

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5490714号  
(P5490714)

(45) 発行日 平成26年5月14日(2014.5.14)

(24) 登録日 平成26年3月7日(2014.3.7)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K 9/08
A 6 1 K 47/18 (2006.01)	A 6 1 K 47/18
A 6 1 K 47/12 (2006.01)	A 6 1 K 47/12
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/26

請求項の数 23 (全 166 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2010-536150 (P2010-536150)	(73) 特許権者	504333972
(86) (22) 出願日	平成20年11月26日(2008.11.26)		メディミュン、エルエルシー
(65) 公表番号	特表2011-504933 (P2011-504933A)		アメリカ合衆国 20878 メリーラン
(43) 公表日	平成23年2月17日(2011.2.17)		ド州、ゲイサーズバーグ、ワン メディミ
(86) 国際出願番号	PCT/US2008/084796		ュン ウェイ
(87) 国際公開番号	W02009/070642	(74) 代理人	100091096
(87) 国際公開日	平成21年6月4日(2009.6.4)		弁理士 平木 祐輔
審査請求日	平成23年11月24日(2011.11.24)	(74) 代理人	100118773
(31) 優先権主張番号	60/990,772		弁理士 藤田 節
(32) 優先日	平成19年11月28日(2007.11.28)	(74) 代理人	100122389
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 新井 栄一
(31) 優先権主張番号	61/039,985	(74) 代理人	100111741
(32) 優先日	平成20年3月27日(2008.3.27)		弁理士 田中 夏夫
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 タンパク質製剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

二重特異性抗体およびリシンを含む液体医薬製剤であって、二重特異性抗体が第1および第2の結合ドメインを含み、第1の結合ドメインがCD3 T細胞表面抗原に特異的に結合し、該製剤が5 mM ~ 125 mMのシトレート、25 mM ~ 400 mMのリシン、3% ~ 50%のトレハロース、および0.01% ~ 1%のポリソルベート80を含み、かつ4.0 ~ 8.0のpHを有する、製剤。

【請求項2】

第1の結合ドメインが配列番号5の残基283 ~ 525のアミノ酸配列を含む、請求項1記載の製剤。

【請求項3】

第2の結合ドメインが、CD19、CD20、CD22、EphA2、EphA4、INFR、ICOS、Ep-CAM、CEA、およびIL-5受容体からなる群から選択される抗原に特異的に結合する、請求項1または2のいずれか一項記載の製剤。

【請求項4】

第2の結合ドメインが配列番号5の残基28 ~ 277のアミノ酸配列を含む、請求項3記載の製剤。

【請求項5】

二重特異性抗体が配列番号5の残基28 ~ 525のアミノ酸配列を含む、請求項3記載の製剤。

【請求項6】

10

20

二重特異性抗体およびリシンを含む凍結乾燥医薬製剤であって、二重特異性抗体が第1および第2の結合ドメインを含み、第1の結合ドメインがCD3 T細胞表面抗原に特異的に結合し、該凍結乾燥医薬製剤が5 mM～125 mMのシトレート、25 mM～400 mMのリシン、3%～50%のトレハロース、および0.01%～1%のポリソルベート80を含み、かつ4.0～8.0のpHを有する、製剤。

【請求項7】

第1の結合ドメインが配列番号5の残基283～525のアミノ酸配列を含む、請求項6記載の製剤。

【請求項8】

第2の結合ドメインが、CD19、CD20、CD22、EphA2、EphA4、INFR、ICOS、Ep-CAM、CEA、およびIL-5受容体からなる群から選択される抗原に特異的に結合する、請求項6記載の製剤。

10

【請求項9】

第2の結合ドメインが配列番号5の残基28～277のアミノ酸配列を含む、請求項8記載の製剤。

【請求項10】

二重特異性抗体が配列番号5の残基28～525のアミノ酸配列を含む、請求項8記載の製剤。

【請求項11】

二重特異性抗体およびリシンを含む液体再構成医薬製剤であって、二重特異性抗体が第1および第2の結合ドメインを含み、第1の結合ドメインがCD3 T細胞表面抗原に特異的に結合し、該医薬製剤が5 mM～125 mMのシトレート、25 mM～400 mMのリシン、3%～50%のトレハロース、および0.01%～1%のポリソルベート80を含み、かつ4.0～8.0のpHを有する、製剤。

20

【請求項12】

第1の結合ドメインが配列番号5の残基283～525のアミノ酸配列を含む、請求項11記載の製剤。

【請求項13】

第2の結合ドメインが、CD19、CD20、CD22、EphA2、EphA4、INFR、ICOS、Ep-CAM、CEA、およびIL-5受容体からなる群から選択される抗原に特異的に結合する、請求項11または12のいずれか一項記載の製剤。

30

【請求項14】

第2の結合ドメインが配列番号5の残基28～277のアミノ酸配列を含む、請求項13記載の製剤。

【請求項15】

二重特異性抗体が配列番号5の残基28～525のアミノ酸配列を含む、請求項13記載の製剤。

【請求項16】

二重特異性抗体を安定化する方法であって、該抗体を5 mM～125 mMのシトレート、25 mM～400 mMのリシン、3%～50%のトレハロース、および0.01%～1%のポリソルベート80と4.0～8.0のpH条件下で組み合わせることを含み、二重特異性抗体が第1および第2の結合ドメインを含み、第1の結合ドメインがCD3 T細胞表面抗原に特異的に結合する、方法。

40

【請求項17】

55マイクログラム/ml二重特異性抗体、25 mMシトレート、200 mMリシン、15%トレハロースおよび0.1%ポリソルベート80を含み、かつpH 7.0を有する、請求項1～5のいずれか一項記載の製剤。

【請求項18】

55マイクログラム/ml二重特異性抗体、25 mMシトレート、200 mMリシン、15%トレハロースおよび0.1%ポリソルベート80を含み、かつpH 7.0を有する、請求項6～10のいずれか一項記載の製剤。

50

## 【請求項 19】

55マイクログラム/ml二重特異性抗体、25 mMシトレート、200 mMリシン、15%トレハロースおよび0.1%ポリソルベート80を含み、かつpH 7.0を有する、請求項 11 ~ 15 のいずれか一項記載の製剤。

## 【請求項 20】

1マイクログラム/ml ~ 300マイクログラム/mlの二重特異性抗体を含む、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項記載の製剤。

## 【請求項 21】

150マイクログラム/mlの二重特異性抗体、30 mMのシトレート、75 mMのリシン、6.5%のトレハロース、および0.02%のポリソルベート80を含み、かつpH 7.0を有する、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項記載の製剤。

10

## 【請求項 22】

150マイクログラム/mlの二重特異性抗体、30 mMのシトレート、75 mMのリシン、6%のトレハロース、および0.02%のポリソルベート80を含み、かつpH 7.0を有する、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項記載の製剤。

## 【請求項 23】

それを必要としているヒト被験体のB細胞悪性腫瘍、自己免疫疾患、移植片体宿主病 (GVHD)、体液性拒絶、または移植後リンパ球増殖性障害の治療、予防、管理、または改善において使用するための、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項記載の製剤。

## 【発明の詳細な説明】

20

## 【技術分野】

## 【0001】

## 1. 序論

本発明は、溶液中の二重特異性抗体またはその断片の凝集を最小化し、かつ接触面への吸着による抗体損失を最小化する方法を提供する。

## 【0002】

本発明は、二重特異性抗体またはその断片の製剤であって、安定性を示し、低レベル ~ 検出不能なレベルの抗体断片化しか示さず、低レベル ~ 検出不能なレベルの凝集しか示さず、二重特異性抗体の生物学的活性の損失が非常に少ない ~ 無損失であり、ならびに製造、調製、保存および使用中の接触面への吸着による抗体の損失が非常に少ない ~ 無損失である製剤に関する。

30

## 【0003】

別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は凍結乾燥製剤であり、該凍結乾燥製剤は、再構成の際に凍結乾燥物からのBiTE(登録商標)分子の回収を最大化する。別の実施形態では、本明細書中に記載の製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内投与に好適な注射用製剤である。他の実施形態では、本発明の製剤は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも有するBiTE(登録商標)分子を含む。一実施形態では、CD19に特異的なBiTE(登録商標)分子の使用によって治療を達成する。さらに別の実施形態では、MT103の使用により、または配列番号5によってコードされる二重特異性抗体により治療を達成する。さらに他の実施形態では、本発明の製剤は、それぞれCD3およびEphA2抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも有するBiTE(登録商標)分子を含む。さらに他の実施形態では、本発明の製剤は、それぞれCD3および癌胎児性抗原(CEA)抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも有するBiTE(登録商標)分子を含む。別の実施形態では、本発明の方法に従って製剤化されるBiTE(登録商標)分子は、被験体への皮下投与時に高いバイオアベイラビリティを有する。

40

## 【0004】

また、本発明は、二重特異性抗体またはその断片の製剤であって、安定性を示し、低レベル ~ 検出不能なレベルの抗体断片化しか示さず、低レベル ~ 検出不能なレベルの凝集しか示さず、二重特異性抗体の生物学的活性の損失が非常に少ない ~ 無損失であり、ならび

50

に製造、調製、保存および使用中の接触面への吸着による抗体の損失が非常に少ない～無損失である製剤の製造方法を提供する。特定の実施形態では、本明細書中に記載の製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内投与に好適な注射用製剤である。

#### 【 0 0 0 5 】

本発明は、さらに、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含む二重特異性抗体またはその断片の凍結乾燥製剤を使用して、ヒト被験体の、B細胞悪性腫瘍を含むB細胞障害または疾患を治療するための方法に関する。一実施形態では、CD19に特異的なBiTE(登録商標)分子の使用によって治療を達成する。さらに別の実施形態では、MT103の使用により、または配列番号5によってコードされる二重特異性抗体により治療を達成する。本発明は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含む二重特異性抗体またはその断片の凍結乾燥製剤を使用する、自己免疫疾患の治療および予防ならびにヒト移植レシピエントの移植片対宿主病(GVHD)、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害の治療および予防のための方法に関する。一実施形態では、CD19に特異的なBiTE(登録商標)分子の使用によって治療を達成する。さらに別の実施形態では、MT103の使用により、または配列番号5によってコードされる二重特異性抗体により治療を達成する。

#### 【 背景技術 】

#### 【 0 0 0 6 】

### 2. 背景

二重特異性抗体は、少なくとも2つの異なるエピトープに関する結合特異性を有する抗体である。二重特異性抗体は、単一の細胞表面マーカーの2つの異なるエピトープに結合してよい。他のそのような抗体は、第1の細胞表面マーカーに結合し、かつ同一細胞上の第2の細胞表面マーカーにさらに結合することができる。細胞防御機構を標的細胞に集中させるために、標的細胞の表面抗原に特異的な結合アームを、白血球上のトリガー分子、例えばT細胞受容体分子(例えばCD2またはCD3)、またはIgGのFc受容体(Fc R)に結合するアームと組み合わせてもよい。二重特異性抗体を使用して、細胞傷害性物質を標的細胞に集中させてもよい。これらの抗体は、標的細胞マーカー結合アームおよび、細胞傷害性物質(例えば、サポリン(saporin)、抗インターフェロン、ピンカアルカロイド、リシンA鎖、メトラ・エキセート(methola-exate)または放射性同位体ハプテン)に結合するアームを有する。二重特異性抗体は完全長抗体または抗体断片(例えばF(ab'))として製造することができる。

#### 【 0 0 0 7 】

二重特異性抗体の作製方法は当技術分野において公知である。(例えば、Millstein et al., Nature, 305:537-539 (1983); Traunecker et al., EMBO J., 10:3655-3659 (1991); Suresh et al., Methods in Enzymology, 121:210 (1986); Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992); Hollinger et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993); Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994); U.S. Patent Nos. 4,474,893; 4,714,681; 4,925,648; 5,573,920; 5,601,81; 95,731,168; 4,676,980; および4,676,980, WO 94/04690; WO 91/00360; WO 92/200373; WO 93/17715; WO 92/08802; およびEP 03089.を参照のこと)。

#### 【 0 0 0 8 】

MT103は、組換え二重特異性単鎖抗体またはBiTE(登録商標)分子であり、それは標的細胞上のCD19およびTエフェクター細胞上のCD3複合体に結合する。Hoffmann P et. al., Int J Cancer. 2005 May 20;115(1):98-104を参照のこと。それは、2つのマウスモノクローナル抗体の可変結合ドメインを有する55 kDaの単一ポリペプチド鎖である。標的およびエフェクター細胞に同時に結合することによって、MT103はTエフェクター細胞に免疫シナプスを形成させ、かつパーフォリンおよびグランザイムを放出させ、パーフォリンおよびグランザイムが標的細胞の細胞死を誘発する。標的細胞は、すべての発生段階のヒトB細胞(形質細胞を除く)およびほとんどのB細胞由来のリンパ腫および白血病の悪性細胞を含む。したがって、MT103はB細胞癌の治療のために現在開発中である。

## 【0009】

初期毒物学研究および臨床試験では、0.1%ヒト血清アルブミン(HSA)、塩化ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸二水素カリウムおよび塩化カリウムで安定化された等張性リン酸緩衝生理食塩水(pH 7.0-7.5)中の1 $\mu$ g/ml MT103単量体からなる凍結された液体製剤が利用された。第2の凍結乾燥製剤はHSAの使用を排除するために後に開発され、MT103の安定性および回収が向上した。この製剤は、pH 7.0の25mMシトレート、500 mMリシンアセテート、15%トレハロース二水和物、2.5%ポリエチレングリコール(PEG) 3350、0.05%ポリソルベート80中の50 $\mu$ g/mLのMT103からなる。しかし、第2の凍結乾燥製剤は臨床で一度も使用されなかった。その理由は、該製剤が、賦形剤のリシンアセテートおよびPEG 3350が存在するせいで複数の必須の分析アッセイにおいて顕著な干渉を示したからである。

10

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0010】

したがって、(1) 干渉賦形剤を除外し、(2) 保存の際の液体バルク中の凝集体形成を最小にし、(3) 凍結乾燥物からのMT103タンパク質の回収を最大にし、(4) 静脈内、皮下、または筋肉内投与に好適であり、かつ(5) 被験体への皮下投与時にBiTE(登録商標)分子の高いバイオアベイラビリティを生じさせる製剤を製造するための追加の開発が開始された。凍結乾燥サイクルの最適化および堅牢性(robustness)(境界条件)研究に追加の努力が注がれた。

20

## 【課題を解決するための手段】

## 【0011】

## 3. 発明の要旨

本発明は溶液中のBiTE(登録商標)分子の凝集を最小にする方法に関する。一実施形態では、本発明の方法を使用して、溶液中のBiTE(登録商標)分子の凝集を最小にする。別の実施形態では、本発明の方法を使用して、溶液状態である、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を含むBiTE(登録商標)分子の凝集を最小にする。特定の実施形態では、本発明は、溶液中のMT103<sup>TM</sup> BiTE(登録商標)分子の凝集を最小にする方法を提供する。

## 【0012】

30

本発明は、BiTE(登録商標)分子の滅菌された安定な液体製剤に関する。一実施形態では、本発明の液体製剤はBiTE(登録商標)分子およびリシンを含む。特定の実施形態では、本発明の液体製剤はBiTE(登録商標)分子およびリシンHClを含む。一実施形態では、本発明の液体製剤は凍結乾燥に好適である。特定の実施形態では、本発明の液体製剤はMT103<sup>TM</sup>を含む。特定の実施形態では、本発明の液体製剤は約25マイクログラム/ml ~ 約250マイクログラム/mlの範囲のMT103を含む。特定の実施形態では、本発明の液体MT103製剤は、25 mMシトレート(citrate)、15% (w/v)トレハロース二水和物、200 mMリシンHCl、0.1% (w/v)ポリソルベート80を含み、かつpH 7.0を有する。特定の実施形態では、本発明の液体製剤は、MT103、約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6.5%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、かつpH 約7.0を有する。別の特定の実施形態では、本発明の液体製剤は、MT103、約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、かつpH 約7.0を有する。特定の実施形態では、本発明の液体製剤は、約25マイクログラム/ml ~ 約250マイクログラム/mlの範囲のMT103、25 mMシトレート、15% (w/v)トレハロース二水和物、200 mMリシンHCl、0.1% (w/v)ポリソルベート80からなり、かつpH 7.0を有する。別の実施形態では、本発明の液体製剤は、約25 mMシトレート、約6% (w/v)トレハロース二水和物、約50 mMリシンHCl、および約0.1% (w/v)ポリソルベート80を含み、かつpH 7.0を有する。

40

## 【0013】

さらに、本発明は、BiTE(登録商標)分子の滅菌された安定な凍結乾燥製剤を提供する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子およびリシンを含む。特定

50

の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子およびリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の再構成された製剤はMT103<sup>TM</sup> BiTE(登録商標)分子を含む。特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、MT103<sup>TM</sup> BiTE(登録商標)分子、シトレート、トレハロース、リシンHCl、およびポリソルベート80を含む。

【0014】

さらに、本発明は、BiTE(登録商標)分子の滅菌された安定な再構成製剤を提供する。一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子およびリシンを含む。特定の実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子およびリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103<sup>TM</sup> BiTE(登録商標)分子を含む。特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、MT103<sup>TM</sup> BiTE(登録商標)分子、シトレート、トレハロース、リシンHCl、およびポリソルベート80を含む。

10

【0015】

さらに、本発明は、BiTE(登録商標)分子を含む、滅菌された安定な液体製剤；滅菌された安定な凍結乾燥製剤；および滅菌された安定な再構成製剤を作製する方法に関する。特定の実施形態では、本発明の方法を利用して、MT103を含む製剤を作製することができる。別の実施形態では、本明細書中に記載の製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内投与に好適な注射用製剤である。特定の実施形態では、本発明のBiTE(登録商標)製剤の皮下投与により、BiTE(登録商標)分子の高いバイオアベイラビリティがもたらされる。

【0016】

また、本発明は、ヒト被験体のB細胞障害または疾患、例えば、非限定的に、B細胞悪性腫瘍、自己免疫疾患、移植片対宿主病(GVHD)、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害を予防、管理、治療または改善する方法であって、それを必要としている被験体に、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を含むBiTE(登録商標)分子を含む製剤の予防または治療有効量を投与するステップを含む方法を包含する。あるいは、本発明は、該疾患の予防、管理、治療または改善にMT103を使用する。

20

【0017】

### 3.1. 定義

本明細書中で使用される用語「抗体」および「抗体群」(免疫グロブリン)は、モノクローナル抗体(完全長モノクローナル抗体を含む)、ポリクローナル抗体、少なくとも2つのインタクトの抗体から形成された多重特異性抗体(例えば二重特異性抗体)、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ化(camelised)抗体、キメラ抗体、単鎖Fv(scFv)、単鎖抗体、単ドメイン抗体、ドメイン抗体、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、所望の生物学的活性を示す抗体断片、ジスルフィド結合Fv(sdFv)、および抗イデオタイプ(抗Id)抗体(例えば本発明の抗体に対する抗Id抗体を含む)、イントラボディ、および上記のいずれかのエピトープ結合性断片を包含する。特に、抗体には、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な断片、すなわち抗原結合部位を含有する分子が含まれる。免疫グロブリン分子は、任意のタイプ(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgAおよびIgY)、クラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1およびIgA2)またはサブクラスの免疫グロブリン分子であってよい。

30

【0018】

いくつかの実施形態では、抗体は、T細胞抗原CD3に免疫特異的に結合する抗体の可変重鎖(VH)ドメイン(variable heavy domain)および可変軽鎖(VL)ドメイン(variable light domain)を含む第1の結合ドメインおよび目的の抗原(例えばCD19またはEphA2またはCEA)に免疫特異的に結合する抗体のVHドメインおよびVLドメインを含む第2の結合ドメインを含む二重特異性単鎖抗体である。二重特異性単鎖抗体の第1および第2の結合ドメインは、合成抗体、モノクローナル抗体、組換えによって生産された抗体、多重特異性抗体(二重特異性抗体を含む)、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、イントラボディ、単鎖Fv(scFv)(例えば単一特異性および二重特異性、等を含む)、Fab断片、F(ab')断片、ジスルフィド結合Fv(sdFv)、抗イデオタイプ(抗Id)抗体、および上記のいずれかのエピトープ結合性断片由来であってよい。特定の実施形態では、本発明の製剤の抗体は、T細胞抗原CD3に

40

50

免疫特異的に結合する抗体の可変重鎖(VH)ドメインおよび可変軽鎖(VL)ドメインを含む第1の結合ドメインおよびCD19に免疫特異的に結合する抗体のVHドメインおよびVLドメインを含む第2の結合ドメインを含む二重特異性単鎖抗体であり、例えば非限定的にMT103である。T細胞抗原CD3に免疫特異的に結合する抗体およびCD19に免疫特異的に結合する抗体は、合成抗体、モノクローナル抗体、組換えによって生産された抗体、多重特異性抗体(二重特異性抗体を含む)、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、イントラボディ、単鎖Fv(scFv)(例えば単一特異性および二重特異性、等を含む)、Fab断片、F(ab')断片、ジスルフィド結合Fv(sdFv)、抗イディオタイプ(抗Id)抗体、および上記のいずれかのエピトープ結合性断片由来であってよい。特に、本発明の製剤の抗体には、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち目的の抗原(例えばCD19および/またはCD3)に免疫特異的に結合する抗原結合性ドメイン(例えば抗CD19または抗CD3抗体の1つ以上の相補性決定領域(CDR))を含有する分子が含まれる。

10

**【0019】**

本明細書中で使用される用語「結合ドメイン」とは、エピトープに免疫特異的に結合可能な三次元構造を含むドメインを表す。ゆえに、該ドメインは抗体鎖のVHおよび/またはVLドメインを含んでよい。いくつかの実施形態では、該ドメインは少なくともVHドメインを含む。一方で、本発明の製剤の抗体に含有される該結合ドメインは、それぞれCD19およびCD3抗原を認識する抗体鎖の少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)を含みうる。この点において、本発明のCD19-BiTE(登録商標)(例えばMT103)中に存在する結合ドメインのドメインは抗体由来であるだけでなく、他のCD19またはCD3結合タンパク質、例えば天然に存在する表面受容体またはリガンド由来であってもよいことが知られている。本発明では、該結合ドメインはドメインに含まれる。

20

**【0020】**

本明細書中で使用される用語「単鎖Fv」または「scFv」とは、抗体のVHおよびVLドメインを含む抗体断片を表し、これらのドメインが単一ポリペプチド鎖中に存在する。一般に、Fvポリペプチドは、scFvが抗原結合に所望の構造を形成することを可能にする、VHとVLドメインの間のポリペプチドリンカーをさらに含む。scFvの製造方法は当技術分野において周知である。scFvの製造方法のレビューについては、Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)を参照のこと。特定の実施形態では、本発明のEphA2-BiTE(登録商標)はscFvから構成される。

30

**【0021】**

本明細書中で使用される用語「モノクローナル抗体」とは、実質的に均質の抗体の集団から得られる抗体を表し、すなわち、該集団を構成する個々の抗体は、微量で存在するかもしれない天然に存在しうる突然変異を除いて、同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、単一の抗原部位を標的にする。さらに、異なる決定基(エピトープ)を標的にする異なる抗体を典型的に含む慣用の(ポリクローナル)抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は抗原上の単一の決定基を標的にする。その特異性に加えて、モノクローナル抗体は、他の免疫グロブリン産生細胞が混入していないハイブリドーマ細胞によって合成できる点で有益である。代替の製造方法が当業者に公知であり、例えば、モノクローナル抗体をコードする重鎖および軽鎖遺伝子で安定にまたは一時的にトランスフェクトされた細胞によってモノクローナル抗体を製造することができる。

40

**【0022】**

修飾語「モノクローナル」は、実質的に均質な抗体集団から得られるという抗体の特性を示し、任意の特定の方法による抗体の操作を必要とすると解釈されないものとする。本明細書中で使用される用語「モノクローナル」とは、任意の真核生物、原核生物、またはファージクローンを含むクローン細胞集団由来の抗体を表し、抗体が操作された方法を表さない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、Kohler et al., *Nature*, 256:495 (1975)によって最初に報告されたハイブリドーマ法によって作製するか、または例えばClackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991) およびMarks et al., *J. M*

50

ol. Biol., 222:581-597 (1991)に記載の技術を使用するファージ抗体ライブラリーからの単離を含む任意の組換えDNA法(例えばU.S. Patent No. 4,816,567を参照のこと)によって作製することができる。これらの方法を使用して、モノクローナルの哺乳類、キメラ、ヒト化、ヒト、ドメイン抗体、ダイアボディ(diabodies)、ワクチンボディ(vaccibodies)、線状抗体、および二重特異性抗体(BiTE(登録商標)分子を含む)を製造することができる。

【0023】

目的の抗原(例えば、CD19、またはEphA2、またはCEA)に特異的に結合する抗体および/または抗体断片のすべての製剤は、本明細書中で包括的に、「本発明の製剤」、「本発明の液体製剤」、「本発明の凍結乾燥製剤」、「本発明の再構成製剤」、「本発明の抗体液体製剤」、「本発明の抗体凍結乾燥製剤」、「本発明の抗体再構成製剤」または「本発明の抗体製剤」と称される。

10

【0024】

本明細書中で使用されるフレーズ「製薬的に許容される」は、連邦政府または州政府の監督官庁によって承認されているか、または米国薬局方、欧州薬局方もしくは、動物での使用、およびさらに特にヒトでの使用に関する他の一般に認識されている薬局方に列挙されていることを意味する。

【0025】

BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)を含む製剤の関連で本明細書中で使用される用語「安定性」および「安定な」とは、所定の製造、調製、輸送および保存条件下での凝集、分解または断片化に対する、製剤中の抗体(その抗体断片を含む)の抵抗性を表す。本発明の「安定な」製剤は、所定の製造、調製、輸送および保存条件下で生物学的活性を保持する。該抗体(その抗体断片を含む)の安定性は、参照製剤と比較して、HPSEC、静的光散乱(static light scattering) (SLS)、フーリエ変換赤外分光(Fourier Transform Infrared Spectroscopy) (FTIR)、円偏光二色性(CD)、尿素変性技術(urea unfolding techniques)、固有トリプトファン蛍光(intrinsic tryptophan fluorescence)、示差走査熱量測定、および/またはANS結合技術によって測定される凝集、分解または断片化の程度によって評価することができる。例えば、参照製剤は、PBS中の10 mg/mlのBiTE(登録商標)分子(例えば非限定的にMT103)からなる-70 で凍結された参照標準であってよい。BiTE(登録商標)分子を含む製剤のトータルの安定性は、種々の免疫学的アッセイによって評価することができ、該アッセイには、例えば、単離された抗原分子を使用するELISAおよびラジオイムノアッセイが含まれる。

20

30

【0026】

本明細書中で使用されるフレーズ「低レベル~検出不能なレベルの凝集」とは、高性能サイズ排除クロマトグラフィー(HPSEC)または静的光散乱(SLS)技術によって測定された場合に、タンパク質の重量単位で約5%以下、約4%以下、約3%以下、約2%以下、約1%以下および約0.5%以下の凝集しか含有しないサンプルを表す。

【0027】

本明細書中で使用される用語「低レベル~検出不能なレベルの断片化」とは、例えば、HPSEC、または還元キャピラリーゲル電気泳動(rCGE)によって測定された場合に単一ピーク中に総タンパク質の約80%、約85%、約90%、約95%、約98%もしくは約99%またはそれ以上を含有し、また、非分解BiTE(登録商標)分子またはその非分解断片を示し、かつ各ピーク中に総タンパク質の約5%超、約4%超、約3%超、約2%超、約1%超、または約0.5%超を有する他の単一ピークを含有しないサンプルを指す。本明細書中で使用される用語「還元キャピラリーゲル電気泳動」とは、抗体のジスルフィド結合を還元するために十分な還元条件下のキャピラリーゲル電気泳動を表す。

40

【0028】

本明細書中で開示される種々のポリペプチドおよび抗体を説明するために使用される場合の「単離された」とは、同定され、その生産環境の成分から分離および/または回収されているポリペプチドまたは抗体を意味する。いくつかの実施形態では、単離されたポリペプチドは、その生産環境由来のすべての他の成分との結合を有しない。その生産環境の

50

混入成分、例えば組換えトランスフェクト細胞に起因する混入成分は、抗体の診断または治療的使用を典型的に妨害する物質であり、それには、酵素、ホルモン、および他のタンパク質性または非タンパク質性溶質が含まれる。特定の実施形態では、(1) スピンカップシークエネーター (spinning cup sequenator) の使用によって少なくとも15残基のN末端または内部アミノ酸配列を得るために十分な程度に、または(2) クーマシーブルーまたは銀染色を使用する非還元または還元条件下でのSDS-PAGEによって均質になるまで、ポリペプチドを精製する。いくつかの実施形態では、単離された抗体を少なくとも1つの精製ステップによって製造する。

#### 【0029】

本明細書中で使用される用語「賦形剤」とは、製剤に有益な物性、例えば増加したタンパク質安定性、増加したタンパク質溶解度、および低下した粘性を付与する、薬物のための希釈剤、ビヒクル、保存剤、結合剤または安定化物質として一般に使用される不活性物質を表す。賦形剤の例には、非限定的に、タンパク質(例えば非限定的に血清アルブミン)、アミノ酸(例えば、非限定的に、アスパラギン酸、グルタミン酸、リシン、アルギニン、グリシン)、界面活性剤(例えば、非限定的に、SDS、Tween 20、Tween 80、ポリソルベート、ポリソルベート80および非イオン性界面活性剤)、サッカライド(例えば、非限定的に、グルコース、ショ糖、マルトースおよびトレハロース)、ポリオール(例えば、非限定的に、マンニトールおよびソルビトール)、脂肪酸およびリン脂質(例えば、非限定的に、アルキルスルホナートおよびカプリラート)が含まれる。賦形剤に関する追加の情報については、Remington's Pharmaceutical Sciences (Joseph P. Remington, 18<sup>th</sup> ed., Mack Publishing Co., Easton, PA) (該文献はその全体がここに組み入れられる)を参照のこと。

#### 【0030】

用語「凍結乾燥(lyophilized)」または「フリーズドライ(freeze-dried)」は、凍結乾燥のような乾燥手順に付された物質の状態であって、少なくとも50%の水分が除去されている状態を含む。

#### 【0031】

フレーズ「増量剤」は、製薬的に許容されかつ凍結乾燥ケーキ(lyo cake)に容積を付加する化合物を含む。当技術分野において公知の増量剤には、例えば、炭水化物、例えば単糖、例えばデキストロース、リボース、フルクトース等、アルコール糖、例えばマンニトール、イノシトールおよびソルビトール、二糖、例えばトレハロース、ショ糖およびラクトース、天然に存在するポリマー、例えばデンプン、デキストラン、キトサン、ヒアルロン酸、タンパク質(例えばゼラチンおよび血清アルブミン)、グリコーゲン、ならびに合成モノマーおよびポリマーが含まれる。

#### 【0032】

「リオプロテクタント(lyoprotectant)」は、目的のタンパク質と混合された場合に、凍結乾燥およびその後の保存時のタンパク質の化学的および/または物理的不安定性を顕著に防止するかまたは減少させる分子である。リオプロテクタントには、非限定的に、糖およびその対応する糖アルコール(sugar alcohols); アミノ酸、例えばグルタミン酸ナトリウムまたはヒスチジン; メチルアミン、例えばベタイン; 離液性の塩、例えば硫酸マグネシウム; ポリオール、例えば3価またはさらに高分子量の糖アルコール、例えばグリセリン、デキストラン、エリスリトール、グリセロール、アラビトール、キシリトール、ソルビトール、およびマンニトール; プロピレングリコール; ポリエチレングリコール; Pluronic.RTM.; およびその組み合わせが含まれる。リオプロテクタントの追加の例には、非限定的に、グリセリンおよびゼラチン、および糖メリビオース(melibiose)、メレジトース、ラフィノース、マンノトリオース(mannotriose)およびスタキオースが含まれる。還元糖の例には、非限定的に、グルコース、マルトース、ラクトース、マルツロース、イソマルツロースおよびラクツロースが含まれる。非還元糖の例には、非限定的に、糖アルコールおよび他の直鎖ポリアルコールから選択されるポリヒドロキシ化合物の非還元グリコシドが含まれる。糖アルコールの例には、非限定的に、モノグリコシド、二糖、例

10

20

30

40

50

えばラクトース、マルトース、ラクツロースおよびマルツロースの還元によって得られる化合物が含まれる。グリコシド側鎖はグルコシド側鎖またはガラクトシド側鎖であってよい。糖アルコールの追加の例には、非限定的に、グルシトール、マルチトール、ラクチトールおよびイソマルツロースが含まれる。特定の実施形態では、トレハロースまたはショ糖をリオプロテクタントとして使用する。

【0033】

「リオプロテクト量」のリオプロテクタントを凍結乾燥前の製剤に加える。それは、リオプロテクト量のリオプロテクタントの存在下でタンパク質を凍結乾燥すると、凍結乾燥および保存時にタンパク質がその物理的および化学的安定性および完全性を本質的に保持することを意味する。

10

【0034】

「再構成」製剤は、凍結乾燥抗体製剤を希釈剤に溶解して、再構成製剤中で抗体が分散するようにすることによって調製された製剤である。再構成製剤は、目的のタンパク質で治療される対象の患者への投与(例えば非経口投与)に好適であり、本発明の特定の実施形態では、静脈内投与に好適な製剤であってよい。

【0035】

本明細書中の目的の「希釈剤」は、製薬的に許容され(ヒトへの投与に関して安全かつ無毒で)かつ液体製剤、例えば凍結乾燥後に再構成される製剤の調製に有用な希釈剤である。いくつかの実施形態では、希釈剤には、非限定的に、滅菌水、注射用静菌水(BWF1)、pH緩衝液(例えばリン酸緩衝生理食塩水)、滅菌生理食塩水溶液、リンゲル液またはブドウ糖液が含まれる。別の実施形態では、希釈剤には、塩および/またはバッファの水性溶液が含まれる。

20

【0036】

「等張」製剤は、ヒト血液と本質的に同じ浸透圧を有する製剤である。等張製剤は一般に約250~350 mOsmの浸透圧を有する。用語「低張性」は、ヒト血液の浸透圧未満の浸透圧を有する製剤を説明する。相応に、用語「高張性」は、ヒト血液の浸透圧より高い浸透圧を有する製剤を説明するために使用される。等張性は、蒸気圧または製氷型浸透圧計(ice-freezing type osmometer)を使用して測定することができる。

【0037】

本明細書中で使用される用語「被験体」は任意のヒトまたは非ヒト動物を含む。用語「非ヒト動物」には、すべての脊椎動物、例えば、非限定的に、哺乳類および非哺乳類、例えば非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、は虫類、等が含まれる。

30

【0038】

用語「治療する(treat)」、「治療(treating)」または「...の治療(treatment of)」(または文法的に同等の用語)は、被験体の症状の重症度が減少するか、または少なくとも部分的に良くなるかまたは改善すること、および/または少なくとも1つの臨床症状のいくらかの軽減、緩和または減少が達成され、かつ/または症状の進行の阻害または遅延および/または疾患または疾病の発症の予防または遅延が存在することを意味する。ゆえに、用語「治療する(treat)」、「治療(treating)」または「...の治療(treatment of)」(または文法的に同等の用語)は、予防的および治療的な治療計画の両者を表す。

40

【0039】

本明細書中で使用される「十分な量」または特定の結果を達成する「ために十分な量」とは、所望の効果を生じさせるために有効な本発明の抗体または組成物の量を表し、所望の効果とは、場合により治療効果(すなわち治療有効量の投与による効果)である。例えば、「十分な量」または「~するために十分な量」は、B細胞を枯渇させる(deplete)ために有効な量であってよい。

【0040】

本明細書中で使用される「治療有効」量は、被験体に何らかの改善または利益を提供する量である。換言すれば、「治療有効」量は、少なくとも1つの臨床症状のいくらかの軽

50

減、緩和、および/または減少を提供する量である。本発明の方法によって治療できる障害に伴う臨床症状は当業者に周知である。さらに、何らかの利益が被験体に提供される限り、治療効果は完全または治癒的である必要はないことを当業者は認識する。

【0041】

本明細書中で、濃度、量、細胞数、パーセンテージおよび他の数値は範囲の形式で示される。そのような範囲の形式は単に便宜および簡潔さのために使用されるものであり、範囲の限界として明示的に列挙される数値を含むだけでなく、該範囲内に包含されるすべての個々の数値または部分的な範囲も、各数値および部分的な範囲が明示的に列挙されているのと同様に含むと柔軟に解釈されるべきであることも理解されるものとする。

【0042】

10

4. 図面の簡単な説明

(下記の通り)

【図面の簡単な説明】

【0043】

【図1】図1は、賦形剤スクリーニング研究において評価された製剤の組成を示す。

【図2】図2は、凍結乾燥製剤からの再構成後の回収を示す。

【図3】図3は、バルク液体安定性：約50 ug/mLタンパク質濃度での経時的な凝集%(凝集体%)の変化を示す。

【図4】図4は、バルク液体安定性：約300 ug/mLタンパク質濃度での経時的な凝集%の変化を示す。

20

【図5】図5は、3回の凍結/解凍サイクル後のタンパク質回収パーセントを示す。データは初期液体コントロールに対して標準化されている。

【図6】図6は、物理的ストレス(振とう)後のタンパク質回収パーセントを示す。データは初期液体コントロールに対して標準化されている。

【図7】図7は、室温での再構成後の安定性を示す。各製剤に関する結果はそれぞれの凍結乾燥前の濃度に対して標準化されている。

【図8】図8は、再構成ケーキからのMT103の回収パーセントによって測定された場合の40 での凍結乾燥ケーキの安定性を示す。各製剤に関する結果は凍結乾燥前の濃度に対して標準化されている。

【図9】図9は、pHスクリーニング研究において評価された製剤の組成を示す。

30

【図10】図10は、MT103の回収に対するpH 6 対 7の影響(N=1)を示す。

【図11】図11は、リシンHClスクリーニング研究において評価された製剤の組成を示す。

【図12】図12は、3回の凍結解凍サイクル後のMT103の回収パーセントを示す。

【図13】図13は、3回の凍結解凍サイクル後のダイマー含量パーセントを示す。

【図14】図14は、2時間の振とう後のMT103回収のパーセントを示す。

【図15】図15は、2時間の振とう後のダイマーのパーセントを示す。

【図16】図16は、4 でのバルク液体製剤中のMT103の安定性を示す。

【図17】図17は、4 でのバルク液体製剤中のMT103の安定性を示す。

【図18】図18は、4 で保存された凍結乾燥MT103の安定性を示す。

40

【図19】図19は、40 で保存された凍結乾燥MT103の安定性を示す。

【図20】図20は、4 で保存された凍結乾燥MT103の安定性を示す。

【図21】図21は、40 で保存された凍結乾燥MT103の安定性を示す。

【図22】図22は、再構成後の室温(約22 )での凍結乾燥MT103の、再構成後の安定性を示す。製剤#29中の55 mg/mL MT103を凍結乾燥し、次いで再構成した。

【図23】図23は、塩基性アミノ酸の存在下でのpHに応じた5 でのMT103の凝集を示す。

【図24】図24は、塩基性アミノ酸の存在下でのpHに応じた25 でのMT103の凝集を示す。

【図25】図25は、賦形剤の閾値レベルの測定を示す。リシンの存在下での40 での回

50

収。

【図26-1】図26は、賦形剤の閾値レベルの測定を示す。(A) 3回の凍結/解凍サイクル後またはずり応力(剪断応力)後の回収。

【図26-2】図26は、賦形剤の閾値レベルの測定を示す。(B) 3回の凍結/解凍サイクル後またはずり応力後の凝集体レベル。

【図27-1】図27は、MT103製剤25/25、10/50、および25/200の短期安定性を示す。(A) 試験製剤の組成。

【図27-2】図27は、MT103製剤25/25、10/50、および25/200の短期安定性を示す。(B) 5、25、および40での時間の関数としての製剤10/50の凝集体レベル。

【図27-3】図27は、MT103製剤25/25、10/50、および25/200の短期安定性を示す。(C) 5、25、および40での時間の関数としての製剤25/25の凝集体レベル。 10

【図28-1】図28は、(A) 5 および(B) 25 でのバルク液体製剤25/25、10/50、および25/200の安定性を示す。

【図28-2】図28は、(A) 5 および(B) 25 でのバルク液体製剤25/25、10/50、および25/200の安定性を示す。

【図29】図29は、種々の製剤中のMT103の1回の静脈内(IV)または皮下(SC)ボラス注入後の1日の期間にわたるCD-1マウスにおける平均MT103血清濃度を示す。表12に記載の4つのうちの1製剤中の(A) 0.75 mg/kgおよび(B) 2.5 mg/kgのMT103のIVまたはSCボラス注入後にCD-1マウスから回収された血清サンプルの平均MT103濃度 対 時間プロファイル。CD-1マウス(n=4)へのMT103のボラス注入後、指定の時点で血清サンプルを回収した。MT103の血清濃度を特定のELISA法によって測定し、注入後の各時間間隔での各サンプルの算術平均としてここで報告した。 20

【図30】図30は、製剤Z中のMT103の1回のIVまたはSCボラス注入後の1日の期間にわたるCD-1マウスにおける平均MT103血清濃度を示す。製剤Z中の(A) 5 mg/kgおよび(B) 1.6 mg/kgのMT103のIVまたはSCボラス注入後にCD-1マウスから回収された血清サンプルの平均MT103濃度 対 時間プロファイル。CD-1マウス(n=5)へのMT103のボラス注入後、指定の時点で血清サンプルを回収した。MT103の血清濃度を特定のELISA法によって測定し、注入後の各時間間隔での各サンプルの算術平均としてここで報告した。

【図31-1】図31は、MT103の1回の静脈内(IV)または皮下(SC)ボラス注入後の1週間にわたるカニクイザルにおける平均MT103血清濃度を示す。2つの期間((A) 第I期 - IV次いでSC; (B) 第II期 - SC次いでIV)の間の1週間の洗い出し期間を伴うクロスオーバー設計における0.5 mg/kgのMT103のIVまたはSCボラス注入後に雄カニクイザルから回収された血清サンプルの平均MT103濃度 対 時間プロファイル。カニクイザル(n=3)へのMT103のボラス注入後、指定の時点で血清サンプルを回収した。MT103の血清濃度を特定のELISA法によって測定し、注入後の各時間間隔での各サンプルの算術平均としてここで報告した。 30

【図31-2】図31は、MT103の1回の静脈内(IV)または皮下(SC)ボラス注入後の1週間にわたるカニクイザルにおける平均MT103血清濃度を示す。2つの期間((A) 第I期 - IV次いでSC; (B) 第II期 - SC次いでIV)の間の1週間の洗い出し期間を伴うクロスオーバー設計における0.5 mg/kgのMT103のIVまたはSCボラス注入後に雄カニクイザルから回収された血清サンプルの平均MT103濃度 対 時間プロファイル。カニクイザル(n=3)へのMT103のボラス注入後、指定の時点で血清サンプルを回収した。MT103の血清濃度を特定のELISA法によって測定し、注入後の各時間間隔での各サンプルの算術平均としてここで報告した。 40

【図32】図32は、CD-1マウスにおいて、SC投与されたMEDI-538は20-30%のバイオアベイラビリティを有し、用量に比例した血清濃度を示し、該血清濃度は4時間でピークに達し、IV投与された薬物と類似の消失半減期を有したことを示す。0.25 (三角)、0.75 (丸)、および2.5 (四角) mg/kgのMEDI-538のIVおよびSC投与後にCD-1マウスから回収された血清サンプルの、平均MEDI-538濃度 対 時間プロファイルを示す。

【図33】図33は、カニクイザルでのSC投与後に、MEDI-538は22%のバイオアベイラビ 50

リティを有し、4時間でピークに達する血清濃度を示し、IV投与された薬物と類似の消失半減期を有した。0.5 mg/kgのMEDI-538のIVおよびSC投与後にカニクイザルから回収された血清サンプルの、平均MEDI-538濃度 対 時間プロファイル。

【図34】図34は、抗腫瘍効力に関するin vivoマウスモデルを示す。

【図35】図35は、MEDI-538でのSC処置がNOD/SCIDマウス中のヒトCD3+ T細胞と混合されたSC移植CD19+ Namalwa Bリンパ腫細胞の成長を完全に阻害することを示す。

【図36】図36は、MEDI-538でのSC処置がCD19+ Ramos Bリンパ腫細胞およびヒトCD3+ T細胞をIV移植されたNOD/SCIDマウスの生存を延長させることを示す。

【図37】図37は、Hys103がB細胞リンパ腫系統(NALM-6)のマウスT細胞溶解を媒介することを示す。

【図38】図38は、一回量のhys103でのSC処置後のhuCD19トランスジェニックマウスにおける脾臓B細胞の用量依存的減少を示す。

【図39】図39は、一回量のhys103でのSC処置後のhuCD19トランスジェニックマウスにおける骨髄B細胞の用量依存的減少を示す。

【図40】図40は、hys103の1回のSC投与後のhuCD19トランスジェニックマウスにおける脾臓T細胞の用量依存的活性化(CD69)を示す。

【図41】図41は、hys103の1回のSC投与後のhuCD19トランスジェニックマウスにおける骨髄T細胞の用量依存的活性化(CD69)を示す。

【図42-1】図42は、huCD19トランスジェニックマウスにおけるhys103のPK分析を示す。一回量のhys103のi.v. (A)またはs.c. (B)投与後の時間の関数としてのHys103血清濃度を示す。

【図42-2】図42は、huCD19トランスジェニックマウスにおけるhys103のPK分析を示す。一回量のhys103のi.v. (A)またはs.c. (B)投与後の時間の関数としてのHys103血清濃度を示す。

【発明を実施するための形態】

【0044】

##### 5. 詳細な説明

本発明は二重特異性抗体の安定な製剤に関する。特定の実施形態では、本発明は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を含むBiTE(登録商標)分子の製剤を提供する。特定の実施形態では、本発明は、MT103<sup>TM</sup>BiTE(登録商標)分子を含む製剤を提供する。さらに他の実施形態では、本発明の製剤は、それぞれCD3およびEphA2抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも有するBiTE(登録商標)分子を含む。さらに他の実施形態では、本発明の製剤は、それぞれCD3および癌胎児性抗原(CEA)抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも有するBiTE(登録商標)分子を含む。

【0045】

一実施形態では、本発明の製剤は非経口投与用である。一実施形態では、本発明の製剤は注射用製剤である。一実施形態では、本発明の製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内投与用である。特定の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤は静脈内投与用である。特定の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤は静脈内投与用である。特定の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤は持続的静脈内投与用である。特定の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤は持続的静脈内投与用である。特定の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤は皮下投与用である。特定の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤は皮下投与用である。

【0046】

一実施形態では、本発明の製剤は持続的静脈内投与用であり、該製剤は約25 µg/ml ~ 約250 µg/mlの範囲のBiTE(登録商標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は持続的静脈内投与用であり、該製剤は約25 µg/ml ~ 約250 µg/mlの範囲のMT103を含む。一実施形態では、本発明の製剤は皮下投与用であり、該製剤は約25 µg/ml ~ 約250 µg/mlの範囲のBiTE(登録商標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本

10

20

30

40

50

発明の製剤は皮下投与用であり、該製剤は約25 µg/ml ~ 約250 µg/mlの範囲のMT103を含む。

【0047】

一実施形態では、本発明の製剤は皮下送達に好適である。一実施形態では、本明細書中に記載の組成または方法に従って製剤化された二重特異性抗体のバイオアベイラビリティは約10% ~ 約100%の範囲である。

【0048】

一実施形態では、本発明の製剤はエアロゾル投与用である。

【0049】

また、本発明は、好適な容器中にBiTE(登録商標)分子製剤を含む、ヒトへの非経口投与に好適な医薬単位投与剤形を提供する。一実施形態では、本発明の医薬単位投与量はMT103を含む。一実施形態では、本発明の医薬単位投与量は、静脈内、皮下、または筋肉内送達されるBiTE(登録商標)分子製剤を含む。別の実施形態では、本発明の医薬単位投与量はエアロゾル送達されるBiTE(登録商標)分子製剤を含む。特定の実施形態では、本発明の医薬単位投与量は皮下送達されるMT103製剤を含む。別の実施形態では、本発明の医薬単位投与量は静脈内送達されるMT103製剤を含む。別の実施形態では、本発明の医薬単位投与量はエアロゾル送達されるBiTE(登録商標)分子製剤を含む。別の実施形態では、本発明の医薬単位投与量は鼻腔内投与されるBiTE(登録商標)分子製剤を含む。

10

【0050】

一実施形態では、本発明の製剤は密封容器中で提供される。

20

【0051】

さらに、本発明は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含む二重特異性抗体またはその断片の製剤を使用して、ヒト被験体の、B細胞悪性腫瘍を含むB細胞障害または疾患を治療するための方法に関する。本発明は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含む二重特異性抗体またはその断片の製剤を使用する、自己免疫疾患の治療および予防ならびにヒト移植レシピエントの移植片対宿主病(GVHD)、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害の治療および予防のための方法に関する。特定の実施形態では、本発明の製剤のBiTE(登録商標)分子はMT103である。

【0052】

30

5.1. 液体製剤

特定の実施形態では、本発明は、二重特異性抗体の安定な液体製剤であって、安定性を示し、低レベル ~ 検出不能なレベルの抗体断片化しか示さず、低レベル ~ 検出不能なレベルの凝集しか示さず、二重特異性抗体の生物学的活性の損失が非常に少ない ~ 無損失であり、ならびに製造、調製、輸送、および保存中の接触面への吸着による抗体の損失が非常に少ない ~ 無損失である製剤を包含する。また、本発明は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含む二重特異性抗体の安定な液体製剤であって、低レベル ~ 検出不能なレベルの抗体断片化しか示さず、低レベル ~ 検出不能なレベルの凝集しか示さず、生物学的活性の損失が非常に少ない ~ 無損失であり、ならびに製造、調製、輸送、および保存中の接触面への吸着による抗体の損失が非常に少ない ~ 無損失である製剤を包含する。特定の実施形態では、本発明は、MT103の安定な液体製剤であって、安定性を示し、低レベル ~ 検出不能なレベルの抗体断片化しか示さず、低レベル ~ 検出不能なレベルの凝集しか示さず、MT103の生物学的活性の損失が非常に少ない ~ 無損失であり、ならびに製造、調製、輸送、および保存中の接触面への吸着による抗体の損失が非常に少ない ~ 無損失である製剤を提供する。

40

【0053】

一実施形態では、本発明の液体製剤は水性製剤である。特定の実施形態では、本発明の液体製剤は水性製剤であり、水性担体は蒸留水である。

【0054】

一実施形態では、本発明の製剤は滅菌されている。

50

## 【 0 0 5 5 】

一実施形態では、本発明の製剤は均質である。

## 【 0 0 5 6 】

一実施形態では、本発明の製剤は等張性である。一実施形態では、本発明の製剤は低張性である。一実施形態では、本発明の製剤は高張性である。

## 【 0 0 5 7 】

特定の実施形態では、本発明の液体製剤は凍結乾燥に好適である。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約1か月～約2、3、4または5年安定である。特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は2年を超える期間にわたり安定である。

## 【 0 0 5 8 】

本発明はMT103の安定な液体製剤を提供する。MT103分子は米国特許第7,112,324号に記載された。

## 【 0 0 5 9 】

一実施形態では、本発明の液体製剤はBiTE(登録商標)分子を含む。一実施形態では、本発明の液体製剤は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合ドメインを少なくとも含むBiTE(登録商標)分子を含む。一実施形態では、本発明の液体製剤は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合ドメインを少なくとも含むBiTE(登録商標)分子を含み、該第1の結合ドメインは配列番号5の残基283-525のアミノ酸配列を含む。一実施形態では、本発明の液体製剤は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合ドメインを少なくとも含むBiTE(登録商標)分子を含み、該第2の結合ドメインは配列番号5の残基28-277のアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、本発明の液体製剤は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合ドメインを少なくとも含むBiTE(登録商標)分子を含み、該第1の結合ドメインは配列番号5の残基283-525のアミノ酸配列を含み、かつ該第2の結合ドメインは配列番号5の残基28-277のアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、本発明の液体製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該BiTE(登録商標)分子は、配列番号1のアミノ酸配列を有する抗CD19 VLドメイン、配列番号2のアミノ酸配列を有する抗CD19 VHドメイン、配列番号3のアミノ酸配列を有する抗CD3 VHドメインおよび配列番号4のアミノ酸配列を有する抗CD3 VLドメインを含む。一実施形態では、本発明の液体製剤はBiTE(登録商標)分子であるMT103を含み、該BiTE(登録商標)分子は配列番号5の残基28-525のアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、本発明の液体製剤はBiTE(登録商標)分子、MT103を含み、該BiTE(登録商標)分子は配列番号5のアミノ酸配列を含む。

## 【 0 0 6 0 】

本発明は、単一の、目的のBiTE(登録商標)分子、例えば、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含むBiTE(登録商標)分子を含む安定な液体製剤を包含する。また、本発明は、2つ以上の、目的の二重特異性抗体、例えばそれぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含む二重特異性抗体を含む安定な液体製剤を包含する。特定の実施形態では、本発明の安定な液体製剤はMT103を含む。別の実施形態では、本発明の安定な液体製剤は2つ以上の二重特異性抗体を含み、二重特異性抗体の1つはMT103である。

## 【 0 0 6 1 】

一実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約1マイクログラム/ml、少なくとも約5マイクログラム/ml、少なくとも約10マイクログラム/ml、少なくとも約15マイクログラム/ml、少なくとも約20マイクログラム/ml、少なくとも約25マイクログラム/ml、少なくとも約30マイクログラム/ml、少なくとも約35マイクログラム/ml、少なくとも約40マイクログラム/ml、少なくとも約45マイクログラム/ml、少なくとも約50マイクログラム/ml、少なくとも約55マイクログラム/ml、少なくとも約60マイクログラム/ml、少なくとも約70マイクログラム/ml、少なくとも約80マイクログラム/ml、少なくとも約90マイクログラム/ml、少なくとも約100マイクログラム/ml、少なくとも約110マイクログラム/ml、少なくとも約120マイクログラム/ml、少なくとも約130マイクログラム/ml、少なくとも約140マイ

10

20

30

40

50

クログラム/ml、少なくとも約150マイクログラム/ml、少なくとも約160マイクログラム/ml、  
 少なくとも約170マイクログラム/ml、少なくとも約180マイクログラム/ml、少なくとも  
 約190マイクログラム/ml、少なくとも約200マイクログラム/ml、少なくとも約225マイ  
 クログラム/ml、少なくとも約250マイクログラム/ml、少なくとも約275マイクログラム/m  
 l、少なくとも約300マイクログラム/ml、少なくとも約325マイクログラム/ml、少なくと  
 約350マイクログラム/ml、少なくとも約375マイクログラム/ml、少なくとも約400マイク  
 ログラム/ml、少なくとも約500マイクログラム/ml、少なくとも約700マイクログラム/ml  
 、少なくとも約900マイクログラム/ml、または少なくとも約1000マイクログラム/mlのBiTE  
 (登録商標)分子またはその断片を含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、少なくと  
 も約1 mg/ml、少なくとも約2 mg/ml、少なくとも約3 mg/ml、少なくとも約4 mg/ml、少な  
 くとも約5 mg/ml、少なくとも約7 mg/ml、少なくとも約9 mg/ml、または少なくとも約10  
 mg/mlのBiTE(登録商標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤  
 は、少なくとも約55マイクログラム/mlのBiTE(登録商標)分子またはその断片を含む。特  
 定の実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約160マイクログラム/mlのBiTE(登録商  
 標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約150  
 マイクログラム/mlのBiTE(登録商標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、  
 本明細書中に記載のように製剤化されたBiTE(登録商標)分子は、CD19、EphA2またはCEA抗  
 原に特異的である。

【0062】

別の実施形態では、本発明の製剤は、約1マイクログラム/ml～約50マイクログラム/ml  
 の範囲、約50マイクログラム/ml～約100マイクログラム/mlの範囲、約100マイクログラム  
 /ml～約150マイクログラム/mlの範囲、約150マイクログラム/ml～約200マイクログラム/m  
 lの範囲、約200マイクログラム/ml～約250マイクログラム/mlの範囲、約250マイクログラ  
 ム/ml～約300マイクログラム/mlの範囲、約300マイクログラム/ml～約400マイクログラム  
 /mlの範囲、約400マイクログラム/ml～約500マイクログラム/mlの範囲または約500マイク  
 ログラム/ml～約1000マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)分子またはその断片を含  
 む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約1 mg/ml～約2 mg/mlの範囲、約2 mg/ml～約3  
 mg/mlの範囲、約3 mg/ml～約5 mg/mlの範囲、または約5 mg/ml～約10 mg/mlの範囲のBiTE  
 (登録商標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は、約25マ  
 イクログラム/ml～約75マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)分子またはその断片を  
 含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は、約150マイクログラム/ml～約200マイク  
 ログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本  
 発明の製剤は、約140マイクログラム/ml～約170マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商  
 標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本明細書中に記載のように製剤化  
 されたBiTE(登録商標)分子は、CD19、EphA2またはCEA抗原に特異的である。

【0063】

別の実施形態では、本明細書中に記載の製剤は、約5マイクログラム/ml、約10マイク  
 ログラム/ml、約20マイクログラム/ml、約30マイクログラム/ml、約40マイクログラム/ml、  
 約50マイクログラム/ml、約60マイクログラム/ml、約70マイクログラム/ml、約80マイク  
 ログラム/ml、約90マイクログラム/ml、約100マイクログラム/ml、約110マイクログラム/  
 ml、約120マイクログラム/ml、約130マイクログラム/ml、約140マイクログラム/ml、約15  
 0マイクログラム/ml、約160マイクログラム/ml、約170マイクログラム/ml、約180マイク  
 ログラム/ml、約190マイクログラム/ml、約200マイクログラム/ml、約210マイクログラム  
 /ml、約220マイクログラム/ml、約230マイクログラム/ml、約240マイクログラム/ml、約2  
 50マイクログラム/ml、約260マイクログラム/ml、約270マイクログラム/ml、約280マイク  
 ログラム/ml、約290マイクログラム/ml、約300マイクログラム/ml、約310マイクログラム  
 /ml、約320マイクログラム/ml、約330マイクログラム/ml、約340マイクログラム/ml、約3  
 50マイクログラム/ml、約500マイクログラム/ml、約700マイクログラム/ml、約900マイク  
 ログラム/ml、または約1000マイクログラム/mlのBiTE(登録商標)分子またはその断片を含  
 む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約1 mg/ml、約2 mg/ml、約3 mg/ml、約4 mg/ml

、約5 mg/ml、約7 mg/ml、約9 mg/ml、または約10 mg/mlのBiTE(登録商標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約55マイクログラム/mlのBiTE(登録商標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約100マイクログラム/mlのBiTE(登録商標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約160マイクログラム/mlのBiTE(登録商標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約150マイクログラム/mlのBiTE(登録商標)分子またはその断片を含む。特定の実施形態では、本明細書中に記載のように製剤化されたBiTE(登録商標)分子は、CD19、EphA2またはCEA抗原に特異的である。

【0064】

一実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約1マイクログラム/ml、少なくとも約5  
10  
マイクログラム/ml、少なくとも約10マイクログラム/ml、少なくとも約15マイクログラム  
/ml、少なくとも約20マイクログラム/ml、少なくとも約25マイクログラム/ml、少なく  
も約30マイクログラム/ml、少なくとも約35マイクログラム/ml、少なくとも約40マイク  
ログラム/ml、少なくとも約45マイクログラム/ml、少なくとも約50マイクログラム/ml、少  
なくとも約55マイクログラム/ml、少なくとも約60マイクログラム/ml、少なくとも約70マ  
イクログラム/ml、少なくとも約80マイクログラム/ml、少なくとも約90マイクログラム/m  
l、少なくとも約100マイクログラム/ml、少なくとも約110マイクログラム/ml、少なく  
も約120マイクログラム/ml、少なくとも約130マイクログラム/ml、少なくとも約140マイ  
クログラム/ml、少なくとも約150マイクログラム/ml、少なくとも約160マイクログラム/m  
l、少なくとも約170マイクログラム/ml、少なくとも約180マイクログラム/ml、少なく  
20  
も約190マイクログラム/ml、少なくとも約200マイクログラム/ml、少なくとも約225マイ  
クログラム/ml、少なくとも約250マイクログラム/ml、少なくとも約275マイクログラム/m  
l、少なくとも約300マイクログラム/ml、少なくとも約325マイクログラム/ml、少なく  
も約350マイクログラム/ml、少なくとも約375マイクログラム/ml、少なくとも約400マイク  
ログラム/ml、少なくとも約500マイクログラム/ml、少なくとも約700マイクログラム/ml  
、少なくとも約900マイクログラム/ml、または少なくとも約1000マイクログラム/mlのMT1  
03またはその断片を含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約1 mg/ml、  
少なくとも約2 mg/ml、少なくとも約3 mg/ml、少なくとも約4 mg/ml、少なくとも約5 mg/  
ml、少なくとも約7 mg/ml、少なくとも約9 mg/ml、または少なくとも約10 mg/mlのMT103  
30  
またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約55マイク  
ログラム/mlのMT103またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は、少なく  
とも約160マイクログラム/mlのMT103またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発  
明の製剤は、少なくとも約150マイクログラム/mlのMT103またはその断片を含む。

【0065】

別の実施形態では、本発明の製剤は、約1マイクログラム/ml～約50マイクログラム/ml  
の範囲、約50マイクログラム/ml～約100マイクログラム/mlの範囲、約100マイクログラム  
/ml～約150マイクログラム/mlの範囲、約150マイクログラム/ml～約200マイクログラム/m  
lの範囲、約200マイクログラム/ml～約250マイクログラム/mlの範囲、約250マイクログ  
ラム/ml～約300マイクログラム/mlの範囲、約300マイクログラム/ml～約400マイクログ  
ラム/mlの範囲、または約400マイクログラム/ml～約500マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録  
40  
商標)分子またはその断片を含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約1 mg/ml～約2  
mg/mlの範囲、約2 mg/ml～約3 mg/mlの範囲、約3 mg/ml～約5 mg/mlの範囲、または約5 m  
g/ml～約10 mg/mlの範囲のMT103またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の  
製剤は、約25マイクログラム/ml～約75マイクログラム/mlの範囲のMT103またはその断片  
を含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約140マイクログラム/ml～約190マイク  
ログラム/mlの範囲のMT103またはその断片を含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約  
140マイクログラム/ml～約160マイクログラム/mlの範囲のMT103またはその断片を含む。

【0066】

別の実施形態では、本明細書中に記載の製剤は、約5マイクログラム/ml、10マイクログ  
ラム/ml、20マイクログラム/ml、約30マイクログラム/ml、約40マイクログラム/ml、約50  
50

マイクログラム/ml、約60マイクログラム/ml、約70マイクログラム/ml、約80マイクログラム/ml、約90マイクログラム/ml、約100マイクログラム/ml、約110マイクログラム/ml、約120マイクログラム/ml、約130マイクログラム/ml、約140マイクログラム/ml、約150マイクログラム/ml、約160マイクログラム/ml、約170マイクログラム/ml、約180マイクログラム/ml、約190マイクログラム/ml、約200マイクログラム/ml、約210マイクログラム/ml、約220マイクログラム/ml、約230マイクログラム/ml、約240マイクログラム/ml、約250マイクログラム/ml、約260マイクログラム/ml、約270マイクログラム/ml、約280マイクログラム/ml、約290マイクログラム/ml、約300マイクログラム/ml、約310マイクログラム/ml、約320マイクログラム/ml、約330マイクログラム/ml、約340マイクログラム/ml、約350マイクログラム/ml、約500マイクログラム/ml、約700マイクログラム/ml、約900マイクログラム/ml、または約1000マイクログラム/mlのMT103またはその断片を含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約1 mg/ml、約2 mg/ml、約3 mg/ml、約4 mg/ml、約5 mg/ml、約7 mg/ml、約9 mg/ml、または約10 mg/mlのMT103またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約55マイクログラム/mlのMT103またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約100マイクログラム/mlのMT103またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約160マイクログラム/mlのMT103またはその断片を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約150マイクログラム/mlのMT103またはその断片を含む。

10

## 【0067】

場合により、本発明の製剤は、一般的な賦形剤および/または添加物、例えば緩衝剤、アミノ酸、サッカライド、塩、界面活性剤、増量剤、およびリオプロテクタントをさらに含んでよい。加えてまたはあるいは、本発明の製剤は、一般的な賦形剤および/または添加物、例えば、非限定的に、可溶化剤、希釈剤、結合剤、安定剤、塩、親油性溶媒、キレート剤、保存剤、等をさらに含んでよい。

20

## 【0068】

特定の実施形態では、緩衝剤は、ヒスチジン、シトレート(citrate)、ホスフェート(phosphate)、グリシン、およびアセテート(acetate)からなる群から選択される。他の実施形態では、サッカライド賦形剤は、トレハロース、ショ糖、マンニトール、マルトースおよびラフィノースからなる群から選択される。さらに他の実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート80、およびPluronic F68からなる群から選択される。さらに他の実施形態では、その塩は、NaCl、KCl、MgCl<sub>2</sub>、およびCaCl<sub>2</sub>からなる群から選択される。別の実施形態では、増量剤は、デキストロース、リボース、フルクトース、マンニトール、イノシトール、ソルビトール、トレハロース、ショ糖、ラクトース、デンプン、デキストラン、キトサン、ヒアルロン酸、ゼラチン、血清アルブミン、グリコーゲン、合成モノマーおよび合成ポリマーからなる群から選択される。追加の実施形態では、リオプロテクタントは、グルタミン酸ナトリウム、ヒスチジン；ベタイン；硫酸マグネシウム；グリセリン、デキストラン、エリスリトール、グリセロール、アラビトール、キシリトール、ソルビトール、マンニトール；プロピレングリコール；ポリエチレングリコール；Pluronic.RTM.；ゼラチン、メリビオース、メレジトース、ラフィノース、マンノトリオース、スタキオース、グルコース、マルトース、ラクトース、マルツロース、イソマルツロースおよびラクツロース、グルシトール、マルチトール、ラクチトール、イソマルツロース、トレハロース、ショ糖およびその組み合わせからなる群から選択される。特定の賦形剤は製剤中の2つ以上の目的に役立つことが理解され、例えばトレハロースは増量剤およびリオプロテクタントの両者として役立つ。

30

40

## 【0069】

場合により、本発明の製剤は、他の一般的な補助成分、例えば、非限定的に、好適な賦形剤、ポリオール、可溶化剤、希釈剤、結合剤、安定剤、親油性溶媒、キレート剤、保存剤、等をさらに含んでよい。

## 【0070】

本発明の液体製剤は、改良されたpHコントロールを提供するために緩衝剤またはpH調整

50

剤を含む。一実施形態では、本発明の製剤は、約4.0～約9.0の範囲、約5.0～約9.0の範囲、約6.0～約8.0の範囲、約6.0～約7.5の範囲、約6.5～約8.0の範囲、または約6.5～約7.5の範囲のpHを有する。別の実施形態では、本発明の製剤は、約3.0、約3.5、約4.0、約4.5、約5.0、約5.5、約6.0、約6.1、約6.2、約6.3、約6.4、約6.5、約6.6、約6.7、約6.8、約6.9、約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4、約7.5、約7.6、約7.7、約7.8、約7.9、約8.0、約8.5、または約9.0のpHを有する。特定の実施形態では、本発明の製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の製剤はpH約6.0を有する。製剤のpHは、一般に、製剤化された特定のBiTE(登録商標)分子の等電点と等しいべきではない。

#### 【0071】

典型的に、緩衝剤は、有機または無機の酸または塩基から調製された塩である。代表的な緩衝剤には、非限定的に、有機酸の塩、例えばクエン酸、アスコルビン酸、グルコン酸、炭酸、酒石酸、コハク酸、酢酸、またはフタル酸の塩; Tris、トロメタミン塩酸塩、またはリン酸バッファーが含まれる。さらに、アミノ酸成分は緩衝化能において機能することもできる。本発明の製剤中で緩衝剤として利用できる代表的なアミノ酸成分には、非限定的に、グリシンおよびヒスチジンが含まれる。特定の実施形態では、緩衝剤は、ヒスチジン、シトレート、ホスフェート、グリシン、およびアセテートからなる群から選択される。特定の実施形態では、緩衝剤はヒスチジンである。別の特定の実施形態では、緩衝剤はシトレートである。緩衝剤の純度は、少なくとも98%、または少なくとも99%、または少なくとも99.5%であるべきである。ヒスチジンの関連で、本明細書中で使用される用語「純度」とは、例えばThe Merck Index, 13<sup>th</sup> ed., O'Neil et al. ed. (Merck & Co., 2001)に記載されるように、当技術分野で理解されるヒスチジンの化学的純度を表す。

#### 【0072】

緩衝剤は、典型的に、所望のイオン強度および必要とされる緩衝化能に応じて、約1 mM～約200 mMの範囲または該範囲内の任意の範囲もしくは値の濃度で使用される。非経口製剤中で用いられる慣用の緩衝剤の通常濃度は、Pharmaceutical Dosage Form: Parenteral Medications, Volume 1, 2<sup>nd</sup> Edition, Chapter 5, p. 194, De Luca and Boylan, "Formulation of Small Volume Parenterals", Table 5: Commonly used additives in Parenteral Productsに見出せる。一実施形態では、緩衝剤は、約1 mM、または約5 mM、または約10 mM、または約15 mM、または約20 mM、または約25 mM、または約30 mM、または約35 mM、または約40 mM、または約45 mM、または約50 mM、または約60 mM、または約70 mM、または約80 mM、または約90 mM、または約100 mMの濃度である。一実施形態では、緩衝剤は、1 mM、または5 mM、または10 mM、または15 mM、または20 mM、または25 mM、または30 mM、または35 mM、または40 mM、または45 mM、または50 mM、または60 mM、または70 mM、または80 mM、または90 mM、または100 mMの濃度である。特定の実施形態では、緩衝剤は約10 mM～約50 mMの範囲の濃度である。別の特定の実施形態では、緩衝剤は10 mM～50 mMの範囲の濃度である。

#### 【0073】

特定の実施形態では、本発明の製剤は緩衝剤を含む。一実施形態では、該緩衝剤は、ヒスチジン、シトレート、ホスフェート、Tris、グリシン、およびアセテートからなる群から選択される。特定の実施形態では、本発明の製剤は緩衝剤としてシトレートを含む。別の実施形態では、本発明の製剤はクエン酸(シトレート)バッファーを含む。

#### 【0074】

一実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約1 mM、少なくとも約5 mM、少なくとも約10 mM、少なくとも約20 mM、少なくとも約30 mM、少なくとも約40 mM、少なくとも約50 mM、少なくとも約75 mM、少なくとも約100 mM、少なくとも約150 mM、または少なくとも約200 mMのシトレートを含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約1 mM～約5 mMの範囲、約5 mM～約10 mMの範囲、約10 mM～約15 mMの範囲、約15 mM～約20 mMの範囲、約20 mM～約30 mMの範囲、約30 mM～約50 mMの範囲、約50 mM～約70 mMの範囲、約70 mM～約100 mMの範囲、約100 mM～約150 mMの範囲、約150 mM～約200 mMの範囲、または約200 mM～約300 mMの範囲のシトレートを含む。本発明の別の実施形態は、約1 mM、約5 mM、約10 m

M、約20 mM、約25 mM、約30 mM、約35 mM、約40 mM、約45 mM、約50 mM、約60 mM、約70 mM、約80 mM、約90 mM、約100 mM、約150 mM、または約200 mMのシトレートを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約25 mMのシトレートを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約30 mMのシトレートを含む。

【0075】

一実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約1 mM、少なくとも約5 mM、少なくとも約10 mM、少なくとも約20 mM、少なくとも約30 mM、少なくとも約40 mM、少なくとも約50 mM、少なくとも約75 mM、少なくとも約100 mM、少なくとも約150 mM、または少なくとも約200 mMのクエン酸バッファーを含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約1 mM～約5 mMの範囲、約5 mM～約10 mMの範囲、約10 mM～約15 mMの範囲、約15 mM～約20 mMの範囲、約20 mM～約30 mMの範囲、約30 mM～約50 mMの範囲、約50 mM～約70 mMの範囲、約70 mM～約100 mMの範囲、約100 mM～約150 mMの範囲、約150 mM～約200 mMの範囲、または約200 mM～約300 mMの範囲のクエン酸バッファーを含む。本発明の別の実施形態は、約1 mM、約5 mM、約10 mM、約20 mM、約25 mM、約30 mM、約35 mM、約40 mM、約45 mM、約50 mM、約60 mM、約70 mM、約80 mM、約90 mM、約100 mM、約150 mM、または約200 mMのクエン酸バッファーを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約25 mMのクエン酸バッファーを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約30 mMのクエン酸バッファーを含む。

10

【0076】

特定の実施形態では、本発明の製剤は炭水化物賦形剤を含む。炭水化物賦形剤は、例えば、増粘剤(viscosity enhancing agents)、安定剤、増量剤、可溶化剤、リオプロテクタント等として作用しうる。炭水化物賦形剤は、一般に、重量/容量単位で約1%～約99%の範囲で存在する。一実施形態では、炭水化物賦形剤は約0.1%～約50%の範囲で存在する。別の実施形態では、炭水化物賦形剤は約0.5%～約40%の範囲で存在する。特定の実施形態では、炭水化物賦形剤は、約1%～約2%の範囲、または約2%～約5%の範囲、または約5%～約10%の範囲、または約10%～約15%の範囲、約15%～約20%の範囲、約20%～約25%の範囲、約25%～約30%の範囲、または約30%～約40%の範囲で存在する。他の特定の実施形態では、炭水化物賦形剤は、1%、または2%、または3%、または5%、または6%、または6.5%、または7%、または8%、または9%、または10%、または11%、または12%、または13%、または14%、または15%、または16%、または17%、または18%、または20%、または25%、または30%で存在する。

20

30

【0077】

本発明の製剤中での使用に好適な炭水化物賦形剤には、例えば、単糖、例えばフルクトース、マルトース、ガラクトース、グルコース、D-マンノース、ソルボース、等；二糖、例えばラクトース、ショ糖、トレハロース、セロビオース、等；多糖、例えばラフィノース、メレジトース、バクガデキストリン、デキストラン、デンプン、等；およびアルジトール、例えばマンニトール、キシリトール、マルチトール、ラクチトール、キシリトールソルビトール(グルシトール)等が含まれる。一実施形態では、本発明で使用するための炭水化物賦形剤は、ショ糖、トレハロース、ラクトース、マンニトール、およびラフィノースからなる群から選択される。特定の実施形態では、炭水化物賦形剤はトレハロースである。別の特定の実施形態では、炭水化物賦形剤はマンニトールである。さらに別の特定の実施形態では、炭水化物賦形剤はショ糖である。さらに別の特定の実施形態では、炭水化物賦形剤はラフィノースである。炭水化物賦形剤の純度は、少なくとも98%、または少なくとも99%、または少なくとも99.5%であるべきである。

40

【0078】

一実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約1%、少なくとも約2.5%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、または少なくとも約40%のトレハロース二水和物を

50

含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約1%～約40%の範囲、約1%～約5%の範囲、約5%～約10%の範囲、約10%～約15%の範囲、約15%～約20%の範囲、約20%～約25%の範囲、約25%～約30%の範囲、または約30%～約40%の範囲のトレハロース二水和物を含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約1%、約2%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、約15%、約16%、約17%、約18%、約19%、約20%、約30%、または約40%のトレハロース二水和物を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約15%のトレハロース二水和物を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約5%のトレハロース二水和物を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約6%のトレハロース二水和物を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約6.5%のトレハロース二水和物を含む。

【0079】

一実施形態では、本発明の製剤のリオプロテクタント(例えばトレハロース)とBiTE(登録商標)分子のモル比は、少なくとも約10,000、少なくとも約50,000、少なくとも約100,000、少なくとも約200,000、少なくとも約300,000、少なくとも約400,000、少なくとも約500,000、少なくとも約600,000、少なくとも約700,000、少なくとも約800,000、少なくとも約900,000、または少なくとも約1,000,000である。別の実施形態では、本発明の製剤のリオプロテクタント(例えばトレハロース)とBiTE(登録商標)分子のモル比は、約10,000、約50,000、約100,000、約200,000、約300,000、約400,000、約500,000、約600,000、約700,000、約800,000、約900,000、または約1,000,000である。別の実施形態では、本発明の製剤のリオプロテクタント(例えばトレハロース)とBiTE(登録商標)分子のモル比は、約10,000～約1,000,000の範囲、約100,000～約900,000の範囲、または約500,000～約900,000の範囲である。

【0080】

一実施形態では、本発明の製剤は賦形剤を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は、糖、塩、界面活性剤、アミノ酸、ポリオール、キレート剤、乳化剤および保存剤からなる群から選択される少なくとも1つの賦形剤を含む。一実施形態では、本発明の製剤は塩を含む。一実施形態では、本発明の製剤は、NaCl、KCl、CaCl<sub>2</sub>、およびMgCl<sub>2</sub>からなる群から選択される塩を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤はNaClを含む。

【0081】

本発明の製剤は界面活性剤をさらに含んでよい。本明細書中で使用される用語「界面活性剤」とは、両親媒性構造を有する有機物質を表し、すなわち、それらは、反対の溶解度傾向の基、典型的に油溶性炭化水素鎖および水溶性イオン基からなる。界面活性剤は、界面活性部分の電荷に応じて、アニオン性、カチオン性、および非イオン性界面活性剤に分類することができる。界面活性剤は、生物学的物質の種々の医薬組成物および調製物のための湿潤剤、乳化剤、可溶化剤、および分散剤として使用されることがよくある。製薬的に許容される界面活性剤、例えばポリソルベート(例えばポリソルベート20または80); ポリオキサマー(polyoxamers)(例えばポロキサマー188); Triton; オクチルグリコシドナトリウム; ラウリル-, ミリスチル-, リノレイル-, またはステアリル-スルホベタイン; ラウリル-, ミリスチル-, リノレイル-またはステアリル-サルコシン; リノレイル-, ミリスチル-, またはセチル-ベタイン; ラウロアミドプロピル(lauroamidopropyl)-、ココアミドプロピル(cocamidopropyl)-、リノレアミドプロピル(linoleamidopropyl)-、ミリスチアミドプロピル(myristamidopropyl)-、パルミドプロピル(palmitidopropyl)-、またはイソステアラミドプロピル(isostearamidopropyl)-ベタイン(例えばラウロアミドプロピル); ミリスチアミドプロピル-, パルミドプロピル-, またはイソステアラミドプロピル-ジメチルアミン; ナトリウムメチルココイル(sodium methyl cocoyl)-、またはジナトリウムメチルオレイル-タウラート; およびMONAQUA.TM.シリーズ(Mona Industries, Inc., Paterson, N.J.)、ポリエチルグリコール、ポリプロピルグリコール、ならびにエチレンおよびプロピレングリコールのコポリマー(例えばPluronic, PF68等)を、場合により、本発明の製剤に加えて、凝集を減少させることができる。界面活性剤は、製剤を投与するためにポンプまたはプラスチック容器が使用される場合に特に有用である。製薬的に許容される界面活性剤が存在すると、タンパク質が凝集する性向が緩和される。特定の実施形態では

、本発明の製剤は、約0.001%～約1%、または約0.001%～約0.5%、または約0.01%～約0.2%の範囲の濃度のポリソルベートを含む。他の特定の実施形態では、本発明の製剤は、0.01%、または0.02%、または0.03%、または0.04%、または0.05%、または0.06%、または0.07%、または0.08%、または0.09%、または0.1%、または0.15%、または0.2%の濃度のポリソルベートを含む。別の特定の実施形態では、ポリソルベートはポリソルベート-80である。

【0082】

一実施形態では、本発明の製剤は界面活性剤を含む。一実施形態では、本発明の製剤は、ポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート60、またはポリソルベート80を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤はポリソルベート80を含む。

【0083】

一実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約0.01%、少なくとも約0.02%、少なくとも約0.05%、少なくとも約0.1%、少なくとも約0.2%、少なくとも約0.3%、少なくとも約0.4%、または少なくとも約0.5%のポリソルベート80を含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約0.01%～約0.5%の範囲、約0.01%～約0.3%の範囲、約0.001%～約0.2%の範囲、約0.02%～約0.5%の範囲、約0.02%～約0.3%の範囲、約0.02%～約0.2%の範囲、約0.05%～約0.5%の範囲、約0.05%～約0.3%の範囲、約0.05%～約0.2%の範囲、約0.075%～約0.5%の範囲、約0.075%～約0.3%の範囲、または約0.075%～約0.2%の範囲のポリソルベート80を含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約0.01%、約0.02%、約0.05%、約0.1%、約0.2%、約0.3%、約0.4%、または約0.5%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約0.1%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約0.01%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約0.05%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約0.1%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約0.02%のポリソルベート80を含む。

【0084】

一実施形態では、本発明の製剤はアミノ酸を含む。一実施形態では、本発明の製剤はアミノ酸塩を含む。一実施形態では、本発明の製剤は、リシン、アルギニン、およびヒスチジンからなる群から選択されるアミノ酸を含む。一実施形態では、本発明の製剤は、リシンHClおよびアルギニンHClを含む群から選択されるアミノ酸塩を含む。特定の実施形態では、本発明の製剤はリシンHClを含む。

【0085】

一実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約25 mMのリシンHCl、少なくとも約50 mMのリシンHCl、少なくとも約100 mMのリシンHCl、少なくとも約150 mMのリシンHCl、少なくとも約200 mMのリシンHCl、少なくとも約250 mMのリシンHCl、少なくとも約300 mMのリシンHCl、少なくとも約350 mMのリシンHCl、または少なくとも約400 mMのリシンHClを含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約25 mM～約250 mMの範囲、約25 mM～約300 mMの範囲、約25 mM～約350 mMの範囲、約25 mM～約400 mMの範囲、約50 mM～約250 mMの範囲、約50 mM～約300 mMの範囲、約50 mM～約350 mMの範囲、約50 mM～約400 mMの範囲、約100 mM～約250 mMの範囲、約100 mM～約300 mMの範囲、約100 mM～約400 mMの範囲、約150 mM～約250 mMの範囲、約150 mM～約300 mMの範囲、または約150 mM～約400 mMの範囲のリシンHClを含む。別の実施形態では、本発明の製剤は、約25 mM、約50 mM、約100 mM、約150 mM、約200 mM、約250 mM、約300 mM、約350 mM、または約400 mMのリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約25 mMのリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約50 mMのリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約75 mMのリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約100 mMのリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約200 mMのリシンHClを含む。

【0086】

一実施形態では、本発明の製剤はトレハロースおよびリシンHClを含む。一実施形態では、本発明の製剤は、約0.1、約0.5、約0.75、約1、約5、約10、約20、約30、約40、約50、約60、約70、約80、約90、約100、約200、または約300のモル比のトレハロースおよびリシンHClを含む。一実施形態では、本発明の製剤は、約1.5、約1.7、約1.8、約1.9、約2

10

20

30

40

50

、約2.1、約2.2、約2.3、約2.4、約2.5、約2.6、約2.7、約2.8、約2.9、約3、約3.1、約3.2、約3.3、約3.4、約3.5、または約4のモル比のトレハロースおよびリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約2.1のモル比のトレハロースおよびリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約2.2のモル比のトレハロースおよびリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約2.4のモル比のトレハロースおよびリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約2.5のモル比のトレハロースおよびリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約2.6のモル比のトレハロースおよびリシンHClを含む。特定の実施形態では、本発明の製剤は約2.7のモル比のトレハロースおよびリシンHClを含む。

【0087】

場合により、本発明の製剤は、他の一般的な賦形剤および/または添加物、例えば、非限定的に、希釈剤、結合剤、安定剤、親油性溶媒、保存剤、アジュバント、等をさらに含んでよい。製薬的に許容される賦形剤および/または添加物を本発明の製剤中で使用することができる。一般に使用される賦形剤/添加物、例えば製薬的に許容されるキレート剤(例えば、非限定的に、EDTA、DTPAまたはEGTA)を、場合により、本発明の製剤に加えて、凝集を減少させることができる。製剤の投与にポンプまたはプラスチック容器が使用される場合にこれらの添加物は特に有用である。

【0088】

保存剤、例えばフェノール、m-クレゾール、p-クレゾール、o-クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、亜硝酸フェニル水銀、フェノキシエタノール、ホルムアルデヒド、クロロブタノール、塩化マグネシウム(例えば非限定的に六水和物)、アルキルパラベン(メチル、エチル、プロピル、ブチル等)、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウムおよびチメロサル、またはその混合物を、場合により、任意の好適な濃度、例えば約0.001%~約5%の範囲、または該範囲内の任意の範囲または値の濃度で本発明の製剤に加えることができる。本発明の製剤中で使用される保存剤の濃度は、微生物効果(an microbial effect)を得るために十分な濃度である。そのような濃度は選択された保存剤に依存し、当業者によって容易に決定される。

【0089】

本発明の製剤中で利用される想定される他の賦形剤/添加物には、例えば、香味物質、抗菌剤、甘味料、酸化防止剤、帯電防止剤、脂質、例えばリン脂質または脂肪酸、ステロイド、例えばコレステロール、タンパク質賦形剤、例えば血清アルブミン(ヒト血清アルブミン(HSA)、組換えヒトアルブミン(rHA))、ゼラチン、カゼイン、塩形成対イオン、例えばナトリウム等が含まれる。本発明の製剤での使用に好適な前記および追加の公知の医薬賦形剤および/または添加物は当技術分野において公知であり、例えば、"Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 21<sup>st</sup> ed., Lippincott Williams & Wilkins, (2005), および"Physician's Desk Reference", 60<sup>th</sup> ed., Medical Economics, Montvale, N.J. (2005)に列挙されている。

【0090】

本発明の製剤はヒト血液と等張でありうること、すなわち本発明の製剤はヒト血液と本質的に同じ浸透圧を有することが当業者に理解される。そのような等張製剤は、一般に、約250 mOSm~約350 mOSmの浸透圧を有する。等張性は例えば蒸気圧または製氷型浸透圧計を使用することによって測定することができる。製剤の張性は張性調節因子(tonicity modifiers)の使用によって調節される。「張性調節因子」は、製剤に加えて該製剤の等張性を提供することができる製薬的に許容される不活性物質である。本発明に好適な張性調節因子には、非限定的に、サッカライド、塩およびアミノ酸が含まれる。

【0091】

一実施形態では、本発明の製剤は、シトレート、リシンHCl、トレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の製剤は、リシンHCl、トレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の製剤は、シトレート、トレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の製剤は、シトレート

10

20

30

40

50

、リシンHCl、およびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の製剤は、シトレート、リシンHCl、およびトレハロースを含む。一実施形態では、本発明の製剤はシトレートおよびリシンHClを含む。一実施形態では、本発明の製剤はシトレートおよびトレハロースを含む。一実施形態では、本発明の製剤はシトレートおよびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の製剤はリシンHClおよびトレハロースを含む。一実施形態では、本発明の製剤はリシンHClおよびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の製剤はトレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の製剤はリシンHClを含む。

【 0 0 9 2 】

一実施形態では、本発明の製剤は、シトレート、リシンHCl、トレハロースおよびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の製剤は、約5 mM～約125 mMの範囲のシトレート、約25 mM～約400 mMの範囲のリシンHCl、約3%～約50%の範囲のトレハロース、および約0.001%～約1%の範囲のポリソルベート80を含み、該製剤は約4.0～約8.0の範囲のpHを有する。別の実施形態では、本発明の製剤は、約10 mM～約50 mMの範囲のシトレート、約100 mM～約300 mMの範囲のリシンHCl、約10%～約20%の範囲のトレハロース、および約0.01%～約0.2%の範囲のポリソルベート80を含み、該製剤は約5.0～約8.0の範囲のpHを有する。別の実施形態では、本発明の製剤は、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。

【 0 0 9 3 】

一実施形態では、本発明の製剤は、約10マイクログラム/ml～約100マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の製剤は、約50マイクログラム/ml～約60マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の製剤は、約110マイクログラム/ml～約210マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の製剤は、約150マイクログラム/ml～約170マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の製剤は、約55マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の製剤は、約160マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の製剤は、約150マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6.5%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、pH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の製剤は、約150マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、pH約7.0を有する。

【 0 0 9 4 】

一実施形態では、本発明の製剤は、約10マイクログラム/ml～約100マイクログラム/mlの範囲のMT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の製剤は、約50マイクログラム/ml～約60マイクログラム/mlの範囲のMT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の製剤は、約110マイクログラム/ml～約210マイクログラム/mlの範囲のMT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の製剤は、約150マイクログラム/ml～約170マイクログラム/mlの範囲の

10

20

30

40

50















μ/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の製剤は、約140マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の製剤は、約150マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の製剤は、約160マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の製剤は、約170マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の製剤は、約180マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の製剤は、約190マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の製剤は、約200マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。

10

#### 【0103】

20

一実施形態では、本発明の製剤は、内毒素および/または関連発熱物質を実質的に含まないピロジェンフリーの製剤である。内毒素には、微生物内に限定されていて微生物が破壊されるかまたは死んだ場合にのみ放出される毒素が含まれる。また、発熱物質には、細菌および他の微生物の外膜由来の発熱誘発性熱安定物質(糖タンパク質)が含まれる。これらの物質はいずれも、ヒトに投与された場合に、発熱、低血圧およびショックを引き起こす。潜在的な悪影響のせいで、低量の内毒素でさえ、静脈内に投与される医薬品の薬液から除去する必要がある。Food & Drug Administration ("FDA")は、静脈内薬物投与の1回の1時間の期間中、5内毒素単位(EU)/用量/体重キログラムの上限を定めている(The United States Pharmacopeial Convention, Pharmacopeial Forum 26 (1):223 (2000))。抗体の場合のように、治療タンパク質が数百または数千ミリグラム/体重キログラムの量で投与される場合、有害かつ危険な内毒素は微量でさえ除去される必要がある。特定の実施形態では、組成物中の内毒素およびピロジェンレベルは、10 EU/mg未満(less than)、または5 EU/mg未満、または1 EU/mg未満、または0.1 EU/mg未満、または0.01 EU/mg未満、または0.001 EU/mg未満である。

30

#### 【0104】

一実施形態では、本発明の製剤は滅菌されている。本発明の製剤は、滅菌ろ過、照射、等を含む種々の滅菌法によって滅菌することができる。一実施形態では、あらかじめ滅菌された0.22ミクロンフィルターで抗体製剤をろ過滅菌する。注射用の滅菌組成物は、"Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 21<sup>st</sup> ed., Lippincott Williams & Wilkins, (2005)に記載の慣用の薬務に従って製剤化することができる。本明細書中で開示されるような抗体を含む製剤は、通常、凍結乾燥形式または溶液中で保存される。抗体を含む滅菌組成物を、滅菌取り出し口を有する容器、例えば製剤の回収を可能にするアダプター、例えば皮下注射針によって穴をあけることができるストッパーを有する静脈内用溶液バッグまたはバイアルに入れることが想定される。

40

#### 【0105】

##### 5.1.1. 液体製剤の安定性

一実施形態では、本発明の製剤は、凝集、断片化および/または接触面への吸着に起因する損失を受けやすいBiTE(登録商標)分子を含む。

#### 【0106】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を安定化する。一実施形態では、

50

本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子の凝集を防ぐ。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子の断片化を防ぐ。別の実施形態では、本発明の製剤は、接触面への吸着に起因するBiTE(登録商標)分子の損失を防ぐ。

【0107】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を安定化する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103の凝集を防ぐ。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103の断片化を防ぐ。別の実施形態では、本発明の製剤は、接触面への吸着に起因するMT103の損失を防ぐ。

【0108】

5.1.1.1. 経時的安定性

一実施形態では、本発明の製剤は、約40 での保存時に、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、少なくとも約7日、少なくとも約8日、少なくとも約9日、少なくとも約10日、少なくとも約15日、少なくとも約20日、少なくとも約25日、または少なくとも約30日安定である。一実施形態では、本発明の製剤は、約40 での保存時に、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間安定である。一実施形態では、本発明の製剤は、約40 での保存時に、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月安定である。

10

【0109】

一実施形態では、本発明の製剤は、約4 での保存時に、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、少なくとも約7日、少なくとも約8日、少なくとも約9日、少なくとも約10日安定である。一実施形態では、本発明の製剤は、約4 での保存時に、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間安定である。一実施形態では、本発明の製剤は、約5 での保存時に、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月安定である。一実施形態では、本発明の製剤は、約5 での保存時に、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、少なくとも約5年、少なくとも約6年、少なくとも約7年、少なくとも約8年、少なくとも約9年、少なくとも約10年、少なくとも約11年、または少なくとも約12年安定である。

20

30

【0110】

一実施形態では、本発明の製剤は、約40 での保存時に、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、約10日、約15日、約20日、約25日、または約30日安定である。一実施形態では、本発明の製剤は、約40 での保存時に、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間安定である。一実施形態では、本発明の製剤は、約40 での保存時に、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月安定である。

【0111】

一実施形態では、本発明の製剤は、約4 での保存時に、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、約10日安定である。一実施形態では、本発明の製剤は、約4 での保存時に、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間安定である。一実施形態では、本発明の製剤は、約5 での保存時に、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月安定である。一実施形態では、本発明の製剤は、約5 での保存時に、約1年、約2年、約3年、約4年、約5年、約6年、約7年、約8年、約9年、約10年、約11年、または約12年安定である。

40

【0112】

5.1.1.2. 結合活性

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なく

50

とも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも90%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

【0113】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも90%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

10

【0114】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の90%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の90%を保持する。

20

【0115】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の90%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の90%を保持する。

30

【0116】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

40

【0117】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1か月、少なく

50

とも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

【0118】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の90%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の90%を保持する。

10

【0119】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の90%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の90%を保持する。

20

【0120】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも95%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも95%を保持する。

【0121】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも95%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも95%を保持する。

30

40

【0122】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の95%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の95%を保持する。

【0123】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1週間、約2

50

週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の95%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の95%を保持する。

【0124】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも95%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも95%を保持する。

10

【0125】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも95%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも95%を保持する。

20

【0126】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の95%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の95%を保持する。

30

【0127】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の95%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の95%を保持する。

40

【0128】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも99%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少

50

なくとも約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも99%を保持する。

【0129】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも99%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも99%を保持する。

10

【0130】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の99%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の99%を保持する。

20

【0131】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の99%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の99%を保持する。

30

【0132】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも99%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも99%を保持する。

【0133】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも99%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも99%を保持する

40

50

## 【 0 1 3 4 】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の99%を保持する。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の99%を保持する。

## 【 0 1 3 5 】

## 5.1.1.3. 凝集体形成

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存の際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存の際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

## 【 0 1 3 6 】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

## 【 0 1 3 7 】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

## 【 0 1 3 8 】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

## 【 0 1 3 9 】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未

10

20

30

40

50

満しか凝集体を形成しない。

【0140】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

10

【0141】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

【0142】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

20

【0143】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

30

【0144】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

40

【0145】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の

50

約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

【0146】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

10

【0147】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

【0148】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

20

【0149】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

30

【0150】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

40

【0151】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって

50

測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

【0152】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

10

【0153】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

【0154】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

20

【0155】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

30

【0156】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

40

【0157】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、

50

約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

【0158】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

10

【0159】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

【0160】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

20

【0161】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

30

【0162】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子BiTE(登録商標)分子を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

40

【0163】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、また

50

は少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

【0164】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

10

【0165】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

【0166】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

20

【0167】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子BiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子BiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

30

【0168】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子BiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子BiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

40

【0169】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場

50

合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

【0170】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

10

【0171】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103MT103を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

20

【0172】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

30

【0173】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

【0174】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

40

【0175】

5.1.1.4. ダイマー形成

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存の際にHPSECによって測定された場合に該抗

50

体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存の際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

【0176】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

10

【0177】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

20

【0178】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

30

【0179】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

【0180】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

40

【0181】

50

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

【0182】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

10

【0183】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

20

【0184】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

30

【0185】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

【0186】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

40

【0187】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なく

50

とも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

【0188】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

10

【0189】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

20

【0190】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子MT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

30

【0191】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

【0192】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

40

【0193】

50

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

【0194】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

10

【0195】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

20

【0196】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

30

【0197】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

40

【0198】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

【0199】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日

50

、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

【0200】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

10

【0201】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

20

【0202】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

30

【0203】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

【0204】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

40

50

## 【0205】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

## 【0206】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

## 【0207】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

## 【0208】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

## 【0209】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

## 【0210】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

## 【0211】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、

少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

【0212】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

10

【0213】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

20

【0214】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

30

【0215】

5.1.1.5. 振とうまたは凍結/解凍サイクル後のタンパク質の回収

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

【0216】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

40

【0217】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

50

## 【0218】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

## 【0219】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

10

## 【0220】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

## 【0221】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

20

## 【0222】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

30

## 【0223】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

## 【0224】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

40

## 【0225】

## 5.1.1.6. 振とうまたは凍結/解凍サイクル時のダイマー形成

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

## 【0226】

50

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

【0227】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSEC

10

【0228】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

【0229】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSEC

20

【0230】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

【0231】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSEC

30

【0232】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

40

【0233】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSEC

【0234】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定され

50

た場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

【0235】

#### 5.1.1.7. 凍結乾燥後の回収

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際に、該抗体の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%がバイアルから回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%が回収される。

10

【0236】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際に、該抗体の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%がバイアルから回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%が回収される。

20

【0237】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約90%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にバイアルから該抗体の少なくとも約90%が回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約90%が回収される。

30

【0238】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約90%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にバイアルから該抗体の少なくとも約90%が回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約90%が回収される。

40

【0239】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約95%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にバイアルから該抗体の少なくとも約95%が回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約95%が回収される。

50

## 【0240】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約95%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にバイアルから該抗体の少なくとも約95%が回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約95%が回収される。

## 【0241】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約97%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にバイアルから該抗体の少なくとも約97%が回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約97%が回収される。

## 【0242】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約97%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にバイアルから該抗体の少なくとも約97%が回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約97%が回収される。

## 【0243】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約98%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にバイアルから該抗体の少なくとも約98%が回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約98%が回収される。

## 【0244】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約98%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にバイアルから該抗体の少なくとも約98%が回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約98%が回収される。

## 【0245】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約99%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にバイアルから該抗体の少なくとも約99%が回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約99%が回収される。

## 【0246】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤で容量の半分まで満たされたバ

10

20

30

40

50

バイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際に、該抗体の少なくとも約99%がバイアルから回収される。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にバイアルから該抗体の少なくとも約99%が回収され、該バイアルはその容量の半分まで該製剤で満たされている。別の実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約99%が回収される。

【0247】

#### 5.1.1.8. 断片化

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

10

【0248】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

20

【0249】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

30

【0250】

一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

40

【0251】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

【0252】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週

50

間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

【0253】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

【0254】

一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

【0255】

5.1.1.9. 視覚的特性評価

一実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、または少なくとも約7日間の約40 fでの保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。一実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。

【0256】

一実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、少なくとも約6週間、少なくとも約7週間、少なくとも約8週間、少なくとも約9週間、少なくとも約10週間、少なくとも約11週間、または少なくとも約12週間の約5 での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。一実施形態では、本発明の製剤は、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。

【0257】

一実施形態では、本発明の製剤は、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、または約7日間の約40 fでの保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。一実施形態では、本発明の製剤は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。

【0258】

一実施形態では、本発明の製剤は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、約6週間、約7週間、約8週間、約9週間、約10週間、約11週間、または約12週間の約5 での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。一実施形態では、本発明

10

20

30

40

50

の製剤は、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。

【 0 2 5 9 】

## 5.2. 凍結乾燥製剤

また、本発明は、二重特異性抗体を含む凍結乾燥製剤であって、安定性を示し、低レベル～検出不能なレベルの抗体断片化しか示さず、低レベル～検出不能なレベルの凝集しか示さず、ならびに製造、調製、輸送、および保存期間中の二重特異性抗体の生物学的活性の損失が非常に少ない～無損失である製剤を包含する。特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含む二重特異性抗体を含む。特定の実施形態、本発明は、MT103を含む凍結乾燥製剤を提供する(米国特許第7,112,324号を参照のこと)。

10

【 0 2 6 0 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含むBiTE(登録商標)分子を含む。別の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、配列番号1のアミノ酸配列を有する抗CD19 VLドメイン、配列番号2のアミノ酸配列を有する抗CD19 VHドメイン、配列番号3のアミノ酸配列を有する抗CD3 VHドメインおよび配列番号4のアミノ酸配列を有する抗CD3 VLドメインを含む。特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、該抗体は配列番号5のアミノ酸配列を含む。

20

【 0 2 6 1 】

本発明は、単一の、目的のBiTE(登録商標)分子、例えば、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含むBiTE(登録商標)分子を含む安定な凍結乾燥製剤を包含する。また、本発明は、2つ以上の、目的の二重特異性抗体、例えばそれぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含む二重特異性抗体を含む安定な凍結乾燥製剤を包含する。特定の実施形態では、本発明の安定な凍結乾燥製剤はMT103を含む。別の実施形態では、本発明の安定な凍結乾燥製剤は2つ以上の二重特異性抗体を含み、二重特異性抗体の1つはMT103である。

30

【 0 2 6 2 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、シトレート、リシンHCl、トレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、リシンHCl、トレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、シトレート、トレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、シトレート、リシンHCl、およびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、シトレート、リシンHCl、およびトレハロースを含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はシトレートおよびリシンHClを含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はシトレートおよびトレハロースを含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はシトレートおよびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はリシンHClおよびトレハロースを含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はリシンHClおよびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、トレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はリシンHClを含む。

40

【 0 2 6 3 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、シトレート、リシンHCl、トレハロースおよびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、シトレート、リシンHCl、およびトレハロースを約1～約5モルの範囲のシトレート 対 約4～約40モルの範囲のトレハロース 対 約5～約20モルの範囲のリシンHClのモル比で含む。特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、シトレート、リシンHCl、およびトレハロースを約1モルのシトレート 対 約16モルのトレハロース 対 約8モルのリシンHClのモル比で含む。

50

## 【0264】

特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、MT103、シトレート、リシンHCl、トレハロースおよびポリソルベート80を含む。

## 【0265】

特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、MT103、シトレート、リシンHCl、トレハロースおよびポリソルベート80からなる。

## 【0266】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約10%未満、約5%未満、約3%未満、約2%未満、約1%未満の残留含水量を有する。別の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約10%、約5%、約4%、約3%、約2%、約1%の残留含水量を有する。

10

## 【0267】

特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は本発明の液体製剤から得られる。

## 【0268】

## 5.2.1. 凍結乾燥製剤の安定性

一実施形態では、本発明の凍結乾燥された凍結乾燥製剤は、凝集、断片化および/または接触面への吸着に起因する損失を受けやすいBiTE(登録商標)分子を含む。

## 【0269】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を安定化する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子の凝集を防ぐ。別の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子の断片化を防ぐ。別の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、接触面への吸着に起因するBiTE(登録商標)分子の損失を防ぐ。

20

## 【0270】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を安定化する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103の凝集を防ぐ。別の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103の断片化を防ぐ。別の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、接触面への吸着に起因するMT103の損失を防ぐ。

## 【0271】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を安定化する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子の凝集を減少させる。別の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子の断片化を減少させる。別の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、接触面への吸着に起因するBiTE(登録商標)分子の損失を減少させる。

30

## 【0272】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を安定化する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103の凝集を減少させる。別の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103の断片化を減少させる。別の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、接触面への吸着に起因するMT103の損失を減少させる。

## 【0273】

## 5.2.2. 経時的安定性

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約40 での保存時に、少なくとも約1日、少なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、少なくとも約7日、少なくとも約8日、少なくとも約9日、少なくとも約10日、少なくとも約15日、少なくとも約20日、少なくとも約25日、または少なくとも約30日安定である。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約40 での保存時に、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間安定である。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約40 での保存時に、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月安定である。

40

## 【0274】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約4 での保存時に、少なくとも約1日、少

50

なくとも約2日、少なくとも約3日、少なくとも約4日、少なくとも約5日、少なくとも約6日、少なくとも約7日、少なくとも約8日、少なくとも約9日、少なくとも約10日安定である。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約4 での保存時に、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間安定である。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約5 での保存時に、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月安定である。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約5 での保存時に、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、少なくとも約5年、少なくとも約6年、少なくとも約7年、

10

【0275】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約40 での保存時に、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、約10日、約15日、約20日、約25日、または約30日安定である。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約40 での保存時に、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間安定である。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約40 での保存時に、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月安定である。

【0276】

20

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約4 での保存時に、約1日、約2日、約3日、約4日、約5日、約6日、約7日、約8日、約9日、約10日安定である。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約4 での保存時に、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間安定である。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約5 での保存時に、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月安定である。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、約5 での保存時に、約1年、約2年、約3年、約4年、約5年、約6年、約7年、約8年、約9年、約10年、約11年、または約12年安定である。

【0277】

5.2.2.1. タンパク質回収

30

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約90%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約90%が回収される。

【0278】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、

少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約90%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約90%が回収される。

40

【0279】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成するこ

50

とによって該抗体の少なくとも約90%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約90%が回収される。

【0280】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約90%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約90%が回収される。

10

【0281】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約95%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約95%が回収される。

【0282】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約95%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約95%が回収される。

20

【0283】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約95%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約95%が回収される。

30

【0284】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約95%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約95%が回収される。

40

【0285】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約97%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存

50

時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約97%が回収される。

【0286】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約97%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約97%が回収される。

10

【0287】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約97%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約97%が回収される。

【0288】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約97%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約97%が回収される。

20

【0289】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約98%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約98%が回収される。

30

【0290】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約98%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約98%が回収される。

40

【0291】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約98%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約98%が回収される。

50

## 【 0 2 9 2 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約98%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約98%が回収される。

## 【 0 2 9 3 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約99%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約99%が回収される。

10

## 【 0 2 9 4 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約99%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約99%が回収される。

20

## 【 0 2 9 5 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約99%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約99%が回収される。

30

## 【 0 2 9 6 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約99%が回収される。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時に該凍結乾燥製剤を再構成することによって該抗体の少なくとも約99%が回収される。

40

## 【 0 2 9 7 】

## 5.2.2.2. 結合活性

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも90%を保持する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

## 【 0 2 9 8 】

50

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも90%を保持する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

【0299】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の90%を保持する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の90%を保持する。

【0300】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の90%を保持する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してその標的ポリペプチドに対する結合能力の90%を保持する。

【0301】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

【0302】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、該抗体は、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

【0303】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の90%を保持する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、該抗体は、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19

10

20

30

40

50

およびCD3抗原に対する結合能力の90%を保持する。

【0304】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、該抗体は、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5<sup>0</sup>での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の90%を保持する。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、該抗体は、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5<sup>0</sup>での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の90%を保持する。

【0305】

5.2.2.3. 凝集体形成

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40<sup>0</sup>での保存の際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40<sup>0</sup>での保存の際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

【0306】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5<sup>0</sup>での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5<sup>0</sup>での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

【0307】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40<sup>0</sup>での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40<sup>0</sup>での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

【0308】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5<sup>0</sup>での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5<sup>0</sup>での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

【0309】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40<sup>0</sup>での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40<sup>0</sup>での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

【0310】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1

10

20

30

40

50

か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

【0311】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

10

【0312】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

20

【0313】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

【0314】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

30

【0315】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

40

【0316】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

50

## 【 0 3 1 7 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

## 【 0 3 1 8 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

## 【 0 3 1 9 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

## 【 0 3 2 0 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

## 【 0 3 2 1 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

## 【 0 3 2 2 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

## 【 0 3 2 3 】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に

10

20

30

40

50

該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

【0324】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

10

【0325】

#### 5.2.2.4. ダイマー形成

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存の際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存の際にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

【0326】

20

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

【0327】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

30

【0328】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

40

【0329】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

【0330】

50

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

【0331】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

【0332】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

【0333】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

【0334】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

【0335】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

【0336】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗

10

20

30

40

50

体の3%未満しかダイマーを形成しない。

【0337】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

【0338】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

【0339】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

【0340】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

【0341】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

【0342】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

【0343】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、

10

20

30

40

50

約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

【0344】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

10

【0345】

5.2.2.5. 断片化

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。

20

【0346】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。

30

【0347】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。

【0348】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。

40

【0349】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。

50

## 【0350】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。

## 【0351】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。

## 【0352】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。

## 【0353】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。

## 【0354】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。

## 【0355】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。

## 【0356】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3

10

20

30

40

50

年、約4年、または約5年の約5%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。

【0357】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。

10

【0358】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。

【0359】

20

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。

【0360】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。

30

【0361】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約4週間、少なくとも約5週間、または少なくとも約6週間の約40%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、または少なくとも約6か月の約40%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

40

【0362】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、または少なくとも約12か月の約5%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、少なくとも約1年、少なくとも約2年、少なくとも約3年、少なくとも約4年、または少なくとも約5年の約5%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

【0363】

50

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1週間、約2週間、約3週間、約4週間、約5週間、または約6週間の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、または約6か月の約40 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

【0364】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1か月、約2か月、約3か月、約4か月、約5か月、約6か月、約7か月、約8か月、約9か月、約10か月、約11か月、または約12か月の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤はMT103を含み、約1年、約2年、約3年、約4年、または約5年の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

【0365】

5.3. 再構成製剤

さらに、本発明は、二重特異性抗体の再構成液体製剤であって、安定性を示し、低レベル～検出不能なレベルの抗体断片化しか示さず、低レベル～検出不能なレベルの凝集しか示さず、二重特異性抗体の生物学的活性の損失が非常に少ない～無損失であり、ならびに調製、保存および使用中の接触面への吸着による抗体の損失が非常に少ない～無損失である製剤を提供する。特定の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含むBiTE(登録商標)分子を含む。特定の実施形態では、本発明の再構成液体製剤はMT103を含む(US Patent No. 7,112,324を参照のこと)。

【0366】

特定の実施形態では、本明細書中に記載の凍結乾燥製剤から本発明の再構成液体製剤を調製する。

【0367】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥に付した液体製剤と同濃度のBiTE(登録商標)分子を含む。

【0368】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥に付した液体製剤より高い濃度のBiTE(登録商標)分子を含む。特定の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥に付した液体製剤より、約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約30倍、約40倍高濃度のBiTE(登録商標)分子を含む。

【0369】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥に付した液体製剤より低い濃度のBiTE(登録商標)分子を含む。特定の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥に付した液体製剤より、約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約30倍、約40倍低濃度のBiTE(登録商標)分子を含む。

【0370】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥に付した液体製剤と同濃度のMT103を含む。

【0371】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥に付した液体製剤より高い濃度のMT103を含む。特定の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥に付した液体製剤より、約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約30倍、約40倍高濃度のMT103を含む。

【0372】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥に付した液体製剤よ

10

20

30

40

50

り低い濃度のMT103を含む。特定の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、あらかじめ凍結乾燥に付した液体製剤より、約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約6倍、約7倍、約8倍、約9倍、約10倍、約15倍、約20倍、約30倍、約40倍低濃度のMT103を含む。

【0373】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は水性製剤である。特定の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は水性製剤であり、水性担体は蒸留水である。

【0374】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は滅菌されている。

【0375】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は均質である。

10

【0376】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は等張性である。一実施形態では、本発明の再構成製剤は低張性である。一実施形態では、本発明の再構成製剤は高張性である。

【0377】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤はBiTE(登録商標)分子を含む。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含むBiTE(登録商標)分子を含む。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、配列番号1のアミノ酸配列を有する抗CD19 VLドメイン、配列番号2のアミノ酸配列を有する抗CD19 VHドメイン、配列番号3のアミノ酸配列を有する抗CD3 VHドメインおよび配列番号4のアミノ酸配列を有する抗CD3 VLドメインを含む。特定の実施形態では、本発明の再構成液体製剤はMT103を含み、該抗体は配列番号5のアミノ酸配列を含む。

20

【0378】

本発明は、単一の、目的のBiTE(登録商標)分子、例えば、それぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含むBiTE(登録商標)分子を含む再構成液体製剤を包含する。また、本発明は、2つ以上の、目的の二重特異性抗体、例えばそれぞれCD3およびCD19抗原に特異的な第1および第2の結合部位を少なくとも含む二重特異性抗体を含む再構成液体製剤を包含する。特定の実施形態では、本発明の再構成液体製剤はMT103を含む。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は2つ以上の二重特異性抗体を含み、二重特異性抗体の1つはMT103である。

30

【0379】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、シトレート、リシンHCl、トレハロース、およびポリソルベート80からなる群から選択される少なくとも1つの賦形剤を含む。

【0380】

一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、シトレート、リシンHCl、トレハロースおよびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、シトレート、リシンHCl、およびトレハロースを約1~約5モルの範囲のシトレート対約4~約40モルの範囲のトレハロース対約5~約20モルの範囲のリシンHClのモル比で含む。特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、シトレート、リシンHCl、およびトレハロースを約1モルのシトレート対約16モルのトレハロース対約8モルのリシンHClのモル比で含む。

40

【0381】

特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、MT103、シトレート、リシンHCl、トレハロースおよびポリソルベート80を含む。

【0382】

特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤は、MT103、シトレート、リシンHCl、トレハロースおよびポリソルベート80からなる。

【0383】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、シトレート、リシンHCl、トレハロースおよびポリソルベート80を含む。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約5 mM~約125 mMの範囲のシトレート、約25 mM~約400 mMの範囲のリシンHCl、約3%~約50%の範

50

困のトレハロース、および約0.001%~約1%の範囲のポリソルベート80を含み、該製剤は約4.0~約8.0の範囲のpHを有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約10 mM~約50 mMの範囲のシトレート、約100 mM~約300 mMの範囲のリシンHCl、約10%~約20%の範囲のトレハロース、および約0.01%~約0.2%の範囲のポリソルベート80を含み、該製剤は約5.0~約8.0の範囲のpHを有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。

【0384】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約10マイクログラム/ml~約100マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約50マイクログラム/ml~約60マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約110マイクログラム/ml~約210マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml~約170マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約55マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約160マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6.5%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、pH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、pH約7.0を有する。

【0385】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約10マイクログラム/ml~約100マイクログラム/mlの範囲のMT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約50マイクログラム/ml~約60マイクログラム/mlの範囲のMT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約110マイクログラム/ml~約210マイクログラム/mlの範囲のMT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml~約170マイクログラム/mlの範囲のMT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約55マイクログラム/ml MT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約160マイクログラム/ml MT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml MT103、約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6.5%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、pH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml MT103、

10

20

30

40

50

約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、pH約7.0を有する。

【0386】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約10マイクログラム/ml～約100マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約50マイクログラム/ml～約60マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約110マイクログラム/ml～約210マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml～約170マイクログラム/mlの範囲のBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約55マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約160マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6.5%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80からなり、pH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80からなり、pH約7.0を有する。

【0387】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約10マイクログラム/ml～約100マイクログラム/mlの範囲のMT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約50マイクログラム/ml～約60マイクログラム/mlの範囲のMT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約110マイクログラム/ml～約210マイクログラム/mlの範囲のMT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml～約170マイクログラム/mlの範囲のMT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約55マイクログラム/ml MT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約160マイクログラム/ml MT103、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80からなり、該製剤はpH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml MT103、約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6.5%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80からなり、pH約7.0を有する。別の実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml MT103、約30 mMシトレート、約75 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80からなり、pH約7.0を有する。

【0388】

一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、少なくとも約10マイクログラム/mlのBiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約15%トレハロースおよび約0.1%













リシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約110マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約120マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約130マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約140マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約150マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約160マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約170マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約180マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約190マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。一実施形態では、本発明の再構成液体製剤は、約200マイクログラム/ml BiTE(登録商標)、約25 mMシトレート、約200 mMリシンHCl、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、該製剤はpH約7.0を有する。

【0394】

#### 5.3.1. 再構成製剤の安定性

一実施形態では、本発明の再構成製剤は、凝集、断片化および/または接触面への吸着に起因する損失を受けやすいBiTE(登録商標)分子を含む。

【0395】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は、HPSECによって測定された場合に本発明の製剤がBiTE(登録商標)分子の凝集を防ぐ点において、BiTE(登録商標)分子を安定化する。別の実施形態では、RP-HPLCによって測定された場合に本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子の断片化を防ぐ。別の実施形態では、本発明の再構成製剤は、接触面への吸着に起因するBiTE(登録商標)分子の損失を防ぐ。

【0396】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は、HPSECによって測定された場合に本発明の製剤がMT103の凝集を防ぐ点において、MT103を安定化する。別の実施形態では、RP-HPLCによって測定された場合に本発明の再構成製剤はMT103の断片化を防ぐ。別の実施形態では、本発明の再構成製剤は、接触面への吸着に起因するMT103の損失を防ぐ。

【0397】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は、室温での保存時に、HPSECによって測定された場合に、少なくとも約1時間、少なくとも約2時間、少なくとも約3時間、少なくとも約4時間、少なくとも約5時間、少なくとも約6時間、少なくとも約7時間、少なくとも約8時間、少なくとも約9時間、少なくとも約12時間、少なくとも約18時間、または少なくとも約24時間安定である。

【0398】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は、約4 での保存時に、HPSECによって測定された場合に、少なくとも約1時間、少なくとも約2時間、少なくとも約3時間、少なくとも約4

10

20

30

40

50

時間、少なくとも約5時間、少なくとも約6時間、少なくとも約7時間、少なくとも約8時間、少なくとも約9時間、少なくとも約12時間、少なくとも約15時間、少なくとも約18時間、または少なくとも約24時間安定である。

【0399】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は、室温での保存時に、HPSECによって測定された場合に、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間安定である。

【0400】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は、約4 での保存時に、HPSECによって測定された場合に、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間安定である。

10

【0401】

#### 5.3.1.1. 結合活性

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、凍結乾燥前の抗体に相当する参照抗体と比較して、その標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも90%を保持する。結合活性は、当業者に公知のいくつかの方法で、例えばBIAcoreまたはELISAアッセイを使用することによって測定することができる。

【0402】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較して、その標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

20

【0403】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、該抗体は、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較して、その標的ポリペプチドに対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

【0404】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、該抗体は、凍結乾燥前の抗体に相当する参照抗体と比較して、CD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

30

【0405】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、該抗体は、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較して、CD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

【0406】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、該抗体は、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存前の抗体に相当する参照抗体と比較して、CD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する。

40

【0407】

#### 5.3.1.2. 凝集体形成

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、HPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、または5%未満しか凝集体を形成しない。

【0408】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、HPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、または5%未満しか凝集体を形成しない。

【0409】

50

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

【0410】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

【0411】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

【0412】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しか凝集体を形成しない。

【0413】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

【0414】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

【0415】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

【0416】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しか凝集体を形成しない。

【0417】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

【0418】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

【0419】

10

20

30

40

50

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

【0420】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しか凝集体を形成しない。

【0421】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

【0422】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

【0423】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

【0424】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しか凝集体を形成しない。

【0425】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

【0426】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

【0427】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

【0428】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しか凝集体を形成しない。

【0429】

10

20

30

40

50

### 5.3.1.3. ダイマー形成

－実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、HPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、または5%未満しかダイマーを形成しない。

【0430】

－実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、HPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、または5%未満しかダイマーを形成しない。

【0431】

－実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

10

【0432】

－実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

【0433】

－実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

20

【0434】

－実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の1%未満しかダイマーを形成しない。

【0435】

－実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

30

【0436】

－実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

【0437】

－実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

40

【0438】

－実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の2%未満しかダイマーを形成しない。

【0439】

－実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18

50

時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

【0440】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

【0441】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

10

【0442】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の3%未満しかダイマーを形成しない。

【0443】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

20

【0444】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

【0445】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

30

【0446】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の4%未満しかダイマーを形成しない。

【0447】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

40

【0448】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

【0449】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約

50

24時間の室温での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

【0450】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5%での保存時にHPSECによって測定された場合に該抗体の5%未満しかダイマーを形成しない。

【0451】

#### 5.3.1.4. 断片化

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、RP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、または5%未満しか断片化されない。

10

【0452】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、RP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、または5%未満しか断片化されない。

【0453】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。

20

【0454】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。

【0455】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。

30

【0456】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の1%未満しか断片化されない。

【0457】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。

40

【0458】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5%での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。

【0459】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。

50

## 【0460】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の2%未満しか断片化されない。

## 【0461】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。

10

## 【0462】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。

## 【0463】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。

20

## 【0464】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の3%未満しか断片化されない。

## 【0465】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。

30

## 【0466】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。

## 【0467】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。

40

## 【0468】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の4%未満しか断片化されない。

## 【0469】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

50

## 【0470】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はBiTE(登録商標)分子を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

## 【0471】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

10

## 【0472】

一実施形態では、本発明の再構成製剤はMT103を含み、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時にRP-HPLCによって測定された場合に該抗体の5%未満しか断片化されない。

## 【0473】

## 5.3.1.5. 視覚的特性評価

一実施形態では、目視検査によって測定された場合に本発明の再構成製剤は無色透明である。

## 【0474】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約18時間、または約24時間の室温での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。

20

## 【0475】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の約5 での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。

## 【0476】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は、少なくとも約1時間、少なくとも約2時間、少なくとも約3時間、少なくとも約4時間、少なくとも約5時間、少なくとも約6時間、少なくとも約7時間、少なくとも約8時間、少なくとも約9時間、少なくとも約12時間、少なくとも約18時間、または少なくとも約24時間の室温での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。

30

## 【0477】

一実施形態では、本発明の再構成製剤は、少なくとも約1時間、少なくとも約2時間、少なくとも約3時間、少なくとも約4時間、少なくとも約5時間、少なくとも約6時間、少なくとも約7時間、少なくとも約8時間、少なくとも約9時間、少なくとも約12時間、少なくとも約15時間、少なくとも約18時間、または少なくとも約24時間の約5 での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である。

## 【0478】

## 5.3.1.6. 粒子プロファイル

特定の実施形態では、本発明の再構成製剤は、パーティクルマルチサイザー (particle multisizer) によって測定された場合に直径2-4  $\mu\text{m}$ の約 $3.4 \times 10^5$ 粒子/ml未満、直径4-10  $\mu\text{m}$ の約 $4.0 \times 10^4$ 粒子/ml未満、直径10-20  $\mu\text{m}$ の約 $4.2 \times 10^3$ 粒子/ml未満、直径20-30  $\mu\text{m}$ の約 $5.0 \times 10^2$ 粒子/ml未満、直径30-40  $\mu\text{m}$ の約 $7.5 \times 10^1$ 粒子/ml未満、および直径40-60  $\mu\text{m}$ の約0.4粒子/ml未満の粒子プロファイルを含む(か、または凝集フラクションとして該粒子プロファイルからなる)。特定の実施形態では、本発明の再構成製剤は40  $\mu\text{m}$ より大きい検出可能な粒子、または30  $\mu\text{m}$ より大きい検出可能な粒子を含有しない。

40

## 【0479】

特定の実施形態では、約1時間、約2時間、約3時間、約4時間、約5時間、約6時間、約7

50

時間、約8時間、約9時間、約12時間、約15時間、約18時間、または約24時間の保存後に、本発明の液体製剤は、パーティクルマルチサイザーによって測定された場合に直径2-4 μmの約3.4 E +5粒子/ml未満、直径4-10 μmの約4.0 E +4粒子/ml未満、直径10-20 μmの約4.2 E +3粒子/ml未満、直径20-30 μmの約5.0 E +2粒子/ml未満、直径30-40 μmの約7.5 E +1粒子/ml未満、および直径40-60 μmの約9.4粒子/ml未満の粒子プロファイルを含む(か、または凝集フラクションとして該粒子プロファイルからなる)。特定の実施形態では、本発明の液体製剤は40 μmより大きい検出可能な粒子、または30 μmより大きい検出可能な粒子を含有しない。

【0480】

タンパク質製剤(例えば本発明の抗体製剤)中に存在する凝集の程度、および/または凝集のタイプおよび/または凝集のサイズを測定するために有用な多数の方法が当技術分野において公知であり、それには、非限定的に、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)、高性能サイズ排除クロマトグラフィー(HPSEC)、静的光散乱(SLS)、フーリエ変換赤外分光法(FTIR)、円偏光二色性(CD)、尿素誘導タンパク質アンフォールディング技術(urea-induced protein unfolding techniques)、固有トリプトファン蛍光、示差走査熱量測定、および1-アニリノ-8-ナフタレンスルホン酸(ANS)タンパク質結合技術が含まれる。例えば、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を実施し、適切な樹脂で充填されたカラムに対して分子を通過させることによって、サイズに基づいて分子を分離することができ、大きい分子(例えば凝集体)は小さい分子(例えばモノマー)より先に溶出する。分子は、一般に、280 nmでのUV吸光度によって検出され、追加の特性評価のために回収することができる。SEC分析では高圧液体クロマトグラフィーカラムが利用されることが多い(HP-SEC)。具体的なSEC法は下記の「実施例」と題されるセクションで詳説する。あるいは、分析用超遠心(AUC)を利用してよい。AUCは、液体サンプル中の高分子の沈降係数(Svedberg, Sに報告される)を測定する直交技術である。SECと同様に、AUCでは、モノマーから抗体断片/凝集体を分離および検出することが可能であり、さらに分子量に関する情報を提供することができる。また、製剤中のタンパク質凝集は、コールターカウンターを使用するパーティクルカウンター分析によってまたは濁度計を使用する濁度測定によって特徴付けてもよい。濁度は、溶液中の粒子が光を散乱する量の尺度であり、ゆえに、タンパク質凝集の一般的指標として使用される。さらに、非還元ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)またはキャピラリーゲル電気泳動(CGE)を使用して、本発明の製剤中の抗体またはその断片の凝集および/または断片化状態を特徴付けることができる。

【0481】

#### 5.4. 本発明の製剤において有用な抗体

本発明は、BiTE(登録商標)分子の製剤であって、安定性を示し、低レベル~検出不能なレベルの抗体断片化しか示さず、低レベル~検出不能なレベルの凝集しか示さず、BiTE(登録商標)分子の生物学的活性の損失が非常に少ない~無損失であり、ならびに製造、調製、保存および使用中の接触面への吸着による抗体の損失が非常に少ない~無損失である製剤に関する。特定の実施形態では、本発明の製剤は凍結乾燥製剤であり、該凍結乾燥製剤は、再構成時の凍結乾燥産物からのBiTE(登録商標)分子BiTE(登録商標)分子の回収を最大にする。

【0482】

さらに、本発明は、BiTE(登録商標)分子の製剤の製造方法であって、該製剤が安定性を示し、低レベル~検出不能なレベルの抗体断片化しか示さず、低レベル~検出不能なレベルの凝集しか示さず、BiTE(登録商標)分子の生物学的活性の損失が非常に少ない~無損失であり、ならびに製造、調製、保存および使用中の接触面への吸着による抗体の損失が非常に少ない~無損失である方法を提供する。

【0483】

本発明はBiTE(登録商標)分子を含む製剤を提供する。

【0484】

二重特異性T細胞エンゲージャ(Bispecific T cell engagers)、またはBiTE(登録商標)<sup>T</sup>

10

20

30

40

50

<sup>M</sup>は、直列に配置された単鎖抗体に基づく形式の二重特異性抗体である(米国特許No. 7,112,324; Wolf et al., Drug Discov Today. 10(18):1237-44 (2005)でレビューされている)。それらは約55 kDaの単一ポリペプチド鎖を形成し、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞によってモノマーおよびダイマーの混合物として分泌される。一方のアームで、BiTE(登録商標)<sup>TM</sup>は、T細胞上のT細胞受容体のシグナル伝達複合体のタンパク質成分であるヒトCD3のイプシロン( )サブユニットに結合する。他方のアームで、BiTE(登録商標)<sup>TM</sup>は標的細胞上の抗原(例えば、非限定的に、CD19、CD20、上皮細胞接着分子(Ep-CAM)、癌胎児性抗原(CEA)、EphA2、EphA4、ICOS、IL-5受容体、INF受容体)を認識する。T細胞の活性化は、BiTE(登録商標)<sup>TM</sup>が標的細胞の表面上でT細胞に提示された場合にのみ観察される。

10

## 【0485】

BiTE(登録商標)<sup>TM</sup>は一時的にT細胞と標的細胞をつなぐ。BiTE(登録商標)<sup>TM</sup>によるT細胞の活性化は、CD69、CD25および種々の細胞接着分子の上方制御、サイトカイン(例えば、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-2、IL-4およびIL-10)の新規発現および放出、グランザイムおよびパーフォリン発現の上方制御、および細胞増殖を伴う。BiTE(登録商標)<sup>TM</sup>によるリダイレクトされた(Redirected)標的細胞溶解は、T細胞受容体の特異性、MHCクラスIおよび $\beta$ 2ミクログロブリンの存在、および任意の共刺激から独立している。通常のT細胞シグナルおよび認識分子からのこの独立性は、BiTE(登録商標)<sup>TM</sup>による、通常の細胞溶解性シナプスおよび最大膜近接の誘導によって説明される。BiTE(登録商標)<sup>TM</sup>誘導性シナプスからの負の調節タンパク質、例えばCD45の排除は共刺激の必要性を軽減する。

20

## 【0486】

BiTE(登録商標)<sup>TM</sup>は、*in vitro*で、前もって刺激されていない末梢ポリクローナルCD8-およびCD4-陽性T細胞でのリダイレクト(方向転換)された溶解を示す。ナイーブCD8-またはCD4-陽性T細胞の場合に活性は観察されない。CD4 T細胞は、BiTE(登録商標)<sup>TM</sup>で刺激された場合にグランザイムBおよびパーフォリン発現を上方制御し、それによってCD8媒介性標的細胞溶解に寄与することができる。*in vitro*において低ピコモル濃度でリダイレクトされた溶解が観察され、T細胞をトリガーするために非常に少数のBiTE(登録商標)分子が標的細胞に結合する必要しかないことが示唆される。SCIDマウスモデルでは、サブ $\mu$ g用量のBiTE(登録商標)<sup>TM</sup>が腫瘍増殖を完全に妨げること(Dreier et al., 2003, J Immunol. 170:4397-4402)および200 mm<sup>3</sup>までの固形腫瘍を根絶すること(Schlereth et al., 2005, Cancer Res. 2005 65(7):2882-89)が示されている。

30

## 【0487】

本発明はBiTE(登録商標)分子を含む製剤を提供する。BiTE(登録商標)分子は第1および第2の結合ドメインを含み、該第1の結合ドメインはCD3に特異的であり、かつ該第2の結合ドメインは標的細胞の細胞表面抗原に特異的である。特定の実施形態では、本発明の製剤のBiTE(登録商標)によって認識される標的細胞の細胞表面抗原は以下の細胞表面抗原からなる群から選択される：細胞傷害性Tリンパ球関連抗原(CTLA)、例えばCTLA-4；ホルモンまたは成長因子の受容体、例えば、EGFR、TGF $\beta$ 、VEGFR；インターフェロン、例えばアルファインターフェロン( $\alpha$ -IFN)、ベータインターフェロン( $\beta$ -IFN)およびガンマインターフェロン( $\gamma$ -IFN)；インターフェロン受容体成分、例えばインターフェロン受容体1；CDタンパク質、例えばCD2、CD3、CD4、CD 8、CD11a、CD14、CD18、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD33、CD34、CD40、CD40L、CD52、CD63、CD64、CD80およびCD147；T細胞受容体；表面膜タンパク質；ホーミング受容体；アドレシン；細胞接着分子、例えばLFA-1、Mac 1、p150.95、VLA-4、ICAM-1、ICAM-3およびVCAM、 $\alpha$ 4/p7インテグリン、および(Xv/p3インテグリン(そのサブユニットまたはサブユニット群を含む)、インテグリンアルファサブユニット、例えばCD49a、CD49b、CD49c、CD49d、CD49e、CD49f、アルファ7、アルファ8、アルファ9、アルファD、CD11a、CD11b、CD51、CD11c、CD41、アルファIIb、アルファIELb；インテグリンベータサブユニット、例えば、CD29、CD 18、CD61、CD104、ベータ5、ベータ6、ベータ7およびベータ8；インテグリンサブユニットの組み合わせ、例えば非限定的に、 $\alpha$  V 3、 $\alpha$  V 5および $\alpha$  4 7；f1k2/f1t3受容体；肥満(OB)受容体；mpl受容体；CTLA

40

50

-4; Eph受容体、例えばEphA2、EphA4、EphB2、等; ヒト白血球抗原(HLA)、例えばHLA-DR; 糖タンパク質受容体、例えばGp1b、GPIIb/IIIaおよびCD200; 癌抗原、例えば、非限定的に、ALK受容体(プレイオトロフィン受容体)、プレイオトロフィン、KS 1/4汎癌腫(pan-carcinoma)抗原; 卵巣癌抗原(CA125); 前立腺酸性ホスファート; 前立腺特異抗原(PSA); 黒色腫関連抗原p97; 黒色腫抗原gp75; 高分子量黒色腫抗原(HMW-MAA); 前立腺特異膜抗原; 癌胎児性(carcinoembryonic)抗原(CEA); 多形性上皮性ムチン抗原(polymorphic epithelial mucin antigen); ヒト乳脂肪球抗原; 結腸直腸腫瘍関連抗原、例えば: CEA、TAG-72、CO17-1A、GICA 19-9、CTA-1およびLEA; バーキットリンパ腫抗原-38.13; CD19; ヒトBリンパ腫抗原-CD20; CD33; 黒色腫特異抗原、例えばガングリオシドGD2、ガングリオシドGD3、ガングリオシドGM2およびガングリオシドGM3; 腫瘍特異的移植型細胞表面抗原(tumor-specific transplantation type cell-surface antigen)(TSTA); ウイルス誘導性腫瘍抗原、例えばT抗原、DNA腫瘍ウイルスおよびRNA腫瘍ウイルスのエンベロープ抗原; 癌胎児性(oncofetal)抗原-アルファ-フェトプロテイン、例えば結腸のCEA、5T4癌胎児性栄養膜糖タンパク質および膀胱腫瘍癌胎児性抗原; 分化抗原、例えばヒト肺癌抗原L6およびL20; 線維肉腫の抗原; ヒト白血病T細胞抗原-Gp37; ネオ糖タンパク質; スフィンゴ脂質; 乳癌抗原、例えばEGFR(上皮成長因子受容体); NY-BR-16; NY-BR-16およびHER2抗原(p185<sup>HER2</sup>); 多形性上皮性ムチン(PEM); 悪性ヒトリンパ球抗原-APO-1; 分化抗原、例えば胎児赤血球で見出されるI抗原; 成人赤血球で見出される一次内胚葉I抗原; 着床前胚; 胃腺癌で見出されるI(Ma); 乳房上皮で見出されるM18、M39; 骨髄性細胞で見出されるSSEA-1; VEP8; VEP9; My1; VIM-D5; 結腸直腸癌で見出されるD<sub>1</sub>56-22; TRA-1-85(血液型H); 精巢および卵巣癌で見出されるSCP-1; 結腸腺癌で見出されるC14; 肺腺癌で見出されるF3; 胃癌で見出されるAH6; Yハプテン; 胎児性癌細胞で見出されるLe<sup>y</sup>; TL5(血液型A); A431細胞で見出されるEGF受容体; 膵癌で見出されるE<sub>1</sub>系列(血液型B); 胎児性癌細胞で見出されるFC10.2; 胃腺癌抗原; 腺癌で見出されるCO-514(血液型Le<sup>a</sup>); 腺癌で見出されるNS-10; CO-43(血液型Le<sup>b</sup>); A431細胞のEGF受容体で見出されるG49; 結腸腺癌で見出されるMH2(血液型ALe<sup>b</sup>/Le<sup>y</sup>); 結腸癌で見出される19.9; 胃癌ムチン; 骨髄性細胞で見出されるT<sub>5</sub>A<sub>7</sub>; 黒色腫で見出されるR<sub>24</sub>; 胎児性癌細胞で見出される4.2、G<sub>D3</sub>、D1.1、OFA-1、G<sub>M2</sub>、OFA-2、G<sub>D2</sub>、およびM1:22:25:8および4~8細胞期胚で見出されるSSEA-3およびSSEA-4; 皮膚T細胞リンパ腫抗原; MART-1抗原; Sialy Tn(STn)抗原; 結腸癌抗原NY-CO-45; 肺癌抗原NY-LU-12変異体A; 腺癌抗原ART1; 腫瘍随伴性関連脳-精巢-癌抗原(オンコニューロナル抗原(onconeural antigen) MA2; 腫瘍随伴性ニューロン抗原); 神経腫瘍腹側抗原2(Neuro-oncological ventral antigen 2)(NOVA2); 肝細胞癌抗原遺伝子520; 腫瘍関連抗原CO-029; 腫瘍関連抗原MAGE-C1(癌/精巢抗原CT7)、MAGE-B1(MAGE-XP抗原)、MAGE-B2(DAM6)、MAGE-2、MAGE-4a、MAGE-4bおよびMAGE-X2; 癌-精巢抗原(NY-EOS-1); YKL-40および上で列挙される任意のポリペプチドの断片。

#### 【0488】

特定の実施形態では、本発明の製剤のBiTE(登録商標)分子BiTE(登録商標)分子は、CD19xCD3 BiTE(登録商標)(米国特許第7,112,324号, 米国特許出願US20070123479A1)、CD20xCD3 BiTE(登録商標)、EphA2xCD3 BiTE(登録商標)(2006年12月21日提出の米国特許出願No. 11/645,290)、EphA4xCD3 BiTE(登録商標)、ICOSxCD3 BiTE(登録商標)、IFNR(インターフェロナルファ受容体)xCD3 BiTE(登録商標)、Ep-CAM(上皮細胞接着分子)xCD3 BiTE(登録商標)、CEA(癌胎児性抗原)xCD3 BiTE(登録商標)(米国特許出願No. 12/158,611, PCT公開No. WO 2007/071426)およびIL-5RxCD3 BiTE(登録商標)からなる群から選択される。

#### 【0489】

##### 5.4.1. 増加した半減期を有するBiTE(登録商標)分子

本発明は、in vivoで延長された半減期を有するBiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の製剤を提供する。特に、本発明は、哺乳類(例えば非限定的にヒト)において、1時間より長い、2時間より長い、4時間より長い、6時間より長い、8時間より長い、10時間より長い、12時間より長い、18時間より長い、1日より長い、2日より長い、3日より長い、7日より長い、10日より長い、15日より長い、25日より長い、30日より長い、35日より長い、40日よ

10

20

30

40

50

り長い、45日より長い、2か月より長い、3か月より長い、4か月より長い、または5か月より長い半減期を有するBiTE(登録商標)分子の製剤を提供する。

【0490】

in vivoでBiTE(登録商標)分子の血清循環を延長するために、例えば、抗体のNまたはC末端へのPEGの部位特異的コンジュゲーションによってまたはリシン残基上に存在するイプシロン-アミノ基を介して、多官能性リンカーを用いるか用いずに、不活性ポリマー分子、例えば高分子量ポリエチレングリコール(PEG)をBiTE(登録商標)分子に取り付けることができる。生物学的活性の最小の損失しか生じさせない線状または分岐ポリマー誘導体化が使用される。コンジュゲーションの程度をSDS-PAGEおよび質量分析によって厳密にモニターして、PEG分子とBiTE(登録商標)分子の適正なコンジュゲーションを確保することができる。サイズ排除またはイオン交換クロマトグラフィーによって未反応PEGをBiTE(登録商標)分子-PEGコンジュゲートから分離することができる。当業者に公知の方法を使用して、例えば本明細書中に記載のイムノアッセイによってPEG誘導体化BiTE(登録商標)分子を結合活性ならびにin vivo効力に関して試験することができる。

10

【0491】

さらに、BiTE(登録商標)分子をアルブミンにコンジュゲートして、BiTE(登録商標)分子をin vivoで安定にするか、またはin vivoで長い半減期を有するようにすることができる。該技術は当技術分野において周知である。例えば、国際公開Nos. WO 93/15199, WO 93/15200, およびWO 01/77137; および欧州特許No. EP 413, 622 (すべての文献は参照によりここに組み入れられる)を参照のこと。

20

【0492】

#### 5.5. BiTE(登録商標)分子製剤の製造方法

さらに、本発明は、安定な再構成製剤の製造方法であって、BiTE(登録商標)分子およびリオプロテクトントの凍結乾燥混合物を希釈剤中で再構成して、再構成製剤中のBiTE(登録商標)分子濃度が約30マイクログラム/ml ~ 約70マイクログラム/mlの範囲になるようにするステップを含む方法を提供する。

【0493】

さらに別の実施形態では、本発明は、製剤を製造するための方法であって、(a) BiTE(登録商標)分子およびリオプロテクトントの混合物を凍結乾燥するステップ; および(b) ステップ(a)の凍結乾燥混合物を希釈剤中で再構成して、再構成製剤が安定であり、かつ約30マイクログラム/ml ~ 約70マイクログラム/mlの範囲のタンパク質濃度を有するようにするステップを含む方法を提供する。

30

【0494】

製剤化対象のBiTE(登録商標)分子は、当技術分野において十分に確立されている技術を使用して製造され、該技術には、合成技術、例えば組換え技術およびペプチド合成またはこれらの技術の組み合わせが含まれる。本発明の特定の実施形態では、選択されるBiTE(登録商標)分子はMT103である。

【0495】

目的のBiTE(登録商標)分子BiTE(登録商標)分子の製造後、「バルク液体製剤」を生産する。バルク液体製剤中に存在するBiTE(登録商標)分子の量は、所望の用量(dose volumes)、投与様式(群)等を考慮して決定される。特定の実施形態では、約20マイクログラム/ml ~ 約300マイクログラム/mlの範囲の濃度のBiTE(登録商標)分子を出発タンパク質濃度として使用する。BiTE(登録商標)分子は一般に溶液中に存在する。例えば、BiTE(登録商標)分子は、約4-8、および好ましくは約5-7のpHのpH緩衝化溶液中に存在する。典型的なバッファーには、ヒスチジン、ホスフェート、Tris、シトレート、コハク酸および他の有機酸が含まれる。バッファー濃度は、例えば、バッファーおよび製剤(例えば再構成製剤)の所望の等張性に応じて、約1 mM ~ 約20 mM、または約3 mM ~ 約15 mMであってよい。

40

【0496】

リオプロテクトントを凍結乾燥前の製剤に加える。特定の実施形態では、リオプロテクトントは非還元糖、例えばショ糖またはトレハロースである。凍結乾燥前の製剤中のリオ

50

プロテクタントの量は、一般に、再構成時に、得られた製剤が等張であるような量である。しかし、高張性再構成製剤が好適であることもある。さらに、リオプロテクタントの量は、凍結乾燥時に許容されない量のタンパク質分解/凝集が生じるほど少な過ぎてはならない。リオプロテクタントが糖(例えばショ糖またはトレハロース)であり、かつタンパク質がBiTE(登録商標)分子である場合、凍結乾燥前の製剤中の典型的なリオプロテクタント濃度は約10 mM~約400 mMである。タンパク質とリオプロテクタントの比は各タンパク質およびリオプロテクタントの組み合わせについて選択される。

【0497】

特定の実施形態では、界面活性剤を凍結乾燥前の製剤(プレ凍結乾燥製剤)に加える。あるいは、または加えて、界面活性剤を凍結乾燥製剤および/または再構成製剤に加えてよい。好適な界面活性剤には、非イオン性界面活性剤、例えばポリソルベート(例えばポリソルベート20または80); ポロキサマー(例えばポリキサマー188); Triton; ドデシル硫酸ナトリウム(SDS); ラウレル硫酸ナトリウム(sodium laurel sulfate); オクチルグリコシドナトリウム; ラウリル-, ミリスチル-, リノレイル-, またはステアリル-スルホベタイン; ラウリル-, ミリスチル-, リノレイル-またはステアリル-サルコシン; リノレイル-, ミリスチル-, またはセチル-ベタイン; ラウロアミドプロピル-, コカミドプロピル-, リノレアミドプロピル-, ミリスタミドプロピル-, パルニドプロピル(palnidopropyl)-, またはイソステアラミドプロピル-ベタイン(例えばラウロアミドプロピル); ミリスタミドプロピル-, パルミドプロピル-, またはイソステアラミドプロピル-ジメチルアミン; ナトリウムメチルココイル-, またはジナトリウムメチルオレイル-タウラート; およびMO 20 NAQUAT™シリーズ(Mona Industries, Inc., Paterson, N.J.)、ポリエチルグリコール、ポリプロピルグリコール、およびエチレンおよびプロピレングリコールのコポリマー(例えばPluronic、PF68等)が含まれる。界面活性剤の添加量は、それが再構成タンパク質の凝集を減少させ、かつ再構成後の微粒子の形成を最小にするような量である。例えば、界面活性剤は、凍結乾燥前の製剤中に約0.001-0.5%、および好ましくは約0.005-0.05%の量で存在する。

【0498】

本発明の特定の実施形態では、凍結乾燥前の製剤の製造にリオプロテクタント(例えばショ糖またはトレハロース)および増量剤(例えばマンニトールまたはグリシン)の混合物を使用する。増量剤は、過剰のポケット等を伴うことなく均一の凍結乾燥ケーキの生産を可能にする。 30

【0499】

Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に記載されるような他の製薬的に許容される担体、賦形剤または安定剤を、それらが製剤の所望の特性に悪影響を与えない限り、凍結乾燥前の製剤(および/または凍結乾燥製剤および/または再構成製剤)に含ませてよい。許容される担体、賦形剤または安定剤は、使用投与量および濃度でレシピエントに対して無毒であり、それには、追加の緩衝剤; 保存剤; 共溶媒; 酸化防止剤、例えばアスコルビン酸およびメチオニン; キレート剤、例えばEDTA; 金属錯体(例えばZn-タンパク質錯体); 生分解性ポリマー、例えばポリエステル; および/または塩形成対イオン、例えばナトリウムが含まれる。 40

【0500】

本明細書中の製剤は、治療対象の特定の徴候に必要な2種以上のBiTE(登録商標)分子(moleculeas)を含有してもよく、それらは好ましくは他方のタンパク質に悪影響を与えない相補的活性を有する。

【0501】

in vivo投与に使用される対象の製剤は滅菌されている必要がある。これは、凍結乾燥および再構成前またはその後の滅菌ろ過膜に通ずる過によって容易に達成される。あるいは、例えば約120 で約30分間、BiTE(登録商標)分子以外の成分を高圧蒸気殺菌することによって混合物全体の滅菌を達成する。

【0502】

10

20

30

40

50

タンパク質、リオプロテクタントおよび他のオプションの成分を一つに混合した後、製剤を凍結乾燥する。多数の異なる凍結乾燥装置がこの目的のために利用可能であり、例えばHu1150™ (Hu11, USA)またはGT20™ (Leybold-Heraeus, Germany)凍結乾燥装置である。凍結乾燥は、製剤を凍結し、かつその後、一次乾燥に好適な温度で凍結内容物から氷を昇華させることによって達成する。この条件下で、生成物温度は製剤の共融点または崩壊温度未満である。典型的に、一次乾燥の棚温度は、典型的に約50~250 mTorrの範囲の好適な圧力で、約-30~25 の範囲(一次乾燥中に生成物が凍結されたままである限り)である。製剤、サンプルを収納する容器(例えばガラスバイアル)のサイズおよびタイプおよび液体の容量は、乾燥に必要とされる時間に主に影響し、2、3時間~数日(例えば40-60時間)の範囲でありうる。二次乾燥段階は、主に容器のタイプおよびサイズおよび使用されるタンパク質のタイプに応じて、約0-40 で実施される。しかし、二次乾燥ステップは必要ではないことがここに発見された。例えば、凍結乾燥の水除去期全体を通じて棚温度は約15-30 (例えば約20 )である。二次乾燥に必要とされる時間および圧力は好適な凍結乾燥ケーキを生じさせる時間および圧力であり、例えば温度および他のパラメータに依存的である。二次乾燥の時間は、生成物中の所望の残留水分レベルによって影響され、典型的に少なくとも約5時間(例えば10-15時間)かかる。圧力は一次乾燥ステップ中で使用される圧力と同じであってよい。凍結乾燥条件を製剤およびバイアルサイズに応じて変化させることができる。

#### 【0503】

いくつかの場合では、移動ステップを回避するためにタンパク質の再構成を実施できる容器中でタンパク質製剤を凍結乾燥することが望ましい。この場合の容器は、例えば、3、5、10、20、50または100 ccバイアルである。

#### 【0504】

一般的な話として、凍結乾燥は、含水量が約5%未満、および好ましくは約3%未満である凍結乾燥製剤を生じさせる。

#### 【0505】

所望の段階で、典型的にBiTE(登録商標)分子を患者に投与する時点で、凍結乾燥製剤を希釈剤で再構成して、再構成製剤中のBiTE(登録商標)分子濃度が約20マイクログラム/ml~約300マイクログラム/mlの範囲であるようにすることができる。再構成製剤中の高いBiTE(登録商標)分子濃度は、再構成製剤の皮下送達が意図される場合に特に有用であると考えられる。しかし、他の投与経路、例えば静脈内投与では、再構成製剤中の低濃度のBiTE(登録商標)分子が望ましい。特定の実施形態では、再構成製剤中のタンパク質濃度は凍結乾燥前の製剤中のタンパク質濃度より顕著に高い。

#### 【0506】

再構成は、一般に、完全な水和を確保するために約25 の温度で行うが、所望であれば他の温度を用いてもよい。再構成に必要とされる時間は、例えば、希釈剤のタイプ、賦形剤(群)およびタンパク質の量に依存する。特定の実施形態では、希釈剤には、滅菌水、注射用静菌水(BWFI)、pH緩衝化溶液(例えばリン酸緩衝生理食塩水)、滅菌生理食塩水溶液、リンゲル液またはブドウ糖液が含まれる。希釈剤は場合により保存剤を含有する。保存剤の例は上に記載され、芳香族アルコール、例えばベンジルまたはフェノールアルコールが好ましい保存剤である。使用される保存剤の量は、タンパク質との適合性に関して異なる保存剤濃度を評価することおよび保存剤効力検査によって決定される。例えば、保存剤が芳香族アルコール(例えばベンジルアルコール)である場合、それは約0.1-2.0%および好ましくは約0.5-1.5%、最も好ましくは約1.0-1.2%の量で存在させることができる。

#### 【0507】

好ましくは、再構成製剤は>10ミクロンサイズの粒子を6000個/バイアル未満しか有さない。

#### 【0508】

### 5.6. BiTE(登録商標)分子の製造方法

抗原に特異的に結合するBiTE(登録商標)分子の作製は他で記載されている。Brishwein

10

20

30

40

50

K et. al., Mol. Immunol. 2006 43:1129; Drier T et. al., Int. J. Cancer 2002 100: 690; 米国特許No. 7,112,324 (各文献は参照によりその全体が組み入れられる)を参照のこと。

【0509】

抗体(その抗体断片を含む)は抗体の合成に関する技術分野において公知の任意の方法によって、特に化学合成または組換え発現技術(米国特許公開2007/0014724A1を参照のこと)によって製造することができる。

【0510】

抗原に特異的なポリクローナル抗体は当技術分野において周知の種々の手順によって製造することができる。例えば、ヒト抗原を種々の宿主動物に投与して、該ヒト抗原に特異的なポリクローナル抗体を含有する血清の生産を誘導することができ、該宿主動物には、非限定的に、ウサギ、マウス、ラット、等が含まれる。種々のアジュバントを使用して宿主の種に応じて免疫学的応答を高めてよく、アジュバントには、非限定的に、フロイント(完全および不完全)、ミネラルゲル、例えば水酸化アルミニウム、界面活性物質、例えばリゾレシチン、プルロニックポリオール(pluronic polyols)、ポリアニオン、ペプチド、油乳剤、キーホールリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、および潜在的に有用なヒトアジュバント、例えばBCG(カルメット・ゲラン桿菌(*bacille Calmette-Guerin*))および*corynebacterium parvum*が含まれる。そのようなアジュバントもまた、当技術分野において周知である。

【0511】

モノクローナル抗体は当技術分野において公知の多種多様な技術を使用して製造することができ、該技術には、ハイブリドーマの使用、組換え、およびファージディスプレイテクノロジー、またはその組み合わせが含まれる。例えば、ハイブリドーマ技術を使用してモノクローナル抗体を製造することができ、該技術には、当技術分野において公知の技術および、例えば、Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling, et al., in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981), およびHarlow et al., *Using Antibodies: A laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1999)(該参考文献は参照によりその全体が組み入れられる)で教示される技術が含まれる。本明細書中で使用される用語「モノクローナル抗体」はハイブリドーマテクノロジーによって製造された抗体に限定されない。用語「モノクローナル抗体」とは、それが製造される方法ではなく、単一のクローン(任意の真核生物、原核生物、またはファージクローンを含む)由来の抗体を表す。

【0512】

ハイブリドーマテクノロジーを使用する特異的抗体の生産およびスクリーニング方法は当技術分野において典型的でかつ周知である。簡潔に言えば、マウスを非マウス抗原で免疫することができ、免疫応答が検出され、例えば、該抗原に特異的な抗体がマウス血清中で検出されたら、マウス脾臓を回収して脾細胞を単離する。次いで、周知の技術によって、任意の好適な骨髓腫細胞、例えばATCCから入手可能なセルラインSP20由来の細胞に脾細胞を融合させる。ハイブリドーマを選択し、限定希釈によってクローン化する。加えて、RIMMS(反復免疫多重部位(*repetitive immunization multiple sites*))技術を使用して動物を免疫することができる(Kilpatrick et al., 1997, *Hybridoma* 16:381-9(該文献は参照によりその全体がここに組み入れられる))。次いで当技術分野において公知の方法によって本発明のポリペプチドに結合可能な抗体を分泌する細胞に関してハイブリドーマクローンをアッセイする。陽性ハイブリドーマクローンでマウスを免疫することによって腹水(一般に高レベルの抗体を含有する)を作製することができる。

【0513】

本発明は、モノクローナル抗体の作製方法であって、本発明の抗体を分泌するハイブリドーマ細胞を培養するステップを含む方法ならびに該方法によって生産された抗体を提供し、該ハイブリドーマは非マウス抗原で免疫されたマウスから単離された脾細胞を骨髓腫

10

20

30

40

50

細胞と融合させ、次いで融合の結果得られたハイブリドーマを、抗原に結合可能な抗体を分泌するハイブリドーマクローンに関してスクリーニングすることによって作製される。

【0514】

当業者に公知の任意の技術によって、特異的な特定のエピトープを認識する抗体断片を作製することができる。例えば、酵素、例えばパイン(Fab断片の製造)またはペプシン(F(ab')<sub>2</sub>断片の製造)を使用する、免疫グロブリン分子の、タンパク質分解による切断によって本発明のFabおよびF(ab')<sub>2</sub>断片を製造することができる。F(ab')<sub>2</sub>断片は可変領域、軽鎖定常領域および重鎖のCH1ドメインを含有する。さらに、当技術分野において公知の種々のファージディスプレイ法を使用して本発明の抗体を作製することもできる。

【0515】

ファージディスプレイ法では、機能的抗体ドメインを、それをコードするポリヌクレオチド配列を保持するファージ粒子の表面上に表示する。特に、動物cDNAライブラリー(例えば罹患組織のヒトまたはマウスcDNAライブラリー)からVHおよびVLドメインをコードするDNA配列を増幅させる。VHおよびVLドメインをコードするDNAをPCRによってscFvリンカーとともに組換え、ファージミドベクターにクローニングする。ベクターをE. coliにエレクトロポレーションし、E. coliをヘルパーファージで感染させる。これらの方法で使用されるファージは典型的にfdおよびM13を含む繊維状ファージであり、通常、VHおよびVLドメインを組換えによってファージ遺伝子IIIまたは遺伝子VIIIに融合させる。特定の抗原に結合する抗原結合ドメインを発現するファージを、抗原を用いて、例えば標識された抗原または固体表面もしくはビーズに結合しているかしくは捕捉されている抗原を使用して選択または特定することができる。本発明の抗体を作製するために使用できるファージディスプレイ法の例には、Brinkman et al., 1995, J. Immunol. Methods 182:41-50; Ames et al., 1995, J. Immunol. Methods 184:177-186; Kettleborough et al., 1994, Eur. J. Immunol. 24:952-958; Persic et al., 1997, Gene 187:9-18; Burton et al., 1994, Advances in Immunology 57:191-280; 国際出願No. PCT/GB91/01 134; 国際公開Nos. WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/11236, WO 95/15982, WO 95/20401, およびWO97/13844; および米国特許Nos. 5,698,426, 5,223,409, 5,403,484, 5,580,717, 5,427,908, 5,750,753, 5,821,047, 5,571,698, 5,427,908, 5,516,637, 5,780,225, 5,658,727, 5,733,743, 5,969,108, 6,33,187, 5,824,520, および5,702,892 (各文献は参照によりその全体がここに組み入れられる)に開示されている方法が含まれる。

【0516】

上記参考文献に記載されるように、ファージ選択後、ファージ由来の抗体コード領域を単離して、ヒト抗体を含む完全抗体または任意の他の所望の抗原結合フラグメントを作製するために使用し、かつ例えば下に記載されるような哺乳類細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、および細菌を含む任意の所望の宿主中で発現させることができる。PCT公開No. WO 92/22324; Mullinax et al., 1992, BioTechniques 12(6):864-869; Sawai et al., 1995, AJRI 34:26-34; およびBetter et al., 1988, Science 240:1041-1043 (該参考文献は参照によりその全体が組み入れられる)に開示される方法のような当技術分野において公知の方法を使用して、Fab、Fab'およびF(ab')<sub>2</sub>断片を組換え的に生産するための技術を用いることもできる。

【0517】

ヒトにおける抗体のin vivo使用およびin vitro検出アッセイを含むいくつかの使用では、ヒト化抗体を使用することが適切である。ヒト被験体の治療処置では、完全ヒト抗体およびヒト化抗体が特に望ましい。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列由来の抗体ライブラリーを使用する上記ファージディスプレイ法を含む当技術分野において公知の種々の方法によって作製することができる。また、米国特許Nos. 4,444,887および4,716,111; および国際公開Nos. WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735, およびWO 91/10741 (各文献は参照によりその全体がここに組み入れられる)を参照のこと。

10

20

30

40

50

## 【0518】

ヒト抗体は、機能的な内因性免疫グロブリンを発現できないがヒト免疫グロブリン遺伝子を発現できるトランスジェニックマウスを使用して製造することもできる。例えば、ヒト重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子複合体をランダムにまたは相同組換えによってマウス胚性幹細胞に導入することができる。あるいは、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子に加えて、ヒト可変領域、定常領域、およびダイバーシティ領域(diversity region)をマウス胚性幹細胞に導入することができる。相同組換えによるヒト免疫グロブリン遺伝子座の導入によって、マウス重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子を別々にまたは同時に非機能的にすることができる。特に、JH領域のホモ接合型欠失は内因性抗体生産を妨げる。改変された胚性幹細胞をエクスパンドし、胚盤胞にマイクロインジェクションして、キメラマウスを得る。次いでキメラマウスを繁殖させて、ヒト抗体を発現するホモ接合型の子孫を得る。トランスジェニックマウスを選択抗原、例えば本発明のポリペプチドの全体または部分で通常の様式で免疫する。慣用のハイブリドーマテクノロジーを使用して、免疫されたトランスジェニックマウスから抗原を標的にするモノクローナル抗体を得ることができる。トランスジェニックマウスによって保持されたヒト免疫グロブリン導入遺伝子はB細胞分化中に再構成し、次いでクラススイッチおよび体細胞突然変異を受ける。ゆえに、そのような技術を使用して、治療的に有用なIgG、IgA、IgMおよびIgE抗体を製造することが可能である。ヒト抗体を製造するためのこのテクノロジーの概要に関しては、Lonberg and Huzar (1995, Int. Rev. Immunol. 13:65-93)を参照のこと。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を製造するためのこのテクノロジーについての詳細な考察およびそのような抗体を製造するためのプロトコルに関しては、例えば、国際公開Nos. WO 98/24893, WO 96/34096, およびWO 96/33735; および米国特許Nos. 5,413,923, 5,625,126, 5,633,425, 5,569,825, 5,661,016, 5,545,806, 5,814,318, および5,939,598 (該文献は参照によりその全体がここに組み入れられる)を参照のこと。さらに、Abgenix, Inc. (Freemont, CA)およびGenpharm (San Jose, CA)等の企業は、上記テクノロジーと類似のテクノロジーを使用して、選択抗原を標的にするヒト抗体を提供するために従事することができる。

10

20

## 【0519】

ヒト化抗体は、あらかじめ決められた抗原に結合可能でかつ実質的にヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有するフレームワーク領域および実質的に非ヒト免疫グロブリン(immunoglobulin)のアミノ酸配列を有するCDRを含む抗体またはその変異体または断片である。ヒト化抗体は少なくとも1つ、および典型的に2つの可変ドメインの実質的に全体を含み(Fab、Fab', F(ab')<sub>2</sub>、Fabc、Fv)、該可変ドメインでは、CDR領域の全体または実質的に全体は非ヒト免疫グロブリン(すなわちドナー抗体)のものに対応し、かつフレームワーク領域の全体または実質的に全体はヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである。一実施形態では、ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域(Fc)(典型的にヒト免疫グロブリンの定常領域)の少なくとも一部分を含む。通常、抗体は軽鎖、ならびに重鎖の少なくとも可変ドメインをととも含有する。また、該抗体は、重鎖のCH1、ヒンジ、CH2、CH3、およびCH4領域を含んでよい。ヒト化抗体は、IgM、IgG、IgD、IgAおよびIgEを含む任意のクラスの免疫グロブリンおよびIgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>およびIgG<sub>4</sub>を含む任意のアイソタイプから選択することができる。ヒト化抗体が細胞傷害活性を示すことが望ましい場合、通常、定常ドメインは補体結合定常ドメインであり、かつクラスは典型的にIgG<sub>1</sub>である。そのような細胞傷害活性が望ましくない場合、定常ドメインはIgG<sub>2</sub>クラスの定常ドメインであってよい。ヒト化抗体は2つ以上のクラスまたはアイソタイプ由来の配列を含んでよく、所望のエフェクター機能を最適化するために特定の定常ドメインを選択することは当技術分野における通常の技術の範囲内である。ヒト化抗体のフレームワークおよびCDR領域は親配列に正確に一致する必要はなく、例えば、ドナーCDRまたはコンセンサスフレームワークを、少なくとも1残基の置換、挿入または欠失によって突然変異誘発して、該部位のCDRまたはフレームワーク残基がコンセンサスまたはインポート抗体と一致しないようにすることができる。しかし、そのような突然変異は大規模ではない。通常、ヒト化抗体残基の少なくとも75%は親フレームワークおよびCDR配列の残基と一致し、たいてい90%であり、9

30

40

50

5%を超える。ヒト化抗体は当技術分野において公知の種々の技術を使用して製造することができ、該技術には、非限定的に、CDR移植(欧州特許第239,400号; 国際公開No. WO 91/09967; および米国特許第5,225,539号、第5,530,101号および第5,585,089号)、ベニアリング(veneering)またはリサーフェシング(resurfacing)(欧州特許第592,106号および第519,596号; Padlan, 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498; Studnicka et al., 1994, *Protein Engineering* 7(6):805-814; およびRoguska et al., 1994, *PNAS* 91:969-973)、チェーンシャuffling(chain shuffling)(米国特許第5,565,332号)、および例えば、米国特許第6,407,213号、米国特許第5,766,886号、WO 9317105, Tan et al., *J. Immunol.* 169:1119-25 (2002), Caldas et al., *Protein Eng.* 13(5):353-60 (2000), Morea et al., *Methods* 20(3):267-79 (2000), Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272(16):10678-84 (1997), Roguska et al., *Protein Eng.* 9(10):895-904 (1996), Couto et al., *Cancer Res.* 55 (23 Supp):5973s - 5977s (1995), Couto et al., *Cancer Res.* 55(8):1717-22 (1995), Sandhu JS, *Gene* 150(2):409-10 (1994), およびPedersen et al., *J. Mol. Biol.* 235(3):959-73 (1994)に開示されている技術が含まれる。フレームワーク領域中のフレームワーク残基を、CDRドナー抗体由来の対応する残基で置換して、抗原結合性を変化させ、好ましくは改良することがよくある。これらのフレームワーク置換は、当技術分野において周知の方法によって特定され、例えば、非限定的に、抗原結合に重要なフレームワーク残基を特定するためのCDRとフレームワーク残基の相互作用のモデリングおよび特定の位置での異常なフレームワーク残基を特定するための配列比較によって特定される(例えばQueen et al., 米国特許No. 5,585,089; およびRiechmann et al., 1988, *Nature* 332:323 (該文献は参照によりその全体がここに組み入れられる)を参照のこと)。

#### 【0520】

単ドメイン抗体、例えば、軽鎖を欠いている抗体は、当技術分野において周知の方法によって製造することができる。Riechmann et al., 1999, *J. Immunol.* 231:25-38; Nuttall et al., 2000, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 1(3):253-263; Muylderma, 2001, *J. Biotechnol.* 74(4):277302; 米国特許第6,005,079号; および国際公開Nos. WO 94/04678, WO 94/25591, およびWO 01/44301 (各文献は参照によりその全体がここに組み入れられる)を参照のこと。

#### 【0521】

### 5.7. 二重特異性抗体の組換え発現

二重特異性抗体(例えばBiTE(登録商標)<sup>TM</sup>)は、当業者に公知の任意の方法によって製造することができ、該方法には、非限定的に、米国特許第7,112,324号(該文献は参照によりその全体がここに組み入れられる)に記載の化学合成または組換え発現技術が含まれる。

#### 【0522】

BiTE(登録商標)分子をコードするポリヌクレオチドを単独でまたはベクターの部分として使用して、BiTE(登録商標)分子を細胞中で発現させることができる。BiTE(登録商標)分子をコードするDNA配列(群)を含有するポリヌクレオチドまたはベクターを宿主細胞に導入し、次いで該宿主細胞は目的のポリペプチド(例えばMT103)を生産する。したがって、BiTE(登録商標)分子の組換え発現は、該抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構築を必要とする。特定のBiTE(登録商標)分子をコードするポリヌクレオチドを当技術分野において公知の任意の方法によって取得およびシーケンシングすることができる。例えば、本発明の方法で使用されるBiTE(登録商標)分子をコードするポリヌクレオチドを、化学合成されたオリゴヌクレオチドから(例えばKutmeier et al., 1994, *BioTechniques* 17:242に記載されるように)組立てることができる。それは、簡潔に言えば、該ポリペプチドをコードする配列の断片を含有するオーバーラップオリゴヌクレオチドの合成、該オリゴヌクレオチドのアニールングおよびライゲーション、およびライゲートされたオリゴヌクレオチドの、PCRによる増幅を含む。

#### 【0523】

BiTE(登録商標)分子をコードするポリヌクレオチドが得られたら、当技術分野において周知の技術を使用する組換えDNAテクノロジーによって抗体分子の生産のためのベクター

を製造することができる。ゆえに、抗体をコードするヌクレオチド配列を含有するポリヌクレオチドを発現させることによってタンパク質を製造するための方法をここに記載する。当業者に周知の方法を使用して、抗体をコードする配列および適切な転写および翻訳調節シグナルを含有する発現ベクターを構築することができる。これらの方法には、例えば、*in vitro*組換えDNA技術、合成技術、および*in vivo*遺伝子組換えが含まれる。

#### 【0524】

発現ベクターを慣用の技術によって宿主細胞に導入し、トランスフェクトされた細胞を慣用の技術によって培養して、BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)を生産させる。種々の宿主・発現ベクター系を利用して、BiTE(登録商標)分子を発現させることができる(例えば米国特許No. 5,807,715を参照のこと)。そのような宿主・発現系は、目的のコード配列を生産し、次いで精製するためのビヒクルであり、配列をコードする適切なヌクレオチドで形質転換またはトランスフェクトされた場合に、*in situ*で本発明の抗体分子を発現する細胞でもある。これらには、非限定的に、抗体をコードする配列を含有する組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNAまたはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌(例えば*E. coli*および*B. subtilis*)等の微生物; 抗体をコードする配列を含有する組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母(例えば*Saccharomyces Pichia*); 抗体をコードする配列を含有する組換えウイルス発現ベクター(例えばバキュロウイルス)で感染させた昆虫細胞系; 組換えウイルス発現ベクター(例えばカリフラワーモザイクウイルス、CaMV; タバコモザイクウイルス、TMV)で感染させたかまたは抗体をコードする配列を含有する組換えプラスミド発現ベクター(例えばTiプラスミド)で形質転換された植物細胞系; または哺乳類細胞のゲノム由来のプロモーター(例えばメタロチオネインプロモーター)または哺乳類ウイルス由来のプロモーター(例えばアデノウイルス後期プロモーター; ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター)を含有する組換え発現構築物を保持する哺乳類細胞系(例えば、COS、CHO、BHK、293、NS0、および3T3細胞)が含まれる。組換え抗体分子の発現に*Escherichia coli*等の細菌細胞を使用してよい。組換え抗体分子の発現に真核細胞を使用してもよい。例えば、ヒトサイトメガロウイルス由来の主要な中間初期遺伝子プロモーター要素等のベクターと組み合わせたチャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)等の哺乳類細胞は有効な抗体発現系である(Foecking et al., 1986, Gene 45:101; およびCockett et al., 1990, BioTechnology 8:2)。特定の例では、BiTE(登録商標)分子をコードするヌクレオチド配列の発現を構成的プロモーター、誘導性プロモーターまたは組織特異的プロモーターによって制御する。あるいは、トランスジェニック植物発現系、例えば米国特許No. 6,040,498、1999年2月18日に公開された国際出願(WO 99/07210)、および2002年2月7日に公開された国際出願(WO 02/10414)で開示されているLEX System<sup>TM</sup>において本発明のポリヌクレオチドを発現させることができる。利用できる別のトランスジェニック植物発現系は、米国特許第5,202,422; 5,639,947; 5,959,177; および6,417,429号に記載のPlantibodies<sup>TM</sup>テクノロジーである。

#### 【0525】

細菌系では、発現される分子の意図される用途に応じて、いくつかの発現ベクターを好都合に選択することができる。例えば、BiTE(登録商標)分子の医薬組成物の作製のために大量の該タンパク質を製造しようとする場合、容易に精製できる高レベルの融合タンパク質産物の発現を導くベクターが望ましい。そのようなベクターには、非限定的に、*E. coli*発現ベクター-pUR278 (Ruther et al., 1983, EMBO 12:1791)(該ベクターでは、BiTE(登録商標)分子をコードする配列を*lac Z*コード領域とインフレームでベクターに個別にライゲートして、融合タンパク質が生産されるようにする); pINベクター(Inouye & Inouye, 1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109; Van Heeke & Schuster, 1989, J. Biol. Chem. 24:5503-5509); 等が含まれる。pGEXベクターを使用して、グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)との融合タンパク質として外来ポリペプチドを発現させてもよい。一般に、そのような融合タンパク質は可溶性であり、マトリックスグルタチオン・アガロースビーズへの吸着および結合、およびその後の遊離グルタチオンの存在下での溶出によって、溶解された細胞から容易に精製することができる。pGEXベクターは、クローニングされた

10

20

30

40

50

標的遺伝子産物をGST部分から遊離させることができるよう、トロンピンまたは因子Xaプロテアーゼ切断部位を含むように設計される。本発明のポリヌクレオチドを発現させるために使用してよい別の微生物系はPfenex Expression Technologyであり、Squires et al., BioProcess Int'l p. 54 Dec 2004; およびSquires et al., Specialty Chemicals July/August 2004に記載されるように該テクノロジーはPseudomonas fluorescensの新規株に基づく。

**【0526】**

昆虫系では、Autographa californica核多角体病ウイルス(AcNPV)をベクターとして使用して外来遺伝子を発現させる。該ウイルスはSpodoptera frugiperda細胞中で成長する。BiTE(登録商標)分子をコードする配列を該ウイルスの非必須領域(例えばポリヘドリン(polyhedrin)遺伝子)に個別にクローニングし、AcNPVプロモーター(例えばポリヘドリンプロモーター)のコントロール下に配置することができる。

10

**【0527】**

哺乳類宿主細胞では、いくつかのウイルスベースの発現系を利用することができる。アデノウイルスが発現ベクターとして使用される場合、目的のBiTE(登録商標)分子をコードする配列をアデノウイルス転写/翻訳コントロール複合体、例えば後期プロモーターおよびトリパートイト(tripartite)リーダー配列にライゲートすることができる。次いで、このキメラ遺伝子をin vitroまたはin vivo組換えによってアデノウイルスゲノムに挿入することができる。ウイルスゲノムの非必須領域(例えば領域EIまたはE3)への挿入の結果、感染宿主中で生存可能かつBiTE(登録商標)分子を発現可能な組換えウイルスが生じる(例えばLogan & Shenk, 1984, PNAS 81:355-359を参照のこと)。挿入された抗体をコードする配列の効率的翻訳のために特定の開始シグナルが必要とされることもある。これらのシグナルにはATG開始コドンおよび隣接配列が含まれる。さらに、挿入物全体の翻訳を確保するために、開始コドンは所望のコード配列のリーディングフレームと同相である必要がある。これらの外因性翻訳調節シグナルおよび開始コドンは種々の起源であってよく、天然および合成の両者であってよい。適切な転写エンハンサー要素、転写ターミネーター、等を含ませることによって発現の効率を高めることができる(例えばBittner et al., 1987, Methods in Enzymol. 153:516-544を参照のこと)。

20

**【0528】**

さらに、挿入された配列の発現をモジュレートするかまたは遺伝子産物を所望の特定の様式で改変およびプロセッシングする宿主細胞株を選択することができる。タンパク質産物のそのような改変(例えばグリコシル化)およびプロセッシング(例えば切断)はタンパク質の機能に関して重要である。異なる宿主細胞は、タンパク質および遺伝子産物の翻訳後プロセッシングおよび改変のための特徴的かつ特異的な機構を有する。発現される外来タンパク質の正しい改変およびプロセッシングを確保するために適切なセルラインまたは宿主系を選択することができる。この目的を達成するために、一次転写物の適正なプロセッシング、遺伝子産物のグリコシル化およびリン酸化のための細胞機構を有する真核生物の宿主細胞を使用することができる。そのような哺乳類宿主細胞には、非限定的にCHO、VERO、BHK、HeLa、COS、MDCK、293、3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20、NS1、およびT47D、NS0(いかなる免疫グロブリン鎖も内因的に生産しないマウス骨髄腫セルライン)、CRL7030およびHsS78BsT-細胞が含まれる。

30

40

**【0529】**

組換えタンパク質の長期間の高収率生産のために、安定な発現が好ましい。例えば、抗体分子を安定に発現するセルラインを操作する。ウイルスの複製起点を含有する発現ベクターを使用するのではなく、適切な発現調節領域(例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位、等)、および選択マーカーによってコントロールされるDNAで宿主細胞を形質転換することができる。外来DNAの導入後、操作された細胞を強化培地中で1-2日成長させ、次いで選択培地に切り替える。組換えプラスミド中の選択マーカーは選択に対する耐性を付与し、細胞の染色体にプラスミドを安定に組み込ませ、該細胞を成長させて増殖巣を形成させ、次いでそれをクローニングし、エク

50

スパンドしてセルラインにすることができる。この方法は、BiTE(登録商標)分子を発現するセルラインを操作するために好都合に使用することができる。そのような操作されたセルラインは、BiTE(登録商標)分子と直接または間接的に相互作用する組成物のスクリーニングおよび評価において特に有用である。

#### 【0530】

いくつかの選択系を使用することができ、それには、非限定的に、単純ヘルペスウイルススチミジンキナーゼ(Wigler et al., 1977, Cell 11:223)、グルタミンシンターゼ、ヒボ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(Szybalska & Szybalski, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202)、およびアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(Lowy et al., 1980, Cell 22:8-17)遺伝子(それぞれtk-、gs-、hgprt-またはaprt-細胞において用いることができる)が含まれる。また、以下の遺伝子に関する選択の基礎として代謝拮抗剤耐性を使用することができる: dhfr (メトトレキセートに対する耐性を付与する)(Wigler et al., 1980, PNAS 77:357; O'Hare et al., 1981, PNAS 78:1527); gp t (ミコフェノール酸に対する耐性を付与する)(Mulligan & Berg, 1981, PNAS 78:2072); neo (アミノグリコシドG-418に対する耐性を付与する)(Wu and Wu, 1991, Biotherapy 3:87; Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573; Mulligan, 1993, Science 260:926; およびMorgan and Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62: 191; May, 1993, TIB TECH 11:155-); およびhygro (ハイグロマイシンに対する耐性を付与する)(Santerre et al., 1984, Gene 30:147)。組換えDNAテクノロジーの技術分野において一般に公知の方法を所望の組換えクローンの選択に典型的に適用することができ、該方法は、例えば、Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990); およびin Chapters 12 and 13, Dracopoli et al. (eds), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994); Colberre-Garapin et al., 1981, J. Mol. Biol. 150:1 (該文献は参照によりその全体がここに組み入れられる)に記載されている。

#### 【0531】

抗体分子の発現レベルをベクター増幅によって高めることができる(レビューに関して、Bebington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol.3. (Academic Press, New York, 1987)を参照のこと)。抗体を発現するベクター系のマーカーが増幅可能である場合、宿主細胞の培養物中に存在するインヒビターレベルの増加はマーカー遺伝子のコピー数を増加させる。増幅領域は抗体遺伝子と関連しているため、BiTE(登録商標)分子の生産もまた増加する(Crouse et al., 1983, Mol. Cell. Biol. 3:257)。

#### 【0532】

BiTE(登録商標)分子(例えばBiTE(登録商標))が組換え発現によって生産されたら、免疫グロブリン分子の精製のための当技術分野において公知の任意の方法によって、例えば、クロマトグラフィー(例えば、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、およびサイズ排除クロマトグラフィー)、遠心分離、溶解度差、またはタンパク質精製のための任意の他の標準的技術によってそれを精製することができる。さらに、BiTE(登録商標)分子を、タンパク質精製を容易するための当技術分野において公知の異種ポリペプチド配列に融合させることができる。

#### 【0533】

### 5.8. BiTE(登録商標)分子の精製および単離

組換え生産されたBiTE(登録商標)分子(例えばBiTE(登録商標)TM)は、当業者に公知の任意の方法によって精製することができ、該方法には、非限定的に、米国特許第7,112,324号(該文献は参照によりその全体がここに組み入れられる)に記載のクロマトグラフィー技術が含まれる。

#### 【0534】

組換え技術を使用する場合、BiTE(登録商標)分子を、細胞内、ペリプラズム間隙で生産

させるか、または培地に直接に分泌させることができる。BiTE(登録商標)分子が細胞内で生産された場合、第1ステップとして、粒子状の細片、宿主細胞または溶解された断片を例えば遠心分離または限外ろ過によって除去する。Carter et al., *Bio/Technology*, 10:163-167 (1992)では、*E. coli*のペリプラズム間隙に分泌されたBiTE(登録商標)分子を単離するための手順が記載されている。簡潔に言えば、酢酸ナトリウム(pH 3.5)、EDTA、およびフェニルメチルスルホニルフルオライド(PMSF)の存在下で約30分かけて細胞ペーストを解凍する。遠心分離によって細胞片を除去することができる。BiTE(登録商標)分子の突然変異体を培地中に分泌させた場合、一般にまず、市販のタンパク質濃縮フィルター、例えばAmiconまたはMillipore Pellicon限外ろ過ユニットを使用してそのような発現系由来の上清を濃縮する。任意の前記ステップでプロテアーゼインヒビター、例えばPMSFを加えてタンパク質分解を阻害してよく、抗生物質を加えて外来混入物の生育を妨げてよい。

10

#### 【0535】

細胞から調製されたBiTE(登録商標)分子の組成物を、例えば、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、疎水的相互作用クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、および/またはアフィニティークロマトグラフィーを単独でまたは他の精製ステップと組み合わせて使用して精製することができる。親和性リガンドとしてのプロテインAの適合性は、抗体突然変異体中に存在する任意の免疫グロブリンFcドメインの種およびアイソタイプに依存する。プロテインAを使用してヒト 1、2、または4重鎖に基づく抗体を精製することができる(Lindmark et al., *J. Immunol. Methods*, 62:1-13 (1983))。すべてのマウスアイソタイプおよびヒト 3に関してはプロテインGが推奨される(Guss et al., *EMBO J.*, 5:1567-1575 (1986))。親和性リガンドを結合させるマトリックスはたいていアガロースであるが、他のマトリックスも利用可能である。機械的に安定なマトリックス、例えば制御多孔性ガラス(controlled pore glass)またはポリ(スチレンジビニル)ベンゼンは、アガロースの場合に達成されるより速い流速およ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樹脂(J.T. Baker, Phillipsburg, NJ)が精製に有用である。回収対象の抗体に応じて、他のタンパク質精製技術、例えばイオン交換カラム、エタノール沈殿、逆相HPLC、シリカでのクロマトグラフィー、ヘパリンでのクロマトグラフィー、アニオンまたはカチオン交換樹脂でのSEPHAROSEクロマトグラフィー(例えばポリアスパラギン酸カラム)、等電点電気泳動、SDS-PAGE、および硫酸塩析での分画もまた利用可能である。

20

30

#### 【0536】

任意の予備精製ステップ(群)の後、目的のBiTE(登録商標)分子および混入物を含む混合物を、約2.5-4.5の範囲のpHの溶出バッファーを使用しかつ低塩濃度(例えば約0-0.25 M塩)で実施される低pHの疎水的相互作用クロマトグラフィーに付することができる。

#### 【0537】

### 5.9. 投与および用量

ヒト患者への本発明の製剤の投与は任意の経路による投与であってよく、該経路には、非限定的に静脈内、皮内、経皮、皮下、筋肉内、吸入(例えばエアロゾルを介する吸入)、頬側(例えば舌下)、局所(すなわち皮膚および粘膜の両者の表面(気道表面を含む))、くも膜下腔内、関節内、胸膜内(intraplural)、脳内、動脈内、腹腔内、経口、リンパ管内、鼻腔内、経直腸または経膈投与、局所カテーテル経由の灌流による投与、または病巣内直接注射による投与が含まれる。一実施形態では、一定の期間(例えば0.5~4時間)にわたって施される静脈内プッシュまたは静脈内注入によって本発明の製剤を投与する。別の実施形態では、一定の期間(例えば4~40日)にわたって施される持続静脈内注入によって本発明の製剤を投与する。本発明の組成物を蠕動手段によってまたはデポーの形式で送達することができるが、任意の所定の場合に最も好適な経路は、当技術分野において周知のように、被験体の種、年齢、性別およびトータルの状態、治療対象の症状の性質および重症度および/または投与される対象の具体的製剤(すなわち用量)の性質等の要因に依存する。特定の実施形態では、投与経路は、一定期間にわたる週1回または2回のボーラスまたは持続注入による経路である。他の特定の実施形態では、投与経路は、場合により毎週1回ま

40

50

たは2回の皮下注射による経路である。一実施形態では、本発明の組成物、および/または方法は外来患者ベースで施すことができる。

【0538】

特定の実施形態では、本発明の製剤は凍結乾燥製剤である。凍結乾燥製剤は、凍結乾燥ケーキを希釈剤中で溶解させることによって液体製剤に再構成される。特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤の再構成に使用してよい希釈剤には、非限定的に、滅菌水、注射用静菌水(BWFI)、pH緩衝化溶液(例えばリン酸緩衝生理食塩水)、滅菌生理食塩水溶液、リンゲル液またはブドウ糖液が含まれる。別の実施形態では、希釈剤には、塩および/またはバッファの水性溶液が含まれる。

【0539】

特定の実施形態では、本発明の再構成製剤を患者への投与前にさらに希釈することができる。再構成製剤は、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約5倍、少なくとも約10倍、少なくとも約20倍、少なくとも約30倍、少なくとも約40倍、少なくとも約50倍、少なくとも約60倍、少なくとも約70倍、少なくとも約80倍、少なくとも約90倍、少なくとも約100倍、少なくとも約150倍、少なくとも約200倍、少なくとも約250倍、少なくとも約300倍、少なくとも約500倍、または少なくとも約1000倍希釈することができる。

【0540】

特定の実施形態では、本発明の再構成製剤を患者への投与前に希釈することができる。本発明の再構成製剤は、例えば、非限定的に、pH緩衝化溶液(例えばリン酸緩衝生理食塩水)、滅菌生理食塩水溶液、リンゲル液またはブドウ糖液中で希釈することができる。本発明の再構成製剤の希釈に使用される溶液は、追加の賦形剤、例えば、非限定的に、タンパク質(例えば、非限定的に、血清アルブミン)、アミノ酸(例えば、非限定的に、アスパラギン酸、グルタミン酸、リシン、アルギニン、グリシン)、界面活性剤(例えば、非限定的に、SDS、Tween 20、Tween 80、ポリソルベート、ポリソルベート80および非イオン性界面活性剤)、サッカライド(例えば、非限定的に、グルコース、ショ糖、マルトースおよびトレハロース)、ポリオール(例えば、非限定的に、マンニトールおよびソルビトール)、脂肪酸およびリン脂質(例えば、非限定的に、アルキルスルホナートおよびカプリラート)をさらに含んでよい。別の実施形態では、リシンHClおよびポリソルベート80を含む緩衝化生理食塩水溶液で本発明の再構成製剤を希釈することができる。特定の実施形態では、約25 mMリシンHClおよび0.02%ポリソルベート80を含む生理食塩水溶液中に本発明の再構成製剤を希釈することができる。

【0541】

特定の実施形態では、本発明の製剤は皮下投与される。皮下送達されたBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティは、一般に、静脈内送達されたBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティより低い。本発明は、製剤が皮下送達された場合にBiTE(登録商標)分子の高いバイオアベイラビリティを生じさせるBiTE(登録商標)製剤を提供する。特定の実施形態では、本発明の製剤の皮下送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティは、同用量の製剤の静脈内送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティの約10%~約90%の範囲、約10%~約75%の範囲、約10%~約60%の範囲、約20%~約60%の範囲、または約10%~約50%の範囲である。特定の実施形態では、本発明の製剤の皮下送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティは、同用量の製剤の静脈内送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティの少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、または少なくとも約90%である。特定の実施形態では、本発明の製剤の皮下送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティは、同用量の製剤の静脈内送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティの約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、または約90%である。特定の実施形態では、本発明の製剤の皮下送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティは、同用量の製剤

10

20

30

40

50

の静脈内送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティの約10%である。特定の  
実施形態では、本発明の製剤の皮下送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリ  
ティは、同用量の製剤の静脈内送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティの約  
20%である。特定の実施形態では、本発明の製剤の皮下送達後のBiTE(登録商標)分子のバ  
イオアベイラビリティは、同用量の製剤の静脈内送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオ  
アベイラビリティの約30%である。特定の実施形態では、本発明の製剤の皮下送達後のBiTE(  
登録商標)分子のバイオアベイラビリティは、同用量の製剤の静脈内送達後のBiTE(登録商  
標)分子のバイオアベイラビリティの約40%である。特定の実施形態では、本発明の製剤の  
皮下送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティは、同用量の製剤の静脈内送  
達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティの約50%である。特定の実施形態で  
は、本発明の製剤の皮下送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティは、同用  
量の製剤の静脈内送達後のBiTE(登録商標)分子のバイオアベイラビリティの約60%である  
。

10

#### 【0542】

特定の実施形態では、BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)を含む製剤の用量はmg/患者体  
重kgの単位で示される。他の実施形態では、BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)を含む製  
剤の用量はmg/患者除脂肪体重kg(すなわち体重マイナス体脂肪含量)単位で示される。さら  
に他の実施形態では、BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)を含む製剤の用量はmg/患者体  
表面積 $m^2$ の単位である。さらに他の実施形態では、BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)を  
含む製剤を含む組成物の用量は患者に投与される用量あたりのmgの単位で示される。用量  
の任意の計量値を本発明の組成物および方法と組み合わせて使用することができ、当技術  
分野において標準的な手段によって用量単位を変換することができる。

20

#### 【0543】

用量は、被験体の年齢、性別、種および症状(例えばB細胞悪性腫瘍の病期)、細胞枯渇  
の所望の程度、治療対象の疾患および/または使用される具体的なBiTE(登録商標)分子を  
含むいくつかの要因に基づいて選択でき、当業者が決定できることを当業者は認識する。  
例えば、*in vitro*試験系または動物モデル(例えばコトンラットまたはサル)試験系から  
得られた用量反応曲線から本発明の組成物の有効量を外挿することができる。BiTE(登録  
商標)分子の効果を評価するためのモデルおよび方法は当技術分野において公知である(Wo  
oldridge et al., Blood, 89(8): 2994-2998 (1997)(該文献は参照によりその全体がここ  
に組み入れられる))。特定の実施形態では、特定のB細胞悪性腫瘍に関して、抗体治療の  
技術分野において標準的な治療計画を本発明の製剤および方法とともに使用することがで  
きる。

30

#### 【0544】

本発明の方法において使用できる投薬計画の例には、非限定的に、毎日、毎週3回(間欠  
性)、毎週、または14日毎が含まれる。特定の実施形態では、投薬計画には、非限定的に  
、毎月の投薬または6-8週毎の投薬が含まれる。

#### 【0545】

初期治療では、維持治療計画と比較して高用量であり、かつ/または投与頻度が高いこ  
とを当業者は認識する。

40

#### 【0546】

特定の実施形態では、(場合により医薬組成物の部分として製薬的に許容される担体中  
の)BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の用量は、少なくとも約0.0005、0.001、0.01、0.0  
2、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.25、0.375、0.5、1、2.5、5、1  
0、20、37.5、または50  $mg/m^2$ および/または約500、475、450、425、400、375、350、325  
、300、275、250、225、200、175、150、125、100、75、60、50、37.5、20、15、10、5、  
2.5、1、0.5、0.375、0.2、0.1、0.09、0.08、0.075、0.05、0.04、0.03、0.02、または0  
.01  $mg/m^2$ 未満である。特定の実施形態では、該用量は、約0.0005~約200  $mg/m^2$ の範囲、  
約0.001~150  $mg/m^2$ の範囲、約0.01~100  $mg/m^2$ の範囲、約0.05~50  $mg/m^2$ の範囲、約0.0  
5~25  $mg/m^2$ の範囲、約0.05~10  $mg/m^2$ の範囲、および約0.05~5  $mg/m^2$ の範囲である。関

50

連の実施形態では、使用されるBiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の用量は、少なくとも約0.0001、0.0005、0.001、0.0025、0.005、0.0075、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1、1.05、1.1、1.15、1.2、1.25、1.3、1.35、1.4、1.45、1.5、1.55、1.6、1.65、1.7、1.75、1.8、1.85、1.9、1.95、2、3、5 mg/患者の体重kgである。特定の実施形態では、使用されるBiTE(登録商標)分子の用量は、少なくとも約0.1~1、0.5~1.5、1~2、または1.5~2.5マイクログラム/患者の体重kgである。特定の実施形態では、使用される二重特異性の用量は、少なくとも約0.1~2、0.3~5、または0.5~10マイクログラム/患者の体重kgである。他の実施形態では、使用されるBiTE(登録商標)分子の用量は、少なくとも約0.1、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、2、5、または10マイクログラム/患者の体重kgである。特定の実施形態では、(場合により医薬製剤の部分として製薬的に許容される担体中の) BiTE(登録商標)分子の単一の投与単位は、少なくとも約0.5、1、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158、160、162、164、166、168、170、172、174、176、178、180、182、184、186、188、190、192、194、196、198、200、204、206、208、210、212、214、216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、236、238、240、242、244、246、248、または250マイクログラム/m<sup>2</sup>であってよい。他の実施形態では、用量は1回の投与単位あたり1 gまでである。

【 0 5 4 7 】

本発明の特定の実施形態では、CD19xCD3二重特異性抗体(例えばMT103)はB細胞に結合し、B細胞の効率的な(すなわち低用量での)枯渇を生じさせる。患者B細胞の表面上のヒトCD19の密度が高い場合に高い程度の結合が達成される。特定の実施形態では、(場合により医薬組成物の部分として製薬的に許容される担体中の) MT103 (例えばMT103)の用量は、少なくとも約0.0005、0.001、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.25、0.375、0.5、1、2.5、5、10、20、37.5、または50 mg/m<sup>2</sup>および/または約500、475、450、425、400、375、350、325、300、275、250、225、200、175、150、125、100、75、60、50、37.5、20、15、10、5、2.5、1、0.5、0.375、0.2、0.1、0.09、0.08、0.075、0.05、0.04、0.03、0.02、または0.01 mg/m<sup>2</sup>未満である。特定の実施形態では、該用量は、約0.0005~約200 mg/m<sup>2</sup>の範囲、約0.001~150 mg/m<sup>2</sup>の範囲、約0.01~100 mg/m<sup>2</sup>の範囲、約0.05~50 mg/m<sup>2</sup>の範囲、約0.05~25 mg/m<sup>2</sup>の範囲、約0.05~10 mg/m<sup>2</sup>の範囲、および約0.05~5 mg/m<sup>2</sup>の範囲である。関連の特定の実施形態では、使用されるMT103の用量は、少なくとも約0.0001、0.0005、0.001、0.0025、0.005、0.0075、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1、1.05、1.1、1.15、1.2、1.25、1.3、1.35、1.4、1.45、1.5、1.55、1.6、1.65、1.7、1.75、1.8、1.85、1.9、1.95、2、3、5 mg/患者の体重kgである。特定の具体的実施形態では、使用されるMT103の用量は、少なくとも約0.1~1、0.5~1.5、1~2、または1.5~2.5マイクログラム/患者の体重kgである。特定の具体的実施形態では、使用されるMT103の用量は、少なくとも約0.1~2、0.3~5、または0.5~10マイクログラム/患者の体重kgである。他の具体的実施形態では、使用されるMT103の用量は、少なくとも約0.1、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、2、5、または10マイクログラム/患者の体重kgである。特定の具体的実施形態では、(場合により医薬製剤の部分として製薬的に許容される担体中の) MT103の単一の投与単位は、少なくとも約0.5、1、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158、160、162、164、166、168、170、172、174、17

10

20

30

40

50

6、178、180、182、184、186、188、190、192、194、196、198、200、204、206、208、210、212、214、216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、236、238、240、242、244、246、248、または250マイクログラム/m<sup>2</sup>であってよい。他の具体的実施形態では、用量は単一の投与単位あたり1 gまでである。

【0548】

本発明の方法のいくつかの実施形態では、本発明の製剤は、約375 mg/m<sup>2</sup>より低いBiTE(登録商標)分子の用量で；約37.5 mg/m<sup>2</sup>より低い用量で；約0.375 mg/m<sup>2</sup>より低い用量で；約0.0375 mg/m<sup>2</sup>より低い用量で；および/または約0.015 mg/m<sup>2</sup>～約125 mg/m<sup>2</sup>の範囲の用量で投与することができる。本発明の方法の特定の実施形態では、投与計画は低用量を含み、それは反復した間隔で投与される。例えば、一実施形態では、本発明の製剤は、約0.375 mg/m<sup>2</sup>より低い用量で約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、または200日毎の間隔で投与することができる。本発明の方法の別の実施形態では、投与計画は低用量を含み、それは持続静脈内注入によって投与される。例えば、一実施形態では、本発明の組成物は、約0.375 mg/m<sup>2</sup>より低い用量で、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、または200日間投与することができる。

10

【0549】

本発明の方法の特定の実施形態では、本発明のMT103製剤は、約375 mg/m<sup>2</sup>より低いBiTE(登録商標)分子の用量で；約37.5 mg/m<sup>2</sup>より低い用量で；約0.375 mg/m<sup>2</sup>より低い用量で；約0.0375 mg/m<sup>2</sup>より低い用量で；および/または約0.015 mg/m<sup>2</sup>～約125 mg/m<sup>2</sup>の範囲の用量で投与することができる。本発明の方法の特定の具体的実施形態では、投与計画は低用量を含み、それは反復した間隔で投与される。例えば、一実施形態では、本発明のMT103製剤は、約0.375 mg/m<sup>2</sup>より低い用量で約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、または200日毎の間隔で投与することができる。本発明の方法の別の具体的実施形態では、投与計画は低用量を含み、それは持続静脈内注入によって投与される。例えば、一実施形態では、本発明の組成物は、約0.375 mg/m<sup>2</sup>より低い用量で、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、125、150、175、または200日間投与することができる。

20

【0550】

特定の実施形態では、指定された用量は、少なくとも約1、2、3、5、7、10、14、20、30、45、60、75、90、120、150または180日またはそれ以上の期間、本発明のMT103製剤および方法を使用して治療されたヒトにおいてB細胞枯渇を生じさせることができる。特定の実施形態では、プレB細胞(表面免疫グロブリンを発現していない)を枯渇させる。特定の実施形態では、成熟B細胞(表面免疫グロブリン(immunoglobulin)を発現している)を枯渇させる。他の実施形態では、すべての非悪性型のB細胞が枯渇を示すことができる。任意のこれらのタイプのB細胞を使用してB細胞枯渇を測定することができる。血清等の体液、または骨髄等の組織中のB細胞枯渇を測定することができる。本発明の方法の特定の実施形態では、本発明の組成物および方法の使用前の治療対象の患者のB細胞レベルと比較して、B細胞を少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%枯渇させる。本発明の方法の他の実施形態では、ヒトの典型的な標準B細胞レベルと比較して、B細胞を少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%枯渇させる。関連の実施形態では、年齢、性別、体重、および他の要因に関して治療対象の患者と同等の患者を使用してヒトの典型的な標準B細胞レベルを測定する。

30

40

【0551】

種々の実施形態では、5分未満の間隔で、30分未満の間隔で、1時間間隔で、約1時間間隔で、約1～約2時間間隔で、約2時間～約3時間間隔で、約3時間～約4時間間隔で、約4時間～約5時間間隔で、約5時間～約6時間間隔で、約6時間～約7時間間隔で、約7時間～約8時間間隔で、約8時間～約9時間間隔で、約9時間～約10時間間隔で、約10時間～約11時間間隔で、約11時間～約12時間間隔で、約12時間～18時間間隔で、18時間～24時間間隔で、

50

24時間～36時間間隔で、36時間～48時間間隔で、48時間～52時間間隔で、52時間～60時間間隔で、60時間～72時間間隔で、72時間～84時間間隔で、84時間～96時間間隔で、または96時間～120時間間隔(part)で治療薬(例えば予防物質または治療物質)を持続注入として投与する。特定の実施形態では、同一患者訪問中に2種以上の治療薬を投与する。

#### 【0552】

特定の実施形態では、本発明の製剤のBiTE(登録商標)分子および1種以上の他の治療薬(例えば予防物質または治療物質)を周期的に投与する。周期的治療には、第1の治療薬(例えば第1の予防物質または治療物質)の一定期間の投与、次いで第2の治療薬(例えば第2の予防物質または治療物質)の一定期間の投与、場合により、次いで第3の治療薬(例えば予防物質または治療物質)の一定期間の投与等、およびこの連続投与の反復が含まれ、すなわち、治療薬の1つに対する耐性の発生を減少させるため、治療薬の1つの副作用を回避するかまたは減少させるため、および/または治療薬の効力を向上させるためのサイクルである。

10

#### 【0553】

特定の実施形態では、本発明の製剤のBiTE(登録商標)分子の投与を反復し、投与を少なくとも1日、2日、3日、5日、10日、15日、30日、45日、2か月、75日、3か月、または少なくとも6か月隔てることができる。他の実施形態では、本発明の製剤のBiTE(登録商標)分子以外の治療薬(例えば予防物質または治療物質)の投与を反復し、投与を少なくとも1日、2日、3日、5日、10日、15日、30日、45日、2か月、75日、3か月、または少なくとも6か月隔てることができる。

20

#### 【0554】

本発明の特定の実施形態では、用量を増加または減少させて、血液または組織、例えば、非限定的に、骨髄中で一定量を維持することができる。関連の実施形態では、本発明の製剤および方法のBiTE(登録商標)分子の所望のレベルを維持するために用量を約2%、5%、8%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、および95%増加または減少させる。

#### 【0555】

特定の実施形態では、本発明の方法に従って製剤化されたBiTE(登録商標)分子に対する患者の免疫原性応答に基づいて、用量を調節し、かつ/または注入速度を減少させることができる。

30

#### 【0556】

製剤のバイオアベイラビリティは、投与された用量のうちの、体循環に到達する不変の薬物の割合の尺度となる。静脈内に送達された薬物のバイオアベイラビリティは100%であるとみなされる。他の経路(例えば皮下注射)を介して投与された薬物物質のバイオアベイラビリティは不完全な吸収および初回通過代謝のせいで100%未満である。絶対バイオアベイラビリティでは、非静脈内投与(例えば皮下投与)後の体循環中の活性薬物のバイオアベイラビリティ(曲線下面積、すなわちAUCとして評価)と静脈内投与後の同薬物のバイオアベイラビリティを比較する。薬物の絶対バイオアベイラビリティを決定するために、薬物動態学的研究を行って、静脈内(IV)および非静脈内(例えば皮下)の両投与後の薬物に関する時間プロットに応じた血漿薬物濃度を取得する必要がある。絶対バイオアベイラビリティはAUC静脈内によって除算された非静脈内の用量補正曲線下面積(AUC)である。

40

#### 【0557】

本明細書中に記載の組成物または方法に従って製剤化された二重特異性(bispecific)抗体のバイオアベイラビリティは、当業者に公知の任意の方法を使用して決定することができる。例えば、二重特異性抗体の血清レベルをELISAアッセイによってモニターすることができる。ヒト被験体または好適な非ヒト実験系、例えば非限定的に非ヒト霊長類(例えばcyno)およびげっ歯類(例えばマウス)のいずれかにおいてバイオアベイラビリティを決定することができる。

#### 【0558】

一実施形態では、本発明の製剤は皮下送達に好適である。一実施形態では、本明細書中

50

に記載の組成物または方法に従って製剤化された二重特異性抗体のバイオアベイラビリティは、約10%～約100%の範囲、約10%～約90%の範囲、約10%～約80%の範囲、約10%～約70%の範囲、約10%～約60%の範囲、約10%～約50%の範囲、約10%～約40%の範囲、約10%～約30%の範囲、約10%～約20%の範囲、約20%～約80%の範囲、約20%～約60%の範囲、約20%～約40%の範囲、約30%～約100%の範囲、または約30%～約60%の範囲である。別の実施形態では、本明細書中に記載の組成物または方法に従って製剤化された二重特異性抗体のバイオアベイラビリティは、10%～100%の範囲、10%～90%の範囲、10%～80%の範囲、10%～70%の範囲、10%～60%の範囲、10%～50%の範囲、10%～40%の範囲、10%～30%の範囲、10%～20%の範囲、20%～80%の範囲、20%～60%の範囲、20%～40%の範囲、30%～100%の範囲、または30%～60%の範囲である。別の実施形態では、本明細書中に記載の組成物または方法に従って製剤化された二重特異性抗体のバイオアベイラビリティは、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、または少なくとも約90%である。別の実施形態では、本明細書中に記載の組成物または方法に従って製剤化された二重特異性抗体のバイオアベイラビリティは、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%である。別の実施形態では、本明細書中に記載の組成物または方法に従って製剤化された二重特異性抗体のバイオアベイラビリティは、約10%、約20%、約30%、約40%、約60%、約70%、約80%、または約90%である。別の実施形態では、本明細書中に記載の組成物または方法に従って製剤化された二重特異性抗体のバイオアベイラビリティは、10%、20%、30%、40%、60%、70%、80%、または90%である。

10

20

【0559】

#### 5.9.1. 毒性試験

本発明の製剤および/または治療計画の寛容性、毒性および/または効力は、例えばLD50 (集団の50%に対して致死の用量)、ED50 (集団の50%において治療的に有効な用量)、およびIC50 (50%阻害を達成するために有効な用量)を決定するための、細胞培養物または実験動物における標準的製薬手順によって決定することができる。特定の実施形態では、該用量は、循環B細胞または循環免疫グロブリン(immunoglobulin)、または両者の少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、または99%枯渇を達成するために有効な用量である。毒性と治療効果との用量比は治療係数であり、LD50/ED50比として表すことができる。大きい治療係数を示す治療が好ましい。

30

【0560】

細胞培養アッセイおよび動物試験から得られたデータを、ヒトでの使用のための製剤および/または治療計画の用量範囲の処方において使用することができる。そのような物質の用量は、ED50を含む、毒性をほとんどまたはまったく有さない循環濃度の範囲内である。該用量は、使用される剤形および利用される投与経路に応じてこの範囲内で変動する。本発明の方法において使用される任意の治療薬に関して、適切な動物モデルによって治療有効量を見積もることができる。動物モデルの種に応じて、例えばFreireich et al., Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, monkey, dog, and human, Cancer Chemotherapy Reports, NCI 1966 40:219-244によって提供されるような当該技術分野において確立されている方式に従って、ヒトでの使用のために用量をスケールアップすることができる、細胞培養アッセイから得られたデータは潜在的毒性を予測するために有用でありうる。動物試験を使用して、細胞培養物において決定されるIC50 (すなわち徴候の最大半減阻害を達成する試験化合物の濃度)を含む循環血漿濃度範囲を達成するための具体的な用量を処方することができる。そのような情報を使用してヒトにおいて有用な用量をより正確に決定することができる。血漿薬物レベルは、例えば高性能液体クロマトグラフィー、ELISA、または細胞ベースのアッセイによって測定することができる。

40

【0561】

#### 5.10. 腫瘍学における患者の診断、病期分類および治療計画

本発明の特定の態様に従って、治療対象のB細胞疾患または障害の病期を非限定的に含

50

むいくつかの要因に基づいて本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法とともに使用される治療計画および用量を選択する。当業者は、患者または患者集団におけるB細胞疾患または障害の特定の病期に適切な治療計画を決定することができる。異なる病期のB細胞疾患または障害を有する患者を治療するための本発明の抗CD19 BiTE(登録商標)製剤の有効量を決定するために、当技術分野における標準的プロトコルを使用して用量反応曲線を作製することができる。一般に、より進行した病期のB細胞疾患または障害を有する患者ほど、初期B細胞疾患または障害を有する患者と比較して、より長期間にわたって投与される、より高用量および/または、より頻繁な投与を必要とする。

#### 【0562】

本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法を実施して、B細胞悪性腫瘍を含むB細胞疾患を治療することができる。用語「B細胞悪性腫瘍」には、B細胞系統の細胞由来の任意の悪性腫瘍が含まれる。典型的なB細胞悪性腫瘍には、非限定的に、B細胞サブタイプ非ホジキンリンパ腫(NHL)、例えば低悪性度/濾胞性NHL、小リンパ球性(SL) NHL、中悪性度/濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非切れ込み核細胞性NHL (high grade small non-cleaved cell NHL); マントル細胞リンパ腫、および巨大病変NHL (bulky disease NHL); パーキットリンパ腫; 多発性骨髄腫; プレB急性リンパ性白血病および早期B細胞前駆体由来の他の悪性腫瘍; 一般的急性リンパ性白血病(ALL); 慢性リンパ性白血病(CLL)、例えば免疫グロブリン突然変異型CLL (immunoglobulin-mutated CLL)および免疫グロブリン非突然変異型CLL (immunoglobulin-unmutated CLL); 毛髪様細胞白血病; Null細胞型急性リンパ性白血病(Null-acute lymphoblastic leukemia); ワルデンシュトレームマクログロブリン血症; びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、例えば胚中心B細胞様(GCB) DLBCL、活性型B細胞様(ABC) DLBCL、および3型DLBCL; 前リンパ球性白血病; L鎖病; プラズマ細胞腫; 骨硬化性骨髄腫; 形質細胞白血病; 意味未確定の単クローン性高ガンマグロブリン血症(MGUS); くすぶり型多発性骨髄腫(SMM); 無症候性多発性骨髄腫(IMM); ホジキンリンパ腫、例えば古典的および結節性リンパ球優位型; リンパ形質細胞性リンパ腫(LPL); および辺縁層リンパ腫、例えば胃粘膜関連リンパ様組織(MALT)リンパ腫が含まれる。

#### 【0563】

別の実施形態では、本発明を使用して、成熟B細胞悪性腫瘍(すなわち細胞表面上にIgを発現するB細胞)を治療することができ、成熟B細胞悪性腫瘍には、非限定的に濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、多発性骨髄腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、例えば胚中心B細胞様(GCB) DLBCL、活性型B細胞様(ABC) DLBCL、および3型DLBCL、ホジキンリンパ腫、例えば古典的および結節性リンパ球優位型、リンパ形質細胞性リンパ腫(LPL)、辺縁層リンパ腫、例えば胃粘膜関連リンパ様組織(MALT)リンパ腫、および慢性リンパ性白血病(CLL)、例えば免疫グロブリン突然変異型CLLおよび免疫グロブリン非突然変異型CLLが含まれる。

#### 【0564】

さらに、CD19は、B細胞発生において、例えばCD20より早期に発現され、したがって、例えば骨髄中の、プレB細胞および未成熟B細胞悪性腫瘍(すなわち細胞表面上にIgを発現していないB細胞)の治療に特に好適である。例示的プレB細胞および未成熟B細胞悪性腫瘍には、非限定的に、急性リンパ性白血病が含まれる。

#### 【0565】

他の特定の実施形態では、本発明を実施して結節外腫瘍を治療することができる。

#### 【0566】

### 5.10.1. B細胞悪性腫瘍の診断および病期分類

癌、例えば腫瘍形成が可能なB細胞疾患または障害(例えば、非ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、およびパーキットリンパ腫)の進行は、典型的に、癌が身体全体に伝播している程度によって特徴付けられ、転帰の予測である以下の4つの病期に分けられることがよくある。病期I: 癌は特定の組織に局限され、リンパ節に伝播していない。病期II: 癌は近くのリンパ節に伝播しており、すなわち転移である。

10

20

30

40

50

病期III: 癌は元の組織から離れた身体領域のリンパ節で観察され、1腫瘍とは対照的に集団または複数の腫瘍を含む。病期IV: 癌は身体の遠い部分に伝播している。癌の病期は、当業者に周知の臨床観察および検査方法によって決定することができる。上記の癌の病期は、伝統的に、腫瘍形成によって特徴付けられる癌の臨床診断と組み合わせて使用され、本発明の製剤および方法と組み合わせて使用してB細胞疾患および障害を治療することができる。典型的に早期疾患とは、疾患が患者の身体の一部に局限されたままであるか、または転移していないことを意味する。

#### 【0567】

非腫瘍形成B細胞疾患および障害、例えば、非限定的に、多発性骨髄腫では、疾患の病期を決定するための基準は異なる。Durie-Salmon病期分類系が広く使用されている。この病期分類系では、疾患の臨床病期(病期I、II、またはIII)は、Mタンパク質のレベル、溶解性骨病変の数、ヘモグロビン値、および血清カルシウムレベルを含むいくつかの測定値に基づく。病期は、腎(renal)(腎臓(kidney))機能に従ってさらに分けられる(AまたはBとして分類される)。Durie-Salmon病期分類系では、病期I(低細胞集団)は、以下の全条件: ヘモグロビン値 $>10$  g/dL; 血清カルシウム値正常または $12$  mg/dL以下; 骨x線, 正常骨構造(スケール0)または孤立性骨形質細胞腫のみ; および低M成分生産速度: IgG値 $<5$  g/dL, IgA値 $<3$  g/d, ベンスジーンズタンパク $<4$  g/24時間によって特徴付けられる。病期Iの患者は、典型的に、関連の器官または組織機能障害または徴候を有さない。病期II(中細胞集団)は、病期Iにも病期IIIにも一致しないことによって特徴付けられる。病期III(高細胞集団)は、1つ以上の以下の条件: ヘモグロビン値 $<8.5$  g/dL; 血清カルシウム値 $>12$  mg/dL; 進行した溶解性骨病変(スケール3); 高M成分生産速度: IgG値 $>7$  g/dL, IgA値 $>5$  g/dL, ベンスジーンズタンパク $>12$  g/24時間 細分類(AまたはB)(該細分類では、Aは比較的正常的な腎機能(血清クレアチニン値 $<2.0$  mg/dL)であり、Bは異常な腎機能(血清クレアチニン値 $2.0$  mg/dL以上)である)によって特徴付けられる。

#### 【0568】

骨髄腫に関する別の病期分類系は骨髄腫の国際病期分類系(ISS)である。この系は病期群をより効果的に識別することができ、容易に測定できるベータ2-ミクログロブリン( $2-M$ )およびアルブミンの血清レベルに基づく。骨髄腫に関するISSでは、病期Iは、 $2-M < 3.5$ およびアルブミン $3.5$ 以上によって特徴付けられ、病期IIは  $2-M < 3.5$ およびアルブミン $<3.5$ または  $2-M 3.5 - 5.5$ によって特徴付けられ、病期IIIは  $2-M > 5.5$ によって特徴付けられる(Multiple Myeloma Research Foundation, New Canaan, CT)。

#### 【0569】

患者におけるB細胞悪性腫瘍の病期は臨床決定である。上記のように、固形腫瘍に関して、腫瘍の伝播、位置、および数は病期の臨床決定における主要な要因である。非腫瘍形成B細胞悪性腫瘍を有する患者の病期の決定は、より複雑であり、上記のように血清レベルの測定を必要とする。

#### 【0570】

上記B細胞疾患および障害の病期の説明は限定的ではない。B細胞疾患および障害の診断に関する技術分野において公知の他の特徴を、患者のB細胞疾患または障害の病期を決定する基準として使用することができる。

#### 【0571】

### 5.10.2. B細胞悪性腫瘍を診断するための臨床基準

種々のB細胞悪性腫瘍の診断基準が当技術分野において公知である。歴史的には、診断は典型的に顕微鏡像および免疫表現型の組み合わせに基づく。最近になって、B細胞悪性腫瘍の分子的定義を開発するために分子的技術、例えば遺伝子発現プロファイリングが適用されている(例えばShaffer et al., Nature 2:920-932 (2002)を参照のこと)。特定のB細胞悪性腫瘍の臨床診断のための典型的な方法を以下に挙げる。他の好適な方法は当業者に自明である。

#### 【0572】

### 5.11. 移植における患者の診断および治療計画

本発明の特定の態様では、本発明の製剤および方法とともに使用される治療計画および用量は、例えば、体液性拒絶を発生する危険に患者をさらす臨床症状、またはそのような拒絶が発生している臨床証拠を含むいくつかの要因に基づいて選択される。用語「体液性」および「抗体媒介性」は本明細書中で互換的に使用される。

【0573】

患者が体液性拒絶を発生する危険を評価するための基準は当技術分野の知識および技術に従って確立される。一実施形態では、陽性補体依存性細胞傷害または抗グロブリン増強型補体依存性細胞傷害クロスマッチ(antiglobulin enhanced complement dependent cytotoxicity crossmatch)は、患者が体液性拒絶の高い危険にさらされていることを示す。一実施形態では、陽性クロスマッチまたは前陽性(prior positive)補体依存性細胞傷害または抗グロブリン増強型補体依存性細胞傷害クロスマッチは、患者が体液性拒絶の中程度の危険にさらされていることを示す。一実施形態では、陰性クロスマッチは、患者が体液性拒絶の低い危険にしかさらされていないことを示す。

【0574】

別の実施形態では、移植片拒絶の予防を必要としている移植レシピエントは、移植前に検出可能な循環抗HLAアロ抗体を有する患者または患者集団として特定することができる。別の例では、該患者または患者集団は移植前にパネル反応性抗体を有すると特定される。移植後の移植レシピエントにおける検出可能な循環抗HLAアロ抗体の存在を使用して、本発明の体液性拒絶の治療を必要としている患者または患者集団を特定することもできる。体液性拒絶の治療を必要としている患者または患者集団は、移植レシピエントが体液性拒絶を発生する危険にさらされているかまたは体液性拒絶をすでに発生していることを示す他の臨床基準に従って特定することもできる。例えば、体液性拒絶の治療を必要としている移植レシピエントを、循環抗ドナーアロ抗体によって特徴付けられる潜在性の体液性応答等の体液性拒絶の早期にある患者または集団として特定することができる。早期体液性拒絶は、循環抗ドナーアロ抗体およびC4d沈着によって特徴付けられるサイレント反応、または循環抗ドナーアロ抗体、C4d沈着、および組織病理学によって特徴付けられる無症状性拒絶であることもある。後期では、レシピエントは、当技術分野の知識および技術に従って、例えば循環抗ドナーアロ抗体、C4d沈着、組織病理学、および移植片機能障害によって特徴付けられる体液性拒絶の臨床徴候を示す患者または患者集団として特定される。

【0575】

本発明は、GVHDの発生率、重症度、または持続期間、拒絶エピソード、または移植後リンパ球増殖性障害を減少させるために有効な治療用製剤、方法および方式を提供する。特定の実施形態では、本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法は固形組織または器官移植片の虚血性再灌流傷害に対する宿主応答を減弱させるために有効である。一実施形態では、本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法は移植レシピエント中の移植片の生存を延長させるために有効である。

【0576】

本発明は、レシピエントに対して自己、同種、または異種である移植片を包含する。本発明によって包含される移植片のタイプには、組織および器官移植片、例えば非限定的に、骨髓移植片、末梢幹細胞移植片、皮膚移植片、動脈および静脈移植片、膵島細胞移植片、および腎臓、肝臓、膵臓、甲状腺、および心臓の移植が含まれる。用語「移植片(graft)」および「移植(transplant)」は本明細書中で交換可能に使用される。一実施形態では、自己移植片は、骨髓移植片、動脈移植片、静脈移植片または皮膚移植片である。一実施形態では、同種移植片は、骨髓移植片、角膜移植片、腎臓移植、膵島細胞移植、または腎臓および膵臓の複合移植である。一実施形態では、移植片は異種移植片であり、動物ドナー候補には、非限定的にブタが含まれる。本発明の製剤および方法を使用して、人工関節、ステント、またはペースメーカーデバイスを非限定的に含む非生物学的移植片またはインプラントに対する有害な免疫応答を抑制してもよい。

【0577】

本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法を使用して、移植の必要性を最初に生じさせる具体的徴候または移植される組織の具体的タイプにかかわらず、GVHD、体液性拒絶、または移植後リンパ球増殖性障害を治療または予防することができる。

【0578】

本発明の治療用製剤および方式は、関節リウマチ、SLE、ITP、天疱瘡関連障害、糖尿病、および強皮症を非限定的に含む自己免疫疾患または障害と診断されたヒト被験体の治療に関して説明される。

【0579】

当業者は特定の患者または患者集団に適切な治療計画を決定することができる。特定の実施形態では、治療計画は、急性または慢性拒絶反応に関する移植前処置(pre-transplant conditioning regimen)、移植後維持処置、または移植後治療処置である。特定の実施形態では、体液性応答を発生する低い危険にしかさらされていないと評価された患者の治療計画と比較して、体液性応答を発生する高い危険または中程度の危険にさらされていると評価された患者に関する具体的治療計画は変動する。

【0580】

特定の実施形態では、体液性拒絶の病期に従って具体的な治療計画は変動し、拒絶の後期時点の患者に関しては、より攻撃的治療が用いられる。体液性拒絶の病期は当技術分野の知識および技術に従って分類することができる。例えば、体液性拒絶の病期は以下の基準に従って病期I~IVのいずれかに分類することができる:病期I 循環抗ドナーアロ抗体、特に抗HLA抗体によって特徴付けられる潜伏応答;病期II 循環抗ドナーアロ抗体、特に抗HLA抗体、およびC4d沈着によって特徴付けられるが、組織学的変化または移植片機能障害を有さないサイレント反応;病期III 無症状性拒絶:循環抗ドナーアロ抗体、特に抗HLA抗体、C4d沈着、および組織病理学によって特徴付けられるが、移植片機能障害を有さない;病期IV 体液性拒絶:循環抗ドナーアロ抗体、特に抗HLA抗体、C4d沈着、組織病理学、および移植片機能障害によって特徴付けられる。

【0581】

特定の治療計画で、例えば移植前処置、およびGVHD、体液性拒絶、または移植後リンパ球増殖性障害の予防および治療のための移植後処置で使用するための本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤の有効量を決定するために、当技術分野の標準的プロトコルを使用して用量反応曲線を作製することができる。一般に、体液性拒絶を発生する高い危険にさらされている患者および拒絶の1つ以上の臨床指標をすでに示している患者は、高い危険にさらされていないかまたは活発な拒絶のいかなる徴候も示さない患者と比較して、より長期間にわたって投与される、より高用量および/またはより頻繁な投与を必要とする。

【0582】

本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法を単独でまたは他の治療物質または治療計画と組み合わせて実施して、GVHD、体液性拒絶、または移植後リンパ球増殖性障害を治療または予防することができる。GVHD、体液性拒絶、または移植後リンパ球増殖性障害の治療または予防のための他の治療計画は、例えば、1種以上の抗リンパ球療法、ステロイド治療、抗体枯渇療法、免疫抑制治療、および血漿分離交換法を含んでよい。

【0583】

抗リンパ球療法は、移植レシピエントへの抗胸腺細胞グロブリン(サイモグロブリン(thymoglobulin)とも称される)の投与を含んでよい。抗リンパ球療法は、T細胞表面抗原を標的にする1種以上のモノクローナル抗体の投与を含んでもよい。そのような抗体の例には、非限定的に、CAMPATH™-1H(アレムツズマブ)、CAMPATH™-1G、CAMPATH™-1M、SIMULECT™(パシリキシマブ)、およびZENAPAX™(ダクリズマブ)が含まれる。特定の実施形態では、抗リンパ球療法は、RITUXAN™(リツキシマブ)を非限定的に含む、B細胞を標的にする1種以上の追加の抗体を含む。

10

20

30

40

50

## 【0584】

ステロイド治療は、移植レシピエントへの、コルチゾール、プレドニゾン、メチルプレドニゾン、デキサメタゾン(dexamethazone)、およびインドメタシンからなる群から選択される1種以上のステロイドの投与を含んでよい。1種以上のステロイドは、コルチコステロイドであってよく、それには、非限定的に、コルチゾール、プレドニゾン、およびメチルプレドニゾンが含まれる。

## 【0585】

抗体枯渇療法には、例えば、移植レシピエントへの静脈内免疫グロブリンの投与が含まれる。抗体枯渇療法は、移植前に、ex vivoで移植片に適用される免疫吸着療法を含んでもよい。免疫吸着は、任意の好適な技術、例えば、プロテインA親和性、または抗CD3抗体、抗CD20抗体、および抗CD19抗体等のT細胞またはB細胞表面マーカーを標的にする抗体を使用する、抗体に基づく親和性技術を使用して達成することができる。

10

## 【0586】

免疫抑制治療は、1種以上の免疫抑制剤、例えばサイトカイン転写(例えば、シクロスポリンA、タクロリムス)、ヌクレオチド合成(例えば、アザチオプリン(azathiopurine)、ミコフェノール酸モフェチル)、成長因子シグナル伝達(例えば、シロリムス(sirolimus)、ラパマイシン)、およびT細胞インターロイキン2受容体(例えば、ダクリズマブ、バシリキシマブ)のインヒビターの投与を含んでよい。特定の実施形態では、本発明の製剤および方法と組み合わせて使用される免疫抑制剤には、1種以上の以下の物質：アドリマイシン、アザチオプリン、ブスルファン、シクロホスファミド、シクロスポリンA(「CyA」)、サイトキシン(cytoxin)、フルダラピン、5-フルオロウラシル、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル(MOFETIL)、非ステロイド性抗炎症剤(NSAID)、ラパマイシン、およびタクロリムス(FK506)が含まれる。免疫抑制剤は、補体のインヒビター、例えば、可溶性補体受容体-1、抗C5抗体、またはC1sの小分子インヒビター、例えばBuerke et al. (J. Immunol., 167:5375-80 (2001)に記載されるものを含んでもよい。

20

## 【0587】

一実施形態では、本発明の製剤および方法を、非限定的に、タクロリムスおよびミコフェノール酸モフェチル治療、免疫吸着、静脈内免疫グロブリン療法、および血漿分離交換法を含む、体液性拒絶を抑制するための1種以上の治療計画と組み合わせて使用する。

## 【0588】

## 5.11.1. 診断および臨床基準

本発明は、ヒト移植レシピエントにおけるGVHD、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害を治療および予防するためのCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法を提供する。本発明の製剤および方法は、移植の必要性を生じさせた具体的徴候にかかわらず使用することができる。同様に、GVHD、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害の治療および予防のための本発明の製剤および方法の使用は、移植が意図されるかまたは移植された組織の具体的タイプによって限定されない。

30

## 【0589】

一実施形態では、本発明は、ヒト移植レシピエントにおける体液性拒絶の予防のためのCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法であって、移植レシピエントが、体液性拒絶を発生する増加した危険にさらされている患者または患者集団として特定される、製剤および方法を提供する。そのような患者は、「感作されている」と称してもよい。感作された患者を特定するための基準は熟練家(the skilled practitioner)に公知である。そのような基準には、例えば、検出可能なレベルの、HLA抗原に対する循環抗体、例えば抗HLAアロ抗体を有する患者が含まれる。また、そのような基準には、以前の移植、妊娠または複数回の輸血を経験した患者が含まれる。また、体液性拒絶の、増加した危険にさらされている患者には、不完全なドナー-レシピエントHLA適合性を有する患者、およびABO不適合性である移植患者(transplantations)が含まれる。感作された個体は移植前の前処置またはコンディショニングの候補である。また、感作された個体は体液性拒絶の予防のための移植後維持処置の候補である。

40

50

## 【0590】

一実施形態では、本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法は、急性または慢性拒絶の治療のための治療計画を含むか、または該治療計画と組み合わせて使用される。特定の実施形態では、拒絶は、病期I、病期II、病期III、または病期IVの体液性拒絶として特徴付けられる。

## 【0591】

一実施形態では、本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法は、早期体液性拒絶の治療のための治療計画を含むか、または該治療計画と組み合わせて使用される。特定の実施形態では、早期体液性拒絶は、病期I、II、またはIIIの拒絶である。早期体液性拒絶の臨床徴候は当技術分野の知識および技術に従って決定され、それには、例えば、循環ドナー特異的抗HLA抗体の、患者での発生、移植片生検中の抗体活性の補体マーカー、例えばC4dおよびC3d沈着の存在、および移植片生検中の抗HLA抗体の存在が含まれる。早期体液性拒絶の他の指標は熟練家に公知であり、それには、例えば、抗上皮抗体、特に抗ピメンチン抗体の発生、および非古典的MHCクラスI関連鎖A (MICA)アロ抗体の発生が含まれる。

10

## 【0592】

一実施形態では、本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法は、移植片機能障害によって部分的に特徴付けられる体液性拒絶の治療のための治療計画を含むか、または該治療計画と組み合わせて使用される。特定の実施形態では、体液性拒絶の治療を必要としている患者または患者集団は、移植片機能障害に関する当技術分野において公知の基準に従って特定される。特定のタイプの移植片に関するそのような基準の例を以下のセクションに挙げる。他の実施形態では、体液性拒絶の治療を必要としている患者または患者集団は、組織学的基準等の組織移植片のタイプに特有の他の基準に従って特定される。そのような基準の例もまた以下のセクションに挙げる。

20

## 【0593】

## 5.11.2. 骨髄移植

本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法は、骨髄移植レシピエントにおけるGVHD、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害の治療または予防に有用である。一実施形態では、本発明の製剤および方法は、移植前処置を含むか、または該処置と組み合わせて使用される。

30

## 【0594】

一実施形態では、適応はB細胞関連自己免疫症状であり、本発明の製剤および方法を使用して、化学療法または放射線療法による移植前処置を必要とすることなく、有害なB細胞を患者から排除することができる。一実施形態では、本発明の製剤を化学療法または放射線療法による治療計画と組み合わせて投与し、該治療計画は、本発明の製剤の不在下で投与される用量より低用量の1種以上の化学療法剤、または低線量の照射を含む。

## 【0595】

骨髄移植を必要としているか、または骨髄移植から恩恵を受ける可能性が高い患者または患者集団は当技術分野の知識および技術に従って特定される。骨髄移植の候補である患者の例には、癌または自己免疫疾患または障害の治療のための化学療法または放射線療法を経験した患者、および免疫系の細胞に存在するウイルス感染を排除できない患者が含まれる。

40

## 【0596】

## 5.11.3. 移植後リンパ球増殖性障害

移植の成功に必要な免疫抑制はB細胞起源の移植後リンパ球増殖性障害を生じさせる。一般に、移植後リンパ球増殖性障害はエプスタイン・バーウイルス感染細胞と関連している。移植後リンパ球増殖性障害(PTLD)は良性自己限定的単核球症様症候群~攻撃的非ホジキンリンパ腫の重症度にわたる。本発明の製剤および方法を使用して、任意の移植に起因するPTLDを治療することができる。該移植は実質器官移植、例えば心臓移植、肝臓移植、腎臓移植、または腎臓-膵臓移植の組み合わせであってよい。一実施形態では、本発明

50

の製剤および方法を使用して、他の免疫抑制療法の一時的停止または低減を含む治療計画の部分としてPTLDを治療する。

【0597】

一実施形態では、高用量静脈内ガンマグロブリン、サイトカイン、抗ウイルス剤、および抗CD20モノクローナル抗体の1つ以上を含む治療計画の部分としてCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤を投与する。該治療計画には、免疫抑制療法の一時的停止または低減が含まれる。一実施形態では、静脈内ガンマグロブリンを0.4 g/kgの一日量で1~5日間、好ましくは3日間投与し、サイトカインは少なくとも7日間投与されるインターフェロンアルファである。一実施形態では、該治療計画において1種以上のサイトカインを使用する。一実施形態では、該治療計画において1種以上の抗ウイルス剤を使用する。抗ウイルス剤は、当業者に公知の任意の好適な抗ウイルス剤から選択することができる。一実施形態では、抗ウイルス剤はアシクロビルまたはガンシクロビルである。抗ウイルス剤は、少なくとも1または2週間投与することができる。抗ウイルス剤を長期間、例えば、1か月、2か月、3か月、4か月、または5か月投与してもよい。

10

【0598】

#### 5.12. 自己免疫疾患における患者の診断および治療計画

本発明の特定の態様に従って、治療対象の自己免疫疾患または障害の病期を非限定的に含むいくつかの要因に基づいて本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法とともに使用される治療計画および用量を選択する。当業者は、患者または患者集団における自己免疫疾患または障害の特定の病期に適切な治療計画を決定することができる。異なる病期の自己免疫疾患または障害を有する患者を治療するための本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤の有効量を決定するために、当技術分野の標準的プロトコルを使用して用量反応曲線を作製することができる。一般に、より活発な自己免疫疾患または障害を有する患者ほど、あまり活発でない自己免疫疾患または障害を有する患者と比較して、より長期間にわたって投与される、より高用量および/または、より頻繁な投与を必要とする。

20

【0599】

CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法を実施して自己免疫疾患または障害を治療することができる。用語「自己免疫疾患または障害」とは、自身の細胞、組織および/または器官に対する被験体の免疫反応に起因する細胞、組織および/または器官傷害によって特徴付けられる被験体の症状を表す。用語「炎症性疾患」は用語「炎症性障害」と交換可能に使用され、慢性炎症を非限定的に含む炎症によって特徴付けられる被験体の症状を表す。自己免疫障害は炎症を合併してもしなくてもよい。さらに、炎症は自己免疫障害に起因してもしなくてもよい。ゆえに、特定の障害は自己免疫性かつ炎症性の障害として特徴付けることができる。典型的な自己免疫疾患または障害には、非限定的に、円形脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫性アジソン病、副腎の自己免疫疾患、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性卵巣炎および睾丸炎、自己免疫性血小板減少症、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、セリアックスブルー-皮膚炎、慢性疲労免疫機能障害症候群(CFIDS)、慢性炎症性脱髄性多発神経障害、チャーク・ストラウス症候群、癩痕性類天疱瘡、CREST症候群、寒冷凝集素病、クローン病、円板状狼蒼、本態性混合クリオグロブリン血症、糖尿病、好酸球性筋膜炎(eosinophilic fasciitis)、線維筋痛-線維筋炎、糸球体腎炎、グレーブス病、ギラン・バレー、橋本甲状腺炎、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、特発性肺線維症、特発性/自己免疫性血小板減少性紫斑病(ITP)、IgA神経障害、若年性関節炎、扁平苔癬、エリテマトーデス(lupus erythematosus)、メニエール病、混合結合組織病、多発性硬化症、1型または免疫介在性糖尿病、重症筋無力症、天疱瘡関連障害(例えば尋常性天疱瘡)、悪性貧血、結節性多発性動脈炎、多発性軟骨炎(polychondritis)、多腺症候群、リウマチ性多発筋痛、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発性無ガンマグロブリン血症、原発性胆汁性肝硬変、乾癬、乾癬性関節炎、レイノー現象、ライター症候群、関節リウマチ、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、スティッフマン症候群、全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythema

30

40

50

toxis) (SLE)、スウィート症候群、スチル病、エリテマトーデス、高安動脈炎、側頭動脈炎(temporal arteritis)/巨細胞性動脈炎、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、血管炎(vasculitides)、例えば疱疹性皮膚炎血管炎、白斑、およびウエグナー肉芽腫症が含まれる。炎症性障害の例には、非限定的に、喘息、脳炎(encephalitis)、炎症性腸疾患、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、アレルギー性障害、敗血性ショック、肺線維症、未分化型脊椎関節症、未分化型関節症、関節炎、炎症性骨溶解、移植片対宿主病、じんま疹、フォークト・小柳・原田症候群および、慢性ウイルスまたは細菌感染に起因する慢性炎症が含まれる。

#### 【0600】

CD19は未成熟B細胞上で発現され、したがって抗CD19 BiTE(登録商標)分子(例えばCD19x CD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103))は、例えば骨髄中の、プレB細胞および未成熟B細胞を枯渇させるために特に好適である。

10

#### 【0601】

##### 5.12.1. 自己免疫疾患または障害の診断

自己免疫疾患または障害の診断は、各タイプの自己免疫疾患または障害が患者間で異なって現れるという点で複雑である。この徴候の不均質性は、臨床診断にたどり着くために典型的に多因子が使用されることを意味する。一般に、臨床家は、自己免疫疾患または障害の主な指標として、非限定的に、自己抗体の存在、増加したサイトカインレベル、特定器官機能障害、皮膚発疹(skin rashes)、関節腫脹、疼痛、骨リモデリング、および/または移動の喪失等の因子を使用する。特定の自己免疫疾患または障害、例えばRAおよびSLEでは、診断のための基準が当技術分野において公知である。特定の自己免疫疾患または障害では、疾患の病期が特徴付けられていて、当技術分野において周知である。自己免疫疾患および障害を診断するための、当技術分野で認められているこれらの方法ならびに、当技術分野において周知の、疾患の病期および疾患の活発さおよび/または重症度のスケールを使用して、本発明の製剤および方法を使用する自己免疫疾患または障害の治療を必要としている患者および患者集団を特定することができる。

20

#### 【0602】

##### 5.12.2. 自己免疫疾患または障害を診断するための臨床基準

種々の自己免疫疾患または障害の診断基準が当技術分野において公知である。歴史的には、診断は、典型的に、身体症状の組み合わせに基づく。最近になって、自己免疫疾患または障害の分子的定義を開発するために、遺伝子発現プロファイリング等の分子的技術が適用されている。特定の自己免疫疾患または障害の臨床診断のための典型的な方法を以下に挙げる。他の好適な方法は当業者に自明である。

30

#### 【0603】

特定の実施形態では、低レベルの自己免疫疾患活性を有する患者または(病期が認識されている疾患に関して)早期の自己免疫疾患を有する患者を、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法を使用する治療のために特定することができる。自己免疫疾患の早期診断は、一般的な徴候および疾患間での徴候の重複のせいで困難である。そのような実施形態では、早期の時点で治療されるかまたは低レベルの自己免疫疾患活性を有する患者は、自己免疫疾患または障害の少なくとも1つの徴候を含む徴候を有する。関連の実施形態では、早期の時点で治療されるかまたは低レベルの自己免疫疾患を有する患者は、自己免疫疾患または障害の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、または15の徴候を含む徴候を有する。該徴候は任意の自己免疫疾患および障害またはその組み合わせの徴候であってよい。自己免疫疾患および障害の徴候の例を以下に記載する。

40

#### 【0604】

##### 5.13. サンプルまたは被験体中のCD19密度の測定

必須ではないが、CD19密度のアッセイを用いて患者の診断をさらに特徴付けることができる。細胞に結合する抗CD19抗体の密度の測定方法は当業者に公知である(例えばSato et al., J. Immunology 165:6635-6643 (2000)(該文献は特定のCD抗原の細胞表面密度の評価方法を開示する)を参照のこと)。他の標準的方法には、スキャッチャード分析が含まれ

50

る。例えば、抗CD19抗体または断片を単離し、放射性標識し、放射性標識抗体の比活性を測定することができる。次いでCD19を発現している標的細胞と該抗体を接触させる。細胞と結合している放射能を測定し、比活性に基づいて、細胞に結合している抗体または抗体断片の量を決定することができる。

【0605】

蛍光活性化フローサイトメトリーを用いることもできる。一般に、CD19を発現している標的細胞に該抗体または抗体断片を結合させる。次いで抗体に結合する第2の試薬、例えば蛍光色素(fluorochrome)で標識された抗免疫グロブリン抗体を加える。蛍光色素染色を測定し、細胞に結合している抗体または抗体断片の密度を決定するために使用することができる。

10

【0606】

別の好適な方法として、抗体または抗体断片を、フルオロフォア等の検出可能な標識で直接標識し、標的細胞に結合させることができる。標識とタンパク質の比を決定し、既知の量の標識が結合している標準ビーズと比較する。細胞に結合している標識の量と既知の標準との比較を使用して、細胞に結合している抗体の量を算出することができる。

【0607】

さらに別の態様では、本発明は、サンプルまたは個体中のCD19の存在および/または密度をin vitroまたはin vivoで検出するための方法を提供する。これは、疾患および治療効果のモニタリングおよび投与対象のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤の用量の決定および調節に有用でありうる。イメージング技術、例えばPET(ポジトロン放出断層撮影法)またはSPECT(単一光子放射型コンピュータ断層撮影法)を使用してin vivo法を実施することができる。共有結合によって結合しているキレート剤を使用して抗CD19抗体をインジウムで標識することもできる。ZEVALIN™(インジウム標識抗CD20 mAb)(Biogen Idec, Cambridge MA)を使用してCD20抗原を画像化する方法と同様に、得られた抗体を標準ガンマカメラを使用して画像化することができる。

20

【0608】

一実施形態では、抗体とヒトCD19抗原との複合体の形成を可能にする条件下で、試験対象のサンプルを、場合によりコントロールサンプルとともに、ヒト抗CD19抗体と接触させることによってin vivo法を実施することができる。次いで複合体形成を検出する(例えば蛍光活性化フローサイトメトリーまたはウエスタンブロット法を使用して検出する)。試験サンプルとともにコントロールサンプルを使用する場合、両サンプル中の複合体が検出され、サンプル間での複合体の形成における任意の統計学的有意差が試験サンプル中のヒトCD19の存在を示す。

30

【0609】

他の実施形態では、平均蛍光(fluorescence)強度をCD19密度の尺度として使用することができる。そのような実施形態では、B細胞を患者から取り出し、蛍光標識で標識されたCD19抗体で染色し、フローサイトメトリーを使用して蛍光強度を測定する。蛍光強度を測定し、B細胞あたりの強度の平均として表すことができる。そのような方法を使用して、本発明の方法および製剤を使用した治療前後での患者に関して、または患者とB細胞上のhCD19の正常レベルとの間で、CD19密度に相当する平均蛍光強度を比較することができる。

40

【0610】

B細胞上のCD19発現の密度が決定されている患者において、CD19の密度が、本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法で使用される用量および/または治療計画の決定および/または調節に影響する。例えば、CD19の密度が高い場合に、低用量の本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤を使用することができる。特定の実施形態では、本発明の製剤および方法を使用して治療される患者が低いCD19密度を有する場合に、高用量の本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤を使用することができる。他の実施形態では、本発明の製剤および方法を使用して治療される患者が低いCD19密度を有する場合に、低用量の本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤を使用することができる。特定の実施形態では、本発明の製剤および方法

50

を使用して治療される患者が高いCD19密度を有する場合に、高用量の本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤を使用することができる。特定の実施形態では、CD19密度を患者のCD20密度と比較することができ、CD19密度をヒトまたは特定の患者集団の平均CD19密度と比較することができ、またはCD19密度を、治療前またはB細胞疾患または障害の発症前の患者のCD19レベルと比較することができる。特定の実施形態では、本発明の製剤および方法を使用して治療される患者は、CD19がB細胞の表面上に存在するB細胞悪性腫瘍を有する。

【0611】

#### 5.14. 免疫療法プロトコル

本明細書中で「抗CD19免疫療法」と称される治療計画/プロトコルで使用されるCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤は、単独療法としてまたは他の治療物質または治療計画との組み合わせで使用することができる。CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤は、1種以上の治療物質の投与の前に、該投与と同時に、または該投与の後に投与することができる。本発明の製剤との併用療法方式で使用できる治療物質には、細胞の機能を阻害または妨害しかつ/または細胞の破壊を生じさせる任意の物質が含まれる。その例には、非限定的に、放射性同位体、化学療法剤、および毒素、例えば細菌、真菌、植物または動物起源の酵素的に活性な毒素、またはその断片が含まれる。

【0612】

ネイティブのCD19抗原の代わりにヒトCD19抗原を発現するトランスジェニック動物モデルを使用して、本明細書中に記載の治療計画、または任意の所望の治療計画の効力を試験することができる。ゆえに、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤の治療計画を動物モデルにおいて試験して、ヒトへの投与前に効力を決定することができる。

【0613】

CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤および方法を実施して、B細胞悪性腫瘍を含むB細胞疾患を治療することができる。用語「B細胞悪性腫瘍」には、B細胞系統の細胞由来の任意の悪性腫瘍が含まれる。典型的なB細胞悪性腫瘍には、非限定的に、B細胞サブタイプ非ホジキンリンパ腫(NHL)、例えば低悪性度/濾胞性、NHL、小リンパ球性(SL) NHL、中悪性度/濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非切れ込み核細胞性NHL; マントル細胞リンパ腫、および巨大病変NHL; パーキットリンパ腫; 多発性骨髄腫; プレB急性リンパ性白血病および早期B細胞前駆体由来の他の悪性腫瘍; 一般的急性リンパ性白血病(ALL); 慢性リンパ性白血病(CLL)、例えば免疫グロブリン突然変異型CLLおよび免疫グロブリン非突然変異型CLL; 毛髪様細胞白血病; Nu11細胞型急性リンパ性白血病; ワルデンシュトレームマクログロブリン血症; びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、例えば胚中心B細胞様(GCB) DLBCL、活性型B細胞様(ABC) DLBCL、および3型DLBCL; 前リンパ球性白血病; L鎖病; プラズマ細胞腫; 骨硬化性骨髄腫; 形質細胞白血病; 意味未確定の単クローン性高ガンマグロブリン血症(MGUS); くすぶり型多発性骨髄腫(SMM); 無症候性多発性骨髄腫(IMM); ホジキンリンパ腫、例えば古典的および結節性リンパ球優位型; リンパ形質細胞性リンパ腫(LPL); および辺縁層リンパ腫、例えば胃粘膜関連リンパ様組織(MALT)リンパ腫が含まれる。

【0614】

別の実施形態では、本発明を使用して、成熟B細胞悪性腫瘍(すなわち細胞表面上にIgを発現するB細胞)を治療することができ、成熟B細胞悪性腫瘍には、非限定的に濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、多発性骨髄腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、例えば胚中心B細胞様(GCB) DLBCL、活性型B細胞様(ABC) DLBCL、および3型DLBCL、ホジキンリンパ腫、例えば古典的および結節性リンパ球優位型、リンパ形質細胞性リンパ腫(LPL)、辺縁層リンパ腫、例えば胃粘膜関連リンパ様組織(MALT)リンパ腫、および慢性リンパ性白血病(CLL)、例えば免疫グロブリン突然変異型CLLおよび免疫グロブリン非突然変異型CLLが含まれる。

【0615】

さらに、CD19は、B細胞発生において、例えばCD20より早期に発現され、したがって、

10

20

30

40

50

例えば骨髄中の、プレB細胞および未成熟B細胞悪性腫瘍(すなわち細胞表面上にIgを発現していないB細胞)の治療に特に好適である。例示的プレB細胞および未成熟B細胞悪性腫瘍には、非限定的に急性リンパ性白血病が含まれる。

【0616】

他の特定の実施形態では、本発明を実施して結節外腫瘍を治療することができる。

【0617】

#### 5.15. 抗CD19免疫療法

本発明では、「抗CD19免疫療法」は、本明細書中に記載の任意の治療計画にしたがう任意の本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤の投与を包含する。

【0618】

抗CD19免疫療法は、B細胞悪性腫瘍の治療のための単独療法としてのCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤の投与を包含する。抗CD19免疫療法は、B細胞悪性腫瘍に起因する早期疾患の治療方法を包含する。抗CD19免疫療法は、B細胞悪性腫瘍の治療方法であって、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤がB細胞の枯渇を媒介する方法を包含する。抗CD19免疫療法は、B細胞悪性腫瘍の治療方法であって、患者が悪性腫瘍の任意の治療(該治療が化学療法、放射化学に基づく治療または外科的治療のいずれであるかにかかわらず)を受ける前にCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤を投与する方法を包含する。

【0619】

一実施形態では、B細胞枯渇を媒介することができるCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤を投与することによってB細胞悪性腫瘍を有するヒト被験体を治療することができる。

【0620】

一実施形態では、使用されるCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤の用量は循環B細胞を枯渇させるために十分であるべきである。血液サンプルを分析することによって患者における治療の進行をモニターすることができる。臨床改善の他の徴候を使用して治療をモニターすることができる。

【0621】

本発明の製剤および方法と組み合わせて使用できる、B細胞の枯渇を測定するための方法は当技術分野において周知であり、それには、非限定的に以下の実施形態が含まれる。一実施形態では、循環B細胞枯渇は、B細胞の量を定めるための、B細胞に結合する抗CD19 BiTE(登録商標)分子以外の試薬を使用するフローサイトメトリーで測定することができる。他の実施形態では、標準血清分析を使用して血液中のB細胞レベルをモニターすることができる。そのような実施形態では、B細胞によって生産されることが知られている抗体の量を定めることによってB細胞枯渇を間接的に測定する。次いで該抗体のレベルをモニターして、B細胞の枯渇および/または機能的枯渇を決定する。別の実施形態では、B細胞を特定するための免疫化学染色によってB細胞枯渇を測定することができる。そのような実施形態では、患者から抽出されたB細胞またはB細胞を含む組織もしくは血清を顕微鏡スライド上に置き、標識し、存在または不存在に関して検査する。関連の実施形態では、治療前と治療後に抽出されたB細胞間で比較を行い、B細胞の存在の差異を決定する。

【0622】

全身腫瘍組織量を測定し、本発明の製剤および方法と組み合わせて使用することができる。全身腫瘍組織量を測定するための方法は当技術分野において周知であり、それには、非限定的に以下の実施形態が含まれる。特定の実施形態では、PETスキャンを使用して代謝活性を測定し、腫瘍の指標となる高い活性の領域を特定することができる。CTスキャンおよびMRIを使用して、腫瘍の存在およびサイズに関して軟組織を検査することもできる。他の実施形態では、骨スキャンを使用して腫瘍容積および位置を測定することができる。さらに他の実施形態では、ドップラーテクノロジー(例えば超音波)を使用して腫瘍に流入し腫瘍から流出する血液を検査することによって全身腫瘍組織量を測定することができる。そのような実施形態では、患者の適切な組織中の経時的な血流の変化または正常血流

10

20

30

40

50

からの偏差を使用して全身腫瘍組織量の見積もりを算出することができる。全身腫瘍組織量を測定するためのそのような方法は、本発明の治療方法の前後に使用することができる。

【0623】

CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤が単独療法として投与される本発明の実施形態では、本発明は異なる治療計画の使用を想定する。

【0624】

本発明の特定の態様では、使用されるCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の用量は、少なくとも約0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5、20、20.5  $\mu\text{g}$ /患者の体重kgである。特定の実施形態では、使用されるCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の用量は、少なくとも約0.01~0.1、0.05~0.2、0.1~0.5、または0.2~1  $\mu\text{g}$ /患者の体重kgである。特定の実施形態では、使用されるCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の用量は、少なくとも約0.5~2、1~5、または3~10  $\mu\text{g}$ /患者の体重kgである。

10

【0625】

特定の実施形態では、該用量は、10~50日間連続で毎日投与される少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)を含む。特定の実施形態では、該用量は、10~50日間連続で毎日投与される少なくとも約10、12、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、125、150、175、200  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)である。

20

【0626】

一実施形態では、上記用量は一回量注射である。他の実施形態では、該用量は一定期間にわたって投与される。特定の実施形態では、該用量は持続IVによって投与される。他の実施形態では、該用量は一定期間にわたって複数回投与される。該期間は時間、日、週、または月単位で示される。CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の複数回の投与を、毒性副作用とバランスをとりつつ治療上の利益を達成するために好適な間隔で実施することができる。

30

【0627】

特定の実施形態では、本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤をヒト患者に、該患者が治療に反応する限り投与する。他の実施形態では、本発明の製剤をヒト患者に、該患者の疾患が進行しない限り投与する。関連の実施形態では、本発明の製剤をヒト患者に、患者の疾患が進行しないかまたは一定期間進行しなくなるまで投与し、そして、疾患が再発するかまたは再び進行し始めなければ、患者に本発明の製剤を投与しない。例えば、約10~50日間任意の上記用量で患者を治療し、その期間中、疾患の進行に関して患者をモニターすることができる。疾患進行が停止または逆転したら、該患者が再発するまで、すなわち治療対象の疾患が再発または進行するまで本発明の製剤を患者に投与しない。この再発または進行が生じたら、最初に使用された同投与計画でまたは上記の他の用量を使用して患者を再び治療することができる。

40

【0628】

特定の実施形態では、負荷投与量およびその後の一定期間にわたる複数回の低用量(維持量)として本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤を投与することができる。そのような実施形態では、該投与は定期的であってよく、該量は有効なB細胞枯渇を維持するよう調節される。該維持量は、毒性が存在するまで、血小板数が減少するまで、疾患進行がなくなるまで、患者が免疫原性を示すまで、または疾患が末期状態に進行するまで無期限で継続することができる。さらに他の実施形態では、疾患が末期に進行するまで本発明の製剤をヒト患者に投与する。

50

## 【 0 6 2 9 】

## 5.16. 化学療法剤との組み合わせ

CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)を使用する抗CD19免疫療法を他の治療と組み合わせる使用することができ、該他の治療には、非限定的に、単独または組み合わせの、化学療法、放射免疫療法(RIT)、化学療法と外部ビーム照射(併用治療様式, CMT)、または併用放射免疫療法様式(combined modality radioimmunotherapy)(CMRIT)、等が含まれる。特定の実施形態では、非ホジキンリンパ腫を治療するための最も一般的な化学療法治療計画であるCHOP(シクロホスファミド-ヒドロキシドキシソルピシン-オンコピン(ビンクリスチン)-プレドニゾロン)と組み合わせる本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)療法を実施することができる。本明細書中で使用される用語「と組み合わせる投与(実施)」とは、用いられる他の治療の前、その治療中、またはその治療の後に抗CD19免疫療法を実施することができることを意味する。

10

## 【 0 6 3 0 】

特定の実施形態では、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法を細胞傷害性放射性核種または放射線治療用同位体と組み合わせる。例えば、アルファ放射性同位体、例えば $^{225}\text{Ac}$ 、 $^{224}\text{Ac}$ 、 $^{211}\text{At}$ 、 $^{212}\text{Bi}$ 、 $^{213}\text{Bi}$ 、 $^{212}\text{Pb}$ 、 $^{224}\text{Ra}$ 、または $^{223}\text{Ra}$ である。細胞傷害性放射性核種は、ベータ放射性同位体、例えば $^{186}\text{Re}$ 、 $^{188}\text{Re}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{131}\text{I}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ 、 $^{177}\text{Lu}$ 、 $^{153}\text{Sm}$ 、 $^{166}\text{Ho}$ 、または $^{64}\text{Cu}$ であってもよい。さらに、細胞傷害性放射性核種はオージェ電子および低エネルギー電子を放射し、それには、同位体 $^{125}\text{I}$ 、 $^{123}\text{I}$ または $^{77}\text{Br}$ が含まれる。他の実施形態では、同位体は $^{198}\text{Au}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、等であってもよい。特定の実施形態では、被験体に投与される放射性核種の量は約0.001 mCi/kg ~ 約10 mCi/kgの範囲である。

20

## 【 0 6 3 1 】

いくつかの実施形態では、被験体に投与される放射性核種の量は約0.1 mCi/kg ~ 約1.0 mCi/kgの範囲である。他の実施形態では、被験体に投与される放射性核種の量は約0.005 mCi/kg ~ 0.1 mCi/kgの範囲である。

## 【 0 6 3 2 】

特定の実施形態では、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法を化学毒素または化学療法剤と組み合わせる。化学毒素または化学療法剤は、エネジイン、例えばカリチアマイシンおよびエスペラミシン; デュオカルマイシン、メトトレキセート、ドキシソルピシン、メルファラン、クロランブシル、ARA-C、ビンデシン、マイトマイシンC、シスプラチン、エトポシド、プレオマイシンおよび5-フルオロウラシルからなる群から選択してよい。

30

## 【 0 6 3 3 】

CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法との併用療法において使用することができる好適な化学毒素または化学療法剤には、エネジインファミリーの分子のメンバー、例えばカリチアマイシンおよびエスペラミシンが含まれる。デュオカルマイシン(例えばU.S. Pat. No. 5,703,080およびU.S. Pat. No. 4,923,990を参照のこと)、メトトレキセート、ドキシソルピシン、メルファラン、クロランブシル、ARA-C、ビンデシン、マイトマイシンC、シスプラチン、エトポシド、プレオマイシンおよび5-フルオロウラシルからなる群から化学毒素を選択することもできる。化学療法剤の例には、アドリアマイシン、ドキシソルピシン、5-フルオロウラシル、シトシンアラビノシド(「Ara-C」)、シクロホスファミド、チオテパ、タキソテル(ドセタキセル)、プスルファン、サイトキシン、タキソール、メトトレキセート、シスプラチン、メルファラン、ピンブラスチン、プレオマイシン、エトポシド、イホスファミド、マイトマイシンC、ミトキサントロン、ビンクレイシチン(Vincristine)、ビノレルピン、カルボプラチン、テニポシド、ダウノマイシン、カルミノマイシン、アミノプテリン、ダクチノマイシン、マイトマイシン、エスペラミシン(U.S. Pat. No. 4,675,187を参照のこと)、メルファラン、および他の関連ナイトロジェンマスタードも含まれる。

40

## 【 0 6 3 4 】

他の実施形態では、本発明の併用療法において、例えば、「CVB」(1.5 g/m<sup>2</sup>シクロホス

50

ファミド、200-400 mg/m<sup>2</sup>エトポシド、および150-200 mg/m<sup>2</sup>カルムスチン)を使用することができる。CVBは、非ホジキンリンパ腫を治療するために使用される治療計画である。Patti et al., Eur. J. Haematol. 51:18 (1993)。他の好適な併用化学療法方式は当業者に周知である。例えば、Freedman et al., 「Non-Hodgkin's Lymphomas,」 in CANCER MEDICINE, VOLUME 2, 3rd Edition, Holland et al. (eds.), pp. 2028-2068 (Lea & Febiger 1993)を参照のこと。例示的に、中悪性度の非ホジキンリンパ腫の治療のための第1世代の化学療法方式には、C-MOPP (シクロホスファミド、ピンクリスチン、プロカルバジンおよびプレドニゾン)およびCHOP (シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ピンクリスチン、およびプレドニゾン)が含まれる。有用な第2世代の化学療法方式はm-BACOD (メトトレキセート、ブレオマイシン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、デキサメタゾンおよびロイコボリン)であり、好適な第3世代の治療計画はMACOP-B (メトトレキセート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、プレドニゾン、ブレオマイシンおよびロイコボリン)である。追加の有用な薬物には、酪酸フェニルおよびプロスタチン-1 (brostatin-1)が含まれる。多様式治療では、本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤とともに化学療法剤およびサイトカインの両者を共投与する。サイトカイン、化学療法剤およびCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤は、任意の順序で、または一緒に投与することができる。

10

## 【0635】

本発明の製剤および方法において使用できる他の毒素には、有毒なレクチン、植物毒素、例えばリシン、アプリン、モデシン、ボツリナおよびジフテリア毒素が含まれる。

20

## 【0636】

好適な毒素および化学療法剤は、REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 19th Ed. (Macmillan Publishing Co. 1995), およびGOODMAN AND GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, 7th Ed. (Macmillan Publishing Co. 1985)に記載されている。他の好適な毒素および/または化学療法剤は当業者に公知である。

## 【0637】

特定の実施形態では、本発明の製剤および方法を投与すると、有毒な治療の延期が可能になり、化学療法に伴う不必要な副作用および合併症の危険の回避および化学療法に対する耐性の発生の遅延を支援することができる。特定の実施形態では、本発明の製剤および方法を投与された患者において、有毒な治療および/または有毒な治療に対する耐性が約6

30

## 【0638】

## 5.17. 治療用抗体との組み合わせ

本明細書中に記載のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法を他の抗体と組み合わせ実施してよく、該他の抗体には、非限定的に、抗CD20 mAb、抗CD52 mAb、抗CD22抗体、および抗CD20抗体、例えばRITUXAN<sup>TM</sup> (C2B8; RITUXIMAB<sup>TM</sup>; IDEC Pharmaceuticals)が含まれる。本発明の方法と組み合わせ使用するかまたは本発明の製剤中で使用することができる治療用抗体の他の例には、非限定的に、HERCEPTIN<sup>TM</sup> (トラスツズマブ; Genentech)、MYLOTARG<sup>TM</sup> (ゲムツズマブ・オゾガマイシン; Wyeth Pharmaceuticals)、CAMPATH<sup>TM</sup> (アレムツズマブ; Berlex)、ZEVALIN<sup>TM</sup> (イプリットモマブ・チウキセタン(Ipritumomab tiuxetan); Biogen Idec)、BEXXAR<sup>TM</sup> (トシツモマブ; GlaxoSmithKline Corixa)、ERBITUX<sup>TM</sup> (セツキシマブ; Imclone)、およびAVASTIN<sup>TM</sup> (ペバシズマブ; Genentech)が含まれる。

40

## 【0639】

特定の実施形態では、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)および抗CD20および/または抗CD22 mAbおよび/または抗CD52 mAbを、場合により同一医薬製剤中で、任意の好適な比で投与することができる。

## 【0640】

## 5.18. 免疫調節物質との組み合わせ

CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法を免疫調節物質と組み合わせても

50

よい。併用療法に関して本明細書中で使用される用語「免疫調節物質」とは、宿主の免疫系を抑制、遮蔽、または増強するように作用する物質を表す。これには、サイトカイン生産を抑制するか、自己抗原発現を下方制御もしくは抑制するか、またはMHC抗原を遮蔽する物質が含まれる。そのような物質の例には、2-アミノ-6-アリール-5-置換ピリミジン(U.S. Pat. No. 4,665,077を参照のこと)、アザチオプリン(または、アザチオプリンに対する有害反応が存在する場合はシクロホスファミド); プロモクリプチン(bromocryptine); グルタルアルデヒド(U.S. Pat. No. 4,120,649に記載されるようにMHC抗原を遮蔽する); MHC抗原およびMHC断片に関する抗イディオタイプ抗体; シクロスポリンA; ステロイド、例えばグルココルチコステロイド、例えばプレドニゾン、メチルプレドニゾロン、およびデキサメタゾン; サイトカインまたはサイトカイン受容体アンタゴニスト(抗インターフェロン-、-、または- 抗体を含む); 抗腫瘍壊死因子- 抗体; 抗腫瘍壊死因子- 抗体; 抗インターロイキン-2抗体および抗IL-2受容体抗体; 抗L3T4抗体; 異種抗リンパ球グロブリン; pan-T抗体、例えば抗CD3または抗CD4/CD4a抗体; LFA-3結合ドメインを含有する可溶性ペプチド(1990年7月26日公開のWO 90/08187); ストレプトキナーゼ; TGF- ; ストレプトドルナーゼ; 宿主由来のRNAまたはDNA; FK506; RS-61443; デオキシスベルグアリン; ラパマイシン; T細胞受容体(U.S. Pat. No. 5,114,721); T細胞受容体断片(Offner et al., Science 251:430-432 (1991); WO 90/11294; およびWO 91/01133); およびT細胞受容体抗体(EP 340,109)、例えばT10B9が含まれる。サイトカインの例には、非限定的に、リンホカイン、モノカイン、および従来のポリペプチドホルモンが含まれる。サイトカインに含まれるのは、成長ホルモン、例えばヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモン、およびウシ成長ホルモン; 副甲状腺ホルモン; チロキシン; インスリン; プロインスリン; リラキシン; プロリラキシン; 糖タンパク質ホルモン、例えば卵胞刺激ホルモン(FSH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、および黄体形成ホルモン(LH); 肝細胞増殖因子; 線維芽細胞成長因子; プロラクチン; 胎盤ラクトゲン; 腫瘍壊死因子- ; ミュラー阻害物質; マウス性腺刺激ホルモン関連ペプチド; インヒビン; アクチビン; 血管内皮増殖因子; インテグリン; トロンボポエチン(thrombopoietin)(TPO); 神経成長因子、例えばNGF- ; 血小板-成長因子; トランスフォーミング成長因子(TGF)、例えばTGF- およびTGF- ; インスリン様成長因子-Iおよび-II; エリスロポエチン(EPO); 骨誘導因子; インターフェロン; コロニー刺激因子(CSF)、例えばマクロファージ-CSF (M-CSF); 顆粒球-マクロファージ-CgP (GM-CSF); および顆粒球-CSF (G-CSF); インターロイキン(IL)、例えばIL-1、IL-1a、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-15; 腫瘍壊死因子、例えばTNF- またはTNF- ; および他のポリペプチド因子(LIFおよびキトトリグランド(KL)を含む)である。本明細書中で使用される用語サイトカインには、天然起源由来または組換え細胞培養物由来のタンパク質およびネイティブ配列のサイトカインの生物活性等価物が含まれる。特定の実施形態では、本方法は、1種以上の免疫調節物質、例えばサイトカインを被験体に投与するステップをさらに含む。好適なサイトカインは、インターロイキン-1 (IL-1)、IL-2、IL-3、IL-12、IL-15、IL-18、G-CSF、GM-CSF、トロンボポエチン、および インターフェロンからなる群から選択することができる。

#### 【0641】

これらの免疫調節物質をCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)と同時にまたは別の時点で投与する。免疫調節物質の選択は、治療対象の障害のタイプ、ならびに患者の病歴を含む多数の要因に依存するが、該物質は、シクロスポリンA、グルココルチコステロイド(例えばプレドニゾンまたはメチルプレドニゾロン)、アザチオプリン、プロモクリプチン、異種抗リンパ球グロブリン、またはその混合物から選択されることが多い。

#### 【0642】

### 5.19. 他の治療物質との組み合わせ

腫瘍の血管新生(neovasculature)に対して作用する物質をCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)と組み合わせ使用することもでき、該物質には、チューブリン結合物質、例えばコンプレスタチンA4 (Griggs et al., Lancet Oncol. 2:82, (2001))およびアンジオスタチンおよびエンドスタチン(Rosen, Oncologist 5:20 (2000)) (該文献は参照に

10

20

30

40

50

よりここに組み入れられる)でレビューされている)が含まれる。CD19xCD3二重特異性抗体(例えばMT103)と組み合わせて使用するために好適な免疫調節物質(immunomodulators)には、非限定的に、 $\alpha$ -インターフェロン、 $\beta$ -インターフェロン、および腫瘍壊死因子アルファ(TNF)が含まれる。特定の実施形態では、本発明の製剤および方法を使用する併用療法で使用される治療物質はペプチドである。

#### 【0643】

特定の実施形態では、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法を1種以上のカリチアマイシン分子と組み合わせる。カリチアマイシンファミリーの抗生物質は、ピコモル濃度以下の濃度で二本鎖DNA切断を生じさせることが可能である。使用することができるカリチアマイシンの構造アナログには、非限定的に、 $1'$ 、 $2'$ 、 $3'$ 、N-アセチル- $1'$ 、PSAGおよび011が含まれる(Hinman et al., Cancer Research 53:3336-3342 (1993) およびLode et al., Cancer Research 58: 2925-2928 (1998))。

10

#### 【0644】

特定の実施形態では、治療計画は、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤の細胞傷害作用を緩和する化合物を含む。そのような化合物には、鎮痛薬(例えばアセトアミノフェン)、ビスホスホネート、抗ヒスタミン剤(例えばマレイン酸クロルフェニラミン)、およびステロイド(例えば、デキサメタゾン、レチノイド、デルトイド(deltoids)、ベタメタゾン、コルチゾール、コルチゾン、プレドニゾン、デヒドロテストステロン(dehydrotestosterone)、糖質コルチコイド、鉱質コルチコイド、エストロゲン、テストステロン、プロゲステロン)が含まれる。

20

#### 【0645】

特定の実施形態では、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法と組み合わせて使用される治療物質は小分子(すなわち約2500ダルトン未満の分子量を有する無機または有機化合物)である。例えば、小分子のライブラリーは、Specs and BioSpecs B.V. (Rijswijk, The Netherlands)、Chembridge Corporation (San Diego, CA)、Comgenex USA Inc. (Princeton, NJ)、およびMaybridge Chemicals Ltd. (Cornwall PL34 OHW, United Kingdom)から商業的に入手することができる。

#### 【0646】

特定の実施形態では、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法を抗菌剤と組み合わせて実施することができる。抗菌剤の非限定的な例には、細菌感染を阻害および/または低減するか、細菌の複製を阻害および/または低減するか、または他の細胞または被験体への細菌の伝播を阻害および/または低減するタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、融合タンパク質、抗体、核酸分子、有機分子、無機分子、および小分子が含まれる。抗菌剤の具体例には、非限定的に、抗生物質、例えばペニシリン、セファロsporin、イミペネム、アキストレオナム(axtreonam)、バンコマイシン、サイクロセリン、バシトラシン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、クリンダマイシン、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、トブラマイシン、ゲンタマイシン、アミカシン、カナマイシン、ネオマイシン、スペクチノマイシン、トリメトプリム、ノルフロキサシン、リファンピン、ポリミキシン、アンホテリシンB、ニスタチン、ケトカナゾール(ketocanazole)、イソニアジド、メトロニダゾール、およびペンタミジンが含まれる。

30

40

#### 【0647】

特定の実施形態では、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法を抗真菌剤と組み合わせて実施することができる。抗真菌剤の具体例には、非限定的に、アゾール薬物(例えば、ミコナゾール、ケトコナゾール(NIZORAL(登録商標))、酢酸カスポファンギン(CANCIDAS(登録商標))、イミダゾール、トリアゾール(例えばフルコナゾール(DIFLUCAN(登録商標)))、およびイトラコナゾール(SPORANOX(登録商標)))、ポリエン(例えば、ニスタチン、アンホテリシンB (FUNGIZONE(登録商標))、アンホテリシンB脂質複合体(「ABLC」)(ABELCET(登録商標))、アンホテリシンBコロイド分散物(「ABCD」)(AMPHOTEC(登録商標))、リポソーム性アンホテリシンB (AMBISONE(登録商標)))、ヨウ化カリウム(KI)、ピリミジン(例えばフルシトシン(ANCOBON(登録商標)))、およびポリコナゾール(VFEND(登録

50

商標)))が含まれる。抗菌剤および抗真菌剤の投与により、患者のB細胞を大きく枯渇させる本発明の方法において生じる感染症の影響または増加を緩和することができる。

【0648】

本発明の特定の実施形態では、本発明の製剤の投与に伴う毒性副作用を緩和する1種以上の上記物質と組み合わせてCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法を実施することができる。他の実施形態では、抗体投与、化学療法、毒素、または薬物の副作用の緩和に使用するための当技術分野において周知の1種以上の物質と組み合わせてCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法を実施することができる。

【0649】

多発性骨髄腫を治療するためにCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法を実施する本発明の特定の実施形態では、高用量化学療法(メルファラン、メルファラン/プレドニゾン(MP)、ビンクリスチン/ドキシソルピシン/デキサメタゾン(VAD)、リポソーム性ドキシソルピシン/ビンクリスチン、デキサメタゾン(DVd)、シクロホスファミド、エトポシド/デキサメタゾン/シタラビン、シスプラチン(EDAP))、幹細胞移植(例えば、自家幹細胞移植または同種幹細胞移植、および/またはミニ同種(骨髄非破壊的)幹細胞移植)、放射線療法、ステロイド(例えば、コルチコステロイド、デキサメタゾン、サリドマイド/デキサメタゾン、プレドニゾン、メルファラン/プレドニゾン)、支持療法(例えば、ビスホスホナート、成長因子、抗生物質、静脈内免疫グロブリン、低用量放射線療法、および/または整形外科的介入(orthopedic interventions))、THALOMID™(サリドマイド, Celgene)、および/またはVELCADE™(ボルテゾミブ, Millennium)と組み合わせるかまたはそれらを用いる治療計画で本発明の製剤を投与することができる。

【0650】

CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)免疫療法を別の抗体または抗体群および/または物質と組み合わせて実施する本発明の実施形態では、追加の抗体または抗体群および/または物質をCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の投与に対して任意の順序で投与することができる。例えば、ヒト被験体へのCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の投与の前、その投与と同時に、および/またはその投与の後に追加の抗体または抗体群を投与することができる。追加の抗体または抗体群は、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)と同一の医薬製剤中に存在させることができ、かつ/または異なる医薬製剤中に存在させることができる。CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の用量および投与様式および追加の抗体または抗体群の用量は、投与量および投与様式の、本出願中で提供される任意の教授内容および当技術分野において周知の任意の教授内容に従って、同一でも異なってもよい。

【0651】

5.20. キット

本発明は、上記方法において使用することができるキットを提供する。本発明は、1個以上の容器中の本発明の凍結乾燥製剤を含む医薬パックまたはキットを提供する。一実施形態では、キットは1個以上の容器中に本発明の製剤を含む。別の実施形態では、キットは1個以上の容器中に本発明の製剤を含み、かつ1個以上の容器中に好適な希釈剤(例えばBWF1)をさらに含む。別の実施形態では、キットは1個以上の容器中に本発明の製剤を含み、かつ1種以上の他の予防物質または治療物質を含む。該キットは、本発明の再構成製剤の投与方法に関する指示書をさらに含んでよい。場合により、そのような容器(群)には、医薬品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制する行政機関によって指定された形式で表示を添付することができ、該表示は、ヒト適用のための製造、使用または販売の、該機関による承認を反映する。

【0652】

本発明は、ヒト被験体のB細胞疾患および障害、例えば、非限定的に、B細胞悪性腫瘍、自己免疫疾患、移植片対宿主病(GVHD)、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害、または1つ以上のその徴候の予防、治療、管理または改善のためのCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の凍結乾燥製剤が充填された1個以上の容器を含む医薬パックまた

はキットを提供する。一実施形態では、キットは、1個以上の容器中に本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)凍結乾燥製剤を含む。別の実施形態では、キットは1個以上の容器中に本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤を含み、かつ1個以上の容器中に好適な希釈剤(例えばBWF1)をさらに含む。別の実施形態では、キットは、1個以上の容器中の本発明のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)製剤、およびヒト被験体のB細胞疾患および障害、例えば、非限定的に、B細胞悪性腫瘍、自己免疫疾患、移植片対宿主病(GVHD)、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害、または1つ以上のその徴候の予防、治療、管理または改善のために有用な1種以上の他の予防物質または治療物質を含む。特定の実施形態では、本発明の凍結乾燥製剤を、MT103、シトレート、トレハロース無水物(trehalose dehydrate)、リシンHCl、およびポリソルベート80からなる滅菌凍結乾燥ケーキとして一回量バイアル中で製剤化する。本発明の製剤を3 cc USP Type Iホウケイ酸アンバーバイアル(例えばWest Pharmaceutical Services - Part No. 6800-0675)中で供給することができる。該キットは、本明細書中に記載のCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)の再構成製剤の投与方法に関する指示書をさらに含んでよい。場合により、そのような容器(群)には、医薬品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制する行政機関によって指定された形式で表示を添付することができ、該表示は、ヒト適用のための製造、使用または販売の、該機関による承認を反映する。

10

### 【0653】

#### 5.21. 製品

また、本発明は、仕上げられ、パッケージされ、ラベルされた医薬品を包含する。この製品は、密封された適切な容器(vessel or container)、例えばガラスバイアルまたは他の容器中の適切な単位投与剤形を含む。単位投与剤形は、BiTE(登録商標)分子を含む滅菌凍結乾燥粉末として提供され、該凍結乾燥粉末は再構成およびその後の非経口投与に好適である。一実施形態では、単位投与剤形は、CD19xCD3 BiTE(登録商標)分子を含む滅菌凍結乾燥粉末として提供され、該凍結乾燥粉末は再構成およびその後の非経口投与に好適である。特定の実施形態では、単位投与剤形は、MT103を含む滅菌凍結乾燥粉末として提供され、該凍結乾燥粉末は再構成およびその後の非経口投与に好適である。一実施形態では、再構成された単位投与剤形は静脈内、筋肉内、鼻腔内、経口、局所または皮下送達に好適である。ゆえに、本発明は各送達経路に好適な滅菌溶液を包含する。

20

### 【0654】

任意の医薬品と同様に、保存および輸送中に製品の安定性を保護するようパッケージング材料および容器を設計する。さらに、本発明の製品は、使用のための指示書または、問題の疾患または障害を適切に予防または治療するための手引きを医師、技術者または患者に助言する他の情報資料を含む。換言すれば、該製品は、実際の用量、モニタリング手順、および他のモニタリング情報を非限定的に含む投薬計画を示すかまたは示唆する指示手段を含む。

30

### 【0655】

特に、本発明は、パッケージング材料、例えばボックス、ボトル、チューブ、バイアル、コンテナ、噴霧器、吸入器、静脈内(i.v.)バッグ、エンベロープ等; および該パッケージング材料内に含有される医薬品の少なくとも1つの単位投与剤形を含む製品を提供し、該医薬品はBiTE(登録商標)分子(例えばMT103)を含有する凍結乾燥製剤を含む。パッケージング材料は、該BiTE(登録商標)分子を使用して、本明細書中に記載の特定の用量を投与しかつ特定の投薬方式を使用することによってヒト被験体のB細胞疾患および障害、例えば、非限定的に、B細胞悪性腫瘍、自己免疫疾患、移植片対宿主病(GVHD)、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害に伴う1つ以上の徴候を予防、治療、管理または改善できること示す指示手段を含む。

40

### 【0656】

また、本発明は、パッケージング材料、例えばボックス、ボトル、チューブ、バイアル、コンテナ、噴霧器、吸入器、静脈内(i.v.)バッグ、エンベロープ等; および該パッケージング材料内に含有される各医薬品の少なくとも1つの単位投与剤形を含む製品を提供し

50

、該医薬品の1つはCD19xCD3 BiTE(登録商標)分子(例えばMT103)を含有する凍結乾燥製剤を含み、かつ他の医薬品は抗体以外の予防物質または治療物質を含み、かつ該パッケージング材料は、該物質を使用して、本明細書中に記載の特定の用量を投与しかつ特定の投薬方式を使用することによってヒト被験体のB細胞疾患および障害、例えば、非限定的に、B細胞悪性腫瘍、自己免疫疾患、移植片対宿主病(GVHD)、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害に伴う1つ以上の徴候を予防、治療および/または管理できることを示す指示手段を含む。

【0657】

本発明は、本発明の方法によって低減または回避することができる悪影響を、ヒト被験体のB細胞疾患および障害、例えば、非限定的に、B細胞悪性腫瘍、自己免疫疾患、移植片対宿主病(GVHD)、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害に伴う1つ以上の徴候の予防、治療および/または管理において使用するための製品に同封された情報資料中に記載することを提供する。本発明の方法によって低減または回避することができる悪影響には、非限定的に、生命徴候異常(発熱、頻脈、徐脈(bardycardia)、高血圧、低血圧)、血液学的イベント(貧血、リンパ球減少、白血球減少、血小板減少)、頭痛、悪寒、めまい、吐き気、無力、背痛、胸痛(胸部圧迫)、下痢、筋肉痛、疼痛、そう痒、乾癬、鼻炎、発汗、注射部位反応、および血管拡張が含まれる。

【0658】

#### 5.22. 具体的実施形態

当業者は、本明細書中に記載の本発明の具体的実施形態と等価な多数の実施形態を認識するか、または典型的にすぎない実験法を使用して確かめることができる。そのような等価物は以下の特許請求の範囲によって包含されるものとする。

【0659】

1. 二重特異性抗体およびリシンを含む滅菌液体医薬製剤であって、二重特異性抗体が第1および第2の結合ドメインを含み、第1の結合ドメインがCD3 T細胞表面抗原に特異的に結合する、製剤。

【0660】

2. 再構成された液体製剤である、請求項1の製剤。

【0661】

3. 第1の結合ドメインが配列番号5の残基283~525のアミノ酸配列を含む、請求項1または2のいずれか一項の製剤。

【0662】

4. 第2の結合ドメインが、CD19、CD20、CD22、EphA2、EphA4、INFR、ICOS、Ep-CAM、CEA、およびIL-5受容体からなる群から選択される抗原に特異的に結合する、請求項1~3のいずれか一項の製剤。

【0663】

5. 第2の結合ドメインがCD19に特異的に結合する、請求項4の製剤。

【0664】

6. 第2の結合ドメインが配列番号5の残基28~277のアミノ酸配列を含む、請求項5の製剤。

【0665】

7. 二重特異性抗体が配列番号5の残基28~525のアミノ酸配列を含む、請求項5の製剤。

【0666】

8. 水性製剤である、請求項1~7のいずれか一項の製剤。

【0667】

9. 等張性、高張性、または低張性である、請求項1~8のいずれか一項の製剤。

【0668】

10. 凍結乾燥に好適である、請求項1または2~9のいずれか一項の製剤。

【0669】

10

20

30

40

50

11. 約1マイクログラム/ml～約300マイクログラム/mlの二重特異性抗体を含む、請求項1～10のいずれか一項の製剤。

【0670】

12. ヒスチジン、シトレート、ホスフェート、グリシン、およびアセテートからなる群から選択される緩衝剤をさらに含む、請求項1～11のいずれか一項の製剤。

【0671】

13. ショ糖、トレハロース、ラクトース、マンニトール、およびラフィノースからなる群から選択される炭水化物賦形剤をさらに含む、請求項1～12のいずれか一項の製剤。

【0672】

14. ポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート60、またはポリソルベート80からなる群から選択される界面活性剤をさらに含む、請求項1～13のいずれか一項の製剤。

【0673】

15. シトレート、トレハロース、およびポリソルベート80をさらに含む、請求項1～11のいずれか一項の製剤。

【0674】

16. 約5 mM～約125 mMの範囲のシトレート、約25 mM～約400 mMのリシン、約3%～約50%のトレハロース、および約0.01%～約1%のポリソルベート80を含み、かつ約4.0～約8.0のpHを有する、請求項15の製剤。

【0675】

17. 約55マイクログラム/ml二重特異性抗体、約25 mMシトレート、約200 mMリシン、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、かつpH約7.0を有する、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

【0676】

18. 約150マイクログラム/ml二重特異性抗体、約30 mMシトレート、約75 mMリシン、約6.5%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、かつpH約7.0を有する、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

【0677】

19. 約150マイクログラム/ml二重特異性抗体、約30 mMシトレート、約75 mMリシン、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、かつpH約7.0を有する、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

【0678】

20. 約160マイクログラム/ml二重特異性抗体、約25 mMシトレート、約200 mMリシン、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、かつpH約7.0を有する、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

【0679】

21. 二重特異性抗体が、少なくとも約1か月間の約5 での保存中に、該保存前の抗体に相当する参照抗体と比較して、CD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

【0680】

22. 約1か月間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に二重特異性抗体の5%未満しか凝集体を形成しない、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

【0681】

23. 約1か月間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に二重特異性抗体の5%未満しかダイマーを形成しない、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

【0682】

24. 該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に二重特異性抗体の5%未満しか凝集体を形成しない、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

10

20

30

40

50

## 【 0 6 8 3 】

25. 製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に抗体の5%未満しか凝集体を形成しない、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

## 【 0 6 8 4 】

26. 該製剤のサンプルで容量の半分まで満たされたバイアルを400シェイク/分の速度で4時間振とうした際にHPSECによって測定された場合に抗体の5%未満しかダイマーを形成しない、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

## 【 0 6 8 5 】

27. 製剤を3回の凍結/解凍サイクルに付した際にHPSECによって測定された場合に抗体の5%未満しかダイマーを形成しない、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

10

## 【 0 6 8 6 】

28. 該製剤から作製された凍結乾燥ケーキを再構成することによって該抗体の少なくとも約95%が回収される、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

## 【 0 6 8 7 】

29. 少なくとも約1か月間の約5 での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である、請求項1～16のいずれか一項の製剤。

## 【 0 6 8 8 】

30. 二重特異性抗体およびリシンを含む滅菌凍結乾燥医薬製剤であって、二重特異性抗体が第1および第2の結合ドメインを含み、第1の結合ドメインがCD3 T細胞表面抗原に特異的に結合する、製剤。

20

## 【 0 6 8 9 】

31. 第1の結合ドメインが配列番号5の残基283～525のアミノ酸配列を含む、請求項30の製剤。

## 【 0 6 9 0 】

32. 第2の結合ドメインが、CD19、CD20、CD22、EphA2、EphA4、INFR、ICOS、Ep-CAM、CEA、およびIL-5受容体からなる群から選択される抗原に特異的に結合する、請求項30または31のいずれか一項の製剤。

## 【 0 6 9 1 】

33. 第2の結合ドメインがCD19に特異的に結合する、請求項32の製剤。

## 【 0 6 9 2 】

34. 第2の結合ドメインが配列番号5の残基28～277のアミノ酸配列を含む、請求項33の製剤。

30

## 【 0 6 9 3 】

35. 二重特異性抗体が配列番号5の残基28～525のアミノ酸配列を含む、請求項33の製剤。

## 【 0 6 9 4 】

36. ヒスチジン、シトレート、ホスフェート、グリシン、およびアセテートからなる群から選択される緩衝剤をさらに含む、請求項30～35のいずれか一項の製剤。

## 【 0 6 9 5 】

37. ショ糖、トレハロース、ラクトース、マンニトール、およびラフィノースからなる群から選択される炭水化物賦形剤をさらに含む、請求項30～36のいずれか一項の製剤。

40

## 【 0 6 9 6 】

38. ポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート60、またはポリソルベート80からなる群から選択される界面活性剤をさらに含む、請求項30～37のいずれか一項の製剤。

## 【 0 6 9 7 】

39. シトレート、トレハロース、およびポリソルベート80をさらに含む、請求項30～35のいずれか一項の製剤。

## 【 0 6 9 8 】

50

40．少なくとも約1年の約5 での保存時に凍結乾燥製剤を再構成することによって二重特異性抗体の少なくとも約90%が回収される、請求項30～39のいずれか一項の製剤。

【0699】

41．少なくとも約1年の約5 での凍結乾燥製剤の保存後の再構成の際にHPSECによって測定された場合に該二重特異性抗体の5%未満しか凝集体を形成しない、請求項30～39のいずれか一項の製剤。

【0700】

42．少なくとも約1年の約5 での凍結乾燥製剤の保存後の再構成の際にHPSECによって測定された場合に該二重特異性抗体の5%未満しかダイマーを形成しない、請求項30～39のいずれか一項の製剤。

10

【0701】

43．少なくとも約1か月間の約5 での凍結乾燥製剤の保存後の再構成の際に該二重特異性抗体が、該保存前の抗体に相当する参照抗体と比較してCD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する、請求項30～39のいずれか一項の製剤。

【0702】

44．二重特異性抗体およびリシンを含む滅菌液体再構成医薬製剤であって、二重特異性抗体が第1および第2の結合ドメインを含み、第1の結合ドメインがCD3 T細胞表面抗原に特異的に結合する、製剤。

【0703】

20

45．第1の結合ドメインが配列番号5の残基283～525のアミノ酸配列を含む、請求項44の製剤。

【0704】

46．第2の結合ドメインが、CD19、CD20、CD22、EphA2、EphA4、INFR、ICOS、Ep-CAM、CEA、およびIL-5受容体からなる群から選択される抗原に特異的に結合する、請求項44または45のいずれか一項の製剤。

【0705】

47．第2の結合ドメインがCD19に特異的に結合する、請求項46の製剤。

【0706】

48．第2の結合ドメインが配列番号5の残基28～277のアミノ酸配列を含む、請求項47の製剤。

30

【0707】

49．二重特異性抗体が配列番号5の残基28～525のアミノ酸配列を含む、請求項47の製剤。

【0708】

50．水性製剤である、請求項44～49のいずれか一項の製剤。

【0709】

51．等張性、高張性、または低張性である、請求項44～50のいずれか一項の製剤。

【0710】

40

52．約1マイクログラム/ml～約300マイクログラム/mlの二重特異性抗体を含む、請求項44～51のいずれか一項の製剤。

【0711】

53．ヒスチジン、シトレート、ホスフェート、グリシン、およびアセテートからなる群から選択される緩衝剤をさらに含む、請求項44～52のいずれか一項の製剤。

【0712】

54．ショ糖、トレハロース、ラクトース、マンニトール、およびラフィノースからなる群から選択される炭水化物賦形剤をさらに含む、請求項44～53のいずれか一項の製剤。

【0713】

50

55. ポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート60、またはポリソルベート80からなる群から選択される界面活性剤をさらに含む、請求項44～54のいずれか一項の製剤。

【0714】

56. シトレート、トレハロース、およびポリソルベート80をさらに含む、請求項44～52のいずれか一項の製剤。

【0715】

57. 約5 mM～約125 mMの範囲のシトレート、約25 mM～約400 mMのリシン、約3%～約50%のトレハロース、および約0.01%～約1%のポリソルベート80を含み、かつ約4.0～8.0のpHを有する、請求項44～56のいずれか一項の製剤。

10

【0716】

58. 約55マイクログラム/ml二重特異性抗体、約25 mMシトレート、約200 mMリシン、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、かつpH約7.0を有する、請求項44～56のいずれか一項の製剤。

【0717】

59. 約150マイクログラム/ml二重特異性抗体、約30 mMシトレート、約75 mMリシン、約6.5%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、かつpH約7.0を有する、請求項44～56のいずれか一項の製剤。

【0718】

60. 約150マイクログラム/ml二重特異性抗体、約30 mMシトレート、約75 mMリシン、約6%トレハロースおよび約0.02%ポリソルベート80を含み、かつpH約7.0を有する、請求項44～56のいずれか一項の製剤。

20

【0719】

61. 約160マイクログラム/ml二重特異性抗体、約25 mMシトレート、約200 mMリシン、約15%トレハロースおよび約0.1%ポリソルベート80を含み、かつpH約7.0を有する、請求項44～56のいずれか一項の製剤。

【0720】

62. 二重特異性抗体が、少なくとも約12時間の約5 での保存中に、該保存前の抗体に相当する参照抗体と比較して、CD19およびCD3抗原に対する結合能力の少なくとも90%を保持する、請求項44～61のいずれか一項の製剤。

30

【0721】

63. 約12時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に二重特異性抗体の5%未満しか凝集体を形成しない、請求項44～61のいずれか一項の製剤。

【0722】

64. 約12時間の約5 での保存時にHPSECによって測定された場合に二重特異性抗体の5%未満しかダイマーを形成しない、請求項44～61のいずれか一項の製剤。

【0723】

65. 少なくとも約12時間の約5 での保存時に目視検査によって測定された場合に無色透明である、請求項44～61のいずれか一項の製剤。

【0724】

66. 注射用製剤である、請求項1～29または44～65のいずれか一項の製剤。

40

【0725】

67. 静脈内、皮下、または筋肉内投与用の製剤である、請求項66の製剤。

【0726】

68. 皮下投与に好適である、請求項67の製剤。

【0727】

69. 製剤の皮下送達にしたがう二重特異性抗体のバイオアベイラビリティが、同用量の製剤の静脈内送達にしたがう二重特異性抗体のバイオアベイラビリティと比較して約10%～約50%の範囲である、請求項68の製剤。

【0728】

50

70. 抗体製剤が静脈内、皮下、または筋肉内投与される、請求項1～69のいずれか一項の製剤の医薬単位投与剤形。

【0729】

71. 請求項1～69のいずれか一項の製剤を含有する密封容器。

【0730】

72. 請求項1～69のいずれか一項の製剤を含むキット。

【0731】

73. ヒト被験体のB細胞障害または疾患、例えば、B細胞悪性腫瘍、自己免疫疾患、移植片対宿主病(GVHD)、体液性拒絶、および移植後リンパ球増殖性障害を予防、管理、治療または改善する方法であって、それを必要としている被験体に請求項1～69のいずれか

10

【0732】

74. 疾患または障害がB細胞悪性腫瘍である、請求項73の方法。

【0733】

75. 請求項1～69のいずれか一項の製剤の製造方法であって、二重特異性抗体をリシンと組み合わせることを含む方法。

【0734】

76. 二重特異性抗体を安定化する方法であって、該抗体をリシンと組み合わせることを含み、二重特異性抗体が第1および第2の結合ドメインを含み、第1の結合ドメインがCD3 T細胞表面抗原に特異的に結合する、方法。

20

【0735】

## 6. 実施例

【実施例1】

【0736】

### 6.1. MT103凍結乾燥製剤Iの開発

使用されたすべての化学物質はUSPグレード以上であった。トレハロース無水物はFerro Pfanstiehlから入手し; ポリソルベート80、アルギニンHCl、リシンHCl、シトレート、硫酸ナトリウムおよびリン酸カリウムはJT BakerまたはSigmaから入手することができ; NaOHおよびHClはVWRから入手した。

【0737】

30

#### 6.1.1. 分析方法

目視検査: 全体的形状に関しておよび崩壊、再融解(melt back)、薄片化(flakiness)、ひび、縮み、または他の外観上の欠陥の任意の視覚的徴候に関して凍結乾燥ケーキを視覚的に検査することによって該ケーキの目視検査を行った。再構成されたバイアルを微粒子の存在に関して検査した。

【0738】

サイズ排除クロマトグラフィー(SEC): SECを使用して、サンプル中に存在する凝集体のレベルを決定し、かつサンプル中のMT103タンパク質の濃度を決定した。1 mL/分の流速で蛍光検出(280 nmで励起, 345 nmで発光)を使用するTosoHaas G3000 SW<sub>x</sub>Lカラム(7.8 x 300 mm)を備えたAgilent HPLCシステムで2~100 μLのサンプルを注入することによってSEC分析を実施した。移動相は0.1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.2 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を含むHPLCグレードの水(pH 6.6)から構成された。各稼働で作用(working)参照標準を注入することによって作製された3点括弧付け標準曲線(a three point bracketed standard curve)を使用して、MT103を定量した。SECアッセイはA280測定の代替ツールとして機能した。その理由は、アミノ酸分析から決定された消衰係数(ε = 2.16)を使用して作用(working)参照標準の濃度が280 nmでのUV吸光度(A280)とあらかじめ関連付けられていたからである。

40

【0739】

水分量分析: 凍結乾燥ケーキの残留水分量を電量カールフィッシャー滴定によって測定した。簡潔に言えば、凍結乾燥ケーキの重さを量り、1 ml無水メタノール中に溶解した。隔壁がないセルを有する電量カールフィッシャー滴定装置に固定重量の溶解サンプルを

50

移した。凍結乾燥サンプルの残留水分量を%w/wとして表す。

【0740】

タンパク質回収の測定：再構成の前後に凍結乾燥MT103を含有するバイアルの重さを正確に量った。次いでMT103タンパク質溶液を別のバイアルに移し、元のバイアルを十分にすすぎ、乾燥し、重さを量った。再構成したMT103タンパク質の濃度をSEC分析によって測定した。上記のようにして実験的に測定された各バイアル中の再構成ケーキの正味の重量、およびSECによって測定された濃度を使用して、タンパク質回収を算出した。

【0741】

6.1.2. 製剤化

バッファー調製：USPまたはmulti-compendialグレードの化学物質を用いてバッファーを調製した。すべてのpH調整は、必要に応じて1 N HClまたは1 N NaOHで行った。すべてのバッファーを0.22 μmフィルターに通してろ過し、2~8 で保存し、調製から2週間以内に使用した。

【0742】

透析：透析対象の量に見合った0.5~12 mLの範囲の容量を有するPierce透析カセットを使用してバッファー交換を実施した。ポリソルベート80の添加前にすべての交換を実施した。最低でも、2回の連続交換を実施し、各交換は、最低4時間にわたって少なくとも100倍過剰の標的製剤バッファーを用いて行った。透析カセットから回収された透析されたタンパク質溶液の重量オスモル濃度およびpHが標的製剤バッファーの重量オスモル濃度およびpHと合致することによって完全な交換を確認した。透析カセットから回収されたタンパク質を、直ちに、適切であればポリソルベート80を用いて製剤化し、0.22 μmシリンジフィルターに通してろ過し、使用するまで2~8 で保存した。

【0743】

凍結解凍ストレスに対する安定性の評価：サンプル(0.5~1.0 mL)を1 mLポリプロピレン製クライオバイアルに移し、3回の凍結解凍サイクルに付した。コントロールとして機能する合致製剤のバイアルは、2~8 で維持し、凍結解凍を全く行わなかった。各凍結解凍サイクルは、-70 環境チャンバーで最低8時間の凍結および2~8 で完全に解凍されるまでの解凍から構成された。最終解凍後、サンプルを穏やかに混合し、SECによって分析した。

【0744】

振とうストレスに対する安定性の評価：2~4時間にわたって最大設定10 (約400シェイク/分)の実験室ベンチトップシェーカー(VWR Digital Mini Vortexer)で、断熱容器中で室温で振とう試験を実施した。バイアルを水平に置き、乱流を最大にする目的でバイアルの長手方向を振とう方向に沿ったものとし、それにより空気-液体界面の表面積を増加させた。コントロールとして機能する合致製剤のバイアルは、2~8 で維持し、振とうを全く行わなかった。そして振とうバイアルおよび未振とうコントロール由来のサンプルをSECによって分析した。

【0745】

充填/仕上げ手順：すべてのガラスバイアルは脱イオン水で3回すすぎ、使用前に滅菌した。ゴム栓を購入し、プレ洗浄し、使用前に滅菌した。すべての充填は、Eppendorfリピーティングピペット(モデル)を使用して手動で行い、層流フード内側で実施した。すべての溶液は、層流フード内側で0.22 μm滅菌フィルターに通してろ過した後、充填した。各バイアルを0.6 mLのそれぞれの製剤で充填した(10 mL Eppendorf使い捨てカートリッジインサートを使用する場合は設定番号3)。次いでバイアルに栓をし、凍結乾燥トレイ上に移して凍結乾燥器の棚に移した。凍結乾燥後、手動または半自動キャッパーで13 mmアルミニウムオーバーシールでバイアルにキャップした。

【0746】

凍結乾燥：これらの試験過程で2つの凍結乾燥サイクルバリエーションを評価した。以下の表1にそのサイクルを定める。外部冷却器式凍結乾燥器(Hullによって改造されたQuantum 20X)を使用して評価を実施した。

10

20

30

40

50

【表1】

表1. 試験された凍結乾燥サイクルバリエーション

説明	非アニーリング サイクル (L1)	アニーリング サイクル (L2)	
トータル凍結乾燥サイクル長	96時間	103時間	
負荷温度	20℃	20℃	
熱処理相	・初期温度	8℃	
	・凍結温度		-40℃
	・傾斜速度		0.3℃/分
	・凍結温度での保持時間		150分
	・アニーリング温度		-25℃
	・アニーリング傾斜速度		0.5℃/分
	・アニーリング温度での保持時間		300分
	・最終凍結温度	-40℃	-40℃
	・傾斜速度	0.3℃/分	0.5℃/分
	・最終凍結温度での保持時間	150分	60分
	冷却器温度設定	-50℃	-50℃
	真空器設定	60 mT	60 mT
	一次乾燥	・温度設定	-35℃
・保持時間		68時間	68時間
二次乾燥	・温度設定	20℃	20℃
	・傾斜速度	0.3℃/分	0.3℃/分
	・保持時間	19時間	19時間
栓止め	・裏込め(Backfill)	窒素	窒素

【0747】

## 6.1.3. 製剤研究の概要

連続キャンペーンにおいて17種の異なる製剤を評価した。各キャンペーンは同一稼働において凍結乾燥された3~5つの製剤から構成された。アニーリング(焼なまし)L2サイクルが特に指定される場合を除き、すべての製剤のデフォルトサイクルとして非アニーリング凍結乾燥サイクル(L1, 表1)を使用した。この報告で述べるすべての製剤を、MT103 50~55 µg/mLの標的濃度で製剤化した。緩衝剤として25 mMシトレートを用いてすべての製剤を調製し、いずれの製剤もリシンアセテートまたはPEG 3350を含有しなかった。選択キャンペーンの製剤を、凍結解凍に対する安定性、振とうストレスおよび液体形態での促進された安定性に関して評価した。凍結乾燥製剤を外観、凝集および濃度(SEC-HPLC)、促進された安定性、およびタンパク質回収に関して評価した。選択した製剤に関する残留水分量を測定した。水分量は2%以下の規格の範囲内であった。評価した種々の製剤を図1、9、および11、ならびに表2に列挙する。

【表2】

表2. 分析された製剤の概要

ID #	製剤組成	
	各製剤は、25 mMクエン酸塩と以下の成分とからなる：	
0	15%トレハロース二水和物 pH 7	
1	15%トレハロース二水和物 0.1%ポリソルベート80 pH 7	
2	15%トレハロース二水和物 0.1%ポリソルベート80, 100 mMアルギニンHCl pH 7	
3, 14	15%トレハロース二水和物 0.1%ポリソルベート80, 500 mMアルギニンHCl pH 7	
4	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 100 mM NaCl pH 7	
5	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 500 mM NaCl pH 7	
6, 15, 16	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 500 mMリシンHCl pH 7	
7	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 625 mMリシン塩基 pH 7	
8	5%マンニトール, 0.1%ポリソルベート80 pH 7	
9	5%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 500 mMアルギニンHCl pH 7	
10	5%マンニトール pH 7	
11	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 100 mMアルギニンHCl pH 6	
12	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 100 mMアルギニンHCl pH 7	
13	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 500 mMアルギニンHCl pH 6	
17, 30, 33	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 300 mMリシンHCl pH 7	
18, 27, 31	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7	
19	15%トレハロース二水和物, 0.175%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7	
20, 28	15%トレハロース二水和物, 0.25%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7	
21	10%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 500 mMリシンHCl pH 7	
22	10%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 300 mMリシンHCl pH 7	
23	10%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7	
24	10%トレハロース二水和物, 0.175%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7	
25	10%トレハロース二水和物, 0.25%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7	
26	15%トレハロース二水和物, 0.25%ポリソルベート80 pH 7	
29, 32	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 200 mMリシンHCl pH 7	

## 【0748】

第1のキャンペーンでは、トレハロース二水和物およびポリソルベート80の存在の必要性を評価することに焦点を当てた。リシンアセテートの代替物としてアルギニン塩酸塩(500 mM)を含有する製剤を評価した。5%マンニトールのみを含有する製剤をネガティブコントロールとして利用した。

## 【0749】

第2のキャンペーンでは、アルギニン塩酸塩(100 mMまたは500 mM)、リシン塩酸塩(500 mM)、およびpH (pH 6またはpH 7)の影響の評価に焦点を当てた。

## 【0750】

第3のキャンペーンでは、pH 7の25 mMシトレートおよび15%トレハロース二水和物の存在下でのリシン塩酸塩(100、300および500 mM)およびポリソルベート80 (0.1、0.175、0.

10

20

30

40

50

25% w/v)の最適レベルの決定に焦点を当てた。これらの試験を、糖の量を減少させる試みにおいて25 mMシトレート(pH 7)および10%トレハロース二水和物の存在下でプラセボ製剤で繰り返した。

【0751】

以後のキャンペーンでは、pH 7の25 mMシトレートおよび15%トレハロース二水和物、および0.1%ポリソルベート80の存在下で100、200または300 mMリシン塩酸塩を評価することによってリシン塩酸塩のレベルをさらに狭めることに焦点を当てた。これらの製剤に関して非アニーリング(L1)およびアニーリング(L2)の両サイクルを試験した。

【0752】

次いで凍結乾燥サイクルの最適化を実施して、一次および二次サイクルの持続時間を、生成物へのいかなる影響もなしに短縮できるかどうかを決定した。これは、試料抜き取り器を使用して一次および二次サイクルの完了前の種々の時点で凍結乾燥器からバイアルを取り出すことによって達成した。

【0753】

最後に、選択サイクルを使用して選択製剤の凍結乾燥を繰り返し、再現性を確認した。

【0754】

#### 6.1.4. 賦形剤スクリーニング

賦形剤スクリーニング研究で評価した製剤を図1に列挙する。

【0755】

図2は、賦形剤ポリソルベート80およびトレハロースが凍結乾燥製剤からのMT103の回収を顕著に改善することを示す。15%トレハロースを(製剤F0中に)加えるとタンパク質回収が40パーセント(製剤F10)から70パーセントに改善する。15%トレハロースとともに0.1%ポリソルベート80(製剤F1)を含有させると、さらに20パーセントの回収改善が達成される。100または500 mMアルギニンHClを含有させても回収がさらに改善することはなかったが、非常に見事な凍結乾燥ケーキの形成に寄与した。

【0756】

液体安定性において賦形剤を評価すると、いくつかの興味深い知見が明らかになった。アルギニンHClは液体状態においてタンパク質凝集体の形成を誘発した。アルギニンHCl濃度が100 mMから500 mMに増加すると、凝集の割合が増加した(図3および4)。タンパク質濃度が50 µg/mLから300 µg/mLに増加する場合も凝集の割合が増加した(図3および4)。

【0757】

凍結解凍研究における製剤からのタンパク質回収の定量によって、トレハロースおよびポリソルベート80を含有する製剤(F3)が、ポリソルベート(F1)またはポリソルベートおよびトレハロースの両者(F10)を欠いている製剤と比較して、凍結ストレスの際に良好な保護をタンパク質にもたらすことが示された。アルギニンHClの存在はいかなる追加の利益にも寄与しなかった。振とう研究において同一の知見が得られた(図6)。

【0758】

7日間にわたる40 での短期液体安定性研究における液体バルク中の回収の評価により、上記知見がさらに確認された。

【0759】

48時間にわたるMT103の安定性の再構成後評価を実施した。

【0760】

#### 6.1.5. 製剤最適化

製剤pHの選択: pHスクリーニング研究で評価した製剤を図9に列挙する。pH評価を6および7の狭い範囲内に限定した。その理由は、可能な限り中性に近いことが望ましいからであった。MT103配列中のNGモチーフ位置での脱アミドの高い可能性のために、より高いpHを回避した。この取り組みは、製剤pHの小さい変化によって回収を少し改善できるかどうかを決定することを目的とした。製剤ペアF11-F12およびF13-F14では、他の賦形剤は不変のまま、それぞれ100または500 mMアルギニンHClの存在下でのpHの影響を比較した。液体MT103製剤中でアルギニンHClが急速な凝集を促進したという以前の観察に基づいて、ア

10

20

30

40

50

ルギニンHClの代用物候補としての評価のために、このセットにリシンHClを導入した。

【0761】

回収に対しては製剤pHのいかなる顕著な影響も存在しないようであった(図10)。しかし、前述のように、pHと無関係に、500 mMアルギニンHClを含有する製剤(F13およびF14)の場合に凝集体レベルの顕著な増加が観察された。この増加は凍結乾燥前の液体状態で生じたものであり、凍結乾燥後に追加の変化はなかったことが決定された(データは示していない)。興味深いことに、同等の濃度(500 mM)のリシンHClを含む製剤F15は凝集体レベルの増加を示さなかったが、F14と同等の回収をもたらした。しかし、F15は顕著な崩壊の徴候を示した。このことは、それが視覚的に許容されるケーキをもたらさないかもしれないことを示唆する。

10

【0762】

これまでに得られた証拠に基づいて、アルギニンHClは液体状態において凝集を促進し、したがって賦形剤として望ましくないようであった。リシンHClが液体製剤中の凝集を妨げる好適な代用物であることが見出されたが、凍結乾燥のさらなる最適化が必要とされた。製剤の選択pHとして、生理的pHに近いpH 7を選択した。その理由は、MT103回収または凝集体レベルに関してpH 6と7とで差異がなかったからであった。

【0763】

トレハロース濃度の選択: タンパク質を保存するためにブランク(プラセボ)製剤を使用して2つのトレハロースレベル(10%および15%)を評価した。タンパク質の効果的な低温保護および凍結乾燥保護のために最低でも推奨されるレベルをはるかに超える非常に高いトレハロース/タンパク質比のおかげで、影響はケーキの外観に限定され、タンパク質回収または凝集に対する影響はないだろうとされた。

20

【表3】

表3. トレハロース濃度スクリーニングにおいて分析した製剤

ID #	製剤組成
	各製剤は25 mMクエン酸塩と以下の成分とからなる:
B16	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 500 mMリシンHCl pH 7
B17	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 300 mMリシンHCl pH 7
B18	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7
B19	15%トレハロース二水和物, 0.175%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7
B20	15%トレハロース二水和物, 0.25%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7
B21	10%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 500 mMリシンHCl pH 7
B22	10%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 300 mMリシンHCl pH 7
B23	10%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7
B24	10%トレハロース二水和物, 0.175%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7
B25	10%トレハロース二水和物, 0.25%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7

30

【0764】

10%または15%トレハロースを含有することを除いてその他の点では賦形剤が完全に一致する4つのプラセボ製剤ペア(B17-B22; B18-B23; B19-B24; B20-B25)を目視検査したところ、10%トレハロースを含む製剤のケーキ高が低く、4 mm未満であることが観察された。この影響は、好適な増量剤の欠如、および少ない0.6 mLの初期充填体積と相まって、トータルの固形分が少ないせいであった。15%トレハロースを含む製剤は約5 mm以上のケーキ高を有し、より魅力的に見えた。リシンHCl濃度が300 mMである10%トレハロースを含有する製剤(B22)は完全崩壊を示したが、対応する15%トレハロース製剤(B17)は、恐らく追加の嵩のせいで、良好に形成されたケーキを有した。500 mMのより高いリシン含量では、10%トレハロース(B16)および15%トレハロース(B21)の両製剤は完全に崩壊した。このことは、より高いトレハロース含量は、300 mMまでのリシンHCl濃度の存在下で、崩壊から保護するのに十分な追加の嵩をもたらすことを示唆した。機構的には、この現象は、純粹

40

50

リシンHClが-50 よりはるかに低いTg`を有し(Lueckel, et al, 1997)、-28 のTg`を有する追加のトレハロースが、混合物の崩壊温度を凍結乾燥の際の有効な一次乾燥温度のそれを超えて上昇させる上で有用であるという事実によって説明することができる。

【0765】

これらの観察に基づいて、15%トレハロース濃度を選択した。というのも、それが300 mM程度のリシンHClの使用によって成功裡の凍結乾燥を可能にしたからであった。

【0766】

ポリソルベート80濃度の選択： 初期賦形剤スクリーニングでは、製剤F1中に濃度0.1%の非イオン性界面活性剤ポリソルベート80が存在すると、ポリソルベート80を欠いている製剤F0と比較された場合に回収が顕著に約20%改善することが示された。図12~15は、0.25%ポリソルベート80 (F27)が0.1%ポリソルベート80 (F28)を超える優れたいかなる追加の利益も提供しないことを示す。0.1%ポリソルベートが可塑剤として働くその能力のせいで凍結乾燥ケーキの形成に対して潜在的悪影響を有する可能性があるという懸念に対処するために、ポリソルベート80の濃度のみが異なる(0.1、0.175および0.25%)合致プラセボ製剤を凍結乾燥し、目視検査した(表4のB18、B19、B20)。それらの凍結乾燥ケーキに、目に見える差異は観察されなかった。熱重量分析によって測定された場合のそれらケーキの水分レベルに差異はなかった。2つのひとくくりの(bracketing)製剤B18およびB20の水分レベルは同等であり、B18では $1.7\pm 0.6$  (N=5)、B20では $1.7\pm 0.8$  (N=4)であることが測定された。したがって、0.1%ポリソルベート80は許容される濃度であり、ケーキ形成に対する悪影響を有さないことが結論付けられた。この製剤の将来の最適化の際に、より低いポリソルベート80濃度を評価することができる。

【表4】

表4. ポリソルベート濃度最適化スクリーニングにおいて分析した製剤

ID #	製剤組成
	各製剤は25 mMクエン酸塩と以下の成分とからなる：
F0	15%トレハロース二水和物 pH 7
F1	15%トレハロース二水和物 0.1%ポリソルベート80 pH 7
B18	15%トレハロース二水和物, 0.1%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7
B19	15%トレハロース二水和物, 0.175%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7
B20	15%トレハロース二水和物, 0.25%ポリソルベート80, 100 mMリシンHCl pH 7

【0767】

リシン塩酸塩： 図11に列挙した製剤を分析することによって液体製剤中の凝集の阻害におけるリシンHClの効果さをさらに評価した。図12~15は、リシンHClの不在下または100、200もしくは300 mMリシンHClの存在下での凝集体レベルまたは回収における変化が観察されないことによって明らかのように、リシンが凍結解凍または振とうのストレスに対するMT103の安定化に寄与しないことを示す。したがって、液体バルク中でMT103が凝集する傾向を最小にするためだけにそれは賦形剤として選択された。図12~15に示される結果に基づいて、100~300 mMの範囲のリシンHCl濃度は同一の結果をもたらす。より高濃度は、凍結乾燥ケーキの崩壊につながる傾向を示し、リシンHClの不在は凝集を促進することを示した。

【0768】

0.1%ポリソルベート80を含む、3種のリシン含有液体製剤(F27, F29, F30)のそれぞれの安定性を80日にわたって評価し、回収の低下がなく、またポリプロピレン1 mLチューブ中で4 で凝集体レベルの有意な増加がなく、安定であることを見出した(図16および17)。

【0769】

0.1%ポリソルベート80を含む3種のリシン含有凍結乾燥製剤(F27, F29, F30)のそれぞれの安定性を2~4週間にわたって評価し、凝集体レベルまたは回収において有意な変化がな

く、安定であることを見出した(図18~21)。選択製剤(F27, F30)の残留水分は、カルフィッシャー法によって測定するとそれぞれ0.7%および1.2%であった。

【0770】

上記評価に基づいて、25 mMシトレート、15%トレハロース二水和物、200 mMリシンHCl、0.1%ポリソルベート80を含む製剤F29を選択した。F29製剤は、MT103に凍結解凍ストレスおよび振とうストレスからの適切な保護を与え、また、許容されるMT103の安定性ならびに液体および凍結乾燥製剤からの回収を提供した。

【0771】

6.1.6. 凍結乾燥サイクルの開発

アニーリング 対 非アニーリングサイクルの評価: 100、200、および300 mMリシンHClを含有する同一バッチの製剤(F31, F32, F33)を非アニーリング(L1)およびアニーリング(L2)凍結乾燥サイクルで凍結乾燥することによって、全3種の製剤(主製剤および2つのバックアップ)についてアニーリング(焼なまし)の影響を評価した。凍結乾燥製剤を目視検査し、約8週間にわたって4 および40 でその安定性を評価した(表5~8)。4 および40の両条件で凍結乾燥直後および種々の時点でMT103の回収を評価した(表9および10)。これらのデータに基づいて、200 mMリシンHClを含む、アニールされていない製剤を選択した。

【表5】

表5. アニーリングサイクルを使用して大型凍結乾燥器で凍結乾燥した製剤F31、F32、F32の安定性。凍結乾燥したバイアルは4℃で保存した。

ID	組成	シグナルタイプ	凍結乾燥前	0日目	22日目	35日目	59日目
F31	25 mMクエン酸塩, 15%トレハロース, 100 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	ダイマー%	1.31	0.58	0.73	1.18	1.15
		モノマー%	98.69	99.42	99.27	98.82	98.85
		濃度(μg/mL)	58.2	52.4	49.8	56.7	52.0
F32	25 mMクエン酸塩, 15%トレハロース, 200 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	ダイマー%	1.25	0.76	0.84	1.41	1.18
		モノマー%	98.75	99.24	99.16	98.59	98.82
		濃度(μg/mL)	58.3	53.2	51.3	56.5	52.8
F33	25 mMクエン酸塩, 15%トレハロース, 300 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	ダイマー%	1.26	0.77	0.94	1.49	1.31
		モノマー%	98.74	99.23	99.06	98.51	98.69
		濃度(μg/mL)	58.3	53.4	51.1	55.3	52.3

【0772】

【表6】

表6. アニーリングサイクルを使用して大型凍結乾燥器で凍結乾燥した製剤F31、F32、F32の安定性。凍結乾燥したバイアルは40℃で保存した。

ID	組成	シグナルタイプ	凍結乾燥前	0日目	22日目	35日目	59日目
F31	25 mMクエン酸塩, 15%トレハロース, 100 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	ダイマー%	1.31	0.58	0.85	1.17	1.3
		モノマー%	98.69	99.42	99.15	98.83	98.7
		濃度(μg/mL)	58.2	52.4	51.2	54.1	52.7
F32	25 mMクエン酸塩, 15%トレハロース, 200 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	ダイマー%	1.25	0.76	0.85	1.3	1.19
		モノマー%	98.75	99.24	99.15	98.7	98.81
		濃度(μg/mL)	58.3	53.2	50.9	54.7	51.9
F33	25 mMクエン酸塩, 15%トレハロース, 300 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	ダイマー%	1.26	0.77	0.92	1.33	1.27
		モノマー%	98.74	99.23	99.08	98.67	98.73
		濃度(μg/mL)	58.3	53.4	51.0	53.9	51.6

【0773】

【表 7】

表7. 非アニーリングサイクルを使用して大型凍結乾燥器で凍結乾燥した製剤F31、F32、F32の安定性。凍結乾燥したバイアルを4℃で保存した。

ID	組成	シグナル タイプ	凍結 乾燥前	0日目	15日目	28日目	52日目
F31	25 mMクエン酸塩, 15%トレハ ロース, 100 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	ダイマー%	0.96	0.72	0.94	1.2	1.08
		モノマー%	99.04	99.28	99.06	98.8	98.92
		濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	55.7	58.2	50.6	52.8	51.8
F32	25 mMクエン酸塩, 15%トレハ ロース, 200 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	ダイマー%	0.87	0.85	0.93	1.32	1.42
		モノマー%	99.13	99.15	99.07	98.68	98.58
		濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	56.2	53.7	50.8	54.2	53.0
F33	25 mMクエン酸塩, 15%トレハ ロース, 300 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	ダイマー%	0.75	0.85	0.99	1.43	1.32
		モノマー%	99.25	99.15	99.01	98.57	98.68
		濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	55.5	53.0	50.8	54.3	52.4

10

【 0 7 7 4 】

【表 8】

表8. 非アニーリングサイクルを使用して大型凍結乾燥器で凍結乾燥した製剤F31、F32、F32の安定性。凍結乾燥したバイアルを40℃で保存した。

ID	組成	シグナル タイプ	凍結 乾燥前	0日目	15日目	28日目	52日目
F31	25 mMクエン酸塩, 15%トレハ ロース, 100 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	%ダイマー	0.96	0.72	0.87	1.77	1.07
		%モノマー	99.04	99.28	99.13	98.23	98.93
		濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	55.7	58.2	50.5	53.6	52.2
F32	25 mMクエン酸塩, 15%トレハ ロース, 200 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	%ダイマー	0.87	0.85	1.01	1.36	1.19
		%モノマー	99.13	99.15	98.99	98.64	98.81
		濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	56.2	53.7	51.0	54.0	52.0
F33	25 mMクエン酸塩, 15%トレハ ロース, 300 mMリシンHCl, 0.1% Tween80, pH 7	%ダイマー	0.75	0.85	0.99	1.49	1.28
		%モノマー	99.25	99.15	99.01	98.51	98.72
		濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	55.5	53.0	50.8	53.6	51.9

20

30

【 0 7 7 5 】

## 【表9】

表9. 非アニーリングサイクルを使用して大型凍結乾燥器で凍結乾燥した製剤 F31, F32, F32からのタンパク質回収

非アニーリングサイクル(L1)において凍結乾燥したケーキからのMT103の回収				
		回収パーセント		
時間	温度	F31	F32	F33
初期	N/A	95.8	96.4	98.2
7週	4°C (N=1)	94.6	95.9	96.4
	40°C (N=3)	95.1	94.1	95.1

10

表9. アニーリングサイクルを使用して大型凍結乾燥器で凍結乾燥した製剤 F31, F32, F32からのタンパク質回収

アニーリングサイクル(L2)において凍結乾燥したケーキからのMT103の回収				
		回収パーセント		
時間	温度	F31	F32	F33
初期	N/A	96.4	98.5	97.4
8週	4°C (N=1)	94.6	95.8	96.1
	40°C (N=3)	96.1	93.9	94.9

20

## 【0776】

複数の独立したバイアル(N=3)を使用してMT103製剤F29の再構成後の安定性を測定した。再構成後にベンチで保存された再構成バイアルからのタンパク質回収を3日間にわたって評価した(図22)。

## 【実施例2】

## 【0777】

## 6.2. MT103凍結乾燥製剤IIの開発

前のセクションに記載のMT103製剤を特性評価するために追加の研究を実施した。特に、ここに記載される研究では、1) MT103製剤に関して許容されるpH範囲、2) 安定化用賦形剤の閾値濃度を明らかにした。また、閾値濃度の安定化用賦形剤を含む液体MT103製剤および凍結乾燥MT103製剤の短期安定性を測定した。

30

## 【0778】

## 6.2.1. MT103製剤の最適pH範囲

110 µg/ml MT103、10 mMシトレート、10 mM TrisHCl、0.1%ポリソルベート80および、ヒスチジン、リシンおよびアルギニンからなる群から選択される200 mMの塩基性アミノ酸からなる液体製剤を標準プロトコルに従って調製した。各製剤のアリコートはpH 3.0、4.5、6.0、7.0、または8.5に調整した。試験された各MT103製剤の凝集体含量を、5 または25 で5週間の保存後にSEC-HPLCによって測定した。得られたデータを図23および24に示す。

40

## 【0779】

1製剤を除くすべての試験された製剤は5 での保存後に5%未満の凝集体しか含有しなかった。200 mMアルギニンを含むpH 8.0のMT103製剤は5 での保存後に50%を超える凝集物質を含有した。25 で保存された製剤は異なる安定性プロファイルを示した。MT103は、25 で保存されたすべてのpH 3.0の製剤において溶液から沈殿した。200 mMアルギニンを含むpH 8.0の製剤を除くすべての他のMT103製剤は溶液状態のままであり、5%未満の凝集体しか形成されなかった。200 mMアルギニン/pH 8.0製剤は25 での保存後に40%を超える凝集体形態のMT103を含有した。

## 【0780】

## 6.2.2. 安定化用賦形剤の閾値レベル

50

それぞれリシンまたはポリソルベート80の濃度を除き互いに同一であるMT-103製剤の安定性を比較することによってリシンおよびポリソルベート80の閾値濃度を決定した。基礎となる製剤は、55 µg/ml MT103、10 mMシトレート、10 mM TrisHCl、200 mMリシンHCl、および0.1%ポリソルベート80から構成され、pH 6.0であった。試験した賦形剤濃度は、0、25、50、100、および200 mMリシンHClおよび0、0.01、0.05、0.1%のポリソルベート80である。長期保存、凍結/解凍サイクル、またはずり応力の後に回収可能なトータルの非凝集MT103タンパク質を測定することによって製剤の安定性を特性評価した。

【0781】

図24は、40 での長期保存後の種々の濃度のリシンHClを含むMT103液体製剤の安定性を示す。25、50、100、または200 mMリシンHClを含む製剤から回収可能なMT103タンパク質の量は65日の実験期間にわたって実質的に同一である。5 または25 での保存された製剤からのタンパク質回収における変化は存在しなかった。それは65日の実験期間にわたって変化しなかった(データは示していない)。

【0782】

図25および26は、i) 3回の凍結/解凍サイクル、ii) ロッキングシェーカーでの機械的ストレス、またはiii) ボルテックス攪拌機でのずり応力、への曝露後の種々の濃度のリシンHClまたはポリソルベート80を含むMT103製剤の安定性を示す。ストレスに曝露された製剤から回収可能なトータルのMT103タンパク質を測定する(図25)か、またはストレスに曝露された製剤中の凝集体の総量を測定する(図26)ことによって製剤の安定性を評価する。リシン濃度の変化は、ストレス後の回収可能なMT103の量または凝集体形成をあまり変化させなかった。また、0.01、0.05、または0.1%ポリソルベート80を含む製剤は、上記測定によって特徴付けられたプロファイルと同一の安定性プロファイルを示した。0%ポリソルベートを含む製剤(0%PS-80)は低下した安定性プロファイルを示した。ストレスを受けていない0%PS-80製剤から回収可能なMT103の量はすでに顕著に減少し; 凍結/解凍、機械的ストレスまたはずり応力は回収可能なMT103タンパク質の量をさらに減少させた。かなりの量のMT103タンパク質が0%PS-80製剤から沈殿した。沈殿のせいで、HPSECによって測定された凝集体レベルのレベルは、ストレスを受けていない製剤または凍結/解凍ストレスを受けた製剤でわずかに減少し、振とうまたはボルテックス処理後の0%PS-80製剤では検出不能であった。

【0783】

6.2.3. トレハロースの閾値レベル

本明細書中に記載のMT103製剤に組み込まれたトレハロースは凍結乾燥の際に増量剤として機能する。種々の量のトレハロースを含むバッファーのみの(MT103タンパク質を含まない)製剤を凍結乾燥することによって凍結乾燥ケーキの形成に必要なトレハロースの量を確認した。試験したバッファーのみの製剤を表10に記載する。試験されたすべてのバッファーは凍結乾燥に付された場合に適切な嵩を生じさせた。ケーキ特性および再構成時間は試験したすべてのバッファーに関して同等であった。

【表10】

表10. 凍結乾燥したバッファーのみの製剤 (P80=ポリソルベート80)

B1	25mMクエン酸塩, 25mMリシンHCl, 6%トレハロース, 0.02% P80 pH 6.0
B2	10mMクエン酸塩, 50mMリシンHCl, 5.5%トレハロース, 0.02% P80 pH 6.0
B3	10mMクエン酸塩, 25mMリシンHCl, 7.5%トレハロース, 0.05% P80 pH 6.0
B4	25mMクエン酸塩, 8%トレハロース, 0.02% P80 pH 6.0
B5	50mMクエン酸塩, 6%トレハロース, 0.02% P80 pH6.0

【0784】

6.2.4. MT103製剤の短期安定性

製剤25/25、10/50、および25/200 (図27A)の短期安定性を測定した。5、25、および40 での保存後に凍結乾燥ケーキを再構成し、再構成された液体中の凝集体濃度を測

定することによって凍結乾燥製剤の安定性を確かめた。本明細書中に記載のL1凍結乾燥サイクルを使用して、175 µg/ml MT103を含む0.6 mlの25/25、10/50、および25/200製剤で充填された個々のバイアル中で凍結乾燥ケーキを調製した。再構成された液体の凝集体含量をSECによって測定したが、それを凍結乾燥ケーキ保存時間の関数として図 2 7 B および C に示す。175 µg/ml MT103を含む再構成液体製剤10/50および25/25中に見出された凝集体のレベルは60日の実験期間について全3種の検査温度(5、25、および40)で実質的に同一のままであった。両再構成製剤中の凝集体レベルは2%未満であった。

【 0 7 8 5 】

また、160 µg/ml MT103を含む凍結乾燥前の液体製剤25/25、10/50、および25/200 (図 2 7 A)の安定性を測定した。ガラス製(25/25、10/50)またはポリプロピレン製(25/200)バイアル中で5 または25 で長期間、少量の各製剤を保存した。SECを使用して凝集体形成のレベルを測定することによって製剤の安定性を評価した。凝集体レベル%を時間の関数として図 2 8 A および B に示す。10/50中の凝集体レベルは5 および25 で約60日の保存後にそれぞれ約3%および4.5%であった。25/25中の凝集体レベルは5 および25 で約60日の保存後にそれぞれ約2%および4.5%であった。25/200中の凝集体レベルは5 および25 で約60日の保存後にそれぞれ約0.5%および3%であった。製剤25/200中の凝集体レベルは5 での保存の約180日目までに1%に増加し、25 での保存の約90日目までに3.5%に増加した。

【 実施例 3 】

【 0 7 8 6 】

6.3. 皮下送達のための凍結乾燥MT-103製剤の開発

タンパク質の安定性を維持しつつ等張性を達成するよう賦形剤濃度を最適化することによって皮下送達用の凍結乾燥製剤を開発した。凍結乾燥前の液体パルクに関してMT103濃度を160 µg/mlとした。上記の最適化された96時間凍結乾燥サイクルを使用することによって候補製剤の凍結乾燥を行った。

【 0 7 8 7 】

実験の初期セットでは以下の製剤の安定性および凍結乾燥ケーキ特性を評価した。

- a) 25mMシトレート, 25mMリシンHCl, 6%トレハロース, 0.02%ポリソルベート80 (pH 6.0);
- b) 10mMシトレート, 25mMリシンHCl, 7.5%トレハロース, 0.05%ポリソルベート80 (pH 6.0);
- c) 10mMシトレート, 50mMリシンHCl, 5.5%トレハロース, 0.02%ポリソルベート80 (pH 6.0);
- d) 25mMシトレート, 8%トレハロース, 0.02%ポリソルベート80 (pH 6.0); および
- e) 50mMシトレート, 6%トレハロース, 0.02%ポリソルベート80 (pH 6.0)。

【 0 7 8 8 】

5または25 での保存後のタンパク質凝集体レベル%を測定することによって液体製剤の安定性を評価した。安定性実験で使用された液体製剤は160 µg/ml MT103タンパク質を含んでいた。実験結果を図 2 7 に示す。

【 0 7 8 9 】

ケーキ特性および再構成時間は試験したすべての製剤に関して同等であった。

【 0 7 9 0 】

3レベル、4因子のBox-Behnken実験設計を使用して賦形剤濃度および製剤pHを最適化した。反応変数は、25 で4週間の保存後の製剤中の凝集体レベル%の変化であった。最適化された因子および各因子に関して試験したレベルを表11に列挙する。中心点製剤(the center point formulation)を含む25種の異なる製剤の安定性を標準Box-Behnken実験設計に従って3ブロックで測定した。中心点製剤の安定性を各実験ブロックで二重に測定し、結果の統計学的有意性を向上させた。データ解析では、最適な等張製剤が30 mMシトレート、75 mMリシンHCl、および6.5%トレハロースを含み、かつpH 7.0を有することが予測された。

【表 1 1】

表11. 最適化実験で使用した賦形剤濃度

		レベル		
		高	中	低
中 図	pH	5.0	6.0	7.0
	リシンHCl	30 mM	50 mM	70 mM
	クエン酸塩	10 mM	30 mM	50 mM
	トレハロース	5%	6.5%	8%

10

## 【実施例 4】

## 【0791】

## 6.4. MT103のIn Vivoバイオアベイラビリティ

皮下経路投与後の血清バイオアベイラビリティに関してマウスモデルにおいてMT103薬剤製品の候補製剤を評価した。製剤が、マウスモデルにおいて最高レベルのバイオアベイラビリティを一貫して生じさせることを確認し、さらに、カニクイザルにおいてそれを評価した。カニクイザルにおける皮下ボラス注入後のバイオアベイラビリティはマウスにおいて観察されたものに匹敵した。これらの動物は、これらの種のTおよびB細胞に対するその特異的結合の欠如に基づいてMT103(MEDI-538)の標的外活性を評価するための薬理学的に関連しないモデルである。

20

## 【0792】

## 6.4.1. 方法

マウス血清中のMT103の検出のためのELISA: 特異的MT103捕捉ELISAを用いて、CD-1マウスの血清サンプル中のMT103の濃度を測定した。このELISAアッセイでは、アナライトを捕捉するために2つの独特の非競合抗MT103モノクローナル抗体(Ab) (F3および6E12)を利用し、次いでその分子のヘキサヒスチジン(6x-his)タグに対するルチニル化(ruthinylated)抗体を用いて該アナライトを検出した。最終アッセイ方法では、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)を使用してMeso Scale Discovery (MSD) Hi Bindプレートの同一ウェル上にF3および6E12とともに5 $\mu$ Lスポットした。プレートを一晩乾燥し、振とうしながら1% BSA + PBSで室温(RT)で1時間、非特異的部位をブロックした。正常CD-1マウス血清のプール中の800 ng/mLから0.39 ng/mLの連続1:2希釈物を用いてMT103標準曲線を作製した。プレートをPBS + 0.5% Tween-20で3回洗浄し、標準曲線キャリブレーション、品質管理(QC)サンプルおよびマウスサンプルを希釈なしでまたは希釈(1:250まで)して25 $\mu$ L/ウェルにて、ブロックしたウェルに加え、回転(約600 rpm)させながら室温(RT)で1時間インキュベートした。捕捉されたMT103の検出のために、ウサギ抗6x-HisポリクローナルAbをMSD Sulfo-Tag (ST)にコンジュゲートし、次いで25 $\mu$ L/ウェルのコンジュゲートした試薬をアッセイバッファー(PBS + 1%カゼイン)中でプレートに加えた。回転させながらRTでさらに1時間プレートをインキュベートした。プレートをPBS + 0.05% Tween-20で3回洗浄し、2X MSD Read Buffer (150 $\mu$ L/ウェル)を使用して発色させた。MSD Sector 6000リーダーでプレートをじかに読み取り、MSD Workbenchソフトウェアを使用してデータ解析を行った。マウス血清サンプル中に存在するMT103の濃度を、MT103標準データセットの4-パラメータフィットモデルからの非線形回帰分析によって見積もった。このアッセイの定量下限はマウス血清1 mLあたり0.4 ngのMT103であると決定された。

30

40

## 【0793】

カニクイザル血清中のMT103の検出のためのELISA: 電気化学発光(ECL)アッセイを使用してサンプルを試験し、カニクイザル血清中のMT103のレベルを定量した。Meso Scale Discovery (MSD) 96ウェルプレートをMT103に特異的な2つのモノクローナル抗体(mAb) (F3および6E12)でコーティングした。0.015% Tween-20を含有するダルベッコリン酸緩衝生理食塩水(D-PBS)中でF3および6E12をそれぞれ50 $\mu$ g/mLおよび90 $\mu$ g/mLに希釈し、この溶液の5 $\mu$ lをMSDプレートの表面上にスポットした。プレートを一晩乾燥し、1% BSA + D-PBSで室

50

温 (RT) で1時間、非特異的部位をブロックした。正常カニクイザル血清 (NCS) 中の1200 ng/mL から0.126 ng/mL への連続1:2.5希釈物を用いてMT103標準曲線を作製した。プレートをD-PBS + 0.1% Tween-20で4回洗浄し、標準曲線キャリブレーション、品質管理 (QC) サンプルおよび研究サンプルを希釈なしで25  $\mu$ L/ウェルにて、ブロックしたウェルに加え、回転 (約600 rpm) させながらRTで1時間インキュベートした。捕捉されたMT103の検出のために、ウサギ抗ヘキサ-ヒスチジンポリクローナルAbをMSD Sulfo-Tag (ST) にコンジュゲートし、次いで1.5  $\mu$ g/mLの濃度のコンジュゲートした試薬25  $\mu$ L/ウェルをアッセイバッファー (D-PBS + 1%カゼイン) 中でプレートに加えた。回転させながらRTでさらに1時間プレートをインキュベートした。プレートをD-PBS + 0.1% Tween-20で4回洗浄し、2X MSD Read Buffer (150  $\mu$ L/ウェル) を使用して発色させた。SECTOR Imager 6000機器 (MSD) でプレートをじかに読み取ってECLシグナルを測定し、Discovery Workbenchソフトウェアversion 2.0 (MSD) を使用してデータを解析した。このアッセイの定量下限および定量上限はそれぞれ200 ng/mLおよび1.5 ng/mLであると決定された。

【0794】

#### 6.4.2. 結果

##### 6.4.2.1. CD-1マウスにおける4種の異なるMT103製剤の一回量静脈内 (IV) または皮下 (SC) ボーラス投与後のMT103のバイオアベイラビリティ

一回量IVおよびSC薬物動態研究では、1日の間に収集されたサンプル中のMT103の血清レベルを測定した。4種の異なるMT103製剤の2種の用量レベル (0.75および2.5 mg/kg) での1回のボーラスIVまたはSC注入によりCD-1マウス (n=4/群) を処置した。この研究で利用された製剤の詳細を表12に示す。投与後の24時間の時間間隔にわたる6つの異なる時点で血清サンプルを収集した。0.4 ng/mLのLLOQの特異的ELISA法を使用して血清サンプル中のMT103の濃度を測定した。MT103の平均血清濃度対時間プロファイルのプロットを図29に示す。SC処置群の平均曲線下面積 (AUC) とIV処置群の平均AUCの比をとることによって絶対バイオアベイラビリティを見積もった。そのバイオアベイラビリティは、0.75 mg/kgの製剤X、Y、ZおよびWで処置されたマウス群では、それぞれ17%、33%、35%、および24%であり、2.5 mg/kgの製剤X、Y、Z、およびWで処置されたマウス群では、それぞれ21%、26%、30%、および37%であった。以後の研究に関しては製剤Zを選択した。

【表12】

表12. MT103の製剤

	クエン酸塩, pH 7.0 (mM)	リシンHCL (mM)	トレハロース (% w/v)	ポリソルベート80 (% v/v)	推定オスモル濃度 (mOs)
製剤X	25	200	15	0.1	1100
製剤Y	25	200			400
製剤Z	25	25	6	0.02	520
製剤W	10	50	5.5	0.02	400

【0795】

CD-1マウスにおいて、SC投与されたMEDI-538 (MT103) は20-30%のバイオアベイラビリティを有し、用量に比例した血清濃度を示し、該血清濃度は4時間でピークに達し、IV投与された薬物と類似の消失半減期を有した (図32)。0.25、0.75、または2.5 mg/kgのMEDI-538の注射後、5分、1、2、4、8、15、24、および44時間の時点で血清サンプルを収集した。MEDI-538の血清濃度をELISA法によって測定し、注射後の各時間間隔で各サンプルの算術平均としてここに報告した。IV処置マウスに関して二相指数関数的減衰、非線形回帰モデルを使用した。用量最適化研究では、所定の用量レベルに関する投与濃度または投与体積の変動はSC投与後の血清中のMEDI-538の濃度に影響しないことが示された。

## 【表13】

表13. CD-1マウスにおけるMEDI-538の薬物動態パラメータ。

N：各データセットについて列挙した。C<sub>max</sub>：ピーク血清濃度。T<sub>max</sub>：ピーク血清濃度までの時間。t<sub>1/2</sub>：血清濃度の半減期。AUC<sub>obs</sub>は、最後の測定可能なサンプリング時間までの血清濃度-時間曲線下である。AUC<sub>inf</sub>は、無限大までの血清-濃度-時間曲線下である。CL：静脈内投与後の用量/AUC<sub>inf</sub>として算出される全身血漿クリアランス。バイオアベイラビリティ：AUC<sub>inf</sub> (SC) / AUC<sub>inf</sub> (IV)として算出される、絶対バイオアベイラビリティ。

経路(用量)	N	C <sub>max</sub> (ng/ml)	T <sub>max</sub> (hr)	t <sub>1/2</sub> (hr)	AUC <sub>obs</sub> (ng·hr/ml)	AUC <sub>inf</sub> (ng·hr/ml)	CL (ml/hr/kg)	バイオア ベイラビ リティ
IV (2.5 mg/kg)	7	23,100	0.0083	4.7	17,700	17,600	140	1.00
IV (0.75 mg/kg)	5	8,090	0.083	6.2	4,670	4,760	160	1.00
IV (0.25 mg/kg)	6	1,030	0.083	5.7	809	827	300	1.00
SC (2.5 mg/kg)	4	437	4	4.4	4,430	4,440	560	0.25
SC (0.75 mg/kg)	4	151	4	4.5	1,330	1,380	550	0.28
SC (0.25 mg/kg)	4	106	4	4.6	543	554	450	0.67

10

## 【0796】

#### 6.4.2.2. CD-1マウスにおけるMT103の主製剤の一回量静脈内(IV)または皮下(SC)ポータル投与後のMT103のバイオアベイラビリティ

20

一回量IVおよびSC薬物動態研究では、1日の間に収集されたサンプル中のMT103の血清レベルを測定した。主製剤(製剤Z)中のMT103の2種の用量レベル(1.6および5.0 mg/kg)での1回のポータルIVまたはSC注入でCD-1マウス(n=5/群)を処置した。投与後の24時間の時間間隔にわたる6つの異なる時点で血清サンプルを収集した。0.4 ng/mLのLLOQの特異的ELISA法を使用して血清サンプル中のMT103の濃度を測定した。MT103の平均血清濃度対時間プロファイルのプロットを図30に示す。絶対バイオアベイラビリティは1.6 mg/kgおよび5.0 mg/kgで処置されたマウス群でそれぞれ28%および29%であり、カニクイザルでの一回量IVおよびSC薬物動態研究に従って観察されたバイオアベイラビリティに匹敵した。ゆえに、カニクイザルの結果はマウスモデルで観察された結果を支持した。

30

## 【0797】

#### 6.4.2.3. カニクイザルにおけるMT103の一回量静脈内(IV)または皮下(SC)ポータル投与後のMT103のバイオアベイラビリティ

1回の静脈内(IV)ポータルまたは皮下(SC)注射によって1週間にわたって0.5 mg/kgで雄カニクイザルに送達された場合のMT103のバイオアベイラビリティを比較する研究を行った(図31)。この研究では、二相の間に1週間の洗い出し期間を用いるクロスオーバー設計を使用した。2群のそれぞれにおいて3匹の動物を無作為化した。第1相では、群1の動物に静脈内投与し、群2の動物に皮下投与し、第2相では逆にした。両経路に関して、25 mMシトレート、25 mMリシンHCL、6%トレハロース、0.02%ポリソルベート80、pH 6.0中で製剤化されたMT103を投与量1 kgあたり1 mLで送達した。すべての動物は研究期間を通して健康であるように見え、注射部位での過敏性の徴候はなかった。電気化学発光(ECL)検出に基づく高感度の特異的ELISAアッセイを使用してMT103の血清濃度を測定し、定量下限(LLOQ)は1.5 ng/mLに等しかった。PK分析の結果は、MT103の平均半減期が静脈内(IV)および皮下(SC)群でそれぞれ約6.3および7.5時間であることを示した。平均C<sub>max</sub>はIVおよびSC群でそれぞれ12393および152 μg/mLであり、投与後0.1および4.3時間で達成された。IVおよびSC群の平均の観測AUCはそれぞれ12723.1および2655.28 μg·hr/mLであり、2群の平均AUC(0~)はそれぞれ12766.0および2711.2 μg·hr/mLであった。IV注射後のMT103のクリアランス(CL)は39.96 mL/hr/kgであり、SC注射後の見かけのクリアランス(CL/F)は185.63 mL/hr/kgである。1回のSC投与によって送達されたMT103のバイオアベイラビリティは、AUC(0~)の比に基づいて見積もられ、22%であった。得られたバイオアベイラビリティデー

40

50

タを図33にまとめる。

【表14】

表14. カニクイザルにおけるMEDI-538の薬物動態パラメータ。

N=6 (3 M, 3F)。C<sub>max</sub>: ピーク血清濃度。T<sub>max</sub>: ピーク血清濃度までの時間。t<sub>1/2</sub>: 血清濃度の半減期。AUC<sub>obs</sub>は、最後の測定可能なサンプリング時間までの血清濃度-時間曲線下である。AUC<sub>inf</sub>は、無限大までの血清-濃度-時間曲線下である。CL: 静脈内投与後の用量/AUC<sub>inf</sub>として算出される全身血漿クリアランス。バイオアベイラビリティ: AUC<sub>inf</sub> (SC) / AUC<sub>inf</sub> (IV)として算出される、絶対バイオアベイラビリティ。括弧中の値: 各パラメータについての平均の標準偏差。

経路	C <sub>max</sub> (ng/ml)	T <sub>max</sub> (hr)	t <sub>1/2</sub> (hr)	AUC <sub>obs</sub> (ng・hr /ml)	AUC <sub>inf</sub> (ng・hr /ml)	CL (ml/hr/kg)	バイオアベイラビリティ
IV	12,400 (1370)	0.1 (0.0)	6.3 (1.1)	12,700 (2,100)	12,800 (2,100)	40 (5.9)	1.00
SC	150 (2 5)	4.3 (0.8)	7.5 (1.3)	2,660 (220)	2,700 (230)	186 (17)	0.22 (0.033)

【実施例5】

【0798】

6.5. 動物モデルにおける皮下送達されたCD19/CD3特異的BiTE(登録商標)抗体MEDI-538 (MT103/ブリナツモマブ(blinatumomab))の薬学的活性、および抗腫瘍効力

動物モデルを利用して、皮下(SC)投与後のMEDI-538のバイオアベイラビリティ、薬学的効果、および抗腫瘍効力を評価した。

【0799】

結果: MEDI-538は、ヒトPBMCと混合されたヒトB細胞腫瘍細胞が移植された、腫瘍細胞のヒトT細胞媒介性殺傷を示すことができるNOD/SCIDマウスにおいてSC投与後に抗腫瘍効力をもたらした。免疫応答性ヒトCD19トランスジェニックノックインマウスへの、MEDI-538のハイブリッドマウス代用型であるhys103 (抗ヒトCD19 x 抗マウスCD3)のSC投与後に薬学的効果が観察された。hys103はヒトCD19発現マウスB細胞の方向転換された溶解にマウスT細胞を動員する。処置は、フローサイトメトリーによって測定された場合に脾臓におけるB細胞の減少および活性化T細胞の増加を生じさせた。

【0800】

これらの結果は、複数の動物モデルでMEDI-538のSC送達が同等のPK特性を生じさせ、異種移植マウスモデルでの腫瘍チャレンジに対抗する効力に十分な全身レベルを提供し、かつ免疫応答性マウスモデルにおいてB細胞を枯渇させることを示した。総合すると、このデータはMEDI-538の送達の代替法としてのSC投与経路を支持する。

【0801】

6.5.1. in vivo抗腫瘍効力。

使用されたin vivoマウス腫瘍モデルの実験設計の概略を図34に示す。

【0802】

健康なドナーから単離された2x10<sup>6</sup>ヒトCD3+ T細胞の不在下(T細胞なし)または存在下で6 NOD/SCIDマウスのコホートに10<sup>6</sup> Namalwa細胞をSC接種した。腫瘍細胞/T細胞移植後の指定日に、示した5種のMEDI-538の一日量またはネガティブコントロールBiTE(登録商標)を皮下注射によって投与した。腫瘍増殖曲線の平均値を図35に示す。

【0803】

健康なドナーから単離された5x10<sup>6</sup>ヒトPBMCと混合された105 Ramos細胞を6 NOD/SCIDマウスのコホートにIV接種した。腫瘍細胞/PBMC移植後の指定日に、示した5種のMEDI-538の一日量またはネガティブコントロールBiTE(登録商標)を皮下注射によって投与した。生存

マウスの数 対 処置後の時間をグラフに示す。麻痺の明らかな徴候が観察された場合、動物を安楽死させた。結果を図 3 6 に示す。

【 0 8 0 4 】

#### 6.5.2. 薬力学的効果

MEDI-538のハイブリッドマウス代用型であるhys103 (抗ヒトCD19 x 抗マウスCD3)、および免疫応答性ヒトCD19 (huCD19)トランスジェニックノックインマウスを使用して薬力学的効果を評価した。huCD19トランスジェニックマウスはTom Tedderの実験室によって確立された。huCD19の発現はB細胞に制限され、マウスCD19の機能を置換することができる。マウストランスジェニックB細胞上のhuCD19の発現レベルは正常ヒト血液B細胞上で観察される発現レベルに匹敵する。huCD19トランスジェニックマウス由来のT細胞の機能的特性はバックグラウンドマウス系統(C57BL/6)由来のT細胞の機能的特性と同等である。

10

【 0 8 0 5 】

huCD19トランスジェニックマウス(脾臓)由来のCD3+ヒトT細胞またはCD3+マウスT細胞を指定の濃度のMEDI-538またはhys103の存在下でDiOC<sub>18</sub>(3)標識ヒトCD19+ NALM-6標的細胞と混合した。ヒトT細胞では18時間後、マウスT細胞では42時間後に、フローサイトメトリーに基づくアッセイを利用して特異的細胞溶解を測定した。E:T比は5:1であった。EC50は標的細胞溶解の最大半減の濃度である。反復実験の結果を図 3 7 に示す。

【 0 8 0 6 】

4匹のhuCD19トランスジェニックマウスに種々の用量レベルのhys103の1回のSC投与を施した。脾臓および骨髄CD19+B220+ B細胞集団に対するhys103による誘発効果を、処置後の種々の時間間隔でフローサイトメトリー分析によってモニターし、PBS処置マウスに存在するB細胞数に対して標準化された処置後のB細胞のパーセンテージとして図 3 8 および 3 9 に報告した。

20

【 0 8 0 7 】

4匹のhuCD19トランスジェニックマウスに種々の用量レベルのhys103の1回のSC投与を施した。脾臓および骨髄CD3+CD8+ T細胞集団に対してhys103によって誘発される影響を処置後の種々の時間間隔でフローサイトメトリー分析によってモニターし、同時時間間隔で評価されたPBS処置マウスのT細胞に対するCD69のMFIと比較されたhys103処置後のCD69の平均蛍光強度(MFI)の増加倍率として報告した(図 4 0 および 4 1)。類似のレベルのCD69活性化がCD3+CD4+ T細胞を用いて観察された。

30

【 0 8 0 8 】

huCD19トランスジェニックマウスへの1回の静脈内(IV)ポータルまたは皮下(SC)注射後のMEDI-538のハイブリッドマウス代用型であるhys103 (抗ヒトCD19 x 抗マウスCD3)の薬物動態プロファイルを比較する研究を行った。実験動物に、25 mMシトレート、25 mMリンHCL、6%トレハロース、0.02 %ポリソルベート80、pH 6.0中に製剤化された一回量0.375 mg/kg、0.75 mg/kg、1.5 mg/kgまたは3 mg/kgのhys103を両投与経路によって投与した。投与後24時間にわたってhys103の血清レベルをELISAによってモニターした。データの代表的なサンプルを図 4 2 A および B に示す。hys103の血清半減期は約8時間であった。皮下投与後のhys103の血清バイオアベイラビリティは約18%であった。

【 0 8 0 9 】

40

当業者は、本明細書中に記載の本発明の具体的実施形態と等価な多数の実施形態を認識するか、または典型的にすぎない実験法を使用して確かめることができる。そのような等価物は以下の特許請求の範囲に包含されるものとする。

【 0 8 1 0 】

本明細書中に記載のすべての刊行物、特許および特許出願は、本明細書中への参照により、個々の各刊行物、特許または特許出願が参照によりここに組み入れられると具体的かつ個別に記載されているのと同じ程度にここに組み入れられる。さらに、2007年11月28日提出の米国仮出願Nos 60/990,772、2008年3月27日提出の61/039,985、および2008年3月28日提出の61/040,384は参照によりすべての目的のためにその全体がここに組み入れられる。

50

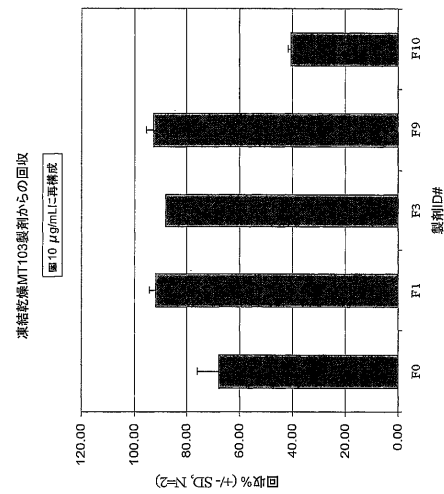
【0811】

本明細書中の参考文献の引用または考察は、それらが本発明の先行技術であるという承認として解釈されないものとする。

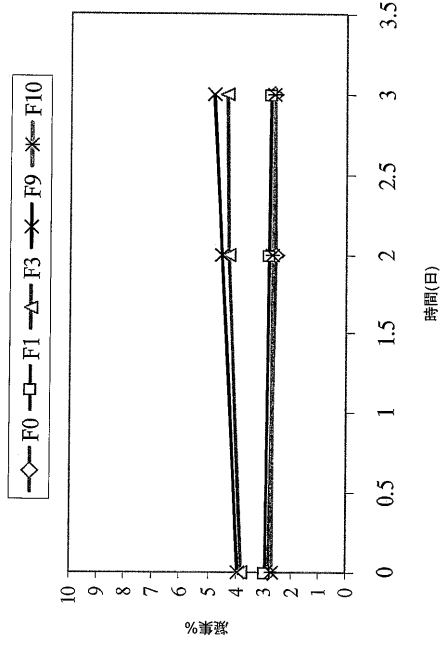
【図1】

ID#	製剤組成
F0	25 mM クエン酸, 15% トレハロース水和物, pH7
F1	25 mM クエン酸, 15% トレハロース水和物 0.1% ポリソルベート 80, pH7
F3	25 mM クエン酸, 15% トレハロース水和物 0.1% ポリソルベート 80, 500 mM アルギニンHCl, pH7
F9	25 mM クエン酸, 5% トレハロース水和物, 0.1% ポリソルベート 80, 500 mM アルギニンHCl, pH7
F10	25 mM クエン酸, 5% マンニトール, pH7

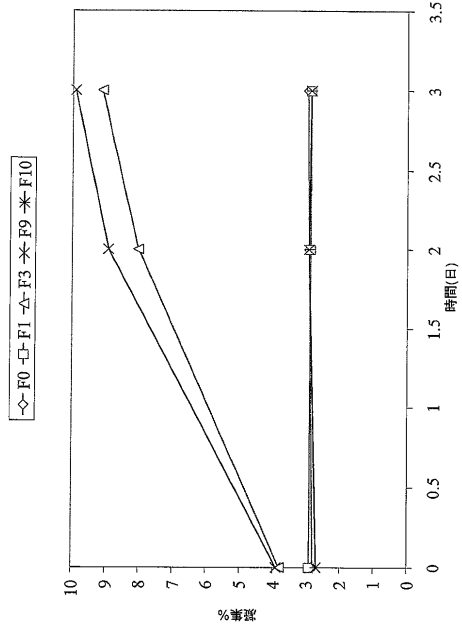
【図2】



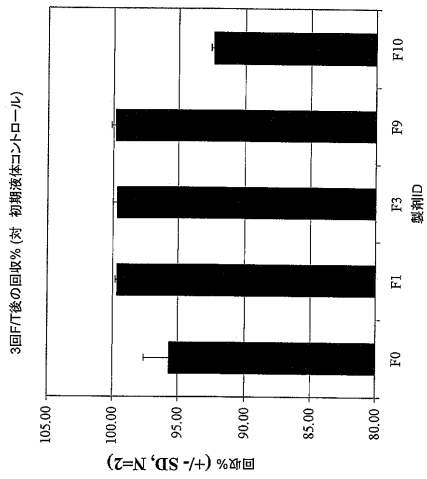
【 図 3 】



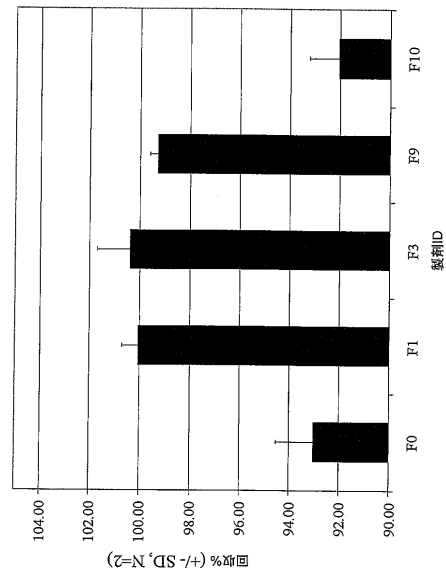
【 図 4 】



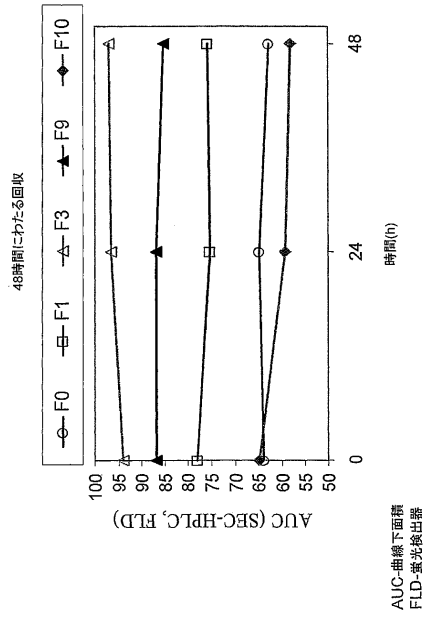
【 図 5 】



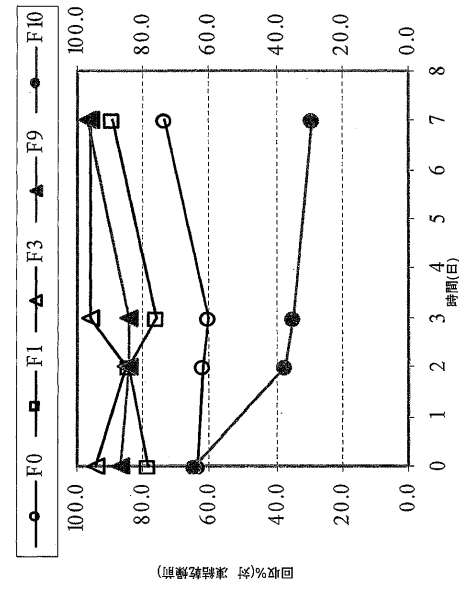
【 図 6 】



【 図 7 】



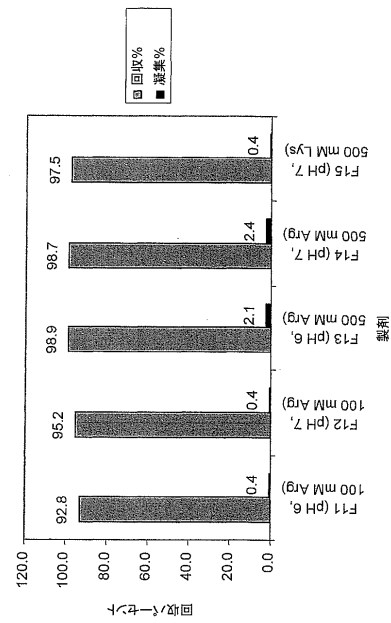
【 図 8 】



【 図 9 】

ID#	製剤組成
F11	25 mM クエン酸, 15% トレハロース二水和物, 0.1% ポリソルベート80, 100 mM アルギニンHCl, pH 6
F12	25 mM クエン酸, 15% トレハロース二水和物, 0.1% ポリソルベート80, 100 mM アルギニンHCl, pH 7
F13	25 mM クエン酸, 15% トレハロース二水和物, 0.1% ポリソルベート80, 500 mM アルギニンHCl, pH 6
F14	25 mM クエン酸, 15% トレハロース二水和物, 0.1% ポリソルベート80, 500 mM アルギニンHCl, pH 7
F15	25 mM クエン酸, 15% トレハロース二水和物, 0.1% ポリソルベート80, 500 mM リジンHCl, pH 7

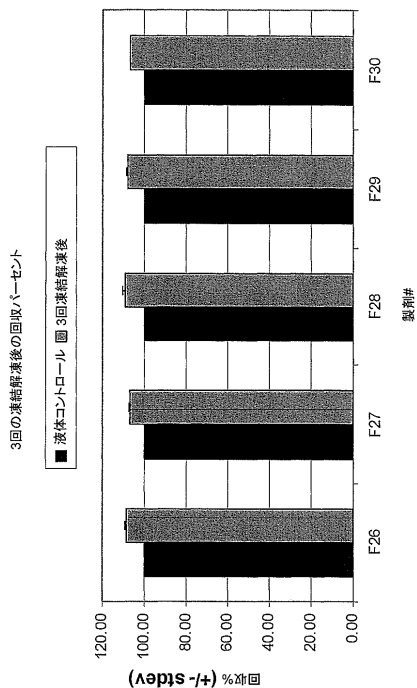
【 図 10 】



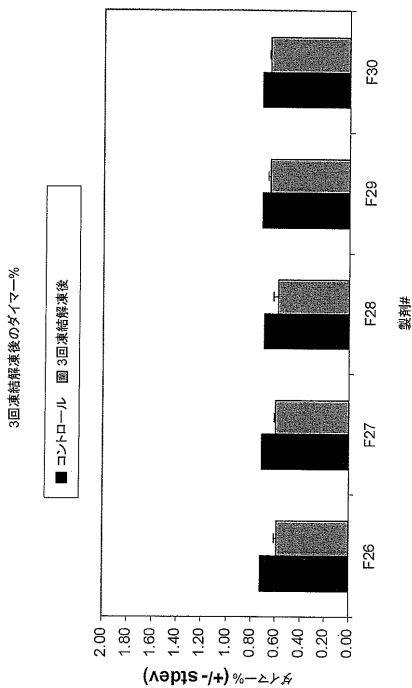
【 図 1 1 】

ID#	製剤組成
F26	25 mM クエン酸, 15% トレハロースニ水和物, 0.25% ポリソルベート80 pH 7
F27	25 mM クエン酸, 15% トレハロースニ水和物, 0.1% ポリソルベート80, 100 mM リンシHCl pH 7
F28	25 mM クエン酸, 15% トレハロースニ水和物, 0.25% ポリソルベート80, 100 mM リンシHCl pH 7
F29	25 mM クエン酸, 15% トレハロースニ水和物, 0.1% ポリソルベート80, 200 mM リンシHCl pH 7
F30	25 mM クエン酸, 15% トレハロースニ水和物, 0.1% ポリソルベート80, 300 mM リンシHCl pH 7

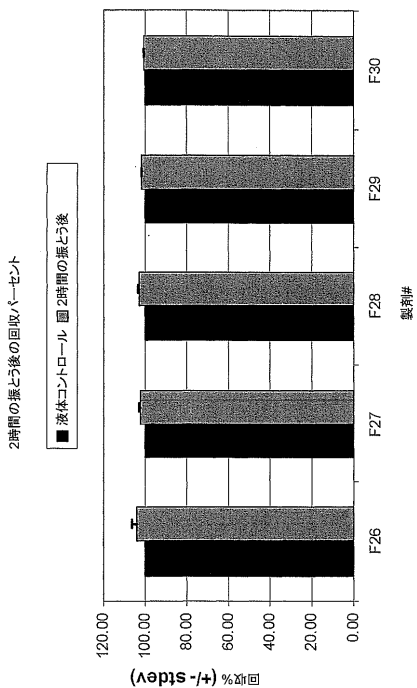
【 図 1 2 】



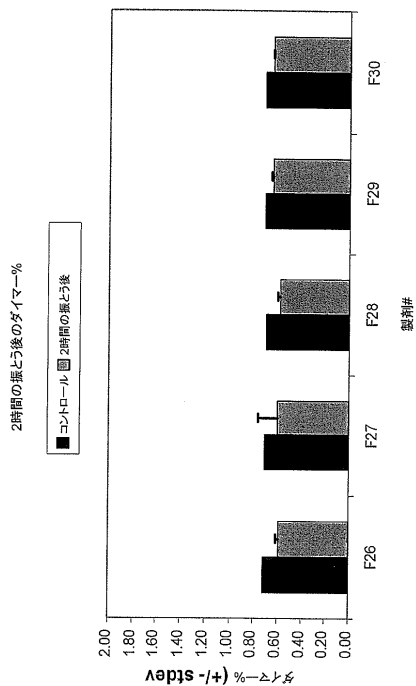
【 図 1 3 】



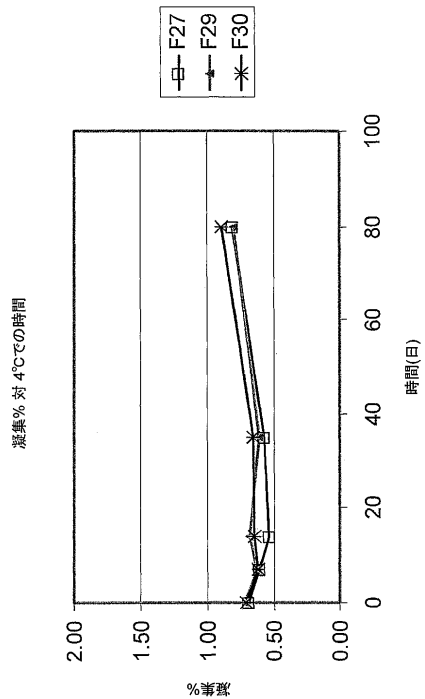
【 図 1 4 】



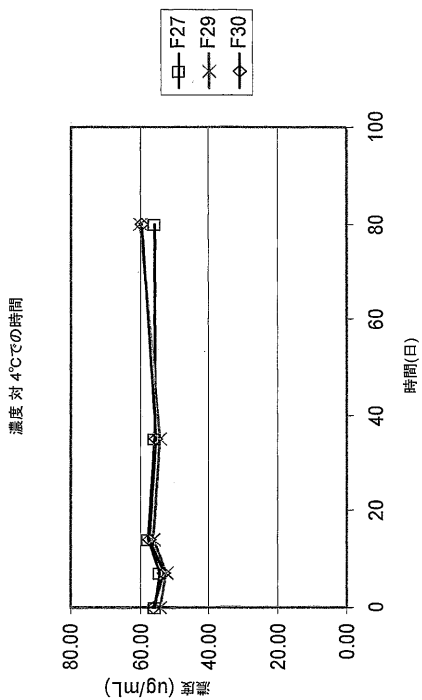
【 図 15 】



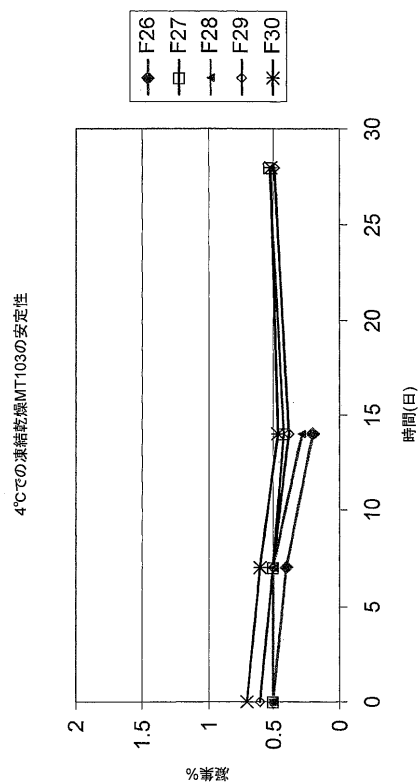
【 図 16 】



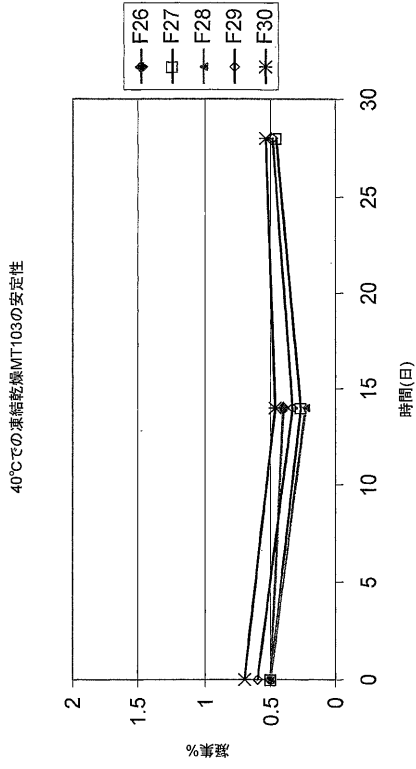
【 図 17 】



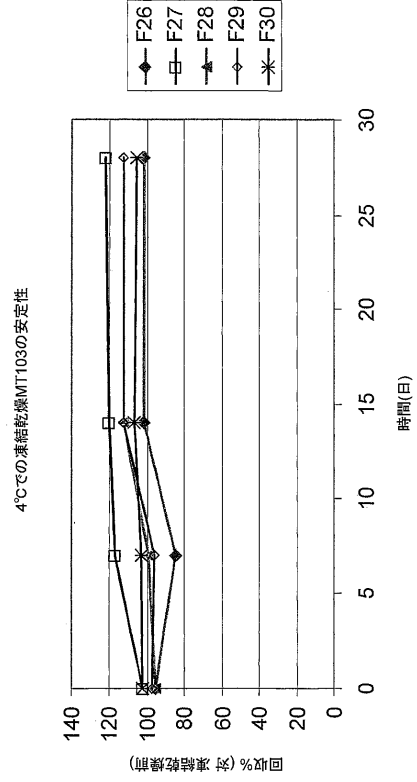
【 図 18 】



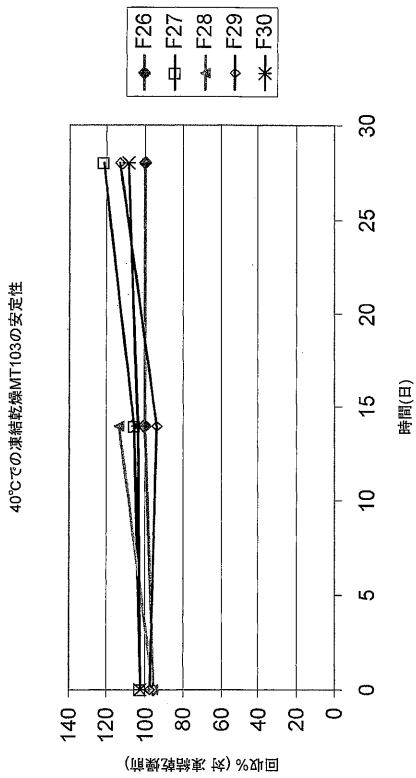
【 図 19 】



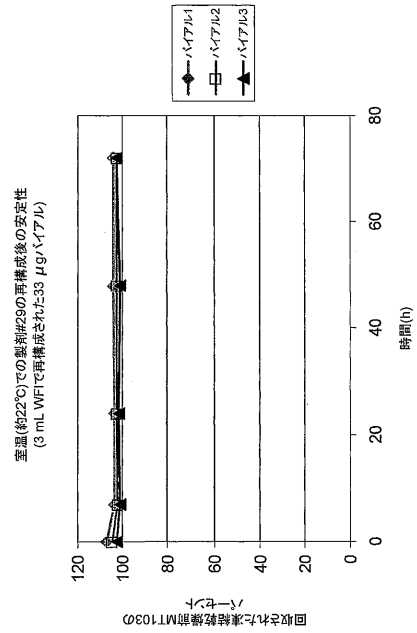
【 図 20 】



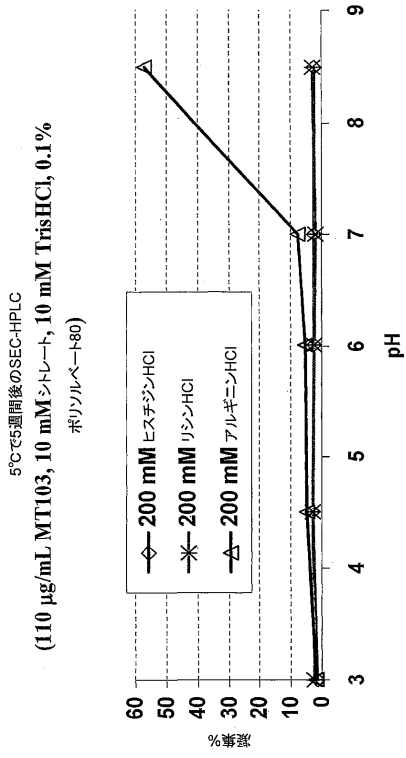
【 図 21 】



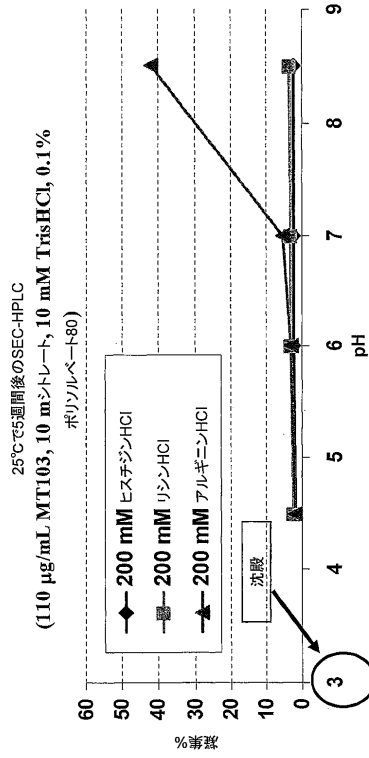
【 図 22 】



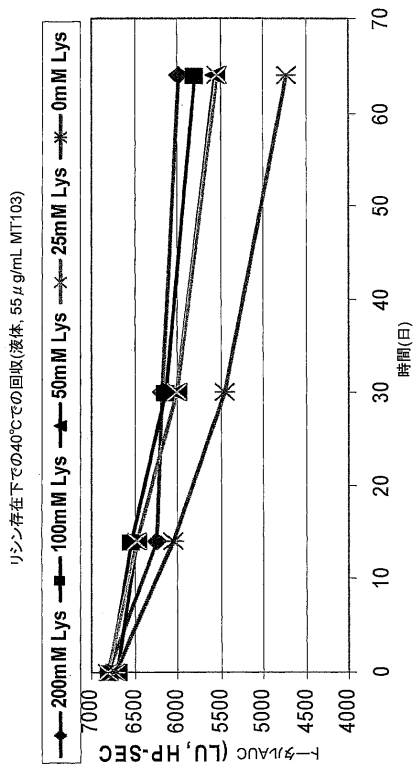
【 図 2 3 】



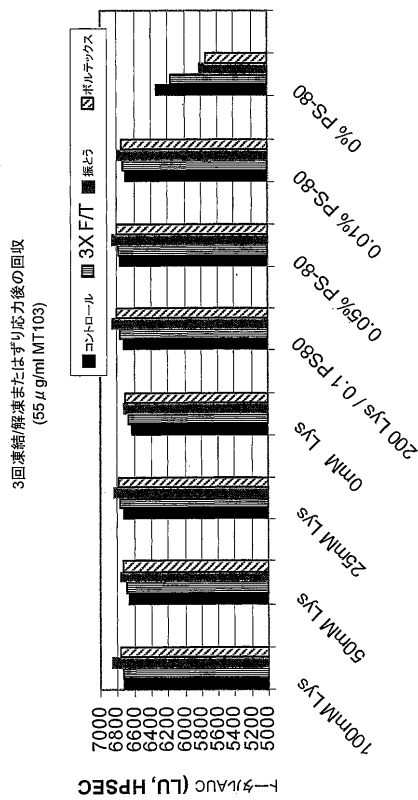
【 図 2 4 】



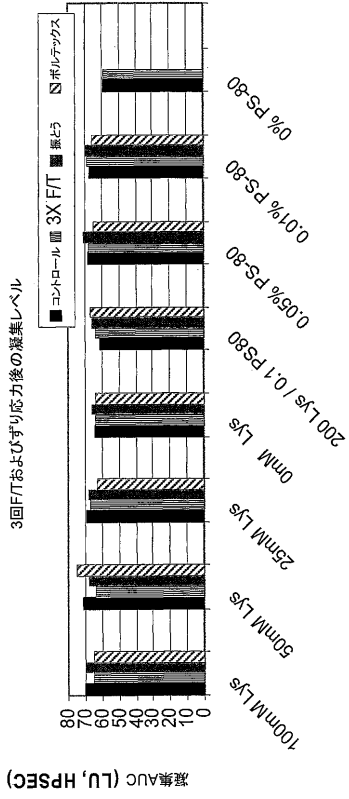
【 図 2 5 】



【 図 2 6 - 1 】



【 図 26 - 2 】



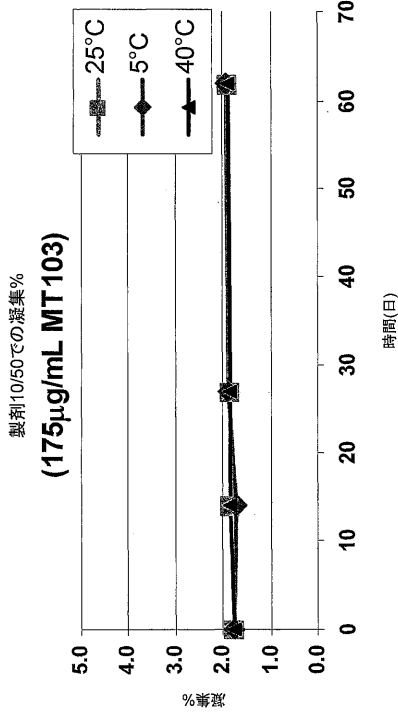
【 図 27 - 1 】

製剤25/25:  
 25mM シトレート, 25mM LysHCl, 6% トレハロース, 0.02%  
 ポリソルベート80(pH 6.0)

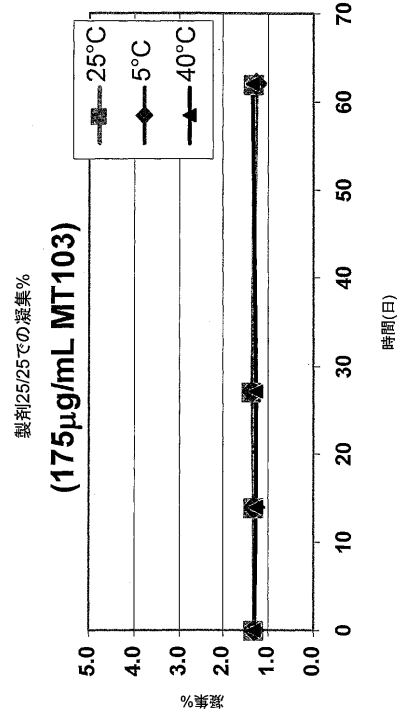
製剤10/50:  
 10mM シトレート, 50mM LysHCl, 5.5% トレハロース, 0.02%  
 ポリソルベート80(pH 6.0)

製剤25/200:  
 25mM シトレート, 200mM LysHCl, 5.5% トレハロース, 0.02%  
 ポリソルベート80(pH 6.0)

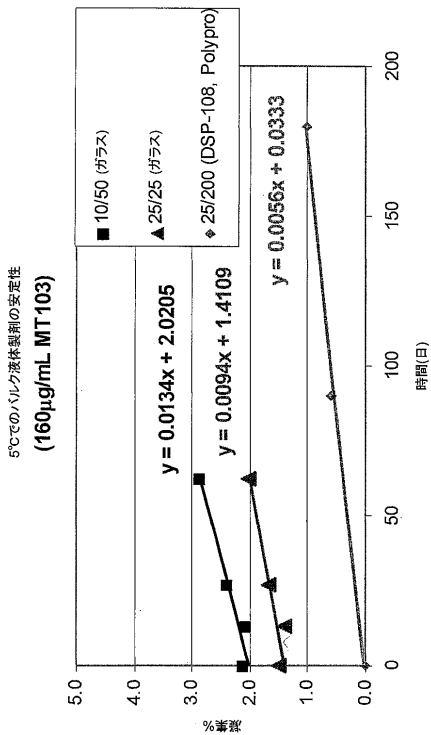
【 図 27 - 2 】



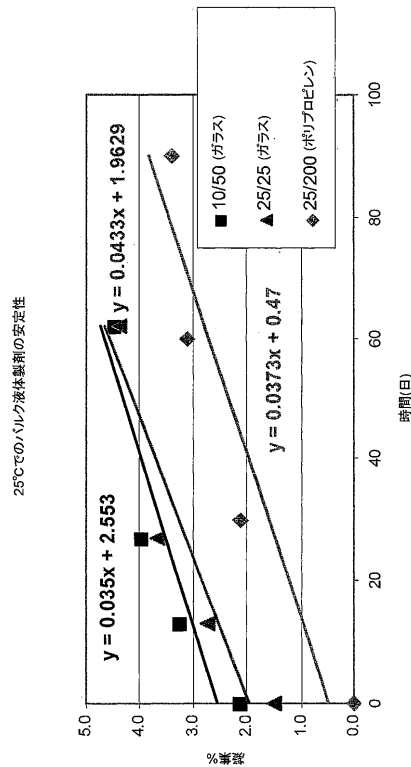
【 図 27 - 3 】



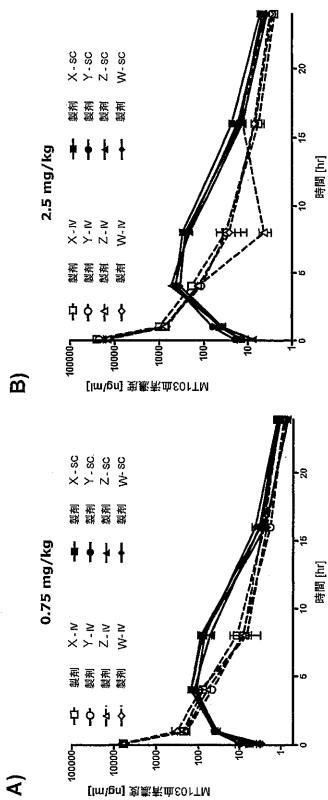
【 図 28 - 1 】



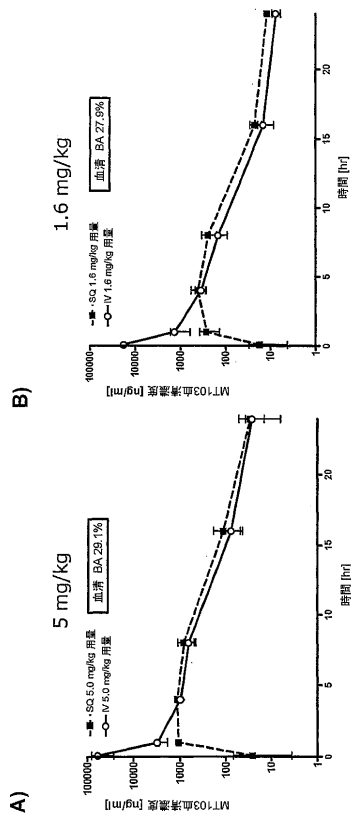
【 図 28 - 2 】



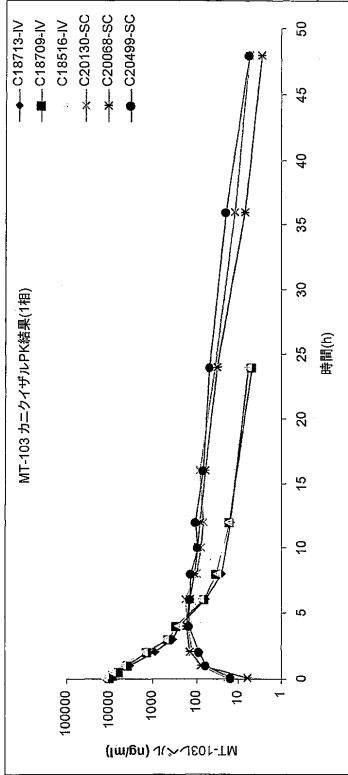
【 図 29 】



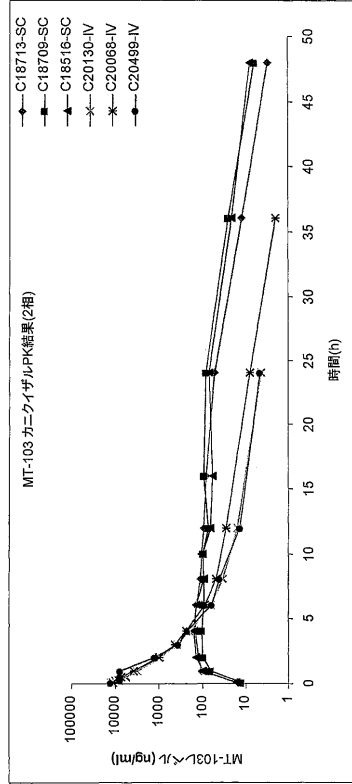
【 図 30 】



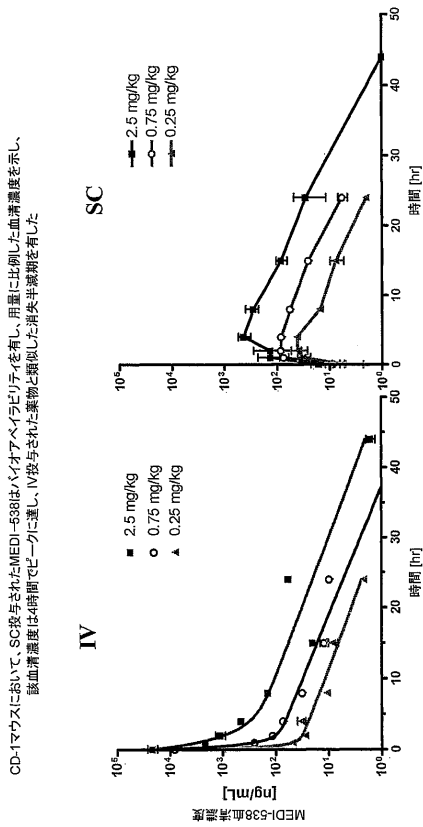
【 3 1 - 1 】



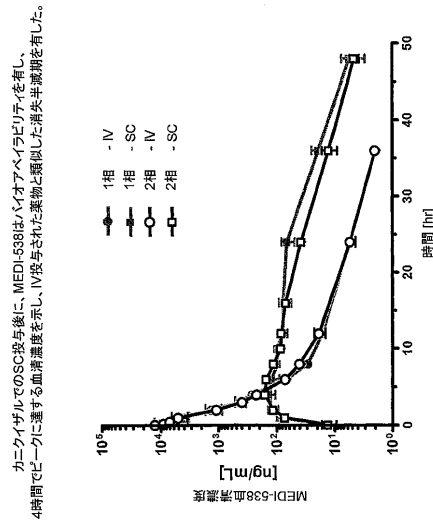
【 3 1 - 2 】



【 3 2 】

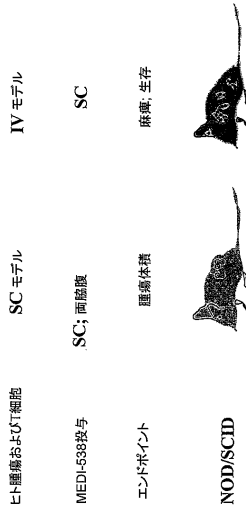


【 3 3 】



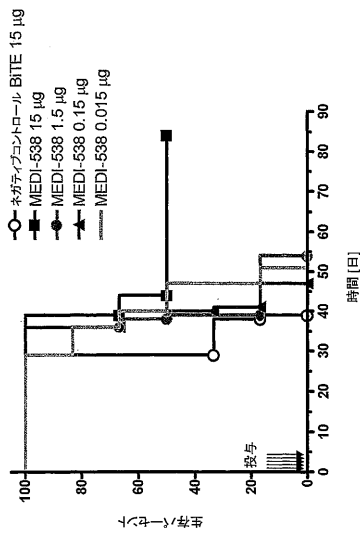
【 3 4 】

抗腫瘍効力に関するIN VIVOマウスモデル



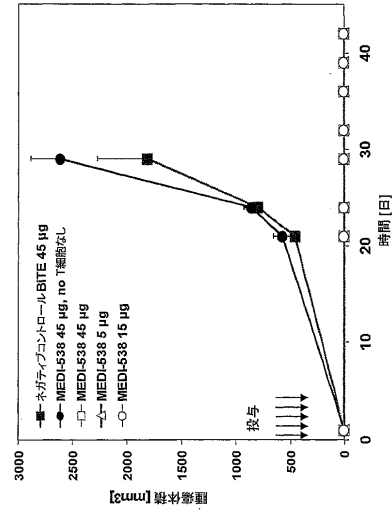
【 3 6 】

MEDI-538でのSC処置は、CD19+ Ramos Bリン腫細胞およびヒトCD3+ T細胞をIV移植されたNOD/SCIDマウスの生存を悪化させる



【 3 5 】

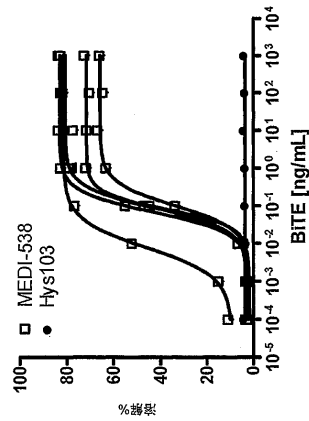
MEDI-538でのSC処置は、NOD/SCIDマウスにおいてヒトCD3+ T細胞と混合されたSC移植CD19+ Namalva Bリン腫細胞の増殖を完全に阻害する



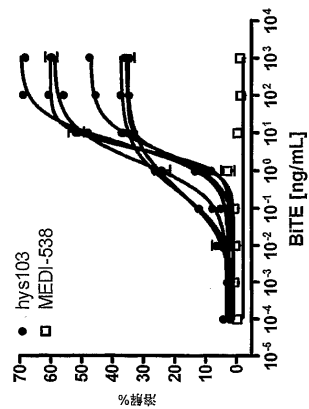
【 3 7 】

Hys 103はB細胞リン腫系統(NALM-6)のマウスT細胞溶解を媒介する

ヒトエフェクターT細胞  
EC<sub>50</sub> = 68 pg/mL (+/- 36 pg/mL)

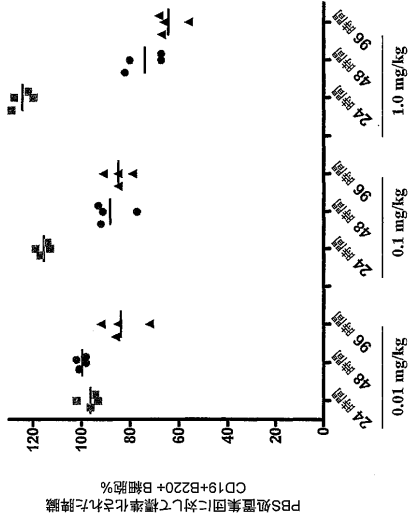


huCD19 TgマウスエフェクターT細胞  
EC<sub>50</sub> = 2300 pg/mL (+/- 1700 pg/mL)



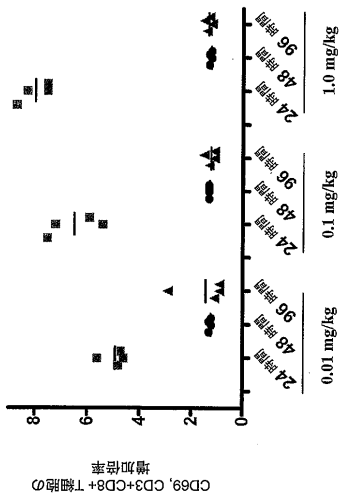
【 38 】

一回量のhys103でのSC処置後のhuCD19トランスジェニックマウスにおける脾臓B細胞の用量依存性減少



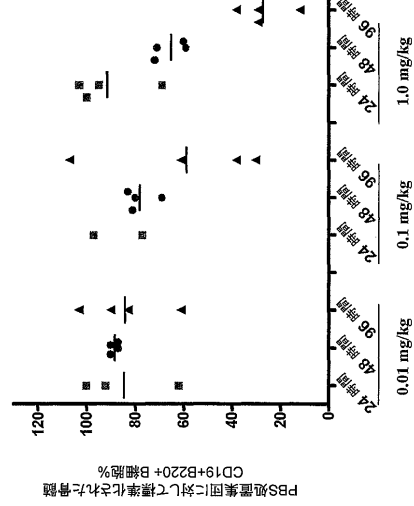
【 40 】

hys103の1回SC投与後のhuCD19トランスジェニックマウスにおける脾臓T細胞の用量依存性活性化(CD69)



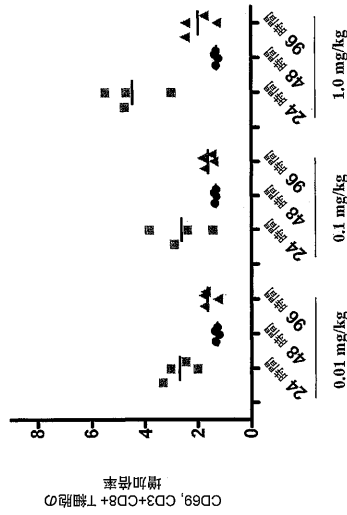
【 39 】

一回量のhys103でのSC処置後のhuCD19トランスジェニックマウスにおける骨髄B細胞の用量依存性減少

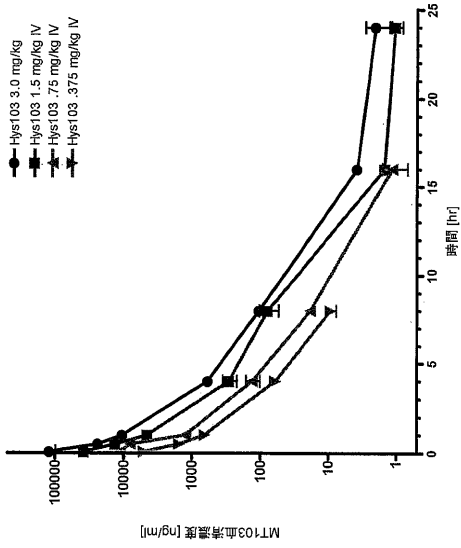


【 41 】

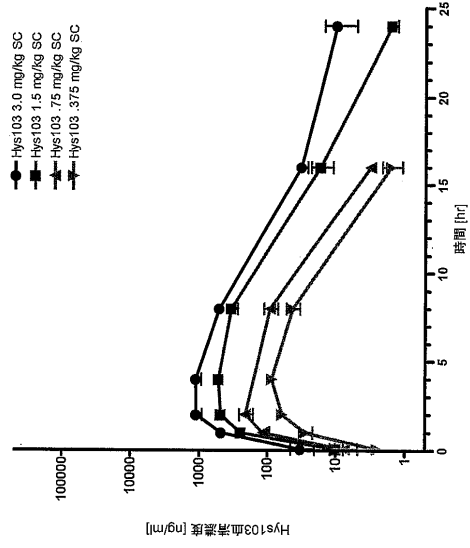
hys103の1回SC投与後のhuCD19トランスジェニックマウスにおける骨髄T細胞の用量依存性活性化(CD69)



【 4 2 - 1 】



【 4 2 - 2 】



【 配列表 】

0005490714000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 47/34	(2006.01)	A 6 1 K 47/34	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/06	(2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
C 0 7 K 16/46	(2006.01)	C 0 7 K 16/46	Z N A

(31)優先権主張番号 61/040,384

(32)優先日 平成20年3月28日(2008.3.28)

(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 シャーマ, モニカ, エス.

アメリカ合衆国 2 0 8 5 4 メリーランド州, ポトマック, パッション フラワー レーン 1  
1 3 0 0

(72)発明者 シャー, アンバリッシュ

アメリカ合衆国 2 0 8 4 1 メリーランド州, ボイズ, クレストマウント ロード 1 8 3 0 6

(72)発明者 ハモンド, スコット

アメリカ合衆国 2 0 8 3 2 メリーランド州, オルニー, ルウェリン フィールド ロード 3  
2 1 6

審査官 高岡 裕美

(56)参考文献 国際公開第2007/073499(WO, A1)

特表2001-503781(JP, A)

国際公開第2007/074880(WO, A1)

国際公開第2005/063291(WO, A1)

日本医薬品添加剤協会編, 医薬品添加物事典2007, 株式会社薬事日報社, 2007年 7月  
25日, 第1刷, 第322~323頁, (「L-リジン塩酸塩」の項参照)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 9 / 0 0

CAplus/REGISTRY(STN)