

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-513593
(P2025-513593A)

(43)公表日 令和7年4月24日(2025.4.24)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 B 0 6 5
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		4 C 0 7 6
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00		4 C 0 8 4
C 0 7 K	14/705(2006.01)	C 0 7 K	14/705		4 C 0 8 5
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12		4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全54頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-563065(P2024-563065)			(71)出願人	524069695
(86)(22)出願日	令和5年4月26日(2023.4.26)				コンセプト トゥー メディシン バイオ
(85)翻訳文提出日	令和6年12月13日(2024.12.13)				テック カンパニー, リミテッド
(86)国際出願番号	PCT/CN2023/090822				中華人民共和国 2 0 1 1 1 2 シャンハ
(87)国際公開番号	WO2023/208034				イ, ミンハン ディストリクト, プジ
(87)国際公開日	令和5年11月2日(2023.11.2)				ヤン, リアンヘン ロード ナンバー 6
(31)優先権主張番号	PCT/CN2022/089391				5 1, ビルディング 4, フロア 3
(32)優先日	令和4年4月26日(2022.4.26)			(71)出願人	524068414
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)				レブ バイオファーマ カンパニー, リ
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,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				ミテッド
	最終頁に続く				中華人民共和国 2 0 1 1 0 0 シャンハ
					イ, ミンハン ディストリクト, リア
					ンヘン ロード ナンバー 6 5 1, ビル
					ディング 4, 2 エヌディー フロア
				(74)代理人	100078282
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗 B 7－H 3 抗体およびその使用

(57)【要約】

本開示は、マウス抗体、ヒト化抗体およびヒト抗体に加え、さらなる最適化された C D R 配列を有するものも含む、抗 B 7－H 3 抗体を提供する。これらの抗体は、がんなどの疾患の処置における使用に好適である。本開示の一実施形態は、ヒト B 7－H 3 (C D 2 7 6) タンパク質に対して特異性を有する抗体またはその抗原結合性断片であって、V H C D R 1、V H C D R 2、および V H C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H)、および V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む、抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒト B7-H3 (CD276) タンパク質に対する特異性を有し、VH CDR1、VH CDR2 および VH CDR3 を含む重鎖可変領域 (VH)、ならびに VL CDR1、VL CDR2、および VL CDR3 を含む軽鎖可変領域 (VL) を含む抗体またはその抗原結合断片であって、

(a) 前記 VH CDR1 が配列番号 39 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR2 が配列番号 40 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR3 が配列番号 41、42、43、44、45 または 46 のアミノ酸配列を含み；

10

前記 VL CDR1 が配列番号 47、48 または 49 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR2 が配列番号 50 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR3 が配列番号 51 のアミノ酸配列を含む、

(b) 前記 VH CDR1 が配列番号 52 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR2 が配列番号 53 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR3 が配列番号 54 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR1 が配列番号 55 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR2 が配列番号 56 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR3 が配列番号 57 のアミノ酸配列を含む、

(c) 前記 VH CDR1 が配列番号 33 のアミノ酸配列を含み；

20

前記 VH CDR2 が配列番号 34 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR3 が配列番号 35 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR1 が配列番号 36 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR2 が配列番号 37 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR3 が配列番号 38 のアミノ酸配列を含む、

(d) 前記 VH CDR1 が配列番号 25 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR2 が配列番号 26、27、または 28 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR3 が配列番号 29 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR1 が配列番号 30 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR2 が配列番号 31 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR3 が配列番号 32 のアミノ酸配列を含む、

30

(e) 前記 VH CDR1 が配列番号 58 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR2 が配列番号 59 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR3 が配列番号 60 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR1 が配列番号 61 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR2 が配列番号 62 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR3 が配列番号 63 のアミノ酸配列を含む、

(f) 前記 VH CDR1 が配列番号 64 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR2 が配列番号 65 または 66 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR3 が配列番号 67 のアミノ酸配列を含み；

40

前記 VL CDR1 が配列番号 68 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR2 が配列番号 69 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR3 が配列番号 70 のアミノ酸配列を含む、

(g) 前記 VH CDR1 が配列番号 71 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR2 が配列番号 72、73 または 74 のアミノ酸配列を含み；

前記 VH CDR3 が配列番号 75 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR1 が配列番号 76 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR2 が配列番号 77 のアミノ酸配列を含み；

前記 VL CDR3 が配列番号 78 のアミノ酸配列を含む、

(h) 前記 VH CDR1 が配列番号 79 のアミノ酸配列を含み；

50

- 前記 V H C D R 2 が配列番号 8 0 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 3 が配列番号 8 1 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 1 が配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 2 が配列番号 8 3 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 3 が配列番号 8 4 のアミノ酸配列を含む、
 (i) 前記 V H C D R 1 が配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 2 が配列番号 8 6 または 8 7 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 3 が配列番号 8 8 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 1 が配列番号 8 9 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 2 が配列番号 9 0 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 3 が配列番号 9 1 のアミノ酸配列を含む、
 (j) 前記 V H C D R 1 が配列番号 9 2 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 2 が配列番号 9 3、9 4、9 5 または 9 6 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 3 が配列番号 9 7 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 1 が配列番号 9 8 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 2 が配列番号 9 9 または 1 0 0 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 3 が配列番号 1 0 1 のアミノ酸配列を含む、
 (k) 前記 V H C D R 1 が配列番号 1 0 2 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 2 が配列番号 1 0 3 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 3 が配列番号 1 0 4 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 1 が配列番号 1 0 5 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 2 が配列番号 1 0 6 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 3 が配列番号 1 0 7 のアミノ酸配列を含む、
 (l) 前記 V H C D R 1 が配列番号 1 0 8 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 2 が配列番号 1 0 9 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 3 が配列番号 1 1 0、1 1 1 または 1 1 2 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 1 が配列番号 1 1 3、1 1 4 または 1 1 5 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 2 が配列番号 1 1 6 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 3 が配列番号 1 1 7 のアミノ酸配列を含む、あるいは
 (m) 前記 V H C D R 1 が配列番号 1 8 2 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 2 が配列番号 1 8 3、1 8 4、1 8 5、または 1 8 6 のアミノ酸配列
 を含み；
 前記 V H C D R 3 が配列番号 1 8 7 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 1 が配列番号 1 8 8、1 8 9、1 9 0、または 1 9 1 のアミノ酸配列
 を含み；
 前記 V L C D R 2 が配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 3 が配列番号 1 9 3 のアミノ酸配列を含む、
 抗体またはその抗原結合断片。
 【請求項 2】
 (c) 前記 V H C D R 1 が配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 2 が配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 3 が配列番号 4 1、4 2、4 3、4 4、4 5 または 4 6 のアミノ酸配
 列を含み；
 前記 V L C D R 1 が配列番号 4 7、4 8 または 4 9 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 2 が配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V L C D R 3 が配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含む、
 請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合断片。
 【請求項 3】
 前記 V H C D R 1 が配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含み；
 前記 V H C D R 2 が配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含み；

前記 V H C D R 3 が配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 1 が配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 2 が配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 3 が配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含む、

請求項 2 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 4】

前記 V H が配列番号 5 および 1 5 9 ～ 1 6 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 6 および 1 6 3 ～ 1 6 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 3 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 5】

前記 V H が配列番号 1 5 9 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 6 5 のアミノ酸配列を含む、請求項 3 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 6】

前記 V H C D R 1 が配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含み；

前記 V H C D R 2 が配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含み；

前記 V H C D R 3 が配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 1 が配列番号 4 8 または 4 9 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 2 が配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 3 が配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含む、

請求項 2 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 7】

前記 V H が配列番号 1 5 9 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 7 8 のアミノ酸配列を含む、請求項 6 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 8】

前記 V H が配列番号 1 5 9 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 7 9 のアミノ酸配列を含む、請求項 6 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 9】

前記 V H C D R 1 が配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含み；

前記 V H C D R 2 が配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含み；

前記 V H C D R 3 が配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 1 が配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 2 が配列番号 5 6 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 3 が配列番号 5 7 のアミノ酸配列を含む、

請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 10】

前記 V H が配列番号 7 および 1 6 7 ～ 1 6 9 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 8 および 1 7 0 ～ 1 7 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 9 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 11】

前記 V H C D R 1 が配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含み；

前記 V H C D R 2 が配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含み；

前記 V H C D R 3 が配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 1 が配列番号 3 6 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 2 が配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含み；

前記 V L C D R 3 が配列番号 3 8 のアミノ酸配列を含む、

請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 12】

前記 V H が配列番号 3 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 4 のアミノ酸配列を含む、請求項 9 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 13】

ヒト B7-H3 (CD276) タンパク質に対する特異性を有し、VH CDR1、VH CDR2 および VH CDR3 を含む重鎖可変領域 (VH)、ならびに VL CDR1、VL CDR2、および VL CDR3 を含む軽鎖可変領域 (VL) を含む抗体またはその抗原結合断片であって、

- (a) 前記 VH CDR1 が配列番号 149 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR2 が配列番号 150、151 または 152 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR3 が配列番号 153 または 154 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR1 が配列番号 155 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR2 が配列番号 156 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR3 が配列番号 157 または 158 のアミノ酸配列を含み、
(b) 前記 VH CDR1 が配列番号 126 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR2 が配列番号 127 または 128 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR3 が配列番号 129、130 または 131 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR1 が配列番号 132 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR2 が配列番号 133 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR3 が配列番号 134 のアミノ酸配列を含む、
(c) 前記 VH CDR1 が配列番号 135 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR2 が配列番号 136 または 137 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR3 が配列番号 138 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR1 が配列番号 139 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR2 が配列番号 140 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR3 が配列番号 141 のアミノ酸配列を含む、あるいは
(d) 前記 VH CDR1 が配列番号 142 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR2 が配列番号 143 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR3 が配列番号 144 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR1 が配列番号 145 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR2 が配列番号 146 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR3 が配列番号 147 または 148 のアミノ酸配列を含む、

抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 14】

- 前記 VH CDR1 が配列番号 149 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR2 が配列番号 150、151 または 152 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR3 が配列番号 153 または 154 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR1 が配列番号 155 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR2 が配列番号 156 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR3 が配列番号 157 または 158 のアミノ酸配列を含む、

請求項 13 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 15】

- 前記 VH CDR1 が配列番号 149 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR2 が配列番号 150 のアミノ酸配列を含み；
前記 VH CDR3 が配列番号 153 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR1 が配列番号 155 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR2 が配列番号 156 のアミノ酸配列を含み；
前記 VL CDR3 が配列番号 157 のアミノ酸配列を含む、

請求項 14 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 16】

前記 VH が配列番号 124 のアミノ酸配列を含み、前記 VL が配列番号 125 のアミノ酸配列を含む、請求項 15 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 17】

- 前記 VH CDR1 が配列番号 126 のアミノ酸配列を含み；

前記 V H C D R 2 が配列番号 1 2 7 または 1 2 8 のアミノ酸配列を含み；
前記 V H C D R 3 が配列番号 1 2 9、1 3 0 または 1 3 1 のアミノ酸配列を含み；
前記 V L C D R 1 が配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列を含み；
前記 V L C D R 2 が配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列を含み；
前記 V L C D R 3 が配列番号 1 3 4 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 3 に記載の抗体

またはその抗原結合断片。

【請求項 1 8】

前記 V H が配列番号 1 1 8 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 1 9 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 7 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 1 9】

前記 V H C D R 1 が配列番号 1 3 5 のアミノ酸配列を含み；
前記 V H C D R 2 が配列番号 1 3 6 または 1 3 7 のアミノ酸配列を含み；
前記 V H C D R 3 が配列番号 1 3 8 のアミノ酸配列を含み；
前記 V L C D R 1 が配列番号 1 3 9 のアミノ酸配列を含み；
前記 V L C D R 2 が配列番号 1 4 0 のアミノ酸配列を含み；
前記 V L C D R 3 が配列番号 1 4 1 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 3 に記載の抗体
またはその抗原結合断片。

【請求項 2 0】

前記 V H が配列番号 1 2 0 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 2 1 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 9 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 2 1】

前記 V H C D R 1 が配列番号 1 4 2 のアミノ酸配列を含み；
前記 V H C D R 2 が配列番号 1 4 3 のアミノ酸配列を含み；
前記 V H C D R 3 が配列番号 1 4 4 のアミノ酸配列を含み；
前記 V L C D R 1 が配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含み；
前記 V L C D R 2 が配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含み；
前記 V L C D R 3 が配列番号 1 4 7 または 1 4 8 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 3
に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 2 2】

前記 V H が配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 1 2 3 のアミノ酸配列を含む、請求項 2 1 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 2 3】

二価 F a b 抗体であるか、または F (a b ') 2、F (a b) 2、F a b '、F a b、F v および s c F v からなる群から選択される断片である、請求項 1 から 2 2 のいずれか一項に記載の抗体またはその断片。

【請求項 2 4】

請求項 1 から 2 3 のいずれか一項に記載の抗原結合断片と、B 7 - H 3 ではない標的抗原に対して結合特異性を有する 1 つまたは複数の抗体または抗原結合断片とを含む、多重特異性抗体。

【請求項 2 5】

請求項 1 から 2 3 のいずれか一項に記載の抗原結合断片と、膜貫通ドメインと、共刺激ドメインと、C D 3 ζ 細胞内ドメインとを含む、キメラ抗原受容体 (C A R) 。

【請求項 2 6】

請求項 1 から 2 4 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片または請求項 2 0 に記載の C A R をコードする、1 つまたは複数のポリヌクレオチド。

【請求項 2 7】

1 つまたは複数の m R N A である、請求項 2 6 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 2 8】

前記 m R N A が、化学的に修飾されている、請求項 2 7 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 2 9】

10

20

30

40

50

請求項 26 から 28 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含む、細胞。

【請求項 30】

(a) 請求項 1 から 24 のいずれか一項に記載の抗体またはその断片；および

(b) 前記抗体またはその断片にコンジュゲートされたコンジュゲーション部分を含み、前記コンジュゲーション部分が、検出可能なマーカー、薬物、毒素、サイトカイン、放射性核種、酵素、またはこれらの組合せから選択される、抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項 31】

請求項 1 から 24 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、請求項 25 に記載の C A R、請求項 26 から 28 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、請求項 29 に記載の細胞または請求項 30 に記載の抗体-薬物コンジュゲートと、薬学的に許容される担体とを含む、組成物。

【請求項 32】

がんを処置することを必要とする患者におけるがんを処置する方法であって、請求項 1 から 24 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、請求項 25 に記載の C A R、請求項 26 から 28 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、請求項 29 に記載の細胞または請求項 30 に記載の抗体-薬物コンジュゲートの有効量を前記患者に投与することを含む方法。

【請求項 33】

がんを処置するための医薬を調製するための、請求項 1 から 24 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、請求項 25 に記載の C A R、請求項 26 から 28 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、請求項 29 に記載の細胞または請求項 30 に記載の抗体-薬物コンジュゲートの、使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

背景

B7 は、活性化抗原提示細胞 (A P C) 上に見られる膜内在性タンパク質のファミリーである。T 細胞上の C D 28 または C D 152 (C T L A-4) 表面タンパク質のどちらかと対合した場合、B7 タンパク質は、それぞれ、共刺激シグナルまたは共阻害シグナルを生成して、A P C と T 細胞間の M H C-T C R シグナルの活性を増強または低下させることができる。T 細胞の C T L A-4 への A P C の B7 の結合は、T 細胞の活性の阻害を引き起こす。

【背景技術】

【0002】

B7 タンパク質の 2 つの主要タイプがある：B7-1 または C D 80、および B7-2 または C D 86。タンパク質 C D 28 および C T L A-4 (C D 152) は、各々、B7-1 と B7-2 の両方と相互作用する。このファミリーの他のタンパク質は、B7-DC (P D-L2)、B7-H1 (P D-L1)、B7-H2 (I C O S L G)、B7-H3 (C D 276)、B7-H4 (V T C N1)、B7-H5 (V I S T A)、B7-H6、および B7-H7 を含む。

【0003】

B7-H3 は、I 型膜貫通タンパク質であり、このタンパク質は、細胞外免疫グロブリン様可変領域 (I g V) および定常領域 (I g C)、膜貫通領域、ならびに短い細胞質領域を含有する。B7-H3 は、2 つのスプライスバリエント、B7-H3 a および B7-H3 b、を有する。B7-H3 a の細胞外ドメインは、I g V-I g C (2 I g B7-H3 としても公知) の 2 つの免疫グロブリンドメインを含み、その一方で、B7-H3 b の細胞外ドメインは、I g V-I g C-I g V-I g C (4 I g B7-H3 としても公知) の 4 つの免疫グロブリンドメインからなる。4 I g B7-H3 は、ヒトにおける主たるアイソフォームであり、その一方で、2 I g B7-H3 は、マウスにおける唯一のアイソフ

フォームである。

【0004】

B7-H3タンパク質は、正常な組織および細胞には発現されないまたはあまり発現されないが、様々な腫瘍組織には高度に発現され、腫瘍進行、患者生存期間および予後と密接に関連している。B7-H3は、多くのタイプのがんにおいて、特に、非小細胞肺癌、腎がん、尿路上皮がん、結腸直腸がん、前立腺がん、多形性神経膠芽種、卵巣がんおよび脾臓がんにおいて、過剰に発現されることが、臨床的に報告されている。加えて、前立腺がんでは、B7-H3の発現レベルが臨床病理学的悪性病変およびがんの進行と正に相関することも、文献に報告されている。同様に、多形性神経膠芽種では、B7-H3発現は、無イベント生存期間と逆相関しており、脾臓がんでは、B7-H3発現は、リンパ節転移および病態進行に関連している。それ故、B7-H3は、好適な潜在的治療標的である。B7-H3を標的とする抗体は、腫瘍における浸潤性CD8陽性T細胞を増強し、腫瘍成長を阻害することができることが、実証されている。

10

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

要旨

本開示は、様々な実施形態で、ヒトB7-H3タンパク質に特異的な抗体および抗原結合性断片を提供する。マウス抗体とそれらのヒト化対応物も、完全ヒト抗体も、同定されている。これらの抗体は、一般に、ベンチマーク抗体MGA017 (MacroGenesis) より優れた特性を有する。これらの抗体は、それらに由来する分子、例えば、キメラ抗原受容体(CAR)、多重特異性抗体とともに、がんなどの疾患の処置に好適に使用することができる。

20

【0006】

それゆえ、本開示の一実施形態は、ヒトB7-H3 (CD276) タンパク質に対して特異性を有する抗体またはその抗原結合性断片であって、VH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含む重鎖可変領域(VH)、およびVL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3を含む軽鎖可変領域(VL)を含む、抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

30

【0007】

一部の実施形態では、VH CDR1は配列番号25のアミノ酸配列を含み；VH CDR2は配列番号26、27、または28のアミノ酸配列を含み；VH CDR3は配列番号29のアミノ酸配列を含み；VL CDR1は配列番号30のアミノ酸配列を含み；VL CDR2は配列番号31のアミノ酸配列を含み；VL CDR3は配列番号32のアミノ酸配列を含む。

【0008】

一部の実施形態では、VH CDR1は配列番号33のアミノ酸配列を含み；VH CDR2は配列番号34のアミノ酸配列を含み；VH CDR3は配列番号35のアミノ酸配列を含み；VL CDR1は配列番号36のアミノ酸配列を含み；VL CDR2は配列番号37のアミノ酸配列を含み；VL CDR3は配列番号38のアミノ酸配列を含む。

40

【0009】

一部の実施形態では、VH CDR1は配列番号39のアミノ酸配列を含み；VH CDR2は配列番号40のアミノ酸配列を含み；VH CDR3は配列番号41、42、43、44、45または46のアミノ酸配列を含み；VL CDR1は配列番号47、48または49のアミノ酸配列を含み；VL CDR2は配列番号50のアミノ酸配列を含み；VL CDR3は配列番号51のアミノ酸配列を含む。

【0010】

一部の実施形態では、VH CDR1は配列番号52のアミノ酸配列を含み；VH CDR2は配列番号53のアミノ酸配列を含み；VH CDR3は配列番号54のアミノ酸配列を含み；VL CDR1は配列番号55のアミノ酸配列を含み；VL CDR2は配

50

列番号 56 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 57 のアミノ酸配列を含む。
【0011】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 58 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 59 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 60 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 61 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 62 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 63 のアミノ酸配列を含む。

【0012】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 64 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 65 または 66 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 67 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 68 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 69 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 70 のアミノ酸配列を含む。

10

【0013】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 71 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 72、73 または 74 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 75 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 76 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 77 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 78 のアミノ酸配列を含む。

【0014】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 79 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 80 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 81 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 82 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 83 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 84 のアミノ酸配列を含む。

20

【0015】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 85 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 86 または 87 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 88 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 89 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 90 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 91 のアミノ酸配列を含む。

【0016】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 92 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 93、94、95 または 96 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 97 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 98 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 99 または 100 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 101 のアミノ酸配列を含む。

30

【0017】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 102 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 103 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 104 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 105 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 106 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 107 のアミノ酸配列を含む。

40

【0018】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 108 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 109 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 110、111 または 112 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 113、114 または 115 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 116 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 117 のアミノ酸配列を含む。

【0019】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 182 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 183、184、185、または 186 のアミノ酸配列を含み；V H

50

C D R 3 は配列番号 1 8 7 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 1 8 8、1 8 9、1 9 0、または 1 9 1 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 1 9 3 のアミノ酸配列を含む。

【0020】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含む。

【0021】

一部の実施形態では、V H は配列番号 5 および 1 5 9 ~ 1 6 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 6 および 1 6 3 ~ 1 6 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、V H は配列番号 1 5 9 のアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 1 6 5 のアミノ酸配列を含む。

10

【0022】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 4 8 または 4 9 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含む。

【0023】

一部の実施形態では、V H は配列番号 1 5 9 のアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 1 7 8 のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、V H は配列番号 1 5 9 のアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 1 7 9 のアミノ酸配列を含む。

20

【0024】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 5 6 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 5 7 のアミノ酸配列を含む。

【0025】

一部の実施形態では、V H は配列番号 7 および 1 6 7 ~ 1 6 9 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 8 および 1 7 0 ~ 1 7 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

30

【0026】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 3 6 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 3 8 のアミノ酸配列を含む。

【0027】

一部の実施形態では、V H は配列番号 3 のアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 4 のアミノ酸配列を含む。

40

【0028】

一実施形態では、ヒト B 7 - H 3 (C D 2 7 6) タンパク質に対して特異性を有する抗体またはその抗原結合性断片であって、V H C D R 1、V H C D R 2、および V H C D R 3 を含む重鎖可変領域 (V H)、および V L C D R 1、V L C D R 2、および V L C D R 3 を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む、抗体またはその抗原結合性断片も提供される。

【0029】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 1 2 6 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 1 2 7 または 1 2 8 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 1 2 9、1 3 0 または 1 3 1 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 1 3 2

50

のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 1 3 4 のアミノ酸配列を含む。

【0030】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 1 3 5 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 1 3 6 または 1 3 7 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 1 3 8 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 1 3 9 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 1 4 0 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 1 4 1 のアミノ酸配列を含む。

【0031】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 1 4 2 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 1 4 3 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 1 4 4 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 1 4 7 または 1 4 8 のアミノ酸配列を含む。

【0032】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 1 4 9 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 1 5 0、1 5 1 または 1 5 2 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 1 5 3 または 1 5 4 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 1 5 5 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 1 5 7 または 1 5 8 のアミノ酸配列を含む。

【0033】

一部の実施形態では、V H C D R 1 は配列番号 1 4 9 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 2 は配列番号 1 5 0 のアミノ酸配列を含み；V H C D R 3 は配列番号 1 5 3 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 1 は配列番号 1 5 5 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 2 は配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列を含み；V L C D R 3 は配列番号 1 5 7 のアミノ酸配列を含む。

【0034】

一部の実施形態では、V H は配列番号 1 1 8 のアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 1 1 9 のアミノ酸配列を含む。

【0035】

一部の実施形態では、V H は配列番号 1 2 0 のアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 1 2 1 のアミノ酸配列を含む。

【0036】

一部の実施形態では、V H は配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 1 2 3 のアミノ酸配列を含む。

【0037】

一部の実施形態では、V H は配列番号 1 2 4 のアミノ酸配列を含み、V L は配列番号 1 2 5 のアミノ酸配列を含む。

【0038】

一部の実施形態では、抗体またはその断片は、二価 F a b 抗体であるか、または F (a b ') 2、F (a b) 2、F a b '、F a b、F v および s c F v からなる群から選択される断片である。

【0039】

本開示の抗原結合断片と、B 7 - H 3 ではない標的抗原に対して結合特異性を有する 1 つまたは複数の抗体または抗原結合断片とを含む、多重特異性抗体も提供される。

【0040】

本開示の抗原結合断片と、膜貫通ドメインと、共刺激ドメインと、C D 3 ζ 細胞内ドメインとを含む、キメラ抗原受容体 (C A R) がなおさらに提供される。本開示の抗体もしくはその抗原結合断片または C A R をコードする 1 つまたは複数のポリヌクレオチドがまたさらに提供される。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、1 つまたは複数の m R

10

20

30

40

50

NAである。

【0041】

がんなどの疾患を処置するための方法および使用も提供される。

【図面の簡単な説明】

【0042】

【図1】図1は、試験した抗体がA375腫瘍細胞上のB7-H3タンパク質に結合したことを示す。AHP05564、AHP06331、AHP06345、およびAHP06358を除いて、試験した全ての抗体は、臨床ベンチマーク、MGA017より良好な結合を示した。

【0043】

【図2】図2は、A375腫瘍細胞に対する試験した抗体の内在化力 (internalization potency) を示す。

【0044】

【図3】図3は、RKO腫瘍細胞に対するB7-H3 ADCのin vitro殺傷有効性を示す。

【0045】

【図4】図4は、A375腫瘍細胞上に発現されたB7-H3へのヒト化抗体の結合を示す。

【0046】

【図5】図5は、A375腫瘍細胞上に発現されたB7-H3に対する潜在的なPTM部位の除去後のキメラ抗体の結合活性を示す。

【0047】

【図6】図6は、A375腫瘍細胞に対するPTMが除去されたヒト化抗体の結合活性を示す。

【発明を実施するための形態】

【0048】

詳細な説明

定義

用語「1つの(a)」または「1つの(an)」実体は、その実体の1つまたは複数を指し、例えば、「1つの抗体(an antibody)」は、1つまたは複数の抗体を表すと理解されることに留意されたい。したがって、用語「1つの(a)」(または「1つの(an)」)、「1つまたは複数(one or more)」および「少なくとも1つ(at least one)」は、本明細書では同義で使用され得る。

【0049】

本明細書で使用される場合、「抗体」または「抗原結合断片」は、抗原を特異的に認識し、それに結合する、ポリペプチドまたはポリペプチド複合体を指す。抗体は、全抗体およびその任意の抗原結合断片または一本鎖であり得る。したがって、用語「抗体」は、抗原に結合する生物活性を有する免疫グロブリン分子の少なくとも一部分を含む分子を含む、任意のタンパク質またはペプチドを含む。そのようなものの例としては、重鎖もしくは軽鎖またはそのリガンド結合部分の相補性決定領域(CDR)、重鎖または軽鎖可変領域、重鎖または軽鎖定常領域、フレームワーク(FR)領域、あるいはその任意の部分、あるいは結合タンパク質の少なくとも一部分が挙げられるが、これらに限定されない。

【0050】

用語「抗体断片」または「抗原結合断片」は、本明細書で使用される場合、抗体の一部分、例えば、F(ab')₂、F(ab)₂、Fab'、Fab、Fv、scFvなどである。構造に関係なく、抗体断片は、無傷抗体により認識される同じ抗原と結合する。用語「抗体断片」は、アプタマー、スピーゲルアイゼン、およびダイアボディを含む。用語「抗体断片」は、特定の抗原に結合して複合体を形成することにより抗体のように動作する、任意の合成のまたは遺伝子操作されたタンパク質も含む。

【0051】

10

20

30

40

50

抗体という用語は、生化学的に区別され得るポリペプチドの様々な広範なクラスを包含する。重鎖が、ガンマ、ミュー、アルファ、デルタまたはイプシロン（ γ 、 μ 、 α 、 δ 、 ϵ ）として、一部はこれらの中のサブクラス（例えば、 $\gamma 1 \sim \gamma 4$ ）として、分類されることは、当業者には理解されるであろう。それは、それぞれ Ig G、Ig M、Ig A、Ig G または Ig E のような抗体の「クラス」を決定するこの鎖の性質である。

【0052】

免疫グロブリンサブクラス（アイソタイプ）、例えば、Ig G 1、Ig G 2、Ig G 3、Ig G 4、Ig G 5 などは、十分に特徴付けられており、機能の特化をもたらすことが公知である。これらのクラスおよびアイソタイプの各々についての改変バージョンは、本開示に鑑みて当業者には容易に識別可能であり、したがって、本開示の範囲内である。全ての免疫グロブリンクラスは、明らかに本開示の範囲内であり、以下の論述は、一般に、免疫グロブリン分子の Ig G クラスに関することになる。Ig G に関して、標準的な免疫グロブリン分子は、分子量およそ 23,000 ダルトンの 2 つの同一の軽鎖ポリペプチド、および分子量 53,000 ~ 70,000 ダルトンの 2 つの同一の重鎖ポリペプチドを含む。4 本の鎖は、典型的に、ジスルフィド結合により「Y」形状に連結されており、軽鎖が、「Y」の口で始まって可変領域まで続いて重鎖を両側から挟んでいる。

【0053】

本開示の抗体、その抗原結合ポリペプチド、バリエーションまたは誘導体は、ポリクローナル、モノクローナル、多重特異性、ヒト、ヒト化、霊長類化またはキメラ抗体、一本鎖抗体、エピトープ結合性断片、例えば、Fab、Fab' および F(ab')₂、Fd、Fv、一本鎖 Fv (scFv)、一本鎖抗体、ジスルフィド連結 Fv (sdFv)、VK または VH ドメインを含む断片、Fab 発現ライブラリーにより生成される断片、ならびに抗イディオタイプ（抗 Id）抗体（例えば、本明細書で開示される LIGHT 抗体に対する抗 Id 抗体を含む）を含むが、これらに限定されない。本開示の免疫グロブリンまたは抗体分子は、免疫グロブリン分子の任意のタイプ（例えば、Ig G、Ig E、Ig M、Ig D、Ig A および Ig Y）、クラス（例えば、Ig G 1、Ig G 2、Ig G 3、Ig G 4、Ig A 1 および Ig A 2）またはサブクラスのものであり得る。

【0054】

本明細書で使用される場合、用語「キメラ抗体」は、免疫反応性領域または部位が第 1 の種から得られまたはそれに由来し、定常領域（本開示によれば、無傷であることがあり、部分的であることがあり、または改変されていることがある）が第 2 の種から得られる、任意の抗体を意味すると考えられたい。ある特定の実施形態では、標的結合領域または部位は、非ヒト源（例えば、マウスまたは霊長類）からのものとなり、定常領域は、ヒトのものである。

【0055】

本明細書で開示される抗体は、鳥類および哺乳動物を含む任意の動物起源のものであり得る。好ましくは、抗体は、ヒト、マウス、ロバ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ラマ、ウマ、またはニワトリ抗体である。一部の実施形態では、可変領域は、起源が軟骨魚網様のもの（例えば、サメからのもの）であり得る。

【0056】

本明細書で使用される場合、用語「組換え（の）」は、それがポリペプチドまたはポリヌクレオチドに付随する場合、天然に存在しないポリペプチドまたはポリヌクレオチドの形態を意図しており、その非限定的な例は、通常は一緒に存在しないポリヌクレオチドを組み合わせることにより作出され得る。

【0057】

ハイブリドーマ技術は、異なる「ストリンジェンシー」の条件下で行われ得る。一般に、低ストリンジェンシーハイブリダイゼーション反応は、約 $10 \times SSC$ 、または等価のイオン強度／温度の溶液中、約 $40^\circ C$ で実行される。中ストリンジェンシーハイブリダイゼーションは、典型的に、約 $6 \times SSC$ 中、約 $50^\circ C$ で行われ、高ストリンジェンシーハイブリダイゼーション反応は、一般に、約 $1 \times SSC$ 中、約 $60^\circ C$ で行われる。ハイブリ

ダイゼーション反応はまた、当業者には周知である「生理条件」下で行われ得る。生理条件の非限定的な例は、細胞に通常見られる温度、イオン強度、pHおよび Mg^{2+} 濃度である。

抗B7-H3抗体

【0058】

添付の実験例で実証されるように、本発明者らは、全てがヒトB7-H3タンパク質に対してベンチマーク抗体MGA017 (MacroGenics) より高い結合親和性を有するものである、抗B7-H3抗体35A12B11、62H9H5、72D1D11、81C8A1、97E6B2、106A5B3、126C10B10、216E7A9、227E12D1、294A3C4、312E1E2および429H9F10 (表1) を生成することができた。

10

【0059】

一方で、AHP05564、AHP06331、AHP06345およびAHP06358 (表2) を含む、完全ヒト抗体は、カスタマイズされたファージ抗体ライブラリーから同定されている。これらのヒト抗体は、MGA017に特有の特性も有し、このことは、これらのヒト抗体が有望であることを強調している。

【0060】

改善された結合親和性に起因する可能性が高いが、マウス抗体のキメラバージョンの全では、A375細胞を用いて評価したとき、MGA017より高度な細胞内在化に至った (図2A)。驚くべき事に、完全ヒト抗体のうちの2つ、AHP06331およびAHP06358も、低濃度ではそれらの比較的中程度の性能にもかかわらず、高濃度ではMGA017よりはるかに性能が優れていた (図2B)。

20

【0061】

これらの抗体の抗体-薬物コンジュゲート (ADC) も調製し、試験した。この場合もやはり、少なくとも、72D1D11、81C8A1、62H9H5、106A5B3、126C10B10および227E12DのADCは、vc-MMAEコンジュゲートMGA017より性能が優れており (図3)、その結果、これらの新たな抗体の優れた特性がさらに裏付けられた。

【0062】

結合競合アッセイに基づいて、抗体を、表3Bに示されるような5つの異なるエピトープビニング群、A α 、A β 、A γ 、BおよびC、にカテゴリー分けした。A α 群は、MGA017を、62H9H5、81C8A1、106A5B3、216E7A9、および227E12D1とともに含むが、抗体の大部分は、この群のものではない。A β 群は、72D1D11、97E6B2、126C10B10、および429H9F10を含み、A γ 群は、35A12B11、294A3C4、およびAHP06358を含み、B群は、312E1E12およびAHP06345を含み、C群は、AHP06331およびAHP05564を含む。

30

【0063】

したがって、本開示の一実施形態によれば、抗体またはその抗原結合断片が提供される。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒトB7-H3タンパク質に対して結合特性を有する。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、VH CDR1と、VH CDR2と、VH CDR3とを含む重鎖可変領域 (VH)、およびVL CDR1と、VL CDR2と、VL CDR3とを含む軽鎖可変領域 (VL) を含む。

40

【0064】

一実施形態では、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3は、本明細書で特定される抗体、例えば、35A12B11、62H9H5、72D1D11、81C8A1、97E6B2、106A5B3、126C10B10、216E7A9、227E12D1、294A3C4、312E1E2、および429H9F10のいずれか、あるいはAHP05564、AHP06331、AHP06345およびAHP06358のいずれかのものである。

50

【0065】

一部の実施形態では、抗体72D1D11を参照して、VH CDR1は配列番号39のアミノ酸配列を含み、VH CDR2は配列番号40のアミノ酸配列を含み、VH CDR3は配列番号41のアミノ酸配列を含み、VL CDR1は配列番号47のアミノ酸配列を含み、VL CDR2は配列番号50のアミノ酸配列を含み、VL CDR3は配列番号51のアミノ酸配列を含む。

【0066】

抗体または断片は、マウス、キメラまたはヒト化の物であり得る。例の抗体として、表5に示されるものが挙げられる。一部の実施形態では、抗体または断片は、配列番号5（マウス）、159、160、161または162（ヒト化）のアミノ酸配列を有するVHを有する。一部の実施形態では、抗体または断片は、配列番号6（マウス）、163、164、165または166（ヒト化）のアミノ酸配列を有するVLを有する。VH/VL配列の例のペア形成が表5Bに示される。例えば、一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号159のVHおよび165のVLを含む。別の実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号159のVHおよび163のVLを含む。

【0067】

配列解析により、VH CDR3配列（配列番号41）およびVL CDR1配列（配列番号47）は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾（PTM）のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号42、43、44、45および46を含む、VH CDR3ならびに配列番号48および49を含むVL CDR1のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

【0068】

一部の実施形態では、したがって、VH CDR1は配列番号39のアミノ酸配列を含み、VH CDR2は配列番号40のアミノ酸配列を含み、VH CDR3は配列番号41、42、43、44、45または46のアミノ酸配列を含み、VL CDR1は配列番号47、48または49のアミノ酸配列を含み、VL CDR2は配列番号50のアミノ酸配列を含み、VL CDR3は配列番号51のアミノ酸配列を含む、CDR配列を有する抗体および断片が提供される。

【0069】

一部の実施形態では、VH CDR1は配列番号39のアミノ酸配列を含み、VH CDR2は配列番号40のアミノ酸配列を含み、VH CDR3は配列番号41のアミノ酸配列を含み、VL CDR1は配列番号47、48または49のアミノ酸配列を含み、VL CDR2は配列番号50のアミノ酸配列を含み、VL CDR3は配列番号51のアミノ酸配列を含む。

【0070】

PTM脱リスク化CDRを有するまたは有さない例の抗体配列も提供される。表9に示される通りである。一部の実施形態では、抗体または断片は、配列番号159、174、175、176、または177のアミノ酸配列を有するVHを有する。一部の実施形態では、抗体または断片は、配列番号165、178または179のアミノ酸配列を有するVLを有する。VH/VL配列の例のペア形成が表8に示される。例えば、一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号159のVHおよび178のVLを含む。別の実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号159のVHおよび179のVLを含む。

【0071】

一部の実施形態では、B7-H3上の72D1D11と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3への結合において72D1D11と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

【0072】

一部の実施形態では、抗体81C8A1を参照して、VH CDR1は配列番号52のアミノ酸配列を含み、VH CDR2は配列番号53のアミノ酸配列を含み、VH CDR3は配列番号54のアミノ酸配列を含み、VL CDR1は配列番号55のアミノ酸配

列を含み、V L C D R 2 は配列番号 5 6 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 3 は配列番号 5 7 のアミノ酸配列を含む。

【0073】

抗体または断片は、マウス、キメラまたはヒト化の物であり得る。例の抗体として、表 6 に示されるものが挙げられる。一部の実施形態では、抗体または断片は、配列番号 7 (マウス)、167、168 または 169 (ヒト化) のアミノ酸配列を有する V H を有する。一部の実施形態では、抗体または断片は、配列番号 8 (マウス)、170、171、172 または 173 (ヒト化) のアミノ酸配列を有する V L を有する。V H / V L 配列の例のペア形成が表 6 B に示される。例えば、一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 167 の V H および 172 の V L を含む。別の実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 167 の V H および 173 の V L を含む。別の実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 168 の V H および 171 の V L を含む。別の実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 168 の V H および 172 の V L を含む。別の実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 168 の V H および 173 の V L を含む。

10

【0074】

一部の実施形態では、B7-H3 上の 81C8A1 と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3 への結合において 81C8A1 と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

【0075】

一部の実施形態では、抗体 35A12B11 を参照して、V H C D R 1 は配列番号 25 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 2 は配列番号 26 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 3 は配列番号 29 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 1 は配列番号 30 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 2 は配列番号 31 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 3 は配列番号 32 のアミノ酸配列を含む。

20

【0076】

配列解析により、V H C D R 2 配列 (配列番号 26) は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾 (P T M) のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号 27 および 28 を含む、V H C D R 2 のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

【0077】

一部の実施形態では、したがって、V H C D R 1 は配列番号 25 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 2 は配列番号 26、27 または 28 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 3 は配列番号 29 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 1 は配列番号 30 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 2 は配列番号 31 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 3 は配列番号 32 のアミノ酸配列を含む、C D R 配列を有する抗体および断片が提供される。

30

【0078】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 1 の V H および 2 の V L を含む。一部の実施形態では、B7-H3 上の 35A12B11 と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3 への結合において 35A12B11 と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

40

【0079】

一部の実施形態では、抗体 62H9H5 を参照して、V H C D R 1 は配列番号 33 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 2 は配列番号 34 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 3 は配列番号 35 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 1 は配列番号 36 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 2 は配列番号 37 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 3 は配列番号 38 のアミノ酸配列を含む。

【0080】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 3 の V H および 4 の V L を含む。一部の実施形態では、B7-H3 上の 62H9H5 と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3 への結合において 62H9

50

H 5 と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

【0081】

一部の実施形態では、抗体 97E6B2 を参照して、VH CDR1 は配列番号 58 のアミノ酸配列を含み、VH CDR2 は配列番号 59 のアミノ酸配列を含み、VH CDR3 は配列番号 60 のアミノ酸配列を含み、VL CDR1 は配列番号 61 のアミノ酸配列を含み、VL CDR2 は配列番号 62 のアミノ酸配列を含み、VL CDR3 は配列番号 63 のアミノ酸配列を含む。

【0082】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 9 の VH および 10 の VL を含む。一部の実施形態では、B7-H3 上の 97E6B2 と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3 への結合において 97E6B2 と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

10

【0083】

一部の実施形態では、抗体 106A5B3 を参照して、VH CDR1 は配列番号 64 のアミノ酸配列を含み、VH CDR2 は配列番号 65 のアミノ酸配列を含み、VH CDR3 は配列番号 67 のアミノ酸配列を含み、VL CDR1 は配列番号 68 のアミノ酸配列を含み、VL CDR2 は配列番号 69 のアミノ酸配列を含み、VL CDR3 は配列番号 70 のアミノ酸配列を含む。

【0084】

配列解析により、VH CDR2 配列（配列番号 65）は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾（PTM）のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号 66 を含む、VH CDR2 のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

20

【0085】

一部の実施形態では、したがって、VH CDR1 は配列番号 64 のアミノ酸配列を含み、VH CDR2 は配列番号 65 または 66 のアミノ酸配列を含み、VH CDR3 は配列番号 67 のアミノ酸配列を含み、VL CDR1 は配列番号 68 のアミノ酸配列を含み、VL CDR2 は配列番号 69 のアミノ酸配列を含み、VL CDR3 は配列番号 70 のアミノ酸配列を含む、CDR 配列を有する抗体および断片が提供される。

【0086】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 11 の VH および 12 の VL を含む。一部の実施形態では、B7-H3 上の 106A5B3 と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3 への結合において 106A5B3 と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

30

【0087】

一部の実施形態では、抗体 126C10B10 を参照して、VH CDR1 は配列番号 71 のアミノ酸配列を含み、VH CDR2 は配列番号 72 のアミノ酸配列を含み、VH CDR3 は配列番号 75 のアミノ酸配列を含み、VL CDR1 は配列番号 76 のアミノ酸配列を含み、VL CDR2 は配列番号 77 のアミノ酸配列を含み、VL CDR3 は配列番号 78 のアミノ酸配列を含む。

40

【0088】

配列解析により、VH CDR2 配列（配列番号 72）は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾（PTM）のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号 73 および 74 を含む、VH CDR2 のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

【0089】

一部の実施形態では、したがって、VH CDR1 は配列番号 71 のアミノ酸配列を含み、VH CDR2 は配列番号 72、73 または 74 のアミノ酸配列を含み、VH CDR3 は配列番号 75 のアミノ酸配列を含み、VL CDR1 は配列番号 76 のアミノ酸配列を含み、VL CDR2 は配列番号 77 のアミノ酸配列を含み、VL CDR3 は配列

50

番号 78 のアミノ酸配列を含む、CDR 配列を有する抗体および断片が提供される。

【0090】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 13 の VH および 14 の VL を含む。一部の実施形態では、B7-H3 上の 126C10B10 と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3 への結合において 126C10B10 と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

【0091】

一部の実施形態では、抗体 216E7A9 を参照して、VH CDR1 は配列番号 79 のアミノ酸配列を含み、VH CDR2 は配列番号 80 のアミノ酸配列を含み、VH CDR3 は配列番号 81 のアミノ酸配列を含み、VL CDR1 は配列番号 82 のアミノ酸配列を含み、VL CDR2 は配列番号 83 のアミノ酸配列を含み、VL CDR3 は配列番号 84 のアミノ酸配列を含む。

10

【0092】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 15 の VH および 16 の VL を含む。一部の実施形態では、B7-H3 上の 216E7A9 と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3 への結合において 216E7A9 と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

【0093】

一部の実施形態では、抗体 227E12D1 を参照して、VH CDR1 は配列番号 85 のアミノ酸配列を含み、VH CDR2 は配列番号 86 のアミノ酸配列を含み、VH CDR3 は配列番号 88 のアミノ酸配列を含み、VL CDR1 は配列番号 89 のアミノ酸配列を含み、VL CDR2 は配列番号 90 のアミノ酸配列を含み、VL CDR3 は配列番号 91 のアミノ酸配列を含む。

20

【0094】

配列解析により、VH CDR2 配列（配列番号 86）は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾（PTM）のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号 87 を含む、VH CDR2 のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

【0095】

一部の実施形態では、したがって、VH CDR1 は配列番号 85 のアミノ酸配列を含み、VH CDR2 は配列番号 86 または 87 のアミノ酸配列を含み、VH CDR3 は配列番号 88 のアミノ酸配列を含み、VL CDR1 は配列番号 89 のアミノ酸配列を含み、VL CDR2 は配列番号 90 のアミノ酸配列を含み、VL CDR3 は配列番号 91 のアミノ酸配列を含む、CDR 配列を有する抗体および断片が提供される。

30

【0096】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 17 の VH および 18 の VL を含む。一部の実施形態では、B7-H3 上の 227E12D1 と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3 への結合において 227E12D1 と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

【0097】

一部の実施形態では、抗体 294A3C4 を参照して、VH CDR1 は配列番号 92 のアミノ酸配列を含み、VH CDR2 は配列番号 93 のアミノ酸配列を含み、VH CDR3 は配列番号 97 のアミノ酸配列を含み、VL CDR1 は配列番号 98 のアミノ酸配列を含み、VL CDR2 は配列番号 99 のアミノ酸配列を含み、VL CDR3 は配列番号 101 のアミノ酸配列を含む。

40

【0098】

配列解析により、VH CDR2 配列（配列番号 93）および VL CDR2（配列番号 99）は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾（PTM）のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号 94、95、および 96 を含む VH CDR2、ならびに配列番号 100 を含む、VL

50

C D R 2 のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

【 0 0 9 9 】

一部の実施形態では、したがって、V H C D R 1 は配列番号 9 2 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 2 は配列番号 9 3、9 4、9 5 または 9 6 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 3 は配列番号 9 7 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 1 は配列番号 9 8 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 2 は配列番号 9 9 または 1 0 0 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 3 は配列番号 1 0 1 のアミノ酸配列を含む、C D R 配列を有する抗体および断片が提供される。

【 0 1 0 0 】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 1 9 の V H および 2 0 の V L を含む。一部の実施形態では、B 7 - H 3 上の 2 9 4 A 3 C 4 と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B 7 - H 3 への結合において 2 9 4 A 3 C 4 と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

【 0 1 0 1 】

一部の実施形態では、抗体 3 1 2 E 1 E 2 を参照して、V H C D R 1 は配列番号 1 0 2 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 2 は配列番号 1 0 3 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 3 は配列番号 1 0 4 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 1 は配列番号 1 0 5 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 2 は配列番号 1 0 6 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 3 は配列番号 1 0 7 のアミノ酸配列を含む。

【 0 1 0 2 】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 2 1 の V H および 2 2 の V L を含む。一部の実施形態では、B 7 - H 3 上の 3 1 2 E 1 E 2 と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B 7 - H 3 への結合において 3 1 2 E 1 E 2 と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

【 0 1 0 3 】

一部の実施形態では、抗体 4 2 9 H 9 F 1 0 を参照して、V H C D R 1 は配列番号 1 0 8 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 2 は配列番号 1 0 9 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 3 は配列番号 1 1 0 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 1 は配列番号 1 1 3 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 2 は配列番号 1 1 6 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 3 は配列番号 1 1 7 のアミノ酸配列を含む。

【 0 1 0 4 】

配列解析により、V H C D R 3 配列（配列番号 1 1 0）および V L C D R 1（配列番号 1 1 3）は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾（P T M）のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号 1 1 1 および 1 1 2 を含む V H C D R 3、ならびに配列番号 1 1 4 および 1 1 5 を含む V L C D R 1 のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

【 0 1 0 5 】

一部の実施形態では、したがって、V H C D R 1 は配列番号 1 0 8 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 2 は配列番号 1 0 9 のアミノ酸配列を含み、V H C D R 3 は配列番号 1 1 0、1 1 1 または 1 1 2 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 1 は配列番号 1 1 3、1 1 4 または 1 1 5 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 2 は配列番号 1 1 6 のアミノ酸配列を含み、V L C D R 3 は配列番号 1 1 7 のアミノ酸配列を含む、C D R 配列を有する抗体および断片が提供される。

【 0 1 0 6 】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号 2 3 の V H および 2 4 の V L を含む。一部の実施形態では、B 7 - H 3 上の 4 2 9 H 9 F 1 0 と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B 7 - H 3 への結合において 4 2 9 H 9 F 1 0 と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

【 0 1 0 7 】

一部の実施形態では、抗体 4 3 G 8 A 9 を参照して、V H C D R 1 は配列番号 1 8 2

10

20

30

40

50

のアミノ酸配列を含み；VH CDR 2は配列番号183のアミノ酸配列を含み；VH CDR 3は配列番号187のアミノ酸配列を含み；VL CDR 1は配列番号188のアミノ酸配列を含み；VL CDR 2は配列番号192のアミノ酸配列を含み；VL CDR 3は配列番号193のアミノ酸配列を含む。

【0108】

配列解析により、VH CDR 2配列（配列番号183）およびVL CDR 1（配列番号188）は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾（PTM）のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号184、185および186を含むVH CDR 2、ならびに配列番号188、189、190および191を含むVL CDR 1のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

10

【0109】

一部の実施形態では、したがって、VH CDR 1は配列番号182のアミノ酸配列を含み；VH CDR 2は配列番号183、184、185、または186のアミノ酸配列を含み；VH CDR 3は配列番号187のアミノ酸配列を含み；VL CDR 1は配列番号188、189、190、または191のアミノ酸配列を含み；VL CDR 2は配列番号192のアミノ酸配列を含み；VL CDR 3は配列番号193のアミノ酸配列を含む、CDR配列を有する抗体および断片が提供される。

【0110】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号180のVHおよび181のVLを含む。一部の実施形態では、B7-H3上の43G8A9と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3への結合において43G8A9と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

20

【0111】

一部の実施形態では、抗体AHP05564を参照して、VH CDR 1は配列番号126のアミノ酸配列を含み、VH CDR 2は配列番号127のアミノ酸配列を含み、VH CDR 3は配列番号129のアミノ酸配列を含み、VL CDR 1は配列番号132のアミノ酸配列を含み、VL CDR 2は配列番号133のアミノ酸配列を含み、VL CDR 3は配列番号134のアミノ酸配列を含む。

【0112】

配列解析により、VH CDR 2（配列番号127）およびVH CDR 3配列（配列番号129）は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾（PTM）のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号128を含むVH CDR 2、ならびに配列番号130および131を含むVH CDR 3のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

30

【0113】

一部の実施形態では、したがって、VH CDR 1は配列番号126のアミノ酸配列を含み、VH CDR 2は配列番号127または128のアミノ酸配列を含み、VH CDR 3は配列番号129、130または131のアミノ酸配列を含み、VL CDR 1は配列番号132のアミノ酸配列を含み、VL CDR 2は配列番号133のアミノ酸配列を含み、VL CDR 3は配列番号134のアミノ酸配列を含む、CDR配列を有する抗体および断片が提供される。

40

【0114】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号118のVHおよび119のVLを含む。一部の実施形態では、B7-H3上のAHP05564と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3への結合においてAHP05564と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

【0115】

一部の実施形態では、抗体AHP06331を参照して、VH CDR 1は配列番号135のアミノ酸配列を含み、VH CDR 2は配列番号136のアミノ酸配列を含み、V

50

H CDR3は配列番号138のアミノ酸配列を含み、VL CDR1は配列番号139のアミノ酸配列を含み、VL CDR2は配列番号140のアミノ酸配列を含み、VL CDR3は配列番号141のアミノ酸配列を含む。

【0116】

配列解析により、VH CDR2（配列番号136）は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾（PTM）のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号137を含む、VH CDR2のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

【0117】

一部の実施形態では、したがって、VH CDR1は配列番号135のアミノ酸配列を含み、VH CDR2は配列番号136または137のアミノ酸配列を含み、VH CDR3は配列番号138のアミノ酸配列を含み、VL CDR1は配列番号139のアミノ酸配列を含み、VL CDR2は配列番号140のアミノ酸配列を含み、VL CDR3は配列番号141のアミノ酸配列を含む、CDR配列を有する抗体および断片が提供される。

10

【0118】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号120のVHおよび121のVLを含む。一部の実施形態では、B7-H3上のAHP06331と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3への結合においてAHP06331と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

20

【0119】

一部の実施形態では、抗体AHP06345を参照して、VH CDR1は配列番号142のアミノ酸配列を含み、VH CDR2は配列番号143のアミノ酸配列を含み、VH CDR3は配列番号144のアミノ酸配列を含み、VL CDR1は配列番号145のアミノ酸配列を含み、VL CDR2は配列番号146のアミノ酸配列を含み、VL CDR3は配列番号147のアミノ酸配列を含む。

【0120】

配列解析により、VL CDR3（配列番号147）は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾（PTM）のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号148を含む、VL CDR3のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

30

【0121】

一部の実施形態では、したがって、VH CDR1は配列番号142のアミノ酸配列を含み、VH CDR2は配列番号143のアミノ酸配列を含み、VH CDR3は配列番号144のアミノ酸配列を含み、VL CDR1は配列番号145のアミノ酸配列を含み、VL CDR2は配列番号146のアミノ酸配列を含み、VL CDR3は配列番号147または148のアミノ酸配列を含む、CDR配列を有する抗体および断片が提供される。

【0122】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号122のVHおよび123のVLを含む。一部の実施形態では、B7-H3上のAHP06345と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3への結合においてAHP06345と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

40

【0123】

一部の実施形態では、抗体AHP06358を参照して、VH CDR1は配列番号149のアミノ酸配列を含み、VH CDR2は配列番号150のアミノ酸配列を含み、VH CDR3は配列番号153のアミノ酸配列を含み、VL CDR1は配列番号155のアミノ酸配列を含み、VL CDR2は配列番号156のアミノ酸配列を含み、VL CDR3は配列番号157のアミノ酸配列を含む。

【0124】

50

配列解析により、VH CDR 2（配列番号150）、VH CDR 3（配列番号153）およびVL CDR 3（配列番号157）は潜在的に翻訳後に修飾され得る残基を含むことが明らかになった。翻訳後修飾（PTM）のリスクを回避し、したがって製造を単純にするために、本開示は、配列番号151および152を含むVH CDR 2、配列番号154を含むVH CDR 3、ならびに配列番号158を含むVL CDR 3のある特定の脱リスク化バージョンを設計し、試験した。

【0125】

一部の実施形態では、したがって、VH CDR 1は配列番号149のアミノ酸配列を含み、VH CDR 2は配列番号150、151または152のアミノ酸配列を含み、VH CDR 3は配列番号153または154、VL CDR 1は配列番号155のアミノ酸配列を含みのアミノ酸配列を含み、VL CDR 2は配列番号156のアミノ酸配列を含み、VL CDR 3は配列番号157または158のアミノ酸配列を含む、CDR配列を有する抗体および断片が提供される。

10

【0126】

一実施形態では、抗体またはその断片は、配列番号124のVHおよび125のVLを含む。一部の実施形態では、B7-H3上のAHP06358と同じエピトープに結合する抗体および抗原結合断片も提供される。一部の実施形態では、B7-H3への結合においてAHP06358と競合する抗体および抗原結合断片も提供される。

【0127】

一部の実施形態では、1つ、2つまたは3つのアミノ酸置換、欠失および／または付加を有する、本開示のCDR配列に由来するCDR配列を含む、抗体および抗原結合断片も提供される。

20

【0128】

一部の実施形態では、抗B7-H3抗体は、未改変mAbと比較して、活性化Fcγ受容体により高い親和性で結合し、ADCCの増強を媒介する無フコシル化重鎖などの、改変された重鎖定常領域を含む、改変mAbである。一部の実施形態では、抗B7-H3抗体は、ADCC機能を増強する単一のL234Y、L235Q、G236W、S239D／M、F243L、H268D、D270E、R292P、S298A、Y300L、V305I、K326D、A330L／M、I332E、K334A／E、P396L（全てEU番号付け）またはこれらの組合せを含むヒトIgG1バリエーションのものである重鎖を含む。

30

抗体-薬物コンジュゲート

【0001】 *in vitro*および*in vivo*データは、新たな抗体に由来する抗体-薬物コンジュゲート（ADC）が、ベンチマーク抗体MGA017より（*then*）高い抗腫瘍活性を有したことを示し、それ故、それらは、ADCにおける使用に好適である。

【0001】 一部の実施形態では、抗体または断片は、治療剤、プロドラッグ、ペプチド、タンパク質、酵素、ウイルス、脂質、生物学的応答改変物質、医薬品、またはPEGにコンジュゲートされ得る。

【0002】 一実施形態では、本開示の抗体または断片は、薬物部分に共有結合で付着している。薬物部分は、抗体上にコンジュゲーション点を有する反応性の基であることがあり、またはその基を含むように改変されていることがある。例えば、薬物部分は、アルキル化（例えば、抗体のイプシロン-アミノ基リシンまたはN末端において）、酸化された炭水化物の還元アミノ化、ヒドロキシル基とカルボキシル基とのエステル交換、アミノ基またはカルボキシル基のアミド化、およびチオールへのコンジュゲーションにより、結合され得る。

40

【0003】 一部の実施形態では、抗体分子当たりのコンジュゲートされた薬物部分の数、*p*は、平均1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、または1～2の範囲である。一部の実施形態では、*p*は、平均2～8、2～7、2～6、2～5、2～4、または2～3の範囲である。他の実施形態では、*p*は、平均1、2、3、4、5、6、7ま

50

たは8である。一部の実施形態では、pは、平均約1～約20、約1～約10、約2～約10、約2～約9、約1～約8、約1～約7、約1～約6、約1～約5、約1～約4、約1～約3、または約1～約2の範囲である。一部の実施形態では、pは、約2～約8、約2～約7、約2～約6、約2～約5、約2～約4、または約2～約3の範囲である。

[0004] 例えば、タンパク質の化学的活性化が遊離チオール基の形成をもたらす場合、タンパク質は、スルフヒドリル反応剤とコンジュゲートされ得る。一態様では、前記剤は、遊離チオール基に対して実質的に特異的であるものである。そのような剤としては、例えば、マレイミド (maleimide)、ハロアセトアミド (例えば、ヨード、ブromoまたはクロロ)、ハロエステル (例えば、ヨード、ブromoまたはクロロ)、ハロメチルケトン (例えば、ヨード、ブromoまたはクロロ)、ハロゲン化ベンジル (例えば、ヨウ化物、臭化物または塩化物)、ビニルスルホンおよびピリジルチオが挙げられる。

[0005] 薬物は、リンカーにより抗体または断片に連結され得る。好適なリンカーとしては、例えば、切断性および非切断性リンカーが挙げられる。切断性リンカーは、典型的に、細胞内条件下で切断されやすい。好適な切断性リンカーとしては、例えば、リソソームプロテアーゼまたはエンドソームプロテアーゼなどの細胞内プロテアーゼにより切断可能なペプチドリンカーが挙げられる。例示的な実施形態では、リンカーは、ジペプチドリンカー、例えば、バリニンシトルリン (val-cit)、フェニルアラニン-リシン (phe-lys) リンカー、またはマレイミドカプロン酸 (maleimidocaproic) -バリニンシトルリン (citru-line) -p-アミノベンジルオキシカルボニル (mc-val-cit-PABA) リンカーであり得る。別のリンカーは、スルホスクシンイミジル-4-[N-マレイミドメチル]シクロヘキサン-1-カルボキシレート (smcc) である。スルホ-smccコンジュゲーションは、マレイミド基を介して起こり、マレイミド基は、スルフヒドリル (チオール、-SH) と反応するが、そのスルホ-NHSエステルは、第一級アミン (リシンおよびタンパク質またはペプチドN末端に見出されるような) に対して反応性である。さらに別のリンカーは、マレイミドカプロイル (mc) である。他の好適なリンカーとしては、特定のpHまたはpH範囲で加水分解可能なリンカー、例えば、ヒドラゾンリンカーが挙げられる。追加の好適な切断性リンカーとしては、ジスルフィドリンカーが挙げられる。薬物を放出するために抗体が細胞内で分解されなければならないような程度まで、リンカー、例えば、mcリンカーなどを抗体に共有結合させることができる。

[0006] リンカーは、抗体への連結のための基を含み得る。例えば、リンカーは、アミノ、ヒドロキシル、カルボキシルまたはスルフヒドリル反応性基 (例えば、マレイミド、ハロアセトアミド (例えば、ヨード、ブromoまたはクロロ)、ハロエステル (例えば、ヨード、ブromoまたはクロロ)、ハロメチルケトン (例えば、ヨード、ブromoまたはクロロ)、ハロゲン化ベンジル (例えば、ヨウ化物、臭化物または塩化物)、ビニルスルホンおよびピリジルチオ) を含み得る。

[0007] 一部の実施形態では、薬物部分は、細胞傷害剤または細胞増殖抑制剤、免疫抑制剤、放射性同位体、毒素などである。コンジュゲートを、腫瘍細胞もしくはがん細胞の増殖 (multiplication) を阻害するために、腫瘍もしくはがん細胞においてアポトーシスを引き起こすために、または患者におけるがんを処置するために、使用することができる。したがって、コンジュゲートを動物のがんの処置のための様々な状況で使用することができる。コンジュゲートを使用して、薬物を腫瘍細胞またはがん細胞に送達することができる。理論により拘束されるものではないが、一部の実施形態では、コンジュゲートは、GPC3を発現するがん細胞に結合し、またはそれと会合し、コンジュゲートおよび/または薬物は、受容体媒介エンドサイトーシスによって腫瘍細胞またはがん細胞内に取り込まれ得る。

[0008] 細胞の中に入ると、コンジュゲート内 (例えば、リンカーの中) の1つまたは複数の特定のペプチド配列は、1つまたは複数の腫瘍細胞またはがん細胞に付随するプロテアーゼによる加水分解で切断され、その結果、薬物の放出がもたらされる。その結果、放出された薬物は遊離して細胞内に移動し、細胞傷害活性または細胞増殖抑制活性ま

10

20

30

40

50

たは他の活性を誘導する。一部の実施形態では、薬物は、腫瘍細胞もしくはがん細胞外で抗体から切断され、その後、薬物は、細胞に浸透するか、または細胞表面で作用する。

[0009] 薬物部分またはペイロードの例は、DM1（メイタンシン、N2'-デアセチル-N2'-（3-メルカプト-1-オキソプロピル）-またはN2'-デアセチル-N2'-（3-メルカプト-1-オキソプロピル）-メイタンシン）、mc-MMAD（6-マレイミドカプロイル-モノメチルアウリスタチン-DまたはN-メチル-L-バリル-N-〔（1S, 2R）-2-メトキシ-4-〔（2S）-2-〔（1R, 2R）-1-メトキシ-2-メチル-3-オキソ-3-〔〔（1S）-2-フェニル-1-（2-チアゾリル）エチル〕アミノ〕プロピル〕-1-ピロリジニル〕-1-〔（1S）-1-メチルプロピル〕-4-オキソブチル〕-N-メチル-（9Cl）-L-バリンアミド）、mc-MMAF（マレイミドカプロイル-モノメチルアウリスタチンFまたはN-〔6-（2, 5-ジヒドロ-2, 5-ジオキソ-1H-ピロール-1-イル）-1-オキソヘキシル〕-N-メチル-L-バリル-L-バリル-（3R, 4S, 5S）-3-メトキシ-5-メチル-4-（メチルアミノ）ヘプタノイル-（αR, βR, 2S）-β-メトキシ-α-メチル-2-ピロリジンプロパノイル-L-フェニルアラニン）およびmc-Val-Cit-PABA-MMAE（6-マレイミドカプロイル-Val-Cit-（p-アミノベンジルオキシカルボニル）-モノメチルアウリスタチンEまたはN-〔〔〔4-〔〔N-〔6-（2, 5-ジヒドロ-2, 5-ジオキソ-1H-ピロール-1-イル）-1-オキソヘキシル〕-L-バリル-N5-（アミノカルボニル）-L-オルニチル〕アミノ〕フェニル〕メトキシ〕カルボニル〕-N-メチル-L-バリル-N-〔（1S, 2R）-4-〔（2S）-2-〔（1R, 2R）-3-〔〔（1R, 2S）-2-ヒドロキシ-1-メチル-2-フェニルエチル〕アミノ〕-1-メトキシ-2-メチル-3-オキソプロピル〕-1-ピロリジニル〕-2-メトキシ-1-〔（1S）-1-メチルプロピル〕-4-オキソブチル〕-N-メチル-L-バリンアミド）からなる群から選択される。DM1は、チューブリン阻害剤メイタンシンの誘導体であり、その一方で、MMAD、MMAEおよびMMAFは、アウリスタチンの誘導体である。一部の実施形態では、薬物部分は、mc-MMAFおよびmc-Val-Cit-PABA-MMAEからなる群から選択される。一部の実施形態では、薬物部分は、メイタンシノイドまたはアウリスタチンである。

[0010] 抗体または断片は、検出可能な標識、例えば放射性標識、免疫調節剤、ホルモン、酵素、オリゴヌクレオチド、光活性治療剤または診断剤、薬物または毒素であり得る細胞傷害剤、超音波強化剤、非放射性標識、これらの組合せ、および当技術分野において公知の他のそのような薬剤を含み得る、治療剤にコンジュゲートまたは融合され得る。

[0011] 抗体を、化学発光化合物とカップリングさせることにより、検出可能に標識することができる。その結果、化学発光タグ付き抗原結合ポリペプチドの存在は、化学反応の過程において生ずる発光の存在を検出することにより決定される。特に有用な化学発光標識化合物の例は、ルミノール、イソルミノール、セロマティックアクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩およびシュウ酸エステルである。

[0012] 蛍光を発する金属、例えば、 ^{152}Eu 、またはランタニド系列の他のものを使用して、抗体を検出可能に標識することもできる。ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）またはエチレンジアミン四酢酸（EDTA）のような金属キレート基を使用して、これらの金属を抗体に結合させることができる。様々な部分を抗体にコンジュゲートするための技法は、周知であり、例えば、Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. (1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", in Controlled Drug Delive

ry (2nd Ed.), Robinson et al., (eds.), Marcel Dekker, Inc., pp. 623-53 (1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et al. (eds.), Academic Press pp. 303-16 (1985)、および Thorpe et al., "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", Immunol. Rev. (52:119-58 (1982)) を参照されたい。

多機能性分子

【0129】

B7-H3 に特異的な抗体または抗原結合断片、例えば、本明細書で開示されるものと、第2の抗原に対して特異性を有する1つまたは複数の抗体または抗原結合断片とを含む、多機能性分子。

【0130】

一部の実施形態では、第2の抗原は、T細胞、B細胞、単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞、食細胞、ナチュラルキラー細胞、好酸球、好塩基球およびマスト細胞などの、免疫細胞上に発現されるタンパク質である。

【0131】

一部の実施形態では、第2の抗原は、CD3、CD47、PD1、PD-L1、LAG3、TIM3、CTLA4、VISTA、CSFR1、A2AR、CD73、CD39、CD40、CEA、HER2、CMET、4-1BB、OX40、SIRPA、CD16、CD28、ICOS、CTLA4、BTLA、TIGIT、HVEM、CD27、VEGFR、またはVEGFに対するものである。

【0132】

異なる形式の二重特異性抗体も提供される。一部の実施形態では、抗B7-H3断片および第2の断片の各々は、各々独立して、Fab断片、一本鎖可変断片(scFv)、または単ドメイン抗体から選択される。一部の実施形態では、二重特異性抗体は、Fc断片をさらに含む。

【0133】

単に抗体を含むものでも抗原結合断片を含むものでもない、二機能性分子も提供される。腫瘍抗原標的化分子として、B7-H3 に特異的な抗体または抗原結合断片、例えば、本明細書に記載されるものなどを、免疫サイトカインまたはリガンドと、必要に応じてペプチドリンカーを介して、化合させることができる。連結される免疫サイトカインまたはリガンドとしては、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、GM-CSF、TNF- α 、CD40L、OX40L、CD27L、CD30L、4-1BBL、LIGHTおよびGITRLが挙げられるが、これらに限定されない。そのような二機能性分子は、免疫チェックポイント遮断効果と腫瘍部位局所免疫調節を併せ持つことができる。

キメラ抗原受容体

【0134】

一実施形態では、本開示の抗体またはその断片を標的化ユニットとして含む、キメラ抗原受容体(CAR)も提供される。一部の実施形態では、CARは、本開示の抗体または

その断片と、膜貫通ドメインと、共刺激ドメインと、CD3 ζ 細胞内ドメインとを含む。

【0135】

膜貫通ドメインは、抗体または断片を含む細胞外ドメインに、必要に応じてヒンジドメインを介して、融合されるように設計され得る。それは、同様に、共刺激ドメインなどの細胞内ドメインに融合され得る。一部の実施形態では、膜貫通ドメインは、共刺激ドメインの天然の膜貫通領域（例えば、共刺激ドメインとして利用されるCD28Tもしくは4-1BBのTM領域）またはヒンジ領域の天然の膜貫通ドメイン（例えば、ヒンジドメインとして利用されるCD8 α またはCD28TのTM領域）を含み得る。

【0136】

一部の実施形態では、膜貫通ドメインは、細胞膜を貫通する、しかし細胞の細胞質へとおよび／または細胞外空間へと伸びる、配列を含み得る。例えば、膜貫通のものは、細胞の細胞質および／または細胞外空間へ伸びる1、2、3、4、5、6、7、8、9、10またはそれより多くのアミノ酸をそれ自体がさらに含み得る、膜を貫通する配列を含み得る。したがって、膜貫通ドメインは、膜を貫通する領域を含み、その上、膜自体の内または外面を超えて伸びるアミノ酸をさらに含むことができ、それでもやはり、このような配列は、「膜貫通ドメイン」であると見なされ得る。

【0137】

一部の実施形態では、膜貫通ドメインは、短いリンカーを介して細胞質ドメインに融合している。必要に応じて、短いペプチドまたはポリペプチドリンカー、好ましくは、長さ2アミノ酸～10アミノ酸の間のもは、膜貫通ドメインとキメラ受容体の近位細胞質シグナル伝達ドメインとの連結を形成し得る。グリシン-セリンダブレット（GS）、グリシン-セリン-グリシントリプレット（GSG）、またはアラニン-アラニン-アラニントリプレット（AAA）は、好適なリンカーになる。

【0138】

一部の実施形態では、CARは、さらに、共刺激ドメインを含む。一部の実施形態では、共刺激ドメインは、膜貫通ドメインと活性化ドメインの間に位置する。共刺激ドメインの例としては、CD2、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 γ 、CD4、CD7、CD8 α 、CD8、CD11a（ITGAL）、CD11b（ITGAM）、CD11c（ITGAX）、CD11d（ITGAD）、CD18（ITGB2）、CD19（B4）、CD27（TFRSF7）、CD28、CD28T、CD29（ITGB1）、CD30（TNFRSF8）、CD40（TNFRSF5）、CD48（SLAMF2）、CD49a（ITGA1）、CD49d（ITGA4）、CD49f（ITGA6）、CD66a（CEACAM1）、CD66b（CEACAM8）、CD66c（CEACAM6）、CD66d（CEACAM3）、CD66e（CEACAM5）、CD69（CLEC2）、CD79A（B細胞抗原受容体複合体関連 α 鎖）、CD79B（B細胞抗原受容体複合体関連 β 鎖）、CD84（SLAMF5）、CD96（Tactile）、CD100（SEMA4D）、CD103（ITGAE）、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD150（SLAMF1）、CD158A（KIR2DL1）、CD158B1（KIR2DL2）、CD158B2（KIR2DL3）、CD158C（KIR3DP1）、CD158D（KIRDL4）、CD158F1（KIR2DL5A）、CD158F2（KIR2DL5B）、CD158K（KTR3DL2）、CD160（BY55）、CD162（SELPLG）、CD226（DNAM1）、CD229（SLAMF3）、CD244（SLAMF4）、CD247（CD3 ζ -ゼータ）、CD258（LIGHT）、CD268（BAFFR）、CD270（TFRSF14）、CD272（BTLA）、CD276（B7-H3）、CD279（PD-1）、CD314（KG2D）、CD319（SLAMF7）、CD335（K-p46）、CD336（K-p44）、CD337（K-p30）、CD352（SLAMF6）、CD353（SLAMF8）、CD355（CRTAM）、CD357（TNFRSF18）、誘導性T細胞共刺激因子（ICOS）、LFA-1（CD11a／CD18）、KG2C、DAP-10、ICAM-1、Kp80（KLRF1）、IL-

10

20

30

40

50

2 R ベータ、I L - 2 R ガンマ、I L - 7 R アルファ、L F A - 1、S L A M F 9、L A T、G A D S (G r p L)、S L P - 7 6 (L C P 2)、P A G 1 / C B P、C D 8 3 リガンド、F c ガンマ受容体、M H C クラス 1 分子、M H C クラス 2 分子、T N F 受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化 N K 細胞受容体、T o l l リガンド受容体、およびこれらの断片または組合せが挙げられるが、それらに限定されない。

【0139】

一部の実施形態では、C A R の細胞質部分は、シグナル伝達／活性化ドメインも含む。一実施形態では、シグナル伝達／活性化ドメインは、C D 3 ζドメインであるか、または C D 3 ζドメインに対して少なくとも約 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % もしくは 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列である。

10

ポリヌクレオチド、m R N A、および抗体を発現させるまたは調製する方法

【0140】

本開示は、本開示の抗体、そのバリエーションもしくは誘導体、または C A R をコードする、ポリヌクレオチドまたは核酸分子も提供する。本開示のポリヌクレオチドは、抗原結合ポリペプチド、そのバリエーションまたは誘導体の重鎖および軽鎖可変領域全体を同じポリヌクレオチド分子上にまたは別々のポリヌクレオチド分子上にコードし得る。加えて、本開示のポリヌクレオチドは、抗原結合ポリペプチド、そのバリエーションまたは誘導体の重鎖および軽鎖可変領域の部分を同じポリヌクレオチド分子上にまたは別々のポリヌクレオチド分子上にコードし得る。

20

【0141】

一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、m R N A 分子である。一部の実施形態では、m R N A を、抗体またはその断片を発現させるための標的細胞に導入することができる。

【0142】

m R N A を様々な公知の方法のいずれに従って合成してもよい。例えば、m R N A を *i n v i t r o* 転写 (I V T) によって合成することができる。手短に述べると、典型的には I V T は、プロモーター、リボヌクレオチド三リン酸のプール、D T T とマグネシウムイオンとを含み得るバッファー系、および適切な R N A ポリメラーゼ (例えば、T 3、T 7 または S P 6 R N A ポリメラーゼ)、D N A s e I、ピロホスファターゼ、および／または R N A s e 阻害剤を含有する、直鎖状または環状の鋳型 D N A を用いて行われる。厳密な条件は、具体的な応用に応じて変わる。

30

【0143】

一部の実施形態では、抗体をコードする m R N A の調製のために、鋳型 D N A は、*i n v i t r o* で転写される。好適な鋳型 D N A は、典型的には、*i n v i t r o* 転写のためのプロモーター、例えば、T 3、T 7 または S P 6 プロモーター、続いて、所望の抗体をコードする (例えば、重鎖または軽鎖をコードする) m R N A についての所望のヌクレオチド配列、および終結シグナルを有する。

【0144】

標準的な方法を使用して、所望の抗体をコードする (例えば、重鎖または軽鎖をコードする) m R N A 配列を決定し、鋳型 D N A に組み込むことができる。例えば、所望のアミノ酸配列 (例えば、所望の重鎖または軽鎖配列) から出発して、仮想逆翻訳が縮重遺伝子コードに基づいて行われる。次いで、最適化アルゴリズムを好適なコドンの選択に使用することができる。典型的には、G / C 含有量を、一方ではできる限り高い G / C 含有量を達成するように、他方ではコドン使用頻度に従って t R N A の頻度をできる限りよく考慮して、最適化することができる。最適化された R N A 配列を確立し、例えば適切な表示デバイスを活用して、表示し、元の (野生型) 配列と比較することができる。二次構造を解析して、安定化および不安定化特性または、それぞれ、R N A の領域を算出することもできる。

40

【0145】

50

mRNAを未改変または改変mRNAとして合成することができる。典型的には、mRNAは、安定性を向上させるように改変される。mRNAの改変は、例えば、RNAのヌクレオチドの改変を含み得る。したがって、改変mRNAは、例えば、骨格改変、糖改変または塩基改変を含み得る。一部の実施形態では、抗体をコードするmRNA（例えば、重鎖および軽鎖をコードするmRNA）を天然に存在するヌクレオチドおよび／またはヌクレオチド類似体（改変ヌクレオチド）から合成することができ、天然に存在するヌクレオチドおよび／またはヌクレオチド類似体（改変ヌクレオチド）には、プリン（アデニン（A）、グアニン（G））またはピリミジン（チミン（T）、シトシン（C）、ウラシル（U））、ならびに改変ヌクレオチドとして、プリンおよびピリミジンの類似体または誘導体、例えば、1-メチル-アデニン、2-メチル-アデニン、2-メチルチオ-N-6-イソペンテニル-アデニン、N6-メチル-アデニン、N6-イソペンテニル-アデニン、2-チオ-シトシン、3-メチル-シトシン、4-アセチル-シトシン、5-メチル-シトシン、2,6-ジアミノプリン、1-メチル-グアニン、2-メチル-グアニン、2,2-ジメチル-グアニン、7-メチル-グアニン、イノシン、1-メチル-イノシン、シュードウラシル（5-ウラシル）、ジヒドロ-ウラシル、2-チオ-ウラシル、4-チオ-ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオ-ウラシル、5-（カルボキシヒドロキシメチル）-ウラシル、5-フルオロ-ウラシル、5-ブロモ-ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-ウラシル、5-メチル-2-チオ-ウラシル、5-メチル-ウラシル、N-ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、5-メチルアミノメチル-ウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオ-ウラシル、5'-メトキシカルボニルメチル-ウラシル、5-メトキシ-ウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸（v）、1-メチル-シュードウラシル、キューオシン（queosine）、13-D-マンノシル-キューオシン、ワイプトキソシン、ならびにホスホロアミデート、ホスホロチオエート、ペプチドヌクレオチド、メチルホスホネート、7-デアザグアノシン、5-メチルシトシンおよびイノシンなどが含まれるが、これらに限定されない。このような類似体の調製は、当業者には、例えば、米国特許第4,373,071号、同第4,401,796号、同第4,415,732号、同第4,458,066号、同第4,500,707号、同第4,668,777号、同第4,973,679号、同第5,047,524号、同第5,132,418号、同第5,153,319号、同第5,262,530号および同第5,700,642号から公知であり、これらの開示は、その全範囲が参照によりここに含まれる。

【0146】

一部の実施形態では、mRNA（例えば、重鎖および軽鎖をコードするmRNA）は、RNA骨格改変を含有し得る。典型的には、骨格改変は、RNAに含有されるヌクレオチドの骨格のリン酸が化学的に改変される、改変である。例示的な骨格改変は、典型的には、メチルホスホン酸基、メチルホスホロアミド酸基、ホスホロアミド酸基、ホスホロチオ酸（例えば、シチジン5'-O-（1-チオリン酸））基、ボラノリン酸基、正荷電グアニジニウム基などからなる群からの改変を含むがこれらに限定されず、これは、ホスホジエステル結合が他のアニオン性基、カチオン性基または中性基により置き換えられることを意味する。

【0147】

一部の実施形態では、mRNA（例えば、重鎖および軽鎖をコードするmRNA）は、糖改変を含有し得る。典型的な糖改変は、それが含有するヌクレオチドの糖の化学的改変であり、2'-デオキシ-2'-フルオロ-オリゴリボヌクレオチド（2'-フルオロ-2'-デオキシシチジン5'-三リン酸、2'-フルオロ-2'-デオキシウリジン5'-三リン酸）、2'-デオキシ-2'-デアミン-オリゴリボヌクレオチド（2'-アミノ-2'-デオキシシチジン5'-三リン酸、2'-アミノ-2'-デオキシウリジン5'-三リン酸）、2'-O-アルキルオリゴリボヌクレオチド、2'-デオキシ-2'-C-アルキルオリゴリボヌクレオチド（2'-O-メチルシチジン5'-三リン酸、2'-メチルウリジン5'-三リン酸）、2'-C-アルキルオリゴリボヌクレオチド、およびこれらの異性体（2'-

アラシチジン 5' - ミリン酸、2' - アラウリジン 5' - ミリン酸)、またはアジド三リン酸 (2' - アジド - 2' - デオキシシチジン 5' - ミリン酸、2' - アジド - 2' - デオキシウリジン 5' - ミリン酸) からなる群から選択される糖改変を含むが、これらに限定されない。

【0148】

一部の実施形態では、mRNA (例えば、重鎖および軽鎖をコードする mRNA) は、ヌクレオチドの塩基の改変 (塩基改変) を含有し得る。塩基改変を含有する改変ヌクレオチドは、塩基改変ヌクレオチドとも呼ばれる。そのような塩基改変ヌクレオチドの例としては、2-アミノ-6-クロロプリンリボシド 5' - ミリン酸、2-アミノアデノシン 5' - ミリン酸、2-チオシチジン 5' - ミリン酸、2-チオウリジン 5' - ミリン酸、4-チ 10
オウリジン 5' - ミリン酸、5-アミノアリルシチジン 5' - ミリン酸、5-アミノアリルウリジン 5' - ミリン酸、5-ブロモシチジン 5' - ミリン酸、5-ブロモウリジン 5' - ミリン酸、5-ヨードシチジン 5' - ミリン酸、5-ヨードウリジン 5' - ミリン酸、5-メチルシチジン 5' - ミリン酸、5-メチルウリジン 5' - ミリン酸、6-アザシチジン 5' - ミリン酸、6-アザウリジン 5' - ミリン酸、6-クロロプリンリボシド 5' - ミリン酸、7-デアザアデノシン 5' - ミリン酸、7-デアザグアノシン 5' - ミリン酸、8-ア 20
ザアデノシン 5' - ミリン酸、8-アジドアデノシン 5' - ミリン酸、ベンゾイミダゾールリボシド 5' - ミリン酸、N1-メチルアデノシン 5' - ミリン酸、N1-メチルグアノシン 5' - ミリン酸、N6-メチルアデノシン 5' - ミリン酸、O6-メチルグアノシン 5' - ミリン酸、シュドウリジン 5' - ミリン酸、ピューロマイシン 5' - ミリン酸またはキ 20
サントシン 5' - ミリン酸が挙げられるが、これらに限定されない。

【0149】

典型的には、mRNA 合成は、N 末端 (5') 側終端への「キャップ」、および C 末端 (3') 側終端への「尾部」の付加を含む。キャップの存在は、大部分の真核細胞に見られるヌクレアーゼに対する耐性を持たせる上で重要である。「尾部」の存在は、mRNA をエキソヌクレアーゼ分解から保護するのに役立つ。

【0150】

それ故、一部の実施形態では、mRNA (例えば、重鎖および軽鎖をコードする mRNA) は、5' キャップ構造を含む。5' キャップは、典型的には次のように付加される: 先 30
ず、RNA 末端ホスファターゼが、5' ヌクレオチドから末端リン酸基の 1 つを除去し、2 つの末端リン酸を残す; 次いで、グアノシン三リン酸 (GTP) がグアニリルトランスフェラーゼによって末端リン酸に付加され、その結果、5' 5' 5' 三リン酸結合が生じる; 次いで、グアニンの 7-窒素が、メチルトランスフェラーゼによってメチル化される。キャップ構造の例としては、m7G (5') ppp (5' (A, G (5') ppp (5) A お 30
よび G (5) ppp (5') G が挙げられるが、これらに限定されない。

【0151】

一部の実施形態では、mRNA (例えば、重鎖および軽鎖をコードする mRNA) は、3' ポリ (A) 尾部構造を含む。mRNA の 3' 末端のポリ A 尾部は、典型的には、約 10 3
~ 300 アデノシンヌクレオチド (例えば、約 10 ~ 200 アデノシンヌクレオチド、約 10 ~ 175 アデノシンヌクレオチド、約 10 ~ 150 アデノシンヌクレオチド、約 10 40
~ 125 アデノシンヌクレオチド、10 ~ 100 アデノシンヌクレオチド、約 10 ~ 75 アデノシンヌクレオチド、約 20 ~ 70 アデノシンヌクレオチド、または約 20 ~ 60 アデノシンヌクレオチド) を含む。一部の実施形態では、抗体をコードする mRNA (例えば、重鎖および軽鎖をコードする mRNA) は、3' ポリ (C) 尾部構造を含む。mRNA 3
A の 3' 末端の好適なポリ C 尾部は、典型的には、約 10 ~ 200 シトシンヌクレオチド (例えば、約 10 ~ 150 シトシンヌクレオチド、約 10 ~ 100 シトシンヌクレオチド、約 20 ~ 70 シトシンヌクレオチド、約 20 ~ 60 シトシンヌクレオチド、または約 10 ~ 40 シトシンヌクレオチド) を含む。ポリ C 尾部は、ポリ A 尾部に付加され得るか、 40
またはポリ A 尾部を置換し得る。

【0152】

一部の実施形態では、mRNA（例えば、重鎖および軽鎖をコードするmRNA）は、5'および／または3'非翻訳領域を含む。一部の実施形態では、5'非翻訳領域は、mRNAの安定性または翻訳に影響を与える1つまたは複数のエレメント、例えば、鉄応答エレメントを含む。一部の実施形態では、5'非翻訳領域は、長さ約50ヌクレオチド～500ヌクレオチドの間（例えば、長さ約50ヌクレオチド～400ヌクレオチドの間、長さ約50ヌクレオチド～300ヌクレオチドの間、長さ約50ヌクレオチド～200ヌクレオチドの間、または長さ約50ヌクレオチド～100ヌクレオチドの間）であり得る。

【0153】

一部の実施形態では、mRNA（例えば、重鎖および軽鎖をコードするmRNA）の5'領域は、本明細書に記載されるものなどの、シグナルペプチドをコードする配列を含む。特定の実施形態では、ヒト成長ホルモン（hGH）に由来するシグナルペプチドが5'領域に組み込まれる。典型的には、シグナルペプチドをコードする配列は、N末端の重鎖または軽鎖をコードする配列に直接または間接的に連結される。

10

【0154】

本技術を使用して、当技術分野で公知の任意の抗体、および標準的な方法を使用して所望の抗原に対して産生され得る抗体を、送達することができる。本発明を使用して、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体混合物もしくはカクテル、ヒトもしくはヒト化抗体、キメラ抗体、または二重特異性抗体を送達することができる。

【0155】

抗体を作製する方法は、当技術分野において周知であり、本明細書に記載される。ある特定の実施形態では、本開示の抗原結合ポリペプチドの可変領域と定常領域の両方が、完全にヒトのものである。完全ヒト抗体は、当技術分野において記載されている技法を使用して、および本明細書に記載されているように作製することができる。例えば、特定の抗原に対する完全ヒト抗体を、抗原投与に应答してそのような抗体を産生するように改変されているが内在性遺伝子座が無効にされているトランスジェニック動物に抗原を投与することによって、調製することができる。そのような抗体を作製するために使用され得る例示的な技法は、米国特許第6,150,584号、同第6,458,592号、同第6,420,140号に記載されており、これらの参考特許文献は、それら全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

処置および使用

30

【0156】

本明細書に記載されるように、本開示の、抗体、バリエント、抗体-薬物コンジュゲート、キメラ抗原受容体（CAR）およびCAR細胞、コードするポリヌクレオチドまたは誘導体を、ある特定の処置および診断方法において使用することができる。

【0157】

本開示は、本開示の抗体または断片、抗体-薬物コンジュゲート、キメラ抗原受容体（CAR）およびCAR細胞、コードするポリヌクレオチドまたは誘導体を、本明細書に記載される障害または状態の1つまたは複数を処置するために患者、例えば、動物、哺乳動物およびヒトに投与することを含む、抗体に基づく治療に、さらに関与する。本開示の治療分子または細胞は、本開示の抗体（本明細書に記載のそのバリエントおよび誘導体を含む）、抗体-薬物コンジュゲート、キメラ抗原受容体（CAR）およびCAR細胞、および本開示の抗体（本明細書に記載のそのバリエントおよび誘導体を含む）をコードする核酸またはポリヌクレオチドを含むが、これらに限定されない。

40

【0158】

本開示の分子または細胞を使用してがんを処置または阻害することもできる。上記のとおり、B7-H3は、腫瘍細胞において、特に、肝臓、胃、脾臓、食道、卵巣および肺の腫瘍において、過剰発現され得る。B7-H3の阻害は、腫瘍の処置に有用であることが示されている。

【0159】

したがって、一部の実施形態では、それを必要とする患者におけるがんを処置するため

50

の方法が提供される。方法は、一実施形態では、本開示の分子または細胞の有効量を患者に投与するステップを必然的に伴う。一部の実施形態では、患者におけるがん細胞（例えば、間質細胞）の少なくとも1つは、B7-H3を過剰発現する。

【0160】

細胞療法、例えば、キメラ抗原受容体（CAR）T細胞療法も、本開示で提供される。本開示の抗B7-H3抗体を含む（または代替的に、本開示の抗B7-H3抗体を発現するように操作された）CARをコードするまたはそれと接触させるベクターによって形質導入される、好適な細胞を使用することができる。したがって、そのような接触または操作によって、細胞を、処置を必要とするがん患者に導入することができる。がん患者は、本明細書で開示されるようなタイプのいずれかのがんを有し得る。細胞（例えば、T細胞）は、例えば、腫瘍浸潤Tリンパ球、CD4+T細胞、CD8+T細胞、またはこれらの組合せであり得るが、それらに限定されない。

10

【0161】

一部の実施形態では、細胞は、がん患者彼または彼女自身から単離された。一部の実施形態では、細胞は、ドナーによりまたは細胞バンクから提供された。細胞が、がん患者から単離された場合、望ましくない免疫反応を最小限に抑えることができる。

【0162】

がんの非限定的な例としては、膀胱がん、乳がん、大腸がん、子宮内膜がん、食道がん、頭頸部がん、腎臓がん、白血病、肝臓がん、肺がん、リンパ腫、黒色腫、脾臓がん、前立腺がん、および甲状腺がんが挙げられる。一部の実施形態では、がんは、胃がん、脾臓がん、食道がん、卵巣がんおよび肺がんのうちの1つまたは複数である。

20

【0163】

本開示の抗体もしくはバリエーション、またはそれらの誘導体によって処置、予防、診断および／または予後判定され得る、細胞生存期間の増加に関連するさらなる疾患または状態としては、悪性病変および関連障害、例えば、白血病（急性白血病（例えば、急性リンパ球性白血病、急性骨髄球性白血病（骨髄芽球性、前骨髄球性、骨髄単球性、単球性、および赤白血病を含む））および慢性白血病（例えば、慢性骨髄球性（顆粒球性）白血病および慢性リンパ球性白血病）を含む）、真性赤血球増加症、リンパ腫（例えば、ホジキン病および非ホジキン病）、多発性骨髄腫、ワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症、重鎖病、および固形腫瘍の、進行および／または転移が挙げられるがこれらに限定されず、固形腫瘍には、肉腫および癌腫、例えば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、脾臓がん、乳がん、卵巣がん、前立腺がん、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性癌、腎細胞癌、ヘパトーマ、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸がん、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫瘍、乏突起神経膠腫、髄膜腫（meningioma）、黒色腫、神経芽細胞腫および網膜芽細胞腫が含まれるが、これらに限定されない。いずれの特定の患者についても具体的な投薬量および処置レジメンは、使用される特定の抗体、そのバリエーションまたは誘導体、患者の年齢、体重、総体的な健康、性別および食事、ならびに投与の回数、排泄率、薬物の組合せ、ならびに処置される特定の疾患の重症度をはじめとする、様々な因子に依存することになる。医療介護者によるそのような因子の判断は、当技術分野における通常技能の範囲内である。量は、処置すべき個々の患者、投与経路、製剤のタイプ、使用される化合物の特徴、疾患の重症度、および所望される効果にも依存することになる。使用される量を当技術分野において周知の薬理学および薬物動態の原則によって決定することができる。

30

40

【0164】

抗体または断片の投与方法は、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外および経口経路を含むが、これらに限定されない。抗原結合ポリペプチドまたは組成物を

50

、任意の適便な経路により、例えば、注入またはボーラス注射により、上皮または粘膜皮膚内層（例えば、口腔粘膜、直腸および腸粘膜など）からの吸収により、投与することができ、他の生物活性薬剤とともに投与することができる。したがって、本開示の抗原結合ポリペプチドを含有する医薬組成物を、経口投与、直腸投与、非経口投与、大槽内（*intracistemally*）投与、腔内投与、腹腔内投与、局所的に（粉末、軟膏、滴剤もしくは経皮パッチとして）投与、頬側投与、または口腔噴霧剤もしくは点鼻薬として投与することができる。

【0165】

用語「非経口」は、本明細書で使用される場合、静脈内、筋肉内、腹腔内、胸骨内、皮下および関節内注射および注入を含む、投与方法を指す。

【0166】

投与は、全身または局所のものであり得る。加えて、本開示の抗体を、脳室内および髄腔内注射を含む任意の好適な経路により、中枢神経系に導入することが望ましいことがあり、脳室内注射を、例えば、オマヤ貯留槽などの貯留槽に取り付けられた、脳室内カテーテルによって容易にすることができる。経肺投与も、例えば、吸入器またはネブライザー、およびエアロゾル化剤を含有する製剤を使用することにより、利用することができる。

【0167】

本開示の抗原結合ポリペプチドまたは組成物を、処置を必要とするエリアに局所投与することが望ましいことがあり、これは、例として、限定としてではなく、外科手術中の局所注入、外科手術後の創傷包帯法の、例えばそれと併せての、局所的適用により、注射により、カテーテルによって、坐薬によって、または留置剤によって達成することができ、前記留置剤は、膜、例えばシラスティック（*sialastic*）膜、または繊維を含む、多孔質、無孔質またはゼラチン質材料のものである。好ましくは、本開示の、抗体を含む、タンパク質を投与する場合、タンパク質が吸収されない材料を使用するように心掛けなければならない。

【0168】

炎症性、免疫または悪性疾患、障害または状態の処置、阻害および予防において有効であろう、本開示の抗体または断片の量を、標準的な臨床技法により決定することができる。加えて、*in vitro* アッセイを、最適な投薬量範囲の同定を助けるために、必要に応じて利用することができる。製剤に利用されることになる正確な用量は、投与経路、および疾患、障害または状態の重篤性にも依存することになり、実施者の判断および各患者の状況に応じて決定されるべきである。有効用量を *in vitro* または動物モデル試験系から導出された用量応答曲線から外挿することができる。

【0169】

一般的な提案として、本開示の抗体または断片の患者に投与される投薬量は、典型的に、患者の体重の kg 当たり $0.001\text{ mg} \sim 100\text{ mg}$ 、患者の体重の kg 当たり $0.01\text{ mg} \sim 20\text{ mg}$ の間、または患者の体重の kg 当たり $0.5\text{ mg} \sim 10\text{ mg}$ である。一般に、ヒト抗体は、外来ポリペプチドへの免疫応答に起因してヒトの体内で他の動物種からの抗体より長い半減期を有する。したがって、ヒト抗体のより少ない投薬量、およびより低頻度の投与が、多くの場合、可能である。さらに、本開示の抗体の投薬量および投薬頻度を、例えば脂質化などの修飾により抗体の取込みおよび組織透過性（例えば、脳への）を増強することによって、低減させることができる。

【0170】

追加の実施形態では、本開示の組成物は、サイトカインと組み合わせて投与される。本開示の組成物とともに投与され得るサイトカインとしては、 IL-2 、 IL-3 、 IL-4 、 IL-5 、 IL-6 、 IL-7 、 IL-10 、 IL-12 、 IL-13 、 IL-15 、 抗CD40 、 CD40L 、および $\text{TNF-}\alpha$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0171】

追加の実施形態では、本開示の組成物は、例えば放射線療法などの、他の治療または予防レジメンと組み合わせて投与される。

10

20

30

40

50

組成物

【0172】

本開示は、医薬組成物も提供する。そのような組成物は、抗体または断片、抗体－薬物コンジュゲート、キメラ抗原受容体（CAR）およびCAR細胞、コードするポリヌクレオチドまたは誘導体の有効量と、許容される担体とを含む。一部の実施形態では、組成物は、第2の抗がん剤（例えば、免疫チェックポイント阻害剤）をさらに含む。

【0173】

具体的な実施形態では、用語「薬学的に許容される」とは、動物における、さらに特にヒトにおける使用について、連邦もしくは州政府の監督機関により承認された、または米国薬局方もしくは他の一般に認知されている薬局方に収載されている、という意味である。さらに、「薬学的に許容される担体」は、一般に、任意のタイプの、非毒性固体、半固体もしくは液体フィラー、希釈剤、カプセル化材または製剤助剤であろう。

【0174】

用語「担体」は、それを用いて治療薬が投与される、希釈剤、アジュバント、賦形剤、またはビヒクルを指す。そのような医薬担体は、滅菌液、例えば、水および油であり得、この油には、石油、動物、植物または合成起源のもの、例えば、落花生油、大豆油、鉱物油、ゴマ油などが含まれる。水は、医薬組成物が静脈内投与されるときに好ましい担体である。生理食塩水、ならびにデキストロースおよびグリセロール水溶液も、液体担体として、特に、注射可能溶液に、利用することができる。好適な医薬賦形剤としては、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、米、小麦粉、チョコレート、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、脱脂粉乳、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、所望される場合には、少量の湿潤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤、例えば、酢酸塩、クエン酸塩もしくはリン酸塩も含有し得る。抗菌剤、例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン；抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウム；キレート剤、例えば、エチレンジアミン四酢酸；および浸透張力の調整のための薬剤、例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロースも、想定される。これらの組成物は、溶液、懸濁液、エマルジョン、錠剤、ピル、カプセル、粉末、徐放性製剤などの形態をとり得る。旧来の結合剤および担体、例えば、トリグリセリドを用いて、組成物を坐薬として製剤化することができる。経口製剤は、標準的な担体、例えば、医薬品グレードのマニトール、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、炭酸マグネシウムなどを含み得る。好適な医薬品担体の例は、参照により本明細書に組み込まれる、E. W. MartinによるRemington's Pharmaceutical Sciencesに記載されている。そのような組成物は、好ましくは精製された形態での、抗原結合ポリペプチドの治療有効量を、患者への適正投与のための形態を提供するために好適な量の担体とともに、含有することになる。製剤は、投与方法に適していなければならない。非経口調製物は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器または複数回投与用バイアルに封入され得る。

【0175】

ある実施形態では、組成物は、人間への静脈内投与に適応する医薬組成物として常套的手順に従って製剤化される。典型的には、静脈内投与用の組成物は、滅菌等張性水性緩衝液中の溶液である。必要に応じ、組成物は、可溶化剤、および注射部位の痛みを和らげるためのリグノカインなどの局所麻酔薬も含み得る。一般に、これらの成分は、別々にまたは混合されて単位剤形で、のどちらかで、例えば、活性薬剤の量を示すアンプルまたはサッシュなどの密閉シールされている容器の中の乾いた凍結粉末または無水濃縮物として供給される。組成物を注入により投与すべき場合、それは、医薬品グレードの滅菌水または食塩水が入っている注入ボトルを用いて分注され得る。組成物が注射により投与される場合、投与の前に成分を混合することができるよう、注射用滅菌水または食塩水のアンプルが提供され得る。

【0176】

本開示の化合物を中性または塩形態として製剤化することができる。薬学的に許容される塩は、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などに由来するものなどのアニオンとで形成されるもの、およびナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、水酸化第二鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来するものなどのカチオンとで形成されるものを含む。

【実施例】

【0177】

(実施例1)

マウス抗ヒトB7-H3抗体の生成および試験

この実施例は、ハイブリドーマ技術を使用するマウス抗ヒトB7-H3モノクローナル抗体の生成を記載する。

10

【0178】

抗原：ヒトB7-H3 (4 Ig) His タグタンパク質。タンパク質免疫を、皮下注射 (s. c.) および腹腔内注射 (i. p.) によって行った。

【0179】

免疫：ヒトB7-H3に対するモノクローナル抗体を生成するために、Balb/c マウス、C57BL/6 マウス、SJL マウス、およびA/J マウスを、ヒトB7-H3 (4 Ig) タンパク質によって免疫した。免疫応答をモニターするために、マウスからの滴定した血清を、下に記載するようにELISAおよびフローサイトメトリーによりスクリーニングした。ヒトB7-H3タンパク質およびB7-H3過剰発現CHO-K1細胞系、ならびにB7-H3を発現しない陰性対照CHO-K1細胞系への抗体結合により、血清をスクリーニングした。十分なELISA力価、および陽性細胞系 (B7-H3過剰発現CHO-K1細胞) の陰性細胞系 (CHO-K1発現ベクターのみ) に対するFACS結合比を有する動物を、ハイブリドーマ融合の前のB7-H3タンパク質による最終追加免疫に選択した。

20

【0180】

細胞融合およびハイブリドーマスクリーニング：上に記載したように最終追加免疫したマウスから脾臓を単離した。電場に基づく電気融合による不死化マウス骨髓腫細胞との細胞融合によりハイブリドーマを生成した。融合細胞をハイブリドーマの選択のために96平底マイクロタイタープレートに蒔いた。B7-H3を過剰発現するCHO-K1、および陰性対照細胞系を使用して、ELISAおよびFACSを使用するエピトープビニングにより、上清をスクリーニングした。

30

【0181】

サブクロニングおよびスクリーニング：各融合物からの異なるエピトープを有する陽性初代クローンを、サブクロニングが単一の親細胞に確実に由来するように限界希釈によってサブクロニングした。サブクロニングを初代クローンと同じアプローチでスクリーニングし、加えて、抗体の結合力を確認するために、陽性クローンの培養上清をA375細胞においてFACSにより試験した。

【0182】

ハイブリドーマクローンをさらなる解析に選択した。可変領域のアミノ酸配列を下の表1Aで提供する。

40

【表 1 A - 1】

表1A. 抗体可変領域配列

名称	配列 (KabatシステムによるCDRに下線を付す)	配列番号
35A12B11 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFT <u>SYWMH</u> WVKQRPQGQGLEWIGM <u>IHPNSGTTNYNEKFKN</u> KATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYFTR <u>NGNP</u> <u>RWCFDV</u> WGTGTTVTVSS	1
35A12B11 VL	ENVLTQSPAIMASAPGEKVTVTC <u>SASSVS</u> <u>SYMH</u> WYQKSSSTSPKLWIYDTSKL <u>ASGVPGR</u> FSGSGSGNSYSLTISSMEAEDVATYYC <u>FOGSGYPFT</u> FGSGTKLEIK	2
62H9H5 VH	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFT <u>NYWIH</u> WVKQRPQGQGLEWIGYI <u>SPSTGYTEYNQKFKG</u> KATLTAVKSSSTAFMQLSSLTSEDSAVYFCARGT <u>GTGYW</u> GQGTTLTVSS	3
62H9H5 VL	DIQMTQSPASLSASVGESVTITC <u>RASENIYSFFA</u> WYQKEGKSPQLLVYNAKT <u>LEE</u> GVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYYC <u>QHNYVSPFT</u> FGSGTKLEIK	4
72D1D11 VH	QIQLVQSGPELKPKGETVKISCKASGYTFT <u>NLGLN</u> WVKQAPGKGLKWMGW <u>I</u> <u>NTAGGOPTYAEDFKGR</u> CAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARD <u>DDGY</u> <u>YTMDY</u> WGQGTSTVTVSS	5
72D1D11 VL	DIVMTQTPLSLPVSLGDQASISCR <u>SSQSLVHSNGKTYLH</u> WYWLQKPGQSPKLLI <u>YKVS</u> NRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYFC <u>SQSTHVPWT</u> FGG GTKLEIK	6
81C8A1 VH	QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLT <u>SGMGVS</u> WIRQPPGKGLEWLAHIY <u>WDDDRRYNPSLKS</u> RLTISRDTSRNQVFLQITTVDTADTATYYCAR <u>SPYGSEAY</u> WGQGTTLVIVSA	7
81C8A1 VL	MQIVLSQSPTILSAFPGEKVTMTCT <u>RASSVS</u> FIQWYQKSGSSPKPWYSPSNL <u>ASGVPTR</u> FSGSGSGTSYSLTIGRVEAEDAATYYC <u>QQWSSYPWT</u> FGGGTKVEIK	8
97E6B2 VH	QVQLQQPGAELYKPGASVKMSCKASGYTFT <u>SYWIT</u> WVKQRPQGQGLEWIGDI <u>YPGSNNTYYNEKFKS</u> KATLTVDTSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCAR <u>LIMSLF</u> <u>DYSGQGT</u> TLTVSS	9

10

20

30

40

50

【表 1 A - 2】

97E6B2 VL	ENVLTQSPANMSASPGEKVTMTCSVSSSVSYIH ~~WYQQKSSTSPTLWIYDTSKL~~ ASGVPGRFSGSGSGNSYALTISSEMEAEADVATYYCFQGSAYPLTFGAGTKLELK	10
106A5B3 VH	EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATIS SGGSYIYYPDSMKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLQSEDTAIYYCASDYGSR FDYWGQGTTLTVSS	11
106A5B3 VL	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVIYMSWYKQKPGSSPRLLIYDTSNLA SGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRMEAEADAATYYCQOWSSYPRTFGGGTKLEIK	12
126C10B10 VH	GVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTGSGFNIDPYIH ~~WVKQRPEQGLEWIGRID~~ PANGNTKYGPRFQGRATMTADTSSNTANLQLSSLTSEDATVYYCTTWNYL SRGFDYWGQGTTLTVSS	13
126C10B10 VL	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSARSSVTYMIH ~~WYQQKSGTSPKRWIYDTSK~~ LASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEMEAEADAATYYCQOWTSNPLTFGAGTKLEL K	14
216E7A9 VH	DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSAASGFTFSFSGMH ~~WVRQAPEKGLEWVAYIS~~ SGSSTIYYADTYRGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDATAMYYCARGGDYYY ALDYWGQGTSTVTVSS	15
216E7A9 VL	DIQMTQSPASLSVSVEGTVTITCRASENIHNSLEWYQQKQKSPQLLVYAATN LADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLSQSEDFGSYYCQHFWGTPFTFGSGTKLEI K	16
227E12D1 VH	EVKLVESGGGLVVKPGGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATIS GGGTYYTYYPDSVKGRFTISRDNKNNLYLQMSSLRSDDTALYYCARHEGLV MDYWGQGTSTVTVSS	17
227E12D1 VL	DIQMTQSPASLSASVEGTVTITCRASENIYSYLAWYQQKQKSPQLVYNAK TLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLSQPEDFGTYCQHGYGPPPYTFGGGTKL EIK	18
294A3C4 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMH ~~WVKQRPQGQGLEWIGM~~ FHPNSGTTNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARRLGIF FDYWGQGTTLTVSS	19
294A3C4 VL	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCRSSQSLLNSGNOKNYLTWYQQKPGQPPL LIYWASTRDSGVPDRFTGSGSGTDFLTISVQTEDLAVYYCQTDYSYPFTFG SGTKLEIK	20
312E1E2 VH	QVQLQQSGPELVPRPGVSVKISCKGSGYTFTDYAMH ~~WVKQSHAKSLEWIGIVS~~ THYGTNTYNNQNFKGKATMTVDKSSSTVYMEARLTSEDSAIYYCARSEGLR LDWFAHWGQGTTLTVSA	21
312E1E2 VL	DIQMTQSPASLSASVEIVTITCRASENIYSYLAWYQQKQKSPHLLVYNAKT LAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKISRLQPEDFGSYCQNIHYVFPFTFGSGTKLEIK	22
429H9F10 VH	QIQLVQSPELKKPGETVKISCKASGYTFTYYGLN ~~WVKQAPGKGLRWMGWI~~ NTSSGVPTIADDFKGRFAISLESSASTVFLEISNLKNEDTAAAYFCAKDDGYFY TMDHWGQGTSTVTVSS	23
429H9F10 VL	DIVMTQPPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHNNGKTYLH ~~WYQLKPGQSPKLLI~~ YKVSNRFSGVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEDLGVYFCQSSTQVPWTFGG GTKLEIK	24
43G8A9 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMH ~~WVNQRPGQGLEWIGM~~ IHPNSGSTNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARNYGR YFDYWGQGTTLTVSS	180
43G8A9 VL	MDFQVQIESFLLISVSVIMSRGQIVLTQSPAIMASASPGEKVTLTCSANSSVSSSL YWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEMEAEADAASY FCHQWSSYPLTFGAGTKLELK	181

【0183】

これらの抗体のCDR配列（Kababシステムによる）を下の表1Bに列挙する。翻訳後修飾（PTM）についての潜在的な部位を生物学的等価物に変異させた（例えば、NG→NA、NG→QG、NS→NA、NS→QS、NS→YS、DG→DA、DG→EGおよびDS→DA）それらのバリエーションも示す。これらの置換は、抗体の生物学的活性を保持すると同時にPTMを防止して製造を容易にすることが企図される。

10

20

30

40

【表 1 B - 1】

表1B. CDR配列(PTMを回避するための必要に応じた変異を有する、Kabat番号付け)

抗体	VH CDR1	配列番号	VH CDR2	配列番号	VH CDR3	配列番号
35A12B11	SYWMH	25	MIHPNSGTTNYNEKFKN MIHP <u>Q</u> SGTTNYNEKFK N MIHPYSGTTNYNEKFKN	26 27 28	NGNPRWCFDV	29
62H9H5	NYWIH	33	YISPSTGYTEYNQKFKG	34	GTGY	35
72D1D11	NLGLN	39	WINTAGGQPTYAEDFK G	40	DDGYYTMDY DD <u>A</u> YYTMDY DEGYYTMDY DRGYYTMDY DLGYYTMDY DAGYYTMDY	41 42 43 44 45 46
81C8A1	TSGMGV S	52	HIYWDDRRYNPSLKS	53	SPYGSEAY	54
97E6B2	SYWIT	58	DIYPGSNNTYYNEKFKS	59	LIMSLFDY	60
106A5B3	SYGMS	64	TISSGGSYIYYPDSMKG TISSGGSYIYYPD <u>A</u> MKG	65 66	DYGSRYFDY	67
126C10B1 0	DPYIH	71	RIDPANGNTKYGPRFQG RIDPA <u>Q</u> GNTKYGPRFQG RIDPAN <u>A</u> NTKYGPRFQG	72 73 74	WNYYLSRGFD Y	75
216E7A9	SFGMH	79	YISSGSSTIYYADTVRG	80	GGDYYYALDY	81
227E12D1	SYGMS	85	TISGGGTYTYYPDSVKG TISGGGTYTYYPD <u>A</u> VKG	86 87	HEGLVMDY	88
294A3C4	SYWMH	92	MFHPNSGTTNYNEKFK S MFHPN <u>A</u> GTTNYNEKFK S MFHP <u>Q</u> SGTTNYNEKFK S MFHPYSGTTNYNEKFK S	93 94 95 96	RLGIFFDY	97
312E1E2	DYAMH	102	IVSTHYGNTNYNQNFK G	103	SEGLRLDWFAH	104
429H9F10	YYGLN	108	WINTSSGVPTYADDFKG	109	DDGYFYTMDH DD <u>A</u> YFYTMDH DEGYFYTMDH	110 111 112
43G8A9	SYWMH	182	MIHPNSGSTNYNEKFKS MIHPN <u>A</u> GSTNYNEKFKS MIHP <u>Q</u> SGSTNYNEKFKS MIHPYSGSTNYNEKFKS	183 184 185 186	NYGRYFDY	187

太字／下線付き残基は、PTMを回避するための変異を示す

【表 1 B - 2】

抗体	VL CDR1	配列番号	VL CDR2	配列番号	VL CDR3	配列番号
35A12B11	SASSSVSYM	30	DTSKLAS	31	FQGSGYPFT	32
62H9H5	RASENIYSFFA	36	NAKTL	37	QHNYVSPFT	38
72D1D11	RSSQSLVHSNGKTYLH RSSQSLVHSN <u>A</u> KTYLH RSSQSLVHS <u>Q</u> GKTYLH	47 48 49	KVSNRFS	50	SQSTHVPWT	51

10

20

30

40

50

【表 1 B - 3】

81C8A1	RASSSVSFIQ	55	SPSNLAS	56	QQWSSYPWT	57
97E6B2	SVSSSVSYIH	61	DTSKLAS	62	FQGSAYPLT	63
106A5B3	SASSSVIYMS	68	DTSNLAS	69	QQWSSYPRT	70
126C10B10	SARSSVTYMH	76	DTSKLAS	77	QQWTSNPLT	78
216E7A9	RASENIHSNLE	82	AATNLAD	83	QHFWGTPFT	84
227E12D1	RASENIYSYLA	89	NAKTLAE	90	QHHYGPPPYT	91
294A3C4	RSSQSLNSGNQKNYLT	98	WASTRDS WASTRDA	99 100	QTDYSYPFT	101
312E1E2	RASENIYSYLA	105	NAKTLAE	106	QNHVVFPPFT	107
429H9F10	RSSQSLVHNNNGKTYLH RSSQSLVHNNAKTYLH RSSQSLVHNQ GKTYLH	113 114 115	KVSNRFS	116	SQSTQVPWT	117
43G8A9	SANSSVSSSSLY SANA SVSSSSLY SAQSSVSSSSLY SAYSSVSSSSLY	188 189 190 191	STSNLAS	192	HQWSSYPLT	193

10

20

【0184】

(実施例2)

完全ヒトナイブファージライブラリーのパニングおよびスクリーニング

この実施例は、ヒトナイブファージライブラリーからの完全ヒト抗 B 7 - H 3 抗体についてスクリーニングした。

【0185】

抗原：ヒト B 7 - H 3 (2 I g) - A v i - ビオチン、ヒト B 7 - H 3 (4 I g) H i s タグ、ヒト B 7 - H 3 (4 I g) - A v i - ビオチン - H i s 。

【0186】

完全ヒトナイブファージライブラリーの調製：ファージライブラリーを、健康なヒト対象の P B M C から増幅した抗体遺伝子断片からなるファージミドベクターを使用することにより構築した。ライブラリー形式は、F a b ファージライブラリーであった。ライブラリーサイズは、 1.04×10^{11} であった。

30

【0187】

ヒト B 7 - H 3 タンパク質に対するファージライブラリーの固相および溶液パニング：溶液パニングのために、ファージライブラリーに対して、まず、B S A をコーティングしたストレプトアビジン D y n a b e a d s とともにインキュベートすることによりネガティブスクリーニングを行った。得られたファージをビオチン化 B 7 - H 3 - H i s タグタンパク質とともにインキュベートし、K i n g f i s h e r 磁気ビーズシステムにより洗浄した。結合剤をトリプシンにより溶離した。固相パニングのために、ファージライブラリーを、まず、5 % ミルクを補充した P B S によりブロッキングした。得られたファージを B 7 - H 3 H i s タグタンパク質とともにインキュベートし、P B S T により洗浄した。結合剤をトリプシンにより溶離した。

40

【0188】

溶離したファージを、その後、抗原に結合するそれらの力価について試験し、E . c o l i と共培養した。4 ラウンドのパニングおよびスクリーニングがあった。産出物 3 および産出物 4 の力価が有意に増加した。

【0189】

単クローンを産出物 3 および 4 から慎重に選び、次いで、96 ウェルディーププレートにおいて培養した。培養上清を I g G 濃縮および抗原結合能力評価に付した。合計 23

50

2 の陽性クローンを選択し、配列決定に付した。ポストシーケンス解析によって、65 の特有の配列を同定した。これらのクローン全てを E L I S A 結合解析に付し、強い結合剤の配列を下の表 2 A に示した。

【表 2 A】

表2A. 抗体可変領域配列

クローン	配列 (KabatシステムによるCDRに下線を付す)	配列番号
AHP05564 VH	EVQLVETGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSS <u>SGMH</u> WVRQAPGKGL EWVA <u>VISYDVTNKYYVDSVKGR</u> FTISRDNSENTLYLQMNSLRAED TGVYYCVR <u>DGGPRWLGWYFDL</u> WGRGTLTVSS	118
AHP05564 VL	NIQMTQSPSSQSASVGDRVTTITCRANQAIANSLAWYQQKPGKAPKL LLFGTSL <u>LHSGVPSRFS</u> SGSGSGTEYTLTISSLQPDFTYYC <u>QQYFS</u> <u>FPRTFGGTQVDVY</u>	119
AHP06331 VH	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS <u>SYAMS</u> WVRQAPGKGL EWVS <u>AISSGGSTYYADSVKGR</u> FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAK <u>DRYYDILTGTFGY</u> WGQGTLLTVSS	120
AHP06331 VL	EIVMTQSPDFQSVPKEKVTITC <u>RASQSIGSSLH</u> WYQQKPDQSPKLL IK <u>HASQIPIS</u> GVPSRFS SGSGSGTVFTLIQSLEAEDAATYYC <u>QOSSRLP</u> <u>TFGGGTKVEIQ</u>	121
AHP06345 VH	QVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFT <u>SYWIS</u> WVRQMPGKGLE WMGRIDPSDSYTNYS <u>PSFQGH</u> VTISADKSISTAYLQWSSLKASDTA MYYCAR <u>HTGYYGSGIGMDV</u> WGQGTLLTVSS	122
AHP06345 VL	HVILTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYRQLPGTAPKL LIY <u>DNNQRPS</u> GIPDRFS GSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYC <u>ATWDS</u> <u>SLGVVVFGGR</u> TKLTVL	123
AHP06358 VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFT <u>SYGIS</u> WVRQAPGQGL EWMG <u>WISAYNGNTNYAOKLQGR</u> VTMTTDTSTSTAYMELRSLRSD DTAVYYCARD <u>DSPLQIAVAGYYYGMDV</u> WGQGTLLTVSS	124
AHP06358 VL	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISC <u>TRSSGSIVSGYVQ</u> WYQQRPGSAPST VIY <u>EHNQRPS</u> GVDPDRFS SIDSSSNSASLTISGLRTEDEADYYC <u>QSY</u> <u>DSRNMI</u> FGGGTKLTVL	125

【0190】

これらの抗体の C D R 配列 (K a b a t システムによる) を下の表 2 B に列挙する。翻訳後修飾 (P T M) の潜在的な部位を生物学的等価物に変異させた (例えば、N G → N A、N G → Q G、N S → N A、N S → Q S、N S → Y S、D G → D A、D G → E G および D S → D A) それらのバリエーションも示す。これらの置換は、抗体の生物学的活性を保持すると同時に P T M を防止して製造を容易にすることが企図される。

10

20

30

40

50

【表 2 B - 1】

表2B. CDR配列(PTMを回避するための必要に応じた変異を有する、Kabat番号付け)

抗体	VH CDR1	配列番号	VH CDR2	配列番号	VH CDR3	配列番号
AHP05564	SSGM H	126	VISYDVTNKYYYVDSV KG VISYDVTNKYYYVD <u>A</u> V KG	127 128	DGGPRWLGWYFDL <u>D</u> AGPRWLGWYFDL <u>E</u> GGPRWLGWYFDL	129 130 131
AHP06331	SYAM S	135	AISGSGGSTYYADSV KG AISGSGGSTYYAD <u>A</u> V KG	136 137	DRYYDILTGTFGY	138
AHP06345	SYWIS	142	RIDPSDSYTNYS ~~P~~ SFQ G	143	HTGYYGSGIGMDV	144
AHP06358	SYGIS	149	WISAYNGNTNYAQK LQG WISAY <u>Q</u> GNTNYAQK LQG WISAYN <u>A</u> NTNYAQK LQG	150 151 152	DSPLQIAVAGYYYYG MDV <u>D</u> APLQIAVAGYYYYG MDV	153 154

10

太字／下線付き残基は、PTMを回避するための変異を示す

【表 2 B - 2】

20

抗体	VL CDR1	配列番号	VL CDR2	配列番号	VL CDR3	配列番号
AHP05564	RANQAIANSLA	132	GTSL ~~L~~ HS	133	QQYFSF ~~P~~ RT	134
AHP06331	RASQSIGSSLH	139	HASQPIS	140	QQSSRLPT	141
AHP06345	SGSSSNIGNNYVS	145	DNNQRPS	146	ATWDSSLGVVV ATWD <u>A</u> SLGVVV	147 148
AHP06358	TRSSGSIVSGYVQ	155	EHNQRPS	156	QSYDSRNMI QSYD <u>A</u> RNMI	157 158

【0191】

(実施例3)

30

ヒトB7-H3抗原に対する結合活性

この実施例は、ヒトB7-H3抗原に対する抗体の結合活性を試験した。

3.1 ヒトB7-H3への細胞ベースの結合

【0192】

クローンの結合活性を評価するために、試験した抗体をA375またはA375.S2細胞においてFACS試験に付した。

【0193】

手短に述べると、総数 4×10^4 のA375細胞を、先ず、3倍または5倍段階希釈した抗体とともに4℃で30分間、FACS緩衝液中でインキュベートした。FACS緩衝液により洗浄した後、蛍光色素コンジュゲート化抗ヒトIgG抗体を各ウェルに添加し、4℃で30分間、インキュベートした。試料をFACS緩衝液で2回洗浄した。幾何平均蛍光強度(MFI)をMACSQuant Analyzer 16により評価した。

40

【0194】

図1に示すように、これらのハイブリドーマクローン全ての中で、43G8A9は、MGA017と同等の結合を示し、その他は、陽性参照であるMGA017より良好な結合活性を示した。ヒトナীবファージライブラリーに由来する4つの抗体は、MGA017より弱い結合活性を示した。

3.2 ヒトB7-H3-4Igに対する動態学的活性

【0195】

ヒトB7-H3(4Ig)タンパク質(hisタグ)への試験した抗体の結合を、捕捉

50

法を使用してBiacoreで試験した。mAbを、プロテインAチップによって捕捉した。ヒトB7-H3タンパク質の段階希釈物を、捕捉された抗体上に3分間、30μL／分の流速で注入した。抗原を、600秒間、放置して解離させた。全ての実験をBiacore T200で行った。結合トレースを、1:1モデルに従ってBiacore T200評価ソフトウェアに当てはめて、会合(ka)および解離(kd)速度定数ならびに平衡定数(KD)を算出した。結果を下の表3に示す。

【表3】

表3. Biacoreにより測定した速度論的結果

Abs	ヒトB7H3α-His		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
MGA017	7.37×10^5	1.32×10^{-3}	1.79×10^{-9}
35A12B11	5.29×10^5	2.01×10^{-3}	3.81×10^{-9}
62H9H5	3.46×10^5	1.60×10^{-4}	4.64×10^{-10}
72D1D11	3.74×10^5	1.80×10^{-4}	4.82×10^{-10}
81C8A1	5.67×10^5	1.11×10^{-4}	1.96×10^{-10}
97E6B2	6.47×10^5	4.81×10^{-4}	7.43×10^{-10}
106A5B3	8.33×10^5	3.96×10^{-4}	4.76×10^{-10}
126C10B10	4.38×10^5	3.67×10^{-4}	8.37×10^{-10}
216E7A9	3.31×10^5	8.24×10^{-4}	2.49×10^{-9}
227E12D1	5.95×10^5	3.68×10^{-4}	6.19×10^{-10}
294A3C4	4.63×10^5	1.35×10^{-3}	2.92×10^{-9}
AHP05564	1.66×10^6	8.62×10^{-4}	5.20×10^{-10}
AHP06331	9.06×10^4	3.72×10^{-3}	4.11×10^{-8}
AHP06345	1.73×10^5	2.54×10^{-4}	1.47×10^{-9}
AHP06358	5.37×10^6	3.96×10^{-3}	7.38×10^{-10}

3.3 試験した抗体の結合エピトープ

【0196】

試験した抗体の結合エピトープを、Octetを使用してエピトープビニングアッセイにより特徴付けた。

【0197】

手短に述べると、100nMの濃度のヒトB7-H3タンパク質をセンサーで捕捉し、0.3nmのシグナルを得た。次いで、100nMの競合抗体(72D1D11、AHP05562、AHP06345、CA84D)にセンサーを移入し、これらの競合抗体は、抗原の飽和および会合のために120秒間、センサーに注入した。次いで、試験した抗体を、抗原競合試験のためにさらに120秒間、注入した。センサーを、ベースラインステップの後、100nMの試験した抗体に120秒間、移入した。データ解析は、Octet Analysis Studio 12.2ソフトウェアを使用して行った。試験した抗体と競合抗体との結合阻害比を下の表4Aに示す。結果に基づいて、試験した抗体の結合エピトープを、表4Bに示すようにピンAα、Aβ、Aγ、BおよびCとして分類され得る。

10

20

30

40

50

【表 4 A】

表4A. Octetにより試験した阻害比

試験したAb \ 競合的Ab	72D1D11	AHP05562	AHP06345	CA84D
MGA017	98.91%	91.49%	-0.09%	3.65%
35A12B11	3.44%	92.01%	-7.09%	-9.56%
62H9H5	95.55%	90.21%	-7.10%	-6.07%
72D1D11	96.14%	-9.17%	-5.22%	-5.46%
81C8A1	95.40%	90.64%	-12.05%	-6.30%
97E6B2	99.65%	-7.80%	-1.18%	-3.99%
106A5B3	96.77%	89.58%	-13.04%	-15.75%
126C10B10	96.60%	-22.23%	-5.98%	-9.58%
216E7A9	98.03%	92.30%	1.99%	5.28%
227E12D1	97.11%	89.98%	-5.22%	-5.46%
294A3C4	-5.00%	89.96%	-7.53%	-12.01%
312E1E12	-32.57%	-24.39%	89.96%	-18.26%
429H9F10	98.86%	-22.36%	-11.54%	-8.00%
43G8A9	-0.01%	91.22%	-0.02%	-0.02%
AHP05564	試験せず	-3.53%	5.92%	80.14%
AHP06331	-8.37%	-11.83%	-13.00%	82.66%
AHP06345	試験せず	-6.36%	91.81%	-3.77%
AHP06358	-13.90%	91.72%	-10.55%	-13.62%

10

20

【表 4 B】

表4B. エピトープマッピング結果

ビン	抗体
A α	MGA017, 62H9H5, 81C8A1, 106A5B3, 216E7A9, 227E12D1
A β	72D1D11, 97E6B2, 126C10B10, 429H9F10
A γ	35A12B11, 294A3C4, AHP06358, 43G8A9
B	312E1E12, AHP06345
C	AHP06331, AHP05564

30

【0198】

(実施例4)

試験した抗体の内在化

この実施例は、A375細胞における試験した抗体の内在化を特徴付けた。

【0199】

pHAbチオール色素は、pH>7で非常に低い蛍光を有するpH感受性色素であり、pHがそれぞれおよそ6.3または4.7であるエンドソームまたはリソソームにそれが内在化されると蛍光の劇的な増加が生じる。手短に述べると、pHAbチオール色素で標識した α -hIgG二次抗体(10nM)を、5~50nMから出発して段階希釈した抗体とともに30分間、インキュベートした。そして、混合物を、 2×10^4 個のA375細胞を各ウェルに予め播種した96ウェルアッセイプレートに添加した。48時間の培養後、蛍光シグナルをマルチモードプレートリーダー(Envision(登録商標)2105)またはOperettaで捕捉した。

40

【0200】

図2に示すように、ほぼ全てのハイブリドーマクローンは、MGA017より良好な内在化を示した。ヒトナイフファージライブラリーに由来する抗体の中で、AHP06331およびAHP06358は、より低い濃度では、MGA017より低い内在化の程度を示したが、より高い濃度では、AHP06331およびAHP06358の内在化は、

50

MGA017よりはるかに強く、このことは、より高いEC50およびアッセイのより高い最高値により示唆された。AHP05564およびAHP05346は、MGA017より弱い内在化を示した。

【0201】

(実施例5)

B7-H3 ADCの*in vitro*細胞傷害性

この実施例は、RKO腫瘍細胞に対するvc-MMAE標識B7-H3 ADCの殺傷有効性を特徴付けた。

【0202】

B7-H3リーディングヒットをvc-MMAE (L1-D1) によって約4.0の薬物対抗体比(DAR)で標識した。B7-H3 ADCの細胞傷害性をRKO細胞に対して試験した。手短に述べると、 2×10^4 個のRKO細胞を96ウェルプレートの各ウェルに一晩播種した。段階希釈したB7-H3 ADCを細胞培養物に添加し、混合物をCO₂インキュベーターにおいて37℃で72時間または96時間インキュベートした。インキュベーションの終了時点で、100μLのCellTiter-Glo反応試薬を添加し、混合物を室温で10分間インキュベートした。発光シグナルをマルチモードプレートリーダー(Envision (登録商標) 2105)により得た。

【0203】

図3に示すように、72D1D11、81C8A1、62H9H5、106A5B3、126C10B10、および227E12D1は、MGA017と比較して、RKO細胞殺傷に対して強い細胞傷害性を媒介した。AHP06358は、MGA017と同等の細胞殺傷を示した。

【0204】

(実施例6)

B7-H3抗体のヒト化

抗体72D1D11および81C8A1の可変領域遺伝子を利用して、ヒト化mAbを生成した。72D1D11および81C8A1のVHおよびVKのアミノ酸配列を、ヒトIg遺伝子配列の利用可能なデータベースと比較して、全体として最もよくマッチするヒト生殖細胞系列Ig配列を見出した。

【0205】

72D1D11の軽鎖については、IGKV2-40*01およびIGKV2-28*01が最良適合生殖細胞系列であり、72D1D11の重鎖については、IGHV7-4-1*02をヒト化骨格として選択した。次いで、ヒト化72D1D11 CDRグラフト抗体を設計し、CDR-L1、L2およびL3をIGKV2-40*01およびIGKV2-28*01のフレームワーク配列にグラフトし、CDR-H1、H2およびH3をIGHV7-4-1*02のフレームワーク配列にグラフトした。次いで、3Dモデルを生成して、抗体結合および立体構造に不可欠である、元のマウスフレームワーク領域内のアミノ酸を決定した。解析に基づいて、復帰変異をグラフト抗体に対して行い、その結果、4本の追加のヒト化重鎖および4本の追加の軽鎖を生成した。

【0206】

81C8A1の軽鎖については、IGKV6-21*01が最良適合生殖細胞系列であり、81C8A1の重鎖については、IGHV2-70*04をヒト化骨格として選択した。次いで、ヒト化81C8A1 CDRグラフト抗体を設計し、CDR-L1、L2およびL3をIGKV6-21*01のフレームワーク配列にグラフトし、CDR-H1、H2およびH3をIGHV2-70*04のフレームワーク配列にグラフトした。次いで、3Dモデルを生成して、抗体結合および立体構造に不可欠である、元のマウスフレームワーク領域内のアミノ酸を決定した。解析に基づいて、復帰変異をグラフト抗体に対して行い、その結果、3本の追加のヒト化重鎖および4本の追加の軽鎖を生成した。

【0207】

得られたヒト化配列である配列を表5～6に列挙する。

【表 5 A】

表5A. 72D1D11のヒト化

名称	配列	配列番号
72D1D11 VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFT <u>NLGLN</u> WVKQAPGKGLK WMG <u>WINTAGGQPTYAEDFKGR</u> CAFSLETSASTAYLQINNKNEDT ATYFCAR <u>DDGYYYTMDY</u> WGQGTSTVTVSS	5
72D1D11 VH.V1 (グラフト化)	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFT <u>NLGLN</u> WVRQAPGQGL EWMG <u>WINTAGGQPTYAEDFKGR</u> RVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDT AVYYCAR <u>DDGYYYTMDY</u> WGQGTTTVTVSS	159
72D1D11 VH.V2	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFT <u>NLGLN</u> WVRQAPGQGL EWMG <u>WINTAGGQPTYAEDFKGR</u> CVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDT AVYYCAR <u>DDGYYYTMDY</u> WGQGTTTVTVSS	160
72D1D11 VH.V3	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFT <u>NLGLN</u> WVRQAPGQGL <u>K</u> WMG <u>WINTAGGQPTYAEDFKGR</u> CVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDT AVYFCAR <u>DDGYYYTMDY</u> WGQGTTTVTVSS	161
72D1D11 VH.V4	QIQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFT <u>NLGLN</u> WVKQAPGQGL <u>K</u> WMG <u>WINTAGGQPTYAEDFKGR</u> CVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTA VYFCAR <u>DDGYYYTMDY</u> WGQGTTTVTVSS	162
72D1D11 VL	DIVMTQTPLSLPVSLGDAQSISCR <u>SSQSLVHSNGKTYLH</u> WYLQKPG QSPKLLIY <u>KVSNRFS</u> GVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCS <u>QSTHVPWT</u> FGGGTKLEIK	6
72D1D11 VL.V1 (グラフト化)	DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCR <u>SSQSLVHSNGKTYLH</u> WYLQKPGQ SPQLLIY <u>KVSNRFS</u> GVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCS <u>QSTHVPWT</u> FGGGTKLEIK	163
72D1D11 VL.V2	DIVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCR <u>SSQSLVHSNGKTYLH</u> WYLQKPGQ SPQLLIY <u>KVSNRFS</u> GVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCS <u>QSTHVPWT</u> FGGGTKLEIK	164
72D1D11 VL.V3 (グラフト化)	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCR <u>SSQSLVHSNGKTYLH</u> WYLQKPGQ SPQLLIY <u>KVSNRFS</u> GVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCS <u>QSTHVPWT</u> FGGGTKLEIK	165
72D1D11 VL.V4	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCR <u>SSQSLVHSNGKTYLH</u> WYLQKPGQ SPQLLIY <u>KVSNRFS</u> GVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCS <u>QSTHVPWT</u> FGGGTKLEIK	166

10

20

30

40

【表 5 B】

表5B. 72D1D11からのヒト化抗体

VH \ VL	72D1D11 VL.V1	72D1D11 VL.V2	72D1D11 VL.V3	72D1D11 VL.V4
72D1D11 VH.V1	72D1D11-z1	72D1D11-z2	72D1D11-z3	72D1D11-z4
72D1D11 VH.V2	72D1D11-z5	72D1D11-z6	72D1D11-z7	72D1D11-z8
72D1D11 VH.V3	72D1D11-z9	72D1D11-z10	72D1D11-z11	72D1D11-z12
72D1D11 VH.V4	72D1D11-z13	72D1D11-z14	72D1D11-z15	72D1D11-z16

50

【表 6 A】

表6A. 81C8A1のヒト化

名称	配列	配列番号
81C8A1 VH	QVTLKESGPGILQPSQTL ~~SLTCSFSGFSL~~ <u>STSGMGVS</u> WIRQPPGKGLE WLA <u>HIYWDDDDRRYNPSLKS</u> R ~~LTISR~~ DTSRNQVFLQITTVD ~~TAD~~ TATY YCAR <u>SPYGSEAY</u> WGQGT ~~LVIV~~ SA	7
81C8A1 VH.V1 (グラフト化)	QVTLKESGPALVKPTQT ~~LTCTFSGFSL~~ <u>STSGMGVS</u> WIRQPPGKALE WLA <u>HIYWDDDDRRYNPSLKS</u> R ~~LTISK~~ DTSKNQV ~~VL~~ TMTNMDPVD ~~TA~~ TYYCAR <u>SPYGSEAY</u> WGQGT ~~LVTV~~ SS	167
81C8A1 VH.V2	QVTLKESGPALVKPTQT ~~LTCTFSGFSL~~ <u>STSGMGVS</u> WIRQPPGKALE WLA <u>HIYWDDDDRRYNPSLKS</u> R ~~LTISR~~ DTSKNQV ~~VL~~ TMTNMDPVD ~~TA~~ TYYCAR <u>SPYGSEAY</u> WGQGT ~~LVTV~~ SS	168
81C8A1 VH.V3	QVTLKESGPALVKPTQT ~~LTCTFSGFSL~~ <u>STSGMGVS</u> WIRQPPGK ~~GL~~ EWLA <u>HIYWDDDDRRYNPSLKS</u> R ~~LTISR~~ DTSKNQV ~~VL~~ T/TNMDPVD ~~TA~~ TYYCAR <u>SPYGSEAY</u> WGQGT ~~LVTV~~ SS	169
81C8A1 VL	MQIVLSQSPTILSAFPGEKVTMT ~~C~~ <u>RASSVSFIQ</u> WYQQKSGSSPK ~~PWI~~ Y <u>SPSNLAS</u> GVPT ~~RFSGSGSGT~~ SYSLTIGRVEAEDAATYYC <u>QQWSSYP</u> <u>WTFGGG</u> TKVEIK	8
81C8A1 VL.V1	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTIT ~~C~~ <u>RASSVSFIQ</u> WYQQKPDQSPK ~~LWIK~~ <u>SPSNLAS</u> GVPSR ~~FSGSGSGT~~ DFTLTINSLEAEDAATYYC <u>QQWSSYPW</u> <u>TFGQG</u> TKVEIK	170
81C8A1 VL.V2	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTIT ~~C~~ <u>RASSVSFIQ</u> WYQQKPDQSPK ~~PWIK~~ <u>SPSNLAS</u> GVPSR ~~FSGSGSGT~~ DFTLTINSLEAEDAATYYC <u>QQWSSYPW</u> <u>TFGQG</u> TKVEIK	171
81C8A1 VL.V3	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTIT ~~C~~ <u>RASSVSFIQ</u> WYQQKPDQSPK ~~PWIF~~ <u>SPSNLAS</u> GVPSR ~~FSGSGSGT~~ DFTLTINSLEAEDAATYYC <u>QQWSSYPW</u> <u>TFGQG</u> TKVEIK	172
81C8A1 VL.V4	EIVL <u>S</u> QSPDFQSVTPKEKVTIT ~~C~~ <u>RASSVSFIQ</u> WYQQKPDQSPK ~~PWIF~~ <u>PSNLAS</u> GVPSR ~~FSGSGSGT~~ DYTLTINSLEAEDAATYYC <u>QQWSSYPWT</u> FGQGT ~~LVIV~~ SA	173

【表 6 B】

表6B. 81C8A1からのヒト化抗体

VH	VL	81C8A1 VL.V1	81C8A1 VL.V2	81C8A1 VL.V3	81C8A1 VL.V4
81C8A1 VH.V1		81C8A1-z1	81C8A1-z2	81C8A1-z3	81C8A1-z4
81C8A1 VH.V2		81C8A1-z5	81C8A1-z6	81C8A1-z7	81C8A1-z8
81C8A1 VH.V3		81C8A1-z9	81C8A1-z10	81C8A1-z11	81C8A1-z12

(実施例 7)
ヒト化抗体の結合活性
フローサイトメトリーを行って A 3 7 5 細胞に対するヒト化抗体の結合活性を確認した。

【0209】
手短に述べると、総数 4×10^4 の A 3 7 5 細胞を、先ず、30 nM から出発して 3 倍段階希釈した抗体とともに 4℃ で 30 分間、FACS 緩衝液中でインキュベートした。FACS 緩衝液により洗浄した後、PE コンジュゲート化抗ヒト IgG 抗体 (eBioscience (商標)、Invitrogen) を各ウェルに添加し、4℃ で 30 分間インキュベートした。試料を FACS 緩衝液で 2 回洗浄した。PE の幾何平均蛍光強度 (MFI) を MACSQuant Analyzer 16 により評価した。

【0210】
図 4 に示すように、全てのヒト化 72D1D11 抗体は、ヒト B7-H3 結合に関してキメラ抗体と同等であった。ヒト化 81C8A1 抗体については、81C8A1-z3、81C8A1-z4、81C8A1-z7、81C8A1-z8 は、キメラ抗体と同等の結合を示した。

【0211】
(実施例 8)
キメラ 72D1D11 の PTM 除去
NG 残基が 72D1D11 VL CDR1 上に存在し、DG 残基が 72D1D11 VH CDR3 (Kabata 番号付け) 上に存在することが観察されており、これらの残基は、翻訳後修飾 (PTM) のリスクがあり、将来の製造にとって課題となる。それ故、この実施例は、PTM を防止するために VL CDR1 上の NG を QG または NA に、VH CDR3 上の DG を EG に変異させた。潜在的な PTM 除去部位の配列を表 7 に列挙する。

【表 7】
表 7. 72D1D11 の PTM 除去

VH \ VL			
	72D1D11 VL	72D1D11 VL NG-NA	72D1D11 VL NG-QG
72D1D11 VH	72D1D11	72D1D11-p1	72D1D11-p2
72D1D11 VH DG-EG	72D1D11-p3		

【0212】
図 5 に示すように、72D1D11-p1 / p2 は、A 3 7 5 細胞において対応する親抗体と同等のヒト B7-H3 結合を示した。72D1D11-p3 は、A 3 7 5 細胞においてヒト B7-H3 結合の若干の喪失を示した。

【0213】
(実施例 9)
ヒト化 72D1D11 の PTM 除去の確認
それ故、この実施例は、潜在的な PTM 部位が除去されたヒト化 72D1D11 (72D1D11-z3) の配列 (NA または QG に変異した VL CDR1 NG ; RG または LG または AG に変異した VH CDR3 DG) を確認した。配列を表 8 に列挙する。

【表 8】

表8A. 潜在的なPTM部位が除去された72D1D11ヒト化抗体

VH \ VL	72D1D11 VL.V3 NG-NA	72D1D11 VL.V3 NG-QG
72D1D11 VH.V1	72D1D11-z3p1	72D1D11-z3p2
72D1D11 VH.V1 DG-RG	72D1D11-z3p6	
72D1D11 VH.V1 DG-LG	72D1D11-z3p7	
72D1D11 VH.V1 DG-AG	72D1D11-z3p8	

10

【表 9】

表9. 潜在的なPTM部位が除去された72D1D11のヒト化。

名称	配列	配列番号
72D1D11 VH.V1 (グラフト化)	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFT <u>NLGLN</u> WVRQA PGQGLEWMG <u>WINTAGGQPTYAEDFKGR</u> FVFSLDTSVSTAY LQISSLKAEDTAVYYCARD <u>DDGYYYTMDY</u> WGQGTTTVTVSS	159
72D1D11 VH.V1 DG-EG	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFT <u>NLGLN</u> WVRQA PGQGLEWMG <u>WINTAGGQPTYAEDFKGR</u> FVFSLDTSVSTAY LQISSLKAEDTAVYYCARD <u>DEGYYYTMDY</u> WGQGTTTVTVSS	174
72D1D11 VH.V1 DG-RG	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFT <u>NLGLN</u> WVRQA PGQGLEWMG <u>WINTAGGQPTYAEDFKGR</u> FVFSLDTSVSTAY LQISSLKAEDTAVYYCARD <u>DRGYYYTMDY</u> WGQGTTTVTVSS	175
72D1D11 VH.V1 DG-LG	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFT <u>NLGLN</u> WVRQA PGQGLEWMG <u>WINTAGGQPTYAEDFKGR</u> FVFSLDTSVSTAY LQISSLKAEDTAVYYCARD <u>DLGYYYTMDY</u> WGQGTTTVTVSS	176
72D1D11 VH.V1 DG-AG	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFT <u>NLGLN</u> WVRQA PGQGLEWMG <u>WINTAGGQPTYAEDFKGR</u> FVFSLDTSVSTAY LQISSLKAEDTAVYYCARD <u>DAGYYYTMDY</u> WGQGTTTVTVSS	177
72D1D11 VL.V3 (グラフト化)	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCR <u>SSQSLVHSNGKTYLHWYL</u> QKPGQSPQLLIY <u>KVSNRFSG</u> VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYC <u>SQSTHVPWT</u> FGGGTKLEIK	165
72D1D11 VL.V3-NG-NA	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCR <u>SSQSLVHSNAKTYLHWYL</u> QKPGQSPQLLIY <u>KVSNRFSG</u> VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYC <u>SQSTHVPWT</u> FGGGTKLEIK	178
72D1D11 VL.V3-NG-QG	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCR <u>SSQSLVHSOGKTYLHWYL</u> QKPGQSPQLLIY <u>KVSNRFSG</u> VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA EDVGVYYC <u>SQSTHVPWT</u> FGGGTKLEIK	179

20

30

40

【0214】

図6Aに示すように、72D1D11-z3p1は、A375細胞において親抗体72D1D11-z3と同等のヒトB7-H3結合を示した。72D1D11-z3p2は、A375細胞においてヒトB7-H3結合の若干の喪失を示した。図6Bに示すように、72D1D11-z3p6、72D1D11-z3p7、72D1D11-z3p8は、

50

A 3 7 5 細胞においてヒト B 7 - H 3 結合を喪失した。

* * *

【 0 2 1 5 】

本開示は、記載した特定の実施形態によって範囲が限定されることはなく、これらの実施形態は、本開示の個々の態様の単一の実例として意図したものであり、機能的に等価であるあらゆる組成物または方法が本開示の範囲内である。本開示の主旨および範囲を逸脱することなく、本開示の方法および組成物に様々な改変および変形を加えることができることは、当業者には明らかであろう。したがって、本開示は、本開示の改変形態および変形形態を、それらが添付の請求項およびそれらの均等物の範囲内に入ることを条件に、包含する。

【 0 2 1 6 】

本明細書で言及した全ての公表文献および特許出願は、個々の公表文献または特許出願各々が参照により組み込まれると具体的かつ個別に示された場合と同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

【 図 面 】

【 図 1 】

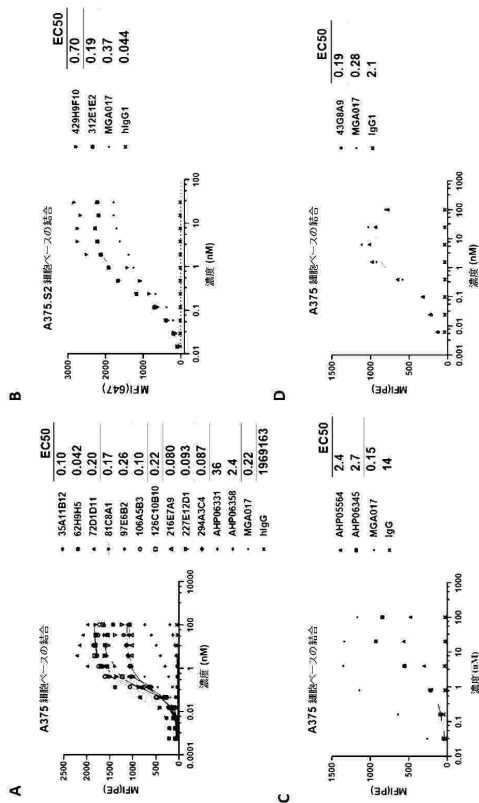


FIG. 1

【 図 2 】

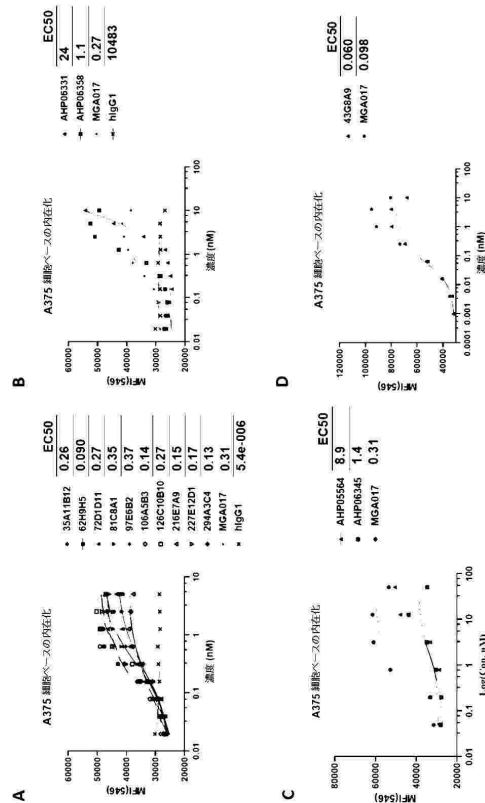


FIG. 2

10

20

30

40

50

【図 3】

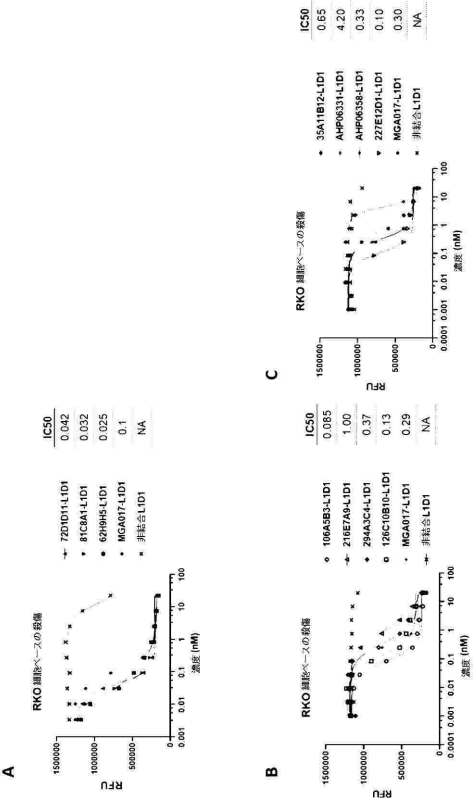


FIG. 3

【図 4】

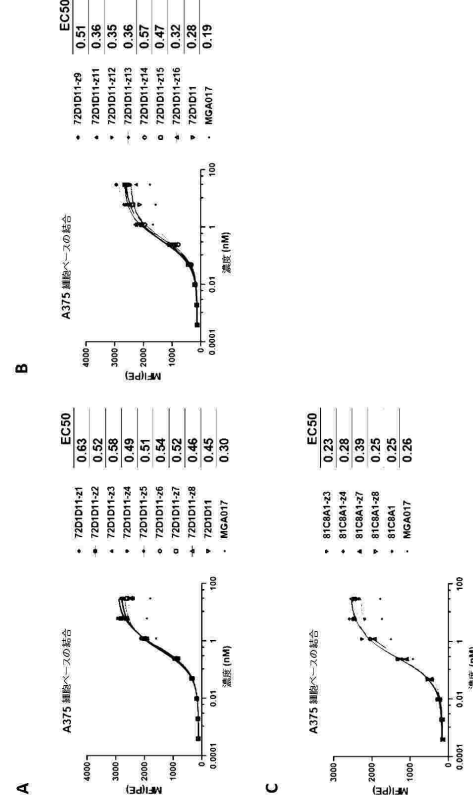


FIG. 4

【図 5】

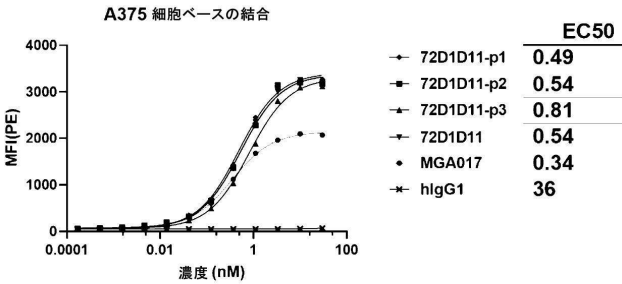


FIG. 5

【図 6】

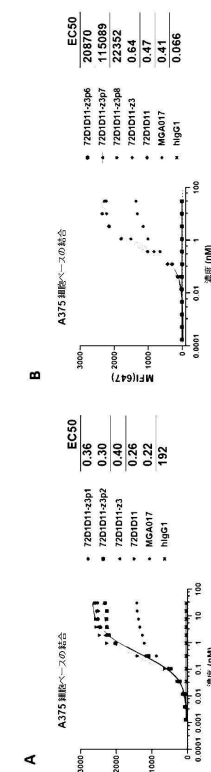


FIG. 6

10

20

30

40

50

【配列表】

2025513593000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2023/090822
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K16/28(2006.01)i;C12N15/13(2006.01)i;A61K39/395(2006.01)i;A61P35/00(2006.01)i 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) IPC: C07K; C12N; A61K; A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS, DWPI, SIPOABS, CNKI, NCBI, ISI Web of Science, GenBank: antibody, monoclonal, B7, H3, CD276, SEQ ID NOs: 25-193 of the present application		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 114573695 A (MEISWEI (SHANGHAI) BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 03 June 2022 (2022-06-03) the whole document, especially claims, description, examples 1-3 and 8, table 10 and the abstract	1-33
X	CN 110305213 A (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIO-PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 08 October 2019 (2019-10-08) the whole document, especially claims, description, examples 1-3, table 4 and the abstract	1-33
X	WO 2020094120 A1 (SHANGHAI FUDAN ZHANGJIANG BIO PHARMACEUTICAL CO LTD) 14 May 2020 (2020-05-14) the whole document, especially claims, description, examples 1-3, table 4 and the abstract	1-33
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "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 May 2023		Date of mailing of the international search report 19 May 2023
Name and mailing address of the ISA/CN CHINA NATIONAL INTELLECTUAL PROPERTY ADMINISTRATION 6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing 100088, China		Authorized officer WU,YongQing Telephone No. (+86) 010-62089161

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2023/090822
Box No. I	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. b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)), ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed. 2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing. 3. Additional comments:		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members					International application No. PCT/CN2023/090822		
Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
CN	114573695	A	03 June 2022	WO	2022117040 A1	09 June 2022	
CN	110305213	A	08 October 2019	None			
WO	2020094120	A1	14 May 2020	None			

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/62	(2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
A 6 1 K	48/00	(2006.01)	A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	47/68	(2017.01)	A 6 1 K	47/68	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	L
A 6 1 K	38/19	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 K	38/43	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	C
			A 6 1 K	39/395	E
			A 6 1 K	39/395	D
			A 6 1 K	39/395	N
			A 6 1 K	38/19	
			A 6 1 K	38/43	

,MC,ME,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,C O,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,I R,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW ,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL ,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ゼン, ペン

中華人民共和国 2 0 1 1 1 2 シャンハイ, ミンハン ディストリクト, プジャン, リアンヘン
ロード ナンバー 6 5 1, ビルディング 4, フロア 3

(72)発明者 チュー, ジーフー

中華人民共和国 2 0 1 1 1 2 シャンハイ, ミンハン ディストリクト, プジャン, リアンヘン
ロード ナンバー 6 5 1, ビルディング 4, フロア 3

(72)発明者 ジアン, ウェンチン

中華人民共和国 2 0 1 1 1 2 シャンハイ, ミンハン ディストリクト, プジャン, リアンヘン
ロード ナンバー 6 5 1, ビルディング 4, フロア 3

F ターム (参考) 4B065 AA91X AB01 AB05 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44

4C076 AA95 BB11 CC27 CC41 EE41 EE59 FF31

4C084 AA13 BA44 DA01 DC01 MA66 NA13 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272

4C085 AA13 AA14 BB31 BB36 CC22 CC23 DD62 EE01 GG01

4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA41 BA72 CA40 DA50 DA76 EA20

FA74