

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-534859

(P2019-534859A)

(43) 公表日 令和1年12月5日 (2019. 12. 5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	Z N A N 4 B 0 6 4
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	4 C 0 7 6
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	4 C 0 8 4
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	4 C 0 8 5
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z 4 H 0 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 198 頁) 最終頁に続く		

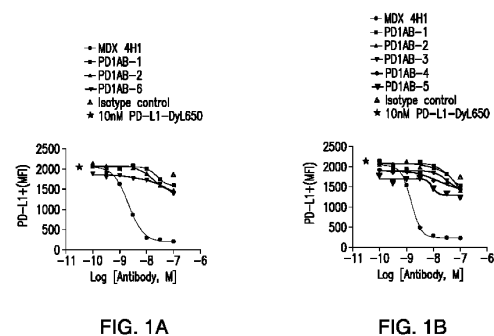
(21) 出願番号	特願2019-513778 (P2019-513778)	(71) 出願人	509307635 セルジーン コーポレイション アメリカ合衆国 ニュージャージー 07 901, サミット, モリス アベニュー 86
(86) (22) 出願日	平成29年9月18日 (2017. 9. 18)	(74) 代理人	100097456 弁理士 石川 徹
(85) 翻訳文提出日	令和1年5月9日 (2019. 5. 9)	(72) 発明者	ガス イー. リングヘイム アメリカ合衆国 ニュージャージー州 O 8502 ベル ミード タグゲルト ド ライブ 806
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/052016	F ターム (参考)	4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01 4C076 AA95 CC18 EE41 EE59 4C084 AA19 NA05 NA13 NA14 ZA891 ZA892
(87) 国際公開番号	W02018/053401		最終頁に続く
(87) 国際公開日	平成30年3月22日 (2018. 3. 22)		
(31) 優先権主張番号	62/396, 720		
(32) 優先日	平成28年9月19日 (2016. 9. 19)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		

(54) 【発明の名称】 PD-1 結合タンパク質を使用して白斑を治療する方法

(57) 【要約】

プログラム死 1 (PD-1) に特異的に結合し、PD-1 の発現及び／または活性を調節するタンパク質を使用して、白斑を管理、治療、または予防するための方法が本明細書に提供される。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象における白斑を管理、予防、または治療する方法であって、

(a) 配列番号 8 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域及び配列番号 13 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む抗体によって認識されるヒト PD-1 のエピトープに結合するか、または

(b) ヒト PD-1 への結合について、配列番号 8 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域及び配列番号 13 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む抗体と競合する、治療有効量の抗体またはその抗原結合断片を前記対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 2】

対象における白斑を管理、予防、または治療する方法であって、PD-1 に結合する治療有効量の抗体またはその抗原結合断片を前記対象に投与することを含み、前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 表 1 に示される抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 のうちのいずれか 1 つの軽鎖可変領域 (VL) 相補性決定領域 1 (CDR1)、VL CDR2、及び VL CDR3 を含む、軽鎖可変領域 (VL)、及び／または

(b) 表 2 に示される抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 のうちのいずれか 1 つの重鎖可変領域 (VH) 相補性決定領域 1 (CDR1)、VH CDR2、及び VH CDR3 を含む、重鎖可変領域 (VH) を含む、前記方法。

【請求項 3】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 表 3 に示される抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 のうちのいずれか 1 つの軽鎖可変領域 (VL) フレームワーク 1 (FR1)、VL FR2、VL FR3、及び VL FR4 をさらに含む、軽鎖可変領域 (VL)、及び／または

(b) 表 4 に示される抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 のうちのいずれか 1 つの重鎖可変領域 (VH) フレームワーク 1 (FR1)、VH FR2、VH FR3、及び VH FR4 をさらに含む、重鎖可変領域 (VH) を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

それぞれ、配列番号 1、2、及び 3 のアミノ酸配列を含む VL CDR1、VL CDR2、及び VL CDR3、及び前記 VH CDR1、VH CDR2、及び VH CDR3 が、それぞれ、配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

それぞれ、配列番号 1、2、及び 3 のアミノ酸配列を含む前記 VL CDR1、VL CDR2、及び VL CDR3、及び前記 VH CDR1、VH CDR2、及び VH CDR3 が、それぞれ、配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む VL を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 7】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む VL を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 8】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む VL を含む、請求項 2 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 9】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 10】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 11】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 12】

10

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む V L、及び

(b) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 13】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V L、及び

(b) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 14】

20

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V L、及び

(b) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 15】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む V L、及び

(b) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 16】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V L、及び

(b) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 17】

30

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V L、及び

(b) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 18】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む V L、及び

(b) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 19】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V L、及び

40

(b) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 20】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V L、及び

(b) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V H を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 21】

前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒト I g G 1 F c 領域またはそのバリエーションを含む、請求項 1 ～ 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒト I g G 1 - K 3 2 2 A F c 領域を含む、請

50

求項 1～20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 36～40 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 Fc 領域を含む、請求項 1～20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域をさらに含む、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 41 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域、及び

(b) 配列番号 36～40 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 Fc 領域を含む、請求項 1～20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 32 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 31 のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び

(b) 配列番号 32 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 31 のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び

(b) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 31】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 34 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 32】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 31 のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び

(b) 配列番号 34 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 33】

前記抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 35 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 34】

前記抗体またはその抗原結合断片が、

(a) 配列番号 31 のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び

(b) 配列番号 35 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 35】

PD-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の残基 100～109 のうちの少なくとも 1 つに結合する、請求項 1～34 のいずれ

10

20

30

40

50

か一項に記載の方法。

【請求項 36】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の残基 100～105 のうちの少なくとも 1 つに結合する、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の N 33、T 51、S 57、L 100、N 102、G 103、R 104、D 105、H 107、及び S 109 からなる群から選択される少なくとも 1 つの残基に結合する、請求項 1～34 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 38】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の N 33 に結合する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の T 51 に結合する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 40】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の S 57 に結合する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 41】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の L 100 に結合する、請求項 37 に記載の方法。

20

【請求項 42】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の N 102 に結合する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 43】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の G 103 に結合する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 44】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の R 104 に結合する、請求項 37 に記載の方法。

30

【請求項 45】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の D 105 に結合する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 46】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の H 107 に結合する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 47】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の S 109 に結合する、請求項 37 に記載の方法。

40

【請求項 48】

P D-1 に結合したとき、前記抗体または抗原結合断片が、配列番号 42 のアミノ酸配列内の G 103 及び R 104 に結合する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 49】

前記抗体またはその抗原結合断片が、
(a) T 細胞活性を減弱化し、及び／または
(b) T 細胞の表面での P D-1 発現を下方制御する、請求項 1～48 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 50】

前記 T 細胞活性の減弱化が、サイトカイン産生の阻害によって測定される、請求項 49

50

に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記抗体またはその抗原結合断片によって阻害される前記サイトカインが、I L - 1、I L - 2、I L - 6、I L - 1 2、I L - 1 7、I L - 2 2、I L - 2 3、G M - C S F、T N F - α 、I F N - γ 、またはそれらの任意の組み合わせを含む、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記サイトカインが I L - 1 である、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記サイトカインが I L - 2 である、請求項 5 1 に記載の方法。

10

【請求項 5 4】

前記サイトカインが I L - 6 である、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記サイトカインが I L - 1 2 である、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記サイトカインが I L - 1 7 である、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記サイトカインが I L - 2 2 である、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記サイトカインが I L - 2 3 である、請求項 5 1 に記載の方法。

20

【請求項 5 9】

前記サイトカインが G M - C S F である、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記サイトカインが T N F - α である、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記サイトカインが I F N - γ である、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記 T 細胞活性の減弱化が、T 細胞増殖の阻害によって測定される、請求項 4 9 ~ 6 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 3】

30

前記 T 細胞活性の減弱化が、T 細胞活性化マーカーの下方調節によって測定される、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記 T 細胞活性化マーカーが、C D 2 5 及び C D 6 9 からなる群から選択される、請求項 6 3 に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記 T 細胞活性の減弱化が、制御性 T 細胞バイオマーカーの上方調節によって測定される、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 6 6】

前記制御性 T 細胞バイオマーカーが、F o x p 3 である、請求項 6 5 に記載の方法。

40

【請求項 6 7】

前記 T 細胞活性の減弱化が、制御性 T 細胞の増加によって測定される、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 6 8】

前記抗体またはその抗原結合断片が、ヒト P D - 1 及び／またはサル P D - 1 に特異的に結合するが、齧歯類 P D - 1 にはしない、請求項 1 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記抗体またはその抗原結合断片が、減弱化された A D C C 活性及び／または減弱化された C D C 活性を有する、請求項 1 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 70】

T細胞の表面でのPD-1発現の前記下方制御が、

(a) 前記抗体またはその抗原結合断片での治療の4時間後に早ければ生じ、及び／または

(b) サイトカイン阻害と同時もしくはそれに先立つ、請求項49に記載の方法。

【請求項 71】

精製されたヒトPD-1に結合する K_D が、約100 pM～約10 nMであり、細胞表面に発現されたヒトPD-1及び細胞表面に発現されたサルPD-1に結合する K_D が、約100 pM～約10 nMである、請求項68に記載の方法。

【請求項 72】

T細胞活性を減弱化するための EC_{50} が、約1 pM～約10 pM、約10 pM～約100 pM、約100 pM～約1 nM、約1 nM～約10 nM、または約10 nM～約100 nMである、請求項49に記載の方法。

【請求項 73】

T細胞活性の最大減弱化パーセントが、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%である、請求項49に記載の方法。

【請求項 74】

PD-1発現の最大下方制御パーセントが、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%である、請求項49に記載の方法。

【請求項 75】

前記抗体が、モノクローナル抗体である、請求項1～74のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 76】

前記抗体が、ヒト化抗体、ヒト抗体、またはキメラ抗体である、請求項1～75のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 77】

前記ヒト化抗体が、脱免疫化抗体または複合ヒト抗体である、請求項76に記載の方法。

【請求項 78】

前記抗体またはその抗原結合断片が、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、dsFv、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、または抗体断片から形成された多重特異性抗体である、請求項1～74のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 79】

前記抗体またはその抗原結合断片が、薬剤に複合体化されている、請求項1～78のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 80】

前記薬剤が、放射性同位体、金属キレート剤、酵素、蛍光化合物、生物発光化合物、及び化学発光化合物からなる群から選択される、請求項79に記載の方法。

【請求項 81】

前記抗体またはその抗原結合断片が、薬学的に許容される担体をさらに含む、請求項1～80のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 82】

前記対象における免疫細胞がPD-1を発現する、請求項1～81のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

30

40

50

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2016年9月19日に出願された米国仮特許出願第62/396,720号に対する優先権の利益を主張するものであり、その開示は、その全体において参照により本明細書に組み込まれる。

技術分野

プログラム死1(PD-1)に特異的に結合し、PD-1の発現及び／または活性を調節するタンパク質を使用して、白斑を管理、治療、または予防するための方法が本明細書に提供される。

【発明の概要】

10

【0002】

本開示は、PD-1に結合する抗体などの結合タンパク質を含む、PD-1(例えば、ヒトPD-1、配列番号43)に結合する治療有効量のタンパク質を対象に投与することを含む対象における白斑を管理、予防、または治療する方法を提供する。抗体を含むそのような結合タンパク質は、PD-1ポリペプチド、PD-1断片、及び／またはPD-1エピトープに結合し得る。抗体を含むそのような結合タンパク質は、アゴニスト(例えば、PD-1リガンド様シグナル伝達を誘発する)であり得る。いくつかの実施形態では、結合タンパク質は、PD-1(例えば、非ブロッキング抗体)との相互作用について、PD-1リガンド(例えば、PD-L1及びPD-L2)と競合しない。

【0003】

20

本開示はまた、ある特定の実施形態では、(i)ヒトPD-1に結合し、(ii)PD-1リガンド様シグナル伝達を誘発し、(iii)PD-1との相互作用についてPD-L1及び／またはPD-L2と競合しない、抗体またはその断片を含む治療有効量の結合タンパク質を対象に投与することを含む対象における白斑を管理、予防、または治療する方法を提供する。

【0004】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される方法における使用のための結合タンパク質(例えば、抗PD-1抗体)は、6つの相補性決定領域(CDR)または6つ未満のCDRを含む。他の実施形態では、結合タンパク質(例えば、抗PD-1抗体)は、重鎖可変領域(VH)CDR1、VH CDR2、VH CDR3、軽鎖可変領域(VL)CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3から選択される、1、2、3、4、5、または6つのCDRを含む。ある特定の実施形態では、結合タンパク質(例えば、抗PD-1抗体)は、本明細書に記載されるようにPD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6、またはそれらのヒト化バリエーションとして示されるモノクローナル抗体のVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3から選択される、1、2、3、4、5、または6つのCDRを含む。いくつかの実施形態では、結合タンパク質(例えば、抗PD-1抗体)は、ヒト免疫グロブリンアミノ酸配列またはそのバリエーションのVH FR1、VH FR2、VH FR3、VH FR4、VL FR1、VL FR2、VL FR3、及び／またはVL FR4を含む、骨格領域またはフレームワーク領域(FR)をさらに含む。

30

40

【0005】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号8のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域及び配列番号13のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む抗体によって認識されるヒトPD-1のエピトープに結合する。

【0006】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗体断片は、配列番号8のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域及び配列番号13のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域を含む抗体を有するヒトPD-1のエピトープに結合する。

【0007】

50

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表 1 に示される抗体 PD 1 A B-1、PD 1 A B-2、PD 1 A B-3、PD 1 A B-4、PD 1 A B-5、または PD 1 A B-6 のうちのいずれか 1 つの V L C D R 1、V L C D R 2、及び V L C D R 3 を含む V L を含む。

【0008】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、表 2 に示される抗体 PD 1 A B-1、PD 1 A B-2、PD 1 A B-3、PD 1 A B-4、PD 1 A B-5、または PD 1 A B-6 のうちのいずれか 1 つの V H C D R 1、V H C D R 2、及び V H C D R 3 を含む V H を含む。

【0009】

本方法のさらなる他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、
(a) 表 3 に示される抗体 PD 1 A B-1、PD 1 A B-2、PD 1 A B-3、PD 1 A B-4、PD 1 A B-5、または PD 1 A B-6 のうちのいずれか 1 つの V L F R 1、V L F R 2、V L F R 3、及び V L F R 4 を含む V L、及び
(b) 表 4 に示される抗体 PD 1 A B-1、PD 1 A B-2、PD 1 A B-3、PD 1 A B-4、PD 1 A B-5、または PD 1 A B-6 のうちのいずれか 1 つの V H F R 1、V H F R 2、V H F R 3、及び V H F R 4 を含む V H を含む。

【0010】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片の V L C D R 1、V L C D R 2、及び V L C D R 3 は、それぞれ配列番号 1、2、及び 3 のアミノ酸配列を含み、抗体またはその抗原結合断片の V H C D R 1、V H C D R 2、及び V H C D R 3 は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む。

【0011】

本方法のさらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片の V L C D R 1、V L C D R 2、及び V L C D R 3 は、それぞれ配列番号 7、2、及び 3 のアミノ酸配列を含み、抗体またはその抗原結合断片の V H C D R 1、V H C D R 2、及び V H C D R 3 は、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 のアミノ酸配列を含む。

【0012】

本方法の別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む V L を含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列は、1 つ以上のその保存的修飾を含む。

【0013】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V L を含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列は、1 つ以上のその保存的修飾を含む。

【0014】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V L を含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列は、1 つ以上のその保存的修飾を含む。

【0015】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V H を含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列は、1 つ以上のその保存的修飾を含む。

【0016】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V H を含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列は、1 つ以上のその保存的修飾を含む。

【0017】

本方法の別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V H を含む。いくつかの実施形態では、アミノ酸配列は、1 つ以上のその保存

10

20

30

40

50

的修飾を含む。

【0018】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む V L、及び (b) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V Hを含む。

【0019】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V L、及び (b) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V Hを含む。

【0020】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V L、及び (b) 配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V Hを含む。

10

【0021】

本方法の一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む V L、及び (b) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V Hを含む。

【0022】

本方法の別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V L、及び (b) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V Hを含む。

【0023】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V L、及び (b) 配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V Hを含む。

20

【0024】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 8 のアミノ酸配列を含む V L、及び (b) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V Hを含む。

【0025】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V L、(b) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V Hを含む。

【0026】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V L、及び (b) 配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V Hを含む。

30

【0027】

いくつかの実施形態では、V Lのアミノ酸配列は、1つ以上のその保存的修飾を含む。いくつかの実施形態では、V Hのアミノ酸配列は、1つ以上のその保存的修飾を含む。いくつかの実施形態では、V L及びV Hのアミノ酸配列は、1つ以上のその保存的修飾を含む。

【0028】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体は、ヒト I g G 1 F c 領域を含む。他の実施形態では、抗体は、バリエーションヒト I g G 1 F c 領域を含む。

【0029】

本方法の一実施形態では、抗体は、ヒト I g G 1 - K 3 2 2 A F c 領域を含む。

40

【0030】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体は、ヒト I g G 4 F c 領域を含む。他の実施形態では、抗体は、バリエーションヒト I g G 4 F c 領域を含む。

【0031】

本方法の別の実施形態では、抗体は、ヒト I g G 4 P F c 領域を含む。

【0032】

本方法のさらなる別の実施形態では、抗体は、ヒト I g G 4 P E F c 領域を含む。

【0033】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域をさらに含む。

50

【0034】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片が、配列番号36～40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域をさらに含む。

【0035】

本方法のさらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域、及び配列番号36～40からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖Fc領域をさらに含む。

【0036】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

10

【0037】

本方法の別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号32のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0038】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び(b)配列番号32のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0039】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0040】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び(b)配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

20

【0041】

本方法の一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号34のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0042】

本方法のさらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び(b)配列番号34のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0043】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

30

【0044】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、(a)配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び(b)配列番号35のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【0045】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列を有する残基100～109のうちの少なくとも1つに結合する。

【0046】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列を有する残基100～105のうちの少なくとも1つに結合する。

40

【0047】

本方法の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される少なくとも1つの残基に結合する。

【0048】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合し

50

たとき、配列番号４２のアミノ酸配列内のＮ３３、Ｔ５１、Ｓ５７、Ｌ１００、Ｎ１０２、Ｇ１０３、Ｒ１０４、Ｄ１０５、Ｈ１０７、及びＳ１０９からなる群から選択される２つ以上の残基に結合する。

【００４９】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＰＤ－１に結合したとき、配列番号４２のアミノ酸配列内のＮ３３、Ｔ５１、Ｓ５７、Ｌ１００、Ｎ１０２、Ｇ１０３、Ｒ１０４、Ｄ１０５、Ｈ１０７、及びＳ１０９からなる群から選択される３つ以上の残基に結合する。

【００５０】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＰＤ－１に結合したとき、配列番号４２のアミノ酸配列内のＮ３３、Ｔ５１、Ｓ５７、Ｌ１００、Ｎ１０２、Ｇ１０３、Ｒ１０４、Ｄ１０５、Ｈ１０７、及びＳ１０９からなる群から選択される４つ以上の残基に結合する。

10

【００５１】

本方法の一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＰＤ－１に結合したとき、配列番号４２のアミノ酸配列内のＮ３３、Ｔ５１、Ｓ５７、Ｌ１００、Ｎ１０２、Ｇ１０３、Ｒ１０４、Ｄ１０５、Ｈ１０７、及びＳ１０９からなる群から選択される５つ以上の残基に結合する。

【００５２】

本方法の別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＰＤ－１に結合したとき、配列番号４２のアミノ酸配列内のＮ３３、Ｔ５１、Ｓ５７、Ｌ１００、Ｎ１０２、Ｇ１０３、Ｒ１０４、Ｄ１０５、Ｈ１０７、及びＳ１０９からなる群から選択される６つ以上の残基に結合する。

20

【００５３】

本方法のさらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＰＤ－１に結合したとき、配列番号４２のアミノ酸配列内のＮ３３、Ｔ５１、Ｓ５７、Ｌ１００、Ｎ１０２、Ｇ１０３、Ｒ１０４、Ｄ１０５、Ｈ１０７、及びＳ１０９からなる群から選択される７つ以上の残基に結合する。

【００５４】

本方法のさらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＰＤ－１に結合したとき、配列番号４２のアミノ酸配列内のＮ３３、Ｔ５１、Ｓ５７、Ｌ１００、Ｎ１０２、Ｇ１０３、Ｒ１０４、Ｄ１０５、Ｈ１０７、及びＳ１０９からなる群から選択される８つ以上の残基に結合する。

30

【００５５】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＰＤ－１に結合したとき、配列番号４２のアミノ酸配列内のＮ３３、Ｔ５１、Ｓ５７、Ｌ１００、Ｎ１０２、Ｇ１０３、Ｒ１０４、Ｄ１０５、Ｈ１０７、及びＳ１０９からなる群から選択される９つ以上の残基に結合する。

【００５６】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＰＤ－１に結合したとき、配列番号４２のアミノ酸配列内のＮ３３、Ｔ５１、Ｓ５７、Ｌ１００、Ｎ１０２、Ｇ１０３、Ｒ１０４、Ｄ１０５、Ｈ１０７、及びＳ１０９からなる群から選択される１０個すべての残基に結合する。

40

【００５７】

本方法の一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＰＤ－１に結合したとき、配列番号４２のアミノ酸配列内のＮ３３に結合する。

【００５８】

本方法の別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＰＤ－１に結合したとき、配列番号４２のアミノ酸配列内のＴ５１に結合する。

【００５９】

50

本方法の特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1 に結合したとき、配列番号 42 のアミノ酸配列内の S57 に結合する。

【0060】

本方法の 1 つの特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1 に結合したとき、配列番号 42 のアミノ酸配列内の L100 に結合する。

【0061】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1 に結合したとき、配列番号 42 のアミノ酸配列内の N102 に結合する。

【0062】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1 に結合したとき、配列番号 42 のアミノ酸配列内の G103 に結合する。

【0063】

本方法の別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1 に結合したとき、配列番号 42 のアミノ酸配列内の R104 に結合する。

【0064】

本方法のさらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1 に結合したとき、配列番号 42 のアミノ酸配列内の G103 及び R104 に結合する。

【0065】

本方法のさらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1 に結合したとき、配列番号 42 のアミノ酸配列内の D105 に結合する。

【0066】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1 に結合したとき、配列番号 42 のアミノ酸配列内の H107 に結合する。

【0067】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1 に結合したとき、配列番号 42 のアミノ酸配列内の S109 に結合する。

【0068】

本方法の一実施形態では、ヒト PD-1 のエピトープは、PD-L1 結合部位とは異なる。別の実施形態では、ヒト PD-1 のエピトープは、PD-L2 結合部位とは異なる。特定の実施形態では、ヒト PD-1 のエピトープは、PD-L1 結合部位及び PD-L2 結合部位の両方とは異なる。

【0069】

本方法の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒト PD-1 及び／またはサル PD-1（例えば、カニクイザル）に特異的に結合するが、齧歯類 PD-1 にはしない。

【0070】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、減弱化された抗体依存性細胞障害（ADCC）活性を有する。他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、減弱化された補体依存性細胞障害（CDC）活性を有する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、減弱化された ADCC 及び／または減弱化された CDC 活性を有する。

【0071】

一態様では、対象における白斑を管理、予防、または治療する方法が本明細書に提供され、ヒト PD-1 のエピトープに結合する治療有効量の抗体またはその抗原結合断片を対象に投与することを含み、抗体またはその抗原結合断片は、（a）T細胞活性を減弱化し、及び／または（b）T細胞の表面での PD-1 発現を下方制御する。

【0072】

本方法の一実施形態では、抗体は、T細胞活性を減弱化する。別の実施形態では、抗体は、T細胞の表面での PD-1 発現を下方制御する。

【0073】

10

20

30

40

50

ある特定の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、T細胞エフェクター機能によって測定される。

【0074】

本方法のいくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、サイトカイン産生の阻害によって測定される。

【0075】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片によって阻害されるサイトカインは、IL-2、IL-17、及び／またはIFN- γ を含む。いくつかの実施形態では、サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、IFN- γ 、及びTNF- α からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、サイトカインはIL-1である。いくつかの実施形態では、サイトカインはIL-2である。他の実施形態では、サイトカインはIL-6である。別の実施形態では、サイトカインはIL-12である。いくつかの他の実施形態では、サイトカインはIL-17である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはIL-22である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはIL-23である。いくつかの実施形態では、サイトカインはGM-CSFである。他の実施形態では、サイトカインはIFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはTNF- α である。ある特定の実施形態では、サイトカインはIL-2及びIL-17である。いくつかの実施形態では、サイトカインはIL-2及びIFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはIL-17及びIFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインは、IL-2、IL-17、及びIFN- γ である。上記に記述のサイトカインのうちの2つ、3つ、またはそれ以上の他の組み合わせが企図される。

【0076】

本方法のいくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、T細胞増殖の阻害によって測定される。

【0077】

本方法のいくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、T細胞活性化マーカーの下方制御によって測定される。

【0078】

本方法のいくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、制御性T細胞バイオマーカーの上方制御によって測定される。

【0079】

本方法のいくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、制御性T細胞数の増加によって測定される。

【0080】

本方法のある特定の実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後に早ければ生じる。別の実施形態では、下方制御は、接触の6時間後に早ければ生じる。さらなる別の実施形態では、下方制御は、接触の8時間後に早ければ生じる。さらなる別の実施形態では、下方制御は、接触の10時間後に早ければ生じる。一実施形態では、下方制御は、接触の12時間後に早ければ生じる。別の実施形態では、下方制御は、接触の14時間後に早ければ生じる。さらなる別の実施形態では、下方制御は、接触の16時間後に早ければ生じる。さらなる別の実施形態では、下方制御は、接触の18時間後に早ければ生じる。一実施形態では、下方制御は、接触の20時間後に早ければ生じる。別の実施形態では、下方制御は、接触の22時間後に早ければ生じる。さらなる別の実施形態では、下方制御は、接触の24時間後に早ければ生じる。いくつかの実施形態では、接触は、抗体を伴う。他の実施形態では、接触は、その抗原結合断片を伴う。

【0081】

いくつかの実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、サイトカイン阻害に先立つ。一実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、抗体また

10

20

30

40

50

カイン阻害の後である。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の18時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。一実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の20時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の22時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の24時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。

【0084】

本方法の一実施形態では、精製されたヒトPD-1に結合する抗体またはその抗原結合断片の K_D は、約1 nM～約100 nMである。本方法の別の実施形態では、細胞表面に発現されたヒトPD-1及び細胞表面に発現されたサルPD-1に結合する抗体またはその抗原結合断片の K_D は、約100 pM～約10 nMである。

10

【0085】

本方法のいくつかの実施形態では、T細胞活性を減弱化するための抗体またはその抗原結合断片の EC_{50} は、約1 pM～約10 pM、約10 pM～約100 pM、約100 pM～約1 nM、約1 nM～約10 nM、または約10 nM～約100 nMである。

【0086】

本方法の他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片によるT細胞活性の最大減弱化パーセントは、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%である。

20

【0087】

本方法の別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方制御パーセントは、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%である。

【0088】

本方法のある特定の実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体、ヒト抗体、またはキメラ抗体である。別の実施形態では、ヒト化抗体は、脱免疫化抗体または複合ヒト抗体である。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒト化抗体である。特定の実施形態では、抗体は、ヒトPD-1に特異的に結合するヒト化抗体である。

30

【0089】

本方法のある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、dsFv、ダイアボディ、トリアボディ、またはテトラボディである。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、抗体断片から形成された多重特異性抗体である。他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、二重特異性抗体である。

【0090】

本方法のいくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、薬剤に複合体化されている。一実施形態では、薬剤は、放射性同位体、金属キレート剤、酵素、蛍光化合物、生物発光化合物、または化学発光化合物である。

40

【0091】

本方法の別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、T細胞活性を減弱化する。一実施形態では、T細胞活性の最大減弱化パーセントは、少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、または約100%である。いくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、T細胞増殖の阻害によって測定される。いくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、サイトカイン産生の阻害によって測定される。いくつかの実施形態では、サイトカインは、IL-2、IL-17、IFN- γ

50

、またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、サイトカインは、 $IL-1$ 、 $IL-2$ 、 $IL-6$ 、 $IL-12$ 、 $IL-17$ 、 $IL-22$ 、 $IL-23$ 、 $GM-CSF$ 、 $IFN-\gamma$ 、及び $TNF-\alpha$ からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、サイトカインは $IL-1$ である。いくつかの実施形態では、サイトカインは $IL-2$ である。他の実施形態では、サイトカインは $IL-6$ である。別の実施形態では、サイトカインは $IL-12$ である。いくつかの他の実施形態では、サイトカインは $IL-17$ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインは $IL-22$ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインは $IL-23$ である。いくつかの実施形態では、サイトカインは $GM-CSF$ である。他の実施形態では、サイトカインは $IFN-\gamma$ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインは $TNF-\alpha$ である。ある特定の実施形態では、サイトカインは $IL-2$ 及び $IL-17$ である。いくつかの実施形態では、サイトカインは $IL-2$ 及び $IFN-\gamma$ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインは $IL-17$ 及び $IFN-\gamma$ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインは、 $IL-2$ 、 $IL-17$ 、及び $IFN-\gamma$ である。上記に記述のサイトカインのうちの2つ、3つ、またはそれ以上の他の組み合わせが企図される。ある特定の実施形態では、サイトカイン産生の阻害は、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御に続く。他の実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間、6時間、8時間、10時間、12時間、14時間、16時間、18時間、20時間、22時間、または24時間後に早ければ生じる。一実施形態では、下方制御は、接触の4時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。一実施形態では、下方制御は、接触の6時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。一実施形態では、下方制御は、接触の8時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。一実施形態では、下方制御は、接触の10時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。別の実施形態では、下方制御は、接触の12時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。実施形態では、下方制御は、接触の14時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。他の実施形態では、下方制御は、接触の16時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。一実施形態では、下方制御は、接触の18時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。別の実施形態では、下方制御は、接触の20時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。一実施形態では、下方制御は、接触の22時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。いくつかの実施形態では、下方制御は、接触の24時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。いくつかの実施形態では、サイトカイン産生の阻害は、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御と同時である。一実施形態では、下方制御は、接触の4時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。一実施形態では、下方制御は、接触の6時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。一実施形態では、下方制御は、接触の8時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。一実施形態では、下方制御は、接触の10時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。別の実施形態では、下方制御は、接触の12時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。実施形態では、下方制御は、接触の14時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。他の実施形態では、下方制御は、接触の16時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。一実施形態では、下方制御は、接触の18時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。別の実施形態では、下方制御は、接触の20時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。一実施形態では、下方制御は、接触の22時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。いくつかの実施形態では、下方制御は、接触の24時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。いくつかの実施形態では、サイトカイン産生の阻害は、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御に先立つ。一実施形態では、下方制御は、接触の4時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。一実施形態では、下方制御は、接触の6時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。一実施形態では、下方制御は、接触の8時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。一実施形態では、下方制御は、接触の10時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。別の実施形態で

10

20

30

40

50

は、下方制御は、接触の12時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。実施形態では、下方制御は、接触の14時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。他の実施形態では、下方制御は、接触の16時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。一実施形態では、下方制御は、接触の18時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。別の実施形態では、下方制御は、接触の20時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。一実施形態では、下方制御は、接触の22時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。いくつかの実施形態では、下方制御は、接触の24時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。

【0092】

本方法のさらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、T細胞の表面でのPD-1発現を下方制御する。一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片によるPD-1発現の最大下方制御パーセントは、少なくとも約10%、20%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%である。別の実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後に早ければ生じる。一実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、サイトカイン阻害に先立つ。一実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、サイトカイン阻害と同時である。一実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、サイトカイン阻害に続く。ある特定の実施形態では、サイトカインは、IL-2、IL-17、IFN- γ 、またはそれらの任意の組み合わせである。ある特定の実施形態では、サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、IFN- γ 、及びTNF- α からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、サイトカインはIL-1である。いくつかの実施形態では、サイトカインはIL-2である。他の実施形態では、サイトカインはIL-6である。別の実施形態では、サイトカインはIL-12である。他の実施形態では、サイトカインはIL-17である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはIL-22である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはIL-23である。いくつかの実施形態では、サイトカインはGM-CSFである。他の実施形態では、サイトカインはIFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはTNF- α である。ある特定の実施形態では、サイトカインはIL-2及びIL-17である。いくつかの実施形態では、サイトカインはIL-2及びIFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはIL-17及びIFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインは、IL-2、IL-17、及びIFN- γ である。

【0093】

本方法の別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、サイトカイン産生を阻害することによってT細胞活性を減弱化する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片によって阻害されるサイトカインは、IL-2、IL-17、IFN- γ 、またはそれらの任意の組み合わせから選択される。ある特定の実施形態では、サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、IFN- γ 、及びTNF- α からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、サイトカインはIL-1である。いくつかの実施形態では、サイトカインはIL-2である。他の実施形態では、サイトカインはIL-6である。別の実施形態では、サイトカインはIL-12である。他の実施形態では、サイトカインはIL-17である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはIL-22である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはIL-23である。いくつかの実施形態では、サイトカインはGM-CSFである。他の実施形態では、サイトカインはIFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはTNF- α である。ある特定の実施形態では、サイトカインはIL-2及びIL-17である。いくつかの実施形態では、サイトカインはIL-2及びIFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはIL-17及びIFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインは、IL-2、IL-17、及

び I F N - γ である。上記に記述のサイトカインのうちの 2 つ、3 つ、またはそれ以上の他の組み合わせが企図される。

【0094】

また、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片を含む治療有効量の組成物を対象に投与することを含む、対象における白斑を管理、予防、または治療する方法が本明細書に提供される。本方法のある特定の実施形態では、組成物は、薬学的に許容される担体をさらに含む。

【0095】

ある特定の実施形態では、対象は、白斑を有するか、または抗炎症性治療で白斑を治療される。

【0096】

特定の他の実施形態では、対象の免疫細胞は、PD-1 を発現する。

【図面の簡単な説明】

【0097】

【図1】図1A及び図1Bは、抗PD-1抗体(PD1AB)を減弱化するT細胞が、PD-1:(A)PD1AB-1、PD1AB-2、及びPD1AB-6、(B)PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、及びPD1AB-5に結合するPD-L1(PD-L1-DyL650は、染料DyL650と複合体化されたPD-L1を示す)と競合しないことを示す。アンタゴニスト抗体であるMDX 4H1は、PD-1に結合するPD-L1をブロックする。

【0098】

【図2】PD-1:PD1AB-6 Fab相互作用部位が、PD-1:PD-L1相互作用部位に対してPD-1の遠位側にあることを示す。

【0099】

【図3】PD1AB-6 Fabが、PD-1 β シートに対して結合し、PD-1ループで形成される実質的な相互作用が残基100~105から構成されることを示す。

【0100】

【図4】PD1AB-6-IgG1の重鎖(HC)及び軽鎖(LC)、ならびにそのバリエーションPD1AB-6-K3及びPD1AB-6-4PのHCのアミノ酸配列を示す。

【0101】

【図5】図5A及び図5Bは、CHO細胞上に発現されたカニクイザル(A)またはヒト(B)PD-1のPD1AB-6-IgG1親和性を示す。

【0102】

【図6】PD1AB-6-IgG1、アイソタイプ対照、及びヒトPD-L1 Fc融合タンパク質(hPD-L1 Fc)の、CD4+T細胞上にゲーティングされた活性化ヒトPBMCへの結合を示す。

【0103】

【図7】PD1AB-6-IgG1、アイソタイプ対照、及びヒトPD-L1 Fc融合タンパク質(hPD-L1 Fc)の、CD4+T細胞上にゲーティングされた活性化カニクイザルPBMCへの結合を示す。

【0104】

【図8】図8A~図8Dは、Cisbio Tag-It (商標)検出を使用してHEK293細胞上に発現されたFc γ RI(A)、Fc γ RIIIa(V158)(B)、またはFc γ RIIIb(C)に結合するPD1AB-6バリエーション、及びFc γ RI、Fc γ RIIIa(V158)、またはFc γ RIIIbに結合するPD1AB-6バリエーションの(D)EC₅₀値を示す。

【0105】

【図9】図9A~図9Cは、FACSを使用してCHO細胞上に発現されたFc γ RIIIa(V158)(A)またはFc γ RI(B)に結合するPD1AB-6バリエーション、及び(C)Fc γ RIまたはFc γ RIIIaを結合するPD-1抗体バリエーションのEC

10

20

30

40

50

EC_{50} 値を示す。

【0106】

【図10】図10A及び図10Bは、4人の個体の健康なドナーのうちの2人の代表者：(A)ドナー7及び(B)ドナー8における、PD1AB-6バリエント及び対照ヒトIgG1FcのADCC活性を示す。

【0107】

【図11】PD1AB-6バリエントのCDC活性を示す。データは、3つの独立した実験の代表である：(i)PD1AB-6-IgG1及び抗ヒトCD20-IgG1のCDC活性、(ii)PD1AB-6-IgG1及びPD1AB-6-K3のCDC活性、(iii)PD1AB-6-4P及び商用のヒトIgG4アイソタイプ対照抗体及びヒトIgG1Fcタンパク質のCDC活性。

10

【0108】

【図12】刺激後24時間で培養上清中のIL-2レベルによって測定された、ヒトPBMCアッセイにおけるPD1AB-6バリエントの強力な減弱活性を示す。

【0109】

【図13】ヒト全血アッセイにおけるPD1AB-6-K3の活性を示す。グラフは、IFN- γ 阻害の EC_{50} を計算するために使用されるドナー4からの代表曲線を示す。表は、PD1AB-6バリエント及びCTL A4Igを有する4人の健康なドナーのIFN- γ 阻害の EC_{50} 値を示す。

【0110】

20

【図14】図14A～図14Cは、(A)48時間抗CD3+抗CD28で活性化されたヒトPBMCにおけるCD3+T細胞上のアイソタイプ対PD-1染色、(B)PBMC(検出抗PD-1抗体は、PD1AB-6によってブロックされていない)を治療した、アイソタイプIgG1対PD1AB-6-IgG1におけるPD-1発現、ならびに(C)抗CD3+抗CD28で活性化された3人の異なるドナーからのヒトPBMCにおけるCD3+T細胞上でのPD-1発現、及びアイソタイプIgG1またはPD1AB-6-IgG1のいずれかの3つの異なる濃度によって測定した場合のPD1AB-6-IgG1によるPD-1発現の下方制御を示す。

【0111】

【図15】図15A～図15Cは、(A)PD1AB-6-IgG1、(B)PD1AB-6-4P、及び(C)Biacore(登録商標)T200上でPD-1抗原に結合するPD1AB-6-K3を示す。

30

【発明を実施するための形態】

【0112】

PD-1に結合する抗体など有効量の結合タンパク質を対象に投与することを含む、対象における白斑を管理、予防、または治療する方法が本明細書に提供される。一実施形態では、有効量のPD-1結合タンパク質を対象に投与することを含む、対象における白斑を管理する方法が本明細書に提供される。一実施形態では、有効量のPD-1結合タンパク質を対象に投与することを含む、対象における白斑を予防する方法が本明細書に提供される。一実施形態では、有効量のPD-1結合タンパク質を対象に投与することを含む、対象における白斑を治療する方法が本明細書に提供される。特定の実施形態では、PD-1結合タンパク質は、PD-1に結合する抗体である。これらの方法において有用である例示的なPD-1抗体が本明細書に提供される。

40

【0113】

本明細書に提供される様々な方法のいくつかの実施形態では、抗体は、ヒト及び／またはカニクイザルPD-1に結合する。いくつかの実施形態では、ヒト及び／またはカニクイザルPD-1に結合する抗体などの結合タンパク質は、齧歯類PD-1に結合しない。ある特定の実施形態では、本明細書に開示される抗体を含むPD-1結合タンパク質は、アゴニストである(例えば、PD-1リガンドPD-1の効果进行を模倣し、シグナル伝達を誘発し得る)。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるPD-1に対する抗体な

50

どの結合タンパク質は、(i) ヒト及び／もしくはカニクイザルPD-1に結合し、(ii) 結合についてPD-1リガンド(例えば、PD-L1及び／もしくはPD-L2)と競合せず、ならびに／または(iii) PD-1シグナル伝達を誘発する。一実施形態では、PD-1抗体は、ヒトPD-1に結合する。一実施形態では、PD-1抗体は、カニクイザルPD-1に結合する。一実施形態では、PD-1抗体は、ヒトPD-1及びカニクイザルPD-1の両方に結合する。いくつかの実施形態では、PD-1抗体は、PD-1への結合についてPD-L1と競合しない。他の実施形態では、PD-1抗体は、PD-1への結合についてPD-L2と競合しない。さらなる他の実施形態では、PD-1抗体は、PD-1への結合についてPD-L1またはPD-L2のいずれかと競合しない。他の実施形態では、PD-1抗体は、PD-1シグナル伝達を誘発する。特定の実施形態では、本明細書に提供されるPD-1抗体は、ヒトPD-1及びカニクイザルPD-1の両方に結合し、PD-1への結合についてPD-L1またはPD-L2のいずれかと競合せず、PD-1シグナル伝達を誘発する。いくつかの実施形態では、結合、競合、及び／またはシグナル伝達は、インビトロ、例えば、細胞に基づくアッセイで評価される。他の実施形態では、結合、競合、及び／またはシグナル伝達は、エクスピボ、例えば、T細胞機能アッセイで評価される。一実施形態では、PD-1抗体は、ヒトPD-1に結合する。ある特定の実施形態では、アッセイ及び測定値は、(1) ヒトまたはカニクイザルPBMCアッセイ(例えば、実施例5.2.1及び5.2.2を参照されたい)、ならびに(2) ヒト全血試料アッセイ(例えば、実施例5.2.1を参照されたい)を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体などの結合タンパク質は、本明細書に記載されるように、PD-L1及び／またはPD-L2の自然生物学的機能と一貫する活性を呈する。いくつかの実施形態では、活性は、インビトロで呈される。他の実施形態では、活性は、エクスピボで呈される。

【0114】

他の実施形態では、結合、競合、及び／またはシグナル伝達は、インビボで、例えば、白斑のマウスモデルで評価される(例えば、実施例5.4を参照されたい)。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体などの結合タンパク質は、本明細書に記載されるように、PD-L1及び／またはPD-L2の自然生物学的機能と一貫する活性を呈する。いくつかの実施形態では、活性は、インビトロで呈される。他の実施形態では、活性は、インビボで呈される。

【0115】

抗PD-1抗体を含む、そのような結合タンパク質がPD-1シグナル伝達を誘発するという発見は、それらを白斑の治療のための様々な治療法にする。

【0116】

本明細書に提供される様々な方法の特定の実施形態では、PD-1に結合する抗体など、本明細書に記載の結合タンパク質は、PD-1の結合のために互いに競合するという共通の特徴を共有する。この競合的阻害は、各抗体が、PD-1の同じ領域(例えば、同じエピトープ)に結合することを示し得、それによって同様の効果を主張する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、及び／またはPD1AB-6に由来するか、またはそれらに基づくものなどのヒト化抗PD-1抗体を含む。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、結合について、PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、及び／またはPD1AB-6に由来するか、またはそれらに基づく抗体と競合する。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、表1及び表2に記載される通りCDR配列を有する。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、特定のドメインまたはヒトPD-1(例えば、残基100~105、実施例5.1.4を参照されたい)のエピトープに結合する。さらに、そのような結合は、領域内で特定のアミノ酸残基(例えば、G103及びR104、実施例5.1.4を参照されたい)に大いに起因し、それは、本明細書に提供される抗PD-1抗体によって認識されるエピトープを含む。まとめると、本明細書に提供される結果は、

表 1 及び表 2 に記載の 1 つ以上の C D R を有する抗体を含む、P D 1 A B－6 に由来するか、またはそれに基づく抗 P D－1 抗体について観察される効果が、同じまたは同様のエピトープ特異性（例えば、同じまたは同様の C D R）を有する本明細書に提供される他の抗 P D－1 抗体に外装され得ることを示す。例えば、例示的なヒト化抗 P D－1 抗体について、実施例 5. 1. 2～3、5. 1. 7～10、5. 2. 1～3 及び 5. 3. 1 に示される抗体の活性は、本明細書に提供される抗 P D－1 抗体の活性及び効果の代表である。

【0117】

本明細書に提供される様々な方法のいくつかの実施形態では、抗 P D－1 抗体などの結合タンパク質は、表 1 及び表 2 に記載の 1 つ以上の C D R を含む免疫グロブリン可変領域を含み得る。そのような結合タンパク質（例えば、抗 P D－1 抗体）では、C D R は、1 つ以上の骨格領域またはフレームワーク領域（F R）と結合され得、それは、C D R（複数可）の適切な抗原結合特性が達成されるように C D R（複数可）を適応させる。本明細書に記載の抗 P D－1 抗体を含むそのような結合タンパク質は、P D－1 シグナル伝達を誘発し得る。

【0118】

4. 1 一般的技法

本明細書において記載されるか、または参照される技法及び手順は、当業者により概して十分に理解され、及び／または、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3d ed., 2001)、Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., 2003)、Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic (An ed., 2009)、Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols (Albitar ed., 2010)、及び Antibody Engineering Vols 1 and 2 (Kontermann and Dubel eds., 2d ed., 2010) に記載されている幅広く利用される方法論などの従来の方法論を使用して一般に用いられるものを含む。

【0119】

4. 2 用語法

別途記載されない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語及び科学用語は、当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書を解釈する目的において、以下の説明が適用され、適当な場合はいつでも、単数形で使用される用語は複数形も含み、その逆も同様である。すべての特許、出願、公開された出願、及び他の出版物は、それらの全体において参照により組み込まれる。記載されるいずれかの説明が、参照により本明細書に組み込まれるいずれかの文献と矛盾する場合には、以下に記載される説明が優先する。

【0120】

用語「プログラム死 1 リガンド 1」、「プログラム細胞死 1」、「タンパク質 P D－1」、「P D－1」、「P D－1 ポリペプチド」、または「P D 1」は、別途示されない限り霊長類などの哺乳動物（例えば、ヒト及びカニクイザル（cynos））イヌ、及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）を含む、任意の脊椎動物供給源からの任意の天然ポリペプチドを含むポリペプチド（「ポリペプチド」及び「タンパク質」が本明細書において交換可能に使用される）を包含する。ある特定の実施形態では、用語は、「関連 P D－1 ポリペプチド」を含み、その S N P バリエーションを含む。用語「P D－1」はまた、「全長」で未処理の P D－1、ならびに細胞内における処理により生じる P D－1 の任意の形態を包含する。いくつかの実施形態では、P D 1 は、配列番号 43 のアミノ酸配列を有する。GenBank（商標）受託番号 U 6 4 8 6 3 は、別の例示的なヒト P D－1 核酸配列を提供する。

【0121】

「関連 P D－1 ポリペプチド」は、対立遺伝子バリエーション（例えば、S N P バリエーション

）；スプライスバリエント；断片；誘導体；置換、欠失、及び挿入バリエント；融合ポリペプチド；ならびにPD-1活性を保持し得る種間相同体を含む。当業者には理解されるように、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1抗原、及び／またはPD-1エピトープに結合し得る。「エピトープ」は、より大きなPD-1抗原の部分であり得、それはより大きなPD-1ポリペプチド断片の部分であり得、次いでより大きなPD-1ポリペプチドの部分であり得る。PD-1は、天然の形態または変性された形態で存在し得る。本明細書に記載されるPD-1ポリペプチドは、ヒト組織型から、もしくは別の源から等、多様な源から単離され得るか、または組み換え法または合成法によって調製され得る。PD-1ポリペプチドに対するオーソログもまた、当該技術分野において周知である。

10

【0122】

用語「PD1AB-6-IgG1」、「PD1AB-6 IgG1」、「PD1AB-6-IgG1」、「IgG1-PD1AB-6」、及び「IgG1-PD1AB-6」は、交換可能に使用され、IgG1 Fc領域を有する抗体PD1AB-6を指す。ある特定の実施形態では、抗体PD1AB-6は、例えば、図4に示されるように、LC-PD1AB-6-IgG1（配列番号31）の軽鎖アミノ酸配列及びHC-PD1AB-6-IgG1（配列番号32）の重鎖アミノ酸配列を含む。

【0123】

用語「PD1AB-6-K3」、「PD1AB-6-IgG1-K322A」、「PD1AB-6-K322A」、「IgG1-PD1AB-6-K322A」、「IgG1-PD1AB-6-K3」、「IgG1-PD1AB-6-K322A」、及び「IgG1-PD1AB-6-K3」は、交換可能に使用され、IgG1 Fc領域においてK322A置換を有するPD1AB-6バリエントを指す。ある特定の実施形態では、PD1AB-6バリエントは、例えば、図4に示されるように、HC-PD1AB-6-IgG1-K322A（配列番号33）の重鎖アミノ酸配列を有する。

20

【0124】

用語「PD1AB-6-4P」、「IgG4P-PD1AB-6」、「IgG4P-PD1AB-6」、「PD1AB-6-IgG4P」、及び「PD1AB-6-IgG4P」は、交換可能に使用され、IgG4P Fc領域を有するPD1AB-6バリエントを指す。ある特定の実施形態では、PD-1抗体バリエントは、例えば、図4に示されるように、HC-PD1AB-6-IgG4P（配列番号34）の重鎖アミノ酸配列を有する。

30

【0125】

用語「PD1AB-6-4PE」、「IgG4PE-PD1AB-6」、「IgG4PE-PD1AB-6」、ならびに「PD1AB-6-IgG4PE」及び「PD1AB-6-IgG4PE」は、交換可能に使用され、HC-PD1AB-6-IgG4PE（配列番号35）としてIgG4PE重鎖アミノ酸配列を有するPD1AB-6バリエントを指す。

【0126】

用語「PD-1リガンド」は、例えば、インビボまたはインビトロで、PD-1に結合する分子を指す。PD-1リガンドの非限定的な実施例は、天然発生リガンド、例えば、PD-1リガンド1（PD-L1、B7-H1またはCD274としても知られている）及びPD-1リガンド2（PD-L2、B7-DCまたはCD273としても知られている）、ならびに人工生成リガンドを含む。

40

【0127】

用語「PD-L1」及び「PDL-1」は、本明細書において交換可能に使用され、PD-1リガンド1（B7-H1またはCD274としても知られている）を指す。

【0128】

用語「PD-1活性」、「PD-1シグナル伝達」、及び「PD-1リガンド様シグナル伝達」は、本開示のPD-1に結合する抗体などの結合タンパク質に適用されるとき、

50

結合タンパク質（例えば、抗体）が、PD-1 リガンドの結合によって誘発される生物学的効果を模倣または調節し、例えば、インビボまたはインビトロで、そうでなければPD-1 へのPD-1 リガンド結合に起因するであろう生物学的応答を誘発することを意味する。抗PD-1 抗体の結合特異性を評価することにおいて、例えば、PD-1（例えば、ヒトPD-1）に結合する抗体またはその断片など、抗体は、応答が、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、175%、または200%以上の野生型PD-1 リガンド標準の活性など、5%以上であるときに、生物学的応答を誘発すると考えられる。一実施形態では、抗PD-1 抗体またはPD-1 リガンドは、固定化される（例えば、プラスチック表面またはビーズ上）。ある特定の形態では、抗体は、以下の特性を有する：（1）ヒトもしくはカニクイザルPBMCアッセイ（例えば、実施例5.2.1及び5.2.2を参照されたい）、または（2）ヒト全血試料アッセイ（例えば、実施例5.2.1を参照されたい）における、100nM以下、例えば、90nM、80nM、70nM、60nM、50nM、40nM、30nM、20nM、10nM、5nM、2nM、1nM、0.5nM、0.2nM、または0.1nMのEC₅₀を有する、5%以上のPD-1 リガンド標準の有効性レベルを呈する。

【0129】

用語「結合タンパク質」は、ヒト及び／またはカニクイザルPD-1を含む、PD-1に結合する部分（例えば、CDRなどの1つ以上の結合領域）、任意に、結合部分が結合タンパク質のPD-1ポリペプチド、断片、またはエピトープへの結合を促進する立体配座を採用することを可能にする骨格またはフレームワーク部分（例えば、1つ以上の骨格またはフレームワーク領域）を含むタンパク質を指す。そのような結合タンパク質の例としては、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、組み換え抗体、一本鎖抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、Fab断片、F(ab')₂断片、IgD抗体、IgE抗体、IgM抗体、IgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体、またはIgG4抗体などの抗体、及びそれらの断片が挙げられる。結合タンパク質は、例えば、CDRまたはCDR誘導体を有する代替的なタンパク質骨格または人工骨格を含み得る。そのような骨格は、これらに限定されないが、例えば、結合タンパク質、ならびに例えば、生体適合性ポリマーを含む全合成骨格の三次元構造を安定させるために導入される変異を含む抗体由来骨格を含む。例えば、Korndorfer et al., 2003, Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics 53(1):121-29、及びRoque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20:639-54を参照されたい。さらに、ペプチド抗体模倣物（「PAM」）が使用され得、ならびに骨格としてフィブロネクチン構成成分を利用する抗体模倣物に基づく骨格も使用され得る。本開示の文脈において、結合タンパク質は、例えば、解離定数（K_D）が $\leq 10^{-7}$ Mであるときに、PD-1に特異的に結合するか、または選択的に結合すると考えられている。いくつかの実施形態では、結合タンパク質（例えば、抗体）は、約 10^{-7} M～約 10^{-12} MのK_DでPD-1に特異的に結合し得る。ある特定の形態では、K_Dが $\leq 10^{-8}$ Mであるか、またはK_Dが $\leq 10^{-9}$ Mであるときに、結合タンパク質（例えば、抗体）は、高い親和性を有するPD-1に特異的に結合し得る。一実施形態では、結合タンパク質（例えば、抗体）は、Biacore（登録商標）によって測定して、 1×10^{-9} M～ 10×10^{-9} MのK_Dで精製されたヒトPD-1に特異的に結合し得る。別の形態では、結合タンパク質（例えば、抗体）は、KinExA（商標）（Sapidyne, Boise, ID）によって測定して、 0.1×10^{-9} M～ 1×10^{-9} MのK_Dで精製されたヒトPD-1に特異的に結合し得る。さらなる別の形態では、結合タンパク質（例えば、抗体）は、約 0.1×10^{-9} M～ 10×10^{-9} MのK_Dで細胞上に発現されたヒトPD-1に特異的に結合する。ある特定の形態では、結合タンパク質（例えば、抗体）は、 0.1×10^{-9} M～ 1×10^{-9} MのK_Dで細胞上に発現されたヒトPD-1に特異的に結合する。いくつか

の実施形態では、結合タンパク質（例えば、抗体）は、 $1 \times 10^{-9} \text{ M} \sim 10 \times 10^{-9} \text{ M}$ の K_D で細胞上に発現されたヒトPD-1に特異的に結合する。ある特定の実施形態では、結合タンパク質（例えば、抗体）は、約 $0.1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、約 $0.5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、約 $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、約 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、約 $10 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、または任意の範囲もしくはその間の K_D で細胞上に発現されたヒトPD-1に特異的に結合する。さらなる別の実施形態では、結合タンパク質（例えば、抗体）は、 $0.1 \times 10^{-9} \text{ M} \sim 10 \times 10^{-9} \text{ M}$ の K_D で細胞上に発現されたカニクイザルPD-1に特異的に結合する。ある特定の実施形態では、結合タンパク質（例えば、抗体）は、 $0.1 \times 10^{-9} \text{ M} \sim 1 \times 10^{-9} \text{ M}$ の K_D で細胞上に発現されたカニクイザルPD-1に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、結合タンパク質（例えば、抗体）は、 $1 \times 10^{-9} \text{ M} \sim 10 \times 10^{-9} \text{ M}$ の K_D で細胞上に発現されたカニクイザルPD-1に特異的に結合する。ある特定の実施形態では、結合タンパク質（例えば、抗体）は、約 $0.1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、約 $0.5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、約 $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、約 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、約 $10 \times 10^{-9} \text{ M}$ 、または任意の範囲もしくはその間の K_D で細胞上に発現されたカニクイザルPD-1に特異的に結合する。

【0130】

用語「抗体」、「免疫グロブリン」、または「Ig」は、本明細書において交換可能に使用され、最も広い意味で使用され、具体的に、例えば、以下に記載されるように、少なくとも2つの無傷抗体、一本鎖抗PD-1抗体、及び抗PD-1抗体の断片から形成される個々の抗PD-1モノクローナル抗体（アゴニスト、アンタゴニスト、中和抗体、全長または無傷モノクローナル抗体を含む）、ポリエピトープもしくはモノエピトープ特異性を有する抗PD-1抗体組成物、ポリクローナル、または一価抗体、多価抗体、多重特異性抗体（例えば、所望の生物学的活性を呈する限り二重特異性抗体）を網羅する。抗体は、ヒト型、ヒト化型、キメラ型、及び／または親和性成熟型、ならびに例えば、マウス及びウサギ等の他の種からの抗体であり得る。用語「抗体」は、特異性分子抗原に結合することができ、ポリペプチド鎖の2つの同一の対から構成されるポリペプチドの免疫グロブリンクラス内にB細胞のポリペプチド生成物を含むことを意図し、各対は、1つの重鎖（約50～70 kDa）及び1つの軽鎖（約25 kDa）を有し、各鎖の各アミノ末端部分は、約100～約130またはそれ以上のアミノ酸の様々な領域を含み、各鎖の各カルボキシ末端部分は、定常領域を含む。例えば、Antibody Engineering (Borrebaeck ed., 2d ed. 1995)、及びKuby, Immunology (3d ed. 1997)を参照されたい。特定の実施形態では、特異性分子抗原は、PD-1ポリペプチド、PD-1断片、またはPD-1エピトープを含む、本明細書に提供される抗体によって結合され得る。抗体はまた、これらに限定されないが、合成抗体、組み換え産生された抗体、ラクダ化抗体、内部抗体、抗イディオタイプ（抗Id）抗体、及び上記のうちのいずれかの機能的断片（例えば、PD-1-結合断片などの抗原結合断片）を含み、断片が由来した抗体のいくつかまたはすべての結合活性を保持する抗体重鎖または軽鎖ポリペプチドの部分を目指す。機能的断片（例えば、PD-1-結合断片などの抗原結合断片）の非限定的な例としては、一本鎖Fv (scFv)（例えば、単一特異性、二重特異性等を含む）、Fab断片、F(ab')断片、F(ab)₂断片、F(ab')₂断片、ジスルフィド結合Fv (dsFv)、Fd断片、Fv断片、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、及びミニボディを含む。特に、本明細書に提供される抗体は、免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、例えば、抗原結合ドメイン、またはPD-1抗原（例えば、抗PD-1抗体の1つ以上のCDR）に結合する抗原結合部位を含む分子を含む。そのような抗体断片は、例えば、Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (1989)、Mol. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (Myers ed., 1995)、Huston et al., 1993, Cell Biophysics 22:189-224、Pluckthun and Skerra, 1989, Meth. Enzymol. 178:497-515、及びDay, Advanced I

10

20

30

40

50

mmunochemistry (2nd ed. 1990)に見出され得る。本明細書に提供される抗体は、免疫グロブリン分子の任意のクラス（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、及びIgA）または任意のサブクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2）であり得る。抗PD-1抗体は、アゴニスト抗体またはアンタゴニスト抗体であり得る。PD-1シグナル伝達を誘発する抗体を含む、PD-1に対するアゴニスト抗体が本明細書に記載される。特定の実施形態では、PD-1に対するアゴニスト抗体は、PD-1へのPD-L1及び／またはPD-L2の結合について競合しない。

【0131】

「抗原」は、抗体が選択的に結合し得る所定の抗原である。標的抗原は、ポリペプチド、炭水化物、核酸、脂質、ハプテン、または他の天然発生化合物もしくは合成化合物であり得る。いくつかの実施形態では、標的抗原は、ポリペプチドである。

【0132】

用語「抗原結合断片」、「抗原結合ドメイン」、「抗原結合領域」、及び同様の用語は、抗原と相互作用し、結合剤に抗原（例えば、CDR）のその特異性及び親和性を付与するアミノ酸残基を含む、抗体の部分を目指す。

【0133】

用語「結合する」または「結合」は、例えば、複合体を形成することを含む、分子間の相互作用を指す。相互作用は、例えば、水素結合、イオン結合、疎水性相互作用、及び／またはファンデルワールス相互作用を含む非共有結合相互作用であり得る。複合体はまた、共有結合または非共有結合、相互作用、または力によって一緒に保持される2つ以上の分子の結合を含み得る。抗体上の単一抗原結合部位とPD-1などの標的分子の単一エピトープとの間の全非共有結合相互作用の強度は、抗体の親和性またはエピトープの機能的断片である。解離速度(k_{off})対抗体の一個抗原に対する会合速度(k_{on})(k_{off}/k_{on})の比率は、親和性に反比例する解離定数 K_D である。 K_D 値がより低いほど、抗体の親和性はより高くなる。 K_D の値は、抗体及び抗原の異なる複合体に対して変化し、 k_{on} 及び k_{off} の両方に依存する。本明細書に提供される抗体の解離定数 K_D は、本明細に提供される任意の方法または当業者に周知の任意の他の方法を使用して決定され得る。1つの結合部位での親和性は、抗体と抗原との間の相互作用の真の強度を常に反映するわけではない。多価PD-1などの複数の反復抗原決定基を含む複合体抗原が、複数の結合部位を含む抗体と接触するとき、第1の部位での抗原との抗体の相互作用は、第2の部位での反応の確率を増加させるであろう。多価の抗体と抗原との間のそのような複数の相互作用の強度は、結合活性と称される。抗体の結合活性は、その個々の結合部位親和性よりもその結合能のより良好な基準であり得る。例えば、高い結合活性は、IgGより低い親和性を有し得る五量体IgM抗体のために見出されることがあるため、低い親和性を補うことができるが、その多価に起因するIgMの高い結合活性は、それが抗原を有効に結合することを可能にする。

【0134】

用語「PD-1に特異的に結合する抗体」、「PD-1エピトープに特異的に結合する抗体」、及び類似の用語はまた、本明細書で交換可能に使用され、PD-1抗原、または断片、またはエピトープ（例えば、ヒトPD-1ポリペプチド、抗原、またはエピトープなどのヒトPD-1）などのPD-1ポリペプチドに特異的に結合する抗体を指す。PD-1（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する抗体は、細胞外ドメインまたはPD-1の細胞外に由来するペプチドに結合し得る。PD-1抗原（例えば、ヒトPD-1）に特異的に結合する抗体は、関連抗原（例えば、カニクイザルPD-1）と交差反応性であり得る。ある特定の実施形態では、PD-1抗原に特異的に結合する抗体は、他の抗原と交差反応しない。PD-1抗原に特異的に結合する抗体は、例えば、免疫測定法、Biacore（登録商標）、または当業者に既知の他の技法によって特定され得る。抗体は、放射性免疫測定法(RIA)及び酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)などの実験技術を使用して決定される場合、交差反応性抗原へよりもより高い親和性でPD-1抗原に結

合するときに、PD-1 抗原に特異的に結合する。典型的には、特定のまたは選択的な反応は、少なくとも 2 倍のバックグラウンド信号またはノイズであり、約 10 倍超のバックグラウンドであり得る。例えば、抗体特異性に関する議論について、Fundamental Immunology 332-36 (Paul ed., 2d ed. 1989) を参照されたい。「対象の抗原に結合する」(例えば、PD-1 などの標的抗原)抗体は、抗体が、抗原を発現する細胞または組織を標的とするのに治療剤として有用であり、他のタンパク質と有意には交差反応しないように十分な親和性で抗原を結合するものである。このような実施形態では、抗体の「非標的」タンパク質への結合の程度は、例えば、蛍光活性化細胞選別 (FACS) 分析または (RIA) によって決定されるように、抗体のその特定の標的タンパク質への結合の約 10% 未満である。抗体の標的分子への結合に関して、特定のポリペプチドまたは特定のポリペプチド標的上のエピトープへの「特異的結合」、それ「に特異的に結合する」、またはそれ「に特異的」という用語は、非特異的相互作用とは測定可能に異なる結合を意味する。特異的結合は、例えば、一般に結合活性を有しない同様の構造の分子である対照分子の結合と比較して、分子の結合を決定することによって測定され得る。例えば、特異的結合は、標的に類似した対照分子、例えば、過剰な標識されていない標的との競合によって決定することができる。この場合、標識された標的のプロープへの結合が過剰な標識されていない標的によって阻害されると、特異的結合が示される。用語「抗 PD-1 抗体」または「PD-1 に結合する抗体」は、抗体が、例えば、PD-1 を標的とする上で診断剤として有用になるように、十分な親和性で PD-1 に結合することができる抗体を含む。本明細書において使用される場合、特定のポリペプチドまたは特定のポリペプチド標的上のエピトープへの「特異的結合」、それ「に特異的に結合する」、またはそれ「に特異的」という用語は、分子が、いずれの他のポリペプチドまたはポリペプチドエピトープにも実質的に結合することなく、特定のポリペプチドまたは特定のポリペプチド上のエピトープに結合する、結合を指す。ある特定の実施形態では、PD-1 に結合する抗体は、10 nM 以下、5 nM 以下、4 nM 以下、3 nM 以下、2 nM 以下、1 nM 以下、0.9 nM 以下、0.8 nM 以下、0.7 nM 以下、0.6 nM 以下、0.5 nM 以下、0.4 nM 以下、0.3 nM 以下、0.2 nM 以下、または 0.1 nM 以下の解離定数 (K_D) を有する。ある特定の実施形態では、抗 PD-1 抗体は、異なる種由来の PD-1 の間で保存されている PD-1 のエピトープに結合する(例えば、ヒトとカニクイザル PD-1 との間)。

【0135】

用語「競合する」は、抗 PD-1 抗体(例えば、PD-1 に結合し、標的上の同じエピトープまたは結合部位について競合するアゴニスト抗体及び結合タンパク質)の文脈において使用される場合、研究下でその抗体(または結合断片)が、参照分子(例えば、参照抗体などの参照リガンドまたは参照抗原結合タンパク質)の共通の抗原(例えば、PD-1 またはその断片)への特異的結合を防ぐまたは阻害するアッセイによって決定される場合に、競合を意味する。多数の種類の競合的結合アッセイは、試験抗体が PD-1 (例えば、ヒト PD-1) への結合について参照抗体と競合するかどうかを測定するために使用され得る。用いられ得るアッセイの例としては、固相直接または間接 RIA、固相直接または間接酵素免疫測定法 (EIA)、サンドイッチ法(例えば、Stahli et al., 1983, Methods in Enzymology 9:242-53)、固相直接ビオチン-アビジン EIA (例えば、Kirkland et al., 1986, J. Immunol. 137:3614-19 を参照されたい)、固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチ法(例えば、Harlow and Lane, Antibodies, A Laboratory Manual (1988) を参照されたい)、I-125 標識を使用した固相直接標識 RIA (例えば、Morel et al., 1988, Mol. Immunol. 25:7-15 を参照されたい)、及び直接標識 RIA (Moldenhauer et al., 1990, Scand. J. Immunol. 32:77-82) が挙げられる。典型的には、そのようなアッセイは、固体表面に結合される精製された抗原(例えば、ヒト PD-1 などの PD-1)、または非標識

試験抗原結合タンパク質（例えば、試験抗PD-1抗体）または標識参照抗原結合タンパク質（例えば、参照抗PD-1抗体）のいずれかを保有する細胞の使用を含む。競合的阻害は、試験抗原結合タンパク質の存在下で固体表面または細胞に結合されるラベルの量を測定することによって測定され得る。通常、試験抗原結合タンパク質は、過剰に存在する。競合アッセイ（競合抗体）によって特定される抗体は、参照抗体として同じエピトープ結合している抗体、及び／または生じる立体障害性の抗体の参照によって結合されるエピトープに十分に近位にある隣接するエピトープに結合している抗体を含む。競合的結合を測定するための方法に関する追加の詳細は、以下に説明される。通常、競合抗体タンパク質が過剰に存在するとき、それは、参照抗体の共通抗原への特異的結合を少なくとも30%、例えば40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、または75%阻害する。いくつかの例では、結合は、少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれ以上阻害される。

10

【0136】

「単離された」抗体は、細胞もしくは組織供給源及び／または抗体が由来する他の混入構成成分から他の細胞性物質もしくは他の混入タンパク質を実質的に含まないか、または化学合成される場合、化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まない。「細胞性物質を実質的に含まない」という語は、抗体が単離されているかまたは組み換え産生される細胞の細胞構成成分から抗体が分離される、抗体の調製物を含む。したがって、実質的に細胞性物質を含まない抗体は、約30%未満、約25%未満、約20%未満、約15%未満、約10%未満、約5%未満、または約1%未満（乾燥重量による）の異種タンパク質（本明細書において「混入タンパク質」とも称される）を有する抗体の調製物を含む。ある特定の実施形態では、抗体が組み換え産生されるとき、それは、培養培地、例えば、約20%未満、15%未満、10%未満、5%未満、または1%未満のタンパク質調製物の量を表す培養培地を実質的に含まない。ある特定の実施形態では、抗体が化学合成によって産生されるとき、それは、化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まず、例えば、それはタンパク質の合成に含まれる化学的前駆体または他の化学物質から分離される。したがって、抗体そのような調製物は、対象の抗体以外に約30%未満、約25%未満、約20%未満、約15%未満、約10%未満、約5%未満、または約1%未満（乾燥重量による）の化学的前駆体または化合物を有する。混入構成成分はまた、これらに限定されないが、抗体の治療上の使用を妨げる材料を含み得、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質性または非タンパク質性溶質を含み得る。ある特定の実施形態では、抗体は、（1）Lowry法（Lowry et al., 1951, J. Bio. Chem. 193: 265-75）によって測定された場合に、96%、97%、98%、または99%など、95重量%超の抗体に、（2）回転カップ配列決定装置の使用によりN末端もしくは内部アミノ酸配列の少なくとも15個の残基を得るのに十分な程度まで、あるいは（3）クーマシーブルーもしくは銀染色を使用した還元もしくは非還元条件下でSDS-PAGEによって同種になるように、精製される。単離抗体には、組み換え細胞内でインサイツの抗体が含まれるが、これは、抗体の天然環境の少なくとも1つの構成要素が存在していないためである。しかしながら、通常、単離抗体は、少なくとも1つの精製ステップにより調製されるであろう。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は単離される。

20

30

40

【0137】

4鎖抗体ユニットは、2本の同一の軽（L）鎖及び2本の同一の重（H）鎖から構成されるヘテロ四量体糖タンパク質である。IgGの場合、4鎖ユニットは、概して約150,000ダルトンである。各L鎖は、1つのジスルフィド共有結合によってH鎖に結合されているが、一方で2本のH鎖は、H鎖アイソタイプに応じて1つ以上のジスルフィド結合によって互いに結合されている。H鎖及びL鎖はそれぞれ、規則的に離間した鎖間ジスルフィド架橋も有する。各H鎖は、N末端に可変ドメイン（VH）を有し、続いてα鎖及びγ鎖のそれぞれについては3つの定常ドメイン（CH）、ならびにμ及びεアイソタイプについては4つのCHドメインを有する。各L鎖は、N末端に可変ドメイン（VL）を有し、続いてその反対側の端部に定常ドメイン（CL）を有する。VLは、VHと整列

50

しており、C Lは、重鎖の第1の定常ドメイン（C H 1）と整列している。特定のアミノ酸残基が軽鎖可変ドメインと重鎖可変ドメインとの間に界面を形成すると考えられている。V HとV Lとが一緒に対合することにより、単一の抗原結合部位を形成する。異なるクラスの抗体の構造及び特性については、例えば、Basic and Clinical Immunology 71（Stites et al. eds., 8th ed. 1994）を参照されたい。

【0138】

用語「可変領域」、「可変ドメイン」、「V領域」、または「Vドメイン」は、概して軽鎖または重鎖のアミノ末端に位置し、重鎖において約120個～約130個のアミノ酸及び軽鎖において約100個～約110個のアミノ酸の長さを有する抗体の軽鎖または重鎖の部分（10）を指し、その特定の抗原に対する各特定の抗体の結合及び特異性において使用される。重鎖の可変領域は、「V H」と称され得る。軽鎖の可変領域は、「V L」と称され得る。用語「可変」は、可変領域の特定のセグメントが配列において抗体間で広範囲にわたって異なるという事実を指す。V領域は、抗原結合を媒介し、特定の抗体の、その特定の抗原に対する特異性を定義する。しかしながら、可変性は、110個のアミノ酸の長さの可変領域全体に均等に分布しているわけではない。代わりに、V領域は、各々9個～12個のアミノ酸長である「超可変領域」と称されるより大きな可変性（例えば、極度の可変性）のより短い領域によって分離される約15個～約30個のアミノ酸のフレームワーク領域（F R）と称されるより少ない可変（例えば、比較的不变）である範囲からなる。重鎖及び軽鎖の可変領域は各々、主にβシート構成を採用し、3つの超可変領域により連結され、βシート構造に連結し、ある場合にはその一部を形成するループを形成する4つのF Rを含む。各鎖における超可変領域は、F Rによって、他方の鎖の超可変領域と近接して保持されており、抗体の抗原結合部位の形成に寄与している（例えば、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest（5th ed. 1991）を参照されたい）。定常領域は、抗体の抗原への結合に直接関与しないが、抗体の抗体依存性細胞毒性（A D C C）及び補体依存性細胞障害（C D C）への参加などの様々なエフェクター機能を呈する。可変領域は、異なる抗体間で配列において広範囲にわたって異なる。特定の実施形態では、可変領域は、ヒト可変領域である。

【0139】

用語「K a b a tにあるような可変領域残基番号付け」または「K a b a tにあるようなアミノ酸位置番号付け」、及びそれらの変形は、K a b a t et al.（上記参照）における抗体の編集物の重鎖可変領域または軽鎖可変領域に使用される番号付けシステムを指す。この番号付けシステムを使用すると、実際の直鎖状アミノ酸配列は、可変ドメインのF RもしくはC D Rの短縮、またはそれへの挿入に対応するより少ないアミノ酸または追加のアミノ酸を含み得る。例えば、重鎖可変ドメインは、残基52の後に単一のアミノ酸挿入断片（K a b a tによると残基52 a）、及び残基82の後に3つの挿入された残基（例えば、K a b a tによる残基82 a、82 b、及び82 c等）を含み得る。残基のK a b a t番号付けは、「標準の」K a b a tにより番号付けられた配列との抗体の配列の相同性領域での整列によって所与の抗体について決定され得る。K a b a t番号付けシステムは、一般に、可変ドメイン内の残基（おおよそ軽鎖の残基1～107及び重鎖の残基1～113）を指すときに用いられる（例えば、K a b a tら（上記））。「E U番号付けシステム」または「E U指標」は、一般に、免疫グロブリン重鎖定常領域内の残基に言及する際に使用される（例えば、K a b a t et al.（上記参照）で報告されているE U指標）。「K a b a tにあるようなE U指標」とは、ヒトI g G 1 E U抗体の残基番号付けを指す。他の番号付けシステムは、例えば、A b M、C h o t h i a、C o n t a c t、I M G T、及びA H o nによって説明されている。

【0140】

「無傷抗体」は、抗原結合部位、ならびにC L及び少なくとも重鎖定常領域、C H 1、C H 2、及びC H 3を含むものである。定常領域は、ヒト定常領域またはそのアミノ酸配

10

20

30

40

50

列バリエーションを含み得る。ある特定の実施形態では、無傷抗体は、1つ以上のエフェクター機能を有する。

【0141】

「抗体断片」は、無傷抗体の抗原結合領域または可変領域などの無傷抗体の部分を含む。抗体断片の例としては、限定することなく、Fab、Fab'、F(ab')₂、及びFv断片；ダイアボディ及びジダイアボディ（例えば、Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. 90:6444-48、Luet al., 2005, J. Biol. Chem. 280:19665-72、Hudson et al., 2003, Nat. Med. 9:129-34、WO93/11161、及び米国特許第5,837,242号及び第6,492,123号を参照されたい）；一本鎖抗体分子（例えば、米国特許第4,946,778号、第5,260,203号、第5,482,858号、及び第5,476,786号を参照されたい）；二重可変ドメイン抗体（例えば、米国特許第7,612,181号を参照されたい）；単一可変ドメイン抗体（sdAb）（例えば、Woolven et al., 1999, Immunogenetics 50:98-101、及びStreitsov et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA. 101:12444-49を参照されたい）；ならびに抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられる。

【0142】

治療抗体の「機能的断片」、「結合断片」、または「抗原結合断片」は、無傷抗体に起因する少なくとも1つ、そうでない場合はいくつかまたはすべての生物学的機能を呈し、その機能は、標的抗原（例えば、PD-1結合断片またはPD-1に結合する断片）に少なくとも結合することを含む。

【0143】

本明細書において使用される場合、用語「融合タンパク質」は、抗体のアミノ酸配列、及び異種ポリペプチドまたはタンパク質（例えば、通常は抗体（例えば、非抗PD-1抗原結合抗体）の部分ではないポリペプチドまたはタンパク質）のアミノ酸配列を含むポリペプチドを指す。用語「融合」は、PD-1または抗PD-1抗体に関連して使用される場合、ペプチドもしくはポリペプチド、または異種ペプチドまたはポリペプチドを有する断片、バリエーション、及び／またはその誘導体の結合を指す。ある特定の実施形態では、融合タンパク質は、PD-1または抗PD-1抗体の生物学的活性を保持する。ある特定の実施形態では、融合タンパク質は、PD-1抗体のVH領域、VL領域、VH CDR（1、2、または3つのVH CDR）、及び／またはVL CDR（1、2、または3つのVL CDR）を含み、融合タンパク質は、PD-1エピトープ、PD-1断片、及び／またはPD-1ポリペプチドに結合する。

【0144】

用語「重鎖」は、抗体に関して使用される場合、約50～約70kDaのポリペプチド鎖を指し、アミノ末端部分は、約120個～130個またはそれ以上のアミノ酸の可変領域を含み、カルボキシ末端部分は、定常領域を含む。定常領域は、重鎖定常領域のアミノ酸に基づいて、アルファ（α）、デルタ（δ）、イプシロン（ε）、ガンマ（γ）、及びミュー（μ）と称される5つの異なる種類（例えば、アイソタイプ）のうちの1つであり得る。異なるサイズ：α、δ、及びγの異なる重鎖は、およそ450個のアミノ酸を含むが、μ及びεは、およそ550個のアミノ酸を含む。軽鎖と組み合わせられる場合、重鎖のこれらの異なる種類は、抗体それぞれIgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMの5つの周知のクラス（例えば、アイソタイプ）を引き起こし、IgGの4つのサブクラス、すなわちIgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4を含む。重鎖はヒト重鎖であり得る。

【0145】

用語「軽鎖」は、抗体に関して使用される場合、約25kDaのポリペプチド鎖を指し、アミノ末端部分は、約100個～110個またはそれ以上のアミノ酸の可変領域を含み、カルボキシ末端部分は、定常領域を含む。軽鎖のおおよその長さは、211個～217

個のアミノ酸である。定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（ κ ）またはラムダ（ λ ）と称される2つの異なる種類が存在する。軽鎖アミノ酸配列は、当該技術分野で周知である。軽鎖はヒト軽鎖であり得る。

【0146】

本明細書において使用される場合、用語「宿主」は、哺乳動物（例えば、ヒト）などの動物を指す。

【0147】

本明細書において使用される場合、用語「宿主細胞」は、核酸分子及びそのような細胞の子孫または潜在的な子孫でトランスフェクトされ得る特定の対象細胞を指す。そのような細胞の子孫は、後続の世代または核酸分子の宿主細胞ゲノムへの統合において生じ得る変異または環境的影響に起因して、核酸分子でトランスフェクトされた親細胞と同一でない場合がある。

【0148】

本明細書において使用される場合、用語「モノクローナル抗体」は、実質的に同種の抗体の集団から得られた抗体を指し、例えば、その集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る天然発生変異の可能性を除いて同一であり、各モノクローナル抗体は、典型的には、抗原上の単一エピトープを認識する。特定の実施形態では、本明細書において使用される場合、「モノクローナル抗体」は、単一ハイブリドーマまたは他の細胞によって産生される抗体であり、抗体は、例えば、ELISAまたは当該技術分野で既知の他の抗原結合もしくは競合的結合アッセイによって測定される場合、PD-1 エピトープのみに結合する。用語「モノクローナル」は、抗体を作製するための任意の特定の方法に限定されない。例えば、本開示において有用なモノクローナル抗体は、Kohler et al., 1975, Nature 256:495によって最初に記載されたハイブリドーマ方法論によって調製されてもよく、または細菌または真核生物の動物または植物細胞における組み換えDNA法を使用して作製されてもよい（例えば、米国特許第4,816,567号を参照されたい）。「モノクローナル抗体」はまた、例えば、Clackson et al., 1991, Nature 352:624-28及びMarks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581-97に記載されている技術を使用してファージ抗体ライブラリから単離され得る。クローナル細胞株の調整、及びそれによって発現されたモノクローナル抗体の調整のための他の方法は、当該技術分野で周知である。例えば、Short Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., 5th ed. 2002)を参照されたい。モノクローナル抗体を産生する例示的な方法が本明細書の実施例に提供される。

【0149】

用語「天然」は、核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞等などの生物学的物質に関して使用される場合、自然に見出され、人間によって操作、修飾、及び／または変更（例えば、精製、選択）されないものを指す。

【0150】

本明細書に提供される抗体は、所望の生物学的活性を呈する限り、重鎖及び／または軽鎖の一部分が、特定の種に由来する抗体、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一または同種である一方で、鎖（複数可）の残りが、別の種に由来する抗体、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一または同種である「キメラ」抗体、ならびにそのような抗体の断片を含む（米国特許第4,816,567号、及びMorrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-55を参照されたい）。

【0151】

非ヒト（例えば、マウス）抗体の「ヒト化」形態は、天然CDR残基が、所望の特異性、親和性、及び能力を有するマウス、ラット、ウサギ、または非ヒト霊長類などの非ヒト種（例えば、ドナー抗体）の対応するCDRからの残基によって置き換えられるヒト免疫

グロブリン（例えば、受容体抗体）を含むキメラ抗体である。いくつかの例では、ヒト免疫グロブリンの1つ以上のFR領域残基は、非ヒト残基に対応することによって置き換えられる。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体またはドナー抗体には見られない残基を含み得る。これらの修飾は、抗体の性能をさらに改良するために行われる。ヒト化抗体の重鎖または軽鎖は、少なくとも1つ以上の可変領域の実質的にすべてを含み得、CDRのすべてまたは実質的にすべてが非ヒト免疫グロブリンのCDRに対応し、FRのすべてまたは実質的にすべてがヒト免疫グロブリン配列のFRである。ある特定の実施形態では、ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域（Fc）、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部も含むことになる。さらなる詳細については、Jones et al., 1986, Nature 321:522-25、Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-29、Presta, 1992, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-96、Carter et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-89、米国特許第6,800,738号、第6,719,971号、第6,639,055号、第6,407,213号、及び第6,054,297号を参照されたい。

【0152】

「ヒト抗体」は、ヒトによって産生され、及び／または本明細書に開示されるヒト抗体を作製するための技法のうちのいずれかを使用して作製された抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を明確に除外する。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリ（Hogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol. 227:381、Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581）及び酵母ディスプレイライブラリ（Chao et al., 2006, Nature Protocols 1:755-68）を含む、当該技術分野において既知の様々な技法を使用して産生され得る。Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 77 (1985)、Boerner et al., 1991, J. Immunol. 147 (1):86-95、及びvan Dijk and van de Winkel, 2001, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74に記載される方法も、ヒトモノクローナル抗体の調製のために利用可能である。ヒト抗体は、抗原攻撃に応答してそのような抗体を産生するように修飾されているが、その内因性遺伝子座が無効化されているトランスジェニック動物、例えば、マウスに抗原を投与することにより調製され得る（例えば、Jakobovits, 1995, Curr. Opin. Biotechnol. 6 (5):561-66、Bruggemann and Taussing, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8 (4):455-58、ならびにXENOMOUSE（商標）に関する米国特許第6,075,181号及び第6,150,584号を参照されたい）。例えば、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術によって生成されたヒト抗体に関するLi et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:3557-62もまた参照されたい。

【0153】

「CDR」は、免疫グロブリン（Igまたは抗体）VH β シートフレームワークの非フレームワーク領域内の3つの超可変領域（H1、H2、またはH3）のうちの1つ、または抗体VL β シートフレームワークの非フレームワーク領域内の3つの超可変領域（L1、L2、またはL3）のうちの1つを指す。したがって、CDRは、フレームワーク領域配列内に散在されている可変領域配列である。CDR領域は、当業者に周知であり、例えば、抗体可変（V）ドメイン内で最も超可変性の領域として、Kabataによって定義されている（Kabata et al., 1997, J. Biol. Chem. 272:6609-16、Kabata, 1978, Adv. Prot. Chem. 32:1-75）。CDR領域配列はまた、保存されている β シートフレームワークの一部ではなく、それ故に異なる立体配座を適合させることができるそれらの残基として、Chothia

によって構造的に定義されている (Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17を参照されたい)。両方の用語法は、当該技術分野において十分に認識される。CDR領域配列はまた、AbM、Contact、及びIMGTによって定義されている。正準抗体可変領域内のCDRの位置は、多数の構造の比較によって決定されている (Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol. 273:927-48、Morea et al., 2000, Methods 20:267-79)。超可変領域内の残基の数は、異なる抗体中で変化するため、正準位置に対する追加の残基は、正準可変領域番号付けスキームにおける残基番号の次に、a、b、cなどを用いて慣例的に番号付けされる (Al-Lazikani et al. (上記参照))。そのような命名法は同様に、当該技術分野において十分に周知である。

【0154】

本明細書で使用される場合、用語「超可変領域」、「HVR」、または「HV」は、配列が超可変性であり、及び／または構造的に定義されたループを形成する抗体可変領域の領域を指す。一般に、抗体は6つの超可変領域を含み、このうち3つがVHにあり (H1、H2、H3)、3つがVLにある (L1、L2、L3)。いくつかの超可変領域記述法が使用されており、本明細書に包含される。Kabat相補性決定領域 (CDR) は、配列可変性に基づくものであり、最も一般的に使用されている (Kabat et al. (上記参照))。Chothiaは、その代わりに、構造的ループの位置を指す (例えば、Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17を参照されたい)。Chothia CDR-H1ループの端は、Kabat番号付け規則を使用して番号付けされる場合、ループの長さに応じてH32及びH34の間で変化する (これは、Kabat番号付けスキームが、H35A及びH35Bで挿入を配置するためであり；35Aまたは35Bのいずれも存在しない場合、ループは32で終了し；35Aのみ存在する場合、ループは33で終了し；35A及び35Bの両方が存在する場合、ループは34で終了する)。AbM超可変領域は、KabatのCDRとChothiaの構造的ループとの折衷物であり、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用されている (例えば、Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann and Dubel eds., 2nd ed. 2010)を参照されたい)。「接触」超可変領域は、利用可能な複合体結晶構造の分析に基づく。これらの超可変領域またはCDRのうちの各々に由来する残基が以下に記載される。

【0155】

最近は、ユニバーサル番号付けシステム、ImmunoGenetics (IMGT) Information System (登録商標) が開発され、幅広く採用されている (Lafranc et al., 2003, Dev. Comp. Immunol. 27 (1):55-77)。IMGTは、ヒト及び他の脊椎動物の免疫グロブリン (IG)、T細胞受容体 (TCR)、及び主要組織適合性複合体 (MHC) を専門とする総合情報システムである。本明細書において、CDRは、軽鎖または重鎖内のアミノ酸配列及び位置の両方に関して言及される。免疫グロブリン可変ドメインの構造内のCDRの「位置」は、種族間で保存され、構造的特徴に従って可変ドメイン配列を整列する番号付けシステムを使用することによってループと称される構造内に存在するため、CDR及びフレームワーク残基は容易に特定される。この情報は、典型的には、ヒト抗体からの受容体フレームワークへの1種の免疫グロブリンからのCDR残基のグラフィング及び置き換えにおいて使用され得る。追加の番号付けシステム (AHon) は、Honegger and Pluckthun, 2001, J. Mol. Biol. 309:657-70によって開発されている。例えば、Kabat番号付け及びIMGT独自番号付けシステムを含む、番号付けシステム間の対応は、当業者に周知である (例えば、Kabat (上記参照)；Chothia及びLesk (上記参照)；Martin (上記参照)；LeFranc et al. (上記参照)を参照されたい)。いくつかの実施形態では、CDRは、

I M G T 番号付けシステムによって定義される通りである。他の実施形態では、C D R は、K a b a t 番号付けシステムによって定義される通りである。ある特定の実施形態では、C D R は、A b M 番号付けシステムによって定義される通りである。他の実施形態では、C D R は、C h o t h i a システムによって定義される通りである。さらなる他の実施形態では、C D R は、C o n t a c t 番号付けシステムによって定義される通りである。

【表 1】

	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
V _H CDR1	27～38	31～35	26～35	26～32	30～35
V _H CDR2	56～65	50～65	50～58	53～55	47～58
V _H CDR3	105～117	95～102	95～102	96～101	93～101
V _L CDR1	27～38	24～34	24～34	26～32	30～36
V _L CDR2	56～65	50～56	50～56	50～52	46～55
V _L CDR3	105～117	89～97	89～97	91～96	89～96

10

【0156】

超可変領域は、以下の「伸長超可変領域」を含み得る：V_Lにおいて、24-36または24-34（L1）、46-56または50-56（L2）、及び89-97または89-96（L3）、ならびにV_Hにおいて、26-35または26-35A（H1）、50-65または49-65（H2）、及び93-102、94-102、または95-102（H3）。本明細書において使用される場合、用語「HVR」及び「CDR」は、交換可能に使用される。

20

【0157】

用語「定常領域」または「定常ドメイン」は、抗体の抗原への結合に直接的に含まれていないが、Fc受容体との相互作用など様々なエフェクター機能を呈する軽鎖及び重鎖のカルボキシ末端部分を指す。用語は、抗原結合部位を含む可変領域である免疫グロブリンの他方の部分と比較してより保存されたアミノ酸配列を有する免疫グロブリン分子の部分の部分を指す。定常領域は、重鎖のCH1、CH2、及びCH3領域、ならびに軽鎖のCL領域を含み得る。

【0158】

用語「フレームワーク」または「FR」は、CDRに隣接する可変領域残基を指す。FR残基は、例えば、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、ドメイン抗体ダイアボディ、直鎖状抗体、及び二重特異性抗体に存在する。FR残基は、超可変領域残基またはCDR残基以外の可変ドメイン残基である。

30

【0159】

「親和性成熟」抗体は、その1つ以上のHVRに1つ以上の変化（例えば、変化、付加、及び／または欠失を含むアミノ酸配列の変形）を有し、これらの変化が、これらの変化（複数可）を有しない親抗体と比較して、抗原に対する抗体の親和性を向上させるものである。親和性成熟抗体は、標的抗原に対してナノモルまたはさらにはピコモルの親和性を有し得る。親和性成熟抗体は、当該技術分野において既知の手技によって産生される。論評のために、Hudson and Souriau, 2003, Nature Medicine 9:129-34、Hoogenboom, 2005, Nature Biotechnol. 23:1105-16、Quiroz and Sinclair, 2010, Revista Ingeneria Biomedica 4:39-51を参照されたい。

40

【0160】

「ブロック」抗体または「アンタゴニスト」抗体とは、それが結合する抗原の生物学的活性を阻害または低減する抗体である。例えば、ブロック抗体またはアンタゴニスト抗体は、抗原の生物学的活性を実質的にまたは完全に阻害する。

【0161】

50

「アゴニスト」抗体は、例えば、対象のポリペプチド（例えば、PD-L1）の機能的活性の少なくとも1つを模倣するものなど、反応を引き起こす抗体である。アゴニスト抗体は、リガンド模倣物である抗体を含み、例えば、リガンドは細胞表面受容体に結合し、結合は細胞間細胞シグナル伝達経路を介して細胞シグナル伝達または活性を誘発し、抗体は同様の細胞シグナル伝達または活性化を誘発する。PD-1の「アゴニスト」は、PD-1を発現する細胞中でなど、PD-1の生物学的活性の1つ以上を活性化するか、そうでなければそれを増加させることが可能である分子を指す。いくつかの実施形態では、PD-1のアゴニスト（例えば、本明細書に記載されるようなアゴニスト抗体）は、例えば、PD-1タンパク質を発現する細胞の活性化及び／または細胞シグナル伝達経路を活性化することによって、またはそうでなければそれを増加させることによって作用し、それによって、アゴニストの不在下でPD-1媒介生物学的活性に対して細胞のPD-1媒介生物学的活性を増加させる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1シグナル伝達を誘発する抗体を含むアゴニスト抗PD-1抗体である。

10

【0162】

「結合親和性」は、一般的に、分子（例えば、抗体などの結合タンパク質）の単一結合部位とその結合パートナー（例えば抗原）との間の非共有結合相互作用の合計の強度を指す。別途示されない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」とは、結合対のメンバー（例えば、抗体及び抗原）間の1:1の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子Xの、そのパートナーYに対する親和性は一般に、解離定数（ K_D ）によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載される方法を含む当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定することができる。低親和性抗体は、一般に、抗原にゆっくり結合し、容易に解離する傾向があるが、高親和性抗体は、一般に、抗原により早く結合し、より長く結合したままである傾向がある。結合親和性を測定する様々な方法が当該技術分野で既知であり、これらのいずれも、本開示の目的のために使用することができる。特定の例示としての実施形態は以下のものを含む。一実施形態では、「 K_D 」または「 K_D 値」は、当該技術分野において既知のアッセイによって、例えば結合アッセイによって測定され得る。 K_D は、RIAによって測定され得、例えば、対象の抗体及びその抗原のFabバージョンで行われ得る（Chen et al., 1999, J. Mol Biol 293: 865-81）。 K_D または K_D 値はまた、例えば、Biacore（登録商標）TM-2000またはBiacore（登録商標）TM-3000を使用した、Biacore（登録商標）による表面プラズモン共鳴アッセイを使用することによって、または例えば、Octet（登録商標）QK384システムを使用したバイオレイヤー干渉法によって測定され得る。「結合速度」または「会合の速度」または「会合速度」または「 k_{on} 」はまた、例えば、Biacore（登録商標）TM-2000もしくはBiacore（登録商標）TM-3000、またはOctet（登録商標）QK384システムを使用した上記に記載の同じ表面プラズモン共鳴法またはバイオレイヤー干渉技術で測定され得る。

20

30

【0163】

句「実質的に同様の」または「実質的に同じ」は、2つの数値（例えば、一方は本開示の抗体に関連し、他方は参照抗体に関連する）間の十分に高い度合いの類似性を表し、これは、当業者が、2つの値の間の差異を、値（例えば、 K_D 値）によって測定される生物学的特徴の文脈において生物学的及び／または統計的有意性がほとんどもしくは全くないものとみなすようなものである。例えば、2つの値の間の差異は、参照抗体に関する値の関数として、約50%未満、約40%未満、約30%未満、約20%未満、約10%未満であり得る。

40

【0164】

本明細書に使用される場合、句「実質的に増加された」、「実質的に低減された」、または「実質的に異なる」は、2つの数値（例えば、一方が本開示の抗体と関連付けられており、他方が参照抗体と関連付けられている）の間の十分に高い相違を表し、結果として、当業者であれば、これら2つの値の間の相違が、値によって測定される生物学的特徴に

50

関して、統計的に有意なものであるとみなすであろう。例えば、2つの値の間の差異は、参照抗体に対する値の関数として、約10%超、約20%超、約30%超、約40%超、及び／または約50%超であり得る。

【0165】

本明細書で使用される場合、用語「阻害」または「阻害する」は、部分的な（1%、2%、5%、10%、20%、25%、50%、75%、90%、95%、99%など）または完全な（すなわち、100%）阻害を指す。

【0166】

「抗体エフェクター機能」は、抗体のFc領域（例えば、天然配列Fc領域またはアミノ酸配列バリエーションFc領域）に帰属する生物学的活性を指し、抗体のアイソタイプに応じて変化する。抗体エフェクター機能の例としては、これらに限定されないが、C1q結合、CDC、Fc受容体結合、ADCC、食作用、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）の下方制御、及びB細胞活性化が挙げられる。

10

【0167】

「T細胞エフェクター機能」は、これらに限定されないが、細胞障害性T細胞、Tヘルパー細胞、制御性T細胞、及びメモリーT細胞を含む、様々な種類のT細胞に帰属する生物学的活性を指す。T細胞エフェクター機能の例としては、T細胞増殖を増加させること、サイトカインを分泌すること、細胞毒を放出すること、膜関連分子を発現すること、標的細胞を殺滅すること、マクロファージを活性化すること、及びB細胞を活性化することが挙げられる。

20

【0168】

本明細書における用語「Fc領域」は、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義して使用され、例えば、天然配列Fc領域、組み換えFc領域、及び変異体Fc領域を含む。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界は様々であり得るが、ヒトIgG重鎖Fc領域はしばしば、Cys226位のアミノ酸残基から、またはPro230から、そのカルボキシル末端まで伸びると定義される。Fc領域のC末端リジン（EU番号付けシステムによると残基447）は、例えば、抗体の産生もしくは精製の間に、または抗体の重鎖をコードする核酸を組み換え操作することによって、除去されてもよい。したがって、無傷抗体の組成物は、全K447残基が除去された抗体集団、除去されたK447残基がない抗体集団、及びK447残基を有する抗体と有しない抗体との混合物を有する抗体集団を含んでもよい。

30

【0169】

「機能的Fc領域」は、天然配列Fc領域の「エフェクター機能」を保有する。例示的な「エフェクター機能」としては、C1q結合、CDC、Fc受容体結合、ADCC、食作用、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）の下方制御等が挙げられる。そのようなエフェクター機能は、概して、Fc領域と結合領域及び結合ドメイン（例えば、抗体可変領域またはドメイン）との結合を必要とし、例えば、開示される様々なアッセイを使用して評価することができる。

【0170】

「天然配列Fc領域」は、天然で見出される、ヒトによって操作されていない、修飾されていない、及び／または変化されていない（例えば、単離、精製、選択されていない、様々な領域配列などの他の配列を含まない、またはそれらと組み合わせていない）Fc領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。天然配列ヒトIgG1 Fc領域は、天然配列ヒトIgG1 Fc領域（非A及びAアロタイプ）、天然配列ヒトIgG2 Fc領域、天然配列ヒトIgG3 Fc領域、及び天然配列ヒトIgG4 Fc領域、ならびにその天然発生バリエーションを含む。例えば、天然ヒトIgG1 Fc領域アミノ酸配列は、以下に提供される：

40

【化 1】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

10

(配列番号 36、強調されている K 3 2 2)。

例示的な天然ヒト IgG4 Fc 領域配列は、以下に提供される：

【化 2】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVVFSCVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGK

20

(配列番号 38、強調されている S 2 2 8 及び L 2 3 5)。

【0171】

「バリエーション Fc 領域」は、少なくとも 1 つのアミノ酸修飾（例えば、置換、付加、または欠失）によって天然配列 Fc 領域のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、バリエーション Fc 領域は、天然配列 Fc 領域または親ポリペプチドの Fc 領域と比較して少なくとも 1 個のアミノ酸置換、例えば、約 1 個～約 10 個のアミノ酸置換、また約 1 個～約 5 個のアミノ酸置換を、天然配列 Fc 領域または親ポリペプチドの Fc 領域内に有する。本明細書におけるバリエーション Fc 領域は天然配列 Fc 領域及び／または親ポリペプチドの Fc 領域と少なくとも約 80% の同一性、またはそれらと少なくとも約 90% の同一性、例えば、それらと少なくとも約 95% の同一性を保有し得る。例えば、ヒト IgG1 Fc アミノ酸配列、IgG1-K322A Fc 領域において 322 位で A に対する 1 つのアミノ酸の K の変化を有するバリエーションは、以下に提供される：

30

【化 3】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCAAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

40

(配列番号 37、強調されている K 3 2 2 A 置換)。

ヒト IgG4 Fc アミノ酸配列、IgG4P Fc 領域において 228 位で P に対する 1 つのアミノ酸の S の変化を有する例示的なバリエーションは、以下に提供される：

【化 4】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LSLSPGK

10

(配列番号 39、強調されている S 2 2 8 P 置換)。

ヒト IgG4 Fc アミノ酸配列、IgG4PE Fc 領域において 2 2 8 及び 2 3 5 位
 で 2 つのアミノ酸変化を有する例示的なバリエーションは、以下に提供される：

【化 5】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LSLSPGK

20

(配列番号 40、強調されている S 2 2 8 P 及び L 2 3 5 E 置換)。

【0172】

用語「バリエーション」は、PD-1 または抗 PD-1 抗体に関連して使用される場合、天然または修飾されていない配列と比較して、1 つ以上（例えば、約 1 ～ 約 25、約 1 ～ 約 20、約 1 ～ 約 15、約 1 ～ 約 10、または約 1 ～ 約 5 など）のアミノ酸配列の置換、欠失、及び／または付加を含むペプチドまたはポリペプチドを指し得る。例えば、PD-1 バリエーションは、天然 PD-1 のアミノ酸配列への 1 つ以上（例えば、約 1 ～ 約 25、約 1 ～ 約 20、約 1 ～ 約 15、約 1 ～ 約 10、または約 1 ～ 約 5 など）の変化に起因し得る。また、例として、抗 PD-1 抗体のバリエーションは、天然または事前に修飾されていない抗 PD-1 抗体のアミノ酸配列への 1 つ以上（例えば、約 1 ～ 約 25、約 1 ～ 約 20、約 1 ～ 約 15、約 1 ～ 約 10、または約 1 ～ 約 5 など）の変化に起因し得る。バリエーションは、対立遺伝子またはスプライスバリエーションなど天然発生であり得るか、または人工的に構築され得る。ポリペプチドバリエーションは、バリエーションをコードする対応する核酸分子から調製され得る。特定の実施形態では、PD-1 バリエーションまたは抗 PD-1 抗体バリエーションは、それぞれ PD-1 または抗 PD-1 抗体の機能的活性を少なくとも保持する。特定の実施形態では、抗 PD-1 抗体バリエーションは、PD-1 に結合し、及び／または PD-1 活性に対してアンタゴニスト性である。特定の実施形態では、抗 PD-1 抗体バリエーションは、PD-1 に結合し、及び／または PD-1 活性に対してアゴニスト性である。ある特定の実施形態では、バリエーションは、1 つ以上の CDR など PD-1 または抗 PD-1 抗体の VH もしくは VL 領域またはサブ領域をコードする核酸分子の単一ヌクレオチド多型 (SNP) バリエーションによってコードされる。

30

40

【0173】

用語「ベクター」は、例えば、核酸配列を宿主細胞に導入するために、本明細書に記載される抗 PD-1 抗体をコードする核酸配列を含む核酸配列を処理または含むために使用される物質を指す。使用に適用可能なベクターとしては、例えば、発現ベクター、プラスミド、ファージベクター、ウイルスベクター、エピソーム、及び人工クロモソームが挙げられ、それは、宿主細胞のクロモソームへの安定した統合のために操作可能な選択配列ま

50

たは選択マーカーを含み得る。さらに、ベクターは、1つ以上の選択可能なマーカー遺伝子及び適切な発現制御配列を含み得る。含まれ得る選択可能なマーカー遺伝子は、例えば、抗生物質または毒素への耐性を提供するか、栄養要求性欠損を補完するか、または培養培地において重要な栄養素を供給する。発現制御配列は、当該技術分野において周知である、構成的及び誘導的プロモーター、転写エンハンサー、転写ターミネーター等を含み得る。2つ以上の核酸分子が共発現される場合（例えば、抗体重鎖及び軽鎖の両方、または抗体VH及びVL）、両方の核酸分子は、例えば、単一発現ベクターまたは分離発現ベクターに挿入され得る。単一ベクター発現については、コードする核酸は、1つの誘導的プロモーター及び1つの構造的プロモーターなどの1つの共通の発現制御配列に操作可能に結合され得るか、または異なる発現制御配列に結合され得る。核酸分子の宿主細胞への導入は、当該技術分野において周知の方法を使用して確認され得る。そのような方法は、例えば、mRNAのノーザンブロットまたはポリメラーゼ連鎖反応（PCR）増幅などの核酸分析、遺伝子生成物の発現のための免疫ブロット、または導入された核酸配列またはその対応する遺伝子生成物の発現を試験するために他の好適な分析的方法を含む。核酸分子が、所望の生成物（例えば、本明細書に記載されるような抗PD-1抗体）を生成するのに十分な量で発現されることが当業者によって理解され、発現レベルが、当該技術分野において周知の方法を使用して十分な発現を得るために最適化され得ることがさらに理解される。

10

【0174】

「抗体依存性細胞媒介性細胞毒性」または「ADCC」は、ある特定の細胞毒性細胞（例えばナチュラルキラー（NK）細胞、好中球、及びマクロファージ）上に存在するFc受容体（FcR）と結合した分泌免疫グロブリンが、これらの細胞毒性エフェクター細胞が抗原保有標的細胞と特異的に結合して、続いて細胞毒を用いて標的細胞を殺滅することができるようにする細胞毒性の形態を指す。抗体は細胞毒性細胞を「備え」ており、このような殺滅には絶対に必要である。ADCCを媒介するための初代細胞であるNK細胞がFcγRIIIのみを発現する一方で、単球は、FcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIを発現する。造血細胞上のFcR発現は、既知である（例えば、Ravetch and Kinet, 1991, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92を参照されたい）。対象の分子のADCC活性を評価するために、インビトロADCCアッセイ（例えば、米国特許第5,500,362号及び第5,821,337号を参照されたい）を行ってもよい。そのようなアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞（PBMC）及びナチュラルキラー（NK）細胞が挙げられる。代替的または追加的には、対象の分子のADCC活性は、インビボで、例えば、動物モデル（例えば、Clynes et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 652-56を参照されたい）において評価され得る。ADCC活性をほとんどまたは全く有さない抗体が使用のために選択され得る。

20

30

【0175】

「抗体依存性細胞性食作用」または「ADCP」は、ある特定の食細胞（例えば、好中球、単球、及びマクロファージ）上に存在するFc受容体（FcR）と結合した分泌免疫グロブリンが、これらの食細胞が抗原保有標的細胞と特異的に結合して、続いて標的細胞を殺滅することを可能にするときに、単球またはマクロファージ媒介食作用による標的細胞の破滅を指す。対象の分子のADCP活性を評価するために、インビトロADCPアッセイ（例えば、Bracher et al., 2007, J. Immunol. Methods 323: 160-71を参照されたい）を行ってもよい。そのようなアッセイに有用な食細胞には、末梢血単核細胞（PBMC）、PBMCから精製された単球、または単核型に分化されたU937細胞が挙げられる。代替的または追加的には、対象の分子のADCP活性は、インビボで、例えば、動物モデル（例えば、Wallace et al., 2001, J. Immunol. Methods 248: 167-82を参照されたい）において評価され得る。ADCP活性をほとんどまたは全く有さない抗体が使用のために選択され得る。

40

50

【0176】

「Fc受容体」または「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を表す。例示的なFcRは、天然配列のヒトFcRである。さらに、例示的なFcRは、IgG抗体（例えば、ガンマ受容体）に結合するものであり、FcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIサブクラスの受容体を含み、これらの受容体の対立遺伝子バリエーション及び代替的にスプライシングされた形態も含む。FcγRII受容体は、FcγRIIA（「活性化受容体」）及びFcγRIIB（「阻害受容体」）を含み、これらは、主にその細胞質ドメインが異なる同様のアミノ酸配列を有する（例えば、Daeron, 1997, Annu. Rev. Immunol. 15:203-34を参照されたい）。様々なFcRが既知である（例えば、Ravetch and Kinet, 1991, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92、Capel et al., 1994, Immunomethods 4:25-34、及びde Haas et al., 1995, J. Lab. Clin. Med. 126:330-41を参照されたい）。将来的に特定されるものも含む他のFcRは、本明細書における「FcR」という用語に包含される。この用語はまた、母体IgGの胎児への移行に関与している新生児受容体FcRnも含む（例えば、Guyer et al., 1976, J. Immunol. 117:587-93、及びKim et al., 1994, Eu. J. Immunol. 24:2429-34を参照されたい）。FcRへの結合が改善または減少された抗体バリエーションが記載されている（例えば、WO2000/42072、米国特許第7,183,387号、第7,332,581号、及び第7,335,742号、Shields et al. (2001) J. Biol. Chem. 9(2):6591-604を参照されたい）。

【0177】

「補体依存性細胞障害」または「CDC」とは、補体の存在下での標的細胞の溶解を指す。古典的補体経路の活性化は、補体系の第1成分（C1q）が（適当なサブクラスの）抗体と結合することにより開始され、抗体にはそれらの同族抗原が結合する。補体活性化を評価するために、CDCアッセイ（例えば、Gazzano-Santoro et al., 1996, J. Immunol. Methods 202:163を参照されたい）を行ってもよい。改変されたFc領域アミノ酸配列を有するポリペプチドバリエーション（バリエーションFc領域を有するポリペプチド）及びC1q結合能力の増加または減少について記載されている。（例えば、米国特許第6,194,551号、WO1999/51642、Idusogie et al., 2000, J. Immunol. 164:4178-84を参照されたい）。CDC活性をほとんどまたは全く有さない抗体が使用のために選択され得る。

【0178】

PD-1ポリペプチド「細胞外ドメイン」または「ECD」は、膜貫通及び細胞質ドメインを本質的に含まないPD-1ポリペプチドの形態を指す。例えば、PD-1ポリペプチドECDは、1%未満の膜貫通及び／または細胞質ドメインを有し得、0.5%未満のそのようなドメインを有し得る。

【0179】

用語「同一性」は、配列を整列すること及び含むことによって決定される場合、2つ以上のポリペプチド分子または2つ以上の核酸分子の配列間の関係を指す。基準ポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」は、最大の配列同一性パーセントを達成するように、配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入した後に、かついかなる保存的置換も配列同一性の一部とは見なさずに、候補配列内のアミノ酸残基が、基準ポリペプチド配列内のアミノ酸残基と同一であるパーセンテージとして定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するための整列は、当業者が備えている技能の範囲内の様々な方法で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、またはMEGALIGN(DNAStar, Inc.)ソフトウェアなどの公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成され得る。当業者であれば、比較されている配列の完全長にわたって最大の整列を達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、配列を整列させる

ための適切なパラメータを決定することができる。

【0180】

アミノ酸残基／位置の「修飾」は、開始アミノ酸配列と比較した場合、一次アミノ酸配列の変化を指し、変化は、アミノ酸残基／位置を含む配列改変に起因する。例えば、典型的な修飾は、別のアミノ酸を有する残基の置換（例えば、保存的または非保存的置換）、残基／位置に近接する1つ以上（例えば、概して5、4、または3未満）のアミノ酸の挿入、及び／または残基／位置の欠失を含む。

【0181】

「エピトープ」は、抗体の1つ以上の抗原結合領域に結合されることができ、免疫応答を引き出すことができる哺乳動物（例えば、ヒト）などの動物において抗原または免疫原性活性である、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片など、抗原の表面での局在化領域などの単一抗体分子が結合する抗原分子の表面での部位である。免疫原性活性を有するエピトープは、動物において抗体応答を引き出すポリペプチドの部分である。抗原活性を有するエピトープは、例えば、免疫アッセイによることを含む、当該技術分野において周知の任意の方法によって決定される場合、抗体が結合するポリペプチドの部分である。抗原エピトープは、必ずしも免疫原性である必要はない。エピトープはしばしば、アミノ酸または糖側鎖などの分子の化学的に活性な表面分類からなり、特定の三次元構造特徴及び特定の電荷特徴を有する。抗体エピトープは、直鎖エピトープまたは立体配座エピトープであり得る。直鎖エピトープは、タンパク質中のアミノ酸の連続配列によって形成される。立体配座エピトープは、タンパク質配列において不連続であるアミノ酸から形成されるが、それは、その三次元構造へのタンパク質の折り畳み時に一緒になる。誘発されたエピトープは、タンパク質の三次元構造が以下の別のタンパク質またはリガンドの活性化または結合などの改変された立体配座にあるときに形成される。ある特定の実施形態では、PD-1エピトープは、PD-1ポリペプチドの三次元表面特徴である。他の実施形態では、PD-1エピトープは、PD-1ポリペプチドの直鎖特徴である。概して、抗原は、いくつかまたは多くの異なるエピトープを有し、多くの異なる抗体と反応し得る。

【0182】

抗体は、「エピトープ」、2つの抗体が三次元空間で同一、重複、または隣接するエピトープを認識するときに、参照抗体として「本質的に同じエピトープ」、または「同じエピトープ」に結合する。2つの抗体が三次元空間で同一、重複、または隣接するエピトープに結合するかどうかを決定するために最も幅広く使用され、かつ迅速な方法は、例えば、標識された抗原または標識された抗体のいずれかを使用していくつかの異なる形式で構成され得る、競合アッセイである。いくつかのアッセイでは、抗原は、96ウェルプレート上に固定化されるか、または細胞表面上に発現され、標識された抗体の結合をブロックする標識されていない抗体の能力は、放射性、蛍光性、または酵素の標識を使用して測定される。

【0183】

「エピトープマッピング」は、抗体の標的抗原上の抗体の結合部位、またはエピトープを特定するプロセスである。「エピトープビニング」は、抗体が認識するエピトープに基づいて抗体を分類するプロセスである。より具体的には、エピトープビニングは、抗体のエピトープ認識特性に基づいて抗体をクラスター化し、異なる結合特異性を有する抗体を特定するためにコンピュータプロセスと組み合わせた競合アッセイを使用して異なる抗体のエピトープ認識特性を区別するための方法及びシステムを含む。

【0184】

「有効量」は、概して、症状の重症度及び／または頻度を低減、症状及び／または根本的原因を排除、症状及び／またはそれらの根本的原因の発生を予防、及び／または例えば、白斑を含む、疾患、障害、または状態に起因するか、もしくはそれらに関連する損傷を改善または回復するために十分な量である。いくつかの実施形態では、有効量は、治療有効量または予防有効量である。

【0185】

本明細書において使用される場合、用語「治療有効量」は、所与の疾患、障害、または状態、及び／またはそれらに関連する症状（例えば、白斑）の重症度及び／または期間を低減及び／または改善するために十分な薬剤（例えば、本明細書に提供される抗体、または本明細書に記載される任意の他の薬剤）の量を指す。本開示の物質／分子／薬剤の「治療有効量」（例えば、抗PD-1抗体）は、個体の疾患状態、年齢、性別、及び体重等の要因、ならびに個体における所望の応答を引き出す物質／分子／薬剤の能力により変動し得る。治療有効量は、治療上有益な効果が、物質／分子／薬剤の任意の毒性または有害効果を上回る量を包含する。ある特定の実施形態では、用語「治療有効量」は、対象または哺乳動物における疾患、障害、または状態を「治療する」のに有効な抗体もしくは他の薬剤（例えば、薬物）の量を指す。

10

【0186】

「予防有効量」は、対象に投与されるときに、例えば、疾患、障害、状態、または関連症状（複数可）（例えば、白斑）の発症（もしくは再発）の可能性を予防、遅延、または低減などの意図される予防効果を有する薬学的組成物の量である。典型的であって必ずしもそうではないが、疾患、障害、もしくは状態の早期段階前または早期段階で予防用量が対象において用いられるため、予防上有効な量は、治療上有効な量よりも少ない場合がある。完全な治療または予防効果は、1用量の投与によって必ずしも生じるとは限らず、一連の用量の投与後にのみ生じる場合もある。したがって、治療または予防有効量は、1回以上の投与で投与することができる。

【0187】

「慢性」投与は、急性の形態に対して、初期の治療効果（活性）を長期間維持するような連続方式での薬剤（複数可）の投与を指す。「間欠的」投与は、中断なく連続的に行うのではなく、むしろ周期的な治療である。

20

【0188】

本明細書で使用される場合、「担体」は、用いられる投与量及び濃度でそれに曝露されている細胞または哺乳動物に非毒性の薬学的に許容される担体、賦形剤、または安定剤を含む。多くの場合、生理的に許容される担体は、pH緩衝水溶液である。生理的に許容される担体の例としては、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸を含む抗酸化剤；低分子量（例えば、約10残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、もしくは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、もしくはリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、もしくはデキストリンを含む、単糖類、二糖類、及び他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；マンニトールもしくはソルビトールなどの糖アルコール；ナトリウムなどの塩形成対イオン；及び／またはTWEEN（商標）、ポリエチレングリコール（PEG）、及びPLURONICS（商標）などの非イオン性界面活性剤が挙げられる。用語「担体」はまたは、希釈剤、アジュバント（例えば、フロイントアジュバント（完全または不完全））、賦形剤、またはビヒクルを指す。薬学的担体を含むそのような担体は、水、及びピーナッツ油、ダイズ油、鉱物油、ゴマ油といった石油、動物、植物、もしくは合成起源のものを含む油などの無菌液体であり得る。組成物（例えば、薬学的組成物）が静脈内投与されるとき、水は例示的な担体である。食塩水溶液ならびにデキストロース及びグリセロールの水溶液はまた、特に注射溶液のために液体担体として用いられ得る。好適な薬学的賦形剤としてはまた、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、コメ、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセロール、プロピレングリコール、水、エタノールなどが挙げられる。組成物は、所望の場合、少量の湿潤剤、乳化剤、またはpH緩衝剤を含有することもできる。組成物は、液剤、懸濁剤、乳剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、粉末剤、徐放性製剤などの形態をとり得る。製剤を含む経口組成物は、マンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウム等の標準的な担体を含み得る。好適な薬学的担体の例は、Remington and Gennaro

30

40

50

, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1990)に記載されている。薬学的化合物を含む組成物は、例えば、好適な量の担体とともに単離されたまたは精製された形態で、抗PD-1抗体を含み得る。

【0189】

本明細書において使用される場合、用語「薬学的に許容される」は、動物において、及びより具体的にはヒトにおいての使用のために、連邦政府もしく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、欧州薬局方、もしくは他の一般に認識される薬局方に列挙されていることを意味する。

【0190】

本明細書において使用される場合、「ポリクローナル抗体」は、多くのエピトープを有するタンパク質に対する免疫原性応答で生成され、したがって、タンパク質内の同じまたは異なるエピトープに対する様々な異なる抗体を含む、抗体集団を指す。ポリクローナル抗体を産生するための方法は、当該技術分野において既知である（例えば、Short Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., 5th ed. 2002)を参照されたい）。

【0191】

「単離された核酸」は、天然配列を天然に伴うリボソーム及びポリメラーゼなどの他のゲノムDNA配列、ならびにタンパク質または複合体から実質的に分離されている核酸、例えば、RNA、DNA、または混合された核酸である。「単離された」核酸分子は、核酸分子の天然の供給源に存在する他の核酸分子から分離されている核酸分子である。さらに、cDNAなどの「単離された」核酸分子は、組み換え技法によって産生されるか、または化学的前駆体もしくは他の化学物質を実質的に含まない場合、化学合成される場合、他の細胞性物質または培地を実質的に含み得ない。特定の実施形態では、本明細書に記載される抗体をコードする1つ以上の核酸分子は、単離または精製される。用語は、それらの天然発生環境から除去されている核酸配列を包含し、組み換えまたはクローン化DNA単離物及び化学合成された類似体または異種系によって生物学的に合成された類似体を含む。実質的に純粋な分子は、単離された形態の分子を含み得る。

【0192】

本明細書において交換可能に使用される場合、「ポリヌクレオチド」または「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、DNA及びRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチドもしくは塩基、及び／またはそれらの類似体、あるいはDNAもしくはRNAポリメラーゼによってまたは合成反応によってポリマーに組み込まれ得る任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びそれらの類似体などの修飾されたヌクレオチドを含んでもよい。本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」は、一般に、約200ヌクレオチド長未満であるが、必ずしもそうではない一般に短い一本鎖合成ポリヌクレオチドを指す。用語「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」は、相互排他的ではない。ポリヌクレオチドに関する上記の説明は、等しく完全にオリゴヌクレオチドに適用可能である。本開示の抗PD-1抗体を産生する細胞は、親ハイブリドーマ細胞、ならびに抗体をコードする核酸が導入されている細菌及び真核生物宿主細胞を含み得る。好適な宿主細胞は、以下に開示される。

【0193】

別段指定されない限り、本明細書に開示される任意の一本鎖ポリヌクレオチド配列の左手端は5'端であり、二本鎖ポリヌクレオチド配列の左手方向は5'方向と称される。新生RNA転写の5'から3'の付加の方向は、転写方向と称され、RNA転写と同一の配列を有し、RNA転写の5'から5'端であるDNA鎖上の配列領域は、「上流配列」と称され、RNA転写と同一の配列を有し、RNA転写の3'から3'端であるDNA鎖上の配列領域は、「下流配列」と称される。

【0194】

用語「予防する」、「予防すること」、及び「予防」は、疾患、障害、状態、または関

10

20

30

40

50

連症状（複数可）（例えば、白斑）の発症（もしくは再発）の可能性を低減することを指す。

【0195】

用語「予防薬剤」は、対象における疾患（例えば、白斑）及び／またはそれに関連する症状の発達、再発、発症、または蔓延を全体的もしくは部分的に阻害し得る任意の薬剤を指す。ある特定の実施形態では、「予防薬剤」という用語は、本明細書に記載される抗PD-1抗体を指す。

【0196】

本明細書において使用される場合、「予防有効血清価」は、対象における疾患（例えば、白斑）、障害、もしくは状態、及び／またはそれに関連する症状の発達、再発、発症、または蔓延を全体的もしくは部分的に阻害するPD-1抗体、例えば、対象（例えば、ヒト）における本明細書に記載されるPD-1抗体の血清価である。

【0197】

ある特定の実施形態では、「治療有効血清価」は、対象におけるPD-1媒介疾患、障害、もしくは状態に関連する重症度、期間、及び／または症状を低減するPD-1抗体、例えば、対象（例えば、ヒト）における本明細書に記載されるPD-1抗体の血清価である。

【0198】

用語「組み換え抗体」は、組み換え手段によって調製、発現、作製、または単離された抗体を指す。組み換え抗体は、宿主細胞にトランスフェクトされた組み換え発現ベクター、組み換えコンビナトリアル抗体ライブラリから単離された抗体、ヒト免疫グロブリン遺伝子に対してトランスジェニック及び／またはトランスクロモソーマルである動物（例えば、マウスまたはウシ）から単離された抗体（例えば、Taylor et al., 1992, Nucleic Acids Res. 20:6287-95を参照されたい）、または他のDNA配列に対して免疫グロブリン遺伝子配列のスプライシングを含む任意の他の手段によって調製、発現、作製、もしくは単離された抗体を使用して発現された抗体であり得る。そのような組み換え抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来するものを含む様々な及び定常領域を有し得る（Kabata et al.（上記参照）を参照されたい）。しかしながら、ある特定の実施形態では、そのような組み換え抗体は、インビトロ変異誘発（または、ヒトIg配列に対して動物トランスジェニックが使用される場合、インビボ体細胞変異誘発）に施され得、したがって、組み換え抗体のVH及びVL領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系VH及びVL配列に由来及び関連するが、インビボでヒト抗体生殖細胞系レパートリー内に天然には存在しない場合がある配列である。

【0199】

用語「血清価」は、複数の試料（例えば、複数の時点で）からの対象における、または少なくとも10人、少なくとも20人、少なくとも40人の対象、最大約100人、約1000人、またはそれ以上の集団における平均血清価を指す。

【0200】

用語「副作用」は、治療（例えば、予防薬剤または治療薬剤）の不必要な作用及び／または有害作用を包含する。不必要な作用は、必ずしも有害であるわけではない。治療（例えば、予防薬剤または治療薬剤）からの有害作用は、有害、不快、または危険であり得る。副作用の例としては、下痢、咳、胃腸炎、喘鳴、吐き気、嘔吐、食欲不振、腹部疼痛、発熱、疼痛、体重減少、脱水症状、脱毛、呼吸困難、不眠症、眩暈、粘膜炎、神経及び筋肉作用、疲労、口渇、食欲不振、投与の部位での発疹または腫脹、発熱、悪寒、及び疲労などのインフルエンザ様症状、消化管異常、ならびにアレルギー反応が挙げられる。患者によって経験される追加の不所望な作用は、数多くあり、当該技術分野において既知である。多くはPhysician's Desk Reference (68th ed., 2014)に記載される。

【0201】

用語「対象」及び「患者」は、交換可能に使用されてもよい。本明細書において使用さ

れる場合、ある特定の実施形態では、対象は、非霊長動物（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラットなど）または霊長動物（例えば、サル及びヒト）などの哺乳動物である。特定の実施形態では、対象はヒトである。一実施形態では、対象は、疾患、障害、または状態（例えば、白斑）を有する哺乳動物（例えば、ヒト）である。別の実施形態では、対象は、疾患、障害、または状態（例えば、白斑）を発症するリスクがある哺乳動物（例えば、ヒト）である。

【0202】

「実質的にすべて」は、少なくとも約60%、少なくとも約65%、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98%、少なくとも約99%、または約100%を指す。

10

【0203】

用語「治療薬剤」は、疾患、障害、もしくは状態（例えば、白斑）及び／またはそれに関連する症状の1つ以上の症状の治療、予防、もしくは軽減を含む、疾患、障害、または状態を治療すること、予防すること、または軽減することにおいて使用され得る任意の薬剤を指す。ある特定の実施形態では、治療薬剤は、本明細書に記載される抗PD-1抗体を指す。

【0204】

「治療」という用語は、疾患、障害、もしくは状態（例えば、白斑）の予防、管理、治療、及び／または回復において使用され得る任意のプロトコル、方法、及び／または薬剤を指す。ある特定の実施形態では、「治療（therapies）」及び「治療（therapy）」という用語は、医療関係者などの当業者に既知である、疾患、障害、もしくは状態（例えば、白斑）の予防、管理、治療、及び／または回復に有用な生物学的療法、支持療法、及び／または他の治療を指す。

20

【0205】

用語「検出可能なプローブ」は、検出可能なシグナルを提供する組成物を指す。用語は、限定することなく、その活性を介して検出可能なシグナルを提供する、任意の蛍光体、発色団、放射標識、酵素、抗体または抗体断片等を含む。

【0206】

用語「検出可能な薬剤」は、試料または対象における、本明細書に記載される抗PD-1抗体などの所望の分子の生存または存在を確認するために使用され得る物質を指す。検出可能な薬剤は、可視化されることが可能である物質か、またはそうでなければ、決定及び／または測定（例えば、定量化によって）されることが可能である物質であり得る。

30

【0207】

「診断剤」という用語は、疾患、障害、または状態の診断を助ける対象に投与される物質を指す。そのような物質は、疾患を引き起こすプロセスの局在化を明らかにする、特定する、及び／または定義するために使用され得る。ある特定の実施形態では、診断剤は、対象に投与されるか、または対象からの試料と接触されるときに疾患（例えば、白斑）の診断を助ける、本明細書に記載される抗PD-1抗体に複合体化される物質を含む。

【0208】

核酸分子の参照において使用される場合、用語「コードする核酸」またはその文法的等価物は、その天然状態にあるか、またはmRNAを生成するために転写され得る当業者に周知の方法によって操作され、それは次いで、ポリペプチド及び／またはその断片へ翻訳されるときに核酸分子を指す。アンチセンス鎖はそのような核酸分子の補体であり、コードする配列はそこから推定され得る。

40

【0209】

用語「賦形剤」は、希釈剤、ビヒクル、防腐剤、結合剤、または安定剤として一般に使用され、これらに限定されないが、タンパク質（例えば、血清アルブミン等）、アミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、グリシン、ヒスチジン等）、脂肪酸及びリン脂質（例えば、スルホン酸アルキル、カプリル酸エステル等）、界

50

面活性剤（例えば、SDS、ポリソルベート、非イオン性界面活性剤等）、糖類（例えば、スクロース、マルトース、トレハロース等）、ならびにポリオール（例えば、マンニトール、ソルビトール等）を含む、不活性物質を指す。また、Remington and Gennaro, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1990) も参照されたく、これは、その全体において参照により本明細書に組み込まれる。

【0210】

ペプチドまたはポリペプチドの文脈において、本明細書において使用される場合、用語「断片」は、全長未満のアミノ酸配列を含むペプチドまたはポリペプチドを指す。そのような断片は、例えば、アミノ末端での切断、カルボキシ末端での切断、及び／またはアミノ酸配列からの残基（複数可）の内部欠失から生じ得る。断片は、例えば、代替的なRNAスプライシングまたはインビボプロテアーゼ活性に起因する。ある特定の実施形態では、PD-1断片または抗PD-1抗体断片は、PD-1ポリペプチドもしくは抗PD-1抗体のアミノ酸配列の少なくとも5個の連続したアミノ酸残基、少なくとも10個の連続したアミノ酸残基、少なくとも15個の連続したアミノ酸残基、少なくとも20個の連続したアミノ酸残基、少なくとも25個の連続したアミノ酸残基、少なくとも30個の連続したアミノ酸残基、少なくとも40個の連続したアミノ酸残基、少なくとも50個の連続したアミノ酸残基、少なくとも60個の連続したアミノ酸残基、少なくとも70個の連続したアミノ酸残基、少なくとも80個の連続したアミノ酸残基、少なくとも90個の連続したアミノ酸残基、少なくとも連続した100個のアミノ酸残基、少なくとも125個の連続したアミノ酸残基、少なくとも150個の連続したアミノ酸残基、少なくとも175個の連続したアミノ酸残基、少なくとも200個の連続したアミノ酸残基、少なくとも250個、少なくとも300個、少なくとも350個、少なくとも400個、少なくとも450個、少なくとも500個、少なくとも550個、少なくとも600個、少なくとも650個、少なくとも700個、少なくとも750個、少なくとも800個、少なくとも850個、少なくとも900個、または少なくとも950個の連続したアミノ酸残基のアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む。特定の実施形態では、PD-1ポリペプチドの断片または抗PD-1抗体は、ポリペプチドまたは抗体の少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、またはそれ以上の機能を保持する。

【0211】

「管理する」、「管理すること」、及び「管理」という用語は、対象が治療（例えば、予防薬剤または治療薬剤）から得る有益な効果を指し、それは疾患の治癒をもたらさない。ある特定の実施形態では、対象は、疾患（例えば、白斑）、その1つ以上の症状を「管理する」ために1つ以上の治療剤（例えば、本明細書に提供される抗体などの予防薬剤または治療薬剤）を投与され、疾患の進行もしくは悪化を予防する。

【0212】

用語「約」及び「おおよそ」は、20%以内、15%以内、10%以内、9%以内、8%以内、7%以内、6%以内、5%以内、4%以内、3%以内、2%以内、1%以内、または所定の値もしくは範囲未満を意味する。

【0213】

「投与する」または「投与」は、粘膜、皮内、静脈内、筋肉内送達、及び／または本明細書に記載されるかもしくは当該技術分野において既知の任意の他の物理的送達方法などによって、体外に存在する物質（例えば、本明細書に記載される抗PD-1抗体）を、注射または他の様式で患者へ物理的に送達する行為を指す。疾患、障害、状態、またはその症状が治療されるとき、物質の投与は、典型的には、疾患、障害、状態、またはその症状の発症の後に生じる。疾患、障害、状態、またはその症状が予防されるとき、物質の投与は、典型的には、疾患、障害、状態、またはその症状の発症の前に生じる。

【0214】

ポリペプチドの文脈において、本明細書において使用される場合、用語「類似体」は、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、もしくは抗PD-1抗体と同様ま

たは同一の機能を有するが、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、もしくは抗PD-1抗体と同様または同一のアミノ酸配列を必ずしも含まないか、またはPD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、もしくは抗PD-1抗体と同様または同一の構造を有しないポリペプチドを指す。同様のアミノ酸配列を有するポリペプチドは、以下のうちの少なくとも1つを満たすポリペプチドを指す：(a) PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または本明細書に提供される抗PD-1抗体のアミノ酸配列と少なくとも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%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチド、(b) 少なくとも5個のアミノ酸残基、少なくとも10個のアミノ酸残基、少なくとも15個のアミノ酸残基、少なくとも20個のアミノ酸残基、少なくとも25個のアミノ酸残基、少なくとも30個のアミノ酸残基、少なくとも40個のアミノ酸残基、少なくとも50個のアミノ酸残基、少なくとも60個のアミノ酸残基、少なくとも70個のアミノ酸残基、少なくとも80個のアミノ酸残基、少なくとも90個のアミノ酸残基、少なくとも100個のアミノ酸残基、少なくとも125個のアミノ酸残基、または少なくとも150個のアミノ酸残基のPD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または本明細書に記載される抗PD-1抗体（またはそのVHもしくはVL領域）をコードするヌクレオチド配列にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によってコードされたポリペプチド（例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2001)、及びManiatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (1982)を参照されたい）；または(c) PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または本明細書に記載される抗PD-1抗体（またはそのVHもしくはVL領域）をコードするヌクレオチド配列と少なくとも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%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるヌクレオチド配列によってコードされたポリペプチド。PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または本明細書に提供される抗PD-1抗体と同様の構造を有するポリペプチドは、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または本明細書に提供される抗PD-1抗体と同様の二次、三次、もしくは四次構造を有するポリペプチドを指す。ポリペプチドの構造は、これらに限定されないが、X線結晶学、核磁気共鳴、及び結晶学電子顕微鏡を含む、当業者に既知の方法によって決定され得る。

【0215】

ポリペプチドの文脈において、本明細書において使用される場合、用語「誘導体」は、アミノ酸残基の置換、欠失、もしくは付加の導入によって改変されている、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、またはPD-1ポリペプチドに結合する抗体のアミノ酸配列を含むポリペプチドを指す。本明細書において使用される場合、用語「誘導体」はまた、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または例えば、任意の種類の分子のポリペプチドへの共有結合によって化学修飾されているPD-1ポリペプチドに結合する抗体を指す。例えば、限定するものではないが、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、または抗PD-1抗体は、例えば、グリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸化、アミド化、既知の保護基／ブロック基による誘導体化、タンパク質分解切断、化学的切断、配合、ツニカマイシンの代謝合成、細胞リガンドまたは他のタンパク質への結合等によって化学修飾され得る。誘導体は、結合された分子の種類または位置のいずれかで、天然発生または開始ペプチドもしくはポリペプチドとは異なる様式で修飾される。誘導体は、ペプチドまたはポリペプチド上に天然に存在する1つ以上の化学基の欠失をさらに含む。さらに、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド

の断片、または抗PD-1抗体の誘導体は、1つ以上の非古典的アミノ酸を含み得る。ポリペプチド誘導体は、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチドの断片、もしくは本明細書に提供される抗PD-1抗体と同様または同一の機能を有する。

【0216】

用語「組成物」は、任意に特定量で、特定成分（例えば、本明細書に提供される抗体）を含む組成物を包含するよう意図されている。

【0217】

4. 3 組成物及びその作製方法

PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープに結合する治療有効量の抗体を対象に投与することを含む、対象における白斑を管理、予防、または治療する方法が本明細書に提供される。

10

【0218】

本方法のある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、ヒト及び／またはカニクイザルPD-1に結合する。一実施形態では、PD-1抗体は、ヒトPD-1に結合する。一実施形態では、PD-1抗体は、カニクイザルPD-1に結合する。一実施形態では、PD-1抗体は、ヒトPD-1及びカニクイザルPD-1の両方に結合する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、齧歯類PD-1に結合しない。

【0219】

本方法のいくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-1の細胞外ドメイン（ECD）に結合する。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L1結合部位とは異なるPD-1のECDにおいてエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L2結合部位とは異なるPD-1のECDにおいてエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方とは異なるPD-1のECDにおいてエピトープに結合する。

20

【0220】

本方法のさらなる他の実施形態では、抗体は、本明細書に提供される抗PD-1抗体が、PD-1ポリペプチドへ結合することを競合的にブロックする。

【0221】

本方法の別の実施形態では、抗体は、PD-1ポリペプチドへの結合について本明細書に提供される抗PD-1抗体と競合する。

30

【0222】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L1のPD-1ポリペプチドへの結合をブロックしない。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L2のPD-1ポリペプチドへの結合をブロックしない。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L1またはPD-L2のPD-1ポリペプチドへの結合をブロックしない。

【0223】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-1ポリペプチドへの結合についてPD-L1と競合しない。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-1ポリペプチドへの結合についてPD-L2と競合しない。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-1ポリペプチドへの結合についてPD-L1またはPD-L2と競合しない。

40

【0224】

ある特定の実施形態では、PD-L1のPD-1への結合は、抗体によって阻害されない。他の実施形態では、PD-L2のPD-1への結合は、抗体によって阻害されない。特定の実施形態では、PD-L1のPD-1への結合またはPD-L2のPD-1への結合のいずれも、抗体によって阻害されない。

【0225】

本明細書に提供される抗PD-1抗体はまた、例えば、診断剤または検出可能な薬剤に複合体化または組み換え融合され得る。抗PD-1抗体を含む組成物がさらに提供される。

50

【0226】

4. 3. 1 抗PD-1抗体

一実施形態では、本開示は、治療剤として本明細書においての使用を見出し得る抗PD-1抗体を提供する。別の実施形態では、本開示は、診断剤として本明細書においての使用を見出し得る抗PD-1抗体を提供する。例示的な抗体としては、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、二重特異性抗体、及びヘテロ複合体抗体、ならびに改善された親和性または他の特性を有するそれらのバリエーションが挙げられる。

【0227】

いくつかの実施形態では、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープを含むPD-1に結合する抗体が本明細書に記載される。ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、ヒト及び／またはカニクイザルPD-1に結合する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、齧歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）に結合しない。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、ヒトPD-1に結合する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、カニクイザルPD-1に結合する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、ヒトPD-1及びカニクイザルPD-1に結合する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、ヒトPD-1に結合し、齧歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）には結合しない。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、カニクイザルPD-1に結合し、齧歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）には結合しない。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、ヒトPD-1に結合し、カニクイザルPD-1に結合し、齧歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）には結合しない。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L1のPD-1ポリペプチドへの結合をブロックしない。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L2のPD-1ポリペプチドへの結合をブロックしない。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L1またはPD-L2のPD-1ポリペプチドへの結合をブロックしない。他の実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープを含むPD-1に結合するヒト化抗体（例えば、ヒト定常領域を含む）である。

【0228】

ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、本明細書に提供されるマウスのモノクローナル抗体のいずれか1つのVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3は、IMGT番号付けシステムによって定義される通りである。他の実施形態では、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3は、Kabat番号付けシステムによって定義される通りである。ある特定の実施形態では、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3は、AbM番号付けシステムによって定義される通りである。他の実施形態では、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3は、Chothiaシステムによって定義される通りである。さらなる他の実施形態では、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3は、Contact番号付けシステムによって定義される通りである。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に提供される単離された抗体またはその機能的断片は、表1及び表2に示されるように、(a) 抗体PD1AB-1、(b) 抗体PD1AB-2、(c) 抗体PD1AB-3、(d) 抗体PD1AB-4、(e) 抗体PD1AB-5、または(f) 抗体PD1AB-6からの、1、2、及び／または3つの重鎖CDR及び／または1、2、及び／または3つの軽鎖CDRを含む。

表1. VL CDRアミノ酸配列

【表 2】

抗体	VL CDR1(配列番号)	VL CDR2(配列番号)	VL CDR3(配列番号)
PD1AB-1	KSGQSVLYSSNQKNFLA (配列番号1)	WASTRES (配列番号2)	HQYLYSWT (配列番号3)
PD1AB-2	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号7)	WASTRES (配列番号2)	HQYLYSWT (配列番号3)
PD1AB-3	KSGQSVLYSSNQKNFLA (配列番号1)	WASTRES (配列番号2)	HQYLYSWT (配列番号3)
PD1AB-4	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号7)	WASTRES (配列番号2)	HQYLYSWT (配列番号3)
PD1AB-5	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号7)	WASTRES (配列番号2)	HQYLYSWT (配列番号3)
PD1AB-6	KSGQSVLYSSNQKNFLA (配列番号1)	WASTRES (配列番号2)	HQYLYSWT (配列番号3)

10

表 2. VH CDR アミノ酸配列

20

【表 3】

抗体	VH CDR1(配列番号)	VH CDR2(配列番号)	VH CDR3(配列番号)
PD1AB-1	GFNIKDTYMH (配列番号4)	RIDPANGDRK (配列番号5)	SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号6)
PD1AB-2	GFNIKDTYMH (配列番号4)	RIDPANGDRK (配列番号5)	SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号6)
PD1AB-3	GFNIKDTYMH (配列番号4)	RIDPANGDRK (配列番号5)	SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号6)
PD1AB-4	GFNIKDTYMH (配列番号4)	RIDPANGDRK (配列番号5)	SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号6)
PD1AB-5	GFNIKDTYMH (配列番号4)	RIDPANGDRK (配列番号5)	SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号6)
PD1AB-6	GFNIKDTYMH (配列番号4)	RIDPANGDRK (配列番号5)	SGPVYYYGSSYVMDY (配列番号6)

30

【0229】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、6つのCDR、例えば、表1及び表2に特定されるVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3を含むか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、6つ未満のCDRを含み得る。いくつかの実施形態では、抗体は、表1及び表2に特定されるVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3からなる群から選択される、1、2、3、4、または5つのCDRを含むか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、抗体は、本明細書に記載される(a)抗体PD1AB-1、(b)抗体PD1AB-2、(c)抗体PD1AB-3、(d)抗体PD1AB-4、(e)抗体PD1AB-5、及び(f)抗体PD1AB-6からなる群から選択されるモノクローナル抗体のVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3からなる群から選択される1、

40

50

2、3、4、または5つのCDRを含むか、またはそれらからなる。したがって、いくつかの実施形態では、抗体は、表1及び表2に特定されるVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3のいずれか1つの1、2、3、4、または5つのCDRを含むか、またはそれらからなる。

【0230】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、表2に列挙される1つ以上（例えば、1、2、または3つ）のVH CDRを含む。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、表1に列挙される1つ以上（例えば、1、2、または3つ）のVL CDRを含む。さらなる他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、表2に列挙される1つ以上（例えば、1、2、または3つ）のVH CDR、及び表1に列挙される1つ以上のVL CDRを含む。したがって、いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR1を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR2を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、表2に示されるVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3アミノ酸配列（複数可）のいずれか1つから独立して選択されるVH CDR1及び／またはVH CDR2及び／またはVH CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号1及び7のアミノ酸配列を有するVL CDR1を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、表1に示されるVL CDR1、VL CDR2、VL CDR3アミノ酸配列のいずれか1つから独立して選択されるVL CDR1及び／またはVL CDR2及び／またはVL CDR3を含む。

【0231】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、（1）配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR1、（2）配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR2、及び（3）配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR3を含むVH領域、ならびに（1）配列番号1のアミノ酸配列を有するVL CDR1、（2）配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2、及び（3）配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含むVL領域を含む。

【0232】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、（1）配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR1、（2）配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR2、及び（3）配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR3を含むVH領域、ならびに（1）配列番号7のアミノ酸配列を有するVL CDR1、（2）配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2、及び（3）配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含むVL領域を含む。

【0233】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、（1）配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR1、（2）配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR2、及び（3）配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR3を含むVH領域を含む。

【0234】

他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、（1）配列番号1のアミノ酸配列を有するVL CDR1、（2）配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2、及び（3）配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含むVL領域を含む。

【0235】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、（1）配列番号7のアミノ酸配列を有するVL CDR1、（2）配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2、及び（3）配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含むVL領域を含む。

【0236】

表 1 及び表 2 に列挙される 1 つ以上（例えば、1、2、または 3 つ）の V H C D R 及び 1 つ以上（例えば、1、2、または 3 つ）の V L C D R を含む抗体もまた本明細書に記載される。特に、V H C D R 1（配列番号 4）及び V L C D R 1（配列番号 1 または 7）を含む抗体が本明細書に提供される。一実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）及び V L C D R 2（配列番号 2）を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 2（配列番号 5）及び V L C D R 1（配列番号 1 または 7）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 2（配列番号 5）及び V L C D R 2（配列番号 2）を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 2（配列番号 5）及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 3（配列番号 6）及び V L C D R 1（配列番号 1 または 7）を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 3（配列番号 6）及び V L C D R 2（配列番号 2）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 3（配列番号 6）及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V H C D R 2（配列番号 5）、及び V L C D R 1（配列番号 1 または 7）を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V H C D R 2（配列番号 5）、及び V L C D R 2（配列番号 2）を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V H C D R 2（配列番号 5）、及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 2（配列番号 5）、V H C D R 3（配列番号 6）、及び V L C D R 1（配列番号 1 または 7）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 2（配列番号 5）、V H C D R 3（配列番号 6）、及び V L C D R 2（配列番号 2）を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 2（配列番号 5）、V H C D R 3（配列番号 6）、及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V H C D R 3（配列番号 6）、及び V L C D R 1（配列番号 1 または 7）を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V H C D R 3（配列番号 6）、及び V L C D R 2（配列番号 2）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V H C D R 3（配列番号 6）、及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V L C D R 1（配列番号 1 または 7）、及び V L C D R 2（配列番号 2）を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V L C D R 1（配列番号 1 または 7）、及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V L C D R 2（配列番号 2）、及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 2（配列番号 5）、V L C D R 1（配列番号 1 または 7）、及び V L C D R 2（配列番号 2）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 2（配列番号 5）、V L C D R 1（配列番号 1 または 7）、及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 2（配列番号 5）、V L C D R 2（配列番号 2）、及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 3（配列番号 6）、V L C D R 1（配列番号 1 または 7）、及び V L C D R 2（配列番号 2）を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 3（配列番号 6）、V L C D R 1（配列番号 1 または 7）、及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 3（配列番号 6）、V L C D R 2（配列番号 2）、及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V H C D R 2（配列番号 5）、V H C D R 3（配列番号 6）、及び V L C D R 1（配列番号 1 または 7）を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V H C D R 2（配列番号 5）、V H C D R 3（配列番号 6）、及び V L C D R 2（配列番号 2）を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V H C D R 2（配列番号 5）、V H C D R 3（配列番号 6）、及び V L C D R 3（配列番号 3）を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1（配列番号 4）、V H C D R 2（配列番号 5）、V L C D R 1（配列番号 1 ま

たは7)、及びV L C D R 2 (配列番号2)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号4)、V H C D R 2 (配列番号5)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号4)、V H C D R 2 (配列番号5)、V L C D R 2 (配列番号2)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号4)、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、及びV L C D R 2 (配列番号2)を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号4)、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号4)、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 2 (配列番号2)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 2 (配列番号5)、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、及びV L C D R 2 (配列番号2)を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 2 (配列番号5)、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 2 (配列番号5)、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 2 (配列番号2)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号4)、V H C D R 2 (配列番号5)、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、及びV L C D R 2 (配列番号2)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号4)、V H C D R 2 (配列番号5)、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号4)、V H C D R 2 (配列番号5)、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 2 (配列番号2)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号4)、V H C D R 2 (配列番号5)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、V L C D R 2 (配列番号2)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号4)、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、V L C D R 2 (配列番号2)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 2 (配列番号5)、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、V L C D R 2 (配列番号2)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号4)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、V L C D R 2 (配列番号2)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 2 (配列番号5)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、V L C D R 2 (配列番号2)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 3 (配列番号6)、V L C D R 1 (配列番号1または7)、V L C D R 2 (配列番号2)、及びV L C D R 3 (配列番号3)を含む。別の実施形態では、抗体は、表1及び表2に列挙されるV H C D R及びV L C D Rのそれらの任意の組み合わせを含む。

【0237】

さらなる別の態様では、本明細書に開示されるC D Rは、関連抗体（例えば、表1及び表2を参照されたい）の群に由来するコンセンサス配列を含む。本明細書に記載されるように、「コンセンサス配列」は、いくつかの配列及び所定のアミノ酸配列内で変化する可変アミノ酸の間で共通である保存されたアミノ酸を有するアミノ酸配列を指す。

【0238】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される単離された抗体またはその機能的断片は、表3及び表4に示されるように、(a)抗体P D 1 A B-1、(b)抗体P D 1 A B-2、(c)抗体P D 1 A B-3、(d)抗体P D 1 A B-4、(e)抗体P D 1 A B-5、または(f)抗体P D 1 A B-6からの、1、2、3、及び／または4つの重鎖F R及び／または1、2、3、及び／または4つの軽鎖F Rをさらに含む。

表 3. VL FR アミノ酸配列
【表 4】

抗体	VL FR1 (配列番号)	VL FR2 (配列番号)	VL FR3 (配列番号)	VL FR4 (配列番号)
PD1AB-1	DIVMTQSPDSLAV SLGERATINC (配列番号14)	WYQQKPGQPP KLLIY (配列 番号15)	GVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVY YC (配列番号16)	FGQGTKLEIKR (配列番号17)
PD1AB-2	DIVMTQSPDSLAV SLGERATINC (配列番号14)	WYQQKPGQPP KLLIY (配列 番号15)	GVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVY YC (配列番号16)	FGQGTKLEIKR (配列番号17)
PD1AB-3	DIVMTQSPDSLAV SLGERATINC (配列番号14)	WYQQKPGQPP KLLIY (配列 番号15)	GVPDRFSGSGSGTDF TLTISNLQAEDVAVY YC (配列番号18)	FGQGTKLEIKR (配列番号17)
PD1AB-4	DIVMTQSPDSLAV SLGERATINC (配列番号14)	WYQQKPGQPP KLLIY (配列 番号15)	GVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVY YC (配列番号16)	FGQGTKLEIKR (配列番号17)
PD1AB-5	DIVMTQSPDSLAV SLGERATINC (配列番号14)	WYQQKPGQPP KLLIY (配列 番号15)	GVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVY YC (配列番号16)	FGQGTKLEIKR (配列番号17)
PD1AB-6	DIVMTQSPDSLAV SLGERATINC (配列番号14)	WYQQKPGQPP KLLIY (配列 番号15)	GVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVY YC (配列番号16)	FGQGTKLEIKR (配列番号17)

表 4. VH FR アミノ酸配列

10

20

30

【表 5】

抗体	VH FR1 (配列番号)	VH FR2 (配列番号)	VH FR3 (配列番号)	VH FR4 (配列番号)
PD1AB-1	EVQLVQSGAEVK KPGATVKISCKV S (配列番号19)	WVQQAPGKGLEWM G(配列番号20)	YDPKFQGRVTITADT STDTAYMELSSLRSE DTAVYYCAR(配列 番号21)	WGQGTTVTVS S(配列番号 22)
PD1AB-2	EVQLVQSGAEVK KPGATVKISCKV S (配列番号19)	WVQQAPGKGLEWM G(配列番号20)	YDPKFQGRVTITADT STDTAYMELSSLRSE DTAVYYCAR (配列番号21)	WGQGTTVTVS S(配列番号 22)
PD1AB-3	EVQLVQSGAEVK KPGATVKISCKV S (配列番号19)	WVQQAPGKGLEWM G(配列番号20)	YDPKFQGRVTITADT STNTAYMELSSLRSE DTAVYYCAR (配列番号23)	WGQGTTVTVS S (配列番号2 2)
PD1AB-4	EVQLVQSGAEVK KPGATVKISCKV S (配列番号19)	WVQQAPGKGLEWM G(配列番号20)	YDPKFQGRVTITADT STNTAYMELSSLRSE DTAVYYCAR (配列番号23)	WGQGTTVTVS S(配列番号 22)
PD1AB-5	EVQLVQSGAEVK KPGATVKISCKA S (配列番号24)	WVQQAPGKGLEWM G(配列番号20)	YDPKFQGRVTITADT STDTAYMELSSLRSE DTAVYYCAR (配列番号21)	WGQGTTVTVS S(配列番号 22)
PD1AB-6	EVQLVQSGAEVK KPGATVKISCKA S (配列番号24)	WVQQAPGKGLEWM G(配列番号20)	YDPKFQGRVTITADT STDTAYMELSSLRSE DTAVYYCAR (配列番号21)	WGQGTTVTVS S(配列番号 22)

10

20

30

【0239】

ある特定の実施形態では、単離された抗体またはその機能的断片は、表4に示されるように、(a)抗体PD1AB-1、(b)抗体PD1AB-2、(c)抗体PD1AB-3、(d)抗体PD1AB-4、(e)抗体PD1AB-5、または(f)抗体PD1AB-6からの1、2、3、及び／または4つの重鎖FRをさらに含む。いくつかの実施形態では、抗体重鎖FR(複数可)は、抗体PD1AB-1からのものである。いくつかの実施形態では、抗体重鎖FR(複数可)は、抗体PD1AB-2からのものである。他の実施形態では、抗体重鎖FR(複数可)は、抗体PD1AB-3からのものである。ある特定の実施形態では、抗体重鎖FR(複数可)は、抗体PD1AB-4からのものである。他の実施形態では、抗体重鎖FR(複数可)は、抗体PD1AB-5からのものである。別の実施形態では、抗体重鎖FR(複数可)は、抗体PD1AB-6からのものである。

40

【0240】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその機能的断片は、表3に示されるように、(a)抗体PD1AB-1、(b)抗体PD1AB-2、(c)抗体PD1AB-3、(d)抗体PD1AB-4、(e)抗体PD1AB-5、または(f)抗体PD1AB-6からの1、2、3、及び／または4つの軽鎖FRをさらに含む。いくつかの実施形

50

態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-1からのものである。いくつかの実施形態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-2からのものである。他の実施形態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-3からのものである。ある特定の実施形態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-4からのものである。他の実施形態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-5からのものである。別の実施形態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-6からのものである。

【0241】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるその断片の抗体は、（１）配列番号19及び24からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するVH FR1、（２）配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、（３）配列番号21及び23からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するVH FR3、及び／または（４）配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むVH領域を含む。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるその断片の抗体は、（１）配列番号19のアミノ酸配列を有するVH FR1、（２）配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、（３）配列番号21のアミノ酸配列を有するVH FR3、及び／または（４）配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むVH領域を含む。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるその断片の抗体は、（１）配列番号19のアミノ酸配列を有するVH FR1、（２）配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、（３）配列番号23のアミノ酸配列を有するVH FR3、及び／または（４）配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むVH領域を含む。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるその断片の抗体は、（１）配列番号24のアミノ酸配列を有するVH FR1、（２）配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、（３）配列番号21のアミノ酸配列を有するVH FR3、及び／または（４）配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むVH領域を含む。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるその断片の抗体は、（１）配列番号24のアミノ酸配列を有するVH FR1、（２）配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、（３）配列番号23のアミノ酸配列を有するVH FR3、及び／または（４）配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むVH領域を含む。特定の実施形態では、抗体は、上記参照のVH FR1、VH FR2、VH FR3、及びVH FR4の4つすべてを含むVH領域を含む。

【0242】

したがって、いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号19及び24からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するVH FR1を含むVH領域を含む。一実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号19のアミノ酸配列を有するVH FR1を含むVH領域を含む。一実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号24のアミノ酸配列を有するVH FR1を含むVH領域を含む。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2を含むVH領域を含む。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号21及び23からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するVH FR3を含むVH領域を含む。一実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号21のアミノ酸配列を有するVH FR3を含むVH領域を含む。一実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を有するVH FR3を含むVH領域を含む。他の実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むVH領域を含む。

【0243】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるその断片の抗体は、（１）配列番号14のアミノ酸配列を有するVL FR1、（２）配列番号15のアミノ酸配列を有するVL FR2、（３）配列番号16及び18からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するVL FR3、及び／または（４）配列番号17のアミノ酸配列を有するVL FR4を含むVL領域を含む。いくつかの実施形態では、VL領域は、（１）配列番号14のアミノ酸配列を有するVL FR1、（２）配列番号15のアミノ酸配列を有するVL F

R 2、(3) 配列番号 16 のアミノ酸配列を有する V L FR 3、及び／または(4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する V L FR 4を含む。他の実施形態では、V L 領域は、(1) 配列番号 14 のアミノ酸配列を有する V L FR 1、(2) 配列番号 15 のアミノ酸配列を有する V L FR 2、(3) 配列番号 18 のアミノ酸配列を有する V L FR 3、及び／または(4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する V L FR 4を含む。

【0244】

したがって、いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号 14 のアミノ酸配列を有する V L FR 1を含む V L 領域を含む。ある特定の実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号 15 のアミノ酸配列を有する V L FR 2を含む V L 領域を含む。他の実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号 16 及び 18 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する V L FR 3を含む V L 領域を含む。一実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号 16 のアミノ酸配列を有する V L FR 3を含む V L 領域を含む。他の実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号 18 のアミノ酸配列を有する V L FR 3を含む V L 領域を含む。さらなる他の実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号 17 のアミノ酸配列を有する V L FR 4を含む V L 領域を含む。

10

【0245】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載されるその断片の抗体は、V H 領域及び V L 領域を含み、V H 領域は、(1) 配列番号 19 及び 24 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する V H FR 1、(2) 配列番号 20 のアミノ酸配列を有する V H FR 2、(3) 配列番号 21 及び 23 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する V H FR 3、及び／または(4) 配列番号 22 のアミノ酸配列を有する V H FR 4を含み、V L 領域は、(1) 配列番号 14 のアミノ酸配列を有する V L FR 1、(2) 配列番号 15 のアミノ酸配列を有する V L FR 2、(3) 配列番号 16 及び 18 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する V L FR 3、及び／または(4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する V L FR 4を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照の V H FR 1、V H FR 2、V H FR 3、及び V H FR 4 の 4 つすべてを含む V H 領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照の V L FR 1、V L FR 2、V L FR 3、及び V L FR 4 の 4 つすべてを含む V L 領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照の V H FR 1、V H FR 2、V H FR 3、及び V H FR 4 の 4 つすべてを含む V H 領域、ならびに上記参照の V L FR 1、V L FR 2、V L FR 3、及び V L FR 4 の 4 つすべてを含む V L 領域を含む。

20

30

【0246】

いくつかの実施形態では、その断片の抗体は、V H 領域及び V L 領域を含み、V H 領域は、(1) 配列番号 19 のアミノ酸配列を有する V H FR 1、(2) 配列番号 20 のアミノ酸配列を有する V H FR 2、(3) 配列番号 21 のアミノ酸配列を有する V H FR 3、及び／または(4) 配列番号 22 のアミノ酸配列を有する V H FR 4を含み、V L 領域は、(1) 配列番号 14 のアミノ酸配列を有する V L FR 1、(2) 配列番号 15 のアミノ酸配列を有する V L FR 2、(3) 配列番号 16 のアミノ酸配列を有する V L FR 3、及び／または(4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する V L FR 4を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照の V H FR 1、V H FR 2、V H FR 3、及び V H FR 4 の 4 つすべてを含む V H 領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照の V L FR 1、V L FR 2、V L FR 3、及び V L FR 4 の 4 つすべてを含む V L 領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照の V H FR 1、V H FR 2、V H FR 3、及び V H FR 4 の 4 つすべてを含む V H 領域、ならびに上記参照の V L FR 1、V L FR 2、V L FR 3、及び V L FR 4 の 4 つすべてを含む V L 領域を含む。

40

【0247】

いくつかの実施形態では、その断片の抗体は、V H 領域及び V L 領域を含み、V H 領域は、(1) 配列番号 19 のアミノ酸配列を有する V H FR 1、(2) 配列番号 20 のアミノ酸配列を有する V H FR 2、(3) 配列番号 21 のアミノ酸配列を有する V H FR 3、及び V H FR 4 の 4 つすべてを含む V H 領域、ならびに上記参照の V L FR 1、V L FR 2、V L FR 3、及び V L FR 4 の 4 つすべてを含む V L 領域を含む。

50

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、その断片の抗体は、VH領域及びVL領域を含み、VH領域は、(1)配列番号24のアミノ酸配列を有するVH FR1、(2)配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、(3)配列番号21のアミノ酸配列を有するVH FR3、及び/または(4)配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含み、VL領域は、(1)配列番号14のアミノ酸配列を有するVL FR1、(2)配列番号15のアミノ酸配列を有するVL FR2、(3)配列番号16のアミノ酸配列を有するVL FR3、及び/または(4)配列番号17のアミノ酸配列を有するVL FR4を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照のVH FR1、VH FR2、VH

【 0 2 5 1 】

【 0 2 5 2 】

【 0 2 5 3 】

いくつかの実施形態では、その断片の抗体は、VH領域及びVL領域を含み、VH領域は、(1)配列番号24のアミノ酸配列を有するVH FR1、(2)配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、(3)配列番号23のアミノ酸配列を有するVH FR3、及び／または(4)配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含み、VL領域は、(1)配列番号14のアミノ酸配列を有するVL FR1、(2)配列番号15のアミノ酸配列を有するVL FR2、(3)配列番号18のアミノ酸配列を有するVL FR3、及び／または(4)配列番号17のアミノ酸配列を有するVL FR4を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照のVH FR1、VH FR2、VH FR3、及びVH FR4の4つすべてを含むVH領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照のVL FR1、VL FR2、VL FR3、及びVL FR4の4つすべてを含むVL領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照のVH FR1、VH FR2、VH FR3、及びVH FR4の4つすべてを含むVH領域、ならびに上記参照のVL FR1、VL FR2、VL FR3、及びVL FR4の4つ

べてを含む V L 領域を含む。

【0254】

表3及び表4に列挙される1つ以上（例えば、1、2、または3つ）のVH FR及び1つ以上（例えば、1、2、または3つ）のV L CDRを含む抗体もまた本明細書に記載される。特に、VH FR1（配列番号19または24）及びV L FR1（配列番号14）を含む抗体が本明細書に提供される。一実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）及びV L FR2（配列番号15）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）及びV L FR3（配列番号16または18）を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）及びV L FR4（配列番号17）を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR2（配列番号20）及びV L FR1（配列番号14）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR2（配列番号20）及びV L FR2（配列番号15）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR2（配列番号20）及びV L FR3（配列番号16または18）を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR2（配列番号20）及びV L FR4（配列番号17）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR3（配列番号21）及びV L FR1（配列番号14）を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR3（配列番号21）及びV L FR2（配列番号15）を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR3（配列番号21）及びV L FR3（配列番号16または18）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR3（配列番号21）及びV L FR4（配列番号17）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR4（配列番号22）及びV L FR1（配列番号14）を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR4（配列番号22）及びV L FR2（配列番号15）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR4（配列番号22）及びV L FR3（配列番号16または18）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR4（配列番号22）及びV L FR4（配列番号17）を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）、VH FR2（配列番号20）、及びV L FR1（配列番号14）を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）、VH FR2（配列番号20）、及びV L FR2（配列番号15）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）、VH FR2（配列番号20）、及びV L FR3（配列番号16または18）を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）、VH FR2（配列番号20）、及びV L FR4（配列番号17）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR2（配列番号20）、VH FR3（配列番号21または23）、及びV L FR1（配列番号14）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR2（配列番号20）、VH FR3（配列番号21または23）、及びV L FR2（配列番号15）を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR2（配列番号20）、VH FR3（配列番号21または23）、及びV L FR3（配列番号16または18）を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR2（配列番号20）、VH FR3（配列番号21または23）、及びV L FR4（配列番号17）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）、V L FR1（配列番号14）、及びV L FR2（配列番号15）を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）、V L FR1（配列番号14）、及びV L FR3（配列番号16または18）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）、V L FR1（配列番号14）、及びV L FR4（配列番号17）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）、V L FR2（配列番号15）、及びV L FR3（配列番号16または18）を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）、V L FR2（配列番号15）、及びV L FR4（配列番号17）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR1（配列番号19または24）、V L FR3（配列番号16または18）、及びV L FR4（配列番号17）を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR2（配列番号20）、V L FR1（配列番号14）、及びV L FR2

50

50

50

50

50

を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR 1（配列番号 19 または 24）、VH
FR 2（配列番号 20）、VL FR 1（配列番号 14）、VL FR 2（配列番号 15）
及び VL FR 4（配列番号 17）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH
FR 1（配列番号 19 または 24）、VH FR 2（配列番号 20）、VL FR 1（
配列番号 14）、VL FR 3（配列番号 16 または 18）、及び VL FR 4（配列番
号 17）を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR 1（配列番号 19 または 24）
、VH FR 2（配列番号 20）、VL FR 2（配列番号 15）、VL FR 3（配列
番号 16 または 18）、及び VL FR 4（配列番号 17）を含む。一実施形態では、抗
体は、VH FR 1（配列番号 19 または 24）、VH FR 3（配列番号 21 または 2
3）、VL FR 1（配列番号 14）、VL FR 2（配列番号 15）、及び VL FR
3（配列番号 16 または 18）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR 1（配列番
号 19 または 24）、VH FR 3（配列番号 21 または 23）、VL FR 1（配列番
号 14）、VL FR 2（配列番号 15）、及び VL FR 4（配列番号 17）を含む。
別の実施形態では、抗体は、VH FR 1（配列番号 19 または 24）、VH FR 3（
配列番号 21 または 23）、VL FR 1（配列番号 14）、VL FR 3（配列番号 1
6 または 18）、及び VL FR 4（配列番号 17）を含む。いくつかの実施形態では、
抗体は、VH FR 1（配列番号 19 または 24）、VH FR 3（配列番号 21 または
23）、VL FR 2（配列番号 15）、VL FR 3（配列番号 16 または 18）、及
び VL FR 4（配列番号 17）を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR 1（配
列番号 19 または 24）、VH FR 4（配列番号 22）、VL FR 1（配列番号 14
）、VL FR 2（配列番号 15）、及び VL FR 3（配列番号 16 または 18）を含
む。別の実施形態では、抗体は、VH FR 1（配列番号 19 または 24）、VH FR
4（配列番号 22）、VL FR 1（配列番号 14）、VL FR 2（配列番号 15）、
及び VL FR 4（配列番号 17）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR 1（配
列番号 19 または 24）、VH FR 4（配列番号 22）、VL FR 1（配列番号 14
）、VL FR 3（配列番号 16 または 18）、及び VL FR 4（配列番号 17）を含
む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR 1（配列番号 19 または 24）、VH
FR 4（配列番号 22）、VL FR 2（配列番号 15）、VL FR 3（配列番号 1
6 または 18）、及び VL FR 4（配列番号 17）を含む。別の実施形態では、抗体は
、VH FR 2（配列番号 20）、VH FR 3（配列番号 21 または 23）、VL F
R 1（配列番号 14）、VL FR 2（配列番号 15）、及び VL FR 3（配列番号 1
6 または 18）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR 2（配列番号 20）、VH
FR 3（配列番号 21 または 23）、VL FR 1（配列番号 14）、VL FR 2（
配列番号 15）、及び VL FR 4（配列番号 17）を含む。他の実施形態では、抗体は
、VH FR 2（配列番号 20）、VH FR 3（配列番号 21 または 23）、VL F
R 1（配列番号 14）、VL FR 3（配列番号 16 または 18）、及び VL FR 4（
配列番号 17）を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR 2（配列番号 20）、V
H FR 3（配列番号 21 または 23）、VL FR 2（配列番号 15）、VL FR 3
（配列番号 16 または 18）、及び VL FR 4（配列番号 17）を含む。いくつかの実
施形態では、抗体は、VH FR 2（配列番号 20）、VH FR 4（配列番号 22）、
VL FR 1（配列番号 14）、VL FR 2（配列番号 15）、及び VL FR 3（配
列番号 16 または 18）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR 2（配列番号 20
）、VH FR 4（配列番号 22）、VL FR 1（配列番号 14）、VL FR 2（配
列番号 15）、及び VL FR 4（配列番号 17）を含む。別の実施形態では、抗体は、
VH FR 2（配列番号 20）、VH FR 4（配列番号 22）、VL FR 1（配列番
号 14）、VL FR 3（配列番号 16 または 18）、及び VL FR 4（配列番号 17
）を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR 2（配列番号 20）、VH FR 4（配
列番号 22）、VL FR 2（配列番号 15）、VL FR 3（配列番号 16 または 18
）、及び VL FR 4（配列番号 17）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH
FR 3（配列番号 21 または 23）、VH FR 4（配列番号 22）、VL FR 1（

10

20

30

40

50

50

50

は18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR3(配列番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、及びVL FR3(配列番号16または18)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR2(配列番号20)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR1(配列番号19または24)、VH FR3(配列番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR2(配列番号20)、VH FR3(配列番号21または23)、VH FR4(配列番号22)、VL FR1(配列番号14)、VL FR2(配列番号15)、VL FR3(配列番号16または18)、及びVL FR4(配列番号17)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、表3及び表4に列挙されるVH FR(配列番号19~24)及びVL FR(配列番号14~18)のその任意の組み合わせを含む。

【0255】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、VH領域またはVHドメインを含む。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、VL領域またはVLドメインを含む。ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、(i) VHドメインもしくはVH領域、及び／または(ii) VLドメインもしくはVL領域の組み合わせを有する。さらなる他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、表5及び表6に示される配列番号8~13からなる群から選択される(i) VHドメインもしくはVH領域、及び／または(ii) VLドメインもしくはVL領域の組み合わせを有する。さらなる他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、表5及び表6に示される抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、またはPD1AB-6のいずれか1つの(i) VHドメインもしくはVH領域、及び／または(ii) VLドメインもしくはVL領域の組み合わせを有する。

【0256】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、(1) 配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR1、(2) 配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR2、及び(3) 配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR3、ならびに表5に示される配列番号8~10からなる群から選択されるVL領域を含むVH領域を含む。いくつか

の実施形態では、V L 領域は、配列番号 8 のアミノ酸配列を有する。他の実施形態では、V L 領域は、配列番号 9 のアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、V L 領域は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する。

【0257】

他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、表 6 に示される配列番号 11～13 からなる群から選択される V H 領域、ならびに (1) 配列番号 1 及び 7 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する V L C D R 1、(2) 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する V L C D R 2、及び (3) 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する V L C D R 3 を含む V L 領域を含む。さらなるいくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、表 6 に示される配列番号 11～13 からなる群から選択される V H 領域、ならびに (1) 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する V L C D R 1、(2) 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する V L C D R 2 及び (3) 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する V L C D R 3 を含む V L 領域を含む。さらなる他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、表 6 に示される配列番号 11～13 からなる群から選択される V H 領域、ならびに (1) 配列番号 7 のアミノ酸配列を有する V L C D R 1、(2) 配列番号 2 のアミノ酸配列を有する V L C D R 2、及び (3) 配列番号 3 のアミノ酸配列を有する V L C D R 3 を含む V L 領域を含む。いくつかの実施形態では、V H 領域は、配列番号 11 のアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、V H 領域は、配列番号 12 のアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、V H 領域は、配列番号 13 のアミノ酸配列を有する。

表 5. V L ドメインアミノ酸配列

10

20

【表 6】

抗体	VL(配列番号)
PD1AB-1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSGQSVLYSSNQKNFLAWYQQKPGQPPKLLIY WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGQGTKLE IKR (配列番号8)
PD1AB-2	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGQGTKLE IKR (配列番号9)
PD1AB-3	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSGQSVLYSSNQKNFLAWYQQKPGQPPKLLIY WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISNLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGQGTKLE IKR (配列番号10)
PD1AB-4	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGQGTKLE IKR (配列番号9)
PD1AB-5	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIY WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGQGTKLE IKR (配列番号9)
PD1AB-6	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSGQSVLYSSNQKNFLAWYQQKPGQPPKLLIY WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGQGTKLE IKR (配列番号8)

10

20

30

表 6. VHドメインアミノ酸配列

【表 7】

抗体	VH(配列番号)
PD1AB-1	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNIKDTYMHVWQQAPGKGLEWMGRIDPANGDR KYDPKFQGRVTITADTSTDATYMESSLRSEDTAVYYCARGSPVYYYGSSYVMDYWGQ GTTVTVSS (配列番号11)
PD1AB-2	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNIKDTYMHVWQQAPGKGLEWMGRIDPANGDR KYDPKFQGRVTITADTSTDATYMESSLRSEDTAVYYCARGSPVYYYGSSYVMDYWGQ GTTVTVSS (配列番号11)
PD1AB-3	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNIKDTYMHVWQQAPGKGLEWMGRIDPANGDR KYDPKFQGRVTITADTSTNTAYMESSLRSEDTAVYYCARGSPVYYYGSSYVMDYWGQ GTTVTVSS (配列番号12)
PD1AB-4	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNIKDTYMHVWQQAPGKGLEWMGRIDPANGDR KYDPKFQGRVTITADTSTNTAYMESSLRSEDTAVYYCARGSPVYYYGSSYVMDYWGQ GTTVTVSS (配列番号12)
PD1AB-5	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVWQQAPGKGLEWMGRIDPANGDR KYDPKFQGRVTITADTSTDATYMESSLRSEDTAVYYCARGSPVYYYGSSYVMDYWGQ GTTVTVSS (配列番号13)
PD1AB-6	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVWQQAPGKGLEWMGRIDPANGDR KYDPKFQGRVTITADTSTDATYMESSLRSEDTAVYYCARGSPVYYYGSSYVMDYWGQ GTTVTVSS (配列番号13)

10

20

30

【0258】

PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープに結合する抗PD-1抗体の免疫グロブリンの重鎖、軽鎖、VH領域、VL領域、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3をコードする単離された核酸分子もまた本明細書に提供される。抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、及びPD1AB-6のいずれか1つのVL領域及びVH領域の例示的な核酸配列は、表7及び表8に示される。

表7. VL核酸配列

40

【表 8】

抗体	ヌクレオチド配列
PD1AB-1	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGG CCACCATCAACTGCAAGTCCGGTCAAAGTGTTTTATACAGTTCAAATCAGAAGAA CTTCTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTAC TGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTG GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAGCTGAAGATGTGGCAGTTTA TTACTGTCATCAATACCTCTACTCGTGGACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAACGGAC (配列番号 25)
PD1AB-2	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGG CCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAACAATAAGAA CTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTAC TGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTG GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAGCTGAAGATGTGGCAGTTTA TTACTGTCATCAATACCTCTACTCGTGGACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAACGGAC (配列番号 26)

10

20

抗体	ヌクレオチド配列	
PD1AB-3	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGG CCACCATCAACTGCAAGTCCGGTCAAAGTGTTTTATACAGTTCAAATCAGAAGAA CTTCTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTAC TGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTG GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAACCTGCAAGCTGAAGATGTGGCAGTTTA TTACTGTCAATACCTCTACTCGTGGACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAACGGAC (配列番号27)	10
PD1AB-4	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGG CCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAACAATAAGAA CTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTAC TGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTG GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAGCTGAAGATGTGGCAGTTTA TTACTGTCAATACCTCTACTCGTGGACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAACGGAC (配列番号26)	20
PD1AB-5	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGG CCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAACAATAAGAA CTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTAC TGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTG GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAGCTGAAGATGTGGCAGTTTA TTACTGTCAATACCTCTACTCGTGGACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAACGGAC (配列番号26)	30
PD1AB-6	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGG CCACCATCAACTGCAAGTCCGGTCAAAGTGTTTTATACAGTTCAAATCAGAAGAA CTTCTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTAC TGGGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTG GGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAAGCTGAAGATGTGGCAGTTTA TTACTGTCAATACCTCTACTCGTGGACGTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAG ATCAAACGGAC (配列番号25)	40

表 8 . V H 核酸配列

【表 9】

抗体	ヌクレオチド配列
PD1AB-1	GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATTCAACATTAAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAGACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号28)
PD1AB-2	GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATTCAACATTAAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAGACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号28)
PD1AB-3	GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATTCAACATTAAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAAACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号29)
PD1AB-4	GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGTTTCTGGATTCAACATTAAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAAACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号29)
PD1AB-5	GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGCTTCTGGATTCAACATTAAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAGACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号30)

10

20

30

40

抗体	ヌクレオチド配列
PD1AB-6	GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTACAGTGA AAATCTCCTGCAAGGCTTCTGGATTCAACATTAAAGACACGTATATGCACTGGGT GCAACAGGCCCCCTGAAAAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATTGATCCTGCGAAT GGTGATAGGAAATATGACCCGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATAACCGCGGACA CGTCTACAGACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGC CGTGTATTACTGTGCTAGATCAGGCCCTGTTTATTACTACGGTAGTAGCTACGTT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCACAGTCACCGTCTCCTCA (配列番号30)

10

【0259】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD1AB-1のVH及びVLアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号11のVHアミノ酸配列、及び配列番号8のVLアミノ酸配列を含む。

【0260】

他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD1AB-2のVH及びVLアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号11のVHアミノ酸配列、及び配列番号9のVLアミノ酸配列を含む。

【0261】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD1AB-3のVH及びVLアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号12のVHアミノ酸配列、及び配列番号10のVLアミノ酸配列を含む。

20

【0262】

他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD1AB-4のVH及びVLアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号12のVHアミノ酸配列、及び配列番号9のVLアミノ酸配列を含む。

【0263】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD1AB-5のVH及びVLアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号13のVHアミノ酸配列、及び配列番号9のVLアミノ酸配列を含む。

30

【0264】

他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD1AB-6のVH及びVLアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号13のVHアミノ酸配列、及び配列番号8のVLアミノ酸配列を含む。

【0265】

ある特定の実施形態では、PD-1ポリペプチド（例えば、PD-1のECD、例えばヒトPD-1）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、軽鎖は、以下のアミノ酸配列を有する定常領域を含む：

TVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVC LLN NFYPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEK
HKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC（配列番号41）。

40

【0266】

他の実施形態では、PD-1ポリペプチド（例えば、PD-1のECD、例えばヒトPD-1）に特異的に結合する本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、以下のアミノ酸配列を有するヒトIgG1 Fc領域を含む：

【化 6】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

10

(配列番号 36、強調されている K 3 2 2)。いくつかの実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 の ECD、例えばヒト PD-1) に特異的に結合する本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号 36 のアミノ酸配列を有するヒト IgG1 Fc 領域を含まない。

【0267】

ある特定の実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 の ECD、例えばヒト PD-1) に特異的に結合する本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、以下のアミノ酸配列を有するヒト IgG1-K322A Fc 領域を含む：

【化 7】

20

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCAAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

(配列番号 37、強調されている K 3 2 2 A 置換)。

30

【0268】

いくつかの実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 の ECD、例えばヒト PD-1) に特異的に結合する本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、以下のアミノ酸配列を有するヒト IgG4 Fc 領域を含む：

【化 8】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVERESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGK

40

(配列番号 38、強調されている S 2 2 8 及び L 2 3 5)。

【0269】

別の実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 の ECD、例えばヒト PD-1) に特異的に結合する本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、以下のアミノ酸配列を有するヒト IgG4 P Fc 領域を含む

50

:

【化 9】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGP~~PCP~~PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
 DTLNISRTPEVTCVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVSFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LSLSPGK

10

(配列番号 39、強調されている S 2 2 8 P 置換)。

【0 2 7 0】

さらなる別の実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 の ECD、例えばヒト PD-1) に特異的に結合する本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、以下のアミノ酸配列を有するヒト IgG4PEFc 領域を含む：

【化 10】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGP~~PCP~~PCPAPEFEGGPSVFLFPPKPK
 DTLNISRTPEVTCVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVSFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LSLSPGK

20

(配列番号 40、強調されている S 2 2 8 P 及び L 2 3 5 E 置換)。

いくつかの実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 の ECD、例えばヒト PD-1) に特異的に結合する本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号 40 のアミノ酸配列を有するヒト IgG4PEFc 領域を含まない。

30

【0 2 7 1】

さらなる別の実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 の ECD、例えばヒト PD-1) に特異的に結合する本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖及び重鎖を含み、軽鎖は、配列番号 41 のアミノ酸配列を有する定常領域を含み、重鎖は、配列番号 36～40 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する Fc 領域を含む。

【0 2 7 2】

ある特定の実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 の ECD、例えばヒト PD-1) に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、軽鎖は、以下の通りアミノ酸配列を含む：

40

DIVMTQSPDLSLAVSLGERATINCKSGQSVELYSSNQKNFLA
 WYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLT
 ISSSLQAEDVAVYYCHQYLYSWTFGQGTEIKRTVAAPSV
 FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
 SGNSQESVTEQDSKDDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE
 VTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 31、LC₁PD1AB-6-IgG1)。

【0 2 7 3】

50

いくつかの実施形態では、PD-1 ポリペプチド（例えば、PD-1 のECD、例えばヒトPD-1）に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、以下の通りアミノ酸配列を含む：

【化11】

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF
QGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGPVYYYGSSYVMDYWGQGTTVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSL
SLSPGK

10

（配列番号32、HC__PD1AB-6-IgG1、強調されているK322）。

【0274】

他の実施形態では、PD-1 ポリペプチド（例えば、PD-1 のECD、例えばヒトPD-1）に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、以下の通りアミノ酸配列を含む：

20

【化12】

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVWVQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF
QGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCARSGPVYYYGSSYVMDYWGQGTTVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSL
SLSPGK

30

（配列番号33、HC__PD1AB-6-IgG1-K322A、強調されているK322A置換）。

【0275】

別の実施形態では、PD-1 ポリペプチド（例えば、PD-1 のECD、例えばヒトPD-1）に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、以下の通りアミノ酸配列を含む：

40

【化 1 3】

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVWQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF
 QGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARSGPVYYYGSSYVMDYWGQGT~~TVTVSSASTK
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNV~~DHKPSNTKVDKR~~VESKYGPPCP**PC**PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH~~EALHNHYTQKSLSLS~~
PGK

10

(配列番号 34、HC__PD1AB-6-IgG4P、斜体及び下線で示されている IgG4P Fc 骨格)。

【0276】

さらなる別の実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 のECD、例えばヒトPD-1) に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、以下の通りアミノ酸配列を含む：

【化 1 4】

20

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGFNIKDTYMHVWQQAPGKGLEWMGRIDPANGDRKYDPKF
 QGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARSGPVYYYGSSYVMDYWGQGT~~TVTVSSASTK
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTKTYTCNV~~DHKPSNTKVDKR~~VESKYGPPCP**PC**PAPEF**EGG**PSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH~~EALHNHYTQKSLSLS~~
PGK

30

(配列番号 35、HC__PD1AB-6-IgG4PE、斜体及び下線で示されている IgG4PE Fc 骨格)。

【0277】

1つの特定の実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 のECD、例えばヒトPD-1) に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、(i) 軽鎖は配列番号 31 のアミノ酸配列を含み、(ii) 重鎖は配列番号 32 のアミノ酸配列を含む。

【0278】

40

別の特定の実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 のECD、例えばヒトPD-1) に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、(i) 軽鎖は配列番号 31 のアミノ酸配列を含み、(ii) 重鎖は配列番号 33 のアミノ酸配列を含む。

【0279】

さらなる別の特定の実施形態では、PD-1 ポリペプチド (例えば、PD-1 のECD、例えばヒトPD-1) に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、(i) 軽鎖は配列番号 31 のアミノ酸配列を含み、(ii) 重鎖は配列番号 34 のアミノ酸配列を含む。

【0280】

50

さらなる別の特定の実施形態では、PD-1 ポリペプチド（例えば、PD-1 のECD、例えばヒトPD-1）に特異的に結合する本明細書に提供される抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、（i）軽鎖は配列番号31のアミノ酸配列を含み、（ii）重鎖は配列番号35のアミノ酸配列を含む。

【0281】

さらなる別の態様では、PD-1 への結合について例示される抗体または機能的断片の1つと競合する抗体が提供される。そのような抗体はまた、本明細書に例示される抗体の1つと同じエピトープ、または重複するエピトープに結合し得る。例示される抗体として同じエピトープと競合するか、またはそれに結合する抗体及び断片は、同様の機能的特性を示すことが予期される。例示される抗原結合タンパク質及び断片は、表1～表6中のものを含む、VH及びVL領域、及び本明細書に提供されるCDRを有するものを含む。したがって、特定の例として、提供される抗体は、（a）表1及び表2に列挙される抗体について列挙されるCDRの1、2、3、4、5、もしくは6つすべて、（b）表5及び表6に列挙される抗体について列挙されるVH及びVL領域から選択されるVH及びVL、または（c）表5及び表6に列挙される抗体について特定されるVH及びVLを含む2つの軽鎖及び2つの重鎖を含む抗体と競合するものを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、PD1AB-1である。いくつかの実施形態では、抗体は、PD1AB-2である。いくつかの実施形態では、抗体は、PD1AB-3である。いくつかの実施形態では、抗体は、PD1AB-4である。いくつかの実施形態では、抗体は、PD1AB-5である。いくつかの実施形態では、抗体は、PD1AB-6である。

【0282】

別の態様では、本明細書に提供される抗体またはその抗原結合断片は、ヒトPD-1またはカニクイザルPD-1のエピトープを含む領域に結合する。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、ヒトPD-1のアミノ酸残基33～109を含むヒトPD-1（配列番号42）の領域に結合する。さらなる別の態様では、本明細書に提供される抗体は、ヒトPD-1の特異的エピトープに結合する。

【0283】

ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内の残基100～109のうちの少なくとも1つ（配列番号43）に結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内の100～105（配列番号44）の少なくとも1つに結合する。

【0284】

特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される少なくとも1つの残基に結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のL100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される少なくとも1つの残基に結合する。

【0285】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される2つ以上の残基に結合する。

【0286】

他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される3つ以上の残基に結合する。

【0287】

ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される4つ以上の残基に結合する。

【0288】

一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される5つ以上の残基に結合する。

10

【0289】

別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される6つ以上の残基に結合する。

【0290】

さらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される7つ以上の残基に結合する。

20

【0291】

さらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される8つ以上の残基に結合する。

【0292】

ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される9つ以上の残基に結合する。

30

【0293】

他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群の10個すべての残基に結合する。

【0294】

別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33に結合する。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のT51に結合する。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のS57に結合する。1つの特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のL100に結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN102に結合する。他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のG103に結合する。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のR104に結合する。さらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のG103及びR104に結合する。さらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のD

40

50

105に結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のH107に結合する。ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のS109に結合する。上記参照のアミノ酸PD-1結合部位の2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上の任意の組み合わせはまた企図される。

【0295】

1つの態様では、PD-1に特異的に結合し、PD-1活性及び／または発現を調節する（例えば、PD-1シグナル伝達を活性化及び／またはPD-1発現を阻害する）抗体が本明細書に記載される。ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体である、ヒトPD-1のECDに特異的に結合し、少なくとも1つのPD-1活性（例えば、サイトカイン産生を阻害する）を活性化（例えば、部分的に活性化）するPD-1アゴニストが本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、本明細書に提供されるPD-1アゴニストは、ヒトPD-1のECDに特異的に結合し、PD-1発現を下方制御する本明細書に提供される抗体である。ある特定の実施形態では、PD-1に特異的に結合し、（a）例えば、サイトカイン産生の阻害によって測定される場合、T細胞活性を減弱化し、及び／または（b）細胞中のPD-1発現を下方制御する抗体が本明細書に記載される。ある特定の実施形態では、PD-1に特異的に結合し、（a）例えば、サイトカイン産生の阻害によって測定される場合、T細胞活性を減弱化し、（b）細胞中のPD-1発現を下方制御し、及び／または（c）PD-1へのPD-L1及び／またはPD-L2結合を阻害しない抗体が本明細書に記載される。ある特定の実施形態では、PD-1に特異的に結合する抗体は、ヒトPD-1のECD、またはそのヒトPD-1のECDのエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、PD-L1結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、PD-L2結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある特定の実施形態では、PD-L1のPD-1への結合は、抗体によって阻害されない。他の実施形態では、PD-L2のPD-1への結合は、抗体によって阻害されない。特定の实施形態では、PD-L1のPD-1への結合またはPD-L2のPD-1への結合のいずれも、抗体によって阻害されない。

【0296】

PD-1活性は、当業者に既知であるかまたは当該技術分野において記載されているものなどのPD-1の任意の活性に関連し得る。PD-1活性及びPD-1シグナル伝達は、本明細書において交換可能に使用される。ある特定の態様では、PD-1活性は、PD-1へのPD-1リガンド（例えば、PD-L1）結合によって誘発される。PD-1の発現レベルは、本明細書に記載されるかまたは当業者に既知の方法によって評価され得る（例えば、ウェスタンブロット法、ELISA、免疫組織化学、またはフローサイトメトリー）。ある特定の実施形態では、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を減少させる抗体が本明細書に記載される。ある特定の実施形態では、PD-1に特異的に結合し、T細胞活性を減弱化する抗体が本明細書に記載される。ある特定の実施形態では、PD-1に特異的に結合し、サイトカイン産生を阻害する抗体が本明細書に記載される。ある特定の実施形態では、PD-1に特異的に結合し、PD-1シグナル伝達を活性化（例えば、部分的に活性化）する抗体が本明細書に記載される。ある特定の実施形態では、PD-1に特異的に結合する抗体は、ヒトPD-1のECD、またはそのヒトPD-1のECDのエピトープに結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、PD-L1結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、PD-L2結合部位とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、PD-L1及びPD-L2結合部位の両方とは異なるヒトPD-1のECDのエピトープに特異的に結合する。ある特定の実施形態では、PD-L1のPD-1への結合は、抗体によって阻害されない。他の実施形態で

は、PD-L2のPD-1への結合は、抗体によって阻害されない。特定の実施形態では、PD-L1のPD-1への結合またはPD-L2のPD-1への結合のいずれも、抗体によって阻害されない。

【0297】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を減弱化する（例えば、部分的に減弱化する）。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約10%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約15%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約20%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約25%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約30%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約35%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約40%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約45%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約50%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約55%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約60%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約65%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約70%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約75%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約80%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約85%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約90%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約95%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約98%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約99%減弱化する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約100%減弱化する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞活性を少なくとも約25%～約65%減弱化し得る（例えば、部分的に減弱化する）。特定の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、本明細書に記載される方法によって評価される。いくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、当業者に既知の方法によって評価される。ある特定の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、いずれの抗PD-1抗体にもよらない刺激の存在下でのT細胞活性と相対的である。ある特定の実施形態では、T細胞活性減弱化は、無関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）による刺激の存在下でのT細胞活性と相対的である。

【0298】

一実施形態では、T細胞活性の減弱化は、T細胞増殖の阻害によって示される。特定の実施形態では、T細胞増殖は、CD4+T細胞増殖である。ある特定の実施形態では、T細胞増殖は、CD8+T細胞増殖である。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約10%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約15%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約20%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約25%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に

提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約30%を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約35%を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約40%を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約45%を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約55%を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約60%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約65%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約70%を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約80%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約85%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約90%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約98%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約99%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約100%阻害する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、T細胞増殖を少なくとも約25%～約65%阻害し得る（例えば、部分的に阻害する）。特定の実施形態では、T細胞増殖は、本明細書に記載される方法によって評価される。いくつかの実施形態では、T細胞増殖は、当業者に既知の方法によって評価される。ある特定の実施形態では、T細胞増殖は、いずれの抗PD-1抗体にもよらない刺激の存在下でのT細胞増殖と相対的である。ある特定の実施形態では、T細胞増殖は、無関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）による刺激の存在下でのT細胞増殖と相対的である。

【0299】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約5%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約15%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約20%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約30%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約35%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約45%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約5

0%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約60%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約65%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約75%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約80%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約90%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約95%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約99%阻害する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD4+T細胞増殖を少なくとも約25%または35%、任意に約75%阻害する。いくつかの実施形態では、CD4+T細胞増殖の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、CD4+T細胞増殖の阻害は、当業者に既知の方法によって評価される（例えば、チミジン取り込み法、MTTアッセイ、または細胞増殖バイオマーカーアッセイ）。特定の実施形態では、CD4+T細胞増殖の阻害は、チミジン取り込み法によって評価される。別の実施形態では、CD4+T細胞増殖の阻害は、MTTアッセイによって評価される。さらなる別の実施形態では、CD4+T細胞増殖の阻害は、細胞増殖バイオマーカーアッセイによって評価される。特定の実施形態では、CD4+T細胞増殖は、いずれの抗PD-1抗体にもよらない刺激の存在下でのCD4+T細胞増殖と比較して阻害される。他の実施形態では、CD4+T細胞増殖は、無関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）による刺激の存在下でのCD4+T細胞増殖と比較して阻害される。

【0300】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、CD4+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供され

る抗PD-1抗体は、多くても約0.05 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でCD4+T細胞増殖を阻害する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の方法によって評価される（例えば、チミジン取り込み法、MTTアッセイ、または細胞増殖バイオマーカーアッセイ）。特定の実施形態では、EC₅₀は、チミジン取り込み法によって評価される。別の実施形態では、EC₅₀は、MTTアッセイによって評価される。さらなる別の実施形態では、EC₅₀は、細胞増殖バイオマーカーアッセイによって評価される。

【0301】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約5%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約15%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約20%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約30%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約35%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細

書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約45%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約50%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約60%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約65%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約75%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約80%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約90%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約95%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約99%阻害する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD8+T細胞増殖を少なくとも約25%または35%、任意に約75%阻害する。いくつかの実施形態では、CD8+T細胞増殖の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、CD8+T細胞増殖の阻害は、当業者に既知の方法によって評価される（例えば、チミジン取り込み法、MTTアッセイ、または細胞増殖バイオマーカーアッセイ）。特定の実施形態では、CD8+T細胞増殖の阻害は、チミジン取り込み法によって評価される。別の実施形態では、CD8+T細胞増殖の阻害は、MTTアッセイによって評価される。さらなる別の実施形態では、CD8+T細胞増殖の阻害は、細胞増殖バイオマーカーアッセイによって評価される。特定の実施形態では、CD8+T細胞増殖は、いずれの抗PD-1抗体にもよらない刺激の存在下でのCD8+T細胞増殖と比較して阻害される。他の実施形態では、CD8+T細胞増殖は、無関連抗体（例えば、PD-1 に特異的に結合しない抗体）による刺激の存在下でのCD8+T細胞増殖と比較して阻害される。

【0302】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、CD8+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.

75 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でCD8+T細胞増殖を阻害する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の方法によって評価される（例えば、チミジン取り込み法、MTTアッセイ、または細胞増殖バイオマーカーアッセイ）。特定の実施形態では、EC₅₀は、チミジン取り込み法によって評価される。別の実施形態では、EC₅₀は、MTTアッセイによって評価される。さらなる別の実施形態では、EC₅₀は、細胞増殖バイオマーカーアッセイによって評価される。

【0303】

いくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、T細胞活性化バイオマーカーの下方制御によって示される。一実施形態では、T細胞活性化バイオマーカーは、CD25である。別の実施形態では、T細胞活性化バイオマーカーは、CD69である。

【0304】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、CD25の発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD25発現を少なくとも約5%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD25発現を少なくとも約10%下方制御する

。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 15 % 下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 20 % 下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 25 % 下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 30 % 下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 35 % 下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 40 % 下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 45 % 下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 50 % 下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 55 % 下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 60 % 下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 65 % 下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 70 % 下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 75 % 下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 80 % 下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 85 % 下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 90 % 下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 95 % 下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 98 % 下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD 25 発現を少なくとも約 25 % または 35 %、任意に約 75 % 下方制御する。いくつかの実施形態では、CD 25 発現の下方制御は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、CD 25 発現の下方制御は、当業者に既知の方法によって評価される（例えば、フローサイトメトリー、ウエスタンブロット法、ノーザンブロット法、または RT-PCR）。特定の実施形態では、CD 25 発現の下方制御は、フローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態では、CD 25 発現の下方制御は、ウエスタンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、CD 25 発現の下方制御は、ノーザンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、CD 25 発現は、いずれの抗 PD-1 抗体にもよらない刺激の存在下での CD 25 発現と比較して下方制御される。他の実施形態では、CD 25 発現は、無関連抗体（例えば、PD-1 に特異的に結合しない抗体）による刺激の存在下での CD 25 発現と比較して下方制御される。

【0305】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体（例えば、抗体 PD 1 AB-1、PD 1 AB-2、PD 1 AB-3、PD 1 AB-4、PD 1 AB-5、もしくは PD 1 AB-6 のいずれか 1 つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体 PD 1 AB-1、PD 1 AB-2、PD 1 AB-3、PD 1 AB-4、PD 1 AB-5、もしくは PD 1 AB-6 のいずれか 1 つの CDR を含む抗体）は、CD 25 発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 50 nM の EC₅₀ で CD 25 発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は

、多くても約40 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でCD25発現を下方制御する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、フローサイトメトリー、ウエスタンブロット法、ノーザンブロット法、またはRT-PCR）。特定の実施形態では、EC₅₀は、フローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態では、EC₅₀は、ウエスタンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、EC₅₀は、ノーザンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、EC₅₀は、RT-PCRによって評価される。

【0306】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1A

B-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体)は、PD-1に特異的に結合し、CD69の発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約5%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約10%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約15%下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約20%下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約25%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約30%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約35%下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約40%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約45%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約50%下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約55%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約60%下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約65%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約70%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約75%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約80%下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約85%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約90%下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約95%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約98%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約99%下方制御する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、CD69発現を少なくとも約25%または35%、任意に約75%下方制御する。いくつかの実施形態では、CD69発現の下方制御は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、CD69発現の下方制御は、当業者に既知の方法によって評価される(例えば、フローサイトメトリー、ウエスタンブロット法、ノーザンブロット法、またはRT-PCR)。特定の実施形態では、CD69発現の下方制御は、フローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態では、CD69発現の下方制御は、ウエスタンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、CD69発現の下方制御は、ノーザンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、CD69発現は、いずれの抗PD-1抗体にもよらない刺激の存在下でのCD69発現と比較して下方制御される。他の実施形態では、CD69発現は、無関連抗体(例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体)による刺激の存在下でのCD69発現と比較して下方制御される。

【0307】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体(例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは

はPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体)は、CD69発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001nMのEC₅₀でCD69発現を下方制御する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される(例えば、フローサイトメトリー、ウエスタンブロット法、ノーザンブロット法、またはRT-PCR)。特定の実施形態では、EC₅₀は、フローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態では、EC₅₀は、ウエスタンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、EC₅₀は、ノーザンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態

では、EC₅₀は、RT-PCRによって評価される。

【0308】

いくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、制御性T細胞バイオマーカーの上方制御によって示される。一実施形態では、制御性T細胞バイオマーカーは、Foxp3である。

【0309】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6の10
いづれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3の発現を上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約5%上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約10%上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約15%上方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約20%上方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約25%上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約30%上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約35%上方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約40%上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約45%上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約50%上方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約55%上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約60%上方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約65%上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約70%上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約75%上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約80%上方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約85%上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約90%上方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約95%上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約98%上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約99%上方制御する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、Foxp3発現を少なくとも約25%または35%、任意に約75%上方制御する。いくつかの実施形態では、Foxp3発現の上方制御は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、Foxp3発現の上方制御は、当業者に既知の方法によって評価される（例えば、フローサイトメトリー、ウェスタンブロット法、ノーザンブロット法、またはRT-PCR）。特定の実施形態では、Foxp3発現の上方制御は、フローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態では、Foxp3発現の上方制御は、ウェスタンブロット法 40 50

によって評価される。さらなる別の実施形態では、Foxp3発現の上方制御は、ノーザンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、Foxp3発現の上方制御は、RT-PCRによって評価される。特定の実施形態では、Foxp3発現は、いずれの抗PD-1抗体にもよらない刺激の存在下でのFoxp3発現と比較して上方制御される。他の実施形態では、Foxp3発現は、無関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）による刺激の存在下でのFOXp3発現と比較して上方制御される。

【0310】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、Foxp3発現を上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05nMのEC₅₀でFoxp3発現を上方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0

10

20

30

40

50

． 0.1 nM の EC_{50} で Foxp3 発現を上方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 0.005 nM の EC_{50} で Foxp3 発現を上方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 0.001 nM の EC_{50} で Foxp3 発現を上方制御する。特定の実施形態では、 EC_{50} は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、 EC_{50} は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、フローサイトメトリー、ウエスタンブロット法、ノーザンブロット法、または RT-PCR）。特定の実施形態では、 EC_{50} は、フローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態では、 EC_{50} は、ウエスタンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、 EC_{50} は、RT-PCR によって評価される。

10

【0311】

一実施形態では、T 細胞活性の減弱化は、制御性 T 細胞の増加によって示される。いくつかの実施形態では、T 細胞活性の減弱化は、Foxp3 + 制御性 T 細胞の増加によって示される。ある特定の実施形態では、T 細胞活性の減弱化は、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞の増加によって示される。

【0312】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 のいずれか 1 つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 のいずれか 1 つの CDR を含む抗体）は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 5 % 増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 10 % 増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 15 % 増加させる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 20 % 増加させる。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 25 % 増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 30 % 増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 35 % 増加させる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 40 % 増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 45 % 増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を増少なくとも約 50 % 増加させる。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 55 % 増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 60 % 増加させる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 65 % 増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 70 % 増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 75 % 増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性 T 細胞を少なくとも約 80 % 増加させ

20

30

40

50

る。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を少なくとも約85%増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を少なくとも約90%増加させる。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を少なくとも約95%増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を少なくとも約98%増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を少なくとも約99%増加させる。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を少なくとも約25%または35%、任意に約75%増加させる。いくつかの実施形態では、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞の増加は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞の増加は、当業者に既知の方法によって評価される（例えば、フローサイトメトリー、ウエスタンブロット法、ノーザンブロット法、またはRT-PCR）。特定の実施形態では、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞の増加は、フローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態では、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞の増加は、ウエスタンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞の増加は、ノーザンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞の増加は、RT-PCRによって評価される。特定の実施形態では、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞は、いずれの抗PD-1抗体にもよらない刺激の存在下でのCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞と比較して増加される。他の実施形態では、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞は、無関連抗体（例えば、PD-1 に特異的に結合しない抗体）による刺激の存在下でのCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞と比較して増加される。

【0313】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、CD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50 nMのEC₅₀でCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40 nMのEC₅₀でCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30 nMのEC₅₀でCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20 nMのEC₅₀でCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10 nMのEC₅₀でCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5 nMのEC₅₀でCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1 nMのEC₅₀でCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75 nMのEC₅₀でCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5 nMのEC₅₀でCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1 nMのEC₅₀でCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05 nMのEC₅₀でCD25 + Foxp3 + 制御性T細胞を増加させる。別の実施形態では、本

明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001nMのEC₅₀でCD25+Foxp3+制御性T細胞を増加させる。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、フローサイトメトリー、ウエスタンブロット法、ノーザンブロット法、またはRT-PCR）。特定の実施形態では、EC₅₀は、フローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態では、EC₅₀は、ウエスタンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、EC₅₀は、ノーザンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、EC₅₀は、RT-PCRによって評価される。

【0314】

一実施形態では、T細胞活性の減弱化は、サイトカイン分泌の阻害によって示される。いくつかの実施形態では、サイトカインは、IL-2、IL-17、IFN- γ 、またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、IFN- γ 、及びTNF- α からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、サイトカインはIL-1である。いくつかの実施形態では、サイトカインはIL-2である。他の実施形態では、サイトカインはIL-6である。別の実施形態では、サイトカインはIL-12である。他の実施形態では、サイトカインはIL-17である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはIL-22である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはIL-23である。いくつかの実施形態では、サイトカインはGM-CSFである。他の実施形態では、サイトカインはIFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインはTNF- α である。ある特定の実施形態では、サイトカインはIL-2及びIL-17である。いくつかの実施形態では、サイトカインはI

L-2 及び IFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインは IL-17 及び IFN- γ である。さらなる他の実施形態では、サイトカインは、IL-2、IL-17、及び IFN- γ である。

【0315】

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 のいずれか 1 つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 のいずれか 1 つの CDR を含む抗体）は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を阻害する（例えば、細胞、例えば、T 細胞から）。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 5 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 10 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 15 % 阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 20 % 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 25 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 30 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 35 % 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 40 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 45 % 阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 50 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 55 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 60 % 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 65 % 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 70 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 75 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 80 % 阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 85 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 90 % 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 95 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 98 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 99 % 阻害する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-2 分泌を少なくとも約 25 % または 35 %、任意に約 75 % 阻害する。いくつかの実施形態では、IL-2 分泌の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、IL-2 分泌の阻害は、当業者に既知の方法によって評価される（例えば、Mesoscale（商標）Discovery（MSD）マルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、IL-2 分泌は、抗 PD-1 抗体の不在下での IL-2 分泌と比較して阻害される。他の実施形態では、IL-2 分泌は、無関連抗体（例えば、PD-1 に特異的に結合しない抗体）の存在下での IL-2 分泌と比較して阻害される。

【0316】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体（例えば、抗体 PD1

AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体)は、IL-2分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001nMのEC₅₀でIL-2分泌を阻害する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される(例えば、MSDマルチプレックスアッセイ)。特定の実施形態では、EC₅₀は、MSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0317】

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体(例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-

6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体)は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を阻害する(例えば、細胞、例えば、T細胞から)。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約5%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約10%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約15%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約20%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約25%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約35%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約40%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約45%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約50%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約55%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約65%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約70%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約80%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約85%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約95%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約98%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約99%阻害する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-17分泌を少なくとも約25%または35%、任意に約75%阻害する。いくつかの実施形態では、IL-17分泌の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、IL-17分泌の阻害は、当業者に既知の他の方法によって評価される(例えば、MSDマルチプレックスアッセイ)。特定の実施形態では、IL-17分泌は、抗PD-1抗体の不在下でのIL-17分泌と比較して阻害される。他の実施形態では、IL-17分泌は、無関連抗体(例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体)の存在下でのIL-17分泌と比較して阻害される。

【0318】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体(例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体)は、IL-17分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、

多くても約40 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でIL-17分泌を阻害する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、EC₅₀は、MSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0319】

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を阻害する（例えば、細胞、例えば、T細胞から）。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約5%阻害する。一実施

形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 10 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 15 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 20 % 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 25 % 阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 30 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 35 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 40 % 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 45 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 50 % 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 55 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 60 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 65 % 阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 70 % 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 75 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 80 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 85 % 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 90 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 95 % 阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 98 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IFN- γ 分泌を少なくとも約 25 % または 35 %、任意に約 75 % 阻害する。いくつかの実施形態では、IFN- γ 分泌の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、IFN- γ 分泌の阻害は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSD マルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、IFN- γ 分泌は、抗 PD-1 抗体の不在下での IFN- γ 分泌と比較して阻害される。他の実施形態では、IFN- γ 分泌は、無関連抗体（例えば、PD-1 に特異的に結合しない抗体）の存在下での IFN- γ 分泌と比較して阻害される。

【0320】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体（例えば、抗体 PD1 AB-1、PD1 AB-2、PD1 AB-3、PD1 AB-4、PD1 AB-5、もしくは PD1 AB-6 のいずれか 1 つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体 PD1 AB-1、PD1 AB-2、PD1 AB-3、PD1 AB-4、PD1 AB-5、もしくは PD1 AB-6 のいずれか 1 つの CDR を含む抗体）は、IFN- γ 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 50 nM の EC₅₀ で IFN- γ 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 40 nM の EC₅₀ で IFN- γ 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 30 nM の EC₅₀ で IFN- γ 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 20 nM の EC₅₀ で IFN- γ 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 10 nM の EC₅₀ で IFN- γ 分泌を阻害する。他の実

施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でIFN-γ分泌を阻害する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、EC₅₀は、MSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0321】

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を阻害する（例えば、細胞、例えば、T細胞から）。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結

合し、IL-1分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約99%阻害する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-1分泌を少なくとも約25%または35%、任意に約75%阻害する。いくつかの実施形態では、IL-1分泌の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、IL-1分泌の阻害は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、IL-1分泌は、抗PD-1抗体の不在下でのIL-1分泌と比較して阻害される。他の実施形態では、IL-1分泌は、無関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのIL-1分泌と比較して阻害される。

【0322】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、IL-1分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体

は、多くても約0.1 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でIL-1分泌を阻害する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、EC₅₀は、MSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0323】

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を阻害する（例えば、細胞、例えば、T細胞から）。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-6分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-

1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 50% 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 55% 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 60% 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 65% 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 70% 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 75% 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 80% 阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 85% 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 90% 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 95% 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 98% 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 99% 阻害する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-6 分泌を少なくとも約 25% または 35%、任意に約 75% 阻害する。いくつかの実施形態では、IL-6 分泌の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、IL-6 分泌の阻害は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSD マルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、IL-6 分泌は、抗 PD-1 抗体の不在下での IL-6 分泌と比較して阻害される。他の実施形態では、IL-6 分泌は、無関連抗体（例えば、PD-1 に特異的に結合しない抗体）の存在下での IL-6 分泌と比較して阻害される。

【0324】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体（例えば、抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 のいずれか 1 つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくは PD1AB-6 のいずれか 1 つの CDR を含む抗体）は、IL-6 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 50 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 40 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 30 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 20 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 10 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 5 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 1 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.75 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.5 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.1 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.05 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.01 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.005 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.001 nM の EC₅₀ で IL-6 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される

抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でIL-6分泌を阻害する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の
10
20
実施形態では、EC₅₀は、MSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0325】

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を阻害する（例えば、細胞、例えば、T細胞から）。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-12分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形
30
40
50

態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-12 分泌を少なくとも約 75 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-12 分泌を少なくとも約 80 % 阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-12 分泌を少なくとも約 85 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-12 分泌を少なくとも約 90 % 阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-12 分泌を少なくとも約 95 % 阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-12 分泌を少なくとも約 98 % 阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-12 分泌を少なくとも約 99 % 阻害する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1 に特異的に結合し、IL-12 分泌を少なくとも約 25 % または 35 %、任意に約 75 % 阻害する。いくつかの実施形態では、IL-12 分泌の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、IL-12 分泌の阻害は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSD マルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、IL-12 分泌は、抗 PD-1 抗体の不在下での IL-12 分泌と比較して阻害される。他の実施形態では、IL-12 分泌は、無関連抗体（例えば、PD-1 に特異的に結合しない抗体）の存在下での IL-12 分泌と比較して阻害される。

【0326】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体（例えば、抗体 PD1 AB-1、PD1 AB-2、PD1 AB-3、PD1 AB-4、PD1 AB-5、もしくは PD1 AB-6 のいずれか 1 つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体 PD1 AB-1、PD1 AB-2、PD1 AB-3、PD1 AB-4、PD1 AB-5、もしくは PD1 AB-6 のいずれか 1 つの CDR を含む抗体）は、IL-12 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 50 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 40 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 30 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 20 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 10 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 5 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 1 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.75 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.5 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.1 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.05 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.01 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.005 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、多くても約 0.001 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 50 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 40 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 30 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗 PD-1 抗体は、少なくとも約 20 nM の EC₅₀ で IL-12 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に

10

20

30

40

50

提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でIL-12分泌を阻害する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、EC₅₀は、MSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0327】

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を阻害する（例えば、細胞、例えば、T細胞から）。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に

10

20

30

40

50

特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約99%阻害する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-22分泌を少なくとも約25%または35%、任意に約75%阻害する。いくつかの実施形態では、IL-22分泌の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、IL-22分泌の阻害は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、IL-22分泌は、抗PD-1抗体の不在下でのIL-22分泌と比較して阻害される。他の実施形態では、IL-22分泌は、無関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのIL-22分泌と比較して阻害される。

10

【0328】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、IL-22分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1nMのEC₅₀でIL-22分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75nMのEC

20

30

40

50

EC_{50} でIL-22分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMの EC_{50} でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMの EC_{50} でIL-22分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMの EC_{50} でIL-22分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMの EC_{50} でIL-22分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMの EC_{50} でIL-22分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMの EC_{50} でIL-22分泌を阻害する。特定の実施形態では、 EC_{50} は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、 EC_{50} は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、 EC_{50} は、MSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

10

【0329】

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を阻害する（例えば、細胞、例えば、T細胞から）。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約99

20

30

40

50

%阻害する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、IL-23分泌を少なくとも約25%または35%、任意に約75%阻害する。いくつかの実施形態では、IL-23分泌の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、IL-23分泌の阻害は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、IL-23分泌は、抗PD-1抗体の不在下でのIL-23分泌と比較して阻害される。他の実施形態では、IL-23分泌は、無関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのIL-23分泌と比較して阻害される。

【0330】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、IL-23分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。いくつかの実施形態で

10

20

30

40

50

は、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001nMのEC₅₀でIL-23分泌を阻害する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、EC₅₀は、MSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0331】

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を阻害する（例えば、細胞、例えば、T細胞から）。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約99%阻害する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、GM-CSF分泌を少なくとも約25%または35%、任意に約75%阻害する。いくつかの実施形態では、GM-CSF分泌の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、GM-CSF分泌の阻害は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマ

ルチプレックスアッセイ)。特定の実施形態では、GM-CSF分泌、抗PD-1抗体の不在下でのGM-CSF分と比較して阻害される。他の実施形態では、GM-CSF分泌は、無関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのGM-CSF分泌と比較して阻害される。

【0332】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、GM-CSF分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗P

10

20

30

40

50

D-1抗体は、少なくとも約0.001nMのEC₅₀でGM-CSF分泌を阻害する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、EC₅₀は、MSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0333】

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を阻害する（例えば、細胞、例えば、T細胞から）。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約5%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約10%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約15%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約20%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約25%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約30%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約35%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約40%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約45%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約50%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約55%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約60%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約65%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約70%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約75%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約80%阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約85%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約90%阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約95%阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約98%阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約99%阻害する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、TNF-α分泌を少なくとも約25%または35%、任意に約75%阻害する。いくつかの実施形態では、TNF-α分泌の阻害は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、TNF-α分泌の阻害は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、TNF-α分泌は、抗PD-1抗体の不在下でのTNF-α分と比較して阻害される。他の実施形態では、TNF-α分泌は、無関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）の存在下でのTNF-α分泌と比較して阻害される。

10

20

30

40

50

【0334】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、TNF- α 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でTNF- α 分泌を阻害する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、MSDマルチプレックスアッセイ）。特定の実施形態では、EC₅₀は、MSDマルチプレックスアッセイによって評価される。

【0335】

特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を下方制御する（例えば、細胞、例えば、T細胞中で）。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約5%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約10%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約15%下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約20%下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約25%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約30%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約35%下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約40%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約45%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約50%下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約55%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約60%下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約65%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約70%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約75%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約80%下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約85%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約90%下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約95%下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約98%下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約99%下方制御する。特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、PD-1に特異的に結合し、PD-1発現を少なくとも約25%または35%、任意に約75%下方制御する。いくつかの実施形態では、PD-1発現の下方制御は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、PD-1発現の下方制御は、当業者に既知の方法によって評価される（例えば、フローサイトメトリー、ウエスタンブロット法、ノーザンブロット法、またはRT-PCR）。特定の実施形態では、PD-1発現の下方制御は、フローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態では、PD-1発現の下方制御は、ウエスタンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、PD-1発現の下方制御は、ノーザンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、PD-1発現の下方制御は、RT-PCRによって評価される。特定の実施形態では、PD-1発現は、抗PD-1抗体の不在下でのPD-1発現と比較して下方制御される。他の実施形態では、PD-1発現は、無関連抗体（例えば、PD-1に特異的に結合しない抗体）による刺激の存在下でのPD-1発現と比較し

10

20

30

40

50

て下方制御される。

【0336】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体（例えば、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つまたはその抗原結合断片、あるいは抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、もしくはPD1AB-6のいずれか1つのCDRを含む抗体）は、PD-1発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約50 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約40 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約30 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約20 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約10 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約5 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約1 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.75 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.5 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.1 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.05 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.01 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.005 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、多くても約0.001 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約50 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約40 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約30 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約20 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約10 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約5 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約1 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.75 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.5 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.1 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.05 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.01 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。別の実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.005 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。一実施形態では、本明細書に提供される抗PD-1抗体は、少なくとも約0.001 nMのEC₅₀でPD-1発現を下方制御する。特定の実施形態では、EC₅₀は、本明細書に記載される方法によって評価される。他の実施形態では、EC₅₀は、当業者に既知の他の方法によって評価される（例えば、フロ

10

20

30

40

50

ーサイトメトリー、ウェスタンブロット法、ノーザンブロット法、またはRT-PCR)。特定の実施形態では、EC₅₀は、フローサイトメトリーによって評価される。別の実施形態では、EC₅₀は、ウェスタンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、EC₅₀は、ノーザンブロット法によって評価される。さらなる別の実施形態では、EC₅₀は、RT-PCRによって評価される。

【0337】

本方法のある特定の実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後に早ければ生じる。別の実施形態では、下方制御は、接触の6時間後に早ければ生じる。さらなる別の実施形態では、下方制御は、接触の8時間後に早ければ生じる。さらなる別の実施形態では、下方制御は、接触の10時間後に早ければ生じる。一実施形態では、下方制御は、接触の12時間後に早ければ生じる。別の実施形態では、下方制御は、接触の14時間後に早ければ生じる。さらなる別の実施形態では、下方制御は、接触の16時間後に早ければ生じる。さらなる別の実施形態では、下方制御は、接触の18時間後に早ければ生じる。一実施形態では、下方制御は、接触の20時間後に早ければ生じる。別の実施形態では、下方制御は、接触の22時間後に早ければ生じる。さらなる別の実施形態では、下方制御は、接触の24時間後に早ければ生じる。いくつかの実施形態では、接触は、抗体を伴う。他の実施形態では、接触は、その抗原結合断片を伴う。

【0338】

いくつかの実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、サイトカイン阻害に先立つ。一実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の6時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の8時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の10時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。一実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の12時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の14時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の16時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の18時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。一実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の20時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の22時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の24時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害に先立つ。

【0339】

他の実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、サイトカイン阻害と同時である。一実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の6時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の8時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の10時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。一実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の12時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の14時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。さらなる別の実施形態

では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の16時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の18時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。一実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の20時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の22時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の24時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害と同時である。

【0340】

さらなる他の実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、サイトカイン阻害の後である。一実施形態では、T細胞の表面でのPD-1発現の下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の4時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の6時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の8時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の10時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。一実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の12時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の14時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の16時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の18時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。一実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の20時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の22時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。さらなる別の実施形態では、下方制御は、抗体またはその抗原結合断片との接触の24時間後に早ければ生じ、サイトカイン阻害の後である。

【0341】

4. 3. 1. 1 ポリクローナル抗体

本開示の抗体は、ポリクローナル抗体を含み得る。ポリクローナル抗体の調製方法は、当業者に既知である。ポリクローナル抗体は、哺乳動物において、例えば、免疫付与剤及び必要に応じてアジュバントの1回以上の注入によって産生され得る。典型的には、免疫付与剤及び／またはアジュバントは、複数の皮下または腹腔内注入によって哺乳動物に注入される。免疫付与剤は、PD-1ポリペプチドまたはその融合タンパク質を含み得る。免疫付与される哺乳動物において免疫原性であることが知られているタンパク質に免疫付与剤を複合体化させるか、または哺乳動物をタンパク質及び1つ以上のアジュバントで免疫化することが有用であり得る。そのような免疫原性タンパク質の例としては、キーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、及び大豆トリプシン阻害剤が挙げられるが、それらに限定されない。用いられ得るアジュバントの例としては、Rib i、CpG、Poly 1 C、フロイント完全アジュバント、及びMPL-TDMアジュバント（モノホスホリル脂質A、合成トレハロースジコリノミコラート）が挙げられる。免疫化プロトコルは、過度な実験なしに当業者によって選択され得る。次いで、哺乳動物が採血され得、血清がPD-1抗体力価についてアッセイされる。望ましい場合、哺乳動物は、抗体力価が増加または定常化するまで追加免疫され得る。追加的または代替的には、リンパ球は、以下に記載される通り、ハイブリドーマからのモノクローナル抗体の融合及び調製ために免疫化された動物から得られる場合がある。

【0342】

4. 3. 1. 2 モノクローナル抗体

本開示の抗体は、代替的に、モノクローナル抗体であり得る。モノクローナル抗体は、

最初にKohler et al., 1975, Nature, 256:495-97により記載されるハイブリドーマ法を使用して作製され得るか、または組み換えDNA法により作製され得る（例えば、米国特許第4,816,567号を参照されたい）。

【0343】

ハイブリドーマ法では、マウスまたは他の適切な宿主動物、例えばハムスターなどが、上述のように免疫化されて、免疫化に使用されるタンパク質に特異的に結合する抗体を産生するか、または産生することのできるリンパ球が誘発される。あるいは、リンパ球は、インビトロで免疫化され得る。免疫化の後、リンパ球が単離され、次いでポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を使用して骨髓腫細胞株と融合されて、ハイブリドーマ細胞が形成される（Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice 59-103（1986））。

10

【0344】

このように調製されたハイブリドーマ細胞は、好適な培地に播種され増殖し、この培地は、ある特定の実施形態では、非融合の親骨髓腫細胞（融合パートナーとも称される）の増殖または生存を阻害する1つ以上の物質を含有する。例えば、親骨髓腫細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（HGPRTまたはHPRT）を欠如する場合、ハイブリドーマの選択培地は、典型的には、ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジンを含むことになり（HAT培地）、これらは、HGPRT欠損細胞の増殖を防止する。

【0345】

20

例示的な融合パートナー骨髓腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定した高レベルの産生を支持し、かつ非融合の親細胞に対して選択する選択培地に対して感受性を示すものである。例示的な骨髓腫細胞株は、SP-2及び誘導体、例えば、American Type Culture Collection（Manassas, VA）から入手可能なX63-Ag8-653細胞、ならびにSalk Institute Cell Distribution Center（San Diego, CA）から入手可能なMOPC-21及びMPC-11マウス腫瘍由来のものなどのマウス骨髓腫株である。ヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロ骨髓腫細胞株も、ヒトモノクローナル抗体の産生について説明されている（Kozbor, 1984, Immunol. 133:3001-05、及びBrodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications 51-63（1987））。

30

【0346】

ハイブリドーマ細胞が成長する培養培地は、抗原に対して指向されたモノクローナル抗体の産生に関してアッセイされる。ハイブリドーマ細胞によって産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降またはインビトロ結合アッセイ、例えば、RIAまたはELISAによって決定される。モノクローナル抗体の結合親和性は、例えば、Munson et al., 1980, Anal. Biochem. 107:220-39に記載されているスキャチャード分析によって決定され得る。

【0347】

40

所望の特異性、親和性、及び／または活性を有する抗体を産生するハイブリドーマ細胞が一旦特定されると、クローンが限界希釈手技によってサブクローニングされ、標準の方法によって成長し得る（Goding（上記参照））。この目的に好適な培養培地としては、例えば、DMEMまたはRPMI-1640培地が挙げられる。加えて、ハイブリドーマ細胞は、例えば、マウスにこの細胞をi.p.注射することによって、動物において腹水癌としてインビボで増殖させることができる。

【0348】

サブクローンにより分泌されるモノクローナル抗体は、例えば、親和性クロマトグラフィー（例えば、タンパク質Aまたはタンパク質G-セファロースを使用する）またはイオン交換クロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動

50

、透析などの従来の抗体精製手技によって、培地、腹水、または血清から好適に分離される。

【0349】

モノクローナル抗体をコードするDNAは、従来の手順を使用して（例えば、マウス抗体の重及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することにより）容易に単離及び配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、そのようなDNAの源として機能する。単離されると、DNAが発現ベクター内に入れられてよく、これは次いで、宿主細胞、例えばE. coli細胞、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、またはさもないと抗体タンパク質を産生しない骨髓腫などにトランスフェクトされて、組み換え宿主細胞内のモノクローナル抗体の合成体が得られる。抗体をコードするDNAの細菌における組み換え発現に関する概説論文としては、Skerra et al., 1993, Curr. Opinion in Immunol. 5:256-62及びPluckthun, 1992, Immunol. Revs. 130:151-88が挙げられる。

【0350】

いくつかの実施形態では、PD-1エピトープに結合する抗体は、（1）本明細書に記載されるVH及び／またはVLドメインのいずれか1つをコードするヌクレオチド配列の補体に、ストリンジェントな条件下（例えば、約45℃で6倍の塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（SSC）中でフィルター結合されたDNAにハイブリダイゼーションし、その後約50～65℃で0.2倍のSSC／0.1%SDS中で1回以上の洗浄）、高度にストリンジェントな条件下（例えば、約45℃で6倍のSSC中でフィルター結合された核酸にハイブリダイゼーションし、その後約68℃で0.1倍のSSC／0.2%SDSで1回以上の洗浄）、または当業者に既知の他のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によってコードされる、VHドメインのアミノ酸配列及び／またはVLドメインのアミノ酸配列を含む。例えば、Current Protocols in Molecular Biology Vol. I, 6.3.1-6.3.6 and 2.10.3 (Ausubel et al. eds., 1989)を参照されたい。

【0351】

いくつかの実施形態では、PD-1エピトープに結合する抗体は、表1及び表2に示されるVH CDR及び／またはVL CDRのいずれか1つをコードするヌクレオチド配列の補体に、ストリンジェントな条件下（例えば、約45℃で6倍のSSC中でフィルター結合されたDNAにハイブリダイゼーションし、その後約50～65℃で0.2倍のSSC／0.1%SDS中で1回以上の洗浄）、高度にストリンジェントな条件下（例えば、約45℃で6倍のSSC中でフィルター結合された核酸にハイブリダイゼーションし、その後約68℃で0.1倍のSSC／0.2%SDSで1回以上の洗浄）、または当業者に既知の他のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によってコードされるVH CDRのアミノ酸配列またはVL CDRのアミノ酸配列を含む（例えば、Ausubel et al.（上記参照）を参照されたい）。

【0352】

さらなる実施形態では、モノクローナル抗体または抗体断片は、例えば、Antibody Phage Display: Methods and Protocols (O'Brien and Aitken eds., 2002)に記載されている技術を使用して産生される抗体ファージライブラリから単離され得る。原則として、合成抗体クローンは、ファージコートタンパク質に融合した抗体可変領域（Fv）の様々な断片をディスプレイするファージを含むファージライブラリをスクリーニングすることによって選択される。そのようなファージライブラリは、所望の抗原に対してスクリーニングされる。所望の抗原に結合することができるFv断片を発現するクローンは、抗原に吸着し、それ故に、ライブラリ内の非結合クローンから分離される。その後、結合クローンは、抗原か

ら溶出し、抗原吸着／溶出の追加のサイクルによってさらに富化され得る。

【0353】

可変ドメインは、例えば、Winter et al., 1994, Ann. Rev. Immunol. 12: 433-55に記載されるように、VH及びVLが短い柔軟性ペプチドを介して共有結合される一本鎖Fv (scFv) 断片として、またはそれらが各々定常ドメインに融合して非共有結合的に相互作用するFab断片としてのいずれかで、ファージ上に機能的にディスプレイされ得る。

【0354】

VH及びVL遺伝子のレパートリーは、PCRによって別個にクローニングされ、ファージライブラリ内でランダムに組み換えられ得、その後、これは、Winter et al. (上記参照)に記載されるように、抗原結合クローンについて検索され得る。免疫化源由来のライブラリは、ハイブリドーマの構築を必要とすることなく、高親和性抗体を免疫原に提供する。あるいは、ナイーブレパートリーは、Griffiths et al., 1993, EMBO J. 12: 725-34に記載されるように、クローニングされて、いずれの免疫化も伴うことなく、単一のヒト抗体源を広範囲の非自己抗原及び自己抗原に提供することができる。最後に、ナイーブライブラリは、例えば、Hoogenboom and Winter, 1992, J. Mol. Biol. 227: 381-88に記載されるように、幹細胞由来の再配置されていないV遺伝子セグメントをクローニングし、かつランダム配列を含むPCRプライマーを使用することによっても合成的に作製されて、高度可変CDR3領域をコードし、インビトロでの再配置を達成することができる。

10

20

【0355】

ライブラリのスクリーニングは、当該技術分野で既知の様々な技法によって達成され得る。例えば、PD-1 (PD-1ポリペプチド、断片、またはエピトープ) は、吸着プレートに付着した宿主細胞に発現された吸着プレートのウェルを被覆するために使用されるか、または細胞選別で使用され得るか、ストレプトアビジン被覆ビーズで捕捉するためにビオチンに複合体化され得るか、またはディスプレイライブラリをパニングするための任意の他の方法で使用され得る。遅い解離速度 (例えば、良好な結合親和性) を有する抗体の選択は、Bass et al., 1990, Proteins, 8: 309-14及びWO 92/09690に記載されるように、長時間の洗浄及び一価ファージディスプレイの使用、ならびにMarks et al., 1992, Biotechnol. 10: 779-83に記載されるように、抗原の低被覆密度の使用によって促進され得る。

30

【0356】

抗PD-1抗体は、目的とするファージクローンを選択するのに好適な抗原スクリーニング手順を設計し、続いて、目的とするファージクローン由来のVH及び／またはVL配列 (例えば、Fv配列)、またはVH及びVL配列からの様々なCDR配列を使用した完全長抗PD-1抗体クローンの構造、ならびにKabata et al. (上記参照)に記載されている好適な定常領域 (例えば、Fc) 配列を設計することによって得られることができる。

【0357】

別の実施形態では、抗PD-1抗体は、Bowers et al., 2011, Proc Natl Acad Sci USA. 108: 20455-60、例えば、SHM-XHL (商標) プラットフォーム (AnaptysBio, San Diego, CA) に記載されるような方法を使用することによって産生される。簡潔には、このアプローチでは、IgGの完全ヒトライブラリは、開始ライブラリとして哺乳動物細胞株 (例えば、HEK293) 中に構築される。標的ペプチドまたはエピトープに結合する免疫グロブリンをディスプレイする哺乳動物細胞が選択され (例えば、FACS選別によって)、次いで、活性化誘導性シチジンデアミナーゼ (AID) 誘発体細胞超変異は、インビトロで再産生され、抗体の最初に選択されたプールの多様性を拡大する。インビトロ体細胞超変異で哺乳動物細胞表面ディスプレイに結合することによる親和性成熟のいくつかのラウ

40

50

ンドの後、高親和性、高特異性抗PD-1抗体が生成される。抗体ライブラリ及び／または抗体親和性成熟を生成するために使用され得るさらなる方法は、例えば、米国特許第8,685,897号及び第8,603,930号、ならびに米国公開第2014/0170705号、第2014/0094392号、第2012/0028301号、第2011/0183855号、及び第2009/0075378号に開示されており、それらの各々は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0358】

4.3.1. 3抗体断片

本開示は、PD-1に結合する抗体及び抗体断片を提供する。ある特定の状況では、全抗体ではなく抗体断片を使用する利点がある。より小さなサイズの断片により、迅速なクリアランスが可能になり、細胞、組織、または器官へのアクセスの改善がもたらされ得る。ある特定の抗体断片の概説については、Hudson et al., 2003, Nature Med. 9:129-34を参照されたい。

【0359】

抗体断片を産生するための様々な技法が開発されている。従来、これらの断片は、無傷抗体のタンパク質分解消化により得られていた（例えば、Morimoto et al., 1992, J. Biochem. Biophys. Methods 24:107-17、及びBrennan et al., 1985, Science 229:81-83を参照されたい）。しかしながら、これらの断片は、現在、組み換え宿主細胞により直接産生され得る。Fab、Fv、及びscFv抗体断片がすべて、E. coliまたは酵母細胞中に発現され、E. coliまたは酵母細胞から分泌され得るため、これらの断片の容易な大量産生が可能になる。抗体断片は、上述の抗体ファージライブラリから単離され得る。あるいは、Fab'-SH断片は、E. coliから直接回収され、化学的にカップリングされて、F(ab')₂断片を形成することができる（Carter et al., 1992, Bio/Technology 10:163-67）。別のアプローチに従って、F(ab')₂断片は、組み換え宿主細胞培養から直接単離することができる。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含むインビボ半減期が増加したFab及びF(ab')₂断片が、米国特許第5,869,046号に記載されている。抗体断片を産生するための他の技法が、当業者に明らかであるだろう。ある特定の実施形態では、抗体は、一本鎖Fv断片（scFv）である（例えば、WO93/16185、米国特許第5,571,894号及び第5,587,458号を参照されたい）。Fv及びscFvは、定常領域を欠く無傷の結合部位を有し、それ故に、それらは、インビボでの使用での非特異的結合の低減に好適であり得る。scFv融合タンパク質が構築されて、scFvのアミノ末端またはカルボキシ末端のいずれかでのエフェクタータンパク質の融合をもたらすことができる（例えば、Borrebaeck ed.（上記参照）を参照されたい）。抗体断片はまた、例えば、上記に引用される参考文献に記載されるように、「直鎖状抗体」であり得る。そのような直鎖状抗体は、単一特異性、または二重特異性などの多重特異性であり得る。

【0360】

同様の抗体由来結合構造は、分離可変ドメイン（Vドメイン）であり、また単一可変ドメイン抗体（sdAb）とも命名されている。ある特定の種類の生物、ラクダ科及び軟骨魚類は、それらの免疫系の一部としてFc同等のドメイン構造上にマウントされている高親和性単一V様ドメインを有する。（Woolven et al., 1999, Immunogenetics 50:98-101、及びStreitsov et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA. 101:12444-49）。V様ドメイン（ラクダ類においてVhH、及びサメ類においてV-NARを称される）は、典型的には、標的抗原の腔の浸透を可能にする長い表面ループをディスプレイする。それらはまた、疎水性表面パッチを被覆することによって単離されたVHドメインを安定化する。

【0361】

これらのVhH及びV-NARドメインは、sdAbを操作するために使用されている。ヒトVドメインバリエーションは、安定した、高結合VL及びVH由来ドメインをもたらしているファージライブラリ及び他のアプローチからの選択を使用して設計されている。

【0362】

本明細書に提供される抗体は、これらに限定されないが、免疫グロブリン分子及びi免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、例えば、PD-1エピトープに結合する抗原結合部位を含む分子を含む。本明細書に提供される免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子の任意のクラス（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、及びIgA）または任意のサブクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2）であり得る。

10

【0363】

抗体のバリエーション及び誘導体は、PD-1エピトープに結合する能力を保持する抗体の機能的断片を含む。例示的な機能的断片は、Fab断片（例えば、抗原結合ドメインを含み、かつジスルフィド結合によって架橋された軽鎖及び重鎖の一部を含む、抗体断片）；Fab'（例えば、ヒンジ領域を通してFab及び重鎖の追加の部分を含む単一抗原結合ドメインを含む、抗体断片）；F(ab')₂（例えば、重鎖のヒンジ領域で鎖間ジスルフィド結合によって結合されている2つのFab'分子；Fab'分子は、同じまたは異なるエピトープに対して指向され得る）；二重特異性Fab（例えば、2つの抗原結合ドメインを有するFab分子であり、それら各々は異なるエピトープに指向され得る）；scFvとしても既知である可変領域を含む一本鎖（例えば、10～25個のアミノ酸の鎖によって一緒に結合されている抗体の単一軽鎖及び重鎖の可変、抗原結合決定領域）、ジスルフィド結合Fv、またはdsFv（例えば、ジスルフィド結合によって一緒に結合されている抗体の単一軽鎖及び重鎖の可変、抗原結合決定領域）；ラクダ化VH（例えば、VH界面でいくつかのアミノ酸が天然発生ラクダ抗体の重鎖において見出されるものである抗体の単一重鎖の可変、抗原結合決定領域）、二重特異性scFv（例えば、2つの抗原結合ドメインを有するscFvまたはdsFv分子であり、それらの各々は、異なるエピトープに指向され得る）；ダイアボディ（例えば、第1のscFvのVHドメインが第2のscFvのVLドメインと組み立て、第1のscFvのVLドメインが第2のscFvのVHドメインと組み立てるときに形成される二量体化scFv；ダイアボディの2つの抗原結合領域は、同じまたは異なるエピトープに対して指向され得る）；及びトリアボディ（例えば、ダイアボディと同様の様式であるが、3つの抗原結合ドメインが単一複合体中に作製される様式で形成される三量体化；3つの抗原結合ドメインは、同じまたは異なるエピトープに対して指向され得る）を含む。

20

30

【0364】

4. 3. 1. 4 ヒト化抗体

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、ヒト及び／またはカニクイザルPD-1を含むPD-1に結合するヒト化抗体であり得る。例えば、本開示のヒト化抗体は、表1及び表2に示されるように、1つ以上のCDRを含み得る。非ヒト抗体をヒト化するための様々な方法が当該技術分野で既知である。例えば、ヒト化抗体は、非ヒトである源からそれに導入された1つ以上のアミノ酸残基を有し得る。これらの非ヒトアミノ酸残基は、多くの場合、典型的には「移入」可変ドメインから得られる「移入」残基と称される。ヒト化は、例えば、Jones et al., 1986, Nature 321: 522-25、Riechmann et al., 1988, Nature 332: 323-27、及びVerhoeyen et al., 1988, Science 239: 1534-36の方法に従って、超可変領域配列をヒト抗体の対応する配列に置換することによって行うことができる。

40

【0365】

いくつかの場合では、ヒト化抗体は、CDRグラフティングによって構築され、そこで親非ヒト抗体（例えば、齧歯類）6つのCDRのアミノ酸配列ヒト抗体フレームワーク上にグラフティングされる。例えば、Padlanらは、CDR中の3分の1の残基のみが

50

抗原を実際に接触させることを判定し、これらを「特異性決定残基」、またはSDRと命名した(Padlan et al., 1995, FASEB J. 9:133-39)。SDRの技術では、SDR残基のみが、ヒト抗体フレームワーク上にグラフティングされる(例えば、Kashmiri et al., 2005, Methods 36:25-34を参照されたい)。

【0366】

ヒト化抗体を作製するのに使用される軽及び重の両方のヒト可変ドメインの選択は、抗原性を低減するのに非常に重要であり得る。例えば、いわゆる「最良適合」法に従って、非ヒト(例えば、齧歯類)抗体の可変ドメインの配列を、既知のヒト可変ドメイン配列の全ライブラリに対してスクリーニングする。齧歯類の配列に最も近いヒト配列をヒト化抗体のヒトフレームワークとして選択され得る(Sims et al., 1993, J. Immunol. 151:2296-308、及びChothia et al., 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17)。別の方法は、軽鎖または重鎖の特定の下位群のすべてのヒト抗体のコンセンサス配列に由来する特定のフレームワークを使用する。同じフレームワークがいくつかの異なるヒト化抗体に使用され得る(Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-89、及びPresta et al., 1993, J. Immunol. 151:2623-32)。いくつかの場合では、フレームワークは、最も豊富なヒトサブクラス、V_L6下位群I(V_L6I)及びV_H下位群III(V_HIII)のコンセンサス配列に由来する。別の方法では、ヒト生殖細胞系遺伝子は、フレームワーク領域の源として使用される。

【0367】

超ヒト化と称されるCDRの比較に基づく代替的な規範では、FR相同性は、無関係である。方法は、機能的ヒト生殖細胞系遺伝子レパートリーを有する非ヒト配列の比較からなる。次いで、マウス配列と同じまたは密接に関係する正準構造が選択される。次に、非ヒト抗体を有する正準構造を共有する遺伝子内で、CDR内で最も高い相同性を有するものがFRドナーとして選択される。最後に、非ヒトCDRは、これらのFR上にグラフティングされる(例えば、Tan et al., 2002, J. Immunol. 169:1119-25を参照されたい)。

【0368】

抗体が、抗原に対するそれらの親和性及び他の好ましい生物学的特性を保持してヒト化されることがさらに概して望ましい。この目標を達成するために、一方法によれば、ヒト化抗体は、親及びヒト化配列の三次元モデルを使用した親配列及び様々な概念的ヒト化産物の分析過程によって調製される。三次元免疫グロブリンモデルは一般的に、利用可能であり、当業者にはよく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列の推定三次元立体配座構造を図解及び表示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらは、例えば、WAM(Whitelegg and Rees, 2000, Protein Eng. 13:819-24)、Modeller(Sali and Blundell, 1993, J. Mol. Biol. 234:779-815)、及びSwiss PDB Viewer(Guex and Peitsch, 1997, Electrophoresis 18:2714-23)を含む。これらのディスプレイの精査は、候補免疫グロブリン配列の機能における残基の可能性の高い役割の分析、例えば、候補免疫グロブリンがその抗原に結合する能力に影響する残基の分析を可能にする。このように、標的抗原(複数可)に対する増加した親和性等の所望の抗体特徴が達成されるように、FR残基をレシピエント及び移入配列から選択し、組み合わせられ得る。概して、超可変領域残基は、抗原結合への影響に直接的に、かつ最も実質的に関与している。

【0369】

抗体のヒト化のための別の方法は、ヒトストリング含有量(HSC(Human String Content))と命名されている抗体人間性の計量に基づく。この方法は、マウス配列をヒト生殖細胞系遺伝子のレパートリーと比較し、その差異は、HSCとし

10

20

30

40

50

て点数化される。次いで、標的配列は、グローバルな同一性測定を使用するよりも、そのHSCを最大化することによってヒト化され、複数の多様なヒト化バリエーションを生成する（Lazar et al., 2007, Mol. Immunol. 44:1986-98）。

【0370】

上記に記載される方法に加えて、経験的な方法は、ヒト化抗体を生成及び選択するために使用され得る。これら方法は、ヒト化バリエーションの大きなライブラリの生成及び技術の豊富化または高スループットスクリーニング技術を使用した最良のクローンの選択に基づくものである。抗体バリエーションは、ファージ、リボソーム、及び酵母ディスプレイライブラリから、ならびに細菌コロニースクリーニングによって単離され得る（例えば、Hoo 10
genboom, 2005, Nat. Biotechnol. 23:1105-16、Dufner et al., 2006, Trends Biotechnol. 24:523-29、Feldhaus et al., 2003, Nat. Biotechnol. 21:163-70、及びSchlapschy et al., 2004, Protein Eng. Des. Sel. 17:847-60を参照されたい）。

【0371】

FRライブラリアプローチでは、残基バリエーションの収集は、FRにおける特定の位置で導入され、その後にグラフティングされたCDRを最良で支持するFRを選択するためにライブラリのスクリーニングが続く。置換される残基は、CDR構造に潜在的に寄与する 20
として特定されるか（例えば、Foot et al. and Winter, 1992, J. Mol. Biol. 224:487-99を参照されたい）、またはBacara（1997, J. Biol. Chem. 272:10678-84）によって特定される標的残基のより限定されるセットからの、いくつかまたはすべての「バーニア」残基を含み得る。

【0372】

FRシャッフリングでは、FR全体は、選択される残基バリエーションのコンビナトリアルライブラリを作製する代わりに非ヒトCDRと組み合わされる（例えば、Dall'Acqua et al., 2005, Methods 36:43-60）。ライブラリは、最初にVL、その後にVHをヒト化する2段階プロセスで結合するためにスクリーニングされ得る。代替的には、1段階FRシャッフリングプロセスが使用され得る。そのようなプロセスは、結果として得られる抗体が、増強された発現、増加された親和性、及び熱 30
安定性を含む、改善された生化学的及び物理化学特性を呈したため、2段階スクリーニングよりも効率的であることが示されている（例えば、Damschroder et al., 2007, Mol. Immunol. 44:3049-60を参照されたい）。

【0373】

「ヒューマニアリング」方法は、本質的な最小の特異性決定因子（MSD）の実験的同一化に基づき、ヒトFRのライブラリへの非ヒト断片の連続的な置き換え、及び結合の評価に基づく。それは、非ヒトVH及びVL鎖のCDR3の領域で始まり、VH及びVLの両方のCDR1及びCDR2を含むヒトFRへの非ヒト抗体の他の領域を進行的に置き換える。この方法論は、典型的には、エピトープ保持及び異なるヒトVセグメントCDRを有する複数のサブクラスからの抗体の同一化をもたらす。ヒューマニアリングは、ヒト生 40
殖細胞系遺伝子抗体と91~96%同種である抗体の単離を可能にする（例えば、Alfinito, Cambridge Healthtech Institute's Third Annual PEGS, The Protein Engineering Summit, 2007を参照されたい）。

【0374】

「ヒト操作」方法は、低減された免疫原性を有するが、それでも元の非ヒト抗体の望ましい結合特性を保持するヒトにおける修飾された抗体を産生するために、抗体のアミノ酸配列に特異的变化をすることによって、マウスもしくはキメラ抗体または抗体断片などの非ヒト抗体または抗体断片を改変することを含む。概して、本技法は、非ヒト（例えば、マウス）抗体のアミノ酸残基を「低リスク」、「中リスク」または「高リスク」残基とし 50

て分類することを含む。分類は、置換が結果として得られる抗体の折り畳みに影響するというリスクに対する特定の置換（例えば、ヒトにおける免疫原性）を作製することの予想される利益を評価するグローバルリスク／報酬算出を使用して行われる。非ヒト（例えば、マウス）抗体配列の所定の位置（例えば、低リスクまたは中リスク）で置換される特定のヒトアミノ酸残基は、特異性またはコンセンサスヒト抗体配列の対応する領域を有する非ヒト抗体の可変領域からのアミノ酸配列を整列することによって選択され得る。非ヒト配列における低リスクまたは中リスクでのアミノ酸残基は、整列に従ってヒト抗体配列における対応する残基へ置換され得る。ヒト操作タンパク質を作製するために技法は、Studnicka et al., 1994, Protein Engineering 7: 805-14、米国特許第5,766,886号、第5,770,196号、第5,821,123号、及び第5,869,619号、ならびにPCT公開WO93/11794により詳細に記載されている。

10

【0375】

4.3.1.5ヒト抗体

ヒト抗PD-1抗体は、ヒト由来のファージディスプレイライブラリから選択されたFvクローン可変ドメイン配列（複数可）を既知のヒト定常ドメイン配列（複数可）と組み合わせることによって構築され得る。あるいは、本開示のヒトモノクローナル抗PD-1抗体は、ハイブリドーマ法によって作製され得る。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫及びマウスーヒトヘテロ骨髓腫細胞株は、例えば、Kozbor, 1984, J. Immunol. 133: 3001-05、Broddeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications 51-63 (1987)、及びBoerner et al., 1991, J. Immunol. 147: 86-95によって説明されている。

20

【0376】

内因性免疫グロブリン産生の不在下で免疫化時にヒト抗体の全レパートリーを産生することができるトランスジェニック動物（例えば、マウス）を産生することが可能である。ヒト抗体レパートリーを発現するトランスジェニックマウスは、幅広い様々な潜在的な薬物標的に対して高親和性ヒト配列モノクローナル抗体を生成するために使用されている（例えば、Jakobovits, A., 1995, Curr. Opin. Biotechnol. 6 (5): 561-66、Bruggemann and Taussing, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8 (4): 455-58、米国特許第6,075,181号及び第6,150,584号、ならびにLonberg et al., 2005, Nature Biotechnol. 23: 1117-25を参照されたい）。

30

【0377】

代替的には、ヒト抗体は、標的抗原に対して指向される抗体を産生するヒトBリンパ球の不死化を介して調製され得る（例えば、そのようなBリンパ球は、個体から回収されるか、またはインビトロで免疫化されている場合がある）（例えば、Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy (1985)、Boerner et al., 1991, J. Immunol. 147 (1): 86-95、及び米国特許第5,750,373号を参照されたい）。

40

【0378】

遺伝子シャッフリングを使用して、ヒト抗体を非ヒト抗体、例えば、齧歯類抗体から誘導することもでき、ヒト抗体は、出発非ヒト抗体と同様の親和性及び特異性を有する。「エピトープインプリンティング」または「誘導選択」とも称されるこの方法に従って、本明細書に記載のファージディスプレイ技法によって得られた非ヒト抗体断片の重鎖可変領域または軽鎖可変領域のいずれかが、ヒトVドメイン遺伝子のレパートリーで置き換えられ、非ヒト鎖／ヒト鎖scFvまたはFabキメラ集団を作り出す。抗原を用いた選択により、非ヒト鎖／ヒト鎖キメラscFvまたはFabの単離がもたらされ、そこで、ヒト

50

鎖が一次ファージディスプレイクローンにおける対応する非ヒト鎖の除去時に破壊された抗原結合部位を復元する（例えば、エピトープがヒト鎖パートナーの選択を誘導する（インプリントする）。残りの非ヒト鎖を置き換えるためにこのプロセスが繰り返されると、ヒト抗体が得られる（例えば、PCT WO 93/06213、及びOsbourne et al., 2005, Methods 36:61-68を参照されたい）。CDRグラフティングによる非ヒト抗体の伝統的なヒト化とは異なり、この技法は、非ヒト起源のFRまたはCDR残基を有しない完全なヒト抗体を提供する。細胞表面抗原に対してマウス抗体をヒト化するための誘導選択の例としては、卵巣癌細胞上に存在する葉酸塩結合タンパク質（例えば、Figini et al., 1998, Cancer Res. 58:991-96を参照されたい）及びCD147が挙げられ、それは、肝細胞癌上に高度に発現される（例えば、Bao et al., 2005, Cancer Biol. Ther. 4:1374-80を参照されたい）。 10

【0379】

誘導選択アプローチの潜在的な欠点は、一方の抗体鎖のシャッフリングが、他方を維持している間にエピトープドリフトをもたらし得ることである。非ヒト抗体によって認識されるエピトープを維持するために、CDR保持が適用され得る（例えば、Klimka et al., 2000, Br. J. Cancer. 83:252-60、及びBeiboor et al., 2000, J. Mol. Biol. 296:833-49を参照されたい）。この方法では、非ヒトVH CDR3は、このCDRが抗原結合部位の中心であり得、かつ抗原認識のための抗体の最も重要な領域であり得るため、一般に保持される。いくつかの例では、非ヒト抗体のVH CDR3及びVL CDR3、ならびにVH CDR2、VL CDR2、及びVL CDR1は保持され得る。 20

【0380】

4. 3. 1. 6 二重特性抗体

二重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる抗原に対する結合特異性を有するモノクローナル抗体である。ある特定の実施形態では、二重特異性抗体は、ヒト抗体またはヒト化抗体である。ある特定の実施形態では、結合特異性の一方は、PD-1へのものであり、他方は、任意の他の抗原へのものである。いくつかの実施形態では、結合特異性の一方は、PD-1へのものであり、他方は、PD-1を発現する細胞上に発現された別の表面抗原へのものである。特定の実施形態では、二重特異性抗体は、PD-1の2つの異なるエ 30
ピトープに結合し得る。二重特異性抗体は、全長抗体または抗体断片（例えば、F(ab')₂ 二重特異性抗体）として調製され得る。

【0381】

二重特異性抗体を作製するための方法は、2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の共発現によってなど、当該技術分野で既知であり、2つの重鎖は、異なる特異性を有する（例えば、Milstein and Cuelllo, 1983, Nature 305:537-40を参照されたい）。二重特異性抗体を生成のさらなる詳細に関しては、例えば、Bispecific Antibodies (Kontermann ed., 2011)を参照されたい。

【0382】

4. 3. 1. 7 多価抗体

多価抗体は、その抗体が結合する抗原を発現する細胞によって、二価抗体よりも速く内部移行（及び／または異化）され得る。本開示の抗体は、3つ以上の抗原結合部位を有する（IgMクラス以外の）多価抗体（例えば、四価抗体）とすることができ、これは、抗体のポリペプチド鎖をコードする核酸の組み換え発現によって容易に産生することができる。多価抗体は、二量体化ドメイン、及び3つ以上の抗原結合部位を含むことができる。ある特定の実施形態では、二量体化ドメインは、Fc領域またはヒンジ領域を含む（またはそれらからなる）。このシナリオでは、抗体は、Fc領域と、Fc領域のアミノ末端側に3つ以上の抗原結合部位とを含む。ある特定の実施形態では、多価抗体は、3つ〜約8 40
つの抗原結合部位を含む（またはそれらからなる）。1つのそのような実施形態では、多

価抗体は、4つの抗原結合部位を含む（またはそれらからなる）。多価抗体は、少なくとも1つのポリペプチド鎖（例えば、2つのポリペプチド鎖）を含み、このポリペプチド鎖（複数可）は、2つ以上の可変ドメインを含む。例えば、ポリペプチド鎖（複数可）は、 $VD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-Fc$ を含み得、 $VD1$ は第1の可変ドメインであり、 $VD2$ は第2の可変ドメインであり、 Fc はFc領域の1つのポリペプチド鎖であり、 $X1$ 及び $X2$ はアミノ酸またはポリペプチドを表し、 n は0または1である。例えば、ポリペプチド鎖（複数可）は、 $VH-CH1-可動性リンカー-VH-CH1-Fc$ 領域鎖、または $VH-CH1-VH-CH1-Fc$ 領域鎖を含んでもよい。本明細書における多価抗体は、少なくとも2つ（例えば、4つ）の軽鎖可変ドメインポリペプチドをさらに含んでもよい。本明細書における多価抗体は、例えば、約2つ～約8つの軽鎖可変ドメインポリペプチドを含んでもよい。本明細書に企図される軽鎖可変ドメインポリペプチドは、軽鎖可変ドメインを含み、任意に、CLドメインをさらに含む。

10

【0383】

4. 3. 1. 8 Fc 操作

Fc操作によって本明細書に提供される抗PD-1抗体を修飾することが望ましい場合がある。ある特定の実施形態では、抗体のFc領域への修飾は、抗体のエフェクター機能の減少または排除をもたらす。ある特定の実施形態では、エフェクター機能は、ADCC、ADCP、及び／またはCDCである。いくつかの実施形態では、エフェクター機能は、ADCCである。他の実施形態では、エフェクター機能は、ADCPである。他の実施形態では、エフェクター機能は、CDCである。一実施形態では、エフェクター機能は、ADCC及びADCPである。一実施形態では、エフェクター機能は、ADCC及びCDCである。一実施形態では、エフェクター機能は、ADCP及びCDCである。一実施形態では、エフェクター機能は、ADCC、ADCP、及びCDCである。これは、1つ以上のアミノ酸置換を抗体のFc領域内に導入することによって達成され得る。例えば、233位～236位のIgG2残基及び327位、330位、及び331位のIgG4残基を使用したヒトIgG1への置換、ADCC及びCDCを大いに低減することが示された（例えば、Armour et al., 1999, Eur. J. Immunol. 29(8):2613-24、及びShields et al., 2001, J. Biol. Chem. 276(9):6591-604を参照されたい）。他のFcバリエーションは、本明細書の他の箇所提供される。

20

30

【0384】

抗体の血清半減期を増加させるため、例えば、米国特許第5,739,277号に記載されるように、1つはサルベージ受容体結合エピトープを抗体（特に抗体断片）に組み込み得る。用語「サルベージ受容体結合エピトープ」は、IgG分子のインビボ血清半減期を増加させる原因となる、IgG分子（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4）のFc領域のエピトープを指す。

【0385】

4. 3. 1. 9 代替的な結合剤

本開示は、本明細書に開示される抗PD-1と同じエピトープに特異的に結合する非免疫グロブリン結合剤を包含する。いくつかの実施形態では、非免疫グロブリン結合剤は、競合結合アッセイにおいて本開示の抗PD-1抗体に取って代わるかまたは取って代えられる薬剤として定義される。これらの代替的な結合剤は、例えば、当該技術分野で既知の操作されたタンパク質骨格のいずれかを含み得る。そのような骨格は、表1及び表2に示されるように、1つ以上のCDRを含み得る。そのような骨格は、例えば、リボカリン骨格、リガンド結合部位を形成する4つの超可変ループを支持する強固なβバレルによって特徴付けられているタンパク質構造に基づくアンチカリンを含む。新規の結合特異性は、機能的ディスプレイ及び誘導選択と組み合わせ、ループ領域内で標的化されたランダム変異誘発によって操作され得る（例えば、Skerra, 2008, FEBS J. 275:2677-83を参照されたい）。他の好適な骨格は、例えば、ヒトフィブロネクチンIIIの10番目の細胞外ドメインに基づく、アドネクチン、またはモノボディ（例え

40

50

ば、Koide and Koide, 2007, Methods Mol. Biol. 352:95-109を参照されたい) ;ブドウ球菌プロテインAのZドメインに基づくアフィボディ (例えば、Nygren et al., 2008, FEBS J. 275:2668-76を参照されたい) ;アンキリンリピートタンパク質に基づくDARPin (例えば、Stumpp et al., 2008, Drug. Discov. Today 13:695-701を参照されたい) ;ヒトFynタンパク質キナーゼのSH3ドメインに基づくフィノマー (例えば、Grabulovski et al., 2007, J. Biol. Chem. 282:3196-204を参照されたい) ;スルフォロバスアシドラリウスからのSac7dに基づくアフィチン (例えば、Krehenbrink et al., 2008, J. Mol. Biol. 383:1058-68を参照されたい) ;ヒトγ-B-クリスタリンに基づくアフィリン (例えば、Ebersbach et al., 2007, J. Mol. Biol. 372:172-85) ;膜受容体タンパク質のAドメインに基づくアビマー (例えば、Silverman et al., 2005, Biotechnol. 23:1556-61を参照されたい) ;システムリッチノットペプチド (例えば、Kolmar, 2008, FEBS J. 275:2684-90) ;及び操作されたKunitz型阻害剤 (例えば、Nixon and Wood, 2006, Curr. Opin. Drug. Discov. Dev. 9:261-68を参照されたい) を含む得る。論評のために、例えば、Gebauer and Skerra, 2009, Curr. Opin. Chem. Biol. 13:245-55を参照されたい。

10

20

【0386】

4. 3. 2 抗体バリエーション

いくつかの実施形態では、PD-1に結合する抗体のアミノ酸配列修飾 (複数可) が企図される。例えば、限定されないが、特異性、熱安定性、発現レベル、エフェクター機能、グリコシル化、低減された免疫原性、または可溶性を含む、抗体の結合親和性及び/または他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。したがって、本明細書に提供される抗PD-1抗体に加えては、抗PD-1抗体バリエーションが調製され得ることが企図される。例えば、抗PD-1抗体バリエーションは、適切なヌクレオチド変化を、コードするDNAに導入することによって、及び/または所望の抗体またはポリペプチドの合成によって調製され得る。当業者は、アミノ酸変化は、抗PD-1抗体の翻訳後処理を改変し得、例えば、グリコシル化部位の数もしくは位置を変化させることまたは膜固着特性を改変することができることを理解する。

30

【0387】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、例えば、抗体への分子の任意の種類共有結合によって化学修飾される。抗体誘導体は、例えば、グリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸化、アミド化、既知の保護基/ブロッキング基による誘導体化、タンパク質分解切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への結合等によって化学修飾されている抗体を含む得る。多数の化学修飾のいずれかは、これらに限定されないが、特異的切断、アセチル化、配合、ツニカマイシンの代謝合成等を含む、既知の技術によって実施され得る。さらに、抗体は、1つ以上の非古典的アミノ酸を含む得る。

40

【0388】

変形は、天然配列抗体またはポリペプチドと比較した場合に、アミノ酸配列における変化をもたらす抗体またはポリペプチドをコードする1つ以上のコドンの置換、欠失、もしくは挿入であり得る。アミノ酸置換は、ロイシンのセリンでの置き換え、例えば、保存的アミノ酸の置き換えなど、1つのアミノ酸を、同様の構造及び/または化学特性を有する別のアミノ酸で置き換えた結果であり得る。挿入または欠失は、任意に、約1~5つのアミノ酸の範囲であり得る。ある特定の実施形態では、置換、欠失、または挿入は、元の分子に対して、25個未満のアミノ酸置換、20個未満のアミノ酸置換、15個未満のアミノ酸置換、10個未満のアミノ酸置換、5個未満のアミノ酸置換、4個未満のアミノ酸置換、3個未満のアミノ酸置換、または2個未満のアミノ酸置換を含む。特定の実施形態で

50

は、置換は、1つ以上の予期される非必須アミノ酸残基で作製される保守的アミノ酸置換である。許容される変形は、配列におけるアミノ酸の挿入、欠失、または置換を合成的に行うことと、完全長または成熟天然配列によって呈される活性について結果として得られるバリエーションを試験することによって決定され得る。

【0389】

アミノ酸配列挿入には、長さが1残基から100以上の残基を含有するポリペプチドの範囲であるアミノ末端及び／またはカルボキシル末端の融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例には、N末端メチオニル残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入バリエーションには、酵素（例えば、抗体指向性酵素プロドラッグ療法のための）またはポリペプチドへの抗体のN末端もしくはC末端の融合が挙げられ、これは抗体の血清半減期を増加させる。

【0390】

抗体の生物学的特性の実質的な修飾は、置換を選択することにより達成され、これらは、（a）置換領域におけるポリペプチド骨格の構造、例えば、シートもしくは螺旋立体配座、（b）標的部位における分子の荷電もしくは疎水性、または（c）側鎖のバルクの維持に対するそれらの影響が著しく異なる。代替的には、保守的（例えば、同様の特性を有するアミノ酸基及び／または側鎖内）置換は、特性を維持するか、または著しく変化しないように行われ得る。アミノ酸は、それらの側鎖の特性の類似性に従って群分けされ得る（例えば、Lehninger, Biochemistry 73-75 (2d ed. 1975)を参照されたい）：（1）非極性：Ala (A)、Val (V)、Leu (L)、Ile (I)、Pro (P)、Phe (F)、Trp (W)、Met (M)；（2）非荷電極性：Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q)；（3）酸性：Asp (D)、Glu (E)；及び（4）塩基性：Lys (K)、Arg (R)、His (H)。

【0391】

代替的には、天然発生残基は、共通の側鎖特性に基づいて群に分割され得る：（1）疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；（2）中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；（3）酸性：Asp、Glu；（4）塩基性：His、Lys、Arg；（5）鎖配向に影響を及ぼす残基：Gly、Pro；及び（6）芳香性：Trp、Tyr、Phe。

【0392】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴う。そのような置換された残基はまた、保守的置換部位、または残りの（非保存された）部位に導入され得る。したがって、一実施形態では、PD-1エピトープに結合する抗体またはその断片は、本明細書に提供されるマウスモノクローナル抗体のアミノ酸配列と少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。一実施形態では、PD-1エピトープに結合する抗体またはその断片は、表1～表6に示されるアミノ酸配列と少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。さらなる別の実施形態では、PD-1エピトープに結合する抗体またはその断片は、表2に示されるVH CDRアミノ酸配列及び／または表1に示されるVL CDRアミノ酸配列と少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるVH CDR及び／またはVL CDRアミノ酸配列を含む。変形は、オリゴヌクレオチド媒介（部位指

10

20

30

40

50

向性) 変異誘発、アラニンスキャニング、及びPCR変異誘発など、当該技術分野で既知の方法を使用して行われ得る。部位指向性変異誘発(例えば、Carter, 1986, Biochem J. 237:1-7、及びZoller et al., 1982, Nucleic Acids Res. 10:6487-500を参照されたい)、カセット変異誘発(例えば、Wells et al., 1985, Gene 34:315-23)、または他の既知の技術は、抗PD-1抗体バリエーションDNAを産生するためにクローニングされたDNA上で行われ得る。

【0393】

抗PD-1抗体の適切な立体配座の維持に関与しない任意のシステイン残基もまた、例えば、アラニンまたはセリンなどの別のアミノ酸で置換されて、分子の酸化的安定性が改善され、異常な架橋が阻止され得る。逆に、システイン結合(複数可)は抗PD-1抗体に付加されて、その安定性を改善することができる(例えば、抗体がFv断片などの抗体断片である場合)。

【0394】

いくつかの実施形態では、本開示の抗PD-1抗体分子は、「脱免疫化」抗体である。「脱免疫化」抗PD-1抗体は、それぞれの元の非脱免疫化抗体と比較して、抗体の免疫原性の低減をもたらすそのアミノ酸配列において1つ以上の改変を有するヒト化またはキメラ抗PD-1抗体由来の抗体である。そのような抗体変異体を生成するための手順の1つは、抗体分子のT細胞エпитープの同一化及び除去を含む。最初のステップにおいて、抗体分子の免疫原性は、いくつかの方法、例えば、当該技術分野で既知のような、T細胞エпитープのインビトロ測定によって、またはそのようなエпитープのインシリコ予測によって測定され得る。T細胞エпитープ機能の重要な残基が一旦同一化されると、変異が行われ、免疫原性を除去し、抗体活性を保持し得る。論評のために、例えば、Jones et al., 2009, Methods in Molecular Biology 525:405-23を参照されたい。

【0395】

4. 3. 2. 1 インビトロ親和性成熟

いくつかの実施形態では、親抗体と比較した場合に、親和性、安定性、または発現レベルなどの改善された特性を有する抗体バリエーションは、インビトロ親和性成熟によって調製され得る。天然プロトタイプのように、インビトロ親和性は、変異及び選択の原理に基づく。抗体のライブラリは、生物の表面に(例えば、ファージ、細菌、酵母、または哺乳動物細胞)またはそれらのコードするmRNAまたはDNAに関連して(例えば、共有的にまたは非共有的に)のいずれかで、Fab、scFv、またはVドメイン断片としてディスプレイされる。ディスプレイされた抗体の親和性選択は、生物、または抗体をコードする遺伝情報を運ぶ複合体の単離を可能にする。ファージディスプレイなどのディスプレイ法を使用した変異及び選択の2つまたは3つのラウンドは、通常、低ナノモル範囲において親和性を有する抗体断片をもたらす。親和性成熟抗体は、標的抗原に対してナノモルまたはさらにはピコモルの親和性を有し得る。

【0396】

ファージディスプレイは、抗体のディスプレイ及び選択のための広く普及した方法である。抗体は、バクテリオファージ被覆タンパク質への融合としてFdまたはM13バクテリオファージの表面にディスプレイされる。選択は、ファージディスプレイされた抗体がそれらの標的に結合することを可能にするために、抗原への曝露、「パニング」と称されるプロセスを含む。抗原に結合するファージは、回収され、細菌に感染させるために使用され、選択のさらなるラウンドのためにファージを生成する。論評のために、例えば、Hogenboom, 2002, Methods. Mol. Biol. 178:1-37、及びBradbury and Marks, 2004, J. Immunol. Methods 290:29-49を参照されたい。

【0397】

酵母ディスプレイ系(例えば、Boder et al., 1997, Nat. Bio

10

20

30

40

50

tech. 15:553-57、及びChao et al., 2006, Nat. Protocols 1:755-68を参照されたい)では、抗体は、重鎖及び軽鎖が可動性リンカーによって連結される一本鎖可変融合 (scFv) としてディスプレイされ得る。scFvは、酵母凝集素タンパク質 Aga2p の付着サブユニットに融合され、それは、Aga1p へのジスルフィド結合を通して酵母細胞壁に結合する。Aga2p を介するタンパク質のディスプレイは、タンパク質を細胞表面から突出させ、酵母細胞壁上の他の分子との潜在的な相互作用を最小化する。磁気分離及びフローサイトメトリーは、ライブラリをスクリーニングするために使用され、改善された親和性及び安定性を有する抗体を選択する。対象の可溶性抗原への結合は、ビオチン化された抗原及び蛍光体に複合体化されたストレプトアビジンなどの二次試薬で酵母を標識することによって決定される。抗体の表面発現における変形は、赤血球凝集素または scFv に隣接する c-Myc エピトープタグのいずれかの免疫蛍光標識を通して決定され得る。発現は、ディスプレイされたタンパク質の安定性と相関することが示されており、したがって、抗体は、改善された安定性、ならびに親和性のために選択され得る (例えば、Shusta et al., 1999, J. Mol. Biol. 292:949-56 を参照されたい)。酵母ディスプレイの追加の利点は、ディスプレイされたタンパク質が、核生物の酵母細胞の小胞体中に折り畳まれ、小胞体シャペロン及び品質管理の仕組みを活用することである。一旦成熟が完了すると、抗体親和性は、酵母の表面上にディスプレイされる間に好都合に「滴定され」得、各クローンの発現及び精製の必要性を排除する。酵母表面ディスプレイの理論限界は、他のディスプレイ法のそれよりも潜在的により小さな機能的ライブラリサイズであるが、しかしながら、最近のアプローチは、酵母細胞の配偶様式を使用して、 10^{14} のサイズであることが推定される組み換え多様性を作製する (例えば、米国特許 公開第 2003/0186374 号、及び Blaise et al., 2004, Gene 342:211-18 を参照されたい)。

【0398】

リボソームディスプレイでは、抗体-リボソーム-mRNA (ARM) 複合体は、無細胞系における選択のために生成される。抗体の特定のライブラリをコードする DNA ライブラリは、停止コドンに欠如するスペーサー配列に遺伝子的に融合される。このスペーサー配列は、翻訳されるとき、ペプチジル tRNA に依然として結合され、リボソームのトンネルを占有し、したがって、対象のタンパク質がリボソームから突出し、折り畳むことを可能にする。mRNA、リボソーム、及びタンパク質の結果として得られる複合体は、表面結合されたりリガンドに結合し得、リガンドを伴う親和性捕捉を通して抗体及びそのコード mRNA の同時単離を可能にする。次いで、リボソーム結合された mRNA は、cDNA に逆転写され、次いでそれは、変異誘発を経て、選択の次のラウンドにおいて使用される (例えば、Fukuda et al., 2006, Nucleic Acids Res. 34:e127 を参照されたい)。mRNA ディスプレイでは、抗体及び mRNA 間の共有結合は、ピュロマイシン分子を使用して確立される (Wilson et al., 2001, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:3750-55)。

【0399】

これらの方法は全体的にインビトロで行われるため、それらは、他の選択技術よりも 2 つの主な利点を提供する。第 1 に、ライブラリの多様性は、細菌細胞の形質転換効率によって限定されないが、試験チューブ内に存在するリボソーム及び異なる mRNA 分子の数によってのみ限定される。第 2 に、ランダム変異は、ライブラリが任意の多様化ステップ後に形質転換される必要がないため、例えば、非ブルーフリーディングポリメラーゼによって、各選択ラウンドの後に非容易に導入され得る。

【0400】

哺乳動物細胞ディスプレイ系 (例えば、Bowers et al., 2011, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108:20455-60 を参照されたい) では、IgG の完全ヒトは、事前に組み替えられた D (J) 領域に結合された生殖細胞

10

20

30

40

50

系配列 V 遺伝子セグメントに基づいて構築される。重鎖及び軽鎖の完全長 V 領域は、ヒト重鎖及び軽鎖定常領域と組み立てられ、哺乳動物細胞株（例えば、HEK 293）にトランスフェクトされる。トランスフェクトされたライブラリは、拡大され、ストレプトアビジン（SA）結合磁性ビーズに対して負の選択のいくつかのラウンド、その後ビオチン化された標的タンパク質、ペプチド断片、またはエピトープで被覆された SA 結合磁性ビーズに対して正の選択のラウンドにかけられる。正に選択された細胞は拡大され、次いで、FACS のラウンドによって分類され、標的タンパク質、ペプチド断片、またはエピトープに特異的に結合する抗体をディスプレイする単一細胞クローンを単離する。これらの単一細胞クローンの重鎖及び軽鎖対は、さらなる成熟のために AID で再トランスフェクトされる。AID 誘発体細胞超変異と結合された哺乳動物細胞ディスプレイのいくつかのラウンドは、高特異性、高親和性抗体を生成する。

10

【0401】

多様性はまた、標的化された様式でまたはランダム導入を介して抗体ライブラリの CDR または V 遺伝子全体に導入され得る。以前のアプローチは、高レベルまたは低レベル変異誘発を介して抗体のすべての CDR を逐次的に標的化すること、または体細胞超変異の単離されたホットスポット（例えば、Hockett et al., 2005, J. Biol. Chem. 280:607-17）もしくは実験的基礎または構造的理由において親和性に影響する疑いのある残基を標的化することを含む。特定の実施形態では、体細胞超変異は、AID 誘発体細胞超変異によって、例えば、SHM-XEL（商標）プラットフォーム（AnaptysBio, San Diego, CA）を使用して行われる。ランダム変異は、E. coli 変異誘発株、DNA ポリメラーゼを用いた誤りがちな複製（例えば、Hawkins et al., 1992, J. Mol. Biol. 226:889-96 を参照されたい）、または RNA 複製酵素を使用して V 遺伝子全体を通して導入され得る。多様性はまた、DNA シャッフリングまたは同様の技術を介して、天然に多様である領域の置き換えによって導入され得る（例えば、Luet al., 2003, J. Biol. Chem. 278:43496-507; 米国特許第 5,565,332 号及び第 6,989,250 号を参照されたい）。フレームワーク領域残基内に伸長する超可変ループを標的とする代替的な技術（例えば、Bond et al., 2005, J. Mol. Biol. 348:699-709 を参照されたい）は、CDR においてループ欠失及び挿入を用いるか、またはハイブリダイゼーションに基づく多様化を使用する（例えば、米国特許 公開第 2004/0005709 号を参照されたい）。CDR において多様性を生成する追加の方法は、例えば、米国特許第 7,985,840 号に開示されている。抗体ライブラリ及び／または抗体親和性成熟を生成するために使用され得るさらなる方法は、例えば、米国特許第 8,685,897 号及び第 8,603,930 号、ならびに米国公開第 2014/0170705 号、第 2014/0094392 号、第 2012/0028301 号、第 2011/0183855 号、及び第 2009/0075378 号に開示されており、それらの各々は、参照により本明細書に組み込まれる。

20

30

【0402】

ライブラリのスクリーニングは、当該技術分野で既知の様々な技法によって達成され得る。例えば、PD-1 は、固体支持体、カラム、ピン、またはセルロース／ポリ（フッ化ビニリデン）膜／他のフィルター上に固定化されるか、吸着プレートに付着した宿主細胞に発現させるか、または細胞選別で使用され得るか、またはストレプトアビジン被覆ビーズで捕捉するためにビオチンに複合体化され得るか、またはディスプレイライブラリをパニングするための任意の他の方法で使用され得る。

40

【0403】

インビトロ親和性成熟方法論評のために、例えば、Hoogenboom, 2005, Nature Biotechnology 23:1105-16, Quiroz and Sinclair, 2010, Revista Ingeneria Biomedica 4:39-51、及びそれらにおける参考文献を参照されたい。

【0404】

50

4. 3. 2. 2 抗PD-1抗体の修飾

抗PD-1抗体の共有結合修飾は、本開示の範囲内に含まれる。共有結合修飾は、抗PD-1抗体の標的化されたアミノ酸残基を、選択された側鎖または抗PD-1抗体のN末端もしくはC末端残基と反応することができる有機誘導体化剤と反応させることを含む。他の修飾としては、グルタミル及びアスパラギン残基のそれぞれ対応するグルタミル及びアスパルチル残基への脱アミド化、プロリン及びリジンのヒドロキシル化、セリルまたはトレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リジン、アルギニン、及びヒスチジン側鎖のα-アミノ基のメチル化（例えば、Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties 79-86 (1983)を参照されたい）、N末端アミンのアセチル化、ならびに任意のC末端カルボキシル基のアミド化が挙げられる。

10

【0405】

本開示の範囲内に含まれる抗PD-1抗体の共有結合修飾の他の種類は、抗体またはポリペプチドの天然グリコシル化パターンを改変すること（例えば、Beck et al., 2008, Curr. Pharm. Biotechnol. 9:482-501、及びWalsh, 2010, Drug Discov. Today 15:773-80を参照されたい）、及び抗体を、例えば、米国特許第4,640,835号、第4,496,689号、第4,301,144号、第4,670,417号、第4,791,192号、または第4,179,337号に示される様式で、多様な非タンパク質性ポリマー、例えば、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリプロピレングリコール、またはポリオキシアルキレンのうちの1つに連結することを含む。

20

【0406】

本開示の抗PD-1抗体はまた、別の異種ポリペプチドまたはアミノ酸配列、例えば、エピトープタグ（例えば、Terpe, 2003, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60:523-33を参照されたい）またはIgG分子のFc領域（例えば、Aruffo, Antibody Fusion Proteins 221-42 (Chamow and Ashkenazi eds., 1999)を参照されたい）に融合した抗PD-1抗体を含むキメラ分子を形成するように修飾され得る。

【0407】

PD-1抗原及び異種ポリペプチドに結合する本明細書に提供される抗体を含む融合タンパク質もまた本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、抗体が融合される異種ポリペプチドは、抗体を細胞表面発現されたPD-1を有する細胞に標的化するために有用である。

30

【0408】

PD-1抗原に結合する抗体のパネルもまた本明細書に提供される。特定の実施形態では、抗体のパネルは、PD-1抗原の異なる会合速度、異なる解離速度、異なる親和性、及び／またはPD-1抗原の異なる特異性を有する。いくつかの実施形態では、パネルは、約10、約25、約50、約75、約100、約125、約150、約175、約200、約250、約300、約350、約400、約450、約500、約550、約600、約650、約700、約750、約800、約850、約900、約950、または約1000個の抗体またはそれ以上を含むか、またはそれらからなる。抗体のパネルは、例えば、ELISAなどのアッセイのために96ウェルプレートまたは384ウェルプレートで使用され得る。

40

【0409】

4. 3. 3 抗PD-1抗体の調製

抗PD-1抗体は、抗PD-1抗体コード核酸を含むベクターで形質転換またはトランスフェクトされた細胞を培養することによって産生され得る。本開示の抗体のポリペプチド成分をコードするポリヌクレオチド配列は、標準の組み換え技術を使用して得られ得る。所望のポリヌクレオチド配列は、ハイブリドーマ細胞等の抗体産生細胞から単離及び配列決定され得る。あるいは、ポリヌクレオチドは、ヌクレオチド合成機またはPCR技術

50

を使用して合成され得る。得られた時点で、ポリペプチドをコードする配列は、宿主細胞内で異種ポリヌクレオチドを複製及び発現することができる組み換えベクターに挿入される。利用可能であり、当該技術分野で既知である多くのベクターが本開示で使用され得る。適切なベクターの選択は、ベクターに挿入される核酸の大きさ及びベクターで形質転換される特定の宿主細胞に主に依存する。本出願の抗体の発現に好適な宿主細胞としては、グラム陰性またはグラム陽性生物を含む *Archaeobacteria* 及び *Eubacteria* などの原核生物、糸状菌または酵母などの真核微生物、昆虫細胞または植物細胞などの無脊椎動物細胞、ならびに哺乳動物宿主細胞株などの脊椎動物細胞が挙げられる。宿主細胞は、上述の発現ベクターで形質転換され、プロモーターの誘導、形質転換体の選択、または所望の配列をコードする遺伝子の増幅に適切になるように修飾された従来の栄養素培地で培養される。宿主細胞によって産生された抗体は、当該技術分野で既知の標準タンパク質精製方法を使用して精製される。

10

【0410】

ベクター構築発現、及び生成を含む抗体産生の方法は、Pluckthun et al., *Antibody Engineering: Producing antibodies in Escherichia coli: From PCR to fermentation* 203-52 (McCafferty et al. eds., 1996)、Kwong and Rader, *E. coli Expression and Purification of Fab Antibody Fragments*, *Current Protocols in Protein Science* (2009)、Tachibana and Takekoshi, *Production of Antibody Fab Fragments in Escherichia coli*, *Antibody Expression and Production* (Al-Rubeai ed., 2011)、及び *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic* (An ed., 2009) にさらに記載されている。

20

【0411】

当然、当該技術分野で周知の代替的な方法が抗PD-1抗体を調製するために用いられ得ることが企図される。例えば、適切なアミノ酸配列またはその部分は、固相技法を使用する直接ペプチド合成によって産生され得る（例えば、Stewart et al., *Solid-Phase Peptide Synthesis* (1969)、及び Merrifield, 1963, *J. Am. Chem. Soc.* 85: 2149-54 を参照されたい）。インビトロタンパク質合成は、手動技法を使用して、または自動で行われ得る。抗PD-1抗体の様々な部分が別個に化学的に合成され、化学的または酵素的方法を使用して組み合わせられて、所望の抗PD-1抗体を産生することができる。代替的には、抗体は、例えば、米国特許第5,545,807号及び第5,827,690号に開示されているように、抗体を発現するように操作されたトランスジェニック動物の、乳などの細胞または体液から精製され得る。

30

【0412】

4. 3. 4 免疫複合体

40

本開示はまた、合成リンカーによって1つ以上の非抗体剤に共有結合された本開示の抗PD-1抗体のいずれか1つを含む複合体を提供する。

【0413】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される抗体は、例えば、診断もしくは検出可能分子に複合体化または組み換え融合される。複合体化または組み換え融合された抗体は、例えば、PD-1媒介疾患の発症、発達、進行、及び／または重症度を監視もしくは予後診断するために有用であり得る。

【0414】

そのような診断及び検出は、例えば、抗体を、これらに限定されないが、様々な酵素、例えば、これらに限定されないが、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスフ

50

ァターゼ、βガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼ；補欠分子族、例えば、これらに限定されないが、ストレプトアビジン／ビオチンまたはアビジン／ビオチン；蛍光物質、例えば、これらに限定されないが、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリド、またはフィコエリトリン；発光物質、例えば、これらに限定されないが、ルミノール；生物発光物質、例えば、これらに限定されないが、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、またはイクオリン；化学発光物質、例えば、これらに限定されないが、アクリジニウム系化合物またはHALOTAG；放射性物質、例えば、これらに限定されないが、ヨウ素（ ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、及び ^{121}I ）、炭素（ ^{14}C ）、硫黄（ ^{35}S ）、トリチウム（ ^3H ）、インジウム（ ^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 、及び ^{111}In ）、テクニチウム（ ^{99}Tc ）、タリウム（ ^{201}Ti ）、ガリウム（ ^{68}Ga 及び ^{67}Ga ）、パラジウム（ ^{103}Pd ）、モリブデン（ ^{99}Mo ）、キセノン（ ^{133}Xe ）、フッ素（ ^{18}F ）、 ^{153}Sm 、 ^{177}Lu 、 ^{159}Gd 、 ^{149}Pm 、 ^{140}La 、 ^{175}Yb 、 ^{166}Ho 、 ^{90}Y 、 ^{47}Sc 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{142}Pr 、 ^{105}Rh 、 ^{97}Ru 、 ^{68}Ge 、 ^{57}Co 、 ^{65}Zn 、 ^{85}Sr 、 ^{32}P 、 ^{153}Gd 、 ^{169}Yb 、 ^{51}Cr 、 ^{54}Mn 、 ^{75}Se 、 ^{113}Sn 、または ^{117}Sn ；様々な陽電子放出断層撮影法を使用した陽電子放出金属；ならびに非放射性常磁性金属イオンを含む検出可能な物質に結合することによって達成され得る。

【0415】

融合タンパク質を生成するように、異種タンパク質またはポリペプチド（もしくはその断片、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個のアミノ酸のポリペプチドに）に、組み換え融合または化学的に複合体化（共有または非共有複合体化）される抗体、ならびにその使用もまた本明細書に記載される。特に、本明細書に提供される抗体の抗原結合断片（例えば、Fab断片、Fc断片、Fv断片、F(ab)₂断片、VHドメイン、VH CDR、VLドメイン、またはVL CDR）、及び異種タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドを含む融合タンパク質が本明細書に提供される。一実施形態では、抗体が融合される異種タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドは、抗体をPD-1を発現する細胞などの特定の細胞型に標的化するために有用である。例えば、特定の細胞型によって発現された細胞表面受容体に結合する抗体は、本明細書に提供される修飾された抗体に融合または複合体化され得る。

【0416】

さらに、本明細書に提供される抗体は、マーカーまたはペプチドなどの「タグ」配列に融合され、精製を容易にし得る。特定の実施形態では、マーカーまたはタグアミノ酸配列は、とりわけ、pQEベクター（例えば、QIAGEN, Inc. を参照されたい）に提供されるタグなどのヘキサヒスチジンペプチドであり、それらの多くは市販されている。例えば、Gentz et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-24に記載されているように、ヘキサヒスチジンは、融合タンパク質の好都合な精製を提供する。精製に有用な他のペプチドタグとしては、これらに限定されないが、インフルエンザヘマグルチニンタンパク質（Wilson et al., 1984, Cell 37:767-78）由来のエピトープに対応するヘマグルチニン（「HA」）タグ、及び「FLAG」タグが挙げられる。

【0417】

抗体へ部分（ポリペプチドを含む）を融合または複合体化する方法は既知である（例えば、Arnon et al., Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 243-56 (Reisfeld et al. eds., 1985)、Hellstrom et al., Antibodies for Drug Delivery, Controlled Drug Delivery 623-53 (Rob

inson et al. eds., 2d ed. 1987)、Thorpe, Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy: A Review, Monoclonal Antibodies: Biological and Clinical Applications 475-506 (Pinchera et al. eds., 1985)、Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy, Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy 303-16 (Baldwin et al. eds., 1985)、Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58、米国特許第5,336,603号、第5,622,929号、第5,359,046号、第5,349,053号、第5,447,851号、第5,723,125号、第5,783,181号、第5,908,626号、第5,844,095号、及び第5,112,946; EP307,434、EP367,166、EP394,827; PCT公開WO91/06570、WO96/04388、WO96/22024、WO97/34631、及びWO99/04813; Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:10535-39、Traunecker et al., 1988, Nature, 331:84-86、Zheng et al., 1995, J. Immunol. 154:5590-600、ならびにVil et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-41を参照されたい)。

【0418】

融合タンパク質は、例えば、遺伝子シャッフリング、モチーフシャッフリング、エキソンシャッフリング、及び／またはコドンシャッフリング（まとめると、「DNAシャッフリング」と称される）の技術を通して生成され得る。DNAシャッフリングは、例えば、より高い親和性及びより低い解離速度を有する抗体を含む、本明細書に提供される抗PD-1抗体の活性を改変するために用いられ得る（例えば、米国特許第5,605,793号、第5,811,238号、第5,830,721号、第5,834,252号、及び第5,837,458号、Patten et al., 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8:724-33、Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16(2):76-82、Hansson et al., 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76、ならびにLorenzo and Blasco, 1998, Biotechniques 24(2):308-13を参照されたい）。抗体、またはコードされた抗体は、組み換え前に、誤りがちなPCR、ランダムヌクレオチド挿入、または他の方法によってランダム変異誘発を施されることによって改変され得る。本明細書に提供される抗体をコードするポリヌクレオチドは、1つ以上の異種分子の、1つ以上の成分、モチーフ、切片、部分、ドメイン、断片等で組み換えられ得る。

【0419】

本明細書に提供される抗体は、米国特許第4,676,980号に記載されるように、第2の抗体に共役されて抗体ヘテロ共役体を形成することができる。

【0420】

本明細書に提供されるように、PD-1に結合する抗体はまた、標的抗原の免疫アッセイまたは精製に特に有用である、固体支持体に結合され得る。そのような固体支持体としては、これらに限定されないが、ガラス、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、またはポリプロピレンが挙げられる。

【0421】

リンカーは、細胞内で複合体化された薬剤の放出を容易にする「切断可能なリンカー」であり得るが、非切断可能なリンカーもまた本明細書に企図される。本開示の複合体にお

ける使用のためのリンカーとしては、限定することなく、酸に不安定なリンカー（例えば、ヒドラゾンリンカー）、ジスルフィド含有リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー（例えば、アミノ酸、例えば、シトルリンーバリンもしくはフェニルアラニンーリジンなどのバリン及び／またはシトルリンを含むペプチドリナー）、感光性リンカー、ジメチルリンカー（例えば、Charl et al., 1992, Cancer Res. 52: 127-31、及び米国特許第5,208,020号を参照されたい）、チオエーテルリンカー、または多剤輸送体媒介耐性を回避するように設計された親水性リンカー（例えば、Kovtun et al., 2010, Cancer Res. 70: 2528-37を参照されたい）が挙げられる。

【0422】

抗体及び薬剤の複合体は、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBS、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMCC、スルホ-SMPB、及びSVSB（スクシンイミジル（4-ビニルスルホン）ベンゾエート）などの様々な二官能性タンパク質結合剤を使用して作製され得る。本開示は、抗体及び薬剤の複合体は、当該技術分野において開示されているように、任意の好適な方法を使用して調製され得る（例えば、Bioconjugate Techniques (Hermanson ed., 2d ed. 2008)を参照されたい）。

【0423】

抗体及び薬剤の従来の複合体化方略は、異種複合体をもたらすLys残基のε-アミノ基またはCys残基のチオール基を含むランダム複合体化化学に基づいている。最近開発された技術は、抗体への部位特異的複合体化を可能にし、均質な負荷をもたらし、改変された抗原結合または薬物動態を有する複合体の垂集団を回避する。これらは、反応性チオール基を提供し、かつ免疫グロブリンの折り畳み及び組み立てを乱さないか、または抗原結合を改変しない重鎖及び軽鎖上の位置でのシステイン置換を含む「チオMab」の操作を含む（例えば、Junutula et al., 2008, J. Immunol. Meth. 332: 41-52、及びJunutula et al., 2008, Nature Biotechnol. 26: 925-32を参照されたい）。別の方法では、セレノシステインは、末端からセレノシステイン挿入まで停止コドンUGAを再コードすることによって抗体配列に同時翻訳で挿入され、他の天然アミノ酸の存在下でセレノシステインの求核セレノール基で部位特異的共有複合体化を可能にする（例えば、Hofer et al., 2008, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105: 12451-56、及びHofer et al., 2009, Biochemistry 48 (50): 12047-57を参照されたい）。

【0424】

4. 4 抗体及びその組成物を使用する方法

対象における白斑を治療する方法が本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、方法は、白斑を治療するのに有効な量で、本明細書に提供されるPD-1結合タンパク質を対象に投与することを含む。対象における白斑を管理する方法もまた本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、方法は、白斑を管理するのに有効な量で、本明細書に提供されるPD-1結合タンパク質を対象に投与することを含む。対象における白斑を予防する方法もまた本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、方法は、白斑を予防するのに有効な量で、本明細書に提供されるPD-1結合タンパク質を対象に投与することを含む。いくつかの実施形態では、対象は、白斑を有する。他の実施形態では、対象は、白斑を有するリスクがある。一実施形態では、対象は、その必要がある対象である。特定の実施形態では、PD-1結合タンパク質は、本明細書に提供されるPD-1抗体である。ある特定の実施形態では、PD-1結合タンパク質は、本明細書に提供されるPD-1抗体の抗原結合断片である。

【0425】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープを含むPD-1に結合する抗体を投与することを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒト及び／またはカニクイザルPD-1に結合する。他の実施形態では、抗体は、齧歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）には結合しない。一実施形態では、抗体は、ヒトPD-1に結合する。別の実施形態では、抗体は、カニクイザルPD-1に結合する。別の実施形態では、抗体は、ヒトPD-1及びカニクイザルPD-1に結合する。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトPD-1に結合し、齧歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）には結合しない。いくつかの実施形態では、抗体は、カニクイザルPD-1に結合し、齧歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）には結合しない。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトPD-1に結合し、カニクイザルPD-1に結合し、齧歯類PD-1（例えば、マウスPD-1）には結合しない。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L1のPD-1ポリペプチドへの結合をブロックしない。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L2のPD-1ポリペプチドへの結合をブロックしない。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-L1またはPD-L2のPD-1ポリペプチドへの結合をブロックしない。他の実施形態では、抗PD-1抗体は、PD-1ポリペプチド、PD-1ポリペプチド断片、PD-1ペプチド、またはPD-1エピトープを含むPD-1に結合するヒト化抗体（例えば、ヒト定常領域を含む）である。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、表1～表6に示されるアミノ酸配列などの、本明細書に提供されるマウスのモノクローナル抗体のいずれか1つのVH領域、VL領域、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3を含む。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に提供される単離された抗体またはその機能的断片は、表1及び表2に示されるように、（a）抗体PD1AB-1、（b）抗体PD1AB-2、（c）抗体PD1AB-3、（d）抗体PD1AB-4、（e）抗体PD1AB-5、または（f）抗体PD1AB-6からの、1、2、及び／または3つの重鎖CDR及び／または1、2、及び／または3つの軽鎖CDRを含む。

【0426】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、6つのCDR、例えば、表1及び表2に特定されるVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3を含むか、またはそれらからなる抗体を投与することを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、6つ未満のCDRを含み得る。いくつかの実施形態では、抗体は、表1及び表2に特定されるVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3からなる群から選択される、1、2、3、4、または5つのCDRを含むか、またはそれらからなる。いくつかの実施形態では、抗体は、本明細書に記載される（a）抗体PD1AB-1、（b）抗体PD1AB-2、（c）抗体PD1AB-3、（d）抗体PD1AB-4、（e）抗体PD1AB-5、及び（f）抗体PD1AB-6からなる群から選択されるモノクローナル抗体のVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3からなる群から選択される1、2、3、4、または5つのCDRを含むか、またはそれらからなる。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、表1及び表2に特定されるVH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及び／またはVL CDR3のいずれか1つの1、2、3、4、または5つのCDRを含むか、またはそれらからなる抗体を投与することを含む。

【0427】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、表2に列挙される1つ以上（例えば、1、2、または3つ）のVH CDRを含む抗体を投与することを含む。他の実施形態では、抗体は、表1に列挙される1つ以上（例えば、1、2、または3つ）のVL CDRを含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、表2に列挙される1つ以上

(例えば、1、2、または3つ)のVH CDR及び表1に列挙される1つ以上のVL CDRを含む。したがって、いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR 1を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR 2を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR 3を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、表2に示されるVH CDR 1、VH CDR 2、VH CDR 3アミノ酸配列(複数可)のいずれか1つから独立して選択されるVH CDR 1及び/またはVH CDR 2及び/またはVH CDR 3を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号1及び7のアミノ酸配列を有するVL CDR 1を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR 2を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR 3を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、表1に示されるVL CDR 1、VL CDR 2、VL CDR 3アミノ酸配列のいずれか1つから独立して選択されるVL CDR 1及び/またはVL CDR 2及び/またはVL CDR 3を含む。

10

【0428】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、(1)配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR 1、(2)配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR 2、及び(3)配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR 3を含むVH領域、ならびに(1)配列番号1のアミノ酸配列を有するVL CDR 1、(2)配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR 2、及び(3)配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR 3を含むVL領域を含む抗体を投与することを含む。他の実施形態では、抗体は、(1)配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR 1、(2)配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR 2、及び(3)配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR 3を含むVH領域、ならびに(1)配列番号7のアミノ酸配列を有するVL CDR 1、(2)配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR 2、及び(3)配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR 3を含むVL領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(1)配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR 1、(2)配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR 2、及び(3)配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR 3を含むVH領域を含む。他の実施形態では、抗体は、(1)配列番号1のアミノ酸配列を有するVL CDR 1、(2)配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR 2、及び(3)配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR 3を含むVL領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(1)配列番号7のアミノ酸配列を有するVL CDR 1、(2)配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR 2、及び(3)配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR 3を含むVL領域を含む。

20

30

【0429】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、表1及び表2に列挙される1つ以上(例えば、1、2、または3つ)のVH CDR及び1つ以上(例えば、1、2、または3つ)のVL CDRを含む抗体を投与することを含む。特定の実施形態では、抗体は、VH CDR 1(配列番号4)及びVL CDR 1(配列番号1または7)を含む。一実施形態では、抗体は、VH CDR 1(配列番号4)及びVL CDR 2(配列番号2)を含む。他の実施形態では、抗体は、VH CDR 1(配列番号4)及びVL CDR 3(配列番号3)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH CDR 2(配列番号5)及びVL CDR 1(配列番号1または7)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH CDR 2(配列番号5)及びVL CDR 2(配列番号2)を含む。一実施形態では、抗体は、VH CDR 2(配列番号5)及びVL CDR 3(配列番号3)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH CDR 3(配列番号6)及びVL CDR 1(配列番号1または7)を含む。他の実施形態では、抗体は、VH CDR 3(配列番号6)及びVL CDR 2(配列番号2)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH CDR 3(配列番号6)及びVL CDR 3(配列番号3)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH CDR 1(配列番号4)、VH CDR 2(配列番号5)、及びVL

40

50

50

び V L C D R 3 (配列番号 3) を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 2 (配列番号 5)、V H C D R 3 (配列番号 6)、V L C D R 2 (配列番号 2)、及び V L C D R 3 (配列番号 3) を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号 4)、V H C D R 2 (配列番号 5)、V H C D R 3 (配列番号 6)、V L C D R 1 (配列番号 1 または 7)、及び V L C D R 2 (配列番号 2) を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号 4)、V H C D R 2 (配列番号 5)、V H C D R 3 (配列番号 6)、V L C D R 1 (配列番号 1 または 7)、及び V L C D R 3 (配列番号 3) を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号 4)、V H C D R 2 (配列番号 5)、V H C D R 3 (配列番号 6)、V L C D R 2 (配列番号 2)、及び V L C D R 3 (配列番号 3) を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号 4)、V H C D R 2 (配列番号 5)、V L C D R 1 (配列番号 1 または 7)、V L C D R 2 (配列番号 2)、及び V L C D R 3 (配列番号 3) を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号 4)、V H C D R 3 (配列番号 6)、V L C D R 1 (配列番号 1 または 7)、V L C D R 2 (配列番号 2)、及び V L C D R 3 (配列番号 3) を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V H C D R 2 (配列番号 5)、V H C D R 3 (配列番号 6)、V L C D R 1 (配列番号 1 または 7)、V L C D R 2 (配列番号 2)、及び V L C D R 3 (配列番号 3) を含む。別の実施形態では、抗体は、V H C D R 1 (配列番号 4)、V L C D R 1 (配列番号 1 または 7)、V L C D R 2 (配列番号 2)、及び V L C D R 3 (配列番号 3) を含む。一実施形態では、抗体は、V H C D R 2 (配列番号 5)、V L C D R 1 (配列番号 1 または 7)、V L C D R 2 (配列番号 2)、及び V L C D R 3 (配列番号 3) を含む。他の実施形態では、抗体は、V H C D R 3 (配列番号 6)、V L C D R 1 (配列番号 1 または 7)、V L C D R 2 (配列番号 2)、及び V L C D R 3 (配列番号 3) を含む。別の実施形態では、抗体は、表 1 及び表 2 に列挙される V H C D R 及び V L C D R のそれらの任意の組み合わせを含む。

【0430】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、関連抗体に由来するコンセンサス配列を含む本明細書に開示される C D R を含む抗体を投与することを含む (例えば、表 1 及び表 2 を参照されたい)。

【0431】

他の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、表 3 及び表 4 に示されるように、(a) 抗体 P D 1 A B - 1、(b) 抗体 P D 1 A B - 2、(c) 抗体 P D 1 A B - 3、(d) 抗体 P D 1 A B - 4、(e) 抗体 P D 1 A B - 5、または (f) 抗体 P D 1 A B - 6 からの、1、2、3、及び / または 4 つの重鎖 F R 及び / または 1、2、3、及び / または 4 つの軽鎖 F R をさらに含む抗体 (もしくはその機能的断片) を投与することを含む。

【0432】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、表 4 に示されるように、(a) 抗体 P D 1 A B - 1、(b) 抗体 P D 1 A B - 2、(c) 抗体 P D 1 A B - 3、(d) 抗体 P D 1 A B - 4、(e) 抗体 P D 1 A B - 5、または (f) 抗体 P D 1 A B - 6 からの、1、2、3、及び / または 4 つの重鎖 F R をさらに含む抗体 (もしくはその機能的断片) を投与することを含む。いくつかの実施形態では、抗体重鎖 F R (複数可) は、抗体 P D 1 A B - 1 からのものである。いくつかの実施形態では、抗体重鎖 F R (複数可) は、抗体 P D 1 A B - 2 からのものである。他の実施形態では、抗体重鎖 F R (複数可) は、抗体 P D 1 A B - 3 からのものである。ある特定の実施形態では、抗体重鎖 F R (複数可) は、抗体 P D 1 A B - 4 からのものである。他の実施形態では、抗体重鎖 F R (複数可) は、抗体 P D 1 A B - 5 からのものである。別の実施形態では、抗体重鎖 F R (複数可) は、抗体 P D 1 A B - 6 からのものである。

【0433】

他の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、表 3 に示されるように、(a

）抗体PD1AB-1、（b）抗体PD1AB-2、（c）抗体PD1AB-3、（d）抗体PD1AB-4、（e）抗体PD1AB-5、または（f）抗体PD1AB-6からの、1、2、3、及び／または4つの軽鎖FRをさらに含む抗体（もしくはその機能的断片）を投与することを含む。いくつかの実施形態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-1からのものである。いくつかの実施形態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-2からのものである。他の実施形態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-3からのものである。ある特定の実施形態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-4からのものである。他の実施形態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-5からのものである。別の実施形態では、抗体軽鎖FR（複数可）は、抗体PD1AB-6からのものである。

10

【0434】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、（1）配列番号19及び24からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するVH FR1、（2）配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、（3）配列番号21及び23からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するVH FR3、及び／または（4）配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むか、またはそれらをさらに含むVH領域を含む抗体を投与することを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、（1）配列番号19のアミノ酸配列を有するVH FR1、（2）配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、（3）配列番号21のアミノ酸配列を有するVH FR3、及び／または（4）配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むか、またはそれらをさらに含むVH領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、（1）配列番号19のアミノ酸配列を有するVH FR1、（2）配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、（3）配列番号23のアミノ酸配列を有するVH FR3、及び／または（4）配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むか、またはそれらをさらに含むVH領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、（1）配列番号24のアミノ酸配列を有するVH FR1、（2）配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、（3）配列番号21のアミノ酸配列を有するVH FR3、及び／または（4）配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むか、またはそれらをさらに含むVH領域を含む。ある特定の実施形態では、抗体は、（1）配列番号24のアミノ酸配列を有するVH FR1、（2）配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2、（3）配列番号23のアミノ酸配列を有するVH FR3、及び／または（4）配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むか、またはそれらをさらに含むVH領域を含む。特定の実施形態では、抗体は、上記参照のVH FR1、VH FR2、VH FR3、及びVH FR4の4つすべてを含むVH領域を含む。

20

30

【0435】

したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、配列番号19及び24からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するVH FR1を含むVH領域を含むヒト化抗体を投与することを含む。一実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号19のアミノ酸配列を有するVH FR1を含むVH領域を含む。一実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号24のアミノ酸配列を有するVH FR1を含むVH領域を含む。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号20のアミノ酸配列を有するVH FR2を含むVH領域を含む。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号21及び23からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するVH FR3を含むVH領域を含む。一実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号21のアミノ酸配列を有するVH FR3を含むVH領域を含む。一実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を有するVH FR3を含むVH領域を含む。他の実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号22のアミノ酸配列を有するVH FR4を含むVH領域を含む。

40

【0436】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、（1）配列番号14のアミノ酸配列を有するVL FR1、（2）配列番号15のアミノ酸配列を有するVL

50

FR 2、(3) 配列番号 16 及び 18 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する VL FR 3、及び／または (4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 を含む VL 領域を含む抗体を投与することを含む いくつかの実施形態では、VL 領域は、(1) 配列番号 14 のアミノ酸配列を有する VL FR 1、(2) 配列番号 15 のアミノ酸配列を有する VL FR 2、(3) 配列番号 16 のアミノ酸配列を有する VL FR 3、及び／または (4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 を含む。他の実施形態では、VL 領域は、(1) 配列番号 14 のアミノ酸配列を有する VL FR 1、(2) 配列番号 15 のアミノ酸配列を有する VL FR 2、(3) 配列番号 18 のアミノ酸配列を有する VL FR 3、及び／または (4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 を含む。

10

【0437】

したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、配列番号 14 のアミノ酸配列を有する VL FR 1 を含む VL 領域を含むヒト化抗体を投与することを含む。ある特定の実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号 15 のアミノ酸配列を有する VL FR 2 を含む VL 領域を含む。他の実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号 16 及び 18 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する VL FR 3 を含む VL 領域を含む。一実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号 16 のアミノ酸配列を有する VL FR 3 を含む VL 領域を含む。他の実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号 18 のアミノ酸配列を有する VL FR 3 を含む VL 領域を含む。さらなる他の実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号 17 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 を含む VL 領域を含む。

20

【0438】

他の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、VH 領域及び VL 領域を含む抗体を投与することを含み、VH 領域は、(1) 配列番号 19 及び 24 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する VH FR 1、(2) 配列番号 20 のアミノ酸配列を有する VH FR 2、(3) 配列番号 21 及び 23 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する VH FR 3、及び／または (4) 配列番号 22 のアミノ酸配列を有する VH FR 4 を含む、VL 領域は、(1) 配列番号 14 のアミノ酸配列を有する VL FR 1、(2) 配列番号 15 のアミノ酸配列を有する VL FR 2、(3) 配列番号 16 及び 18 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する VL FR 3、及び／または (4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照の VH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照の VL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照の VH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域、ならびに上記参照の VL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。

30

【0439】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、VH 領域及び VL 領域を含む抗体を投与することを含み、VH 領域は、(1) 配列番号 19 のアミノ酸配列を有する VH FR 1、(2) 配列番号 20 のアミノ酸配列を有する VH FR 2、(3) 配列番号 21 のアミノ酸配列を有する VH FR 3、及び／または (4) 配列番号 22 のアミノ酸配列を有する VH FR 4 を含み、VL 領域は、(1) 配列番号 14 のアミノ酸配列を有する VL FR 1、(2) 配列番号 15 のアミノ酸配列を有する VL FR 2、(3) 配列番号 16 のアミノ酸配列を有する VL FR 3、及び／または (4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照の VH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照の VL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照の VH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域、ならびに上記参照の VL FR 1、VL FR 2

40

50

、V L FR 3、及びV L FR 4の4つすべてを含むV L領域を含む。

【0440】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、V H領域及びV L領域を含む抗体を投与することを含み、V H領域は、(1) 配列番号19のアミノ酸配列を有するV H FR 1、(2) 配列番号20のアミノ酸配列を有するV H FR 2、(3) 配列番号21のアミノ酸配列を有するV H FR 3、及び／または(4) 配列番号22のアミノ酸配列を有するV H FR 4を含み、V L領域は、(1) 配列番号14のアミノ酸配列を有するV L FR 1、(2) 配列番号15のアミノ酸配列を有するV L FR 2、(3) 配列番号18のアミノ酸配列を有するV L FR 3、及び／または(4) 配列番号17のアミノ酸配列を有するV L FR 4を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照のV H FR 1、V H FR 2、V H FR 3、及びV H FR 4の4つすべてを含むV H領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照のV L FR 1、V L FR 2、V L FR 3、及びV L FR 4の4つすべてを含むV L領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照のV H FR 1、V H FR 2、V H FR 3、及びV H FR 4の4つすべてを含むV H領域、ならびに上記参照のV L FR 1、V L FR 2、V L FR 3、及びV L FR 4の4つすべてを含むV L領域を含む。

10

【0441】

他の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、V H領域及びV L領域抗体を投与することを含み、V H領域は、(1) 配列番号19のアミノ酸配列を有するV H FR 1、(2) 配列番号20のアミノ酸配列を有するV H FR 2、(3) 配列番号23のアミノ酸配列を有するV H FR 3、及び／または(4) 配列番号22のアミノ酸配列を有するV H FR 4を含み、V L領域は、(1) 配列番号14のアミノ酸配列を有するV L FR 1、(2) 配列番号15のアミノ酸配列を有するV L FR 2、(3) 配列番号16のアミノ酸配列を有するV L FR 3、及び／または(4) 配列番号17のアミノ酸配列を有するV L FR 4を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照のV H FR 1、V H FR 2、V H FR 3、及びV H FR 4の4つすべてを含むV H領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照のV L FR 1、V L FR 2、V L FR 3、及びV L FR 4の4つすべてを含むV L領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照のV H FR 1、V H FR 2、V H FR 3、及びV H FR 4の4つすべてを含むV H領域、ならびに上記参照のV L FR 1、V L FR 2、V L FR 3、及びV L FR 4の4つすべてを含むV L領域を含む。

20

30

【0442】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、V H領域及びV L領域を含む抗体を投与することを含み、V H領域は、(1) 配列番号19のアミノ酸配列を有するV H FR 1、(2) 配列番号20のアミノ酸配列を有するV H FR 2、(3) 配列番号23のアミノ酸配列を有するV H FR 3、及び／または(4) 配列番号22のアミノ酸配列を有するV H FR 4を含み、V L領域は、(1) 配列番号14のアミノ酸配列を有するV L FR 1、(2) 配列番号15のアミノ酸配列を有するV L FR 2、(3) 配列番号18のアミノ酸配列を有するV L FR 3、及び／または(4) 配列番号17のアミノ酸配列を有するV L FR 4を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照のV H FR 1、V H FR 2、V H FR 3、及びV H FR 4の4つすべてを含むV H領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照のV L FR 1、V L FR 2、V L FR 3、及びV L FR 4の4つすべてを含むV L領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照のV H FR 1、V H FR 2、V H FR 3、及びV H FR 4の4つすべてを含むV H領域、ならびに上記参照のV L FR 1、V L FR 2、V L FR 3、及びV L FR 4の4つすべてを含むV L領域を含む。

40

【0443】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、V H領域及びV L領域を含む抗体を投与することを含み、V H領域は、(1) 配列番号24のアミノ酸配列を有するV H FR 1、(2) 配列番号20のアミノ酸配列を有するV H FR 2、(3) 配

50

列番号 21 のアミノ酸配列を有する VH FR 3、及び／または (4) 配列番号 22 のアミノ酸配列を有する VH FR 4 を含み、VL 領域は、(1) 配列番号 14 のアミノ酸配列を有する VL FR 1、(2) 配列番号 15 のアミノ酸配列を有する VL FR 2、(3) 配列番号 16 のアミノ酸配列を有する VL FR 3、及び／または (4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照の VH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照の VL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照の VH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域、ならびに上記参照の VL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。

【0444】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、VH 領域及び VL 領域を含む抗体を投与することを含み、VH 領域は、(1) 配列番号 24 のアミノ酸配列を有する VH FR 1、(2) 配列番号 20 のアミノ酸配列を有する VH FR 2、(3) 配列番号 21 のアミノ酸配列を有する VH FR 3、及び／または (4) 配列番号 22 のアミノ酸配列を有する VH FR 4 を含み、VL 領域は、(1) 配列番号 14 のアミノ酸配列を有する VL FR 1、(2) 配列番号 15 のアミノ酸配列を有する VL FR 2、(3) 配列番号 18 のアミノ酸配列を有する VL FR 3、及び／または (4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照の VH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照の VL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照の VH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域、ならびに上記参照の VL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。

【0445】

他の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、VH 領域及び VL 領域を含む抗体を投与することを含み、VH 領域は、(1) 配列番号 24 のアミノ酸配列を有する VH FR 1、(2) 配列番号 20 のアミノ酸配列を有する VH FR 2、(3) 配列番号 23 のアミノ酸配列を有する VH FR 3、及び／または (4) 配列番号 22 のアミノ酸配列を有する VH FR 4 を含み、VL 領域は、(1) 配列番号 14 のアミノ酸配列を有する VL FR 1、(2) 配列番号 15 のアミノ酸配列を有する VL FR 2、(3) 配列番号 16 のアミノ酸配列を有する VL FR 3、及び／または (4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記参照の VH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照の VL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照の VH FR 1、VH FR 2、VH FR 3、及び VH FR 4 の 4 つすべてを含む VH 領域、ならびに上記参照の VL FR 1、VL FR 2、VL FR 3、及び VL FR 4 の 4 つすべてを含む VL 領域を含む。

【0446】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、VH 領域及び VL 領域を含む抗体を投与することを含み、VH 領域は、(1) 配列番号 24 のアミノ酸配列を有する VH FR 1、(2) 配列番号 20 のアミノ酸配列を有する VH FR 2、(3) 配列番号 23 のアミノ酸配列を有する VH FR 3、及び／または (4) 配列番号 22 のアミノ酸配列を有する VH FR 4 を含み、VL 領域は、(1) 配列番号 14 のアミノ酸配列を有する VL FR 1、(2) 配列番号 15 のアミノ酸配列を有する VL FR 2、(3) 配列番号 18 のアミノ酸配列を有する VL FR 3、及び／または (4) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する VL FR 4 を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、上記

参照の V_H FR 1、V_H FR 2、V_H FR 3、及び V_H FR 4 の 4 つすべてを含む V_H 領域を含む。他の実施形態では、抗体は、上記参照の V_L FR 1、V_L FR 2、V_L FR 3、及び V_L FR 4 の 4 つすべてを含む V_L 領域を含む。さらなる他の実施形態では、抗体は、上記参照の V_H FR 1、V_H FR 2、V_H FR 3、及び V_H FR 4 の 4 つすべてを含む V_H 領域、ならびに上記参照の V_L FR 1、V_L FR 2、V_L FR 3、及び V_L FR 4 の 4 つすべてを含む V_L 領域を含む。

【0447】

本明細書に提供される方法は、ある特定の実施形態では、表 3 及び表 4 に列挙される 1 つ以上（例えば、1、2、3、または 4 つ）の V_H FR 及び 1 つ以上（例えば、1、2、3、または 4 つ）の V_L FR を含む抗体を投与することを含む。特に、いくつかの実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）及び V_L FR 1（配列番号 14）を含む。一実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）及び V_L FR 2（配列番号 15）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）及び V_L FR 3（配列番号 16 または 18）を含む。別の実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）及び V_L FR 4（配列番号 17）を含む。他の実施形態では、抗体は、V_H FR 2（配列番号 20）及び V_L FR 1（配列番号 14）を含む。一実施形態では、抗体は、V_H FR 2（配列番号 20）及び V_L FR 2（配列番号 15）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V_H FR 2（配列番号 20）及び V_L FR 3（配列番号 16 または 18）を含む。別の実施形態では、抗体は、V_H FR 2（配列番号 20）及び V_L FR 4（配列番号 17）を含む。一実施形態では、抗体は、V_H FR 3（配列番号 21）及び V_L FR 1（配列番号 14）を含む。他の実施形態では、抗体は、V_H FR 3（配列番号 21）及び V_L FR 2（配列番号 15）を含む。別の実施形態では、抗体は、V_H FR 3（配列番号 21）及び V_L FR 3（配列番号 16 または 18）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V_H FR 3（配列番号 21）及び V_L FR 4（配列番号 17）を含む。一実施形態では、抗体は、V_H FR 4（配列番号 22）及び V_L FR 1（配列番号 14）を含む。別の実施形態では、抗体は、V_H FR 4（配列番号 22）及び V_L FR 2（配列番号 15）を含む。一実施形態では、抗体は、V_H FR 4（配列番号 22）及び V_L FR 3（配列番号 16 または 18）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V_H FR 4（配列番号 22）及び V_L FR 4（配列番号 17）を含む。別の実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）、V_H FR 2（配列番号 20）、及び V_L FR 1（配列番号 14）を含む。他の実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）、V_H FR 2（配列番号 20）、及び V_L FR 2（配列番号 15）を含む。一実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）、V_H FR 2（配列番号 20）、及び V_L FR 3（配列番号 16 または 18）を含む。別の実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）、V_H FR 2（配列番号 20）、及び V_L FR 4（配列番号 17）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V_H FR 2（配列番号 20）、V_H FR 3（配列番号 21 または 23）、及び V_L FR 1（配列番号 14）を含む。一実施形態では、抗体は、V_H FR 2（配列番号 20）、V_H FR 3（配列番号 21 または 23）、及び V_L FR 2（配列番号 15）を含む。別の実施形態では、抗体は、V_H FR 2（配列番号 20）、V_H FR 3（配列番号 21 または 23）、及び V_L FR 3（配列番号 16 または 18）を含む。他の実施形態では、抗体は、V_H FR 2（配列番号 20）、V_H FR 3（配列番号 21 または 23）、及び V_L FR 4（配列番号 17）を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）、V_L FR 1（配列番号 14）、及び V_L FR 2（配列番号 15）を含む。別の実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）、V_L FR 1（配列番号 14）、及び V_L FR 3（配列番号 16 または 18）を含む。一実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）、V_L FR 1（配列番号 14）、及び V_L FR 4（配列番号 17）を含む。一実施形態では、抗体は、V_H FR 1（配列番号 19 または 24）、V_L FR 2

10

20

30

40

50

50

50

は18)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR3 (配列番号16または18)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21)、VL FR1 (配列番号14)、及びVL FR2 (配列番号15)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21)、VL FR1 (配列番号14)、及びVL FR3 (配列番号16または18)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21)、VL FR1 (配列番号14)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR3 (配列番号16または18)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、及びVL FR2 (配列番号15)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、及びVL FR3 (配列番号16または18)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR3 (配列番号16または18)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、及びVL FR2 (配列番号15)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、及びVL FR3 (配列番号16または18)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR3 (配列番号16または18)を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR3 (配列番号16または18)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR4 (

50

10

20

30

40

50

50

50

50

18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21または23)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR2 (配列番号15)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR2 (配列番号15)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR2 (配列番号15)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR3 (配列番号16または18)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR2 (配列番号15)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR2 (配列番号15)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。別の実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21または23)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR2 (配列番号15)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VH FR2 (配列番号20)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR2 (配列番号15)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。他の実施形態では、抗体は、VH FR1 (配列番号19または24)、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR2 (配列番号15)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。一実施形態では、抗体は、VH FR2 (配列番号20)、VH FR3 (配列番号21または23)、VH FR4 (配列番号22)、VL FR1 (配列番号14)、VL FR2 (配列番号15)、VL FR3 (配列番号16または18)、及びVL FR4 (配列番号17)を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、表3及び表4に列挙されるVH FR (配列番号19～24)及びVL FR (配列番号14～18)のその任意の組み合わせを含む。

【0448】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、VH領域またはVHドメインを含む抗体を投与することを含む。他の実施形態では、抗体は、VL領域またはVLドメインを含む。ある特定の実施形態では、抗体は、(i) VHドメインもしくはVH領域、及び／または(ii) VLドメインもしくはVL領域の組み合わせを有する。方法において有用な抗体の例示的なVH領域、VHドメイン、VL領域、及びVLドメインは、本明細書の他の箇所で示される。いくつかの実施形態では、抗体は、表5及び表6に示されるように、配列番号8～13からなる群から選択される(i) VHドメインもしくはVH領域、及び／または(ii) VLドメインもしくはVL領域の組み合わせを有する。他の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、表5及び表6に示されるように、抗体PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、

またはPD1AB-6のいずれか1つの(i) VHドメインもしくはVH領域、及び／または(ii) VLドメインもしくはVL領域の組み合わせを有する。

【0449】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、(1) 配列番号4のアミノ酸配列を有するVH CDR1、(2) 配列番号5のアミノ酸配列を有するVH CDR2、及び(3) 配列番号6のアミノ酸配列を有するVH CDR3を含むVH領域、ならびに表5に示されるように、配列番号8～10からなる群から選択されるVL領域を含む抗体を投与することを含む。いくつかの実施形態では、VL領域は、配列番号8のアミノ酸配列を有する。他の実施形態では、VL領域は、配列番号9のアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、VL領域は、配列番号10のアミノ酸配列を有する。

10

【0450】

他の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、表6に示されるように、配列番号11～13からなる群から選択されるVH領域、ならびに(1) 配列番号1及び7からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するVL CDR1、(2) 配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2、及び(3) 配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含むVL領域を含む抗体を投与することを含む。他の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、表6に示されるように、配列番号11～13からなる群から選択されるVH領域、ならびに(1) 配列番号1のアミノ酸配列を有するVL CDR1、(2) 配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2、及び(3) 配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含むVL領域を含む抗体を投与することを含む。さらなる他の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、表6に示されるように、配列番号11～13からなる群から選択されるVH領域、ならびにVL領域(1) 配列番号7のアミノ酸配列を有するVL CDR1、(2) 配列番号2のアミノ酸配列を有するVL CDR2、及び(3) 配列番号3のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含むVL領域を含む抗体を投与することを含む。いくつかの実施形態では、VH領域は、配列番号11のアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、VH領域は、配列番号12のアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、VH領域は、配列番号13のアミノ酸配列を有する。

20

【0451】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、PD1AB-1のVH及びVLアミノ酸配列を含む抗体を投与することを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号11のVHアミノ酸配列、及び配列番号8のVLアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、抗体は、PD1AB-2のVH及びVLアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号11のVHアミノ酸配列、及び配列番号9のVLアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、PD1AB-3のVH及びVLアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号12のVHアミノ酸配列、及び配列番号10のVLアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、抗体は、VH及びVLアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号12のVHアミノ酸配列、及び配列番号9のVLアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、PD1AB-5のVH及びVLアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号13のVHアミノ酸配列、及び配列番号9のVLアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、抗体は、PD1AB-6のVH及びVLアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号13のVHアミノ酸配列、及び配列番号8のVLアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、軽鎖及び重鎖を含むPD-1ポリペプチド(例えば、PD-1のECD、例えばヒトPD-1)に特異的に結合する抗体を投与することを含み、軽鎖は、配列番号41のアミノ酸配列を有する定常領域を含む。他の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号36のアミノ酸配列を有するヒトIgG1 Fc領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号36のアミノ酸配列を有するヒトIgG1 Fc領域を含まない。特定の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は

30

40

50

、配列番号 37 のアミノ酸配列を有するヒト I g G 1 - K 3 2 2 A F c 領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号 38 のアミノ酸配列を有するヒト I g G 4 F c 領域を含む。別の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号 39 のアミノ酸配列を有するヒト I g G 4 P F c 領域を含む。さらなる別の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号 40 のアミノ酸配列を有するヒト I g G 4 P E F c 領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号 40 のアミノ酸配列を有するヒト I g G 4 P E F c 領域を含まない。さらなる別の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、軽鎖は、配列番号 41 のアミノ酸配列を有する定常領域を含み、重鎖は、配列番号 36 ~ 40 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する F c 領域を含む。

10

【0452】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、軽鎖及び重鎖を含む抗体を投与することを含み、軽鎖は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号 32 のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号 34 のアミノ酸配列を含む。さらなる別の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、重鎖は、配列番号 35 のアミノ酸配列を含む。1つの特定の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、(i) 軽鎖は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含み、(i i) 重鎖は、配列番号 32 のアミノ酸配列を含む。別の特定の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、(i) 軽鎖は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含み、(i i) 重鎖は、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む。さらなる別の特定の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、(i) 軽鎖は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含み、(i i) 重鎖は、配列番号 34 のアミノ酸配列を含む。さらなる別の特定の実施形態では、抗体は、軽鎖及び重鎖を含み、(i) 軽鎖は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含み、(i i) 重鎖は、配列番号 35 のアミノ酸配列を含む。

20

【0453】

さらなる別の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、本明細書に提供される P D - 1 への結合について例示される抗体または機能的断片の 1つと競合する抗体を投与することを含む。そのような抗体はまた、本明細書に例示される抗体の 1つと同じエピトープ、または重複するエピトープに結合し得る。例示される抗体として同じエピトープと競合するか、またはそれに結合する抗体及び断片は、同様の機能的特性を示すことが予期される。例示される抗原結合タンパク質及び断片は、表 1 ~ 表 6 中のものを含む、V H 及び V L 領域、及び本明細書に提供される C D R を有するものを含む。したがって、特定の例として、本明細書に提供される方法において有用な抗体は、(a) 表 1 及び表 2 に列挙される抗体について列挙される C D R の 1、2、3、4、5、もしくは 6 つすべて、(b) 表 5 及び表 6 に列挙される抗体について列挙される V H 及び V L 領域から選択される V H 及び V L、または (c) 表 5 及び表 6 に列挙される抗体について特定される V H 及び V L を含む 2 つの軽鎖及び 2 つの重鎖を含む抗体と競合するものを含む。いくつかの実施形態では、抗体は、P D 1 A B - 1 である。いくつかの実施形態では、抗体は、P D 1 A B - 2 である。いくつかの実施形態では、抗体は、P D 1 A B - 3 である。いくつかの実施形態では、抗体は、P D 1 A B - 4 である。いくつかの実施形態では、抗体は、P D 1 A B - 5 である。いくつかの実施形態では、抗体は、P D 1 A B - 6 である。

30

40

【0454】

したがって、有効量の抗 P D - 1 抗体を対象に投与することを含む、対象における白斑を治療する方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、抗 P D - 1 抗体は、P D 1 A B - 1、P D 1 A B - 2、P D 1 A B - 3、P D 1 A B - 4、P D 1 A B - 5、または P D 1 A B - 6 である。いくつかの実施形態では、抗 P D - 1 抗体は、P D 1 A B - 1 である。いくつかの実施形態では、抗 P D - 1 抗体は、P D 1 A B - 2 である。いくつかの実施形態では、抗 P D - 1 抗体は、P D 1 A B - 3 である。いくつかの実施形態では、抗 P D - 1 抗体は、P D 1 A B - 4 である。いくつかの実施形態では、抗 P D - 1 抗体は、P D 1 A B - 5 である。いくつかの実施形態では、抗 P D - 1 抗体は、P D 1 A B - 6 である。

50

は、抗PD-1抗体は、PD1AB-4である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-5である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-6である。また、有効量の抗PD-1抗体の抗原結合断片を対象に投与することを含む、対象における白斑を治療する方法が本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、抗原結合断片は、PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、またはPD1AB-6抗体の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-1の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-2の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-3の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-4の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-5の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-6の断片である。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-1のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-1のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-1のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-1のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-2のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-2のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-2のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-2のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-3のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-3のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-3のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-3のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-4のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-4のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-4のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-4のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-5のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-5のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-5のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、及び抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-5のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-6のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-6のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原

結合断片のVLは、PD1AB-6のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-6のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、配列番号8のアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、配列番号13のアミノ酸配列を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、配列番号8のアミノ酸配列を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、配列番号13のアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号37のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域、及び配列番号37のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、ヒトIgG1定常領域を含む。特定の実施形態では、IgG1定常領域は、K322A置換を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-6-K3(PD1AB-6-K322A)を含む。いくつかの実施形態では、対象は、白斑を有する。他の実施形態では、対象は、白斑を有するリスクがある。本明細書に提供される方法のある特定の実施形態では、方法は、対象における白斑の1つ以上の症状の軽減をもたらす。一実施形態では、対象は、その必要がある対象である。

【0455】

また、有効量の抗PD-1抗体を対象に投与することを含む、対象における白斑を管理する方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、またはPD1AB-6である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-1である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-2である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-3である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-4である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-5である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-6である。また、有効量の抗PD-1抗体の抗原結合断片を対象に投与することを含む、対象における白斑を管理する方法が本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、抗原結合断片は、PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、またはPD1AB-6抗体の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-1の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-2の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-3の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-4の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-5の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-6の断片である。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-1のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-1のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-1のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-1のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-2のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態

では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-2のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-2のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-2のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-3のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-3のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-3のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-3のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-4のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-4のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-4のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-4のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-5のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-5のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-5のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、及び抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-5のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-6のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-6のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-6のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-6のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、配列番号8のアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、配列番号13のアミノ酸配列を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、配列番号8のアミノ酸配列を含む、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、配列番号13のアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号37のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域、及び配列番号37のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、ヒトIgG1定常領域を含む。特定の実施形態では、IgG1定常領域は、K322A置換を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-6-K3 (PD1AB-6-K322A) を含む。いくつかの実施形態では

、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-1の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-2の断片である。いくつかの実施形態では、対象は、白斑を有する。他の実施形態では、対象は、白斑を有するリスクがある。本明細書に提供される方法のある特定の実施形態では、方法は、対象における白斑の1つ以上の症状の軽減をもたらす。一実施形態では、対象は、その必要がある対象である。

【0456】

また、有効量の抗PD-1抗体を対象に投与することを含む、対象における白斑を予防する方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、またはPD1AB-6である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-1である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-2である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-3である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-4である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-5である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-6である。また、有効量の抗PD-1抗体の抗原結合断片を対象に投与することを含む、対象における白斑を予防する方法が本明細書に提供される。ある特定の実施形態では、抗原結合断片は、PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、またはPD1AB-6抗体の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-1の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-2の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-3の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-4の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-5の断片である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体断片は、PD1AB-6の断片である。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-1のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-1のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-1のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-1のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-2のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-2のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-2のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-2のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-3のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-3のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-3のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-3のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-4のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-4のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-4のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-4

のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-5のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-5のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-5のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、及び抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-5のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-6のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含む。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-6のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、PD1AB-6のVL CDR1、VL CDR2、及びVL CDR3を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、PD1AB-6のVH CDR1、VH CDR2、及びVH CDR3を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、配列番号8のアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、配列番号13のアミノ酸配列を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVLは、配列番号8のアミノ酸配列を含み、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片のVHは、配列番号13のアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号37のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号41のアミノ酸配列を含む軽鎖定常領域、及び配列番号37のアミノ酸配列を含む重鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び配列番号33のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体は、ヒトIgG1定常領域を含む。特定の実施形態では、IgG1定常領域は、K322A置換を含む。一実施形態では、抗PD-1抗体は、PD1AB-6-K3(PD1AB-6-K322A)を含む。いくつかの実施形態では、対象は、白斑を有する。他の実施形態では、対象は、白斑を有するリスクがある。本明細書に提供される方法のある特定の実施形態では、方法は、対象における白斑の1つ以上の症状の軽減をもたらす。一実施形態では、対象は、その必要がある対象である。

【0457】

さらなる別の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、ヒトPD-1またはカニクイザルPD-1のエピトープを含む領域に結合する本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片を含む。例えば、いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトPD-1のアミノ酸残基33～109を含むヒトPD-1（配列番号42）の領域に結合する。さらなる別の態様では、抗体は、ヒトPD-1の特異的エピトープに結合する。

【0458】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される様々な方法は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内の残基100～109（配列番号43）のうちの少なくとも1つに結合する抗体またはその抗原結合断片を投与することを含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内の100～105（配列番号44）の少なくとも1つに結合する。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される少なくとも1つの残基に

結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のL100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される少なくとも1つの残基に結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される2つ以上の残基に結合する。他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される3つ以上の残基に結合する。ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される4つ以上の残基に結合する。一実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される5つ以上の残基に結合する。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される6つ以上の残基に結合する。さらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される7つ以上の残基に結合する。さらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される8つ以上の残基に結合する。ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群から選択される9つ以上の残基に結合する。他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33、T51、S57、L100、N102、G103、R104、D105、H107、及びS109からなる群の10個すべての残基に結合する。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN33に結合する。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のS57に結合する。1つの特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のL100に結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のN102に結合する。他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のG103に結合する。別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のR104に結合する。さらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のG103及びR104に結合する。さらなる別の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のD105に結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のH107に結合する。ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、PD-1に結合したとき、配列番号42のアミノ酸配列内のS109に結合する。上記参照のアミノ酸PD-1結合部位の2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれ以上の任意の組み合わせ

10

20

30

40

50

はまた企図される。

【0459】

本明細書に提供される様々な方法のいくつかの実施形態では、PD-1結合タンパク質（例えば、本明細書に記載される抗PD-1抗体）は、T細胞過敏性を治療するのに有効な量で投与される。本明細書に提供される様々な方法のいくつかの実施形態では、PD-1結合タンパク質（例えば、本明細書に記載される抗PD-1抗体）は、血清／血漿の炎症誘発性サイトカインの望ましくないまたは異常に高められたレベルを低減するのに有効な量で投与される。本明細書に提供される様々な方法のいくつかの実施形態では、PD-1結合タンパク質（例えば、本明細書に記載される抗PD-1抗体）は、対象におけるPD-1シグナル伝達を活性化するのに有効な量で投与される。

10

【0460】

本明細書に提供される様々な方法のいくつかの実施形態では、PD-1結合タンパク質（例えば、本明細書に記載される抗PD-1抗体）は、対象におけるPD-1発現を下方制御するのに有効な量で投与される。本明細書に提供される様々な方法のいくつかの実施形態では、PD-1結合タンパク質（例えば、本明細書に記載される抗PD-1抗体）は、対象におけるT細胞活性を減弱化するのに有効な量で投与される。いくつかの実施形態では、治療の効果は、（a）T細胞活性を減弱化すること、及び／または（b）PD-1発現を下方制御することによって測定される。ある特定の実施形態では、治療の効果は、T細胞活性を減弱化することによって測定される。他の実施形態では、治療の効果は、PD-1発現を下方制御することによって測定される。いくつかの実施形態では、治療の効果は、（a）T細胞活性を減弱化すること、及び（b）PD-1発現を下方制御することによって測定される。ある特定の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、サイトカインの分泌を阻害することによって測定される。いくつかの実施形態では、サイトカインは、IL-1、IL-2、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22、IL-23、GM-CSF、TNF- α 、IFN- γ 、またはそれらの組み合わせである。一実施形態では、T細胞活性の減弱化は、IL-1の分泌を阻害することによって測定される。いくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、IL-2の分泌を阻害することによって測定される。別の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、IL-6の分泌を阻害することによって測定される。さらなる別の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、IL-12の分泌を阻害することによって測定される。さらなる別の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、IL-17の分泌を阻害することによって測定される。一実施形態では、T細胞活性の減弱化は、IL-22の分泌を阻害することによって測定される。いくつかの実施形態では、T細胞活性の減弱化は、IL-23の分泌を阻害することによって測定される。別の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、GM-CSFの分泌を阻害することによって測定される。さらなる別の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、TNF- α の分泌を阻害することによって測定される。さらなる別の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、IFN- γ の分泌を阻害することによって測定される。ある特定の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、T細胞増殖の阻害によって測定される。いくつかの実施形態では、T細胞増殖の阻害は、CD4+T細胞増殖の阻害である。他の実施形態では、T細胞増殖の阻害は、CD8+T細胞増殖の阻害である。さらなる別の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、T細胞活性化マーカーの下方制御によって測定される。一実施形態では、T細胞活性化マーカーは、CD25である。別の実施形態では、T細胞活性化マーカーは、CD69である。さらなる別の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、制御性T細胞バイオマーカーの上方制御によって測定される。一実施形態では、制御性T細胞バイオマーカーは、Foxp3である。さらなる別の実施形態では、T細胞活性の減弱化は、制御性T細胞数の増加によって測定される。一実施形態では、制御性T細胞は、誘発されたFoxp3+制御性T細胞である。一実施形態では、制御性T細胞は、誘発されたCD25+Foxp3+制御性T細胞である。

20

30

40

【0461】

さらに、抗PD-1抗体またはその断片は、獣医学目的のためまたはヒト疾患の動物モ

50

デルとして、抗体が交差反応するPD-1を発現する非ヒト哺乳動物（例えば、霊長動物）に投与され得る。後者に関して、そのような動物モデルは、本開示の抗体の治療有効性を評価するのに有用であり得る（例えば、投与量及び投与の時間経過を試験する）。

【0462】

本明細書に提供される様々な方法のある特定の実施形態では、治療有効量もしくは予防有効量の抗PD-1抗体またはその抗原結合断片は、対象に投与される。抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量もしくは予防有効量は、1日当たり約0.005～約1,000mg、1日当たり約0.01～約500mg、1日当たり約0.01～約250mg、1日当たり約0.01～約100mg、1日当たり約0.1～約100mg、1日当たり約0.5～約100mg、1日当たり約1～約100mg、1日当たり約0.01～約50mg、1日当たり約0.1～約50mg、1日当たり約0.5～約50mg、1日当たり約1～約50mg、1日当たり約0.02～約25mg、または1日当たり約0.05～約10mgである。

10

【0463】

ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量もしくは予防有効量は、1日当たり約0.1、約0.2、約0.5、約1、約2、約5、約10、約15、約20、約25、約30、約40、約45、約50、約60、約70、約80、約90、約100、または約150mgである。

【0464】

一実施形態では、本明細書に記載の状態についての抗PD-1抗体またはその抗原結合断片の推奨される1日用量範囲は、1日当たり約0.5mg～約50mgの範囲であり、好ましくは単一の1日1回用量として、または1日を通して分割用量で与えられる。いくつかの実施形態では、投与量は、1日当たり約1mg～約50mgの範囲に及ぶ。他の実施形態では、投与量は、1日当たり約0.5～約5mgの範囲に及ぶ。1日当たりの特定の用量には、1日当たり0.1、0.2、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または50mgを含む。

20

【0465】

特定の実施形態では、推奨される開始投与量は、1日当たり0.1、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、または50mgであり得る。別の実施形態では、推奨される開始投与量は、1日当たり0.5、1、2、3、4、または5mgであり得る。投与量は、15、20、25、30、35、40、45、及び50mg/日まで増量され得る。

30

【0466】

ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、約0.001～約100mg/kg/日、約0.01～約50mg/kg/日、約0.01～約25mg/kg/日、約0.01～約10mg/kg/日、約0.01～約9mg/kg/日、0.01～約8mg/kg/日、約0.01～約7mg/kg/日、約0.01～約6mg/kg/日、約0.01～約5mg/kg/日、約0.01～約4mg/kg/日、約0.01～約3mg/kg/日、約0.01～約2mg/kg/日、または約0.01～約1mg/kg/日である。

40

【0467】

投与された用量はまた、mg/kg/日以外の単位で表され得る。例えば、非経口投与のための投与量は、mg/m²/日として表され得る。当業者であれば、所与の対象の身長もしくは体重のいずれかまたはそれらの両方に対する投与量をmg/kg/日からmg/m²/日に変換する方法を容易に理解し得る（www.fda.gov/cder/cancer/animal/frame.htmを参照されたい）。例えば、65kgのヒトに対する1mg/kg/日の投与量は、38mg/m²/日とほぼ同等である。

50

【0468】

ある特定の実施形態では、投与される抗PD-1抗体またはその抗原結合断片の量は、約0.001～約500 μ M、約0.002～約200 μ M、約0.005～約100 μ M、約0.01～約50 μ M、約1～約50 μ M、約0.02～約25 μ M、約0.05～約20 μ M、約0.1～約20 μ M、約0.5～約20 μ M、または約1～約20 μ Mの範囲に及ぶ、抗体の定常状態での血漿濃度を提供するのに十分である。

【0469】

他の実施形態では、投与される抗PD-1抗体またはその抗原結合断片の量は、約5～約100nM、約5～約50nM、約10～約100nM、約10～約50nM、または約50～約100nMの範囲に及ぶ、抗体の定常状態での血漿濃度を提供するのに十分である。

10

【0470】

本明細書で使用される場合、用語「定常状態での血漿濃度」は、本明細書に提供される抗PD-1抗体またはその抗原結合断片、例えば、PD1AB-6-K3の投与期間後に到達される濃度である。定常状態に達すると、抗体の血漿濃度の時間依存曲線上に微小ピーク及びトラフが存在する。

【0471】

ある特定の実施形態では、投与される抗PD-1抗体またはその抗原結合断片の量は、約0.001～約500 μ M、約0.002～約200 μ M、約0.005～約100 μ M、約0.01～約50 μ M、約1～約50 μ M、約0.02～約25 μ M、約0.05～約20 μ M、約0.1～約20 μ M、約0.5～約20 μ M、または約1～約20 μ Mの範囲に及ぶ、抗体の最大血漿濃度（ピーク濃度）を提供するのに十分である。

20

【0472】

特定の実施形態では、投与される抗PD-1抗体またはその抗原結合断片の量は、約0.001～約500 μ M、約0.002～約200 μ M、約0.005～約100 μ M、約0.01～約50 μ M、約1～約50 μ M、約0.01～約25 μ M、約0.01～約20 μ M、約0.02～約20 μ M、約0.02～約20 μ M、または約0.01～約20 μ Mの範囲に及ぶ、抗体の最小血漿濃度（トラフ濃度）を提供するのに十分である。

【0473】

ある特定の実施形態では、投与される抗PD-1抗体またはその抗原結合断片の量は、約100～約100,000ng $\cdot$ hr/mL、約1,000～約50,000ng $\cdot$ hr/mL、約5,000～約25,000ng $\cdot$ hr/mL、または約5,000～約10,000ng $\cdot$ hr/mLの範囲に及ぶ、抗体の曲線下面積（AUC）を提供するのに十分である。

30

【0474】

本明細書に提供される抗PD-1抗体またはその抗原結合断片、例えば、PD1AB-6-K3は、1日1回（QD）投与され得るか、または1日2回（BID）、1日3回（TID）、及び1日4回（QID）等の複数の1日投与量に分割され得る。加えて、投与は、連続して（すなわち、連続した日にわたって毎日、または毎日）、間欠的に、例えば、サイクルで（すなわち、数日間、数週間、または数ヶ月の休薬期間を含む）あり得る。本明細書で使用される場合、用語「毎日」は、PD1AB-6-K3などの治療的抗体が、例えば、ある期間にわたって、1日1回または1回超投与されることを意味するよう意図されている。用語「連続」は、PD1AB-6-K3などの治療的抗体が、少なくとも10日間～52週間の中断なしの期間にわたって毎日投与されることを意味するよう意図されている。本明細書において使用される場合、用語「間欠的」または「間欠的に」は、規則的間隔または不規則な間隔のいずれかで、停止及び開始することを意味することが意図されている。例えば、PD1AB-6-K3などの抗体の間欠的投与は、週に1～6日間の投与、サイクル投与（例えば、連続した2～8週間にわたって連日投与、その後、最大1週間の投与なしの休止期間）、または隔日投与である。本明細書において使用される場合、用語「サイクル」は、PD1AB-6-K3などの治療的抗体が、毎日または連続

40

50

して投与されるが、休止期間を伴うことを意味するよう意図されている。

【0475】

いくつかの実施形態では、投与頻度は、約1日投与量から約1月投与量までの範囲である。ある特定の実施形態では、投与は、1日1回、1日2回、1日3回、1日4回、隔日1回、週2回、週1回、2週間毎に1回、3週間毎に1回、または4週間毎に1回である。一実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、1日1回投与される。別の実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、1日2回投与される。さらなる別の実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、1日3回投与される。さらなる別の実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、1日4回投与される。

【0476】

ある特定の実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗PD-1抗体は、1日～6ヶ月間、1週間～3ヶ月間、1週間～4週間、1週間～3週間、または1週間～2週間にわたって1日1回投与される。ある特定の実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、1週間、2週間、3週間、または4週間にわたって1日1回投与される。一実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、1週間にわたって1日1回投与される。別の実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、2週間にわたって1日1回投与される。さらなる別の実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、3週間にわたって1日1回投与される。さらなる別の実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、4週間にわたって1日1回投与される。

【0477】

いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、約0.001～約50mg/kg、約0.01～約50mg/kg、約0.01～約25mg/kg、約0.01～約10mg/kg、約0.01～約9mg/kg、約0.01～約8mg/kg、約0.01～約7mg/kg、約0.01～約6mg/kg、約0.01～約5mg/kg、約0.01～約4mg/kg、約0.01～約3mg/kg、約0.01～約2mg/kg、または約0.01～約1mg/kgである。ある特定の実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、約0.001、約0.003、約0.005、約0.01、約0.03、約0.05、約0.1、約0.3、約0.5、約1、約3、約5、約10、約30、または約50mg/kgである。一実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、0.001mg/kgである。一実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、0.01mg/kgである。一実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、0.1mg/kgある。別の実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、0.3mg/kgある。別の実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、0.5mg/kgである。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、1mg/kgである。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、3mg/kgである。一実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、5mg/kgである。別の実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、10mg/kgである。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、30mg/kgである。さらなる別の実施形態では、抗PD-1抗体もしくはその抗原結合断片の治療有効量または予防有効量は、50mg/kgである。

【0478】

いくつかの実施形態では、投与頻度は、週1回、2週間毎に1回、3週間毎に1回、または4週間毎に1回である。一実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、週1回投与される。別の実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、2週間毎に1回投与される。さらなる別の実施形態では、PD1AB-6-K3などの抗体は、3週間毎

10

20

30

40

50

治療される疾患及び対象の状態に応じて、本明細書に提供される抗体、例えば、PD1 AB-6-K3は、非経口（例えば、筋肉内、腹腔内、静脈内、持続静脈内、嚢内注射もしくは注入、皮下注射、または埋植）、吸入、鼻腔内、膈内、直腸、舌下、または局部（例えば、経皮もしくは局所）投与経路により投与され得る。一実施形態では、投与経路は、皮下注射である。別の実施形態では、投与経路は、静脈内である。さらなる別の実施形態では、投与経路は、筋肉内である。さらなる別の実施形態では、投与経路は、腹腔内である。一実施形態では、投与経路は、持続静脈内である。別の実施形態では、投与経路は、嚢内注射もしくは注入である。さらなる別の実施形態では、投与経路は、埋植である。さらなる別の実施形態では、投与経路は、吸入である。一実施形態では、投与経路は、鼻腔内である。別の実施形態では、投与経路は、直腸である。さらなる別の実施形態では、投与経路は、舌下である。さらなる別の実施形態では、投与経路は、経皮である。本明細書に提供される任意の抗PD-1抗体、例えば、PD1 AB-6-K3は、単独で、または好適な投薬単位で各投与経路に適切な薬学的に許容される賦形剤、担体、アジュバント、及びビヒクルと一緒に製剤化され得る。

10

【0484】

本明細書に提供される様々な方法のいくつかの実施形態では、方法は、治療有効量の第2の活性薬剤を投与すること、または支持療法をさらに含む。第2の活性薬剤は、大分子（例えば、タンパク質）または小分子（例えば、合成無機、有機金属、もしくは有機分子）であり得る。いくつかの実施形態では、第2の活性薬剤は、本明細書に提供される抗体の投与に関連する有害作用を緩和することができる小分子である。しかしながら、いくつかの大分子と同様に、多くは、（例えば、その投与前、その投与後、またはその投与と同時に）本明細書に提供される抗体と（例えば、前、後、または同時に）投与される場合、相乗効果を提供できると考えられる。小分子の第2の活性薬剤の例としては、抗がん剤、抗炎症剤、免疫抑制剤、及びステロイドが挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0485】

4. 5 薬学的組成物

1つの態様では、本開示は、本開示の少なくとも1つの抗PD-1抗体を含む本明細書に提供される様々な方法における使用のための薬学的組成物をさらに記載する。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、1) 抗PD-1抗体、及び2) 薬学的に許容可能な担体を含む。

30

【0486】

抗体を含む薬学的組成物は、所望の純度を有する抗体を、水性溶液または凍結乾燥もしくはその他の乾燥製剤の形で、任意選択的な生理的に許容される担体、賦形剤、または安定剤（例えば、Remington, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1980) を参照されたい）と混合することによって、貯蔵のために調製される。

【0487】

本開示の抗体は、標的細胞／組織への送達のために任意の適切な形、例えば、マイクロカプセルもしくはマクロエマルジョン（Remington (上記参照)、Park et al., 2005, Molecules 10:146-61、Malik et al., 2007, Curr. Drug. Deliv. 4:141-51）として、徐放性製剤として（Putney and Burke, 1998, Nature Biotechnol. 16:153-57）、またはリポソーム中に（Maclean et al., 1997, Int. J. Oncol. 11:325-32、Kontermann, 2006, Curr. Opin. Mol. Ther. 8:39-45）調製され得る。

40

【0488】

本明細書に提供される抗体はまた、例えば、コアセルベーション技術によって、または界面重合によって調製されたマイクロカプセル、例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセ

50

ルロースまたはゼラチン-マイクロカプセル及びポリ-（メチルメタクリレート）マイクロカプセル中に、コロイド薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、及びナノカプセル）中に、あるいはマクロエマルジョン中に、封入され得る。そのような技術は、例えば、Remington（上記参照）に開示されている。

【0489】

様々な組成物及び送達系は既知であり、これらに限定されないが、リポソーム中のカプセル封入、微小粒子、マイクロカプセル、抗体を発現することができる組み換え細胞、受容体媒介エンドサイトーシス（例えば、Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-32を参照されたい）、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構造等を含む、本明細書に記載のPD-1に結合する抗体とともに使用され得る。別の実施形態では、組成物は、制御放出系または持続放出系として提供され得る。一実施形態では、ポンプは、制御放出または持続放出を達成するために使用され得る（例えば、Langer（上記参照）、Sefton, 1987, Crit. Rev. Biomed. Eng. 14:201-40、Buchwald et al., 1980, Surgery 88:507-16、及びSaudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321:569-74を参照されたい）。別の実施形態では、ポリマー物質は、予防薬剤もしくは治療薬剤（例えば、本明細書に記載されるPD-1に結合する抗体）、または本発明の組成物（例えば、Medical Applications of Controlled Release (Langer and Wise eds., 1974)、Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen and Ball eds., 1984)、Ranger and Peppas, 1983, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61-126、Levy et al., 1985, Science 228:190-92、During et al., 1989, Ann. Neurol. 25:351-56、Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71:105-12、米国特許第5,679,377号、第5,916,597号、第5,912,015号、第5,989,463号、及び第5,128,326号、PCT公開第WO99/15154号、ならびに第WO99/20253号を参照されたい）の制御放出または持続放出を達成するために使用され得る。持続放出製剤中で使用されるポリマーの例としては、これらに限定されないが、ポリ（2-ヒドロキシエチルメタクリレート）、ポリ（メチルメタクリレート）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（エチレン-*c o*-酢酸ビニル）、ポリ（メタクリル酸）、ポリグリコリド（PLG）、ポリアンハイドライド、ポリ（N-ビニルピロリドン）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリアクリルアミド、ポリ（エチレングリコール）、ポリラクチド（PLA）、ポリ（ラクチド-*c o*-グリコリド）（PLGA）、及びポリオルトエステルが挙げられる。一実施形態では、持続放出製剤中で使用されるポリマーは、不活性、浸出性不純物を含まない、貯蔵上安定した、無菌、及び生物分解性である。

【0490】

さらなる別の実施形態では、制御放出系または持続放出系は、特定の標的組織、例えば、鼻腔または肺に近接して配置され得、それ故に、全身用量のほんの一画分を必要とし得る（例えば、Goodson, Medical Applications of Controlled Release Vol. 2, 115-38（1984）を参照されたい）。制御放出系は、例えば、Langer, 1990, Science 249:1527-33によって議論されている。当業者に既知の任意の技術は、本明細書に記載されるように、PD-1に結合する1つ以上の抗体を含む持続放出製剤を生成するために使用され得る（例えば、米国特許第4,526,938号、PCT公開第WO91/05548及びWO96/20698、Ning et al., 1996, Radiotherapy & Oncology 39:179-89、Song et al., 199

10

20

30

40

50

5, PDA J. of Pharma. Sci. & Tech. 50:372-97, Cleeke et al., 1997, Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-54、ならびに Lam et al., 1997, Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759-60を参照されたい)。

【0491】

別途定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術及び科学用語は、本発明が属する当業者により一般に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと同様または同等の方法及び材料が本発明の実施または試験で使用され得るが、好適な方法及び材料が本明細書に記載される。

【0492】

本明細書で示されるすべての出願、出版物、特許、及び他の参考文献、GenBankの引用、ならびにATCCの引用は、それらの全体において参照により組み込まれる。矛盾する場合には、定義を含めて、明細書が優先する。

【0493】

本明細書で使用される場合、単数形「a」「and」、及び「the」は、文脈上そうではないという指示がない限り、複数の指示対象を含む。したがって、例えば、「ペプチド配列」は、複数のそのような配列などを含む。

【0494】

本明細書で使用される場合、多数の値は、この文書を通して範囲形式でしばしば表される。範囲形式の使用は、単に便宜及び簡潔さのためのものであり、文脈上そうではないという指示がない限り、本発明の範囲の柔軟性のない制限として解釈されるべきでない。したがって、範囲の使用は、文脈上そうではないという指示がない限り、そのような範囲内の整数及び値の端数または範囲内の整数を含む、すべての可能な部分範囲、範囲内のすべての個々の多数の値、及びすべての多数の値または多数の範囲を明確に含む。この解釈は、範囲の幅に関わらず、この特許文書を通してすべての文脈において適用する。したがって、例えば、90～100%の範囲の参照は、91～99%、92～98%、93～95%、91～98%、91～97%、91～96%、91～95%、91～94%、91～93%などを含む。90～100%の範囲の参照はまた、91%、92%、93%、94%、95%、95%、97%等、ならびに91.1%、91.2%、91.3%、91.4%、91.5%等、92.1%、92.2%、92.3%、92.4%、92.5%等などを含む。

【0495】

さらに、1～3、3～5、5～10、10～20、20～30、30～40、40～50、50～60、60～70、70～80、80～90、90～100、100～110、110～120、120～130、130～140、140～150、150～160、160～170、170～180、180～190、190～200、200～225、225～250の範囲の参照は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20等を含む。さらなる例では、25～250、250～500、500～1,000、1,000～2,500、2,500～5,000、5,000～25,000、25,000～50,000の範囲の参照は、そのような値、例えば、25、26、27、28、29…250、251、252、253、254…500、501、502、503、504…等以内のまたはそれらを包含する任意の多数の値もしくは範囲を含む。

【0496】

本明細書で使用される場合、一連の範囲は、この文書を通して開示されている。一連の範囲の使用は、別の範囲を提供するために上限及び下限の組み合わせを含む。この解釈は、範囲の幅に関わらず、この特許文書を通してすべての文脈において適用する。したがって、例えば、5～10、10～20、20～30、30～40、40～50、50～75、75～100、100～150などの一連の範囲の参照は、5～20、5～30、5～

10

20

30

40

50

40、5～50、5～75、5～100、5～150、及び10～30、10～40、10～50、10～75、10～100、10～150、及び20～40、20～50、20～75、20～100、20～150などの範囲を含む。

【0497】

簡潔さのために、ある特定の略語が本明細書で使用される。1つの例は、アミノ酸残基を表すための1文字略語である。アミノ酸及びそれらの対応する3文字及び1文字略語は、以下の通りである：

【表10】

アラニン	A l a	(A)	10
アルギニン	A r g	(R)	
アスパラギン	A s n	(N)	
アスパラギン酸	A s p	(D)	
システイン	C y s	(C)	
グルタミン酸	G l u	(E)	
グルタミン	G l n	(Q)	
グリシン	G l y	(G)	
ヒスチジン	H i s	(H)	
イソロイシン	I l e	(I)	
ロイシン	L e u	(L)	20
リジン	L y s	(K)	
メチオニン	M e t	(M)	
フェニルアラニン	P h e	(F)	
プロリン	P r o	(P)	
セリン	S e r	(S)	
トレオニン	T h r	(T)	
トリプトファン	T r p	(W)	
チロシン	T y r	(Y)	
バリン	V a l	(V)	

【0498】

本発明は、概して、多数の実施形態を記載するために肯定的な言語を使用して本明細書に開示される。本発明はまた、物質 (substances) または物質 (materials)、方法のステップ及び条件、プロトコル、手順、アッセイまたは分析など、全部または一部において、特定の主題が除外される実施形態を特に含む。したがって、本発明は、概して、本発明が含まないことに関して本明細書に表現されていないが、本発明に明確に含まれていない態様は、言うまでもなく本明細書に開示されている。

【0499】

本発明のいくつかの実施形態が説明されている。言うまでもなく、本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく、多様な修正がなされ得ることが理解される。したがって、以下の実施例は、請求項に記載される本発明の範囲を例示するために意図されるが、それを制限するものではない。

【実施例】

【0500】

この項 (すなわち、5項) の実施例は、限定するものではなく、例証として提供されている。

【0501】

10

20

30

40

50

5. 1 実施例 1：抗 PD-1 抗体の生成

5. 1. 1 抗 PD-1 抗体の生成

親 PD-1-IgG1 mAb は、ヒト PD-1 細胞外ドメイン (ECD) 抗原または CHO-hPD-1 トランスフェクト細胞を使用して、マウス免疫化方法によって最初に生成された。ハイブリドーマプールの最初の特徴付けは、可溶性抗原に対して、Biacore (登録商標) によって測定された K_D 約 6 nM を有する抗ヒト PD-1、PD-L1 非ブロッキング及び PD-L2 非ブロッキング抗体 (データには示されていない) を産生する PD1Sub1 を設計したサブクローンを特定した。PD1Sub1 ハイブリドーマのマウス V_H 及び V_L 遺伝子は、最も近い J 領域 (それぞれ、IgH J6 及び Igκ J2) を利用する最も同種のヒト V_H 及び V_L フレームワーク遺伝子 (それぞれ、IgH 1-f 及び Vκ 4-1) のヒト γ 1 及び κ 定常領域へのヒト CDR グラフティングのために配列及び使用された。ヒト生殖細胞系 HG1 V_H 及び V_L 領域についてのみ、マウス CDR3 セグメントは、ヒト V_H 及び V_L フレームワーク生殖細胞遺伝子、それぞれ、IgH 1-f 及び Vκ 4-1 に入れられた。

【0502】

安定した AID (活性化誘導性デアミナーゼ) を有する Deciduous (商標) 構築物中に CDR グラフティングまたは生殖細胞系 HG1 抗体のいずれかを発現する安定した HEK-293c18 細胞株は、SHM-XEL (商標) 親和性成熟プラットフォーム (AnaptysBio, San Diego, CA) における使用のために生成された。抗体可変ドメインにおける遺伝子多様性のインサイトの生成は、親抗体のより高い親和性バリエーションを発現する細胞をもたらした。これらは、単量体または二量体 hPD-1 を使用してフローサイトメトリーによって単離された。親和性精製及び選択の複数のラウンドは、6 のコリドー及び 45 のクローンを産出した。追加の「インシリコでの SHM」イベントに加えて、これらのクローンのサンガー及びディープ配列決定は、変異を V_H 及び V_L CDR に富化することを組み込む部位指向性変異誘発のラウンドをもたらした。最も高い親和性結合である 12 の変異タンパク質は、PD-1 への結合動態、及び CHO 細胞の表面に発現された完全長 PD-1 への結合について、生化学的、生物物理学的にさらに特徴付けられた。精製された抗体の機能的な特徴付けは、2 つのアッセイ：細胞表面 PD-1 への結合についての PD-L1 の競合、及び活性化されたヒト CD4+T 細胞の再活性化の IL-2 産生における阻害活性で行われた。

【0503】

これらの方法に基づいて、抗 PD-1 抗体 PD1AB-1、PD1AB-2、PD1AB-3、PD1AB-4、PD1AB-5、または PD1AB-6 は、表 9 に示されるように生成された。

表 9. 抗 PD-1 抗体の特徴付け

【表 1 1】

抗体 ID	HC/LC T OPO ベクタ ー ID	CDR グラフ テ ィ ン グ HG 1 HC/LC 変 異	K _D (Biac ore) K _D (KinE xA)	PD-L1 競合 (IC ₅₀)	CD4 ⁺ T細胞 IL-2阻害 (EC ₅₀)
PD1AB-1	3015/30 17	親/親	5 nM (n = 4) 575 pM (n =2)	>100 nM (n = 4)	22+4 nM (n =5)
PD1AB-2	3015/31 93	親/生殖細胞系	5 nM (n = 2) 425 pM (n =1)	>100 nM (n = 2)	27+4 nM (n =3)
PD1AB-3	3653/36 46	D76N/S77N	7 nM (n = 2) 350 pM (n =1)	>100 nM (n = 1)	21 nM (n = 1)
PD1AB-4	3653/31 93	D76N/生殖細胞系	6 nM (n = 2) 500 pM (n =1)	>100 nM (n = 1)	23 nM (n = 1)
PD1AB-5	3650/31 93	V24A/生殖細胞系	6 nM (n = 2) 400 pM (n =1)	>100 nM (n = 1)	15 nM (n = 1)
PD1AB-6	3650/30 17	V24A/親	6 nM (n = 2) 450 pM (n =1)	>100 nM (n = 1)	16+3 nM (n =3)

【0504】

5. 1. 2 ヒト PBMC または ヒト 全血 における CD4 + 再活性化 アッセイ

PD-1 発現は、37℃で48時間のPHA活性化で白血球低減系 (LRS) から単離されたヒト PBMC 上で誘発された。CD4 + T 細胞は、CD4 単離キット (Miltenyi Biotec, San Diego, CA) を使用して PBMC から単離され、固定化された抗 CD3 または抗 CD3 と滴定された抗 PD-1 または hIgG1 アイソタイプ対照抗体とともに96ウェルプレート上に再播種された。上清は、IL-2、IFN-γ、及び IL-17 サイトカイン測定のために24時間及び48時間で収集された。6つの抗 PD-1 クローンすべては、表 10 に支援されるように、IL-2 については20~36 nM、IFN-γ については34~58 nM、及び IL-17 については27~41 nM の範囲に及ぶ、同様の阻害 EC₅₀ を示した。

表 10. PBMC 再活性化 アッセイ における 6 つの リード 抗体 の 活性 を 減弱 化する T 細胞 の 比較

【表 1 2】

	nM	PD1AB-1	PD1AB-3	PD1AB-2	PD1AB-4	PD1AB-5	PD1AB-6	hIgG1
IL-2	EC ₅₀	21+9	24+5	24+8	20+7	36+11	24+7	>133
	EC ₇₅	40+9	46+9	42+9	39+8	58+18	33+5	
	nM	(n=6)	(n=2)	(n=6)	(n=6)	(n=2)	(n=6)	
IFN- γ	EC ₅₀	46+21	ND	58+14	34+21	ND	36+22	>133
	EC ₇₅	85+31		91+29	64+29		67+30	
	nM	(n=3)		(n=3)	(n=3)		(n=3)	
IL-1 7	EC ₅₀	41+9	ND	36+12	27+11	ND	37+11	>133
	EC ₇₅	65+9		59+10	52+11		56+13	
	nM	(n=5)		(n=5)	(n=5)		(n=5)	

10

20

【0505】

次いで、特異性T細胞機能の障害は、ヒト全血マトリックスにおいて評価された。新たに抜き取られた、ヘパリン化されたヒト血液は、抗CD3または抗CD3と滴定された抗PD-1またはhIgG1アイソタイプ対照抗体のいずれかとともに固定化されたウェル上に播種された。24時間及び48時間で収集された血漿は、IL-2（24時間）及びIFN-γ/IL-17（48時間）について測定された。3つの他の試験された抗体クローンと比較して、PD1AB-6は、表11に示されるように、特定のIL-2（EC₅₀ 4.0+0.9 nM、n=4）、IFN-γ（EC₅₀ 4.1+2.2 nM、n=2）及びIL-17（EC₅₀ 3.6+1.2 nM、n=3）障害において2～3倍増加した有効性を示した。

30

表11. 全血アッセイにおける4つのリード分子の活性を減弱化するT細胞の比較

【表 1 3】

EC ₅₀ nM		PD1AB-1	PD1AB-2	PD1AB-4	PD1AB-6	hIgG1
IL-2	Hu (n=4)	8.3+2.7	8.4+1.1	10.2+2.0	4.0+0.9	>133
hIFN- γ	Hu (n=2)	5.9+0.8	7.6+0.9	9.2+1.3	4.1+2.2	>133
hIL-1 7	Hu (n=3)	7.2+1.3	8.9+2.3	9.9+3.7	3.6+1.2	>133

40

【0506】

5. 1. 3細胞系リガンド結合アッセイ

リガンド競合を評価するために、細胞結合アッセイが導入され、特定された6つの抗体

50

クローンを評価した。簡潔には、100 nM～100 pMの片対数濃度での個々の抗体クローンは、ヒトPD-1-CHO細胞（ 2×10^5 細胞）に追加する前に、氷上で45分間、10 nMのDyL650-PD-L1と予混合された。次いで、細胞は、DyL650-PD-L1結合がBD FACSArray（商標）上で分析される前に洗浄され、アイソタイプ抗体に対する平均蛍光強度は、各濃度でプロットされた。図1A及び図1Bに示されるように、PD1AB-6、ならびに親クローンPD1AB-1を含む他の5つのクローンは、最大100 nMまでDyL650-PD-L1結合に対する著しい競合は示さなかった。対照的に、MDX 4H1（AnaptysBio, San Diego, CA）、アンタゴニスト、リガンドブロッキング、PD-1抗体は、標識されたPD-L1結合を用量依存的にブロックし、結合EC₅₀約5～10 nMを生成した。

10

【0507】

5. 1. 4 エピトープマッピング

PD-1 エピトープは、ヒトPD-1細胞外ドメインと複合したPD1AB-6 Fabの結晶構造を1.8 Åの解像度まで解くことによって測定された。PD-1：PD1AB-6 Fab相互作用部位は、PD-1：PD-L1相互作用部位（図2）に対してPD-1の遠位側で生じ、PD-L1及びPD1AB-6がPD-1結合について競合しないという結果と一致する。PD1AB-6 Fabは、PD-1 βシートに対して結合し、PD-1ループで形成される実質的な相互作用が残基100～105から構成される（図3）。PD-1上のR104は、Fab CDR H1上の残基との複数の極性相互作用を結合する。隣接する残基G103はまた、Fabとの密接な極性相互作用を作る。R104及びG103の両方は、マウスPD-1（それぞれ、ヒスチジン及びアルギニンへの）において変異され、PD1AB-6のマウスPD-1への結合の欠如について構造理論的根拠を提供する。PD-1と相互作用するPD1AB-6 Fab領域は、CDR H1、H2、H3、L1、及びL2である。PD-1：PD1AB-6 Fab相互作用の原子の詳細は、表12に記載される。PD-1 エピトープと相互作用するHC及びLC残基が記載される。略語は以下の通りである：HB－水素結合、HYD－疎水性相互作用、ION－イオン性相互作用。

20

表12. PD1AB-6：PD-1相互作用の原子の詳細

【表14】

種類	鎖	位置	鎖	位置
HB	PD-1	ASN33.Nδ2	H	ALA71.O
HB	PD-1	THR51.Oγ1	L	SER50.O
HB	PD-1	SER57.Oγ	H	ASP69.Oδ2
HYD	PD-1	LEU100.Cδ1	L	PHE55.Cζ
HYD	PD-1	LEU100.Cδ1	L	LEU115.CD1
HB	PD-1	ASN102.Nδ2	L	TYR114.O
HB	PD-1	ASN102.Oδ1	L	SER117.N
HB	PD-1	ASN102.O	H	TYR50.Oη
HB	PD-1	GLY103.O	H	TYR126.Oη
HB	PD-1	ARG104.Nη2	H	LYS47.O
HB	PD-1	ARG104.Nη1	H	ASP48.O
HB	PD-1	ARG104.Nη2	H	ASP69.Oδ1
ION	PD-1	ARG104.Nη2	H	ASP69.Oδ1
HB	PD-1	ASP105.Oδ1	H	SER125.Oγ
HB	PD-1	HIS107.Nδ1	L	SER50.Oγ
HB	PD-1	SER109.Oγ	L	SER50.O

30

40

【0508】

5. 1. 5 PD1AB-6のバリエーションの生成

PD1AB-6 IgG1抗体（PD1AB-6-IgG1）及びFc修飾IgG4 PE抗体（PD1AB-6-4PE）が生成された。PD1AB-6-4PEは、著しくより低いFc媒介エフェクター機能を有するように設計された。CH領域であるγ4は、2つの非標準アミノ酸置換、S228P及びL235E（EU番号付けシステム、Kabata and Wu 1991）を含む。IgG4のヒンジにおける共通のアミノ酸の種類

50

であるセリン228は、IgG4においてより一般的に観察されないアミノ酸の種類及びIgG1において高度に保存されたアミノ酸である、プロリンに変化された。この変化は、IgG4サブクラス抗体の産生において一般的に観察される「半抗体」のレベルを著しく低減した。Fcγ受容体との重鎖の相互作用に含まれる重要なアミノ酸の1つであるロイシン235は、グルタミン酸に変化された。L235E置換は、γ4鎖のFcγRへの相互作用を著しく低減し、PD-1発現正常細胞のADCC及びFc受容体媒介排除を排除した。加えて、γ4重鎖による補体結合の固有の欠如は、CDC機能を欠くPD1AB-6-4PE分子を与える。2つの他のバリエーションは、低減されたCDCについてC1qへの結合親和性を最小化するために生成された(図4)。PD1AB-6-K3を生成するために、リジン322は、PD1AB-6-IgG1においてアラニンで置換された。K322A置換は、ヒトIgG1 Fcを有するキメラ抗体であるリツキシマブ上でC1q結合を抑制すると報告される(Indusogie et al., 2000, J. Immunol. 164(8):4178-84)。PD1AB-6-4Pは、PD1AB-6-IgG1のFc骨格をS228P置換を有するIgG4のFc骨格に変換することによって生成された。IgG4のヒンジにおける共通のアミノ酸の種類であるセリン228は、IgG4においてより一般的に観察されないアミノ酸の種類及びIgG1において高度に保存されたアミノ酸である、プロリンに変化された。この変化は、IgG4サブクラス抗体の産生において頻繁に観察される「半抗体」のレベルを著しく低減した。IgG4抗体は、減弱化されたADCC及びCDC機能を有することが報告される(Overdijk et al., 2012, J. Immunol. 189(7):3430-38)。すべての変化は、可変領域内での変化を伴わないCH領域で作られた。PD1AB-6-IgG1の重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列は、それぞれ、標識されたLC_PD1AB-6-IgG1及びHC_PD1AB-6-IgG1である(図4)。2つの重鎖バリエーションは、HC_PD1AB-6-IgG1-K322A及びHC_PD1AB-6-IgG4Pを含む。軽鎖LC_PD1AB-6-IgG1は、3つの個々の重鎖と対になる、それぞれ、PD1AB-6-IgG1、PD1AB-6-K3、及びPD1AB-6-4Pを生成する。

【0509】

5. 1. 6-過性トランスフェクションからの細胞株開発及び抗体製造

5. 1. 6. 1重鎖及び軽鎖の分子クローニング

IgG LC発現ベクターpFUSE2ss-CL Ig-hk及びIgG HC発現ベクターpFUSE2ss-CH Ig-hG1は、InvivoGen(San Diego, CA)より購入された。

【0510】

LC_PD1AB-6-IgG1(図4)をコードするアミノ酸配列は、哺乳動物細胞におけるタンパク質発現のためにコドン最適化遺伝子配列に変換された。制限酵素部位である5'末端のEcoRI及び3'末端のNheIは、最適化遺伝子に追加された。EcoRI及びNheI部位を有する最適化LC遺伝子は、合成され、挿入断片を産生した。IgG LC発現ベクターpFUSE2ss-CL Ig-hkは、EcoRI及びNheIで消化され、およそ3.5kbのpFUSE2ss-CL Ig-hk-EcoRI/NheI断片を産生した。挿入断片は、pFUSE2ss-CL Ig-hk-EcoRI/NheI断片にライゲーションされ、pFUSE2ss-CL Ig-hk-LC_PD1AB-6-IgG1であるpJS-1の産生をもたらした。

【0511】

HC_PD1AB-6-IgG1、HC_PD1AB-6-IgG1-K322A、またはHC_PD1AB-6-IgG4P(図4)をコードするアミノ酸配列は、哺乳動物細胞におけるタンパク質発現のためにコドン最適化遺伝子配列に変換された。制限酵素部位である5'末端のEcoRI、停止コドン(pFUSE2ss-CH Ig-hG1におけるHC配列の3'末端の後)から3'末端のHpaIまでの定常領域が追加された。EcoRI及びHpaI部位を有する最適化遺伝子は、合成され、それぞれ、HC_PD1A

B-6-IgG1、HC_PD1AB-6-IgG1-K322A、及びHC_PD1AB-6-IgG4Pをコードする遺伝子を含む挿入断片を産生した。IgG-HC発現ベクターpFUSEss-CHlg-hG1は、EcoRI及びHpaIで消化され、およそ3.4kbのpFUSEss-CHlg-hG1-EcoRI/HpaI断片を産生した。挿入断片は、pFUSEss-CHlg-hG1-EcoRI/HpaI断片にライゲーションされ、それぞれ、pFUSEss-CHlg-hG1-HC_PD1AB-6-IgG1、pFUSEss-CHlg-hG1-HC_PD1AB-6-IgG1-K322A、及びpFUSEss-CHlg-hG1-HC_PD1AB-6-IgG4PであるpJS-2、pJS-3、及びpJS-12の産生をもたらした。

【0512】

5. 1. 6. 2 タンパク質産生

PD1AB-6-IgG1、PD1AB-6-K3、及びPD1AB-6-4Pの3つのバリエーションすべては、インビトロ及びインビボでの有効性研究のために振盪フラスコ中に実験室規模で製造された。非GLP毒性学研究及び追加の特徴付けのために、PD1AB-6-4P及びPD1AB-6-K3抗体は、Life Technologies (Carlsbad, CA) のFreeStyle (商標) MAX CHO発現系、ならびにExpi293 (商標) 発現系を使用して、50Lのバイオリアクター (50Lの攪拌槽及び50Lの波動バッグ) 中に製造された。FreeStyle (商標) MAX CHO発現系は、製造者の標準プロトコルを使用してCHO-S細胞の一過性トランスフェクションのために使用された。Expi293 (商標) 発現系は、製造者の標準プロトコルを使用してExpi293細胞の一過性トランスフェクションのために使用された。3:2比の軽鎖対重鎖は、トランスフェクションの間、1L当たり1mgの培養でDNA混合のために使用された。細胞は、37℃で50Lのバイオリアクター中に0.5百万細胞/mLで播種され、及び一晩成長させて1百万細胞/mLに達した。次いで、細胞は、製造者の標準プロトコルを使用してトランスフェクトされた。トランスフェクション後1日目に、1mMの酪酸ナトリウムを加えた1% v/vの供給培地 (Yeastolate、CHO-CD Efficient Feed (商標) A、Glutamax、及びGlucose) はバイオリアクターに追加され、温度は32℃まで低下された。40リットルの細胞を加えた添加剤は、50Lの攪拌槽に播種され、25Lの細胞を加えた添加剤は、50Lの波動バイオリアクターに播種された。細胞生存性及び力価は、毎日監視され、バッチは、細胞生存性が50%未満のときに回収された。Vi-Cell (商標) 器具は、生存性分析のために使用され、抗ヒトIgGセンサを備えたOctet REDは、標準曲線について精製された抗体を使用して力価分析のために使用された。細胞及び上清は、GE Life Sciencesの深層濾過及び滅菌カラムを使用して回収され、ULTA Prime GF 5µMカプセルは、深層濾過のために使用され、その後ULTA Pure HC0.6/0.2µM滅菌カプセルが使用された。清澄化された上清は、クロスフロー濾過を使用して5~8倍に濃縮され、GE Life Scienceの50KdカットオフKvick (商標) Lab SCUは、TFFのために使用された。回収時に各アイソタイプから得られた力価及び最大細胞密度は、表13に示される。

表13. 流加バイオリアクター (50リットル) における生産性

【表15】

アイソタイプ 細胞プール	細胞株/体積	力価 (mg /l)	回収時の細胞密度 (1×10^6 細胞/mL)
PD1AB-6-4P	Expi293/25L	22	3.2
PD1AB-6-4P	CHO-S/50L	9	3
PD1AB-6-K3	Expi293/50L	31	4.5
PD1AB-6-K3	CHO-S/50L	15	2

【0513】

5. 1. 6. 3 タンパク質精製

産生された物質の精製は、プロテインA親和性クロマトグラフィー及び低pHウイルス不活性化を含む一連の下流精製ステップによって行われ、その後IEX相互作用(Capto(商標)Adhere&Capto(商標)SP ImpRes)クロマトグラフィーステップによって行われた。精製された抗体は、緩衝液に対して交換された緩衝液(10mMコハク酸塩、pH5.5、9%スクロース、0.05%PS20)によって大量に製剤化され、0.2µMフィルターを通して濾過され、等分される。

【0514】

プロテインA親和性クロマトグラフィーは、生成物を捕獲し、関連不純物のプロセスを除去するように設計されたMabSelect SuRe(商標)を使用して実施された。その後のウイルス不活性化ステップは、酸性条件下(pH3.4±0.1で45分間)で行われ、その後pH5.5±0.1へ不活性プールの調整を行った。ウイルス不活性化の後、アニオン交換体は、Capto(商標)Adhereを使用した中間研磨ステップのためにフロースルモードで使用され、凝集物、DNA、宿主細胞タンパク質、及び内毒素などの不純物を除去した。生成物プールは、pH6.5±0.1に調整され、導伝性は、次のプロセスステップの前に2mS/cmまで低減された。カチオン交換体Capto(商標)SP ImpResは、研磨ステップとして使用され、生成物は10mS/cmで分解された。次いで、抗体は、保存溶液(10mMコハク酸塩、9%スクロース、0.05%PS20、pH5.5)中で緩衝液交換され、20mg/mLに濃縮された。次いで、生成物プールは、0.2µMフィルターを通して濾過され、アリコートされた。

【0515】

5. 1. 7 細胞系PD-1結合アッセイ

PD1AB-6-IgG1結合は、ヒトPD-1及びカニクイザルPD-1(図5A及び図5B)を発現するCHO細胞上、及び一次ヒトPBMC(図6)及びカニクイザルPBMC(図7)上で評価された。

【0516】

ヒトPD-1及びカニクイザルPD-1を発現するCHO細胞は、4℃で40分間、様々な濃度の標識されていないPD1AB-6-IgG1抗体とともにインキュベートされ、洗浄され、4℃で30分間、抗ヒトIgG Fc(eBioscience, San Diego, CA)で染色された。ヒトIgG1 Fcは、陰性対照として使用された。PD1AB-6-IgG1は、EC₅₀=0.4nMでCHO細胞上に発現されたヒトPD-1に結合し、EC₅₀=0.8nMでCHO細胞上に発現されたカニクイザルPD-1に結合する(図5)。

【0517】

ヒトPBMCは、3日間抗CD3を結合した1µg/mLプレートで活性化され、T細胞上にPD-1発現を誘発した。細胞は、4℃で30分間、様々な濃度の標識されていないPD1AB-6-IgG1抗体とともにインキュベートされ、洗浄され、4℃で30分間、抗ヒトIgG Fc(eBioscience, San Diego, CA)で染色された。ヒトIgG1 Fcは、陰性対照として使用された。幾何学的MFIは、CD4+T細胞上で測定された。2名のヒトの健康なドナーのうちの1名のデータは、図6に示される。

【0518】

カニクイザルPBMCは、2日間1µg/mL抗カニクイザルCD3/CD28で活性化され、T細胞上にPD-1発現を誘発した。細胞は、4℃で30分間、様々な濃度の標識されていないPD1AB-6-IgG1抗体とともにインキュベートされ、洗浄され、4℃で30分間、抗ヒトIgG Fc(eBioscience)で染色された。ヒトIgG1 Fcは、陰性対照として使用された。幾何学的MFIは、CD4+T細胞上で測定された。2匹のカニクイザルドナーのうちの1匹のデータは、図7に示される。

【0519】

5. 1. 8 Fc受容体結合アッセイ

バリエーション生成、すなわち、減少されたFcγR媒介エフェクター機能の目的を確認するために、PD1AB-6-K3及びPD1AB-6-4PバリエーションへのFcγR結合は、2つの方法論によって分析された。第1に、結合は、Cisbio Tag-It (登録商標) 検出を使用した置換FcγRアッセイで試験された(図8A~図8D)。テルビウム(Tb)ドナー色素で事前に標識された特定のFcγR(FcγRI、FcγRIIIa、またはFcγRIIIb)を発現するように操作されたHEK293細胞は、参照対照またはPD1AB-6-IgG1、PD1AB-6-K3、及びPD1AB-6-4P抗体とともに、1000nM~0.1pMの範囲の対数濃度にわたって混合された。次いで、第2の、ヒトhIgG-d2(受容体)は、受容体結合について競合するために追加された。Tb-d2近接によって生成された蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)シグナルの検出は、測定され、PD1AB-6バリエーション結合FcγRに反比例する。図8A~図8Dに示されるように、PD1AB-6-K3バリエーションは、ADCC活性の原因となるNK細胞上の低親和性受容体であるFcγRIIIa(CD16)への減少された結合を示した。FcγRI(顆粒球、樹状細胞(DC)、または単球上に発現された)への結合は、親PD1AB-6-IgG1分子と同様であった。

【0520】

第2に、PD1AB-6-K3及びPD1AB-6-4Pバリエーションの両方は、FACSに基づく結合アッセイで試験された(図9A~図9C)。簡潔には、細胞株を発現するFcγRI-CHOまたはFcγRIIIaV158-CHOは、取り出され、氷上で1時間異なる濃度にわたってPD1AB-6-K3及びPD1AB-6-4Pバリエーションとの混合前に洗浄された。PD1AB-6バリエーション結合細胞は、氷上でさらに1時間、標識されたPE複合体化F(ab')₂ヤギ抗ヒト二次抗体で検出され、洗浄され、FACSによる分析の前に固定され、平均蛍光強度は、各濃度でプロットされた。PD1AB-6-4Pバリエーションは、それぞれ、FcγRI及びFcγRIIIa株に対して著しくより高い結合EC₅₀(>15X及び>21X)に回復した(図9A~図9C)。

【0521】

5. 1. 9 インビトロADCCアッセイ

PD1AB-6バリエーションのADCCを誘発する能力は、健康なドナーからのナチュラルキラー(NK)細胞及びPD-1発現標的細胞を含む共培養アッセイで評価された。PD1AB-6バリエーションで前処理された標的細胞(NCI-OCI-Ly3)は、4時間活性化されたNK細胞で共培養された。上清LDH濃度は、特異的溶解を計算するために使用した。EC₅₀(nM)は、プリズムを使用して計算された。エラーバーは、実験が3連であることを表す。データは、4名の個体の健康なドナーのうちの2名の代表である。図10A及び図10Bに示されるように、PD1AB-6-IgG1の滴定は、用量依存的ADCCを誘発したが、一方でPD1AB-6-K3は低減されたADCC活性を示した。

【0522】

5. 1. 10 インビトロCDCアッセイ

PD1AB-6バリエーションのCDCを誘発する能力は、CD20⁺NCI-OCI-Ly3細胞を発現するPD-1を使用して評価された。抗体で前処理された標的細胞(NCI-OCI-Ly3)は、4時間5%のウサギ補体で捕捉された血清を含まない培地で培養された。細胞溶解は、FACSによる7-AAD⁺細胞によって測定された。データは、3つの独立した実験の代表である：(i) PD1AB-6-IgG1及び抗CD20 IgG1のCDC活性、(ii) PD1AB-6-IgG1及びPD1AB-6-K3のCDC活性、(iii) PD1AB-6-4P及び商用のマウス抗PD-1 IgG1抗体のCDC活性。図11に示されるように、PD1AB-6-K3は、CDCを一貫して誘発しなかった(n=3)。親PD1AB-6-IgG1及びPD1AB-6-4Pもまたは、CDCを誘発しなかった。これは、抗CD20 IgG1が、5%のウサギ補体の存在下でNCI-OCI-Ly3細胞上に用量依存的CDCを繰り返し誘発したため、標

10

20

30

40

50

的 T 細胞株の補体殺滅に対する耐性に起因するものではなかった。

【0523】

5. 2 実施例 2：活性アッセイ

5. 2. 1 ヒト T 細胞活性化アッセイ

T 細胞エフェクター機能を阻害することについての PD1AB-6 バリエントの機能的評価は、2つの方法によって行われた。1つのアッセイでは、末梢血単核細胞は、PD-1を発現するように事前に活性化され、可溶性 PD1AB-6-K3 の存在下で再刺激された（図12）。健康なドナーの末梢血単核細胞（PBMC）は、マイトジェンである PHA で 48 時間事前に活性化され、PD-1 発現を上方制御した。次いで、これらの細胞は、100 nM ~ 0.1 nM の範囲の最終濃度にわたって希釈された PD1AB-6 バリエントの存在下で、Dynabeads（登録商標）（Life Technologies・Carlsbad, CA）を複合体化した抗 CD3 を使用して再刺激された。T 細胞活性化は、刺激後 24 時間で培養上清中の IL-2 レベルを使用して測定された。図12に示されるように、PD1AB-6-K3 及び2つの他のバリエントは、5 ~ 25 nM の EC₅₀ を用いたこのアッセイにおいて強力な T 細胞阻害活性を示した。

【0524】

2つ目のアッセイは、T 細胞機能を阻害することにおいて PD1AB-6-K3 の直接エキスポ測定のために使用された。（図13）。これは、新鮮なヒト全血を抗 CD3 + / - PD1AB-6-K3 で共被覆された 96 ウェルプレート上に直接的に入れること、及び T 細胞活性化の読み取りとして IL-17 及び IFN- γ レベルを測定することによって行われた。CTLA4 Ig（Orencia（登録商標））は、これらのアッセイにおいて陽性対照として使用され、ヒト IgG Fc 断片は、陰性対照として使用された。図13に示されるように、全体として、PD1AB-6-K3 は、PD1AB-6-4P よりも良好な有効性である傾向にあった。陰性対照である hIgG Fc は、EC₅₀ > 100 nM で活性を示さなかった。

【0525】

5. 2. 2 カニクイザル交差反応性アッセイ

リード PD1AB-6-K3 を用いた機能的カニクイザル交差反応性の測定は、新たに単離されたカニクイザル PBMC を使用してヒトの試料と同様に行われ、示されるように、抗カニクイザル CD3、CD28、及び PD1AB-6 バリエントで活性化された。CTLA4 Ig は、これらのアッセイにおいて陽性対照として使用され、hIgG1 Fc は、陰性対照として使用された。培養上清は、カニクイザル IL-2 MSD アッセイのためにサイトカイン測定の 48 時間後に除去された。表14に示されるように、これらのアッセイは、PD1AB-6-K3 が、カニクイザル T 細胞サイトカイン分泌を、陽性対照の CTLA4 Ig に相当するレベルに減弱化し、活性は、ヒトアッセイにおいて見られたものに相当したことを示した。

表14. カニクイザル PBMC アッセイにおける PD1AB-6-K3 活性

【表16】

	PD1AB-6-IgG1	PD1AB-6-K3	PD1AB-6-4P	CTLA4Ig
	IL-2 EC ₅₀ (nM)			
NHP1	0.28	0.24	< 0.1	未実施
NHP2	4.9	2.5	1.24	未実施
NHP3	未実施	9.24	16.5	14
NHP4	未実施	1.22	1.23	6

【0526】

5. 2. 3 作用のインビトロメカニズム

CD3 及び CD4 などの T 細胞表面分子に結合するいくつかの抗体は、シグナル伝達及びその後のそれらの分子の表面発現の下方制御をもたらす。PD1AB-6 抗体は、PD

ー1を介してアゴニストシグナルを提供するように設計されているため、インビトロでのPD1AB-6治療後にPD-1発現を評価することは重要であった。

【0527】

5. 2. 3. 1 PD1AB-6治療後の減少されたPD-1発現

異なるドナーからのヒトPBMCは、様々な濃度の可溶性対照のIgG1またはPD1AB-6-IgG1で抗CD28を結合した抗CD3+0.25μg/mLを結合した1μg/mLプレートで活性化された。4時間～72時間のインキュベーション後、細胞は、CD3、CD45RO、及びPD-1へ染色され、T細胞上のPD-1発現を評価した。図14A～図14Cは、48時間のPD1AB-6-IgG1治療後のヒトCD3+T細胞上のPD-1の低減された発現を示す。PD-1発現の分析は、PD1AB-6-IgG1治療が、T細胞の表面のPD-1発現の下方制御をもたらしたことを示した（図14A及び図14Bの1名のドナーの代表的なヒストグラム、及び図14Cの3名のドナー及び様々な抗体濃度にわたる48時間での平均蛍光強度の分析）。PD-1下方制御は、PD1AB-6-IgG1でのインキュベーションから4時間後に早くも見られた。表面PD-1発現の下方制御は、PD-1を介するシグナル伝達を誘発したPD1AB-6に起因する可能性が高く、T細胞受容体シグナル伝達とともに観察されるものと同様のメカニズムを介した（San Jose et al., 2000, Immunity 12 (2): 161-70）。

【0528】

5. 3実施例3：PD1AB-6バリエーションの物理化学的特徴付け

5. 3. 1 Biacore（登録商標）結合分析

精製されたPD1AB-6バリエーション抗体は、捕捉方法を使用してhPD1抗原への結合についてBiacore（登録商標）T200上で分析された。Fc特異性抗ヒトIgGは、Fc2上に固定化され、Fc1は、基準チャンネルとして空のままされた。精製されたPD1抗体は、抗ヒトIgG上に捕捉され、最初に産生されたhPD1抗原（PD1_002）は、結合の動態を測定するために、100nM～200pMの2倍の希釈系列を使用して両方のチャンネルにわたって流された。使用されたPD-1は、封入体としてE.Coli中に発現され、再び折り畳まれたヒトPD-1（残基32～160）の細胞外ドメインであった。表面は、3Mの塩化マグネシウムを使用して各抗原濃度の間に再生成された。PD1AB-6-IgG1、PD1AB-6-4P、及びPD1AB-6-K3についての結合動態の実施例ならびに k_{on} 、 k_{off} 、及び K_D の値は、図15A～図15Cに示される。3つのバリエーションすべては、19～22nMの相当する K_D 値を有するPD-1抗原と同様の会合速度及び解離速度を有した。

【0529】

5. 4実施例4：白斑マウスモデルにおけるPD-1抗体の効果

白斑の治療においてPD-1抗体の有効性を試験するために、疾患マウスモデルが使用される。KRT14-Kitl*4XTG2Bjl（Krt14-Kitl*）マウスは、ケラチン14プロモーター下で、Kitリガンドの非開裂可能な膜結合型を発現し、表皮へのその発現を制限する（Harris et al., 2012, J. Invest. Dermatol. 132 (7): 1869-76）。したがって、Krt14-Kitl*マウスは、黒い皮膚、黒い毛髪、及びメラニン細胞の上昇したレベルを有する（Kunisada et al., 1998, Development 125 (15): 2915-23）。白斑は、ヒトメラニン細胞に特異的なCD8+T細胞の養子免疫伝達を通してマウスにおいて誘導され、その後インビボで活性化される（Harris et al., 2012, J. Invest. Dermatol. 132 (7): 1869-76）。

【0530】

KRT14-Kitl*4XTG2Bjl（Krt14-Kitl*）マウスは、Jackson Laboratories（Bar Harbor, ME、ストック番号009687、Tg（KRT14-Kitl*）4XTG2Bjl）から得られる。Thy

1. 1^+ PMEL TCRトランスジェニックマウスは、Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME、ストック番号005023、B6. Cg Thy1^a/CyTg (Tcr^aTcr^b) 8Rest/J) から得られる。Thy1. 1^+ PMEL TCRトランスジェニックマウスは、ヒト化PD-1ノックインマウス (Oxford University Innovation、製品コード4460) と交配して、Thy1. 1^+ PMEL TCRトランスジェニックヒト化PD-1ノックインマウス (PMEL-hPD-1 KI) を得る。全てのマウスは、C57BL/6J バックグラウンド上にあり、病原体フリー施設において維持される。

【0531】

CD8+T細胞は、PMEL-hPD-1 KIマウスから単離される。白斑は、上述のように、PMEL-hPD-1 KI CD8+T細胞の養子免疫伝達を通して誘導される (Harris et al., 2012, J. Invest. Dermatol. 132:1869-76)。換言すれば、PMEL CD8+T細胞は、製造業者の指示に従って、マイクロビーズ (Miltenyi Biotec, Auburn, CA) におけるネガティブ選択によってPMEL-hPD-1 KIマウスの脾臓から単離される。精製されたCD8+T細胞 (1×10^6) は、亜致死照射を受けた (移植1日前に100~500 rad) Krt14-Kitl*宿主 (12~16週齢) に静脈内投与される。受容マウスは、移植の同日に、ヒトPMEL抗原 (精製されたタンパク質として、またはP. Agarwal et al., 2015, J. Invest. Dermatol. 135(4):1080-88に記載されるようなウイルスベクターにおいて発現された) とともに投与される。抗PD-1抗体 (例えば、PD1AB-6、PD1AB-6-K3、またはPD-1結合可変領域を保持し、Fc領域が、マウスIgG2aまたはK322Aに相当する変異を有するマウスIgG2aに転換された、PD1AB-6もしくはPD1AB-6-K3のマウスの代用) による処置は、研究期間中、毎日から週1回の頻度である用量 (0.1 mpk~10 mpkの範囲) の腹腔内注射によって行われる。対照マウスは、処置を受けないか、または等体積の生理食塩水もしくはアイソタイプ対照で処置される。「白斑スコア」は、上述のように、耳、鼻、後部足蹠、及び尾部を含む、4つの容易に見える位置で脱色素の程度に基づいたポイントスケールを使用して、客観的に定量化される (Harris et al., 2012, J. Invest. Dermatol. 132:1869-76)。各位置が試験され、脱色素の程度は、解剖学的部位の割合として推定され、左及び右耳ならびに左及び右後部足蹠の両方が一緒に推定され、そのため、単一部位として評価される。具体的には、ポイントは、以下のとおりに与えられる。

表15. 白斑スコアにおけるマウスの脱色素のスケール

【表17】

脱色素 (%)	スコア
0	0
> 0 ~ 10	1
> 10 ~ 25	2
> 25 ~ 75	3
> 75 ~ < 100	4
100	5

【0532】

白斑スコアは、4つ全ての部位でのスコアの合計であり、最大スコアは20ポイントである。PD-1への抗体 (例えば、PD1AB-6、PD1AB-6-K3、またはPD-1結合可変領域を保持し、Fc領域が、マウスIgG2aもしくはマウスK322Aに相当する変異を有するマウスIgG2aに転換された、PD1AB-6もしくはPD1AB-6-K3のマウスの代用) は、マウスの白斑スコア及び脱色素の程度を減少させる。

【0533】

細胞は、指示された時間（抗体処置から30分から14日後）に、耳、尾部、脾臓、及び皮膚流入領域リンパ節から単離され、T細胞数、活性化マーカー（CD25及びCD69など）、増殖、細胞内サイトカイン（IFN- γ など）、ならびに細胞毒性マーカー（グランザイムB及びパーフォリンなど）を定量化するためにフローサイトメトリー分析のために処理される。細胞はまた、Nanostring、qPCR、またはRNAseqなどの技術を使用して、遺伝子発現分析のためにも処理される。抗PD-1抗体は、T細胞数、T細胞における活性化マーカー、ならびにIFN- γ 、IL-2、TNF- α 、及びGM-CSFレベルを低下させる。抗PD-1抗体はまた、白斑マウスにおける、細胞毒性マーカーを低下させ、T細胞におけるPD-1発現を減少し、T細胞の増殖を阻害する。加えて、抗PD-1抗体は、CD25+Foxp3+制御性T細胞を増加する。患部皮膚の顕微鏡検査については、マウス尾部または耳が、切除され、10%の中性緩衝ホルマリン中に固定される。組織は、パラフィン中に包埋され、切断され、ヘマトキシリン及びエオシン（H+E）で染色される。抗PD-1抗体は、皮膚におけるT細胞浸潤を減少させる。

10

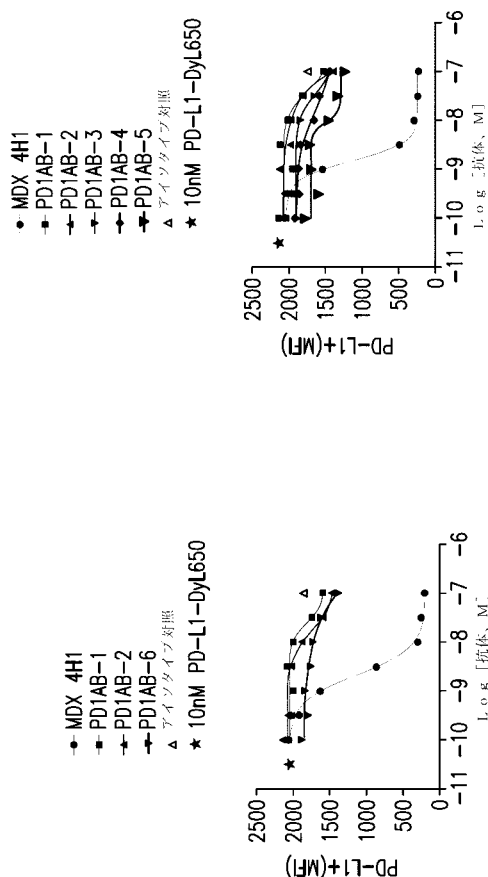
【0534】

6. 配列表

本明細書は、コンピュータ可読形式（CRF）コピーの配列表とともに提出されている。2017年9月11日に作成され、50,874バイトのサイズである10624-418-228__SEQULIST.txtと題されるCRFは、配列表の紙コピーと同一であり、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

20

【図1】



【図2】



FIG. 2

【図 3】

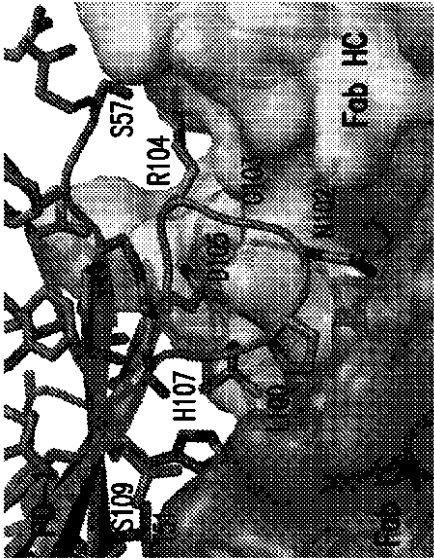


FIG. 3

【図 4】

>LC_PD1AB-6-IgG1
DIWITQSPDLSLGERATINOKSGSYLYSSNOKNIFLAWYQKQPPKLLMYASTRESGVDPDRFSGSSGSDTDLTSSLOAE
DAVYYCHQYLYSWTFGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNIPYREAKQGWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKOSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

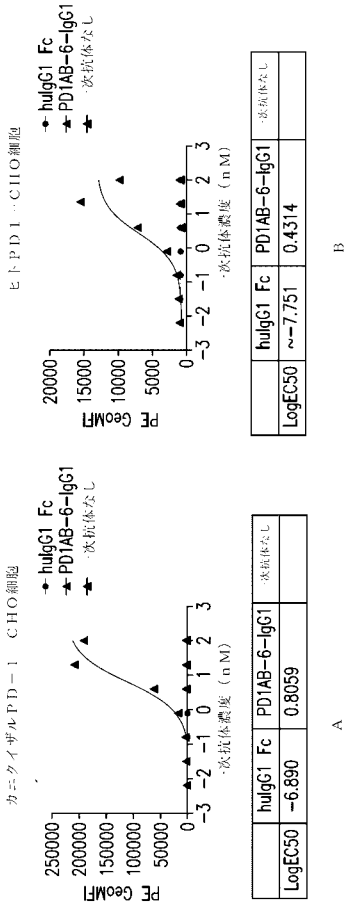
>HC_PD1AB-6-IgG1
EVQLVQSGAEVKKPGATPVKISKASGFKNIKOTYMHVQQAQPKGLEWGRIDPANGDRKYPKFGGVTITADTSTDAAYNELS
SLRSEDIAVYCAISGPPVYSSYVMDYWGOGTIVYSSASTKGPSPVFLAPSSKSTSGGTAAGCLVKDYFPEPVYSWNSG
ALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVATVPSSSLGTQTYCNVNHAPSNTKDKKKEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVLEFPKPKQ
TLMSRTEVTCVWDVSHEDPEKFNWYDGVVHNAKTAPREEDYNSTYRVSIVLHQDWLNKQEKYKAKSNKALPAP
EKTSKAKQCPREPQYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDANENESGCPENNYKTPPPVLDSDGSFTLSKLVDSRWIQ
QQNPFSKSWHEALHNHYTQKSLSLSPK

>LC_PD1AB-6-IgG1-K322A
EVQLVQSGAEVKKPGATPVKISKASGFKNIKOTYMHVQQAQPKGLEWGRIDPANGDRKYPKFGGVTITADTSTDAAYNELS
SLRSEDIAVYCAISGPPVYSSYVMDYWGOGTIVYSSASTKGPSPVFLAPSSKSTSGGTAAGCLVKDYFPEPVYSWNSG
ALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVATVPSSSLGTQTYCNVNHAPSNTKDKKKEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVLEFPKPKQ
TLMSRTEVTCVWDVSHEDPEKFNWYDGVVHNAKTAPREEDYNSTYRVSIVLHQDWLNKQEKYKAKSNKALPAP
EKTSKAKQCPREPQYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDANENESGCPENNYKTPPPVLDSDGSFTLSKLVDSRWIQ
QQNPFSKSWHEALHNHYTQKSLSLSPK

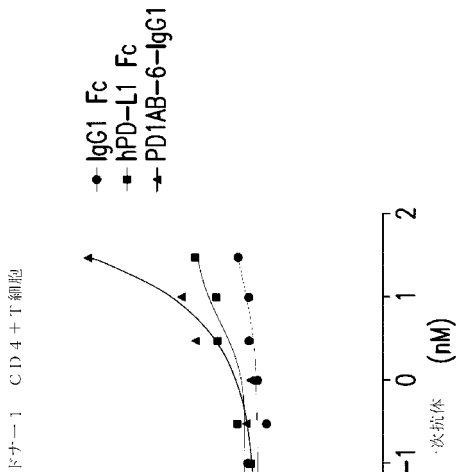
>HC_PD1AB-6-IgG4P
EVQLVQSGAEVKKPGATPVKISKASGFKNIKOTYMHVQQAQPKGLEWGRIDPANGDRKYPKFGGVTITADTSTDAAYNELS
SLRSEDIAVYCAISGPPVYSSYVMDYWGOGTIVYSSASTKGPSPVFLAPSSKSTSGGTAAGCLVKDYFPEPVYSWNSGALTS
GHITFPALQSSGLYSLSSVATVPSSSLGTQTYCNVNHAPSNTKDKKKEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVLEFPKPKQTLMSRTEV
CWDVSDPEPEVQFNWYDGVVHNAKTAPREEDYNSTYRVSIVLHQDWLNKQEKYKAKSNKALPAP
TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDANENESGCPENNYKTPPPVLDSDGSFTLSKLVDSRWIQGNVSGSNMHEALHNHYTQ
KSLSLSPK

FIG. 4

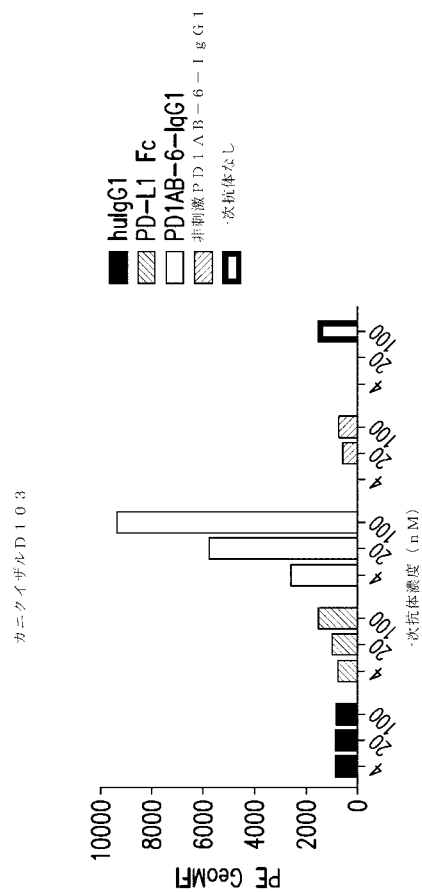
【図 5】



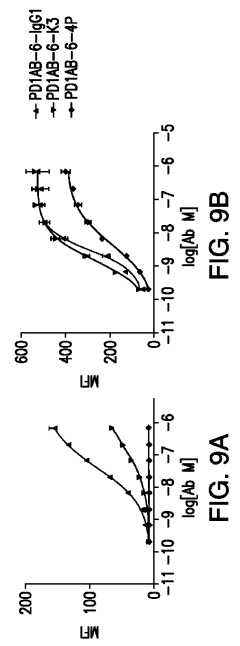
【図 6】



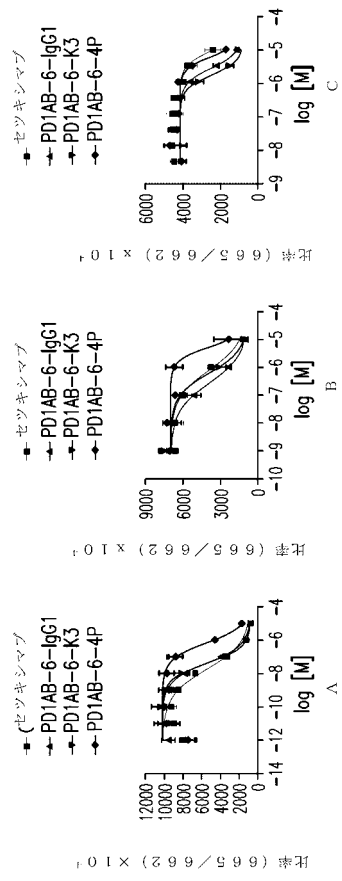
【図 7】



【図 9 A - 9 B】



【図 8】

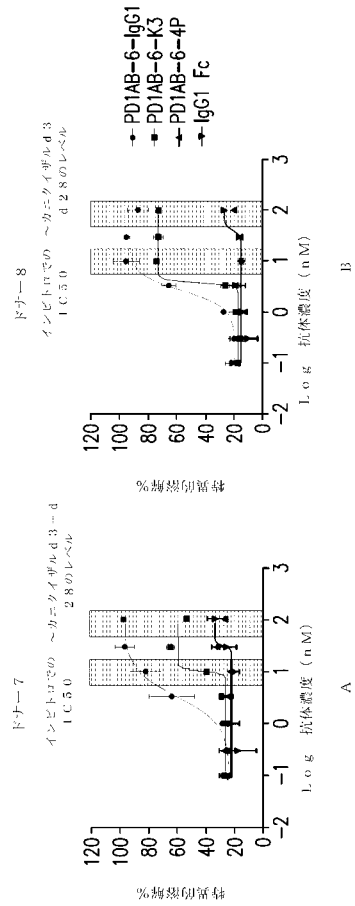


【図 9 C】

EC ₅₀ nM	PD1AB-6-IgG1	PD1AB-6-K3	PD1AB-6-4P
FcγRI	2.6	1.5	12.4
FcγRIII	31.4	>666	NB

FIG. 9C

【図 1 0】



【図 1 2】

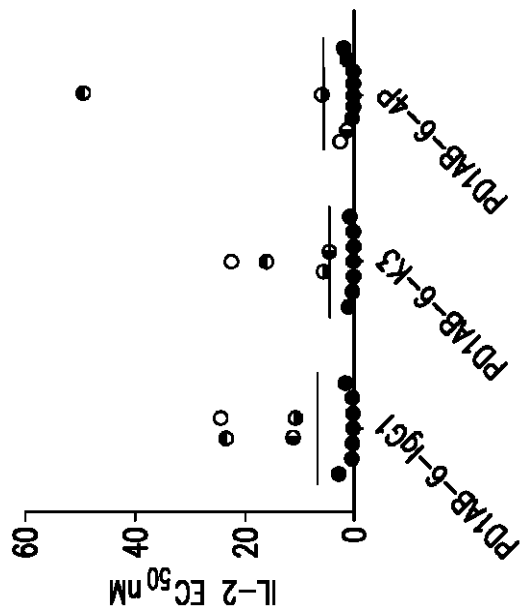
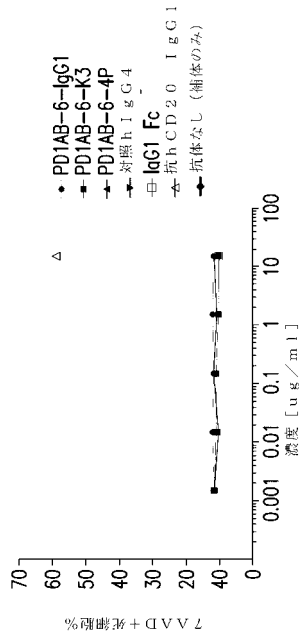
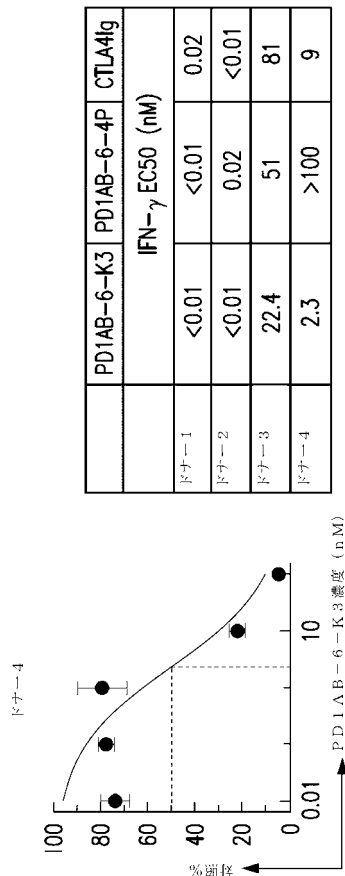


FIG. 12

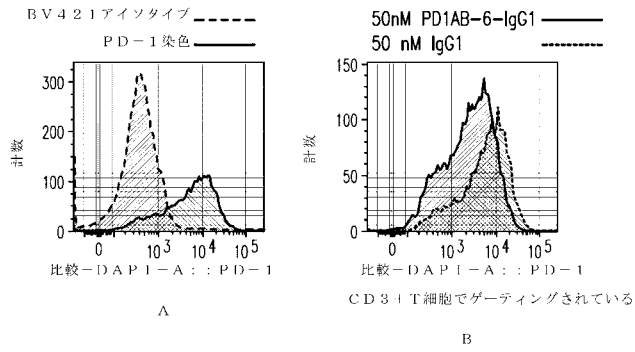
【図 1 1】



【図 1 3】



【図 14】



【図 15 A】

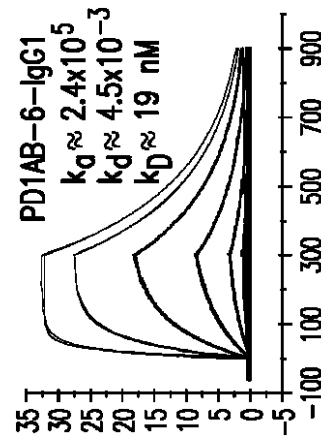
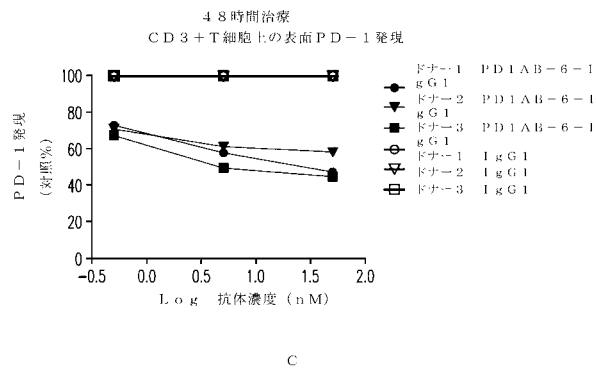


FIG. 15A



【図 15 B】

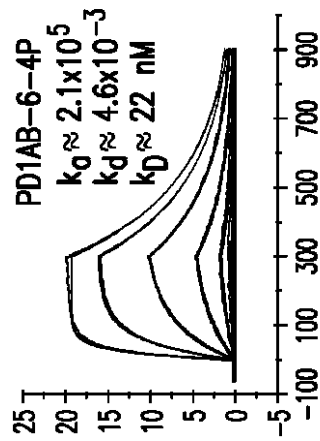


FIG. 15B

【図 15 C】

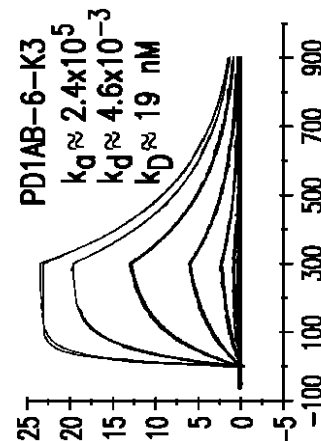


FIG. 15C

【手続補正書】

【提出日】 令和1年6月3日 (2019.6.3)

【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】

2019534859000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 17/52016																		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C07K 16/28 (2018.01) CPC - C07K 2317/56, C07K 2317/565, C07K 2317/52, C07K 2317/515, C07K 2317/51																				
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) See Search History Document Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History Document Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History Document																				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%; padding: 5px;">Category*</th> <th style="width: 60%; padding: 5px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="width: 30%; padding: 5px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">A</td> <td style="padding: 5px;">US 2015/0118234 A1 (Honjo et al.) 30 April 2015 (30.04.2015) Claims 1, 21</td> <td style="padding: 5px;">1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">A</td> <td style="padding: 5px;">US 2012/0100139 A1 (Thompson et al.) 26 April 2012 (26.04.2012) abstract, para [0232], SEQ ID NO: 225</td> <td style="padding: 5px;">1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">A</td> <td style="padding: 5px;">US 2014/0161794 A1 (Lugovskoy et al.) 12 June 2014 (12.06.2014) abstract, claim 5, SEQ ID NO: 4</td> <td style="padding: 5px;">1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">A</td> <td style="padding: 5px;">US 2009/0280116 A1 (Smith et al.) 12 November 2009 (12.11.2009) abstract, para [0030], SEQ ID NO: 9</td> <td style="padding: 5px;">1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">X,P</td> <td style="padding: 5px;">US 2017/0088618 A1 to Celgene Corporation (hereinafter 'Celgene') 30 March 2017 (30.03.2017) SEQ ID NOs: 1-6, 8, 13</td> <td style="padding: 5px;">1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	A	US 2015/0118234 A1 (Honjo et al.) 30 April 2015 (30.04.2015) Claims 1, 21	1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)	A	US 2012/0100139 A1 (Thompson et al.) 26 April 2012 (26.04.2012) abstract, para [0232], SEQ ID NO: 225	1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)	A	US 2014/0161794 A1 (Lugovskoy et al.) 12 June 2014 (12.06.2014) abstract, claim 5, SEQ ID NO: 4	1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)	A	US 2009/0280116 A1 (Smith et al.) 12 November 2009 (12.11.2009) abstract, para [0030], SEQ ID NO: 9	1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)	X,P	US 2017/0088618 A1 to Celgene Corporation (hereinafter 'Celgene') 30 March 2017 (30.03.2017) SEQ ID NOs: 1-6, 8, 13	1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																		
A	US 2015/0118234 A1 (Honjo et al.) 30 April 2015 (30.04.2015) Claims 1, 21	1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)																		
A	US 2012/0100139 A1 (Thompson et al.) 26 April 2012 (26.04.2012) abstract, para [0232], SEQ ID NO: 225	1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)																		
A	US 2014/0161794 A1 (Lugovskoy et al.) 12 June 2014 (12.06.2014) abstract, claim 5, SEQ ID NO: 4	1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)																		
A	US 2009/0280116 A1 (Smith et al.) 12 November 2009 (12.11.2009) abstract, para [0030], SEQ ID NO: 9	1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)																		
X,P	US 2017/0088618 A1 to Celgene Corporation (hereinafter 'Celgene') 30 March 2017 (30.03.2017) SEQ ID NOs: 1-6, 8, 13	1-4, 6, 11, 18, (21-25)/(1-4, 6, 11, 18)																		
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.																				
<table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> * 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 </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> "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 </td> </tr> </table>			* 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																
* 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 09 January 2018	Date of mailing of the international search report 01 FEB 2018																			
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT QSP: 571-272-7774																			

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 17/52016

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

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:
☒ 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:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 17/52016

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.: 26-82
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:
- Please see extra sheet for Box No. III Observations where unity of invention is lacking -

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-4, 6, 11, 18, (21-25)(1-4, 6, 11, 18) limited to SEQ ID NOS: 1-6, 8, 13, 36

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 17/52016

Continuation of:

Box NO III. Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I+: Claims 1-25, directed to a method of managing, preventing, or treating vitiligo in a subject, comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of an antibody or antigen-binding fragment thereof that binds to an epitope of human PD-1. The method will be searched to the extent that the anti-PD-1 antibody encompasses VL SEQ ID NO: 8 and VH SEQ ID NO: 13 (PD1AB6 comprises VL CDR1-3 of SEQ ID NOs: 1-3, respectively; VH CDR1-3 of SEQ ID NOs: 4-6, respectively. See Instant Specification, Tables 1, 2, 5, 6) and a heavy chain Fc region SEQ ID NO: 36. It is believed that claims 1-4, 6, 11, 18, (21-25) (in part) encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NOs: 1-6, 8, 13, 36. Additional anti-PD-1 antibodies will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected anti-PD-1 antibodies. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be an anti-PD-1 antibody encompasses VL SEQ ID NO: 8 and VH SEQ ID NO: 11 (PD1AB1 comprises VL CDR1-3 of SEQ ID NOs: 1-3, respectively; VH CDR1-3 of SEQ ID NOs: 4-6, respectively.) and a heavy chain Fc region SEQ ID NO: 37.

The inventions listed as Group I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

No technical features are shared between the amino acid sequences of anti-PD-1 antibodies of Group I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of including: a method of managing, preventing, or treating vitiligo in a subject, comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of an antibody or antigen-binding fragment thereof that binds to an epitope of human PD-1. These shared technical features are previously disclosed by US 2015/0118234 A1 to Honjo et al. (hereinafter 'Honjo'). Honjo teaches a method of managing, preventing, or treating vitiligo in a subject, comprising administering to the subject a therapeutically effective amount of an antibody or antigen-binding fragment thereof that binds to an epitope of human PD-1 (Claim 1, A method for inhibiting the proliferation of activated T cells, comprising administering an effective amount of a bispecific antibody to a patient in need thereof, wherein the bispecific antibody comprises the following parts; (a) VH region of anti-human PD-1 antibody; (b) VL region of anti-human CD3 antibody; (c) VH region of said anti-human CD3 antibody; and (d) VL region of said anti-human PD-1 antibody, and simultaneously binds to both of human PD-1 and human CD3.; Claim 20, wherein the disease treated by inhibiting the proliferation of activated T-cells is autoimmune disease....Claim 21, vitiligo vulgaris.).

The inventions of Group I+ further share the technical features of a IgG1 ? K322A Fc region. US 2016/0222117 A1 teaches IgG1 ? K322A Fc region (para [0203], Suitable native-sequence Fc regions for use in the antibodies of the invention include human IgG1.; [0200], additional mutations resulting in reduced or eliminated effector function include: K322A.).

As said technical features were known in the art at the time of the invention, these cannot be considered special technical feature that would otherwise unify the groups.

Group I+ therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/00
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	39/395 D
A 6 1 K	47/68	(2017.01)	A 6 1 K	45/00
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	A 6 1 K	47/68
			C 1 2 P	21/08

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

Fターム(参考) 4C085 AA13 AA14 AA16 BB11 BB41 BB43 CC22 CC23 EE01
4H045 AA30 BA10 BA41 DA76 EA28 FA74