

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2022-515152

(P2022-515152A)

(43)公表日 令和4年2月17日(2022.2.17)

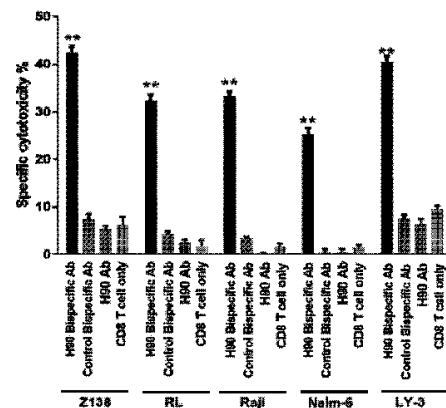
(51)国際特許分類		F I	テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46	4 C 0 8 5
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	4 H 0 4 5
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	
		審査請求 未請求	予備審査請求 未請求	(全56頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2021-535665(P2021-535665)	(71)出願人	598004424	
(86)(22)出願日	令和1年12月19日(2019.12.19)		シティ・オブ・ホープ	
(85)翻訳文提出日	令和3年7月27日(2021.7.27)		City of Hope	
(86)国際出願番号	PCT/US2019/067563		アメリカ合衆国カリフォルニア州910	
(87)国際公開番号	WO2020/132291		10-0269, デュアーテ, イースト	
(87)国際公開日	令和2年6月25日(2020.6.25)		・デュアーテ・ロード 1500	
(31)優先権主張番号	62/782,317		1500 East, Duarte Ro	
(32)優先日	平成30年12月19日(2018.12.19)		ad, Duarte, Californ	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		ia 91010-0269, Unit	
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	110001173	
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(		特許業務法人川口国際特許事務所	
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A	(72)発明者	チン, ホン	
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR		アメリカ合衆国、カリフォルニア・91	
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		784、アップランド、シトラス・ユニ	
	最終頁に続く		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 B A F F - R 二重特異性 T 細胞エンゲージャー抗体

(57)【要約】

本明細書において提供されるのは、B A F F - R に結合可能な組換えタンパク質（例えば、二重特異性抗体）である。本明細書で提供される組換えタンパク質（例えば、二重特異性抗体）は、とりわけ、がん及び自己免疫疾患の治療に有用である。

FIG. 4



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

組換えタンパク質であって、

(i) エフェクター細胞リガンドに結合可能な第 1 の抗体領域と、

(ii) 第 2 の抗体領域であって、

(a) 配列番号 1 に記載される C D R L 1 と、配列番号 2 に記載される C D R L 2 と、配列番号 3 に記載される C D R L 3 とを含む軽鎖可変ドメインと、

(b) 配列番号 4 に記載される C D R H 1 と、配列番号 5 に記載される C D R H 2 と、配列番号 6 に記載される C D R H 3 とを含む重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域と、を含む組換えタンパク質。

10

【請求項 2】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 7 の配列を含む、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 3】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 10 の配列を含む、請求項 1 又は 2 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 4】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 13 に記載される F R L 1 と、配列番号 14 に記載される F R L 2 と、配列番号 15 に記載される F R L 3 と、配列番号 16 に記載される F R L 4 とを含む、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

20

【請求項 5】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 25 に記載される F R H 1 と、配列番号 26 に記載される F R H 2 と、配列番号 27 に記載される F R H 3 と、配列番号 28 に記載される F R H 4 とを含む、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 6】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 8 の配列を含む、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 7】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 11 の配列を含む、請求項 1 又は 6 に記載の組換えタンパク質。

30

【請求項 8】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 17 に記載される F R L 1 と、配列番号 18 に記載される F R L 2 と、配列番号 19 に記載される F R L 3 と、配列番号 20 に記載される F R L 4 とを含む、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 9】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 29 に記載される F R H 1 と、配列番号 30 に記載される F R H 2 と、配列番号 31 に記載される F R H 3 と、配列番号 32 に記載される F R H 4 とを含む、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 10】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 9 の配列を含む、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

40

【請求項 11】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 12 の配列を含む、請求項 1 又は 10 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 12】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 21 に記載される F R L 1 と、配列番号 22 に記載される F R L 2 と、配列番号 23 に記載される F R L 3 と、配列番号 24 に記載される F R L 4 とを含む、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 13】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 33 に記載される F R H 1 と、配列番号 34 に記載

50

される F R H 2 と、配列番号 3 5 に記載される F R H 3 と、配列番号 3 6 に記載される F R H 4 とを含む、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 1 4】

組換えタンパク質であって、

(i) エフェクター細胞リガンドに結合可能な第 1 の抗体領域と、

(i i) 第 2 の抗体領域であって、

(a) 配列番号 3 8 に記載される C D R L 1 と、配列番号 3 9 に記載される C D R L 2 と、配列番号 4 0 に記載される C D R L 3 とを含む軽鎖可変ドメインと、

(b) 配列番号 4 1 に記載される C D R H 1 と、配列番号 4 2 に記載される C D R H 2 と、配列番号 4 3 に記載される C D R H 3 とを含む重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域と、を含む組換えタンパク質。 10

【請求項 1 5】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 4 4 の配列を含む、請求項 1 4 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 1 6】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 4 7 の配列を含む、請求項 1 4 又は 1 5 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 1 7】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 5 0 に記載される F R L 1 と、配列番号 5 1 に記載される F R L 2 と、配列番号 5 2 に記載される F R L 3 と、配列番号 5 3 に記載される F R L 4 とを含む、請求項 1 4 に記載の組換えタンパク質。 20

【請求項 1 8】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 6 2 に記載される F R H 1 と、配列番号 6 3 に記載される F R H 2 と、配列番号 6 4 に記載される F R H 3 と、配列番号 6 5 に記載される F R H 4 とを含む、請求項 1 4 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 1 9】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 4 5 の配列を含む、請求項 1 4 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 2 0】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 4 8 の配列を含む、請求項 1 4 又は 1 9 に記載の組換えタンパク質。 30

【請求項 2 1】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 5 4 に記載される F R L 1 と、配列番号 5 5 に記載される F R L 2 と、配列番号 5 6 に記載される F R L 3 と、配列番号 5 7 に記載される F R L 4 とを含む、請求項 1 4 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 2 2】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 6 6 に記載される F R H 1 と、配列番号 6 7 に記載される F R H 2 と、配列番号 6 8 に記載される F R H 3 と、配列番号 6 9 に記載される F R H 4 とを含む、請求項 1 4 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 2 3】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 4 6 の配列を含む、請求項 1 4 に記載の組換えタンパク質。 40

【請求項 2 4】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 4 9 の配列を含む、請求項 1 4 又は 2 3 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 2 5】

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 5 8 に記載される F R L 1 と、配列番号 5 9 に記載される F R L 2 と、配列番号 6 0 に記載される F R L 3 と、配列番号 6 1 に記載される F R L 4 とを含む、請求項 1 4 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 2 6】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 70 に記載される FR H1 と、配列番号 71 に記載される FR H2 と、配列番号 72 に記載される FR H3 と、配列番号 73 に記載される FR H4 とを含む、請求項 14 のいずれか一項に記載の組換えタンパク質。

【請求項 27】

前記第 1 の抗体領域が第 1 の Fab' フラグメントであるか、又は前記第 2 の抗体領域が第 2 の Fab' フラグメントである、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 28】

前記第 1 の抗体領域が第 1 の単鎖可変フラグメント (scFv) であるか、又は前記第 2 の抗体領域が第 2 の単鎖可変フラグメント (scFv) である、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

10

【請求項 29】

前記第 2 の抗体領域が、約 5 nM 未満の平衡解離定数 (K_D) で B A F F - R タンパク質に結合可能である、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 30】

前記第 2 の抗体領域が、約 4 nM 未満の平衡解離定数 (K_D) で B A F F - R タンパク質に結合可能である、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 31】

前記第 1 の抗体領域が、

(a) 配列番号 74 に記載される C D R L1 と、配列番号 75 に記載される C D R L2 と、配列番号 76 に記載される C D R L3 とを含む軽鎖可変ドメインと、

20

(b) 配列番号 77 に記載される C D R H1 と、配列番号 78 に記載される C D R H2 と、配列番号 79 に記載される C D R H3 とを含む重鎖可変ドメインとを含む、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 32】

前記第 1 の抗体領域が、

(a) 配列番号 81 に記載される C D R L1 と、配列番号 82 に記載される C D R L2 と、配列番号 83 に記載される C D R L3 とを含む軽鎖可変ドメインと、

(b) 配列番号 84 の C D R H1 と、配列番号 85 の C D R H2 と、配列番号 86 の C D R H3 とを含む重鎖可変ドメインとを含む、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 33】

30

前記第 1 の抗体領域が、第 1 の単鎖可変フラグメント (scFv) である、請求項 1 又は 32 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 34】

前記第 1 の scFv が、配列番号 80 の配列又は配列番号 87 の配列を含む、請求項 33 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 35】

前記エフェクター細胞リガンドが、C D 3 タンパク質である、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 36】

前記第 2 の抗体領域が、B A F F - R タンパク質に結合している、請求項 1 に記載の組換えタンパク質。

40

【請求項 37】

前記 B A F F - R タンパク質が、ヒト B A F F - R タンパク質である、請求項 36 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 38】

前記 B A F F - R タンパク質が、細胞の一部を形成する、請求項 36 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 39】

前記 B A F F - R タンパク質が、前記細胞の表面上に発現する、請求項 38 に記載の組換えタンパク質。

50

【請求項 40】

前記細胞は、リンパ球細胞である、請求項 39 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 41】

前記細胞は、B 細胞である、請求項 39 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 42】

前記細胞は、がん細胞である、請求項 39 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 43】

前記がん細胞は、リンパ腫細胞である、請求項 42 に記載の組換えタンパク質。

【請求項 44】

治療有効量の請求項 1 に記載の組換えタンパク質を含む医薬組成物及び薬学的に許容される賦形剤。 10

【請求項 45】

治療を必要とする対象のがんを治療する方法であって、治療有効量の請求項 1 に記載の組換えタンパク質を対象に投与し、それにより、前記対象のがんを治療することを含む方法。

【請求項 46】

前記がんが、リンパ腫、白血病、又は骨髓腫である、請求項 45 に記載の方法。

【請求項 47】

治療を必要とする対象の自己免疫疾患を治療する方法であって、治療有効量の請求項 1 に記載の組換えタンパク質を対象に投与し、それにより、前記対象の自己免疫疾患を治療することを含む方法。 20

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2018 年 12 月 19 日に出願された米国仮特許出願第 62 / 782, 317 号の権益を主張し、参照によりその全体が全ての目的のために本明細書に組み込まれる。

【0002】

AN ASCII ファイルとして提出される「配列表」、表、又はコンピュータプログラムリスト付属書類 30

2019 年 12 月 12 日に作成された 45, 056 バイト、マシンフォーマット IBM-PC、MS Windows オペレーティングシステムのファイル 048440-715001WO__SEQUENCE__LISTING__ST25 に記載された配列表が、参照により本明細書に組み込まれる。

【0003】

抗体療法は、血液悪性腫瘍を治療するために臨床で利用することができる最も成功した免疫療法の一つである。典型的なケースは、CD20 を標的とし、B 細胞リンパ腫に対する細胞毒性効果を引き出すリツキシマブである。ただし、リツキシマブに関する主な懸念事項は、CD20 のダウンレギュレーションが原因であると考えられるリツキシマブ耐性の出現であり、抗体が標的細胞に結合するのを妨げることである。したがって、当技術分野では、悪性細胞上の別の特定の標的に対する新しい治療用抗体が求められている。本明細書において提供されるのは、当技術分野におけるこれらの問題や他の問題に対処する、BAFF-R 二重特異性抗体の組成物及びそれを使用する方法である。 40

【発明の概要】

【0004】

一態様においては、(i) エフェクター細胞リガンドに結合することができる第 1 の抗体領域と、(ii) (a) 軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含む第 2 の抗体領域とを含む組換えタンパク質が提供される。軽鎖可変ドメインは、配列番号 1 に記載される CDR L1、配列番号 2 に記載される CDR L2、及び配列番号 3 に記載される CDR L3 を含む。重鎖可変ドメインは、配列番号 4 に記載される CDR H1、配列番号 5 に 50

記載される C D R H 2、及び配列番号 6 に記載される C D R H 3 を含む。

【0005】

一態様においては、(i) エフェクター細胞リガンドに結合することができる第 1 の抗体領域と、(ii) (a) 軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含む第 2 の抗体領域とを含む組換えタンパク質が提供される。軽鎖可変ドメインは、配列番号 38 に記載される C D R L 1、配列番号 39 に記載される C D R L 2、及び配列番号 40 に記載される C D R L 3 を含む。重鎖可変ドメインは、配列番号 41 に記載される C D R H 1、配列番号 42 に記載される C D R H 2、及び配列番号 43 に記載される C D R H 3 を含む。

【0006】

一態様においては、その実施形態を含む本明細書で提供される治療有効量の組換えタンパク質及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物が提供される。

【0007】

一態様においては、それを必要とする対象のがんを治療する方法であって、その実施形態を含む本明細書に記載される治療有効量の組換えタンパク質を対象に投与し、それによってその対象のがんを治療することを含む方法が提供される。

【0008】

別の態様においては、それを必要とする対象の自己免疫疾患を治療する方法であって、その実施形態を含む本明細書に記載される治療有効量の組換えタンパク質を対象に投与し、それによってその対象の自己免疫疾患を治療することを含む方法が提供される。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図 1 A】ノブホール技術による B A F F - R 二重特異性抗体 (B A F F - R B i T E、その実施形態を含む本明細書が提示する組換えタンパク質) の生成。B A F F - R B i T E の模式図を示す。

【図 1 B】ノブホール技術による B A F F - R 二重特異性抗体 (B A F F - R B i T E、その実施形態を含む本明細書が提示する組換えタンパク質) の生成。B A F F - R B i T E (H 9 0 B i) の還元及び非還元ゲル条件を示す。コントロールには、コントロール／無関係の B i T E (C o n t . B i、4 - 4 B i) 及びヒト化 B A F F - R 抗体 (例えば、H 9 0 A b は、本明細書では「ヒト化 C 9 0」とも呼ばれ、フレームワーク配列によっては「ヒト化 C 9 0 - 1」、「ヒト化 C 9 0 - 2」、「ヒト化 C 9 0 - 3」、「C 9 0」、「C 9 0 - 1」、「C 9 0 - 2」、又は「C 9 0 - 3」とも呼ばれる) が含まれる。

【図 2】二重特異性抗体の結合特異性。B A F F - R / C D 3 二重特異性抗体 (H 9 0 B i T E) 結合野生型マウス線維芽細胞 L 細胞、改変された B A F F - R 発現 L 細胞 (B 2 D L 細胞)、及び健康なドナーから単離された T 細胞の F A C S ヒストグラム。

【図 3】B A F F - R 発現 L 細胞に対する二重特異性抗体の比細胞毒性。プロットは、クロム放出アッセイから計算された比細胞毒性パーセンテージを示している。B A F F - R / C D 3 二重特異性抗体 (H 9 0 B i T E) を、単一の健康なドナーから単離されたエフェクター C D 8 T 細胞とともに、クロム標識ターゲット野生型 (左) 又は B A F F - R 発現 L 細胞 (右) とインキュベートした。エフェクター細胞と単離された C D 8 T 細胞の比は 10 : 1 であった。インキュベーション時間は 4 時間であった。

【図 4】悪性 B 細胞株に対する二重特異性抗体の細胞毒性。プロットは、示されているように、さまざまな悪性 B 細胞株に対するクロム放出アッセイから計算された比細胞毒性パーセンテージを示す。エフェクター細胞と単離された C D 8 T 細胞の比は 10 : 1 であった。インキュベーション時間は 4 時間であった。

【図 5】二重特異性抗体の用量依存性細胞毒性。プロットは、J e K o - 1 マントル細胞リンパ腫及び単離された正常な B 細胞に対するクロム放出アッセイから計算された比細胞毒性パーセンテージを示す。エフェクター細胞と単離された C D 8 T 細胞の比は 10 : 1 であった。インキュベーション時間は 4 時間であった。

10

20

30

40

50

【図6】インビボ試験のスケジュール。NSGマウスに腫瘍をチャレンジし、BAFF-R BiTEで治療するための治療スケジュールのタイムライン。模式図は、Z-138 MCL 腫瘍モデルの治療スケジュールを、水平線上に示される投与時点とともに示す。生物発光イメージングを毎週実行し、マウスを腫瘍チャレンジ後90日まで観察した。

【図7】BAFF-R BiTEを治療したZ-138モデル。Z-138 MCLによる0日目の静脈内（IV）腫瘍チャレンジ（ 5×10^4 細胞／マウス）後のNSGマウス群（ $n = 5$ ／群）の生物発光画像。実験グループ（BAFF-R BiTE 300 μ g）には、300 μ g BAFF-R BiTE + 5×10^6 T細胞を投与した。コントロール群には、同じドナー又は生理食塩水（PBS）から 5×10^6 個のT細胞を投与した。

【図8A】BAFF-R BiTE抗体染色のFACSプロットは、BAFF-R陽性L細胞（B2D）（図8B）又はドナーT細胞（図8C）と比較した、親L細胞（図8A）への結合を示す。

【図8B】BAFF-R BiTE抗体染色のFACSプロットは、BAFF-R陽性L細胞（B2D）（図8B）又はドナーT細胞（図8C）と比較した、親L細胞（図8A）への結合を示す。

【図8C】BAFF-R BiTE抗体染色のFACSプロットは、BAFF-R陽性L細胞（B2D）（図8B）又はドナーT細胞（図8C）と比較した、親L細胞（図8A）への結合を示す。図8A～図8Cにおいて、染色は、L細胞のコントロールとして二次抗体とBAFF-Rヒト化抗体を含み、T細胞のコントロールとして二次抗体とCD3抗体の組み合わせを含む。

【発明を実施するための形態】

【0010】

I. 定義

本発明の様々な実施形態及び態様が本明細書に示され説明されているが、かかる実施形態及び態様が例としてのみ提供されていることは当業者には明らかであろう。当業者は、本発明から逸脱することなく、多くの変形、変更、及び置換に想到するであろう。本明細書に記載される実施形態の様々な代替案が本発明の実施において採用され得ることが理解されるべきである。

【0011】

本書で使用されている項目の見出しは、構成上の目的のためのためであり、記載されている主題を限定するものとして解釈されるべきではない。本出願で引用されたすべての文書又は文書の一部（特許、特許出願、論説、書籍、マニュアル、論文を含むがこれらに限定されない）は、その全体が任意の目的のために参照によって明示的に組み込まれる。

【0012】

「核酸」とは、ヌクレオチド（例えば、デオキシリボヌクレオチド、又はリボヌクレオチド）及びその一本鎖、二本鎖、若しくは多本鎖のいずれかの形態のポリマー、又はそれらの相補体、あるいはヌクレオシド（例えば、デオキシリボヌクレオシド、又はリボヌクレオシド）を指す。いくつかの実施形態では、「核酸」はヌクレオシドを含まない。「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「オリゴ」などの用語は、通常の慣習的な意味で、ヌクレオチドの直鎖状配列を指す。「ヌクレオシド」という用語は、通常の慣習的な意味で、核酸塩基及び五炭糖（リボース又はデオキシリボース）を含むグリコシルアミンを指す。ヌクレオシドの非限定的な例としては、シチジン、ウリジン、アデノシン、グアノシン、チミジン及びイノシンが挙げられる。「ヌクレオチド」という用語は、通常の慣習的な意味で、ポリヌクレオチドの一単位、すなわちモノマーを指す。ヌクレオチドは、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、又はそれらの修飾型であり得る。本明細書で企図されるポリヌクレオチドの例としては、一本鎖及び二本鎖DNA、一本鎖及び二本鎖RNA、並びに一本鎖及び二本鎖のDNA及びRNAの混合物を有するハイブリッド分子が挙げられる。本明細書で企図される核酸、例えば、ポリヌクレオチドの例としては、あらゆるタイプのRNA、例えば、mRNA、siRNA、miRNA、及びガイド

10

20

30

40

50

RNA、並びにあらゆるタイプのDNA、ゲノムDNA、プラスミドDNA、及びミニサークルDNA、並びにそれらのあらゆる断片が挙げられる。ポリヌクレオチドの文脈において「二本鎖」という用語は、通常の慣習的な意味で、二重らせん性を指す。核酸は、直鎖又は分岐鎖であり得る。例えば、核酸は、ヌクレオチドの直鎖であり得、あるいは、例えば、ヌクレオチドの1つ以上の腕若しくは分岐を含むような分岐鎖であり得る。任意で、分岐核酸は、繰り返し分岐して、デンドリマーなどの高次構造を形成する。

【0013】

この用語はまた、既知のヌクレオチド類似体、又は修飾された骨格残基若しくは骨格結合を含む核酸を包含し、これらは、合成物、天然に存在する物、及び天然に存在しない物であり、関連する核酸と同様の結合特性を有し、関連するヌクレオチドと同様の方法で代謝される。かかる類似体の例としては、例えば、ホスホルアミデート、ホスホロジアミデート、ホスホロチオエート（リン酸中の酸素を二重結合硫黄で置換するホスホチオエートとしても知られる）、ホスホロジチオエート、ホスホノカルボン酸、ホスホノカルボキシレート、ホスホノ酢酸、ホスホノギ酸、メチルホスホネート、ボロンホスホネート、又はO-メチルホスホロアミダイト結合（Eckstein, *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, Oxford University Pressを参照されたい）、並びに5-メチルシチジン又はプソイドウリジンなどのヌクレオチド塩基に対する修飾及びペプチド核酸骨格及び結合を含む、ホスホジエステル誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。他の類似体核酸としては、陽性骨格、非イオン性骨格、修飾糖、及び非リボース骨格（例えば、当該技術分野において公知のホスホロジアミデートモルホリノオリゴ又はロックド核酸（LNA））を有するものが挙げられ、米国特許第5,235,033号明細書及び同第5,034,506号明細書、並びに、ASC Symposium Series 580、Carbohydrate Modifications in Antisense Research、Sanghui & Cook, eds. の第6章及び第7章に記載されているものが挙げられる。1つ以上の炭素環式糖を含有する核酸もまた、核酸の1つの定義のなかに含まれる。リボース-ホスフェート骨格の修飾は、様々な理由のために（例えば、かかる分子の生理学的環境における安定性及び半減期を増加させるために、又はバイオチップ上のプローブとして）行うことができる。天然に存在する核酸と類似体の混合物を作製することができ、あるいは、異なる核酸類似体の混合物、及び天然に存在する核酸と類似体の混合物を作製することができる。いくつかの実施形態では、DNA中のヌクレオチド間結合は、ホスホジエステル、ホスホジエステル誘導体、又は両者の組み合わせである。

【0014】

「アミノ酸」という用語は、天然に存在するアミノ酸及び合成アミノ酸、並びに天然に存在するアミノ酸と同様に機能するアミノ酸類似体及びアミノ酸模倣体を指す。天然に存在するアミノ酸は、遺伝コードによってコード化されたもの、並びに、後に修飾されるアミノ酸（例えば、ヒドロキシプロリン、 γ -カルボキシグルタメート、及びO-ホスホセリン）である。アミノ酸類似体とは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本化学構造、つまり、水素、カルボキシル基、アミノ基、及びR基に結合している α 炭素を有する化合物を指し、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウムである。かかる類似体は、修飾されたR基（例えば、ノルロイシン）又は修飾されたペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的な化学構造を保持している。アミノ酸模倣物とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様に機能する化合物を指す。「天然に存在しないアミノ酸」及び「非天然アミノ酸」という用語は、天然には見られないアミノ酸類似体、合成アミノ酸、及びアミノ酸模倣物を指す。

【0015】

アミノ酸は、本明細書では、それらの一般的に既知である3文字記号又はIUPAC-IUB生化学命名委員会によって推奨される1文字記号のいずれかによって参照される場合

10

20

30

40

50

がある。同様に、ヌクレオチドは、それらの一般的に認められている一文字コードによって参照され得る。

【0016】

「保存的に修飾されたバリエーション」は、アミノ酸及び核酸配列の両方に適用される。特定の核酸配列に関して、「保存的に修飾されたバリエーション」は、同一又は本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸を指す。遺伝コードの縮重のため、多くの核酸配列が任意の所与のタンパク質をコードする。例えば、コドン G C A、G C C、G C G 及び G C U はすべて、アミノ酸アラニンをコードする。したがって、アラニンがコドンによって指定されるすべての位置で、コドンは、コードされたポリペプチドを変更することなく、記載された対応するコドンのいずれかに変更され得る。かかる核酸バリエーションは、保存的に修飾されたバリエーションの一種である「サイレントバリエーション」である。ポリペプチドをコードする本明細書中のすべての核酸配列はまた、核酸のすべての可能なサイレントバリエーションを表す。当業者は、核酸中の各コドン（通常はメチオニンの唯一のコドンである A U G、及び通常はトリプトファンの唯一のコドンである T G G を除く）が修飾されて、機能的に同一の分子を生じ得ることを理解するであろう。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレントバリエーションは、記載された各配列の中に暗に示されている。

10

【0017】

アミノ酸配列に関して、当業者は、コードされる配列中の単一のアミノ酸又はごく一部のアミノ酸を変更し、付加し、又は欠失する、核酸、ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質配列に対する個々の置換、欠失、又は付加が、「保存的に修飾されたバリエーション」であり、その変更によって、化学的に類似したアミノ酸との置換を生じることが理解するであろう。機能的に同様のアミノ酸を提供する保存的置換表は、当該技術分野で周知である。かかる保存的に修飾されたバリエーションは、本発明の多型バリエーション、種間ホモログ、及び対立遺伝子に加えられ、それらを除外しない。

20

【0018】

次の8つのグループはそれぞれ、互いに保存的に置換されたアミノ酸を含む。

- 1) アラニン (A)、グリシン (G)
- 2) アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)
- 3) アスパラギン (N)、グルタミン (Q)
- 4) アルギニン (R)、リジン (K)
- 5) イソロイシン (I)、ロイシン (L)、メチオニン (M)、バリン (V)
- 6) フェニルアラニン (F)、チロシン (Y)、トリプトファン (W)
- 7) セリン (S)、スレオニン (T)
- 8) システイン (C)、メチオニン (M)

30

(例えば、C r e i g h t o n、P r o t e i n s (1984)) を参照のこと)

【0019】

「配列同一性パーセンテージ」は、比較ウィンドウで2つの最適にアラインメントされた配列を比較することによって決定され、比較ウィンドウにおけるポリヌクレオチド又はポリペプチド配列の部分は、2つの配列の最適アラインメントのための参照配列（これは付加又は欠失を含まない）と比較して、付加又は欠失（すなわちギャップ）を含み得る。このパーセンテージは、同一の核酸塩基又はアミノ酸残基が両方の配列に存在する位置の数を決定して、マッチした位置の数を生成し、そのマッチした位置の数を比較のウィンドウにおける位置の総数で割り、その結果に100を掛けて配列同一性のパーセンテージを生成することによって計算する。

40

【0020】

2つ以上の核酸又はポリペプチド配列の文脈において、「同一の」又はパーセントの「同一性」という用語は、比較ウィンドウで最大限の一致を求めて比較及びアライメントを行った場合、又は、以下の配列比較アルゴリズムのうちの1つを用いた評価若しくは手動によるアライメントと目視検査による評価に従って領域を指定した場合に、同一であるか又

50

は特定のパーセンテージで同一のアミノ酸残基若しくはヌクレオチドを有する（すなわち、例えば、本発明のポリペプチド配列全体又は本発明のポリペプチドの個々のドメインの特定の領域にわたって、60%の同一性を有し、任意で、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、又は99%の同一性を有する）2以上の配列又は部分配列が同一であることを指す。ここで、かかる配列は、「実質的に同一」と言われる。この定義はまた、試験配列の相補体を指す。任意で、同一性は、長さが少なくとも約50ヌクレオチドの領域にわたって存在し、また、より好ましくは長さが100～500又は1000以上のヌクレオチドの領域にわたって存在する。本発明は、配列番号7～12又は配列番号44～49のいずれかと実質的に同一なポリペプチドを含む。

【0021】

配列を比較する場合、典型的には、1つの配列が参照配列として機能し、それに対して試験配列が比較される。配列比較アルゴリズムを用いる場合、試験配列及び参照配列がコンピューターに入力され、必要に応じて部分配列座標が指定され、配列アルゴリズムプログラムのパラメーターが指定される。デフォルトのプログラムパラメーターを使用することができ、又は代替的なパラメーターを指定することができる。次いで、配列比較アルゴリズムは、プログラムパラメーターに基づいて、参照配列と比較した試験配列の配列同一性パーセントを計算する。

【0022】

本明細書で使用される「比較ウィンドウ」は、例えば、全長配列、若しくは20から600、約50から約200、若しくは約100から約150のアミノ酸又はヌクレオチドからなる群から選択された連続する位置の数のうちのいずれか1つのセグメントへの参照を含み、当該比較ウィンドウにおいては、配列と同じ数の連続する位置の参照配列とが、2つの配列を最適にアライメントした後に比較され得る。比較のための配列アライメント方法は、当該技術分野で周知である。比較のための配列の最適なアラインメントは、例えば、Smith and Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2: 482cの局地的相同性アルゴリズム、Needleman and Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48: 443の相同性アラインメントアルゴリズム、Pearson and Lipman (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85: 2444の類似性の検索による方法、これらのアルゴリズムのコンピューター処理 (Wisconsin Genetics Software Package、Genetics Computer Group、575 Science Dr.、Madison、WIのGAP、BESTFIT、FASTA、及びTFASTA) によって行うことができ、又は、手動によるアライメント及び目視検査（例えば、Ausubelら、Current Protocols in Molecular Biology (1995 supplement) を参照のこと）によって行うことができる。

【0023】

配列同一性パーセント及び配列類似性を決定するのに好適なアルゴリズムの例は、BLAST及びBLAST2.0アルゴリズムであり、これらは、Altschulら (1997) Nuc. Acids Res. 25: 3389-3402、及びAltschulら (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410にそれぞれ記載されている。BLAST分析を行うためのソフトウェアは、アメリカ国立生物工学情報センター (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) により一般的に入手可能である。このアルゴリズムは、データベース配列中の同じ長さのワードとアライメントした場合に、ある正の値の閾値スコアTとマッチするかこれを満たす問い合わせ配列中の長さWの短いワードを同定することによって、高スコア配列ペア (HSP) を最初に同定することを含む。Tは、近傍ワードスコア閾値 (neighborhood word score threshold) と称される (上記のAltschulら)。これらの最初の近傍ワードヒットは、それらを含むより長いHSPを見出すための検索を開始するためのシードとして機能する。ワードヒットは、累積的アライメントスコアが増加し得る限り

10

20

30

40

50

、各配列に沿って、両方向に伸長される。累積スコアは、ヌクレオチド配列については、パラメーターM（一对のマッチ残基に対するリワードスコア（reward score）、常に >0 ）及びN（ミスマッチ残基に対するペナルティスコア、常に <0 ）を使用して計算される。アミノ酸配列については、累積スコアを計算するために、スコアリングマトリックスが使用される。累積アライメントスコアが最高到達値から数量Xだけ低下した場合、1つ以上の負のスコアを有する残基アライメントの累積に起因して、累積スコアが0以下になった場合、又はいずれかの配列の末端に達した場合に、各方向におけるワードヒットの伸長を停止する。BLASTアルゴリズムパラメータのW、T、及びXは、アライメントの感度及び速度を決定する。BLASTNプログラム（ヌクレオチド配列用）は、デフォルトとして、ワード長（W）11、期待値（E）又は10、M=5、N=-4、及び両鎖の比較を用いる。アミノ酸配列については、BLASTPプログラムは、ワード長3及び期待値（E）10、及びBLOSUM62スコア行列（Henikoff and Henikoff（1989）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915を参照のこと）アライメント（B）50、期待値（E）10、M=5、N=-4、及び両鎖の比較をデフォルトとして用いる。

10

【0024】

BLASTアルゴリズムはまた、2つの配列間の類似性の統計解析も行う（例えば、Karlin and Altschul（1993）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787を参照のこと）。BLASTアルゴリズムによって提供される類似性の1つの尺度は、最小合計確率（smallest sum probability（P（N））であり、これは、2つのヌクレオチド配列間又はアミノ酸配列間でのマッチが偶然起き得る確率の指標を提供する。例えば、試験核酸と参照核酸との比較において最小合計確率が、約0.2未満、より好ましくは、約0.01未満、最も好ましくは、約0.001未満である場合、核酸は、参照配列に類似していると考えられる。

20

【0025】

2つの核酸配列又はポリペプチドが実質的に同一であるという指標は、以下で説明するように、第1の核酸によりコードされるポリペプチドが、第2の核酸によりコードされるポリペプチドに対する抗体と免疫学的に交差応答することである。したがって、ポリペプチドは、典型的には、例えば、2つのペプチドが保存的置換によってのみ異なる場合には第2のポリペプチドと実質的に同一である。2つの核酸配列が実質的に同一であることの別の指標は、以下に記載するように、2つの分子又はそれらの相補体がストリンジェントな条件下で互いにハイブリダイズすることである。2つの核酸配列が実質的に同一であるというさらに別の指標は、同じプライマーを使用して配列を増幅し得ることである。

30

【0026】

抗体内のアミノ酸残基は、抗体内で特定の残基と同じ必須構造位置を占める場合、その特定の残基に「対応」する。例えば、比較抗体の選択された残基は、その選択された残基が、当該技術分野において適用可能な方法を用いて評価されたKabattの48位と同じ本質的な空間的又は構造的関係を占める場合、本明細書で提供される抗体の48位（本明細書に記載されるKabatt番号付けシステムによる）に対応する。例えば、比較抗体は、本明細書が提示する抗体と最大の配列相同性を目指してアライメントすることができ、Kabattの48位で一致するアライメントされた比較抗体の位置を、それに対応するものとして決定することができる。別法として、上記の一次配列アラインメントの代わりに（又はそれに加えて）、三次元構造アラインメントを用いることもでき、例えば、比較抗体の構造が本明細書で提供される抗体との最大の一致を目指してアライメントされ、全体の構造が比較される。この場合、構造モデルにおいてKabattの48位と同じ必須位置を占めるアミノ酸が対応していると言える。

40

【0027】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために本明細書中では同じ意味で使用され、当該ポリマーは、任意で、アミ

50

ノ酸から構成されない部分に結合され得る。この用語は、1つ以上のアミノ酸残基が対応する天然に存在するアミノ酸の人工化学模倣物であるアミノ酸ポリマー、並びに、天然に存在するアミノ酸ポリマー及び天然に存在しないアミノ酸ポリマーに対して適用される。

「融合タンパク質」は、単一の部分として組換えにより発現される2つ以上の別々のタンパク質配列をコードするキメラタンパク質を指す。「組換えタンパク質」は、組換えDNAの発現から生じ得るタンパク質を指す。

【0028】

「ペプチジル」及び「ペプチジル部分」という用語は、一価のペプチドを意味する。

【0029】

抗体は、複雑な内部構造を持つ大きくて複雑な分子（分子量約150,000Da、又は約1320アミノ酸）である。天然の抗体分子は、2つの同一のポリペプチド鎖のペアを含み、各ペアは1本の軽鎖と1本の重鎖を持っている。軽鎖と重鎖は、それぞれ、標的抗原の結合に関与する可変（「V」）領域と、免疫系の他の構成要素と相互作用する定常（「C」）領域という2つの領域で構成される。軽鎖及び重鎖の可変領域は、3次元空間で一体となって、抗原（例えば、細胞の表面上の受容体）に結合する可変領域を形成する。軽鎖又は重鎖の各可変領域内には、相補性決定領域（「CDR」）と呼ばれる3つの短いセグメント（平均10アミノ酸の長さ）がある。抗体可変ドメインの6つのCDR（軽鎖から3つ、重鎖から3つ）が3次元空間で一緒に折りたたまれて、実際の抗体結合部位（パラトープ）を形成し、標的抗原（エピトープ）にドッキングする。CDRの位置と長さは、Kabata、E.ら、Sequences of Proteins of Immunological Interest、米国保健社会福祉省、1983、1987によって正確に定義されている。CDRに含まれない可変領域の部分はフレームワーク（「FR」）と呼ばれ、CDRの周囲を形成する。

【0030】

本明細書で提供される「抗体変異体」は、抗原に結合することができ、抗体又はその断片の1以上の構造ドメイン（例えば、軽鎖可変ドメイン、重鎖可変ドメイン）を含むポリペプチドを指す。抗体バリエーションの非限定的な例としては、単ドメイン抗体又はナノボディ、単一特異性Fab₂、二重特異性Fab₂、三重特異性Fab₃、一価IgG、scFv、二重特異性ダイアボディ、三重特異性トリアボディ、scFv-Fc、ミニボディ、IgNAR、V-NAR、hcIgG、VhH、又はペプチボディが挙げられる。本明細書で提供される「ペプチボディ」は、抗体のFcドメインに（共有結合又は非共有結合リンカーを介して）付着したペプチド部分を指す。当技術分野で知られている抗体バリエーションのさらなる非限定的な例としては、軟骨魚類又はラクダ類によって産生される抗体が挙げられる。ラクダ類からの抗体及びその可変領域、並びにそれらの産生、単離、及び使用の方法の一般的な説明は、参考文献国際公開第97/49805号及び国際公開第97/49805号に見出すことができ、参照によりその全体がすべての目的で本明細書に組み込まれる。同様に、軟骨魚類からの抗体及びその可変領域、並びにそれらの産生、単離、及び使用の方法は、国際公開第2005/118629号に見出すことができ、参照によりその全体がすべての目的で本明細書に組み込まれる。

【0031】

本明細書で提供される「二重特異性T細胞エンゲージャー（BiTE）」、「BiTe」又は「二重特異性抗体」という用語は、当技術分野で周知の従来の意味に従って使用され、2つの異なる抗原に、たとえば、同時に、結合することができる二重特異性組換えタンパク質を指す。従来のモノクローナル抗体とは対照的に、BiTE抗体は2つの独立した抗体領域（例えば、2つの単鎖可変フラグメント（scFv））からなり、それぞれが異なる抗原に結合する。一つの抗体領域は、エフェクター細胞特異的抗原（例えば、CD3分子）に結合することによってエフェクター細胞（例えば、T細胞）に会合し、もう一つの抗体領域は、上記標的細胞によって発現される細胞表面抗原（例えば、BAFF-R）を介して標的細胞（例えば、がん細胞又は自己免疫反応性細胞）に結合する。BiTEが2つの抗原へ結合することで、エフェクター細胞（例えば、T細胞）が標的細胞（例え

10

20

30

40

50

ば、腫瘍細胞）に結び付き、エフェクター細胞特異的抗原シグナル伝達（例えば、CD3シグナル伝達）を介して、エフェクター細胞（例えば、T細胞）が活性化する。活性化されたエフェクター細胞（例えば、T細胞）は、標的細胞（例えば、腫瘍細胞）に対して細胞毒性活性を発揮する。

【0032】

本明細書で提供される「CDR L1」、「CDR L2」及び「CDR L3」という用語は、抗体の可変軽鎖（L）の相補性決定領域（CDR）1、2、及び3を指す。いくつかの実施形態では、本明細書が提示する可変軽鎖は、N末端からC末端方向に、CDR L1、CDR L2及びCDR L3を含む。同様に、本明細書で提供される「CDR H1」、「CDR H2」及び「CDR H3」という用語は、抗体の可変重鎖（H）の相補性決定領域（CDR）1、2、及び3を指す。いくつかの実施形態では、本明細書が提示する可変重鎖は、N末端からC末端の方向に、CDR H1、CDR H2及びCDR H3を含む。

10

【0033】

本明細書で提供される用語「FR L1」、「FR L2」、「FR L3」及び「FR L4」は、当技術分野におけるそれらの一般的な意味に従って使用され、抗体の可変軽鎖（L）のフレームワーク領域（FR）1、2、3及び4を指す。いくつかの実施形態では、本明細書が提示する可変軽鎖は、N末端からC末端の方向にFR L1、FR L2、FR L3及びFR L4を含む。同様に、本明細書で提供される「FR H1」、「FR H2」、「FR H3」及び「FR H4」という用語は、当技術分野におけるそれらの一般的な意味に従って使用され、抗体の可変重鎖（H）のフレームワーク領域（FR）1、2、3及び4を指す。いくつかの実施形態では、本明細書が提示する可変重鎖は、N末端からC末端の方向に、FR H1、FR H2、FR H3及びFR H4を含む。

20

【0034】

「抗体」という用語は、当技術分野で一般的に知られている意味に従って使用される。抗体は、例えば、インタクトな免疫グロブリンとして、又はさまざまなペプチダーゼによる消化によって産生された多くのよく特徴付けられたフラグメントとして存在する。したがって、例えば、ペプシンは、ヒンジ領域のジスルフィド結合の下の抗体を消化して、それ自体がジスルフィド結合によってVH-CH1に結合した軽鎖であるFabの二量体、F(a b) '2を産生する。F(a b) '2は、穏やかな条件下で還元されてヒンジ領域のジスルフィド結合を破壊し、それによってF(a b) '2二量体をFab'モノマーに変換することができる。Fab'モノマーは本質的にヒンジ領域の一部を有するFab'である（Fundamental Immunology（Paul ed.、3rd ed.、1993）を参照のこと）。インタクトな抗体の消化に関して様々な抗体フラグメントが定義されているが、当業者は、かかるフラグメントが化学的に又は組換えDNA方法論を使用してデノボ合成できることを理解するであろう。したがって、本明細書で使用される抗体という用語は、また、全抗体の修飾によって産生される抗体断片、若しくは、組換えDNA方法論（例えば、一本鎖Fv）を用いてデノボ合成されたもの、又は、ファージディスプレイライブラリを用いて同定されたもの（例えば、McCaffertyら、Nature 348: 552-554（1990）を参照のこと）を含む。

30

40

【0035】

例示的な免疫グロブリン（抗体）構造単位は、四量体を含む。各四量体は、2つの同一のポリペプチド鎖の対からなり、各対は、1本の「軽」鎖（約25 kD）及び1本の「重」鎖（約50～70 kD）を有する。各鎖のN末端は、抗原認識に主に関与する約100～110以上のアミノ酸の可変領域を規定している。可変軽鎖（VL）又は軽鎖可変領域、及び、可変重鎖（VH）又は重鎖可変領域という用語は、それぞれ、これらの軽鎖領域及び重鎖領域を指す。本明細書で言及される可変軽鎖（VL）及び軽鎖可変領域という用語は、同じ意味で使用される場合がある。本明細書で言及される可変重鎖（VH）及び重鎖可変領域という用語は、同じ意味で使用される場合がある。Fc（すなわち、フラグメント結晶化可能領域）は、免疫グロブリンの「ベース」又は「尾」であり、通常、抗体のク

50

ラスに応じて、2つ又は3つの定常ドメインに寄与する2つの重鎖で構成される。Fc領域は、特定のタンパク質に結合することにより、各抗体が特定の抗原に対して適切な免疫応答を引き起こすことを保証する。Fc領域は、また、Fc受容体などのさまざまな細胞受容体、及び補体タンパク質などの他の免疫分子に結合する。

【0036】

単鎖可変フラグメント (scFv) は、通常、免疫グロブリンの重鎖 (VH) 及び軽鎖 (VL) の可変領域の融合タンパク質であり、10から約25アミノ酸の短いリンカーペプチドで接続されている。リンカーは通常、柔軟性のためにグリシンを多く含み得、溶解性のためにセリン又はスレオニンを多く含み得る。リンカーは、VHのN末端をVLのC末端に接続することができ、又はその逆も可能である。

10

【0037】

本明細書で提供される「抗原」という用語は、本明細書で提供される抗体結合ドメインに結合することができる分子を指す。本明細書で提供される「抗原結合ドメイン」は、抗原 (エピトープ) に結合する抗体の領域である。上記のように、抗原結合ドメインは、一般に、重鎖及び軽鎖のそれぞれの1つの定常ドメイン及び1つの可変ドメイン (それぞれ、CH、CL、VH、及びVL) から構成される。パラトープ又は抗原結合部位は、抗原結合ドメインのN末端に形成される。抗原結合ドメインの2つの可変ドメインは、通常、抗原上のエピトープに結合する。

【0038】

モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体の製造のために、当技術分野で公知の任意の技術を用いることができる (例えば、Kohler & Milstein, Nature 256: 495-497 (1975); Kozborら, Immunology Today 4: 72 (1983); Coleら, pp. 77-96 in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy (1985) を参照されたい)。「モノクローナル」抗体 (mAb) は、単クローンに由来する抗体を指す。単鎖抗体の産生技術 (米国特許第4,946,778号) は、本発明のポリペプチドに対する抗体を産生するために適合させることができる。また、トランスジェニックマウス、又は他の哺乳動物などの他の生物を使用して、ヒト化抗体を発現させてもよい。別法として、ファージディスプレイ技術を使用して、選択された抗原に特異的に結合する抗体及びヘテロマーFabフラグメントを同定することができる (例えば、McCaffertyら, Nature 348: 552-554 (1990); Marksら, Biotechnology 10: 779-783 (1992) を参照されたい)。

20

30

【0039】

mAbのエピトープは、その抗原のmAbが結合する領域である。2つの抗体は、それぞれが他方の抗原への結合を競合的に阻害 (ブロック) する場合、同じ又は重複するエピトープに結合する。つまり、1倍、5倍、10倍、20倍、又は100倍の過剰な一方の抗体は、競合結合アッセイで測定したときに、他方の抗体の結合を、少なくとも30%、好ましくは50%、75%、90%、又はさらに99%阻害する (例えば、Jung Hanら, Cancer Res. 50: 1495, 1990を参照されたい)。あるいは、一方の抗体の結合を低減又は排除する抗原中の本質的にすべてのアミノ酸変異が他方の抗体の結合を低減又は排除する場合、2つの抗体は同じエピトープを有する。一方の抗体の結合を減少又は排除するいくつかのアミノ酸変異が他方の抗体の結合を減少又は排除する場合、2つの抗体は重複するエピトープを持っている。

40

【0040】

本明細書で提供される「抗体領域」は、その実施形態を含む本明細書で提供されるタンパク質の一部を形成し、抗原 (エピトープ) に結合することができる一価又は多価タンパク質部分を指す。本明細書が提示する抗体領域は、抗体又はその断片 (例えば、Fab) のドメインを含み得る。このように、抗体領域は、軽鎖可変ドメイン (VL) 及び／又は重鎖可変ドメイン (VH) を含み得る。いくつかの実施形態では、本明細書が提示する抗体領域は、軽鎖可変 (VL) ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗体領域は、軽鎖

50

可変（V L）ドメインである。

【0041】

上記のように、本明細書で提供される「軽鎖可変（V L）ドメイン」は、抗体、抗体変異体又はその断片の軽鎖の可変領域を指す。同様に、本明細書で提供される「重鎖可変（V H）ドメイン」は、抗体、抗体変異体又はその断片の重鎖の可変領域を指す。軽鎖可変ドメインと重鎖可変ドメインは一緒になってパラトープを形成し、これが抗原（エピトープ）に結合する。パラトープ又は抗原結合部位は、抗体、抗体変異体又はその断片のN末端に形成される。いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメインは、抗体軽鎖のCDR L 1、CDR L 2、CDR L 3並びにFR L 1、FR L 2、FR L 3及びFR L 4（フレームワーク領域）を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメインは、抗体重鎖のCDR H 1、CDR H 2、CDR H 3並びにFR H 1、FR H 2、FR H 3及びFR H 4（フレームワーク領域）を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメイン及び軽鎖定常（C L）ドメインは、抗体軽鎖の一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメイン及び重鎖定常（C H 1）ドメインは、抗体重鎖の一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメイン及び1つ以上の重鎖定常（C H 1、C H 2、又はC H 3）ドメインは、抗体重鎖の一部を形成する。このように、いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメインは抗体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメインは抗体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメインは、治療用抗体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメインは、治療用抗体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメインは、ヒト抗体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメインは、ヒト抗体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメインは、ヒト化抗体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメインは、ヒト化抗体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメインは、キメラ抗体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメインは、キメラ抗体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメインは、抗体フラグメントの一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメインは、抗体フラグメントの一部を形成する。いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメインは、抗体変異体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメインは、抗体変異体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメインは、F a bの一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメインは、F a bの一部を形成する。いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメインは、s c F vの一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメインは、s c F vの一部を形成する。いくつかの実施形態では、軽鎖可変（V L）ドメインは、二重特異性抗体の一部を形成する。いくつかの実施形態では、重鎖可変（V H）ドメインは、二重特異性抗体の一部を形成する。

【0042】

タンパク質に適用される場合、「単離された」という用語は、タンパク質が、自然な状態で関連する他の細胞成分を本質的に含まないことを意味する。乾燥溶液でも水溶液でもよいが、均一な状態であることが好ましい。純度と均一性は、通常、ポリアクリルアミドゲル電気泳動や高速液体クロマトグラフィーなどの分析化学技術を使用して決定される。製剤中に主たる種として存在するタンパク質は、実質的に精製されている。「精製された」という用語は、タンパク質が電気泳動ゲル内で本質的に1つのバンドを生じることを意味する。特に、それは、タンパク質が少なくとも純度85%、より好ましくは少なくとも純度95%、最も好ましくは少なくとも純度99%であることを意味する。

【0043】

タンパク質又はペプチドに言及する場合、「特異的に（又は選択的に）結合する」という表現、又は「特異的に（又は選択的に）免疫反応する」という表現は、タンパク質及び他の生物製剤の不均一な集団におけるタンパク質の存在を決定づける結合反応を意味する。

したがって、指定されたイムノアッセイ条件下では、特定の抗体は、バックグラウンドの少なくとも2倍の特定のタンパク質に結合し、サンプル中に存在する他のタンパク質には実質的に有意な量で結合しない。典型的には、特異的又は選択的反応は、バックグラウンド信号又はノイズの少なくとも2倍であり、より典型的には、バックグラウンドの10倍から100倍を超える。

【0044】

「ヒト化抗体」は、一般に、マウス抗体（「ドナー抗体」、これはラット、ハムスター、又は他の非ヒト種でもよい）由来の少なくとも1つのCDR（又はその機能的断片）がヒト抗体（「アクセプター抗体」）に移植された改変抗体である。いくつかの実施形態では、2つ以上のマウスCDRが移植される（例えば、6つのマウスCDRすべてが移植される）。アクセプター抗体の配列は、例えば、成熟ヒト抗体配列（又はその断片）、ヒト抗体配列（又はその断片）のコンセンサス配列、又は生殖細胞系領域配列（又はその断片）であり得る。このように、ヒト化抗体は、ドナー抗体及び可変領域フレームワーク（FR）由来の1つ以上のCDRを有する抗体であり得る。FRは、ヒト抗体内の定常領域及び／又は可変領域の一部を形成し得る。さらに、高い結合親和性を保持するために、ヒトアクセプター配列内のアミノ酸をドナー配列由来の対応するアミノ酸で置き換えてもよく、例えば、（1）アミノ酸がCDRにある場合、又は（2）アミノ酸がヒトフレームワーク領域にある場合（例えば、アミノ酸がCDRの1つにすぐ隣接している場合）である。ヒト化抗体の構築のための詳細な方法を提示する、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第5,530,101号明細書及び同5,585,089号明細書を参照されたい。ヒト化抗体は、多くの場合、マウス抗体から6つすべてのCDR（例えば、Kabattによって定義されたもの、しかし、Chothiaによって定義された超可変ループH1も含むことが多い）をすべて組み込んでいるが、それは、より少ないマウスCDRで作成することもでき、及び／又は、完全なマウスCDR配列でないもの（例えば、CDRの機能的断片）で作成することもできる。（例えば、Pascalisら、J. Immunol. 169:3076、2002；Vajdosら、Journal of Molecular Biology, 320:415-428、2002；Iwahashiら、Mol. Immunol. 36:1079-1091、1999；Tamuraら、Journal of Immunology, 164:1432-1441、2000を参照されたい）。

【0045】

典型的には、本明細書で提供されるヒト化抗体は、（i）マウス抗体由来の少なくとも1つの（多くの場合、3つの）CDR（本明細書ではマウスCDRとも呼ばれる）及びヒト可変領域フレームワークを含む軽鎖可変領域と、（ii）マウス抗体由来の少なくとも1つの（多くの場合、3つの）CDR及びヒト可変領域フレームワーク（FR）を含む重鎖可変領域とを含み得る。軽鎖及び重鎖可変領域フレームワーク（FR）は、それぞれ、成熟ヒト抗体可変領域フレームワーク配列（又はその断片）、生殖細胞系可変領域フレームワーク配列（J領域配列と組み合わせたもの）（又はその断片）、又はヒト抗体可変領域フレームワーク配列（又はその断片）のコンセンサス配列であり得る。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、軽鎖ヒト定常領域及び重鎖ヒト定常領域とともに、（i）に記載の軽鎖可変領域、（ii）に記載の重鎖可変領域を含む。

【0046】

上記の米国特許第5,530,101号明細書及び同5,585,089号明細書の方法と同じ結果を得るために、例えば、「superhumanization」（Tanら、J. Immunol. 169:1119、2002、及び、米国特許第6,881,557号明細書を参照されたい）、又はStudnicakら、Protein Eng. 7:805、1994の方法などのヒト化抗体を設計するための他のアプローチを用いてもよい。さらに、改変された免疫原性の低下したmAbを産生するための他のアプローチとしては、例えば、Vaswamiら、Annals of Allergy, Asthma and Immunology 81:105、1998；Roguskaら、

Protein Eng. 9: 895、1996；及び米国特許第6,072,035号明細書及び同第5,639,641号明細書に記載されているように、「再形成 (reshaping)」、「ハイパーキメラ化 (hyperchimerization)」及び、ベニアリング (veneering) / 再表面化 (resurfacing) が挙げられる。

【0047】

「リガンド」は、受容体分子（例えば抗体）に結合することができる物質、例えばポリペプチド又は他の分子を指す。

【0048】

「接触させること」とは、その平易な通常の意味に従って使用され、少なくとも2つの異なる種（例えば、生体分子又は細胞を含む化学化合物）が反応し、相互作用し、又は物理的に接触するように十分近接することを可能にするプロセスを指す。しかしながら、結果として生じた反応生成物が、添加された試薬間の反応から直接生成され得るか、又は、添加された1種以上の試薬に由来して反応混合物中に生成され得る中間体から生成され得ることを理解するべきである。

【0049】

「接触させること」という用語は、2つの種が、反応し、相互作用し、又は物理的に接触することを可能にすることを含む場合があり、ここでいう2つの種は、本明細書に記載される抗体及びBAFF-Rタンパク質であり得る。いくつかの実施形態において、接触させることは、例えば、本明細書に記載されるヒト化抗体をBAFF-Rと相互作用させること可能にすることを含む。

【0050】

本明細書で使用される「細胞」は、そのゲノムDNAを保存又は複製するのに十分な代謝又は他の機能を果たす細胞を指す。細胞は、例えば、無傷膜の存在、特定の染料による染色、子孫を産生する能力、又は、配偶子の場合には、第2の配偶子と組み合わせる生存能力のある子孫を生み出す能力を含む、当該技術分野で周知の方法によって特定し得る。細胞には、原核細胞及び真核細胞が含まれ得る。原核細胞には、細菌が含まれるが、これに限定されない。真核細胞には、酵母細胞並びに植物及び動物に由来する細胞、例えば、哺乳動物細胞、昆虫細胞（例えば、Spodoptera）、及びヒト細胞が含まれるが、これらに限定されない。

【0051】

本明細書で定義されるように、タンパク質-阻害剤相互作用に関して「阻害剤」、「阻害」、「阻害する」、「阻害する」などの用語は、阻害剤の不在下のタンパク質の活性又は機能と比較して、タンパク質の活性又は機能に悪影響を与える（例えば減少させる）ことを意味する。いくつかの実施形態では、阻害とは、疾患又は疾患の症状（例えば、がん又は自己免疫疾患）の軽減を指す。したがって、阻害は、刺激を、少なくともその一部を、若しくは部分的に、若しくは完全に遮断すること、又は、活性化を、減少させること、阻止すること、若しくは遅延させること、又は、シグナル伝達、若しくは酵素活性、若しくはタンパク質の量を、不活性化すること、脱感作させること、若しくはダウンレギュレーションすること、を含む。同様に、「阻害剤」は、例えば、結合、部分的又は完全なブロック、減少、防止、遅延、不活性化、脱感作、又はダウンレギュレーションによって、活性を阻害する化合物又はタンパク質である。

【0052】

「疾患」又は「症状」という用語は、本明細書で提供される化合物、医薬組成物、又は方法で治療することができる患者若しくは対象の存在状態又は健康状態を指す。いくつかの実施形態では、疾患はがん（例えば、肺がん、卵巣がん、骨肉腫、膀胱がん、子宮頸がん、肝臓がん、腎臓がん、皮膚がん（例えば、メルケル細胞がん）、精巣がん、白血病、リンパ腫、頭頸部がん、結腸直腸がん、前立腺がん、膵臓がん、黒色腫、乳がん、神経芽細胞腫）である。上記疾患は、自己免疫疾患、炎症性疾患、がん、感染性疾患、代謝性疾患、発達性疾患、心血管疾患、肝臓疾患、腸疾患、内分泌疾患、神経疾患、又はその他の疾

患であり得る。

【0053】

本明細書で使用する場合、「がん」という用語は、白血病、リンパ腫、黒色腫、神経内分泌腫瘍、細胞腫、及び肉腫を含む、哺乳動物に見出される全ての種類のがん、新生物、又は悪性腫瘍を指す。本明細書で提供される化合物、薬学的組成物、又は方法で治療され得る例示的ながんとしては、リンパ腫、肉腫、膀胱がん、骨がん、脳腫瘍、子宮頸がん、結腸がん、食道がん、胃がん、頭頸部がん、腎臓がん、骨髄腫、甲状腺がん、白血病、前立腺がん、乳がん（例えば、トリプルネガティブ、ER陽性、ER陰性、化学療法抵抗性、ハーセプチン抵抗性、HER2陽性、ドキシソルビシン抵抗性、タモキシフェン抵抗性、乳管がん、小葉がん、原発性、転移性）、卵巣がん、膵臓がん、肝臓がん（例えば、肝細胞がん）、肺がん（例えば、非小細胞肺がん、扁平上皮細胞肺がん、腺がん、大細胞肺がん、小細胞肺がん、カルチノイド、肉腫）、多形性膠芽腫、神経膠腫、黒色腫、前立腺がん、去勢抵抗性前立腺がん、乳がん、トリプルネガティブ乳がん、膠芽腫、卵巣がん、肺がん、扁平上皮細胞がん（例えば、頭部、頸部、又は食道）、結腸直腸がん、白血病、急性骨髄性白血病、リンパ腫、B細胞リンパ腫、又は多発性骨髄腫が挙げられる。追加の例としては、甲状腺がん、内分泌系がん、脳がん、乳がん、頸部がん、結腸がん、頭頸部がん、食道がん、肝臓がん、腎臓がん、肺がん、非小細胞肺がん、黒色腫、中皮腫、卵巣がん、肉腫、胃がん、子宮がん、又は髓芽腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、神経芽細胞腫、神経膠腫、多形性膠芽細胞腫、卵巣がん、横紋筋肉腫、原発性血小板血症、原発性マクログロブリン血症、原発性脳腫瘍、がん、悪性膵インスリノーマ、悪性カルチノイド、膀胱がん、前悪性皮膚病変、精巣がん、リンパ腫、甲状腺がん、神経芽細胞腫、食道がん、尿生殖器がん、悪性高カルシウム血症、子宮内膜がん、副腎皮質がん、内分泌若しくは外分泌膵臓新生物、甲状腺髄様がん、甲状腺髄様がん腫、黒色腫、結腸直腸がん、乳頭様甲状腺がん、肝細胞がん、乳頭のパジェット病、葉状腫瘍、小葉がん、乳管がん、膵星細胞がん、肝星細胞がん、又は前立腺がんが挙げられる。

10

20

30

40

50

【0054】

「白血病」という用語は、造血器官の進行性の悪性疾患を広く指し、一般に血液及び骨髄中での白血球及びそれらの前駆細胞の歪んだ増殖及び発達により特徴付けられる。白血病は、一般に、（１）疾患の持続期間及び特徴（急性又は慢性）、（２）関与する細胞の種類（骨髄（骨髄性）、リンパ（リンパ行性）、又は単球性、並びに（３）血液白血性又は非白血性（垂白血性）中の異常細胞数の増加又は非増加に基づいて臨床的に分類される。本明細書に提供される化合物、薬学的組成物、又は方法で治療され得る例示的な白血病としては、例えば、急性非リンパ球性白血病、慢性リンパ球性白血病、急性顆粒球性白血病、慢性顆粒球性白血病、急性前骨髄球性白血病、成人T細胞性白血病、非白血性白血病、白血球性白血病、好塩基球性白血病、芽細胞白血病、ウシ白血病、慢性骨髄球性白血病、皮膚白血病、胎児性白血病、好酸球性白血病、グロス白血病、ヘアリー細胞白血病、血芽球性白血病、血球芽細胞性白血病、組織球性白血病、幹細胞性白血病、急性単球性白血病、白血球減少性白血病、リンパ性白血病、リンパ芽球性白血病、リンパ球性白血病、リンパ行性白血病、リンパ球系白血病、リンパ肉腫細胞性白血病、肥満細胞性白血病、巨核球性白血病、小骨髄芽球性白血病、単球性白血病、骨髄芽球性白血病、骨髄球性白血病、骨髄顆粒球性白血病、骨髄単球性白血病、ネーゲリ白血病、形質細胞白血病、多発性骨髄腫、形質細胞性白血病、前骨髄球性白血病、リーダー細胞白血病、シリング白血病、幹細胞性白血病、垂白血性白血病、又は未分化細胞白血病が挙げられる。

【0055】

本明細書で 사용되는場合、「転移」、「転移性」、及び「転移性がん」という用語は、同じ意味で使用することができ、ある臓器若しくは別の隣接しない臓器又は身体の一部からの、増殖性疾患又は障害、例えば、がんの広がりを目指す。がんは、原発性腫瘍、例えば、原発性乳がんと呼ばれる発生源部位、例えば乳房で発生する。原発性腫瘍又は発生部位における一部のがん細胞は、局所領域での周囲の正常組織に浸透及び浸潤する能力、及び／又は、リンパ系若しくは血管系の壁に浸透し、系を介して身体他の部位及び組織へと

循環する能力を獲得する。原発性腫瘍のがん細胞から形成された臨床的に検出可能な二次的な腫瘍は、転移性又は二次性腫瘍と呼ばれる。がん細胞が転移した場合、転移性腫瘍及びその細胞は元の腫瘍のものと同様であると推定される。したがって、肺がんが乳房に転移する場合、乳房の部位の二次性腫瘍は、異常な肺細胞からなり、異常な乳房細胞からなるのではない。乳房の二次性腫瘍は、転移性肺がんと呼ばれる。したがって、転移性がんという語句は、対象が、原発性腫瘍を有するか又は有していた、1つ以上の二次性腫瘍を有する疾患を指す。非転移性がん又は転移性ではないがんを有する対象という語句は、対象が原発性腫瘍を有するが1つ以上の二次性腫瘍を有しない疾患を指す。例えば、転移性肺がんは、原発性肺腫瘍の病歴を有するか又は病歴を有し、例えば、乳房の第2の場所又は複数の場所に1つ以上の二次性腫瘍を有する対象における疾患を指す。

10

【0056】

疾患（がん（例えば、白血病、リンパ腫、B細胞リンパ腫、多発性骨髄腫など））に関連する物質又は物質の活性若しくは機能の文脈において、「関連した」又は「に関連する」という用語は、その疾患（がん（例えば、白血病、リンパ腫、B細胞リンパ腫、多発性骨髄腫など））が（全体的に又は部分的に）引き起こされること、あるいは、その疾患の症状が（全体的に又は部分的に）物質又は物質の活性若しくは機能によって引き起こされること、を意味する。

【0057】

本明細書で使用される「自己免疫疾患」という用語は、健康な対象では通常は免疫応答を誘発しない物質に対して、対象の免疫系が異常な免疫応答を示す疾患又は症状を指す。本明細書に記載される化合物、医薬組成物、又は方法で治療することができる自己免疫疾患の例としては、急性播種性脳脊髄炎（ADEM）、急性壊死性出血性白質脳炎、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、皮疹、アミロイドーシス、アンキロシス性脊椎脊髄炎、抗GBM／抗TBM腎炎、抗リン脂質症候群（APS）、自己免疫血管浮腫、自己免疫性無形成貧血、自己免疫性自律神経失調症、自己免疫性肝炎、自己免疫性高脂血症、自己免疫性免疫不全、自己免疫性内耳疾患（AIED）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性卵巣炎、自己免疫性脾臓炎、自己免疫性網膜炎、自己免疫性脾臓ホルモン症血小板減少性紫斑病（ATP）、自己免疫性甲状腺疾患、自己免疫性蕁麻疹、軸索又はニューロン神経障害、バロ病、ベーセット病、水疱性ペフィゴイド、心筋症、キャスルマン病、セリアック病、シャガス病、慢性疲労症候群、慢性炎症性脱髄性多発神経炎（CIDD）、慢性再発性多発血管炎性肉芽腫症（CRMO）、チャグ・ストラウス症候群、瘢痕性類肺炎／良性粘膜類肺炎、クローン病、コガンズ症候群、コールドアグルチニン病、先天性心臓ブロック、Coxsackie心筋炎、CREST病、本態性混合型クリオグロブリン血症、脱髄性ニューロパシー、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、デビック病（視神経脊髄炎）、円盤状ループス、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性食道炎、好酸球性筋膜炎、結膜炎、実験的アレルギー性脳脊髄炎、エバンス症候群、線維筋痛症、線維化性肺炎、巨細胞性動脈炎（側頭動脈炎）、巨細胞性心筋炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、多発血管炎性肉芽腫症（GPA）（以前はウェゲナー肉芽腫症と呼ばれていた）、グレーブス病、ギラン・バー症候群、橋本脳炎、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホ・スクホン病、溶血性貧血、低ガンマグロブリン血症、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、IgA腎症、IgG4関連硬化性疾患、免疫調節性リポタンパク質、封入体筋炎、間質性膀胱炎、若年性関節炎、若年性糖尿病（1型糖尿病）、若年性筋炎、川崎症候群、ランバート・イートン血管炎、白血病苔癬、扁平苔癬、硬化性苔癬、リンパ性結膜炎、線形IgA病（LAD）、ループス（SLE）、ライム病、慢性、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎、混合結合組織疾患（MCTD）、ムーレン潰瘍、ミュシャ・ハーバーマン病、多発性硬化症、重症筋炎、筋炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎（Devic's）、好中球減少症、眼癬痕性ぶどう膜炎、眼神経炎、回帰性リウマチ、PANDAS（溶連菌感染症関連小児自己免疫性神経精神疾患）、傍腫瘍性小脳変性症、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、パリーロンバーグ症候群、パーソナージ・ターナー症候群、パースプラニティス（末梢ブドウ膜炎）、ペムフィグス、ペリフェラルニューロパチー、周回性脳脊髄炎、悪性

20

30

40

50

貧血、P O E M S 症候群、結節性多発動脈炎、I 型，I I 型，I I I 型自己免疫性多発腺症候群、多発性筋痛リウマチ、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、プロゲステロン皮膚炎、原発性狭心症乾癆性関節炎、原発性硬化性胆管炎、乾癆、乾癆性関節炎、特発性肺線維症、神経節性膿皮症、純赤血球形成不全、レイノーズ現象、反応性関節炎、反射性交感神経ジストロフィー、ライター症候群、再発性多発軟骨炎、レストレスレッグ症候群、後腹膜線維症、リウマチ性熱、リウマチ性関節炎、サルコイド関節炎、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子・精巣自己免疫、硬直症候群、亜急性細菌性心内膜炎（S B E）、サザック症候群、交感神経性眼、高安動脈炎、側頭動脈炎・巨大細胞動脈炎、血小板減少性紫斑病（T T P）、トロアザ・ハント症候群、横断性脊髄炎、1 型糖尿病、潰瘍性大腸炎、未分化結合組織疾患（U C T D）、ブドウ膜炎、血管炎、水疱性皮膚症、白斑、又はウェゲナー肉芽腫症（すなわち、多発血管炎性肉芽腫症（G P A））が挙げられる。

10

【0058】

「B 細胞」又は「B リンパ球」は、当技術分野におけるそれらの標準的な使用法を指す。B 細胞はリンパ球であり、白血球（l e u k o c y t e）の一種であり、形質細胞（「成熟 B 細胞」）に成長し、抗体を産生する。「未熟な B 細胞」とは、成熟した B 細胞に成長し得る細胞である。一般に、プロ B 細胞は、免疫グロブリン重鎖再編成を受けてプロ B プレ B 細胞となり、さらに免疫グロブリン軽鎖再編成を受けて未成熟 B 細胞となる。未熟な B 細胞には、T 1 及び T 2 B 細胞が含まれる。

【0059】

本明細書で使用される「T 細胞」又は「T リンパ球」は、細胞性免疫において中心的な役割を果たすリンパ球（白血球のサブタイプ）の一種である。それらは、細胞表面の T 細胞受容体の存在によって、B 細胞やナチュラルキラー細胞のような他のリンパ球と区別することができる。T 細胞としては、例えば、ナチュラルキラー T（N K T）細胞、細胞毒性 T リンパ球（C T L）、制御性 T（T r e g）細胞、及び T ヘルパー細胞が挙げられる。さまざまな種類の T 細胞は、T 細胞検出剤を使用して区別することができる。

20

【0060】

「記憶 T 細胞」は、以前の感染、がんとの遭遇、又は以前のワクチン接種中に、その同種抗原に以前に遭遇し、応答した T 細胞である。同種抗原との 2 回目の遭遇で、記憶 T 細胞は、複製（分裂）して、免疫系が病原体に最初に応答したときよりも速くて強い免疫応答を起し得る。

30

【0061】

「制御性 T 細胞」又は「サプレッサー T 細胞」は、免疫系を調節し、自己抗原に対する寛容性を維持し、自己免疫疾患を防ぐリンパ球である。

【0062】

本明細書で提供される「エフェクター細胞リガンド」という用語は、免疫系のエフェクター細胞（例えば、細胞毒性 T 細胞、ヘルパー T 細胞、B 細胞、ナチュラルキラー細胞）上に発現する細胞表面分子を指す。エフェクター細胞上に発現したエフェクター細胞リガンドに第 1 の抗体領域が結合すると、エフェクター細胞は活性化され、その機能（例えば、悪性細胞、感染した細胞、又はその他の不健康な細胞の選択的殺傷又は根絶）を発揮することができる。いくつかの実施形態では、エフェクター細胞リガンドは C D 3 タンパク質である。いくつかの実施形態では、エフェクター細胞リガンドは C D 1 6 タンパク質である。いくつかの実施形態では、エフェクター細胞リガンドは C D 3 2 タンパク質である。いくつかの実施形態では、エフェクター細胞リガンドは N K p 4 6 タンパク質である。本明細書で提供される第 1 の抗体領域は、抗体、抗体変異体、抗体の断片、又は抗体変異体の断片であり得る。

40

【0063】

本明細書で言及される「C D 3 タンパク質」は、C D 3 複合体を有し、シグナル伝達を媒介し、C D 3 複合体活性を（例えば、C D 3 複合体と比較して、少なくとも 5 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % 又は 1 0 0 % 以内の活性に）維持

50

する分化抗原群 3 (CD3) タンパク質又はその変異体若しくはホモログの組換え型、又は自然発生型のいずれかを含む。いくつかの態様においては、バリエーション又はホモログは、CD3 複合体中の天然に存在する CD3 タンパク質と比較して、配列の全体又は配列の一部 (例えば、50、100、150 又は 200 個の連続したアミノ酸部分) にわたって、少なくとも 90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% のアミノ酸配列同一性を有する。

【0064】

本明細書で言及される「CD16 タンパク質」は、CD16 活性を (例えば、CD16 と比較して、少なくとも 50%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 以内の活性に) 維持する、低親和性免疫グロブリンガンマ Fc 領域受容体 IIE-A としても知られる、分化抗原群 16 (CD16) 又はそのバリエーション若しくはホモログの組換え型、又は自然発生型のいずれかを含む。いくつかの態様においては、上記バリエーション又はホモログは、天然に存在する CD16 タンパク質と比較して、配列の全体又は配列の一部 (例えば、50、100、150 又は 200 個の連続したアミノ酸部分) にわたって、少なくとも 90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% のアミノ酸配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、CD16 タンパク質は、UniProt 参照番号 P08637 によって同定されるタンパク質、又はそれに対して実質的な同一性を有するバリエーション若しくはホモログと実質的に同一である。

10

【0065】

本明細書で言及される「CD32 タンパク質」は、CD32 活性を (例えば、CD32 と比較して、少なくとも 50%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 以内の活性に) 維持する、低親和性免疫グロブリンガンマ Fc 領域受容体 IIE-A としても知られる、分化抗原群 32 (CD32) 又はそのバリエーション若しくはホモログの組換え型、又は自然発生型のいずれかを含む。いくつかの態様においては、上記バリエーション又はホモログは、天然に存在する CD32 タンパク質と比較して、配列の全体又は配列の一部 (例えば、50、100、150 又は 200 個の連続したアミノ酸部分) にわたって、少なくとも 90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% のアミノ酸配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、CD32 タンパク質は、UniProt 参照番号 P12318 によって同定されるタンパク質、又はそれに対して実質的な同一性を有するバリエーション若しくはホモログと実質的に同一である。

20

30

【0066】

本明細書で言及される「NKp46 タンパク質」は、細胞傷害誘発受容体 1 としても知られる、NKp46 活性を (例えば、NKp46 と比較して、少なくとも 50%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% の活性以内に) 維持する NKp46 タンパク質又はそのバリエーション若しくはホモログの組換え型、又は自然発生型のいずれかを含む。いくつかの態様においては、上記バリエーション又はホモログは、天然に存在する NKp46 タンパク質と比較して、配列の全体又は配列の一部 (例えば、50、100、150 又は 200 個の連続したアミノ酸部分) にわたって、少なくとも 90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% のアミノ酸配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、NKp46 タンパク質は、UniProt 参照番号 O76036 によって同定されるタンパク質、又はそれに対して実質的な同一性を有するバリエーション若しくはホモログと実質的に同一である。

40

【0067】

本明細書で言及される「BAFF-R」、「BAFF 受容体」又は「BAFF-R タンパク質」は、BAFF-R 活性を (例えば、BAFF-R と比較して、少なくとも 50%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100% 以内の活性に) 維持する、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー 13C (TNFRSF13C) としても知られる、B 細胞活性化因子受容体 (BAFF-R) 又はそのバリエーション若しくはホモログの組換え型、又は自然発生型のいずれかを含む。いくつかの態様においては、上記バリエーション又はホモログは、天然に存在する BAFF-R と比較して、配列の全

50

体又は配列の一部（例えば、50、100、150又は200個の連続したアミノ酸部分）にわたって、少なくとも90%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のアミノ酸配列同一性を有する。いくつかの実施形態では、BAFF-Rは、UniProt参照番号Q96RJ3によって同定されるタンパク質、又はそれに対して実質的な同一性を有するバリエーション若しくはホモログと実質的に同一である。いくつかの実施形態では、BAFF-Rは、UniProt参照番号Q9D8D0によって同定されるタンパク質、又はそれに対して実質的な同一性を有するバリエーション若しくはホモログと実質的に同一である。いくつかの実施形態では、BAFF-Rは、NCBI参照番号GI:16445027によって同定されるタンパク質、又はそれに対して実質的な同一性を有するバリエーション若しくはホモログと実質的に同一である。いくつかの実施形態では、BAFF-Rは、NCBI参照番号GI:16306481によって同定されるタンパク質、又はそれに対して実質的な同一性を有するバリエーション若しくはホモログと実質的に同一である。

10

20

30

40

50

II. 組換えタンパク質組成物 【0068】

本明細書では、とりわけ、エフェクター細胞発現抗原（例えば、CD3）への結合を通じてBAFF-R及びエフェクター細胞に結合することができる組換えタンパク質（例えば、二重特異性抗体）が提供される。組換えタンパク質（例えば、二重特異性抗体）は、(i) エフェクター細胞リガンド（例えば、CD3）に結合することができる第1の抗体領域と、(ii) 第2の抗体抗原（例えば、ヒトBAFF-Rタンパク質）に結合することができる第2の抗体領域とを含み、高い親和性及び特異性でヒトBAFF-Rタンパク質に結合する。本明細書が提示する組換えタンパク質（例えば、二重特異性抗体）がエフェクター細胞上の抗原（例えば、エフェクターT細胞上のCD3）及びB細胞上のBAFF-Rに同時に結合することにより、エフェクター細胞（例えば、T細胞）が生じ、悪性又は自己反応性B細胞を死滅させる。したがって、本明細書で提供される組成物及び方法は、とりわけ、がん（例えば、B細胞悪性腫瘍）又は自己免疫疾患の治療に使用され得る。本発明では、その実施形態を含む本明細書が提示する第2の抗体領域は、公開された国際出願PCT/US2017/036178に記載されたBAFF-R特異的抗体のいずれかを含み、これは、本明細書により全ての目的で参照により取り込まれる。例えば、第2の抗体領域は、本明細書で「H90 Ab」、「ヒト化C90」、「ヒト化C90-1」、「ヒト化C90-2」、「ヒト化C90-3」、「C90」、「C90-1」、「C90-2」、又は「C90-3」と呼ばれるヒト化BAFF-R抗体のいずれかを含み得る。

【0069】

一態様においては、(i) エフェクター細胞リガンド（例えば、CD3）に結合することができる第1の抗体領域と、(ii) (a) 軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含む第2の抗体領域とを含む組換えタンパク質が提供される。軽鎖可変ドメインは、配列番号1に記載されるCDRL1、配列番号2に記載されるCDRL2、及び配列番号3に記載されるCDRL3を含む。重鎖可変ドメインは、配列番号4に記載されるCDRH1、配列番号5に記載されるCDRH2、及び配列番号6に記載されるCDRH3を含む。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、BAFF-Rタンパク質又はその断片に結合する。本明細書で証明されるCDRが配列番号（例えば、配列番号1、2、3、4、5、6、38、38、40、41、42、43）で「示される」場合、CDRはその配列番号によって参照される配列を有する。一般に、配列に特定の配列番号が記載されている場合、当該配列は、当該配列番号によって参照される配列を有する。

【0070】

本明細書が提示する組換えタンパク質は、様々な抗体クローン（例えば、C90-1、C90-2、C90-3、C55-1、C55-2、C55-3）に由来する軽鎖及び重鎖可変領域を含み、同じCDR及び異なるFR（例えば、C90-1、C90-2、及びC90-3）、又は、異なるCDR（例えば、C90クローン由来のCDR、及びC55ク

ローン由来のCDR)を含む。その実施形態を含む本明細書が提示する組換えタンパク質の第2の抗体領域は、scFvであり得る。第2の抗体領域がscFvである場合、第2の抗体領域はH90、C90-1、C90-2、又はC90-3と呼ばれ、配列番号1に記載されるCDR L1、配列番号2に記載されるCDR L2、配列番号3に記載されるCDR L3、配列番号4に記載されるCDR H1、配列番号5に記載されるCDR H2、及び配列番号6に記載されるCDR H3を含む。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域はscFvであり、C55-1、C55-2又はC55-3と呼ばれ、配列番号38に記載されるCDR L1、配列番号39に記載されるCDR L2、配列番号40に記載されるCDR L3、配列番号41に記載されるCDR H1、配列番号42に記載されるCDR H2、及び配列番号43に記載されるCDR H3を含む。

10

【0071】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号7、配列番号8、又は配列番号9の配列を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号7の配列を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号8の配列を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号9の配列を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号7の配列である。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号8の配列である。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号9の配列である。

【0072】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号10、配列番号11、又は配列番号12の配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号10の配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号11の配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号12の配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号10の配列である。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号11の配列である。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号12の配列である。

20

【0073】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号13に記載されるFR L1、配列番号14に記載されるFR L2、配列番号15に記載されるFR L3、及び配列番号16に記載されるFR L4を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号25に記載されるFR H1、配列番号26に記載されるFR H2、配列番号27に記載されるFR H3、及び配列番号28に記載されているFR H4を含む。

30

【0074】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号17に記載されるFR L1、配列番号18に記載されるFR L2、配列番号19に記載されるFR L3、及び配列番号20に記載されるFR L4を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号29に記載されるFR H1、配列番号30に記載されるFR H2、配列番号31に記載されるFR H3、及び配列番号32に記載されるFR H4を含む。

【0075】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号21に記載されるFR L1、配列番号22に記載されるFR L2、配列番号23に記載されるFR L3、及び配列番号24に記載されるFR L4を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号33に記載されるFR H1、配列番号34に記載されるFR H2、配列番号35に記載されるFR H3、及び配列番号36に記載されるFR H4を含む。

40

【0076】

いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、配列番号7の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号10の重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域はC90-1である。追加的な実施形態では、第2の抗体領域は、配列番号7の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号10の重鎖可変領域を含む。

【0077】

50

いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、配列番号8の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号11の重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域はC90-2である。追加的な実施形態では、第2の抗体領域は、配列番号8の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号11の重鎖可変領域を含む。

【0078】

いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、配列番号9の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号12の重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域はC90-3である。追加的な実施形態では、第2の抗体領域は、配列番号9の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号12の重鎖可変領域を含む。

【0079】

一態様においては、(i)エフェクター細胞リガンドを結合することができる第1の抗体領域と、(ii)(a)軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含む第2の抗体領域とを含む組換えタンパク質が提供される。軽鎖可変ドメインは、配列番号38に記載されるCDRL1、配列番号39に記載されるCDRL2、及び配列番号40に記載されるCDRL3を含む。重鎖可変ドメインは、配列番号41に記載されるCDRH1、配列番号42に記載されるCDRH2、及び配列番号43に記載されるCDRH3を含む。

【0080】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号44、配列番号45、又は配列番号46の配列を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号44の配列を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号45の配列を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号46の配列を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号44の配列である。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号45の配列である。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号46の配列である。

【0081】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号47、配列番号48、又は配列番号49の配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号47の配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号48の配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号49の配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号47の配列である。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号48の配列である。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号49の配列である。

【0082】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号50に記載されるFRL1、配列番号51に記載されるFRL2、配列番号52に記載されるFRL3、及び配列番号53に記載されるFRL4を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号62に記載されるFRH1、配列番号63に記載されるFRH2、配列番号64に記載されるFRH3、及び配列番号65に記載されるFRH4を含む。

【0083】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号54に記載されるFRL1、配列番号55に記載されるFRL2、配列番号56に記載されるFRL3、及び配列番号57に記載されるFRL4を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号66に記載されるFRH1、配列番号67に記載されるFRH2、配列番号68に記載されるFRH3、及び配列番号69に記載されるFRH4を含む。

【0084】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号58に記載されるFRL1、配列番号59に記載されるFRL2、配列番号60に記載されるFRL3、及び配列番号61に記載されるFRL4を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号70に記載されるFRH1、配列番号71に記載されるFRH2、配列番

10

20

30

40

50

号 7 2 に記載される F R H 3、及び配列番号 7 3 に記載された F R H 4 を含む。

【 0 0 8 5 】

いくつかの実施形態では、第 2 の抗体領域は、配列番号 4 4 の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号 4 7 の重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の抗体領域は C 5 5 - 1 である。追加的な実施形態では、第 2 の抗体領域は、配列番号 4 4 の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号 4 7 の重鎖可変領域を含む。

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態では、第 2 の抗体領域は、配列番号 4 5 の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号 4 8 の重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の抗体領域は C 5 5 - 2 である。追加的な実施形態では、第 2 の抗体領域は、配列番号 4 5 の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号 4 8 の重鎖可変領域を含む。

【 0 0 8 7 】

いくつかの実施形態では、第 2 の抗体領域は、配列番号 4 6 の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号 4 9 の重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、第 2 の抗体領域は C 5 5 - 3 である。追加的な実施形態では、第 2 の抗体領域は、配列番号 4 6 の軽鎖可変ドメイン、及び配列番号 4 9 の重鎖可変領域を含む。

【 0 0 8 8 】

C D R 及び F R の位置は、K a b a t 番号付けシステム (K a b a t ら、S e q u e n c e s o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t 、第 5 版、米国保健福祉省、米国政府印刷局 (1 9 9 1)) によって定義される。同様に、抗体の軽鎖又は重鎖内の個々の残基が占める位置は、K a b a t 番号付けシステムによって定義することができる。したがって、ヒト化抗体の軽鎖及び重鎖内の結合に必要な残基の位置は、当技術分野で周知の K a b a t 番号付けシステムによる残基の位置によって定義することができる。上記のように、ヒト化抗体は、ドナー抗体 (例えば、マウス) 由来の C D R 及びヒト抗体由来の可変領域フレームワーク (F R) を有する抗体であり得る。フレームワーク領域 (F R) は、C D R をヒト化抗体の所定の位置に保持すると言われている。アミノ末端から順に、これらの領域は、それぞれ、軽鎖について、F R L 1、F R L 2、F R L 3、及び F R L 4 と呼ばれ、重鎖について、F R H 1、F R H 2、F R H 3、及び F R H 4 と呼ばれる。驚くべきことに、本発明は、第 2 の抗体領域のエピトープ結合に重要なフレームワーク領域内に 1 つ以上の残基を含む組換えタンパク質 (例えば、二重特異性抗体) を提供する。エピトープ結合 (例えば、B A F F - R 結合) に関与する (又は重要な) フレームワーク領域残基は、本明細書では結合フレームワーク領域残基と呼ばれる。結合フレームワーク領域の残基は、軽鎖可変ドメインのフレームワーク領域 (すなわち、F R L 1、F R L 2、F R L 3、F R L 4) に存在するか、重鎖可変ドメインのフレームワーク (すなわち、F R H 1、F R H 2、F R H 3、F R H 4) に存在する。軽鎖の F R L 3 領域に存在する結合フレームワーク残基は、本明細書では F R L 3 結合フレームワーク領域残基と呼ばれる。したがって、重鎖の F R H 3 領域に存在する結合フレームワーク領域残基は、本明細書では F R H 3 結合フレームワーク領域残基と呼ばれる。

【 0 0 8 9 】

いくつかの実施形態では、第 2 の抗体領域は、少なくとも 1 つの結合フレームワーク領域残基を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、少なくとも 1 つの結合フレームワーク領域残基を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、1 つ以上の F R L 1、F R L 2、F R L 3 又は F R L 4 結合フレームワーク領域残基を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、1 つ以上の F R L 1 結合フレームワーク領域残基を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、1 つ以上の F R L 2 結合フレームワーク領域残基を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、1 つ以上の F R L 3 結合フレームワーク領域残基を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、1 つ以上の F R L 4 結合フレームワーク領域残基を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、1 つ以上の F R H 1、F R H 2、F R H

3又はFR H4結合フレームワーク領域残基を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、1つ以上のFR H1結合フレームワーク領域残基を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、1つ以上のFR H2結合フレームワーク領域残基を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、1つ以上のFR H3結合フレームワーク領域残基を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、1つ以上のFR H4結合フレームワーク領域残基を含む。

【0090】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、少なくとも1つの結合フレームワーク領域残基（例えば、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、50、又はそれ以上の残基）を含み、重鎖可変ドメインは、少なくとも1つの結合フレームワーク領域残基（例えば、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、50、又はそれ以上の残基）を含む。抗体又は抗体領域内の結合フレームワーク領域残基の位置は、CDR残基の位置と同様のKabat番号付けシステムによって定義することができる。

【0091】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat7位に対応する位置にセリンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat8位に対応する位置にプロリンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat15位に対応する位置にバリンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat22位に対応する位置にスレオニンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat24位に対応する位置にグルタミンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat41位に対応する位置にグリシンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat42位に対応する位置にリジンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat43位に対応する位置にアラニンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat44位に対応する位置にプロリンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat56位に対応する位置にスレオニンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat72位に対応する位置にスレオニンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat73位に対応する位置にフェニルアラニンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat79位に対応する位置にグルタミンを含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat104位に対応する位置にバリンを含む。

【0092】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat7位に対応する位置にセリン、Kabat8位に対応する位置にプロリン、Kabat15位に対応する位置にバリン、Kabat22位に対応する位置にスレオニン、Kabat24位に対応する位置にグルタミン又はセリン、Kabat41位に対応する位置にグリシン、Kabat42位に対応する位置にリジン、Kabat43位に対応する位置にアラニン又はスレオニン、Kabat44位に対応する位置にプロリン、Kabat56位に対応する位置にスレオニン、Kabat72位に対応する位置にスレオニン、Kabat73位に対応する位置にフェニルアラニン又はリジン、Kabat79位に対応する位置にグルタミン、又はKabat104位に対応する位置にバリン、を結合フレームワーク領域残基として含む。

【0093】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、Kabat7位に対応する位置にセリン、Kabat8位に対応する位置にプロリン、Kabat15位に対応する位置にバリン

、K a b a t 2 2 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 2 4 位に対応する位置にグルタミン又はセリン、K a b a t 4 1 位に対応する位置にグリシン、K a b a t 4 2 位に対応する位置にリジン、K a b a t 4 3 位に対応する位置にアラニン又はスレオニン、K a b a t 4 4 位に対応する位置にプロリン、K a b a t 5 6 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 7 2 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 7 3 位に対応する位置にフェニルアラニン又はリジン、K a b a t 7 9 位に対応する位置にグルタミン、又はK a b a t 1 0 4 位に対応する位置にバリン、を結合フレームワーク領域残基として含む。

【0094】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、K a b a t 7 位に対応する位置にセリン、K a b a t 8 位に対応する位置にプロリン、K a b a t 1 5 位に対応する位置にバリン、K a b a t 2 2 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 2 4 位に対応する位置にグルタミン又はセリン、K a b a t 4 1 位に対応する位置にグリシン、K a b a t 4 2 位に対応する位置にリジン、K a b a t 4 3 位に対応する位置にアラニン又はスレオニン、K a b a t 4 4 位に対応する位置にプロリン、K a b a t 5 6 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 7 2 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 7 3 位に対応する位置にフェニルアラニン又はリジン、K a b a t 7 9 位に対応する位置にグルタミン、又はK a b a t 1 0 4 位に対応する位置にバリンを結合フレームワーク領域残基として含む。

【0095】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 1 0 位に対応する位置にスレオニン又はアラニンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 1 1 位に対応する位置にリジンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 1 2 位に対応する位置にバリンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 1 5 位に対応する位置にスレオニンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 1 9 位に対応する位置にスレオニンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 2 3 位に対応する位置にスレオニンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 4 1 位に対応する位置にプロリンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 4 4 位に対応する位置にアラニンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 6 1 位に対応する位置にプロリン又はスレオニンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 6 6 位に対応する位置にアルギニンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 7 0 位に対応する位置にスレオニンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 7 5 位に対応する位置にリジンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 7 9 位に対応する位置にバリンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 8 1 位に対応する位置にスレオニンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 8 2 位に対応する位置にメチオニンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 8 2 B 位に対応する位置にアスパラギンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 8 2 C 位に対応する位置にメチオニンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 8 4 位に対応する位置にプロリンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 8 5 位に対応する位置にバリンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 1 0 8 位に対応する位置にリジンを含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 1 0 9 位に対応する位置にバリンを含む。

【0096】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 1 0 位に対応する位置にスレオニン又はアラニン、K a b a t 1 1 位に対応する位置にリジン、K a b a t 1 2 位に対応する位置にバリン、K a b a t 1 5 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 1 9 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 2 3 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 4 1 位に対応する位置にプロリン、K a b a t 4 4 位に対応する位置にアラニン、K a b a t 6 1 位に対応する位置にプロリン、セリン又はスレオニン、K a b a t 6 6 位に対

10

20

30

40

50

応する位置にアルギニン、K a b a t 7 0 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 7 5 位に対応する位置にリジン、K a b a t 7 9 位に対応する位置にバリン、K a b a t 8 1 位に対応する位置にスレオニン又はリジン、K a b a t 8 2 位に対応する位置にメチオニン K a b a t 8 2 B 位に対応する位置にアスパラギン、K a b a t 8 2 C 位に対応する位置にメチオニン、K a b a t 8 4 位に対応する位置にプロリン、K a b a t 8 5 位に対応する位置にバリン、K a b a t 1 0 8 位に対応する位置にリジン、又は K a b a t 1 0 9 位に対応する位置にバリン、を含む。

【0097】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 1 0 位に対応する位置にスレオニン又はアラニン、K a b a t 1 1 位に対応する位置にリジン、K a b a t 1 2 位に対応する位置にバリン、K a b a t 1 5 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 1 9 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 2 3 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 4 1 位に対応する位置にプロリン、K a b a t 4 4 位に対応する位置にアラニン、K a b a t 6 1 位に対応する位置にプロリン、セリン又はスレオニン、K a b a t 6 6 位に対応する位置にアルギニン、K a b a t 7 0 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 7 5 位に対応する位置にリジン、K a b a t 7 9 位に対応する位置にバリン、K a b a t 8 1 位に対応する位置にスレオニン又はリジン、K a b a t 8 2 位に対応する位置にメチオニンに、K a b a t 8 2 B 位に対応する位置にアスパラギン、K a b a t 8 2 C 位に対応する位置にメチオニン、K a b a t 8 4 位に対応する位置にプロリン、K a b a t 8 5 位に対応する位置にバリン、K a b a t 1 0 8 位に対応する位置にリジン、K a b a t 1 0 9 位に対応する位置にバリン、を含む。

【0098】

いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、K a b a t 1 0 位に対応する位置にスレオニン又はアラニン、K a b a t 1 1 位に対応する位置にリジン、K a b a t 1 2 位に対応する位置にバリン、K a b a t 1 5 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 1 9 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 2 3 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 4 1 位に対応する位置にプロリン、K a b a t 4 4 位に対応する位置にアラニン、K a b a t 6 1 位に対応する位置にプロリン、セリン又はスレオニン、K a b a t 6 6 位に対応する位置にアルギニン、K a b a t 7 0 位に対応する位置にスレオニン、K a b a t 7 5 位に対応する位置にリジン、K a b a t 7 9 位に対応する位置にバリン、K a b a t 8 1 位に対応する位置にスレオニン又はリジン、K a b a t 8 2 位に対応する位置にメチオニン、K a b a t 8 2 B 位に対応する位置にアスパラギン、K a b a t 8 2 C 位に対応する位置にメチオニン、K a b a t 8 4 位に対応する位置にプロリン、K a b a t 8 5 位に対応する位置にバリン、K a b a t 1 0 8 位に対応するリジン、又は K a b a t 1 0 9 位に対応するバリンを含む。

【0099】

その実施形態を含む本明細書が提示する組換えタンパク質（例えば、二重特異性抗体）は、1つ以上の F a b ' フラグメントを含み得る。実施形態を含む本明細書が提示する組換えタンパク質（例えば、二重特異性抗体）は、第1の抗体領域及び第2の抗体領域を含み、第1の抗体領域は第1の F a b ' フラグメントであり得、又は第2の抗体領域は第2の F a b ' フラグメントであり得る。本明細書が提示する組換えタンパク質（例えば、二重特異性抗体）が F a b ' フラグメントを含む場合、当該組換えタンパク質は、重鎖（例えば、定常領域及び可変領域を含む）及び軽鎖（例えば、定常及び可変領域を含む）のそれぞれを独立して含む第1の抗体結合領域及び第2の抗体結合領域を含み得る。いくつかの実施形態では、F a b ' フラグメントは、ヒト化重鎖（例えば、定常及び可変領域を含む）及びヒト化軽鎖（例えば、定常及び可変領域を含む）を含む。したがって、いくつかの実施形態では、第1の抗体領域は第1の F a b ' フラグメントであり、又は第2の抗体領域は第2の F a b ' フラグメントである。いくつかの実施形態では、第1の抗体領域は、第1の F a b ' フラグメントである。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、第2の F a b ' フラグメントである。いくつかの実施形態では、第1の抗体領域は第1の F a

10

20

30

40

50

b'フラグメントであり、第2の抗体領域は第2のFab'フラグメントである。

【0100】

第1の抗体領域又は第2の抗体領域は、それぞれ第1のscFv又は第2のscFvであり得る。単鎖抗体には、可変軽鎖と可変重鎖が含まれる。当業者は、単鎖抗体が、免疫グロブリン抗体とは対照的に、単一の軽鎖及び単一の重鎖を含み、ポリペプチド鎖の2つの同一のペアを含み、各ペアが1本の軽鎖及び1本の重鎖を有することをただちに理解するであろう。各軽鎖と重鎖は、標的抗原の結合に関与する可変（「V」）領域（すなわち、可変軽鎖及び可変重鎖）と、免疫システムの他の成分と相互作用する定常（「C」）領域という2つの領域からなる。単鎖抗体における可変軽鎖及び可変重鎖は、リンカーペプチドを介して連結され得る。いくつかの実施形態では、リンカーペプチドは、配列番号37に記載される配列を含む。いくつかの実施形態では、リンカーペプチドは、配列番号37に記載される配列である。単鎖抗体のリンカーペプチドの例は、Bird、R. E.、Hardman、K. D.、Jacobson、J. W.、Johnson、S.、Kaufman、B. M.、Lee、S. M.、Lee、T.、Pope、S. H.、Riordan、G. S.、及びWhitlow、M.（1988）に記載されている。scFv抗体を作製する方法が記載されている。Huseら、Science 246:1275-1281（1989）；Wardら、Nature 341:544-546（1989）；及びVaughanら、Nature Biotech 14:309-314（1996）を参照されたい。手短に言えば、免疫動物由来のB細胞からmRNAを単離し、cDNAを調製する。cDNAは、免疫グロブリンの重鎖及び軽鎖の可変ドメインに特異的なプライマーを使用して増幅する。PCR産物を精製し、核酸配列を結合する。リンカーペプチドが必要な場合、ペプチドをコードする核酸配列は、重鎖の核酸配列と軽鎖の核酸配列の間に挿入する。scFvをコードする核酸は、ベクターに挿入され、適切な宿主細胞で発現される。

【0101】

いくつかの実施形態では、第1の抗体領域は、第1の単鎖可変フラグメントであり、又は第2の抗体領域は、第2の単鎖可変フラグメントである。いくつかの実施形態では、第1の抗体領域は、第1の単鎖可変フラグメントである。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、第2の単鎖可変フラグメントである。いくつかの実施形態では、第1の抗体領域は、第1の単鎖可変フラグメントであり、第2の抗体領域は、第2の単鎖可変フラグメントである。

【0102】

特定のエピトープ（例えば、BAFF-R）に結合する抗体の能力は、平衡解離定数（ K_D ）によって表すことができる。本明細書で定義される平衡解離定数（ K_D ）は、BAFF-Rタンパク質に結合可能な第2抗体領域の解離速度（ K_{off} ）と会合速度（ K_{on} ）の比である。これは、次の式で表される。 $K_D = K_{off} / K_{on}$ したがって、いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約5 nM未満の平衡解離定数（ K_D ）でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約4.5 nM未満の平衡解離定数（ K_D ）でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約4 nM未満の平衡解離定数（ K_D ）でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約3.5 nM未満の平衡解離定数（ K_D ）でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約3 nM未満の平衡解離定数（ K_D ）でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約2.5 nM未満の平衡解離定数（ K_D ）でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約2 nM未満の平衡解離定数（ K_D ）でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約1.5 nM未満の平衡解離定数（ K_D ）でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約1 nM未満の平衡解離定数（ K_D ）でBAFF-Rタンパク質に結合する

ことができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約0.5 nM未満の平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。

【0103】

いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約0.5 nMの平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約1 nMの平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約1.5 nMの平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約2 nMの平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約2.5 nMの平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約3 nMの平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約3.5 nMの平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約4 nMの平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約4.5 nMの平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約5 nMの平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、約0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、又は5 nMの平衡解離定数 (K_D) でBAFF-Rタンパク質に結合することができる。

10

20

【0104】

一態様においては、約4 nM未満の K_D でBAFF-Rに結合できる組換えタンパク質が提供される。別の態様においては、約4 nM未満の K_D でBAFF-Rに結合した組換えタンパク質が提供される。いくつかの実施形態では、抗体は、BAFF-R活性を誘導しない。

【0105】

本明細書が提示する組換えタンパク質は、エフェクター細胞リガンドに結合することができる第1の抗体領域を含む。いくつかの実施形態では、エフェクター細胞リガンドはCD3タンパク質である。いくつかの実施形態では、第1の抗体領域は、(a) 配列番号74に記載されるCDRL1、配列番号75に記載されるCDRL2、及び配列番号76に記載されるCDRL3を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号77に記載されるCDRH1、配列番号78に記載されるCDRH2、及び配列番号79に記載されるCDRH3を含む重鎖可変ドメインとを含む。

30

【0106】

いくつかの実施形態では、第1の抗体領域は、(a) 配列番号81に記載されるCDRL1、配列番号82に記載されるCDRL2、及び配列番号83に記載されるCDRL3を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号84に記載されるCDRH1、配列番号85に記載されるCDRH2、及び配列番号86に記載されるCDRH3を含む重鎖可変ドメインとを含む。

40

【0107】

いくつかの実施形態では、第1の抗体領域は、第1の単鎖可変フラグメント (scFv) である。いくつかの実施形態では、第1のscFvは、配列番号80又は配列番号87の配列を含む。いくつかの実施形態では、第1のscFvは、配列番号80の配列を含む。いくつかの実施形態では、第1のscFvは、配列番号87の配列を含む。いくつかの実施形態では、第1のscFvは、配列番号80又は配列番号87の配列である。いくつかの実施形態では、第1のscFvは、配列番号80の配列である。いくつかの実施形態では、第1のscFvは、配列番号87の配列である。

【0108】

いくつかの実施形態では、第2の抗体領域は、BAFF-Rタンパク質に結合する。いく

50

つかの実施形態では、B A F F－Rタンパク質は、ヒトB A F F－Rタンパク質である。いくつかの実施形態では、B A F F－Rタンパク質は、N C B I 遺伝子 I D 番号 1 1 5 6 5 0 によって識別される核酸配列によってコードされる。いくつかの実施形態では、B A F F－Rタンパク質は細胞の一部を形成する。いくつかの実施形態では、B A F F－Rタンパク質は、細胞の表面上に発現する。いくつかの実施形態では、細胞は、リンパ球細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は、B細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は、がん細胞である。いくつかの実施形態では、がん細胞はリンパ腫細胞である。

【0109】

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 7 4 に記載される C D R L 1、配列番号 7 5 に記載される C D R L 2、及び配列番号 7 6 に記載される C D R L 3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 7 7 に記載される C D R H 1、配列番号 7 8 に記載される C D R H 2、及び配列番号 7 9 に記載される C D R H 3 を含む重鎖可変ドメインと、を含む第 1 の抗体領域と、配列番号 7 の配列を有する軽鎖可変ドメインと配列番号 1 0 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域と、を含む。

10

【0110】

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 7 4 に記載される C D R L 1、配列番号 7 5 に記載される C D R L 2、及び配列番号 7 6 に記載される C D R L 3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 7 7 に記載された C D R H 1、配列番号 7 8 に記載された C D R H 2、及び配列番号 7 9 に記載された C D R H 3 を含む重鎖可変ドメインとを含む第 1 の抗体領域と、配列番号 8 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 1 1 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

20

【0111】

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 7 4 に記載される C D R L 1、配列番号 7 5 に記載される C D R L 2、及び配列番号 7 6 に記載される C D R L 3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 7 7 に記載された C D R H 1、配列番号 7 8 に記載された C D R H 2、及び配列番号 7 9 に記載された C D R H 3 を含む重鎖可変ドメインとを含む第 1 の抗体領域と、配列番号 9 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 1 2 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0112】

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 8 1 に記載される C D R L 1、配列番号 8 2 に記載される C D R L 2、及び配列番号 8 3 に記載される C D R L 3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 8 4 に記載された C D R H 1、配列番号 8 5 に記載された C D R H 2、及び配列番号 8 6 に記載された C D R H 3 を含む重鎖可変ドメインとを含む第 1 の抗体領域と、配列番号 7 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 1 0 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

30

【0113】

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 8 1 に記載される C D R L 1、配列番号 8 2 に記載される C D R L 2、及び配列番号 8 3 に記載される C D R L 3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 8 4 に記載された C D R H 1、配列番号 8 5 に記載された C D R H 2、及び配列番号 8 6 に記載された C D R H 3 を含む重鎖可変ドメインとを含む第 1 の抗体領域と、配列番号 8 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 1 1 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

40

【0114】

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 8 1 に記載される C D R L 1、配列番号 8 2 に記載される C D R L 2、及び配列番号 8 3 に記載される C D R L 3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 8 4 に記載された C D R H 1、配列番号 8 5 に記載された C D R H 2、及び配列番号 8 6 に記載された C D R H 3 を含む重鎖可変ドメインとを含む第 1 の抗体領域と、配列番号 9 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 1 2 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0115】

50

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 74 に記載される CDR L1、配列番号 75 に記載される CDR L2、及び配列番号 76 に記載される CDR L3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 77 に記載された CDR H1、配列番号 78 に記載された CDR H2、及び配列番号 79 に記載された CDR H3 を含む重鎖可変ドメインとを含む第 1 の抗体領域と、配列番号 44 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 47 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0116】

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 74 に記載される CDR L1、配列番号 75 に記載される CDR L2、及び配列番号 76 に記載される CDR L3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 77 に記載された CDR H1、配列番号 78 に記載された CDR H2、及び配列番号 79 に記載された CDR H3 を含む重鎖可変ドメインとを含む第 1 の抗体領域と、配列番号 45 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 48 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

10

【0117】

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 74 に記載される CDR L1、配列番号 75 に記載される CDR L2、及び配列番号 76 に記載される CDR L3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 77 に記載された CDR H1、配列番号 78 に記載された CDR H2、及び配列番号 79 に記載された CDR H3 を含む重鎖可変ドメインとを含む第 1 の抗体領域と、配列番号 46 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 49 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

20

【0118】

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 81 に記載される CDR L1、配列番号 82 に記載される CDR L2、及び配列番号 83 に記載される CDR L3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 84 に記載された CDR H1、配列番号 85 に記載された CDR H2、及び配列番号 86 に記載された CDR H3 を含む重鎖可変ドメインとを含む第 1 の抗体領域と、配列番号 44 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 47 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0119】

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 81 に記載される CDR L1、配列番号 82 に記載される CDR L2、及び配列番号 83 に記載される CDR L3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 84 に記載された CDR H1、配列番号 85 に記載された CDR H2、及び配列番号 86 に記載された CDR H3 を含む重鎖可変ドメインとを含む第 1 の抗体領域と、配列番号 45 配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 48 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

30

【0120】

一実施形態では、組換えタンパク質は、(a) 配列番号 81 に記載される CDR L1、配列番号 82 に記載される CDR L2、及び配列番号 83 に記載される CDR L3 を含む軽鎖可変ドメインと、(b) 配列番号 84 に記載される CDR H1、配列番号 85 に記載される CDR H2、及び配列番号 86 に記載される CDR H3 を含む重鎖可変ドメインとを含む第 1 の抗体領域と、配列番号 46 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 49 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域と、を含む。

40

【0121】

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 80 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 7 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 10 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0122】

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 80 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 8 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 11 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0123】

50

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 80 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 9 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 12 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0124】

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 87 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 7 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 10 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0125】

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 87 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 8 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 11 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

10

【0126】

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 87 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 9 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 12 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0127】

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 80 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 44 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 47 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0128】

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 80 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 45 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 48 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

20

【0129】

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 80 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 46 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 49 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0130】

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 87 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 44 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 47 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

30

【0131】

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 87 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 45 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 48 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0132】

一実施形態では、組換えタンパク質は、配列番号 87 の配列を有する第 1 の抗体領域と、配列番号 46 の配列を有する軽鎖可変ドメインと、配列番号 49 の配列を有する重鎖可変ドメインとを含む第 2 の抗体領域とを含む。

【0133】

40

III. 薬学的組成物

本発明の薬剤（例えば、本明細書で提供される組換えタンパク質）は、しばしば、すなわち、活性治療薬及び他の様々な薬学的に許容される成分を含む薬学的組成物として投与される。Remington's Pharmaceutical Science (15th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1980) を参照されたい。好ましい形態は、意図する投与の様式及び治療の用途によって異なる。上記組成物はまた、所望の処方に応じて、動物又はヒト投与用の薬学的組成物を処方するために一般的に使用される媒体として定義される、薬学的に許容される非毒性の担体又は希釈剤を含むことができる。上記希釈剤は、組み合わせの生物学的活性に影響を与えないように選択する。かかる希釈剤の例は、蒸留水、リン

50

酸緩衝生理食塩水、リンゲル液、デキストロース溶液、及びハंकス液である。さらに、医薬組成物又は製剤は、他の担体、アジュバント、又は非毒性、非治療的、非免疫原性の安定剤なども含み得る。

【0134】

上記組成物は、治療的又は予防的処置のために投与され得る。治療用途において、組成物は、「治療有効用量」で疾患（例えば、がん）を患っている患者に投与される。この使用に有効な量は、疾患の重症度及び患者の全身健康状態によって異なるであろう。上記組成物の単回又は複数回投与は、必要に応じた、かつ、患者が許容する投与量及び頻度に応じて投与され得る。本発明において「患者」又は「対象」には、ヒト及び他の動物（特に哺乳動物）の両方が含まれる。したがって、本方法は、ヒトの治療及び獣医学的用途の両方に適用することができる。好ましい実施形態では、患者は哺乳動物、好ましくは霊長類であり、最も好ましい実施形態では、患者はヒトである。

10

【0135】

経口投与に適した製剤は、（a）本明細書で提供される抗体の例えば有効を、水、生理食塩水、又はPEG400などの希釈剤に懸濁した液体溶液と、（b）液体、固体、顆粒、又はゼラチンとして所定量の有効成分をそれぞれ含む、カプセル、サシェ、又は錠剤と、（c）適切な液体の懸濁液と、（d）適切な乳剤と、からなる。錠剤形態は、ラクトース、スクロース、マンニトール、ソルビトール、リン酸カルシウム、コーンスターチ、ポテトスターチ、微結晶セルロース、ゼラチン、コロイド状二酸化ケイ素、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、及び他の賦形剤、着色剤、増量剤、結合剤、希釈剤、緩衝剤、湿潤剤、保存剤、香味剤、染料、崩壊剤、及び薬学的に適合する担体、のうちの1種以上を含むことができる。トローチ剤形は、香味料（例えば、ショ糖）中に有効成分を含むことができ、また、トローチは、ゼラチン及びグリセリン又はスクロース及びアカシア乳剤、ゲルなどの不活性な基剤中に有効成分を含み、有効成分に加えて、当技術分野で公知の担体を含むことができる。

20

【0136】

医薬組成物は、また、タンパク質、キトサンなどの多糖類、ポリ乳酸、ポリグリコール酸及び共重合体（ラテックス官能化セファロース（商標）、アガロース、セルロースなど）、高分子アミノ酸、アミノ酸コポリマー、及び脂質凝集体（油滴やリポソームなど）などの、大きい、ゆっくりと代謝される巨大分子を含み得る。さらに、これらの担体は免疫刺激剤（すなわち、アジュバント）として機能し得る。

30

【0137】

直腸投与に適した製剤としては、例えば、坐剤基剤と共にパッケージされた核酸からなる坐剤が挙げられる。好適な坐剤基剤としては、天然又は合成のトリグリセリド又はパラフィン炭化水素が挙げられる。さらに、選択した化合物と、例えば、液体トリグリセリド、ポリエチレングリコール、及びパラフィン炭化水素を含む基剤との組み合わせからなるゼラチン直腸カプセルを使用することも可能である。

【0138】

例えば、関節内（関節内）、静脈内、筋肉内、腫瘍内、皮内、腹腔内、及び皮下経路、などによる非経口投与に適した製剤としては、水性及び非水性の等張無菌注射溶液を挙げることができる。それは、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、及び製剤を対象とするレシピエントの血液と等張にする溶質、並びに、懸濁剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、及び保存剤を含み得る水性及び非水性の無菌懸濁液、を含み得る。本発明の実施において、組成物は、例えば静脈内注入により、経口的に、局所的に、腹腔内に、膀胱内に、又は髄腔内に投与することができる。非経口投与、経口投与、及び静脈内投与は、好ましい投与方法である。化合物の製剤は、アンプル及びバイアルなどの単位用量又は複数用量の密閉容器で提供し得る。

40

【0139】

注射液及び懸濁液は、前述の種類の無菌の粉末、顆粒、及び錠剤から調製することができる。エクスピボ治療のために核酸によって形質導入された細胞もまた、上記のように静脈

50

内又は非経口的に投与することができる。

【0140】

薬学的製剤は、単位剤形であることが好ましい。かかる形態では、製剤は、適切な量の有効成分を含む単位用量に細分化される。単位剤形は、パッケージ化された製剤であり得、パッケージは、パケット化された錠剤、カプセル、及びバイアル又はアンプル中の粉末などの個別の量の製剤を含む。また、単位剤形は、カプセル、錠剤、カシェ、又はトローチ剤そのものであり得、又はこれらのうちのいずれかを適切な数パッケージ化した形態であり得る。上記組成物は、また、必要に応じて、他の相溶性のある治療薬を含み得る。

【0141】

併用投与は、別々の製剤又は単一の医薬製剤を使用する同時投与や、いずれかの順序での連続投与を企図しており、好ましくは、そこには、両方（又は全て）の活性薬剤が同時にその生物活性を発揮する期間が存在する。

10

【0142】

本明細書は提示する組成物の有効量は、投与手段、標的部位、患者の生理学的状態、患者がヒトであるか動物であるか、投与される他の薬剤、及び治療が予防的であるか治療的であるか、を含む多くの様々な要因によって変わる。しかしながら、当業者は、指針として、がんを治療及び予防するための承認された組成物の投与量を見ることで、適切な及び／又はそれと同等の投与量をただちに理解するであろう。

【0143】

一態様においては、その実施形態を含む本明細書で提供される治療有効量の組換えタンパク質を含む医薬組成物、及び薬学的に許容される賦形剤が提供される。

20

【0144】

本明細書で提供される治療有効量は、その意図する目的を達成するのに有効な量を指す。特定の用途に有効な実際の量は、とりわけ、治療される症状に異なるであろう。疾患を治療する方法において投与される場合、本明細書に記載される医薬組成物は、例えば、標的分子（例えば、BAFF-R）の活性を調節する、エフェクター細胞（例えば、T細胞）を活性化する、及び／又は疾患の症状（例えば、がん、自己免疫疾患）を軽減、除去、又はその進行を遅らせる、といった所望の結果を達成するのに有効な量の活性組換えタンパク質（例えば、二重特性抗体）を含むであろう。本明細書が提示する組換えタンパク質（例えば、二重特異性抗体）の治療上有効な量を決定することは、特に本明細書の詳細な開示に照らせば、十分に当業者の能力の範囲内である。

30

【0145】

IV. 治療方法

一態様においては、それを必要とする対象においてがんを治療する方法が提供され、この方法は、その実施形態を含む本明細書に記載される組換えタンパク質（例えば、二重特異性抗体）の治療有効量を対象に投与することを含み、それによって対象のがんを治療する。いくつかの実施形態では、がんは、リンパ腫、白血病、又は骨髄腫である。いくつかの実施形態では、がんは、リンパ腫である。いくつかの実施形態では、リンパ腫は、マントル細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、又はバーキットリンパ腫である。いくつかの実施形態では、リンパ腫は、マントル細胞リンパ腫である。いくつかの実施形態では、リンパ腫は、濾胞性リンパ腫である。いくつかの実施形態では、リンパ腫は、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫である。いくつかの実施形態では、リンパ腫は、辺縁帯リンパ腫である。いくつかの実施形態では、リンパ腫は、バーキットリンパ腫である。

40

【0146】

いくつかの実施形態では、がんは、白血病である。いくつかの実施形態では、白血病は、リンパ芽球性白血病、慢性リンパ球性白血病、又は有毛細胞白血病である。いくつかの実施形態では、白血病は、リンパ芽球性白血病である。いくつかの実施形態では、白血病は、慢性リンパ球性白血病である。いくつかの実施形態では、白血病は、有毛細胞白血病である。

50

【0147】

いくつかの実施形態では、がんは、骨髄腫である。いくつかの実施形態では、骨髄腫は多発性骨髄腫である。

【0148】

いくつかの実施形態では、この方法は、さらに、対象に第2の治療薬を投与することを含む。いくつかの実施形態では、上記治療薬は、CD20抗原に結合することができるキメラモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、上記治療薬はリツキシマブである。「リツキシマブ」という用語は、通常の意味で、ATCコードL01XC02によって識別されるタンパク質CD20に対するモノクローナル抗体を指す。

【0149】

別の態様においては、それを必要とする対象において自己免疫疾患を治療する方法が提供される。この方法は、その実施形態を含む本明細書で提供される組換えタンパク質（例えば、二重特異性抗体）の治療有効量を対象に投与することを含み、それによって対象の自己免疫疾患を治療する。いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、糸球体腎炎、シェーグレン症候群、又は自己免疫性溶血性貧血である。いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は、関節リウマチである。いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は、全身性エリテマトーデスである。いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は、多発性硬化症である。いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は、糸球体腎炎である。いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は、シェーグレン症候群である。いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は、自己免疫性溶血性貧血である。いくつかの実施形態では、この方法は、さらに、対象に第2の治療薬を投与することを含む。

【0150】

本明細書で提供される治療有効量は、その意図された目的を達成するのに有効な量を指す。特定の用途に有効な実際の量は、とりわけ、治療される症状によって異なるであろう。疾患を治療する方法において投与される場合、本明細書に記載される医薬組成物は、例えば、標的分子（例えば、BAFF-R）の活性を調節する、エフェクター細胞を活性化する、及び／又は疾患の症状（例えば、がん、自己免疫疾患）を軽減、除去、又はその進行を遅らせるといった所望の結果を達成するのに有効な量のその実施形態を含む本明細書で提供される活性組換えタンパク質（BAFF-R二重特異性抗体）を含むであろう。本明細書が提示する組換えタンパク質（例えば、BAFF-R二重特異性抗体）の治療上有効な量を決定することは、特に本明細書の詳細な開示に照らせば、十分に当業者の能力の範囲内である。

【0151】

許容される担体、賦形剤又は安定剤は、使用される投与量及び濃度でレシipientに無毒であり、典型的には、5.0から8.0、任意で、6.0から7.0のpHのリン酸塩、クエン酸塩、又は酢酸塩などの緩衝液、等張にするための塩化ナトリウム、塩化カリウムなどの塩類、抗酸化剤、防腐剤、低分子量ポリペプチド、タンパク質、ポリソルベート80などの親水性ポリマー、グリシンなどのアミノ酸、炭水化物、キレート剤、砂糖、及び、当業者に既知の他の標準成分 {Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第22版、Lloyd V. Allenら、editors、Pharmaceutical Press (2012)} を含む。mAbは、0.1~100mg/ml、例えば、1~10mg/ml、又は10~50mg/ml、例えば、5、10、20、30、40、50、又は60mg/mlの濃度で存在し得る。

【0152】

その実施形態を含む本明細書が提示する組換えタンパク質（BAFF-R二重特異性抗体）を含む医薬組成物は、当技術分野で公知の様々な方法によって投与することができる。投与経路及び／又は投与様式は、所望する結果によって異なる。任意で、投与は静脈内、筋肉内、腹腔内、若しくは皮下投与であり、又は標的部位の近位に投与される。薬学的に

10

20

30

40

50

許容される賦形剤は、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄又は表皮投与（例えば、注射又は注入による）に適し得る。

【0153】

その実施形態を含む本明細書が提示する組換えタンパク質（BAFF-R二重特異性抗体）の医薬組成物は、当技術分野で周知であり日常的に実施されている方法に従って調製することができる。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第22版、Lloyd V. Allenら、editors、Pharmaceutical Press（2012）、及び、Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems、J. R. Robinson、ed.、Marcel Dekker、Inc.、New York、1978.を参照されたい。医薬組成物は、GMP条件下で製造されることが好ましい。典型的には、その実施形態を含む本明細書が提示する組換えタンパク質（BAFF-R二重特異性抗体）の治療有効量又は治療に効果的な量は、医薬組成物において使用される。その実施形態を含む本明細書が提示する組換えタンパク質（BAFF-R二重特異性抗体）は、当業者に知られている従来の方法により、薬学的に許容される剤形に製剤化することができる。投与計画は、最適な望ましい応答（例えば、治療応答）をもたらすように調整される。例えば、一回のボラス投与で投与してもよいし、いくつかに分けた投与量を経時的に投与してもよいし、あるいは、治療状況の緊急性が示されるのに応じて、投与量を相対的に減量又は増量してもよい。その実施形態を含む本明細書が提示する組換えタンパク質（BAFF-R二重特異性抗体）を、他の療法又は薬剤と組み合わせて製剤化することが有利であり得る。投与の容易さ及び投与量の均一性のために、投与単位形態で非経口組成物を処方することが有利であり得る。本明細書で使用される投与単位形態は、治療される対象の単位投与量として適した物理的に離散した単位を指し、各単位は、所望の治療効果をもたらすように計算された、その実施形態を含む本明細書で提供される組換えタンパク質（BAFF-R二重特異性抗体）の所定量を必要な薬学的賦形剤とともに含む。

10

20

【0154】

薬学的組成物中の有効成分の実際の投与量は、特定の患者、組成物、及び投与方法において、患者に対して毒性のない形で、所望の治療応答を得るのに有効な有効成分の量が摂取されるように変動し得る。選択される投与量レベルは、使用される特定の組成物の活性、投与経路、投与時間、使用される特定の抗体の排泄速度、治療期間、他の薬物、使用される特定の組成物と組み合わせて使用される化合物及び／又は物質、年齢、性別、体重、症状、治療を受ける患者の一般的な健康状態及び以前の病歴などの要因、を含む様々な薬物動態学的因子に依存する。

30

【0155】

医師又は獣医は、その実施形態を含む本明細書で提供される、医薬組成物に使用される組換えタンパク質（BAFF-R二重特異性抗体）の投与を所望の治療効果を得るのに必要なレベルよりも低いレベルで開始することができ、所望の効果が得られるまで徐々にその用量を増やすことができる。一般に、組成物の有効量は、治療される特定の疾患又は症状、投与手段、標的部位、患者の生理学的状態、患者がヒトか動物か、その他の薬剤の投与、治療が予防的か治療的か、を含む多くの様々な要因によって異なり得る。治療投与量は、安全性と有効性が最適化されるように漸増する必要がある。二重特異性抗体を投与する場合、投与量は、宿主体重の約0.0001～100mg/kg、より一般的には、0.01～5mg/kgの範囲である。例えば、投与量は、1mg/kg体重又は10mg/kg体重、又は1～10mg/kgの範囲内であり得る。例示的な治療計画は、2又は3週間に1回、又は1か月に1回、又は3～6ヶ月に1回の投与を伴う。

40

【0156】

その実施形態を含む本明細書で提供される組換えタンパク質（BAFF-R二重特異性抗体）は、複数回投与することができる。一回の投与の間隔は、毎週、毎月、又は毎年である。患者の二重特異性抗体の血中濃度が測定により示されるのに応じて、間隔が不規則に

50

なることもあり得る。いくつかの方法では、投与量は、 $1 \sim 1000 \mu\text{g}/\text{ml}$ の血漿抗体濃度を達成するように調整され、いくつかの方法では、 $25 \sim 300 \mu\text{g}/\text{ml}$ の血漿抗体濃度を達成するように調整される。

【0157】

別法では、その実施形態を含む本明細書で提供される組換えタンパク質（BAFF-R二重特異性抗体）は、徐放性製剤として投与することができ、その場合、必要な投与頻度はより少なくなる。投与量及び頻度は、その実施形態を含む本明細書が提示する組換えタンパク質（BAFF-R二重特異性抗体）の患者における半減期によって異なる。投与量及び投与頻度は、治療が予防的であるか治療的であるかによって異なり得る。予防的用途では、比較的低用量が長期間にわたって比較的低頻度で投与される。一部の患者は、生涯にわたって治療を受け続ける。治療用途では、疾患の進行が軽減又は終了するまで、好ましくは、患者が疾患の症状の部分的又は完全な改善を示すまで、比較的短い間隔で比較的高用量が必要になる場合がある。その後、患者に予防計画を施すことができる。

10

【実施例】

【0158】

実施例

二重特異性T細胞エンゲージャー（BiTE）は、標的免疫療法剤として使用できる二重特異性モノクローナル抗体のクラスである。従来のモノクローナル抗体とは異なり、BiTE抗体は、2つの単鎖可変フラグメント（scFv）として配置された2つの固有の可変フラグメントで構成されている。1つはCD3分子を介してT細胞を標的として関与し、もう1つは腫瘍細胞上の細胞表面抗原を標的とする。2つの分子をターゲットにすると、T細胞が腫瘍細胞に結合するだけでなく、CD3シグナル伝達を介してT細胞が活性化する。活性化されたT細胞は、腫瘍細胞に対して細胞毒性活性を発揮する。

20

【0159】

BAFF-R BiTE（二重特異性抗体）は、前出の国際出願PCT/US2017/036178に記載の先に開発されたヒト化抗BAFF-Rモノクローナル抗体の重鎖及び軽鎖に由来するscFvを使用して構築した。BAFF-R BiTEの予備試験では、BAFF-R及びヒトT細胞への強い特異的結合が実証された。BAFF-R BiTEは、インビトロでBAFF-Rを発現するリンパ腫及び白血病株に対して強いT細胞応答を誘発することができる。健康なドナーB細胞も、BAFF-R BiTE及びT細胞エフェクターの存在下で、正常なBAFF-R発現に起因する細胞毒性の影響を受けた。

30

【0160】

BAFF-R BiTE二重特異性抗体は、ノブホール法によって生成した。ヘテロ二量体の形成を促進するために、ノブ・イントゥ・ホール構造を二重特異性抗体に適用した。ゲルは、BAFF-R BiTE（H90Bi）の還元及び非還元条件下で実行した。コントロールには、コントロール／無関係のBiTE（Cont. Bi、4-4Bi）及び元のヒト化BAFF-R抗体（本明細書ではC90とも呼ばれるH90Ab）が含まれる。

【0161】

二重特異性抗体の結合特異性は、図2に記載されるように、野生型マウス線維芽細胞L細胞、改変されたBAFF-R発現L細胞（B2D L細胞）、及び健康なドナーから単離されたT細胞と結合するBAFF-R/CD3二重特異性抗体（H90 BiTE）のFACSヒストグラムを使用して測定した。抗体濃度は $0.05 \mu\text{g} \sim 5 \mu\text{g}$ の範囲であった。無関係のBiTE抗体をコントロールとして使用した。抗ヒトIgG抗体を二次抗体として用いた。BAFF-R BiTE結合は、FACSプロットを用いてさらに評価し、図8A～図8Cに示すように、BAFF-R及びT細胞に独立的に結合することが確認された。

40

【0162】

二重特異性抗体の比細胞毒性をBAFF-R発現L細胞に対して測定した。プロットは、クロム放出アッセイから計算された比細胞毒性パーセンテージを示す（図3）。BAFF

50

－R／CD3二重特異性抗体（H90BiTE）を、クロム標識ターゲット野生型又はBAFF－R発現L細胞と、単一の健康なドナーから単離されたエフェクターCD8T細胞とともに、10：1のエフェクター対ターゲット（E：T）比で4時間インキュベートした。コントロールには、コントロール／無関係のBiTE（Cont. Bi、4－4Bi）、元のヒト化BAFF－R抗体（H90Ab）、又はCD8T細胞のみ（抗体なし）が含まれる。

【0163】

二重特異性抗体の細胞毒性を悪性B細胞株に対して測定した。プロットは、（図4）に示されているように、さまざまな悪性B細胞株に対するクロム放出アッセイから計算された比細胞毒性パーセンテージを示している。BAFF－R／CD3二重特異性抗体（H90BiTE）をクロム標識した標的細胞株と、単一の健康なドナーから単離したエフェクターCD8T細胞と共に、10：1のエフェクター対ターゲット（E：T）比で4時間。でインキュベートした。コントロールには、コントロール／無関係のBiTE（Cont. Bi、4－4Bi）、元のヒト化BAFF－R抗体（H90Ab）、又はCD8T細胞のみ（抗体なし）が含まれる。

10

【0164】

二重特異性抗体の用量依存性細胞毒性を測定した。プロットは、JeKo－1マントル細胞リンパ腫及び正常な単離されたB細胞に対するクロム放出アッセイから計算された比細胞毒性パーセンテージを示している（図5）。さまざまな抗体濃度のBAFF－R／CD3二重特異性抗体（H90BiTE）をクロム標識ターゲットJeKo－1又は通常のB細胞と、単一の健康なドナーから単離したエフェクターCD8T細胞と共に、10：1のエフェクター対ターゲット（E：T）比で4時間インキュベートした。コントロールには、コントロール／無関係のBiTE（Cont. Bi、4－4Bi）、元のヒト化BAFF－R抗体（H90Ab）、又はCD8T細胞のみ（抗体なし）が含まれる。

20

【0165】

Z－138MCL腫瘍マウスモデルを使用してマウスをBAFF－R BiTEで処置する例示的な治療スケジュールを図6の概略図に図示する。マウスを治療して、腫瘍増殖の抑制におけるBiTEの有効性を評価した。これらの動物における腫瘍増殖に対するBAFF－R BiTE、コントロールT細胞、及びPBSの投与の効果を図7に示す。

【0166】

非公式の配列表

ヒト化C90／H90 CDR L1：ESVDNYGIS（配列番号1）

【0167】

ヒト化C90／H90 CDR L2：AAS（配列番号2）

【0168】

ヒト化C90／H90 CDR L3：QQSKEVPWT（配列番号3）

【0169】

ヒト化C90／H90 CDR H1：GDSITSGY（配列番号4）

【0170】

ヒト化C90／H90 CDR H2：ISYSGST（配列番号5）

【0171】

ヒト化C90／H90 CDR H3：ASPNYPFYAMDY（配列番号6）

【0172】

ヒト化C90－1軽鎖可変ドメインタンパク質配列

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGEIVLTQSPATLSLSLSPGERAT
LSCRASESVDNYGISFLNWFQQKPGQAPRLLIYAASNRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQQSKEVPW
TFGGGTKEIKRTV（配列番号7）

【0173】

ヒト化C90－2軽鎖可変ドメインタンパク質配列

30

40

50

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGDIVLTQSPATLSLSLSPGERAT
LSCRASESVDNYGISFNMWFQQKPGQAPRLLIYAASNRA
T
GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSKEVPW
TFGGGTKEIKRTV (配列番号 8)

【0174】

ヒト化C90-3 軽鎖可変ドメインタンパク質配列

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGDIVMTQSPSSLSASVGDRT
ITCRASESVDNYGISFNMWFQQKPGKAPKLLIYAASNLS
G
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQSKEVPW
TFGQGTKEIKRTV (配列番号 9)

10

【0175】

ヒト化C90-1 重鎖可変ドメインタンパク質配列

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGQVQLQESGPGGLVKPSQ
TSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQHHPGKGLEYIGYISYSGS
TYYNPSLKSRTVTSRDTSKNQFSLKLSSTVTAADTAVYYCA
SPNYPFYAMDYWGQGTLVTVSS (配列番号 10)

【0176】

ヒト化C90-2 重鎖可変ドメインタンパク質配列

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGEVQLQESGPGGLVKPSQ
TSLTCTVSGDSITSGYWNWIRQHHPGKGLEYIGYISYSGS
TYYNPSLKSRTVTSRDTSKNQYSLKLSSTVTAADTAVYYCA
SPNYPFYAMDYWGQGTLVTVSS (配列番号 11)

20

【0177】

ヒト化C90-3 重鎖可変ドメインタンパク質配列

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGEVQLQESGPGGLVKPSE
TSLTCTCSVSGDSITSGYWNWIRQPPGKGLEYIGYISYSGS
TYYNPSLKSRTVTSRDTSKNQYSLRLSSTVTAADTALYYCA
SPNYPFYAMDYWGQGTRVTVSS (配列番号 12)

【0178】

ヒト化C90-1 FR L1:

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGEIVLTQSPATLSLSLSPGERAT
LSCRAS (配列番号 13)

30

【0179】

ヒト化C90-1 FR L2: FLNWFQQKPGQAPRLLIY (配列番号 14)

【0180】

ヒト化C90-1 FR L3: NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYC (配列番号 15)

【0181】

ヒト化C90-1 FR L4: FGGGTKEIKRTV (配列番号 16)

【0182】

40

ヒト化C90-2 FR L1:

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGDIVLTQSPATLSLSLSPGERAT
LSCRAS (配列番号 17)

【0183】

ヒト化C90-2 FR L2: FMNWFQQKPGQAPRLLIY (配列番号 18)

【0184】

ヒト化C90-2 FR L3: NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS
LEPEDFAVYYC (配列番号 19)

【0185】

ヒト化C90-2 FR L4: FGGGTKEIKRTV (配列番号 20)

50

【0186】

ヒト化C90-3 FR L1:

METDTLLLLWVLLLVPGSTGDIVMTQSPSSLSASVGDRV
ITCRAS (配列番号21)

【0187】

ヒト化C90-3 FR L2: FMNWFQQKPGKAPKLLIY (配列番号22)

【0188】

ヒト化C90-3 FR L3: NLGSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYC (配列番号23)

【0189】

ヒト化C90-3 FR L4: FGQGTKVEIKRTV (配列番号24)

【0190】

ヒト化C90-1 FR H1:

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGQVQLQESGPGLVKPSQ
TSLTCTVS (配列番号25)

【0191】

ヒト化C90-1 FR H2: WNWIRQHPEGKGLIYIGY (配列番号26)

【0192】

ヒト化C90-1 FR H3:

YYNPSLKSRLVTISRDTSKNQFSLKLSSTVTAADTAVYYC (配
列番号27)

【0193】

ヒト化C90-1 FR H4: WGQGTLLVTVSS (配列番号28)

【0194】

ヒト化C90-2 FR H1:

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGEVQLQESGPGLVKPSQ
TSLTCTVS (配列番号29)

【0195】

ヒト化C90-2 FR H2: WNWIRQHPEGKGLIYIGY (配列番号30)

【0196】

ヒト化C90-2 FR H3:

YYNPSLKSRLVTISRDTSKNQYSLKLSSTVTAADTAVYYC (配
列番号31)

【0197】

ヒト化C90-2 FR H4: WGQGTLLVTVSS (配列番号32)

【0198】

ヒト化C90-3 FR H1:

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGEVQLQESGPGLVKPSE
TSLTCSVS (配列番号33)

【0199】

ヒト化C90-3 FR H2: WNWIRQPPGKGLIYIGY (配列番号34)

【0200】

ヒト化C90-3 FR H3:

YYNPSLKSRLVTISRDTSKNQYSLRLSSTVTAADTALYYC (配
列番号35)

【0201】

ヒト化C90-3 FR H4: WGQGTTRVTVSS (配列番号36)

【0202】

ヒト化C90又はC55リンカー: GGGSGGGSGGGGS (配列番号37)

【0203】

10

20

30

40

50

ヒト化 C55 CDR L1: QDISNY (配列番号 38)

【0204】

ヒト化 C55 CDR L2: YTS (配列番号 39)

【0205】

ヒト化 C55 CDR L3: HQFSELPWT (配列番号 40)

【0206】

ヒト化 C55 CDR H1: GFSLSSTSGMG (配列番号 41)

【0207】

ヒト化 C55 CDR H2: IWWDDDK (配列番号 42)

【0208】

ヒト化 C55 CDR H3: ARSFGYGLDY (配列番号 43)

【0209】

ヒト化 C55-1 軽鎖可変ドメインタンパク質配列

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSSSLHTGVPSRFSGSGSGTDYTFITISSLQPEDIATYYCHQFSELPWTFGGG

GTKVEIKRTV (配列番号 44)

【0210】

ヒト化 C55-2 軽鎖可変ドメインタンパク質配列

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSSSLHTGVPSRFSGSGSGTDYTLTITISSLQPEDIATYYCHQFSELPWTFGGG

GTKVEIKRTV (配列番号 45)

【0211】

ヒト化 C55-3 軽鎖可変ドメインタンパク質配列

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKTPKLLIYYTSSSLHTGVPSRFSGSGSGTDYTLTITISSLQPEDIATYYCHQFSELPWTFGGG

GTKVEIKRTV (配列番号 46)

【0212】

ヒト化 C55-1 重鎖可変ドメインタンパク質配列

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGQVTLKESGPTLVKPTQTTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVGVWIRQPPGKALEWLAHIWWD

DDKYYNPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMNTNMDPVDATYYCARSFGYGLDYWGQGTLVTVSS (配列番号 47)

【0213】

ヒト化 C55-2 重鎖可変ドメインタンパク質配列

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGQVTLKESGPTLVKPTQTTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVGVWIRQPPGKALEWLAHIWWD

DDKYYNSSSLKSRLTITKDTSKNQVVLKMTNMDPVDATYYCARSFGYGLDYWGQGTLVTVSS (配列番号 48)

【0214】

ヒト化 C55-3 重鎖可変ドメインタンパク質配列

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGQVTLKESGPALVKPTQTTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVGVWIRQPPGKALEWLAHIWWD

DDKYYNNTSLKSRLTITKDTSKNQVVLKMTNMDPVDATYYCARSFGYGLDYWGQGTLVTVSS (配列番号 49)

【0215】

ヒト化 C55-1 FR L1:

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLSASVGDRTIT

10

20

30

40

50

ITCQAS (配列番号 50)

【0216】

ヒト化C55-1 FR L2:LNWYQQKPGKAPKLLIY (配列番号 51)

【0217】

ヒト化C55-1 FR L3:SLHTGVPSRFSGSGSGTDYTFITISS

LQPEDIATYYC (配列番号: 52)

【0218】

ヒト化C55-1 FR L4:FGGGTKVEIKRTV (配列番号 53)

【0219】

ヒト化C55-2 FR L1:

METDTLLLWVLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLSASVGDRTV

ITCSAS (配列番号 54)

【0220】

ヒト化C55-2 FR L2:LNWYQQKPGKAPKLLIY (配列番号 55)

【0221】

ヒト化C55-2 FR L3:SLHTGVPSRFSGSGSGTDYTLTITISS

LQPEDIATYYC (配列番号 56)

【0222】

ヒト化C55-2 FR L4:FGGGTKVEIKRTV (配列番号 57)

【0223】

ヒト化C55-3 FR L1:

METDTLLLWVLLWVPGSTGDIQMTQSPSSLSASVGDRTV

ITCQAS (配列番号 58)

【0224】

ヒト化C55-3 FR L2:LNWYQQKPGKTPKLLIY (配列番号 59)

【0225】

ヒト化C55-3 FR L3:SLHTGVPSRFSGSGSGTDYTLTITISS

LQPEDIATYYC (配列番号 60)

【0226】

ヒト化C55-3 FR L4:FGGGTKVEIKRTV (配列番号 61)

【0227】

ヒト化C55-1 FR H1:

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGQVTLKESGPTLVKPTQ

TLTLTCTFS (配列番号 62)

【0228】

ヒト化C55-1 FR H2:VGWIRQPPGKALEWLAH (配列番号 63)

【0229】

ヒト化C55-1 FR H3:

YNNPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMNTNMDPVDATATYYC (配

列番号 64)

【0230】

ヒト化C55-1 FR H4:WGQGTLVTVSS (配列番号 65)

【0231】

ヒト化C55-2 FR H1:

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGQVTLKESGPTLVKPTQ

TLTLTCTFS (配列番号 66)

【0232】

ヒト化C55-2 FR H2:VGWIRQPPGKALEWLAH (配列番号 67)

【0233】

ヒト化C55-2 FR H3:

10

20

30

40

50

Y Y N S S L K S R L T I T K D T S K N Q V V L T M T N M D P V D T A T Y Y C (配列番号 68)

【0234】

ヒト化 C55-2 FR H4: WGQGTLVTVSS (配列番号 69)

【0235】

ヒト化 C55-3 FR H1:

MDPKGSLSWRIILLFLSLAFELSYGQVTLKESGPALVKPTQT
TLTLTCTFS (配列番号 70)

【0236】

ヒト化 C55-3 FR H2: VGWIRQP PGKALEWLAH (配列番号 71)

10

【0237】

ヒト化 C55-3 FR H3:

Y Y N T S L K S R L T I T K D T S K N Q V V L K M T N M D P V D T A T Y Y C (配列番号 72)

【0238】

ヒト化 C55-3 FR H4: WGQGTLVTVSS (配列番号 73)

【0239】

抗 CD3 s c F v 1 CDR L1: TGA VTSGNY (配列番号 74)

【0240】

抗 CD3 s c F v 1 CDR L2: GTK (配列番号 75)

20

【0241】

抗 CD3 s c F v 1 CDR L3: VLWYSNRWV (配列番号 76)

【0242】

抗 CD3 s c F v 1 CDR H1: GFTFNKYA (配列番号 77)

【0243】

抗 CD3 s c F v 1 CDR H2: IRSKYNNYAT (配列番号 78)

【0244】

抗 CD3 s c F v 1 CDR H3: VRHGNFGNSYISYWAY (配列番号 79)

【0245】

30

抗 CD3 s c F v 1 タンパク質配列

EVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQA
PGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT
AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT
LTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGSGQT VVTQEPSLTVSPGGT
VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGT
PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVF
GGGTKLTVL (SEQ ID NO: 80)

【0246】

抗 CD3 s c F v 2 CDR L1: SSVSY (配列番号 81)

40

【0247】

抗 CD3 s c F v 2 CDR L2: DTS (配列番号 82)

【0248】

抗 CD3 s c F v 2 CDR L3: QQWSSNPFT (配列番号 83)

【0249】

抗 CD3 s c F v 2 CDR H1: GYTFTRYT (配列番号 84)

【0250】

抗 CD3 s c F v 2 CDR H2: INPSRGYT (配列番号 85)

【0251】

抗 CD3 s c F v 2 CDR H3: ARYYDDHYCLDY (配列番号 86)

50

【0252】

抗CD3 s c F v 2 タンパク質配列

Q V Q L V Q S G G G V V Q P G R S L R L S C K A S G Y T F T R Y T M H W V R Q A
P G K G L E W I G Y I N P S R G Y T N Y N Q K V K D R F T I S R D N S K N T A F
L Q M D S L R P E D T G V Y F C A R Y Y D D H Y C L D Y W G Q G T P V T V S S G
G G G S G G G S G G G G S D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C S A S
S S V S Y M N W Y Q Q T P G K A P K R W I Y D T S K L A S G V P S R F S G S G S
G T D Y T F T I S S L Q P E D I A T Y Y C Q Q W S S N P F T F G Q G T K L Q I T
R (配列番号87)

【0253】

実施形態

実施形態1. 組換えタンパク質であって、

(i) エフェクター細胞リガンドに結合可能な第1の抗体領域と、

(ii) 第2の抗体領域であって、

(a) 配列番号1に記載されるCDR L1と、配列番号2に記載されるCDR L2と、
配列番号3に記載されるCDR L3とを含む軽鎖可変ドメインと、

(b) 配列番号4に記載されるCDR H1と、配列番号5に記載されるCDR H2と、
配列番号6に記載されるCDR H3とを含む重鎖可変ドメインとを含む第2の抗体領域と、
を含む組換えタンパク質。

【0254】

実施形態2. 前記軽鎖可変ドメインが、配列番号7の配列を含む、実施形態1に記載の組換えタンパク質。

【0255】

実施形態3. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号10の配列を含む、実施形態1又は2に記載の組換えタンパク質。

【0256】

実施形態4. 前記軽鎖可変ドメインが、配列番号13に記載されるFR L1と、配列番号14に記載されるFR L2と、配列番号15に記載されるFR L3と、配列番号16に記載されるFR L4とを含む、実施形態1～3のいずれか1つに記載の組換えタンパク質。

【0257】

実施形態5. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号25に記載されるFR H1と、配列番号26に記載されるFR H2と、配列番号27に記載されるFR H3と、配列番号28に記載されるFR H4とを含む、実施形態1～4のいずれか1つに記載の組換えタンパク質。

【0258】

実施形態6. 前記軽鎖可変ドメインが、配列番号8の配列を含む、実施形態1に記載の組換えタンパク質。

【0259】

実施形態7. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号11の配列を含む、実施形態1又は6に記載の組換えタンパク質。

【0260】

実施形態8. 前記軽鎖可変ドメインが、配列番号17に記載されるFR L1と、配列番号18に記載されるFR L2と、配列番号19に記載されるFR L3と、配列番号20に記載されるFR L4とを含む、実施形態1、6、又は7のいずれか1つに記載の組換えタンパク質。

【0261】

実施形態9. 前記重鎖可変ドメインが、配列番号29に記載されるFR H1と、配列番号30に記載されるFR H2と、配列番号31に記載されるFR H3と、配列番号32に記載されるFR H4とを含む、実施形態1又は6～8のいずれか1つに記載の組換え

10

20

30

40

50

えタンパク質。

【0262】

実施形態10．前記軽鎖可変ドメインが、配列番号9の配列を含む、実施形態1に記載の組換えタンパク質。

【0263】

実施形態11．前記重鎖可変ドメインが、配列番号12の配列を含む、実施形態1又は10に記載の組換えタンパク質。

【0264】

実施形態12．前記軽鎖可変ドメインが、配列番号21に記載されるFR L1と、配列番号22に記載されるFR L2と、配列番号23に記載されるFR L3と、配列番号24に記載されるFR L4とを含む、実施形態1、10、又は11のいずれか1つに記載の組換えタンパク質。

10

【0265】

実施形態13．前記重鎖可変ドメインが、配列番号33に記載されるFR H1と、配列番号34に記載されるFR H2と、配列番号35に記載されるFR H3と、配列番号36に記載されるFR H4とを含む、実施形態1、又は10～12のいずれか1つに記載の組換えタンパク質。

【0266】

実施形態14．組換えタンパク質であって、

20

(i) エフェクター細胞リガンドに結合可能な第1の抗体領域と、

(ii) 第2の抗体領域であって、

(a) 配列番号38に記載されるCDR L1と、配列番号39に記載されるCDR L2と、配列番号40に記載されるCDR L3とを含む軽鎖可変ドメインと、

(b) 配列番号41に記載されるCDR H1と、配列番号42に記載されるCDR H2と、配列番号44に記載されるCDR H3とを含む重鎖可変ドメインとを含む第2の抗体領域と、を含む組換えタンパク質。

【0267】

実施形態15．前記軽鎖可変ドメインが、配列番号44の配列を含む、実施形態14に記載の組換えタンパク質。

【0268】

30

実施形態16．前記重鎖可変ドメインが、配列番号47の配列を含む、実施形態14又は15に記載の組換えタンパク質。

【0269】

実施形態17．前記軽鎖可変ドメインが、配列番号50に記載されるFR L1と、配列番号51に記載されるFR L2と、配列番号52に記載されるFR L3と、配列番号53に記載されるFR L4とを含む、実施形態14～16のいずれか1つに記載の組換えタンパク質。

【0270】

実施形態18．前記重鎖可変ドメインが、配列番号62に記載されるFR H1と、配列番号63に記載されるFR H2と、配列番号64に記載されるFR H3と、配列番号65に記載されるFR H4とを含む、実施形態14～17のいずれか1つに記載の組換えタンパク質。

40

【0271】

実施形態19．前記軽鎖可変ドメインが、配列番号45の配列を含む、実施形態14に記載の組換えタンパク質。

【0272】

実施形態20．前記重鎖可変ドメインが、配列番号48の配列を含む、実施形態14又は19に記載の組換えタンパク質。

【0273】

実施形態21．前記軽鎖可変ドメインが、配列番号54に記載されるFR L1と、配列

50

番号 55 に記載される F R L 2 と、配列番号 56 に記載される F R L 3 と、配列番号 57 に記載される F R L 4 とを含む、実施形態 14、19、又は 20 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

【0274】

実施形態 22．前記重鎖可変ドメインが、配列番号 66 に記載される F R H 1 と、配列番号 67 に記載される F R H 2 と、配列番号 68 に記載される F R H 3 と、配列番号 69 に記載される F R H 4 とを含む、実施形態 14、又は 19～21 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

【0275】

実施形態 23．前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 46 の配列を含む、実施形態 14 に記載の組換えタンパク質。

10

【0276】

実施形態 24．前記重鎖可変ドメインが、配列番号 49 の配列を含む、実施形態 14 又は 23 14 又は 23 に記載の組換えタンパク質。

【0277】

実施形態 25．前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 58 に記載される F R L 1 と、配列番号 59 に記載される F R L 2 と、配列番号 60 に記載される F R L 3 と、配列番号 61 に記載される F R L 4 とを含む、実施形態 14、23、又は 24 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

【0278】

20

実施形態 26．前記重鎖可変ドメインが、配列番号 70 に記載される F R H 1 と、配列番号 71 に記載される F R H 2 と、配列番号 72 に記載される F R H 3 と、配列番号 73 に記載される F R H 4 とを含む、実施形態 14、又は 23～25 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

【0279】

実施形態 27．前記第 1 の抗体領域が第 1 の F a b ' フラグメントであるか、又は前記第 2 の抗体領域が第 2 の F a b ' フラグメントである、実施形態 1～26 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

【0280】

実施形態 28．前記第 1 の抗体領域が第 1 の単鎖可変フラグメント (s c F v) であるか、又は前記第 2 の抗体領域が第 2 の単鎖可変フラグメント (s c F v) である、実施形態 1～26 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

30

【0281】

実施形態 29．前記第 2 の抗体領域が、約 5 n M 未満の平衡解離定数 (K_D) で B A F F - R タンパク質に結合可能である、実施形態 1～28 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

【0282】

実施形態 30．前記第 2 の抗体領域が、約 4 n M 未満の平衡解離定数 (K_D) で B A F F - R タンパク質に結合可能である、実施形態 1～29 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

40

【0283】

実施形態 31．前記第 1 の抗体領域が、

(a) 配列番号 74 に記載される C D R L 1 と、配列番号 75 に記載される C D R L 2 と、配列番号 76 に記載される C D R L 3 とを含む軽鎖可変ドメインと、

(b) 配列番号 77 に記載される C D R H 1 と、配列番号 78 に記載される C D R H 2 と、配列番号 79 に記載される C D R H 3 とを含む重鎖可変ドメインとを含む、実施形態 1～30 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

【0284】

実施形態 32．前記第 1 の抗体領域が、

(a) 配列番号 81 に記載される C D R L 1 と、配列番号 82 に記載される C D R L

50

2 と、配列番号 83 に記載される C D R L 3 とを含む軽鎖可変ドメインと、
(b) 配列番号 84 の C D R H 1 と、配列番号 85 の C D R H 2 と、配列番号 86 の C D R H 3 とを含む重鎖可変ドメインとを含む、実施形態 1 ～ 30 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

【0285】

実施形態 33 . 前記第 1 の抗体領域が、第 1 の単鎖可変フラグメント (s c F v) である、実施形態 1 ～ 32 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

【0286】

実施形態 34 . 前記第 1 の s c F v が、配列番号 80 の配列又は配列番号 87 の配列を含む、実施形態 33 に記載の組換えタンパク質。

【0287】

実施形態 35 . 前記エフェクター細胞リガンドが、C D 3 タンパク質である、実施形態 1 ～ 34 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

【0288】

実施形態 36 . 前記第 2 の抗体領域が、B A F F - R タンパク質に結合している、実施形態 1 ～ 35 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質。

【0289】

実施形態 37 . 前記 B A F F - R タンパク質が、ヒト B A F F - R タンパク質である、実施形態 36 に記載の組換えタンパク質。

【0290】

実施形態 38 . 前記 B A F F - R タンパク質が、細胞の一部を形成する、実施形態 36 に記載の組換えタンパク質。

【0291】

実施形態 39 . 前記 B A F F - R タンパク質が、前記細胞の表面上に発現する、実施形態 38 に記載の組換えタンパク質。

【0292】

実施形態 40 . 前記細胞は、リンパ球細胞である、実施形態 39 に記載の組換えタンパク質。

【0293】

実施形態 41 . 前記細胞は、B 細胞である、実施形態 39 に記載の組換えタンパク質。

【0294】

実施形態 42 . 前記細胞は、がん細胞である、実施形態 39 に記載の組換えタンパク質。

【0295】

実施形態 43 . 前記がん細胞は、リンパ腫細胞である、実施形態 42 に記載の組換えタンパク質。

【0296】

実施形態 44 . 治療有効量の実施形態 1 ～ 43 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質を含む医薬組成物及び薬学的に許容される賦形剤。

【0297】

実施形態 45 . 治療を必要とする対象のがんを治療する方法であって、治療有効量の実施形態 1 ～ 43 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質を対象に投与し、それにより、前記対象のがんを治療することを含む方法。

【0298】

実施形態 46 . 前記がんが、リンパ腫、白血病、又は骨髄腫である、実施形態 45 に記載の方法。

【0299】

実施形態 47 . 治療を必要とする対象の自己免疫疾患を治療する方法であって、治療有効量の実施形態 1 ～ 43 のいずれか 1 つに記載の組換えタンパク質を対象に投与し、それにより、前記対象の自己免疫疾患を治療することを含む方法。

10

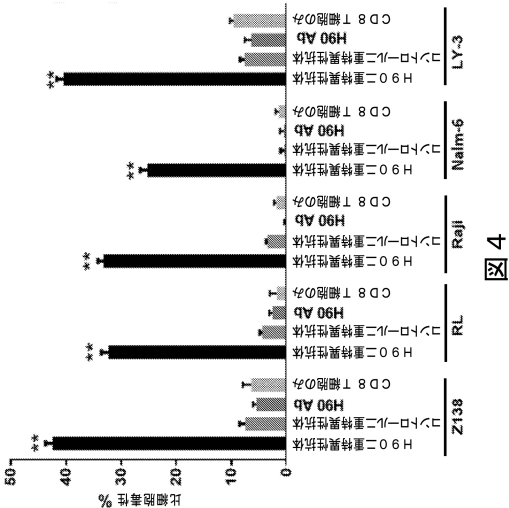
20

30

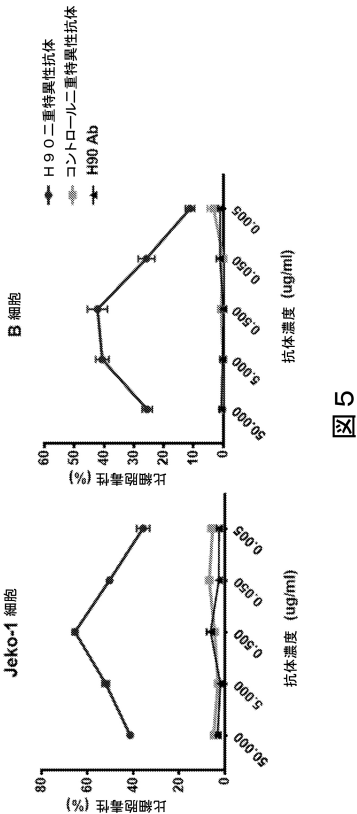
40

50

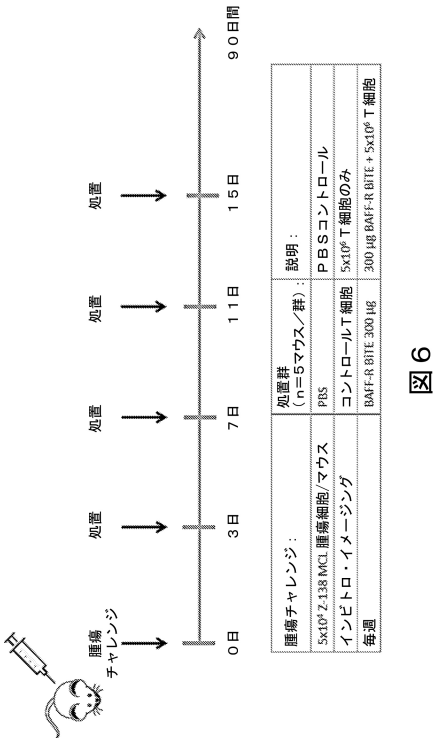
【図 4】



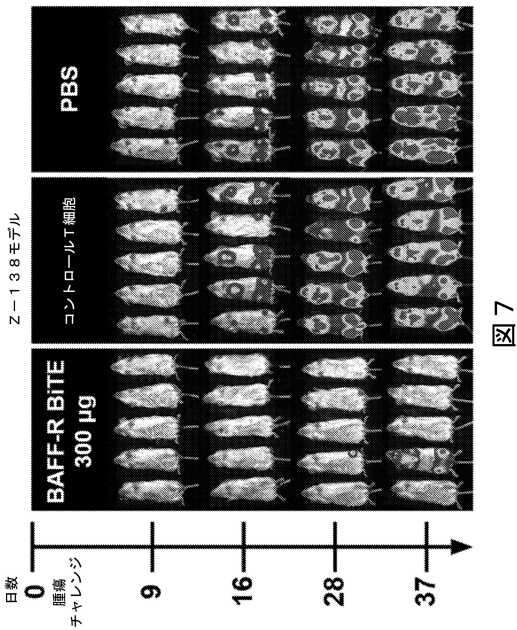
【図 5】



【図 6】



【図 7】



【図 8 A - 1】

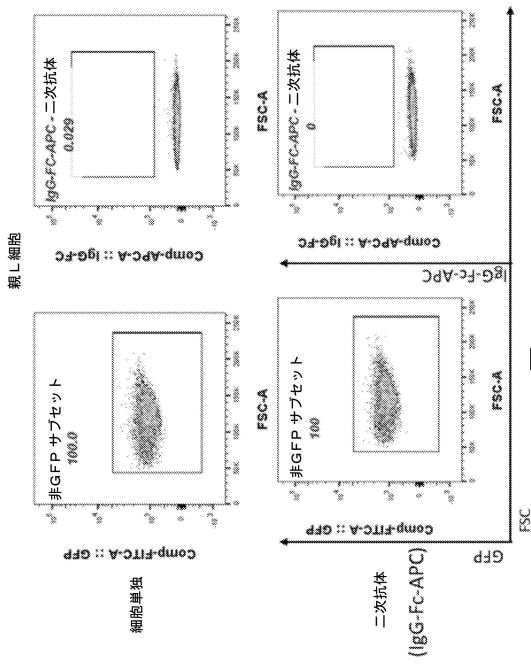


図 8 A

【図 8 A - 2】

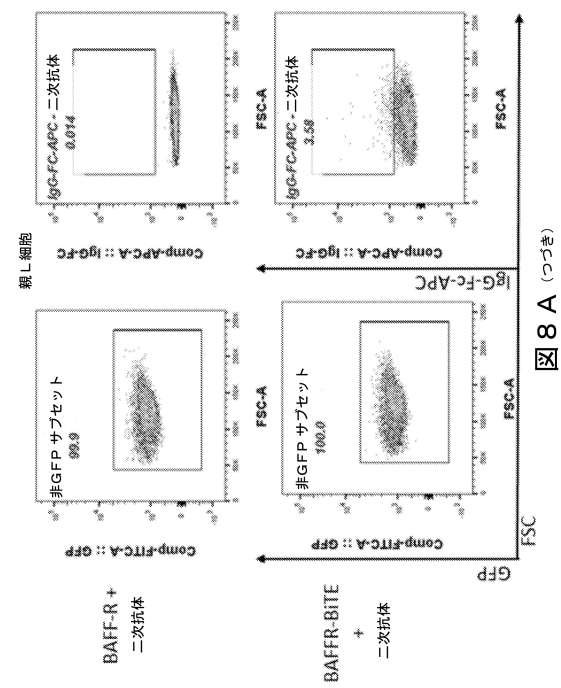


図 8 A (つづき)

【図 8 B - 1】

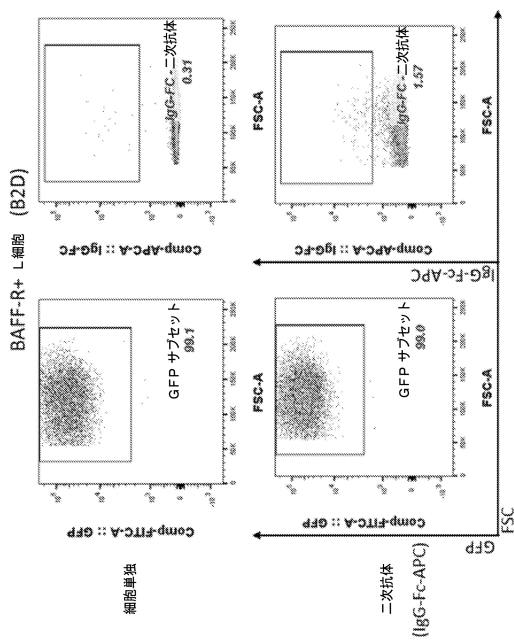


図 8 B

【図 8 B - 2】

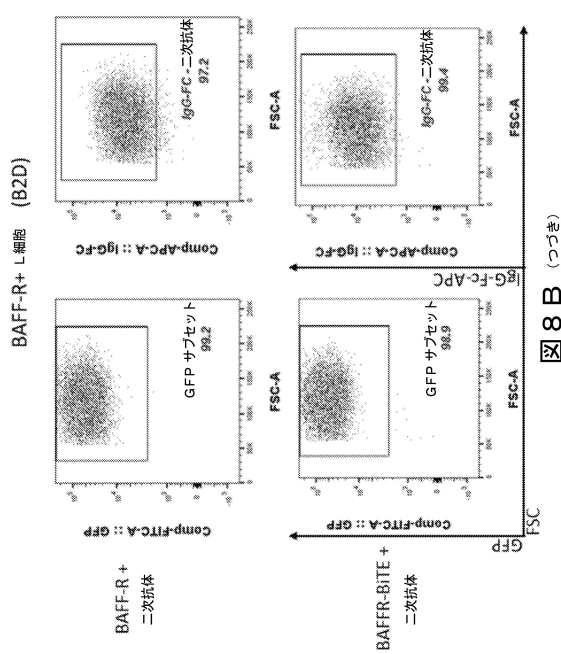


図 8 B (つづき)

10

20

30

40

50

【図 8 C - 1】

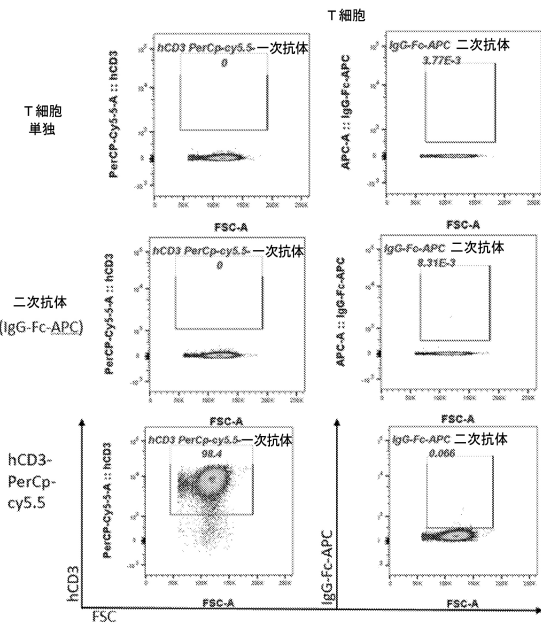


図 8 C

【図 8 C - 2】

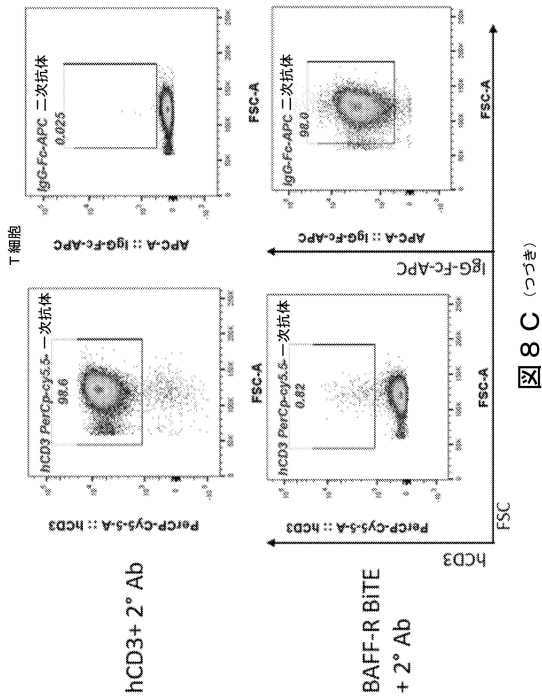


図 8 C (つづき)

【配列表】

2022515152000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 19/67563

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 39/395, A61K 39/00, A61P 35/00 (2020.01)

CPC - C07K 16/00, C07K 16/18

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

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2014/0242077 A1 (ABBVIE, INC.) 28 August 2014 (28.08.2014) Especially Abstract, para [0006], [0008], [0011], [0013], [0123], [0199]	1-5, 27-31, 33-47
Y	WO 2017/214170 A2 (CITY OF HOPE et al.) 14 December 2017 (14.12.2017) Especially pg 1, ln 16-18; pg 14, ln 5-16; pg 20, ln 24-25; pg 20, ln 28-29; pg 21, ln 27-30; pg 24, ln 12-15; pg 31, ln 1-2; SEQ ID NO: 1-6, 18, 24	1-5, 27-31, 33-47
Y	WO 2016/094873 A2 (EMERGENT PRODUCT DEVELOPMENT SEATTLE, LLC) 16 June 2016 (16.06.2016) Especially para [00152], SEQ ID NO: 281-286	31
Y	US 2015/0335706 A1 (BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT) 26 November 2015 (26.11.2015) Especially para [0007], [0046], [0141], SEQ ID NO: 5	28, 33, 34
Y	US 2006/0257398 A1 (HANSEN et al.) 16 November 2006 (16.11.2006) Especially Abstract, para [0016]	46, 47
A	US 2017/0051068 A1 (JANSSEN PHARMACEUTICA NV) 23 February 2017 (23.02.2017) Especially para [0028]-[0029], [0037]	1

☐ 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

29 April 2020

Date of mailing of the international search report

20 MAY 2020

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 Young

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 19/67563

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

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

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

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
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 searched, the appropriate additional search fees must be paid.

----please see continuation in extra sheet----

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying 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.:
1-5, 27-31, 33-34(in part), 35-44 limited to humanized C90-1 and Anti-CD3 scFv 1 (SEQ ID NO: 80); 45-47
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.:

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
Information on patent family members

International application No.

PCT/US 19/67563

Continuation of Box No. III Observations where unity of invention is lacking

Group I+, claims 1-44, directed to a recombinant protein comprising a first antibody region capable of binding an effector cell ligand and a second antibody region, and a pharmaceutical composition comprising said recombinant protein. The protein and composition will be searched to the extent that the recombinant protein encompasses a second antibody region comprising humanized C90-1 with the following sequences: light chain variable SEQ ID NO:7, heavy chain variable domain SEQ ID NO: 10, light chain variable domain CDR L1-L3 SEQ ID Nos:1-3, heavy chain variable domain CDR H1-H3 SEQ ID Nos:4-6, FR L1 SEQ ID NO: 13, FR L2 SEQ ID NO:14, FR L3 SEQ ID NO:15, FR L4, SEQ ID NO:16, FR H1 SEQ ID NO:25, FR H2 SEQ ID NO:26, FR H3 SEQ ID NO:27 and FR H4 SEQ ID NO:28; and first antibody region encompasses Anti-CD3 scFv 1 (SEQ ID NO: 80) with the following sequences: LCDR1-3 SEQ ID Nos: 74-76, HCDR1-3 SEQ ID Nos: 77-79. It is believed that claims 1-5, 27-31, 33-34(in part), 35-44 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the recombinant protein encompasses humanized C90-1 (SEQ ID Nos: 1-7, 10, 13-16, 25-28) and Anti-CD3 scFv 1 (SEQ ID NO: 80). Additional recombinant protein(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected recombinant protein(s). 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 a recombinant protein comprising second antibody region humanized C90-2, SEQ ID Nos: 8, 11, 1-6, 17-20, 29-32, and first antibody region Anti-CD3 scFv 1, SEQ ID NOs: 74-80 (claims 1, 6-9, 27-31, 33-34(in part), 35-44).

[for sequence definitions see present applicant specification INFORMAL SEQUENCE LISTING starting at para [0173]]

Group II, claims 45-47, directed to a method of treating a disease in a subject in need thereof.

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

Special technical features

Group I+ has the special technical feature of a composition comprising or consisting of a peptide, that is not required by Group II.

Group II has the special technical feature of administering to a subject a therapeutically effective amount of a recombinant protein, thereby treating said subject, that is not required by Group I+.

The inventions of Group I+ each include the special technical feature of a unique amino acid sequence. Each amino acid sequence encodes a unique peptide, and is considered a distinct technical feature.

Common technical features

The inventions of Group I+ and Group II share the common technical feature of a recombinant protein.

No technical features are shared between the recombinant protein amino acid sequences of Group I+ and accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if the inventions listed as Group I+ were considered to share the technical features of including: a pharmaceutical composition comprising a therapeutically effective amount of a recombinant protein and a pharmaceutically acceptable excipient, the recombinant protein comprising: (i) a first antibody region capable of binding an effector cell ligand; and (ii) a second antibody region, comprising: (a) a light chain variable domain comprising a three CDRs and (b) a heavy chain variable domain comprising three CDRs, these shared technical features are previously disclosed by US 2017/0051068 A1 to Janssen Pharmaceutica NV (hereinafter 'Janssen').

Janssen discloses a recombinant protein comprising: (i) a first antibody region capable of binding an effector cell ligand; and (ii) a second antibody region (abstract; para [0026]-[0029]: "In preferred embodiments, the BCMAxCD3 multispecific antibody or antigen-binding fragment is a bispecific antibody or antigen-binding fragment. In some embodiments, a recombinant BCMAxCD3 bispecific antibody comprising..."; note that CD3 is an effector cell ligand), the second antibody region comprising: a light chain variable domain comprising a three CDRs and a heavy chain variable domain comprising three CDRs (claim 1). Janssen further teaches a pharmaceutical composition comprising a therapeutically effective amount of a recombinant protein and a pharmaceutically acceptable excipient (para [0037]: "Further provided herein are pharmaceutical compositions comprising the BCMAxCD3 multispecific antibodies or antigen-binding fragments and a pharmaceutically acceptable carrier."; para [0161]: "Examples of suitable carriers, diluents and/or excipients include one or more of water, saline, phosphate buffered saline, dextrose, glycerol, ethanol, and the like, as well as any combination thereof.").

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

Therefore, Group I+ and II inventions lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

Note: Claim 26 as drafted states: "The recombinant protein of any one of claim 14". For the purposes of this application, claim 26 is instead construed as if it states: "The recombinant protein of claim 14".

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 P 37/02

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395

T

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 K 39/395

U

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

A 6 1 K 39/395

E

A 6 1 K 39/395

D

A 6 1 P 37/04

C 1 2 N 15/13

Z N A

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,N
E,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,K
G,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,N
I,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,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

オン・ストリート・4 3 2

(72)発明者

クワック, ラリー・ダブリュ

アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 1 0 7、パサデナ、ダブ・コート・1 5 3 5

F ターム (参考)

4C085 AA13 AA14 AA16 BB31 BB43 CC22 CC23 EE01

4H045 AA11 AA30 BA41 DA76 EA20 FA74