

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7584453号  
(P7584453)

(45)発行日 令和6年11月15日(2024.11.15)

(24)登録日 令和6年11月7日(2024.11.7)

(51)国際特許分類		F I	
C 0 7 K	16/30 (2006.01)	C 0 7 K	16/30
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13 Z N A
C 1 2 N	15/85 (2006.01)	C 1 2 N	15/85 Z
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00
請求項の数 34 (全93頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-571870(P2021-571870)	(73)特許権者	592017633
(86)(22)出願日	令和2年6月4日(2020.6.4)		ザ ジェネラル ホスピタル コーポレイ
(65)公表番号	特表2022-535410(P2022-535410 A)		ション
(43)公表日	令和4年8月8日(2022.8.8)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ボ
(86)国際出願番号	PCT/US2020/036108	(74)代理人	110002077
(87)国際公開番号	WO2020/247618		園田・小林弁理士法人
(87)国際公開日	令和2年12月10日(2020.12.10)	(72)発明者	マウス, マルセラ ヴィー.
審査請求日	令和5年6月5日(2023.6.5)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
(31)優先権主張番号	62/856,998		4 2 1, レキシントン, リッチモンド
(32)優先日	令和1年6月4日(2019.6.4)		サークル 1 6
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	ラーソン, レベッカ
(31)優先権主張番号	63/012,735		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
(32)優先日	令和2年4月20日(2020.4.20)		1 1 4, ボストン, フルーツ ストリ
最終頁に続く			ート 5 5
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 T A C I を標的とする抗体及びキメラ抗原受容体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

t r a n s m e m b r a n e a c t i v a t o r a n d c a l c i u m m o d u l a t o r a n d c y c l o p h i l i n l i g a n d i n t e r a c t o r ( T A C I ) に特異的に結合する抗体であって、

( i ) 配列番号： 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 ( V H ) の重鎖相補性決定領域 1 ( C D R - H 1 ) 、重鎖相補性決定領域 2 ( C D R - H 2 ) 、及び重鎖相補性決定領域 3 ( C D R - H 3 ) ; 及び

( i i ) 配列番号： 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 ( V L ) の軽鎖相補性決定領域 1 ( C D R - L 1 ) 、軽鎖相補性決定領域 2 ( C D R - L 2 ) 、及び軽鎖相補性決定領域 3 ( C D R - L 3 ) を含む、抗体。

【請求項 2】

抗体が、

( i ) 配列番号： 2 6 に記載の C D R - H 1 、配列番号： 2 7 に記載の C D R - H 2 、及び配列番号： 2 8 に記載の C D R - H 3 ; 配列番号： 2 9 に記載の C D R - L 1 、配列番号： 3 0 に記載の C D R - L 2 、及び配列番号： 3 1 に記載の C D R - L 3 ;

( i i ) 配列番号： 3 2 に記載の C D R - H 1 、配列番号： 3 3 に記載の C D R - H 2 、及び配列番号： 3 4 に記載の C D R - H 3 ; 配列番号： 3 5 に記載の C D R - L 1 、配列番号： 3 6 に記載の C D R - L 2 、及び配列番号： 3 1 に記載の C D R - L 3 ; 又は

( i i i ) 配列番号： 3 7 に記載の C D R - H 1 、配列番号： 3 8 に記載の C D R - H

2、及び配列番号：39に記載のCDR-H3；配列番号：40に記載のCDR-L1、配列番号：30に記載のCDR-L2、及び配列番号：41に記載のCDR-L3を含み、抗体が2 nM以下の $K_D$ でTACIに結合する、請求項1に記載の抗体。

【請求項3】

抗体が、配列番号：1のアミノ酸配列に対して少なくとも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（VH）及び配列番号：2のアミノ酸配列に対して少なくとも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（VL）を含む、請求項1又は2に記載の抗体。

【請求項4】

請求項1から3の何れか一項に記載の抗体をコードするポリヌクレオチド、又は前記ポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項5】

細胞外標的結合ドメインを含むキメラ抗原受容体（CAR）ポリペプチドであって、前記細胞外標的結合ドメインがTACI結合ドメインを含み、前記TACI結合ドメインが、請求項1から3の何れか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含み、かつ

（a）CARポリペプチドが膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインを含む、

（b）CARポリペプチドが一又は複数の共刺激ドメインを含む、

（c）TACI結合ドメインが、APRIL、BAFF、CAMLG、又はそれらの一部を含まない、及び/又は

（d）TACI結合ドメインが、2 nM以下の $K_D$ でTACIに結合する、CARポリペプチド。

【請求項6】

前記TACI結合ドメインが抗TACI単鎖可変断片（scFv）を含み、抗TACI scFvが、配列番号：1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重鎖可変領域（VH）を含み、又は、VHが配列番号：1のアミノ酸配列を含み、かつ

前記抗TACI scFvが、配列番号：2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軽鎖可変領域（VL）を含み、又は、VLが配列番号：2のアミノ酸配列を含む、請求項5に記載のCARポリペプチド。

【請求項7】

VHがVLのN末端に位置し、又は、VLがVHのN末端に位置する、請求項6に記載のCARポリペプチド。

【請求項8】

VHとVLがリンカー配列を介して連結されている、請求項7に記載のCARポリペプチド。

【請求項9】

リンカー配列が、配列番号：14、15、16、17又は3のアミノ酸配列を含む、請求項8に記載のCARポリペプチド。

【請求項10】

（a）TACI結合ドメインが、配列番号：4又は5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、又は、TACI結合ドメインが、配列番号：4又は5のアミノ酸配列を含む；

（b）膜貫通ドメインが、ヒンジ/膜貫通ドメインを含む、且

（c）細胞内シグナル伝達ドメインが、CD3、CD3、又はCD3の細胞内シグナル伝達ドメインを含む；及び/又は

（d）共刺激ドメインが、4-1BB、CD28、CD27、ICOS、又はOX40の共刺激ドメインを含む、

請求項5又は6に記載のCARポリペプチド。

【請求項11】

10

20

30

40

50

ヒンジ / 膜貫通ドメインが、免疫グロブリン様タンパク質、C D 2 8、C D 8、又は 4 - 1 B B のヒンジ / 膜貫通ドメインを含む、請求項 1 0 に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 1 2】

ヒンジ / 膜貫通ドメインが、C D 8 のヒンジ / 膜貫通ドメインである、請求項 1 1 に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 1 3】

ヒンジ / 膜貫通ドメインが、C D 8 のヒンジ / 膜貫通ドメインであり、C D 8 のヒンジ / 膜貫通ドメインが、配列番号：7 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 2 に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 1 4】

細胞内シグナル伝達ドメインが C D 3 の細胞内シグナル伝達ドメインを含、請求項 1 0 に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 1 5】

C D 3 の細胞内シグナル伝達ドメインが配列番号：9 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 4 に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 1 6】

共刺激ドメインが 4 - 1 B B の共刺激ドメインを含む、請求項 1 0 に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 1 7】

4 - 1 B B の共刺激ドメインが配列番号：8 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 6 に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 1 8】

C A R ポリペプチドが、配列番号：1 0、1 1、1 2、又は 1 3 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 から 1 7 の何れか一項に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 1 9】

C A R ポリペプチドが、配列番号：1 0、1 1、1 2、又は 1 3 のアミノ酸配列を含む、請求項 5 から 1 8 の何れか一項に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 2 0】

第二の標的が B 細胞成熟抗原 ( B C M A ) であり、前記細胞外標的結合ドメインが第二の標的のリガンドを含む、あるいは、抗体又はその抗原結合断片を含む、請求項 5 から 1 9 の何れか一項に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 2 1】

抗体、その抗原結合断片が s c F v である、請求項 1 9 又は 2 0 に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 2 2】

抗 B C M A s c F v が抗 T A C I s c F v の N 末端に位置するか、抗 T A C I s c F v が抗 B C M A s c F v の N 末端に位置する、請求項 2 1 に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 2 3】

配列番号 1 8、1 9、2 0、2 1、2 2、2 3 又は 2 4 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 9 に記載の C A R ポリペプチド。

【請求項 2 4】

哺乳動物細胞が、人工多能性幹細胞 ( i P S C ) 又は免疫細胞である、請求項 5 から 2 3 の何れか一項に記載の C A R ポリペプチドを含む、哺乳動物細胞。

【請求項 2 5】

免疫細胞が T 細胞又はナチュラルキラー ( N K ) 細胞である、請求項 2 4 に記載の C A R ポリペプチドを含む、哺乳動物細胞。

【請求項 2 6】

哺乳動物細胞がヒト細胞である、請求項 2 4 に記載の C A R ポリペプチドを含む、哺乳動物細胞。

10

20

30

40

50

## 【請求項 27】

次の一又は複数：

( i ) 請求項 5 から 23 の何れか一項に記載の C A R ポリペプチド、請求項 4 に記載のポリヌクレオチド、及び / 又は請求項 24 から 26 の何れか一項に記載の哺乳動物細胞；及び

( i i ) 請求項 1 から 3 の何れか一項に記載の抗体、  
を含む、治療を必要とする対象の疾患又は障害を治療するための医薬。

## 【請求項 28】

前記疾患又は障害が、がん、自己免疫疾患又は障害、あるいは形質細胞疾患又は障害である、請求項 27 に記載の医薬。

## 【請求項 29】

前記がんが、T A C I を発現する細胞を含む、請求項 28 に記載の医薬。

## 【請求項 30】

前記がんが、多発性骨髄腫である、請求項 28 に記載の医薬。

## 【請求項 31】

対象が抗 B C M A 療法に抵抗性である、請求項 27 に記載の医薬。

## 【請求項 32】

前記自己免疫疾患又は障害が、自己免疫障害の一因となる高力価の抗体によって特徴付けられる、請求項 28 に記載の医薬。

## 【請求項 33】

前記自己免疫疾患又は障害が、移植片拒絶、移植片対宿主病、又は因子インヒビターを伴う血友病である、請求項 28 に記載の医薬。

## 【請求項 34】

形質細胞疾患又は障害が、形質細胞異常増殖症、形質細胞腫、形質細胞白血病、多発性骨髄腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローン性 グロブリン血症、又はくすぶり型多発性骨髄腫である、請求項 28 に記載の医薬。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## [ 関連出願 ]

この出願は、それぞれの全内容が出典明示によりここに援用される、2019年6月4日出願の「T A C I を標的とする抗体及びキメラ抗原受容体」と題された米国仮出願第62 / 856998号、2019年9月30日出願の「T A C I を標的とする抗体及びキメラ抗原受容体」と題された米国仮出願第62 / 907930号、及び2020年4月20日出願の「T A C I を標的とする抗体及びキメラ抗原受容体」と題された米国仮出願第63 / 012735号に対して米国特許法第119条(e)項に基づく利益を主張する。

## 【背景技術】

## 【0002】

キメラ抗原受容体(C A R)は、選択された標的抗原、ほとんどの場合は腫瘍抗原又は腫瘍関連抗原を発現する標的細胞に対して細胞傷害性T細胞応答を誘導する。C A Rは、抗原結合ドメインが、誘導された標的抗原に特異的に結合する抗体の抗原結合ドメインに置き換えられた、T細胞受容体の適応体である。例えば、T細胞上に発現されたC A Rによる標的細胞の表面上の標的抗原のエンゲージ(「C A R T細胞」又は「C A R - T」)は、標的細胞の殺傷を促進する。

## 【発明の概要】

## 【0003】

ここに記載されるのは、疾患又は障害、例えば、がん、形質細胞疾患又は障害、あるいは自己免疫疾患又は障害を有する対象を治療するために有用でありうる、transmembrane activator and calcium modulator and c

10

20

30

40

50



yclophilin ligand interactor (膜貫通活性化因子及びカルシウム調節因子並びにシクロフィリンリガンド相互作用物質) (TACI) を標的とする抗体、抗体薬物コンジュゲート、二重特異性T細胞エンゲージャー (BiTE)、及びキメラ抗原受容体 (CAR) である。

#### 【0004】

本開示の幾つかの態様は、transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor (TACI) に特異的に結合する抗体であって、

(i) 配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (VH) の重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2)、及び重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3)；及び/又は

(ii) 配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (VL) の軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、及び軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) を含む、抗体を提供する。

#### 【0005】

幾つかの実施態様では、抗体は、

(i) 配列番号：26に記載のCDR-H1、配列番号：27に記載のCDR-H2、及び配列番号：28に記載のCDR-H3；配列番号：29に記載のCDR-L1、配列番号：30に記載のCDR-L2、及び配列番号：31に記載のCDR-L3；

(ii) 配列番号：32に記載のCDR-H1、配列番号：33に記載のCDR-H2、及び配列番号：34に記載のCDR-H3；配列番号：35に記載のCDR-L1、配列番号：36に記載のCDR-L2、及び配列番号：31に記載のCDR-L3；又は

(iii) 配列番号：37に記載のCDR-H1、配列番号：38に記載のCDR-H2、及び配列番号：39に記載のCDR-H3；配列番号：40に記載のCDR-L1、配列番号：30に記載のCDR-L2、及び配列番号：41に記載のCDR-L3を含む。

#### 【0006】

幾つかの実施態様では、抗体は、約2 nM以下の $K_D$ でTACIに結合し、場合によっては、抗体は約500 pMと約1 nMの間の $K_D$ でTACIに結合し、更に場合によっては、抗体は約700 pMと約900 pMの間の $K_D$ でTACIに結合する。幾つかの実施態様では、抗体は、約861 pMの $K_D$ でTACIに結合する。

#### 【0007】

幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号：1のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン (VH) 及び/又は配列番号：2のアミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン (VL) を含む。幾つかの実施態様では、VHは配列番号：1のアミノ酸配列に対して少なくとも85%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、VLは配列番号：2のアミノ酸配列に対して少なくとも85%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号：1のアミノ酸配列を含むVHと配列番号：2のアミノ酸配列を含むVLとを含む。

#### 【0008】

幾つかの実施態様では、抗体は、モノクローナル、ヒト、ヒト化、又はキメラ抗体である。幾つかの実施態様では、抗体はモノクローナル抗体である。幾つかの実施態様では、抗体は完全長抗体である。幾つかの実施態様では、抗体は、TACIに特異的に結合する抗体断片である。幾つかの実施態様では、抗体断片は、Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、scFv、及び(Fab')<sub>2</sub>断片からなる群から選択される。幾つかの実施態様では、抗体はIgG抗体、場合によってはIgG1抗体である。幾つかの実施態様では、抗体はscFvである。幾つかの実施態様では、scFvは、配列番号：4又は配列番号：5と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含む。幾つかの実施態様では、scFvは、配列番号：4又は配列番号：5のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施態様では、s

10

20

30

40

50

c F v は F c に融合されている。

【 0 0 0 9 】

ここに記載の発明の別の態様は、ここに記載の抗体の何れかーを含む組成物に関する。

【 0 0 1 0 】

ここに記載の発明の別の態様は、ここに記載の抗体の何れかーをコードするポリヌクレオチドに関する。

【 0 0 1 1 】

ここに記載の発明の別の態様は、ここに記載のポリヌクレオチドの何れかーを含むベクターに関する。

【 0 0 1 2 】

ここに記載の発明の別の態様は、ここに記載のベクターの何れかーを含む宿主細胞に関する。

【 0 0 1 3 】

一実施態様では、宿主細胞は哺乳動物細胞である。一実施態様では、哺乳動物細胞はチャイニーズハムスター卵巣 ( C H O ) 細胞である。

【 0 0 1 4 】

別の実施態様では、宿主細胞は原核細胞である。一実施態様では、原核細胞は大腸菌である。

【 0 0 1 5 】

ここに記載の発明の別の態様は、T A C I に特異的に結合する抗体を産生する方法であって、培養培地中でここに記載の宿主細胞の何れかーを培養することを含む、方法に関する。一実施態様では、該方法は、宿主細胞又は培養培地から抗体を回収することを更に含む。

【 0 0 1 6 】

ここに記載の発明の別の態様は、ここに記載の抗体の何れかーを含む抗体薬物コンジュゲートに関する。

【 0 0 1 7 】

ここに記載の発明の別の態様は、細胞外標的結合ドメインを含み、細胞外標的結合ドメインがT A C I 結合ドメインを含む、キメラ抗原受容体 ( C A R ) ポリペプチドに関する。

【 0 0 1 8 】

一実施態様では、C A R ポリペプチドは膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【 0 0 1 9 】

一実施態様では、C A R ポリペプチドは一又は複数の共刺激ドメインを更に含む。

【 0 0 2 0 】

一実施態様では、T A C I 結合ドメインは、A P R I L、B A F F、C A M L G、又はそれらの一部を含まない。

【 0 0 2 1 】

一実施態様では、T A C I 結合ドメインは、約 2 n M 以下の  $K_D$  で T A C I に結合する。一実施態様では、T A C I 結合ドメインは、約 5 0 0 p M と約 1 n M の間の  $K_D$  で T A C I に結合する。一実施態様では、T A C I 結合ドメインは、約 7 0 0 p M と約 9 0 0 p M の間の  $K_D$  で T A C I に結合する。一実施態様では、T A C I 結合ドメインは約 8 6 1 p M の  $K_D$  で T A C I に結合する。

【 0 0 2 2 】

一実施態様では、T A C I 結合ドメインは抗体又はその抗原結合断片を含む。

【 0 0 2 3 】

ここに記載の発明の別の態様は、ここに記載の抗体の何れかー又はその抗原結合断片を含む細胞外標的結合ドメインを含む C A R ポリペプチドに関する。

【 0 0 2 4 】

何れかの態様の一実施態様では、T A C I 結合ドメインは抗 T A C I 単鎖可変断片 ( s

10

20

30

40

50

c F v ) を含む。

【 0 0 2 5 】

何れかの態様の一実施態様では、抗 T A C I s c F v は、配列番号： 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン ( V H ) を含む。

【 0 0 2 6 】

何れかの態様の一実施態様では、 V H は配列番号： 1 のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 7 】

何れかの態様の一実施態様では、抗 T A C I s c F v は、配列番号： 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン ( V L ) を含む。

10

【 0 0 2 8 】

何れかの態様の一実施態様では、 V L は配列番号： 2 のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 9 】

何れかの態様の一実施態様では、抗 T A C I s c F v は、配列番号： 1 のアミノ酸配列を含む V H と、配列番号： 2 のアミノ酸配列を含む V L を含む。

【 0 0 3 0 】

何れかの態様の一実施態様では、 V H は V L の N 末端に位置する。

【 0 0 3 1 】

何れかの態様の一実施態様では、 V L は V H の N 末端に位置する。

20

【 0 0 3 2 】

何れかの態様の一実施態様では、 V H と V L はリンカー配列を介して連結されている。

【 0 0 3 3 】

何れかの態様の一実施態様では、リンカー配列は、配列番号： 3、 1 4、 1 5、 1 6、又は 1 7 のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 3 4 】

何れかの態様の一実施態様では、リンカー配列は、配列番号： 3 のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 3 5 】

何れかの態様の一実施態様では、 T A C I 結合ドメインは、配列番号： 4 又は 5 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

30

【 0 0 3 6 】

何れかの態様の一実施態様では、 T A C I 結合ドメインは、配列番号： 4 又は 5 のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 3 7 】

何れかの態様の一実施態様では、膜貫通ドメインは、ヒンジ / 膜貫通ドメインを含む。

【 0 0 3 8 】

何れかの態様の一実施態様では、ヒンジ / 膜貫通ドメインは、免疫グロブリン様タンパク質、 C D 2 8、 C D 8、又は 4 - 1 B B のヒンジ / 膜貫通ドメインを含む。

【 0 0 3 9 】

何れかの態様の一実施態様では、ヒンジ / 膜貫通ドメインは、 C D 8 のヒンジ / 膜貫通ドメインであり、場合によっては、 C D 8 のヒンジ / 膜貫通ドメインは、配列番号： 7 のアミノ酸配列を含む。

40

【 0 0 4 0 】

何れかの態様の一実施態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、 C D 3、 C D 3、又は C D 3 の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【 0 0 4 1 】

何れかの態様の一実施態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは C D 3 の細胞内シグナル伝達ドメインを含み、場合によっては、 C D 3 の細胞内シグナル伝達ドメインは配列番号： 9 のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 4 2 】

50

何れかの態様の一実施態様では、共刺激ドメインは、4 - 1 B B、C D 2 8、C D 2 7、I C O S、又はO X 4 0の共刺激ドメインを含む。

【0043】

何れかの態様の一実施態様では、共刺激ドメインは4 - 1 B Bの共刺激ドメインを含み、場合によっては4 - 1 B Bの共刺激ドメインは配列番号：8のアミノ酸配列を含む。

【0044】

何れかの態様の一実施態様では、C A Rポリペプチドは、配列番号：10、11、12、又は13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。

【0045】

何れかの態様の一実施態様では、細胞外標的結合ドメインは、T A C Iではない第二の標的に結合する標的結合ドメインを更に含む。

【0046】

何れかの態様の一実施態様では、第二の標的はB細胞成熟抗原（B C M A）である。

【0047】

何れかの態様の一実施態様では、標的結合ドメインは第二の標的のリガンドを含む。

【0048】

何れかの態様の一実施態様では、標的結合ドメインは、抗体又はその抗原結合断片を含む。

【0049】

何れかの態様の一実施態様では、抗体又はその抗原結合断片はs c F vを含む。

【0050】

何れかの態様の一実施態様では、s c F vは抗B C M A s c F vである。

【0051】

何れかの態様の一実施態様では、抗B C M A s c F vは抗T A C I s c F vのN末端に位置する。

【0052】

何れかの態様の一実施態様では、抗T A C I s c F vは抗B C M A s c F vのN末端に位置する。

【0053】

何れかの態様の一実施態様では、C A Rポリペプチドは、配列番号：18 - 25の何れかー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。

【0054】

ここに記載の発明の別の態様は、配列番号：10のアミノ酸配列を含むC A Rポリペプチドに関する。

【0055】

ここに記載の発明の別の態様は、配列番号：11のアミノ酸配列を含むC A Rポリペプチドに関する。

【0056】

ここに記載の発明の別の態様は、配列番号：12のアミノ酸配列を含むC A Rポリペプチドに関する。

【0057】

ここに記載の発明の別の態様は、配列番号：13のアミノ酸配列を含むC A Rポリペプチドに関する。

【0058】

ここに記載の発明の別の態様は、配列番号：18 - 25の何れかーのアミノ酸配列を含むC A Rポリペプチドに関する。

【0059】

ここに記載の発明の別の態様は、ここに記載のC A Rポリペプチドの何れかーをコードするポリヌクレオチドに関する。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 6 0 】

一実施態様では、ポリヌクレオチドは、自殺遺伝子を更に含む。

## 【 0 0 6 1 】

一実施態様では、ポリヌクレオチドは、シグナル配列をコードする配列を更に含む。

## 【 0 0 6 2 】

ここに記載の発明の別の態様は、ここに記載の C A R ポリペプチドの何れか一及び / 又はここに記載のポリヌクレオチドの何れか一を含む哺乳動物細胞に関する。一実施態様では、哺乳動物細胞は人工多能性幹細胞 ( i P S C ) である。一実施態様では、哺乳動物細胞は免疫細胞である。一実施態様では、免疫細胞は T 細胞又はナチュラルキラー ( N K ) 細胞である。一実施態様では、哺乳動物細胞はヒト細胞である。

10

## 【 0 0 6 3 】

ここに記載の発明の別の態様は、 T A C I と C D 3 に結合する二重特異性抗体であって、 T A C I 結合ドメインと C D 3 結合ドメインを含む、二重特異性抗体に関する。

## 【 0 0 6 4 】

何れかの態様の一実施態様では、 T A C I 結合ドメインは、約 2 n M 以下の  $K_D$  で T A C I に結合する。一実施態様では、 T A C I 結合ドメインは、約 5 0 0 p M と約 1 n M の間の  $K_D$  で T A C I に結合する。一実施態様では、 T A C I 結合ドメインは、約 7 0 0 p M と約 9 0 0 p M の間の  $K_D$  で T A C I に結合する。一実施態様では、 T A C I 結合ドメインは約 8 6 1 p M の  $K_D$  で T A C I に結合する。

## 【 0 0 6 5 】

20

何れかの態様の一実施態様では、 T A C I 結合ドメインは、配列番号 : 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H 、及び / 又は配列番号 : 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L を含む。

## 【 0 0 6 6 】

ここに記載の発明の別の態様は、 T A C I と C D 3 に特異的に結合する二重特異性抗体であって、 T A C I 結合ドメインと C D 3 結合ドメインを含み、 T A C I 結合ドメインが配列番号 : 1 のアミノ酸配列を含む V H と、配列番号 : 2 のアミノ酸配列を含む V L を含む、二重特異性抗体に関する。

## 【 0 0 6 7 】

30

何れかの態様の一実施態様では、 T A C I 結合ドメインは C D 3 結合ドメインの N 末端に位置する。

## 【 0 0 6 8 】

何れかの態様の一実施態様では、 C D 3 結合ドメインは T A C I 結合ドメインの N 末端に位置する。

## 【 0 0 6 9 】

何れかの態様の一実施態様では、 T A C I 結合ドメインと C D 3 結合ドメインがリンカー配列によって連結されている。

## 【 0 0 7 0 】

何れかの態様の一実施態様では、リンカー配列は、配列番号 : 3 、 1 4 、 1 5 、 1 6 、又は 1 7 のアミノ酸配列を含む。

40

## 【 0 0 7 1 】

何れかの態様の一実施態様では、二重特異性抗体はモノクローナル、ヒト、ヒト化、又はキメラ抗体である。

## 【 0 0 7 2 】

何れかの態様の一実施態様では、二重特異性抗体はモノクローナル抗体である。

## 【 0 0 7 3 】

何れかの態様の一実施態様では、二重特異性抗体は完全長抗体である。

## 【 0 0 7 4 】

何れかの態様の別の実施態様では、二重特異性抗体は、 T A C I と C D 3 に特異的に結

50

合する抗体断片である。一実施態様では、抗体断片は、F a b、F a b'、F a b' - S H、F v、s c F v、及び (F a b')<sub>2</sub> 断片からなる群から選択される。

【0075】

何れかの態様の別の実施態様では、二重特異性抗体は I g G 抗体である。一実施態様では、二重特異性抗体は I g G 1 抗体である。

【0076】

ここに記載の発明の別の態様は、ここに記載の二重特異性抗体の何れかーを含む組成物に関する。

【0077】

ここに記載の発明の別の態様は、ここに記載の二重特異性抗体の何れかーをコードするポリヌクレオチドに関する。

10

【0078】

ここに記載の発明の別の態様は、ここに記載の二重特異性抗体をコードするポリヌクレオチドの何れかーを含むベクターに関する。

【0079】

ここに記載の発明の別の態様は、ベクター（例えば、ここに記載の二重特異性抗体をコードするポリヌクレオチドの何れかーを含むベクター）の何れかーを含む宿主細胞に関する。一実施態様では、宿主細胞は哺乳動物細胞である。一実施態様では、哺乳動物細胞はチャイニーズハムスター卵巣（C H O）細胞である。別の実施態様では、宿主細胞は原核細胞である。一実施態様では、原核細胞は大腸菌である。

20

【0080】

ここに記載の発明の別の態様は、T A C I と C D 3 に特異的に結合する二重特異性抗体を産生する方法であって、培養培地中でここに記載の宿主細胞の何れかー（例えば、ベクター（例えば、ここに記載の二重特異性抗体をコードするポリヌクレオチドの何れかーを含むベクター）の何れかーを含む宿主細胞）を培養することを含む、方法に関する。

【0081】

一実施態様では、該方法は、宿主細胞又は培養培地から二重特異性抗体を回収することを更に含む。

【0082】

ここに記載の発明の別の態様は、治療を必要とする対象の疾患又は障害を治療する方法であって、次の一又は複数：（i）ここに記載の C A R ポリペプチドの何れかー、ここに記載のポリヌクレオチドの何れかー、及び / 又はここに記載の哺乳動物細胞の何れかー；（i i）ここに記載の抗体の何れかー；（i i i）ここに記載の抗体薬物コンジュゲートの何れかー；及び（i v）ここに記載の二重特異性抗体の何れかーを、対象に投与することを含む、方法に関する。

30

【0083】

一実施態様では、疾患又は障害は、がん、自己免疫障害、又は形質細胞疾患又は障害である。

【0084】

一実施態様では、疾患又は障害はがんである。

40

【0085】

一実施態様では、がんは、T A C I を発現する細胞を含む。

【0086】

一実施態様では、がんは多発性骨髄腫である。

【0087】

一実施態様では、対象は抗 B C M A 療法に抵抗性がある。

【0088】

一実施態様では、疾患又は障害は自己免疫疾患又は障害である。

【0089】

一実施態様では、自己免疫性疾患又は障害は、自己免疫性障害の一因となる高力価の抗

50

体によって特徴付けられる。

【 0 0 9 0 】

一実施態様では、自己免疫疾患又は障害は、移植片拒絶、移植片対宿主病、又は因子インヒビターを伴う血友病である。

【 0 0 9 1 】

一実施態様では、疾患又は障害は形質細胞疾患又は障害である。

【 0 0 9 2 】

一実施態様では、形質細胞疾患又は障害は、形質細胞異常増殖症、形質細胞腫、形質細胞白血病、多発性骨髄腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローン性 グロブリン血症、及びくすぶり型多発性骨髄腫である。

10

【 0 0 9 3 】

[ 定義 ]

便宜上、本明細書、実施例、及び添付の特許請求の範囲において使用される幾つかの用語及び語句の意味を以下に示す。特に明記されていない限り、又は文脈から暗示されている場合を除き、次の用語及び語句には、以下に示す意味が含まれる。定義は特定の実施態様を説明するのを助けるために提供しており、技術的範囲は特許請求の範囲によってのみ限定されるため、請求項記載の技術を限定することは意図していない。特に定義されていない限り、ここで使用される全ての技術的及び科学的用語は、この技術が属する分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有している。当該分野における用語の使用法とここに提供したその定義との間に明らかな矛盾がある場合、明細書において提供される定義が優先するものとする。

20

【 0 0 9 4 】

免疫学及び分子生物学における一般的な用語の定義は、それぞれの内容が全て、出典明示により全体においてここに援用される、The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 19版, Merck Sharp & Dohme Corp., 2011 (ISBN 978-0-911910-19-3); Robert S. Porter等(編), The Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine, Blackwell Science Ltd., 1999-2012 (ISBN 9783527600908); 及び Robert A. Meyers (編), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8); Immunology by Werner Luttmann, Elsevier, 2006; Janeway's Immunobiology, Kenneth Murphy, Allan Mowat, Casey Weaver (編), Taylor & Francis Limited, 2014 (ISBN 0815345305, 9780815345305); Lewin's Genes XI, Jones & Bartlett Publishers, 2014 (ISBN-1449659055); Michael Richard Green及びJoseph Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., USA (2012) (ISBN 1936113414); Davis等, Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier Science Publishing, Inc., New York, USA (2012) (ISBN 044460149X); Laboratory Methods in Enzymology: DNA, Jon Lorsch (編) Elsevier, 2013 (ISBN 0124199542); Current Protocols in Molecular Biology (CPMB), Frederick M. Ausubel (編), John Wiley and Sons, 2014 (ISBN 047150338X, 9780471503385), Current Protocols in Protein Science (CPPS), John E. Coligan (編), John Wiley and Sons, Inc., 2005; 及びCurrent Protocols in Immunology (CPI) (John E. Coligan, ADA M Kruisbeek, David H Margulies, Ethan M Shevach, Warren Strobe, (編) John Wiley and Sons, Inc., 2003 (ISBN 0471142735, 9780471142737)に見出すことができる。

30

40

【 0 0 9 5 】

幾つかの実施態様では、「活性化」は、検出可能な細胞増殖を誘導するように十分に刺激されているT細胞の状態を意味しうる。幾つかの実施態様では、活性化は誘導されたサイトカイン産生を意味しうる。他の実施態様では、活性化は、検出可能なエフェクター機能を意味しうる。ここで使用される「活性化されたT細胞」は、少なくとも、増殖性T細胞

50

胞である。

【0096】

「親和性」とは、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合性相互作用の合計の強さを指す。特に明記しない限り、ここで使用される場合、「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体と抗原）間の1：1の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子XのそのパートナーYに対する親和性は、一般に解離定数（ $K_D$ ）で表すことができる。親和性は、ここに記載されているものを含む、当該技術分野で知られている一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための特定の例証的かつ例示的实施態様を以下に記載する。

【0097】

ここで使用される場合、「投与する」とは、化合物（例えば、抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACICAR）又は組成物（例えば、薬学的組成物、例えば、抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACICARを含む薬学的組成物）の投薬量を対象に与える方法を意味する。ここに記載の方法で利用される組成物は、例えば、筋肉内、静脈内、皮内、経皮、動脈内、腹腔内、病巣内、頭蓋内、関節内、前立腺内、胸膜内、気管内、鼻腔内、硝子体内、腔内、直腸内、局所的、腫瘍内、腹膜、皮下、結膜下、膀胱内、粘膜、心膜内、臍内、眼内、経口、局所的（topically）、局所的（locally）、吸入、注射、注入、連続注入、局所灌流浴標的細胞により直接、カテーテル、洗浄、クリーム、又は脂質組成物により、投与され又は投与のために製剤化されうる。投与方法は、様々な要因（例えば、投与される化合物又は組成物、並びに治療される状態、疾患、又は障害の重症度）に応じて変化しうる。好ましくは、化合物（例えば、本発明の抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACICAR）又は組成物（例えば、抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACICARを含む薬学的組成物）は、経口投与されるか、又は経口投与用に製剤化される。

【0098】

「抗TACI抗体」、「TACIに結合する抗体」、及び「TACIに特異的に結合する抗体」という用語は、抗体が、TACIを標的とすることで予防、診断及び/又は治療薬として有用であるように十分な親和性でTACIに結合することができる抗体を指す。一実施態様では、無関係の非TACIタンパク質への抗TACI抗体の結合の度合いは、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定して、TACIへの抗体の結合の約10%未満である。所定の実施態様では、TACIに結合する抗体は、 $1\mu\text{M}$ 、 $100\text{nM}$ 、 $10\text{nM}$ 、 $1\text{nM}$ 、 $0.1\text{nM}$ 、 $0.01\text{nM}$ 、又は $0.001\text{nM}$ （例えば $10^{-8}\text{M}$ 以下、例えば $10^{-8}\text{M}$ から $10^{-13}\text{M}$ 、例えば $10^{-9}\text{M}$ から $10^{-13}\text{M}$ ）の解離定数（ $K_D$ ）を有する。

【0099】

ここで最も広い意味で使用される「抗体」という用語は、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、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及びそれらが所望の抗原結合活性を示す限り、抗体断片を含む、様々な抗体構造を包含する。「抗体」は、例えば、ジスルフィド結合によって相互連結された少なくとも二つの重鎖（HC）と二つの軽鎖（LC）を含む糖タンパク質、又はその抗原結合部分を指しうる。各重鎖は、重鎖可変領域（VH）と重鎖定常領域（CH）で構成される。重鎖定常領域は、三つのドメイン、CH1、CH2、及び/又はCH3から構成されうる。各軽鎖は、軽鎖可変領域（VL）と軽鎖定常領域（CL）で構成される。VH及びVL領域は、「フレームワーク領域」（FR）と呼ばれるより保存された領域が散在した、「相補性決定領域」（CDR）と呼ばれる超可変領域に更に細分化できる。各VH及びVLは、アミノ末端からカルボキシル末端まで、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、及びFR4の順序で配置された、例えば、三つのCDR及び四つのFRから構成されうる。重鎖と軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）及び古典的補体系の第一成分（C1q）を



含む宿主組織又は因子への免疫グロブリンの結合を媒介しうる。

【0100】

「抗体断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原（例えば、T A C I）に特異的に結合するインタクトな抗体の一部を含む、インタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例には、限定されないが、F v、F a b、F a b'、F a b' - S H、F ( a b <sub>2</sub> ) ダイアボディ；線形抗体；単鎖抗体分子（例えば、s c F v）；及び抗体断片から形成された多重特異性抗体が含まれる。これらの抗体断片は、従来の技術を使用して得られ、断片は、インタクトな抗体と同じ方法で有用性についてスクリーニングされる。抗体断片は、組換えDNA技術によって、又はインタクトな免疫グロブリンの酵素的又は化学的切断によって、産生されうる。

10

【0101】

「二重特異性T細胞エンゲージャー」、「B i T E抗体コンストラクト」、又は「B i T E」は、それぞれがタンデムに連結された単鎖可変断片（s c F v）を含むポリペプチドを意味する。場合によっては、s c F vは、リンカー（例えば、グリシンリッチリンカー）によって連結される。B i T Eの一つのs c F vがT細胞受容体（T C R）（例えば、C D 3 サブユニット）に結合し、他のものが標的抗原（例えば、腫瘍関連抗原）に結合する。

【0102】

ここで使用される場合、「キメラ」という用語は、少なくとも二種以上の異なるポリヌクレオチド分子の部分の融合産物を意味する。一実施態様では、「キメラ」という用語は、既知のエレメント又は他のポリヌクレオチド分子の操作を通して産生される遺伝子発現エレメントを意味する。

20

【0103】

ここで使用される「キメラ抗原受容体」又は「C A R」又は「C A R s」という用語は、リガンド又は抗原特異性をT細胞（例えば、ナイーブT細胞、セントラルメモリーT細胞、エフェクターメモリーT細胞又はその組み合わせ）に移植する改変されたT細胞受容体を意味する。C A Rは、人工T細胞受容体、キメラT細胞受容体、又はキメラ免疫受容体としてもまた知られている。ここで使用される場合、「C A R T細胞」又は「C A R - T」は、C A Rを発現するT細胞を意味する。T細胞で発現されると、C A Rは、T細胞の特異性と反応性を、M H C非拘束の形で選択された標的に向けてリダイレクトし、例えばモノクローナル抗体の抗原結合特性を利用する能力を有する。M H C非拘束の抗原認識は、C A Rを発現するT細胞に、抗原プロセッシングとは独立して抗原を認識する能力を与え、腫瘍エスケープの主要機序を迂回する。

30

【0104】

ここで使用される「共刺激リガンド」という用語は、T細胞上の同族共刺激分子に特異的に結合し、それにより、例えばペプチドを含むM H C分子とのT C R / C D 3 複合体の結合によって提供される一次シグナルに加えて、限定されないが増殖、活性化、分化などを含むT細胞応答を媒介するシグナルを提供する抗原提示細胞（A P C）上の分子を含む。共刺激リガンドには、限定されないが、4 - 1 B B L、O X 4 0 L、C D 7、B 7 - 1（C D 8 0）、B 7 - 2（C D 8 6）、P D - L 1、P D - L 2、誘導性C O S t i m u l a t o r y リガンド（I C O S - L）、細胞間接着分子（I C A M）、C D 3 0 L、C D 4 0、C D 7 0、C D 8 3、H L A - G、M I C A、M I C B、H V E M、リンボトキシンベータ受容体、3 / T R 6、I L T 3、I L T 4、H V E M、T o l l 様受容体に結合するアゴニスト又は抗体及びB 7 - H 3 と特異的に結合するリガンドが含まれうる。共刺激リガンドにはまた、限定されないがC D 2 7、C D 2 8、4 - 1 B B、O X 4 0、C D 3 0、C D 4 0、P D - 1、I C O S、リンパ球機能関連抗原1（L F A - 1）、C D 2、C D 7、L I G H T、N K G 2 C、B 7 - H 3 などのT細胞上に存在する共刺激分子と特異的に結合する抗体、及びC D 8 3 と特異的に結合するリガンドが含まれうるが、これらには限定されない。当該分野で知られている他の共刺激リガンドを標準方法に従ってまた用いてもよい。

40

50

## 【0105】

「共刺激分子」とは、共刺激リガンドと特異的に結合し、それにより、限定されないが増殖などのT細胞による共刺激応答を媒介する、T細胞上の同族結合パートナーを意味する。共刺激分子には、限定されないが、MHCクラスI分子、BTLA、Toll様受容体、CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、リンパ球機能関連抗原1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、及びCD83が含まれる。

## 【0106】

「減少する」、「低減した」、「低減」又は「阻害する」という用語は、参照レベル（例えば、所与の治療又は薬剤がない場合）と比較して少なくとも10%の減少を意味し、例えば、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、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%、少なくとも約99%、又はそれ以上の減少を含みうる。典型的には、そのような減少は統計的に有意である。ここで使用される場合、「低減」又は「阻害」は、参照レベルと比較した、完全な阻害又は低減を包含しない。「完全な阻害」は、参照レベルと比較して100%の阻害である。適用可能な場合、減少は、好ましくは、所与の障害のない個体の正常範囲内として受け入れられるレベルまで下がりうる。

## 【0107】

「疾患」とは、動物が恒常性を維持することができず、疾患が改善されない場合、動物の健康が悪化し続ける、動物、例えばヒトの健康状態である。対照的に、動物の「障害」は、動物が恒常性を維持することができるが、動物の健康状態が、障害がない場合よりも好ましくない健康状態である。治療せずに放置しても、障害によって必ずしも動物の健康状態が更に低下するわけではない。

## 【0108】

ここで使用される「EC50」という用語は、インビボ又はインビトロアッセイの何れかにおいて、最大応答の50%（つまり、最大応答とベースラインの中間）である応答を誘導する、抗体又はその抗原結合部分の濃度を指す。

## 【0109】

ここで使用される「有効量」、「有効用量」、及び「有効投薬量」という用語は、所望の効果を達成するか、又は少なくとも部分的に達成するのに十分な量として定義される。「治療的有效用量」又は「治療的有效量」という用語は、疾患に既に罹患しているか、又は疾患を発症するリスクのある患者において、疾患（例えば、下痢）及びその合併症を予防し、治癒し、又は少なくとも部分的に停止させるのに十分な量として定義される。この使用に対して有効な量は、治療されている障害の重症度と患者自身の免疫系の一般的状態に依存するであろう。

## 【0110】

ここで使用される「改変された」という用語及びその文法的等価語は、幾つかの実施態様では、核酸、例えば、生物のゲノム内の核酸の一又は複数のヒトデザインの变化を意味しうる。別の実施態様では、改変されたとは、遺伝子の変化、付加、及び/又は欠失を意味しうる。「改変された細胞」は、遺伝子を付加、欠失及び/又は変化させた細胞を意味しうる。ここで使用される「細胞」又は「改変された細胞」という用語及びそれらの文法的等価語は、ヒト又は非ヒト動物由来の細胞を意味しうる。

## 【0111】

「エピトープ」又は「抗原決定基」という用語は、免疫グロブリン又は抗体が特異的に結合する抗原上の部位を指す。エピトープは、タンパク質の三次フォールディングによって並置された隣接アミノ酸又は非隣接アミノ酸の両方から形成されうる。隣接アミノ酸から形成されるエピトープは、典型的には変性溶媒への曝露で保持されるが、三次フォール

10

20

30

40

50

ディングによって形成されるエピトープは、典型的には変性溶媒での処理で失われる。エピトープは、典型的には、固有の空間的コンフォメーションで少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、又は15個のアミノ酸を含む。エピトープの空間的コンフォメーションを決定する方法には、当該技術分野の技術とここに記載した技術、例えば、X線結晶構造解析及び二次元核磁気共鳴が含まれる。例えば、Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris編 (1996)を参照のこと。エピトープは、抗体（例えば、モノクローナル抗体）の結合に影響を与える、標的タンパク質（例えば、T A C I）の点変異によってもまた定義される。

#### 【0112】

「完全長抗体」、「インタクトな抗体」、及び「全抗体」という用語は、天然の抗体構造に実質的に類似する構造を有するか、又はここで定義されるFc領域を含む重鎖を有する抗体を指すためにここで互換的に使用される。

#### 【0113】

ここで使用される「宿主細胞」という用語は、発現ベクターが導入されている細胞を指すことを意図している。そのような用語は、特定の対象細胞だけでなく、そのような細胞の子孫を指すことを意図していることが理解されるべきである。変異又は環境の影響の何れかにより、ある改変が次の世代で生じる場合があるため、そのような子孫は実際には親細胞と同一ではない場合があるが、ここで使用される「宿主細胞」という用語の範囲におも含まれる。

#### 【0114】

「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列の可変及び定常領域（存在する場合）を有する抗体を含む。ヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、インビトロでのランダム又は部位特異的変異誘発あるいはインビボでの体細胞変異によって導入される変異）を含みうる（例えば、Lonberg, N.等 (1994) Nature 368(6474): 856-859; Lonberg, N. (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101; Lonberg, N.及びHuszar, D. (1995) Intern. Rev. Immunol. Vol. 13: 65-93、並びにHarding, F.及びLonberg, N. (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci 764:536-546を参照）。しかしながら、「ヒト抗体」という用語は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖細胞系列に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列上に移植された抗体（すなわち、ヒト化抗体）を含まない。

#### 【0115】

「単離された抗体」は、その自然環境の成分から同定されかつ分離及び/又は回収された、並びに/あるいは異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含んでいないもの（例えば、T A C Iに特異的に結合する単離された抗体はT A C I以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない）である。その自然環境の汚染成分は、抗体の診断又は治療用途を妨げる物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク性又は非タンパク性溶質を含みうる。好ましい実施態様では、抗体は、（1）ローリー法によって決定されて95重量%を超え、最も好ましくは99重量%を超える抗体まで、（2）スピニングカップシェークエネーターを使用して少なくとも15残基のN末端又は内部アミノ酸配列を得るのに十分な程度まで、あるいは（3）Coomassie<sup>TM</sup>ブルー又は好ましくは銀染色を使用した還元又は非還元条件下でのSDS-PAGEによる均一性まで、精製される。抗体の自然環境の少なくとも一つの成分が存在しないため、単離された抗体には組換え細胞内のインサイト抗体が含まれる。同様に、単離された抗体には、組換え細胞の周りの培地中の抗体が含まれる。しかしながら、通常、単離された抗体は、少なくとも一の精製工程によって調製される。

#### 【0116】

ここで使用される「K<sub>D</sub>」という用語は、特定の抗体-抗原相互作用の解離平衡定数を指すことを意図している。典型的には、抗体は、アナライトとして組換えT A C Iを、リガンドとして抗体を使用するBIAcore 3000機器での表面プラズモン共鳴（SPR）技術によって決定した場合、例えば約 $10^{-7}$  M、 $10^{-8}$  M、 $10^{-9}$  M、又は $10$

10

20

30

40

50

$10^{-6}$  M未満又は更に低い、約  $10^{-6}$  M未満の解離平衡定数 ( $K_D$ ) で T A C I に結合する。

【0117】

ここで使用される「モノクローナル抗体」という用語は、特定のエピトープに対して単一の結合特異性及び親和性を示す抗体を指す。従って、「ヒトモノクローナル抗体」又は「HuMab」という用語は、単一の結合特異性を示し、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変及び定常領域を有する抗体を指す。一実施態様では、ヒトモノクローナル抗体は、不死化細胞に融合したヒト重鎖導入遺伝子及び軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有するトランスジェニック非ヒト動物、例えば、トランスジェニックマウスから得られた B 細胞を含むハイブリドーマによって産生される。

10

【0118】

ここで使用される場合、「作用可能に連結された」という用語は、プロモーターなどの第一ポリヌクレオチド分子が、目的の遺伝子などの第二の転写可能なポリヌクレオチド分子に連結され、そこで、ポリヌクレオチド分子が、第一ポリヌクレオチド分子が第二ポリヌクレオチド分子の機能に影響を与えるように配されていることを指す。二つのポリヌクレオチド分子は、単一の近接ポリヌクレオチド分子の一部であってもなくてもよく、隣接していてもしていなくてもよい。例えば、プロモーターは、そのプロモーターが細胞内の目的の遺伝子の転写を調節し又は媒介するならば、目的の遺伝子に作用可能に連結されている。

【0119】

幾つかの実施態様では、ここに記載されるポリペプチド（又はそのようなポリペプチドをコードする核酸）は、ここに記載されるアミノ酸配列の一つの機能的断片でありうる。ここで使用される場合、「機能的断片」とは、当該技術分野において知られ又はここに後述されるアッセイに従って野生型参照ポリペプチドの活性の少なくとも 50 % を保持するペプチドの断片又はセグメントである。機能的断片は、ここに開示される配列の保存的置換を含みうる。

20

【0120】

幾つかの実施態様では、ここに記載されるポリペプチドは、ここに記載されるポリペプチド又は分子のバリエーションでありうる。幾つかの実施態様では、バリエーションは保存的修飾バリエーションである。保存的置換バリエーションは、例えば、天然ヌクレオチド配列の変異によって得ることができる。ここで言及される「バリエーション」は、天然又は参照ポリペプチドと実質的に相同であるが、一又は複数の欠失、挿入、又は置換のために天然又は参照ポリペプチドのものとは異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドである。バリエーションポリペプチドをコードする DNA 配列は、天然又は参照 DNA 配列と比較した場合、ヌクレオチドの一又は複数の付加、欠失、又は置換を含むが、非バリエーションポリペプチドの活性を保持するバリエーションタンパク質又はその断片をコードする配列を包含する。多種多様な PCR に基づく部位特異的変異誘発アプローチが当該技術分野において知られており、当業者によって適用されうる。例えば、バリエーションアミノ酸又は DNA 配列は、天然又は参照配列と少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、又はそれ以上、同一でありうる。

30

40

【0121】

参照ポリペプチド配列に関する「パーセント (%) アミノ酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大パーセント配列同一性を達成するために必要に応じてギャップを導入した後、配列同一性の一部として如何なる保存的置換も考慮しないで、参照ポリペプチド配列のアミノ酸残基と同一である候補配列のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的でのアラインメントは、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN 又は Megalign (DNASTAR) ソフトウェアなどの公的に利用可能なコンピューターソフトウェアを使用して、当該技術分野の技量の範囲内である様々な方法で達成することができる。当業者は、比較されている配列の全長にわ

50

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、配列アラインメントのための適切なパラメーターを決定することができる。

#### 【0122】

ここで使用される場合、「DNA」という用語は、デオキシリボ核酸として定義される。「ポリヌクレオチド」という用語は、ヌクレオシドのポリマーを示すために、ここでは「核酸」と互換的に使用される。典型的には、ポリヌクレオチドは、ホスホジエステル結合によって結合された、DNA又はRNAに天然に見出されるヌクレオシド（例えば、アデノシン、チミジン、グアノシン、シチジン、ウリジン、デオキシアデノシン、デオキシチミジン、デオキシグアノシン、及びデオキシシチジン）で構成される。しかしながら、この用語は、天然に生じる核酸に見出されるか否かにかかわらず、化学的又は生物学的に修飾された塩基、修飾された骨格などを含むヌクレオシド又はヌクレオシドアナログを含む分子を包含し、そのような分子が所定の用途に好ましい場合がある。この出願がポリヌクレオチドに言及する場合、DNA、RNAの両方と、何れの場合にも一本鎖及び二本鎖形態（及び各一本鎖分子の相補体）が提供されることが理解される。ここで使用される「ポリヌクレオチド配列」は、ポリヌクレオチド物質自体及び／又は特定の核酸を生化学的に特徴付ける配列情報（すなわち、塩基の略語として使用される一連の文字）を指しうる。ここに提示されるポリヌクレオチド配列は、他に示されない限り、5'から3'の方向で提示される。

10

#### 【0123】

ここで使用される「ポリペプチド」という用語は、アミノ酸のポリマーを意味する。「タンパク質」及び「ポリペプチド」という用語は、ここでは互換的に使用される。ペプチドは、比較的短いポリペプチドであり、典型的には約2から60アミノ酸長である。ここで使用されるポリペプチドは、典型的には、タンパク質に最も一般的に見出される20のL-アミノ酸などのアミノ酸を含む。しかしながら、当該技術分野において知られている他のアミノ酸及び／又はアミノ酸アナログを使用することができる。ポリペプチド内のアミノ酸の一又は複数が、例えば、炭水化物基、リン酸基、脂肪酸基、コンジュゲーションのためのリンカー、官能基などの化学エンティティを加えることによって修飾されうる。非ポリペプチド部分が共有的又は非共有的に結合したポリペプチドは、依然として「ポリペプチド」と考えられる。例示的な修飾には、グリコシル化及びパルミトイル化が含まれる。ポリペプチドは、天然源から精製され、組換えDNA技術を使用して産生され、又は一般的な固相ペプチド合成などの化学的手段によって合成されうる。ここで使用される「ポリペプチド配列」又は「アミノ酸配列」という用語は、ポリペプチド物質自体及び／又はポリペプチドを生化学的に特徴付ける配列情報（すなわち、アミノ酸名の略語として使用される一連の文字又は3文字コード）を指す場合がある。ここに提示されるポリペプチド配列は、他に示されない限り、N末端からC末端の方向で提示される。

20

30

#### 【0124】

幾つかの実施態様では、ここに記載されるポリペプチド（例えば、CARポリペプチド）をコードする核酸が、ベクター、例えば発現ベクターに含められる。ここに記載される態様の幾つかでは、ここに記載される所与のポリペプチドをコードする核酸配列が、ベクターに作用可能に連結される。ここで使用される「ベクター」という用語は、宿主細胞への送達又は異なる宿主細胞間の移動のためにデザインされた核酸コンストラクトを意味する。ここで使用される場合、ベクターは、ウイルス性又は非ウイルス性でありうる。「ベクター」という用語は、適切な調節エレメントと会合されると複製することができ、遺伝子配列を細胞に移すことができる任意の遺伝因子を包含する。ベクターには、限定されないが、クローニングベクター、発現ベクター、プラスミド、ファージ、トランスポゾン、コスミド、人工染色体、ウイルス、ピリオンなどが含まれうる。

40

#### 【0125】

ここで使用される場合、「発現ベクター」という用語は、ベクター上の転写調節配列に連結された配列からのRNA又はポリペプチドの発現を指示するベクターを意味する。発現される配列は、必ずしもではないが、細胞にとって異種性であることが多い。発現ベク

50

ターは追加のエLEMENTを含み得、例えば、発現ベクターは二種の複製系を有し得、それにより、二種の生物において、例えばヒト細胞において発現のため、また原核生物宿主においてクローニング及び増幅のために、維持されることが可能になる。「発現」という用語は、適用可能であれば、限定されないが、例えば、転写、転写物プロセッシング、翻訳及びタンパク質フォールディング、修飾及びプロセッシングを含む、RNA及びタンパク質の産生と、適切にはタンパク質の分泌に関与する細胞内プロセスを意味する。「発現産物」には、遺伝子から転写されたRNA、及び遺伝子から転写されたmRNAの翻訳によって得られたポリペプチドが含まれる。「遺伝子」という用語は、適切な調節配列に作用可能に連結された場合にインビトロ又はインビボでRNAに転写(DNA)される核酸配列を意味する。遺伝子は、コード領域の前後の領域、例えば5'非翻訳(5'UTR)又は「リーダー」配列及び3'UTR又は「トレーラー」配列、並びに個々のコード化セグメント(エクソン)間の介在配列(イントロン)を含んでも含まなくてもよい。

10

#### 【0126】

ここで使用される場合、「ウイルスベクター」という用語は、ウイルス起源の少なくとも一のエLEMENTを含み、ウイルスベクター粒子にパッケージされる能力を有する核酸ベクターコンストラクトを意味する。ウイルスベクターは、非必須のウイルス遺伝子の代わりに、ここに記載のポリペプチドをコードする核酸を含みうる。ベクター及び/又は粒子は、インビトロ又はインビボの何れかで核酸を細胞に移入する目的のために利用されうる。ウイルスベクターの多くの形態が当該分野において知られている。

#### 【0127】

20

「組換えベクター」とは、インビボで発現することができる異種核酸配列又は「導入遺伝子」を含むベクターを意味する。ここに記載のベクターは、幾つかの実施態様では、他の適切な組成物及び治療法と組み合わせることができることを理解されたい。幾つかの実施態様では、ベクターはエピソームである。適切なエピソームベクターの使用は、対象において目的のヌクレオチドを高コピー数の染色体外DNAに維持する手段を提供し、それによって染色体への組込みの潜在的な影響を排除する。

#### 【0128】

「薬学的組成物」という用語は、そこに含まれる活性成分の生物学的活性が有効であることを可能にするような形態であり、製剤が投与される対象に対して許容できないほど毒性である追加の成分を含まない調製物を指す。

30

#### 【0129】

「薬学的に許容される担体」は、対象に対して非毒性である、活性成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される担体には、限定されないが、緩衝液、添加物、安定剤、又は保存料が含まれる。

#### 【0130】

ここで使用される場合、「特異的結合」及び「特異的に結合する」という用語は、第一のエンティティが第二の標的エンティティに、それが非標的である第三のエンティティに結合するよりも大きい特異性及び親和性で結合する、二つの分子、化合物、細胞及び/又は粒子間の物理的相互作用を意味する。幾つかの実施態様では、特異的結合は、同じ条件下で第三の非標的エンティティに対する親和性よりも少なくとも10倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、少なくとも500倍、少なくとも1000倍又はそれ以上大きい、第二の標的エンティティに対する第一のエンティティの親和性を意味する。所与の標的に特異的な試薬は、利用されているアッセイの条件下でその標的に対して特異的な結合を示すものである。非限定的な例には、同族結合パートナー(例えば、T細胞上に存在する刺激及び/又は共刺激分子)タンパク質を認識して結合する抗体又はリガンドが含まれる。例えば、特異的抗体は、例えばアナライトとして組換えTACIを、リガンドとして抗体を使用するBIACORE 3000機器での表面プラズモン共鳴(SPR)技術によって決定した場合、例えば約 $10^{-8}$  M、 $10^{-9}$  M、又は $10^{-10}$  M未満などの約 $10^{-7}$  M未満又は更に低い親和性( $K_D$ )でその標的に結合する。幾つかの実施態様では、抗体による予め決定した抗原への結合は、予め決定した抗原以外の非特異的抗原(例え

40

50

ば、B S A、カゼイン）又は密接に関連している抗原へのその結合親和性よりも少なくとも二倍大きい親和性でなされる。「抗原を認識する抗体」及び「抗原に特異的な抗体」という語句は、ここでは「抗原に特異的に結合する抗体」という用語と交換可能に使用される。

【0131】

ここで使用される場合、「シグナルペプチド」又は「シグナル配列」は、新生タンパク質を小胞体に方向付けるのに役立つ、新規合成タンパク質のN末端のペプチドを意味する。幾つかの実施態様では、シグナルペプチドはC D 8 シグナルペプチドである。

【0132】

ここで使用される「刺激リガンド」は、抗原提示細胞（A P C）（例えば、マクロファージ、樹状細胞、B細胞、人工A P Cなど）上に存在する場合、T細胞上の同族結合パートナー（ここでは「刺激分子」又は「共刺激分子」と呼ばれる）と特異的に結合することができ、それにより、限定されないが増殖、活性化、免疫応答の開始などを含むT細胞による一次応答を媒介するリガンドを意味する。刺激リガンドは当該技術分野でよく知られており、とりわけ、ペプチドを含むM H CクラスI分子、抗C D 3抗体、スーパーアゴニスト抗C D 2 8抗体、及びスーパーアゴニスト抗C D 2抗体を包含する。

10

【0133】

ここで使用される「刺激分子」という用語は、抗原提示細胞上に存在する同族刺激リガンドと特異的に結合するT細胞上の分子を意味する。

【0134】

20

「対象」又は「個体」は哺乳動物である。哺乳動物には、限定されないが、飼育慣らしした動物（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えば、ヒト及びサルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、シカ、及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）が含まれる。所定の実施態様では、対象又は個体はヒトである。

【0135】

対象は、治療を必要とする状態（例えば、ここに記載の疾患及び障害）又はそのような状態に関連した一又は複数の合併症と以前に診断されたか、又はそれに罹患しもしくはそれを有していると判定され、場合によっては、その状態又はその状態に関連する一又は複数の合併症に対して治療を既に受けているものでありうる。あるいは、対象はまたそのような状態又は関連する合併症を有していると過去には診断されたことがないものでありうる。例えば、対象は、その状態又はその状態に関連する一又は複数の合併症に対する一又は複数の危険因子を示すものあるいは危険因子を示さない対象でありうる。

30

【0136】

特定の状態の治療を「必要とする対象」は、その状態を有し、その状態を有していると診断され、又はその状態を発症するリスクがある対象でありうる。

【0137】

「transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor（膜貫通活性化因子及びカルシウム調節因子並びにシクロフィリンリガンド相互作用物質）」又は「T A C I」という用語は、腫瘍壊死因子受容体（T N F R）スーパーファミリーメンバー1 3 B（T N F R S F 1 3 B）としてもまた知られており、T N F Rスーパーファミリーのリンパ球特異的なメンバーである。T A C Iは、腫瘍壊死因子（T N F）ファミリーの他の二つのメンバーであるB細胞活性化因子（B A F F）及び増殖誘導リガンド（A P R I L）と相互作用し、T細胞非依存性B細胞抗体応答、アイソタイプスイッチ、及びB細胞恒常性を制御する。

40

【0138】

ここで使用される場合、「治療する（treat）」、「治療」、「治療する（treating）」、又は「回復」という用語は、目的が、疾患又は障害、例えば神経膠芽腫、神経膠腫、急性リンパ芽球性白血病又は他のがん、疾患、又は障害に関連する状態の進行又は重症度を逆転させ、緩和し、回復させ、阻害し、減速させ、又は停止させることである治療的処

50

置を意味する。「治療する (treating)」という用語は、状態、疾患又は障害の少なくとも一つの副作用又は症状を低減させ又は緩和させることを含む。一又は複数の症状又は臨床マーカーが減少した場合、治療は一般に「効果的」である。あるいは、疾患の進行が減少し又は停止した場合、治療は「効果的」である。すなわち、「治療」には、症状又はマーカーの改善だけでなく、治療を行わない場合に予想されうる症状と比較して、症状の進行又は悪化の停止又は少なくとも緩徐化も含まれる。有益な又は望ましい臨床結果には、限定されないが、一又は複数の症状の緩和、疾患の範囲の縮小、疾患の状態の安定化 (すなわち悪化しないこと)、疾患進行の遅延又は緩徐化、疾患状態の回復又は緩和、寛解 (部分又は完全)、及び/又は死亡率の低下が、検出可能であろうと検出不可能であろうと、含まれる。疾患の「治療」という用語はまた疾患の症状又は副作用からの緩和をもたらすこと (対症的治療を含む) を含む。

10

#### 【0139】

ここで使用される場合、「腫瘍抗原」及び「がん抗原」という用語は、がん細胞によって差次的に発現され、それによってがん細胞を標的とするために利用できる抗原を意味するために互換的に使用される。がん抗原は、明らかに腫瘍特異的な免疫応答を潜在的に刺激することができる抗原である。これらの抗原の幾つかは、必ずしも発現されているわけではないが、正常細胞によってコードされている。これらの抗原は、正常細胞では通常サイレントである (すなわち発現されない) もの、分化の所定の段階でのみ発現されるもの、及び胚性及び胎児性抗原などの一過性に発現されるものとして特徴付けることができる。他のがん抗原は、がん遺伝子 (例えば、活性化 *ras* がん遺伝子)、サプレッサー遺伝子 (例えば、変異体 *p53*)、及び内部欠失又は染色体転座から生じる融合タンパク質など、変異細胞遺伝子によってコードされている。更に他のがん抗原は、RNA 及び DNA 腫瘍ウイルスで運ばれるものなど、ウイルス遺伝子によってコードされうる。

20

#### 【0140】

他の用語は、以下に記載されるように、技術の様々な態様及び実施態様の説明の中で定義される。

#### 【0141】

ここに記載のコンストラクト及び方法は幾つかの利点を提供する。例えば、ここに記載の抗 TACI 抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び抗 TACI CAR によって提供される一つの利点は、TACI を標的化することにより、BCMA 抗原エスケープの問題を軽減できることである。抗 BCMA 療法はこれまで多発性骨髄腫に対して有望な結果をもたらしたが、BCMA を標的とすることは、BCMA CAR T 細胞治療後の再発及び/又は BCMA 抗原減少につながることもまた示されている。このオカレンスの頻度はまだ定まっていないが、最近の研究で、全奏効率は 85% であったが、無増悪生存期間の中央値は 11.8 か月であったことが観察され (Raje 等, *N Engl J Med.* 2019;380(18):1726-1737)、CAR T 細胞による BCMA の単一特異的標的化は、殆どの患者にとって治癒的治療法ではない場合があることを示している。抗 BCMA CAR T 細胞治療の選択圧下での BCMA 抗原減少による耐病性の報告も現れている。従って、TACI を標的とすることは、BCMA 抗原エスケープによって影響を受ける疾患を治療する場合に特有の利点を提供する。

30

40

#### 【0142】

上記の概要は、ここに開示される技術の実施態様、利点、特徴、及び用途の幾つかを非限定的な形で例証することを意図している。ここに開示される技術の他の実施態様、利点、特徴、及び用途は、詳細な説明、図面、実施例、及び特許請求の範囲から明らかになるであろう。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0143】

添付の図面は、正確な比率で描かれることを意図したものではない。特許又は出願ファイルは、カラーで完成させた少なくとも一つの図面を含む。カラー図面を含むこの特許又は特許出願刊行物のコピーは、請求と必要な料金の支払いに応じて庁から提供される。図

50



面において：

【図１】図１は、transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor (TACI) 抗体を産生するために使用される一般的方法、及びここに記載の抗TACIキメラ抗原受容体(CAR) T細胞におけるその使用を示す図である。

【図２】図２は、抗TACI抗体を用いた表面プラズモン共鳴アッセイの結果を示すグラフである。

【図３】図３は、ここで「抗TACI(H/L)」及び「抗TACI(L/H)」と呼ばれる抗TACI CARのデザインを示す図である。

【図４】図４は、MM1S、MM1S BCMAノックアウト、K562、K562-TACI、及びK562-BCMA細胞株でのBCMA及びTACI発現を示す一連のグラフである。

10

【図５】図５は、T細胞におけるTACI発現を示す一連のグラフである。

【図６】図６は、mCherry発現によって測定された、抗BCMA、抗TACI(H/L)、及び抗TACI(L/H) CAR T細胞のトランスフェクション効率を示すグラフである。感染多重度(MOI) = 10。

【図７】図７は、標的細胞としてMM1S細胞を使用した、非形質導入(UTD)、抗BCMA、抗TACI(H/L)、及び抗TACI(L/H) CAR T細胞の殺傷活性を示すグラフである。

【図８】図８は、標的細胞としてMM1S BCMAノックアウト細胞を使用した、UTD、抗BCMA、抗TACI(H/L)、及び抗TACI(L/H) CAR T細胞の殺傷活性を示すグラフである。

20

【図９】図９は、T細胞の免疫表現型(例えば、ナイーブT細胞、セントラルメモリー(CM) T細胞、エフェクターメモリー(EM) T細胞、及び後期エフェクターT細胞(EMRA))を決定するためのT細胞上のCD45RO及びCCR7発現を示す一連のグラフである。CM T細胞集団が濃縮されていることが観察される。

【図１０】図１０は、図９で特定されたナイーブT細胞集団(すなわち、CD45-CCR7+ T細胞)でのCD95及びCD127発現を示す一連のグラフである。CD95及びCD127は、T幹細胞メモリー(TSCM)集団のバイオマーカーである。

【図１１】図１１は、抗BCMA、抗TACI(H/L)、及び抗TACI(L/H) CAR T細胞のCD107a発現を示すグラフである。CD107aは細胞傷害性脱顆粒のマーカーである。

30

【図１２Ａ】図１２Ａ-１２Ｃは、抗BCMA、抗TACI(H/L)、及び抗TACI(L/H) CAR T細胞の可溶性TACI(sTACI)(図１２Ａ)、可溶性BCMA(sBCMA)(図１２Ｂ)、及び可溶性APRIL(sAPRIL)(図１２Ｃ)への結合を示す一連のグラフである。

【図１２Ｂ】上記

【図１２Ｃ】上記

【図１３Ａ】図１３Ａ-１３Ｅは、MM1S標的細胞(図１３Ａ)、MM1S BCMAノックアウト細胞(図１３Ｂ)、K562-BCMA細胞(図１３Ｃ)、K562-TACI細胞(図１３Ｄ)、及びU266細胞(図１３Ｅ)と共にインキュベートした抗BCMA、抗TACI(H/L)、及び抗TACI(L/H) CAR T細胞のサイトカイン産生を示す一連のグラフである。

40

【図１３Ｂ】上記

【図１３Ｃ】上記

【図１３Ｄ】上記

【図１３Ｅ】上記

【図１４】図１４は、K562発現標的細胞による刺激に応答した、抗BCMA、抗TACI(H/L)、及び抗TACI(L/H) CAR T細胞の集団倍加を示すグラフである。

。

50

【図 15】図 15 は、UTD、抗 BCMA、抗 TACI (H/L)、及び抗 TACI (L/H) CAR T細胞をインビボで試験する実験デザインを示す図である。マウスに  $1 \times 10^6$  個の MM1S 細胞が静脈内 (i.v.) 注射される。2 週間後、マウスに  $2 \times 10^6$  個の CAR T 又は UTD 細胞が注射される。生物発光画像が週に 2 回撮られる。

【図 16A】図 16A 及び 16B は、マウスにおける腫瘍負荷を示す生物発光イメージングによって撮影された画像である。

【図 16B】上記

【図 17】図 17 は、生物発光 (光子/秒) によって測定されたマウスにおける腫瘍負荷の定量化を示すグラフである。

【図 18】図 18 は、UTD、抗 BCMA、抗 TACI (H/L)、及び抗 TACI (L/H) CAR T細胞による腫瘍の殺傷を示すグラフである。

10

【図 19】図 19 は、UTD、抗 BCMA、抗 TACI (H/L)、及び抗 TACI (L/H) CAR T細胞で処置した後のマウスの生存率を示すグラフである。

【図 20A】図 20A - 20E は、抗 TACI CAR の機能を示している。図 20A は、抗 TACI 及び対照抗 BCMA CAR のコンストラクトデザインを示している。

【図 20B】図 20B は、BCMA 及び TACI 染色を示している。

【図 20C】図 20C は、多発性骨髄腫細胞株 MM1S、RPM1-8266、及び U266 に対する抗 TACI CAR 及び抗 BCMA CAR (対照) のルシフェラーゼベースの殺傷アッセイを示している。

【図 20D】図 20D は、MM1S の CAR 処理後のインビボでのルシフェラーゼイメージングを示している。

20

【図 20E】図 20E は、可溶性 TACI の BCMA 及び TACI CAR への結合を示している。

【図 21A】図 21A - 21E は、タンデム二重特異性 BCMA - TACI CAR 対 TriPRIL の比較を示している。図 21A は、二重標的化 CAR T細胞コンストラクトのデザインを示している。

【図 21B】図 21B は、コンストラクトの形質導入効率を示している。

【図 21C】図 21C は、多発性骨髄腫細胞株 MM1S、RPM1-8226、及び U266 に対する二重標的化 CAR のルシフェラーゼベースの殺傷アッセイを示している。

【図 21D】図 21D は、非特異的 CRISPR/Cas9、BCMA を標的とする CRISPR/Cas9、及び TACI を標的とする CRISPR/Cas9 を発現する MM1S 細胞での BCMA 及び TACI の発現を示している。

30

【図 21E】図 21E は、平底プレートにおける図 21D からの MM1S ノックアウト細胞株に対するルシフェラーゼベースの殺傷アッセイを示している。

【図 22A】図 22A - 22C は、三種の異なる骨髄腫株を標的とする CAR を使用したルシフェラーゼベースの殺傷アッセイを示している。T細胞を、CBG-GFPを発現する腫瘍細胞株と共に 18 時間インキュベートし、ついで溶解して、ルシフェラーゼ発現について分析した。

【図 22B】上記

【図 22C】上記

40

【図 23】図 23 は、フローサイトメトリーによって測定した、TACI 抗体による末梢血単核細胞 (PBMC) の染色を示している。

【図 24】図 24 は、フローサイトメトリー分析において %mCherry 陽性細胞によって測定された、抗 TACI H-L、抗 TACI L-H、又は抗 BCMA での正常ドナー T細胞の形質導入効率を示している。

【図 25A】図 25A - 25B は、非形質導入 T細胞、及び抗 TACI H-L、抗 TACI L-H、又は抗 BCMA を発現する T細胞への可溶性 TACI タンパク質の結合の測定値を示す。細胞を様々な濃度の蛍光可溶性 TACI タンパク質と共にインキュベートし、その後、細胞の蛍光を、フローサイトメトリーを使用して測定し、TACI に対して陽性の細胞のパーセント (図 25A) 又は非形質導入細胞において測定されたシグナルに対する

50

蛍光強度中央値 (MFI) として表した (図 25B)。

【図 25B】上記

【図 26A】図 26A - 26H は、マウスの RPMI 8226 皮下腫瘍に対する CAR T 細胞の効果を示している。図 26A は、実験の予定表を示している。図 26B - 26F は、抗 TACI H-L CAR (図 26B)、抗 TACI L-H CAR (図 26C)、抗 BCMA CAR (図 26D)、又は非形質導入 T 細胞 (図 26E、陰性対照) で処置された、又は未処置 (図 26F、陰性対照) マウスにおける RPMI 8226 腫瘍の個々の増殖曲線を示す。図 26G は経時的なマウスの生存率を示している。図 26H は、 $2 \times 10^6$  個の CAR T 細胞の静脈内投与の 21 日後のマウス血液 1 マイクロリットル当たりの CAR T 細胞の数を示している。

10

【図 26B】上記

【図 26C】上記

【図 26D】上記

【図 26E】上記

【図 26F】上記

【図 26G】上記

【図 26H】上記

【図 27A】図 27A - 27B は、抗 TACI CAR T 細胞の効果が、TACI を発現する腫瘍細胞に特異的であることを示している。図 27A は、Cas9 によって破壊された TACI の有無にかかわらず、TACI 及び BCMA について染色された、MM1S Cas9 がん細胞のフローサイトメトリー分析を示す。

20

【図 27B】図 27B は、がん細胞に対する T 細胞の様々な比率での抗 TACI H-L CAR、抗 TACI L-H CAR、抗 BCMA CAR、又は非形質導入 T 細胞との共インキュベーションから生じる MM1S Cas9 及び MM1S Cas9 TACI ノックアウトの細胞傷害性を示す。

【図 28】図 28 は、フローサイトメトリーによって測定された、その各可溶性抗原に対する二重特異性及び単一特異性 CAR T 細胞の結合親和性を示している。上の二つのプロットは、蛍光 BCMA の結合を示し、下の二つのプロットは、蛍光 TACI の抗 TACI H-L CAR、抗 TACI L-H CAR、抗 BCMA、抗 TACI / 抗 BCMA 二重特異性 CAR、抗 BCMA / 抗 TACI 二重特異性 CAR、又は非形質導入 T 細胞への結合を示している。左の二つのプロットは、BCMA 又は TACI に陽性の細胞のパーセントを示している。右の二つのプロットは、非形質導入細胞と比較した各細胞集団の蛍光強度中央値を示している。

30

【図 29】図 29 は、単独あるいは抗 TACI / 抗 BCMA 二重特異性 CAR、抗 BCMA / 抗 TACI 二重特異性 CAR、又は非形質導入 T 細胞との共培養における MM1S (上のプロット) 又は RPMI 8226 (下のプロット) がん細胞の培養物からの上清中のサイトカイン濃度の測定値を示している。左のプロットはインターロイキン - 2 (IL-2) 濃度を示し、中央のプロットはインターフェロンガンマ (IFN $\gamma$ ) 濃度を示し、右のプロットは腫瘍壊死因子アルファ (TNF $\alpha$ ) 濃度を示している。

【図 30A】図 30A - 30E は、二重特異性 CAR T 細胞を用いた MM1S ストレスモデルの結果を示している。図 30A は、-14 日目に  $1 \times 10^6$  個の MM1S 細胞をマウスに静脈内注射し、ついで 0 日目に  $2 \times 10^6$  個の CAR T 細胞を静脈内注射し、0、4、7、11、及び 14 日目に生物発光イメージング測定を行った、実験の予定表を示している。図 30B、30C、及び 30D は、三の異なるドナーから (抗 TACI / 抗 BCMA 二重特異性 CAR 又は抗 BCMA / 抗 TACI 二重特異性 CAR で形質導入された、又は非形質導入の) T 細胞で処理された、あるいは未処理のマウスで測定された MM1S 細胞からの生物発光フラックスを示している。図 30E は、ドナー 1 からの細胞で処置されたマウスからの代表的な生物発光画像を示している。

40

【図 30B】上記

【図 30C】上記

50

【図 3 0 D】上記

【図 3 0 E】上記

【図 3 1 A】図 3 1 A - 3 1 F は、R P M I 8 2 2 6 皮下腫瘍モデルからの結果を示している。図 3 1 A は、 $5 \times 10^6$  個の R P M I 8 2 2 6 細胞が - 1 4 日目にマウスに皮下移植され、ついで  $2 \times 10^6$  個の C A R T 細胞が 0 日目に静脈内注射され、腫瘍のキャリパー測定が 0、4、7、10、及び 14 日目に行われた、実験の予定表を示している。図 3 1 B は、14 日目（左）及び 21 日目（右）でのマウスの血液中の 1 マイクロリットル当たりの C A R T 細胞の数を示している。

【図 3 1 B】上記

【図 3 1 C - 3 1 F】図 3 1 C、3 1 D、3 1 E、及び 3 1 F は、抗 T A C I / 抗 B C M A 二重特異性 C A R（図 3 1 C）、抗 B C M A / 抗 T A C I 二重特異性 C A R（図 3 1 D）、又は非形質導入（図 3 1 E）T 細胞で処置されたマウス、又は未処置（図 3 1 F）のマウスにおいて測定された腫瘍体積曲線を示している。

10

【図 3 2 A】図 3 2 A - 3 2 B は、抗原刺激を繰り返した後の T 細胞消耗をモニターする実験の結果を示している。図 3 2 A は、 $1 \times 10^6$  個の T 細胞（非形質導入又は抗 B C M A C A R、抗 T A C I / 抗 B C M A 二重特異性 C A R、又は抗 B C M A / 抗 T A C I 二重特異性 C A R で形質導入）が、0 日目に B C M A を過剰発現する照射 K 5 6 2 細胞で刺激され、フローサイトメトリー分析が、0、7、14、21、及び 28 日目に行われて、消耗及びメモリー表現型をモニターした、実験の予定表を示している。T 細胞を各時点でカウントし、 $1 \times 10^6$  個の細胞に再正規化し、再刺激した。

20

【図 3 2 B】図 3 2 B は、経時的な T 細胞上の T i m - 3 及び L a g 3 のフローサイトメトリー測定の結果を示している。

【図 3 3 A】図 3 3 A - 3 3 C は、繰り返し刺激された C A R T 細胞における T 細胞表現型の分析結果を示す。図 3 3 A は、 $1 \times 10^6$  個の C A R T 細胞が 0 日目に B C M A を過剰発現する照射 K 5 6 2 細胞で刺激され、カウントされ、0、7、14、及び 21 日目にフローサイトメトリーによって分析された、実験の予定表を示している。C A R T 細胞は、7 日目及び 14 日目に再刺激した。

【図 3 3 B】図 3 3 B は、左に示された定義に従う、各エフェクター表現型にフローサイトメトリーによって分類された、各タイプの C A R T 細胞（抗 B C M A、抗 T A C I / 抗 B C M A 二重特異性、又は抗 B C M A / 抗 T A C I 二重特異性）のパーセントを示す（セントラルメモリー（C M）：C C R 7<sup>+</sup> C D 4 5 R A<sup>-</sup>；エフェクターメモリー（E M）：C C R 7<sup>-</sup> C D 4 5 R A<sup>-</sup>；ナイーブ：C C R 7<sup>+</sup> C D 4 5 R A<sup>+</sup>；高分化型エフェクター（T D E）：C C R 7<sup>-</sup> C D 4 5 R A<sup>+</sup>）。

30

【図 3 3 C】図 3 3 C は、細胞数 /  $10^6$  としての、経時的な C A R T 細胞の増殖を示している。

【発明を実施するための形態】

【0144】

ここに提供されるのは、抗 t r a n s m e m b r a n e a c t i v a t o r a n d c a l c i u m m o d u l a t o r a n d c y c l o p h i l i n l i g a n d i n t e r a c t o r（T A C I）抗体、その抗体薬物コンジュゲート、T A C I を標的とする二重特異性 T 細胞エンゲージャー（B i T E）、及び抗 T A C I キメラ抗原受容体（C A R）である。そのような抗体、抗体薬物コンジュゲート、B i T E、及び C A R は、例えば、それを必要とする対象におけるがん、自己免疫障害、あるいは形質細胞疾患又は障害を治療するための方法において使用することができる。

40

【0145】

[ 抗 T A C I 抗体 ]

本発明は、T A C I に特異的に結合する単離された抗体を提供する。

本開示は、幾つかの態様において、ここに記載される抗 T A C I 抗体の重鎖及び軽鎖可変ドメイン配列、並びに重鎖及び軽鎖 C D R 配列を提供する。異なる定義システム（例えば、I M G T 定義、K a b a t 定義、又は C h o t h i a 定義）が使用される場合、抗体

50

の C D R は異なるアミノ酸配列を持ちうる。ある定義システムで、所与の抗体配列（例えば、V H 又は V L 配列）に各アミノ酸をアノテートし、重鎖及び軽鎖 C D R に対応する番号を表 3 に提供する。異なる定義システムによる抗 T A C I 抗体の例の C D R 配列を表 4 に提供する。

#### 【 0 1 4 6 】

幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、表 4 から選択される抗 T A C I 抗体の何れか一からの C D R - H（例えば、C D R - H 1、C D R - H 2、及び C D R - H 3）アミノ酸配列のうちの一又は複数を含む。幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、表 4 に提供される各番号付けシステムに対して提供されるように、C D R - H 1、C D R - H 2、及び C D R - H 3 を含む。幾つかの実施態様では、本開示の T A C I 抗体は、表 4 から選択される抗 T A C I 抗体の何れか一からの C D R - L（例えば、C D R - L 1、C D R - L 2、及び C D R - L 3）アミノ酸配列のうちの一又は複数を含む。幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、表 4 に提供される各番号付けシステムに対して提供されるように、C D R - L 1、C D R - L 2、及び C D R - L 3 を含む。

10

#### 【 0 1 4 7 】

幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、表 4 の各番号付けシステムに対して提供されるように、C D R - H 1、C D R - H 2、C D R - H 3、C D R - L 1、C D R - L 2、及び C D R - L 3 を含む。幾つかの実施態様では、抗体の重鎖及び軽鎖 C D R 3 ドメインは、抗原に対する抗体の結合特異性 / 親和性において特に重要な役割を果たしうる。従って、本開示の抗 T A C I 抗体は、表 4 に提供される抗 T A C I 抗体の何れか一の少なくとも重鎖及び / 又は軽鎖 C D R 3 を含む。

20

#### 【 0 1 4 8 】

幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号：1 のアミノ酸配列を有する重鎖可変ドメインの C D R - H 1、C D R - H 2、及び C D R - H 3 を含む。あるいは又は加えて、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号：2 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変ドメインの C D R - L 1、C D R - L 2、及び C D R - L 3 を含む。

#### 【 0 1 4 9 】

幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、（ I M G T 定義システムによる）配列番号：26 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、（ I M G T 定義システムによる）配列番号：27 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、（ I M G T 定義システムによる）配列番号：28 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3、（ I M G T 定義システムによる）配列番号：29 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、（ I M G T 定義システムによる）配列番号：30 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、及び（ I M G T 定義システムによる）配列番号：31 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む。

30

#### 【 0 1 5 0 】

幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号：26 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号：27 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、及び配列番号：28 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 と比較して、集合的に 5 以下のアミノ酸変異（例えば、5、4、3、2、又は 1 以下のアミノ酸変異）を含む、C D R - H 1、C D R - H 2、及び C D R - H 3 を含む。「集合的に」とは、三つの重鎖 C D R の全てのアミノ酸変異の全数が定義された範囲内にあることを意味する。あるいは又は加えて、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号：29 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号：30 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、及び配列番号：31 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 と比較して、集合的に 5 以下のアミノ酸変異（例えば、5、4、3、2、又は 1 以下のアミノ酸変異）を含む、C D R - L 1、C D R - L 2、及び C D R - L 3 を含む。

40

#### 【 0 1 5 1 】

幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号：26 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号：27 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、及び配列番号：28 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 と集合的に少なくとも 80 %（例えば、8

50

0%、85%、90%、95%、98%、又は99%)同一であるCDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3を含む。あるいは、又は加えて、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：29のアミノ酸配列を有するCDR-L1、配列番号：30のアミノ酸配列を有するCDR-L2、及び配列番号：31のアミノ酸配列を有するCDR-L3と集合的に少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%、又は99%)同一であるCDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含む。

【0152】

幾つかの実施態様では、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：26のアミノ酸配列を有するCDR-H1と比較して、3以下のアミノ酸変異(例えば、3、2、又は1以下のアミノ酸変異)を有するCDR-H1；配列番号：27のアミノ酸配列を有するCDR-H2と比較して、3以下のアミノ酸変異(例えば、3、2、又は1以下のアミノ酸変異)を有するCDR-H2；及び/又は配列番号：28のアミノ酸配列を有するCDR-H3と比較して、3以下のアミノ酸変異(例えば、3、2、又は1以下のアミノ酸変異)を有するCDR-H3を含む。あるいは又は加えて、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：29のアミノ酸配列を有するCDR-L1と比較して、3以下のアミノ酸変異(例えば、3、2、又は1以下のアミノ酸変異)を有するCDR-L1；配列番号：30のアミノ酸配列を有するCDR-L2と比較して、3以下のアミノ酸変異(例えば、3、2、又は1以下のアミノ酸変異)を有するCDR-L2；及び/又は配列番号：31のアミノ酸配列を有するCDR-L3と比較して、3以下のアミノ酸変異(例えば、3、2、又は1以下のアミノ酸変異)を有するCDR-L3を含む。

【0153】

幾つかの実施態様では、本開示の抗TACI抗体は、(Kabat定義システムによる)配列番号：32のアミノ酸配列を有するCDR-H1、(Kabat定義システムによる)配列番号：33のアミノ酸配列を有するCDR-H2、(Kabat定義システムによる)配列番号：34のアミノ酸配列を有するCDR-H3、(Kabat定義システムによる)配列番号：35のアミノ酸配列を有するCDR-L1；(Kabat定義システムによる)配列番号：36のアミノ酸配列を有するCDR-L2、及び(Kabat定義システムによる)配列番号：31のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む。

【0154】

幾つかの実施態様では、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：32のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号：33のアミノ酸配列を有するCDR-H2、及び配列番号：34のアミノ酸配列を有するCDR-H3と比較して、集合的に5以下のアミノ酸変異(例えば、5、4、3、2、又は1以下のアミノ酸変異)を含む、CDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3を含む。「集合的に」とは、三つの重鎖CDRの全てのアミノ酸変異の全数が定義された範囲内にあることを意味する。あるいは又は加えて、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：35のアミノ酸配列を有するCDR-L1、配列番号：36のアミノ酸配列を有するCDR-L2、及び配列番号：31のアミノ酸配列を有するCDR-L3と比較して、集合的に5以下のアミノ酸変異(例えば、5、4、3、2、又は1以下のアミノ酸変異)を含む、CDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含む。

【0155】

幾つかの実施態様では、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：32のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号：33のアミノ酸配列を有するCDR-H2、及び配列番号：34のアミノ酸配列を有するCDR-H3と集合的に少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%、又は99%)同一であるCDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3を含む。あるいは、又は加えて、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：35のアミノ酸配列を有するCDR-L1、配列番号：36のアミノ酸配列を有するCDR-L2、及び配列番号：31のアミノ酸配列を有するCDR-L3と集合的に少なくとも80%(例えば、80%、85%、90%、95%、98%、又は99%)同一であるCDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含む。

## 【 0 1 5 6 】

幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号： 3 2 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1 と比較して、 3 以下のアミノ酸変異（例えば、 3、 2、又は 1 以下のアミノ酸変異）を有する C D R - H 1；配列番号： 3 3 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2 と比較して、 3 以下のアミノ酸変異（例えば、 3、 2、又は 1 以下のアミノ酸変異）を有する C D R - H 2；及び/又は配列番号： 3 4 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 と比較して、 3 以下のアミノ酸変異（例えば、 3、 2、又は 1 以下のアミノ酸変異）を有する C D R - H 3 を含む。あるいは又は加えて、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号： 3 5 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1 と比較して、 3 以下のアミノ酸変異（例えば、 3、 2、又は 1 以下のアミノ酸変異）を有する C D R - L 1；配列番号： 3 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2 と比較して、 3 以下のアミノ酸変異（例えば、 3、 2、又は 1 以下のアミノ酸変異）を有する C D R - L 2；及び/又は配列番号： 3 1 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 と比較して、 3 以下のアミノ酸変異（例えば、 3、 2、又は 1 以下のアミノ酸変異）を有する C D R - L 3 を含む。

10

## 【 0 1 5 7 】

幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、（ C h o t h i a 定義システムによる）配列番号： 3 7 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、（ C h o t h i a 定義システムによる）配列番号： 3 8 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、（ C h o t h i a 定義システムによる）配列番号： 3 9 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3、（ C h o t h i a 定義システムによる）配列番号： 4 0 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1；（ C h o t h i a 定義システムによる）配列番号： 3 0 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、及び（ C h o t h i a 定義システムによる）配列番号： 4 1 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む。

20

## 【 0 1 5 8 】

幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号： 3 7 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号： 3 8 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、及び配列番号： 3 9 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 と比較して、集合的に 5 以下のアミノ酸変異（例えば、 5、 4、 3、 2、又は 1 以下のアミノ酸変異）を含む、 C D R - H 1、 C D R - H 2、及び C D R - H 3 を含む。「集合的に」とは、三つの重鎖 C D R の全てのアミノ酸変異の全数が定義された範囲内にあることを意味する。あるいは又は加えて、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号： 4 0 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号： 3 0 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、及び配列番号： 4 1 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 と比較して、集合的に 5 以下のアミノ酸変異（例えば、 5、 4、 3、 2、又は 1 以下のアミノ酸変異）を含む、 C D R - L 1、 C D R - L 2、及び C D R - L 3 を含む。

30

## 【 0 1 5 9 】

幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号： 3 7 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号： 3 8 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、及び配列番号： 3 9 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 と集合的に少なくとも 8 0 %（例えば、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 5 %、 9 8 %、又は 9 9 %）同一である C D R - H 1、 C D R - H 2、及び C D R - H 3 を含む。あるいは、又は加えて、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号： 4 0 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号： 3 0 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、及び配列番号： 4 1 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 と集合的に少なくとも 8 0 %（例えば、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 5 %、 9 8 %、又は 9 9 %）同一である C D R - L 1、 C D R - L 2、及び C D R - L 3 を含む。

40

## 【 0 1 6 0 】

幾つかの実施態様では、本開示の抗 T A C I 抗体は、配列番号： 3 7 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1 と比較して、 3 以下のアミノ酸変異（例えば、 3、 2、又は 1 以下のアミノ酸変異）を有する C D R - H 1；配列番号： 3 8 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2 と比較して、 3 以下のアミノ酸変異（例えば、 3、 2、又は 1 以下のアミノ酸変異）

50

を有するCDR-H2；及び/又は配列番号：39のアミノ酸配列を有するCDR-H3と比較して、3以下のアミノ酸変異（例えば、3、2、又は1以下のアミノ酸変異）を有するCDR-H3を含む。あるいは又は加えて、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：40のアミノ酸配列を有するCDR-L1と比較して、3以下のアミノ酸変異（例えば、3、2、又は1以下のアミノ酸変異）を有するCDR-L1；配列番号：30のアミノ酸配列を有するCDR-L2と比較して、3以下のアミノ酸変異（例えば、3、2、又は1以下のアミノ酸変異）を有するCDR-L2；及び/又は配列番号：41のアミノ酸配列を有するCDR-L3と比較して、3以下のアミノ酸変異（例えば、3、2、又は1以下のアミノ酸変異）を有するCDR-L3を含む。

【0161】

10

幾つかの実施態様では、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：1のアミノ酸配列を含むVHを含む。あるいは又は加えて、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：2のアミノ酸配列を含むVLを含む。

【0162】

幾つかの実施態様では、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：1に記載のVHと比較した場合、20以下のアミノ酸変異（例えば、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、又は1以下のアミノ酸変異）を含むVHを含む。あるいは又は加えて、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：2に記載のVLと比較した場合、20以下のアミノ酸変異（例えば、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、9、8、7、6、5、4、3、2、又は1以下のアミノ酸変異）を含むVLを含む。

20

【0163】

幾つかの実施態様では、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：1に記載のVHと少なくとも80%（例えば、80%、85%、90%、95%、98%、又は99%）同一であるアミノ酸配列を含むVHを含む。あるいは又は加えて、本開示の抗TACI抗体は、配列番号：2に記載のVLと少なくとも80%（例えば、80%、85%、90%、95%、98%、又は99%）同一であるアミノ酸配列を含むVLを含む。

【0164】

幾つかの実施態様では、本開示の抗TACI抗体は、ヒト化抗体である。幾つかの実施態様では、ヒト化抗TACI抗体は、（IMGT定義システムによる）配列番号：26のアミノ酸配列を有するCDR-H1、（IMGT定義システムによる）配列番号：27のアミノ酸配列を有するCDR-H2、（IMGT定義システムによる）配列番号：28のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VH；及び（IMGT定義システムによる）配列番号：29のアミノ酸配列を有するCDR-L1、（IMGT定義システムによる）配列番号：30のアミノ酸配列を有するCDR-L2、及び（IMGT定義システムによる）配列番号：31のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含むヒト化VLを含む。

30

【0165】

幾つかの実施態様では、ヒト化抗TACI抗体は、（Kabatat定義システムによる）配列番号：32のアミノ酸配列を有するCDR-H1、（Kabatat定義システムによる）配列番号：33のアミノ酸配列を有するCDR-H2、（Kabatat定義システムによる）配列番号：34のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VH；及び（Kabatat定義システムによる）配列番号：35のアミノ酸配列を有するCDR-L1、（Kabatat定義システムによる）配列番号：36のアミノ酸配列を有するCDR-L2、及び（Kabatat定義システムによる）配列番号：31のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含むヒト化VLを含む。

40

【0166】

幾つかの実施態様では、ヒト化抗TACI抗体は、（Chothia定義システムによる）配列番号：37のアミノ酸配列を有するCDR-H1、（Chothia定義システムによる）配列番号：38のアミノ酸配列を有するCDR-H2、（Chothia定義システムによる）配列番号：39のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含むヒト化VH

50



【 0 1 6 7 】

【 0 1 6 8 】

10

【 0 1 6 9 】

20

【 0 1 7 0 】

40

【 0 1 7 1 】

50

10

## 20

30

40

## 50

幾つかの実施態様では、 $s c F v$ は、配列番号：2のアミノ酸配列を含む $V_L$ のN末端連結された配列番号：1のアミノ酸配列を含む $V_H$ を含む。幾つかの実施態様では、 $V$ 及び $V_L$ は、 $G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S$ （配列番号：3）のアミノ酸配列を含むリンカーを介して連結される。

## 50

幾つかの実施態様では、s c F v は、配列番号：2 のアミノ酸配列を含む V L の C 末端

【 0 1 7 7 】

10

20

30

【 0 1 8 1 】

40

【 0 1 8 2 】

一実施態様では、 $K_D$ は、放射性標識抗原結合アッセイ（RIA）によって測定される。一実施態様では、RIAは、目的の抗体のFab型及びその抗原を用いて実施される。例えば、抗原に対するFabの溶液結合親和性は、非標識抗原の一連の滴定下で最小濃度の（ $1.25 \times 10^{-12}$  I）標識抗原でFabを平衡化し、次に抗Fab抗体コートプレートで結合抗原を捕捉することによって、測定される（例えば、Chen等, J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)を参照）。アッセイの条件を確立するために、MICRO TITER（登録商標）マルチウェルプレート（Thermo Scientific）を、50 mMの炭酸ナトリウム（pH 9.6）中の5  $\mu$ g/mlの捕捉抗Fab抗体（Cappel Labs）で一晩コートし、続いてPBS中の2%（w/v）のウシ血清アルブミンで室温（約23℃）において2から5時間ブロックした。非吸着プレート（Nunc # 269620）において、100 pM又は26 pMの $[1.25 \times 10^{-12}$  I] - 抗原を目的のFab（例えば、抗VEGF抗体, Fab-12の評価と一致する、Presta等, Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)）の段階希釈液と混合する。次に、目的のFabを一晩インキュベートする；しかしながら、確実に平衡に到達するようにするために、インキュベーションはより長い期間（例えば、約65時間）継続してもよい。その後、混合物を、室温でのインキュベーション（例えば、1時間）のために捕捉プレートに移す。次に、溶液を除去し、プレートをPBS中0.1%のポリソルベート20（TWEEN-20（登録商標））で8回洗浄する。プレートが乾燥したら、150  $\mu$ l/ウェルのシンチラント（MICROSCINT-20<sup>TM</sup>；Packard）を添加し、プレートをTOPCOUNT<sup>TM</sup>ガンマカウンター（Packard）で10分間カウントする。最大結合の20%以下をもたらす各Fabの濃度を、競合結合アッセイで使用するために選択する。

#### 【0183】

別の実施態様によれば、 $K_D$ は、BIA CORE（登録商標）表面プラズモン共鳴アッセイを使用して測定される。例えば、BIA CORE（登録商標）-3000（BIA Core, Inc., Piscataway, NJ）を使用したアッセイを、約10応答単位（RU）で固定化抗原CM5チップを用いて25℃において実施する。一実施態様では、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ（CM5, BIA CORE, Inc.）を、供給業者の説明書に従って、N-エチル-N'-（3-ジメチルアミノプロピル）-カルボジイミド塩酸塩（EDC）及びN-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）で活性化させる。抗原を10 mMの酢酸ナトリウム、pH 4.8で5  $\mu$ g/ml（約0.2  $\mu$ M）に希釈した後、5  $\mu$ l/分の流量で注入し、約10応答単位（RU）の結合タンパク質を達成する。抗原注入に続いて、1 Mのエタノールアミンを注入して未反応群をブロックする。動態測定では、Fabの二倍段階希釈液（0.78 nMから500 nM）を、約25  $\mu$ l/分の流量で25℃において0.05%のポリソルベート20（TWEEN-20<sup>TM</sup>）界面活性剤（PBST）を含むPBSに注入する。結合速度（ $k_{on}$ ）と解離速度（ $k_{off}$ ）を、結合センサーグラムと解離センサーグラムを同時にフィッティングすることにより、単純な一対一のラングミュア結合モデル（BIA CORE（登録商標）評価ソフトウェアバージョン3.2）を使用して計算する。平衡解離定数（ $K_D$ ）を、 $k_{on}/k_{off}$ として計算する。例えば、Chen等, J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)を参照のこと。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによってオン速度が $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を超える場合、オン速度は、攪拌キュベットを備えた8000シリーズSLM-AMINCO<sup>TM</sup>分光光度計（Thermo Spectronic）又はストップフローを装備した分光光度計（Aviv Instruments）のような分光計で測定して、増加濃度の抗原の存在下で、PBS, pH 7.2中20 nMの抗抗原抗体（Fab型）の25℃における蛍光発光強度の増減を測定する蛍光消光技術（励起 = 295 nm；発光 = 340 nm、16 nmバンドパス）を使用して決定できる。

#### 【0184】

別の実施態様によれば、 $K_D$ は、ここで実施例1において記載されるような表面プラズモン共鳴アッセイを使用して測定される。

#### 【0185】

10

20

30

40

50

## 〔抗体断片〕

所定の実施態様では、ここで提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片には、限定されないが、当該技術分野で知られている、F a b、F a b'、F a b' - S H、F ( a b' )<sub>2</sub>、F v、及びs c F v断片が含まれる。当該技術分野で知られているように、二価又は二重特異性でありうる二つの抗原結合部位を有するダイアボディも含まれる。トリアボディとテトラボディもまた知られている。単ドメイン抗体はまた抗体の重鎖可変ドメインの全部又は一部、あるいは軽鎖可変ドメインの全部又は一部を含む抗体断片である。所定の実施態様では、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である。

## 【0186】

抗体断片は、ここに記載されるように、限定されないが、インタクトな抗体のタンパク質分解消化、並びに組換え宿主細胞（例えば、大腸菌又はファージ）による産生を含む、様々な技術によって作製されうる。

## 【0187】

## 〔キメラ及びヒト化抗体〕

所定の実施態様では、ここで提供される抗体は、キメラ抗体である。一例では、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又は非ヒト霊長類、例えばサルに由来する可変領域）及びヒト定常領域を含む。更なる例では、キメラ抗体は、クラス又はサブクラスが親抗体のものから変更されている「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体には、その抗原結合断片が含まれる。

## 【0188】

所定の実施態様では、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、親の非ヒト抗体の特異性及び親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低下させるためにヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、H V R、例えば、C D R（又はその一部）が非ヒト抗体に由来し、F R（又はその一部）がヒト抗体配列に由来する一又は複数の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、場合によっては、ヒト定常領域の少なくとも一部をまた含む。幾つかの実施態様では、ヒト化抗体中の幾つかのF R残基は、例えば、抗体の特異性又は親和性を回復させ又は改善するために、非ヒト抗体（例えば、H V R残基が由来する抗体）からの対応する残基で置換される。

## 【0189】

ヒト化に使用されうるヒトフレームワーク領域には、限定されないが、「ベストフィット」法を使用して選択されたフレームワーク領域（例えば、Sims等 J. Immunol. 151:2296 (1993)を参照）；軽鎖又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等 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992)；及びPresta等 J. Immunol., 151:2623 (1993)を参照）；ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域又はヒト生殖系列フレームワーク領域（例えば、Almagro及びFransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)を参照）；及びF R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等, J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997)及びRosok等, J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)を参照）が含まれる。

## 【0190】

## 〔ヒト抗体〕

所定の実施態様では、ここで提供される抗体は、ヒト抗体（例えば、ヒトモノクローナル抗体（H u M a b）、例えば、抗T A C I H u M a b）である。ヒト抗体は、当該技術分野で知られている様々な技術を使用して産生することができる。

## 【0191】

ヒトモノクローナル抗体は、K o h l l e r 及びM i l l s t e i n , N a t u r e 256:495 (1975)に記載された標準的な体細胞ハイブリダイゼーション技術などの様々な既知の技術を使用して産生することができる。体細胞ハイブリダイゼーション手順が好ましいが、原理上は、モノクローナル抗体を産生するための他の技術、例えば、Bリンパ球のウイルス又は癌化、ヒト抗体遺伝子ライブラリーを使用するファージディスプレイ

10

20

30

40

50

技術を用いることができる。

【0192】

場合によっては、ヒト抗体は、ヒト対象から得られたヒトB細胞から直接重鎖及び軽鎖遺伝子をクローニングすることによって得られる。B細胞は、（例えば、フローサイトメトリー、例えば、FACSによって）末梢血から分離され、B細胞マーカーについて染色され、抗原結合について評価される。重鎖及び軽鎖可変領域（又は重鎖及び軽鎖全体）をコードするRNAが抽出され、DNAに逆転写され、そこから抗体遺伝子が（例えば、PCRによって）増幅され、配列決定される。次に、既知の抗体配列を使用して、既知の標的抗原（例えば、TACI）に対する組換えヒト抗体を発現させることができる。

【0193】

場合によっては、ヒト抗体は、抗原投与に応答してインタクトなヒト抗体又はヒト可変領域を有するインタクトな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（例えば、TACI）を投与することによって調製されうる。そのような動物は典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座に置き換わるか、又は染色体外に存在するか、又は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部又は一部を含む。そのようなトランスジェニックマウスでは、内因性免疫グロブリン遺伝子座が一般に不活化されている。そのような動物によって産生されたインタクトな抗体からのヒト可変領域が、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによって、更に改変されうる。

【0194】

場合によっては、ヒト抗体はハイブリドーマベースの方法によってもまた作製することができる。ヒトモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを作製するための好ましい動物系は、マウス系である。マウスにおけるハイブリドーマ産生は、免疫化プロトコル及び免疫化された脾細胞を単離し融合するための技術を含み、当該技術分野でよく知られている。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロ骨髓腫細胞株が記載されている。

【0195】

ヒト抗体はまたヒト由来の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って作製されうる。次に、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ための技術を以下に説明する。

【0196】

抗TACI抗体はまた、例えば、米国特許第4816567号に記載されているように、組換え方法及び組成物を使用して産生することもできる。一実施態様では、ここに記載の抗TACI抗体をコードする単離された核酸が提供される。そのような核酸は、抗体のVLを含むアミノ酸配列及び/又はVHを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び/又は重鎖）をコードしうる。更なる実施態様では、そのような核酸を含む一又は複数のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。更なる実施態様では、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。そのような一実施態様では、宿主細胞は、（1）抗体のVLを含むアミノ酸配列及び抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、又は（2）抗体のVLを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第一のベクターと抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第二のベクターを含む（例えば、それで形質転換されている）。一実施態様では、宿主細胞は真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞又はリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。一実施態様では、抗TACI抗体を作製する方法が提供され、該方法は、抗体の発現に適した条件下で、上で提供されたような、抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養し、場合によっては抗体を宿主細胞（又は宿主細胞培養培地）から回収することを含む。

【0197】

抗TACI抗体の組換え産生では、例えば上記のような、抗体をコードする核酸が単離

10

20

30

40

50

され、宿主細胞における更なるクローニング及び／又は発現のために一又は複数のベクターに挿入される。そのような核酸は、一般的な手順を使用して（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合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）容易に単離され配列決定されうる。

#### 【0198】

抗体をコードするベクターのクローニング又は発現に適した宿主細胞には、ここに記載の原核生物又は真核生物細胞が含まれる。例えば、抗体は、特にグリコシル化及びFcエフェクター機能が必要とされない場合、細菌中で産生されうる。発現後、抗体は、可溶性画分中の細菌細胞ペーストから単離され得、更に精製されうる。

#### 【0199】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母などの真核微生物は、そのグリコシル化経路が「ヒト化」されている真菌又は酵母株を含み、抗体をコードするベクターの適切なクローニング又は発現宿主であり、部分的又は完全にヒトのグリコシル化パターンを持つ抗体の産生をもたらす。

#### 【0200】

グリコシル化抗体の発現に適した宿主細胞は、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）にまた由来する。無脊椎動物細胞の例には、植物及び昆虫細胞が含まれる。特にヨトウガ（*Spodoptera frugiperda*）細胞のトランスフェクションのために、昆虫細胞と組み合わせて使用されうる多くのパキユロウイルス株が同定されている。植物細胞培養物もまた宿主として利用されうる。

#### 【0201】

脊椎動物細胞もまた宿主として使用されうる。例えば、懸濁液中で増殖するように適応化された哺乳動物細胞株が有用でありうる。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株（COS-7）；ヒト胎児腎臓株（例えば、Graham等, J. Gen Virol. 36:59 (1977)に記載されている293又は293細胞）；ベビーハムスター腎臓細胞（BHK）；マウスセルトリ細胞（例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)に記載されているTM4細胞）；サル腎臓細胞（CV1）；アフリカミドリザル腎臓細胞（VERO-76）；ヒト子宮頸癌細胞（HELA）；イヌ腎臓細胞（MDCK）；パッファローラット肝細胞（BRL 3A）；ヒト肺細胞（W138）；ヒト肝細胞（Hep G2）；マウス乳腺腫瘍（MMT060562）；例えば、Mather等, Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)に記載されているようなTRI細胞；MRC5細胞；及びFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株には、DHFR<sup>+</sup>CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、及び骨髓腫細胞株、例えばY0、NS0、及びSp2/0が含まれる。

#### 【0202】

##### [抗体バリエーション]

所定の実施態様では、抗TACI抗体のアミノ酸配列バリエーションが考慮される。例えば、抗体の結合親和性及び／又は他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列バリエーションは、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な修飾を導入することによって、又はペプチド合成によって調製されうる。そのような修飾には、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基の欠失、及び／又は挿入、及び／又は置換が含まれる。最終コンストラクトが所望の特徴、例えば、抗原結合性を有するという条件下で、欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせを行って、最終コンストラクトに到達することができる。

#### 【0203】

所定の実施態様では、一又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。置換変異誘発の対象となる部位には、CDR及びFRが含まれる。保存的置換は、表1に「好ましい置換」という見出しの下で示される。より実質的な変化は、「例示的置換」の見出しの下で表1に提供され、アミノ酸側鎖クラスに関して以下に更に説明される。アミノ酸置換を目的の抗体に導入し、生成物が所望の活性、例えば、保持／改善された抗原

10

20

30

40

50

結合性、減少した免疫原性、又は改善された A D C C 又は C D C についてスクリーニングされうる。

表1 例示的及び好ましいアミノ酸置換

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
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

#### 【 0 2 0 4 】

アミノ酸は、共通の側鎖特性に従ってグループ化されうる：

- ( 1 ) 疎水性：ノルロイシン、M e t、A l a、V a l、L e u、I l e；
- ( 2 ) 中性親水性：C y s、S e r、T h r、A s n、G l n；
- ( 3 ) 酸性：A s p、G l u；
- ( 4 ) 塩基性：H i s、L y s、A r g；
- ( 5 ) 鎖配向に影響を与える残基：G l y、P r o；
- ( 6 ) 芳香族：T r p、T y r、P h e。

非保存的置換では、これらのクラスの一つのメンバーを別のクラスに交換する必要がある。



## 【 0 2 0 5 】

一つのタイプの置換バリエーションは、親抗体（例えば、ヒト化又はヒト抗体）の一又は複数の超可変領域残基を置換することを含む。一般に、更なる研究のために選択される結果として生じるバリエーションは、親抗体に対して所定の生物学的特性（例えば、親和性の増加、免疫原性の低下）に変更（例えば、改善）を有し、及び／又は親抗体の所定の生物学的特性を実質的に保持している。例示的な置換バリエーションは、親和性成熟抗体であり、これは、例えば、ここに記載されるものなど、ファージディスプレイベースの親和性成熟技術を使用して、簡便に作製されうる。簡単に説明すると、一又は複数の C D R 残基が変異され、バリエーション抗体がファージにディスプレイされ、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される。

10

## 【 0 2 0 6 】

改変（例えば、置換）は、例えば、抗体親和性を改善するために、C D R においてなされうる。そのような改変は、C D R の「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟過程中に高頻度で変異を受けるコドンによってコードされる残基、及び／又は抗原に接触する残基で行われ得、得られるバリエーション V H 又は V L が結合親和性について試験される。二次ライブラリーから構築し再選択することによる親和性成熟が、当該技術分野で知られている。親和性成熟の幾つかの実施態様では、多様性が、様々な方法（例えば、エラープロード P C R、鎖シャッフリング、又はオリゴヌクレオチド特異的変異誘発）の何れかによって成熟のために選択される可変遺伝子中に導入される。ついで、二次ライブラリーが作製される。ついで、ライブラリーをスクリーニングして、所望の親和性を持つ抗体バリエーションが同定される。多様性を導入する別の方法は、幾つかの C D R 残基（例えば、一度に 4 - 6 残基）がランダム化された C D R 指向のアプローチを伴う。抗原結合に関与する C D R 残基は、例えばアラニンスキャニング変異誘発又はモデリングを使用して、特異的に同定することができる。特に C D R - H 3 及び C D R - L 3 がしばしば標的とされる。

20

## 【 0 2 0 7 】

所定の実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、そのような改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限り、一又は複数の C D R 内で生じうる。例えば、実質的に結合親和性を低下させない保存的改変（例えば、ここに提供される保存的置換）を C D R 内で行うことができる。このような改変は、例えば、C D R 内の抗原接触残基の外側で生じうる。上に提供されたバリエーション V H 及び V L 配列に所定の実施態様では、各 C D R は未改変か、又はわずか一、二、若しくは三のアミノ酸置換を含む。

30

## 【 0 2 0 8 】

変異誘発のために標的とされうる抗体の残基又は領域の同定のための有用な方法は、Cunningham 及び Wells (1989) Science, 244:1081-1085 に記載されるように「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法では、標的残基の残基又は群（例えば、A r g、A s p、H i s、L y s 及び G l u などの荷電残基）が同定され、抗原と抗体の相互作用が影響を受けるかどうかを決定するために、中性又は負に帯電したアミノ酸（例えば、アラニン又はポリアラニン）により置換される。更なる置換が、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸の位置に導入されうる。あるいは又は加えて、抗体と抗原の間の接触点を同定するための抗原 - 抗体複合体の結晶構造。そのような接触残基及び隣接残基は、置換候補として標的とされ得、又は排除されうる。バリエーションは、所望の特性を含むかどうかを決定するためにスクリーニングされうる。

40

## 【 0 2 0 9 】

アミノ酸配列挿入物には、1 残基から 1 0 0 以上の残基を含むポリペプチドの長さに及びアミノ - 及び／又はカルボキシル末端融合体、並びに単一又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入物が含まれる。末端挿入物の例には、N 末端メチオニル残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入バリエーションには、抗体の血清半減期を延長させる酵素（例えば A D E P T のための）又はポリペプチドに対する抗体の N 末端又は C 末端への融合物が含まれる。

## 【 0 2 1 0 】

50

所定の実施態様では、改変は抗体のFc領域に対してなされうる。これらの改変は、単独で、あるいは一又は複数の抗体可変ドメイン（すなわち、VH又はVL領域）又はその領域（例えば、一又は複数のCDR又はFR）への改変に加えて、なされうる。Fc領域の改変は、例えば、オプソニン化細胞に対するC1q結合力を増加させることにより、抗体エフェクター機能（例えば、補体依存性細胞傷害性（CDC））の向上をもたらしうる。CDCを向上させる例示的な変異には、例えば、Fc変異E345R、E430G、及びS440Yが含まれる。従って、抗TACI抗体は、IgG六量体形成及びその後の補体の第一成分であるC1の動員及び活性化を促進する、一又は複数のCDC増強Fc変異を含みうる。

#### 【0211】

所定の実施態様では、抗体のFc領域のアミノ酸配列の改変は、宿主における抗体の半減期を変化させうる。新生児Fc受容体（FcRn）への結合を変化させる所定の変異は、血清中の抗体の半減期を延長しうる。例えば、重鎖位置252にチロシン、重鎖位置254にスレオニン、及び重鎖位置256にグルタミン酸を有する抗体は、劇的に延長された血清中半減期を有しうる（例えば、米国特許第7083784号を参照）。

#### 【0212】

##### [TACIに対するモノクローナル抗体の特性]

本発明のヒトモノクローナル抗体の配列情報は、当該技術分野でよく知られている配列決定技術を使用して確認することができる。

同様に、TACIに対する抗体の親和性をまた標準的な手法を使用して評価できる。例えば、Biacore3000を使用して、HuMabのTACIへの親和性を決定することができる。HuMabは、例えばアミンカップリング（センサーチップCM5）を介して、Biacoreチップ（GE healthcare）の表面に捕捉される。捕捉されたHuMabを、様々な濃度の溶液中のTACIに曝露することができ、親和性（ $K_D$ ）の $K_{on}$ 及び $K_{off}$ を、例えばBIAevaluationソフトウェアによって計算することができる。

#### 【0213】

本発明のヒトモノクローナル抗体をまた、ELISA、ウエスタンブロットなどの様々な既知の技術を使用して、TACIへの結合について特徴付けることができる。一般に、抗体は、最初にELISAによって特徴付けられる。場合によっては、ELISAアッセイを使用して抗体を、よって、TACI免疫原と陽性反応性を示す抗体を産生するハイブリドーマをスクリーニングすることができる。次に、好ましくは高い親和性で、TACIに結合するハイブリドーマをサブクローン化し、更に特徴付けることができる。次に、（ELISAにより）親細胞の反応性を保持する各ハイブリドーマからの一つのクローンを、細胞バンク作製及び抗体精製のために選択することができる。

#### 【0214】

場合によっては、競合アッセイを使用して、TACIへの結合について本発明の抗TACI抗体と競合する抗体を同定することができる。所定の実施態様では、そのような競合する抗体は、本発明の抗TACI抗体によって結合される同じエピトープ（例えば、直線状又は立体構造エピトープ）に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的な方法は、Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)に提供される。

#### 【0215】

##### [抗体薬物コンジュゲート]

幾つかの実施態様では、本発明の抗TACI抗体は、生分解性の安定なリンカーによって（例えば、ジスルフィド又は非切断可能チオエーテルリンカーによって）薬物部分に、すなわち、抗体薬物コンジュゲートとして、共有結合されうる。抗体が共有結合される薬物は、抗体にコンジュゲートされていない場合、細胞傷害性又は細胞増殖抑制効果を有しうる。より高い選択性、従ってより低い有効用量を達成するために、抗体薬物コンジュゲートを使用して、TACIを発現する細胞（例えば、TACIを発現する腫瘍組織）に有

10

20

30

40

50

効用量の細胞傷害性薬物を選択的に送達させることができる。より高い選択性を達成することにより、抗体薬物コンジュゲートの使用はまた、全身曝露を減少させ、薬物の忍容性を高めうる。加えて、抗体薬物コンジュゲートは、薬物及び／又は抗体がその非コンジュゲート形態で投与される場合と比較して、薬物及び／又は抗体の生物学的利用能を改善しうる。

#### 【0216】

##### [二重特異性T細胞エンゲージャー (BiTE)]

ここにまた提供されるのは、二重特異性T細胞エンゲージャー (BiTE) として知られる二重特異性抗体である。そのような分子は、T細胞抗原に結合することによって (例えば、CD3に結合することによって)、並びに標的抗原、例えば、TACIに結合することによって、T細胞を標的にすることができる。BiTEは、例えば、腫瘍微小環境においてT細胞応答を増強するために使用できる。BiTEの二成分は、ここに記載のリンカー (例えば、グリシン/セリンベースのリンカー) によって場合によっては互いに分離され得、また、例えば、抗TACI成分のN末端に抗CD3成分を、又はその逆の何れかの配向で連結されうる。

10

#### 【0217】

ここに記載の方法に有用な例示的なBiTEには、CD3結合ドメイン及びTACI結合ドメインが含まれる。そのようなBiTEには、CD3結合ドメインとして抗CD3 scFvが含まれうる。抗CD3 scFvは、当該技術分野で知られている任意の抗CD3抗体に由来しうる。

20

#### 【0218】

場合によっては、TACI結合ドメイン (例えば、抗体) は、約5 nM以下 (例えば、約5 nM以下、約4 nM以下、約3 nM以下、約2 nM以下、約1 nM以下、約900 pM以下、約875 pM以下、約850 pM以下、約825 pM以下、約800 pM以下、約700 pM以下、約600 pM以下、又は約500 pM以下) の $K_D$ でTACIに結合する。一実施態様では、TACI結合ドメイン (例えば、抗体) は、約500 pMと約1 nMの間の $K_D$ でTACIに結合する。一実施態様では、TACI結合ドメイン (例えば、抗体) は、約700 pMと約900 pMの間の $K_D$ でTACIに結合する。一実施態様では、TACI結合ドメイン (例えば、抗体) は、約861 pMの $K_D$ でTACIに結合する。

30

#### 【0219】

更に、BiTEは、上記のように抗TACI抗体に由来するTACI結合ドメインを含みうる。幾つかの実施態様では、TACI結合ドメインは、配列番号：1の配列に対して少なくとも80%の配列同一性 (例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性)、又はその配列を有するVHを含む。更なる実施態様では、TACI結合ドメインは、配列番号：2の配列に対して少なくとも80%の配列同一性 (例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性)、又はその配列を有するVL配列を含む。所定の実施態様では、TACI結合ドメインは、配列番号：1の配列に対して少なくとも80%の配列同一性 (例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性)、又はその配列を有するVH配列と、配列番号：2の配列に対して少なくとも80%の配列同一性 (例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性)、又はその配列を有するVL配列を含む。

40

#### 【0220】

TACI結合ドメインは、CD3結合ドメインのN末端に配置されうるか、又はCD3

50

結合ドメインは、T A C I 結合ドメインのN末端に配置されうる。T A C I 結合ドメイン及びC D 3 結合ドメインは、場合によっては、リンカー配列、例えば、配列番号：3、14、15、16、又は17（以下に記載）のリンカー配列、並びにここに記載されているか又は当該技術分野で知られている任意の他のリンカーを介して連結されうる。

#### 【0221】

##### [キメラ抗原受容体(CAR)]

ここに記載の技術は、免疫療法で使用するための改良されたキメラ抗原受容体(CAR)を提供する。次には、CARと様々な改良が検討される。

#### 【0222】

CARとは、CARを発現するように改変された細胞（例えば、T細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、又は人工多能性幹細胞(iPSC)）にリガンド又は抗原特異性を移植する改変されたT細胞受容体を指す。CARは、T細胞受容体分子の膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含むコンストラクト上に、T細胞応答の標的とされる細胞の表面に発現される標的、例えばポリペプチドに特異的に結合するキメラ細胞外標的結合ドメインを配する。一実施態様では、キメラ細胞外標的結合ドメインは、T細胞応答の標的とされる細胞上に発現される抗原に特異的に結合する抗体の抗原結合ドメインを含む。CARの細胞内シグナル伝達ドメインの特性は、当該技術分野で知られ、ここに開示されているように変わりうるが、キメラ標的/抗原結合ドメインは、キメラ標的/抗原結合ドメインが標的細胞の表面上の標的/抗原に結合すると、受容体をシグナル伝達活性化に対して感受性にする。

#### 【0223】

細胞内シグナル伝達ドメインに関し、いわゆる「第一世代」CARには、抗原結合時にC D 3 ゼータ(C D 3 )シグナルのみを提供するものが含まれる。いわゆる「第二世代」CARには、共刺激（例えば、C D 2 8 又はC D 1 3 7）及び活性化(C D 3 )ドメインの両方を提供するものが含まれ、いわゆる「第三世代」CARには、複数の共刺激（例えば、C D 2 8 及びC D 1 3 7）ドメインと活性化ドメイン（例えば、C D 3）を提供するものが含まれる。様々な実施態様では、CARは、標的/抗原に対して高い親和性又は結合活性を有するように選択され - 例えば、抗体由来の標的又は抗原結合ドメインは、天然に生じるT細胞受容体よりも一般に標的抗原に対して高い親和性及び/又は結合活性を有する。この特性は、抗体に対して選択できる高い特異性と相まって、CAR T細胞による高度に特異的なT細胞ターゲティングを提供する。

#### 【0224】

##### [細胞外標的結合ドメイン]

ここで使用される場合、「細胞外標的結合ドメイン」という用語は、標的への結合を促進するのに十分な、細胞の外側に見出されるポリペプチドを意味する。細胞外標的結合ドメインは、その結合パートナー、すなわち標的に特異的に結合する。非限定的な例として、細胞外標的結合ドメインは、抗体又は抗体試薬の抗原結合ドメイン、又は同族結合パートナータンパク質を認識して結合するリガンドを含みうる。この文脈において、リガンドは、タンパク質及び/又は受容体の一部に特異的に結合する分子である。ここに記載される方法及び組成物において有用なリガンドの同族結合パートナーは、一般に、細胞の表面に見出されうる。リガンド：同族パートナー結合は、リガンドを持つ受容体の変化をもたらし、又は生理学的応答を活性化、例えば、シグナル伝達経路を活性化しうる。一実施態様では、リガンドはゲノムに対して非天然でありうる。場合によっては、リガンドは、少なくとも二種にわたって保存された機能を有する。

#### 【0225】

##### [抗体試薬]

様々な実施態様では、ここに記載のCARは、細胞外標的結合ドメインとして抗体試薬又はその抗原結合ドメインを含む。

#### 【0226】

ここで使用される場合、「抗体試薬」という用語は、少なくとも一の免疫グロブリン可

10

20

30

40

50

変ドメイン又は免疫グロブリン可変ドメイン配列を含み、所与の抗原に特異的に結合するポリペプチドを意味する。例えば、ここに記載のCARに有用な抗体試薬には、上に記載の抗体の何れかーが含まれる。抗体試薬は、抗体又は抗体の抗原結合ドメインを含むポリペプチドを含みうる。態様の何れかの幾つかの実施態様では、抗体試薬は、モノクローナル抗体又はモノクローナル抗体の抗原結合ドメインを含むポリペプチドを含みうる。例えば、抗体は、VHとVLを含みうる。別の例では、抗体は、二つのVHと二つのVLを含む。「抗体試薬」という用語は、抗体の抗原結合断片（例えば、単鎖抗体、Fab及びsFab断片、F(ab')<sub>2</sub>、Fd断片、Fv断片、scFv、CDR、及びドメイン抗体（dAb）断片（例えば、de Wildt等, Eur. J. Immunol. 26(3):629-639, 1996を参照のこと；これは出典明示によりその全体がここに援用される））並びに完全抗体を包含する。抗体は、IgA、IgG、IgE、IgD、又はIgM（並びにそれらのサブタイプと組み合わせ）の構造的特徴を有しうる。抗体は、マウス、ウサギ、ブタ、ラット、及び霊長類（ヒト及び非ヒト霊長類）及び霊長類化抗体を含む、任意の供給源由来でありうる。抗体にはまたミディボディ、ヒト化抗体、キメラ抗体なども含まれる。完全ヒト抗体結合ドメインは、例えば、当業者に知られた方法を使用して、ファージディスプレイライブラリーから選択することができる。更に、抗体試薬には、カメリド抗体などの単ドメイン抗体が含まれる。

10

#### 【0227】

一実施態様では、CARの細胞外標的結合ドメインは、可動性リンカーペプチドを介して、抗体、一般的にはモノクローナル抗体のVH及びVLドメインを融合することにより作製される単鎖Fv（scFv）断片を含むか、又は本質的にそれからなる。様々な実施態様では、scFvは、膜貫通ドメイン及びT細胞受容体細胞内シグナル伝達ドメイン、例えば、ここに記載されるような改変された細胞内シグナル伝達ドメインに融合される。別の実施態様では、CARの細胞外標的結合ドメインは単ドメイン（例えば、カメリド）抗体を含む。抗体結合ドメイン及びそれらを選択しクローン化する方法は、当業者によく知られている。

20

#### 【0228】

##### [ 標的 / 抗原 ]

任意の細胞表面部分がCARによって標的化されうる。しばしば、標的は、T細胞応答に対して標的とすることを望む細胞上で差次的に又は優先的に発現されうる細胞表面ポリペプチドである。腫瘍又はがん細胞を標的とするために、抗体ドメインは、ここに記載されるように、例えば、TACIに対して標的化されうる。腫瘍に特異的な腫瘍抗原又は腫瘍関連抗原を標的とすることは、非腫瘍細胞又は組織への付随的損傷を回避又は少なくとも制限しながら、腫瘍細胞を標的にする手段を提供しうる。

30

#### 【0229】

ここに提供されるCARは、APRIL、BAFF、及びCAMLを認識する受容体であるTACIを標的とする。TACI配列は、多くの種で知られており、例えば、ヒトTACI（NCBI遺伝子番号：23495）ポリペプチド（例えば、NCBI参照配列：NP\_036584.1）及びmRNA（例えば、NCBI参照配列：NM\_012452.2）である。TACIは、天然に生じるバリエーション、分子、及びそれらの対立遺伝子を含む、ヒトTACIを指しうる。ヒトTACIのホモログ及び/又はオルソログは、例えば、NCBIオルソログ検索機能を使用するか、又は参照TACI配列に類似する配列について所与の種について利用可能な配列データを検索して、当業者によってそのような種について容易に特定される。

40

#### 【0230】

所定の例では、ここに記載のCARはまた追加の第二の標的を標的としうる。追加の標的、例えば、腫瘍抗原、腫瘍関連抗原、又は他の目的の抗原の非限定的な例には、BCMA、CD19、CD37、CEA、未熟ラミニン受容体、TAG-72、HPV E6及びE7、BING-4、カルシウム活性化クロライドチャンネル2、サイクリンB1、9D7、Ep-CAM、EphA3、Her2/neu、テロメラーゼ、メソテリン、SAP-

50

【 0 2 3 1 】

幾つかの実施態様では、本発明は、抗体試薬を含むTACI結合ドメインを含む抗TACI CARを提供する。場合によっては、TACI結合ドメインは、約5 nM以下（例えば、約5 nM以下、約4 nM以下、約3 nM以下、約2 nM以下、約1 nM以下、約900 pM以下、約875 pM以下、約850 pM以下、約825 pM以下、約800 pM以下、約700 pM以下、約600 pM以下、又は約500 pM以下）の $K_D$ でTACIに結合する。一実施態様では、TACI結合ドメインは、約500 pMと約1 nMの間の $K_D$ でTACIに結合する。一実施態様では、TACI結合ドメインは、約700 pMと約900 pMの間の $K_D$ でTACIに結合する。一実施態様では、TACI結合ドメインは、約861 pMの $K_D$ でTACIに結合する。

例えば、抗体試薬は、抗TACI抗体又はその抗原結合断片、例えば、抗TACI s c F vでありうる。幾つかの実施態様では、抗TACI s c F vは、配列番号：1の配列に対して、少なくとも80%の配列同一性（例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性）、又はその配列を有するVH配列を含む。他の実施態様では、抗TACI s c F vは、配列番号：2の配列に対して、少なくとも80%の配列同一性（例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性）、又はその配列を有するVL配列を含む。場合によっては、抗TACI s c F vは、配列番号：1の配列に対して、少なくとも80%の配列同一性（例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性）、又はその配列を有するVH配列と、配列番号：2の配列に対して、少なくとも80%の配列同一性（例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性）、又はその配列を有するVL配列を含む。VHは、VLのN末端に配置され得（VH-VL）、又はVLは、VHのN末端に配置されうる（VL-VH）。

VH及びVLドメインは、リンカー配列を介して連結されうる。例えば、本発明に有用なリンカー配列には、限定されないが、グリシン／セリンリンカー、例えば、GGGSGGGSGGGS（配列番号：14）及びGly4Ser（G4S）リンカー、例えば（G4S）<sub>3</sub>（GGGSGGGSGGGSGGGGS（配列番号：15））及び（G4S）<sub>4</sub>（GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS（配列番号：3））；その内容が出典明示によりその全体についてここに援用されるWhitlow等，Protein Eng. 6(8):989-95, 1993に記載された、GSTSGSGKPGSGEGSTKG（配列番号：16）のリンカー配列；その内容が出典明示によりその全体についてここに援用されるAndris-Widhopf等，Cold Spring Harb. Protoc. 2011(9), 2011に記載された、GSSSRSSSSGGGGSGGGG（配列番号：17）のリンカー配列；並びにその内容が出典明示によりその全体についてここに援用されるSblattero等，Nat. Biotechnol. 18(1):75-80, 2000に記載された、Cre-Lox組換え部位を含むコード配列又はエピトープタグのような追加された機

50

能性を有するリンカー配列が含まれる。

【 0 2 3 4 】

特定の実施態様では、ここに記載の抗 T A C I C A R は、配列番号： 3 ( V H - V L ) 又は 4 ( V L - V H ) に対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性 ( 例えば、少なくとも 8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % の配列同一性 )、又はその配列を有する抗 T A C I s c F v を含みうる。

【 0 2 3 5 】

[ 二重特異性 C A R ]

別の実施態様では、ここに記載の技術において有用な C A R は、少なくとも二の抗原特異的標的化領域、膜貫通ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む細胞外標的結合ドメインを含む。そのような実施態様では、二以上の抗原特異的標的化領域は、少なくとも二つの異なる抗原を標的とし、タンデムに配置され、リンカー配列によって分離されうる。別の実施態様では、C A R は二重特異性 C A R である。二重特異性 C A R は、二の異なる抗原、例えば、T A C I とここに記載の追加の標的の何れか ( 例えば、B C M A ) に特異的である。

【 0 2 3 6 】

例えば、二重特異性 C A R は T A C I と B C M A を標的とし得、T A C I 結合ドメインと B C M A 結合ドメインを含む。そのような二重特異性 C A R は、上記のように、T A C I 結合ドメイン ( 例えば、抗 T A C I s c F v ) を含みうる。幾つかの実施態様では、B C M A 結合ドメインは、抗 B C M A s c F v を含む。抗 B C M A s c F v は、当該技術分野で知られている任意の抗 B C M A 抗体に由来しうる。T A C I 結合ドメインは、B C M A 結合ドメインの N 末端に配置されうるか、又は B C M A 結合ドメインは、T A C I 結合ドメインの N 末端に配置されうる。T A C I 結合ドメイン及び B C M A 結合ドメインは、場合によっては、リンカー配列、例えば、配列番号： 3、1 4、1 5、1 6、又は 1 7 のリンカー配列、並びにここに記載され又は当該分野で知られている任意の他のリンカーを介して、連結されうる。

【 0 2 3 7 】

幾つかの実施態様では、ここに記載の T A C I 及び B C M A を標的とする二重特異性 C A R は、配列番号： 1 8 - 2 5 の何れか一のアミノ酸配列と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、又は少なくとも 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む。幾つかの実施態様では、ここに記載の T A C I 及び B C M A を標的とする二重特異性 C A R は、配列番号： 1 8 - 2 5 の何れか一のアミノ酸配列と 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、又は 9 9 % 同一であるアミノ酸配列を含む。幾つかの実施態様では、ここに記載の T A C I 及び B C M A を標的とする二重特異性 C A R は、配列番号： 1 8 - 2 5 の何れか一のアミノ酸配列を含む。

【 0 2 3 8 】

[ ヒンジ及び膜貫通ドメイン ]

ここに記載される各 C A R は、細胞外標的結合ドメインを細胞内シグナル伝達ドメインに結合する膜貫通ドメイン、例えば、ヒンジ / 膜貫通ドメインを含む。

【 0 2 3 9 】

C A R の結合ドメインの後には場合によっては一又は複数の「ヒンジドメイン」が続き、これが、抗原結合ドメインをエフェクター細胞表面から離れて位置させて、適切な細胞 / 細胞接触、抗原結合及び活性化を可能にする役割を果たす。C A R は、場合によっては結合ドメインと膜貫通ドメイン ( T M ) との間に一又は複数のヒンジドメインを含む。ヒンジドメインは、天然、合成、半合成、又は組換え源の何れかに由来しうる。ヒンジドメインは、天然に生じる免疫グロブリンヒンジ領域又は改変した免疫グロブリンヒンジ領域のアミノ酸配列を含みうる。ここに記載の C A R での使用に適した例示的なヒンジドメインは、C D 8 ( 例えば、C D 8 )、C D 4、C D 2 8、4 - 1 B B、及び C D 7 などの 1 型膜タンパク質の細胞外領域に由来するヒンジ領域を含み、これらはこれら分子からの

10

20

30

40

50

野生型ヒンジ領域でありうるか又は改変されうる。幾つかの実施態様では、ヒンジ領域は、免疫グロブリン様タンパク質（例えば、I g A、I g D、I g E、I g G、又はI g M）、C D 2 8、又はC D 8のヒンジ領域に由来する。一実施態様では、ヒンジドメインは、C D 8 ヒンジ領域を含む。

#### 【0240】

ここで使用される場合、「膜貫通ドメイン」（T Mドメイン）とは、細胞外結合部分を、場合によってはヒンジドメインを介して、細胞内部分（例えば、共刺激ドメイン及び細胞内シグナル伝達ドメイン）に融合させ、C A Rを免疫エフェクター細胞の細胞膜に固定させるC A Rの部分の指す。膜貫通ドメインは、細胞の細胞膜を通過するC A Rの一般的に疎水性の領域である。T Mドメインは、膜貫通タンパク質（例えば、I型膜貫通タンパク質又は他の膜貫通タンパク質）、人工疎水性配列、又はそれらの組み合わせの膜貫通領域又はその断片でありうる。特定の例がここに提供され、実施例において使用されるが、他の膜貫通ドメインは当業者には明らかであり、技術の代替の実施態様に関連して使用されうる。選択された膜貫通領域又はその断片は、C A Rの意図された機能を妨害しないことが好ましい。タンパク質又はポリペプチドの膜貫通ドメインに関連して使用される場合、「その断片」は、タンパク質を細胞表面に固定し又は付着させるのに十分な膜貫通ドメインの一部を意味する。

#### 【0241】

幾つかの例では、ここに記載のC A Rの膜貫通ドメイン又はその断片は、T細胞受容体のアルファ、ベータ又はゼータ鎖、C D 2 8、C D 3 イプシロン、C D 4 5、C D 4、C D 5、C D 8、C D 9、C D 1 6、C D 2 2、C D 3 3、C D 3 7、C D 6 4、C D 8 0、C D 8 6、C D 1 3 4、C D 1 3 7、C D 1 5 4、K I R D S 2、O X 4 0、C D 2、C D 2 7、L F A - 1（C D 1 1 a、C D 1 8）、I C O S（C D 2 7 8）、4 - 1 B B（C D 1 3 7）、4 - 1 B B L、G I T R、C D 4 0、B A F F R、H V E M（L I G H T R）、S L A M F 7、N K p 8 0（K L R F 1）、C D 1 6 0、C D 1 9、I L 2 R ベータ、I L 2 R ガンマ、I L 7 R a、I T G A 1、V L A 1、C D 4 9 a、I T G A 4、I A 4、C D 4 9 D、I T G A 6、V L A - 6、C D 4 9 f、I T G A D、C D 1 1 d、I T G A E、C D 1 0 3、I T G A L、C D 1 1 a、L F A - 1、I T G A M、C D 1 1 b、I T G A X、C D 1 1 c、I T G B 1、C D 2 9、I T G B 2、C D 1 8、L F A - 1、I T G B 7、T N F R 2、D N A M 1（C D 2 2 6）、S L A M F 4（C D 2 4 4、2 B 4）、C D 8 4、C D 9 6（T a c t i l e）、C E A C A M 1、C R T A M、L y 9（C D 2 2 9）、C D 1 6 0（B Y 5 5）、P S G L 1、C D 1 0 0（S E M A 4 D）、S L A M F 6（N T B - A、L y 1 0 8）、S L A M（S L A M F 1、C D 1 5 0、I P O - 3）、B L A M E（S L A M F 8）、S E L P L G（C D 1 6 2）、L T B R、P A G / C b p、N K p 4 4、N K p 3 0、N K p 4 6、N K G 2 D、及び/又はN K G 2 Cの膜貫通ドメインから選択される膜貫通ドメインを含む。

#### 【0242】

ここで使用される場合、「ヒンジ/膜貫通ドメイン」とは、ヒンジドメインと膜貫通ドメインの両方を含むドメインを意味する。例えば、ヒンジ/膜貫通ドメインは、C D 8、C D 2 8、C D 7、又は4 - 1 B Bのヒンジ/膜貫通ドメインに由来しうる。一実施態様では、C A R又はその断片のヒンジ/膜貫通ドメインは、C D 8のヒンジ/膜貫通ドメインに由来するか、又はそれを含む。

#### 【0243】

C D 8は、細胞傷害性Tリンパ球の細胞表面に優先的に見出される抗原である。C D 8は免疫系内の細胞間相互作用を媒介し、T細胞の共受容体として作用する。C D 8は、アルファ（C D 8 又はC D 8 a）及びベータ（C D 8 又はC D 8 b）鎖からなる。C D 8 a配列は、多くの種、例えば、ヒトC D 8 a（N C B I 遺伝子番号：925）ポリペプチド（例えば、N C B I 参照配列N P\_\_001139345.1）及びmRNA（例えば、N C B I 参照配列N M\_\_000002.12）に対して知られている。C D 8は、天然に生じるバリエーション、分子、及びその対立遺伝子を含む、ヒトC D 8を意味しうる。態様

10

20

30

40

50



の何れかの幾つかの実施態様において、例えば、獣医学的用途では、CD8は、例えば、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタなどのCD8を意味しうる。ヒトCD8のホモログ及び/又はオルソログは、例えばNCBIオルソログ検索機能を使用して、又は参照CD8配列に類似する配列について所与の種の利用可能な配列データを検索することにより、当業者によってそのような種について容易に特定される。

#### 【0244】

幾つかの実施態様では、CD8ヒンジ及び膜貫通配列は、配列番号：7のアミノ酸配列に対応し；あるいは配列番号：7の配列を含み；あるいは配列番号：7の配列と少なくとも80%の配列同一性（例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性）を有する配列を含む。

10

#### 【0245】

##### [共刺激ドメイン]

ここに記載の各CARは、場合によっては、一又は複数の共刺激分子の細胞内ドメイン又は共刺激ドメインを含む。ここで使用される場合、「共刺激ドメイン」という用語は、共刺激分子の細胞内シグナル伝達ドメインを意味する。共刺激分子は、抗原に結合するとTリンパ球の効率的な活性化と機能に必要なとされる第二のシグナルを提供する抗原受容体又はFc受容体以外の細胞表面分子である。共刺激ドメインは、例えば、4-1BB、CD27、CD28、又はOX40の共刺激ドメインでありうる。そのような共刺激分子の追加の例示的な例には、CARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54(ICAM)、CD83、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD150(SLAMF1)、CD152(CTLA4)、CD223(LAG3)、CD270(HVEM)、CD273(PD-L2)、CD274(PD-L1)、CD278(ICOS)、DAP10、LAT、NKD2CSLP76、TRIM、及びZAP70が含まれる。

20

#### 【0246】

一実施態様では、共刺激ドメインは4-1BBの共刺激ドメインである。4-1BBは、腫瘍壊死因子(TNF)受容体スーパーファミリーのメンバーである、CD137としても知られる膜受容体タンパク質である。4-1BBは活性化Tリンパ球に発現される。4-1BB配列は、多くの種に対して知られており、例えば、TNFRSF9(NCBI遺伝子番号：3604)及びmRNA(NCBI参照配列：NM\_001561.5)としても知られている例えばヒト4-1BBである。4-1BBは、天然に生じるバリエーション、分子、及びそれらの対立遺伝子を含む、ヒト4-1BBを意味しうる。態様の何れかの幾つかの実施態様において、例えば、獣医学的用途では、4-1BBは、例えば、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ等の4-1BBを意味しうる。ヒト4-1BBのホモログ及び/又はオルソログは、例えばNCBIオルソログ検索機能を使用して、又は参照4-1BB配列に類似する配列について所与の種の利用可能な配列データを検索することにより、当業者によってそのような種について容易に特定される。

30

#### 【0247】

幾つかの実施態様では、4-1BBの共刺激ドメインは、配列番号：8のアミノ酸配列に対応し；あるいは配列番号：8の配列を含み；あるいは配列番号：8の配列と少なくとも80%の配列同一性（例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性）を有するアミノ酸を含む。

40

#### 【0248】

##### [細胞内シグナル伝達ドメイン]

ここに記載されるCARは、細胞内シグナル伝達ドメインを含む。「細胞内シグナル伝達ドメイン」は、標的抗原への効果的なCAR結合のメッセージを免疫エフェクター細胞の内部に伝達して、CARが結合した標的細胞への細胞傷害性因子の放出、又は細胞外CARドメインへの抗原結合後に誘発される他の細胞応答を含む、エフェクター細胞機能、

50

例えば活性化、サイトカイン産生、増殖及び細胞傷害性活性を誘発することに関与する C A R ポリペプチドの部分の意味する。様々な例では、細胞内シグナル伝達ドメインは C D 3 に由来する（例えば、以下を参照）。当該技術において特に有用である免疫受容活性化チロシンモチーフ（I T A M）を含む細胞内シグナル伝達ドメインの更なる非限定的な例には、T C R 、 F c R 、 F c R 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、及び C D 6 6 d に由来するものが含まれる。

#### 【 0 2 4 9 】

C D 3 は、適切な共刺激（例えば、共刺激分子の結合）と同時にエンゲージされると、T リンパ球活性化を促進する T 細胞共受容体である。C D 3 複合体は 4 つの異なる鎖からなり；哺乳動物 C D 3 は、C D 3 鎖、C D 3 鎖、及び 2 つの C D 3 鎖からなる。これらの鎖は、T 細胞受容体（T C R）として知られている分子及び C D 3 と会合して、T リンパ球において活性化シグナルを生成する。完全 T C R 複合体は、T C R、C D 3、及び完全 C D 3 複合体を含む。

10

#### 【 0 2 5 0 】

何れかの態様の幾つかの実施態様では、ここに記載の C A R ポリペプチドは、例えば I T A M 変異 C D 3 、C D 3、又は C D 3 などの C D 3 のバリエーションを含む、C D 3 ゼータ（C D 3）由来の免疫受容活性化チロシンモチーフ又は I T A M を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。何れかの態様の幾つかの実施態様では、I T A M は、C D 3 の I T A M（I T A M 3）の 3 つのモチーフを含む。何れかの態様の幾つかの実施態様では、C D 3 の I T A M の 3 つのモチーフは変異しておらず、従って、天然又は野生型の配列を含む。幾つかの実施態様では、C D 3 配列は、ここに提供された配列に記載されている C D 3 の配列、例えば、配列番号：9、又はそのバリエーションの C D 3 配列を含む。

20

#### 【 0 2 5 1 】

例えば、ここに記載される C A R ポリペプチドは、C D 3 の細胞内シグナル伝達ドメインを含む。一実施態様では、C D 3 細胞内シグナル伝達ドメインは、配列番号：9 のアミノ酸配列に対応し；あるいは配列番号：9 の配列を含み；あるいは配列番号：9 の配列と少なくとも 8 0 % の配列同一性（例えば、少なくとも 8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % の配列同一性）を有するアミノ酸を含む。

30

#### 【 0 2 5 2 】

ここに記載される個々の C A R 及び他のコンストラクト成分は、当業者によって決定されうるように、互いに一緒に使用され得、ここに記載される様々なコンストラクトに入れ替えられうる。これらの成分のそれぞれは、ここに記載された対応する配列の何れか、又はそれらのバリエーションを含みうるか、又はそれらからなりうる。

#### 【 0 2 5 3 】

C A R 及び C A R T 細胞のより詳細な説明は、Maus 等, Blood 123:2624-2635, 2014 ; Reardon 等, Neuro-Oncology 16:1441-1458, 2014 ; Hoyos 等, Haematologica 97:1622, 2012 ; Byrd 等, J. Clin. Oncol. 32:3039-3047, 2014 ; Maher 等, Cancer Res 69:4559-4562, 2009 ; 及び Tamada 等, Clin. Cancer Res. 18:6436-6445, 2012 に見出すことができ；これらの各々は、その全体が出典明示によりここに援用される。

40

#### 【 0 2 5 4 】

幾つかの実施態様では、ここに記載される C A R ポリペプチドは、シグナルペプチドを含む。シグナルペプチドは、細胞外ドメインを有するか、又は分泌される任意のタンパク質に由来しうる。ここに記載される C A R ポリペプチドは、当該技術分野で知られている任意のシグナルペプチドを含みうる。幾つかの実施態様では、C A R ポリペプチドは、C D 8 シグナルペプチド、例えば、配列番号：6 のアミノ酸配列に対応し、あるいは配列番

50

号：6のアミノ酸配列を含み、あるいは配列番号：6の配列と少なくとも80%の配列同一性（例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性）を有するアミノ酸配列を含む、CD8シグナルペプチドを含む。

【0255】

更なる実施態様では、ここに記載のCARポリペプチドは、ここに記載のシグナルペプチドの一つ、例えば配列番号：6のCD8シグナルペプチドを場合によっては除外しうる。

【0256】

一実施態様では、CARは、リンカードメインを更に含む。ここで使用される場合、「リンカードメイン」とは、ここに記載のCARのドメイン/領域の何れかを互いに連結する、約2から100アミノ酸長のオリゴ又はポリペプチド領域を意味する。幾つかの実施態様では、リンカーは、隣接するタンパク質ドメインが互いに対して自由に移動できるように、グリシン及びセリンなどの可動性残基を含むか、又はそれらから構成されうる。本発明に有用なリンカー配列は、2から100アミノ酸長、5から50アミノ酸長、10から15アミノ酸長、15から20アミノ酸長、又は18から20アミノ酸長であり得、当該分野で知られ、及び/又はここに記載されている任意の適切なリンカー（例えば、配列番号：3、14、15、16、又は7のリンカー配列）を含む。二つの隣接ドメインが互いに立体的に干渉しないようにすることが望ましい場合は、より長いリンカーが使用されうる。更に、リンカーは、切断可能又は切断不可能でありうる。切断可能なリンカーの例には、2Aリンカー（例えば、P2A及びT2A）、2A様リンカー又はそれらの機能的等価物及びそれらの組み合わせが含まれる。様々な例では、ここに記載されている配列を持つリンカー又はそのバリエーションが使用される。特定の位置のコンストラクトにおける特定のリンカーの表示は、そのリンカーのみがそこで使用できることを意味しないことを理解されたい。むしろ、当業者により決定されうるように、異なるリンカー配列（例えば、P2A及びT2A）は、（例えば、本発明のコンストラクトの文脈において）互いに交換されうる。一実施態様では、リンカー領域は、Those assigna ウイルスに由来するT2Aである。この技術において使用されうるリンカーの非限定的な例には、T2A、P2A、E2A、BmCPV2A、及びBmIFV2Aが含まれる。

【0257】

幾つかの実施態様では、ここに記載されるCARは、場合によっては、例えば、非侵襲的画像化（例えば、陽電子放射断層撮影PETスキャン）を可能にするために、レポーター分子を更に含む。レポーター分子を含む二重特異性CARでは、第一細胞外結合ドメインと第二細胞外結合ドメインは、異なる又は同じレポーター分子を含みうる。二重特異性CAR T細胞では、第一CARと第二CARは異なる又は同じレポーター分子を発現しうる。別の実施態様では、ここに記載されるCARは、単独で又は基質もしくは化学物質（例えば、9-[4-[<sup>18</sup>F]フルオロ-3]-(ヒドロキシメチル)ブチル]グアニン([<sup>18</sup>F]FHBG))と組み合わせて画像化されうるレポーター分子（例えば、ハイグロマイシンホスホトランスフェラーゼ(hph))を更に含む。別の実施態様では、ここに記載されるCARは、非侵襲的技術（例えば、<sup>64</sup>Cu<sup>2+</sup>で機能化された金ナノ粒子(GNP))を使用して容易に画像化できるナノ粒子を更に含む。非侵襲的イメージングのためのCAR T細胞の標識化は、例えば、出典明示によりその全体がここに援用されるBhatnagar等, Integr. Biol. (Camb). 5(1):231-238, 2013、及びKeu等, Sci. Transl. Med. 18; 9(373), 2017に概説されている。

【0258】

GFP及びmCherryは、T細胞（例えば、CAR T細胞）上で発現されたCARを画像化するために有用な蛍光タグとしてここで実証される。当該技術分野で知られている本質的に如何なる蛍光タンパク質も、この目的のための蛍光タグとして使用されることが期待される。臨床応用では、CARに蛍光タグや蛍光タンパク質を含める必要はない。従って、ここに提供される特定のコンストラクトのそれぞれの例では、コンス

トラクト中に存在する任意のマーカールを除去することができる。本発明は、マーカールを伴うか又は伴わないコンストラクトを含む。従って、特定のコンストラクトがここで参照される場合、マーカール又はタグの有無にかかわらず、本発明に含まれると考えることができる。

#### 【0259】

幾つかの実施態様では、CARポリペプチド配列は、場合によってはここに記載のCD8シグナルペプチドを除外する、配列番号：10、11、12、又は13の配列と少なくとも80%の配列同一性（例えば、少なくとも81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の配列同一性）を有する配列に対応し、含み、又は含む。当業者によって決定されうるように、これらのCARの様々な機能的に類似し又は均等の成分は、互いに、並びに当該技術分野において知られ又はここに列挙された他の類似の又は機能的に均等の成分と、交換又は置換されうる。

10

#### 【0260】

##### [CARをコードする核酸]

幾つかの実施態様では、ここに記載のCARポリペプチド（例えば、配列番号：10、11、12、又は13のCARポリペプチド）の何れかは、ウイルスベクターに含まれるポリヌクレオチドによってコードされる。場合によっては、ここに記載のCARポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、発現又は安定性を増強するためにコドン最適化されうる。コドン最適化は、当該技術分野で知られている任意の標準的な方法に従って実施されうる。幾つかの実施態様では、CARの発現は、構成的に発現されるプロモーター（例えば、EF1プロモーター）又は誘導的に発現されるプロモーター（例えば、NFAT応答エレメント）によって駆動されうる。

20

#### 【0261】

更に、本発明のポリヌクレオチドは、自殺遺伝子の発現を含みうる。これは、投与された細胞の外部の薬物媒介制御を促進するためになされうる。例えば、自殺遺伝子を使用することにより、例えば、有害事象の場合に、改変された細胞を患者から枯渇させることができる。一例では、FK506結合ドメインが、カスパーゼ9プロアポトーシス分子に融合される。このように改変されたT細胞は、免疫抑制薬タクロリムスに対して感受性になる。自殺遺伝子の他の例は、チミジンキナーゼ（TK）、CD20、チミジル酸キナーゼ、切断型前立腺特異的膜抗原（PSMA）、切断型低親和性神経成長因子受容体（LNGFR）、切断型CD19、及び改変Fasであり、これらは特定の分子（例えば、TK+細胞に対するガンシクロビル）又は抗体又は抗体薬物コンジュゲートの投与による条件付きアブレーションでトリガーされうる。

30

#### 【0262】

レンチウイルスなどのレトロウイルスは、目的の遺伝子又はキメラ遺伝子をコードする核酸配列を送達するための簡便なプラットフォームを提供する。選択された核酸配列は、当該技術分野において知られている技術を使用して、ベクターに挿入され、レトロウイルス粒子にパッケージされうる。ついで、組換えウイルスは単離され、例えば、インビトロ又はエクスピボで細胞に送達されうる。レトロウイルス系は当該技術分野においてよく知られており、その全体が出典明示によりここに援用される、例えば、米国特許第5219740号；Kurth及びBannert（2010）“Retroviruses: Molecular Biology, Genomics and Pathogenesis” Calster Academic Press (ISBN:978-1-90455-55-4)；並びにHu及びPathak Pharmacological Reviews 2000 52:493-512に記載されている。効率的なDNA送達のためのレンチウイルス系は、Origene（Rockville, MD）から購入できる。代替の実施態様では、ここに記載されるCARの何れかのCARポリペプチドは、CARをコードする核酸を含む発現ベクターのトランスフェクション又はエレクトロポレーションを介して哺乳動物細胞において発現される。トランスフェクション又はエレクトロポレーション法は当該技術分野において知られている。

40

#### 【0263】

50

ここに記載のCARポリペプチドの何れかのCARポリペプチドの効率的な発現は、mRNA、DNA、又はCARをコードする核酸の遺伝子産物を検出する標準アッセイ、例えばRT-PCR、FACS、ノーザンブロッティング、ウエスタンブロッティング、ELISA、又は免疫組織化学的検査を使用してアッセイされうる。幾つかの実施態様では、ここに記載されるCARポリペプチドの何れかのCARポリペプチドは、組換え核酸配列によってコードされる。

【0264】

[細胞]

本発明の別の態様は、ここに記載されるCARポリペプチドの何れかを含む哺乳動物細胞；又はここに記載のCARポリペプチドの何れかをコードする核酸に関する。一実施態様では、哺乳動物細胞は、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、又はここに記載のCARポリペプチドの何れか、あるいはそのような抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、又はここに記載のCARポリペプチドの何れかをコードする核酸を含む。哺乳動物細胞又は組織は、ヒト、霊長類、ハムスター、ウサギ、齧歯類、ウシ、ブタ、ヒツジ、ウマ、ヤギ、イヌ又はネコ由来でありうるが、任意の他の哺乳動物細胞を使用してもよい。何れかの態様の好ましい実施態様では、哺乳動物細胞はヒトである。

【0265】

一例では、哺乳動物細胞は、例えば、出典明示によりその全体がここに援用される、Takahashi K及びYamanaka S, "Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors," Cell. 126(4):663-76 (2006)に記載されるように、人工多能性幹細胞(iPSC)である。他の実施態様では、細胞は免疫細胞である。ここで使用される場合、「免疫細胞」は、免疫応答においてある役割を果たす細胞を意味する。免疫細胞は造血起源であり、リンパ球、例えばB細胞及びT細胞；ナチュラルキラー細胞；骨髓系細胞、例えば単球、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、好塩基球、及び顆粒球を含む。幾つかの実施態様では、免疫細胞は、T細胞；NK細胞；NKT細胞；リンパ球、例えばB細胞及びT細胞；及び骨髓系細胞、例えば単球、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、好塩基球、及び顆粒球である。一実施態様では、細胞はT細胞又はナチュラルキラー(NK)細胞である。

【0266】

哺乳動物細胞(例えば、iPSC又は免疫細胞(例えば、T細胞又はNK細胞))は、がん、形質細胞疾患又は障害、あるいは自己免疫疾患又は障害を有するか又は有すると診断された対象から得ることができる。例えば、哺乳動物細胞(例えば、iPSC又は免疫細胞(例えば、T細胞又はNK細胞))は、がん、例えば、多発性骨髓腫、くすぶり型骨髓腫、又はワルデンストレームマクログロブリン血症を有する対象から得ることができる。幾つかの実施態様では、哺乳動物細胞(例えば、iPSC又は免疫細胞(例えば、T細胞又はNK細胞))は、抗BCMA療法に抵抗性がある対象から得られる。細胞はまた細胞の意図されたレシピエントと同じ種の非遺伝的に同一の個体である同種異系ドナーから得ることができる。

【0267】

本発明において使用することができる哺乳動物細胞(例えば、iPSC又は免疫細胞(例えば、T又はNK細胞))には、エキスピボでの改変及び増殖後に、細胞が後で投与される対象から得られる自己細胞が含まれる。例えば、哺乳動物細胞(例えば、iPSC又は免疫細胞(例えば、T細胞又はNK細胞))は、がん、形質細胞疾患又は障害、あるいは自己免疫疾患又は障害を有するか又は有すると診断された個体から得ることができる。哺乳動物細胞(例えば、iPSC又は免疫細胞(例えば、T又はNK細胞))は、細胞の意図されたレシピエントと同じ種の非遺伝的に同一の個体である同種異系ドナーからまた得ることができる。本発明に有用な哺乳動物細胞には、限定されないが、iPSC及び免疫細胞(例えば、T又はNK細胞)が含まれる。

【0268】

T細胞及びNKを取得するための方法は当該技術分野で知られており、ここに記載の改

10

20

30

40

50

変された免疫細胞に対して有用でありうる。T細胞及びNK細胞は、典型的には、例えば、静脈穿刺又は埋め込みポート又はカテーテルを介した引き抜きによって対象から収集される末梢血から得られる。場合によっては、血液は、白血球アフェレーシスを含むプロセスによって得ることができ、このプロセスでは、白血球が対象の血液から得られ、他の血液成分が対象に戻される。血液又は白血球アフェレーシス産物（新鮮又は凍結保存）は、当該技術分野で知られている方法を使用して、T細胞又はNK細胞を濃縮するために処理される。例えば、密度勾配遠心法（例えば、フィコールを使用）及び/又は向流遠心溶出法を実施して、単核細胞（T細胞又はNK細胞を含む）を濃縮することができる。一例では、T細胞の場合、例えば、磁気ビーズ上にコーティングされたCD3/CD28抗体、又は例えば、細胞表面に結合した抗CD3及び抗CD28抗体断片を発現する人工抗原提示細胞（aAPC）を用いるT細胞刺激工程（以下を参照）を、T細胞を刺激し、他の細胞、例えばB細胞を枯渇させるために、更に実施することができる。次に、濃縮されたT細胞調製物のT細胞を遺伝子組換えに供することができる。

10

#### 【0269】

末梢血の代わりに、骨髓、リンパ節、脾臓、及び腫瘍を含む組織を、T細胞及びNK細胞の供給源として使用することができる。T細胞及びNK細胞は、ヒト、霊長類、ハムスター、ウサギ、齧歯類、ウシ、ブタ、ヒツジ、ウマ、ヤギ、イヌ、又はネコ由来でありうるが、任意の他の哺乳動物細胞を使用してもよい。何れかの態様の所定の実施態様では、T又はNK細胞はヒトである。

#### 【0270】

哺乳動物細胞（例えば、iPSC又は免疫細胞（例えば、T細胞又はNK細胞））は、ここに記載のCARポリペプチド（例えば、配列番号：10、11、12、又は13のCARポリペプチド）の何れか；又はここに記載のCARポリペプチドの何れかをコードする核酸（例えば、配列番号：10、11、12、又は13のCARポリペプチドをコードする核酸）を含むように改変することができる。

20

#### 【0271】

本発明は、例えば、がん、自己免疫疾患又は障害、あるいは形質細胞疾患又は障害を含む疾患及び状態を治療し予防するための組成物及び方法を更に提供する。これらの方法は、ここに記載のCARポリペプチド、又は前記CARをコードする核酸を含み、例えばがんを治療するために対象に改変した哺乳動物細胞を投与することを含む哺乳動物細胞（例えば、iPSC又は免疫細胞（例えば、T細胞又はNK細胞））の使用を含む。態様の何れかの幾つかの実施態様では、改変された哺乳動物細胞（例えば、ここに記載の一又は複数の追加の改変を含むiPSC又は免疫細胞（例えば、T細胞又はNK細胞））は、対象への投与の前に刺激され、及び/又は活性化される。

30

#### 【0272】

##### [治療法]

ここに記載の抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACICARは、対象の疾患又は障害、例えば、がん、自己免疫障害、又は形質細胞疾患又は障害を治療するために有用でありうる。

#### 【0273】

ここで使用される「がん」は、その独特の形質、正常な細胞制御の喪失が未制御の成長、分化の欠如、局所組織浸潤、及び転移をもたらす細胞の過剰増殖を意味する。ここで使用される場合、「腫瘍」という用語は、例えば、悪性タイプ又は良性タイプの細胞又は組織の異常な増殖を意味する。がんの例には、神経膠芽腫、前立腺がん、神経膠腫、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、又は固形腫瘍、例えば肺がん及び膵臓がんが含まれるが、これらに限定されない。白血病の非限定的な例には、急性骨髄性白血病（AML）、慢性骨髄性白血病（CML）、急性リンパ性白血病（ALL）、及び慢性リンパ性白血病（CLL）が含まれる。一実施態様では、がんはALL又はCLLである。リンパ腫の非限定的な例には、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、濾胞性リンパ腫、小リンパ球性リンパ腫（SLL）、マントル細胞リンパ腫（MCL）、辺縁帯リンパ腫、バーキッ

40

50

トリリンパ腫、有毛細胞白血病（HCL）、及びT細胞リンパ腫（例えば、皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）及び未分化大細胞リンパ腫（ALCL）を含む末梢性T細胞リンパ腫（PTCL））が含まれる。一実施態様では、がんはDLBCL又は濾胞性リンパ腫である。固形腫瘍の非限定的な例には、副腎皮質腫瘍、胞状軟部肉腫、癌腫、軟骨肉腫、結腸直腸癌、類腱腫、線維形成性小円形細胞腫瘍、内分泌腫瘍、内胚葉洞腫瘍、類上皮血管内皮腫、ユーイング肉腫、生殖細胞腫瘍（固形腫瘍）、骨及び軟部組織の巨細胞腫瘍、肝芽腫、肝細胞癌、メラノーマ、腎腫、神経芽細胞腫、非横紋筋肉腫軟部肉腫（NRSTS）、骨肉腫、傍脊柱肉腫、腎細胞癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、滑膜肉腫、及びウィルムス腫瘍が含まれる。固形腫瘍は、骨、筋肉、又は臓器に見出され得、肉腫又は癌腫でありうる。

10

#### 【0274】

ここで使用される場合、「自己免疫疾患又は障害」は、ある者の免疫系が異質細胞と正常細胞とを区別できないことによって特徴付けられる。これにより、プログラム細胞死のためにある者の正常細胞を標的とするある者の免疫系が生まれる。自己免疫疾患又は障害の非限定的な例には、炎症性関節炎、1型糖尿病、多発性硬化症、乾癬、炎症性腸疾患、SLE、及び血管炎、アレルギー性炎症、例えばアレルギー性喘息、アトピー性皮膚炎、及び接触過敏症が含まれる。限定されないが、自己免疫疾患又は障害の他の例には、移植片拒絶反応、移植片対宿主病、因子インヒビターを伴う血友病、関節リウマチ、多発性硬化症（MS）、全身性エリテマトーデス、グレーブス病（甲状腺機能亢進症）、橋本甲状腺炎（甲状腺機能低下症）、セリアック病、クローン病及び潰瘍性大腸炎、ギラン・バレー症候群、原発性胆管硬化症／肝硬変、硬化性胆管炎、自己免疫性肝炎、レイノー現象、強皮症、シェーグレン症候群、グッドパスチャー症候群、ウェゲナー肉芽腫症、リウマチ性多発性筋痛、側頭動脈炎／巨細胞性動脈炎、慢性疲労症候群（CFS）、乾癬、自己免疫性アディソン病、強直性脊椎炎、急性播種性脳脊髄炎、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、特発性血小板減少性紫斑病、重症筋無力症、オブソクローヌス・ミオクローヌス症候群、視神経炎、オード（Ord）甲状腺炎、天疱瘡、悪性貧血、イヌにおける多発性関節炎、ライター症候群、高安動脈炎、温式自己免疫性溶血性貧血、ウェゲナー肉芽腫症及び線維筋痛症（FM）が含まれる。

20

#### 【0275】

形質細胞は、感染との闘いに必要とされる抗体を産生し放出するように機能するBリンパ球から生成される白血球である。ここで使用される場合、「形質細胞疾患又は障害」は、形質細胞の異常な増殖によって特徴付けられる。異常な形質細胞は、正常な形質細胞を「締め出す」ことができ、ウイルス又は細菌細胞などの異物と戦う能力が低下する。形質細胞疾患又は障害の非限定的な例には、形質細胞異常増殖症、形質細胞腫、形質細胞白血病、多発性骨髄腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性形質細胞腫、髄外形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローン性 グロブリン血症、及びくすぶり型多発性骨髄腫が含まれる。

30

#### 【0276】

ここに記載の抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び／又は抗TACICARによって治療されうる例示的ながんには、TACIを発現する細胞を含むがん、例えば、多発性骨髄腫が含まれる。ここに記載の抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び／又は抗TACICARによって治療されうる例示的な自己免疫疾患には、自己免疫障害の一因となる高力価の抗体によって特徴付けられる自己免疫疾患が含まれる。例えば、自己免疫疾患は、移植片拒絶反応、移植片対宿主病、又は因子インヒビターを伴う血友病でありうる。ここに記載の抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び／又は抗TACICARによって治療されうる形質細胞疾患又は障害には、形質細胞異常増殖症、形質細胞腫、形質細胞白血病、多発性骨髄腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性形質細胞腫、髄外形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローン性 グロブリン血症、及びくすぶり型多発性骨髄腫が含まれる。所定の実施態様では、対象は、抗BCMA療法に抵抗性がある。

40

50

【 0 2 7 7 】

[ 投 与 ]

幾つかの実施態様では、ここに記載の方法は、がん、形質細胞疾患又は障害、あるいは自己免疫疾患又は障害を有しているか又は有していると診断された対象を、ここに記載の抗 T A C I 抗体、抗体薬物コンジュゲート、B i T E、及び/又は抗 T A C I C A R の何れかを含む哺乳動物細胞で治療することに関する。例えば、ここに記載の抗 T A C I C A R は、ここに記載の抗 T A C I C A R ポリペプチド（及び任意選択的な抗体試薬又はサイトカイン）の何れか、又はここに記載の抗 T A C I C A R ポリペプチド（及び任意選択的な抗体試薬又はサイトカイン）の何れかをコードする核酸を含む哺乳動物細胞を含む。がん、形質細胞疾患又は障害、あるいは自己免疫疾患又は障害を有している対象は、状態を診断する本方法を使用して医師によって特定されうる。これらの状態を特徴付け、診断を助ける、状態の症状及び/又は合併症は、当該技術分野においてよく知られており、限定されないが、疲労、持続性感染、及び持続性出血が含まれる。例えば、状態の診断に役立つ試験には、限定されないが、血液検査及び骨髓検査があり、所与の状態に対して当該分野で知られている。状態の家族歴、又は状態の危険因子への曝露は、対象がその状態を持っている可能性が高いかどうかを判断したり、状態の診断を下したりするのにも役立つ。

10

【 0 2 7 8 】

ここに記載の組成物は、状態を有するか、又は状態を有すると診断された対象に投与されうる。幾つかの実施態様では、ここに記載される方法は、状態の症状を緩和するために、ここに記載される活性化 C A R T 細胞の有効量を対象に投与することを含む。ここで使用される場合、「状態の症状を緩和する」とは、任意の状態又は状態に関連する症状を寛解させることである。同等の未処置対照と比較して、そのような減少は、任意の標準技法で測定して、少なくとも 5 %、10 %、20 %、40 %、50 %、60 %、80 %、90 %、95 %、99 % 以上である。ここに記載の組成物を対象に投与するための様々な手段が、経口、非経口、肺内、及び鼻腔内、並びに局所治療に望ましい場合は病巣内投与を含み、当業者に知られている。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与が含まれる。一実施態様では、ここに記載の組成物は、全身的又は局所的に投与される。好ましい実施態様では、ここに記載の組成物は静脈内投与される。別の実施態様では、ここに記載の組成物は、腫瘍の部位に投与される。投薬は、投与が短期間であるか長期間であるかに部分的に応じて、任意の適切な経路、例えば、静脈内注射又は皮下注射などの注射によってなされうる。限定されないが、様々な時点にわたる単回又は複数回の投与、ボーラス投与、及びパルス注入を含む様々な投薬スケジュールがここで考慮される。

20

30

【 0 2 7 9 】

有効量、毒性、及び治療効果は、細胞培養又は実験動物における標準的な製薬手順によって評価されうる。投薬量は、用いられる剤形及び利用される投与経路に応じて変動しうる。毒性と治療効果の間の用量比は治療指数であり、比 L D 5 0 / E D 5 0 として表すことができる。大きな治療指数を示す組成物及び方法が好ましい。治療上有効な用量は、最初に細胞培養アッセイから推定できる。また、用量は、細胞培養又は適切な動物モデルにおいて決定された I C 5 0（すなわち、症状の最大半量阻害を達成する活性化 C A R T 細胞の濃度）を含む循環血漿中濃度範囲を達成するために、動物モデルで定式化されうる。血漿中レベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーによって測定することができる。任意の特定の投薬量の効果は、適切なバイオアッセイ、例えば、とりわけ骨髓検査のためのアッセイによって、モニターされうる。投薬量は医師によって決定され、観察された治療効果に合わせて必要に応じて調整されうる。

40

【 0 2 8 0 】

本技術の一態様では、ここに記載の技術は、ここに記載の活性化 C A R T 細胞と、場合によっては薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物に関する。最小限の薬学的組成物の活性成分は、ここに記載される活性化 C A R T 細胞を含む。幾つかの実施態様では、薬学的組成物の活性成分は、ここに記載される活性化 C A R T 細胞から本質的になる。幾

50



つかの実施態様では、薬学的組成物の活性成分は、ここに記載される活性化C A R T細胞からなる。細胞ベースの治療製剤のための薬学的に許容される担体には、生理食塩水及び水性緩衝液、リンゲル液、並びに血清成分、例えば血清アルブミン、H D L及びL D Lが含まれる。「添加物」、「担体」、「薬学的に許容される担体」等のような用語は、ここでは互換的に使用される。

#### 【0281】

幾つかの実施態様では、ここに記載される活性化C A R T細胞を含む薬学的組成物は、非経口剤形でありうる。非経口剤形の投与は、典型的には、汚染物質に対する患者の自然防御を回避するので、C A R T細胞自体以外の成分は、好ましくは、無菌であるか、又は患者への投与前に無菌化できる。非経口剤形の例には、注射用の溶液、注射用の薬学的に許容されるビヒクルに溶解又は懸濁される乾燥生成物、注射用の懸濁液、及び乳濁液が含まれるが、これらに限定されない。これらの何れも、投与前に活性化C A R T細胞調製物に加えることができる。

10

#### 【0282】

開示されている活性化C A R T細胞の非経口剤形を提供するために使用されうる適切なビヒクルは当業者によく知られている。例には、非限定的に、生理食塩水；グルコース溶液；限定されないが、塩化ナトリウム注射液、リンガー注射液、ブドウ糖注射液、ブドウ糖及び塩化ナトリウム注射液、乳酸リンゲル注射液を含む水性ビヒクル；限定されないが、エチルアルコール、ポリエチレングリコール、及びプロピレングリコールなどの水混和性ビヒクル；並びに限定されないが、コーン油、綿実油、落花生油、ゴマ油、オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、及び安息香酸ベンジルなどの非水性ビヒクルが含まれる。

20

#### 【0283】

##### [投薬量]

ここで使用される「単位剤形」という用語は、適切な一回の投与のための投薬量を意味する。例として、単位剤形は、例えばシリンジ又は静脈内点滴バッグなどの送達デバイスに配されたある量の治療薬でありうる。一実施態様では、単位剤形は単回投与で投与される。別の実施態様では、一を超える単位剤形が同時に投与されうる。

#### 【0284】

幾つかの実施態様では、ここに記載される抗T A C I抗体、抗体薬物コンジュゲート、B i T E、及び/又は抗T A C I C A Rは単剤療法として投与され、すなわち、状態に対する他の治療は対象に同時的には施されない。

30

#### 【0285】

一般的な提案として、ヒトに投与される抗T A C I抗体、抗体薬物コンジュゲート、及び/又はB i T Eの治療有効量は、一回又は複数回の投与であれ、患者の体重の約0.01から約100mg/kgの範囲である。幾つかの実施態様では、使用される抗体は、約0.01から約45mg/kg、約0.01から約40mg/kg、約0.01から約35mg/kg、約0.01から約30mg/kg、約0.01から約25mg/kg、約0.01から約20mg/kg、約0.01から約15mg/kg、約0.01から約10mg/kg、約0.1から約10mg/kg、又は約1から約10mg/kgが一回（単回投与）又は多くの回数（複数回投与、例えば、毎日の投与）投与される。一例では、使用される抗体は約10mg/kgであり、好ましくは経口投与される。一実施態様では、ここに記載の抗T A C I抗体、抗体薬物コンジュゲート、及び/又はB i T Eは、約100mg、約200mg、約300mg、約400mg、約500mg、約600mg、約700mg、約800mg、約900mg、約1000mg、約1100mg、約1200mg、約1300mg又は約1400mgの均一用量で21日サイクルの1日目にヒトに投与される。用量は、単回用量として、又は注入などの複数回用量（例えば、2回又は3回の用量）として投与されうる。状態に依存して、数日以上にわたる反復投与の場合、治療は一般に疾患症状の所望の抑制が起こるまで持続されるであろう。抗体の一つの例示的な投薬量は、約0.01mg/kgから約10mg/kgの範囲であろう。そのよう

40

50

な用量は、（例えば、患者が約 2 から約 20、又は例えば約 6 用量の抗 T A C I 抗体、抗体薬物コンジュゲート複合体、及び / 又は B i T E を受けるように）断続的に、例えば、毎週又は三週間毎に投与されうる。最初のより高い負荷用量と、続く一又は複数のより低い用量が投与されうる。この治療法の進行は、一般的な技術とアッセイによって容易にモニターされる。

#### 【0286】

他方、ここに記載の抗 T A C I C A R を含む哺乳動物細胞を含む薬学的組成物は、一般に、 $10^4$  から  $10^9$  細胞 / k g 体重、場合によっては  $10^5$  から  $10^6$  細胞 / k g 体重の投薬量で投与でき、それらの範囲内の全ての整数値を含む。必要に応じて、細胞組成物はこれらの投薬量で複数回投与することもできる。細胞は、免疫療法において一般的に知られている注入技術を使用することによって投与することができる（例えば、Rosenberg等, New Eng. J. Med. 319:1676, 1988を参照）。幾つかの例では、活性化 C A R T 細胞を対象に投与し、その後血液を再採取（又はアフエレーシスを実施）し、ここに記載のようにそこから T 細胞を活性化し、患者にこれらの活性化及び増殖 T 細胞を再注入することが望ましい場合がある。この方法は、数週間ごとに複数回実行されうる。所定の態様では、T 細胞は、10 c c から 400 c c の採血から活性化されうる。所定の態様では、T 細胞は、20 c c、30 c c、40 c c、50 c c、60 c c、70 c c、80 c c、90 c c、又は 100 c c の採血から活性化される。投与方法は、例えば、静脈内（i . v .）注射又は注入を含みうる。ここに記載の組成物は、経動脈的に、腫瘍内に、結節内に、又は髄内に患者に投与されうる。幾つかの実施態様では、T 細胞の組成物は、腫瘍、リンパ節、又は感染部位に直接注入されうる。一実施態様では、ここに記載の組成物は、体腔又は体液（例えば、腹水、胸膜液、腹腔液、又は脳脊髄液）中に投与される。

#### 【0287】

特定の例示的な態様では、対象は白血球除去輸血を受けてもよく、白血球が収集され、濃縮され、又はエクスピボで除去されて、目的の細胞、例えば T 細胞を選択及び / 又は単離する。これらの T 細胞分離株は、人工 A P C、例えば、抗 C D 28 及び抗 C D 3 C D R を発現する a A P C との接触によって増殖され、本技術の一又は複数の C A R コンストラクトが導入されうるように処理され、それによって C A R T 細胞が作製される。それを必要とする対象は、その後、高用量化学療法による標準治療を受け、その後、末梢血幹細胞移植を受けることができる。移植後又は移植と同時に、対象は増殖 C A R T 細胞の注入を受けることができる。一実施態様では、増殖細胞は、手術の前又は後に投与される。

#### 【0288】

幾つかの実施態様では、リンパ球枯渇が、ここに記載される一又は複数の C A R T 細胞を投与する前に対象で実施される。そのような実施態様では、リンパ球枯渇は、メルファラン、サイトキサン、シクロホスファミド、及びフルダラビンの一又は複数を投与することを含みうる。

#### 【0289】

患者に投与される上記の治療薬の投薬量は、治療される病状の正確な性質及び治療のレジピエントによって変化するであろう。ヒトへの投与のための投薬量のスケールリングは、当該技術分野で認められている実務に従って実施されうる。

#### 【0290】

幾つかの実施態様では、単一の治療レジメンが必要とされる。他の場合には、一又は複数回のその後の用量又は治療レジメンの投与が実施されうる。例えば、隔週で 3 か月間治療した後、治療を月に 1 回、6 か月間又は 1 年以上繰り返すことができる。幾つかの実施態様では、初回治療後に追加の治療は施されない。

#### 【0291】

ここに記載される組成物の投薬量は、医師によって決定され、必要に応じて、観察された治療の効果に適合するように調整されうる。治療の期間と頻度に関して、熟練した臨床医は、治療がいつ治療効果をもたらすかを判断し、更に細胞を投与するか、治療を中止するか、治療を再開するか、又は治療レジメンに対してその他の変更を行うかを決定するた

10

20

30

40

50

めに、対象をモニターするのが一般的である。投薬量は、サイトカイン放出症候群などの有害な副作用を引き起こすほど多くすべきではない。一般に、投薬量は、患者の年齢、病状、及び性別によって異なり、当業者が決定することができる。投薬量はまた何らかの合併症が発生した場合には、個々の医師によって調整されうる。

#### 【0292】

##### [併用療法]

ここに記載の抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACI CARは、場合によっては、当業者により適切であると決定されうるように、互いに、また他の既知の薬剤及び療法と組み合わせて、使用されうる。一例では、異なるがん抗原（例えば、TACI及びBCMA）を標的とする二種以上の異なるタイプのCARを組み合わせて投与することができる。

10

#### 【0293】

ここで使用される「組み合わせて」投与されるとは、対象の障害の苦痛の過程に二種（又はそれ以上）の異なる治療剤が対象に送達されることを意味し、例えば、二種以上の治療剤が対象が障害を持つと診断された後と、障害が治癒され又は排除される前、又は治療が他の理由で中止される前に送達される。幾つかの実施態様では、一回の治療剤の送達は二回目の送達が始まった時点でまだなされており、投与に関して重複がある。これは、ここではしばしば「同時」又は「同時的送達」と呼ばれる。他の実施態様では、一種の治療剤の送達が、他の種の治療剤の送達が始まる前に終了する。何れかの場合の幾つかの実施態様では、治療は、併用投与のため、より効果的である。例えば、第二の治療剤は、第一の治療剤がない場合に投与された場合に見られるよりも、より効果的で、例えば、第二の治療剤を少なくとも同等の効果が現れ、又は第二の治療剤が症状を大きく低減し、あるいは第一の治療剤と類似の状況が見られる。幾つかの実施態様では、送達は、症状又は障害に関連する他のパラメータの減少が、他の治療剤がない場合に一種の治療剤で観察されるであろうものよりも大きいようなものである。二種の治療剤の効果は、部分的に相加的、完全に相加的、又は相加的よりも大きい場合がある。送達は、送達された第一の治療剤の効果が、第二の治療剤が送達されたときに依然として検出可能であるようなものでありうる。ここに記載の抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACI CARと少なくとも一種の追加の治療剤は、同時に、同じ又は別々の組成物で、又は逐次的に投与されうる。逐次投与の場合、ここに記載の抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACI CARを最初に投与することができ、追加の薬剤を二回目に投与することができ、又は投与の順序を逆にすることができる。抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACI CAR療法剤及び/又は他の治療剤、手順又はモダリティは、活動性障害の期間中、又は寛解期間もしくは活動性の低い疾患の期間中に施されうる。抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACI CAR療法は、別の治療の前に、治療と同時に、治療後に、又は障害の寛解中に施されうる。

20

30

#### 【0294】

組み合わせて投与される場合、抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACI CAR療法と追加の薬剤（例えば、第二又は第三の薬剤）、又は全てが、例えば単剤療法として、個々に使用される各薬剤の量又は投薬量より多いか、少ないか又は同じである量又は用量で投与されうる。所定の実施態様では、活性化CAR T細胞、追加の薬剤（例えば、第二又は第三の薬剤）、又は全ての投与される量又は投薬量は、個々に使用される各薬剤の量又は投薬量より少ない（例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、又は少なくとも50%である）。他の実施態様では、所望の効果（例えば、がんの治療）をもたらす、活性化CAR T細胞、追加の薬剤（例えば、第二又は第三の薬剤）、又は全ての量又は投薬量は、同じ治療効果を達成するために個々に必要とされる各薬剤の量又は投薬量よりも少ない（例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、又は少なくとも50%少ない）。更なる実施態様では、ここに記載の活性化CAR T細胞は、外科手術、化学療法、放射線、mTOR経路阻

40

50

害剤、免疫抑制剤、例えばシクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキセート、ミコフェノレート、及びFK506、抗体、又は他の免疫除去剤、例えばCAMPATH、抗CD3抗体又は他の抗体療法、サイトキシン、フルダラビン、ラパマイシン、ミコフェノール酸、ステロイド、FR901228、サイトカイン、又はペプチドワクチン、例えばIzumoto等, J. Neurosurg. 108:963- 971, 2008に記載されたものと組み合わせた治療レジメンにおいて使用されうる。

【0295】

一例では、ここに記載の抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACICARは、チェックポイント阻害剤と組み合わせて使用されうる。例示的なチェックポイント阻害剤には、抗PD-1阻害剤、抗CTLA4阻害剤、抗PDL1阻害剤、及び抗TIM3阻害剤が含まれる。

10

【0296】

別の実施態様では、ここに記載の抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACICARは、化学療法剤と組み合わせて使用されうる。

【0297】

[有効性]

例えば、ここに記載される状態の治療における、又はここに記載される応答（例えば、がん細胞の減少）を誘導する、抗TACI抗体、抗体薬物コンジュゲート、BiTE、及び/又は抗TACICARの有効性は、熟練した臨床医により決定されうる。しかし、治療は、ここに記載の方法による治療後に、ここに記載の状態の徴候又は症状の一又は複数  
20  
が有益な形で変更され、他の臨床的に受け入れられる症状が改善され、寛解さえされ、又は所望の応答が、例えば少なくとも10%まで誘導されるならば、その用語がここで使用されているような「有効な治療」と考えられる。有効性は、例えば、ここに記載の方法によって治療される状態のマーカー、指標、症状、及び/又は発生率あるいは任意の他の適切な測定可能なパラメーターを測定することによって評価することができる。ここに記載の方法による治療は、状態のマーカー又は症状のレベルを、例えば、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%又は少なくとも90%以上低下させることができる。

20

【0298】

有効性は、入院によって評価される個体の悪化、又は医療介入の必要性がないこと（すなわち、疾患進行の停止）によって測定することもできる。これらの指標を測定する方法は、当業者に知られており、及び/又はここに記載される。

30

【0299】

治療は、個体又は動物（幾つかの非限定的な例はヒト又は動物を含む）における疾患の任意の治療を含み、（1）疾患の阻害、例えば症状（例えば、痛み又は炎症）の悪化の防止；又は（2）症状の重症度の緩和、例えば症状の後退を生じさせることを含む。疾患の治療のための有効量とは、それを必要とする対象に投与された場合、その疾患に対して、その用語についてここで定義されるような、有効な治療をもたらすのに十分な量を意味する。薬剤の有効性は、病状又は望ましい応答の物理的指標を評価することによって決定されうる。そのようなパラメーターの何れか一、又はパラメーターの任意の組み合わせを測定することにより、投与及び/又は治療の有効性をモニターすることは、十分に当業者の能力の範囲内である。所与のアプローチの有効性は、ここに記載されている病状の動物モデルにおいて評価することができる。実験動物モデルを使用する場合、マーカーの統計的に有意な変化が観察されると、治療の有効性が証明される。

40

【0300】

この出願を通して引用される、参照文献、発行済み特許、公開特許出願、及び同時係属中の特許出願を含む、全ての特許及びその他の刊行物は、例えば、ここに記載される技術に関連して使用されるかもしれないそのような刊行物に記載された方法論を説明し開示する目的で、出典明示によりここに明示的に援用される。これらの刊行物は、本出願の出願

50

日より前のそれらの開示についてのみ提供される。この点に関し如何なるものも、発明者等が先の技術の理由で又は任意の他の理由のためにそのような開示に先行する権利がないことの自認と解釈されるべきではない。日付に関する全ての記述又はこれらの文書の内容に関する提示は、出願人が入手できる情報に基づいており、これらの文書の日付又は内容の正確さに関して何ら自認を構成するものではない。

#### 【 0 3 0 1 】

本開示の実施態様の説明は、網羅的であること又は本開示を開示された正確な形態に限定することを意図したものではない。本開示の特定の実施態様及び実施例を例示目的でここで説明するが、関連分野の当業者が認識するように、本開示の範囲内で様々な均等の変形が可能である。例えば、方法の工程又は機能が所与の順序で提示されているが、代替の実施態様では、異なる順序で機能を実行してもよく、又は機能は実質的に同時に実施されてもよい。ここで提供される開示の教示は、必要に応じて他の手順又は方法に適用することができる。ここで説明される様々な実施態様は、更なる実施態様を提供するために組み合わせることができる。本開示の態様は、必要に応じて、上記の参考文献及び出願の組成物、機能、及び概念を用いて本開示のまた更なる実施態様を提供するように変更することができる。更に、生物学的機能の均等性の考慮により、種類又は量において生物学的又は化学的作用に影響を与えることなく、タンパク質構造に幾らかの変更を加えることができる。詳細な説明に照らして、これらの変更及び他の変更を本開示に加えることができる。そのような変更は全て、添付の特許請求の範囲内に含まれることが意図される。

#### 【 0 3 0 2 】

前述の実施態様の何れかの特定の要素は、他の実施態様の要素と組み合わせるか、又は置き換えることができる。更に、本開示の所定の実施態様に関連する利点をこれら実施態様の文脈において説明したが、他の実施態様もまたそのような利点を示し得、全ての実施態様が本開示の範囲内に入るために必ずしもそのような利点を示す必要はない。

#### 【 0 3 0 3 】

ここに記載される技術は、決して更なる限定であると解釈されるべきではない、次の実施例によって更に例証される。

#### 【実施例】

#### 【 0 3 0 4 】

次は、有用な方法と組成物の実施例である。ここに提供された説明に鑑みると、様々な他の実施態様が実施されてもよいことが理解される。

#### 【 0 3 0 5 】

##### 実施例 1 抗 T A C I 抗体の作製

transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor (T A C I) に特異的に結合するモノクローナル抗体 (m A b s) を作製した。

まず、骨髄腫細胞を B 細胞と融合させることにより、m A b 産生細胞 (すなわち、ハイブリドーマ) を作製した。細胞融合後、抗原特異性と免疫グロブリンクラスに基づいて、多数のクローンをスクリーニングし選択した。候補ハイブリドーマ細胞株を同定したところで、抗体を検証し、幾つかの下流機能アッセイを使用して特徴付けた (図 1)。m A b の配列を決定し、可変重 (V H) 鎖及び可変軽 (V L) 鎖を使用して、第二世代のキメラ抗原受容体を産生した。

#### 【 0 3 0 6 】

抗体を、次の手順に従って表面プラズモン共鳴によって分析した (図 2)。抗 T A C I 抗体への h i s タグ組換え T A C I の結合を、抗マウス I g G で 1 2 0 R U (T A C I に対して) まで捕捉した。

捕捉：抗体をランニングバッファーで 1 m g / m L にし、抗マウス I g G 表面 (C M 5 チップ、製造元の説明書に従って標準的なアミン指向化学によって固定化した 1 0 0 0 R U の抗 I g G 抗体、G E H e a l t h c a r e、カタログ番号 B R - 1 0 0 8 - 3 8) に捕捉して、T A C I 分析のために 1 3 0 R U を達成した。

ランニングバッファー：PBS - P ( 10 mM のリン酸ナトリウム、150 mM の NaCl、0.005% の Tween 20, pH 7.4 )。

再生バッファー：10 mM のグリシン, pH 2.1

流量及び注入スキーム：流量：50 mL / 分、2 分の接触時間、5 分の解離

【0307】

アッセイの結果を図 2 に示す。結果： $k_a$  ( 結合速度定数 ) =  $1.407 \times 10^6$  1 / Ms、 $k_d$  ( 解離速度定数 ) = 0.00121 1 / s、 $K_D$  ( 平衡解離定数 ) =  $8.61 \times 10^{-10}$  M、 $R_{max}$  ( 最大結合量 ( フィット ) ) = 31.28 RU、及び  $\chi^2 = 0.943$  RU<sup>2</sup>。RU：共鳴単位。

【0308】

実施例 2 抗 TACI キメラ抗原受容体 ( CAR ) のデザイン

第二世代キメラ抗原受容体 ( CAR ) を、図 3 に示すようにデザインした。一つは抗 TACI 単鎖可変断片 ( scFv ) の VL の N 末端に VH を含み ( 抗 TACI ( H / L ) )、他方は抗 TACI scFv の VH の N 末端に VL を含む ( 抗 TACI ( L / H ) )、二つの抗 TACI CAR コンストラクトを作製した。CAR に含まれる VH 及び VL 配列は、実施例 1 に記載の抗 TACI 抗体に由来した。各 CAR は、CD8 ヒンジ / 膜貫通ドメイン、4 - 1 BB 共刺激ドメイン、及び CD3 細胞内シグナル伝達ドメインを更に含む。CAR は、標準的な方法に従って T 細胞で発現された ( 実施例 3 以下を参照 )。

免疫細胞に対する抗 TACI 抗体の潜在的な効果を試験するために、末梢血単核細胞 ( PBMC ) を抗 TACI 抗体と共にインキュベートし、フローサイトメトリーによって結合性を測定した。結果は、抗 TACI 抗体が、単離された T 細胞 ( 休止又は活性化 ) 又は様々な他の PBMC に結合しなかったことを実証した ( 図 23 )。TACI を過剰発現する K562 を陽性対照として使用した。

【0309】

抗 TACI CAR の発現、結合効果、及び結合特異性を評価するために、正常なドナー T 細胞に抗 TACI H - L、抗 TACI L - H、又は抗 BCMA を形質導入し、形質導入効率を、フローサイトメトリーによる mCherry 発現に対して陽性の各細胞集団のパーセントを測定することによって評価した。結果は、両方の抗 TACI CAR コンストラクトの形質導入効率は高く、抗 BCMA CAR と類似していることを証明した ( 図 24 )。異なる CAR の結合効率と特異性を比較するために、各 CAR コンストラクトを発現する T 細胞を、蛍光標識した可溶性 TACI と共にインキュベートし、フローサイトメトリーによって分析した。結果は、抗 TACI L - H CAR が抗 TACI H - L CAR よりも可溶性 TACI に対してより高い結合親和性を有しており、抗 BCMA CAR が可溶性 TACI タンパク質への結合を示さないことを実証した ( 図 25 A 及び 25 B )。

【0310】

TACI に対する抗 TACI CAR の特異性を更に評価するために、Cas9 を発現する MM1S がん細胞を作製した。TACI を発現する細胞又は Cas9 ノックアウトを介して TACI を欠損する細胞を作製した。図 27 A は、TACI の Cas9 ノックアウトが成功したことを示している。MM1S Cas9 及び MM1S Cas9 TACI ノックアウト ( KO ) 細胞を、非形質導入あるいは抗 TACI H - L、抗 TACI L - H、又は抗 BCMA で形質導入された T 細胞と共にインキュベートし、細胞傷害性を測定した。結果は、抗 TACI CAR が TACI に特異的であり、それらが発現する T 細胞は、TACI KO 細胞に対して殆ど効力がなく、それに対して、陽性対照抗 BCMA CAR T 細胞のみが実質的な細胞傷害性を有していたことを実証する ( 図 27 B )。

【0311】

実施例 3 BCMA 及び TACI 抗原の発現

多発性骨髄腫細胞株 MM1S を、ここに記載の実験において使用した。MM1S は TACI と B 細胞成熟抗原 ( BCMA ) の両方を発現した。BCMA ノックアウト MM1S 細胞株、並びに TACI を発現する K562 細胞株及び BCMA を発現する K562 細胞株を作製した ( 図 4 )。

10

20

30

40

50

TACIは活性化T細胞において発現されるため、休止CAR T細胞又は活性化CAR T細胞（ビーズで活性化）がTACIを発現し又はその発現をアップレギュレートするかどうかを評価した。図5に示されるように、休止細胞ではある程度の発現があるが、CAR T細胞が活性化されると非常に小さな変化が見られる。

#### 【0312】

#### 実施例4 抗TACI CAR T細胞のトランスフェクション効率及び殺傷活性

抗TACI CAR T細胞のトランスフェクション効率は、CAR T細胞がmCherryを発現するように改変されているため、mCherry陽性細胞の定量化によって測定される（図3を参照）。図6で明らかなように、抗BCMA-BBz CARのトランスフェクション効率は、両方のTACI CARのトランスフェクション効率と非常に類似している。標的感染多重度（MOI）= 10。

10

殺傷アッセイを実施して、抗BCMA CAR及び非形質導入（UTD）T細胞と比較して抗TACI（H/L）及び（L/H）CAR T細胞の活性を評価した。アッセイの結果を図7に示す。CAR T細胞を、図7に示した様々なエフェクター：標的（E：T）比で標的細胞と共に一晩インキュベートした。使用した標的ターゲット細胞は、BCMAとTACIの両方を発現するMM1S細胞であった。抗BCMA CAR及び両方の抗TACI CAR T細胞が優れたキラーであることが実証された。低いE：T比では、抗TACI（L/H）CAR T細胞がより効率的であるように見えた。

#### 【0313】

標的細胞として実施例3で作製したMM1S BCMAノックアウト細胞株を使用して上述の抗BCMA CAR、抗TACI（H/L）CAR、抗TACI（L/H）CAR、及びUTD T細胞を用いて、同様の殺傷アッセイを実施した。抗BCMA CAR T細胞はMM1S BCMAノックアウト細胞株を殺すことができなかったが、両抗TACI CAR T細胞はTACIを特異的に認識し、標的を殺すことが観察された（図8）。

20

#### 【0314】

#### 実施例5 CAR T細胞の免疫表現型検査

図9は、CD45RO及びCCR7で標識されたT細胞を示しており、これにより、ナイーブ、セントラルメモリー（CM）、エフェクターメモリー（EM）、及び後期エフェクター（EMRA）T細胞の4つの機能的な異なる集団の特性評価が可能になる。第二世代4-1BB CARで典型的に観察されるように、T細胞のCM集団は濃縮されている。抗BCMA CARを両抗TACI CARと比較した場合、同様の結果が観察された。

30

免疫系において長期記憶に対して重要であると先に記載された集団は、T幹細胞メモリー（TSCM）集団であり、これは、図9に示されるナイーブ集団（CD45-CCR7+）からの特異的なマーカーによって定義される。TSCM集団に特異的なマーカーはCD95CとD127である。図10に、抗TACI CAR T細胞がTSCM集団を有していることが示されている。

#### 【0315】

#### 実施例6 CAR T細胞の脱顆粒及び特異的結合性

BCMA及びTACI CAR T細胞を抗CD107a抗体で染色し（タンパク質トランスporter阻害剤を添加）、そのままにし（陰性対照：-CL）、6時間、異なる標的と共培養し、又はPMA/イオノマイシンで活性化した（陽性対照：+CL）。フローサイトメトリーを実施し、生CAR T細胞をゲーティングして、細胞傷害性脱顆粒のマーカーであるCD107aの発現を評価した。結果を図11に示す。抗TACI CAR T細胞は、BCMA+/TACI-標的ではなく、TACI+標的に特異的に応答して脱顆粒することが観察された。

40

#### 【0316】

抗BCMA、抗TACI（H/L）、及び抗TACI（L/H）CAR T細胞を、可溶性TACI（sTACI）、可溶性BCMA（sBCMA）、及び可溶性APRIL（sAPRIL）に結合するそれらの能力について評価し決定した。T細胞をPBS中4%のBSAで4回洗浄し、氷上で標識タンパク質と共に4で40分間インキュベートした。

50

インキュベーション後、細胞をFACSバッファーで二回洗浄し、フローサイトメトリーを生CAR T細胞でゲーティングして実施し、タンパク質結合性を計算した。結果を図12A-12Cに示す。図12Aで明らかなように、抗TACI(L/H)CAR T細胞は、抗TACI(H/L)CAR T細胞よりも可溶性TACIへのより高い結合効率を有している。図12Bでは、両方の抗TACI CAR T細胞のBCMAへの結合性は無視できることが証明されている。最後に、図12Cは、抗BCMA及び両方の抗TACI CAR T細胞が可溶性APRILに対して類似の結合効率を有していることを示している。

#### 【0317】

#### 実施例7 抗TACI CAR T細胞のサイトカイン産生及び長期増殖

抗BCMA及び両方の抗TACI CAR T細胞のサイトカイン産生を、CAR T細胞を特定の標的(MM1S又はMM1S BCMAノックアウト細胞株)と共にインキュベートすることによって評価した。非形質導入細胞を対照として使用した。サイトカイン産生のレベルを図13A及び13Bに示す。抗TACI CAR T細胞は、MM1S及びMM1S BCMAノックアウト細胞両方に応答してサイトカインを産生することが実証された。同様に、抗BCMA及び両方の抗TACI CAR T細胞のサイトカイン産生を評価したが、今回はK562-TACI及びK562-BCMA細胞株を標的として使用した(図13C及び13D)。両方の抗TACI CAR T細胞は、BCMAを発現する標的に応答してよりも多く、TACIを発現する標的に応答して、サイトカインを産生する。最後に、CAR T細胞のサイトカイン産生を、別の多発性骨髄腫細胞株であるU266細胞で評価した。結果を図13Eに示す。

更に、抗TACI CAR T細胞は、K562標的細胞で刺激されると、インビトロで長期増殖しうることが実証された。矢印で示された日にCAR T細胞を刺激し、CAR T細胞の集団倍加を図14に示す。

#### 【0318】

#### 実施例8 インビボでの抗TACI CAR T細胞

抗TACI CAR T細胞を使用したインビボ実験の実験デザインを図15に示す。100万個のMM1S細胞をマウスに静脈内(i.v.)注射した。2週間後、マウスに200万個のCAR T細胞又はUTD細胞を注射した。画像を週に2回撮影し、生物発光を定量化した。生物発光画像を図16A及び16Bに示す。図17では、生物発光を光子/秒で定量化し、使用した各CAR T細胞の4つのグラフに示す。

図18に示すように、抗TACI(L/H)CAR T細胞は、BCMA+/TACI+多発性骨髄腫の治療において抗BCMA CAR T細胞と同じく効果的である。図19は、TACI+多発性骨髄腫において治療的である抗TACI CAR T細胞の能力を示している。

#### 【0319】

抗TACI CAR T細胞を使用する追加のインビボ実験のデザインを図26Aに示す。5×10<sup>6</sup>個のRPMI8226細胞をマウスに皮下移植した。2週間後、マウスに2×10<sup>6</sup>個のCAR T細胞又は非形質導入細胞を静脈内注射し、又は未処理のままにした。腫瘍体積を、CAR T処置の4、7、10、及び14日後にキャリパーによって測定した。個々の腫瘍増殖曲線を図26B、26C、26D、26E、及び26Fに示す。図26Gは、各処置群のマウスの生存率を示している。結果は、抗TACI CAR T細胞が、腫瘍増殖の抑制と生存期間の延長の両方において、皮下腫瘍増殖モデルにおいてインビボで有効であることを示しており、L-HコンストラクトがH-Lコンストラクトよりも有効でありうことを示唆している。図26Hは、抗TACI L-H CAR T細胞が21日目に血中で増殖を示すことを更に示している。抗BCMA CAR T細胞は陽性対照として機能し、非形質導入群と腫瘍のみの群は陰性対照として機能した。

#### 【0320】

#### 実施例9 CAR T細胞療法による血液悪性腫瘍における抗原喪失の克服

現在、CAR19(CD19を標的とするCAR)を超えるCAR T細胞療法の最も有望な候補の一つは、TNF受容体スーパーファミリーのメンバーであるB細胞成熟抗原(



BCMA)を標的とするCAR T細胞による多発性骨髄腫の治療である。多発性骨髄腫は、全ての血液悪性腫瘍の13%を占めており、新しい治療法に対する満たされていない臨床的必要性がある。クリニックでのBCMA CARの現在の報告では、無増悪生存期間中央値は11.8か月であり、BCMAだけを標的とするだけでは不十分であることが示唆される。CAR19処置及びCD19陰性再発で観察されるものと同様に、証拠は、BCMA標的療法で処置された患者がBCMA陰性再発によって妨害されうること示唆している。CD19+悪性腫瘍では、CD19とCD20、又はCD19とCD22などの二つの抗原を標的とするタンデムCAR T細胞を含み、CD19陰性悪性腫瘍を克服するための多くのアプローチがある。多発性骨髄腫では、BCMAを超えたもっともらしい標的は、transmembrane activator and CAML interactor (TACI)である。BCMAと同様に、TACIもまたTNF受容体スーパーファミリーのメンバーであり、形質細胞に生存シグナルを提供する。この抗原は、BCMAをまた認識する天然リガンドである増殖誘導リガンド(APRIL)を使用してCAR T細胞で標的とされる。現在、TACIのみを標的とする公開されたCAR T細胞はない。現在まで、scFvに基づく二重標的化CAR T細胞と天然リガンドデザインの直接の比較はない。

#### 【0321】

マウスを免疫し、得られたハイブリドーマから抗TACI CARを構築することによって、TACIを標的とする新規CAR T細胞をデザインし、本開示において提供する。可変重鎖及び可変軽鎖の配向に基づいて、二つの型の抗TACI CARがあった(図20A)。抗TACI CARは、BCMAとTACIの両方に陽性であり、TACI低骨髄腫株U266に対して更に低い活性を有している多発性骨髄腫株MM1S及びRPMI-8226に対してインビトロで機能性である(図20B-20C)。多発性骨髄腫のトランスジェニックモデルでは、scFvのL-H配向はより迅速に治癒し、インビトロではL-H CARがより効率的に可溶性TACIに結合した(図20D-20E)。

#### 【0322】

抗TACI CARは、TACI抗原の存在下で機能性であるが、BCMA CARと同様に、抗原が失われると効力を失う(図21D-21E)。CAR19の失敗の原因となっている抗原の潜在的な損失を克服するために、抗TACI scFv(VH-VL構成)を使用してBCMAとTACIの両方を標的とするタンデム二重特異性CAR T細胞をデザインした。改変された二重標的BCMA及びTACI CARもまた、それらの天然リガンドAPRILに基づいてデザインした(図21A)。TriPRILと名付けられたこのコンストラクトは、その分泌型であることが示されている三量体を形成するために、三つの反復切断型APRILリガンドを有していた。二重標的CAR、タンデム二重特異性CAR、又は天然リガンドのどのデザインがより効果的な治療法であるかは不明であった。より大きなベクターサイズにもかかわらず、二重標的CARコンストラクトの形質導入効率は、正常ドナーT細胞における単鎖scFvのものと同等であった(図21B)。インビトロでの二重標的タンデム二重特異性CARの細胞傷害性は、MM1S及びRPMI-8226骨髄腫株に対するTriPRILに匹敵した(図21C)。抗TACI-抗BCMA二重特異性及びTriPRILは、TACI発現が低い多発性骨髄腫株U266に対して同等の機能性を有しているように思われる(図20B)。抗BCMA-抗TACI二重特異性はあまり効果的ではない。抗原喪失シナリオでは、BCMAの喪失は、幾らかの効力を失う抗TACI-抗BCMA二重特異性で最大の違いを示す(図21D-21E)。これらのアッセイからの上清を回収して、サイトカイン産生についても評価した。

#### 【0323】

実施例10 多発性骨髄腫のための二重特異性CAR T細胞：タンデムscFvデザインと比較した天然リガンド

実施例9では、タンデムscFv又は天然リガンドデザインに基づく二重BCMA及びTACI標的化CARが、野生型多発性骨髄腫モデルに対して同様の有効性を有していることが示された。しかし、これは単一抗原の喪失の文脈では変化する。これらのCARの

増殖（集団倍加）及び活性化能力（CD69）、並びにそれらのメモリー（CCR7、CD45RA）及び消耗表現型（PD-1、Tim3、LAG-3）を、単一抗原への長期曝露で特徴付けた。抗原密度に対する感受性は、タンデム二重特異性CARと天然リガンドCARの間で異なることが示された。結果は、二重標的CAR T細胞間の構造的差がそれらの機能に影響を与えることを示している。

それぞれの各抗原に結合する二重特異性CAR T細胞の有効性を試験するために、T細胞を非形質導入のままにするか、抗TACI-H CAR、抗TACI-L-H CAR、抗BCMA CAR、抗TACI/抗BCMA二重特異性CAR、又は抗BCMA/抗TACI二重特異性CARで形質導入し、可溶性抗原のそれらの結合性について試験した。結果は、二重特異性CARがそれらの単一特異性対応物と比較してそれらの可溶性抗原に対してより低い結合親和性を有しており、試験された二重特異性CARの二成分の配向がそれらの結合に影響を及ぼさないことを実証している（図28）。

10

#### 【0324】

がん細胞/T細胞共培養におけるサイトカイン産生に対する二重特異性CARの効果を試験するために、MM1S又はRPMI8226多発性骨髄腫細胞を単独で又は非形質導入T細胞、抗TACI/抗BCMA二重特異性CARが形質導入されたT細胞、又は抗BCMA/抗TACI二重特異性CARが形質導入されたT細胞との共培養で培養し、サイトカインを培養上清で測定した。結果は、二重特異性CAR T細胞が、インビトロで多発性骨髄腫細胞株に応答して、インターロイキン-2（IL-2）、インターフェロン-ガンマ（IFN- $\gamma$ ）、及び腫瘍壊死因子アルファ（TNF- $\alpha$ ）を産生することを実証している（図29）。

20

インビボで二重特異性CAR T細胞を使用する追加の実験のデザインを図30Aに示す。まず、 $1 \times 10^6$ 個のMM1S多発性骨髄腫細胞をマウスに静脈内（i.v.）注射した。次に、2週間後、 $2 \times 10^6$ 個のCAR T細胞を注入し、生物発光イメージングを実施して、MM1S細胞生存率を経時的に検出した。未処理又は非形質導入T細胞、あるいは抗TACI/抗BCMA二重特異性CAR又は抗BCMA/抗TACI二重特異性CARで形質導入されたT細胞で処置されたマウスにおける経時的な生物発光フラックス測定値を、3名の異なるドナーからのT細胞について図30B、30C、及び30Dに示す。ドナー1からの代表的な生物発光画像を図30Eに示す。結果は、二重特異性CAR T細胞がインビボでMM1Sに対して機能性であり、3名中2名のドナーからの抗BCMA/抗TACI CAR T細胞が有効であり、3名中3名のドナーからの抗TACI/抗BCMA CAR T細胞が有効であったことを実証している。

30

#### 【0325】

二重特異性CAR T細胞は、多発性骨髄腫の皮下腫瘍モデルにおいて更なる有効性を示した。図31Aは、マウスに $5 \times 10^6$ 個のRPMI8226細胞を皮下移植し、ついで2週間後にCAR T細胞を静脈内注射した実験デザインを示している。腫瘍体積を経時的に測定し、注射後14日目及び21日目にCAR T細胞を血液中でカウントした。結果は、抗BCMA/抗TACI CAR T細胞が、抗TACI/抗BCMA CAR T細胞又は非形質導入T細胞よりもインビボで増殖し（図31B）、両方のCAR T細胞タイプが、非形質導入T細胞又は未処置のマウスの腫瘍と比較して皮下腫瘍増殖を抑制することを実証する（図31C、31D、31E、及び31F）。T細胞消耗は、CAR T細胞の無効性の一因となりうる。二重特異性CAR T細胞の消耗を評価するために、図32Aに示される予定表に従って実験を行った。最初に、非形質導入のあるいは抗BCMA CAR、抗TACI/抗BCMA二重特異性CAR、又は抗BCMA/抗TACI二重特異性CARコンストラクトが形質導入された $1 \times 10^6$ 個のT細胞をプレーティングした。最初のプレーティング後0、7、14、21、及び28日目に、Tim-3及びLAG3消耗マーカーのフローサイトメトリー分析を実施した。各時点で、T細胞をカウントし、条件毎に $1 \times 10^6$ 個の細胞でプレーティングし、BCMAを過剰発現する照射K562細胞で（再）刺激した。結果は、抗BCMA/抗TACI二重特異性CAR T細胞が、抗BCMA及び抗TACI/抗BCMA二重特異性CAR T細胞と比較して、刺激を繰り返すと消耗

40

50

マーカー T i m - 3 及び L a g 3 の発現が低いことを実証しており、これは、単一抗原に対するそれらのより大きな効力を説明しうる。

【 0 3 2 6 】

C A R T 細胞集団内の T 細胞表現型を、図 3 3 A に要約された実験デザインに従って評価した。抗 B C M A C A R、抗 T A C I / 抗 B C M A 二重特異性 C A R、又は抗 B C M A / 抗 T A C I 二重特異性 C A R を発現する C A R T 細胞をカウントし、 $1 \times 10^6$  個の細胞をプレーティングし、毎週フローサイトメトリーによってメモリー表現型を定量した。C A R T 細胞を、図 3 3 B の左側に示される四つの表現型に従って特徴付けた。細胞を、C C R 7 に対して陽性で、C D 4 5 R A に対して陰性である場合、セントラルメモリー ( C M ) として；C C R 7 と C D 4 5 R A の両方に対して陰性の場合にはエフェクターメモリー ( E M ) として；C C R 7 に対して陰性で、C D 4 5 R A に対して陽性の場合には高分化型エフェクター ( T D E ) として；あるいは C C R 7 と C D 4 5 R A の両方に対して陽性の場合にはナイーブとして、分類した。X. Wang 等, Blood (2016) 127(24):2980-2990 ; L. Gattinoni 等, Nat. Med. (2011) 17(10):1290-1297 ; 及び L. Biasco 等, Sci. Transl. Med. (2015) 7(273):273ra213 を参照のこと。結果は、抗 B C M A / 抗 T A C I 二重特異性 C A R T 細胞の大部分が、抗 T A C I / 抗 B C M A 二重特異性 C A R T 細胞又は抗 B C M A C A R T 細胞よりもセントラルメモリー表現型を保持するが、代わりに同じ時間枠でエフェクター表現型に転換することを実証した ( 図 3 3 B )。グループ間の増殖に殆ど差異は観察されなかった ( 図 3 3 C )。

【 0 3 2 7 】

10

20

30

40

50

表2 アミノ酸配列

配列番号:	説明	配列
1	VH	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYFTTESTIHWVKQSHGKSLEWIGGISPNNGGSPFNQKFQKATLTVDKSSSTVYMELRSLSSSEDSAVYYCAKWVRGAMDFWGQGTSTVTVSS
2	VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDYYGMSLMNWFQQKPGQP PKLVIYAASNQGSQGVPARFSGSGSGTDFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQ SKEAPPTFGGGTKLEIK
3	(G <sub>4</sub> S) <sub>4</sub> リンカー	GGGGSGGGSGGGSGGGGS
4	抗 TACI scFv (H-L)	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYFTTESTIHWVKQSHGKSLEWIGGISPNNGGSPFNQKFQKATLTVDKSSSTVYMELRSLSSSEDSAVYYCAKWVRGAMDFWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSDI VLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDYYGMSLMNWFQQKPGQPP KLVIYAASNQGSQGVPARFSGSGSGTDFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQS KEAPPTFGGGTKLEIK
5	抗 TACI scFv (L-H)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDYYGMSLMNWFQQKPGQP PKLVIYAASNQGSQGVPARFSGSGSGTDFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQ SKEAPPTFGGGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLQQSG PELVKPGASVKISCKTSGYFTTESTIHWVKQSHGKSLEWIGGISPNNG GSPFNQKFQKATLTVDKSSSTVYMELRSLSSSEDSAVYYCAKWVRG AMDFWGQGTSTVTVSS
6	CD8 シグナル配列	MALPVTALLLPLALLLHAARP
7	CD8 ヒンジ/ 膜貫通ドメイン	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYI WAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
8	4-1BB 共刺激 ドメイン	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL
9	CD3 と 細胞内 シグナル伝達ドメイン	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQG LSTATKDTYDALHMQALPPR
10	抗 TACI CAR (H-L)	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYFTTESTIHWVKQSHGKSLEWIGGISPNNGGSPFNQKFQKATLTVDKSSSTVYMELRSLSSSEDSAVYYCAKWVRGAMDFWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSDI VLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDYYGMSLMNWFQQKPGQPP KLVIYAASNQGSQGVPARFSGSGSGTDFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQS KEAPPTFGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAG GAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQG QNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGKPRRKNPQEGLYNEL QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR

10

20

30

40

50

11	抗 TACI CAR (L-H)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDYYGMSLMNWFQQKPGQP PKLVIYAASNQSGSGVPARFSGSGSGTDFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQ SKEAPPTFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLQQSG PELVKPGASVKISCKTSGYTFTESTIHVWKQSHGKSLEWIGGISPNNG GSPFNQKFKGKATLTVDKSSSTVYMELRSLSSSEDSAVYYCAKWVRG AMDFWGQGTSTVTVSSTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIF KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQ GQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR	10
12	抗 TACI CAR (H-L) + CD8 シグナ ル配列	MALPVTALLPLALLLHAARPEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSG YTFTESTIHVWKQSHGKSLEWIGGISPNNGGSPFNQKFKGKATLTVDK SSSTVYMELRSLSSSEDSAVYYCAKWVRGAMDFWGQGTSTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASES VDYYGMSLMNWFQQKPGQPPKLVYAASNQSGSGVPARFSGSGSGT DFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQSKEAPPTFGGGTKLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCG VLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEE EGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	20
13	抗 TACI CAR (L-H) + CD8 シグナ ル配列	MALPVTALLPLALLLHAARPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASE SVDYYGMSLMNWFQQKPGQPPKLVYAASNQSGSGVPARFSGSGSG TDFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQSKEAPPTFGGGTKLEIKGGGSGGG GSGGGGSGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYTFTESTIH VWKQSHGKSLEWIGGISPNNGGSPFNQKFKGKATLTVDKSSSTVYME LRSLSSSEDSAVYYCAKWVRGAMDFWGQGTSTVTVSSTTTAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEE GGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	30
14	(G <sub>3</sub> S) <sub>3</sub> リンカー	GGGSGGGSGGGG	
15	(G <sub>4</sub> S) <sub>3</sub> リンカー	GGGGSGGGGSGGGG	
16	Whitlow リンカー	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	
17	Andris-Widhopf リンカー	GGSSRSSSSGGGGSGGGG	

10

20

30

40

50

18	CD8 リーダー - 抗 TACI H-L - リンカー - 抗 BCMA - CD8 ヒ ンジ + TM - 4-1BB - CD3z  1 型	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSG YTFTESTIHWVKQSHGKSLEWIGGISPNNGGSPFNQKFKGKATLTVDK SSSTVYME LRSLSS EDSAVYYCAKWVRGAMDFWGQGT SVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASES VDYYGMSLMNWFQKKPGQPPKLVYAASNQSGSGVPARFSGSGSGT DFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQSKEAPPTFGGGTKLEIKGGGSGGGG SGGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMS LGKRATISCRASESVTILGSHLI HWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRDTFTLTIDPVEE DDVAVYYCLQSRTPRTFGGGTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQI QLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMG WINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCA LDYSYAMDYWGQGT SVTVSSAAATTTAPAPRPTPAPTTTTAPAPRP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEE EEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
19	CD8 リーダー - 抗 BCMA - リンカー - 抗 TACI H-L - CD8 ヒンジ + TM - 4-1BB - CD3z  1 型	MALPVTALLLPLALLLHAARPDIVLTQSPPSLAMS LGKRATISCRASE SVTILGSHLIHWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRDT FTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTPRTFGGGTKLEIKGSTSGSGKPGS GEGSTKGQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAP GKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLKYE DTATYFCALDYSYAMDYWGQGT SVTVSSAAATTTAPAPRPTPAPT G GGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSG YTFTESTIHWVKQSHGKSLEWIGGISPNNGGSPFNQKFKGKATLTVDK SSSTVYME LRSLSS EDSAVYYCAKWVRGAMDFWGQGT SVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASES VDYYGMSLMNWFQKKPGQPPKLVYAASNQSGSGVPARFSGSGSGT DFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQSKEAPPTFGGGTKLEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCG VLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEE EGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

20	CD8 リーダー - 抗 TACI L-H - リンカー - 抗 BCMA - CD8 ヒ ンジ + TM - 4-1BB - CD3z  1 型	MALPVTALLLPLALLLHAARPDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASE SVDYYGMSLMNWFQQKPGQPPKLVIIAASNQGSQGVPARFSGSGSG TDFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQSKEAPPTFGGGTKLEIKGGGSGGG GSGGGGSGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYTFTESTIH WVKQSHGKSLEWIGGISPNNGGSPFNQKFKGKATLTVDKSSSTVYME LRSLSEDSAVYYCAKWVRGAMDFWGQGSTVTVSSGGGSGGGGS GGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIH WYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEED DVAVYYCLQSRTPRTFGGGTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQIQL VQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWI NTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCALD YSYAMDYWGQGSTVTVSSAAATTPAPRPPTPAPTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEE GGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	10
21	CD8 リーダー - 抗 BCMA - リンカー - 抗 TACI L-H - CD8 ヒンジ + TM - 4-1BB - CD3z  1 型	MALPVTALLLPLALLLHAARPDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASE SVTILGSHLIHWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTD FTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTPRTFGGGTKLEIKGSTSGSGKPGS GEGSTKGQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAP GKGLKWMGWINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYE DTATYFCALDYSYAMDYWGQGSTVTVSSAAATTPAPRPPTPAPTG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASE SVDYYGMSLMNWFQQKPGQPPKLVIIAASNQGSQGVPARFSGSGSG TDFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQSKEAPPTFGGGTKLEIKGGGSGGG GSGGGGSGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYTFTESTIH WVKQSHGKSLEWIGGISPNNGGSPFNQKFKGKATLTVDKSSSTVYME LRSLSEDSAVYYCAKWVRGAMDFWGQGSTVTVSSTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGV LLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEE GGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	20
22	CD8 リーダー-抗 TACI H-L -リンカー- 抗 BCMA - CD8 ヒン ジ + TM - 4-1BB - CD3z  2 型	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSG YTFTTESTIHWVKQSHGKSLEWIGGISPNNGGSPFNQKFKGKATLTVDK SSSTVYMELRSLSEDSAVYYCAKWVRGAMDFWGQGSTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASES VDYYGMSLMNWFQQKPGQPPKLVIIAASNQGSQGVPARFSGSGSGT DFRLNIHPLEEDDTGMYFCQQSKEAPPTFGGGTKLEIKGGGSGGGG SGGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLI HWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEE DDVAVYYCLQSRTPRTFGGGTKLEIKGSTSGSGKPGSGEGSTKGQI QLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMG WINTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLYEDTATYFCA LDYSYAMDYWGQGSTVTVSSAAATTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSA DAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKN	30  40

10

20

30

40

3050



表3 相補性決定領域 (CDR) の定義

	IMGT <sup>1</sup>	Kabat <sup>2</sup>	Chothia <sup>3</sup>
CDR-H1	27-38	31-35	26-32
CDR-H2	56-65	50-65	53-55
CDR-H3	105-116/117	95-102	96-101 5
CDR-L1	27-38	24-34	26-32
CDR-L2	56-65	50-56	50-52
CDR-L3	105-116/117	89-97	91-96

<sup>1</sup> IMGT®, the international ImMunoGeneTics information system®, imgt.org, Lefranc, M.-P.等., Nucleic Acids Res., 27:209-212 (1999)

<sup>2</sup> Kabat 等 (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242

<sup>3</sup> Chothia 等, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)

10

表4 抗 TACI 相補性決定領域 (CDR) のアミノ酸配列

番号システム	IMGT	Kabat	Chothia
CDR-H1	GYTFTEST (配列番号: 26)	ESTIH (配列番号: 32)	GYTFTES (配列番号: 37)
CDR-H2	ISPNNNGGS (配列番号: 27)	GISPNNGGSPFNQKFKG (配列番号: 33)	NNG (配列番号: 38)
CDR-H3	AKWVRGAMDF (配列番号: 28)	WVRGAMDF (配列番号: 34)	VRGAMD (配列番号: 39)
CDR-L1	ESVDYYGMSL (配列番号: 29)	RASESVDYYGMSLMN (配列番号: 35)	SESVDYYGMSL (配列番号: 40)
CDR-L2	AAS (配列番号: 30)	AASNQGS (配列番号: 36)	AAS (配列番号: 30)
CDR-L3	QQSKEAPPT (配列番号: 31)	QQSKEAPPT (配列番号: 31)	SKEAPP (配列番号: 41)

20

30

## 【 0 3 2 8 】

ここに記載した技術の幾つかの実施態様は、番号を付した次のパラグラフの何れかに従って定義されうる：

1 . transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor ( T A C I ) に特異的に結合する単離抗体であって、約 2 n M 以下の  $K_D$  で T A C I に結合する抗体。

2 . 抗体が、約 5 0 0 p M と約 1 n M の間の  $K_D$  で T A C I に結合する、請求項 1 の抗体。

3 . 抗体が、約 7 0 0 p M と約 9 0 0 p M の間の  $K_D$  で T A C I に結合する、パラグラフ 1 又は 2 の抗体。

40

4 . 抗体が、約 8 6 1 p M の  $K_D$  で T A C I に結合する、パラグラフ 1 - 3 の何れか一の抗体。

5 . 抗体が、配列番号：1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン ( V H ) 及び/又は配列番号：2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン ( V L ) を含む、T A C I に特異的に結合する単離抗体。

6 . V H が配列番号：1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、V L が配列番号：2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、パラグラフ 5 の抗体。

50

7. V H が配列番号：1 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、V L が配列番号：2 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、パラグラフ 5 の抗体。

8. V H が配列番号：1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、V L が配列番号：2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、パラグラフ 5 の抗体。

9. V H が配列番号：1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、V L が配列番号：2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、パラグラフ 5 の抗体。

10. 抗体が、配列番号：1 のアミノ酸配列を含む V H と配列番号：2 のアミノ酸配列を含む V L とを含む、T A C I に特異的に結合する単離抗体。

10

11. 抗体がモノクローナル、ヒト、ヒト化、又はキメラ抗体である、パラグラフ 1 - 10 の何れか一の抗体。

12. 抗体がモノクローナル抗体である、パラグラフ 11 の抗体。

13. 抗体が完全長抗体である、パラグラフ 1 - 12 の何れか一の抗体。

14. 抗体が、T A C I に特異的に結合する抗体断片である、パラグラフ 1 - 12 の何れか一の抗体。

15. 抗体断片が、F a b、F a b'、F a b' - S H、F v、s c F v、及び ( F a b' )<sub>2</sub> 断片からなる群から選択される、パラグラフ 14 の抗体。

16. 抗体が I g G 抗体である、パラグラフ 1 - 15 の何れか一の抗体。

20

17. 抗体が I g G 1 抗体である、パラグラフ 16 の抗体。

18. パラグラフ 1 - 17 の何れか一の抗体を含む組成物。

19. パラグラフ 1 - 17 の何れか一の抗体をコードするポリヌクレオチド。

20. パラグラフ 19 のポリヌクレオチドを含むベクター。

21. パラグラフ 16 のベクターを含む宿主細胞。

22. 宿主細胞が哺乳動物細胞である、パラグラフ 21 の宿主細胞。

23. 哺乳動物細胞がチャイニーズハムスター卵巣 ( C H O ) 細胞である、パラグラフ 22 の宿主細胞。

24. 宿主細胞が原核細胞である、パラグラフ 21 の宿主細胞。

25. 原核細胞が大腸菌である、パラグラフ 24 の宿主細胞。

30

26. T A C I に特異的に結合する抗体を産生する方法であって、培養培地中でパラグラフ 21 - 25 の何れか一の宿主細胞を培養することを含む、方法。

27. 宿主細胞又は培養培地から抗体を回収することを更に含む、パラグラフ 22 の方法。

28. パラグラフ 1 - 27 の何れか一項に記載の抗体を含む抗体薬物コンジュゲート。

29. 細胞外標的結合ドメインを含み、細胞外標的結合ドメインが T A C I 結合ドメインを含む、キメラ抗原受容体 ( C A R ) ポリペプチド。

30. C A R ポリペプチドが膜貫通ドメインと細胞内シグナル伝達ドメインを含む、パラグラフ 29 の C A R ポリペプチド。

31. 一又は複数の共刺激ドメインを更に含む、パラグラフ 29 又は 30 の C A R ポリペプチド。

40

32. T A C I 結合ドメインが、A P R I L、B A F F、C A M L G、又はそれらの一部を含まない、パラグラフ 29 - 31 の何れか一の C A R ポリペプチド。

33. T A C I 結合ドメインが、約 2 n M 以下の K<sub>D</sub> で T A C I に結合する、パラグラフ 29 - 32 の何れか一の C A R ポリペプチド。

34. T A C I 結合ドメインが、約 500 p M から約 1 n M の間の K<sub>D</sub> で T A C I に結合する、パラグラフ 29 - 33 の何れか一の C A R ポリペプチド。

35. T A C I 結合ドメインが、約 700 p M から約 900 p M の間の K<sub>D</sub> で T A C I に結合する、パラグラフ 29 - 34 の何れか一の C A R ポリペプチド。

36. T A C I 結合ドメインが約 861 p M の K<sub>D</sub> で T A C I に結合する、パラグラフ

50

フ 2 9 - 3 5 の何れか一の C A R ポリペプチド。

3 7 . T A C I 結合ドメインが抗体又はその抗原結合断片を含む、パラグラフ 2 9 - 3 6 の何れか一の C A R ポリペプチド。

3 8 . パラグラフ 1 - 1 7 の何れか一の抗体又はその抗原結合断片を含む細胞外標的結合ドメインを含む C A R ポリペプチド。

3 9 . T A C I 結合ドメインが抗 T A C I 単鎖可変断片 ( s c F v ) を含む、パラグラフ 2 9 - 3 8 の何れか一の C A R ポリペプチド。

4 0 . 抗 T A C I s c F v が、配列番号： 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン ( V H ) を含む、パラグラフ 3 9 の C A R ポリペプチド。

10

4 1 . V H が配列番号： 1 のアミノ酸配列を含む、パラグラフ 4 0 の C A R ポリペプチド。

4 2 . 抗 T A C I s c F v が、配列番号： 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン ( V L ) を含む、パラグラフ 3 9 - 4 1 の何れか一の C A R ポリペプチド。

4 3 . V L が配列番号： 2 のアミノ酸配列を含む、パラグラフ 4 2 の C A R ポリペプチド。

4 4 . 抗 T A C I s c F v が、配列番号： 1 のアミノ酸配列を含む V H と、配列番号： 2 のアミノ酸配列を含む V L を含む、パラグラフ 3 9 - 4 3 の何れか一の C A R ポリペプチド。

20

4 5 . V H が V L の N 末端に位置する、パラグラフ 4 0 - 4 4 の何れか一の C A R ポリペプチド。

4 6 . V L が V H の N 末端に位置する、パラグラフ 4 0 - 4 4 の何れか一の C A R ポリペプチド。

4 7 . V H と V L がリンカー配列を介して連結されている、パラグラフ 4 0 - 4 6 の何れか一の C A R ポリペプチド。

4 8 . リンカー配列が、配列番号： 3、1 4、1 5、1 6、又は 1 7 のアミノ酸配列を含む、パラグラフ 4 7 の C A R ポリペプチド。

4 9 . リンカー配列が、配列番号： 3 のアミノ酸配列を含む、パラグラフ 4 8 の C A R ポリペプチド。

30

5 0 . T A C I 結合ドメインが、配列番号： 4 又は 5 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、パラグラフ 2 9 - 4 9 の何れか一の C A R ポリペプチド。

5 1 . T A C I 結合ドメインが、配列番号： 4 又は 5 のアミノ酸配列を含む、パラグラフ 4 9 又は 5 0 の C A R ポリペプチド。

5 2 . 膜貫通ドメインが、ヒンジ / 膜貫通ドメインを含む、パラグラフ 2 9 - 5 1 の何れか一の C A R ポリペプチド。

5 3 . ヒンジ / 膜貫通ドメインが、免疫グロブリン様タンパク質、C D 2 8、C D 8、又は 4 - 1 B B のヒンジ / 膜貫通ドメインを含む、パラグラフ 5 2 の C A R ポリペプチド。

40

5 4 . ヒンジ / 膜貫通ドメインが、C D 8 のヒンジ / 膜貫通ドメインであり、場合によっては、C D 8 のヒンジ / 膜貫通ドメインが、配列番号： 7 のアミノ酸配列を含む、パラグラフ 5 3 の C A R ポリペプチド。

5 5 . 細胞内シグナル伝達ドメインが、C D 3、C D 3、又は C D 3 の細胞内シグナル伝達ドメインを含む、パラグラフ 2 9 - 5 4 の何れか一の C A R ポリペプチド。

5 6 . 細胞内シグナル伝達ドメインが C D 3 の細胞内シグナル伝達ドメインを含み、場合によっては、C D 3 の細胞内シグナル伝達ドメインが配列番号： 9 のアミノ酸配列を含む、パラグラフ 5 5 の C A R ポリペプチド。

5 7 . 共刺激ドメインが、4 - 1 B B、C D 2 8、C D 2 7、I C O S、又は O X 4 0 の共刺激ドメインを含む、パラグラフ 3 1 から 5 6 の何れか一の C A R ポリペプチド。

50

58. 共刺激ドメインが4-1BBの共刺激ドメインを含み、場合によっては4-1BBの共刺激ドメインが配列番号：8のアミノ酸配列を含む、パラグラフ57のCARポリペプチド。

59. CARポリペプチドが、配列番号：10、11、12、又は13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、パラグラフ29-58の何れか一のCARポリペプチド。

60. 細胞外標的結合ドメインが、TACIではない第二の標的に結合する標的結合ドメインを更に含む、パラグラフ29-58の何れか一のCARポリペプチド。

61. 第二の標的がB細胞成熟抗原(BCMA)である、パラグラフ60のCARポリペプチド。

62. 標的結合ドメインが第二の標的のリガンドを含む、パラグラフ60又は61のCARポリペプチド。

63. 標的結合ドメインが、抗体又はその抗原結合断片を含む、パラグラフ60又は61のCARポリペプチド。

64. 抗体又はその抗原結合断片がscFvを含む、パラグラフ63のCARポリペプチド。

65. scFvが抗BCMA scFvである、パラグラフ64のCARポリペプチド。

66. 抗BCMA scFvが抗TACI scFvのN末端に位置する、パラグラフ65のCARポリペプチド。

67. 抗TACI scFvが抗BCMA scFvのN末端に位置する、パラグラフ65のCARポリペプチド。

68. 配列番号：10のアミノ酸配列を含むCARポリペプチド。

69. 配列番号：11のアミノ酸配列を含むCARポリペプチド。

70. 配列番号：12のアミノ酸配列を含むCARポリペプチド。

71. 配列番号：13のアミノ酸配列を含むCARポリペプチド。

72. パラグラフ29-71の何れか一のCARポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

73. 自殺遺伝子を更に含む、パラグラフ72のポリヌクレオチド。

74. シグナル配列をコードする配列を更に含む、パラグラフ72又は73のポリヌクレオチド。

75. パラグラフ29-71の何れか一のCARポリペプチド及び/又はパラグラフ72-74の何れか一のポリヌクレオチドを含む哺乳動物細胞。

76. 哺乳動物細胞が人工多能性幹細胞(iPSC)である、パラグラフ75の哺乳動物細胞。

77. 哺乳動物細胞が免疫細胞である、パラグラフ75の哺乳動物細胞。

78. 免疫細胞がT細胞又はナチュラルキラー(NK)細胞である、パラグラフ77の哺乳動物細胞。

79. 哺乳動物細胞がヒト細胞である、パラグラフ75-78の何れか一の哺乳動物細胞。

80. TACIとCD3に結合する二重特異性抗体であって、TACI結合ドメインとCD3結合ドメインを含む、二重特異性抗体。

81. TACI結合ドメインが、約2nM以下の $K_D$ でTACIに結合する、パラグラフ80の二重特異性抗体。

82. TACI結合ドメインが、約500pMと約1nMの間の $K_D$ でTACIに結合する、パラグラフ80又は81の二重特異性抗体。

83. TACI結合ドメインが、約700pMと約900pMの間の $K_D$ でTACIに結合する、パラグラフ80-82の何れか一の二重特異性抗体。

84. TACI結合ドメインが約861pMの $K_D$ でTACIに結合する、パラグラフ80-83の何れか一の二重特異性抗体。

85. TACI結合ドメインが、配列番号：1のアミノ酸配列に対して少なくとも9

10

20

30

40

50

５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ、及び／又は配列番号：２のアミノ酸配列に対して少なくとも９５％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬを含む、パラグラフ８０－８４の何れか一の二重特異性抗体。

８６．ＴＡＣＩとＣＤ３に特異的に結合する二重特異性抗体であって、ＴＡＣＩ結合ドメインとＣＤ３結合ドメインを含み、ＴＡＣＩ結合ドメインが配列番号：１のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号：２のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、二重特異性抗体。

８７．ＴＡＣＩ結合ドメインがＣＤ３結合ドメインのＮ末端に位置する、パラグラフ８０－８６の何れか一の二重特異性抗体。

８８．ＣＤ３結合ドメインがＴＡＣＩ結合ドメインのＮ末端に位置する、パラグラフ８０－８６の何れか一の二重特異性抗体。

８９．ＴＡＣＩ結合ドメインとＣＤ３結合ドメインがリンカー配列によって連結されている、パラグラフ８０－８８の何れか一の二重特異性抗体。

９０．リンカー配列が、配列番号：３、１４、１５、１６、又は１７のアミノ酸配列を含む、パラグラフ８９の二重特異性抗体。

９１．二重特異性抗体がモノクローナル、ヒト、ヒト化、又はキメラ抗体である、パラグラフ８０－９０の何れか一の二重特異性抗体。

９２．二重特異性抗体がモノクローナル抗体である、パラグラフ９１の二重特異性抗体。

９３．二重特異性抗体が完全長抗体である、パラグラフ８０－９２の何れか一の二重特異性抗体。

９４．二重特異性抗体が、ＴＡＣＩとＣＤ３に特異的に結合する抗体断片である、パラグラフ８０－９２の何れか一の二重特異性抗体。

９５．抗体断片が、Ｆａｂ、Ｆａｂ'、Ｆａｂ'-ＳＨ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、及び（Ｆａｂ'）<sub>2</sub>断片からなる群から選択される、パラグラフ９４の抗体。

９６．二重特異性抗体がＩｇＧ抗体である、パラグラフ８０－９５の何れか一の二重特異性抗体。

９７．二重特異性抗体がＩｇＧ１抗体である、パラグラフ９６の二重特異性抗体。

９８．パラグラフ８０－９７の何れか一の二重特異性抗体を含む組成物。

９９．パラグラフ８０－９７の何れか一の二重特異性抗体をコードするポリヌクレオチド。

１００．パラグラフ９９のポリヌクレオチドを含むベクター。

１０１．パラグラフ１００のベクターを含む宿主細胞。

１０２．宿主細胞が哺乳動物細胞である、パラグラフ１０１の宿主細胞。

１０３．哺乳動物細胞がチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞である、パラグラフ１０２の宿主細胞。

１０４．宿主細胞が原核細胞である、パラグラフ１０１の宿主細胞。

１０５．原核細胞が大腸菌である、パラグラフ１０４の宿主細胞。

１０６．ＴＡＣＩとＣＤ３に特異的に結合する二重特異性抗体を産生する方法であって、培養培地中でパラグラフ１０１－１０５の何れか一の宿主細胞を培養することを含む、方法。

１０７．宿主細胞又は培養培地から二重特異性抗体を回収することを更に含む、パラグラフ１０６の方法。

１０８．治療を必要とする対象の疾患又は障害を治療する方法であって、次の一又は複数：（ｉ）パラグラフ２９－７１の何れか一項のＣＡＲポリペプチド、パラグラフ１９、７２－７４、及び９９の何れか一のポリヌクレオチド、及び／又はパラグラフ２２、２３、７５－７９、１０２、及び１０３の何れか一の哺乳動物細胞；（ｉｉ）パラグラフ１－１７の何れか一の抗体、（ｉｉｉ）パラグラフ２８の抗体薬物コンジュゲート；及び（ｉｖ）パラグラフ８０－９７の何れか一の二重特異性抗体を対象に投与することを含む、方法。

１０９．疾患又は障害が、がん、自己免疫障害、又は形質細胞疾患又は障害である、

10

20

30

40

50

パラグラフ 108 の方法。

110. 疾患又は障害ががんである、パラグラフ 109 の方法。

111. がんが、TACI を発現する細胞を含む、パラグラフ 110 の方法。

112. がんが多発性骨髄腫である、パラグラフ 111 の方法。

113. 対象が抗 B C M A 療法に抵抗性がある、パラグラフ 110 - 112 の何れか  
の方法。

114. 疾患又は障害が自己免疫疾患又は障害である、パラグラフ 109 の方法。

115. 自己免疫性疾患又は障害が、自己免疫性障害の一因となる高力価の抗体によ  
って特徴付けられる、パラグラフ 114 の方法。

116. 自己免疫疾患又は障害が、移植片拒絶、移植片対宿主病、又は因子インヒビ  
ターを伴う血友病である、パラグラフ 114 又は 115 の方法。

117. 疾患又は障害が形質細胞疾患又は障害である、パラグラフ 109 の方法。

118. 形質細胞疾患又は障害が、形質細胞異常増殖症、形質細胞腫、形質細胞白血  
病、多発性骨髄腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性形質細胞腫、髄外  
性形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローン性 グロブリン血症、及  
びくすぶり型多発性骨髄腫である、パラグラフ 117 の方法。

【0329】

[ 他の実施態様 ]

前記発明は、理解を明確にするために例証と実施例によってある程度詳細に説明してき  
たが、説明と実施例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。こ  
こで引用した全ての特許及び科学文献の開示は、出典明示によりその全体が明示的に援用  
される。

【0330】

[ 均等物と範囲 ]

当業者は、ここに記載の実施態様の多くの均等物を認識し、又は常套的な実験のみを使用  
して確認できるであろう。本開示の範囲は、上の説明に限定されることは意図されず、  
むしろ、添付の特許請求の範囲に記載される通りである。

【0331】

「a」、「an」、及び「the」などの冠詞は、反対の意味が示され又は文脈から他  
の意味が明らかでない限り、一又は複数を意味しうる。グループの二以上のメンバーの間  
に「又は」を含む請求項又は説明は、反対の意味が示され又は文脈から他の意味が明らか  
でない限り、グループメンバーの一、複数、又は全てが存在する場合に満たされていると  
考えられる。二以上のグループメンバー間に「又は」を含むグループの開示は、グループ  
の正確に一メンバーが存在する実施態様、グループの一を超えるメンバーが存在する実施  
態様、及びグループメンバーの全てが存在する実施態様を提供する。簡潔にするために、  
それら実施態様はここでは個別に詳しく説明されないが、これら実施態様のそれぞれがこ  
こに提供され、具体的に請求され又は放棄されうることが理解される。

【0332】

本開示は、請求項の一又は複数あるいは明細書の一又は複数の関連部分からの一又は複  
数の限定、要素、節、又は説明用語が、別の請求項に導入される、全ての変形態様、組み  
合わせ、及び置換を包含することを理解されたい。例えば、別の請求項に従属する請求項  
は、同じ基本請求項に従属する任意の他の請求項に見出される限定の一又は複数を含むよ  
うに変更されうる。更に、請求項に組成物が記載される場合、他の意味が示され又は当業  
者に矛盾又は不一致が生じることが当業者に明らかでない限り、ここに開示される製造又  
は使用方法の何れかに従って、あるいはもしあれば当該分野で知られている方法に従って  
、組成物を製造し又は使用する方法が含まれることを理解されたい。

【0333】

要素がリストとして、例えば、マーカッシュ群形式で提示される場合、要素のあらゆる  
可能な下位群もまた開示され、任意の要素又は要素の下位群を群から削除できることを理  
解されたい。「含む」という用語は、オープンであることを意図しており、追加の要素又

10

20

30

40

50

は工程を含めることが許容されることもまた留意されたい。一般に、実施態様、物、又は方法が、特定の要素、特徴、又は工程を含むものとされている場合、そのような要素、特徴、又は工程からなるか、それらから本質的になる実施態様、物、又は方法がまた提供されることを理解されたい。簡潔にするために、それら実施態様はここでは個別に詳しく説明されないが、これら実施態様のそれぞれがここに提供され、具体的に請求され又は放棄されうることが理解される。

【 0 3 3 4 】

範囲が与えられる場合、端点が含まれる。更に、反対の意味が示されあるいは文脈及び / 又は当業者の理解から他の意味が明らかでない限り、範囲として表される値は、文脈が明らかに他の意味を指示していない限り、その範囲の下限の単位の 10 分の 1 まで、幾つかの実施態様における記載範囲内の任意の特定の値をとりうることを理解されたい。簡潔にするために、各範囲における値はここでは個別に詳細に記載していないが、これらの値のそれぞれがここに提供され、具体的に請求され又は放棄されうることがまた理解されたい。反対の意味が示されあるいは文脈及び / 又は当業者の理解から他の意味が明らかでない限り、範囲として表される値は、与えられた範囲内の任意の下位範囲を取り得、下位範囲の端点は、範囲の下限の単位の 10 分の 1 と同程度の精度で表されることをまた理解されたい。

Web サイトが提供される場合、URL アドレスは、非ブラウザ実行可能コードとして提供され、括弧内にそれぞれのウェブアドレスの時期を含む。実際のウェブアドレスは括弧を含まない。

【 0 3 3 5 】

加えて、本開示の任意の特定の実施態様は、請求項の何れか一又は複数から明示的に除外されうることが理解されるべきである。範囲が与えられる場合、範囲内の任意の値が、請求項の任意の一又は複数から明示的に除外されうる。開示の組成物及び / 又は方法の任意の実施態様、要素、特徴、用途、又は態様は、任意の一又は複数の請求項から除外されうる。簡潔にするために、一又は複数の要素、特徴、目的、又は態様が除外される実施態様の必ずしも全てがここには明示的に記載されてはいない。

10

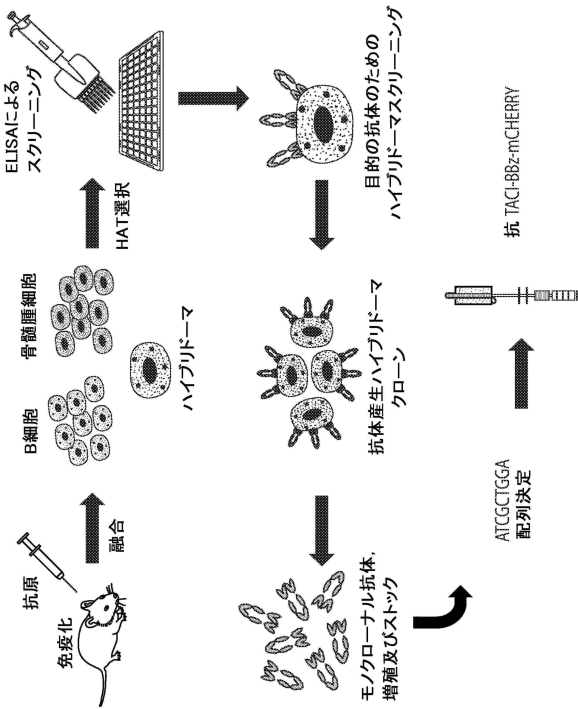
20

30

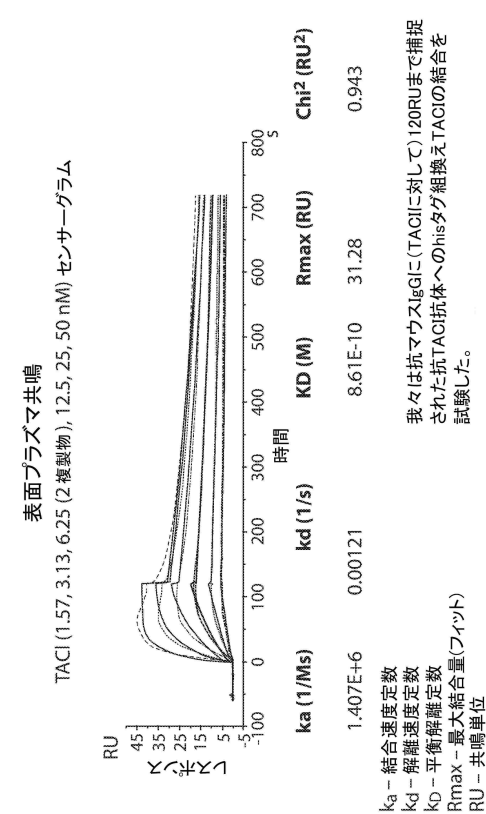
40

50

【図面】  
【図 1】



【図 2】



10

20

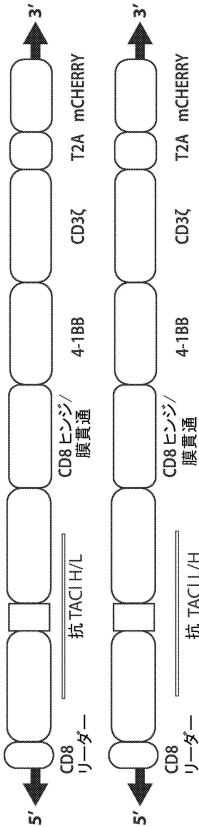
30

40

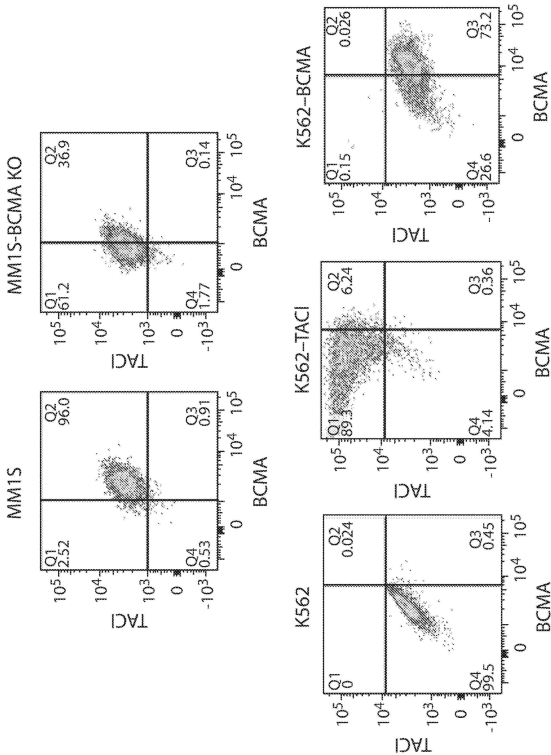
50



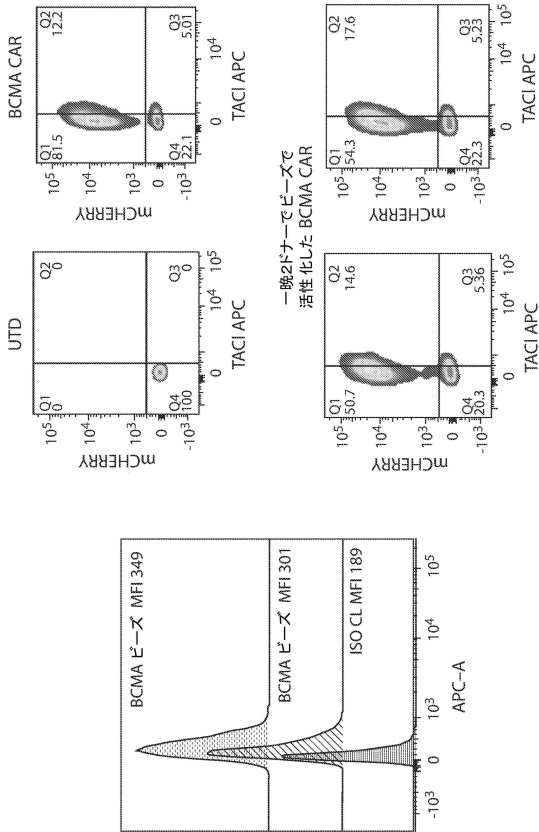
【図 3】



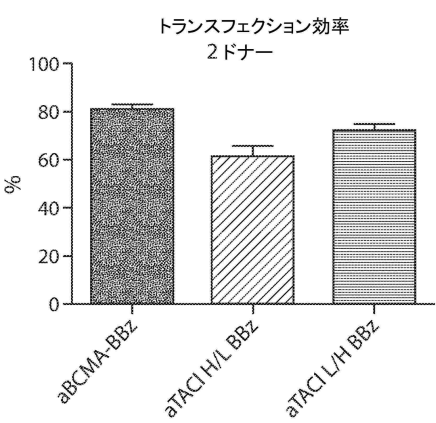
【図 4】



【図 5】



【図 6】



10

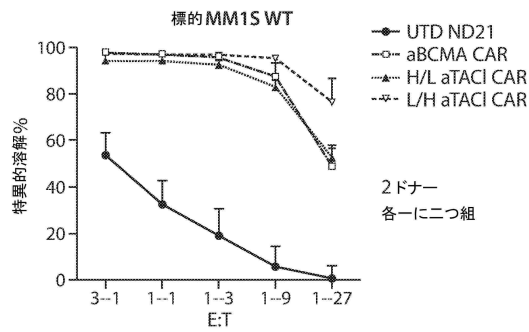
20

30

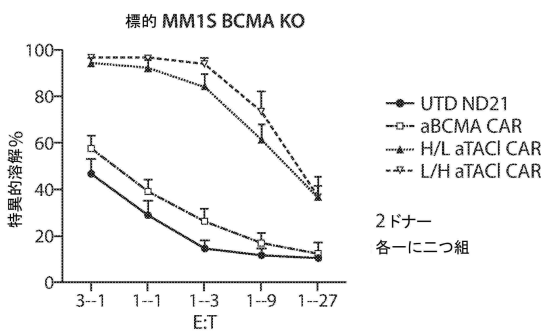
40

50

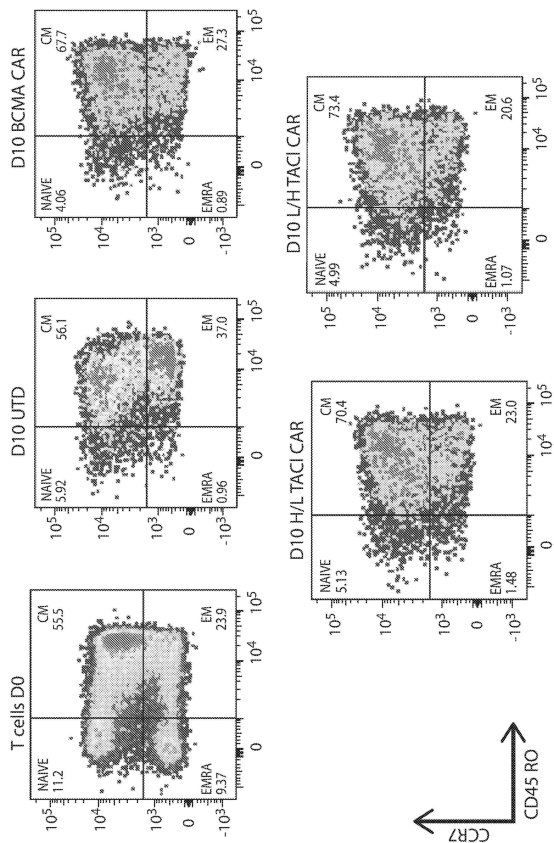
【図 7】



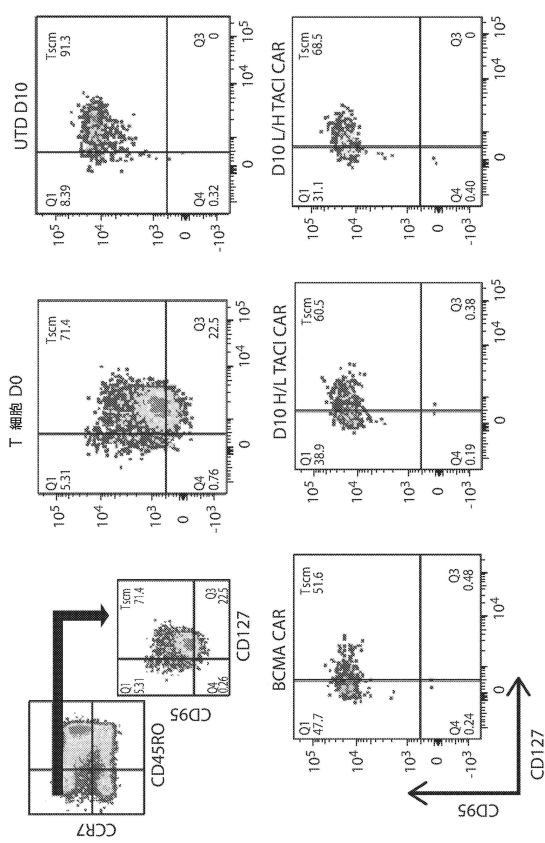
【図 8】



【図 9】



【図 10】



10

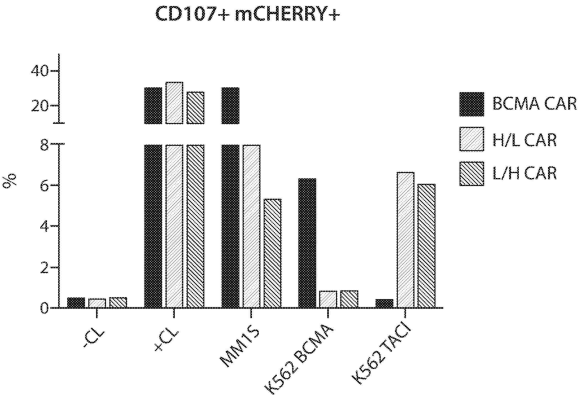
20

30

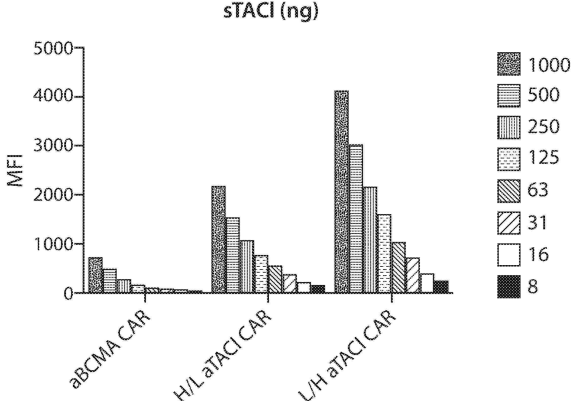
40

50

【 図 1 1 】

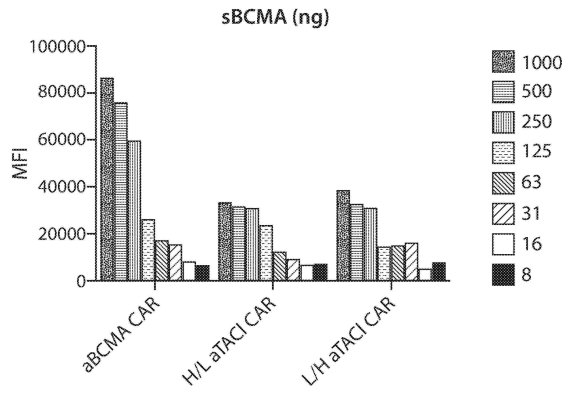


【 図 1 2 A 】

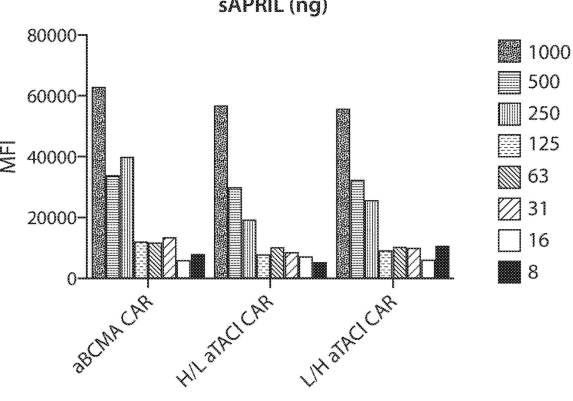


10

【 図 1 2 B 】



【 図 1 2 C 】



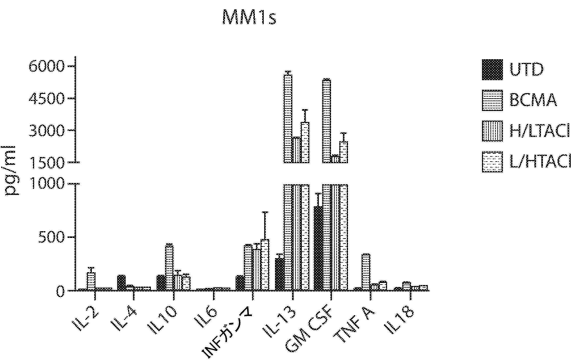
20

30

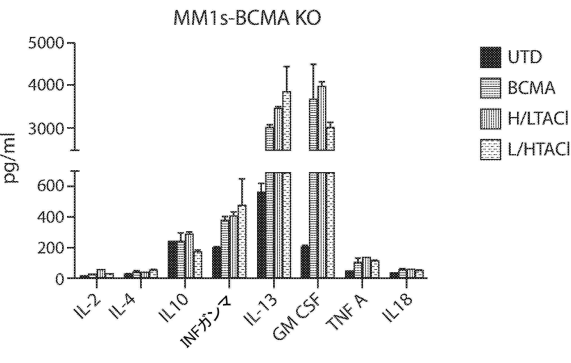
40

50

【図 1 3 A】

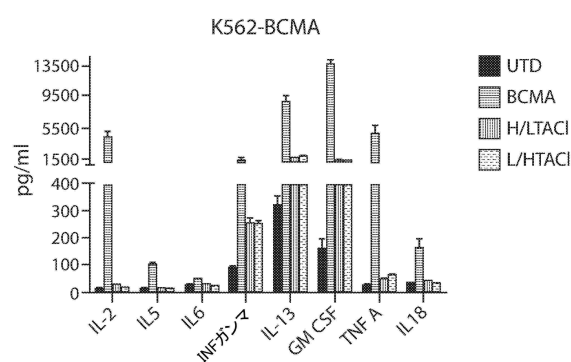


【図 1 3 B】

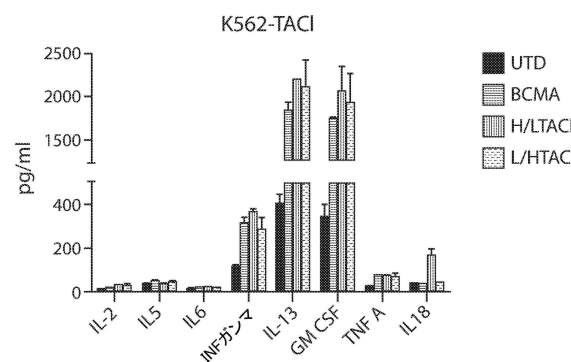


10

【図 1 3 C】



【図 1 3 D】



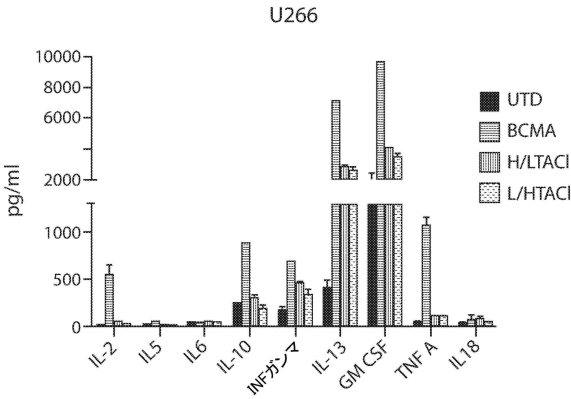
20

30

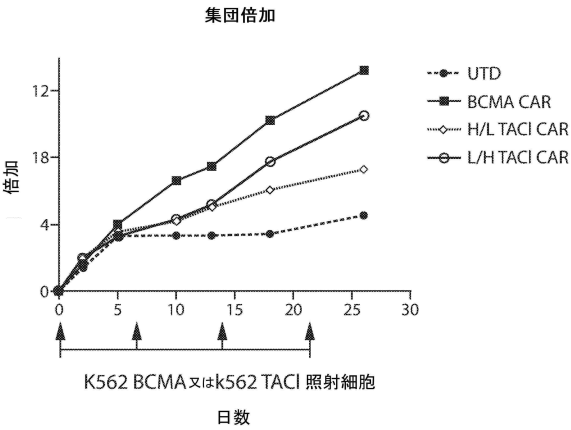
40

50

【図 1 3 E】

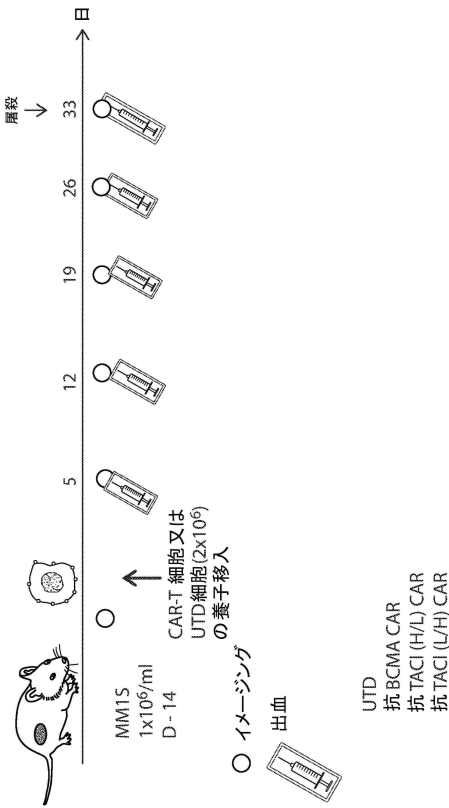


【図 1 4】

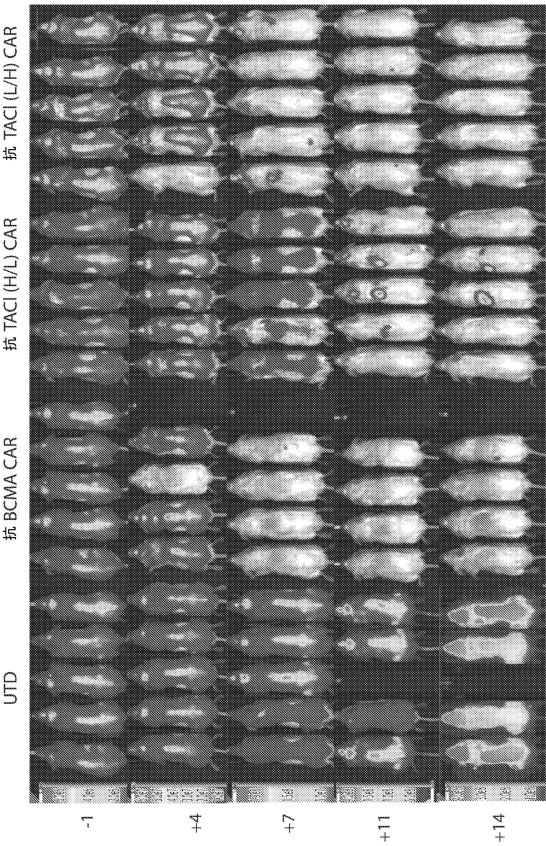


10

【図 1 5】



【図 1 6 A】



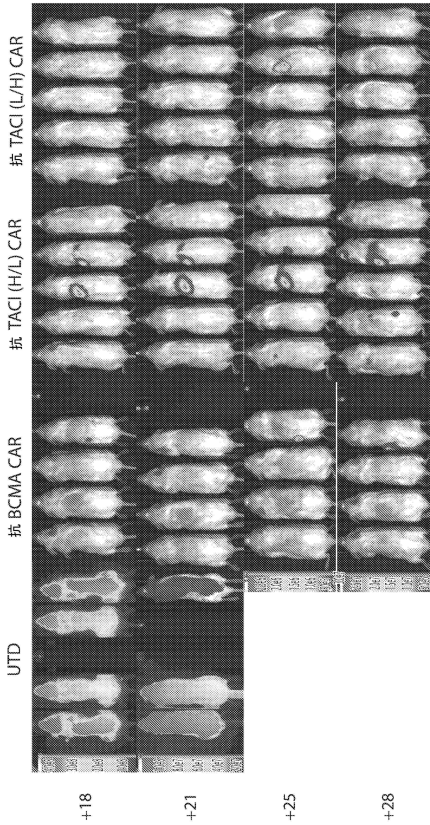
20

30

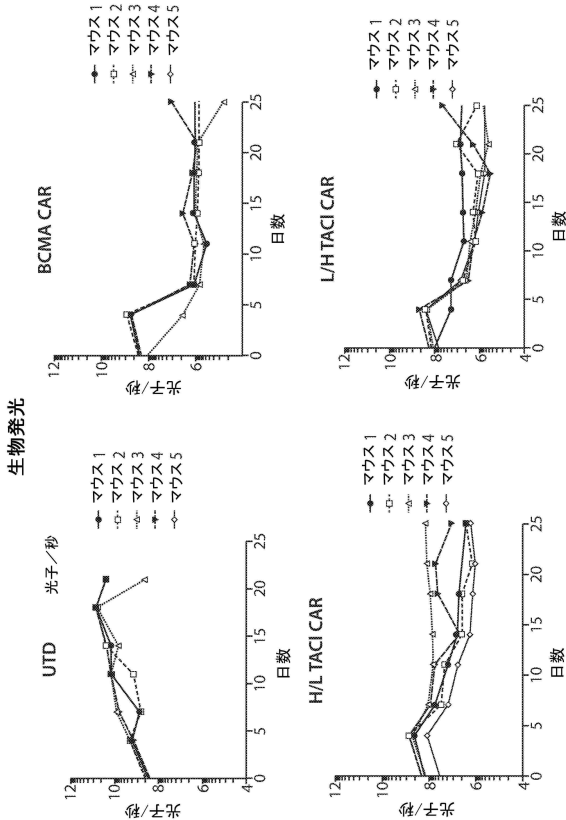
40

50

【図 16 B】



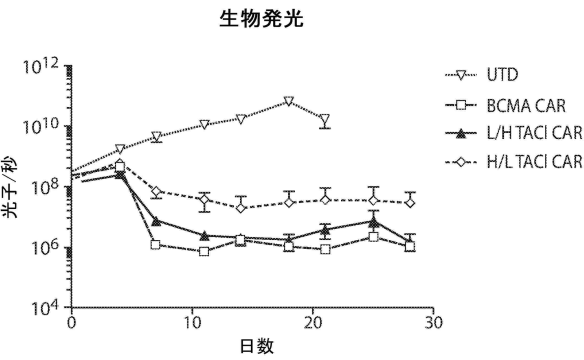
【図 17】



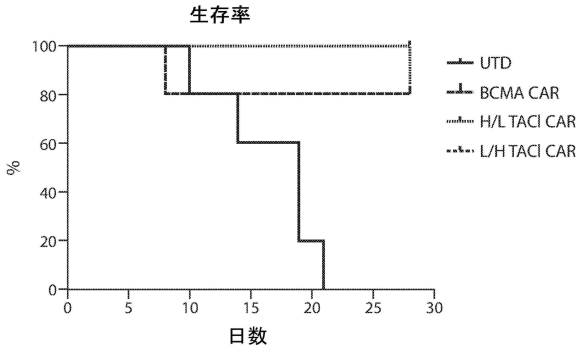
10

20

【図 18】



【図 19】

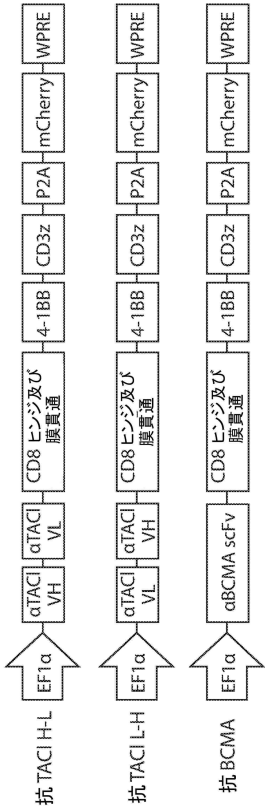


30

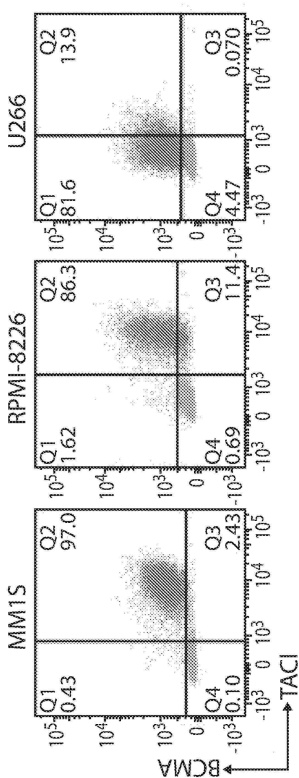
40

50

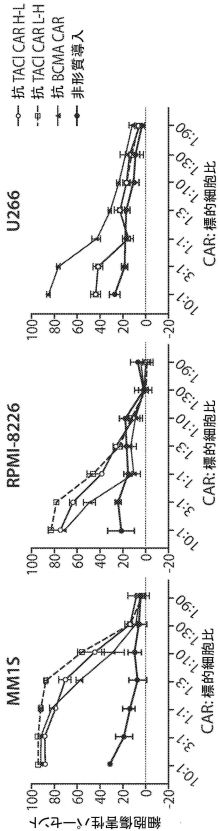
【図 20 A】



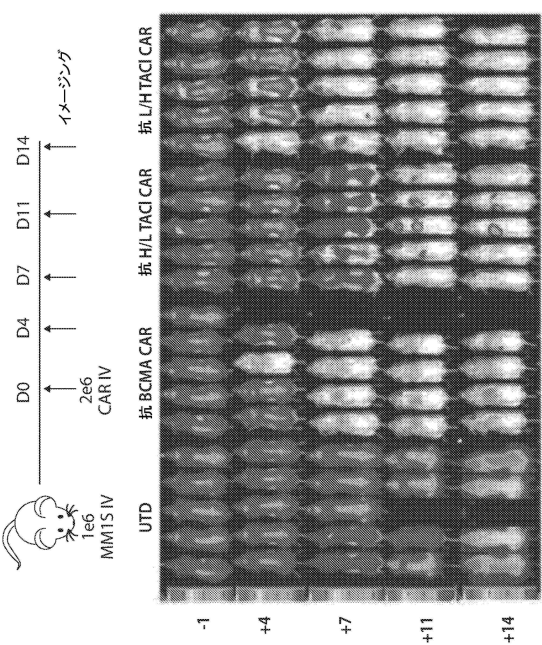
【図 20 B】



【図 20 C】



【図 20 D】



10

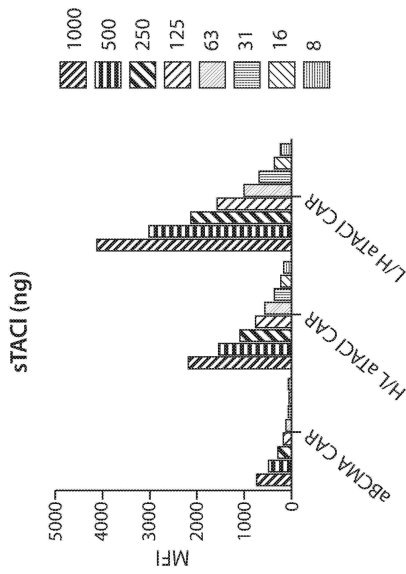
20

30

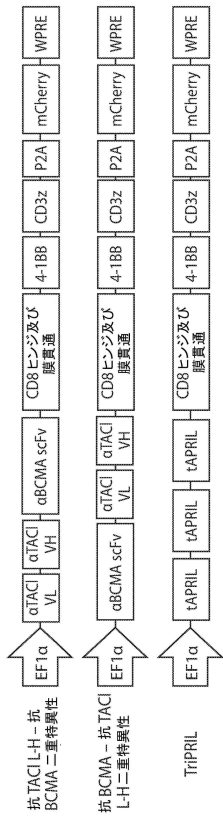
40

50

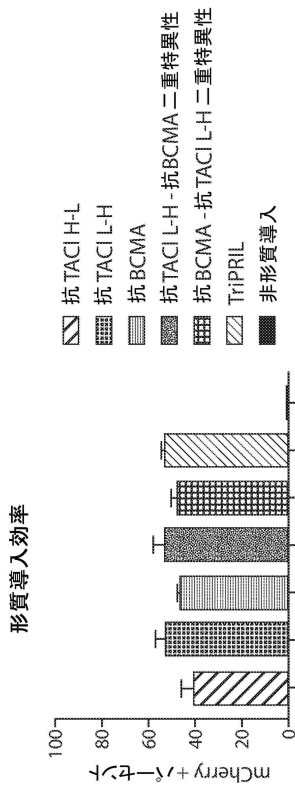
【図 2 0 E】



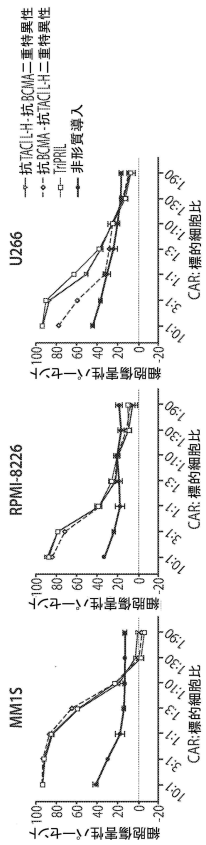
【図 2 1 A】



【図 2 1 B】



【図 2 1 C】



10

20

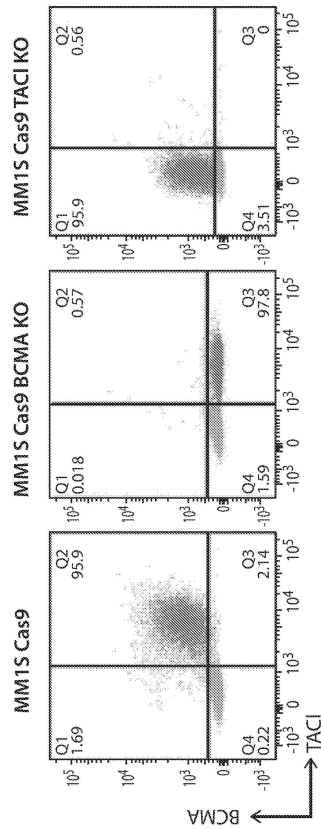
30

40

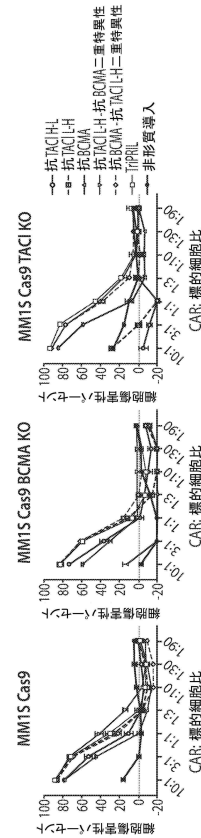
50



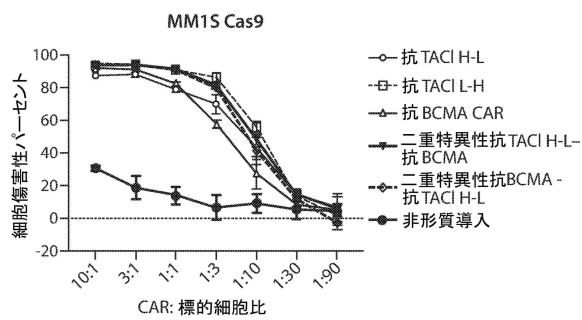
【図 2 1 D】



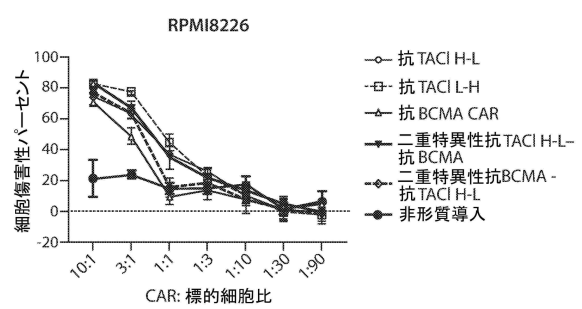
【図 2 1 E】



【図 2 2 A】



【図 2 2 B】



10

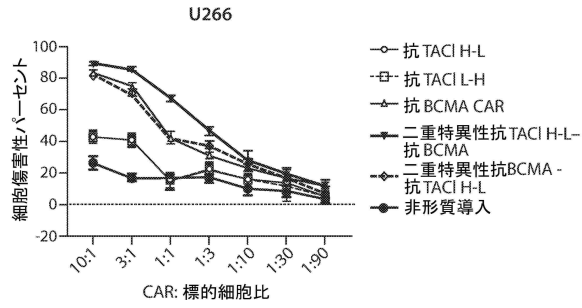
20

30

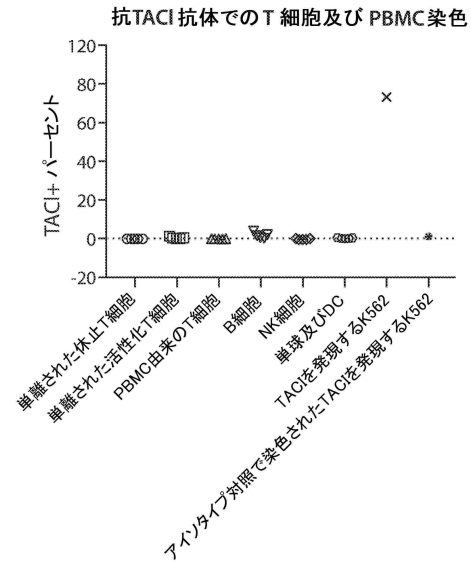
40

50

【図 2 2 C】

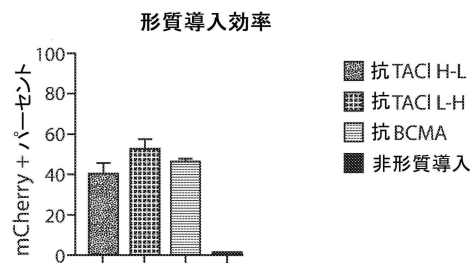


【図 2 3】

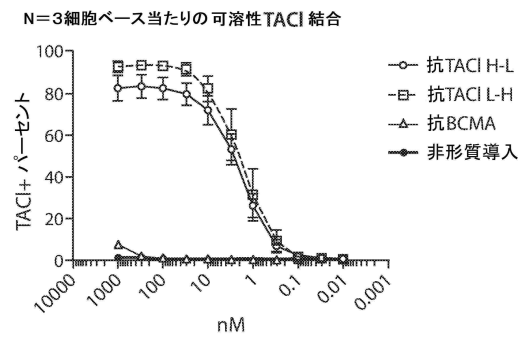


10

【図 2 4】



【図 2 5 A】

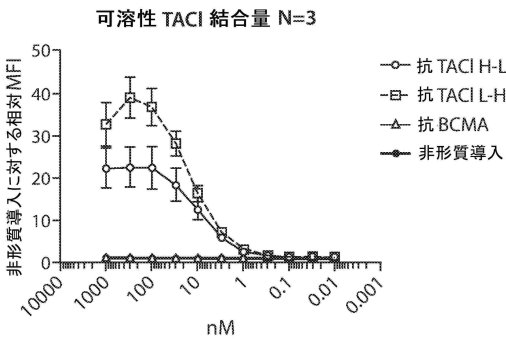


30

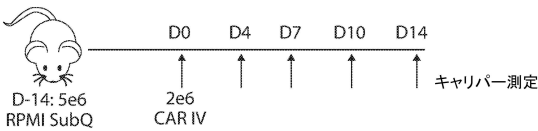
40

50

【図 2 5 B】

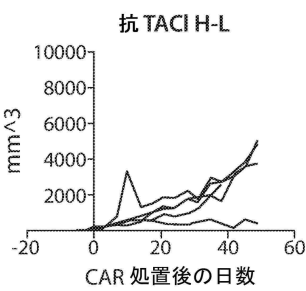


【図 2 6 A】

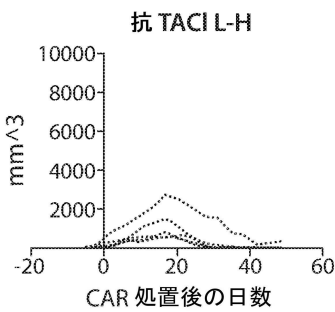


10

【図 2 6 B】

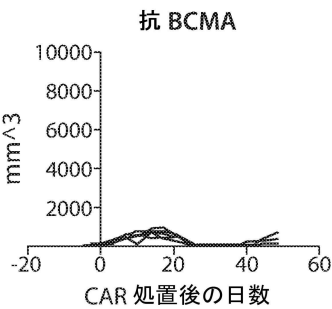


【図 2 6 C】

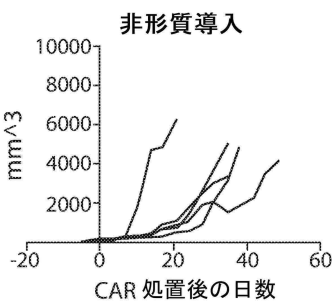


20

【図 2 6 D】



【図 2 6 E】

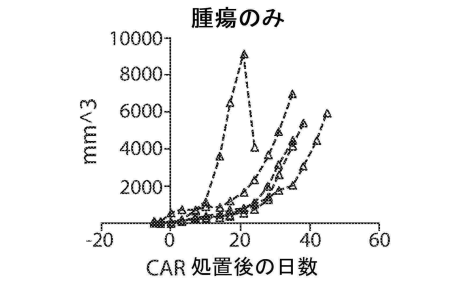


30

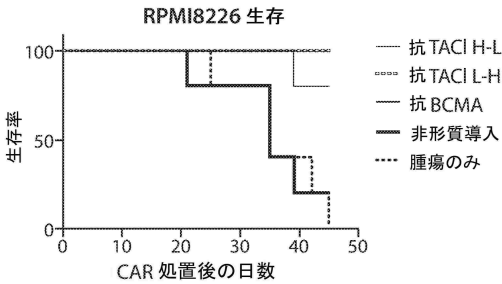
40

50

【図 2 6 F】

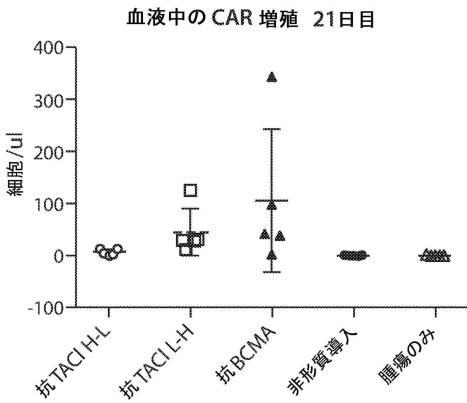


【図 2 6 G】

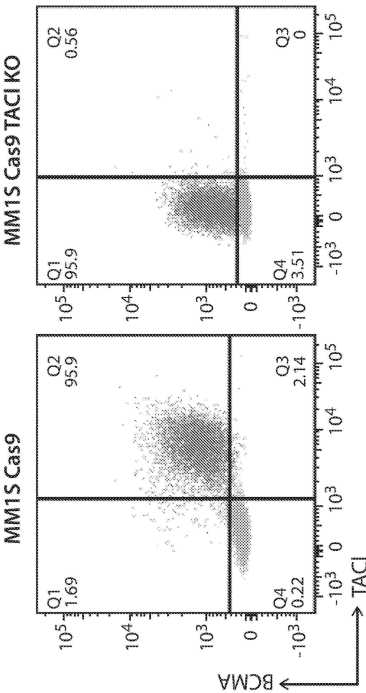


10

【図 2 6 H】



【図 2 7 A】



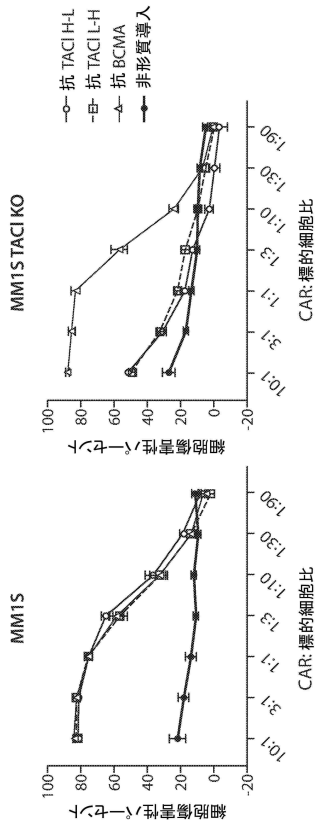
20

30

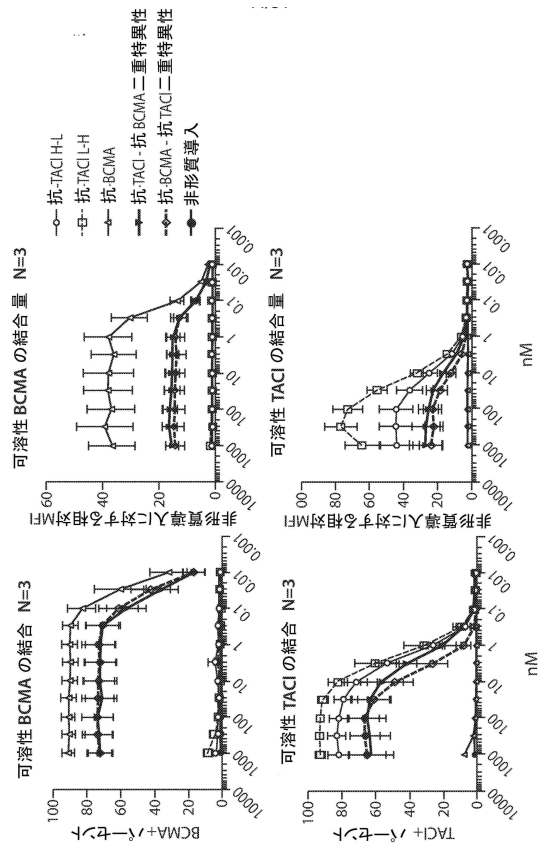
40

50

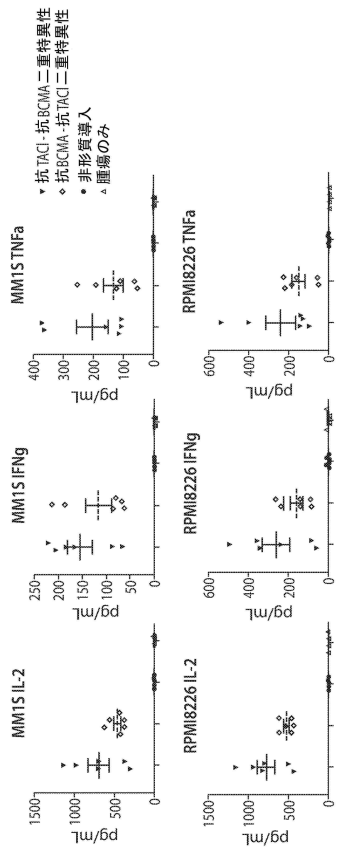
【図 2 7 B】



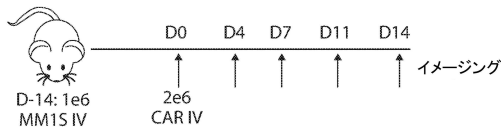
【図 2 8】



【図 2 9】



【図 3 0 A】



10

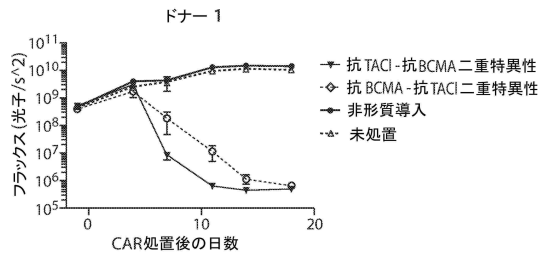
20

30

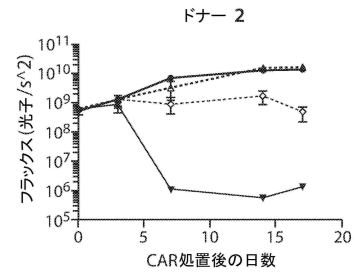
40

50

【図 3 0 B】

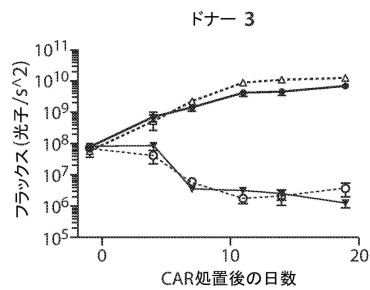


【図 3 0 C】

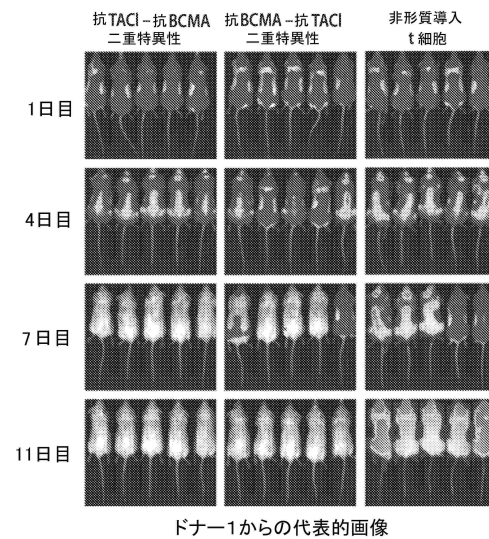


10

【図 3 0 D】

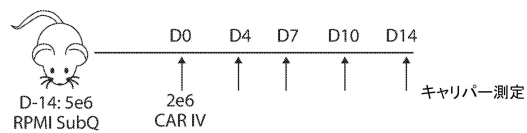


【図 3 0 E】

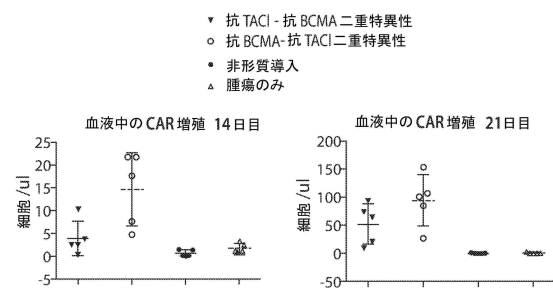


20

【図 3 1 A】



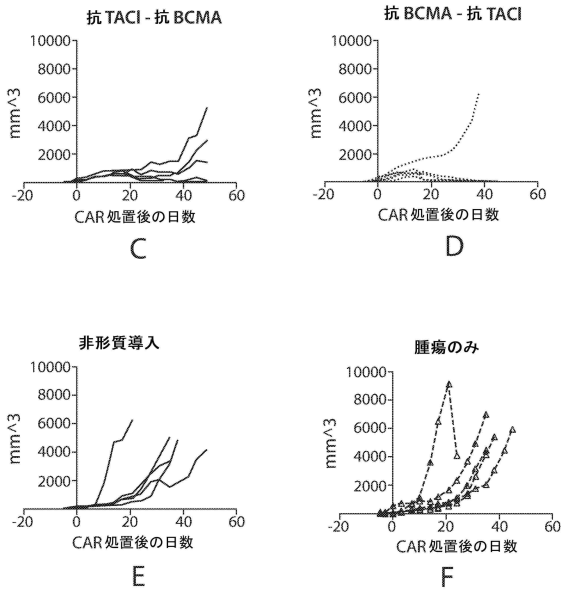
【図 3 1 B】



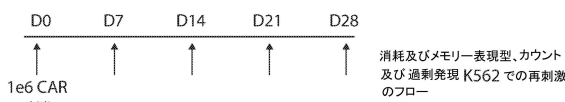
40

50

【図 3 1 C - 3 1 F】

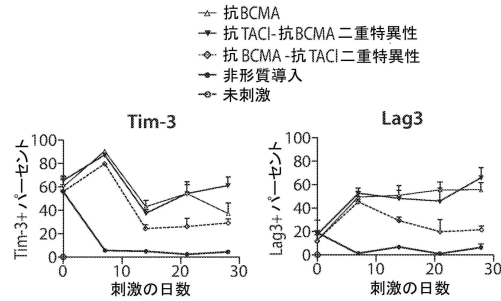


【図 3 2 A】

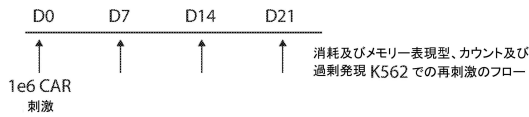


10

【図 3 2 B】



【図 3 3 A】



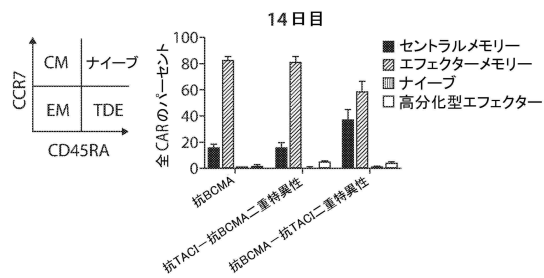
20

30

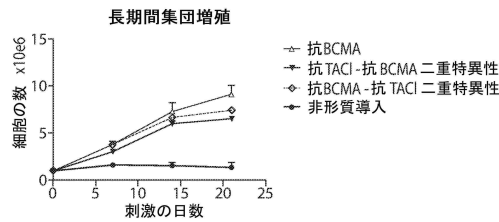
40

50

【図 3 3 B】



【図 3 3 C】



10

【配列表】

0007584453000001.app

20

30

40

50



フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	C 0 7 K 14/47	
C 1 2 N 5/0783(2010.01)	C 1 2 N 5/0783	
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 0 7 K 16/46	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
A 6 1 K 39/395(2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 47/68	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 K 35/12 (2015.01)	A 6 1 P 35/02	
	A 6 1 K 35/12	

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/907,930

(32)優先日 令和1年9月30日(2019.9.30)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

審査官 團野 克也

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 8 / 0 8 7 5 5 7 ( W O , A 1 )  
特表 2 0 0 5 - 5 3 3 8 6 3 ( J P , A )  
米国特許出願公開第 2 0 1 0 / 0 0 4 1 0 7 4 ( U S , A 1 )  
米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 0 3 2 1 7 5 ( U S , A 1 )  
国際公開第 0 2 / 0 6 6 5 1 6 ( W O , A 1 )  
国際公開第 2 0 0 4 / 0 7 4 5 1 1 ( W O , A 1 )  
SESHASAYEE, D et al. , Loss of TACI causes fatal lymphoproliferation and autoimmunity est  
ablishing TACI as an inhibitory BLyS receptor , Immunity , 18(2) , 2003年02月 , pp.279-2  
88

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)  
I P C C 1 2 N、 C 0 7 K  
D B 名 R E G I S T R Y / C A P L U S / M E D L I N E /  
E M B A S E / B I O S I S ( S T N )  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0  
( J D r e a m I I I )  
G e n B a n k / E M B L / G e n e s e q  
U n i p r o t / G e n e s e q