(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-512025
(P2025-512025A)
(43)公表日　令和7年4月16日(2025.4.16)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
C12N	*15/13*	*(2006.01)*	C12N	15/13		4B064
C07K	*16/28*	*(2006.01)*	C07K	16/28	ZNA	4B065
C12N	*15/62*	*(2006.01)*	C12N	15/62	Z	4C076
C07K	*16/46*	*(2006.01)*	C07K	16/46		4C085
C12N	*15/63*	*(2006.01)*	C12N	15/63	Z	4H045

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全81頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-560259(P2024-560259)
(86)(22)出願日　令和5年4月14日(2023.4.14)
(85)翻訳文提出日　令和6年12月5日(2024.12.5)
(86)国際出願番号　PCT/CN2023/088417
(87)国際公開番号　WO2023/198194
(87)国際公開日　令和5年10月19日(2023.10.19)
(31)優先権主張番号　PCT/CN2022/087003
(32)優先日　令和4年4月15日(2022.4.15)
(33)優先権主張国・地域又は機関
中国(CN)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV
最終頁に続く

(71)出願人　521213200
バイオサイトジェン ファーマシューティカルズ （ベイジン） カンパニー リミテッド
中華人民共和国 １０２６００ ベイジン、ダクシング ディストリクト、ダクシング バイオ－メディスン インダストリー パーク、バオシェン サウス ストリート、ナンバー １２
(74)代理人　100099759
弁理士　青木 篤
(74)代理人　100123582
弁理士　三橋 真二
(74)代理人　100117019
弁理士　渡辺 陽一
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗ＣＤ４０抗体及びその使用

(57)【要約】
本開示は、抗ＣＤ４０（ＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー５）抗体、抗原結合断片、及びこれらの使用に関する。

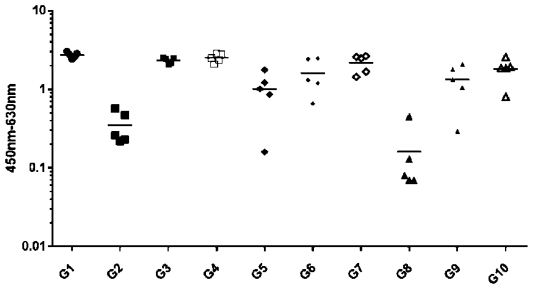


FIG. 8

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＣＤ４０（ＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー５）に結合する抗体又はその抗原結合断片であって、
相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含む重鎖可変領域（ＶＨ）であって、前記ＶＨ　ＣＤＲ１領域は、選択されたＶＨ　ＣＤＲ１アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含み、前記ＶＨ　ＣＤＲ２領域は、選択されたＶＨ　ＣＤＲ２アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含み、前記ＶＨ　ＣＤＲ３領域は、選択されたＶＨ　ＣＤＲ３アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含む、前記重鎖可変領域と、
ＣＤＲ１、２、及び３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）であって、前記ＶＬ　ＣＤＲ１領域は、選択されたＶＬ　ＣＤＲ１アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含み、前記ＶＬ　ＣＤＲ２領域は、選択されたＶＬ　ＣＤＲ２アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含み、前記ＶＬ　ＣＤＲ３領域は、選択されたＶＬ　ＣＤＲ３アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含む、前記軽鎖可変領域と、を含み、
前記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、及び３アミノ酸配列、並びに、前記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、及び３アミノ酸配列は、以下：
（１）前記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号１、２、３に記載され、前記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号４、５、６に記載され、
（２）前記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号７、８、９に記載され、前記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号１０、１１、１２に記載され、
（３）前記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号１３、１４、１５に記載され、前記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号１６、１７、１８に記載され、
（４）前記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号１９、２０、２１に記載され、前記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号２２、２３、２４に記載され、
（５）前記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号２５、２６、２７に記載され、前記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号２８、２９、３０に記載され、及び
（６）前記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号３１、３２、３３に記載され、前記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号３４、３５、３６に記載される、
のうちの１つである、
抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２】
前記ＶＨは、それぞれ、配列番号１、２、及び３に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及び前記ＶＬは、それぞれ、配列番号４、５、及び６に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む、
請求項１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３】
前記ＶＨは、それぞれ、配列番号７、８、及び９に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及び前記ＶＬは、それぞれ、配列番号１０、１１、及び１２に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む、
請求項１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項４】
前記ＶＨは、それぞれ、配列番号１３、１４、及び１５に記載されるアミノ酸配列

を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及び前記ＶＬは、それぞれ、配列番号１６、１７、及び１８に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む、
請求項１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５】
前記ＶＨは、それぞれ、配列番号１９、２０、及び２１に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及び前記ＶＬは、それぞれ、配列番号２２、２３、及び２４に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む、
請求項１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６】
前記ＶＨは、それぞれ、配列番号２５、２６、及び２７に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及び前記ＶＬは、それぞれ、配列番号２８、２９、及び３０に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む、
請求項１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項７】
前記ＶＨは、それぞれ、配列番号３１、３２、及び３３に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及び前記ＶＬは、それぞれ、配列番号３４、３５、及び３６に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む、
請求項１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項８】
前記抗体又はその抗原結合断片は、ヒト、サル、又はイヌＣＤ４０に特異的に結合する、請求項１～７のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項９】
前記抗体又はその抗原結合断片は、ヒト抗体若しくはその抗原結合断片、一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）、及び／又は多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）である、
請求項１～８のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１０】
前記抗体又はその抗原結合断片は、（任意選択的に、ＹＴＥ及び／若しくはＬＡＬＡ変異を有する）ヒトＩｇＧ１抗体若しくはその抗原結合断片、又は、（任意選択的に、ＹＴＥを有する）ヒトＩｇＧ４抗体若しくはその抗原結合断片である、
請求項１～９のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１１】
ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸であって、
(１)　それぞれ、配列番号１、２、及び３に記載されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記ＶＨは、配列番号３７に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）と対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、
(２)　それぞれ、配列番号４、５、及び６に記載されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、前記ＶＬは、配列番号６５に記載されるアミノ酸配列を含むＶＨと対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、
(３)　それぞれ、配列番号７、８、及び９に記載されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記ＶＨは、配列番号３９に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）と対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、
(４)　それぞれ、配列番号１０、１１、及び１２に記載されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、前記ＶＬは、配列番号３８に記載されるアミノ酸配列を含むＶＨと対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

(５)　それぞれ、配列番号１３、１４、及び１５に記載されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含むＶＨを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、前記ＶＨは、配列番号４１に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）と対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、或いは
(６)　それぞれ、配列番号１６、１７、及び１８に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、前記ＶＬは、配列番号４０に記載されるアミノ酸配列を含むＶＨと対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、
を含む、
核酸。
【請求項１２】
前記核酸は、それぞれ、配列番号１、２、及び３に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＨを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、
請求項１１に記載の核酸。
【請求項１３】
前記核酸は、それぞれ、配列番号４、５、及び６に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、
請求項１１に記載の核酸。
【請求項１４】
前記核酸は、それぞれ、配列番号７、８、及び９に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＨを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、
請求項１１に記載の核酸。
【請求項１５】
前記核酸は、それぞれ、配列番号１０、１１、及び１２に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、
請求項１１に記載の核酸。
【請求項１６】
前記核酸は、それぞれ、配列番号１３、１４、及び１５に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＨを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、
請求項１１に記載の核酸。
【請求項１７】
前記核酸は、それぞれ、配列番号１６、１７、及び１８に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、
請求項１１に記載の核酸。
【請求項１８】
前記ＶＨは、ＶＬと対形成する際に、ヒト、サル、若しくはイヌＣＤ４０に特異的に結合し、又は、前記ＶＬは、ＶＨと対形成する際に、ヒト、サル、若しくはイヌＣＤ４０に特異的に結合する、
請求項１１～１７のいずれか１項に記載の核酸。
【請求項１９】
前記免疫グロブリン重鎖又はその断片は、ヒト免疫グロブリン重鎖又はその断片（例えば、ヒトＩｇＧ１重鎖若しくはその断片、任意選択的に、ＹＴＥ及び／若しくはＬＡＬＡ変異を有する；又は、ヒトＩｇＧ４重鎖若しくはその断片、任意選択的に、ＹＴＥを有する

）であり、前記免疫グロブリン軽鎖又はその断片は、ヒト免疫グロブリン軽鎖又はその断片である、
請求項１１～１８のいずれか１項に記載の核酸。
【請求項２０】
前記核酸は、一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）又は多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）をコードする、
請求項１１～１９のいずれか１項に記載の核酸。
【請求項２１】
前記核酸はｃＤＮＡである、
請求項１１～２０のいずれか１項に記載の核酸。
【請求項２２】
請求項１１～２１のいずれか１項に記載の核酸の１つ以上を含む、
ベクター。
【請求項２３】
請求項１１～２１のいずれか１項に記載の核酸の２つを含むベクターであって、前記ベクターは、共にＣＤ４０に結合する前記ＶＨ領域及び前記ＶＬ領域をコードする、
ベクター。
【請求項２４】
一対のベクターであって、各ベクターは、請求項１１～２１のいずれか１項に記載の核酸の１つを含み、共にＣＤ４０に結合する前記ＶＬ領域及び前記ＶＨ領域を、前記一対のベクターと共にコードする、
一対のベクター。
【請求項２５】
請求項２２若しくは２３に記載のベクター、又は請求項２４に記載の一対のベクター、を含む、
細胞。
【請求項２６】
前記細胞はＣＨＯ細胞である、
請求項２５に記載の細胞。
【請求項２７】
請求項１１～２１のいずれか１項に記載の核酸の１つ以上を含む、
細胞。
【請求項２８】
請求項１１～２１のいずれか１項に記載の核酸の２つを含む、
細胞。
【請求項２９】
前記２つの核酸は、共にＣＤ４０に結合する前記ＶＬ領域及び前記ＶＨ領域を、共にコードする、
請求項２８に記載の細胞。
【請求項３０】
抗体又はその抗原結合断片の産生方法であって、
(a)　請求項２５～２９のいずれか１項に記載の細胞を、前記細胞に対して、前記抗体又は前記抗原結合断片を産生するのに十分な条件下で培養することと、
(b)　前記細胞により産生される前記抗体又は前記抗原結合断片を収集することと、を含む、
方法。
【請求項３１】
ＣＤ４０に結合する抗体又はその抗原結合断片であって、
選択された重鎖可変領域（ＶＨ）配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含むＶＨと、選択された軽鎖可変領域（ＶＬ）配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配

列を含むＶＬと、を含み、、前記選択されたＶＨ配列、及び前記選択されたＶＬ配列は、以下：
(１)前記選択されたＶＨ配列は配列番号６５であり、前記選択されたＶＬ配列は配列番号３７である；
(２)前記選択されたＶＨ配列は配列番号３８であり、前記選択されたＶＬ配列は配列番号３９である；及び
(３)前記選択されたＶＨ配列は配列番号４０であり、前記選択されたＶＬ配列は配列番号４１である；
のうちの１つである、
抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３２】
前記ＶＨは配列番号６５の配列を含み、前記ＶＬは配列番号３７の配列を含む、
請求項３１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３３】
前記ＶＨは配列番号３８の配列を含み、前記ＶＬは配列番号３９の配列を含む、
請求項３１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３４】
前記ＶＨは配列番号４０の配列を含み、前記ＶＬは配列番号４１の配列を含む、
請求項３１に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３５】
前記抗体又はその抗原結合断片は、ヒト、サル、又はイヌＣＤ４０に特異的に結合する、
請求項３１～３４のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３６】
前記抗体又はその抗原結合断片は、ヒト抗体若しくはその抗原結合断片、一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）、及び／又は多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）である、
請求項３１～３５のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３７】
前記抗体又は抗原結合断片は、（任意選択的に、ＹＴＥ及び／若しくはＬＡＬＡ変異を有する）ヒトＩｇＧ１抗体若しくはその抗原結合断片、又は、（任意選択的に、ＹＴＥを有する）ヒトＩｇＧ４抗体若しくはその抗原結合断片である、
請求項３１～３６のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３８】
請求項１～１０、及び３１～３７のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片の、
ＶＨ　ＣＤＲ１、２、３、及び、ＶＬ　ＣＤＲ１、２、３を含む、
抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３９】
請求項１～１０、及び３１～３８のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片と交差競合する、
抗体又はその抗原結合断片。
【請求項４０】
治療剤に共有結合した、請求項１～１０、及び３１～３９のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含む、
抗体薬物コンジュゲート。
【請求項４１】
前記治療剤は、細胞毒性剤又は細胞増殖抑制剤である、
請求項４０に記載の抗体薬物コンジュゲート。
【請求項４２】
癌を有する対象の治療方法であって、前記方法は、治療に有効な量の、請求項１～１０、及び３１～３９のいずれか１項に記載の抗体若しくはその抗原結合断片、又は、請求項４０若しくは４１に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む組成物を、前記対象に投与するこ

とを含む、
方法。
【請求項４３】
前記対象は充実性腫瘍を患う、
請求項４２に記載の方法。
【請求項４４】
前記癌は、黒色腫、膵臓癌、中皮腫、又は血液学的悪性腫瘍である、
請求項４２に記載の方法。
【請求項４５】
前記癌は、非ホジキンリンパ腫、リンパ腫、又は慢性リンパ性白血病である、
請求項４２に記載の方法。
【請求項４６】
腫瘍増殖速度を低減する方法であって、前記方法は、
腫瘍細胞を、有効量の、請求項１～１０、及び３１～３９のいずれか１項に記載の抗体若しくはその抗原結合断片、又は、請求項４０若しくは４１に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む組成物と接触させることを含む、
方法。
【請求項４７】
腫瘍細胞の殺傷方法であって、前記方法は、
腫瘍細胞を、有効量の、請求項１～１０、及び３１～３９のいずれか１項に記載の前記抗体若しくはその抗原結合断片、又は、請求項４０若しくは４１に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む組成物と接触させることを含む、
方法。
【請求項４８】
対象における免疫応答を阻害する方法であって、前記方法は、
前記対象に、有効量の、請求項１～１０、及び３１～３９のいずれか１項に記載の抗体若しくはその抗原結合断片、又は、請求項４０若しくは４１に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む組成物を投与することを含む、
方法。
【請求項４９】
前記対象は、自己免疫疾患を患う、
請求項４８に記載の方法。
【請求項５０】
自己免疫疾患の治療方法であって、前記方法は、
前記対象に、有効量の、請求項１～１０、及び３１～３９のいずれか１項に記載の抗体若しくはその抗原結合断片、又は、請求項４０若しくは４１に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む組成物を投与することを含む、
方法。
【請求項５１】
前記自己免疫疾患は、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、ループス腎炎、アレルギー性皮膚炎、又は多発性硬化症である、
請求項５０に記載の方法。
【請求項５２】
請求項１～１０、及び３１～３９のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片と、薬学的に許容される担体と、を含む、
医薬組成物。
【請求項５３】
請求項４０又は４１に記載の抗体薬物コンジュゲートと、薬学的に許容される担体と、を含む、
医薬組成物。

【請求項５４】
Ｆｃ領域を含む、ＣＤ４０（ＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー５）に結合する抗体又はその抗原結合断片であって、前記Ｆｃ領域は、ＡＤＣＣ効果を欠くか、又は、野生型Ｆｃ領域と比較してＡＤＣＣ効果が低下している、
抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５５】
前記抗体又はその抗原結合断片と、ＦｃＲｎ（例えば、ヒトＦｃＲｎ）との間のＫＤは、１×１０－５Ｍ未満、５×１０－６Ｍ未満、１×１０－６Ｍ未満、５×１０－７Ｍ未満、１×１０－７Ｍ未満、又は、５×１０－８Ｍ未満である、
請求項５４に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５６】
前記Ｆｃ領域は、ＩｇＧ１又はＩｇＧ４サブタイプである、
請求項５４又は５５に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５７】
前記Ｆｃ領域はＹＴＥ変異を含む、
請求項５４～５６のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５８】
前記Ｆｃ領域はＬＡＬＡ変異を含む、
請求項５４、５５、及び５７のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５９】
前記抗体又はその抗原結合断片の半減期は、対象に投与した際に、少なくとも１日、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも４日、少なくとも５日、少なくとも６日、少なくとも７日、少なくとも８日、少なくとも９日、少なくとも１０日、少なくとも１１日、少なくとも１２日、少なくとも１３日、少なくとも１４日、少なくとも１５日、少なくとも１６日、少なくとも１７日、又は少なくとも１８日である、
請求項１～１０、３１～３７、及び５４～５８のいずれか１項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６０】
前記対象はマウスである、
請求項５９に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６１】
前記対象は、ヒト又はヒト化ＣＤ４０を発現するように遺伝子組み換えされている、
請求項５９又は６０に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本開示は、抗ＣＤ４０（ＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー５）抗体、及びその使用に関する。
【背景技術】
【０００２】
優先権の主張
本出願は、２０２２年４月１５日に出願された、ＰＣＴ出願番号第ＰＣＴ／ＣＮ２０２２／０８７００３号の利益を主張する。上述の出願の内容全体が参照により、本明細書に組み込まれている。
【０００３】
自己免疫疾患は、正常な体部に対する異常な免疫反応により生じる状態である。少なくとも８０種類の自己免疫疾患が存在する。自己免疫疾患の原因は一般に、十分に理解されていない。狼瘡などの自己免疫疾患のいくつかは家族内で生じ、他の自己免疫疾患の中には、感染症又は他の環境因子によりトリガーされ得るものもある。一般的ないくつかの自己免疫疾患としては、例えば、セリアック病、Ｉ型真性糖尿病、グレーヴス病、炎症性腸疾

患、多発性硬化症、乾癬、関節リウマチ、及び全身性エリテマトーデスが挙げられる。
【０００４】
最近、治療用抗体が臨床的に、そして商業的に成功を収めたことにより、様々な免疫関連障害を治療するために抗体を用いることに、大いなる関心が寄せられた。自己免疫疾患を治療するための、様々な抗体ベース治療法で用いるための抗体の開発が必要とされている。
【発明の概要】
【０００５】
本開示は、抗ＣＤ４０抗体、その抗原結合断片、及びその使用に関する。
【０００６】
一態様では、本開示は、相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含む重鎖可変領域（ＶＨ）であって、いくつかの実施形態において、上記ＶＨ　ＣＤＲ１領域は、選択されたＶＨ　ＣＤＲ１アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含み、上記ＶＨ　ＣＤＲ２領域は、選択されたＶＨ　ＣＤＲ２アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含み、上記ＶＨ　ＣＤＲ３領域は、選択されたＶＨ　ＣＤＲ３アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含む、上記重鎖可変領域と、ＣＤＲ１、２、及び３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）であって、いくつかの実施形態において、上記ＶＬ　ＣＤＲ１領域は、選択されたＶＬ　ＣＤＲ１アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含み、上記ＶＬ　ＣＤＲ２領域は、選択されたＶＬ　ＣＤＲ２アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含み、上記ＶＬ　ＣＤＲ３領域は、選択されたＶＬ　ＣＤＲ３アミノ酸配列と少なくとも８０％同一であるアミノ酸配列を含む、上記軽鎖可変領域と、を含む、ＣＤ４０（ＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー５）に結合する抗体又はその抗原結合断片に関し、いくつかの実施形態において、上記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、及び３アミノ酸配列、並びに、上記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、及び３アミノ酸配列は、以下：
（１）上記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号１、２、３に記載され、上記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号４、５、６に記載され、
（２）上記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号７、８、９に記載され、上記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号１０、１１、１２に記載され、
（３）上記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号１３、１４、１５に記載され、上記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号１６、１７、１８に記載され、
（４）上記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号１９、２０、２１に記載され、上記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号２２、２３、２４に記載され、
（５）上記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号２５、２６、２７に記載され、上記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号２８、２９、３０に記載され、及び
（６）上記選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号３１、３２、３３に記載され、上記選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列はそれぞれ、配列番号３４、３５、３６に記載される、
のうちの１つである。
【０００７】
いくつかの実施形態において、ＶＨは、それぞれ、配列番号１、２、及び３に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及びＶＬは、それぞれ、配列番号４、５、及び６に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、それぞれ、配列番号７、８、及び９に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及びＶＬは、それぞれ、配列番号１０、１１、及び１２に

記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、それぞれ、配列番号１３、１４、及び１５に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及びＶＬは、それぞれ、配列番号１６、１７、及び１８に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、それぞれ、配列番号１９、２０、及び２１に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及びＶＬは、それぞれ、配列番号２２、２３、及び２４に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、それぞれ、配列番号２５、２６、及び２７に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及びＶＬは、それぞれ、配列番号２８、２９、及び３０に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、それぞれ、配列番号３１、３２、及び３３に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含み、及びＶＬは、それぞれ、配列番号３４、３５、及び３６に記載されるアミノ酸配列を有するＣＤＲ１、２、３を含む。

【０００８】

いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、ヒト、サル、又はイヌＣＤ４０に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、ヒト抗体又はその抗原結合断片である。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）又は多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）である。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、（任意選択的に、ＹＴＥ及び／若しくはＬＡＬＡ変異を有する）ヒトＩｇＧ１抗体若しくはその抗原結合断片、又は、（任意選択的に、ＹＴＥを有する）ヒトＩｇＧ４抗体若しくはその抗原結合断片である。

【０００９】

一態様では、本開示は、

（１）それぞれ、配列番号１、２、及び３に記載されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、いくつかの実施形態において、上記ＶＨは、配列番号３７に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）と対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（２）それぞれ、配列番号４、５、及び６に記載されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、いくつかの実施形態において、上記ＶＬは、配列番号６５に記載されるアミノ酸配列を含むＶＨと対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

（３）それぞれ、配列番号７、８、及び９に記載されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、いくつかの実施形態において、上記ＶＨは、配列番号３９に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）と対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、

（４）それぞれ、配列番号１０、１１、及び１２に記載されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、いくつかの実施形態において、上記ＶＬは、配列番号３８に記載されるアミノ酸配列を含むＶＨと対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、

（５）それぞれ、配列番号１３、１４、及び１５に記載されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、及び３を含むＶＨを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片であって、いくつかの実施形態において、上記ＶＨは、配列番号４１に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）と対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン重鎖又はその断片、或いは

（６）それぞれ、配列番号１６、１７、及び１８に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片であって、いくつか

の実施形態において、上記ＶＬは、配列番号４０に記載されるアミノ酸配列を含むＶＨと対形成する際に、ＣＤ４０に結合する、免疫グロブリン軽鎖又はその断片、
を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸に関する。

【００１０】

いくつかの実施形態において、核酸は、それぞれ、配列番号１、２、及び３に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＨを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、核酸は、それぞれ、配列番号４、５、及び６に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、核酸は、それぞれ、配列番号７、８、及び９に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＨを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、核酸は、それぞれ、配列番号１０、１１、及び１２に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、核酸は、それぞれ、配列番号１３、１４、及び１５に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＨを含む、免疫グロブリン重鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、核酸は、それぞれ、配列番号１６、１７、及び１８に記載されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ１、２、及び３を含むＶＬを含む、免疫グロブリン軽鎖又はその断片を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。

【００１１】

いくつかの実施形態において、ＶＨは、ＶＬと対形成する際に、ヒト、サル、若しくはイヌＣＤ４０に特異的に結合し、又は、ＶＬは、ＶＨと対形成する際に、ヒト、サル、若しくはイヌＣＤ４０に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、免疫グロブリン重鎖又はその断片は、ヒト免疫グロブリン重鎖又はその断片（例えば、任意選択的に、ＹＴＥ及び／若しくはＬＡＬＡ変異を有する、ヒトＩｇＧ１重鎖若しくはその断片、又は、任意選択的に、ＹＴＥを有する、ヒトＩｇＧ４重鎖若しくはその断片）であり、免疫グロブリン軽鎖又はその断片は、ヒト免疫グロブリン軽鎖又はその断片である。いくつかの実施形態において、核酸は、一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）又は多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）をコードする。いくつかの実施形態において、核酸はｃＤＮＡである。

【００１２】

一態様では、本開示は、本明細書に記載される核酸の１つ以上を含むベクターに関する。一態様では、本開示は、本明細書に記載される核酸のうちの２つを含むベクターに関し、いくつかの実施形態において、ベクターは、共にＣＤ４０に結合するＶＬ領域及びＶＨ領域をコードする。一態様では、本開示は、一対のベクターに関し、いくつかの実施形態において、各ベクターは、本明細書に記載される核酸のうちの１つを含み、いくつかの実施形態において、共にＣＤ４０に結合するＶＬ領域及びＶＨ領域を、一対のベクターと共にコードする。

【００１３】

一態様では、本開示は、ベクター、又は、本明細書に記載される一対のベクターを含む、細胞に関する。いくつかの実施形態において、細胞はＣＨＯ細胞である。一態様では、本開示は、本明細書に記載される核酸の１つ以上を含む細胞に関する。一態様では、本開示は、本明細書に記載される核酸のうちの２つを含む細胞に関する。いくつかの実施形態において、２つの核酸は、共にＣＤ４０に結合するＶＬ領域及びＶＨ領域を、共にコードする。

【００１４】

一態様では、本開示は、抗体又はその抗原結合断片の産生方法であって、（ａ）本明細書に記載される細胞を、当該細胞が、抗体又は抗原結合断片を産生するのに十分な条件下で培養することと、（ｂ）上記細胞により産生される抗体又は抗原結合断片を収集すること

と、を含む、上記方法に関する。

【００１５】

一態様では、本開示は、選択されたＶＨ配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（ＶＨ）と、選択されたＶＬ配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）と、を含む、ＣＤ４０に結合する抗体又はその抗原結合断片に関し、いくつかの実施形態において、上記選択されたＶＨ配列、及び、上記選択されたＶＬ配列は、以下のうちの１つである：（１）上記選択されたＶＨ配列は配列番号６５であり、上記選択されたＶＬ配列は配列番号３７である；（２）上記選択されたＶＨ配列は配列番号３８であり、上記選択されたＶＬ配列は配列番号３９である；及び、（３）上記選択されたＶＨ配列は配列番号４０であり、上記選択されたＶＬ配列は配列番号４１である。

【００１６】

いくつかの実施形態において、ＶＨは配列番号６５の配列を含み、ＶＬは配列番号３７の配列を含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは配列番号３８の配列を含み、ＶＬは配列番号３９の配列を含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは配列番号４０の配列を含み、ＶＬは配列番号４１の配列を含む。

【００１７】

いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、ヒト、サル、又はイヌＣＤ４０に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、ヒト抗体又はその抗原結合断片である。いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）又は多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）である。いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、（任意選択的に、ＹＴＥ及び／若しくはＬＡＬＡ変異を有する）ヒトＩｇＧ１抗体若しくはその抗原結合断片、又は、（任意選択的に、ＹＴＥを有する）ヒトＩｇＧ４抗体若しくはその抗原結合断片である。

【００１８】

一態様では、本開示は、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片の、ＶＨ　ＣＤＲ１、２、３、及び、ＶＬ　ＣＤＲ１、２、３を含む、抗体又はその抗原結合断片に関する。

【００１９】

一態様では、本開示は、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片と交差競合する、抗体又はその抗原結合断片に関する。

【００２０】

一態様では、本開示は、治療剤に共有結合した、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲートに関する。いくつかの実施形態において、治療剤は、細胞毒性剤又は細胞増殖抑制剤である。

【００２１】

一態様では、本開示は、癌を有する対象の治療方法であって、上記方法は、治療に有効な量の、本明細書に記載される、抗体若しくはその抗原結合断片を含む組成物、又は抗体薬物コンジュゲートを、上記対象に投与することを含む、方法に関する。いくつかの実施形態において、対象は、充実性腫瘍を患う。いくつかの実施形態において、癌は黒色腫、膵臓癌、中皮腫、又は血液学的悪性腫瘍である。いくつかの実施形態において、癌は非ホジキンリンパ腫、リンパ腫、又は慢性リンパ性白血病である。

【００２２】

一態様では、本開示は、腫瘍増殖速度を低減する方法であって、上記方法は、腫瘍細胞を、有効量の、本明細書に記載される抗体若しくはその抗原結合断片を含む組成物、又は抗体薬物コンジュゲートと接触させることを含む、方法に関する。一態様では、本開示は、腫瘍細胞の殺傷方法であって、上記方法は、腫瘍細胞を、有効量の、本明細書に記載される抗体若しくはその抗原結合断片を含む組成物、又は抗体薬物コンジュゲートと接触させることを含む、方法に関する。一態様では、本開示は、対象における免疫応答の阻害方法

であって、上記方法は、上記対象に、有効量の、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片、又は抗体薬物コンジュゲートを含む組成物を投与することを含む、方法に関する。いくつかの実施形態において、対象は、自己免疫疾患を患う。

【００２３】

一態様では、本開示は、自己免疫疾患の治療方法であって、上記方法は、上記対象に、有効量の、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片、又は抗体薬物コンジュゲートを含む組成物を投与することを含む、方法に関する。いくつかの実施形態において、自己免疫疾患は、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、ループス腎炎、アレルギー性皮膚炎、又は多発性硬化症である。

【００２４】

一態様では、本開示は、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片と、薬学的に許容される担体と、を含む医薬組成物に関する。一態様では、本開示は、本明細書に記載される抗体薬物コンジュゲートと、薬学的に許容される担体と、を含む医薬組成物に関する。

【００２５】

一態様では、本開示は、Ｆｃ領域を含むＣＤ４０に結合する抗体又はその抗原結合断片に関し、いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域は、ＡＤＣＣ効果を欠くか、又は、野生型Ｆｃ領域と比較してＡＤＣＣ効果が低下している。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片と、ＦｃＲｎ（例えば、ヒトＦｃＲｎ）との間のＫＤは、１×１０－５Ｍ未満、５×１０－６Ｍ未満、１×１０－６Ｍ未満、５×１０－７Ｍ未満、１×１０－７Ｍ未満、又は、５×１０－８Ｍ未満である。いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域はＩｇＧ１又はＩｇＧ４サブタイプである。いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域はＹＴＥ変異を含む。いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域はＬＡＬＡ変異を含む。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片の半減期は、対象に投与した際に、少なくとも１日、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも４日、少なくとも５日、少なくとも６日、少なくとも７日、少なくとも８日、少なくとも９日、少なくとも１０日、少なくとも１１日、少なくとも１２日、少なくとも１３日、少なくとも１４日、少なくとも１５日、少なくとも１６日、少なくとも１７日、又は少なくとも１８日である。いくつかの実施形態において、対象はマウスである。いくつかの実施形態において、対象は、ヒト又はヒト化ＣＤ４０を発現するように遺伝子組み換えされている。

【００２６】

本明細書で使用する場合、「癌」という用語は、自律増殖能を有する細胞を意味する。このような細胞の例としては、細胞増殖の急速な増殖を特徴とする、異常な状態又は条件を有する細胞が挙げられる。この用語は、組織変化の種類又は侵襲性のステージに関係なく、癌性増殖、例えば、腫瘍、発癌性プロセス、転移性組織、及び悪性形質転換細胞、組織、又は器官を含むことを意味する。様々な器官系、例えば、呼吸器、心臓血管、腎、生殖、血液、神経系、肝、胃腸、及び内分泌系の悪性腫瘍、加えて、大部分の大腸癌、腎細胞癌、前立腺癌及び／又は精巣腫瘍、肺の非小細胞癌、及び小腸癌もまた、含まれる。「自然に発生する」癌としては、対象に癌細胞を移植することによって実験的に誘発されない任意の癌が挙げられ、例えば、自然に生じる癌、患者を発癌性物質に曝露することで引き起こされる癌、トランスジェニック癌遺伝子の挿入、又は癌抑制遺伝子のノックアウトにより生じる癌、及び感染症、例えば、ウイルス感染症により引き起こされる癌が挙げられる。「癌腫」という用語は、当該技術分野で認識されており、上皮又は内分泌腺組織の悪性腫瘍を意味する。この用語は、癌性及び肉腫性組織で構成される悪性腫瘍を含む癌肉腫もまた含む。「腺癌」とは、腺組織に由来する癌腫、又は、腫瘍細胞が認識可能な腺構造を形成する癌腫を意味する。「肉腫」という用語は当該技術分野において認知されており、間葉由来の悪性腫瘍を意味する。「造血性腫瘍性疾患」という用語は、造血性由来の過形成／新生細胞を伴う疾患を含む。造血腫瘍性疾患は、骨髄、リンパ系、若しくは赤血球リネージ、又はこれらの前駆細胞から生じる可能性がある。

【００２７】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、少なくとも１つ（例えば、１、２、３、４、５、又は６つ）の相補性決定領域（ＣＤＲ）（例えば、免疫グロブリン軽鎖由来の３つのＣＤＲのいずれか、又は、免疫グロブリン重鎖由来の３つのＣＤＲのいずれか）を含有し、エピトープに特異的に結合可能な、任意の抗原結合分子を意味する。抗体の非限定例としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（二重特異性抗体）、一本鎖抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、及びヒト化抗体が挙げられる。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒト抗体のＦｃ領域を含有することができる。抗体という用語は、誘導体、例えば、抗体断片から形成される、二重特異性抗体、一本鎖抗体、ダイアボディ、線状抗体、及び多重特異性抗体もまた含む。

【００２８】

本明細書で使用される場合、「抗原結合断片」という用語は、全長抗体の一部を意味し、抗体の当該部分は、抗原に特異的に結合可能である。いくつかの実施形態において、抗原結合断片は、少なくとも１つの可変ドメイン（例えば、重鎖の可変ドメイン、又は、軽鎖の可変ドメイン）を含有する。抗体断片の非限定例としては、例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ）２、及びＦｖ断片が挙げられる。

【００２９】

本明細書で使用される場合、「ヒト抗体」という用語は、ヒトに存在する内因性核酸（例えば、再配置されたヒト免疫グロブリン重鎖又は軽鎖座位）によりコードされる抗体を意味する。いくつかの実施形態において、ヒト抗体は、ヒトから回収されるか、又は、ヒト細胞培養液中（例えば、ヒトハイブリドーマ細胞内）で産生される。いくつかの実施形態において、ヒト抗体は、非ヒト細胞（例えば、マウス又はハムスター細胞株）内で産生される。いくつかの実施形態において、ヒト抗体は、細菌細胞又は酵母菌細胞内で産生される。いくつかの実施形態において、ヒト抗体は、再配列されていない、又は、再配列されたヒト免疫グロブリン座位（例えば、重鎖又は軽鎖ヒト免疫グロブリン座位）を含有するトランスジェニック非ヒト動物（例えば、ウシ）で産生される。

【００３０】

本明細書で使用される場合、「キメラ抗体」という用語は、少なくとも２つの異なる抗体に存在する配列を含有する抗体（例えば、ヒト及びマウス抗体など、２つの異なる哺乳動物種由来の抗体）を意味する。キメラ抗体の非限定例は、非ヒト（例えば、マウス）抗体の、可変ドメイン配列（例えば、軽鎖及び／又は重鎖可変ドメイン配列の全て又は一部）、並びに、ヒト抗体の定常ドメインを含有する抗体である。キメラ抗体の更なる例は、本明細書に記載され、当該技術分野において周知である。

【００３１】

本明細書で使用される場合、「ヒト化抗体」という用語は、非ヒト（例えば、マウス）免疫グロブリンに由来する最小配列を含有し、かつ、ヒト免疫グロブリンに由来する配列を含有する、非ヒト抗体を意味する。非限定例では、ヒト化抗体は、レシピエント抗体の超可変（例えば、ＣＤＲ）領域の残基が、非ヒト抗体（例えば、ドナー抗体）、例えば、所望の特異性、親和性、及び能力を有する、マウス、ラット、又はウサギ抗体の超可変（例えば、ＣＤＲ）領域の残基により置換えられている、ヒト抗体（レシピエント抗体）である。いくつかの実施形態において、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレームワーク残基は、対応する非ヒト（例えば、マウス）免疫グロブリン残基により置換えられている。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、レシピエント抗体、又はドナー抗体にて発見されない残基を含有することができる。これらの修飾を行うことによって、抗体の性能を更に洗練することができる。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、ほぼ全ての少なくとも１つ、及び、典型的には２つの可変ドメインを含有し、超可変ループ（ＣＤＲ）の全て又は実質的に全てが、非ヒト（例えば、マウス）免疫グロブリンの超可変ループに対応し、フレームワーク領域の全て又は実質的に全てが、ヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、典型的には、ヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部分もまた含有することができる。ヒト化抗体は、当該技術分野において周知の分子生物学法を用いて産生することができる。ヒト化抗体を生成する方法

の非限定例は、本明細書に記載される。
【００３２】
本明細書で使用される場合、「一本鎖抗体」という用語は、抗原に特異的に結合可能な、少なくとも２つの免疫グロブリン可変ドメイン（例えば、哺乳動物免疫グロブリン重鎖又は軽鎖の可変ドメイン）を含有する、単一のポリペプチドを意味する。一本鎖抗体の非限定例は、本明細書に記載される。
【００３３】
本明細書で使用される場合、「多量体抗体」という用語は、４つ以上（例えば、６つ、８つ、又は１０個）の免疫グロブリン可変ドメインを含有する抗体を意味する。いくつかの実施形態において、多量体抗体は、哺乳動物細胞（例えば、ヒトＴ細胞）の表面で、１つの標的分子（例えば、ＣＤ４０）を、少なくとも１つの第２の標的分子（例えば、ＣＴＬＡ－４）に架橋させることができる。
【００３４】
本明細書で使用される場合、「対象」及び「患者」という用語は、明細書を通して同じ意味で用いられ、本発明の方法に従った治療が提供される動物、ヒト、又は非ヒトを表す。獣医学的及び非獣医学的用途が、本発明により想到される。ヒト患者は、成人のヒト又は若年のヒト（例えば、１８歳未満のヒト）であることができる。ヒトに加えて、患者としては、マウス、ラット、ハムスター、モルモット、ウサギ、フェレット、ネコ、イヌ、及び霊長類が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、非ヒト霊長類（例えば、サル、チンパンジー、ゴリラなど）、齧歯類（例えば、ラット、マウス、スナネズミ、ハムスター、フェレット、ウサギ）、ウサギ科動物、ブタ科動物（例えば、ブタ、ミニブタ）、ウマ科動物、イヌ科動物、ネコ科動物、ウシ科動物、並びに、他の家庭用、家畜用、及び動物園用動物が挙げられる。
【００３５】
本明細書で使用される場合、抗体を言及する際に、「特異的に結合」、及び「特異的に結合する」という語句は、相互作用が、標的分子に特定の構造（即ち、抗原決定基又はエピトープ）が存在することに依存するために、換言すれば、試薬が、一般的に、全分子よりも、特定の構造を含む分子を認識し、これに結合するために、抗体が、好ましくは他の分子よりも、その標的分子（例えば、ＣＤ４０）と相互作用することを意味する。標的分子に特異的に結合する抗体は、標的特異性抗体と呼ばれることも可能である。例えば、ＣＤ４０分子に特異的に結合する抗体は、ＣＤ４０特異性抗体、又は、抗ＣＤ４０抗体と呼ばれることも可能である。
【００３６】
本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、同じ意味で用いられ、少なくとも２つのアミノ酸の、任意の長さのアミノ酸のポリマーを意味する。
【００３７】
本明細書で使用される場合、「ポリヌクレオチド」、「核酸分子」、及び「核酸配列」という用語は、本明細書では同じ意味で用いられ、少なくとも２つのヌクレオチドの、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを意味し、限定されるものではないが、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ＤＮＡ／ＲＮＡハイブリッド、及びこれらの修飾物が挙げられる。
【００３８】
別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本発明で使用するための方法及び材料が、本明細書に記載され、他の好適な、当該技術分野において既知の方法及び材料もまた使用することができる。材料、方法、及び例は、例示に過ぎず、限定的であることは意図されない。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、配列、データベースエントリ、及び他の参考文献は、参照によりその全体が援用される。矛盾する場合には、定義を含めて本明細書が優先する。
【００３９】

本発明の他の特徴及び利点は、以下の詳細な説明及び図面、並びに特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【００４０】

【図１】ｈＣＤ４０マウスにおける免疫応答における、抗ＣＤ４０抗体の効果を分析する実験スキームを示す。抗ＣＤ４０抗体は、０日目と４日目に投与された。ＯＶＡとＣＦＡは、１日目に投与された。抗ＯＶＡ抗体濃度は、１０日目及び１７日目に、ＥＬＩＳＡにより測定された。

【図２】ＥＬＩＳＡにより測定された、１０日目における抗ＯＶＡ抗体濃度を示す。ｈＣＤ４０マウスに、ＰＢＳ（Ｇ１）、ブレセルマブ類似体（Ｇ２）、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ３）、１６Ｄ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ４）、２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ５）、６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ６）、又は１５Ｂ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ７）を投与した。

【図３】ＥＬＩＳＡにより測定された、１７日目における抗ＯＶＡ抗体濃度を示す。

【図４】ｈＣＤ４０マウスの血清中における、経時的なブレセルマブ類似体（Ｇ１）、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ２）、６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ３）、及び２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ４）の濃度、並びに、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの血清中における、経時的なブレセルマブ類似体（Ｇ５）、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ６）、６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ７）、及び２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ８）の濃度を示す。

【図５】ｈＦｃＲｎマウスの血清中における、経時的な１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ１）、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－Ｎ２９７Ａ－ＹＴＥ（Ｇ２）、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＹＴＥ（Ｇ３）、及び１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ４）の濃度を示す。

【図６】ＥＬＩＳＡにより測定された、１０日目における抗ＯＶＡ抗体濃度を示す。ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスに、ＰＢＳ（Ｇ１）、ブレセルマブ類似体（Ｇ２－Ｇ４）、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ５－Ｇ７）、又は２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ８－Ｇ１０）を投与した。抗ＣＤ４０抗体は、０日目に投与された。ＯＶＡとＣＦＡは、１日目に投与された。

【図７】ＥＬＩＳＡにより測定された、１７日目における抗ＯＶＡ抗体濃度を示す。

【図８】ＥＬＩＳＡにより測定された、２１日目における抗ＯＶＡ抗体濃度を示す。

【図９】Ｋａｂａｔの付番により定義される、抗ＣＤ４０抗体（２Ｆ８、６Ａ４、及び１２Ｂ５）のＣＤＲ配列、並びに、その関連する抗ＣＤ４０抗体のＣＤＲ配列を列挙する。

【図１０】Ｃｈｏｔｈｉａの付番により定義される、抗ＣＤ４０抗体（２Ｆ８、６Ａ４、及び１２Ｂ５）のＣＤＲ配列、並びに、その関連する抗ＣＤ４０抗体のＣＤＲ配列を列挙する。

【図１１】抗ＣＤ４０抗体（２Ｆ８、６Ａ４、及び１２Ｂ５）の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列を列挙する。

【図１２】１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ、１２Ｂ５－ＩｇＧ１、リツキシマブ類似体、及びヒトＩｇＧ１の細胞毒性データを示す。

【図１３】１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ、リツキシマブ類似体、及びヒトＩｇＧ１の細胞毒性データを示す。

【図１４】ＰＢＭＣ増殖における、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ及びヒトＩｇＧ１の阻害効果を示す。

【図１５－１】Ｂ細胞増殖における、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥの阻害効果を示す。

【図１５－２】Ｂ細胞増殖におけるｈＩｇＧ１の阻害効果を示す。

【図１６】ＭＯＧを注射してＥＡＥモデルを誘発し、その後、ｈＩｇＧ１（Ｇ２）又は抗ｈＣＤ４０抗体２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ３）で治療した、ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスの体重を示す。ＰＢＳを注射したｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスを対照（Ｇ１）として使用した。

【図１７】ＭＯＧを注射してＥＡＥモデルを誘発し、その後、ｈＩｇＧ１（Ｇ２）又は抗ｈＣＤ４０抗体２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ３）で治療した、ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスの臨床スコアを示す。ＰＢＳを注射したｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスを対照（Ｇ１）として使用した。
【図１８】ＭＯＧを注射してＥＡＥモデルを誘発し、その後、ｈＩｇＧ１（Ｇ２）又は抗ｈＣＤ４０抗体２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ３）で治療した、ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウス由来の脊髄の、Ｈ＆Ｅ（ヘマトキシリン及びエオシン）染色画像を示す。ＰＢＳを注射したｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスを対照（Ｇ１）として使用した。画像で炎症細胞の浸潤を調査した。
【図１９】ＭＯＧを注射してＥＡＥモデルを誘発し、その後、ｈＩｇＧ１（Ｇ２）又は抗ｈＣＤ４０抗体２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ３）で治療した、ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウス由来の脊髄の、ＬＦＢ（Ｌｕｘｏｌ　Ｆａｓｔ　Ｂｌｕｅ）染色画像を示す。ＰＢＳを注射したｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスを対照（Ｇ１）として使用した。画像で脊髄脱髄を調査した。
【図２０】ＣＩＩエマルションを注射してＣＩＡモデルを誘発し、その後、ＰＢＳ（Ｇ２）又は抗ｈＣＤ４０抗体１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ３）で治療したｈＣＤ４０マウスの体重を示す。ＰＢＳを注射したｈＣＤ４０マウスのみを対照（Ｇ１）として使用した。
【図２１】ＣＩＩエマルションを注射してＣＩＡモデルを誘発し、その後、ＰＢＳ（Ｇ２）又は抗ｈＣＤ４０抗体１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ３）で治療したｈＣＤ４０マウスの臨床スコアを示す。ＰＢＳを注射したｈＣＤ４０マウスのみを対照（Ｇ１）として使用した。
【図２２】ＣＩＩエマルションを注射してＣＩＡモデルを誘発し、その後、ＰＢＳ（Ｇ２）又は抗ｈＣＤ４０抗体１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ３）で治療したｈＣＤ４０マウスの発症率を示す。ＰＢＳを注射したｈＣＤ４０マウスのみを対照（Ｇ１）として使用した。
【図２３】ＣＩＩエマルションを注射してＣＩＡモデルを誘発し、その後、ＰＢＳ（Ｇ２）又は抗ｈＣＤ４０抗体１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ３）で治療したｈＣＤ４０マウスの四肢から回収した関節組織の、Ｈ＆Ｅ染色画像を示す。ＰＢＳを注射したｈＣＤ４０マウスのみを対照（Ｇ１）として使用した。（ａ）は炎症細胞浸潤を表し、（ｂ）は滑膜過形成を表し、（ｃ）はパンヌスを表す。
【図２４－１】本開示で論じるアミノ酸配列を列挙する。
【図２４－２】本開示で論じるアミノ酸配列を列挙する。
【図２４－３】本開示で論じるアミノ酸配列を列挙する。
【図２４－４】本開示で論じるアミノ酸配列を列挙する。
【図２４－５】本開示で論じるアミノ酸配列を列挙する。
【図２４－６】本開示で論じるアミノ酸配列を列挙する。
【発明を実施するための形態】
【００４１】
本開示は、ＣＤ４０（ＴＮＦ受容体スーパーファミリーメンバー５）に結合する抗体、その抗原結合断片の例を提供する。
【００４２】
ＣＤ４０及び免疫系
免疫系は、体内の正常細胞と、「外来」とみなす細胞を区別することができ、これにより、正常細胞のみを相手にせずに、免疫系が外来細胞を攻撃することが可能となる。このメカニズムでは場合により、免疫チェックポイントと呼ばれるタンパク質が関与する。免疫チェックポイントとは、シグナルを強め、又はシグナルを弱めるいずれかを行う、免疫系内の分子（共刺激分子）である。
【００４３】
チェックポイント阻害剤は、免疫系が正常な組織を攻撃しないようにし、それにより、自

己免疫疾患を防ぐことができる。多くの腫瘍細胞は、チェックポイント阻害剤も発現する。これらの腫瘍細胞は、特に腫瘍抗原に対して特異的なＴ細胞において、特定の免疫チェックポイント経路を組み込むことにより、免疫監視を逃れる（Ｃｒｅｅｌａｎ，Ｂｅｎｊａｍｉｎ Ｃ.「Ｕｐｄａｔｅ ｏｎ ｉｍｍｕｎｅ ｃｈｅｃｋｐｏｉｎｔ ｉｎｈｉｂｉｔｏｒｓ ｉｎ ｌｕｎｇ ｃａｎｃｅｒ.」Ｃａｎｃｅｒ Ｃｏｎｔｒｏｌ ２１.１（２０１４）：８０～８９）。多くの免疫チェックポイントが、リガンド－受容体相互作用により開始されるため、これらは、リガンド及び／又はそれらの受容体に対する抗体により、容易に遮断されることができる。

【００４４】

ＣＤ４０（腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー５、又は、ＴＮＦＲＳＦ５としても知られている）は、樹状細胞（ＤＣ）、マクロファージ、Ｂ細胞、及び単球などの抗原提示細胞（ＡＰＣ）のほか、多くの非免疫細胞及び広範囲の腫瘍で発現する、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバーである。活性化されたＴヘルパー細胞における、その三量体リガンドであるＣＤ１５４（ＣＤ４０リガンド又はＣＤ４０Ｌとしても知られている）との相互作用は、ＡＰＣ活性化をもたらし、適応免疫が誘導される。

【００４５】

生理学的には、ＡＰＣでＣＤ４０を介してシグナル伝達することにより、Ｔ細胞ヘルプの主要構成成分であると考えられ、大部分において、ＡＰＣを許可するヘルパーＴ細胞の能力を大部分媒介する。ＤＣにおけるＣＤ４０のライゲーションは、例えば、共刺激及びＭＨＣ分子の、表面発現の増加、炎症誘発性サイトカインの産生、及び、Ｔ細胞トリガリングの増強を誘発する。休止状態のＢ細胞におけるＣＤ４０のライゲーションは、抗原提示機能及び増殖を増大させる。

【００４６】

前臨床モデルでは、ラット抗マウスＣＤ４０　ｍＡｂは、ＣＤ４０＋Ｂ細胞リンパ腫の治療において、顕著な治療活性を示し（マウスの８０～１００％が治癒し、ＣＤ８　Ｔ細胞に依存して、再抗原投与に対して免疫が付いた）、様々なＣＤ４０陰性腫瘍においても効果的である。これらのｍＡｂは、末期に近い疾患を有するマウスから、腫瘍の塊を取り除くことができる。ＣＤ４０　ｍＡｂは臨床試験で調査されており、黒色腫、膵臓癌、中皮腫、血液悪性腫瘍、特に非ホジキンリンパ腫、リンパ腫、慢性リンパ性白血病、及び進行性充実性腫瘍を治療するために用いられる。

【００４７】

治療用抗ＣＤ４０抗体は、強力な作動作用から拮抗作用まで、多様な活性を示す。現在、この不均質性に関して満足のいく説明は存在しない。アゴニストＣＤ４０　ｍＡｂを引き起こす、主なメカニズムの根拠は、患者において、臨床的に意味のある抗腫瘍Ｔ細胞応答を誘発するために、宿主ＡＰＣを活性化することである。これらには、Ｔ細胞とは独立しているが、マクロファージに依存した、腫瘍退縮の誘発が含まれる。ＣＤ４０活性化マクロファージは腫瘍破壊性となり得、少なくとも膵癌においては、腫瘍崩壊をインビボで誘導する腫瘍間質の破壊もまた、促進する場合がある。重要なことに、これらのメカニズムは、腫瘍によるＣＤ４０の発現を必要とせず、これにより、多くの臨床試験において広範囲の腫瘍を有する患者を含めることが正当化されてきた。これらの戦略が、ＤＣ、マクロファージ、又は両方を活性化することを目的とする限り、目標は必ずしも、ＣＤ４０　ｍＡｂに、例えば、補体媒介性細胞傷害（ＣＭＣ）又は抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）により、それが結合する細胞を殺傷することではない。したがって、設計上、強力なアゴニスト抗体はＣＭＣ又はＡＤＣＣを媒介しない。

【００４８】

対照的に、他のヒトＣＤ４０　ｍＡｂは、ほぼ全てのＢ細胞悪性腫瘍、一部の黒色腫、及び、特定の癌腫などの、ＣＤ４０＋腫瘍に対するＣＭＣ及びＡＤＣＣを媒介することができる。最終的に、腫瘍細胞におけるＣＤ４０のライゲーションがアポトーシスを促進し、これは、免疫エフェクター経路を何ら関与させることなく達成することができるという、いくつかの証拠が存在する。これは、ＣＤ４０＋Ｂ細胞悪性腫瘍、並びに、ＣＤ４０＋癌

腫及び黒色腫などの、特定の充実性腫瘍に対して示されている。

【００４９】

効果的な免疫応答の生成において、ＣＤ４０が中心的な役割を果たすため、ＣＤ４０は、自己免疫疾患の病因においてもまた、重要な役割を果たす。ＣＤ４０は、いくつかの方法で、Ｔ細胞依存性の自己免疫疾患に寄与する。まず、ＣＤ４０シグナル伝達が、胸腺におけるＴ細胞選択のレベルで機能することができる。髄質胸腺上皮細胞（ｍＴＥＣ）は、末梢組織制限抗原を発現することにより、潜在的な自己反応性Ｔ細胞の負の選択を媒介する。ＴＮＦＲファミリーメンバーであるＲＡＮＫは、胚ｍＴＥＣの発達において極めて重要である一方で、ＣＤ４０は、出生後のｍＴＥＣの発達の促進、及び故に、自己寛容の促進において、ＲＡＮＫと協働する。ｍＴＥＣにおけるＣＤ４０－ＣＤ１５４相互作用の破壊は、中枢性寛容の機能不全に潜在的に寄与する場合がある。次に、ＣＤ４０シグナル伝達は、ＩＬ－６などの炎症誘発性サイトカインの産生をもたらし、これは、細胞分化の、Ｔｈ１７細胞への分化に影響を及ぼす可能性がある。ＣＤ４０はまた、抗原提示細胞（ＡＰＣ）の活性化の際に、上方制御される。構成的又は誘発的のいずれかの、ＣＤ４０のレベルの増加は、ＣＤ４０－ＣＤ１５４相互作用の強度増加に寄与し得る。別のメカニズムは、通常検出不可能な組織における、ＣＤ４０の異常発現であり得る。内分泌組織における、ＭＨＣクラスＩＩ分子の異常発現は、自己免疫疾患の開始に寄与し得るという仮説が立てられている。このような組織における異常ＣＤ４０発現は、グレーブス病における自己免疫開始に対する寄与因子として、及び、膵島細胞移植組織の機能不全に寄与する炎症性サイトカインの産生においてもまた、提案されている。最後に、ＣＤ４＋Ｔ細胞を有するＣＤ４０は、ヒト及びマウスにおける１型糖尿病において役割を果たす。したがって、ＣＤ４０は、Ｂ及びＴ細胞の活性化が病因において役割を果たす、種々の自己免疫プロセスに寄与するための、魅力的な候補受容体である。

【００５０】

ＣＤ４０及びその機能についての詳細の説明は、例えば、Ｖｏｎｄｅｒｈｅｉｄｅ ｅｔ ａｌ．，「Ａｇｏｎｉｓｔｉｃ ＣＤ４０ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ ｃａｎｃｅｒ ｔｈｅｒａｐｙ．」（２０１３）：１０３５～１０４３、Ｂｅａｔｔｙ，ｅｔ ａｌ．「ＣＤ４０ ａｇｏｎｉｓｔｓ ａｌｔｅｒ ｔｕｍｏｒ ｓｔｒｏｍａ ａｎｄ ｓｈｏｗ ｅｆｆｉｃａｃｙ ａｇａｉｎｓｔ ｐａｎｃｒｅａｔｉｃ ｃａｒｃｉｎｏｍａ ｉｎ ｍｉｃｅ ａｎｄ ｈｕｍａｎｓ．」Ｓｃｉｅｎｃｅ ３３１．６０２４（２０１１）：１６１２～１６１６、Ｖｏｎｄｅｒｈｅｉｄｅ，ｅｔ ａｌ．「Ｃｌｉｎｉｃａｌ ａｃｔｉｖｉｔｙ ａｎｄ ｉｍｍｕｎｅ ｍｏｄｕｌａｔｉｏｎ ｉｎ ｃａｎｃｅｒ ｐａｔｉｅｎｔｓ ｔｒｅａｔｅｄ ｗｉｔｈ ＣＰ－８７０，８９３，ａ ｎｏｖｅｌ ＣＤ４０ ａｇｏｎｉｓｔ ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｙ．」Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ２５．７（２００７）：８７６～８８３、Ｐｅｔｅｒｓ ｅｔ ａｌ．，「ＣＤ４０ ａｎｄ ａｕｔｏｉｍｍｕｎｉｔｙ：ｔｈｅ ｄａｒｋ ｓｉｄｅ ｏｆ ａ ｇｒｅａｔ ａｃｔｉｖａｔｏｒ．」Ｓｅｍｉｎａｒｓ ｉｎ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ．Ｖｏｌ．２１．Ｎｏ．５．Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，２００９に見出すことができ、これらそれぞれは、その全体が参照により組み込まれている。

【００５１】

本開示は、いくつかの抗ＣＤ４０抗体、その抗原結合断片、並びに、腫瘍増殖を阻害し、癌を治療するための、これらの抗ＣＤ４０抗体及び抗原結合断片の使用方法を提供する。

【００５２】

抗体及び抗原結合断片

本開示は、抗ＣＤ４０抗体、及びその抗原結合断片を提供する。一般的に、抗体（免疫グロブリンとも呼ばれる）は、２つのクラスのポリペプチド鎖、軽鎖、及び重鎖で構成される。本開示の非限定的な抗体は、２つの重鎖と２つの軽鎖とを含む、インタクトな４つの免疫グロブリン鎖抗体であることができる。抗体の重鎖は、ＩｇＭ、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＡ、若しくはＩｇＤを含む任意のアイソタイプ、又は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ２

ａ、ＩｇＧ２ｂ、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＥ１、ＩｇＥ２などを含むサブアイソタイプであることができる。軽鎖は、κ軽鎖又はλ軽鎖であることができる。抗体は、２つの同一のコピーの軽鎖、及び、２つの同一のコピーの重鎖を含むことができる。それぞれが、１個の可変ドメイン（又は可変領域、ＶＨ）、及び、複数の定常ドメイン（又は定常領域）を含有する重鎖は、それらの定常ドメイン内で、ジスルフィド結合を介して互いに結合し、抗体の「幹」を形成する。それぞれが１個の可変ドメイン（又は、可変領域、ＶＬ）、及び、１個の定常ドメイン（又は、定常領域）を含有する軽鎖は、それぞれ、ジスルフィド結合を介して、１個の重鎖に結合する。各軽鎖の可変領域を、それが結合する重鎖の可変領域とアラインする。軽鎖及び重鎖の両方の可変領域は、より保存されたフレームワーク領域（ＦＲ）どうしの間に挟まされた、３つの超可変領域を含有する。

【００５３】

相補性決定領域（ＣＤＲ）として知られる超可変領域は、抗体の原理抗原結合表面を含むループを形成する。４つのフレームワーク領域は、βシート構造にほとんど適応し、ＣＤＲは、連結するループを形成し、場合によってはβシート構造の一部を形成する。各鎖のＣＤＲはフレームワーク領域に近接して保持され、かつ、他の鎖のＣＤＲと共に、抗原結合領域の形成に寄与している。

【００５４】

抗体のアミノ酸配列を分析することにより、抗体のＣＤＲ領域を識別する方法は周知であり、いくつかのＣＤＲの定義が、一般的に用いられる。Ｋａｂａｔの定義は配列の変動性に基づき、Ｃｈｏｔｈｉａの定義は、構造ループ領域の位置に基づく。これらの方法及び定義は、例えば、Ｍａｒｔｉｎ、「Ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｖａｒｉａｂｌｅ ｄｏｍａｉｎｓ、」Ａｎｔｉｂｏｄｙ ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｂｅｒｌｉｎ Ｈｅｉｄｅｌｂｅｒｇ、２００１．４２２～４３９、Ａｂｈｉｎａｎｄａｎ，ｅｔ ａｌ．「Ａｎａｌｙｓｉｓ ａｎｄ ｉｍｐｒｏｖｅｍｅｎｔｓ ｔｏ Ｋａｂａｔ ａｎｄ ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌｌｙ ｃｏｒｒｅｃｔ ｎｕｍｂｅｒｉｎｇ ｏｆ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｖａｒｉａｂｌｅ ｄｏｍａｉｎｓ、」Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ４５．１４（２００８）：３８３２～３８３９、Ｗｕ，Ｔ．Ｔ．ａｎｄ Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．（１９７０）Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１３２：２１１～２５０、Ｍａｒｔｉｎ ｅｔ ａｌ．、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．２０３：１２１－５３（１９９１）、Ｍｏｒｅａ ｅｔ ａｌ．、Ｂｉｏｐｈｙｓ Ｃｈｅｍ．６８（１－３）：９－１６（Ｏｃｔ．１９９７）、Ｍｏｒｅａ ｅｔ ａｌ．、Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．２７５（２）：２６９－９４（Ｊａｎ．１９９８）、Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．、Ｎａｔｕｒｅ ３４２（６２５２）：８７７－８３（Ｄｅｃ．１９８９）、Ｐｏｎｏｍａｒｅｎｋｏ ａｎｄ Ｂｏｕｒｎｅ、ＢＭＣ Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ ７：６４（２００７）、に記載されており、これらそれぞれの全体が、本明細書に参照により組み込まれている。本開示で別段に示されない限り、Ｋａｂａｔの付番が、本開示ではデフォルトして用いられる。

【００５５】

ＣＤＲは、抗原のエピトープを認識するのに重要である。本明細書で使用される場合、「エピトープ」とは、抗体の抗原結合ドメインにより、特異的に結合されることが可能な、標的分子の最小部分である。エピトープの最小サイズは、約３、４、５、６、又は７個のアミノ酸であり得るが、エピトープは、抗原の二次及び三次構造に基づいて、抗原の３次元構造に依存し得るため、これらのアミノ酸は、抗原の一次構造の、連続した直鎖状配列にある必要はない。

【００５６】

いくつかの実施形態において、抗体は、インタクトな免疫グロブリン分子（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ、ＩｇＧ２ｂ、ＩｇＧ３、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＡ）である。ＩｇＧサブクラス（ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４）は、高度に保存されており、その定常領域、特に、ヒンジ及び上部ＣＨ２ドメインが異なっている。ＩｇＧサ

ブクラスの配列及び違いは、当該技術分野において周知であり、例えば、Ｖｉｄａｒｓｓｏｎ，ｅｔ ａｌ、「ＩｇＧ ｓｕｂｃｌａｓｓｅｓ ａｎｄ ａｌｌｏｔｙｐｅｓ：ｆｒｏｍ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ｔｏ ｅｆｆｅｃｔｏｒ ｆｕｎｃｔｉｏｎｓ.」Ｆｒｏｎｔｉｅｒｓ ｉｎ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ５（２０１４）、Ｉｒａｎｉ，ｅｔ ａｌ.「Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ ｏｆ ｈｕｍａｎ ＩｇＧ ｓｕｂｃｌａｓｓｅｓ ａｎｄ ｔｈｅｉｒ ｉｍｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｆｏｒ ｄｅｓｉｇｎｉｎｇ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｇａｉｎｓｔ ｉｎｆｅｃｔｉｏｕｓ ｄｉｓｅａｓｅｓ.」Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ６７．２（２０１５）：１７１～１８２、Ｓｈａｋｉｂ，Ｆａｒｏｕｋ，ｅｄ．Ｔｈｅ ｈｕｍａｎ ＩｇＧ ｓｕｂｃｌａｓｓｅｓ：ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、ｆｕｎｃｔｉｏｎ ａｎｄ ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎ．Ｅｌｓｅｖｉｅｒ、２０１６、に記載されており、これらそれぞれの全体が、本明細書に参照により組み込まれている。

【００５７】

抗体はまた、任意の種（例えば、ヒト、齧歯類、マウス、ラクダ）に由来する免疫グロブリン分子であることもできる。本明細書で開示する抗体としては、ポリクローナル、モノクローナル、単一特異性、多重特異性抗体、及び、別のポリペプチドに融合した免疫グロブリン結合ドメインを含むキメラ抗体が挙げられるが、これらに限定されない。「抗原結合ドメイン」又は「抗原結合断片」という用語は、インタクトな抗体の特異的結合活性を保持する抗体の一部、即ち、インタクトな抗体の標的分子上のエピトープに特異的に結合可能な抗体の、任意の部分である。これは、例えば、これらの断片のＦａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、及び変異体を含む。したがって、いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、例えば、ｓｃＦｖ、Ｆｖ、Ｆｄ、ｄＡｂ、二重特異性抗体、二重特異性ｓｃＦｖ、ダイアボディ、線状抗体、一本鎖抗体分子、抗体断片から形成される多重特異性抗体、及び、抗体結合ドメインである結合ドメイン、又はこれと相同である結合ドメインを含む、任意のポリペプチドであってもよい。抗原結合ドメインの非限定例としては、例えば、インタクトな抗体の重鎖及び／若しくは軽鎖ＣＤＲ、インタクトな抗体の重鎖及び／若しくは軽鎖可変領域、インタクトな抗体の全長重鎖若しくは軽鎖、又は、インタクトな抗体の重鎖若しくは軽鎖のいずれかに由来する個別のＣＤＲが挙げられる。

【００５８】

いくつかの実施形態において、抗原結合断片は、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）の一部を形成することができる。いくつかの実施形態において、キメラ抗原受容体は、ＣＤ３ζ膜貫通及びエンドドメインに融合した、本明細書に記載される一本鎖可変断片（ｓｃＦｖ）の融合物である。いくつかの実施形態において、キメラ抗原受容体は、様々な共刺激性タンパク質受容体（例えば、ＣＤ２８、４１ＢＢ、ＩＣＯＳ）由来の細胞内シグナル伝達ドメインもまた含む。いくつかの実施形態において、キメラ抗原受容体は、効力を増大させるための、複数のシグナル伝達ドメイン、例えば、ＣＤ３ｚ－ＣＤ２８－４１ＢＢ、又はＣＤ３ｚ－ＣＤ２８－ＯＸ４０を含む。したがって、一態様では、本開示は、本明細書に記載されるキメラ抗原受容体を発現する細胞（例えば、Ｔ細胞）を更に提供する。

【００５９】

いくつかの実施形態において、ｓｃＦｖは、重鎖可変ドメインを１つ、及び、軽鎖可変ドメインを１つ有する。いくつかの実施形態において、ｓｃＦｖは、重鎖可変ドメインを２つ、及び、軽鎖可変ドメインを２つ有する。

【００６０】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片の配列（例えば、ＣＤＲ又はＶＨ／ＶＬ配列）を使用して、ＣＤ４０及び付加の抗原（例えば、ＴＮＦＲＳＦ９（４－１ＢＢ）、ＭＳＬＮ、ＦＡＰ、ＡＬＢ、ＣＴＬＡ４、ＨＥＲ２、ＧＰＣ３、ＭＹＣ、ＥＰＣＡＭ、ＴＮＦＲＳＦ１４（ＬＩＧＨＴＲ）、又はＩＴＧＡＸ（ＣＤ１１ｃ））を標的とする二重特異性抗体を生成することができる。

【００６１】

抗ＣＤ４０抗体及び抗原結合断片
本開示は、ＣＤ４０（例えば、ヒトＣＤ４０）に特異的に結合する抗体及びその抗原結合断片を提供する。本明細書に記載される抗体及び抗原結合断片は、ＣＤ４０に結合可能である。これらの抗体は、アゴニスト又はアンタゴニストであることができる。いくつかの実施形態において、これらの抗体は、ＣＤ４０シグナル伝達経路を促進し、したがって、免疫応答を増大させることができる。いくつかの実施形態において、抗体は、ＣＤ４０シグナル伝達経路を遮断し、したがって、免疫応答を低下させることができる。いくつかの実施形態において、これらの抗体は、補体依存性細胞傷害（ＣＭＣ）、又は抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を開始することができる。
【００６２】
本開示は、例えば、マウス抗ＣＤ４０抗体２Ｆ８、６Ａ４、１２Ｂ５、そのキメラ抗体、及び、そのヒト又はヒト化抗体を提供する。
【００６３】
２Ｆ８、及び２Ｆ８由来の抗体（例えば、ヒト、又はヒト化抗体）に対するＣＤＲ配列としては、Ｋａｂａｔの付番により定義される、重鎖可変ドメインのＣＤＲ配列、配列番号１～３、及び、軽鎖可変ドメインのＣＤＲ配列、配列番号４～６が挙げられる。ＣＤＲは、Ｃｈｏｔｈｉａシステムによってもまた定義することができる。Ｃｈｏｔｈｉａの付番によると、重鎖可変ドメインのＣＤＲ配列は、配列番号１９～２１に記載され、軽鎖可変ドメインのＣＤＲ配列は、配列番号２２～２４に記載される。
【００６４】
同様に、６Ａ４、及び６Ａ４由来の抗体に対するＣＤＲ配列としては、Ｋａｂａｔの付番により定義される、重鎖可変ドメインのＣＤＲ配列、配列番号７～９、及び、軽鎖可変ドメインのＣＤＲ配列、配列番号１０～１２が挙げられる。Ｃｈｏｔｈｉａの付番によると、重鎖可変ドメインのＣＤＲ配列は、配列番号２５～２７に記載され、軽鎖可変ドメインのＣＤＲ配列は、配列番号２８～３０に記載される。
【００６５】
１２Ｂ５、及び１２Ｂ５由来の抗体に対するＣＤＲ配列としては、Ｋａｂａｔの付番により定義される、重鎖可変ドメインのＣＤＲ配列、配列番号１３～１５、及び、軽鎖可変ドメインのＣＤＲ配列、配列番号１６～１８が挙げられる。Ｃｈｏｔｈｉａの付番によると、重鎖可変ドメインのＣＤＲ配列は、配列番号３１～３３に記載され、軽鎖可変ドメインのＣＤＲ配列は、配列番号３４～３６に記載される。
【００６６】
２Ｆ８抗体の重鎖可変領域に対するアミノ酸配列は、配列番号６５に記載される。２Ｆ８抗体の軽鎖可変領域に対するアミノ酸配列は、配列番号３７に記載される。
【００６７】
６Ａ４抗体の重鎖可変領域に対するアミノ酸配列は、配列番号３８に記載される。６Ａ４抗体の軽鎖可変領域に対するアミノ酸配列は、配列番号３９に記載される。
【００６８】
１２Ｂ５抗体の重鎖可変領域に対するアミノ酸配列は、配列番号４０に記載される。１２Ｂ５抗体の軽鎖可変領域に対するアミノ酸配列は、配列番号４１に記載される。
【００６９】
修飾抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域に対するアミノ酸配列もまた提供する。いくつかの実施形態において、重鎖可変領域は、配列番号６５、３８、又は４０と、少なくとも８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％同一である。いくつかの実施形態において、軽鎖可変領域は、配列番号３７、３９、又は４１と、少なくとも８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％同一である。重鎖可変領域配列を、対応する軽鎖可変領域配列と対形成することができ、これらは共に、ＣＤ４０に結合する。
【００７０】

ヒト化割合とは、国際免疫遺伝情報システム（ＩＭＧＴ）データベースのヒト抗体配列と比較した、重鎖又は軽鎖可変領域配列の同一性割合を意味する。上位ヒットは、重鎖又は軽鎖可変領域配列が、他の種よりも、特定の種に近いことを意味する。例えば、ヒトに対する上位ヒットとは、配列が、他の種よりも、ヒトに近いことを意味する。ヒト及びカニクイザルに対する上位ヒットとは、配列が、ヒト配列及びカニクイザル配列に対して、同じ同一性割合を有し、これらの同一性割合が、他の種の配列と比較して最も高いことを意味する。いくつかの実施形態において、ヒト化割合は、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、又は９５％を超える。ヒト化割合の決定方法、及び、上位ヒットの決定方法に関する詳細な説明は、当該技術分野において周知であり、例えば、Ｊｏｎｅｓ，ｅｔ ａｌ．「Ｔｈｅ ＩＮＮｓ ａｎｄ ｏｕｔｓ ｏｆ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｎｏｎｐｒｏｐｒｉｅｔａｒｙ ｎａｍｅｓ．」ＭＡｂｓ．Ｖｏｌ．８．Ｎｏ．１．Ｔａｙｌｏｒ＆Ｆｒａｎｃｉｓ、２０１６において記載されており、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。高いヒト化割合は、多くの場合、様々な利点を有する、例えば、ヒトにおいてより安全であり、より効果的である、ヒト対象によって認容される可能性がより高い、及び／又は、副作用を有する可能性が低い。いくつかの実施形態において、可変領域は完全にヒトである、例えば、ヒト重鎖免疫グロブリン座位配列（例えば、ヒトＩＧＨＶ、ヒトＩＧＨＤ、及びヒトＩＧＨＪ遺伝子の組み合わせ）、並びに／又は、ヒトκ鎖免疫グロブリン座位配列（例えば、ヒトＩＧＫＶ及びヒトＩＧＫＪ遺伝子の組み合わせ）に由来する。

【００７１】

更に、いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１～３、配列番号７～９、配列番号１３～１５、配列番号１９～２１、配列番号２５～２７、及び配列番号３１～３３からなる群から選択される１、２、若しくは３つの重鎖可変領域ＣＤＲ、及び／又は、配列番号４～６、配列番号１０～１２、配列番号１６～１８、配列番号２２～２４、配列番号２８～３０、及び配列番号３４～３６からなる群から選択される１、２、若しくは３つの軽鎖可変領域ＣＤＲもまた含有することができる。

【００７２】

いくつかの実施形態において、抗体は、相補性決定領域（ＣＤＲ）１、２、３を含む重鎖可変領域（ＶＨ）を有することができ、上記ＣＤＲ１領域は、選択されたＶＨ　ＣＤＲ１アミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、又は９５％同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記ＣＤＲ２領域は、選択されたＶＨ　ＣＤＲ２アミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、又は９５％同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記ＣＤＲ３領域は、選択されたＶＨ　ＣＤＲ３アミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、又は９５％同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる。いくつかの実施形態において、抗体は、ＣＤＲ１、２、３を含む軽鎖可変領域（ＶＬ）を有することができ、上記ＣＤＲ１領域は、選択されたＶＬ　ＣＤＲ１アミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、又は９５％同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記ＣＤＲ２領域は、選択されたＶＬ　ＣＤＲ２アミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、又は９５％同一であるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、上記ＣＤＲ３領域は、選択されたＶＬ　ＣＤＲ３アミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、又は９５％同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる。選択されたＶＨ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列、及び、選択されたＶＬ　ＣＤＲ１、２、３アミノ酸配列は、図９（ＫａｂａｔのＣＤＲ）、及び、図１０（ＣｈｏｔｈｉａのＣＤＲ）に示される。

【００７３】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号１、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号２、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は

置換を有する配列番号３のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【００７４】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号７、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号８、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号９のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【００７５】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号１３、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号１４、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号１５のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【００７６】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号１９、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号２０、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号２１のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【００７７】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号２５、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号２６、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号２７のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【００７８】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号３１、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号３２、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号３３のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する重鎖可変ドメインを含有することができる。

【００７９】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号４、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号５、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号６のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する軽鎖可変ドメインを含有することができる。

【００８０】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号１０、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号１１、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号１２のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する軽鎖可変ドメインを含有することができる。

【００８１】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号１６、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号１７、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号１８のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する軽鎖可変ドメインを含有することができる。

【００８２】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号２２、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号２３、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号２４のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する軽鎖可変ドメインを含有することができる。
【００８３】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号２８、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号２９、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号３０のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する軽鎖可変ドメインを含有することができる。
【００８４】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号３４、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号３５、０、１又は２個のアミノ酸挿入、欠失、又は置換を有する配列番号３６のＣＤＲの、１つ、２つ、又は３つを含有する軽鎖可変ドメインを含有することができる。
【００８５】
挿入、欠失、及び置換は、ＣＤＲ配列内、又は、ＣＤＲ配列の片方若しくは両方の末端に存在することができる。いくつかの実施形態において、ＣＤＲは、Ｋａｂａｔの付番スキームに基づき決定される。いくつかの実施形態において、ＣＤＲは、Ｃｈｏｔｈｉａの付番スキームに基づき決定される。いくつかの実施形態において、ＣＤＲは、ＫａｂａｔとＣｈｏｔｈｉａの付番スキームの組み合わせに基づき決定される。
【００８６】
本開示は、ＣＤ４０に結合する抗体又はその抗原結合断片もまた提供する。抗体又はその抗原結合断片は、選択された重鎖可変領域（ＶＨ）配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、又は９５％同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなるＶＨ、及び、選択された軽鎖可変領域（ＶＬ）配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、又は９５％同一であるアミノ酸配列を含む、又はそれからなるＶＬを含有する。いくつかの実施形態において、選択されたＶＨ配列は配列番号６５であり、選択されたＶＬ配列は配列番号３７である。いくつかの実施形態において、選択されたＶＨ配列は配列番号３８であり、選択されたＶＬ配列は配列番号３９である。いくつかの実施形態において、選択されたＶＨ配列は配列番号４０であり、選択されたＶＬ配列は配列番号４１である。
【００８７】
本開示は、本明細書に記載される抗体と競合可能な抗体又はその抗原結合断片もまた提供する。いくつかの態様では、抗体又は抗原結合断片は、本明細書に記載される抗体と同じエピトープに結合することができる。
【００８８】
本開示はまた、本明細書に記載される任意の抗体又はその抗原結合断片と交差競合する、抗体又はその抗原結合断片を提供する。交差競合アッセイは、当該技術分野において周知であり、例えば、Ｍｏｏｒｅ ｅｔ ａｌ．、「Ａｎｔｉｂｏｄｙ ｃｒｏｓｓ－ｃｏｍｐｅｔｉｔｉｏｎ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｔｈｅ ｈｕｍａｎ ｉｍｍｕｎｏｄｅｆｉｃｉｅｎｃｙ ｖｉｒｕｓ ｔｙｐｅ １ ｇｐ１２０ ｅｘｔｅｒｉｏｒ ｅｎｖｅｌｏｐｅ ｇｌｙｃｏｐｒｏｔｅｉｎ．」Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｖｉｒｏｌｏｇｙ ７０．３（１９９６）：１８６３～１８７２に記載されており、その全体が、参照により本明細書に組み込まれている。一態様では、本開示は、本明細書に記載される任意の抗体又は抗原結合断片と同じエピトープ又は領域に結合する、抗体又はその抗原結合断片もまた提供する。エピトープ結合アッセイは、当該技術分野において周知であり、例えば、Ｅｓｔｅｐ ｅｔ ａｌ．「Ｈｉｇｈ ｔｈｒｏｕｇｈｐｕｔ ｓｏｌｕｔｉｏｎ－ｂａｓｅ

ｄ ｍｅａｓｕｒｅｍｅｎｔ ｏｆ ａｎｔｉｂｏｄｙ－ａｎｔｉｇｅｎ ａｆｆｉｎｉｔｙ ａｎｄ ｅｐｉｔｏｐｅ ｂｉｎｎｉｎｇ．」ＭＡｂｓ．Ｖｏｌ．５．Ｎｏ．２．Ｔａｙｌｏｒ＆Ｆｒａｎｃｉｓ，２０１３に記載されており、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。

【００８９】

２つのアミノ酸配列、又は、２つの核酸配列の同一性パーセントを測定するために、最適に比較するために配列をアライメントする（例えば、比較するために、最適にアライメントするように第１及び第２のアミノ酸又は核酸配列の１つ又は両方にギャップを導入してもよく、非相同配列を無視してもよい）。続いて、対応するアミノ酸位置又はヌクレオチド位置にあるアミノ酸残基又はヌクレオチドを比較する。第１の配列の位置が第２の配列の対応する位置のアミノ酸残基又はヌクレオチドと同じものによって占められている場合、分子はその位置で同一である。２つの配列間の同一性パーセントは、２つの配列を最適にアライメントするために導入される必要のあるギャップの数及び各ギャップの長さを考慮して、配列に共有される同一の位置の数の関数である。例えば、２つの配列間の配列比較及び同一性パーセントの測定は、ギャップペナルティ１２、ギャップ伸長ペナルティ４、及び、フレームシフトギャップペナルティ５の、Ｂｌｏｓｓｕｍ６２スコアリングマトリックスを用いて実施することができる。

【００９０】

本開示は、免疫グロブリン重鎖又は免疫グロブリン軽鎖を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸もまた提供する。免疫グロブリン重鎖又は免疫グロブリン軽鎖は、図９若しくは図１０に示されるＣＤＲを含むか、又は、図１１に示される配列を有する。ポリペプチドが、対応するポリペプチド（例えば、対応する重鎖可変領域、又は、対応する軽鎖可変領域）と対形成される場合、対形成されるポリペプチドは、ＣＤ４０（例えば、ヒトＣＤ４０）に結合する。

【００９１】

抗ＣＤ４０抗体及び抗原結合断片はまた、抗体又は抗体断片の抗体変異体（誘導体及びコンジュゲートを含む）、並びに、多重特異性（例えば、二重特異性）抗体又は抗体断片であることも可能である。本明細書により提供される追加の抗体は、ポリクローナル、モノクローナル、多重特異性（多量体、例えば、二重特異性）、ヒト抗体、キメラ抗体（例えば、ヒト－マウスキメラ）、一本鎖抗体、細胞内で製造された抗体（即ち、イントラボディ）、及び、それらの抗原結合断片である。抗体又はその抗原結合断片は、任意のタイプ（例えばＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、及びＩｇＹ）、クラス（例えばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１及びＩｇＡ２）又はサブクラスであることができる。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、ＩｇＧ抗体又はその抗原結合断片である。

【００９２】

抗体の断片は、それらが、全長抗体の所望の親和性及び特異性を保持する限り、提供される方法での使用に好適である。したがって、ＣＤ４０に結合する抗体の断片は、ＣＤ４０に結合する能力を保持する。Ｆｖ断片は、完全な抗原認識及び結合部位を含有する、抗体断片である。この領域は、１個の重鎖可変ドメインと、１個の軽鎖可変ドメインが密接に会合した二量体で構成され、これは、本質的には、例えば、ｓｃＦｖにおいて、共有結合であることができる。この構成においては、各可変ドメインの３つのＣＤＲが相互作用し、ＶＨ－ＶＬ二量体の表面上で、抗原結合部位を画定する。全体的に、６つのＣＤＲ又はそれらのサブセットはまとまって、抗体に対する抗原結合特異性を付与する。しかしながら、単一の可変ドメイン（又は、ある抗原に特異的なＣＤＲを３つのみ含むＦｖの半分）でさえも、抗原を認識してそれに結合する能力を有することができるが、通常は、結合部位全体よりも親和性が低い。

【００９３】

一本鎖Ｆｖ又は（ｓｃＦｖ）抗体断片は、抗体のＶＨ及びＶＬドメイン（又は領域）を含み、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖内に存在する。一般に、ｓｃＦｖポリペ

プチドはＶＨドメインとＶＬドメインとの間にポリペプチドリンカーを更に含み、それはｓｃＦｖが抗原結合のための望ましい構造を形成することを可能にする。

【００９４】

Ｆａｂ断片は、軽鎖の可変及び定常ドメイン、並びに、重鎖の可変ドメイン及び１番目の定常ドメイン（ＣＨ１）を含有する。Ｆ（ａｂ’）２抗体断片は、これらの間のヒンジシステインにより、一般に、カルボキシ末端付近で共通結合した、Ｆａｂ断片の対を含む。抗体断片の他の化学的結合は、当該技術分野において周知である。

【００９５】

ダイアボディは、２つの抗原結合部位を含む小さな抗体断片であり、この断片は、同じポリペプチド鎖内に、ＶＬに接続したＶＨ（ＶＨ及びＶＬ）を含む。同じ鎖上の２つのドメイン間での対形成を可能にするには短すぎるリンカーを使用することによって、ドメインを別の鎖の相補的ドメインと対形成させ、２つの抗原結合部位を生成することができる。

【００９６】

線状抗体は、相補性軽鎖ポリペプチドと共に、一対の抗原結合領域を形成する、一対のタンデムＦｄセグメント（ＶＨ－ＣＨ１－ＶＨ－ＣＨ１）を含む。線状抗体は、二重特異的又は単一特異的であってもよい。

【００９７】

本開示の抗体及び抗体断片を、Ｆｃ領域内で修飾し、所望のエフェクター機能又は血清半減期を付与することができる。

【００９８】

抗体の多量体化は、抗体の自然な凝集により、又は、当該技術分野において周知の、化学的若しくは組み換え結合技術により、達成することができる。例えば、精製された抗体調製物（例えば、精製されたＩｇＧ１分子）の何パーセントかは、自然に、抗体ホモダイマーと、他の高次抗体多量体とを含有する、タンパク質アグリゲートを形成する。

【００９９】

或いは、抗体ホモダイマーは、当該技術分野において周知の化学結合技術により形成することができる。例えば、ＳＭＣＣ（スクシンイミジル　４－（マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート）、及びＳＡＴＡ（Ｎ－スクシンイミジル　Ｓ－アセチルチオ－アセテート）を含むがこれらに限定されないヘテロ二官能性架橋剤を使用して、抗体多量体を形成することができる。抗体ホモ二量体を形成するための例示的な手順は、Ｇｈｅｔｉｅ　ｅｔ　ａｌ．（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９４：７５０９～７５１４，１９９７）に記載されている。ペプシン消化によって、抗体ホモ二量体を、Ｆａｂ’２ホモ二量体に転換することができる。抗体ホモ二量体を形成する別の方法は、Ｚｈａｏ　ｅｔ　ａｌ．（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２５：３９６～４０４，２００２）に記載されている、自己好性ａｕｔｏｐｈｉｌｉｃ）Ｔ１５ペプチドを使用することである。

【０１００】

いくつかの実施形態において、多重特異性抗体は、二重特異性抗体である。一対の抗体分子の間の界面を組み換えて、組み換え細胞培養液から回収したヘテロ二量体の割合を最大化することにより、二重特異性抗体を製造することができる。例えば、界面は、少なくとも、抗体定常ドメインのＣＨ３ドメインの一部を含有することができる。この方法では、第１の抗体分子の界面からの１つ以上の小さいアミノ酸側鎖が、より大きな側鎖（例えばチロシン又はトリプトファン）で置換られる。大きなアミノ酸側鎖を小さいもの（例えばアラニン又はトレオニン）で置換ることにより、大きな側鎖と同じ又は同様のサイズの代償性「キャビティ」を、第２の抗体分子の界面に作り出す。これにより、ホモ二量体などの不要の他の最終産物よりも、ヘテロ二量体の収率を増大させるメカニズムが提供される。本方法は、例えば、ＷＯ　９６／２７０１１に記載されており、その全体が参照により組み込まれている。

【０１０１】

二重特異性抗体としては、架橋型、又は「ヘテロコンジュゲート」抗体が挙げられる。例

えば、ヘテロコンジュゲート内の抗体の一方をアビジンに、そして、他方をビオチンに、結合させることができる。ヘテロコンジュゲート抗体は、任意の便利な架橋法を用いてもまた、製造することができる。好適な架橋剤及び架橋技術が、当該技術分野において周知であり、米国特許第４，６７６，９８０号に開示されており、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。

【０１０２】

抗体断片から二重特異性抗体を生成する方法もまた、当該技術分野において周知である。例えば、二重特異性抗体は、化学結合を用いて調製することができる。Ｂｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ．（Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：８１，１９８５）は、インタクトな抗体がタンパク質分解により切断され、Ｆ（ａｂ’）２断片を生成する手順について記載している。これらの断片は、ジチオール錯化剤である亜ヒ酸ナトリウムの存在下で還元して、近接ジチオールを安定化させ、分子間ジスルヒド形成を防止する。生成したＦａｂ’断片は次いで、チオニトロベンゾアート（ＴＮＢ）誘導体に変換される。次いで、Ｆａｂ’ ＴＮＢ誘導体のうちの１つが、メルカプトエチルアミンによる還元によってＦａｂ’チオールに再変換され、等モル量の別のＦａｂ’ ＴＮＢ誘導体と混合し、二重特異性抗体を形成する。

【０１０３】

本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片のいずれかを、安定化分子（例えば、対象内で、又は溶液中で、抗体又はその抗原結合断片の半減期を増大させる分子）とコンジュゲートすることができる。安定化分子の非限定例としては、ポリマー（例えば、ポリエチレングリコール）、又はタンパク質（例えば、ヒト血清アルブミンなどの血清アルブミン）が挙げられる。安定化分子のコンジュゲーションにより、インビトロで（例えば、組織培養液中で、若しくは、医薬組成物として貯蔵した際に）、又は、インビボで（例えば、ヒトにおいて）、抗体又は抗原結合断片の半減期を増大させることができる、又は、この生物活性を延長することができる。

【０１０４】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片を、治療剤とコンジュゲートすることができる。抗体又はその抗原結合断片を含む抗体薬物コンジュゲートは、治療剤に共有、又は非共有結合することができる。いくつかの実施形態において、治療剤は、細胞毒性又は細胞増殖抑制剤（例えば、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、エチジウムブロマイド、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラセン、メイタンシノイド（ＤＭ－１及びＤＭ－４など）、ジオン、マイトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、糖質コルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、エピルビシン、並びにシクロホスファミド、並びにアナログ）である。

【０１０５】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、内因性ＣＤ４０、又は、組み換えＣＤ４０を認識する。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、ヒトＣＤ４０を認識する。

【０１０６】

いくつかの実施形態において、野生型マウス（例えば、Ｃ５７ＢＬ／６マウス）における、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片の半減期は、少なくとも１０日、少なくとも１１日、少なくとも１２日、少なくとも１３日、少なくとも１４日、少なくとも１５日、少なくとも１６日、少なくとも１７日、又は少なくとも１８日である。いくつかの実施形態において、ＣＤ４０遺伝子ヒト化マウス（例えば、ｈＣＤ４０マウス）における、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片の半減期は、少なくとも１日、少なくとも２日、少なくとも３日、少なくとも４日、又は少なくとも５日である。

【０１０７】

いくつかの実施形態において、野生型マウス（例えば、Ｃ５７ＢＬ／６マウス）における

、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片のクリアランス率（ＣＬ）は、７ｍＬ／日／ｋｇ未満、６ｍＬ／日／ｋｇ未満、５ｍＬ／日／ｋｇ未満、又は、４ｍＬ／日／ｋｇ未満である。いくつかの実施形態において、ＣＤ４０遺伝子ヒト化マウス（例えば、ｈＣＤ４０マウス）における、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片のクリアランス率（ＣＬ）は、１５ｍＬ／日／ｋｇ未満、１４ｍＬ／日／ｋｇ未満、１３ｍＬ／日／ｋｇ未満、又は、１２ｍＬ／日／ｋｇ未満である。

【０１０８】

いくつかの実施形態において、ＦｃＲｎ遺伝子ヒト化マウス（例えば、ｈＦｃＲｎマウス）における、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片の半減期は、少なくとも６日、少なくとも７日、少なくとも８日、少なくとも９日、少なくとも１０日、少なくとも１１日、少なくとも１２日、少なくとも１３日、又は少なくとも１４日である。いくつかの実施形態において、ＦｃＲｎ遺伝子ヒト化マウス（例えば、ｈＦｃＲｎマウス）における、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片のクリアランス率（ＣＬ）は、１６Ｌ／日／ｋｇ未満、１５ｍＬ／日／ｋｇ未満、１４ｍＬ／日／ｋｇ未満、１３ｍＬ／日／ｋｇ未満、１２ｍＬ／日／ｋｇ未満、１１ｍＬ／日／ｋｇ未満、１０ｍＬ／日／ｋｇ未満、９ｍＬ／日／ｋｇ未満、８ｍＬ／日／ｋｇ未満、又は７ｍＬ／日／ｋｇ未満である。

【０１０９】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、内因性、組み換え、又はヒトＣＤ４０を発現する細胞に侵入することができる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、エンドサイトーシスにより細胞に侵入することができる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、エンドサイトーシスにより、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５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、又は１００％の細胞（例えば、ＣＤ４０発現細胞）に侵入する。

【０１１０】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、免疫刺激効果を示す。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、免疫抑制効果を示す。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、１つ以上の免疫機能（例えば、抗原により誘発される抗体産生）を、抗体又はその抗原結合断片が投与されない場合の同じ免疫機能と比較して、９５％未満、９０％未満、８５％未満、８０％未満、７５％未満、７０％未満、６５％未満、６０％未満、５５％未満、５０％未満、４５％未満、４０％未満、３５％未満、３０％未満、２５％未満、２０％未満、１５％未満、１０％未満、５％未満、４％未満、３％未満、２％未満、又は１％未満まで抑制する。

【０１１１】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片の免疫抑制効果は、可逆的である。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片の免疫抑制効果は、不可逆的である。いくつかの実施形態において、対象（例えば、マウス）の免疫機能（例えば、Ｔ細胞依存性体液免疫機能）は、対象に抗体又はその抗原結合断片を投与した後、少なくとも１０日、少なくとも１５日、少なくとも２０日、少なくとも２５日、少なくとも３０日、少なくとも３２日、少なくとも３５日、少なくとも４０日、少なくとも４５日、又は少なくと６０日後に、回復する。いくつかの実施形態において、対象（例えば、マウス）の免疫機能（例えば、Ｔ細胞依存性体液免疫機能）は、対象に抗体又はその抗原結合断片を投与する前の、同じ免疫機能と比較して、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又はそれ以上まで回復する。

【０１１２】

いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片の免疫抑制効果は、対象（例えば、マウス）の免疫系の臓器（例えば、脾臓）内で、ＣＤ２０＋／ＣＤ１９＋細胞の割合

を低下させない。
【０１１３】
いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、約０．１μｇ／ｍＬ、約０．２μｇ／ｍＬ、約０．３μｇ／ｍＬ、０．４μｇ／ｍＬ、０．５μｇ／ｍＬ、１μｇ／ｍＬ、２μｇ／ｍＬ、５μｇ／ｍＬ、１０μｇ／ｍＬ以下の濃度で、ＣＤ４０受容体を飽和させる。
【０１１４】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、ＣＤ４０へのＣＤ１５４の結合を、９５％未満、９０％未満、８５％未満、８０％未満、７５％未満、７０％未満、６５％未満、６０％未満、５５％未満、５０％未満、４５％未満、４０％未満、３５％未満、３０％未満、２５％未満、２０％未満、１５％未満、１０％未満、５％未満、４％未満、３％未満、２％未満、又は１％未満まで低下させる。
【０１１５】
いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片のＣＤ４０受容体占有率（ＲＯ％）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５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、又は１００％である。いくつかの実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、活性化Ｂ細胞の割合を、抗体又はその抗原結合断片が投与されない場合の活性化Ｂ細胞の割合と比較して、９５％未満、９０％未満、８５％未満、８０％未満、７５％未満、７０％未満、６５％未満、６０％未満、５５％未満、５０％未満、４５％未満、４０％未満、３５％未満、３０％未満、２５％未満、２０％未満、１５％未満、１０％未満、５％未満、４％未満、３％未満、２％未満、又は１％未満まで低下させる。
【０１１６】
抗体の特性
本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、ＣＤ４０とＣＤ４０リガンド（例えば、ＣＤ１５４）の間の結合を遮断することができる。
【０１１７】
本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、ＣＤ４０アゴニスト又はアンタゴニストであることができる。いくつかの実施形態において、ＣＤ４０に結合することにより、抗体は、ＣＤ４０シグナル伝達経路を阻害することができる。いくつかの実施形態において、抗体は、免疫反応を上方制御するか、又は、免疫反応を下方制御することができる。
【０１１８】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、免疫反応、免疫細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、マクロファージ、抗原提示細胞）の活性又は数を、少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、１００％、２倍、３倍、５倍、１０倍、又は２０倍増加させることができる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、免疫細胞（例えば、Ｔ細胞、ＣＤ８＋Ｔ細胞、ＣＤ４＋Ｔ細胞、マクロファージ、抗原提示細胞）の活性又は数を、少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、１００％、２倍、３倍、５倍、１０倍、又は２０倍低下させることができる。
【０１１９】
いくつかの実施形態において、抗体（又はその抗原結合断片）は、ＣＤ４０（例えば、ヒトＣＤ４０、サルＣＤ４０（例えば、アカゲザル、カニクイザル）、イヌＣＤ４０、マウスＣＤ４０、及び／又はキメラＣＤ４０）に、０．１ｓ－１未満、０．０１ｓ－１未満、０．００１ｓ－１未満、０．０００１ｓ－１未満、又は、０．００００１ｓ－１未満の解離速度（ｋｏｆｆ）で特異的に結合する。いくつかの実施形態において、解離速度（ｋｏｆｆ）は、０．０１ｓ－１超、０．００１ｓ－１超、０．０００１ｓ－１超、０．００００１ｓ－１超、又は、０．０００００１ｓ－１超である。

【０１２０】
いくつかの実施形態において、運動会合速度（ｋｏｎ）は、１×１０２／Ｍｓ超、１×１０３／Ｍｓ超、１×１０４／Ｍｓ超、１×１０５／Ｍｓ超、又は、１×１０６／Ｍｓ超である。いくつかの実施形態において、運動会合速度（ｋｏｎ）は、１×１０５／Ｍｓ未満、１×１０６／Ｍｓ未満、又は、１×１０７／Ｍｓ未満である。
【０１２１】
親和性を、運動速度定数の商から推定することができる（ＫＤ＝ｋｏｆｆ／ｋｏｎ）。いくつかの実施形態において、ＫＤは、１×１０－６Ｍ未満、１×１０－７Ｍ未満、１×１０－８Ｍ未満、１×１０－９Ｍ未満、又は、１×１０－１０Ｍ未満である。いくつかの実施形態において、ＫＤは、５０ｎＭ、３０ｎＭ、２０ｎＭ、１５ｎＭ、１０ｎＭ、９ｎＭ、８ｎＭ、７ｎＭ、６ｎＭ、５ｎＭ、４ｎＭ、３ｎＭ、２ｎＭ、又は１ｎＭ未満である。いくつかの実施形態において、ＫＤは、１×１０－７Ｍ超、１×１０－８Ｍ超、１×１０－９Ｍ超、１×１０－１０Ｍ超、１×１０－１１Ｍ超、又は、１×１０－１２Ｍ超である。
【０１２２】
抗原に対する抗体の親和性を測定する一般的な技術としては、例えば、ＥＬＩＳＡ、ＲＩＡ、及び表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）が挙げられる。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトＣＤ４０（配列番号４２）、マウスＣＤ４０（配列番号５０）、及び／又はキメラＣＤ４０（配列番号４９）に結合する。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトＣＤ４０（配列番号４２）、マウスＣＤ４０（配列番号５０）、及び／又はキメラＣＤ４０（配列番号４９）に結合しない。いくつかの実施形態において、抗体は、ＦｃＲｎ（配列番号５１）に結合する。
【０１２３】
いくつかの実施形態において、熱安定性が測定される。本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、又は９５℃超のＴｍを有することができる。いくつかの実施形態において、Ｔｍは、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、又は９５℃未満である。
【０１２４】
いくつかの実施形態において、抗体は、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、１００％、１１０％、１２０％、１３０％、１４０％、１５０％、１６０％、１７０％、１８０％、１９０％、又は２００％超の、腫瘍増殖阻害割合（ＴＧＩ％）を有する。いくつかの実施形態において、抗体は、６０％、７０％、８０％、９０％、１００％、１１０％、１２０％、１３０％、１４０％、１５０％、１６０％、１７０％、１８０％、１９０％、又は２００％未満の、腫瘍増殖阻害割合を有する。ＴＧＩ％は、例えば、治療の開始の３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、若しくは３０日後、又は治療の開始の１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、若しくは１２ヶ月後に、測定することができる。本明細書で使用される場合、腫瘍増殖阻害割合（ＴＧＩ％）は、以下の式を用いて計算される：
ＴＧＩ（％）＝［１－（Ｔｉ－Ｔ０）／（Ｖｉ－Ｖ０）］×１００％
Ｔｉは、ｉ日目における、治療群での平均腫瘍体積である。Ｔ０は、０日目における、治療群での平均腫瘍体積である。Ｖｉは、ｉ日目における、対照群での平均腫瘍体積である。Ｖ０は、０日目における、対照群での平均腫瘍体積である。
【０１２５】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合断片は、ＣＤ４０アンタゴニストである。いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、Ｃ

Ｄ４０を発現する標的細胞内におけるＣＤ４０シグナル伝達を減少させる。
【０１２６】
いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、ＡＰＣ（例えば、ＤＣ細胞）機能、例えば、共刺激及びＭＨＣ分子の表面発現の誘導、炎症誘発性サイトカイン産生の誘導、及び／又は、Ｔ細胞トリガー機能の向上を強化することができる。
【０１２７】
いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、ＣＤ４０を発現する腫瘍細胞に結合することができる。いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、補体媒介性細胞傷害（ＣＭＣ）及び／又は抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘発し、腫瘍細胞を殺傷することができる。
【０１２８】
いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、機能的Ｆｃ領域を有する。いくつかの実施形態において、機能的Ｆｃ領域のエフェクター機能は、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）である。いくつかの実施形態において、機能的Ｆｃ領域のエフェクター機能はファゴサイトーシスである。いくつかの実施形態において、機能的Ｆｃ領域のエフェクター機能はＡＤＣＣ及びファゴサイトーシスである。
【０１２９】
いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導することができる。いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を誘導することができない。いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、補体媒介性細胞傷害（ＣＭＣ）を誘発することができる。いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、補体媒介性細胞傷害（ＣＭＣ）を誘発することができない。
【０１３０】
いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域は、ヒトＩｇＧ１、ヒトＩｇＧ２、ヒトＩｇＧ３、又はヒトＩｇＧ４である。いくつかの実施形態において、抗体は、任意選択的に、ＳＩ変異、ＬＡＬＡ変異、Ｎ２９７Ａ変異、ＹＴＥ変異、及び／又はＦＬＡＡ変異を有するヒトＩｇＧ１抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、任意選択的に、ＳＩ変異、ＬＡＬＡ変異、Ｎ２９７Ａ変異、ＹＴＥ変異、及び／又はＦＬＡＡ変異を有するヒトＩｇＧ４抗体である。
【０１３１】
いくつかの実施形態において、抗体又は抗原結合断片は、機能的Ｆｃ領域を有しない。例えば、抗体又は抗原結合断片は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、及びＦｖ断片である。いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域は、ＬＡＬＡ変異（ＥＵの付番に従ったＬ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ変異）、又は、ＬＡＬＡ－ＰＧ変異（ＥＵの付番に従ったＬ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、Ｐ３２９Ｇ変異）を有する。いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域は、ＦＬＡＡ変異（ＥＵの付番に従ったＦ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ）を有する。いくつかの実施形態において、Ｆｃは、ＳＩ変異（ＥＵの付番に従ったＳ２３９Ｄ及びＩ３３２Ｅ変異）を有する。いくつかの実施形態において、Ｆｃは、ＥＵの付番に従ったＮ２９７Ａ変異を有する。いくつかの実施形態において、Ｆｃは、ＹＴＥ変異（ＥＵの付番に従ったＭ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、及びＴ２５６Ｅ）を有する。
【０１３２】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、配列番号５２～５９のいずれか１つと少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、又は１００％同一であるアミノ酸配列を含む。
【０１３３】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、ＰＭＢＣ増殖を、例えば、アイソタイプ対象抗体（例えば、ｈＩｇＧ１）と比較して、９０％未満、８０％未満、７０％未満、６０％未満、５０％未満、４０％未満、又は、３０％未満まで阻害することができる。

【０１３４】
いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片は、Ｂ細胞増殖、及び／又は、Ｂ細胞の活性化を阻害することができる。例えば、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片の処理の際に、ＰＭＢＣ細胞内における活性化Ｂ細胞サブセットの割合は、アイソタイプ対象抗体（例えば、ｈＩｇＧ１）の処理時におけるものと比較して、９０％未満、８０％未満、７０％未満、６０％未満、５０％未満、４０％未満、３０％未満、２０％未満、１０％未満、又は５％未満まで低下する。
【０１３５】
抗ＣＤ４０抗体の製造方法
ヒトＣＤ４０の単離断片を、免疫原として使用し、ポリクローナル及びモノクローナル抗体調製のための標準的な技術を用いて抗体を生成することができる。ポリクローナル抗体は、抗原ペプチド又はタンパク質を複数回注射（例えば、皮下又は腹腔内注射）することにより、動物で生じさせることができる。いくつかの実施形態において、抗原ペプチド又はタンパク質は、少なくとも１つのアジュバントと共に注射される。いくつかの実施形態において、抗原ペプチド又はタンパク質は、免疫化される種において免疫原性である薬剤とコンジュゲートすることができる。動物には、抗原ペプチド又はタンパク質を２回以上（例えば、２回、３回、又は４回）注射することができる。
【０１３６】
全長ポリペプチド又はタンパク質を用いることができるか、或いは、その抗原ペプチド断片を、免疫原として用いることができる。タンパク質の抗原ペプチドは、ＣＤ４０のアミノ酸配列の、少なくとも８（例えば、少なくとも１０、１５、２０、又は３０）個のアミノ酸残基を含み、ペプチドに対して生成された抗体が、タンパク質との特異的な免疫複合体を形成するように、タンパク質のエピトープを包含する。上述のように、ヒトＣＤ４０の完全長配列（配列番号４２）は、当該技術分野において周知である。いくつかの実施形態において、Ｆｃタグ化、又は、Ｈｉｓタグ化ＣＤ４０タンパク質を、免疫原として使用する。
【０１３７】
免疫原は典型的には、好適な対象（例えば、少なくとも１つのヒト免疫グロブリン座位を発現するヒト又はトランスジェニック動物）を免疫付与することによる抗体の調製のために使用される。適切な免疫原性調製物は、例えば、組み換えにより発現された、又は、化学的に合成されたポリペプチド（例えば、ヒトＣＤ４０の断片）を含有することができる。調製物は、フロイント完全若しくは不完全アジュバントなどのアジュバント、又は、同様の免疫刺激剤を更に含むことができる。
【０１３８】
好適な対象に、ＣＤ４０ポリペプチド、又はその抗原ペプチド（例えば、ＣＤ４０の一部）を免疫原として免疫付与することにより、上述のとおりにポリクローナル抗体を調製することができる。不動化されたＣＤ４０ポリペプチド又はペプチドを用いる、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）などの標準的な技術により、免疫付与された対象における抗体力価を、経時的にモニタリングすることができる。所望する場合、抗体分子を哺乳動物から（例えば、血液から）単離し、タンパク質Ｇ又はプロテインＡクロマトグラフィーなど、周知の技術により更に精製して、ＩｇＧ画分を入手することができる。免疫付与後の適切な時期、例えば、特異性抗体の力価が最大となる時期において、抗体産生細胞を対象から入手し、これを用いて、Ｋｏｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．（Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５～４９７，１９７５）により元々記載されているハイブリドーマ技術、ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術（Ｋｏｚｂｏｒ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｔｏｄａｙ ４：７２，１９８３）、及び、ＥＢＶ－ハイブリドーマ技術（Ｃｏｌｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．，ｐｐ．７７～９６，１９８５）、又はトリオーマ技術などの、標準的な技術により、モノクローナル抗体を調製することができる。ハイブリドーマを産生する技術は周知である（一般的には、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉ

ｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，１９９４，Ｃｏｌｉｇａｎ ｅｔ ａｌ．（Ｅｄｓ．），Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ）を参照されたい）。例えば、標準的なＥＬＩＳＡアッセイを用い、対象となるポリペプチド又はエピトープに結合する抗体用のハイブリドーマ培養上清液をスクリーニングすることにより、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞が検出される。

【０１３９】

適切なヌクレオチドの変化を、ヒト、ヒト化、若しくはキメラ抗体、又は、本明細書に記載される抗体若しくはその抗原結合断片をコードするＤＮＡに導入することにより、或いは、ペプチド合成により本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片の変異体を調製することができる。このような変異体としては、例えば、抗体の抗原結合部位又は抗原結合ドメインを製造する配列のアミノ酸内での、残基の欠失、挿入、又は置換が挙げられる。このような変異体の集団において、一部の抗体又は抗原結合断片は、標的タンパク質、例えば、ＣＤ４０に対する親和性が増大する。欠失、挿入、及び／又は組み合わせの任意の組み合わせを、標的に対して結合親和性が増大した、抗体又はその抗原結合断片において実現することができる。グリコシル化部位の数の変化（例えば、増加若しくは減少）、グリコシル化部位の種類の変化（例えば、異なる糖が、細胞内に存在する酵素により結合されるように、アミノ酸配列を変化させること）、又は、新規のグリコシル化部位を導入することなどの、抗体又は抗原結合断片に導入したアミノ酸の変化によって、抗体又は抗原結合断片を変化させる、又は、抗体又は抗原結合断片に、新規の翻訳後修飾を導入することができる。

【０１４０】

本明細書で開示する抗体は、哺乳動物を含む、動物の任意の種に由来することができる。天然抗体の非限定例としては、ヒト、霊長類、例えば、サル及び類人猿、ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ラクダ科動物（例えば、ラクダ及びラマ）、ニワトリ、ヤギ、並びに、ヒト抗体を産生するように遺伝子組み換えされたトランスジェニック齧歯類を含む、齧歯類（例えば、ラット、マウス、ハムスター、及びウサギ）に由来する抗体が挙げられる。

【０１４１】

ヒト及びヒト化抗体としては、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する（又は、これに由来するものと同じアミノ酸配列を有する）可変及び定常領域を有する抗体が挙げられる。ヒト抗体としては、例えばＣＤＲ内に、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列（例えば、インビトロでのランダム若しくは部位特異的突然変異誘発、又はインビボでの体細胞突然変異により導入された変異）によりコードされないアミノ酸残基を挙げることができる。

【０１４２】

ヒト化抗体は、典型的には、非ヒトＣＤＲが移植されたヒトフレームワーク（ＦＲ）を有する。したがって、ヒト化抗体は、非ヒトである源からヒトに導入された、１つ以上のアミノ酸配列を有する。これらの非ヒトアミノ酸残基は多くの場合、「インポート」残基と呼ばれ、典型的には、これは、「インポート」可変ドメインから取得される。ヒト化は、本質的には、例えば、齧歯類のＣＤＲ又はＣＤＲ配列を、ヒト抗体の対応する配列で置換することにより実施することができる。これらの方法は、例えば、Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３２１：５２２～５２５（１９８６）、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３～３２７（１９８８）、Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３９：１５３４～１５３６（１９８８）に記載されており、これらそれぞれが本明細書中に、その全体が参照により援用される。したがって、「ヒト化」抗体とは、インタクトなヒトＶドメインよりかなり小さい部分が、非ヒト種に由来する、対応する配列により置換されている、キメラ抗体である。実際には、ヒト化抗体は、典型的には、いくつかのＣＤＲ残基、及び、いくつかのＦＲ残基が、ヒト抗体内の類似の部位に由来する残基により置換されている、マウス抗体である。

【０１４３】

ヒト化抗体の製造で用いるヒトＶＨ及びＶＬドメインの選択は、免疫原性を低減するため

に非常に重要である。いわゆる「ベストフィット」法に従うと、マウス抗体のＶドメインの配列を、既知のヒトドメイン配列のライブラリー全体に対してスクリーニングする。マウスの配列に最も近いヒト配列が次いで、ヒト化抗体用のヒトＦＲとして認められる（Ｓｉｍｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５１：２２９６（１９９３）ａｎｄ　Ｃｈｏｔｈｉａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９６：９０１（１９８７））。

【０１４４】

更に、抗原に対する高い特異性及び親和性、並びに、他の好ましい生物学的性質を保持したまま、抗体をヒト化することが重要である。この目標を達成するために、親及びヒト化配列の３次元モデルを使用する、親配列及び様々な概念的なヒト化生成物の分析プロセスにより、ヒト化抗体を調製することができる。３次元免疫グロブリンモデルは一般的に入手可能であり、当業者によく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列の、可能性のある３次元立体構造を図示して表示することができるコンピュータプログラムが、利用可能である。これらの表示を観察することで、候補免疫グロブリン配列の機能化における残基が取り得る役割の分析、即ち候補免疫グロブリンの、その抗原との結合能力に影響を及ぼす残基の分析が可能になる。このようにして、ＦＲ残基を、レシピエント及びインポート配列から選択して組み合わせることができ、所望の抗体特性、例えば、標的抗原に対する親和性の増大が達成される。

【０１４５】

通常、ヒト、ヒト化、又はキメラ抗ＣＤ４０抗体のアミノ酸配列変異体は、元の抗体の軽鎖又は重鎖に存在する配列と、少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％の同一性パーセントを有するアミノ酸配列を含有する。

【０１４６】

いくつかの実施形態において、ヒト化重鎖免疫グロブリン座位、及び、ヒト化κ鎖免疫グロブリン座位を有するマウス（例えば、ＲｅｎＭａｂ™マウス）を使用して、抗体を生成する。重鎖免疫グロブリン座位とは、抗体の重鎖に対する遺伝子を含有する、染色体上の領域である。座位は、例えば、ヒトＩＧＨＶ（可変）遺伝子、ヒトＩＧＨＤ（多様性）遺伝子、ヒトＩＧＨＪ（結合）遺伝子、及び、マウス重鎖定常ドメイン遺伝子を含むことができる。κ鎖免疫グロブリン座位とは、抗体の軽鎖（κ鎖）をコードする遺伝子を含有する、染色体上の領域である。κ鎖免疫グロブリン座位としては、例えば、ヒトＩＧＫＶ（可変）遺伝子、ヒトＩＧＫＪ（結合）遺伝子、及び、マウス軽鎖定常ドメイン遺伝子を挙げることができる。ＲｅｎＭａｂ™マウスに関する詳細な説明は、ＰＣＴ／ＣＮ２０２０／０７５６９８に見出すことができ、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。

【０１４７】

いくつかの実施形態において、ヒト化重鎖免疫グロブリン座位、及び、ヒト化κ鎖免疫グロブリン座位を有するマウス（例えば、ＲｅｎＬｉｔｅ™マウス）を使用して、抗体を生成する。重鎖免疫グロブリン座位とは、抗体の重鎖に対する遺伝子を含有する、染色体上の領域である。座位は、例えば、ヒトＩＧＨＶ（可変）遺伝子、ヒトＩＧＨＤ（多様性）遺伝子、ヒトＩＧＨＪ（結合）遺伝子、及び、マウス重鎖定常ドメイン遺伝子を含むことができる。κ鎖免疫グロブリン座位とは、共通の軽鎖をコードする遺伝子を含有する、染色体上の領域である。κ鎖免疫グロブリン座位としては、例えば、ヒトＩＧＫＶ（可変）遺伝子、ヒトＩＧＫＪ（結合）遺伝子、及び、マウス軽鎖定常ドメイン遺伝子を挙げることができる。ＲｅｎＬｉｔｅ™マウスに関する詳細な説明は、ＰＣＴ／ＣＮ２０２１／０９７６５２に見出すことができ、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。

【０１４８】

マウスにより生成される抗体は、完全ヒトＶＨ、完全ヒトＶＬ、及び、マウス定常領域を有する。いくつかの実施形態において、ヒトＶＨ及びヒトＶＬは、ヒトＩｇＧ定常領域（

例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４）に結合する。いくつかの実施形態において、定常領域は、配列番号５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、又は５９と、少なくとも８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一である配列を有する。

【０１４９】

元の配列に対する同一性又は相同性とは、通常、配列をアラインして、必要な場合、ギャップを導入し、最大のパーセント配列同一性を達成した後に、配列同一性の一部としての保存的置換を考慮しない、ヒト、ヒト化、又はキメラ抗ＣＤ４０抗体又は断片内に存在する配列と同一である候補配列内に存在する、アミノ酸残基の割合である。

【０１５０】

抗ＣＤ４０抗体又は抗原結合断片に、更なる修飾を加えることができる。例えば、システイン残基をＦｃ領域に導入して、この領域内での、鎖間ジスルフィド結合形成を可能にすることができる。このように生成されたホモ二量体抗体は、なんらかの、増大したインビトロ及び／又はインビボ半減期を有し得る。例えば、Ｗｏｌｆｆ ｅｔ ａｌ．（Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５３：２５６０～２５６５，１９９３）に記載されている、ヘテロ二官能性架橋剤を用いてもまた、インビトロ及び／又はインビボ半減期が増大したホモ二量体抗体を調製することができる。或いは、二重Ｆｃ領域を有する抗体を組み替えることができる（例えば、Ｓｔｅｖｅｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉ－Ｃａｎｃｅｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｓｉｇｎ ３：２１９～２３０，１９８９を参照されたい）。

【０１５１】

いくつかの実施形態において、抗ＣＤ４０抗体又はその抗原結合断片に、共有結合修飾を加えることができる。これらの共有結合修飾は、化学若しくは酵素合成により、又は、酵素又は化学切断により加えることができる。抗体又は抗体断片の、他の種類の共有結合修飾を、抗体又は断片の標的とされたアミノ酸残基を、選択された側鎖、又は、Ｎ若しくはＣ末端残基と反応可能な、有機誘導体化剤と反応させることにより、分子に導入する。

【０１５２】

いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域に（直接又は間接的に）結合したフコースを欠く炭水化物構造を有する抗体変異体を提供する。例えば、そのような抗体におけるフコースの量は、１％～８０％、１％～６５％、５％～６５％、又は２０％～４０％であってもよい。フコースの量は、例えば、ＷＯ ２００８／０７７５４６に記載のＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析によって測定される、Ａｓｎ２９７に結合した全ての糖構造（例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造）の合計に対する、Ａｓｎ２９７での糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって決定される。Ａｓｎ２９７は、Ｆｃ領域内の位置２９７（Ｆｃ領域残基のＥｕの付番、又は、Ｋａｂａｔの付番における位置３１４）に位置するアスパラギン残基を指し、しかし、Ａｓｎ２９７はまた、抗体における微小な配列変動に起因して、位置２９７から約±３アミノ酸の上流又は下流、即ち、位置２９４～位置３００の間に位置してもよい。そのようなフコシル化変異体は、改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。いくつかの実施形態において、グリカンの不均質性を低減するために、抗体のＦｃ領域を更に組み換え、位置２９７におけるアスパラギンをアラニンで置換える（Ｎ２９７Ａ）。

【０１５３】

いくつかの実施形態において、Ｆａｂ－アーム交換を避けることで産生効率を促進するために、抗体のＦｃ領域を更に組み換え、ＩｇＧ４の位置２２８（ＥＵの付番）におけるセリンを、プロリンで置換える（Ｓ２２８Ｐ）。Ｓ２２８変異に関する詳細の説明は、例えば、Ｓｉｌｖａ ｅｔ ａｌ．「Ｔｈｅ Ｓ２２８Ｐ ｍｕｔａｔｉｏｎ ｐｒｅｖｅｎｔｓ ｉｎ ｖｉｖｏ ａｎｄ ｉｎ ｖｉｔｒｏ ＩｇＧ４ Ｆａｂ－ａｒｍ ｅｘｃｈａｎｇｅ ａｓ ｄｅｍｏｎｓｔｒａｔｅｄ ｕｓｉｎｇ ａ ｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎ ｏｆ ｎｏｖｅｌ ｑｕａｎｔｉｔａｔｉｖｅ ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙｓ ａｎｄ ｐｈｙｓｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｍａｔｒｉｘ ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ．」Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２９０．９（２０１５）：５４６２

～５４６９で説明されており、その全体が参照により組み込まれている。
【０１５４】
組み換えベクター
本開示はまた、本明細書で開示される単離ポリヌクレオチド（例えば、本明細書で開示されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド）を含む組み換えベクター（例えば、発現ベクター）、組み換えベクターが導入された宿主細胞（即ち、当該宿主細胞が、ポリヌクレオチド、及び／又は、ポリヌクレオチドを含むベクターを含有するように）、並びに、組み換え技術による、組み換え抗体ポリペプチド又はその断片の産生を提供する。
【０１５５】
本明細書で使用される場合、「ベクター」とは、ベクターが宿主細胞に導入されたときに、宿主細胞に、対象となる１つ以上のポリヌクレオチドを送達することができる、任意のコンストラクトである。「発現ベクター」は、対象となる１つ以上のポリヌクレオチドを、発現ベクターが導入されている宿主細胞内で、コードされたポリペプチドとして送達し、発現することが可能である。したがって、発現ベクター内では、対象となるポリヌクレオチドが、発現ベクターと共に導入された宿主細胞内で翻訳されるように、対象となるポリヌクレオチドの組み込み部位において、又はこの付近で、又はこれに隣接して、ベクター内、又は宿主細胞のゲノムのいずれかにて、プロモーター、エンハンサー、及び／又はポリＡテールなどの制御エレメントと作動可能に結合されることにより、ベクター内での発現のために、対象となるポリヌクレオチドが配置される。
【０１５６】
当該技術分野において周知の方法、例えば、電気穿孔法、化学トランスフェクション（例えば、ＤＥＡＥ－デキストラン）、形質転換、トランスフェクション、並びに、感染及び／又は形質導入（例えば、組み換えウイルスによる）により、ベクターを宿主細胞に導入することができる。したがって、ベクターの非限定例としては、ウイルスベクター（組み換えウイルスを生成するために使用可能なもの）、ネイキッドＤＮＡ又はＲＮＡ、プラスミド、コスミド、ファージベクター、及び、カチオン性縮合剤と会合したＤＮＡ又はＲＮＡ発現ベクターが挙げられる。
【０１５７】
いくつかの実施態様において、本明細書で開示されるポリヌクレオチド（例えば、本明細書で開示されるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド）を、ウイルス発現系（例えば、痘疹若しくは他のポックスウイルス、レトロウイルス、又はアデノウイルス）を用いて導入し、これには、非病原性（欠損型）の複製可能なウイルスの使用を伴う場合があるか、又は、複製不能ウイルスを用いる場合がある。後者の場合、ウイルス増殖は一般的に、補完的なウイルスパッケージング細胞においてのみ生じる。例えば、Ｆｉｓｈｅｒ－Ｈｏｃｈ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：３１７～３２１、Ｆｌｅｘｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ Ｓｃｉ．５６９：８６～１０３、Ｆｌｅｘｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９０，Ｖａｃｃｉｎｅ，８：１７～２１、米国特許第４，６０３，１１２号、同第４，７６９，３３０号、及び同第５，０１７，４８７号、ＷＯ ８９／０１９７３、米国特許第４，７７７，１２７号、ＧＢ ２，２００，６５１、ＥＰ ０，３４５，２４２、ＷＯ ９１／０２８０５、Ｂｅｒｋｎｅｒ－Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ，６：６１６～６２７，１９８８；Ｒｏｓｅｎｆｅｌｄ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２５２：４３１～４３４、Ｋｏｌｌｓ ｅｔ ａｌ．，１９９４，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９１：２１５～２１９；Ｋａｓｓ－Ｅｉｓｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：１１４９８～１１５０２；Ｇｕｚｍａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｏｎ，８８：２８３８～２８４８；ａｎｄ Ｇｕｚｍａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｃｉｒ．Ｒｅｓ．，７３：１２０２～１２０７において、好適なシステムが開示されている。ＤＮＡを、このような発現系に組み込む技術は、当業者に周知である。ＤＮＡはまた、例えば、Ｕｌｍｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２５９：１７４５～１７４９，ａｎｄ Ｃｏｈｅｎ，１

９９３，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２５９：１６９１～１６９２に記載されているように、「ネイキッド」であってもよい。ＤＮＡを、細胞に効率的に輸送される生分解性ビーズにコーティングすることにより、ネイキッドＤＮＡの取り込みを増大させることができる。

【０１５８】

発現のために、本明細書で開示される、抗体をコードする、又は、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むＤＮＡインサートを、いくつかの例を挙げると、ファージλＰＬプロモーター、大腸菌ｌａｃ、ｔｒｐ及びｔａｃプロモーター、ＳＶ４０初期及び後期プロモーター、並びに、レトロウイルス型ＬＴＲのプロモーターなどの適切なプロモーター（例えば、異種プロモーター）に作動可能に連結することができる。他の好適なプロモーターが、当業者には既知である。発現コンストラクトは更に、転写開始及び終了のための部位、並びに、転写領域内に、翻訳のためのリボソーム結合部位を含有することができる。コンストラクトにより発現した成熟転写物のコード部分は、先頭に翻訳開始、及び翻訳されるポリペプチドの末端部におおよそ配置される終止コドン（ＵＡＡ、ＵＧＡ又はＵＡＧ）を含むことができる。

【０１５９】

示したように、発現ベクターは、少なくとも１つの選択可能なマーカーを含むことができる。このようなマーカーとしては、真核細胞培養のためのジヒドロ葉酸レダクターゼ、又はネオマイシン耐性、並びに大腸菌及び他の細菌培養のためのテトラサイクリン又はアンピシリン耐性遺伝子が挙げられる。適切な宿主の代表例としては、大腸菌、ストレプトミセス、及びネズミチフス菌細胞などの細菌細胞、酵母細胞などの真菌細胞、ショウジョウバエＳ２及びハスモンヨトウＳｆ９細胞などの昆虫細胞、ＣＨＯ、ＣＯＳ、Ｂｏｗｅｓ黒色腫、及びＨＫ　２９３細胞などの動物細胞、並びに、植物細胞が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書に記載される宿主細胞に対する、適切な培養培地及び条件は、当該技術分野において周知である。

【０１６０】

細菌で用いるための非限定的なベクターとしては、Ｑｉａｇｅｎから入手可能なｐＱＥ７０、ｐＱＥ６０及びｐＱＥ－９、Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅから入手可能なｐＢＳベクター、Ｐｈａｇｅｓｃｒｉｐｔベクター、Ｂｌｕｅｓｃｒｉｐｔベクター、ｐＮＨ８Ａ、ｐＮＨ１６ａ、ｐＮＨ１８Ａ、ｐＮＨ４６Ａ、及び、Ｐｈａｒｍａｃｉａから入手可能なｐｔｒｃ９９ａ、ｐＫＫ２２３－３、ｐＫＫ２３３－３、ｐＤＲ５４０、ｐＲＩＴ５が挙げられる。非限定的な真核細胞ベクターとしては、Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅから入手可能なｐＷＬＮＥＯ、ｐＳＶ２ＣＡＴ、ｐＯＧ４４、ｐＸＴ１、及びｐＳＧ、並びに、Ｐｈａｒｍａｃｉａから入手可能なｐＳＶＫ３、ｐＢＰＶ、ｐＭＳＧ、及びｐＳＶＬが挙げられる。他の好適なベクターは、当業者には容易に明らかであろう。

【０１６１】

使用に好適な、非限定的な細菌プロモーターとしては、大腸菌ｌａｃＩ及びｌａｃＺプロモーター、Ｔ３及びＴ７プロモーター、ｇｐｔプロモーター、λＰＲ及びＰＬプロモーター、並びにｔｒｐプロモーターが挙げられる。好適な真核細胞プロモーターとしては、ＣＭＶ前初期プロモーター、ＨＳＶチミジンキナーゼプロモーター、初期及び後期ＳＶ４０プロモーター、ラウス肉腫ウイルス（ＲＳＶ）のものなどの、レトロウイルス型ＬＴＲのプロモーター、及び、マウスメタロチオネイン－Ｉプロモーターなどのメタロチオネインプロモーターが挙げられる。

【０１６２】

酵母菌サッカロマイセス・セレヴィシエにおいて、アルファ因子、アルコールオキシダーゼ、及びＰＧＨなどの、体質性又は誘導性プロモーターを含有する、いくつかのベクターを使用してもよい。レビューに関してはＡｕｓｕｂｅｌ　ｅｔ　ａｌ．（１９８９）　Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ，ａｎｄ　Ｇｒａｎｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．，１５３：５１６～５４４（１９９７）を参照されたい。

【０１６３】
コンストラクトの宿主細胞への導入は、リン酸カルシウムトランスフェクション、ＤＥＡＥ－デキストラン媒介性トランスフェクション、カチオン性脂質媒介性トランスフェクション、電気穿孔法、形質導入、感染、又は他の方法により行うことができる。このような方法は、Ｄａｖｉｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂａｓｉｃ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ（１９８６）などの、多くの標準的な実験室用マニュアルに記載されており、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。
【０１６４】
より多くの真核生物による、本開示の抗体をコードするＤＮＡの転写は、エンハンサー配列をベクターに挿入することで増大させることができる。エンハンサーは、通常、所与の宿主細胞型において、プロモーターの転写活性を増大させる役割を果たす、約１０～３００ｂｐの、ＤＮＡのｃｉｓ作用型エレメントである。エンハンサーの例としては、塩基対１００～２７０において、複製起点の後ろ側に位置する、ＳＶ４０エンハンサー、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後ろ側のポリオーマエンハンサー、及び、アデノウィルスエンハンサーが挙げられる。
【０１６５】
翻訳されたタンパク質を、小胞体の内腔、ペリプラズム空間、又は、細胞外環境に分泌させるために、適切な分泌シグナルを、発現したポリペプチドに組み込むことができる。シグナルは、ポリペプチドに対して内因性であることができる、又は、シグナルは、異種シグナルであることができる。
【０１６６】
ポリペプチド（例えば、抗体）は、融合タンパク質（例えば、ＧＳＴ融合物）などの修飾形態で、又は、ヒスチジンタグにより発現することができ、分泌シグナルだけでなく、追加の異種機能領域もまた含むことができる。例えば、追加のアミノ酸、特に、荷電アミノ酸の領域を、ポリペプチドのＮ末端に付加して、精製中に、又は、その後の取り扱い及び貯蔵の間に、宿主細胞での安定性及び耐久力を改善することができる。また、ペプチド部分をポリペプチドに付加して、精製を促進することができる。このような領域は、ポリペプチドの最終調製前に取り除くことができる。ペプチド部分をポリペプチドに付加して、とりわけ、分泌又は排泄を生じさせ、安定性を改善し、精製を促進することは、周知かつ日常的な当該技術である。
【０１６７】
治療方法
本開示の抗体又はその抗原結合断片を、様々な治療目的のために使用することができる。
【０１６８】
一態様では、本開示は、対象における癌の治療方法、対象における腫瘍体積の増加速度を、経時的に下げる方法、転移が生じるリスクを軽減する方法、又は、対象において更なる転移が生じるリスクを軽減する方法を提供する。いくつかの実施形態において、治療によって、癌の進行を中断させる、遅くする、阻止する、又は阻害することができる。いくつかの実施形態において、治療によって、対象における癌の１つ以上の症状の数、重症度、及び／又は持続期間の軽減をもたらすことができる。
【０１６９】
一態様では、本開示は、治療に有効な量の、本明細書で開示される抗体又はその抗原結合断片を、必要とする対象（例えば、癌、例えば、乳癌（例えば、トリプルネガティブ乳癌）、カルチノイド癌、子宮頸癌、子宮体癌、神経膠腫、頭頸癌、肝癌、肺癌、小細胞肺癌、リンパ腫、黒色腫、卵巣癌、膵癌、前立腺癌、腎癌、結腸直腸癌、胃癌、精巣癌、甲状腺癌、膀胱癌、尿道癌、又は悪性血液疾患を有する、又は、これを有すると同定若しくは診断された対象）に投与することを含む方法に関する。いくつかの実施形態において、癌は、切除不能な黒色腫若しくは転移性黒色腫、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、小細胞肺癌（ＳＣＬＣ）、膀胱癌、又は、転移性ホルモン不応性前立腺癌である。いくつかの実施形態において、対象は、充実性腫瘍を患う。いくつかの実施形態において、癌は、頭頸部の

扁平上皮細胞癌（ＳＣＣＨＮ）、腎細胞癌（ＲＣＣ）、トリプルネガティブ乳癌（ＴＮＢＣ）、又は結腸癌である。いくつかの実施形態において、対象はホジキンリンパ腫を患う。いくつかの実施形態において、対象は、トリプルネガティブ乳癌（ＴＮＢＣ）、胃癌、尿路上皮癌、メルケル細胞癌、又は頭頸癌を患う。いくつかの実施形態において、癌は、黒色腫、膵臓癌、中皮腫、血液悪性腫瘍、特に、非ホジキンリンパ腫、リンパ腫、慢性リンパ性白血病、又は進行性充実性腫瘍である。

【０１７０】

いくつかの実施形態において、本明細書で開示される組成物及び方法を、癌のリスクを有する患者の治療に用いることができる。癌を患う患者は、当該技術分野において周知の様々な方法で同定することができる。

【０１７１】

一態様では、本開示は、例えば、（例えば、ＣＤ４０とＣＤ４０Ｌの相互作用を遮断することによる）ＡＰＣ細胞の機能的性質に影響を及ぼすことによる、異常な、又は望ましくない免疫応答、例えば、自己免疫疾患と関連する障害の治療、予防、又は、この発症リスクの軽減方法を提供する。これらの自己免疫疾患としては、円形脱毛症、狼瘡、強直性脊椎炎、メニエール病、抗リン脂質症候群、混合性結合織疾患、自己免疫性アジソン病、多発性硬化症、自己免疫性溶血性貧血、重症筋無力症、自己免疫性肝炎、尋常天疱瘡、ベーチェット病、悪性貧血、水疱性類天疱瘡、結節性多発性関節炎、心筋症、多発軟骨炎、腹腔スプルー皮膚炎、多腺性症候群、慢性疲労症候群（ＣＦＩＤＳ）、リウマチ性多発筋痛、慢性炎症性脱髄、多発性筋炎及び皮膚筋炎、慢性炎症性多発神経障害、原発性無ガンマグロブリン血症、チャーグ・ストラウス症候群、原発性胆汁性肝硬変、瘢痕性類天疱瘡、乾癬、クレスト症候群、レイノー現象、寒冷凝集素疾患、ライター症候群、クローン病、リウマチ熱、円板状ループス、関節リウマチ、寒冷グロブリン血症サルコイドーシス、線維筋痛、強皮症、グレーブス病、シェーグレン症候群、ギラン・バレー、スティッフマン症候群、橋本甲状腺炎、高安動脈炎、特発性肺胞線維症、側頭動脈炎／巨細胞動脈炎、特発性血小板減少性紫斑病（ＩＴＰ）、潰瘍性大腸炎、ＩｇＡ腎症、ぶどう膜炎、糖尿病（例えば、Ｉ型）、血管炎、扁平苔癬、及び白斑が挙げられるが、これらに限定されない。抗ＣＤ４０抗体又はその抗原結合断片をまた、対象に投与して、細胞、組織、又は臓器移植と関連する異常な、又は望ましくない免疫応答と関連する障害、例えば、腎臓、肝臓、及び心臓移植、例えば、移植片対宿主拒絶反応（ＧＶＨＤ）を治療、予防する、又は、それが進行するリスクを軽減することができる、或いは同種移植片拒絶を予防することができる。いくつかの実施形態において、対象は、皮膚疾患、肝疾患、（例えば、肝硬変症）、汗腺炎、実験的自己免疫脳脊髄炎を患う。いくつかの実施形態において、対象は、腎疾患、狼瘡、シェーグレン症候群、潰瘍性大腸炎、乾癬、アレルギー性皮膚炎、アトピー性皮膚炎、化膿性汗腺炎、免疫性血小板減少症（ＩＴＰ）、又は、他の炎症性関節炎を有する。いくつかの実施形態において、対象は、多発性硬化症又は重症筋無力症を患う。いくつかの実施形態において、対象は、クローン病、潰瘍性大腸炎、又は１型糖尿病を患う。いくつかの実施形態において、対象は、自己免疫甲状腺疾患、グレーブス病、多発性硬化症、乾癬、炎症性腸疾患（例えば、クローン病（ＣＤ）及び潰瘍性大腸炎）、関節リウマチ、シェーグレン症候群、自己免疫性腎炎、又は全身性エリテマトーデスを患う。ＣＤ４０及び様々な自己免疫疾患の関係は、例えば、Ｐｅｔｅｒｓ ｅｔ ａｌ．，「ＣＤ４０ ａｎｄ ａｕｔｏｉｍｍｕｎｉｔｙ：ｔｈｅ ｄａｒｋ ｓｉｄｅ ｏｆ ａ ｇｒｅａｔ ａｃｔｉｖａｔｏｒ．」Ｓｅｍｉｎａｒｓ ｉｎ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ．Ｖｏｌ．２１．Ｎｏ．５．Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，２００９，ａｎｄ Ｋａｒｎｅｌｌ，Ｊｏｄｉ Ｌ．，ｅｔ ａｌ．「Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｔｈｅ ＣＤ４０－ＣＤ４０Ｌ ｐａｔｈｗａｙ ｉｎ ａｕｔｏｉｍｍｕｎｅ ｄｉｓｅａｓｅｓ：Ｈｕｍｏｒａｌ ｉｍｍｕｎｉｔｙ ａｎｄ ｂｅｙｏｎｄ．」Ａｄｖａｎｃｅｄ ｄｒｕｇ ｄｅｌｉｖｅｒｙ ｒｅｖｉｅｗｓ（２０１８），Ａｌｂａｃｈ，ｅｔ ａｌ．「Ｓａｆｅｔｙ，ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ ａｎｄ ｐｈａｒｍａｃｏｄｙｎａｍｉｃｓ ｏｆ ｓｉｎｇｌｅ ｒｉｓｉｎｇ ｄｏｓｅｓ ｏｆ ＢＩ ６５５０６４，ａｎ ａｎｔａｇｏｎｉ

ｓｔｉｃ ａｎｔｉ－ＣＤ４０ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｉｎ ｈｅａｌｔｈｙ ｓｕｂｊｅｃｔｓ：ａ ｐｏｔｅｎｔｉａｌ ｎｏｖｅｌ ｔｒｅａｔｍｅｎｔ ｆｏｒ ａｕｔｏｉｍｍｕｎｅ ｄｉｓｅａｓｅｓ．」Ｅｕｒｏｐｅａｎ ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｃｌｉｎｉｃａｌ ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ７４．２（２０１８）：１６１～１６９に記載されており、これらのそれぞれは、その全体が、本明細書に参照により組み込まれている。

【０１７２】

本明細書で使用される場合、「有効量」とは、疾患、例えば、自己免疫疾患又は癌の進行を中断する、遅らせる、阻止する、又は阻害することを含む、有益な、又は所望の結果をもたらすのに十分な量又は用量を意味する。有効量は、例えば、抗体、抗原結合断片、抗体をコードするポリヌクレオチド、そのポリヌクレオチドを含むベクター、及び／又はその組成物が投与される対象の年齢及び体重、症状の重症度、並びに投与経路に応じて変化し、故に、投与は、個別に決定することができる。

【０１７３】

有効量は、１回以上の投与で投与することができる。例えば、有効量の抗体又は抗原結合断片とは、患者における自己免疫疾患若しくは癌の進行を緩和する、停止する、安定させる、逆転させる、阻害する、遅くする、及び／若しくは遅延させるのに十分な量、又は、インビトロで、細胞（例えば、生検細胞、本明細書に記載される癌細胞のいずれか、若しくは細胞株（例えば、癌細胞株））の増殖を緩和する、停止する、安定させる、逆転させる、遅くする、及び／若しくは遅延させるのに十分な量である。当該技術分野において理解されるように、有効量の抗体又は抗原結合断片は、とりわけ、患者の病歴、加えて、用いた抗体の種類（及び／又は用量）などの、他の因子に応じて変化する場合がある。

【０１７４】

本明細書で開示される抗体、抗体をコードするポリヌクレオチド、及び／又は組成物を投与するための有効量及びスケジュールは、実験によって決定することができ、このような決定を行うことは、当業者の範囲内である。当業者は、投与される必要がある用量は、例えば、本明細書で開示される抗体、抗体をコードするポリヌクレオチド、及び／若しくは組成物を受ける哺乳動物、投与経路、抗体の具体的な種類、抗体をコードするポリヌクレオチド、抗原結合断片、並びに／又は、使用される、本明細書で開示される組成物、及び、哺乳動物に投与される他の薬剤に応じて変化することを理解するであろう。抗体又は抗原結合断片に対して適切な用量を選択する手引きは、抗体及び抗原結合断片の治療のための使用に関する文献、例えば、Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ｆｅｒｒｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，Ｎｏｇｅｓ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｐａｒｋ Ｒｉｄｇｅ，Ｎ．Ｊ．，１９８５，ｃｈ．２２ ａｎｄ ｐｐ．３０３～３５７、Ｓｍｉｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ｈａｂｅｒ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９７７，ｐｐ．３６５～３８９に見出すことができる。

【０１７５】

有効量の抗体の、典型的な日用量は、０．０１ｍｇ／ｋｇ～１００ｍｇ／ｋｇである。いくつかの実施形態において、用量は、１００ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、９ｍｇ／ｋｇ、８ｍｇ／ｋｇ、７ｍｇ／ｋｇ、６ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、４ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／ｋｇ、又は０．１ｍｇ／ｋｇ未満であることができる。いくつかの実施形態において、用量は、１０ｍｇ／ｋｇ、９ｍｇ／ｋｇ、８ｍｇ／ｋｇ、７ｍｇ／ｋｇ、６ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、４ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／ｋｇ、０．１ｍｇ／ｋｇ、０．０５ｍｇ／ｋｇ、又は０．０１ｍｇ／ｋｇ超であることができる。いくつかの実施形態において、用量は、約１０ｍｇ／ｋｇ、９ｍｇ／ｋｇ、８ｍｇ／ｋｇ、７ｍｇ／ｋｇ、６ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、４ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、０．９ｍｇ／ｋｇ、０．８ｍｇ／ｋｇ、０．７ｍｇ／ｋｇ、０．６ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／ｋ

ｇ、０．４ｍｇ／ｋｇ、０．３ｍｇ／ｋｇ、０．２ｍｇ／ｋｇ、又は０．１ｍｇ／ｋｇである。

【０１７６】

本明細書に記載される方法のいずれかでは、少なくとも１つの抗体、その抗原結合断片、又は医薬組成物（例えば、本明細書に記載される抗体、抗原結合断片、又は医薬組成物のいずれか）、並びに、任意選択的に、少なくとも１つの追加の治療剤を、対象に、少なくとも週に１回（例えば、週に１回、週に２回、週に３回、週に４回、１日１回、１日２回、又は１日３回）投与することができる。いくつかの実施形態において、少なくとも２つの異なる抗体及び／又は抗原結合断片は、同じ組成物（例えば、液体組成物）で投与される。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの抗体又は抗原結合断片、及び、少なくとも１つの追加の治療剤は、同じ組成物（例えば、液体組成物）で投与される。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの抗体又は抗原結合断片、及び、少なくとも１つの追加の治療剤は、２つの異なる組成物（例えば、少なくとも１つの抗体又は抗原結合断片を含有する液体組成物、及び、少なくとも１つの追加の治療剤を含有する固体口腔用組成物）で投与される。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの追加の治療剤は、丸薬、錠剤、又はカプセルとして投与される。いくつかの実施形態において、少なくとも１つの追加の治療剤は、徐放性経口製剤で投与される。

【０１７７】

いくつかの実施形態において、１つ以上の追加の治療剤を、少なくとも１つの抗体、抗原結合抗体断片、又は医薬組成物（例えば、本明細書に記載される抗体、抗原結合抗体断片、又は医薬組成物のいずれか）を投与する前、又は、投与した後に、対象に投与することができる。いくつかの実施形態において、１つ以上の追加の治療剤、及び、少なくとも１つの抗体、抗原結合抗体断片、又は医薬組成物（例えば、本明細書に記載される抗体、抗原結合抗体断片、又は医薬組成物のいずれか）は、対象内で、１つ以上の追加の治療剤の生物活性期間と、少なくとも１つの抗体又は抗原結合断片（例えば、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片のいずれか）の生物活性期間に、重なりが生じるように、対象に投与される。

【０１７８】

いくつかの実施形態において、長期間にわたり（例えば、少なくとも１週間、２週間、３週間、１ヶ月、２ヶ月、３ヶ月、４ヶ月、５ヶ月、６ヶ月、７ヶ月、８ヶ月、９ヶ月、１０ヶ月、１１ヶ月、１２ヶ月、１年、２年、３年、４年、又は５年の期間にわたり）、少なくとも１つの抗体、抗原結合抗体断片、又は医薬組成物（例えば、本明細書に記載される抗体、抗原結合抗体断片、又は医薬組成物のいずれか）を、対象に投与することができる。熟練した医療専門家は、治療の有効性を診断する、又は追跡する（例えば、癌の少なくとも１つの症状を観察する）ために、本明細書に記載の方法のいずれかを用いて治療期間の長さを決定することができる。本明細書に記載されるように、熟練した医療専門家はまた、対象に投与される抗体若しくは抗原結合抗体断片（及び／又は、１つ以上の追加の治療剤）の同一性及び数を変化させる（例えば、増加又は減少させる）ことができ、また、（例えば、本明細書に記載の、及び、当該技術分野において周知の方法のいずれかを用いる）治療の有効性の評価に基づき、対象への、少なくとも１つの抗体若しくは抗原結合抗体断片（及び／又は、１つ以上の追加の治療剤）の投与用量又は頻度を調整する（例えば、増加又は減少させる）ことができる。

【０１７９】

いくつかの実施形態において、１つ以上の追加の治療剤を、対象に投与することができる。追加の治療剤は、Ｂ－Ｒａｆの阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、ＭＥＫの阻害剤、ＥＲＫの阻害剤、Ｋ－Ｒａｓの阻害剤、ｃ－Ｍｅｔの阻害剤、未分化リンパ腫キナーゼ（ＡＬＫ）の阻害剤、ホスファチジルイノシトール　３－キナーゼ（ＰＩ３Ｋ）の阻害剤、Ａｋｔの阻害剤、ｍＴＯＲの阻害剤、二重ＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ阻害剤、ブルトン型チロシンキナーゼ（ＢＴＫ）の阻害剤、並びに、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ１（ＩＤＨ１）及び／又はイソクエン酸デヒドロゲナーゼ２（ＩＤＨ２）の阻害剤からなる群から選択される１つ以

上の阻害剤を含むことができる。いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、インドールアミン　２，３－ジオキシゲナーゼ－１（ＩＤＯ１）の阻害剤（例えば、エパカドスタット）である。

【０１８０】

いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、ＨＥＲ３の阻害剤、ＬＳＤ１の阻害剤、ＭＤＭ２の阻害剤、ＢＣＬ２の阻害剤、ＣＨＫ１の阻害剤、活性化ヘッジホッグシグナル伝達経路の阻害剤、及び、エストロゲン受容体を選択的に分解する薬剤からなる群から選択される１つ以上の阻害剤を含むことができる。

【０１８１】

いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、トラベクテジン、ｎａｂ－パクリタキセル、トレバナニブ、パゾパニブ、セディラニブ、パルボシクリブ、エベロリムス、フルオロピリミジン、ＩＦＬ、レゴラフェニブ、レオリシン、アリムタ、ジカイダ、スーテント、テムシロリムス、アキシチニブ、エベロリムス、ソラフェニブ、ヴォトリエント、パゾパニブ、ＩＭＡ－９０１、ＡＧＳ－００３、カボザンチニブ、ビンフルニン、Ｈｓｐ９０阻害剤、Ａｄ－ＧＭ－ＣＳＦ、テモゾロミド、ＩＬ－２、ＩＦＮａ、ビンブラスチン、サロミド、ダカルバジン、シクロホスファミド、レナリドマイド、アザシチジン、レナリドマイド、ボルテゾミブ、アムルビシン、カルフィルゾミブ、プララトレキサート、及びエンザスタウリンからなる群から選択される１つ以上の治療剤を含むことができる。

【０１８２】

いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、アジュバント、ＴＬＲアゴニスト、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）、ＩＬ－１、ＨＭＧＢ１、ＩＬ－１０アンタゴニスト、ＩＬ－４アンタゴニスト、ＩＬ－１３アンタゴニスト、ＩＬ－１７アンタゴニスト、ＨＶＥＭアンタゴニスト、ＩＣＯＳアゴニスト、ＣＸ３ＣＬ１を標的とする治療、ＣＸＣＬ９を標的とする治療、ＣＸＣＬ１０を標的とする治療、ＣＣＬ５を標的とする治療、ＬＦＡ－１アゴニスト、ＩＣＡＭ１アゴニスト、及びセレクチンアゴニストからなる群から選択される１つ以上の治療剤を含むことができる。

【０１８３】

いくつかの実施形態において、カルボプラチン、ｎａｂ－パクリタキセル、パクリタキセル、シスプラチン、ペメトレキセド、ゲムシタビン、ＦＯＬＦＯＸ、又はＦＯＬＦＩＲＩが、対象に投与される。

【０１８４】

いくつかの実施形態において、追加の治療剤は、抗ＯＸ４０抗体、抗ＰＤ－１抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体、抗ＰＤ－Ｌ２抗体、抗ＬＡＧ－３抗体、抗ＴＩＧＩＴ抗体、抗ＢＴＬＡ抗体、抗ＣＴＬＡ－４抗体、抗ＩＣＯＳ抗体、抗ＣＤ２７抗体、抗ＯＸ４０抗体、抗４－１ＢＢ抗体、及び／又は抗ＧＩＴＲ抗体である。いくつかの実施形態において、本明細書に記載される抗ＣＤ４０抗体又はその抗原結合断片を、抗ＰＤ－１抗体及び抗ＴＩＧＩＴ抗体と共に投与することができる。

【０１８５】

医薬組成物及び投与経路

本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片のいずれかの、１つ以上（例えば、１、２、３、又は４つ）が、任意の組み合わせで、医薬組成物に存在することができる。本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片のいずれかの、２つ以上（例えば、２、３、又は４つ）が、任意の組み合わせで、医薬組成物に存在することができる。医薬組成物は、当該技術分野において周知の任意の様式で、製剤化することができる。

【０１８６】

医薬組成物は、その意図する投与経路（例えば、静脈内、動脈内、筋肉内、皮内、皮下、又は腹腔内）と適合性を有するように、製剤化される。組成物は、無菌希釈剤（例えば、無菌水若しくは生理食塩水）、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶剤、抗菌若しくは抗カビ剤（例えば、ベンジルアルコール若しくはメチルパラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサ

ールなど）、酸化防止剤（アスコルビン酸若しくは亜硫酸水素ナトリウムなど）、キレート剤（エチレンジアミン四酢酸など）、緩衝剤（アセテート、シトレート、若しくはホスフェートなど）、及び、等張剤（例えば、糖類（例えば、デキストロース）、ポリアルコール（例えば、マンニトール若しくはソルビトール）、若しくは塩類（例えば、塩化ナトリウム））、又はこれらの任意の組み合わせを含むことができる。リポソーム懸濁液もまた、薬学的に許容される担体として使用可能である（例えば、米国特許第４，５２２，８１１号を参照されたい）。組成物の調製物は、アンプル、使い捨てシリンジ、又は複数回投与用バイアルに製剤化し、封入することができる。必要な場合（例えば、注射可能な製剤におけるように）、適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング、又は界面活性剤を用いることにより、維持することができる。吸収を遅らせる剤（例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチン）を含めることにより、抗体又はその抗原結合断片の吸収を長くすることができる。或いは、徐放は、インプラント及びマイクロカプセル化デリバリーシステムによって達成することができ、これらとしては、生分解性・生体適合性ポリマー（例えば、エチレンビニルアセテート、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸；Ａｌｚａ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ及びＮｏｖａ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ，Ｉｎｃ．）を挙げることができる。

【０１８７】

本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片のいずれかの１つ以上を含有する組成物は、単位剤形（即ち、投与を容易にし、用量を均一にするための、所定量の活性化合物を含有する、物理的に別個の単位）で、非経口（例えば、静脈内、動脈内、筋肉内、皮内、皮下、又は腹腔内）投与のために製剤化することができる。

【０１８８】

非経口投与のための医薬組成物は、好ましくは滅菌されており、実質的に等張性であり、グッドマニュファクチャリングプラクティス（ＧＭＰ）条件の下で製造される。医薬組成物は、単位剤形（即ち、単回投与のための用量）で提供され得る。医薬組成物は、１つ以上の生理学的に許容される担体、希釈物質、賦形剤、又は補助剤を使用して製剤化することができる。製剤化は、選ばれた投与経路に依存する。注射のために、抗体は、水溶液中で、好ましくは、生理学的に適合性の緩衝液中で製剤化し、注射部位における不快感を軽減することができる。溶液は、懸濁化剤、安定化剤、及び／又は分散剤などの配合剤を含有することができる。或いは、抗体は、使用前に、好適なビヒクル、例えば、無菌のパイロジェンフリーの水と共に構築するための、凍結乾燥形態であることができる。

【０１８９】

組成物の毒性及び治療効果は、細胞培養液又は実験用動物（例えば、サル）における、標準的な薬学的手順により決定することができる。例えば、ＬＤ５０（集団の５０％に対して致死性の用量）、及び、ＥＤ５０（集団の５０％において治療に有効な用量）を決定することができ、治療指数は、ＬＤ５０：ＥＤ５０の比率である。高い治療指数を示す薬剤が好ましい。薬剤が、望ましくない副作用を示す場合、損害の可能性を最低限に抑える（即ち、望ましくない副作用を軽減する）ためのケアを取る必要がある。毒性及び治療効果は、他の標準的な薬学的手順により決定することができる。

【０１９０】

細胞培養アッセイ及び動物研究から入手したデータを、対象（例えば、ヒト）で用いるための、任意の所与の剤の適切な用量の製剤化において使用することができる。治療に有効な量の、１つ以上の（例えば、１、２、３、又は４つ）の抗体又はその抗原結合断片（例えば、本明細書に記載される抗体又は抗体断片のいずれか）は、対象（例えば、癌を有すると同定されたヒト対象）、又は、疾患を発症するリスクがあると同定された対象（例えば、以前に癌を発症したが、現在は治癒している対象）において、対象の疾患を治療する（例えば、癌細胞を殺傷する）量、対象（例えば、ヒト）における、疾患の１つ以上の症状の重症度、頻度、及び／又は持続時間を低減する量である。本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片のいずれかの有効性及び投与は、当該技術分野において周知の方法を使用して、健康管理の専門家又は獣医学の専門家により、加えて、対象（例えば、ヒト）に

おける疾患の１つ以上の症状を観察することにより、決定することができる。ある特定の因子は、対象を効果的に治療するのに必要な用量及びタイミング（例えば、疾患又は障害の重症度、以前の治療、対象の総体的な健康及び／又は年齢、並びに、他の疾患の存在）に影響を及ぼし得る。

【０１９１】

例示的な用量としては、対象の体重１キログラム当たりの、本明細書に記載される抗体又は抗原結合断片のいずれかの量（ミリグラム又はマイクログラム）（例えば、約１μｇ／ｋｇ～約５００ｍｇ／ｋｇ；約１００μｇ／ｋｇ～約５００ｍｇ／ｋｇ；約１００μｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇ；約１０μｇ／ｋｇ～約５ｍｇ／ｋｇ；約１０μｇ／ｋｇ～約０．５ｍｇ／ｋｇ；又は、約１μｇ／ｋｇ～約５０μｇ／ｋｇ）が挙げられる。これらの用量は広範囲をカバーしているものの、抗体及びその抗原結合断片を含む治療剤は、これらの効能、及び有効量を、当該技術分野において周知の方法により決定することができることを、当業者は理解するであろう。典型的には、比較的低用量をまず投与し、担当の健康管理の専門家若しくは獣医学の専門家（治療用途の場合）、又は、研究者（依然として開発段階で働いている場合）が続けて、及び徐々に、適切な応答が得られるまで、用量を増大させることができる。加えて、任意の特定の対象に対する、具体的な用量レベルは、用いる具体的な化合物の活性、対象の年齢、体重、総体的な健康、性別、及び食事、投与時間、投与経路、排泄速度、並びに、インビボでの抗体又は抗体断片の半減期を含む様々な因子に依存すると理解されている。

【０１９２】

医薬組成物は、容器、パック、又はディスペンサーに、投与用の取扱説明書と共に含めることができる。本開示は、本明細書に記載される様々な用途のための、抗体又はその抗原結合断片の製造方法もまた提供する。

【０１９３】

実施例

本発明を以下の実施例で更に説明し、これらは、特許請求の範囲に記載する本発明の範囲を限定するものではない。

【０１９４】

実施例１．ヒト抗ＣＤ４０抗体の生成

ヒトＣＤ４０に対する抗体を生成するために、ＲｅｎＭａｂ™マウス、又は、ＲｅｎＬｉｔｅ™マウスに、ヒトＣＤ４０を免疫付与した。後述の方法により、抗ＣＤ４０抗体を製造した。

【０１９５】

ＲｅｎＭａｂ™マウスは、ヒト化重鎖免疫グロブリン座位、及び、ヒト化κ鎖免疫グロブリン座位の両方を有する。重鎖免疫グロブリン座位とは、抗体の重鎖に対する遺伝子を含有する、染色体上の領域である。座位は、ＩＧＨＶ（可変）、ＩＧＨＤ（多様性）、ＩＧＨＪ（結合）、及び重鎖定常ドメイン遺伝子を含む。κ鎖免疫グロブリン座位とは、抗体の軽鎖（κ鎖）をコードする遺伝子を含有する、染色体上の領域である。κ鎖免疫グロブリン座位は、ＩＧＫＶ（可変）、ＩＧＫＪ（結合）、及び軽鎖定常ドメイン遺伝子を含む。ＲｅｎＭａｂ™マウスに関する詳細な説明は、ＰＣＴ／ＣＮ２０２０／０７５６９８に見出すことができ、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。

【０１９６】

ＲｅｎＬｉｔｅ™マウスを、抗体遺伝子に戦略的に組み換えされた、完全にヒト化された共通の軽鎖を維持しながら、重鎖の可変領域が完全にヒト化された、遺伝子組み換えモデルとして使用することができる。ＲｅｎＬｉｔｅ™マウスの詳細は、例えば、その全体が本明細書に参照により組み込まれている、ＰＣＴ／ＣＮ２０２１／０９７６５２に見出すことができる。

【０１９７】

マウスの免疫付与

ＲｅｎＭａｂ™マウス、又は、ＲｅｎＬｉｔｅ™マウスに、Ｆｃタグ化ヒトＣＤ４０

タンパク質（ｈＣＤ４０－Ｆｃ、Ｂｅｉｊｉｎｇ ＡＣＲＯＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓ Ｃｏ．Ｌｔｄ．、カタログ番号：ＣＤ０－Ｈ５２５３）、又は、イヌＣＤ４０（ｄＣＤ４０－Ｆｃ、Ｓｉｎｏ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｃ．、カタログ番号：７０１０５－Ｄ０２Ｈ）を免疫付与した。具体的には、ｈＣＤ４０－Ｆｃ又はｄＣＤ４０－Ｆｃをアジュバントで乳化し、マウスのかかと、首、又は尾の付け根に注射した。マウスを合計３回、免疫付与した：完全フロイントアジュバント（ＣＦＡ）を最初の免疫付与に用い、不完全フロイントアジュバント（ＩＦＡ）を２回目及び３回目の免疫付与に用いた。１回目と２回目の免疫付与の間隔は２週間であり、２回目と３回目の免疫付与の間隔は２週間であった。３回目の免疫付与の１週間後に眼窩血を採血し、この抗体力価を、ＥＬＩＳＡを用いて分析した。２週間後に、力価が高いマウスを選択し、尾静脈を通して、ｈＣＤ４０－Ｈｉｓ（Ｈｉｓ－Ｔａｇを有するヒトＣＤ４０タンパク質、Ｂｅｉｊｉｎｇ ＡＣＲＯＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓ Ｃｏ．Ｌｔｄ．、カタログ番号：ＣＤ０－Ｈ５２２８）、又は、ｄＣＤ４０－Ｈｉｓ（ＣＤ４０タンパク質、イヌ、組み換え（Ｈｉｓタグ）、Ｓｉｎｏ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｃ．、カタログ番号：７０１０５－Ｄ０８Ｈ）を注射した。

【０１９８】

別の実験では、ヒトＣＤ４０及び／又はイヌＣＤ４０をコードする発現プラスミドを、マウスの前脛骨筋に（筋肉内（ｉ．ｍ．）注射により）注射することにより、ＲｅｎＭａｂ™マウス、又は、ＲｅｎＬｉｔｅ™マウスを免疫付与した。マウスには、各注射の間に少なくとも１４日の間隔を設け、少なくとも４回注射した。最後の免疫付与の７日後に血液を収集し、ＥＬＩＳＡにより、血清の抗体力価を試験した。

【０１９９】

免疫付与の、少なくとも７日後に、（発現プラスミドを注射する、又は、タンパク質を注射するいずれかにより）免疫付与を向上させる手順を実施した。パルス免疫付与のために、マウスに、（腹腔内投与により）ＣＨＯ－Ｓ－ｈＣＤ４０（ヒトＣＤ４０タンパク質を発現する、トランスフェクトＣＨＯ－Ｓ細胞）、又は、ＣＨＯ－Ｓ－ｄＣＤ４０（イヌＣＤ４０タンパク質を発現するトランスフェクトＣＨＯ－Ｓ細胞）もまた、注射した。免疫系臓器（例えば、骨髄、リンパ節、及び脾臓）を次に、注射の５日後に収集した。

【０２００】

抗原特異的Ｂ細胞もまた、骨髄腫細胞と融合することなく、免疫付与マウスから直接単離した。抗体の軽鎖及び重鎖可変領域配列を直接、抗原特異的Ｂ細胞から入手した。例えば、シングルセル技術（例えば、Ｂｅａｃｏｎ（登録商標） Ｏｐｔｏｆｌｕｉｄｉｃ Ｓｙｓｔｅｍ、Ｂｅｒｋｅｌｅｙ Ｌｉｇｈｔｓ Ｉｎｃ．）を使用して、抗原特異的モノクローナル抗体を分泌する形質細胞をスクリーニングした。逆転写及びＰＣＲベースの配列決定を用いて、抗体可変領域配列を入手した。細胞に、抗体可変領域配列を含むベクターをトランスフェクトすることにより、抗体を発現させた。ＦＡＣＳを用いて、抗体とＣＤ４０との間での結合を検証した。本方法により入手した例示的な抗ＣＤ４０抗体としては、２Ｆ８、６Ａ４、１５Ｂ４、１６Ｄ５、及び１２Ｂ５が挙げられる。

【０２０１】

抗体は、以下の規則に従い命名した。例えば、２Ｆ８の重鎖可変領域（ＶＨ）及び軽鎖可変領域（ＶＬ）が、ヒトＩｇＧ１の定常領域に結合した場合、抗体を、２Ｆ８－ＩｇＧ１と命名した。同様に、２Ｆ８と同じＶＨ及びＶＬ配列を含むが、定常領域はそれぞれ、ヒトＩｇＧ２及びＩｇＧ４サブタイプ由来のものである、２Ｆ８－ＩｇＧ２及び２Ｆ８－ＩｇＧ４を生成した。

【０２０２】

定常領域もまた、変異を含むことができる。例えば、ＬＡＬＡ変異（ＥＵの付番に従ったＬ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ）、Ｎ２９７Ａ、ＹＴＥ変異（ＥＵの付番に従ったＭ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、及びＴ２５６Ｅ）、ＦＬＡＡ変異（ＥＵの付番に従ったＦ２３４Ａ及びＬ２３５Ａ）、又は、ＳＩ変異（ＥＵの付番に従ったＳ２３９Ｄ及びＩ３３２Ｅ）を、２Ｆ８－ＩｇＧ１のＦｃ領域に導入し、それぞれ、２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ、２Ｆ８－ＩｇＧ１－Ｎ２９７Ａ、２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＹＴＥ、２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＦＬＡＡ、及び２

Ｆ８－ＩｇＧ１－ＳＩを生成した。ＹＴＥ変異を、２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ又は２Ｆ８－ＩｇＧ１－Ｎ２９７ＡのＦｃ領域にもまた導入し、それぞれ、２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ又は２Ｆ８－ＩｇＧ１－Ｎ２９７Ａ－ＹＴＥを生成した。異なる定常領域配列を有する抗体もまた、６Ａ４、１５Ｂ４、１６Ｄ５、又は１２Ｂ５に対して産生した。

【０２０３】

２Ｆ８に対する重鎖ＣＤＲ１、２、３、及び、軽鎖ＣＤＲ１、２、３のアミノ酸配列を、それぞれ、配列番号１～６（Ｋａｂａｔの付番）、又は、配列番号１９～２４（Ｃｈｏｔｈｉａの付番）に示す。２Ｆ８に対するヒト重鎖可変領域及びヒト軽鎖可変領域をそれぞれ、配列番号６５及び配列番号３７に示す。

【０２０４】

６Ａ４に対する重鎖ＣＤＲ１、２、３、及び、軽鎖ＣＤＲ１、２、３のアミノ酸配列を、それぞれ、配列番号７～１２（Ｋａｂａｔの付番）、又は、配列番号２５～３０（Ｃｈｏｔｈｉａの付番）に示す。６Ａ４に対するヒト重鎖可変領域及びヒト軽鎖可変領域をそれぞれ、配列番号３８及び配列番号３９に示す。

【０２０５】

１２Ｂ５に対する重鎖ＣＤＲ１、２、３、及び、軽鎖ＣＤＲ１、２、３のアミノ酸配列を、それぞれ、配列番号１３～１８（Ｋａｂａｔの付番）、又は、配列番号３１～３６（Ｃｈｏｔｈｉａの付番）に示す。１２Ｂ５に対するヒト重鎖可変領域及びヒト軽鎖可変領域をそれぞれ、配列番号４０及び配列番号４１に示す。

【０２０６】

抗体の調製

配列検証ステージの陽性抗体配列を、プラスミド抽出に供し、１００ｍＬの系にトランスフェクトした。細胞培養の１０～１３日後に、発現上清を収集し、親和性クロマトグラフィーに供した。入手した抗体試料を、インビトロ試験及びスクリーニングで用いた。

【０２０７】

実施例２．抗ＣＤ４０抗体の結合親和性

ブレセルマブ（ＶＨ　配列番号４３、ＶＬ　配列番号４４；ＨＣ　配列番号６６、ＬＣ　配列番号６０）は、ＣＤ４０を標的とする完全ヒトＩｇＧ４モノクローナル抗体であり、狼瘡の治療に承認された。

【０２０８】

抗ＣＤ４０抗体である２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ、６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ、及びブレセルマブ類似体の、ヒトＣＤ４０（ｈＣＤ４０）、サル（カニクイザル）ＣＤ４０（ｆａｓＣＤ４０）、又はイヌＣＤ４０（ｄＣＤ４０）に対する結合親和性を、予め固定化したプロテインＡセンサチップを装着したＢｉａｃｏｒｅ™（Ｂｉａｃｏｒｅ，Ｉｎｃ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ　Ｎ．Ｊ．）８Ｋバイオセンサーを用いる表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）により測定した。

【０２０９】

具体的には、ｈＣＤ４０－Ｈｉｓ、ｆａｓＣＤ４０－Ｈｉｓ（カニクイザルＣＤ４０／ＴＮＦＲＳＦ５タンパク質、Ｈｉｓタグ、Ｂｅｉｊｉｎｇ　ＡＣＲＯ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　Ｃｏ．Ｌｔｄ．、カタログ番号：ＣＤ０－Ｃ５２Ｈ６）、又はｄＣＤ４０－Ｈｉｓを、１×ＨＢＳ－ＥＰ＋緩衝液（ｐＨ７．４）で、２００ｎＭ、１００ｎＭ、５０ｎＭ、２５ｎＭ、６．２５ｎＭ、３．１２５ｎＭ、又は０ｎＭまで希釈し、その後、約５０秒間、１０μＬ／分で、Ｂｉａｃｏｒｅ™　８Ｋバイオセンサーに注射し、必要な捕捉レベル（例えば、約１００応答単位（ＲＵ））を満たした。次に、１×ＨＢＳ－ＥＰ＋緩衝液（ｐＨ７．４）中の１μｇ／ｍＬの濃度精製抗ＣＤ４０抗体を、５０秒間１μＬ／分で注射した。解離を４００秒間モニタリングした。各滴定液の最後の注射の後に、チップをグリシン溶液（ｐＨ２．０）で、３０μＬ／分で３０秒間再生した。

【０２１０】

Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）　８Ｋ　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウェア３．０を用いて、デ

ータ全体を、１：１のラングミュア結合モデル（Ｋａｒｌｓｓｏｎ，Ｒ．Ｒｏｏｓ，Ｈ．Ｆａｇｅｒｓｔａｍ，Ｌ．Ｐｅｔｅｒｓｓｏｎ，Ｂ．，１９９４．Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ ６．９９－１１０）に適合させることにより、運動会合速度（ｋｏｎ）及び解離速度（ｋｏｆｆ）を同時に入手した。親和性を、運動速度定数の商から推定した（ＫＤ＝ｋｏｆｆ／ｋｏｎ）。

【０２１１】

当業者が理解するように、パラメーター（例えば、抗体濃度）を適切に調整した同じ方法を、各試験抗体に対して実施した。試験抗体に対する結果を、下表にまとめる。

【０２１２】

抗ＣＤ４０抗体である２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ及び１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡが、ヒト、サル、及びイヌＣＤ４０に特異的に結合することを、結果は示した。６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡは、ヒト及びサルＣＤ４０に特異的に結合する。

【０２１３】

【表１】

抗ＣＤ４０抗体	検体１溶液	Ｋｏｎ（１／Ｍｓ）	Ｋｏｆｆ（１／ｓ）	ＫＤ（Ｍ）
２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	ｈＣＤ４０－Ｈｉｓ	６．５４Ｅ＋０５	２．２９Ｅ－０４	３．５１Ｅ－１０
２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	ｆａｓＣＤ４０－Ｈｉｓ	９．８９Ｅ＋０５	２．９７Ｅ－０４	３．０１Ｅ－１０
２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	ｄＣＤ４０－Ｈｉｓ	５．１３Ｅ＋０５	２．６６Ｅ－０３	５．１８Ｅ－０９
６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	ｈＣＤ４０－Ｈｉｓ	３．０９Ｅ＋０５	５．１１Ｅ－０４	１．６６Ｅ－０９
６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	ｆａｓＣＤ４０－Ｈｉｓ	２．８８Ｅ＋０５	１．４９Ｅ－０２	５．１７Ｅ－０８
６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	ｄＣＤ４０－Ｈｉｓ	–	–	–
１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	ｈＣＤ４０－Ｈｉｓ	５．２９Ｅ＋０５	３．８９Ｅ－０４	７．３５Ｅ－１０
１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	ｆａｓＣＤ４０－Ｈｉｓ	５．３５Ｅ＋０５	２．６５Ｅ－０４	４．９５Ｅ－１０
１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	ｄＣＤ４０－Ｈｉｓ	４．０１Ｅ＋０５	１．２９Ｅ－０２	３．２１Ｅ－０８
ブレセルマブ類似体	ｈＣＤ４０－Ｈｉｓ	４．２９Ｅ＋０５	６．８２Ｅ－０４	１．５９Ｅ－０９
ブレセルマブ類似体	ｆａｓＣＤ４０－Ｈｉｓ	２．７０Ｅ＋０５	９．０７Ｅ－０４	３．３５Ｅ－０９
ブレセルマブ類似体	ｄＣＤ４０－Ｈｉｓ	–	–	–

【０２１４】
実施例３．Ｊｕｒｋａｔ－ｌｕｃ－ｈＣＤ４０受容体細胞活性化アッセイ
イスカリマブ（ＶＨ　配列番号４５、ＶＬ　配列番号４６；ＨＣ　配列番号６１、ＬＣ　配列番号６２）は、ＣＤ４０シグナル伝達経路を遮断する完全ヒトＩｇＧ１抗体であり、これは、シェーグレン症候群の治療のために、Ｎｏｖａｒｔｉｓ及びＸＯＭＡにより開発された。
【０２１５】
ＢＩ６５５０６４（ＶＨ　配列番号４７、ＶＬ　配列番号４８；ＨＣ　配列番号６３、ＬＣ　配列番号６４）は、ヒト化した、純粋拮抗性の抗ＣＤ４０　ＩｇＧ１モノクローナル

抗体であり、これは、関節リウマチ（ＲＡ）及びループス腎炎などの治療のために、Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ　Ｉｎｇｅｌｈｅｉｍにより開発された。

【０２１６】

抗ＣＤ４０抗体である２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ、６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ、１５Ｂ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ、ＢＩ６５５０６４類似体、イスカリマブ類似体、及びブレセルマブ類似体が、ＣＤ４０シグナル伝達経路を遮断可能であるか否かを試験するために実験を行った。

【０２１７】

ＣＨＯ－Ｋ１－ＦｃγＲＩＩＢ細胞（Ｐｒｏｍｅｇａ、カタログ番号：ＣＳ１９７９Ａ０９）を、９６ウェルプレート（細胞密度４×１０４ｃｅｌｌ／ウェル）に播種し、３７℃で一晩インキュベートした。試験抗体を、６μｇ／ｍＬの最大濃度で連続希釈した（３倍）。ヒトＣＤ４０リガンドＣＤ４０Ｌ－Ｈｉｓ（ヒトＣＤ４０リガンド／ＴＮＦＳＦ５タンパク質、Ｈｉｓ、フラッグタグ（活性三量体）（ＭＡＬＳ検証済）、Ｂｅｉｊｉｎｇ　ＡＣＲＯＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　Ｃｏ．Ｌｔｄ．、カタログ番号：ＣＤＬ－Ｈ５２Ｄｂ）を、３μｇ／ｍＬの最大濃度で連続希釈した。Ｊｕｒｋａｔ－Ｌｕｃ－ｈＣＤ４０細胞（ヒトＣＤ４０タンパク質を発現する、トランスフェクトＪｕｒｋａｔ－Ｌｕｃ細胞）を、９６ウェルプレート（細胞密度５×１０５ｃｅｌｌ／ウェル）に播種し、その後、２５μＬの、連続希釈した抗体溶液及び／又はヒトＣＤ４０リガンドを、各ウェルに加えた。抗体の作用濃度は、０．５μｇ／ｍＬ、１μｇ／ｍＬ、及び２μｇ／ｍＬであった。上記９６ウェルプレートを、３７℃のインキュベーターで６時間インキュベートした。インキュベーション後、プレートを取り出し、７５μＬのＢｉｏ－ｌｉｔｅ™ルシフェラーゼアッセイ試薬（Ｖａｚｙｍｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　Ｃｏ．，Ｌｔｄ．、カタログ番号：ＤＤ１２０１－０２－ＡＢ）を各ウェルに加えた。プレートを室温で５～１０分インキュベートした後、発光検出器を配置し、蛍光シグナルを検出した。

【０２１８】

抗ＣＤ４０抗体全ての濃度が低下した際、蛍光シグナル（ＣＤ４０リガンドへの細胞の結合を示す）は増加し、このことは、ヒトＣＤ４０とヒトＣＤ４０リガンドとの結合が、抗ＣＤ４０抗体により遮断されたことを示唆している。

【０２１９】

実施例４：インビボでの抗ＣＤ４０抗体の免疫抑制効果

ｈＣＤ４０マウスにおける、抗ＣＤ４０抗体の免疫抑制効果

マウスＣＤ４０タンパク質の細胞外領域の一部が、対応するヒトＣＤ４０細胞外領域で置換えられた、キメラＣＤ４０タンパク質（配列番号４９）を発現する、ＣＤ４０遺伝子ヒト化マウスモデルを生成した。具体的には、マウスＣＤ４０（配列番号５０）のアミノ酸２０～１９２を、ヒトＣＤ４０（配列番号４２）のアミノ酸２０～１９２で置換えた。ヒト化マウスモデル（例えば、ｈＣＤ４０マウス）は、ヒト、及び、マウスＣＤ４０を発現する実験室マウスにおける臨床的転帰の差を著しく下げることにより、臨床設定において、新規の治療的処置を試験するためのツールをもたらす。ＣＤ４０遺伝子ヒト化マウスモデルの詳細の説明は、ＰＣＴ／ＣＮ２０１８／０９１８４５に見出すことができ、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。

【０２２０】

実験を行い、免疫応答におけるヒト抗ＣＤ４０抗体の効果を分析した。オボアルブミン（ＯＶＡ）を抗原として使用し、ｈＣＤ４０マウスにおける免疫応答を刺激した。簡潔に述べると、ｈＣＤ４０（６～８週齢）を１つの対照群、及び、６つの治療群（群当たり５匹のマウス）に配置した。それぞれ、抗ＣＤ４０抗体であるブレセルマブ類似体（Ｇ２）、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ３）、１６Ｄ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ４）、２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ５）、６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ６）、及び１５Ｂ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ７）の、それぞれ、２ｍｇ／ｋｇの用量レベルでの腹腔内（ｉ．ｐ．）投与のために、治療群マウスを無作為に選択した。対照群マウス（Ｇ１）に、等体積のリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）を注射した。それぞれ、０日目（グループ分けの

日）、及び、４日目（グループ分けの４日後）に、合計で２回の投与を行った。オボアルブミン（ＯＶＡ）をＰＢＳにより１ｍｇ／ｍＬに希釈し、１：１の体積比でＣＦＡと混合し、免疫付与体積は２００μＬ／マウスとした。１日目（グループ分けの１日後）に、マウスにＯＶＡ／ＣＦＡ混合物を腹腔内投与した。各動物から、血清を１０日目と１７日目に回収し、ＥＬＩＳＡ分析に通した。図１は、実験スキームを示す。ＯＶＡを、ＥＬＩＳＡプレート上にプレコートした。ヤギ抗マウスＩｇＧ　Ｈ＆Ｌ（ＨＲＰ）（Ａｂｃａｍ、カタログ番号：ａｂ９７２６５）を、ＥＬＩＳＡ分析に使用した。投与スキームの詳細を下表に示す。

【０２２１】

【表２】

群	マウスの数	抗体	投与量（ｍｇ／ｋｇ）	経路	頻度	投与総数
Ｇ１	５	ＰＢＳ	－	ｉ．ｐ．	ＢＩＷ	２
Ｇ２	５	ブレセルマブ類似体	２	ｉ．ｐ．	ＢＩＷ	２
Ｇ３	５	１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	２	ｉ．ｐ．	ＢＩＷ	２
Ｇ４	５	１６Ｄ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	２	ｉ．ｐ．	ＢＩＷ	２
Ｇ５	５	２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	２	ｉ．ｐ．	ＢＩＷ	２
Ｇ６	５	６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	２	ｉ．ｐ．	ＢＩＷ	２
Ｇ７	５	１５Ｂ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	２	ｉ．ｐ．	ＢＩＷ	２

【０２２２】

図２に示すように、１０日目に回収した血清のＥＬＩＳＡ結果は、抗ＣＤ４０抗体であるブレセルマブ類似体（Ｇ２）、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ３）、１６Ｄ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ４）、２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ５）、６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ６）、及び１５Ｂ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ７）が、ＰＢＳ（Ｇ１）と比較して、ｈＣＤ４０マウスにおける免疫反応を低下させたことを示す。図３は、１７日目に回収した血清に対するＥＬＩＳＡ結果を示す。１７日目の結果は、１０日目に入手したものと類似していた。具体的には、ブレセルマブ類似体（Ｇ２）、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ３）、２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ５）、及び６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡ

Ａ（Ｇ６）が、１６Ｄ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ４）及び１５Ｂ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ７）よりも低いＯＤで免疫反応を低下させた。１７日目において抗体分解が増加したため、１０日目に、より多くの抗体が免疫反応の低下を示したと考えられる。

【０２２３】

ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスにおける、抗ＣＤ４０抗体の免疫抑制効果

ＣＤ４０／ＦｃＲｎ二重遺伝子ヒト化マウスモデルもまた、ｈＣＤ４０マウスをＦｃＲｎ遺伝子ヒト化マウス（ｈＦｃＲｎマウス）と交差させることにより生成した。ＦｃＲｎ遺伝子ヒト化マウスを組み換え、ヒトＦｃＲｎタンパク質（配列番号５１）を発現させた。ＦｃＲｎ遺伝子ヒト化マウス、及び、ＣＤ４０／ＦｃＲｎ二重遺伝子ヒト化マウス（ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウス）の詳細の説明は、ＰＣＴ／ＣＮ２０２２／０７５０５７に見出すことができ、その全体が本明細書に参照により組み込まれている。

【０２２４】

上記実験と同様に、抗ＣＤ４０抗体であるブレセルマブ類似体、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ、及び２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥの、薬物動態（ＰＫ）及びインビボ有効性を、ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスで試験した。治療群（Ｇ２～Ｇ１０）において、ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスに、それぞれ、１～４ｍｇ／ｋｇ（即ち、１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、又は４ｍｇ／ｋｇ）の、抗ＣＤ４０抗体であるブレセルマブ類似体、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ、及び２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥを、０日目（グループ分けの日）に、腹腔内（ｉ．ｐ．）投与により投与した。対照群マウス（Ｇ１）に等体積のＰＢＳを注射した。１日目（グループ分けの１日後）に、マウスにＯＶＡ／ＣＦＡ混合物を腹腔内投与した。血清を、各動物から、抗体投与の４時間後、並びに、１日目、５日目、１０日目、１７日目、及び２１日目に回収した。次に、回収した血清をＰＫ分析に通した。各動物から、血清を１０日目、１７日目、及び２１日目に回収し、またＥＬＩＳＡ分析に通した。投与スキームの詳細を下表に示す。

【０２２５】

【表３】

群	マウスの数	抗体	投与量（ｍｇ／ｋｇ）	経路	頻度	投与総数
Ｇ１	5	ＰＢＳ	－	ｉ．ｐ．	０日目	1
Ｇ２	5	ブレセルマブ類似体	4	ｉ．ｐ．	０日目	1
Ｇ３	5	ブレセルマブ類似体	2	ｉ．ｐ．	０日目	1
Ｇ４	5	ブレセルマブ類似体	1	ｉ．ｐ．	０日目	1
Ｇ５	5	１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ	4	ｉ．ｐ．	０日目	1
Ｇ６	5	１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ	2	ｉ．ｐ．	０日目	1
Ｇ７	5	１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ	1	ｉ．ｐ．	０日目	1
Ｇ８	5	２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ	4	ｉ．ｐ．	０日目	1
Ｇ９	5	２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ	2	ｉ．ｐ．	０日目	1
Ｇ１０	5	２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ	1	ｉ．ｐ．	０日目	1

【０２２６】

薬物動態の結果は、異なる抗体の注射後に、ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスの血清中での抗体濃度は、時間と共に低下し、これは、薬物動態の特徴と一致することを示す。１０日目、１７日目、及び２１日目に回収した血清のＥＬＩＳＡ結果をそれぞれ、下表、及び、図６～８に示す。概して、対照及び治療群におけるマウス全ての抗ＯＶＡ抗体は、実験を通して、継続して増加傾向を示した。更に、治療群マウスでは、対照群マウスよりも、抗ＯＶＡ抗体の産生が少なかった。結果は用量相関もまた示した、即ち、抗体の用量レベルが高いほど、抗ＯＶＡ抗体の産生量は減り、より良い免疫抑制効果が達成された。一般的に、２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥの免疫抑制効果は、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥの免疫抑制効果よりも良好であり、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥの免疫抑制効果は、ブレセルマブ類似体の免疫抑制効果よりも良好であった。

【０２２７】

【表４－１】

群		１０日目（ＯＤ値）	１７日目（ＯＤ値）	２１日目（ＯＤ値）
Ｇ１	平均	０．２８	２．３１	２．７４
	ＣＶ	０．６３	０．１９	０．０９
Ｇ２	平均	０．０３	０．０８	０．３５
	ＣＶ	０．０６	０．３１	０．４５
Ｇ３	平均	０．０３	１．２２	２．３４
	ＣＶ	０．０５	０．１７	０．０９
Ｇ４	平均	０．０５	１．７２	２．５３
	ＣＶ	０．３３	０．１１	０．１２
Ｇ５	平均	０．０３	０．１６	１．０１
	ＣＶ	０．０４	０．７０	０．５８
Ｇ６	平均	０．０３	０．６４	１．６１
	ＣＶ	０．０８	０．６２	０．５０

【表４－２】

群		１０日目（ＯＤ値）	１７日目（ＯＤ値）	２１日目（ＯＤ値）
Ｇ７	平均	０．０４	１．３８	２．１７
	ＣＶ	０．２２	０．６４	０．２６
Ｇ８	平均	０．０３	０．０３	０．１６
	ＣＶ	０．０２	０．０３	１．０２
Ｇ９	平均	０．０３	０．３７	１．３４
	ＣＶ	０．０６	０．７７	０．５３
Ｇ１０	平均	０．０３	０．７９	１．８１
	ＣＶ	０．０５	０．４９	０．３５

【０２２８】
ＣＶ：変動係数
実施例５．薬物動態分析
ｈＣＤ４０マウス及びＣ５７ＢＬ／６マウスにおけるＰＫ分析
抗ＣＤ４０抗体の薬物動態クリアランス率を、ｈＣＤ４０マウスで測定した。具体的には、マウスを４つの群（群当たり３匹のマウス）に配置し、静脈内注射により、それぞれ、３ｍｇ／ｋｇのブレセルマブ類似体（Ｇ１）、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ２）、６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ３）、及び２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ４）を投与した。血液試料を、投与の１５分、１日、３日、７日、１０日、及び１４日後、並びに、投与の４日前に回収した。
【０２２９】
ヒト抗体の血清レベルを、サンドイッチＥＬＩＳＡにより測定した。簡潔に述べると、ヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｉｎｃ．、カタログ番号：１０９－００５－０８８）を、２０００ｎｇ／ｍＬの終濃度まで希釈し、１００μＬ／ウェルで９６ウェルプレート（ＥＬＩＳＡプレート）に加え、その後、４℃で一晩インキュベートした。インキュベーション後、プレートをＰＢＳ－Ｔ緩衝液（Ｔｗｅｅｎ（登録商標）ＴＭ　２０を補充）で４回洗浄した。抗体が結合していない領域を、２％　ＢＳＡ（ウシ血清アルブミン）で２時間、３７℃で遮断した。その後、プレート

をＰＢＳ－Ｔ緩衝液で４回洗浄した。洗浄後、１００μＬの血清（１％　ＢＳＡにて、１／２０希釈（ＭＲＤ））を各ウェルに加えた。ウェルを封止し、３７℃で１時間インキュベートした。プレートをプレート洗浄機で洗浄した後、ペルオキシダーゼＡｆｆｉｎｉＰｕｒｅ　Ｆ（ａｂ’）２断片ヤギ抗ヒトＩｇＧ、Ｆｃγ断片特異性（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｉｎｃ．、カタログ番号：１０９－０３６－０９８）を、プレートの各ウェルに１００μＬ／ウェルで加え、３７℃で１時間インキュベートした。プレートを洗浄した後、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）溶液を、１００μＬ／ウェルで９６ウェルプレートに、基質として加えた。暗所で室温にてインキュベートした後、１００μＬの停止溶液（Ｂｅｙｏｔｉｍｅ、カタログ番号：Ｐ０２１５）を各ウェルに加えた。マイクロプレートリーダーを用いて、４５０ｎｍ及び６３０ｎｍの波長にて、各ウェルの吸光度の値を読み取った。解析ソフトウェアのＧｅｎ５™を用いて、データを分析した。各試験生成物により調製した較正試料の吸光度の値、及び対応する濃度を用いて、４つのパラメーター（即ち、Ｔ１／２、Ｃｍａｘ、ＡＵＣ０～１４日、及び、ＣＬ）を持つ標準曲線を製造した。標準曲線を用いて、各血清試料の抗体濃度を計算した。薬剤濃度－時間曲線を、各時点における、計算した試料濃度を用いて製造した。Ｐｈｏｅｎｉｘ™ ＷｉｎＮｏｌｉｎ　８．３を用いて、薬物動態パラメーターを計算した。結果は以下の表に示されている。

【０２３０】

上記実験と同様に、抗ＣＤ４０抗体であるブレセルマブ類似体、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ、６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ、及び、２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡの薬物動態クリアランス率もまた、Ｃ５７ＢＬ／６マウスで測定した。投与スキームの詳細を下表に示す。

【０２３１】

【表５】

群	抗体	投与量（ｍｇ／ｋｇ）	経路	マウス	マウスの数	投与総数
Ｇ１	ブレセルマブ類似体	３	ｉ．ｖ．	ｈＣＤ４０	３	１
Ｇ２	１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	３	ｉ．ｖ．	ｈＣＤ４０	３	１
Ｇ３	６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	３	ｉ．ｖ．	ｈＣＤ４０	３	１
Ｇ４	２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	３	ｉ．ｖ．	ｈＣＤ４０	３	１
Ｇ５	ブレセルマブ類似体	３	ｉ．ｖ．	Ｃ５７ＢＬ／６	３	１
Ｇ６	１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	３	ｉ．ｖ．	Ｃ５７ＢＬ／６	３	１
Ｇ７	６Ａ４－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	３	ｉ．ｖ．	Ｃ５７ＢＬ／６	３	１
Ｇ８	２Ｆ８－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	３	ｉ．ｖ．	Ｃ５７ＢＬ／６	３	１

【０２３２】

抗体投与の４日前には、抗体濃度は０μｇ／ｍＬとして検出された（結果は示さず）。図４及び下表に示すように、結果は、典型的な薬物動態特性と一致し、異なる抗体の注射後に、ｈＣＤ４０マウス及びＣ５７ＢＬ／６マウスの血清中での抗体の濃度が、経時的に低下したことを示す。Ｃ５７ＢＬ／６（Ｂ６）マウスにおける抗ＣＤ４０抗体の半減期は、１２．３７～１７．７０日の範囲であったが、ｈＣＤ４０マウスにおける抗ＣＤ４０抗体の半減期は、１．８７～４．８４日の範囲であった。Ｃ５７ＢＬ／６マウスにおける抗ＣＤ４０抗体のクリアランス率（ＣＬ）は、４．６５～６．３５ｍＬ／日／ｋｇの範囲であったが、ｈＣＤ４０マウスにおける抗ＣＤ４０抗体のＣＬは、１２．９２～１４．６９ｍＬ／日／ｋｇの範囲であった。野生型Ｃ５７ＢＬ／６マウスにおける抗体濃度は全て、同様であったことを、結果は示した。対照的に、ｈＣＤ４０マウスでは、抗体濃度は全て、より急激に低下し、これは、ＴＭＤＤ（標的媒介薬剤配置）により説明することができる。

【０２３３】

【表６－１】

群		Ｔ１／２（日）	Ｃｍａｘ（μｇ／ｍＬ）	ＡＵＣ０～１４日（日×μｇ／ｍＬ）	ＣＬ（ｍＬ／日／ｋｇ）
Ｇ１	平均	４．８４	６０．６４	２００．７６	１２．９２
	ＣＶ	０．１１	０．０６	０．０８	０．０７
Ｇ２	平均	１．８７	６１．１０	２０１．６８	１４．６９
	ＣＶ	０．２６	０．０９	０．０６	０．０６
Ｇ３	平均	４．７７	５３．６５	１８４．７４	１４．１１
	ＣＶ	０．１２	０．０４	０．０６	０．０９
Ｇ４	平均	４．４４	５３．８５	１８７．４８	１４．１８
	ＣＶ	０．２９	０．０７	０．０７	０．１１
Ｇ５	平均	１２．３７	６５．３８	２９２．１９	５．７５
	ＣＶ	０．１３	０．０７	０．０６	０．０４

【表６－２】

群		Ｔ１／２（日）	Ｃｍａｘ（μｇ／ｍＬ）	ＡＵＣ０～１４日（日×μｇ／ｍＬ）	ＣＬ（ｍＬ／日／ｋｇ）
Ｇ６	平均	１３．４９	７１．４８	３４１．９４	４．６５
	ＣＶ	０．１９	０．０４	０．０４	０．１１
Ｇ７	平均	１２．８９	５２．８４	２５３．７０	６．３５
	ＣＶ	０．０８	０．０７	０．０９	０．０９
Ｇ８	平均	１７．７０	５６．７０	２６２．０４	５．１８
	ＣＶ	０．３４	０．０８	０．０５	０．１７

【０２３４】
Ｔ１／２：終末相半減期
Ｃｍａｘ：最大濃度
ＡＵＣ０～１４日：血中濃度－時間曲線面積０～１４日
ＣＬ：クリアランス
ｈＦｃＲｎマウスにおけるＰＫ分析
上記実験と同様に、抗ＣＤ４０抗体である１２Ｂ５の薬物動態クリアランス率をｈＦｃＲｎマウスで測定し、マウスを４つの群（群当たり５匹のマウス）に配置した。２ｍｇ／ｋｇの１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ１）、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－Ｎ２９７Ａ－ＹＴＥ（Ｇ２）、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＹＴＥ（Ｇ３）、又は１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ４）を、静脈内注射により投与した。血液試料を、投与の２時間、１日、３日、７日、１０日、１４日、２１日、２８日、及び３５日後、並びに、投与の４日前に回収した。投与スキームの詳細を下表に示す。
【０２３５】

【表７】

群	抗体	投与量（ｍｇ／ｋｇ）	経路	マウスの数	投与総数
Ｇ１	１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ	２	ｉ．ｖ．	５	１
Ｇ２	１２Ｂ５－ＩｇＧ１－Ｎ２９７Ａ－ＹＴＥ	２	ｉ．ｖ．	５	１
Ｇ３	１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＹＴＥ	２	ｉ．ｖ．	５	１
Ｇ４	１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	２	ｉ．ｖ．	５	１

【０２３６】

抗体投与の４日前には、抗体濃度は０μｇ／ｍＬとして検出された（結果は示さず）。図５及び下表に示すように、結果は、典型的な薬物動態特性と一致し、異なる抗体の注射後に、ｈＦｃＲｎマウスの血清中での抗体の濃度が、経時的に低下したことを示す。マウスにおける、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ１）及び１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＹＴＥ（Ｇ３）の半減期（Ｔ１／２）は、それぞれ、１１．９９日及び１３．７２日であった。１２Ｂ５－ＩｇＧ１－Ｎ２９７Ａ－ＹＴＥ（Ｇ２）は、６．５８日の、最も短い半減期を示した。１２Ｂ５－ＩｇＧ１－Ｎ２９７Ａ－ＹＴＥ（Ｇ２）が、最も短い半減期を有したことを、結果は示した。１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ１）及び１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＹＴＥ（Ｇ３）の半減期は、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ（Ｇ４）の半減期よりも長かった。

【０２３７】

【表８】

群		Ｔ１／２（日）	Ｃｍａｘ（μｇ／ｍＬ）	ＡＵＣ０～３５日（日×μｇ／ｍＬ）	ＣＬ（ｍＬ／日／ｋｇ）
Ｇ１	平均	１１．９９	２６．８３	２６０．７３	６．５９
	ＣＶ	０．１０	０．０７	０．０６	０．０５
Ｇ２	平均	６．５８	２３．７６	１２９．０８	１５．０９
	ＣＶ	０．０４	０．０９	０．０３	０．０３
Ｇ３	平均	１３．７２	２６．４７	２４９．２１	６．６２
	ＣＶ	０．０４	０．１０	０．０５	０．０５
Ｇ４	平均	１０．５３	２６．７４	１９３．５４	９．２９
	ＣＶ	０．０７	０．１０	０．０８	０．０７

【０２３８】
Ｔ１／２：終末相半減期、
Ｃｍａｘ：最大濃度、
ＡＵＣ０～３５日：血中濃度－時間曲線面積０～３５日
ＣＬ：クリアランス
実施例６．抗ＣＤ４０抗体の、ヒトＦｃＲｎへの結合親和性
抗ＣＤ４０抗体である１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－Ｎ２９７Ａ－ＹＴＥ、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＹＴＥ、及び１２Ｂ５－ＩｇＧ４の、ヒトＦｃＲｎへの結合親和性を、予め固定化したプロテインＡセンサチップを装着したＢｉａｃｏｒｅＴＭ（Ｂｉａｃｏｒｅ，Ｉｎｃ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ Ｎ．Ｊ．）８Ｋ又はＴ２００バイオセンサーを用いる表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）により測定した。
【０２３９】
ｈＦｃＲｎ－Ｈｉｓ（ＦＣＧＲＴ＆Ｂ２Ｍヘテロ二量体タンパク質、Ｈｉｓ Ｔａｇ＆Ｓｔｒｅｐ ＩＩタグ（ＳＰＲ＆ＢＬＩ＆ＭＡＬＳ検証済、Ｂｅｉｊｉｎｇ ＡＣＲＯＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓ Ｃｏ．Ｌｔｄ．、カタログ番号：ＦＣＭ－Ｈ５２８６））を、１×ＨＢＳ－ＥＰ＋緩衝液（ｐＨ７．４）で１μｇ／ｍＬまで希釈し、その後、約５０秒間、１０μＬ／分で、Ｂｉａｃｏｒｅ^{TM} ８Ｋ又はＴ２００バイオセンサーに注射し、必要な捕捉レベル（例えば、約２００応答単位（ＲＵ））を満たした。次に、１２５０ｎＭ、６

２５ｎＭ、３１２．５ｎＭ、１５６．２５ｎＭ、７８．１２５ｎＭ、又は０ｎＭの濃度精製抗ＣＤ４０抗体（１×ＨＢＳ－ＥＰ＋緩衝液（ｐＨ７．４）を含む）を、５０秒間３０μＬ／分で注射した。解離を２００秒間モニタリングした。各滴定液の最後の注射の後に、チップをグリシン溶液（ｐＨ１．７）で、３０μＬ／分で３０秒間再生した。結合曲線を得た。解析ソフトウェアによりデータ分析を行い、定常状態親和結合モデルを用いて、会合及び解離曲線を適合し、親和性動的データを得た。

【０２４０】

１×ＨＢＳ－ＥＰ＋緩衝液（ｐＨ７．４）を、１×ＨＢＳ－ＥＰ＋緩衝液（ｐＨ６．０）で交換したことを除いて、上記実験を繰り返した。

【０２４１】

当業者が理解するように、パラメーター（例えば、抗体濃度）を適切に調整した同じ方法を、各試験抗体に対して実施した。試験抗体に対する結果を、下表にまとめる。

【０２４２】

結果は以下の表に示されている。ｐＨ値が７．４である場合、１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡはｈＦｃＲｎに結合しなかったが、他の抗体はｈＦｃＲｎに結合した。ｐＨ６．０では、抗体は全て、ｈＦｃＲｎへの高い結合親和性を示した。酸性条件下では、抗体は全て、ｈＦｃＲｎに対する親和性が増加したことを、結果は示す。加えて、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ及び１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＹＴＥは、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－Ｎ２９７Ａ－ＹＴＥよりも、ｈＦｃＲｎに対して高い結合親和性を示した。

【０２４３】

【表９】

捕捉１溶液	検体１溶液	ＫＤ（Ｍ）
１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ	ｈＦｃＲｎ－Ｈｉｓ（ＰＨ　６．０）	３．７８Ｅ－０８
１２Ｂ５－ＩｇＧ１－Ｎ２９７Ａ－ＹＴＥ	ｈＦｃＲｎ－Ｈｉｓ（ＰＨ　６．０）	１．１２Ｅ－０７
１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＹＴＥ	ｈＦｃＲｎ－Ｈｉｓ（ＰＨ　６．０）	９．１０Ｅ－０８
１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	ｈＦｃＲｎ－Ｈｉｓ（ＰＨ　６．０）	４．９７Ｅ－０７
１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ	ｈＦｃＲｎ－Ｈｉｓ（ＰＨ　７．４）	１．１８Ｅ－０６
１２Ｂ５－ＩｇＧ１－Ｎ２９７Ａ－ＹＴＥ	ｈＦｃＲｎ－Ｈｉｓ（ＰＨ　７．４）	２．６８Ｅ－０６
１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＹＴＥ	ｈＦｃＲｎ－Ｈｉｓ（ＰＨ　７．４）	２．０６Ｅ－０６
１２Ｂ５－ＩｇＧ４－ＦＬＡＡ	ｈＦｃＲｎ－Ｈｉｓ（ＰＨ　７．４）	－

【０２４４】

実施例７．抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）の測定

リツキシマブ（ＶＨ　配列番号６７、ＶＬ　配列番号６８）は、ＣＤ２０を標的とするキメラモノクローナル抗体であり、再発性又は難治性の低悪性度又は濾胞性の、ＣＤ２０陽性Ｂ細胞非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）に対する静脈内治療剤として、１９９７年に初めて発売された。

【０２４５】
本実験では、ＦｃＲ－ＴＡＮＫ細胞（ＩｍｍｕｎｅＯｎｃｏ　Ｂｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ（Ｓｈａｎｇｈａｉ）Ｉｎｃ．）をエフェクター細胞として用い、Ｒａｊｉ細胞（ＡＴＣＣ、カタログ番号：ＣＣＬ－８６）を標的細胞として用いた。細胞を、各抗体（終濃度５０μｇ／ｍＬ）で、３：１のＥ：Ｔ（エフェクター：標的）比で２時間又は４時間インキュベートし、ＡＤＣＣ活性を測定した。
【０２４６】
結果を図１２に示す。２Ｆ８－ＩｇＧ１及びリツキシマブ類似体はＡＤＣＣ活性を有するが、２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥは、ＡＤＣＣ効果を示さなかった。
【０２４７】
実施例８．補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）の測定
実験を行い、抗ＣＤ４０抗体のＣＤＣ効果を評価した。実験では、Ｒａｊｉ細胞（細胞密度５×１０４ｃｅｌｌ／ウェル）を９６ウェルプレートに播種した後、抗体２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ、リツキシマブ類似体、又はヒトＩｇＧ１を、５０μｇ／ｍＬの終濃度で加えた。細胞を各抗体で、３７℃で３０分間インキュベートした後、希釈した正常ヒト血清補体（ＱＩＤＥＬ、カタログ番号：Ａ１１３）を加えた。３７℃、５％　ＣＯ２で１．５時間インキュベートした後、ＰｒｅｓｔｏＢｌｕｅ™細胞生存能試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、カタログ番号：２４１３４６６）を各ウェルに加え、プレートを３７℃で２時間、５％　ＣＯ２でインキュベートした。
【０２４８】
結果を図１３に示す。２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥはＣＤＣ効果を示さなかったが、陽性対照であるリツキシマブ類似体は、強力なＣＤＣ効果を示した。
【０２４９】
実施例９．ＰＢＭＣ増殖における抗ＣＤ４０抗体の阻害効果
末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）細胞を、９６ウェルプレート（５×１０４ｃｅｌｌ／ウェル）に播種した。連続希釈した抗体２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ、又はｈＩｇＧ１（１００ｎｇ／ｍＬ、１０ｎｇ／ｍＬ、８ｎｇ／ｍＬ、５ｎｇ／ｍＬ、４ｎｇ／ｍＬ、２ｎｇ／ｍＬ、１ｎｇ／ｍＬ、０．５ｎｇ／ｍＬ、又は０．２５ｎｇ／ｍＬ）を各ウェルに加え、３７℃で１時間インキュベートした。次に、１０μＬの抗ＦＬＡＧ抗体（Ｓｉｇｍａ、カタログ番号：Ｆ１８０４）コンジュゲート化ｓｈＣＤ１５４（ヒトＣＤ４０リガンド／ＴＮＦＳＦ５タンパク質、Ｈｉｓ、フラッグタグ（活性三量体ＭＡＬＳ検証済）、ＡＣＲＯ、カタログ番号：ＣＤＬ－Ｈ５２Ｄｂ）を各ウェルに加え、プレートを３７℃で６４時間インキュベートした。マイクロプレートリーダーによるＶａｚｙｍｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　ＣｅｌｌＣｏｕｎｔｉｎｇ－Ｌｉｔｅ（登録商標）２．０発光細胞生存アッセイ（Ｖａｚｙｍｅ、カタログ番号：ＤＤ１１０１－０２）を使用し、蛍光シグナルを測定した。
【０２５０】
結果を図１４に示し、これは、２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥがＰＢＭＣ増殖を効果的に阻害したことを示した。
【０２５１】
実施例１０．Ｂ細胞増殖における抗ＣＤ４０抗体の阻害効果
末梢血では、Ｂ細胞サブセットは、様々な段階の分化、成熟、及び活性化に対応して区別することができ、これらは、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２７、ＣＤ２３、ＣＤ６９、ＣＤ８０、及びＣＤ８６などの異なる表面マーカーの発現を特徴とし、そのうち、ＣＤ２３、ＣＤ６９、ＣＤ８０、及びＣＤ８６が、活性Ｂ細胞に対する特別な表面マーカーである。
【０２５２】
本実験では、ヒトＰＢＭＣ細胞を、１×１０５ｃｅｌｌ／ウェルの密度で、９６ウェルプレートにプレーティングした。抗ＣＤ４０抗体である２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ及びｈＩｇＧ１を、１０００ｎｇ／ｍＬの最大濃度で連続希釈した（３倍）。１０μＬの抗体を９６ウェルプレートに加えた。３７℃で１時間インキュベートした後、１０μＬ

の、抗ＦＬＡＧ（登録商標）Ｍ２抗体（Ｓｉｇｍａ、カタログ番号：Ｆ１８０４）コンジュゲート化ｓｈＣＤ１５４を加え、３７℃で１８時間インキュベートした。次に、細胞を、ＰＥ抗ヒトＣＤ２０（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ、カタログ番号：３０２３０６）、ＰｅｒＣＰ／Ｃｙａｎｉｎｅ５．５抗ヒトＣＤ６９抗体（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ、カタログ番号：３１０９２６）、Ｂｒｉｌｌｉａｎｔ Ｖｉｏｌｅｔ ４２１™ 抗ヒトＣＤ８６抗体（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ、カタログ番号：３０５４２６）、ＦＩＴＣ抗ヒトＣＤ８０抗体（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ、カタログ番号：３７５４０６）、ＡＰＣ／Ｃｙ７抗ヒトＣＤ２３（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ、カタログ番号：３３８５０２）、ヒトＣＤ４０リガンド／ＴＮＦＳＦ５タンパク質、Ｈｉｓ、フラッグタグ（活性三量体）（ＭＡＬＳ検証済み）（ＡＣＲＯ、カタログ番号：ＣＤＬ－Ｈ５２Ｄｂ－１００μｇ）、及び、モノクローナル抗ＦＬＡＧ（登録商標）Ｍ２抗体（Ｓｉｇｍａ、カタログ番号：Ｆ１８０４－１ＭＧ）を、暗所にて４℃で３０分間インキュベートし、その後、フローサイトメトリー分析をした。結果を、図１５Ａ～１５Ｂに示す。

【０２５３】

２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥの濃度が増加した場合、活性化Ｂ細胞サブセットの割合は全て低下し、２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥが、Ｂ細胞の増殖と活性化を効率的に阻害したことを示している。

【０２５４】

実施例１１．ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスのＥＡＥモデルを用いる、抗ＣＤ４０抗体の効果の評価

実験的自己免疫脳脊髄炎（ＥＡＥ）は、ヒト炎症性脱髄疾患である多発性硬化症（ＭＳ）に対する、最も一般的に用いられる実験モデルである。本実験では、ＥＡＥモデルをｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスにより確立し、ヒト抗ＣＤ４０抗体の効果を分析した。具体的には、ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスを、対照群（Ｇ１）と２つの治療群（Ｇ２及びＧ３）に配置した。次に、１日目（グループ分けの１日後）に、後肋骨の２箇所に、１００μＬのＭＯＧ（ミエリン希突起膠細胞糖タンパク質（３５～５５））（３００μｇ／マウスの用量レベル）を注射することにより、ｈＣＤ４０／ｈＦｃＲｎマウスを免疫付与し、２５０μＬのＰＴＸ（百日咳毒素）を、免疫付与の２及び４８時間後に腹腔内注射し、ＥＡＥモデルを入手した。対照群（Ｇ１）マウスに等体積のＰＢＳを注射した。

【０２５５】

０日目（グループ分けの日）、４日目（グループ分けの４日後）、及び８日目（グループ分けの８日後）に腹腔内注射することにより、１０ｍｇ／ｋｇのｈＩｇＧ１又は２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥをそれぞれ、Ｇ２及びＧ３群のマウスに投与した。対照群マウス（Ｇ１）には注射をしなかった。マウスの体重を量り、ＥＡＥの神経学的症状を毎日調査し、以下の尺度に従いスコア付けをした：０＝症状なし、１＝垂れ下がった尾、２＝後肢の衰弱、３＝後肢の麻痺、４＝前肢の麻痺、５＝マウスの瀕死又は死、及び、０．５の等級付けは、中間スコアを表す。実験終了時（グループ分けの３０日後）に、組織病理学的分析のために脊髄を回収した。投与スキームの詳細を下表に示した。

【０２５６】

【表１０】

群	抗体	投与量（ｍｇ／ｋｇ）	経路	マウスの数	投与総数
Ｇ１	－	－	－	８	－
Ｇ２	ｈＩｇＧ１	１０	ｉ．ｐ．	８	３
Ｇ３	２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ	１０	ｉ．ｐ．	８	３

【０２５７】
図１６～１９に示すように、２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ３）は、動物モデリングにより引き起こされる体重減少を予防することができ（図１６）、臨床スコアを低下させることができる（図１７）。２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥを投与したＥＡＥマウスにおいて、髄膜炎細胞の浸潤（図１８）、及び、脊髄の脱髄（図１９）にも、一定の改善効果があった。

【０２５８】
実施例１２．ｈＣＤ４０マウスのＣＩＡモデルを用いる、抗ＣＤ４０抗体の効果の評価
コラーゲン誘発性関節炎（ＣＩＡ）モデルは、免疫学的及び病理学的類似性を、ヒト関節リウマチ（ＲＡ）と分かち合うため、一般的に用いられるモデルである。ｈＣＤ４０マウスによりＣＩＡモデルを確立し、ヒト抗ＣＤ４０抗体の効果を分析した。

【０２５９】
具体的には、ｈＣＤ４０マウスを、対照群（Ｇ１）と２つのモデル群（Ｇ２及びＧ３）に配置した。次に、５０μＬのＩＩ型コラーゲン（ＣＩＩ）エマルション（ニワトリの胸肋軟骨（ＳＩＧＭＡ　カタログ番号：Ｃ９３０１）由来の、等容積のＣＦＡ及びコラーゲンで構成される）を、０日目（免疫付与初日）に、尾の付け根２箇所に注射することにより、ｈＣＤ４０マウスを免疫付与した。２１日目（最初の免疫付与の２１日後）に、２回目の免疫付与を等用量で行い、ＣＩＡモデルを入手した。対照群（Ｇ１）に等体積のＰＢＳを注射した。

【０２６０】
０日目、４日目、７日目、２０日目、２４日目、及び２７日目に腹腔内注射を行うことにより、Ｇ３マウスに３ｍｇ／ｋｇの１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥを投与した。Ｇ２マウスに、等体積のＰＢＳを投与した。Ｇ１マウスには注射しなかった。マウス全ての体重を量り、（Ａ）指の指節間関節、（Ｂ）中手指節関節、並びに、（Ｃ）前足の手首、及び後足の中足指節関節と足首関節の、紅斑及び腫脹の徴候を毎日モニタリングした。個々の足の臨床関節炎の重症度を、以下のとおり、０～４の尺度でスコア付けした：
０＝正常。健常なマウスと、外観に顕著な差は見られない、
１＝１種類の関節（Ａ、Ｂ、又はＣ）紅斑及び腫脹、
２＝２種類の関節（Ａ、Ｂ、又はＣ）紅斑及び腫脹、
３＝３種類全ての関節（Ａ、Ｂ、又はＣ）紅斑及び腫脹、並びに
４＝足全体に紅斑及び腫脹。

【０２６１】
動物のスコアは、４つの四肢全ての尺度の合計で、０～１６の尺度である。実験終了時（最初の免疫付与の５６日後）に、組織病理学的分析のために四肢を回収した。投与スキームの詳細を下表に示した。

【０２６２】
【表１１】

群	抗体	投与量（ｍｇ／ｋｇ）	経路	マウスの数	投与総数
Ｇ１	－	－	－	１０	－
Ｇ２	ＰＢＳ	－	ｉ．ｐ．	１０	6
Ｇ３	１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ	3	ｉ．ｐ．	１０	6

【０２６３】
対照群Ｇ２と比較して、低い臨床スコア及び発症率により明らかであるように、図２０～２３に示すように、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ（Ｇ３）は、動物モデリングにより引き起こされる体重減少を予防することができ（図２０）、臨床上の重症度を大幅に低下させることができる（図２１～２２）。図２３に示すように、炎症細胞の流入（ａ）、滑膜過形成（ｂ）、パンヌス形成（ｃ）、及び脊髄の脱髄もまた、１２Ｂ５－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥ治療群と対照とにおいて、改善したことを、関節組織の組織病理学的分析結果は示した。
【０２６４】
実施例１３．抗ＣＤ４０抗体のインビボ効果
アレルギー性皮膚炎（ＡＤ）は、紅斑、掻痒、鱗屑化、苔癬化、及び小水疱性丘疹を特徴とする皮膚の炎症状態である。
【０２６５】
本実験では、ＡＤと診断されたイヌにおける、抗ＣＤ４０抗体である２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥのインビボ効果を評価した。実験前に、イヌは、１年以上、再発性ＡＤの症状を有し、反復糖質コルチコイド治療を受けていた。具体的には、抗体を静脈内（ｉ．ｖ．）注射により投与した。注射量を、イヌの体重に基づき計算した。投与頻度は、２週間に１回（合計６回の投与）であった。２回の注射の後、紅斑が、イヌの皮膚で有意に減少したことが観察された。末梢血もまた回収し、血液生化学及び全血球計算（ＣＢＣ）を試験した。試験された抗体である２Ｆ８－ＩｇＧ１－ＬＡＬＡ－ＹＴＥは、イヌにおいて十分忍容され、毒性を持たなかったことを、結果は示した。拒絶反応は観察されなかった。
【０２６６】
他の実施形態
本発明をその詳細な説明と併せて説明してきたが、上記の説明は例示を目的とするものであり、添付の特許請求の範囲によって規定される本発明の範囲を限定するものではないことを理解されたい。他の態様、利点、及び修正は、以下の特許請求の範囲内である。

【図面】

【図１】

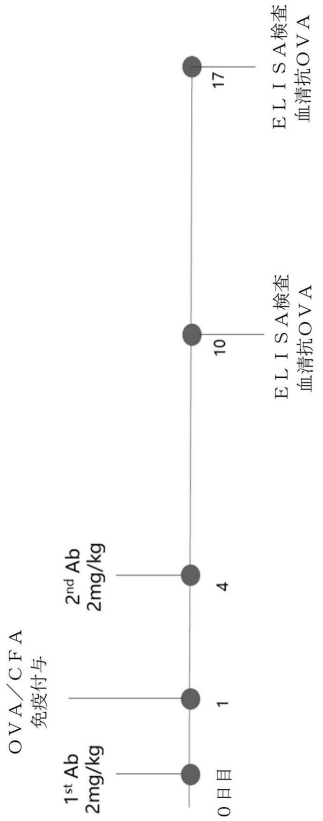


図１

【図２】

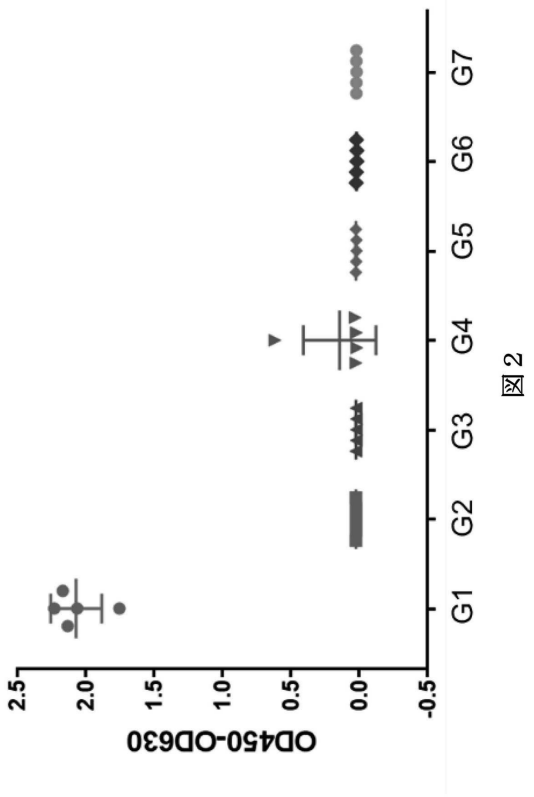


図２

【図３】

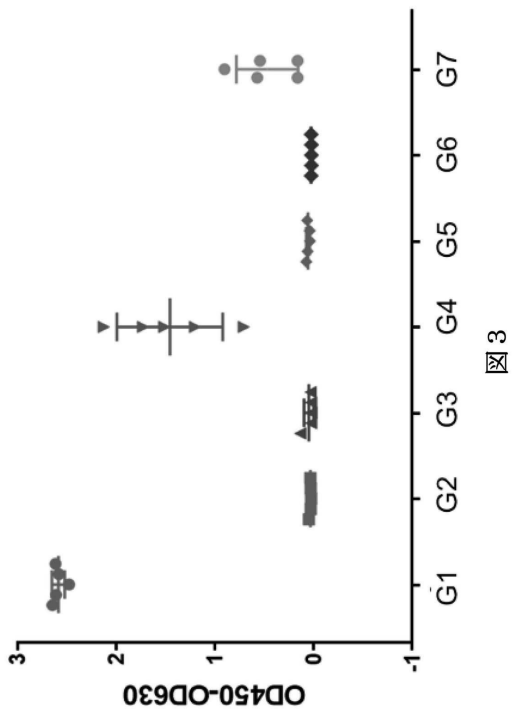


図３

【図４】

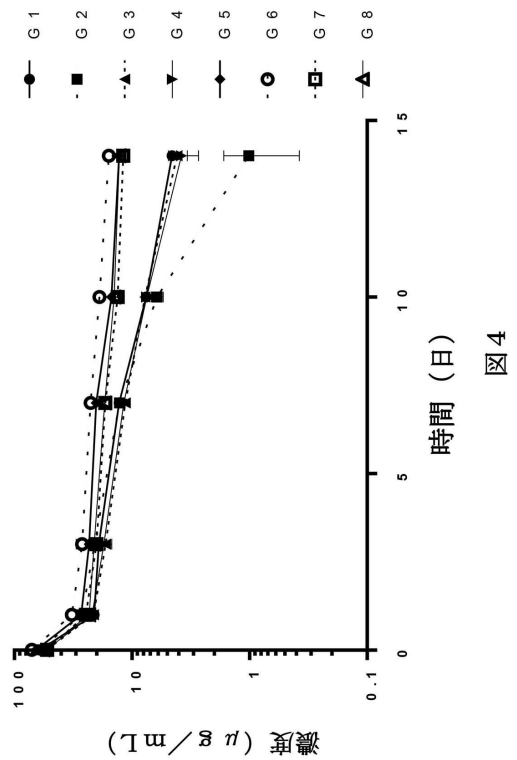


図４

【図５】

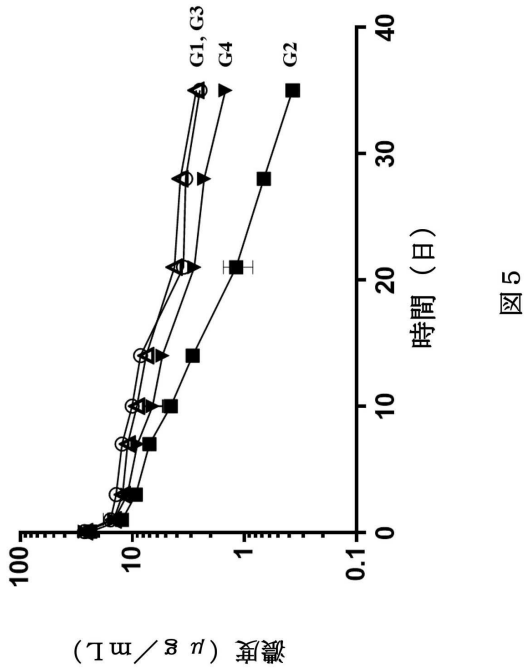


図５

【図６】

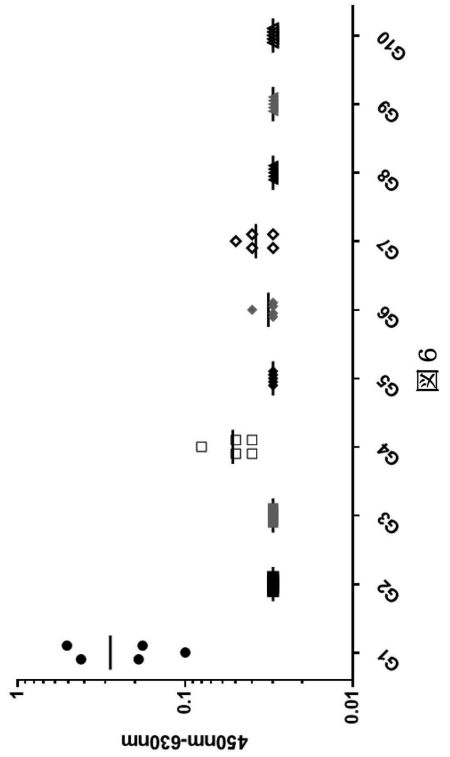


図６

【図７】

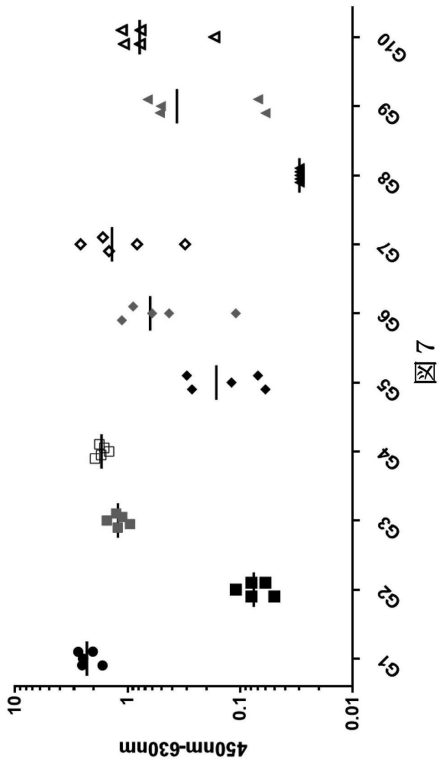


図７

【図８】

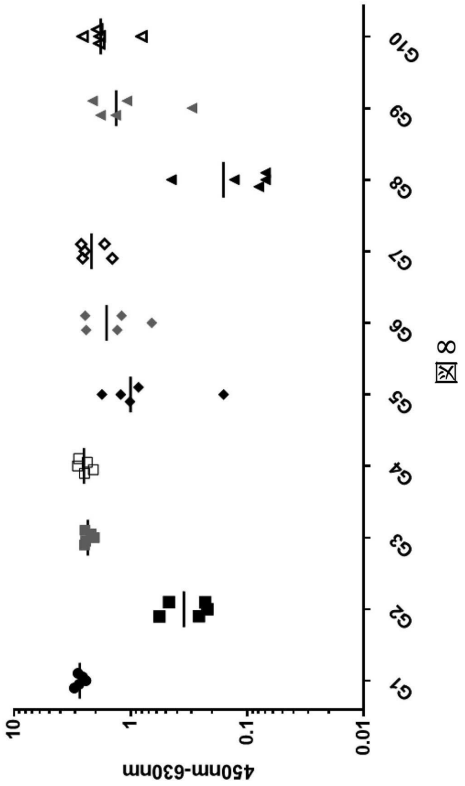


図８

【図９】

抗ＣＤ４０抗体に対するＫａｂａｔ　ＣＤＲ

Ab	VH CDR1	配列番号	VH CDR2	配列番号	VH CDR3	配列番号	VL CDR1	配列番号	VL CDR2	配列番号	VL CDR3	配列番号
2F8	SYAMH	1	VISYDGDNKYHAESVKG	2	RGTVTNYYSYSGLDV	3	RSSQSLLYSNGKNYLD	4	LASNRAS	5	MQALQTPRT	6
6A4	NYVMS	7	TIRGSGISTYYTDSVKG	8	GIVGATTPFDY	9	RASQSVRSFLA	10	ETSNRAT	11	QQRSDWPPT	12
12B5	YYYWS	13	HISYSGSTNYNPSLKS	14	GIVGARRGFDF	15	RASQSVSNNLA	16	DASNRAA	17	QQRNNWPPT	18

図９

【図１０】

抗ＣＤ４０抗体に対するＣｈｏｔｈｉａ　ＣＤＲ

Ab	VH CDR1	配列番号	VH CDR2	配列番号	VH CDR3	配列番号	VL CDR1	配列番号	VL CDR2	配列番号	VL CDR3	配列番号
2F8	GFSFSSY	19	SYDGDN	20	RGTVTNYYSYSGLDV	21	RSSQSLLYSNGKNYLD	22	LASNRAS	23	MQALQTPRT	24
6A4	GFTFSNY	25	RGSGIS	26	GIVGATTPFDY	27	RASQSVRSFLA	28	ETSNRAT	29	QQRSDWPPT	30
12B5	GGSISYY	31	SYSGS	32	GIVGARRGFDF	33	RASQSVSNNLA	34	DASNRAA	35	QQRNNWPPT	36

図１０

【図１１】

抗体可変ドメイン	アミノ酸配列	配列番号
２Ｆ８ヒト重鎖可変領域	EVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSSYAMHWVRQVPGKGLEWVSVISYDGDNKYHAESVKGRFTISRDNSKNILYLQMNSLRPEDTAVYYCAR	６５
２Ｆ８ヒト軽鎖可変領域	DIQLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGKNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLASNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCMQALQTPRTFGQGTKVEIKR	３７
６Ａ４ヒト重鎖可変領域	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYVMSWVRQAPGKGLEWVSTIRGSGISTYYTDSVKGRFTTSRDNPKNTLFLQMSSLRAEDTAVYYCAKGIVGATTPFDYWGQGTLVTVSS	３８
６Ａ４ヒト軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSFLAWYQQKPGQAPRLLIYETSNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSDWPPTFGQGTKVEIKR	３９
１２Ｂ５ヒト重鎖可変領域	QVQLVQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISYYWSWIRQPPGKGLEWIGHISYSGSTNYNPSLKSRVTISEDTSKKQFSLKLDSVTAADTAVYYCAGGIVGARRGFDFWGQGTLVTVSS	４０
１２Ｂ５ヒト軽鎖可変領域	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAADIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNNWPPTFGQGTKVEIKR	４１

図１１

【図１２】

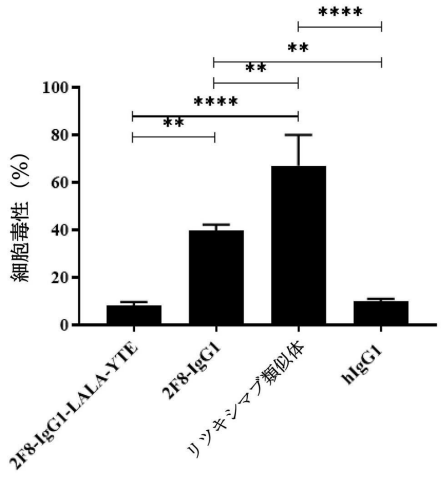


図１２

【図１３】

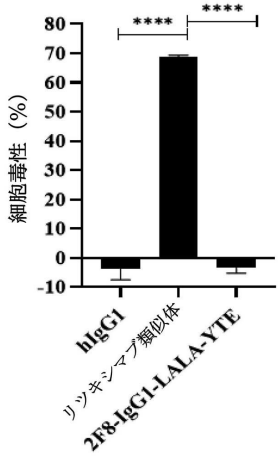


図１３

【図１４】

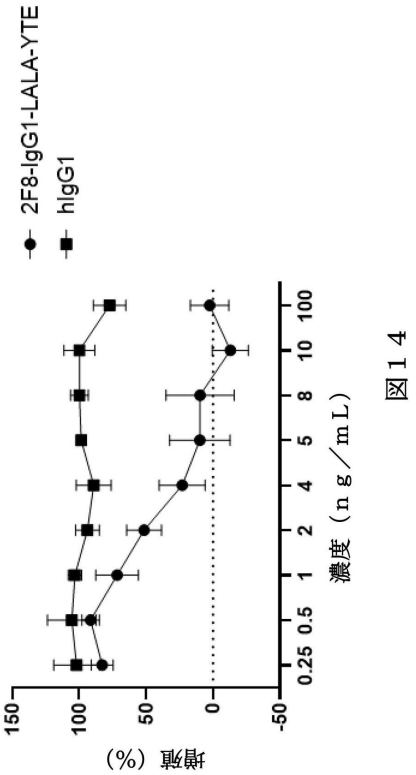


図１４

【図１５Ａ】

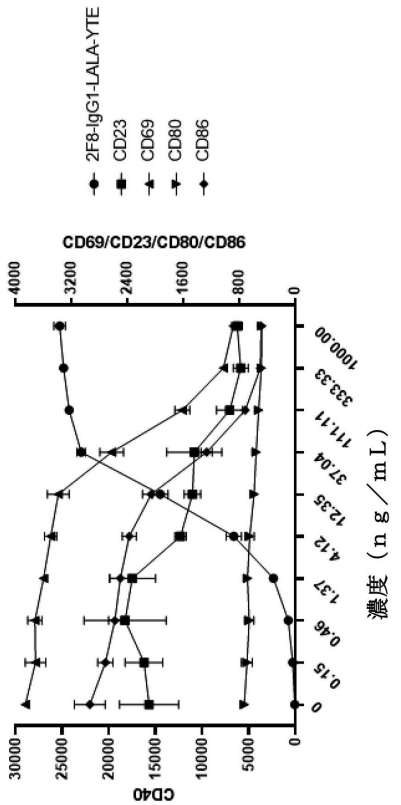


図１５Ａ

【図１５Ｂ】

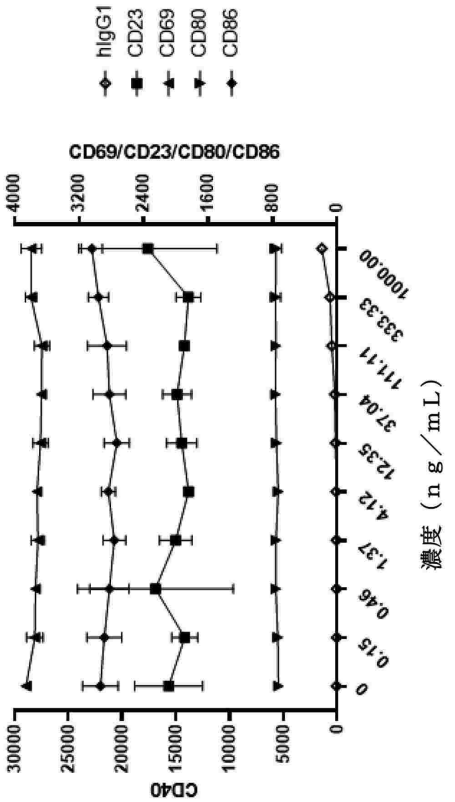


図１５Ｂ

【図１６】

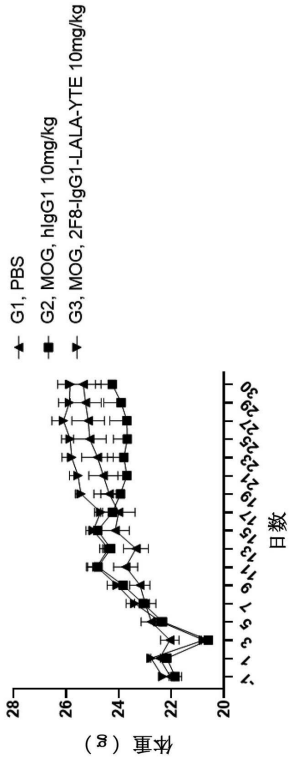


図１６

【図１７】

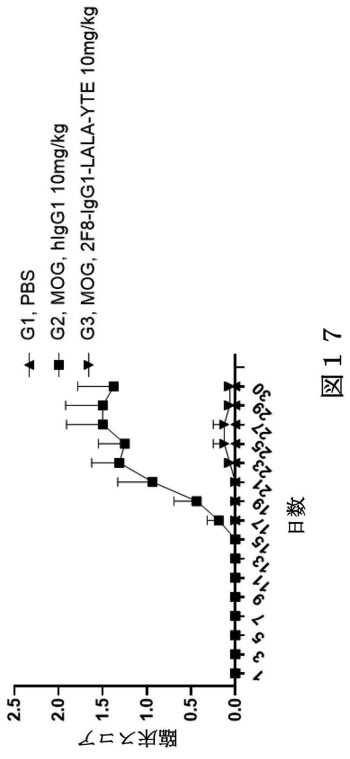


図１７

【図１８】

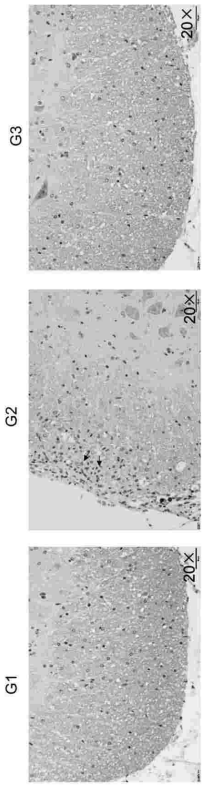


図１８

【図１９】



図１９

【図２０】

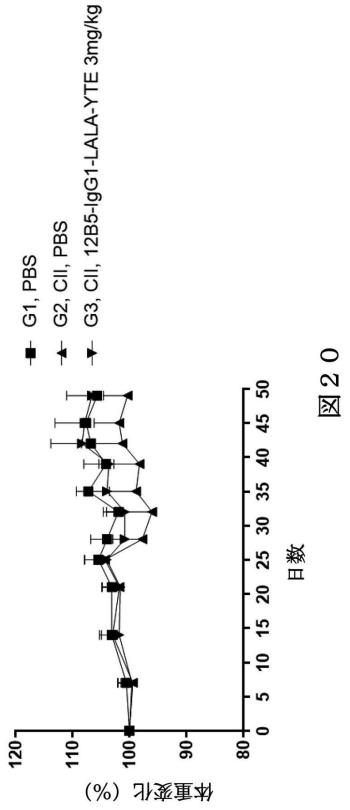


図２０

【図２１】

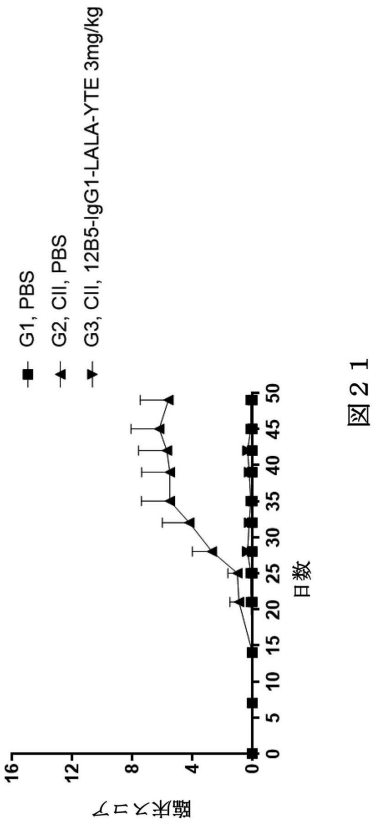


図２１

【図２２】

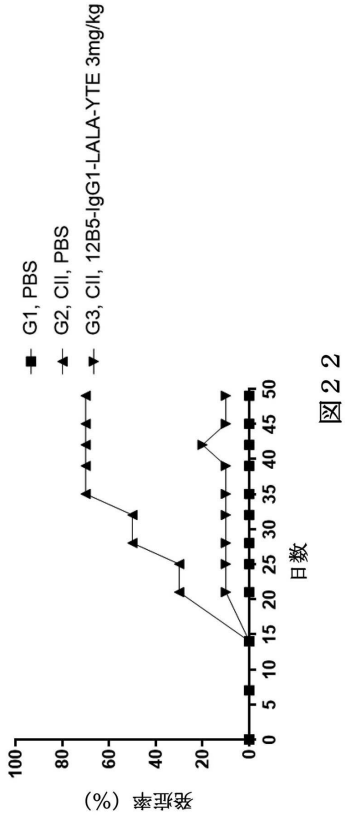


図２２

【図２３】

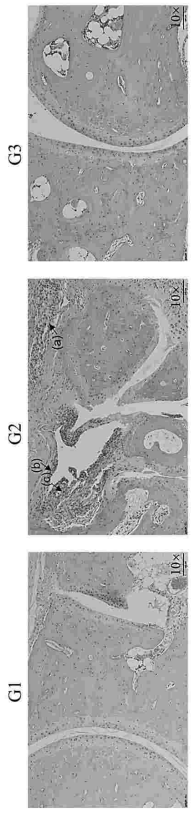


図２３

【図２４－１】

図２４A

ヒトCD40タンパク質（配列番号42）
MVRLPLQCVLWGCLLTAVHPEPPTACREKQYLINSQCCSLCQPGQKLVSDCTEFTETECLPCGESEFLDTWN
RETHCHQHKYCDPNLGLRVQQKGTSETDTICTCEEGWHCTSEACESCVLHRSCSPGFGVKQIATGVSDTICE
PCPVGFFSNVSSAFEKCHPWTSCETKDLVVQQAGTNKTDVVCGPQDRLRALVVIPIIFGILFAILLVLVFIK
KVAKKPTNKAPHPKQEPQEINFPDDLPGSNTAAPVQETLHGCQPVTQEDGKESRISVQERQ

プレセルマブVH（配列番号43）
QLQLQESGPGLLKPSETLSLTCTVSGGSISSPGYYGGWIRQPPGKGLEWIGSIYKSGSTYHNPSLKSRVTIS
VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTRPVVRYFGWFDPWGQGTLVTVSS

プレセルマブVL（配列番号44）
AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLESGVPSRFSGSGSGTDFT
LTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPTFGQGTKVEIKR

イスカリマブVH（配列番号45）
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYEESNRYHADSVKGRFTISR
DNSKITLYLQMNSLRTEDTAVYYCARDGGIAAPGPDYWGQGTLVTVSS

イスカリマブVL（配列番号46）
DIVMTQSPLSLTVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPQVLISLGSNRASGVPDRFSGSGS
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQARQTPFTFGPGTKVDIRR

B165506４VH（配列番号47）
EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMNWVRQAPGKGLEWIAYISSGRGNIYYADTVKGRFTISR
DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSWGYFDVWGQGTTVTVSS

【図２４－２】

図２４B

B165506４VL（配列番号48）
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNRGNQKNYLTWFQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSG
SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNDYTYPLTFGQGTKLEIKR

キメラCD40タンパク質（配列番号49）
MVSLPRLCALWGCLLTAVHPEPPTACREKQYLINSQCCSLCQPGQKLVSDCTEFTETECLPCGESEFLDTWN
RETHCHQHKYCDPNLGLRVQQKGTSETDTICTCEEGWHCTSEACESCVLHRSCSPGFGVKQIATGVSDTICE
PCPVGFFSNVSSAFEKCHPWTSCETKDLVVQQAGTNKTDVVCGPQDRLRALLVIPVVMGILITIFGVFLYIK
KVVKKPKDNEILPPAARRQDPQEMEDYPGHNTAAPVQETLHGCQPVTQEDGKESRISVQERQVTDSIALRPL
V

マウスCD40タンパク質（配列番号50）
MVSLPRLCALWGCLLTAVHLGQCVTCSDKQYLHDGQCCDLCQPGSRLTSHCTALEKTQCHPCDSGEFSAQWN
REIRCHQHRHCEPNQGLRVKKEGTAESDTVCTCKEQQHCTSKDCEACAQHTPCIPGFGVMEMATETTDTVCH
PCPVGFFSNQSSLFEKCYPWTSCEDKNLEVLQKGTSQTNVICGLKSRMRALLVIPVVMGILITIFGVFLYIK
KVVKKPKDNEILPPAARRQDPQEMEDYPGHNTAAPVQETLHGCQPVTQEDGKESRISVQERQVTDSIALRPL
V

ヒトFcRnタンパク質（配列番号51）
MGVPRPQPWALGLLLFLLPGSLGAESHLSLLYHLTAVSSPAPGTPAFWVSGWLGPQQYLSYNSLRGEAEPCG
AWVWENQVSWYWEKETTDLRIKEKLFLEAFKALGGKGPYTLQGLLGCELGPDNTSVPTAKFALNGEEFMNFD
LKQGTWGGDWPEALAISQRWQQQDKAANKELTFLLFSCPHRLREHLERGRGNLEWKEPPSMRLKARPSSPGF
SVLTCSAFSFYPPELQLRFLRNGLAAGTGQGDFGPNSDGSFHASSSLTVKSGDEHHYCCIVQHAGLAQPLRV
EVESPAKSSLVVVGIVIGVLLLTAAAVGGALLWRRMKSGLPAPWISKGDDTGVLLPTPGEAQDADLKDVNV
IPATA

IgG1重鎖定常領域（配列番号52）
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【図２４－３】

図２４C

S１８５変異を有するIgG1重鎖定常領域（配列番号53）
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LALA変異を有するIgG1重鎖定常領域（配列番号54）
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

LALA変異及びYTE変異を有するIgG1重鎖定常領域（配列番号55）
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

N２９７A変異及びYTE変異を有するIgG1重鎖定常領域（配列番号56）
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

【図２４－４】

図２４D

KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

IgG4重鎖定常領域（配列番号57）
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

IgG4重鎖定常領域（配列番号58）
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVV
DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

プレセルマブ重鎖定常領域　配列番号９６
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV

10

20

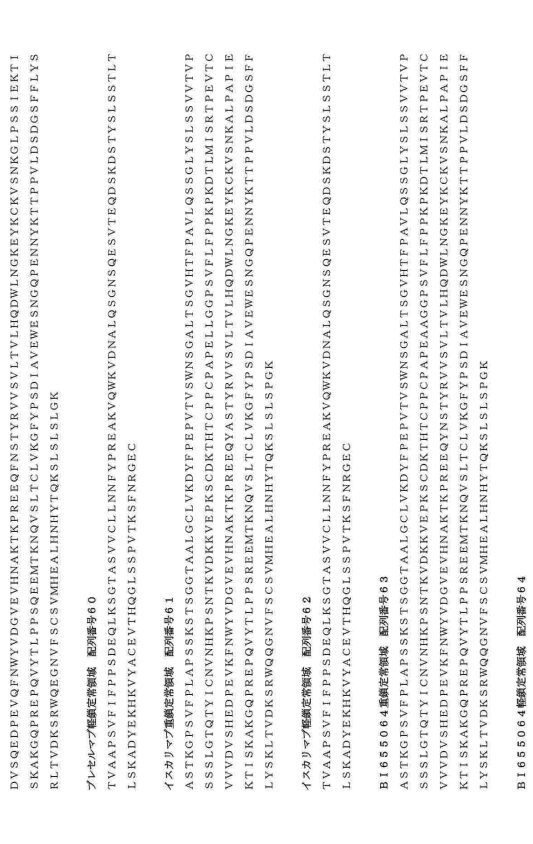
30

40

50

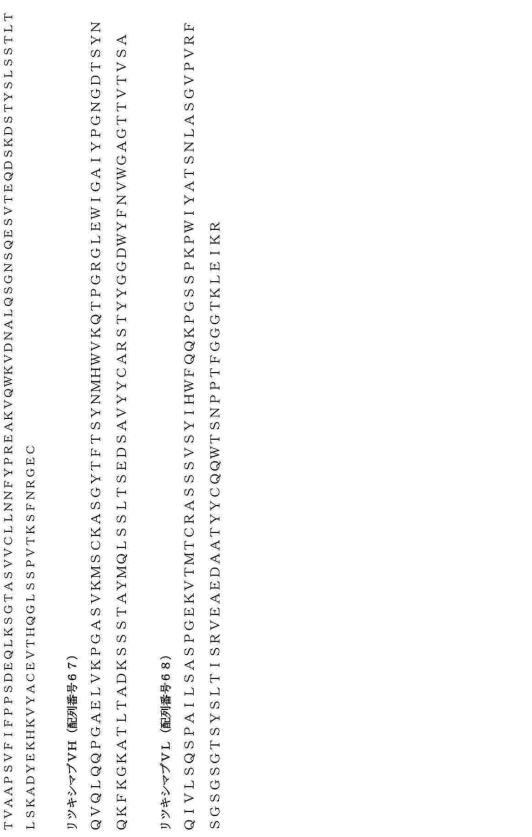
【図２４－５】

図２４E



【図２４－６】

図２４F



【配列表】

<u>2025512025000001.xml</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/088417

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 16/28(2006.01)i; C12N15/12(2006.01)i; A61K39/395 (2006.01)i; A61P35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC:C07K,C12N,A61K,A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNTXT,ENTXT,CJFD,ENTXTC,Baidu,CNKI,Wanfang Database,GenBank,EBI-EMBL, STN, ISI Web of Knowledge, PubMed, SpringerLink: Applicant/Inventor, SEQ ID NOs:1-41,65 of the application, CD40,BP50,TNF,TNFR,TNFRSF5, TUMOR NECROSIS FACTOR RECEPTOR SUPERFAMILY MEMBER5, TNF RECEPTOR SUPERFAMILY MEMBER 5, antibody,cancer.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2020014974 A1 (EUCURE (BEIJING)BIOPHARMA CO.,LTD.) 23 January 2020 (2020-01-23) description page 32, examples 1-2,5,8	54-60
X	AU 2016201742 A1 (NOVARTIS AG.) 07 April 2016 (2016-04-07) Table1,7	54-60
A	CN 103596593 A (BETH ISRAEL DEACONESS MEDICAL CENTER INC.et al.) 19 February 2014 (2014-02-19) the whole document	1-60
A	CN 112334195 A (BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH) 05 February 2021 (2021-02-05) the whole document	1-60
A	US 2010119516 A1 (WU,YAN) 13 May 2010 (2010-05-13) the whole document	1-60

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
12 July 2023	**20 July 2023**
Name and mailing address of the ISA/CN **CHINA NATIONAL INTELLECTUAL PROPERTY ADMINISTRATION** **6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing 100088, China**	Authorized officer **GAO,Ya** Telephone No. **(+86) 010-53961943**

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/088417

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	HORTON,H.M. et al. "Fc-engineered anti-CD40 antibody enhances multiple effector functions and exhibits potent in vitro and in vivo antitumor activity against hematologic malignancies" *BLOOD*, Vol. 116, No. 16, 21 October 2010 (2010-10-21), 3004-3012 3004-3012	1-60

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/088417

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed.
   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/088417

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

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

1. ☑ Claims Nos.: **42-51**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 42-51 relate to a method of treating a subject having cancer, decreasing the rate of tumor growth, killing a tumor cell, inhibiting immune response or treating an autoimmune disease, the method comprising contacting a tumor cell or administering to subject with an effective amount of a composition comprising the antibody or antigen-binding fragment of any one of claims 1-10 and 31-39, or the antibody-drug conjugated of claims 40 or 41. The subject matter of claims 42-51 relates to the treatment of human bodies, and therefore does not warrant an international search according to the criteria set out in PCT Rule 39.1(iv). An international search is still carried out on the basis of the use of a composition comprising the antibody, antigen-binding fragment or antibody-drug conjugate for the manufacturing of a medicament for the treatment of cancer, decreasing the rate of tumor growth, killing a tumor cell, inhibiting immune response or treating an autoimmune disease.

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/088417

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2020014974	A1	23 January 2020	US	2021155705	A1	27 May 2021
				US	11142582	B2	12 October 2021
				AU	2018432434	A1	28 January 2021
				US	2021403588	A1	30 December 2021
				JP	2022500004	A	04 January 2022
				JP	7212138	B2	24 January 2023
				CA	3105875	A1	23 January 2020
				MX	2021000688	A	25 March 2021
				BR	112021001083	A2	11 May 2021
				EP	3823987	A1	26 May 2021
				EP	3823987	A4	02 March 2022
				SG	11202100510	PA	25 February 2021
				IL	280281	A	25 March 2021
				KR	20210033029	A	25 March 2021
AU	2016201742	A1	07 April 2016	AU	2016201742	B2	02 November 2017
CN	103596593	A	19 February 2014	AU	2017216556	A1	07 September 2017
				AU	2017216556	B2	15 August 2019
				PL	2683406	T3	29 November 2019
				DK	2683406	T3	08 July 2019
				TR	201909840	T4	22 July 2019
				CA	3122934	A1	20 September 2012
				US	2022133887	A1	05 May 2022
				WO	2012125569	A2	20 September 2012
				WO	2012125569	A3	08 November 2012
				US	2014093497	A1	03 April 2014
				US	9987356	B2	05 June 2018
				JP	2014509855	A	24 April 2014
				JP	6170840	B2	26 July 2017
				AU	2019246821	A1	31 October 2019
				AU	2019246821	B2	14 January 2021
				SI	2683406	T1	30 October 2019
				US	2018344845	A1	06 December 2018
				US	10561728	B2	18 February 2020
				PT	2683406	T	08 July 2019
				HUE	044591	T2	28 November 2019
				US	2020261574	A1	20 August 2020
				EP	3556774	A1	23 October 2019
				CA	2852056	A1	20 September 2012
				CA	2852056	C	10 August 2021
				AU	2012229236	A1	24 October 2013
				AU	2012229236	B2	18 May 2017
				ES	2733646	T3	02 December 2019
				EP	2683406	A2	15 January 2014
				EP	2683406	A4	24 September 2014
				EP	2683406	B1	08 May 2019
CN	112334195	A	05 February 2021	JP	2021529754	A	04 November 2021
				BR	112020024078	A2	17 February 2021
				US	2021261678	A1	26 August 2021
				EP	3813950	A1	05 May 2021
				WO	2020006347	A1	02 January 2020

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/088417

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
		PH	12020552235	A1	28 June 2021
		MX	2020013885	A	09 March 2021
		KR	20210027436	A	10 March 2021
		CA	3101469	A1	02 January 2020
		EA	202190094	A1	21 April 2021
		AU	2019291890	A1	17 December 2020
		CL	2020003348	A1	19 July 2021
US 2010119516 A1	13 May 2010	JO	3096	B1	15 March 2017
		TW	201026326	A	16 July 2010
		TWI	384998	B	11 February 2013
		EP	2356152	A1	17 August 2011
		BRPI	0921263	A2	04 August 2015
		KR	20110067155	A	21 June 2011
		KR	101283856	B1	15 July 2013
		PA	8846101	A1	28 June 2010
		US	2012177666	A1	12 July 2012
		JP	2012508170	A	05 April 2012
		JP	5667067	B2	12 February 2015
		NZ	591943	A	30 November 2012
		EA	201170659	A1	31 October 2011
		EA	025169	B1	30 November 2016
		WO	2010053814	A1	14 May 2010
		MX	2011004871	A	13 July 2011
		SG	10201401280	TA	29 May 2014
		US	8147834	B2	03 April 2012
		AU	2009311375	A1	14 May 2010
		AU	2009311375	B2	31 July 2014
		AR	073909	A1	09 December 2010
		CA	2742961	A1	14 May 2010
		CA	2742961	C	30 August 2016
		ZA	201103178	B	31 October 2012
		IL	211842	A0	30 June 2011
		IL	211842	A	29 September 2016

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*5/10 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/10		
Ｃ１２Ｐ	*21/02 (2006.01)*	Ｃ１２Ｐ	21/02	Ｃ	
Ｃ１２Ｎ	*5/09 (2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/09		
Ａ６１Ｋ	*39/395(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｎ	
Ａ６１Ｋ	*47/68 (2017.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｄ	
Ａ６１Ｐ	*25/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	47/68		
Ａ６１Ｐ	*17/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/00		
Ａ６１Ｐ	*37/08 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/00		
Ａ６１Ｐ	*37/06 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/08		
Ａ６１Ｐ	*29/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/06		
Ａ６１Ｐ	*19/02 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	29/00	１０１	
Ａ６１Ｐ	*13/12 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/02		
Ａ６１Ｐ	*35/02 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/12		
Ａ６１Ｐ	*7/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/02		
Ａ６１Ｐ	*35/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/00		
Ａ６１Ｐ	*1/18 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/00		
		Ａ６１Ｐ	1/18		

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人　100141977
弁理士　中島 勝
(74)代理人　100138210
弁理士　池田 達則
(74)代理人　100225598
弁理士　桐島 拓也
(72)発明者　リウ ヤーツイ
中華人民共和国，１０２６００ ベイジン，ダクシング ディストリクト，ダクシング バイオ－メディスン インダストリー パーク，バオシェン サウス ストリート，ナンバー １２
(72)発明者　ティエン マオポン
中華人民共和国，１０２６００ ベイジン，ダクシング ディストリクト，ダクシング バイオ－メディスン インダストリー パーク，バオシェン サウス ストリート，ナンバー １２
(72)発明者　ヤン ファン
中華人民共和国，１０２６００ ベイジン，ダクシング ディストリクト，ダクシング バイオ－メディスン インダストリー パーク，バオシェン サウス ストリート，ナンバー １２
(72)発明者　ヤン イー
中華人民共和国，１０２６００ ベイジン，ダクシング ディストリクト，ダクシング バイオ－メディスン インダストリー パーク，バオシェン サウス ストリート，ナンバー １２

Ｆターム（参考）　4B064　AG26 CA10 CA19 CC24 DA01
4B065　AA90X AA90Y AB01 AC14 AC20 BA02 CA25 CA44 CA46
4C076　AA95 CC07 CC27 EE41 EE59
4C085　AA13 AA14 AA25 AA26 BB11 BB36 BB42 CC01 DD62 EE01
4H045　AA11 AA20 AA30 BA10 BA40 BA50 CA40 DA75 EA20 FA74