

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7554178号
(P7554178)

(45)発行日 令和6年9月19日(2024.9.19)

(24)登録日 令和6年9月10日(2024.9.10)

(51)国際特許分類		F I		
C 0 7 K	16/30 (2006.01)	C 0 7 K	16/30	Z N A
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
請求項の数 53 (全112頁) 最終頁に続く				
(21)出願番号	特願2021-503155(P2021-503155)	(73)特許権者	520470257	
(86)(22)出願日	平成30年7月26日(2018.7.26)		タユー ファシャ バイオテック メディ	
(65)公表番号	特表2022-501312(P2022-501312 A)		カル グループ カンパニー, リミテッド	
(43)公表日	令和4年1月6日(2022.1.6)		中華人民共和国 1 0 2 6 2 9 ベイジン	
(86)国際出願番号	PCT/CN2018/097175		, ダシン ディストリクト, ベイザン	
(87)国際公開番号	WO2020/019232		チュン タウン, ヨンワン シールー 2	
(87)国際公開日	令和2年1月30日(2020.1.30)		6 ユアン, ジョングアンチュン イー	
審査請求日	令和3年7月26日(2021.7.26)	(74)代理人	リャオチーシエ ユアン, 1 2 - 2 ロウ	
			100102978	
		(74)代理人	弁理士 清水 初志	
			100160923	
		(74)代理人	弁理士 山口 裕孝	
			100119507	
		(74)代理人	弁理士 刑部 俊	
			100142929	
				最終頁に続く

(54)【発明の名称】 イメージングのための組成物および方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

抗体部分および第1のコンジュゲーション部分を含む抗体剤であって、前記抗体部分が、抗体またはその抗原結合性断片であり、該抗体またはその抗原結合性断片が、P D - L 1 に特異的に結合し、前記抗体またはその抗原結合性断片が、重鎖可変領域（V_H）および軽鎖可変領域（V_L）を含み、

a）前記V_Hが、配列番号41のアミノ酸配列を含むH C - C D R 1、配列番号42のアミノ酸配列を含むH C - C D R 2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むH C - C D R 3を含み、

b）前記V_Lが、配列番号44のアミノ酸配列を含むL C - C D R 1、配列番号45のアミノ酸配列を含むL C - C D R 2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むL C - C D R 3を含み、かつ、

前記第1のコンジュゲーション部分が、i n v i v oで第2のコンジュゲーション部分にコンジュゲートされ得、かつ、該第1のコンジュゲーション部分および該第2のコンジュゲーション部分が、それぞれ、クリックケミストリー対のメンバーを含む、抗体剤。

【請求項2】

a）前記V_Hが、配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；および

b）前記V_Lが、配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配

列に対して少なくとも 90% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の抗体剤。

【請求項 3】

前記抗体部分が、配列番号 21 または 23 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の抗体剤。

【請求項 4】

前記抗体部分が、一本鎖 Fv (s c F v)、F a b、F a b'、F (a b')₂、F v 断片、ジスルフィド安定化 F v 断片 (d s F v)、(d s F v)₂、F v - F c 融合体、s c F v - F c 融合体、s c F v - F v 融合体、ダイアボディ、トリボディおよびテトラボディからなる群から選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の抗体剤。

10

【請求項 5】

前記抗体部分が、I g G、I g M、I g A、I g D および I g E からなる群から選択されるアイソタイプを有する、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の抗体剤。

【請求項 6】

前記抗体部分が、F c 断片に融合した s c F v を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の抗体剤。

【請求項 7】

前記 F c 断片が、H 3 1 0 A および H 4 3 5 Q 変異を含み、該変異のアミノ酸位置が、K a b a t 番号付けシステムに基づく、請求項 6 に記載の抗体剤。

【請求項 8】

20

前記第 1 のコンジュゲーション部分が、i n v i v o で第 2 のコンジュゲーション部分にコンジュゲートされ得る、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗体剤。

【請求項 9】

前記クリックケミストリー対が、t r a n s - シクロオクテン (T C O) - テトラジン (T z) 対、アジド - アルキン対、アルキン - ニトロソ対、アルケン - テトラゾール対、およびイソニトリル - テトラジン対からなる群から選択される、請求項 1 に記載の抗体剤。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗体剤の抗体部分をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 11】

請求項 10 に記載のポリヌクレオチドを含む核酸構築物であって、前記ポリヌクレオチドと動作可能に接続されているプロモーターを必要に応じてさらに含む核酸構築物。

30

【請求項 12】

請求項 11 に記載の核酸構築物を含むベクター。

【請求項 13】

請求項 10 に記載のポリヌクレオチド、請求項 11 に記載の核酸構築物、または請求項 12 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 14】

請求項 1 ~ 9 に記載の抗体剤の抗体部分、請求項 10 に記載のポリヌクレオチド、請求項 11 に記載の核酸構築物、請求項 12 に記載のベクター、または請求項 13 に記載の宿主細胞を含む、培養培地。

40

【請求項 15】

個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法において使用するための、請求項 1 に記載の抗体剤および放射性核種化合物を含む組み合わせ物であって、前記方法が、

(a) 前記抗体剤の有効量を前記個体に投与するステップであって、前記抗体部分が前記免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、ステップ；

(b) その後、前記放射性核種化合物の有効量を前記個体に投与するステップであって、前記放射性核種化合物が放射性核種と第 2 のコンジュゲーション部分とを含み、前記第 1 のコンジュゲーション部分および前記第 2 のコンジュゲーション部分が、i n v i v o で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；および

50

(c) 非侵襲的イメージング技術を用いて前記個体における前記イメージング剤をイメージングするステップを含むものである、組み合わせ物。

【請求項 16】

前記第1のコンジュゲーション部分および前記第2のコンジュゲーション部分各々が、クリックケミストリー対のメンバーを含み、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる、請求項15に記載の組み合わせ物。

【請求項 17】

前記ケミストリー対が、TCO-Tz対、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロソ対、アルケン-テトラゾール対、およびイソニトリル-テトラジン対からなる群から選択される、請求項16に記載の組み合わせ物。

10

【請求項 18】

前記第1のコンジュゲーション部分がtrans-シクロオクテン(TCO)であり、前記第2のコンジュゲーション部分がテトラジン(Tz)であるか、または前記第1のコンジュゲーション部分がTzであり、前記第2のコンジュゲーション部分がTCOである、請求項16に記載の組み合わせ物。

【請求項 19】

前記放射性核種化合物が、前記抗体剤の投与後1時間~100時間の間に投与される、請求項15~18のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 20】

20

前記抗体剤の前記有効量が、0.1mg/kg~100mg/kgの間である、請求項15~19のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 21】

前記放射性核種の前記有効量が、10uCi~500uCiの間である、請求項15~20のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 22】

前記イメージングが、前記放射性核種化合物の投与後30分~24時間の間に行われる、請求項15~21のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 23】

前記方法が、前記個体の目的の組織における前記免疫チェックポイントリガンドの発現レベルを、前記組織から前記イメージング剤により放出されるシグナルに基づいて決定するステップをさらに含むものである、請求項15~22のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

30

【請求項 24】

前記イメージング剤が、10分~7日の間以内に前記個体からクリアランスされる、請求項15~23のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 25】

前記抗体剤の半減期が、血清中で10分~8日の間である、請求項15~24のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 26】

40

前記抗体部分と前記免疫チェックポイントリガンドとの結合が、 $9 \times 10^{-10} \text{ M}$ ~ $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ の間の K_D を有する、請求項15~25のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 27】

前記抗体部分の分子量が、400kDa以下である、請求項15~26のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 28】

前記抗体部分が、非ヒト哺乳動物からの前記免疫チェックポイントリガンドと交差反応する、請求項15~27のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 29】

前記抗体部分がヒト化されている、請求項15~28のいずれか一項に記載の組み合わせ

50

せ物。

【請求項 30】

前記抗体部分が、酸性 pH で安定している、請求項 15～29 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 31】

前記抗体部分が、55～70℃の融解温度 (T_m) を有する、請求項 15～30 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 32】

前記抗体部分が、一本鎖 Fv (scFv)、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv 断片、ジスルフィド安定化 Fv 断片 (dsFv)、(dsFv)₂、Fv-Fc 融合体、scFv-Fc 融合体、scFv-Fv 融合体、ダイアボディ、トリボディおよびテトラボディからなる群から選択される、請求項 15～31 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 33】

前記抗体部分が、Fc 断片に融合した scFv を含む、請求項 15～32 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 34】

前記 Fc 断片が、ヒト IgG1 Fc 断片である、請求項 33 に記載の組み合わせ物。

【請求項 35】

前記 Fc 断片が、H310A および H435Q 変異を含み、該変異のアミノ酸位置が、Kabata 番号付けシステムに基づく、請求項 33 または 34 に記載の組み合わせ物。

【請求項 36】

前記免疫チェックポイントリガンドが、PD-L1 または PD-L1 様リガンドである、請求項 15～35 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 37】

前記抗体部分が、重鎖可変領域 (V_H) および軽鎖可変領域 (V_L) を含み、

a) 前記 V_H が、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域 1 (HC-CDR1)、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む HC-CDR2、および配列番号 43 のアミノ酸配列を含む HC-CDR3 を含み；および

b) 前記 V_L が、配列番号 44 のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域 1 (LC-CDR1)、配列番号 45 のアミノ酸配列を含む LC-CDR2、および配列番号 46 のアミノ酸配列を含む LC-CDR3 を含む、
請求項 15～36 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 38】

目的の前記組織が、免疫組織化学 (IHC) アッセイに基づいて前記免疫チェックポイントリガンドに対して陰性である、請求項 15～37 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 39】

目的の前記組織が、前記免疫チェックポイントリガンドの低い発現レベルを有する、請求項 15～38 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 40】

目的の前記組織が、免疫細胞の浸潤の際にのみ前記免疫チェックポイントリガンドを発現する、請求項 15～39 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 41】

前記方法が、ある期間にわたって前記個体をイメージングするステップをさらに含むものである、請求項 15～40 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 42】

前記放射性核種が、⁶⁴Cu、¹⁸F、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、¹¹¹In、¹⁷⁷Lu、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁶⁷Cu、¹⁹F、⁶⁶Ga、⁷²Ga、⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、⁸⁶Y、⁸⁸Y および ⁴⁵Ti からなる群から選択される、請求項 15～41 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

10

20

30

40

50

【請求項 4 3】

前記放射性核種が、 ^{68}Ga である、請求項 4 2 に記載の組み合わせ物。

【請求項 4 4】

前記放射性核種化合物が、前記放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む、請求項 1 5 ～ 4 3 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 4 5】

前記キレート化合物が、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸 (NOTA)、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸 (DOTA) またはその誘導体である、請求項 4 4 に記載の組み合わせ物。

【請求項 4 6】

前記非侵襲的イメージング技術が、単光子放出コンピュータ断層撮影 (SPECT) イメージングまたは陽電子放出断層撮影 (PET) イメージングを含む、請求項 1 5 ～ 4 5 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 4 7】

前記非侵襲的イメージング技術が、コンピュータ断層撮影イメージング、磁気共鳴イメージング、化学発光イメージング、または電気化学発光イメージングを含む、請求項 1 5 ～ 4 6 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 4 8】

前記抗体剤が、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される、請求項 1 5 ～ 4 7 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 4 9】

前記放射性核種化合物が、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される、請求項 1 5 ～ 4 8 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 5 0】

前記個体が、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する、請求項 1 5 ～ 4 9 のいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項 5 1】

疾患または状態を有する個体を診断する方法において使用するための、請求項 1 5 ～ 5 0 のいずれか一項に記載の組み合わせ物であって、前記方法が、

(a) 請求項 1 5 ～ 5 0 のいずれか一項に記載の組み合わせ物を使用して前記個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定するステップ、および

(b) 前記イメージング剤のシグナルが目的の組織で検出された場合には前記個体を前記免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断し、または前記イメージング剤のシグナルが目的の組織で検出されなかった場合には前記個体を前記免疫チェックポイントリガンドに対して陰性と診断するステップを含むものである、組み合わせ物。

【請求項 5 2】

(a) 請求項 1 に記載の抗体剤であって、前記抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、抗体剤と、

(b) 放射性核種と第 2 のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物とを含む、キットであって、

前記第 1 のコンジュゲーション部分および前記第 2 のコンジュゲーション部分が、*in vivo* で互いにコンジュゲートすることができる、キット。

【請求項 5 3】

個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法において使用するための、請求項 1 に記載の抗体剤を含む組成物であって、

放射性核種と第 2 のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物と組み合わせて投与されるものであり、前記方法が、

(a) 前記抗体剤の有効量で前記組成物を前記個体に投与するステップであって、前記抗体部分が前記免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、ステップ；

10

20

30

40

50

(b) その後、前記放射性核種化合物の有効量を前記個体に投与するステップであって、前記第1のコンジュゲーション部分および前記第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；および
(c) 非侵襲的イメージング技術を用いて前記個体における前記イメージング剤をイメージングするステップ
を含むものである、組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

A S C I Iテキストファイルでの配列表の提出

A S C I Iテキストファイルでの以下の提出内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる：コンピュータ読み取り可能な形式（C R F）の配列表（ファイル名：7 9 2 5 7 2 0 0 0 2 4 0 S E Q L I S T . T X T、記録日：2 0 1 8 年7月23日、サイズ：6 2 K B）。

技術分野

【0002】

本発明は、抗体、イメージング剤、および免疫チェックポイントリガンドをイメージングする方法に関する。

【背景技術】

【0003】

プログラム死（P D）ネットワークは、次の少なくとも5つの相互作用分子を含む：P D-1（プログラム細胞死1）、2つのP D-1リガンド（P D-L 1およびP D-L 2）、およびP D-L 1の2つの阻害性受容体（P D-1およびC D 8 0）。感染に対して炎症反応を起こして末梢組織のT細胞の活性をモジュレートすることに関するおよび自己免疫を制限することに関するP D経路の重要な機能は、腫瘍細胞によっておよび慢性ウイルス感染中のウイルスによって乗っ取られるように見える。P D-L 1は、複数の組織に由来する多くの新しく単離したヒト腫瘍上に過剰発現される（Dong et al. *Nature Medicine* 2002； 8：793-800； Romano et al. *Journal for Immunotherapy of Cancer* 2015； 3：15； Hirano et al. *Cancer Research* 2005； 65：1089-1096）。P D-L 1の発現は、ある特定の種類のヒトがんの進行および予後不良と相関関係があることが示されている（Wang et al. *European journal of surgical oncology: the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 2015； 41：450-456； Ciernia et al. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 2016； 27：300-305； Gandini et al. *Critical reviews in oncology/hematology* 2016； 100：88-98； Thierauf et al. *Melanoma research* 2015； 25：503-509； Taube et al. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research* 2014； 20：5064-5074）。慢性ウイルス感染の間、P D-L 1は、多くの組織上に持続的に発現され、その一方で、P D-1は、ウイルス特異的C T L上で上方調節される（Yao et al. *Trends in molecular medicine* 2006； 12：244-246）。腫瘍誘導またはウイルス誘導P D-L 1は、T細胞アネルギー、アポトーシス、消耗、I L-10産生、D C抑制、ならびにT r e g誘導および拡大増殖（*expansion*）を含む、複

10

20

30

40

50

数の機序を利用して、宿主免疫監視の回避を促進し得る (Zou et al. Nature reviews Immunology 2008; 8:467-477)。

【0004】

免疫組織化学 (IHC) を使用して決定された PD-L1 発現レベルは、黒色腫、腎細胞癌 (RCC)、非小細胞肺癌 (NSCLC)、転移性結腸直腸がん (mCRC)、および転移性去勢抵抗性前立腺がん (mCRPC) を含む、複数のがん型に関する PD-1 / PD-L1 指向療法の臨床試験において予測バイオマーカーとして評価されている。IHC によって決定される PD-L1 レベルがより高い患者は、PD-1 / PD-L1 指向療法による優れた奏効を示すように見えた。しかし、黒色腫を有する PD-L1 陰性患者は、それでも、抗 PD-1 / PD-L1 療法への持続的奏効を得ることはできるものの、PD-L1 陰性 NSCLC 患者における奏効率は、かなり低い。

10

【0005】

ヒト腫瘍検体における IHC による PD-L1 検出の精度は、複数の因子による交絡を受ける。28-8、22C3、5H1、MIH1 および 405.9A11 を含む、IHC 検出用の多数の PD-L1 抗体が利用されている。加えて、Ventana SP142 および Ventana SP263 アッセイなどの、いくつかの独自のコンパニオン診断薬が、この分野で開発されている。これらのアッセイの相対的性能特性は、あまりよく分かっていない。腫瘍微小環境内での異種 PD-L1 発現の既存の問題に加えて、腫瘍試料における IHC による「陽性」PD-L1 染色の明確な定義も欠けている。陽性結果のカットオフポイントは、染色された腫瘍細胞パーセントに基づいて、>1% から >50% までの範囲であり得る。さらに、PD-L1 は、2つの小さい親水性領域しか含有しないので、IHC 検出抗体の結合部位が限られており、このことが、ホルマリンで固定されパラフィンに包埋された (FFPE) 検体で古典的に使用される免疫組織化学的手法の効果を下げる。PD-L1 上の結合部位の不足に起因して、IHC 抗体は、治療用 PD-L1 抗体と比較して PD-L1 の構造的に特有の部位に概して結合する。

20

【0006】

加えて、PD-L1 は、細胞膜上に発現されたときにのみ、動的 IFN γ 発現または構成的癌遺伝子活性化のどちらかによって生物的に活性になる。癌遺伝子駆動 PD-L1 発現は、炎症駆動 PD-L1 発現と比較して、病理組織学的におよび生物学的に明確に異なる実体を示す。後者は、IFN γ 媒介免疫学的攻撃部位で局所的に起こるが、癌遺伝子駆動 PD-L1 発現は、構成的であり、散在する。IFN γ 誘導 PD-L1 発現は、動的バイオマーカーに相当し、活動性炎症の部位に存在し、生検試料は、空間および時間的に腫瘍免疫微小環境のスナップショットを表す。低酸素を含む腫瘍代謝微小環境における他の因子は、PD-L1 上方調節をもたらすことができ、HIF1 α によるシグナル伝達に依存する。より小さい腫瘍生検材料では、適切な腫瘍-免疫境界部 (tumor-immune interface) が見逃がされることがあり、生体関連 PD-L1 過剰発現が既に起こった後に生検が行われることもある。PD-L1 自体は、2つの潜在的に臨床的に関連性のある免疫学的シナプス、つまり腫瘍 / T 細胞境界部、および APC / T 細胞境界部で発現される。腫瘍 / T 細胞境界部については、腫瘍 / 免疫境界部の生検材料獲得は、黒色腫における IHC による PD-L1 検出の肝要な決定因子である。転移性黒色腫を有する患者における PD-L1 発現を評価する研究では、PD-L1 過剰発現黒色腫の 96% は、リンパ球浸潤 (TIL) を有したが、PD-L1 過剰発現の残りの 4% は、TIL を欠いており、これは恐らく癌遺伝子駆動 PD-L1 発現を表していた。加えて、PD-L1 陰性試料の 22% は TIL を伴い、これは腫瘍免疫干渉の代替機序を示していた。

30

40

【0007】

PD-L1 発現の大部分は、免疫細胞による IFN γ の分泌に伴って腫瘍境界部で起こる。このことから、PD-L1 過剰発現が、TIL による成功裏の腫瘍殺滅に対する、初期においては防御的応答である可能性があり、これが、時を経るにつれて免疫抑制性腫瘍環境に吸収されてしまうという、反直感的な仮説が導かれる。加えて、PD-L1 検出のための生検に適切な部位の選択をどのように行うかについては、依然として不明な部分が

50

多い。前処理 F F P E 原発性腫瘍試料は、最も容易に入手可能であり得るが、これらの試料は、特に暫定の処置が施されていた場合、所与の患者にその時点で存在する全体的な免疫学的状態を反映しない場合がある。生検病変における P D - L 1 発現の非存在は、全身の免疫学的景観を反映しない場合があり、P D - L 1 シグナル伝達に依存する他の疾患部位での治療の有益な効果を捉えない場合がある。要するに、正確な代替の P D - L 1 検出剤および方法に対する必要性は満たされていない。

P C T 出願番号 P C T / C N 2 0 1 8 / 0 8 9 6 7 2 を含む、本明細書で言及する全ての公表文献、特許、特許出願および公開特許出願の開示は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【文献】Dong et al. Nature Medicine 2002; 8:793-800

【文献】Romano et al. Journal for Immunotherapy of Cancer 2015; 3:15

【文献】Hirano et al. Cancer Research 2005; 65:1089-1096

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0009】

本出願は、抗体剤、ポリヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、宿主細胞、培養培地、キット、抗体剤を使用して、個体における免疫チェックポイントの分布を決定する方法、個体を診断する方法、および個体を処置する方法を提供する。

【0010】

本出願の一態様は、抗体部分を含む抗体剤であって、抗体部分が、抗体またはその抗原結合性断片であり、抗体またはその抗原結合性断片が、重鎖可変領域 (V_H) および軽鎖可変領域 (V_L) を含み、a) V_H が、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および配列番号 43 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または H C - C D R に最大合計約 5 つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含み；および b) V_L が、配列番号 44 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、配列番号 45 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および配列番号 46 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または L C - C D R に最大合計約 5 つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、抗体剤を提供する。

【0011】

上記の抗体剤のいずれか 1 つに従う一部の実施形態では、 V_H は、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および配列番号 43 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3 を含み；および／または V_L は、配列番号 44 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1、配列番号 45 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および配列番号 46 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3 を含む。

【0012】

上記の抗体剤のいずれか 1 つに従う一部の実施形態では、 V_H は、配列番号 1、5、9、11 および 13 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に対して少なくとも約 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；および V_L は、配列番号 3、7、15、17 および 19 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に対して少なくとも約 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、抗体部分は、配列番号 21 または 23 のアミノ酸配列に対して少なくとも約 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0013】

本出願の一態様は、抗体剤・抗体部分 (an antibody agent an antibody moiety) であって、前記抗体部分が、抗体またはその抗原結合性

10

20

30

40

50

断片であり、前記抗体またはその抗原結合性断片が、V_HとV_Lとを含む抗PD-L1抗体と競合してPD-L1に特異的に結合し、a) V_Hが、配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み；およびb) V_Lが、配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む、抗体剤・抗体部分を提供する。

【0014】

上記の抗体剤のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分は、一本鎖Fv (scFv)、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片 (dsFv)、(dsFv)₂、V_HH、Fv-Fc融合体、scFv-Fc融合体、scFv-Fv融合体、ダイアボディ、トリボディおよびテトラボディからなる群から選択される。

10

【0015】

上記の抗体剤のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分は、IgG、IgM、IgA、IgDおよびIgEからなる群から選択されるアイソタイプを有する。

【0016】

上記の抗体剤のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片に融合したscFvを含む。一部の実施形態では、Fc断片は、H310AおよびH435Q変異を含み、アミノ酸位置は、Kabatt番号付けシステムに基づく。

20

【0017】

上記の抗体剤のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体剤は、第1のコンジュゲーション部分をさらに含み、第1のコンジュゲーション部分は、in vivoで第2のコンジュゲーション部分にコンジュゲートされ得る。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分は、クリックケミストリー対のメンバーを含む。一部の実施形態では、クリックケミストリー対は、trans-シクロオクテン (TCO) -テトラジン (Tz) 対、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロン対、アルケン-テトラゾール対、およびイソニトリル-テトラジン対からなる群から選択される。

【0018】

本出願の一態様は、上記の抗体剤のいずれか1つに従う抗体剤の抗体部分をコードするポリヌクレオチドを提供する。

30

【0019】

本出願の一態様は、上記のポリヌクレオチドのいずれか1つに従うポリヌクレオチドを含む核酸構築物であって、ポリヌクレオチドと動作可能に接続されているプロモーターを必要に応じてさらに含む核酸構築物を提供する。

【0020】

本出願の一態様は、上記の核酸構築物のいずれか1つに従う核酸構築物を含むベクターを提供する。

【0021】

本出願の一態様は、上記のポリヌクレオチドのいずれか1つに従うポリヌクレオチド、上記の核酸構築物のいずれか1つに従う核酸構築物、または上記のベクターのいずれか1つに従うベクターを含む、宿主細胞を提供する。

40

【0022】

本出願の一態様は、上記の抗体剤のいずれか1つに従う抗体剤の抗体部分、上記のポリヌクレオチドのいずれか1つに従うポリヌクレオチド、上記の核酸構築物のいずれか1つに従う核酸構築物、上記のベクターのいずれか1つに従うベクター、または上記の宿主細胞のいずれか1つに従う宿主細胞を含む、培養培地を提供する。

【0023】

本出願の一態様は、個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法であって、抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個体に投

50

与するステップであって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、ステップ；その後、放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；および非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法を提供する。

【0024】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分各々は、クリックケミストリー対のメンバーを含み、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、ケミストリー対は、TCO-Tz対、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロン対、アルケン-テトラゾール対、およびイソニトリル-テトラジン対からなる群から選択される。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分はtrans-シクロオクテン(TCO)であり、第2のコンジュゲーション部分はテトラジン(Tz)であるか、または第1のコンジュゲーション部分はTzであり、第2のコンジュゲーション部分はTCOである。

【0025】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。

【0026】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体剤の有効量は、約0.1mg/kg～約100mg/kgの間である。

【0027】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、放射性核種の有効量は、約10uCi～約500uCiの間である。

【0028】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、イメージングは、放射性核種化合物の投与後約30分～約24時間の間に行われる。

【0029】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、方法は、個体の目的の組織における免疫チェックポイントリガンドの発現レベルを、組織からイメージング剤により放出されるシグナルに基づいて決定するステップをさらに含む。

【0030】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、イメージング剤は、約10分～約7日の間以内に個体からクリアランスされる。

【0031】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体剤の半減期は、血清中で約10分～約8日の間である。

【0032】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分と免疫チェックポイントリガンドとの結合は、約 9×10^{-10} M～約 1×10^{-8} Mの間の K_D を有する。

【0033】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分の分子量は、約400kDa以下である。

【0034】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分は、非ヒト哺乳動物からの免疫チェックポイントリガンドと交差反応する。

【0035】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分は、ヒト化されている。

【0036】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分は、酸性pHで安定し

10

20

30

40

50

ている。

【0037】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分は、約55～70℃の融解温度(T_m)を有する。

【0038】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分は、一本鎖Fv(s c Fv)、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片(ds Fv)、(ds Fv)₂、V_HH、Fv-Fc融合体、s c Fv-Fc融合体、s c Fv-Fv融合体、ダイアボディ、トリボディおよびテトラボディからなる群から選択される。

10

【0039】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片に融合したs c Fvを含む。一部の実施形態では、Fc断片は、ヒトIgG1 Fc断片である。一部の実施形態では、Fc断片は、H310AおよびH435Q変異を含み、アミノ酸位置は、Kabatt番号付けシステムに基づく。

【0040】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1またはPD-L1様リガンドである。

【0041】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体部分は、重鎖可変領域(V_H)および軽鎖可変領域(V_L)を含み、a) V_Hは、配列番号41のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1(HC-CDR1)、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDRに合計最大約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含み、およびb) V_Lは、配列番号44のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域1(LC-CDR1)、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDRに合計最大約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む。

20

【0042】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、目的の組織は、免疫組織化学(IHC)アッセイに基づいて免疫チェックポイントリガンドに対して陰性である。

30

【0043】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、目的の組織は、免疫チェックポイントリガンドの低い発現レベルを有する。

【0044】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、目的の組織は、免疫細胞の浸潤の際にのみ免疫チェックポイントリガンドを発現する。

【0045】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、方法は、ある期間にわたって個体をイメージングするステップをさらに含む。

40

【0046】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、放射性核種は、⁶⁴Cu、¹⁸F、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、¹¹¹In、¹⁷⁷Lu、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁷Cu、¹⁹F、⁶⁶Ga、⁷²Ga、⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、⁸⁶Y、⁸⁸Yおよび⁴⁵Tiからなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、⁶⁸Gaである。

【0047】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、放射性核種化合物は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸(1, 4, 7-triazacyclononane-1, 4, 7-trisacetic acid)(NOTA)、

50

1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸 (DOTA) またはその誘導体である。

【0048】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、非侵襲性イメージング技術は、単光子放出コンピュータ断層撮影 (SPECT) イメージングまたは陽電子放出断層撮影 (PET) イメージングを含む。

【0049】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、コンピュータ断層撮影イメージング、磁気共鳴イメージング、化学発光イメージング、または電気化学発光イメージングを含む。

【0050】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、抗体剤は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される。

【0051】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、放射性核種化合物は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される。

【0052】

上記の方法のいずれか1つに従う一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する。

【0053】

本出願の一態様は、疾患または状態を有する個体を診断する方法であって、上記の方法のいずれか1つに従う方法を使用して個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定するステップ、およびイメージング剤のシグナルが目的の組織で検出された場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断し、またはイメージング剤のシグナルが目的の組織で検出されなかった場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陰性と診断するステップを含む方法を提供する。

【0054】

本出願の一態様は、疾患または状態を有する個体を処置する方法であって、上記の方法 (methods) のいずれかに従う方法を使用して個体を診断するステップ、および個体が免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断された場合、免疫チェックポイントリガンドを標的とする治療剤の有効量を個体に投与するステップを含む方法を提供する。

【0055】

本出願の一態様は、抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤であって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、抗体剤と、放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物とを含むキットであって、第1のコンジュゲーション (conjugation) 部分および第2のコンジュゲーション部分が *in vivo* で互いにコンジュゲートすることができる、キットを提供する。

【0056】

本出願の一態様は、ユーザからの個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定するように求める要求を受信する入力ユニット；入力ユニットに動作可能に連結された1つまたは複数のコンピュータプロセッサを具備する、コンピュータシステムであって、1つまたは複数のコンピュータプロセッサが、個体の目的の組織におけるイメージング剤のシグナルを含むデータのセットを受信するように（この場合、イメージング剤は、抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤であって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、抗体剤の有効量の個体への投与、および放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量の個体へのその後の投与の後に、第1のコンジュゲーション部分と第2のコンジュゲーション部分のコンジュゲーションによって *in vivo* で産生される）、データを読み取り可能な様式で提示するように、またはデータの解析を生成するように、個別にまたは集合的にプログラ

10

20

30

40

50

ムされる、コンピュータシステムを提供する。

【図面の簡単な説明】

【0057】

【図1-1】図1Aおよび1Bは、hPD-L1タンパク質に対する抗hPD-L1モノクローナル抗体5B7の結合親和性を示す。図1Aは、hPD-L1タンパク質に対する異なる濃度での抗hPD-L1モノクローナル抗体5B7の結合親和性を実証するヒストグラムを示す。図1Bは、それぞれの濃度での平均蛍光強度を示す。

【図1-2】同上。

【0058】

【図2】図2Aおよび2Bは、hPD-L1タンパク質またはmPD-L1タンパク質を発現するCHO細胞に対する抗hPD-L1モノクローナル抗体の結合親和性を示す。

10

【0059】

【図3】図3は、親マウス抗体と比較してPD-L1に対するヒト化抗hPD-L1抗体の結合親和性を示す。

【0060】

【図4】図4は、親マウス抗体と比較してヒト化抗体の結合親和性および動態プロファイルを示す。

【0061】

【図5】図5は、scFv-HuFc (Wt) および scFv-HuFc (Mt) についての構築物設計の概略図を示す。

20

【0062】

【図6】図6は、還元条件と非還元条件両方でのscFv-HuFc (Wt) および scFv-HuFc (Mt) についてのSDS-PAGE結果を示す。

【0063】

【図7】図7は、PD-L1に対するscFv-HuFc (Wt) および scFv-HuFc (Mt) の結合親和性を親抗体のものと比較して実証するヒストグラムを示す。

【0064】

【図8】図8は、scFv-HuFc融合タンパク質の結合親和性および動態プロファイルを示す。

【0065】

30

【図9】図9は、抗hPD-L1 scFv-HuFc融合タンパク質scFv-hFc WtおよびscFv-hFc Mtの静脈内注射後の抗hPD-L1抗体およびhIgGの血清力価を示す。

【0066】

【図10】図10は、100℃でのDOTA-(PEG)₁₀-Tzの標識率を示す。領域1 (Rgn 1、3.5~29.5 nm) は、⁶⁸Ga-DOTA-Tzを表す。領域2 (Rgn 2、64.2~84.1 nm) は、⁶⁸Gaを表す。

【0067】

【図11】図11は、100℃での2μLのDOTA-(PEG)₁₀-Tzの標識率を示す。領域1 (Rgn 1、1.7~26 nm) は、⁶⁸Ga-DOTA-Tzを表す。領域2 (Rgn 2、50.3~64.2 nm) は、⁶⁸Gaを表す。

40

【0068】

【図12】図12は、⁶⁸Ga-DOTA-Tz-TCO-FMU-230Bの処置のもとでMC-38細胞またはMC38-B7H1細胞について検出された⁶⁸Ga-Tz放射活性を示す。

【0069】

【図13】図13は、⁶⁸Ga-DOTA-Tz-TCO-FMU-220の処置のもとでMC-38細胞またはMC38-B7H1細胞について検出された⁶⁸Ga-Tz放射活性を示す。

【0070】

50

【図14】図14は、実施例6IAに記載のMC38-PD-L1細胞の注射により誘導された腫瘍の*in vivo*イメージングを示す。具体的には、マウスにTCO-FMU-220を尾静脈経由で注射した。3時間後、⁶⁸Ga-Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および150分の時点でマウスをイメージングした。

【0071】

【図15】図15は、実施例6IBに記載のMC38-PD-L1細胞の注射により誘導された腫瘍の*in vivo*イメージングを示す。具体的には、マウスにTCO-FMU-220を尾静脈経由で注射した。24時間後、⁶⁸Ga-Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および150分の時点でマウスをイメージングした。

【0072】

【図16】図16は、実施例6ICに記載のMC38-PD-L1細胞の注射により誘導された腫瘍の*in vivo*イメージングを示す。具体的には、マウスにTCO-FMU-220を尾静脈経由で注射した。48時間後、⁶⁸Ga-Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および150分の時点でマウスをイメージングした。

【0073】

【図17】図17は、実施例6IIAに記載のMC38-PD-L1細胞の注射により誘導された腫瘍の*in vivo*イメージングを示す。具体的には、マウスにTCO-FMU-230Bを尾静脈経由で注射した。3時間後、⁶⁸Ga-Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および150分の時点でマウスをイメージングした。

【0074】

【図18】図18は、実施例6IIBに記載のMC38-PD-L1細胞の注射により誘導された腫瘍の*in vivo*イメージングを示す。具体的には、マウスにTCO-FMU-230Bを尾静脈経由で注射した。24時間後、⁶⁸Ga-Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および150分の時点でマウスをイメージングした。

【0075】

【図19】図19は、実施例6IICに記載のMC38-PD-L1細胞の注射により誘導された腫瘍の*in vivo*イメージングを示す。具体的には、マウスにTCO-FMU-230Bを尾静脈経由で注射した。48時間後、⁶⁸Ga-Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および150分の時点でマウスをイメージングした。

【発明を実施するための形態】

【0076】

本出願は、一態様では、個体における免疫チェックポイントリガンドの検出のための方法、ならびにそのような方法に有用な組成物、キット、コンピュータシステムおよび製造物品を提供する。本明細書に記載の方法は、a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤であって、抗体部分がPD-L1またはPD-L1様リガンドなどの免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、抗体剤；およびb) 放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の使用を含み、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分は、*in vivo*で互いにコンジュゲートされて標的とされたイメージング剤を生じさせることができる。

【0077】

本明細書に記載の方法は、標的免疫チェックポイントリガンドに結合する抗体剤での個体の事前標的化および次いで放射性核種化合物のその後の投与を可能にすることにより、望ましくない臨床的合併症を回避するという利点を提供する。抗体剤および放射性核種化合物各々は、*in vivo*で互いに特異的に（例えば、クリックケミストリーによって）コンジュゲートされてイメージング剤を生じさせることができるコンジュゲーション部分を含む。例えば、第1のコンジュゲーション部分はtrans-シクロオクテン（TCO）であり、第2のコンジュゲーション部分はテトラジン（Tz）であるか、または第1のコンジュゲーション部分はTzであり、第2のコンジュゲーション部分はTCOである。

【0078】

抗体部分は、一部の実施形態では、熱安定性を増大させるように操作される。一部の実

10

20

30

40

50

施形態では、抗体部分は、比較的高い分子量（例えば、抗体／放射性ヌクレオチド（*radionucleotide*）コンジュゲーションにおいて使用される *scFv* のものより高い）を有する。一部の実施形態では、放射性ヌクレオチドは、寿命が短い。したがって、本出願で開示される主題は、嵩高い抗体部分および寿命の短い放射性ヌクレオチドには適さない、抗体／放射性ヌクレオチドコンジュゲート（*radionuconjugate*）方法の投与を伴う以前のイメージング方法より有利である。

【0079】

したがって、本出願の一態様は、個体における免疫チェックポイントリガンド（例えば、PD-L1またはPD-L1様リガンド）の分布を決定する方法であって、（a）抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤を個体に投与するステップであって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、ステップ；（b）その後、標識（例えば、放射性核種）と第2のコンジュゲーション部分とを含む標識化合物（例えば、放射性核種化合物）を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；および（c）非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法を提供する。

10

【0080】

本出願の別の態様は、抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤であって、抗体部分が、免疫チェックポイントリガンド（例えば、PD-L1またはPD-L1様リガンド）に特異的に結合し、コンジュゲーション部分が、*in vivo*で第2のコンジュゲーション部分にコンジュゲートされ得る、抗体剤を提供する。

20

【0081】

本出願の別の態様は、配列番号1のHC-CDR1とHC-CDR2とHC-CDR3とを含むV_H；および配列番号3のLC-CDR1とLC-CDR2とLC-CDR3とを含むV_Lを含む、抗PD-L1抗体剤を提供する。

【0082】

本出願の別の態様は、標識（例えば、放射性核種）と第2のコンジュゲーション部分とを含む標識化合物（例えば、放射性核種化合物）を提供し、コンジュゲーション部分は、第1のコンジュゲーション部分に*in vivo*でコンジュゲートされ得る。

30

【0083】

本出願の別の態様は、本明細書に記載の、ポリヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、宿主細胞、培養培地を提供する。

【0084】

本明細書に記載の抗体剤（例えば、抗PD-L1抗体剤）および／または本明細書に記載の標識化合物（例えば、放射性核種化合物）を含む、キットおよび製造物品、それらの製造方法、ならびに疾患または状態（例えば、がん、感染性疾患、自己免疫疾患または代謝疾患）を有する個体を診断または処置する方法も、提供される。

I. 定義

【0085】

本明細書で使用される場合、「免疫系チェックポイント」または「免疫チェックポイント」は、免疫系における阻害経路であって、一般に、自己寛容を維持するように作用する、または二次的組織損傷を最小にするように生理的免疫応答の期間および大きさをモジュレートする、経路を指す。刺激性チェックポイント分子は、免疫系を刺激するまたは正に調節する、タンパク質などの分子である。阻害性チェックポイント分子は、免疫系を阻害するまたは負に調節する、タンパク質などの分子である。免疫系チェックポイント分子としては、細胞障害性Tリンパ球抗原4（CTLA-4）、プログラム細胞死1タンパク質（PD-1）、PD-L1、PD-L2、リンパ球活性化遺伝子3（LAG3）、B7-1、B7-H3、B7-H4、T細胞膜タンパク質3（TIM3）、BおよびTリンパ球アテニューエーター（BTLA）、T細胞活性化のVドメイン免疫グロブリン（Ig）含有

40

50

サプレッサー（VISTA）、キラー細胞免疫グロブリン様受容体（KIR）、ならびにA2Aアデノシン受容体（A2aR）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0086】

「免疫チェックポイント受容体」は、T細胞などの免疫細胞上に発現される免疫チェックポイント分子である。

【0087】

本明細書で使用される場合、用語「免疫チェックポイントリガンド」は、免疫チェックポイント受容体により特異的に認識される、天然に存在するまたは天然に存在しないリガンドを指す。天然に存在する免疫チェックポイントリガンドは、罹病組織、例えば、腫瘍細胞、感染細胞または炎症組織により発現され得る、免疫チェックポイント分子であり、免疫チェックポイントリガンドを特異的に認識する免疫チェックポイント受容体を発現する免疫細胞を調節することができる。天然に存在しない免疫チェックポイントリガンドは、免疫チェックポイント受容体の治療用阻害剤、リガンドおよび抗体などの、合成および組換え分子を含む。天然に存在しない免疫チェックポイントリガンドを、個体に、例えば個体への投与により、導入することができる。免疫チェックポイントリガンドは、経路内の刺激性チェックポイント受容体の活性を刺激することまたは阻害性チェックポイント受容体の活性を阻害することにより、免疫チェックポイントを阻害することができる。例示的な天然に存在する免疫チェックポイントリガンドとしては、PD-L1、PD-L2、B7-H3（CD276としても公知）、ガレクチン-9、CD80、CD86およびICOSLが挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1様リガンドである。「PD-L1様リガンド」は、PD-1の天然に存在するまたは天然に存在しないリガンドを指す。

【0088】

用語「抗体」は、その最も広い意味で使用され、これらに限定されないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば、二特異性抗体）、全長抗体および所望の抗原結合活性を示すことを条件にその抗原結合性断片を含む、様々な抗体構造を包含する。用語「抗体部分」は、全長抗体またはその抗原結合性断片を指す。

【0089】

全長抗体は、2本の重鎖および2本の軽鎖を含む。軽鎖および重鎖の可変領域は、抗原結合を担う。重鎖および軽鎖の可変ドメインは、それぞれ、「V_H」および「V_L」と呼ばれることがある。両方の鎖内の可変領域は、相補性決定領域（CDR）（LC-CDR1、LC-CDR2およびLC-CDR3を含む軽鎖（LC）CDR、ならびにHC-CDR1、HC-CDR2およびHC-CDR3を含む重鎖（HC）CDR）と呼ばれる3つの高可変性ループを一般に含有する。本明細書で開示される抗体および抗原結合性断片のCDR境界は、Kabata、ChothiaまたはAl-Lazikaniの規定（Al-Lazikani 1997； Chothia 1985； Chothia 1987； Chothia 1989； Kabata 1987； Kabata 1991）により定義または特定され得る。重鎖または軽鎖の3つのCDRは、これらのCDRより高度に保存され、超可変ループを支持するための足場を形成する、フレームワーク領域（FR）として公知の隣接するストレッチの間に介在する。重鎖および軽鎖の定常領域は、抗原結合に関与せず、様々なエフェクター機能を示す。抗体は、それらの重鎖の定常領域のアミノ酸配列に基づくクラスに割り当てられる。抗体の5つの主要クラスまたはアイソタイプは、IgA、IgD、IgE、IgGおよびIgMであり、これらは、それぞれ、α、δ、ε、γおよびμ重鎖の存在を特徴とする。主要抗体クラスのうちのいくつかは、IgG1（γ1重鎖）、IgG2（γ2重鎖）、IgG3（γ3重鎖）、IgG4（γ4重鎖）、IgA1（α1重鎖）またはIgA2（α2重鎖）などの、サブクラスに分けられる。

【0090】

本明細書で使用される場合の用語「抗原結合性断片」は、例えば、ダイアボディ、Fa

10

20

30

40

50

b、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片(dsFv)、(dsFv)₂、二特異性dsFv(dsFv-dsFv')、ジスルフィド安定化ダイアボディ(dsダイアボディ)、一本鎖Fv(scFv)、scFv二量体(二価ダイアボディ)、1つもしくは複数のCDRを含む抗体の部分から形成された多特異性抗体、ラクダ化単ドメイン抗体、ナノボディ、ドメイン抗体、二価ドメイン抗体、または抗原に結合するが完全抗体構造を含まない任意の他の抗体断片を含む、抗体断片を指す。抗原結合性断片は、親抗体または親抗体断片(例えば、親scFv)が結合するのと同じ抗原に結合することができる。一部の実施形態では、抗原結合性断片は、1つまたは複数の異なるヒト抗体からのフレームワーク領域にグラフトされた特定のヒト抗体からの1つまたは複数のCDRを含み得る。

10

【0091】

「Fv」は、完全抗原認識および完全抗原結合部位を含有する最小抗体断片である。この断片は、1つの重鎖可変領域ドメインと1つの軽鎖可変領域ドメインが密接に非共有結合的に会合している二量体からなる。これら2つのドメインのフォールディングから、6つの超可変ループ(重鎖および軽鎖から各々3つのループ)が生じ、これらが、抗原結合のためのアミノ酸残基を提供し、抗体に抗原結合特異性を付与する。しかし、単一の可変ドメイン(または抗原に特異的な3つのCDRのみを含むFvの半分)であっても、結合部位全体よりは低い親和性でだが、抗原を認識するおよび抗原に結合する能力がある。

【0092】

「sFv」または「scFv」と略記されもする「一本鎖Fv」は、接続されて単一ポリペプチド鎖になっているV_HおよびV_L抗体ドメインを含む抗体断片である。一部の実施形態では、scFvポリペプチドは、scFvが抗原結合に望ましい構造を形成することを可能にするポリペプチドリンカーをV_HドメインとV_Lドメインとの間にさらに含む。scFvの概説については、Plueckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)を参照されたい。

20

【0093】

用語「ダイアボディ」は、Vドメインの鎖内でなく鎖間対合が達成され、その結果、二価断片、すなわち、2つの抗原結合部位を有する断片となるように、V_HドメインとV_Lドメインとの間に短いリンカー(例えば、約5〜約10残基)を通常は有するscFv断片(前の段落を参照されたい)を構築することにより調製される、小さい抗体断片を指す。二特異性ダイアボディは、2つの抗体のV_HおよびV_Lドメインが異なるポリペプチド鎖上に存在する、2つの「交差」scFv断片のヘテロ二量体である。ダイアボディは、例えば、EP404,097、WO93/11161、およびHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)に、より詳しく記載されている。

30

【0094】

本明細書で使用される場合、用語「CDR」または「相補性決定領域」は、重鎖ポリペプチドと軽鎖ポリペプチド両方の可変領域内に見られる不連続な抗原結合部位を意味するように意図される。これらの特定の領域は、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991); Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Al-Lazikani B. et al., J. Mol. Biol., 273: 927-948 (1997); MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996); Abhinandan and Martin, Mol. Immunol., 45: 3832-3839 (2008); Lefranc M. P. et al

40

50

., Dev. Comp. Immunol., 27: 55-77 (2003); および Honegger and Plueckthun, J. Mol. Biol., 309: 657-670 (2001) により記載されており、これらにおける定義は、互いに比較したときのアミノ酸残基の重複またはサブセットを含む。それでもやはり、抗体またはグラフト抗体またはそのバリエーションの CDR に言及するためのいずれかの定義の適用は、本明細書で定義され使用されるこの用語の範囲内であることが意図される。上に引用された参考文献の各々により定義されているような CDR を包含するアミノ酸残基は、下の表 1 に比較として示されている。CDR 予測アルゴリズムおよびインターフェースは、例えば、Abhinandan and Martin, Mol. Immunol., 45: 3832-3839 (2008); Ehrenmann F. et al., Nucleic Acids Res., 38: D301-D307 (2010); および Adolf-Bryfogle J. et al., Nucleic Acids Res., 43: D432-D438 (2015) を含めて、当技術分野において公知である。この段落に引用された参考文献の内容は、それら全体が、本発明での使用のために、および本願の 1 つまたは複数の請求項に含まれることが可能になるために、参照により本明細書に組み込まれる。

表 1: CDR 定義

【表 1】

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³	IMGT ⁴	AHo ⁵
V _H CDR1	31-35	26-32	30-35	27-38	25-40
V _H CDR2	50-65	53-55	47-58	56-65	58-77
V _H CDR3	95-102	96-101	93-101	105-117	109-137
V _L CDR1	24-34	26-32	30-36	27-38	25-40
V _L CDR2	50-56	50-52	46-55	56-65	58-77
V _L CDR3	89-97	91-96	89-96	105-117	109-137

¹ 残基番号付けは、Kabat et al. (上掲) の命名法に従う

² 残基番号付けは、Chothia et al. (上掲) の命名法に従う

³ 残基番号付けは、MacCallum et al. (上掲) の命名法に従う

⁴ 残基番号付けは、Lefranc et al. (上掲) の命名法に従う

⁵ 残基番号付けは、Honegger and Plueckthun (上掲) の命名法に従う

【0095】

「Kabat におけるような可変ドメイン残基番号付け」または「Kabat におけるようなアミノ酸位置番号付け」という表現、およびこれらの変形形態は、Kabat et al. (上掲) における抗体の編成の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインに使用された番号付けシステムを指す。この番号付けシステムを使用すると、実際の線状アミノ酸配列は、可変ドメインの FR もしくは HVR の短縮または可変ドメインの FR もしくは HVR への挿入に対応する、より少ないまたは追加のアミノ酸を含有し得る。例えば、重鎖可変ドメインは、H2 の残基 52 の後に単一アミノ酸インサート (Kabat によれば残基 52a)、および重鎖 FR 残基 82 の後に挿入残基 (例えば、Kabat によれば残基 82a、82b および 82c など) を含み得る。残基の Kabat 番号付けは、所与の抗体について「標準」Kabat 番号付け配列とその抗体の配列の相同の領域でのアラインメントにより決定され得る。

【0096】

本明細書で別段の指示がない限り、免疫グロブリン重鎖の残基の番号付けは、Kabat et al. (上掲) におけるような EU インデックスの番号付けである。「Kabat におけるような EU インデックス」は、ヒト IgG1 EU 抗体の残基番号付けを指す。

【0097】

「フレームワーク」または「FR」残基は、本明細書で定義の CDR 残基以外の可変ド

メイン残基である。

【0098】

用語「キメラ抗体」は、重鎖および／または軽鎖の一部が、特定の種に由来するまたは特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同であるが、鎖の残部が、別の種に由来するまたは別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同である抗体を指し、そのような抗体の断片が本発明の生物活性を示すのであれば、それらも指す（米国特許第4,816,567号；および Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984) を参照されたい）。

【0099】

抗体または抗体部分に関して用語「半合成」は、抗体または抗体部分が、1つまたは複数の天然に存在する配列、および1つまたは複数の天然に存在しない（すなわち合成）配列を有することを意味する。

【0100】

非ヒト（例えば、齧歯類）抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト抗体に由来する最小配列を含有するキメラ抗体である。ほとんどの場合、ヒト化抗体は、レシピエントの超可変領域（HVR）からの残基が、所望の抗体特異性、親和性および能力を有するマウス、ラット、ウサギまたは非ヒト霊長類などの非ヒト種（ドナー抗体）の超可変領域からの残基により置換されている、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。一部の事例では、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域（FR）残基が、対応する非ヒト残基により置換されている。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にもドナー抗体にも見られない残基を含むことがある。これらの改変は、抗体の性能をさらに洗練するために行われる。一般に、ヒト化抗体は、超可変ループの全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、FRの全てまた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、少なくとも1つの、通常は2つの、可変ドメインの実質的に全てを含む。ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域（Fc）の少なくとも一部分、通常はヒト免疫グロブリンの少なくとも一部分も、含む。さらなる詳細については、Jones et al., Nature 321:522-525 (1986)；Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)；および Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992) を参照されたい。

【0101】

「ヒト抗体」は、ヒトにより産生される抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有する、および／または本明細書で開示のヒト抗体を作製する技術のいずれかを使用して作製された、抗体である。ヒト抗体のこの定義は、具体的には、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を除外する。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリーを含む、当技術分野で公知の様々な技術を使用して、産生することができる。Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991)；Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991)。ヒトモノクローナル抗体の調製には、Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985)；Boerner et al., J. Immunol., 147(1):86-95 (1991) に記載されている方法も利用可能である。van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol., 5:368-74 (2001) も参照されたい。ヒト抗体は、内在性遺伝子座が無能にされているが抗原チャレンジに応答してそのような抗体を産生するように改変されているトランスジェニック動物、例えば、免疫ゼノマウス（例えば、XENOMOUSE（商標）技術に関する米国特許第6,075,181号および同第6,150,584号を参照されたい）に抗原を投与することにより調製することができる。例えば、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術によって生成されるヒト抗体に関する、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:35

10

20

30

40

50

57-3562 (2006) も参照されたい。

【0102】

本明細書で同定されるポリペプチドおよび抗体配列に関して「アミノ酸配列同一性パーセント (%)」または「相同性」は、配列同一性の一部として任意の保存的置換を考慮して配列をアラインメントした後の、比較されるポリペプチド中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージと定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアラインメントは、当技術分野における技能の範囲内である様々な方法で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign (DNASTAR) またはMUSCLEソフトウェアなどの、公開されているコンピュータソフトウェアを使用して、達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメーターを決定することができる。しかし、本明細書では、アミノ酸同一性%値は、配列比較コンピュータプログラムMUSCLE (Edgar, R. C., Nucleic Acids Research 32 (5): 1792-1797, 2004; Edgar, R. C., BMC Bioinformatics 5 (1): 113, 2004) を使用して生成される。

10

【0103】

「相同 (の)」は、2つのポリペプチド間または2つの核酸分子間の配列類似性または配列同一性を指す。2つの比較される配列の両方における位置が、同じ塩基またはアミノ酸モノマーサブユニットにより占有されているとき、例えば、2つのDNA分子の各々における位置がアデニンにより占有されている場合には、それらの分子は、その位置で相同である。2配列間の相同性パーセントは、2つの配列により共有されるマッチするまたは相同な位置の数の関数であって、その数を比較される位置の数で除算し100を掛けたものである。例えば、2つの配列中の位置の10カ所のうちの6カ所がマッチしているまたは相同である場合には、2つの配列は60%相同である。例として、DNA配列ATTGCC CおよびTATGGCは、50%相同性を共有する。一般に、比較は、最大の相同性が得られるように2つの配列がアラインメントされたときに行われる。

20

【0104】

用語「定常ドメイン」は、抗原結合部位を含有する免疫グロブリンの他の部分、可変ドメイン、と比較してより多くの保存アミノ酸配列を有する、免疫グロブリン分子の部分の指す。定常ドメインは、重鎖のCH1、CH2およびCH3ドメイン (まとめて、CH) と、軽鎖のCHL (またはCL) ドメインとを含有する。

30

【0105】

任意の哺乳動物種から抗体 (免疫グロブリン) の「軽鎖」を、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ (「κ」) およびラムダ (「λ」) と呼ばれる2つの明確に異なるタイプ的一方に割り当てることができる。

【0106】

ヒトIgG Fc領域の「CH1ドメイン」 (「H1」ドメインの「C1」とも呼ばれる) は、通常、アミノ酸約118からアミノ酸約215 (EU番号付けシステム) にわたる。

40

【0107】

「ヒンジ領域」は、一般に、ヒトIgG1のGlu216からPro230までのストレッチ領域と定義される (Burton, Molec. Immunol. 22: 161-206 (1985))。他のIgGアイソタイプのヒンジ領域は、最初と最後のシステイン残基を配置して同位置に重鎖間S-S結合を形成することによりIgG1配列とアラインメントすることができる。

【0108】

ヒトIgG Fc領域の「CH2ドメイン」 (「H2」ドメインの「C2」とも呼ばれる) は、通常、アミノ酸約231からアミノ酸約340にわたる。CH2ドメインは、別のドメインと密接に対合しない点で独特である。もっと正確に言えば、2つのN連結分岐

50

炭水化物鎖が、無傷のネイティブIgG分子の2つのCH2ドメイン間に介在する。炭水化物がドメイン間対合の代替を提供してCH2ドメインの安定化を支援することができる と推測されている。Burton, Molec Immunol. 22:161-206 (1985)。

【0109】

「CH3ドメイン」（「C2」または「H3」ドメインとも呼ばれる）は、Fc領域におけるCH2ドメインのC末端側の（すなわち、アミノ酸残基約341から、抗体配列の、通常はIgGのアミノ酸残基446または447にある、C末端までの）残基のストレッチを含む。

【0110】

本明細書での用語「Fc領域」または「結晶性断片領域」は、ネイティブ配列Fc領域およびバリエーションFc領域を含む、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界は様々であるが、ヒトIgG重鎖Fc領域は、Cys226位のアミノ酸残基から、またはPro230から、そのカルボキシル末端に広がるように通常は定義される。Fc領域のC末端リシン（EU番号付けシステムによれば残基447）を、例えば、抗体の産生もしくは精製中に、または抗体の重鎖をコードする核酸を組換え操作することにより、除去することができる。したがって、無傷抗体の組成物は、全てのK447残基が除去された抗体集団、K447残基が除去されていない抗体集団、およびK447残基がある抗体とない抗体の混合物を有する抗体集団を含み得る。本明細書に記載の抗体での使用に好適なネイティブ配列Fc領域は、ヒトIgG1、IgG2（IgG2A、IgG2B）、IgG3およびIgG4を含む。

【0111】

「Fc受容体」または「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を記載する。好ましいFcRは、ネイティブ配列ヒトFcRである。さらに、好ましいFcRは、IgG抗体に結合するもの（ガンマ受容体）であり、FcγRI、FcγRIIおよびFcγRIIIサブクラスを受容体を含み、これらの受容体は、これらの受容体の対立遺伝子バリエーションおよび選択的スプライシングを受けた形態を含み、FcγRII受容体は、FcγRIIA（「活性化受容体」）およびFcγRIIB（「阻害受容体」）を含み、これらは、それらの細胞質側ドメインが主として異なる類似したアミノ酸配列を有する。活性化受容体FcγRIIAは、その細胞質側ドメインに免疫受容体チロシン活性化モチーフ（ITAM）を含有する。阻害受容体FcγRIIBは、その細胞質側ドメインに免疫受容体チロシン阻害モチーフ（ITIM）を含有する（M. Daeoron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)を参照されたい。FcRは、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991); Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994); およびde Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)において概説されている。将来同定されるものを含む他のFcRは、本明細書における用語「FcR」に包含される。

【0112】

本明細書で使用される場合の用語「エピトープ」は、抗体または抗体部分が結合する抗原上の原子またはアミノ酸の特定の群を指す。2つの抗体または抗体部分は、それらが抗原に対する競合的結合を示す場合、抗原内の同じエピトープに結合し得る。

【0113】

本明細書で使用される場合、第1の抗体部分と第2の抗体部分は、第1の抗体部分が、等モル濃度の第1の抗体部分の存在下で第2の抗体部分の標的抗原結合を少なくとも約50%（例えば、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）阻害する場合、または逆に、第2の抗体部分が、等モル濃度の第2の抗体

10

20

30

40

50

部分の存在下で第1の抗体部分の標的抗原結合を少なくとも約50%（例えば、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）阻害する場合、標的抗原への結合について「競合する」。抗体のそれらの交差競合に基づく「ビニング」のためのハイスループットプロセスは、PCT公開番号WO03/48731に記載されている。

【0114】

本明細書で使用される場合、用語「特異的に結合する」、「特異的に認識する」、および「に特異的である」は、生体分子をはじめとする分子の不均一集団の存在下で標的の存在の決定因となる、標的と抗体または抗体部分との間の結合などの、測定可能な再現性のある相互作用を指す。例えば、標的（エピトープであり得る）を特異的に認識する抗体または抗体部分は、この標的に、他の標的へのその結合よりも大きい親和性、アビディティで、より容易に、および／またはより長い期間、結合する、抗体または抗体部分である。一部の実施形態では、無関係の標的への抗体の結合度は、例えばラジオイムノアッセイ（RIA）により、測定して、標的への抗体の結合の約10%未満である。一部の実施形態では、標的に特異的に結合する抗体は、 $\leq 10^{-5} \text{ M}$ 、 $\leq 10^{-6} \text{ M}$ 、 $\leq 10^{-7} \text{ M}$ 、 $\leq 10^{-8} \text{ M}$ 、 $\leq 10^{-9} \text{ M}$ 、 $\leq 10^{-10} \text{ M}$ 、 $\leq 10^{-11} \text{ M}$ 、または $\leq 10^{-12} \text{ M}$ の解離定数（ K_D ）を有する。一部の実施形態では、抗体は、異なる種からのタンパク質間で保存されるタンパク質上のエピトープに特異的に結合する。一部の実施形態では、特異的結合は、排他的結合を含み得るが、排他的結合を要求するわけではない。抗体または抗原結合ドメインの結合特異性を当技術分野において公知の方法によって実験により決定することができる。そのような方法は、ウェスタンブロット、ELISA試験、RIA試験、ECL試験、IRMA試験、EIA試験、BIACORE（商標）試験およびペプチドスクリーンを含むが、これらに限定されない。

【0115】

「単離された」抗体（または構築物）は、その産生環境（例えば、天然または組換え）の成分から同定、分離および／または回収されたものである。好ましくは、単離されたポリペプチドには、その産生環境からの他のあらゆる成分が付随していない。

【0116】

本明細書に記載の構築物、抗体またはその抗原結合性断片をコードする「単離された」核酸分子は、それが産生された環境に本来付随する少なくとも1つの夾雑核酸分子から同定および分離されている核酸分子である。好ましくは、単離された核酸には、産生環境に関連するあらゆる成分が付随していない。本明細書に記載のポリペプチドおよび抗体をコードする単離された核酸分子は、それが自然界で見出される形態または設定のもの以外の形態のものである。したがって、単離された核酸分子は、細胞内に天然に存在する本明細書に記載のポリペプチドおよび抗体をコードする核酸と区別される。単離された核酸は、細胞に含有されている核酸分子であって、その細胞に元々含有されている核酸分子を含むが、この核酸分子は、染色体外に存在するか、またはその天然の染色体位置とは異なる染色体位置に存在する。

【0117】

用語「制御配列」は、特定の宿主生物における作動可能に連結されたコード配列の発現に必要なDNA配列を指す。例えば、原核生物に好適である制御配列は、プロモーター、必要に応じてオペレーター配列、およびリボソーム結合部位を含む。真核細胞がプロモーター、ポリアデニル化シグナル、およびエンハンサーを利用することは公知である。

【0118】

核酸は、別の核酸配列と機能的関係に置かれているとき、「作動可能に連結されている」。例えば、プレ配列または分泌リーダーのDNAは、ポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質としてそれが発現される場合、ポリペプチドのDNAに作動可能に連結されており、プロモーターもしくはエンハンサーは、それがコード配列の転写に影響を与える

10

20

30

40

50

場合、コード配列に作動可能に連結されており、またはリボソーム結合部位は、それが翻訳を促進するように配置されている場合、コード配列に作動可能に連結されている。一般に、「作動可能に連結された／されている (operably linked)」は、連結されているDNA配列が隣接していること、分泌リーダーの場合は、隣接しており、かつリーディングフェーズにあることを意味する。しかし、エンハンサーが隣接している必要はない。連結は、都合のよい制限部位でのライゲーションにより果たされる。そのような部位が存在しない場合、合成オリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーが従来の慣例に従って使用される。

【0119】

本明細書で使用される場合の用語「ベクター」は、核酸分子であって、その核酸分子が連結されている別の核酸を増殖させることができる核酸分子である。この用語は、自己複製核酸構造物としてのベクター、および導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれるベクターを含む。ある特定のベクターは、それらのベクターが動作可能に連結されている核酸の発現を指令することができる。そのようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と呼ばれる。

【0120】

本明細書で使用される場合の用語「トランスフェクトされた／される (transfected)」または「形質転換された／される (transformed)」または「形質導入された／される (transduced)」は、外来性核酸が宿主細胞に移入または導入されるプロセスを指す。「トランスフェクトされた」または「形質転換された」または「形質導入された」細胞は、外来性核酸でトランスフェクトされた細胞、外来性核酸で形質転換された細胞、または外来性核酸で形質導入された細胞である。細胞は、初代対象細胞およびその子孫を含む。

【0121】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞系」および「宿主細胞培養物」は、同義的に使用され、外来性核酸が導入された細胞を、そのような細胞の子孫を含めて、含む。宿主細胞は、「形質転換体」および「形質転換細胞」を含み、これらには、初代形質転換細胞、および継代数を問わずそれらに由来する子孫が含まれる。子孫は、核酸含有量の点で親細胞と完全に同一でないことがあり、変異を含有することもある。最初に形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたのと同じ機能または生物学的活性を有する変異体子孫が、本明細書に含まれる。

【0122】

本明細書で使用される場合、「処置」または「処置すること」は、臨床結果を含む、有益なまたは所望の結果を得るための手法である。本発明の目的に関して、有益なまたは所望の臨床結果は、次のうちの1つまたは複数を含むが、これらに限定されない：疾患の結果として生じる1つもしくは複数の症状を緩和すること、疾患の程度を低下させること、疾患を安定化すること（例えば、疾患の悪化を予防することもしくは遅延させること）、疾患の拡大（例えば、転移）を予防もしくは遅延させること、疾患の再発を予防することもしくは遅延させること、疾患の進行を遅延させることもしくは緩徐化すること、病状を改善すること、疾患の寛解（部分的もしくは完全）をもたらすこと、疾患を処置するために必要な1つもしくは複数の他の薬物の用量を減少させること、疾患の進行を遅延させること、生活の質を高めるもしくは向上させること、体重増加を増大させること、および／または生存期間を延長すること。がんの病理学的帰結（例えば、腫瘍体積など）の低減も、「処置」に包含される。本発明の方法は、処置のこれらの態様のいずれか1つまたは複数を企図している。

【0123】

用語「有効量」は、有益なまたは所望の結果をもたらすのに十分である薬剤の量を指す。この用語は、本明細書に記載のイメージング方法のいずれか1つにより検出のための画像を生じさせる用量にも当てはまる。具体的な用量は、選択される特定の薬剤、従うべき投与レジメン、他の化合物と組み合わせて投与されるかどうか、投与のタイミング、イメ

10

20

30

40

50

ージングされる組織、およびそれが運ばれる物理的送達系、のうちの1つまたは複数に依存して変わり得る。

【0124】

用語「対象」、「個体」および「患者」は、ヒト、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、齧歯類または霊長類を含むがこれらに限定されない哺乳動物を指すために本明細書では同義的に使用される。一部の実施形態では、個体は、ヒトである。

【0125】

本明細書に記載の本発明の実施形態が、実施形態「からなること」および／または「から本質的になること」を含むことは理解される。

【0126】

本明細書での「約」ある値またはパラメーターへの言及は、その値またはパラメーター自体に関する変形態態を含む（および記載する）。例えば、「約X」に言及する記載は、「X」についての記載を含む。

【0127】

本明細書で使用される場合、ある値またはパラメーター「でない」への言及は、ある値またはパラメーター「以外」を一般に意味し、記載する。例えば、方法がX型のがんを処置するために使用されないことは、方法がX以外の型のがんを処置するために使用されることを意味する。

【0128】

本明細書で使用される用語「約X～Y」は、「約X～約Y」と同じ意味を有する。

【0129】

本明細書でおよび添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「1つの(a)」、「または(or)」および「前記(the)」は、文脈による別段の明白な指図がない限り、複数の指示対象を含む。

【0130】

本明細書で使用される「コンジュゲートされた／される(conjugated)」は、共有結合性であることもあり、または非共有結合性であることもある、2つのコンジュゲーション部分の特異的会合を指す。

II. イメージング方法

【0131】

本出願の一態様は、a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量、およびb) 標識（例えば、放射性核種）と第2のコンジュゲーション部分とを含む標識化合物（例えば、放射性核種化合物）の有効量であって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、in vivoで互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、a) およびb) の有効量を使用して、個体における免疫チェックポイントリガンドの分布および／または発現レベルを決定する方法を提供する。一部の実施形態では、方法は、非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップをさらに含む。

【0132】

一部の実施形態では、個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法であって、a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個体に投与するステップであって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、ステップ；b) その後、放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、in vivoで互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；およびc) 非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法であって、抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個体に投与するステップを含み、抗体部分が、免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合し

10

20

30

40

50

、個体は放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を投与され、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、方法を提供する。一部の実施形態では、抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含み、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、抗体剤の有効量を投与された個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法であって、放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップを含み、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、方法が、提供される。

10

【0133】

一部の実施形態では、個体におけるPD-L1またはPD-L1様リガンドの分布を決定する方法であって、a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個体に投与するステップであって、抗体部分がPD-L1またはPD-L1様リガンドに特異的に結合する、ステップ；b) その後、放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；およびc) 非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{64}Cu 、 ^{18}F 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{19}F 、 ^{66}Ga 、 ^{72}Ga 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y および ^{45}Ti からなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{68}Ga である。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分各々は、クリックケミストリー対のメンバーを含み、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分はtrans-シクロオクテン(TCO)であり、第2のコンジュゲーション部分はテトラジン(Tz)であるか、または第1のコンジュゲーション部分はTzであり、第2のコンジュゲーション部分はTCOである。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片に融合したscFvを含む。一部の実施形態(embodiments)では、Fc断片は、H310AおよびH435Q変異を有し、アミノ酸位置は、Kabatt番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、放射性核種化合物および／または抗体剤は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸(NTA)、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸(DOTA)またはその誘導体である。一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する。

20

30

【0134】

一部の実施形態では、個体におけるPD-L1またはPD-L1様リガンドの分布を決定する方法であって、a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個体に投与するステップであって、抗体部分がPD-L1またはPD-L1様リガンドに特異的に結合する、ステップ；b) その後、 ^{68}Ga と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；およびc) 非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分各々は、クリックケミストリー対のメンバーを含み、クリックケミス

40

50

トリーによって互いにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分はtrans-シクロオクテン(TCO)であり、第2のコンジュゲーション部分はテトラジン(Tz)であるか、または第1のコンジュゲーション部分はTzであり、第2のコンジュゲーション部分はTCOである。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片に融合したscFvを含む。一部の実施形態では、Fc断片は、H310AおよびH435Q変異を含み、アミノ酸位置は、Kabata番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、放射性核種化合物および／または抗体剤は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸(NOTA)、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸(DOTA)またはその誘導体である。一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する。

【0135】

一部の実施形態では、個体におけるPD-L1またはPD-L1様リガンドの分布を決定する方法であって、a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個体に投与するステップであって、抗体部分がPD-L1またはPD-L1様リガンドに特異的に結合する、ステップ；b) その後、⁶⁸Gaと第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、in vivoで互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせ、第1のコンジュゲーション部分が、trans-シクロオクテン(TCO)であり、第2のコンジュゲーション部分が、テトラジン(Tz)であるか、または第1のコンジュゲーション部分が、Tzであり、第2のコンジュゲーション部分が、TCOである、ステップ；およびc) 非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片に融合したscFvを含む。一部の実施形態では、Fc断片は、H310AおよびH435Q変異を含み、アミノ酸位置は、Kabata番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、放射性核種化合物および／または抗体剤は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸(NOTA)、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸(DOTA)またはその誘導体である。一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する。

【0136】

一部の実施形態では、個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法であって、a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個体に投与するステップであって、抗体部分が、配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1と、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2と、配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3とを含むVH、および配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1と、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2と、配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3とを含むVLを含む、ステップ；b) その後、放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、in vivoで互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；およびc) 非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、放射性核種は、⁶⁴Cu、¹⁸F、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、¹¹¹In、¹⁷⁷Lu、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、⁶¹

10

20

30

40

50

Cu、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{19}F 、 ^{66}Ga 、 ^{72}Ga 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y および ^{45}Ti からなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{68}Ga である。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分各々は、クリックケミストリー対のメンバーを含み、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分はtrans-シクロオクテン(TCO)であり、第2のコンジュゲーション部分はテトラジン(Tz)であるか、または第1のコンジュゲーション部分はTzであり、第2のコンジュゲーション部分はTCOである。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片に融合したscFvを含む。一部の実施形態では、Fc断片は、H310AおよびH435Q変異を含み、アミノ酸位置は、Kabab番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、放射性核種化合物および／または抗体剤は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸(NOTA)、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸(DOTA)またはその誘導体である。一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する。

【0137】

一部の実施形態では、個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法であって、a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個体に投与するステップであって、抗体部分が、配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1と、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2と、配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3とを含むVH、および配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1と、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2と、配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3とを含むVLを含む、ステップ；b) その後、放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、in vivoで互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせ、第1のコンジュゲーション部分が、trans-シクロオクテン(TCO)であり、第2のコンジュゲーション部分が、テトラジン(Tz)であるか、または第1のコンジュゲーション部分が、Tzであり、第2のコンジュゲーション部分が、TCOである、ステップ；およびc) 非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{64}Cu 、 ^{18}F 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{19}F 、 ^{66}Ga 、 ^{72}Ga 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y および ^{45}Ti からなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{68}Ga である。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片に融合したscFvを含む。一部の実施形態では、Fc断片は、H310AおよびH435Q変異を含み、アミノ酸位置は、Kabab番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、放射性核種化合物および／または抗体剤は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸(NOTA)、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸(DOTA)またはその誘導体である。一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する。

【0138】

一部の実施形態では、個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法であって、a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個

体に投与するステップであって、抗体部分が、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 1 と、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2 と、配列番号 43 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3 とを含む V H、および配列番号 44 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 1 と、配列番号 45 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2 と、配列番号 46 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3 とを含む V L を含む、ステップ； b) その後、⁶⁸G a と第 2 のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップであって、第 1 のコンジュゲーション部分および第 2 のコンジュゲーション部分が、*i n v i v o* で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせ、第 1 のコンジュゲーション部分が、*t r a n s*-シクロオクテン (T C O) であり、第 2 のコンジュゲーション部分が、テトラジン (T z) であるか、または第 1 のコンジュゲーション部分が、T z であり、第 2 のコンジュゲーション部分が、T C O である、ステップ；および c) 非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約 1 時間～約 100 時間の間に投与される。一部の実施形態では、抗体部分は、F c 断片に融合した s c F v を含む。一部の実施形態では、F c 断片は、H 3 1 0 A および H 4 3 5 Q 変異を含み、アミノ酸位置は、K a b a t 番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、放射性核種化合物および／または抗体剤は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸 (N O T A)、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸 (D O T A) またはその誘導体である。一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する。

【0139】

一部の実施形態では、個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法であって、a) 抗体部分と第 1 のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個体に投与するステップであって、抗体部分が、配列番号 1、5、9、11 および 13 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に対して少なくとも約 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H)、および配列番号 3、7、15、17 および 19 のいずれか 1 つのアミノ酸配列に対して少なくとも約 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む、ステップ； b) その後、放射性核種 (例えば、⁶⁸G a) と第 2 のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップであって、第 1 のコンジュゲーション部分および第 2 のコンジュゲーション部分が、*i n v i v o* で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせ、第 1 のコンジュゲーション部分が、*t r a n s*-シクロオクテン (T C O) であり、第 2 のコンジュゲーション部分が、テトラジン (T z) であるか、または第 1 のコンジュゲーション部分が、T z であり、第 2 のコンジュゲーション部分が、T C O である、ステップ；および c) 非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約 1 時間～約 100 時間の間に投与される。一部の実施形態では、抗体部分は、F c 断片に融合した s c F v を含む。一部の実施形態では、F c 断片は、H 3 1 0 A および H 4 3 5 Q 変異を含み、アミノ酸位置は、K a b a t 番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、放射性核種化合物および／または抗体剤は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸 (N O T A)、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸 (D O T A) またはその誘導体である。一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する。

【0140】

一部の実施形態では、個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法であって、a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個体に投与するステップであって、抗体部分が、配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含む、抗PD-L1 scFvを含む、ステップ；b) その後、放射性核種（例えば、⁶⁸Ga）と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせ、第1のコンジュゲーション部分が、trans-シクロオクテン（TCO）であり、第2のコンジュゲーション部分が、テトラジン（Tz）であるか、または第1のコンジュゲーション部分が、Tzであり、第2のコンジュゲーション部分が、TCOである、ステップ；およびc) 非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片に融合したscFvを含む。一部の実施形態では、Fc断片は、H310AおよびH435Q変異を有し、アミノ酸位置は、Kabab番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、放射性核種化合物および／または抗体剤は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸（NOTA）、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸（DOTA）またはその誘導体である。一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する。

【0141】

一部の実施形態では、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間（例えば、約2時間～約72時間、約3時間～約48時間）の間に投与される。一部の実施形態では、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）は、約1時間～約2時間、約2時間～約4時間、約4時間～約8時間、約8時間～約12時間、約12時間～約18時間、約18時間～約24時間、約24時間～約36時間、約36時間～約48時間、約48時間～約72時間、約72時間～約96時間の間に投与される。一部の実施形態では、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）は、抗体剤の投与後約1、2、3、4、6、8、12、16、20、24、36、48、72または96時間以内に投与される。一部の実施形態では、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）は、抗体剤の投与の少なくとも約1、2、3、4、6、8、12、16、20、24、36、48、72または96時間後に投与される。

【0142】

本明細書に記載の抗体剤および／または標識化合物（例えば、放射性核種化合物）は、例えば、静脈内、動脈内、腹腔内、肺内、経口、吸入、膀胱内、筋肉内、気管内、皮下、眼内、髄腔内、経粘膜および経皮を含む、様々な経路によって個体（例えば、ヒト）に投与することができる。

【0143】

一部の実施形態では、抗体剤の有効量は、約0.1mg/kg～約100mg/kgである。一部の実施形態では、抗体剤の有効量は、約約0.1mg/kg～約1mg/kg、約1mg/kg～約10mg/kg、約10mg/kg～約25mg/kg、約25mg/kg～約50mg/kg、約50mg/kg～約75mg/kg、約75mg/kg

～約100mg/kgである。一部の実施形態では、抗体剤の有効量は、約0.1mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg以上である。一部の実施形態では、抗体剤の有効量は、約0.1mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kg、75mg/kg、100mg/kg以下である。

【0144】

一部の実施形態では、放射性核種の有効量は、約10uCi～約500uCiである。一部の実施形態では、放射性核種の有効量は、約10uCi～約25uCi、約25uCi～約50uCi、約50uCi～約75uCi、約75uCi～約100uCi、約100uCi～約125uCi、約125uCi～約150uCi、約150uCi～約175uCi、約175uCi～約200uCi、約200uCi～約250uCi、約250uCi～約300uCi、約300uCi～約350uCi、約350uCi～約400uCi、約400uCi～450uCi、約450uCi～約500uCiである。一部の実施形態では、放射性核種の有効量は、約10、25、50、75、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500uCi以上である。一部の実施形態では、放射性核種の有効量は、約10、25、50、75、100、125、150、175、200、250、300、350、400、450、500uCi以下である。

【0145】

一部の実施形態では、イメージング剤は、形成されると、約10分～約7日以内に個体からクリアランスされる。一部の実施形態では、イメージング剤は、約1時間、3時間、6時間、12時間または24時間以内にクリアランスされる。一部の実施形態では、イメージング剤は、約2、3、4、5、6または7日以内にクリアランスされる。

【0146】

一部の実施形態では、抗体剤は、投与後約10分～約14日以内に個体からクリアランスされる。一部の実施形態では、抗体剤は、投与後約1時間、3時間、6時間、12時間または24時間以内に個体からクリアランスされる。一部の実施形態では、抗体剤は、投与後約2、3、4、5、6、7、8、9、10、12または14日以内にクリアランスされる。一部の実施形態では、抗体剤は、投与後少なくとも約1時間、2時間、3時間、6時間、12時間または24時間に個体からクリアランスされる。一部の実施形態では、抗体剤は、投与後少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12または14日に個体からクリアランスされる。

【0147】

一部の実施形態では、標識化合物は、投与後約10分～約7日以内に個体からクリアランスされる。一部の実施形態では、標識化合物は、投与後約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、15、18、21または24時間以内に個体からクリアランスされる。一部の実施形態では、標識化合物剤は、約2、3、4、5、6または7日以内にクリアランスされる。一部の実施形態では、標識化合物は、抗体剤のクリアランスの前にクリアランスされる。一部の実施形態では、標識化合物は、抗体剤のクリアランスの少なくとも約3、6、9、12、18時間前にクリアランスされる。一部の実施形態では、標識化合物は、抗体剤のクリアランスの少なくとも約1、2、3、4、5、6または7日前にクリアランスされる。

【0148】

一部の実施形態では、イメージングは、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）の投与後約30分～約1時間、約1時間～約2時間、約2時間～約3時間、約3時間～約4時間、約4時間～約6時間、約6時間～約9時間、約9時間～約12時間、約12時間～約18時間、または約18時間～約24時間の間に行われる。一部の実施形態では、イメージングは、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）の投与の少なくとも約30分、1時間、2時間、3時間、4時間、6時間、9時間、12時間、18時間後に行われる。一部

の実施形態では、イメージングは、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）の投与後30分、1時間、2時間、3時間、4時間、6時間、9時間、12時間、18時間以内に行われる。

【0149】

一部の実施形態では、方法は、第1のコンジュゲーション部分に連結されていない抗体部分を抗体剤の投与の前に個体に投与するステップをさらに含む。

【0150】

一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍を有する。一部の実施形態では、個体は、血液悪性疾患を有する。一部の実施形態では、個体は、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する。

【0151】

一部の実施形態では、個体は、哺乳動物（例えば、ヒト）である。

【0152】

本明細書に記載の方法は、当技術分野において周知の標識されたポリペプチドを使用してイメージングする方法、および任意のそのような公知の方法を利用することができる。例えば、Srivastava (ed.), Radiolabeled Monoclonal Antibodies for Imaging and Therapy (Plenum Press 1988), Chase, "Medical Applications of Radioisotopes," in Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Gennaro et al. (eds.), pp. 624-652 (Mack Publishing Co., 1990)、およびBrown, "Clinical Use of Monoclonal Antibodies," in Biotechnology and Pharmacy 227-49, Pezzuto et al. (eds.) (Chapman & Hall 1993)を参照されたい。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、陽電子放出核種（PET同位体）、例えば約511keVのエネルギーを有するもの、例えば、 ^{18}F 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 、および ^{124}I を使用する。そのような放射性核種を周知のPETスキャン技術によりイメージングすることができる。参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第6,953,567号、同第9,884,131号、および国際特許出願番号WO2016149188A1、ならびにKim HY. et al., (2018) PLoS ONE 13(3): e0192821も参照されたい。

【0153】

一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、単光子放出コンピュータ断層撮影（SPECT）イメージングを含む。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、陽電子放出断層撮影（PET）イメージングを含む。一部の実施形態では、SPECTまたはPETイメージングは、イメージング剤からのシグナルに基づくこともありまたは基づかないこともある1つまたは複数の他の非侵襲的イメージング方法と組み合わせられる。例えば、PETを、コンピュータ断層撮影（CT）イメージング、磁気共鳴イメージング（MRI）、化学発光イメージング、または電気化学発光イメージングと組み合わせることができる。

【0154】

本明細書に記載のイメージング方法は、低い、中等度のまたは高い発現レベルの免疫チェックポイントリガンドの検出に好適である。一部の実施形態では、イメージング方法は、免疫チェックポイントリガンドの発現レベルおよび分布に関する動的情報を提供する。一部の実施形態では、イメージング方法は、免疫組織化学（IHC）などの他の検出方法には困難であり得る状況で免疫チェックポイントリガンドを検出することができる。例えば、一部の実施形態では、目的の組織は、免疫組織化学（IHC）アッセイまたは他のアッセイに基づいて免疫チェックポイントリガンドに対して陰性である。免疫チェックポイントリガンドの存在または非存在の検出に使用することができる分子アッセイとしては、

10

20

30

40

50

ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）に基づくアッセイ、次世代シーケンシング（NGS）アッセイ、ハイブリダイゼーションアッセイ、およびELISAが挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、目的の組織は、免疫チェックポイントリガンドの低い発現レベルを有する。一部の実施形態では、目的の組織は、免疫細胞の浸潤の際にのみ免疫チェックポイントリガンドを発現する。

【0155】

イメージング剤は、任意の好適な投与量および投与経路を使用して個体に投与することができる。投与経路は、ある期間にわたっての好適な方式での単回または複数回の大量瞬時投与または注入、例えば、皮下、静脈内、腹腔内、筋肉内、動脈内、病巣内、関節内、腫瘍内または経口経路による注射または注入による、公知の、受け入れられている方法に従うものである。適切な投与量または投与経路の決定は、十分に当業者の技能の範囲内である。動物実験は、ヒトへの診断的適用のための有効用量を決定するための信頼性のある指針を与える。有効用量の種間スケールリングは、Mordenti, J. and Chappell, W. "The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics," In Toxicokinetics and New Drug Development, Yacobi et al., Eds, Pergamon Press, New York 1989, pp. 42-46により定められた原則に従って行うことができる。

【0156】

一部の実施形態では、方法は、抗体剤および／または標識化合物の投与の前に同じ個体の目的の組織におけるイメージング剤をイメージングするステップをさらに含む。一部の実施形態では、方法は、イメージングの結果を、抗体剤および／または標識化合物の投与の前に、同じ個体または対照個体の目的の組織における同イメージング剤の以前のイメージングから得られた結果と比較するステップをさらに含む。一部の実施形態では、以前のイメージングは、抗体剤および／または標識化合物の投与の前約約100時間、例えば、約48時間、24時間、12時間、6時間、2時間以内または直前に行われる。一部の実施形態では、方法は、2セットの結果を、例えば、本明細書に記載のコンピュータシステムで、解析するステップをさらに含む。

診断および処置

【0157】

本明細書に記載の方法は、異常免疫応答に関連する様々な疾患および状態の処置のための診断およびコンパニオン診断方法として有用である。一部の実施形態では、疾患または状態は、免疫不全に関連する。一部の実施形態では、疾患または状態は、がん、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患である。

【0158】

一部の実施形態では、疾患または状態を有する個体を診断する方法であって、（a）抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤を個体に投与するステップであって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、ステップ；（b）その後、標識（例えば、放射性核種）と第2のコンジュゲーション部分とを含む標識化合物（例えば、放射性核種化合物）を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；および（c）イメージング剤のシグナルが目的の組織で検出された場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断し、またはイメージング剤のシグナルが目的の組織で検出されなかった場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陰性と診断するステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分は、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分はtrans-シクロオクテン（TCO）であり、第2のコンジュゲーション部分はテトラジン（Tz）であるか、または第1のコンジュゲーション部分はTzであり、第2のコンジュゲーション部分はTCOである。一部

の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。一部の実施形態では、イメージングは、放射性核種化合物の投与後約30分～約24時間の間に行われる。一部の実施形態では、疾患または状態は、がん、感染症、自己免疫疾患、または代謝疾患である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1様リガンドである。

【0159】

一部の実施形態では、疾患または状態を有する個体を診断する方法であって、(a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分を含む抗体剤を個体に投与するステップであって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、ステップ；(b) その後、標識（例えば、放射性核種）と第2のコンジュゲーション部分を含む標識化合物（例えば、放射性核種化合物）を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；(c) 非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップ；および(d) イメージング剤のシグナルが目的の組織で検出された場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断し、またはイメージング剤のシグナルが目的の組織で検出されなかった場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陰性と診断するステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分は、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分は*trans*-シクロオクテン(TCO)であり、第2のコンジュゲーション部分はテトラジン(Tz)であるか、または第1のコンジュゲーション部分はTzであり、第2のコンジュゲーション部分はTCOである。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。一部の実施形態では、イメージングは、放射性核種化合物の投与後約30分～約24時間の間に行われる。一部の実施形態では、抗体剤は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される。一部の実施形態では、方法は、第1のコンジュゲーション部分に連結されていない抗体部分を抗体剤の投与の前に個体に投与するステップをさらに含む。一部の実施形態では、方法は、個体の目的の組織における免疫チェックポイントリガンドの発現レベルを、組織からイメージング剤により放出されるシグナルに基づいて決定するステップをさらに含む。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、単光子放出コンピュータ断層撮影(SPECT)イメージングまたは陽電子放出断層撮影(PET)イメージングを含む。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、コンピュータ断層撮影イメージング、磁気共鳴イメージング、化学発光イメージング、または電気化学発光イメージングを含む、またはさらに含む。一部の実施形態では、方法は、ある期間にわたって個体をイメージングするステップを含む。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1、PD-L2、B7-H3、ガレクチン-9、CD80、CD86およびICOSLからなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{64}Cu 、 ^{18}F 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{19}F 、 ^{66}Ga 、 ^{72}Ga 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y および ^{45}Ti からなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{68}Ga である。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、NOTA、DOTA、またはその誘導体である。一部の実施形態では、抗体部分は、血清中で約10分～約8日（例えば、約10分～約2時間、約1時間～約4時間、約4時間～約8時間、約8時間～約12時間、約12時間～約24時間、約24時間～約48時間、約2日～約5日、および約5日～約8日の約いずれか1つ）の半減期を有する。一部の実

10

20

30

40

50

施形態では、抗体部分は、約400kDa以下（例えば、約350kDa、300kDa、250kDa、200kDa、150kDa以下）である。一部の実施形態では、抗体部分は、少なくとも約80、100、150、200、250、300、350、400、450または500kDaである。一部の実施形態では、抗体部分は、約80～150、150～250、250～350、350～450kDaであるか、または450kDaより大きい。一部の実施形態では、抗体部分と免疫チェックポイントリガンドとの結合は、免疫チェックポイントリガンドとの約 9×10^{-10} M～約 1×10^{-8} Mの間（例えば、約 9×10^{-10} ～ 1×10^{-9} 、約 1×10^{-9} ～ 2×10^{-9} 、約 2×10^{-10} ～ 5×10^{-9} 、または約 5×10^{-10} ～ 1×10^{-8} の間）の K_D を有する。一部の実施形態では、抗体部分は、異なる種（例えば、非ヒト哺乳動物、例えば、マウス、ラットまたはサル）からの免疫チェックポイントリガンドと交差反応する。一部の実施形態では、抗体部分は、ヒト化されている。一部の実施形態では、抗体部分は、酸性pHで（例えば、約6.5、6.0、5.5または5.0より低いpHで）安定している。一部の実施形態では、抗体部分は、約55～70℃（例えば、約55～60℃、約60～65℃、または約65～70℃のいずれか1つ）の融解温度（ T_m ）を有する。一部の実施形態では、抗体部分は、一本鎖Fv（scFv）、ダイアボディ、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片（dsFv）、（dsFv）₂、およびV_HHからなる群から選択される。一部の実施形態では、疾患または状態は、がん、感染症、自己免疫疾患、または代謝疾患である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1様リガンドである。一部の実施形態では、抗体部分は、scFvである。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片（例えば、ヒトIgG1 Fc）に融合したscFvである。

【0160】

一部の実施形態では、疾患または状態を有する個体を診断する方法であって、（a）抗PD-L1抗体部分と第1のコンジュゲーション部分を含む抗体剤を個体に投与するステップ；（b）その後、標識（例えば、放射性核種）と第2のコンジュゲーション部分を含む標識化合物（例えば、放射性核種化合物）を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；（c）非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップ；および（d）イメージング剤のシグナルが目的の組織で検出された場合には個体をPD-L1に対して陽性と診断し、またはイメージング剤のシグナルが目的の組織で検出されなかった場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陰性と診断するステップを含み、抗PD-L1抗体部分が、配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、または最大約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、V_Hと、配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、または最大約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、V_Lとを含む、方法が提供される。一部の実施形態では、方法は、個体の目的の組織におけるPD-L1の発現レベルを、組織からイメージング剤により放出されるシグナルに基づいて決定するステップをさらに含む。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分は、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分はtrans-シクロオクテン（TCO）であり、第2のコンジュゲーション部分はテトラジン（Tz）であるか、または第1のコンジュゲーション部分はTzであり、第2のコンジュゲーション部分はTCOである。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。一部の実施形態では、イメージングは、放射性核種化合物の投与後約30分～約24時間の

10

20

30

40

50

間に行われる。一部の実施形態では、抗体剤は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される。一部の実施形態では、方法は、第1のコンジュゲーション部分に連結されていない抗体部分を抗体剤の投与の前に個体に投与するステップをさらに含む。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、単光子放出コンピュータ断層撮影 (SPECT) イメージングまたは陽電子放出断層撮影 (PET) イメージングを含む。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、コンピュータ断層撮影イメージング、磁気共鳴イメージング、化学発光イメージング、または電気化学発光イメージングを含む、またはさらに含む。一部の実施形態では、方法は、ある期間にわたって個体をイメージングするステップを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Hと；配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Lとを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、ヒト化されている。一部の実施形態では、放射性核種は、⁶⁴Cu、¹⁸F、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、¹¹¹In、¹⁷⁷Lu、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁶⁷Cu、¹⁹F、⁶⁶Ga、⁷²Ga、⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、⁸⁶Y、⁸⁸Yおよび⁴⁵Tiからなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、⁶⁸Gaである。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、NOTA、DOTA、またはその誘導体である。一部の実施形態では、疾患または状態は、がん、感染症、自己免疫疾患、または代謝疾患である。一部の実施形態では、抗体部分は、scFvである。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片（例えば、ヒトIgG1 Fc）に融合したscFvである。一部の実施形態では、scFvは、1つまたは複数の（例えば、1つ、2つ、3つまたはそれより多くの）操作されたジスルフィド結合を含む。一部の実施形態では、scFvは、第1の操作されたシステイン残基をV_Hの44位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの100位に含み、および／または第1の操作されたシステイン残基をV_Hの105位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの43位に含み、第1の操作されたシステイン残基および第2の操作されたシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、アミノ酸位置は、Kabat番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含む。

【0161】

一部の実施形態では、疾患または状態を有する個体を処置する方法であって、(a) 本明細書に記載の任意の診断方法を使用して個体を診断するステップ、および(b) 個体が免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断された場合、免疫チェックポイントリガンドまたはその受容体を標的とする治療剤の有効量を個体に投与するステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、治療剤は、免疫チェックポイントリガンドまたはその受容体の阻害剤である。一部の実施形態では、治療剤は、免疫チェックポイントリ

10

20

30

40

50

ガンドまたはその受容体に特異的に結合する放射性標識分子である。一部の実施形態では、疾患または状態は、がん、感染症、自己免疫疾患、または代謝疾患である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1様リガンドである。

【0162】

一部の実施形態では、疾患または状態を有する個体を処置する方法であって、(a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤を個体に投与するステップであって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、ステップ；(b) その後、標識（例えば、放射性核種）と第2のコンジュゲーション部分とを含む標識化合物（例えば、放射性核種化合物）を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；(c) 非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップ；(d) イメージング剤のシグナルが目的の組織で検出された場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断し、またはイメージング剤のシグナルが目的の組織で検出されなかった場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陰性と診断するステップ；および(e) 個体が免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断された場合、免疫チェックポイントリガンドまたはその受容体を標的とする治療剤（例えば、免疫チェックポイントリガンドもしくはその受容体の阻害剤、または免疫チェックポイントリガンドもしくはその受容体に特異的に結合する放射性標識分子）の有効量を個体に投与するステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、方法は、個体の目的の組織における免疫チェックポイントリガンドの発現レベルを、組織からイメージング剤により放出されるシグナルに基づいて決定するステップをさらに含む。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分は、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分は*trans*-シクロオクテン(TCO)であり、第2のコンジュゲーション部分はテトラジン(Tz)であるか、または第1のコンジュゲーション部分はTzであり、第2のコンジュゲーション部分はTCOである。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。一部の実施形態では、イメージングは、放射性核種化合物の投与後約30分～約24時間の間に行われる。一部の実施形態では、抗体剤は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される。一部の実施形態では、方法は、第1のコンジュゲーション部分に連結されていない抗体部分を抗体剤の投与の前に個体に投与するステップをさらに含む。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、単光子放出コンピュータ断層撮影(SPECT)イメージングまたは陽電子放出断層撮影(PET)イメージングを含む。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、コンピュータ断層撮影イメージング、磁気共鳴イメージング、化学発光イメージング、または電気化学発光イメージングを含む、またはさらに含む。一部の実施形態では、方法は、ある期間にわたって個体をイメージングするステップを含む。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1、PD-L2、B7-H3、ガレクチン-9、CD80、CD86およびICOSLからなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{64}Cu 、 ^{18}F 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{19}F 、 ^{66}Ga 、 ^{72}Ga 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y および ^{45}Ti からなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{68}Ga である。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、NOTA、DOTA、またはその誘導体である。一部の実施形態では、抗体部分は、血清中で約10分～約8日（例えば、約10分～約2時間、約1時間～約4時間、約4時間～約8時間、約8時間～約12時間、約12時間～約24時間、約24時間～約48時間、約2日

10

20

30

40

50

～約5日、および約5日～約8日の約いずれか1つ)の半減期を有する。一部の実施形態では、抗体部分は、約400kDa以下(例えば、約350kDa、300kDa、250kDa、200kDa、150kDa以下)である。一部の実施形態では、抗体部分は、少なくとも約80、100、150、200、250、300、350、400、450または500kDaである。一部の実施形態では、抗体部分は、約80～150、150～250、250～350、350～450kDaであるか、または450kDaより大きい。一部の実施形態では、抗体部分と免疫チェックポイントリガンドとの結合は、免疫チェックポイントリガンドとの約 $9 \times 10^{-10} \text{M}$ ～約 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ (例えば、約 $9 \times 10^{-10} \sim 1 \times 10^{-9}$ 、約 $1 \times 10^{-9} \sim 2 \times 10^{-9}$ 、約 $2 \times 10^{-10} \sim 5 \times 10^{-9}$ 、または約 $5 \times 10^{-10} \sim 1 \times 10^{-8}$ の間)の K_D を有する。一部の実施形態では、抗体部分は、非ヒト哺乳動物(例えば、マウス、ラットまたはサル)からの免疫チェックポイントリガンドと交差反応する。一部の実施形態では、抗体部分は、ヒト化されている。一部の実施形態では、抗体部分は、酸性pHで(例えば、約6.5、6.0、5.5または5.0より低いpHで)安定している。一部の実施形態では、抗体部分は、約55～70℃(例えば、約55～60℃、約60～65℃、または約65～70℃のいずれか1つ)の融解温度(T_m)を有する。一部の実施形態では、抗体部分は、一本鎖Fv(scFv)、ダイアボディ、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片(dsFv)、(dsFv)₂、およびV_HHからなる群から選択される。一部の実施形態では、疾患または状態は、がん、感染症、自己免疫疾患、または代謝疾患である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1様リガンドである。一部の実施形態では、抗体部分は、scFvである。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片(例えば、ヒトIgG1Fc)に融合したscFvである。

【0163】

一部の実施形態では、疾患または状態を有する個体を処置する方法であって、(a)抗PD-L1抗体部分と第1のコンジュゲーション部分を含む抗体剤を個体に投与するステップ；(b)その後、標識(例えば、放射性核種)と第2のコンジュゲーション部分を含む標識化合物(例えば、放射性核種化合物)を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；(c)非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップ；(d)イメージング剤のシグナルが目的の組織で検出された場合には個体をPD-L1に対して陽性と診断し、またはイメージング剤のシグナルが目的の組織で検出されなかった場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陰性と診断するステップ、および(e)個体がPD-L1に対して陽性と診断された場合、PD-L1またはPD-1を標的とする治療剤(例えば、PD-L1もしくはPD-1の阻害剤、例えば、抗PD-L1抗体もしくは抗PD-1抗体、またはPD-L1もしくはPD-1に特異的に結合する放射性標識分子)を有効量、個体に投与するステップを含み、抗PD-L1抗体部分が、配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、または最大約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、V_Hと、配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、または最大約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、V_Lとを含む、方法が提供される。一部の実施形態では、方法は、個体の目的の組織におけるPD-L1の発現レベルを、組織からイメージング剤により放出されるシグナルに基づいて決定するステップをさらに含む。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分は、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分はtrans-シクロオクテン(TCO)であり、第2のコンジュゲーション部分はテトラジン(Tz)であるか、または第1のコンジュゲーション部分はTzであり、第2

10

20

30

40

50

のコンジュゲーション部分はTCOである。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与の直後に投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。一部の実施形態では、イメージングは、放射性核種化合物の投与後約30分～約24時間の間に行われる。一部の実施形態では、抗体剤は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される。一部の実施形態では、方法は、第1のコンジュゲーション部分に連結されていない抗体部分を抗体剤の投与の前に個体に投与するステップをさらに含む。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、単光子放出コンピュータ断層撮影（SPECT）イメージングまたは陽電子放出断層撮影（PET）イメージングを含む。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、コンピュータ断層撮影イメージング、磁気共鳴イメージング、化学発光イメージング、または電気化学発光イメージングを含む、またはさらに含む。一部の実施形態では、方法は、ある期間にわたって個体をイメージングするステップを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Hと；配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Lとを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、ヒト化されている。一部の実施形態では、放射性核種は、⁶⁴Cu、¹⁸F、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、¹¹¹In、¹⁷⁷Lu、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁶⁷Cu、¹⁹F、⁶⁶Ga、⁷²Ga、⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、⁸⁶Y、⁸⁸Yおよび⁴⁵Tiからなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、⁶⁸Gaである。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、NOTA、DOTA、またはその誘導体である。一部の実施形態では、疾患または状態は、がん、感染症、自己免疫疾患、または代謝疾患である。一部の実施形態では、抗体部分は、scFvである。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片（例えば、ヒトIgG1 Fc）に融合したscFvである。一部の実施形態では、scFvは、1つまたは複数の（例えば、1つ、2つ、3つまたはそれより多くの）操作されたジスルフィド結合を含む。一部の実施形態では、scFvは、第1の操作されたシステイン残基をV_Hの44位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの100位に含み、および／または第1の操作されたシステイン残基をV_Hの105位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの43位に含み、第1の操作されたシステイン残基および第2の操作されたシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、アミノ酸位置は、Kabat番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含む。

【0164】

一部の実施形態では、個体は、がんを有する。がんは、非固形腫瘍（例えば、血液腫瘍、例えば白血病およびリンパ腫）を含むこともあり、または固形腫瘍を含むこともある。本明細書に記載の方法を使用して診断することができる例示的ながんとしては、癌、芽腫

10

20

30

40

50

および肉腫、ならびにある特定の白血病またはリンパ性悪性疾患、良性および悪性腫瘍、ならびに悪性病変、例えば肉腫、癌および黒色腫が挙げられるが、これらに限定されない。成人腫瘍／がんおよび小児腫瘍／がんも含まれる。本明細書で論じられる固形または血液がんとしては、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、肉腫および癌、例えば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、カポジ肉腫、軟部組織肉腫、子宮肉腫、子宮サクロノーマ滑膜腫 (uterine sacronomasynovioma)、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓がん、乳がん、卵巣がん、前立腺がん、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性癌、腎細胞癌、ヘパトーマ、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸がん、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、および黒色腫が挙げられるが、これらに限定されない。

【0165】

本明細書に記載の方法は、米国がん合同委員会 (AJCC) ステージ分類群に従って、ステージ、I、II、IIIおよびIVを含む、全てのステージの固形または血液がんに適応可能である。一部の実施形態では、固形または血液がんは、早期がん、非転移性がん、原発性がん、進行がん、局所進行がん、転移性がん、または寛解期のがんである。

【0166】

一部の実施形態では、個体は、血液がんを有する。本明細書に記載の方法を使用して診断することができる例示的な血液がんとしては、白血病、リンパ腫、急性リンパ芽球性白血病 (ALL)、急性非リンパ芽球性白血病 (ANLL)、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、慢性骨髄性白血病 (CML)、非ホジキンリンパ腫、およびホジキンリンパ腫が挙げられるが、これらに限定されない。

【0167】

一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍を有する。本明細書に記載の方法を使用して診断することができる例示的な固形腫瘍としては、結腸腫瘍、黒色腫、腎臓腫瘍、卵巣腫瘍、肺腫瘍、乳房腫瘍、および膵臓腫瘍が挙げられるが、これらに限定されない。

【0168】

がんの処置は、例えば、腫瘍退縮、腫瘍重量または体積縮小、無増悪期間、生存期間、無増悪生存期間、全奏効率、奏効期間、生活の質、タンパク質発現および／または活性により、評価することができる。例えば、放射線イメージングによる応答の測定を含む、治療の有効性を決定する手法を、利用することができる。

【0169】

一部の実施形態では、個体は、感染性疾患を有する。感染症は、ウイルス、細菌、原生動物または寄生虫により引き起こされ得る。例示的な病原体としては、*Acinetobacter baumannii*、*Anaplasma* 属、*Anaplasma phagocytophilum*、*Ancylostoma braziliense*、*Ancylostoma duodenale*、*Arcanobacterium haemolyticum*、*Ascaris lumbricoides*、*Aspergillus* 属、*Astroviridae*、*Babesia* 属、*Bacillus anthracis*、*Bacillus cereus*、*Bartonella henselae*、BKウイルス、*Blastocystis hominis*、*Blastomyces dermatitidis*、*Bordetella pertussis*、*Borrelia burgdorferi*、*Borrelia* 属、*Borrelia* spp、*Brucella* 属、*Brugia malayi*、*Bunyaviridae* 科、*Burkholderia cepacia* および他の *Burkholderia* 種、*Burkholderia mallei*、*Burkholderia pseudomallei*、*Caliciviridae* 科、*Campylobacter* 属、*Candida albicans*、*Candida* spp、*Chlamydia trachomatis*、*Chlamydophila pneumoniae*、*Chlamydophila psittaci*、

10

20

30

40

50

CJDプリオン、*Clonorchis sinensis*、*Clostridium botulinum*、*Clostridium difficile*、*Clostridium perfringens*、*Clostridium perfringens*、*Clostridium spp.*、*Clostridium tetani*、*Coccidio*
ides spp.、コロナウイルス、*Corynebacterium diphtheriae*、*Coxiella burnetii*、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス、*Cryptococcus neoformans*、*Cryptosporidium*属、サイ
 トメガロウイルス (CMV)、デングウイルス (DEN-1、DEN-2、DEN-3 および DEN-4)、*Dientamoeba fragilis*、エボラウイルス (E
 BOV)、*Echinococcus*属、*Ehrlichia chaffeensis*、*Ehrlichia ewingii*、*Ehrlichia*属、*Entamoeba histolytica*、*Enterococcus*属、*Enterovirus*属、エン
 テロウイルス、主としてコクサッキーAウイルスおよびエンテロウイルス71 (EV71)、*Epidermophyton spp.*、エプスタイン・バーウイルス (EBV)、*Escherichia coli* O157:H7、O111およびO104:H4、*Fasciola hepatica*および*Fasciola gigantica*、FFI
 プリオン、*Filarioidea*スーパーファミリー、フラビウイルス、*Francisella tularensis*、*Fusobacterium*属、*Geotrichum candidum*、*Giardia intestinalis*、*Gnathostoma* spp、GSSプリオン、グアナリトウイルス、*Haemophilus duc*
reyi、*Haemophilus influenzae*、*Helicobacter pylori*、ヘニパウイルス (ヘンドラウイルス、ニパウイルス)、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス (HBV)、C型肝炎ウイルス (HCV)、D型肝炎ウイルス、E型
 肝炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス1型および2型 (HSV-1およびHSV-2)、*Histoplasma capsulatum*、HIV (ヒト免疫不全ウイルス)、*Hortaea werneckii*、ヒトボカウイルス (HBoV)、ヒトヘルペスウイ
 ルス6型 (HHV-6) およびヒトヘルペスウイルス7型 (HHV-7)、ヒトメタニューモウイルス (hMPV)、ヒトパピローマウイルス (HPV)、ヒトパラインフルエンザウイルス (HPIV)、ヒトT細胞白血病ウイルス1型 (HTLV-1)、日本脳炎ウ
 イルス、JCウイルス、フニンウイルス、カボジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV)、*Kingella kingae*、*Klebsiella granulomatis*、クールー病プリオン、ラッサウイルス、*Legionella pneumophila*
*Leishmania*属、*Leptospira*属、*Listeria monocytogenes*、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)、マチュポウイルス、*Malassezia spp.*、マールブルグウイルス、麻疹ウイルス、*Metagonimus yokagawai*、*Microsporidia phylum*、伝染性軟属腫ウ
 イルス (MCV)、流行性耳下腺炎ウイルス、*Mycobacterium leprae*および*Mycobacterium lepromatosis*、*Mycobacterium tuberculosis*、*Mycobacterium ulcerans*、*Mycoplasma pneumoniae*、*Naegleria fowleri*、*Necator americanus*、*Neisseria gonorrhoeae*、*Neisseria meningitidis*、*Nocardia asteroides*
Nocardia spp.、*Onchocerca volvulus*、*Orientia tsutsugamushi*、*Orthomyxoviridae*科 (インフルエンザ)、*Paracoccidioides brasiliensis*、*Paragonimus spp.*、*Paragonimus westermani*、パルボウイルスB19、*Pasteurella*属、*Plasmodium*属、*Pneumocystis jirovecii*、ポリオウイルス、狂犬病ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス (RSV)、*Rhinovirus*、ライノウイルス、*Rickettsia akari*、*Rickettsia*属、*Rickettsia prowazekii*、*Ricketts*

10

20

30

40

50

ia rickettsii、*Rickettsia typhi*、リフトバレー熱ウイルス、ロタウイルス、風疹ウイルス、サビアウイルス、*Salmonella*属、*Sarcoptes scabiei*、SARSコロナウイルス、*Schistosoma*属、*Shigella*属、シンノンブレウイルス、ハンタウイルス、*Sporothrix schenckii*、*Staphylococcus*属、*Staphylococcus*属、*Streptococcus agalactiae*、*Streptococcus pneumoniae*、*Streptococcus pyogenes*、*Strongyloides stercoralis*、*Taenia*属、*Taenia solium*、ダニ媒介脳炎ウイルス (TBEV)、*Toxocara canis*または*Toxocara cati*、*Toxoplasma gondii*、*Treponema pallidum*、*Trichinella spiralis*、*Trichomonas vaginalis*、*Trichophyton* spp、*Trichuris trichiura*、*Trypanosoma brucei*、*Trypanosoma cruzi*、*Ureaplasma urealyticum*、水痘带状疱疹ウイルス (VZV)、水痘带状疱疹ウイルス (VZV)、*Variola major*または*Variola minor*、vCJDプリオン、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、*Vibrio cholerae*、ウエストナイルウイルス、西部ウマ脳炎ウイルス、*Wuchereria bancrofti*、黄熱病ウイルス、*Yersinia enterocolitica*、*Yersinia pestis*、ならびに*Yersinia pseudotuberculosis*が挙げられるが、これらに限定されない。

【0170】

一部の実施形態では、個体は、自己免疫疾患を有する。例示的な自己免疫疾患としては、ベーチェット病、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症（全身性強皮症および進行性全身性強皮症）、強皮症、多発性筋炎、皮膚筋炎、結節性動脈周囲炎（結節性多発動脈炎および顕微鏡的多発血管炎）、大動脈炎症候群（高安動脈炎）、悪性関節リウマチ、関節リウマチ、ウェグナー肉芽腫症（Wegner's granulomatosis）、混合性結合組織病、シェーグレン症候群、成人発症スチル病、アレルギー性肉芽腫性血管炎、過敏性血管炎、コーガン症候群、RS3PE、側頭動脈炎、リウマチ性多発筋痛症、線維筋痛症症候群、抗リン脂質抗体症候群、好酸球性筋膜炎、IgG4関連疾患（例えば、原発性硬化性胆管炎および自己免疫性膵炎）、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、慢性萎縮性胃炎、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、大動脈炎症候群、グッドパスチャー症候群、急速進行性糸球体腎炎、巨赤芽球性貧血、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性好中球減少症、特発性血小板減少性紫斑病、グレーブス病（甲状腺機能亢進症）、橋本甲状腺炎、自己免疫性副腎不全、原発性甲状腺機能低下症、特発性アジソン病（慢性副腎不全）、I型糖尿病、慢性円板状エリテマトーデス、限局性強皮症、乾癬、乾癬性関節炎、天疱瘡、類天疱瘡、妊娠性疱疹、線状IgA水疱性皮膚症、後天性表皮水疱症、円形脱毛症、白斑、原田病、自己免疫性視神経症、特発性無精子症、習慣性胎児死亡、および炎症性腸疾患（潰瘍性大腸炎およびクローン病）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0171】

一部の実施形態では、個体は、異常免疫応答に関連する代謝疾患を有する。例示的な代謝疾患としては、炎症性腸疾患、多発性硬化症、乾癬、関節リウマチ、および全身性エリテマトーデスが挙げられるが、これらに限定されない。

III. 抗体剤

【0172】

PD-L1およびPD-L1様リガンドなどの免疫チェックポイントリガンドを特異的に認識する抗体部分を含む抗体剤も、本明細書で提供される。そのような抗体剤、およびそれらに由来する抗体部分を、上記セクションに記載の方法および抗体剤に組み込むことができる。好適な抗体部分としては、scFv、Fab、Fc断片に融合したscFv（本明細書では「scFv-Fc」とも呼ばれる）、別のFv断片に融合したscFv（本明細書では「scFv-Fv」とも呼ばれる）が挙げられるが、これらに限定されない。

本明細書に記載の抗体部分（抗PD-L1抗体剤を含む）は、下記のセクションa）～h）に記載の特徴のいずれか1つまたは複数を有することができる。

【0173】

一部の実施形態では、抗体部分は、scFvを含む。一部の実施形態では、抗体部分は、scFvである。一部の実施形態では、scFvは、（N末端からC末端に向かって）：VL-L-VH、またはVH-L-VL（ここで、Lはペプチドリinkerである）の配置を有する。一部の実施形態では、scFvは、キメラ、ヒト、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、または半合成のものである。

【0174】

一部の実施形態では、scFvは、増強された熱安定性を有するように操作される。一部の実施形態では、scFvは、約55～70℃、例えば、約55～60℃、約60～65℃、または約65～70℃のいずれか1つの融解温度を有するように操作される。一部の実施形態では、scFvは、1つまたは複数の（例えば、1つ、2つ、3つまたはそれより多くの）操作されたジスルフィド結合を含む。一部の実施形態では、scFvは、第1の操作されたシステイン残基をVHの44位に、および第2の操作されたシステイン残基をVLの100位に含み、および／または第1の操作されたシステイン残基をVHの105位に、および第2の操作されたシステイン残基をVLの43位に含み、第1の操作されたシステイン残基および第2の操作されたシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、アミノ酸位置は、Kabatat番号付けシステムに基づく。scFvの構造および配列に基づいて好適な位置にあるVHのシステインおよびVLのシステインを操作することにより、他の操作されたジスルフィド結合をscFvに導入することができる。

【0175】

一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片を含む。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片に融合したscFvである。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片にペプチドリinkerを介して融合したscFvを含む。一部の実施形態では、Fc断片は、ヒトIgG1 Fc断片である。一部の実施形態では、Fc断片は、クリアランスを増加させるためのまたは半減期を短縮するための1つまたは複数の変異を含む。例えば、Fc断片は、H310Aおよび／またはH435Q変異を有し得、アミノ酸位置は、Kabatat番号付けシステムに基づく。

【0176】

一部の実施形態では、Fc断片は、ヒンジ領域（Cys226で始まる）、IgG CH2ドメインおよびCH3ドメインを含む、免疫グロブリンIgG重鎖定常領域を含む。本明細書で使用される場合の用語「ヒンジ領域」または「ヒンジ配列」は、リンカーとCH2ドメインの間に位置するアミノ酸配列を指す。一部の実施形態では、融合タンパク質は、ヒンジ領域を含むFc断片を含む。一部の実施形態では、融合タンパク質のFc断片は、ヒンジ領域で始まり、IgG重鎖のC末端にまで及ぶ。一部の実施形態では、融合タンパク質は、ヒンジ領域を含まないFc断片を含む。

【0177】

一部の実施形態では、抗体部分は、IgG、IgA、IgD、IgE、IgM、ならびにこれらの組合せおよびハイブリッドからのFc断片からなる群から選択されるFc断片を含む。一部の実施形態では、Fc断片は、ヒトIgGに由来する。一部の実施形態では、Fc断片は、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、IgG4または組合せもしくはハイブリッドIgGのFc領域を含む。一部の実施形態では、Fc断片は、IgG1 Fc断片である。一部の実施形態では、Fc断片は、IgG1のCH2およびCH3ドメインを含む。一部の実施形態では、Fc断片は、IgG4 Fc断片である。一部の実施形態では、Fc断片は、IgG4のCH2およびCH3ドメインを含む。IgG4 Fcは、IgG1 Fcより低いエフェクター活性を示すことが公知であり、したがって、一部の用途に望ましいことがある。一部の実施形態では、Fc断片は、マウス免疫グロブリンに由来する。

【0178】

一部の実施形態では、I g G C H 2ドメインは、A l a 2 3 1で始まる。一部の実施形態では、C H 3ドメインは、G l y 3 4 1で始まる。ヒトI g GのC末端L y s残基が必要に応じて非存在であり得ることは、理解される。F cの所望の構造および／または安定性に影響を与えないF c領域の保存的アミノ酸置換が本発明の範囲内で企図されることも、理解される。

【0179】

一部の実施形態では、F c断片の各鎖は、同じ抗体部分に融合している。一部の実施形態では、s c F v - F cは、F c断片の一方の鎖に各々が融合している、本明細書に記載の2つの同一のs c F vを含む。一部の実施形態では、s c F v - F cは、ホモ二量体である。

【0100】

一部の実施形態では、s c F v - F cは、F c断片の一方の鎖に各々が融合している、2つの異なるs c F vを含む。一部の実施形態では、s c F v - F cは、ヘテロ二量体である。限定ではないが、ノブ-イントゥ-ホール技術によるヘテロ二量体化を含む、当技術分野において公知の方法により、s c F v - F cにおける非同ポリペプチドのヘテロ二量体化を促進することができる。ノブ-イントゥ-ホール技術の構造および構築方法は、例えば、それら全体がこれにより参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第5, 821, 333号、米国特許第7, 642, 228号、米国特許出願公開第2011/0287009号およびP C T / U S 2 0 1 2 / 0 5 9 8 1 0において、見出すことができる。この技術は、小さいアミノ酸残基をより大きいもので置換することによって一方のF cのC H 3ドメインに「ノブ」（または突出部）を導入すること、および1つまたは複数の大きいアミノ酸残基をより小さいもので置換することによって他方のF cのC H 3ドメインに「ホール」（または空洞）を導入することにより、開発された。一部の実施形態では、融合タンパク質のF c断片の一方の鎖がノブを含み、F c断片のもう一方の鎖がホールを含む。

【0180】

ノブの形成に好ましい残基は、一般に、天然に存在するアミノ酸残基であり、好ましくは、アルギニン（R）、フェニルアラニン（F）、チロシン（Y）およびトリプトファン（W）から選択される。最も好ましいのは、トリプトファンおよびチロシンである。一実施形態では、ノブの形成のための元の残基、例えば、アラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グリシン、セリン、トレオニンまたはバリンは、小さい側鎖体積を有する。ノブを形成するためのC H 3ドメインにおける例示的なアミノ酸置換としては、限定ではないが、T 3 6 6 W、T 3 6 6 YまたはF 4 0 5 W置換が挙げられる。

【0181】

ホールの形成に好ましい残基は、一般に、天然に存在するアミノ酸残基であり、好ましくは、アラニン（A）、セリン（S）、トレオニン（T）およびバリン（V）から選択される。一実施形態では、ホールの形成のための元の残基、例えば、チロシン、アルギニン、フェニルアラニンまたはトリプトファンは、大きい側鎖体積を有する。ホールを生成するためのC H 3ドメインにおける例示的なアミノ酸置換としては、限定ではないが、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、F 4 0 5 A、Y 4 0 7 A、Y 4 0 7 TおよびY 4 0 7 V置換が挙げられる。ある特定の実施形態では、ノブは、T 3 6 6 W置換を含み、ホールは、T 3 6 6 S / L 3 6 8 A / Y 4 0 7 V置換を含む。ヘテロ二量体化を促進する当技術分野において公知のF c領域に対する他の改変も企図され、本出願により包含されることは、理解される。

【0182】

本明細書に記載のバリエーション（例えば、F cバリエーション、エフェクター機能バリエーション、グリコシル化バリエーション、システイン操作バリエーション）のいずれか、またはそれらの組合せを含む、他のs c F v - F cバリエーション（単離された抗P D - L 1 s c F v - F cのバリエーション、例えば、全長抗P D - L 1抗体バリエーションを含む）が、企図される。

a) 抗体親和性

【0183】

抗体部分の結合特異性を、当技術分野において公知の方法によって実験により決定することができる。そのような方法は、ウェスタンブロット、ELISA試験、RIA試験、ECL試験、IRMA試験、EIA試験、BIAcore（商標）試験およびペプチドスクランを含むが、これらに限定されない。

【0184】

一部の実施形態では、抗体部分と免疫チェックポイントリガンド（例えば、PD-L1またはPD-L1様リガンド）間の結合の K_D は、約 $10^{-7}M$ ～約 $10^{-12}M$ 、約 $10^{-7}M$ ～約 $10^{-8}M$ 、約 $10^{-8}M$ ～約 $10^{-9}M$ 、約 $10^{-9}M$ ～約 $10^{-10}M$ 、約 $10^{-10}M$ ～約 $10^{-11}M$ 、約 $10^{-11}M$ ～約 $10^{-12}M$ 、約 $10^{-7}M$ ～約 $10^{-12}M$ 、約 $10^{-8}M$ ～約 $10^{-12}M$ 、約 $10^{-9}M$ ～約 $10^{-12}M$ 、約 $10^{-10}M$ ～約 $10^{-12}M$ 、約 $10^{-7}M$ ～約 $10^{-11}M$ 、約 $10^{-8}M$ ～約 $10^{-11}M$ 、約 $10^{-9}M$ ～約 $10^{-11}M$ 、約 $10^{-7}M$ ～約 $10^{-10}M$ 、約 $10^{-8}M$ ～約 $10^{-10}M$ 、または約 $10^{-7}M$ ～約 $10^{-9}M$ である。一部の実施形態では、抗体部分と免疫チェックポイントリガンド（例えば、PD-L1またはPD-L1様リガンド）間の結合の K_D は、約 $10^{-7}M$ 、約 $10^{-8}M$ 、約 $10^{-9}M$ 、約 $10^{-10}M$ 、約 $10^{-11}M$ 、または約 $10^{-12}M$ のいずれか1つより強い。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、ヒト免疫チェックポイントリガンド（例えば、ヒトPD-L1またはPD-L1様リガンド）である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、カンクイザル免疫チェックポイントリガンド（例えば、カンクイザルPD-L1またはPD-L1様リガンド）である。一部の実施形態では、抗体部分は、配列番号4のアミノ酸19～238などの、免疫チェックポイントリガンドの細胞外ドメイン内のエピトープを特異的に認識する。

【0185】

一部の実施形態では、抗体部分と免疫チェックポイントリガンド（例えば、PD-L1またはPD-L1様リガンド）間の結合の K_{on} は、約 $10^3M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^8M^{-1}s^{-1}$ 、約 $10^3M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^4M^{-1}s^{-1}$ 、約 $10^4M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^5M^{-1}s^{-1}$ 、約 $10^5M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^6M^{-1}s^{-1}$ 、約 $10^6M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^7M^{-1}s^{-1}$ 、または約 $10^7M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^8M^{-1}s^{-1}$ である。一部の実施形態では、抗体部分と免疫チェックポイントリガンド（例えば、PD-L1またはPD-L1様リガンド）間の結合の K_{on} は、約 $10^3M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^5M^{-1}s^{-1}$ 、約 $10^4M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^6M^{-1}s^{-1}$ 、約 $10^5M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^7M^{-1}s^{-1}$ 、約 $10^6M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^8M^{-1}s^{-1}$ 、約 $10^4M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^7M^{-1}s^{-1}$ 、または約 $10^5M^{-1}s^{-1}$ ～約 $10^8M^{-1}s^{-1}$ である。一部の実施形態では、抗体部分と免疫チェックポイントリガンド（例えば、PD-L1またはPD-L1様リガンド）間の結合の K_{on} は、約 $10^3M^{-1}s^{-1}$ 以下、約 $10^4M^{-1}s^{-1}$ 以下、約 $10^5M^{-1}s^{-1}$ 以下、約 $10^6M^{-1}s^{-1}$ 以下、約 $10^7M^{-1}s^{-1}$ 以下、または約 $10^8M^{-1}s^{-1}$ 以下のいずれか1つである。

【0186】

一部の実施形態では、抗体部分と免疫チェックポイントリガンド（例えば、PD-L1またはPD-L1様リガンド）間の結合の K_{off} は、約 $1s^{-1}$ ～約 $10^{-6}s^{-1}$ 、約 $1s^{-1}$ ～約 $10^{-2}s^{-1}$ 、約 $10^{-2}s^{-1}$ ～約 $10^{-3}s^{-1}$ 、約 $10^{-3}s^{-1}$ ～約 $10^{-4}s^{-1}$ 、約 $10^{-4}s^{-1}$ ～約 $10^{-5}s^{-1}$ 、約 $10^{-5}s^{-1}$ ～約 $10^{-6}s^{-1}$ 、約 $1s^{-1}$ ～約 $10^{-5}s^{-1}$ 、約 $10^{-2}s^{-1}$ ～約 $10^{-6}s^{-1}$ 、約 $10^{-3}s^{-1}$ ～約 $10^{-6}s^{-1}$ 、約 $10^{-4}s^{-1}$ ～約 $10^{-6}s^{-1}$ 、約 $10^{-2}s^{-1}$ ～約 $10^{-5}s^{-1}$ 、または約 $10^{-3}s^{-1}$ ～約 $10^{-5}s^{-1}$ である。一部の実施形態では、抗体部分と免疫チェックポイントリガンド（例えば、PD-L1またはPD-L1様リガンド）間の結合の K_{off} は、少なくとも約 $1s^{-1}$ 、少なくとも約 $10^{-2}s^{-1}$ 、少なくとも約 $10^{-3}s^{-1}$ 、少なくとも約 $10^{-4}s^{-1}$ 、少なくとも約 $10^{-5}s^{-1}$ または少なくとも約 $10^{-6}s^{-1}$ のいずれか1つである。

b) キメラまたはヒト化抗体

【0187】

一部の実施形態では、抗体部分は、キメラ抗体である。ある特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号；およびMorrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)に記載されている。一部の実施形態では、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウスに由来する可変領域）およびヒト定常領域を含む。一部の実施形態では、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のものから変更された、「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、それらの抗原結合性断片を含む。

【0188】

一部の実施形態では、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。概して、非ヒト抗体は、親非ヒト抗体の特異性および親和性を保持しながらヒトに対する免疫原性が低下されるようにヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、HVR、例えばCDR（またはそれらの部分）が非ヒト抗体に由来し、FR（またはそれらの部分）がヒト抗体配列に由来する、1つまたは複数の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、ヒト定常領域の少なくとも一部分も必要に応じて含む。一部の実施形態では、ヒト化抗体中の一部のFR残基は、例えば、抗体特異性または親和性を回復するまたは向上させるために、非ヒト抗体（例えば、HVR残基が由来する抗体）からの対応する残基で置換されている。

【0189】

ヒト化抗体およびそれらを作製する方法は、例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)において概説されており、さらに、例えば、Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)；Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989)；米国特許第5,821,337号、同第7,527,791号、同第6,982,321号、および同第7,087,409号；Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005)（SDR(a-CDR)グラフト化を記載している）；Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991)（「リサーフェーシング」を記載している）；Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005)（「FRシャフリング」を記載している）；ならびにOsborn et al., Methods 36:61-68 (2005)およびKlimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000)（FRシャフリングのための「誘導選択」手法を記載している）に記載されている。

【0190】

ヒト化に使用することができるヒトフレームワーク領域としては、「ベストフィット」法を使用して選択されるフレームワーク領域（例えば、Sims et al., J. Immunol. 151:2296 (1993)を参照されたい）；軽鎖または重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992)；およびPresta et al., J. Immunol., 151:2623 (1993)を参照されたい）；ヒト成熟（体細胞変異した）フレームワーク領域またはヒト生殖系列フレームワーク領域（例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)を参照されたい）；およびFRライブラリーのスクリーニングに由来するフレームワーク領域（例えば、Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997)およびRosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)を参照されたい）が挙げられるが、これらに限定されない。

c) ヒト抗体

【0191】

一部の実施形態では、抗体部分は、ヒト抗体（ヒトドメイン抗体、またはヒトDAbとしても公知）である。ヒト抗体は、当技術分野で公知の様々な技術を使用して産生することができる。ヒト抗体は、一般に、van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001), Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20: 450-459 (2008)、およびChen, Mol. Immunol. 47 (4): 912-21 (2010)に記載されている。完全ヒト単ドメイン抗体（またはDAb）を産生することができるトランスジェニックマウスまたはラットは、当技術分野において公知である。例えば、米国特許出願公開第20090307787A1号、米国特許第8,754,287号、米国特許出願公開第20150289489A1号、米国特許出願公開第20100122358A1号、およびWO2004049794を参照されたい。

【0192】

ヒト抗体（例えば、ヒトDAb）は、抗原チャレンジに应答して無傷のヒト抗体またはヒト可変領域を有する無傷の抗体を産生するように改変されたトランスジェニック動物に免疫原を投与することにより調製することができる。そのような動物は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座が、内在性免疫グロブリン遺伝子座を置き換えるか、または染色体外に存在するか、またはその動物の染色体にランダムに組み込まれる、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部分を概して含有する。そのようなトランスジェニックマウスにおける内在性免疫グロブリン遺伝子座は、一般に不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得る方法の概説については、Lonberg, Nat. Biotech. 23: 1117-1125 (2005)を参照されたい。例えば、XENOMOUSE（商標）技術が記載されている米国特許第6,075,181号および同第6,150,584号；HUMAB（登録商標）技術が記載されている米国特許第5,770,429号；K-M MOUSE（登録商標）技術が記載されている米国特許第7,041,870号、ならびにVELOCIMOUSE（登録商標）技術が記載されている米国特許出願公開第2007/0061900号も参照されたい。そのような動物により生成される無傷の抗体からのヒト可変領域を、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることにより、さらに改変することができる。

【0193】

ヒト抗体（例えば、ヒトDAb）を、ハイブリドーマに基づく方法により作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫およびマウス-ヒトヘテロ骨髓腫細胞系が記載されている（例えば、Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); およびBoerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)を参照されたい）。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術によって生成されたヒト抗体も、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103: 3557-3562 (2006)に記載されている。さらなる方法としては、例えば、米国特許第7,189,826号（ハイブリドーマ細胞系からのモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載している）およびNi, Xia ndai Mianyxue, 26 (4): 265-268 (2006)（ヒト-ヒトハイブリドーマを記載している）に記載されているものが挙げられる。ヒトハイブリドーマ技術（トリオーマ技術）は、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20 (3): 927-937 (2005)、およびVollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27 (3): 185-91 (2005)にも記載されている。

【0194】

ヒト抗体（例えば、ヒトDAb）は、ヒト由来ファージディスプレイライブラリーから選択されたFvクローン可変ドメイン配列を単離することにより生成することもできる。次いで、そのような可変ドメイン配列を所望のヒト定常ドメインと組み合わせることができる。抗体ライブラリーからヒト抗体を選択する技術は、下記で説明される。

d) ライブラリー由来の抗体

【0195】

所望の活性（単数または複数）を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることにより、抗体部分を単離することができる。例えば、ファージディスプレイライブラリーを生成するための、および所望の結合特性を有する抗体についてそのようなライブラリーをスクリーニングするための、様々な方法が、当技術分野において公知である。そのような方法は、例えば、Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) において概説されており、さらに、例えば、McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352:624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2):299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467-12472 (2004); および Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132 (2004) に記載されている。単ドメイン抗体ライブラリーを構築する方法は、例えば、米国特許第7371849号に記載されている。

【0196】

ある特定のファージディスプレイ法では、Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12:433-455 (1994) に記載されているように、V_HおよびV_L遺伝子のレパートリーがポリメラーゼ連鎖反応（PCR）により別々にクローニングされ、ファージライブラリーの中でランダムに組み換えられ、その後、それらを抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは、概して、抗体断片をscFv断片またはFab断片のどちらかとして提示する。免疫された供給源に由来するライブラリーにより、ハイブリドーマを構築する必要なく、免疫原に対する高親和性抗体が得られる。あるいは、Griffiths et al., *EMBO J.*, 12:725-734 (1993) により記載されているように、一切の免疫なしにナイーブレパートリーを（例えばヒトから）クローニングして広範な非自己およびまた自己抗原に対する抗体の単一供給源を得ることができる。最後に、Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381-388 (1992) に記載されているように、幹細胞からの再配列されていないV遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含有するPCRプライマーを使用して、高可変性CDR3領域をコードすることおよびin vitroで再配列を果たすことにより、ナイーブラライブラリーを合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリーを記載している特許公報としては、例えば、米国特許第5,750,373号、ならびに米国特許出願公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007/0292936号、および同第2009/0002360号が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0197】

ヒト抗体ライブラリーから単離された抗体または抗体断片は、本明細書ではヒト抗体またはヒト抗体断片と見なされる。

e) 置換、挿入、欠失およびバリエーション

【0198】

一部の実施形態では、1つまたは複数のアミノ酸置換を有する抗体バリエーションが提供される。置換変異誘発のための目的の部位は、HVR（またはCDR）およびFRを含む。保存的置換は、表2に「好ましい置換」という見出しで示される。より大きな変化は、表2に「例示的置換」という見出しで提供され、アミノ酸側鎖クラスに関して下記でさらに説明される。アミノ酸置換を目的の抗体に導入し、産物を所望の活性、例えば、抗原結合の保持／向上、免疫原性の低下、またはADCCもしくはCDCの向上についてスクリーニングすることができる。

表2. アミノ酸置換

【表2-1】

元の残基	例示的置換	好ましい置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys

【表2-2】

Asn (N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン	Leu

【0199】

アミノ酸を共通の側鎖特性に従って分類することができる：（1）疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；（2）中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；（3）酸性：Asp、Glu；（4）塩基性：His、Lys、Arg；（5）鎖の配向に影響する残基：Gly、Pro；および（6）芳香族：Trp、Tyr、Phe。

【0200】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのクラスのメンバーを別のクラスと交換することを必然的に伴う。

【0201】

1つのタイプの置換バリエーションは、親抗体（例えば、ヒト化またはヒト抗体）の1つまたは複数の超可変領域残基の置換を含む。一般に、さらなる研究に選択される、結果として得られるバリエーションは、親抗体と比較してある特定の生物学的特性の改変（例えば、向上）（例えば、親和性増大、免疫原性低下）を有し、および／または親抗体のある特定の生物学的特性を実質的に有する。例示的な置換バリエーションは、親和性成熟した抗体であり、この抗体は、例えば、本明細書に記載のものなどのファージディスプレイに基づく親和性成熟技術を使用して、都合よく生成することができる。手短に述べると、1つまたは複数のHVR残基を変異させ、バリエーション抗体をファージ上に提示させ、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングする。

【0202】

例えば抗体親和性を向上させるために、HVRに変更（例えば、置換）を加えることができる。HVR「ホットスポット」、すなわち、体細胞変異プロセス中に高頻度で変異を起こすコドンによりコードされている残基（例えば、Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)を参照されたい）、および／またはSDR（a-CDR）に、そのような変更を加えて、結果として得られるバリエーションVHまたはVLを結合親和性について試験することができる。二次ライブラリーからの構築および再選択による親和性成熟は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))に記載されている。親和性成熟の一部の実施形態では、様々な方法（例えば、エラープロードPCR、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指定変異誘発）のいずれかにより、成熟のために選択されたバリエーション遺伝子に多様性が導入される。次いで、二次ライブラリーが作製される。次いで、所望の親和性を有する任意の抗体バリエーションを同定するためにライブラリーがスクリーニングされる。多様性を導入する別の方法は、いくつかのHVR残基（例えば、1度に4〜6残基）が無作為に割り当てられるHVR特異的手法を含む。抗原結合に関与するHVR残基を、例えばアラニンスクリーニング変異誘発またはモデル化を使用して、特異的に同定することができる。特に、CDR-H3およびCDR-L3は、標的とされることが多い。

【0203】

一部の実施形態では、置換、挿入または欠失を、そのような変更が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させないことを条件に、1つまたは複数のHVR内で行うことができる。例えば、結合親和性を実質的に低下させない保存的変異（例えば、本明細書で提供されるような保存的置換）をHVR内で行うことができる。そのような変更がHVR「ホットスポット」またはCDRの外部に存在することもある。上で提供されたバリエーションVH配列の一部の実施形態では、各HVRは、変更されないか、または1つ、2つもしくは3つ以下のアミノ酸置換を含有する。

【0204】

変異誘発の標的となり得る抗体の残基または領域の同定に有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085により記載されているように、「アラニンスクリーニング変異誘発」と呼ばれる。この方法では、標的残基（例えば、Arg、Asp、His、LysおよびGluなどの荷電残基）のうちの1つの残基または標的残基の群を同定し、中性または負荷電アミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）により置換して、抗体と抗原の相互作用が影響を受けるかどうかを決定する。最初の置換に対して機能感受性を示すアミノ酸位置にさらなる置換を導入することができる。あるいは、または加えて、抗体と抗原間の接触点を同定するために抗原-抗体複合体の結晶構造。そのような接触残基および隣接残基を置換の候補として標的化または除去することができる。バリエーションを、それらが所望の特性を有するかどうかを決定するためにスクリーニングすることができる。

【0205】

アミノ酸配列挿入は、1残基から100またはそれより多くの残基を含有するポリペプ

10

20

30

40

50

チドまで長さに幅があるアミノ末端および／またはカルボキシル末端融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入バリエーションは、抗体のNまたはC末端側への抗体の血清半減期を増加させる酵素（例えば、ADEPT用）またはポリペプチドとの融合を含む。

f) グリコシル化バリエーション

【0206】

一部の実施形態では、抗体部分は、構築物がグリコシル化される程度を増加または減少させるように変更される。グリコシル化部位の抗体への付加またはグリコシル化部位の欠失は、1つまたは複数のグリコシル化部位が作製または除去されるようにアミノ酸配列を変更することにより、都合よく果たすことができる。

【0207】

抗体部分がFc領域（例えば、scFv-Fc）を含む場合、それに結合している炭水化物を変更することができる。哺乳動物細胞により産生されるネイティブ抗体は、N連結によりFc領域のCH2ドメインのAsn297に一般に結合されている分岐した、二分岐オリゴ糖を概して含む。例えば、Wright et al., TIBTECH 15: 26-32 (1997)を参照されたい。このオリゴ糖は、様々な糖、例えば、マンノース、N-アセチルグルコサミン（GlcNAc）、ガラクトース、およびシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「幹」の中のGlcNAcに結合しているフコースを含み得る。一部の実施形態では、抗体部分におけるオリゴ糖の改変を行って、ある特定の向上した特性を有する抗体バリエーションを作製することができる。

【0208】

一部の実施形態では、抗体部分は、Fc領域に（直接または間接的に）結合しているフコースを欠いている糖鎖構造を有する。例えば、そのような抗体中のフコースの量は、1%～80%、1%～65%、5%～65%、または20%～40%であり得る。フコースの量は、例えばWO2008/077546に記載されているように、MALDI-TOF質量分析により測定してAsn297に結合している全ての糖構造（例えば、複合体、ハイブリッドおよび高マンノース構造）の合計に対する糖鎖内のAsn297におけるフコースの平均量を算出することにより決定される。Asn297は、Fc領域内の約297位（Fc領域残基のEU番号付け）に位置するアスパラギン残基を指すが、Asn297は、抗体内の小さい配列変異に起因して297位の約±3アミノ酸上流または下流に、すなわち、294～300位の間に位置することもある。そのようなフコシル化バリエーションは、ADCC機能の向上を有し得る。例えば、米国特許出願公開第2003/0157108号（Presta, L.）；米国特許出願公開第2004/0093621号（協和発酵工業株式会社）を参照されたい。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体バリエーションに関する公表文献の例としては、米国特許出願公開第2003/0157108号；WO2000/61739；WO2001/29246；米国特許出願公開第2003/0115614号；米国特許出願公開第2002/0164328号；米国特許出願公開第2004/0093621号；米国特許出願公開第2004/0132140号；米国特許出願公開第2004/0110704号；米国特許出願公開第2004/0110282号；米国特許出願公開第2004/0109865号；WO2003/085119；WO2003/084570；WO2005/035586；WO2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki et al., J. Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生することができる細胞系の例としては、タンパク質フコシル化が欠損しているLec13 CHO細胞（Ripka et al., Arch. Biochem. Biophys. 249: 533-545 (1986)；米国特許出願公開第2003/0157108A1号、Presta, L.；およびWO2004/056312A1、Adamsら、特に実施例11）、およびノ

10

20

30

40

50

ックアウト細胞系、例えば、アルファ-1, 6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞（例えば、Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4): 680-688 (2006); およびWO2003/085107を参照されたい）が挙げられる。
【0209】

一部の実施形態では、抗体部分は、例えば、抗体のFc領域に結合している二分岐オリゴ糖がGlcNAcにより二分されている、バイセクト型オリゴ糖を有する。そのような抗体バリエーションは、フコシル化の低減および／またはADCC機能の向上を有し得る。そのような抗体バリエーションの例は、例えば、WO2003/011878 (Jean-Mairetら)、米国特許第6,602,684号 (Umanaら)、および米国特許出願公開第2005/0123546号 (Umanaら) に記載されている。Fc領域に結合しているオリゴ糖内に少なくとも1つのガラクトース残基を有する抗体バリエーションも提供される。そのような抗体バリエーションは、CDC機能の向上を有し得る。そのような抗体バリエーションは、例えば、WO1997/30087 (Patelら); WO1998/58964 (Raju, S.); およびWO1999/22764 (Raju, S.) に記載されている。

g) Fc領域バリエーション

【0210】

一部の実施形態では、1つまたは複数のアミノ酸改変を抗体部分（例えば、scFv-Fc）のFc領域に導入することによってFc領域バリエーションを生成することができる。Fc領域バリエーションは、1つまたは複数のアミノ酸位置にアミノ酸改変（例えば、置換）を含むヒトFc領域配列（例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4 Fc領域）を含み得る。

【0211】

一部の実施形態では、Fc断片は、全てではなく一部のエフェクター機能を有し、このことにより、Fc断片は、抗体部分のin vivoでの半減期が重要であるが、ある特定のエフェクター機能（例えば、補体およびADCC）が不必要または有害である用途の望ましい候補となる。in vitroおよび／またはin vivo細胞傷害性アッセイを行って、CDCおよび／またはADCC活性の低下／喪失を確認することができる。例えば、Fc受容体 (FcR) 結合アッセイを行って、抗体が、FcγR結合を欠いている（したがって、ADCC活性を欠いている可能性がある）がFcRn結合能力を保持することを保証することができる。ADCCを媒介する主要な細胞であるNK細胞は、FcγRIIIしか発現しないが、単球は、FcγRI、FcγRIIおよびFcγRIIIを発現する。造血細胞上でのFcR発現は、Ravetch and Kinet, Ann. Rev. Immunol. 9: 457-492 (1991) の464頁の表2にまとめられている。目的の分子のADCC活性を評価するためのin vitroアッセイの非限定的な例は、米国特許第5,500,362号（例えば、Hellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83: 7059-7063 (1986) およびHellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82: 1499-1502 (1985) を参照されたい）；同第5,821,337号 (Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166: 1351-1361 (1987) を参照されたい）に記載されている。あるいは、非放射性アッセイ法を利用することができる（例えば、フローサイトメトリーのためのACTI（商標）非放射性細胞傷害性アッセイ (Cell Technology, Inc., Mountain View, CA)；およびCytoTox 96（登録商標）非放射性細胞傷害性アッセイ (Promega, Madison, WI) を参照されたい）。そのようなアッセイに有用なエフェクター細胞は、末梢血単核細胞 (PBMC) およびナチュラルキラー (NK) 細胞を含む。あるいは、または加えて、目的の分子のADCC活性をin vivoで、例えば、Clynes

10

20

30

40

50

et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998)において開示されているものなどの動物モデルにおいて、評価することができる。C1q結合アッセイを行って、抗体が、C1qに結合することができないこと、したがって、CDC活性を欠いていることを確認することもできる。例えば、WO2006/029879およびWO2005/100402におけるC1qおよびC3c結合ELISAを参照されたい。補体活性化を評価するために、CDCアッセイを行うことができる（例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M. S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); およびCragg, M. S. and M. J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)を参照されたい）。当技術分野において公知の方法（例えば、Petkova, S. B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)を参照されたい）を使用して、FcRn結合およびin vivoクリアランス／半減期決定を行うこともできる。

【0212】

エフェクター機能の低下を有する抗体は、Fc領域残基238、265、269、270、297、327および329のうちの1つまたは複数の置換を有するものを含む（米国特許第6,737,056号）。そのようなFc変異体は、残基265および297のアラニンへの置換を有するいわゆる「DANA」Fc変異体（米国特許第7,332,581号）を含む、アミノ酸265、269、270、297および327位のうちの2つまたはそれより多くの位置に置換を有するFc変異体を含む。

【0213】

FcRへの結合の向上または低下を有する、ある特定の抗体バリエーションが、記載されている（例えば、米国特許第6,737,056号; WO2004/056312、およびShields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)を参照されたい）。

【0214】

一部の実施形態では、抗体部分は、ADCCを向上させる1つまたは複数のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の298、333および／または334位（残基のEU番号付け）における置換を有するFc領域を含む。

【0215】

一部の実施形態では、例えば、米国特許第6,194,551号、WO99/51642、およびIdusogie et al., J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)に記載されているような、C1q結合および／または補体依存性細胞傷害(CDC)の変更（すなわち、向上または低下のどちらか）をもたらす変更がFc領域に加えられる。

【0216】

一部の実施形態では、半減期を変更するおよび／または新生児型Fc受容体(FcRn)への結合を変化させる1つまたは複数のアミノ酸置換を含むバリエーションFc領域を含む抗体部分（例えば、scFv-Fc）バリエーション。半減期の増加、および胎児への母性IgGの移入に關与する新生児型Fc受容体(FcRn)への結合の向上（Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976)、およびKim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)）を有する抗体が、米国特許出願公開第2005/0014934A1号（Hintonら）に記載されている。それらの抗体は、FcRnへのFc領域の結合を変更する1つまたは複数の置換を内部に有するFc領域を含む。そのようなFcバリエーションは、Fc領域残基の1つまたは複数に対する置換、例えば、Fc領域残基434の置換（米国特許第7,371,826号）を有するものを含む。

【0217】

Fc領域バリエーションの他の例に関しては、Duncan & Winter, Natu

10

20

30

40

50

re 322:738-40 (1988); 米国特許第5,648,260号; 米国特許第5,624,821号; およびWO94/29351も参照されたい。

h) システイン操作抗体バリエーション

【0218】

一部の実施形態では、システイン操作抗体部分、例えば、抗体の1つまたは複数の残基がシステイン残基で置換されている「チオMAb」を作製することが望ましいことがある。特定の実施形態では、置換される残基は、抗体の利用しやすい部位に存在する。それらの残基をシステインで置換することにより、その結果として反応性チオール基が抗体の利用しやすい部位に位置し、それを使用して抗体を他の部分、例えば、薬物部分またはリンカー-薬物部分にコンジュゲートさせて、本明細書でさらに説明されるようなイムノコンジュゲートを作製することができる。一部の実施形態では、次の残基のいずれか1つまたは複数をシステインで置換することができる：重鎖のA118（EU番号付け）；および重鎖Fc領域のS400（EU番号付け）。システイン操作抗体分子は、例えば、米国特許第7,521,541号に記載されているように生成することができる。

i) 抗体誘導体

【0219】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗体部分を、当技術分野において公知であり、容易に入手可能である、さらなる非タンパク質性部分を含むように、さらに改変することができる。抗体の誘導体化に好適な部分は、水溶性ポリマーを含むが、これに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキサラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのどちらか）、およびデキストランまたはポリ（n-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド（polypropylene oxide）／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、ならびにこれらの混合物が挙げられるが、それらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定のため、製造の際に有利であり得る。ポリマーは、いずれの分子量のものであってもよく、分岐していてもまたは分岐してなくてもよい。抗体に結合しているポリマーの数は、様々であり得、1つより多くのポリマーが結合している場合、それらは、同じ分子であってもまたは異なる分子であってもよい。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数および／またはタイプは、抗体の向上させるべき特定の特性または機能、抗体誘導体が定義された条件下で診断に使用されることになるかどうかなどを含むがこれらに限定されない、考慮事項に基づいて、決定することができる。

【0220】

一部の実施形態では、抗体部分を、1つまたは複数の生物学的活性タンパク質、ポリペプチドまたはそれらの断片を含むように、さらに改変することができる。本明細書で同義的に使用される場合の「生体活性」または「生物学的に活性な」は、特定の機能を行うための生物学的活性を体内で示すことを意味する。例えば、それは、タンパク質、DNAなどのような特定の生体分子との化合、およびひいてはそのような生体分子の活性の促進または阻害を意味することもある。一部の実施形態では、生体活性タンパク質またはその断片は、疾患または状態の予防または処置のために活性原薬として患者に投与されるタンパク質およびポリペプチド、ならびに診断試験またはin vitroアッセイで使用される酵素などの、診断目的で使用されるタンパク質およびポリペプチド、ならびにワクチンなどの、疾患を予防するために患者に投与されるタンパク質およびポリペプチドを含む。

IV. 抗PD-L1抗体剤

【0221】

本出願の一態様は、セクションIIIに記載の抗PD-L1抗体部分を含むかまたはそ

10

20

30

40

50

のバリエーションのいずれかを含む、抗PD-L1抗体剤を提供する。

【0222】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗PD-L1抗体部分のいずれか1つを含む抗PD-L1抗体剤が提供される。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体は、全長抗体（例えば、コンジュゲーション部分に結合していない全長抗体）である。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体剤は、抗体断片（例えば、コンジュゲーション部分に結合していない抗体断片）である。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、ヒト化されている。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、scFvを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、scFvである。一部の実施形態では、scFvは、第1の操作されたシステイン残基をV_Hの44位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの100位に含み、または第1の操作されたシステイン残基をV_Hの105位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの43位に含み、第1の操作されたシステイン残基および第2の操作されたシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、アミノ酸位置は、Kabat番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、Fc断片（例えば、IgG1 Fc断片）に融合したscFvである。一部の実施形態では、Fc断片は、H310AおよびH435Q変異を有し、アミノ酸位置は、Kabat番号付けシステムに基づく。

【0223】

一部の実施形態では、抗体部分を含む抗体剤であって、抗体部分が、抗体またはその抗原結合性断片であり、抗体またはその抗原結合性断片が、重鎖可変領域（V_H）および軽鎖可変領域（V_L）を含み、V_Hが、配列番号41のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1（HC-CDR1）、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含み；およびV_Lが、配列番号44のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域1（LC-CDR1）、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、抗体剤が提供される。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Hと；配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Lとを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、ヒト化されている。

【0224】

一部の実施形態では、配列番号41のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1（HC-CDR1）、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、V_Hと、配列番号44のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域1（LC-CDR1）、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、V_Lとを含む抗PD-L1 scFvを含む、抗PD-L1抗体剤が提供される。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なく

とも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Hと；配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Lとを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、ヒト化されている。一部の実施形態では、抗PD-L1 s c F vは、第1の操作されたシステイン残基をV_Hの44位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの100位に含み、または第1の操作されたシステイン残基をV_Hの105位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの43位に含み、第1の操作されたシステイン残基および第2の操作されたシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、アミノ酸位置は、Kabat番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、抗PD-L1 s c F vは、配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含む。

【0225】

一部の実施形態では、抗体部分を含む抗PD-L1抗体剤であって、前記抗体部分が、（a）配列番号1、5、9、11および13のいずれかで示される配列を有するかまたは配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを有するV_H鎖領域内のCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含む、V_H CDR1、V_H CDR2およびV_H CDR3と；配列番号3、7、15、17および19のいずれかで示される配列を有するかまたは配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを有するV_L鎖領域内のCDR1、CDR2およびCDR3のアミノ酸配列をそれぞれ含む、V_L CDR1、V_L CDR2およびV_L CDR3とを含む、抗体またはその抗原結合性断片である、抗PD-L1抗体剤が提供される。

【0226】

一部の実施形態では、抗体部分を含む抗PD-L1抗体剤（例えば、単離された抗PD-L1抗体剤）であって、前記抗体部分が、抗体またはその抗原結合性断片であり、前記抗体またはその抗原結合性断片が、抗PD-L1抗体またはその抗原結合性断片と競合してPD-L1に特異的に結合し、前記抗PD-L1抗体またはその抗原結合性断片が、V_HおよびV_Lを含み、V_Hが、配列番号41のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1（HC-CDR1）、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含み；およびV_Lが、配列番号44のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域1（LC-CDR1）、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、抗PD-L1抗体剤

が提供される。

【0227】

一部の実施形態では、Fc断片に融合した抗PD-L1 scFvを含む抗PD-L1抗体剤（例えば、単離された抗PD-L1抗体剤）であって、抗PD-L1 scFvが、配列番号41のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1（HC-CDR1）、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、V_Hと、配列番号44のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域1（LC-CDR1）、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、V_Lとを含む、抗PD-L1抗体剤が提供される。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Hと；配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Lとを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、ヒト化されている。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、第1の操作されたシステイン残基をV_Hの44位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの100位に含み、または第1の操作されたシステイン残基をV_Hの105位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの43位に含み、第1の操作されたシステイン残基および第2の操作されたシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、アミノ酸位置は、Kabab番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、Fc断片は、IgG1 Fc断片である。一部の実施形態では、Fc断片は、H310AおよびH435Q変異を有し、アミノ酸位置は、Kabab番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含む。一部の実施形態では、抗体部分は、配列番号21または23のアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0228】

一部の実施形態では、抗体部分を含む抗体剤であって、前記抗体部分が、抗体またはその抗原結合性断片であり、前記抗体またはその抗原結合性断片が、V_HとV_Lとを含む抗PD-L1抗体と競合してPD-L1に特異的に結合し、a) V_Hが、配列番号41のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1（HC-CDR1）、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含み；およびb) V_Lが、配列番号44のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域1（LC-CDR1）、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含む、抗体剤が提供される。

【0229】

一部の実施形態では、抗体剤の半減期は、血清中で約10分～約8日の間である。一部の実施形態では、抗体部分と免疫チェックポイントリガンドとの結合は、PD-L1との約 $9 \times 10^{-10} \text{ M}$ ～約 $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ の間の K_D を有する。一部の実施形態では、抗体部分の分子量は、約400kDa以下（例えば、約350kDa、300kDa、250kDa、200kDa、150kDa以下）である。一部の実施形態では、抗体部分は、非ヒト哺乳動物からのPD-L1と交差反応する。一部の実施形態では、抗体部分は、キメラ、ヒト化されている、または完全にヒトのものである。一部の実施形態では、抗体部分は、酸性pHで安定している。一部の実施形態では、抗体部分は、約55～70℃の融解温度（ T_m ）を有する。一部の実施形態では、抗体部分は、一本鎖Fv（scFv）、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片（dsFv）、（dsFv）₂、VHH、Fv-Fc融合体、scFv-Fc融合体、scFv-Fv融合体、ダイアボディ、トリボディおよびテトラボディからなる群から選択される。本明細書に記載のダイアボディ、トリボディまたはテトラボディは、本明細書に記載の抗体部分のいずれかを含むように企図される（contemplated）。一部の実施形態では、抗体部分は、IgG、IgM、IgA、IgDおよびIgEからなる群から選択されるアイソタイプを有する。一部の実施形態では、抗体部分は、Fc断片に融合したscFvを含む。一部の実施形態では、Fc断片は、IgG1 Fc断片、IgG2 Fc断片、IgG3 Fc断片、IgG4 Fc断片、IgA Fc断片、IgM Fc断片、IgE Fc断片、およびIgD Fc断片からなる群から選択される。一部の実施形態では、Fc断片は、IgG1 Fc断片である。一部の実施形態では、Fc断片は、ヒトIgG1 Fc断片である。一部の実施形態では、Fc断片は、H310AおよびH435Q変異を含み、アミノ酸位置は、Kabatt番号付けシステムに基づく。

【0230】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗PD-L1抗体剤は、本明細書に記載の任意のコンジュゲーション部分をさらに含む。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、クリックケミストリー対のメンバーを含む。一部の実施形態では、ケミストリー対は、TCO-Tz対、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロン対、アルケン-テトラゾール対、およびイソニトリル-テトラジン対からなる群から選択される。

【0231】

一部の実施形態では、a) Fc断片に融合した抗PD-L1 scFvを含む抗体部分であって、抗PD-L1 scFvが、配列番号41のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1（HC-CDR1）、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、V_Hと、配列番号44のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域1（LC-CDR1）、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、V_Lとを含む、抗体部分；および2) in vivoで第2のコンジュゲーション部分にコンジュゲートされ得るコンジュゲーション部分を含む、抗PD-L1抗体剤（例えば、単離された抗PD-L1抗体剤）が提供される。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、クリックケミストリー対のメンバーを含む。一部の実施形態では、クリックケミストリー対は、trans-シクロオクテン（TCO）-テトラジン（Tz）対、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロン対、アルケン-テトラゾール対、およびイソニトリル-テトラジン対からなる群から選択される。

【0232】

一部の実施形態では、a) 配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、

少なくとも約 98%、もしくは少なくとも約 99%のいずれか 1つ) の配列同一性を有するそのバリエーションを含む V_Hと、配列番号 3、7、15、17 および 19 のいずれか 1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号 3、7、15、17 および 19 のいずれか 1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、もしくは少なくとも約 99%のいずれか 1つ) の配列同一性を有するそのバリエーションを含む V_Lとを含む抗体部分; および 2) *in vivo* で第 2 のコンジュゲーション部分にコンジュゲートされ得るコンジュゲーション部分を含む、抗 PD-L1 抗体剤 (例えば、単離された抗 PD-L1 抗体剤) が提供される。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、クリックケミストリー対のメンバーを含む。一部の実施形態では、クリックケミストリー対は、trans-シクロオクテン (TCO)-テトラジン (Tz) 対、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロソ対、アルケン-テトラゾール対、およびイソニトリル-テトラジン対からなる群から選択される。一部の実施形態では、抗 PD-L1 抗体部分は、ヒト化されている。一部の実施形態では、抗 PD-L1 scFv は、第 1 の操作されたシステイン残基を V_H の 44 位に、および第 2 の操作されたシステイン残基を V_L の 100 位に含み、または第 1 の操作されたシステイン残基を V_H の 105 位に、および第 2 の操作されたシステイン残基を V_L の 43 位に含み、第 1 の操作されたシステイン残基および第 2 の操作されたシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、アミノ酸位置は、Kabat 番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、Fc 断片は、IgG1 Fc 断片である。一部の実施形態では、Fc 断片は、H310A および H435Q 変異を有し、アミノ酸位置は、Kabat 番号付けシステムに基づく。一部の実施形態では、抗 PD-L1 scFv は、配列番号 25、27、29、31、33、35、37 および 39 のいずれか 1つのアミノ酸配列を含むか、または配列番号 25、27、29、31、33、35、37 および 39 のいずれか 1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、もしくは少なくとも約 99%のいずれか 1つ) の配列同一性を有するそのバリエーションを含む。一部の実施形態では、抗体部分は、配列番号 21 または 23 のアミノ酸配列に対して少なくとも約 80% (例えば、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、もしくは少なくとも約 99%のいずれか 1つ) の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、

抗 PD-L1 抗体部分

【0233】

本明細書に記載の抗 PD-L1 抗体剤は、PD-L1 に特異的に結合する抗体部分を含む。企図される抗 PD-L1 抗体部分は、例えば、抗 PD-L1 scFv、抗 PD-L1 Fab、抗 PD-L1 Fc 融合タンパク質 (例えば、Fc に融合した抗 PD-L1 scFv) を含む。本明細書に記載の抗 PD-L1 抗体部分は、ヒト化抗体、部分的ヒト化抗体、完全ヒト化抗体、半合成抗体、キメラ抗体、マウス抗体、ヒト抗体、ならびに本明細書で論じられる重鎖および／または軽鎖 CDR を含む抗体を含むが、これらに限定されない。

【0234】

一部の実施形態では、抗 PD-L1 抗体部分は、PD-L1 を特異的に認識する。一部の実施形態では、抗 PD-L1 抗体部分は、ヒト PD-L1 を特異的に認識する。一部の実施形態では、抗 PD-L1 抗体部分は、PD-L1 の細胞外ドメインを特異的に認識する。一部の実施形態では、抗 PD-L1 抗体部分は、配列番号 49 のアミノ酸 19~238 のアミノ酸配列内のエピトープを特異的に認識する。

配列番号 49 ヒト PD-L1 配列

10

20

30

40

50

【化 1】

MRIFAVFIFMTYWHLNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNIIQFV
HGEECLKVQHSSYRQRARLLKQSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYN

【化 2】

KINQRILVVDPTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNE
IFYCTFRRLDPEENHTAELVIPPLAHPPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQ
DTNSKKQSDTHLEET

【0235】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、または最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む重鎖可変ドメイン（V_H）；およびii）配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、または最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む軽鎖可変ドメイン（V_L）を含む。

【0236】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、i）配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3を含むV_H；およびii）配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3を含むV_Lを含む。

【0237】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、i）配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、または最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションと、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、または最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションと、配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、または最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションとを含むV_H；およびii）配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、または最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションと、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、または最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションと、配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、または最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションとを含むV_Lを含む。

【0238】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、i）配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR配列に最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含むV_Hと、ii）配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR配列に最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含むV_Lとを含む。

【0239】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、i）配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1と、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2と、配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3とを含むV_H；およびii）配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1と、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2と

10

20

30

40

50

、配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3とを含むV_Lを含む。

【0240】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、i) 配列番号41、配列番号42および配列番号43のアミノ酸配列を含むV_Hと、ii) 配列番号44、配列番号45および配列番号46のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。

【0241】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、i) 配列番号1のアミノ酸配列を含むV_Hの1つ、2つまたは3つのCDRを含むV_H、およびii) 配列番号3のアミノ酸配列を含むV_Lの1つ、2つまたは3つのCDRを含むV_Lを含む。

【0242】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、a) 配列番号1のアミノ酸配列を含むかまたは配列番号1に対して少なくとも約80%（少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_H；およびb) 配列番号2のアミノ酸配列を含むかまたは配列番号2に対して少なくとも約80%（少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Lを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、a) 配列番号1のアミノ酸配列を含むV_H、およびb) 配列番号2のアミノ酸配列を含むV_Lを含む。

【0243】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体は、キメラ抗体である。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、マウスCDRおよびヒトFR配列を含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、a) 配列番号5のアミノ酸配列を含むかまたは配列番号5に対して少なくとも約80%（少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_H；およびb) 配列番号7のアミノ酸配列を含むかまたは配列番号7に対して少なくとも約80%（少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Lを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、a) 配列番号5のアミノ酸配列を含むV_H；およびb) 配列番号7のアミノ酸配列を含むV_Lを含む。

【0244】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体は、ヒト化抗体である。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、a) 配列番号9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号9、11および13のいずれか1つに対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Hと、b) 配列番号15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号15、17および19のいずれか1つに対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Lとを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、a) 配列番号9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列を含むV_Hと、b) 配列番号15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列を含むV_Lとを含む。

【0245】

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

50

50

50

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、a) 配列番号13のアミノ酸配列を含むかまたは配列番号13に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）

の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_H；およびb) 配列番号19のアミノ酸配列を含むかまたは配列番号19に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Lを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、a) 配列番号13のアミノ酸配列を含むV_H；およびb) 配列番号19のアミノ酸配列を含むV_Lを含む。

【0254】

重鎖および軽鎖可変ドメインを様々な対での組み合わせで組み合わせ、いくつかの抗nGPC3抗体部分を生成することができる。例示的な抗nGPC3抗体は、表3で提供される。例示的なCDR、V_HおよびV_L配列は、INTERNATIONAL IMMUNOGENETICS INFORMATION SYSTEM（登録商標）（IMGT）に従って範囲が定められている。例えば、Lefranc, M P et al., Nucleic Acids Res., 43:D413-422（2015）を参照されたく、この開示はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。抗体重鎖および軽鎖可変領域内のCDR位置の予測のための多くのアルゴリズムが公知であること、および本明細書に記載の抗体からのCDRだがIMGT以外の予測アルゴリズムに基づくCDRを含む抗体剤が、本発明の範囲内であることは、当業者であれば認識する。

表3．例示的な抗PD-L1抗体配列。

【表3-1】

配列番号		説明	アミノ酸配列(CDR配列は下線付きかつ太字である)
AA	DNA		
1	2	VH	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTAS <u>GFNIKDTY</u> MYWVKQRPEQGLEGICGR <u>ID</u> <u>PANDNT</u> KYDPKFQ GKATITADTSSNTAYVQLASLTSEDTAVYYC <u>ARAKNLLN</u> <u>YFDY</u> WGQGTTLTVSS
3	4	VL	DIQMTQSPSSLSASLGERVTLSCRAS <u>QEISGY</u> LSWLQQKPDGTIKRLIY <u>ATS</u> TLDSGVPKRFSGSRSGSDYSLTISSLESEDFADYYC <u>LQYAIYPLT</u> FGAGTKL

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

			ELKR
41		HC-CDR1	GFNIKDTY
42		HC-CDR2	IDPANDNT
43		HC-CDR3	ARAKNLLNYFDY
44		LC-CDR1	QEISGY
45		LC-CDR2	ATS
46		LC-CDR3	LQYAIYPLT
5	6	キメラ VH 1	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTAS <u>GFNIKDTY</u> MYWVKQRPEQGLEGICIGRID <u>PANDNT</u> KYDPKFQGKATITADTSSNTAYVQLASLTSEDYAVYYC <u>ARAKNLLN</u> <u>YFDY</u> WGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSCVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELITKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTIVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
7	8	キメラ VL1	DIQMTQSPSSLSASLGERVTLSCRAS <u>QEISGY</u> LSWLQOKPDGTIKRLIY <u>ATS</u> TLD SGVPKRFSGSRSGSDYSLTISSLESEDFADYYC <u>LQYAIYPLT</u> FGAGTKL ELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
9	10	ヒト化 VH 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS <u>GFNIKDTY</u> MYWVRQAPGQGLEWMGRID <u>PANDNT</u> KYAQKFQGRVTITADTSTAYMELSSLRSEDYAVYYC <u>ARAKNLLN</u> <u>YFDY</u> WGQGTTLTVSS
11	12	ヒト化 VH 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS <u>GFNIKDTY</u> MYWVRQAPGQGLEWIGRID <u>PANDNT</u> KYAQKFQGRVTITADTSTAYMELSSLRSEDYAVYYC <u>ARAKNLLN</u> <u>YFDY</u> WGQGTTLTVSS
13	14	ヒト化 VH3	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS <u>GFNIKDTY</u> MYWVRQAPGQGLEWMGRID <u>PANDNT</u> KYAQKFQGRVTITADTSTAYMELSSLRSEDYAVYYC <u>ARAKNLLN</u> <u>YFDY</u> WGQGTTLTVSS
15	16	ヒト化 VL 1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRAS <u>QEISGY</u> LSWYQQKPKGAPKRLIY <u>ATS</u> TLD SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC <u>LQYAIYPLT</u> FGQGTKL EIKR
17	18	ヒト化 VL 2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRAS <u>QEISGY</u> LSWLQOKPKGAPKRLIY <u>ATS</u> TLQSGVPSRFSGSRSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC <u>LQYAIYPLT</u> FGQGTKL EIKR
19	20	ヒト化 VL 3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRAS <u>QEISGY</u> LSWYQQKPKGAPKRLIY <u>ATS</u> TLD SGVPSRFSGSRSGSDYTLTISSLQPEDFATYYC <u>LQYAIYPLT</u> FGQGTKL EIKR

10

20

30

【0255】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、本明細書に記載の抗PD-L1抗体部分のいずれか1つに従う第2の抗PD-L1抗体部分と、標的PD-L1への結合について競合する。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、第2の抗PD-L1抗体部分と同じエピトープまたは実質的に同じエピトープに結合する。一部の実施形態では、標的PD-L1への抗PD-L1抗体部分の結合は、PD-L1への第2の抗PD-L1抗体部分の結合を少なくとも約70%（例えば、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）阻害し、または逆に、標的PD-L1への第2の抗PD-L1抗体部分の結合は、PD-L1への抗PD-L1抗体部分の結合を少なくとも約70%（例えば、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）阻害する。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分および第2の抗PD-L1抗体部分は、標的PD-L1への結合について交差競合する、すなわち、これらの抗PD-L1抗体部分の各々が、標的PD-L1への結合について他方と競合する。

40

50

抗PD-L1 scFv

【0256】

一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、scFvを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体部分は、scFvである。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、（N末端からC末端に向かって）： V_L-L-V_H 、または V_H-L-V_L （ここで、Lはペプチドリinkerである）の配置を有する。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、キメラ、ヒト、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、または半合成のものである。

【0257】

一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、増強された熱安定性を有するように操作される。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、約55～70℃、例えば、約55～60℃、約60～65℃、または約65～70℃のいずれか1つの融解温度を有するように操作される。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、1つまたは複数の（例えば、1つ、2つ、3つまたはそれより多くの）操作されたジスルフィド結合を含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、第1の操作されたシステイン残基を V_H の44位に、および第2の操作されたシステイン残基を V_L の100位に含み、および／または第1の操作されたシステイン残基を V_H の105位に、および第2の操作されたシステイン残基を V_L の43位に含み、第1の操作されたシステイン残基および第2の操作されたシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、アミノ酸位置は、Kabat番号付けシステムに基づく。scFvの構造および配列に基づいて好適な位置にある V_H のシステインおよび V_L のシステインを操作することにより、他の操作されたジスルフィド結合を抗PD-L1 scFvに導入することができる。

【0258】

一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、i) 配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDR配列に最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む V_H と、ii) 配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDR配列に最大約5つ（例えば、約1つ、約2つ、約3つ、約4つもしくは約5つのいずれか）のアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む V_L とを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、ヒト化されている。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、N末端からC末端に向かって、 V_L 、必要に応じたペプチドリinker、および V_H を含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、N末端からC末端に向かって、 V_L 、必要に応じたペプチドリinker、および V_H を含む。一部の実施形態では、scFvは、配列番号47または48のアミノ酸配列を含むペプチドリinkerを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、1つまたは複数の（例えば、1つ、2つ、3つまたはそれより多くの）操作されたジスルフィド結合を含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、第1の操作されたシステイン残基を V_H の44位に、および第2の操作されたシステイン残基を V_L の100位に含み、および／または第1の操作されたシステイン残基を V_H の105位に、および第2の操作されたシステイン残基を V_L の43位に含み、第1の操作されたシステイン残基および第2の操作されたシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、アミノ酸位置は、Kabat番号付けシステムに基づく。

【0259】

一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ

）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Hと；配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列を含むかまたは配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含むV_Lとを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、ヒト化されている。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、N末端からC末端に向かって、V_H、必要に応じたペプチドリンカー、およびV_Lを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、N末端からC末端に向かって、V_L、必要に応じたペプチドリンカー、およびV_Hを含む。一部の実施形態では、scFvは、配列番号47または48のアミノ酸配列を含むペプチドリンカーを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、1つまたは複数の（例えば、1つ、2つ、3つまたはそれより多くの）操作されたジスルフィド結合を含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、第1の操作されたシステイン残基をV_Hの44位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの100位に含み、および／または第1の操作されたシステイン残基をV_Hの105位に、および第2の操作されたシステイン残基をV_Lの43位に含み、第1の操作されたシステイン残基および第2の操作されたシステイン残基は、ジスルフィド結合を形成し、アミノ酸位置は、Kabat番号付けシステムに基づく。

【0260】

一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列を含むか、または配列番号25、27、29、31、33、35、37および39のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、Hisタグを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、抗PD-L1 scFv部分のC末端に融合したHisタグを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFvは、GGGGSHHHHHH（配列番号51）を含む。例示的な抗PD-L1 scFv配列は、表4に示される。

表4．例示的な抗PD-L1 scFv配列。

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

配列番号		説明	アミノ酸配列(CDR配列は下線付きかつ太字である)
AA	DNA		
25	26	抗ヒト PD-L1 scFv バリエーション 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS G F N I K D T Y MYWVRQAPGQGLEWMGR I D P A N D N T K Y A Q K F Q G R V T I T A D T S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R A K N L L N Y F D Y W G Q G T L V T V S S G G G S G G G S G G G S D I Q M T Q S P S S L S A S V G D RVTITCRAS Q E I S G Y L S W L Q K P G K A P K R L I Y A T S T L Q S G V P S R F S G S R S G T DYTLTISSLPEDFATYYC L Q Y A I Y P L T F G Q G T K L E I K R
27	28	抗ヒト PD-L1 scFv バリエーション 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS G F N I K D T Y MYWVRQAPGQGLEWMGR I D P A N D N T K Y A Q K F Q G R V T I T A D T S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R A K N L L N Y F D Y W G Q G T L V T V S S G S T S G S G K P G S G E G S T K G D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V TITCRAS Q E I S G Y L S W L Q K P G K A P K R L I Y A T S T L Q S G V P S R F S G S R S G T D Y TLTISSLPEDFATYYC L Q Y A I Y P L T F G Q G T K L E I K R
29	30	抗ヒト PD-L1 scFv バリエーション 3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS G F N I K D T Y MYWVRQAPGQCLEWMGR I D P A N D N T K Y A Q K F Q G R V T I T A D T S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R A K N L L N Y F D Y W G Q G T L V T V S S G G G S G G G S G G G S G G G S D I Q M T Q S P S S L S A S V G D RVTITCRAS Q E I S G Y L S W L Q K P G K A P K R L I Y A T S T L Q S G V P S R F S G S R S G T DYTLTISSLPEDFATYYC L Q Y A I Y P L T F G C G T K L E I K R
31	32	抗ヒト PD-L1 scFv バリエーション 4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS G F N I K D T Y MYWVRQAPGQGLEWMGR I D P A N D N T K Y A Q K F Q G R V T I T A D T S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R A K N L L N Y F D Y W G C G T L V T V S S G G G S G G G S G G G S G G G S D I Q M T Q S P S S L S A S V G D RVTITCRAS Q E I S G Y L S W L Q K P G K A P K R L I Y A T S T L Q S G V P S R F S G S R S G T DYTLTISSLPEDFATYYC L Q Y A I Y P L T F G Q G T K L E I K R
33	34	抗ヒト PD-L1 scFv バリエーション 5	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRAS Q E I S G Y L S W L Q K P G K A P K R L I Y A T S TLQSGVPSRFSGSRSGTDYTLTISSLPEDFATYYC L Q Y A I Y P L T F G Q G T K L EIKRGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS G F N I K D T Y M Y W V R Q A P G Q G L E W M G R I D P A N D N T K Y A Q K F Q G R V T I T A D T S T S T A Y MELSSLRSEDATVYYC A R A K N L L N Y F D Y W G Q G T L V T V S
35	36	抗ヒト PD-L1 scFv バリエーション 6	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRAS Q E I S G Y L S W L Q K P G K A P K R L I Y A T S TLQSGVPSRFSGSRSGTDYTLTISSLPEDFATYYC L Q Y A I Y P L T F G Q G T K L EIKRGSTSGSGKPGSGEGSTKGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS G F N I K D T Y M Y W V R Q A P G Q G L E W M G R I D P A N D N T K Y A Q K F Q G R V T I T A D T S T A Y M LSSLRSEDATVYYC A R A K N L L N Y F D Y W G Q G T L V T V S
37	38	抗ヒト PD-L1 scFv バリエーション 7	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRAS Q E I S G Y L S W L Q K P G K A P K R L I Y A T S TLQSGVPSRFSGSRSGTDYTLTISSLPEDFATYYC L Q Y A I Y P L T F G Q G T K L EIKRGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS G F N I K D T Y M Y W V R Q A P G Q G L E W M G R I D P A N D N T K Y A Q K F Q G R V T I T A D T S T A Y MELSSLRSEDATVYYC A R A K N L L N Y F D Y W G C G T L V T V S
39	40	抗ヒト	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRAS Q E I S G Y L S W L Q K P G K A P K R L I Y A T S

【表 4 - 2】

	PD-L1 scFv バリエーション 8	TLQSGVPSRFSGSRSGTDYTLTISSLPEDFATYYC L Q Y A I Y P L T F G C G T K L EIKRGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCAS G F N I K D T Y M Y W V R Q A P G Q C L E W M G R I D P A N D N T K Y A Q K F Q G R V T I T A D T S T A Y MELSSLRSEDATVYYC A R A K N L L N Y F D Y W G Q G T L V T V S
--	-------------------------	--

抗 PD-L1 scFv-Fc

【0261】

一部の実施形態では、抗 PD-L1 抗体部分は、Fc 断片に融合した本明細書に記載の抗 PD-L1 scFv のいずれか 1 つに従う抗 PD-L1 scFv である。一部の実施形態では、抗 PD-L1 抗体部分は、Fc 断片にペプチドリンカーを介して融合している。抗 PD-L1 抗体部分は、上記「抗体部分」セクションに記載の Fc 断片のいずれかを含み得る。一部の実施形態では、Fc 断片は、ヒト IgG1 Fc 断片である。一部の実施形態では、Fc 断片は、クリアランスを増加させるためのまたは半減期を短縮するための 1 つまたは複数の変異を含む。例えば、Fc 断片は、H310A および／または H435Q 変異を有し、アミノ酸位置は、Kabat 番号付けシステムに基づく。

10

20

30

40

50

【0262】

一部の実施形態では、Fc断片の各鎖は、同じ実体に融合している。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFv-Fcは、Fc断片の一方の鎖に各々が融合している、本明細書に記載の2つの同一の抗PD-L1 scFvを含む。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFv-Fcは、ホモ二量体である。一部の実施形態では、抗PD-L1 scFv-Fcは、ヘテロ二量体である。

【0263】

一部の実施形態では、抗PD-L1 scFv-Fcは、配列番号21もしくは23のアミノ酸配列を含むか、または配列番号21もしくは23のアミノ酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%もしくは少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するそのバリエーションを含む。例示的な抗PD-L1 scFv-Fc配列は、表5に示される。

表5. 例示的な抗PD-L1 scFv配列。

【表5】

配列番号		説明	アミノ酸配列(CDR配列は下線付きかつ太字である)
AA	DNA		
21	22	hPD-L1 scFv-hFc wt	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYMYWVRQAPGQGLEWMGRIDP ANDNTKYAQKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCARAKNLLNYF DYWGQGILVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGDIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQEISGYLSWLQKPGKAPKRLIYATSTLQSGVPSRFSGSRSGTDYTLTI SSLQPEDFATYYCLOYAIYPLTFGQGTKLEIKRDKTHTCPPCPAPPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLAQDNLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
23	24	hPD-L1 scFv-hFc Mt	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDTYMYWVRQAPGQGLEWMGRIDP ANDNTKYAQKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCCARAKNLLNYF DYWGQGILVTVSSGSTSGSGKPGSGEGSTKGDIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQEISGYLSWLQKPGKAPKRLIYATSTLQSGVPSRFSGSRSGTDYTLTI SSLQPEDFATYYCLOYAIYPLTFGQGTKLEIKRDKTHTCPPCPAPPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLAQDNLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNQYTQKSLSLSPG

PD-1

PD-1 / PD-L1 経路および抗PD免疫療法

【0264】

プログラム細胞死1 (PD-1) をコードする遺伝子は、1992年に古典的アポトーシスを遂げるマウスT細胞ハイブリドーマおよび造血前駆細胞株から最初に単離された (Ishida Y, et al. The EMBO journal 1992; 11:3887-3895)。構造的には、CD28およびCTLA4ホモログと同様に、PD-1は、I型膜貫通タンパク質であり、Igスーパーファミリーに属する (Sharpe AH and Freeman GJ. Nature Reviews Immunology 2002; 2:116-126)。T細胞応答の負のモジュレーションおよび末梢寛容の維持におけるPD-1の重要な役割が、種々のマウスモデルを使用するPD-1遺伝子破壊研究により示された。C57BL/6バックグラウンドのPD-1欠損マウスは、同種抗原に対するPD-1欠損T細胞の増殖の増強に起因してループス様自己免疫疾患を発症する (Nishimura H et al. Immunity 1999; 11:141-151)。BALB/cの場合、PD-1ノックアウトマウスは、拡張型心筋症を発症し、うっ血性心不全から突然死を遂げたが、免疫不全BALB/c RAG2-/-バックグラウンドの場合はそうはならなかった (Nishimura H et

al. Science 2001; 291:319-322)。主要誘因の1つは、心臓特異的タンパク質心筋トロポニンIに対する高力価自己抗体の生成であると後に特定された(Okazaki T, et al. Nature medicine 2003; 9:1477-1483)。NOD(非肥満糖尿病)バックグラウンドでのPD-1欠損は、加速された膵島特異的T細胞拡大および膵島への浸潤に起因してI型糖尿病の早期開始につながる(Yantha J et al. Diabetes 2010; 59:2588-2596)。全体的に見れば、PD-1分子は、末梢寛容に関与する阻害性受容体として作用する(Nishimura H, Honjo T. Trends in immunology 2001; 22:265-268)。CTLA-4とは異なり、PD-1における免疫受容体チロシン依存性スイッチモチーフ(ITSM)は、TCRシグナル伝達後、SHP-2ホスファターゼを動員し、活性化によるリン酸化(activation-induced phosphorylation)を逆転させるが、PD-1の細胞質側テールに位置する隣接ITIMドメインはそうではなかった(Ishida Y, et al. The EMBO journal 1992; 11:3887-3895)。

【0265】

いくつかの研究が、PD-1と相互作用する分子の発見に寄与した。1999年に、B7ホモログ1(B7H1、後の文献ではプログラム死リガンド-1[PD-L1]とも呼ばれた)が、in vitroでヒトT細胞応答の負の調節因子として機能する免疫グロブリンスーパーファミリーのB7-CD28ファミリーに属する290アミノ酸I型膜貫通糖タンパク質として同定された(Dong H et al. Nature medicine 1999; 5:1365-1369)。1年後、PD-L1はPD-1の結合および機能的対応物であることが示された(Freeman GJ et al. The Journal of experimental medicine 2000; 192:1027-1034)。PD-L1欠損マウスは自己免疫状態になりやすいことが、後に実証された(Dong H et al. Immunity 2004; 20:327-336)。注目すべきことに、PD-1およびPD-L1のmRNAは、多くの細胞型に広範囲に発現されるが、それらの発現パターンは転写後調節によって厳密に制御されるので、両方が誘導性分子である。PD-1タンパク質は、休止T細胞上では検出できないが、T細胞活性化から24時間以内に細胞表面に見られる(Keir ME et al. Annual review of immunology 2008; 26:677-704)。正常生理条件下では、PD-L1タンパク質は、扁桃、胎盤などの末梢組織と、肺および肝臓におけるほんの一部のマクロファージ様細胞とにしか発現されない(Dong H et al. Nature medicine 2002; 8:793-800; Petroff MG et al. Placenta 2002; 23 Suppl A:S95-101)。PD-L1の外因性の誘導は、インターフェロンγ(IFN-γ)などの炎症性サイトカインにより主として媒介され、これは、PD-1/PD-L1相互作用が、末梢組織における炎症反応の制御に重要な役割を果たすことを示す(Zou W, Chen L. Nature reviews Immunology 2008; 8:467-477)。

【0266】

PD-L1に加えて、B7-DCと呼ばれる別のPD-1リガンド(PD-L2としても公知)も2つの研究所により独立して同定された(Tseng SY et al. The Journal of experimental medicine 2001; 193:839-846; Latchman Y, et al. Nature immunology 2001; 2:261-268)。PD-L2は、樹状細胞(DC)上に選択的に発現されること、そしてまたPD-1に結合することによりT細胞応答を負に調節することが判明した。最近、PD-L2は、肺マクロファージに非常に多く含まれており、呼吸耐性の誘導に必要とされ得る分子である、反発性ガイダンス分子ファミリーメンバーb(RGMb)と相互作用することも判明した(Xiao Y, et al. T

he Journal of experimental medicine 2014; 211:943-959)。興味深いことに、PD-L1は、in vivoでのT細胞寛容の形成にも寄与し得る、阻害性シグナルを送るための別の受容体CD80を活性化T細胞上に有することも判明した(Butte MJ et al. Immunity 2007; 27:111-122; Park JJ et al. Blood 2010; 116:1291-1298)。現在では、少なくとも5つの相互作用分子がPDネットワークに関与することが公知である。それ故、元々のPD-1/PD-L1経路は、より適切な「PD経路」に改名される。PD-1の2つのリガンド(PD-L1およびPD-L2)、およびPD-L1の2つの阻害性受容体(PD-1およびCD80)の存在は、PD-1遮断も、PD-L1遮断も、PD経路を完全に破壊することにならないことを示唆する。PD阻害経路を完全に抑制するには、両方の分子を標的とする組合せ戦略が必要であり得る。

【0267】

感染に対して炎症反応を起こして末梢組織のT細胞の活性をモジュレートすることに関するおよび自己免疫を制限することに関するPD経路の重要な機能は、腫瘍細胞によっておよび慢性ウイルス感染症の間にウイルスによって乗っ取られるように見える。PD-L1は、複数の組織に由来する多くの単離したてのヒト腫瘍上に過剰発現される(Dong et al. Nature Medicine 2002; 8:793-800; Romano et al. Journal for Immunotherapy of Cancer 2015; 3:15; Hirano et al. Cancer Research 2005; 65:1089-1096)。PD-L1の発現は、ある特定の種類のヒトがんの進行および予後不良と相関関係があることが示されている(Wang et al. European journal of surgical oncology: the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology 2015; 41:450-456; Cierna et al. Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO 2016; 27:300-305; Gandini et al. Critical reviews in oncology/hematology 2016; 100:88-98; Thierauf et al. Melanoma research 2015; 25:503-509; Taube et al. Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research 2014; 20:5064-5074)。慢性ウイルス感染症の間、PD-L1は、多くの組織上に持続的に発現され、その一方で、PD-1は、ウイルス特異的CTL上で上方調節される(Yao et al. Trends in molecular medicine 2006; 12:244-246)。腫瘍誘導またはウイルス誘導PD-L1は、T細胞アネルギー、アポトーシス、疲弊、IL-10産生、DC抑制、ならびにTreg誘導および拡大を含む、複数の機序を利用して、宿主免疫監視の回避を助長することができる(Zou et al. Nature reviews Immunology 2008; 8:467-477)。

【0268】

腫瘍免疫のPD経路媒介逃避は、「適応的耐性」モデルとして考えることができる(Chen et al. The Journal of clinical investigation 2015; 125:3384-3391; Yao et al. European journal of immunology 2013; 43:576-579)。具体的には、活性化腫瘍特異的T細胞は、腫瘍部位に到達し、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)になる。コグネイト抗原を認識すると、TILは、IFN- γ を産生し、このIFN- γ が、DC、マクロファージ、好中球およびBリンパ球を含む、腫瘍微小環境

10

20

30

40

50

の多くの細胞型において、PD-L1発現を誘導する。PD-1に結合すると、PD-L1は、抑制シグナルをT細胞に送り、抗アポトーシスシグナルを腫瘍細胞に送り、その結果、T細胞機能不全および腫瘍生存に至る (Taube et al. Science translational medicine 2012; 4:127ra137; Spranger et al. Science translational medicine 2013; 5:200ra116)。このモデルは、細胞表面PD-L1発現がT細胞に隣接する細胞でのみ検出される、IHCに基づく観察により支持されるばかりでなく、腫瘍部位におけるPD-L1発現とTILの存在との強い相関関係を示す研究 (Gandini et al. Critical reviews in oncology/hematology 2016; 100:88-98; Taube et al. Science translational medicine 2012; 4:127ra137)、およびマウス腫瘍モデルにおけるin vivoでの主要PD-L1誘導因子としてのIFN- γ の実証 (Dong et al. Nature medicine 2002; 8:793-800)によっても支持される。このPD経路媒介適応的耐性仮説は、PD-L1⁺腫瘍の大多数が強い抗腫瘍免疫下でさえ免疫破壊を免れることができるという観察を支持する。

【0269】

「適応的耐性」モデルに基づいて、PD経路を標的とする免疫療法は、PD-1とPD-L1の相互作用を遮断し、ひいては抗腫瘍免疫に対する耐性を防止するように、設計される。PD-L1の豊富な発現が腫瘍において発見されて、PD経路ががんの処置と関連付けられる (Dong et al. Nature Medicine 1999; 5:1365-1369)までは、PD-1の発見は抗腫瘍療法におけるその応用につながらなかったが、今では、ヒトがんを処置するための2つのPD-1モノクローナル抗体がFDAにより既に承認されている。これらは、Bristol-Myers Squibbにより開発されたOPDIVO (登録商標) (ニボルマブ、MDX-1106、BMS-936558およびONO-4538としても公知) (68)、およびMerckにより開発されたKEYTRUDA (登録商標) (ペムブロリズマブ、ランブロリズマブおよびMK-3475としても公知) (69)である。PD-1またはPD-L1のどちらかを標的とする複数のモノクローナル抗体が、何千名も患者を伴う何百もの臨床試験で集中評価段階にある。抗PD療法は、腫瘍の著しい退縮および生存率の大幅な拡大を含む、有意な臨床的有益性を生じさせた。抗PD療法は、腫瘍部位における免疫モジュレーションによる腫瘍誘導免疫欠如を標的とするので、持続的有効性、許容可能な毒性、および広範囲のがん適応をもたらす⁵⁹。抗PD免疫療法の臨床的成功は、個別化療法または腫瘍型特異的療法とは明確に異なるがん療法の特有のカテゴリーとしてのPD経路遮断の有効性をさらに確証する。規定された免疫チェックポイント経路を活用して免疫監視を免れる腫瘍を標的とすることにより、抗PD免疫療法は、ヒトがんおよび特に固形腫瘍に対する免疫療法において注目を集めている。

抗PD免疫療法の有効性を予測するためのバイオマーカーとしての腫瘍部位におけるPD-L1発現

【0270】

古典的ホジキンリンパ腫などのいくつかの血液悪性疾患ばかりでなく、黒色腫、RCC、NSCLC、結腸直腸がんを含む複数の固形腫瘍型も、抗PD免疫療法への奏効率と腫瘍内でのPD-L1発現レベルとの正の相関を示す。黒色腫臨床試験では、試料のおおよそ45%~75%においてIHCによりPD-L1過剰発現が検出された。ニボルマブ研究では、患者の45%は、28-8抗体を使用して5%カットオフに基づいてPD-L1発現に対して陽性であった。PD-L1陽性患者の奏効率は、PD-L1陰性患者の17%と比較して、44%であった。ニボルマブで処置されたPD-L1陽性黒色腫患者は、21.1ヶ月のOSおよび9.1ヶ月のPFSを有し、これに比べ、PD-L1陰性患者においてはそれぞれ12.5ヶ月および2ヶ月であった。ペムブロリズマブ (抗PD-1) も、進行黒色腫に関して、1%のIHCカットオフを利用して研究された。PD-L1

陽性患者（77%）は、51%のORRを有したが、PD-L1陰性患者は、6%のORRを有した。ペムブロリズマブで処置されたPD-L1陽性患者は、12ヶ月のPFSおよび84%の1年OS率を有したが、PD-L1陰性患者は、3ヶ月のPFSおよび69%の1年OSを有した。

【0271】

同様の傾向がNSCLCに見られ、PD-L1陽性患者は、PD-1/PD-L1指向療法からの恩恵を優先的に受けるようであった。ニボルマブは、難治性NSCLCを有する患者において研究され、PD-L1 IHCは、DAKO IHCアッセイを使用して5%カットオフで行われた。これらの基準に基づいて、患者の60%は、PD-L1に対して陽性と分類され、PD-L1陽性患者の奏効率は、PD-L1陰性患者の0%と比較して67%であった。ペムブロリズマブも、NSCLCに関して、未報告のアッセイを使用してPD-L1発現について固有の50% IHCカットオフを利用して調査された。このカットオフに基づいて、腫瘍の25%がPD-L1に対して陽性であり、6ヶ月の時点で、PD-L1陽性患者は、67%免疫関連ORR (irORR)、67% PFS率、および89% OS率を、0% irORR、11% PFS率および33% OS率を有したPD-L1陰性患者と比較して、有した。抗PD-L1抗体であるMPDL3280Aも、NSCLCに関して、0~3+ (>10%細胞が3+、>5%細胞が2+、<5%細胞が0~1) のグレード分類により、独自開発IHCプラットフォームを利用して研究された。3+のPD-L1発現スコアを有したNSCLC患者は、2+または3+のどちらかのスコアを有した患者での46%と比較して、83%奏効率を有した。1+/2+/3+ PD-L1発現を有した患者は、31% ORRを有した。

【0272】

予測バイオマーカーとしてのPD-L1 IHCも、複数の組織学的検査を含む臨床試験で評価された。ニボルマブ第I相研究は、黒色腫、RCC、NSCLC、転移性結腸直腸がん(mCRC)、および転移性去勢抵抗性前立腺がん(mCRPC)を有する患者を含んだ。PD-L1は、5%閾値を利用して5H1抗体により検出され、腫瘍の60%は、この基準により陽性であった。PD-L1陽性腫瘍を有する患者は、36%奏効率を有したが、PD-L1陰性腫瘍を有する患者は、0% ORRを有した。MPDL3280Aは、黒色腫、RCC、NSCLC、mCRCおよび胃がんを有する患者において、独自開発PD-L1 IHCプラットフォームを利用して研究された。PD-L1陽性患者は、39%奏効率を有したが、PD-L1陰性患者は、13%奏効率を有した。

【0273】

これらの臨床試験からのデータは、IHCに従ってより高いPD-L1レベルを有する患者がPD-1/PD-L1指向療法による優れた奏効を示すことを示唆するように見える。しかし、抗PD免疫療法で処置されたPD-L1陰性患者における奏効の性質または生存転帰について分かっていることは、比較的少ない。初期評価は、黒色腫を有する特定のPD-L1陰性患者が抗PD-1/PD-L1療法による持続的奏効をなお得ることができる一方で、PD-L1陰性NSCLC患者における奏効が稀であることを示唆する。この傾向が、より大きい試験で再現された場合、それは、2つの異なる腫瘍型間の免疫生物学の根本的な相違を表す可能性があり、または異なる組織型におけるIHCに関わる技術的問題を表す可能性がある。転移性尿路上皮膀胱がんに関するMPDL3280Aの第I相臨床試験では、PD-L1陽性患者は、12週間の時点で、PD-L1陰性患者での11%と比較して52%のORRを有した。したがって、PD-L1陰性患者における奏効の深さおよび奏効期間は、まだ分かっていない。

V. 調製方法および組成物（例えば、ポリヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、宿主細胞、培養培地）

【0274】

一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドおよび／または標識化合物（例えば、放射性核種化合物）を標的とする抗体剤を調製する方法、ならびに免疫チェックポイントリガンドおよび／または標識化合物を標的とする抗体剤の調製中に産生される組成物

、例えば、ポリヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、宿主細胞、培養培地が、提供される。本明細書に記載の抗体剤および／または標識化合物（例えば、放射性核種化合物）は、下記で一般的におよび実施例でより具体的に説明されるようないくつかのプロセスによって調製することができる。

抗体剤を産生する方法

【0275】

一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドを標的とする抗体剤を調製する方法であって、コンジュゲーション部分を抗体部分と接触させることによって抗体剤を生じさせるステップを含み、抗体部分が、免疫チェックポイントリガンド（例えば、PD-L1またはPD-L1様リガンド）に特異的に結合する、方法が、提供される。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、クリックケミストリー対のメンバーを含む。一部の実施形態では、クリックケミストリー対は、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロソ対、アルケンとテトラゾールの対、およびイソニトリル（例えば、イソシアニド）とテトラジンの対からなる群から選択される。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、trans-シクロオクテン（TCO）またはテトラジン（Tz）である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、PD-L1様リガンドである。一部の実施形態では、キレート化合物は、NOTA、DOTA、またはその誘導体である。一部の実施形態では、キレート化合物は、抗体部分のリシンにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、官能基（例えば、N-ヒドロキシスクシンイミド（N-hydroxysuccinimide）（NHS）エステル）を含む。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、TCOを含む。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、スペーサーをさらに含む。一部の実施形態では、スペーサーは、コンジュゲーション部分と抗体剤の間にある。一部の実施形態では、スペーサーは、アルキルスペーサーである。一部の実施形態では、スペーサーは、PEGスペーサーである。一部の実施形態では、PEGスペーサーは、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のエチレングリコール単位を含む。一部の実施形態では、PEGスペーサーは、約1～10、2～8、3～6、または約4個のエチレングリコール単位を含む。

【0276】

一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドを標的とする抗体剤を調製する方法であって、本明細書に記載のPD-L1抗体部分をコンジュゲーション部分と接触させることによって抗体剤を生じさせるステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、クリックケミストリー対のメンバーを含む。一部の実施形態では、クリックケミストリー対は、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロソ対、アルケンとテトラゾールの対、およびイソニトリル（例えば、イソシアニド）とテトラジンの対からなる群から選択される。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、trans-シクロオクテン（TCO）またはテトラジン（Tz）である。一部の実施形態では、キレート化合物は、NOTA、DOTA、またはその誘導体である。一部の実施形態では、キレート化合物は、抗体部分のリシンにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、官能基（例えば、N-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）エステル）を含む。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、TCOを含む。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、スペーサーをさらに含む。一部の実施形態では、スペーサーは、コンジュゲーション部分と抗体剤の間にある。一部の実施形態では、スペーサーは、アルキルスペーサーである。一部の実施形態では、スペーサーは、PEGスペーサーである。一部の実施形態では、PEGスペーサーは、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のエチレングリコール単位を含む。一部の実施形態では、PEGスペーサーは、約1～10、2～8、3～6、または約4個のエチレングリコール単位を含む。

【0277】

一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドを標的とする抗体剤を調製する方

法であって、抗体部分（例えば、s c F v）をコンジュゲーション部分と接触させるステップであって、抗体部分が、抗体またはその抗原結合性断片であり、抗体またはその抗原結合性断片が、重鎖可変領域（V H）および軽鎖可変領域（V L）を含み、a）V Hが、配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域 1（H C - C D R 1）、配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または H C - C D R に最大合計約 5 つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含み；および b）V L が、配列番号 4 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域 1（L C - C D R 1）、配列番号 4 5 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および配列番号 4 6 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または L C - C D R に最大合計約 5 つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、ステップ；および（b）コンジュゲーション部分を抗体部分コンジュゲートと接触させることによって抗体剤を生じさせるステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、クリックケミストリー対のメンバーを含む。一部の実施形態では、クリックケミストリー対は、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロン対、アルケンとテトラゾールの対、およびイソニトリル（例えば、イソシアニド）とテトラジンの対からなる群から選択される。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、t r a n s - シクロオクテン（T C O）またはテトラジン（T z）である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、P D - L 1 である。一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンドは、P D - L 1 様リガンドである。一部の実施形態では、キレート化合物は、N O T A、D O T A、またはその誘導体である。一部の実施形態では、キレート化合物は、抗体部分のリシンにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、官能基（例えば、N - ヒドロキシスクシンイミド（N H S）エステル）を含む。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、T C O を含む。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、スペーサーをさらに含む。一部の実施形態では、スペーサーは、コンジュゲーション部分と抗体剤の間にある。一部の実施形態では、スペーサーは、アルキルスペーサーである。一部の実施形態では、スペーサーは、P E G スペーサーである。一部の実施形態では、P E G スペーサーは、少なくとも約 1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個のエチレングリコール単位を含む。一部の実施形態では、P E G スペーサーは、約 1 ~ 10、2 ~ 8、3 ~ 6、または約 4 個のエチレングリコール単位を含む。

標識化合物を産生する方法

【0278】

一部の実施形態では、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）を調製する方法であって、（a）キレート化合物を本明細書に記載のコンジュゲーション部分のいずれか 1 つにコンジュゲートさせてコンジュゲーション部分コンジュゲートを生じさせるステップ、および（b）標識（例えば、放射性核種）をコンジュゲーション部分コンジュゲートと接触させることによって標識化合物を生じさせるステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、キレート化合物は、N O T A、D O T A、またはその誘導体である。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{64}Cu 、 ^{18}F 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{19}F 、 ^{66}Ga 、 ^{72}Ga 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y および ^{45}Ti からなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{68}Ga である。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分を *i n v i v o* でクリックケミストリーによって第 2 のコンジュゲーション部分にコンジュゲートさせることができる。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、T C O または T z を含む。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、T z を含む。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、スペーサーをさらに含む。一部の実施形態では、スペーサーは、アルキルスペーサーおよび P E G スペーサーから選択される。一部の実施形態では、各コンジュゲーション部分（例えば、各テトラジン）は、少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個の P E G スペーサーとライゲーションされる。一部の実施形態では、各コンジュゲーション部分（例えば、各テトラジン）は、約 1 ~ 20、5 ~ 15、8 ~ 12、または約 10 個の P E G スペーサーとライゲーション

ンされる。

【0279】

一部の実施形態では、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）を調製する方法であって、（a）キレート化合物を標識（例えば、放射性核種）と接触させるステップ；（b）標識（例えば、放射性核種）をキレート化するキレート化合物を本明細書に記載のコンジュゲーション部分のいずれか1つにコンジュゲートさせることによって標識化合物を生じさせるステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、キレート化合物は、NOTA、DOTA、またはその誘導体である。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{64}Cu 、 ^{18}F 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{19}F 、 ^{66}Ga 、 ^{72}Ga 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y および ^{45}Ti からなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{68}Ga である。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分を *in vivo* でクリックケミストリーによって第2のコンジュゲーション部分にコンジュゲートさせることができる。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、TCOまたはTzを含む。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、Tzを含む。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、スペーサーをさらに含む。一部の実施形態では、スペーサーは、アルキルスペーサーおよびPEGスペーサーから選択される。一部の実施形態では、各コンジュゲーション部分（例えば、各テトラジン）は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のPEGスペーサーとライゲーションされる。一部の実施形態では、各コンジュゲーション部分（例えば、各テトラジン）は、約1～20、5～15、8～12、または約10個のPEGスペーサーとライゲーションされる。

【0280】

一部の実施形態では、放射性核種化合物を調製する方法であって、a) (a) キレート化合物をコンジュゲーション部分にコンジュゲートさせてコンジュゲーション部分コンジュゲートを生じさせるステップであって、キレート化合物がDOTAであり、コンジュゲーション部分がTzである、ステップ；b) ^{68}Ga をコンジュゲーションTz部分コンジュゲートと接触させることによって放射性核種化合物を生じさせるステップを含む方法が、提供される。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、スペーサーをさらに含む。一部の実施形態では、スペーサーは、アルキルスペーサーおよびPEGスペーサーから選択される。一部の実施形態では、各コンジュゲーション部分（例えば、各テトラジン）は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のPEGスペーサーとライゲーションされる。一部の実施形態では、各コンジュゲーション部分（例えば、各テトラジン）は、約1～20、5～15、8～12、または約10個のPEGスペーサーとライゲーションされる。

標識化合物（例えば、放射性核種化合物）

【0281】

本出願の一態様は、本明細書に記載の標識（例えば、放射性核種）およびコンジュゲーション部分を含む、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）を提供する。このセクションで説明される標識化合物のいずれか1つを、本明細書に記載の、免疫チェックポイントリガンドの分布および／もしくは発現レベルを決定する方法、または診断もしくは処置方法において使用することができる。

【0282】

一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{64}Cu 、 ^{18}F 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{19}F 、 ^{66}Ga 、 ^{72}Ga 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y および ^{45}Ti からなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{68}Ga である。一部の実施形態では、放射性核種化合物は、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、1，4，7-トリアザシクロノナン-1，4，7-三酢酸（NOTA）、1，4，7，10-テトラアザシクロドデカン-1，4，7，10-四酢酸（DOTA）またはその誘導体である。一部の実施形態では、キレート化合物は、NOTAである。一部

の実施形態では、コンジュゲーション部分を *in vivo* で第2のコンジュゲーション部分にコンジュゲートさせることができる。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分を *in vivo* でクリックケミストリーによって第2のコンジュゲーション部分にコンジュゲートさせることができる。一部の実施形態では、クリックケミストリーは、逆電子要請型 *Diels-Alder* 付加環化に基づき、このクリックケミストリーは、歪みアルケンとテトラジンとのカップリング反応を含む。一部の実施形態では、放射性核種化合物中のコンジュゲーション部分は、*trans*-シクロオクテン (TCO) またはテトラジン (Tz) である。一部の実施形態では、放射性核種化合物中のコンジュゲーション部分は、Tzを含む、またはTzである。Tzは、6-メチル置換テトラジン (6-Meテトラジン) または6-水素置換テトラジン (6-Hテトラジン) である。一部の実施形態では、スペーサーは、コンジュゲーション部分と標識の間にある。一部の実施形態では、スペーサーは、アルキルスペーサーである。一部の実施形態では、スペーサーは、PEGスペーサーである。一部の実施形態では、PEGスペーサーは、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のエチレングリコール単位を含む。一部の実施形態では、PEGスペーサーは、約1~10、2~8、3~6、または約4個のエチレングリコール単位を含む。

放射性核種

【0283】

本明細書に記載の標識化合物は、標識を含む。診断のために、標識は、放射性核種、放射線造影剤、常磁性イオン、金属、蛍光標識、化学発光標識、超音波造影剤および光活性化剤であり得る。そのような診断用標識は、周知であり、任意のそのような公知の標識を使用することができる。

【0284】

一部の実施形態では、標識化合物は、放射性核種を含む。「放射性核種」は、「放射性同位体」または「ラジオアイソトープ」と呼ばれることが多い。本明細書に記載の抗体部分に結合させることができる例示的な放射性核種または安定な同位体としては、 ^{110}In 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{18}F 、 ^{52}Fe 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{86}Y 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 $^{94\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{94}Tc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{120}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 $^{154-158}\text{Gd}$ 、 ^{32}P 、 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{18}Re 、 ^{188}Re 、 ^{51}Mn 、 $^{52\text{m}}\text{Mn}$ 、 ^{55}Co 、 ^{72}As 、 ^{75}Br 、 ^{76}Br 、 $^{82\text{m}}\text{Rb}$ 、 ^{83}Sr 、または他のガンマ放射体、ベータ放射体もしくは陽電子放射体が挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{64}Cu 、 ^{18}F 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{19}F 、 ^{66}Ga 、 ^{72}Ga 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y および ^{45}Ti からなる群から選択される。一部の実施形態では、放射性核種は、 ^{68}Ga である。

【0285】

有用な常磁性イオンとしては、クロム (III)、マンガン (II)、鉄 (III)、鉄 (II)、コバルト (II)、ニッケル (II)、銅 (II)、ネオジム (III)、サマリウム (III)、イッテルビウム (III)、ガドリニウム (III)、バナジウム (II)、テルビウム (III)、ジスプロシウム (III)、ホルミウム (III) またはエルビウム (III) を挙げるることができる。金属造影剤としては、ランタン (III)、金 (III)、鉛 (II) またはビスマス (III) を挙げるることができる。放射線不透過性診断剤は、化合物、バリウム化合物、ガリウム化合物、およびタリウム化合物から選択することができる。多種多様な蛍光標識が当技術分野において公知であり、それらは、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、フィコエリトリン (*phycoerythrin*)、フィコシアニン、アロフィコシアニン、*o*-フタルアルデヒド (*ophthaldehyde*) およびフルオレスカミンを、これらに限定されないが、含む。有用な化学発光標識としては、ルミノール、イソルミノール、芳香族アクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩またはシュウ酸エステルを挙げるができる。

【0286】

放射免疫検出 (RAID) は、臨床的に有用な分野としてこの35年の間に浮上してきた。RAIDを使用するほぼ1000件の臨床試験がこの期間に行われており、いくつかの明確かつ重要な発見があった。従来のイメージングにより「不顕性 (occult)」とみなされた病変を検出するこの技術のより大きな能力は、抗体、腫瘍または放射性核種の種類にかかわらず、初期研究においても認識され、研究により繰り返し確認されてきた。

【0287】

^{68}Ga 、 ^{99}Tc 、 ^{64}Cu および ^{18}F などの多くの放射性核種は、一般に好まれる良好なイメージング剤である。それらは、安全なイメージングにとって理想的であるガンマまたはベータエネルギーを通常は有し、安価であり、容易に利用可能であり、発生装置により生成され、無担体である。それらの短い半減期 (6時間未満) により、それらを初期イメージング研究のための抗体断片とのカップリングに役立てやすい。

【0288】

一部の実施形態では、標識化合物 (例えば、放射性核種化合物) は、標識 (例えば、放射性核種) をキレート化するキレート化合物を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、放射性金属をキレート化する。一部の実施形態では、キレート化合物は、金属 ^{18}F をキレート化する。一部の実施形態では、キレート化合物は、金属イオンに結合することおよび迅速な *in vivo* クリアランスを確実にするのに役立つことができる、親水性キレート化合物である。好適なキレート化合物をそれらの特定の金属結合特性について選択することができ、公知の化学的架橋技術による置換、または側鎖反応性基を有するキレート剤 (例えば、二官能性キレート化合物) の使用による置換を、通例の実験のみで行うことができる。

【0289】

特に有用な金属-キレート化合物の組合せとしては、放射性イメージングのために、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{62}Cu 、 ^{64}Cu 、 ^{18}F 、 ^{111}In 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{99}Tc 、 ^{94}Tc 、 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{76}Br などの、60~4000 keVの一般エネルギー範囲の診断用同位体とともに使用される、2-ベンジル-DTPA (ジエチレントリアミン五酢酸) ならびにそのモノメチルおよびシクロヘキシル類似体が挙げられる。同じキレート化合物は、マンガン、鉄およびガドリニウムなどの非放射性金属と錯化した場合、MRIに有用である。NOTA (1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸)、TETA (プロモアセトアミド-ベンジル-テトラエチルアミン四酢酸) およびNETA (4-[2-(ビス-カルボキシメチル-アミノ)-エチル]-7-カルボキシメチル-[1, 4, 7] トリアゾナン-1-イル}-酢酸) などの、大環状キレート化合物は、ガリウム、イットリウムおよび銅などの様々な診断用放射性金属との使用に有用である。そのような金属キレート錯体を、目的の金属に環のサイズを合わせることによって非常に安定したものにすることができる。NOTAなどの大環状の環構造に結合した基を変えることにより、種々の金属および/または放射性核種に対する結合特性および親和性を変化させることができること、したがって、例えばNOTAの、そのような誘導体または類似体を、本明細書で論じられる金属または放射性核種のいずれかに結合するように設計することができることは、当業者には理解される。

【0290】

リガンドが、カルボン酸基またはアミン基などの硬い塩基キレート官能基を含む場合、DTPAおよびDOTA型キレート剤は、硬い酸カチオン、特にIIa族およびIIa族金属カチオンをキレートするのに最も有効である。そのような金属-キレート錯体を、目的の金属に環のサイズを合わせることによって、非常に安定したものにすることができる。大環状ポリエーテルなどの他の環型キレート剤は、核種に安定的に結合するため興味深い。ポルフィリンキレート剤は、非常に多くの金属錯体に関して使用することができる。1つより多くの種類のキレート剤をペプチドにコンジュゲートさせて複数の金属イオンに結合させることができる。米国特許第5, 753, 206号において開示されているものなどのキレート剤、特に、チオセミカルバゾニルグリオキシルシステイン (Tscg

ーCys) およびチオセミカルバジニル-アセチルシステイン (Tsca-Cys) キレート剤は、Tc、Re、Biなどの軟らかい酸カチオンと、軟らかい塩基リガンドに強く結合している他の遷移金属、ランタニドおよびアクチニドとを結合させるために有利に使用される。DOTA、TETAなどのような他の硬い酸キレート剤でDTPAおよび／またはTsCgCys基を置換することができる。

【0291】

一部の実施形態では、キレート化合物は、抗体部分にコンジュゲートさせることができる官能基を含む。一部の実施形態では、キレート化合物は、抗体部分の第一級アミン(−NH₂)基と反応性である官能基を含む。第一級アミンは、各ポリペプチド鎖のN末端に、およびリシン(Lys)アミノ酸残基の側鎖内に存在する。抗体部分の第一級アミン、例えばリシン側鎖、にコンジュゲートさせることができる例示的な官能基としては、イソチオシアン酸、イソシアン酸、アシルアジド、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)エステル、塩化スルホニル、アルデヒド、グリオキサール、エポキシド、オキシラン、カーボネート、アリアルハライド、イミドエステル、カルボジイミド、無水物、およびフルオロフェニルエステルが挙げられるが、これらに限定されない。これらの官能基のほとんどが、アシル化またはアルキル化のどちらかによりアミンにコンジュゲートする。

【0292】

一部の実施形態では、キレート化合物は、抗体部分のシステイン側鎖(すなわち、スルフヒドリル基)と反応性である、官能基を含む。例示的なスルフヒドリル反応性基としては、ハロアセチル、マレイミド、アジリジン、アクリロイル、アリアル化剤、ビニルスルホン、ピリジルジスルフィド、TNB-チオールおよびジスルフィド還元剤が挙げられるが、これらに限定されない。これらの基のほとんどが、アルキル化(通常は、チオエーテル結合の形成)またはジスルフィド交換(ジスルフィド結合の形成)のどちらかによりスルフヒドリルにコンジュゲートする。

【0293】

一部の実施形態では、キレート化合物は、NOTA誘導体を含む、NOTAである。一部の実施形態では、キレート化合物(例えば、NOTA化合物)は、例えば、リシンおよびシステインなどのアミノ酸側鎖による、抗体部分へのコンジュゲーションに好適な官能基を含む。一部の実施形態では、イメージング剤は、抗体部分にコンジュゲートされているNOTAを含む。一部の実施形態では、NOTA化合物は、イソチオシアン酸(−SCN)基を含む。一部の実施形態では、NOTA化合物は、p-SCN-Bn-NOTAである。一部の実施形態では、キレート化合物は、抗体部分内のリシン残基にコンジュゲートされているNOTAを含み、NOTAは、⁶⁸Gaをキレート化する。一部の実施形態では、NOTA化合物は、⁶⁸Ga、または¹⁸F-金属などの、放射性金属で先ず標識され、次いで抗体部分にコンジュゲートされる。

コンジュゲーション部分

【0294】

本出願の一態様は、抗体剤および／または標識化合物に組み込むことができるコンジュゲーション部分を提供する。一部の実施形態では、抗体剤に組み込まれたコンジュゲーション部分(例えば、第1のコンジュゲーション部分)は、標識化合物(例えば、放射性核種化合物)に組み込まれたコンジュゲーション部分(例えば、第2のコンジュゲーション部分)に*in vivo*でコンジュゲートされ得る。

【0295】

一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分と第2のコンジュゲーション部分のコンジュゲーションは、非共有結合(non-covalent)である。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分と第2のコンジュゲーション部分のコンジュゲーションは、共有結合(covalent)である。

【0296】

一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および／または第2のコンジュゲーション部分各々は、互いに相補的である核酸を含む。一部の実施形態では、核酸は、D

10

20

30

40

50

NAである。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分は、DNA-DNAハイブリダイゼーションによって互いにコンジュゲートされる。

【0297】

一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分は、これら2つのコンジュゲーション部分間の共有結合によってコンジュゲートされる。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分または第2のコンジュゲーション部分は、システイン残基、リシン残基、またはチロシン残基を含む。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分は、システイン残基のカップリングに基づいて（例えば、ジスルフィド結合によって）コンジュゲートされる。

10

【0298】

一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分は、抗体-薬物コンジュゲートに基づいてコンジュゲートされる。

クリックケミストリー

【0299】

一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分各々は、クリックケミストリー対のメンバーを含み、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる。本明細書に記載のクリックケミストリー対は、クリックケミストリーによって互いと排他的に反応することができる2つの化学的部分である。

20

【0300】

一部の実施形態では、クリックケミストリー対は、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロロン対、アルケンとテトラゾールの対、およびイソニトリル（例えば、イソシアニド）とテトラジンの対からなる群から選択される。

【0301】

一部の実施形態では、クリックケミストリーは、アジド-アルキンHuisgen付加環化に基づく。一部の実施形態では、アジド-アルキンHuisgen付加環化は、銅で触媒される。一部の実施形態では、アジド-アルキンHuisgen付加環化は、銅を含まない。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、アルキニル基の環状誘導体を含む。一部の実施形態では、アルキニル基の環状誘導体は、シクロオクチン、ニフッ素化シクロオクチン、およびジベンゾシクロオクチンから選択される。一部の実施形態では、クリックケミストリーは、アジドの歪み促進型Huisgen付加環化に基づく。一部の実施形態では、クリックケミストリーは、歪みアルケンの反応に基づく。

30

【0302】

一部の実施形態では、クリックケミストリーは、Staudinger-Bertozziライゲーションに基づき、このクリックケミストリーは、アジドとホスフィンとのカップリング反応を伴った。

【0303】

一部の実施形態では、クリックケミストリーは、逆電子要請型Diels-Alder付加環化に基づき、このクリックケミストリーは、歪みアルケンとテトラジンとのカップリング反応を伴う。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、trans-シクロオクテン(TCO)またはテトラジン(Tz)を含む、またはtrans-シクロオクテン(TCO)またはテトラジン(Tz)である。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分は、trans-シクロオクテン(TCO)を含み、またはtrans-シクロオクテン(TCO)であり、第2のコンジュゲーション部分は、テトラジン(Tz)を含む、またはテトラジン(Tz)である。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分は、Tzを含み、またはTzであり、第2のコンジュゲーション部分は、TCOを含む、またはTCOである。一部の実施形態では、Tzは、6-メチル置換テトラジン(6-Meテトラジン)である。一部の実施形態では、Tzは、6-水素置換テトラジン(6-Hテトラジン)である。

40

50

【0304】

一部の実施形態では、コンジュゲーション部分（例えば、テトラジン）は、スペーサーをさらに含む。一部の実施形態では、スペーサーは、コンジュゲーション部分と抗体部分の間にある。一部の実施形態では、スペーサーは、コンジュゲーション部分と標識の間にある。一部の実施形態では、スペーサーは、アルキルスペーサーである。一部の実施形態では、スペーサーは、PEGスペーサーである。一部の実施形態では、PEGスペーサーは、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のエチレングリコール単位を含む。一部の実施形態では、PEGスペーサーは、約1～20、5～15、8～12、または約10個のエチレングリコール単位を含む。

抗体発現および産生

【0305】

本明細書に記載の抗体部分は、下記でおよび実施例で説明されるものを含む、当技術分野における任意の公知の方法を使用して調製することができる。

モノクローナル抗体

【0306】

モノクローナル抗体は、実質的に均一な抗体の集団から得られ、すなわち、この集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る、自然に起こる可能性のある変異および／または翻訳後改変（例えば、異性化、アミド化）を除いて、同一である。したがって、修飾語「モノクローナル」は、個別の抗体の混合物でないような抗体の性質を示す。例えば、モノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature, 256:495 (1975)により最初に記載されたハイブリドーマ法を使用して作製することができ、または組換えDNA法（米国特許第4,816,567号）により作製することができる。ハイブリドーマ法では、マウスまたは他の適切な宿主動物、例えばハムスターもしくはラマを上文に記載の通りに免疫して、免疫に使用したタンパク質に特異的に結合する抗体を産生するまたは産生できるリンパ球を誘発する。あるいは、リンパ球をin vitroで免疫することができる。その場合、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を使用してリンパ球を骨髓腫細胞と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成する（Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)）。ラクダにおける免疫については実施例1も参照されたい。

【0307】

免疫剤は、概して、抗原タンパク質またはその融合バリエーションを含む。一般に、ヒト由来の細胞が所望される場合には末梢血リンパ球（「PBL」）が使用され、または非ヒト哺乳動物源が所望される場合には脾細胞もしくはリンパ節細胞が使用される。その場合、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を使用してリンパ球を不死化細胞系と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成する。Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press (1986), pp. 59-103。

【0308】

不死化細胞系は、通常は、形質転換された哺乳動物細胞、特に、齧歯類、ウシおよびヒト由来の骨髓腫細胞である。通常は、ラットまたはマウス骨髓腫細胞系が利用される。このようにして調製されたハイブリドーマ細胞を、融合していない親骨髓腫細胞の成長または生存を阻害する1つまたは複数の物質を好ましくは含有する好適な培養培地に播種し、成長させる。例えば、親骨髓腫細胞が酵素ヒポキサンチン・グアニン・ホスホリボシルトランスフェラーゼ（HGPRTまたはHPRRT）を欠いている場合、ハイブリドーマ用の培養培地は、HGPRT欠損細胞の成長を妨げる物質である、ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジンを、通常は含む（HAT培地）。

【0309】

好ましい不死化骨髓腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定した高レベルの産生を支持し、HAT培地などの培地に対して感受性であるものであ

10

20

30

40

50

る。これらのうち、好ましいのは、マウス骨髓腫系、例えば、Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, Calif. USAから入手可能なMOPC-21およびMPC-11マウス腫瘍に由来するもの、ならびにAmerican Type Culture Collection, Manassas, Va. USAから入手可能なSP-2細胞（およびその誘導体、例えば、X63-Ag8-653）である。ヒト骨髓腫およびマウス-ヒトヘテロ骨髓腫細胞系も、ヒトモノクローナル抗体の産生について記載されている（Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)）。

10

【0310】

ハイブリドーマ細胞が成長している培養培地は、抗原に対するモノクローナル抗体の産生についてアッセイされる。好ましくは、ハイブリドーマ細胞により産生されたモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降法により、またはin vitro結合アッセイ、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）もしくは酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）により決定される。

【0311】

ハイブリドーマ細胞が培養される培養培地を所望の抗原に対するモノクローナル抗体の存在についてアッセイすることができる。好ましくは、モノクローナル抗体の結合親和性および特異性を、免疫沈降法により、またはin vitro結合アッセイ、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）もしくは酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）により決定することができる。そのような技術およびアッセイは、当技術分野において公知である。例えば、結合親和性を、Munson et al., Anal. Biochem., 107:220 (1980) のスキャッチャード解析により決定することができる。

20

【0312】

所望の特異性、親和性および／または活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞が同定された後、クローンを限界希釈手順によりサブクローニングし、標準的な方法（Goding、上掲）により成長させることができる。このために好適な培養培地としては、例えば、D-MEMまたはRPMI-1640培地が挙げられる。加えて、ハイブリドーマ細胞を哺乳動物においてin vivoで腫瘍として成長させることができる。

30

【0313】

サブクローンにより分泌されたモノクローナル抗体は、例えば、プロテインAセファロース、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、または親和性クロマトグラフィーなどの、従来の免疫グロブリン精製手順により、培養培地、腹水液または血清から適切に分離される。

【0314】

モノクローナル抗体は、米国特許第4,816,567号に記載されているものおよび上述のものなどの、組換えDNA法により作製することもできる。モノクローナル抗体をコードするDNAは、従来の手順を使用して（例えば、マウス抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離およびシークエンシングされる。ハイブリドーマ細胞は、そのようなDNAの好ましい供給源として役立つ。単離したら、DNAを発現ベクター内に配置することができ、次いでこれらを、そうしなければ免疫グロブリンタンパク質を産生しない宿主細胞、例えば、E. coli細胞、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、または骨髓腫細胞にトランスフェクトして、そのような組換え宿主細胞においてモノクローナル抗体を合成する。抗体をコードするDNAの細菌における組換え発現に関する総説論文としては、Skerra et al., Curr. Opinion in Immunol., 5:256-262 (1993) およびPlueckthun, Immunol. Revs., 130:151-188 (1992)

40

50

が挙げられる。

【0315】

さらなる実施形態では、McCafferty et al., Nature, 348:552-554 (1990)に記載されている技術を使用して生成された抗体ファージライブラリーから抗体を単離することができる。Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991)およびMarks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991)には、ファージライブラリーを使用する、マウスおよびヒト抗体の単離が、それぞれ記載されている。その後の公表文献には、鎖シャフリングによる高親和性 (nM範囲) ヒト抗体の産生 (Marks et al., Bio/Technology, 10:779-783 (1992))、ならびに非常に大きいファージライブラリーを構築するための戦略としてのコンビナトリアル感染および *in vivo* 組換え (Waterhouse et al., Nucl. Acids Res., 21:2265-2266 (1993)) が記載されている。したがって、これらの技術は、モノクローナル抗体の単離のための旧来のモノクローナル抗体ハイブリドーマ技術の実行可能な代替法である。

【0316】

DNAを、例えば、相同マウス配列の代わりにヒト重鎖および軽鎖定常ドメインのコード配列を代用することにより改変することもでき (米国特許第4,816,567号; Morrison, et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 81:6851 (1984))、または免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全てまたは一部を共有結合で結合させることにより改変することもできる。概して、そのような非免疫グロブリンポリペプチドで抗体の定常ドメインを置換し、またはそれらで抗体の1つの抗原結合部位の可変ドメインを置換して、ある抗原に対する特異性を有する1つの抗原結合部位と、異なる抗原に対する特異性を有する別の抗原結合部位とを含むキメラ二価抗体を作製する。

【0317】

本明細書に記載のモノクローナル抗体は一価であり得、その調製は、当技術分野において周知である。例えば、1つの方法は、免疫グロブリン軽鎖と改変された重鎖との組換え発現を含む。重鎖は、一般に、重鎖架橋を防止するためにFc領域内の任意の地点で切断される。あるいは、適切なシステイン残基は、架橋を防止するために、別のアミノ酸残基で置換されることもありまたは欠失される。*in vitro*法は、一価抗体の調製にも好適である。抗体のその断片、特にFab断片を生じさせるための消化は、当技術分野において公知の通例の技術を使用して果たすことができる。

【0318】

架橋剤を伴うものを含む、合成タンパク質化学における公知の方法を使用して、キメラまたはハイブリッド抗体を *in vitro* で調製することもできる。例えば、ジスルフィド交換反応を使用して、またはチオエーテル結合を形成することにより、免疫毒素を構築することができる。この目的のための好適な試薬の例としては、イミノチオレートおよびメチル-4-メルカプトブチルイミデートが挙げられる。

【0319】

モノクローナル抗体産生については実施例1も参照されたい。

抗体部分をコードする核酸分子 (すなわち、ポリヌクレオチド)

【0320】

本出願は、本明細書に記載の抗体部分 (例えば、抗PD-L1抗体部分) の1つまたは複数の鎖をコードするポリヌクレオチドを含む単離された核酸分子をさらに提供する。一部の実施形態では、核酸分子は、抗体部分 (例えば、抗PD-L1抗体部分) の重鎖または軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、核酸分子は、抗体部分 (例えば、抗PD-L1抗体部分) の、重鎖をコードするポリヌクレオチドと軽鎖をコードするポリヌクレオチドの両方を含む。一部の実施形態では、第1の核酸分子は、重鎖をコードする第1のポリヌクレオチドを含み、第2の核酸分子は、軽鎖をコードする第2

のポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、s c F v（例えば、抗PD-L1 s c F v）をコードする核酸分子が提供される。

【0321】

一部のそのような実施形態では、重鎖および軽鎖は、2つの別々のポリペプチドとして、1つの核酸分子からまたは2つの別々の核酸分子から発現される。抗体がs c F vである場合などの一部の実施形態では、単一のポリヌクレオチドが、互いに連結されている重鎖と軽鎖両方を含む単一のポリペプチドをコードする。

【0322】

一部の実施形態では、抗体部分（例えば、抗PD-L1抗体部分）の重鎖または軽鎖をコードするポリヌクレオチドは、翻訳されたときに重鎖または軽鎖のN末端に位置する、リーダー配列をコードするヌクレオチド配列を含む。上述の通り、リーダー配列は、ネイティブ重鎖もしくは軽鎖リーダー配列であってもよく、または別の異種リーダー配列であってもよい。

【0323】

核酸分子は、当技術分野における従来の組換えDNA技術を使用して構築することができる。一部の実施形態では、核酸分子は、選択された宿主細胞における発現に好適である発現ベクターである。

ベクター

【0324】

本明細書に記載の抗体部分（例えば、抗PD-L1抗体部分）のいずれか1つの重鎖および／または軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含むベクターが提供される。本明細書に記載のs c F v（例えば、抗PD-L1 s c F v）のいずれかをコードするポリヌクレオチドを含むベクターも提供される。そのようなベクターとしては、DNAベクター、ファージベクター、ウイルスベクター、レトロウイルスベクターなどが挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、ベクターは、ベクター、プラスミド、バクテリオファージ、コスミド（cosmid）、S因子、レトロエレメント、レトロウイルス、ウイルス、人工染色体（YAC、BACまたはMAC）、ミニ染色体、および染色体からなる群から選択される。

【0325】

一部の実施形態では、ベクターは、重鎖をコードする第1のポリヌクレオチド配列、および軽鎖をコードする第2のポリヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、重鎖および軽鎖は、2つの別々のポリペプチドとしてベクターから発現される。例えば、抗体がs c F vである場合などの、一部の実施形態では、重鎖および軽鎖は、単一ポリペプチドの部分として発現される。

【0326】

一部の実施形態では、ベクターは、発現ベクターである。一部の実施形態では、少なくとも1つの調節配列に作動可能に連結されている、本明細書に記載のポリペプチド（またはその活性誘導体もしくは断片）をコードする核酸配列を含有する発現ベクター。多くの発現ベクターが市販されており、他の好適なベクターを当業者は容易に調製することができる。「作動可能に連結されている」は、ヌクレオチド配列が、核酸配列が核酸配列の発現を可能にする様式で、調節配列に連結されていることを意味するように意図される。調節配列は、当技術分野で認められており、ポリペプチドまたはその活性誘導体もしくは断片を産生するために選択される。したがって、用語「調節配列」は、プロモーター、エンハンサー、およびGoeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990)に記載されている他の発現制御エレメントを含む。例えば、ネイティブ調節配列、または生物に本来備わっている調節配列を、利用することができる。

【0327】

一部の実施形態では、第1のベクターは、重鎖をコードするポリヌクレオチドを含み、

第2のベクターは、軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、第1のベクターおよび第2のベクターは、同様の量（例えば、同様のモル量または同様の質量の量）で宿主細胞にトランスフェクトされる。一部の実施形態では、5：1～1：5の間のモル比または質量比の第1のベクターと第2のベクターが、宿主細胞にトランスフェクトされる。一部の実施形態では、重鎖をコードするベクターおよび軽鎖をコードするベクターについて1：1～1：5の間の質量比が使用される。一部の実施形態では、重鎖をコードするベクターおよび軽鎖をコードするベクターについて1：2の質量比が使用される。

【0328】

一部の実施形態では、CHOもしくはCHO由来細胞におけるまたはNSO細胞におけるポリペプチドの発現のために最適化されているベクターが選択される。例示的なそのようなベクターは、例えば、Running Deer et al., Biotechnol. Prog. 20:880-889 (2004)に記載されている。

宿主細胞

【0329】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗体部分（例えば、抗PD-L1抗体部分）を、細菌細胞などの原核細胞に、または真菌細胞（例えば、酵母）、植物細胞、昆虫細胞および哺乳動物細胞などの、真核細胞に、発現させることができる。そのような発現を、例えば、当技術分野において公知の手順に従って、行うことができる。ポリペプチドを発現させるために使用することができる例示的な真核細胞としては、COS細胞、例えばCOS7細胞など；293細胞、例えば293-6E細胞など；CHO細胞、例えば、CHO-S、DG44、Lec13 CHO細胞、およびFUT8 CHO細胞など；PER.C6（登録商標）細胞（Cruce ll）；ならびにNSO細胞が挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、本明細書に記載の抗体部分（例えば、抗PD-L1抗体部分）を酵母に発現させることができる。例えば、米国特許出願公開第2006/0270045A1号を参照されたい。一部の実施形態では、特定の真核生物宿主細胞は、抗体部分の重鎖および／または軽鎖に所望の翻訳後改変を加えるその能力に基づいて選択される。例えば、一部の実施形態では、CHO細胞は、293細胞において産生される同じポリペプチドより高いシアリル化レベルを有するポリペプチドを産生する。

【0330】

所望の宿主細胞への1つまたは複数の核酸の導入は、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、電気穿孔、形質導入、感染などを含むがこれらに限定されない、任意の方法により果たすことができる。非限定的な例示的な方法は、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001)に記載されている。核酸を任意の好適な方法に従って所望の宿主細胞に一過性にまたは安定的にトランスフェクトすることができる。

【0331】

本発明は、本明細書に記載のポリヌクレオチドまたはベクターのいずれかを含む宿主細胞も提供する。一部の実施形態では、本発明は、抗PD-L1抗体を含む宿主細胞を提供する。異種DNAを過剰発現することができる任意の宿主細胞を、目的の抗体、ポリペプチドまたはタンパク質をコードする遺伝子を単離するために使用することができる。哺乳動物宿主細胞の非限定的な例としては、COS、HeLaおよびCHO細胞が挙げられるが、これらに限定されない。PCT公開番号WO87/04462を参照されたい。好適な非哺乳動物宿主細胞としては、原核生物（例えば、E.coliまたはB.subtilis）および酵母（例えば、S.cerevisiae、S.pombe、またはK.lactis）が挙げられる。一部の実施形態では、宿主細胞は、原核細胞である。一部の実施形態では、宿主細胞は、細菌細胞である。一部の実施形態では、細胞は、真核細胞である。一部の実施形態では、宿主細胞は、酵母細胞である。一部の実施形態では、宿主

10

20

30

40

50

細胞は、動物細胞である。一部の実施形態では、宿主細胞は、哺乳動物細胞である。一部の実施形態では、宿主細胞は、CHO細胞である。

【0332】

一部の実施形態では、抗体部分は、無細胞系において産生される。非限定的な例示的な無細胞系は、例えば、Sitarman et al., Methods Mol. Biol. 498: 229-44 (2009); Spirin, Trends Biotechnol. 22: 538-45 (2004); Endo et al., Biotechnol. Adv. 21: 695-713 (2003)に記載されている。

抗体部分の精製

【0333】

抗体部分（例えば、抗PD-L1抗体部分）を任意の好適な方法により精製することができる。そのような方法としては、親和性マトリックスまたは疎水性相互作用クロマトグラフィーの使用が挙げられるが、これらに限定されない。好適な親和性リガンドとしては、ROR1 ECD、および抗体定常領域に結合するリガンドが挙げられる。例えば、プロテインA、プロテインG、プロテインA/G、または抗体親和性カラムを使用して、定常領域に結合することおよびFc断片を含有する抗体部分を精製することができる。疎水性相互作用クロマトグラフィー、例えば、ブチルまたはフェニルカラムも、抗体などの一部のポリペプチドの精製に好適であり得る。イオン交換クロマトグラフィー（例えば、アニオン交換クロマトグラフィーおよび／またはカチオン交換クロマトグラフィー）も、抗体などの一部のポリペプチドの精製に好適である。ミックスモードクロマトグラフィー（例えば、逆相／アニオン交換、逆相／カチオン交換、疎水性相互作用／アニオン交換、親水性相互作用／カチオン交換など）も、抗体などの一部のポリペプチドの精製に好適である。多くのポリペプチド精製方法が、当技術分野において公知である。

ポリヌクレオチド、核酸構築物、ベクター、宿主細胞、および培養培地

ポリヌクレオチド

【0334】

一部の実施形態では、本明細書に記載の抗体剤または抗体部分のいずれか1つをコードするポリヌクレオチドが提供される。一部の実施形態では、本明細書に記載の方法のいずれか1つを使用して調製されるポリヌクレオチドが提供される。

【0335】

一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、DNAである。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、RNAである。一部の実施形態では、RNAは、mRNAである。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18および20のいずれか1つの核酸配列に対して少なくとも約80%（例えば、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%のいずれか1つ）の配列同一性を有する核酸配列を含む。

核酸構築物

【0336】

一部の実施形態では、本明細書に記載のポリヌクレオチドのいずれか1つを含む核酸構築物が提供される。一部の実施形態では、本明細書に記載の任意の方法を使用して調製される核酸構築物が提供される。

【0337】

一部の実施形態では、核酸構築物は、ポリヌクレオチドに作動可能に連結されたプロモーターをさらに含む。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、遺伝子に対応し、プロモーターは、遺伝子の野生型プロモーターである。

ベクター

【0338】

一部の実施形態では、本明細書に記載の任意の核酸構築物を含むベクターが提供される。一部の実施形態では、本明細書に記載の任意の方法を使用して調製されるベクターが提

10

20

30

40

50

供される。

【0339】

一部の実施形態では、ベクターは、発現ベクターである。

【0340】

一部の実施形態では、ベクターは、プラスミド、バクテリオファージ、コスミド、S因子、レトロエレメント、レトロウイルス、ウイルス、人工染色体（例えば、YAC、BACまたはMAC）、ミニ染色体、および染色体からなる群から選択される。

宿主細胞

【0341】

一部の実施形態では、本明細書に記載の任意のポリペプチド、核酸構築物および／またはベクターを含む、宿主細胞が提供される。一部の実施形態では、本明細書に記載の任意の方法を使用して調製されるベクターが提供される。

【0342】

一部の実施形態では、宿主細胞は、本明細書に記載の (as described herein) 任意の抗体部分を発酵条件下で産生することができる。

【0343】

一部の実施形態では、宿主細胞は、原核細胞である。一部の実施形態では、宿主細胞は、細菌細胞（例えば、E. coli 細胞）である。一部の実施形態では、宿主細胞は、真核細胞である。一部の実施形態では、宿主細胞は、酵母細胞である。一部の実施形態では、宿主細胞は、動物細胞である。一部の実施形態では、宿主細胞は、哺乳動物細胞である。一部の実施形態では、宿主細胞は、CHO細胞である。

培養培地

【0344】

一部の実施形態では、本明細書に記載の任意の抗体部分、ポリヌクレオチド、核酸構築物、ベクターおよび／または宿主細胞を含む、培養培地が提供される。一部の実施形態では、本明細書に記載の任意の方法を使用して調製される培養培地が提供される。

【0345】

一部の実施形態では、培地は、ヒポキサンチン、アミノプテリンおよび／またはチミジンを含む（例えば、HAT培地）。一部の実施形態では、培地は、血清を含まない。一部の実施形態では、培地は、血清を含む。一部の実施形態では、培地は、DMEMまたはRPMI-1640培地である。

VI. 組成物、キットおよび製造物品

【0346】

本明細書に記載の抗体剤（例えば、抗PD-L1抗体剤）および／もしくは標識化合物（例えば、放射性核種化合物）、抗体部分（例えば、抗PD-L1抗体部分）をコードする核酸、抗体部分をコードする核酸を含むベクター、または核酸もしくはベクターを含む宿主細胞のうちのいずれか1つを含む、組成物（例えば、製剤）も、本明細書で提供される。

【0347】

本明細書に記載の抗体剤（例えば、抗PD-L1抗体剤）および／または標識化合物（例えば、放射性核種化合物）の好適な製剤は、所望の純度を有する抗体剤（例えば、抗PD-L1抗体剤）および／もしくは標識化合物（例えば、放射性核種化合物）と、必要に応じた薬学的に許容される担体、賦形剤または安定剤（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)）とを混合することにより、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で得ることができる。許容される担体、賦形剤または安定剤は、利用される投与量および濃度でレシピエントにとって非毒性であり、緩衝剤、例えば、リン酸塩、クエン酸塩および他の有機酸；抗酸化剤（アスコルビン酸およびメチオニンを含む）；保存剤（例えば、塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルもしくはベンジルアルコール、アルキルパ

10

20

30

40

50

ラベン、例えばメチルもしくはプロピルパラベン、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3-ペンタノール、およびm-クレゾール)；低分子量(約10残基未満)ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチンもしくは免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン(ol y v i n y l p y r r o l i d o n e)；アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンもしくはリシン；単糖類、二糖類および他の炭水化物(グルコース、マンノースもしくはデキストリンを含む)；キレート剤、例えば、EDTA；糖、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロースもしくはソルビトール；塩形成性対イオン、例えば、ナトリウム；金属錯体(例えば、Zn-タンパク質錯体)；ならびに／または非イオン性界面活性剤、例えば、TWEEN(登録商標)、PLURONICS(登録商標)もしくはポリエチレングリコール(PEG)を含む。皮下投与に適応する凍結乾燥製剤は、WO 97/04801に記載されている。そのような凍結乾燥製剤を、好適な希釈剤で高タンパク質濃度に復元し、復元された製剤を、本明細書におけるイメージング、診断または処置を受ける個体に皮下投与することができる。

【0348】

i n v i v o 投与に使用される製剤は、無菌でなければならない。これは、例えば滅菌濾過膜による濾過により、容易に果たされる。

【0349】

本明細書に記載の抗体剤(例えば、抗PD-L1抗体剤)および／または標識化合物(例えば、放射性核種化合物)のいずれか1つを含むキットも、提供される。キットは、本明細書に記載のイメージング、診断および処置の方法のいずれかに有用であり得る。

【0350】

一部の実施形態では、免疫チェックポイントリガンド(例えば、PD-L1またはPD-L1様リガンド)に特異的に結合する抗体部分とコンジュゲーション部分(例えば、TCOまたはTz)とを含むキットが、提供される。

【0351】

一部の実施形態では、標識(例えば、放射性核種、例えば⁶⁸Ga)を含む標識化合物とコンジュゲーション部分(例えば、TCOまたはTz)とを含むキットが、提供される。一部の実施形態では、コンジュゲーション部分は、放射性核種をキレート化するキレート剤(例えば、NOTA、DOTAまたはその誘導体)をさらに含む。

【0352】

一部の実施形態では、キットは、抗体剤および／または標識化合物を送達することができるデバイスをさらに含む。非経口送達などの用途のための1つのタイプのデバイスは、対象の身体に組成物を注射するために使用される注射器である。吸入デバイスも、ある特定の用途に使用され得る。

【0353】

一部の実施形態では、キットは、疾患または状態、例えば、がん、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を処置するための治療剤をさらに含む。一部の実施形態では、治療剤は、免疫チェックポイントリガンドまたはその受容体の阻害剤である。一部の実施形態では、治療剤は、免疫チェックポイントリガンドまたはその受容体に特異的に結合する放射性標識分子である。

【0354】

本出願のキットは、好適な包装材の中に存在する。好適な包装材としては、バイアル、ビン、ジャー、軟包装(例えば、密封マイラーまたはプラスチックバッグ)などが挙げられるが、これらに限定されない。キットは、緩衝剤および解釈情報などの追加の構成要素を必要に応じて提供することができる。

【0355】

したがって、本出願は、製造物品も提供する。製造物品は、容器と、その容器上のまたはその容器に付随するラベルまたは添付文書とを含むことができる。好適な容器としては、バイアル(例えば、密封バイアル)、ビン、ジャー、軟包装などが挙げられる。一般に

10

20

30

40

50

、容器は、組成物を保持し、無菌取出口を有し得る（例えば、容器は、皮下注射針により貫通可能なストッパーを有する静脈内輸液バッグ（intravenous solution bag）またはバイアルであり得る）。ラベルまたは添付文書は、組成物が個体の特定の状態のイメージング、診断または処置に使用されることを示す。ラベルまたは添付文書は、個体に組成物を投与するためのおよび個体をイメージングするための指示（instruction）をさらに含む。ラベルは、復元および／または使用についての指示（direction）を示し得る。組成物を保持する容器は、復元製剤の反復投与（2～6回の投与）を可能にする、複数回使用用バイアルであることもある。添付文書は、診断製品の市販のパッケージ内に慣習的に含まれている指示であって、そのような診断製品の使用に関する適応症、使用法、投与量、投与、禁忌および／または警告についての情報を含む指示を指す。加えて、製造物品は、注射用静菌水（BWFI）、リン酸緩衝食塩水、リンゲル液およびデキストロース溶液などの、薬学的に許容される緩衝液を含む、第2の容器をさらに含むことができる。製造物品は、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針およびシリンジを含む、商業的観点および使用者の観点から望ましい他の材料をさらに含むことができる。

10

【0356】

キットまたは製造物品は、薬局、例えば、病院の薬局および調剤薬局における保管および使用に十分な量で包装された、組成物の複数の単位用量および使用のための指示を含むことができる。

【0357】

いくつかの実施形態が本発明の範囲および趣旨の中で可能であることは、当業者であれば認識する。以下の非限定的実施例への言及によってこれからさらに詳細に本発明を説明する。以下の実施例は、本発明をさらに例証するものであるが、言うまでもなく、以下の実施例を、いかなる点でも本発明の範囲を制限すると解釈すべきでない。

VII. 組成物（composition）の使用

【0358】

本出願は、本明細書に記載のイメージング、診断、処置または他の方法のいずれかのための製造物品のための組成物（例えば、本明細書に記載の抗体剤および／または標識化合物）の使用も提供する。

VIII. コンピュータシステム

【0359】

本出願は、本明細書に記載の方法のいずれかを促進するためのコンピュータシステムも提供する。一部の実施形態では、ユーザからの個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定することを求める要求を受信する入力ユニット；入力ユニットに動作可能に連結された1つまたは複数のコンピュータプロセッサを具備する、コンピュータシステムであって、1つまたは複数のコンピュータプロセッサが、a) 個体の目的の組織におけるイメージング剤のシグナルを含むデータのセットを受信するように；b) データを読み取り可能な様式で提示するようにまたはデータの解析を生成するように、個別にまたは集合的にプログラムされる、コンピュータシステムが提供される。

30

【0360】

イメージング剤は、本明細書に記載の任意の方法により産生させることができる。一部の実施形態では、イメージング剤は、i) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤であって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、抗体剤の有効量の個体への投与、およびii) 放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量の個体へのその後の投与の後に、第1のコンジュゲーション部分と第2のコンジュゲーション部分のコンジュゲーションによってin vivoで産生される。抗体剤および標識化合物は本明細書に記載の任意の抗体剤および標識化合物であり得ることが、企図される。

40

【0361】

一部の実施形態では、データまたは解析をユーザに報告するための出力ユニットをさら

50

に具備する、コンピュータシステム。

【0362】

本明細書に記載のデータのセットは、テキストファイル、イメージファイル、音声／動画ファイル（例えば、高解像度ファイル）などのような、任意のタイプの任意の数のファイルを表すことができる。ファイルは、圧縮されていないこともあり、または圧縮されていることもある。ファイルが圧縮されていない場合、まずファイルを圧縮し、その後、バイナリ文字列に変換することができる。例えば、L e m p e l - Z i v - M a r k o v C h a i n アルゴリズムを使用してファイルを L Z M A ファイル（例えば、A . l z m a）に圧縮することができる。一部の実施形態では、2つまたはそれより多くのファイル（例えば、3つ、4つ、5つ、6つ、およびそれより多くのファイル）は、例えば T A R ファイル（例えば、A . t a r）に、先ずまとめられ、この T A R ファイルが L Z M A ファイル（例えば、A . t a r . l z m a）にさらに圧縮される。

10

【0363】

一部の実施形態では、データのセットは、非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングすることにより得られる。一部の実施形態では、イメージングは、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）の投与後約30分～約24時間の間に行われる。例えば、イメージングは、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）の投与後約30分～約1時間、約1時間～約2時間、約2時間～約3時間、約3時間～約4時間、約4時間～約6時間、約6時間～約9時間、約9時間～約12時間、約12時間～約18時間、または約18時間～約24時間の間に行われる。一部の実施形態では、イメージングは、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）の投与の少なくとも約30分、1時間、2時間、3時間、4時間、6時間、9時間、12時間、18時間後に行われる。一部の実施形態では、イメージングは、標識化合物（例えば、放射性核種化合物）の投与後30分、1時間、2時間、3時間、4時間、6時間、9時間、12時間、18時間以内に行われる。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、単光子放出コンピュータ断層撮影（S P E C T）イメージングまたは陽電子放出断層撮影（P E T）イメージングを含む。一部の実施形態では、非侵襲的イメージング技術は、コンピュータ断層撮影イメージング、磁気共鳴イメージング、化学発光イメージング、または電気化学発光イメージングを含む、またはさらに含む。

20

【0364】

一部の実施形態では、解析は、データのセットと、第2の個体の目的の第2の組織における第2のイメージング剤のシグナルを含む第2のデータのセットとを比較することを含む。一部の実施形態では、第2のデータのセットに関わる目的の第2の組織は、第1のデータのセットに関わる目的の同じ組織である。一部の実施形態では、第2の個体は、第1のデータのセットに関わる個体と同じ個体である。一部の実施形態では、第2のデータのセットは、本明細書に記載のイメージング技術を用いて第2の個体をイメージングすることにより得られる。一部の実施形態では、第2の個体のイメージングは、抗体剤および／または標識化合物の投与の前に行われる。一部の実施形態では、第2の個体のイメージングは、抗体剤および／または標識化合物の投与の前約約100時間、例えば、約48時間、24時間、12時間、6時間、または2時間以内に行われる。

30

40

【0365】

一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分各々は、クリックケミストリー対のメンバーを含み、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、ケミストリー対は、T C O - T z 対、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロン対、アルケン-テトラゾール対、およびイソニトリル-テトラジン対からなる群から選択される。一部の実施形態では、第1のコンジュゲーション部分は、t r a n s - シクロオクテン（T C O）であり、第2のコンジュゲーション部分は、テトラジン（T z）であるか、または第1のコンジュゲーション部分は、T z であり、第2のコンジュゲーション部分は、T C O である。

【0366】

50

一部の実施形態では、標識化合物は、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される。

【0367】

一部の実施形態では、出力ユニットは、テキスト出力、図形出力、音声出力、またはこれらの任意の組合せを含む。

【0368】

一部の実施形態では、個体は、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する。

【0369】

別段の矛盾がない限り、他の箇所に記載の任意の制限、特徴、実施形態、定義、方法ステップ、条件などをコンピュータシステムに適用することもできる。

例示的实施形態

【0370】

実施形態1．抗体部分を含む抗体剤であって、抗体部分が、抗体またはその抗原結合性断片であり、抗体またはその抗原結合性断片が、重鎖可変領域（ V_H ）および軽鎖可変領域（ V_L ）を含み、a） V_H が、配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含み；およびb） V_L が、配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、抗体剤。

【0371】

実施形態2．a） V_H が、配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1と、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2と、配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3とを含み；および／またはb） V_L が、配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1と、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2と、配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3とを含む、実施形態1の抗体剤。

【0372】

実施形態3．a） V_H が、配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；およびb） V_L が、配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態1または2の抗体剤。

【0373】

実施形態4．抗体部分が、配列番号21または23のアミノ酸配列に対して少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態3の抗体剤。

【0374】

実施形態5．抗体部分を含む抗体剤であって、前記抗体部分が、抗体またはその抗原結合性断片であり、前記抗体またはその抗原結合性断片が、 V_H と V_L とを含む抗PD-L1抗体と競合してPD-L1に特異的に結合し、a） V_H が、配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1と、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2と、配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3とを含み；およびb） V_L が、配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1と、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2と、配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3とを含む、抗体剤。

【0375】

実施形態6．抗体部分が、一本鎖Fv（scFv）、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片（dsFv）、（dsFv）₂、 V_HH 、Fv-Fc融合体、scFv-Fc融合体、scFv-Fv融合体、ダイアボディ、トリボディおよびテトラボディからなる群から選択される、実施形態1～5のいずれか1つの抗体

10

20

30

40

50

剤。

【0376】

実施形態7．抗体部分が、I g G、I g M、I g A、I g DおよびI g Eからなる群から選択されるアイソタイプを有する、実施形態1～6のいずれか1つの抗体剤。

【0377】

実施形態8．抗体部分が、F c断片に融合したs c F vである、実施形態1～7のいずれか1つの抗体剤。

【0378】

実施形態9．F c断片が、H310AおよびH435Q変異を含み、アミノ酸位置が、K a b a t番号付けシステムに基づく、実施形態8の抗体剤。

10

【0379】

実施形態10．第1のコンジュゲーション部分をさらに含み、第1のコンジュゲーション部分が、i n v i v oで第2のコンジュゲーション部分にコンジュゲートされ得る、実施形態1～9のいずれか1つの抗体剤。

【0380】

実施形態11．第1のコンジュゲーション部分が、クリックケミストリー対のメンバーを含む、実施形態10の抗体剤。

【0381】

実施形態12．クリックケミストリー対が、t r a n s－シクロオクテン（T C O）－テトラジン（T z）対、アジド－アルキン対、アルキン－ニトロソ対、アルケン－テトラゾール対、およびイソニトリル－テトラジン対からなる群から選択される、実施形態11の抗体剤。

20

【0382】

実施形態13．実施形態1～12のいずれか1つの抗体剤の抗体部分をコードするポリヌクレオチド。

【0383】

実施形態14．実施形態1のポリヌクレオチドを含む核酸構築物であって、ポリヌクレオチドと動作可能に接続されているプロモーターを必要に応じてさらに含む核酸構築物。

【0384】

実施形態15．実施形態14の核酸構築物を含むベクター。

30

【0385】

実施形態16．実施形態13のポリヌクレオチド、実施形態14の核酸構築物、または実施形態15のベクターを含む、宿主細胞。

【0386】

実施形態17．実施形態1～9の抗体剤の抗体部分、実施形態13のポリヌクレオチド、実施形態14の核酸構築物、実施形態15のベクター、または実施形態16の宿主細胞を含む、培養培地。

【0387】

実施形態18．個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法であって、抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を個体に投与するステップであって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、ステップ；放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を個体に投与するステップであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、i n v i v oで互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；および非侵襲的イメージング技術を用いて個体におけるイメージング剤をイメージングするステップを含む方法。

40

【0388】

実施形態19．第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分各々が、クリックケミストリー対のメンバーを含み、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる、実施形態18の方法。

50

【0389】

実施形態20. ケミストリー対が、TCO-Tz対、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロン対、アルケン-テトラゾール対、およびイソニトリル-テトラジン対からなる群から選択される、実施形態19の方法。

【0390】

実施形態21. 第1のコンジュゲーション部分が、trans-シクロオクテン (TCO) であり、第2のコンジュゲーション部分が、テトラジン (Tz) であるか、または第1のコンジュゲーション部分が、Tzであり、第2のコンジュゲーション部分が、TCOである、実施形態19の方法。

【0391】

実施形態22. 放射性核種化合物が、抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される、実施形態18～21のいずれか1つの方法。

【0392】

実施形態23. 抗体剤の有効量が、約0.1mg/kg～約100mg/kgの間である、実施形態18～22のいずれか1つの方法。

【0393】

実施形態24. 放射性核種の有効量が、約10uCi～約500uCiの間である、実施形態18～23のいずれか1つの方法。

【0394】

実施形態25. イメージングが、放射性核種化合物の投与後約30分～約24時間の間に行われる、実施形態18～24のいずれか1つの方法。

【0395】

実施形態26. 個体の目的の組織における免疫チェックポイントリガンドの発現レベルを、組織からイメージング剤により放出されるシグナルに基づいて決定するステップをさらに含む、実施形態18～25のいずれか1つの方法。

【0396】

実施形態27. イメージング剤が、約10分～約7日の間以内に個体からクリアランスされる、実施形態18～26のいずれか1つの方法。

【0397】

実施形態28. 抗体剤の半減期が、血清中で約10分～約8日の間である、実施形態18～27のいずれか1つの方法。

【0398】

実施形態29. 抗体部分と免疫チェックポイントリガンドとの結合が、約 9×10^{-10} M～約 1×10^{-8} Mの間の K_D を有する、実施形態18～28のいずれか1つの方法。

【0399】

実施形態30. 抗体部分の分子量が、約400kDa以下である、実施形態18～29のいずれか1つの方法。

【0400】

実施形態31. 抗体部分が、非ヒト哺乳動物からの免疫チェックポイントリガンドと交差反応する、実施形態18～30のいずれか1つの方法。

【0401】

実施形態32. 抗体部分がヒト化されている、実施形態18～31のいずれか1つの方法。

【0402】

実施形態33. 抗体部分が、酸性pHで安定している、実施形態18～32のいずれか1つの方法。

【0403】

実施形態34. 抗体部分が、約55～70℃の融解温度 (T_m) を有する、実施形態18～33のいずれか1つの方法。

【0404】

10

20

30

40

50

実施形態35. 抗体部分が、一本鎖Fv (scFv)、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片(dsFv)、(dsFv)₂、V_HH、Fv-Fc融合体、scFv-Fc融合体、scFv-Fv融合体、ダイアボディ、トリボディおよびテトラボディからなる群から選択される、実施形態18~34のいずれか1つの方法。

【0405】

実施形態36. 抗体部分が、Fc断片に融合したscFvを含む、実施形態18~35のいずれか1つの方法。

【0406】

実施形態37. Fc断片が、ヒトIgG1 Fc断片である、実施形態36の方法。

【0407】

実施形態38. Fc断片が、H310AおよびH435Q変異を含み、アミノ酸位置が、Kabatt番号付けシステムに基づく、実施形態36または37の方法。

【0408】

実施形態39. 免疫チェックポイントリガンドが、PD-L1またはPD-L1様リガンドである、実施形態18~38のいずれか1つの方法。

【0409】

実施形態40. 抗体部分が、重鎖可変領域(V_H)および軽鎖可変領域(V_L)を含み、a) V_Hが、配列番号41のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1(HC-CDR1)、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、またはHC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含み；およびb) V_Lが、配列番号44のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域1(LC-CDR1)、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、またはLC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、実施形態18~39のいずれか1つの方法。

【0410】

実施形態41. 目的の組織が、免疫組織化学(IHC)アッセイに基づいて免疫チェックポイントリガンドに対して陰性である、実施形態18~40のいずれか1つの方法。

【0411】

実施形態42. 目的の組織が、免疫チェックポイントリガンドの低い発現レベルを有する、実施形態18~41のいずれか1つの方法。

【0412】

実施形態43. 目的の組織が、免疫細胞の浸潤の際にのみ免疫チェックポイントリガンドを発現する、実施形態18~42のいずれか1つの方法。

【0413】

実施形態44. ある期間にわたって個体をイメージングするステップをさらに含む、実施形態18~43のいずれか1つの方法。

【0414】

実施形態45. 放射性核種が、⁶⁴Cu、¹⁸F、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、¹¹¹In、¹⁷⁷Lu、⁹⁰Y、⁸⁹Zr、⁶¹Cu、⁶²Cu、⁶⁷Cu、¹⁹F、⁶⁶Ga、⁷²Ga、⁴⁴Sc、⁴⁷Sc、⁸⁶Y、⁸⁸Yおよび⁴⁵Tiからなる群から選択される、実施形態18~44のいずれか1つの方法。

【0415】

実施形態46. 放射性核種が、⁶⁸Gaである、実施形態45の方法。

【0416】

実施形態47. 放射性核種化合物が、放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む、実施形態18~46のいずれか1つの方法。

【0417】

実施形態48. キレート化合物が、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-

10

20

30

40

50

三酢酸（NOTA）、1，4，7，10-テトラアザシクロドデカン-1，4，7，10-四酢酸（DOTA）またはその誘導体である、実施形態47の方法。

【0418】

実施形態49．非侵襲性イメージング技術が、単光子放出コンピュータ断層撮影（SPECT）イメージングまたは陽電子放出断層撮影（PET）イメージングを含む、実施形態18～48のいずれか1つの方法。

【0419】

実施形態50．非侵襲的イメージング技術が、コンピュータ断層撮影イメージング、磁気共鳴イメージング、化学発光イメージング、または電気化学発光イメージングを含む、実施形態18～49のいずれか1つの方法。

【0420】

実施形態51．抗体剤が、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される、実施形態18～50のいずれか1つの方法。

【0421】

実施形態52．放射性核種化合物が、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される、実施形態18～51のいずれか1つの方法。

【0422】

実施形態53．個体が、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する、実施形態18～52のいずれか1つの方法。

【0423】

実施形態54．疾患または状態を有する個体を診断する方法であって、実施形態18～53のいずれか1つの方法を使用して個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定するステップ、およびイメージング剤のシグナルが目的の組織で検出された場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断し、またはイメージング剤のシグナルが目的の組織で検出されなかった場合には個体を免疫チェックポイントリガンドに対して陰性と診断するステップを含む方法。

【0424】

実施形態55．疾患または状態を有する個体を処置する方法であって、実施形態54の方法を使用して個体を診断するステップ、および個体が免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断された場合、免疫チェックポイントリガンドを標的とする治療剤の有効量を個体に投与するステップを含む方法。

【0425】

実施形態56．抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤であって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、抗体剤と、放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物とを含む、キットであって、第1のコンジュゲーション部分および第2のコンジュゲーション部分が、*in vivo*で互いにコンジュゲートすることができる、キット。

【0426】

実施形態57．ユーザからの個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定するように求める要求を受信する入力ユニット；入力ユニットに動作可能に連結された1つまたは複数のコンピュータプロセッサを具備する、コンピュータシステムであって、1つまたは複数のコンピュータプロセッサが、個体の目的の組織におけるイメージング剤のシグナルを含むデータのセットを受信するように、この場合、イメージング剤は、抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤であって、抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、抗体剤の有効量の個体への投与、および放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量の個体へのその後の投与の後に、第1のコンジュゲーション部分と第2のコンジュゲーション部分のコンジュゲーションによって *in vivo* で産生される；データを読み取り可能な様式で提示するようにまたはデータの解析を生成するように、個別にまたは集合的にプログラムされる、コンピュータシステム。

10

20

30

40

50

【実施例】

【0427】

下記の実施例は、本発明の単なる典型例であることを意図したものであり、したがって、いかなる点においても本発明を限定するものと見なすべきではない。以下の実施例および詳細な説明は、実例として提供するものであり、限定として提供するものではない。

(実施例1)

ヒトPD-L1に対するモノクローナル抗体の調製および特徴付け
免疫化

【0428】

8～10週齢メスPD-L1欠損マウス(H Dong et al. Immunity. 2004 Mar; 20(3): 327-36)の複数の部位に、100μgのhPD-L1mIg融合タンパク質とフロイント完全アジュバント(CFA)(Sigma-Aldrich)とを含む200μlのエマルジョンで皮下(s.c.)免疫した。各動物に、フロイント不完全アジュバント(IFA)(Sigma-Aldrich)中で処方した同じ濃度のhPD-L1mIg融合タンパク質を含むエマルジョンで、2または3回の追加免疫を施した。血清力価試験のために各免疫の2週間後に動物から血液試料を採取した。十分な力価に到達し次第、動物に、PBS中のPD-L1mIg融合タンパク質60μgの追加免疫注射を腹腔内注射(i.p.)によって施した。追加免疫注射の5日後に、動物を殺し、それらの脾臓を無菌採取した。

【0429】

全脾臓を解離させて単個細胞浮遊液にした。ACK緩衝液を使用して、赤血球を溶解した。次いで、50ml円錐遠心分離管の中で脾細胞をSP2/0-Ag14骨髓腫細胞(ATCCから)と1:1比で混合した。遠心分離後、上清を廃棄し、50%ポリエチレングリコール(Roche)で細胞融合を誘導した。融合細胞をHAT選択培地で8～10日間培養した。ELISAを使用して、上清の内容物をhPD-1発現細胞に結合するそれらの能力について分析し、フローサイトメトリー分析を使用して陽性クローンをさらに確認した。5回、限界希釈法を使用して陽性ハイブリドーマのサブクローニングを行って、純粋なモノクローナル培養物を獲得した。

抗hPD-L1モノクローナル抗体の特徴付け

抗hPD-L1モノクローナル抗体の結合特異性

【0430】

hPD-L1をトランスフェクトしたCHO細胞(CHO/hPD-L1細胞)を使用して、フローサイトメトリー(FACSVerse、BD Biosciences)により抗hPD-L1 mAbの結合特異性を決定した。具体的には、CHO/hPD-L1細胞を氷上で30分間、漸増量(0.06ng、0.125ng、0.25ng、0.5ng、1ng、2ng、4ng、および100ng)の抗hPD-L1 mAb 5B7とともにインキュベートした。次いで、細胞を洗浄し、フローサイトメトリー分析の前に抗mIgG-APC(eBioscience)とともにさらにインキュベートした。図1Aおよび1Bに示されているように、抗hPD-L1 mAb 5B7は、用量依存的に高い特異性でhPD-L1に結合した。

【0431】

Mouse Immunoglobulin Isotyping Kit(BD Biosciences)を使用して、モノクローナル抗体のアイソタイプはIgG1κであることが決定された。

種間交差反応性

【0432】

マウスPD-L1をトランスフェクトしたCHO細胞(CHO/mPD-L1)を使用して、抗hPD-L1 mAbとマウスPD-L1の種間交差反応性を評価した。フローサイトメトリー分析の前に細胞を抗hPD-L1 mAbとともにインキュベートした。図2Aは、ヒトPD-L1に対する抗hPD-L1 mAbの結合特異性を示す。図2B

に示されているように、抗hPD-L1 mAbは、マウスPD-L1にも結合する。

抗hPD-L1抗体産生ハイブリドーマ細胞のシーケンシング

【0433】

抗体産生ハイブリドーマ細胞をシーケンシングするために、 1×10^7 個のハイブリドーマ細胞を採取し、PBSで洗浄した。RNeasy Mini Kit (Qiagen) を使用して、メッセンジャーRNAをハイブリドーマから抽出した。SMARTer RACE cDNA Amplification Kit (Clontech) を使用して、RACE-Ready first-strand cDNAを合成した。逆転写後、ready cDNAを鋳型として用い、キットにより提供された5'ユニバーサルプライマー (UPM) と、マウスIgG1重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列を使用して設計した3'遺伝子特異的プライマー (GSP1) とを用いて、5' RACE PCR反応を行った。RACE産物をゲル電気泳動分析により特定した。次いで、Zero Blunt TOPO PCR Cloning Kit (Invitrogen) を使用してPCR産物をTベクターにクローニングした。形質転換後、プラスミドをシーケンシング解析により検証した。VBASE2 (worldwide web.vbase2.org) を使用して重鎖可変領域および軽鎖可変領域の配列を解析し、表3に収載した。

(実施例2)

抗hPD-L1抗体のヒト化

抗hPD-L1抗体のヒト化

【0434】

ヒト化は、抗hPD-L1ハイブリドーマ細胞からの重鎖可変領域 (VH) および軽鎖可変領域 (VL) 配列に基づいて行った。最初のステップとして、親マウスVHおよびVL配列と、ヒトIgG定常領域と、ヒトκ鎖とを含むマウス-ヒトキメラmAbを生成した。キメラ抗体の特徴付けに基づいて、3つのVHおよび3つのVLヒト化配列を設計し、9つのヒト化抗体を生成するために使用した。キメラおよびヒト化抗hPD-L1抗体のVHおよびVL配列を表3に収載する。

ヒト化抗hPD-L1抗体の特徴付け

ヒト化抗hPD-L1抗体の結合活性

【0435】

親キメラ抗体と比較してヒト化抗体の結合活性を調査するために、CHO/hPD-L1細胞を、段階希釈した親キメラ抗体またはヒト化抗体とともにインキュベートした。フローサイトメトリーを使用して結合親和性を分析し、結果は、hPD-L1に対して親キメラ抗体と比較して高い結合親和性を実証するヒト化抗体もあり、その一方で、親キメラ抗体と比較して同様のまたは若干低い結合親和性を実証するヒト化抗体もあることを示した (図3)。

ヒト化抗hPD-L1抗体の結合親和性および動態

【0436】

ヒト化抗hPD-L1 mAbとhPD-L1タンパク質との結合親和性および動態 (kinetics) をBiacore T200 (GE Healthcare Life Sciences) で評価した。hPD-L1mIgタンパク質をセンサーチップCM5上にアミンカップリングにより固定した。親およびヒト化抗体を1、2、4、8、16および32 nMの濃度勾配で注入した。結合速度 (K_{on})、解離速度 (K_{off})、および親和定数 (K_D) を含む、結合動態パラメーターを、完全動態解析 (full kinetic analysis) により決定した。表6に示されているように、親抗体とヒト化抗体の間に結合速度 (K_{on}) の有意な差はなかった。表6および図4に示されているように、抗体は、解離速度 (K_{off}) が最低のものから最高のもの順に、親 (PA200)、H1+L2 (H12)、H3+L2 (H32)、H1+L1 (H11)、H1+L3 (H13)、H3+L1 (H31)、H3+L3 (H33)、H2+L2 (H22)、H2+L1 (H21)、およびH2+L3 (H23) であった。表6に示されているように、抗体は、親和定数 (K_D) が最高のものから最低のもの順に、親、H1+L2、H3+

L 2、H 3 + L 3、H 3 + L 1、H 2 + L 2、H 1 + L 3、H 1 + L 1、H 2 + L 3、および H 2 + L 1 であった。

表 6：親およびヒト化抗体の K_{on} 、 K_{off} および K_D

【表 6】

抗体	K_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	K_D (M)
抗 -PD-L1 親	9.243E+5	1.180E-4	1.276E-10
抗 -PD-L1 HC1+LC1	8.686E+5	0.001200	1.381E-9
抗 -PD-L1 HC1+LC2	1.456E+6	8.114E-4	5.572E-10
抗 -PD-L1 HC1+LC3	1.100E+6	0.001430	1.301E-9
抗 -PD-L1 HC2+LC1	1.863E+6	0.004058	2.178E-9
抗 -PD-L1 HC2+LC2	2.049E+6	0.002515	1.227E-9
抗 -PD-L1 HC2+LC3	2.265E+6	0.004171	1.841E-9
抗 -PD-L1 HC3+LC1	1.250E+6	0.001464	1.171E-9
抗 -PD-L1 HC3+LC2	1.646E+6	0.001096	6.659E-10
抗 -PD-L1 HC3+LC3	1.461E+6	0.001465	1.003E-9

10

(実施例 3)

抗 hPD-L1 s c F v - h F c 抗体の調製および特徴付け

s c F v - h F c 抗体の配列設計および合成

【0437】

ヒト化抗 hPD-L1 抗体バリエーション 2 の重鎖可変領域 (VH) および軽鎖可変領域 (VL) を使用して s c F v - h F c 抗体を生成した。具体的には、重鎖および軽鎖をリンカーにより接続し、その後、ヒンジ配列 (G A C A A G A C C C A C A C C T G C C C T C C C T G C C C C、配列番号 50) およびヒト免疫グロブリン I g G 1 F c 部分 (C H 2 - C H 3 領域) を接続した。加えて、in vivo での抗体の迅速なクリアランスのために、H 3 10 A (すなわち、C A C から G C C への) および H 4 3 5 Q (すなわち C A C から C A G への) 変異を C H 2 および C H 3 領域に導入した (図 5)。野生型 C H 2 - C H 3 領域を有する s c F v - h F c 抗体 (s c F v - h F c W t) の配列、および変異体 C H 2 - C H 3 領域を有する s c F v - h F c 抗体 (s c F v - h F c M t) の配列を、表 5 に示す。

30

【0438】

s c F v - h F c W t および s c F v - h F c M t の DNA 配列をそれぞれ p c D N A 3.3 ベクターにクローニングし、E x P i 293 細胞への一過性トランスフェクションに使用した。細胞培養上清からのタンパク質を、機能分析のためにプロテイン G セファロースカラム (G E h e a l t h c a r e) で精製した。

s c F v - h F c 抗体の特徴付け

【0439】

抗 hPD-L1 s c F v - h F c W t および s c F v - h F c M t 抗体を、S D S P a g e G e l 電気泳動 (E l e c t r o p o r a t i o n) により同定した。図 6 に示されているように、S D S - P A G E ゲルを用いて還元条件と非還元条件の両方で s c F v - h F c 抗体を同定した。hPD-L1 に対する s c F v - h F c 抗体の結合親和性を、親抗体のものと比較して F A C S により調査した。結果を図 7 に示す。ヒストグラムに示されているように、s c F v - h F c W t と s c F v - h F c M t の両方が、親抗体と同様の結合親和性を実証した。F o r t e b i o O c t e t システムを使用して、hPD-L1 に対する s c F v - h F c 抗体 (s c F v - h F c W T および s c F v - h F c M T) の結合親和性および動態を親抗体 (抗 PD-L1 I g G 1) のものと比較してさらに分析した。図 8 を参照されたい。表 7 は、抗 PD-L1 I g G 1、抗 PD-L1 I g G 1 - C 5 2 W (すなわち、C 5 2 W 変異を有する I g G 1 F c 領域を有する抗 PD-L1 抗体)、s c F v - h F c M t および s c F v - h F c W t の結合親和性および動態パラメーターを示す。

40

50

表7：抗hPD-L1 scFv-hFcおよび親対照抗体の結合動態パラメーター
【表7】

試料	K_D (M)	K_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	R^2
抗 -PD-L1 IgG1	1.54E-11	1.77E+5	2.72E-5	0.9834
抗 -PD-L1 IgG1 C52W	3.40E-10	1.33E+5	4.53E-4	0.9732
抗 -PD-L1 scFv-hFc Wt	3.48E-10	6.98E+6	2.43E-4	0.97
抗 -PD-L1 scFv-hFc Mt	2.32E-10	1.66E+6	3.85E-4	0.9812

【0440】

薬物動態研究は、*in vivo*でのscFv-hFc WtおよびscFv-hFc MT抗体の注射、続いて、注射後1、2、3、4および6日目のscFv-hFc抗体およびhIgGの血清力価の測定により行った。図9Aおよび9Bに示されているように、scFv-hFc Wtは、scFv-hFc Mtと比較して抗体およびhIgGの高い血清力価を示した。

（実施例4）

^{68}Ga -DOTA-Tzの標識

【0441】

0.1N HClを使用して ^{68}Ga を洗浄除去し、3.8mCi/1mLの ^{68}Ga を得た。93μLの1.25M酢酸ナトリウムを添加することにより、pHを4に調整した。様々な体積（0.5、2、5および15μL）のDOTA-(PEG)₁₀-Tz（2mg/mL）を試験し、350μLの ^{68}Ga に添加した。試薬を10分間、異なる温度（25、37、60、80、100℃）でインキュベートした。0.1Mクエン酸ナトリウムを展開溶液として使用して薄層クロマトグラフィー（TLC）で標識効率を測定した。

【0442】

標識率に対する温度の効果を調査した。25、37、60、80または100℃での標識率は、それぞれ、80%、80%、89%、99%および99%であった。図10は、100℃での代表的標識率を示す。

【0443】

標識率に対する様々な体積のDOTA-(PEG)₁₀-Tzの効果も調査した。0.5、2または5μLのDOTA-(PEG)₁₀-Tzを使用して100℃での標識率は、それぞれ、97%、99%、100%であった。100℃で2μLのDOTA-(PEG)₁₀-Tzの代表的標識率を図11に示す。

【0444】

100℃のインキュベーション温度および2μLのDOTA-(PEG)₁₀-Tzが好適な標識条件であると結論付ける。

（実施例5）

PD-L1 scFv-FcへのTCOのコンジュゲーション

【0445】

200μLの体積を有するFMU-230BまたはFMU-220を250μLのPBS緩衝液と混合した。次いで、その混合物をCentricon管に負荷し、16000rpmで24分間、遠心分離し、溶液を体積100μL以内に濃縮した。100μLの体積を有するPBSを添加し、全内容物を1.5mL遠心分離管に移した。1μLのNH₄-(PEG)₄-TCO（6μLのDMSOで希釈したもの）を添加し、混合し、その後、10μLの1M Na₂CO₃を添加し、37℃で60分間インキュベートした。その内容物を、200μLのPBSを添加したCentricon管に移し、16000rpmで24分間、遠心分離した。追加の350μLのPBSを添加し、16000rpmで24分間、遠心分離した。100μLの体積を有するPBSを添加し、全内容物を1.5mL遠心分離管に移し、4℃で保管した。

【0446】

FMU-230BまたはFMU-220を、0.05M NaHCO₃-Na₂CO₃緩

衝溶液などのいくつかの他の緩衝液ではなく、PBSと最初に混合したとき、PD-L1を発現する細胞（例えば、MC-38-B7H1）へのTCO標識FMU0220またはFMU-230Bの結合が検出された。

MC-38-B7H1細胞への ^{68}Ga -DOTA-Tz-TCO-PD-L1の結合【0447】

MC-38-B7H1およびMC-38細胞を $5 \times 10^5 / \text{mL}$ の密度で、プレートで培養した。2 μL のTCO-PD-L1（400 μL のPBS中の100 μL のTCO-FMU-220またはTCO-FMU-230B）を2日目に添加し、37℃で1時間、無血清培地中でインキュベートした。次いで、1 μL の ^{68}Ga -Tzを添加し、30分間インキュベートした。次いで、細胞をPBSで洗浄し、5分間、200 μL のトリプシン消化で処理した。細胞を200 μL のPBSに浮遊させ、放射活性を γ カウンターで定量した。

【0448】

^{68}Ga -Tz放射活性が、 ^{68}Ga -DOTA-Tz-TCO-FMU-230Bおよび ^{68}Ga -DOTA-Tz-TCO-FMU-220のいずれかで処理したMC-38-B7H1細胞において検出されたが、異なる特性を有した。

【0449】

^{68}Ga -DOTA-Tz-TCO-FMU-230B処理のもとでは、MC-38細胞については放射活性がほとんど検出されなかった（図12）。これは、結合がPD-L1によって特異的に媒介されたことを示唆する。

【0450】

^{68}Ga -DOTA-Tz-TCO-FMU-220処理のもとでは、MC-38細胞と比較してMC-38-B7H1細胞に関して有意に大きい放射活性（radioactivity）も検出された。これは、PD-L1への特異的結合を示唆する（図13）。 ^{68}Ga -DOTA-Tz-TCO-FMU-230Bの結果と比較したとき、MC-38-B7H1に関して相対的に低い放射活性、およびMC-38細胞に関して相対的に高い放射活性が、観察された。この結合特異性低下は、FMU-220の凍結-解凍の反復に起因する可能性がある。

（実施例6）

^{68}Ga -DOTA-Tz-TCO-PD-L1-scFv-Fcのin vivoライブイメージング

【0451】

MC-38-PD-L1細胞を培養し、トリプシン消化後にカウントした。1 $\times 10^6$ 個のMC-38-PD-L1細胞を5匹の6～8週齢メスマウスの右腋窩に注射し、1 $\times 10^6$ 個のMC-38-PD-L1細胞をそのマウスの左腋窩に注射した。腫瘍は、6日後に直径約0.5 cmに達し、この時点で動物に下記のようにTCO-FMU-220またはTCO-FMU-230Bを施した。

I. ^{68}Ga -DOTA-Tz-TCO-FMU-220のイメージング

A. 事前標的化の3時間後

【0452】

マウスに尾静脈経由で150 μL のPBS中のTCO-FMU-220 50 μL （約100 μg ）を注射した。3時間後、 ^{68}Ga -Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および150分の時点でマウスをイメージングした。次の組織臓器を可視化した：膀胱、腎臓、腫瘍、および心臓。事前標的化の3時間後、右腋窩の腫瘍における取込みが高かった。一部の動物は、心臓イメージングを示し、膀胱および／または腎臓に相対的に高い取込みがあった。60分および150分の時点での代表的画像を図14に示した。

B. 事前標的化の24時間後

【0453】

マウスに尾静脈経由で150 μL のPBS中のTCO-FMU-220 50 μL を注射した。24時間後、 ^{68}Ga -Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および

10

20

30

40

50

150分の時点でマウスをイメージングした。次の組織臓器を可視化した：膀胱、腎臓、腫瘍、および心臓。事前標的化の24時間後、右腋窩の腫瘍における取込みが高かった。一部の動物は、心臓イメージングを示し、膀胱および／または腎臓に相対的に高い取込みがあった。60分および150分の時点での代表的画像を図15に示した。

C．事前標的化の48時間後

【0454】

マウスに尾静脈経由で150uLのPBS中のTCO-FMU-220 50uLを注射した。48時間後、 ^{68}Ga -Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および150分の時点でマウスをイメージングした。次の組織臓器を可視化した：膀胱、腎臓、腫瘍、および心臓。事前標的化の48時間後、右腋窩の腫瘍における取込みが高かった。一部の動物は、心臓イメージングを示し、膀胱および／または腎臓に相対的に高い取込みがあった。代表的画像は、60分の時点における取込みが150分の時点における取込みより高いことを示す。図16を参照されたい。

【0455】

結論として、TCO-FMU-220抗体の*in vivo*イメージングを事前標的化後少なくとも3～48時間にわたって可視化することができる。1つの好適な条件は、3～24時間の動物の事前標的化、その後、 ^{68}Ga -Tz注射の60分後の動物のイメージングである。

II. ^{68}Ga -DOTA-Tz-TCO-FMU-230Bのイメージング

A．事前標的化の3時間後

【0456】

マウスに尾静脈経由で150uLのPBS中のTCO-FMU-230B 50uL（約120ug）を注射した。3時間後、 ^{68}Ga -Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および150分の時点でマウスをイメージングした。次の組織臓器を可視化した：膀胱、腎臓、腫瘍、および心臓。代表的画像を図17に示す。3時間の事前標的化後、右腋窩における腫瘍取込みのほうが高かった（特に、動物#7において）。一部の動物には、心臓および肝臓に取込みがあった（動物#8）。一部の動物では、膀胱の取込みのほうが高く、これに腎臓が続いた。動物#5および#6には、薬物漏出があった。動物#6には、60分の時点でリンパ節に取込みがあった。150分の時点で腫瘍を明瞭に可視化することができる。

B．事前標的化の24時間後

【0457】

マウスに尾静脈経由で150uLのPBS中のTCO-FMU-230B 50uLを注射した。24時間後、 ^{68}Ga -Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および150分の時点でマウスをイメージングした。次の組織臓器を可視化した：膀胱、腎臓、腫瘍、および心臓。代表的画像を図18に示す。事前標的化の24時間後、腫瘍取込みが高かった。一部の動物は、心臓イメージングを示し、高い膀胱取込みがあり、これに腎臓が続いた。60分の時点でのイメージングは、150分の時点でのイメージングより明らかである。マウス#6についての画像は、その死亡のため、無い。

C．事前標的化の48時間後

【0458】

マウスに尾静脈経由で150uLのPBS中のTCO-FMU-230B 50uLを注射した。48時間後、 ^{68}Ga -Tzを尾静脈に注射した。次いで、注射後60分および150分の時点でマウスをイメージングした。次の組織臓器を可視化した：膀胱、腎臓、腫瘍、および心臓。代表的画像を図19に示す。事前標的化の48時間後、腫瘍の取込みが高かった。一部の動物は、心臓イメージングを示し、膀胱および腎臓に相対的に高い取込みがあった。60分の時点でのイメージングは、150分の時点でのイメージングより明らかである。マウス#6についての画像は、その死亡のため、無い。

【0459】

結論として、TCO-FMU-230B抗体を3～48時間、事前標的化した後、画像

10

20

30

40

50

を可視化した。イメージングの1つの好適な条件は、3～24時間のマウスの事前標的化、その後、 ^{68}Ga -Tz注射の60分後のマウスのイメージングである。

【0460】

要するに、ヒトPD-L1を標的とする高い親和性、熱安定性の抗体、および改変された抗体様融合タンパク質(scfv-fc)をin vivoイメージング剤として操作した。それをTCOと首尾よくコンジュゲートした。 ^{68}Ga -DOTA-Tzで標識することで、TCO-PD-L1とPD-L1発現細胞(例えば、MC-38-B7H1細胞)の結合をin vivoライブイメージングで可視化することができ、個体におけるPD-L1の分布を首尾よく可視化することができる。

本発明は、例えば以下の項目を提供する。

(項目1)

抗体部分を含む抗体剤であって、前記抗体部分が、抗体またはその抗原結合性断片であり、前記抗体またはその抗原結合性断片が、重鎖可変領域(V_H)および軽鎖可変領域(V_L)を含み、

a) 前記 V_H が、配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2、および配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3、または前記HC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含み；および

b) 前記 V_L が、配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3、または前記LC-CDRに最大合計約5つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、

抗体剤。

(項目2)

a) 前記 V_H が、配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1と、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2と、配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3とを含み；および/または

b) 前記 V_L が、配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1と、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2と、配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3とを含む、

項目1に記載の抗体剤。

(項目3)

a) 前記 V_H が、配列番号1、5、9、11および13のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；および

b) 前記 V_L が、配列番号3、7、15、17および19のいずれか1つのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、

項目1または2に記載の抗体剤。

(項目4)

前記抗体部分が、配列番号21または23のアミノ酸配列に対して少なくとも約80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、項目3に記載の抗体剤。

(項目5)

抗体部分を含む抗体剤であって、前記抗体部分が、抗体またはその抗原結合性断片であり、前記抗体またはその抗原結合性断片が、 V_H と V_L とを含む抗PD-L1抗体と競合してPD-L1に特異的に結合し、

a) 前記 V_H が、配列番号41のアミノ酸配列を含むHC-CDR1と、配列番号42のアミノ酸配列を含むHC-CDR2と、配列番号43のアミノ酸配列を含むHC-CDR3とを含み；および

b) 前記 V_L が、配列番号44のアミノ酸配列を含むLC-CDR1と、配列番号45のアミノ酸配列を含むLC-CDR2と、配列番号46のアミノ酸配列を含むLC-CDR3とを含む、

10

20

30

40

50

抗体剤。

(項目6)

前記抗体部分が、一本鎖Fv(s c F v)、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片(ds F v)、(ds F v)₂、V_HH、Fv-Fc融合体、s c F v-Fc融合体、s c F v-Fv融合体、ダイアボディ、トリボディおよびテトラボディからなる群から選択される、項目1から5のいずれか一項に記載の抗体剤。

(項目7)

前記抗体部分が、IgG、IgM、IgA、IgDおよびIgEからなる群から選択されるアイソタイプを有する、項目1から6のいずれか一項に記載の抗体剤。

(項目8)

前記抗体部分が、Fc断片に融合したs c F vを含む、項目1から7のいずれか一項に記載の抗体剤。

(項目9)

前記Fc断片が、H310AおよびH435Q変異を含み、前記アミノ酸位置が、Kab_at番号付けシステムに基づく、項目8に記載の抗体剤。

(項目10)

第1のコンジュゲーション部分をさらに含み、前記第1のコンジュゲーション部分が、i n v i v oで第2のコンジュゲーション部分にコンジュゲートされ得る、項目1から9のいずれか一項に記載の抗体剤。

(項目11)

前記第1のコンジュゲーション部分が、クリックケミストリー対のメンバーを含む、項目10に記載の抗体剤。

(項目12)

前記クリックケミストリー対が、trans-シクロオクテン(TCO)-テトラジン(Tz)対、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロソ対、アルケン-テトラゾール対、およびイソニトリル-テトラジン対からなる群から選択される、項目11に記載の抗体剤。

(項目13)

項目1から12のいずれか一項に記載の抗体剤の抗体部分をコードするポリヌクレオチド。

(項目14)

項目1に記載のポリヌクレオチドを含む核酸構築物であって、前記ポリヌクレオチドと動作可能に接続されているプロモーターを必要に応じてさらに含む核酸構築物。

(項目15)

項目14に記載の核酸構築物を含むベクター。

(項目16)

項目13に記載のポリヌクレオチド、項目14に記載の核酸構築物、または項目15に記載のベクターを含む、宿主細胞。

(項目17)

項目1から9に記載の抗体剤の抗体部分、項目13に記載のポリヌクレオチド、項目14に記載の核酸構築物、項目15に記載のベクター、または項目16に記載の宿主細胞を含む、培養培地。

(項目18)

個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定する方法であって、

(a) 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤の有効量を前記個体に投与するステップであって、前記抗体部分が前記免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、ステップ；

(b) その後、放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量を前記個体に投与するステップであって、前記第1のコンジュゲーション部分および前記第2のコンジュゲーション部分が、i n v i v oで互いにコンジュゲートされてイメージング剤を生じさせる、ステップ；および

(c) 非侵襲的イメージング技術を用いて前記個体における前記イメージング剤をイメー

10

20

30

40

50

ジングするステップを含む方法。(項目 19)

前記第1のコンジュゲーション部分および前記第2のコンジュゲーション部分各々が、クリックケミストリー対のメンバーを含み、クリックケミストリーによって互いにコンジュゲートされる、項目18に記載の方法。

(項目 20)

前記ケミストリー対が、TCO-Tz対、アジド-アルキン対、アルキン-ニトロロン対、アルケン-テトラゾール対、およびイソニトリル-テトラジン対からなる群から選択される、項目19に記載の方法。

(項目 21)

前記第1のコンジュゲーション部分がtrans-シクロオクテン(TCO)であり、前記第2のコンジュゲーション部分がテトラジン(Tz)であるか、または前記第1のコンジュゲーション部分がTzであり、前記第2のコンジュゲーション部分がTCOである、項目19に記載の方法。

(項目 22)

前記放射性核種化合物が、前記抗体剤の投与後約1時間～約100時間の間に投与される、項目18から21のいずれか一項に記載の方法。

(項目 23)

前記抗体剤の前記有効量が、約0.1mg/kg～約100mg/kgの間である、項目18から22のいずれか一項に記載の方法。

(項目 24)

前記放射性核種の前記有効量が、約10uCi～約500uCiの間である、項目18から23のいずれか一項に記載の方法。

(項目 25)

前記イメージングが、前記放射性核種化合物の投与後約30分～約24時間の間に行われる、項目18から24のいずれか一項に記載の方法。

(項目 26)

前記個体の目的の組織における前記免疫チェックポイントリガンドの発現レベルを、前記組織から前記イメージング剤により放出されるシグナルに基づいて決定するステップをさらに含む、項目18から25のいずれか一項に記載の方法。

(項目 27)

前記イメージング剤が、約10分～約7日の間以内に前記個体からクリアランスされる、項目18から26のいずれか一項に記載の方法。

(項目 28)

前記抗体剤の半減期が、血清中で約10分～約8日の間である、項目18から27のいずれか一項に記載の方法。

(項目 29)

前記抗体部分と前記免疫チェックポイントリガンドとの結合が、約 9×10^{-10} M～約 1×10^{-8} Mの間の K_D を有する、項目18から28のいずれか一項に記載の方法。

(項目 30)

前記抗体部分の分子量が、約400kDa以下である、項目18から29のいずれか一項に記載の方法。

(項目 31)

前記抗体部分が、非ヒト哺乳動物からの前記免疫チェックポイントリガンドと交差反応する、項目18から30のいずれか一項に記載の方法。

(項目 32)

前記抗体部分がヒト化されている、項目18から31のいずれか一項に記載の方法。

(項目 33)

前記抗体部分が、酸性pHで安定している、項目18から32のいずれか一項に記載の方

10

20

30

40

50

法。

(項目 3 4)

前記抗体部分が、約 5 5 ~ 7 0 °C の融解温度 (T_m) を有する、項目 1 8 から 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 3 5)

前記抗体部分が、一本鎖 F_v (s c F_v)、F a b、F a b'、F (a b')₂、F_v 断片、ジスルフィド安定化 F_v 断片 (d s F_v)、(d s F_v)₂、V_HH、F_v-F_c 融合体、s c F_v-F_c 融合体、s c F_v-F_v 融合体、ダイアボディ、トリボディおよびテトラボディからなる群から選択される、項目 1 8 から 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 3 6)

前記抗体部分が、F_c 断片に融合した s c F_v を含む、項目 1 8 から 3 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 3 7)

前記 F_c 断片が、ヒト I g G 1 F_c 断片である、項目 3 6 に記載の方法。

(項目 3 8)

前記 F_c 断片が、H 3 1 0 A および H 4 3 5 Q 変異を含み、前記アミノ酸位置が、K a b a t 番号付けシステムに基づく、項目 3 6 または 3 7 に記載の方法。

(項目 3 9)

前記免疫チェックポイントリガンドが、P D - L 1 または P D - L 1 様リガンドである、項目 1 8 から 3 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 0)

前記抗体部分が、重鎖可変領域 (V_H) および軽鎖可変領域 (V_L) を含み、

a) 前記 V_H が、配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域 1 (H C - C D R 1)、配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 2、および配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含む H C - C D R 3、または前記 H C - C D R に最大合計約 5 つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含み；および

b) 前記 V_L が、配列番号 4 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域 1 (L C - C D R 1)、配列番号 4 5 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 2、および配列番号 4 6 のアミノ酸配列を含む L C - C D R 3、または前記 L C - C D R に最大合計約 5 つのアミノ酸置換を含むそのバリエーションを含む、

項目 1 8 から 3 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 1)

目的の前記組織が、免疫組織化学 (I H C) アッセイに基づいて前記免疫チェックポイントリガンドに対して陰性である、項目 1 8 から 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 2)

目的の前記組織が、前記免疫チェックポイントリガンドの低い発現レベルを有する、項目 1 8 から 4 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 3)

目的の前記組織が、免疫細胞の浸潤の際にのみ前記免疫チェックポイントリガンドを発現する、項目 1 8 から 4 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 4)

ある期間にわたって前記個体をイメージングするステップをさらに含む、項目 1 8 から 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 5)

前記放射性核種が、⁶⁴C u、¹⁸F、⁶⁷G a、⁶⁸G a、¹¹¹I n、¹⁷⁷L u、⁹⁰Y、⁸⁹Z r、⁶¹C u、⁶²C u、⁶⁷C u、¹⁹F、⁶⁶G a、⁷²G a、⁴⁴S c、⁴⁷S c、⁸⁶Y、⁸⁸Y および ⁴⁵T i からなる群から選択される、項目 1 8 から 4 4 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 6)

前記放射性核種が、⁶⁸G a である、項目 4 5 に記載の方法。

10

20

30

40

50

(項目 4 7)

前記放射性核種化合物が、前記放射性核種をキレート化するキレート化合物を含む、項目 1 8 から 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 8)

前記キレート化合物が、1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸 (NOTA)、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸 (DOTA) またはその誘導体である、項目 4 7 に記載の方法。

(項目 4 9)

前記非侵襲性イメージング技術が、単光子放出コンピュータ断層撮影 (SPECT) イメージングまたは陽電子放出断層撮影 (PET) イメージングを含む、項目 1 8 から 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

10

(項目 5 0)

前記非侵襲的イメージング技術が、コンピュータ断層撮影イメージング、磁気共鳴イメージング、化学発光イメージング、または電気化学発光イメージングを含む、項目 1 8 から 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 1)

前記抗体剤が、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される、項目 1 8 から 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 2)

前記放射性核種化合物が、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下または経口投与される、項目 1 8 から 5 1 のいずれか一項に記載の方法。

20

(項目 5 3)

前記個体が、固形腫瘍、血液悪性疾患、感染性疾患、自己免疫疾患、または代謝疾患を有する、項目 1 8 から 5 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 4)

疾患または状態を有する個体を診断する方法であって、

(a) 項目 1 8 から 5 3 のいずれか一項に記載の方法を使用して前記個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定するステップ、および

(b) 前記イメージング剤のシグナルが目的の組織で検出された場合には前記個体を前記免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断し、または前記イメージング剤のシグナルが目的の組織で検出されなかった場合には前記個体を前記免疫チェックポイントリガンドに対して陰性と診断するステップを含む方法。

30

(項目 5 5)

疾患または状態を有する個体を処置する方法であって、

(a) 項目 5 4 に記載の方法を使用して前記個体を診断するステップ、および

(b) 前記個体が前記免疫チェックポイントリガンドに対して陽性と診断された場合、前記免疫チェックポイントリガンドを標的とする治療剤の有効量を前記個体に投与するステップ

を含む方法。

40

(項目 5 6)

(a) 抗体部分と第 1 のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤であって、前記抗体部分が免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、抗体剤と、

(b) 放射性核種と第 2 のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物とを含む、キットであって、

前記第 1 のコンジュゲーション部分および前記第 2 のコンジュゲーション部分が、in vivo で互いにコンジュゲートすることができる、キット。

(項目 5 7)

ユーザからの個体における免疫チェックポイントリガンドの分布を決定するように求める要求を受信する入力ユニット；

50

前記入力ユニットに動作可能に連結された1つまたは複数のコンピュータプロセッサを具備する、コンピュータシステムであって、

前記1つまたは複数のコンピュータプロセッサが、

a) 個体の目的の組織におけるイメージング剤のシグナルを含むデータのセットを受信するように、

この場合、前記イメージング剤は、

i. 抗体部分と第1のコンジュゲーション部分とを含む抗体剤であって、前記抗体部分が前記免疫チェックポイントリガンドに特異的に結合する、抗体剤の有効量の前記個体への投与、および

ii. 放射性核種と第2のコンジュゲーション部分とを含む放射性核種化合物の有効量の前記個体へのその後の投与

の後に、前記第1のコンジュゲーション部分と前記第2のコンジュゲーション部分のコンジュゲーションによって *in vivo* で産生される；

b) 前記データを読み取り可能な様式で提示するようにまたは前記データの解析を生成するように、

個別にまたは集散的にプログラムされる、コンピュータシステム。

【図面】

【図1-1】

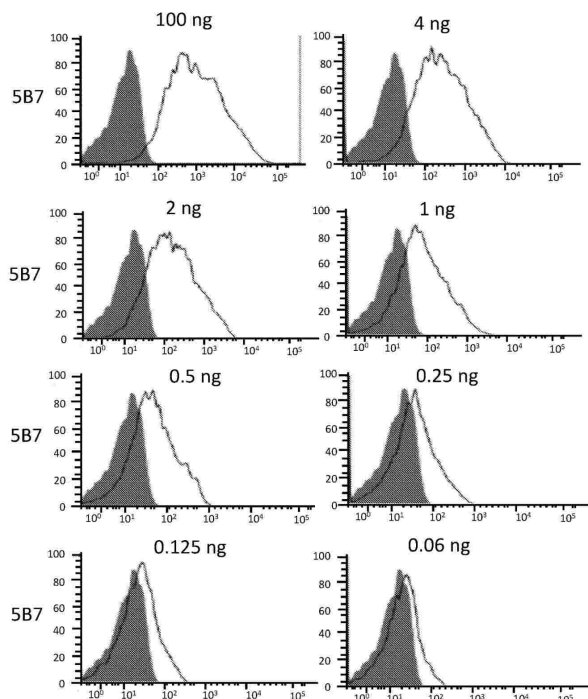


FIG. 1A

【図1-2】

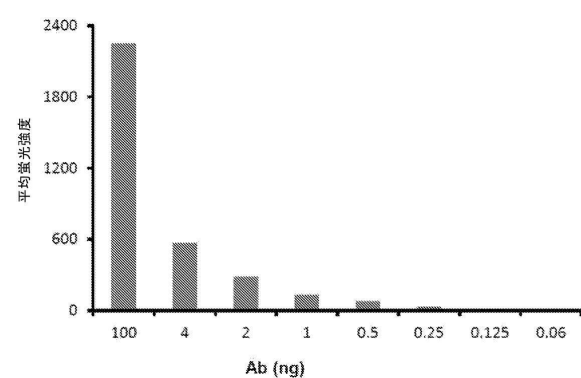
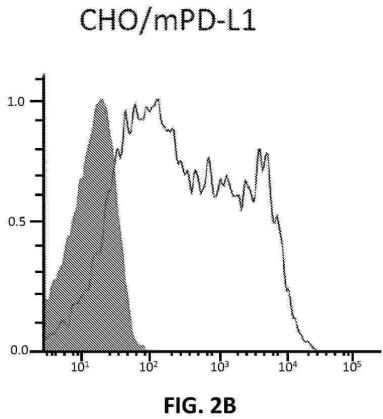
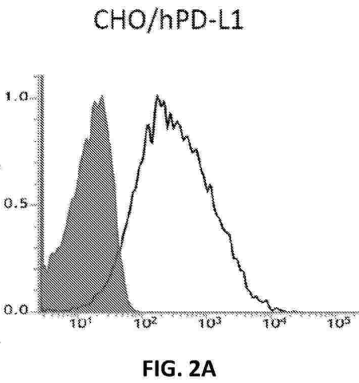
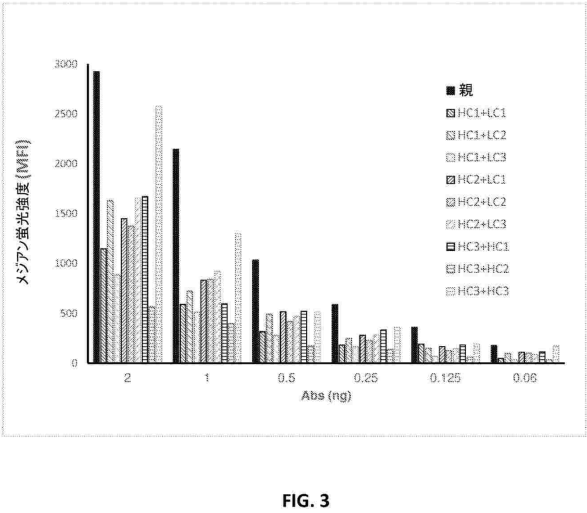


FIG. 1B

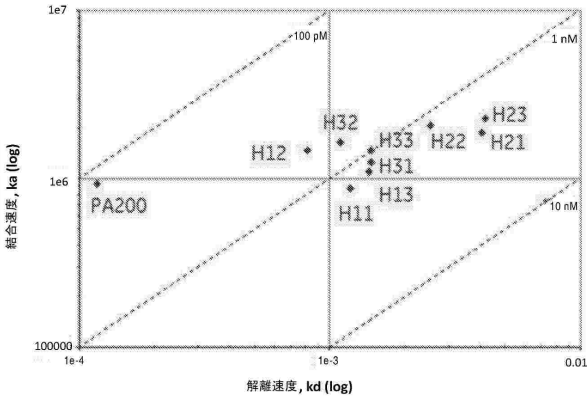
【図 2】



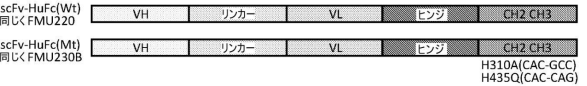
【図 3】



【図 4】



【図 5】



【図 6】

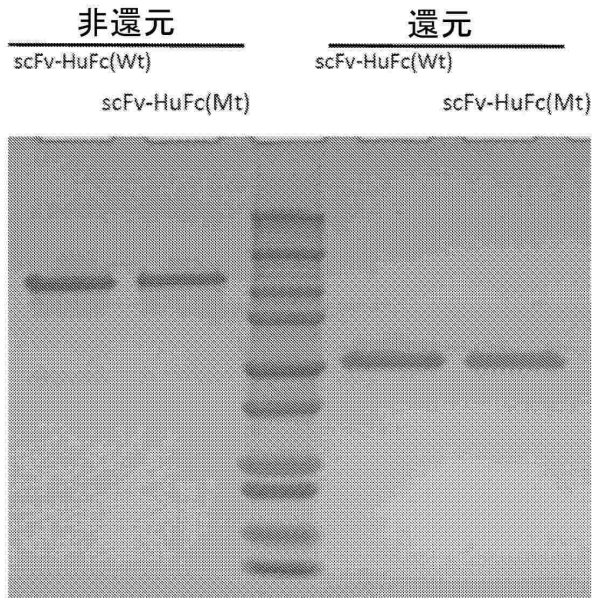


FIG. 6

【図 7】

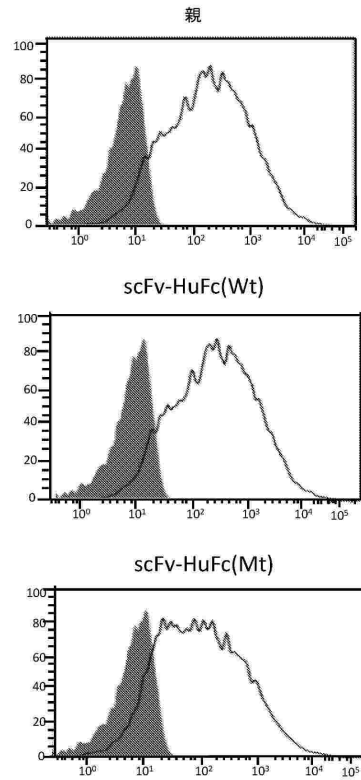


FIG. 7

【図 8】

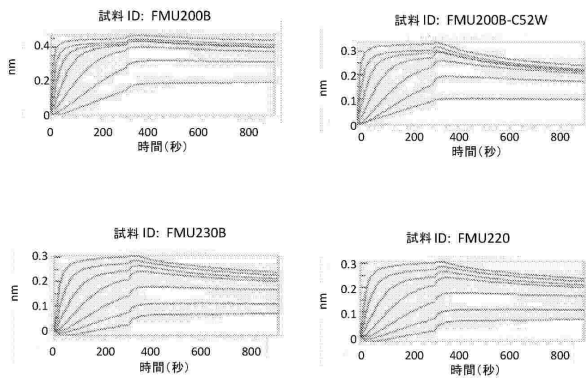
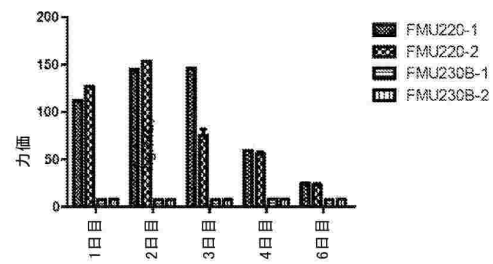


FIG. 8

【図 9】

A hPD-L1抗体の血清力価



B hIgGの血清力価

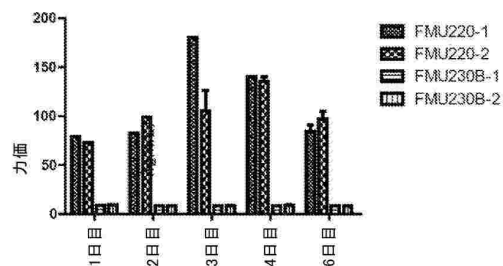


FIG. 9

【図 10】

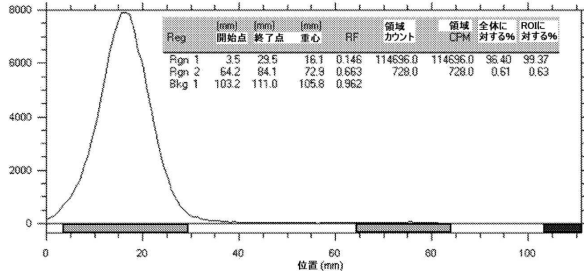


FIG. 10

【図 11】

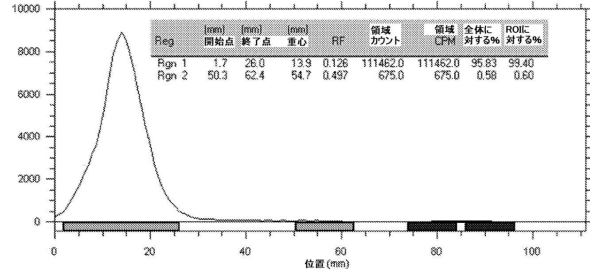


FIG. 11

10

【図 12】

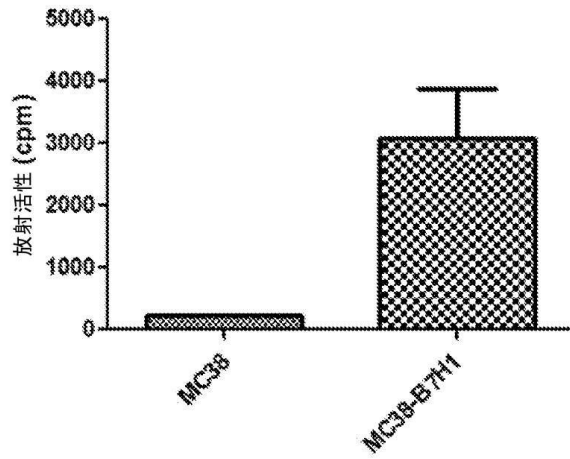


FIG. 12

【図 13】

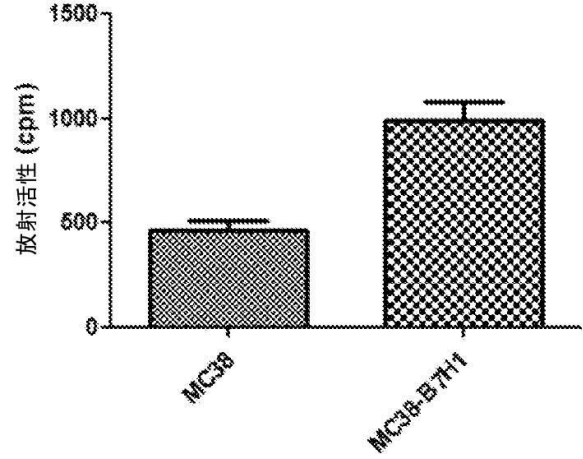


FIG. 13

20

30

40

50

【図 1 4】

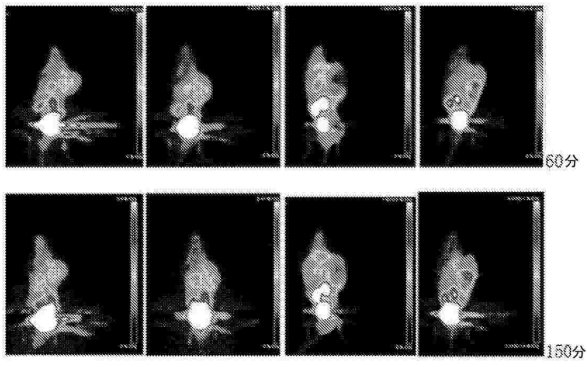


FIG. 14

【図 1 5】

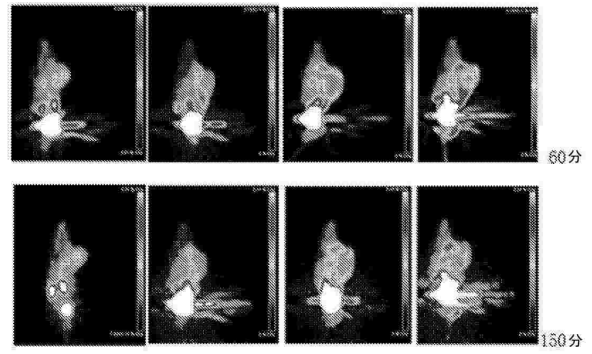


FIG. 15

【図 1 6】

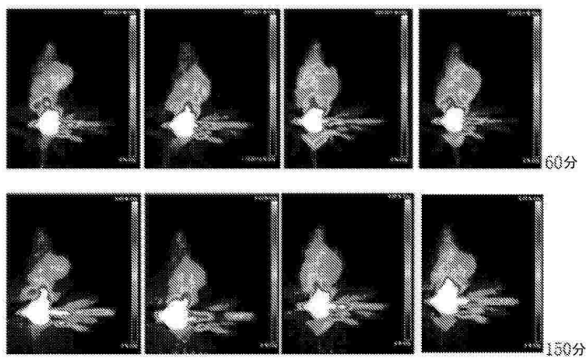


FIG. 16

【図 1 7】

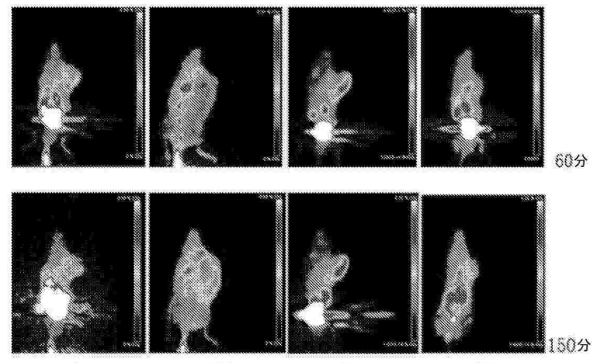


FIG. 17

#5

#6

#7

#8

10

20

30

40

50

【図 18】



5



60分



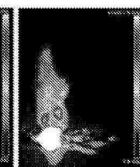
150分

7

8

FIG. 18

【図 19】



60分



150分

FIG. 19

【配列表】

0007554178000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 1 2 N 1/19 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 C 0 7 K 16/46 (2006.01)
 A 6 1 K 51/10 (2006.01)

F I

C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 5/10
 C 0 7 K 16/46
 A 6 1 K 51/10

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100188433

弁理士 梅村 幸輔

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100214396

弁理士 塩田 真紀

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 チェン, リエピン

中華人民共和国 1 0 2 6 2 9 ベイジン, ダシン ディストリクト, ベイザンチュン タウン,
 ヨンワン シールー 2 6 ユアン, ジョングアンチュン イーリャオチーシェ ユアン, 1 2-2 ロウ
 ルオ, リチュン

(72)発明者 中華人民共和国 1 0 2 6 2 9 ベイジン, ダシン ディストリクト, ベイザンチュン タウン,
 ヨンワン シールー 2 6 ユアン, ジョングアンチュン イーリャオチーシェ ユアン, 1 2-2 ロウ
 ウェン, ジェンゴオ

(72)発明者 中華人民共和国 1 0 2 6 2 9 ベイジン, ダシン ディストリクト, ベイザンチュン タウン,
 ヨンワン シールー 2 6 ユアン, ジョングアンチュン イーリャオチーシェ ユアン, 1 2-2 ロウ
 リウ, チャンヨン

中華人民共和国 1 0 2 6 2 9 ベイジン, ダシン ディストリクト, ベイザンチュン タウン,
 ヨンワン シールー 2 6 ユアン, ジョングアンチュン イーリャオチーシェ ユアン, 1 2-2 ロウ

審査官 松田 芳子

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 8 / 1 0 2 6 8 2 (WO, A 1)

国際公開第 2 0 1 7 / 1 3 4 3 0 5 (WO, A 1)

Bioconjugate Chem., 2017年11月10日, vol.29, p.96-103

Theranostics, 2016年, vol.6, p.1629-1640

The Journal of Nuclear Medicine, 2018年05月01日, vol.59, issue supplement 1

Cancer Letters, 2018年02月, vol.414, p.230-238

The AAPS Journal, 2018年03月, vol.20, no.2, p.1-16

Oncotarget, 2016年, vol.7, no.23, p.34341-34355

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 0 7 K 1 6 / 3 0

C 1 2 N 1 5 / 0 9

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

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