

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-519964
(P2024-519964A)

(43)公表日 令和6年5月21日(2024.5.21)

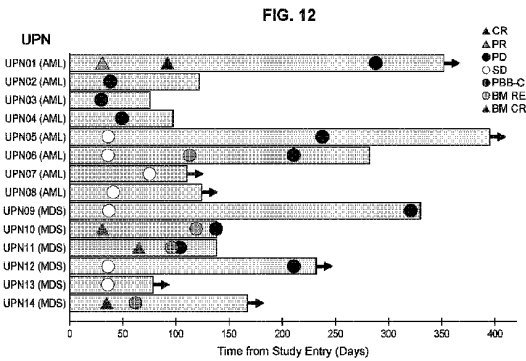
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 C 0 8 4
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		4 C 0 8 5
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00		4 C 0 8 6
A 6 1 K	31/496 (2006.01)	A 6 1 K	31/496		4 C 2 0 6
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全138頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-572168(P2023-572168)		(71)出願人	511001758	
(86)(22)出願日	令和4年5月20日(2022.5.20)			アプティーボ リサーチ アンド デベロ	
(85)翻訳文提出日	令和6年1月12日(2024.1.12)			ップメント エルエルシー	
(86)国際出願番号	PCT/US2022/030323			アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 1 2 1	
(87)国際公開番号	WO2022/246244			, シアトル, フォース アベニュー 2	
(87)国際公開日	令和4年11月24日(2022.11.24)			4 0 1, スイート 1 0 5 0	
(31)優先権主張番号	63/191,488		(74)代理人	100114775	
(32)優先日	令和3年5月21日(2021.5.21)			弁理士 高岡 亮一	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		(74)代理人	100121511	
(31)優先権主張番号	63/253,714			弁理士 小田 直	
(32)優先日	令和3年10月8日(2021.10.8)		(74)代理人	100202751	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			弁理士 岩堀 明代	
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		(74)代理人	100208580	
		最終頁に続く		弁理士 三好 玲奈	
			(74)代理人	100191086	
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 タンパク質治療薬のための投薬レジメン

(57)【要約】

がんを治療するための方法が本明細書に提供され、本方法は、がんの治療を必要とする対象に、 i) C D 1 2 3 結合ドメイン及びC D 3 結合ドメインを含む多重特異性タンパク質、ならびに i i) 第2の抗がん剤を投与することを含む。本明細書に記載される方法で使用される抗がん剤は、例えば、化学療法薬であり得る。いくつかの実施形態では、化学療法薬は、ベネトクラクス、アザシチジン、デシタビン、ダウノルビシン、シタラビン、イダルビシン、ミトキサントロン、またはエトポシドである。

【選択図】 図 1 2



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

がんを治療するための方法であって、前記方法は、がんの治療を必要とする対象に、
i) C D 1 2 3 結合ドメイン及び C D 3 結合ドメインを含む多重特異性タンパク質、なら
びに

i i) 第 2 の抗がん剤

を投与することを含む、前記方法。

【請求項 2】

前記方法が、前記対象に第 3 の抗がん剤を投与することをさらに含む、請求項 1 に記載
の方法。

10

【請求項 3】

前記第 2 の抗がん剤が、化学療法薬である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記化学療法薬が、ベネトクラクス、アザシチジン、デシタビン、ダウノルビシン、シ
タラビン、イダルビシン、ミトキサントロン、またはエトポシドである、請求項 3 に記載
の方法。

【請求項 5】

前記第 2 の抗がん剤が、シタラビンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記シタラビンが、約 $1 \text{ g} / \text{m}^2$ の用量で投与される、請求項 5 に記載の方法。

20

【請求項 7】

前記第 2 の抗がん剤がミトキサントロンであり、前記第 3 の抗がん剤がエトポシドであ
り、前記方法が、シタラビンである第 4 の抗がん剤を投与することをさらに含む、請求項
2 に記載の方法。

【請求項 8】

前記ミトキサントロンが、約 $6 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ の用量で投与され、前記エトポシドが、
約 $80 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ の用量で投与され、前記シタラビンが、約 $1 \text{ g} / \text{m}^2 / \text{日}$ の用量で
投与される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記第 2 の抗がん剤が、ベネトクラクスである、請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 10】

前記ベネトクラクスが、1 日当たり約 $100 \sim 400 \text{ mg}$ の用量で投与される、請求
項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記第 2 の抗がん剤が、アザシチジンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記アザシチジンが、約 $75 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ の用量で投与される、請求項 11 に記載の
方法。

【請求項 13】

前記第 2 の抗がん剤が、アザシチジンであり、前記第 3 の抗がん剤が、ベネトクラクス
である、請求項 2 に記載の方法。

40

【請求項 14】

前記アザシチジンが、約 $75 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ の用量で投与され、前記ベネトクラクスが
、約 $100 \sim 400 \text{ mg} / \text{日}$ の用量で投与される、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記第 2 の抗がん剤が、デシタビンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 16】

前記デシタビンが、約 $20 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ の用量で投与される、請求項 15 に記載の方
法。

【請求項 17】

50

前記第 2 の抗がん剤が、デシタビンであり、前記第 3 の抗がん剤が、ベネトクラクスである、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 18】

前記デシタビンが、約 $20 \text{ mg} / \text{m}^2$ / 日の用量で投与され、前記ベネトクラクスが、約 $100 \sim 400 \text{ mg} / \text{日}$ の用量で投与される、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記第 2 の抗がん剤が、ダウノルビシンであり、前記第 3 の抗がん剤が、シタラビンである、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 20】

前記ダウノルビシンが、約 $30 \sim 90 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で投与され、前記シタラビンが、約 $100 \sim 200 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で投与される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記抗がん剤が、イダルビシンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 22】

前記イダルビシンが、約 $12 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で投与される、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記第 2 の抗がん剤が、イダルビシンであり、前記第 3 の抗がん剤が、シタラビンである、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 24】

前記イダルビシンが、約 $12 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で投与され、前記シタラビンが、約 $100 \sim 200 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で投与される、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記第 2 の抗がん剤が、アザシチジンである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 26】

前記アザシチジンが、約 $75 \text{ mg} / \text{m}^2$ / 日の用量で投与される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 27】

前記多重特異性タンパク質が、2 つの同一のポリペプチドの二量体を含み、各ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって、またはカルボキシル末端からアミノ末端に向かって、

(i) CD123 結合ドメイン、

(ii) ヒンジ領域、

(iii) 免疫グロブリン定常領域、及び

(iv) CD3 結合ドメイン

を含む、請求項 1 ～ 26 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 28】

前記ポリペプチドが、N 末端から C 末端に向かって、前記 CD123 結合ドメイン、前記ヒンジ領域、前記免疫グロブリン定常領域、及び前記 CD3 結合ドメインを含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記 CD123 結合ドメイン及び前記 CD3 結合ドメインのうちの少なくとも一方が、(i) HCDR1、HCDR2 及び HCDR3 を含む免疫グロブリン重鎖可変領域 (VH)、及び

(ii) LCDR1、LCDR2 及び LCDR3 を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域 (VL)

を含む、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記 CD123 結合ドメインが、配列番号 10 を含む HCDR1、配列番号 11 を含む HCDR2、及び配列番号 12 を含

10

20

30

40

50

む H D C R 3、ならびに

配列番号 1 3 を含む L C D R 1、配列番号 1 4 を含む L C D R 2、及び配列番号 1 5 を含む L C D R 3

を含む s c F v である、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記 C D 1 2 3 結合ドメインが、

配列番号 1 3 6 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 % または 1 0 0 % 同一である配列を含む V H、及び

配列番号 1 3 4 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 % または 1 0 0 % 同一である配列を含む V L

を含む s c F v である、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記 C D 1 2 3 結合ドメインが s c F v であり、前記 s c F v は、配列番号 2 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % 同一である配列を含む、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記 C D 3 結合ドメインが、

配列番号 1 9 を含む H C D R 1、配列番号 2 0 を含む H C D R 2、及び配列番号 2 1 を含む H D C R 3、ならびに

配列番号 2 2 を含む L C D R 1、配列番号 2 3 を含む L C D R 2、及び配列番号 2 4 を含む L C D R 3

を含む s c F v である、請求項 2 9 ～ 3 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 4】

前記 C D 3 結合ドメインが、

配列番号 3 8 3 または 3 8 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 % または 1 0 0 % 同一である配列を含む V H、及び

配列番号 3 8 4 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 % または 1 0 0 % 同一である配列を含む V L

を含む s c F v である、請求項 2 9 ～ 3 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記 C D 3 結合ドメインが、配列番号 2 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % 同一である配列を含む s c F v である、請求項 2 9 ～ 3 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 6】

各ポリペプチドが、配列番号 3 1 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 % または 1 0 0 % 同一である配列を含む、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記多重特異性タンパク質が、I V 注入によって前記対象に投与される、請求項 1 ～ 3 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記第 2 の抗がん剤が、経口的にまたは I V 注入によって前記対象に投与される、請求項 1 ～ 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記多重特異性タンパク質が、0.3、1、3、6、9、12、18、20、24、30、36、48、50、60、75 または 100 μ g の用量で I V 注入によって前記対象に投与される、請求項 1 ～ 3 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記多重特異性タンパク質が、週 1 回投与される、請求項 1 ～ 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記多重特異性タンパク質が、第1の28日サイクルの間にIV注入により前記対象に投与され、前記第1の28日サイクル中、6 μ gの前記多重特異性タンパク質が8日目に投与され、12 μ gの前記多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18 μ gの多前記多重特異性タンパク質が22日目に投与される、請求項40に記載の方法。

【請求項42】

前記多重特異性タンパク質が、前記第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にIV注入によって前記対象に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも1回の追加の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与される、請求項41に記載の方法。

【請求項43】

10

シタラビンが、前記第1の28日サイクルの1～5日目及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～5日目に静脈内投与される、請求項42に記載の方法。

【請求項44】

前記シタラビンの用量が、約1 g/m²である、請求項43に記載の方法。

【請求項45】

ミトキサントロン、エトポシド、及びシタラビンが、前記第1の28日サイクル及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～6日目に静脈内投与される、請求項42に記載の方法。

【請求項46】

前記ミトキサントロンの用量が、約6 mg/m²/日であり、前記エトポシドの用量が、約80 mg/m²/日であり、前記シタラビンの用量が、約1 g/m²/日である、請求項45に記載の方法。

20

【請求項47】

前記多重特異性タンパク質が、第1の28日サイクルの間にIV注入により前記対象に投与され、前記第1の28日サイクル中、6 μ gの前記多重特異性タンパク質が15日目に投与され、12 μ gの前記多重特異性タンパク質が22日目に投与される、請求項40に記載の方法。

【請求項48】

前記多重特異性タンパク質が、前記第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にIV注入によって前記対象に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも1回の追加の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与される、請求項47に記載の方法。

30

【請求項49】

ベネトクラクスが、前記第1の28日サイクルの1～21日目及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～21日目に経口投与される、請求項48に記載の方法。

【請求項50】

前記ベネトクラクスの用量が、約100～約400 mg/日である、請求項49に記載の方法。

【請求項51】

アザシチジンが、前記第1の28日サイクル及び少なくとも1回のさらなる28日サイクルの1～7日目に静脈内投与される、請求項48～50のいずれか1項に記載の方法。

40

【請求項52】

前記アザシチジンの用量が、約75 mg/m²である、請求項51に記載の方法。

【請求項53】

前記多重特異性タンパク質が、第1の28日サイクルの間にIV注入によって前記対象に投与され、前記第1の28日サイクル中、6 μ gの前記多重特異性タンパク質が1日目に投与され、8 μ gの前記多重特異性タンパク質が12日目に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が22日目に投与される、請求項40に記載の方法。

【請求項54】

50

前記多重特異性タンパク質が、前記第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にI V注入によって前記対象に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が、1、8、15及び22日目に投与される、請求項53に記載の方法。

【請求項55】

シタラビンが、前記第1の28日サイクルの1～7日目及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～7日目に静脈内投与される、請求項54に記載の方法。

【請求項56】

前記シタラビンの用量が、約100～約200 mg / m²である、請求項55に記載の方法。

【請求項57】

イダルビシンが、前記第1の28日サイクルの1～3日目及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～3日目に静脈内注入により投与され、請求項53～56のいずれか1項に記載の方法。

【請求項58】

前記イダルビシンの用量が、約12 mg / m²である、請求項57に記載の方法。

【請求項59】

前記多重特異性タンパク質が、第1の28日サイクルの間にI V注入によって前記対象に投与され、前記第1の28日サイクル中、6 μ gの前記多重特異性タンパク質が1日目に投与され、8 μ gの前記多重特異性タンパク質が12日目に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が22日目に投与される、請求項40に記載の方法。

【請求項60】

前記多重特異性タンパク質が、前記第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にI V注入によって前記対象に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも1回の追加の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与される、請求項59に記載の方法。

【請求項61】

アザシチジンが、前記第1の28日サイクル及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～14日目に経口投与される、請求項60に記載の方法。

【請求項62】

前記アザシチジンの用量が、約300 mg / 日である、請求項61に記載の方法。

【請求項63】

前記がんが、癌腫または肉腫である、請求項1～62のいずれか1項に記載の方法。

【請求項64】

前記がんが、黒色腫、腎臓癌、脾臓癌、肺癌、腸癌、前立腺癌、乳癌、肝臓癌、脳癌、結腸癌、卵巣癌、または血液癌である、請求項1～62のいずれか1項に記載の方法。

【請求項65】

前記がんが、急性骨髄性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、有毛細胞白血病（HCL）、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、B細胞急性リンパ芽球性白血病（ALL）、または慢性骨髄性白血病（CML）である、請求項1～62のいずれか1項に記載の方法。

【請求項66】

前記がんが、急性骨髄性白血病（AML）である、請求項1～62のいずれか1項に記載の方法。

【請求項67】

前記がんが、骨髄異形成症候群（MDS）である、請求項1～62のいずれか1項に記載の方法。

【請求項68】

がんを治療するための方法であって、前記方法は、それを必要とする対象に、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質を投与することを含

10

20

30

40

50

む、前記方法。

【請求項 69】

前記多重特異性タンパク質が、2つの同一のポリペプチドの二量体を含み、各ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって、またはカルボキシル末端からアミノ末端に向かって、

- (i) CD123 結合ドメイン、
- (ii) ヒンジ領域、
- (iii) 免疫グロブリン定常領域、及び
- (iv) CD3 結合ドメイン

を含む、請求項 68 に記載の方法。

10

【請求項 70】

前記ポリペプチドが、N末端からC末端に向かって、前記CD123 結合ドメイン、前記ヒンジ領域、前記免疫グロブリン定常領域、及び前記CD3 結合ドメインを含む、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 71】

前記CD123 結合ドメイン及び前記CD3 結合ドメインのうちの少なくとも一方が、
(i) HCDR1、HCDR2 及びHCDR3を含む免疫グロブリン重鎖可変領域(VH)、及び

- (ii) LCDR1、LCDR2 及びLCDR3を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域(VL)

20

を含む、請求項 68 に記載の方法。

【請求項 72】

前記CD123 結合ドメインが、
配列番号10を含むHCDR1、配列番号11を含むHCDR2、及び配列番号12を含むHCDR3、ならびに
配列番号13を含むLCDR1、配列番号14を含むLCDR2、及び配列番号15を含むLCDR3
を含むscFvである、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 73】

前記CD123 結合ドメインが、
配列番号136と少なくとも90%、少なくとも95%または100%同一である配列を含むVH、及び
配列番号134と少なくとも90%、少なくとも95%または100%同一である配列を含むVL
を含むscFvである、請求項 69 に記載の方法。

30

【請求項 74】

前記CD123 結合ドメインがscFvであり、前記scFvは、配列番号27と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含む、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 75】

前記CD3 結合ドメインが、
配列番号19を含むHCDR1、配列番号20を含むHCDR2、及び配列番号21を含むHCDR3、ならびに
配列番号22を含むLCDR1、配列番号23を含むLCDR2、及び配列番号24を含むLCDR3
を含むscFvである、請求項 69～74のいずれか1項に記載の方法。

40

【請求項 76】

前記CD3 結合ドメインが、
配列番号383または387と少なくとも90%、少なくとも95%または100%同一である配列を含むVH、及び

50

配列番号 384 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 % または 100 % 同一である配列を含む V L

を含む s c F v である、請求項 69 ~ 74 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 77】

前記 C D 3 結合ドメインが、配列番号 27 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または 100 % 同一である配列を含む s c F v である、請求項 69 ~ 74 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 78】

各ポリペプチドが、配列番号 31 と少なくとも 90 %、少なくとも 95 % または 100 % 同一である配列を含む、請求項 69 に記載の方法。

10

【請求項 79】

前記多重特異性タンパク質が、I V 注入によって前記対象に投与される、請求項 68 ~ 78 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 80】

前記多重特異性タンパク質が、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 または 0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で、I V 注入によって前記対象に投与される、請求項 68 ~ 79 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 81】

前記多重特異性タンパク質が、0.3、1、3、6、9、12、18、20、24、30、36、48、50、60、75 または 100 μg の用量で I V 注入によって前記対象に投与される、請求項 68 ~ 79 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 82】

前記多重特異性タンパク質が、週 1 回投与される、請求項 68 ~ 81 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 83】

前記多重特異性タンパク質が、第 1 の 28 日サイクルの間に I V 注入により前記対象に投与され、前記第 1 の 28 日サイクル中、6 μg の前記多重特異性タンパク質が 8 日目に投与され、12 μg の前記多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 84】

前記多重特異性タンパク質が、前記第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に I V 注入によって前記対象に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1、8、15 及び 22 日目に投与される、請求項 83 に記載の方法。

30

【請求項 85】

前記多重特異性タンパク質が、第 1 の 28 日サイクルの間に I V 注入により前記対象に投与され、前記第 1 の 28 日サイクル中、6 μg の前記多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、12 μg の前記多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 86】

前記多重特異性タンパク質が、前記第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に I V 注入によって前記対象に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1、8、15 及び 22 日目に投与される、請求項 85 に記載の方法。

40

【請求項 87】

前記多重特異性タンパク質が、第 1 の 28 日サイクルの間に I V 注入によって前記対象に投与され、前記第 1 の 28 日サイクル中、6 μg の前記多重特異性タンパク質が 1 日目に投与され、8 μg の前記多重特異性タンパク質が 12 日目に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される、請求項 82 に記載の方法。

50

【請求項 88】

前記多重特異性タンパク質が、前記第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にIV注入によって前記対象に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が、1、8、15及び22日目に投与される、請求項87に記載の方法。

【請求項 89】

前記多重特異性タンパク質が、第1の28日サイクルの間にIV注入によって前記対象に投与され、前記第1の28日サイクル中、6 μ gの前記多重特異性タンパク質が1日目に投与され、8 μ gの前記多重特異性タンパク質が12日目に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が22日目に投与される、請求項82に記載の方法。

10

【請求項 90】

前記多重特異性タンパク質が、前記第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にIV注入によって前記対象に投与され、18 μ gの前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも1回の追加の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与される、請求項89に記載の方法。

【請求項 91】

前記がんが、癌腫または肉腫である、請求項68～90のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 92】

前記がんが、黒色腫、腎臓癌、膵臓癌、肺癌、腸癌、前立腺癌、乳癌、肝臓癌、脳癌、結腸癌、卵巣癌、または血液癌である、請求項68～90のいずれか1つに記載の方法。

20

【請求項 93】

前記がんが、急性骨髄性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、有毛細胞白血病（HCL）、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、B細胞急性リンパ芽球性白血病（ALL）、または慢性骨髄性白血病（CML）である、請求項68～90のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 94】

前記がんが、急性骨髄性白血病（AML）である、請求項68～90のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 95】

前記がんが、骨髄異形成症候群（MDS）である、請求項68～90のいずれか1項に記載の方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2021年10月8日に出願された米国仮特許出願第63／253,714号及び2021年5月21日に出願された米国仮特許出願第63／191,488号の優先権を主張し、これらのそれぞれは、すべての目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

電子的に提出されたテキストファイルの説明

本明細書と一緒に電子的に提出されたテキストファイルすなわち配列表のコンピュータ読み取り可能な形式のコピー（ファイル名：APVO__069__02WO__SeqList__ST25.txt、記録日：2022年5月20日、ファイルサイズ：約105,091バイト）は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

40

【0003】

本開示は、がんを治療するための二重特異性または多重特異性タンパク質治療薬に関する。より具体的には、本開示は、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む、二重特異性または多重特異性タンパク質に関する。本開示はまた、タンパク質治療薬を、単独でまたは1つ以上の追加の抗がん剤と組み合わせて、それらを必要とする対象に投

50

与する投与レジメンを含む臨床方法に関する。

【背景技術】

【0004】

二重特異性のT細胞結合抗体の使用に関連する最も重要かつ頻繁な副作用の1つは、神経毒性である。神経毒性は、重度、生命を脅かす、または致死的となり得る。そのような抗体を使用する治療に関連する別の潜在的な合併症は、サイトカイン放出症候群（CRS）として知られる全身性炎症症候群である。したがって、T細胞の関与（すなわち、T細胞エンゲージャー）によって作用する二重特異性及び多重特異性の療法を受けた患者におけるサイトカイン放出及び他の毒性の影響に関連するリスクを軽減するための投与戦略が必要である。このクラスの治療法は、CD123及びCD3を標的とする二重特異性療法を含む。再発または難治性の急性骨髄性白血病及び他のCD123発現血液悪性腫瘍を有する患者において評価されるCD123×CD3二重特異性抗体分子であるmAb14045（Xencor）は、CRSにより死亡した1人を含む2人の患者が第I相臨床試験で死亡したことにより、2019年にFDAにより部分的な臨床試験の差し止めを受けた。

10

【0005】

CRSを含む、サイトカイン放出の深刻な影響の可能性を減じるように設計された投与戦略は、治療的に有効ではない可能性がある。したがって、サイトカイン毒性を含む、毒性の危険性を軽減する方法でT細胞エンゲージャー（例えば、CD123×CD3治療薬）の治療的有効量を患者に送達する方法が依然として必要とされている。

20

【発明の概要】

【0006】

本明細書では、投与戦略を含むがんの治療方法が記載される。本方法は、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質などの、多重特異性タンパク質を、それを必要とする対象に投与することを含み得る。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、化学療法薬など、第2の抗がん剤と組み合わせて投与される。本明細書に記載される投与戦略は、神経毒性及び／またはサイトカイン放出症候群の可能性を最小限に抑えながら治療効果をもたらし得る。

【0007】

したがって、いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法が本明細書で提供され、本方法は、それを必要とする対象に、i) CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質、ならびにii) 第2の抗がん剤を投与することを含む。いくつかの実施形態では、本方法はさらに、対象に第3の抗がん剤を投与することを含む。本明細書に記載される方法で使用される抗がん剤は、例えば、化学療法薬であり得る。いくつかの実施形態では、化学療法薬は、ベネトクラクス、アザシチジン、デシタビン、ダウノルビシン、シタラビン、イダルビシン、ミトキサントロン、またはエトポシドである。

30

【0008】

いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法が本明細書で提供され、本方法は、それを必要とする対象に、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質を投与することを含む。

40

【0009】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、2つの同一のポリペプチドの二量体を含み、各ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって、またはカルボキシル末端からアミノ末端に向かって、(i) CD123結合ドメイン、(ii) ヒンジ領域、(iii) 免疫グロブリン定常領域、及び(iv) CD3結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、N末端からC末端に向かって、CD123結合ドメイン、ヒンジ領域、免疫グロブリン定常領域、及びCD3結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、CD123及びCD3結合ドメインの少なくとも1つは、(i) HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む免疫グロブリン重鎖可変領域（VH）、な

50

らびに (i i) L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域 (V L) を含む。いくつかの実施形態では、C D 1 2 3 結合ドメインは、配列番号 1 0 を含む H C D R 1、配列番号 1 1 を含む H C D R 2、及び配列番号 1 2 を含む H D C R 3、ならびに配列番号 1 3 を含む L C D R 1、配列番号 1 4 を含む L C D R 2、及び配列番号 1 5 を含む L C D R 3 を含む s c F v である。いくつかの実施形態では、C D 1 2 3 結合ドメインは、配列番号 1 3 6 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % 同一である配列を含む V H と、配列番号 1 3 4 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % 同一である配列を含む V L とを含む s c F v である。いくつかの実施形態では、C D 1 2 3 結合ドメインは s c F v であり、本 s c F v は、配列番号 2 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % 同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、C D 3 結合ドメインは、配列番号 1 9 を含む H C D R 1、配列番号 2 0 を含む H C D R 2、及び配列番号 2 1 を含む H D C R 3、ならびに配列番号 2 2 を含む L C D R 1、配列番号 2 3 を含む L C D R 2、及び配列番号 2 4 を含む L C D R 3 を含む s c F v である。いくつかの実施形態では、C D 3 結合ドメインは、配列番号 3 8 3 または 3 8 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % 同一である配列を含む V H と、配列番号 3 8 4 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % 同一である配列を含む V L とを含む s c F v である。いくつかの実施形態では、C D 3 結合ドメインは s c F v であり、本 s c F v は、配列番号 2 7 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % 同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、各ポリペプチドは、配列番号 3 1 と少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または 1 0 0 % 同一である配列を含む。

10

20

【0010】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、I V 注入によって対象に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、0、3、1、3、6、9、12、18、20、24、30、36、48、50、60、75 または 100 μ g の用量で I V 注入によって対象に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、週に 1 回または 2 回投与される。いくつかの実施形態では、第 2 の抗がん剤は、経口的にまたは I V 注入によって対象に投与される。

【0011】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第 1 の 28 日サイクルの間に I V 注入により対象に投与され、第 1 の 28 日サイクル中、6 μ g の多重特異性タンパク質が 8 日目に投与され、12 μ g の多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、18 μ g の多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に I V 注入によって対象に投与され、18 μ g の多重特異性タンパク質が、少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1、8、15 及び 22 日目に投与される。いくつかの実施形態では、シタラビンは、第 1 の 28 日サイクルの 1～5 日目及び少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1～5 日目に静脈内投与される。いくつかの実施形態では、シタラビンの用量は約 1 g / m^2 である。いくつかの実施形態では、ミトキサントロン、エトポシド、及びシタラビンは、第 1 の 28 日サイクル及び少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1～6 日目に静脈内投与される。いくつかの実施形態では、ミトキサントロンの用量は、約 6 mg / m^2 / 日であり、エトポシドの用量は、約 80 mg / m^2 / 日であり、シタラビンの用量は、約 1 g / m^2 / 日である。

30

40

【0012】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第 1 の 28 日サイクルの間に I V 注入により対象に投与され、第 1 の 28 日サイクル中、6 μ g の多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、12 μ g の多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に I V 注入によって対象に投与され、18 μ g の多重特異性タンパク質が、少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1、8、15 及び 22 日目に投

50

与される。いくつかの実施形態では、ベネトクラクスは、第1の28日サイクルの1～21日目及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～21日目に経口投与される。いくつかの実施形態では、ベネトクラクスの用量は、約100～約400mg／日である。いくつかの実施形態では、アザシチジンは、第1の28日サイクル及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～7日目に静脈内投与される。いくつかの実施形態では、アザシチジンの用量は、約75mg／m²である。

【0013】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルの間にIV注入により対象に投与され、第1の28日サイクル中、6μgの多重特異性タンパク質が1日目に投与され、8μgの多重特異性タンパク質が12日目に投与され、18μgの多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18μgの多重特異性タンパク質が22日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にIV注入によって対象に投与され、18μgの多重特異性タンパク質が、1、8、15及び22日目に投与される。いくつかの実施形態では、シタラピンは、第1の28日サイクルの1～7日目及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～7日目に静脈内注入により投与される。いくつかの実施形態では、シタラピンの用量は、約100～約200mg／m²である。いくつかの実施形態では、イダルビシンは、第1の28日サイクルの1～3日目及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～3日目に静脈内注入により投与される。いくつかの実施形態では、イダルビシンの用量は、約12mg／m²である。

【0014】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルの間にIV注入により対象に投与され、第1の28日サイクル中、6μgの多重特異性タンパク質が1日目に投与され、8μgの多重特異性タンパク質が12日目に投与され、18μgの多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18μgの多重特異性タンパク質が22日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にIV注入によって対象に投与され、18μgの多重特異性タンパク質が、少なくとも1回の追加の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与される。いくつかの実施形態では、アザシチジンは、第1の28日サイクル及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～14日目に経口投与される。いくつかの実施形態では、アザシチジンの用量は、約300mg／日である。

【0015】

いくつかの実施形態では、がんは、癌腫または肉腫である。いくつかの実施形態では、がんは、黒色腫、腎臓癌、膵臓癌、肺癌、腸癌、前立腺癌、乳癌、肝臓癌、脳癌、結腸癌、卵巣癌、または血液癌である。いくつかの実施形態では、がんは、急性骨髄性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、有毛細胞白血病（HCL）、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、B細胞急性リンパ芽球性白血病（ALL）、または慢性骨髄性白血病（CML）である。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1A】本開示の組成物及び方法と共に使用するための例示的な治療用タンパク質の構造を示す概略図である。図1Aは、CD3結合ドメイン及びFcドメインをそれぞれ含む2つの同一のポリペプチドを含むホモ二量体タンパク質を示す。

【図1B】本開示の組成物及び方法と共に使用するための例示的な治療用タンパク質の構造を示す概略図である。図1Bは、腫瘍結合ドメイン（例えば、CD123結合ドメイン）、Fcドメイン、及びCD3結合ドメインをそれぞれ含む2つの同一のポリペプチドを含むホモ二量体タンパク質を示す。例示的なCD123×CD3二重特異性治療タンパク質は、本明細書ではTRI130と称される。

【図2】第1／1b相用量漸増臨床研究の設計を示す概略図であり、ここではTRI130が、再発または難治性の急性骨髄性白血病（AML）または骨髄異形成症候群（MDS

10

20

30

40

50

）を有する患者に投与される。

【図 3 A】図 2 及び実施例 2 に記載される第 1 / 1 b 相試験における患者について、時間に関してプロットされた、骨髓液中の芽球の割合を示す。 $\geq 12 \mu\text{g}$ の最高用量を受けたコホートにおける患者についてデータをグラフにしている。N = ベースラインからの変化について評価可能な 14 人の患者。第 10 表に示すように、コー 6 a 及び 6 b で異なる段階投与レジメンを試験した。

【図 3 B】図 2 及び実施例 2 に記載される第 1 / 1 b 相試験における患者について、時間に関してプロットされた、骨髓液中の芽球の割合を示す。 $\geq 12 \mu\text{g}$ の最高用量を受けたコホートにおける患者についてデータをグラフにしている。N = ベースラインからの変化について評価可能な 14 人の患者。第 10 表に示すように、コー 6 a 及び 6 b で異なる段階投与レジメンを試験した。

10

【図 3 C】図 2 及び実施例 2 に記載される第 1 / 1 b 相試験における患者について、時間に関してプロットされた、骨髓液中の芽球の割合を示す。 $\geq 12 \mu\text{g}$ の最高用量を受けたコホートにおける患者についてデータをグラフにしている。N = ベースラインからの変化について評価可能な 14 人の患者。第 10 表に示すように、コー 6 a 及び 6 b で異なる段階投与レジメンを試験した。

【図 3 D】図 2 及び実施例 2 に記載される第 1 / 1 b 相試験における患者について、時間に関してプロットされた、骨髓液中の芽球の割合を示す。 $\geq 12 \mu\text{g}$ の最高用量を受けたコホートにおける患者についてデータをグラフにしている。N = ベースラインからの変化について評価可能な 14 人の患者。第 10 表に示すように、コー 6 a 及び 6 b で異なる段階投与レジメンを試験した。

20

【図 4 A】図 2 及び実施例 2 に記載の第 1 / 1 b 相試験の、計画的採血（投与前、投与後約 15 ~ 30 分、及び投与後約 20 ~ 26 時間；N = 26）の患者サンプルにおけるインターロイキン-6（IL-6、図 4 A）、インターロイキン-10（IL-10、図 4 B）、インターフェロン-ガンマ（IFN- γ 、図 4 C）及び腫瘍壊死因子-アルファ（TNF- α 、図 4 D）の血清濃度を示す。計画的採血は、各患者の最も高い計画された用量の第 1 の投与で収集した。IRR / CRS 事象中の非計画的収集時に観察されたピークサイトカインレベルを比較のために示す（4 人の患者で N = 6 事象）。

【図 4 B】図 2 及び実施例 2 に記載の第 1 / 1 b 相試験の、計画的採血（投与前、投与後約 15 ~ 30 分、及び投与後約 20 ~ 26 時間；N = 26）の患者サンプルにおけるインターロイキン-6（IL-6、図 4 A）、インターロイキン-10（IL-10、図 4 B）、インターフェロン-ガンマ（IFN- γ 、図 4 C）及び腫瘍壊死因子-アルファ（TNF- α 、図 4 D）の血清濃度を示す。計画的採血は、各患者の最も高い計画された用量の第 1 の投与で収集した。IRR / CRS 事象中の非計画的収集時に観察されたピークサイトカインレベルを比較のために示す（4 人の患者で N = 6 事象）。

30

【図 4 C】図 2 及び実施例 2 に記載の第 1 / 1 b 相試験の、計画的採血（投与前、投与後約 15 ~ 30 分、及び投与後約 20 ~ 26 時間；N = 26）の患者サンプルにおけるインターロイキン-6（IL-6、図 4 A）、インターロイキン-10（IL-10、図 4 B）、インターフェロン-ガンマ（IFN- γ 、図 4 C）及び腫瘍壊死因子-アルファ（TNF- α 、図 4 D）の血清濃度を示す。計画的採血は、各患者の最も高い計画された用量の第 1 の投与で収集した。IRR / CRS 事象中の非計画的収集時に観察されたピークサイトカインレベルを比較のために示す（4 人の患者で N = 6 事象）。

40

【図 4 D】図 2 及び実施例 2 に記載の第 1 / 1 b 相試験の、計画的採血（投与前、投与後約 15 ~ 30 分、及び投与後約 20 ~ 26 時間；N = 26）の患者サンプルにおけるインターロイキン-6（IL-6、図 4 A）、インターロイキン-10（IL-10、図 4 B）、インターフェロン-ガンマ（IFN- γ 、図 4 C）及び腫瘍壊死因子-アルファ（TNF- α 、図 4 D）の血清濃度を示す。計画的採血は、各患者の最も高い計画された用量の第 1 の投与で収集した。IRR / CRS 事象中の非計画的収集時に観察されたピークサイトカインレベルを比較のために示す（4 人の患者で N = 6 事象）。

【図 5 A】実施例 3 に記載された拡張研究のコホート 1 ~ コホート 5 において使用される

50

投与レジメンを示す概略図である。図 5 A～図 5 E に示される投与レジメンは、本明細書に開示される多重特異性タンパク質のいずれかを投与するために使用され得ることが当業者に理解されるであろう。

【図 5 B】実施例 3 に記載された拡張研究のコホート 1～コホート 5 において使用される投与レジメンを示す概略図である。図 5 A～図 5 E に示される投与レジメンは、本明細書に開示される多重特異性タンパク質のいずれかを投与するために使用され得ることが当業者に理解されるであろう。

【図 5 C】実施例 3 に記載された拡張研究のコホート 1～コホート 5 において使用される投与レジメンを示す概略図である。図 5 A～図 5 E に示される投与レジメンは、本明細書に開示される多重特異性タンパク質のいずれかを投与するために使用され得ることが当業者に理解されるであろう。

【図 5 D】実施例 3 に記載された拡張研究のコホート 1～コホート 5 において使用される投与レジメンを示す概略図である。図 5 A～図 5 E に示される投与レジメンは、本明細書に開示される多重特異性タンパク質のいずれかを投与するために使用され得ることが当業者に理解されるであろう。

【図 5 E】実施例 3 に記載された拡張研究のコホート 1～コホート 5 において使用される投与レジメンを示す概略図である。図 5 A～図 5 E に示される投与レジメンは、本明細書に開示される多重特異性タンパク質のいずれかを投与するために使用され得ることが当業者に理解されるであろう。

【図 6 A】薬物動態 (PK) データを示す図である。TRI130 濃度は、様々な試験時点での用量漸増試験のコホート 6 a からの患者で示されている。水平のハッシュ線は、アッセイの定量下限 (LLOQ) を表す。他のすべての測定値は検出限界内であったが、定量化可能な範囲ではなかった。破線の垂直線は、それぞれの患者の治療終了 (EOT) を表す。

【図 6 B】様々な試験時点での用量漸増試験のコホート 6 a からの患者における抗薬剤抗体 (ADA) 応答値及び力価を示す図である。破線の垂直線は、それぞれの患者の EOT を表す。白抜きの記号はフォローアップサンプルを示す。

【図 7 A】PK データを示す図である。TRI130 濃度は、様々な試験時点での用量漸増試験のコホート 6 b からの様々な患者で示されている。破線の垂直線は、それぞれの患者の治療終了 (EOT) を表す。

【図 7 B】様々な試験時点での用量漸増試験のコホート 6 a からの様々な患者における ADA 応答値及び力価を示す図である。破線の垂直線は、それぞれの患者の EOT を表す。白抜きの記号はフォローアップサンプルを示す。

【図 8 A】コホート 7 と比較したコホート A 中の経時的 TRI130 濃度の PK シミュレーションを示す図である。

【図 8 B】コホート 7 と比較したコホート B 中の経時的 TRI130 濃度の PK シミュレーションを示す図である。

【図 8 C】コホート 7 と比較したコホート C 中の経時的 TRI130 濃度の PK シミュレーションを示す図である。

【図 8 D】コホート 7 と比較したコホート D 中の経時的 TRI130 濃度の PK シミュレーションを示す図である。

【図 8 E】これらのシミュレーションのトレースを重ねている図である。

【図 9 A】様々なコホートについて、推定された最大濃度 (Cmax)、最大時間 (Tmax)、最小濃度 (Cmin)、及び曲線下面積 (AUC) を示す図である。

【図 9 B】様々なコホートについて、Cmax での Cmax 対 Cmin、AUC : Cmax、及び、サイクル 1 における最高 Cmax : Cmin の比を示す図である。

【図 10】TRI130 単剤治療を受ける VENZA 耐性再発 AML 患者における推定循環 AML-LSC 細胞の枯渇を示す図である。グラフの第 1 列及び第 2 列における各グラフの左上角の数字は、合計 LSC 数を表し、そのうちの大多数は、CD123 及び CD33 の両方を同時発現していた。実質的に全ての CD34 + CD38 - 細胞は、AML と

10

20

30

40

50

一致するCD123+及びCD33+であった。パネルAの第3の列の矢印で示されたこのCD123+CD33+CD34+CD38-AML LSC集団のサイズは、TRI130単剤治療により有意に減少した。図15も参照のこと。

【図11】TRI130単剤治療を受けるVENAZA耐性再発AML患者における循環AML-LSC細胞を示す図である。実質的に全てのCD34+CD38-細胞は、AMLと一致するCD123+及びCD33+であった。CD123+CD33+CD34+CD38-AML LSC集団のサイズ（グラフの第3欄に矢印で示されている）は、TRI130単剤療法の実施中に有意には変化しなかった。図15も参照のこと。

【図12】それぞれ特定の記号で示される、不変（SD）、PR、CR、末梢芽球の除去、ならびにPDの発症の発現及び持続期間を示す図である。矢印は、患者が生きていることを示す。図13A～図13Bも参照のこと。

【図13A】実施例4に記載された研究に登録されたAML患者（図13A）及びMDS患者（図13B）の患者特性を示す表である。C：サイクル数、D：特定のサイクルにおける日数；AZA：アザシチジン（Azacitidine）；MDS：MDS-rf：MDS関連特徴；abn：異常；AZA：アザシチジン（azacytidine）；MDS：骨髓異形成症候群；骨髓異形成症候群；PD：進行性疾患；IM-1：中間-1、IM-2：中間-2；SD：不変；NA：該当せず；M：男性；F：女性；C：白人；A：アジア人；IPSS：国際予後スコアリングシステム；2016年WHO骨髓異形成症候群のサブタイプ：過剰芽球を有するMDS（MDS-EB）、*UPN09は軽快した複数の一過性のグレード3～4のAEを有した（彼女はC1D2で腫瘍溶解症候群（TLS）グレード3を有し、2日間継続した）；C4D1でTLSグレード3、2日間継続；貧血症、C5D1でグレード3、8日間継続、C7D22で貧血症グレード3、8日間継続、C6D22で貧血症グレード3、12日間継続、C7D8で貧血症グレード3、4日間継続、C4D15で血小板数の減少グレード3、7日間継続、C4D22で血小板数の減少グレード4、50日間継続、C6D15で血小板数の減少グレード3、2日間継続、C6D22で血小板数の減少グレード4、33日間継続；C5D5で高血糖グレード3、2日間継続。\$\$UPN09：貧血（Hgb9.7g/dL）、血小板減少症（Plt30,000/ μ L）、中間リスク核型、47,XX+8、多重遺伝子変異（NRAS、ASXL-1、PTPN11、RUNX1、STAG2）、サイクル10前後で絶対単球数17,600/ μ LでCMML-MPNに進行した。UPN10：貧血（Hgb8.0g/dL）、血小板減少症（Plt：9,000/ μ L）、重症好中球減少症（ANC：0.29 $\times$ 10³/ μ L）、骨髓における7.7%芽球、細胞遺伝学は入手できない。骨髓芽球数2.4%で骨髓CRを達成。UPN-11：貧血（Hgb9.3g/dL、血小板減少症（Plt：23,000/ μ L）（-ANC1.3 $\times$ 10³/ μ Lを有する非重症好中球減少症）、MDS関連異常11q-及び-7を有する中間リスク細胞遺伝、骨髓内で11.3%芽球。C2D1で0%まで骨髓芽球数を減少させ髄CRを達成。UPN12：汎血球減少症なし（Hgb11g/dL、Plt：100,000/ μ L、ANC：1.1 $\times$ 10³/ μ L）、好適な核型：46,XY、骨髓中8.2%芽球。C2D1で2%まで骨髓芽球数を減少させ髄CRを達成。UPN13：貧血（Hgb7.2g/dL）、血小板減少症（Plt：8,000/ μ L）、重症好中球減少症（ANC：0.5 $\times$ 10³/ μ L）、骨髓中5%芽球、複合核型（不良リスクカテゴリー）：46,XY,der(12;19)(q10;p10)、+mar[8]/46,XY,del(20)q11.2q13.1。細胞遺伝学に関して12(p)異常を有する中間リスク核型。骨髓中5%の芽球。UPN14：貧血（Hgb9.3/dL）、好中球減少（ANC：0 $\times$ 10³/ μ L）、細胞遺伝学に関してt(1;2)(p36.3;p21)を有する中間リスク核型、骨髓中6%の芽球。

【図13B】実施例4に記載された研究に登録されたAML患者（図13A）及びMDS患者（図13B）の患者特性を示す表である。C：サイクル数、D：特定のサイクルにおける日数；AZA：アザシチジン（Azacitidine）；MDS：MDS-rf：MDS関連特徴；abn：異常；AZA：アザシチジン（azacytidine）；M

10

20

30

40

50

D S：骨髓異形成症候群；骨髓異形成症候群；P D：進行性疾患；I M-1：中間-1、I M-2：中間-2；S D：不変；N A：該当せず；M：男性；F：女性；C：白人；A：アジア人；I P S S：国際予後スコアリングシステム；2016年WHO骨髓異形成症候群のサブタイプ：過剰芽球を有するMDS（MDS-EB）、*UPN09は軽快した複数の一過性のグレード3～4のAEを有した（彼女はC1D2で腫瘍溶解症候群（TLS）グレード3を有し、2日間継続した）；C4D1でTLSグレード3、2日間継続；貧血症、C5D1でグレード3、8日間継続、C7D22で貧血症グレード3、8日間継続、C6D22で貧血症グレード3、12日間継続、C7D8で貧血症グレード3、4日間継続、C4D15で血小板数の減少グレード3、7日間継続、C4D22で血小板数の減少グレード4、50日間継続、C6D15で血小板数の減少グレード3、2日間継続、C6D22で血小板数の減少グレード4、33日間継続；C5D5で高血糖グレード3、2日間継続。\$ \$UPN09：貧血（Hgb 9.7 g/dL）、血小板減少症（Plt 30,000/μL）、中間リスク核型、47,XX+8、多重遺伝子変異（NRAS、ASXL-1、PTPN11、RUNX1、STAG2）、サイクル10前後で絶対単球数17,600/μLでCMML-MPNに進行した。UPN10：貧血（Hgb 8.0 g/dL）、血小板減少症（Plt：9,000/μL）、重症好中球減少症（ANC：0.29×10³/μL）、骨髓における7.7%芽球、細胞遺伝学は入手できない。骨髓芽球数2.4%で骨髓CRを達成。UPN-11：貧血（Hgb 9.3 g/dL、血小板減少症（Plt：23,000/μL）（-ANC 1.3×10³/μLを有する非重症好中球減少症）、MDS関連異常11q-及び-7を有する中間リスク細胞遺伝、骨髓内で11.3%芽球。C2D1で0%まで骨髓芽球数を減少させ髄CRを達成。UPN12：汎血球減少症なし（Hgb 11 g/dL、Plt：100,000 μL、ANC：1.1×10³ μL）、好適な核型：46,XY、骨髓中8.2%芽球。C2D1で2%まで骨髓芽球数を減少させ髄CRを達成。UPN13：貧血（Hgb 7.2 g/dL）、血小板減少症（Plt：8,000/μL）、重症好中球減少症（ANC：0.5×10³/μL）、骨髓中5%芽球、複合核型（不良リスクカテゴリー）：46,XY,der(12;19)(q10;p10)、+mar[8]/46,XY,del(20)q11.2q13.1。細胞遺伝学に関して12(p)異常を有する中間リスク核型。骨髓中5%の芽球。UPN14：貧血（Hgb 9.3/dL）、好中球減少（ANC：0×10³/μL）、細胞遺伝学に関してt(1;2)(p36.3;p21)を有する中間リスク核型、骨髓中6%の芽球。

10

20

30

【図14】TRI130が、再発／難治性AML及びMDS患者からTH1及びTH2細胞を活性化することを示す表である。E：サイクル2の始めに得られた早期サンプル、L：サイクル2の間に得られた後期サンプル。*IL-10誘導は、UPN01（46倍）、UPN05（8.3倍）、UPN06（17.3倍）、及びUPN10（24.5倍）で観察された。BORとしてSDを有する2人のMDS患者のみが有意なIL-10誘導を示さなかった。**IFN-γ誘導は、UPN01及びUPN05において観察された。***IL-5誘導は、UPN06においてのみ観察された。

【図15】推定循環LSCに対するTRI130の薬力学的効果を示す表である。

【発明を実施するための形態】

40

【0017】

二重特異性のT細胞結合抗体の使用に関連する最も重要かつ頻繁な副作用の1つは、神経毒性である。神経毒性は、重度、生命を脅かす、または致死的となり得る。本出願は、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質（TRI130を含む）を記載する。TRI130が重篤な神経毒性を伴わないことを示す臨床データが提供される。二重特異性のT細胞結合抗体を使用する治療に関連する別の潜在的な合併症は、サイトカイン放出症候群（CRS）として知られる全身性炎症症候群である。TRI130は一部の患者でCRSを生じたが、標準的なCRS治療を使用して対処できた。TRI130は、臨床活性、白血病の持続的安定化、応答の兆候を示し、結果的に、2人の治療困難な再発／難治性AML患者において部分奏効及び完全奏効まで深化させた。

50

【0018】

CD123は、AML芽球上で高度に発現するが、感染防御をもたらす白血球を生じる正常な骨髓造血幹細胞及び骨髓前駆細胞でも発現している。したがって、CD123を標的とした治療プラットフォームは、好中球減少症として知られる長期間かつ顕著な白血球数の減少、及び感染症、特に肺炎と関連付けられることが多い。標準的な化学療法薬の血糖値低下の副作用と重なるこの一般的な副作用は、現在のフロントライン及びセカンドラインの基準のケア治療レジメンに、CD123を標的とする薬剤の所望の組み込みを妨げる主なハードルの1つである。したがって、正常な骨髓細胞を損傷することなく白血病細胞を破壊することができるAML患者を治療するために有効な新しい薬剤が緊急に必要とされている。特に、本発明者らは、他のCD123標的薬剤とは異なり、TRI130が、毎週の点滴を数ヶ月行った後でも、完全奏効をもたらす用量で重度のまたは長期の好中球減少を引き起こさないことを予想外に発見した。この独特の特徴は、化学療法薬などの1種以上の追加の抗がん剤と組み合わせたTRI130の使用を可能にする。

10

【0019】

本発明のこれらの及び様々な態様を以下にさらに詳細に記載する。

【0020】

本明細書で使用される節の見出しは、構成目的のみのためであり、記載される主題を限定するものと解釈されるべきではない。特許、特許出願、記事、書籍及び論文を含むが、これらに限定されない、本明細書で引用される全ての文書または文書の一部は、その全体があらゆる目的のために参照により本明細書に明確に組み込まれる。組み込まれる文書または文書の一部のうちの1つ以上が、本出願における用語の定義と矛盾する用語の定義をしている場合、本出願に示される定義が優先される。しかし、本明細書で引用される任意の参考文献、記事、出版物、特許、特許公報及び特許出願の言及は、世界の任意の国で、それらが有効な先行技術を構成し、または共通の一般知識の一部を形成するという承認または何らかの示唆の形態ではなく、そのように解釈されるべきではない。

20

【0021】

本発明の記載において、任意の濃度範囲、パーセンテージ範囲、比率範囲または整数範囲は、特に指定のない限り、列挙される範囲内の任意の整数の値を含み、必要に応じて、その分数（整数の1/10及び1/100など）を含むものと理解される。本明細書で使用される「a」及び「an」という用語は、特に指定のない限り、列挙される構成成分のうちの「1つ以上」を指すことを理解されたい。選択肢（例えば、「または」）の使用は、選択肢の一方、両方またはその任意の組み合わせのいずれかを意味することを理解されたい。本明細書で使用される、用語「include（含む）」及び「comprise（含む）」は、同義的に使用される。さらに、本明細書に記載の構成要素（例えば、ドメインまたは領域）及び置換要素の様々な組み合わせを含むポリペプチドは、各ポリペプチドが個々に記載されているのと同じ程度で本出願によって開示されることを理解されたい。したがって、個々のポリペプチドの特定の構成要素の選択は、本開示の範囲内である。

30

【0022】

定義

数値の直前の「約」という用語は、数値の最大10%の±を意味する。例えば、「約40」は、40の最大10%の±（すなわち、36~44）、例えば、最大10%の±、最大9%の±、最大8%の±、最大7%の±、最大6%の±、最大5%の±、最大4%の±、最大3%の±、最大2%の±、最大1%の±、最大1%未満の±中にあるその他の値または値の範囲を意味する。

40

【0023】

本明細書で使用される場合、「実質的に」は、当該技術分野で使用されるその通常の意味を有する。例えば、「実質的に」は、「有意に」、「かなり」、「大部分が」、または「本質的に」を意味し得る。いくつかの実施形態では、「実質的に」は、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約9

50

8%、または少なくとも99%を意味し得る。

【0024】

「CD123」という用語は、CD123の任意のアイソフォームを指してもよく、これは、分化123のクラスター、インターロイキン3受容体アルファ鎖、及びIL3RAとしても知られている。CD123は、インターロイキン3受容体のベータ鎖と会合して、該受容体を形成する。CD123は、予測されたIg様ドメイン及び2つのFnIIIドメインを含む細胞外ドメインを有する、I型膜貫通糖タンパク質である。本開示のCD123結合ドメインは、CD123の細胞外ドメインに結合する。CD123は、ヒトインターロイキン3（IL-3）受容体のアルファ鎖としても知られている。CD123はI型膜貫通糖タンパク質であり、サイトカイン受容体スーパーファミリーのメンバーである。インターロイキン-3受容体は、CD123及びベータ鎖（CD131）とによって形成されるヘテロ二量体である。IL-3は、CD123に結合し、シグナル伝達は、CD131によってもたらされる。IL-3は、造血細胞及び免疫細胞の機能及び産生を調節し、内皮細胞増殖を刺激する（Testa et al., Biomark Res. 2:4 (2014)）。

10

【0025】

CD123は、急性骨髄性白血病（AML）、Bリンパ性白血病、芽球性形質細胞様樹状腫瘍（BPDCN）及び有毛細胞白血病のサブセットを含む多くの血液悪性腫瘍で過剰発現している。ほとんどのAML患者は初期治療に良好に応答するが、大部分のAML患者は、最終的に再発または難治性疾患と診断される（Ramos et al., J. Clin. Med. 4:665-695 (2015)）。効率及び有効性が増加し、かつ有害作用が減少しており、かつCD123の調節異常に関連する障害の治療に使用され得るCD123を標的とする分子が必要とされている。

20

【0026】

「CD3」は、T細胞受容体複合体のサブユニットである、6本鎖の多タンパク質複合体として当技術分野で公知である（例えば、Abbas and Lichtman, 2003; Janeway et al., p. 172 and 178, 1999を参照のこと）。哺乳動物では、T細胞受容体複合体のCD3サブユニットは、CD3γ鎖、CD3δ鎖、2つのCD3ε鎖、及びCD3ζ鎖のホモ二量体である。CD3γ鎖、CD3δ鎖及びCD3ε鎖は、単一の免疫グロブリン領域を含む免疫グロブリンスーパーファミリーの高度に関連した細胞表面タンパク質である。CD3γ鎖、CD3δ鎖、及びCD3ε鎖の膜貫通領域は負に帯電しており、これは、これらの鎖が、正に帯電したT細胞受容体鎖と会合することを可能にする特性である。CD3γ鎖、CD3δ鎖、及びCD3ε鎖の細胞内尾部は、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフまたはITAMとして知られている単一の保存されたモチーフをそれぞれ含むのに対して、各CD3ζ鎖は3つ有する。ITAMはTCR複合体のシグナル伝達能力に重要であると考えられる。本開示で使用するCD3は、ヒト、サル、マウス、ラット、または他の哺乳類を含む様々な動物種に由来し得る。

30

【0027】

「サイトカイン放出」または「サイトカインストーム」または「注入反応」とは、T細胞からのサイトカインの放出を指す。サイトカインが循環に放出されると、発熱、悪心、悪寒、低血圧、頻脈、無力症、頭痛、発疹、喉の違和感、及び呼吸困難などの全身症状が生じる可能性がある。一部の患者は、サイトカインの大量の放出により生じる、生命を脅かす重度の反応を経験し得る。「減少した」サイトカイン放出とは、本明細書に開示される二重特異性分子の投与後の少なくとも1つのサイトカイン（例えば、IFN-γ、TNF-α、IL-6、IL-2、IL-8、IL-10、IL-17、GM-CSF、IL-4、IL-12、IL-13またはIL-1β）の放出が、OKT3抗体（CD3に結合する）または他のCD3結合二重特異性分子と比較して減少することを指す。サイトカイン放出の減少は、インビトロアッセイまたはインビボアッセイを使用して測定することができる。

40

50

【0028】

本明細書で使用される場合、「段階投与」または「段階的投与」という用語または類似の用語は、本明細書に記載される多重特異性ポリペプチドが、少なくとも第1の日及び第2の日に患者に投与され、患者に投与される用量が、第1の日と第2の日との間で一定に保つか、または増加させる投与レジメンを指す。例えば、いくつかの段階投与計画では、患者に、第1、第2、第3及び第4の用量を投与することができ、各用量は、異なる日に投与され、第2の用量は、第1の用量よりも多い。第3の用量は、第2の用量よりも多くてもよく、または第2の用量と同じであってもよい。第4の用量は、第3の用量よりも多くてもよく、または第3の用量と同じであってもよい。いくつかの実施形態では、患者が特定の用量に対して有害反応を有する場合、その後の用量は減少され得る。

10

【0029】

本明細書で使用される場合、「結合ドメイン」または「結合領域」という用語は、標的分子、例えば抗原、リガンド、受容体、基質、または阻害剤を特異的に認識及び結合する能力を有する抗体、受容体、もしくはリガンドに由来するタンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、ペプチド、抗体、または結合ドメインのドメイン、領域、部分、もしくは部位を指す。例示的な結合ドメインには、抗体及び抗体様タンパク質またはドメイン、抗体重鎖及び軽鎖可変領域、ならびに一本鎖抗体可変領域（例えば、ドメイン抗体、sFv、scFv、scFab）、受容体エクストドメイン及びリガンド（例えば、サイトカイン、ケモカイン）が挙げられる。特定の実施形態では、結合ドメインは、抗原結合部位（例えば、可変重鎖配列及び可変軽鎖配列を含むか、または3つの軽鎖相補性決定領域（CDR）及び代替的なフレームワーク領域（FR）（例えば、任意に1つ以上のアミノ酸置換を含むヒトFR）に配置された抗体からの3つの重鎖CDRを含む）を含むかまたはそれらからなる。ウェスタンブロット、ELISA、ファージディスプレイライブラリスクリーニング、及びBIACORE（登録商標）相互作用解析を含む、特定の標的に特異的に結合する本開示の結合ドメインを同定するための様々なアッセイが知られている。

20

【0030】

結合ドメインまたは結合ドメインを含む結合タンパク質は、それが 10^5 M^{-1} 以上の親和性または K_a （すなわち、 $1/\text{M}$ の単位の特定の結合相互作用の平衡関連定数）で標的に結合する一方で、試験サンプルに存在する他の成分には有意には結合しない場合に、標的に「特異的に結合」する結合ドメインを有する。結合ドメインは、「高親和性」結合ドメイン及び「低親和性」結合ドメインに分類され得る。「高親和性」結合ドメインとは、少なくとも 10^7 M^{-1} 、少なくとも 10^8 M^{-1} 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも 10^{13} M^{-1} の K_a を有する結合ドメインを指す。「低親和性」結合ドメインとは、最大 10^7 M^{-1} 、最大 10^6 M^{-1} 、最大 10^5 M^{-1} の K_a を有する結合ドメインを指す。あるいは、親和性は、Mの単位（例えば、 $10^{-5} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ 、または約500 nM、約300 nM、約250 nM、約200 nM、約150 nM、約100 nM、約50 nM、約25 nM、約10 nM、または約5 nM）の特定の結合相互作用の平衡解離定数（ K_d ）として定義することができる。本開示による結合ドメインポリペプチド及び単鎖ポリペプチドの親和性は、従来技術を用いて容易に決定することができる（例えば、Scatchard et al. (1949) Ann. N. Y. Acad. Sci. 51: 660; 及び米国特許第5,283,173号、同第5,468,614号または同等物を参照のこと）。

30

40

【0031】

本明細書で使用される場合、「保存的置換」は、当該技術分野では、1つのアミノ酸の、類似した特性を有する別のアミノ酸への置換として認識されている。例示的な保存的置換は、当該技術分野ではよく知られている（例えば、1997年3月13日出願、PCT出願公開第WO97/09433号、10ページ目; Lehninger, Biochemistry, Second Edition; Worth Publishers, Inc. NY: NY (1975), pp. 71-77; Lewin, Genes IV,

50

Oxford University Press, NY and Cell Press, Cambridge, MA (1990), p. 8を参照のこと)。特定の実施形態では、保存的置換には、ロイシン-セリン置換が含まれる。

【0032】

本明細書で使用する場合、「誘導体」という用語は、例えば、グリコシル化、アルキル化、アシル化、エステル形成、またはアミド形成による、酵素有りまたは無しのいずれかで化学的または生物学的手段によってペプチドの1つ以上のアミノ酸残基を修飾することを指す。

【0033】

本明細書で使用される場合、指定されたポリペプチドまたはタンパク質に「由来する」ポリペプチドまたはアミノ酸配列は、ポリペプチドの起源を指す。特定の実施形態では、特定の配列（「開始」または「親（parent）」または「親（parental）」配列と称される場合がある）に由来し、かつ親配列またはその一部と実質的に同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはアミノ酸配列であって、その部分は、少なくとも10～20個のアミノ酸、少なくとも20～30個のアミノ酸、または少なくとも30～50個のアミノ酸、または少なくとも50～150個のアミノ酸からなるか、そうでなければ親配列に起源を有すると当業者が証明することができる。例えば、結合ドメインは、抗体、例えば、Fab、F(ab')₂、Fab'、scFv、単一ドメイン抗体（sdAb）などに由来し得る。

【0034】

別のポリペプチドに由来するポリペプチドは、親ポリペプチドに対して1つ以上の突然変異または変更を有することができ、例えば、別のアミノ酸残基で置換されているか、または1つ以上のアミノ酸挿入または欠失を有する1つ以上のアミノ酸残基である。そのような実施形態では、親ポリペプチドに由来し、かつ1つ以上の突然変異または変更を含むポリペプチドは、「変異体」と称される。本明細書で使用される場合、「変異体」または「複数の変異体」という用語は、基準ポリヌクレオチドまたはポリペプチドとは異なるが、その必須の特性は保持している配列を有するポリヌクレオチドまたはポリペプチドを指す。一般に、変異体ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列は、全体として非常に似ており、多くの領域で基準ポリヌクレオチドまたはポリペプチドと同一である。例えば、変異体ポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、活性部分または完全長さ参照ポリヌクレオチドまたはポリペプチドと比較して、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を示し得る。ポリペプチドは、天然に存在しないアミノ酸配列を含み得る。かかる変異体は、必然的に親ポリペプチドと100%未満の配列同一性または類似性を有する。一実施形態では、変異体は、親ポリペプチドのアミノ酸配列と約60%～100%未満のアミノ酸配列同一性または類似性を有するアミノ酸配列を有するであろう。別の実施形態では、変異体は、親ポリペプチドのアミノ酸配列と約75%～100%未満、約80%～100%未満、約85%～100%未満、約90%～100%未満、約95%～100%未満のアミノ酸配列同一性または類似性を有するアミノ酸配列を有するであろう。

【0035】

本明細書で使用する場合、「配列同一性」という用語は、2つ以上のポリヌクレオチド配列間、または2つ以上のポリペプチド配列間の関係を指している。1つの配列における位置が、比較配列の対応する位置において同じ核酸塩基またはアミノ酸残基により占められている場合、これらの配列は、その位置において「同一」とであると言われる。百分率配列同一性は、同一の核酸塩基またはアミノ酸残基が両方の配列に存在する位置の数を決定し、同一の位置の数を得ることによって計算される。次に、同一の位置の数を比較ウィンドウ内の位置の総数で割り、100を掛けて百分率配列同一性を得る。百分率配列同一性は、2つの最適に整列された配列を比較ウィンドウにわたって比較することによって決定

される。ポリヌクレオチド配列の比較ウィンドウは、例えば、少なくとも約20、約30、約40、約50、約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120、約130、約140、約150、約160、約170、約180、約190、約200、約300、約400、約500、約600、約700、約800、約900または約1000以上の核酸長であり得る。ポリペプチド配列の比較ウィンドウは、例えば、少なくとも約20、約30、約40、約50、約60、約70、約80、約90、約100、約110、約120、約130、約140、約150、約160、約170、約180、約190、約200、約300以上のアミノ酸長であり得る。比較のために配列を最適に整列するために、比較ウィンドウにおけるポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の部分は、基準配列を一定に保ちながら、ギャップと呼ばれる付加または欠失を含むことができる。最適な整列とは、ギャップを有する場合であっても、基準配列と比較配列との間で可能な限り多数の「同一」位置を生成する整列である。2つの配列間の百分率「配列同一性」は、2004年9月1日付けでNational Center for Biotechnology Informationから入手可能であったプログラム「BLAST 2 Sequences」のバージョンを使用して決定することができ、このプログラムには、Karlin及びAltschulのアルゴリズムに基づくプログラムBLASTN（ヌクレオチド配列比較）及びBLASTP（ポリペプチド配列比較）が組み込まれている（Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90（12）：5873-5877, 1993）。「BLAST 2 Sequences」を利用する場合、2004年9月1日時点のデフォルトパラメータであるパラメータは、ワードサイズ（3）、オープンギャップペナルティ（11）、拡張ギャップペナルティ（1）、ギャップドロップオフ（50）、期待値（10）、及び必要な任意の他のパラメータ（マトリックスオプションを含むが、これらに限定されない）に使用することができる。2つのヌクレオチドまたはアミノ酸配列は、2つの配列が互いに少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%の配列同一性を有する場合に、「実質的に同様の配列同一性」または「実質的な配列同一性」を有すると考えられる。

10

20

30

40

50

【0036】

本明細書で使用する場合、特に記載がない限り、免疫グロブリン分子の可変領域におけるアミノ酸残基の位置は、IMGTの番号付けの規則に従って番号を付けており（Brochet, X, et al, Nucl. Acids Res. (2008) 36, W503-508）、また免疫グロブリン分子の定常領域におけるアミノ酸残基の位置は、EU命名法に従って番号を付けている（Ward et al., 1995 Therap. Immunol. 2: 77-94）。他の番号付け規則は当分野で既知である（例えば、Kabats番号付け規則（Kabats, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed. Bethesda, MD: Public Health Service, National Institutes of Health (1991)））。

【0037】

本明細書で使用される場合、「二量体」という用語は、共有結合（例えば、ジスルフィド結合）及び他の相互作用（例えば、静電相互作用、塩架橋、水素結合、及び疎水性相互作用）を含む分子内力の1つ以上の形態を介して互いに結合する2つのサブユニットからなり、適切な条件（例えば、生理的条件下、組換えタンパク質の発現、精製及び／または貯蔵に適した水溶液中、または非変性及び／非還元電気泳動の条件下）で安定な生物学的実体を指す。本明細書で使用される「ヘテロ二量体」または「ヘテロ二量体タンパク質」とは、2つの異なるポリペプチドから形成される二量体を指す。ヘテロ二量体は、4つのポリペプチド（すなわち、2つの軽鎖及び2つの重鎖）から形成される抗体を含まない。本明細書で使用される「ホモ二量体」または「ホモ二量体タンパク質」とは、2つの同一のポリペプチドから形成される二量体を指す。特徴及び活性（結合及びRTCCなど）を含むポリペプチドのすべての開示は、その二量体形態ならびに他の多量体形態でのポリペ

プチドを含むと理解されるべきである。

【0038】

本開示のポリペプチドが二量体の形態（すなわち、二量体タンパク質）である場合、これはアミノ末端に2つの結合部位を含み、カルボキシル末端に2つの結合部位を含む。したがって、結合ドメインは、一本鎖ポリペプチドが二量体化した場合、二価（すなわち、各末端で2つの結合部分）とみなされる。

【0039】

「免疫グロブリン定常領域」または「定常領域」は、本明細書では、免疫グロブリンの1つ以上の定常ドメインの一部もしくは全部に対応するまたはそれらに由来するペプチドまたはポリペプチド配列を指すように定義された用語である。特定の実施形態では、定常領域は、IgG CH2及びCH3ドメイン、例えば、IgG1 CH2及びCH3ドメインを含む。特定の実施形態では、定常領域はCH1ドメインを含まない。特定の実施形態では、定常領域を構成する定常ドメインは、ヒトのものである。いくつかの実施形態では、本開示の融合タンパク質の定常領域は、新生児Fc受容体（FcRn）などのいくつかのFc受容体に結合する能力を保持し、かつインビボでの比較的長い半減期を保持する一方で、エフェクター機能を欠くかまたはそれが最小限である。例えば、本開示の融合タンパク質の定常領域は、抗体依存性細胞媒介性傷害（ADCC）、抗体依存性細胞媒介性貪食（ADCP）、補体活性化、及び／または補体依存性細胞傷害（CDC）の誘導をもたらさないか、または実質的に減少する。他の変形形態では、本開示の融合タンパク質は、ADCC及びCDCの一方または両方などの1つ以上のエフェクター機能を保持する定常ドメインを含む。特定の実施形態では、本開示の結合ドメインはヒトIgG1定常領域に融合され、IgG1定常領域は、234位にロイシン（L234）、235位にロイシン（L235）、237位にグリシン（G237）、318位にグルタミン酸（E318）、320位にリジン（K320）、及び322位にリジン（K322）もしくはこれらの任意の組み合わせ（EU番号付けに従う）のうちの1つ以上のアミノ酸の突然変異を有する。例えば、これらのアミノ酸のいずれか1つ以上は、アラニンに変化し得る。さらなる実施形態では、IgG1Fcドメインは、L234、L235、G237、E318、K320及びK322（EU番号付けに従う）のそれぞれがアラニンに突然変異しており（すなわち、それぞれL234A、L235A、G237A、E318A、K320A及びK322A）、任意にN297A突然変異も含む（すなわち、CH2ドメインのグリコシル化を実質的に含まない）。

【0040】

「軽鎖可変領域」（「軽鎖可変ドメイン」または「VL」とも称される）及び「重鎖可変領域」（「重鎖可変ドメイン」または「VH」とも称される）という用語は、それぞれ、抗体の軽鎖及び重鎖からの可変結合領域を指す。可変結合領域は、「相補性決定領域」（CDR）及び「フレームワーク領域」（FR）として知られている別々の明確に定義されたサブ領域で構成されている。一実施形態では、FRはヒト化される。「CL」という用語は、「免疫グロブリン軽鎖定常領域」または「軽鎖定常領域」、すなわち抗体軽鎖からの定常領域を指す。「CH」という用語は、「免疫グロブリン重鎖定常領域」または「重鎖定常領域」を指し、これは、抗体のアイソタイプに応じて、CH1、CH2、及びCH3（IgA、IgD、IgG）、またはCH1、CH2、CH3、及びCH4ドメイン（IgE、IgM）にさらに分割できる。「Fab」（フラグメント抗原結合）は、抗原に結合する抗体の一部であり、鎖間ジスルフィド結合を介して軽鎖に連結した重鎖の可変領域及びCH1ドメインを含む。

【0041】

本明細書で使用する場合、「リンカー」という用語は、一般に、ポリペプチドの2つのサブドメインを接続する短いポリペプチド配列を指す。リンカーの非限定的な例としては、グリシン-セリンリピートを含む柔軟なリンカー、及び（a）膜貫通タンパク質（例えば、I型膜貫通タンパク質）のドメイン間領域、または（b）免疫グロブリンヒンジに由来するリンカーが挙げられる。いくつかの実施形態では、リンカーは、2つのサブ結合ド

メインの相互作用と適合性のあるスパーサ機能を提供し、その結果、得られるポリペプチドは、同じ軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む抗体と同じ標的分子に対する特異的な結合親和性を保持する。特定の実施形態では、リンカーは、5～約35個のアミノ酸、例えば、約15～約25個のアミノ酸から構成されている。本明細書で使用される場合、「CH3とCH1またはCLとの間のリンカー」という句は、CH3ドメインのC末端（例えば、野生型CH3または突然変異CH3）と、CH1ドメインまたはCLドメインのN末端（例えば、CK）との間の1つ以上のアミノ酸残基（例えば、約2～12、約2～10、約4～10、約5～10、約6～10、約7～10、約8～10、約9～10、約8～12、約9～12または10～12のアミノ酸残基）を指す。

【0042】

いくつかの実施形態では、文脈に応じて、リンカーは、（1）一本鎖Fv（scFv）中のV_H領域とV_L領域との間のポリペプチド領域、または（2）2つの結合ドメインを含む多重特異性ポリペプチド内の第1の結合ドメインと第2の結合ドメインとの間のポリペプチド領域を指し得る。後の例では、リンカーは2つ以上の結合ドメインを接続し、そのようなリンカーは、本明細書では、「Fc結合ドメインリンカー」と称される。いくつかの実施形態では、Fc結合ドメインリンカーは、2つ以上の結合ドメインを直接結合または接続することができ、結合ドメイン-Fc結合ドメインリンカー-結合ドメインという構造を含む構築物をもたらす。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多重特異性ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって順に、（i）第1の結合ドメイン、（ii）Fc結合ドメインリンカー、及び（iii）第2の結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって順に、（i）第2の結合ドメイン、（ii）Fc結合ドメインリンカー、及び（iii）第1の結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、Fc結合ドメインリンカーは、少なくとも1つの結合ドメインを、免疫グロブリンFcドメインなどの非結合ドメインポリペプチド（すなわち、構造：Igヒンジ-Ig定常領域を含むポリペプチド）に連結させることによって、2つ以上の結合ドメインを連結または接続し得る。そのような実施形態では、得られる構築物は、結合ドメイン-Fcドメイン-Fc結合ドメインリンカー-結合ドメインという構造を含み得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の多重特異性ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって順に、（i）第1の結合ドメイン、（ii）ヒンジ領域、（iii）免疫グロブリン定常領域、（iv）Fc結合ドメインリンカー、及び（v）第2の結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、多重特異性ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって順に、（i）第2の結合ドメイン、（ii）Fc結合ドメインリンカー、及び（iii）免疫グロブリン定常領域、（iv）ヒンジ領域、及び（v）第1の結合ドメインを含む。2つの結合ドメインを含む多重特異性ポリペプチドにおける免疫グロブリン定常領域と第2の結合ドメインとの間のポリペプチド領域（例えば、Fc結合ドメインリンカー）は、多重特異性ポリペプチド内のドメインの配向に応じて、「カルボキシル末端リンカー」または「アミノ末端リンカー」と呼ばれ得る。リンカーの非限定的な例を表1に示す。

【0043】

いくつかの実施形態では、「ヒンジ」または「ヒンジ領域」とは、免疫グロブリンのヒンジ領域に由来し、本明細書に記載されるポリペプチド内の結合ドメインと免疫グロブリン定常領域との間に位置するポリペプチドを指す。「野生型免疫グロブリンヒンジ領域」とは、抗体の重鎖に見られるCH1ドメインとCH2ドメイン（IgG、IgA及びIgDの場合）の間に介在し、それらを連結するか、またはCH1ドメインとCH3ドメイン（IgE及びIgMの場合）の間に介在し、それらを連結する、天然に存在する上部及び中間ヒンジアミノ酸配列を指す。特定の実施形態では、野生型免疫グロブリンのヒンジ領域配列はヒトのものであり、ヒトIgGヒンジ領域（例えば、及びIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4ヒンジ領域）を含み得る。

【0044】

「変更免疫グロブリンヒンジ領域」または「変異免疫グロブリンヒンジ領域」とは、対

10

20

30

40

50

応する親野生型免疫グロブリンヒンジ領域と比較して1つ以上の突然変異、置換、挿入または欠失を有するヒンジ領域ポリペプチドを指す。特定の実施形態では、変更免疫グロブリンヒンジ領域は、野生型免疫グロブリンヒンジ領域と、少なくとも約70%同一である（例えば、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%同一）。特定の実施形態では、変更免疫グロブリンヒンジ領域は、約5個のアミノ酸（例えば、約5個、約6個、約7個、約8個、約9個、約10個、約11個、約12個、約13個、約14個、約15個、約16個、約17個、約18個、約19個、約20個、またはそれより多くのアミノ酸）から最大120個のアミノ酸（例えば、約10～約40個のアミノ酸または約15～約30個のアミノ酸、または約15～約20個のアミノ酸、または約20～25個のアミノ酸）の長さを有する野生型免疫グロブリンヒンジ領域のフラグメントである。典型的には、野生型免疫グロブリンのヒンジ領域のフラグメントである変更免疫グロブリンヒンジ領域は、米国特許出願公開第2013/0129723及び同第2013/0095097に開示されているようなIgGコアヒンジ領域（例えば、配列C-X-X-Cを含み、配列中Xは任意のアミノ酸（配列番号390））を含む。ヒンジの非限定的な例を表2に示す。

10

【0045】

本明細書で使用する場合、「ヒト化」という用語は、遺伝子工学技術を用いて、非ヒト種（例えば、マウスまたはラット）に由来する抗体または免疫グロブリン結合タンパク質及びポリペプチドを、元の抗体の抗原結合特性を保持したままで、ヒトに対して免疫原性を低くするプロセスを称する。いくつかの実施形態では、抗体または免疫グロブリン結合タンパク質及びポリペプチド（例えば、軽鎖可変領域及び重鎖可変領域、Fab、scFv）の結合ドメイン（複数可）はヒト化される。非ヒト結合ドメインは、CDR移植（Jones et al., Nature 321:522 (1986)）及びその変形として知られる技術を使用してヒト化され得、「再成形」（Verhoeyen, et al., 1988 Science 239:1534-1536; Riechmann, et al., 1988 Nature 332:323-337; Tempest, et al., Bio/Technol 1991 9:266-271）、「ハイパーキメラ化」（Queen, et al., 1989 Proc Natl Acad Sci USA 86:10029-10033; Co, et al., 1991 Proc Natl Acad Sci USA 88:2869-2873; Co, et al., 1992 J Immunol 148:1149-1154）、及び「ベニアリング」（Mark, et al., "Derivation of therapeutically active humanized and veneered anti-CD18 antibodies." In: Metcalf BW, Dalton BJ, eds. Cellular adhesion: molecular definition to therapeutic potential. New York: Plenum Press, 1994:291-312）を含む。非ヒト由来の場合、抗体または免疫グロブリン結合タンパク質及びポリペプチドの他の領域、例えば、ヒンジ領域及び定常領域ドメインもヒト化することができる。

20

30

40

【0046】

本明細書で使用する「免疫グロブリン二量体化ドメイン」または「免疫グロブリンヘテロ二量体化ドメイン」は、第2のポリペプチド鎖の異なる免疫グロブリンドメインと優先的に相互作用または結合するポリペプチド鎖の免疫グロブリンドメインを指し、異なる免疫グロブリンヘテロ二量体化ドメインの相互作用は、第1及び第2のポリペプチド鎖のヘテロ二量体化（すなわち、「ヘテロ二量体」とも称される、2つの異なるポリペプチド鎖間二量体の形成）に実質的に寄与するまたはそれを効率的に促進する。免疫グロブリンのヘテロ二量体化領域の間の相互作用は、第1のポリペプチド鎖の免疫グロブリンのヘテロ二量体化ドメイン及び／または第2のポリペプチド鎖の免疫グロブリンのヘテロ二量体化ドメインが存在しない場合、第1のポリペプチド鎖と第2のポリペプチド鎖の間の二量

50

体化に統計的に有意な減少があるならば、第1のポリペプチド鎖及び第2のポリペプチド鎖のヘテロ二量体化に「実質的に寄与するまたはそれを効率的に促進する」。特定の実施形態では、第1のポリペプチド鎖及び第2のポリペプチド鎖が共発現される場合、第1のポリペプチド鎖及び第2のポリペプチド鎖の少なくとも60%、少なくとも約60%～約70%、少なくとも約70%～約80%、少なくとも80%～約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%または99%がヘテロ二量体を互いに形成する。代表的な免疫グロブリンヘテロ二量化ドメインには、免疫グロブリンCH1ドメイン、免疫グロブリンCLドメイン（例えば、CκまたはCλアイソタイプ）、またはそれらの誘導体が挙げられ、これには、そこに提供される野生型の免疫グロブリンCH1及びCLドメイン、及び変更（または変異）された免疫グロブリンCH1及びCLドメインが含まれる。

10

【0047】

患者及び対象という用語は、同義に使用される。本明細書で使用される場合、「～を必要とする患者」または「～を必要とする対象」という用語は、本明細書で提供される結合タンパク質または多重特異性ポリペプチドまたはその組成物による治療または改善を適用できる疾患、障害または状態のリスクのある、またはそれに罹患した患者または対象を指す。本明細書で使用する場合、「患者」及び「対象」は、同義に使用される。

【0048】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」という用語は、当該技術分野で周知の経路を用いて投与される場合に、アレルギーまたは他の重篤な有害反応を一般的に引き起こさない分子実体及び組成物を指す。米国連邦または州政府の規制機関によって承認されているか、または米国薬局方もしくは他の一般的に認められている薬局方で動物において、より具体的にはヒトにおいて使用される分子実体及び組成物が、「薬学的に許容される」と考慮される。

20

【0049】

本明細書で使用される場合、用語「核酸」、「核酸分子」または「ポリヌクレオチド」とは、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド及びそれらの一本鎖もしくは二本鎖のいずれかの形態のポリマーを指す。特に限定されない限り、この用語は、参照核酸と類似の結合特性を有し、かつ天然に存在するヌクレオチドと同様の方法で代謝される天然ヌクレオチドの類似体を含む核酸を包含する。特に明記しない限り、特定の核酸配列はまた、その保存的に改変された変異体（例えば、縮重コドン置換）及び相補配列、ならびに明示的に示された配列も暗黙的に包含する。具体的には、縮重コドン置換は、1つ以上の選択された（または全ての）コドンの第3位が混合塩基及び／またはデオキシイノシン残基で置換されている配列を生成することによって達成することができる（Batzner et al. (1991) Nucleic Acid Res. 19:5081; Ohtsuka et al. (1985) J. Biol. Chem. 260:2605-2608; Cassol et al. (1992); Rossolini et al. (1994) Mol. Cell. Probes 8:91-98)。核酸という用語は、遺伝子、cDNA、及び遺伝子によってコードされるmRNAと同義に使用される。本明細書で使用する場合、「核酸」、「核酸分子」または「ポリヌクレオチド」という用語は、DNA分子（例えば、cDNAまたはゲノムDNA）、RNA分子（例えば、mRNA）、ヌクレオチド類似体を使用して生成されるDNAまたはRNAの類似体、その誘導体、フラグメント及び同族体を含むことが意図される。

30

40

【0050】

「発現」という用語は、核酸によってコードされる産物の生合成を指す。例えば、目的のポリペプチドをコードする核酸セグメントの場合には、発現は、核酸セグメントのmRNAへの転写及びmRNAの1つ以上のポリペプチドへの翻訳を含む。

【0051】

「発現ユニット」及び「発現カセット」という用語は、本明細書では同義に使用され、目的のポリペプチドをコードし、宿主細胞において核酸セグメントの発現をもたらすこと

50

ができる核酸セグメントを示す。発現ユニットは、典型的には、転写プロモーター、目的のポリペプチドをコードするオープンリーディングフレーム、及び転写ターミネーターをすべて動作可能な構成で含む。転写プロモーター及びターミネーターに加えて、発現ユニットは、例えば、エンハンサーまたはポリアデニル化シグナルなどの、他の核酸セグメントをさらに含み得る。

【0052】

本明細書で使用される「発現ベクター」という用語は、1つ以上の発現ユニットを含む直鎖状または環状の核酸分子を指す。1つ以上の発現ユニットに加えて、発現ベクターはまた、例えば1つ以上の複製起点または1つ以上の選択可能なマーカーなどの追加の核酸セグメントを含み得る。発現ベクターは、一般に、プラスミドまたはウイルスDNAに由来するか、またはその両方の要素を含み得る。

【0053】

本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」、「ポリペプチド鎖」または「タンパク質」とは、共有結合したアミノ酸が連続して配置されたものを指す。ポリペプチドは、1つ以上の鎖内ジスルフィド結合を形成し得る。本明細書に記載のポリペプチドに関して、配列番号により特定されるものに対応するアミノ酸残基の修飾または変更への言及は、そのような残基の翻訳後の修飾を含む。ポリペプチド及びタンパク質という用語には、2つのポリペプチド鎖が鎖間ジスルフィド結合を介するなどして、非線形的に一緒に連結する実施形態も包含される。例えば、天然免疫グロブリン分子は、2つの重鎖ポリペプチド及び2つの軽鎖ポリペプチドから構成される。

【0054】

本明細書で使用する場合、「多重特異性ポリペプチド」とは、それぞれ標的抗原に特異的に結合することができる2つ以上の結合ドメインを含むポリペプチドを指す。例えば、本明細書に記載されるポリペプチドは、2、3、4またはそれ以上の結合ドメインを含み得、2、3、4またはそれ以上の標的抗原に結合し得る。いくつかの実施形態では、多重特異性ポリペプチドは、二重特異性ポリペプチドである。本明細書において、「二重特異性ポリペプチド」は、2つの結合ドメインを含み、2つの別個の標的抗原に結合することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の二重特異性ポリペプチドは、標的細胞上に発現される細胞表面抗原に特異的に結合する第1の結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の二重特異性ポリペプチドは、エフェクター細胞上に発現される細胞表面抗原に特異的に結合する結合ドメインを含む。結合ドメインは、抗体（例えば、可変重鎖及び／または可変軽鎖、s c F v）、リガンド、または受容体に由来し得る。

【0055】

多重特異性ポリペプチドは、例えば、PCT公開第WO2007/146968号、同第WO2010/040105号、同第WO2010/003108号、同第WO2016/094873号、同第WO2017/053469号；米国特許出願公開第2006/0051844号、及び米国特許第7,166,707号、同第8,409,577号に開示されており、これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。特定の実施形態では、本明細書に記載される多重特異性ポリペプチドは、二重特異性ポリペプチドであり、本明細書でADAPTIR（商標）ポリペプチドとも称される、s c F v - F c - s c F v 構造を含み得る。そのような構造を含むポリペプチドの構造は、N末端からC末端に向かって：第1のs c F v 結合ドメイン - 免疫グロブリン（I g）ヒンジ領域 - I g 定常領域 - 第2のs c F v 結合ドメインを含む。

【0056】

タンパク質またはポリペプチドは、抗体または抗体の抗原結合性フラグメントであり得る。いくつかの実施形態では、タンパク質は、組換え多重特異性タンパク質であり得る。他の実施形態では、多重特異性タンパク質は、2つの異なるモノクローナル抗体を化学的に連結させることによって、または2つのハイブリドーマ細胞株を融合してハイブリッド - ハイブリドーマを産生することによって産生され得る。使用され得る他の多価フォーマ

ットには、例えば、クアドローマ (quadroma)、K λ ボディ (K λ -body)、dAb、二重特異性抗体、TandAb、ナノボディ、スモールモジュラーイムノファーマシューティカル (Small Modular Immunopharmaceutical) (SMIP (商標))、DOCK-AND-LOCK (登録商標) (DNL (登録商標))、CrossMab Fab、CrossMab VH-VL、ストランド・エクステンジ・エンジニアード・ドメイン (strand-exchange engineered domain) ボディ (SEEDボディ)、アフィボディ、フィノマー、クニッツドメイン (Kunitz Domain)、Albu-dab、交換されたVHを有する2つの操作されたFvフラグメント (例えば、デュアルアフィニティー再標的分子 (D.A.R.T.))、scFv x scFv (例えば、BiTE)、DVD-IG、Covx ボディ、ペプチボディ、scFv-IG、SVD-IG、dAb-IG、ノブ・イン・ホール、CH3ドメインにマッチした突然変異を有するIgG1抗体 (例えば、DuoBody抗体)、及びtriomAbが挙げられる。例示的な二重特異性フォーマットは、Garber et al., Nature Reviews Drug Discovery 13: 799-801 (2014)に記載されており、これは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。さらなる例示的な二重特異性フォーマットは、Liu et al. Front. Immunol. 8: 38 doi: 10.2289/fimmu.2017.00038及びBrinkmann and Kontermann, MABS 9: 2, 182-212 (2017)に記載されており、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。特定の実施形態では、二重特異性抗体は、F(ab')₂フラグメントであり得る。F(ab')₂フラグメントは、ヒンジ領域のジスルフィド結合により連結された4量体抗体分子の2つの抗原結合アームを含む。

10

20

30

40

50

【0057】

当業者によって理解されるように、タンパク質及びポリペプチドは、本明細書では、本開示を通じて参照される配列番号によって示される個々のポリペプチド鎖のアミノ酸配列によって定義される。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書に記載のscFv-Fc-scFvタンパク質またはポリペプチドは、鎖間結合 (例えば、鎖間ジスルフィド結合) により結合された2つのscFv-Fc-scFvポリペプチド鎖から構成され、二量体scFv-Fc-scFvタンパク質 (例えば、ホモ二量体またはヘテロ二量体scFv-Fc-scFvタンパク質) を形成する。そのような実施形態では、scFv-Fc-scFvタンパク質は、個々のscFv-Fc-scFvポリペプチド鎖のアミノ酸配列によって定義される。ポリペプチド及びタンパク質はまた、炭水化物基などの非ペプチド性成分を含み得る。炭水化物及び他の非ペプチド性置換基は、タンパク質が産生される細胞によってタンパク質またはポリペプチドに付加することができ、細胞の種類によって変化する。タンパク質及びポリペプチドは、そのアミノ酸骨格構造によって本明細書で定義されており、炭水化物基などの置換基は一般的に特定されていなくても、存在し得る。

【0058】

「軽鎖可変領域」 (「軽鎖可変ドメイン」または「VL」またはV_Lとも称される) 及び「重鎖可変領域」 (「重鎖可変ドメイン」または「VH」またはV_Hとも称される) という用語は、それぞれ、抗体の軽鎖及び重鎖からの可変結合領域を指す。可変結合領域は、「相補性決定領域」 (CDR) 及び「フレームワーク領域」 (FR) として知られている別々の明確に定義されたサブ領域で構成されており、一般的に、アミノ末端からカルボキシル末端に、FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4の順で含む。一実施形態では、FRはヒト化される。「CL」という用語は、「免疫グロブリン軽鎖定常領域」または「軽鎖定常領域」、すなわち抗体軽鎖からの定常領域を指す。「CH」という用語は、「免疫グロブリン重鎖定常領域」または「重鎖定常領域」を指し、これは、抗体のアイソタイプに応じて、CH1、CH2、及びCH3 (IgA、IgD、IgG)、またはCH1、CH2、CH3、及びCH4ドメイン (IgE、IgM) にさら

に分割できる。「Fab」(フラグメント抗原結合)は、抗原に結合する抗体の一部であり、鎖間ジスルフィド結合を介して軽鎖に連結した重鎖の可変領域及びCH1ドメインを含む。

【0059】

「アミノ末端」及び「カルボキシル末端」という用語は、本明細書では、ポリペプチド内の位置を示すために使用される。文脈が許容する場合、これらの用語は、近接または相対位置を示すためにポリペプチドの特定の配列または部分を基準にして使用される。例えば、ポリペプチド内の基準配列に対してカルボキシル末端に位置する特定の配列は、基準配列のカルボキシル末端に近接して位置するが、必ずしもポリペプチド全体のカルボキシル末端に位置するわけではない。

10

【0060】

本明細書で使用される場合、「形質転換」、「トランスフェクション」及び「形質導入」という用語は、細胞内への核酸(すなわち、ヌクレオチドポリマー)の導入を指す。本明細書で使用される「遺伝子形質転換」という用語は、細胞へのDNA、特に組換えDNAの導入及び組み込みを指す。移入される核酸は、発現ベクターを介して細胞に導入することができる。

【0061】

本明細書で使用される場合、「抗体依存性細胞媒介性傷害」及び「ADCC」とは、FcγRを発現する非特異的細胞毒性細胞(例えば、ナチュラルキラー(NK)細胞及びマクロファージなどの単核球細胞)が、標的細胞上に結合した抗体(またはFcγRを結合することが可能な他のタンパク質)を認識し、続いて標的細胞の溶解を引き起こす、細胞媒介性プロセスを指す。基本的に、ADCCを媒介するために、活性化FcγRを有する任意のエフェクター細胞を作動させることができる。ADCCを媒介するための一次細胞は、FcγRIIIのみを発現するNK細胞であるが、単球は、その活性化、局在又は分化の状態に応じて、FcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIを発現することができる。造血細胞に関するFcγR発現のレビューについては、例えば、Ravetch et al., 1991, Annu. Rev. Immunol., 9: 457-92を参照のこと。

20

【0062】

ポリペプチドまたはタンパク質に関して本明細書で使用される「ADCC活性を有する」という用語は、ポリペプチドまたはタンパク質、例えば、IgG(例えば、IgG1)に由来するようなFcドメイン(例えば、免疫グロブリンヒンジ領域、及びCH2及びCH3ドメインを有する免疫グロブリン定常領域)を含むものが、Fc受容体(例えば、NK細胞)を発現する細胞溶解性免疫エフェクター細胞上の細胞溶解性Fcレセプター(例えば、FcγRIII)介して抗体依存性細胞媒介性傷害(ADCC)を媒介することが可能であることを意味する。いくつかの実施形態では、Fcドメインを含む多重特異性ポリペプチドまたはタンパク質は、CH2及び／またはCH3ドメインにおける突然変異の結果として、エフェクター機能を欠いている(例えば、ヌルADCC活性)ことがある。

30

【0063】

本明細書で使用される「補体依存性細胞傷害」及び「CDC」は、正常血清中の成分(「補体」)が、標的抗原に結合した抗体または他のC1q-補体結合タンパク質と共に、標的抗原を発現する標的細胞の溶解を示すプロセスを指す。補体は、協調して作用し、その作用を発揮するために整然とした順序で作用する血清タンパク質の群からなる。

40

【0064】

本明細書で使用される場合、「古典的な補体経路」及び「古典的な補体系」という用語は同義であり、補体の活性化のための特定の経路を指す。古典的な経路は、開始のために抗原-抗体複合体を必要とし、C1~C9と指定された9個の主要なタンパク質成分の規則的な活性化を伴う。活性化プロセスにおけるいくつかの工程について、産生物は、後続の工程を触媒する酵素である。このカスケードは、比較的小さな初期シグナルによって大量の補体の増幅及び活性化をもたらす。

50

【0065】

ポリペプチドまたはタンパク質に関して本明細書で使用される「CDC活性を有する」という用語は、ポリペプチドまたはタンパク質、例えば、IgG（例えば、IgG1）に由来するFcドメイン（例えば、免疫グロブリンのヒンジ領域、及びCH2及びCH3ドメインを有する免疫グロブリン定常領域）を含むものが、C1q補体タンパク質の結合及び古典的な補体系の活性化を介して、補体依存性細胞傷害（CDC）を媒介することが可能であることを意味する。いくつかの実施形態では、多重特異性ポリペプチドまたはタンパク質は、CH2及び／またはCH3ドメインにおける1つ以上の突然変異の結果として、エフェクター機能を欠いている（例えば、ヌルCDC活性）ことがある。

【0066】

本明細書で使用される「増強されたエフェクター細胞の活性化」は、本明細書に記載されたポリペプチドまたはタンパク質によるエフェクター細胞応答の増加、延長、及び／または増強を指す。いくつかの実施形態では、増強されたエフェクター細胞の活性化は、エフェクター細胞の細胞毒性活性の増加を指す。いくつかの実施形態では、増強されたエフェクター細胞の活性化は、エフェクター細胞の標的細胞を溶解する能力が増強されるようなサイトカイン産生、細胞増殖、または細胞表面分子の発現の変化を増加させることを指す。

【0067】

本明細書で使用する場合、「エフェクター細胞」という用語は、腫瘍細胞などの標的細胞を溶解または死滅させることができる免疫系の細胞を指す。本明細書において、エフェクター細胞とは、リンパ球、例えばT細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、またはNKT細胞、単球、マクロファージ、樹状細胞、または顆粒球を指し得る。特定の実施形態では、エフェクター細胞という用語は、T細胞、NK細胞、またはNKT細胞を指す。

【0068】

本明細書で使用される「治療」、「治療する」または「改善する」という用語は、治療効果のある治療または予防効果のある（prophylactic）／予防的（preventative）治療のいずれかを指す。治療を受けている個体における疾患の少なくとも1つの症状が改善するか、または治療が個体における進行性疾患の悪化を遅延させまたは追加の関連疾患の発症を予防し得る場合に、治療は治療効果がある。

【0069】

本明細書で使用される場合、本明細書に記載のポリペプチドもしくはタンパク質またはそれらの組成物の「治療上有効な量（または用量）」または「有効な量（または用量）」という用語は、治療される疾患の1つ以上の症状を統計的に有意な方法で改善するかまたは臓器機能の統計的に有意な改善をもたらすのに十分な化合物の量を指す。単独で投与される個々の有効成分に関して、治療上有効な用量は、その成分のみを指す。組み合わせに言及する場合、治療上有効な用量とは、連続投与されるかまたは同時に（同じ製剤で、または別々の製剤で同時に）投与されるかにかかわらず、治療効果をもたらす有効成分の組み合わせられた量を指す。

【0070】

医薬組成物

変性を防止し、及び／または、特に凍結時に凝集体の形成を防止または実質的に低減する、多重特異性ポリペプチドなどのタンパク質治療薬の安定な医薬製剤を本明細書に記載する。治療用タンパク質に加えて、本明細書に記載される医薬組成物は、緩衝剤、賦形剤、及び界面活性剤のうちの1つ以上をさらに含み得る。いくつかの実施形態では、組成物は、緩衝剤、賦形剤、及び界面活性剤を含むか、それらからなるか、または本質的にそれらからなり、多重特異性タンパク質は、2つの同一のポリペプチドの二量体であり、各ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端の順に、またはカルボキシル末端からアミノ末端の順に（i）第1の結合ドメイン、（ii）ヒンジ領域、（iii）免疫グロブリン定常領域、及び（iv）第2の結合ドメインを含み、緩衝剤は、コハク酸またはその薬学的に許容される塩または酸からなる。

10

20

30

40

50

【0071】

いくつかの実施形態では、組成物は、約0.1mg/ml～約10mg/mlの多重特異性タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、約1mg/ml～約5mg/mlの多重特異性タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、約2mg/mlの多重特異性タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、約2mg/mlの多重特異性タンパク質、約5mMのコハク酸、約6.5質量/体積(w/v)%のスクロース及び約0.02w/v%のポリソルベート80を含む。

【0072】

いくつかの実施形態では、組成物は、多重特異性タンパク質の分解を実質的に防止する。いくつかの実施形態では、組成物は、同一の保存条件下でヒスチジン緩衝剤中に貯蔵される同一の多重特異性ポリペプチドと比較して、多重特異性ポリペプチドの分解を遅らせるか、または低減させる。いくつかの実施形態では、組成物は4℃で少なくとも1年間実質的に安定である。いくつかの実施形態では、組成物は、多重特異性タンパク質の凝集体の形成に対して実質的に耐性がある。

10

【0073】

いくつかの実施形態では、組成物は、凍結から解凍の条件に耐えることができる。いくつかの実施形態では、組成物は、同一の凍結から解凍条件下でヒスチジン緩衝剤中に貯蔵される多重特異性ポリペプチドと比較して、凍結から解凍条件にある多重特異性ポリペプチドの分解を遅らせるか、または低減させる。

【0074】

20

他の実施形態では、CD123×CD3を標的とする多重特異性ポリペプチドは、本明細書に開示されるように調製された場合、凍結乾燥後にほとんどまたは全く分解しない。例えば、CD123×CD3を標的とする多重特異性ポリペプチドは、ヒスチジン緩衝剤を用いて調製された同一のポリペプチドと比較して、凍結乾燥後の分解を低減するコハク酸及びスクロース製剤中で調製され得る。また、本明細書では、約5mMのコハク酸、約6.5質量/体積(w/v)%のスクロース及び約0.02w/v%のポリソルベート80中に調製されたTRI130及びTRI129を含むがこれらに限定されない、凍結乾燥した抗CD123×抗CD3多重特異性ポリペプチドも提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、凍結乾燥されている。

【0075】

30

緩衝剤

本明細書で使用される「緩衝剤(buffer)」または「緩衝剤(buffering agent)」という用語は、水溶液に添加された場合、酸またはアルカリを添加する際、または溶媒で希釈した際に、溶液をpHの変動から保護することができる1つ以上の成分を指す。

【0076】

いくつかの実施形態では、緩衝剤は、任意の薬学的に許容される緩衝剤を含むか、それからなるか、または本質的にそれからなる。例えば、緩衝剤は、リン酸カリウム、酢酸/酢酸ナトリウム、クエン酸/クエン酸ナトリウム、コハク酸/コハク酸ナトリウム、酒石酸/酒石酸ナトリウム、ヒスチジン/ヒスチジンHCl、グリシン、トリス、グルタミン酸、酢酸塩、それらの混合物、またはそれらの薬学的に許容される塩もしくは酸であり得る。特定の実施形態では、前緩衝剤は、コハク酸またはその薬学的に許容される塩もしくは酸を含むか、それからなるか、または本質的にそれからなる。

40

【0077】

いくつかの実施形態では、組成物中の緩衝剤の濃度は、約1mM～約500mM、約1mM～約100mM、約1mM～約50mM、約1～約10mM、約5mM～約50mM、または約5mM～約20mM、約5mM～約10mMである。いくつかの実施形態では、組成物は、約1mM～約10mMのコハク酸またはその薬学的に許容される塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、約5mMのコハク酸またはその薬学的に許容される塩もしくは酸を含む。

50

【0078】

いくつかの実施形態では、組成物のpHは、3.0、3.25、3.5、3.75、4.0、4.25、4.5、4.75、5.0、5.25、5.5、5.75、6.0、6.25、6.5、6.75、7.0、7.25、7.5、7.75、8.0、8.25、8.5、8.75、9.0、9.25、9.5、9.75、10.0、10.25、10.5、10.75、11.0、11.25または11.5である。いくつかの実施形態では、組成物のpHは、約3.0～約6.0である。いくつかの実施形態では、組成物は、約4.0～約5.5のpHを有する。いくつかの実施形態では、組成物のpHは、約4.8である。

【0079】

賦形剤

本明細書で言及する場合、賦形剤は、組成物の有効医薬成分とともに調製された薬理的に不活性な物質である。賦形剤は、潤滑性、流動性、崩壊性または味覚に役立ち得るとともに、ある形態の抗菌機能を付与し得る。

【0080】

本明細書に開示される組成物に使用することができる例示的な賦形剤としては、医薬品結合剤、希釈剤、放出遅延賦形剤、潤滑剤、滑剤、ガス発生剤、コーティング系、溶媒、及び着色剤が挙げられる。適切な賦形剤は、Handbook of Pharmaceutical Excipients, Third Edition, Edited by A. H. Kibbe, American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press (2000)、及びE. T. Cole et al., Advanced Drug Delivery Reviews 60 (2008)、747-756の表3～5に賦形剤として記載されている物質を含む。例えば、賦形剤は、ポリプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリオキシエチレンヒマシ油誘導体、ポリオキシエチレンオキシステアリン酸グリセロール、飽和ポリグリコール化グリセリド、ポリエチレンポリプロピレングリコール、ビタミンE、及びビタミンE TPGS (d- α -トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸) からなる群から選択され得る。

【0081】

いくつかの実施形態では、組成物は、約1質量/体積(w/v)%～約20w/v%、約1w/v%～約10w/v%、約5w/v%～約15w/v%、または約10w/v%の賦形剤を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、約1w/v%～約12w/v%の賦形剤、例えば約6.5w/v%の賦形剤を含む。

【0082】

いくつかの実施形態では、賦形剤は、糖を含むか、それからなるか、または実質的にそれからなる。いくつかの実施形態では、組成物は、約1w/v%～約12w/v%の糖を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、約4w/v%～約8w/v%の糖を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、約6.5w/v%の糖を含む。いくつかの実施形態では、糖は、スクロースである。

【0083】

界面活性剤

本明細書に記載の場合、「界面活性剤」は、疎水性部分（例えば、アルキル鎖）及び親水性部分（例えば、カルボキシル基及びカルボキシレート基）の両方を含む表面活性分子である。

【0084】

本明細書に記載の組成物中の使用に好適な界面活性剤には、ポリソルベート（例えば、ポリソルベート20または80）；ポロキサマー（例えば、ポロキサマー188）；ソルビタンエステル及び誘導体；トリトン；ラウリル硫酸ナトリウム；ナトリウムオクチルグリコシド；ラウリル、ミリスチル、リノレイル、またはステアリルスルホベタジン；ラウリル、ミリスチル、リノレイル、またはステアリルサルコシン；リノレ

10

20

30

40

50

イルー、ミリスチルー、またはセチルーベタイン；ラウラミドプロピルーコカミドプロピルー、リノールアミドプロピルー、ミリスタミドプロピルー、パルミドプロピルー、またはイソステアラミドプロピルベタイン（例えば、ラウロアミドプロピル）；ミリスタミドプロピルー、パルミドプロピルー、またはイソステアラミドプロピルーベタイン；ナトリウムメチルココイルー、またはジナトリウムメチルオレイルータウレート）；及びMONAQUAT（商標）シリーズ（Mona Industries, Inc., Paterson, N. J.）、ポリエチレングリコール、ポリプロピルグリコール、及びエチレン及びプロピレングリコールのコポリマー（例えば、Pluronic、PF68等）が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート80を含むかまたはこれからなる。

10

【0085】

いくつかの実施形態では、組成物は、約0.001w/v%～約1w/v%、約0.01w/v%～約0.5w/v%、または約0.01w/v%～約0.1w/v%の界面活性剤を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、約0.02w/v%の界面活性剤を含む。

【0086】

いくつかの実施形態では、組成物は、約0.001w/v%～約1w/v%、約0.01w/v%～約0.5w/v%、または約0.01w/v%～約0.1w/v%のポリソルベート80を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、約0.02w/v%のポリソルベート80を含む。

20

【0087】

治療用タンパク質

本明細書に記載される組成物は、本明細書に記載される多くの異なるタンパク質治療薬とともに使用することができる。

【0088】

結合ドメイン

いくつかの実施形態では、治療用タンパク質は結合ドメインを含む。結合ドメインは、少なくとも1つの細胞表面分子（例えば、細胞表面受容体）への特異的結合をもたらし得る。結合ドメインは、抗体またはそのフラグメントの形態であり得るか、または様々な異なるフォーマットのいずれかの融合タンパク質であり得る（例えば、融合タンパク質は、二重特異性または多重特異性分子の形態であり得る）。他の実施形態では、結合ドメインは、例えば、特定のサイトカイン、または結合ドメインポリペプチドを、例えば、特定の細胞型、毒素、追加の細胞受容体もしくは抗体に対して標的化する分子を含むことができる。

30

【0089】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される結合ドメインは、抗体に由来し、かつ可変重鎖（V_H）及び可変軽鎖（V_L）を含む。例えば、V_H及びV_L鎖を含むscFvである。これらの結合ドメイン及び可変鎖は、標的（複数可）への結合を依然として保持する任意の順序で配置され得る。いくつかの実施形態では、結合ドメインは、（i）HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む免疫グロブリン重鎖可変領域（V_H）、ならびに（ii）LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域（V_L）を含む。

40

【0090】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のポリペプチド及びタンパク質は、scFvである結合ドメインを含む。そのような実施形態では、結合ドメインは、scFvドメインと称され得る。いくつかの実施形態では、結合ドメインは、目的の標的に特異的なV_H及びV_L領域を含む、一本鎖Fvフラグメント（scFv）である。特定の実施形態では、V_H及びV_L領域は、ヒトのものまたはヒト化されている。いくつかの変形形態では、結合ドメインは、ペプチドリンカーによって結合したV_L領域及びV_H領域を含む、一本鎖Fv（scFv）である。

50

【0091】

特定の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチドの結合ドメインは、(i) CDRのLCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域(V_L)、ならびに(ii) CDRのHCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む免疫グロブリン重鎖可変領域(V_H)を含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチド構築物のために提供されるアミノ酸配列には、ヒト免疫グロブリンのリーダー配列は含まれない。示されているCDR配列及びアミノ酸置換位置は、IMGT基準を使用して定義されたものである(Brochet et al., Nucl. Acids Res. (2008) 36, W503-508)。

【0092】

特定の実施形態では、既知のV_L及び／またはV_H配列と比較した場合、本開示の結合ドメインV_L及び／またはV_H領域は、親V_L及び／またはV_H領域のV_L及び／またはV_H(例えば、PCT出願公開第WO2016/185016号に記載の1618/1619)に由来し、任意に、約1つ以上の(例えば、約2、3、4、5、6、7、8、9、10)の挿入、約1つ以上の(例えば、約2、3、4、5、6、7、8、9、10)の欠失、約1つ以上の(例えば、約2、3、4、5、6、7、8、9、10)アミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換または非保存的アミノ酸置換)、または上述の変化の組み合わせを含む。挿入(複数可)、欠失(複数可)または置換(複数可)は、この領域のアミノ末端またはカルボキシル末端または両端を含む、V_L及び／またはV_H領域内のどこでもよいが、但し、各CDRが変化を含まないかまたは最大1、2、もしくは3つの変化を含むことを条件とする。いくつかの実施形態では、改変されたV_L及び／またはV_H領域を含む結合ドメインは、依然として親結合ドメインと同様の、または親結合ドメインよりも大きい親和性で標的に特異的に結合することができる。

【0093】

V_L及びV_H領域を結合させるためのペプチドリンカーの使用は、当技術分野において周知であり、この特定の分野では多数の刊行物が存在している。いくつかの実施形態では、ペプチドリンカーは、Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(配列番号128)アミノ酸配列の3つの繰り返し((Gly₄Ser)₃)(配列番号59)からなる15merである。他のリンカーが使用されており、ファージディスプレイ技術ならびに選択的感染ファージ技術が、適切なリンカー配列を多様化及び選択するために使用されている(Tang et al., J. Biol. Chem. 271, 15682-15686, 1996; Hennecke et al., Protein Eng. 11, 405-410, 1998)。特定の実施形態では、V_LとV_H領域とは、式(Gly₄Ser)_n(式中、n=1~5(配列番号129))を含むアミノ酸配列を有するペプチドリンカーによって結合されている。例えば、いくつかの実施形態では、リンカーは、(Gly₄Ser)₄(配列番号61)を含む。他の適切なリンカーは、単純なリンカーをランダム突然変異誘発を介して最適化することによって得ることができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるscFvのV_H領域は、リンカー配列に対してN末端に配置され得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるscFvのV_L領域は、リンカー配列に対してC末端に配置され得る。

【0094】

いくつかの実施形態では、結合ドメインは、CD123、PSMA、CD19、CD33、5T4またはHER2などの腫瘍抗原に結合し得る。いくつかの実施形態では、結合ドメインは、CD3結合ドメインであり得る。いくつかの実施形態では、結合ドメインは、4-1-BBに結合し得る。いくつかの実施形態では、結合ドメインは、OX40に結合し得る。いくつかの実施形態では、配合された多重特異性タンパク質は、4-1-BB及びOX40の両方に結合する。

【0095】

ヒンジ

結合ドメインに加えて、治療用ポリペプチドはヒンジ領域を更に含み得る。いくつかの

10

20

30

40

50

実施形態では、ヒンジは変更免疫グロブリンヒンジであり、このヒンジでは、野生型免疫グロブリンヒンジ領域内の1つ以上のシステイン残基が、1つ以上の他のアミノ酸残基（例えば、セリンまたはアラニン）に置換されている。例示的な変更免疫グロブリンヒンジ、カルボキシル末端リンカー、及びアミノ末端リンカーは、野生型ヒトIgG1ヒンジ中に見られる1個、2個または3個のシステイン残基が1個、2個または3個の異なるアミノ酸残基（例えば、セリンまたはアラニン）で置換された免疫グロブリンヒトIgG1ヒンジ領域を含む。変更免疫グロブリンヒンジはさらに、プロリンが別のアミノ酸（例えば、セリンまたはアラニン）で置換されたものとしてすることができる。例えば、上記の変更ヒトIgG1ヒンジはさらに、野生型ヒトIgG1ヒンジ領域の3つのシステインに対してカルボキシル末端に位置するプロリンが他のアミノ酸残基（例えば、セリン、アラニン）で置換されたものとしてすることができる。一実施形態では、コアヒンジ領域のプロリンは置換されていない。特定の実施形態では、ヒンジ、カルボキシル末端リンカー、またはアミノ末端リンカーポリペプチドは、野生型ヒトIgG1ヒンジ、野生型ヒトIgG2ヒンジ、または野生型ヒトIgG4ヒンジなどの、野生型免疫グロブリンヒンジ領域と少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%同一である配列を含むか、または同一の配列である。

10

20

【0096】

免疫グロブリン定常ドメイン

治療用タンパク質はまた、免疫グロブリン定常（Fc）ドメイン（本明細書では定常領域、Fcドメイン、Fc領域などとも称される）を含み得る。いくつかの実施形態では、定常領域は、IgGのCH2及びCH3ドメイン、例えば、IgG1のCH2及びCH3ドメインを含む。いくつかの実施形態では、定常領域はCH1ドメインを含まない。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、ヒトFcドメインである。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、FcγR1、FcγRIIa、FcγRIIb、FcγRIIa、及びFcγRIIbへの結合を低減または防止するために、野生型免疫グロブリン定常領域と比較して、1つ、2つ、3つ、またはそれ以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、定常領域を構成する定常ドメインは、ヒトのものであるかまたはヒト配列に由来する。いくつかの実施形態では、Fcドメインは、補体結合及びFcγ受容体との相互作用を低減または防止するために、Fc領域に1つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、Fc媒介T細胞活性化を防止または低減するために、野生型免疫グロブリン定常領域と比較して1つ、2つ、3つまたはそれより以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、CDC活性を防止または低減するために、野生型免疫グロブリン定常領域と比較して1つ、2つ、3つまたはそれより以上のアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、ADCC活性を防止または低減するために、野生型免疫グロブリン定常領域と比較して1つ、2つ、3つまたはそれより以上のアミノ酸置換を含む。

30

40

【0097】

いくつかの実施形態では、Fc領域は、EUの付番方式に従って、CH2ドメインの234位、235位、237位及び322位において1つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態では、Fc領域は、EUの付番方式に従って、CH2ドメインの234位、235位、237位、318位、320位及び322位において突然変異を含む。いくつかの実施形態では、Fc領域は、EUの付番方式に従って、CH2ドメインのL234A、L235A、G237A及びK322A突然変異を含む。いくつかの実施形態では、Fc領域は、EUの付番方式に従って、CH2ドメインのL234A、L235A、G237A、E318A、K320A及びK322A突然変異を含む。いくつかの実施形態では、

50

免疫グロブリン定常領域は、E Uの付番方式に従って、E 2 3 3 P、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、G 2 3 7 A、及びK 3 2 2 Aの置換、及びG 2 3 6の欠失を含むヒトI g G 1 C H 2ドメインを含む。いくつかの実施形態では、F c領域は、ヒトI g G 1に由来する。いくつかの実施形態では、I g G 1のF cドメインにおける2つ以上の突然変異は、F c媒介架橋を介したシグナル伝達を妨げるかまたは実質的に低減する。

【0098】

いくつかの実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、配列番号32～35のいずれか1つのアミノ酸配列またはその変異体を含む。免疫グロブリン定常領域を含めることは、対象に投与した後の循環からの本開示のポリペプチド及びタンパク質のクリアランスを遅らせる。突然変異または他の変更によって、免疫グロブリン定常領域は、ポリペプチドエフェクター機能（例えば、A D C C、A D C P、C D C、補体固定、及びF c受容体への結合）の比較的容易な調節をさらに可能にし、これは、当技術分野で知られており本明細書に記載されているように、治療される疾患に応じて増加または減少し得る。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリペプチド及びタンパク質は、これらのエフェクター機能の1つ以上を媒介することができる免疫グロブリン定常領域を含む。他の実施形態では、これらのエフェクター機能の1つ以上は、対応する野生型免疫グロブリン定常領域と比較して、本開示に記載されるポリペプチドまたはタンパク質の免疫グロブリン定常領域内で減少しているか、または存在しない。

【0099】

本開示のポリペプチド及びタンパク質に存在する免疫グロブリン定常領域は、C H 2ドメイン、C H 3ドメイン、C H 4ドメイン、またはそれらの任意の組み合わせの一部または全部を含み得るか、またはそれらに由来し得る。例えば、免疫グロブリン定常領域は、C H 2ドメイン、C H 3ドメイン、C H 2及びC H 3ドメインの両方、C H 3及びC H 4ドメインの両方、2つのC H 3ドメイン、C H 4ドメイン、2つのC H 4ドメイン、ならびにC H 2ドメイン及びC H 3ドメインの一部を含むことができる。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質は、C H 1ドメインを含まない。

【0100】

本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質は、特定の免疫グロブリンのクラスまたはサブクラス（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、I g A 2、またはI g D）ならびに様々な種（ヒト、マウス、ラット、及び他の哺乳類を含む）に由来する野生型免疫グロブリンC H 2ドメインまたは変更免疫グロブリンC H 2ドメインを含み得る。特定の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチドまたはタンパク質のC H 2ドメインは、それぞれ米国特許出願公開第2013／0129723号明細書に記載される、配列番号115、199～201及び195～197に示されるヒトI g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、I g A 2、またはI g Dの野生型C H 2ドメインなどの、野生型ヒト免疫グロブリンC H 2ドメインである（前記配列は参照により本明細書に組み込まれる）。特定の実施形態では、C H 2ドメインは、米国特許出願公開第US2013／0129723号の配列番号115に示される野生型ヒトI g G 1 C H 2ドメインである（前記配列は参照により本明細書に組み込まれる）。

【0101】

特定の実施形態では、本開示のポリペプチドまたはタンパク質における変更C H 2領域は、野生型ヒトI g G 1、I g G 2、もしくはI g G 4、またはマウスI g G 2 a（例えば、I G H G 2 c）のC H 2領域などの野生型免疫グロブリンC H 2領域と、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%同一である配列を含むか、またはその配列である。

【0102】

本開示のポリペプチドまたはタンパク質における変更免疫グロブリンC H 2領域は、様々な種（ヒト、マウス、ラット、及び他の哺乳類を含む）由来の様々な免疫グロブリンアイソタイプ、例えばI g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、I g A 2、及

10

20

30

40

50

びIgDのCH2領域に由来し得る。特定の実施形態では、本開示の融合タンパク質における免疫グロブリンCH2領域は、ヒトIgG1、IgG2もしくはIgG4、またはマウスIgG2a（例えば、IGHG2c）のCH2領域に由来することができ、その配列は、米国特許出願公開第2013/0129723号の配列番号115、199、201及び320に示される（前記配列は参照により本明細書に組み込まれる）。特定の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチドまたはタンパク質の改変されたCH2ドメインは、ADCC、ADCP、CDC、補体固定、Fc受容体結合またはそれらの任意の組み合わせなどの免疫活性（すなわち、エフェクター機能）を増強または低減する、当技術分野で周知の突然変異を有する変異ヒトIgG1 CH2ドメインである。

【0103】

特定の実施形態では、ポリペプチドまたは本明細書に記載のタンパク質のCH2ドメインは、1つ以上のアミノ酸欠失または置換を含む、変異免疫グロブリンCH2領域（例えば、変異ヒトIgG1 CH2ドメイン）である。いくつかの実施形態では、CH2ドメインは、297位のアスパラギンにおけるアミノ酸置換（例えば、アスパラギンからアラニン）を含む。そのようなアミノ酸置換は、この部位でのグリコシル化を減少させるか、または排除し、FcγR及びC1qに対する効率的なFc結合を阻害する。297位でAsnからAlaへの置換を有する変異ヒトIgG1 CH2ドメインの配列は、米国特許出願公開第2013/0129723号の配列番号324に示される（前記配列は参照により本明細書に組み込まれる）。いくつかの実施形態では、変異CH2ドメインは、234～238位で少なくとも1つの置換または欠失を含む。例えば、免疫グロブリンCH2領域は、234、235、236、237または238位；234及び235位；234及び236位；234及び237位；234及び238位；234～236位、234、235及び237位；234、236及び238位；234、235、237及び238位；236～238位；または234～238位における2、3、4もしくは5個のアミノ酸の任意の他の組み合わせで置換を含み得る。いくつかの実施形態では、変異CH2領域は、234～238位、例えば236位または237位の一方で、1つ以上（例えば、2、3、4または5つ）のアミノ酸欠失を含み、他方の位置は置換されている。特定の実施形態においては、234～238位の1つ以上におけるアミノ酸残基は、1つ以上のアラニン残基で置換されている。さらなる実施形態では、234～238位のアミノ酸残基の1つのみが欠失し、234～238位の残りのアミノ酸の1つ以上は別のアミノ酸（例えば、アラニンまたはセリン）で置換され得る。

【0104】

いくつかの実施形態では、上記の突然変異（複数可）は、変異CH2ドメインを含むポリペプチドのADCC活性またはFc受容体結合能力を低下または排除する。

【0105】

特定の他の実施形態では、本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質のCH2ドメインは、253、310、318、320、322、及び331位にて1つ以上のアミノ酸置換を含む、変異免疫グロブリンCH2領域（例えば、変異ヒトIgG1 CH2ドメイン）である。例えば、免疫グロブリンCH2領域は、253、310、318、320、322または331位、318及び320位、318及び322位、318、320及び322位、または253、310、318、320、322及び331位における2つ、3つ、4つ、5つまたは6つのアミノ酸の任意の組み合わせにおける置換を含む。そのような実施形態では、上記の突然変異（複数可）は、変異CH2ドメインを含むポリペプチドのCDC活性を低下させるかまたは排除する。

【0106】

特定の他の実施形態では、297位でのアミノ酸置換に加えて、本明細書に記載されるポリペプチドまたはタンパク質の変異CH2領域（例えば、変異ヒトIgG1 CH2ドメイン）は、234～238位で1つ以上（例えば、2、3、4、または5）の追加の置換をさらに含むことができる。例えば、免疫グロブリンCH2領域は、234及び297位、234、235及び297位、234、236及び297位、234～236及び2

10

20

30

40

50

97位、234、235、237及び297位、234、236、238及び297位、234、235、237、238及び297位、236～238及び297位、または297位に加えて234～238位の2、3、4または5つの任意の組み合わせにおいて、置換を含む。それに加えて、またはそれに代えて、変更CH2領域は、234位～238位、例えば236位または237位で、1個以上（例えば、2個、3個、4個または5個）のアミノ酸欠失を含み得る。追加の突然変異（複数可）は、変更CH2ドメインを含むポリペプチドのADCC活性またはFc受容体結合能力を低下または排除する。特定の実施形態においては、234～238位の1つ以上におけるアミノ酸残基は、1つ以上のアラニン残基で置換されている。さらなる実施形態では、234～238位のアミノ酸残基の1つのみが欠失し、234～238位の残りのアミノ酸の1つ以上は別のアミノ酸（例えば、アラニンまたはセリン）で置換され得る。

10

【0107】

特定の実施形態では、234～238位の1つ以上（例えば、2、3、4または5）のアミノ酸置換に加えて、本開示の融合タンパク質中の本明細書に記載されるポリペプチドまたはタンパク質の突然変異CH2領域（例えば、変更ヒトIgG1 CH2ドメイン）は、1つ以上（例えば、2、3、4、5または6）の追加のアミノ酸置換（例えば、アラニンでの置換）を補体結合に関与する1つ以上の位置（例えば、位置I253、H310、E318、K320、K322、またはP331）で含むことができる。突然変異免疫グロブリンCH2領域の例には、234、235、237（存在する場合）、318、320及び322位でアラニン置換を有するヒトIgG1、IgG2、IgG4及びマウスIgG2a CH2領域が挙げられる。例示的な変異免疫グロブリンCH2領域は、L234、L235、G237、E318、K320及びK322でアラニン置換を有するマウスIGHG2c CH2領域である。

20

【0108】

さらに別の実施形態では、297位でのアミノ酸置換、及び234～238でのさらなる欠失（複数可）または置換（複数可）に加えて、本明細書に記載されるポリペプチドまたはタンパク質の変異CH2領域（例えば、変更ヒトIgG1 CH2ドメイン）は、253、310、318、320、322及び331位で1つ以上（例えば、2、3、4、5または6）の追加の置換をさらに含むことができる。例えば、免疫グロブリンCH2領域は、（1）297位での置換、（2）234～238位での1つ以上の置換もしくは欠失またはそれらの組合せ、及びI253、H310、E318、K320、K322及びP331での1つ以上（例えば、2、3、4、5または6）のアミノ酸置換、例えばE318、K320及びK322での1、2、3つの置換、を含む。上記の位置のアミノ酸は、アラニンまたはセリンで置換されていてもよい。

30

【0109】

特定の実施態様では、本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質の免疫グロブリンCH2領域は、（i）297位のアスパラギンでのアミノ酸置換及び234、235、236または237位での1つのアミノ酸置換；（ii）297位のアスパラギンでのアミノ酸置換及び234～237位の2つでのアミノ酸置換；（iii）297位のアスパラギンでのアミノ酸置換及び234～237位の3つでのアミノ酸置換；（iv）297位のアスパラギンでのアミノ酸置換、234位、235位及び237位でのアミノ酸置換ならびに236位でのアミノ酸欠失；（v）234～237位の3つでのアミノ酸置換、及び318位、320位及び322位でのアミノ酸置換；または（vi）234～237位の3つでのアミノ酸置換、236位でのアミノ酸欠失、及び318、320及び322位でのアミノ酸置換、を含む。

40

【0110】

297位のアスパラギンでアミノ酸置換を有する例示的な変異免疫グロブリンCH2領域には、L234、L235、G237及びN297でのアラニン置換、及びG236での欠失を有するヒトIgG1 CH2領域、（米国特許出願公開第2013/0129723号の配列番号325、前記配列番号は参照により組み込まれる）、V234、G23

50

6 及び N 2 9 7 でのアラニン置換を有するヒト I g G 2 C H 2 領域（米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 の配列番号 3 2 6、前記配列番号は参照により組み込まれる）、F 2 3 4、L 2 3 5、G 2 3 7 及び N 2 9 7 でのアラニン置換、及び G 2 3 6 での欠失を有するヒト I g G 4 C H 2 領域（米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 号の配列番号 3 2 2、前記配列番号は参照により組み込まれる）、F 2 3 4 及び N 2 9 7 でのアラニン置換を有するヒト I g G 4 C H 2 （米国特許出願公開第 U S 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 号の配列番号 3 4 3、前記配列番号は参照により組み込まれる）、L 2 3 5 及び N 2 9 7 でのアラニン置換を有するヒト I g G 4 C H 2 領域（米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 号の配列番号 3 4 4、前記配列番号は参照により組み込まれる）、G 2 3 6 及び N 2 9 7 でのアラニン置換を有するヒト I g G 4 C H 2 領域（米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 の配列番号 3 4 5、前記配列番号は参照により組み込まれる）、ならびに G 2 3 7 及び N 2 9 7 でのアラニン置換を有するヒト I g G 4 C H 2 領域（米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 号の配列番号 3 4 6、前記配列番号は参照により組み込まれる）を含む。これらの C H 2 領域は、本開示のポリペプチドにおいて使用することができる。

10

【0111】

特定の実施形態では、上述のアミノ酸置換に加えて、本明細書に記載されるポリペプチドまたはタンパク質の変更 C H 2 領域（例えば、変更ヒト I g G 1 C H 2 ドメイン）は、上記の位置以外の 1 つ以上の位置で 1 つ以上の追加のアミノ酸置換を含み得る。そのようなアミノ酸置換は、保存的または非保存的アミノ酸置換であり得る。例えば、特定の実施形態では、P 2 3 3 は、変更 I g G 2 C H 2 領域の E 2 3 3 に変更され得る（例えば、米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 号の配列番号 3 2 6 を参照されたく、前記配列は、参照により本明細書に組み込まれる）。さらにまたは代替的に、特定の実施形態では、変更 C H 2 領域は、1 つ以上のアミノ酸挿入、欠失またはその両方を含むことができる。挿入（複数可）、欠失（複数可）または置換（複数可）は、C H 2 領域をヒンジを介して別の領域（例えば、結合ドメインまたは免疫グロブリンヘテロ二量体化ドメイン）と連結することから生じる野生型免疫グロブリン C H 2 領域の N 末端または C 末端などの、免疫グロブリン C H 2 領域内の任意の場所であり得る。

20

【0112】

特定の実施形態では、本明細書に記載されたポリペプチドまたはタンパク質の変更 C H 2 ドメインは、2 3 5、3 1 8、3 2 0 及び 3 2 2 位にアラニン置換を有するヒト I g G 1 C H 2 ドメイン（すなわち、L 2 3 5 A、E 3 1 8 A、K 3 2 0 A 及び K 3 2 2 A 置換を有するヒト I g G 1 C H 2 ドメイン）（米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 号の配列番号 5 9 5、前記配列は参照により本明細書に組み込まれる）であって、任意に N 2 9 7 突然変異（例えば、アラニンへ）を有してもよいヒト I g G 1 C H 2 ドメインである。別の特定の実施形態では、変更 C H 2 ドメインは、2 3 4、2 3 5、3 1 8、2 3 7、3 2 0 及び 3 2 2 位にアラニン置換を有するヒト I g G 1 C H 2 ドメイン（すなわち、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、G 2 3 7 A、E 3 1 8 A、K 3 2 0 A 及び K 3 2 2 A 置換を有するヒト I g G 1 C H 2 ドメイン）（米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 号の配列番号 5 9 6、前記配列は参照により本明細書に組み込まれる）であって、任意に N 2 9 7 突然変異（例えば、アラニンへ）を有してもよいヒト I g G 1 C H 2 ドメインである。

30

40

【0113】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質の免疫グロブリン定常領域は、E U の付番方式に従って、置換 L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、G 2 3 7 A 及び K 3 2 2 A を含むヒト I g G 1 C H 2 ドメインを含む。

【0114】

本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質の免疫グロブリン定常領域を形成することができる C H 3 ドメインは、様々な種（ヒト、マウス、ラット、及び他の哺乳類を含む）の特定の免疫グロブリンのクラスまたはサブクラス（例えば、I g G 1、I g G 2、

50

I g G 3、I g G 4、I g A 1、I g A 2、I g D、I g E、I g M) 由来の野生型免疫グロブリン C H 3 ドメイン、またはその変更免疫グロブリン C H 3 ドメインであることができる。特定の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチドの C H 3 ドメインは、それぞれ米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 号の配列番号 1 1 6、2 0 8 ~ 2 1 0、2 0 4 ~ 2 0 7、及び 2 1 2 にそれぞれ示されるヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、I g A 2、I g D、I g E、または I g M の野生型 C H 2 ドメインなどの、野生型ヒト免疫グロブリン C H 3 ドメインである（前記配列は参照により本明細書に組み込まれる）。特定の実施形態では、C H 3 ドメインは、米国特許出願公開第 U S 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 号の配列番号 1 1 6 に示される野生型ヒト I g G 1 C H 3 ドメインである（前記配列は参照により本明細書に組み込まれる）。

10

【0115】

特定の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチドの C H 3 ドメインは、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、I g A 2、I g D、I g E または I g M 抗体の野生型 C H 3 ドメインに基づくかまたはこれに由来する変更 C H 3 ドメインなどの、変更ヒト免疫グロブリン C H 3 ドメインである。例えば、変更 C H 3 ドメインは、H 4 3 3 及び N 4 3 4 の位置で 1 つまたは 2 つの突然変異を有するヒト I g G 1 C H 3 ドメインであり得る（位置は E U の番号付けに従う）。このような位置における突然変異は、補体結合に関与し得る。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリペプチドの変更 C H 3 ドメインは、ヒト I g G 1 C H 3 ドメインであり得るが、F 4 0 5 または Y 4 0 7 の位置で 1 つまたは 2 つのアミノ酸置換を有する。このような位置のアミノ酸は、別の C H 3 ドメインとの相互作用に関与している。特定の実施形態では、本明細書に記載のポリペプチドの変更 C H 3 ドメインは、最後のリジンが欠失した変更ヒト I g G 1 C H 3 ドメインであり得る。この変更 C H 3 ドメインの配列は、米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 号の配列番号 7 6 1 に示される（前記配列は、参照により本明細書に組み込まれる）。

20

【0116】

特定の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチドまたはタンパク質は、いわゆる「ノブ・イントゥ・ホール」(knob-into-hole) 突然変異を含む C H 3 ドメインを含む (Marvin and Zhu, Acta Pharmacologica Sinica 26:649-58, 2005; Ridgway et al., Protein Engineering 9:617-21, 1996 を参照のこと)。より具体的には、各ポリペプチド鎖の C H 3 ドメインのそれぞれに突然変異を導入することができるため、C H 3 / C H 3 結合に必要な立体相補性により、これらの 2 つの C H 3 ドメインが互いに対になるのに必須である。例えば、ポリペプチドヘテロ二量体の一方の単鎖ポリペプチドにおける C H 3 ドメインは、T 3 6 6 W 突然変異（小さいアミノ酸をより大きいアミノ酸に置換する「ノブ」突然変異）を含むことができ、ポリペプチドヘテロ二量体の他方の単鎖ポリペプチドにおける C H 3 ドメインは、Y 4 0 7 A 突然変異（大きいアミノ酸をより小さいアミノ酸に置換する「ホール」突然変異）を含むことができる。別の例示的なノブ・イントゥ・ホール突然変異は、(1) 一方の C H 3 ドメインにおける T 3 6 6 Y 突然変異及び他方の C H 3 ドメインにおける Y 4 0 7 T、ならびに (2) 一方の C H 3 ドメインにおける T 3 6 6 W 突然変異及び他方の C H 3 ドメインにおける T 3 6 6 S、L 3 6 8 A 及び Y 4 0 7 V 突然変異を含む。

30

40

【0117】

本明細書に記載されるポリペプチドまたはタンパク質の免疫グロブリン定常領域を形成することができる C H 4 ドメインは、I g E または I g M 分子由来の野生型免疫グロブリン C H 4 ドメインまたはその変更免疫グロブリン C H 4 ドメインであり得る。特定の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチドの C H 4 ドメインは、米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 9 7 2 3 号の配列番号 2 1 3 及び 2 1 4 にそれぞれ示される（前述の配列は、参照により本明細書に組み込まれる）ヒト I g E 及び I g M 分子の野生型 C H 4 ドメインなどの、野生型ヒト免疫グロブリン C H 4 ドメインである。特定の実施形態では、

50

本明細書に記載されるポリペプチドのCH4ドメインは、ヒトIgEまたはIgM分子のCH4ドメインに基づくかまたはこれに由来する変更ヒト免疫グロブリンCH4ドメインなどの変更ヒト免疫グロブリンCH4ドメインであり、これはIgEまたはIgMのFc領域に関連すると知られている免疫活性を増加または低下させる突然変異を有する。

【0118】

特定の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチドまたはタンパク質の免疫グロブリン定常領域は、CH2、CH3またはCH4ドメインの組み合わせ（すなわち、CH2、CH3及びCH4から選択される2つ以上の定常領域ドメイン）を含む。例えば、免疫グロブリン定常領域は、CH2及びCH3ドメイン、またはCH3及びCH4ドメインを含むことができる。特定の他の実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、2つのCH3ドメインを含むことができ、CH2ドメインもCH4ドメインも含まない（すなわち、2つ以上のCH3のみ）。本明細書に記載のポリペプチドの免疫グロブリン定常領域を形成する複数の定常領域ドメインは、同じ免疫グロブリン分子、または同じクラスもしくは免疫グロブリン分子に基づくか、またはそれに由来し得る。特定の実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、IgG CH2-CH3（例えば、IgG1 CH2-CH3、IgG2 CH2-CH3及びIgG4 CH2-CH3）であり、ヒト（例えば、ヒトIgG1、IgG2及びIgG4）CH2CH3であり得る。例えば、特定の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチドの免疫グロブリン定常領域は、（1）野生型ヒトIgG1 CH2及びCH3ドメイン、（2）N297A置換を有するヒトIgG1 CH2（すなわち、CH2（N297A））及び野生型ヒトIgG1 CH3、または（3）ヒトIgG1 CH2（N297A）及び最後のリジンが欠失したヒトIgG1 CH3を含む。あるいは、本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質の複数の定常領域ドメインは、異なる免疫グロブリン分子、または異なるクラスもしくはサブクラスの免疫グロブリン分子に基づくかまたはそれらに由来するものであり得る。例えば、特定の実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、ヒトIgM CH3ドメイン及びヒトIgG1 CH3ドメインの両方を含む。本明細書に記載のポリペプチドの免疫グロブリン定常領域を形成する複数の定常領域ドメインは、直接一緒に結合することができるか、または1つ以上の（例えば、約2～10個の）アミノ酸を介して互いに結合することができる。

【0119】

本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質に使用され得る例示的な免疫グロブリン定常領域は、米国特許出願公開第2013/0129723号の配列番号305～309、321、323、341、342及び762に示されている（前記配列は、参照により本明細書に組み込まれる）。本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質に使用され得る更なる例示的な免疫グロブリン定常領域を以下の表に提供する。

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1：例示的な免疫グロブリン定常領域

名称	DNA配列	DNA 配列番号	AA配列	AA 配列番号
SS-Fc ドメイン	TCGAGTGAGCCCAAATCTTCT GACAAAACCTCACACATGCCCA CCGTGCCCAGCACCTGAAGC CGCGGGTGACCGTCAGTCTT CCTCTTCCCCCCTAAAACCCAA GGACACCCTCATGATCTCCCG GACCCCTGAGGTCACATGCGT GGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACA AAGCCGCGGGAGGAGCAGTA CAACAGCACGTACCGTGTGGT CAGCGTCCTCACCGTCCTGCA CCAGGACTGGCTGAATGGCAA	32	SSEPKSSDKTHT CPPCPAPEAAG APSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGV EVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLN GKEYKCAVSNK ALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNG	33

10

20

30

40

50

	GGAATACAAGTGCGCGGTCTC CAACAAAGCCCTCCCAGCCCC CATCGAGAAAACCATCTCCAA AGCCAAAGGGCAGCCCCGAG AACCACAGGTGTACACCCTGC CCCCATCCCGGGATGAGCTGA CCAAGAACCAGGTCAGCCTGA CCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT ATCCAAGCGACATCGCCGTGG AGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACCTACAAGACC ACGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCTCTAC AGCAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAA CGTCTTCTCATGCTCCGTGAT GCATGAGGCTCTGCACAACCA CTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCTCCGGGT		QPENNYKTTTP VLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLS LSPG	
Delta SS-Fc ドメイン	GAGCCCAAATCTTCTGACAAA ACTCACACATGCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGCGGG TGCACCGTCAGTCTTCTCTT CCCCCAAACCAAGGACAC CCTCATGATCTCCCGGACCC TGAGGTACATGCGTGGTGGT GGACGTGAGCCACGAAGACC CTGAGGTCAAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAG CACGTACCGTGTGGTCAGCGT CCTCACCGTCCTGCACCAGGA CTGGCTGAATGGCAAGGAATA CAAGTGCGCGGTCTCCAACAA AGCCCTCCCAGCCCCCATCGA GAAAACCATCTCCAAAGCCAA AGGGCAGCCCCGAGAACCAC AGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGC CTGGTCAAAGGCTTCTATCCA AGCGACATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACCTACAAGACCACGC CTCCCGTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTACAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCA GGTGGCAGCAGGGGAACGTC TTCTCATGCTCCGTGATGCAT	34	EPKSSDKTHTCP PCPAPEAAGAP SVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKE YKCAVSNKALPA PIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAV EWESNGQPENN YKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSC SVMHEALHNHY TQKSLSLSPG	35

10

20

30

40

	GAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTG TCTCCGGGT			
--	---	--	--	--

【 0 1 2 0 】

特定の実施形態では、本明細書に記載のホモ二量体またはヘテロ二量体のタンパク質の各ポリペプチド鎖の免疫グロブリン定常領域は、互いに同一である。特定の他の実施形態では、ヘテロ二量体タンパク質の一方のポリペプチド鎖の免疫グロブリン定常領域は、ヘ

50

テロ二量体の他方のポリペプチド鎖の免疫グロブリン定常領域とは異なる。例えば、ヘテロ二量体タンパク質の一方の免疫グロブリン定常領域は、「ノブ」突然変異を有するCH3ドメインを含むことができ、ヘテロ二量体タンパク質の他方の免疫グロブリン定常領域は、「ホール」突然変異を有するCH3ドメインを含むことができる。

【0121】

Fc結合ドメインリンカー

いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、Fc結合ドメインリンカーをさらに含み得る。いくつかの実施形態では、Fc結合ドメインリンカーを使用して、免疫グロブリン定常領域をC末端結合ドメイン（例えばCD3結合ドメイン）に連結させることができる。いくつかの実施形態では、Fc結合ドメインリンカーは、ヒンジドメインとして使用されてもよいし、及び／またはscFvに組み込まれてもよい。いくつかの実施形態では、Fc結合ドメインリンカーは、Gly₄Serリンカー（配列番号128）である。いくつかの実施形態では、Fc結合ドメインリンカーは、Gly-Gly-Gly-Gly-Ser（配列番号128）アミノ酸配列の4つの繰り返し（（Gly₄Ser）₄）（配列番号61）からなる20merである。いくつかの実施形態では、Fc結合ドメインリンカーは、配列番号50～70から選択されるアミノ酸配列を含む。他のリンカーが使用されており、ファージディスプレイ技術ならびに選択的感染ファージ技術が、多様化及び適切なリンカー配列を選択するために使用されている（Tang et al., J. Biol. Chem. 271, 15682-15686, 1996; Hennecke et al., Protein Eng. 11, 405-410, 1998）。特定の実施形態では、V_LとV_H領域とは、式（Gly₄Ser）_n（式中、n=1～5（配列番号129））を含むアミノ酸配列を有するペプチドリンカーによって結合されている。他の適切なリンカーは、単純なリンカーをランダム突然変異により最適化することによって得ることができる。いくつかの実施形態では、二重特異性分子は、ヒンジ領域または定常領域を含まない。

【0122】

特定の実施形態では、Fc結合ドメインリンカーは、グリシン-セリン（例えば、Gly₄Ser、配列番号128）リピートを含む柔軟なリンカー配列である。特定の実施形態では、リンカーは、3つのGly₄Serリピート（配列番号59）と、それに続くプロリン残基とを含む。特定の実施形態では、プロリン残基に、グリシン、アルギニン及びセリンからなる群から選択されるアミノ酸が続く。いくつかの実施形態では、Fc結合ドメインリンカーは、配列番号50～70から選択される配列を含むかまたはこれからなる。

【0123】

本開示による使用に適したいくつかの例示的なヒンジ及びFc結合ドメインリンカー配列を表2に示す。追加の例示的なヒンジ及びリンカー領域は、米国特許出願公開第2013/0129723号の配列番号241～244、601、78、763～791、228、379～434、618～749に示されている（前述の配列は参照により本明細書に組み込まれる）。

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2：例示的なヒンジ及びリンカー

名称	アミノ酸配列	配列番号
s s s (s) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S S D K T H T S P P S S	配列番号 3 6
c s c (s) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S C D K T H T S P P C S	配列番号 3 7
s s c (s) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S S D K T H T S P P C S	配列番号 3 8
s c c (s) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S S D K T H T C P P C S	配列番号 3 9
c s s (s) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S C D K T H T S P P S S	配列番号 4 0
s c s (s) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S S D K T H T C P P S S	配列番号 4 1
c c c (s) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S C D K T H T S P P C S	配列番号 4 2
c c c (p) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S C D K T H T S P P C P	配列番号 4 3
s s s (p) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S S D K T H T S P P S P	配列番号 4 4
c s c (p) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S C D K T H T S P P C P	配列番号 4 5
s s c (p) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S S D K T H T S P P C P	配列番号 4 6
s c c (p) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S S D K T H T C P P C P	配列番号 4 7
c s s (p) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S C D K T H T S P P S P	配列番号 4 8
s c s (p) - h I g G 1 ヒンジ	E P K S S D K T H T C P P S P	配列番号 4 9
S c p p c p	S C P P C P	配列番号 5 0
STD 1	NYGGGGSGGGGSGGG GSGNS	配列番号 5 1
STD 2	NYGGGGSGGGGSGGG GSGNYGGGGSGGGGS GGGGSGNS	配列番号 5 2
H 1	NS	—
H 2	GGGGSGNS	配列番号 5 3
H 3	NYGGGGSGNS	配列番号 5 4
H 4	GGGGSGGGGSGNS	配列番号 5 5
H 5	NYGGGGSGGGGSGNS	配列番号 5 6

10

20

30

40

50

名称	アミノ酸配列	配列番号
H 6	G G G G S G G G G S G G G G S G N S	配列番号 5 7
H 7	G C P P C P N S	配列番号 5 8
(G ₄ S) ₃	G G G G S G G G G S G G G G S	配列番号 5 9
H 1 0 5	S G G G G S G G G G S G G G G S	配列番号 6 0
(G ₄ S) ₄	G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S	配列番号 6 1
(G ₄ S) ₅	G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S	配列番号 6 2
H 9 4	S G G G G S G G G G S G G G G S P N S	配列番号 6 8
H 1 1 1	S G G G G S G G G G S G G G G S P G S	配列番号 6 9
H 1 1 4	G G G G S G G G G S G G G G S P S	配列番号 7 0

10

20

【0124】

前述のドメインに加えて、治療用ポリペプチドは、免疫グロブリン二量体化／ヘテロ二量体化ドメイン、接合アミノ酸、タグ、追加の結合ドメインなどを更に含み得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載のポリペプチド及びタンパク質は、薬物または毒性部分とコンジュゲートする。

【0125】

二重特異性／多重特異性タンパク質

30

いくつかの実施形態では、治療用タンパク質は、二重特異性または多重特異性タンパク質であり得る。二重特異性分子の非限定的な例としては、s c F v - F c - s c F v 分子、s c F v - I g 分子、及び s c F v - s c F v 分子が挙げられる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の二重特異性分子は、第2の結合ドメイン s c F v に連結された第1の結合ドメイン s c F v を含むかまたはそれからなり、免疫グロブリン定常領域などの他の配列を含まない。いくつかの実施形態では、治療用タンパク質は、アミノ末端からカルボキシル末端へ、またはカルボキシル末端からアミノ末端の順に、(i) 第1の結合ドメイン、(i i) ヒンジ領域、(i i i) 免疫グロブリン定常領域、(i v) (任意で) F c 結合ドメインリンカー、及び (v) 第2の結合ドメインを含む、二重特異性または多重特異性タンパク質であり得る。

40

【0126】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、N末端からC末端に向かって、C D 3 結合ドメイン、ヒンジ領域、免疫グロブリン定常領域、及び腫瘍抗原結合ドメインを含み得る。腫瘍抗原結合ドメインは、例えば、C D 1 2 3、P S M A、C D 1 9、C D 3 3、5 T 4 または H E R 2 に結合し得る。

【0127】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、N末端からC末端に向かって、腫瘍抗原結合ドメイン、ヒンジ領域、免疫グロブリン定常領域、及び C D 3 結合ドメインを含み得る。腫瘍抗原結合ドメインは、例えば、C D 1 2 3、P S M A、C D 1 9、C D 3 3、5 T 4 または H E R 2 に結合し得る。

50

【0128】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、N末端からC末端に向かって、4-1-BB結合ドメイン、ヒンジ領域、免疫グロブリン定常領域、及び腫瘍抗原結合ドメインを含み得る。腫瘍抗原結合ドメインは、例えば、CD123、PSMA、CD19、CD33、5T4またはHER2に結合し得る。

【0129】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、N末端からC末端に向かって、腫瘍抗原結合ドメイン、ヒンジ領域、免疫グロブリン定常領域、及び4-1-BB結合ドメインを含み得る。腫瘍抗原結合ドメインは、例えば、CD123、PSMA、CD19、CD33、5T4またはHER2に結合し得る。

10

【0130】

ホモ二量体／ヘテロ二量体

いくつかの実施形態では、治療用タンパク質は、ホモ二量体またはヘテロ二量体であり得る。いくつかの実施形態では、治療用タンパク質は、2つの同一のポリペプチドの二量体であり、各ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端への順に、またはカルボキシル末端からアミノ末端への順に、(i)第1の結合ドメイン、(ii)ヒンジ領域、及び(iii)免疫グロブリン定常領域、(iv)(任意に)Fc結合ドメインリンカー、及び(v)第2の結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、二重特異性または多重特異性タンパク質は、2つの同一のポリペプチドの二量体であり、各ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端への順に、またはカルボキシル末端からアミノ末端への順に、(i)第1の結合ドメイン、(ii)ヒンジ領域、(iii)免疫グロブリン定常領域、(iv)(任意に)Fc結合ドメインリンカー、及び(v)第2の結合ドメインを含む。他の実施形態では、本明細書に記載される二重特異性タンパク質は、二重特異性抗体である。

20

【0131】

特定の実施態様では、別のポリペプチド鎖とヘテロ二量体を形成するポリペプチド中に存在するヒンジは、野生型免疫グロブリンヒンジ領域、またはその変異免疫グロブリンヒンジ領域などの免疫グロブリンヒンジであり得る。特定の実施形態では、ヘテロ二量体タンパク質の一方のポリペプチド鎖のヒンジは、ヘテロ二量体の他方のポリペプチド鎖の対応するヒンジと同一である。特定の他の実施形態では、一方の鎖のヒンジは、(その長さまたは配列において)他方の鎖のヒンジとは異なる。異なる鎖中の異なるヒンジは、ヒンジが接続されている結合ドメインの結合親和性の異なる操作を可能にし、その結果、ヘテロ二量体は、一方の結合ドメインの標的に、他方の結合ドメインの標的より、優先的に結合することができる。

30

【0132】

他の実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチド及びタンパク質は、ヘテロ二量体化ドメインを含み、このドメインは、第2の非同一ポリペプチド鎖中の異なるヘテロ二量体化ドメインとのヘテロ二量体化を可能にする。特定の変形例では、ヘテロ二量体化のための第2のポリペプチド鎖は、第2の結合ドメインを含む。したがって、本開示の特定の実施形態では、2つの非同一ポリペプチド鎖(一方は第1の結合ドメインを含むポリペプチドを含み、他方は任意に第2の結合ドメインを含む)は、二量体化して、ヘテロ二量体結合タンパク質を形成する。二量体化／ヘテロ二量体化ドメインは、2つの非同一ポリペプチド鎖からヘテロ二量体を形成することが望ましい場合に使用することができ、一方または両方のポリペプチド鎖は、結合ドメインを含む。特定の実施形態では、本明細書に記載される特定のヘテロ二量体の1つのポリペプチド鎖メンバーは、結合ドメインを含まない。ヘテロ二量体の種類の例としては、米国特許出願公開第2013/0095097号及び同第2013/0129723号、ならびに国際PCT公開第WO2016/094873号に記載されているものが挙げられる。

40

【0133】

特定の実施形態では、第1及び第2のポリペプチド鎖は、「免疫グロブリン二量体化ド

50

メイン」または「免疫グロブリンヘテロ二量体化ドメイン」を含むことにより二量体化する。「免疫グロブリン二量体化ドメイン」または「免疫グロブリンヘテロ二量体化ドメイン」は本明細書では、第2のポリペプチド鎖の異なる免疫グロブリンドメインと優先的に相互作用または結合する第1のポリペプチド鎖の免疫グロブリンドメインを指し、異なる免疫グロブリンドメインの相互作用は、第1及び第2のポリペプチド鎖のヘテロ二量体化（すなわち、「ヘテロ二量体」とも称される、2つの異なるポリペプチド鎖間二量体の形成）に実質的に寄与するかまたはそれを効率的に促進する。ヘテロ二量体のポリペプチド鎖中の免疫グロブリンのヘテロ二量体化ドメインは、互いに異なっており、したがって別個に改変して、両鎖のヘテロ二量体化を促進し、どちらの鎖もホモ二量体化を最小限にするようにできる。本明細書で提供される免疫グロブリンのヘテロ二量体化ドメインは、異なるポリペプチド間での効率的なヘテロ二量体化を可能にし、得られるヘテロ二量体のタンパク質の精製を容易にする。

10

【0134】

本明細書で提供されるように、本開示による2つの異なるポリペプチド鎖のヘテロ二量体化を促進するのに有用な免疫グロブリンのヘテロ二量体化ドメインには、野生型及び変異免疫グロブリンCH1及びCLドメイン、例えばヒトCH1及びCLドメインが含まれる。特定の実施形態では、免疫グロブリンのヘテロ二量体化ドメインは、野生型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgD、IgE、またはIgMCH1ドメインなどの野生型CH1ドメインであり、例えば、それぞれ米国特許出願公開第2013/0129723号の配列番号114、186～192及び194、または米国特許出願公開第2013/0129723号の配列番号114に示される（これらの配列は、引用により本明細書に組み込まれる）。さらなる実施形態では、野生型免疫グロブリンCLドメイン（例えば、ヒトCL）とのジスルフィド結合の形成に参与する野生型CH1ドメイン（例えば、ヒトCH1）のシステイン残基は、変異CH1ドメインと野生型CLドメインとの間でジスルフィド結合が形成されないように、変異免疫グロブリンCH1ドメインで欠失または置換されている。

20

【0135】

本明細書に記載のポリペプチド及びタンパク質は、米国特許出願公開第2013/0129723号及び同第2013/0095097号に一般的に開示されているように足場を用いて製造することができ、これらはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。本明細書に記載のポリペプチドは、2つの非同一ポリペプチド鎖を含み得、各ポリペプチド鎖は免疫グロブリンヘテロ二量体化ドメインを含む。対向する免疫グロブリンのヘテロ二量体化ドメインは異なる。一実施形態では、免疫グロブリンヘテロ二量体化ドメインは、CH1ドメインまたはその誘導体を含む。一実施形態では、免疫グロブリンヘテロ二量体化ドメインは、CLドメインまたはその誘導体を含む。一実施形態では、CLドメインは、CκもしくはCλのアイソタイプまたはそれらの誘導体である。

30

【0136】

例示的なタンパク質治療薬：抗CD123×抗CD3ポリペプチド及びその二量体

例示的なタンパク質治療薬は、CD123発現細胞とT細胞上のT細胞受容体複合体との両方に結合して、標的依存性T細胞障害、活性化及び増殖を誘導し得る。

40

【0137】

したがって、特定の実施形態では、本明細書に記載される方法及び組成物に関連して使用される治療用タンパク質は、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む二重特異性単鎖分子である。いくつかの実施形態では、CD123及び／またはCD3結合ドメインは、抗体に由来し、可変重鎖（VH）及び可変軽鎖（VL）を含む。例えば、CD123及び／またはCD3結合ドメインは、VH及びVLを含むscFvであり得る。これらの結合ドメイン及び可変鎖は、標的（複数可）への結合を依然として保持する任意の順序で配置され得る。例えば、可変ドメインは、VH（CD123）－（VL（CD123）－（VH（CD3）－（VL（CD3））；（VL（CD123）－（VH（CD123）－（VH（CD3）－（VL（CD3））；（VH（CD123）－（VL（CD123）－（VH（CD3）－（VL（CD3））；（VH（CD123）－（VL（CD1

50

23) - (VL CD3) - (VH CD3) ; (VL CD123) - (VH CD123) - (VL CD3) - (VH CD3) ; (VH CD3) - (VL CD3) - (VH CD123) - (VL CD123) ; (VL CD3) - (VH CD3) - (VL CD123) - (VH CD123) ; (VH CD3) - (VL CD3) - (VL CD123) - (VH CD123) ; または (VL CD3) - (VH CD3) - (VH CD123) - (VL CD123) などの順序で配置され得る。CD3に結合する結合ドメイン中のVH領域とVL領域との対は、一本鎖抗体 (scFv) のフォーマットであり得る。VH及びVL領域は、VH-VLまたはVL-VHの順序で配置され得る。いくつかの実施形態では、scFvは、同じ配向で同じVH及びVL領域配列を含む抗体よりも効果的にCD123に結合し得る。特定の実施形態では、scFvは、VH-VL配向よりもVL-VH配向でCD123により効果的に結合することができ、またはその逆も同様である。VH領域は、リンカー配列に対してN末端に位置し得る。VL領域は、リンカー配列に対してC末端に位置し得る。二重特異性単鎖分子のCD3結合ドメイン内のドメイン配列は、VH-VLであり得、CD3結合ドメインは、CD123結合ドメインに対してC末端に位置している。二重特異性分子は、CD3に結合するscFvに連結されたCD123に結合するscFvを含み得る。これらのscFvは、短鎖ペプチドと連結し得る。いくつかの実施形態では、二重特異性の単鎖分子は、ヒンジ領域または定常領域を含まない (例えば、US2013/0295121、WO2010/037836、WO2004/106381及びWO2011/121110を参照のこと (これらのそれぞれは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる)) 。

10

20

【0138】

CD123二重特異性結合構築物は、表3、表4及び／または表5に示される1つ以上の配列を含み得る。

30

40

50

【表 3】

表 3：結合ポリペプチド配列及び成分

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
OMT 1 可変軽鎖 ドメイン	g a c a t c g t g a t g a c c c a g t c t c c a g a c t c c c t g g c t g t g t c t c t g g g c g a g a g g g c c a c c a t c a a c t g c a a g t c c a g c c a c a g t g t t t a t a c a g c t c c a a c a a t a a g a a c t a c t t a g c t t g g t a c c a g c a g a a a c c a g g a c a g c c t c c t a a g c t g c t c a t t t a c t g g g c a t c t a c c c g g g a a t c c g g g g t c c c t g a c c g a t t c a g t g g c a g c g g g t c t g g g a c a g a t t t c a c t c t c a c c a t c a g c a g c c t g c a g g c t g a a g a t g t g g c a g t t t a t t a c t g t c a g c a a t a t t a t a g t a c t c c t c c g a c c a c t t t c g g c g g a g g g a c c a a g g t g g a g a t c a a a	d i v m t q s p d s l a v s l g e r a t i n c k s s h s v l y s s n n k n y l a w y q q k p g q p p k l l i y w a s t r e s g v p d r f s g s g s g t d f t l t i s s l q a e d v a v y y c q q y y s t p p t t f g g g t k v e i k	配列番号 1 3 3 (配列番号 1 3 4)
OMT 1 可変重鎖 ドメイン	g a g g t g c a g c t g t t g g a g t c t g g g g g a g g c t t g g t a c a g c c t g g g g g g t c c c t g a g a c t c t c c t g t g c a g c c t c t g g a t t c a c c t t t a g c a g c t a t g g c a t g a g c t g g g t c c g c c a g g c t c c a g g g a a g g g g c t g g a g g g g g t c t c a g c t a t t a g t g g t a g t g g t g g t a g c a c a t a c t a c g c a g a c t c c g t g a a g g g c c g g t t c a c c a t c t c c a g a g a c a a t t c c a a g a a c a c g c t g t a t c t g c a a a t g a a c a g c c t g a g a g c c g a g g a c a c g g c c g t a t a t t a c t g t g c g a a a g a a a a g t t a c g a t a t t t t g a c t g g t t a t c c g a t g c t t t t g a t a t c t g g	e v q l l e s g g g l v q p g g s l r l s c a a s g f t f s s y g m s w v r q a p g k g l e g v s a i s g s g g s t y y a d s v k g r f t i s r d n s k n t l y l q m n s l r a e d t a v y y c a k e k l r y f d w l s d a f d i w g q g t m v t v s s	配列番号 1 3 5 (配列番号 1 3 6)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
	g g c c a a g g g a c a a t g g t c a c c g t c t c t t c a		
OMT 1 CDR L 1	c a c a g t g t t t t a t a c a g c t c c a a c a a t a a g a a c t a c	HSVLYSSN NKNY	配列番号 1 3 7 (配列番号 1 3 8)
OMT 1 CDR L 2	t g g g c a t c t	WAS	配列番号 1 3 9 (配列番号 1 4 0)
OMT 1 CDR L 3	c a g c a a t a t t t a t a g t a c t c c t c c g a c c a c t	QQYYSTPP TT	配列番号 1 4 1 (配列番号 1 4 2)
OMT 1 CDR H 1	g g a t t c a c c t t t a g c a g c t a t g g c	GFTTFSSYG	配列番号 1 4 3 (配列番号 1 4 4)
OMT 1 CDR H 2	a t t a g t g g t a g t g g t g g t a g c a c a	ISGSGGST	配列番号 1 4 5 (配列番号 1 4 6)
OMT 1 CDR H 3	g c g a a a g a a a a g t t a c g a t a t t t t g a c t g g t t a t c c g a t g c t t t t g a t a t c	AKEKLRYF DWLSDAFD I	配列番号 1 4 7 (配列番号 1 4 8)
MT 1 VHVL xTSC 456 scFv -Fc- scFv TRI 1 29	a t g g a a g c a c c a g c g c a g c t t c t c t t c c t c c t g c t a c t c t g g c t c c c a g a t a c c a c c g g t g a g g t g c a g c t g t t g g a g t c t g g g g g a g g c t t g g t a c a g c c t g g g g g g t c c c t g a g a c t c t c c t g t g c a g c c t c t g g a t t c a c c t t t a g c a g c t a t g g c a t g a g c t g g g t c c g c c a g g c t c c a g g g a a g g g g c t g g a g g g g g t c t c a g c t a t t a g t g g t a g t g g t g g t a g c a c a t a c t a c g c a g a c t c c g t g a a g g g c c g g t t c a c c a t c t c c a g a g a c a a t t c c a a g a a c a c g c t g t a t c t g c a a a t g a a c a g c c t g a g a g c c g a g g a c a c g g c c g t a t a t t a c t g t g c g a a a g a a a g	e v q l l e s g g g l v q p g g s l r l s c a a s g f t f s s y g m s w v r q a p g k g l e g v s a i s g s g g s t y y a d s v k g r f t i s r d n s k n t l y l q m n s l r a e d t a v y y c a k e k l r y f d w l s d a f d i w g q g t m v t v s s g g g g s g g g g s g g g g s g g g g s d i v m t q s p d s l a v s l g	配列番号 3 0 9 (配列番号 3 1 0)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
	t t a c g a t a t t t t g a c t g g t t a t c c g a t g c t t t t g a t a t c t g g g g c c a a g g g a c a a t g g t c a c c g t c t c t t c a g g t g g a g g c g g t t c a g g c g g a g g t g g a t c c g g c g g t g g c g g c t c c g g t g g c g g c g g a t c t g a c a t c g t g a t g a c c c a g t c t c c a g a c t c c c t g g c t g t g t c t c t g g g c g a g a g g g c c a c c a t c a a c t g c a a g t c c a g c c a c a g t g t t t t a t a c a g c t c c a a c a a t a a g a a c t a c t t a g c t t g g t a c c a g c a g a a a c c a g g a c a g c c t c c t a a g c t g c t c a t t t a c t g g g c a t c t a c c c g g g a a t c c g g g g t c c c t g a c c g a t t c a g t g g c a g c g g g t c t g g g a c a g a t t t c a c t c t c a c c a t c a g c a g c c t g c a g g c t g a a g a t g t g g c a g t t t a t t a c t g t c a g c a a t a t t a t a g t a c t c c t c c g a c c a c t t t c g g c g g a g g g a c c a a g g t g g a g a t c a a a t c c t c g a g t g a g c c c a a a t c t t c t g a c a a a a c t c a c a c a t g c c c a c c g t g c c c a g c a c c t g a a g c c g c g g g t g c a c c g t c a g t c t t c c t c t t c c c c c c a a a a c c c a a g g a c a c c c t c a t g a t c t c c c g g a c c c c t g a g g t c a c a t g c g t g g t g g t g g a c g t g a g c c a c g a a g a c c c t g a g g t c a a g t t c a a c t g g t a c g t g g a c g g c g t g g a g g t g c a t a a t g c c a a g a c a a a g c c g c g g g a g g a g	e r a t i n c k s s h s v l y s s n n k n y l a w y q q k p g q p p k l l i y w a s t r e s g v p d r f s g s g s g t d f t l t i s s l q a e d v a v y y c q q y y s t p p t t f g g g t k v e i k s s s e p k s s d k t h t c p p c p a p e a a g a p s v f l f p p k p k d t l m i s r t p e v t c v v v d v s h e d p e v k f n w y v d g v e v h n a k t k p r e e q y n s t y r v v s v l t v l h q d w l n g k e y k c a v s n k a l p a p i e k t i s k a k g q p r e p q v y t l p p s r d e l t k n q v s l t c l v k g f y p s d i a v e w e s n g q p e n n y k t t p p v l d s d g s f f l y s k l t v d k s r w q q g n v f s c s v m h e a l h n	

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
	c a g t a c a a c a g c a c g t a c c g t g t g g t c a g c g t c c t c a c c g t c c t g c a c c a g g a c t g g c t g a a t g g c a a g g a a t a c a a g t g c g c g g t c t c c a a c a a a g c c c t c c c a g c c c c c a t c g a g a a a a c c a t c t c c a a a g c c a a a g g g c a g c c c c g a g a a c c a c a g g t g t a c a c c c t g c c c c c a t c c c g g g a t g a g c t g a c c a a g a a c c a g g t c a g c c t g a c c t g c c t g g t c a a a g g c t t c t a t c c a a g c g a c a t c g c c g t g g a g t g g g a g a g c a a t g g g c a g c c g g a g a a c a a c t a c a a g a c c a c g c c t c c c g t g c t g g a c t c c g a c g g c t c c t t c t t c c t c t a c a g c a a g c t c a c c g t g g a c a a g a g c a g g t g g c a g c a g g g g a a c g t c t t c t c a t g c t c c g t g a t g c a t g a g g c t c t g c a c a a c c a c t a c a c g c a g a a g a g c c t c t c c c t g t c t c c g g g t t c c g g a g g a g g g g g t t c a g g t g g g g g a g g t t c t g g c g g c g g g g g a a g c c c t t c a c a g g t g c a a c t g g t g c a g a g t g g a c c c g a g g t t a a a a a a c c a g g g t c c t c c g t t a a g g t t a g c t g c a a a g c c t c t g g c t a c a c a t t t t c c a g g a g t a c a a t g c a c t g g g t g a g g c a g g c t c c t g g a c a g g g a c t c g a g t g g a t c g g g t a t a t c a a c c c a t c t a g c g c c t a t a c c a a t t a c a a c c a a a a g t t t a a g g a c c g a g t t a c c a t t	h y t q k s l s l s p g s s g g g g s g g g g s g g g g s p s q v q l v q s g p e v k k p g s s v k v s c k a s g y t f s r s t m h w v r q a p g q g l e w i g y i n p s s a y t n y n q k f k d r v t i t a d k s t s t a y m e l s s l r s e d t a v y y c a r p q v h y d y n g f p y w g q g t l v t v s s g g g g s s g g g g s g g g g s g g g g s d i q m t q s p s t l s a s v g d r v t m t c s a s s s v s y m n w y q q k p g k a p k r w i y d s s k l a s g v p s r f s g s g s g t d y t l t i s s l q p d d f a t y y c q q w s r n p p t f g g g t k v e i k r s	

40

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
	a c c g c t g a c a a a t c c a c c a g t a c a g c t t a t a t g g a g c t g t c a t c t c t t a g g t c c g a g g a c a c t g c t g t t t a t t a c t g c g c t c g t c c t c a g g t t c a c t a t g a c t a t a a t g g t t t t c c c t a c t g g g g t c a g g g a a c c c t g g t g a c t g t c t c t t c t g g c g g t g g a g g c a g c g g t g g g g g t g g g t c t g g a g g c g g t g g c a g t g g c g g c g g a g g c t c t g a t a t t c a g a t g a c t c a g t c t c c t a g c a c t c t c a g c g c c a g c g t g g g g g a t c g t g t g a c a a t g a c t t g c t c c g c t a g c a g t a g t g t g t c t t a c a t g a a t t g g t a t c a g c a g a a g c c c g g g a a a g c a c c t a a g c g c t g g a t c t a t g a c t c t t c c a a g c t g g c a a g t g g t g t c c c c t c a c g g t t c t c t g g c t c a g g t t c t g g t a c t g a c t a t a c t t t g a c t a t c t c c t c c c t c c a g c c c g a t g a t t t t c g c t a c c t a t t a t t g t c a g c a g t g g a g c c g t a a c c c a c c c a c t t t c g g a g g c g g t a c c a a a g t g g a g a t c a a g a g g t c a t a a		
OMT 1 VLVH xTSC 456 scFv -Fc- scFv TRI 1 30	a t g g a a g c a c c a g c g c a g c t t c t c t t c c t c c t g c t a c t c t g g c t c c c a g a t a c c a c c g g t g a c a t c g t g a t g a c c c a g t c t c c a g a c t c c c t g g c t g t g t c t c t g g g c g a g a g g g c c a c c a t c a a c t g c a a g t c c a g c c a c a g t g t t t t a t a c a g c t c c a a c a a t a a g a a c t a c t t a g c t	d i v m t q s p d s l a v s l g e r a t i n c k s s h s v l y s s n n k n y l a w y q q k p g q p p k l l i y w a s t r e s g v p d r f s g s g s g t d f t l t	配列番号31 1 (配列番号 312)

10

20

30

40

50

名称	スクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 スクレオチド (アミノ酸)
	t g g t a c c a g c a g a a a c c a g g a c a g c c t c c t a a g c t g c t c a t t t a c t g g g c a t c t a c c c g g g a a t c c g g g g t c c c t g a c c g a t t c a g t g g c a g c g g g t c t g g g a c a g a t t t c a c t c t c a c c a t c a g c a g c c t g c a g g c t g a a g a t g t g g c a g t t t a t t a c t g t c a g c a a t a t t a t a g t a c t c c t c c g a c c a c t t t c g g c g g a g g g a c c a a g g t g g a g a t c a a a g g t g g a g g c g g t t c a g g c g g a g g t g g a t c c g g c g g t g g c g g c t c c g g t g g c g g c g g a t c t g a g g t g c a g c t g t t g g a g t c t g g g g g a g g c t t g g t a c a g c c t g g g g g g t c c c t g a g a c t c t c c t g t g c a g c c t c t g g a t t c a c c t t t a g c a g c t a t g g c a t g a g c t g g g t c c g c c a g g c t c c a g g g a a g g g g c t g g a g g g g g t c t c a g c t a t t a g t g g t a g t g g t g g t a g c a c a t a c t a c g c a g a c t c c g t g a a g g g c c g g t t c a c c a t c t c c a g a g a c a a t t c c a a g a a c a c g c t g t a t c t g c a a a t g a a c a g c c t g a g a g c c g a g g a c a c g g c c g t a t a t t a c t g t g c g a a a g a a a a g t t a c g a t a t t t t g a c t g g t t a t c c g a t g c t t t t g a t a t c t g g g g c c a a g g g a c a a t g g t c a c c g t c t c c t c g a g t g a g c c c a a a t c t t c t g a c a a a a c t c a c a c a t g c c c a c c g t g c c c a g c a c c t g a a g c c g c g g g t	i s s l q a e d v a v y y c q q y y s t p p t t f g g g t k v e i k g g g g s g g g g s g g g g s g g g g s e v q l l e s g g g l v q p g g s l r l s c a a s g f t f s s y g m s w v r q a p g k g l e g v s a i s g s g g s t y y a d s v k g r f t i s r d n s k n t l y l q m n s l r a e d t a v y y c a k e k l r y f d w l s d a f d i w g q g t m v t v s s s e p k s s d k t h t c p p c p a p e a a g a p s v f l f p p k p k d t l m i s r t p e v t c v v v d v s h e d p e v k f n w y v d g v e v h n a k t k p r e e q y n s t y r v v s v l t v l h q d w l n g k e y k c a v s n k a l p a p i e k t i s k a k g q p r e p q v y t l p p s r d	

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
	g c a c c g t c a g t c t t t c c t c t t c c c c c c a a a a c c c a a g g a c a c c c t c a t g a t c t c c c g g a c c c c t g a g g t c a c a t g c g t g g t g g t g g a c g t g a g c c a c g a a g a c c c t g a g g t c a a g t t c a a c t g g t a c g t g g a c g g c g t g g a g g t g c a t a a t g c c a a g a c a a a g c c g c g g g a g g a g c a g t a c a a c a g c a c g t a c c g t g t g g t c a g c g t c c t c a c c g t c c t g c a c c a g g a c t g g c t g a a t g g c a a g g a a t a c a a g t g c g c g g t c t c c a a c a a a g c c c t c c c a g c c c c c a t c g a g a a a a c c a t c t c c a a a g c c a a a g g g c a g c c c c g a g a a c c a c a g g t g t a c a c c c t g c c c c c a t c c c g g g a t g a g c t g a c c a a g a a c c a g g t c a g c c t g a c c t g c c t g g t c a a a g g c t t c t a t c c a a g c g a c a t c g c c g t g g a g t g g g a g a g c a a t g g g c a g c c g g a g a a c a a c t a c a a g a c c a c g c c t c c c g t g c t g g a c t c c g a c g g c t c c t t c t t c c t c t a c a g c a a g c t c a c c g t g g a c a a g a g c a g g t g g c a g c a g g g g a a c g t c t t c t c a t g c t c c g t g a t g c a t g a g g c t c t g c a c a a c c a c t a c a c g c a g a a g a g c c t c t c c c t g t c t c c g g g t t c c g g a g g a g g g g g t t c a g g t g g g g g a g g t t c t g g c g g c g g g g g a a g c c c t t c a c a g g t g c a a c t g g t g c a g a g t g g a c c c g a g g t t a a a	e l t k n q v s l t c l v k g f y p s d i a v e w e s n g q p e n n y k t t p p v l d s d g s f f l y s k l t v d k s r w q q g n v f s c s v m h e a l h n h y t q k s l s l s p g s g g g g s g g g g s g g g g s p s q v q l v q s g p e v k k p g s s v k v s c k a s g y t f s r s t m h w v r q a p g q g l e w i g y i n p s s a y t n y n q k f k d r v t i t a d k s t s t a y m e l s s l r s e d t a v y y c a r p q v h y d y n g f p y w g q g t l v t v s s g g g g s g g g g s g g g g s g g g g s d i q m t q s p s t l s a s v g d r v t m t c s a s s s v s y m n w y q q k p g k a p k r w i y d s s k l a s g v p s r f s g s g s g t d y t	

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
	a a a c c a g g g t c c t c c g t t a a g g t t a g c t g c a a a g c c t c t g g c t a c a c a t t t t c c a g g a g t a c a a t g c a c t g g g t g a g g c a g g c t c c t g g a c a g g g a c t c g a g t g g a t c g g g t a t a t c a a c c c a t c t a g c g c c t a t a c c a a t t a c a a c c a a a a g t t t a a g g a c c g a g t t a c c a t t a c c g c t g a c a a a t c c a c c a g t a c a g c t t a t a t g g a g c t g t c a t c t c t t a g g t c c g a g g a c a c t g c t g t t t a t t a c t g c g c t c g t c c t c a g g t t c a c t a t g a c t a t a a t g g t t t t c c c t a c t g g g g t c a g g g a a c c c t g g t g a c t g t c t c t t c t g g c g g t g g a g g c a g c g g t g g g g g t g g g t c t g g a g g c g g t g g c a g t g g c g g c g g a g g c t c t g a t a t t c a g a t g a c t c a g t c t c c t a g c a c t c t c a g c g c c a g c g t g g g g g a t c g t g t g a c a a t g a c t t g c t c c g c t a g c a g t a g t g t g t c t t a c a t g a a t t g g t a t c a g c a g a a g c c c g g g a a a g c a c c t a a g c g c t g g a t c t a t g a c t c t t c c a a g c t g g c a a g t g g t g t c c c c t c a c g g t t c t c t g g c t c a g g t t c t g g t a c t g a c t a t a c t t t g a c t a t c t c c t c c c t c c a g c c c g a t g a t t t c g c t a c c t a t t a t t g t c a g c a g t g g a g c c g t a a c c c a c c c a c t t t c g g a g g c g g t a c c a a a g t g g a g a t c a a g a g g t c a t a a	l t i s s l q p d d f a t y y c q q w s r n p p t f g g g t k v e i k r s	

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
C r i s 7及びD R A 2 2 2 V H C D R 1 (K a b a t)		R S T M H	(配列番号3 4 5)
C r i s 7及びD R A 2 2 2 V H C D R 2 (K a b a t)		Y I N P S S A Y T N Y N Q K F K	(配列番号3 4 6)
C r i s 7及びD R A 2 2 2 V H C D R 3 (K a b a t)		Q V H Y D Y N G F P Y	(配列番号3 4 7)
C r i s 7及びD R A 2 2 2 V L C D R 1 (K a b a t)		S A S S S V S Y M N	(配列番号3 4 8)
C r i s 7及びD R A 2 2 2 V L C D R 2 (K a b a t)		D S S K L A S	(配列番号3 4 9)
C r i s 7及びD R A 2 2 2 V L C D R 3		Q Q W S R N P P T	(配列番号3 5 0)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
(K a b a t)			
C r i s 7 及び D R A 2 2 2 V H C D R 1 (I M G T)		G Y T F T R S T	(配列番号 3 5 1)
C r i s 7 及び D R A 2 2 2 V H C D R 2 (I M G T)		I N P S S A Y T	(配列番号 3 5 2)
C r i s 7 及び D R A 2 2 2 V H C D R 3 (I M G T)		Q Q W S R N P P T	(配列番号 3 5 3)
C r i s 7 及び D R A 2 2 2 V L C D R 1 (I M G T)		A S S S V S Y	(配列番号 3 5 4)
C r i s 7 及び D R A 2 2 2 V L C D R 2 (I M G T)		D S S	(配列番号 3 5 5)
C r i s 7 及び D R A 2 2		Q Q W S R N P P T	(配列番号 3 5 6)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
2 VL CDR3 (IMG T)			
C r i s - 7 可変 軽鎖配列		Q V V L T Q S P A I M S A F P G E K V T M T C S A S S S V S Y M N W Y Q Q K S G T S P K R W I Y D S S K L A S G V P A R F S G S G S G T S Y S L T I S S M E T E D A A T Y Y C Q Q W S R N P P T F G G G T K L Q I T R	(配列番号 3 4 1)
C r i s - 7 可変 重鎖配列		Q V Q L Q Q S G A E L A R P G A S V K M S C K A S G Y T F T R S T M H W V K Q R P G Q G L E W I G Y I N P S S A Y T N Y N Q K F K D K A T L T A D K S S S T A Y M Q L S S L T S E D S A V Y Y C A S P Q V H Y D Y N G F P Y W G Q G T L V T V S A	(配列番号 3 4 2)
H u M 2 9 1 可変 軽鎖配列		D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C S A S S S V S Y M N W Y Q Q K P G K A P K R L I Y	(配列番号 3 4 3)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
		DTSKLASG VPSRFSGS GSGTDFTL TISSLQPE DFATYYCQ QWSSNPPT FGGGTKVE IK	
HuM2 91 可変 重鎖配列		QVQLVQSG AEVKKPGA SVKVSCKA SGYTFI SY TMHWVRQA PGQGLEWM GYINPRSG YTHYNQKL KDKATLTA DKSASTAY MELSSLRS EDTAVYYC ARSAYDY DGFAYWGQ GTLVTVSS	(配列番号 3 44)
I2C VH C DR1 (Kab at)		KYAMN	(配列番号 3 57)
I2C VH C DR2 (Kab at)		RIRSKYNN YATYYADS VKD	(配列番号 3 58)
I2C VH C DR3 (Kab at)		HGNFGNSY ISYWAY	(配列番号 3 59)
I2C VL C		GSSTGAVT SGNYPN	(配列番号 3 60)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
DR 1 (K a b a t)			
I 2 C VL C DR 2 (K a b a t)		G T K F L A P	(配列番号 3 6 1)
I 2 C VL C DR 3 (K a b a t)		V L W Y S N R W V	(配列番号 3 6 2)
I 2 C VH C DR 1 (I M G T)		G F T F N K Y A	(配列番号 3 6 3)
I 2 C VH C DR 2 (I M G T)		I R S K Y N N Y A T	(配列番号 3 6 4)
I 2 C VH C DR 3 (I M G T)		V R H G N F G N S Y I S Y W A Y	(配列番号 3 6 5)
I 2 C VL C DR 1 (I M G T)		T G A V T S G N Y	(配列番号 3 6 6)
I 2 C VL C DR 2 (I M G T)		G T K	(配列番号 3 6 7)
I 2 C VL C		V L W Y S N R W V	(配列番号 3 6 8)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
DR 3 (IMG T)			
HuM2 91 V H CD R 1 (K a b a t)		S Y T M H	(配列番号 3 6 9)
HuM2 91 V H CD R 2 (K a b a t)		Y I N P R S G Y T H Y N Q K L K D	(配列番号 3 7 0)
HuM2 91 V H CD R 3 (K a b a t)		S A Y Y D Y D G F A Y	(配列番号 3 7 1)
HuM2 91 V L CD R 1 (K a b a t)		S A S S S V S Y M N	(配列番号 3 7 2)
HuM2 91 V L CD R 2 (K a b a t)		D T S K L A S	(配列番号 3 7 3)
HuM2 91 V L CD R 3 (K a b a t)		Q Q W S S N P P T	(配列番号 3 7 4)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
HuM2 91 V H CD R1 (I MGT)		GYTFISYT	(配列番号3 75)
HuM2 91 V H CD R2 (I MGT)		INPRSGYT	(配列番号3 76)
HuM2 91 V H CD R3 (I MGT)		ARSAYYDY DGFAY	(配列番号3 77)
HuM2 91 V L CD R1 (I MGT)		ASSSVSY	(配列番号3 78)
HuM2 91 V L CD R2 (I MGT)		DTS	(配列番号3 79)
HuM2 91 V L CD R3 (I MGT)		QQWSSNPP T	(配列番号3 80)
TSC4 55 (抗 CD3) TSC3 94 F 87Y scFv		QVQLVQSG PEVKKPGS SVKVSCKA SGYTFSR TMHWVRQA PGQGLEWI GYINPSSA YTNYNQKF KDRVTTITA DKSTSTAY	(配列番号3 81)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
		MELSSLRS EDTAVYYC ARPQVHYD YNGFPYWG QGTLVTVS SGGGGSGG GGSGGGGS GGGGSDIQ MTQSPSTL SASVGDRV TMTCSASS SVSYMNWY QQKPGKAP KRWIYDSS KLASGVPS RFSGSGSG TEYTLTIS SLQPDDFA TYYCQQWS RNPPTFGG GTKVEIKR SSS	
TSC4 56 (抗 CD3) TSC3 94 E 86D F87Y scFv		QVQLVQSG PEVKKPGS SVKVSCKA SGYTFSR TMHWVRQA PGQGLEWI GYINPSSA YTNYNQKF KDRVITI DKSTSTAY MELSSLRS EDTAVYYC ARPQVHYD YNGFPYWG QGTLVTVS SGGGGSGG GGSGGGGS GGGGSDIQ	(配列番号3 82)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
		MTQSPSTL SASVGDRV TMTCSASS SVSYMNWY QQKPGKAP KRWIYDSS KLASGVPS RFSGSGSG TDYTLTIS SLQPDDFA TYYCQQWS RNPPTFGG GTKVEIKR SSS	
TSC4 55及び TSC4 56可変 重ドメイ ン		QVQLVQSG PEVKKPGS SVKVSCKA SGYTFSR TMHWVRQA PGQGLEWI GYINPSSA YTNYNQKF KDRVTITA DKSTSTAY MELSSLRS EDTAVYYC ARPQVHYD YNGFPYWG QGTLVTVS S	(配列番号3 83)
TSC4 55可変 軽ドメイ ン		DIQMTQSP STLSASVG DRVTMTCS ASSSVSYM NWYQQKPG KAPKRWIY DSSKLASG VPSRFSGS GSGTEYTL	(配列番号3 84)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
		T I S S L Q P D D F A T Y Y C Q Q W S R N P P T F G G G T K V E I K R S	
T S C 4 5 6 可変 軽ドメイ ン		D I Q M T Q S P S T L S A S V G D R V T M T C S A S S S V S Y M N W Y Q Q K P G K A P K R W I Y D S S K L A S G V P S R F S G S G S G T D Y T L T I S S L Q P D D F A T Y Y C Q Q W S R N P P T F G G G T K V E I K R S	(配列番号 3 8 5)
D R A 2 2 2 (抗 C D 3) s c F v		Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C K A S G Y T F T R S T M H W V R Q A P G Q G L E W I G Y I N P S S A Y T N Y N Q K F K D R F T I S A D K S K S T A F L Q M D S L R P E D T G V Y F C A R P Q V H Y D Y N G F P Y W G Q G T P V T V S S G G G G S G G G G S G G G S A Q D I Q M T Q S P S S L S A S	(配列番号 3 8 6)

10

20

30

40

50

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
		VGDRVTMT CSASSSVS YMNWYQQK PGKAPKRW IYDSSKLA SGVPARFS GSGSGTDY TLTISSLQ PEDFATYY CQQWSRNP PTFGGGTK LQITSSS	
DRA2 22可変 重ドメイ ン		QVQLVESG GGVVQPGR SLRLSCKA SGYTFTRS TMHWVRQA PGQGLEWI GYINPSSA YTNYNQKF KDRFTISA DKSKSTAF LQMDSL RP EDTGVYFC ARPQVHYD YNGFPYWG QGTPVTVS S	(配列番号3 87)
DRA2 22可変 軽ドメイ ン		DIQMTQSP SSLSASVG DRVMTTCS ASSSVSYM NWYQQKPG KAPKRWIY DSSKLASG VPARFSGS GSGTDYTL TISSLQPE DFATYYCQ QWSRNPPT	(配列番号3 88)

名称	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列	配列番号 ヌクレオチド (アミノ酸)
		FGGGTKLQ ITS	

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4：ヒト化構築物の組成

構築物 ID	s c F v 配向	ヌクレオチド配列番号	アミノ酸配列番号
TR I 1 2 9	V H V L	3 0 9	3 1 0
TR I 1 3 0	V L V H	3 1 1	3 1 2

【表 5】

表 5：例示的な結合タンパク質構築物のアミノ酸配列

構築物名	配列	配列 番号
TR I 1 3 0 (CD 1 2 3 結合ドメイン は太字、CD 3 結合ドメイ ンは斜体字) (CD R 配列 は単下線であ る)	MEAPAQLLFLLLLLWLPDTTGDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSHSV <u>LYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV</u> PDRFSGSGSGTDFT LTIS SLQAEDVAVYYC <u>QQYYSTPPTTF</u> GGG TKVEIK GGGGSGGGSGGG GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAAS <u>GF</u> TFSSYGMSWVRQAPG KGLE GVSAIS SGSGSTYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDT AVYYCAKE KLRYFDWLSDAFDIWGQGTMTVSSSEPKSSDKTHTCPPCP APEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPFVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGSGGGGSGGGGSPSQVQLVQSGPEV KKPGSSVKV SCKASGYT FSRSTMHVWRQAPGQGLEWIGYINPSSAYTNY NQKFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARPQV HYD YNGFP <u>YWGQGT</u> LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGD RVTMTCSASSSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDSSKLASGVPSRFSGSGS GTDYTLTISLQPDDEAFATYYCQQWSRNPPTFGGGTKVEIKRS	3 3 7

【0139】

特定の実施形態では、CD 1 2 3 結合ドメインは、(i) CDR の L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域 (V L)、ならびに (i i) C D R の H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含む免疫グロブリン重鎖可変領域 (V H) を含み、ここで、H C D R 1 は配列番号 1 4 4 に示されるアミノ酸配列を含み、H C D R 2 は配列番号 1 4 6 に示されるアミノ酸配列を含み、H C D R 3 は配列番号 1 4 8 に示されるアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、CD 1 2 3 結合ドメインは、(i) C D R の L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域 (V L)、ならびに (i i) C D R の H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含む免疫グロブリン重鎖可変領域 (V H) を含む。そのようないくつかの実施形態では、(i) L C D R 1 は、配列番号 1 3 8 に示されるアミノ酸配列または少なくとも 1 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 3 8 と異なる配列を有し、(i i) L C D R 2 は、配列番号 1 4 0 に示されるアミノ酸配列または少なくとも 1 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 4 0 と異なる配列を有し、(i i i) L C D R 3 は、配列番号 1 4 2 に示されるアミノ酸配列または少なくとも 1 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 4 2 と異なる配列を有し、(i v) H C D R 1 は、配列番号 1 4 4 に示されるアミノ酸配列または少なくとも 1 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 4 4 と異なる配列を有し、(v) H C D R 2 は、配列番号 1 4 6 に示されるアミノ酸配列または少なくとも 1 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 4 6 と異なる

配列を有し、かつ (v i) H C D R 3 は、配列番号 1 4 8 に示されるアミノ酸配列または少なくとも 1 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 4 8 と異なる配列を有する。上述のアミノ酸置換は、保存的であっても非保存的アミノ酸置換であってもよい。いくつかの実施形態では、L C D R 1、L C D R 2、L C D R 3、H C D R 1、H C D R 2、及び／または H C D R 3 は、記載された配列と、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 1 0 個のアミノ酸が異なる。特定の実施形態では、本開示の C D R は、既知のモノクローナル抗体の C D R 配列と比較して、約 1 つ以上（例えば、約 2、3、4、5、6、7、8、9、1 0）の挿入、約 1 つ以上（例えば、約 2、3、4、5、6、7、8、9、1 0）の欠失、約 1 つ以上（例えば、約 2、3、4、5、6、7、8、9、1 0）のアミノ酸置換（例えば、保存的アミノ酸または非保存的アミノ酸の置換）、または上記変化の組み合わせを含有する。例えば、本開示は、組換えポリペプチドを包含し、該組換えポリペプチドは、

(i) L C D R 1 が、配列番号 1 3 8 に示されるアミノ酸配列または 1 つまたは 2 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 3 8 と異なる配列を有し、(i i) L C D R 2 が、配列番号 1 4 0 に示されるアミノ酸配列または 1 つまたは 2 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 4 0 と異なる配列を有し、(i i i) L C D R 3 が、配列番号 1 4 2 に示されるアミノ酸配列または 1 つまたは 2 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 4 2 と異なる配列を有し、(i v) H C D R 1 が、配列番号 1 4 4 に示されるアミノ酸配列または 1 つまたは 2 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 4 4 と異なる配列を有し、(v) H C D R 2 が、配列番号 1 4 6 に示されるアミノ酸配列または 1 つまたは 2 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 4 6 と異なる配列を有し、かつ (v i) H C D R 3 が、配列番号 1 4 8 に示されるアミノ酸配列または 1 つまたは 2 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 4 8 と異なる配列を有する。上述のアミノ酸置換は、保存的であっても非保存的アミノ酸置換であってもよい。

10

20

30

40

50

【0140】

関連する実施形態では、本開示の組換えポリペプチドは、軽鎖可変領域 (V_L)（例えば、配列番号 1 3 4）または重鎖可変領域 (V_H)（例えば、配列番号 1 3 6）またはその両方のアミノ酸配列と、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 8 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、少なくとも約 9 9 . 5 %、または 1 0 0 % 同一である配列を含むか、またはそのような配列である。一実施形態では、組換えポリペプチドの C D 1 2 3 結合ドメインは、V H V L 配向で配列番号 1 3 6 を含む可変重鎖及び配列番号 1 3 4 を含む可変軽鎖を含む s c F v である。別の実施形態では、組換えポリペプチドの C D 1 2 3 結合ドメインは、V H V L 配向で配列番号 1 3 4 を含む可変軽鎖及び配列番号 1 3 6 を含む可変重鎖を含む s c F v である。例えば、特定の実施形態では、本開示のポリペプチドは、配列番号 3 3 7 のアミノ酸配列を含む。本開示は、配列番号 3 3 7 のアミノ酸配列と、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 8 8 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 1 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 3 %、少なくとも約 9 4 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、少なくとも約 9 9 . 5 % または 1 0 0 % 同一である組換えポリペプチドを含む。

【0141】

特定の実施形態では、C D 1 2 3 結合ドメインは、(i) C D R の L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域 (V_L)、ならびに (i i) C D R の H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含む免疫グロブリン重鎖可変領域 (V_H) を含む。そのようないくつかの実施形態では、(i) L C D R 1 は、配列番号 1 5 4 に示されるアミノ酸配列または少なくとも 1 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 5 4 と異なる配列を有し、(i i) L C D R 2 は、配列番号 1 5 6 に示されるアミノ酸配列または少なくとも 1 つのアミノ酸置換によって配列番号 1 5 6 と異なる配列を有し、(i i i) L C D R 3 は、配列番号 1 5 8 に示されるアミノ酸配列または少なくとも 1 つのアミノ酸置

換によって配列番号158と異なる配列を有し、(iv)HC DR1は、配列番号160に示されるアミノ酸配列または少なくとも1つのアミノ酸置換によって配列番号160と異なる配列を有し、(v)HC DR2は、配列番号162に示されるアミノ酸配列または少なくとも1つのアミノ酸置換によって配列番号162と異なる配列を有し、かつ(vi)HC DR3は、配列番号164に示されるアミノ酸配列または少なくとも1つのアミノ酸置換によって配列番号164と異なる配列を有する。上述のアミノ酸置換は、保存的であっても非保存的アミノ酸置換であってもよい。いくつかの実施形態では、LC DR1、LC DR2、LC DR3、HC DR1、HC DR2、及び／またはHC DR3は、記載された配列と、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のアミノ酸が異なる。特定の実施形態では、本開示のCDRは、既知のモノクローナル抗体のCDR配列と比較して、約1つ以上（例えば、約2、3、4、5、6、7、8、9、10）の挿入、約1つ以上（例えば、約2、3、4、5、6、7、8、9、10）の欠失、約1つ以上（例えば、約2、3、4、5、6、7、8、9、10）のアミノ酸置換（例えば、保存的アミノ酸または非保存的アミノ酸の置換）、または上記変化の組み合わせを含有する。

10

【0142】

関連する実施形態では、CD123結合ドメインは、軽鎖可変領域(V_L)（例えば、配列番号17）または重鎖可変領域(V_H)（例えば、配列番号16）またはその両方のアミノ酸配列と、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約88%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、少なくとも約99.5%、または100%同一である配列を含むか、またはそのような配列である。

20

【0143】

特定の実施形態では、CD123結合ドメインは、ヒト化免疫グロブリンV_L及び／またはV_H領域を含む。免疫グロブリンV_L及びV_H領域をヒト化するための技術は当技術分野で周知であり、例えば、米国特許出願公開第2006/0153837号に記載されている。特定の実施形態では、CD123結合ドメインは、ヒト免疫グロブリンV_L及び／またはV_H領域を含む。

【0144】

実質的に、CDRグラフト化によるヒト化は、非ヒト抗体のCDRのみをヒト可変領域フレームワーク及びヒト定常領域に組み換えることを含む。理論的には、これは免疫原性を実質的に低下または排除するはずである（同種異型または同種異型の差異が存在する場合を除く）。しかしながら、いくつかの元の抗体のフレームワーク残基も保存する必要があることが報告されている(Reichmann et al., Nature, 332:323 (1988); Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10,029 (1989))。

30

【0145】

保存する必要があるフレームワーク残基は、コンピュータモデリングによる特定の対象となる。あるいは、重要なフレームワーク残基は、既知の抗原結合部位構造(Padlan, Molec. Immunol., 31(3):169-217 (1994)、参照により組み込まれる)と比較することによって特定が可能であり得る。

40

【0146】

抗原結合に影響を及ぼす可能性のある残基は、いくつかの群に分類される。第1の群は、抗原部位の表面と連続しており、したがって抗原と直接接触し得る残基を含む。これらの残基は、アミノ末端残基及びCDRに隣接する残基を含む。第2の群は、CDRまたは抗体中の別のペプチド鎖のいずれかと接触することによりCDRの構造または相対的整列を変化させ得る残基を含む。第3の群は、可変ドメインの構造的完全性に影響を与え得る埋め込まれた側鎖を有するアミノ酸を含む。これらの群中の残基は、通常、同じ位置に見られるが(Padlan, 1994, 上掲)、特定されるそれらの位置は、付番方式に応じて異なり得る(Kabat et al., "Sequences of protei

50

ns of immunological interest, 5th ed., Pub. No. 91-3242, U. S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, Md., 1991を参照のこと)。

【0147】

当該技術分野におけるヒト化抗体に関する情報は、ポリペプチドが抗体でない場合でも、本開示によるポリペプチドに適用可能である。

【0148】

いくつかの実施形態では、抗CD123 scFvは、配列番号10を含むHCDR1、配列番号11を含むHCDR2、及び配列番号12を含むHCDR3、ならびに配列番号13を含むLCDR1、配列番号14を含むLCDR2、及び配列番号15を含むLCDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗CD123 scFvドメインは、配列番号136と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVHと、配列番号134と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVLとを含む。いくつかの実施形態では、抗CD123 scFvは、配列番号16と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、抗CD123 scFvは、配列番号17と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原結合ドメインはC抗D123 scFvであり、本scFvは、配列番号18と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含む。

【0149】

いくつかの実施形態では、本開示は、CD123結合ドメインに関し、そこにおいて(i)免疫グロブリン軽鎖可変領域は、配列番号134に示されるアミノ酸配列と少なくとも88%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含み、免疫グロブリン重鎖可変領域は、配列番号136に示されるアミノ酸配列と少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。

【0150】

さらなる実施形態では、各CDRは、目的の標的(例えば、CD123)に特異的に結合するモノクローナル抗体またはそのフラグメントもしくは誘導体由来のものと比較して、1つ、2つ、または3つ以下の置換、挿入または欠失を含む。

【0151】

特定の実施形態では、CD123結合ドメインは、CD123へのIL-3結合を阻害しない。

【0152】

特定の実施形態では、CD123結合分子またはタンパク質は、CD123を発現する標的細胞にT細胞を動員するためのT細胞結合ドメインを含み得る。特定の実施形態では、本明細書に記載されるCD123結合タンパク質は、(i)TCR複合体またはその成分(例えば、TCR α 、TCR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、及びCD3 ϵ)に特異的に結合する結合ドメイン、及び(ii)CD123に特異的に結合する別の結合ドメインを含み得る。CD123結合タンパク質は、T細胞に結合する実質的に任意の結合ドメイン、例えば、抗体由来結合ドメインを利用することができる。CD3結合ドメインを誘導することができる例示的な抗CD3抗体には、CRIS-7モノクローナル抗体(Reinherz, E. L. et al. (eds.), Leukocyte typing II, Springer Verlag, New York, (1986)、配列番号341(QVVL TQSPA IMSA FPG EKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDSSKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSE TEDAATY YCQQWSRNPPTFGGGTKLQITR)及び配列番号342(QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRSTMHWVKQR

PGQGLEWIGYINPSSAYTNYNQKFKDKATLTADKSSSTAY
MQLSSLTSEDSAVYYCASPVHYDYNGFPYWGQGTLVTVS
A) にそれぞれ示されるV_L及びV_Hアミノ酸配列、HuM291 (Chau et al. (2001) Transplantation 71:941-950、配列番号343 (DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQKPGKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSSNPPTFGGGTKVEIK) 及び配列番号344 (QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFISYTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPRSGYTHYNQKLKDKATLTADKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSAYYDYDGFAYWGQGTLVTVSS) にそれぞれ示されるV_L及びV_Hアミノ酸配列、BC3モノクローナル抗体 (Anasetti et al. (1990) J. Exp. Med. 172:1691)、OKT3モノクローナル抗体 (Ortho multicenter Transplant Study Group (1985) N. Engl. J. Med. 313:337) 及びその誘導体、例えばOKT3 ala-ala (OKT3 AA-FLまたはOKT3 FLとも称される)、234及び235位でアラニン置換を有するヒト化Fc変異体 (Herold et al. (2003) J. Clin. Invest. 11:409)、ビジリズマブ (Carpenter et al. (2002) Blood 99:2712)、G19-4モノクローナル抗体 (Ledbetter et al., 1986, J. Immunol. 136:3945)、145-2C11モノクローナル抗体 (Hirsch et al. (1988) J. Immunol. 140:3766) 及びI2Cモノクローナル抗体 (例えばUS2011/0293619及びUS20120244162を参照) が挙げられる。例えば、CD3結合ドメインは、米国特許出願公開第2012/0244162号に開示されるCD3結合ドメインを含み得、US2012/0244162の配列番号17、21、35、39、53、57、71、75、89、83、107、111、125、129、143、147、161、165、179及び183から選択されるV_L領域、及び／またはUS2012/0244162の配列番号15、19、33、37、51、55、69、73、87、91、105、109、123、127、141、145、159、163、177及び181から選択されるV_H領域を含むCD3結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインは、US2012/0244162の配列番号23、25、41、43、59、61、77、79、95、97、113、115、131、133、149、151、167、169、185及び187から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインは、WO2004/106380、WO2005/040220A1、US2014/0099318に記載されているもの、またはそれらのCD3結合ドメインに由来するものである。例示的な抗TCR抗体は、BMA031モノクローナル抗体である (Borst et al. (1990) Human Immunology 29:175-188)。CD3結合ドメインは、WO2013/158856 (その全体が参照により本明細書に組み込まれる) に記載された抗体または配列のいずれかに由来し得る。

[0153]

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるCD123結合ポリペプチドの第2の結合ドメインは、(i) LC_{CDR1}、LC_{CDR2}及びLC_{CDR3}を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域と、(ii) HC_{CDR1}、HC_{CDR2}及びHC_{CDR3}を含む免疫グロブリン重鎖可変領域とを含み、(a) LC_{CDR1}、LC_{CDR2}及びLC_{CDR3}は、それぞれ配列番号348、349及び350に示されるアミノ酸配列を有し、HC_{CDR1}、HC_{CDR2}及びHC_{CDR3}は、それぞれ配列番号345、346及び347に示されるアミノ酸配列を有するか、または(b) LC_{CDR1}、LC_{CDR2}及びLC_{CDR3}は、それぞれ配列番号354、配列番号355及び配列番号356に示されるアミノ酸配列を有し、HC_{CDR1}、HC_{CDR2}及びHC_{CDR3}は、それぞれ、配列番号351、配列番号352及び配列番号353に示されるアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される

CD123結合ポリペプチドの第2の結合ドメインは、(i)LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域と、(ii)HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む免疫グロブリン重鎖可変領域とを含み、(a)LCDR1、LCDR2及びLCDR3は、それぞれ配列番号182、183及び184に示されるアミノ配列を有し、HCDR1、HCDR2及びHCDR3は、それぞれ配列番号351、352及び353に示されるアミノ酸配列を有し、HCDR1、HCDR2及びHCDR3は、それぞれ配列番号357、359及び359に示されるアミノ酸配列を有するか、または(b)LCDR1、LCDR2及びLCDR3は、それぞれ配列番号359、配列番号367及び配列番号368に示されるアミノ酸配列を有し、HCDR1、HCDR2及びHCDR3は、それぞれ、配列番号363、配列番号364及び配列番号365に示されるアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるCD123結合ポリペプチドの第2の結合ドメインは、(i)LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域と、(ii)HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む免疫グロブリン重鎖可変領域とを含み、(a)LCDR1、LCDR2及びLCDR3は、それぞれ配列番号372、373及び374に示されるアミノ配列を有するか、または(b)LCDR1、LCDR2及びLCDR3は、それぞれ配列番号378、379及び380に示されるアミノ酸配列を有し、HCDR1、HCDR2及びHCDR3は、それぞれ、配列番号375、配列番号376及び配列番号377に示されるアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、この段落に記載されたCDR配列を含む第2の結合ドメインはヒト化されている。

10

20

【0154】

CD3εに特異的に結合する第2の結合ドメインを含むCD123結合タンパク質のいくつかの実施形態では、第2の結合ドメインは、CD3εに対する結合についてCRIS-7、HuM291またはI2Cモノクローナル抗体と競合する。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインは、CRIS-7、HuM291またはI2Cモノクローナル抗体に由来する免疫グロブリン軽鎖可変領域(V_L)及び免疫グロブリン重鎖可変領域(V_H)を含む(例えば、第2の結合ドメインのV_L及びV_Hは、それぞれ、モノクローナル抗体の軽鎖CDR及び重鎖CDRを含むヒト化可変領域であり得る)。第2の結合ドメインは、DRA222、TSC455またはTSC456CD3結合ドメインの軽鎖可変領域、重鎖可変領域またはその両方を含み得る。DRA222、TSC455及びTSC456のアミノ酸配列を表4に示す。DRA222結合ドメインは、WO2013/158856にも記載されている。TSC455は、TSC394 F87Yとも称され得る。TSC455は、TSC394 E86D F87YまたはTSC394 DYとも呼ばれ得る。

30

【0155】

いくつかの実施形態では、第2の結合ドメインは、CD3に特異的に結合し、かつ免疫グロブリン軽鎖可変領域及び免疫グロブリン重鎖可変領域を含み、免疫グロブリン軽鎖可変領域は、配列番号384中のアミノ酸配列と、少なくとも約93%同一、少なくとも約95%同一、少なくとも約97%同一、少なくとも約98%同一、または少なくとも約99%同一であるアミノ配列、または、配列番号385中のアミノ酸配列と、少なくとも約94%同一、少なくとも約95%同一、少なくとも約97%同一、少なくとも約98%同一、または少なくとも約99%同一であるアミノ酸配列を含み、免疫グロブリン重鎖可変領域は、配列番号383中のアミノ酸配列と、少なくとも約82%同一、少なくとも約85%同一、少なくとも約87%同一、少なくとも約90%同一、少なくとも約92%同一、少なくとも約95%同一、少なくとも約97%同一、少なくとも約98%同一、または少なくとも約99%同一であるアミノ酸配列を含む。

40

【0156】

いくつかの実施形態では、第2の結合ドメインは、配列番号19を含むHCDR1、配列番号20を含むHCDR2、及び配列番号21を含むHCDR3、ならびに配列番号22を含むLCDR1、配列番号23を含むLCDR2、及び配列番号24を含むLCDR

50

3を含むCD3結合ドメインである。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインは、配列番号383または387と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVHと、配列番号384と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVLとを含む抗CD3 s c F vである。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインは、配列番号25と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインは、配列番号26と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインは、配列番号27と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含む、抗CD3 s c F vである。

【0157】

いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインをさらに含むCD123結合ポリペプチドまたはタンパク質は、ポリペプチドまたはタンパク質の組換え発現の間に産生される低レベルの高分子量凝集体を有し得る。CD3結合ドメインをさらに含むCD123結合ポリペプチドまたはタンパク質は、ポリペプチドまたはタンパク質中に存在するCD3結合ドメインに応じて、ヒト血清中で比較的長い安定性を示し得る。

【0158】

特定の変形形態では、CD3結合ドメインは、US2013/0129730、US2011/0293619、US7,635,472、WO2010/037836、WO2004/106381、またはWO2011/121110に開示されている（それぞれは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）CD3結合配列の1つ以上（例えば、CDRまたは可変領域）を含む。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインは、表6に示される配列の1つ以上を含む。

【表6】

表6：例示的なCD3結合ドメイン軽鎖CDR

LCDR1	LCDR2	LCDR3
GSSTGAVTSGYYPN (配列番号110)	GTKFLAP (配列番号113)	ALWYSNRWV (配列番号116)
RSSTGAVTSGYYPN (配列番号111)	ATDMRPS (配列番号114)	ALWYSNRWV (配列番号117)
GSSTGAVTSGNYPN (配列番号112)	GTKFLAP (配列番号115)	VLWYSNRWV (配列番号118)

【0159】

種々の実施形態では、CD3結合ドメインは、表7に示される配列の1つ以上を含む。

【表 7】

表 7：例示的なCD 3結合ドメイン重鎖CDR

HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3
I YAMN (配列番号 1 1 9)	R I RSKYNNYATY YADSVKS (配列番号 1 2 2)	HGNFGNSYVSFF AY (配列番号 1 2 5)
K YAMN (配列番号 1 2 0)	R I RSKYNNYATY YADSVKD (配列番号 1 2 3)	HGNFGNSYISYW AY (配列番号 1 2 6)
S YAMN (配列番号 1 2 1)	R I RSKYNNYATY YADSVKG (配列番号 1 2 4)	HGNFGNSYLSFW AY (配列番号 1 2 7)

10

【0160】

いくつかの実施形態では、治療用タンパク質は、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって順に、第1の結合ドメイン、ヒンジ領域、免疫グロブリン定常領域、及び第2の結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン定常領域は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2またはIgDの免疫グロブリンCH2及びCH3ドメインを含む。いくつかの実施形態では、第1の結合ドメインは、(i) HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む免疫グロブリン重鎖可変領域(VH)、ならびに(ii) LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域(VL)を含む。いくつかの実施形態では、HCDR1は配列番号10を含み、HCDR2は配列番号11を含み、HCDR3は配列番号12を含み。いくつかの実施形態では、LCDR1は配列番号13を含み、LCDR2は配列番号14を含み、LCDR3は配列番号15を含む。いくつかの実施形態では、HCDR1は配列番号10を含み、HCDR2は配列番号11を含み、HCDR3は配列番号12を含み、LCDR1は配列番号13を含み、LCDR2は配列番号14を含み、LCDR3は、配列番号15を含む。いくつかの実施形態では、第1の結合ドメインは、配列番号18と少なくとも95%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、第2の結合ドメインは、(i) HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む免疫グロブリン重鎖可変領域(VH)、ならびに(ii) LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域(VL)を含む。いくつかの実施形態では、HCDR1は配列番号19を含み、HCDR2は配列番号20を含み、HCDR3は配列番号21を含む。いくつかの実施形態では、LCDR1は配列番号22を含み、LCDR2は配列番号23を含み、LCDR3は配列番号24を含む。いくつかの実施形態では、HCDR1は配列番号19を含み、HCDR2は配列番号20を含み、HCDR3は配列番号21を含み、LCDR1は配列番号22を含み、LCDR2は配列番号23を含み、LCDR3は配列番号24を含む。いくつかの実施形態では、第2の結合ドメインは、配列番号27と少なくとも95%または100%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、治療用タンパク質は、配列番号31の配列を含む。

20

30

40

【0161】

本明細書に開示される多重特異性抗CD123及び抗CD3分子の構造フォーマットは、代替構造フォーマットにおける多重特異性抗CD123及び抗CD3分子と比較して、強力な腫瘍細胞溶解を誘導するが、サイトカイン放出は低減される。いかなる理論にも拘束されるものではないが、本明細書に開示されるポリペプチド構造形式(例えば、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって順番に(a)CD123結合ドメインである第1の結合ドメイン、(b)ヒンジ領域、(c)免疫グロブリン定常領域、及び(d)T細胞、CD3、CD3εまたはT細胞受容体(TCR)複合体に特異的に結合するヒトまたはヒト化結合ドメインである第2の結合ドメイン)は、他のT細胞エンゲージャーと比較して

50

、中程度のT受容体(TCR)刺激を誘発する。TCRシグナルの強度または大きさがT細胞活性化の結果を調節することは、広く報告されている。TCR刺激は、エフェクター機能の開始(例えば、細胞溶解性グランザイム)、及びサイトカイン分泌及び細胞分裂を含む多くの細胞イベントを誘発する(Corse, Gottschalk and Allison, J Immunol 2011, 186: 5039-5045)。これらの別個の細胞イベントは、種々の動態で進行し得、TCR刺激の強度及び追加の要因に応じて変動する最大レベルに到達し得る。本明細書に開示される多重特異性構造形式は、数日にわたり腫瘍細胞の溶解を引き起こし、複数回のT細胞分裂を誘導するのに十分強力であるが、サイトカイン分泌量の制限には十分に適度なものである。

【0162】

いくつかの実施形態では、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性ポリペプチドは、T細胞上のCD3タンパク質に結合した場合に、OKT3抗体の対照と比較して、T細胞からのサイトカイン放出の誘導が減少する。いくつかの実施形態では、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性ポリペプチドは、OKT3またはI2Cに由来するCD3結合ドメインを含む多重特異性ポリペプチドと比較して、T細胞からのサイトカイン放出の誘導が減少する。いくつかの実施形態では、CD123結合ドメイン(例えば、配列番号312及び/または配列番号337と少なくとも93%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%同一であるアミノ酸配列を含むCD123結合ドメイン)と、CD3結合ドメインとを、scFv-Fc-scFvフォーマットで含む多重特異性ポリペプチドは、CD123結合ドメイン及びI2Cに由来するCD3結合ドメインを二重特異性T細胞エンゲージャー(scFv-scFv)フォーマットまたはデュアルアフィニティリターゲティングフォーマットで含む二重特異性ポリペプチドと比較して、非ヒト霊長類またはヒトにおいて、サイトカイン放出の誘導が減少する。

【0163】

本明細書に説明される治療用タンパク質を含む医薬組成物もまた本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、1~20mg/m²、2.5~12mg/ml、または5~10mg/mlの治療用タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、約2.5mg/ml~約12mg/ml、または約5mg/ml~約10mg/mlの治療用タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、約1mg/ml、約2mg/ml、約3mg/ml、約4mg/ml、約5mg/ml、約6mg/ml、約7mg/ml、約8mg/ml、約9mg/ml、約10mg/ml、約11mg/ml、または約12mg/mlの治療用タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、組成物は約5mg/mlの治療用タンパク質を含む。

【0164】

使用方法

本開示は、疾患または障害を有する対象を治療する方法を提供し、本方法は、治療上有効な量の本開示の少なくとも1種の組成物を対象に投与することを含む。

【0165】

いくつかの実施形態では、疾患または障害は、がんであり得る。がんは、例えば、急性骨髄性白血病(AML)、骨髄異形成症候群(MDS)、有毛細胞白血病(HCL)、芽球形質細胞様樹状細胞新生物、B細胞急性リンパ芽球形白血病(ALL)、及び慢性骨髄性白血病(CML)から選択され得る。

【0166】

いくつかの実施形態では、疾患または障害は炎症性疾患または障害であり得る。いくつかの実施形態では、疾患または障害は自己免疫疾患または障害であり得る。いくつかの実施形態では、自己免疫疾患または障害は、過敏性腸症候群、炎症性腸疾患(例えば、クローン病または潰瘍性大腸炎)、乾癬、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、乾癬性関節炎、全身性エリテマトーデス、喘息、多発性硬化症、皮膚筋炎、多発性筋炎、悪性貧血、原発性胆汁性肝硬変、急性散発性脳脊髄炎(ADEM)、アジソン病、強直性肝炎、抗リン

10

20

30

40

50

脂質抗体症候群（a P L）、自己免疫性肝炎、1型糖尿病、グッドパスチャー症候群、バセドウ病、ギラン・バレー症候群（G B S）、橋本病、特発性血小板減少性紫斑病、尋常性天疱瘡、シェーグレン症候群、側頭動脈炎、自己免疫性溶血性貧血、水疱性類天疱瘡、血管炎、セリアック病、子宮内膜症、化膿性汗腺炎、間質性膀胱炎、モルフェア、強皮症、ナルコレプシー、神経性筋強直症、白斑、自己免疫性内耳疾患、及び重症筋無力症から選択される。いくつかの実施形態では、炎症性疾患または障害は乾癬である。

【0167】

いくつかの実施形態では、炎症性疾患または障害は、神経因性疼痛、変形性関節症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、及びアルツハイマー病などの「神経免疫疾患」であり得る。

【0168】

いくつかの実施形態では、炎症性疾患または障害は、有害な移植関連事象、すなわち、移植拒絶、同種移植片疾患または移植片対宿主病であり得る。

【0169】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の治療方法及び使用のために、本明細書に記載のタンパク質またはポリペプチドは、治療が必要な疾患または障害の対処に関連する通常の方法論と矛盾しないように送達される。本明細書の開示によれば、治療上有効な量のタンパク質またはポリペプチドが、疾患または障害を予防または治療するのに十分な時間及び条件下で、そのような治療を必要とする対象に投与される。

【0170】

本開示のタンパク質を投与するための対象には、特定の障害を発症するリスクが高い患者だけでなく、そのような既存の障害を呈する患者も含まれる。典型的には、対象は、治療が必要な障害を有すると診断されている。さらに、障害の何らかの変化に関して（例えば、障害の臨床症状の増加または減少に関して）治療の経過中に対象をモニターすることができる。また、いくつかの変形形態では、対象は、治療を必要とする他の障害に罹患していない。

【0171】

予防用途では、本開示のタンパク質を含む医薬組成物または薬剤は、特定の障害のリスクを軽減もしくは発症を遅延させるのに十分な量で、該障害に罹患しやすいか、そうでなければリスクのある患者に投与される。治療的用途では、本開示のタンパク質を含む医薬組成物または薬剤は、疾患及びその合併症の症状を治療するか、または少なくとも部分的に止めるのに十分な量で、疾患に罹患している疑いがあるか、またはすでにその疾患に罹患している患者に投与され得る。これを達成するための適切な量が、治療上有効な量または用量として定義される。予防及び治療レジメンの両方において、薬剤は、通常、十分な応答（例えば、不適切な血管新生の活性の阻害）が達成されるまで数回に分けて投与される。典型的には、応答を監視し、所望の応答が消え始めた場合に、反復投与を行う。

【0172】

本開示の方法に従って治療すべき対象の患者を特定するために、許容されたスクリーニング法を採用して、特定の障害に関連する危険因子を決定するかまたは対象において特定された既存の障害の状態を決定することができる。そのような方法は、例えば、特定の障害と診断された近親者が個人に存在するかどうかを判定することを含み得る。スクリーニング法は、例えば、遺伝的要素を有することが知られている特定の障害の家族性を判定するための通常の精密検査も含み得る。例えば、様々ながんが、特定の遺伝性要素を有することも知られている。がんの遺伝的要素としては、例えば、形質転換する複数の遺伝子（例えば、R a s、R a f、E G F R、c M e tなど）における突然変異、特定のH L A及びキラー阻害受容体（K I R）分子の有無、またはがん細胞がN K細胞及びT細胞などの細胞の免疫抑制を直接的または間接的のいずれかで調節できる機序が挙げられる（例えば、L j u n g g r e n a n d M a l m b e r g, N a t u r e R e v. I m m u n o l. 7:329-339, 2007; B o y t o n a n d A l t m a n n, C l i n. E x p. I m m u n o l. 149:1-8, 2007を参照のこと）。この目的のため

10

20

30

40

50

めに、ヌクレオチドプローブを通常通り使用して、目的とする特定の疾患に関連する遺伝子マーカーを有する個人を特定することができる。さらに、特定の障害のマーカーを特定するのに有用な多種多様な免疫学的方法が当該技術分野で知られている。例えば、特定の腫瘍に関連する抗原を検出するためにモノクローナル抗体プローブを使用する様々なE L I S A免疫測定法が利用可能であり、当該技術分野でよく知られている。スクリーニングは、既知の患者の症状、年齢ファクタ、関連するリスクファクタなどによって示されるように実施することができる。これらの方法によって、臨床医は治療のために本明細書に記載された方法を必要とする患者を通常の方法に従って選択することができる。

【0173】

投与について、本開示の医薬組成物は、(i)治療用タンパク質／ポリペプチド、及び(ii)薬学的に許容される担体、希釈剤または賦形剤を含み得る。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、(i)治療用タンパク質／ペプチド、(ii)緩衝剤、(iii)賦形剤、及び(iv)界面活性剤を含み得る。

【0174】

本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質を含む医薬組成物は、経口単位剤形、静脈内単位剤形、鼻腔内単位剤形、坐剤単位剤形、皮内単位剤形、筋肉内単位剤形、腹腔内単位剤形、皮下単位剤形、硬膜外単位剤形、舌下単位剤形及び脳内単位剤形からなる群から選択される剤形で製剤することができる。経口単位剤形は、錠剤、丸剤、ペレット剤、カプセル剤、散剤、トローチ剤、顆粒剤、液剤、懸濁剤、エマルジョン剤、シロップ剤、エリキシル剤、徐放性製剤、エアロゾル剤、及びスプレー剤からなる群から選択され得る。

【0175】

本明細書に記載のポリペプチドまたはタンパク質を含む医薬組成物は、治療上有効な量で対象に投与され得る。本開示の方法によれば、本明細書に記載されるポリペプチドまたはタンパク質は、例えば、筋肉内、皮下、静脈内、心房内、関節内、非経口、鼻内、肺内、経皮、胸腔内、髄腔内、及び経口投与ルートによる投与を含む様々な投与形態によって対象に投与することができる。予防及び治療目的のために、拮抗薬を、単一のボラス送達で、長期にわたる連続送達(例えば、連続経皮送達)を介して、または繰り返される投与プロトコル(例えば、時間単位、日単位、週単位、または月単位で)にて対象に投与することができる。

【0176】

これに関して有効投与量の決定は、典型的には、動物モデル研究それに続くヒト臨床実験に基づいて行われ、モデル対象において、対象の疾患の発生または重症度を有意に低減する有効投与量及び投与プロトコルを決定することによって導かれる。本開示の組成物の有効用量は、投与手段、標的部位、患者の生理的状态、患者がヒトであるかまたは動物であるかどうか、投与された他の薬剤、治療が予防的または治療的であるかどうか、ならびに組成物自体の特定の活性及び固体の中で所望の反応を誘発するその能力を含む、多くの異なる要因に応じて変化する。通常、患者はヒトであるが、いくつかの疾患では、患者は非ヒト哺乳動物であり得る。典型的には、投薬レジメンは、最適な治療的応答を提供するように、すなわち、安全性及び有効性を最適化するように調節される。

【0177】

また本明細書では、本開示の組成物の、がんを治療するための薬剤の製造における使用が提供される。例えば、本開示の組成物は、急性骨髄性白血病(AML)または骨髄異形成症候群(MDS)の治療に使用され得る。さらに方法が提供され、本方法は、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性ポリペプチドを含む組成物をIV注入で約0.3、約1、約3、約6、約9、約12、約18、約20、約24、約30、約36、約50、約48、約60、約75または約100 μ gの週間投与量で患者に投与することを含む。典型的には、患者は週に1回または2回、4~6週間治療される。患者は、毎週同じ用量を受けるか、または用量は、例えば、毎週、増量され得る。

【0178】

いくつかの実施形態では、投与量は毎週増加し、第1の用量は、患者が耐えると予想されるものよりも少ない。このタイプのステップアップ治療レジメンは、患者が注入関連反応またはサイトカイン放出症候群を発症するリスクを低下させる。いくつかの実施形態では、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質（例えば、TRI130またはTRI129）は、少なくとも最初の2回または最初の3回の用量について毎週、投与量を増加させるように患者に静脈内投与され得る。例えば、本開示の組成物は、次の週間治療スケジュール：1週目の用量：6 μ g；2週目の用量：9 μ g；3週目の用量：12 μ g；及び4週目の用量及び後続週目の用量：12 μ gに従ってIV注入によって投与され得る。いくつかの実施形態では、患者は、以下の週間治療スケジュール：1週目の用量：6 μ g；2週目の用量：9 μ g；3週目の用量：12 μ g；及び4週目の用量及び後続週目の用量：18 μ gに従って本開示の組成物を静脈内投与され得る。いくつかの実施形態では、組成物は、週間治療スケジュール：1週目の用量：6 μ g、及び2週目及びその後続週の用量：9 μ gに従って患者に静脈内投与され、いくつかの実施形態では、組成物は、週間治療スケジュール：1週目の用量：9 μ g及び2週目及びその後続週の用量：12 μ gに従って患者に静脈内投与される。他の実施形態では、組成物は、週間治療スケジュール：1週目の用量：12 μ g、及び2週目及びその後続週の用量：18 μ gに従って患者に静脈内投与される。

10

【0179】

いくつかの実施形態では、患者は、以下の週間治療スケジュール：1週目の用量：6 μ g；2週目の用量：9 μ g；3週目の用量：12 μ g；及び4週目の用量及び後続週目の用量：12 μ gに従って本開示の組成物を静脈内投与され得る。いくつかの実施形態では、患者は、以下の週間治療スケジュール：1週目の用量：6 μ g；2週目の用量：9 μ g；3週目の用量：12 μ g；及び4週目の用量及び後続週目の用量：18 μ gに従って本開示の組成物を静脈内投与され得る。いくつかの実施形態では、患者は、以下の週間治療スケジュール：1週目の用量：6 μ g；2週目の用量：12 μ g；3週目の用量：12 μ g；及び4週目の用量及び後続週目の用量：12 μ gに従って本開示の組成物を静脈内投与され得る。いくつかの実施形態では、患者は、以下の週間治療スケジュール：1週目の用量：6 μ g；2週目の用量：12 μ g；3週目の用量：18 μ g；及び4週目の用量及び後続週目の用量：24 μ gに従って本開示の組成物を静脈内投与され得る。いくつかの実施形態では、患者は、以下の週間治療スケジュール：1週目の用量：6 μ g；2週目の用量：12 μ g；3週目の用量：18 μ g；及び4週目の用量及び後続週目の用量：36 μ gに従って本開示の組成物を静脈内投与され得る。いくつかの実施形態では、患者は、以下の週間治療スケジュール：1週目の用量：6 μ g；2週目の用量：12 μ g；3週目の用量：18 μ g；及び4週目の用量及び後続週目の用量：48 μ gに従って本開示の組成物を静脈内投与され得る。いくつかの実施形態では、患者は、以下の週間治療スケジュール：1週目の用量：6 μ g；2週目の用量：12 μ g；3週目の用量：18 μ g；及び4週目の用量及び後続週目の用量：60 μ gに従って本開示の組成物を静脈内投与され得る。

20

30

【0180】

いくつかの実施形態では、患者は、以下の治療スケジュール：1日目：6 μ g；2日目：9 μ g；3日目：12 μ g；4日目：18 μ g；8日目：18 μ g；11日目：18 μ g；15日目：36 μ g；22日目：36 μ g；それに続く36 μ gの週間投与スケジュールに従って、本開示の組成物を静脈内投与することができる。

40

【0181】

いくつかの実施形態では、患者は、以下の治療スケジュール：1日目：6 μ g；2日目：12 μ g；3日目：18 μ g；4日目：24 μ g；8日目：24 μ g；11日目：24 μ g；15日目：48 μ g；22日目：48 μ g；それに続く48 μ gの週間投与スケジュールに従って、本開示の組成物を静脈内投与することができる。

【0182】

いくつかの実施形態では、患者は、以下の治療スケジュール：1日目：6 μ g；2日目

50

：12 μg ；3日目：24 μg ；4日目：36 μg ；8日目：36 μg ；11日目：36 μg ；15日目：60 μg ；22日目：60 μg ；それに続く60 μg の週間投与スケジュールに従って、本開示の組成物を静脈内投与することができる。

【0183】

いくつかの実施形態では、患者は、以下の治療スケジュール：1日目：6 μg ；2日目：12 μg ；3日目：24 μg ；4日目：36 μg ；8日目：48 μg ；11日目：48 μg ；15日目：100 μg ；22日目：100 μg ；それに続く100 μg の週間投与スケジュールに従って、本開示の組成物を静脈内投与することができる。

【0184】

いくつかの実施形態では、治療を必要とする患者を治療するための方法は、1、8、15及び22日目にCD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質を含む組成物を患者に投与することを含む。いくつかの実施形態では、6 μg が1日目に投与され、9 μg が8日目に投与され、12 μg が15日目に投与され、12 μg が22日目に投与される。いくつかの実施形態では、6 μg が1日目に投与され、9 μg が8日目に投与され、12 μg が15日目に投与され、18 μg が22日目に投与される。いくつかの実施形態では、6 μg が1日目に投与され、9 μg が8日目に投与され、9 μg が15日目に投与され、9 μg が22日目に投与される。いくつかの実施形態では、9 μg が1日目に投与され、12 μg が8日目に投与され、12 μg が15日目に投与され、12 μg が22日目に投与される。いくつかの実施形態では、12 μg が1日目に投与され、18 μg が8日目に投与され、18 μg が15日目に投与され、18 μg が22日目に投与される。

【0185】

いくつかの実施形態では、本開示の方法に従って治療された患者は、骨髄芽球百分率の減少を示し、いくつかの実施形態では、患者は血液中の絶対芽球数の減少を示す。いくつかの実施形態では、治療は、治療直前の患者のレベルと比較して、少なくとも0.5%、少なくとも1%、少なくとも2%、少なくとも3%、少なくとも4%、少なくとも5%、少なくとも6%、少なくとも7%、少なくとも8%、少なくとも9%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%またはそれ以上の患者の芽球レベルの減少をもたらす。

【0186】

いくつかの実施形態では、本開示の方法に従って処置された患者は、完全奏効（CR）を示す。本明細書で使用される場合、完全奏効とは、骨髄芽球が約5%未満に減少すること、循環芽球及びアウエル小体を有する芽球の不在、骨髄外疾患の不在、及び絶対好中球数（ANC） $\geq 1.0 \times 10^9 / \text{L}$ （1,000/ μL ）及びPLT $\geq 100 \times 10^9 / \text{L}$ （100,000/ μL ）であることを指す。いくつかの実施形態では、本開示の方法に従って治療された患者は、最小残存疾患を伴わないCR（CR_{MRD}）を示す。本明細書で使用する場合、CR_{MRD}とは、定量的な逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-qPCR）による遺伝子マーカーに対して陰性であるCRを指すか、またはマルチパラメータフローサイトメトリーにより陰性であるCRを指す。いくつかの実施形態では、本開示の方法に従って治療された患者は、不完全な血液学的回復を伴うCR（CR_i）を示す。CR_iは、残存好中球減少（ANC $< 1.0 \times 10^9 / \text{L}$ [1,000/ μL]）または血小板減少（PLT $< 100 \times 10^9 / \text{L}$ [100,000/ μL]）を除く、上記のCRのすべての基準を含む。

【0187】

いくつかの実施形態では、本開示の方法に従って治療された患者は、形態学的無白血病状態（MLFS）を示す。本明細書で使用する場合、MLFSは、5%未満の骨髄芽球を指し（すなわち、骨髄は単に「再生不良性」であってはならず、少なくとも200個の細胞が数え上げられるべきであるか、または細胞充実度が少なくとも10%であるべきである）、アウエル小体を有する芽球が存在しないこと、及び髄外疾患が存在しないことを指

す。血液学的回復は要求されない。

【0188】

いくつかの実施形態では、本開示の方法に従って治療された患者は、部分寛解（PR）を示す。本明細書で使用する場合、PRは、上記のCRのすべての血液学的基準を含み、さらに骨髓芽球百分率を5～25%に低減し、治療前の骨髓芽球百分率を少なくとも50%低減する。

【0189】

いくつかの実施形態では、本開示の方法に従って治療された患者は、不変（SD）を示すが、これは、CRMRD、CR、CR_i、PR、及びMLFSが存在しないが、進行性疾患（すなわち、骨髓芽球率の増加及び／または血液中の絶対芽球数の増加）を伴わないことを特徴とする。

【0190】

CD123×CD3を標的とする多重特異性ポリペプチド（例えば、TRI130またはTRI129）により毎週同じ投与量でまたはステップアップ治療レジメンで治療された患者は、注入反応またはサイトカイン放出症候群の可能性をさらに減少させるように注入時間（すなわち、注入の長さ）を変更することもできる。有害事象のリスクを低減するために、第1の用量は、数時間、例えば、20～24時間にわたって患者にIVで投与される。いくつかの実施形態では、組成物の第1の用量は、約20～24時間の期間にわたって投与され、第2の用量は、約8時間の期間にわたって投与され、第3の用量は、約6時間の期間にわたって投与され、第4の用量及び後続の用量は、約4時間の期間にわたって投与される。いくつかの実施形態では、組成物の第1の用量は、約20～24時間の期間にわたって投与され、第2の用量は、約8時間の期間にわたって投与され、第3の用量は、約6時間の期間にわたって投与され、第4の用量及びその後の用量は、約4時間の期間にわたって投与され、第1、第2、第3、及び第4の用量は同じである。組成物は、持続IV注入、例えば、最大約72時間の持続IV注入により対象に投与することもできる。

【0191】

CD123×CD3を標的とする多重特異性ポリペプチド（例えば、TRI130またはTRI129）で治療した患者は、1種以上の追加の治療薬で治療することもできる。1種以上の追加の治療薬は、CD123×CD3を標的とする多重特異性ポリペプチドと同じ時間またはそれに近い時間に投与することができる。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の治療薬は、多重特異性ポリペプチドの投与前に（すなわち「前投薬」として）、例えばそれを投与する約1～3時間前に投与される。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の治療薬は、多重特異性ポリペプチドの1つ以上の用量の投与後に投与される。

【0192】

いくつかの実施形態では、1つ以上のさらなる治療薬は、ジフェンヒドラミン、アセトアミノフェン、及び／またはデキサメタゾンである。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の治療薬は、静脈内または経口投与され得る。いくつかの実施形態では、デキサメタゾンは、約10～20mgの用量で投与され得る。いくつかの実施形態では、メチルプレドニゾロンは、約1mg/kgの用量で投与され得る。いくつかの実施形態では、アセトアミノフェンは、約650mgまたは約1,000mgの用量で投与され得る。いくつかの実施形態では、アセトアミノフェンは、1日3回で1日投与され得、第1の用量は、CD123×CD3を標的とする多重特異性ポリペプチドを投与する1～3時間前に投与される。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の治療薬は、ジフェンヒドラミンなどの抗ヒスタミン剤を含み得る。ジフェンヒドラミンは、約50mgの用量で投与され得る。いくつかの実施形態では、1つ以上の治療薬は、アロプリノールを含み得る。いくつかの実施形態では、アロプリノールは、CD123×CD3を標的とする多重特異性ポリペプチドを投与する少なくとも2日前に投与される。いくつかの実施形態では、1つ以上の追加の治療薬は、トシリズマブを含み得る。

【0193】

いくつかの実施形態では、治療を必要とする患者におけるCD123の過剰発現によって特徴付けられる障害を治療する方法は、本明細書に記載の用量またはレジメンのいずれかでCD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む組換えポリペプチド（例えば、TRI130またはTRI129）を含む医薬組成物の有効量を患者に投与することを含む。いくつかの実施形態では、治療を必要とする患者におけるCD123の過剰発現によって特徴付けられる障害を治療する方法は、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む組換えポリペプチド（例えば、TRI130またはTRI129）を含む医薬組成物の有効量を患者に投与することを含み、医薬組成物を投与することは、（a）換えポリペプチドのCD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む二重親和性再標的化抗体の投与、または（b）組換えポリペプチドのCD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む二重特異性T細胞エンゲージャー分子の投与と比較して、対象において誘導されるサイトカインのレベルが低下する。いくつかの実施形態では、障害は、AMLまたはMDSなどのがんである。いくつかの実施形態では、対象は、異なるCD123結合分子で以前に治療しており、対象は、以前の治療後に有害事象を経験している。いくつかの実施形態では、有害事象は、過剰なサイトカイン放出である。いくつかの実施形態では、サイトカインレベルは、IFN- γ 、TNF- α 、IL-6、IL-2、IL-8、IL-10、IL-17、GM-CSF、IL-4、IL-12、IL-13もしくはIL-1 β またはそれらの任意の組み合わせのレベルである。いくつかの実施形態では、サイトカインレベルは、IFN- γ 、IL-2、TNF- α 及びIL-10のレベルである。いくつかの実施形態では、サイトカインレベルは、インビトロ活性化T細胞アッセイにおいて測定される。

10

20

【0194】

本明細書に記載のタンパク質及びポリペプチドを含む医薬組成物は、本明細書に記載の医薬組成物を含む容器を含むキットとして供給され得る。医薬組成物は、例えば、単回投与または複数回投与のための注射可能な溶液の形態で、または注射前に再構成される滅菌粉末として提供され得る。このようなキットはさらに、医薬組成物の効能及び使用に関して記載された情報を含み得る。いくつかの実施形態では、キットは、医薬組成物及びIV安定化溶液（0.1Mのコハク酸緩衝剤、及び0.08質量／体積％のポリソルベート80、pH6.0、または多重特異性ポリペプチドがプラスチックチューブ及びバッグに付着する可能性を防止または低減するように設計された同様の溶液）を含む。

30

【0195】

併用療法

本明細書では、併用療法も提供される。本明細書で使用される場合、「併用療法」という用語は、治療効果を達成するために、第1の治療薬及び第2の治療薬を同時にまたは逐次に投与することを指す。例えば、いくつかの実施形態では、併用療法は、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質ならびに第2の抗がん剤の投与を含む。多重特異性タンパク質は、「第1の抗がん剤」と称され得る。多重特異性タンパク質及び第2の抗がん剤は、同時にまたは逐次に投与され得、単一の組成物または別個の組成物で投与され得る。

40

【0196】

いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法は、それを必要とする対象に、i) CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質、ならびにii) 第2の抗がん剤を投与することを含む。いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法は、第3、第4、第5、第6、第7または第8の抗がん剤を投与することを含む。

【0197】

抗がん剤は、悪性またはがん性の疾患の治療に有効な任意の薬剤であり得る。抗がん剤には、モノクローナル抗体、アルキル化剤、代謝拮抗剤、及びホルモンを含む、いくつかの主要なクラスがある。いくつかの実施形態では、抗がん剤は化学療法薬である。例えば

50

、化学療法薬は、ベネトクラクス、アザシチジン、デシタピン、ダウノルビシン、シタラビン、イダルビシン、ミトキサントロン、またはエトポシドであり得る。いくつかの実施形態では、1つまたは複数の化学療法薬の組合せを対象に投与する。

【0198】

ベネトクラクスは、慢性リンパ性白血病、小リンパ球性リンパ腫、または急性骨髄性白血病の治療に典型的に使用される化学療法薬である。ベネトクラクスは高選択的BCL-2阻害剤である。BCL-2の抗アポトーシス活性を遮断し、それにより細胞死を促進する。いくつかの実施形態では、ベネトクラクスは、1日当たり約100mg～約400mg、例えば約100mg、約110mg、約120mg、約130mg、約140mg、約150mg、約160mg、約170mg、約180mg、約190mg、約200mg、約210mg、約220mg、約230mg、240mg、約250mg、約260mg、約270mg、約280mg、約290mg、約300mg、約310mg、約320mg、約330mg、約340mg、約350mg、約360mg、約370mg、約380mg、約390mg、約400mgまたはそれらの間の任意の範囲の用量で投与され得る。

10

【0199】

アザシチジンは、DNA及びRNAのヌクレオシドである、シチジンの化学類似体である。これは、(DNAの高メチル化を引き起こす)DNAメチルトランスフェラーゼを阻害することによる低用量、及びDNA及びRNAへの組み込みにより骨髄内の異常な造血細胞に対するその直接的な細胞毒性による高用量という2つの機序による抗腫瘍活性を有し、細胞死を招くと考えられている。アザシチジン及びそのデオキシ誘導体デシタピン(5-アザ-2'-デオキシシチジンとも呼ばれる)は、骨髄異形成症候群の治療にしばしば使用される。いくつかの実施形態では、アザシチジンは、約50～約100mg/m²/日、例えば約50、約55、約60、約65、約70、約75、約80、約85、約90、約95、または約100mg/m²/日の用量で投与される。いくつかの実施形態では、アザシチジンは、約75mg/m²/日の用量で投与される。

20

【0200】

デシタピンは、ヌクレオチド合成阻害剤として作用するシチジン類似体である。複製時にDNA鎖に組み込まれ、次いでDNMT1などのDNAメチルトランスフェラーゼ(DNMT)が接触してDNAに結合しメチル化を娘鎖に複製する際に、DNMTは不可逆的にデシタピンに結合し、脱離できなくなる。典型的には、骨髄異形成症候群及び急性骨髄性白血病の治療に使用される。いくつかの実施形態では、デシタピンは、約10～約30mg/m²/日の用量、例えば約10、約15、約20、約25、または約30mg/m²/日の用量で投与される。いくつかの実施形態では、デシタピンは、約20mg/m²/日の用量で投与される。

30

【0201】

ダウノマイシンとしても知られるダウノルビシンは、急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、慢性骨髄性白血病、及びカポジ肉腫の治療に使用される化学療法薬である。典型的には静脈内投与される。ダウノルビシンはDNAにインターカレートし、高分子生合成を阻害してトポイソメラーゼIIの機能を遮断する。さらに、ダウノルビシンは、複製のためにDNA鎖を切断した後のトポイソメラーゼII複合体を安定化させ、DNA二重らせん体の再封を防ぎ、それにより複製プロセスを停止させる。いくつかの実施形態では、ダウノルビシンは、約30～90mg/m²、例えば約30、約35、約40、約50、約55、約60、約65、約70、約75、約80、約85、または約90mg/m²の用量で投与される。いくつかの実施形態では、ダウノルビシンは、約60mg/m²の用量で投与される。

40

【0202】

シトシンアラビノシド(Ara-C)としても知られるシタラビンは、典型的には急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、及び非ホジキンリンパ腫を含む様々な形態の白血病及びリンパ腫の治療に使用される化学療法薬である。静脈内、皮下、

50

または髄液中に投与され得る。シタラピンは代謝拮抗薬であり、DNAポリメラーゼの機能を阻害することによって作用する。いくつかの実施形態では、シタラピンは、約2～約3 g/m²体表面積の用量で投与され得る（高用量シタラピン、またはHIDAC）。いくつかの実施形態では、シタラピンは、約1 g/m²体表面積の用量で投与され得る（中間用量シタラピン、またはIDAC）。いくつかの実施形態では、シタラピンは、1.5 g/m²体表面積の用量で投与され得る。いくつかの実施形態では、シタラピンは、約100 mg～約400 mg/m²体表面積の用量で投与され得る。

【0203】

イダルビシン（4-デメトキシダノルビシンとも呼ばれる）は、DNAに入り込み、酵素トポイソメラーゼIIに干渉することによってDNAの巻戻しを阻止する化学療法薬である。ダノルビシンの類似体であるが、メトキシ基が存在しないため、その脂溶性及び細胞取り込みが増加している。これはクロマチンからのヒストン排出も引き起こす。急性リンパ芽球性白血病及び慢性骨髄性白血病の治療に使用される。いくつかの実施形態では、イダルビシンは、1日当たり約1～約20 mg/m²、例えば1日当たり約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約11、約12、約13、約14、約15、約16、約17、約18、約19、または約20 mg/m²の用量で投与される。いくつかの実施形態では、イダルビシンは、1日当たり約12 mg/m²の用量で投与される。

【0204】

ミトキサントロンは、抗腫瘍活性を有するアントラセンジオン抗生物質である。ミトキサントロンはDNAにインターカレートして架橋し、それによりDNA及びRNAの複製を妨害する。この薬剤はまた、トポイソメラーゼIIに結合し、DNA鎖切断及びDNA修復の阻害をもたらす。急性白血病、リンパ腫、前立腺及び乳癌の治療に用いられるが、後期重症多発性硬化症にも使用される。いくつかの実施形態では、ミトキサントロンは、約1～約20 mg/m²/日、例えば約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約11、約12、約13、約14、約15、約16、約17、約18、約19、または約20 mg/m²/日の用量で投与される。いくつかの実施形態では、ミトキサントロンは、約6 mg/m²/日の用量で投与される。

【0205】

エトポシドは、精巣癌、肺癌、リンパ腫、白血病、神経芽腫、及び卵巣癌、ならびに血球貪食性リンパ組織球症の治療に用いられる。経口または静脈内投与され得る。エトポシドはDNA及びトポイソメラーゼII酵素と三元複合体を形成し、DNA鎖の再ライゲーションを阻止し、DNA鎖切断を引き起こす。これにより、がん細胞のDNA合成及びアポトーシスにエラーが生じる。いくつかの実施形態では、エトポシドは、約10～約100 mg/m²/日、例えば約10、約20、約30、約40、約50、約60、約70、約80、約90、または約100 mg/m²/日の用量で投与される。

【0206】

いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法は、それを必要とする対象に、本明細書に記載の多重特異性タンパク質及び1つ以上の追加の抗がん剤を投与することを含む。1つ以上の追加の抗がん剤は、ベネトクラクス、アザシチジン、デシタピン、ダウノルビシン、シタラピン、イダルビシン、ミトキサントロン、及びエトポシドから個々に選択され得る。がんは、例えば、癌腫または肉腫であり得る。いくつかの実施形態では、がんは、黒色腫、腎臓癌、膵臓癌、肺癌、腸癌、前立腺癌、乳癌、肝臓癌、脳癌、結腸癌、卵巣癌、または血液癌である。いくつかの実施形態では、がんは、急性骨髄性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、有毛細胞白血病（HCL）、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、B細胞急性リンパ芽球性白血病（ALL）、または慢性骨髄性白血病（CML）である。いくつかの実施形態では、がんは、急性骨髄性白血病（AML）である。いくつかの実施形態では、がんは、骨髄異形成症候群（MDS）である。

【0207】

いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法は、それを必要とする対象に、本

10

20

30

40

50

明細書に記載の多重特異性タンパク質、ミトキサントロン、エトポシド、及びシタラピンを投与することを含む。この化学療法薬の組み合わせは、本明細書では「MEC」とも称される。いくつかの実施形態では、ミトキサントロン、エトポシド、及びシタラピンが対象に投与され、ミトキサントロンは、約 $6 \text{ mg} / \text{m}^2$ /日の用量で投与され、エトポシドは、約 $80 \text{ mg} / \text{m}^2$ /日の用量で投与され、シタラピンは、約 $1 \text{ g} / \text{m}^2$ /日の用量で投与される。ミトキサントロン、エトポシド及びシタラピンは、同時に投与されてもよいし、逐次投与されてもよい。

【0208】

いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法は、それを必要とする対象に、本明細書に記載の多重特異性タンパク質、アザシチジン、及びベネトクラクスを投与することを含む。いくつかの実施形態では、アザシチジンは、約 $75 \text{ mg} / \text{m}^2$ /日の用量で投与され、ベネトクラクスは、約 $100 \sim 400 \text{ mg}$ /日の用量で投与される。アザシチジン及びベネトクラクスは、同時に投与されてもよいし、逐次投与されてもよい。

【0209】

いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法は、それを必要とする対象に、本明細書に記載の多重特異性タンパク質、デシタビン、及びベネトクラクスを投与することを含む。いくつかの実施形態では、デシタビンは、約 $20 \text{ mg} / \text{m}^2$ /日の用量で投与され、ベネトクラクスは、約 $100 \sim 400 \text{ mg}$ /日の用量で投与される。デシタビン及びベネトクラクスは、同時に投与されてもよいし、逐次投与されてもよい。

【0210】

いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法は、それを必要とする対象に、本明細書に記載の多重特異性タンパク質、ダウノルビシン、及びシタラピンを投与することを含む。いくつかの実施形態では、ダウノルビシンは、約 $30 \sim 90 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で投与され、シタラピンは、約 $100 \sim 200 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で投与される。ダウノルビシン及びシタラピンは、同時に投与されてもよいし、逐次投与されてもよい。

【0211】

いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法は、それを必要とする対象に、本明細書に記載の多重特異性タンパク質、イダルビシン、及びシタラピンを投与することを含む。いくつかの実施形態では、イダルビシンは、約 $12 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で投与され、シタラピンは、約 $100 \sim 200 \text{ mg} / \text{m}^2$ の用量で投与される。イダルビシン及びシタラピンは、同時に投与されてもよいし、逐次投与されてもよい。

【0212】

いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法は、それを必要とする対象に、i) CD123 結合ドメイン及び CD3 結合ドメインを含む多重特異性タンパク質、ならびに ii) 第2の抗がん剤を投与することを含み、多重特異性タンパク質は、静脈内注入により投与され、第2の抗がん剤は、静脈内注入または経口のいずれかで投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、0.3、1、3、6、9、12、18、20、24、30、36、48、50、60、75 または $100 \mu\text{g}$ の用量で IV 注入によって対象に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、週に1回または2回投与される。

【0213】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルの間に IV 注入により対象に投与され、第1の28日サイクル中、 $6 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が8日目に投与され、 $12 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が15日目に投与され、 $18 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が22日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中に IV によって対象に投与され、 $18 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が、少なくとも1回の追加の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与される。いくつかの実施形態では、シタラピンは、第1の28日サイクルの1～5日目及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～5日目に静脈内投与される。いくつかの実施形態では、シタラピンの用量は

10

20

30

40

50

約 $1 \text{ g} / \text{m}^2$ である。いくつかの実施形態では、ミトキサントロン、エトポシド、及びシタラピンは、第 1 の 28 日サイクル及び少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1 ～ 6 日目に静脈内投与される。いくつかの実施形態では、ミトキサントロンの用量は、約 $6 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ であり、エトポシドの用量は、約 $80 \text{ mg} / \text{m}^2 / \text{日}$ であり、シタラピンの用量は、約 $1 \text{ g} / \text{m}^2 / \text{日}$ である。

【0214】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第 1 の 28 日サイクルの間に IV 注入により対象に投与され、第 1 の 28 日サイクル中、 $6 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、 $12 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に IV 注入によって対象に投与され、 $18 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が、少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1、8、15 及び 22 日目に投与される。いくつかの実施形態では、ベネトクラクスは、第 1 の 28 日サイクルの 1 ～ 21 日目及び少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1 ～ 21 日目に経口投与される。いくつかの実施形態では、ベネトクラクスの用量は、約 $100 \sim 400 \text{ mg} / \text{日}$ である。いくつかの実施形態では、アザシチジンは、第 1 の 28 日サイクル及び少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1 ～ 7 日目に静脈内投与される。いくつかの実施形態では、アザシチジンの用量は、約 $75 \text{ mg} / \text{m}^2$ である。

【0215】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第 1 の 28 日サイクルの間に IV 注入により対象に投与され、第 1 の 28 日サイクル中、 $6 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が 1 日目に投与され、 $8 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が 12 日目に投与され、 $18 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、 $18 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に IV 注入によって対象に投与され、 $18 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が、1、8、15 及び 22 日目に投与される。いくつかの実施形態では、シタラピンは、第 1 の 28 日サイクルの 1 ～ 7 日目及び少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1 ～ 7 日目に静脈内投与される。いくつかの実施形態では、シタラピンの用量は、約 $100 \sim 200 \text{ mg} / \text{m}^2$ である。いくつかの実施形態では、イダルビシンは、第 1 の 28 日サイクルの 1 ～ 3 日目及び少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1 ～ 3 日目に静脈内注入により投与される。いくつかの実施形態では、イダルビシンの用量は、約 $12 \text{ mg} / \text{m}^2$ である。

【0216】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第 1 の 28 日サイクルの間に IV 注入により対象に投与され、第 1 の 28 日サイクル中、 $6 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が 1 日目に投与され、 $8 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が 12 日目に投与され、 $18 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、 $18 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に IV 注入によって対象に投与され、 $18 \mu\text{g}$ の多重特異性タンパク質が、少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1、8、15 及び 22 日目に投与される。いくつかの実施形態では、アザシチジンは、第 1 の 28 日サイクル及び少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1 ～ 14 日目に経口投与される。いくつかの実施形態では、アザシチジンの用量は、約 $300 \text{ mg} / \text{日}$ である。

【0217】

単独療法

また本明細書において、CD123 結合ドメイン及び CD3 結合ドメインを含む多重特異性タンパク質を、がんを治療するための単独療法として使用するための組成物及び方法が提供される。

【0218】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、単剤療法として、すなわち第 2 の

抗がん剤なしで対象に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、週に1回、例えば、1、3、9、12、18、24、36、48または60 μg の用量で投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質についての週間目標用量レベルは、1、3、9、12、18、24、36、48または60 μg である。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、1週間に1回、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7または0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で投与される。

【0219】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクル及び少なくとも1回のさらなる28日サイクルの間に週に2回投与される。例えば、いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日間のサイクルの間にIV注入により対象に投与され、第1の28日サイクル中、6 μg の多重特異性タンパク質が1日目に投与され、6 μg の多重特異性タンパク質が4日目に投与され、12 μg の多重特異性タンパク質が8日目に投与され、12 μg の多重特異性タンパク質が11日目に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が18日目に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が22日目に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が11日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、少なくとも1回の追加の28日サイクル、例えば1回、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、またはそれより多くの追加の28日サイクルで単独療法として対象に投与される。

【0220】

いくつかの実施形態では、がんを治療するための方法は、それを必要とする対象に、i) CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質を投与することを含む（すなわち、単独療法）。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、2つの同一のポリペプチドの二量体を含み、各ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって、またはカルボキシル末端からアミノ末端に向かって、(i) CD123結合ドメイン、(ii) ヒンジ領域、(iii) 免疫グロブリン定常領域、及び(iv) CD3結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、N末端からC末端に向かって、CD123結合ドメイン、ヒンジ領域、免疫グロブリン定常領域、及びCD3結合ドメインを含む。いくつかの実施形態では、CD123及びCD3結合ドメインは、(i) HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む免疫グロブリン重鎖可変領域(VH)、ならびに(ii) LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域(VL)を含む。いくつかの実施形態では、CD123結合ドメインは、配列番号10を含むHCDR1、配列番号11を含むHCDR2、及び配列番号12を含むHCDR3、ならびに配列番号13を含むLCDR1、配列番号14を含むLCDR2、及び配列番号15を含むLCDR3を含むscFvである。いくつかの実施形態では、CD123結合ドメインは、配列番号136と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVHと、配列番号134と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVLとを含むscFvである。いくつかの実施形態では、CD123結合ドメインはscFvであり、本scFvは、配列番号27と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインは、配列番号19を含むHCDR1、配列番号20を含むHCDR2、及び配列番号21を含むHCDR3、ならびに配列番号22を含むLCDR1、配列番号23を含むLCDR2、及び配列番号24を含むLCDR3を含むscFvである。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインは、配列番号383または387と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVHと、配列番号384と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVLとを含むscFvである。いくつかの実施形態では、CD3結合ドメインはscFvであり、本scFvは、配列番号27と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含む。いくつかの実施形態では、各ポリペプチドは、配列番号31と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同

10

20

30

40

50

一である配列を含む。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、I V 注入によって対象に投与される。

【0221】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7または0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で、I V 注入によって対象に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、0.3、1、3、6、9、12、18、20、24、30、36、48、50、60、75または100 μg の用量でI V 注入によって対象に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、週に1回投与される。

【0222】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルの間にI V 注入により対象に投与され、第1の28日サイクル中、6 μg の多重特異性タンパク質が8日目に投与され、12 μg の多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が22日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にI V 注入によって対象に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が、少なくとも1回の追加の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与される。

【0223】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルの間にI V 注入により対象に投与され、第1の28日サイクル中、6 μg の多重特異性タンパク質が15日目に投与され、12 μg の多重特異性タンパク質が22日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にI V 注入によって対象に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が、少なくとも1回の追加の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与される。

【0224】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルの間にI V 注入により対象に投与され、第1の28日サイクル中、6 μg の多重特異性タンパク質が1日目に投与され、8 μg の多重特異性タンパク質が12日目に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が22日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にI V 注入によって対象に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が、1、8、15及び22日目に投与される。

【0225】

いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルの間にI V 注入により対象に投与され、第1の28日サイクル中、6 μg の多重特異性タンパク質が1日目に投与され、8 μg の多重特異性タンパク質が12日目に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が22日目に投与される。いくつかの実施形態では、多重特異性タンパク質は、第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にI V 注入によって対象に投与され、18 μg の多重特異性タンパク質が、少なくとも1回の追加の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与される。

【0226】

いくつかの実施形態では、がんは、癌腫または肉腫である。いくつかの実施形態では、がんは、黒色腫、腎臓癌、膵臓癌、肺癌、腸癌、前立腺癌、乳癌、肝臓癌、脳癌、結腸癌、卵巣癌、または血液癌である。いくつかの実施形態では、がんは、急性骨髄性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、有毛細胞白血病（HCL）、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、B細胞急性リンパ芽球性白血病（ALL）、または慢性骨髄性白血病（CML）である。いくつかの実施形態では、がんは、急性骨髄性白血病（AML）である。いくつかの実施形態では、がんは、骨髄異形成症候群（MDS）である。

10

20

30

40

50

【0227】

番号付けされた実施形態

添付の特許請求の範囲にかかわらず、本開示は、以下の番号の実施形態を記載している。

【0228】

1. がんを治療するための方法であって、前記方法は、それを必要とする対象に、i) CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質、ならびにii) 第2の抗がん剤を投与することを含む、前記方法。

【0229】

2. 前記方法が、前記対象に第3の抗がん剤を投与することをさらに含む、実施形態1に記載の方法。 10

【0230】

3. 前記第2の抗がん剤が、化学療法薬である、実施形態1または2に記載の方法。

【0231】

4. 前記化学療法薬が、ベネトクラクス、アザシチジン、デシタビン、ダウノルビシン、シタラビン、イダルビシン、ミトキサントロン、またはエトポシドである、実施形態3に記載の方法。

【0232】

5. 前記第2の抗がん剤が、シタラビンである、実施形態1に記載の方法。

【0233】

6. 前記シタラビンが、約 1 g/m^2 の用量で投与される、実施形態5に記載の方法。 20

【0234】

7. 前記第2の抗がん剤がミトキサントロンであり、前記第3の抗がん剤がエトポシドであり、前記方法が、シタラビンである第4の抗がん剤を投与することをさらに含む、実施形態2に記載の方法。

【0235】

8. 前記ミトキサントロンが、約 $6\text{ mg/m}^2/\text{日}$ の用量で投与され、前記エトポシドが、約 $80\text{ mg/m}^2/\text{日}$ の用量で投与され、前記シタラビンが、約 $1\text{ g/m}^2/\text{日}$ の用量で投与される、実施形態7に記載の方法。

【0236】

9. 前記第2の抗がん剤が、ベネトクラクスである、実施形態1に記載の方法。 30

【0237】

10. 前記ベネトクラクスが、1日あたりに約 $100\sim 400\text{ mg}$ の用量で投与される、実施形態9に記載の方法。

【0238】

11. 前記第2の抗がん剤が、アザシチジンである、実施形態1に記載の方法。

【0239】

12. 前記アザシチジンが、約 $75\text{ mg/m}^2/\text{日}$ の用量で投与される、実施形態11に記載の方法。

【0240】

13. 前記第2の抗がん剤が、アザシチジンであり、前記第3の抗がん剤が、ベネトクラクスである、実施形態2に記載の方法。 40

【0241】

14. 前記アザシチジンが、約 $75\text{ mg/m}^2/\text{日}$ の用量で投与され、前記ベネトクラクスが、約 $100\sim 400\text{ mg/m}^2/\text{日}$ の用量で投与される、実施形態13に記載の方法。

【0242】

15. 前記第2の抗がん剤が、デシタビンである、実施形態1に記載の方法。

【0243】

16. 前記デシタビンが、約 $20\text{ mg/m}^2/\text{日}$ の用量で投与される、実施形態15に記載の方法。 50

【0244】

17. 前記第2の抗がん剤が、デシタピンであり、前記第3の抗がん剤が、ベネトクラクスである、実施形態2に記載の方法。

【0245】

18. 前記デシタピンが、約 20 mg/m^2 /日の用量で投与され、前記ベネトクラクスが、約 $100\sim400\text{ mg/日}$ の用量で投与される、実施形態17に記載の方法。

【0246】

19. 前記第2の抗がん剤が、ダウノルビンであり、前記第3の抗がん剤が、シタラビンである、実施形態2に記載の方法。

【0247】

20. 前記ダウノルビンが、約 $30\sim90\text{ mg/m}^2$ の用量で投与され、前記シタラビンが、約 $100\sim200\text{ mg/m}^2$ の用量で投与される、実施形態19に記載の方法。

10

【0248】

21. 前記抗がん剤が、イダルビンである、実施形態1に記載の方法。

【0249】

22. 前記イダルビンが、約 12 mg/m^2 の用量で投与される、実施形態21に記載の方法。

【0250】

23. 前記第2の抗がん剤が、イダルビンであり、前記第3の抗がん剤が、シタラビンである、実施形態2に記載の方法。

20

【0251】

24. 前記イダルビンが、約 12 mg/m^2 の用量で投与され、前記シタラビンが、約 $100\sim200\text{ mg/m}^2$ の用量で投与される、実施形態23に記載の方法。

【0252】

25. 前記第2の抗がん剤が、アザシチジンである、実施形態1に記載の方法。

【0253】

26. 前記アザシチジンが、約 75 mg/m^2 /日の用量で投与される、実施形態11に記載の方法。

【0254】

27. 前記多重特異性タンパク質が、2つの同一のポリペプチドの二量体を含み、各ポリペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって、またはカルボキシル末端からアミノ末端に向かって、(i) CD123結合ドメイン、(ii) ヒンジ領域、(iii) 免疫グロブリン定常領域、及び(iv) CD3結合ドメインを含む、実施形態1～26のいずれか1つに記載の方法。

30

【0255】

28. 前記ポリペプチドが、N末端からC末端に向かって、前記CD123結合ドメイン、前記ヒンジ領域、前記免疫グロブリン定常領域、及び前記CD3結合ドメインを含む、実施形態27に記載の方法。

【0256】

29. 前記CD123及び前記CD3結合ドメインの少なくとも1つが、(i) HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む免疫グロブリン重鎖可変領域(VH)、ならびに(ii) LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域(VL)を含む、実施形態28に記載の方法。

40

【0257】

30. 前記CD123結合ドメインが、配列番号10を含むHCDR1、配列番号11を含むHCDR2、及び配列番号12を含むHCDR3、ならびに配列番号13を含むLCDR1、配列番号14を含むLCDR2、及び配列番号15を含むLCDR3を含むscFvである、実施形態29に記載の方法。

【0258】

50

31. 前記CD123結合ドメインが、配列番号136と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVHと、配列番号134と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVLとを含むscFvである、実施形態29に記載の方法。

【0259】

32. 前記CD123結合ドメインがscFvであり、前記scFvは、配列番号27と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含む、実施形態29に記載の方法。

【0260】

33. 前記CD3結合ドメインが、配列番号19を含むHCDR1、配列番号20を含むHCDR2、及び配列番号21を含むHCDR3、ならびに配列番号22を含むLCDR1、配列番号23を含むLCDR2、及び配列番号24を含むLCDR3を含むscFvである、実施形態29～32のいずれか1つに記載の方法。

10

【0261】

34. 前記CD3結合ドメインが、配列番号383または387と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVHと、配列番号384と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVLとを含むscFvである、実施形態29～32のいずれか1つに記載の方法。

【0262】

35. 前記CD3結合ドメインが、配列番号27と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むscFvである、実施形態29～32のいずれか1つに記載の方法。

20

【0263】

36. 各ポリペプチドが、配列番号31と少なくとも90%、少なくとも95%または100%同一である配列を含む、実施形態29に記載の方法。

【0264】

37. 前記多重特異性タンパク質が、IV注入によって前記対象に投与される、実施形態1～36のいずれか1つに記載の方法。

【0265】

38. 前記第2の抗がん剤が、経口的にまたはIV注入によって前記対象に投与される、実施形態1～37のいずれか1つに記載の方法。

30

【0266】

39. 前記多重特異性タンパク質が、0.3、1、3、6、9、12、18、20、24、30、36、48、50、60、75または100µgの用量でIV注入によって前記対象に投与される、実施形態1～38のいずれか1つに記載の方法。

【0267】

40. 前記多重特異性タンパク質が、週1回投与される、実施形態1～39のいずれか1つに記載の方法。

【0268】

41. 前記多重特異性タンパク質が、第1の28日サイクルの間にIV注入により前記対象に投与され、前記第1の28日サイクル中、6µgの前記多重特異性タンパク質が8日目に投与され、12µgの前記多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18µgの前記多重特異性タンパク質が22日目に投与される、実施形態40に記載の方法。

40

【0269】

42. 前記多重特異性タンパク質が、前記第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にIV注入によって前記対象に投与され、18µgの前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも1回の追加の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与される、実施形態41に記載の方法。

【0270】

43. シタラビンが、前記第1の28日サイクルの1～5日目及び少なくとも1回の追

50

加の 28 日サイクルの 1～5 日目に静脈内投与される、実施形態 42 に記載の方法。

【0271】

44. 前記シタラビンの用量が、約 1 g/m^2 である、実施形態 43 に記載の方法。

【0272】

45. ミトキサントロン、エトポシド、及びシタラビンが、前記第 1 の 28 日サイクル及び少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1～6 日目に静脈内投与される、実施形態 42 に記載の方法。

【0273】

46. 前記ミトキサントロンの用量が、約 $6\text{ mg/m}^2/\text{日}$ であり、前記エトポシドの用量が、約 $80\text{ mg/m}^2/\text{日}$ であり、前記シタラビンの用量が、約 $1\text{ g/m}^2/\text{日}$ である、実施形態 45 に記載の方法。

10

【0274】

47. 前記多重特異性タンパク質が、第 1 の 28 日サイクルの間に IV 注入により前記対象に投与され、前記第 1 の 28 日サイクル中、 $6\text{ }\mu\text{g}$ の前記多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、 $12\text{ }\mu\text{g}$ の前記多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される、実施形態 40 に記載の方法。

【0275】

48. 前記多重特異性タンパク質が、前記第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に IV 注入によって前記対象に投与され、 $18\text{ }\mu\text{g}$ の前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1、8、15 及び 22 日目に投与される、実施形態 47 に記載の方法。

20

【0276】

49. ベネトクラクスが、前記第 1 の 28 日サイクルの 1～21 日目及び少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1～21 日目に経口投与される、実施形態 48 に記載の方法。

【0277】

50. 前記ベネトクラクスの用量が、約 $100\sim400\text{ mg/日}$ である、実施形態 49 に記載の方法。

【0278】

51. アザシチジンが、前記第 1 の 28 日サイクル及び少なくとも 1 回のさらなる 28 日サイクルの 1～7 日目に静脈内投与される、実施形態 48～50 のいずれか 1 つに記載の方法。

30

【0279】

52. 前記アザシチジンの用量が、約 75 mg/m^2 である、実施形態 51 に記載の方法。

【0280】

53. 前記多重特異性タンパク質が、第 1 の 28 日サイクルの間に IV 注入によって前記対象に投与され、前記第 1 の 28 日サイクル中、 $6\text{ }\mu\text{g}$ の前記多重特異性タンパク質が 1 日目に投与され、 $8\text{ }\mu\text{g}$ の前記多重特異性タンパク質が 12 日目に投与され、 $18\text{ }\mu\text{g}$ の前記多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、 $18\text{ }\mu\text{g}$ の前記多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される、実施形態 40 に記載の方法。

40

【0281】

54. 前記多重特異性タンパク質が、前記第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に IV 注入によって前記対象に投与され、 $18\text{ }\mu\text{g}$ の前記多重特異性タンパク質が、1、8、15 及び 22 日目に投与される、実施形態 53 に記載の方法。

【0282】

55. シタラビンが、前記第 1 の 28 日サイクルの 1～7 日目及び少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1～7 日目に静脈内投与される、実施形態 54 に記載の方法。

【0283】

50

56. 前記シタラビンの用量が、約100～約200mg/m²である、実施形態55に記載の方法。

【0284】

57. イダルビシンが、前記第1の28日サイクルの1～3日目及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～3日目に静脈内注入により投与される、実施形態53～56のいずれか1つに記載の方法。

【0285】

58. 前記イダルビシンの用量が、約12mg/m²である、実施形態57に記載の方法。

【0286】

59. 前記多重特異性タンパク質が、第1の28日サイクルの間にIV注入によって前記対象に投与され、前記第1の28日サイクル中、6μgの前記多重特異性タンパク質が1日目に投与され、8μgの前記多重特異性タンパク質が12日目に投与され、18μgの前記多重特異性タンパク質が15日目に投与され、18μgの前記多重特異性タンパク質が22日目に投与される、実施形態40に記載の方法。

【0287】

60. 前記多重特異性タンパク質が、前記第1の28日サイクルに続く少なくとも1回の追加の28日サイクル中にIV注入によって前記対象に投与され、18μgの前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも1回の追加の28日サイクルの1、8、15及び22日目に投与される、実施形態59に記載の方法。

【0288】

61. アザシチジンが、前記第1の28日サイクル及び少なくとも1回の追加の28日サイクルの1～14日目に経口投与される、実施形態60に記載の方法。

【0289】

62. 前記アザシチジンの用量が、約300mg/日である、実施形態61に記載の方法。

【0290】

63. 前記がんが、癌腫または肉腫である、実施形態1～62のいずれか1つに記載の方法。

【0291】

64. 前記がんが、黒色腫、腎臓癌、膵臓癌、肺癌、腸癌、前立腺癌、乳癌、肝臓癌、脳癌、結腸癌、卵巣癌、または血液癌である、実施形態1～62のいずれか1つに記載の方法。

【0292】

65. 前記がんが、急性骨髄性白血病(AML)、骨髄異形成症候群(MDS)、有毛細胞白血病(HCL)、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、B細胞急性リンパ芽球性白血病(ALL)、または慢性骨髄性白血病(CML)である、実施形態1～62のいずれか1つに記載の方法。

【0293】

66. 前記がんが、急性骨髄性白血病(AML)である、実施形態1～62のいずれか1つに記載の方法。

【0294】

67. 前記がんが、骨髄異形成症候群(MDS)である、実施形態1～62のいずれか1つに記載の方法。

【0295】

68. がんを治療するための方法であって、前記方法は、それを必要とする対象に、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質を投与することを含む、前記方法。

【0296】

69. 前記多重特異性タンパク質が、2つの同一のポリペプチドの二量体を含み、各ポ

10

20

30

40

50

リペプチドは、アミノ末端からカルボキシル末端に向かって、またはカルボキシル末端からアミノ末端に向かって、(i) CD123結合ドメイン、(ii) ヒンジ領域、(iii) 免疫グロブリン定常領域、及び(iv) CD3結合ドメインを含む、実施形態68に記載の方法。

【0297】

70. 前記ポリペプチドが、N末端からC末端に向かって、前記CD123結合ドメイン、前記ヒンジ領域、前記免疫グロブリン定常領域、及び前記CD3結合ドメインを含む、実施形態69に記載の方法。

【0298】

71. 前記CD123及び前記CD3結合ドメインの少なくとも1つが、(i) HCDR1、HCDR2及びHCDR3を含む免疫グロブリン重鎖可変領域(VH)、ならびに(ii) LCDR1、LCDR2及びLCDR3を含む免疫グロブリン軽鎖可変領域(VL)を含む、実施形態69に記載の方法。

10

【0299】

72. 前記CD123結合ドメインが、配列番号10を含むHCDR1、配列番号11を含むHCDR2、及び配列番号12を含むHCDR3、ならびに配列番号13を含むLCDR1、配列番号14を含むLCDR2、及び配列番号15を含むLCDR3を含むscFvである、実施形態69に記載の方法。

【0300】

73. 前記CD123結合ドメインが、配列番号136と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVHと、配列番号134と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVLとを含むscFvである、実施形態69に記載の方法。

20

【0301】

74. 前記CD123結合ドメインがscFvであり、前記scFvは、配列番号27と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含む、実施形態69に記載の方法。

【0302】

75. 前記CD3結合ドメインが、配列番号19を含むHCDR1、配列番号20を含むHCDR2、及び配列番号21を含むHCDR3、ならびに配列番号22を含むLCDR1、配列番号23を含むLCDR2、及び配列番号24を含むLCDR3を含むscFvである、実施形態69～74のいずれか1つに記載の方法。

30

【0303】

76. 前記CD3結合ドメインが、配列番号383または387と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVHと、配列番号384と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むVLとを含むscFvである、実施形態69～74のいずれか1つに記載の方法。

【0304】

77. 前記CD3結合ドメインが、配列番号27と少なくとも90%、少なくとも95%、または100%同一である配列を含むscFvである、実施形態69～74のいずれか1つに記載の方法。

40

【0305】

78. 各ポリペプチドが、配列番号31と少なくとも90%、少なくとも95%または100%同一である配列を含む、実施形態69に記載の方法。

【0306】

79. 前記多重特異性タンパク質が、IV注入によって前記対象に投与される、実施形態68～78のいずれか1つに記載の方法。

【0307】

80. 前記多重特異性タンパク質が、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7または0.8 µg/kgの用量で、IV注入によって前記対象に投与される、

50

実施形態 68～79 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0308】

81. 前記多重特異性タンパク質が、0.3、1、3、6、9、12、18、20、24、30、36、48、50、60、75 または 100 μg の用量で IV 注入によって前記対象に投与される、実施形態 68～79 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0309】

82. 前記多重特異性タンパク質が、週 1 回投与される、実施形態 68～81 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0310】

83. 前記多重特異性タンパク質が、第 1 の 28 日サイクルの間に IV 注入により前記対象に投与され、前記第 1 の 28 日サイクル中、6 μg の前記多重特異性タンパク質が 8 日目に投与され、12 μg の前記多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される、実施形態 82 に記載の方法。

【0311】

84. 前記多重特異性タンパク質が、前記第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に IV 注入によって前記対象に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1、8、15 及び 22 日目に投与される、実施形態 83 に記載の方法。

【0312】

85. 前記多重特異性タンパク質が、第 1 の 28 日サイクルの間に IV 注入により前記対象に投与され、前記第 1 の 28 日サイクル中、6 μg の前記多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、12 μg の前記多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される、実施形態 82 に記載の方法。

【0313】

86. 前記多重特異性タンパク質が、前記第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に IV 注入によって前記対象に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1、8、15 及び 22 日目に投与される、実施形態 85 に記載の方法。

【0314】

87. 前記多重特異性タンパク質が、第 1 の 28 日サイクルの間に IV 注入によって前記対象に投与され、前記第 1 の 28 日サイクル中、6 μg の前記多重特異性タンパク質が 1 日目に投与され、8 μg の前記多重特異性タンパク質が 12 日目に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される、実施形態 82 に記載の方法。

【0315】

88. 前記多重特異性タンパク質が、前記第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に IV 注入によって前記対象に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が、1、8、15 及び 22 日目に投与される、実施形態 87 に記載の方法。

【0316】

89. 前記多重特異性タンパク質が、第 1 の 28 日サイクルの間に IV 注入によって前記対象に投与され、前記第 1 の 28 日サイクル中、6 μg の前記多重特異性タンパク質が 1 日目に投与され、8 μg の前記多重特異性タンパク質が 12 日目に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が 15 日目に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が 22 日目に投与される、実施形態 82 に記載の方法。

【0317】

90. 前記多重特異性タンパク質が、前記第 1 の 28 日サイクルに続く少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクル中に IV 注入によって前記対象に投与され、18 μg の前記多重特異性タンパク質が、前記少なくとも 1 回の追加の 28 日サイクルの 1、8、15 及び 22 日目に投与される、実施形態 89 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【0318】

91. 前記がんが、癌腫または肉腫である、実施形態68～90のいずれか1つに記載の方法。

【0319】

92. 前記がんが、黒色腫、腎臓癌、膵臓癌、肺癌、腸癌、前立腺癌、乳癌、肝臓癌、脳癌、結腸癌、卵巣癌、または血液癌である、実施形態68～90のいずれか1つに記載の方法。

【0320】

93. 前記がんが、急性骨髄性白血病（AML）、骨髄異形成症候群（MDS）、有毛細胞白血病（HCL）、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、B細胞急性リンパ芽球性白血病（ALL）、または慢性骨髄性白血病（CML）である、実施形態68～90のいずれか1つに記載の方法。

10

【0321】

94. 前記がんが、急性骨髄性白血病（AML）である、実施形態68～90のいずれか1つに記載の方法。

【0322】

95. 前記がんが、骨髄異形成症候群（MDS）である、実施形態68～90のいずれか1つに記載の方法。

【0323】

本開示は、以下の実施例によってさらに明確になるが、これらは本開示の単なる例示を意図しており、決して限定を意図するものではない。

20

【実施例】

【0324】

本発明は、以下の実施例を参照することにより、さらにより詳細に記載される。これらの実施例は、例示のみを目的として提供されており、別段の定めがないかぎり限定を意図していない。したがって、本発明は、以下の実施例に限定されるものと解釈されるべきではなく、むしろ、任意及び全ての変形を包含するものと解釈されるべきであり、これらの変形は本明細書で示される教示の結果として明らかになる。

【0325】

さらなる説明なしに、当業者であれば、上記の説明及び以下の例示的な実施例を用いて本発明の化合物を製造し、利用し、特許請求の範囲に記載の方法を実施することができると考えられる。したがって、以下の実施例は、本発明の好ましい実施形態を具体的に示すものであり、本開示の残りの部分を決して限定するものとして解釈されるべきではない。

30

【0326】

実施例1：TRI130に関する、無毒性量（NOAEL）及び推定最小薬理作用量（MABEL）の測定

この実施例は、CD123結合ドメイン及びCD3結合ドメインを含む多重特異性タンパク質であるTRI130について、NOAEL及びMABELを決定するために使用する実験を説明する。このデータを使用して、以下の実施例に記載される臨床試験のためのヒト投与コホートを確立した。

40

【0327】

無毒性量（NOAEL）

5週間の回復期間を伴う28日間の反復投与毒性学的試験を、非ヒト霊長類（NHP）において行った。4つの試験群の動物は、週間用量のビヒクル、または0.5、2.5、または10mg/kgのTRI130を受けた。測定したパラメータには、安全性薬理学、実験室評価、及び完全な病理組織検査を含む剖検が含まれていた。TRI130に関連する病理組織学において、臨床的な有害所見、動物重量または臓器重量の変化、及び巨視的または微視的な異常所見はなかった。最小サイトカインが投与後に検出され、これらは第1の用量と比較して第2の用量後に減少した。その分子の抗CD3結合ドメインの予想される薬力学的効果を、T細胞の一過性再分布と共に観察した。消失半減期は高用量では

50

約 73 時間であった。無毒性量 (NOAEL) は、NHP 中で $10 \text{ mg} / \text{kg}$ であり、これは、約 $3.2 \text{ mg} / \text{kg}$ のヒト等価用量 (HED) に換算される。

【0328】

推定最小薬理作用量 (MABEL)

TRI130 は、T 細胞を動員して、標的抗原 CD123 を発現する腫瘍細胞を溶解させ、最大の活性は、非常に低レベルの TCR 占有率 (データは図示せず) で生じる。推定最小薬理作用量 (MABEL) を計算するために、インビトロ受容体占有の代わりに、インビトロ活性アッセイを使用した。

【0329】

ヒト T 細胞活性化インビトロアッセイにおいて 10% 活性 (EC10) (Muller et al., 2009) を誘発するのに必要な有効濃度を用いて、MABEL を決定した。これらの T 細胞活性化アッセイにおける TRI130 の効力は、T 細胞の活性化の程度及びエフェクター対標的 (E:T) 細胞比に応じて変化し得るが、活性化アッセイは、リダイレクト T 細胞毒性 (RTCC) アッセイと比較して、MABEL の計算のためのより高感度のアッセイとなっている。RTCC 及び T 細胞の活性化の両方を、開始臨床用量について MABEL を予測するための可能なアッセイとして評価した。RTCC アッセイは、CD123 + KG1a 腫瘍細胞株での 10:1 の E:T 比で精製 T 細胞を使用し、5 人のドナー (評価されたドナー全体で $4.4 \sim 6.7 \text{ pM}$ の範囲) から評価した場合に、 5.8 pM の平均 EC10 を有していた。それに対して、T 細胞活性化アッセイは、MABEL を推定するためのより高感度のアッセイであった。インビトロで誘導された T 細胞活性化を測定するために、T 細胞を末梢血単核細胞から単離し、CD123 + 腫瘍細胞 (MOLM-13) の存在下で TRI130 と共にインキュベートした。生存する CD4+ 及び CD8+ T 細胞をゲーティングした後に、マルチカラーフローサイトメトリーを用いて 20 時間で T 細胞上の CD69 及び CD25 のアップレギュレーションをモニターした。これらのアッセイは、CD4 及び CD8 T 細胞の両方の活性化について、3 人のドナーを評価した。これらのアッセイについての平均 EC10 計算値は、CD4 T 細胞 ($0.7 \sim 1.6 \text{ pM}$ の範囲) については 1.2 pM であり、CD8 T 細胞 ($0.9 \sim 2.0 \text{ pM}$ の範囲) については 1.3 pM であった。このアッセイは、MABEL のより控えめな推定を表し、患者の開始用量を推定するために使用した。TRI130 の場合、ドナーからの CD4+ T 細胞応答に基づいて、 0.7 pM ($0.113 \text{ ng} / \text{mL}$) が MABEL に対する最も控えめなアプローチであった。

【0330】

単回投与 NHP 試験における群 4 のクリアランス及び体積の推定値を、静脈内投与 (IV) 用の WinnNonlin (v6.4) プリコンパイルされた 2 コンパートメントモデルを使用して決定した。アロメトリックスケーリングを使用してヒトクリアランス及び体積パラメーターの推定値を予測した。推定値を使用して投与戦略をシミュレートすることができ、投与戦略は、 0.7 pM の EC10 (MABEL) 値 (活性化アッセイで使われる個々のドナーから決定される最も低い EC10) を下回る C_{max} をもたらすものである。このモデリングにより、約 $0.005 \mu \text{g} / \text{kg}$ の用量は、 $0.113 \text{ ng} / \text{mL}$ (0.7 pM) の MABEL 濃度を下回る C_{max} を有するであろう。

【0331】

この試験では、体重ベースの用量の代わりに、一定用量または固定用量を使用している。いくつかの研究から、体重ベースの投与と比較して固定投与が、複数のモノクローナル抗体にわたって同様に行われ、いずれの投与レジメンによっても導入される PK の変動は、薬力学、有効性及び安全性において一般的に観察される変動と比較して、適度であることが示されている (Wang et al., 2009)。60 kg の患者及び $0.005 \mu \text{g} / \text{kg}$ の MABEL 用量を仮定すると、試験の開始量は $0.3 \mu \text{g}$ である。

【0332】

実施例 2: 患者への抗 CD123 × 抗 CD3 治療候補である TRI130 の投与

処方された TRI130 (5 mM のコハク酸、6.5% のスクロース、0.02 質量／

10

20

30

40

50

体積%のポリソルベート80、pH4.8)を、再発または難治性急性骨髄性白血病(AML)または骨髄異形成症候群(MDS)の患者の進行中の第1/1b相オープンラベルの用量漸増試験において患者に投与している。この研究は、以下の2部で実施した。第1の部は、第1b相のための推奨用量を決定するための、第1相オープンラベルの用量漸増試験である。第1b相は、推奨用量での薬剤の臨床活性及び安全性を評価するためのオープンラベル拡張試験である。試験の設計を図2に示す。評価項目には、安全性、免疫原性、薬物動態、薬力学、及び臨床活動が含まれる。

【0333】

表8は、コホート1～10を毎週(IV投与により)投薬する量を示す投薬スケジュールである(用量漸増コホート)。試験の両方の部において、患者は、疾患の進行、耐えがたい毒性、または同意の撤回が早期に生じない限り、6回の28日サイクルで、週毎の静脈内への投薬を受ける。患者が応答している場合、より長い治療の選択肢がある。

【表8】

表8：用量漸増コホート1～10

コホート	第1のIV 用量	第2のIV 用量	第3のIV 用量	≥第4のIV 用量	患者数
1	0.3 μg	0.3 μg	0.3 μg	0.3 μg	1
2	1 μg	1 μg	1 μg	1 μg	1
3	3 μg	3 μg	3 μg	3 μg	1
4	9 μg	9 μg	9 μg	9 μg	3+3
5	6 μg	9 μg	12 μg	12 μg	3+3
6	コホート6は、同時に実施された6a及び6bの2回の用量のコホートから成る				
6a	6 μg	9 μg	12 μg	18 μg	3+3
6b	6 μg	12 μg	12 μg	12 μg	3+3
7	6 μg	12 μg	18 μg	24 μg	3+3
8	6 μg	12 μg	18 μg	36 μg	3+3
9	6 μg	12 μg	18 μg	48 μg	3+3
10	6 μg	12 μg	18 μg	60 μg	3+3

【0334】

薬剤は、2mg製剤を2mg/mLの濃度で1mLの液体に入れた単回使用バイアルで供給される。製剤がIVバッグ及びIVチューブセットに付着するのを防ぐために、製剤は、IV安定化溶液と混合される。安定化溶液を無菌で供給し、0.1Mのコハク酸緩衝剤、及び0.08質量/体積%のポリソルベート80を含む10mLのバイアル中で、pH6.0で冷蔵(2～8℃)する。

【0335】

コホート1～4について、第1の用量(サイクル1、1日目)については20～24時間かけて、第2の用量(サイクル1、8日目)については8時間(±1時間)かけて、第3の用量(サイクル1、15日目)については6時間(±1時間)かけて、及びその後のすべての投与(サイクル1、22日目及びそれ以降)については4時間(±1時間)かけてIV注入により投与した。コホート5以降について、第1の用量及び増量のたびに20～24時間かけてIV注入により投与した。2回目には同じ用量が投与され、8時間(±30分)かけて、3回目は6時間(±30分)かけて、4回目及びそれ以降の回は4時間(±30分)かけて注入した。

【0336】

必要に応じて、有害事象、特に注入関連反応（IRR）またはサイトカイン放出症候群（CRS）を管理または予防するために、いずれの用量注入も遅く及び／または中断することができ、その投与時間は最大72時間延長される。注入が60時間を超えて延長される場合は、患者を注入完了後12時間観察する必要がある。表10には、（コホート5から出発して）IRR及び／またはCRSの可能性を低下させる可能性のある段階的な投与レジメンが開示されている。

【0337】

患者への投薬の頻度は、週毎で最長6カ月間である。TRI130用量の漸増を行うカニクイザル毒性学研究に基づいて、週毎の投薬スケジュールを選択した（データは図示せず）。単回投与後のTRI130の半減期は、0.25～1mg/kgで投与した個々の動物について、約25～113時間の範囲にあった。より長い半減期の推定値は、高用量群中の動物（1mg/kg）に関連していた。

10

【0338】

注入関連反応（IRR）及びサイトカイン放出症候群（CRS）を軽減するために、患者に以下の前投薬を投与した：ジフェンヒドラミン、アセトアミノフェン及びデキサメタゾン。全ての前投薬は、注入を開始する1～3時間前に投与した。試験責任医師の見解において、併存症により必要となる場合は、前投薬のいずれかの用量を減らすことができる。デキサメタゾンは、患者がそれ以前の用量でIRRまたはCRSを経験していない限り、サイクル2、15日目後は任意である。3つの前投薬の用量は、以下の通りである。

20

1. デキサメタゾン10～20mg、IV、またはメチルプレドニゾン1mg/kg、IV、もしくは同等のもの。用量は、患者の併存症に基づく試験責任医師の裁量により決定される。

2. アセトアミノフェン650mgまたは1,000mg、または同等のもの。経口（PO）で1日3回、1日間（650mgまたは1,000mgの用量は試験責任医師の裁量による）。第1の用量は、試験用薬剤注入の1～3時間前に投与される。

3. 抗ヒスタミン：ジフェンヒドラミン、50mgをPOまたはIV、または同等のもの。

腫瘍溶解予防のためにアロプリノールの投与を試験責任医師が選択した場合は、それを試験薬剤開始の少なくとも2日前には開始しなければならない。

30

【0339】

第1相－用量漸増試験

投薬は、患者コホートにおける推定最小薬理作用量（MABEL）で開始した。登録患者は、1）再発または難治性のAMLであり、集中的な化学療法もしくは同種異系幹細胞移植を拒否したか、またはそれに適格でない患者、または2）再発または難治性のMDSであり、骨髄中5%超の芽球または末梢血中に循環芽球を有し、以前の低メチル化剤（HMA）に失敗した患者であった。失敗とは、HMAに不寛容である、応答の欠如（6サイクルまでにCRなし）、またはHMAによる治療中または治療後にIWGが定義する進行性疾患であると定義される。（コホート7を通じて）進行中の第1相用量漸増試験に登録された32名の患者の人口統計学的な結果を、以下の9表に示す。コホート7を通じて登録された患者の場合、年齢の中央値は67歳であり、患者の79%がAMLに罹患していた。患者1人当たりに投与された平均投与回数は8.5であり、平均治療期間は54日であった。

40

【表 9】

表 9：人口統計及び曝露、コホート 7 を通じて登録された患者

特徴	統計	すべての患者（n = 32）
年齢	中央値（範囲）	67（18，81）
女性	N（%）	15（47%）
以前の治療経過	中央値（範囲）	3（1，13）
疾患		
MDS	N（%）	7（22%）
AML 原発性	N（%）	21（66%）
AML 療法に関連する	N（%）	4（13%）
細胞遺伝学的リスク		
好適	N（%）	3（9%）
中等	N（%）	7（22%）
不良	N（%）	6（19%）
不明	N（%）	16（50%）

10

治療曝露量の概要	32 患者平均（SD）
投与量	8.5（8.3）
治療期間（日間）	54（59）

20

【0340】

進行中の第 1 相の用量漸増試験に登録された 32 人の患者の治療関連の有害事象を下記表 10 に示す。34% の患者が 1 つ以上の IRR / CRS 事象を経験した（16% で報告されたグレード 3 以上）。最も一般的な症状は、呼吸困難、発熱、低血圧、低酸素、頻脈、及び悪寒 / 寒気であった。特に、IRR / CRS が 2 人以上の患者で発生する唯一の治療関連の重篤な有害事象であった。IRR / CRS 事象を経験した 11 人の患者のうちの 3 人がトシリズマブを受けて治療した。

30

40

50

【表 10】

表 10：治療関連の有害事象

治療関連の有害事象*	全て (N=32)	グレード3以上 (N=32)
IRR/CRS**	11 (34%)	5 (16%)
疲労	5 (16%)	1 (3%)
下痢	3 (9%)	
発熱	3 (9%)	
貧血症	2 (6%)	2 (6%)
フラッシング	2 (6%)	
低血圧症	2 (6%)	
吐き気	2 (6%)	1 (3%)
末梢性浮腫	2 (6%)	
悪寒/寒気	2 (6%)	
治療関連の重篤な有害事象		
IRR/CRS	8 (25%)	4 (13%)
*治療に関連するAE及びSAE事象が2人以上の患者で発生する		
**注入関連反応/サイトカイン放出症候群		
毒性グレードはCTCAE基準バージョン5.0に基づく		

10

20

【0341】

骨髓液中の芽球の割合を、患者について経時的に監視した。図3A～3Dに示すように、 $12\mu\text{g}$ 以上の最大用量を受けた数人の患者において骨髓芽球の減少が観察された。2人の患者はそれぞれ、29%から0%に（コホート6b、図3C）及び33%から4%に（コホート6a、図3B）骨髓芽球が減少した。好中球及び血小板の絶対数は完全奏効基準を満たした。両方の患者は研究に残り、またコホート7で芽球が減少した1人の患者も研究に残った。

【0342】

血清サイトカインは、各患者で最大用量前後の予定時点で評価し、また、注入関連反応またはサイトカイン放出症候群事象時に間隔を置いて評価した。図4A～4Dに示すように、サイトカインは、スケジュールされた採取中は上昇しなかった。IRR/CRSの有害事象の際に、サイトカイン、特にIL-6の上昇が観察された。特に、この小さなデータセットにおいては、最高サイトカイン濃度と用量レベルまたは事象等級との間に相関は観察されなかった。

【0343】

薬物動態（PK）データを、コホート6A（図6A）及び6B（図7A）の患者について分析した。コホート6Aでは、TRI130の定量化可能な濃度が、C3D1後（56日目）で1人の患者に見られた。他の全てのサンプルは、現在のアッセイフォーマット（ 2.5ng/mL ）についての定量限界（BLQ）を下回ったが、複数のサンプルはアッセイの検出可能な範囲にあった。

【0344】

コホート6A（図6B）及び6B（図7B）における患者について、抗薬物抗体レベルも決定した。コホート6Aでは、1人の患者（患者4）をスクリーニングし、陽性を確認したが、力価は低かった。また、患者はADAの事前投与に対して陽性であり、そのような抗体の力価は時間の経過とともに低下し、反応が治療に関連しないことが示された。コホート6Bにおいて、患者6は、抗TRI130抗体に対して投与後陽性を示した。この患者では、力価も低かった。特に、投与前背景は、カットオフ値を下回ったが、他の陰性個体と比較して比較的高いことから、この反応はTRI130治療に関係していない可能

30

40

50

性があることを示している。

【0345】

したがって、この予備実験では、 $24\mu\text{g}$ の用量を介したTRI130の投与は、管理可能な安全プロファイルであり、許容された。上記のように、2人の患者は完全奏効（CR）を示した。サイトカインは、IRR／CRSの併発有害事象が発生しない限り、有意に増加しなかった。予備的なデータは、治療により誘導される抗薬剤抗体（ADA）の証拠がないことを示唆していた。

【0346】

このオープンラベルの多用量上昇用量漸増相は、将来の第2相試験のためにTRI130の推奨用量レベル、具体的には、患者に安全リスクをもたらす急性で臨床的に重要なサイトカイン放出を全く生じないTRI130の用量を決定するために設計された。試験のこの段階では、TRI130は、管理可能な安全プロファイルを有し、推奨第2相の用量（「RP2D」）を確立した。さらに用量漸増試験からの薬物動態（PK）データは、最大許容用量（「MTD」）レベルを下回るRP2Dレベルでの単回薬剤としての治療が、白血病の長期の安定化を達成し、その結果、再発／難治性の2人のAML患者において部分奏効及び完全奏効（「CR」）への応答が深まったことを示した。第1相B試験の一部で経験した注入関連反応及びサイトカイン放出症候群の症例は、用量中断、デキサメタゾン及び／またはトシリズマブの投与で管理可能であった。

【0347】

第1相－追加的用量漸増コホート

コホート7について用量制限毒性（DLT）観察期間が完了した後、4つの追加の連続コホート（コホートA、B、C、及びD）に患者を登録し、一方でコホート8以上が治療される。これらのコホートは順次連続して行われ、コホート8～10とは独立しており、より迅速な用量漸増を達成する。

【0348】

コホートA、B、C、及びDにおける患者は、サイクル1の最初の4日間にわたり継続的なIV投与（20～24時間／日）を受け、次いで2週目の間は週2回、その後はサイクル1及び後続のサイクルで週1回の投与が続く。表11は、コホートA、B、C及びDのための投与スケジュールを示す。コホートAにおける第1の週の投与は、コホート6aで試験した用量を用いる（1日目は $6\mu\text{g}$ 、2日目は $9\mu\text{g}$ 、3日目は $12\mu\text{g}$ 、4日目は $18\mu\text{g}$ ）。第2の週の間、 $18\mu\text{g}$ の用量を、8日目及び11日目に投与する。3週目には、用量を $36\mu\text{g}$ に増加させ、そのレベルを維持する。第1の週の間で1日の投与量を増大させる利点は、 C_{max} を徐々に増大させることであり、これにより、IRR／CRSの発生傾向を低下させ得る。トシリズマブによる積極的な治療は、対症療法及び用量中断の2時間以内に反応しないグレード2以上のIRRまたはCRSに対して行われる。

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表 1 1 : コホート A、B、C 及び D の投薬

コホート	1 週目				2 週目		3 週目及び 4 週目	サイクル 2 以上	患者数
	1 日目	2 日目	3 日目	4 日目	8 日目	1 1 日目	1 5 日目及び 2 2 日目	1 日目、8 日目、1 5 日目及び 2 2 日目	
A	6 μ g	9 μ g	1 2 μ g	1 8 μ g	1 8 μ g	1 8 μ g	3 6 μ g	3 6 μ g	3 + 3
B	6 μ g	1 2 μ g	1 8 μ g	2 4 μ g	2 4 μ g	2 4 μ g	4 8 μ g	4 8 μ g	3 + 3
C	6 μ g	1 2 μ g	2 4 μ g	3 6 μ g	3 6 μ g	3 6 μ g	6 0 μ g	6 0 μ g	3 + 3
D	6 μ g	1 2 μ g	2 4 μ g	3 6 μ g	4 8 μ g	4 8 μ g	1 0 0 μ g	1 0 0 μ g	3 + 3

10

20

【0 3 4 9】

コホート A ～ D に対し、第 1 の用量について及び用量が増加するたびに 2 0 ～ 2 4 時間かけて I V 注入により投与を行う。2 回目には同じ用量が投与され、8 時間（ $\pm$ 3 0 分）かけて、3 回目は 6 時間（ $\pm$ 3 0 分）かけて、4 回目及びそれ以降の回は 4 時間（ $\pm$ 3 0 分）かけて注入される。

【0 3 5 0】

前投薬は、サイクル 1、1 日目、サイクル 1、8 日目、サイクル 1、1 1 日目、サイクル 1、1 5 日目、及びサイクル 1、2 2 日目の前に投与される。その後の全ての用量について、デキサメタゾン は任意であるが、アセトアミノフェン及びジフェンヒドラミンは必要である。

30

【0 3 5 1】

図 8 A ～ 8 E では、コホート A、B、C、及び C の各々に対する P K シミュレーションが提供され、これは、C m a x が時間の経過とともに徐々に増加する様子を示している。追加の P K パラメータのシミュレーションも、図 9 A、図 9 B に示されている。これらのシミュレーションは、限られた量の T M D D（標的媒介性薬物動態）を説明するために、カニクイザルにおける低用量日のモデル化に基づいている。

40

【0 3 5 2】

実施例 3 : A M L 及び M D S 患者における T R I 1 3 0 の第 1 b 相の拡張試験

T R I 1 3 0 の最大許容用量（M T D）は、実施例 2 に記載された用量漸増試験において、2 4 0 μ g / サイクルの用量レベル（第 1 0 表のコホート 1 0）に達しなかった。コホート 6 A のサブ M T D 用量レベルを、拡張相中のさらなる評価のために T R I 1 3 0 の推奨第 2 相用量（R P 2 D）レベルとして特定した。この用量レベルは、用量制限毒性（D L T）がないコホート 1 0 のサイクル 1 で投与されたものよりも 5 0 % 超低い T R I 1 3 の量（すなわち、サイクル 1 では 4 5 μ g 対 9 6 μ g）、及び 2 回目以降のサイクルではコホート 1 0 の用量レベルよりも 7 0 % 低い量（サイクル 2 ～ 4 では 7 2 μ g 対 2 4 0 μ g）となる。6 ヶ月超の長期の不変及び完全奏効がともに、拡張段階中にさらなる試験

50

のために選択されたこのサブMTD用量レベルでの単回薬剤としてのTRI130に対し、最良の全体的な応答として観察された。

【0353】

したがって、この第1b相拡張試験では、用量漸増相（実施例2）のコホート6Aで使用された用量レベルを使用して、標準治療の補助として使用する場合のRP2DレベルでのTRI130の安全性及び忍容性を評価する。TRI130の抗白血病活性を、この拡張相において、単剤療法として、ならびに標準的な化学療法薬と組み合わせて評価する。

【0354】

この研究は、合計90人の原発性AML患者を、それぞれ18人の患者の5つのコホートに登録するオープンラベルの多施設用量拡大試験である。治療群は、安全性及び有効性の評価項目を評価するように設計されている。コホート1～4では、TRI130を、サイクル1（コホート1、3、4）またはサイクル1～2（コホート2）の間に週毎にランブアップした後、 $18\mu\text{g}$ の固定用量で投与する。コホート5では、TRI130を、サイクル1の間に週毎にランブアップした後、1週間に2回、 $18\mu\text{g}$ の固定用量で投与する。これらのコホートの各々を、以下にさらに詳細に説明する。

【0355】

コホート1－化学療法とTRI130を用いた導入療法

患者は、化学療法（CHT）とTRI130との組合せで治療されることになる。CHTの場合、患者はシタラビン中間投与量（IDAC）か、またはミトキサントロン、エトポシド、及びシタラビン（MEC）の組み合わせを投与され得る。

【0356】

前回の完全奏効（CR）が12ヶ月未満または原発性難治性疾患の1回目または2回目の再発にある原発性または二次性AML患者（年齢： >18 歳）が、（i）TRI130と中間用量シタラビン（IDAC）との組み合わせ、または（ii）TRI130とMEC（ミトキサントロン、エトポシド、シタラビン）との組み合わせを含む、2薬剤併用免疫化学療法を 4×28 日サイクルで受ける。原発性難治性疾患は、CRまたは不完全な血液学的回復を伴う完全奏効（CRi）を、2つの集中導入治療コースの後に達成できないものとして欧州白血病ネット（ELN）によって定義されている。

【0357】

IDACがCHTとして選択される場合、患者はTRI130と組み合わせて4サイクルのIDACを受けることになる。シタラビン（ $1\text{g}/\text{m}^2$ ）を、各28日サイクル（D1～D5）の間、1～5日目に1日2時間にわたり静脈内投与する。サイクル2（D29）、サイクル3（D57）及びサイクル4（D85）の1日目に、シタラビンをTRI130注入の終了から4時間後に投与する。この投与レジメンを図5Aに図示する。

【0358】

MECをCHTとして選択した場合、患者は1～6日目にミトキサントロン $6\text{mg}/\text{m}^2/\text{日IV}$ 、1～6日目にエトポシド $80\text{mg}/\text{m}^2/\text{日IV}$ 、1～6日目にシタラビン $1\text{g}/\text{m}^2/\text{日IV}$ の2サイクルを受ける。TRI130はMECと組み合わせて2サイクル、続いて単剤療法として2サイクル投与されることになる。この投与レジメンを図5Aに図示する。

【0359】

TRI130のサイクル1、1日目（C1D1）は、IDACまたはMEC化学療法を開始した後の8日目となる。第1のTRI130サイクルは、1週間間隔で3回分のTRI130（C1D1、C1D8、C1D15）のみを含むことになる。その後の全てのサイクルでは、TRI130の週間注入を4回行う。TRI130は、TRI130のサイクル1中の週間ランブアップの後、 $18\mu\text{g}$ の固定用量で、各TRI130サイクルの1、8、15及び22日目に4時間かけて静脈内投与される。段階的投与は、表12に示されるように進行する。

10

20

30

40

50

【表 1 2】

表 1 2：段階的投与

治療日	TR I 1 3 0 の用量	注入時間	投薬後の観察期間
D 8 = TR I 1 3 0 カレンダーの C 1 D 1	6 μ g	2 0 ~ 2 4 時間	2 4 時間
D 1 5 = TR I 1 3 0 カレンダーの C 1 D 8	1 2 μ g	2 0 ~ 2 4 時間	2 4 時間
D 2 2 = TR I 1 3 0 カレンダーの C 1 D 1 5	1 8 μ g	2 0 ~ 2 4 時間	2 4 時間
D 2 9 = TR I 1 3 0 カレンダーの C 2 D 1	1 8 μ g	8 時間	4 時間
D 3 6 = TR I 1 3 0 カレンダーの C 2 D 8	1 8 μ g	6 時間	2 時間
全ての後続用量	1 8 μ g	4 時間	2 時間

10

20

【0 3 6 0】

コホート 1 についての主要評価項目は、以下のとおりである。(1) 安全性：安全性についてグレード 3 ~ 4 の有害事象 (A E) 及び重症有害事象 (S A E) の累積発生率、ならびに注目すべき A E の発生率 ($\geq$ グレード 2 サイトカイン放出症候群 (C R S)、 $\geq$ グレード 2 注入関連反応、 $\geq$ 2 心毒性、 $\geq$ 2 C R S の合併症としての神経毒性)、及び (2) 有効性：無白血病生存期間 (L F S)、各サイクル後の複合 C R 率 (C R / C R i / C R)、及び C R に達した患者についての C e n t r a l L a b の測定によるマルチカラー / マルチパラメータフローサイトメトリー (M F C) による微小残存病変 (M R D) 状態。

30

【0 3 6 1】

コホート 2 - TR I 1 3 0 + ベネトクラクス + アザシチジンによる導入療法 - フロントラインまたは第 1 の再発

予後不良であるが、治療未経験または 1 回目の再発である原発性または二次性 A M L 患者 (年齢 > 1 8 歳) は、TR I 1 3 0 に加えてベネトクラクス及びアザシチジンを含む 3 剤併用免疫化学療法の 2 8 日サイクルを 4 回受ける。患者が TR I 1 3 0 を開始する間の腫瘍溶解症候群 (T L S) のリスクを最小限に抑えるために、ベネトクラクスの第 1 の用量から最低 1 5 日経過していなければならない。第 1 の TR I 1 3 0 サイクルにおける第 1 の TR I 1 3 0 用量は、ベネトクラクスの第 1 の用量から 1 5 日後に投与される。その後のサイクルでは、TR I 1 3 0 及びベネトクラクスの第 1 の用量は、1 5 日間の間隔を置くことなく、同日に投与することができる。

40

【0 3 6 2】

TR I 1 3 0 は、TR I 1 3 0 のサイクル 1 中の週毎のランプアップの後、1 8 μ g の固定用量で、各 TR I 1 3 0 サイクルの 1、8、1 5 及び 2 2 日目に 4 時間かけて週毎で静脈内投与される。段階的投与は、表 1 3 に示されるように進行する。

50

【表 1 3】

表 1 3：段階的投与

治療日	TR I 1 3 0 の用量	注入時間	投薬後の観測期間
ベネトクラクスカレンダー C 1 D 1 5 (TR I 1 3 0 カレンダーでは C 1 D 1)	6 μ g	2 0 ～ 2 4 時間	2 4 時間
ベネトクラクスカレンダー C 2 D 2 2	1 2 μ g	2 0 ～ 2 4 時間	2 4 時間
ベネトクラクスカレンダー C 2 D 8	1 8 μ g	8 時間	4 時間
全ての後続用量	1 8 μ g	4 時間	2 時間

10

【0 3 6 3】

ベネトクラクスは、毎日のランプアップ（1日目：100mg；2日目：200mg；3日目～21日目：400mg）後、1日あたり400mg／日の固定用量で、各サイクルの1日目～21日目に毎日経口投与される。ベネトクラクスの用量は、アゾール抗真菌薬を服用する患者のケアの標準に従って調整される。ベネトクラクスは、5%未満の骨髓芽球を有する患者に対してサイクル2の後にのみ1～14日目に投与することができる。

20

【0 3 6 4】

アザシチジンは、各サイクルの1日目～7日目に1日30分にわたり75mg／m²の用量で静脈内投与される。

【0 3 6 5】

コホート2の投薬レジメンを図5Bに示す。

【0 3 6 6】

コホート2についての主要評価項目は、以下のとおりである。（1）安全性：安全性についてグレード3～4のAE及びSAEの累積発生率、ならびに注目すべきAESの発生率（ $\geq$ グレード2 CRS、 $\geq$ グレード2 注入関連反応、 $\geq$ 2 心毒性、 $\geq$ 2 CRSの合併症としての神経毒性）、及び（2）有効性：無白血病生存期間（LFS）、各サイクル後の複合CR率（CR／CRi／CRh）、CRに達した患者についてのMFC（Central Laboratory）によるMRD状態。HSC T（造血幹細胞移植）の適格患者は、CRであり、かつフローサイトメトリーによってMRD陰性の場合、トリプレットAPVAの2サイクル後にHSC Tを受けることができる。そうでない場合、プロトコルに応じて4回のTR I 1 3 0サイクルが強く推奨される。TR I 1 3 0＋ベネトクラクス＋アザシチジン3剤併用療法の4サイクル後、患者は試験責任医師の裁量により、フォローアップでベネトクラクス＋アザシチジンを継続する。TR I 1 3 0の4サイクル後に完全奏効に加えて最小残存疾患（CRM RD）の状態を達成するが、造血幹細胞移植（HSC T）を受けるには適格ではない患者は、試験責任医師の裁量により、追加のTR I 1 3 0単剤療法4サイクルを受け得る。

30

40

【0 3 6 7】

コホート3－7＋3後のコンソリデーション－フロントライン＋第1の再発

治療未経験であるか、またはCR1の期間が1年未満の、FLT3陰性の中間または有害リスクAML（TP53、RUNX1及びASXL1突然変異及び／または複合型細胞遺伝学を含むが、これらに限定されない）を有する原発性AML患者（年齢：>18歳）は、以下に記載される（a）または（b）のいずれかによる導入療法後、血液学的回復（ANC>1,000/ μ L、Hgb $\geq$ 9g／L、Plt $\geq$ 100,000／ μ L）の後に、4×28日サイクルのTR I 1 3 0による免疫療法を受ける。

50

【0368】

(a) 新規診断患者：シタラビン $100\sim200\text{mg}/\text{m}^2$ を1～7日目に7日間の継続注入として毎日静脈内投与し、イダルビシン $12\text{mg}/\text{m}^2$ を1～3日目に15分間にわたり静脈内投与する（またはダウノルビシン $60\text{mg}/\text{m}^2$ を3時間にわたり静脈内投与する）ことからなる、標準7+3療法。標準的な用量及びスケジュールでのCPX-351導入療法も、試験責任医師が望む場合は許容できる。7+3導入療法後に高用量シタラビン（HiDAC）コンソリデーションを1サイクルまたはIDACもしくはCPX-351を1～2サイクルを受けた患者が適格である（HiDACは、施設の慣行及び／または試験責任医師の裁量により、60歳を超える年齢の患者については $1.5\text{g}/\text{m}^2$ に減らすことができる）。導入療法1後に骨髄で5%以上の芽球を有する患者（芽球持続性）は、2回目の導入療法サイクルを受けるべきであるが、これは導入療法1と同じChTである必要はない。1回または2回の導入療法サイクルの後で患者がCR/CRiに達したら早急に、患者はコンソリデーション治療に進むべきである。

10

【0369】

(b) 1回目の再発の患者には、シタラビンに基づく標準的なサルベージレジメン、例えば、ミトキサントロン+エトポシド+シタラビン（MEC）を使用することもできる。MECで治療する場合、患者は1～6日目にミトキサントロン $6\text{mg}/\text{m}^2/\text{日IV}$ 、1～6日目にエトポシド $80\text{mg}/\text{m}^2/\text{日IV}$ 、1～6日目にシタラビン $1\text{g}/\text{m}^2/\text{日IV}$ を受ける。FLAGまたはFLAG-IDAは、フルダラビン関連神経毒性及び自己免疫合併症がTRI130により増強される潜在的なリスクがあるため使用すべきではない。

20

【0370】

7+3導入療法またはHiDACコンソリデーションに関連する副作用の解消を可能にするためには、最後のシタラビンから少なくとも21日間が経過していなければならない。TRI130は、企図する最終的なChTサイクルの後に開始すべきである。TRI130による免疫療法を受けるためには、患者はすべての適格基準を満たさなければならない。TRI130治療の適格を得るためには、患者はCRにないか、また導入／コンソリデーション後のMFC（Central Laboratory）によるMRD陽性（ $\geq 0.1\%$ レベル）のCRである必要がある。

【0371】

第1のTRI130コンソリデーションサイクルは、試験責任医師の選択により、7+3またはMEC導入療法またはHiDAC/IDACを含むコンソリデーション後から21日以降（好ましくは21～28日間）に開始される。

30

【0372】

TRI130は、サイクル1中の週毎のランプアップの後、 $18\mu\text{g}$ の固定用量で、各TRI130コンソリデーションサイクルの1、8、15及び22日目に4時間かけて週毎で静脈内投与される。段階的投与は、表14に示されるように進行する。

40

50

【表 1 4】

表 1 4：段階的投与

治療日	TR I 1 3 0 の用量	注入時間	投薬後の観察期間
C 1 D 1－TR I 1 3 0 サイクル 1 の 1 日目：第 1 の H i D A C コンソリデー ションの 2 2 日目（最 高 3 6 日目）にサイ クル 1 が開始する	6 μ g	2 0 ～ 2 4 時間	2 4 時間
C 1 D 8	1 2 μ g	2 0 ～ 2 4 時間	2 4 時間
C 1 D 1 5	1 8 μ g	2 0 ～ 2 4 時間	4 時間
C 1 D 2 2	1 8 μ g	8 時間	4 時間
C 2 D 2 1（2 2 ～ 3 6 日目に開始する H i D A C コンソリ デーションの 2 回目 のサイクル後に行わ れる）	1 8 μ g	6 時間	2 時間
全ての後続用量	1 8 μ g	4 時間	2 時間

10

20

【0 3 7 3】

コホート 3 の投薬レジメンを図 5 C に示す。

【0 3 7 4】

コホート 3 についての主要評価項目は、以下のとおりである。（１）安全性：安全性についてグレード 3 ～ 4 の A E 及び S A E の累積発生率、ならびに注目すべき A E S の発生率（ $\geq$ グレード 2 C R S、 $\geq$ グレード 2 注入関連反応、 $\geq$ 2 心毒性、及び $\geq$ 2 C R S の合併症としての神経毒性）、及び（２）有効性：無白血病生存期間（L F S）、TR I 1 3 0 コンソリデーション開始時に奏効である患者の M F C による M R D 状態、及び TR I 1 3 0 コンソリデーション開始時に C R / C R i / C R h にない患者の複合 C R 率。

30

【0 3 7 5】

適格患者は、C R 及び M F C による M R D 陰性の場合、TR I 1 3 0 の 2 サイクル後に H S C T を受けることができる。そうでない場合、プロトコルに応じて 4 回の TR I 1 3 0 サイクルが強く推奨される。

【0 3 7 6】

TR I 1 3 0 の 4 サイクル後に C R M R D の状態を達成するが、H S C T を受けるには適格ではない患者は、医師の裁量により、追加の TR I 1 3 0 単剤療法を 4 サイクル受け得る。

40

【0 3 7 7】

コホート 4－M R d 陽性（M R D +）第一奏効、TR I 1 3 0＋経口アザシチジン
最小残存疾患（C e n t r a l L a b におけるマルチカラーマルチパラメータフロー
サイトメトリー [M F C] による 0. 1 % 以上のレベル）を伴う 1 8 歳より上の患者で、
高リスクの第一奏効 A M L 患者は、TR I 1 3 0＋経口アザシチジン（O n u r e g、C
C－4 8 6）の 4 × 2 8 日間のサイクルで治療される。

【0 3 7 8】

フロントライン標準の 7＋3 療法または他の標準的な導入療法（低メチル化剤＋ベネト
クラクスまたは低用量シタラビン＋ベネトクラクスを含むが、これらに限定されない）を

50

受けた第一奏効 A M L 患者は適格である。M R D + C R を有する場合、7 + 3 導入療法後に高用量のシタラビン (H i D A C) コンソリデーションを 1 サイクルまたは I D A C もしくは C P X - 3 5 1 を 1 ~ 2 サイクル受ける患者が適格である。

【0379】

ベネトクラクスベースの治療を最低 4 サイクル受けた後に M R D + 第一奏効にある患者は適格である。

【0380】

サイクル 1、T R I 1 3 0 の用量 1 は、H i D A C または I D A C 含有コンソリデーションの後、21 日以上が経過していなければならない。T R I 1 3 0 は、サイクル 1 中の週間ランプアップの後、18 μ g の固定用量で、各サイクルの 1、8、15 及び 22 日目に 4 時間かけて週毎で静脈内投与される。段階的投与は、表 15 に示されるように進行する。

【表 15】

表 15：段階的投与

治療日	T R I 1 3 0 の用量	注入時間	投薬後の観測期間
C 1 D 1 - T R I 1 3 0 のサイクル 1 の 1 日目	6 μ g	20 ~ 24 時間	24 時間
C 1 D 8	12 μ g	20 ~ 24 時間	24 時間
C 1 D 15	18 μ g	20 ~ 24 時間	4 時間
C 1 D 22	18 μ g	8 時間	4 時間
C 2 D 1	18 μ g	6 時間	2 時間
全ての後続用量	18 μ g	4 時間	2 時間

【0381】

経口アザシチジンは、300 mg の 1 日の用量レベルで 14 日間投与される。コホート 4 の投薬レジメンを図 5 D に示す。

【0382】

適格患者は、M F C による M R D 状態に達する場合、T R I 1 3 0 + アザシチジンの 2 サイクル後に H S C T を受けることができる。その他の点では、プロトコルに応じて T R I 1 3 0 + アザシチジンの 4 サイクルが強く推奨される。T R I 1 3 0 の 4 サイクル後に C R M R D の状態を達成するが、H S C T を受けるには適格ではない患者は、試験責任医師の裁量により、追加の T R I 1 3 0 単剤療法を 4 サイクル受け得る。

【0383】

コホート 5 - M R D + 第二奏効、単回薬剤 T R I 1 3 0

18 歳を超える A M L 患者であって、標準的な治療レジメンを用いた導入療法後に第二奏効にある M R D + (C e n t r a l L a b での M F C による $\geq 0.1\%$ のレベル) の患者は、T R I 1 3 0 単剤療法の 4 $\times$ 28 日サイクルで治療される。

【0384】

標準的な治療レジメンを用いた導入療法後のコンソリデーションを受けている患者及び受けていない患者が適格である。最初の 5 人の患者 (= 安全リードイン) では、連続する 1 ~ 5 人の患者の間に少なくとも 7 日間の期間をずらして患者を登録する。

【0385】

サイクル 1、T R I 1 3 0 の用量 1 は、H i D A C または I D A C 含有コンソリデーションの後、21 日以上が経過していなければならない。T R I 1 3 0 は、サイクル 1 中の週間ランプアップの後、18 μ g の固定用量で、各サイクルの 1、4、8、11、15、18 及び 22 日目に 4 時間かけて週毎で静脈内投与される。(段階的投与：T R I 1 3 0 は、サイクル 1 中の週間ランプアップの後、18 μ g の固定用量で、各サイクルの 1、8

、 15、及び22日目に4時間かけて週毎で静脈内投与される。

【0386】

段階的投与は、表16に示されるように進行する。

【表16】

表16：段階的投与

治療日	TRI130の用量	注入時間	投薬後の観察期間
C1D1及びC1D4	6 μ g	20～24時間	24時間
C1D8及びC1D11	12 μ g	20～24時間	24時間
C1D15及びC1D18	18 μ g	20～24時間	4時間
C1D22	18 μ g	8時間	4時間
C2D1	18 μ g	6時間	2時間
全ての後続用量	18 μ g	4時間	2時間

10

【0387】

コホート5の投薬レジメンを図5Eに示す。

20

【0388】

1週間に2回の投薬が安全リードイン中にグレード3のIRRまたはCRSをもたらす場合には、TRI130のC1D4用量及びC1D11用量を省略することができる。

【0389】

適格患者は、CR及びMFCによるMRD陰性の場合、TRI130の2サイクル後に、TRI130後のHSCtを受けることができる。そうでない場合、プロトコルに応じて4回のサイクルが強く推奨される。TRI130の4サイクル後にCRM RDの状態を達成する患者は、試験責任医師の裁量により、追加のTRI130単剤療法を4サイクル受け得る。

【0390】

30

実施例4：再発／難治性AMLまたはMDS患者におけるTRI130の単回薬剤活性

この概念実証研究の主な目的は、低メチル化剤（HMA、N=2）またはベネトクラクス+HMA（N=6）による治療に失敗した再発または難治性（R/R）AML患者8人、及びHMA（N=5）またはベネトクラクス+HMA（N=1）による治療に失敗したR/RのMDS患者6人を評価することであった。TRI130の臨床活性を、AMLの前臨床NOD/SCIDマウス異種移植モデルにおいて活性であった0.08 μ g/kg超のサブミクログラム用量レベルで試験した。この分析により、R/RのAML及びMDS患者におけるTRI130の最近完了した第1B相試験からの一次データを使用して実施した臨床的な概念実証を評価した。

【0391】

40

臨床試験

この概念実証研究は、再発／難治性AML及び高リスク骨髄異形成症候群（MDS）の患者におけるTRI130の多施設第1B相臨床用量漸増試験の一部としてIND135552の下で実施した。これは、臨床試験データベースClinicalTrials.govに識別番号NCT03647800で登録されている。コホート2～10の週当たりの目標用量レベルは、コホート2で1mcg、コホート3で3mcg、コホート4で9mcg、コホート6Aで18mcg、コホート6Bで12mcg、コホート7で24mcg、コホート8で36mcg、コホート9で48mcg、コホート10で60mcg [28]（上記実施例2、表10を参照）であった。3+3設計を用いて用量漸増をガイドした。各コホートにおいて、適格なAML/MDS患者を、単回薬剤として週間の静脈内注

50

入により所定の固定用量のTRI130を受けるように、割り当てた。TRI130を、単回薬剤として週間の静脈内投与により、示した用量レベルで投与した〔28〕。TRI130を、サイトカイン放出症候群（CRS）のリスクを軽減するために、コホート5で実施した患者内段階的戦略にプロトコル補正したものに從って投与した。白血病芽細胞の分子プロファイリングのためのDNAシーケンシングを、Genoptix（Carlssbad, CA）プラットフォームを使用して行った。すべての応答は、AMLに対するELN 2017の基準及びMDSに対するIWG 2006の基準によって評価した。TRI130は、許容可能な耐容性及び管理可能な治療緊急AEである好ましい安全性プロファイルを示した〔28〕。60 µg（60 kgの対象、1 µg/kg）の週間固定用量では、MTDに至らなかった〔28〕。TRI130関連が疑われる最も一般的なグレード3のAEは、46人の患者のうち4人に発生したグレード3～4のCRS（8.7%）、46人の患者のうち2人に発生したグレード3～4の貧血（4.3%）、及び26人の患者のうち2人に発生した注入関連反応（IRR）であった〔28〕。

10

【0392】

血清サイトカインレベルの測定及びフローサイトメトリー

2連の血清サンプル中の電気化学ルミネセンスにより炎症促進性サイトカインインターロイキン-5（IL-5）、インターロイキン-10（IL-10）及びインターフェロングamma（IFN-γ）の血清レベルを測定するために、セントラルラボラトリーの装置において、Meso Scale Discovery（MSD）U-PLEXアッセイプラットフォーム及びMSD Meso Quickplex SQ 120 Reader Instrument（Meso Scale Diagnostics, Rockville, MD）を使用した。免疫表現型検査を、標準的なフローサイトメトリーにより、患者からの凍結保存末梢血単核細胞に対して実施した。フローサイトメトリーは、BD LSR IIフローサイトメーター及びCD5（抗ヒトCD5、クローンREA782〔PE-Vio770〕）、CD45（抗ヒトCD45、クローンH130、V500、BD Biosciences #560777）、CD34（抗ヒトCD34、クローンREA1164、VioBright 515、Miltenyl Biotech #130-120-517）及びCD123（抗ヒトCD123、クローン9F5、AF647、BD Biosciences #563599）抗原に反応するFACS Diva Software Version 8.0.2フルオロクロム標識モノクローナル抗体を使用した。

20

30

【0393】

統計解析

臨床データの分析には標準的な統計手法を適用した。生存データを、GraphPad Prism 9統計プログラム（GraphPad Software, LLC, San Diego, CA）を使用して、Kaplan-Meier法で分析した。ログランク統計を使用して、患者のサブグループ間での差を比較した〔29, 30〕。

【0394】

結果

患者の特徴：8人の患者（男性3人、女性5人）、年齢の中央値66歳（平均±SE = 65±6歳）、そのうち7人が白人、1人がアフリカ系アメリカ人であり、R/RAMLに罹患しており、以前に1～8つのAML療法の治療を受けていた（図13A）。4人の男性及び2人の女性がR/RMDSに罹患していた。年齢の中央値は75歳（平均±SE = 75±2歳）であり、そのうち5人は白人であり、1人はアジア人であり、以前に1～3つのMDS療法の治療を受けていた（図13B）。8人のAML患者のうち、4人（UPN01、UPN02、UPN04、UPN06）は、MDS関連の特徴を有するAMLに罹患していた—これらの患者のうち1人（UPN04）は、FLT3-ITD遺伝子変異も有しており、1人（UPN03）は、再発する遺伝子の異常を有するAMLに罹患し、2人（UPN07、UPN08）は、遺伝子突然変異を伴うAMLに罹患し、1人は、AML-NOS（M0-AML）に罹患していた（図13A）。6人のMDS患者はすべ

40

50

て、WHO分類に従って、過剰な芽球を伴うMDSに罹患していた（MDS-E B-1またはMDS-E B-2）。これらの患者のうち5人は、中間-1（IM-1）または中間-2（IM-2）のリスクグループと一致するIPSS予測スコアを有し、1人は、高リスクMDSに罹患していた（図13B）。患者の特徴及び治療結果のデータを図13A～13Bに示す。

【0395】

分析した14の事例のいずれにおいても、用量制限毒性（DLT）またはグレード5の有害事象（AE）は観察されなかった。8人のAML患者のうち、6人（UPN01、UPN02、UPN03、UPN04、UPN-7、及びUPN08）がCRSは無く、1人の患者（UPN05）が、2日間継続するグレード1のCRSを伴い、1人の患者（UPN06）が、2日間継続するグレード2のCRSを伴った（図13A～13B）。2つの重度の有害事象（SAE）が存在した。1つのSAEは、C6D5で敗血症、下痢、及び嘔吐を発症したUPN05について報告され、5日以内に完全に回復した。UPN06のグレード2のCRSも、入院によりSAEとして報告されたが、2日間しか継続せず、完全に軽快した（図13A～13B）。6人のMDS患者のいずれにもSAEは報告されなかった。1人のMDS患者（UPN13）は、C2D1で1日継続したグレード1のCRSを示し、別のMDS患者（UPN09）は、腫瘍溶解症候群（TLS）、貧血、血小板数の減少、及び高血糖を含む、一過性のいくつかのグレード3～4のAEを示した（図13A～13B）。

【0396】

TRI130の薬力学的効果：代替的薬物動態バイオマーカーとして3つのT細胞由来サイトカイン（IFN- γ 、IL-5及びIL-10）の血清レベルを測定することによりTRI130がT細胞を活性化できるか否かを判定するために分析を行った：Tヘルパー1サイトカイン：IFN- γ 、IL-10；Tヘルパー2サイトカイン：IL-5、IL-10；エフェクターT細胞サイトカイン：IL-10。R/R AML患者（UPN01、UPN05及びUPN06）からの治療後の血液サンプルでは、治療により誘発されるT細胞の活性化と合致して、IFN- γ 及びIL-10の血清レベルがベースラインを大幅に上回った。同様に、IL-10レベルは、1人のMDS患者UPN10（ただし、MDS患者UPN09またはUPN13ではない）からの治療後サンプルにおいてベースラインを上回った（図14）。

【0397】

次に、マルチパラメータフローサイトメトリーによる免疫表現型を用いて、CD123+標的芽細胞によって反映される腫瘍量に対するTRI130の効果を調べた。正常CD34+CD38造血幹細胞とは異なり、AMLにおける推定白血病幹細胞（LSC）集団は、CD123を発現することが報告されている（19）。これらの細胞の大部分は、CD33抗原を共発現する（すなわち、それらは、CD33+CD34+CD38-である）。4人のAML患者のうちの3人（UPN01、UPN03、UPN06）からの治療後血液試料のフローサイトメトリー分析は、循環するCD123+CD34+CD38-及びCD33+CD34+CD38-推定LSC細胞数の減少を示した。（図15）CD123+LSC細胞数の最大減少は、UPN01（C6D1サンプル）において76.1%、UPN03（C1D30サンプル）において57.8%、及びUPN06（C4D1サンプル）において99.2%であった。図10は、マルチパラメータフローサイトメトリー試験からのマルチカラードットプロファイルを示しており、これは、UPN06においてTRI130単層療法によりCD123+CD34+CD38-及びCD33+CD34+CD38-LSC細胞数が急速で顕著に減少していることを示している。実質的に全てのCD34+CD38-細胞は、AMLと一致するCD123+及びCD33+であった。パネルAの第3列の矢印で示されたこのCD123+CD33+CD34+CD38-AML LSC集団のサイズは、TRI130単剤治療により有意に減少した。これらの3つのAML症例とは対照的に、図15及び図11は、第4のAML患者UPN05からのCD34+CD38-CD123+細胞がTRI130治療に対して減少しなかつ

たが、それらの増殖が防止され、これは、238日の無増悪期間を伴う不変に関連していることを示している。図15に示すように、CD123+CD34+CD38-及びCD33+CD34+CD38-細胞の減少も、2人のMDS患者の治療後サンプルにおいて観察された。

【0398】

これらの薬力学的結果は、CD3×CD123二重特異性TRI130が、T細胞を活性化することができ、かつMDS及びAMLに罹患した患者において標的CD123+芽細胞の減少を引き起こすことができるという概念の早期実証となっている。特に、進行時には、UPN10においてCD123+細胞数の著しい増大があり、UPN03において減少しなかった細胞は、CD123+であった。これらの結果は、TRI130の抗白血病活性は、CD123+AML/MDS細胞にリダイレクトされるCD3発現T細胞集団の細胞毒性T細胞(CTL)活性に依存するため、TRI130単剤療法の失敗は、CD123発現に依存せずに起こり得ることを示している。

10

【0399】

有効性：8人のR/R AML患者のうち、2人の患者(UPN2及びUPN4)は、進行性疾患(PD)を有し、1人は、最良総合効果(BOR)として不変(SD)/抵抗性疾患(RES)(UPN3)を有し、75~122日の間に白血病で死亡した(図13A~13B)。3人の患者(UPN01、UPN05及びUPN06を含む)は、長期のSDを有していた。彼らの無増悪期間は、106日超~238日の範囲であった。最良総合効果としてSDを有する3人のAML患者の中で、1人の患者(UPN06;MDS関連特徴を有するAML)は、113日目に末梢芽球の完全なクリアランス(治療前21%からサイクル2で14%、サイクル3で2%、及びサイクル4で0%)を有し、治療前骨髓芽球百分率が50%超(治療前78%から治療後37%まで)低下し、続けてSDが持続した。この患者は、TRI130によるT細胞の薬力学的活性化(図14)及び標的CD123+CD34+CD38-AML細胞の減少(図15)も見られた。MDS関連の特徴を有する別のAML患者(UPN01)は、29%の骨髓芽球、好ましくない細胞遺伝学(del5q及びmonosomy7)及びTP53突然変異を有し、その疾患が以前にベネトクラクス+デシタピン療法で進行したが、TRI130単剤療法の後に、PRを31日間で、CRを92日間で達成し、BOR(最良総合効果)として完全な血液学的回復があった。この患者は、TRI130によるT細胞の薬力学的活性化(図14)及び標的CD123+CD34+CD38-AML芽細胞の減少(図15)も見られた。これらの患者におけるSD、末梢血芽球カウントクリアランス(PBBC-C)、PRまたはCRの開始及び継続時間は、図12に示すスーマープロットによって示されている。

20

30

【0400】

同様に、0.1mcg/kg~0.8mcg/kgの範囲の用量レベルで、3人のMDS患者がSDを有し(50%)、3人の追加のMDS患者(50%)が、骨髓CRを有した(図13A~13B)。治療後サンプルでT細胞の活性化を示した(図14)1人の患者(コホート9からのUPN10)は、15%骨髓細胞充実度で8.2%の治療前BM芽球であり、C2D1治療後、20%細胞充実度で2%のBM芽球であった。別の患者(コホート7の2000003)は、20~30%細胞充実度で11.3%のベースラインBM芽球であり、C2D1治療後、50%細胞充実度で0%のBM芽球百分率であった。第3の患者(コホート6の2190001)は、10%細胞充実度で7.5%の治療前BM芽球百分率であり、C2D1治療後、20%細胞充実度で2.4%のBM芽球百分率であった(図13A~図13B)。これらのMDS患者における骨髓CRの開始及び無増悪期間は、図12に示すスーマープロットによって示されている。ASXL-1突然変異を有する1人のMDS患者、コホート4のUPN09は、骨髓中の骨髓芽球の百分率の減少を示したが、これは、10サイクル前後で絶対単球数17,600/ μ Lを有する高リスクの慢性骨髓単球性白血病-骨髓増殖性新生物(CMMN-MPN)へのケースの転換の一部であった(図13A~13B)。

40

【0401】

50

要約：本明細書に提示されるデータは、血清Th1/Th2サイトカインIL-10の顕著な上昇及び循環CD123+CD34+及びCD33+CD34+末梢芽球の数の減少により証明されるように、TRI130がR/RのAML及びMDS患者におけるT細胞を活性化したことを示している。単回薬剤活性が、 $0.1\mu\text{g}/\text{kg}\sim 0.7\mu\text{g}/\text{kg}$ の範囲の用量レベルで、長期不変（SD）を伴う3人の患者及び完全奏効（CR）を伴う1人の患者を含む4人のR/R AML患者（50%）において観察された。同様に、 $0.1\mu\text{g}/\text{kg}\sim 0.8\mu\text{g}/\text{kg}$ の範囲の用量レベルで、3人のMDS患者がSDを有し（50%）、3人の追加のMDS患者（50%）が、骨髄CRを有した。これらのデータは、TRI130のインビボ免疫調節活性及び抗白血病活性を支持する概念実証となっている。

10

【0402】

この分析はまた、R/R AML及びMDS患者における最近完了した第1B相試験からの主なデータを使用してTRI130の作用メカニズムを支持する臨床的な概念実証にもなっている[28]。これらの結果から、第1B相試験の拡張段階（NCT03647800）の現在発生しているコホート2の設計が分かった。このデータは、AMLに対してベネトクラクス+HMAであるいはMDSに対してHMA単独で行う前治療に失敗した患者において、TRI130（週毎に静脈内投与）が有望な早期単回薬剤活性及び免疫調節効果を有することを実証している。単回薬剤TRI130は用量制限骨髄抑制と関連していなかったが、新たに診断されたAML患者75歳以上または60歳超で集中化学療法またはHSCtに適していない患者における第1B相試験で、ベネトクラクス+アザシチジン骨格と組み合わせたTRI130の忍容性及び有効性が正式に評価される（Clinicaltrials.gov識別子：NCT04973618）。TLS及びサイトカイン放出症候群（CRS）のリスクを軽減するために、ベネトクラクス+アザシチジンとの2週間の導入段階がある。TRI130の追加により、残留CD123+芽球及びベネトクラクスに対して耐性である白血病幹細胞が排除され、より持続的な応答につながると考えている。

20

【0403】

高齢（75以上）であるか、または集中化学療法を受けるのに適さないAMLに罹患した治療未経験の患者は、HMA単独と比較して、ベネトクラクス及びHMAで治療した場合、生存期間が改善している[7, 31]。食品医薬品局（FDA）は、この集団に対してHMAと組み合わせたベネトクラクスを承認した[15]。しかし、ベネトクラクスの使用にはより高い臨床経験を必要とすることから、最近の刊行物でも強調されるように、ベネトクラクスベースの療法にいくつかの困難と制限が表れてきた[13, 32]。

30

【0404】

治療未経験の高齢/不適合のAML患者においてベネトクラクスがもたらす奏効は、ベネトクラクスとHMAとの併用後でも12ヶ月未満（中央値）しか継続しない。さらに、二次AML患者及び以前にHMAで治療されたAML患者は、CR率が大幅に低下し、全生存期間が6ヶ月未満であり、ベネトクラクスベースの治療レジメンに対する反応性が低い[13]。同様に、TP53突然変異及びRTK突然変異を有する患者などの有害リスクカテゴリーのいくつかのAML患者集団は、固有のベネトクラクス抵抗性を示す場合がある[13]。治療未経験のAML患者におけるその顕著な活性とは異なり、ベネトクラクスは、再発したAML患者にあまり効果的ではない。報告された全体的な応答率は、HMA、LDAC、またはクラドリビンもしくはミドスタウリンなどの他の薬剤と組み合わせてベネトクラクスで治療された再発または難治性のAML患者において、たった21%であった[33]。したがって、高齢AML患者のためのベネトクラクスベースの治療レジメンと組み合わせることが可能であり、かつ臨床効果を改善できる可能性のある新しい薬剤が緊急に必要とされている。

40

【0405】

参考文献

1. Ferrara, F. ; Lessi, F. ; Vitagliano, O. ; Birk

50

- enghi, E. ; Rossi, G. *Cancers* (Basel). 2019; 11 (2). pii: E224. doi: 10.3390/cancers11020224.
2. DiNardo CD, Wei AH. *Blood* (2020) 135 (2) : 85–96. 10.1182/blood.2019001239.
3. Blum WG, Mims AS. *Cancer* 2020; 126 (21) : 4668–4677. <https://doi.org/10.1002/cnccr.32904>.
4. Short, N. J. , Konopleva, M. , Kadia, T. M. , Borthakur, G. , Ravandi, F. , DiNardo, C. D. , Daver, N. *Cancer Discov.* 2020; 10 (4) : 506–525. doi: 10.1158/2159-8290.CD-19-1011.
5. Daver, N. , Wei, A. H. , Pollyea, D. A, Fath, i A. T. , Vyas, P. , DiNardo, C. D. *Blood Cancer J* 2020; 10: 107. 10.1038/s41408-020-00376-1.
6. Dohner, H. ; Estey, E. ; Grimwade, D. ; Amadori, S. ; Appelbaum, F. R. ; Buchner, T. ; Dombret, H. ; Ebert, B. L. ; Fenaux, P. ; Larson, R. A. ; Levine, R. L. ; Lo-Coco, F. ; Naoe, T. ; Niederwieser, D. ; Ossenkoppele, G. J. ; Sanz, M. ; Sierra, J. ; Tallman, M. S. ; Tien, H. F. ; Wei, A. H. ; Lowenberg, B. ; Bloomfield, C. D. *Blood* 2017, 129, 424–447.
7. DiNardo, C. D. ; Pratz, K. ; Pullarkat, V. ; Jonas, B. A. ; Arellano, M. ; Becker, P. S. ; Frankfurt, O. ; Konopleva, M. ; Wei, A. H. ; Kantarjian, H. M. ; et al. *Blood*. 2019, 133, 7–17. doi: 10.1182/blood-2018-08-868752.
8. Othman TA, Azenkot T, Moskoff BN, Tenold ME, Jonas BA. *Future Oncol.* 2021 May 24. doi: 10.2217/fon-2021-0262.
9. DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, Thirman MJ, Garcia JS, Wei AH, et al. *New Engl J Med* (2020) 383 (7) : 617–29. 10.1056/NEJMoa2012971.
10. Mims, A. S. ; Blum, W. *Curr Opin Hematol.* 2019; 26 (2) , 88–95. doi: 10.1097/MOH.0000000000000490.
11. Schlenk, R. F. ; Muller-Tidow, C. ; Benner, A. *Curr Opin Oncol* 2017, 29, 467–473.
12. Kapoor, I. , Bodo, J. , Hill, B. T. et al. *Cell Death Dis* 11, 941 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41419-020-03144-y>.
13. Pollyea, D. A. , Stevens, B. M. , Jones, C. L. , Winters, A. , Pei, S. , Minhajuddin, M. , D' Alessandro, A. , Culp-Hill, R. , Riemony, K. A. , Gillen, A. E. , et al. (2018). *Nat. Med.* <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0233-1>.
14. Lagadinou ED, Sach A, Callahan K, Rossi RM, Neering SJ, Minhajuddin M, Ashton JM, Pei S, Grose V, O'Dwyer KM, Liesveld JL, Brooke

- s PS, Becker MW, Jordan CT. *Cell Stem Cell*. 2013 Mar 7; 12 (3) : 329–41. doi:10.1016/j.stem.2012.12.013. Epub 2013 Jan 17.
15. Jones CL, Stevens BM, D'Alessandro A, Reisz JA, Culp-Hill R, Nemkov T, Pei S, Khan N, Adane B, Ye H, Krug A, Reinhold D, Smith C, DeGregori J, Pollyea DA, Jordan CT. *Cancer Cell*. 2018 Nov 12; 34 (5) : 724–740. e4. doi:10.1016/j.ccell.2018.10.005. Erratum in: *Cancer Cell*. 2019 Feb 11; 35 (2) : 333–335. 10
16. Testa, U., Riccioni, R., Coccia, E., Stellacci, E., Samoggia, P., Latagliata, R., Latagliata, R., Mariani, G., Rossini, A., Battistini, A., Lo-Coco, F., Peschle, C. *Blood* 2002; 100 (8) : 2980–2988.
17. Hwang, K., Park, C. J., Jang, S., Chi, H. S., Kim, D. Y., Lee, J. H., Im, H. J., Seo, J. J. *Ann Hematol* 2012; 91 (10) : 1541–1546.
18. Jin, L., Lee, E. M., Ramshaw, H. S., Busfield, S. J., Peoppl, A. G., Wilkinson, L., Wilkinson, L., Guthridge, M. A., Thomas, D., Barry, E. F., Boyd, A., Gearing, D. P, Vairo, G., Lopez, A. F., Dick, J. E., Lock, R. B. *Cell Stem Cell* 2009; 5 (1) : 31–42. 20
19. Al-Mawali A, Pinto AD, Al-Zadjali S. *Acta Haematol*. 2017; 138 (3) : 175–181. doi:10.1159/000480448.
20. Vergez F, Green AS, Tamburini J, et al. *Haematologica*. 2011; 96 (12) : 1792–1798.
21. Al Hussaini MH, Ritchey J, Rettig MP, Eisenberg L, Uy GL, Chichili G, et al. *Blood* (2013) 122 : 360–0. 10.1182/blood.V122.21.360.360. 30
22. Uy GL, Aldoss I, Foster MC, Sayre PH, Wieduwilt MJ, Advani AS, et al. *Blood* (2021) 137 (6) : 751–62. 10.1182/blood.2020007732.
23. Daver N, Alotaibi AS, Bucklein V, Subklewe M. *Leukemia*. 2021 May 5. doi:10.1038/s41375-021-01253-x.
24. Isidori A, Cerchione C, Daver N, Di Nardo C, Garcia-Manero G, Konopleva M, Jabbour E, Ravandi F, Kadia T, Burguera AF, Romano A, Loscocco F, Visani G, Martinelli G, Kantarjian H, Curti A. *Front Oncol*. 2021 May 10; 11 : 656218. doi:10.3389/fonc.2021.656218. 40
25. Comeau, M. R. ; Gottschalk, R. ; Daugherty, M. ; Sewell, T. ; Sewell, T. ; Misher, L. ; Bannink, J. ; Johnson, S. ; Parr, L. ; Kumer, J. ; Jablonski, D. ; DeFrancesco, M. ; Bienvenue, D. ; Hoyos, G. H. ; McMahan, C. J. ; Gross, J. A. [abstract]. In 50

: Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2019; 2019 Mar 29–Apr 3; Atlanta, GA. Philadelphia (PA) : AACR; Cancer Res 2019; 79 (13 Suppl) : Abstract nr LB-199.

26. Comeau, M. R. ; Miller, R. E. ; Bannink, J. ; Johnson, S. ; Bader, R. ; Gottschalk, R. ; Misher, L. ; Mitchell, D. ; Parr, L. ; DeFrancesco, M. ; Bienvenue, D. ; McMahan, C. J. ; Hoyos, G. H. ; Gross, J. A. [abstract]. In: Proceedings of the AACR-NCI-EORTC International Conference: Molecular Targets and Cancer Therapeutics; 2017 Oct 26–30; Philadelphia, PA. Philadelphia (PA) : AACR; Mol Cancer Ther 2018; 17 (1 Suppl) : Abstract nr B111. 10

27. Comeau, M. R. ; Miller, R. E. ; Bannink, J. ; Johnson, S. ; Bader, R. ; Gottschalk, R. ; Daugherty, M. ; Sewell, T. ; Misher, L. ; Mitchell, D. ; Parr, L. ; DeFrancesco, M. ; Bienvenue, D. ; McMahan, C. J. ; Hoyos, G. H. ; Gross, J. A. [abstract]. In: Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2018; 2018 Apr 14–18; Chicago, IL. Philadelphia (PA) : AACR; Cancer Res 2018; 78 (13 Suppl) : Abstract nr 1786. 20

28. Uckun, F. M. ; Lin, T. L. ; Mims, A. ; Patel, P. ; Lee, C. ; Shahidzadeh, A. ; Shami, P. ; Cull, E. ; Cogle, C. R. ; Watts, J. Cancers 2021, 13, Aug 15; 13 (16) : 4113. doi:10.3390/cancers13164113. 30

29. Uckun FM, Cogle CR, Lin TL, Qazi S, Trieu VN, Schiller G, Watts JM. Cancers (Basel). 2019 Dec 26; 12 (1) : 74. doi:10.3390/cancers12010074. 30

30. Uckun FM, Qazi S, Hwang L, Trieu VN. Cancers (Basel). 2019 Nov 28; 11 (12) : 1892. doi:10.3390/cancers11121892.

31. DiNardo CD, Pratz KW, Letai A, et al. Lancet Oncol. 2018; 19 (2) : 216–228

32. Feld, J. , Tremblay, D. , Dougherty, M. , Czaplinska, T. , Sanchez, G. , Brady, C. , Kremyanskaya, M. , Bar-Natan, M. , Keyzner, A. , Marcellino, B. K. , Gabrilove, J. , Navada, S. C. , Silverman, L. R. , El Jamal, S. M. , Mascarenhas, J. , & Shih, A. H. (2021). HemaSphere, 5 (4) , e549. https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000549. 40

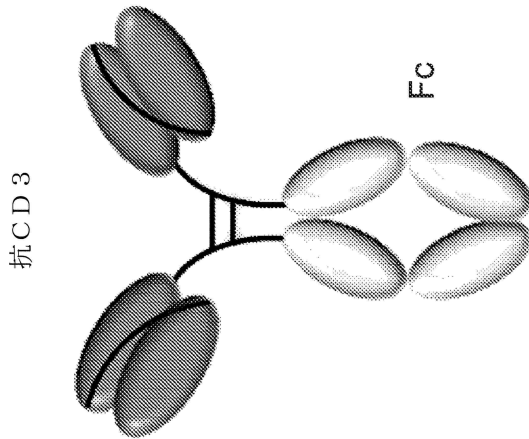
33. DiNardo CD, Rausch CR, Benton C, et al. Am J Hematol. 2018; 93 (3) : 401–407.

34. Lee JB, Khan DH, Hurren R, Xu M, Na Y, Kang H, Mirali S, Wang X, Gronda M, Jitkova Y, MacLean N, Arruda A, Alaniz Z, Konopleva MY, 50

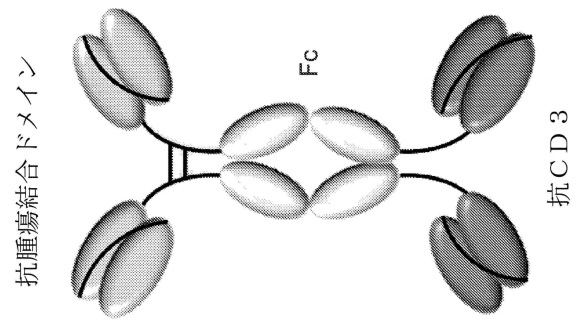
Andreeff M, Minden MD, Zhang L, Schimmer AD. Blood. 2021 Jul 22; 138 (3) : 234-245. doi : 10.1182/blood.2020009081.

【図面】

【図 1 A】



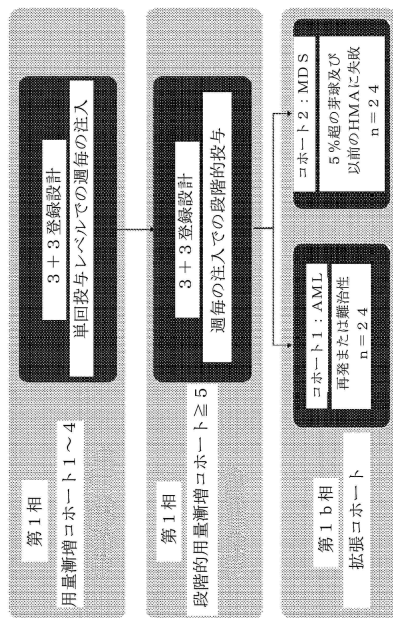
【図 1 B】



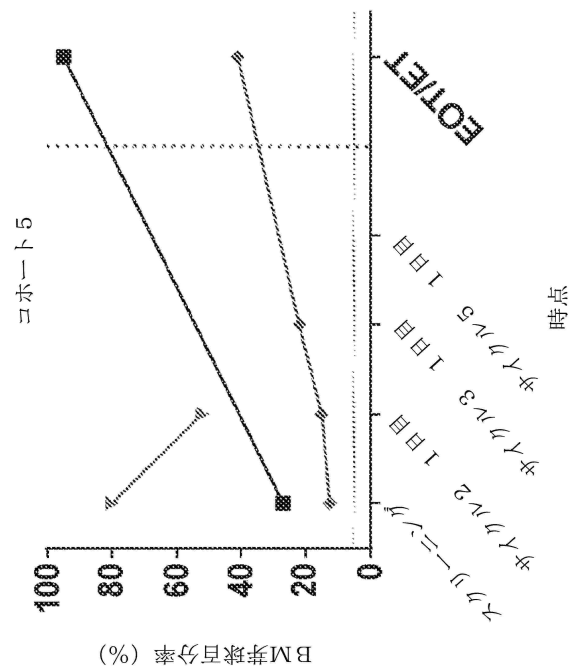
10

20

【図 2】



【図 3 A】

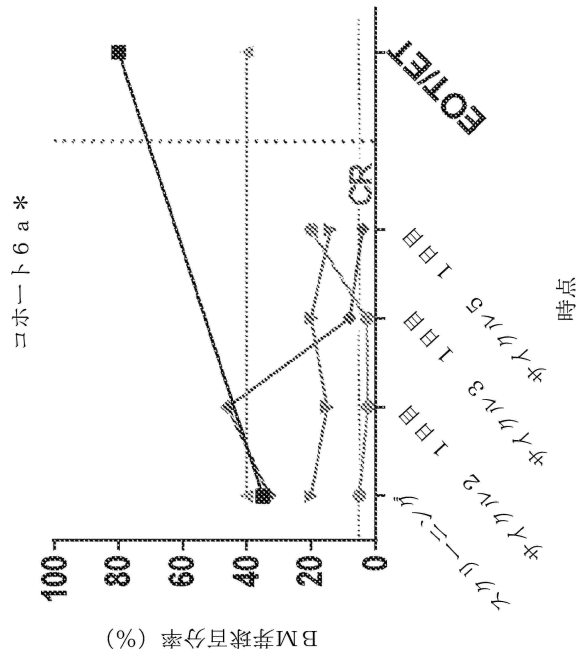


30

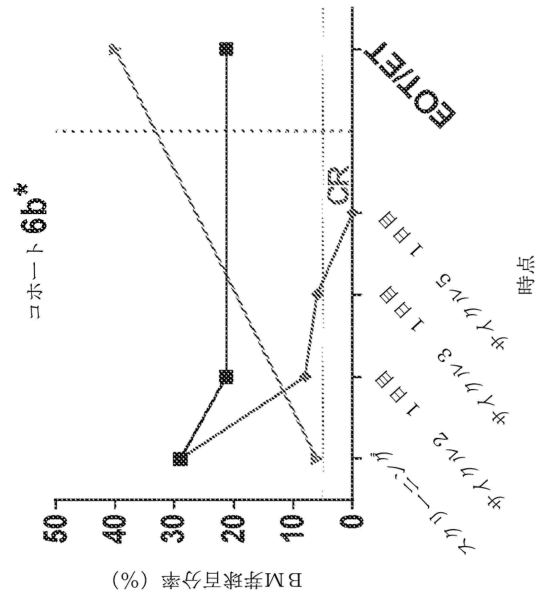
40

50

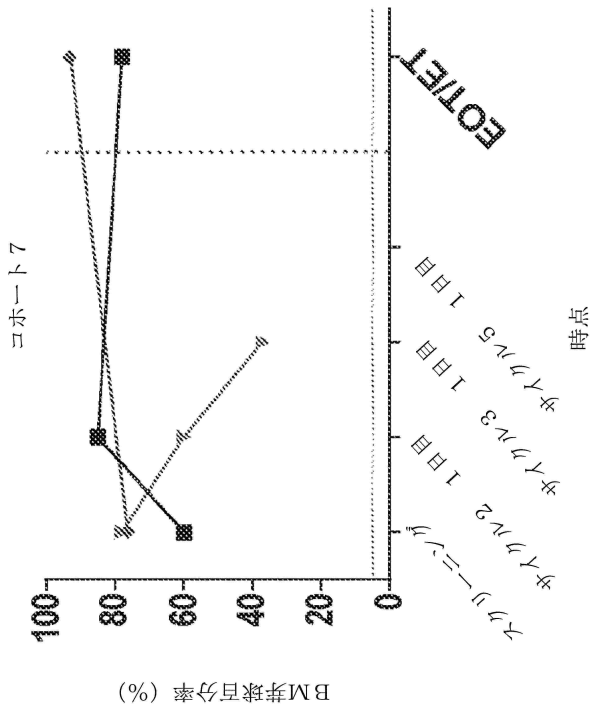
【図 3 B】



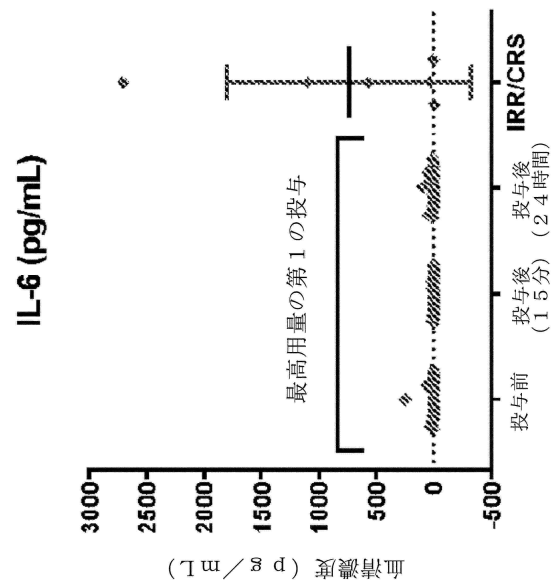
【図 3 C】



【図 3 D】



【図 4 A】



10

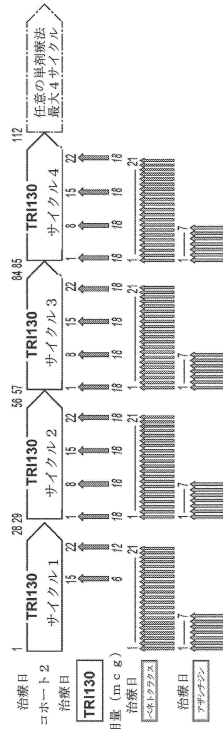
20

30

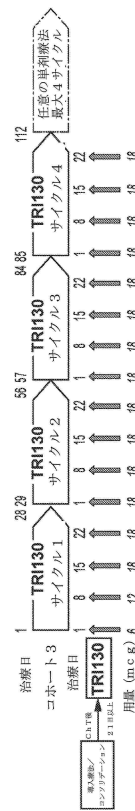
40

50

【図 5 B】



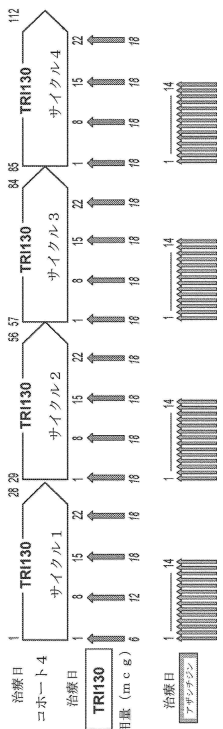
【図 5 C】



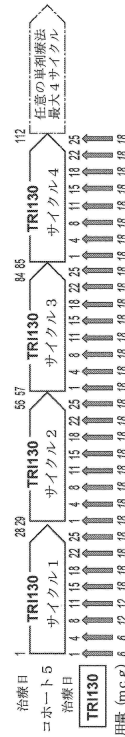
10

20

【図 5 D】



【図 5 E】

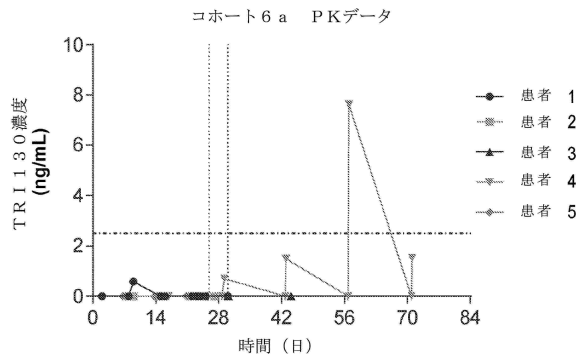


30

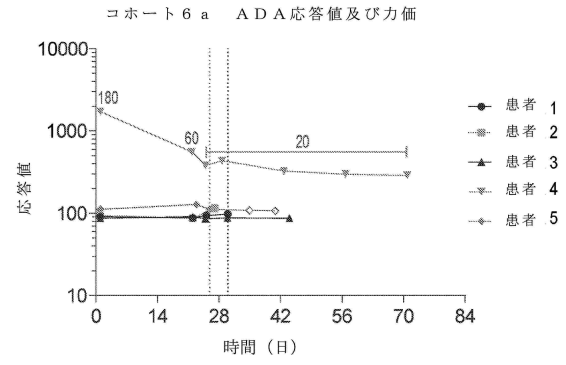
40

50

【図 6 A】

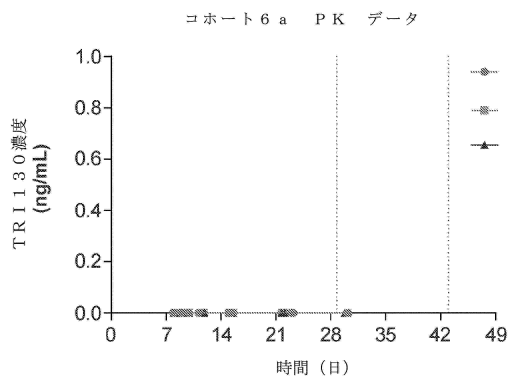


【図 6 B】

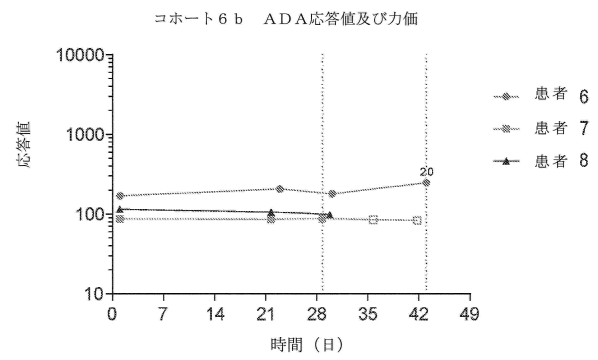


10

【図 7 A】



【図 7 B】



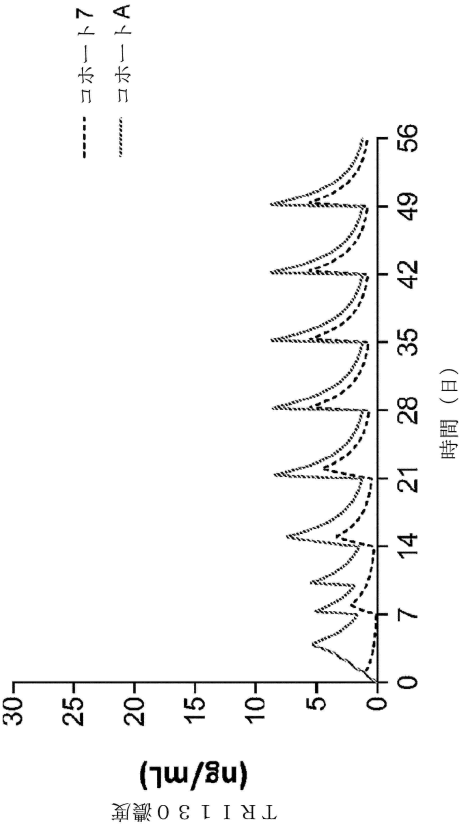
20

30

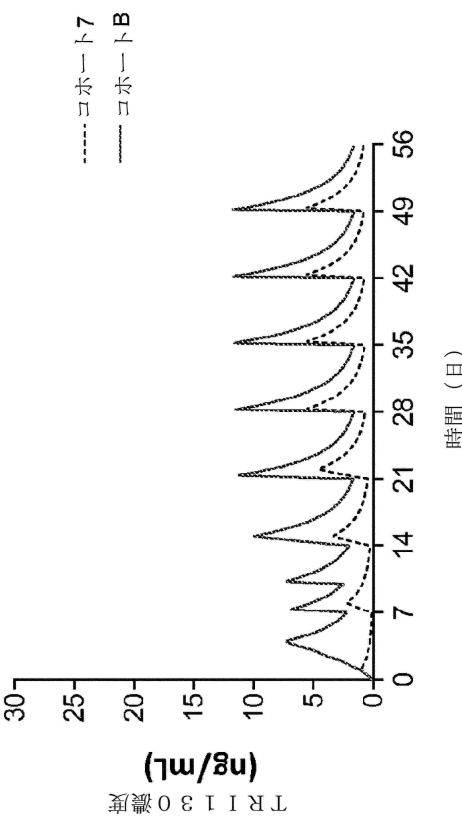
40

50

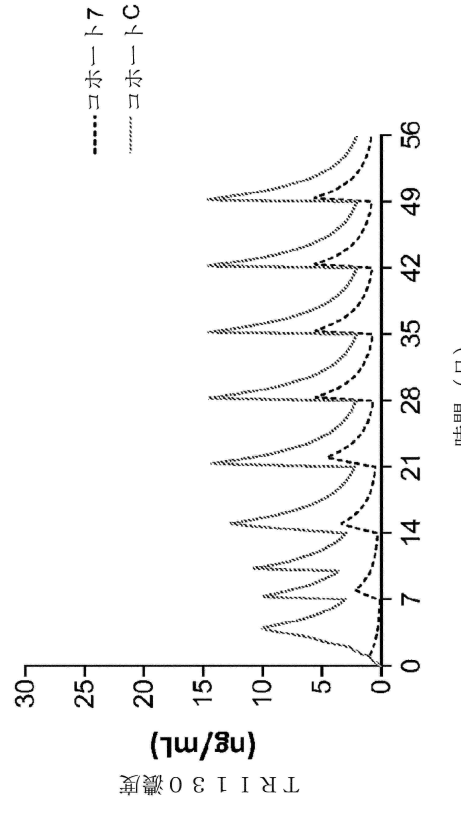
【図 8 A】



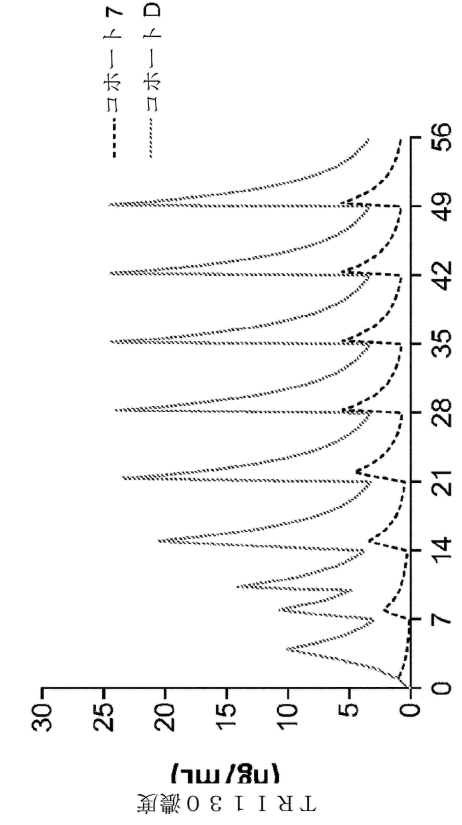
【図 8 B】



【図 8 C】



【図 8 D】



10

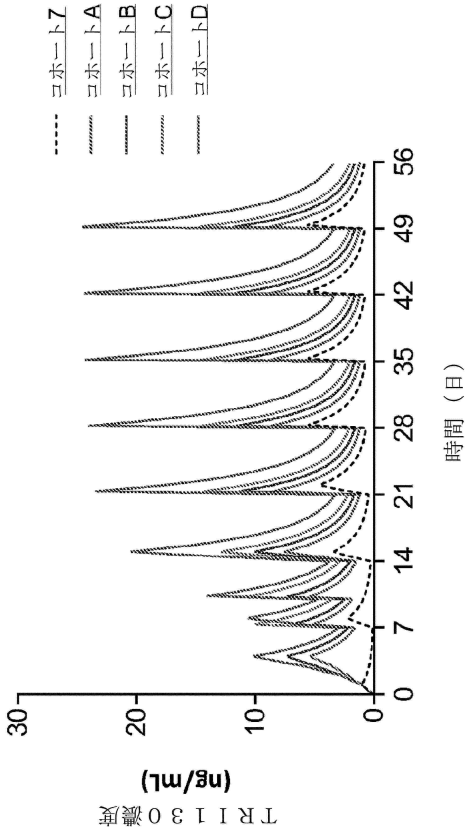
20

30

40

50

【図 8 E】



【図 9 A】

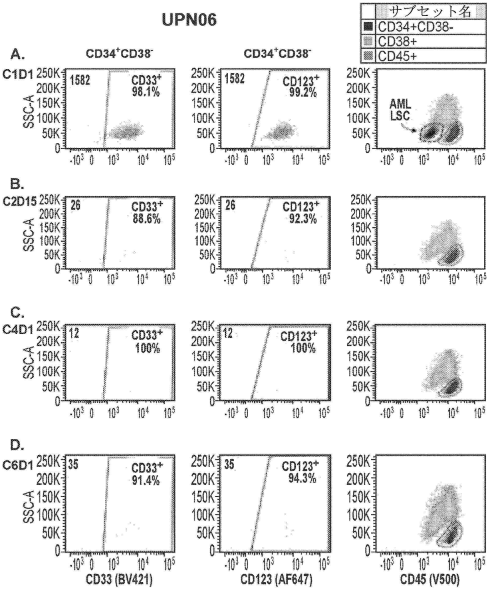


【図 9 B】

コホート	ACU:Cmax		Cmax での Cmax Cmin*		サイクル 1 中の最終 Cmax : Cmin	
	用量	用量	用量	用量	用量	用量
コホート A	C1D22	16.3	7.07	9.54	9.54	9.54
コホート B	C1D22	20.4	7.26	6.76	6.76	6.76
コホート C	C1D22	20.3	7.26	6.75	6.75	6.75
コホート D	C1D22	21.0	7.23	6.42	6.42	6.42
コホート E	C1D22	19.0	7.29	7.18	7.18	7.18

Cmin* : C1 の Cmax 前の C1 の Cmin

【図 10】



10

20

30

40

50

【図 14】

UPN	臨床応答	IFN- γ (pg/mL)		IL-5 (pg/mL)		IL-10 (pg/mL)	
		投与前	C2D1後	投与前	C2D1後	投与前	C2D1後
UPN01(AML)	PR—CR	16.7 (0.4)	34.7** (1.3)-E 10.0 (1.9)-L	0.4 (0.08)	0.6 (0.1)-E 0.2 (0.05)-L	0.2 (0.04)	0.3 (0.05)-E 9.2* (0.3)-L
UPN05(AML)	SD	5.0 (0.7)	9.0 (2.6)-E 9.7** (1.3)-L	-	-	0.4 (0.08)	0.4 (0.01)-E 3.3* = 0.2-L
UPN06(AML)	PBBC-C	2.9 (-)	3.5 (0.5)	5.4 (0.2)	10.4*** (4.3)-E 7.5 (0.2)-L	0.7 (0.02)	1.7 (0.07)-E 12.1* (0.7)-L
UPN09(MDS)	SD	350.2 (4.1)	130.6 (12.2)	0.1	0.2	7.1 (0.2)	1.7 $\pm$ 0.2
UPN10(MDS)	骨髓 CR	3.4 (1.3)	3.1 (-)	1.4 (0.03)	1.1 (0.07) 0.4 (0.05)	0.4 (0.05)	0.3 (0.01)-E 9.8* (0.3)-L
UPN13(MDS)	SD	2.6 (-)	-	0.4 (0.05)	0.6 (0.03)	0.8 (0.03)	0.7 (0.03)

【図 15】

UPN	推定CD123 ⁺ LSC CD123 ⁺ CD34 ⁺ CD38 ⁺ の数 (CD45 +の%) /減少%	推定CD33 ⁺ LSC CD33 ⁺ CD34 ⁺ CD38 ⁺ の数 (CD45+の%) /減少%	CD45 ⁺
UPN01/AML			
ベースライン/C1D1	155 (0.16%)	156 (0.17%)	94,415
C2D15	74 / 52.3%	73 / 53.2%	86,266
C4D1	717 54.2%	72 / 53.8%	89848
C6D1	37 (0.04%) / 76.1%	36 (0.04%) / 76.9%	84,337
UPN03/AML			
ベースライン/C1D1	2757 (2.8%)	2732 (2.8%)	97928
EOT/C1D30	1163 (1.2%) /57.8%	1153 (1.2%) /57.8%	93827
UPN05/AML			
ベースライン/C1D1	13782 (15.4%)	13147 (14.7%)	99598
C2D15	21115 / 0%	17185 / 0%	94131
C4D1	22787 / 0%	18565 /0%	96053
C6D1	23653 (=CD45+の 24.3%) / 0%	15001 (=CD45+の 15.4%) /0%	97346
UPN09/MDS			
ベースライン/C1D1	1441 (1.52%)	907 (0.96%)	94715
C2D1	1489 / 0%	1191 / 0%	94300
C4D1	947 / 34.3%	575 / 36.6%	95129
C6D1	1419 /4.7%	1421 / 0%	94893
UPN10/MDS			
ベースライン/C1D1	833 (0.9%)	836 (0.9%)	972155
C2D15	833 / 0%	775 / 7.3%	101335
C4D1	477 (0.48%) / 42.7%	457 / 45.8%	99679
EOT/C5D20	2567 (2.5%) /3.1倍増加	2296 (2.3%) / 2.7倍増加	100884

UPN03はスクリーニングでは4.0%の骨髓芽球を有し、C1D22でも4.0%であった。EOTはC1D30であった。
UPN10はスクリーニングでは7.5%の骨髓芽球を有し、C5D1では2.0%の骨髓芽球であった。EOTはC5D20であった。

10

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】令和6年2月5日(2024.2.5)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2024519964000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/030323

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. C07K16/28	A61P35/00	A61P35/02 C12N15/62 A61K39/00
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61P C12N A61K C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2020/210277 A1 (MACROGENICS INC [US])	1, 3
Y	15 October 2020 (2020-10-15)	1-4, 9,
	See e.g. the abstract; paragraphs 3, 23,	10,
	123, 126, 127	27-42,
		47-50,
		53, 54,
		59, 60,
		63-67

	-/--	
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 31 August 2022		Date of mailing of the international search report 03/11/2022
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 540-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Valcárcel, Rafael

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2022/030323

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2019/050521 A1 (MACROGENICS INC [US]) 14 March 2019 (2019-03-14)	1, 3
Y	See e.g. paragraph 65	1-4, 9, 10, 27-42, 47-50, 53, 54, 59, 60, 63-67
Y	----- WO 2018/057802 A1 (APTEVO RES & DEVELOPMENT LLC [US] ET AL.) 29 March 2018 (2018-03-29)	1-4, 9, 10, 27-42, 47-50, 53, 54, 59, 60, 63-67
Y	See e.g. SEQ ID NOS: 2, 4 and 132 ----- ISIDORI ALESSANDRO ET AL: "Immunotherapy in Acute Myeloid Leukemia: Where We Stand", FRONTIERS IN ONCOLOGY, vol. 11, 10 May 2021 (2021-05-10), XP055951029, CH ISSN: 2234-943X, DOI: 10.3389/fonc.2021.656218 See e.g. page 2, left column, second paragraph or Table 1 -----	1-4, 9, 10, 27-42, 47-50, 53, 54, 59, 60, 63-67
Y	POLLYEA DANIEL A ET AL: "Venetoclax with azacitidine disrupts energy metabolism and targets leukemia stem cells in patients with acute myeloid leukemia", NATURE MEDICINE, NATURE PUBLISHING GROUP US, NEW YORK, vol. 24, no. 12, 12 November 2018 (2018-11-12), pages 1859-1866, XP036653577, ISSN: 1078-8956, DOI: 10.1038/s41591-018-0233-1 [retrieved on 2018-11-12] cited in the application See e.g. the abstract ----- -/--	1-4, 9, 10, 27-42, 47-50, 53, 54, 59, 60, 63-67

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2022/030323

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	VENUGOPAL SANGEETHA ET AL: "An Update on the Clinical Evaluation of Antibody-Based Therapeutics in Acute Myeloid Leukemia", CURRENT HEMATOLOGIC MALIGNANCY REPORTS, SPRINGER US, NEW YORK, vol. 16, no. 1, 1 February 2021 (2021-02-01), pages 89-96, XP037429594, ISSN: 1558-8211, DOI: 10.1007/S11899-021-00612-W [retrieved on 2021-02-25] See e.g. page 93, left column, paragraphs 3 and 4	1-4,9, 10, 27-42, 47-50, 53,54, 59,60, 63-67
X,P	ALDERSON RALPH F. ET AL: "Combinatorial Anti-Tumor Activity in Animal Models of a Novel CD123 x CD3 Bispecific Dart Molecule (MGD024) with Cytarabine, Venetoclax or Azacitidine Supports Combination Therapy in Acute Myeloid Leukemia", BLOOD, vol. 138, no. Supplement 1, 5 November 2021 (2021-11-05), pages 1165-1165, XP055956432, US ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2021-153192 Retrieved from the Internet: URL:https://ashpublications.org/blood/article/138/Supplement%201/1165/482445/Combinatorial-Anti-Tumor-Activity-in-Animal-Models> the whole document	1-4,9, 10, 27-42, 47-50, 53,54, 59,60, 63-67
Y	THAKUR ARCHANA ET AL: "Bispecific antibody based therapeutics: Strengths and challenges", BLOOD REVIEWS, CHURCHILL LIVINGSTONE, AMSTERDAM, NL, vol. 32, no. 4, 20 February 2018 (2018-02-20), pages 339-347, XP085404813, ISSN: 0268-960X, DOI: 10.1016/J.BLRE.2018.02.004 See e.g. page 341, right column, paragraph 1; Table 2	1-4,9, 10, 27-42, 47-50, 53,54, 59,60, 63-67

10

20

30

40

50

International application No.

PCT/US2022/030323

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

X in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/030323

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
**9, 10, 49, 50 (completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60
63-67 (partially)**

Remark on Protest

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

International Application No. PCT/US2022/030323

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 9, 10, 49, 50(completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof: i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; and ii) a second anti-cancer agent, wherein the second anti-cancer agent is venetoclax. This includes wherein the method further comprises administering to the subject a third anti-cancer agent not being one of the particular combinations listed in the other listed inventions.

2. claims: 11, 12, 25, 26, 51, 52, 61, 62(completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof: i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; and ii) a second anti-cancer agent, wherein the second anti-cancer agent is azacitidine. This includes wherein the method further comprises administering to the subject a third anti-cancer agent not being one of the particular combinations listed in the other listed inventions.

3. claims: 15, 16(completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof: i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; and ii) a second anti-cancer agent, wherein the second anti-cancer agent is decitabine. This includes wherein the method further comprises administering to the subject a third anti-cancer agent not being one of the particular combinations listed in the other listed inventions.

4. claims: 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(all partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof: i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; and ii) a second anti-cancer agent, wherein the second anti-cancer agent is daunorubicin. This includes wherein the method further comprises administering to the subject a third anti-cancer agent not being one of the particular combinations listed in the other

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2022 /030323

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

listed inventions.

5. claims: 5, 6, 43, 44, 55, 56(completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof:i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; andii) a second anti-cancer agent, wherein the second anti-cancer agent is cytarabine. This includes wherein the method further comprises administering to the subject a third anti-cancer agent not being one of the particular combinations listed in the other listed inventions.

6. claims: 21, 22, 57, 58(completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof:i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; andii) a second anti-cancer agent, wherein the second anti-cancer agent is idarubicin. This includes wherein the method further comprises administering to the subject a third anti-cancer agent not being one of the particular combinations listed in the other listed inventions.

7. claims: 7, 8(completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof:i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; andii) a second anti-cancer agent, wherein the second anti-cancer agent is mitoxantrone. This includes wherein the method further comprises administering to the subject a third anti-cancer agent not being one of the particular combinations listed in the other listed inventions.

8. claims: 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(all partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof:i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; andii) a second anti-cancer agent, wherein the second anti-cancer agent is etoposide. This includes wherein the method further comprises administering to the subject a third anti-cancer agent not being one of the particular combinations listed in the other

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2022/030323

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

listed inventions.

9. claims: 13, 14(completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof: i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; and ii) a second anti-cancer agent, wherein the anti-cancer agent is a combination of azacitidine and venetoclax (this combination has been experimentally tested).

10. claims: 17, 18(completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof: i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; and ii) a second anti-cancer agent, wherein the anti-cancer agent is a combination of decitabine and venetoclax (this combination has not been experimentally tested).

11. claims: 19, 20(completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof: i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; and ii) a second anti-cancer agent, wherein the anti-cancer agent is a combination of daunorubicin and cytarabine (this combination has not been experimentally tested).

12. claims: 23, 24(completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(partially)

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof: i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; and ii) a second anti-cancer agent, wherein the anti-cancer agent is a combination of idarubicin and cytarabine (this combination has not been experimentally tested).

13. claims: 45, 46(completely); 1-4, 27-42, 47, 48, 53, 54, 59, 60, 63-67(partially)

A method for treating a cancer, the method comprising

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2022/030323

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

administering to a subject in need thereof: i) a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain; and ii) a second anti-cancer agent, wherein the anti-cancer agent is a combination of mitoxantrone, etoposide and cytarabine (this combination has been experimentally tested and has been abbreviated as MEC).

14. claims: 68-95

A method for treating a cancer, the method comprising administering to a subject in need thereof: a multispecific protein comprising a CD123 binding domain and a CD3 binding domain being a MONOTHERAPY, i.e. not comprising a second anti-cancer agent (this combination has been experimentally tested).

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/030323

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020210277 A1	15-10-2020	AU 2020272734 A1 BR 112021020265 A2 CA 3136255 A1 CN 113728009 A EP 3953391 A1 IL 287095 A JP 2022526640 A KR 20210149807 A SG 11202111192T A TW 202104263 A US 2022213203 A1 WO 2020210277 A1	18-11-2021 11-01-2022 15-10-2020 30-11-2021 16-02-2022 01-12-2021 25-05-2022 09-12-2021 29-11-2021 01-02-2021 07-07-2022 15-10-2020
WO 2019050521 A1	14-03-2019	US 2021061911 A1 WO 2019050521 A1	04-03-2021 14-03-2019
WO 2018057802 A1	29-03-2018	AU 2017331256 A1 BR 112019005333 A2 CA 3037688 A1 CN 109952112 A CO 2019003951 A2 EP 3515491 A1 IL 265484 A JP 2019531764 A KR 20190069437 A PH 12019500609 A1 SG 10202102846S A US 2019071513 A1 US 2020165346 A1 WO 2018057802 A1	04-04-2019 11-06-2019 29-03-2018 28-06-2019 30-04-2019 31-07-2019 30-05-2019 07-11-2019 19-06-2019 03-06-2019 29-04-2021 07-03-2019 28-05-2020 29-03-2018

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	45/06 (2006.01)	A 6 1 K	45/06	
A 6 1 K	31/706 (2006.01)	A 6 1 K	31/706	
A 6 1 K	31/704 (2006.01)	A 6 1 K	31/704	
A 6 1 K	31/136 (2006.01)	A 6 1 K	31/136	
A 6 1 K	31/7048 (2006.01)	A 6 1 K	31/7048	
A 6 1 K	38/02 (2006.01)	A 6 1 K	38/02	
A 6 1 K	38/17 (2006.01)	A 6 1 K	38/17	1 0 0
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	1/18 (2006.01)	A 6 1 P	1/18	
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	1/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/00	
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	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	7/00 (2006.01)	A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 K	31/7076 (2006.01)	A 6 1 K	31/7076	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
		A 6 1 K	39/395	E
		A 6 1 K	39/395	T
		C 0 7 K	16/46	Z N A

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,
LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,
RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,Z
A,ZM,ZW

弁理士 高橋 香元

(72)発明者 ウクン, ファティ

アメリカ合衆国, ワシントン州 9 8 1 2 1, シアトル, スイート 1 0 5 0, 2 4 0 1 フォース
アベニュー, アプティエボ リサーチ アンド デベロップメント エルエルシー内

(72)発明者 ストロマット, スコット

アメリカ合衆国, ワシントン州 9 8 1 2 1, シアトル, スイート 1 0 5 0, 2 4 0 1 フォース
アベニュー, アプティエボ リサーチ アンド デベロップメント エルエルシー内

F ターム (参考)

4C084 AA19 AA23 BA03 DA39 MA17 MA66 NA14 ZA02 ZA51 ZA59
ZA66 ZA75 ZA81 ZA89 ZB26 ZB27 ZC75
4C085 AA13 AA14 BB31 CC22 CC23 EE03 GG02
4C086 AA01 AA02 CB05 EA10 EA11 EA17 EA18 GA02 GA07 GA12
MA02 MA03 MA04 MA17 MA66 NA14 ZA02 ZA51 ZA59 ZA66 ZA75
ZA81 ZA89 ZB26 ZB27 ZC75
4C206 AA01 AA02 FA31 MA02 MA03 MA04 MA37 MA86 NA14 ZA02
ZA51 ZA59 ZA66 ZA75 ZA81 ZA89 ZB26 ZB27 ZC75
4H045 AA11 AA30 BA10 BA41 CA40 DA75 EA20