

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7122370号

(P7122370)

(45)発行日 令和4年8月19日(2022.8.19)

(24)登録日 令和4年8月10日(2022.8.10)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 15/28 (2006.01)

C 1 2 N 15/28

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 0 7 K 16/46

Z N A

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 15/63

Z

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/19

請求項の数 58 (全78頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-504234(P2020-504234)

(86)(22)出願日 平成30年7月25日(2018.7.25)

(65)公表番号 特表2020-528752(P2020-528752
A)

(43)公表日 令和2年10月1日(2020.10.1)

(86)国際出願番号 PCT/US2018/043699

(87)国際公開番号 WO2019/023347

(87)国際公開日 平成31年1月31日(2019.1.31)

審査請求日 令和3年6月3日(2021.6.3)

(31)優先権主張番号 62/537,207

(32)優先日 平成29年7月26日(2017.7.26)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者 517054604

フォーティ セブン, インコーポレイテ
ッド

Forty Seven, Inc.

アメリカ合衆国 9 4 4 0 4 カリフォル
ニア州 フォスター シティ レイクサ
イド ドライブ 3 3 3

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗SIRP - アルファ抗体及び関連方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヒトSIRP に特異的に結合する単離ヒト化またはキメラ抗体であって、

SEQ ID NO: 1に記載の配列を含むCDR - H1; SEQ ID NO: 2に記載の配列を含むCDR - H2; SEQ ID NO: 3に記載の配列を含むCDR - H3; SEQ ID NO: 4に記載の配列を含むCDR - L1; SEQ ID NO: 5に記載の配列を含むCDR - L2; 及びSEQ ID NO: 6に記載の配列を含むCDR - L3を含む、単離抗体。

【請求項2】

SEQ ID NO: 7に記載のV_H配列及びSEQ ID NO: 8に記載のV_L配列を含む、

請求項1に記載の単離抗体。

【請求項3】

SEQ ID NO: 17に記載の重鎖及びSEQ ID NO: 18に記載の軽鎖を含む、請求項1または2に記載の単離抗体。

【請求項4】

SEQ ID NO: 1に記載の配列を含むCDR - H1; SEQ ID NO: 2に記載の配列を含むCDR - H2; SEQ ID NO: 3に記載の配列を含むCDR - H3; SEQ ID NO: 4に記載の配列を含むCDR - L1; SEQ ID NO: 5に記載の配列を含むCDR - L2; 及びSEQ ID NO: 6に記載の配列を含むCDR - L3

10

20

を含む、ヒトSIRP に結合する単離ヒト化またはキメラ抗体であって、前記抗体が、Fc依存性機能（複数可）が低減したヒトFc領域を含む、単離抗体。

【請求項5】

SEQ ID NO: 7に記載のV_H配列及びSEQ ID NO: 8に記載のV_L配列を含む、ヒトSIRP に結合する単離ヒト化抗体。

【請求項6】

SEQ ID NO: 17の重鎖及びSEQ ID NO: 18の軽鎖を含む、ヒトSIRP に結合する単離ヒト化抗体。

【請求項7】

前記抗体が、ヒトFc受容体への結合を低減させる少なくとも1つの修飾をさらに含む、請求項6に記載の単離抗体。

10

【請求項8】

(a) ヒトSIRP への結合について、KW ar 抗体と競合しない、ここで、前記KW ar 抗体が、SEQ ID NO: 46のV_H配列及びSEQ ID NO: 47のV_L配列を含むか、

(b) ヒトSIRP への結合について、KW ar 抗体と部分的に競合する、ここで、前記KW ar 抗体が、SEQ ID NO: 46のV_H配列及びSEQ ID NO: 47のV_L配列を含むか、

(c) ヒトSIRP へのヒトCD47の結合を阻害するか、

(d) ヒトSIRP へのヒトSP-Aの結合を阻害するか、

20

(e) ヒトSIRP へのヒトSP-Dの結合を阻害するか、

(f) アカゲザルSIRP に結合するか、

(g) カニクイザルSIRP に結合するか、

(h) 対照と比較して貪食を増加させるか、

(i) ヒトSIRP アイソタイプV1及びV2のそれぞれに結合するか、

(j) ヒトSIRP アイソタイプV1、V2、及びV1/V5のそれぞれに結合するか、

(k) ヒトSIRP アイソタイプV1に結合するか、

(l) ヒトSIRP アイソタイプV2に結合するか、または

(m) (a) ~ (l) の任意の組み合わせが可能である、

30

請求項1~7のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項9】

ヒトSIRP アイソタイプに汎特異的である、請求項1~8のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項10】

ヒトSIRP が、プロフェッショナル抗原提示細胞上で発現される、請求項1~9のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項11】

ヒトSIRP が、マクロファージ上で発現される、請求項1~10のいずれか一項に記載の単離抗体。

40

【請求項12】

Fc領域を欠損している、請求項1、2、5、および8~11のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項13】

前記ヒトFc領域が、IgG1またはIgG4である、請求項4、または、請求項4を引用する場合の請求項8~11のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項14】

酵素的脱グリコシル化、細菌宿主での発現、またはグリコシル化に利用されるアミノ酸残基の修飾により、グリコシル化が低減している、請求項1~13のいずれか一項に記載の単離抗体。

50

【請求項 15】

前記抗体がヒト F c 領域を含み、前記修飾が、前記ヒト F c 領域のグリコシル化を低減させる、請求項 14 に記載の単離抗体。

【請求項 16】

前記ヒト F c 領域の修飾が、E U インデックス位置アスパラギン 297 に修飾を含む、請求項 15 に記載の単離抗体。

【請求項 17】

前記ヒト F c 領域の修飾が、E U インデックス位置アスパラギン 297 にアミノ酸置換を含む、請求項 15 または 16 に記載の単離抗体。

【請求項 18】

前記ヒト F c 領域の修飾が、E U インデックスによる番号付けで N 297 A アミノ酸置換を含む、請求項 15 ~ 17 のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項 19】

前記修飾が、E U インデックスによる番号付けで N 297 A ; L 234 A / L 235 A ; C 220 S / C 226 S / C 229 S / P 238 S ; C 226 S / C 229 S / E 233 P / L 234 V / L 235 A ; または L 234 F / L 235 E / P 331 S の 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項 15 ~ 18 のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項 20】

前記修飾が、E U インデックスによる番号付けで N 297 ; L 234 / L 235 ; C 220 / C 226 / C 229 / P 238 ; C 226 / C 229 / E 233 / L 234 / L 235 ; または L 234 / L 235 / P 331 における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項 15 ~ 19 のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項 21】

前記修飾が、C H 2 領域の E U インデックス位置 234、235、及び / または 237 における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項 15 ~ 20 のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項 22】

前記修飾が、E U インデックスによる番号付けでアミノ酸置換 L 234 A 及び L 235 A の一方または両方を含む、請求項 15 ~ 21 のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項 23】

前記修飾が、E U インデックスによる番号付けでアミノ酸置換 P 331 S 及び / または K 322 A 及び / または G 237 A をさらに含む、請求項 22 に記載の単離抗体。

【請求項 24】

前記修飾が、E U インデックスによる番号付けでアミノ酸置換 K 322 A を含む、請求項 15 ~ 23 のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項 25】

前記修飾が、E U インデックスによる番号付けで E 233 P / L 234 V / L 235 A / G 236 + A 327 G / A 330 S / P 331 S を含む、請求項 15 ~ 24 のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項 26】

モノクローナル抗体である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項 27】

多重特異性である、請求項 1 ~ 26 のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項 28】

複数の抗原、または単一の抗原上の複数のエピトープに結合する、請求項 1 ~ 27 のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項 29】

I g G、I g A、I g D、I g E、及び I g M から選択されるクラスの重鎖定常領域を含む、請求項 1 ~ 11 および 13 のいずれか一項、または、請求項 12 を直接的にも間接的にも引用しない場合の請求項 14 ~ 28 のいずれか一項に記載の単離抗体。

10

20

30

40

50

【請求項 30】

前記 I g G クラス、且つ I g G 1、I g G 4、I g G 2、及び I g G 3 から選択されるサブクラスの重鎖定常領域を含む、請求項 29 に記載の単離抗体。

【請求項 31】

B i a c o r e アッセイで測定された 1、1 ~ 6、1 ~ 5、1 ~ 4、1 ~ 3、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10×10^{-9} M 以下の K_D で、ヒト S I R P に結合する、請求項 1 ~ 30 のいずれか一項に記載の単離抗体。

【請求項 32】

薬物として使用するための、請求項 1 ~ 31 のいずれか一項に記載の単離抗体を含む組成物。

10

【請求項 33】

がんまたは感染症の処置に使用するための、請求項 1 ~ 32 のいずれか一項に記載の単離抗体を含む組成物。

【請求項 34】

固形腫瘍及び血液腫瘍から選択されるがんの処置に使用するための、請求項 1 ~ 33 のいずれか一項に記載の単離抗体を含む組成物。

【請求項 35】

食欲の増加に使用するための、請求項 1 ~ 34 のいずれか一項に記載の単離抗体を含む組成物。

【請求項 36】

(i) 請求項 1 ~ 35 のいずれか一項に記載の単離抗体、(i i) 前記単離抗体の V_H 及び V_L、または(i i i) 前記単離抗体の軽鎖及び前記単離抗体の重鎖、あるいはその抗原結合部位をコードする、ポリヌクレオチドのセット。

20

【請求項 37】

請求項 36 に記載のポリヌクレオチドのセットを含む、ベクターまたはベクターのセット。

【請求項 38】

請求項 36 に記載のポリヌクレオチドのセットまたは請求項 37 に記載のベクターもしくはベクターのセットを含む、宿主細胞。

【請求項 39】

請求項 38 に記載の宿主細胞で抗体を発現させること、及び前記発現された抗体を単離することを含む、抗体の産生方法。

30

【請求項 40】

請求項 1 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の抗体及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項 41】

疾患または状態の処置または予防を必要とする対象における疾患または状態を処置または予防するための、請求項 1 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の抗体を含む組成物または請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 42】

前記疾患または状態が、

(a) がん、

(b) 感染症、

(c) ウイルス感染症、

(d) 細菌感染症、

(e) 真菌感染症、

(f) 線維症、

(g) アテローム性動脈硬化症；

(h) 寄生虫感染症、及び

(i) 造血幹細胞の移植のための、放射線及び / または化学療法を伴わないかまたはこ

40

50

れが低減されたコンディショニングを可能にする、内因性造血幹細胞の骨髄からの枯渇または低減

から選択される、請求項 4 1 に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 4 3】

前記寄生虫感染症がマラリアである、請求項 4 2 に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 4 4】

造血幹細胞の移植のための、放射線及び／または化学療法を伴わないかまたはこれが低減されたコンディショニングを可能にする、内因性造血幹細胞の骨髄からの前記枯渇または低減が、抗 C K I T (C D 1 1 7) 抗体と組み合わせたものである、請求項 4 2 に記載の組成物または医薬組成物。

10

【請求項 4 5】

前記疾患または状態が、がんであり、前記がんが、固形腫瘍及び血液腫瘍から選択される、請求項 4 2 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 4 6】

食食の増加を必要とする対象において食食を増加させるための、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の抗体を含む組成物または請求項 4 0 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 7】

免疫応答の調節を必要とする対象において免疫応答を調節するための、請求項 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の抗体を含む組成物または請求項 4 0 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 4 8】

前記組成物または医薬組成物が、前記対象に 1 つ以上の追加の治療薬と組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項 4 1 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 4 9】

前記追加の治療薬が、抗体である、請求項 4 8 に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 5 0】

前記追加の治療薬が、腫瘍細胞表面上のタンパク質（複数可）に結合する抗体である、請求項 4 9 に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 5 1】

前記追加の治療薬が、移植療法のために造血幹細胞を枯渇させるために

30

(a) H E R 2 (E R B B 2 / n e u)、C D 5 2、P D - L 1、V E G F、C D 3 0、E G F R、C D 3 8、R A N K L (C D 2 5 4)、G D 2 (ガングリオシド)、S L A M F 7 (C D 3 1 9)、C D 2 0、E G F R、P D G F R a、V E G F R 2、C D 3 3、C D 4 4、C D 9 9、C D 9 6、C D 9 0、C D 1 3 3、C K I T (C K I T 陽性腫瘍に対する C D 1 1 7)、

(b) C T L A - 4、P D - 1、P D - L 1、C D 4 0 (アゴニスト)、L A G 3 (C D 2 2 3)、4 1 B B (C D 1 3 7 アゴニスト)、O X 4 0 (C D 1 3 4、アゴニスト)、及び／または

(c) C K I T (C D 1 1 7)

に結合する抗体である、請求項 4 9 に記載の組成物または医薬組成物。

40

【請求項 5 2】

前記抗体が、リツキシマブ、セツキシマブ、アレムツズマブ (C D 5 2)、アテゾリズマブ (P D - L 1)、アベルマブ (P D - L 1)、ベバシズマブ (V E G F)、ブレンツキシマブ (C D 3 0)、ダラツムマブ (C D 3 8)、デノスマブ (R A N K L)、ジヌツキシマブ (G D 2)、エロツズマブ (S L A M F 7)、イブリツモマブ (C D 2 0)、イピリムマブ (C T L A - 4)、ネシツムマブ (E G F R)、ニボルマブ (P D - 1)、オピヌツズマブ (C D 2 0)、オフアツムマブ (C D 2 0)、オララツマブ (P D G F R a)、パニツムマブ (E G F R)、ペンプロリズマブ (P D - 1)、ペルツズマブ (H E R 2)、ラムシルマブ (V E G F R 2)、トシツモマブ (C D 2 0)、及びゲムツズマブ (C D 3 3) のうちの少なくとも 1 つである、請求項 4 9 に記載の組成物または医薬組成物。

50

【請求項 5 3】

前記追加の治療薬が、前記抗体と同じ組成物または医薬組成物に製剤化される、請求項 4 8 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 5 4】

前記追加の治療薬が、前記抗体とは異なる組成物または医薬組成物に製剤化される、請求項 4 8 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 5 5】

前記追加の治療薬が、前記組成物または医薬組成物の投与の前に投与されることを特徴とする、請求項 4 8 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 5 6】

前記追加の治療薬が、前記組成物または医薬組成物の投与後に投与されることを特徴とする、請求項 4 8 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 5 7】

前記追加の治療薬が、前記組成物または医薬組成物と同時に投与されることを特徴とする、請求項 4 8 ~ 5 4 のいずれか 1 項に記載の組成物または医薬組成物。

【請求項 5 8】

請求項 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の抗体または請求項 4 0 に記載の医薬組成物及び使用説明書を含む、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2017年7月26日に提出された米国仮出願第62/537,207号の恩典を主張し、これは、あらゆる目的のために全体が参照により本明細書で組み込まれる。

【0002】

配列表

本出願は、E F S - W e b を介して送信されている配列表を含有し、全体が参照により本明細書で組み込まれる。20XX年XX月に作成された該A S C I I コピーは、X X X X X U S _ _ s e q u e n c e l i s t i n g . t x t と名付けられ、サイズがX, X X X, X X X バイトである。

【背景技術】

【0003】

背景

細胞のターンオーバーは、アポトーシスプログラムの誘導または除去のためにそれらをマークする他の細胞変化、及び、その後の、マクロファージ、樹状細胞などを含む食細胞によるマーカーの認識から始まる。本プロセスは、望ましくない細胞の特定の且つ選択的な除去を必要とする。健康な細胞とは異なり、望ましくない/熟成した/瀕死の細胞は、食細胞上の受容体により順次認識され得る「e a t - m e」シグナル、すなわち、「自己改変」と呼ばれるマーカーまたはリガンドを提示する。健康な細胞は、貪食を積極的に阻害する「d o n ' t e a t - m e」シグナルを提示し得、これらのシグナルは、瀕死の細胞で下方制御されるか、変化したコンフォメーションで存在するか、または、それらに代わって、「e a t - m e」もしくは前貪食シグナルが上方制御される。健康な細胞上の細胞表面タンパク質C D 4 7 及び食細胞受容体であるS I R P の関与は、アポトーシス細胞のクリアランス及びF c R 媒介貪食を含む複数のモダリティにより媒介される飲み込みを止め得る重要な「d o n ' t e a t - m e」シグナルを構成する。食細胞上のS I R P のC D 4 7 媒介エンゲージメントを遮断することは、「e a t m e」シグナルを有する生細胞の除去を引き起こし得る。

【0004】

C D 4 7 は、単一のI g 様ドメイン及び5つの膜貫通領域を有する広範に発現する膜貫通糖タンパク質であり、これは、S I R P のN H 2 末端V様ドメインにより媒介される

10

20

30

40

50

結合により、SIRP の細胞リガンドとして機能する。SIRP は、主に、マクロファージ、顆粒球、骨髄樹状細胞 (DC)、肥満細胞、及び造血幹細胞を含むそれらの前駆細胞を含む骨髄細胞上に発現される。CD47 結合を媒介する SIRP 上の構造決定因子は、Lee et al. (2007) J. Immunol. 179: 7741 - 7750 (非特許文献 1); Hatherley et al. (2007) J. B. C. 282: 14567 - 75 (非特許文献 2) により考察され、CD47 結合の SIRP シス二量体化の役割は、Lee et al. (2010) J. B. C. 285: 37953 - 63 (非特許文献 3) により考察されている。正常細胞の貪食を阻害する CD47 の役割に合わせて、それが遊走段階直前及び遊走段階中に造血幹細胞 (HSC) 及び前駆細胞上で一時的に上方制御されるという証拠、ならびに、それらが *in vivo* で飲み込まれる確率を、これらの細胞上の CD47 のレベルが決定するという証拠がある。

10

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【文献】Lee et al. (2007) J. Immunol. 179: 7741 - 7750

Hatherley et al. (2007) J. B. C. 282: 14567 - 75

Lee et al. (2010) J. B. C. 285: 37953 - 63

【発明の概要】

【0006】

20

概要

ヒト SIRP に特異的に結合し；ヒト SIRP に特異的に結合せず；任意に、ヒト Fc 受容体への結合を低減する少なくとも 1 つの修飾を含むヒト Fc 領域を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体が本明細書に開示される。

【0007】

一部の態様では、抗体は、SEQ ID NO: 1 に記載の配列を含む CDR - H1；SEQ ID NO: 2 に記載の配列を含む CDR - H2；SEQ ID NO: 3 に記載の配列を含む CDR - H3；SEQ ID NO: 4 に記載の配列を含む CDR - L1；SEQ ID NO: 5 に記載の配列を含む CDR - L2；及び SEQ ID NO: 6 に記載の配列を含む CDR - L3；または、SEQ ID NO: 9 に記載の配列を含む CDR - H1；SEQ ID NO: 10 に記載の配列を含む CDR - H2；SEQ ID NO: 11 に記載の配列を含む CDR - H3；SEQ ID NO: 12 に記載の配列を含む CDR - L1；SEQ ID NO: 13 に記載の配列を含む CDR - L2；及び SEQ ID NO: 14 に記載の配列を含む CDR - L3 を含む。

30

【0008】

一部の態様では、抗体は、SEQ ID NO: 7 に記載の V_H 配列及び SEQ ID NO: 8 に記載の V_L 配列；または、SEQ ID NO: 15 に記載の V_H 配列及び SEQ ID NO: 16 に記載の V_L 配列を含む。

【0009】

一部の態様では、抗体は、SEQ ID NO: 17 に記載の重鎖及び SEQ ID NO: 18 に記載の軽鎖；または、SEQ ID NO: 19 に記載の重鎖及び SEQ ID NO: 20 に記載の軽鎖を含む。

40

【0010】

SEQ ID NO: 1 に記載の配列を含む CDR - H1；SEQ ID NO: 2 に記載の配列を含む CDR - H2；SEQ ID NO: 3 に記載の配列を含む CDR - H3；SEQ ID NO: 4 に記載の配列を含む CDR - L1；SEQ ID NO: 5 に記載の配列を含む CDR - L2；及び SEQ ID NO: 6 に記載の配列を含む CDR - L3 を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体もまた、本明細書で開示される。

【0011】

SEQ ID NO: 7 の V_H 配列及び SEQ ID NO: 8 の V_L 配列を含む、単離

50

ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体もまた、本明細書で開示される。

【0012】

SEQ ID NO: 17の重鎖及びSEQ ID NO: 18の軽鎖を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体もまた、本明細書で開示される。

【0013】

SEQ ID NO: 9に記載の配列を含むCDR-H1; SEQ ID NO: 10に記載の配列を含むCDR-H2; SEQ ID NO: 11に記載の配列を含むCDR-H3; SEQ ID NO: 12に記載の配列を含むCDR-L1; SEQ ID NO: 13に記載の配列を含むCDR-L2; 及びSEQ ID NO: 14に記載の配列を含むCDR-L3を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体もまた、本明細書で開示される。

10

【0014】

SEQ ID NO: 15のV_H配列及びSEQ ID NO: 16のV_L配列を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体もまた、本明細書で開示される。

【0015】

SEQ ID NO: 19の重鎖及びSEQ ID NO: 20の軽鎖を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体もまた、本明細書で開示される。

【0016】

一部の態様では、本明細書に開示の抗体は、ヒトFc受容体への結合を低減させる少なくとも1つの修飾を含むヒトFc領域を含む。

【0017】

一部の態様では、本明細書に開示の抗体は、(a)ヒトSIRPの結合について、1H9及び3C2から選択される抗体と競合するか、(b)ヒトSIRPの結合について、KWAr抗体と競合しないか、(c)ヒトSIRPの結合について、KWAr抗体と部分的に競合するか、(d)ヒトSIRPとのヒトCD47の結合を阻害するか、(e)ヒトSIRPとのヒトSP-Aの結合を阻害するか、(f)ヒトSIRPとのヒトSP-Dの結合を阻害するか、(g)アカゲザルSIRPに結合するか、(h)カニクイザルSIRPに結合するか、(i)対照と比較して貪食を増加させるか、または(j)(a)~(i)の任意の組み合わせが可能である。

20

【0018】

一部の態様では、本明細書に開示の抗体は、ヒトSIRPアイソタイプに汎特異的である。1H9などの本明細書に開示の抗体は、V1、V2、及びV1/V5のうちの1つ以上を含む複数のヒトSIRPアイソタイプに結合し得る。本明細書に開示の抗体は、ヒトSIRPアイソタイプV1及びV2のそれぞれに結合し得る。本明細書に開示の抗体は、ホモ接合型を含むヒトSIRPアイソタイプV1に結合し得る。本明細書に開示の抗体は、ホモ接合型を含むヒトSIRPアイソタイプV2に結合し得る。本明細書に開示の抗体は、ヒトSIRPアイソタイプV1/V5(ヘテロ接合型)に結合し得る。1H9などの本明細書に開示の抗体は、V1、V2、及びV1/V5のそれぞれを含む複数のヒトSIRPアイソタイプに結合し得る。そのような抗体は、1H9及び3C2を含み得る。ヒトSIRP変種への結合は、PCR及び/またはフローサイトメトリーを含む当該技術分野で既知のアッセイを使用して測定することができる。例えば、所与の試料は、SIRPの状態を決定するために遺伝子型を決定することができ、SIRPへの結合は、フローサイトメトリーを使用して決定することができる。

30

40

【0019】

一部の態様では、本明細書に開示の抗体は、ヒトSIRPアイソタイプに特異的である。

【0020】

一部の態様では、ヒトSIRPは、プロフェッショナル抗原提示細胞上で発現される。一部の態様では、ヒトSIRPは、マクロファージ上で発現される。

【0021】

1H9などの本明細書に開示の抗体は、細胞表面上のヒトSIRPに結合し得る。S

50

I R P への本明細書に開示の抗体の結合は、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、または24時間超安定であり得る。本明細書に開示の抗体は、S I R P への結合時に実質的な内在化を回避し得る。そのような抗体は、そのような抗体のヒト化及び/またはFc操作バージョンを含む1 H 9及び3 C 2を含み得る。ヒトS I R P への結合は、フローサイトメトリー及び/またはI H Cを含む当該技術分野で既知のアッセイを使用して測定することができる。

【0022】

一部の態様では、抗体は、1 H 9または3 C 2である。

【0023】

一部の態様では、ヒトFc領域は、Ig G 1またはIg G 4であり、任意に修飾で修飾されている。

【0024】

一部の態様では、抗体のグリコシル化は、酵素的脱グリコシル化、細菌宿主での発現、またはグリコシル化に利用されるアミノ酸残基の修飾により、低減する。一部の態様では、本明細書に開示の修飾は、ヒトFc領域のグリコシル化を低減する。一部の態様では、ヒトFc領域の修飾は、EUインデックス位置アスパラギン297に修飾を含む。一部の態様では、ヒトFc領域の修飾は、EUインデックス位置アスパラギン297にアミノ酸置換を含む。一部の態様では、ヒトFc領域の修飾は、EUインデックスによる番号付けでN297Aアミノ酸置換を含む。一部の態様では、修飾は、EUインデックスによる番号付けでN297A；L234A/L235A；C220S/C226S/C229S/P238S；C226S/C229S/E3233P/L234V/L235A；またはL234F/L235E/P331Sにおける1つ以上のアミノ酸置換を含む。一部の態様では、修飾は、EUインデックスによる番号付けでN297；L234/L235；C220/C226/C229/P238；C226/C229/E3233/L234/L235；またはL234/L235/P331における1つ以上のアミノ酸置換を含む。一部の態様では、修飾は、CH2領域のEUインデックス位置234、235、及び/または237における1つ以上のアミノ酸置換を含む。一部の態様では、修飾は、EUインデックスによる番号付けでアミノ酸置換L234A及びL235Aの一方または両方、任意に、P331S及び/またはK322A及び/またはG237Aを含む。一部の態様では、修飾は、EUインデックスによる番号付けでアミノ酸置換K322Aを含む。一部の態様では、修飾は、EUインデックスによる番号付けでE233P/L234V/L235A/G236+A327G/A330S/P331Sを含む。

【0025】

一部の態様では、抗体は、モノクローナル抗体である。

【0026】

一部の態様では、抗体は、多重特異性である。一部の態様では、抗体は、複数の抗原、または単一の抗原上の複数のエピトープに結合する。

【0027】

一部の態様では、抗体は、Ig G、Ig A、Ig D、Ig E、及びIg Mから選択されるクラスの重鎖定常領域を含む。一部の態様では、抗体は、Ig Gクラス、且つIg G 1、Ig G 4、Ig G 2、及びIg G 3から選択されるサブクラスの重鎖定常領域を含む。

【0028】

一部の態様では、抗体は、Biacoreアッセイで測定された約1、1~6、1~5、1~4、1~3、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10×10^{-9} M以下のK_Dで、ヒトS I R P に結合する。

【0029】

一部の態様では、本明細書に開示の抗体は、薬物として使用される。一部の態様では、本明細書に開示の抗体は、がんまたは感染症の処置に使用される。一部の態様では、本明細書に開示の抗体は、がんの処置に使用され、がんは、固形腫瘍及び血液腫瘍から選択さ

10

20

30

40

50

れる。一部の態様では、本明細書に開示の抗体は、貪食の増加に使用される。

【0030】

ヒトSIRP の結合について本明細書に開示の抗体と競合する、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体もまた、本明細書で開示される。

【0031】

本明細書に開示の抗体が結合するヒトSIRP エピトープに結合する、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体もまた、本明細書で開示される。

【0032】

本明細書に開示の単離抗体、そのV_H、そのV_L、その軽鎖、その重鎖、またはその抗原結合部分をコードする単離ポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドのセットもまた、本明細書で開示される。

10

【0033】

本明細書に開示のポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットを含むベクターまたはベクターのセットもまた、本明細書で開示される。

【0034】

本明細書に開示のポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドのセット、または本明細書に開示のベクターもしくはベクターのセットを含む宿主細胞もまた、本明細書で開示される。

【0035】

本明細書に開示の宿主細胞で抗体を発現させること、及び発現された抗体を単離することを含む、抗体の産生方法もまた、本明細書で開示される。

20

【0036】

本明細書に開示の抗体及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物もまた、本明細書で開示される。

【0037】

有効量の本明細書に開示の抗体または本明細書に開示の医薬組成物を対象に投与することを含む、疾患または状態を処置または予防することを必要とする対象の疾患または状態を処置または予防する方法もまた、本明細書で開示される。

【0038】

一部の態様では、疾患または状態は、がん；感染症；ウイルス感染症；細菌感染症；真菌感染症；線維症；アテローム性動脈硬化症；寄生虫感染症、任意に、マラリア；ならびに、任意に、抗CKIT（CD117）抗体と組み合わせて、造血幹細胞の移植のための、放射線及び/または化学療法を伴わないかまたはこれが低減されたコンディショニングを可能にする、内因性造血幹細胞の骨髄からの枯渇または低減である。

30

【0039】

一部の態様では、疾患または状態は、がんであり、がんは、固形腫瘍及び血液腫瘍から選択される。

【0040】

有効量の本明細書に開示の抗体または本明細書に開示の医薬組成物を対象に投与することを含む、貪食の増加を必要とする対象において貪食を増加させる方法もまた、本明細書で開示される。

40

【0041】

有効量の本明細書に開示の抗体または本明細書に開示の医薬組成物を対象に投与することを含む、免疫応答の調節を必要とする対象において免疫応答を調節する方法もまた、本明細書で開示される。

【0042】

一部の態様では、本明細書に開示の方法はさらに、1つ以上の追加の治療薬を対象に投与することを含む。

【0043】

一部の態様では、追加の治療薬は、抗体である。一部の態様では、追加の治療薬は、腫

50

瘍細胞表面上のタンパク質（複数可）に結合する抗体である。一部の態様では、追加の治療薬は、移植療法用に造血幹細胞を枯渇させるためにHER2（ERBB2/neu）、CD52、PD-L1、VEGF、CD30、EGFR、CD38、RANKL（CD254）、GD2（ガングリオシド）、SLAMF7（CD319）、CD20、EGFR、PDGFRα、VEGFR2、CD33、CD44、CD99、CD96、CD90、CD133、CKIT（CKIT陽性腫瘍のCD117）；CTLA-4、PD-1、PD-L1、CD40（アゴニスト）、LAG3（CD223）、41BB（CD137アゴニスト）、OX40（CD134、アゴニスト）；及び/またはCKIT（CD117）に結合する抗体である。一部の態様では、追加の治療薬は、リツキシマブ、セツキシマブ、アレムツズマブ（CD52）、アテゾリズマブ（PD-L1）、アベルマブ（PD-L1）、ベバシズマブ（VEGF）、ブレンツキシマブ（CD30）、ダラツムマブ（CD38）、デノスマブ（RANKL）、ジヌツキシマブ（GD2）、エロツズマブ（SLAMF7）、イブリツモマブ（CD20）、イピリムマブ（CTLA-4）、ネシツムマブ（EGFR）、ニボルマブ（PD-1）、オビヌツズマブ（CD20）、オフアツムマブ（CD20）、オララツマブ（PDGFRα）、パニツムマブ（EGFR）、ペンブロリズマブ（PD-1）、ペルツズマブ（HER2）、ラムシルマブ（VEGFR2）、トシツモマブ（CD20）、及びゲムツズマブ（CD33）のうちの少なくとも1つである。

【0044】

一部の態様では、追加の治療薬は、抗体と同じ医薬組成物に製剤化される。一部の態様では、追加の治療薬は、抗体とは異なる医薬組成物に製剤化される。

【0045】

一部の態様では、追加の治療薬は、抗体を投与する前に投与される。一部の態様では、追加の治療薬は、抗体を投与した後に投与される。一部の態様では、追加の治療薬は、抗体と同時に投与される。

【0046】

本明細書に開示の抗体または本明細書に開示の医薬組成物及び使用説明書を含むキットもまた、本明細書で開示される。

【0047】

本発明のこれら及び他の特徴、態様、及び利点は、以下の説明及び添付の図面に関してよりよく理解されるであろう。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

（項目1）

（a）ヒトSIRP に特異的に結合し、

（b）ヒトSIRP 対立遺伝子V1及びV2のそれぞれに結合し、

（c）ヒトSIRP に特異的に結合せず、且つ

（d）ヒトFc受容体への結合を低減させる少なくとも1つの修飾を含むヒトFc領域を任意に含む、

単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体。

（項目2）

（a）SEQ ID NO：1に記載の配列を含むCDR-H1；SEQ ID NO：2に記載の配列を含むCDR-H2；SEQ ID NO：3に記載の配列を含むCDR-H3；SEQ ID NO：4に記載の配列を含むCDR-L1；SEQ ID NO：5に記載の配列を含むCDR-L2；及びSEQ ID NO：6に記載の配列を含むCDR-L3、または

（b）SEQ ID NO：9に記載の配列を含むCDR-H1；SEQ ID NO：10に記載の配列を含むCDR-H2；SEQ ID NO：11に記載の配列を含むCDR-H3；SEQ ID NO：12に記載の配列を含むCDR-L1；SEQ ID NO：13に記載の配列を含むCDR-L2；及びSEQ ID NO：14に記載の配列を含むCDR-L3

を含む、項目1に記載の単離抗体。

(項目 3)

(a) 項目 2 (a) に記載の抗体が、SEQ ID NO : 7 に記載の V_H 配列及び SEQ ID NO : 8 に記載の V_L 配列を含む、または

(b) 項目 2 (b) に記載の抗体が、SEQ ID NO : 15 に記載の V_H 配列及び SEQ ID NO : 16 に記載の V_L 配列を含む、

先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 4)

(a) 項目 3 (a) に記載の抗体が、SEQ ID NO : 17 に記載の重鎖及び SEQ ID NO : 18 に記載の軽鎖を含む、または

(b) 項目 3 (b) に記載の抗体が、SEQ ID NO : 19 に記載の重鎖及び SEQ ID NO : 20 に記載の軽鎖を含む、

先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 5)

SEQ ID NO : 1 に記載の配列を含む CDR - H1 ; SEQ ID NO : 2 に記載の配列を含む CDR - H2 ; SEQ ID NO : 3 に記載の配列を含む CDR - H3 ; SEQ ID NO : 4 に記載の配列を含む CDR - L1 ; SEQ ID NO : 5 に記載の配列を含む CDR - L2 ; 及び SEQ ID NO : 6 に記載の配列を含む CDR - L3 を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体。

(項目 6)

SEQ ID NO : 7 に記載の V_H 配列及び SEQ ID NO : 8 に記載の V_L 配列を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体。

(項目 7)

SEQ ID NO : 17 の重鎖及び SEQ ID NO : 18 の軽鎖を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体。

(項目 8)

SEQ ID NO : 9 に記載の配列を含む CDR - H1 ; SEQ ID NO : 10 に記載の配列を含む CDR - H2 ; SEQ ID NO : 11 に記載の配列を含む CDR - H3 ; SEQ ID NO : 12 に記載の配列を含む CDR - L1 ; SEQ ID NO : 13 に記載の配列を含む CDR - L2 ; 及び SEQ ID NO : 14 に記載の配列を含む CDR - L3 を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体。

(項目 9)

SEQ ID NO : 15 に記載の V_H 配列及び SEQ ID NO : 16 に記載の V_L 配列を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体。

(項目 10)

SEQ ID NO : 19 の重鎖及び SEQ ID NO : 20 の軽鎖を含む、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体。

(項目 11)

ヒト Fc 受容体への結合を低減させる少なくとも 1 つの修飾を任意に含む、Fc 依存性機能 (複数可) が低減したヒト Fc 領域を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 12)

(a) ヒト SIRP の結合について、1H9 及び 3C2 から選択される抗体と競合するか、

(b) ヒト SIRP への結合について、KW ar 抗体と競合しないか、

(c) ヒト SIRP への結合について、KW ar 抗体と部分的に競合するか、

(d) ヒト SIRP へのヒト CD47 の結合を阻害するか、

(e) ヒト SIRP へのヒト SP - A の結合を阻害するか、

(f) ヒト SIRP へのヒト SP - D の結合を阻害するか、

(g) アカゲザル SIRP に結合するか、

(h) カニクイザル SIRP に結合するか、

10

20

30

40

50

- (i) 対照と比較して貪食を増加させるか、
- (j) ヒト S I R P 対立遺伝子 V 1 及び V 2 のそれぞれに結合するか、
- (k) ヒト S I R P 対立遺伝子 V 1、V 2、及び V 1 / V 5 のそれぞれに結合するか、
- (l) ヒト S I R P 対立遺伝子 V 1 に結合するか、
- (m) ヒト S I R P 対立遺伝子 V 2 に結合するか、または
- (n) (a) ~ (m) の任意の組み合わせが可能である、
- 先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 1 3)
- ヒト S I R P アイソタイプに汎特異的である、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 1 4)
- 1 つのヒト S I R P アイソタイプに特異的である、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 1 5)
- ヒト S I R P が、プロフェッショナル抗原提示細胞上で発現される、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 1 6)
- ヒト S I R P が、マクロファージ上で発現される、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 1 7)
- 1 H 9 または 3 C 2 である、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 1 8)
- F c 領域を欠損している、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 1 9)
- 前記ヒト F c 領域が、I g G 1 または I g G 4 である、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 2 0)
- 酵素的脱グリコシル化、細菌宿主での発現、またはグリコシル化に利用されるアミノ酸残基の修飾により、グリコシル化が低減している、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 2 1)
- 前記修飾が、前記ヒト F c 領域のグリコシル化を低減させる、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 2 2)
- 前記ヒト F c 領域の修飾が、E U インデックス位置アスパラギン 2 9 7 に修飾を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 2 3)
- 前記ヒト F c 領域の修飾が、E U インデックス位置アスパラギン 2 9 7 にアミノ酸置換を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 2 4)
- 前記ヒト F c 領域の修飾が、E U インデックスによる番号付けで N 2 9 7 A アミノ酸置換を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 2 5)
- 前記修飾が、E U インデックスによる番号付けで N 2 9 7 A ; L 2 3 4 A / L 2 3 5 A ; C 2 2 0 S / C 2 2 6 S / C 2 2 9 S / P 2 3 8 S ; C 2 2 6 S / C 2 2 9 S / E 3 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A ; または L 2 3 4 F / L 2 3 5 E / P 3 3 1 S における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。
- (項目 2 6)
- 前記修飾が、E U インデックスによる番号付けで N 2 9 7 ; L 2 3 4 / L 2 3 5 ; C 2 2 0 / C 2 2 6 / C 2 2 9 / P 2 3 8 ; C 2 2 6 / C 2 2 9 / E 3 2 3 3 / L 2 3 4 / L

10

20

30

40

50

2 3 5 ; または L 2 3 4 / L 2 3 5 / P 3 3 1 における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 2 7)

前記修飾が、前記 C H 2 領域の E U インデックス位置 2 3 4、2 3 5、及び / または 2 3 7 における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 2 8)

前記修飾が、E U インデックスによる番号付けでアミノ酸置換 L 2 3 4 A 及び L 2 3 5 A の一方または両方、及び任意に、P 3 3 1 S 及び / または K 3 2 2 A 及び / または G 2 3 7 A を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 2 9)

前記修飾が、E U インデックスによる番号付けでアミノ酸置換 K 3 2 2 A を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 3 0)

前記修飾が、E U インデックスによる番号付けで E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 + A 3 2 7 G / A 3 3 0 S / P 3 3 1 S を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 3 1)

モノクローナル抗体である、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 3 2)

多重特異性である、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 3 3)

複数の抗原、または単一の抗原上の複数のエピトープに結合する、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 3 4)

I g G、I g A、I g D、I g E、及び I g M から選択されるクラスの重鎖定常領域を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 3 5)

前記 I g G クラス、且つ I g G 1、I g G 4、I g G 2、及び I g G 3 から選択されるサブクラスの重鎖定常領域を含む、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 3 6)

B i a c o r e アッセイで測定された約 1、1 ~ 6、1 ~ 5、1 ~ 4、1 ~ 3、2、3、4、5、6、7、8、9、または 1.0×10^{-9} M 以下の K_D で、ヒト S I R P に結合する、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 3 7)

薬物として使用するための、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 3 8)

がんまたは感染症の処置に使用するための、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 3 9)

固形腫瘍及び血液腫瘍から選択されるがんの処置に使用するための、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 4 0)

食欲の増加に使用するための、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体。

(項目 4 1)

ヒト S I R P との結合について、先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体と競合する、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体。

(項目 4 2)

先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体が結合するヒト S I R P エピトープに結合する、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体。

(項目 4 3)

先行項目のいずれか一項に記載の単離抗体、その V_H 、その V_L 、その軽鎖、その重鎖

10

20

30

40

50

、またはその抗原結合部位をコードする、単離ポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセット。

(項目44)

項目43に記載のポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのセットを含む、ベクターまたはベクターのセット。

(項目45)

項目43に記載のポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドのセットまたは項目44に記載のベクターもしくはベクターのセットを含む、宿主細胞。

(項目46)

項目45に記載の宿主細胞で抗体を発現させること、及び前記発現された抗体を単離することを含む、抗体の産生方法。

(項目47)

項目1～42のいずれか1項に記載の抗体及び薬学的に許容される賦形剤を含む、医薬組成物。

(項目48)

疾患または状態の処置または予防を必要とする対象における疾患または状態を処置または予防する方法であって、有効量の項目1～42のいずれか1項に記載の抗体または項目47に記載の医薬組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

(項目49)

前記疾患または状態が、

(a) がん、

(b) 感染症、

(c) ウイルス感染症、

(d) 細菌感染症、

(e) 真菌感染症、

(f) 線維症、

(g) アテローム性動脈硬化症；

(h) 寄生虫感染症、任意に、マラリア、及び

(i) 抗CD117抗体と任意に組み合わせて、造血幹細胞の移植のための、放射線及び/または化学療法を伴わないかまたはこれが低減されたコンディショニングを可能にする、内因性造血幹細胞の骨髄からの枯渇または低減から選択される、項目48に記載の方法。

(項目50)

前記疾患または状態が、がんであり、前記がんが、固形腫瘍及び血液腫瘍から選択される、項目49に記載の方法。

(項目51)

食欲の増加を必要とする対象において食欲を増加させる方法であって、有効量の項目1～42のいずれか1項に記載の抗体または項目47に記載の医薬組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

(項目52)

免疫応答の調節を必要とする対象において免疫応答を調節する方法であって、有効量の項目1～42のいずれか1項に記載の抗体または項目47に記載の医薬組成物を前記対象に投与することを含む、前記方法。

(項目53)

前記対象に1つ以上の追加の治療薬を投与することをさらに含む、項目48～52のいずれか1項に記載の方法。

(項目54)

前記追加の治療薬が、抗体である、項目53に記載の方法。

(項目55)

前記追加の治療薬が、腫瘍細胞表面上のタンパク質(複数可)に結合する抗体である、

10

20

30

40

50

項目 5 4 に記載の方法。

(項目 5 6)

前記追加の治療薬が、移植療法のために造血幹細胞を枯渇させるために

(a) HER2 (ERBB2 / neu)、CD52、PD - L1、VEGF、CD30、EGFR、CD38、RANKL (CD254)、GD2 (ガングリオシド)、SLAMF7 (CD319)、CD20、EGFR、PDGFRA、VEGFR2、CD33、CD44、CD99、CD96、CD90、CD133、CKIT (CKIT 陽性腫瘍に対する CD117)、

(b) CTLA - 4、PD - 1、PD - L1、CD40 (アゴニスト)、LAG3 (CD223)、41BB (CD137 アゴニスト)、OX40 (CD134、アゴニスト)、及び/または

(c) CKIT (CD117)

に結合する抗体である、項目 5 4 に記載の方法。

(項目 5 7)

前記抗体が、リツキシマブ、セツキシマブ、アレムツズマブ (CD52)、アテゾリズマブ (PD - L1)、アベルマブ (PD - L1)、ベバシズマブ (VEGF)、ブレンツキシマブ (CD30)、ドラツムマブ (CD38)、デノスマブ (RANKL)、ジヌツキシマブ (GD2)、エロツズマブ (SLAMF7)、イブリツモマブ (CD20)、イピリムマブ (CTLA - 4)、ネシツムマブ (EGFR)、ニボルマブ (PD - 1)、オビヌツズマブ (CD20)、オフアツムマブ (CD20)、オララツマブ (PDGFRA)、パニツムマブ (EGFR)、ペンブロリズマブ (PD - 1)、ペルツズマブ (HER2)、ラムシルマブ (VEGFR2)、トシツモマブ (CD20)、及びゲムツズマブ (CD33)のうちの少なくとも1つである、項目 5 4 に記載の方法。

(項目 5 8)

前記追加の治療薬が、前記抗体と同じ医薬組成物に製剤化される、項目 5 3 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 9)

前記追加の治療薬が、前記抗体とは異なる医薬組成物に製剤化される、項目 5 3 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 6 0)

前記追加の治療薬が、前記抗体の投与の前に投与される、項目 5 3 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 6 1)

前記追加の治療薬が、前記抗体の投与後に投与される、項目 5 3 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 6 2)

前記追加の治療薬が、前記抗体と同時に投与される、項目 5 3 ~ 6 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 6 3)

項目 1 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載の抗体または項目 4 7 に記載の医薬組成物及び使用説明書を含む、キット。

【図面の簡単な説明】

【0048】

【図 1】1H9 の重鎖 (A) (SEQ ID NO : 55) 及び軽鎖 (B) (SEQ ID NO : 56) 可変領域配列。CDR は、下線が引かれている。

【図 2】3C2 の重鎖 (A) (SEQ ID NO : 57) 及び軽鎖 (B) (SEQ ID NO : 58) 可変領域配列。CDR は、下線が引かれている。

【図 3】1H9 及び 3C2 は、異なるエピトープを認識する。(A) SIRP a - Fc 融合タンパク質を 96 ウェルプレートにコーティングし、50 倍または 100 倍過剰量のマウス Kw ar の非存在下または存在下で、1H9 または 3C2 と共にインキュベートした

10

20

30

40

50

。(B) S I R P a - F c 融合タンパク質を96ウェルプレートにコーティングし、5倍、10倍、50倍、及び100倍過剰量の1H9または3C2の非存在下または存在下で、マウス1H9と共にインキュベートした。(C) S I R P a - F c 融合タンパク質を96ウェルプレートにコーティングし、5倍、10倍、50倍、及び100倍過剰量の3C2または1H9の非存在下または存在下で、マウス3C2と共にインキュベートした。

【図4】1H9及び3C2は、リツキシマブと相乗作用して、R a j i 細胞のマクロファージ媒介貪食を促進する。マクロファージは、7日間ヒト血清の存在下で、ドナーA (A) 及びドナーB (B) の単球から分化した。R a j i 細胞をC F S E で標識し、単独のまたは10ug/mlの1H9 - G 4、1H9 - G 1、3C2 - G 4、または3C2 - G 1と組み合わせた10ug/mlのリツキシマブの存在下で、マクロファージと共にインキュベートした。2時間後、G F P + マクロファージを確認するフローサイトメトリー分析により、貪食の割合を計算した。

10

【図5】ヒト化1H9の重鎖(A) (SEQ ID NO: 7) 及び軽鎖(B) (SEQ ID NO: 8) 可変領域配列。CDRは、下線が引かれている。

【図6】ヒト化3C2の重鎖(A) (SEQ ID NO: 15) 及び軽鎖(B) (SEQ ID NO: 16) 可変領域配列。CDRは、下線が引かれている。

【図7】ヒト化1H9及び3C2は、親抗体と同じ抗原結合特異性を有する。(A) S I R P a - F c 融合タンパク質を、96ウェルプレートにコーティングし、5倍、10倍、50倍、及び100倍過剰量のヒト化1H9の非存在下または存在下で、マウス1H9と共にインキュベートした。(B) S I R P a - F c 融合タンパク質を、96ウェルプレートにコーティングし、5倍、10倍、50倍、及び100倍過剰量のヒト化3C2の非存在下または存在下で、マウス3C2とインキュベートした。

20

【図8】ヒト化1H9及び3C2のB i a c o r e 親和性測定。

【図9】ヒト化1H9及び3C2は、治療用抗体と相乗作用して、貪食を促進する。(A) R a j i 細胞をC F S E で標識し、単独のまたは10ug/mlのHu1H9 - G 1もしくはHu3C2 - G 1と組み合わせた10ug/mlのリツキシマブの存在下で、ヒト単球由来マクロファージと共にインキュベートした。(B) H T 2 9 細胞をC F S E で標識し、単独のまたは0.5ug/ml、5ug/ml、及び10ug/mlのHu1H9 - G 1もしくはHu3C2の - G 1と組み合わせた0.1ug/mlのセツキシマブの存在下で、ヒト単球由来マクロファージと共にインキュベートした。2時間後、G F P + マクロファージを確認するフローサイトメトリー分析により、貪食の割合を計算した。

30

【図10】S I R P B 及びS I R P G に対する交差反応性。(A) ヒトS I R P B - H i s 融合タンパク質へのK w a r、1H9、及び3C2の結合をE L I S A により決定した。(B) ヒトS I R P G - H i s 融合タンパク質へのK w a r、1H9、及び3C2の結合をE L I S A により決定した。

【図11】9B11及び7E11は、リツキシマブと相乗作用して、R a j i 細胞のマクロファージ媒介貪食を促進する。

【図12】7E11及び9B11エピトープ結合。7E11は、K w a r (3C2に類似している)と比較して重複するエピトープを認識し、9B11は、K w a rと比較して非常に類似または同一のエピトープを認識する。

40

【図13】Hu1H9 - G 1は、細胞上のS I R P a のV 1 及びV 2 変種の両方に結合する。

【図14】Hu1H9 - G 1は、異なるドナー由来の単球へのC D 4 7 の結合を遮断する。

【図15】Hu1H9 - G 1は、セツキシマブと相乗作用して、異なるドナーにわたって貪食を促進する。

【発明を実施するための形態】

【0049】

詳細な説明

定義

別途定義のない限り、本明細書で使用される全ての技術用語、表記、及び他の科学用語

50

は、当業者らにより一般に理解される意味を有することが意図される。一部の 경우에는、一般に理解される意味を有する用語は、明確にするために、及び/または容易な参照のために本明細書で定義されており、本明細書にそのような定義が含まれることは、当該技術分野で一般に理解されているものとの違いを表すとは必ずしも解釈されるべきではない。本明細書に記載または参照される技術及び手順は、当業者らにより、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 4th ed. (2012) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY に記載の広く利用されている分子クローニング方法論などの従来の方法論を使用して、一般によく理解され且つ一般に用いられる。必要に応じて、市販のキット及び試薬の使用を含む手順は一般に、別途明記のない限り、製造者が定義したプロトコール及び条件に従って実行される。

10

【0050】

本明細書で使用される場合、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、及び「その(the)」は、文脈が別途明示しない限り、複数の指示対象を含む。「含む」、「など」などの用語は、別途明記のない限り、限定なしの包含を伝えることが意図される。

【0051】

本明細書で使用される時、「含む」という用語は、別途明記のない限り、列挙されている要素「からなる」及び「から本質的になる」実施形態も具体的に含む。例えば、「ダイアボディを含む」多重特異性抗体は、「ダイアボディからなる」多重特異性抗体及び「ダイアボディから本質的になる」多重特異性抗体を含む。

20

【0052】

「約」という用語は、示された値及びその値の上下範囲を示し、包含する。特定の実施形態では、「約」という用語は、指定値 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 、または $\pm 1\%$ を示す。特定の実施形態では、適用可能な場合、「約」という用語は、指定値(複数可) \pm その値(複数可)の1標準偏差を示す。

【0053】

SIRP 1 (PTPNS1、SHPS1) は、主に骨髄細胞及び神経細胞に発現する膜貫通糖タンパク質である。SIRP は、広く分布している膜タンパク質CD47と相互作用する。SIRP に加えて、SIRPファミリーには、SIRP 及びSIRP の2つの密接に関連するタンパク質がある。3つ全てが、細胞外領域に3つの免疫グロブリンスーパーファミリー(IgSF)ドメインを有する。ヒトにおいて、SIRP タンパク質は、2つの主要な形態で見出される。1つの形態である変種1またはV1形態は、NCBI RefSeq NP_542970.1として記載されるアミノ酸配列を有する(残基27~504は、成熟形態を構成する)。別の形態である変種2またはV2形態は、13アミノ酸だけ異なり、GenBankでCAA71403.1として記載されるアミノ酸配列を有する(残基30~504は、成熟形態を構成する)。SIRP のこれら2つの形態は、ヒトに存在するSIRP の形態の約80%を構成し、両方とも本明細書では「ヒトSIRP」という用語に包含される。「ヒトSIRP」という用語には、ヒトに対して内因性であり且つそれに結合した際にCD47を介したシグナル伝達を起動する同じ性質を有する、その少数形態も包含される。ヒトSIRPa変種の配列は、Genbankアクセッション番号: ref|NP_542970.1; gb|EAX10606.1; ref|XP_005260726.1; gb|EAX10606.1; XP_005260726.1; gb|EAX10611.1; gb|EAX10609.1; dbj|BAA12974.1; gb|AAH26692.1; ref|XP_011527475.1を含む公的なデータベース介してアクセスされてもよい。例えば、参照により本明細書に具体的に組み込まれるLee et al. (2007) J. Immunol. 179(11): 7741-7750を参照のこと。

30

40

【0054】

ヒトSIRP に特異的に結合する抗体は、既知であり、当該技術分野で使用され、本

50

明細書に開示の操作されたFc領域の使用により調整されてもよい。例示的な抗体としては、国際特許出願WO2015/138600、公開米国出願2014/0242095（大学保健ネットワーク（University Health Networks））、公開出願CN103665165（JIANGSU KUANGYA BIOLOGICAL MEDICAL SCIENCE & TECHNOLOGY; Zhao XW et al. Proc Natl Acad Sci USA 108:18342-7 (2011)）（それぞれが参照により具体的に本明細書に組み込まれる）に記載されるものが挙げられる。抗SIRP抗体は、汎特異的、すなわち、2つ以上の異なるヒトSIRPアイソフォームに結合しても、1つのアイソフォームに特異的であってもよい。例えば、上掲のZhang et al.に記載の抗体1.23Aは、SIRP 1変種に特異的であると報告される一方、12C4抗体は、汎特異的である。抗SIRP抗体は、SIRPに特異的でもあり、SIRP及び/またはSIRPへの結合を欠損している可能性がある。抗SIRPa抗体は、SIRP及び/またはSIRPに関して汎特異的であり得る。

【0055】

「免疫グロブリン」という用語は、一般に2対のポリペプチド鎖：1対の軽（L）鎖及び1対の重（H）鎖を含む構造的に関連したタンパク質のクラスを指す。「インタクト免疫グロブリン」では、これらの鎖の4つ全てが、ジスルフィド結合により相互に連結されている。免疫グロブリンの構造は、十分に特徴付けられている。例えば、Paul, Fundamental Immunology 7th ed., Ch. 5 (2013) Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PAを参照のこと。要約すると、各重鎖は通常、重鎖可変領域（V_H）及び重鎖定常領域（C_H）を含む。重鎖定常領域は通常、C_H1、C_H2、及びC_H3と略記される3つのドメインを含む。各軽鎖は通常、軽鎖可変領域（V_L）及び軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は通常、C_Lと略記される1つのドメインを含む。

【0056】

「抗体」という用語は、最も広い意味で本明細書で使用され、抗原またはエピトープに特異的に結合する1つ以上の抗原結合ドメインを含む特定タイプの免疫グロブリン分子を含む。抗体は具体的には、インタクト抗体（例えば、インタクト免疫グロブリン）、抗体フラグメント、及び多重特異性抗体を含む。一部の実施形態では、抗体は、代替骨格を含む。一部の実施形態では、抗体は、代替骨格からなる。一部の実施形態では、抗体は、代替骨格から本質的になる。一部の実施形態では、抗体は、抗体フラグメントを含む。一部の実施形態では、抗体は、抗体フラグメントからなる。一部の実施形態では、抗体は、抗体フラグメントから本質的になる。「SIRP-アルファ抗体」、「抗SIRP-アルファ抗体」、または「SIRP-アルファ特異的抗体」は、本明細書で提供されるように、抗原SIRP-アルファに特異的に結合する抗体である。一部の実施形態では、抗体は、SIRP-アルファの細胞外ドメインに結合する。特定の実施形態では、本明細書で提供されるSIRP-アルファ抗体は、異なる種に由来するSIRP-アルファタンパク質間で保存されているSIRP-アルファのエピトープに結合する。

【0057】

「代替骨格」という用語は、1つ以上の領域が多様化されて、抗原またはエピトープに特異的に結合する1つ以上の抗原結合ドメインを生成し得る分子を指す。一部の実施形態では、抗原結合ドメインは、抗体のものと類似の特異性及び親和性で、抗原またはエピトープに結合する。例示的な代替骨格としては、フィブロネクチン（例えば、Adnectins（商標））、サンドイッチ（例えば、iMab）、リボカリン（例えば、Anticalins（登録商標））、EETI-II/AGRP、BPTI/LACI-D1/ITI-D2（例えば、Kunitzドメイン）、チオレドキシンペプチドアプタマー、プロテインA（例えば、Affibody（登録商標））、アンキリンリピート（例えば、DARPin）、ガンマ-B-クリスタリン/ユビキチン（例えば、Affilins）、CTLD3（例えば、Tetranectins）、Fynomers、及び（

L D L R - A モジュール) (例えば、A v i m e r s) から誘導されるようなものが挙げられる。代替骨格に関する追加情報は、B i n z e t a l . , N a t . B i o t e c h n o l . , 2 0 0 5 2 3 : 1 2 5 7 - 1 2 6 8 ; S k e r r a , C u r r e n t O p i n . i n B i o t e c h . , 2 0 0 7 1 8 : 2 9 5 - 3 0 4 ; 及び S i l a c c i e t a l . , J . B i o l . C h e m . , 2 0 1 4 , 2 8 9 : 1 4 3 9 2 - 1 4 3 9 8 で提供され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。代替骨格は、1つのタイプの抗体である。

【0058】

「抗原結合ドメイン」という用語は、抗原またはエピトープに特異的に結合することが可能な抗体の部分の意味する。抗原結合ドメインの一例は、抗体のV_H-V_L二量体により形成される抗原結合ドメインである。抗原結合ドメインの別の例は、アドネクチンの10番目のフィブロネクチンIII型ドメインからの特定のループの多様化により形成される抗原結合ドメインである。抗原結合ドメインは、軽鎖由来のCDR1、2、及び3をその順序で、重鎖由来のCDR1、2、及び3をその順序で含み得る。

10

【0059】

「全長抗体」、「インタクト抗体」、及び「全抗体」という用語は、天然に存在する抗体構造と実質的に類似する構造を有し且つFc領域を含む重鎖を有する抗体を指すために、本明細書で互換的に使用される。例えば、IgG分子を指すために使用される時、「全長抗体」は、2つの重鎖及び2つの軽鎖を含む抗体である。

【0060】

「Fc領域」または「Fc」という用語は、天然に存在する抗体において、Fc受容体及び補体系の特定のタンパク質と相互作用する免疫グロブリン重鎖のC末端領域を意味する。種々の免疫グロブリンのFc領域の構造、及びそこに含有されるグリコシル化部位は、当該技術分野で既知である。全体が参照により組み込まれるS c h r o e d e r a n d C a v a c i n i , J . A l l e r g y C l i n . I m m u n o l . , 2 0 1 0 , 1 2 5 : 5 4 1 - 5 2 を参照のこと。Fc領域は、天然に存在するFc領域、または当該技術分野もしくは本開示の他の箇所に記載されるように修飾されるFc領域であってよい。

20

【0061】

V_H及びV_L領域はさらに、より保存される領域が点在する、超可変性を有する領域(「超可変領域(HVR)」;「相補性決定領域」(CDR)とも呼ばれる)に細分化され得る。より保存される領域は、フレームワーク領域(FR)と呼ばれる。各V_H及びV_Lは一般に、以下の順序で(N末端からC末端に)配置された3つのCDR及び4つのFRを含む:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。CDRは、抗原結合に関与しており、抗体の抗原特異性及び結合親和性に影響を及ぼす。全体が参照により組み込まれるK a b a t e t a l . , 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 5 t h e d . (1 9 9 1) P u b l i c H e a l t h S e r v i c e , N a t i o n a l I n s t i t u t e s o f H e a l t h , B e t h e s d a , M D を参照のこと。

30

【0062】

任意の脊椎動物種由来の軽鎖は、その定常ドメインの配列に基づいて、カッパ()及びラムダ()と呼ばれる2タイプのうちの1つに割り当てることができる。

40

【0063】

任意の脊椎動物種由来の重鎖は、5つの異なるクラス(またはアイソタイプ):IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMのうちの1つに割り当てることができる。これらのクラスは、それぞれ、 γ 、 δ 、 ϵ 、 μ 、及び μ とも表記される。IgG及びIgAクラスはさらに、配列及び機能の差異に基づいてサブクラスに分けられる。ヒトは、以下のサブクラス:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2を発現する。

【0064】

CDRのアミノ酸配列境界は、上掲のK a b a t e t a l . (“ K a b a t ” 番号付けスキーム); A l - L a z i k a n i e t a l . , 1 9 9 7 , J . M o l . B i o l .

50

, 273:927-948 (“Chothia” 番号付けスキーム); MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol. 262:732-745 (“Contact” 番号付けスキーム); Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol., 2003, 27:55-77 (“IMGT” 番号付けスキーム); 及び Honigge and Pluckthun, J. Mol. Biol., 2001, 309:657-70 (“Aho” 番号付けスキーム)を含む既知の番号付けスキームのいずれかを使用して、当業者が決定することができ、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

【0065】

表1に、Kabat及びChothiaスキームで特定されたCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3の位置を示す。CDR-H1の場合、残基の番号付けは、Kabat及びChothia番号付けスキームの両方を使用して提供される。

10

【0066】

CDRは、例えば、www.bioinf.org.uk/abs/abnum/で入手可能な且つ全体が参照により組み込まれるAbhinandan and Martin, Immunology, 2008, 45:3832-3839に記載されるAbnumなどの抗体の番号付けソフトウェアを使用して、割り当てられてもよい。

【0067】

(表1) Kabat及びChothiaの番号付けスキームによるCDRの残基

20

CDR	Kabat	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97
H1 (Kabat 番号付け)	H31-H35B	H26-H32またはH34*
H1 (Chothia 番号付け)	H31-H35	H26-H32
H2	H50-H65	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102

30

* CDR-H1のC末端は、Kabat番号付け規則を使用して番号付けされる時、CDRの長さに応じてH32及びH34間で異なる。

【0068】

「EU番号付けスキーム」は一般に、抗体重鎖定常領域内の残基を指す時に、(例えば、上掲のKabat et al. で報告されているように)使用される。別途記載のない限り、EU番号付けスキームは、本明細書に記載の抗体重鎖定常領域の残基を指すために使用される。

40

【0069】

「抗体フラグメント」は、インタクト抗体の抗原結合領域または可変領域などの、インタクト抗体の一部を含む。抗体フラグメントは、例えば、Fvフラグメント、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、Fab'フラグメント、scFv(sFv)フラグメント、及びscFv-Fcフラグメントを含む。

【0070】

「Fv」フラグメントは、1つの重鎖可変ドメイン及び1つの軽鎖可変ドメインの非共有結合した二量体を含む。

【0071】

50

「F a b」フラグメントは、重鎖及び軽鎖可変ドメインに加えて、軽鎖の定常ドメイン及び重鎖の最初の定常ドメイン（C_H1）を含む。F a bフラグメントは、例えば、組み換え法により、または全長抗体のパパイン消化により生成されてもよい。

【0072】

「F（a b'）₂」フラグメントは、ジスルフィド結合によりヒンジ領域付近で結合している2つのF a b'フラグメントを含有する。F（a b'）₂フラグメントは、例えば、組み換え法により、またはインタクト抗体のペプシン消化により生成されてもよい。F（a b'）フラグメントは、例えば、-メルカプトエタノールで処理することにより解離することができる。

【0073】

「単鎖F_v」または「s F_v」または「s c F_v」抗体フラグメントは、単一のポリペプチド鎖にV_Hドメイン及びV_Lドメインを含む。V_H及びV_Lは一般に、ペプチドリinkerにより連結されている。Pluckthun A.（1994）を参照のこと。任意の好適なリンカーが使用されてもよい。一部の実施形態では、リンカーは、（GGGGGS）_n（SEQ ID NO：50）である。一部の実施形態では、n = 1、2、3、4、5、または6である。全体が参照により組み込まれるRosenberg M. & Moore G. P.（Eds.）, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies vol. 113（pp. 269 - 315）. Springer-Verlag, New YorkのEscherichia由来の抗体を参照のこと。

【0074】

「s c F_v - F_c」フラグメントは、F_cドメインに結合しているs c F_vを含む。例えば、F_cドメインは、s c F_vのC末端に結合していてもよい。F_cドメインは、s c F_v内の可変ドメインの配向に応じて、V_HまたはV_Lに続いてよい（すなわち、V_H - V_LまたはV_L - V_H）。当該技術分野で既知または本明細書に記載の任意の好適なF_cドメインが使用されてもよい。一部の場では、F_cドメインは、IgG4 F_cドメインを含む。

【0075】

「単一ドメイン抗体」という用語は、抗体の1つの可変ドメインが他の可変ドメインの存在なしに抗原に特異的に結合する分子を指す。単一ドメイン抗体及びそのフラグメントは、Arabi Ghahroudi et al., FEBS Letters, 1998, 414: 521 - 526 and Muyldermans et al., Trends in Biochem. Sci., 2001, 26: 230 - 245に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。単一ドメイン抗体は、s d A b sまたはナノボディとしても知られている。

【0076】

「多重特異性抗体」は、2つ以上の異なるエピトープに集合的に特異的に結合する2つ以上の異なる抗原結合ドメインを含む抗体である。2つ以上の異なるエピトープは、同じ抗原（例えば、細胞により発現される単一のSIRP - アルファ分子）、または、異なる抗原（例えば、同じ細胞により発現される異なるSIRP - アルファ分子、もしくはSIRP - アルファ分子及び非SIRP - アルファ分子）上のエピトープであってよい。一部の態様では、多重特異性抗体は、2つの異なるエピトープに結合する（すなわち、「二重特異性抗体」）。一部の態様では、多重特異性抗体は、3つの異なるエピトープに結合する（すなわち、「三重特異性抗体」）。

【0077】

「単一特異性抗体」は、単一のエピトープに特異的に結合する1つ以上の結合部位を含む抗体である。単一特異性抗体の例は、二価である（すなわち、2つの抗原結合ドメインを有する）が、2つの抗原結合ドメインのそれぞれで同じエピトープを認識する天然に存在するIgG分子である。結合特異性は、任意の好適な結合価で存在し得る。

【0078】

「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団由来の抗体を指す。

10

20

30

40

50

実質的に均一な抗体の集団は、通常モノクローナル抗体の産生中に生じ得る変種を除いて、実質的に類似しており且つ同じエピトープ（複数可）に結合する抗体を含む。このような変種は一般に、ごく少量でしか存在しない。モノクローナル抗体は通常、複数の抗体から単一の抗体を選択することを含むプロセスにより得られる。例えば、選択プロセスは、ハイブリドーマクローン、ファージクローン、酵母クローン、細菌クローン、または他の組み換えDNAクローンのプールなどの複数のクローン由来のユニークなクローンの選択とすることができる。選択された抗体はさらに、例えば、標的への親和性を改善するように（「親和性成熟」）、抗体をヒト化するように、細胞培養における産生を改善するように、及び/または対象において免疫原性を低減させるように改変することができる。

【0079】

「キメラ抗体」という用語は、重鎖及び/または軽鎖の一部が特定の供給源または種に由来するが、重鎖及び/または軽鎖の残りが異なる供給源または種に由来する抗体を指す。

【0080】

非ヒト抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト抗体に由来する最小配列を含有するキメラ抗体である。ヒト化抗体は一般に、1つ以上のCDRの残基が非ヒト抗体（ドナー抗体）の1つ以上のCDRの残基で置き換えられているヒト抗体（レシピエント抗体）である。ドナー抗体は、任意の好適な非ヒト抗体、例えば、マウス、ラット、ウサギ、ニワトリ、または、所望の特異性、親和性、もしくは生物学的影響を有する非ヒト霊長類抗体、とすることができる。一部の場合では、レシピエント抗体の選択されたフレームワーク領域残基は、ドナー抗体の対応するフレームワーク領域残基に置き換えられる。ヒト化抗体は、レシ

【0081】

「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞により産生されるか、または、ヒト抗体レパートリーもしくはヒト抗体をコードする配列を利用する非ヒト供給源に由来する抗体に対応するアミノ酸配列を有するものである（例えば、ヒト供給源から得られるかもしくは最初から設計される）。ヒト抗体は特に、ヒト化抗体を除外する。

【0082】

「親和性」は、分子の単一結合部位（例えば、抗体）及びその結合パートナー（例えば、抗原またはエピトープ）間の非共有結合相互作用の合計の強さを指す。別途指示のない限り、本明細書で使用される場合、「親和性」は、結合ペアのメンバー（例えば、抗体及び抗原またはエピトープ）間の1:1相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。パートナーYに対する分子Xの親和性は、解離平衡定数（ K_D ）で表すことができる。解離平衡定数に寄与する動力学的構成要素は、以下に、より詳細に記載される。親和性は、表面プラズモン共鳴（SPR）技術（例えば、BIAcore（登録商標））またはバイオレイヤー干渉法（例えば、FORTEBIO（登録商標））などの本明細書に記載のものを

【0083】

標的分子への抗体の結合に関して、特定の抗原（例えば、ポリペプチド標的）または特定の抗原上のエピトープに「結合する」、「特異的結合」、「特異的に結合する」、「特異的である」、「選択的に結合する」、及び「選択的である」という用語は、（例えば、非標的分子との）非特異的または非選択的相互作用とある程度異なる結合を意味する。特異的結合は、例えば、標的分子への結合を測定すること及びそれを非標的分子への結合と比較することにより測定することができる。特異的結合は、標的分子上で認識されるエピトープを模倣する対照分子との競合により決定することもできる。その場合、特異的結合は、標的分子への抗体の結合が対照分子により競合的に阻害される場合に示される。一部

10

20

30

40

50

の態様では、非標的分子に対する S I R P - アルファ抗体の親和性は、S I R P - アルファに対する親和性の約 50 % 未満である。一部の態様では、非標的分子に対する S I R P - アルファ抗体の親和性は、S I R P - アルファに対する親和性の約 40 % 未満である。一部の態様では、非標的分子に対する S I R P - アルファ抗体の親和性は、S I R P - アルファに対する親和性の約 30 % 未満である。一部の態様では、非標的分子に対する S I R P - アルファ抗体の親和性は、S I R P - アルファに対する親和性の約 20 % 未満である。一部の態様では、非標的分子に対する S I R P - アルファ抗体の親和性は、S I R P - アルファに対する親和性の約 10 % 未満である。一部の態様では、非標的分子に対する S I R P - アルファ抗体の親和性は、S I R P - アルファに対する親和性の約 1 % 未満である。一部の態様では、非標的分子に対する S I R P - アルファ抗体の親和性は、S I R P - アルファに対する親和性の約 0.1 % 未満である。

10

【0084】

本明細書で使用される「 k_d 」(秒⁻¹)という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の解離速度定数を指す。この値は、 k_{off} 値とも呼ばれる。

【0085】

本明細書で使用される「 k_a 」(M⁻¹ × 秒⁻¹)という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の会合速度定数を指す。この値は、 k_{on} 値とも呼ばれる。

【0086】

本明細書で使用される「 K_D 」(M)という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の解離平衡定数を指す。 $K_D = k_d / k_a$ 。一部の実施形態では、抗体の親和性は、そのような抗体及びその抗原間の相互作用に対する K_D の観点から説明される。明確にするために、当該技術分野で既知のように、より小さな K_D 値は、より高い親和性相互作用を示すが、より大きな K_D 値は、より低い親和性相互作用を示す。

20

【0087】

本明細書で使用される「 K_A 」(M⁻¹)という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の会合平衡定数を指す。 $K_A = k_a / k_d$ 。

【0088】

「免疫複合体」は、治療薬(例えば、サイトカイン)または診断薬などの1つ以上の異種分子(複数可)にコンジュゲートされている抗体である。

【0089】

30

「エフェクター機能」は、抗体の Fc 領域により媒介される生物学的活性を指し、この活性は、抗体のアイソタイプに応じて変動し得る。抗体エフェクター機能の例としては、補体依存性細胞傷害(CDC)を活性化する C1q 結合、抗体依存性細胞傷害(ADCC)を活性化する Fc 受容体結合、及び抗体依存性細胞貪食(ADCP)が挙げられる。

【0090】

本明細書で2つ以上の抗体との関連で使用される時、「競合する」または「交差競合する」という用語は、2つ以上の抗体が抗原(例えば、S I R P - アルファ)への結合について競合することを示す。1つの例示的なアッセイでは、S I R P - アルファは、表面にコーティングされ、第1のS I R P - アルファ抗体と接触させ、その後、第2のS I R P - アルファ抗体が添加される。別の例示的なアッセイでは、第1のS I R P - アルファ抗体は、表面にコーティングされ、S I R P - アルファと接触させ、次に、第2のS I R P - アルファ抗体が添加される。いずれのアッセイでも、第1のS I R P - アルファ抗体の存在が第2のS I R P - アルファ抗体の結合を低減させる場合、抗体は、互いに競合する。「競合する」という用語は、ある抗体が別の抗体の結合を低減させるが、抗体が逆の順序で添加される時に、競合が観察されない抗体の組み合わせも含む。しかし、一部の実施形態では、第1及び第2の抗体は、それらが添加される順序に関係なく、互いの結合を阻害する。一部の実施形態では、ある抗体は、抗原への別の抗体の結合を少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%低減させる。当業者は、S I R P - アルファに対する抗体の親和性及び抗体の原子価に基づいて、競合アッセイで使用さ

40

50

れる抗体の濃度を選択することができる。本定義に記載のアッセイは、例示であり、当業者は、抗体が互いに競合するかどうかを判定するために任意の好適なアッセイを利用することができる。好適なアッセイは、例えば、Cox et al., "Immunoassay Methods," in Assay Guidance Manual [Internet], Updated December 24, 2014 (www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92434/; accessed September 29, 2015); Silman et al., Cytometry, 2001, 44:30-37; 及び Finco et al., J. Pharm. Biomed. Anal., 2011, 54:351-358 に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

10

【0091】

「エピトープ」という用語は、抗体に特異的に結合する抗原の一部を意味する。エピトープは多くの場合、表面にアクセス可能なアミノ酸残基及び/または糖側鎖からなり、特定の3次元構造特性及び特定の電荷特性を有し得る。立体配座及び非立体配座のエピトープは、後者ではなく前者への結合が、変性溶媒の存在下で喪失され得るという点で区別される。エピトープは、結合に直接関与するアミノ酸残基、及び結合に直接関与しない他のアミノ酸残基を含んでもよい。抗体が結合するエピトープは、例えば、異なる点変異を有するSIRP-アルファ変種またはキメラSIRP-アルファ変種への抗体結合の試験などの、エピトープ決定のための既知の技術を使用して決定することができる。

【0092】

ポリペプチド配列及び参照配列間のパーセント「同一性」は、必要に応じて、最大パーセント配列同一性を達成するために配列をアラインしてギャップを導入した後の、参照配列内のアミノ酸残基と同一であるポリペプチド配列内のアミノ酸残基の割合として定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定することを目的としたアラインメントは、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、MEGALIGN (DNASTAR)、CLUSTALW、CLUSTAL OMEGA、またはMUSCLEソフトウェアなどの一般に公開されているコンピュータソフトウェアを使用して、当業者の範囲内にある種々の方法で達成することができる。当業者らは、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要とされる任意のアルゴリズムを含む、配列をアラインするための適切なパラメータを決定することができる。

20

30

【0093】

「保存的置換」または「保存的アミノ酸置換」は、化学的または機能的に類似するアミノ酸によるアミノ酸の置換を指す。類似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。例として、表2～4で提供されるアミノ酸のグループは、一部の実施形態では、互いに保存的置換と考えられている。

【0094】

(表2) 特定の実施形態の、互いに保存的置換と考えられるアミノ酸の選択されるグループ

酸性残基	D及びE
塩基性残基	K, R, 及びH
親水性非荷電残基	S, T, N, 及びQ
脂肪族非荷電残基	G, A, V, L, 及びI
無極性非荷電残基	C, M, 及びP
芳香族残基	F, Y, 及びW

40

【0095】

(表3) 特定の実施形態の、互いに保存的置換と考えられるアミノ酸の追加の選択されるグループ

50

グループ 1	A, S, 及び T
グループ 2	D 及び E
グループ 3	N 及び Q
グループ 4	R 及び K
グループ 5	I, L, 及び M
グループ 6	F, Y, 及び W

10

【 0 0 9 6 】

(表 4) 特定の実施形態の、互いに保存的置換と考えられるアミノ酸のさらに選択されるグループ

グループ A	A 及び G
グループ B	D 及び E
グループ C	N 及び Q
グループ D	R, K, 及び H
グループ E	I, L, M, V
グループ F	F, Y, 及び W
グループ G	S 及び T
グループ H	C 及び M

20

【 0 0 9 7 】

追加の保存的置換は、例えば、Creighton, Proteins: Structures and Molecular Properties 2nd ed. (1993) W. H. Freeman & Co., New York, NYに見出され得る。親抗体のアミノ酸残基の1つ以上の保存的置換を行うことにより生成された抗体は、「保存的に改変されている変種」と呼ばれる。

30

【 0 0 9 8 】

「アミノ酸」という用語は、20の一般的な天然に存在するアミノ酸を指す。天然に存在するアミノ酸は、アラニン (Ala; A)、アルギニン (Arg; R)、アスパラギン (Asn; N)、アスパラギン酸 (Asp; D)、システイン (Cys; C)、グルタミン酸 (Glu; E)、グルタミン (Gln; Q)、グリシン (Gly; G)、ヒスチジン (His; H)、イソロイシン (Ile; I)、ロイシン (Leu; L)、リジン (Lys; K)、メチオニン (Met; M)、フェニルアラニン (Phe; F)、プロリン (Pro; P)、セリン (Ser; S)、スレオニン (Thr; T)、トリプトファン (Trp; W)、チロシン (Tyr; Y)、及びバリン (Val; V)を含む。

40

【 0 0 9 9 】

本明細書で使用される「ベクター」という用語は、それが連結されている別の核酸を増殖させることが可能な核酸分子を指す。本用語は、自己複製核酸構造としてのベクター及びそれが導入されている宿主細胞のゲノムに組み込まれるベクターを含む。特定のベクターは、それらが作動可能に連結されている核酸の発現を導くことが可能である。そのようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と呼ばれる。

【 0 1 0 0 】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」、及び「宿主細胞培養物」という用語は、互換的に使用され、外因性核酸が導入されている細胞及びそのような細胞の子孫を指す。宿主細胞は、

50

「形質転換体」(または「形質転換細胞」)及び「形質転換体」(または「トランスフェクト細胞」)が含まれ、それぞれ、1次形質転換またはトランスフェクト細胞及びそれに由来する子孫を含む。そのような子孫は、核酸含量が親細胞と完全に同一ではなくてもよく、変異を含有してもよい。

【0101】

「処置すること」(及びその変形形態、例えば、「処置する」または「処置」)という用語は、それを必要とする対象の疾患または状態の自然経過を変更しようとする臨床的介入を指す。処置は、予防及び臨床的病状の過程の両方で実施することができる。処置の望ましい効果は、疾患の発生または再発の予防、症状の緩和、疾患の任意の直接的または間接的な病理学的結果の低下、転移の予防、疾患の進行速度の減少、疾患状態の改善または緩和、及び寛解または改善された予後を含む。

10

【0102】

本明細書で使用される場合、「治療有効量」または「有効量」という用語は、対象に投与された時に、疾患または障害を処置するのに有効な、本明細書で提供される抗体または医薬組成物の量を指す。

【0103】

本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、哺乳動物対象を意味する。例示的な対象としては、ヒト、サル、イヌ、ネコ、マウス、ラット、ウシ、ウマ、ラクダ、ヤギ、ウサギ、及びヒツジが挙げられる。特定の実施形態では、対象は、ヒトである。一部の実施形態では、対象は、本明細書で提供される抗体で処置することができる疾患または状態を有する。一部の態様では、疾患または状態は、がんである。一部の態様では、疾患または状態は、ウイルス感染症である。

20

【0104】

「添付文書」という用語は、そのような治療または診断製品の使用に関する、適応症、使用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌、及び/または警告についての情報を含有する治療または診断製品の市販パッケージ(例えば、キット)に通例含まれる使用説明書を指すために使用される。

【0105】

本明細書で使用される「細胞傷害薬」という用語は、細胞機能を阻害または防止し、及び/または細胞死もしくは破壊を引き起こす物質を指す。

30

【0106】

「化学療法薬」は、がんの処置に有用な化合物を指す。化学療法薬は、がんの成長を促進することができるホルモンの影響を制御、低減、遮断、または阻害するように作用する「抗ホルモン薬」または「内分泌治療薬」を含む。

【0107】

「細胞増殖抑制薬」という用語は、*in vitro*または*in vivo*のいずれかで細胞の成長を停止させる化合物または組成物を指す。一部の実施形態では、細胞増殖抑制薬は、S期の細胞の割合を低減させる薬剤である。一部の実施形態では、細胞増殖抑制薬は、S期の細胞の割合を少なくとも約20%、少なくとも約40%、少なくとも約60%、または少なくとも約80%低減させる。

40

【0108】

「腫瘍」という用語は、悪性または良性に関わらず、全ての腫瘍性細胞成長及び増殖、ならびに全ての前がん性及びがん性細胞及び組織を指す。「がん」、「がん性」、「細胞増殖性障害」、「増殖性障害」、及び「腫瘍」という用語は、本明細書で言及されるように相互に排他的ではない。「細胞増殖性障害」及び「増殖性障害」という用語は、ある程度の異常な細胞増殖に関連する障害を指す。一部の実施形態では、細胞増殖性障害は、がんである。一部の態様では、腫瘍は、固形腫瘍である。一部の態様では、腫瘍は、血液悪性腫瘍である。

【0109】

「医薬組成物」という用語は、それに含有される活性成分の生物学的活性が対象の処置

50

に有効であるような形態であり且つ医薬組成物で提供される量で対象に許容できないほどの毒性がある追加の構成成分を含有しない調製物を指す。

【 0 1 1 0 】

「同時投与」、「同時投与する」、及び「組み合わせて」という用語は、特定の時間制限なしで同時に、同時に、または連続して2つ以上の治療薬を投与することを含む。一実施形態では、薬剤は、細胞内にもしくは対象の体内に同時に存在するか、または、それらの生物学的もしくは治療効果を同時に発揮する。一実施形態では、治療薬は、同じ組成物または単位剤形である。他の実施形態では、治療薬は、別々の組成物または単位剤形である。特定の実施形態では、第1の薬剤は、第2の治療薬の投与前（例えば、数分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、もしくは12週間前）に、第2の治療薬と付随して、または第2の治療薬の投与後（例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、もしくは12週間後）に投与することができる。

10

【 0 1 1 1 】

「調節する」及び「調節」という用語は、列挙されている可変要素を低減もしくは阻害すること、または活性化もしくは増加させることを指す。

【 0 1 1 2 】

「増加」及び「活性化」という用語は、列挙されている可変要素の10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、またはそれ以上の増加を指す。

20

【 0 1 1 3 】

「低減させる」及び「阻害する」という用語は、列挙されている可変要素の10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、2分の1倍、3分の1倍、4分の1倍、5分の1倍、10分の1倍、20分の1倍、50分の1倍、100分の1倍、またはそれ以下の減少を指す。

【 0 1 1 4 】

「作動する」という用語は、受容体の活性化に関連する生物学的応答を誘発する受容体シグナル伝達の活性化を指す。「アゴニスト」は、受容体に結合し且つそれを作動する実体である。

30

【 0 1 1 5 】

「拮抗する」という用語は、受容体の活性化に関連する生物学的応答を阻害する受容体シグナル伝達の阻害を指す。「アンタゴニスト」は、受容体に結合し且つ拮抗する実体である。

【 0 1 1 6 】

S I R P - アルファ抗体

S I R P - アルファに特異的に結合する抗体が、本明細書で提供される。一部の態様では、S I R P - アルファは、ヒトS I R P - アルファである。一実施形態では、本明細書で提供される抗体は、S I R P - アルファの細胞外ドメインに特異的に結合する。S I R P - アルファは、任意の好適な標的細胞の表面に発現し得る。一実施形態では、標的細胞は、プロフェッショナル抗原提示細胞である。一実施形態では、標的細胞は、マクロファージである。抗体は、ヒトS I R P アイソタイプに汎特異的であり得る。抗体は、ヒトS I R P アイソタイプに特異的であり得る。

40

【 0 1 1 7 】

特定の実施形態では、抗体は、1 H 9 である。特定の実施形態では、抗体は、3 C 2 である。

【 0 1 1 8 】

一実施形態では、本明細書で提供される抗体は、軽鎖を含む。一部の態様では、軽

50

鎖は、カップ軽鎖である。一部の態様では、軽鎖は、ラムダ軽鎖である。

【0119】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、重鎖を含む。一部の態様では、重鎖は、IgAである。一部の態様では、重鎖は、IgDである。一部の態様では、重鎖は、IgEである。一部の態様では、重鎖は、IgGである。一部の態様では、重鎖は、IgMである。一部の態様では、重鎖は、IgG1である。一部の態様では、重鎖は、IgG2である。一部の態様では、重鎖は、IgG3である。一部の態様では、重鎖は、IgG4である。一部の態様では、重鎖は、IgA1である。一部の態様では、重鎖は、IgA2である。

【0120】

一部の実施形態では、抗体は、Biacoreアッセイで測定された約1、1~6、1~5、1~4、1~3、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10×10^{-9} M以下の K_D で、ヒトSIRP に結合する。

【0121】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、抗体フラグメントを含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、抗体フラグメントからなる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、抗体フラグメントから本質的になる。一部の態様では、抗体フラグメントは、Fvフラグメントである。一部の態様では、抗体フラグメントは、Fabフラグメントである。一部の態様では、抗体フラグメントは、F(ab')₂フラグメントである。一部の態様では、抗体フラグメントは、Fab'フラグメントである。一部の態様では、抗体フラグメントは、scFv(sFv)フラグメントである。一部の態様では、抗体フラグメントは、scFv-Fcフラグメントである。一部の態様では、抗体フラグメントは、単ドメイン抗体のフラグメントである。

【0122】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体フラグメントは、本明細書で提供される例示的な抗体に由来する。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体フラグメントは、本明細書で提供される例示的な抗体に由来せず、例えば、抗体フラグメントを得るために本明細書で提供される方法に従ってde novoで単離されてもよい。

【0123】

一部の実施形態では、本明細書に提供される抗体フラグメントは、本明細書に記載の1つ以上のアッセイまたは生物学的効果により測定されるSIRP-アルファに拮抗する能力を保持する。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体フラグメントは、本明細書に記載されるように、SIRP-アルファがそのリガンドのうちの1つ以上と相互作用するのを防ぐ能力を保持する。

【0124】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体フラグメントは、SIRP-アルファへの結合について1H9及び/または3C2と競合する。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体のフラグメントは、そのような抗体と同じSIRP-アルファのエピトープに結合する。

【0125】

Fc受容体への親和性が低減したヒトFc領域を含む抗体の使用の代替物として、抗体は、例えば、F(ab')₂フラグメントなどの抗体フラグメントを産生することにより、Fc配列を欠損しているように操作することができる。F(ab)₂フラグメントを生成するために、製造者の指示に従って、精製抗体は、安定したレジンに固定されたPie rce F(ab')₂調製ペプシンで懸濁される。ペプシン消化は通常、F(ab')₂フラグメント(非還元条件下でSDS-PAGEにより約110 kDa)及びFc部分の多数の小さなペプチドを生じる。得られたF(ab')₂フラグメントは、2つのジスルフィド結合で連結されている1対のFab'ユニットで構成されている。Fcフラグメントは、広範囲で分解され、透析、ゲル濾過、またはイオン交換クロマトグラフィーにより、F(ab')₂から分離される。

10

20

30

40

50

【 0 1 2 6 】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、モノクローナル抗体である。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、ポリクローナル抗体である。

【 0 1 2 7 】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、キメラ抗体を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、キメラ抗体からなる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、キメラ抗体から本質的になる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、ヒト化抗体を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、ヒト化抗体からなる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、ヒト抗体を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、ヒト抗体からなる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、ヒト抗体から本質的になる。

10

【 0 1 2 8 】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、代替骨格を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、代替骨格からなる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、代替骨格から本質的になる。任意の好適な代替骨格が使用されてもよい。一部の態様では、代替骨格は、Adnectin (商標)、iMab、Anticalin (登録商標)、EETI-II/AGRP、Kunitzドメイン、チオレドキシンペプチドアプタマー、Affibody (登録商標)、DARPin、Affilin、Tetranectin、Fynomer、及びAvimerから選択される。

20

【 0 1 2 9 】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、SIRP - アルファの1つ以上のリガンドへのSIRP - アルファの結合を阻害する。

【 0 1 3 0 】

特定の態様では、抗体は、SIRP - ガンマに結合しない。特定の態様では、抗体は、SIRP - ガンマに実質的に結合しない。

【 0 1 3 1 】

一部の態様では、本明細書に開示の抗体は、ヒトSIRP アイソタイプに汎特異的である。1H9などの本明細書に開示の抗体は、V1、V2、及びV1/V5のうちの1つ以上を含む複数のヒトSIRP アイソタイプに結合し得る。SEQ ID NO: 48に示される例示的なV1配列。SEQ ID NO: 49に示される例示的なV2配列。Polymorphism in Sirpa modulates engraftment of human hematopoietic stem cells. Nature Immunology, 8; 1313, 2007も参照のこと。本明細書に開示の抗体は、ヒトSIRP アイソタイプV1及びV2のそれぞれに結合し得る。本明細書に開示の抗体は、ホモ接合型を含むヒトSIRP アイソタイプV1に結合し得る。本明細書に開示の抗体は、ホモ接合型を含むヒトSIRP アイソタイプV2に結合し得る。本明細書に開示の抗体は、ヒトSIRP アイソタイプV1/V5 (ヘテロ接合型) に結合し得る。1H9などの本明細書に開示の抗体は、V1、V2、及びV1/V5のそれぞれを含む複数のヒトSIRP アイソタイプに結合し得る。そのような抗体は、そのような抗体のヒト化及び/またはFc操作バージョンを含む1H9及び3C2を含み得る。1H9は、ヒトSIRP アイソタイプV1及びV2のそれぞれに結合し得る。1H9は、ホモ接合型を含むヒトSIRP アイソタイプV1に結合し得る。1H9は、ホモ接合型を含むヒトSIRP アイソタイプV2に結合し得る。1H9は、ヒトSIRP アイソタイプV1/V5 (ヘテロ接合型) に結合し得る。1H9は、V1、V2、及びV1/V5のそれぞれを含む複数のヒトSIRP アイソタイプに結合し得る。ヒトSIRP 変種への結合は、PCR及び/またはフローサイトメトリーを含む当該技術分野で既知のアッセイを使用して測定することができる。例えば、所与の試料は、SIRPの状態を決定するために遺伝子型を決定することができ、SIRPへの結合は、フローサイトメトリーを使用して決定することができる。

30

40

50

【 0 1 3 2 】

特定の態様では、抗体は、ヒト S I R P への結合について 1 H 9 及び 3 C 2 から選択される抗体と競合する。特定の態様では、抗体は、1 H 9 または 3 C 2 が結合するのと同じヒト S I R P エピトープに結合する。特定の態様では、抗体は、1 H 9 または 3 C 2 が結合するのと重複するヒト S I R P エピトープに結合する。特定の態様では、抗体は、1 H 9 または 3 C 2 が結合するのとは異なるヒト S I R P エピトープに結合する。

【 0 1 3 3 】

特定の態様では、抗体は、ヒト S I R P への結合について K W a r 抗体と競合しない。

【 0 1 3 4 】

特定の態様では、抗体は、ヒト S I R P への結合について K W a r 抗体と部分的に競合する。

10

【 0 1 3 5 】

特定の態様では、抗体は、ヒト S I R P へのヒト C D 4 7 の結合を阻害する。

【 0 1 3 6 】

特定の態様では、抗体は、ヒト S I R P へのヒト S P - A の結合を阻害する。

【 0 1 3 7 】

特定の態様では、抗体は、ヒト S I R P へのヒト S P - D の結合を阻害する。

【 0 1 3 8 】

特定の態様では、抗体は、アカゲザル S I R P に結合する。

【 0 1 3 9 】

特定の態様では、抗体は、カニクイザル S I R P に結合する。

20

【 0 1 4 0 】

特定の態様では、抗体は、対照と比較して貪食を増加させる。

【 0 1 4 1 】

ヒト S I R P の結合について本明細書に開示の抗体と競合する、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体もまた、本明細書で開示される。

【 0 1 4 2 】

本明細書に開示の抗体が結合するヒト S I R P エピトープに結合する、単離ヒト化、ヒト、またはキメラ抗体もまた、本明細書で開示される。

【 0 1 4 3 】

特定の態様では、抗体は、ヒト F c 受容体への結合を低減させる少なくとも 1 つの修飾を含むヒト F c 領域を含む。

30

【 0 1 4 4 】

一部の実施形態では、抗体は、本明細書で提供される例示的な抗体、例えば、1 H 9 及び / または 3 C 2 と競合する抗体である。一部の態様では、本明細書で提供される例示的な抗体と競合する抗体は、本明細書で提供される例示的な抗体と同じエピトープに結合する。

【 0 1 4 5 】

抗体が細胞内で発現される時、抗体が翻訳後に修飾されることが知られている。翻訳後修飾の例としては、カルボキシペプチダーゼによる重鎖の C 末端でのリジンの切断；ピログルタミル化による、ピログルタミン酸への重鎖及び軽鎖の N 末端でのグルタミンまたはグルタミン酸の修飾；グリコシル化；酸化；脱アミド化；及び糖化が挙げられ、そのような翻訳後修飾が種々の抗体で起こることが知られている（全体が参照により組み込まれる Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008, Vol. 97, p. 2426 - 2447 を参照のこと）。一部の実施形態では、抗体は、翻訳後修飾を受けている抗体またはその抗原結合フラグメントである。翻訳後修飾を受けている抗体またはその抗原結合フラグメントの例としては、重鎖可変領域の N 末端でのピログルタミル化及び / または重鎖の C 末端でのリジンの欠失を受けている抗体またはその抗原結合フラグメントが挙げられる。N 末端でのピログルタミル化及び C 末端でのリジンの欠失によるそのような翻訳後修飾が、抗体またはそのフラグメントの活性にいかなる影響

40

50

を有さないことが、当該技術分野で既知である（全体が参照により組み込まれる *Analytical Biochemistry*, 2006, Vol. 348, p. 24-39）。

【0146】

SIRP - アルファ抗体の配列

抗体は、SEQ ID NO: 1 に記載の配列を含む CDR - H1 ; SEQ ID NO: 2 に記載の配列を含む CDR - H2 ; SEQ ID NO: 3 に記載の配列を含む CDR - H3 ; SEQ ID NO: 4 に記載の配列を含む CDR - L1 ; SEQ ID NO: 5 に記載の配列を含む CDR - L2 ; 及び SEQ ID NO: 6 に記載の配列を含む CDR - L3 を含み得る。

10

【0147】

抗体は、SEQ ID NO: 7 の V_H 配列及び SEQ ID NO: 8 の V_L 配列を含み得る。

【0148】

抗体は、SEQ ID NO: 17 の重鎖及び SEQ ID NO: 18 の軽鎖を含み得る。

【0149】

抗体は、SEQ ID NO: 9 に記載の配列を含む CDR - H1 ; SEQ ID NO: 10 に記載の配列を含む CDR - H2 ; SEQ ID NO: 11 に記載の配列を含む CDR - H3 ; SEQ ID NO: 12 に記載の配列を含む CDR - L1 ; SEQ ID NO: 13 に記載の配列を含む CDR - L2 ; 及び SEQ ID NO: 14 に記載の配列を含む CDR - L3 を含み得る。

20

【0150】

抗体は、SEQ ID NO: 15 の V_H 配列及び SEQ ID NO: 16 の V_L 配列を含み得る。

【0151】

抗体は、SEQ ID NO: 19 の重鎖及び SEQ ID NO: 20 の軽鎖を含み得る。

【0152】

抗体は、SEQ ID NO: 21 に記載の配列を含む CDR - H1 ; SEQ ID NO: 22 に記載の配列を含む CDR - H2 ; SEQ ID NO: 23 に記載の配列を含む CDR - H3 ; SEQ ID NO: 24 に記載の配列を含む CDR - L1 ; SEQ ID NO: 25 に記載の配列を含む CDR - L2 ; 及び SEQ ID NO: 26 に記載の配列を含む CDR - L3 を含み得る。

30

【0153】

抗体は、SEQ ID NO: 27 の V_H 配列及び SEQ ID NO: 28 の V_L 配列を含み得る。

【0154】

抗体は、SEQ ID NO: 29 に記載の配列を含む CDR - H1 ; SEQ ID NO: 30 に記載の配列を含む CDR - H2 ; SEQ ID NO: 31 に記載の配列を含む CDR - H3 ; SEQ ID NO: 32 に記載の配列を含む CDR - L1 ; SEQ ID NO: 33 に記載の配列を含む CDR - L2 ; 及び SEQ ID NO: 34 に記載の配列を含む CDR - L3 を含み得る。

40

【0155】

抗体は、SEQ ID NO: 35 の V_H 配列及び SEQ ID NO: 36 の V_L 配列を含み得る。

【0156】

特定の態様では、抗体は、1H9 の1つ以上の CDR を含み得る。特定の態様では、抗体は、1H9 の全ての CDR を含み得る。特定の態様では、抗体は、1H9 の1つ以上の可変配列を含み得る。特定の態様では、抗体は、1H9 の各可変配列を含み得る。特定の態様では、抗体は、1H9 の重鎖を含み得る。特定の態様では、抗体は、1H9 の軽鎖を含み得る。特定の態様では、抗体は、1H9 の重鎖及び軽鎖を含み得る。特定の態様では

50

、抗体は、1 H 9 である。

【 0 1 5 7 】

特定の態様では、抗体は、3 C 2 の1つ以上のC D Rを含み得る。特定の態様では、抗体は、3 C 2 の全てのC D Rを含み得る。特定の態様では、抗体は、3 C 2 の1つ以上の可変配列を含み得る。特定の態様では、抗体は、3 C 2 の各可変配列を含み得る。特定の態様では、抗体は、3 C 2 の重鎖を含み得る。特定の態様では、抗体は、3 C 2 の軽鎖を含み得る。特定の態様では、抗体は、3 C 2 の重鎖及び軽鎖を含み得る。特定の態様では、抗体は、3 C 2 である。

【 0 1 5 8 】

特定の態様では、抗体は、9 B 1 1 の1つ以上のC D Rを含み得る。特定の態様では、抗体は、9 B 1 1 の全てのC D Rを含み得る。特定の態様では、抗体は、9 B 1 1 の1つ以上の可変配列を含み得る。特定の態様では、抗体は、9 B 1 1 の各可変配列を含み得る。特定の態様では、抗体は、9 B 1 1 の重鎖を含み得る。特定の態様では、抗体は、9 B 1 1 の軽鎖を含み得る。特定の態様では、抗体は、9 B 1 1 の重鎖及び軽鎖を含み得る。特定の態様では、抗体は、9 B 1 1 である。

10

【 0 1 5 9 】

特定の態様では、抗体は、7 E 1 1 の1つ以上のC D Rを含み得る。特定の態様では、抗体は、7 E 1 1 の全てのC D Rを含み得る。特定の態様では、抗体は、7 E 1 1 の1つ以上の可変配列を含み得る。特定の態様では、抗体は、7 E 1 1 の各可変配列を含み得る。特定の態様では、抗体は、7 E 1 1 の重鎖を含み得る。特定の態様では、抗体は、7 E 1 1 の軽鎖を含み得る。特定の態様では、抗体は、7 E 1 1 の重鎖及び軽鎖を含み得る。特定の態様では、抗体は、7 E 1 1 である。

20

【 0 1 6 0 】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、S E Q I D N O : 1 ~ 3 6 で提供される例示的な配列と少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、または99%の同一性を有する配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25のアミノ酸置換を有するS E Q I D N O : 1 ~ 3 6 で提供される配列を含む。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本パラグラフに記載の抗体は、本明細書では「変種」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような変種は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該分野で既知もしくは本明細書に記載の他の任意の方法による、本明細書で提供される配列に由来する。一部の実施形態では、そのような変種は、本明細書で提供される配列に由来しておらず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従ってd e n o v o で単離されてもよい。

30

【 0 1 6 1 】

単一特異性及び多重特異性S I R P - アルファ抗体

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、単一特異性抗体である。

【 0 1 6 2 】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、多重特異性抗体である。

40

【 0 1 6 3 】

一部の実施形態では、本明細書で提供される多重特異性抗体は、複数の抗原に結合する。一部の実施形態では、多重特異性抗体は、2つの抗原に結合する。一部の実施形態では、多重特異性抗体は、3つの抗原に結合する。一部の実施形態では、多重特異性抗体は、4つの抗原に結合する。一部の実施形態では、多重特異性抗体は、5つの抗原に結合する。

【 0 1 6 4 】

一部の実施形態では、本明細書で提供される多重特異性抗体は、S I R P - アルファ抗原上の複数のエピトープに結合する。一部の実施形態では、多重特異性抗体は、S I R P - アルファ抗原上の2つのエピトープに結合する。一部の実施形態では、多重特異性抗体

50

は、S I R P - アルファ抗原上の3つのエピトープに結合する。

【0165】

多くの多重特異性抗体構築物は、当該技術分野で既知であり、本明細書で提供される抗体は、任意の好適な多重特異性の好適な構築物の形態で提供されてもよい。

【0166】

一部の実施形態では、多重特異性抗体は、一般的な軽鎖可変領域と対になる少なくとも2つの異なる重鎖可変領域を含む免疫グロブリンを含む(すなわち、「一般的な軽鎖抗体」)。一般的な軽鎖可変領域は、2つの異なる重鎖可変領域のそれぞれと異なる抗原結合ドメインを形成する。全体が参照により組み込まれるMerchant et al., Nature Biotechnol., 1998, 16: 677 - 681を参照のこと。

10

【0167】

一部の実施形態では、多重特異性抗体は、そのような免疫グロブリンの重鎖または軽鎖の1つ以上のN末端またはC末端に結合している抗体またはそのフラグメントを含む免疫グロブリンを含む。全体が参照により組み込まれるColoma and Morrison, Nature Biotechnol., 1997, 15: 159 - 163を参照のこと。一部の態様では、そのような抗体は、四価の二重特異性抗体を含む。

【0168】

一部の実施形態では、多重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる重鎖可変領域及び少なくとも2つの異なる軽鎖可変領域を含むハイブリッド免疫グロブリンを含む。Milstein and Cuello, Nature, 1983, 305: 537 - 540; 及びStaerz and Bevan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1986, 83: 1453 - 1457(これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)を参照のこと。

20

【0169】

一部の実施形態では、多重特異性抗体は、多重特異性を有さない副産物の形成を低減する改変を伴う免疫グロブリン鎖を含む。一部の態様では、抗体は、全体が参照により組み込まれる米国特許第5,731,168号に記載される1つ以上の「knobs - into - holes」修飾を含む。

【0170】

一部の実施形態では、多重特異性抗体は、Fcヘテロ多量体のアセンブリを促進する1つ以上の静電的修飾を伴う免疫グロブリン鎖を含む。全体が参照により組み込まれるWO 2009/089004を参照のこと。

30

【0171】

一部の実施形態では、多重特異性抗体は、二重特異性単鎖分子を含む。全体が参照により組み込まれるTraunecker et al., EMBO J., 1991, 10: 3655 - 3659; 及びGruber et al., J. Immunol., 1994, 152: 5368 - 5374を参照のこと。

【0172】

一部の実施形態では、多重特異性抗体は、ポリペプチドリンカーにより連結されている重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含み、リンカーの長さは、所望の多重特異性を有する多重特異性抗体のアセンブリを促進するように選択される。例えば、単一特異性scFvは一般に、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインが12アミノ酸残基を超えるポリペプチドリンカーにより連結されている時に形成される。米国特許第4,946,778号及び同第5,132,405号(これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)を参照のこと。一部の実施形態では、ポリペプチドリンカーの長さを12アミノ酸残基未満に短縮すると、同じポリペプチド鎖上の重鎖及び軽鎖可変ドメインのペアリングが妨げられ、それにより、別の鎖上の相補ドメインとの1つの鎖由来の重鎖及び軽鎖可変ドメインのペアリングが可能になる。それ故、得られる抗体は、多重特異性を有し、各結合部位の特異性は、複数のポリペプチド鎖によりもたらされる。3~12アミノ酸残基のリンカーにより結合している重鎖及び軽鎖可変ドメインを含むポリペプチド鎖は、主に二量

40

50

体（ダイアボディと称される）を形成する。0～2アミノ酸残基のリンカーを用いる、三量体（トリアボディと称される）及び四量体（テトラボディと称される）が好まれる。しかし、正確なタイプのオリゴマー化は、リンカーの長さに加えて、アミノ酸残基の組成及び各ポリペプチド鎖の可変ドメインの順序（例えば、V_H-リンカー-V_L対V_L-リンカー-V_H）に依存するようである。当業者は、所望の多重特異性に基づいて適切なリンカー長を選択することができる。

【0173】

グリコシル化及び関連変種

本明細書で提供される抗体は、それがグリコシル化される程度を増加、減少、または除去するように改変され得る。ポリペプチドのグリコシル化は通常、「N結合型」または「O結合型」のいずれかである。一部の態様では、抗体のグリコシル化は、酵素的脱グリコシル化、細菌宿主での発現、またはグリコシル化に利用されるアミノ酸残基の修飾により、低減する。変異などの修飾は、グリコシル化を変更するために使用することができる。

10

【0174】

「N結合型」グリコシル化は、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の結合を指す。トリペプチド配列アスパラギン-X-セリン及びアスパラギン-X-スレオニン（式中、Xは、プロリンを除く任意のアミノ酸である）は、アスパラギン側鎖への炭水化物部分の酵素的結合のための認識配列である。従って、ポリペプチドにおけるこれらのトリペプチド配列のいずれかの存在は、潜在的なグリコシル化部位を作成する。

【0175】

「O結合型」グリコシル化は、ヒドロキシアミノ酸、最も一般には、セリンまたはスレオニンへの、糖N-アセチルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースのうちの1つの結合を指す。但し、5-ヒドロキシプロリンまたは5-ヒドロキシリジンもまた使用されてもよい。

20

【0176】

本明細書で提供される抗体へのN結合型グリコシル化部位の付加または抗体からのN結合型グリコシル化部位の欠失は、上記のトリペプチド配列のうちの1つ以上が作成または除去されるようにアミノ酸配列を改変することにより達成され得る。O結合型グリコシル化部位の付加または欠失は、抗体の配列内のまたは（場合によっては）配列への、1つ以上のセリンまたはスレオニン残基の付加、欠失、または置換により達成され得る。

30

【0177】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、天然に存在する抗体とは異なるグリコシル化モチーフを含む。任意の好適な天然に存在するグリコシル化モチーフは、本明細書で提供される抗体で修飾することができる。例えば、免疫グロブリンの構造及びグリコシル化特性は、当該技術分野で既知であり、例えば、全体が参照により組み込まれるSchroeder and Cavacini, J. Allergy Clin. Immunol., 2010, 125: S41-52にまとめられている。

【0178】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、アスパラギン297（Asn297）に結合しているオリゴ糖への修飾を伴うIgG1Fc領域を含む。哺乳動物細胞により産生される天然に存在するIgG1抗体は通常、Fc領域のCH2ドメインのAsn297へのN結合により一般に結合している分岐状二分岐オリゴ糖を含む。全体が参照により組み込まれるWright et al., TIBTECH, 1997, 15: 26-32を参照のこと。Asn297に結合しているオリゴ糖は、マンノース、N-アセチルグルコサミン（GlcNAc）、ガラクトース、及びシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「ステム」でGlcNAcに結合しているフコースなどの種々の炭化水素を含んでもよい。

40

【0179】

一部の実施形態では、Asn297に結合しているオリゴ糖は、改変ADCCを有する抗体を生成するように修飾されている。一部の実施形態では、オリゴ糖は、ADCCを改

50

善するように改変される。一部の実施形態では、オリゴ糖は、A D C Cを低減させるように改変される。

【0180】

一部の態様では、本明細書で提供される抗体は、天然に存在するI g G 1ドメインと比較して、A s n 2 9 7の位置に、フコース含量が低減したI g G 1ドメインを含む。そのようなF cドメインは、A D C Cが改善されていることが知られている。全体が参照により組み込まれるS h i e l d s e t a l . , J . B i o l . C h e m . , 2 0 0 2 , 2 7 7 : 2 6 7 3 3 - 2 6 7 4 0を参照のこと。一部の態様では、そのような抗体は、A s n 2 9 7位に任意のフコースを含まない。フコースの量は、例えば、全体が参照により組み込まれるW O 2 0 0 8 / 0 7 7 5 4 6に記載される任意の好適な方法を使用して決定されてもよい。

10

【0181】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、G l c N A cにより二分される抗体のF c領域に結合している二分岐オリゴ糖などのバイセクト型オリゴ糖を含む。そのような抗体変種は、フコシル化の低減及び/またはA D C C機能の改善を有し得る。そのような抗体変種の例は、例えば、W O 2 0 0 3 / 0 1 1 8 7 8 ; 米国特許第6 , 6 0 2 , 6 8 4号 ; 及び米国特許公開第2 0 0 5 / 0 1 2 3 5 4 6号に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

【0182】

本明細書で提供される抗体に組み込まれ得る他の例示的なグリコシル化変種は、例えば、米国特許公開第2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8号、同第2 0 0 4 / 0 0 9 3 6 2 1号、同第2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8号、同第2 0 0 3 / 0 1 1 5 6 1 4号、同第2 0 0 2 / 0 1 6 4 3 2 8号、同第2 0 0 4 / 0 0 9 3 6 2 1号、同第2 0 0 4 / 0 1 3 2 1 4 0号、同第2 0 0 4 / 0 1 1 0 7 0 4号、同第2 0 0 4 / 0 1 1 0 2 8 2号、同第2 0 0 4 / 0 1 0 9 8 6 5 ; 国際公開特許第2 0 0 0 / 6 1 7 3 9号、同第2 0 0 1 / 2 9 2 4 6号、同第2 0 0 3 / 0 8 5 1 1 9号、同第2 0 0 3 / 0 8 4 5 7 0号、同第2 0 0 5 / 0 3 5 5 8 6号、同第2 0 0 5 / 0 3 5 7 7 8号 ; 同第2 0 0 5 / 0 5 3 7 4 2号、同第2 0 0 2 / 0 3 1 1 4 0号 ; O k a z a k i e t a l . , J . M o l . B i o l . , 2 0 0 4 , 3 3 6 : 1 2 3 9 - 1 2 4 9 ; 及びY a m a n e - O h n u k i e t a l . , B i o t e c h . B i o e n g . , 2 0 0 4 , 8 7 : 6 1 4 - 6 2 2に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

20

30

【0183】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、F c領域に結合しているオリゴ糖中の少なくとも1つのガラクトース残基を有するF c領域を含む。そのような抗体変種は、C D C機能の改善を有し得る。そのような抗体変種の例は、例えば、W O 1 9 9 7 / 3 0 0 8 7 ; W O 1 9 9 8 / 5 8 9 6 4 ; 及びW O 1 9 9 9 / 2 2 7 6 4に記載され ; これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

【0184】

脱フコシル化抗体を産生することが可能な細胞株の例としては、L e c 1 3 C H O細胞が挙げられ、これらは、タンパク質のフコシル化(R i p k a e t a l . , A r c h . B i o c h e m . B i o p h y s . , 1 9 8 6 , 2 4 9 : 5 3 3 - 5 4 5 ; 米国特許公開第2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8号 ; W O 2 0 0 4 / 0 5 6 3 1 2 (これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)を参照のこと)、ならびに、- 1 , 6 - フコシルトランスフェラーゼ遺伝子またはF U T 8ノックアウトC H O細胞などのノックアウト細胞株(Y a m a n e - O h n u k i e t a l . , B i o t e c h . B i o e n g . , 2 0 0 4 , 8 7 : 6 1 4 - 6 2 2 ; K a n d a e t a l . , B i o t e c h n o l . B i o e n g . , 2 0 0 6 , 9 4 : 6 8 0 - 6 8 8 ; 及びW O 2 0 0 3 / 0 8 5 1 0 7 (これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)を参照のこと)が欠損している。

40

【0185】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、非グリコシル化抗体である。非グ

50

リコシル化抗体は、当該技術分野で既知または本明細書に記載の任意の方法を使用して生成することができる。一部の態様では、非グリコシル化抗体は、抗体を修飾して全てのグリコシル化部位を除去することにより生成される。一部の態様では、グリコシル化部位は、抗体のFc領域からのみ除去される。一部の態様では、非グリコシル化抗体は、大腸菌(E. coli)などのグリコシル化が不可能な生物で抗体を発現させることにより、または無細胞反応混合物で抗体を発現させることにより産生される。

【0186】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、天然IgG1抗体と比較してエフェクター機能が低減した定常領域を有する。一部の実施形態では、Fc受容体に対する本明細書で提供される抗体のFc領域の定常領域の親和性は、そのようなFc受容体に対する天然IgG1定常領域の親和性よりも低い。

10

【0187】

Fc領域及び変種

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、Fc領域を含む。特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、天然に存在するFc領域と比較して1つ以上のアミノ酸置換、挿入、または欠失を有するFc領域を含む。一部の態様では、そのような置換、挿入、または欠失は、安定性、グリコシル化、またはその他の特性が変更された抗体を生じる。一部の態様では、そのような置換、挿入、または欠失は、非グリコシル化抗体を生じる。

【0188】

「多様性Fc領域」または「操作Fc領域」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾、好ましくは、1つ以上のアミノ酸置換(複数可)により天然配列Fc領域とは異なるアミノ酸配列を含む。好ましくは、多様性Fc領域は、天然配列Fc領域または親ポリペプチドのFc領域と比較して、少なくとも1つのアミノ酸置換、例えば、天然配列Fc領域または親ポリペプチドのFc領域において、約1~約10のアミノ酸置換、好ましくは、約1~約5つのアミノ酸置換、を有する。本明細書の多様性Fc領域は、好ましくは、天然配列Fc領域及び/または親ポリペプチドのFc領域と少なくとも約80%の相同性、最も好ましくは、少なくとも約90%の相同性、より好ましくは、少なくとも約95%の相同性を有する。

20

【0189】

「デッドFc」の多様性Fc配列は、EUインデックス位置234、235、及び237においてFcRI結合を低減させるために、CH2領域に3つのアミノ酸置換を含み得る(Duncan et al., (1988) Nature 332:563を参照のこと)。EUインデックス位置330及び331の補体C1q結合部位の2つのアミノ酸置換は、補体結合を低減させる(Tao et al., J. Exp. Med. 178:661(1993)及びCanfield and Morrison, J. Exp. Med. 173:1483(1991)を参照のこと)。233~236位のIgG2残基ならびに327、330、及び331位のIgG4残基のヒトIgG1の置換は、ADCC及びCDCを大幅に低減させる(例えば、Armour KL et al., 1999 Eur J Immunol. 29(8):2613-24;及びShields RL et al., 2001 J Biol Chem. 276(9):6591-604を参照のこと)。

30

【0190】

FcRまたはC1qへのIgGの結合は、ヒンジ領域及びCH2ドメインに位置する残基に依存する。CH2ドメインの2つの領域は、FcR及びC1q結合に重要であり、IgG2及びIgG4に特有の配列を有するであろう。233~236位のヒトIgG1またはIgG2残基ならびに327、330、及び331位のIgG4残基への置換は、ADCC及びCDCを大幅に低減させることが示されている。ヒトIgG1のCH2ドメインにおいて、多くの変異が生じている。

40

【0191】

50

3つのアミノ酸置換 L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、及び G 2 3 7 A は、F c R 及び補体エフェクター機能を大幅に除去する（例えば、U S 2 0 1 0 0 2 6 6 5 0 5 を参照のこと）。
【 0 1 9 2 】

一部の実施形態では、F c 領域は、発現宿主の選択、アミノ酸置換が天然タンパク質と比較してグリコシル化及び F c R への結合を低減させる酵素処理により修飾されている。F c R への結合を低減させる変異は、最適な F c R 相互作用に必要とされることが知られている F c ドメインのアスパラギン 2 9 7 上のグリコシル化の修飾を含むが、これらに限定されない。例えば、既知のアミノ酸置換は、N 2 9 7 A または N 2 9 7 G を含み、これにより、タンパク質上のグリコシル化部位の喪失がもたらされる。酵素的に脱グリコシル化された F c ドメイン、グリコシル化阻害剤の存在下で組み換え発現された抗体、及び細菌における F c ドメインの発現は、類似のグリコシル化の喪失及びそれに伴う F c R への結合を有する。

10

【 0 1 9 3 】

L A L A 変種である L 2 3 4 A / L 2 3 5 A はまた、F c R 結合を大幅に低減させており、E 2 3 3 P / L 2 3 4 V / L 2 3 5 A / G 2 3 6 + A 3 2 7 G / A 3 3 0 S / P 3 3 1 S も同様である。例えば、Armour et al. (1999) Eur J Immunol. 29 (8) : 2613 - 24 を参照のこと。変異のセット：K 3 2 2 A、L 2 3 4 A、及び L 2 3 5 A は、F c R 及び C 1 q 結合をほぼ完全に消滅させるのに十分である。3つの変異のセット、L 2 3 4 F / L 2 3 5 E / P 3 3 1 S (T M と呼ばれる) は、非常によく似た効果がある。

20

【 0 1 9 4 】

限定されないが、ジスルフィド結合を形成可能な領域が欠失しているもの、または特定のアミノ酸残基が天然 F c 形態もしくはメチオニン残基の N 末端で除去されるものを含む他の F c 変種が可能である。

【 0 1 9 5 】

F c は、天然糖鎖を有する形態、天然形態と比較した糖鎖の増加または天然形態と比較した糖鎖の減少を有しても、非グリコシル化または脱グリコシル化形態であってもよい。糖鎖の増加、減少、除去、または他の修飾は、化学的方法、酵素的な方法などの当該技術分野における一般的な方法により、または遺伝子操作された産生細胞系でそれを発現させることにより達成されてもよい。そのような細胞株は、天然にグリコシル化酵素を発現する微生物、例えば、*Pichia Pastoris*、及び哺乳動物細胞株、例えば、CHO 細胞、を含み得る。さらに、微生物または細胞は、グリコシル化酵素を発現するように操作することができるか、またはグリコシル化酵素を発現することができないようにすることができる（例えば、Hamilton, et al., Science, 313: 1441 (2006); Kanda, et al., J. Biotechnology, 130: 300 (2007); Kitagawa, et al., J. Biol. Chem., 269 (27): 17872 (1994); Ujita-Lee et al., J. Biol. Chem., 264 (23): 13848 (1989); Imai-Nishiyama, et al., BMC Biotechnology 7: 84 (2007); 及び WO 07 / 055916 を参照のこと）。シアリル化活性が変化するように操作された細胞の一例として、- 2, 6 - シアリルトランスフェラーゼ 1 遺伝子がチャイニーズハムスター卵巣細胞及び sf 9 細胞に操作されている。従って、これらの操作された細胞により発現される抗体は、外因性遺伝子産物によりシアリル化される。複数の天然分子と比較して改変された量の糖残基を有する F c 分子を得るためのさらなる方法は、例えば、レクチンアフィニティークロマトグラフィーを使用して、該複数の分子をグリコシル化及び非グリコシル化画分に分離することを含む（例えば、WO 07 / 117505 を参照のこと）。特定のグリコシル化部分の存在は、免疫グロブリンの機能を変更することが示されている。例えば、F c 分子から糖鎖を除去すると、第 1 の補体成分 C 1 の C 1 q 部分への結合親和性の急激な減少、及び、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害 (ADCC) または補体依存性細胞傷害 (CDC) の減少または喪失がもたらされ、それにより、in vivo で不

30

40

50

必要な免疫応答を誘導しない。追加の重要な修飾は、シアリル化及びフコシル化を含み：IgGのシアリル酸の存在は、抗炎症活性と相関しており（例えば、Kaneko, et al, Science 313:760(2006)を参照のこと）、一方、IgGからのフコスの除去は、ADCC活性の増強をもたらす（例えば、Shoj-Hosaka, et al, J. Biochem., 140:777(2006)を参照のこと）。

【0196】

「Fc領域含有抗体」という用語は、Fc領域を含む抗体を指す。Fc領域のC末端リジン（EU番号付けシステムによる残基447）は、例えば、抗体の精製中に、または抗体をコードする核酸の組み換え工学により除去されてもよい。従って、Fc領域を有する抗体は、K447を含むかまたは含まない抗体を含み得る。

10

【0197】

一部の態様では、本明細書で提供される抗体のFc領域を修飾して、Fc受容体に対する親和性に変更された抗体、または免疫学的により不活性な抗体を得る。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体変種は、全てではないが一部のエフェクター機能を有する。そのような抗体は、例えば、抗体の半減期がin vivoで重要であるが、特定のエフェクター機能（例えば、補体活性化及びADCC）が不要または有害である時に有用であり得る。

【0198】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体のFc領域は、ヒンジ安定化変異S228P及びL235Eのうちの1つ以上を含むヒトIgG4 Fc領域である。全体が参照により組み込まれるAalberse et al., Immunology, 2002, 105:9-19を参照のこと。一部の実施形態では、IgG4 Fc領域は、以下の変異：E233P、F234V、及びL235Aのうちの1つ以上を含む。全体が参照により組み込まれるArmour et al., Mol. Immunol., 2003, 40:585-593を参照のこと。一部の実施形態では、IgG4 Fc領域は、位置G236に欠失を含む。

20

【0199】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体のFc領域は、Fc受容体結合を低減する1つ以上の変異を含むヒトIgG1 Fc領域である。一部の態様では、1つ以上の変異は、S228（例えば、S228A）、L234（例えば、L234A）、L235（例えば、L235A）、D265（例えば、D265A）、及びN297（例えば、N297A）から選択される残基に存在する。一部の態様では、抗体は、PVA236変異を含む。PVA236は、IgG1のアミノ酸位置233～236であるアミノ酸配列ELLG(SEQ ID NO:51)またはIgG4のEFLG(SEQ ID NO:52)が、PVAにより置き換えられていることを意味する。全体が参照により組み込まれる米国特許第9,150,641号を参照のこと。

30

【0200】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体のFc領域は、Armour et al., Eur. J. Immunol., 1999, 29:2613-2624; WO1999/058572; 及び/または英国特許出願第98099518号（これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる）に記載されるように修飾されている。

40

【0201】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体のFc領域は、変異A330S及びP331Sのうちの1つ以上を含むヒトIgG2 Fc領域である。

【0202】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体のFc領域は、238、265、269、270、297、327、及び329から選択される1つ以上の位置でアミノ酸置換を有する。全体が参照により組み込まれる米国特許第6,737,056号を参照のこと。このようなFc変異体は、残基265及び297をアラニンで置換した、いわゆる「DANA」Fc変異体を含む、アミノ酸位置265、269、270、297、及び327

50

のうちの2つ以上での置換を有するFc変異体を含む。全体が参照により組み込まれる米国特許第7,332,581号を参照のこと。一部の実施形態では、抗体は、アミノ酸位置265にアラニンを含む。一部の実施形態では、抗体は、アミノ酸位置297にアラニンを含む。

【0203】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、Fc領域の位置298、333、及び334のうちの1つ以上での置換など、ADCCを改善する1つ以上のアミノ酸置換を有するFc領域を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、全体が参照により組み込まれるLazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2006, 103: 4005-4010に記載されるように、239、332、及び330位における1つ以上のアミノ酸置換を有するFc領域を含む。

10

【0204】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、C1q結合及び/またはCDCを改善するかまたは減少させる1つ以上の改変を含む。米国特許第6,194,551号; WO99/51642; 及びIdusogie et al., J. Immunol., 2000, 164: 4178-4184(これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)を参照のこと。

【0205】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、半減期を増加させる1つ以上の改変を含む。半減期が増加し且つ新生児Fc受容体(FcRn)への結合が改善された抗体は、例えば、Hinton et al., J. Immunol., 2006, 176: 346-356; 及び米国特許公開第2005/0014934号(これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)に記載される。そのようなFc変種としては、IgGのFc領域残基: 238、250、256、265、272、286、303、305、307、311、312、314、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、428、及び434のうちの1つ以上に置換を有するものが挙げられる。

20

【0206】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、米国特許第7,371,826号、同第5,648,260号、及び同第5,624,821号; Duncan and Winter, Nature, 1988, 322: 738-740; ならびにWO94/29351に記載される1つ以上のFc領域変種を含み、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

30

【0207】

ヌクレオチド、ベクター、宿主細胞、及び関連方法

SIRP-アルファ抗体をコードする単離核酸、核酸を含むベクター、ならびにベクター及び核酸を含む宿主細胞、ならびに、抗体の産生のための組み換え技術もまた提供される。

【0208】

一部の実施形態では、SEQ ID NO: 1~36で提供される例示的な配列と少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、または99%の同一性を有する配列をコードする核酸配列が提供される。一部の実施形態は、最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25のアミノ酸置換を有する、SEQ ID NO: 1~36に提供される配列をコードする核酸配列が提供される。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、SEQ ID NO: 37~44で提供される例示的な配列と少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、または99%の同一性を有する配列を含む。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、または25の変異を有する、SEQ ID NO

40

50

： 37 ~ 44 で提供される配列を含む。一部の態様では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。一部の実施形態では、本パラグラフに記載の抗体は、本明細書では「変種」と呼ばれる。一部の実施形態では、そのような変種は、例えば、親和性成熟、部位特異的変異導入、ランダム変異導入、または当該分野で既知もしくは本明細書に記載の他の任意の方法による、本明細書で提供される配列に由来する。一部の実施形態では、そのような変種は、本明細書で提供される配列に由来しておらず、例えば、抗体を得るための本明細書で提供される方法に従って *de novo* で単離されてもよい。

【0209】

抗体の組み換え産生のために、それをコードする核酸（複数可）を単離し、さらなるクローニング（すなわち、DNA の増幅）または発現のために複製可能なベクターに挿入されてもよい。一部の態様では、核酸は、例えば、全体が参照により組み込まれる米国特許第 5,204,244 号に記載されるように、相同組み換えにより産生されてもよい。

【0210】

多くの異なるベクターは、当該技術分野で既知である。ベクター構成要素は一般に、例えば、全体が参照により組み込まれる米国特許第 5,534,615 号に記載されるように、以下の：シグナル配列、複製起点、1 つ以上のマーカー遺伝子、エンハンサー要素、プロモーター、及び転写終結配列のうちの 1 つ以上を含む。

【0211】

好適な宿主細胞の実例が以下に提供される。これらの宿主細胞は、限定するものではなく、任意の好適な宿主細胞は、本明細書で提供される抗体を産生するように使用されてもよい。

【0212】

好適な宿主細胞としては、原核生物（例えば、細菌）、下等真核生物（例えば、酵母）、または高等真核生物（例えば、哺乳動物）細胞が挙げられる。好適な原核生物としては、真正細菌、例えば、グラム陰性またはグラム陽性生物、例えば、腸内細菌、例えば、エシェリキア属 (*Escherichia*)（大腸菌）、エンテロバクター属 (*Enterobacter*)、エルウィニア属 (*Erwinia*)、クレブシエラ属 (*Klebsiella*)、プロテウス属 (*Proteus*)、サルモネラ属 (*Salmonella*)（*S. ティフィムリウム* (*S. typhimurium*))、セラチア属 (*Serratia*)（*S. マルセッセンス* (*S. marcescans*)) シゲラ属 (*Shigella*)、桿菌 (*Bacilli*)（枯草菌 (*B. Subtilis*) 及び *B. リケニフォルミス* (*B. licheniformis*))、シュードモナス属 (*Pseudomonas*)（緑膿菌 (*P. aeruginosa*))、ならびにストラプトマイセス属 (*Streptomyces*) が挙げられる。1 つの有用な大腸菌クローニング宿主は、大腸菌 294 であるが、大腸菌 B、大腸菌 X1776、及び大腸菌 W3110 などの他の株もまた適する。

【0213】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物もまた、SIRP - アルファ抗体をコードするベクターの好適なクローニングまたは発現宿主である。サッカロミセス・セレヴィシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、または一般的なパン酵母は、一般に使用される下等真核生物宿主微生物である。しかし、他の多数の属、種、及び株、例えば、シゾサッカロミセス・ボンベ (*Schizosaccharomyces pombe*)、クルイヴェロミセス属 (*Kluyveromyces*)（*K. ラクティス* (*K. lactis*)、*K. フラジリス* (*K. fragilis*)、*K. ブルガリクス* (*K. bulgaricus*)、*K. ウィッカーハミー* (*K. wickehamii*)、*K. ワルティー* (*K. waltii*)、*K. ドロソフィラルム* (*K. drosophilae*)、*K. サーモトレランス* (*K. thermotolerans*)、及び *K. マルキシアヌス* (*K. marxianus*))、ヤロウィア属 (*Yarrowia*)、ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*)、カンジダ属 (*Candida*)（*C. アルピカンス* (*C. albicans*))、トリコデルマ・レーセイ (*Tri*

10

20

30

40

50

choderma reesia)、アカパンカビ(*Neurospora crassa*)、シュワンニオミセス属(*Schwanniomyces*)(*S. occidentalis*)、ならびに、糸状菌、例えば、ペニシリウム属(*Penicillium*)、トリポクラジウム属(*Tolypocladium*)、及びアスペルギルス属(*Aspergillus*)(*A. nidulans*)及び*A. niger*)が利用可能であり且つ有用である。

【0214】

有用な哺乳動物宿主細胞としては、COS-7細胞、HEK293細胞；ベビーハムスター腎臓(BHK)細胞；チャイニーズハムスター卵巣(CHO)；マウスセルトリ細胞；アフリカミドリザル腎細胞(VERO-76)などが挙げられる。

10

【0215】

SIRP-アルファ抗体を産生するために使用される宿主細胞は、種々の培地において培養されてもよい。例えば、ハムF10、最小必須培地(MEM)、RPMI-1640、及びダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)などの市販の培地は、宿主細胞の培養に適する。さらに、Ham et al., Meth. Enz., 1979, 58:44; Barnes et al., Anal. Biochem., 1980, 102:255; ならびに米国特許第4,767,704号、同第4,657,866号、同第4,927,762号、同第4,560,655号、及び同第5,122,469号；またはWO90/03430及びWO87/00195に記載の培地のいずれかが使用されてもよい。上述の参考文献のそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

20

【0216】

これらの培地のいずれかは、必要に応じて、ホルモン及び/または他の成長因子(例えば、インスリン、トランスフェリン、または上皮成長因子)、塩(例えば、塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、及びリン酸塩)、緩衝液(例えば、HEPES)、ヌクレオチド(例えば、アデノシン及びチミジン)、抗生物質、微量元素(マイクロモルの最終濃度で通常存在する無機化合物として定義される)、ならびに、グルコースまたは同等のエネルギー供給源が補充されてもよい。他の任意の必要な補充物はまた、当業者らに既知の適切な濃度で含まれてもよい。

【0217】

温度、pHなどの培養条件は、発現のために選択される宿主細胞と共に以前に使用されたものであり、当業者には明らかであろう。

30

【0218】

組み換え技術を使用する時、抗体は、細胞内、ペリプラズム内に産生させるか、または培地に直接分泌させることができる。抗体が細胞内で産生される場合、最初のステップとして、例えば、遠心分離または限外濾過により、宿主細胞または溶解フラグメントのいずれかの粒子状の破片を除去する。例えば、Carter et al. (全体が参照により組み込まれるBio/Technology, 1992, 10:163-167)は、大腸菌のペリプラズムに分泌される抗体を単離する手順を記載している。要約すると、細胞ペーストは、酢酸ナトリウム(pH3.5)、EDTA、及びフェニルメチルスルホニルフルオリド(PMSF)の存在下で約30分かけて解凍される。細胞破片は、遠心分離により除去することができる。

40

【0219】

一部の実施形態では、抗体は、無細胞系で産生される。一部の態様では、無細胞系は、全体が参照により組み込まれるYin et al., mAbs, 2012, 4:217-225に記載されるin vitro転写及び翻訳系である。一部の態様では、無細胞系は、真核細胞または原核細胞からの無細胞抽出物を利用する。一部の態様では、原核細胞は、E. coliである。抗体の無細胞発現は、例えば、抗体が不溶性凝集体として細胞内に蓄積する場合、またはペリプラズム発現からの収量が低い場合に有用であり得る。

【0220】

抗体が培地中に分泌される場合、そのような発現系からの上清は一般に、市販のタンパ

50

ク質濃縮フィルター、例えば、Amicon（登録商標）またはMillipore（登録商標）Pellicon（登録商標）限外濾過ユニットを使用して、まず濃縮される。タンパク質分解を阻害するPMSEなどのプロテアーゼ阻害剤が上述のステップのいずれかに含まれてもよく、偶発性の汚染物質の成長を妨げる抗生物質が含まれてもよい。

【0221】

細胞から調製される抗体組成物は、例えば、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、及びアフィニティークロマトグラフィーを使用して精製することができ、アフィニティークロマトグラフィーが特に有用な精製技術である。親和性リガンドとしてのプロテインAの適合性は、抗体に存在する任意の免疫グロブリンFcドメインの種及びアイソタイプに依存する。プロテインAは、ヒト 1、 2、または 4 重鎖を含む抗体を精製するために使用することができる（全体が参照により組み込まれるLindmark et al., J. Immunol. Meth., 1983, 62: 1-13）。プロテインGは、全てのマウスアイソタイプ及びヒト 3に有用である（全体が参照により組み込まれるGuss et al., EMBO J., 1986, 5: 1567-1575）。

10

【0222】

親和性リガンドが結合しているマトリックスは多くの場合、アガロースであるが、他のマトリックスが利用可能である。制御された細孔ガラスまたはポリ（スチレンジビニル）ベンゼンなどの機械的に安定したマトリックスは、アガロースで達成することができるよりも早い流速及び短い処理時間を可能にする。抗体が、CH3ドメインを含む場合、Bakerbond ABX（登録商標）樹脂が精製に有用である。

20

【0223】

イオン交換カラムの分画、エタノール沈殿、逆相HPLC、シリカ上のクロマトグラフィー、ヘパリンセファロース（登録商標）上のクロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、SDS-PAGE、及び硫酸アンモニウム沈殿などのタンパク質精製のための他の技術もまた利用可能であり、当業者が適用することができる。

【0224】

任意の予備的精製ステップ（複数可）の後に、目的の抗体及び汚染物質を含む混合物は、低塩濃度（例えば、約0～約2.5 Mの塩）で一般的に実施される、pH約2.5～約4.5の溶出緩衝液を使用した低pHの疎水性相互作用クロマトグラフィーにかけられてもよい。

30

【0225】

SIRP - アルファ抗体の作製方法

SIRP - アルファ抗原の調製

本明細書で提供される抗体の単離または作製に使用されるSIRP - アルファ抗原は、インタクトなSIRP - アルファまたはSIRP - アルファのフラグメントであってよい。SIRP - アルファ抗原は、例えば、単離タンパク質または細胞の表面に発現されるタンパク質の形態であってよい。

【0226】

一部の実施形態では、SIRP - アルファ抗原は、SIRP - アルファの天然では存在しない変種、例えば、天然に存在しないアミノ酸配列または翻訳後修飾を有するSIRP - アルファタンパク質、である。

40

【0227】

一部の実施形態では、SIRP - アルファ抗原は、例えば、細胞内もしくは膜貫通配列、またはシグナル配列の除去により切断される。一部の実施形態では、SIRP - アルファ抗原は、そのC末端で、ヒトIgG1 Fcドメインまたはポリヒスチジンタグに融合する。

【0228】

モノクローナル抗体の作製方法

モノクローナル抗体は、例えば、Kohler et al., Nature, 1975

50

、256:495-497(全体が参照により組み込まれる)により最初に記載されるハイブリドーマ法を使用して且つ/または組み換えDNA法(例えば、全体が参照により組み込まれる米国特許第4,816,567号を参照のこと)により得られ得る。モノクローナル抗体はまた、例えば、ファージまたは酵母ベースのライブラリーを使用して得られ得る。例えば、米国特許第8,258,082号及び同第8,691,730号(これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)を参照のこと。

【0229】

ハイブリドーマ法では、マウスまたは他の適切な宿主動物が、免疫に使用されるタンパク質に特異的に結合する抗体を産生するか、または産生することが可能なリンパ球を誘発するように免疫される。あるいは、リンパ球は、*in vitro*で免疫化されてもよい。次に、リンパ球は、ハイブリドーマ細胞を形成するために、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を使用して骨髓腫細胞と融合される。全体が参照により組み込まれる Goding J.W., Monoclonal Antibodies: Principles and Practice 3rd ed. (1986) Academic Press, San Diego, CAを参照のこと。

【0230】

ハイブリドーマ細胞は、融合していない親骨髓腫細胞の成長または生存を阻害する1つ以上の物質を含有する好適な培地に播種され、成長する。例えば、親骨髓腫細胞が、酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRTまたはHPR T)を欠損している場合、ハイブリドーマの培地は通常、ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン(HAT培地)を含むことになり、この物質は、HGPRT欠損細胞の成長を妨げる。

【0231】

有用な骨髓腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞により抗体の安定で高レベルの産生をサポートし、且つHAT培地の有無などの敏感な培地条件であるものである。これらのうち、好ましい骨髓腫細胞株は、MOP-21及びMC-11マウス腫瘍(Salk Institute Cell Distribution Center、カリフォルニア州サンディエゴから入手可能)、ならびに、SP-2またはX63-Ag8-653細胞(American Type Culture Collection、メリーランド州ロックビルから入手可能)に由来するようなマウス骨髓腫株である。ヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロミエローマ細胞株もまた、ヒトモノクローナル抗体の産生について報告されている。例えば、全体が参照により組み込まれる Kozbor, J. Immunol., 1984, 133:3001を参照のこと。

【0232】

所望の特異性、親和性、及び/または生物学的活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞の同定後、選択されるクローンは、限界希釈法によりサブクローニングされ、標準的な方法で成長させてもよい。上掲の Goding を参照のこと。この目的に適する培地は、例えば、D-MEMまたはRPMI-1640培地を含む。さらに、ハイブリドーマ細胞は、動物の腹水腫瘍として*in vivo*で成長させてもよい。

【0233】

モノクローナル抗体をコードするDNAは、従来の手順を使用して(例えば、モノクローナル抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能なオリゴヌクレオチドプローブを使用することにより)容易に単離及び配列決定され得る。従って、ハイブリドーマ細胞は、所望の特性を有する抗体をコードするDNAの有用な供給源として機能し得る。単離されると、DNAは、モノクローナル抗体を産生させるために、発現ベクターに入れられ、次に、これらは、宿主細胞、例えば、他の方法で抗体を産生しない細菌(例えば、大腸菌)、酵母(例えば、サッカロミセスもしくはピキア種)、COS細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)、または骨髓腫細胞にトランスフェクトされてもよい。

【0234】

キメラ抗体の作製方法

10

20

30

40

50

キメラ抗体を作製する例示的な方法は、例えば、米国特許第4,816,567号；及びMorrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1984, 81:6851-6855（これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる）に記載される。一部の実施形態では、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサルなどの非ヒト霊長類に由来する可変領域）をヒト定常領域と組み合わせる組み換え技術を使用することにより作製される。

【0235】

ヒト化抗体の作製方法

ヒト化抗体は、非ヒトモノクローナル抗体の構造部分の大部分または全てを対応するヒト抗体配列で置き換えることにより生成され得る。従って、抗原特異的可変要素またはCDRのみが非ヒト配列で構成されるハイブリッド分子が生成される。ヒト化抗体を得る方法は、例えば、Winter and Milstein, Nature, 1991, 349:293-299; Rader et al., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1998, 95:8910-8915; Steinberger et al., J. Biol. Chem., 2000, 275:36073-36078; Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1989, 86:10029-10033; ならびに、米国特許第5,585,089号、同第5,693,761号、同第5,693,762号、及び同第6,180,370号に記載されるものを含み、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

【0236】

ヒト抗体の作製方法

ヒト抗体は、例えば、トランスジェニック動物（例えば、ヒト化マウス）を使用することにより、当該技術分野で既知の様々な技術により生成することができる。例えば、Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1993, 90:2551; Jakobovits et al., Nature, 1993, 362:255-258; Bruggermann et al., Year in Immunol., 1993, 7:33; ならびに米国特許第5,591,669号、同第5,589,369号、及び同第5,545,807号（これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる）を参照のこと。ヒト抗体はまた、ファージディスプレイライブラリーに由来し得る（例えば、Hoogenboom et al., J. Mol. Biol., 1991, 227:381-388; Marks et al., J. Mol. Biol., 1991, 222:581-597; ならびに米国特許第5,565,332号及び同第5,573,905号（これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる）を参照のこと）。ヒト抗体はまた、in vitroで活性化されたB細胞により生成され得る（例えば、米国特許第5,567,610号及び同第5,229,275号（これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる）を参照のこと）。ヒト抗体はまた、酵母ベースのライブラリーに由来してもよい（例えば、全体が参照により組み込まれる米国特許第8,691,730号を参照のこと）。

【0237】

抗体フラグメントの作製方法

本明細書で提供される抗体フラグメントは、本明細書に記載の例示的な方法または当該技術分野で既知のものを含む、任意の好適な方法により作製されてもよい。好適な方法は、組み換え技術及び抗体全体のタンパク質分解消化を含む。抗体フラグメントを作製する例示的な方法は、例えば、全体が参照により組み込まれるHudson et al., Nat. Med., 2003, 9:129-134に記載される。scFv抗体の作製方法は、例えば、Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994); WO93/16185; ならびに米国特許第5,571,894号及び同第5,587,458号に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により

組み込まれる。

【0238】

代替骨格の作製方法

本明細書で提供される代替骨格は、本明細書に記載の例示的な方法または当該技術分野で既知のものを含む、任意の好適な方法により作製されてもよい。例えば、Adnectins (商標) の調製方法は、全体が参照により組み込まれるEmanuel et al., mAbs, 2011, 3:38-48に記載される。iMabを調製する方法は、全体が参照により組み込まれる米国特許公開第2003/0215914号に記載される。Anticalins (登録商標) の調製方法は、全体が参照により組み込まれるVogt and Skerra, Chem. Biochem., 2004, 5:191-199に記載される。Kunitzドメインの調製方法は、全体が参照により組み込まれるWagner et al., Biochem. & Biophys. Res. Comm., 1992, 186:118-1145に記載される。チオレドキシンペプチドアプタマーの調製方法は、全体が参照により組み込まれるGeyer and Brent, Meth. Enzymol., 2000, 328:171-208で提供される。アフイボディの調製方法は、全体が参照により組み込まれるFernandez, Curr. Opin. in Biotech., 2004, 15:364-373で提供される。DARPinの調製方法は、全体が参照により組み込まれるZahnd et al., J. Mol. Biol., 2007, 369:1015-1028で提供される。Affilinsの調製方法は、全体が参照により組み込まれるEbersbach et al., J. Mol. Biol., 2007, 372:172-185で提供される。テトラネクチンの調製方法は、全体が参照により組み込まれるGraversen et al., J. Biol. Chem., 2000, 275:37390-37396で提供される。アビマーの調製方法は、全体が参照により組み込まれるSilverman et al., Nature Biotech., 2005, 23:1556-1561で提供される。Fynomerの調製方法は、全体が参照により組み込まれるSilacci et al., J. Biol. Chem., 2014, 289:14392-14398で提供される。代替骨格に関するさらなる情報は、Binz et al., Nat. Biotechnol., 2005, 23:1257-1268; 及びSkerra, Current Opin. in Biotech., 2007, 18:295-304で提供され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

【0239】

多重特異性抗体の作製方法

本明細書で提供される多重特異性抗体は、本明細書に記載の例示的な方法または当該技術分野で既知のものを含む、任意の好適な方法により作製されてもよい。一般的な軽鎖抗体の作製方法は、全体が参照により組み込まれるMerchant et al., Nature Biotechnol., 1998, 16:677-681に記載される。四価の二重特異性抗体の作製方法は、全体が参照により組み込まれるColoma and Morrison, Nature Biotechnol., 1997, 15:159-163に記載される。ハイブリッド免疫グロブリンの作製方法は、Milstein and Cuelllo, Nature, 1983, 305:537-540; 及びStaerz and Bevan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1986, 83:1453-1457に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。knobs-into-holes修飾を有する免疫グロブリンの作製方法は、全体が参照により組み込まれる米国特許第5,731,168号に記載される。静電的修飾を伴う免疫グロブリンの作製方法は、全体が参照により組み込まれるWO2009/089004で提供される。二重特異性単鎖抗体の作製方法は、Traunecker et al., EMBO J., 1991, 10:3655-3659; 及びGruber et al., J. Immunol., 1994, 152:5368-5374に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。リンカーの長さが変動し得る単鎖抗体

の作製方法は、米国特許第4,946,778号及び同第5,132,405号に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。ダイアボディの作製方法は、全体が参照により組み込まれるHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, 90:6444-6448に記載される。トリアボディ及びテトラボディの作製方法は、全体が参照により組み込まれるTodorovska et al., J. Immunol. Methods, 2001, 248:47-66に記載される。三重特異性F(ab')₃誘導体の作製方法は、全体が参照により組み込まれるTutt et al., J. Immunol., 1991, 147:60-69に記載される。架橋抗体の作製方法は、米国特許第4,676,980号; Brennan et al., Science, 1985, 229:81-83; Staerz, et al. Nature, 1985, 314:628-631; 及びEP0453082に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。ロイシンジッパーにより組み立てられた抗原結合ドメインの作製方法は、全体が参照により組み込まれるKostelyny et al., J. Immunol., 1992, 148:1547-1553に記載される。DNLアプローチを介する抗体の作製方法は、米国特許第7,521,056号; 同第7,550,143号; 同第7,534,866号; 及び同第7,527,787号に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。抗体及び非抗体分子のハイブリッドの作製方法は、そのような抗体の例については、全体が参照により組み込まれるWO93/08829に記載される。DAF抗体の作製方法は、全体が参照により組み込まれる米国特許公開第2008/0069820号に記載される。還元及び酸化を介する抗体の作製方法は、全体が参照により組み込まれるCarlring et al., PLoS One, 2011, 6:e22533に記載される。DVD-Ig(商標)の作製方法は、全体が参照により組み込まれる米国特許第7,612,181号に記載される。DART(商標)の作製方法は、全体が参照により組み込まれるMoore et al., Blood, 2011, 117:454-451に記載される。Duobody(登録商標)の作製方法は、Labrijn et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2013, 110:5145-5150; Gramer et al., mAbs, 2013, 5:962-972; 及びLabrijn et al., Nature Protocols, 2014, 9:2450-2463に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。IgG由来のCH₃のC末端に融合しているscFvを含む抗体の作製方法は、全体が参照により組み込まれるColoma and Morrison, Nature Biotechnol., 1997, 15:159-163に記載される。Fab分子が免疫グロブリンの定常領域に結合している抗体の作製方法は、全体が参照により組み込まれるMiller et al., J. Immunol., 2003, 170:4854-4861に記載される。CovX-Bodyの作製方法は、全体が参照により組み込まれるDoppalapudi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010, 107:22611-22616に記載される。Fcab抗体の作製方法は、全体が参照により組み込まれるWozniak-Knopp et al., Protein Eng. Des. Sel., 2010, 23:289-297に記載される。TandAb(登録商標)抗体の作製方法は、Kipriyanov et al., J. Mol. Biol., 1999, 293:41-56及びZhukovsky et al., Blood, 2013, 122:5116に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。タンデムFabの作製方法は、全体が参照により組み込まれるWO2015/103072に記載される。Zyodies(商標)の作製方法は、全体が参照により組み込まれるLaFleur et al., mAbs, 2013, 5:208-218に記載される。

【0240】

変種の作製方法

エラーブローンPCR、鎖シャッフリング、及びトリヌクレオチド特異的変異導入(TRIM)などのオリゴヌクレオチド特異的変異導入を含む、任意の好適な方法は、抗体を

コードするポリヌクレオチド配列（複数可）に可変性を導入するために使用することができる。一部の態様では、いくつかのCDR残基（例えば、一度に4～6残基）がランダム化される。抗原結合に関与するCDR残基は、例えば、アラニンスキャニング変異導入またはモデリングを使用して特異的に同定されてもよい。特に、CDR-H3及びCDR-L3は多くの場合、変異の標的とされる。

【0241】

可変領域及び/またはCDRへの多様性の導入は、2次ライブラリーの作成に使用することができる。次に、2次ライブラリーをスクリーニングして、親和性が改善された抗体変種を特定する。2次ライブラリーの構築及び再選択による親和性成熟は、例えば、全体が参照により組み込まれるHoogenboom et al., *Methods in Molecular Biology*, 2001, 178: 1-37に記載されている。

10

【0242】

アッセイ

当該分野で既知の様々なアッセイは、本明細書で提供されるSIRP-アルファ抗体を同定及び特性決定するために使用されてもよい。

【0243】

結合、競合、及びエピトープマッピングアッセイ

本明細書で提供される抗体の特異的抗原結合活性は、本開示の他の箇所で説明されるように、SPR、BLI、RIA、及びMSD-SETの使用を含む任意の好適な方法により評価されてもよい。さらに、抗原結合活性は、ELISAアッセイ及びウェスタンブロットアッセイにより評価されてもよい。

20

【0244】

2つの抗体間の競合または抗体及び別の分子（例えば、SIRP-アルファの1つ以上のリガンド）間の競合を測定するためのアッセイは、本開示の他の箇所、及び例えば、全体が参照により組み込まれるHarlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* ch. 14, 1988, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.に記載される。

【0245】

本明細書で提供される抗体が結合するエピトープをマッピングするためのアッセイは、例えば、全体が参照により組み込まれるMorris "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol. 66, 1996, Humana Press, Totowa, N.J.に記載される。一部の実施形態では、エピトープは、ペプチド競合により決定される。一部の実施形態では、エピトープは、質量分析法により決定される。一部の実施形態では、エピトープは、結晶学により決定される。

30

【0246】

エフェクター機能のアッセイ

本明細書で提供される抗体による処置後のエフェクター機能は、Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.*, 1991, 9: 457-492; 米国特許第5,500,362号、同第5,821,337号; Hellstrom et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1986, 83: 7059-7063; Hellstrom et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1985, 82: 1499-1502; Bruggemann et al., *J. Exp. Med.*, 1987, 166: 1351-1361; Clynes et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1998, 95: 652-656; WO2006/029879; WO2005/100402; Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods*, 1996, 202: 163-171; Cragg et al., *Blood*, 2003, 101: 1045-1052; Cragg et al. *Blood*, 2004, 103: 2738-2743; 及

40

50

び Petkova et al., Int'l. Immunol., 2006, 18: 1759 - 1769 (これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる)に記載されるものを含む、当該技術分野で既知の様々な in vitro 及び in vivo アッセイを使用して評価されてもよい。

【0247】

医薬組成物

本明細書で提供される抗体は、任意の適切な医薬組成物に製剤化し且つ任意の好適な投与経路により投与することができる。好適な投与経路としては、動脈内、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、経鼻、非経口、経肺、及び皮下経路が挙げられるが、これらに限定されない。

【0248】

医薬組成物は、1つ以上の医薬賦形剤を含んでもよい。任意の好適な医薬賦形剤が使用されてもよく、当業者は、好適な医薬賦形剤を選択することができる。従って、以下で提供される医薬賦形剤は、例示的であるが、限定的ではないことが意図されている。さらなる医薬賦形剤としては、例えば、全体が参照により組み込まれる Handbook of Pharmaceutical Excipients, Rowe et al. (Eds.) 6th Ed. (2009) に記載されるものが挙げられる。

【0249】

一部の実施形態では、医薬組成物は、消泡剤を含む。任意の好適な消泡剤が使用されてもよい。一部の態様では、消泡剤は、アルコール、エーテル、油、ワックス、シリコーン、界面活性剤、及びそれらの組み合わせから選択される。一部の態様では、消泡剤は、鉱油、植物油、エチレンビスステアラミド、パラフィンワックス、エステルワックス、脂肪アルコールワックス、長鎖脂肪アルコール、脂肪酸石鹸、脂肪酸エステル、シリコングリコール、フルオロシリコーン、ポリエチレングリコール - ポリプロピレングリコールコポリマー、ポリジメチルシロキサン - 二酸化ケイ素、エーテル、オクチルアルコール、カプリルアルコール、ソルビタントリオレート、エチルアルコール、2 - エチルヘキサノール、ジメチコン、オレイルアルコール、シメチコン、及びその組み合わせから選択される。

【0250】

一部の実施形態では、医薬組成物は、共溶媒を含む。共溶媒の実例としては、エタノール、ポリ(エチレン)グリコール、ブチレングリコール、ジメチルアセトアミド、グリセリン、プロピレングリコール、及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【0251】

一部の実施形態では、医薬組成物は、緩衝液を含む。緩衝液の実例としては、酢酸塩、ホウ酸塩、炭酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、リン酸塩、クエン酸塩、水酸化物、ジエタノールアミン、モノエタノールアミン、グリシン、メチオニン、グアーガム、グルタミン酸ナトリウム、及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【0252】

一部の実施形態では、医薬組成物は、担体または充填剤を含む。担体または充填剤の実例としては、ラクトース、マルトデキストリン、マンニトール、ソルビトール、キトサン、ステアリン酸、キサントガム、グアーガム、及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【0253】

一部の実施形態では、医薬組成物は、界面活性剤を含む。界面活性剤の実例としては、d - アルファトコフェロール、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、セトリミド、塩化セチルピリジニウム、ドキュセートナトリウム、ベヘン酸グリセリル、モノオレイン酸グリセリル、ラウリン酸、マクロゴール 15 ヒドロキシステアラート、ミリスチルアルコール、リン脂質、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンステアラート、ポリオキシシルグリセリド、ラウリル硫酸ナトリウム、ソルビタンエステル、ビタミン E ポリエチレン(グリコール)コハク酸塩、及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【0254】

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、医薬組成物は、固化防止剤を含む。固化防止剤の実例としては、リン酸カルシウム（三塩基性）、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、酸化マグネシウム、及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【0255】

医薬組成物と共に使用され得る他の賦形剤としては、例えば、アルブミン、抗酸化剤、抗菌剤、抗真菌剤、生体吸収性ポリマー、キレート剤、制御放出剤、希釈剤、分散剤、溶解促進剤、乳化剤、ゲル化剤、軟膏基剤、浸透促進剤、防腐剤、可溶化剤、溶媒、安定化剤、糖、及びそれらの組み合わせが挙げられる。これらの薬剤のそれぞれの具体例は、例えば、全体が参照により組み込まれる *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Rowe et al. (Eds.) 6th Ed. (2009), The Pharmaceutical Press に記載される。

10

【0256】

一部の実施形態では、医薬組成物は、溶媒を含む。一部の態様では、溶媒は、滅菌等張食塩水またはデキストロース溶液などの食塩水である。一部の態様では、溶媒は、注射用水である。

【0257】

一部の実施形態では、医薬組成物は、微粒子またはナノ粒子などの粒子形態である。微粒子及びナノ粒子は、ポリマーまたは脂質などの任意の好適な材料から形成されてもよい。一部の態様では、微粒子またはナノ粒子は、ミセル、リポソーム、またはポリマーソームである。

20

【0258】

水が一部の抗体の分解を促進し得るので、抗体を含む無水医薬組成物及び剤形がさらに本明細書で提供される。

【0259】

本明細書で提供される無水医薬組成物及び剤形は、無水または低水分含有成分及び低水分または低湿度条件を使用して調製することができる。製造、包装、及び/または貯蔵中に水分及び/または湿度との実質的な接触が予想される場合、ラクトース及び1級または2級アミンを含む少なくとも1つの活性成分を含む医薬組成物及び剤形は、無水であり得る。

【0260】

30

無水の医薬組成物は、無水の性質が維持されるように調製及び保存されるべきである。従って、無水組成物は、水への曝露を防ぐことが知られている材料を使用して包装することができ、その結果、好適な製剤化キットに含まれ得る。好適な包装の例としては、密封ホイル、プラスチック、単位用量容器（例えば、バイアル）、プリスターパック、及びストリップパックが挙げられるが、これらに限定されない。

【0261】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、非経口剤形として製剤化される。非経口剤形は、限定されないが、皮下、静脈内（注入及びボラス注射を含む）、筋肉内、ならびに動脈内を含む種々の経路により対象に投与することができる。それらの投与は通常、汚染物質に対する対象の自然防御を回避するので、非経口剤形は通常、滅菌されているか、または対象への投与前に滅菌することが可能である。非経口剤形の例としては、注射用溶液、注射用の薬学的に許容されるビヒクルに溶解または懸濁する準備ができている乾燥（例えば、凍結乾燥）製品、注射用懸濁液、及びエマルションが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0262】

非経口剤形を提供するために使用することができる好適なビヒクルは、当業者らに周知である。例としては、注射用水USP；限定されないが、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、デキストロース注射液、デキストロース及び塩化ナトリウム注射液、ならびに乳酸リンゲル注射液などの水性ビヒクル；限定されないが、エチルアルコール、ポリエチレングリコール、及びポリプロピレングリコールなどの水混和性ビヒクル；ならびに、限

50

定されないが、トウモロコシ油、綿実油、落花生油、ゴマ油、オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、及び安息香酸ベンジルなどの非水性ビヒクルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0263】

本明細書に開示の抗体のうちの1つ以上の溶解度を増加させる賦形剤は、非経口剤形に組み込むこともできる。

【0264】

一部の実施形態では、非経口剤形は、凍結乾燥されている。例示的な凍結乾燥製剤は、例えば、米国特許第6,267,958号及び同第6,171,586号；ならびにWO 2006/044908に記載され、これらのそれぞれは、全体が参照により組み込まれる。

10

【0265】

ヒトの治療では、医師は、予防的または治療的処置、ならびに、年齢、体重、状態、及び処置されるべき対象に固有の他の因子に応じて、最も適切と考えられる薬量を決定するであろう。

【0266】

特定の実施形態では、本明細書で提供される組成物は、医薬組成物または単一単位剤形である。本明細書で提供される医薬組成物及び単一単位剤形は、1つ以上の予防的または治療的抗体を予防的または治療的有效量含む。

【0267】

20

障害またはその1つ以上の症状の予防または処置に有効となる抗体または組成物の量は、疾患または状態の性質及び重症度、及び抗体が投与される経路により変動するであろう。頻度及び投薬量はまた、投与される特定の治療法（例えば、治療薬または予防薬）、障害、疾患、または状態の重症度、投与経路、ならびに対象の年齢、体重、応答、及び過去の病歴に応じた各対象に固有の因子に従って変動するであろう。有効用量は、*in vivo*または動物モデルの試験システムから得られる用量反応曲線から外挿されてもよい。

【0268】

当業者らにより容易に知られるように、異なる疾患及び状態について異なる治療的有效量が適用可能であり得る。同様に、そのような障害を予防、管理、処置、または改善するのに十分であるが、本明細書で提供される抗体に関連する有害な影響を引き起こすのに不十分な、または低減するのに十分な量もまた、本明細書で提供される投薬量及び投与頻度スケジュールに包含される。さらに、対象に本明細書で提供される組成物の複数の投薬量が投与される時、投薬量の全てが同じである必要はない。例えば、対象に投与される投薬量は、組成物の予防または治療効果を改善するように増加させても、特定の対象が経験している1つ以上の副作用を低減させるように減少させてもよい。

30

【0269】

特定の実施形態では、処置または予防は、本明細書で提供される抗体または組成物の1つ以上の負荷用量で開始することができ、1つ以上の維持用量が続く。

【0270】

特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体または組成物の用量は、対象の血液または血清中の抗体の定常状態濃度を達成するために投与することができる。定常状態の濃度は、当業者らが利用可能な技術による測定により決定することができるか、または身長、体重、及び年齢などの対象の身体的特徴に基づくことができる。

40

【0271】

本開示の他の箇所により詳細に考察される場合、本明細書で提供される抗体は任意に、疾患または障害を予防または処置するのに有用な1つ以上の追加の薬剤と共に投与されてもよい。そのような追加の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗体の量、障害または処置の種類、及び当該技術分野で既知または本明細書に記載の他の因子に依存し得る。

【0272】

治療用途

50

治療用途の場合、抗体は、当該技術分野で既知のもの及び上述したものなどの薬学的に許容される剤形で、哺乳動物、一般には、ヒトに投与される。例えば、抗体は、ヒトに、ボラスとして静脈内に、または筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑液嚢内、髄腔内、または腫瘍内経路による一定期間の連続注入により投与されてもよい。抗体はまた、局所的及び全身的治療効果を発揮するために、腫瘍周囲、病巣内、または病変部近傍経路により適切に投与される。腹腔内経路は、例えば、卵巣腫瘍の処置において特に有用であり得る。

【 0 2 7 3 】

本明細書で提供される抗体は、S I R P - アルファが関与する任意の疾患または状態の処置に有用であり得る。一部の実施形態では、疾患または状態は、抗 S I R P - アルファ抗体を用いる処置から恩恵を受け得る疾患または状態である。一部の実施形態では、疾患または状態は、腫瘍である。一部の実施形態では、疾患または状態は、細胞増殖性障害である。一部の実施形態では、疾患または状態は、がんである。一部の実施形態では、疾患または状態は、感染症である。

10

【 0 2 7 4 】

主題の抗 S I R P 抗体で処置することができる症状、病気、及び/または疾患の例としては、がん（限定されないががん、軟部組織腫瘍、肉腫、奇形腫、メラノーマ、白血病、リンパ腫、脳腫瘍、固形腫瘍、中皮腫（M S T O）などを含む任意の形態のがん）；感染症（例えば、慢性感染症）；及び免疫疾患または障害（例えば、炎症性疾患）（例えば、多発性硬化症、関節炎など、例えば、免疫抑制療法用）が挙げられるが、これらに限定されない。主題の抗 S I R P 抗体は、（例えば、悪性細胞を破壊し、患者の身体がドナーの細胞/幹細胞を拒絶するのを防ぐための免疫抑制を提供するなどの）移植条件付け（例えば、幹細胞移植、骨髄移植など）に使用することもできる。例えば、一部の 경우에는、主題の抗体の組み合わせまたは二重特異性抗体（例えば、抗 C D 1 1 7 と組み合わせた抗 S I R P ）は、移植条件付けの用途を見つける。例えば、主題の抗体の組み合わせまたは二重特異性抗体（例えば、抗 C D 1 1 7 と組み合わせた抗 S I R P ）は、骨髄移植条件付けに使用することができる。一部の 경우에는、主題の抗 S I R P 抗体（例えば、抗体の組み合わせ）は、免疫抑制療法に使用することができる。

20

【 0 2 7 5 】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、薬物として使用するために提供される。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、薬物の製造または調製での使用のために提供される。一部の実施形態では、薬剤は、抗 S I R P - アルファ抗体から恩恵を受け得る疾患または状態の処置のためのものである。一部の実施形態では、疾患または状態は、腫瘍である。一部の実施形態では、疾患または状態は、細胞増殖性障害である。一部の実施形態では、疾患または状態は、がんである。一部の実施形態では、疾患または状態は、感染症である。疾患または状態は、がん；感染症；ウイルス感染症；細菌感染症；真菌感染症；線維症；アテローム性動脈硬化症；寄生虫感染症、任意に、マラリア；及び/または、任意に、抗 C K I T （C D 1 1 7）抗体と組み合わせ、造血幹細胞の移植のための、放射線及び/もしくは化学療法を伴わないかもしくはこれが低減されたコンディショニングを可能にする、内因性造血幹細胞の骨髄からの枯渇もしくは低減とすることができる。

30

40

【 0 2 7 6 】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、疾患または状態の処置を必要とする対象の疾患または状態を処置する方法が本明細書で提供される。一部の態様では、疾患または状態は、がんである。一部の態様では、疾患または状態は、感染症である。

【 0 2 7 7 】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、疾患または状態の処置を必要とする対象の疾患または状態を処置する方法が本明細書で提供され、疾患または状態は、がんであり、がんは、固形腫瘍及び血液腫瘍から選択され

50

る。

【 0 2 7 8 】

一部の実施形態では、有効量の本明細書に開示の抗体または医薬組成物を対象に投与することを含む、食食の増加を必要とする対象において食食を増加させる方法が、本明細書で提供される。

【 0 2 7 9 】

一部の実施形態では、有効量の本明細書に開示の抗体または医薬組成物を対象に投与することを含む、免疫応答の調節を必要とする対象において免疫応答を調節する方法が、本明細書で提供される。

【 0 2 8 0 】

任意の好適ながんは、本明細書で提供される抗体で処置されてもよい。

【 0 2 8 1 】

例えば、がん細胞が非がん細胞と比較して C D 4 7 の発現の増加を示すがんは、主題の方法及び組成物により処置されるのに適するがんである。本明細書で使用される場合、「がん」は、限定されないが、固形腫瘍がん（例えば、肺、前立腺、乳房、膀胱、結腸、卵巣、膵臓、腎臓、肝臓、膠芽腫、髄芽腫、平滑筋肉腫、頭頸部扁平上皮細胞癌、メラノーマ、神経内分泌系など）及び液性がん（例えば、血液がん）；癌腫；軟部組織腫瘍；肉腫；奇形腫；メラノーマ；白血病；リンパ腫；ならびに微小残存病変を含み且つ原発性腫瘍及び転移性腫瘍の両方を含む脳腫瘍を含む任意の形態のがんを含む。がん細胞が C D 4 7 を発現する任意のがん（例えば、一部の 경우에는、がん細胞は、非がん細胞と比較して C D 4 7 の発現の増加を示す）は、主題の方法及び組成物（例えば、主題の抗 S I R P 抗体）で処置されるのに適するがんである。

【 0 2 8 2 】

癌腫は、上皮組織から生じる悪性腫瘍である。上皮細胞は、身体の外表面を覆い、内部空洞を覆い、腺組織の内壁を形成する。癌腫の例としては、腺癌（腺（分泌）細胞で生じるがん）が挙げられるが、これらに限定されず、例えば、乳房、膵臓、肺、前立腺、及び結腸のがんは、腺癌；副腎皮質癌；肝細胞癌；腎細胞癌；卵巣癌；上皮肉癌；腺管癌；乳癌；基底細胞癌；扁平上皮細胞癌；移行上皮癌；結腸癌；上咽頭癌；多房性嚢胞性腎細胞癌；燕麦細胞癌；大細胞肺癌；小細胞肺癌；非小細胞肺癌などとしてすることができる。癌腫は、前立腺、膵臓、結腸、脳（通常、2次転移として）、肺、乳房、皮膚などに見出される。

【 0 2 8 3 】

軟部組織腫瘍は、結合組織に由来するまれな腫瘍の非常に多様なグループである。軟部組織腫瘍の例としては、肺胞軟部肉腫；血管腫様線維性組織球腫；軟骨粘液線維腫；骨格軟骨肉腫；骨外粘液性軟骨肉腫；明細胞肉腫；線維形成性小円形細胞腫瘍；隆起性皮膚線維肉腫；子宮内膜間質腫瘍；ユーイング肉腫；線維腫症（デスマイド）；乳児型線維肉腫；消化管間質腫瘍；骨巨細胞腫；腱滑膜巨細胞腫；炎症性筋線維芽細胞腫瘍；子宮平滑筋腫；平滑筋肉腫；脂肪芽細胞腫；典型的な脂肪腫；紡錘細胞または多形性脂肪腫；非定型脂肪腫；軟骨脂肪腫；高分化型脂肪肉腫；粘液／円形細胞型脂肪肉腫；多形性脂肪肉腫；粘液悪性線維性組織球腫；高悪性線維性組織球腫；粘液線維肉腫；悪性末梢神経鞘腫瘍；中皮腫；神経芽腫；骨軟骨腫；骨肉腫；原発性神経外胚葉性腫瘍；胞巣型横紋筋肉腫；胎児性横紋筋肉腫；良性または悪性神経鞘腫；滑膜肉腫；エバン腫瘍；結節性筋膜炎；デスマイド型線維腫症；孤立性線維性腫瘍；隆起性皮膚線維肉腫（D F S P）；血管肉腫；類上皮血管内皮腫；腱滑膜巨細胞腫（T G C T）；色素性絨毛結節性滑膜炎（P V N S）；線維性骨異形成；粘液線維肉腫；線維肉腫；滑膜肉腫；悪性末梢神経鞘腫瘍；神経線維腫；及び軟部組織の多形性腺腫；ならびに線維芽細胞、筋線維芽細胞、組織球、血管細胞／内皮細胞、及び神経鞘細胞に由来する腫瘍形成が挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 2 8 4 】

肉腫は、間葉起源の細胞、例えば、骨、あるいは軟骨、脂肪、筋肉、血管、線維組織、または他の結合もしくは支持組織を含む身体の軟部組織に、発生するまれなタイプのがん

10

20

30

40

50

である。異なるタイプの肉腫は、がんが形成される場所に基づいている。例えば、骨肉腫が骨で形成され、脂肪肉腫が脂肪で形成され、横紋筋肉腫が筋肉で形成される。肉腫の例としては、アスキ腫瘍；肉腫ボトリノイド；軟骨肉腫；ユーイング肉腫；悪性血管内皮腫；悪性神経鞘腫；骨肉腫；及び軟組織肉腫（例えば、肺胞軟部肉腫；血管肉腫；膀胱肉腫；隆起性皮膚線維肉腫（DFSP）；デスモイド腫瘍；線維形成性小細胞腫瘍；類上皮肉腫；骨格外粘液性軟骨肉腫；骨外性骨肉腫；線維肉腫；消化管間質腫瘍（GIST）；血管周囲細胞腫；血管肉腫（より一般には、「血管肉腫」と呼ばれる）；カポジ肉腫；平滑筋肉腫；脂肪肉腫；リンパ管肉腫；悪性末梢神経鞘腫瘍（MPNST）；神経線維肉腫；滑膜肉腫；未分化多形肉腫など）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0285】

奇形腫は、例えば、毛髪、筋肉、及び骨を含む、いくつかの異なるタイプの組織（例えば、3つの胚葉：内胚葉、中胚葉、及び外胚葉のいずれか及び／または全てに由来する組織を含み得る）を含有し得る胚細胞腫瘍の1つのタイプである。奇形腫は、ほとんどの場合、女性の卵巣、男性の睾丸、及び子供の尾骨に発生する。

【0286】

メラノーマは、メラノサイト（色素メラニンを生成する細胞）で生じるがんの一種である。それは、ほくろ（皮膚メラノーマ）で生じ得るが、さらに眼内または腸内などの他の着色組織で生じ得る。

【0287】

白血病は、骨髄などの造血組織に生じるがんであり且つ多数の異常な血液細胞が産生されて、血流に入るがんである。例えば、白血病は、通常は血流で成熟する骨髄由来細胞から生じ得る。白血病は、疾患の発症及び進行の速さ（例えば、急性対慢性）及び影響を受ける白血球のタイプ（例えば、骨髄性対リンパ性）にちなんで命名されている。骨髄性白血病は、骨髄性または骨髄芽球性白血病とも呼ばれる。リンパ性白血病は、リンパ芽球性またはリンパ球性白血病とも呼ばれる。リンパ性白血病細胞は、リンパ節に集まり得、これは、腫大し得る。白血病の例としては、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、慢性骨髄性白血病（CML）、及び慢性リンパ性白血病（CLL）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0288】

リンパ腫は、免疫系の細胞で生じるがんである。例えば、リンパ腫は、通常リンパ系で成熟する骨髄由来細胞から生じ得る。2つの基本的カテゴリーのリンパ腫がある。1つの種類は、ホジキンリンパ腫（HL）であり、これは、Reed-Sternberg細胞と呼ばれる1つのタイプの細胞の存在を特徴とする。現時点では、認められた6タイプのHLがある。ホジキンリンパ腫の例としては、結節硬化型古典的ホジキンリンパ腫（CHL）、混合細胞型CHL、リンパ球枯渇CHL、リンパ球豊富型CHL、及び結節性リンパ球優位型HLが挙げられる。

【0289】

リンパ腫の他のカテゴリーは、非ホジキンリンパ腫（NHL）であり、これは、免疫系細胞のがんの多様な大グループを含む。非ホジキンリンパ腫はさらに、低悪性度の（成長の遅い）進行及び中悪性度の（成長の速い）進行を有するがんに分けることができる。現時点では、認められた61タイプのNHLがある。非ホジキンリンパ腫の例としては、エイズ関連リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、血管免疫芽球性リンパ腫、芽球性NK細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、バーキット様リンパ腫（小非分割細胞性リンパ腫）、慢性リンパ性白血病／小リンパ球性リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、腸管型T細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、肝脾ガンマデルタT細胞リンパ腫、T細胞白血病、リンパ芽球性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、鼻T細胞リンパ腫、小児リンパ腫、末梢T細胞リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、形質転換リンパ腫、処置関連T細胞リンパ腫、及びワルデンシュトレームマクログロブリン血症が挙げられるが、これらに限定されない。

【0290】

10

20

30

40

50

脳腫瘍は、脳組織の任意のがんを含む。脳腫瘍の例としては、神経膠腫（例えば、神経膠芽腫、星状細胞腫、乏突起膠腫、上衣腫など）、髄膜腫、下垂体腺腫、前庭神経鞘腫、原始神経外胚葉性腫瘍（髄芽腫）などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0291】

本明細書で使用される場合、「感染症」という用語は、生物（すなわち、対象）の少なくとも1つの細胞が感染性因子に感染している任意の状態を指す（例えば、対象は、細胞内病原体感染症、例えば、慢性細胞内病原体感染症を有する）。本明細書で使用される場合、「感染性因子」という用語は、感染生物の少なくとも1つの細胞においてCD47発現（例えば、CD47発現の増加）を誘導する外来生物学的実体（すなわち、病原体）を指す。例えば、感染性因子は、細菌、ウイルス、原生動物、及び真菌を含むが、これらに限定されない。細胞内病原体は特に、興味深い。感染症は、感染性因子により引き起こされる障害である。一部の感染性因子は、特定の条件下では認識可能な症状または疾患を引き起こさないが、変化した条件下で症状または疾患を引き起こす可能性がある。主題の方法は、例えば、限定されないが、ウイルス感染症、例えば、レトロウイルス、レンチウイルス、ヘパドナウイルス、ヘルペスウイルス、ボックスウイルス、ヒトパピローマウイルスなどを含む慢性病原体感染症；細胞内細菌感染症、例えば、マイコバクテリウム属（*Mycobacterium*）、クラミドフィラ属（*Chlamydophila*）、エーリキア属（*Ehrlichia*）、リケッチア属（*Rickettsia*）、ブルセラ属（*Brucella*）、レジオネラ属（*Legionella*）、フランシセラ属（*Francisella*）、リステリア属（*Listeria*）、コクシエラ属（*Coxiella*）、ナイセリア属（*Neisseria*）、サルモネラ属（*Salmonella*）、エルシニア種（*Yersinia* sp.）、ヘリコバクター・ピロリ（*Helicobacter pylori*）など；及び細胞内原虫病原体、例えば、プラスモジウム種（*Plasmodium* sp.）、トリパノソーマ種（*Trypanosoma* sp.）、ジアルジア種（*Giardia* sp.）、トキソプラズマ種（*Toxoplasma* sp.）、レーシュマニア種（*Leishmania* sp.）などの処置に使用することができる。

【0292】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、それを必要とする対象の標的細胞においてSIRP-アルファを拮抗する方法が本明細書で提供される。

【0293】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、免疫応答の増強を必要とする対象において免疫応答を増強する方法が本明細書で提供される。

【0294】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、腫瘍の発症の遅延を必要とする対象において腫瘍の発症を遅延させる方法が本明細書で提供される。

【0295】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、腫瘍の再発または発症の予防を必要とする対象において腫瘍の再発または発症を予防する方法が本明細書で提供される。

【0296】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、がんの発症の遅延を必要とする対象においてがんの発症を遅延させる方法が本明細書で提供される。

【0297】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、がんの再発または発症の予防を必要とする対象においてがんの再発または発症を予防す

10

20

30

40

50

る方法が本明細書で提供される。

【0298】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、腫瘍のサイズの低減を必要とする対象において腫瘍のサイズを低減する方法が本明細書で提供される。

【0299】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、転移の数の低減を必要とする対象において転移の数を低減させる方法が本明細書で提供される。

【0300】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、感染症の発症の遅延を必要とする対象において感染症の発症を遅延させる方法が本明細書で提供される。

【0301】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、感染症の再発または発症の予防を必要とする対象において感染症の再発または発症を予防する方法が本明細書で提供される。

【0302】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、ウイルス力価の低減を必要とする対象においてウイルス力価を低減させる方法が本明細書で提供される。

【0303】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、ウイルスの除去を必要とする対象からウイルスを除去する方法が本明細書で提供される。

【0304】

一部の実施形態では、有効量の本明細書で提供される抗体を対象に投与することにより、全生存期間、生存期間中央値、または無増悪生存期間の延長を必要とする対象において全生存期間、生存期間中央値、または無増悪生存期間を延長するための方法が本明細書で提供される。

【0305】

併用療法

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、少なくとも1つの追加の治療薬と共に投与される。任意の好適な追加の治療薬は、本明細書で提供される抗体と共に投与されてもよい。一部の態様では、追加の治療薬は、放射線、細胞障害薬、化学療法薬、細胞増殖抑制薬、抗ホルモン薬、EGFR阻害薬、免疫刺激薬、抗血管新生薬、及びそれらの組み合わせから選択される。

【0306】

一部の実施形態では、追加の治療薬は、免疫賦活薬を含む。

【0307】

一部の実施形態では、追加の治療薬は、抗体である。

【0308】

抗SIRP 抗体は、標的細胞に選択的に結合する2次抗体または薬剤と組み合わせて治療的に使用されてもよい。「標的細胞」という用語は、構成に応じて様々な方法で使うことができる。通常は、「標的細胞」は、食細胞（例えば、食細胞）により貪食される細胞であり、主題の抗SIRP 抗体を投与した結果として貪食が増強される。従って、「標的細胞」という用語は、主題の抗SIRP 抗体が、CD47発現細胞及びSIRP 発現食細胞間の相互作用を阻害することによりCD47発現細胞の貪食を促進するので、CD47発現細胞を指し得る。

【0309】

しかし、一部の場合では、標的細胞は、主題の多重特異性抗体が標的細胞の貪食を誘導

10

20

30

40

50

するために、高レベルのCD47を発現する必要はない（一部の場合では、CD47をまったく発現する必要はない）。例えば、多重特異性（例えば、二重特異性）抗体との関連で、主題の多重特異性（例えば、二重特異性）抗体のSIRP結合領域（第1の結合領域）は、食細胞（例えば、マクロファージ）上のSIRPに結合し、これは、多重特異性抗体が、多重特異性抗体の第2の結合領域（例えば、二重特異性抗体の第2の結合領域）により認識される（特異的に結合される）抗原（例えば、がん細胞のマーカー）を発現する細胞の近傍に食細胞を導くテザーとして機能することを可能にする。それ故、多重特異性抗体との関連で、標的細胞は、高レベルのCD47を発現しない細胞とすることができる（CD47を発現しない細胞とすることもできる）。一部の実施形態では、標的細胞は、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞である。標的細胞は、以下に記載される任意の個体（例えば、患者、対象など）に由来し得る。

10

【0310】

一部の場合では、標的細胞は、「罹患」細胞（例えば、「罹患」個体に由来する細胞）であり、「罹患」という用語は、主題の抗SIRP抗体で処置され得る症状、病気、または疾患を有する対象を指すために本明細書で使用される。「罹患」対象は、がんを有し得、感染症（例えば、慢性感染症）を保有し得、及び/または例えば、硬化症、線維症及び同類のものなどの他の過剰増殖状態を有し得る。「罹患細胞」は、症状、病気、または疾患を引き起こす細胞とすることができる。非限定例として、罹患した患者の罹患した細胞は、CD47を発現するがん細胞、感染細胞、炎症細胞、免疫細胞などとすることができる。病気または疾患が主題の抗SIRP抗体で処置することができる1つの適応症は、関与する細胞（すなわち、罹患細胞、例えば、がん細胞、感染細胞、炎症細胞、免疫細胞など）が、CD47を発現する（例えば、一部の場合では、同じ細胞型の正常細胞と比較してCD47のレベルが増加する）ことである。

20

【0311】

一部の実施形態では、追加の治療薬は、腫瘍細胞表面上のタンパク質（複数可）に結合する抗体である。

【0312】

がんの処置のために、抗SIRP抗体は、腫瘍抗原に特異的な1つ以上の抗体と組み合わせられてもよい。これらのうち、腫瘍関連抗原（TAA）は、腫瘍細胞に比較的制限されているが、腫瘍特異的抗原（TSA）は、腫瘍細胞に特有である。TSA及びTAAは通常、主要組織適合性複合体の一部として細胞表面に発現される細胞内分子の部分である。

30

【0313】

組織特異的分化抗原は、腫瘍細胞及びその正常細胞の対応物に存在する分子である。治療用mAbにより認識されることが知られている腫瘍関連抗原は、いくつかの異なるカテゴリーに分類される。造血分化抗原は、通常は分化抗原（CD）群と関連し且つCD20、CD30、CD33、及びCD52を含む糖タンパク質である。細胞表面分化抗原は、正常細胞及び腫瘍細胞の両方の表面に見出される糖タンパク質及び炭水化物の多様なグループである。成長及び分化のシグナル伝達に関与する抗原は多くの場合、成長因子及び成長因子受容体である。がん患者の抗体を標的とする成長因子は、CEA、上皮成長因子受容体（EGFR；ERBB1としても知られている）、ERBB2、（HER2としても知られている）、ERBB3、MET（HGFＲとしても知られている）、インスリン様成長因子1受容体（IGF1R）、エフリン受容体A3（EPHA3）、腫瘍壊死因子（TNF）関連アポトーシス誘導リガンド受容体1（TRAILR1；TNFRSF10Aとしても知られている）、TRAILR2（TNFRSF10Bとしても知られている）、及び核因子Bリガンド受容体アクチベーター（RANKL；TNFSF11としても知られている）を含む。血管新生に関与する抗原は通常、血管内皮成長因子（VEGF）、VEGF受容体（VEGFR）、インテグリンV₃、及びインテグリン5₁を含む、新しい微小血管系の形成をサポートするタンパク質または成長因子である。腫瘍間質及び細胞外マトリックスは、腫瘍に不可欠な支持構造である。治療標的である間質及び細胞外マトリックス抗原は、線維芽細胞活性化タンパク質（FAP）及びテネシンを含

40

50

む。

【0314】

二重特異性構成にまたは併用療法として有用な治療用抗体の例としては、リツキシマブ；イブリツモマブ；チウキセタン；トシツモマブ；ブレンツキシマブ；ベドチン；ゲムツズマブ；オゾガマイシン；アレムツズマブ；IGN101；アデカツムマブ；ラベツズマブ；huA33；ペムツモマブ；オレゴボマブ；CC49（ミンレツズマブ）；cG250；J591；MOv18；MORAb-003（ファルレツズマブ）；3F8，ch14.18；KW-2871；hu3S193；IgN311；ベバシズマブ；IM-2C6；CDP791；エタラシズマブ；ボロシキシマブ；セツキシマブ；パニツムマブ；ニモツズマブ；806；トラスツズマブ；ベルツズマブ；MM-121；AMG102、METMAB；SCH900105；AVE1642、IMC-A12、MK-0646、R1507；CP751871；KB004；IIIA4；マパツムマブ（HGS-ETR1）；HGS-ETR2；CS-1008；デノスマブ；シプロツズマブ；F19；及び81C6が挙げられるが、これらに限定されない。二重特異性抗体は、Fc受容体を活性化するFc領域を使用してもよい。

10

【0315】

がんの処置のために、抗SIRP抗体は、免疫チェックポイントタンパク質を阻害する1つ以上の抗体と組み合わされてもよい。特に興味深いのは、腫瘍細胞の表面に提示される免疫チェックポイントタンパク質である。臨床がん免疫療法、細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4（CTLA4；CD152としても知られている）及びプログラム細胞死タンパク質1（PD1；CD279としても知られている）の関連で最も活発に研究されている免疫チェックポイント受容体はともに、阻害性受容体である。これらの受容体のうちのいずれかを遮断する抗体の臨床活性は、抗腫瘍免疫を複数のレベルで増強することができること、ならびに、機序的考察及び前臨床モデルにより誘導されるコンビナトリアル方策をうまく設計することができることを意味する。

20

【0316】

PD1に対する2つのリガンドが、PD1リガンド1（PDL1；B7-H1及びCD274としても知られている）ならびにPDL2（B7-DC及びCD273としても知られている）である。PDL1は、がん細胞上に発現され、T細胞上の受容体PD1への結合により、T細胞の活性化/機能を阻害する。例えば、治療用抗体としてのアベルマブを参照のこと。

30

【0317】

免疫共刺激分子を作動する薬剤はまた、本明細書に開示の方法に有用である。そのような薬剤は、アゴニストまたはCD40及びOX40を含む。CD40は、抗原提示細胞（APC）で見出される共刺激タンパク質であり、活性化のために必要とされる。これらのAPCは、食細胞（マクロファージ及び樹状細胞）ならびにB細胞を含む。CD40は、TNF受容体ファミリーの一部である。CD40の主要な活性化シグナル伝達分子は、IFN及びCD40リガンド（CD40L）である。CD40を介した刺激は、マクロファージを活性化する。

【0318】

目的の抗CCR4（CD194）抗体は、潜在的な抗炎症及び抗腫瘍活性を有するC-ケモカイン受容体4（CCR4）に対するヒト化モノクローナル抗体を含む。

40

【0319】

一部の実施形態では、追加の治療薬は、移植療法のために造血幹細胞を枯渇させるためにHER2（ERBB2/neu）、CD52、PD-L1、VEGF、CD30、EGFR、CD38、RANKL（CD254）、GD2（ガングリオシド）、SLAMF7（CD319）、CD20、EGFR、PDGFRα、VEGFR2、CD33、CD44、CD99、CD96、CD90、CD133、CKIT（CKIT陽性腫瘍のCD117）；CTLA-4、PD-1、PD-L1、CD40（アゴニスト）、LAG3（CD223）、41BB（CD137アゴニスト）、OX40（CD134、アゴニスト）

50

；及び／またはC K I T (C D 1 1 7) に結合する抗体である。

【 0 3 2 0 】

一部の実施形態では、追加の治療薬は、リツキシマブ、セツキシマブ、アレムツズマブ (C D 5 2) 、アテゾリズマブ (P D - L 1) 、アベルマブ (P D - L 1) 、ペバシズマブ (V E G F) 、ブレンツキシマブ (C D 3 0) 、ダラツムマブ (C D 3 8) 、デノスマブ (R A N K L) 、ジヌツキシマブ (G D 2) 、エロツズマブ (S L A M F 7) 、イブリツモマブ (C D 2 0) 、イピリムマブ (C T L A - 4) 、ネシツムマブ (E G F R) 、ニボルマブ (P D - 1) 、オピヌツズマブ (C D 2 0) 、オフアツムマブ (C D 2 0) 、オララツムマブ (P D G F R a) 、パニツムマブ (E G F R) 、ペンブロリズマブ (P D - 1) 、ペルツズマブ (H E R 2) 、ラムシルマブ (V E G F R 2) 、トシツモマブ (C D 2 0) 、及びゲムツズマブ (C D 3 3) のうちの少なくとも1つである。

10

【 0 3 2 1 】

追加の治療薬は、任意の好適な手段により投与することができる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬は、同じ医薬組成物に含まれる。一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬は、異なる医薬組成物に含まれる。

【 0 3 2 2 】

本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬が異なる医薬組成物中に含まれる実施形態では、抗体の投与は、追加の治療薬の投与前に、投与と同時に、及び／または投与後に行うことができる。一部の態様では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬の投与は、互いに約1ヶ月以内に行われる。一部の態様では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬の投与は、互いに約1週間以内に行われる。一部の態様では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬の投与は、互いに約1日以内に行われる。一部の態様では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬の投与は、互いに約12時間以内に行われる。一部の態様では、本明細書で提供される抗体及び追加の治療薬の投与は、互いに約1時間以内に行われる。

20

【 0 3 2 3 】

診断方法

対象由来の細胞上のS I R P - アルファの存在を検出するための方法も提供される。そのような方法は、例えば、本明細書で提供される抗体を用いる処置の応答性を予測及び評価するために使用されてもよい。

30

【 0 3 2 4 】

一部の実施形態では、血液試料は、対象から得られ、S I R P - アルファを発現する細胞の割合が決定される。一部の態様では、そのような細胞により発現されるS I R P - アルファの相対量が決定される。S I R P - アルファを発現する細胞の割合及びそのような細胞により発現されるS I R P - アルファの相対量は、任意の好適な方法により決定することができる。一部の実施形態では、フローサイトメトリーが、そのような測定を行うために使用される。一部の実施形態では、蛍光活性化細胞選別 (F A C S) が、そのような測定を行うために使用される。末梢血におけるS I R P - アルファの発現を評価する方法については、L i e t a l . , J . A u t o i m m u n i t y , 2 0 0 3 , 2 1 : 8 3 - 9 2 を参照のこと。

40

【 0 3 2 5 】

キット

本明細書で提供される抗体を含むキットもまた提供される。キットは、本明細書に記載されるように、疾患または障害の処置、予防、及び／または診断に使用されてもよい。

【 0 3 2 6 】

一部の実施形態では、キットは、容器、及び、容器上のまたは容器に付随するラベルまたは添付文書を含む。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、注射器、及びI V 溶液バッグが挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から形成されてもよい。容器は、単独の、または疾患もしくは障害の処置、予防、及び／または

50

診断に有効な別の組成物と組み合わせた時の組成物を保持する。容器は、滅菌アクセスポートを有してもよい。例えば、容器は、静脈内輸液バッグまたはバイアルの場合、針が貫通することができるポートを有してもよい。組成物中の少なくとも1つの活性剤は、本明細書で提供される抗体である。ラベルまたは添付文書は、組成物が選択される状態の処置に使用されることを示す。

【0327】

一部の実施形態では、キットは、(a)第1の組成物が含有される第1の容器(第1の組成物が本明細書で提供される抗体を含む);及び(b)第2の組成物が含有される第2の容器(第2組成物がさらなる治療薬を含む)を含む。本実施形態のキットはさらに、組成物が特定の状態を処置するために使用することができることを示す添付文書を含み得る。

10

【0328】

代替的または追加的に、キットはさらに、薬学的に許容される賦形剤を含む第2(または第3)容器を含んでもよい。一部の態様では、賦形剤は、緩衝液である。キットはさらに、フィルター、針、及びシリンジを含む、商業的な且つユーザーの観点から望ましい他の材料を含んでもよい。

【実施例】

【0329】

以下は、本発明を実施するための特定の実施形態の例である。実施例は、例示目的のみで提供され、決して、本発明の範囲を限定することを意図するものではない。使用された数値(例えば、量、温度など)に関して正確さを確保するための取り組みがなされているが、当然、一部の実験誤差及び偏差は許容されるべきである。

20

【0330】

本発明の実施は、別途指示のない限り、当業者の技能範囲内のタンパク質化学、生化学、組み換えDNA技術、及び薬理学の従来の方法を用いるであろう。そのような技術は、文献で完全に説明される。例えば、T. E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W. H. Freeman and Company, 1993); A. L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg *Advanced Organic Chemistry 3rd Ed.* (Plenum Press) Vols A and B (1992)を参照のこと。

30

【0331】

材料及び方法

抗体の生成。細胞外ドメインをコードするヒトSIRPaのcDNAフラグメントを合成し、マウスFcに融合させて、SIRPa-Fc融合タンパク質を生成し、これを使用して、マウスを免疫して、モノクローナルマウス抗ヒトCD47抗体を産生した。標準プロトコルを使用して、ハイブリドーマを生成した。簡単に言うと、4~6週齢のBalb/cマウスを、精製組み換えSIRPa-Fc融合タンパク質で週に2回、合計4週間免疫した。その後、力価を評価し、脾臓細胞をSP2/0細胞と融合させた。ハイブリドーマを選択し、得られたクローン由来の上清を、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)によりスクリーニングした。

40

【0332】

抗体Vのクローニング及び配列決定。本明細書で使用されるクローニング方策は、ハイブリドーマ細胞(Qiagen)の初期RNA分離を含んでいた。5'RACE-PCR技

50

術 (C l o n t e c h) を使用して、1 H 9 及び 3 C 2 モノクローナル抗体の重鎖及び軽鎖可変領域をコードする c D N A 配列を得、標準の D N A 配列決定技術を使用して、これを配列決定した。

【 0 3 3 3 】

分子モデリング及び抗体のヒト化。ヒト生殖系列フレームワーク (F R) にマウス抗体由来の C D R 残基を組み込むことにより、1 H 9 及び 3 C 2 のヒト化を実施した。要約すると、マウス 1 H 9 及び 3 C 2 を、対応する C D R 残基の慎重な動員によりヒト化した。C D R の立体構造上の起こり得る影響を調査するために、マウス 1 H 9 及び 3 C 2 とヒト F R 残基との差異を個別にモデル化した。

【 0 3 3 4 】

細胞トランスフェクション。2 9 3 F 細胞を F r e e S t y l e (商標) 2 9 3 発現培地 (I n v i t r o g e n) で培養した。製造者の使用説明書に従い、2 9 3 f e c t i n トランスフェクション試薬 (I n v i t r o g e n) を使用して、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする発現ベクターの同時トランスフェクションにより、一時的なトランスフェクションを実施した。4 ~ 5 日後、トランスフェクトされた細胞由来の上清を採取し、E L I S A で抗体分泌について試験した。要約すると、9 6 ウェルプレート (N u n c、デンマーク・ロスキレ) を、リン酸緩衝食塩水 (P B S) 中の $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ のヤギ抗ヒト F c ガンマ抗体で、4 で 1 6 時間コーティングした。室温で P B S 中の 0 . 4 % の B S A で 1 時間ブロッキングした後、1 / 3 連続希釈した単離された上清を添加し、室温で 1 時間インキュベートした。その後、プレートを 3 回洗浄し、H R P コンジュゲートヤギ抗ヒト

カップパ特異的抗体と共に室温で 1 時間インキュベートした。洗浄後、プレートを T M B で現像した。反応を 2 M の H_2SO_4 で停止させ、O D を 4 5 0 n M で測定した。

【 0 3 3 5 】

抗体の精製及び特徴付け。培養上清をプロテイン A セファロースカラム (G E H e a l t h c a r e) に適用した。カラムを P B S で洗浄し、次に、タンパク質を溶出緩衝液 (0 . 1 M のクエン酸ナトリウム緩衝液、p H 3 . 0) で溶出させた。収集された画分を、1 M のトリス p H 9 . 0 で中和した。最終的に、精製試料を P B S に対して透析した。還元または非還元条件下、1 0 % のゲル上で、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動 (S D S - P A G E) により、溶出された抗体画分の純度を分析した。バンドをクーマシーブリリアントブルー染色により視覚化した。

【 0 3 3 6 】

抗体親和性測定。H i s タグにヒト S I R P a の細胞外ドメインを融合させることにより、ヒト S I R P a - H i s 融合タンパク質を作製し、1 H 9 及び 3 C 2 への単量体の結合親和性を測定するために使用した。結合実験を B i a c o r e 3 0 0 0 上、2 5 で実施した。C M 5 チップのフローセル 2、3、及び 4 上で、E D C / N H S カップリング化学を使用する直接の固定化により、ヤギ抗ヒト捕捉抗体をチップの表面上に (表に示されるように) 固定化した。占有されていない部位を 1 M のエタノールアミンでブロックした。フローセル 1 は、未処理であり、チップ表面への A g のあらゆる非特異的結合を差し引くための参照として使用された。示された R U のフローセル 2、3、及び 4 上で、試験 A b を補足した。単一の検体濃度で、チップ上に抗原を流した。リガンドへの抗原の結合をリアルタイムで監視して、オン (k a) 及びオフ (k d) の速度を得た。観察された k a 及び k d から、平衡定数 (K D) を計算した。高速オフ速度の相互作用の場合、定常状態の動態解析により K D を決定した。

【 0 3 3 7 】

i n v i t r o 貪食アッセイ。R a j i 及び H T 2 9 がん細胞を洗浄し、計数し、次に、 1×10^5 の細胞を含有する $25 \mu\text{L}$ の無血清 I M D M を各ウェルに添加した。最終濃度 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ の 1 H 9、3 C 2 (別途図に示される)、リツキシマブ、または $0 . 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ のセツキシマブを用いた抗体処理物 ($25 \mu\text{L}$ 中) を、ウェルに添加し、3 7 で 3 0 分間インキュベートした。3 0 分で、以前に T r y p L E で収集されているマクロファージを計数し、 $50 \mu\text{L}$ の無血清 I M D M 中の 5×10^4 の細胞をプレーティン

グした。プレートを37で2時間インキュベートした(エフェクター:ターゲット=1:2)。GFP+マクロファージを探すフローサイトメトリー分析により、貪食の割合を計算した。

【0338】

SIRPa変種の遺伝子型決定。QIAamp DNA単離キット(Qiagen)を使用して、ヒトドナー血液試料からゲノムDNAを分離した。単離ゲノムDNA、ならびに、

TAG AAT ACA GGC TCA TGT TGC AGG T

(SEQ ID NO: 53)及び

GCC TTC AGC AAA TAG CAT GAC GT

10

(SEQ ID NO: 54)のプライマーを使用することにより、PCRを実施した。PCRフラグメントを精製し、配列決定した。異なるSIRPa変種をSIRPa参照配列に従って分析及び同定した(Polymorphism in Sirpa modulates engraftment of human hematopoietic stem cells. Nature Immunology, 8; 1313, 2007)。

【0339】

ヒトドナーから単離された単球へのヒトCD47の結合の遮断。Ficollを使用して、ヒト血液からヒト末梢血単核細胞(PBMC)を単離した。漸増濃度のhHu1H9-G1の非存在下または存在下で、1ug/mlのAF488コンジュゲートヒトCD47-Fc融合タンパク質と共に、5x10⁵の細胞をインキュベートした。細胞上のCD47の結合を測定し、フローサイトメトリーで分析した。

20

【0340】

Hu1H9-G1の内在化。正常なヒト血液から分化したマクロファージ細胞と共に、10ug/mlの抗体を37でインキュベートすることにより、ヒト化1H9の内在化を試験した。次に、細胞を固定し、各時点(0、20分、1時間、2時間、4時間、6時間、及び24時間)で透過処理した。PE標識抗ヒトIgG1抗体を使用して、1H9を検出した。DAPIを使用して、核を染色した。1H9の表面染色のための対照として、4でのインキュベーションを使用した。

30

【0341】

実施例1:抗SIRPaモノクローナル抗体の生成及びエピトープマッピング

細胞外ドメインをコードするヒトSIRPaのcDNAフラグメントをマウスFcに融合させて、SIRPa-Fc融合タンパク質(SEQ ID NO: 45)を生成し、これを使用してマウスを免疫して、モノクローナルマウス抗ヒトSIRPa抗体を産生した。ヒトSIRPaへのELISA結合により、選択されたハイブリドマクローンの特異性を試験した。2つの陽性クローンを得、1H9及び3C2と表記した。重鎖及び軽鎖の可変領域をクローニングし、配列決定し、1H9(図1)及び3C2(図2)のVH及びVLの配列を決定した。

【0342】

1H9及び3C2により認識されるエピトープを決定するために、ヒトSIRPa-Fc融合タンパク質を96ウェルプレートにコーティングした。漸増濃度の抗SIRPa抗体Kwarの非存在下または存在下で、1H9及び3C2とのSIRPaの結合を測定した(本明細書に参照により具体的に組み込まれる国際出願WO2015/138600に開示され、SEQ ID NO: 46~47に示されるVh及びVl配列)。図3Aに示されるように、Kwarは、SIRPa結合について1H9と競合しなかった。このことは、1H9がKwarとは異なるエピトープを認識することを示す。対照的に、Kwarは、SIRPa結合について3C2と競合したが、100倍過剰量のKwarを使用した時でも、SIRPaへの3C2の結合を部分的にしか遮断しなかった。これは、3C2がKwarと比較して、重複するが同一ではないエピトープを認識する可能性があることを示

40

50

している（図3A）。1H9及び3C2間の競合結合も実施し、SIRPaとの1H9の結合が、3C2でなく、1H9単独と用量依存的に競合したことが示された（図3B）。同様に、3C2は、1H9とではなく、それ自体と用量依存的に競合した（図3C）。そのようなものであるから、1H9及び3C2は、SIRP-アルファの異なるエピトープを認識する。

【0343】

実施例2：1H9及び3C2の抗体アイソタイプ選択

軽鎖及び重鎖の変域ドメインを、FcγRとの相互作用を無効にするN297A変異を有するヒトカッパ、ヒトIgG4、またはヒトIgG1の定常領域に融合させることにより、キメラ1H9及び3C2を構築した。次に、得られた抗体を、リツキシマブ（Rx）と組み合わせたin vitro貪食アッセイで試験した。ドナーの変動の影響を観察した。1H9はリツキシマブと相乗作用し、一部のドナーの単球から分化したマクロファージを使用して、ヒトIgG4（1H9-G4）及びIgG1 N297A（1H9-G1）フォーマットで貪食を同等に促進した（図4A）。一方、異なるドナーの単球から分化したマクロファージを使用すると、1H9-G1は、1H9-G4よりもリツキシマブとの相乗効果を起動した（図4B）。同様の結果が、3C2でも見られた（図4A～B）。マクロファージ上に発現されたFcγRにおける異なる対立遺伝子の変動は、in vitro貪食アッセイで観察された変動を引き起こし得ることが可能である。これらの結果は、応答性の変動を低減する、すなわち、細胞標的抗体と組み合わせた時の貪食の増強において非応答者である個体の数を低減させることにおける、抗SIRP 抗体のデッドFc構築物の一般的な利点を示している。

【0344】

実施例3：1H9及び3C2のヒト化

1H9及び3C2のヒト化を、CDR移植により行い、1H9及び3C2のVH及びVLのヒト化配列は、それぞれ、図5及び図6に示される。全長配列は、SEQ ID NO：37～40に示される。

【0345】

ヒト化1H9及び3C2の抗原結合特異性を評価するために、ヒト化及び親マウス1H9または3C2間の競合結合をELISAにより行った。それは、ヒト化1H9及び3C2が、それぞれ、SIRPa結合についてマウス1H9及び3C2と用量依存的に競合することを示した（図7）。従って、ヒト化1H9及び3C2は、それらの親抗体と同じ抗原結合特異性を保有する。次に、表面プラズモン共鳴を使用して、ヒト化1H9及び3C2の抗原結合親和性を測定した。ヒト化1H9は、 1.15×10^{-9} Mの K_D で単量体ヒトSIRPa抗原に結合し、ヒト化3C2は、 5.53×10^{-9} Mの K_D で単量体ヒトSIRPaに結合した（図8）。

【0346】

実施例4：ヒト化1H9及び3C3は、治療用抗体と相乗作用して、マクロファージ媒介貪食を促進する

次に、ヒト化1H9及び3C2が、治療抗体と組み合わせて、ヒト末梢血由来マクロファージによるヒトがん細胞の貪食を可能にする能力を調査した。ヒト化1H9または3C2単独では、貪食を実質的に誘導しなかった。しかし、リツキシマブ（Rx）と組み合わせられた時、両方の抗体が、リツキシマブ単独よりもRaji細胞の貪食活性を誘導した（図9A）。加えて、ヒト化1H9及び3C2は、セツキシマブ（Cx）と相乗作用して、ヒト結腸直腸腺癌細胞株HT-29の貪食を誘導し、試験されたヒト化1H9及び3C2の濃度の範囲にわたって、相乗活性が観察された（図9B）。

【0347】

実施例5：SIRPファミリーメンバーに対する1H9及び3C2の交差反応性

SIRPアルファに加えて、SIRPファミリーには2つの密接に関連するタンパク質、すなわち、（SIRPB、アクセッション番号NM_001083910.3）及びSIRPG（SIRPG、アクセッション番号NM_001039508.1）がある

。SIRPBは、SIRPaと密接に関連しているが、CD47に結合しないようであり、細胞質ITIMまたはシグナル伝達のための他の任意の認識可能な細胞質モチーフを欠損している。その代わりに、SIRPBは、ITAMを運ぶアダプタータンパク質であるDAP12との結合を媒介する正荷電リジン残基を有する膜貫通領域を含有する。DAP12 ITAMのリン酸化は、プロテインチロシンキナーゼSykの動員、及び、それに伴う、種々の機能を制御するMAPK経路の活性化を媒介する。例えば、DAP12とも複合化するマウスSIRPB受容体の起動は、マクロファージの貪食を促進する。ヒトSIRPファミリーの第3のメンバーであるSIRPGは、T細胞及び活性化NK細胞に発現される。それは、SIRPaと比較して10倍低い親和性でCD47に結合し得る。さらに、SIRPg-CD47相互作用は、細胞-細胞接着を媒介し、APC-T細胞接触をサポートして、抗原提示、それに伴うT細胞増殖、及びサイトカイン分泌を増強する。SIRPGは、既知のシグナル伝達モチーフがないため、単独で細胞内シグナル伝達を生じる可能性が低い。その代わりに、SIRPGは、APCにおけるCD47のシグナル伝達を起動し得る。

【0348】

SIRPB及びSIRPG His融合タンパク質を生成し、SIRPB及びSIRPGへの1H9及び3C2の結合を試験した。図10に示されるように、1H9及び3C2は、Kwarと比較してSIRPBに結合した(図10A)。Kwarとは異なり、SIRPGへの1H9または3C2の結合を検出した(図10B)。1H9及び3C2によるSIRPG結合の欠損は、最新の抗SIRPA抗体と比較して、これらの抗体に以下の潜在的な利点をもたらす：(1)SIRPAは、オフターゲット効果のリスクを減少させるSIRPGと比較して、発現がより制限され、(2)例えば、SIRPAに対する特異性の増加を考えると、毒性のリスクの減少があり、(3)抗体が対象に投与される時に、「抗原シンク」現象が発生するリスクの減少があり、(4)抗体によるT細胞及び/またはB細胞機能の干渉のリスクの減少がある。

【0349】

実施例6：追加の抗SIRPアルファ抗体の生成及び試験

上で概説したようにマウスを免疫することにより、ヒトSIRPaに対する追加の抗体を生じさせた。2つのモノクローナル抗体クローンを、それぞれ、9B11及び7E11を表記した。SEQ ID NO: 21~36及び41~44を参照のこと。キメラとしてヒトIgG4 Fc領域(7E11-G4もしくは9B11-G4として表記される)に、または、ヒトFc Rとの相互作用を無効にするN297A変異を含むヒトIgG1 Fc領域(7E11-G1もしくは9B11-G1として表記される)に、マウス可変領域を結合させた。

【0350】

1H9及び3C2と共に見出された場合、9B11及び7E11抗体は、リツキシマブと組み合わせた時、がん細胞の貪食の増強において相乗的応答を示した。図11に示されるように、マクロファージは、7日間ヒト血清の存在下で、ドナーA(A)及びドナーB(B)の単球から分化した。Raji細胞をCFSEで標識し、単独のまたは10µg/mlの9B11-G4、9B11-G1、7E11-G4、または7E11-G1と組み合わせた10µg/mlのリツキシマブ(Rx)の存在下で、マクロファージと共にインキュベートした。2時間後、GFP+マクロファージを確認するフローサイトメトリー分析により、貪食の割合を計算した。

【0351】

データは、IgG4フォーマット抗体及び変異性IgG1フォーマット抗体の両方が、相乗的応答を提供し得るが、変異性IgG1フォーマットは、ドナー全体でよりばらつきの少ない応答を提供した。

【0352】

9B11及び7E11により認識されるエピトープを決定するために、ヒトSIRPa-Fc融合タンパク質を96ウェルプレートにコーティングした。漸増濃度の抗SIRP

10

20

30

40

50

a抗体 K W a r (本明細書に参照により具体的に組み込まれる国際出願 W O 2 0 1 5 / 1 3 8 6 0 0 に開示される) の非存在下または存在下で、 9 B 1 1 及び 7 E 1 1 との S I R P a の結合を測定した。図 1 2 に示されるように、 7 E 1 1 は、 K w a r (3 C 2 と類似する) と比較して重複するエピトープを認識し、 9 B 1 1 は、 K w a r と比較して非常に類似または同一のエピトープを認識する。

【 0 3 5 3 】

実施例 7 : 初代ヒト細胞上の異なる S I R P アルファ変種への H u 1 H 9 - G 1 の結合
ヒト S I R P - は、 I g V ドメインで高度に多型であるが、変種の大部分は、変種 1 (V 1) 及び変種 2 (V 2) である。

【 0 3 5 4 】

2 2 人の正常なヒトドナーをスクリーニングして、遺伝子型を決定し、 S I P R - アルファの V 1 ホモ接合型、 V 2 ホモ接合型、及び V 1 / V 5 ヘテロ接合型状態のドナーを特定した (Polymorphism in Sirpa modulates engraftment of human hematopoietic stem cells . Nature Immunology , 8 ; 1 3 1 3 , 2 0 0 7 ; 参考までに : S E Q I D N O : 4 8 に示される V 1 配列 ; S E Q I D N O : 4 9 に示される V 2 配列) 。ヒト化 1 H 9 は、ドナーの単球及びマクロファージを使用して、試験され、 V 1 、 V 2 、及び V 1 / V 5 対立遺伝子のそれぞれに結合することが判明した (図 1 3) 。本データは、初代ヒトドナー細胞上の複数の異なる S I R P - アルファ変種に結合する能力を考えると、ヒト化 1 H 9 が広範囲のヒトでを使用することができることを示す。

【 0 3 5 5 】

実施例 8 : H u 1 H 9 - G 1 は、異なるドナー由来の単球への C D 4 7 の結合を遮断する
次に、ヒト化 1 H 9 - G 1 を試験して、異なる変種として発現する C D 4 7 及び S I R P - アルファの相互作用を遮断することができるかどうかを判定した。 V 1 、 V 2 、及び V 1 / V 5 を発現するドナーから単球を単離し、漸増濃度のヒト化 1 H 9 の非存在下または存在下のいずれかで、 C D 4 7 - F c 融合タンパク質と共にインキュベートした (図 1 4) 。データは、ヒト化 1 H 9 が、用量依存的な C D 4 7 及び S I R P - アルファの相互作用を防ぎ、遮断活性は、試験された異なる S I R P - アルファ変種間で同等であることを示す。

【 0 3 5 6 】

実施例 9 : H u 1 H 9 - G 1 は、セツキシマブと相乗作用して、異なるドナーにわたって貪食を促進する

異なるドナーから分化したマクロファージを使用した i n v i t r o での貪食を実施した。ヒト化 1 H 9 - G 1 は、セツキシマブと相乗作用して、 V 1 、 V 2 、及び V 1 / V 5 変種を有するドナー全体で貪食を促進した (図 1 5) 。

【 0 3 5 7 】

実施例 1 0 : H u 1 H 9 - G 1 の内在化

1 0 µ g / m l の抗体を 3 7 C で正常なヒト血液から分化したマクロファージ細胞と共にインキュベートすることにより、ヒト化 1 H 9 の内在化を試験した。次に、細胞を固定し、各時点 (0 、 2 0 分、 1 時間、 2 時間、 4 時間、 6 時間、及び 2 4 時間) で透過処理した。 P E 標識抗ヒト I g G 1 抗体を使用して、 1 H 9 を検出した。 D A P I を使用して、核を染色した。 1 H 9 の表面染色のための対照として、 4 C でのインキュベーションを使用した。

【 0 3 5 8 】

データは、ヒト化 1 H 9 が細胞に内在化せず且つ 1 H 9 の表面染色が 2 4 時間を含む各時点で検出可能であった (データは示さず) ことを示す。このデータは、ヒト化 1 H 9 が細胞表面で安定していることを示しており、これは、より大きな i n v i v o 治療有効性を示し得る。

【 0 3 5 9 】

本発明は特に、好ましい実施形態及び種々の代替の実施形態に関して示され、記載され

10

20

30

40

50

ているが、形態及び詳細の種々の変更が、本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく本明細書では行うことができることを、当業者らは理解するであろう。

【 0 3 6 0 】

本明細書の本文内で引用された全ての参考文献、発行された特許、及び特許出願は、あらゆる目的のために、全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 3 6 1 】

(表 A) 配列

SEQ ID NO	ID	配列
1	1H9 CDR- H1	SYWIT
2	1H9 CDR- H2	DIYPGSGSTNHIEKFKS
3	1H9 CDR- H3	GYGSSYGYFDY
4	1H9 CDR- L1	RASENIYSYLA
5	1H9 CDR- L2	TAKTLAE
6	1H9 CDR- L3	QHGYGPPFT
7	ヒト化 1H9 V _H	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWITWVKQA PGQGLEWIGD IYPGSGSTNH IEKFKSKATL TVDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCATGY GSSYGYFDYW GQGTLLVTVSS
8	ヒト化 1H9 V _L	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASENIY SYLAWYQQKP GKAPKLLIYT AKTLAEGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH QYGPPFTFGQ GTKLEIK
9	3C2 CDR- H1	SYWMH
10	3C2 CDR- H2	NIDPSDSDTHYNQKFKD
11	3C2 CDR- H3	GYSKYYAMDY
12	3C2 CDR- L1	RSSQSIVHSYGNLYE
13	3C2 CDR- L2	KVSNRFS
14	3C2 CDR- L3	FQGSHVPYT

10

20

30

40

50

15	ヒト化 3C2 V _H	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMHWVRQA PGQGLEWMGN IDPSDSSTHY NQKFKDRVMT TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARGY SKYYAMDYWG QGTLVTVSS
16	ヒト化 3C2 V _L	DIVMTQTPLS LSVTPGQPAS ISCRSSQSIV HSYGNTYLEW YLQKPGQSPQ LLIYKVSNR F SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCFQGSHVP YTFGQGKLE IK
17	ヒト化 1H9 HC (全長)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTSYWITWVKQAPGQGLEW IGDIYPGSGSTNHIEKF KSKATLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVY YCATGYGSSYGYFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
18	ヒト化 1H9 LC (全長)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASENIYSYLAWYQQKPGKAPKLL IYTAKTLAEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHQQYGP PFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY P REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
19	ヒト化 3C2 HC (全長)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEW MGNIDPSDSSTHYNQKFKDRVMTTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVY YCARGYSKYYAMDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY P SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

10

20

30

40

50

20	ヒト化 3C2 LC (全長)	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSIVHSYGNTYLEWYLQKPGQ SPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCF QGSHVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
21	9B11 CDR-H1	DYYIH
22	9B11 CDR-H2	RIDPEDGETKYAPKFQG
23	9B11 CDR-H3	GGFAY
24	9B11 CDR-L1	ASSSVSSSYLY
25	9B11 CDR-L2	STSNLAS
26	9B11 CDR-L3	HQWSSHYPY
27	9B11 V _H	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYIHWVKQRTEQGLEW IGRIDPEDGETKYAPKFQKATITADTSSNTAYLQLNSLTSEDYAVY SCAKGGFAYWGQGTLLVTVSA
28	9B11 V _L	QIVLTQSPAISASPGKVTLTCSASSSVSSSYLYWYQQKPGSSPKL WIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAASYFCHQWSS HPYTFGGGTKLEIK
29	7E11 CDR-H1	SYWMH
30	7E11 CDR-H2	NIDPSDSDTHYNQKFKD
31	7E11 CDR-H3	SYGNYGENAMDY
32	7E11 CDR-L1	RSSQSIVHSYGNTYLE
33	7E11 CDR-L2	KVSNRFS
34	7E11 CDR-L3	FQGSHPFT

10

20

30

40

50

35	7E11 V _H	QVKLQESGAELVRPGSSVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPIQGLEW IGNIDPSDSDTHYNQKFQKDKATLITVDNSSSTAYMQLSSLTSEDSAVY YCASYGNYGENAMDYWGQGTSVTVSS
36	7E11 V _L	DILMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSYGNTYLEWYLQKPGQ SPKLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCF QGSHVPFTFGSGTKLEIK
37	ヒト化1H9 重鎖核酸	CAGGTTCAAGTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGC CTCTGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCTTTACCAGCT ACTGGATCACCTGGGTCAAGCAGGCTCCTGGACAGGGACTCGAGTGG ATCGGCGATATCTATCCTGGCTCCGGCTCCACCAACCACATCGAGAA GTTCAAGTCCAAGGCTACCCCTGACCGTGGACACCTCCATCTCCACCG CCTACATGGAACGTGTCCCGGCTGAGATCTGACGACACCGCCGTGTAC TATTGCGCTACCGGCTACGGCTCCTCCTACGGCTACTTTGATTATTG GGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTCTGCTTCTACCAAGGGAC CCAGCGTGTTCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGA ACAGCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGT GACCGTGTCTTGGAACCTCTGGCGCTCTGACATCTGGCGTGCACACAT TCCCTGCTGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCTCTGTCTCTGTCTGTC GTGACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTACATCTGCAA TGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAAC CCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCATGTCTCTGCTCCA GAACTGCTCGGCGGACCTTCCGTGTTTCTGTTCCTCCAAAGCCTAA GGACACCCCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTGG TGGATGTGTCTCACGAGGACCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTG GACGGCGTGGAAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACA GTACGCCCTCCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGTCTGCACC AGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAG GCCCTGCCTGCTCCTATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCA GCCTAGGGAACCCAGGTTTACACCCCTGCCACCTAGCCGGGAAGAGA TGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGAAGGGCTTCTAC CCTTCCGATATCGCTGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAGAA CAACTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCT TTCTGTACTCCAAGCTGACTGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGC AACGTGTTCTCCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTA CACACAGAAGTCTCTGTCTCTGAGCCCCGGC

10

20

30

40

38	ヒト化1H9 軽鎖核酸	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCTGTCCGCCTCTGTGGG CGACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCCTCCGAGAACATCTACTCCT ACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGCAAGGCTCCCAAGCTGCTG ATCTACACCGCTAAGACACTGGCCGAGGGCGTGGCCCTCTAGATTTTC TGGCTCTGGAAGCGGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCCAGCCTGC AGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACCAGTACGGCCCT CCATTACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGCGGACAGT GGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTTCCCACCTTCCGACGAGCAGCTGA AGTCTGGCACAGCCTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAATCTTACCCT CGGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGG CAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT ACAGCCTGTCCTCCACACTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAG CACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGTCTAGCCC TGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGC
----	----------------	--

10

20

30

40

50

39	ヒト化3C2 重鎖核酸	CAGGTTTCAGTTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGC CTCTGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCTTTACCAGCT ACTGGATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAAGGCTTGGAGTGG ATGGGCAACATCGACCCCTCTGACAGCGACACCCACTACAACCAGAA ATTCAAGGACCGCGTGACCATGACCAGAGACACCTCCACCAGCACCG TGTACATGGAACGTGCCAGCCTGAGATCCGAGGACACCGCCGTGTAC TACTGTGCCAGAGGCTACTCCAAGTACTACGCCATGGACTACTGGGG CCAGGGCACACTGGTTACCGTGTCTCTGCTTCCACCAAGGGACCCT CTGTGTTCCCTCTGGCTCCTTCCAGCAAGTCTACCTCTGGCGGAACA GCTGCTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTTCCTGAGCCTGTGAC CGTGTCTTGGAACCTCTGGCGCTCTGACATCTGGCGTGACACATTCC CTGCTGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTGTACTCTCTGTCTCTGTCTGTG ACCGTGCCTTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTACATCTGCAATGT GAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTGGAACCCA AGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCTCCATGTCTCTGCTCCAGAA CTGCTCGGCGGACCTTCCGTGTTTCTGTTCCCTCCAAAGCCTAAGGA CACCTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGCTGGTGGTGG ATGTGTCCACGAAGATCCAGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGAC GGCGTGGAAGTGACACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTA CGCCTCCACCTACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCC CTGCCTGCTCCTATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCC TAGGGAACCCAGGTTTACACCTGCCTCCAAGCCGGGAAGAGATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGAAGGGCTTCTACCCT TCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCAGAGAACAA CTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTTC TGTA TCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAAC GTGTTCTCCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTATAC CCAGAAGTCCCTGTCTCTGTCCCCTGGC
----	----------------	--

10

20

30

40

50

40	ヒト化3C2 軽鎖核酸	GACATCGTGATGACCCAGACACCTCTGAGCCTGAGCGTGACACCTGG ACAGCCTGCCTCCATCTCCTGCAGATCCTCTCAGTCCATCGTGCACT CCTACGGCAACACCTACCTGGAATGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAG TCTCCTCAGCTGCTGATCTACAAGGTGTCCAACCGGTTCTCTGGCGT GCCCCGACAGATTTTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGA AGATCTCCAGAGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCTTC CAAGGCTCTCACGTGCCCTACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGA AATCAAGCGGACAGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTTCCCACCTT CCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACAGCTTCTGTCTGTGCCTGCTG AACAACTTCTACCCTCGGGAAGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAA TGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACT CCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCCAGCACACTGACCCTGTCCAAG GCCGACTACGAGAAGCACAAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCATCA GGGCCTGTCTAGCCCTGTGACCAAGTCTTTCAACCGGGGCGAGTGC
41	9B11 VH 核酸	GAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAGCTTGTGAAGCCAGGGGC CTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGCTTCTGGCTTCAACATTAAAGACT ACTATATACACTGGGTGAAGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAGTGG ATTGGAAGGATTGATCCTGAGGATGGTGAACTAAATATGCCCCGAA ATTCCAGGGCAAGGCCACTATAACAGCAGACACATCCTCCAACACAG CCTACCTGCAGCTCAACAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTAT TCCTGTGCTAAGGGGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGT CACTGTCTCTGCA
42	9B11 VL 核酸	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCTGG GGAGAAGGTACCTTGACCTGCAGTGCCAGTTCAAGTGTAAGTTCCA GCTACTTGTACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGATCCTCCCCCAAATC TGGATTTATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGCA TGGAGGCTGAAGATGCTGCCTCTTATTTCTGCCATCAGTGGAGTAGT CACCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA

10

20

30

40

50

43	7E11 VH 核酸	CAGGTCAAGCTGCAGGAGTCTGGGGCTGAGCTGGTGAGGCCTGGGTC TTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCT ACTGGATGCATTGGGTGAAGCAGAGGCCTATACAAGGCCTTGAATGG ATTGGTAACATTGACCCTTCTGATAGTGATACTCACTACAATCAAAA GTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTGTGGACAACTCCTCCAGCACAG CCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTAT TACTGTGCAAGCTATGGTAACTACGGGGAGAATGCTATGGACTACTG GGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
44	7E11 VL 核酸	GATATTTTGTAGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGG AGATCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATA GTTATGGAAACACCTATTTAGAAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAG TCTCCAAAACCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGT CCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGTACAGATTTCACTCA AGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTGCTTT CAAGGTTACATGTTCCATTACGTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGGA AATAAAA
45	SIRPa	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRE LIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCYVKF RKGSPDDVEFKSGAGTELSVRA
46	KWar VH	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNIDYIIHWVQQAPGKGLEW IGRIDPEDGETKYAPKFQDRATITADTSTDYAMELSSLRSEDYAVY YCARWGAYWGQGLTVTVSS
47	KWar VL	QIVLTQSPPTLSLSPGERVTLTCSASSSVSSSYLYWYQQKPGQAPKL WIYSTSNLASGVPARFSGSGSTSYTLTISSLQPEDFAVYFCHQWSS YPRTFGAGTKLEIK
48	SIRPa V1	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRE LIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCYVKF RKGSPDDVEFKSGAGTELSVRA
49	SIRPa V2	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARE LIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYVKF RKGSPDTEFKSGAGTELSVRA

10

20

30

40

50

【図面】
【図 1】

A. QVQLQQPGAERVKPGASVKMSCKASGYTFTSYWITWVKORPGQGLEWIGDIYPGSGSTNHIE
KFKSKATLTVDTSSNTAYMQLSRITSEDSAVVYCATGYGSSYGYFDYWGGQTTLTVSS

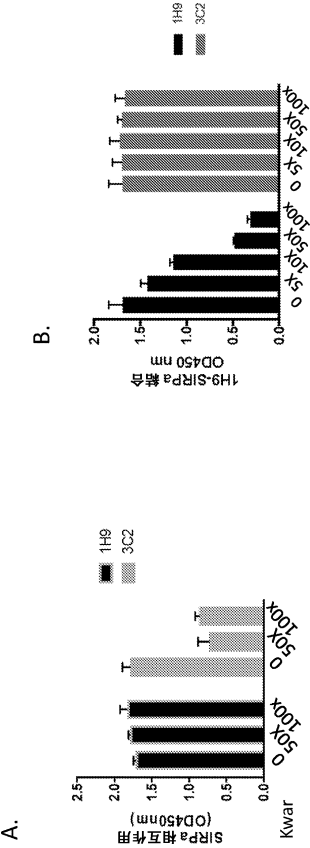
B. DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWYQQKQKSPQLLVYTAKTLAEGVPSRFSGS
GGGTQFSLKINSIQPEDFGNYCQHQQHGGPPFTFGSGTRLVIK

【図 2】

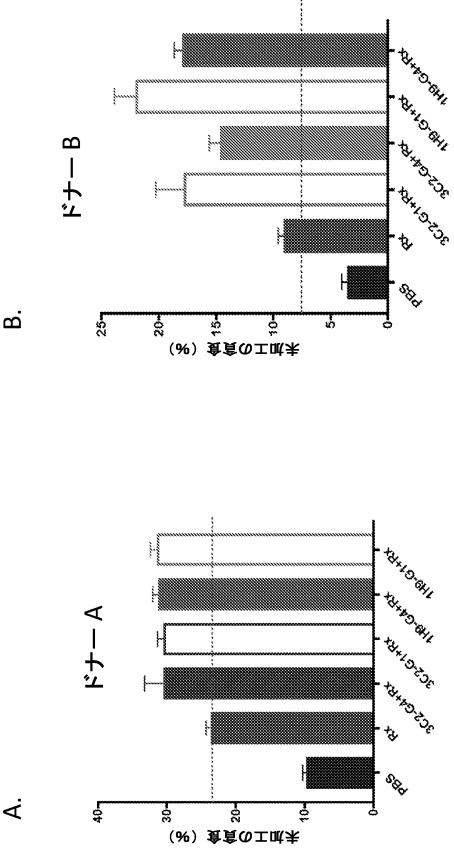
A. QVQLQQGAELVRPGSSVKLCKASGYTFTSYWMHWWKRPQIQGLEWIGNIDPSDSDTHYNQ
KFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSITSEDSAVVYCARGYSKYAMDYWGQGTSVTVSS

B. DVLMTQTPLSLSVSLGDAQSISCRSSQIVHSVGNITYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVDPDR
FSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGYYVYCFQGSHPVPTFGGGTKLEIK

【図 3】



【図 4】



10

20

30

40

50

【 図 5 】

A. QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF^TSYWITWVKQAPGQG
LEWIGDIYPGSGSTN^HIEKFKSKATLTVDTSISTAYMELSRRLSDDTAVVYCATGYGSSYG^FFDYW
GGGTLTVSS

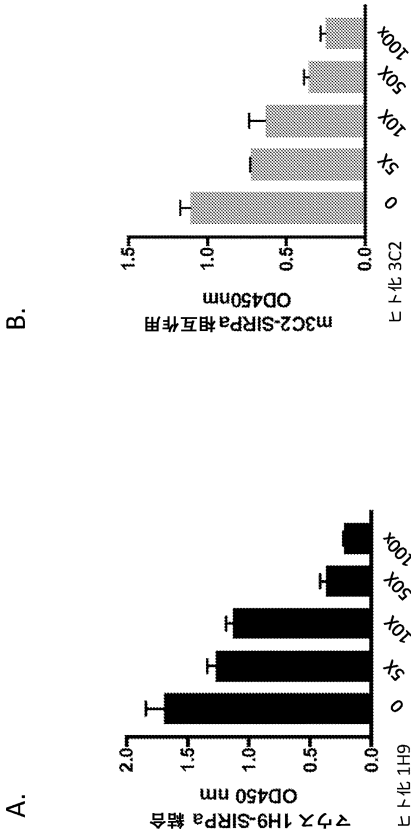
B. DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSYLAWYQQKPGKAPKLLIY^TAKTILAEGVPSRFSGSGS
GTDFTLTIS^LLQPEDFATYYC^HQYGGPPE^TFGQGT^KLEIK

【 図 6 】

A. QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF^TSYWMH^WVRQAPGQGLEWMGNIDPSDSD^THY
NQKFKDRVTMT^RDTSTSTVMELSSLRSEDTAVVY^CCARGYSKYAMIDYWGGGTLTVSS

B. DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQIVHSYGN^TYLEWYLQKPGQSPQLLYK^VSNRFSGV^PPDR
FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVVY^CFCQGSHV^PYTFGGGT^KLEIK

【 図 7 】



【 図 8 】

	KD
1H9	2.06x10 ⁻⁹ M
1H9 1H9	1.15x10 ⁻⁹ M
3C2	5.58x10 ⁻⁹ M
3C2 3C2	5.53x10 ⁻⁹ M

10

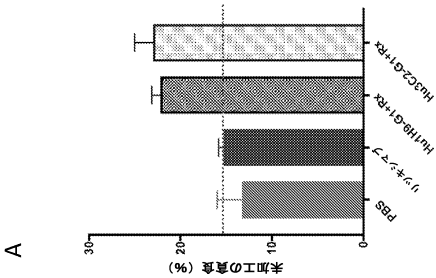
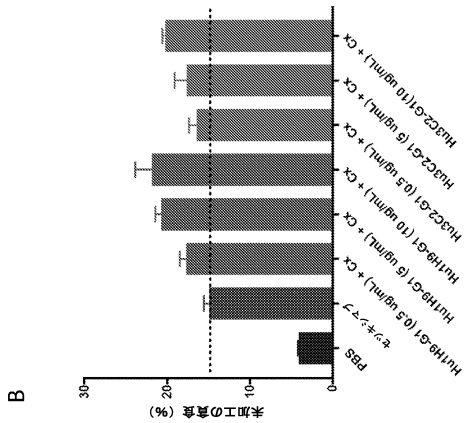
20

30

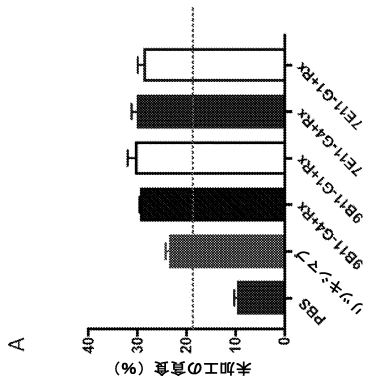
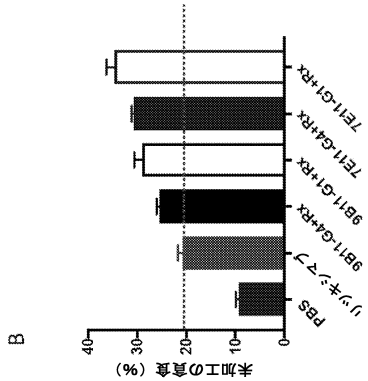
40

50

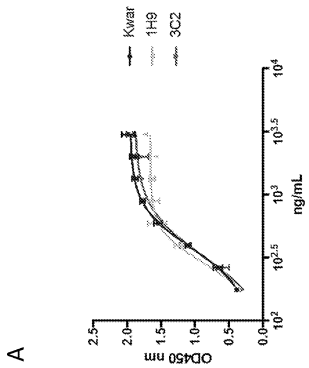
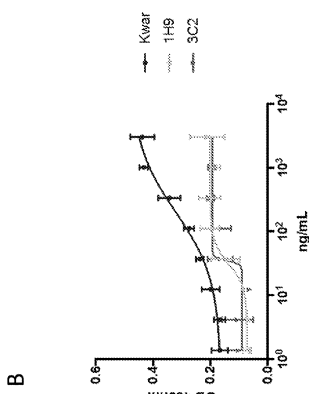
【図 9】



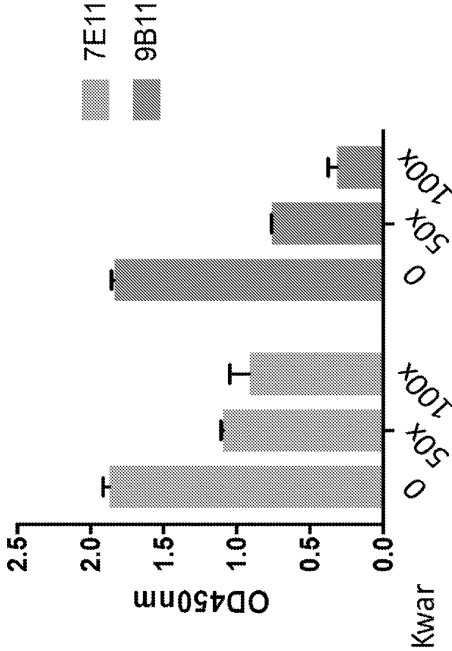
【図 11】



【図 10】



【図 12】



10

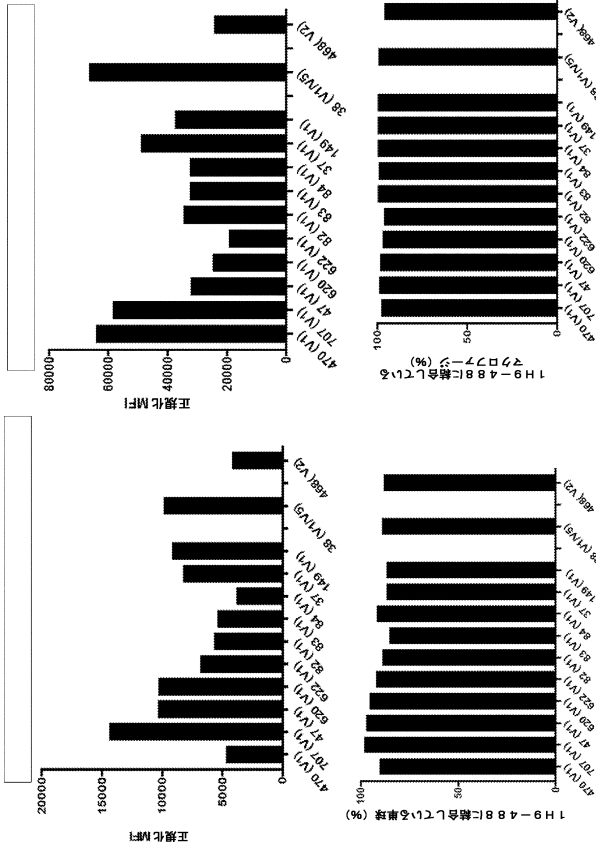
20

30

40

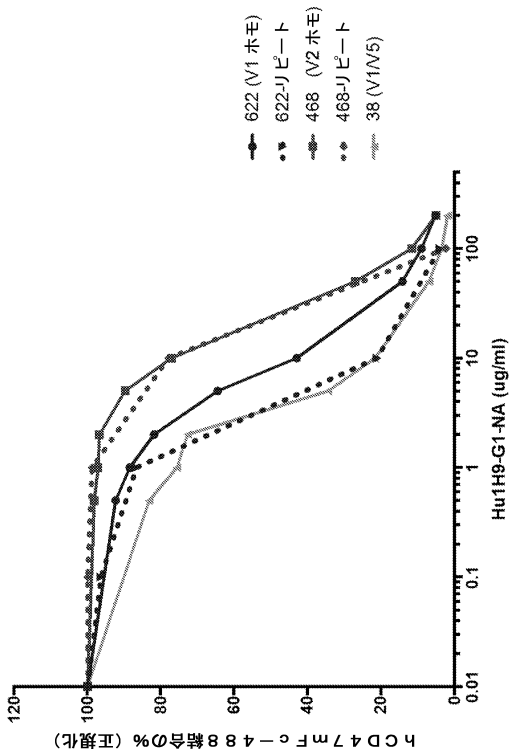
50

【図 13】

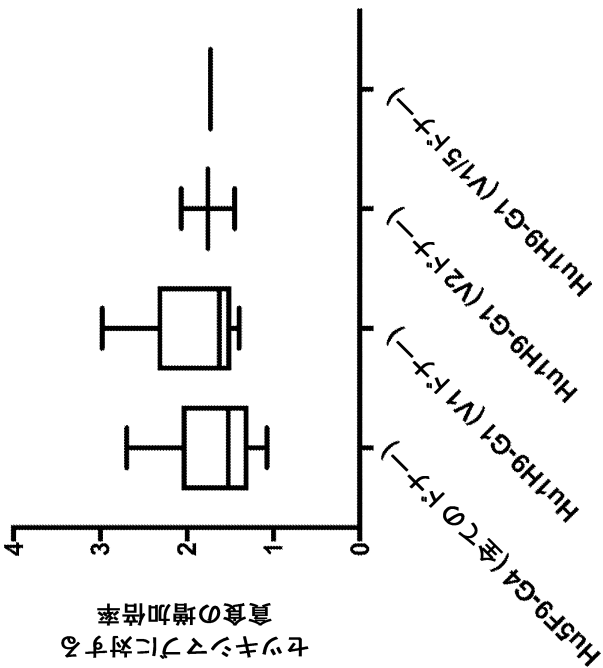


【図 14】

単球上の種々のSIRPa変種に対する
hCD47結合のHu1H9-G1NA阻害



【図 15】



【配列表】

0007122370000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	31/00 (2006.01)	A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1
A 6 1 P	33/00 (2006.01)	A 6 1 P	33/00	
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 K	9/10 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
		A 6 1 K	9/10	

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 リュウ ジエ

アメリカ合衆国 9 4 0 2 5 カリフォルニア州 メンロパーク オブライエン ドライブ 1 4 9 0
フォーティー セブン インコーポレイテッド

(72)発明者 フォルクマー イエンス - ペーター

アメリカ合衆国 9 4 0 2 5 カリフォルニア州 メンロパーク オブライエン ドライブ 1 4 9 0
フォーティー セブン インコーポレイテッド

審査官 西 賢二

(56)参考文献 米国特許出願公開第 2 0 1 4 / 0 2 4 2 0 9 5 (U S , A 1)

特表 2 0 1 7 - 5 1 0 2 5 1 (J P , A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0

A 6 1 K 3 9 / 0 0 - 3 9 / 4 4

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0

C 1 2 N 1 / 0 0 - 7 / 0 8

C 1 2 P 2 1 / 0 8

C a p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T
N)

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

U n i P r o t / G e n e S e q