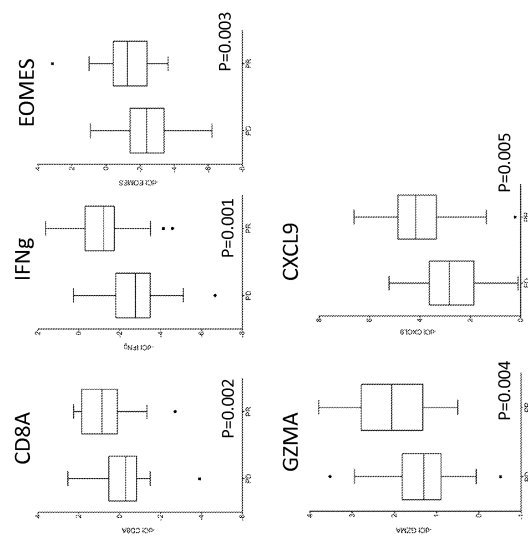
2012年11月1日より前に入手可能であった試料を有する患者のみ

【図5】



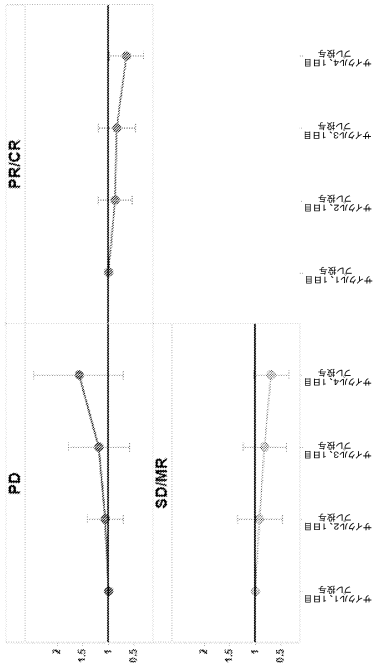
2012年11月1日より前に入手可能であった試料を有する患者のみ

【図6】

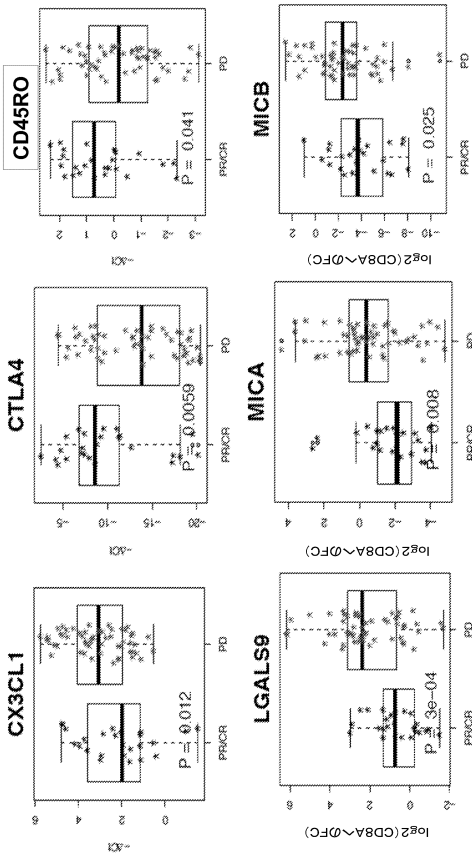


2012年11月1日より前に入手可能であった試料を有する患者のみ

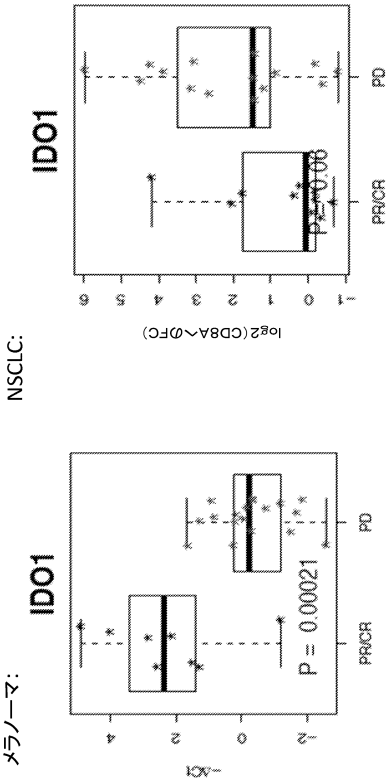
【図 1 1】



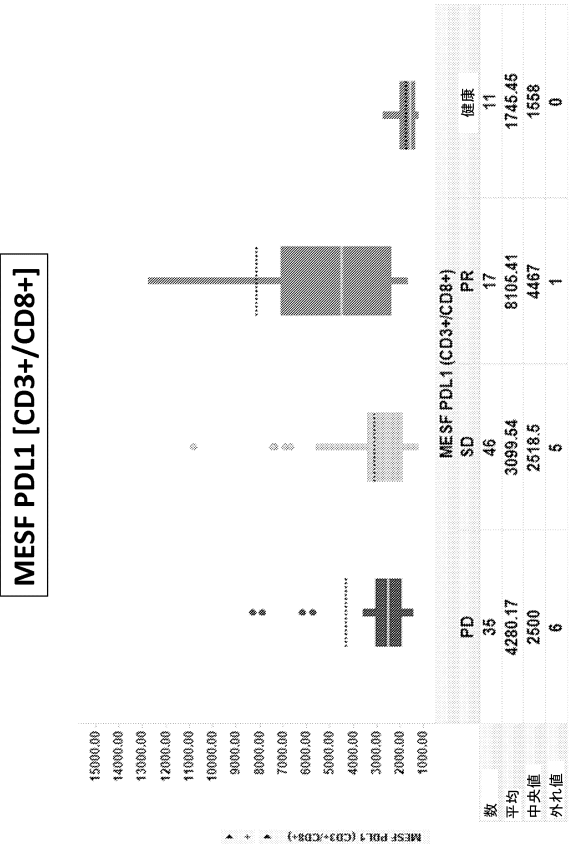
【図 1 2】



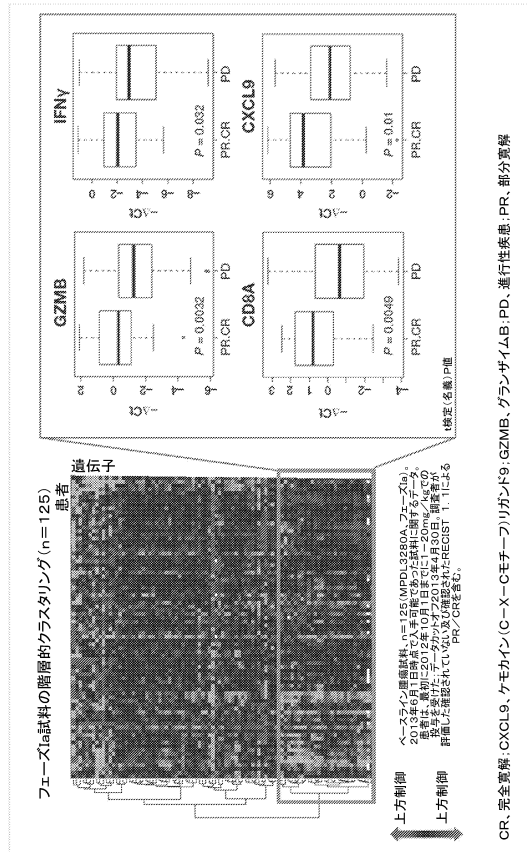
【図 1 3】



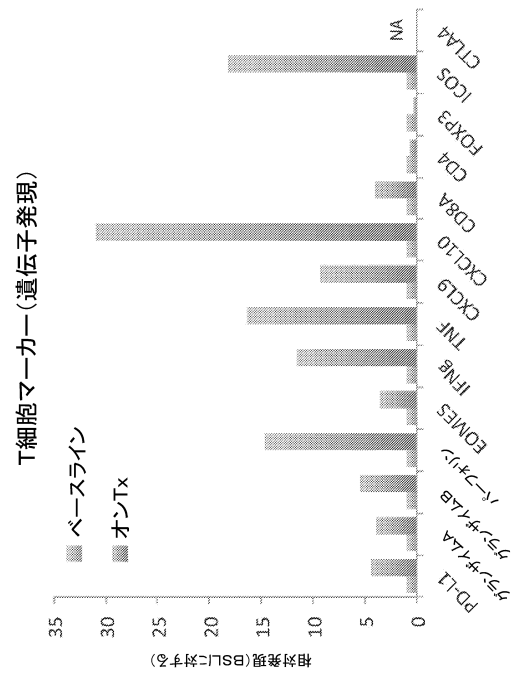
【図 1 4】



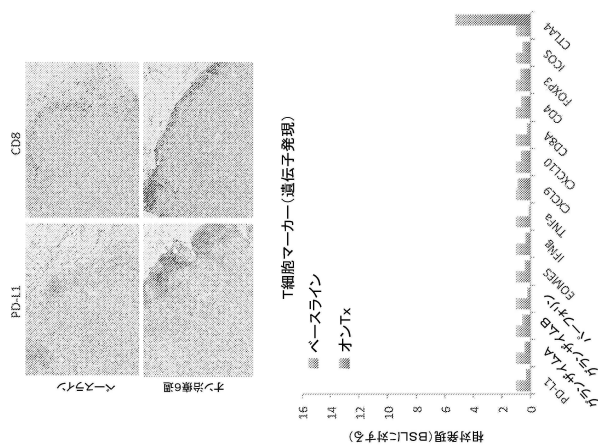
【図 15】



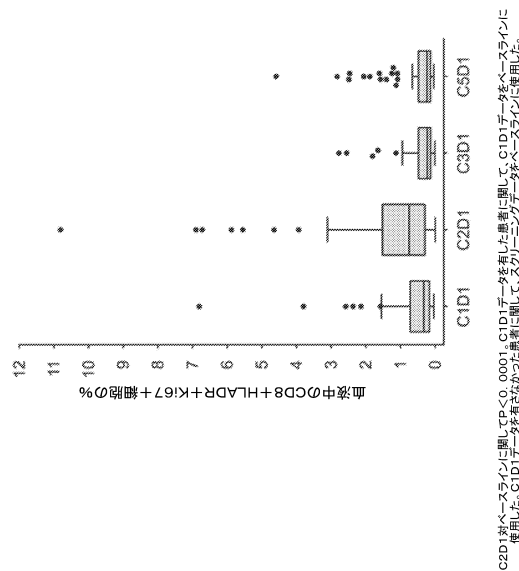
【図 16】



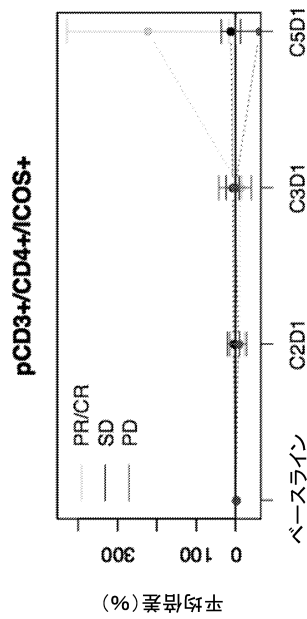
【図 17】



【図 18】



【図19】



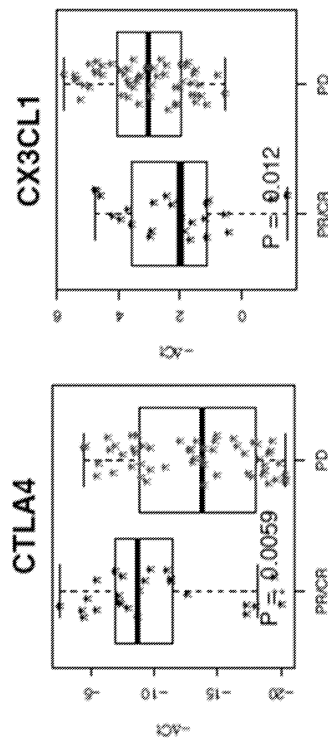
【図20】

対生検材料におけるMPDL3280Aに対する応答の要約

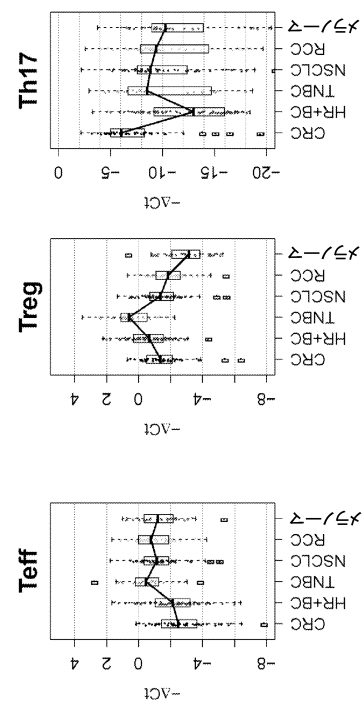
最大SLD低下*	腫瘍細胞PD-L1の増加 ^b 、n/N(%)	免疫細胞PD-L1の増加 ^b 、n/N(%)
>30%減少	4/6 (66%)	5/6 (83%)
0-30%減少	4/9 (44%)	2/9 (22%)
0-20%増加	2/10 (20%)	2/10 (20%)
>20%増加	0/4 (0%)	1/4 (25%)
査定不可能なSLD (腫瘍切除により)	1/1 (100%)	1/1 (100%)

*研究における患者の時点で
*MPDL3280Aによる治療後に腫瘍又は腫瘍細胞組織におけるPD-L1発現の増加は患者の病期、Gestalt/Roche PD-L1 IHCによって測定された。5%PD-L1+細胞の増加によって定義されるPD-L1発現の増加
*最大SLD変化に関して患者を査定可能なバイオマーカー分析のための応答する腫瘍の切除

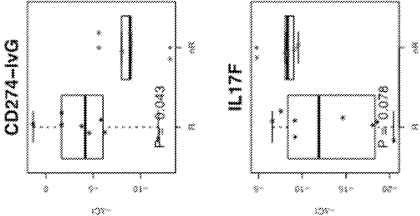
【図21】



【図22】

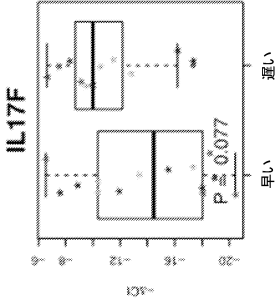


【図 2 3】



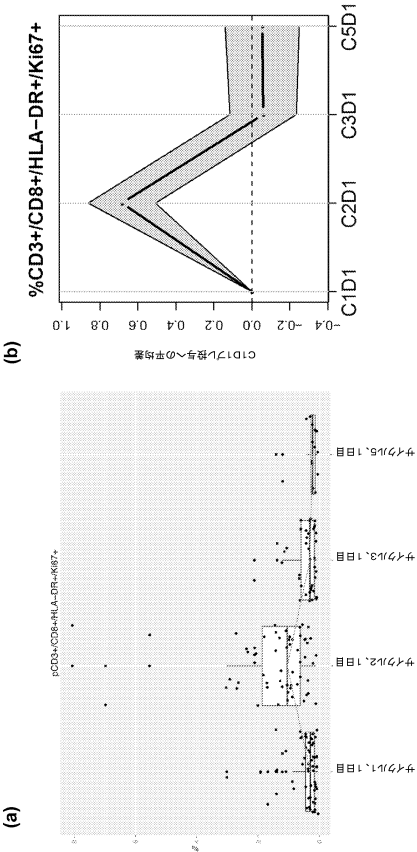
8 人の応答者 (8 R s) 対 5 人の非応答者 (5 n R s)

【図 2 4】

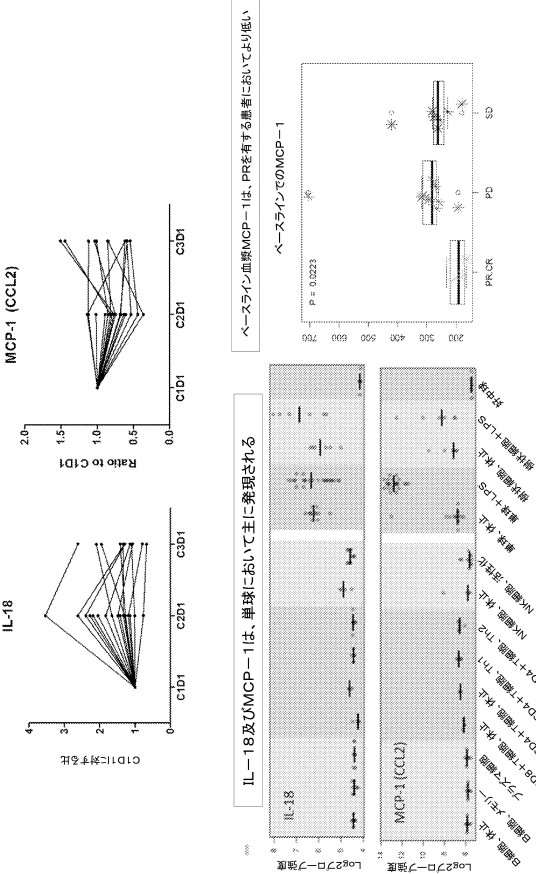


14 人の早い応答、11 人の遅い応答

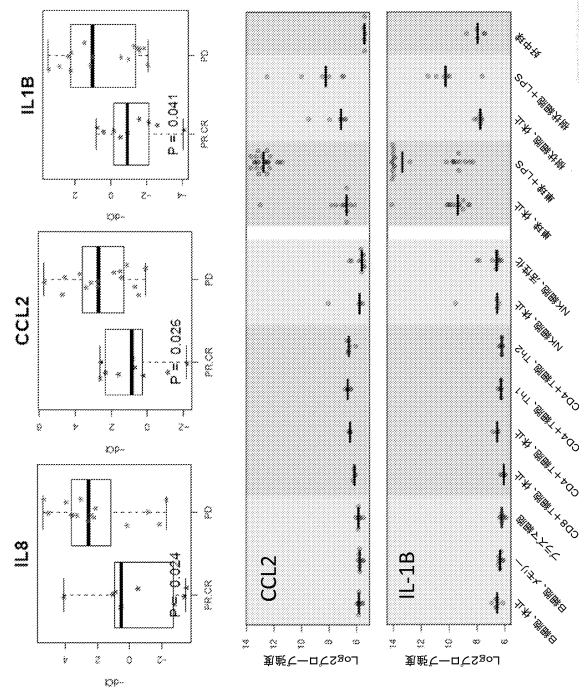
【図 2 5】



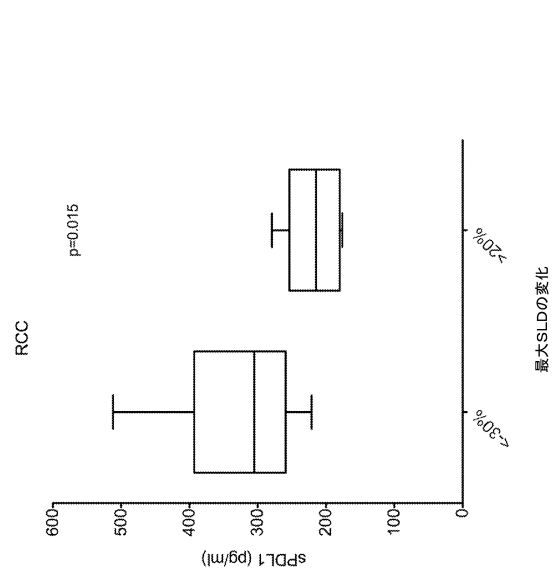
【図 2 6】



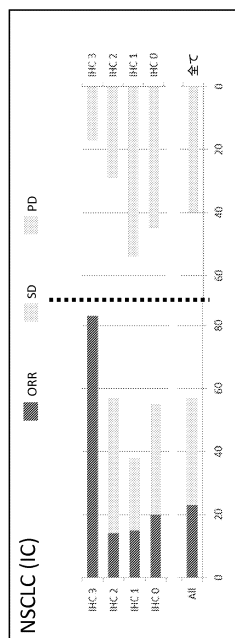
【図 27】



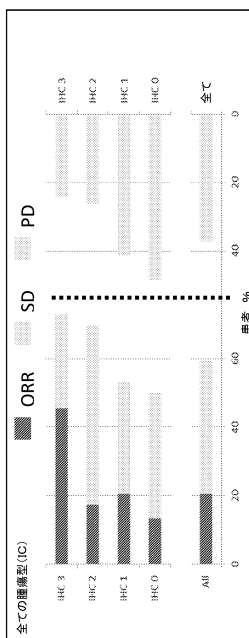
【図 28】



【図 29】

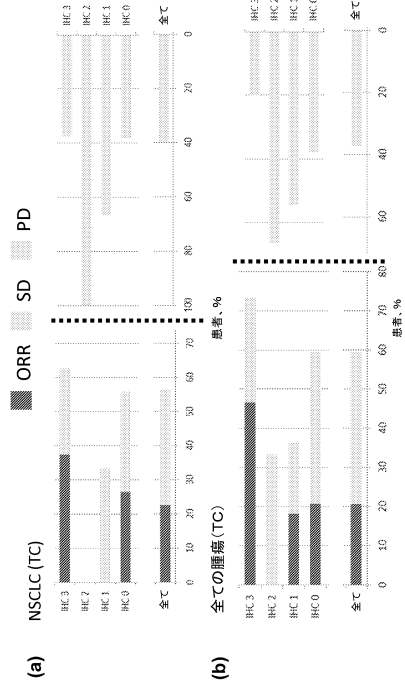


IHC, 免疫組織化学法; ORR, 総応答割合; PD, 進行性疾患; SD, 安定疾患; 患者の腫瘍評価がされていない:
0% IHC 0, 8% IHC 1, 14% IHC 2, 0% IHC 3, 0% 不明, 3% 全て



IHC, 免疫組織化学法; ORR, 総応答割合; PD, 進行性疾患; SD, 安定疾患; 患者の腫瘍評価がされていない:
1, 6% IHC 0, 5, 9% IHC 1, 4, 3% IHC 2, 3% IHC 3, 4% 不明, 3, 4% 全て

【図 30】



NSCLC IHC 3, n=8; IHC 2, n=1; IHC 1, n=3; IHC 0, n=34; 全て, n=53.
全ての腫瘍 IHC 3, n=15; IHC 2, n=3; IHC 1, n=11; IHC 0, n=121; 全て, n=175.

【配列表】

0006483082000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)		C 1 2 Q 1/04		
C 1 2 M 1/34 (2006.01)		C 1 2 M 1/34		B
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)		C 1 2 M 1/34		Z
C 1 2 Q 1/37 (2006.01)		C 1 2 M 1/34		F
A 6 1 P 35/00 (2006.01)		C 1 2 Q 1/68		
A 6 1 P 35/02 (2006.01)		C 1 2 Q 1/37		
A 6 1 P 37/02 (2006.01)		A 6 1 P 35/00		
A 6 1 K 45/00 (2006.01)		A 6 1 P 35/02		
A 6 1 P 43/00 (2006.01)		A 6 1 P 37/02		
		A 6 1 K 45/00		
		A 6 1 P 43/00	1 2 1	
		A 6 1 P 43/00	1 1 1	

- (31)優先権主張番号 61/829,236
 (32)優先日 平成25年5月30日(2013.5.30)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 61/883,186
 (32)優先日 平成25年9月26日(2013.9.26)
 (33)優先権主張国 米国(US)

前置審査

- (72)発明者 ヘクデ, プリティ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シーノオー ジェネンテック, インコーポレイテッド
 (72)発明者 ケッペン, ハルトムート
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シーノオー ジェネンテック, インコーポレイテッド
 (72)発明者 コワネッツ, マルチン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シーノオー ジェネンテック, インコーポレイテッド

審査官 草川 貴史

- (56)参考文献 特表2012-503984(JP,A)
 特開2006-340714(JP,A)
 特表2008-544755(JP,A)
 米国特許出願公開第2010/0015642(US,A1)
 国際公開第2013/173223(WO,A1)
 M. SZNOL, Antagonist Antibodies to PD-1 and B7-H1(PD-L1)in the Treatment of Advanced Human Cancer, CLINICAL CANCER RESEARCH, 2013年 3月 1日, V19 N5, P1021-1034
 SUZANNE L. TOPALIAN, SAFETY, ACTIVITY, AND IMMUNE CORRELATES OF ANTI-PD-1 ANTIBODY IN CANCER, THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, [ONLINE], 2012年 6月28日, P2443-2454, →<http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa1200690>, URL, <http://search.proquest.com/docview/1022620071>
 D. S. CHEN, Molecular Pathways:Next-Generation Immunotherapy-Inhibiting Programmed Death-Ligand 1 and Programmed Death-1, CLINICAL CANCER RESEARCH, 2012年10月19日,

V18 N24 , P6580-6587

HAMID OMID , Anti-programmed death-1 and anti-programmed death-ligand 1 antibodies in cancer therapy , EXPERT OPINION ON BIOLOGICAL THERAPY , 2 0 1 3 年 2 月 1 9 日 , V13 N6 , P 847-861

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G 0 1 N	3 3 / 4 8 - 3 3 / 9 8
A 6 1 K	4 5 / 0 0
A 6 1 P	3 5 / 0 0
A 6 1 P	3 5 / 0 2
A 6 1 P	3 7 / 0 2
A 6 1 P	4 3 / 0 0
C 1 2 M	1 / 3 4
C 1 2 Q	1 / 0 4
C 1 2 Q	1 / 3 7
C 1 2 Q	1 / 6 8

專利名称(译)	用于治疗与PD-1和PD-L1相关的病症的生物标志物和方法		
公开(公告)号	JP6483082B2	公开(公告)日	2019-03-13
申请号	JP2016501626	申请日	2014-03-12
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
当前申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	チェンダニエルシンユイ ヘクデプリティ ケッペンハルトムート コワネッツマルチン		
发明人	チェン, ダニエル シン-ユイ ヘクデ, プリティ ケッペン, ハルトムート コワネッツ, マルチン		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/574 G01N33/543 G01N33/53 G01N33/48 C12Q1/04 C12M1/34 C12Q1/68 C12Q1/37 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61K45/00 A61P43/00		
CPC分类号	A61P1/00 A61P1/04 A61P1/18 A61P7/00 A61P11/00 A61P13/08 A61P13/10 A61P13/12 A61P15/00 A61P17/00 A61P21/00 A61P25/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P43/00 C12Q1/6886 G01N33/57484 G01N33/57492 G01N2800/52 G06Q30/0251 C12Q1/68 A61K2039/505 C07K16/2827 C07K2317/24 C07K2317/76 G01N33/6854 G01N33/6869 G01N2333/5412 G01N2333/70532		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/574.ZNA.A G01N33/543.545.A G01N33/53.D G01N33/48.P C12Q1/04 C12M1/34.B C12M1/34.Z C12M1/34.F C12Q1/68 C12Q1/37 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61K45/00 A61P43/00.121 A61P43/00.111		
优先权	61/802296 2013-03-15 US 61/812678 2013-04-16 US 61/829236 2013-05-30 US 61/883186 2013-09-26 US		
其他公开文献	JP2016520800A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本文提供了用于治疗疾病状态 (例如癌症) 的生物标志物, 以及使用PD-1 / PD-L1途径拮抗剂的方法。特别地, 提供了用于患者选择和癌症预后的生物标志物, 以及治疗方法, 产品和制备它们的方法, 诊断试剂盒, 检测方法和相关的广告方法。 【选择图表】无

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号
特許第6483082号
(P6483082)

(45) 発行日 平成31年3月13日(2019. 3. 13)

(24) 登録日 平成31年2月22日(2019. 2. 22)

(51) Int. Cl. F I

GO 1 N 33/68 (2006. 01) GO 1 N 33/68

GO 1 N 33/574 (2006. 01) GO 1 N 33/574 Z N A A

GO 1 N 33/543 (2006. 01) GO 1 N 33/543 5 4 5 A

GO 1 N 33/53 (2006. 01) GO 1 N 33/53 D

GO 1 N 33/48 (2006. 01) GO 1 N 33/48 P

請求項の数 106 (全 104 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-501626 (P2016-501626)

(86) (22) 出願日 平成26年3月12日(2014. 3. 12)

(65) 公表番号 特表2016-520800 (P2016-520800A)

(43) 公表日 平成28年7月14日(2016. 7. 14)

(86) 国際出願番号 PCT/US2014/024746

(87) 国際公開番号 W02014/151006

(87) 国際公開日 平成26年9月25日(2014. 9. 25)

審査請求日 平成27年11月12日(2015. 11. 12)

(31) 優先権主張番号 61/802, 296

(32) 優先日 平成25年3月15日(2013. 3. 15)

(33) 優先権主張国 米国(US)

(31) 優先権主張番号 61/812, 678

(32) 優先日 平成25年4月16日(2013. 4. 16)

(33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 509012625
ジェネンテック、 インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス
サンフランシスコ ディーエヌエー
ウェイ 1
110002077

(74) 代理人 園田・小林特許事務所

(72) 発明者 チェン、 ダニエル シン-ユイ
アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
80, サウス サンフランシスコ, デ
ィーエヌエー ウェイ 1, シー/オー
ジェネンテック、 インコーポレイテッ
ド

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 PD-1 及びPD-L1 に関連する状態を治療するためのバイオマーカー及び方法

