

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-66482

(P2019-66482A)

(43) 公開日 平成31年4月25日(2019.4.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/68 (2006.01)	G O 1 N 33/68	2 G O 4 5
A 6 1 K 31/17 (2006.01)	A 6 1 K 31/17	4 B O 6 5
A 6 1 K 31/198 (2006.01)	A 6 1 K 31/198	4 C O 8 4
A 6 1 K 31/255 (2006.01)	A 6 1 K 31/255	4 C O 8 5
A 6 1 K 31/395 (2006.01)	A 6 1 K 31/395	4 C O 8 6

審査請求 有 請求項の数 21 O L (全 62 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-211406 (P2018-211406)
 (22) 出願日 平成30年11月9日 (2018.11.9)
 (62) 分割の表示 特願2014-554887 (P2014-554887) の分割
 原出願日 平成25年1月25日 (2013.1.25)
 (31) 優先権主張番号 61/637, 191
 (32) 優先日 平成24年4月23日 (2012.4.23)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/590, 441
 (32) 優先日 平成24年1月25日 (2012.1.25)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 514187316
 ディーエヌエートリックス インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 テキサス州 ヒューストン ワン グリーンウェイ プラザ スイート 930
 (71) 出願人 500039463
 ボード・オブ・リージエンツ, ザ・ユニバーシテイ・オブ・テキサス・システム
 アメリカ合衆国 テキサス 78701, オースティン, ウェスト 7ティーエイチ ストリート 210
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志

最終頁に続く

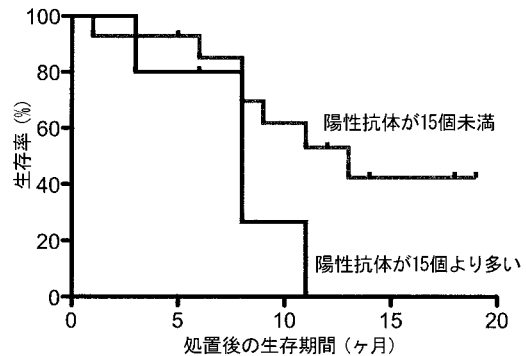
(54) 【発明の名称】 バイオマーカーならびに腫瘍溶解性ウイルスと免疫調節法とを用いる併用療法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 癌を有するかまたは癌を有することが疑われる患者の腫瘍溶解性ウイルスに対する応答を予測する方法を提供する。

【解決手段】 (a) 対照と比べ、患者の試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現レベルを決定する段階、(b) 該発現レベルを、対照試料中の発現レベルと比較する段階であって、対照試料と比べ、該発現レベルの変化によって、腫瘍溶解性ウイルスに対する患者の処置の応答を予測する段階。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の段階を含む、癌を有するかまたは癌を有することが疑われる患者の腫瘍溶解性ウイルスに対する応答を予測する方法：

(a) 対照と比べ、患者の試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現レベルを決定する段階、

(b) 試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する1つまたは複数の抗体の発現レベルを、対照試料中の発現レベルと比較する段階であって、対照試料と比べ、試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現レベルの変化によって、腫瘍溶解性ウイルスに対する患者の処置の応答を予測する段階。

10

【請求項 2】

対照と比べ、試験試料において1つもしくは複数のTh1バイオマーカーが低レベルである、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカーが高レベルである、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体が高レベルであると判定された場合に、患者が腫瘍溶解性ウイルス処置に応答しない可能性がある、請求項1に記載の方法。

20

【請求項 3】

対照と比べ、試験試料において1つもしくは複数のTh1バイオマーカーが高レベルである、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカーが低レベルである、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体が低レベルであると判定された場合に、患者が腫瘍溶解性ウイルス処置に応答する可能性がある、請求項1に記載の方法。

30

【請求項 4】

段階 (b) が、

腫瘍溶解性ウイルスによる処置に応答性である同じ癌を有する対象からの1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルと比べ、試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルを検出する段階であって、処置に応答性である同じ癌を有する対象における1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルと比較して、試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカーが低レベルであれば、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカーが高レベルであれば、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体が高レベルであれば、患者が腫瘍溶解性ウイルスによる処置に応答しない可能性があることを示す、段階

40

を含む、請求項1~3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

1つまたは複数のTh1バイオマーカーが、IL-12p70を含み、任意でIL-1、IL-2、IL-8、IL-18、IFN-、TNF-、TNF-、GM-CSF、切断型カスパーゼ-3、ネオプテリン、および2-ミクログロブリンからなる群より選択される少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、または少なくとも10個の追加のバイオマーカーを含む、請求項1~4のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 6】

1つまたは複数のTh2バイオマーカーが、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、TGF-およびリン酸化STAT3からなる群より選択される、請求項1~5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

60

1つまたは複数の腫瘍関連抗原が、BRAF、CABYR、CRISP3、CSAG2、CTAG2、DHFR、FTHL17、GAGE1、LDHC、MAGEA1、MAGEA3、MAGEA4、MAGEB6、MAPK1、MICA、MUC1、NLRP4、NYESO1、P53、PBK、PRAME、SOX2、SPANXA1、SSX2、SSX4、SSX5、TSGA10、TSSK6、TULP2、XAGE2、およびZNF165からなる群より選択される、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

1つまたは複数の腫瘍関連抗原が、NLRP4を含み、任意でCABYR、MAGEA1、MAGEA3、MAGEB6、NYESO1、PBK、SSX2、SSX5、およびZNF165からなる群より選択される少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、または少なくとも8個の腫瘍関連抗原を含む、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

1つまたは複数のTh1バイオマーカーおよび1つまたは複数のTh2バイオマーカーのレベルが決定されて、対照と比較される、請求項1～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

1つまたは複数のTh1バイオマーカーのレベルおよび1つまたは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルが決定されて、対照と比較される、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

患者が腫瘍溶解性ウイルスに応答する可能性があるとして判定された場合に、患者に腫瘍溶解性ウイルスを投与する段階をさらに含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

患者においてTh1表現型を生じる剤が、ウイルスと共に患者へ、同時に、個別に、または連続的に同時投与される、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

腫瘍溶解性ウイルス処置に応答しない可能性があるとして判定された患者へ、患者においてTh1表現型を生じる剤と腫瘍溶解性ウイルスとを、同時に、個別に、または連続的に同時投与する段階をさらに含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項14】

剤が、イピリムマブまたはトレメリムマブなどのCTLA-4アンタゴニスト、MDX-1105、MDX-1106、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブなどのPD-1/PD-L1受容体アンタゴニスト、MGA271などの抗B7-H3抗体、D-1-メチル-トリプトファンなどのインドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ (IDO) 阻害剤、BMS-663513などのCD137アゴニスト、CP-870,893などのCD40アゴニスト、OX40 (CD134) アゴニスト、CDX-1127などのCD27アゴニスト、またはCD47/SIRPアンタゴニストである、請求項12または13に記載の方法。

【請求項15】

剤が、(9S, 10S, 12R)-2,3,9,10,11,12-ヘキサヒドロ-10-ヒドロキシ-10-(ヒドロキシメチル)-9-メチル-9,12-エポキシ-1H-ジインドロ [1,2,3-fg:321k1]ピロロ [3,4-i][1,6]ベンゾジアゾシン-1-オン; 11-(2-ピロリジン-1-イル-エトキシ)-14,19-ジオキサ-5,7,26-トリアザ-テトラシクロ [19.3.1.1(2,6).1(8,12)]ヘプタコサ-1(25),2(26),3,5,8,10,12(27),16,21,23-デカエン; 3-[(3R,4R)-4-メチル-3-[メチル(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)アミノ]ピペリジン-1-イル]-3-オキソプロパンニトリル; (3R)-3-シクロペンチル-3-[4-(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)ピラゾール-1-イル]プロパンニトリル; N-(シアノメチル)-4-[2-(4-モルフォリノアニリノ)ピリミジン-4-イル]ベンズアミド; 2-[1-エチルスルホニル-3-[4-(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)ピラゾール-1-イル]アゼチジン-3-イル]アセトニトリル; またはN-tert-ブチル-3-{5-メチル-2-[4-(2-ピロリジン-1-イル-エトキシ)-フェニルアミノ]-ピリミジン-4-イルアミノ}-ベンゼンスルホンアミドなどの JAK-2、JAK-3、STAT-3、またはSTAT-5阻害剤である、請求項12または13に記載の方法。

【請求項16】

剤が、GM-CSF、IL-2、IL-12、IL-18、およびインターフェロン- からなる群より選択されるTh1サイトカイン、またはレナリドミドもしくはボマリドミドなどのTh1サイトカイ

10

20

30

40

50

ンの産生を刺激する剤である、請求項12または13に記載の方法。

【請求項17】

患者においてTh1表現型を生じる剤が、腫瘍溶解性ウイルスの投与前に、腫瘍溶解性ウイルスの投与と同時に、または腫瘍溶解性ウイルスの投与後に投与されるが、好ましくは腫瘍溶解性ウイルスの投与前に投与される、請求項12～16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項18】

試験試料が腫瘍溶解性ウイルスの投与前に患者から得られる、請求項1～17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルが、第一の時点で得られた少なくとも第一の試験試料および第二の時点で得られた第二の試験試料において測定される、請求項1～18のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項20】

第一の試料が、腫瘍溶解性ウイルスの投与前に得られ、第二の試料が該ウイルスの投与後に得られる、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

第二の試料において決定された発現レベルが第一の試料において決定された発現レベルと比較され、かつ

第一の試料と比較した第二の試料における、1つもしくは複数のTh1バイオマーカーのレベルの減少、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカーのレベルの増加、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルの増加が、患者が腫瘍溶解性ウイルスに応答しないことを示す、請求項20に記載の方法。

20

【請求項22】

患者がウイルスに応答していないことが判定された場合に、患者においてTh1表現型を生じる剤を投与する段階をさらに含む、請求項21に記載の方法。

【請求項23】

試験試料が腫瘍生検、脳脊髄液(CSF)、リンパ、血液、血漿、血清、滑液、または尿試料である、請求項1～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項24】

試験試料が血清試料である、請求項23に記載の方法。

30

【請求項25】

腫瘍溶解性ウイルスが、デルタ-24、デルタ-24-RGD、ICOVIR-5、ICOVIR-7、Onyx-015、ColoAd1、H101、またはAD5/3-D24-GMCSFなどのアデノウイルス、レオウイルス、OncoVEX GMCSFなどの単純ヘルペスウイルス、ニューカッスル病ウイルス、麻疹ウイルス、インフルエンザウイルスなどのレトロウイルス、ワクシニアウイルスなどのポックスウイルス、粘液腫ウイルス、水疱性口内炎ウイルスなどのラブドウイルス、セネカバレーウイルス(SVV-001)などのピコルナウイルス、コクサッキーウイルス、またはバルボウイルスである、請求項1～24のいずれか一項に記載の方法。

【請求項26】

ウイルスが、癌細胞選択性を増加させるための1つまたは複数の遺伝子改変を含む、請求項25に記載の方法。

40

【請求項27】

腫瘍溶解性ウイルスがアデノウイルスである、請求項25または26に記載の方法。

【請求項28】

アデノウイルスが、デルタ-24またはデルタ-24-RGDである、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

ウイルスが腫瘍内注射、静脈内もしくは動脈内注射などの血管内注射によって、または神経幹細胞もしくは間葉幹細胞などのウイルス産生幹細胞担体中で投与される、請求項1～28のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 30】

患者がヒトである、請求項1～29のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 31】

以下の段階を含む、癌を有するかまたは癌を有することが疑われる患者における癌を処置する方法：

(a) 処置期間中に腫瘍溶解性ウイルスを投与する段階、

(b) 第一の時点およびその後の第二の時点で1つまたは複数のTh1バイオマーカーおよび/またはTh2バイオマーカーのレベルを測定する段階、

(c) 第一の時点および第二の時点で1つまたは複数のTh1バイオマーカーおよび/またはTh2バイオマーカーのレベルを比較する段階であって、第一の時点と比較して第二の時点での、1つもしくは複数のTh1バイオマーカーの減少、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカーの増加が、患者が腫瘍溶解性ウイルスによる処置に対して非応答性であることを示す、段階。

10

【請求項 32】

患者が非応答者であることが判定された場合に、Th1刺激剤を腫瘍溶解性ウイルスと共に患者へ同時投与する段階をさらに含む、請求項31に記載の方法。

【請求項 33】

癌が、原発性脳腫瘍、転移性脳腫瘍、肺癌、乳癌、および前立腺癌からなる群より選択される、請求項1～32のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 34】

癌が低悪性度または高悪性度の神経膠腫である、請求項33に記載の方法。

20

【請求項 35】

癌が高悪性度の神経膠腫である、請求項34に記載の方法。

【請求項 36】

以下を患者に投与する段階を含む、癌を有するかまたは癌を有することが疑われる患者における癌を処置する方法：

(a) Th1サイトカイン、または1つもしくは複数のTh1サイトカインの産生を増加させる剤；

(b) 腫瘍溶解性ウイルス；および任意で

(c) 調節性T細胞を抑制する、および/または細胞媒介性免疫応答を刺激する剤。

30

【請求項 37】

サイトカイン、または1つもしくは複数のTh1サイトカインの産生を増加させる剤が、組換え型IL-12p70、組換え型IFN- γ 、レブラミド、およびレナリドミドからなる群より選択される、請求項36に記載の方法。

【請求項 38】

腫瘍溶解性ウイルスがデルタ-24-RGDなどのアデノウイルスである、請求項36または37に記載の方法。

【請求項 39】

調節性T細胞を抑制する剤が、テモゾロミド(4-メチル-5-オキソ-2,3,4,6,8-ペントアザピシクロ[4.3.0]ノナ-2,7,9-トリエン-9-カルボキサミド)、シクロホスファミド((RS)-N,N-ビス(2-クロロエチル)-1,3,2-オキサザホスフィナン-2-アミン2-オキサイド)、ロムスチン(CCNU; N-(2-クロロエチル)-N'-シクロヘキシル-N-ニトロソウレア)、ビス-クロロエチルニトロソウレア(BCNU)、塩酸メルファラン(4[ビス(クロロエチル)アミノフェニルアラニン]、およびブスルファン(ブタン-1,4-ジイルジメタンスルホネート)からなる群より選択される、請求項36～38のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 40】

細胞媒介性免疫応答を刺激する剤が、CTLA-4アンタゴニスト、好ましくはイピリムマブまたはトレメリムマブ、PD-1/PD-L1受容体アンタゴニスト、好ましくはMDX-1106、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ、またはMDX-1105、B7-H3に特異的に結合する抗体、好ましくはMGA271、およびインドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害剤、好ましくはD-

50

1-メチル-トリプトファン (Lunate) から選択される、請求項36~38のいずれか一項に記載の方法。

【請求項41】

ウイルスが、多数の腫瘍部位への注射などの腫瘍内、静脈内もしくは動脈内などの血管内によって、または神経幹細胞もしくは間葉幹細胞などのウイルス産生幹細胞担体中で投与される、請求項36~40のいずれか一項に記載の方法。

【請求項42】

ウイルスが1回用量で投与される、請求項1~41のいずれか一項に記載の方法。

【請求項43】

ウイルスが 1×10^6 から 1×10^{13} プラーク形成単位 (pfu)、好ましくは 1×10^7 から 1×10^{13} 、より好ましくは 1×10^8 から 1×10^{12} pfuの用量で投与される、請求項1~42のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項44】

Th1免疫表現型を生じる剤および腫瘍溶解性アデノウイルスを患者に同時投与する段階を含む、患者における原発性または転移性脳腫瘍を処置する方法。

【請求項45】

Th1免疫表現型を生じる剤が、IL-12p70、IL-2、IFN- γ 、レブラミド、レナリドミド、イピリムマブ、トレメリムマブ、MDX-1106、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ、MDX-1105、MGA271、D-1-メチル-トリプトファン (Lunate)、テモゾロミド、シクロホスファミド、CCNU、BCNU、塩酸メルファラン、ブスルファン、メクロレタミン、クロラムブシル、イフォスファミド、ストレプトゾシン、ダカルバジン、チオテパ、アルトレタミン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、BMS-663513、CP-870,893、OX40 (CD134) アゴニスト、CDX-1127、CD47/SIRP アンタゴニスト、(9S, 10S, 12R)-2,3,9,10,11,12-ヘキサヒドロ-10-ヒドロキシ-10-(ヒドロキシメチル)-9-メチル-9,12-エポキシ-1H-ジインドロ [1,2,3-fg:321k1]ピロロ [3,4-i][1,6]ベンゾジアゾシン-1-オン、11-(2-ピロリジン-1-イル-エトキシ)-14,19-ジオキサ-5,7,26-トリアザ-テトラシクロ [19.3.1.1(2,6).1(8,12)]ヘプタコサ-1(25),2(26),3,5,8,10,12(27),16,21,23-デカエン、3-[(3R,4R)-4-メチル-3-[メチル(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)アミノ]ピペリジン-1-イル]-3-オキソプロパンニトリル、(3R)-3-シクロペンチル-3-[4-(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)ピラゾール-1-イル]プロパンニトリル、N-(シアノメチル)-4-[2-(4-モルフォリノアニリノ)ピリミジン-4-イル]ベンズアミド、2-[1-エチルスルホニル-3-[4-(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)ピラゾール-1-イル]アゼチジン-3-イル]アセトニトリル、およびN-tert-ブチル-3-{5-メチル-2-[4-(2-ピロリジン-1-イル-エトキシ)-フェニルアミノ]}-ピリミジン-4-イルアミノ}-ベンゼンスルホンアミドからなる群より選択される、請求項44に記載の方法。

20

30

【請求項46】

剤がウイルスの前に患者に投与される、請求項45に記載の方法。

【請求項47】

剤がウイルスの後に患者に投与される、請求項45に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

40

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、その各々の全内容が参照により本明細書に組み入れられる、2012年1月25日に提出された米国特許仮出願第61/590,441号および2012年4月23日に提出された米国特許仮出願第61/637,191号の恩典を主張する。

【0002】

背景

I. 発明の分野

本発明は、概して腫瘍学および癌治療の分野に関する。いくつかの局面において、本発

50

明は、アデノウイルスなどの腫瘍溶解性ウイルスと免疫調節療法とを含む併用療法に関する。他の局面において、本発明は、腫瘍溶解性ウイルス療法に対する非応答者と応答者を識別するバイオマーカーの測定または検出に関する。

【背景技術】

【0003】

11. 背景

2005年に米国において診断された悪性および非悪性を含む原発性脳腫瘍の新規症例は43,800例であると推定される。2007年には、星細胞腫(42%)を含む、予想される原発性悪性脳腫瘍は20,500例であると推定された。これは男性に多い疾患であり、2007年では推定で男性患者は11,700人および女性患者は8,800人であった。米国において2007年に、これらの腫瘍による脳疾患により死亡したのはおよそ12,700人であった。これらの腫瘍は、全ての成人の癌の1.4%を占め、全ての小児癌の22%を占める。これは、全ての癌関連死の2.4%を占める(SEER Cancer Statistics Review)。

10

【0004】

腫瘍溶解性ウイルスは、抗癌剤として有望であることが示されている。癌細胞において選択的に複製するようにウイルスを遺伝子改変すると、その効能はさらに増加する。たとえば、神経膠腫では、3種類のウイルス、すなわち活性化ras経路を有する腫瘍において選択的に複製することができるレオウイルス(Coffey et al., 1998); 正常細胞および癌細胞におけるタンパク質の異なる発現によって活性化されうるウイルス(Chase et al., 1998)を含む、遺伝的に変化した単純ヘルペスウイルス(Martuza et al., 1991; Mineta et al., 1995; Andreanski et al., 1997); ならびにE1B55 kDaタンパク質を発現することができず、p53変異型腫瘍を処置するために用いられる変異体アデノウイルス(Bischof et al., 1996; Heise et al., 1997; Freytag et al., 1998; Kim et al., 1998)、が動物モデルにおいて有用であることが示されている。3つ全ての系において、目標は、ウイルスが腫瘍内に広がることと、癌細胞を選択的に殺すことができることである。細胞経路の重要な点を標的とする遺伝子改変アデノウイルスは、神経膠腫において強力かつ選択的な抗癌効果を有する。しばしば試験されるアデノウイルスの改変には、腫瘍抑制遺伝子と相互作用するウイルス遺伝子の欠失、より高い効力で癌細胞に感染するように指向性の改変、および癌細胞において上方制御された転写因子に対して感受性である転写エレメントをウイルスゲノムに含めることが含まれる。

20

30

【0005】

既に存在する免疫状態が腫瘍溶解性ウイルス治療の全体的な臨床転帰において果たす役割およびその影響は現在のところわかっていない。デルタ-24-RGDなどの腫瘍溶解性ウイルスによって処置された患者の生存を正確に予測することができれば、現在行われている処置の決定が改善されるであろう。さらに、正確な予測は、腫瘍の特性および免疫の状態に基づいて個別に調整されうる新規治療の設計を助けるであろう。現在、癌免疫療法の戦略のための臨床バイオマーカーは著しく欠如していることから、生物治療の分野において有意な進歩が起こるであろう。

【0006】

びまん性神経膠腫、退形成性星細胞腫、退形成性乏突起膠腫、混合型退形成性乏突起星細胞腫、膠芽細胞腫、上衣腫、および退形成性上衣腫、または任意の原発性脳腫瘍などの神経系の原発腫瘍に対して有効な治療の必要性は、特に逼迫している。

40

【発明の概要】

【0007】

概要

本発明は、癌患者における腫瘍溶解性ウイルスによる処置に対する応答性の予測因子としてその発現パターンを相関させるためのバイオマーカーとしての、Th1(炎症性)サイトカインおよび腫瘍関連抗原に対する抗体の同定に関する。従って、本発明は、処置後の良好なまたは不良な転帰を有する患者と相関する(従ってそれらを識別することができる)発現プロファイルの同定および使用を提供する。いくつかの態様において、本発明は、

50

腫瘍溶解性ウイルスによる処置に応答性であるかまたは応答する可能性がある患者と、腫瘍溶解性ウイルスによる処置に対して不応性である可能性がある癌患者とを識別することができる発現パターンを提供する。経時的なより良好な生存転帰に関して応答性を調べ得る。同様に、たとえばRECIST基準に従う腫瘍サイズの減少に関して応答性を調べ得る。

【0008】

本発明はまた、腫瘍溶解性ウイルスと、患者におけるTh1免疫応答を刺激する、および/またはTh2免疫応答を抑制する、および/または患者における調節性T細胞を抑制する剤との同時投与を含む、癌患者を処置する新規方法に関する。

【0009】

1つの局面において、本発明は、本明細書において記述されるバイオマーカーの1つまたは複数の発現レベルに関してアッセイすることによって、腫瘍溶解性ウイルスによる処置に応答する可能性があるかまたは応答しない可能性がある癌患者を同定するための客観的手段を提供する。このため、これらのバイオマーカーの発現は、有意な精度で癌の予後予測（処置後の転帰）を判定するための客観的手段を提供する。これらのバイオマーカーは、主観的基準と組み合わせて用いられる。

10

【0010】

本明細書において記述されるバイオマーカーは、癌患者の腫瘍溶解性ウイルス処置後の転帰と相関するとして同定され、そのためその発現レベルは適切な処置プロトコルの決定に関連性がある。1つの態様において、患者は、高悪性度神経膠腫を有する患者であり、腫瘍溶解性ウイルスはデルタ-24-RGDなどのアデノウイルスである。

20

【0011】

本明細書において記述されるバイオマーカーは、単独で有意な精度で用い得るか、または発現プロファイルを、処置後の転帰に正確に相関させる能力を増加させるために、発現レベルの比率の形式などの任意の組み合わせで用い得る。バイオマーカーは、処置の応答性、生存転帰、および治療の決定および/または変化を予測するために用いることができる。腫瘍溶解性ウイルス治療に対しておそらく応答するかまたはおそらく応答しない患者の同定能は、バイオマーカーの発現レベルの同定によって与えられ、そのような発現レベルを決定するために用いられる方法論によって与えられるのではない。従って、アッセイがタンパク質（または遺伝子）の定性的、あるいは好ましくは定量的発現を提供する限り、アッセイは、本明細書において記述されるバイオマーカーのいかなる特色を利用して

30

【0012】

いくつかの態様において、(a) 対照と比べ、患者の試験試料において、1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する1つまたは複数の抗体の発現レベルを決定する段階、(b) 試験試料中の1つまたは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する1つまたは複数の抗体の発現レベルを、対照の発現レベルと比較する段階であって、対照試料と比べ、試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現レベルの変化によって、腫瘍溶解性ウイルス処置に対する患者の応答を予測する段階を含む、癌を有するかまたは癌を有することが疑われる患者が、腫瘍溶解性ウイルスの投与を含む癌を処置する方法に対して治療的に応答するか否かを予測する方法が提供される。試験試料は、血液、血漿、血清、組織生検、および脳脊髄液を含むがこれらに限定されるわけではない。関連する態様において、方法は、段階(a)において少なくとも1つのTh1バイオマーカーレベルおよび少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対する抗体レベルを決定する段階、ならびに段階(b)において、これらのレベルを対照と比較する

40

50

段階を含む。

【0013】

治療後の転帰を予測するために、1つまたは複数のバイオマーカーの発現レベルを、腫瘍溶解性ウイルスの投与前、投与と同時、または投与後に決定することができる。1つの態様において、(a) 対照と比べ、腫瘍溶解性ウイルスの投与前に得られた患者の試験試料において、1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する1つまたは複数の抗体の発現レベルを決定する段階、(b) 試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する1つまたは複数の抗体の発現レベルを、対照の発現レベルと比較する段階であって、対照試料と比べ、試験試料中の1つもしくは複数のTh1、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現レベルの変化によって、腫瘍溶解性ウイルス処置に対する患者の応答を予測する段階、ならびに任意で(c) 患者がウイルスによる処置に応答する可能性があるとして判定された場合に、患者に腫瘍溶解性ウイルスを投与する段階を含む、患者における癌を処置する方法が提供される。好ましい態様において、腫瘍溶解性ウイルスは、デルタ-24-RGDなどのアデノウイルスであり、試験試料は、血清試料であり、試験試料中のIL-12p70レベル、および任意で少なくとも1つの追加のTh1バイオマーカーレベルを決定して、対照と比較する。

10

【0014】

関連する態様において、患者は、対照と比べ、試験試料において、1つもしくは複数のTh1バイオマーカー(たとえば、IL-12p70)が低レベルである、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原(たとえば、NLRP4)に対する抗体が高レベルであると決定された場合に、患者が、腫瘍溶解性ウイルス処置に応答する可能性が低いと判定される。たとえば、上記の段階(b)は、腫瘍溶解性ウイルスによる処置に応答性である同じ癌を有する対象の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルと比べ、試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカーおよび/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルを検出する段階であって、処置に応答性である同じ癌を有する対象における1つもしくは複数のTh1バイオマーカーがより低レベルであれば、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体がより高レベルであれば、患者が、腫瘍溶解性ウイルスによる処置に非応答性であることを示す段階を含みうる。好ましくは、患者の試験試料および対象の試料は、同じ時点で採取される。従って、本明細書において記述されるバイオマーカーの発現パターンは、腫瘍溶解性ウイルスによる処置に応答する可能性が低い癌を有する患者を同定するために有用である。このため、これらの患者は、Th1免疫応答を刺激する剤と腫瘍溶解性ウイルスとを同時投与するための良好な候補者として同定される。または、これらの患者は、代替処置治療法に関する良好な候補者として同定される。

20

30

【0015】

別の関連する態様において、患者は、対照と比べ、試験試料において1つもしくは複数のTh1バイオマーカー(たとえば、IL-12p70)が高レベル、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原(たとえば、NLRP4)に対する抗体が低レベルであると決定された場合に、患者は、腫瘍溶解性ウイルス処置に応答する可能性があるとして判定される。たとえば、先に記述した段階(b)は、腫瘍溶解性ウイルス処置に応答しない同じ癌を有する対象からの1つもしくは複数のTh1バイオマーカーおよび/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルと比べ、試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカーおよび/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルを検出する段階であって、処置に応答しない同じ癌を有する対象における1つもしくは複数のTh1バイオマーカーがより高レベルであれば、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体がより低レベルであれば、患者が腫瘍溶解性ウイルスによる処置に応答性であることを示す段階を含みうる。好ましくは、患者の試験試料および対象の試料は同じ時点で採取され

40

50

る。従って、本明細書において記述されるバイオマーカの発現パターンは、腫瘍溶解性ウイルスによる処置に応答する可能性がある癌を有する患者を同定するために有用である。これらの患者は、腫瘍溶解性ウイルスを投与するための良好な候補者であり、ウイルスを投与されう。

【0016】

他の態様において、(a)対象の試験試料において対象の免疫状態を示す1つまたは複数のバイオマーカを測定または検出する段階、(b)治療に応答する可能性があるかまたは治療に応答しない可能性がある癌を有する対象を、1つまたは複数のバイオマーカのレベルに基づいて同定する段階であって、対象の免疫状態がTh1偏向を示す場合は好ましい応答である可能性がある段階、および任意で(c)好ましい応答である可能性がある対象に腫瘍溶解性ウイルス治療を行う段階を含む、腫瘍溶解性ウイルス治療に対する応答性に関して癌患者を評価する方法が提供される。ある局面において、バイオマーカは、サイトカイン、細胞表面マーカ、または抗体である。

10

【0017】

1つの局面において、腫瘍溶解性ウイルスを投与することによって癌を処置する方法に対象が治療的に応答する可能性を予測する方法は、以下の段階：(a)ウイルスを投与する前に、対象のTh1および/またはTh2免疫状態を判定するために適した少なくとも1つのバイオマーカの発現レベルを測定する段階、(b)段階(a)の発現レベルを既定の対照と比較する段階であって、対照と比べ、Th1免疫状態の1つもしくは複数のバイオマーカが増加すれば、および/または対照と比べ、Th2免疫状態の1つもしくは複数のバイオマーカが減少すれば、対象が癌を処置する方法に治療的に応答する可能性が増加していることを示す段階、ならびに任意で(c)応答の可能性の増加が示された場合に、腫瘍溶解性ウイルスを対象に投与する段階を含む。

20

【0018】

別の局面において、癌患者における1つまたは複数のバイオマーカの発現レベルは、腫瘍溶解性ウイルス治療を受けている患者の臨床転帰を予測する手段として複数の時点で評価される。この方法は、患者が腫瘍溶解性ウイルスによる処置を継続すべきか否か、または患者がTh1表現型を生じる剤の同時投与の候補者であるか否かを判定するために、一定期間にわたって患者からの2つまたはそれより多くの試験試料において、少なくとも1つのTh1バイオマーカ、および/または少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対する抗体を測定する段階を含む。初期の時点の同じTh1バイオマーカおよび/または抗体のレベルと比較して、少なくとも1つのTh1バイオマーカが減少すれば、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体が増加すれば、患者が転帰不良のリスクを有することを示している。または、同じ処置を受けている別の患者における同じTh1バイオマーカおよび/または抗体のレベルと比較して、少なくとも1つのTh1バイオマーカが減少すれば、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体が増加すれば、患者が転帰不良のリスクを有することを示している。従って、1つの態様において、(a)腫瘍溶解性ウイルスを投与する段階、(b)第一の時点およびその後の第二の時点で1つもしくは複数のTh1バイオマーカ、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルを測定する段階、ならびに(c)第一の時点と第二の時点で1つもしくは複数のTh1バイオマーカ、および/または1つもしくは複数の腫瘍抗原に対する抗体のレベルを比較する段階であって、第一の時点と比較して第二の時点で、または同じ癌を有し、同じ腫瘍溶解性ウイルスを投与した同じ癌を有する別の患者における同じTh1バイオマーカおよび/または抗体のレベルと比較して、1つもしくは複数のTh1バイオマーカが減少すれば、および/または1つもしくは複数の腫瘍抗原に対する抗体が増加すれば、患者が腫瘍溶解性ウイルスによる処置に対して非応答性であることを示す段階を含む、癌を有するかまたは癌を有することが疑われる患者における癌を処置する方法が提供される。腫瘍溶解性ウイルス治療は、ウイルスに対して非応答性であると同定された患者において中止されう；またはTh1表現型を生じる1つまたは複数の剤が、ウイルスと共に患者へ同時投与されう。

30

40

50

【0019】

1つの局面において、Th1免疫状態のバイオマーカー（すなわち、Th1バイオマーカー）は、IL-1、IL-2、IL-8、IL-12、IL-18、IFN- γ 、TNF- α 、TNF- β 、GM-CSF、切断型カスパーゼ-3、ネオプテリン、および 2-ミクログロブリンなどの免疫調節剤を含むがこれらに限定されるわけではない。Th1バイオマーカーは、本明細書において記述される方法に従って単独または任意の組み合わせで用いられうる。好ましい態様において、IL1、IL-2、IL-8、IL-12、IL-18、IFN- γ 、TNF- α 、TNF- β 、GM-CSF、切断型カスパーゼ-3、ネオプテリン、および 2-ミクログロブリンからなる群より選択される、少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、または12個全てのTh1バイオマーカーの発現を、患者の試験試料において測定する。特に好ましい態様において、IL-12の発現と、任意でIL1、IL-2、IL-8、IL-18、IFN- γ 、TNF- α 、TNF- β 、GM-CSF、切断型カスパーゼ-3、ネオプテリン、および 2-ミクログロブリンからなる群より選択される、少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、または少なくとも10個のバイオマーカーの発現が、患者の試験試料において測定される。他の好ましい態様において、IL1、IL-2、IL-8、IL-12、IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、および切断型カスパーゼ-3からなる群より選択される少なくとも1、2、3、4、5、6、7、または8個全てのTh1バイオマーカーの発現が、患者の試験試料において測定される。既定の対照と比べ、これらのバイオマーカーのいずれか（および好ましくは大部分または全て）の発現が上昇すれば、患者が腫瘍溶解性ウイルス治療に应答する可能性が増加していることを示している。たとえば、10個のTh1バイオマーカーを患者の試験試料において評価する場合、これらのバイオマーカーの1、2、3、4、5、6、7、8、または9個が任意の組み合わせで高レベルであれば、またはこれらのバイオマーカーの10個全てが高レベルであれば、患者が腫瘍溶解性ウイルス治療に対して好ましい应答を示す可能性があることを示していると理解すべきである。

10

20

【0020】

他の局面において、Th2免疫状態のバイオマーカー（すなわち、Th2バイオマーカー）は、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、TGF- β 、およびリン酸化STAT3を含むがこれらに限定されるわけではない。Th2バイオマーカーは、本明細書において記述される方法に従って、単独でまたは任意の組み合わせで用いられうる。好ましくは、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、TGF- β 、およびリン酸化STAT3からなる群より選択される少なくとも1個、少なくとも2個、3個、4個、5個、または少なくとも6個のTh2バイオマーカーが、患者の試験試料において測定される。たとえば患者の試験試料において5個のTh2バイオマーカーを評価する場合、これらのバイオマーカーの1、2、3、または4個が任意の組み合わせで高レベルであれば、またはこれらのバイオマーカーの5個全てが高レベルであれば、患者が腫瘍溶解性ウイルス治療に対して好ましい应答を示さない可能性があることを示していると理解すべきである。

30

【0021】

関連する態様において、IL1、IL-2、IL-8、IL-12、IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF、および切断型カスパーゼ-3からなる群より選択される少なくとも1個、2、3、4、5、6、7個、または8個全てのTh1バイオマーカー、ならびにIL-6、IL-10、およびリン酸化STAT3 (Tyr 705) からなる群より選択される少なくとも1個、少なくとも2個、または3個全てのTh2バイオマーカーの発現が、本発明の方法に従って患者の試験試料において測定される。特に好ましい態様において、方法は、IL-12の発現と、任意でIL1、IL-2、IL-8、IFN- γ 、GM-CSF、TNF- α 、および切断型カスパーゼ-3からなる群より選択される少なくとも1個、2、3、4、5、6、または7個全てのTh1バイオマーカーの発現を測定する段階、ならびにIL-6、IL-10、およびリン酸化STAT3 (Tyr705) からなる群より選択される少なくとも1個、2個、または3個全てのバイオマーカーの発現を測定する段階を含む。既定の対照と比べ、Th1バイオマーカーのいずれか（および好ましくは全て）の発現が上昇すれば、およびTh2バイ

40

50

オマーカーのいずれか（および好ましくは全て）の発現が類似であるかまたは減少すれば、対象が腫瘍溶解性ウイルス治療に应答する可能性が増加していることを示している。好ましくは、Th1バイオマーカーおよびTh2バイオマーカーの発現を計算し、Th1/Th2バイオマーカー発現比を計算して、既定の対照より比率が高ければ、対象が腫瘍溶解性ウイルス治療に应答する可能性が増加していることを示している。たとえば、比率が0.2、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、5.0またはそれより上であれば、対象が腫瘍溶解性ウイルス治療に应答する可能性が増加していることを示している。関連する態様において、方法は、対象の試験試料において、IL-12の発現、および任意でIL-6またはIL-10の発現を測定する段階であって、既定の対照と比べ、IL-12/IL-6および/またはIL-12/IL-10の発現比率が増加すれば、対象が腫瘍溶解性ウイルス治療に应答する可能性が増加していることを示す段階を含む。

10

【0022】

別の局面において、Th1免疫状態のバイオマーカーは、CXCR3、CCR5、CCR1、ならびにIL-12受容体 1鎖および 鎖を含むがこれらに限定されるわけではない細胞表面マーカーを含む。他の局面において、Th2免疫状態のバイオマーカーは、CXCR4、CCR3、CCR4、CCR7、CCR8、IL-1受容体およびCD30を含むがこれらに限定されるわけではない細胞表面マーカーを含む。

【0023】

別の局面において、癌患者の免疫状態を判定する手段として測定されうるバイオマーカーは、BRAF、CABYR、CRISP3、CSAG2、CTAG2、DHFR、FTHL17、GAGE1、LDHC、MAGEA1、MAGEA3、MAGEA4、MAGEB6、MAPK1、MICA、MUC1、NLRP4、NYESO1、P53、PBK、PRAME、SOX2、SPANXA1、SSX2、SSX4、SSX5、TSGA10、TSSK6、TULP2、XAGE2、およびZNF165からなる群より選択される腫瘍関連抗原（たとえば、癌/精巢抗原）に対する抗体を含むがこれらに限定されるわけではない。抗腫瘍関連抗原抗体バイオマーカーは、本明細書において記述される方法に従って単独でまたは任意の組み合わせで用いられうる。従って、BRAF、CABYR、CRISP3、CSAG2、CTAG2、DHFR、FTHL17、GAGE1、LDHC、MAGEA1、MAGEA3、MAGEA4、MAGEB6、MAPK1、MICA、MUC1、NLRP4、NYESO1、P53、PBK、PRAME、SOX2、SPANXA1、SSX2、SSX4、SSX5、TSGA10、TSSK6、TULP2、XAGE2、およびZNF165からなる群より選択される、少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29個、または少なくとも30個の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現レベルが、本明細書において記述される方法に従って試験試料において測定されうる。好ましくは、CABYR、MAGEA1、MAGEA3、MAGEB6、NLRP4、NYESO1、PBK、SSX2、SSX5、およびZNF165からなる群より選択される少なくとも1個、少なくとも2個、3、4、5、6、7、8、または少なくとも9個の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現レベルが、患者の試験試料において測定される。関連する態様において、NLRP4に対する抗体、ならびに任意でCABYR、MAGEA1、MAGEA3、MAGEB6、NYESO1、PBK、SSX2、SSX5、およびZNF165からなる群より選択される少なくとも1個、2個、3、4、5、6、7、または少なくとも8個の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現レベルが、対象の試験試料において測定される。対照レベルと比較してこれらの腫瘍関連抗原の1つまたは複数の発現レベルが高ければ、患者が腫瘍溶解性ウイルス治療に应答する可能性が低いことを示している。たとえば、9個の腫瘍関連抗原に対する抗体（バイオマーカー）を、患者の試験試料において評価する場合、これらのバイオマーカーの1、2、3、4、5、6、7、または8個が、任意の組み合わせで高レベルであれば、またはこれらのバイオマーカーの9個全てが高レベルであれば、患者が腫瘍溶解性ウイルス治療に対して好ましい应答を示さない可能性があることを示していると理解すべきである。

20

30

40

【0024】

関連する態様において、IL1、IL-2、IL-8、IL-12、IFN-、TNF-、GM-CSF、および切断型カスパーゼ-3からなる群より選択される少なくとも1個、2、3、4、5、6、7、または8個全てのTh1バイオマーカーの発現、ならびにBRAF、CABYR、CRISP3、CSAG2、CTAG2、DHFR、FTHL17、GAGE1、LDHC、MAGEA1、MAGEA3、MAGEA4、MAGEB6、MAPK1、MICA、MUC1、NLR

50

P4、NYESO1、P53、PBK、PRAME、SOX2、SPANXA1、SSX2、SSX4、SSX5、TSGA10、TSSK6、TULP2、XAGE2、およびZNF165からなる群より選択される少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29個、または少なくとも30個の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現が、本発明の方法に従って、患者の試験試料において測定される。特に好ましい態様において、方法は、IL-12の発現、ならびに任意でIL1、IL-2、IL-8、IFN-、GM-CSF、TNF-、および切断型カスパーゼ-3からなる群より選択される少なくとも1個、2、3、4、5、6、または7個全てのTh1バイオマーカーの発現を測定する段階、ならびにCABYR、MAGEA1、MAGEA3、MAGEB6、NLRP4、NYESO1、PBK、SSX2、SSX5、およびZNF165からなる群より選択される少なくとも1個、少なくとも2個、3、4、5、6、7、8、または少なくとも9個の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現を測定する段階を含む。既定の対照と比べ、Th1バイオマーカーのいずれか（および好ましくは全て）の発現が上昇すれば、および/または腫瘍関連抗原に対する抗体のいずれか（および好ましくは全て）の発現が減少すれば、対象が腫瘍溶解性ウイルス治療に应答する可能性が増加していることを示している。

10

【0025】

好ましい態様において、患者から得られた試験試料は血清試料であり、IL-12および任意で少なくとも1つのさらなるTh1バイオマーカーのレベルは、たとえばELISAによって決定される。代わりにまたは追加で、少なくとも1つのTh2バイオマーカーレベル、および/またはNLRP4に対する抗体のレベル、および任意で少なくとも1つのさらなる腫瘍関連抗原のレベルが、患者の血清試料において測定される。

20

【0026】

さらに別の局面において、患者の免疫状態は、腫瘍溶解性ウイルスでの治療前または治療中に、患者の試験試料（たとえば、血清）中の1つまたは複数のTh1バイオマーカーレベル、および上記の1つまたは複数の腫瘍抗原に対する抗体のレベルを測定することによって判定される。従って、Th1バイオマーカーおよび1つまたは複数の腫瘍抗原に対する抗体の対照レベルと比較して、1つまたは複数のTh1バイオマーカー（たとえば、IL-12）が低レベルである、および1つまたは複数の腫瘍抗原（たとえば、NLRP4）に対する抗体が高レベルである患者は、腫瘍溶解性ウイルス治療に应答する可能性が低い。逆に、対照レベルと比較して、1つまたは複数のTh1バイオマーカーが高レベルである、および1つまたは複数の腫瘍抗原に対する抗体が低レベルである患者は、腫瘍溶解性ウイルス治療に対して好ましい应答を示す可能性がある。

30

【0027】

他の関連する局面において、方法は、対象の組織試料からリンパ球を単離する段階を含む。1つの局面において、CD4⁺およびCD8⁺ T細胞の濃度を測定して（たとえば、抗CD4および抗CD8抗体による処置後のフローサイトメトリー分析によって）、試験試料中のCD8⁺/CD4⁺細胞の比率を計算し、既定の対照と比べ、試験試料中のCD8⁺/CD4⁺細胞の比率が増加すれば、対象が腫瘍溶解性ウイルス治療に反応する可能性が増加していることを示している。別の局面において、リンパ球を対象の組織試料から単離して、FoxP3⁻/FoxP3⁺細胞の比率を計算し、既定の対照と比べ、試験試料中のFoxP3⁻/FoxP3⁺細胞の比率が増加すれば、対象が腫瘍溶解性ウイルス治療に应答する可能性が増加していることを示している。FoxP3は、細胞媒介性免疫を抑制するように作用する調節性T細胞において主に発現され、それゆえ調節性T細胞のマーカーとして役立つ。任意で、FoxP3は、調節性T細胞のレベルを決定する方法として、CD25およびCD4と共に測定される。CD4⁺、CD8⁺、または調節性T細胞は、たとえば、抗FoxP3、抗CD4、抗CD8、抗CD38、および抗HLA-DR抗体によって検出することができる。T細胞サブセットに対して特異的な表面マーカープロファイルは、当技術分野において公知である。

40

【0028】

関連する局面において、方法は、患者の少なくとも1つの試験試料において、(i) 試料中の総リンパ球に対するCD4⁺細胞、CD8⁺細胞、および任意でFOX3⁺細胞の割合、ならびに(ii) 少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対する抗体レベル、ならびに/または(iii) 少な

50

くとも1つのTh1バイオマーカーレベルを測定する段階であって、既定の対照と比べ、CD4⁺および/またはFOXP3⁺細胞の割合が総リンパ球の50、60、70、80、または90%より高ければ、および/または少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対する抗体レベルが高ければ、および/またはTh1バイオマーカーレベルが低ければ、対象が腫瘍溶解性ウイルス治療に应答する可能性が低いことを示している段階を含む。逆に、既定の対照と比べ、CD4⁺および/またはFOXP3⁺細胞と比べCD8⁺細胞の割合が高ければ、および/または少なくとも1つの腫瘍関連抗原に対する抗体レベルが低ければ、および/またはTh1バイオマーカーレベルが高ければ、対象が腫瘍溶解性ウイルス治療に应答する可能性が高いことを示している。

【0029】

別の態様において、以下の段階：(a)処置期間中に対象に腫瘍溶解性ウイルスを投与する段階、(b)対象の試験試料において1つまたは複数のTh1バイオマーカーおよび/またはTh2バイオマーカーを試験期間中に少なくとも2回測定する段階、および(c)1つまたは複数のTh1バイオマーカーのレベルの減少が検出された場合に、(c)(1)腫瘍溶解性ウイルスと共にTh1刺激剤を同時投与する段階、または(c)(2)腫瘍溶解性ウイルスの投与を中止する段階を含む、対象における癌を処置する方法が提供される。任意で、ベースライン測定を提供するために、処置期間の直前または開始時に、1つまたは複数のTh1バイオマーカーおよび/またはTh2バイオマーカーを試験試料において測定する。処置期間中に1つまたは複数のTh1バイオマーカーが減少すれば、Th1刺激剤とウイルスとの同時投与が必要であることを示しているか、あるいは特に1つまたは複数のTh2バイオマーカーレベルが減少しなければ(たとえば、実質的に同じままであるか、増加すれば)、腫瘍溶解性ウイルス治療の中止が必要であることを示している。

【0030】

方法に従って対象から得られた試験試料は、組織(たとえば、腫瘍生検)、脳脊髄液(CSF)、リンパ、血液、血漿、血清、末梢血単核球(PBMC)、リンパ液、リンパ球、滑液、および尿から得られた1つまたは複数の試料を含むがこれらに限定されるわけではない。特定の態様において、試験試料は、CSFまたは腫瘍組織から得られる。他の特定の態様において、試験試料を腫瘍組織から得て、たとえば試料中のCD4⁺および/またはCD8⁺細胞の相対数を決定する、および/またはたとえば、固定して透過性にした試料の細胞を、Th1サイトカインおよび/またはTh2サイトカインに対する抗体によって免疫蛍光染色することによって、試料中の1つまたは複数のTh1サイトカインレベルおよび/またはTh2サイトカインレベルを測定する。他の特定の態様において、試験試料を血液から得て、たとえば試料中の1つまたは複数のTh1サイトカインレベルおよび/またはTh2サイトカインレベルをELISAによって測定する。

【0031】

広い局面において、本発明はまた、腫瘍溶解性ウイルスと、Th1免疫表現型を生じる1つまたは複数の剤とを患者に同時投与する段階を含む、患者における癌を処置するための併用療法を提供する。腫瘍溶解性ウイルス(たとえば、アデノウイルス)と免疫刺激剤の両方を用いるこの方法論は、免疫系の活性化により、おそらくデルタ-24-RGDなどのウイルスによって生じる腫瘍溶解レベルが減少しうることから、常識的には逆である。活性化した免疫系は、速度を増してウイルスを消失させて、従って腫瘍溶解性ウイルス治療の有効性を減少させると予想される。実際に、Th1应答の発生を遅らせることが、腫瘍溶解治療の効能にとって重要であることが証拠により示唆されている。しかし、本発明者らは意外にも、X線検査により、強い腫瘍应答を示すと共に生存の延長を示す患者が、ウイルスの複製、免疫刺激、およびT細胞媒介細胞障害性の活性化を示すことを発見した。逆に言えば、本発明者らは、意外にも、比較的強いTh1プロファイルを示す患者が腫瘍溶解治療に対して陽性应答を示す可能性がより高いことを発見した。

【0032】

患者においてTh1免疫表現型を生じる剤を、腫瘍溶解性ウイルスの投与前、投与時、または投与後に投与することができる。1つの態様において、本明細書においてこれまでに記述された方法のいずれかに従って腫瘍溶解性ウイルス治療に対して好ましい应答を示さ

ないリスクを有すると判定された癌患者に、1つまたは複数のTh1刺激剤を、本発明の1つもしくは複数のTh1バイオマーカーレベルを増加させるために十分な量で、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカーレベルを減少させるために十分な量で、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルを減少させるために十分な量で、ウイルスと同時投与する。好ましい態様において、腫瘍溶解性ウイルス治療に対して好ましい応答を示すように患者の免疫系を「プライミング」して、それゆえ患者が良好な臨床転帰を有する可能性を増加させるために、腫瘍溶解性ウイルスを投与する前に、Th1免疫表現型を生じる1つまたは複数の剤を患者に投与する。別の態様において、本明細書においてこれまで記述された方法のいずれかに従って腫瘍溶解性ウイルス治療に対して好ましい応答を示す可能性があるとして判定された癌患者に、1つまたは複数のTh1刺激剤を、

10

【0033】

ある態様は、(i)複製コンピテント腫瘍溶解性ウイルス(たとえば、アデノウイルス)、および(ii)細胞性免疫系を上方制御または活性化する剤、を投与する段階を含む、患者における癌を処置する方法に向けられる。剤は、ウイルスの投与前、投与中、または投与後に投与することができる。細胞性免疫系の上方制御または活性化は、細胞性免疫系を刺激すること、または細胞性免疫の阻害を抑制することのいずれかによって行われうる。方法は、原発腫瘍または転移によって形成された腫瘍を処置するために用いることができる。ある局面において、ウイルスは、標的指向部分をさらに含む。さらなる局面において、複製コンピテントウイルスは、デルタ-24などのアデノウイルスである。なおさらなる局面において、デルタ-24アデノウイルスは、標的指向部分を含む。ある局面において、標的指向部分は、RGD含有ペプチドである。ある局面において、RGDまたは他の天然に存在する細胞表面結合ペプチドは、腫瘍溶解性ウイルスに免疫学的特権を与え、それによって、免疫系の活性が上昇している間にわたってウイルスが治療上有効であり続けることができる。

20

30

【0034】

1つの好ましい態様において、(a)サイトカイン(たとえば、組換え型IL-12p70または組換え型IFN-)、またはIL-12p70もしくはIFN- などのTh1サイトカインの産生を増加させる1つもしくは複数の剤(たとえば、レブラミドまたはレナリドミド)を患者に投与する段階、(b)腫瘍溶解性ウイルス(たとえば、デルタ-24-RGD)を患者に投与する段階、および任意で(c)調節性T細胞を抑制する剤(たとえば、テモゾロミド、シクロホスファミド、CCNU、BCNU、メルファラン、ブスルファン)および/または細胞媒介性免疫応答を刺激する剤(たとえば、イピリムマブ、トレメリムマブ、MDX-1106、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ、MDX-1105)を患者に投与する段階を含む、患者において癌を処置する方法が提供される。好ましくは、腫瘍溶解性ウイルスは、腫瘍の1つまたは多数の領域への腫瘍内注射によって投与される。患者は、本発明の方法によって、腫瘍溶解性ウイルス治療に応答する可能性があるとして既に判定されていてもよく、または腫瘍溶解性ウイルス治療に応答しない可能性があるとして既に判定されていてもよい。好ましくは、サイトカイン、またはTh1サイトカインの産生を増加させる剤を、腫瘍溶解性ウイルスの前に投与して、および調節性T細胞を抑制するおよび/または細胞性免疫応答を刺激する剤を、腫瘍溶解性ウイルスでの治療中または治療後に投与する。関連する態様において、段階(a)は、更にまたは代わりに、IL-10およびIL-4などのTh2サイトカインの産生を抑制する1つまたは複数の剤を投与する段階を含む。

40

【0035】

50

ある局面において、Th1表現型を生じる剤は、腫瘍溶解性ウイルスの投与前、または投与後、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24 時間目、1、2、3、4、5、6、7日目、またはそれ以降の日、1、2、3、4週間目、または1、2、3、4、5、6ヶ月目に、その間の全ての値および範囲を含む時期に、患者に投与される。好ましい態様において、Th1表現型を生じる剤は、腫瘍溶解性ウイルスの投与前に投与され、任意でウイルスの投与後も継続される。1つの態様において、Th1表現型を生じる剤は、腫瘍溶解性ウイルスの投与前または投与後の1から14日間患者に投与される。別の態様において、Th1表現型を生じる剤は、腫瘍溶解性ウイルスの投与前または投与後1週間から4週間投与される。他の態様において、剤は、腫瘍溶解性ウイルスと共に患者へ同時に投与される。

10

【0036】

ある局面において、細胞性免疫機能の評価は、腫瘍溶解性ウイルスまたは免疫活性化剤の投与前、投与時、または投与後に、たとえば本明細書において記述される1つまたは複数のTh1バイオマーカーおよび/またはTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体の血中レベルを測定することによって行われる。または、抗原提示細胞（たとえば、マクロファージ、樹状細胞、星細胞、およびミクログリア）、細胞障害性T細胞、またはナチュラルキラー細胞などの免疫細胞浸潤を、腫瘍からの生検試料において検出することができる。

【0037】

1つの局面において、腫瘍浸潤CD4⁺およびCD8⁺リンパ球の濃度を評価して、対照と比較して高いCD4⁺/CD8⁺比を有する（Th2プロファイルを示す）患者に、複製コンピテント腫瘍溶解性ウイルスと、細胞性免疫系を上方制御または活性化する剤を、同時に、個別に、または連続して同時投与する。別の局面において、対象の試験試料（たとえば、生検または末梢血単核球）中のTh1/Th2 CD4⁺細胞の相対数を、CD4と、1つもしくは複数のTh1サイトカイン（たとえば、IL-12p70またはIFN- γ ）およびTh2サイトカイン（たとえば、IL-4）との共発現を測定する段階、ならびにTh1/Th2 CD4⁺細胞の相対数を決定する段階によって決定する。好ましくは、細胞を、刺激して（たとえば、ホルホルエステルに加えてイオノマイシンによって）、固定し、透過性にして、適切な抗体によって染色し、フローサイトメトリー分析に供する。1つの態様において、Th1プロファイルを示す1つまたは複数のサイトカインレベルを、血液、血清、または他の液体中で測定することができる。1つの局面において、適切な対照と比較してTh1サイトカインが低レベルである患者、または適切な対照と比較してTh2サイトカインが高レベルである患者に、複製コンピテント腫瘍溶解性ウイルスと、細胞性免疫系を上方制御または活性化する剤を同時投与する。

20

30

【0038】

関連する態様において、IL1、IL-2、IL-8、IL-12、IL-18、IFN- γ 、TNF- α 、TNF- β 、およびGM-CSFからなる群より選択される1つまたは複数のTh1サイトカインが測定される。切断型カスペーゼ-3、ネオプテリン、および2ミクログロブリンなどの他のTh1バイオマーカーも同様に、Th1プロファイルの一部として測定されうる。別の関連する態様において、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、およびIL-13およびTGF- β からなる群より選択される1つまたは複数のTh2サイトカインが測定される。リン酸化STAT3 (Tyr 705)などの他のTh2バイオマーカーも同様に、Th2プロファイルの一部として測定されうる。他の局面において、Th1プロファイルおよび/またはTh2プロファイルを示すサイトカインまたは他のバイオマーカーを、腫瘍溶解性ウイルス（たとえば、アデノウイルス）治療の際にモニターして、治療中にTh1プロファイルからTh2プロファイルへのシフトを示す患者に、細胞性免疫系を上方制御または活性化する剤を投与する。治療によって誘導される壊死を検出および/または測定することができる。

40

【0039】

ある態様において、Th1表現型を生じる（細胞性免疫系を上方制御または活性化する）剤は、細胞性免疫の抑制物質のアンタゴニスト（細胞性免疫抑制のアンタゴニスト）である。細胞性免疫抑制のアンタゴニストは、細胞性免疫系を抑制する細胞または分子に作用

50

する剤である。細胞性免疫抑制のアンタゴニストは、イピリムマブ (Yervoy (商標)としても知られる、MDX-010またはMDX-101; Bristol-Myers Squibbによって開発されたCTLA-4に対するヒト化モノクローナル抗体)、およびトレメリムマブ (これまでのチシリムマブ、CP-675,206; CTLA-4に対するヒト化モノクローナル抗体、MedImmune/Astrazeneca)などの細胞障害性Tリンパ球抗原4 (CTLA-4; CD152としても知られる)アンタゴニスト; MDX-1106 (-PD-1ヒト化モノクローナル抗体、Bristol-Myers Squibb)、MK-3475 (-PD-1ヒト化モノクローナル抗体、Merck)、AMP-224 (PD-1トリガンドB7-DCおよびB7-H1との相互作用を遮断するFc-PD-1融合タンパク質; Glaxo Smith Kline)、ピジリズマブ (CT-011としても知られる; PD-1に対するヒト化モノクローナル抗体、Chirotech)、MDX-1105 (-PD-L1ヒト化モノクローナル抗体、Bristol-Myers Squibb)などのPD-1/PD-L1受容体アンタゴニスト; MGA271 (-B7-H3ヒト化モノクローナル抗体、Microgenics)などのB7-H3に特異的に結合する抗体、またはその内容が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許出願公開第2012-0294796号に記述される他の抗体; またはD-1-メチル-トリプトファン (Lunate)などのインドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ (IDO) 阻害剤、およびその内容が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第7,799,776号に記述される他の化合物を含む。

10

【0040】

ある態様において、細胞性免疫系を上方制御する剤は、細胞性免疫系刺激物質である。免疫刺激物質は、対象に導入した場合に、細胞媒介性免疫応答の活性の増加が起こる、低分子、ペプチド、ポリペプチド (たとえば、抗体)、または細胞である。免疫刺激物質は、BMS-663513 (-CD137ヒト化モノクローナル抗体アゴニスト、Bristol-Myers Squibb)を含むがこれらに限定されるわけではないCD137アゴニスト; CP-870,893 (-CD40ヒト化モノクローナル抗体、Pfizer)などのCD40に対するアゴニスト; OX40 (CD 134)アゴニスト (たとえば、抗OX40ヒト化モノクローナル抗体、AgonOx、および米国特許第7,959,925号に記述される抗体); またはCDX-1127 (-CD27ヒト化モノクローナル抗体、Celldex)などのCD27に対するアゴニストなどの、共刺激経路アゴニストを含む。

20

【0041】

ある局面において、免疫刺激物質は、SIRP Fc (Trillium Therapeutics Inc.)およびその内容が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許出願公開第2012/0189625号に記述される他の阻害剤を含むがこれらに限定されるわけではない、モノクローナル抗体または低分子阻害剤のいずれかによるCD47またはSIRP のアンタゴニストなどの、デルタ-24-RGD抗原に対して抗原提示細胞を誘導または刺激する剤である。

30

【0042】

腫瘍の免疫抑制を妨害する低分子阻害剤は、レスタウルチニブ (CEP-701水和物、(9S, 10S, 12R)-2,3,9,10,11,12-ヘキサヒドロ-10-ヒドロキシ-10-(ヒドロキシメチル)-9-メチル-9,12-エポキシ-1H-ジインドロ [1,2,3-fg:321 kl]ピロロ [3,4-i][1,6]ベンゾジアゾシン-1-オン; Sigma-Aldrich; JAK-2阻害剤)、パクリチニブ (SB1518; 11-(2-ピロリジン-1-イル-エトキシ)-14,19-ジオキサ-5,7,26-トリアザ-テトラシクロ [19.3.1.1(2,6).1(8,12)]ヘプタコサ-1(25),2(26),3,5,8,10,12(27),16,21,23-デカエン; JAK-2/FLT3阻害剤); トファシチニブ (CP-690550; 3-[(3R,4R)-4-メチル-3-[メチル(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)アミノ]ピペリジン-1-イル]-3-オキソプロパンニトリル; JAK-3阻害剤、Pfizer); ルキソリチニブ ((3R)-3-シクロペンチル-3-[4-(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)ピラゾール-1-イル]プロパンニトリル; JAK-1/JAK-2阻害剤、IncyteおよびNovartis); CYT387 (JAK-2阻害剤; N-(シアノメチル)-4-[2-(4-モルフォリノアニリノ)ピリミジン-4-イル]ベンズアミド; YM BioSciences); パリシチニブ (LY3009104; 2-[1-エチルスルホニル-3-[4-(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)ピラゾール-1-イル]アゼチジン-3-イル]アセトニトリル; JAK-1/JAK-2阻害剤); およびTG101348 (N-tert-ブチル-3-{5-メチル-2-[4-(2-ピロリジン-1-イル-エトキシ)-フェニルアミノ]-ピリミジン-4-イルアミノ}-ベンゼンスルホンアミド; JAK-2阻害剤)などの JAK-2、JAK-3、STAT-3、またはSTAT-5の阻害剤を含む。

40

50

【 0 0 4 3 】

さらなる局面において、ウイルスに対する患者の応答を改善するために、腫瘍溶解性ウイルスでの治療前または治療中に、GM-CSF、IL-2、IL-12、IL-18、およびインターフェロン-を含むがこれらに限定されるわけではないサイトカイン（好ましくは組換え型）などのTh1表現型を生じる（細胞性免疫応答を活性化する）1つまたは複数の生物学的修飾物質を、癌患者に投与することができる。IFN- およびIL-12は、Th2サイトカインの産生を阻害することが知られており、それゆえ、細胞性免疫応答を活性化するために特に好ましいサイトカインである。または、これらの患者に、レナリドミド（レブラミド）またはボマリドミドなどの、IL-12p70および/または他のTh1サイトカインの産生を刺激する1つもしくは複数の剤を投与することができる。関連する局面において、これらの患者に、代わりまたは追加で、腫瘍溶解性ウイルスでの治療前、治療中、または治療後に、テモゾロミド、シクロホスファミド、ロムスチン（CCNU）、ビス-クロロエチルニトロソウレア（BCNU）、塩酸メルファラン、ブスルファン（ブタン-1,4-ジイルジメタンスルホネート）、メクロレタミン（ナイトロジェンマスタード）、クロラムブシル、イフォスファミド、ストレプトゾシン、ダカルバジン（DTIC）、チオテパ、アルトレタミン（ヘキサメチルメラミン）、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチンを含むがこれらに限定されるわけではないアルキル化剤などの調節性T細胞を減少させる1つまたは複数の剤を投与することができる。別の関連する局面において、これらの患者に、腫瘍溶解性ウイルスでの治療前または治療中に、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、およびIL-13、特にIL-4およびIL-10などのTh2サイトカインを中和する1つまたは複数の剤を投与することができる；これらのTh2サイトカインは、Th1経路を抑制することから、その中和は、ウイルスに対する患者の応答を改善するはずである。

【 0 0 4 4 】

本発明者らは、デルタ-24-RGDなどの腫瘍溶解性ウイルスを投与する前にテモゾロミドなどのアルキル化剤を癌患者に投与すると、意外にも患者がウイルスに対して好ましい応答を示す可能性が増加することを発見した。理論に拘束されるものではないが、テモゾロミドなどのアルキル化剤による処置後の神経膠腫患者において誘発されたリンパ球減少症によって、腫瘍の環境においてTh2表現型優位からTh1表現型へのシフトが起こり得、それによって腫瘍溶解性ウイルスによる処置に対して腫瘍が受ける効果を増強しうることが考えられる。従って、本発明の好ましい態様において、患者にアルキル化剤を投与する段階、およびその後患者に腫瘍溶解性ウイルスを投与する段階を含む、患者において癌を処置する方法が提供される。好ましくは、患者は、神経膠腫などの原発性または転移脳腫瘍を有する患者であり、ウイルスは、デルタ-24またはデルタ-24-RGDなどのアデノウイルスであり、ならびにアルキル化剤は、テモゾロミド、シクロホスファミド、ロムスチン（CCNU）、ビス-クロロエチルニトロソウレア（BCNU）、塩酸メルファラン、およびブスルファン（ブタン-1,4-ジイルジメタンスルホネート）からなる群より選択される。特に好ましい態様において、アルキル化剤は、テモゾロミドである。アルキル化剤は、腫瘍溶解性ウイルスの投与前、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24 時間目、1、2、3、4、5、6、7日目、またはそれ以降の日、1、2、3、4週間目、または1、2、3、4、5、6ヶ月目に、その間の全ての値および範囲を含む時期に、投与することができる。

【 0 0 4 5 】

他の態様において、腫瘍溶解性ウイルスは、Th1応答を促進する1つまたは複数のアジュバントと共に同時投与され、その非制限的な例には、モノホスホリルリピッドA（MPL（登録商標））、QS-21（可溶性トリテルペン配糖体化合物を含む植物抽出物）、または他のサポニン、CpGを含むまたはCpGからなるオリゴデオキシヌクレオチド、およびリボソームタンパク質抽出物（RPE）が挙げられる。

【 0 0 4 6 】

ある局面において、本発明の方法に従って処置される癌は、中枢神経系の癌である。関連する局面において、癌は、星細胞の腫瘍（たとえば、星細胞腫、退形成性星細胞腫、膠

芽細胞腫、神経膠肉腫、重細胞性星細胞種、巨細胞星細胞腫、多形性黄色星状膠細胞腫)、乏突起神経膠腫、上衣腫、乏突起星細胞腫、海綿芽細胞腫、星芽腫、脈絡叢乳頭腫、脈絡叢癌、神経節細胞腫、神経節膠腫、神経細胞腫、神経上皮腫瘍、神経芽腫、松果体腫瘍(松果体腫、松果体芽腫、または混合松果体腫/松果体芽腫などの)、髄様上皮腫、髄芽腫、神経芽腫、神経節芽細胞腫、網膜芽腫、または上衣芽腫などの、しかしこれらに限定されるわけではない神経上皮腫瘍である。別の関連する局面において、癌は、トルコ鞍部腫瘍(下垂体腺腫、下垂体癌、または頭蓋咽頭腫などの)、造血腫瘍(原発性悪性リンパ腫、プラズマ細胞腫、または顆粒球性肉腫などの)、胚細胞腫瘍(胚細胞腫、胎生期癌、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌、奇形腫、または混合胚細胞腫瘍)、髄膜腫、間葉腫瘍、褐色細胞腫、または頭蓋もしくは脊髄神経の腫瘍(神経鞘腫、または神経線維腫などの)などの、しかしこれらに限定されるわけではない中枢神経系新生物である。特定の局面において、癌は、低悪性度神経膠腫(たとえば、上衣腫、星細胞腫、乏突起神経膠腫、または混合型神経膠腫)、または高悪性度(悪性)神経膠腫(たとえば、多形性神経膠芽腫)である。別の局面において、癌は、原発性または転移性脳腫瘍である。他の局面において、癌は、脳腫瘍幹細胞を含む原発性または転移性脳腫瘍である。好ましい態様において、癌は、脳腫瘍細胞幹細胞を含む悪性神経膠腫である。

10

【0047】

他の局面において、本発明の方法に従って処置される癌は、肺癌、卵巣癌、乳癌、子宮頸癌、膵臓癌、胃癌、結腸癌、皮膚癌、喉頭癌、膀胱癌、および前立腺癌を含むがこれらに限定されるわけではない。好ましくは、処置される癌は、阻害されたRb経路を示す。なお他の局面において、腫瘍溶解性ウイルスは、化生、異形成、または過形成などの過増殖障害を処置するために投与される。

20

【0048】

ある局面において、腫瘍溶解性ウイルスは、デルタ-24-RGDなどのアデノウイルスである。デルタ-24-RGDなどの腫瘍溶解性アデノウイルスは、肺、乳腺、前立腺、肉腫、および神経膠腫幹細胞を含む多様な細胞株において複製能を有する。従って、たとえば、デルタ-24-RGDなどの腫瘍溶解性アデノウイルスは、癌を処置するために、ウイルスの複製を許容する任意の癌を有する対象に投与されうる。

[本発明1001]

以下の段階を含む、癌を有するかまたは癌を有することが疑われる患者の腫瘍溶解性ウイルスに対する応答を予測する方法:

30

(a) 対照と比べ、患者の試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現レベルを決定する段階、

(b) 試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する1つまたは複数の抗体の発現レベルを、対照試料中の発現レベルと比較する段階であって、対照試料と比べ、試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体の発現レベルの変化によって、腫瘍溶解性ウイルスに対する患者の処置の応答を予測する段階。

40

[本発明1002]

対照と比べ、試験試料において1つもしくは複数のTh1バイオマーカーが低レベルである、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカーが高レベルである、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体が高レベルであると判定された場合に、患者が腫瘍溶解性ウイルス処置に応答しない可能性がある、本発明1001の方法。

[本発明1003]

対照と比べ、試験試料において1つもしくは複数のTh1バイオマーカーが高レベルである、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカーが低レベルである、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体が低レベルであると判定された場合に、

50

患者が腫瘍溶解性ウイルス処置に応答する可能性がある、本発明1001の方法。

[本発明1004]

段階(b)が、

腫瘍溶解性ウイルスによる処置に応答性である同じ癌を有する対象からの1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルと比べ、試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルを検出する段階であって、処置に応答性である同じ癌を有する対象における1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルと比較して、試験試料中の1つもしくは複数のTh1バイオマーカーが低レベルであれば、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカーが高レベルであれば、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体が高レベルであれば、患者が腫瘍溶解性ウイルスによる処置に応答しない可能性があることを示す、段階を含む、本発明1001~1003のいずれかの方法。

10

[本発明1005]

1つまたは複数のTh1バイオマーカーが、IL-12p70を含み、任意でIL-1、IL-2、IL-8、IL-18、IFN- γ 、TNF- α 、TNF- β 、GM-CSF、切断型カスパーゼ-3、ネオプテリン、および2-ミクログロブリンからなる群より選択される少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、または少なくとも10個の追加のバイオマーカーを含む、本発明1001~1004のいずれかの方法。

20

[本発明1006]

1つまたは複数のTh2バイオマーカーが、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、TGF- β およびリン酸化STAT3からなる群より選択される、本発明1001~1005のいずれかの方法。

[本発明1007]

1つまたは複数の腫瘍関連抗原が、BRAF、CABYR、CRISP3、CSAG2、CTAG2、DHFR、FTHL17、GAGE1、LDHC、MAGEA1、MAGEA3、MAGEA4、MAGEB6、MAPK1、MICA、MUC1、NLRP4、NYESO1、P53、PBK、PRAME、SOX2、SPANXA1、SSX2、SSX4、SSX5、TSGA10、TSSK6、TULP2、XAGE2、およびZNF165からなる群より選択される、本発明1001~1006のいずれかの方法。

30

[本発明1008]

1つまたは複数の腫瘍関連抗原が、NLRP4を含み、任意でCABYR、MAGEA1、MAGEA3、MAGEB6、NYESO1、PBK、SSX2、SSX5、およびZNF165からなる群より選択される少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、または少なくとも8個の腫瘍関連抗原を含む、本発明1007の方法。

[本発明1009]

1つまたは複数のTh1バイオマーカーおよび1つまたは複数のTh2バイオマーカーのレベルが決定されて、対照と比較される、本発明1001~1008のいずれかの方法。

[本発明1010]

1つまたは複数のTh1バイオマーカーのレベルおよび1つまたは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルが決定されて、対照と比較される、本発明1001~1009のいずれかの方法。

40

[本発明1011]

患者が腫瘍溶解性ウイルスに応答する可能性があるとして判定された場合に、患者に腫瘍溶解性ウイルスを投与する段階をさらに含む、本発明1001~1010のいずれかの方法。

[本発明1012]

患者においてTh1表現型を生じる剤が、ウイルスと共に患者へ、同時に、個別に、または連続的に同時投与される、本発明1011の方法。

[本発明1013]

50

腫瘍溶解性ウイルス処置に応答しない可能性があるとして判定された患者へ、患者においてTh1表現型を生じる剤と腫瘍溶解性ウイルスとを、同時に、個別に、または連続的に同時投与する段階をさらに含む、本発明1001～1010のいずれかの方法。

[本発明1014]

剤が、イピリマブまたはトレメリマブなどのCTLA-4アンタゴニスト、MDX-1105、MDX-1106、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブなどのPD-1/PD-L1受容体アンタゴニスト、MGA271などの抗B7-H3抗体、D-1-メチル-トリプトファンなどのインドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ (IDO) 阻害剤、BMS-663513などのCD137アゴニスト、CP-870,893などのCD40アゴニスト、OX40 (CD134) アゴニスト、CDX-1127などのCD27アゴニスト、またはCD47/SIRPアンタゴニストである、本発明1012または1013の方法。

10

[本発明1015]

剤が、(9S, 10S, 12R)-2,3,9,10,11,12-ヘキサヒドロ-10-ヒドロキシ-10-(ヒドロキシメチル)-9-メチル-9,12-エポキシ-1H-ジインドロ [1,2,3-fg:321k1]ピロロ [3,4-i][1,6]ベンゾジアゾシン-1-オン; 11-(2-ピロリジン-1-イル-エトキシ)-14,19-ジオキサ-5,7,26-トリアザ-テトラシクロ [19.3.1.1(2,6).1(8,12)]ヘプタコサ-1(25),2(26),3,5,8,10,12(27),16,21,23-デカエン; 3-[(3R,4R)-4-メチル-3-[メチル(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)アミノ]ピペリジン-1-イル]-3-オキソプロパンニトリル; (3R)-3-シクロペンチル-3-[4-(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)ピラゾール-1-イル]プロパンニトリル; N-(シアノメチル)-4-[2-(4-モルフォリノアニリノ)ピリミジン-4-イル]ベンズアミド; 2-[1-エチルスルホニル-3-[4-(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)ピラゾール-1-イル]アゼチジン-3-イル]アセトニトリル; またはN-tert-ブチル-3-{5-メチル-2-[4-(2-ピロリジン-1-イル-エトキシ)-フェニルアミノ]-ピリミジン-4-イルアミノ}-ベンゼンスルホンアミドなどの JAK-2、JAK-3、STAT-3、またはSTAT-5阻害剤である、本発明1012または1013の方法。

20

[本発明1016]

剤が、GM-CSF、IL-2、IL-12、IL-18、およびインターフェロン- からなる群より選択されるTh1サイトカイン、またはレナリドミドもしくはボマリドミドなどのTh1サイトカインの産生を刺激する剤である、本発明1012または1013の方法。

[本発明1017]

患者においてTh1表現型を生じる剤が、腫瘍溶解性ウイルスの投与前に、腫瘍溶解性ウイルスの投与と同時に、または腫瘍溶解性ウイルスの投与後に投与されるが、好ましくは腫瘍溶解性ウイルスの投与前に投与される、本発明1012～1016のいずれかの方法。

30

[本発明1018]

試験試料が腫瘍溶解性ウイルスの投与前に患者から得られる、本発明1001～1017のいずれかの方法。

[本発明1019]

1つもしくは複数のTh1バイオマーカー、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカー、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルが、第一の時点で得られた少なくとも第一の試験試料および第二の時点で得られた第二の試験試料において測定される、本発明1001～1018のいずれかの方法。

40

[本発明1020]

第一の試料が、腫瘍溶解性ウイルスの投与前に得られ、第二の試料が該ウイルスの投与後に得られる、本発明1019の方法。

[本発明1021]

第二の試料において決定された発現レベルが第一の試料において決定された発現レベルと比較され、かつ

第一の試料と比較した第二の試料における、1つもしくは複数のTh1バイオマーカーのレベルの減少、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカーのレベルの増加、および/または1つもしくは複数の腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルの増加が、患者が腫瘍溶解性ウイルスに応答しないことを示す、本発明1020の方法。

50

[本発明1022]

患者がウイルスに応答していないことが判定された場合に、患者においてTh1表現型を生じる剤を投与する段階をさらに含む、本発明1021の方法。

[本発明1023]

試験試料が腫瘍生検、脳脊髄液（CSF）、リンパ、血液、血漿、血清、滑液、または尿試料である、本発明1001～1022のいずれかの方法。

[本発明1024]

試験試料が血清試料である、本発明1023の方法。

[本発明1025]

腫瘍溶解性ウイルスが、デルタ-24、デルタ-24-RGD、ICOVIR-5、ICOVIR-7、Onyx-015、ColoAd1、H101、またはAD5/3-D24-GMCSFなどのアデノウイルス、レオウイルス、OncoVEX GMCSFなどの単純ヘルペスウイルス、ニューカッスル病ウイルス、麻疹ウイルス、インフルエンザウイルスなどのレトロウイルス、ワクシニアウイルスなどのポックスウイルス、粘液腫ウイルス、水疱性口内炎ウイルスなどのラブドウイルス、セネカバレーウイルス（SVV-001）などのピコルナウイルス、コクサッキーウイルス、またはパルボウイルスである、本発明1001～1024のいずれかの方法。

[本発明1026]

ウイルスが、癌細胞選択性を増加させるための1つまたは複数の遺伝子改変を含む、本発明1025の方法。

[本発明1027]

腫瘍溶解性ウイルスがアデノウイルスである、本発明1025または1026の方法。

[本発明1028]

アデノウイルスが、デルタ-24またはデルタ-24-RGDである、本発明1027の方法。

[本発明1029]

ウイルスが腫瘍内注射、静脈内もしくは動脈内注射などの血管内注射によって、または神経幹細胞もしくは間葉幹細胞などのウイルス産生幹細胞担体中で投与される、本発明1001～1028のいずれかの方法。

[本発明1030]

患者がヒトである、本発明1001～1029のいずれかの方法。

[本発明1031]

以下の段階を含む、癌を有するかまたは癌を有することが疑われる患者における癌を処置する方法：

(a) 処置期間中に腫瘍溶解性ウイルスを投与する段階、

(b) 第一の時点およびその後の第二の時点で1つまたは複数のTh1バイオマーカーおよび/またはTh2バイオマーカーのレベルを測定する段階、

(c) 第一の時点および第二の時点で1つまたは複数のTh1バイオマーカーおよび/またはTh2バイオマーカーのレベルを比較する段階であって、第一の時点と比較して第二の時点での、1つもしくは複数のTh1バイオマーカーの減少、および/または1つもしくは複数のTh2バイオマーカーの増加が、患者が腫瘍溶解性ウイルスによる処置に対して非応答性であることを示す、段階。

[本発明1032]

患者が非応答者であることが判定された場合に、Th1刺激剤を腫瘍溶解性ウイルスと共に患者へ同時投与する段階をさらに含む、本発明1031の方法。

[本発明1033]

癌が、原発性脳腫瘍、転移性脳腫瘍、肺癌、乳癌、および前立腺癌からなる群より選択される、本発明1001～1032のいずれかの方法。

[本発明1034]

癌が低悪性度または高悪性度の神経膠腫である、本発明1033の方法。

[本発明1035]

癌が高悪性度の神経膠腫である、本発明1034の方法。

10

20

30

40

50

[本発明1036]

以下を患者に投与する段階を含む、癌を有するかまたは癌を有することが疑われる患者における癌を処置する方法：

(a) Th1サイトカイン、または1つもしくは複数のTh1サイトカインの産生を増加させる剤；

(b) 腫瘍溶解性ウイルス；および任意で

(c) 調節性T細胞を抑制する、および/または細胞媒介性免疫応答を刺激する剤。

[本発明1037]

サイトカイン、または1つもしくは複数のTh1サイトカインの産生を増加させる剤が、組換え型IL-12p70、組換え型IFN- γ 、レブラミド、およびレナリドミドからなる群より選択される、本発明1036の方法。

10

[本発明1038]

腫瘍溶解性ウイルスがデルタ-24-RGDなどのアデノウイルスである、本発明1036または1037の方法。

[本発明1039]

調節性T細胞を抑制する剤が、テモゾロミド(4-メチル-5-オキソ-2,3,4,6,8-ペントアザピシクロ[4.3.0]ノナ-2,7,9-トリエン-9-カルボキサミド)、シクロホスファミド((RS)-N,N-ビス(2-クロロエチル)-1,3,2-オキサザホスフィナン-2-アミン2-オキサイド)、ロムスチン(CCNU; N-(2-クロロエチル)-N'-シクロヘキシル-N-ニトロソウレア)、ビス-クロロエチルニトロソウレア(BCNU)、塩酸メルファラン(4[ビス(クロロエチル)アミノフェニルアラニン]、およびブスルファン(ブタン-1,4-ジイルジメタンスルホネート)からなる群より選択される、本発明1036~1038のいずれかの方法。

20

[本発明1040]

細胞媒介性免疫応答を刺激する剤が、CTLA-4アンタゴニスト、好ましくはイピリムマブまたはトレメリムマブ、PD-1/PD-L1受容体アンタゴニスト、好ましくはMDX-1106、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ、またはMDX-1105、B7-H3に特異的に結合する抗体、好ましくはMGA271、およびインドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)阻害剤、好ましくはD-1-メチル-トリプトファン(Lunate)から選択される、本発明1036~1038のいずれかの方法。

[本発明1041]

ウイルスが、多数の腫瘍部位への注射などの腫瘍内、静脈内もしくは動脈内などの血管内によって、または神経幹細胞もしくは間葉幹細胞などのウイルス産生幹細胞担体中で投与される、本発明1036~1040のいずれかの方法。

30

[本発明1042]

ウイルスが1回用量で投与される、本発明1001~1041のいずれかの方法。

[本発明1043]

ウイルスが 1×10^6 から 1×10^{13} プラーク形成単位(pfu)、好ましくは 1×10^7 から 1×10^{13} 、より好ましくは 1×10^8 から 1×10^{12} pfuの用量で投与される、本発明1001~1042のいずれかの方法。

[本発明1044]

Th1免疫表現型を生じる剤および腫瘍溶解性アデノウイルスを患者に同時投与する段階を含む、患者における原発性または転移性脳腫瘍を処置する方法。

40

[本発明1045]

Th1免疫表現型を生じる剤が、IL-12p70、IL-2、IFN- γ 、レブラミド、レナリドミド、イピリムマブ、トレメリムマブ、MDX-1106、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ、MDX-1105、MGA271、D-1-メチル-トリプトファン(Lunate)、テモゾロミド、シクロホスファミド、CCNU、BCNU、塩酸メルファラン、ブスルファン、メクロレタミン、クロラムブシル、イフォスファミド、ストレプトゾシン、ダカルバジン、チオテパ、アルトレタミン、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、BMS-663513、CP-870,893、OX40(CD134)アンタゴニスト、CDX-1127、CD47/SIRPアンタゴニスト、(9S, 10S, 12R)-2,3,9,10,11,12-

50

ヘキサヒドロ-10-ヒドロキシ-10-(ヒドロキシメチル)-9-メチル-9,12-エポキシ-1H-ジインドロ [1,2,3-fg:321k1]ピロロ [3,4-i][1,6]ベンゾジアゾシン-1-オン、11-(2-ピロリジン-1-イル-エトキシ)-14,19-ジオキサ-5,7,26-トリアザ-テトラシクロ [19.3.1.1(2,6).1(8,12)]ヘプタコサ-1(25),2(26),3,5,8,10,12(27),16,21,23-デカエン、3-[(3R,4R)-4-メチル-3-[メチル(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)アミノ]ピペリジン-1-イル]-3-オキソプロパンニトリル、(3R)-3-シクロペンチル-3-[4-(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)ピラゾール-1-イル]プロパンニトリル、N-(シアノメチル)-4-[2-(4-モルフォリノアニリノ)ピリミジン-4-イル]ベンズアミド、2-[1-エチルスルホニル-3-[4-(7H-ピロロ [2,3-d]ピリミジン-4-イル)ピラゾール-1-イル]アゼチジン-3-イル]アセトニトリル、およびN-tert-ブチル-3-{5-メチル-2-[4-(2-ピロリジン-1-イル-エトキシ)-フェニルアミノ]}-ピリミジン-4-イルアミノ}-ベンゼンスルホンアミドからなる群より選択される、本発明1044の方法。

[本発明1046]

剤がウイルスの前に患者に投与される、本発明1045の方法。

[本発明1047]

剤がウイルスの後に患者に投与される、本発明1045の方法。

【図面の簡単な説明】

【0049】

【図1】抗体と生存の相関（液性対細胞性の偏向）。腫瘍溶解性アデノウイルス（デルタ-24-RGD）によって処置した神経膠腫患者における、腫瘍関連抗原に対する抗体と、生存との相関を示すグラフである。簡単に説明すると、神経膠腫患者20人のサブセットからの血清を、デルタ-24-RGD治療の前に、改変固相ELISA（Seramatrix）を用いる自動タンパク質マイクロアレイによって、BRAF、CABYR、CRISP3、CSAG2、CTAG2、DHFR、FTHL17、GAGE1、LDHC、MAGEA1、MAGEA3、MAGEA4、MAGEB6、MAPK1、MICA、MUC1、NLRP4、NYESO1、P53、PBK、PRAME、SOX2、SPANXA1、SSX2、SSX4、SSX5、TSGA10、TSSK6、TULP2、XAGE2、およびZNF165を含む31個の腫瘍関連抗原に対する抗体に関して評価した。陽性抗体が15個より少ない患者の40%より多くが、処置後20ヶ月より長く生存したが、陽性抗体が15個より多い患者は全員、11ヶ月を超えて生存しなかった。その上、陽性抗体が15個より少ないが20ヶ月より長く生存しなかった患者は、陽性抗体が15個より多い患者と比べ、改善された臨床転帰を示した。

【図2】抗原NLRP4に対する免疫と生存の相関。デルタ-24-RGDによって処置した神経膠腫患者における生存の関数としての、腫瘍関連抗原NLRP4に対する免疫を示すグラフである。神経膠腫患者の血清中のNLRP4に対する抗体を、ウイルスの投与前およびその後数回の時点で、一般的に1ヶ月に1回の間隔で評価した。処置後の生存期間が1ヶ月から11ヶ月であった患者K、O、I、E、L、N、Q、A、D、およびJは、NLRP4に対する抗体の比較的高レベルを示したが、処置後の生存期間が12ヶ月より長い期間から19ヶ月より長い期間であった患者P、C、H、B、M、およびGは、NLRP4に対する抗体の非常に低レベルから検出不能なレベルを示した。患者Gは、治療に対して完全な応答を示した。

【図3】抗腫瘍関連抗原抗体と腫瘍の再発との相関。上のパネルは、神経膠腫患者（患者F）における、腫瘍抗原に対する抗体と腫瘍の再発との相関を示すグラフである。腫瘍関連抗原（図1に示される抗原）のアレイに対する抗体を、デルタ-24-RGD治療の終了時および治療後15日目、1ヶ月目、4ヶ月目、および6ヶ月目に、患者の血清試料において測定した。15日目または1ヶ月では抗体は検出されなかった。しかし、4ヶ月から6ヶ月の間に、陽性抗体の数は2個から20個へと急激に増加して、腫瘍の再発と一致した。下のパネルは、デルタ-24-RGD治療の終了時（左）および治療後6ヶ月（右）での患者Fのスキャンを示す。6ヶ月の時点のスキャンにおいて、腫瘍の再発が認められうる。

【図4】患者GとIの比較。ウイルスによる処置の前（0ヶ月）および処置後1ヶ月、4ヶ月および6ヶ月目に得た（患者G）、ならびに処置後1ヶ月、3ヶ月、および4ヶ月目に得た（患者I）、デルタ-42-RGDによって処置した2人の神経膠腫患者（患者G、完全な応答者（左のパネル）および進行した患者I（右のパネル））の血清中の腫瘍関連抗原（図1に記載さ

10

20

30

40

50

れる抗原)のパネルに対する抗体を検出するためのペプチドアレイの結果を示すヒートマップ。ヒートマップに示した結果は、吸光度分析から得られた未加工データである(すなわち、バックグラウンドを差し引いていない)。バックグラウンドの平均値は約0.2であることが観察され、したがって、陽性対陰性結果に関して全ての抗原に対して普遍的に適用されるカットオフは $3 \times$ バックグラウンド $=0.6$ であった。生存した患者Gは、ウイルスによる処置後30ヶ月を超えて現在も生存している。患者Iは、治療後6ヶ月で死亡した。患者Gは、各時点でスコア0を有した(試験した腫瘍関連抗原31個の全てに対して血清中の抗体が陰性であった)。一方、患者Iは、ウイルスによる処置の前でスコア10を有し(CABYR、MAGEA1、MAGEA3、MAGEB6、NLRP4、NYESO1、PBK、SSX2、SSX5、およびZNF165)、この数は、1ヶ月の時点で18に増加、3ヶ月の時点では22に増加、そして4ヶ月の時点では31に増加した(すなわち、試験した全ての腫瘍関連抗原に対する抗体)。このことは、デルタ-42-RGDなどの腫瘍溶解性ウイルス治療に対する応答の可能性を予測するためのバイオマーカーとしてこれらの腫瘍抗原の有用性を証明する。

【図5】図4に記載したペプチド分析の結果を示すグラフである。上のパネルは、完全な応答者である患者Gの血清分析の結果を示す。下のパネルは、応答しなかった患者Iの血清分析の結果を示す。血清試料を得て、ウイルスによる処置前(両方の患者)およびウイルスによる処置後1ヶ月、4ヶ月、および6ヶ月目に(患者G)ならびにウイルスによる処置後1ヶ月、3ヶ月、および4ヶ月目に(患者I)明記された腫瘍関連抗原に対して反応性の抗体に関して分析した。抗体レベルを「y」軸に示し、抗原を「x軸」に示す。患者Gは、ウイルスによる処置前および処置後の両方で、31個全ての抗体に関して陰性であった。患者Hは、処置前に抗体10個に関して陽性であり、4ヶ月の時点で31個全ての抗体に関して陽性であった。

【図6】デルタ-42-RGDによる処置前に非常に高レベルのIL-12p70を示した神経膠腫患者(患者30A)の脳スキャンを示す。左上のスキャンは、デルタ-42-RGD治療を行う前(11/18/2011)の患者における神経膠腫を証明する。中央上のスキャンは、治療後8日目(10/26/2011)および治療後11日目(10/29/2011)で腫瘍の応答が陽性であったことを証明する。左下のスキャンは、治療後ほぼ2ヶ月(1/7/2012)および治療後ほぼ3ヶ月(2/8/2012)での応答を示す。

【図7】患者の血清試料中のIL-12p70 (pg/ml)の測定。図7は、治療前(手術前)および処置後1ヶ月、2ヶ月、および3ヶ月目で、デルタ-24-RGDによって処置した神経膠腫患者の血清中のIL-12p70 (pg/ml)を示すグラフ(対数尺度)である。患者12A、30A、および33Aは、ベースライン(ウイルスによる処置の前)で非常に高いIL-12p70レベルを有し、これらのレベルは、ウイルスによる処置後に増加した。患者12Aおよび30Aおよび33Aは、ウイルスに対して完全な応答を示し、これは、処置前および処置後の両方のIL-12p70レベルと相関した(IL-12p70レベルは、非応答者と比べ、これらの患者において100倍以上および1000倍以上であった)。一方、グラフに示した残りの患者は、ウイルスの投与前および投与後にIL-12p70の低レベルを示し、ウイルスに完全な応答しなかった。患者37A(グラフには示していない)は低いベースラインIL-12p70レベルを有し、Th1免疫応答を刺激するためおよびIL-12p70レベルを増加させるために、ウイルスによる処置後およそ2ヶ月目にIFN- γ を投与した。IFN- γ を患者37Aに投与すると、IL-12p70レベルの有意な増加を引き起こし(Th1免疫応答への切り替えを示している)、ウイルスに対する完全な応答と一致した。従って、IL-12p70レベル(たとえば、処置前)は、処置後の転帰に非常に良好に相関して、応答者は治療前および治療中のいずれにおいてもIL-12の高レベルを有する。逆に、非応答者は、治療前および治療中、低レベルのIL-12を有した。特に、Th1刺激剤IFN- γ を、低いIL-12p70レベルを示す患者に投与すると、患者においてIL-12p70レベルを強化して、ウイルスに対する完全な応答が患者において観察された。

【発明を実施するための形態】

【0050】

説明
定義

10

20

30

40

50

本明細書において、「抗原」という用語は、抗体またはT細胞受容体が結合することができる分子を意味する。抗原はさらに、Bリンパ球および/またはTリンパ球の産生に至る液性免疫応答および/または細胞性免疫応答を誘導することができる。生物反応を生じる抗原の構造的局面、たとえば三次元コンフォメーションまたは修飾（たとえば、リン酸化）は、本明細書において「抗原性決定基」または「エピトープ」と呼ばれる。Bリンパ球は、抗体産生を介して外来抗原性決定基に応答するが、Tリンパ球は、細胞性免疫のメディエータである。従って、抗原性決定基またはエピトープは、抗体によって認識される、またはMHCが関係する場合にはT細胞受容体によって認識される抗原の部分である。抗原性決定基は、連続した配列またはタンパク質セグメントである必要はなく、互いに直接隣接していない様々な配列を含みうる。ある局面において、タウオリゴマーが、抗原として利用される。

10

【0051】

「抗体」または「免疫グロブリン」という用語は、インタクト抗体およびその結合断片/セグメントを含むために用いられる。典型的に、断片は、抗原との特異的結合に関して、それが誘導される元となるインタクト抗体と競合する。断片は、個別の重鎖、軽鎖、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fabc、およびFvを含む。断片/セグメントは、組換えDNA技術によって産生されるか、またはインタクト免疫グロブリンの酵素的もしくは化学的分離によって産生される。「抗体」という用語はまた、他のタンパク質に化学的にコンジュゲートされる、または他のタンパク質との融合タンパク質として発現される1つまたは複数の免疫グロブリン鎖を含む。「抗体」という用語はまた、二重特異性抗体を含む。二重特異性抗体または二官能性抗体は、異なる2つの重鎖/軽鎖対と、異なる2つの結合部位を有する人工ハイブリッド抗体である。二重特異性抗体は、ハイブリドーマの融合、またはFab'断片の連結を含む多様な方法によって産生されうる。たとえば、Songsivilai & Lachmann (1990); Kostelny et al. (1992)を参照されたい。

20

【0052】

1つの局面において、本明細書において用いられる「対照」または「既定の対照」という用語は、癌を有しないと考えられるか、または癌を有しないことが診断により確認された1例の対象から決定された、好ましくは1例より多くの「正常な」または「健康な」対象から得られた平均値から決定された、Th1バイオマーカー、および/またはTh2バイオマーカー、および/または腫瘍関連抗原に対する抗体のベースラインレベルを意味する。標準集団に関するレベルが確立された場合に、試験試料からの結果を既定の対照と直接比較することができる。たとえば、ベースラインは、少なくとも1例の対象から得られうるが、好ましくは、これまで癌の既往を有しない対象の平均値から得られる。例として、患者の血清試料中のIL-12p70などのTh1バイオマーカーのレベルを、罹病していない対象における同じTh1バイオマーカーの血清中レベル、または1例より多くの罹病していない対象の血清中レベルの平均値と比較しうる。

30

【0053】

別の局面において、「対照」または「既定の対照」という用語は、処置される患者と同じタイプの癌を有する対象の平均値から決定された、Th1バイオマーカー、および/またはTh2バイオマーカー、および/または腫瘍関連抗原に対する抗体のベースラインレベルを意味する。例として、患者の血清試料中のIL12p70などのTh1バイオマーカーレベルを、処置される患者と同じタイプの癌を有する多数の対象から得られた血清中レベルの平均値と比較してもよい。神経膠腫患者は一般的に、10~20 pg/mlの範囲の血清中IL-12p70レベルを示す。

40

【0054】

関連する局面において、「対照」または「既定の対照」という用語は、同じ腫瘍溶解性ウイルスを投与されているが、ウイルスに応答しないことが示されている、処置される患者と同じタイプの癌を有する1例の対象におけるTh1バイオマーカー、および/またはTh2バイオマーカー、および/または腫瘍関連抗原に対する抗体のレベル、好ましくは1例より多くの対象のレベルの平均値を意味する。たとえば、患者の血清試料中のIL-12p70など

50

のTh1サイトカインのレベルを、ウイルスに応答しなかった同じタイプの癌を有する1例より多くの対象から得られた血清中レベルの平均値と比較するなどして、非応答者の平均レベルと比較してTh1サイトカインレベルが高ければ、患者がウイルスに好ましい応答を示す可能性があることを示している。

【0055】

別の関連する局面において、「対照」または「既定の対照」という用語は、同じ腫瘍溶解性ウイルスを投与されておりかつウイルスに良好に反応することが示されている、処置される患者と同じタイプの癌を有する1例の対象のバイオマーカーレベル、好ましくは1例より多くの対象の平均レベルを意味する。たとえば、患者の血清試料中のIL-12p70などのTh1サイトカインレベルを、ウイルスに良好に反応する同じタイプの癌を有する1例より多くの対象から得られた平均血清中レベルと比較するなどして、良好な反応者からの平均レベルと比較してTh1サイトカインレベルが低ければ、患者がウイルスに好ましい反応を示す可能性が低いことを示している。

10

【0056】

比較目的のために、測定される試験試料におけるTh1バイオマーカー、および/またはTh2バイオマーカー、および/または腫瘍関連抗原に対する抗体のレベルは、(同じ生物起源から得られた)同じタイプのレベルのものであり、ベースライン対照レベルを決定するために用いられる方法と同じ方法で処理される。たとえば、IL-12p70レベルが、血清中IL-12p70レベルを測定することによって決定される場合、IL-12p70のベースラインレベルは、たとえば正常な健康な対象の血清中のIL-12p70レベルを測定することによって決定される。本明細書において用いられる、既定の対照と比べ、測定されたTh1バイオマーカーのレベルが「高レベル」であるまたは「増加」するとは、試験試料におけるTh1バイオマーカーの量または濃度が、Th1バイオマーカーの既定の対照レベルと比べ、試験試料において十分に多いことを意味する。たとえば、既定の対照と比べTh1バイオマーカーレベルの増加は、既定の対照と比べ約1%、約5%、約10%、約15%、約20%、約30%、約40%、約60%、約80%、約2倍、約3倍、約5倍、約8倍、約10倍、約20倍、50倍、100倍、200倍、500倍、またはさらに1000倍上昇またはそれより多いなどの、しかしこれらに限定されるわけではない、検出可能である統計学的に有意な任意の増加でありうる。別の局面において、対照と比較して試験試料におけるバイオマーカーの「高レベル」は、対照レベルが既定の閾値より下である場合の既定の閾値より上の抗体の検出レベルを意味する。

20

30

【0057】

「相関する」または「相関」という用語、またはその同等物は、反応がない場合と比較して、癌細胞および/または癌患者の、1つもしくは複数の遺伝子またはタンパク質の発現と処置後の転帰との関連を意味する。本発明は、本明細書において開示されるバイオマーカーの1つまたは複数の発現の増加と、腫瘍溶解性ウイルス治療に対する癌患者の反応性との相関を提供する。

【0058】

「神経膠腫」という用語は、脳または脊髄の神経膠を起源とする腫瘍を意味する。神経膠腫は、星細胞および乏突起膠細胞などの神経膠細胞タイプに由来し、このため、神経膠腫は、星細胞腫および乏突起膠細胞腫、ならびに退形成性神経膠腫、膠芽細胞腫、および上衣腫を含む。星細胞腫および上衣腫は、小児および成人の両方の脳および脊髄の全ての領域に起こりうる。乏突起膠細胞腫は、典型的に成人の脳半球に起こる。他の脳腫瘍は、髄膜腫、上衣腫、松果体腫瘍、脈絡叢腫瘍、感覚上皮腫瘍、胎生期腫瘍、末梢神経芽腫瘍、頭蓋神経腫瘍、造血系の腫瘍、胚細胞腫瘍、およびトルコ鞍部腫瘍である。

40

【0059】

「IL-12p70」または「IL-12」という用語は、主に単球、マクロファージ、Bリンパ球、および樹状細胞によって産生されるIL-12の生物活性型、70 kDa (p70) サイトカインを意味する。IL-12は、2つのサブユニット、すなわちジスルフィド結合によって共に連結された、一つは40 kDa (p40) およびもう一つは35 kDa (p35) で構成されるヘテロ二量体である。

50

【0060】

本明細書において用いられる、診断または予後予測の文脈において「正常」という用語は、癌のいかなる症状も示さず、障害を有しないことがわかっている個体または個体群を意味する。好ましくは、正常な個体は、癌を処置するための投薬を受けておらず、可能であれば、癌または他の任意の過増殖障害と診断されていない。本発明に従う「正常」はまた、正常な個体から単離された試料も意味する。

【0061】

「腫瘍溶解性ウイルス」という用語は、一般的に、腫瘍細胞において複製して腫瘍細胞を殺すことができる任意のウイルスを意味する。好ましくは、ウイルスは、腫瘍細胞選択性を増加するように遺伝子工学的に操作されている。腫瘍溶解性ウイルスの代表的な例には、アデノウイルス、レオウイルス、単純ヘルペスウイルス(HSV)、ニューカッスル病ウイルス、ポックスウイルス、粘液腫ウイルス、ラブドウイルス、ピコルナウイルス、インフルエンザウイルス、コクサッキーウイルス、およびパルボウイルスが挙げられるがこれらに限定されるわけではない。好ましい態様において、腫瘍溶解性ウイルスは、ワクシニアウイルス(たとえば、コペンハーゲン、ウェスタンリザーブ、ワイズ株)、ラブドウイルス(たとえば、水疱性口内炎ウイルス(VSV))、またはアデノウイルス(たとえば、ONYX-015、デルタ-24-RGD)である。特に好ましい態様において、腫瘍溶解性ウイルスは、アデノウイルスである。好ましいアデノウイルスは、デルタ-24-RGDである。デルタ-24-RGDは血清型5型の腫瘍選択的アデノウイルスであり、コードされたE1Aタンパク質における120~127番目の8個のアミノ酸に対応する、Rbタンパク質の結合に参与する領域を含むE1A領域の24塩基対欠失(ヌクレオチド923~946)を包含する(Fueyo J et al, *Oncogene*, 19:2-12 (2000))。デルタ-24-RGDはさらに、ファイバーノブタンパク質のH1ループへのRGD-4C配列(v 3および v 5インテグリンに強く結合する)の挿入を含む(Pasqualini R. et al, *Nat Biotechnol*, 15:542-546 (1997))。E1A欠失は、癌細胞に関するウイルスの選択性を増加させる; RGD-4C配列は神経膠腫におけるウイルスの感染性を増加させる。

【0062】

「提供する」という用語は、その通常の意味に従って「用いるために供給または備える」ことを示すために用いられる。いくつかの態様において、タンパク質は、タンパク質を投与することによって直接提供されるが、他の態様において、タンパク質は、タンパク質をコードする核酸を投与することによって有効に提供される。

【0063】

「応答する」という用語は一般的に、固形癌の治療効果判定のための新ガイドライン(Reesponse Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST)) (Eisenhauer et al., *European Journal of Cancer*, 45:228-247 (2009)、参照により本明細書に組み入れられる)に定義される腫瘍溶解治療に対して、患者が完全または部分的応答を示すことを意味する。完全な応答は、全ての標的病変の消失を意味する。部分応答は、ベースラインのLDの総和を基準として、標的病変の長径(LD)の総和の少なくとも30%減少を意味する。特に、応答は一般的に、腫瘍サイズが完全または部分的に変化することを意味する。同様に、腫瘍溶解治療に応答しない患者は、安定な疾患(部分応答であると見なすほど十分には縮小していないかまたは進行疾患であると見なすほど十分には増加していない)、または進行疾患(処置開始以降の最小のLDの総和を基準として、標的病変のLDの総和の少なくとも20%増加)を示す患者である。当業者の臨床医/放射線科医は、臨床評価と共に、たとえばコンピューター断層撮影(CT)または磁気共鳴イメージング(MRI)を用いて腫瘍の測定を決定する適切な方法を理解するであろう。

【0064】

「治療上の恩典」または「処置」という用語は、前癌、癌、および過増殖疾患の処置を含む、対象の状態の医学的処置に関する対象の健康状態を促進または増強するすべてのことを意味する。この非網羅的な例を列挙すると、対象の生命の任意の期間の延長、疾患の新生物発生の減少または遅延、過増殖の減少、腫瘍の増殖の減少、転移の遅延、癌細胞ま

10

20

30

40

50

たは腫瘍細胞増殖速度の減少、および対象の状態に寄与し得る対象の疼痛の減少を含む。意味のある処置を達成するには必ずしも癌が治癒する必要はなく、癌の進行がある程度遅くなること、または癌に関連する何らかの状態が改善されることが必要とされる。

【0065】

本発明の他の態様が本出願を通して記載される。本発明の1つの局面に関して記載される任意の態様は、本発明の他の局面にも当てはまり、その逆も同じである。本明細書において記述される各々の態様は、本発明の全ての局面に適用可能である本発明の態様であると理解される。本明細書において記載される任意の態様は、本発明の任意の方法または組成物に関して実行され得、かつその逆も同じであることが企図される。さらに、本発明の組成物およびキットは、本発明の方法を行うために用いることができる。

10

【0066】

特許請求の範囲および/または明細書において「含む」という用語に関連して用いる場合の「1つの(a)」または「1つの(an)」という用語の使用は、「1つ」を意味しうが、同様に「1つまたは複数」、「少なくとも1つ」、および「1つまたは1つより多く」という意味とも一致する。

【0067】

本明細書を通して、「約」という用語は、値が、値を決定するために使用される装置または方法に関する誤差の標準偏差を含むことを示すために用いられる。

【0068】

本開示は、代替物のみの場合と「および/または」の場合とを意味する定義を支持するが、特許請求の範囲において「または」という用語の使用は、明白に代替物のみに言及している場合、または相互に排他的である場合を除き、「および/または」を意味するために用いられる。

20

【0069】

本明細書および特許請求の範囲において用いられる、「含む」(ならびに「含む(comprise)」および「含む(comprises)」などの含むの任意の形)、「有する」(ならびに「有する(have)」および「有する(has)」などの有するの任意の形)、「含まれる」(ならびに「含む(contains)」および「含む(include)」などの含むの任意の形)、または「含有する」(ならびに「含有する(contains)」、および「含有する(contain)」などの含有するの任意の形)という用語は、包括的であるか、または制限がなく、追加の引用されない要素または方法の段階を除外しない。

30

【0070】

本発明の他の目的、特色、および利点は、以下の詳細な説明から明らかとなるであろう。この詳細な説明から様々な変更および改変が当業者には明らかとなるが、それらも本発明の精神および範囲に含まれることから、詳細な説明および特異的例は、本発明の特異的態様を示しているが、例として示されているに過ぎないと理解すべきである。

【0071】

脳原発腫瘍および転移性腫瘍の両方の一般的特徴は、これらの腫瘍に関する免疫学的監視の欠如である。小膠細胞として知られる脳内の通常の抗原提示細胞ではしばしば「スイッチが切られて」いることが見いだされ、それゆえ免疫系に対する抗原提示活動が機能的に欠如している。この免疫学的監視の欠如は、これらの腫瘍の処置が困難である1つの理由であると考えられる。

40

【0072】

原発性神経膠腫内で複製する腫瘍溶解性アデノウイルス(デルタ-24-RGD)によって悪性神経膠腫を処置するためのフェーズ1臨床試験のデータから、意外にも、アデノウイルス抗原に対してのみならず、癌関連抗原に対しても免疫応答を生じることが示された。簡単に説明すると、これらの腫瘍関連抗原は、デルタ-24が神経膠腫細胞株に感染した後に放出される(または曝露される)ことが発見されている。加えて、このフェーズ1臨床試験から、意外にも、細胞障害性T細胞の大きな集団が大量に動員されて処置関連壊死の大きな領域に浸潤することが示された。この知見は、デルタ-24-RGD剤による能動的な腫瘍

50

溶解のみならず、腫瘍細胞に対する細胞媒介性の細胞障害性のプロセスを示唆している。理論に拘束されるものではないが、ウイルスによる処置が成功する患者では、腫瘍溶解性ウイルスに対する初回免疫応答が生成された後に、癌関連抗原に対する免疫のシフトが起こると考えられる。

【0073】

本発明者らは、Th1（炎症性）サイトカイン優位の発現が、腫瘍溶解性ウイルス治療を受けている患者における良好な転帰と良好に相関することを発見しており、したがってこれらの患者におけるTh1偏向の程度を用いて、神経膠腫などの癌患者における腫瘍溶解性ウイルス治療後の転帰を予測することができる。理論に拘束されるものではないが、Th1優位のサイトカインプロファイルを有する患者を、腫瘍溶解性ウイルスに対する細胞性抗腫瘍免疫応答を開始するようにプライミングすることが提唱される。特に、本発明者らは、良好な臨床転帰で腫瘍溶解性アデノウイルスデルタ-24-RGDに対して測定可能な応答を有する神経膠腫患者が、高レベルのTh1サイトカイン、IL-12p70、IL-2、およびIFN- γ を有するのに対し、Th2液性抗体応答は、これらの患者がウイルスに反応しないことを予測することを発見した。フェーズI臨床試験において、完全な応答または高レベルの応答を示した患者は、術前にTh1サイトカインであるインターロイキン-12p70の高レベルを有し（血清中レベルは、フェーズI臨床試験における集団の残りと比較して非常に上昇していた）、このレベルは、ウイルスの注射後増加した。ウイルスに対して完全な反応を示した患者3人もまた、このフェーズI臨床試験において集団の残りと比較して非常に上昇した血清中IL-12p70レベルを有した。腫瘍溶解性ウイルス治療に対する癌患者の応答を予測するためにTh1バイオマーカーを用いることが提供される。

10

20

【0074】

臨床試験において低いベースラインレベルのIL-12p70（すなわち、デルタ-24-RGDによる処置の前）を示した患者1人に、ウイルスの投与後2ヶ月目にIFN- γ を投与した。IFN- γ は、患者におけるTh1免疫応答を刺激して（IL-12産生の増加によって示される）、ウイルスに対する非常に良好な応答と調和した。従って、腫瘍溶解性ウイルスと共に、Th1応答を刺激または強化する、および/または調節性T細胞を抑制する剤を癌患者に投与する段階を含む、癌を処置する方法も同様に提供される。

【0075】

悪性神経膠腫は、原発性脳悪性新生物の多数を占める。これらの致命的な腫瘍は、従来の治療後では必ず再発して、悪性の高悪性度神経膠腫の最も一般的な型である膠芽細胞腫（GBM）患者の生存期間の中央値は14ヶ月である。血液-脳関門により薬物送達が困難であることに加えて、通常の化学療法および低分子アプローチは、これらの患者の予後を有意に改善することができていない。デルタ-24-RGDなどの腫瘍溶解性ウイルスは、これらの腫瘍を処置するために通常の治療に対する有望な代替治療として出現している。しかし、現在のところ、患者がそのような処置に好ましい応答を示すか否かを予測することは可能ではない。増えつつある証拠から、ウイルス療法の際の免疫応答が抗腫瘍活性に関係することが示唆されているが、既に存在する免疫状態が腫瘍溶解性ウイルス処置の際に果たす役割および臨床転帰におけるその影響は、現在のところ不明である。本発明者らは、デルタ-24-RGDなどの腫瘍溶解性ウイルス処置が、オートファジーによる細胞死を誘導して、それによって神経膠腫感染細胞における抗原処理およびエピトープ提示により小胞体ストレスが起こることを発見した。本発明者らはまた、意外にも、腫瘍溶解性ウイルス治療に対する良好な応答者である患者が、液性に偏った応答よりむしろT細胞エフェクター応答への偏向を示すことも発見した。腫瘍溶解性ウイルス治療に対して良好に反応する患者は、特異的Th1バイオマーカープロファイルを示す。これらのバイオマーカーは、腫瘍溶解性ウイルスによって処置した場合に良好な臨床転帰を有する可能性があって、このためその生存を有意に増加させる可能性がある悪性神経膠腫などの癌を有する患者の最適な群を判定する段階、および患者が追加の処置治療法の良好な候補者であるか否かを判定する段階を含む、脳および他の癌の予後予測および処置において貴重である。本発明のバイオマーカープロファイルは、現在のところ、バイオマーカーが著しく不足している固形腫瘍の

30

40

50

大多数に対して関連性があると予想される。

【0076】

測定または検出されうるバイオマーカーは、タンパク質（たとえば、サイトカイン、抗体）、細胞（たとえば、リンパ球）、核酸、および代謝物を含むがこれらに限定されるわけではない。腫瘍溶解性ウイルス治療に対する応答の可能性に関してバイオマーカーとして用いることができるタンパク質は、リンフォカイン、モノカイン、増殖因子、および従来のポリペプチドホルモンなどのサイトカインを含むがこれらに限定されるわけではない。サイトカインの中には、ヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモン、およびウシ成長ホルモンなどの成長ホルモン；副甲状腺ホルモン；チロキシン；インスリン；プロインスリン；リラキシン；プロリラキシン；卵胞刺激ホルモン（FSH）、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、および黄体形成ホルモン（LH）などの糖タンパク質ホルモン；肝細胞増殖因子；プロスタグランジン；線維芽細胞増殖因子；プロラクチン；胎盤性ラクトゲン；OBタンパク質；腫瘍壊死因子- および- ；ミユラー管抑制物質；マウス性腺刺激ホルモン関連ペプチド；インヒピン；アクチピン；血管内皮増殖因子；インテグリン；トロンボポエチン（TPO）；NGF- などの神経生長因子；血小板由来増殖因子；TGF- およびTGF- などのトランスフォーミング増殖因子（TGF）；インスリン様増殖因子-IおよびII；エリスロポエチン（EPO）；骨誘導因子；インターフェロン- 、 - 、および- などのインターフェロン；マクロファージ-CSF（M-CSF）、顆粒球-マクロファージ-CSF（GM-CSF）、および顆粒球-CSF（G-CSF）などのコロニー刺激因子（CSF）；IL-1、IL-1 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-24などのインターロイキン（IL）、G-CSF、GM-CSF、EPO、kit-リガンド、またはFLT-3が含まれるがこれらに限定されるわけではない。他の抗原、たとえばCMV抗原、EGFRvIII、またはIL13Rを測定することができる。さらなる局面において、血管形成を全般的に示すマーカー、および腫瘍の血管新生および/または脈管形成を示すマーカー、特にフィブロネクチン、フィブリノーゲン、および酸性カルポニン3およびコリジン2を測定または検出することができる。

10

20

【0077】

測定または検出することができる核酸は、上記のタンパク質をコードするmRNA、ならびにmiRNAなどの様々な非コード核酸を含む。mRNAおよびmiRNAに関して多数の核酸アレイが市販されている。

30

【0078】

腫瘍溶解性ウイルス治療に応答する可能性があるバイオマーカーとして測定または検出することができる抗体は、BRAF（v-rafマウス肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログB1）、CABYR（カルシウム結合チロシン-(Y)-リン酸化調節タンパク質）、CRISP3（システインリッチ分泌タンパク質3）、CSAG2（CSAGファミリー、メンバー2）、CTAG2（癌/精巣抗原2）、DHFR（ジヒドロ葉酸レダクターゼ）、FTHL17（フェリチン、重鎖ポリペプチド1；精巣特異的発現）、GAGE1（G抗原1）、LDHC（乳酸デヒドロゲナーゼC）、MAGEA1（黒色腫抗原ファミリーA、1）、MAGEA3（黒色腫抗原ファミリーA、3）、MAGEA4（黒色腫抗原ファミリーA、4）、MAGEB6（黒色腫抗原ファミリーB、6）、MAPK1（マイトゲン活性化タンパク質キナーゼ1）、MICA（MHCクラスIポリペプチド関連配列A）、MUC1（ムチン1、細胞表面会合）、NLRP4（NLRファミリー、ピリンドメイン含有タンパク質4）、NY-ESO-1（ニューヨーク食道扁平上皮癌1）、P53、PBK（PDZ結合キナーゼ）、PRAME（黒色腫において選択的に発現される抗原）、SOX2（Y染色体性決定領域遺伝子2）、SPANXA1（X-連鎖核関連精子タンパク質、ファミリーメンバーA1）、SSX2（滑膜肉腫、X染色体ブレイクポイント2）、SSX4（滑膜肉腫、X染色体ブレイクポイント4）、SSX5（滑膜肉腫、X染色体ブレイクポイント5）、TSGA10（精巣特異的、10）、TSSK6（精巣特異的セリンキナーゼ6）、TULP2（tubby like protein）、XAGE2（X抗原ファミリー、メンバー2）、およびZNF165（ジンクフィンガータンパク質165）などの腫瘍関連抗原に対する抗体を含むがこれらに限定されるわけではない。本発明の抗体バイオマーカーは限定されず、任意の腫瘍関連抗原に対する抗体に拡大されると理解すべきである。特定の局面において、癌/精巣抗原に対する抗体が、本

40

50

発明のバイオマーカーとして用いられる。AIM2 (absent in melanoma 2)、BMI1 (BMI1ポリコムリングフィンガー癌遺伝子)、COX-2 (シクロオキシゲナーゼ-2)、TRP-1 (チロシン関連タンパク質2)、TRP-2 (チロシン関連タンパク質2)、GP100 (糖タンパク質100)、EGFRvIII (上皮細胞増殖因子受容体変種III)、EZH2 (ゼストホモログエンハンサー2)、LICAM (ヒトL1細胞接着分子)、リピン、リピン、MRP-3 (多剤耐性タンパク質3)、ネスチン、OLIG2 (乏突起膠細胞転写因子)、SOX2 (SRY-関連HMG-ボックス2)、ART1 (T細胞認識抗原1)、ART4 (T細胞認識抗原4)、SART1 (T細胞認識扁平上皮癌抗原1)、SART2、SART3、B-サイクリン、 β -カテニン、Gli1 (神経膠腫関連癌遺伝子ホモログ1)、Cav-1 (カベオリン-1)、カテプシンB、CD74 (白血球分化抗原74)、E-カドヘリン (上皮カルシウム依存的接着分子)、EphA2/Eck (EPH受容体A2/上皮キナーゼ)、Fra-1/Fos11 (fos-関連抗原1)、GAGE-1 (G抗原1)、ガングリオシド/GD2、GnT-V、 β 1,6-N (アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ-V)、Her2/neu (ヒト上皮細胞増殖因子受容体2)、Ki67 (抗体Ki67の核増殖関連抗原)、Ku70/80 (ヒトKuヘテロ二量体タンパク質サブユニット)、IL-13Ra2 (インターロイキン-13受容体サブユニット β -2)、MAGE-A (黒色腫関連抗原1)、MAGE-A3 (黒色腫関連抗原3)、NY-ESO-1 (ニューヨーク食道扁平上皮癌1)、MART-1 (T細胞認識黒色腫抗原)、PROX1 (prosperoホメオボックスタンパク質1)、PSCA (前立腺幹細胞抗原)、SOX10 (SRY-関連HMG-ボックス10)、SOX11、サバイピン、UPAR (ウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子受容体)、およびWT-1 (ウィルムス腫瘍タンパク質1)を含むがこれらに限定されるわけではない、神経膠腫などの脳の癌を有する患者に起こることが同定されている腫瘍関連抗原に対する抗体は、本発明のバイオマーカーとして用いるために好ましい。

10

20

【0079】

従って、1つの態様において、BRAF、CABYR、CRISP3、CSAG2、CTAG2、DHFR、FTHL17、GAGE1、LDHC、MAGEA1、MAGEA3、MAGEA4、MAGEB6、MAPK1、MICA、MUC1、NLRP4、NYESO1、P53、PBK、PRAME、SOX2、SPANXA1、SSX2、SSX4、SSX5、TSGA10、TSSK6、TULP2、XAGE2、ZNF165、AIM2、BMI1、COX-2、TRP-1、TRP-2、GP100、EGFRvIII、EZH2、LICAM、リピン、リピン、MRP-3、ネスチン、OLIG2、SOX2、ART1、ART4、SART1、SART2、SART3、B-サイクリン、 β -カテニン、Gli1、Cav-1、カテプシンB、CD74、E-カドヘリン、EphA2/Eck、Fra-1/Fos11、ガングリオシド/GD2、GnT-V、 β 1,6-N、Her2/neu、Ki67、Ku70/80、IL-13Ra2、MART-1、PROX1、PSCA、SOX10、SOX11、サバイピン、UPAR、およびWT-1からなる群より選択される少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65個、または少なくとも70個またはそれより多くの任意の組み合わせの腫瘍関連抗原に対する抗体の発現レベルが、本明細書において記述される方法に従って試験試料において測定されうる。

30

【0080】

従って、1つの態様において、AIM2、BMI1、COX-2、TRP-1、TRP-2、GP100、EGFRvIII、EZH2、LICAM、リピン、リピン、MRP-3、ネスチン、OLIG2、SOX2、ART1、ART4、SART1、SART2、SART3、B-サイクリン、 β -カテニン、Gli1、Cav-1、カテプシンB、CD74、E-カドヘリン、EphA2/Eck、Fra-1/Fos11、GAGE-1、ガングリオシド/GD2、GnT-V、 β 1,6-N、Her2/neu、Ki67、Ku70/80、IL-13Ra2、MAGE-A、MAGE-A3、NY-ESO-1、MART-1、PROX1、PSCA、SOX10、SOX11、サバイピン、UPAR、およびWT-1からなる群より選択される少なくとも1個、2、3、4、5、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個、または少なくとも46個の神経膠腫関連抗原に対する抗体の任意の組み合わせの発現レベルが、本明細書において記述される方法に従って試験試料において測定されうる。

40

【0081】

他の態様において、本明細書において記述される腫瘍関連抗原に対する抗体の任意の組み合わせの発現レベル、および1つまたは複数のTh1バイオマーカーの発現レベル、および任意で1つまたは複数のTh2バイオマーカーの発現レベルが、本明細書において記述される

50

方法に従って、試験試料において測定されうる。

【0082】

測定または検出することができる細胞は、CD4 T細胞、CD8 T細胞、調節性T細胞、小膠細胞、およびその他を含む。

【0083】

CD4 T細胞は、その表面上にCD4タンパク質を発現する。主要組織適合抗原複合体（MHC）クラスII分子によって抗原が提示されると、ナイーブCD4 T細胞は主にTh1、Th2、またはTh17細胞（調節性T細胞）へと分化して、各々のタイプが異なる組のサイトカインを分泌して、異なるタイプの免疫応答を促進する。たとえば、Th1細胞はIL-2、IFN- γ 、およびTNF- α を分泌し、Th2細胞は、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、およびIL-13を分泌し、Th17細胞はIL-17を分泌する。

10

【0084】

CD8 T細胞（細胞障害性T細胞またはCTL）は、その表面にCD8糖タンパク質を発現して、MHCクラスI分子に会合した抗原が提示されると、ウイルス感染細胞および腫瘍細胞を破壊する。

【0085】

調節性T細胞（サプレッサーT細胞またはTh17細胞としても知られる）は、CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺であり、免疫反応の終了に向けてT細胞媒介免疫を終わらせるようにおよび胸腺における陰性選択を回避する自己反応性T細胞を抑制するように作用する。

【0086】

ナチュラルキラーT（NKT）細胞は、適応免疫系と生得の免疫系との橋渡しをする。MHC分子によって提示されたペプチド抗原を認識する通常のT細胞とは異なり、NKT細胞は、CD1dと呼ばれる分子によって提示される糖脂質抗原を認識する。活性化されると、これらの細胞はサイトカインを産生して、細胞溶解/殺細胞分子を放出することができる。それらはまた、いくつかの腫瘍細胞およびウイルス感染細胞を認識して除去することができる。

20

【0087】

小膠細胞は、脳および脊髄の常在マクロファージである神経膠細胞であり、中枢神経系（CNS）における能動的免疫防御の第一のメディエータである。小膠細胞は、脳における総神経膠細胞集団の20%を占める。小膠細胞は絶えず、CNSから感染物質を取り除いている。脳および脊髄は、壊れやすい神経組織に多くの感染物が達するのを防ぐ血液-脳関門として知られる一連の内皮細胞によって、体の他の部分から分離されているという点において「免疫学的特権を有する」臓器であると見なされる。感染物質が脳に直接導入されるまたは血液脳関門を通過する場合、感受性がある神経組織を感染物質が損傷する前に、小膠細胞は、炎症を減少させて、感染物質を破壊するように速やかに反応しなければならない。体の他の部分から抗体を利用できない（血液脳関門を通過できるほど小さい抗体はわずかである）ことにより、小膠細胞は、異物を認識してそれらを飲み込み、抗原提示細胞活性化T細胞として作用することができなければならない。

30

【0088】

試料の単離

試料（試験試料）は、腫瘍溶解性ウイルス処置の前、処置と同時、または処置後に、患者の組織（たとえば腫瘍生検）、脳脊髄液、血漿、血清、リンパ、および滑液から得ることができる。そのような試料を得るために当技術分野において公知の標準的な技法が用いられる。好ましい態様において、試料は、血清試料であり、本明細書において記述される1つまたは複数のバイオマーカーレベルは、酵素免疫測定法（ELISA）によって決定される。

40

【0089】

腫瘍生検を採取するために用いられる方法は、脳腫瘍の中に金属製のプローブを正確に導入して、脳腫瘍の小片を切断して、それを検査することができるように摘出することによって行うことができる定位生検を含むが、これらに限定されるわけではない。たとえば、患者をMRIまたはCATスキャンスイートに移動させて、局所麻酔下で頭皮にフレームを取

50

り付ける。しっかり固定するために、頭蓋にフレームの「ピン」を取り付ける（フレームは、生検の終了までその点から前方に動かず、動くことはできない）。スキャン（MRIまたはCT）を得る。神経外科医は、スキャンを調べて、標的までの最も安全な軌道または経路を決定する。これは、重要な構造を回避することを意味する。標的の空間座標を決定して、最適な経路を選択する。生検は全身麻酔下で行う。エントリーポイントの上に小さい切開部を作製して、頭蓋にドリルで小さい穴を開ける。「硬膜」を穿孔して、生検プローブをゆっくりと標的まで導入する。生検標本を採取し、液体または保存液に入れて、バイオマーカーを評価する。

【0090】

試料を得た後、たとえば腫瘍溶解性ウイルス治療に対する患者の感受性を判定するために、またはTh1免疫応答を刺激する剤を腫瘍溶解性ウイルス治療と同時投与する必要性を判定するために、様々なバイオマーカーを測定、または検出、または分析し、対象の免疫状態（たとえば、Th1偏向の程度）を判定するためのデータを作成することによって対象の免疫状態を判定する。

【0091】

ある態様において、治療に対する腫瘍の相互作用または応答は、処置前の、腫瘍または周辺組織の免疫状態、抗ウイルス抗体が既に存在するか否か、および/またはリンパ球減少症の存在および程度に関連する。免疫抑制を示唆する免疫状態を有する患者は、腫瘍溶解性ウイルス治療に対して腫瘍が抵抗性であることを示しうると考えられる。

【0092】

バイオマーカーの評価

先に記載したマーカーの発現レベルの評価は、免疫組織化学（IHC）（半定量的または定量的IHCを含む）、もしくは他の抗体に基づくアッセイ（ウェスタンブロット、蛍光イムノアッセイ（FIA）、蛍光インサイチューハイブリダイゼーション（FISH）、ラジオイムノアッセイ（RIA）、放射免疫沈降（RIP）、酵素免疫測定法（ELISA）、イムノアッセイ、免疫放射測定アッセイ、蛍光イムノアッセイ、化学発光アッセイ、生物発光アッセイ、ゲル電気泳動）を用いる場合のように直接的でありうるか、またはこれらの遺伝子の転写物を定量することによって（たとえば、インサイチューハイブリダイゼーション、ヌクレアーゼ保護、ノザンブロット、逆転写酵素PCR（RT-PCR）を含むポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によって）間接的でありうる。細胞、たとえばリンパ球は、抗体を用いて、FACS技術またはパラフィン包埋腫瘍切片を用いて分析することができる。関連する方法論を以下に記載する。

【0093】

抗体は、本発明において、免疫組織化学、ELISA、およびウェスタンブロットティングなどの技術を通して標的細胞のタンパク質含有量を特徴付けするために用いることができる。これは、腫瘍溶解性ウイルス治療に対して好ましい応答を示す可能性がある対象の有無、および/または免疫刺激剤を腫瘍溶解性ウイルスと同時投与する必要性に関するスクリーニングを提供しうる。

【0094】

免疫組織化学は典型的に、生検からの組織試料について行われる。試料は新鮮なまま、または凍結して検査することができる。ほぼ細胞1個分の厚みとなるように組織試料を極めて薄い切片にした後、試料をスライドガラス上で固定する。試料中の細胞は、細胞の特異的タイプの同定を助けるために用いることができる特徴的な抗原をその細胞表面上に有する。これらの特徴的抗原に対する抗体をスライドガラス上の試料に加えると、抗原が存在する場所に抗体が結合する。過剰量の抗体を洗浄して除去する。細胞に結合して残っている抗体は、蛍光を発するか、または化学反応を受けて顕微鏡下で可視化される標識を有する。

【0095】

試料が組織溶解物、血液、血清、または脳脊髄液である場合には、ELISAアッセイにおける抗体の使用が企図される。たとえば、検出される抗原に対する抗体を、選択された表

10

20

30

40

50

面、好ましくは、ポリスチレンマイクロタイタープレートのウェルなどのタンパク質親和性を示す表面上に固定する。不完全に吸着した材料を洗浄して除去した後、ウシ血清アルブミン（BSA）、カゼイン、または粉乳溶液などの、試験抗血清に関して抗原的に中立的であることが知られている非特異的タンパク質をアッセイプレートに結合させるまたはコーティングすることが望ましい。これによって、固定表面上の非特異的吸着部位をブロックして、従って表面に対する抗原の非特異的結合によって引き起こされるバックグラウンドを減少させることができる。

【0096】

抗体をウェルに結合させて、バックグラウンドを減少させるために非反応性材料によってコーティングし、非結合材料を除去するために洗浄した後、免疫複合体（抗原/抗体）形成を誘導する条件で、試験される試料に固定表面を接触させる。

10

【0097】

試験試料と結合抗体との間に特異的免疫複合体が形成された後に洗浄し、第一の抗体によって認識される抗原とは異なる抗原に対して特異性を有する第二の抗体に試験試料を供することによって、免疫複合体形成の存在および量さえも決定しうる。適切な条件は好ましくは、BSA、ウシガンマグロブリン（BGG）、およびリン酸緩衝生理食塩液（PBS）/Tween（登録商標）などの希釈剤によって試料を希釈する段階を含む。添加されるこれらの剤はまた、非特異的バックグラウンドの減少を助ける傾向がある。次に、層状の抗血清を、好ましくは約25 から27 の温度で約2時間から約4時間インキュベートする。インキュベーション後、免疫複合体を形成していない材料を除去するために抗血清接触表面を洗浄する。好ましい洗浄技法は、PBS/Tween（登録商標）またはホウ酸緩衝液などの溶液による洗浄を含む。

20

【0098】

検出手段を提供するために、第二の抗体は好ましくは、検出することができる部分、たとえば適切な色素形成基質と共にインキュベートすることによって発色する、関連する酵素または検出可能な部分を有する。従って、たとえば、第二抗体結合表面をウレアーゼまたはペルオキシダーゼ結合抗ヒトIgGと共に、免疫複合体の形成にとって好ましい期間および条件で（たとえば、PBS/Tween（登録商標）などのPBS含有溶液中での室温で2時間のインキュベーション）、接触させてインキュベートすることが望ましいであろう。

30

【0099】

第二の検出可能な抗体と共にインキュベートした後、およびその後洗浄して非結合材料を除去した後、尿素およびプロモクレゾールパープル、または2,2'-アジノ-ジ-(3-エチル-ベンズチアゾリン)-6-スルホン酸（ABTS）および酵素標識としてペルオキシダーゼの場合にはH₂O₂などの色素形成基質と共にインキュベートすることによって、標識量を定量する。次に、たとえば可視スペクトル分光計を用いて発色の程度を測定することによって定量が得られる。

【0100】

前述のフォーマットを変更して、試料を最初にアッセイプレートに結合させた後、試料に一次抗体を接触させて、その後一次抗体に対して特異性を有する標識二次抗体を用いて、結合した一次抗体を検出してもよい。

40

【0101】

抗体はまた、イムノプロットまたはウェスタンプロット分析においても有用でありうる。抗体はまた、ニトロセルロース、ナイロン、またはその組み合わせなどの固相支持体マトリクスに固定されたタンパク質を同定するための高親和性一次試薬として用いられうる。その後、ゲル電気泳動を行う免疫沈降に関連して、抗体は、抗原の検出に用いられる二次試薬が有害なバックグラウンドを引き起こす場合に、抗原を検出するために用いるための一段階試薬として用いられうる。ウェスタンプロットティングに関連して用いられる免疫学に基づく検出法は、関心対象抗原に対する酵素タグ、放射標識タグ、または蛍光タグをつけた二次抗体を含み、これらはこの点において特に有用であると考えられる。

【0102】

50

本明細書において記述される方法の局面は、(i) 腫瘍溶解性ウイルスの投与と併用して、対象における細胞性免疫応答を刺激する段階、(ii) 腫瘍溶解性ウイルス（たとえば、アデノウイルス）の投与と併用して、免疫抑制に拮抗する段階；または(iii) 腫瘍溶解性ウイルス（たとえば、アデノウイルス）の投与と併用して、対象における細胞性免疫応答を刺激する段階および免疫抑制に拮抗する段階の1つまたは複数に関する。

【0103】

A. 免疫抑制のアンタゴニズム

免疫抑制は、免疫系の活性化または効能を減少させる作用を伴う。免疫系そのもののいくつかの部分が、免疫系の他の部分に対して免疫抑制作用を有し、免疫抑制は、ある疾患または状態の影響として起こりうる。疾患関連免疫抑制は、たとえば栄養不良、加齢、多くのタイプの癌（神経膠腫、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫などの）および後天性免疫不全症候群（AIDS）などの、ある慢性感染症において起こりうる。疾患関連免疫抑制における望ましくない効果は、過増殖細胞の増殖に対する感受性の増加が起こる免疫不全である。

10

【0104】

ある局面において、本明細書において記述される治療法は、対象における免疫抑制を減少させて、ウイルス治療の腫瘍溶解効果を増強しうる。ある局面において、方法は、対象における免疫調節性T細胞の活性を減少させうる。免疫調節性T細胞活性の減少は、個体において免疫調節性T細胞を枯渇させるまたは不活化する剤（たとえば、アルキル化剤）を対象に投与することによって得られうる。免疫調節性T細胞活性の減少はまた、免疫調節性T細胞に結合する少なくとも1つの抗体を用いることによって得られうる。そのような抗体は、抗CD4、抗CD25、抗ニューロピリン、および/または抗CTLA4から選択されうるがこれらに限定されるわけではない。免疫調節性T細胞活性はまた、腫瘍溶解性ウイルスの投与前、投与時、または投与後に個体において減少されうる。本明細書において用いられる「インビボで免疫調節性T細胞を枯渇または不活化させる」という用語は、宿主の抗腫瘍免疫応答を抑制する免疫調節性T細胞の数または機能的能力の減少を意味する。免疫抑制のアンタゴニズムは、免疫調節性T細胞の減少（すなわち、枯渇）を通して、または免疫調節性T細胞の抗腫瘍免疫抑制機能の不活化を通して、行われうる。そのような処置の最終的な結果は、処置のレシピエントにおいて免疫調節性T細胞活性を減少させることである。

20

30

【0105】

免疫調節性T細胞の枯渇または不活化は、CD4抗原、IL-2受容体の鎖サブユニット（すなわち、CD25）、およびその他に対して特異的な抗体ならびに本明細書において記述される剤などの薬学的剤を投与することによって行われうる。同様に、ガンマデルタ免疫調節性T細胞に対する抗体を用いて、そのような細胞を枯渇させて、抗腫瘍免疫を刺激することができる。Seo et al, J. Immunol. (1999) 163:242-249を参照されたい。抗CD40リガンドもまた、免疫調節性T細胞を枯渇または不活化するために用いられうる。

【0106】

CTLA-4と免疫グロブリン（Ig）重鎖のFcとの融合タンパク質であるCTLA4Igなどの部分的抗体構築物を用いて、CD28とB7分子の間の相互作用を遮断することにより、完全なT細胞活性化にとって本質的な共刺激シグナルを阻害することができる。CTLA4Igは、調節性T細胞を非応答性（すなわち、不活化）にする薬剤として投与されうる。Park et al. Pharm Res. (2003) 20(8): 1239-48を参照されたい。シュードモナス（pseudomonas）外毒素（OnTac）とのIL-2融合体は、調節性T細胞を枯渇または不活化するためのさらに別の剤である。

40

【0107】

別のアプローチにおいて、CD8⁺細胞溶解性Tリンパ球（CTL）腫瘍アネルギーの誘導を防止する剤が投与されうる。アゴニスト抗体などのCD137にアゴニスト作用する剤を用いると、その同源の抗原に再度遭遇した際に、確立されたアネルギーCTLの腫瘍細胞溶解機能が回復しうる。Wilcox et al., Blood (2004) 103:177-184を参照されたい。このアプ

50

ローチは、腫瘍抗原に対するT細胞寛容を破壊するために用いることができる。

【0108】

CD4/CD25⁺免疫調節性T細胞上のグルココルチコイド誘発腫瘍壊死因子受容体(GITR)リガンドにアゴニスト作用する剤は、これらの細胞の抑制作用を逆転させる。GITRリガンドアゴニストは、Tone et al., PNAS (2003) 100:15059-15064; Stephens et al. 2004 and Shimizu et al. 2002において記述される。

【0109】

ニューロフィリンに対する抗体(たとえば、Bruder et al., 2004)およびCTLA-4に対する抗体(たとえば、Leach et al., 1996)もまた、インビボで免疫調節性T細胞を枯渇させる、またはその活性を減少させるために投与することができる。

10

【0110】

免疫調節性T細胞を除去、枯渇、または不活化する方法は、たとえ方法がそのような細胞のみに限定されない場合であっても用いられうる。免疫調節性T細胞を除去、枯渇、または不活化する努力は、所定の期間の処置の際に複数回行われうる。同様に、異なる方法が共に用いられうる(たとえば、エクスビボ細胞除去とインビボ枯渇または不活化)。枯渇または不活化するために投与される抗T細胞抗体の量は、移植の分野で用いられる量と類似でありうる。たとえば、Meiser et al., Transplantation. (1994) 27; 58(4): 419-23を参照されたい。

【0111】

免疫調節性T細胞は、腫瘍溶解性ウイルスの投与前、投与時、および/または投与後に、除去、枯渇、または不活化されうる。免疫調節性T細胞は、好ましくは、腫瘍溶解性ウイルスの投与前に除去、枯渇、または不活化される。

20

【0112】

B. 免疫系の刺激

「細胞性免疫系を増強する」および「細胞性免疫系を刺激する」という用語(およびこれらの用語の異なる時制)は、剤が、抗原特異的細胞溶解活性(免疫細胞、特に細胞障害性Tリンパ球の活性)および/またはNK細胞活性の生成を刺激する、抗原に対する細胞性免疫応答を改善する(少なくとも細胞障害性Tリンパ球の活性を通して)、免疫保護を改善する(細胞障害性Tリンパ球および/またはNK細胞の活性を少なくとも回復すること、およびサイトカイン産生を増強することによって)、免疫保護を回復する(細胞障害性Tリンパ球の活性および/またはNK細胞の活性を少なくとも回復するかまたは刺激すること、およびサイトカイン産生を増強することによって)、または炎症促進性(Th1)サイトカインを生成する能力を意味する。

30

【0113】

細胞性免疫系を増強する(またはTh1表現型を産生する)剤は、サイトカイン(好ましくは組換え型)を含み、その代表的な例は、GM-CSF、IL-2、IL-12、IL-18、およびインターフェロン- γ である。これらのサイトカインは、ウイルスに対する患者の応答を改善するために、腫瘍溶解性ウイルスでの治療前、治療中、または治療後に投与することができる。組換え型サイトカインは、市販されており、その推奨用量に従って投与される。Th1表現型を生じる他の剤は、レナリドミド(レブラミド)およびボマリドミドを含むがこれらに限定されるわけではない、IL-12p70の産生および/または他のTh1サイトカインの産生を刺激する剤を含む。

40

【0114】

Th1表現型を生じる他の剤は、アルキル化剤を含み、その代表的な例は、テモゾロミド、シクロホスファミド、ロムスチン(CCNU)、ビス-クロロエチルニトロソウレア(BCNU)、塩酸メルファラン、ブスルファン(ブタン-1,4-ジイルジメタンスルホネート)、メクロレタミン(ナイトロジェンマスタード)、クロラムブシル、イフォスファミド、ストレプトゾシン、ダカルバジン(DTIC)、チオテパ、アルトレタミン(ヘキサメチルメラミン)、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチンである。様々なタイプの癌を処置するためにこれらのアルキル化剤を使用することは、十分に確立されており、そ

50

れらは、Th1表現型を生じるためにその推奨用量で用いられうる。

【0115】

Th1表現型を生じる他の剤はアジュバントを含み、その非制限的な例は、モノホスホリルリピッドA (MPL (登録商標))、QS-21 (可溶性トリテルペン配糖体化合物を含む植物抽出物)、または他のサポニン、CpGを含むもしくはCpGからなるオリゴデオキシヌクレオチド、およびリボソームタンパク質抽出物 (RPE) である。

【0116】

Th1表現型を生じる他の剤は、BMS-663513などのCD137アゴニスト、CP-870,893などのCD40アゴニスト、OX40 (CD134) アゴニスト、およびCDX-1127などのCD27アゴニストを含む。

10

【0117】

Th1表現型を生じる他の剤は、JAK-2、JAK-3、STAT-3、またはSTAT-5の阻害剤を含む。

【0118】

Th1表現型を生じる他の剤は、CTLA-4アンタゴニスト (たとえば、イピリムマブまたはトレメリムマブ)、PD-1/PD-L1受容体アンタゴニスト (たとえば、MDX-1106、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ、またはMDX-1105) ; MGA271などのB7-H3に特異的に結合する抗体、およびD-1-メチル-トリプトファン (Lunate) などのインドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ (IDO) 阻害剤を含む。

【0119】

さらなる態様において、癌を処置する方法は、抗腫瘍免疫を増強するための免疫細胞の養子移入を含みうる。本明細書において用いられる「養子移入」とは、別の個体からまたは同じ個体からの免疫細胞の投与を意味する。これらは、好ましくは、抗腫瘍免疫応答を支持するためにそれが機能する能力を増強するためにエクスピボで活性化されうるT細胞である。養子移入された免疫細胞は、たとえばIL-2に対する曝露および/または抗CD3抗体に対する曝露を含む、周知の多様な任意の剤によってエクスピボで活性化されうる。エクスピボ活性化はまた、癌細胞ワクチンに対する曝露を含みうる。そのような癌細胞ワクチンは、処置される個体からの、または全く別の癌からの生細胞 (しかし、複製しない) または死滅癌細胞から構成されうる。ワクチンはまた、癌細胞抽出物、または癌細胞に由来する精製ワクチン調製物でありうる。癌細胞ワクチンは、当技術分野において周知であり、周知の方法に従って調製されうる。

20

30

【0120】

III. 抗体

免疫抑制物質のアンタゴニストまたは免疫系の刺激物質は抗体でありうる。本明細書において用いられる「抗体」という用語は、B細胞の産物である免疫グロブリンおよびその変種、ならびにT細胞の産物であるT細胞受容体 (TCR) およびその変種を含む。免疫グロブリンは、免疫グロブリンカッパおよびラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロンおよびミュー定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子によって実質的にコードされる1つまたは複数のポリペプチドを含むタンパク質である。典型的な免疫グロブリン構造単位は、四量体を含むことが知られている。各々の四量体は、ポリペプチド鎖の2つの同一の対で構成され、各々の対は1つの「軽鎖」 (約25 kD) および1つの「重鎖」 (約50~70 kD) で構成される。各鎖のN-末端は、抗原認識に主に関与する約100から110個またはそれより多くのアミノ酸の可変領域を定義する。可変軽鎖 (VL) および可変重鎖 (VH) という用語はそれぞれ、これらの軽鎖および重鎖を意味する。

40

【0121】

組換え型抗体は、通常の完全長の抗体、タンパク質分解消化による公知の抗体断片、Fvまたは一本鎖Fv (scFv) ドメイン欠失抗体、およびその他などの特有の抗体断片でありうる。Fv抗体は、大きさがおよそ50 kDであり、軽鎖および重鎖の可変領域を含む。一本鎖Fv (「scFv」) ポリペプチドは、直接連結されるかまたはペプチドコードリンカーによって連結されるVHおよびVLコード配列を含む核酸から発現されうる、共有結合したVH:VLヘテロ二量体である。Huston, et al. (1988) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 85:5879-5883

50

を参照されたい。自然に凝集したが化学的に分離された抗体V領域の軽鎖および重鎖ポリペプチド鎖を、抗原結合部位の構造と実質的に類似の三次元構造に折り畳まれるscFv分子に変換するための多数の構造が公知である。たとえば、米国特許第5,091,513号；第5,132,405号；および第4,956,778号を参照されたい。

【0122】

抗体は、非ヒト抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはヒトおよび非ヒト抗体配列を含むキメラ抗体でありうる。当技術分野において公知であるように、キメラ抗体は、非ヒト定常領域（重鎖、軽鎖、またはその両方）をヒト定常領域抗体と交換することによって調製される。たとえば、米国特許第4,816,567号を参照されたい。マウス抗体などの非ヒト抗体からヒト化抗体を作製する方法も同様に周知である。（たとえば、米国特許第5,565,332号を参照されたい）。

【0123】

IV. 腫瘍溶解性ウイルス

本発明の方法に従って投与することができる腫瘍溶解性ウイルスは、アデノウイルス（たとえば、デルタ-24、デルタ-24-RGD、ICOVIR-5、ICOVIR-7、Onyx-015、CoLoAd1、H101、AD5/3-D24-GMCSF）、レオウイルス、単純ヘルペスウイルス（HSV；OncovEX GMCSF）、ニューカッスル病ウイルス、麻疹ウイルス、レトロウイルス（たとえば、インフルエンザウイルス）、ポックスウイルス（たとえば、コペンハーゲン、ウェスタンリザーブ、ワイズ株を含むワクシニアウイルス）、粘液腫ウイルス、ラブドウイルス（たとえば、水疱性口内炎ウイルス（VSV））、ピコルナウイルス（たとえば、セネカバレーウイルス；SVV-001）、コクサッキーウイルスおよびパルボウイルスを含むがこれらに限定されるわけではない。

【0124】

好ましい態様において、腫瘍溶解性ウイルスは、その57個のヒト血清型（HAdV-1から57）のいずれかのメンバーを含むアデノウイルスである。1つの局面において、アデノウイルスは、Ad5血清型である。他の局面において、アデノウイルスは、Ad5成分を含んでも含まなくてもよいハイブリッド血清型である。本発明に従って投与されうるアデノウイルスの非制限的な例には、デルタ-24、デルタ-24-RGD、ICOVIR-5、ICOVIR-7、ONYX-015、CoLoAd1、H101およびAD5/3-D24-GMCSFが挙げられる。Onyx-015は、癌の選択性を増強するためにE1B-55KおよびE3B領域に欠失を有するウイルス血清型Ad2およびAd5のハイブリッドである。H101は、Onyx-015の修飾型である。ICOVIR-5およびICOVIR-7は、E1AのRb結合部位欠失、およびE1AプロモーターのE2Fプロモーターとの交換を含む。CoLoAd1は、キメラAd11p/Ad3血清型である。AD5/3-D24-GMCSF（CGTG-102）は、GM-CSFをコードする血清型5/3カプシド修飾アデノウイルスである（Ad5カプシドタンパク質ノブが血清型3のノブドメインに交換されている）。

【0125】

1つの特に好ましい態様において、腫瘍溶解性ウイルスは、デルタ-24またはデルタ-24-RGDである。デルタ-24は、その各々が参照により本明細書に組み入れられる、米国特許出願公開第20030138405号、および第20060147420号において記述される。デルタ-24アデノウイルスは、5型アデノウイルス（Ad-5）に由来し、E1A遺伝子のCR2部分内に24塩基対の欠失を含む。デルタ-24-RGDはさらに、ファイバーノブタンパク質のHIループへのRGD-4C配列（ v_3 および v_5 インテグリンに強く結合する）の挿入を含む（Pasqualini R. et al., Nat Biotechnol, 15:542-546 (1997)）。

【0126】

デルタ-24の有意な抗腫瘍効果が、細胞培養系においておよび悪性神経膠腫異種移植片モデルにおいて示されている。現在のところ、デルタ-24は、臨床試験において抗腫瘍効果を示している。デルタ-24などの条件的に複製するアデノウイルス（CRAD）は、それらを生物学的治療剤として用いるための候補となるいくつかの特性を有する。そのような1つの特性は、許容細胞または組織での複製能であり、これによって、当初の投入量の腫瘍溶解性ウイルスが増幅され、隣接する腫瘍細胞へとウイルスを播種して、直接の抗腫瘍効

果を提供する。

【0127】

デルタ-24アデノウイルスのインビトロおよびインビボ腫瘍溶解効果が証明されている。一般的に、アデノウイルスは、36 kbの直線状の二本鎖DNAウイルスである (Grunhaus and Horwitz, 1992)。宿主細胞のアデノウイルス感染によって、エピソームで維持されるアデノウイルスDNAが得られ、これは組み込みベクターに関連する起こりうる遺伝子毒性を減少させる。同様に、アデノウイルスは、構造的に安定で、大量に増幅させた後のゲノム再配列は検出されていない。アデノウイルスは、細胞周期段階によらず、実質的にほとんどの上皮細胞に感染することができる。これまで、アデノウイルス感染症は、ヒトにおける急性の呼吸器疾患などの軽度の疾患に限って関連するようと思われる。

10

【0128】

いくつかの要因は、脳腫瘍を処置するための腫瘍溶解性アデノウイルスの使用にとって都合がよい。第一に、神経膠腫は、典型的に局在しており、それゆえ疾患を治癒するためには効率的な局所アプローチで十分であるはずである。第二に、神経膠腫は、異なる遺伝子異常を発現するいくつかの細胞集団を有する (Sidransky et al., 1992; Collins and James, 1993; Furnari et al., 1995; Kyritsis et al., 1996)。従って、癌細胞に対する1つの遺伝子の移入に感受性の腫瘍のスペクトルは限定されうる。第三に、複製コンピテントアデノウイルスは、G₀で停止している癌細胞に感染して、これを破壊することができる。神経膠腫は、停止している細胞を必然的に含むことから、この特性は重要である。最後に、p16-Rb経路は大多数の神経膠腫において異常であり (Hamel et al., 1993; Henson et al., 1994; Hirvonen et al., 1994; Jen et al., 1994; Schmidt et al., 1994; Costello et al., 1996; Fueyo et al., 1996b; Kyritsis et al., 1996; Ueki et al., 1996; Costello et al., 1997)、従って、デルタ-24戦略はこれらの腫瘍のほとんどにとって適切となる。網膜芽腫の腫瘍抑制遺伝子機能の喪失は、様々なタイプの腫瘍の原因に関連しており、神経膠腫の処置に限定されない。

20

【0129】

アデノウイルスが、複製できないように変異している場合、または条件的に複製可能である (ある条件下で複製コンピテントである) ように変異している場合には、ウイルスが複製するためにヘルパー細胞が必要でありうる。必要であれば、ヘルパー細胞株は、ヒト胚腎細胞、筋細胞、造血細胞、または他のヒト胚間葉細胞もしくは上皮細胞などのヒト細胞に由来しうる。または、ヘルパー細胞は、ヒトアデノウイルスに関して許容性である他の哺乳動物腫瘍の細胞に由来しうる。そのような細胞は、たとえばVero細胞または他のサル胚間葉細胞もしくは上皮細胞を含む。ある局面において、ヘルパー細胞株は293である。宿主およびヘルパー細胞を培養する様々な方法が当技術分野において、たとえばRacher et al., 1995において見いだされうる。

30

【0130】

ある局面において、アデノウイルスは、変異Rb経路を有する細胞において典型的に複製コンピテントである。トランスフェクション後、アデノウイルスプラークをアガロース重層細胞から単離して、分析するためにウイルス粒子を増殖させる。詳細なプロトコールに関しては、当業者はGraham and Prevac, 1991を参照されたい。

40

【0131】

アデノウイルスベクターを作製するための代替の技術は、細菌人工染色体 (BAC) 系、相補的アデノウイルス配列を含む2つのプラスミドを利用するrecA+細菌株におけるインビボ細菌組換え、および酵母人工染色体 (YAC) 系 (参照により本明細書に組み入れられる、PCT公開番号95/27071号および第96/33280号) を利用することを含む。

【0132】

アデノウイルスは、増殖および操作が容易で、インビトロおよびインビボで広い宿主範囲を示す。このウイルス群は、非常に高い力価で得ることができ (たとえば、10⁹ ~ 10ⁿ プラーク形成単位 (pfu) / ml)、それらは非常に感染力が強い。アデノウイルスのライフサイクルは、宿主細胞ゲノムへの組み込みを必要としない。

50

【0133】

本明細書において記述される腫瘍溶解性アデノウイルスの改変は、癌を処置する腫瘍溶解性アデノウイルスの能力を改善するために行われうる。そのような腫瘍溶解性アデノウイルスの改変は、その各々が参照により本明細書に組み入れられる、Jiang et al. (Curr Gene Ther. 2009 Oct 9(5):422-427) によって記述され、同様に米国特許出願第20060147420号を参照されたい。

【0134】

いくつかの腫瘍タイプに、コクサッキーウイルスおよびアデノウイルス受容体 (CAR) が存在しないかまたは存在しても低レベルであることは、腫瘍溶解性ウイルスの機能を制限しうる。このため、様々なペプチドモチーフ、例としてRGDモチーフ (RGD配列は細胞表面インテグリンの通常のリガンドを模倣する)、Tatモチーフ、ポリリジンモチーフ、NGRモチーフ、CTTモチーフ、CNGRLモチーフ、CPRECESモチーフ、またはストレプトタグモチーフ (Rouslahti and Rajotte, 2000) を、ファイバーノブに付加してもよい。モチーフを、アデノウイルスファイバータンパク質のH1ループに挿入することができる。カプシドの修飾によって、CAR非依存的標的細胞感染が可能となる。これによって、より高い複製、より効率的な感染、および腫瘍細胞の溶解の増加 (Suzuki et al., 2001、参照により本明細書に組み入れられる) が可能となる。EGFRまたはuPRなどの特異的ヒト神経膠腫受容体に結合するペプチド配列も同様に付加してもよい。EGFRvIIIなどの癌細胞の表面上に独占的または選択的に見いだされる特異的受容体は、アデノウイルス結合および感染の標的として用いられうる。

【0135】

本発明に従う腫瘍溶解性ウイルスは、局所または全身投与されうる。たとえば、本発明に従う腫瘍溶解性ウイルスは、血管内 (動脈内または静脈内)、腫瘍内、筋肉内、皮内、腹腔内、皮下、経口、非経口、鼻内、気管内、経皮、脊髄内、眼、または頭蓋内投与することができる。

【0136】

本発明に従う腫瘍溶解性ウイルスは、1回投与または複数回投与で投与されうる。ウイルスは、 1×10^5 プラーク形成単位 (PFU)、 5×10^5 PFU、少なくとも 1×10^6 PFU、 5×10^6 PFU または約 5×10^6 PFU、 1×10^7 PFU、少なくとも 1×10^7 PFU、 1×10^8 PFU または約 1×10^8 PFU、少なくとも 1×10^8 PFU、約または少なくとも 5×10^8 PFU、 1×10^9 PFU または少なくとも 1×10^9 PFU、 5×10^9 PFU または少なくとも 5×10^9 PFU、 1×10^{10} PFU または少なくとも 1×10^{10} PFU、 5×10^{10} PFU または少なくとも 5×10^{10} PFU、 1×10^{11} PFU、または少なくとも 1×10^{11} PFU、 1×10^{12} PFU または少なくとも 1×10^{12} PFU、 1×10^{13} PFU または少なくとも 1×10^{13} PFU の用量で投与されうる。たとえば、ウイルスは、約 $10^7 \sim 10^{13}$ 、約 $10^8 \sim 10^{13}$ 、約 $10^9 \sim 10^{12}$ 、または約 $10^8 \sim 10^{12}$ の用量で投与されうる。

【0137】

本発明に従う腫瘍溶解性ウイルスは、細胞担体中で投与されうる。この点において、神経および間葉幹細胞は、高い遊走能を有するがなおも腫瘍組織内に留まっている。成体間葉細胞 (骨髄由来腫瘍浸潤細胞またはBM-TIC) の亜集団は、神経膠腫に注射後、腫瘍全体に浸潤することが示されている。従って、本発明に従う腫瘍溶解性ウイルスは、ウイルス産生性の神経または間葉幹細胞 (たとえば、BM-TIC) 担体中で投与することができる (たとえば、腫瘍に担体細胞を注射することによって)。

【0138】

A. 併用療法

癌細胞の殺傷、癌細胞増殖の阻害、血管新生の阻害を増加させるために、あるいは腫瘍細胞の悪性表現型の逆転または減少を改善するために、さらなる治療を本発明の任意の方法と組み合わせうる。これらの組成物は、細胞を殺すためにまたは細胞の増殖を阻害するために有効である併用量で提供されるであろう。このプロセスは、発現構築物と剤または因子を同時に細胞に接触させる段階を伴いうる。これは、1つの組成物もしくは両方の剤を含む薬理的製剤を細胞に接触させることによって、または1つの組成物が腫瘍溶解性

ウイルスを含み、他の組成物が第二の治療用の剤を含む、2つの別個の組成物または製剤を細胞に同時に接触させることによって行われうる。

【0139】

または、処置は、数分から数週間の範囲の間隔をあけて、他の剤または処置の、前または後に行われうる。剤が細胞に対して個別に適用される態様では、剤がなおも細胞において有利に併用効果を発揮することができるように、一般的には、各送達の合間に有意な期間が経過しないように努めるであろう。そのような例において、互いに約12~24時間以内に、より好ましくは互いに約6~12時間以内に両方の治療法を細胞に接触させることが企図され、わずかに約12時間の遅延時間が最も好ましい。いくつかの状況において、それぞれの投与の合間に数日(2、3、4、5、6、または7日)から数週間(1、2、3、4、5、6、7、または8週間)から数ヶ月(1、2、3、4、5、6、7、または8ヶ月)間を経過する場合には、処置の期間を延長させることが望ましいこともある。

10

【0140】

いずれかの剤の1回より多くの投与も同様に望ましいと考えられる。様々な併用、たとえば、第二の剤の投与前に1つもしくは複数の腫瘍溶解性ウイルス処置を行ってもよく、または腫瘍溶解性ウイルス投与の前に第二の剤を投与してもよい。連続投与は、腫瘍溶解性ウイルス治療または第二の剤の1回もしくは複数回の投与を含みうる。この場合も、細胞殺傷を行うために、両方の剤を、細胞殺傷に有効な併用量で細胞に送達する。たとえば、デルタ-24またはデルタ-24-RGDと免疫調節剤との併用。

20

【0141】

代替癌治療

本発明の特定の態様に従って、対象を、そのような治療(たとえば、デルタ-24-RGD治療)に対する応答者である、またはそのような治療に応答する可能性があると同定した後で、腫瘍溶解性ウイルス治療と併用して用いる、癌を処置する方法が提供される。そのような治療は、本発明のアッセイにより、対象がアデノウイルス(たとえば、デルタ-24-RGD)などの複製コンピテント腫瘍溶解性ウイルス処置に応答する可能性が低いことが示される場合に利用されうる。または、そのような治療は、対象が本発明の方法によって、複製コンピテント腫瘍溶解性ウイルスのみによる処置に応答しない可能性があると同定される場合に、アデノウイルスなどの複製コンピテントウイルスと併用して利用されうる。

30

【0142】

手術

癌患者のおよそ60%が、保存的、診断用、進行期分類用、治癒的および待機的手術を含む何らかのタイプの手術を受ける。治癒的手術は、本発明の処置、化学療法、放射線療法、ホルモン療法、遺伝子治療、免疫療法、および/または代替治療などの、他の治療と併用して用いられうる癌の処置である。

【0143】

治癒的手術は、癌様組織の全てまたは一部が物理的に摘出、除去、および/または破壊される切除を含む。腫瘍の切除は、腫瘍の少なくとも一部の物理的除去を意味する。腫瘍の切除に加えて、手術による処置は、レーザー治療、凍結治療、電気治療、および顕微鏡下で行われる手術(モース手術)を含む。本発明は、表層癌、前癌、または付随する量の正常組織の除去に関連して用いられうるものがさらに企図される。

40

【0144】

ある局面において、治療は、術前に、または癌様細胞、組織、もしくは腫瘍の一部または全ての切除時に、腫瘍内注射によって投与される。処置はまた、追加の抗癌治療によるこれらの領域の灌流、直接注射、または局所適用によっても行われうる。そのような処置は、たとえば、1、2、3、4、5、6、もしくは7日毎、または1、2、3、4、および5週間毎、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、もしくは12ヶ月毎に反復されうる。これらの処置は、様々な用量の処置でありうる。

【0145】

化学療法

50

広く多様な化学療法剤が本発明に従って用いられうる。「化学療法剤」という用語は、癌を処置するために薬物を用いることを意味する。「化学療法剤」は、癌の処置において投与される化合物または組成物を意味するために用いられる。これらの剤または薬物は、細胞内でのその活性様式によって、たとえば細胞周期に影響を及ぼすか否か、または細胞周期のどの期に影響を及ぼすかによって分類される。または、剤は、DNAと直接架橋する能力、DNAにインターカレートする能力、または核酸合成に影響を及ぼすことによって染色体および分裂異常を導入する能力に基づいて特徴付けされうる。ほとんどの化学療法剤は、以下のカテゴリに入る：アルキル化剤、抗代謝剤、抗腫瘍抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤、および分裂阻害剤。

【0146】

アルキル化剤は、ゲノムDNAと直接相互作用して癌細胞が増殖するのを防止する。このカテゴリの薬物は、細胞周期の全ての期に影響を及ぼす剤を含み、慢性白血病、非ホジキンリンパ腫、ホジキン病、悪性黒色腫、多発性骨髄腫、ならびに乳腺、肺、および卵巣の特定の癌を処置するために一般的に用いられる。それらは、メクロレタミン（ナイトロジェンマスタード）、クロラムブシル、シクロホスファミド（シトキサン（登録商標））、イフォスファミド、およびメルファランなどのナイトロジェンマスタード、ストレプトゾシン、カルムスチン（BCNU）、およびロムスチンなどのニトロソウレア、プスルファンなどのアルキルスルホネート、ダカルバジン（DTIC）およびテモゾロミド（Temodar（登録商標））などのトリアジン、チオテパおよびアルトレタミン（ヘキサメチルメラミン）などのエチレンイミン、ならびにシスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチンなどの白金製剤を含む。

【0147】

抗代謝剤はDNAおよびRNA合成を阻害する。アルキル化剤とは異なり、それらは、細胞周期のS期に特異的に影響を及ぼす。それらは、慢性白血病ならびに乳腺、卵巣、および消化管の腫瘍を処置するために用いられている。抗代謝剤は、5-フルオロウラシル（5-FU）、6-メルカプトプリン（6-MP）、カペシタビン（ゼローダ（登録商標））、クラドリピン、クロファラビン、シタラビン（Ara-C（登録商標））、フロクスリジン、フルダラビン、ゲムシタビン（ジェムザール（登録商標））、ヒドロキシウレア、メトトレキサート、ペメトレクスド、ペントスタチン、およびチオグアニンを含む。

【0148】

抗腫瘍抗生物質は、抗菌活性と細胞障害活性の両方を有する。これらの薬剤はまた、酵素および有糸分裂を化学的に阻害することによって、または細胞膜を変化させることによってDNAを阻害する。これらの物質は、細胞周期の全ての期に作用して、多様な癌を処置するために用いられる。代表的な例には、ダウノルビシン、ドキソルビシン（アドリアマイシン（登録商標））、エピルビシン、イダルビシン、アクチノマイシン-D、プレオマイシン、およびマイトマイシン-Cが挙げられる。一般的に、これらの化合物は、25~100 mg/kgの範囲の用量でボラスの静脈内注射によって投与される。

【0149】

トポイソメラーゼ阻害剤は、DNA鎖がコピーされうるように、DNA鎖を分離するのを助ける酵素であるトポイソメラーゼを阻害し、特定の白血病ならびに肺、卵巣、消化管および他の癌を処置するために用いられ、トポテカン、イリノテカン、エトポシド（VP-16）およびテニポシドを含む。

【0150】

分裂阻害剤は、しばしば植物アルカロイドであり、細胞周期のM期に作用して、分裂を防止するかまたは酵素が細胞増殖にとって必要なタンパク質を産生するのを阻害する。代表的な例には、パクリタキセル（タキソール（登録商標））およびドセタキセル（タキソテール（登録商標））などのタキサン、イキサベピロン（イグゼンプラ（登録商標））などのエポチロン、ピンブラスチン（Velban（登録商標））、ピンクリスチン（オンコピン（登録商標））およびピノレルピン（ナベルピン（登録商標））などのピンカルカロイド、ならびにエストラムスチン（Emcyt（登録商標））が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0151】

他の化学療法剤は、イマチニブ（グリベック（登録商標））、ゲフィチニブ（イレッサ（登録商標））、スニチニブ（スーテント（登録商標））、ソラフェニブ（ネクサバル（登録商標））、ボルテゾミブ（ベルケイド（登録商標））、ペバシズマブ（アバスチン（登録商標））、トラスツズマブ（ハーセプチン（登録商標））、セツキシマブ（アービタックス（登録商標））、およびパニツムマブ（ベクティビックス（登録商標））などの標的指向治療薬、フルベストラント（フェソロデックス）、タモキシフェン、トレミフェンなどの抗エストロゲン、アナストロゾール、エキセメスタンおよびレトロゾールなどのアロマターゼ阻害剤、酢酸メゲストロールなどのプロゲステロン、および性腺刺激ホルモン放出ホルモンを含むホルモン療法剤、ならびに薬物または毒素（たとえば、放射性核種、

10

【0152】

放射線治療

放射線療法とも呼ばれる放射線治療は、皮膚、舌、喉頭、脳、乳腺、もしくは頸部の癌などの局所固形腫瘍を処置するために用いられうるか、または血液形成細胞の癌（白血病）およびリンパ系の癌（リンパ腫）を処置するために用いられうる、電離放射線による癌および他の疾患の処置である。放射線治療は、 γ 線、X線、および/または放射性同位元素の腫瘍細胞への定方向送達の使用を含むがこれらに限定されるわけではない。マイクロ波およびUV照射などの他の型のDNA損傷因子が企図される。X線の線量範囲は、50から200レントゲンの一日線量の長期間照射（3～4週間）から2000～6000レントゲンの1回線量の範囲である。

20

【0153】

放射線治療はまた、癌の部位に直接放射線の線量を送達するために放射標識抗体（たとえば、放射免疫療法、共焦点放射線療法）、高解像度強度変調放射線療法、および定位放射線手術を用いることを含む。脳および他の腫瘍の定位放射線手術（ガンマナイフ）は、何百もの異なる角度からのガンマ放射線療法の正確に標的指向する光線を用いる。1回のみの施行で約4～5時間が必要である。

30

【0154】

V. 薬学的組成物

本明細書において記述される細胞、ウイルス、ポリペプチド、ペプチド、および化合物（すなわち、治療剤）は、薬学的に許容される担体と共に処方される製剤または薬剤として投与されうる。したがって、治療剤は、薬剤または薬学的組成物の製造において用いられうる。本発明の薬学的組成物は、非経口投与のための液剤または凍結乾燥粉末として処方されうる。粉剤は、使用前に、適した希釈剤または他の薬学的に許容される担体を添加することによって溶解されうる。液体製剤は、緩衝作用を有する等張水溶液でありうる。粉剤はまた、乾燥型で噴霧されうる。適した希釈剤の例は、等張生理食塩液溶液、標準5%デキストロス水溶液、緩衝作用を有する酢酸ナトリウムまたは酢酸アンモニウム溶液

40

【0155】

または、治療剤をカプセルにしてもよく、錠剤にしてもよく、または経口投与のための乳剤もしくはシロップ剤として調製してもよい。薬学的に許容される固体または液体担体は、組成物を増強もしくは安定化するために、または組成物の調製を促進するために添加されうる。固体担体は、デンプン、ラクトース、硫酸カルシウム二水和物、白土、ステア

50

リン酸マグネシウム、またはステアリン酸、タルク、ペクチン、アカシア、寒天、またはゼラチンを含む。液体担体は、シロップ、落花生油、オリーブ油、食塩水、および水を含む。担体はまた、モノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリルなどの徐放性材料を、単独でまたはワックスと共に含む。固体担体の量は、変化するが、好ましくは約20 mgから約1 g/用量単位の範囲であろう。薬学的調製物は、錠剤型の場合、粉碎、混合、造粒、および必要であれば圧縮、または硬ゼラチンカプセル剤形の場合、粉碎、混合、および充填を伴う通常の調剤技術に従って作製される。液体担体を用いる場合、調製物は、シロップ剤、エリキシル剤、エマルジョン、または水性懸濁液もしくは非水性懸濁液の剤形でありうる。直腸内投与の場合、本発明の化合物は、カカオバター、グリセリン、ゼラチン、またはポリエチレングリコールなどの賦形剤と混和され、坐剤に成型されうる。

10

【0156】

治療剤は、他の医学的に有用な薬物または生物学的剤を含むように調合されうる。治療剤はまた、本発明の化合物が向けられる疾患または状態にとって有用な他の薬物または生物学的剤の投与と共に投与されうる。

【0157】

本明細書において用いられる、「有効量」という句は、そのレシピエントに対して有益な効果を付与するために十分に高い濃度を提供するために十分な用量を意味する。任意の特定の対象に関する特異的な治療的有效量レベルは、処置される障害、障害の重症度、特異的化合物の活性、投与経路、化合物の排泄速度、処置期間、化合物と併用してまたは同時に用いられる薬物、対象の年齢、体重、性別、食事、および全身健康、ならびに医学の技術分野および科学において周知のその他の要因を含む多様な要因に依存する。「治療的有效量」の決定において考慮される様々な全般的検討は、当業者に公知であり、たとえば Gilman et al., eds, Goodman And Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8th ed., Pergamon Press, 1990; and Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990に記述される。用量レベルは典型的に約0.001から100 mg/kg/日の範囲であり、約0.05から10 mg/kg/日の範囲のレベルが一般的に適用可能である。化合物は、血管内、静脈内、動脈内、筋肉内、皮下、またはその他のなどの非経口的に投与することができる。投与はまた、経口、鼻、直腸、経皮、またはエアロゾルを介しての吸入でありうる。化合物は、ポラスとして投与されうるか、または徐々に注入されうる。

20

30

【実施例】**【0158】**

以下の実施例ならびに図面は、本発明の好ましい態様を証明するために含まれる。実施例または図面に開示される技術は、本発明者らによって本発明の実践において良好に機能することが発見された技術を表し、このため、その実践に関する好ましい様式を構成すると見なすことができることが当業者によって認識されるべきである。しかし当業者は、本開示に照らして、開示される特異的態様に多くの変更を行うことができ、それでもなお同様または類似の結果を得ることができ、それらも本発明の趣旨および範囲に含まれることを認識すべきである。

40

【0159】**実施例1 - フェーズI臨床試験**

悪性神経膠腫を処置するための、条件的複製コンピテントアデノウイルス（デルタ-24-RGD）のフェーズI用量漸増ダブルアーム臨床試験が、最近終了した。試験のアームAでは、再発性神経膠腫の増殖領域へのデルタ-24-RGDの1回用量の直接腫瘍内注射を調べた。アームBでは、再発性神経膠腫の摘出後の摘出腔への分割用量の腫瘍内投与を調べた。アームAの試験は、 1×10^7 個のウイルス粒子（vp）の用量で開始して、 3×10^{10} vpまで0.5logの増加分で増加させた；用量制限毒性が認められなかったことから、またはいかなる重篤な有害事象（SAE）も報告されなかったことから、最大認容量（MTD）に達しなかった。フェーズI試験は、腫瘍の応答に関する明白な証拠を示し、比較的低用量の 3×10^8 vpに達し

50

た後に、アームAおよびアームBの両群において良好な生存を示した。フェーズIのアームAのデータ(n=24)は、MRIでの腫瘍の縮小および特徴的变化(「シグネチャー変化」)によって証明されるように、MRIでの高い応答率(30~40%)を示している。これらのシグネチャー変化が適切である証拠は、外科的に切除された腫瘍に関する病理報告書から得られる。腫瘍の増悪であると思われる事例に対応して、デルタ-24-RGD治療の数ヶ月後に2例の腫瘍を切除した。両方の例において、病理学者は、腫瘍の80%および90%が死んでおり(壊死)、残存腫瘍には主にCD8 T細胞が浸潤していることを報告した。実際に、デルタ-24-RGDの腫瘍内送達によって誘発されたMRI上のシグネチャー変化は、腫瘍サイズの正確な測定に依存する必要がなく、臨床応答の初期の指標として用いることができる。

【0160】

デルタ-24-RGDは、腫瘍細胞に特徴的な状態であるRb腫瘍抑制遺伝子を欠如する細胞に高い選択性で感染するように遺伝子工学的に操作されているアデノウイルスである。理論的には、腫瘍塊の中でアデノウイルスが増殖することによって、一連の感染-複製-溶解-感染事象が起こり、これは増殖の高まりを生じて、腫瘍塊をおそらく撲滅する。それゆえ、アデノウイルスなどの腫瘍溶解性ウイルスは、通常の治療に対する神経膠腫の抵抗を克服するという特有の有望性を有し、手術の際の腫瘍への近づきにくさを解消し、放射線療法および化学療法に対して癌細胞が抵抗する傾向を解消する。フェーズI試験の目標は、再発性の悪性神経膠腫患者における腫瘍内注射および摘出腔への注射によって投与されるデルタ-24-RGDの最大認容量を発見することであった。この試験の結果により、ウイルスを腫瘍内注射すると、これらの患者のサブセットにおいて、最初の腫瘍溶解相の後に、遅延型炎症(Th1偏向)反応が起こり、最終的に完全な退縮を伴う腫瘍の縮小が起こることが判明した。これは、デルタ-24-RGDなどの腫瘍溶解性ウイルスに対する曝露後に、神経膠腫患者が免疫応答を生じ、およびこの免疫応答を、処置の成否を予測するための基礎として用いることができるという最初の証拠である。

【0161】

本明細書において記述される結果は、高悪性度神経膠腫患者において得られたが、腫瘍溶解性ウイルス(および特にデルタ-24-RGDウイルス)は全般的に、乳癌、前立腺癌、大細胞肺癌、および肉腫を含むがこれらに限定されるわけではない、多数の腫瘍タイプにおいて複製できることが証明されている。神経膠腫の処置に関して本明細書において示されるデータは、他の大多数の固形腫瘍にとっても適切であると予想される。

【0162】

デルタ-24-RGDを用いるフェーズI臨床試験の際に完全に予想外で特有であった知見は、テモゾロミドおよび放射線治療によって以前に処置した(が奏功しなかった)患者2人が、連続磁気共鳴イメージング(MRI)スキャンに基づいて放射線造影学的に少なく見積もっても完全な応答であるように思われる結果を示したことであった。これらの患者はMRI上で古典的な腫瘍応答を有した;1人は、縮小を伴わないがMRI上の劇的な変化を示し、その後切除すると、腫瘍は、病理検査によって90%壊死であり、残りの腫瘍には免疫細胞が浸潤していると報告された。これらの患者の1人はなおも生存しており、ウイルスの1回注射による処置後2年半もの間、健康であった。これは顕著な知見であったが、より予想外であったことは、これらの完全な応答を有した患者2人がまた、フェーズI臨床試験における集団の残りと比較して非常に上昇した血清中IL-12p70レベルを有したことであった。これらのIL-12p70サイトカインレベルは、腫瘍溶解性アデノウイルスが最適に作用するためには、T-ヘルパー1(Th1)への偏向が必要であるという仮説と非常に良好に相関する。実際に、デルタ-24-RGDによる処置に応答した全ての患者がウイルスによる処置の前後で有意に上昇したIL-12p70レベルを有した(100%相関)。このデータはまた、完全な応答を有するこれらの患者の血清が、非常に低レベルの癌関連抗原に対する抗体を有したという以下に考察する知見とも一貫する。その上、フェーズI試験の際にウイルスに応答した患者から切除した腫瘍の分析を行ったところ、処置後2週間でマクロファージの浸潤を認め、その後数ヶ月でCD8 T細胞が浸潤することが証明された。

【0163】

10

20

30

40

50

このデータは、たとえばヒト組換え型IL-12p70、IL-2、IFN- γ などのTh1サイトカイン、またはレブラミドもしくはレナリドミドなどのIL-12p70産生を刺激する剤を、デルタ-24-RGDなどの腫瘍溶解性ウイルスの投与前または投与後に投与することによる患者におけるTh1表現型の刺激（すなわち、IL-12などの高レベルのTh1サイトカイン）を用いて、おそらくウイルスの効果に対する患者の応答を増強することができることを示唆している。このため、Th1表現型を生じるために、したがってウイルスの抗腫瘍効果を増強するために、低いベースラインIL-12p70レベルを有する患者1人に、デルタ-24-RGDの投与後2ヶ月目にIFN- γ （インターフェロンガンマ1b（Actimmune（登録商標））200万単位を月曜、水曜、および金曜日に、連続的に皮下に）投与した。患者はウイルスに対して非常に良好に反応し完全な応答者であるように思われ、従って原理に基づく証拠が提供される。IL-4、IL-5、IL-10、IL-13などのTh2サイトカインの抑制もまた、腫瘍溶解性ウイルスの効果を増強するための新規戦略を表しうる。

10

【0164】

本発明者らはまた、デルタ-24-RGDの投与前に癌関連抗原に対する抗体が高レベルであった患者、または腫瘍溶解性ウイルス治療の際に癌抗原に対する血液中の自己抗体が増加した患者が、ウイルスに対する応答を示さなかったことも発見した。逆に、完全な応答者である患者の血清は、非常に低レベルの癌関連抗原に対する抗体を有した。この場合も100%の相関が観察され、IL-12p70とウイルスに対する応答との相関と一貫した。従って、T-ヘルパー1（Th1）偏向は、腫瘍溶解性アデノウイルスが最適に作用するために必要である。簡単に説明すると、フェーズI臨床試験に参加する患者の血清を、デルタ-24-RGDを投与する前に31個の別個の癌関連抗原に対する抗体の有無に関して、および処置後にも抗体の産生に関して試験した。これらの癌抗原は、その発現が通常生殖系列に限定されるが広範囲の癌タイプにおいて活性化され、しばしば癌患者において免疫原性である抗原をコードする腫瘍抗原のクラスである癌/精巣抗原を含んだ。現在、神経膠腫患者において癌抗原に対するこれらの抗体の存在に関する系統的な研究はない。本発明者らは、神経膠腫を有する患者が癌抗原に対して免疫応答を生じたという最初の証拠を得た。意外にも、デルタ-24-RGDに対して放射線学的に反応を示す腫瘍を有する患者の血清は、定義された組の抗原に対して低い液性抗体反応を示したか、または液性抗体反応を全く示さなかった。デルタ-24-RGDに反応した患者に抗体反応がないことは、ウイルスに反応するためにはTh1に偏向した免疫系が必要であることと一貫する。

20

30

【0165】

これらの特有の知見は、極めて広い意味を有する：（1）IL-12p70などのTh1サイトカインの高レベル、および/または癌関連抗原に対する抗体の低レベルは、腫瘍溶解性ウイルス（たとえば、アデノウイルス）治療に反応する患者のサブセットを同定するために用いることができる新規のバイオマーカーの組を提供し、および（2）Th1免疫表現型を生じる（すなわち、IL-12p70および他のTh1サイトカインレベルを増加させる）剤を、腫瘍溶解性ウイルス治療を増強するために、腫瘍溶解性ウイルスの投与前または投与後に同時投与することができる。例として、組換え型ヒトIL-12p70（またはインターフェロンまたはレブラミドなどのこれらのサイトカインの産生を刺激する剤）を、アデノウイルスなどの腫瘍溶解性ウイルスの効果を増強するために、およびそれによって抗腫瘍活性を増加させて、処置後の転帰を改善させるために癌患者に全身投与することができる。

40

【0166】

このように、本発明者らは、Th1サイトカイン優位の発現を用いて、神経膠腫などの癌患者における腫瘍溶解性ウイルス治療後の転帰を予測することができることを発見した。理論に拘束されるものではないが、Th1サイトカイン優位のプロファイルを有する癌患者のサブセットを、細胞性抗腫瘍免疫応答を開始するようにプライミングすることが提唱される。特に、本発明者らは、良好な臨床転帰でデルタ-24-RGDに対して測定可能な反応を示す神経膠腫患者が、Th1サイトカインであるIL-12p70、IL-2、およびIFN- γ の高レベルを有するが、腫瘍関連抗原に対する抗体の高レベルは、ウイルスに反応しない患者を予測するように思われることを意外にも発見した。完全な反応または高レベルの反応を有する

50

患者は、術前に高レベルのTh1サイトカイン、インターロイキン-12p70を有し（血清中レベルは、フェーズI臨床試験における集団の残りと比較して非常に上昇した）、このレベルはウイルスの注射後増加した。完全な応答を示した患者2人もまた、このフェーズI臨床試験における集団の残りと比較して非常に上昇した血清中IL-12p70レベルを有した。

【0167】

腫瘍溶解性アデノウイルスデルタ-24-RGDによる処置に対する神経腫患者の応答における他の炎症促進性Th1サイトカイン（たとえば、IFN- γ ）および抗炎症性Th2サイトカイン（たとえば、IL-4およびIL-10）の役割を調べた。リンタンパク質（ホスホ-STAT3（Tyr705））および切断型カスパーゼ-3の役割も同様に調べた。ホスホ-STAT3（Tyr705）。このように、細胞溶解物におけるホスホ-STAT3（Tyr705）および切断型カスパーゼ-3、なら
10
びに細胞培養培地中のGM-CSF、IFN- γ 、IL1、IL-2、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p40およびTNF α レベルを、カスタムコーティングマルチスポットプレートおよびSector Imager 6000を用いて、製造元のプロトコル（Meso Scaleに軽微な改変を加えて）に従って決定した。サイトカインを定量する場合、細胞培養培地を収集して-80℃で保存した。切断型カスパーゼ-3およびホスホ-STAT3（Tyr705）を定量する場合、実験操作に供する細胞を氷冷リン酸緩衝生理食塩液によって洗浄した後、水中でMSD完全溶解緩衝液（150 mM NaCl、20 mM Tris[pH 7.5]、1 mM EDTA、1 mM EGTA、1% Triton X-100、10 mM NaF、MSDホスファターゼ阻害剤I、MSDホスファターゼ阻害剤II、およびプロテアーゼ阻害剤カクテル）に入れて、時折ボルテックスミキサーで攪拌することによって30分間溶解した。17,968 gで
20
4℃で10分間遠心分離後、上清を収集して、タンパク質濃度を決定して、透明な溶解物を-80℃で保存した。

【0168】

Meso Scale Discovery（MSD; Gaithersburg, MD）の捕獲抗体プレコート96ウェルマルチスポットプレートを用いて、生物学的反復実験試料に関してエレクトロケミルミネッセンスアッセイを行った。簡単に説明すると、プレートを、振とうさせながら室温で1時間ブロックした後、0.1% Tween-20を有するTris緩衝食塩水によって4回洗浄した。タンパク質15 μ gまたは上清もしくは較正物質25 μ lを各ウェルに加えて、室温で1時間、または4
30
で終夜振とうさせながらインキュベートした。プレートを洗浄した後、MSD SULFO-TAG試薬によって標識した1 μ g/ml特異的検出抗体25 μ lを各ウェルに添加して、室温で2時間振とうさせながらインキュベートすることによって特異的タンパク質レベルを定量した。プレートを、前述の0.1% Tween-20を添加したTris緩衝食塩水によって4回洗浄して、2xまたは1x読み取り緩衝液150 μ lを添加して、プレートをSECTOR Imager 6000を用いて直ちに読み取り、Discovery Workbench and SOFTmax PRO 4.0を用いてデータを定量した。

【0169】

今日までに得られたデータから、Th1サイトカイン優位の発現が患者の臨床転帰を予測することが証明された。理論に拘束されるものではないが、Th1サイトカイン優位のプロファイル
40
を有する癌患者のサブセットを、細胞性抗腫瘍免疫応答を開始するようにプライミングすることが提唱される。特に、本発明の試験は、神経腫患者におけるサイトカインIL-12およびIFN- γ によるTh1免疫応答を推進するが、デルタ-24-RGDに対する測定可能な応答および良好な臨床転帰と相関することを証明するが、腫瘍関連抗原に対する抗体の高いレベルは、ウイルスに
40
応答しない患者を予測するように思われることを証明する。Th2サイトカインであるIL-4およびIL-10の応答は、デルタ-24-RGD処置の際に関与せず、その発現レベルは、臨床転帰に関連しないように思われる。従って、免疫応答の液性（たとえば、自己抗体の滴定によって測定）から細胞性（たとえばサイトカイン分析によって報告される）への偏向を用いて、デルタ-24-RGDなどの腫瘍溶解性ウイルスに対する応答者である可能性がある患者を予測することができる。

【0170】

デルタ-24-RGDなどの腫瘍溶解性ウイルスの効果を増強するための代替または追加の戦略は、T-regとしても知られる調節性T細胞のレベルを減少させるかまたは調節性T細胞を抑制することであり、これは、テモゾロミドおよびシクロホスファミドなどの多数のアル
50

キル化剤を含む多数の化学療法剤によって行うことができる。過去にテモゾロミド治療が奏功しなかった2例の完全な応答者における治療前および治療時の免疫系が高度にTh1偏向していることは、ウイルスに応答するよう患者の免疫系をプライミングするために、腫瘍溶解性ウイルス治療の前に、調節性T細胞を抑制する剤を神経膠腫または他の癌患者に投与することができることを示している。または、調節性T細胞を抑制する剤をウイルスの投与後に投与することができる。

【0171】

本明細書において記述される発見を利用して、(a)ウイルスの投与前に、組換え型ヒトIL-12p70またはIFN- γ などのIL-12刺激剤、またはレブラミド(レナリドミド)などのIL-12p70産生を刺激するための剤の前投与、(b)最大の腫瘍溶解を達成するために多数の腫瘍領域へのウイルスの注射、および任意で(c)増殖例においてT-reg集団を減少させるおよび/または細胞性免疫応答を刺激することができる剤の患者への投与を含む、「最悪の状況」を導く処置が、デルタ-24-RGDなどの腫瘍溶解性ウイルスを用いることによって想像されるかまたは具体化される。たとえば、テモゾロミドを用いて、薬物の7日間投与で7日間休止であるか、または21日間投与で7日間休止であるドーズデンス法によって、あるいは標準的な投与である、薬物の5日間投与で23日間休止によって、T-reg集団を減少させることができる。この併用療法は最初に、T細胞エフェクター細胞を媒介する、Th1またはT-ヘルパー1応答を推進するTh1サイトカインを増加させる。デルタ-24-RGDを腫瘍塊に導入すると、腫瘍細胞が溶解するにつれて、ウイルス抗原およびおそらく癌関連抗原の両方の「抗原バースト」を生じる。最後に、イピリムマブなどのCTLA-4アンタゴニストおよびPD-1/PD-L1受容体アンタゴニストなどの腫瘍関連抗原に対する細胞性免疫応答を刺激する剤の投与は、T細胞媒介クローンを刺激して複製させて活性であるように維持する。

【0172】

実施例2. フェーズIB臨床試験：腫瘍溶解性ウイルスとTh1刺激剤の同時投与

フェーズIB臨床試験は、イピリムマブを同時に静脈内注射した、腫瘍内注射および腹腔内注射によって投与されるデルタ-24-RGDの最大認容量、ならびに併用の用量制限毒性および抗腫瘍活性を決定するために現在設計されている。

【0173】

イピリムマブは、完全なヒト細胞障害性Tリンパ球抗原(CTLA-4)ブロッキングIgG1kモノクローナル抗体(以前のMDX-010)である。CTLA-4は、T細胞活性化の負の調節剤である。CTLA-4は、T細胞活性化に関する阻害性の制御を発揮することおよび特定の経路を遮断することによって、免疫チェックポイントとして機能する。イピリムマブによる遮断によって免疫応答は持続する。イピリムマブはCTLA-4に結合して、CTLA-4とそのリガンドであるCD80/CD86との相互作用を遮断する。CTLA-4遮断は、T細胞活性化および増殖を増強することが示されている。イピリムマブの作用機序は、T細胞媒介抗腫瘍免疫応答を通して起こりうる。簡単に説明すると、イピリムマブは、CTLA-4によって媒介される調節性フィードバックループを遮断して、それによってT細胞増殖およびIL-2の分泌を有効に刺激する。イピリムマブは、切除不能なまたは転移性黒色腫の処置に関してFDAによる規制当局の承認を得ている。フェーズ3臨床試験において、これらの癌患者にgp100(黒色腫関連抗原を含むペプチドワクチン)、イピリムマブ、またはその併用のいずれかを投与した。イピリムマブ単独によって処置した患者は、gp100群と比較して死亡リスクが34%減少したが、イピリムマブ単独とgp100+イピリムマブの併用との間では、全生存(OS)の中央値に差は観察されなかった。

【0174】

患者の適格性 - 参加

組織学的に証明された再発性悪性原発性神経膠腫を有する患者が適格である。神経膠腫のタイプは、多形神経膠芽細胞腫(GBM)および神経膠肉腫(GS)に限定される。患者は、デルタ-24-RGD-4Cを注射する前に、悪性神経膠腫の存在(凍結切片に基づく)を確認するために定位注射時に生検行うことに同意している。患者は、自ら進んでインフォームドコンセントに同意することができなければならない。患者の年齢は、18歳以上でなければ

ならない。患者は、カルノフスキーパフォーマンスステータスが $> / = 60$ でなければならない。患者は前回の治療による毒性効果（すなわち、CTCグレード1または1未満）から回復していなければならない。たとえば患者はビンクリスチンの投与後少なくとも2週間、ニトロソウレアの投与後6週間、およびプロカルバジンまたはテモゾロミドの投与後3週間であらなければならない。患者は適切な骨髄機能（顆粒球絶対数 1,500個および血小板数 75,000個）、適切な肝機能（SGPTおよびアルカリホスファターゼは、施設内基準の2倍以下およびビリルビンは1.5 mg%未満）、および適切な腎機能（BUNまたはクレアチニンは施設内基準の1.5倍未満）を有しなければならない。本試験は、女性およびマイノリティを含めるように設計されたが、介入効果の差を測定するには設計されなかった。男性および女性を、性差なく募集する。本試験に対する除外は人種に基づかない。マイノリティを、積極的に参加するように募集する。

10

【0175】

除外

試験からの除外は、以下を有する患者である：（1）活性で制御されていない感染症、または不安定もしくは重度の併発内科疾患。患者は全員、ベースラインで発熱していない状態であらなければならない（すなわち、セ氏38度未満）。（2）出血性素因または抗凝固剤の使用もしくは術前に中止することができない出血リスクを増加させる任意の薬剤の使用の証拠。投薬をデルタ-24-RGD-4C注射の1週間以上前から中止することができる場合は、患者は適格でありうる。（3）治験担当医の意見として、精神医学的または複雑な医学的問題のために対象が参加する能力を妨害しうる、またはインフォームドコンセントを得ることができない任意の医学的または精神疾患の過去または現在の診断。（4）妊娠/授乳中の女性。発達中の胎児または成長過程の乳児におそらく影響を及ぼしうる細胞の増殖の制御および分化に関係する遺伝子を含む組換え型ウイルスの潜在的リスクのために、試験期間中に妊娠中、妊娠の可能性がある、または母乳の授乳中の女性は、除外される。（5）免疫無防備状態の対象、自己免疫状態、活動性肝炎（A、B、CまたはD型[デルタ]）、またはHIV血清陽性を有する対象。（6）リ・フラウメニ症候群または網膜芽腫遺伝子もしくはその関連経路に公知の生殖系列欠損を有する患者。（7）多数の頭蓋内悪性神経膠腫病変。（7）報告された頭蓋外転移。（8）デルタ-24-RGD-4C投与の2週間以内の生物療法/免疫療法（たとえば、IL-2、IL-12、インターフェロン）。（9）ペースメーカー、心外膜ペーサーワイヤ、注入ポンプ、外科および/または動脈瘤クリップ、散弾の破片、金属製の人工器官、磁気特性を有する可能性があるインプラント、眼内金属片等を有する人などの、MRIを受ける際の任意の禁忌。（10）白血球（WBC） $< 2.5 \times 10^3$ 個/mm³、好中球絶対数（ANC） $< 1.5 \times 10^3$ 個/mm³、血小板数 $< 75,000$ 個/mm³、ヘモグロビン（Hgb）10.0 g/dL、プロトロンビン時間/国際標準比（PT/INR）または部分トロンボプラスチン時間（PTT）が対照値の1.8倍より長い。（11）グレード4の血液毒性。（12）血清クレアチニン > 1.5 mg/dL。（13）肝トランスアミナーゼ（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ[AST]および/またはアラニンアミノトランスフェラーゼ[ALT]または総ビリルビンが正常値の上限の2倍より高い）。（14）治癒的子宮頸部上皮内癌、皮膚の基底細胞癌または扁平上皮癌を除く、他の癌を有すると現在、診断されていること。（15）主観的評価を妨害する脳炎、多発性硬化症、他のCNS感染症または原発性CNS疾患の既往。（16）試験中およびデルタ-24-RGD-4Cの注射後6ヶ月までの、二重障壁型避妊剤の使用を拒絶する男性または女性。

20

30

40

【0176】

処置計画：試験の概要

本試験は、再発性神経膠芽腫を有する患者の処置に関するデルタ-24-RGD-4Cとイピリムマブの併用による限定的フェーズIBの要因を有する。試験患者は、生検により確認された再発性腫瘍を有する必要があり、過去に2回の治療または過去に2回の腫瘍再発が許容される。

【0177】

生検によって確認された初回または部分再発を有するGBM患者から同意を得て、1 ml中

50

に 3×10^{10} vpのデルタ-24-RGDの初回腫瘍内または摘出腔注射を行った。患者を、多様な時点でのウイルス排出に関して、およびMRIでの腫瘍の破壊の「特徴的」証拠を調べるために2週目および4週目でのMRIでの腫瘍応答に関してモニターする。MRI上で変化の証拠を示さない患者に、デルタ-24-RGDの追加用量を提供した後、処置の2ヶ月後に第三の投与を行うか否かの選択を行う。この戦略は、デルタ-24-RGDが1回の注射の際に最適以下で送達されうる可能性を制御する。最適以下で送達を行うのは、(1)濃染された腫瘍領域を捉えられないかまたは選択しない、(2)腫瘍内圧による腫瘍からウイルスの逆流、(3)活発なデルタ-24-RGD複製を支持することができなくなる腫瘍における遺伝子変化、または(4)デルタ-24-RGDが抗腫瘍応答を確立する能力に影響を及ぼしうる過去の毒性化学療法またはコルチコステロイドによる免疫抑制、という理由による。

【0178】

患者全員を、腫瘍の応答、安全性、無増悪生存および全生存ならびにクオリティオブライフの評価に関してモニターする。Ad抗体陽転を含む標準的な全ての血液検査のほか、本発明者らはまた、Seramatrix (Carlsbad, CA) によって開発された固有のアッセイならびにサイトカインアッセイを用いて血清中の抗腫瘍抗体の出現(または消失)の一覧を作成する。

【0179】

用量漸増 - フェーズI

デルタ-24-RGD-4Cの投与は、単剤としてのデルタ-24-RGD-4Cの前のフェーズI試験において安全に投与された最高用量より1log低い用量で、すなわち 3×10^9 個ウイルス粒子/mlを1 ml注射液として、腫瘍床に定位フレーム送達システムによって投与することによって行われる。(前のフェーズI単剤試験の際に投与された最高用量は、 3×10^{10} 個ウイルス粒子/mlであった)。フェーズIの要因は 3×3 デザインに基づいており、最初の患者3人においてグレードが1または2より大きい毒性が認められない場合、再び定位フレーム送達法によって、 1×10^{10} 個ウイルス粒子/mlを注射容量1 mlで投与する次の用量へと、患者の用量を増加させてもよい。再度、この用量レベルで1または2より大きい毒性が存在しなければ、本発明者らは、この試験の最高用量に達して、テモゾロミド投与の開始後28日目に 3×10^{10} 個ウイルス粒子/mlを投与する。患者には、その後の毎月のコース2および3でウイルスの全3回までの注射が許容され、この場合も、新しい処置コースのテモゾロミドの開始後21日目に投与される。最高用量の組み合わせに達すると、グレード1または2より大きい毒性がないと仮定して、この併用臨床試験のフェーズIIの要因を開始する。

【0180】

全ての対象

ウイルス投与および外科技法の後、全ての対象を安定するまでICUに移す。次に、主治医の決定に基づいて対象を、1つ下の段階の治療室に移してもよい。3日後、対象の退院は、試験担当医の裁量で行われる。対象は、その術後の入院期間中は外部との接触を断った状態に置かれ、アデノウイルス感染症の施設内方針に従って管理される。

【0181】

投与および用量漸増

安全性中止規則 - 一次安全性変数は、デルタ-24-RGD-4Cに少なくともおそらく関連する(および外科技法に関連しない)任意のグレード3またはそれより高い毒性を経験する対象の割合である。

【0182】

毒性率は、任意の投与レベルで30%以下であろう。デルタ-24-RGD-4Cに少なくともおそらく関連すると思われるグレード3またはそれより大きい毒性を経験する対象の数が、デルタ-24-RGD-4Cを投与した上記の対象の確率より大きいかまたは等しい場合、その用量は、非常に毒性であり、デルタ-24-RGD-4Cに帰することができるDLTを示す対象は、試験責任医師によって再審査される。

【0183】

追加の試験中止基準は、(a)少なくともおそらくデルタ-24-RGD-4Cに帰することがで

10

20

30

40

50

きる死亡、(b)デルタ-24-RGD-4Cに少なくともおそらく帰することができる重度のアレルギー反応(CTCグレード3または4)、および/または(c)最低用量レベルで2人以上の患者におけるDLTを含む。

【0184】

投与の中断 - 患者が、脳機能の低下もしくは心血管灌流減少の症状を発症すれば、またはアレルギー反応もしくはアナフィラキシーの徴候があれば、デルタ-24-RGD-4C投与を中断すべきである。アナフィラキシーの徴候または症状は、全身麻酔を受けていない対象における発疹、蕁麻疹、血圧の変化、および息切れを含む。デルタ-24-RGD-4C投与は、また、治験担当医の意見として中断が正当である任意の有害事象の場合に中断される。加えて、脳内出血が起こったと思われる場合、手順を中止し、さらなるデルタ-24-RGD-4Cは投与されない。

10

【0185】

コルチコステロイドおよび抗癌剤 - ウイルス遺伝子治療における最大の難関はウイルス自身に対する免疫応答であることから、デカドロンを試験に用いる。ステロイドはまた、脳の炎症および浮腫を制御する。手術の前日に、ステロイドの総1日量(mgデカドロン/日として表記される)を記録する。用量は、全ての対象が術前に10 mgを静脈内投与されることを除き、治験担当医の裁量で調節される。「手術」は、定位注射および開頭術の両方を含む。ステロイドの用量を最小臨床有効量まで減少させるように努力する。抗癌剤は、治験担当医の裁量で投与される。

【0186】

除外される治療 - 対象は、デルタ-24-RGD-4C注射後の試験期間において、以下の投薬または治療のいかなるものも受けない：(1)ワクチン接種、(2)遺伝子移入治療。

20

【0187】

イピリマブの用量変更 - 処方情報に従う推奨用量の変更。任意の中等度の免疫媒介有害反応の場合、または症候性内分泌障害の場合は、ベースラインに戻るまで、重症度が軽度に改善するまで、または完全に寛解するまで投与を控え、患者に、1日あたり<7.5 mgのプレドニゾンまたは同等物を投与する。以下のいずれかの場合、YERVOYを永続的に中止する：(1)永続的な中等度の有害反応、またはコルチコステロイド用量を7.5 mgプレドニゾンまたはその同等物/日へと減少させることができない、(2)初回用量の投与後16週間以内に全ての処置コースを終了できない、(3)以下のいずれかを含む重度のまたは生命を脅かす有害反応：(i)腹痛、発熱、腸閉塞または腹部の徴候を伴う大腸炎；排便回数の増加(ベースラインより7回以上)、便失禁、24時間より長い静脈内水分負荷の必要性、消化管出血、および消化管穿孔、(ii)ASTまたはALTが正常値の上限(ULN)の5倍より高いまたは総ビリルビンがULNの3倍より高い、(iii)スティーブンス・ジョンソン症候群、中毒性表皮壊死症、または皮膚の厚さ全体の潰瘍化を伴う発疹、または壊死、水疱、もしくは出血の症状発現、(iv)重度の運動神経または知覚神経症、ギラン・バレー症候群、または重症筋無力症、(v)任意の臓器系を巻き込む重度の免疫媒介反応、(vi)局所表面免疫抑制治療に非応答性の免疫媒介性眼科疾患。

30

【0188】

試験手順

患者は全員、任意の試験関連評価の開始前に、IRBによって承認されたインフォームドコンセントに署名しなければならない。さらに、侵襲性技法に関しては施設の手術同意書に署名する。

40

【0189】

患者は、完全な病歴(これまでの腫瘍治療および併発非悪性疾患の詳細を含む)を記入し、および0日/ベースライン技法前の2週間以内に全ての神経学的症状の評価を受ける。加えて、患者は、一般検査および神経学検査を含む完全な身体的検査を受ける。バイタルサインの測定および体重を記録して、カルノフスキーパフォーマンスステータススコアを決定する。ルーチンのベースライン臨床検査は、0日/ベースライン技法の2週間以内に行われる。これらの試験は、ベースラインとして、および手術によって消失したか否かに関

50

して評価される。

【0190】

最後に、全ての対象が、0日/ベースライン技法の前2週間以内に、ガドリニウム投与を伴う場合および伴わない場合の脳のMRI検査を受ける。スキャン結果に基づいて、遺伝子移入治療に関する、および各対象にとって必要な注射および/または技法に関する対象の適格性に関する予備的判定を行う。

【0191】

特殊な処置前の臨床評価 - 全ての対象は、特殊な臨床検査を受ける：血清を抗AdV5抗体力価（ELISA）に関して試験する。さらに血清を、ELISAに基づくMSDを用いて、特異的癌関連抗原（CRA）に対する抗体ならびにサイトカインプロファイルに関して試験する。末梢血をフローサイトメトリーに供する（P.I.の裁量で）；血清妊娠検査を、妊娠の可能性がある女性について行う；HIV-1試験を全ての対象に行う；肝炎スクリーニング血清検査；A型、B型[コア抗体および表面抗原]、C型およびD型[デルタウイルス]肝炎。以下の血清、鼻咽頭分泌物、および尿を用いて、ウイルス播種に関して試験し；ならびにPCRを用いてデルタ-24-RGD-4Cに対して特異的なAdV DNAおよび野生型AdVに関して試験する。

10

【0192】

外科技法後の評価 - 定位生検後36時間以内に、対象は、血腫の存在に関して評価するためにCTスキャンを受ける。対象は入院中、簡単な神経学評価、カルノフスキーパフォーマンスステータス、バイタルサイン測定、有害徴候または症状（臨床毒性）の判定、およびコルチコステロイド用量を含む、毎日の評価が行われる。全ての外科技法が終了した日に、ウイルス播種のモニタリングおよび血清中抗AdV5抗体力価決定のために、血清、尿、および鼻咽頭分泌物を収集する。技法後24時間以内に、対象に血清化学検査および血液検査を行う。

20

【0193】

開頭術後の評価：ガドリニウムを用いる場合および用いない場合の脳のMRIを、切除の程度および/または壁内注射の有害効果を評価するために、開頭術後48時間以内に全ての対象について行う。

【0194】

退院後の評価：患者は手順の3日以内に退院することができる。次に、対象を28日目（±2日）および2ヶ月目（±4日）、3ヶ月目（±4日）、および4ヶ月目（±4日）に評価する。その後、追跡調査を2ヶ月（±7日）毎に行う。

30

【0195】

追跡評価 - 外来診療での追跡調査の際に、各患者は、全身の身体的検査および神経学的検査、カルノフスキーパフォーマンスステータスの評価、体重、バイタルサインの測定、有害事象の判定、ならびにステロイドおよび併用薬の使用の評価を受ける。ガドリニウムを用いない場合および用いる場合の脳のMRIを行う。臨床安全性検査もまた行い、血清、尿、および鼻咽頭分泌液の試料を全身性AdVの排泄を調べるために得る。最後に、抗AdV5抗体力価決定のために血清を収集する。

【0196】

標本分析 - 全ての臨床検査を適切なCRF/ワークシート記録または電子データベースに記録する。臨床での判断に基づいて予定外の臨床検査を行う場合、これらの試験の結果も同様に記録しなければならない。生検試料を定位生検時に採取する。生検標本の一部をOC T培地において凍結して、別の一部をホルマリン中で固定して、パラフィン包埋する。残りの生検試料を急速凍結する。腫瘍生検標本をH&E染色によって分析する。

40

【0197】

ウイルス播種試験のための標本 - 表記の時点で鼻咽頭分泌物、尿、および血清中のウイルス排泄および播種をモニターする。ウイルスの播種は、デルタ-24-RGD-4Cおよび野生型AdV DNAのPCR分析によって、ならびに必要であれば被験試料の添加後の293細胞に基づくアッセイにおけるCPEの出現に注目することにより培養によって決定される。293細胞株は、トランスでE1タンパク質を提供し、従ってE1欠損デルタ-24-RGD-4Cの複製を支持する。

50

選択した試料においてCPEがアデノウイルス由来であるという確認は、ヘキソタンパク質のELISAに基づくアッセイによって決定される。試料を、トランスでE1タンパク質を提供しない細胞株である293におけるCPEアッセイによって複製コンピテントアデノウイルス（RCA）の存在に関して試験する。

【0198】

統計学

本試験のフェーズI部分の主目的は、イピリムマブとデルタ-24-RGDの併用に関するMTDを決定することである。

【0199】

フェーズI：これらの患者3人にDLTが認められなければ、用量レベルあたり患者3人を登録する。DLTが認められる場合、コホートを患者6人に拡大する。最大で4つの高用量コホートが予想される。開始用量でDLTが認められる場合、最大で2つのより低用量のコホートを調べることができる。患者少なくとも6人を推奨用量（またはMTD-1）レベルで処置する。それゆえ、少なくとも9人および最大で12人（ウイルス用量漸増の2つの用量レベル）がこの部分で処置される。患者を本試験のフェーズI部分においてMTDで処置した。対象の数を予備的フェーズIIの要因のために増加させてもよい。

10

【0200】

現在の一段階臨床試験において、調べる仮説は $H_0: p < p_0$ 対 $H_1: p > p_1$ であり、式中 p は6ヶ月間増悪することなく生存する確率である。 p_0 の値（興味のない低い応答）を20%、および p_1 を40%に設定する場合、患者40人の臨床試験は、仮説の試験および推定のための精度に関して許容可能な誤差率を提供する（5%および検出力87%で）。13人またはそれより多くの患者が6ヶ月間増悪せずに生存している場合、試験は成功である（ヌル仮説は棄却される）。

20

【0201】

評価可能な患者を確実に適切に得るために、試料のサイズを、10%（患者さらに4人）増加させる。それゆえ、全体で患者44人を登録する。

【0202】

有害事象の定義

このプロトコールに関して、有害事象（AE）は、試験薬を投与されている臨床試験中の対象において投与または追跡期間の際に、注射前ベースラインと比べ、出現または悪化する任意の好ましくない医療上の出来事（たとえば、徴候、症状、疾患、症候群、併発疾患、異常な検査値知見）である。好ましくない医療上の出来事は、試験薬の投与に対する因果関係を必ずしも有するわけではない。それゆえ、AEは、薬剤（試験薬）に関連するかしないかによらず、薬剤（試験薬）の使用に一時的に関連する、任意の望ましくないおよび/または意図しない徴候（異常な検査結果を含む）、症状、または疾患でありうる。

30

【0203】

外科技法周辺の一般的な事象/症状（たとえば、疼痛、頭痛、抗高血圧症の投薬を必要とするものであったとしても標準的な血圧の変動、便秘等）は、通常の実践の範囲内である。ベースラインから不変のままである慢性の基礎疾患関連状態は、AEとして見なされない。基礎の慢性状態の悪化は、「重篤」として評価され、それらが規制当局の定義を用いて「重篤」と判定された場合に、適切な形状で「重篤な有害事象（SAE）」として報告される。

40

【0204】

身体障害：個人が通常生命機能を実行する能力の実質的破壊。

【0205】

生命を脅かす有害事象：試験担当医の見解で、反応が起こるとそれにより対象が即時に死亡のリスクに曝される任意の薬物有害事象であり、すなわちこの用語は、より重症な型で起これば死亡を引き起こしうる反応を含まない。

【0206】

予期せぬ有害事象：その特異性もしくは重症度が試験薬概要書と一貫しない、または治

50

験薬概要書が必要でないかもしくは入手できない場合には、その特異性もしくは重症度が、修正版に従う一般治験計画書もしくは本出願の他所で記述されるリスクの情報と一貫しない任意の有害な薬物経験。たとえば、この定義において、治験薬概要書または他の製品文献が肝酵素の上昇または肝炎のみについて言及している場合、肝臓の壊死は予期しない（重症度がより大きいために）。同様に、治験薬概要書が脳血管発作のみを記載している場合には、脳血管炎は予期しないであろう（特異性がより大きいために）。この定義において用いられる「予期せぬ」とは、治験薬の薬理学的特性からそのような事象が予期されないという見通しではなくて、これまでに（たとえば、治験薬概要書に含まれる）観察されていない薬物有害事象を意味する。

【0207】

治験薬の使用との関連（因果関係、すなわち治験薬関連）：事象が、治験薬によって引き起こされている妥当な可能性が存在する。治験責任医師は、各々の有害事象を審査して、それが治験薬に関連するか否かを判定しなければならない。

【0208】

重篤な有害事象：任意の用量（過量を含む）で起こる有害事象は、以下の場合、重篤であると分類すべきである：（1）それによって死亡が起こる（すなわち、AEが死亡を引き起こしたまたはAEにより死に至った）、（2）生命を脅かした（すなわちAEによって対象が直ちに死亡のリスクに曝される；これは仮定として、より重度であれば死亡を引き起こしうるAEには適用されない）、（3）対象の入院を必要とするまたは入院の延長を必要とする（すなわち、AEによって、少なくとも24時間の対象の入院が必要となる、または予想される日数を超えて入院の延長が必要となる。選択的内科/外科技法のための入院、予定処置、またはルーチンの検査は、この基準によるSAEではない）。注意：AEまたはSAEとして記録すべきであるのは、手術または診断技法に至る疾患であり、技法そのものではない。技法は、疾患に反応してとられた措置の一部としてその例において説明的にとらえるべきである。

【0209】

障害が残った（すなわち、AEによって対象が通常生命機能を行う能力の実質的な破壊が起こった）。

【0210】

先天性異常/出生時欠損である（すなわち、受胎前または妊娠時に分子または治験薬に曝露された対象の小児または胎児における有害な転帰）。

【0211】

上記の重篤な基準をいずれも満たさないが、対象を危険に曝しうる、または上記の転帰（すなわち、有意であるまたは重要な医学的事象である）の1つを予防するために内科的もしくは外科的介入を必要としうる。

【0212】

注意：好ましくない事象または不良な転帰がそれ自体および単独で起こりうる侵襲性外科技法を患者が受けている場合には、重篤な有害事象の原因も同様に判定しなければならない。治験薬におそらくまたはたぶん関連すると思われる事象のみがDLTとして見なされる。

【0213】

重篤な有害事象は、患者が同意書に署名した時点から薬物の最後の投与後30日までの間に収集される。重篤な有害事象は、臨床での回復が完全となるまでおよび臨床検査値がベースラインに戻るまで、事象の進行が安定化するまで、または事象の許容可能な消散が存在するまで追跡しなければならない。

【0214】

安全性

デルタ-24-RGD-4Cを投与した対象を全て、安全性分析に含める。どのような理由にせよ試験を完了しなかったが、終了時点までの全ての利用可能なデータを有する対象は全て、安全性分析に含められる。

10

20

30

40

50

【0215】

有害事象を全体および投与群毎に要約して、重症度、デルタ-24-RGD-4Cとの関連性および因果関係に関して表にする。有害事象を経験した対象の数および割合を、全体および用量群毎の体系/好ましい用語毎に表にする。有害事象が1回より多く起こる場合、最大重症度および因果関係を計数する。さらに、重篤な有害事象、デルタ-24-RGD-4Cにおそらく関連する有害事象、およびデルタ-24-RGD-4Cとは無関係な有害事象を個別に要約する。併発疾患を一覧にして、処置応答関係における可能な交絡因子として試験してもよい。併用薬および治療もまた、悪性神経膠腫に関するこれまでの処置と共に、一覧にする。おそらく関連するいかなる副作用も分析する。全ての有害事象に関するデータの一覧を、対象毎に提供する。

10

【0216】

バイタルサインの測定 - バイタルサイン(血圧、心拍数、呼吸数、および体温)の測定結果は、診察毎、用量コホート、および適切であれば期間毎にデータリストで表示する。平均値、標準誤差、および中央値の単分散統計値を含む要約データも同様に表示する。

【0217】

身体的および神経学的検査/パフォーマンスステータス - 身体的知見を各対象に関して診察毎および用量コホート毎に要約する。腫瘍関連神経学症状、パフォーマンスステータス、および体重に関する縦断的分析も同様に行われうる。平均値、標準誤差、および中央値の単分散統計値を含む要約データもまた、適切な方法で表記する。無増悪期間および60未満のパフォーマンスステータスも同様に評価する。

20

【0218】

MRIスキャン - MRIスキャンを治験担当医が評価して、記述統計値を報告する。結果を対象の診察および用量コホート毎におよび/または適切な方法で報告する。

【0219】

臨床検査結果 - 選択された臨床パラメータの記述統計値を全体としておよび試験日および用量群毎で対象毎に表記する。同じ臨床パラメータに関して、ベースラインでおよびデルタ-24-RGD-4C注射後の、高い、正常、および低い(または正常/異常)臨床検査値を有する対象の数および割合を用量コホート毎に示すシフト表が提示されうる。群の平均値、中央値、および標準誤差を様々な臨床パラメータに関して計算する。臨床検査値はまた、対象毎に一覧にして、正常な参照範囲を超える値に印をつける。

30

【0220】

効能

本試験において、腫瘍の応答をマクドナルド基準(すなわち、2D測定に基づく)に従って評価する。これまでに公表された試験と比較可能であるために、部分的応答および進行性疾患の閾値はそれぞれ50%および25%である。

【0221】

腫瘍の応答は、デルタ-24-RGD-4C投与後7日目、ウイルスの最後の注射後14、21、28日目、2、3、および4ヶ月目およびその後の2ヶ月毎と比較した、ベースライン(デルタ-24-RGD-4C投与後4日以内)からの脳病変のサイズの変化である。腫瘍サイズの変化を再検討した際に、臨床疾患状態の変化およびステロイドの投与が考慮される。これらの試験時点で得られた測定はまた、任意の抗腫瘍癌治療および投与される概算時間を考慮して分析される。脳腫瘍サイズはMRIスキャンから計算される。

40

【0222】

腫瘍床の以前に濃染されなかった領域において新しい辺縁部濃染を生じつつある対象は(たとえば、全摘出の数日後に始まるガドリニウム後T1強調MRIにおいて一般的に認められるように)、濃染される辺縁の最大直径が10 mmを超えなければ、または結節性の濃染領域が発生しなければ、進行性疾患を発症していないと見なされる。PIによって不確定と判断された症例では、進行が起こっているか否かを判定するために定位生検が行われうる。さらに、造影濃染領域の測定値を決定して、WHOの基準を用いて全ての病変の直交直径の積の合計と比較する。

50

【0223】

無増悪期間は、腫瘍注射部位ならびに切除部位での、デルタ-24-RGD-4C投与の開始期間から進行の証拠が認められるまでの期間であって、臨床検査、パフォーマンスステータス、および/またはMRIによって計算される。治験担当医は、必要に応じて臨床評価の目的でMRIを解釈する。

【0224】

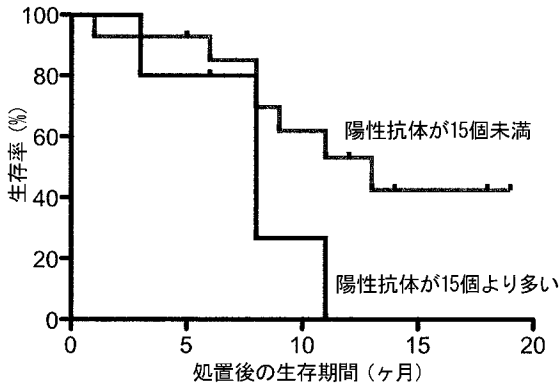
記述統計値を用いて生存データを要約する。Brem et al.によれば、従来の6ヶ月生存率は、再発性悪性神経膠腫を有する対象に関して35%である。

【0225】

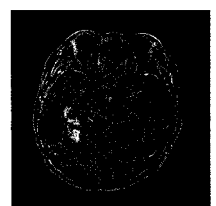
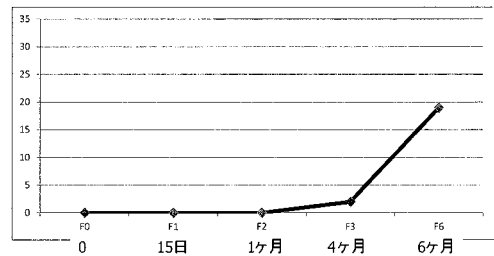
各試験相の注射終了時で症状の改善または安定な症状を有する対象の割合を、95%信頼区間を用いて要約する。カルノフスキスコアの変化もまた、単分散統計値によって要約する。無増悪期間および60以下のKPSはまた、カプラン-マイヤー分析法によって評価してもよい。

10

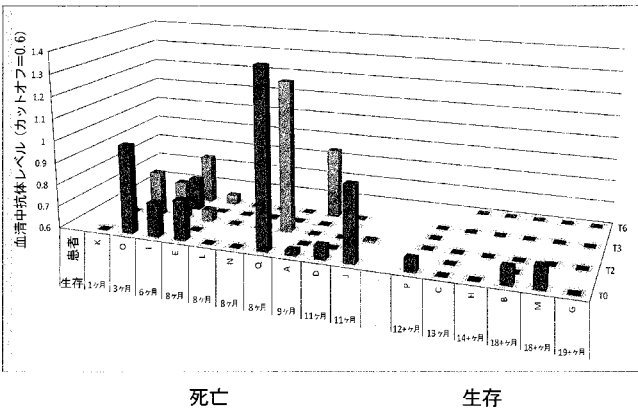
【図1】



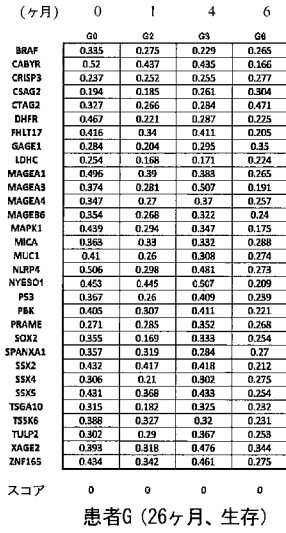
【図3】



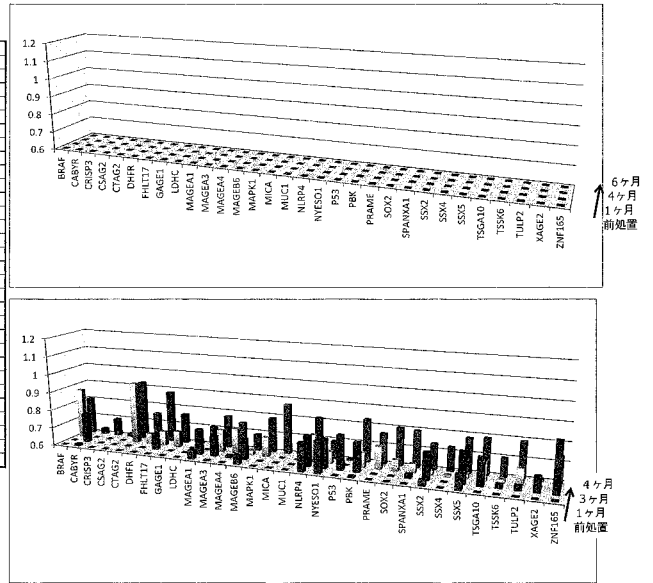
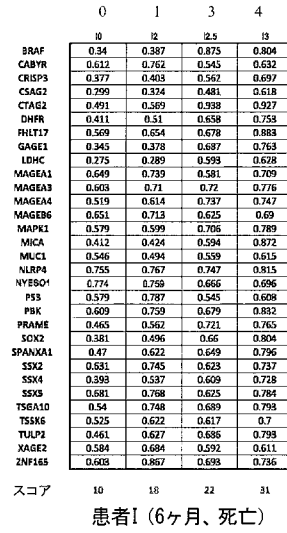
【図2】



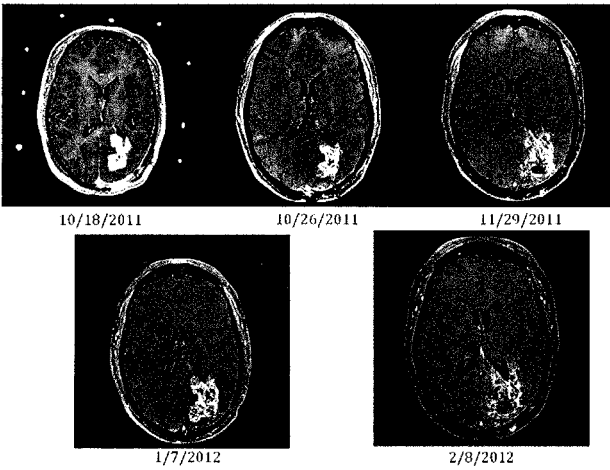
【 図 4 】



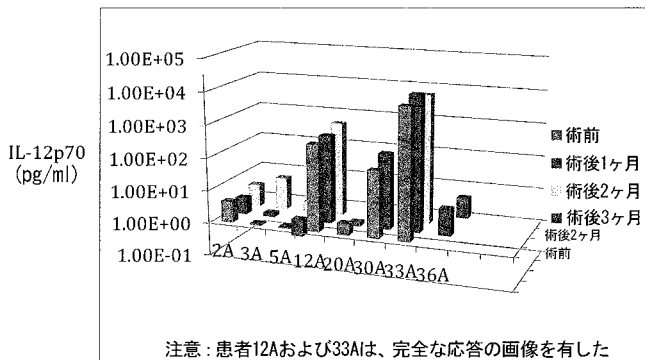
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【手続補正書】

【提出日】平成30年12月5日(2018.12.5)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

原発性または転移性脳腫瘍を有するかまたは有することが疑われる患者における癌を処置するための医薬の製造における、デルタ-24およびデルタ-24 RGDからなる群より選択される腫瘍溶解性ウイルスと、Th1刺激剤との使用。

【請求項2】

前記Th1刺激剤が、細胞免疫系を上方制御または活性化する剤である、請求項1記載の使用。

【請求項3】

前記細胞免疫系を上方制御または活性化する剤が、組換えIL-12p70および組換えIFN- γ からなる群より選択されるサイトカインである、請求項2記載の使用。

【請求項4】

前記細胞免疫系を上方制御または活性化する剤が、レブラミドおよびレナリドミドからなる群より選択される剤である、請求項2記載の使用。

【請求項5】

前記Th1刺激剤が、調節性T細胞を抑制する剤である、請求項1記載の使用。

【請求項6】

調節性T細胞を抑制する剤が、テモゾロミド(4-メチル-5-オキソ-2,3,4,6,8-ペントアザピシクロ[4.3.0]ノナ-2,7,9-トリエン-9-カルボキサミド)、シクロホスファミド((RS)-N,N-ビス(2-クロロエチル)-1,3,2-オキサザホスフィナン-2-アミン2-オキサイド)、ロムスチン(CCNU; N-(2-クロロエチル)-N'-シクロヘキシル-N-ニトロソウレア)、ビス-クロロエチルニトロソウレア(BCNU)、塩酸メルファラン(4[ビス(クロロエチル)アミノフェニルアラニン]、およびブスルファン(ブタン-1,4-ジイルジメタンスルホネート)からなる群より選択される、請求項5記載の使用。

【請求項7】

前記Th1刺激剤が、細胞性免疫の抑制物質のアンタゴニストである剤である、請求項1記載の使用。

【請求項8】

前記細胞性免疫の抑制物質のアンタゴニストである剤が、CTLA-4のアンタゴニストである、請求項7記載の使用。

【請求項9】

前記剤が、イピリムマブ、MDX-010、MDX-101、トレメリムマブ、およびCP-675,206からなる群より選択される、請求項8記載の使用。

【請求項10】

前記細胞性免疫の抑制物質のアンタゴニストである剤が、PD-1/PD-L1受容体アンタゴニストである、請求項1記載の使用。

【請求項11】

前記剤が、MDX-1106、MK-3475、AMP-224、ピジリズマブ、およびMDX-1105からなる群より選択される、請求項10記載の使用。

【請求項12】

ウイルスが腫瘍内に投与される、請求項1~11のいずれか一項記載の使用。

【請求項13】

ウイルスが、多数の腫瘍部位への注射によって腫瘍内に投与される、請求項12記載の使

用。

【請求項 14】

ウイルスが、静脈内または動脈内などの血管内に投与される、請求項1～11のいずれか一項記載の使用。

【請求項 15】

前記脳腫瘍が神経膠腫である、請求項1～11のいずれか一項記載の使用。

【請求項 16】

神経膠腫が低悪性度神経膠腫である、請求項15記載の使用。

【請求項 17】

神経膠腫が高悪性度神経膠腫である、請求項15記載の使用。

【請求項 18】

腫瘍溶解性ウイルスが、他の剤の前に患者に投与される、請求項1～17のいずれか一項記載の使用。

【請求項 19】

腫瘍溶解性ウイルスが、他の剤の後に患者に投与される、請求項1～17のいずれか一項記載の使用。

【請求項 20】

脳腫瘍が原発性脳腫瘍である、請求項1～11のいずれか一項記載の使用。

【請求項 21】

脳腫瘍が転移性脳腫瘍である、請求項1～11のいずれか一項記載の使用。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/40 (2006.01)	A 6 1 K 31/40	4 C 0 8 7
A 6 1 K 31/405 (2006.01)	A 6 1 K 31/405	4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/4188 (2006.01)	A 6 1 K 31/4188	4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/454 (2006.01)	A 6 1 K 31/454	
A 6 1 K 31/506 (2006.01)	A 6 1 K 31/506	
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/519	
A 6 1 K 31/5377 (2006.01)	A 6 1 K 31/5377	
A 6 1 K 31/675 (2006.01)	A 6 1 K 31/675	
A 6 1 K 35/12 (2015.01)	A 6 1 K 35/12	
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 35/76	
A 6 1 K 35/768 (2015.01)	A 6 1 K 35/768	
A 6 1 K 38/20 (2006.01)	A 6 1 K 38/20	
A 6 1 K 38/21 (2006.01)	A 6 1 K 38/21	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 13/08 (2006.01)	A 6 1 P 13/08	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 K 35/761 (2015.01)	A 6 1 K 35/761	
A 6 1 K 38/19 (2006.01)	A 6 1 K 38/19	
C 1 2 N 7/00 (2006.01)	C 1 2 N 7/00	
C 0 7 K 14/52 (2006.01)	C 0 7 K 14/52	
C 0 7 K 14/54 (2006.01)	C 0 7 K 14/54	
C 0 7 K 14/555 (2006.01)	C 0 7 K 14/555	
C 0 7 K 14/525 (2006.01)	C 0 7 K 14/525	
C 0 7 K 14/535 (2006.01)	C 0 7 K 14/535	
C 0 7 K 14/82 (2006.01)	C 0 7 K 14/82	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	N
G 0 1 N 33/574 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
	G 0 1 N 33/574	A

- (74)代理人 100102118
弁理士 春名 雅夫
- (74)代理人 100160923
弁理士 山口 裕孝
- (74)代理人 100119507
弁理士 刑部 俊
- (74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
- (74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
- (74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一

- (74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
- (74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
- (74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
- (74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
- (72)発明者 トッフアロ フランク
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ランチョ サンタ フェ パセオ シエロ 3028 ボックス 1555
- (72)発明者 コンラド チャールズ
アメリカ合衆国 テキサス州 スプリング ハーウィック ドライブ 15911
- (72)発明者 フェヨ - マーガレット ジュアン
アメリカ合衆国 テキサス州 ヒューストン エディス ストリート 5519
- (72)発明者 ラング フレデリック ジュニア
アメリカ合衆国 テキサス州 ヒューストン ブロンプトン ロード 6519
- (72)発明者 ゴメツ - マンザノ キャンデラリア
アメリカ合衆国 テキサス州 ヒューストン エディス ストリート 5519
- (72)発明者 ヤング ダブリュ . ケイ . アルフレッド
アメリカ合衆国 テキサス州 ヒューストン パイロン ストリート 4141
- (72)発明者 ヘイムバーガー エイミー
アメリカ合衆国 テキサス州 ヒューストン イースト 第7 412
- F ターム(参考) 2G045 AA26 CA25 CA26 CB01 CB03 DA36
4B065 AA95X AC20 CA44 CA46
4C084 AA02 AA19 BA44 DA12 DA14 DA24 MA02 NA05 ZA021 ZA022
ZA202 ZA591 ZA811 ZB082 ZB261 ZC412 ZC422
4C085 AA14 CC23 EE03 GG02 GG03 GG04 GG08 GG10
4C086 AA01 BC07 BC14 BC22 BC42 BC73 CB05 CB14 DA35 GA07
GA12 MA02 MA03 MA04 NA05 ZC20 ZC41
4C087 AA01 AA02 BB63 BC83 MA02 MA66 NA05 NA14 ZA02 ZA59
ZA81 ZB26
4C206 AA01 FA53 HA28 JA06 MA03 MA04 NA05 ZC41
4H045 AA10 AA11 AA30 CA40 DA01 DA02 DA10 DA12 DA15 DA22
DA89 EA51 EA53

专利名称(译)	使用生物标志物和溶瘤病毒和免疫调节的联合疗法		
公开(公告)号	JP2019066482A	公开(公告)日	2019-04-25
申请号	JP2018211406	申请日	2018-11-09
[标]申请(专利权)人(译)	德那翠丝有限公司		
申请(专利权)人(译)	DeNA公司在特丽克丝公司 Rijientsu董事会，德州系统的通用名称		
[标]发明人	トゥファロフランク コンラドチャールズ フエヨマーガレットジュアン ラングフレデリックジュニア ゴメツマンザノキャンデラリア ヤングダブリュケイアルフレッド ヘイムバーガーエイミー		
发明人	トゥファロ フランク コンラド チャールズ フエヨ-マーガレット ジュアン ラング フレデリック ジュニア ゴメツ-マンザノ キャンデラリア ヤング ダブリュ.ケイ. アルフレッド ヘイムバーガー エイミー		
IPC分类号	G01N33/68 A61K31/17 A61K31/198 A61K31/255 A61K31/395 A61K31/40 A61K31/405 A61K31/4188 A61K31/454 A61K31/506 A61K31/519 A61K31/5377 A61K31/675 A61K35/12 A61K35/76 A61K35/768 A61K38/20 A61K38/21 A61K39/395 A61K45/00 A61P11/00 A61P13/08 A61P15/00 A61P25/00 A61P35 /00 A61P35/04 A61P43/00 A61K35/761 A61K38/19 C12N7/00 C07K14/52 C07K14/54 C07K14/555 C07K14/525 C07K14/535 C07K14/82 G01N33/53 G01N33/574		
CPC分类号	A61K31/454 A61K35/761 A61K38/2013 A61K38/208 A61K38/217 A61K39/3955 A61K45/06 A61K2039 /505 A61P11/00 A61P13/08 A61P15/00 A61P25/00 A61P35/00 A61P35/04 A61P43/00 C07K16/2818 C07K2317/21 C07K2317/76 C12N2710/10332 G01N33/57484 G01N2333/52 G01N2800/52 A61K2300 /00 A61K39/39558 C07K16/28 C12N7/00 C12N2710/10033 G01N33/57488		
FI分类号	G01N33/68 A61K31/17 A61K31/198 A61K31/255 A61K31/395 A61K31/40 A61K31/405 A61K31/4188 A61K31/454 A61K31/506 A61K31/519 A61K31/5377 A61K31/675 A61K35/12 A61K35/76 A61K35/768 A61K38/20 A61K38/21 A61K39/395.T A61K45/00 A61P11/00 A61P13/08 A61P15/00 A61P25/00 A61P35/00 A61P35/04 A61P43/00.111 A61K35/761 A61K38/19 C12N7/00 C07K14/52 C07K14/54 C07K14/555 C07K14/525 C07K14/535 C07K14/82 G01N33/53.N G01N33/53.D G01N33/574.A		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045/CB03 2G045/DA36 4B065/AA95X 4B065 /AC20 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA19 4C084/BA44 4C084/DA12 4C084/DA14 4C084/DA24 4C084/MA02 4C084/NA05 4C084/ZA021 4C084/ZA022 4C084/ZA202 4C084/ZA591 4C084/ZA811 4C084/ZB082 4C084/ZB261 4C084/ZC412 4C084/ZC422 4C085/AA14 4C085/CC23 4C085/EE03 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG08 4C085/GG10 4C086/AA01 4C086 /BC07 4C086/BC14 4C086/BC22 4C086/BC42 4C086/BC73 4C086/CB05 4C086/CB14 4C086/DA35 4C086/GA07 4C086/GA12 4C086/MA02 4C086/MA03 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/ZC20 4C086 /ZC41 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB63 4C087/BC83 4C087/MA02 4C087/MA66 4C087/NA05 4C087/NA14 4C087/ZA02 4C087/ZA59 4C087/ZA81 4C087/ZB26 4C206/AA01 4C206/FA53 4C206 /HA28 4C206/JA06 4C206/MA03 4C206/MA04 4C206/NA05 4C206/ZC41 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/CA40 4H045/DA01 4H045/DA02 4H045/DA10 4H045/DA12 4H045/DA15 4H045 /DA22 4H045/DA89 4H045/EA51 4H045/EA53		

代理人(译) 清水初衷
井上隆一
佐藤俊光
小林智彦
正人大关
五十岚弘

优先权 61/637191 2012-04-23 US
61/590441 2012-01-25 US

外部链接 Espacenet

摘要(译)

本发明提供了一种预测患有癌症或怀疑患有癌症的患者对溶瘤病毒的反应的方法。 解决方案：(a) 与对照相比，在患者的测试样品中针对一种或多种Th1生物标志物和/或一种或多种Th2生物标志物和/或一种或多种肿瘤相关抗原确定抗体的表达水平，(b) 将表达水平与对照样品中的表达水平进行比较，其中相对于对照样品的表达水平的变化允许患者接受溶瘤病毒。预测治疗的反应。 [选图]图1

