(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2021年10月7日(07.10.2021)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2021/201236 A1

(51) 国際特許分類:
C12N 15/13 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)
A61P 37/08 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)
C12N 1/15 (2006.01)
C12N 1/19 (2006.01)
C12N 1/21 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2021/014181

(22) 国際出願日： 2021年4月1日(01.04.2021)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2020-066313 2020年4月1日(01.04.2020) JP
特願 2020-181493 2020年10月29日(29.10.2020) JP

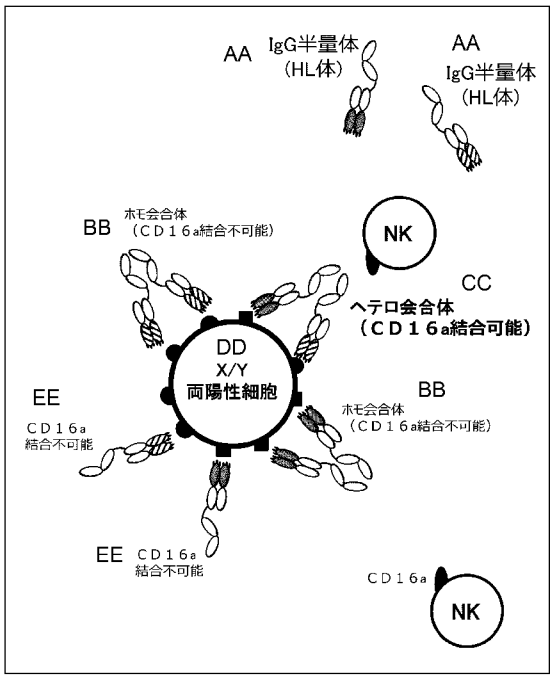
(71) 出願人: 協和キリン株式会社(**KYOWA KIRIN CO., LTD.**) [JP/JP]; 〒1000004 東京都千代田区大手町一丁目９番２号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 丹羽 倫平(**NIWA Rinpei**); 〒1000004 東京都千代田区大手町一丁目９番２号 協和キリン株式会社 本社内 Tokyo (JP). 宇佐美 克明(**USAMI Katsuaki**); 〒1000004 東京都千代田区大手町一丁目９番２号 協和キリン株式会社 本社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人栄光特許事務所(**Eikoh Patent Firm, P.C.**); 〒1050003 東京都港区西新

(54) **Title:** ANTIBODY COMPOSITION

(54) 発明の名称： 抗体組成物



AA IgG halfmer (HL body)
BB Homo-associated body (CD16a binding is not possible)
CC Hetero-associated body (CD16a binding is possible)
DD X/Y double-positive cell
EE CD16a binding is not possible

(57) **Abstract:** The purpose of the present invention is to provide an antibody composition which exerts an effector function more specifically on target cells co-expressing two different antigens and damages the target cells, and which can maintain a sufficiently high affinity for individual target antigens. The present invention pertains to: an antibody composition which is composed of a first IgG halfmer and a second IgG halfmer and against a first antigen and a second antigen that are different from each other; and a first IgG halfmer and a second IgG halfmer that constitute said antibody

WO 2021/201236 A1

［続葉有］

橋一丁目７番１３号 虎ノ門イーストビルディング１０階 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

— 国際調査報告（条約第21条(3)）

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト（規則5.2(a)）

composition.

(57) 要約：本発明は、互いに異なる二種の抗原を共発現する標的細胞に対してより特異的にエフェクター機能を発揮し傷害するとともに、個々の標的抗原に対する親和性を充分高く維持し得る抗体組成物を提供することを目的とする。本発明は、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体とからなる、互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物、及び抗体組成物を構成する第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体に関する。

明　細　書

発明の名称 ： 抗体組成物

技術分野

[0001] 本発明は、抗体組成物及びその製造方法、ＩｇＧ半量体並びに該ＩｇＧ半量体を含むキットに関する。

背景技術

[0002] 今までに承認された抗体医薬は様々な作用メカニズムを有することが知られる（非特許文献１）。その代表的なものとしては、増殖因子などのリガンドと受容体の結合を阻害する中和活性、結合した受容体を活性化するアゴニスト活性、並びに抗体依存性細胞傷害（ａｎｔｉｂｏｄｙ－ｄｅｐｅｎｄｅｎｔ　ｃｅｌｌｕｌａｒ　ｃｙｔｏｔｏｘｉｃｉｔｙ：以下ＡＤＣＣ）活性及び補体依存性細胞傷害（ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔ－ｄｅｐｅｎｄｅｎｔ　ｃｙｔｏｔｏｘｉｃｉｔｙ：以下ＣＤＣ）活性など、ＩｇＧクラスの抗体分子が有するエフェクター機能などがある。これらの中でも、ｒｉｔｕｘｉｍａｂ、ｔｒａｓｔｕｚｕｍａｂの臨床試験のバイオマーカー解析から、ＡＤＣＣ活性は抗体医薬の臨床における重要な作用メカニズムであることが示唆されている（非特許文献２、３）。

[0003] 抗体は二分子のイムノグロブリン重鎖（Ｈ鎖）及び二分子のイムノグロブリン軽鎖（Ｌ鎖）、合計４分子のポリペプチド鎖からなる約１５０ＫＤａの４量体タンパク質である。図１に示すように、抗体は、抗原結合に直接関与し抗体クローンごとにアミノ酸配列が異なる相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む可変領域（Ｖ）と、上述のエフェクター機能や血中半減期の制御を司るＦｃ領域（以下、Ｆｃとも略す）を含む定常領域に分けられる。ＦｃはＣＨ１～ＣＨ３ドメイン及びヒンジドメインを含む。

[0004] ヒト抗体は、Ｈ鎖定常領域の配列により機能の異なるＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥの５つのクラスに分類される。さらにヒトＩｇＧクラスはＩｇＧ１からＩｇＧ４までの４種のサブクラスに分かれる。

[0005] その中でもＩｇＧ１サブクラスの抗体が最も高いＡＤＣＣ活性、ＣＤＣ活性を有することが知られており（非特許文献４）、ｒｉｔｕｘｉｍａｂ、ｔｒａｓｔｕｚｕｍａｂを含む、多くの抗体医薬がＩｇＧ１である。

[0006] 一方でＩｇＧ４サブクラスは他のサブクラスと比較してエフェクター機能が弱く、また固有のヒンジ領域のアミノ酸配列を有することや、二つのＣＨ３ドメイン間の相互作用が他のサブクラスと比較して弱いことによる、「Ｆａｂ ａｒｍ ｅｘｃｈａｎｇｅ」と呼ばれる、体内で二つのＨ鎖の可逆的な結合・乖離が起こることなどの特徴が知られている（非特許文献５、６）。

[0007] ＡＤＣＣ活性は、がん細胞表面の膜抗原に結合したＩｇＧ型の抗体のＦｃを、ナチュラルキラー細胞（以下ＮＫ細胞）などがＦｃ受容体の一種ＦｃγＲＩＩＩＡ（以下、ＣＤ１６ａとも略す）を介して認識し活性化され、その結果パーフォリンやグランザイム、Ｆａｓといった分子の発現を介して起こる、細胞傷害のメカニズムである（非特許文献１）。

[0008] Ｘ線結晶構造解析により、ＣＤ１６ａとヒトＩｇＧ１との結合様式は明らかとなっている（非特許文献７、８）。ＩｇＧ１のＦｃ上におけるＣＤ１６ａ結合領域は、Ｆｃの構造の点対称性より二箇所存在し、実際にはＦｃとＩｇＧは１：１の数比（ｓｔｏｉｃｈｉｏｍｅｔｒｙ）で結合する。そしてＦｃを構成する二つのＣＨ２ドメインにおいては、それぞれ異なる領域（以下、ＣＤ１６ａ結合領域）で接している。

[0009] 具体的には、ＣＤ１６ａは、ＩｇＧ１の一方のＣＨ２ドメイン上におけるＬ２３５、Ｇ２３６、Ｇ２３７、Ｐ２３８、Ｓ２３９、Ｄ２６５、Ｖ２６６、Ｓ２６７、Ｈ２６８、Ｅ２６９、Ｅ２９４、Ｑ２９５、Ｙ２９６、Ｎ２９７、Ｓ２９８、Ｔ２９９、Ｒ３０１、Ｎ３２５、Ａ３２７、Ｉ３３２等と相互作用する。一方で、ＣＤ１６ａは、同時にＩｇＧ１のもう一方のＣＨ２ドメイン上におけるＬ２３５、Ｇ２３６、Ｇ２３７、Ｋ３２６、Ａ３２７、Ｌ３２８、Ｐ３２９、Ａ３３０等に相互作用する（番号はＥＵナンバリングによるＣＨ２ドメイン上のアミノ酸の位置を表す）（非特許文献７、８、９、

１０）。

[0010] 抗体医薬のＣＨ２ドメインを人工的に改変し、ＣＤ１６ａとの結合能を上昇させることによってＡＤＣＣ活性を増強させることが可能である。実際にＣＨ２ドメインのアミノ酸の改変によるＡＤＣＣ活性の増強例は数多く知られる（非特許文献１１）。ＩｇＧ１の一方のＨ鎖のＣＨ２ドメインともう一方のＨ鎖のＣＨ２ドメインに異なるアミノ酸改変を加え、且つ２本のＨ鎖がジスルフィド結合により結合しているＩｇＧ１抗体が、高いＡＤＣＣ活性を有することが知られている（特許文献１）。

[0011] また、Ｆｃに結合するＮ－結合型複合型糖鎖の糖鎖を改変することによってＡＤＣＣ活性を増強できることも知られている（非特許文献１２）。特に糖鎖改変によるＡＤＣＣ活性の増強技術は、ｍｏｇａｍｕｌｉｚｕｍａｂ（非特許文献１３）、ｏｂｉｎｕｔｕｚｕｍａｂ（非特許文献１４）といった承認済の抗体医薬に応用されている。

[0012] バイスペシフィック抗体とは、天然の抗体とは異なり、二種類の異なる種類の抗原に結合することを可能にした人工的な改変抗体分子であり、数多くの分子形が報告されている（非特許文献１５）。

[0013] 図２Ａにバイスペシフィック抗体の構造の模式図を示す。バイスペシフィック抗体の医薬への応用として、例えば、がん細胞とＴ細胞表面のＣＤ３とに結合し（以下、ＣＤ３バイスペシフィック抗体）、両者を架橋することによるがん細胞の傷害、二種の機能分子の中和による薬効の増強が挙げられる（非特許文献１５）。

[0014] がんや自己免疫疾患の治療において、病因細胞のがん細胞や自己反応性のリンパ球を除去するために、ＩｇＧ型抗体のエフェクター機能やＣＤ３バイスペシフィック抗体のＴ細胞リクルート機能を発揮する抗体医薬が用いられている。

[0015] しかし、これらの病因細胞は本来正常な細胞由来であり、一般的には単一の表面マーカー分子では正確に正常細胞と区別できることはまれである。従ってエフェクター機能などを利用した病因細胞の除去は、多くの場合、同一

の抗原分子を発現する正常細胞をも攻撃し副作用につながる恐れがある。

[0016] 例えば、リンパ腫や種々の自己免疫疾患の治療に用いられるｒｉｔｕｘｉｍａｂの標的抗原であるＣＤ２０は正常Ｂ細胞に、乳がん治療に用いられるｔｒａｓｔｕｚｕｍａｂの標的抗原であるＨＥＲ２は心筋細胞にそれぞれ発現する。したがって、これらの抗体医薬により正常細胞が破壊されることによる副作用が懸念される。

[0017] 一方、Ｍａｚｏｒらは個々の標的抗原に対する親和性を弱めたバイスペシフィック抗体が、両陽性細胞に対して相対的に強いエフェクター機能を発揮する例を報告している（非特許文献１６）。

[0018] また、第１の抗原に結合する第１の抗原結合領域と、第１のＣＨ２および第１のＣＨ３のいずれか一方または両方を含む第１のポリペプチドとを有する第１の抗原結合分子、ならびに第２の抗原に結合する第２の抗原結合領域と、第２のＣＨ２および第２のＣＨ３のいずれか一方または両方を含む第２のポリペプチドとを有する第２の抗原結合分子を含有し、前記第１の抗原結合分子および前記第２の抗原結合分子が、共有結合によって結合しておらず、そして、液中で混合した場合にホモ二量体よりもヘテロ二量体を形成しやすい、抗原結合分子の組み合わせに関する報告がある（特許文献２）

先行技術文献

特許文献

[0019] 特許文献1：国際公開第２０１３／００２３６２号

特許文献2：国際公開第２０１８／１５５６１１号

非特許文献

[0020] 非特許文献1：Carter P. Nat Rev Cancer 2001; 1: 118-29

非特許文献2：Cartron G, Dacheux L, Salles G, et al. Blood 2002; 99: 754-8

非特許文献3：Weng WK, Levy R. J Clin Oncol 2003; 21: 3940-7

非特許文献4：Birch, J.R., Lennox, E.S. (Eds.), Monoclonal Antibodies: Principles and Applications. Wiley-Liss, Inc., New York, p. 45. (199

5)

非特許文献5：Aalberse RC and Schuurman J, Immunology 2002; 105: 9-19

非特許文献6：Labrijn AF, Nat Biotechnol 2009; 27: 767-71

非特許文献7：Sondermann P, Nature 2000; 406: 267-73

非特許文献8：Radaev S, J Biol Chem 2001; 276: 16469-77

非特許文献9：Ferrara C, Proc Natl Acad Sci 2011; 108; 12669-74

非特許文献10：Mizushima T, Genes Cells 2011; 16: 1071-80

非特許文献11：Strohl WR, Curr Opin Biotechnol 2009; 20: 685-91

非特許文献12：Niwa R, J Pharm Sci 2015; 930-41

非特許文献13：Beck A, mAbs 2012; 4: 419-25

非特許文献14：Goede V, N Engl J Med 2014; 370: 1101-10

非特許文献15：Byrne H, Trends Biotechnol 2013; 31: 621-32

非特許文献16：Mazor Y, MAbs 2015; 7: 377-89

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0021] 上記した副作用の解決法の一つとしては、より選択性の高い病因細胞の除去のため、二種類の異なる抗原を認識して初めてエフェクター機能を発揮する、バイスペシフィック抗体による技術が考えられる。

[0022] しかし、図２Ｂに示すように、通常のバイスペシフィック抗体によるエフェクター機能を用いて標的細胞を攻撃する場合、二種の抗原を共発現する標的細胞（以下、両陽性細胞とも略す）だけでなく、一種類の標的抗原のみを発現する細胞（以下、単陽性細胞とも略す）に対してもバイスペシフィック抗体が結合して攻撃する懸念がある。また、個々の標的抗原に対する親和性に関わらず、両陽性細胞に対して特異的にエフェクター機能を発揮し傷害する抗体技術は知られていない。

[0023] したがって、本発明者らは、互いに異なる二種の抗原を共発現する標的細胞に対してより特異的にエフェクター機能を発揮し傷害する抗体組成物を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0024] 本発明者らは、抗体分子の定常領域において、図３に示すように、通常のヒトＩｇＧ１抗体と異なる以下に示す［１］～［３］の要素を有する抗体組成物により、上記課題を解決し得ることを着想した。

［１］互いに異なる第１の抗原（抗原分子Ｘ）及び第２の抗原（抗原分子Ｙ）に対する抗原結合部位を有する抗体の半量体（第１及び第２のＩｇＧ半量体）の混合物であること。すなわち、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体との間において、Ｈ鎖間のジスルフィド結合による共有結合が存在しない「ＨＬ体」の混合物であること。

［２］抗原分子Ｘ、Ｙに対するそれぞれのＨＬ体が、抗原分子Ｘ、Ｙの両方を発現する標的細胞（Ｘ／Ｙ両陽性細胞）の表面に結合した後に会合して通常のＩｇＧと同様のＨ２Ｌ２体を形成し、ＣＤ１６ａ結合領域を構成し、抗体の活性を惹起すること。

［３］単一の抗原分子のみを発現する細胞に対しては抗体の活性を惹起しないよう、抗原分子Ｘ又はＹに対するＨＬ体同士が細胞表面で会合しホモ会合体を形成しても、ＣＤ１６ａ結合領域を構成しないこと。

[0025] 上記着想に基づき、本発明者らは、下記（１）～（３）について見出し、本発明を完成させた。

（１）前記［１］については、図４に示すように、ＩｇＧ半量体のヒンジドメインにおける一部又は全体を置換もしくは欠失、または修飾することにより、ヒンジドメインにおいてＨ鎖間にジスルフィド結合が形成されないよう改変する。

（２）図５に示すように、ＣＤ１６ａはＦｃ中の二つのＣＨ２ドメイン（図５中、ＣＨ２－Ａ、ＣＨ２－Ｂ）に、それぞれ別の部位（ＣＨ２－Ａの領域１、ＣＨ２－Ｂの領域２）で接する。

したがって結合に使われていないＣＨ２－Ａの領域２、及びＣＨ２－Ｂの領域１を、それぞれアミノ酸の改変等により「破壊」して結合活性を減弱させた場合、そのような改変ＣＨ２－Ａを有するＨＬ体同士のホモ会合体にお

いてはＣＨ２－Ａの領域２のみ、あるいは改変ＣＨ２－Ｂを有するＨＬ体同士のホモ会合体においてはＣＨ２－Ｂの領域１のみが存在しないことになる。したがって、これらのホモ会合体にはＣＤ１６ａは十分な親和性を持って結合できない。

一方、そのような改変ＣＨ２－Ａ、改変ＣＨ２－Ｂをそれぞれ構成要素として有するＨＬ体の組合せ（ヘテロ会合体）によれば、上記［２］及び［３］の条件を満たす抗体組成物が得られる。

（３）ＣＤ１６ａ結合領域やその他のＦｃ領域へ特定のアミノ酸改変を導入したＩｇＧ半量体により形成されたヘテロ会合体によれば、Ｘ／Ｙ両陽性細胞に対する増強されたエフェクター機能及び／又は制御された体内動態を示す抗体組成物が得られる。

[0026] すなわち、本発明は以下に関する。

１．第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体とからなる、互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物であって、以下の（１Ａ）～（６Ａ）である抗体組成物。

（１Ａ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、１つのイムノグロブリン軽鎖（以下、Ｌ鎖と略記する）及び１つのイムノグロブリン重鎖（以下、Ｈ鎖と略記する）からなり、前記Ｈ鎖は、Ｈ鎖可変領域、ヒンジドメイン、ＣＨ１ドメイン、ＣＨ２ドメイン及びＣＨ３ドメインを含み、前記ＣＨ２ドメインにおいて互いに異なる第１のＦｃγ受容体ＩＩＩＡ（以下、ＣＤ１６ａ）結合領域及び第２のＣＤ１６ａ結合領域を有する。

（２Ａ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）前記第１のＩｇＧ半量体は、前記第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）前記第２のＩｇＧ半量体は、前記第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含むか、または、

前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ｂ）Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体のうち少なくとも一方は、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、前記ＣＨ３ドメインにおけるアミノ酸残基置換を含む。

２．前記第１の抗原のみを発現する標的細胞と前記第２の抗原のみを発現する標的細胞に対するエフェクター機能と比較して、前記第１の抗原及び前記第２の抗原を共発現する標的細胞に対して特異的にエフェクター機能を発揮して傷害する、前記１に記載の抗体組成物。

３．前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、ＥＵインデックスで表される、Ｙ３４９Ａ、Ｌ３５１Ａ、Ｔ３６６Ａ、Ｌ３６８Ａ、Ｄ３９９Ａ、Ｆ４０５Ａ、Ｙ４０７Ａ、Ｋ４０９ＡおよびＫ４０９Ｒから選ばれる少なくとも１つのアミノ酸残基置換を含む、前記１または２に記載の抗体組成物。

４．前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間の相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、ＥＵインデックスで表されるＫ４０９Ｒのアミノ酸残基置換を含む、前記３に記載の抗体組成物。

５．前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、前

記（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含む、前記１～４のいずれか１に記載の抗体組成物。

６．前記第１のＩｇＧ半量体のＨ鎖定常領域（以下、ＣＨと略記する。）が配列番号２４８で示されるアミノ酸配列を含み、

前記第２のＩｇＧ半量体のＣＨが配列番号２５２で示されるアミノ酸配列を含む、前記１～５のいずれか１に記載の抗体組成物。

７．前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体における、Ｆｃ領域に結合する全Ｎ－グリコシド結合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のＮ－アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が２０％以上である、前記１～６のいずれか１に記載の抗体組成物。

８．前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体のイムノグロブリンサブクラスがＩｇＧ１である、前記１～７のいずれか１に記載の抗体組成物。

９．第２のＩｇＧ半量体と会合することを特徴とする第１のＩｇＧ半量体であって、前記第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体が以下の（１Ｂ）～（７Ｂ）である、第１のＩｇＧ半量体。

（１Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物を形成する。

（２Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、１つのＬ鎖と及び１つのＨ鎖からなり、前記Ｈ鎖は、Ｈ鎖可変領域、ヒンジドメイン、ＣＨ１ドメイン、ＣＨ２ドメイン及びＣＨ３ドメインを含み、前記ＣＨ２ドメインにおいて互いに異なる第１のＣＤ１６ａ結合領域及び第２のＣＤ１６ａ結合領域を有する。

（３Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体は、前記第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデック

スで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ｂ）前記第２のＩｇＧ半量体は、前記第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含むか、または、

前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ｂ）Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（７Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体のうち少なくとも一方は、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、前記ＣＨ３ドメインにおけるアミノ酸残基置換を含む。

１０．第１のＩｇＧ半量体と会合することを特徴とする第２のＩｇＧ半量体であって、前記第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体が以下の（１Ｃ）～（７Ｃ）である、第２のＩｇＧ半量体。

（１Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物を形成する。

（２Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、１つのＬ鎖と及び１つのＨ鎖からなり、前記Ｈ鎖は、Ｈ鎖可変領域、ヒンジドメイン、ＣＨ１ドメイン、ＣＨ２ドメイン及びＣＨ３ドメインを含み、前記ＣＨ２ドメインにおいて互いに異なる第１のＣＤ１６ａ結合領域及び第２のＣＤ１６ａ結合領域を有する。

（３Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体は、前記第１の抗原に結合する抗原結合ド

メインを含み、且つ前記第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ｃ）前記第２のＩｇＧ半量体は、前記第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含むか、または、

前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ｂ）Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（７Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体のうち少なくとも一方は、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、前記ＣＨ３ドメインにおけるアミノ酸残基置換を含む。

１１．以下のａ）またはｂ）のアミノ酸配列をコードするＤＮＡ。

ａ）前記９に記載の第１のＩｇＧ半量体のアミノ酸配列

ｂ）前記１０に記載の第２のＩｇＧ半量体のアミノ酸配列

１２．前記１１に記載のａ）のアミノ酸配列をコードするＤＮＡ及びｂ）のアミノ酸配列をコードするＤＮＡの少なくとも一方を含む組換えベクター。

１３．前記１２に記載の組換えベクターが導入された形質転換体。

１４．前記９に記載の第１のＩｇＧ半量体及び前記１０に記載の第２のＩｇＧ半量体を含むキット。

１５．前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物を用いる、前記第１の抗原のみを発現する標的細胞と前記第２の抗原のみを発現する標的細胞に対するエフェクター機能と比較し、前記第１の抗原及び前記第２の抗原を共発現する標的細胞に対して特異的にエフェクター機能を誘導する方法。

１６．前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物を含む、医薬組成物。

１７．がん、自己免疫疾患又はアレルギー疾患の治療に用いるための、前記１６に記載の医薬組成物。

１８．がん、自己免疫疾患又はアレルギー疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

１９．がん、自己免疫疾患又はアレルギー疾患の治療のための前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

２０．がん、自己免疫疾患又はアレルギー疾患の治療に使用するための前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

２１．前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなるがん、自己免疫疾患又はアレルギー疾患の治療方法。

２２．第２のＩｇＧ半量体と併用する為の第１のＩｇＧ半量体であって、前記第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体が以下の（１Ｂ）～（７Ｂ）である、第１のＩｇＧ半量体。

（１Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物を形成する。

（２Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、１つのＬ鎖と及び１つのＨ鎖からなり、前記Ｈ鎖は、Ｈ鎖可変領域、ヒンジドメイン、ＣＨ１ドメイン、ＣＨ２ドメイン及びＣＨ３ドメインを含み、前記ＣＨ２ドメインにおいて互いに異なる第１のＣＤ１６ａ結合領域及び第２のＣＤ１６ａ結合領域を有する。

（３Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体は、前記第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ｂ）前記第２のＩｇＧ半量体は、前記第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデック

スで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含むか、または、

前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ｂ）Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（７Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体のうち少なくとも一方は、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、前記ＣＨ３ドメインにおけるアミノ酸残基置換を含む。

２３．第１のＩｇＧ半量体と併用する為の第２のＩｇＧ半量体であって、前記第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体が以下の（１Ｃ）～（７Ｃ）である、第２のＩｇＧ半量体。

（１Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物を形成する。

（２Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、１つのＬ鎖と及び１つのＨ鎖からなり、前記Ｈ鎖は、Ｈ鎖可変領域、ヒンジドメイン、ＣＨ１ドメイン、ＣＨ２ドメイン及びＣＨ３ドメインを含み、前記ＣＨ２ドメインにおいて互いに異なる第１のＣＤ１６ａ結合領域及び第２のＣＤ１６ａ結合領域を有する。

（３Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体は、前記第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ｃ）前記第２のＩｇＧ半量体は、前記第２の抗原に結合する抗原結合ド

メインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含むか、または、

前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ｂ）Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（７Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体のうち少なくとも一方は、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、前記ＣＨ３ドメインにおけるアミノ酸残基置換を含む。

２４．前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物に含まれる第１又は第２のＩｇＧ半量体。

２５．前記９、１０又は２４に記載のＩｇＧ半量体を用いて、第１及び第２の抗原を発現する両陽性細胞特異的にエフェクター機能を誘導する方法。

[0027] ２６．第１の抗原がＣＡＤＭ１であり、第２の抗原がＣＣＲ４である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

２７．第１の抗原がＥＧＦＲであり、第２の抗原がＨＥＲ２である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

２８．第１の抗原がＣＤ５２であり、第２の抗原がＣＤ７０である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

２９．第１の抗原がＣＤ２であり、第２の抗原がＣＤ７０である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３０．第１の抗原がＣＤ１９であり、第２の抗原がＣＤ７０である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３１．第１の抗原がＣＤ２であり、第２の抗原がＣＤ４０リガンドである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３２．第１の抗原がＰＤ－Ｌ１であり、第２の抗原がＣＤ１９、ＣＤ３０、ＣＣＲ４、ＣＤ２０、ＣＤ２２およびＣＤ７９ｂから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３３．第１の抗原がＣＤ８であり、第２の抗原がＣＣＲ４である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３４．第１の抗原がＣＴＬＡ－４であり、第２の抗原がＣＤ４、ＣＣＲ４およびＧＩＴＲから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３５．第１の抗原がＴＩＧＩＴであり、第２の抗原がＣＤ４、ＣＣＲ４およびＧＩＴＲから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３６．第１の抗原がＰＤ－１であり、第２の抗原がＣＤ４、ＣＣＲ４およびＧＩＴＲから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３７．第１の抗原がＯＸ４０であり、第２の抗原がＣＤ１２７、ＣＤ２６、ＣＤ７０およびＣＤ１５ｓから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３８．第１の抗原が４－１ＢＢであり、第２の抗原がＣＤ１２７、ＣＤ２６、ＣＤ７０およびＣＤ１５ｓから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３９．第１の抗原がＧＩＴＲであり、第２の抗原がＣＤ１２７、ＣＤ２６、ＣＤ７０およびＣＤ１５ｓから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

４０．第１の抗原がＣＤ４０リガンドであり、第２の抗原がＣＤ１２７、ＣＤ２６、ＣＤ７０およびＣＤ１５ｓから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

４１．第１の抗原がＣＤ４であり、第２の抗原がＣＤ６９である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

[0028] ４２．前記２６に記載の抗体組成物を含む、ＡＴＬの治療に用いるための医薬組成物。

４３．前記２７に記載の抗体組成物を含む、胃癌および乳癌の少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

４４．前記３１に記載の抗体組成物を含む、シェーグレン症候群の治療に用いるための医薬組成物。

４５．前記３２に記載の抗体組成物を含む、リンパ腫および白血病の少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

４６．前記３３～３６のいずれか１に記載の抗体組成物を含む、がんの治療に用いるための医薬組成物。

４７．前記３７～４０のいずれか１に記載の抗体組成物を含む、自己免疫疾患の治療に用いるための医薬組成物。

４８．前記４１に記載の抗体組成物を含む、ＡＮＣＡ関連糸球体腎炎の治療に用いるための医薬組成物。

[0029] ４９．ＡＴＬの治療用医薬組成物の製造のための前記２６に記載の抗体組成物の使用。

５０．胃癌および乳癌の少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記２７に記載の抗体組成物の使用。

５１．シェーグレン症候群の治療用医薬組成物の製造のための前記３１に記載の抗体組成物の使用。

５２．リンパ腫および白血病の少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記３２に記載の抗体組成物の使用。

５３．がんの治療用医薬組成物の製造のための前記３３～３６のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

５４．自己免疫疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記３７～４０のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

５５．ＡＮＣＡ関連糸球体腎炎の治療用医薬組成物の製造のための前記４１に記載の抗体組成物の使用。

[0030] ５６．ＡＴＬの治療のための前記２６に記載の抗体組成物の使用。

５７．胃癌および乳癌の少なくとも一方の治療のための前記２７に記載の抗体組成物の使用。

５８．シェーグレン症候群の治療のための前記３１に記載の抗体組成物の使用。

５９．リンパ腫および白血病の少なくとも一方の治療のための前記３２に記載の抗体組成物の使用。

６０．がんの治療のための前記３３～３６のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

６１．自己免疫疾患の治療のための前記３７～４０のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

６２．ＡＮＣＡ関連糸球体腎炎の治療のための前記４１に記載の抗体組成物の使用。

[0031] ６３．ＡＴＬの治療に使用するための前記２６に記載の抗体組成物。

６４．胃癌および乳癌の少なくとも一方の治療に使用するための前記２７に記載の抗体組成物。

６５．シェーグレン症候群の治療に使用するための前記３１に記載の抗体組成物。

６６．リンパ腫および白血病の少なくとも一方の治療に使用するための前記３２に記載の抗体組成物。

６７．がんの治療に使用するための前記３３～３６のいずれか１に記載の抗体組成物。

６８．自己免疫疾患の治療に使用するための前記３７～４０のいずれか１に記載の抗体組成物。

６９．ＡＮＣＡ関連糸球体腎炎の治療に使用するための前記４１に記載の抗体組成物。

[0032] ７０．前記２６に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、ＡＴＬの治療方法。

７１．前記２７に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、胃癌および乳癌の少なくとも一方の治療方法。

７２．前記３１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、シェーグレン症候群の治療方法。

７３．前記３２に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、リンパ腫および白血病の少なくとも一方の治療方法。

７４．前記３３～３６のいずれか１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、がんの治療方法。

７５．前記３７～４０のいずれか１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、自己免疫疾患の治療方法。

７６．前記４１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、ＡＮＣＡ関連糸球体腎炎の治療方法。

[0033] ７７．第１の抗原がＰＤ－１であり、第２の抗原がＣＤ３である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

７８．第１の抗原がＰＤ－１であり、第２の抗原がＣＤ４である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

７９．第１の抗原がインテグリンα４β７であり、第２の抗原がＣＣＲ６、ＣＸＣＲ３、ＣＤ１６１およびＣＤ１２７から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

８０．第１の抗原がインテグリンα４β７であり、第２の抗原がＣＤ４０リガンドである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

８１．第１の抗原がインテグリンα４β１であり、第２の抗原がＣＤ４０リガンドである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

８２．第１の抗原がＣＸＣＲ５であり、第２の抗原がＣＤ１２７である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

８３．第１の抗原がＴＰＯ受容体（ｃ－ｍｐｌ）であり、第２の抗原がＣＤ３４またはＣＤ１２３である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

８４．第１の抗原がＣＸＣＲ３であり、第２の抗原がＣＤ３である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

８５．第１の抗原がＣＸＣＲ３であり、第２の抗原がＣＤ１２７またはＣＤ４０リガンドである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

８６．第１の抗原がＣＣＲ４であり、第２の抗原がＣＤ１２７またはＣＤ４０リガンドである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

８７．第１の抗原がＣＣＲ６であり、第２の抗原がＣＤ１２７またはＣＤ４０リガンドである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

８８．第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＣＤ１２７またはＣＤ４０リガンドである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

８９．第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＣＣＲ４である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

９０．第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＳＴ２である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

９１．第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＣＣＲ６またはＣＣＲ３である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

９２．第１の抗原がＣＤ２０７であり、第２の抗原がＣＤ１１ｂまたはＣＤ１ａである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

９３．第１の抗原がＣＤ１２３であり、第２の抗原がＨＬＡ－ＤＲまたはＡＳＣＴ２である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

９４．第１の抗原がＣＳＦ１Ｒであり、第２の抗原がＣＤ１４である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

９５．第１の抗原がＣＳＦ１Ｒであり、第２の抗原がＣＤ３３である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

９６．第１の抗原がＣＤ１９であり、第２の抗原がＣＤ３８である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

９７．第１の抗原がＣＤ３であり、第２の抗原がＩＬ－２３Ｒである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

９８．第１の抗原がＣＤ３であり、第２の抗原がＣＸ３ＣＲ１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

９９．第１の抗原がＣＸＣＲ４であり、第２の抗原がＴｙｐｅ　１　ｃｏｌｌａｇｅｎである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１００．第１の抗原がＣＸＣＲ４であり、第２の抗原がＣＤ１４である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１０１．第１の抗原がＣＸＣＲ４であり、第２の抗原がＣＤ１６である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１０２．第１の抗原がＣＬＥＣ１０Ａであり、第２の抗原がＣＤ１４またはＣＤ１６である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１０３．第１の抗原がＣＤ７０であり、第２の抗原がＣＤ３８である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１０４．第１の抗原がＣＤ７０であり、第２の抗原がＣＤ４、ＣＤ１２７およびＴＩＭ－１から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１０５．第１の抗原がＣＤ４であり、第２の抗原がＴＩＭ－１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１０６．第１の抗原がＣＤ７０であり、第２の抗原がＣＤ５２である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１０７．第１の抗原がＣＢ１であり、第２の抗原がＡＴ１Ｒである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１０８．第１の抗原がＣＤ４またはＰＤ－１であり、第２の抗原がＣＤ１５３である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１０９．第１の抗原がＦｃεＲＩであり、第２の抗原がＣＤ３４またはＣ－ＫＩＴである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１１０．第１の抗原がＣＤ３４であり、第２の抗原がＣＤ２０３またはＭＲＧＰＲＸ２である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１１１．第１の抗原がＣＤ５２であり、第２の抗原がＣＤ１２７である、前

記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１１２．第１の抗原がＣＤ６９であり、第２の抗原がＣＤ２１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１１３．第１の抗原がＣＤ１０６であり、第２の抗原がＣＤ１１ｃ、ＣＤ１９、ＣＤ２１およびＣＤ７２から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１１４．第１の抗原が４－１ＢＢであり、第２の抗原がＣＤ１１ｃ、ＣＤ１９、ＣＤ２１およびＣＤ７２から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１１５．第１の抗原がＢＬＴ１であり、第２の抗原がＣＤ４９ｂである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１１６．第１の抗原がＣＤ２２６であり、第２の抗原がＣＤ８である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１１７．第１の抗原がＣＸＣＲ３であり、第２の抗原がＣＤ８、ＣＤ４９ａ、ＩＬ－１５ＲおよびＮＫＧ２Ｄから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１１８．第１の抗原がＣＤ４９ａであり、第２の抗原がＣＤ８、ＩＬ－１５ＲおよびＮＫＧ２Ｄから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１１９．第１の抗原がＩＬ－１５Ｒであり、第２の抗原がＣＤ８またはＮＫＧ２Ｄである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１２０．第１の抗原がＮＫＧ２Ｄであり、第２の抗原がＣＤ８である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１２１．第１の抗原がＣＤ１７７であり、第２の抗原がＰＲ３である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１２２．第１の抗原がＣＤ４であり、第２の抗原がＣＤ１２７である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１２３．第１の抗原がＣＤ４０リガンドであり、第２の抗原がＩＬ－６であ

る、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１２４．第１の抗原がＩＬ－１７Ｒであり、第２の抗原が膜型ＴＮＦである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

１２５．第１の抗原がＩＬ－２３Ｒであり、第２の抗原がＣＣＲ６である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

[0034] １２６．関節リウマチの治療用医薬組成物の製造のための前記７７に記載の抗体組成物の使用。

１２７．セリアック病の治療用医薬組成物の製造のための前記７８に記載の抗体組成物の使用。

１２８．炎症性腸疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記７９に記載の抗体組成物の使用。

１２９．多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記８０に記載の抗体組成物の使用。

１３０．多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記８１に記載の抗体組成物の使用。

１３１．アレルギー疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記８２に記載の抗体組成物の使用。

１３２．原発性骨髄線維症の治療用医薬組成物の製造のための前記８３に記載の抗体組成物の使用。

１３３．自己免疫疾患、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１の治療用医薬組成物の製造のための前記８４に記載の抗体組成物の使用。

１３４．全身性エリテマトーデスの治療用医薬組成物の製造のための前記８５に記載の抗体組成物の使用。

１３５．アレルギー疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記８６に記載の抗体組成物の使用。

１３６．乾癬の治療用医薬組成物の製造のための前記８７に記載の抗体組成物の使用。

１３７．アレルギー疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記８８に記載の抗体組成物の使用。

１３８．喘息、好酸球性副鼻腔炎およびアトピー性皮膚炎から選ばれる少なくとも１の治療用医薬組成物の製造のための前記８９に記載の抗体組成物の使用。

１３９．喘息および好酸球性副鼻腔炎の少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記９０に記載の抗体組成物の使用。

１４０．アレルギー疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記９１に記載の抗体組成物の使用。

１４１．ランゲルハンス細胞組織球症（ＬＣＨ、Ｌａｎｇｅｒｈａｎｓ　Ｃｅｌｌ　Ｈｉｓｔｉｏｃｙｔｏｓｉｓ）の治療用医薬組成物の製造のための前記９２に記載の抗体組成物の使用。

１４２．全身性エリテマトーデスの治療用医薬組成物の製造のための前記９３に記載の抗体組成物の使用。

１４３．特発性肺線維症の治療用医薬組成物の製造のための前記９４に記載の抗体組成物の使用。

１４４．がんの治療用医薬組成物の製造のための前記９５に記載の抗体組成物の使用。

１４５．全身性エリテマトーデスの治療用医薬組成物の製造のための前記９６または９７に記載の抗体組成物の使用。

１４６．自己免疫疾患、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１の治療用医薬組成物の製造のための前記９８に記載の抗体組成物の使用。

１４７．特発性肺線維症、全身性硬化症および肝硬変等各種線維化疾患から選ばれる少なくとも１の治療用医薬組成物の製造のための前記９９に記載の抗体組成物の使用。

１４８．特発性肺線維症の治療用医薬組成物の製造のための前記１００に記載の抗体組成物の使用。

１４９．好中球性喘息、慢性閉塞性肺疾患およびアルツハイマーから選ばれる少なくとも１の治療用医薬組成物の製造のための前記１０１に記載の抗体組成物の使用。

１５０．クローン病、関節リウマチおよび喘息から選ばれる少なくとも１の治療用医薬組成物の製造のための前記１０２に記載の抗体組成物の使用。

１５１．多発性硬化症および視神経脊髄炎の少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記１０３に記載の抗体組成物の使用。

１５２．全身性エリテマトーデスの治療用医薬組成物の製造のための前記１０４または１０５に記載の抗体組成物の使用。

１５３．多発性硬化症の治療用医薬組成物の製造のための前記１０６に記載の抗体組成物の使用。

１５４．肝硬変の治療用医薬組成物の製造のための前記１０７に記載の抗体組成物の使用。

１５５．全身性エリテマトーデスの治療用医薬組成物の製造のための前記１０８に記載の抗体組成物の使用。

１５６．蕁麻疹、食物アレルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ、Ｍａｓｔ　Ｃｅｌｌ　Ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ　Ｓｙｎｄｒｏｍｅｓ）の治療用医薬組成物の製造のための前記１０９に記載の抗体組成物の使用。

１５７．蕁麻疹、食物アレルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ）の治療用医薬組成物の製造のための前記１１０に記載の抗体組成物の使用。

１５８．多発性硬化症の治療用医薬組成物の製造のための前記１１１に記載の抗体組成物の使用。

１５９．多発性硬化症、１型糖尿病および関節リウマチから選ばれる少なくとも１の治療用医薬組成物の製造のための前記１１２に記載の抗体組成物の使用。

１６０．二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ、Ｓｅｃｏｎｄａｒｙ　Ｐｒｏ

ｇｒｅｓｓｉｖｅ　Ｍｕｌｔｉｐｌｅ　Ｓｃｌｅｒｏｓｉｓ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない関節リウマチ、移植および全身性エリテマトーデスから選ばれる少なくとも１の治療用医薬組成物の製造のための前記１１３に記載の抗体組成物の使用。

１６１．二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない関節リウマチ、移植および全身性エリテマトーデスから選ばれる少なくとも１の治療用医薬組成物の製造のための前記１１４に記載の抗体組成物の使用。

１６２．喘息の治療用医薬組成物の製造のための前記１１５に記載の抗体組成物の使用。

１６３．全身性強皮症の治療用医薬組成物の製造のための前記１１６に記載の抗体組成物の使用。

１６４．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記１１７に記載の抗体組成物の使用。

１６５．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記１１８に記載の抗体組成物の使用。

１６６．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記１１９に記載の抗体組成物の使用。

１６７．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記１２０に記載の抗体組成物の使用。

１６８．ＡＮＣＡ（Ａｎｔｉｎｅｕｔｒｏｐｈｉｌ　Ｃｙｔｏｐｌａｓｍｉｃ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ）関連血管炎および全身性エリテマトーデスの少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記１２１に記載の抗体組成物の使用。

１６９．Ｔ細胞依存的な免疫関連疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記１２２に記載の抗体組成物の使用。

１７０．免疫関連疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記１２３に記載の抗体組成物の使用。

１７１．乾癬性関節炎の治療用医薬組成物の製造のための前記１２４に記載の抗体組成物の使用。

１７２．シューグレン症候群および乾癬の少なくとも一方を含む自己免疫疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記１２５に記載の抗体組成物の使用。

[0035] １７３．関節リウマチの治療のための前記７７に記載の抗体組成物の使用。

１７４．セリアック病の治療のための前記７８に記載の抗体組成物の使用。

１７５．炎症性腸疾患の治療のための前記７９に記載の抗体組成物の使用。

１７６．多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方の治療のための前記８０に記載の抗体組成物の使用。

１７７．多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方の治療のための前記８１に記載の抗体組成物の使用。

１７８．アレルギー疾患の治療のための前記８２に記載の抗体組成物の使用。

１７９．原発性骨髄線維症の治療のための前記８３に記載の抗体組成物の使用。

１８０．自己免疫疾患、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１の治療のための前記８４に記載の抗体組成物の使用。

１８１．全身性エリテマトーデスの治療のための前記８５に記載の抗体組成物の使用。

１８２．アレルギー疾患の治療のための前記８６に記載の抗体組成物の使用。

１８３．乾癬の治療のための前記８７に記載の抗体組成物の使用。

１８４．アレルギー疾患の治療のための前記８８に記載の抗体組成物の使用。

１８５．喘息、好酸球性副鼻腔炎およびアトピー性皮膚炎から選ばれる少なくとも１の治療のための前記８９に記載の抗体組成物の使用。

１８６．喘息および好酸球性副鼻腔炎の少なくとも一方の治療のための前記

９０に記載の抗体組成物の使用。

１８７．アレルギー疾患の治療のための前記９１に記載の抗体組成物の使用。

１８８．ランゲルハンス細胞組織球症（ＬＣＨ）の治療のための前記９２に記載の抗体組成物の使用。

１８９．全身性エリテマトーデスの治療のための前記９３に記載の抗体組成物の使用。

１９０．特発性肺線維症の治療のための前記９４に記載の抗体組成物の使用。

１９１．がんの治療のための前記９５に記載の抗体組成物の使用。

１９２．全身性エリテマトーデスの治療のための前記９６または９７に記載の抗体組成物の使用。

１９３．自己免疫疾患、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１の治療のための前記９８に記載の抗体組成物の使用。

１９４．特発性肺線維症、全身性硬化症および肝硬変から選ばれる少なくとも１を含む線維化疾患の治療のための前記９９に記載の抗体組成物の使用。

１９５．特発性肺線維症の治療のための前記１００に記載の抗体組成物の使用。

１９６．好中球性喘息、慢性閉塞性肺疾患およびアルツハイマーから選ばれる少なくとも１の治療のための前記１０１に記載の抗体組成物の使用。

１９７．クローン病、関節リウマチおよび喘息から選ばれる少なくとも１の治療のための前記１０２に記載の抗体組成物の使用。

１９８．多発性硬化症および視神経脊髄炎の少なくとも一方の治療のための前記１０３に記載の抗体組成物の使用。

１９９．全身性エリテマトーデスの治療のための前記１０４または１０５に記載の抗体組成物の使用。

２００．多発性硬化症の治療のための前記１０６に記載の抗体組成物の使用。

２０１．肝硬変の治療のための前記１０７に記載の抗体組成物の使用。

２０２．全身性エリテマトーデスの治療のための前記１０８に記載の抗体組成物の使用。

２０３．蕁麻疹、食物アレルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ）の治療のための前記１０９に記載の抗体組成物の使用。

２０４．蕁麻疹、食物アレルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ）の治療のための前記１１０に記載の抗体組成物の使用。

２０５．多発性硬化症の治療のための前記１１１に記載の抗体組成物の使用。

２０６．多発性硬化症、１型糖尿病および関節リウマチから選ばれる少なくとも１の治療のための前記１１２に記載の抗体組成物の使用。

２０７．二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない関節リウマチ、移植および全身性エリテマトーデスから選ばれる少なくとも１の治療のための前記１１３に記載の抗体組成物の使用。

２０８．二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない関節リウマチ、移植および全身性エリテマトーデスから選ばれる少なくとも１の治療のための前記１１４に記載の抗体組成物の使用。

２０９．喘息の治療のための前記１１５に記載の抗体組成物の使用。

２１０．全身性強皮症の治療のための前記１１６に記載の抗体組成物の使用。

２１１．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療のための前記１１７に記載の抗体組成物の使用。

２１２．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療のための前記１１８に記載の抗体組成物の使用。

２１３．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療のための前記１１９に記載の抗体組成物の使用。

２１４．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療のための前記１２０に記載の抗体組成物の使用。

２１５．ＡＮＣＡ関連血管炎および全身性エリテマトーデスの少なくとも一方の治療のための前記１２１に記載の抗体組成物の使用。

２１６．Ｔ細胞依存的な免疫関連疾患の治療のための前記１２２に記載の抗体組成物の使用。

２１７．免疫関連疾患の治療のための前記１２３に記載の抗体組成物の使用。

２１８．乾癬性関節炎の治療のための前記１２４に記載の抗体組成物の使用。

２１９．シューグレン症候群および乾癬の少なくとも一方を含む自己免疫疾患の治療のための前記１２５に記載の抗体組成物の使用。

[0036] ２２０．関節リウマチの治療に使用するための前記７７に記載の抗体組成物。

２２１．セリアック病の治療に使用するための前記７８に記載の抗体組成物。

２２２．炎症性腸疾患の治療に使用するための前記７９に記載の抗体組成物。

２２３．多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方の治療に使用するための前記８０に記載の抗体組成物。

２２４．多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方の治療に使用するための前記８１に記載の抗体組成物。

２２５．アレルギー疾患の治療に使用するための前記８２に記載の抗体組成物。

２２６．原発性骨髄線維症の治療に使用するための前記８３に記載の抗体組成物。

２２７．自己免疫疾患、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１の治療に使用するための前記８４に記載の抗体組成物。

２２８．全身性エリテマトーデスの治療に使用するための前記８５に記載の抗体組成物。

２２９．アレルギー疾患の治療に使用するための前記８６に記載の抗体組成物。

２３０．乾癬の治療に使用するための前記８７に記載の抗体組成物。

２３１．アレルギー疾患の治療に使用するための前記８８に記載の抗体組成物。

２３２．喘息、好酸球性副鼻腔炎およびアトピー性皮膚炎から選ばれる少なくとも１の治療に使用するための前記８９に記載の抗体組成物。

２３３．喘息および好酸球性副鼻腔炎の少なくとも一方の治療に使用するための前記９０に記載の抗体組成物。

２３４．アレルギー疾患の治療に使用するための前記９１に記載の抗体組成物。

２３５．ランゲルハンス細胞組織球症（ＬＣＨ）の治療に使用するための前記９２に記載の抗体組成物。

２３６．全身性エリテマトーデスの治療に使用するための前記９３に記載の抗体組成物。

２３７．特発性肺線維症の治療に使用するための前記９４に記載の抗体組成物。

２３８．がんの治療に使用するための前記９５に記載の抗体組成物。

２３９．全身性エリテマトーデスの治療に使用するための前記９６または９７に記載の抗体組成物。

２４０．自己免疫疾患、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１の治療に使用するための前記９８に記載の抗体組成物。

２４１．特発性肺線維症、全身性硬化症および肝硬変から選ばれる少なくとも１を含む線維化疾患の治療に使用するための前記９９に記載の抗体組成物。

２４２．特発性肺線維症の治療に使用するための前記１００に記載の抗体組

成物。

２４３．好中球性喘息、慢性閉塞性肺疾患およびアルツハイマーから選ばれる少なくとも１の治療に使用するための前記１０１に記載の抗体組成物。

２４４．クローン病、関節リウマチおよび喘息から選ばれる少なくとも１の治療に使用するための前記１０２に記載の抗体組成物。

２４５．多発性硬化症および視神経脊髄炎の少なくとも一方の治療に使用するための前記１０３に記載の抗体組成物。

２４６．全身性エリテマトーデスの治療に使用するための前記１０４または１０５に記載の抗体組成物。

２４７．多発性硬化症の治療に使用するための前記１０６に記載の抗体組成物。

２４８．肝硬変の治療に使用するための前記１０７に記載の抗体組成物。

２４９．全身性エリテマトーデスの治療に使用するための前記１０８に記載の抗体組成物。

２５０．蕁麻疹、食物アレルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ）の治療に使用するための前記１０９に記載の抗体組成物。

２５１．蕁麻疹、食物アレルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ）の治療に使用するための前記１１０に記載の抗体組成物。

２５２．多発性硬化症の治療に使用するための前記１１１に記載の抗体組成物。

２５３．多発性硬化症、１型糖尿病および関節リウマチから選ばれる少なくとも１の治療に使用するための前記１１２に記載の抗体組成物。

２５４．二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない関節リウマチ、移植および全身性エリテマトーデスから選ばれる少なくとも１の治療に使用するための前記１１３に記載の抗体組成物。

２５５．二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない

関節リウマチ、移植および全身性エリテマトーデスから選ばれる少なくとも１の治療に使用するための前記１１４に記載の抗体組成物。

２５６．喘息の治療に使用するための前記１１５に記載の抗体組成物。

２５７．全身性強皮症の治療に使用するための前記１１６に記載の抗体組成物。

２５８．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療に使用するための前記１１７に記載の抗体組成物。

２５９．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療に使用するための前記１１８に記載の抗体組成物。

２６０．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療に使用するための前記１１９に記載の抗体組成物。

２６１．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療に使用するための前記１２０に記載の抗体組成物。

２６２．ＡＮＣＡ関連血管炎および全身性エリテマトーデスの少なくとも一方の治療に使用するための前記１２１に記載の抗体組成物。

２６３．Ｔ細胞依存的な免疫関連疾患の治療に使用するための前記１２２に記載の抗体組成物。

２６４．免疫関連疾患の治療に使用するための前記１２３に記載の抗体組成物。

２６５．乾癬性関節炎の治療に使用するための前記１２４に記載の抗体組成物。

２６６．シューグレン症候群および乾癬の少なくとも一方を含む自己免疫疾患の治療に使用するための前記１２５に記載の抗体組成物。

[0037] ２６７．前記７７に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、関節リウマチの治療方法。

２６８．前記７８に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、セリアック病の治療方法。

２６９．前記７９に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからな

る、炎症性腸疾患の治療方法。

２７０．前記８０に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方の治療方法。

２７１．前記８１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方の治療方法。

２７２．前記８２に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、アレルギー疾患の治療方法

２７３．前記８３に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、原発性骨髄線維症の治療方法。

２７４．前記８４に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、自己免疫疾患、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１の治療方法。

２７５．前記８５に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、全身性エリテマトーデスの治療方法。

２７６．前記８６に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、アレルギー疾患の治療方法。

２７７．前記８７に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、乾癬の治療方法。

２７８．前記８８に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、アレルギー疾患の治療方法。

２７９．前記８９に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、喘息、好酸球性副鼻腔炎およびアトピー性皮膚炎から選ばれる少なくとも１の治療方法。

２８０．前記９０に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、喘息および好酸球性副鼻腔炎の少なくとも一方の治療方法。

２８１．前記９１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、アレルギー疾患の治療用医薬組成物の製造のため。

２８２．前記９２に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからな

る、ランゲルハンス細胞組織球症（ＬＣＨ）の治療方法。

２８３．前記９３に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、全身性エリテマトーデスの治療方法。

２８４．前記９４に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、特発性肺線維症の治療方法。

２８５．前記９５に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、がんの治療方法。

２８６．前記９６または９７に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、全身性エリテマトーデスの治療方法。

２８７．前記９８に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、自己免疫疾患、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１の治療方法。

２８８．前記９９に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、特発性肺線維症、全身性硬化症および肝硬変から選ばれる少なくとも１を含む線維化疾患の治療方法。

２８９．前記１００に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、特発性肺線維症の治療方法

２９０．前記１０１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、好中球性喘息、慢性閉塞性肺疾患およびアルツハイマーから選ばれる少なくとも１の治療方法。

２９１．前記１０２に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、クローン病、関節リウマチおよび喘息から選ばれる少なくとも１の治療方法。

２９２．前記１０３に記載の抗体組成物の使多発性硬化症および視神経脊髄炎の少なくとも一方の治療方法。

２９３．前記１０４または１０５に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、全身性エリテマトーデスの治療方法。

２９４．前記１０６に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することから

なる、多発性硬化症の治療方法。

２９５．前記１０７に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、肝硬変の治療方法。

２９６．前記１０８に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、全身性エリテマトーデスの治療方法。

２９７．前記１０９に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、蕁麻疹、食物アレルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ）の治療方法。

２９８．前記１１０に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、蕁麻疹、食物アレルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ）の治療方法。

２９９．前記１１１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、多発性硬化症の治療方法。

３００．前記１１２に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、多発性硬化症、１型糖尿病および関節リウマチから選ばれる少なくとも１の治療方法。

３０１．前記１１３に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない関節リウマチ、移植および全身性エリテマトーデスから選ばれる少なくとも１の治療方法。

３０２．前記１１４に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない関節リウマチ、移植および全身性エリテマトーデスから選ばれる少なくとも１の治療方法。

３０３．前記１１５に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、喘息の治療方法。

３０４．前記１１６に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、全身性強皮症の治療方法。

３０５．前記１１７に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療方法。

３０６．前記１１８に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療方法。

３０７．前記１１９に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療方法。

３０８．前記１２０に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療方法。

３０９．前記１２１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、ＡＮＣＡ関連血管炎および全身性エリテマトーデスの少なくとも一方の治療方法。

３１０．前記１２２に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、Ｔ細胞依存的な免疫関連疾患の治療方法。

３１１．前記１２３に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、免疫関連疾患の治療方法。

３１２．前記１２４に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、乾癬性関節炎の治療方法。

３１３．前記１２５に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、シューグレン症候群および乾癬の少なくとも一方を含む自己免疫疾患の治療方法。

[0038] ３１４．第１の抗原がＣＤ６４であり、第２の抗原がＣＤ２０６、ＣＤ１６３およびＣＤ６８から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３１５．第１の抗原がＣＤ１６３であり、第２の抗原がＣＤ２０６またはＣＤ６８である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３１６．第１の抗原がＣＤ２０６であり、第２の抗原がＣＤ６８である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３１７．第１の抗原がＣＤ１４であり、第２の抗原がＣＤ４８、ＣＤ８４、

ＣＤ９７およびＣＤ３０５から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３１８．第１の抗原がＣＤ１５であり、第２の抗原がＣＤ４８、ＣＤ８４、ＣＤ９７およびＣＤ３０５から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３１９．第１の抗原がＣＤ３３であり、第２の抗原がＣＤ４８、ＣＤ８４、ＣＤ９７およびＣＤ３０５から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３２０．第１の抗原がＣＤ１１ｂであり、第２の抗原がＣＤ４８、ＣＤ８４、ＣＤ９７およびＣＤ３０５から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３２１．第１の抗原がＣＣＲ４であり、第２の抗原がＣＡＤＭ１、ＣＤ３０およびＣＤ７０から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３２２．第１の抗原がＣＤ３８であり、第２の抗原がＣＤ１３８またはＢＣＭＡである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３２３．第１の抗原がＢＣＭＡであり、第２の抗原がＣＤ５６またはＣＳ１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３２４．第１の抗原がＣＤ４０リガンドであり、第２の抗原がＣＤ３６、ＣＤ６２ＰおよびＣＤ６３から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３２５．第１の抗原がＴＩＭ－３であり、第２の抗原がＣＤ１２３、ＣＤ３３、ＣＤ４７、ＣＤ７０およびＣＬＥＣ１２Ａから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３２６．第１の抗原がＣＤ１２３であり、第２の抗原がＣＤ３３、ＣＤ４７、ＣＤ７０およびＣＬＥＣ１２Ａから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３２７．第１の抗原がＣＤ５であり、第２の抗原がＣＤ２３である、前記１

～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３２８．第１の抗原がＣＤ１０またはＣＤ５であり、第２の抗原がＣＤ２０である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３２９．第１の抗原がＣＤ４０であり、第２の抗原がＣＤ８０、ＣＤ８６、ＩＣＯＳリガンド、４－１ＢＢリガンド、ＯＸ４０リガンド、ＣＤ７０、ＧＩＴＲ、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ｂ７－ＤＣ、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ５、Ｂ７Ｈ６およびＢ７Ｈ７から選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３３０．第１の抗原がＰＴＰＲＳであり、第２の抗原がＩＬ－２１Ｒ、ＣＤ３８およびＣＤ３２ａから選ばれる１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３３１．第１の抗原がＯＸ４０であり、第２の抗原がＣＤ１２７またはＣＤ４０リガンドである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３３２．第１の抗原がＯＸ４０であり、第２の抗原がＣＤ８またはＮＫＧ２Ｄである、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３３３．第１の抗原がＯＸ４０であり、第２の抗原がＣＤ２２６である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３３４．第１の抗原がＯＸ４０であり、第２の抗原がＣＲＴＨ２である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３３５．第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＣＤ２、ＣＤ７およびＣＤ４５から選ばれるいずれか１である、前記１～８のいずれか１に記載の抗体組成物。

[0039] ３３６．前記３１４～３２０のいずれか１に記載の抗体組成物を含むがんの治療に用いるための医薬組成物。

３３７．前記３２１～３２８のいずれか１に記載の抗体組成物を含む白血病の治療に用いるための医薬組成物。

３３８．前記３２１～３２８のいずれか１に記載の抗体組成物を含むリンパ腫の治療に用いるための医薬組成物。

３３９．前記３２９に記載の抗体組成物を含む炎症性疾患の治療に用いるための医薬組成物。

３４０．前記３３１、３３４および３３５のいずれか１に記載の抗体組成物を含むアレルギー疾患の治療に用いるための医薬組成物。

３４１．前記３３２に記載の抗体組成物を含む尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

３４２．前記３３３に記載の抗体組成物を含む強皮症の治療に用いるための医薬組成物。

[0040] ３４３．がんの治療用医薬組成物の製造のための前記３１４～３２０のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

３４４．白血病の治療用医薬組成物の製造のための前記３２１～３２８のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

３４５．リンパ腫の治療用医薬組成物の製造のための前記３２１～３２８のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

３４６．炎症性疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記３２９に記載の抗体組成物の使用。

３４７．アレルギー疾患の治療用医薬組成物の製造のための前記３３１、３３４および３３５のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

３４８．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療用医薬組成物の製造のための前記３３２に記載の抗体組成物の使用。

３４９．強皮症の治療用医薬組成物の製造のための前記３３３に記載の抗体組成物の使用。

３５０．がんの治療のための前記３１４～３２０のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

３５１．白血病の治療のための前記３２１～３２８のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

３５２．リンパ腫の治療のための前記３２１～３２８のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

３５３．炎症性疾患の治療のための前記３２９に記載の抗体組成物の使用。

３５４．アレルギー疾患の治療のための前記３３１、３３４および３３５のいずれか１に記載の抗体組成物の使用。

３５５．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療のための前記３３２に記載の抗体組成物の使用。

３５６．強皮症の治療のための前記３３３に記載の抗体組成物の使用。

[0041] ３５７．がんの治療に使用するための前記３１４～３２０のいずれか１に記載の抗体組成物。

３５８．白血病の治療に使用するための前記３２１～３２８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３５９．リンパ腫の治療に使用するための前記３２１～３２８のいずれか１に記載の抗体組成物。

３６０．炎症性疾患の治療に使用するための前記３２９に記載の抗体組成物。

３６１．アレルギー疾患の治療に使用するための前記３３１、３３４および３３５のいずれか１に記載の抗体組成物。

３６２．尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療に使用するための前記３３２に記載の抗体組成物。

３６３．強皮症の治療に使用するための前記３３３に記載の抗体組成物。

[0042] ３６４．前記３１４～３２０のいずれか１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、がんの治療方法。

３６５．前記３２１～３２８のいずれか１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、白血病の治療方法。

３６６．前記３２１～３２８のいずれか１に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、リンパ腫の治療方法。

３６７．前記３２９に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、炎症性疾患の治療方法。

３６８．前記３３１、３３４および３３５のいずれか１に記載の抗体組成物

の有効量を対象に投与することからなる、アレルギー疾患の治療方法。

３６９．前記３３２に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療方法。

３７０．前記３３３に記載の抗体組成物の有効量を対象に投与することからなる、強皮症の治療方法。

[0043] ３７１．前記７７に記載の抗体組成物を含む関節リウマチの治療に用いるための医薬組成物。

３７２．前記７８に記載の抗体組成物を含むセリアック病の治療に用いるための医薬組成物。

３７３．前記７９に記載の抗体組成物を含む炎症性腸疾患の治療に用いるための医薬組成物。

３７４．前記８０に記載の抗体組成物を含む多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

３７５．前記８１に記載の抗体組成物を含む多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

３７６．前記８２に記載の抗体組成物を含むアレルギー疾患の治療に用いるための医薬組成物。

３７７．前記８３に記載の抗体組成物を含む原発性骨髄線維症の治療に用いるための医薬組成物。

３７８．前記８４に記載の抗体組成物を含む自己免疫疾患、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１の治療に用いるための医薬組成物。

３７９．前記８５に記載の抗体組成物を含む全身性エリテマトーデスの治療に用いるための医薬組成物。

３８０．前記８６に記載の抗体組成物を含むアレルギー疾患の治療に用いるための医薬組成物。

３８１．前記８７に記載の抗体組成物を含む乾癬の治療に用いるための医薬組成物。

３８２．前記８８に記載の抗体組成物を含むアレルギー疾患の治療に用いる

ための医薬組成物。

３８３．前記８９に記載の抗体組成物を含む喘息、好酸球性副鼻腔炎およびアトピー性皮膚炎から選ばれる少なくとも１の治療に用いるための医薬組成物。

３８４．前記９０に記載の抗体組成物を含む喘息および好酸球性副鼻腔炎の少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

３８５．前記９１に記載の抗体組成物を含むアレルギー疾患の治療に用いるための医薬組成物。

３８６．前記９２に記載の抗体組成物を含むランゲルハンス細胞組織球症（ＬＣＨ）の治療に用いるための医薬組成物。

３８７．前記９３に記載の抗体組成物を含む全身性エリテマトーデスの治療に用いるための医薬組成物。

３８８．前記９４に記載の抗体組成物を含む特発性肺線維症の治療に用いるための医薬組成物。

３８９．前記９５に記載の抗体組成物を含むがんの治療に用いるための医薬組成物。

３９０．前記９６または９７に記載の抗体組成物を含む全身性エリテマトーデスの治療に用いるための医薬組成物。

３９１．前記９８に記載の抗体組成物を含む自己免疫疾患、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１の治療に用いるための医薬組成物。

３９２．前記９９に記載の抗体組成物を含む特発性肺線維症、全身性硬化症および肝硬変から選ばれる少なくとも１を含む線維化疾患の治療に用いるための医薬組成物。

３９３．前記１００に記載の抗体組成物を含む特発性肺線維症の治療に用いるための医薬組成物。

３９４．前記１０１に記載の抗体組成物を含む好中球性喘息、慢性閉塞性肺疾患およびアルツハイマーから選ばれる少なくとも１の治療に用いるための医薬組成物。

３９５．前記１０２に記載の抗体組成物を含むクローン病、関節リウマチおよび喘息から選ばれる少なくとも１の治療に用いるための医薬組成物。

３９６．前記１０３に記載の抗体組成物を含む多発性硬化症および視神経脊髄炎の少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

３９７．前記１０４または１０５に記載の抗体組成物を含む全身性エリテマトーデスの治療に用いるための医薬組成物。

３９８．前記１０６に記載の抗体組成物を含む多発性硬化症の治療に用いるための医薬組成物。

３９９．前記１０７に記載の抗体組成物を含む肝硬変の治療に用いるための医薬組成物。

４００．前記１０８に記載の抗体組成物を含む全身性エリテマトーデスの治療に用いるための医薬組成物。

４０１．前記１０９に記載の抗体組成物を含む蕁麻疹、食物アレルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ）の治療に用いるための医薬組成物。

４０２．前記１１０に記載の抗体組成物を含む蕁麻疹、食物アレルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ）の治療に用いるための医薬組成物。

４０３．前記１１１に記載の抗体組成物を含む多発性硬化症の治療に用いるための医薬組成物。

４０４．前記１１２に記載の抗体組成物を含む多発性硬化症、１型糖尿病および関節リウマチから選ばれる少なくとも１の治療に用いるための医薬組成物。

４０５．前記１１３に記載の抗体組成物を含む二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない関節リウマチ、移植および全身性エリテマトーデスから選ばれる少なくとも１の治療に用いるための医薬組成物。

４０６．前記１１４に記載の抗体組成物を含む二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない関節リウマチ、移植および全身性エリ

テマトーデスから選ばれる少なくとも１の治療に用いるための医薬組成物。

４０７．前記１１５に記載の抗体組成物を含む喘息の治療に用いるための医薬組成物。

４０８．前記１１６に記載の抗体組成物を含む全身性強皮症の治療に用いるための医薬組成物。

４０９．前記１１７に記載の抗体組成物を含む尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

４１０．前記１１８に記載の抗体組成物を含む尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

４１１．前記１１９に記載の抗体組成物を含む尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

４１２．前記１２０に記載の抗体組成物を含む尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

４１３．前記１２１に記載の抗体組成物を含むＡＮＣＡ関連血管炎および全身性エリテマトーデスの少なくとも一方の治療に用いるための医薬組成物。

４１４．前記１２２に記載の抗体組成物を含むＴ細胞依存的な免疫関連疾患の治療に用いるための医薬組成物。

４１５．前記１２３に記載の抗体組成物を含む免疫関連疾患の治療に用いるための医薬組成物。

４１６．前記１２４に記載の抗体組成物を含む乾癬性関節炎の治療に用いるための医薬組成物。

４１７．前記１２５に記載の抗体組成物を含むシューグレン症候群および乾癬の少なくとも一方を含む自己免疫疾患の治療に用いるための医薬組成物。

発明の効果

[0044] 本発明の抗体組成物は、互いに異なる２種の抗原に対する抗原結合ドメインを有し、互いに異なるＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性が減弱している２種のＩｇＧ半量体である、第１及び第２のＩｇＧ半量体からなる。このことから、第１のＩｇＧ半量体同士、又は第２のＩｇＧ半量体同

士によりホモ会合体の抗体構造を構成しても、ＣＤ１６ａと結合することはできず、抗体の有する活性を発揮し得ない。一方、第１及び第２のＩｇＧ半量体によりヘテロ会合体の抗体構造が構成されると、第１のＩｇＧ半量体における第２のＣＤ１６ａ結合領域と、第２のＩｇＧ半量体における第１のＣＤ１６ａ結合領域とを介してＣＤ１６ａに対し結合可能となる。

[0045] また、第１及び第２のＩｇＧ半量体におけるヒンジドメインは、ジスルフィド結合が形成されないように改変されている。このことにより、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体との間において、Ｈ鎖間におけるジスルフィド結合が形成されない。したがって、第１及び第２のＩｇＧ半量体を混合した場合には、第１及び第２のＩｇＧ半量体を会合体又は半量体の平衡状態で存在させることが可能となる。このことにより、本発明の抗体組成物は、単陽性細胞と比較して、両陽性細胞に対してより特異的にエフェクター機能を発揮し傷害し得る。

[0046] さらに、本発明の抗体組成物は、第１及び第２のＩｇＧ半量体におけるＣＤ１６ａ結合領域やその他のＦｃ領域へ特定のアミノ酸改変が導入されている。このことにより、第１及び第２のＩｇＧ半量体により形成されたヘテロ会合体は、両陽性細胞に対する増強されたエフェクター機能及び／又は制御された体内動態を示す。

図面の簡単な説明

[0047] [図1]図１は、抗体、ＶＨＨ－Ｆｃ及びｓｃＦｖ－Ｆｃの構造を示す模式図である。

[図2A]図２Ａは、一般的なバイスペシフィック抗体の構造の模式図を示す。

[図2B]図２Ｂは、一般的なバイスペシフィック抗体による結合様式の模式図を示す。

[図3]図３は、本発明の抗体組成物による結合様式の一態様の模式図を示す。

[図4]図４は、本発明の抗体組成物の構造の一態様の模式図を示す。

[図5]図５は、通常のヒトＩｇＧとＣＤ１６ａとの結合様式の模式図を示す。

[図6]図６は、本発明の抗体組成物とＣＤ１６ａとの結合様式の模式図を示す

。

[図7]図７は、通常のヒトＩｇＧ１のフォーマット上におけるアミノ酸改変の候補部位を示す模式図である。

[図8]図８は、ＣＤ１６ａ結合領域を「破壊」したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６抗体のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図9]図９は、ＣＨ２－ＡとＣＨ２－Ｂのみにそれぞれ上記の改変を非対称に導入してＡＤＣＣ活性を評価するための一価抗体の模式図である。

[図10]図１０は、ＣＤ１６ａ結合非対称改変一価抗体のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図11]図１１は、実施例３で用いたＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｄ２６５Ａ（／Ｐ３２９Ｙ）型のＩｇＧ半量体の模式図である。

[図12]図１２は、抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体のＳＤＳ－ＰＡＧＥによる精製度を評価した結果である。

[図13]図１３は、ＣＤ４単陽性細胞、ＣＤ７０単陽性細胞、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞におけるＣＤ４及びＣＤ７０の抗原発現を測定した結果である。

[図14]図１４は、ＣＤ４単陽性細胞、ＣＤ７０単陽性細胞、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞に対する抗ＣＤ４　ＩｇＧ１及び抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１及び半量体のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図15A]図１５Ａは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図15B]図１５Ｂは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図15C]図１５Ｃは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図15D]図１５Ｄは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図15E]図１５Ｅは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図15F]図１５Ｆは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図15G]図１５Ｇは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図15H]図１５Ｈは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体、抗ＣＤ４　ＩｇＧ１又は抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図16A]図１６Ａは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。各グラフの上にそれぞれ添加した半量体のＣＨ３ドメインに導入したアミノ酸改変名を示す。

[図16B]図１６Ｂは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体、抗ＣＤ４　ＩｇＧ１又は抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。各グラフの上にそれぞれ添加した抗体の略称（半量体はＣＨ３ドメインに導入したアミノ酸改変名）を示す。

[図17]図１７は、抗ＤＮＰ抗体（野生型）又は各半量体の混合物１ｍｇ／ｋｇをマウスに投与した際の、血清中抗体濃度推移を表す図である。

[図18A]図１８Ａは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７

０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体添加時の免疫グロブリン添加系におけるＡＤＣＣ活性を示す図である。各グラフの上にそれぞれ添加した半量体の略称として、ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変名を示す。

[図18B]図１８Ｂは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体添加時の免疫グロブリン添加系におけるＡＤＣＣ活性を示す図である。各グラフの上にそれぞれ添加した半量体の略称として、ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変名を示す。

[図18C]図１８Ｃは、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する半量体、抗ＣＤ４　ＩｇＧ１又は抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１添加時の免疫グロブリン添加系におけるＡＤＣＣ活性を示す図である。各グラフの上にそれぞれ添加した抗体の略称（半量体はＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変名）を示す。

[図19A]図１９Ａはヒト血液再構成系における、各半量体のＡＤＣＣ活性（細胞生存率）を示す図である。横軸は添加した抗体の濃度（半量体は混合物の合計濃度）、縦軸は抗体非添加時の全ＣＤ３陽性Ｔ細胞もしくは全リンパ球中の、各標的細胞（グラフ上部に記載）の存在比率（％）を示す。

[図19B]図１９Ｂはヒト血液再構成系における、各半量体のＡＤＣＣ活性（細胞生存率）を示す図である。横軸は添加した抗体の濃度（半量体は混合物の合計濃度）、縦軸は抗体非添加時の全ＣＤ３陽性Ｔ細胞もしくは全リンパ球中の、各標的細胞（グラフ上部に記載）の存在比率（％）を示す。

[図20]図２０は、ＣＤ４／ＣＣＲ４両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＣＲ４単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ－４）に対する各半量体、抗ＣＤ４　ＩｇＧ１又は抗ＣＣＲ４　ＩｇＧ１添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図21]図２１は、ＣＤ４／ＣＣＲ４両陽性細胞（ＨＨ）、ＣＣＲ４単陽性細

胞（Ｌ４２８）、ＣＤ４単陽性細胞（ＴＡＬＬ１）に対する各半量体、抗ＣＤ４　ＩｇＧ１又は抗ＣＣＲ４　ＩｇＧ１添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図22]図２２は、ＣＣＲ４／ＣＤ７０両陽性細胞（Ｌ４２８）、ＣＣＲ４単陽性細胞（ＰＥＥＲ）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＳＵＰ－Ｍ２）に対する各半量体、抗ＣＣＲ４　ＩｇＧ１又は抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１添加時のＡＤＣＣ活性を示す図である。

[図23]図２３は、各半量体、抗ＤＮＰ抗体のＣＤ１６aへの結合活性について示す図である。

発明を実施するための形態

[0048] １．抗体組成物の構造

本発明において抗体分子はイムノグロブリン（以下、Ｉｇと表記する）とも称され、ヒト抗体は、分子構造の違いに応じて、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４及びＩｇＭのアイソタイプに分類される。アミノ酸配列の相同性が比較的高いＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３及びＩｇＧ４を総称してＩｇＧともいう。

[0049] 抗体分子は重鎖（ｈｅａｖｙ　ｃｈａｉｎ、以下Ｈ鎖と記す）及び軽鎖（ｌｉｇｈｔ　ｃｈａｉｎ、以下Ｌ鎖と記す）と呼ばれるポリペプチドより構成される。抗体は２つのＨ鎖及び２つのＬ鎖からなる４量体タンパク質である。

[0050] また、Ｈ鎖はＮ末端側よりＨ鎖可変領域（ＶＨとも表記される）、Ｈ鎖定常領域（ＣＨとも表記される）、Ｌ鎖はＮ末端側よりＬ鎖可変領域（ＶＬとも表記される）、Ｌ鎖定常領域（ＣＬとも表記される）の各領域により、それぞれ構成される。ＣＨは各サブクラスにおいて、α、δ、ε、γ及びμ鎖がそれぞれ知られている。ＣＬは、λ及びκが知られている。

[0051] ドメインとは、抗体分子の各ポリペプチドを構成する機能的な構造単位をいう。また、本発明におけるＦｃ領域（Ｆｃ）とは、ヒンジドメイン、ＣＨ２ドメイン及びＣＨ３ドメインから成るＨ鎖定常領域の部分配列及び部分構

造を指す。

[0052] ＣＨは、Ｎ末端側よりＣＨ１ドメイン、ヒンジドメイン、ＣＨ２ドメイン及びＣＨ３ドメインの各ドメインにより構成される。本発明におけるＣＨ１ドメイン、ヒンジドメイン、ＣＨ２ドメイン、ＣＨ３ドメイン及びＦｃは、ＥＵインデックス［Kabat et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,US Dept.Health and Human Services(1991)］により、Ｎ末端からのアミノ酸残基の番号で特定できる。

[0053] 具体的には、ＣＨ１はＥＵインデックス１１８～２１５位のアミノ酸配列、ヒンジはＥＵインデックス２１６～２３０位のアミノ酸配列、ＣＨ２はＥＵインデックス２３１～３４０位のアミノ酸配列、ＣＨ３はＥＵインデックス３４１～４４７位のアミノ酸配列とそれぞれ特定される。

[0054] 本発明におけるＩｇＧとしては、少なくとも抗原結合ドメイン及びＦｃを有する、ＩｇＧに機能が類似する人工的な亜種の改変分子をも含む。具体的には、ＩｇＧのアミノ酸残基が置換、欠失もしくは付加、または修飾された改変分子、さらにはポリペプチドやドメインの付加体等を含む。また、ＩｇＧのＶＨ、ＶＬ、あるいはＦａｂからなる抗原結合部位の一部もしくは全部を、他の抗原結合ドメインに置き換えたものも含む。具体的には、図１に示されるｓｉｎｇｌｅ－ｃｈａｉｎ Ｆｖ（ｓｃＦｖ）－Ｆｃ、ｖａｒｉａｂｌｅ ｄｏｍａｉｎ ｏｆ ｈｅａｖｙ ｃｈａｉｎ ｏｆ ｈｅａｖｙ ｃｈａｉｎ ａｎｔｉｂｏｄｙ（ＶＨＨ）－Ｆｃなども含む（Brinkmann U et al., MABS 2017, 9: 182-212; Fernandes CFC et al., Frontiers in Immunology 2017, 8: 653）。

[0055] 本発明において抗体としては、ハイブリドーマから取得されるモノクローナル抗体の他に、遺伝子組換え技術により作製された遺伝子組換え抗体も含まれる。遺伝子組換え抗体としては、ヒト抗体定常領域を非ヒト抗体可変領域に結合させたキメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体産生動物など用いて作製されるヒト抗体が包含される。

[0056] キメラ抗体は、モノクローナル抗体を生産する非ヒト動物細胞由来のハイ

ブリドーマより、ＶＨ及びＶＬをコードするｃＤＮＡを取得し、ヒト抗体のＣＨ及びＣＬをコードするＤＮＡを有する動物細胞用発現ベクターにそれぞれ挿入してヒト型キメラ抗体発現ベクターを構築し、動物細胞へ導入することにより発現させ、製造できる。

[0057] ヒト化抗体とは、非ヒト抗体可変領域のＨ鎖及びＬ鎖の相補性決定領域（ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔａｒｉｔｙ ｄｅｔｅｒｍｉｎｉｎｇ ｒｅｇｉｏｎ、以下、ＣＤＲと略記する）をヒト抗体可変領域のフレームワーク領域（以下、ＦＲと略記する）に挿入することで作製される抗体をいう。

[0058] ヒト化抗体（又は、ＣＤＲ移植抗体）は、次の方法により製造できる。非ヒト動物抗体のＶＨのＣＤＲのアミノ酸配列と任意のヒト抗体のＶＨのＦＲのアミノ酸配列からなるＶＨのアミノ酸配列をコードするｃＤＮＡと、非ヒト動物抗体のＶＬのＣＤＲのアミノ酸配列と任意のヒト抗体のＶＬのＦＲのアミノ酸配列からなるＶＬのアミノ酸配列をコードするｃＤＮＡを構築する。ヒト抗体のＣＨ及びＣＬをコードするＤＮＡを有する動物細胞用発現ベクターにこれらのｃＤＮＡをそれぞれ挿入してヒト化抗体発現ベクターを構築し、動物細胞へ導入することにより発現させることによりヒト化抗体を製造できる。

[0059] ヒト抗体は、元来、ヒト体内に天然に存在し得る抗体又はヒト遺伝子によってコードされるアミノ酸配列からなる抗体をいうが、最近の遺伝子工学的、細胞工学的、発生工学的な技術の進歩により作製されたヒト抗体ファージライブラリー、不死化ヒト末梢血リンパ球のクローニング又はヒト抗体産生トランスジェニック動物から得られる抗体等も含まれる。

[0060] ヒト抗体は、ヒトイムノグロブリン遺伝子を保持するマウス（Tomizuka K. et al., Proc Natl Acad Sci USA.97,722-7,2000）に所望の抗原を免疫することにより、取得することが出来る。また、ヒト由来のＢ細胞から抗体遺伝子を増幅したｐｈａｇｅ ｄｉｓｐｌａｙライブラリーを用いることにより、所望の結合活性を有するヒト抗体を選択することで、免疫を行わずにヒト抗体を取得できる（Winter G. et al., Annu Rev Immunol. 12: 433-55. 199

4）。

[0061] さらに、ＥＢウイルスを用いてヒトＢ細胞を不死化することにより、所望の結合活性を有するヒト抗体を生産する細胞を作製し、ヒト抗体を取得できる（Rosen A. et al., Nature 267, 52-54. 1977）。

[0062] ヒト体内に存在する抗体は、例えば、ヒト末梢血から単離したリンパ球を、ＥＢウイルス等を感染させることによって不死化した後、クローニングすることにより、該抗体を産生するリンパ球を培養でき、培養物中より該抗体を精製できる。

[0063] ヒト抗体ファージライブラリーは、ヒトＢ細胞から調製した抗体遺伝子をファージ遺伝子に挿入することにより、Ｆａｂ又はｓｃＦｖ等の抗体断片を表面に発現させたファージのライブラリーである。該ライブラリーより、抗原を固定化した基質に対する結合活性を指標として所望の抗原結合活性を有する抗体断片を発現しているファージを回収できる。該抗体断片は、更に遺伝子工学的手法により、２本の完全なＨ鎖及び２本の完全なＬ鎖からなるヒト抗体分子へも変換できる。

[0064] ヒト抗体産生トランスジェニック動物は、ヒト抗体遺伝子が宿主動物の染色体内に組込まれた動物をいう。具体的には、マウスＥＳ細胞へヒト抗体遺伝子を導入し、該ＥＳ細胞を他のマウスの初期胚へ移植後、発生させることによりヒト抗体産生トランスジェニック動物を作製できる。

[0065] ヒト抗体産生トランスジェニック動物からのヒト抗体の作製方法は、通常のヒト以外の哺乳動物で行われているハイブリドーマ作製方法によりヒト抗体産生ハイブリドーマを取得し、培養することで培養物中にヒト抗体を産生蓄積させることができる。

[0066] ＶＨ及びＶＬのアミノ酸配列としては、ヒト抗体のＶＨ及びＶＬのアミノ酸配列、非ヒト動物抗体のＶＨ及びＶＬのアミノ酸配列、非ヒト動物抗体のＣＤＲを、ヒト抗体のフレームワークに移植したヒト化抗体のアミノ酸配列並びにヒト抗体由来のＶＨ及びＶＬのアミノ酸配列のいずれでもよい。

[0067] 具体的には、ハイブリドーマ又は抗体産生細胞が産生する非ヒト動物抗体

、ヒト化抗体及びヒト抗体のＶＨ及びＶＬのアミノ酸配列などが挙げられる。

[0068] ＣＬのアミノ酸配列としては、ヒト抗体のアミノ酸配列又は非ヒト動物抗体のアミノ酸配列のいずれでもよいが、ヒト抗体のＣκ又はＣλのアミノ酸配列が好ましい。

[0069] ＣＨとしては、イムノグロブリンに属すればいかなるものでもよいが、好ましくはヒトＩｇＧクラスに属するサブクラス、γ１（ＩｇＧ１）、γ２（ＩｇＧ２）、γ３（ＩｇＧ３）、γ４（ＩｇＧ４）のいずれも用いることができる。

[0070] 「抗原結合ドメイン」としては、抗体、リガンド及び受容体など既知の結合分子の結合ドメインを利用して組換えた結合タンパク質でもよく、具体的には各抗原に結合する抗体のＣＤＲを含む組換えタンパク質、ＣＤＲを含む抗体可変領域、抗体可変領域及び各抗原に結合するリガンドの結合ドメインを含む組換えタンパク質などが挙げられる。なかでも、本発明においては、抗原結合ドメインは抗体可変領域であることが好ましい。

[0071] 本発明の抗体組成物は、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体とからなる、互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物であって、以下の１）～６）の性質を有する。

１）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、１つのＬ鎖及び１つのＨ鎖からなり、Ｈ鎖はＨ鎖可変領域、ヒンジドメイン、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインを含み、ＣＨ２ドメインにおいて互いに異なる第１及び第２のＣＤ１６ａ結合領域を有する。

２）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体のヒンジドメインには、それぞれ、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体との間において、Ｈ鎖間におけるジスルフィド結合を形成させないための一部又は全体の置換もしくは欠失、または修飾の改変を含む。

３）第１のＩｇＧ半量体は、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる

改変を含む。

４）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変を含む。

５）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＣＤ１６ａ結合活性を増強させる改変を含む。

６）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体のうち少なくとも一方は、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変を含む。

[0072] 「互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物」とは、第１の抗原に対するＩｇＧ半量体及び第２の抗原に対するＩｇＧ半量体を含む組成物を示す。

[0073] 本発明の抗体組成物におけるＩｇＧ半量体の取り得る態様としては、例えばモノマーの半量体及び半量体からなる会合体が挙げられる。半量体としては、例えば、第１のＩｇＧ半量体、第２のＩｇＧ半量体が挙げられる。会合体としては、例えば、第１のＩｇＧ半量体の会合体、第２のＩｇＧ半量体の会合体、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体との会合体が挙げられる。具体的には抗体組成物に含まれる第１及び第２の半量体が、第１の半量体からなる会合体及び第２の半量体とからなる会合体と、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体とからなる会合体との平衡状態にあってもよい。

[0074] 本発明の「互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物」は、同一抗原中の第１の抗原決定基（エピトープ）に対するＩｇＧ半量体及び第２の抗原決定基（エピトープ）に対するＩｇＧ半量体を含む抗体組成物をも包含する。

[0075] 「ＩｇＧ半量体」とは、１つのＬ鎖及び１つのＨ鎖からなる２量体タンパク質であり、Ｈ鎖は、Ｈ鎖可変領域、ＣＨ１～ＣＨ３ドメイン及びヒンジドメインを含む。ＩｇＧ半量体のＨ鎖のＣＨ２ドメインには、互いに異なる２箇所のＣＤ１６ａ結合領域（第１及び第２のＣＤ１６ａ結合領域）が存する

。

[0076] また、「ＩｇＧ半量体」とは、抗原結合ドメイン及びＦｃを有する、ＩｇＧに機能が類似する人工的な亜種の改変分子の半量体をも含む。具体的には、ＩｇＧのアミノ酸の置換、欠失もしくは付加、または修飾された改変分子の半量体、さらにはポリペプチドやドメインの付加体の半量体などを含む。また、ＩｇＧのＶＨ、ＶＬ、あるいはＦａｂからなる抗原結合部位の一部もしくは全部を、他の抗原結合ドメインに置き換えたものの半量体、具体的には、図１に示されるｓｉｎｇｌｅ－ｃｈａｉｎ　Ｆｖ（ｓｃＦｖ）－Ｆｃ、ＶＨＨ－Ｆｃなどの半量体も含む。

[0077] 「ＣＤ１６ａ結合領域」とは、ＩｇＧのＦｃに存在するＣＤ１６ａと結合する領域をいう。ＩｇＧ１のＦｃ上におけるＣＤ１６ａ結合領域はＦｃの構造の点対称性より二箇所存在し、Ｆｃを構成する二本のポリペプチド鎖から構成されるＣＨ２ドメインにおいてそれぞれ異なる領域でＣＤ１６ａと接している（図５参照）。

[0078] 第１のＣＤ１６ａ結合領域としては、ＥＵインデックスで表される２３５位、２３６位、２３７位、２３８位、２３９位、２６５位、２６６位、２６７位、２６８位、２６９位、２９４位、２９５位、２９６位、２９７位、２９８位、２９９位、３０１位、３２５位、３２７位及び３３２位のアミノ酸残基から選ばれる少なくとも１を含む領域が挙げられる。

[0079] ＣＨ２ドメインのイムノグロブリンサブクラスがＩｇＧ１である場合、第１のＣＤ１６ａ結合領域としては、ＥＵインデックスで表される２３５位のＬｅｕ、２３６位のＧｌｙ、２３７位のＧｌｙ、２３８位のＰｒｏ、２３９位のＳｅｒ、２６５位のＡｓｐ、２６６位のＶａｌ、２６７位のＳｅｒ、２６８位のＨｉｓ、２６９位のＧｌｕ、２９４位のＧｌｕ、２９５位のＧｌｎ、２９６位のＴｙｒ、２９７位のＡｓｎ、２９８位のＳｅｒ、２９９のＴｈｒ、３０１位のＡｒｇ、３２５位のＡｓｎ、３２７位のＡｌａ及び３３２位のＩｌｅのアミノ酸残基から選ばれる少なくとも１を含む領域が挙げられる。

。

[0080] 第２のＣＤ１６ａ結合領域としては、ＥＵインデックスで表される２３５位、２３６位、２３７位、３２６位、３２７位、３２８位、３２９位及び３３０位のアミノ酸残基から選ばれる少なくとも１を含む領域が挙げられる。

[0081] ＣＨ２ドメインのイムノグロブリンサブクラスがＩｇＧ１である場合、第２のＣＤ１６ａ結合領域としては、ＥＵインデックスで表される２３５位のＬｅｕ、２３６位のＧｌｙ、２３７位のＧｌｙ、３２６位のＬｙｓ、３２７位のＡｌａ、３２８位のＬｅｕ、３２９位のＰｒｏ及び３３０位のＡｌａのアミノ酸残基から選ばれる少なくとも１を含む領域が挙げられる。

[0082] 「ＣＤ１６ａ結合活性」とは、ＩｇＧのＦｃがＣＤ１６ａに結合する活性をいう。ＩｇＧ半量体のＣＤ１６ａ結合活性は、２分子のＩｇＧ半量体を組み合わせてＩｇＧを構成させた後、遺伝子組換えＣＤ１６ａタンパク質と反応させて、結合活性を測定することで確認できる（米国特許出願公開第２００４／０２５９１５０号明細書）。

[0083] ＩｇＧ半量体のＣＤ１６ａ結合活性の測定方法の一態様としては、例えば、細胞膜上に発現しているＣＤ１６ａに対する結合活性は、蛍光抗体法（Cancer Immunol.Immunother.,36,373,1993）などにより測定できる。また、例えば、精製したＣＤ１６ａタンパク質に対する結合活性は、文献［Monoclonal Antibodies: Principles and Applications,Wiley-Liss,Inc.,1995;酵素免疫測定法，第３版，医学書院（１９８７）；改訂版，酵素抗体法，学際企画（１９８５）］等に記載のウエスタン染色、ＲＩＡ（Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、ＶＩＡ（Ｖｉｒｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、ＥＩＡ（Ｅｎｚｙｍｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、ＦＩＡ（Ｆｌｕｏｒｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、ＭＩＡ（Ｍｅｔａｌｌｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）などの免疫学的定量方法に準じて実施できる。

[0084] 具体的には例えば、精製したＣＤ１６ａタンパク質に対する結合活性をＥＩＡにより定量する場合、次のように実施できる。ＥＩＡ用のプラスティックプレートにＦｃγＲＩＩＩａを固定化し、抗体組成物を含む試料と反応させる。次に、適当な二次抗体を用いて結合した抗体組成物の量を測定する。

[0085] 精製したＣＤ１６ａタンパク質に対する結合活性は、バイオセンサー［例えば、ＢＩＡｃｏｒｅ（ＢＩＡＣＯＲＥ社製）］を用いた測定［J. Immunol. Methods, 200, 121 (1997)］やＩｓｏｔｈｅｒｍａｌ　Ｔｉｔｒａｔｉｏｎ　Ｃａｌｏｒｉｍｅｔｒｙ法［Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 97, 9026 (2000)］等によっても測定できる。

[0086] また、ＩｇＧ半量体のＣＤ１６ａ結合活性は、ＩｇＧ半量体のＦｃにおいて後述するエフェクター機能（ＡＤＣＣ活性等）を備えさせ、該ＩｇＧ半量体を２分子組み合わせたＩｇＧを構成し、該ＩｇＧのエフェクター機能を測定することで確認することもできる。

[0087] 「エフェクター機能」とは、抗体のＦｃを介して引き起こされる抗体依存性の機能をいう。エフェクター機能としては、例えば、ＡＤＣＣ活性、ＣＤＣ活性、又はマクロファージ若しくは樹状細胞などの食細胞による抗体依存性ファゴサイトーシス（Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ｄｅｐｅｎｄｅｎｔ　Ｃｅｌｌｕｌａｒ　Ｐｈａｇｏｃｙｔｏｓｉｓ　ａｃｔｉｖｉｔｙ；ＡＤＣＰ活性）が挙げられる。エフェクター機能の測定方法としては、例えば、ＡＤＣＣ活性及びＣＤＣ活性は、Cancer Immunol. Immunother., 36, 373 (1993)に記載の方法を用いて測定できる。

[0088] ＡＤＣＣ活性またはＣＤＣ活性の測定方法の一態様としては、例えば、次の方法が挙げられる。具体的に例えば、実施例において後述する方法が挙げられる。

１）エフェクター細胞としてヒト末梢血単核球（ＰＢＭＣ）あるいはヒトＣＤ１６ａを遺伝子導入して安定的に発現させた細胞株と、標的細胞とを培地（例えば、ＲＰＭＩ培地）を用いて調製する。ＣＤＣ活性測定の場合は、ヒト補体タンパク質を適当な濃度に希釈した溶液を標的細胞と混合して調整する。

２）細胞培養用容器（例えば、９６ｗｅｌｌ　ｐｌａｔｅ）に抗体溶液、標的細胞、エフェクター細胞を分注する。エフェクター細胞と標的細胞の数比（Ｅ/Ｔ比）は一定にする。

３）CO_2インキュベーターで２～６時間程度静置する。並行して１００％反応ウェルに可溶化溶液（例えば、酸、アルカリ、界面活性剤などを含む水溶液）を添加し、標的細胞を完全に溶解する。反応容器を遠心分離後、上清を採取しＥＬＩＳＡプレートに分注する。発色溶液をアプライして反応させた後、停止溶液を加え、プレートリーダーにて吸光度（Ａ４５０）を測定する。

４）以下の式を用いてＡＤＣＣ活性（％）又はＣＤＣ活性（％）を算出する。

[0089] ＡＤＣＣ活性（％）又はＣＤＣ活性（％）＝１００×（Ｓ－Ｅ－Ｔ）／（Ｍａｘ－Ｔ）

Ｓ＝サンプル反応ウェル吸光度－培地ウェル吸光度

Ｅ＝エフェクターウェル吸光度－培地ウェル吸光度

Ｔ＝標的ウェル吸光度－培地ウェル吸光度

Ｍａｘ＝１００％反応ウェル－１００％反応対照ウェル

[0090] なおＡＤＣＣ測定用キットとして、公知のキットを用いることができ、例えば、ＣｙｔｏＴｏｘ９６（Ｒ）Ｎｏｎ－Ｒａｄｉｏａｃｔｉｖｅ　Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃｉｔｙ　Ａｓｓａｙ（プロメガ）が挙げられる。

[0091] ＡＤＣＣ活性とは、標的細胞上の抗原に結合した抗体が、抗体のＦｃを介して免疫細胞のＦｃ受容体と結合することにより免疫細胞（ナチュラルキラー細胞など）を活性化し、標的細胞を傷害する活性をいう。

[0092] Ｆｃ受容体（以下、ＦｃＲと記すこともある）とは、抗体のＦｃに結合する受容体であり、抗体の結合によりさまざまなエフェクター機能を誘導する。

[0093] ＦｃＲは抗体のサブクラスに対応しており、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＡ、ＩｇＭはそれぞれＦｃγＲ、ＦｃεＲ、ＦｃαＲ、ＦｃμＲに特異的に結合する。更にＦｃγＲには、ＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）、ＦｃγＲＩＩ（ＣＤ３２）及びＦｃγＲＩＩＩ（ＣＤ１６）のサブタイプが存在し、それぞれＦｃγＲＩＡ、ＦｃγＲＩＢ、ＦｃγＲＩＣ、ＦｃγＲＩＩＡ、ＦｃγＲＩＩＢ、

ＦｃγＲＩＩＣ、ＦｃγＲＩＩＩＡ（ＣＤ１６ａ）、ＦｃγＲＩＩＩＢのアイソフォームが存在する。これらの異なるＦｃγＲは異なる細胞上に存在している［Annu. Rev. Immunol. 9: 457-492 (1991)］。

[0094] ヒトにおいては、ＦｃγＲＩＩＩＢは好中球に特異的に発現しており、ＦｃγＲＩＩＩＡは、単球、Ｎａｔｕｒａｌ　Ｋｉｌｌｅｒ細胞（ＮＫ細胞）及び一部のＴ細胞に発現している。ＦｃγＲＩＩＩＡを介した抗体の結合は、ＮＫ細胞依存的なＡＤＣＣを誘導する。

[0095] ＣＤＣ活性とは標的細胞上の抗原に結合した抗体が血液中の補体関連タンパク質群からなる一連のカスケード（補体活性化経路）を活性化し、標的細胞を傷害する活性をいう。また、補体の活性化により生じるタンパク質断片により免疫細胞の遊走、活性化を誘導できる。

[0096] ＣＤＣ活性のカスケードは、抗体のＦｃとの結合ドメインを有するＣ１ｑが、Ｆｃに結合し、２つのセリンプロテアーゼであるＣ１ｒ及びＣ１ｓと結合することでＣ１複合体を形成することで開始する。

[0097] 「ＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性が減弱している」とは、Ｆｃにおいて第１及び／又は第２のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変を加えたＩｇＧ半量体を２分子組み合わせたＩｇＧのＣＤ１６ａ結合活性及び／又はエフェクター機能（ＡＤＣＣ活性等）が、改変する前のＩｇＧ半量体を２分子組み合わせたＩｇＧのＣＤ１６ａ結合活性及び／又はエフェクター機能と比較して、減弱していることをいう。

[0098] ＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性が減弱している一態様としては、例えば、前記改変を加えたＩｇＧ半量体を２分子組み合わせたＩｇＧのＣＤ１６ａ結合活性が、前記改変前のＩｇＧ半量体を２分子組み合わせたＩｇＧのＣＤ１６ａ結合活性を１００％とした場合、好ましくは６０％以下、より好ましくは５０％以下、さらに好ましくは、以下順に、４０％以下、３０％以下、２０％以下、１０％以下であることが挙げられる。

[0099] ＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性が減弱している一態様としては、例えば、前記改変を加えたＩｇＧ半量体を２分子組み合わせたＩｇ

ＧのＡＤＣＣ活性が、前記改変前のＩｇＧ半量体を２分子組み合わせたＩｇＧのＡＤＣＣ活性を１００％とした場合、好ましくは８０％以下、より好ましくは７０％以下、さらに好ましくは、以下順に、６０％以下、５０％以下、４０％以下、３０％以下であることが挙げられる。

[0100] ＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性は、ＣＤ１６ａ結合領域における改変により減弱させる。本明細書中の「改変」は、野生型のアミノ酸配列からのアミノ酸残基の改変をさし、例えば、アミノ酸残基の置換、欠失もしくは付加、または修飾を意味する。本明細書においては、アミノ酸残基の置換をアミノ酸残基置換とも略す。本明細書におけるＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変は、本発明の抗体が結合する抗原の種類によって特に限定されず、本発明の効果を奏する限り、いずれの抗原結合ドメインを有する抗体をいずれの改変と組合せてもよい。

[0101] 第１のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変として、ＥＵインデックスで表される２３５位、２３６位、２３７位、２３８位、２３９位、２６５位、２６６位、２６７位、２６８位、２６９位、２９４位、２９５位、２９６位、２９７位、２９８位、２９９位、３０１位、３２５位、３２７位及び３３２位のアミノ酸残基から選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換が挙げられ、２３５位、２３８位、２３９位、２６５位、２６６位、２６７位、２６８位、２６９位、２９４位、２９５位、２９６位、２９７位、２９８位、２９９位、３０１位、３２５位、３２７位及び３３２位のアミノ酸残基から選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換が好ましく、２３５位、２３８位、２３９位、２６５位、２６７位、２６９位、２９６位、２９８位、２９９位及び３２７位のアミノ酸残基から選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換がより好ましい。アミノ酸残基置換の組合せとしては、例えば、２３８位及び２６５位の組合せ（以下、このような組合せを２３８位／２６５位等と表記する）、２３８位／２６７位、２６５位／２６７位、及び２３８位／２６５位／２６７位のアミノ酸残基の置換が挙げられる。

[0102] ＣＨ２ドメインのイムノグロブリンサブクラスがＩｇＧ１である場合、第１のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変としては、ＥＵインデックスで表される２３５位のＬｅｕ、２３６位のＧｌｙ、２３７位のＧｌｙ、２３８位のＰｒｏ、２３９位のＳｅｒ、２６５位のＡｓｐ、２６６位のＶａｌ、２６７位のＳｅｒ、２６８位のＨｉｓ、２６９位のＧｌｕ、２９４位のＧｌｕ、２９５位のＧｌｎ、２９６位のＴｙｒ、２９７位のＡｓｎ、２９８位のＳｅｒ、２９９位のＴｈｒ、３０１位のＡｒｇ、３２５位のＡｓｎ、３２７位のＡｌａ及び３３２位のＩｌｅから選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換が挙げられ、２３５位のＬｅｕ、２３８位のＰｒｏ、２３９位のＳｅｒ、２６５位のＡｓｐ、２６６位のＶａｌ、２６７位のＳｅｒ、２６８位のＨｉｓ、２６９位のＧｌｕ、２９４位のＧｌｕ、２９５位のＧｌｎ、２９６位のＴｙｒ、２９７位のＡｓｎ、２９８位のＳｅｒ、２９９位のＴｈｒ、３０１位のＡｒｇ、３２５位のＡｓｎ、３２７位のＡｌａ及び３３２位のＩｌｅから選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換が好ましく、２３５位のＬｅｕ、２３８位のＰｒｏ、２３９位のＳｅｒ、２６５位のＡｓｐ、２６７位のＳｅｒ、２６９位のＧｌｕ、２９６位のＴｙｒ、２９８位のＳｅｒ、２９９位のＴｈｒ及び３２７位のＡｌａから選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換がより好ましい。具体的には例えば、Ｌ２３５Ｒ、Ｐ２３８Ａ、Ｓ２３９Ｒ、Ｄ２６５Ａ、Ｄ２６５Ｎ、Ｄ２６５Ｅ、Ｓ２６７Ｌ、Ｓ２６７Ｋ、Ｅ２６９Ｐ、Ｙ２９６Ｐ、Ｓ２９８Ｅ、Ｔ２９９Ａ及びＡ３２７Ｉから選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基置換が挙げられる。

[0103] 第２のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変として、ＥＵインデックスで表される２３５位、２３６位、２３７位、３２６位、３２７位、３２８位、３２９位及び３３０位のアミノ酸残基から選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換が挙げられ、３２６位、３２８位、３２９位、３３０位のアミノ酸残基から選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換が好ましく、３２６位、３２８位及び３２９位のアミノ酸残基から

選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換がより好ましい。アミノ酸残基置換の組合せとしては、例えば、３２６位／３２８位、３２６位／３２９位、３２８位／３２９位、３２６位／３２８位／３２９位のアミノ酸残基の置換が挙げられる。

[0104] ＣＨ２ドメインのイムノグロブリンサブクラスがＩｇＧ１である場合、第２のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変としては、ＥＵインデックスで表される２３５位のＬｅｕ、２３６位のＧｌｙ、２３７位のＧｌｙ、３２６位のＬｙｓ、３２７位のＡｌａ、３２８位のＬｅｕ、３２９位のＰｒｏ及び３３０位のＡｌａから選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換が挙げられ、３２６位のＬｙｓ、３２８位のＬｅｕ、３２９位のＰｒｏ及び３３０位のＡｌａから選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換が好ましく、３２６位のＬｙｓ、３２８位のＬｅｕ及び３２９位のＰｒｏから選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基の置換がより好ましい。具体的には、Ｋ３２６Ｗ、Ｋ３２６Ｇ、Ｌ３２８Ｖ、Ｌ３２８Ｒ、Ｐ３２９Ｙ、Ｐ３２９Ｋ、Ｐ３２９Ｗ及びＡ３３０Ｐから選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基置換が挙げられる。

[0105] 第１のＩｇＧ半量体のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変と、第２のＩｇＧ半量体のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変との組合せは、非対称な改変となる限り特に制限されず、適宜上記の改変を組み合わせることができる。具体的には、下記アミノ酸残基の置換の組合せが挙げられる。

・第１のＩｇＧ半量体における２６５位、及び第２のＩｇＧ半量体における３２９位のアミノ酸残基置換

・第１のＩｇＧ半量体における３２９位、及び第２のＩｇＧ半量体における２６５位のアミノ酸残基置換

・第１のＩｇＧ半量体における２３８位／２６７位、及び第２のＩｇＧ半量体における３２９位のアミノ酸残基置換

・第１のＩｇＧ半量体における３２９位、及び第２のＩｇＧ半量体における

２３８位／２６７位のアミノ酸残基置換

[0106] 第１のＩｇＧ半量体のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変（第１の改変）と、第２のＩｇＧ半量体のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変（第２の改変）との組合せは、以下の表１に記載する組合せが好ましく、第１の改変と第２の改変がＳ２６７ＫとＰ３２９Ｙ、Ｙ２９６ＰとＰ３２９Ｙ、Ｓ２９８ＥとＰ３２９Ｙ、Ｄ２６５ＡとＰ３２９ＹまたはＳ２３９ＲとＰ３２９Ｙとなる組合せがより好ましい。

[0107] [表1]

第１の改変	第２の改変
D265A	P329Y
P238A/S267L	P329Y
S239R	K326G
S239R	L328R
D265A	L328R
D265E	L328R
S267K	L328R
E269P	L328R
Y296P	L328R
S298E	L328R
T299A	L328R
S239R	P329Y
D265E	P329Y
S267K	P329Y
Y296P	P329Y
S298E	P329Y
T299A	P329Y
L235R	P329Y
A327I	P329Y
S239R	P329K
D265A	P329K
D265E	P329K
S267K	P329K

第１の改変	第２の改変
Y296P	P329K
S298E	P329K
T299A	P329K
S239R	P329W
D265A	P329W
D265N	P329W
D265E	P329W
S267K	P329W
E269P	P329W
Y296P	P329W
S298E	P329W
T299A	P329W
L235R	P329W
A327I	P329W
S239R	A330P
D265A	A330P
D265E	A330P
S267K	A330P
E269P	A330P
Y296P	A330P
S298E	A330P
T299A	A330P
L235R	A330P
A327I	A330P

[0108] 上記した置換後のアミノ酸残基は相互に置換可能なアミノ酸としてもよい。以下に、相互に置換可能なアミノ酸の例を示す。同一群に含まれるアミノ酸は相互に置換可能である。

Ａ群：ロイシン、イソロイシン、ノルロイシン、バリン、ノルバリン、アラニン、２－アミノブタン酸、メチオニン、Ｏ－メチルセリン、ｔ－ブチルグリシン、ｔ－ブチルアラニン、シクロヘキシルアラニン

Ｂ群：アスパラギン酸、グルタミン酸、イソアスパラギン酸、イソグルタミン酸、２－アミノアジピン酸、２－アミノスベリン酸

Ｃ群：アスパラギン、グルタミン

Ｄ群：リジン、アルギニン、オルニチン、２，４－ジアミノブタン酸、２，３－ジアミノプロピオン酸

Ｅ群：プロリン、３－ヒドロキシプロリン、４－ヒドロキシプロリン

Ｆ群：セリン、スレオニン、ホモセリン

Ｇ群：フェニルアラニン、チロシン

[0109] 上記置換されるアミノ酸は天然型と非天然型とを問わない。天然型アミノ酸としては、Ｌ－アラニン、Ｌ－アスパラギン、Ｌ－アスパラギン酸、Ｌ－グルタミン、Ｌ－グルタミン酸、グリシン、Ｌ－ヒスチジン、Ｌ－イソロイシン、Ｌ－ロイシン、Ｌ－リジン、Ｌ－アルギニン、Ｌ－メチオニン、Ｌ－フェニルアラニン、Ｌ－プロリン、Ｌ－セリン、Ｌ－スレオニン、Ｌ－トリプトファン、Ｌ－チロシン、Ｌ－バリン、Ｌ－システインなどが挙げられる。非天然型アミノ酸としては、アミノ基とカルボキシル基を有する種々のアミノ酸が挙げられるが、好ましくは各種天然型アミノ酸の誘導体が望ましい。多くの非天然型アミノ酸は、各試薬会社（Sigma-Aldrich社、TCI社等）より入手できる。非天然型アミノ酸については、文献（Chem.Today 2003, 65.；Curr Opin Chem Biol. 2000, 6, 645.）に多くの開示がある。

[0110] 第１のＩｇＧ半量体においては第１のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性が改変により減弱しており、且つ第２のＩｇＧ半量体においては第２のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性が改変により減弱

している。このことから、第１のＩｇＧ半量体同士、又は第２のＩｇＧ半量体同士によりホモ会合体の抗体構造を構成しても、ＣＤ１６ａと結合することはできず、抗体の有する活性を発揮し得ない。

[0111] 一方、第１及び第２のＩｇＧ半量体によりヘテロ会合体の抗体構造が構成されると、第１のＩｇＧ半量体における第２のＣＤ１６ａ結合領域と、第２のＩｇＧ半量体における第１のＣＤ１６ａ結合領域とを介してＣＤ１６ａに結合可能となる（図５参照）。

[0112] 第１及び第２のＩｇＧ半量体は互いに異なる抗原結合ドメインを有する。したがって、第１及び第２のＩｇＧ半量体からなるヘテロ会合体の抗体構造を構成することにより、互いに異なる２種の抗原を同一細胞上に発現している標的細胞に対して結合した場合にのみ、ＣＤ１６ａが結合しＡＤＣＣ活性等のエフェクター機能を特異的に発揮し得る抗体組成物となる。

[0113] 第１及び第２のＩｇＧ半量体のそれぞれにおけるヒンジドメインが、一部又は全部の置換もしくは欠失、または修飾によりジスルフィド結合が形成されないように改変されている。これにより、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体との間において、Ｈ鎖間におけるジスルフィド結合が形成されない。

[0114] したがって、第１及び第２のＩｇＧ半量体の併存により、第１及び第２のＩｇＧ半量体を会合体又は半量体の平衡状態で存在させることが可能となり、両陽性細胞に対する高い特異性を発揮し得る。

[0115] これにより、本発明の抗体組成物は、第１の抗原のみを発現する標的細胞と第２の抗原のみを発現する標的細胞に対するエフェクター機能と比較して、第１の抗原及び第２の抗原を共発現する標的細胞に対して特異的にエフェクター機能を発揮して傷害し得る。

[0116] 本発明において、「第１の抗原のみを発現する標的細胞と第２の抗原のみを発現する標的細胞に対するエフェクター機能と比較して、第１の抗原及び第２の抗原を共発現する標的細胞に対して特異的にエフェクター機能を発揮する」とは、第１の抗原のみを発現する標的細胞及び第２の抗原のみを発現

する標的細胞（単陽性細胞）へのエフェクター機能と比較して、第１の抗原及び第２の抗原を共発現する標的細胞（両陽性細胞）へのエフェクター機能が強いことをいう。

[0117] 単陽性細胞と比較して、両陽性細胞に対して特異的なエフェクター機能を示すことは、［１］両陽性細胞に対する高い特異性及び［２］増強されたエフェクター機能の項にて説明する方法により評価できる。

[0118] 第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体との間において、Ｈ鎖間におけるジスルフィド結合を形成させないための、ヒンジドメインにおける一部の置換としては、例えば、ＥＵインデックスで表される２２６位及び２２９位のアミノ酸残基置換が挙げられる。あるいは該システイン部位を含むヒンジ領域の一部もしくは全部の欠損が挙げられる。第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体との間においてＨ鎖間におけるジスルフィド結合を形成させないための、ヒンジドメインにおける一部の置換としては、具体的には例えば、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換が好ましい。

[0119] 上記の平衡状態で存在させるためには、第１及び第２のＩｇＧ半量体におけるＨ鎖間の非共有結合性の相互作用が減弱していることが有効であり、特にＣＨ３ドメイン間相互作用が減弱していることが好ましい。

[0120] 具体的には例えば、第１及び第２のＩｇＧ半量体におけるＨ鎖のＣＨ３ドメイン間相互作用が、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりも弱いことが好ましい。

[0121] ＣＨ３ドメイン間相互作用を、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりも減弱させる方法としては、ＣＨ３ドメインにおいてアミノ酸改変（アミノ酸残基の置換、欠失もしくは付加、または修飾等）を導入することが好ましく、特にアミノ酸残基置換を導入することが好ましい。ＣＨ３ドメイン間相互作用を、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりも減弱させるためにアミノ酸改変を導入するＣＨ３ドメインとしては、ＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン、ＩｇＧ４のＣＨ３ドメインが挙げられる。

[0122] ヒトＩｇＧ４のＣＨ３ドメインにおけるＥＵインデックスで表される４０９位のＡｒｇをヒトＩｇＧ１由来のＬｙｓに置換することにより、ＣＨ３ドメイン同士の相互作用が高まることが報告されている（Structure 2011 19: 9: 1274-1282）。さらには、ヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン内の特定のアミノ酸残基をＡｌａに置換することで、自由エネルギーの変化からヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン同士の相互作用に重要なアミノ酸部位を同定した報告がある（Biochemistry 1998: 37: 9266-9273）。

[0123] ＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させるアミノ酸残基置換としては、使用するＣＨ３ドメインのアミノ酸配列に基づいてＣＨ３ドメイン間相互作用が減弱するものであればいずれのものでもよく、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体の少なくとも一方に導入されていればよいが、それぞれに導入されていることが好ましい。ＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させるアミノ酸残基置換は、ｂｉｎｄｉｎｇ　ＥＬＩＳＡ、ＳＰＲ法などの結合アッセイ、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ及びｎａｔｉｖｅ　ｍａｓｓ　ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｒｙなど分子量分析等を用いて、所望のアミノ酸残基置換を含む分子を評価することで同定できる。

[0124] ＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させるアミノ酸残基置換としては、具体的には、ＣＨ３ドメインにおいて、ＥＵインデックスで表される、３４９位、３５１位、３６６位、３６８位、３９９位、４０５位、４０７位及び４０９位から選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基を他のアミノ酸残基に置換することが挙げられる。

[0125] より具体的には、Ｙ３４９Ａ、Ｌ３５１Ａ、Ｔ３６６Ａ、Ｌ３６８Ａ、Ｄ３９９Ａ、Ｆ４０５Ａ、Ｙ４０７Ａ、Ｋ４０９Ａ及びＫ４０９Ｒが好ましく、Ｌ３６８Ａ、Ｙ４０７Ａ及びＫ４０９Ｒがより好ましく、Ｋ４０９Ｒが最も好ましい。これらのアミノ酸残基置換はいずれか１を導入してもよいし、２以上を組み合わせて導入してもよい。

[0126] ２．抗体組成物のエフェクター機能の制御

本発明の抗体組成物は、第１及び第２のＩｇＧ半量体におけるＦｃに依存

したエフェクター機能を付与することもできる。抗体組成物のエフェクター機能は、種々の方法により制御できる。

[0127] 例えば、第１及び第２のＩｇＧ半量体が、ＣＨ２ドメインにおいて、さらにＣＤ１６ａ結合活性を増強させる少なくとも１のアミノ酸残基置換を含むことにより、さらにＣＤ１６ａ結合活性を増強させることが好ましい。これにより、抗体組成物のエフェクター機能を増強し得る。

[0128] ＣＤ１６ａ結合活性を増強させるアミノ酸残基置換は、第１及び第２のＩｇＧ半量体のそれぞれに導入されていても、いずれか一方にのみ導入されていてもよい。ＣＤ１６ａ結合活性を増強させるアミノ酸残基置換が第１及び第２のＩｇＧ半量体の両方に導入されている場合、第１のＩｇＧ半量体におけるアミノ酸残基置換と第２のＩｇＧ半量体におけるアミノ酸残基置換は同一であっても、互いに異なっていてもよいが、同一であることが好ましい。

[0129] 抗体組成物のＣＤ１６ａ結合活性を増強するためのアミノ酸残基置換が第１及び第２のＩｇＧ半量体の両方に導入されている場合、該アミノ酸残基置換は第１及び第２のＩｇＧ半量体におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させるために改変された領域とは異なる領域となる。

[0130] 本発明の抗体組成物のエフェクター機能を制御する方法としては以下のような方法が挙げられる。

[0131] 例えば、第１及び第２のＩｇＧ半量体において、ＩｇＧ１サブクラスのＦｃのアミノ酸配列を用いて、ＥＵインデックス２９７位のＡｓｎに結合するＮ結合複合型糖鎖（以下、単にコンプレックス糖鎖と略記する場合もある）の還元末端側に存在するＮ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）にα－１，６結合するフコース（コアフコースともいう）の量を制御する方法（国際公開第２００５／０３５５８６号、国際公開第２００２／３１１４０号、国際公開第００／６１７３９号）、又は抗体のＦｃのアミノ酸残基を置換することで、抗体組成物のエフェクター機能を制御できる。

[0132] １）糖鎖改変によるエフェクター機能の制御

第１及び第２のＩｇＧ半量体のＦｃに結合しているコンプレックス糖鎖の

還元末端のＮ－アセチルグルコサミンに付加するフコースの含量を制御することで、抗体組成物のエフェクター機能を増強又は低下させることができる。

[0133] ＩｇＧ半量体のＦｃに結合しているＮ結合複合型糖鎖に付加するフコースの含量を低下させる方法としては、α１，６－フコース転移酵素遺伝子（ＦＵＴ８）が欠損したＣＨＯ細胞を用いてＩｇＧ半量体を発現することで、フコースが結合していないＩｇＧ半量体を取得できる。フコースが結合していないＩｇＧ半量体からなる抗体組成物は高いＡＤＣＣ活性を有する。

[0134] 一方、ＩｇＧ半量体のＦｃに結合しているＮ結合複合型糖鎖に付加するフコースの含量を増加させる方法としては、α１，６－フコース転移酵素遺伝子を導入した宿主細胞を用いてＩｇＧ半量体を発現させることで、フコースが結合しているＩｇＧ半量体を取得できる。フコースが結合しているＩｇＧ半量体からなる抗体組成物は、フコースが結合していないＩｇＧ半量体からなる抗体組成物よりも低いＡＤＣＣ活性を有する。

[0135] ＩｇＧ半量体のＦｃには、ＥＵインデックス２９７位のＡｓｎ残基にＮ結合型糖鎖が結合するが、それ以外のＦｃのＡｓｎ残基には糖鎖は結合することは知られていない。従って、通常、抗体１分子あたり２本のＮ－グリコシド結合糖鎖が結合している。

[0136] Ｎ結合型糖鎖としてはハイマンノース型、コンプレックス型及びハイブリッド型が知られており、いずれのＮ結合型糖鎖でもフコースが結合していない糖鎖であれば、フコースが結合している糖鎖と比べて高いＡＤＣＣ活性を得ることができる。

[0137] ＩｇＧ半量体のＦｃに結合するコンプレックス糖鎖としては、コア構造（トリマンノシルコア構造）の非還元末端側のマンノース（Ｍａｎ）に、１つ以上のＮ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）又はガラクトース－Ｎ－アセチルグルコサミン（以下、Ｇａｌ－ＧｌｃＮＡｃと表記する）がα１－２結合又はα１－４結合している糖鎖が挙げられる。

[0138] 更にＧａｌ－ＧｌｃＮＡｃの非還元末端側にシアル酸、バイセクティング

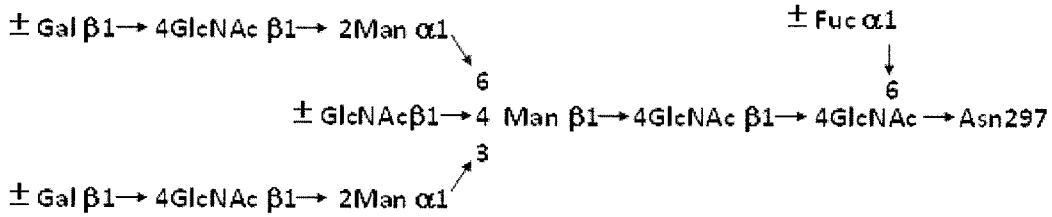
のＮ－アセチルグルコサミン（以下、ｂｉｓｅｃｔｉｎｇ　ＧｌｃＮＡｃと記す）などを有するコンプレックス型（複合型）糖鎖を挙げることができる。

[0139] 本発明において、コアフコース（ｃｏｒｅ－ｆｕｃｏｓｅ）又はα１，６－フコースとは、Ｎ－グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のＮ－アセチルグルコサミン（以下、ＧｌｃＮＡｃと記す場合もある）の６位とフコース（以下、Ｆｕｃと記す場合もある）の１位がα結合した糖鎖構造をいう。また、Ｎ－グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のＮ－アセチルグルコサミンにフコースが結合していないことを、単にフコースが無い又はコアフコースが無い糖鎖という。

[0140] また、本発明において、コア構造又はトリマンノシルコア構造（ｔｒｉ－ｍａｎｎｏｓｙｌ　ｃｏｒｅ　ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ）とは、Ｍａｎα１－６（Ｍａｎα１－３）Ｍａｎβ１－４ＧｌｃＮＡｃβ１－４ＧｌｃＮＡｃ構造をいう。

[0141] ＩｇＧ半量体に結合している糖鎖として、２本鎖Ｎ－グリコシド結合コンプレックス糖鎖（バイアンテナリーコンプレックス糖鎖ともいう）は、下記化学式で示される。

[0142] [化1]



[0143] 第１及び第２のＩｇＧ半量体は、ＥＵインデックス２９７位のＡｓｎにコンプレックス糖鎖が結合したＦｃを有することが好ましい。上記の糖鎖構造を有していれば、単一または複数の異なる糖鎖構造を有していてもよい。具体的には、第１及び第２のＩｇＧ半量体における、Ｆｃに結合する全Ｎ－グ

リコシド結合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のＮ－アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖（コアフコースが無い糖鎖）の割合が２０％以上である抗体組成物が挙げられる。

[0144] コアフコースが無い糖鎖の割合としては、抗体組成物のＡＤＣＣ活性が増加すれば、いずれの割合も含まれるが、好ましくは２０％以上、より好ましくは５１％～１００％、更に好ましくは８０％～１００％、特に好ましくは９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、最も好ましくは１００％の割合が挙げられる。

[0145] コアフコースが無い糖鎖の割合が５０％とは、例えば、第１及び第２のＩｇＧ半量体に結合しているＮ－グリコシド結合糖鎖の片方の糖鎖にフコースが結合していない分子が１００％含まれる抗体組成物、又は第１及び第２のＩｇＧ半量体に結合しているＮ－グリコシド結合糖鎖の両方の糖鎖にフコースが結合していない分子が５０％含まれ、かつ第１及び第２のＩｇＧ半量体に結合しているＮ－グリコシド結合糖鎖の両方の糖鎖にフコースが結合している分子が５０％含まれる抗体組成物のいずれも含まれる。

[0146] 本発明において、フコースが無い糖鎖としては、上記で示された化学式中、還元末端側のＮ－アセチルグルコサミンにフコースが結合していなければ、非還元末端側の糖鎖の構造はいかなるものであってもよい。

[0147] 本発明において、糖鎖還元末端のＮ－アセチルグルコサミンにフコースが結合していない（コアフコースが無い）とは、実質的にフコースが結合していないことをいう。実質的にフコースが結合していないＩｇＧ半量体とは、具体的には、後述に記載の糖鎖分析において、フコースが実質的に検出できない程度のＩｇＧ半量体である場合をいう。実質的に検出できない程度とは、測定の検出限界以下であることをいう。全ての糖鎖にコアフコースが無い第１及び第２のＩｇＧ半量体からなる抗体組成物は、最も高いＡＤＣＣ活性を有する。

[0148] Ｎ－グリコシド結合複合型糖鎖が結合したＦｃを有するＩｇＧ半量体中における、フコースが無い糖鎖を有するＩｇＧ半量体の割合は、ＩｇＧ半量体

からヒドラジン分解又は酵素消化などの公知の方法［生物化学実験法２３－糖蛋白質糖鎖研究法（学会出版センター）高橋禮子編（１９８９）］を用い、糖鎖を遊離させ、遊離させた糖鎖を蛍光標識又は同位元素標識し、標識した糖鎖をクロマトグラフィ法にて分離することによって決定できる。

[0149] また、コンプレックス糖鎖が結合したＦｃを含むＩｇＧ半量体中に含まれる、フコースが無い糖鎖が結合したＩｇＧ半量体の割合は、遊離させた糖鎖をＨＰＡＥＤ－ＰＡＤ法（J. Liq. Chromatogr., 6, 1577, 1983）によって分析することで決定できる。

[0150] ２）アミノ酸残基置換によるエフェクター機能の制御

本発明の抗体組成物は、第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体におけるＦｃの抗体サブクラスの変換又はＦｃのアミノ酸残基置換により、ＡＤＣＣ活性、ＡＤＣＰ活性及びＣＤＣ活性等のエフェクター機能を増強又は減弱させることができる。

[0151] ＩｇＧ１サブクラスの抗体は、ＩｇＧサブクラスの中で最も高いＡＤＣＣ活性、ＣＤＣ活性を有することが知られており、ＣＨ２ドメインのイムノグロブリンサブクラスはＩｇＧ１であることが好ましい。

[0152] Ｆｃのアミノ酸残基置換としては例えば、米国特許出願公開第２００７／０１４８１６５号明細書に記載のＦｃのアミノ酸配列を用いることで、抗体のＣＤＣ活性を増加させることができる。また、米国特許第６，７３７，０５６号明細書、米国特許第７，２９７，７７５号明細書及び米国特許第７，３１７，０９１号明細書に記載のアミノ酸残基置換を行うことで、抗体組成物のＡＤＣＣ活性又はＣＤＣ活性を増強させることも減弱させることもできる。

[0153] ＡＤＣＣ活性を増強させる具体的なアミノ酸残基置換としては、Ｐ２４７Ｉ、Ａ３３９Ｄ、Ｆ２４３Ｌ、Ｒ２９２Ｐ、Ｙ３００Ｌ、Ｐ３９６Ｌ、Ｔ３９３Ａ、Ｈ４３３Ｐ、Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ａ３３０Ｌ、Ｉ３３２Ｅ、Ｅ３３３Ａ及びＫ３３４Ａなどが挙げられる。一方、ＡＤＣＣ活性を減少させる具体的なアミノ酸残基置換としては、Ｌ２３５Ｅ、Ｐ２３８Ａ、Ｎ２９

７Ａ、Ｋ３２２Ａ及びＰ３３１Ｓなどが挙げられる。

[0154] 上記いずれかのアミノ酸残基置換を２つ以上組み合わせてＡＤＣＣ活性を増強することができ、目的に応じて置換するアミノ酸残基を増やすことができる。ＡＤＣＣ活性を増強することができるアミノ酸残基置換の組合せとしては、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ／Ｐ２４７Ｌ、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ／Ｈ２６８Ｅ、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ／Ｐ２４７Ｌ／Ｎ４２１Ｋ、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ／Ｅ２９４Ｗ、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ／Ｋ３２６Ｔ、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｒ２９２Ｌ／Ｋ３３４Ｅ、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ／Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ／Ｋ２４８Ｍ、Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ、Ｓ２３９Ｄ／Ａ３３０Ｆ、Ｓ２３９Ｄ／Ｋ３２６Ｔ、Ｓ２３９Ｄ／Ｋ３２６Ｅ、Ｓ２３９Ｄ／Ｋ３２６Ｉ、Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｄ、Ｓ２３９Ｅ／Ｉ３３２Ｙ、Ｓ２３９Ｅ／Ｉ３３２Ｅ、Ｓ２３９Ｅ／Ｋ３２６Ｔ、及びＳ２３９Ｅ／Ｋ３２６Ｉが好ましい。

[0155] ＡＤＣＣ活性を増強させるアミノ酸残基置換は抗体の薬物動態に影響を与えうるため、アミノ酸残基置換を導入した抗体がアミノ酸残基置換を導入していない野生型のＩｇＧ抗体と同等の薬物動態を有していることが好ましい。具体的なアミノ酸置換として、Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２３９Ｅ、Ｓ２３９Ｄ/Ｋ３２６Ｔ、Ｓ２３９Ｄ/Ａ３３０Ｆ、Ｓ２３９Ｄ/Ｋ３２６Ｅ、Ｓ２３９Ｅ/Ｉ３３２Ｅ、Ｓ２９８Ａ/Ｅ３３３Ａ/Ｋ３３４Ａ、Ｓ２９８Ａ/Ｅ３３３Ａ/Ｋ３３４Ａ/Ｈ２６８Ｅ及びＳ２３９Ｄ/Ｓ２９８Ａ/Ｅ３３３Ａ/Ｌ２４２Ｃ/Ｋ３３４Ｃが好ましく、Ｓ２３９Ｄ/Ｋ３２６Ｔ及びＳ２３９Ｄ/Ｓ２９８Ａ/Ｅ３３３Ａ/Ｌ２４２Ｃ/Ｋ３３４Ｃがより好ましい。同等の薬物動態とは、最高血中濃度（Ｃｍａｘ）、血中半減期(ｔ１/２)又は血中濃度-時間曲線下面積（ＡＵＣ）のいずれかの指標において野生型のＩｇＧ抗体と比べて５０％以上１５０％以下を意味する。

[0156] ＣＤＣ活性を増加させる具体的なアミノ酸残基置換としては、Ｋ３２６Ａ、Ｓ２６７Ｅ、Ｈ２６８Ｆ、Ｓ３２４Ｔ、Ｋ２７４Ｑ、Ｎ２７６Ｋ、Ｙ２９

６Ｆ、Ｙ３００Ｆ、Ｋ３２６Ｗ、Ｋ３２６Ｙ、Ｅ３３３Ａ、Ｅ３３３Ｓ、Ａ３３９Ｔ、Ｄ３５６Ｅ、Ｌ３５８Ｍ、Ｎ３８４Ｓ、Ｋ３９２Ｎ、Ｔ３９４Ｆ、Ｔ３９４Ｙ、Ｖ３９７Ｍ及びＶ４２２Ｉから選ばれる少なくとも１つのアミノ酸残基置換が挙げられる。

[0157] 上記いずれかのアミノ酸残基置換を２つ以上組み合わせてＣＤＣ活性を増加させることもでき、目的に応じて置換するアミノ酸残基を増やすことができる。ＣＤＣ活性を増加させるアミノ酸残基置換として好ましくは、Ｎ２７６Ｋ、Ａ３３９Ｔ、Ｔ３９４Ｆ及びＴ３９４Ｙから選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基置換、Ｎ２７６Ｋ及びＡ３３９Ｔのアミノ酸残基置換、並びにＫ２７４Ｑ、Ｎ２７６Ｋ、Ｙ２９６Ｆ、Ｙ３００Ｆ、Ａ３３９Ｔ、Ｄ３５６Ｅ、Ｌ３５８Ｍ、Ｎ３８４Ｓ、Ｖ３９７Ｍ及びＶ４２２Ｉのアミノ酸残基置換などが挙げられる。一方、ＣＤＣ活性を減少させる具体的なアミノ酸残基置換としては、Ｌ２３５Ｅ、Ｎ２９７Ａ、Ｋ３２２Ａ、Ｐ３２９Ａ及びＰ３３１Ｓなどが挙げられる。

[0158] またＴ２５０Ｑ、Ｍ４２８Ｌ、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ又はＴ２５６Ｅなどのアミノ酸残基置換をヒトＩｇＧ１サブクラスのＦｃに導入することにより血中半減期を延長できる。またＮ２９７位にアミノ酸残基置換を導入することによりＮ結合型糖鎖を除去したＦｃ、ヒトＩｇＧ２若しくはＩｇＧ４サブクラスのＦｃ又はＩｇＧ２とＩｇＧ４のキメラＦｃなどを用いることにより、ＡＤＣＣ活性、ＡＤＣＰ活性及びＣＤＣ活性などの細胞傷害活性を減弱又は欠損させることができる。

[0159] ３．抗体組成物の製造方法

本発明の抗体組成物の製造方法は、以下の工程１～３を含む製造方法が挙げられる。

工程１：ＩｇＧ半量体のアミノ酸配列をコードするＤＮＡを含む組換えベクター（以下、ＩｇＧ半量体発現用組換えベクターとも略す）を細胞へ導入して形質転換体を得る工程。

工程２：工程１で得られた形質転換体を培養し、培養物中にＩｇＧ半量体を

蓄積させ、培養物からＩｇＧ半量体を採取する工程。

工程３：工程２で採取されたＩｇＧ半量体からなる抗体組成物を得る工程。

以下、各工程について説明する。

[0160] ［工程１］

工程１は、第１及び第２のＩｇＧ半量体の少なくとも一方のアミノ酸配列をコードするＤＮＡを含む組換えベクターを細胞へ導入して形質転換体を得る工程である。

工程（１）は、具体的には、以下の工程（１－１）～（１－３）を含む。

（１－１）第１のＩｇＧ半量体における第１のＣＤ１６ａ結合領域にＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変を導入する工程。

（１－２）第２のＩｇＧ半量体における第２のＣＤ１６ａ結合領域にＣＤ１６ａ結合活性を減弱させる改変を導入する工程。

（１－３）第１及び第２のＩｇＧ半量体のヒンジドメインにおいてＨ鎖間におけるジスルフィド結合が形成されないように、ヒンジドメインの一部又は全部の置換もしくは欠失、または修飾する改変を導入する工程。

[0161] 工程（１－１）については、例えば、第１のＩｇＧ半量体発現用組換えベクターの作製において、ＥＵインデックスで表される２３５位、２３６位、２３７位、２３８位、２３９位、２６５位、２６６位、２６７位、２６８位、２６９位、２９４位、２９５位、２９６位、２９７位、２９８位、２９９位、３０１位、３２５位、３２７位、３３２位のアミノ酸残基から選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基を置換する工程を、ＣＨ２ドメインのサブクラスに応じて適宜行うことが挙げられる。

[0162] 工程（１－２）については、例えば、第２のＩｇＧ半量体発現用組換えベクターの作製において、ＥＵインデックスで表される２３５位、２３６位、２３７位、３２６位、３２７位、３２８位、３２９位、３３０位のアミノ酸残基から選ばれる少なくとも１のアミノ酸残基を置換する工程を、ＣＨ２ドメインのサブクラスに応じて適宜行うことが挙げられる。

[0163] 工程（１－３）については、例えば、ＩｇＧ半量体発現用組換えベクター

の作製において、ＥＵインデックスで表される２２６位及び２２９位のアミノ酸残基の置換を加える工程を、ヒンジドメインのサブクラスに応じて適宜行うことが挙げられる。

[0164] ＩｇＧ半量体は、モレキュラー・クローニング第２版、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988、Monoclonal Antibodies: principles and practice, Third Edition,Acad.Press,1993, Antibody Engineering, A Practical Approach, IRL Press at Oxford University Press,1996等に記載された方法を用い、例えば、以下のように形質転換体中で発現させて取得できる。

[0165] （１）ＩｇＧ半量体発現用の組換えベクターの構築

ＩｇＧ半量体発現用組換えベクターとは、本発明の抗体組成物を構成するＩｇＧ半量体のアミノ酸配列をコードする遺伝子が組み込まれた動物細胞用発現ベクターである。

[0166] 組換えベクターは、動物細胞用発現ベクターにＩｇＧ半量体のアミノ酸配列をコードするＤＮＡをクローニングすることにより構築できる。

[0167] ＤＮＡは、全ＤＮＡを合成してもよいし、ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ ｃｈａｉｎ ｒｅａｃｔｉｏｎ（ＰＣＲ法）による合成も可能である（モレキュラー・クローニング第２版）。さらに、これらの手法を複数組み合わせることにより、ＩｇＧ半量体をコードする遺伝子を作製することもできる。

[0168] 動物細胞を宿主として用いる場合、発現ベクターとしては、動物細胞中で機能を発揮できるものであればいずれも用いることができる。例えば、ｐｃＤＮＡＩ、ｐＣＤＭ８（フナコシ社製）、ｐＡＧＥ１０７［日本国特開平３－２２９７９号公報；Cytotechnology, 3, 133 (1990)］、ｐＡＳ３－３（日本国特開平２－２２７０７５号公報）、ｐＣＤＭ８［Nature, 329, 840 (1987)］、ｐｃＤＮＡＩ／Ａｍｐ（インビトロジェン社製）、ｐｃＤＮＡ３．１（インビトロジェン社製）、ｐＲＥＰ４（インビトロジェン社製）、ｐＡＧＥ１０３［J. Biochemistry, 101, 1307 (1987)］、ｐＡＧＥ２１０、ｐＭＥ

１８ＳＦＬ３、ｐＫＡＮＴＥＸ９３（国際公開第９７／１０３５４号）、Ｎ５ＫＧ１ｖａｌ（米国特許第６，００１，３５８号明細書）及びＴｏｌ２トランスポゾンベクター（国際公開第２０１０／１４３６９８号）などが挙げられる。

[0169] プロモーターとしては、動物細胞中で機能を発揮できるものであればいずれも用いることができる。例えば、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）のｉｍｍｅｄｉａｔｅ ｅａｒｌｙ（ＩＥ）遺伝子のプロモーター、ＳＶ４０の初期プロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒートショックプロモーター、ＳＲαプロモーター、又はモロニーマウス白血病ウイルスのプロモーターあるいはエンハンサーが挙げられる。また、ヒトＣＭＶのＩＥ遺伝子のエンハンサーをプロモーターと共に用いてもよい。

[0170] 発現ベクターは、抗体Ｈ鎖及びＬ鎖が別々のベクター上に存在するタイプあるいは同一のベクター上に存在するタイプ（以下、タンデム型と表記する）のどちらでも用いることができる。

[0171] （２）可変領域をコードするｃＤＮＡの取得

任意の抗体のＶＨ及びＶＬをコードするｃＤＮＡは次のようにして取得できる。任意の抗体を産生するハイブリドーマ細胞から抽出したｍＲＮＡを鋳型として用い、ｃＤＮＡを合成する。合成したｃＤＮＡをファージ又はプラスミド等のベクターに挿入してｃＤＮＡライブラリーを作製する。

[0172] 前記ライブラリーより、既存の抗体の定常領域又は可変領域をコードするＤＮＡをプローブとして用い、ＶＨをコードするｃＤＮＡを有する組換えファージ或いは組換えプラスミド及びＬ鎖可変領域をコードするｃＤＮＡを有する組換えファージ又は組換えプラスミドをそれぞれ単離する。組換えファージ或いは組換えプラスミド上の目的の抗体のＶＨ及びＶＬの全塩基配列を決定し、塩基配列よりＶＨ及びＶＬの全アミノ酸配列を推定する。

[0173] 任意の非ヒト動物抗体を生産するハイブリドーマ細胞は、抗体が結合する抗原を非ヒト動物に免疫し、周知の方法［モレキュラー・クローニング第２

版、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988；Monoclonal Antibodies: principles and practice, Third Edition, Acad. Press, 1993；Antibody Engineering, A Practical Approach, IRL Press at Oxford University Press,1996］に従って、免疫された動物の抗体産生細胞とミエローマ細胞とでハイブリドーマを作製する。次いでシングルセルクローニングしたハイブリドーマを選択し、これを培養し、培養上清から精製し、取得できる。

[0174] 非ヒト動物としては、マウス、ラット、ハムスター又はウサギ等、ハイブリドーマ細胞を作製することが可能であれば、いかなるものも用いることができる。

[0175] ハイブリドーマ細胞から全ＲＮＡを調製する方法としては、例えば、チオシアン酸グアニジン－トリフルオロ酢酸セシウム法［Methods in Enzymol., 154, 3 (1987)］、ＲＮｅａｓｙ ｋｉｔ（ＱＩＡＧＥＮ社製）、また全ＲＮＡからｍＲＮＡを調製する方法としては、オリゴ（ｄＴ）固定化セルロースカラム法［モレキュラー・クローニング：ア・ラボラトリー・マニュアル（Molecular Cloning: A Laboratory Manual）, Cold Spring Harbor Lab. Press New York, 1989］等が挙げられる。

[0176] また、ハイブリドーマ細胞からｍＲＮＡを調製するキットとしては、例えば、Ｆａｓｔ Ｔｒａｃｋ ｍＲＮＡ Ｉｓｏｌａｔｉｏｎ Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ社製）、Ｑｕｉｃｋ Ｐｒｅｐ ｍＲＮＡ Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ Ｋｉｔ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ社製）等が挙げられる。

[0177] ｃＤＮＡの合成及びｃＤＮＡライブラリー作製法としては、常法（Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Lab. Press New York, 1989; Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1-34）、又は市販のキットを用いる方法が挙げられる。市販のキットとしては、例えば、Ｓｕｐｅｒ Ｓｃｒｉｐｔ（登録商標）Ｐｌａｓｍｉｄ Ｓｙｓｔｅｍ ｆｏｒ ｃＤＮＡ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ａｎｄ Ｐｌａｓｍｉｄ Ｃｌ

ｏｎｉｎｇ（ＧＩＢＣＯ　ＢＲＬ社製）又はＺＡＰ－ｃＤＮＡ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ　Ｋｉｔ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ社製）が挙げられる。

[0178] ｃＤＮＡライブラリーの作製の際、ハイブリドーマ細胞から抽出したｍＲＮＡを鋳型として合成したｃＤＮＡを組み込むベクターは、該ｃＤＮＡを組み込めるベクターであればいかなるものでも用いることができる。

[0179] 例えば、ＺＡＰ　Ｅｘｐｒｅｓｓ（Strategies, 5, 58, 1992）、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔ　ＩＩ　ＳＫ（＋）（Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１７，９４９４，１９８９）、λＺＡＰ　ＩＩ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ社製）、λｇｔ１０、λｇｔ１１（DNA Cloning: A Practical Approach, I, 49, 1985）、Ｌａｍｂｄａ　ＢｌｕｅＭｉｄ（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ社製）、λＥｘＣｅｌｌ、ｐＴ７Ｔ３　１８Ｕ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ社製）、ｐｃＤ２（Mol. Cell. Biol., 3, 280, 1983）及びｐＵＣ１８（Gene, 33, 103, 1985）等を用いることができる。

[0180] ファージ又はプラスミドベクターにより構築されるｃＤＮＡライブラリーを導入する大腸菌としては該ｃＤＮＡライブラリーを導入、発現及び維持できるものであればいかなるものでも用いることができる。

[0181] 例えば、ＸＬ１－Ｂｌｕｅ　ＭＲＦ（Strategies, 5, 81, 1992）、Ｃ６００（Genetics, 39, 440, 1954）、Ｙ１０８８、Ｙ１０９０（Science, 222, 778, 1983）、ＮＭ５２２　ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー（J. Mol. Biol., 166, 1, 1983）、Ｋ８０２（J. Mol. Biol., 16, 118, 1966）及びＪＭ１０５（Gene, 38, 275, 1985）等が用いられる。

[0182] ｃＤＮＡライブラリーからの非ヒト動物抗体のＶＨ及びＶＬをコードするｃＤＮＡクローンを選択する方法としては、アイソトープ又は蛍光などで標識したプローブを用いたコロニー・ハイブリダイゼーション法又はプラーク・ハイブリダイゼーション法（Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Lab. Press New York, 1989）により選択できる。

[0183] また、プライマーを調製し、ｃＤＮＡ又はｃＤＮＡライブラリーを鋳型として、ＰＣＲ（Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Har

bor Lab. Press New York, 1989;Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1-34）によりＶＨ及びＶＬをコードするｃＤＮＡを調製することもできる。

[0184] 上記方法により選択されたｃＤＮＡを、適当な制限酵素などで切断後、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔ ＩＩ ＳＫ（－）（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ社製）等のプラスミドにクローニングし、通常用いられる塩基配列解析方法、例えば、Ｓａｎｇｅｒらのジデオキシ法（Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A., 74, 5463, 1977）等の反応を行い、塩基配列自動分析装置、例えば、ＡＢＩ ＰＲＩＳＭ３７７ ＤＮＡシークエンサー（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ社製）等の塩基配列分析装置を用いて分析することにより該ｃＤＮＡの塩基配列を決定できる。

[0185] 決定した塩基配列からＶＨ及びＶＬの全アミノ酸配列を推定し、既知の抗体のＶＨ及びＶＬの全アミノ酸配列（Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, 1991）と比較することにより、取得したｃＤＮＡが分泌シグナル配列を含む抗体のＶＨ及びＶＬを完全に含んでいるアミノ酸配列をコードしているかを確認できる。

[0186] さらに、抗体可変領域のアミノ酸配列又は該可変領域をコードするＤＮＡの塩基配列がすでに公知である場合には、以下の方法を用いて製造できる。

[0187] アミノ酸配列が公知である場合には、コドンの使用頻度（Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, 1991）を考慮して該可変領域をコードするＤＮＡの塩基配列を設計し、設計したＤＮＡの塩基配列に基づき、１００～１５０塩基前後の長さからなる数本の合成ＤＮＡを合成し、それらを用いてＰＣＲ法を行うか、完全長のＤＮＡを合成することで、ＤＮＡを得ることができる。塩基配列が公知である場合には、その情報を基に上述と同様にしてＤＮＡを得ることができる。

[0188] （３）抗体の可変領域のアミノ酸配列の解析

分泌シグナル配列を含む抗体のＶＨ及びＶＬの完全なアミノ酸配列に関しては、既知の抗体のＶＨ及びＶＬのアミノ酸配列（Sequences of Proteins o

f Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services,1991）と比較することにより、分泌シグナル配列の長さ及びＮ末端アミノ酸配列を推定でき、更には抗体が属するサブグループを知ることができる。また、ＶＨ及びＶＬの各ＣＤＲのアミノ酸配列についても、同様の方法で見出すことができる。

[0189] （４）ヒト化抗体の可変領域をコードするｃＤＮＡの構築

ヒト化抗体のＶＨ及びＶＬをコードするｃＤＮＡは、以下のようにして構築できる。まず、目的の非ヒト動物抗体のＶＨ及びＶＬのＣＤＲを移植するヒト抗体のＶＨ及びＶＬのフレームワーク領域（以下、ＦＲと表記する）のアミノ酸配列を選択する。ヒト抗体のＶＨ及びＶＬのＦＲのアミノ酸配列としては、ヒト抗体のものであれば、いかなるものでも用いることができる。

[0190] 例えば、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｄａｔａ　Ｂａｎｋ等のデータベースに登録されているヒト抗体のＶＨ及びＶＬのＦＲのアミノ酸配列、ヒト抗体のＶＨ及びＶＬのＦＲの各サブグループの共通アミノ酸配列（Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, 1991）等が挙げられる。

[0191] その中でも、十分な活性を有するヒト化抗体を作製するためには、目的の非ヒト動物抗体のＶＨ及びＶＬのＦＲのアミノ酸配列とできるだけ高い相同性（少なくとも６０％以上）を有するアミノ酸配列を選択することが好ましい。

[0192] 次に、選択したヒト抗体のＶＨ及びＶＬのＦＲのアミノ酸配列に目的の非ヒト動物抗体のＶＨ及びＶＬのＣＤＲのアミノ酸配列を移植し、ヒト化抗体のＶＨ及びＶＬのアミノ酸配列を設計する。設計したアミノ酸配列を抗体の遺伝子の塩基配列に見られるコドンの使用頻度（Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, 1991）を考慮してＤＮＡの塩基配列に変換し、ヒト化抗体のＶＨ及びＶＬのアミノ酸配列をコードするＤＮＡの塩基配列を設計する。設計したＤＮＡの塩基配列を完全合成する。

[0193] また、両端に位置する合成ＤＮＡの５’末端に適当な制限酵素の認識配列を導入することで、上述３（１）で構築したＩｇＧ半量体発現用組換えベクターに容易にクローニングし得る。ＰＣＲ後、増幅産物をｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔ　ＩＩ　ＳＫ（－）（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ社製）等のプラスミドにクローニングし、上述３（２）に記載の方法により、塩基配列を決定し、所望のヒト化抗体のＶＨ及びＶＬのアミノ酸配列をコードするＤＮＡの塩基配列を有するプラスミドを取得する。

[0194] （５）ヒト化抗体の可変領域のアミノ酸配列の改変

ヒト化抗体は、非ヒト動物抗体のＶＨ及びＶＬのＣＤＲのみをヒト抗体のＶＨ及びＶＬのＦＲに移植しただけでは、その抗原結合活性は元の非ヒト動物抗体に比べて低下してしまうことが知られている（BIO / TECHNOLOGY, 9, 266, 1991）。

[0195] この原因としては、元の非ヒト動物抗体のＶＨ及びＶＬでは、ＣＤＲのみならず、ＦＲのいくつかのアミノ酸残基が直接的或いは間接的に抗原結合活性に関与しており、それらアミノ酸残基がＣＤＲの移植に伴い、ヒト抗体のＶＨ及びＶＬのＦＲの異なるアミノ酸残基へと変化してしまうことが考えられている。

[0196] この問題を解決するため、ヒト化抗体では、ヒト抗体のＶＨ及びＶＬのＦＲのアミノ酸配列の中で、直接抗原との結合に関与しているアミノ酸残基又はＣＤＲのアミノ酸残基と相互作用させて、抗体の立体構造を維持し、間接的に抗原との結合に関与しているアミノ酸残基を同定し、それらを元の非ヒト動物抗体に由来するアミノ酸残基に改変し、低下した抗原結合活性を上昇させることが行われている（BIO / TECHNOLOGY, 9, 266, 1991）。

[0197] ヒト化抗体の作製においては、それら抗原結合活性に関わるＦＲのアミノ酸残基を如何に効率よく同定するかが、最も重要な点であり、そのためにＸ線結晶解析（J. Mol. Biol., 112, 535, 1977）或いはコンピューターモデリング（Protein Engineering, 7, 1501, 1994）等による抗体の立体構造の構築及び解析が行われている。

[0198] これら抗体の立体構造の情報は、ヒト化抗体の作製に多くの有益な情報をもたらして来た。しかしながら、あらゆる抗体に適応可能なヒト化抗体の作製法は未だ確立されていない。現状ではそれぞれの抗体について数種の改変体を作製し、それぞれの抗原結合活性との相関を検討する等の種々の試行錯誤が必要である。

[0199] ヒト抗体のＶＨ及びＶＬのＦＲのアミノ酸残基の改変は、改変用合成ＤＮＡを用いて３（４）に記載のＰＣＲ法を行うことにより、達成できる。ＰＣＲ後の増幅産物について３（２）に記載の方法により、塩基配列を決定し、目的の改変が施されたことを確認する。

[0200] （６）ＩｇＧ半量体の発現

上述３（１）のＩｇＧ半量体発現用組換えベクターを適当な動物細胞に導入することにより一過性又は安定的に第１及び第２のＩｇＧ半量体の少なくとも一方を生産する形質転換体を得ることができる。

[0201] （６－ａ）抗体組成物の一過性発現

（３）及び（６）で得られるＩｇＧ半量体発現用組換えベクター、又はそれらを改変した組換えベクターを用いて抗体組成物の一過性発現を行い、作製した多種類の抗体組成物の抗原結合活性を効率的に評価できる。

[0202] ＩｇＧ半量体発現用組換えベクターを導入する宿主細胞には、第１及び第２のＩｇＧ半量体の少なくとも一方を発現できる宿主細胞であれば、いかなる細胞でも用いることができる。例えば、ＣＯＳ－７細胞［Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ）番号：ＣＲＬ１６５１］が挙げられる（Methods in Nucleic Acids Res., CRC press, 283, 1991）。

[0203] ＣＯＳ－７細胞へのＩｇＧ半量体発現用組換えベクターの導入には、ＤＥＡＥ－デキストラン法（Methods in Nucleic Acids Res., CRC press,1991）、又はリポフェクション法（Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7413, 1987）などを用いる。

[0204] ＩｇＧ半量体発現用組換えベクターの導入後、培養上清中のＩｇＧ半量体

の発現量及び抗原結合活性は酵素免疫抗体法［Monoclonal Antibodies-Principles and practice, Third Edition, Academic Press(1996)；Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory(1988)；単クローン抗体実験マニュアル，講談社サイエンティフィック（１９８７）］などを用いて測定する。

[0205] （６－ｂ）ＩｇＧ半量体の安定発現

（１）で得られたＩｇＧ半量体発現用組換えベクターを適当な宿主細胞に導入することによりＩｇＧ半量体を安定に発現する形質転換体を得ることができる。

[0206] 宿主細胞への組換えベクターの導入には、宿主細胞にＤＮＡを導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、エレクトロポレーション法（Cytotechnology, 3, 133, 1990）、リン酸カルシウム法（日本国特開平２－２２７０７５号公報）、リポフェクション法（Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 84, 7413, 1987）、インジェクション法［マニピュレーティング・ザ・マウス・エンブリオ・ア・ラボラトリー・マニュアル］、パーティクルガン（遺伝子銃）を用いる方法（日本国特許第２６０６８５６号明細書、日本国特許第２５１７８１３号明細書）、ＤＥＡＥ－デキストラン法［バイオマニュアルシリーズ４－遺伝子導入と発現・解析法（羊土社）横田崇・新井賢一編（１９９４）］、ウイルスベクター法（マニピュレーティング・マウス・エンブリオ第２版）等が挙げられる。

[0207] 組換えベクターを導入する宿主細胞としては、第１及び第２のＩｇＧ半量体の少なくとも一方を発現させることができる宿主細胞であれば、いかなる細胞でも用いることができる。例えば、ヒト白血病細胞ナマルバ（Ｎａｍａｌｗａ）細胞、サルＣＯＳ細胞、チャイニーズ・ハムスターの細胞であるＣＨＯ細胞、ＨＢＴ５６３７（日本国特開昭６３－２９９号公報）、ラットミエローマ細胞、マウスミエローマ細胞、シリアンハムスター腎臓由来細胞、胚性幹細胞、受精卵細胞等が挙げられる。

[0208] 具体的には、例えば、ＰＥＲ．Ｃ６、ＣＨＯ－Ｋ１（ＡＴＣＣ　ＣＣＬ－

６１）、ＤＵＫＸＢ１１（ＡＴＣＣ　ＣＣＬ－９０９６）、Ｐｒｏ－５（ＡＴＣＣ　ＣＣＬ－１７８１）、ＣＨＯ－Ｓ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｃａｔ　＃１１６１９）、Ｌｅｃ１３細胞、ラットミエローマ細胞ＹＢ２／３ＨＬ．Ｐ２．Ｇ１１．１６Ａｇ．２０（ＡＴＣＣ番号：ＣＲＬ１６６２、又はＹＢ２／０ともいう）、マウスミエローマ細胞ＮＳ０、マウスミエローマ細胞ＳＰ２／０－Ａｇ１４（ＡＴＣＣ番号：ＣＲＬ１５８１）、マウスＰ３Ｘ６３－Ａｇ８．６５３細胞（ＡＴＣＣ番号：ＣＲＬ１５８０）、ジヒドロ葉酸還元酵素遺伝子（Ｄｉｈｙｄｒｏｆｏｒａｔｅ　Ｒｅｄｕｃｔａｓｅ、以下、ｄｈｆｒと表記する）が欠損したＣＨＯ細胞（ＣＨＯ／ＤＧ４４）［Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 4216 (1980)］、シリアンハムスター細胞ＢＨＫ、ＨＢＴ５６３細胞、上述細胞株の亜株細胞及び上述細胞株を無血清培養下で馴化した細胞、非接着条件下の培養条件で馴化した細胞などが挙げられる。

[0209] ＩｇＧ半量体の生産に用いる細胞としては、ＦｃにおけるＥＵインデックス２９７のＡｓｎに結合する糖鎖のコアフコース量を低下又は欠損させる細胞を用いることもできる。具体的には、ＧＤＰ－Ｌ－フコースの合成又はゴルジ体への輸送に関与する酵素又はコアフコースの結合に関与する酵素が低下又は欠損した細胞を選択するか、又は種々の人為的手法により得られた細胞を宿主細胞として用いることもできる。

[0210] 具体的には、コアフコース糖鎖修飾に関連する酵素活性を減少又は欠損させる方法、又はコアフコース切断酵素活性を増加させる方法など、コアフコースを制御した細胞を作製できる。

[0211] コアフコース糖鎖修飾に関連する酵素としては、例えば、ＧＤＰ－Ｌ－フコースの合成あるいは輸送に関与する酵素又はＮ－グリコシド結合複合型糖鎖のコアフコースの結合に関与する酵素が挙げられる。

[0212] ＧＤＰ－Ｌ－フコースの合成又はゴルジ体への輸送に関与する酵素としては、具体的には例えば、ＧＤＰ－マンノース　４，６－デヒドラターゼ（以下、ＧＭＤと表記する）、ＧＤＰ－４－ケト－６－デオキシ－Ｄ－マンノー

ス－３，５－エピメラーゼ（以下、Ｆｘと表記する）、ＧＤＰ－ベータ－Ｌ－フコース－ピロホスフォリラーゼ（ＧＦＰＰ）、フコキナーゼ、ＧＤＰ－Ｌ－フコーストランスポーターなどが挙げられる。

[0213] コアフコースの結合に関与する酵素としては、例えば、α１，６－フコシルトランスフェラーゼ（以下、ＦＵＴ８と表記する）などが挙げられる。

[0214] ＩｇＧ半量体を生産する細胞としては、上述の１つの酵素活性を低下又は欠損させてもよいし、複数の酵素活性を組み合わせて低下又は欠損させてもいずれでもよい。

[0215] 上述の酵素活性を低下又は欠損させる方法としては、例えば、（ａ）酵素の遺伝子を標的とした遺伝子破壊の手法；（ｂ）酵素の遺伝子のドミナントネガティブ体を導入する手法；（ｃ）酵素についての突然変異を導入する手法；（ｄ）酵素の遺伝子の転写又は翻訳を抑制する手法；（ｅ）Ｎ－グリコシド結合糖鎖還元末端のＮ－アセチルグルコサミンの６位とフコースの１位がα結合した糖鎖構造を認識するレクチンに耐性である株を選択する手法などが挙げられる。

[0216] レクチンとしては、例えば、レンズマメレクチンＬＣＡ（Ｌｅｎｓ Ｃｕｌｉｎａｒｉｓ由来のＬｅｎｔｉｌ Ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）エンドウマメレクチンＰＳＡ（Ｐｉｓｕｍ ｓａｔｉｖｕｍ由来のＰｅａ Ｌｅｃｔｉｎ）、ソラマメレクチンＶＦＡ（Ｖｉｃｉａ ｆａｂａ由来のＡｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、ヒイロチャワンタケレクチンＡＡＬ（Ａｌｅｕｒｉａ ａｕｒａｎｔｉａ由来のＬｅｃｔｉｎ）などのα１，６フコースに結合するレクチンが挙げられる。

[0217] 具体的な細胞としては、例えば、ＦＵＴ８遺伝子が欠損したＣＨＯ細胞（国際公開第２００５／０３５５８６号、国際公開第２００２／３１１４０号、国際公開第２０００／０６１７３９号）、レクチン耐性を獲得したＬｅｃ１３（Somatic Cell and Molecular genetics, 12, 55, 1986）、ＧＤＰ－フコーストランスポーター遺伝子が欠損した細胞（国際公開第２００３／０８５１０２号）、ＧＤＰ－ｍａｎｎｏｓｅ ４，６－ｄｅｈｙｄｒａｔａｓｅ

（ＧＭＤ）遺伝子が欠損した細胞（国際公開第２００２／３１１４０号）、ＷＧＡレクチン耐性細胞及びＬＣＡレクチン耐性細胞（国際公開第２００２／３１１４０号）などが挙げられる。

[0218] 上述の方法以外に、Ｎ結合型糖鎖の合成系に関する酵素であるｍａｎｎｏｓｉｄａｓｅ Ｉ、ｍａｎｎｏｓｉｄａｓｅ ＩＩなどの酵素を阻害することにより、ｈｉｇｈ ｍａｎｎｏｓｅ型のＮ結合型糖鎖が結合し、コアフコース量が減少したＩｇＧ半量体を発現させることもできる。

[0219] また、Ｎ－ａｃｅｔｙｌｇｌｕｃｏｓａｍｉｎｅ ｔｒａｎｓｆｅｒａｓｅ ＩＩＩ（ＧｎＴＩＩＩ）を過剰発現させた宿主細胞を用いることで、ｂｉｓｅｃｔｉｎｇ ＧｌｃＮＡｃが結合したコンプレックス及びハイブリッド糖鎖が結合し、かつコアフコース量が減少したＩｇＧ半量体を生産することもできる。

[0220] 組換えベクターの導入後、ＩｇＧ半量体を安定に発現する形質転換体は、Ｇ４１８硫酸塩（以下、Ｇ４１８と表記する）、シクロヘキシミド（以下、ＣＨＸと略記する）、メトトレキセート（以下、ＭＴＸと略記する）などの薬剤を含む動物細胞培養用培地で培養することにより選択する（日本国特開平２－２５７８９１号公報）。

[0221] 動物細胞培養用培地としては、例えば、ＲＰＭＩ１６４０培地（インビトロジェン社製）、ＧＩＴ培地（日本製薬社製）、ＥＸ－ＣＥＬＬ３０１培地、ＥＸ－ＣＥＬＬ３０２、ＥＸ－ＣＥＬＬ３２５培地（ＪＲＨ社製）、ＩＭＤＭ培地（インビトロジェン社製）、Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ－ＳＦＭ培地（インビトロジェン社製）、又はこれら培地にウシ胎児血清（以下、ＦＢＳと略記する）などの各種添加物を添加した培地などが挙げられる。

[0222] 得られた形質転換体を培地中で培養することで培養上清中にＩｇＧ半量体を発現させて蓄積させる。培養上清中のＩｇＧ半量体の発現量及び抗原結合活性はＥＬＩＳＡ法などにより測定できる。また、ｄｈｆｒ遺伝子増幅系（日本国特開平２－２５７８９１号公報）などを利用して、形質転換体の産生するＩｇＧ半量体の発現量を向上できる。

[0223] 以上、動物細胞を宿主としたＩｇＧ半量体の発現方法を示したが、酵母、昆虫細胞、植物細胞又は動物個体あるいは植物個体においても、公知技術に基づいて動物細胞と同様の方法によりＩｇＧ半量体を発現させることができる。

[0224] 酵母を宿主細胞とする場合は、サッカロミセス属、シゾサッカロミセス属、クリュイベロミセス属、トリコスポロン属、シュワニオミセス属等に属する微生物、例えば、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ、Ｓｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｐｏｍｂｅ、Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ ｌａｃｔｉｓ、Ｔｒｉｃｈｏｓｐｏｒｏｎ ｐｕｌｌｕｌａｎｓ、Ｓｃｈｗａｎｎｉｏｍｙｃｅｓ ａｌｌｕｖｉｕｓ等を挙げることができる。

[0225] 組換えベクターの導入方法としては、酵母にＤＮＡを導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、エレクトロポレーション法（Methods. Enzymol., 194,182,1990）、スフェロプラスト法（Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A, 84, 1929, 1978）、酢酸リチウム法（J. Bacteriology, 153, 163, 1983; Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A, 75, 1929, 1978）に記載の方法等が挙げられる。

[0226] 昆虫細胞を宿主として用いる場合には、例えば、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー（Baculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual, W. H. Freeman and Company, New York, 1992）、Bio / Technology, 6, 47, 1988等に記載された方法によって、ＩｇＧ半量体を発現できる。

[0227] ［工程２］

工程２は、工程１で得られた形質転換体を培養し、培養物中にＩｇＧ半量体を生成・蓄積させ、培養物からＩｇＧ半量体を採取し、精製する工程である。

[0228] 第１及び第２のＩｇＧ半量体は同一の形質転換体から採取してもよいし、各々を単独で発現する形質転換体から採取してもよい。通常は第１及び第２

のＩｇＧ半量体は、各々を単独で発現する形質転換体から採取、精製後に混合して抗体組成物を調製する。

[0229] 工程１で調製した宿主細胞がＩｇＧ半量体を発現する能力を有する場合には、以下に示す宿主細胞にＩｇＧ半量体を導入した後に、該細胞を培養し、該培養物から目的とするＩｇＧ半量体を採取できる。

[0230] さらに、遺伝子導入した動物又は植物の細胞を再分化させることにより、遺伝子が導入された動物個体（トランスジェニック非ヒト動物）又は植物個体（トランスジェニック植物）を造成し、これらの個体を用いてＩｇＧ半量体を採取してもよい。

[0231] 形質転換体が動物個体又は植物個体の場合は、通常の方法に従って、飼育又は栽培し、ＩｇＧ半量体を生成蓄積させ、該動物個体又は植物個体より該ＩｇＧ半量体を採取できる。

[0232] 動物個体を用いてＩｇＧ半量体を生産させる方法としては、例えば、公知の方法（American Journal of Clinical Nutrition, 63, 639S, 1996; American Journal of Clinical Nutrition, 63, 627S, 1996; Bio / Technology, 9, 830, 1991）に準じて遺伝子を導入して造成した動物中に目的とするＩｇＧ半量体を生産させる方法が挙げられる。

[0233] 動物個体の場合は、例えば、ＩｇＧ半量体をコードするＤＮＡを導入したトランスジェニック非ヒト動物を飼育し、ＩｇＧ半量体を該動物中に生成、蓄積させ、該動物中よりＩｇＧ半量体を採取できる。

[0234] 前記動物中の生成及び蓄積場所としては、例えば、該動物のミルク（日本国特開昭６３－３０９１９２号公報）又は卵等を挙げることができる。この際に用いられるプロモーターとしては、動物で発現できるものであればいずれも用いることができる。例えば、乳腺細胞特異的なプロモーターであるαカゼインプロモーター、βカゼインプロモーター、βラクトグロブリンプロモーター及びホエー酸性プロテインプロモーター等が好適に用いられる。

[0235] 植物個体を用いてＩｇＧ半量体を生産させる方法としては、例えばＩｇＧ半量体をコードするＤＮＡを導入したトランスジェニック植物を公知の方法

［組織培養，２０（１９９４）；組織培養，２１（１９９５）；Trends in Biotechnology, 15, 45 (1997)］に準じて栽培し、ＩｇＧ半量体を該植物中に生成、蓄積させ、該植物中より該ＩｇＧ半量体を採取する方法が挙げられる。

[0236] ＩｇＧ半量体は以下のようにして精製できる。ＩｇＧ半量体をコードする遺伝子を導入した形質転換体により製造されたＩｇＧ半量体は、例えばＩｇＧ半量体が、細胞内に可溶性タンパク質として発現した場合には、培養終了後、細胞を遠心分離により回収し、水系緩衝液に懸濁後、超音波破砕機、フレンチプレス、マントンガウリンホモゲナイザー、ダイノミル等により細胞を破砕し、無細胞抽出液を得る。

[0237] 前記無細胞抽出液を遠心分離することにより得られる上清から、通常の酵素の単離精製法、即ち、溶媒抽出法、硫安等による塩析法、脱塩法、有機溶媒による沈殿法、ジエチルアミノエチル（ＤＥＡＥ）－セファロース、ＤＩＡＩＯＮ　ＨＰＡ－７５（三菱ケミカル社製）等レジンを用いた陰イオン交換クロマトグラフィ法、Ｓ－Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ　ＦＦ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ社）等のレジンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィ法、ブチルセファロース、フェニルセファロース等のレジンを用いた疎水性クロマトグラフィ法、分子篩を用いたゲルろ過法、アフィニティクロマトグラフィ法、クロマトフォーカシング法、等電点電気泳動等の電気泳動法等の手法を単独あるいは組み合わせて用い、ＩｇＧ半量体を精製できる。

[0238] 本発明においては、アフィニティクロマトグラフィとして、ＣＨ結合体又はＦｃ結合体を用いたアフィニティクロマトグラフィが用いられる（Monoclonal Antibodies - Principles and practice, Third Edition, Academic Press,1996; Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988）。

[0239] また、ＩｇＧ半量体が細胞内に不溶体を形成して発現した場合は、同様に細胞を回収後破砕し、遠心分離を行うことにより、沈殿画分としてＩｇＧ半量体の不溶体を回収する。回収したＩｇＧ半量体の不溶体をタンパク質変性

剤で可溶化する。該可溶化液を希釈又は透析することにより、該ＩｇＧ半量体を正常な立体構造に戻した後、上記と同様の単離精製法により該ＩｇＧ半量体を精製できる。

[0240] ＩｇＧ半量体が細胞外に分泌された場合には、培養上清に該ＩｇＧ半量体又はその誘導体を回収することができる。即ち、該培養物を上記と同様の遠心分離等の手法により処理することにより培養上清を取得し、該培養上清から、上記と同様の単離精製法を用いることにより、ＩｇＧ半量体を精製できる。

[0241] ＣＨ結合体又はＦｃ結合体として、具体的には、ＣＨ又はＦｃに結合するものであればタンパク質、樹脂などいかなるものであってもよく、例えば、Ｆｃ結合タンパク質、抗体Ｈ鎖定常領域（ＣＨ）に結合する抗体などが挙げられる。

[0242] Ｆｃ結合タンパク質として、例えば、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ Ａｕｒｅｕｓ由来Ｐｒｏｔｅｉｎ Ａ、ｈｅｍｏｌｙｔｉｃ Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ由来Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｇ、Ｆｃ受容体及び該サブクラス（ＦｃγＲⅠ、ⅡＡ、ⅡＢ、ⅢＡ、ⅢＢ）並びにこれらの結合部分断片などが挙げられる。

[0243] ＣＨに結合する抗体としては、例えば、ＣＨ１ドメイン、ヒンジドメイン、ＣＨ２ドメイン又はＣＨ３ドメインに結合する抗体が挙げられる。

[0244] 本発明においてＣＨ結合体としてより好ましくは、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ａ、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｇ、抗ＣＨ１抗体及び該結合部分断片が挙げられる。

[0245] ＩｇＧ半量体の精製方法として、例えば、［工程１］（６）において上述した形質転換体を用いて培養した培養上清を、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ａカラム又はＰｒｏｔｅｉｎ Ｇカラムのロードした後、該カラムをリン酸バッファー（ｐｈｏｓｐｈａｓｅ ｂｕｆｆｅｒ ｓａｌｉｎｅ、以下ＰＢＳと略記する）を用いて洗浄する。

[0246] その後、低ｐＨ（ｐＨ２．０～６．０）のクエン酸バッファー等でカラムからＩｇＧ半量体を溶出させ、溶出液をアルカリ性のＴｒｉｓバッファー等

で中和する。中和された溶出液は十分量のＰＢＳ等で透析を行い、精製されたＩｇＧ半量体を取得することができる。

[0247] 精製したＩｇＧ半量体の分子量は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動法［Nature, 227, 680 (1970)］、又はウェスタンブロッティング法［Monoclonal Antibodies - Principles and practice, Third Edition, Academic Press (1996); Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)］など用いて測定することができる。

[0248] ［工程３］

工程３は、工程２で採取、精製された、第１及び第２のＩｇＧ半量体を混合し、抗体組成物を得る工程である。第１及び第２のＩｇＧ半量体の混合割合は、抗原に対する結合活性、抗原陽性培養細胞株に対する結合活性、各々のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性の強さ、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体とのＣＨ３間の相互作用等により適宜設定することが好ましい。

[0249] また本発明の抗体組成物は、上記第１及び第２のＩｇＧ半量体発現用組換えベクターを宿主細胞に同時に発現させ精製することで、第１及び第２のＩｇＧ半量体が混合された抗体組成物として作製することもできる。この場合、第１及び第２のＩｇＧ半量体の混合割合は、各半量体をコードする遺伝子の発現量を制御することで所望の混合比の抗体組成物を製造できる。また、第１及び第２のＩｇＧ半量体をコードする遺伝子は、同一の発現用組換えベクターで発現させてもよいし、別々の発現用組換えベクターでそれぞれ発現させてもよい。

[0250] ４．抗体組成物の活性評価

精製したＩｇＧ半量体のタンパク質量、ＩｇＧ半量体から構成される抗体組成物のＦｃＲ結合活性、Ｃ１ｑ結合活性、抗原結合活性、又はＡＤＣＣ活性若しくはＣＤＣ活性等の細胞傷害活性を測定する方法としては、例えば、Molecular Cloning 2nd Eidition, Current Protocoals in Molecular BioloGy; Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 19

88; Monoclonal Antibodies: principles and practice, Third Edition, Acad. Press, 1993; Antibody Engineering, A Practical Approach, IRL Press at Oxford University Press, 1996等に記載の公知の方法が挙げられる。

[0251] 具体的な例としては、抗体組成物の、抗原との結合活性、抗原陽性培養細胞株に対する結合活性はＥＬＩＳＡ法及び蛍光抗体法（Cancer Immunol. Immunother, 36, 373, 1993）等により測定できる。抗原陽性培養細胞株に対する細胞傷害活性は、ＣＤＣ活性、ＡＤＣＣ活性等を測定することにより、評価できる（Cancer Immunol. Immunother, 36, 373, 1993；米国特許出願公開第２００４／０２５９１５０号明細書）。

[0252] 抗体組成物がＣＤ１６ａへの結合活性を有することは、遺伝子組換えＣＤ１６ａタンパク質を作製して、結合活性を測定することで確認できる（米国特許出願公開第２００４／０２５９１５０号明細書）。

[0253] ＡＤＣＣ活性を測定する方法としては、例えば、放射性同位体、蛍光物質又は色素等で標識された標的細胞、抗体組成物及びエフェクター細胞を接触させた後、傷害された標的細胞から遊離される標識物質の活性又は遊離する酵素の生理活性等を測定する方法など挙げられる。

[0254] ＣＤＣ活性を測定する方法としては、例えば、放射性同位体、蛍光物質又は色素等で標識された標的細胞、抗体組成物及び補体成分を含む血清等の生体試料を接触させた後、傷害された標的細胞から遊離される標識物質の活性又は遊離する酵素の生理活性を測定する方法など挙げられる。

[0255] ５．糖鎖構造の分析

各種細胞で発現させたＩｇＧ半量体の糖鎖構造は、通常の糖タンパク質の糖鎖構造の解析に準じて行うことができる。

[0256] 例えば、ＩｇＧ半量体に結合している糖鎖はガラクトース（Ｇａｌ）、マンノース（Ｍａｎ）若しくはフコース（Ｆｕｃ）などの中性糖、Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）などのアミノ糖又はシアル酸（Ｓｉａｌ）などの酸性糖から構成されており、糖組成分析及び２次元糖鎖マップ法などを用いた糖鎖構造解析等の手法を用いて行うことができる。

[0257] （１）中性糖・アミノ糖組成分析

ＩｇＧ半量体の糖鎖の組成分析は、トリフルオロ酢酸等で、糖鎖の酸加水分解を行うことにより、中性糖又はアミノ糖を遊離し、その組成比を分析できる。

[0258] 具体的な方法として、例えば、Ｄｉｏｎｅｘ社製糖組成分析装置を用いる方法が挙げられる。ＢｉｏＬＣはＨＰＡＥＣ－ＰＡＤ（ｈｉｇｈ ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ ａｎｉｏｎ－ｅｘｃｈａｎｇｅ ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒａｐｈｙ－ｐｕｌｓｅｄ ａｍｐｅｒｏｍｅｔｒｉｃ ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ）法（J. Liq. Chromatogr., 6, 1577, 1983）によって糖組成を分析する装置である。

[0259] また、２－アミノピリジンによる蛍光標識化法でも組成比を分析できる。具体的には、公知の方法［Agric. Biol. Chem., 55(1), 283-284, 1991］に従って酸加水分解した試料を２－アミノピリジル化で蛍光ラベル化し、ＨＰＬＣ分析して組成比を算出できる。

[0260] （２）糖鎖構造解析

ＩｇＧ半量体における糖鎖の構造解析は、２次元糖鎖マップ法（Anal. Biochem., 171, 73, 1988；生物化学実験法２３－糖蛋白質糖鎖研究法、学会出版センター、高橋禮子編、１９８９年）により行うことができる。２次元糖鎖マップ法は、例えば、Ｘ軸には逆相クロマトグラフィによる糖鎖の保持時間又は溶出位置を、Ｙ軸には順相クロマトグラフィによる糖鎖の保持時間又は溶出位置を、それぞれプロットし、既知糖鎖のそれらの結果と比較することにより、糖鎖構造を推定する方法である。

[0261] 具体的には、ＩｇＧ半量体をヒドラジン分解して、ＩｇＧ半量体から糖鎖を遊離し、２－アミノピリジン（以下、ＰＡと略記する）による糖鎖の蛍光標識（J. Biochem., 95, 197, 1984）を行った後、ゲルろ過により糖鎖を過剰のＰＡ化試薬などと分離し、逆相クロマトグラフィを行う。次いで、分取した糖鎖の各ピークについて順相クロマトグラフィを行う。これらの結果をもとに、２次元糖鎖マップ上にプロットし、糖鎖スタンダード（ＴａＫａＲ

ａ社製）、文献（Anal. Biochem., 171, 73, 1988）とのスポットの比較より糖鎖構造を推定できる。

[0262] さらに各糖鎖のＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ－ＭＳなどの質量分析を行い、２次元糖鎖マップ法により推定される構造を確認できる。

[0263] ＩｇＧ半量体のＦｃのいずれの部分に糖鎖が結合しているのかは、還元アルキル化処理したＩｇＧ半量体をトリプシン、ペプシン、Ｌｙｓ－Ｃ、Ａｓｐ－Ｎなどのエンドプロテアーゼで処理したものを、逆相クロマトグラフィ（ＬＣ）で分離した後に、質量分析計（ＭＳ）などで分析することにより確認できる。

[0264] 即ち、目的とするＩｇＧ半量体のＦｃのアミノ酸配列に基づき、プロテアーゼ処理により生成しうるペプチドの分子量及び糖鎖が結合したペプチドの分子量と、ＭＳの分析値が一致するか否かにより、実際に糖鎖が結合しているか否かを確認できる。

[0265] ６．糖鎖構造の識別方法

ＩｇＧ半量体におけるＦｃに結合する全Ｎ－グリコシド結合複合型糖鎖のうち、コアフコースの無い糖鎖の割合は、上記５．に記載の糖鎖構造の分析法を用いることにより識別できる。また、レクチンを用いた免疫学的定量方法を用いることによっても識別できる。

[0266] レクチンを用いた免疫学的定量方法を用いたＩｇＧ半量体における糖鎖構造の識別は、文献［Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Wiley-Liss, Inc., (1995)；酵素免疫測定法，第３版，医学書院（１９８７）；改訂版，酵素抗体法，学際企画（１９８５）］等に記載のウエスタン染色、ＲＩＡ（Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、ＶＩＡ（Ｖｉｒｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、ＥＩＡ（Ｅｎｚｙｍｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、ＦＩＡ（Ｆｌｕｏｒｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）、ＭＩＡ（Ｍｅｔａｌｌｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ）などの免疫学的定量方法に準じて、例えば、以下のように行うことができる。

[0267] ＩｇＧ半量体の糖鎖構造を認識するレクチンを標識し、標識したレクチン

と試料である抗体組成物を反応させる。次に、標識したレクチンと抗体組成物の複合体の量を測定する。

[0268] ＩｇＧ半量体の糖鎖構造を識別に用いられるレクチンとしては、例えば、ＷＧＡ（Ｔ．ｖｕｌｇａｒｉｓ由来のｗｈｅａｔ－ｇｅｒｍ ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、ＣｏｎＡ（Ｃ．ｅｎｓｉｆｏｒｍｉｓ由来のｃｏｎｃａｎａｖａｌｉｎ Ａ）、ＲＩＣ（Ｒ．ｃｏｍｍｕｎｉｓ由来の毒素）、Ｌ－ＰＨＡ（Ｐ．ｖｕｌｇａｒｉｓ由来のｌｅｕｋｏａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、ＬＣＡ（Ｌ．ｃｕｌｉｎａｒｉｓ由来のｌｅｎｔｉｌ ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、ＰＳＡ（Ｐ．ｓａｔｉｖｕｍ由来のＰｅａ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＡＡＬ（Ａｌｅｕｒｉａ ａｕｒａｎｔｉａ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＡＣＬ（Ａｍａｒａｎｔｈｕｓ ｃａｕｄａｔｕｓ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＢＰＬ（Ｂａｕｈｉｎｉａ ｐｕｒｐｕｒｅａ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＤＳＬ（Ｄａｔｕｒａ ｓｔｒａｍｏｎｉｕｍ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＤＢＡ（Ｄｏｌｉｃｈｏｓ ｂｉｆｌｏｒｕｓ Ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、ＥＢＬ（Ｅｌｄｅｒｂｅｒｒｙ Ｂａｌｋ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＥＣＬ（Ｅｒｙｔｈｒｉｎａ ｃｒｉｓｔａｇａｌｌｉ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＥＥＬ（Ｅｕｏｎｙｍｕｓ ｅｕｒｏｐａｅｕｓ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＧＮＬ（Ｇａｌａｎｔｈｕｓ ｎｉｖａｌｉｓ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＧＳＬ（Ｇｒｉｆｆｏｎｉａ ｓｉｍｐｌｉｃｉｆｏｌｉａ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＨＰＡ（Ｈｅｌｉｘ ｐｏｍａｔｉａ Ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、ＨＨＬ（Ｈｉｐｐｅａｓｔｒｕｍ Ｈｙｂｒｉｄ Ｌｅｃｔｉｎ）、Ｊａｃａｌｉｎ、ＬＴＬ（Ｌｏｔｕｓ ｔｅｔｒａｇｏｎｏｌｏｂｕｓ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＬＥＬ（Ｌｙｃｏｐｅｒｓｉｃｏｎ ｅｓｃｕｌｅｎｔｕｍ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＭＡＬ（Ｍａａｃｋｉａ ａｍｕｒｅｎｓｉｓ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＭＰＬ（Ｍａｃｌｕｒａ ｐｏｍｉｆｅｒａ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＮＰＬ（Ｎａｒｃｉｓｓｕｓ ｐｓｅｕｄｏｎａｒｃｉｓｓｕｓ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＰＮＡ（Ｐｅａｎｕｔ Ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、Ｅ－ＰＨＡ（Ｐｈａｓｅｏｌｕｓ ｖｕｌｇａｒｉｓ Ｅｒｙｔｈｒｏａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、ＰＴＬ（Ｐｓｏｐｈｏｃａｒｐｕｓ ｔｅｔｒａｇｏｎｏｌｏｂｕｓ Ｌｅｃｔ

ｉｎ）、ＲＣＡ（Ｒｉｃｉｎｕｓ ｃｏｍｍｕｎｉｓ Ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、ＳＴＬ（Ｓｏｌａｎｕｍ ｔｕｂｅｒｏｓｕｍ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＳＪＡ（Ｓｏｐｈｏｒａ ｊａｐｏｎｉｃａ Ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、ＳＢＡ（Ｓｏｙｂｅａｎ Ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、ＵＥＡ（Ｕｌｅｘ ｅｕｒｏｐａｅｕｓ Ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、ＶＶＬ（Ｖｉｃｉａ ｖｉｌｌｏｓａ Ｌｅｃｔｉｎ）、ＷＦＡ（Ｗｉｓｔｅｒｉａ ｆｌｏｒｉｂｕｎｄａ Ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）が挙げられる。

[0269] コアフコースを特異的に認識するレクチンを用いることが好ましく、具体的には、例えば、レンズマメレクチンＬＣＡ（Ｌｅｎｓ Ｃｕｌｉｎａｒｉｓ由来のＬｅｎｔｉｌ Ａｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）、エンドウマメレクチンＰＳＡ（Ｐｉｓｕｍ ｓａｔｉｖｕｍ由来のＰｅａ Ｌｅｃｔｉｎ）、ソラマメレクチンＶＦＡ（Ｖｉｃｉａ ｆａｂａ由来のＡｇｇｌｕｔｉｎｉｎ）及びヒイロチャワンタケレクチンＡＡＬ（Ａｌｅｕｒｉａ ａｕｒａｎｔｉａ由来のＬｅｃｔｉｎ）を挙げることができる。

[0270] ７．本発明の抗体組成物の使用

本発明の抗体組成物は、互いに異なる抗原に対する抗原結合ドメインを有する第１及び第２のＩｇＧ半量体から構成されることで、互いに異なる２種の抗原を認識できる。従って、本発明の抗体組成物を含む医薬組成物は、異なる２種類の標的とする抗原に合わせた分子形体をとることができるため、該２種類の抗原を発現する両陽性細胞に対して高い特異性を発揮し得る。

[0271] 本発明の抗体組成物を医薬組成物に使用する場合には、以下に示す［１］～［３］の性質を備えることが好ましい。以下に示す［１］～［３］の性質は、本発明における優れた抗体組成物を選抜するための指標となりうる。

［１］両陽性細胞に対する高い特異性

［２］増強されたエフェクター機能

［３］野生型のＩｇＧ抗体と同等の血中半減期

以下、各性質について説明する。

[0272] ［１］両陽性細胞に対する高い特異性

単陽性細胞と比較して両陽性細胞に対する高い特異性を持つ本発明の抗体組成物は、例えば以下の工程（１ａ）～（１ｄ）を含む方法により、選抜できる。

[0273] （１ａ）ヒンジ領域におけるＨ鎖間のジスルフィド結合を欠損させるアミノ酸改変、第１のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させるアミノ酸改変、及びＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させるアミノ酸改変をそれぞれ導入した第１のＩｇＧ半量体を作製する。

[0274] （１ｂ）（１ａ）と同様にして、ヒンジ領域におけるＨ鎖間のジスルフィド結合を欠損させるアミノ酸改変、第２のＣＤ１６ａ結合領域におけるＣＤ１６ａ結合活性を減弱させるアミノ酸改変、及びＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させるアミノ酸改変をそれぞれ導入した第２のＩｇＧ半量体を作製する。

[0275] （１ｃ）第１及び第２の抗原を発現する両陽性細胞、第１の抗原を発現する単陽性細胞及び第２の抗原を発現する単陽性細胞を準備する。

各細胞の抗原の発現量を調節した細胞を使用するために、各抗原のトランスフェクタントを調製してもよい。各細胞に対して、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体を混合した抗体組成物のエフェクター機能を評価する。

[0276] （１ｄ）（１ｃ）により評価した結果に基づき、各単陽性細胞へのエフェクター機能と比較して、両陽性細胞へのエフェクター機能が強い抗体組成物を選択することにより、単陽性細胞と比較して両陽性細胞に対する高い特異性を持つ抗体組成物を取得する。

[0277] 具体的な方法としては、例えば、［実施例３］において後述する方法が挙げられる。具体的には、例えば、エフェクター機能がＡＤＣＣ活性である場合、以下のようにして各単陽性細胞へのエフェクター機能と比較して、両陽性細胞へのエフェクター機能が強い抗体組成物を選択することにより、単陽性細胞と比較して両陽性細胞に対する高い特異性を持つ抗体組成物を取得できる。

１－ｉ）標的細胞として、第１の抗原を発現する単陽性細胞、第２の抗原を

発現する単陽性細胞と、第１の抗原及び第２の抗原を発現する両陽性細胞を用いる。フローサイトメーターを用いて、各細胞における第１の抗原及び第２の抗原の発現量を測定し、目的の抗原が細胞に発現していることを確認する。

１－ｉｉ）エフェクター細胞としてヒト末梢血単核球（ＰＢＭＣ）あるいはヒトＣＤ１６ａをコードする遺伝子を導入して安定的に発現させたヒトＣＤ１６ａ発現細胞株と、標的細胞とを培地（例えば、ＲＰＭＩ培地）を用いて調製する。

１－ｉｉｉ）CO_2インキュベーターで２～６時間程度静置する。並行して１００％反応ウェルに可溶化溶液（例えば、酸、アルカリ、界面活性剤などを含む水溶液）を添加し、標的細胞を完全に溶解する。反応容器を遠心分離後、上清を採取しＥＬＩＳＡプレートに分注する。発色溶液をアプライして反応させた後、停止溶液を加え、プレートリーダーにて吸光度（Ａ４５０）を測定する。

１－ｉｖ）以下の式を用いてＡＤＣＣ活性（％）を算出する。

ＡＤＣＣ活性（％）＝１００×（Ｓ－Ｅ－Ｔ）／（Ｍａｘ－Ｔ）

Ｓ＝サンプル反応ウェル吸光度－培地ウェル吸光度

Ｅ＝エフェクターウェル吸光度－培地ウェル吸光度

Ｔ＝標的ウェル吸光度－培地ウェル吸光度

Ｍａｘ＝１００％反応ウェル－１００％反応対照ウェル

１－ｖｉ）陽性対照の抗体として、通常ＩｇＧ１型の第１の抗原に対する抗体及び第２の抗原に対する抗体を用いる。通常ＩｇＧ１型の第１の抗原に対する抗体が第１の抗原を発現する単陽性細胞に対し、通常ＩｇＧ１型の第２の抗原に対する抗体が第２の抗原を発現する単陽性細胞に対し、それぞれＡＤＣＣ活性を発揮することを確認する。

[0278] 一方で、第１の抗原に対する抗体の半量体と第２の抗原に対する抗体の半量体を混合した抗体溶液が、第１の抗原を発現する単陽性細胞及び第２の抗原を発現する単陽性細胞に対してはＡＤＣＣ活性を示さず、第１の抗原及び

第２の抗原を発現する両陽性細胞に対してのみ特異的にＡＤＣＣ活性を発揮する場合、各単陽性細胞へのエフェクター機能と比較して、両陽性細胞へのエフェクター機能が強い抗体組成物であると評価する。

[0279] 「第１の抗原に対する抗体の半量体と第２の抗原に対する抗体の半量体を混合した抗体溶液が、第１の抗原を発現する単陽性細胞及び第２の抗原を発現する単陽性細胞に対してはＡＤＣＣ活性を示さず、第１の抗原及び第２の抗原を発現する両陽性細胞に対してのみ特異的にＡＤＣＣ活性を発揮する」ことの一態様としては、例えば、第１の抗原を発現する単陽性細胞及び第２の抗原を発現する単陽性細胞に対するＡＤＣＣ活性が陰性対照におけるＡＤＣＣ活性と同等程度であり、かつ第１の抗原及び第２の抗原を発現する両陽性細胞に対するＡＤＣＣ活性が陽性対照と同等程度である場合が挙げられる。別の態様としては、例えば、第１の抗原を発現する単陽性細胞及び第２の抗原を発現する単陽性細胞に対するＡＤＣＣ活性が陽性対照におけるＡＤＣＣ活性より減弱しており、かつ第１の抗原及び第２の抗原を発現する両陽性細胞に対するＡＤＣＣ活性が陽性対照と同等程度である場合が挙げられる。

[0280] ここで、ＡＤＣＣ活性が同等程度とは、対象のＡＤＣＣ活性に対し、好ましくは±０～５０％、より好ましくは±０～３０％の範囲内であることをいい、ＡＤＣＣ活性が減弱しているとは、対象のＡＤＣＣ活性に対し、好ましくは０～６０％、より好ましくは０～３０％の範囲内であることをいう。

[0281] 本評価の際の陰性対照として、第１の抗原に対する抗体及び第２の抗原に対する抗体を用いることが好ましい。第１の抗原に対する抗体は、両陽性細胞及び第１の抗原を発現する単陽性細胞に対するエフェクター機能を示し、第２の抗原に対する抗体は、両陽性細胞及び第２の抗原を発現する単陽性細胞に対するエフェクター機能を示す。

[0282] また、各抗原発現細胞の代わりに、各抗原を固定したビーズ等を評価に用いることができる。例えば、第１の抗原及び第２の抗原を固定した両陽性ビーズ、第１の抗原のみを固定した単陽性ビーズ及び第２の抗原のみを固定した単陽性ビーズを準備する。各ビーズに対して本発明の抗体組成物を添加し

た後に、さらに組換えＣＤ１６ａタンパク質を添加する。その後、両陽性ビーズと２つの単陽性ビーズ上に結合した抗体組成物に対する組換えＣＤ１６ａタンパク質の結合活性を調べることで、目的の両抗原への高い選択性を持つ抗体組成物を選抜できる。組換えＣＤ１６ａタンパク質との相互作用を測定する方法としては、Ｂｉｎｄｉｎｇ　ＥＬＩＳＡ法、表面プラズモン共鳴法などを用いることができる。

[0283] ［２］増強されたエフェクター機能

増強されたエフェクター機能を持つ本発明の抗体組成物は、例えば以下の工程（２ａ）～（２ｃ）を含む方法により、選抜できる。

[0284] （２ａ）上記［１］に記載の方法で選抜した、単陽性細胞と比較して両陽性細胞に対する高い特異性を持つ抗体組成物のエフェクター機能を増強する。

上記［１］に記載の方法で選抜した両陽性細胞への高い特異性を持つ本発明の抗体組成物のエフェクター機能を増強する手段としては、例えば、ＣＤ１６ａ結合活性を増強するアミノ酸改変をすること、及び／またはＦｃに結合しているコアフコースの含量を低下又は欠損させることが挙げられる。

[0285] ＣＤ１６ａ結合活性を増強するためのアミノ酸残基置換を導入する場合、当該アミノ酸残基は、ＩｇＧ半量体のヘテロ会合体において形成されるＣＤ１６ａ結合領域に含まれるアミノ酸残基であればいずれのものであってもよい。

[0286] また、当該アミノ酸残基置換は、第１及び第２のＩｇＧ半量体の両方に導入しても、いずれか一方に導入してもよい。ただし、本発明の効果を奏するためには、同じＩｇＧ半量体において、ＣＤ１６ａ結合活性を増強するためのアミノ酸残基置換の位置とＣＤ１６ａ結合活性を減弱させるアミノ酸残基置換の位置とは異なることが好ましい。

[0287] 言い換えると、互いに異なるＩｇＧ半量体であれば、ＣＤ１６ａ結合活性を増強するためのアミノ酸残基置換の位置とＣＤ１６ａ結合活性を減弱させるアミノ酸残基置換の位置とが同じであってもよい。

[0288] いずれの位置にＣＤ１６ａ結合活性を増強するためのアミノ酸残基置換を

導入するかは、ＣＤ１６a結合活性を減弱させるアミノ酸残基置換の位置と組み合わせて種々のＩｇＧ半量体からなるヘテロ会合体を作製して、ＡＤＣＣ活性等を測定し、該活性が両陽性細胞への特異的な活性であることを評価して決定できる。

[0289] ＣＤ１６ａ結合活性を増強するためのアミノ酸残基置換に加え、Ｆｃに結合しているコアフコースの含量を低下又は欠損させることによって、エフェクター機能を増強できる。

[0290] （２ｂ）（２ａ）でエフェクター機能を増強した抗体組成物について、第１の抗原を発現する単陽性細胞及び第２の抗原を発現する単陽性細胞、第１及び第２の抗原を発現する両陽性細胞に対するエフェクター機能（例えば、ＡＤＣＣ活性等）を評価する。

[0291] （２ｃ）（２ｂ）により評価した結果に基づき、各単陽性細胞へのエフェクター機能と比較して、両陽性細胞へのエフェクター機能が強い抗体組成物を選択することにより、両陽性細胞に対する特異的なエフェクター機能が増強された抗体組成物を取得する。

[0292] 上記した方法により、エフェクター機能が増強され、かつ両陽性細胞に対する高い特異性を示す抗体組成物を選抜できる。

[0293] 両陽性細胞への特異的なエフェクター機能が増強された抗体組成物は、ヒト血液中を模した評価系により、より臨床効果に近いエフェクター機能を評価できる。ヒト血液中を模した評価系としては、例えばヒトアルブミン、免疫グロブリン、ヒト血漿やヒト血清など血液のタンパク質成分と、ヒトＮＫ細胞、ヒト末梢血単核球（ＰＢＭＣ）又はヒト顆粒球などとを添加したＡＤＣＣ評価系、ヒト全血液を用いた細胞傷害活性評価系などが挙げられる。

[0294] ヒト血液中を模した評価系の具体的な方法としては、例えば、[実施例８]において後述するＡＤＣＣ評価系を用いる方法、及び[実施例９]において後述する細胞傷害活性評価系を用いる方法が挙げられる。

[0295] ＡＤＣＣ評価系を用いる方法としては、具体的には例えば、次の方法が挙げられる。上記した１－ｉｉ）において、免疫グロブリンを最終濃度で好ま

しくは０．０１～１０質量％、より好ましくは０．１～１０質量％、さらに好ましくは１～４質量％となるように添加して、ヒト体内を模した評価系を構築した以外は、１－ｉ）～１－ｖｉ）と同様にしてＡＤＣＣ活性を測定及び評価する。

[0296] ヒト血液再構成系による細胞傷害活性評価系を用いる方法としては、具体的には例えば、次の方法が挙げられる。

２－ｉ）標的細胞として、第１の抗原を発現する単陽性細胞、第２の抗原を発現する単陽性細胞と、第１の抗原及び第２の抗原を発現する両陽性細胞を用いる。フローサイトメーターを用いて、各細胞における第１の抗原及び第２の抗原の発現量を測定し、目的の抗原が細胞に発現していることを確認する。

２－ｉｉ）ヒト血液を遠心分離し、上清を回収することにより血漿を取得する。また、赤血球除去剤（例えば、Ｈｅｔａｓｅｐ：Ｓｔｅｍｃｅｌｌ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，＃０７８０６）を用いてヒト血液から末梢血単核球と顆粒球の画分を取得する。

２－ｉｉｉ）２－ｉｉ）において回収した血漿と末梢血単核球と顆粒球の画分を混ぜ、細胞培養プレートに播種した後、第１の抗原に対する抗体の半量体及び第２の抗原に対する抗体の半量体を混合した抗体組成物を添加し、３７℃で１２～４８時間程度培養する。

２－ｉｖ）フローサイトメトリー法にて、第１の抗原及び第２の抗原を発現する両陽性細胞の割合を測定する。陰性対照として、野生型のＩｇＧ抗体を用いる。

[0297] その結果、第１の抗原に対する抗体の半量体及び第２の抗原に対する抗体の半量体を混合した抗体組成物が抗体濃度依存的に第１の抗原及び第２の抗原を発現する両陽性細胞を除去する一方で、第１の抗原を発現する単陽性細胞及び第２の抗原を発現する単陽性細胞をそれぞれ除去しない場合に、両陽性細胞への特異的なエフェクター機能が増強されている、と評価する。

[0298] 両陽性細胞を除去するとは、本発明の抗体組成物を添加した場合の第１の

抗原及び第２の抗原を発現する両陽性細胞の割合が陰性対照における割合より低いことをいう。両陽性細胞の割合が低いとは、陰性対照の両陽性細胞の割合に対し、好ましくは０～７０％、より好ましくは０～５０％の範囲内であることをいう。

[0299] 単陽性細胞を除去しないとは、本発明の抗体組成物を添加した場合の第１の抗原を発現する単陽性細胞及び第２の抗原を発現する単陽性細胞の割合が陰性対照における割合と同等程度であることをいう。単陽性細胞の割合が同等程度とは、陰性対照の単陽性細胞の割合に対し、好ましくは±０～４０％、より好ましくは±０～２０％の範囲内であることをいう。

[0300] 本評価によって、ヒト血液中においても増強されたエフェクター機能を示す抗体組成物を選抜できる。

[0301] （３ａ）［１］及び［２］において上記した方法を用いて選抜された、両陽性細胞への高い特異性と増強されたエフェクター機能を併せ持つ抗体組成物を、マウス・サル等の動物を用いてＰＫ試験（Ｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ、薬力学試験）を行う。

陰性対照として、野生型のＩｇＧ抗体を用いる。

[0302] （３ｂ）（３ａ）のＰＫ試験の結果、野生型のＩｇＧ抗体と近い動態を示す抗体組成物を野生型のＩｇＧ抗体と同等の血中半減期を持つ抗体組成物として選抜する。具体的な方法としては、例えば、[実施例７]において後述する方法が挙げられる。

[0303] ＰＫ試験の方法としては、具体的には、例えば、次の方法が挙げられる。３－ｉ）マウス（例えば、ＢＡＬＢ／ｃマウス）に両陽性細胞への高い特異性と増強されたエフェクター機能を併せ持つ抗体組成物（好ましくは０．１～１０ｍｇ／ｋｇ）を尾静脈中に投与後、好ましくは１時間、４時間、２４時間、７２時間後の血液を採取する。イソフルラン麻酔下でランセットを用いて頬を刺し血液を回収後、微量採血管［例えば、ＢＤ社製マイクロティナ（登録商標）］で好ましくは４０００～１６０００ｒｐｍ、室温、好ましくは５～２０分間遠心することにより血清を回収する。陽性対照の抗体として

、野生型のＩｇＧ抗体を用いる。

３－ｉｉ）血清中に存在する抗体濃度を測定する。血清中の抗体濃度は公知の方法で測定でき、例えば、ＡｌｐｈａＬＩＳＡ　Ｈｕｍａｎ　Ｋａｐｐａ　ｌｉｇｈｔ　ｃｈａｉｎ　ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ　ｋｉｔ（ＡＬ３０２３、ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を用いて測定でき、検量線はキット内のＫａｐｐａ　ｌｉｇｈｔ　ｃｈａｉｎで作成できる。

３－ｉｉｉ）３－ｉｉ）で測定した抗体濃度より算出できる、血中半減期（ｔ１／２）が陽性対照の野生型ＩｇＧと比較して好ましくは５０％～１５０％の範囲にあるものを、野生型のＩｇＧ抗体と同等の血中半減期を持つ抗体組成物であると評価する。

[0304] 動物を用いたＰＫ試験の代わりに、抗体の物理化学的な特徴として示差走査カロリメトリー（ＤＳＣ：Ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｌ　Ｓｃａｎｎｉｎｇ　Ｃａｌｏｒｉｍｅｔｒｙ）による変性中点（Ｔｍ）値を測定することでも、長い血中半減期を持つ抗体組成物を選抜できる。

[0305] 本発明の抗体組成物のうち、野生型ＩｇＧ抗体と同等のＴｍ値（変性中点温度）を持つものは、良好なＰＫを示す。Ｔｍ値を測定する具体的な方法としては、例えば、[実施例７]おいて後述する方法が挙げられる。具体的には、示差走査蛍光定量法（ＤＩＦＦＥＲＥＮＴＩＡＬ　Ｓｃａｎｎｉｎｇ　Ｆｌｕｏｒｉｍｅｔｒｙ：ＤＳＦ）にて測定することが可能であり、測定機器としては、例えばＮａｎｏＴｅｍｐｅｒ社のＰｒｏｍｅｔｈｅｕｓ　ＮＴ.４８が挙げられる。抗体のＴｍ値の測定は、好ましくは１０℃～３０℃から開始し、８０℃～１００℃まで昇温し、その昇温速度は、好ましくは０．５℃～２℃／分とすることで測定できる。

[0306] また、抗体とＦｃＲｎ（胎児性Ｆｃ受容体）とのｐＨ６．０における結合活性が高い程、血中半減期が長くなることが知られている。それゆえ、ＦｃＲｎとの結合活性を測定することによって、長い血中半減期を持つ抗体組成物を選抜できる。ＦｃＲｎとの結合活性は、例えばJ.Immunol.2002;169:5171-80に開示されている方法で測定できる。

[0307] 上記した［１］～［３］の評価によって、医薬品に使用する場合に好ましい性質を備える抗体組成物を選抜できる。これら性質を備えた好ましい本発明の抗体組成物の有するアミノ酸残基置換の組合せとしては、表２に示す組合せが好ましく、表３Ａおよび表３Ｂに示す組合せがより好ましく、表４に示す組合せが最も好ましい。

[0308] [表2]

ドメイン名	アミノ酸残基置換の目的	アミノ酸残基置換の組合せ	
		第１のＩｇＧ半量体	第２のＩｇＧ半量体
ヒンジ	ヘテロ会合体を作る	Ｃ２２６Ａ/Ｃ２２９Ａ	
ＣＨ２	ヘテロ会合体になった時のみCD16aと結合する	Ｄ２６５Ａ、Ｓ２６７Ｋ、Ｙ２９６Ｐ、Ｓ２９８Ｅ、または　Ｓ２３９Ｒ	Ｐ３２９Ｙ
ＣＨ２	CD16a結合活性の増強	Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２３９Ｅ、Ｓ２３９Ｄ/Ｋ３２６Ｔ、Ｓ２３９Ｄ/Ａ３３０Ｆ、Ｓ２３９Ｄ/Ｋ３２６Ｅ、Ｓ２３９Ｅ/Ｉ３３２Ｅ、Ｓ２９８Ａ/Ｅ３３３Ａ/Ｋ３３４Ａ/Ｈ２６８Ｅ、または Ｓ２３９Ｄ/Ｓ２９８Ａ/Ｅ３３３Ａ/Ｌ２４２Ｃ/Ｋ３３４Ｃ	
ＣＨ３	ヘテロ会合体を作る	Ｙ３４９Ａ、Ｌ３５１Ａ、Ｔ３６６Ａ、Ｌ３６８Ａ、Ｄ３９９Ａ、Ｆ４０５Ａ、Ｙ４０７Ａ、Ｋ４０９Ａ、またはＫ４０９Ｒ	

[0309] [表3A]

ドメイン名	アミノ酸残基置換の目的	アミノ酸残基置換の組合せ	
		第１のＩｇＧ半量体	第２のＩｇＧ半量体
ヒンジ	ヘテロ会合体を作る	Ｃ２２６Ａ/Ｃ２２９Ａ	
ＣＨ２	ヘテロ会合体になった時のみCD16aと結合する	Ｄ２６５Ａ	Ｐ３２９Ｙ
ＣＨ２	CD16a結合活性の増強	Ｓ２３９Ｄ/Ｋ３２６Ｔ　または Ｓ２３９Ｄ/Ｓ２９８Ａ/Ｅ３３３Ａ/Ｌ２４２Ｃ/Ｋ３３４Ｃ	
ＣＨ３	ヘテロ会合体を作る	Ｌ３６８Ａ，Ｙ４０７Ａ または　Ｋ４０９Ｒ	

[0310] [表3B]

ドメイン名	アミノ酸残基置換の目的	アミノ酸残基置換の組合せ	
		第１のＩｇＧ半量体	第２のＩｇＧ半量体
ヒンジ	ヘテロ会合体を作る	Ｃ２２６Ａ/Ｃ２２９Ａ	
ＣＨ２	ヘテロ会合体になった時のみCD16aと結合する	Ｓ２９８Ｅ	Ｐ３２９Ｙ
ＣＨ２	CD16a結合活性の増強	Ｓ２３９Ｄ/Ｋ３２６Ｔ　または Ｓ２３９Ｄ/Ｓ２９８Ａ/Ｅ３３３Ａ/Ｌ２４２Ｃ/Ｋ３３４Ｃ	
ＣＨ３	ヘテロ会合体を作る	Ｌ３６８Ａ、Ｙ４０７Ａ または　Ｋ４０９Ｒ	

[0311] すなわち、表３Ａおよび表３Ｂに示すアミノ酸残基置換の組合せは、以下の通りである。

[0312] ＜第１のＩｇＧ半量体＞

１）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｓ２３９Ｄ、Ｋ３２６Ｔ、Ｌ３６８Ａ

２）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｓ２３９Ｄ、Ｋ３２６Ｔ、Ｙ４０７Ａ

３）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｓ２３９Ｄ、Ｋ３２６Ｔ、Ｋ４０９Ｒ

４）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ、Ｋ３３４Ｃ、Ｌ３６８Ａ

５）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ、Ｋ３３４Ｃ、Ｙ４０７Ａ

６）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｄ２６５Ａ、Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ、Ｋ３３４Ｃ、Ｋ４０９Ｒ

７）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｓ２９８Ｅ、Ｓ２３９Ｄ、Ｋ３２６Ｔ、Ｌ３６８Ａ

８）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｓ２９８Ｅ、Ｓ２３９Ｄ、Ｋ３２６Ｔ、Ｙ４０７Ａ

９）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｓ２９８Ｅ、Ｓ２３９Ｄ、Ｋ３２６Ｔ、Ｋ４０９Ｒ

１０）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｓ２９８Ｅ、Ｓ２３９Ｄ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ、Ｋ３３４Ｃ、Ｌ３６８Ａ

１１）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｓ２９８Ｅ、Ｓ２３９Ｄ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ、Ｋ３３４Ｃ、Ｙ４０７Ａ

１２）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｓ２９８Ｅ、Ｓ２３９Ｄ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ、Ｋ３３４Ｃ、Ｋ４０９Ｒ

[0313] ＜第２のＩｇＧ半量体＞

１）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｐ３２９Ｙ、Ｓ２３９Ｄ、Ｋ３２６Ｔ、Ｌ３６８Ａ

２）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｐ３２９Ｙ、Ｓ２３９Ｄ、Ｋ３２６Ｔ、Ｙ４０７Ａ

３）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｐ３２９Ｙ、Ｓ２３９Ｄ、Ｋ３２６Ｔ、Ｋ４０９Ｒ

４）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｐ３２９Ｙ、Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ、Ｋ３３４Ｃ、Ｌ３６８Ａ

５）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｐ３２９Ｙ、Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ、Ｋ３３４Ｃ、Ｙ４０７Ａ

６）Ｃ２２６Ａ、Ｃ２２９Ａ、Ｐ３２９Ｙ、Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ、Ｋ３３４Ｃ、Ｋ４０９Ｒ

[0314] 本発明の抗体組成物は、前記第１のＩｇＧ半量体［１）～６）］に関して、それぞれ同じ数字の前記第２のＩｇＧ半量体［１）～６）］を含むことが好ましい。また、本発明の抗体組成物は、前記第１のＩｇＧ半量体［７）～１２）］に関して、以下の組合せとなるように前記第２のＩｇＧ半量体を含むことが好ましい。

・第１のＩｇＧ半量体７）と第２のＩｇＧ半量体１）

・第１のＩｇＧ半量体８）と第２のＩｇＧ半量体２）

・第１のＩｇＧ半量体９）と第２のＩｇＧ半量体３）

・第１のＩｇＧ半量体１０）と第２のＩｇＧ半量体４）

・第１のＩｇＧ半量体１１）と第２のＩｇＧ半量体５）

・第１のＩｇＧ半量体１２）と第２のＩｇＧ半量体６）

[0315] より具体的には、本発明の抗体組成物が有するアミノ酸残基置換の組合せの好ましい態様として、例えば、以下の＜１＞～＜１２＞が挙げられる。

[0316] ＜１＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む

。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＬ３６８Ａを含む。

[0317] ＜２＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、それぞれ、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＹ４０７Ａを含む。

[0318] ＜３＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、それぞれ、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＫ４０９Ｒを含む。

[0319] ＜４＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、それぞれ、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ｂ）Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵイ

ンデックスで表されるＬ３６８Ａを含む。

[0320] ＜５＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ｂ）Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＹ４０７Ａを含む。

[0321] ＜６＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ｂ）Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４

２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＫ４０９Ｒを含む。

[0322] ＜７＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＳ２９８Ｅのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＫ４０９Ｒを含む。

[0323] ＜８＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＳ２９８Ｅのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＬ３６８Ａを含む。

[0324] ＜９＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、それぞれ、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＳ２９８Ｅのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＹ４０７Ａを含む。

[0325] ＜１０＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、それぞれ、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＳ２９８Ｅのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを

含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体はＥＵインデックスで表されるＳ２３９Ｄ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含み、第２のＩｇＧ半量体は、ＥＵインデックスで表されるＳ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＬ３６８Ａを含む。

[0326] ＜１１＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＳ２９８Ｅのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体はＥＵインデックスで表されるＳ２３９Ｄ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含み、第２のＩｇＧ半量体は、ＥＵインデックスで表されるＳ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＹ４０７Ａを含む。

[0327] ＜１２＞

（２Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）第１のＩｇＧ半量体は、第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＳ２９８Ｅのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）第２のＩｇＧ半量体は、第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）第１のＩｇＧ半量体はＥＵインデックスで表されるＳ２３９Ｄ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含み、第２のＩｇＧ半量体は、ＥＵインデックスで表されるＳ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＫ４０９Ｒを含む。

[0328] [表4]

ドメイン名	アミノ酸残基置換の目的	アミノ酸残基置換の組合せ	
		第１のＩｇＧ半量体	第２のＩｇＧ半量体
ヒンジ	ヘテロ会合体を作る	Ｃ２２６Ａ/Ｃ２２９Ａ	
ＣＨ２	ヘテロ会合体になった時のみCD16aと結合する	Ｄ２６５Ａ	Ｐ３２９Ｙ
ＣＨ２	CD16a結合活性の増強	Ｓ２３９Ｄ/Ｋ３２６Ｔ　または Ｓ２３９Ｄ/Ｓ２９８Ａ/Ｅ３３３Ａ/Ｌ２４２Ｃ/Ｋ３３４Ｃ	
ＣＨ３	ヘテロ会合体を作る	Ｋ４０９Ｒ	

[0329] また、本発明の抗体組成物は、表５に示す第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体を含む抗体組成物が好ましい。表５において、各配列番号は、ＣＨドメインのアミノ酸配列の配列番号を示す。

[0330] [表5]

抗体組成物番号	第１のＩｇＧ半量体のＣＨ配列番号（アミノ酸配列）	第２のＩｇＧ半量体のＣＨ配列番号（アミノ酸配列）
1	248	252
2	272	292

[0331] 本発明の一態様として上述抗体組成物を構成する第１のＩｇＧ半量体又は

第２のＩｇＧ半量体が挙げられる。

[0332] 本発明の第１のＩｇＧ半量体としては、所望の第１の抗原及び第２の抗原が発現する両陽性細胞において第２のＩｇＧ半量体と会合して、両陽性細胞特異的にエフェクター機能を発揮することができることから、第２のＩｇＧ半量体と会合することを特徴とする第１のＩｇＧ半量体が挙げられる。本発明の第１のＩｇＧ半量体は、第２のＩｇＧ半量体との併用、第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体からなる抗体組成物の製造、第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体からなる抗体組成物を含む医薬組成物の製造に使用できる。

[0333] また、本発明の第２のＩｇＧ半量体としては、所望の第１の抗原及び第２の抗原が発現する両陽性細胞において第1のＩｇＧ半量体と会合して、両陽性細胞特異的にエフェクター機能を発揮することができることから、第1のＩｇＧ半量体と会合することを特徴とする第２のＩｇＧ半量体が挙げられる。本発明の第２のＩｇＧ半量体は、第１のＩｇＧ半量体との併用、第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体からなる抗体組成物の製造、第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体からなる抗体組成物を含む医薬組成物の製造に使用できる。

[0334] 上記例示した抗体組成物に含まれる第１のＩｇＧ半量体又は第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ対応するＩｇＧ半量体と会合することを特徴として有するＩｇＧ半量体であるため、本発明の第１又は第２のＩｇＧ半量体に含まれる。

[0335] 更に、本発明の第１又は第２のＩｇＧ半量体は、いずれの抗原に特異的に結合するＩｇＧ半量体であってもよく、第１のＩｇＧ半量体が結合する抗原と第２のＩｇＧ半量体が結合する抗原が異なっていればよい。

[0336] 本発明の抗体組成物が結合する抗原としては、いずれの抗原であってもよく、好ましくはがん、免疫疾患、アレルギー疾患又は循環器疾患等に関する抗原分子が挙げられる。例えば、サイトカイン、ケモカイン、増殖因子及び該受容体並びにＣＤ抗原などが挙げられる。

[0337] サイトカイン又は増殖因子の受容体としては、例えば、インターフェロン（以下、ＩＦＮと記す）－α、ＩＦＮ－β、ＩＦＮ－γ、インターロイキン（以下、ＩＬと記す）－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１５、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－２１、ＩＬ－２３、ＩＬ－２７、顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）、顆粒球／マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）、又はマクロファージコロニー刺激因子（Ｍ－ＣＳＦ）に対する受容体などが挙げられる。

[0338] ケモカイン受容体としては、例えば、ＳＬＣ、ＥＬＣ、Ｉ－３０９、ＴＡＲＣ、ＭＤＣ、ＭＩＰ－３α、ＣＴＡＣＫに対する受容体が挙げられる。

[0339] 増殖因子の受容体としては、例えば、Ｅｐｉｄｅｒｍａｌ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ（ＥＧＦ）、Ｖａｓｃｕｌａｒ Ｅｎｄｏｔｈｅｌｉａｌ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ（ＶＥＧＦ）、ａｎｇｉｏｐｏｉｅｔｉｎ、Ｆｉｂｒｏｂｌａｓｔ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ（ＦＧＦ）、Ｈｅｐａｔｏｃｙｔｅ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ（ＨＧＦ）、Ｐｌａｔｅｌｅｔ－Ｄｅｒｉｖｅｄ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ（ＰＤＧＦ）、Ｉｎｓｕｌｉｎ－ｌｉｋｅ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ（ＩＧＦ）、ｅｒｙｔｈｒｏｐｏｉｅｔｉｎ（ＥＰＯ）、Ｔｒｏｎｂｏｐｏｉｅｔｉｎ（ＴＰＯ）、ＴＧＦβ、ｌｅｐｈｒｉｎ、ａｎｇｉｏｐｏｉｅｔｉｎ、Ｆｒｉｚｚｌｅｄ ｌｉｇａｎｄ、ＳＤＦ－１に対する受容体などが挙げられる。

[0340] Ｃｌｕｓｔｅｒ ｏｆ Ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｉｏｎ（以下、ＣＤと記載する）抗原としては、ＣＤ１ａ、ＣＤ１ｃ（ＢＤＣＡ１）、ＣＤ１ｄ、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ５、ＣＤ６、ＣＤ７、ＣＤ８、ＣＤ１０、ＣＤ１１ａ、ＣＤ１１ｂ、ＣＤ１１ｃ、ＣＤ１４、ＣＤ１５、ＣＤ１６、ＣＤ１８、ＣＤ１９、ＣＤ２０、ＣＤ２１、ＣＤ２２、ＣＤ２３、ＣＤ２４、ＣＤ２５、ＣＤ２６（ＤＰＰ－４）、ＣＤ２７、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ３２、ＣＤ３２ａ、ＣＤ３３、ＣＤ３４、ＣＤ３７、ＣＤ３８、ＣＤ３９、ＣＤ４０、ＣＤ４３、ＣＤ４４、ＣＤ４５、ＣＤ４７、ＣＤ４８、ＣＤ４９、

ＣＤ４９ａ、ＣＤ４９ｂ、ＣＤ５１、ＣＤ５２、ＣＤ５３、ＣＤ５４、ＣＤ５５、ＣＤ５６、ＣＤ５７、ＣＤ５９、ＣＤ６２Ｅ、ＣＤ６２Ｌ、ＣＤ６２Ｐ、ＣＤ６３、ＣＤ６４、ＣＤ６６ａ（ＣＥＡＣＡＭ１）、ＣＤ６６ｂ（ＮＣＡ－９５）、ＣＤ６６ｃ（ＮＣＡ－５０／９０）、ＣＤ６６ｄ（ＣＧＭ１）、ＣＤ６６ｅ（ＣＥＡ）、ＣＤ６６ｆ（ＰＳＧ）、ＣＤ６８、ＣＤ６９、ＣＤ７０、ＣＤ７１、ＣＤ７２、ＣＤ７３、ＣＤ７４、ＣＤ７５、ＣＤ７６、ＣＤ７７、ＣＤ７８、ＣＤ７９ａ、ＣＤ７９ｂ、ＣＤ８０（Ｂ７．１）、ＣＤ８１、ＣＤ８２、ＣＤ８３、ＣＤ８４（ＳＬＡＭＦ５）、ＣＤ８５ａ（ＩＬＴ－５）、ＣＤ８５ｂ（ＩＬＴ８）、ＣＤ８５ｃ（ＬＩＲ８）、ＣＤ８５ｄ（ＩＬＴ４）、ＣＤ８５ｆ（ＩＬＴ１１）、ＣＤ８５ｇ（ＩＬＴ７）、ＣＤ８５ｈ（ＩＬＴ１）、ＣＤ８５ｉ（ＬＩＲ６ａ）、ＣＤ８５ｊ（ＩＬＴ２）、ＣＤ８５ｋ（ＩＬＴ３）、ＣＤ８５ｍ（ＩＬＴ１０）、ＣＤ８６（Ｂ７．２）、ＣＤ８７、ＣＤ８９、ＣＤ９４（ＮＫＧ２）、ＣＤ９５（Ｆａｓ）、ＣＤ９７、ＣＤ９８、ＣＤ１０３、ＣＤ１０６、ＣＤ１０７ａ（ＬＡＭＰ１）、ＣＤ１１４（Ｇ－ＣＳＦＲ）、ＣＤ１１５（Ｍ－ＣＳＦＲ、ＣＳＦ１Ｒ）、ＣＤ１１６（ＧＭ－ＣＳＦＲ）、ＣＤ１１７（ＳＣＦ－Ｒ，Ｃ－ＫＩＴ）、ＣＤ１１９（ＩＦＮＧＲ１）、ＣＤ１２１ａ（ＩＬ－１Ｒ１）、ＣＤ１２２（ＩＬ－２Ｒｂ）、ＣＤ１２３（ＩＬ－３Ｒａ）、ＣＤ１２４（ＩＬ－４Ｒａ）、ＣＤ１２５（ＩＬ－５Ｒａ）、ＣＤ１２６（ＩＬ－６Ｒａ）、ＣＤ１２７（ＩＬ－７Ｒａ）、ＣＤ１３４（ＯＸ４０）、ＣＤ１３５（ＦＬＴ３）、ＣＤ１３７（４－１ＢＢ）、ＣＤ１３８（Ｓｙｎｄｅｃａｎ－１）、ＣＤ１４０（ＰＤＧＦＲ）、ＣＤ１４６（ＭＵＣ１８）、ＣＤ１４７（ＥＭＭＲＲＩＮ）、ＣＤ１５２（ＣＴＬＡ－４）、ＣＤ１５３（ＣＤ３０リガンド）、ＣＤ１５８ａ（ＫＩＲ２ＤＬ１）、ＣＤ１５８ｂ１（ＫＩＲ２ＤＬ２）、ＣＤ１５８ｂ２（ＫＩＲ２ＤＬ３）、ＣＤ１５８ｃ（ＫＩＲ２ＤＳ６）、ＣＤ１５８ｄ（ＫＩＲ２ＤＬ４）、ＣＤ１５８ｅ１（ＫＩＲ３ＤＬ１）、ＣＤ１５８ｅ２（ＫＩＲ３ＤＳ１）、ＣＤ１５８ｆ（ＫＩＲ２ＤＬ５）、ＣＤ１５８ｇ（ＫＩＲ２ＤＳ５）、ＣＤ１５８ｈ（ＫＩＲ２ＤＳ１）、Ｃ

D158i（KIR2DS4）、CD158j（KIR2DS2）、CD158k（KIR3DL2）、CD159a（NKG2A）、CD159c（NKG2C）、CD161（NKRP1A）、CD162（PSGL－1）、CD163、CD169（SIGLEC1）、CD177、CD178（FasL）、CD183（CXCR3）、CD184（CXCR4）、CD185（CXCR5）、CD191（CCR1）、CD193（CCR3）、CD194（CCR4）、CD195（CCR5）、CD196（CCR6）、CD197（CCR7）、CD198（CCR8）、CD199（CCR9）、CD200（OX2）、CD206（MMR）、CD207（Langerin），CD209（DC－SIGN）、CD212（IL－12Rβ1）、CD213a1（IL－13Ra1）、CD213a2（IL－13Ra2）、CD215（IL－15RA）、CD217（IL－17R）、CD218a（IL－18Ra）、CD218b（IL－18Rβ）、CD223（LAG3）、CD226（DNAM－1）、CD229（SLAMF3）、CD252（OX40L）、CD269（BCMA）、CD272（BTLA）、CD274（PD－L1）、CD275（ICOSリガンド）、CD276（B7H3）、CD278（ICOS）、CD279（PD－1）、CD281（TLR1）、CD282（TLR2）、CD283（TLR3）、CD284（TLR4）、CD286（TLR6）、CD288（TLR8）、CD289（TLR9）、CD294（CRTH2）、CD301（CLEC10A、MGL）、CD302（DCL1）、CD303（BDCA2）、CD304（BDCA4）、CD305、CD314（NKG2D）、CD317（BST2）、CD319（CS1）、CD324（E－cadherin）、CD326（EpCAM）、CD357（GITR）、CD358（DR6）、CD360（IL－21R）、CD365（TIM－1）、CD366（TIM－3）、CD369（DECTIN－1）、CD370（CLEC9A）、CD371（CLEC12A）、human leukocyte antigen（HLA）－Cla

ｓｓ　ＩＩ（例えば、ＨＬＡ－ＤＲ）及びＨＬＡ－Ｉなどが挙げられる。

[0341] 更に、腫瘍の病態形成に関わる抗原又は免疫機能を調節する抗体の抗原としては、例えば、ガングリオシドＧＭ１、ＧＭ２、ＧＤ２、ＧＤ３、Ｌｅｗｉｓ　Ｘ（ＣＤ１５ｓ）、Ｌｅｗｉｓ　Ｙ、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ４０、ＣＤ４０リガンド、Ｂ７ファミリー分子（例えば、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ２７４、Ｂ７－ＤＣ、Ｂ７－Ｈ２、Ｂ７－Ｈ３、Ｂ７－Ｈ４、Ｂ７－Ｈ５、Ｂ７－Ｈ６、Ｂ７－Ｈ７）、Ｂ７ファミリー分子のリガンド（例えば、ＣＤ２８、ＣＴＬＡ－４、ＩＣＯＳ、ＰＤ－１又はＢＴＬＡ）、ＯＸ－４０、ＯＸ－４０リガンド、ＣＤ１３７、Ｔｕｍｏｒ　Ｎｅｃｒｏｓｉｓ　Ｆａｃｔｏｒ（ＴＮＦ）受容体ファミリー分子（例えば、ＤＲ３、ＤＲ４、ＤＲ５、ＢＡＦＦＲ、ＬＩＧＨＴ、ＴＮＦＲ１又はＴＮＦＲ２）、ＴＮＦ－ｒｅｌａｔｅｄ　ａｐｏｐｔｏｓｉｓ－ｉｎｄｕｃｉｎｇ　ｌｉｇａｎｄ　ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＴＲＡＩＬ）ファミリー分子、ＴＲＡＩＬファミリー分子の受容体ファミリー（例えば、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１、ＴＲＡＩＬ－Ｒ２、ＴＲＡＩＬ－Ｒ３又はＴＲＡＩＬ－Ｒ４）、ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ａｃｔｉｖａｔｏｒ　ｏｆ　ｎｕｃｌｅａｒ　ｆａｃｔｏｒ　ｋａｐｐａ　Ｂ　ｌｉｇａｎｄ（ＲＡＮＫ）、ＲＡＮＫリガンド、ＣＤ２５、葉酸受容体、Ｍｅｓｏｔｈｅｌｉｎ、ＳＩＧＬＥＣ８、サイトカイン・ケモカイン受容体［例えば、ＩＬ－１ＲＩＩ、ＩＬ－１２Ｒβ２、ＩＬ－１７ＲＢ、ＩＬ－２３Ｒ、ＩＬ－２７Ｒα、ＩＬ－３１Ｒ、ＩＬ－３３Ｒα、ＩＬ－３６Ｒ、ｔｒａｎｓｆｏｒｍｉｎｇ　ｇｒｏｗｔｈ　ｆａｃｔｏｒ（ＴＧＦ）βＲＩＩ、ＣＣＲ２、ＣＣＲ１０、ＣＸＣＲ１、ＣＸＣＲ２、ロイコトリエンＢ４受容体（ＢＬＴ１）］、ＮＫ細胞受容体（例えば、ＮＫＧ２Ｄ、Ｅ４ＢＰ４、ＮＫｐ３０、ＮＫｐ４４、ＮＫｐ４６、ＡｈＲ）、Ｔ細胞受容体（例えば、ＴＣＲα／β、ＴＣＲ　Ｖβ１１、ＴＣＲγ／δ、ＴＳＬＰＲ、ＳＬＡＭ、ＳＬＡＭＦ６、ＬＡＰ、ＧＡＲＰ、ＳＲ－Ａ１、ＣＤ２００Ｒ、ＤＣＲ３、ＴＩＧＩＴ）、Ｂ細胞受容体（例えば、ＢＬＹＳ、ＡＰＲＩＬ、ＴＳＬＰＲ）、樹状細胞受容体（例えば、ＦＣＥＲ１Ａ、ＴＬＲ７、ＣＡＤＭ１、ＸＣＲ１、ＢＴＬＡ、Ｓ

ＩＲＰＡ、ＤＣＩＲ、ＴＲＯＰ２、ＡＸＬ、ＳＩＧＬＥＣ６、ＳＩＧＬＥＣ１５、ＣＸ３ＣＲ１、Ｓ１００Ａ８、Ｓ１００Ａ９、ＡＳＧＲ１）、アミノ酸トランスポーター（例えば、ＡＳＣＴ２）、セリンプロテアーゼ（例えば、Ｐｒｏｔｅｉｎａｓｅ－３，ＰＲ３）などが挙げられる。

[0342] 受容体型チロシンキナーゼとしては、例えば、ＥＧＦ受容体、インスリン受容体、ＩＧＦ－１受容体、ＮＧＦ受容体、ＰＤＧＦ受容体、Ｍ－ＣＳＦ受容体、ＦＧＦ受容体、ＶＥＧＦ受容体及びＥｐｈ受容体などが挙げられる。チロシンキナーゼ会合型受容体としては、例えば、サイトカイン受容体及びＦｃ受容体などが挙げられる。また、細胞接着分子としては、例えば、カドヘリン及びインテグリンなどが挙げられる。Ｇタンパク共役型受容体としては、例えば、アデノシン受容体、カンナビノイド受容体及びグルカゴン受容体などが挙げられる。

[0343] 具体的には、例えば受容体型チロシンキナーゼとして、Ｅｐｉｄｅｒｍａｌ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＥＧＦＲ）、Ｖ－ＥＲＢ－Ｂ２ Ａｖｉａｎ Ｅｒｙｔｈｒｏｂｌａｓｔｉｃ Ｌｅｕｋｅｍｉａ Ｖｉｒａｌ Ｏｎｃｏｇｅｎｅ Ｈｏｍｏｌｏｇ２（ＨＥＲ２）、Ｖ－ＥＲＢ－Ｂ２ Ａｖｉａｎ Ｅｒｙｔｈｒｏｂｌａｓｔｉｃ Ｌｅｕｋｅｍｉａ Ｖｉｒａｌ Ｏｎｃｏｇｅｎｅ Ｈｏｍｏｌｏｇ３（ＨＥＲ３）、Ｖ－ＥＲＢ－Ｂ２ Ａｖｉａｎ Ｅｒｙｔｈｒｏｂｌａｓｔｉｃ Ｌｅｕｋｅｍｉａ Ｖｉｒａｌ Ｏｎｃｏｇｅｎｅ Ｈｏｍｏｌｏｇ４（ＨＥＲ４）、Ｉｎｓｕｌｉｎ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＩＮＳＲ）、Ｉｎｓｕｌｉｎ－ｌｉｋｅ Ｇｒｏｗｔｈ ＦａｃｔｏｒＩ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＩＧＦ１Ｒ）、Ｎｅｒｖｅ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＮＧＦＲ）、Ｐｌａｔｅｌｅｔ－ｄｅｒｉｖｅｄ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ，Ａｌｐｈａ（ＰＤＧＦＲＡ）、Ｐｌａｔｅｌｅｔ－ｄｅｒｉｖｅｄ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ，Ｂｅｔａ（ＰＤＧＦＲＢ）、Ｃｏｌｏｎｙ－ｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎｇ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＣＳＦ１Ｒ）、Ｃｏｌｏｎｙ－ｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎｇ

Ｆａｃｔｏｒ２ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ，Ａｌｐｈａ（ＣＳＦ２ＲＡ）、Ｃｏｌｏｎｙ－ｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎｇ Ｆａｃｔｏｒ３ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ，Ｇｒａｎｕｌｏｃｙｔｅ（ＣＳＦ３Ｒ）、Ｆｉｂｒｏｂｌａｓｔ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ１（ＦＧＦＲ１）、Ｆｉｂｒｏｂｌａｓｔ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ２（ＦＧＦＲ２）、Ｆｉｂｒｏｂｌａｓｔ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ３（ＦＧＦＲ３）、Ｆｉｂｒｏｂｌａｓｔ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ４（ＦＧＦＲ４）、Ｋｉｎａｓｅ Ｉｎｓｅｒｔ Ｄｏｍａｉｎ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＫＤＲ）、Ｅｐｈｒｉｎ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ ＥｐｈＡ１（ＥＰＨＡ１）、Ｅｐｈｒｉｎ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ ＥｐｈＡ２（ＥＰＨＡ２）、Ｅｐｈｒｉｎ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ ＥｐｈＡ３（ＥＰＨＡ３）、などが挙げられる。

[0344] また、チロシンキナーゼ会合型受容体として、Ｉｎｔｅｒｌｅｕｋｉｎ－１ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ １（ＩＬ－１Ｒ１）、Ｉｎｔｅｒｌｅｕｋｉｎ－１ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ Ａｃｃｅｓｓｏｒｙ Ｐｒｏｔｅｉｎ（ＩＬ－１ＲＡＰ）、Ｉｎｔｅｒｌｅｕｋｉｎ－１ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ Ｌｉｋｅ １（ＩＬ－１ＲＬ１、ＳＴ２）、Ｈｅｐａｔｏｃｙｔｅ Ｇｒｏｗｔｈ ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ｃ－Ｍｅｔ）、Ｍａｃｒｏｐｈａｇｅ Ｓｔｉｍｕｌａｔｉｎｇ １ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＲＯＮ）、Ｐｌａｔｅｌｅｔ－Ｄｅｒｉｖｅｄ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＰＤＧＦＲ）、Ｊｕｎｃｔｉｏｎａｌ Ａｄｈｅｓｉｏｎ Ｍｏｌｅｃｕｌｅ－Ｌｉｋｅ（ＪＡＭＬ）、Ｎｅｃｔｉｎ－ｌｉｋｅ ｐｒｏｔｅｉｎ ５（Ｎｅｃｌ－５）、Ｔｕｍｏｒ Ｎｅｃｒｏｓｉｓ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ １（ＴＮＦ－Ｒ１）、Ｔｕｍｏｒ Ｎｅｃｒｏｓｉｓ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ ２（ＴＮＦ－Ｒ２）、ＴＮＦ－Ｒｅｌａｔｅｄ Ａｐｏｐｔｏｓｉｓ－Ｉｎｄｕｃｉｎｇ Ｌｉｇａｎｄ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ １（ＴＲＡＩＬ－Ｒ１）、ＴＮＦ－Ｒｅｌａｔｅｄ Ａｐｏｐｔｏｓｉｓ－Ｉｎｄｕｃｉｎｇ Ｌｉｇａｎｄ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ ２（ＴＲＡＩＬ－Ｒ２）

、Ｄｅａｔｈ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ ３（ＤＲ３）、Ｄｅａｔｈ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ ６（ＤＲ６）、Ｒｅｃｅｐｔｏｒ Ａｃｔｉｖａｔｏｒ ｏｆ ＮＦ－ｋＢ（ＲＡＮＫ）、Ｎｅｒｖｅ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＮＧＦＲ）、Ｌｙｍｐｈｏｔｏｘｉｎ－ｂｅｔａ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＬＴβＲ）、ＯＸ４０（ＴＮＦＲＳＦ４）、Ｆａｓ（ＴＮＦＲＳＦ６）、４－１ＢＢＬ（ＴＮＦＲＳＦ９）、Ｆｎ１４（ＴＮＦＲＳＦ１２Ａ）、ＴＡＣＩ（ＴＮＦＲＳＦ１３Ｂ）、ＢＡＦＦ－Ｒ（ＴＮＦＲＳＦ１３Ｃ）、ＨＶＥＭ（ＴＮＦＲＳＦ１４）、ＢＣＭＡ（ＴＮＦＲＳＦ１７）、ＧＩＴＲ（ＴＮＦＲＳＦ１８）、ＴＲＯＹ（ＴＮＦＲＳＦ１９）、Ｅｃｔｏｄｙｓｐｌａｓｉｎ Ａ１ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＥＤＡＲ）、Ｅｃｔｏｄｙｓｐｌａｓｉｎ Ａ２ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＸＥＤＡＲ）、Ｒｅｃｅｐｔｏｒ Ｅｘｐｒｅｓｓｅｄ ｉｎ Ｌｙｍｐｈｏｉｄ Ｔｉｓｓｕｅｓ（ＲＥＬＴ）、ＣＤ３、ＣＤ２７、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＦｃαＲＩ、ＦｃγＲＩＩＩ及びＦｃεＲＩ、Ｆｃ Ｆｒａｇｍｅｎｔ ｏｆ ＩｇＧ，Ｒｅｃｅｐｔｏｒ Ｔｒａｎｓｐｏｔｅｒ，Ａｌｐｈａ（ＦＣＧＲＴ）、などが挙げられる。

[0345] また、細胞接着分子としては、Ｉｎｔｅｇｒｉｎ，Ａｌｐｈａ９（ＩＴＧＡ９）、Ｐ－ｓｅｌｅｃｔｉｎ Ｇｌｙｃｏｐｒｏｔｅｉｎ Ｌｉｇａｎｄ－１（ＰＳＧＬ－１）、Ｃａｄｈｅｒｉｎ１１（ＣＤＨ１１）、Ｍｕｃｏｓａｌ Ｖａｓｃｕｌａｒ Ａｄｄｒｅｓｓｉｏｎ Ｃｅｌｌ Ａｄｈｅｓｉｏｎ Ｍｏｌｅｃｕｌｅ１（ＭＡＤＣＡＭ１）、Ｉｎｔｅｇｒｉｎ，Ａｌｐｈａ４（ＩＴＧＡ４）、Ｉｎｔｅｇｒｉｎ，Ｂｅｔａ４（ＩＴＧＢ４）、Ｉｎｔｅｇｒｉｎ，Ａｌｐｈａ４Ｂｅｔａ７、Ｉｎｔｅｇｒｉｎ，Ａｌｐｈａ４Ｂｅｔａ１、コラーゲン（Ｔｙｐｅ Ⅰ Ｃｏｌｌａｇｅｎ）、Ｇタンパク共役型受容体としては、Ａｄｅｎｏｓｉｎｅ Ａ２Ａ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＡＤＯＲＡ２Ａ）、Ａｄｅｎｏｓｉｎｅ Ａ２Ｂ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＡＤＯＲＡ２Ｂ）、Ｒｅｐｕｌｓｉｖｅ Ｇｕｉｄａｎｃｅ Ｍｏｌｅｃｕｌｅａ（ＲＧＭＡ）、Ｇｌｕｃａｇｏｎ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＧＣＧＲ）、Ｐｒｏｌａｃｔｉｎ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＰＲＬＲ）、Ｇｌｕｃａｇｏｎ－ｌ

ｉｋｅ Ｐｅｐｔｉｄｅ１ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＧＬＰ１Ｒ）、Ｃａｎｎａｂｉｎｏｉｄ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ１（ＣＢ１）、Ｍａｓ－ｒｅｌａｔｅｄ Ｇ ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃｏｕｐｌｅｄ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ－Ｘ２（ＭＲＧＰＲＸ２）などが挙げられる。

[0346] 本発明の抗体組成物を含む医薬組成物は、前記抗原分子を表面に発現する細胞が関与する疾患の治療に用いられることが好ましく、がん、自己免疫疾患、アレルギー疾患の治療に用いられることがより好ましい。

[0347] がんとしては、例えば、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、脳腫瘍、乳がん、子宮体がん、子宮頸がん、卵巣がん、食道がん、胃がん、大腸がん、肝がん、胆のうがん、胆管がん、膵臓がん、副腎がん、消化管間質腫瘍、中皮腫、頭頚部がん、腎臓がん、肺がん、肉腫、前立腺がん、精巣腫瘍、膀胱がん、皮膚がん、小児がんなどが挙げられる。また抑制性の免疫細胞を除去することによる種々のがん治療も含まれる。

[0348] 自己免疫疾患あるいはアレルギーとしては、例えば、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、多発性硬化症、慢性胃炎、慢性萎縮性胃炎、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性胆管炎、潰瘍性大腸炎、クローン病、自己免疫性膵炎、高安動脈炎、グッドパスチャー症候群、急速進行性糸球体腎炎、ＩｇＡ腎症、巨赤芽球性貧血、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性好中球減少症、特発性血小板減少性紫斑病、バセドウ病、橋本病、原発性甲状腺機能低下症、突発性アジソン病、Ｉ型糖尿病、慢性円板状エリテマトーデス、限局性強皮症、天疱瘡、膿疱性乾癬、関節症性乾癬、尋常性乾癬、類天疱瘡、妊娠性疱疹、線状ＩｇＡ水疱性皮膚症、後天性表皮水疱症、円形脱毛症、尋常性白斑、原田病、自己免疫性視神経症、自己免疫性内耳障害、突発性無精子症、習慣性流産、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、抗リン脂質抗体症候群、多発性筋炎、皮膚筋炎、強皮症、シェーグレン症候群、ＩｇＧ４関連疾患、血管炎症候群、混合性結合組織病、自己免疫性溶血性貧血、不適合輸血、特発性血小板減少性紫斑病、アトピー性皮膚炎、多発性動脈炎、アレルギー性鼻炎（花粉症）、アレルギー性結膜炎、アレルギー性胃腸炎、気管支喘息、

小児喘息、食物アレルギー、薬物アレルギー、蕁麻疹、アナフィラキシーショック、移植拒絶、接触性皮膚炎、ベーチェット病などが挙げられる。

[0349] 本発明の抗体組成物が結合する第一の抗原と第二の抗原の具体的な組み合わせおよび標的細胞、並びに該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象となる疾患を以下に例示する。また、かかる例示について表６Ａ～表６Ｅに対応関係を示す。

[0350] ｃ１）第１の抗原がＣＡＤＭ１であり、第２の抗原がＣＣＲ４であり、標的細胞がＡＴＬ（Ａｄｕｌｔ　Ｔ－ｃｅｌｌ　Ｌｅｕｋｅｍｉａ－ｌｙｍｐｈｏｍａ）細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、ＡＴＬが挙げられる。

ｃ２）第１の抗原がＥＧＦＲであり、第２の抗原がＨＥＲ２であり、標的細胞が癌細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物としては、胃癌または乳がん等の固形癌が挙げられる。

ｃ３）第１の抗原がＣＤ５２であり、第２の抗原がＣＤ７０であり、標的細胞が、活性化Ｔ細胞、活性化Ｂ細胞または活性化ＡＰＣである、抗体組成物。

ｃ４）第１の抗原がＣＤ２であり、第２の抗原がＣＤ７０であり、標的細胞が活性化Ｔ細胞である抗体組成物。

ｃ５）第１の抗原がＣＤ１９であり、第２の抗原がＣＤ７０であり、標的細胞が活性化Ｂ細胞である、抗体組成物。

ｃ６）第１の抗原がＣＤ２であり、第２の抗原がＣＤ４０リガンドであり、標的細胞が活性化エフェクターＴ細胞(活性化Ｔｅｆｆ)である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、シェーグレン症候群が挙げられる。

ｃ７）第１の抗原がＰＤ－Ｌ１であり、第２の抗原がＣＤ１９、ＣＤ３０、

ＣＣＲ４、ＣＤ２０、ＣＤ２２およびＣＤ７９ｂから選ばれる１であり、標的細胞がリンパ腫である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、リンパ腫が挙げられる。

ｃ８）第１の抗原がＰＤ－Ｌ１であり、第２の抗原がＣＤ１９、ＣＤ３０、ＣＣＲ４、ＣＤ２０、ＣＤ２２およびＣＤ７９ｂから選ばれる１であり、標的細胞が白血病である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、白血病が挙げられる。

ｃ９）第１の抗原がＣＤ８であり、第２の抗原がＣＣＲ４であり、標的細胞が制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。該医薬組成物は、がん免疫療法に用いることが好ましい。

ｃ１０）第１の抗原がＣＴＬＡ－４であり、第２の抗原がＣＤ４、ＣＣＲ４およびＧＩＴＲから選ばれる１であり、標的細胞が制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。該医薬組成物は、がん免疫療法に用いることが好ましい。

ｃ１１）第１の抗原がＴＩＧＩＴであり、第２の抗原がＣＤ４、ＣＣＲ４およびＧＩＴＲから選ばれる１であり、標的細胞が制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。該医薬組成物は、がん免疫療法に用いることが好ましい。

ｃ１２）第１の抗原がＰＤ－１であり、第２の抗原がＣＤ４、ＣＣＲ４およびＧＩＴＲから選ばれる１であり、標的細胞が制御性Ｔ細胞（Ｔｒｅｇ）である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。該医薬組成物は、がん免疫療法に用いることが好ましい。

ｃ１３）第１の抗原がＯＸ４０であり、第２の抗原がＣＤ１２７、ＣＤ２６、ＣＤ７０およびＣＤ１５ｓから選ばれる１であり、標的細胞がエフェクターＴ細胞（Ｔｅｆｆ）である抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、自己免疫疾患が挙げられる。

ｃ１４）第１の抗原が４－１ＢＢであり、第２の抗原がＣＤ１２７、ＣＤ２６、ＣＤ７０およびＣＤ１５ｓから選ばれる１であり、標的細胞がエフェクターＴ細胞（Ｔｅｆｆ）である抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、自己免疫疾患が挙げられる。

ｃ１５）第１の抗原がＧＩＴＲであり、第２の抗原がＣＤ１２７、ＣＤ２６、ＣＤ７０およびＣＤ１５ｓから選ばれる１であり、標的細胞がエフェクターＴ細胞（Ｔｅｆｆ）である抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、自己免疫疾患が挙げられる。

ｃ１６）第１の抗原がＣＤ４０リガンドであり、第２の抗原がＣＤ１２７、ＣＤ２６、ＣＤ７０およびＣＤ１５ｓから選ばれる１であり、標的細胞がエフェクターＴ細胞（Ｔｅｆｆ）である抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、自己免疫疾患が挙げられる。

ｃ１７）第１の抗原がＣＤ４であり、第２の抗原がＣＤ６９であり、標的細胞が組織常駐メモリーＴ（ＴＲＭ）細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、ＡＮＣＡ（Ａｎｔｉ－Ｎｅｕｔｒｏｐｈｉｌ　Ｃｙｔｏｐｌａｓｍｉｃ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ）関連糸球体腎炎が挙げられる。

ｃ１８）第１の抗原がＰＤ－１であり、第２の抗原がＣＤ３であり、標的細胞がＰｅｒｉｐｈｅｒａｌ　ｈｅｌｐｅｒ　Ｔ（ＴＰＨ）細胞及びＰＤ－１ｈｉｇｈＣＤ８陽性Ｔ細胞の少なくとも一方である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、関節リウマチが挙げられる。

ｃ１９）第１の抗原がＰＤ－１であり、第２の抗原がＣＤ４であり、標的細胞がＰＤ－１陽性Ｔ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、セリアック病が挙げられる。

ｃ２０）第１の抗原がインテグリンα４β７であり、第２の抗原がＣＣＲ６、ＣＸＣＲ３およびＣＤ１６１から選ばれる１であり、標的細胞がエフェクターＴ細胞（Ｔｅｆｆ）及び自然リンパ球（ＩＬＣ、Ｉｎｎａｔｅ　Ｌｙｍｐｈｏｉｄ　Ｃｅｌｌ）から選ばれる少なくとも１である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、炎症性腸疾患が挙げられる。

ｃ２１）第１の抗原がインテグリンα４β７であり、第２の抗原がＣＤ１２７であり、標的細胞が全ての自然リンパ球（ＩＬＣ）及びＴｒｅｇ以外の腸管に浸潤するＴ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、炎症性腸疾患が挙げられる。

ｃ２２）第１の抗原がインテグリンα４β７であり、第２の抗原がＣＤ４０リガンドであり、標的細胞が局所遊走活性化Ｔ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ２３）第１の抗原がインテグリンα４β１であり、第２の抗原がＣＤ４０リガンドであり、標的細胞が局所遊走活性化Ｔ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、多発性硬化症および炎症性腸疾患の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ２４）第１の抗原がＣＸＣＲ５であり、第２の抗原がＣＤ１２７であり、標的細胞が自然リンパ球（ＩＬＣ）である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、アレルギー疾患

が挙げられる。

ｃ２５）第１の抗原がＴＰＯ受容体（ｃ－ｍｐｌ）であり、第２の抗原がＣＤ３４であり、標的細胞が異常増殖造血幹細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、原発性骨髄線維症が挙げられる。

ｃ２６）第１の抗原がＴＰＯ受容体（ｃ－ｍｐｌ）であり、第２の抗原がＣＤ１２３であり、標的細胞がＣＤ１２３陽性白血病幹細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、原発性骨髄線維症が挙げられる。

ｃ２７）第１の抗原がＣＸＣＲ３であり、第２の抗原がＣＤ３であり、標的細胞がＣＸ３ＣＲ１陽性細胞（細胞傷害性エフェクターＴ細胞等、ＮＫ細胞除く）である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、自己免疫疾患(例えば、クローン病等)、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１が挙げられる。

ｃ２８）第１の抗原がＣＸＣＲ３であり、第２の抗原がＣＤ１２７またはＣＤ４０リガンドであり、標的細胞がＴｈ１細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、全身性エリテマトーデスが挙げられる。

ｃ２９）第１の抗原がＣＣＲ４であり、第２の抗原がＣＤ１２７またはＣＤ４０リガンドであり、標的細胞がＴｒｅｇ以外のＣＣＲ４陽性Ｔ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、アレルギー疾患が挙げられる。

ｃ３０）第１の抗原がＣＣＲ６であり、第２の抗原がＣＤ１２７またはＣＤ４０リガンドであり、標的細胞がＴｈ１７細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、乾癬が挙げられ

る。

ｃ３１）第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＣＤ１２７またはＣＤ４０リガンドであり、標的細胞がＴｈ２細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、アレルギー疾患が挙げられる。

ｃ３２）第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＣＣＲ４であり、標的細胞がＴｈ２細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、喘息、好酸球性副鼻腔炎およびアトピー性皮膚炎から選ばれる少なくとも１が挙げられる。

ｃ３３）第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＳＴ２であり、標的細胞がＴｐａｔｈ２細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、喘息および好酸球性副鼻腔炎の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ３４）第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＣＣＲ６であり、標的細胞がＴｈ２／Ｔｈ１７細胞（重症喘息のみで現れるヘテロ細胞）である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、アレルギー疾患が挙げられる。

ｃ３５）第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＣＣＲ３であり、標的細胞が好酸球、好塩基球、Ｔｈ２細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、アレルギー疾患が挙げられる。

ｃ３６）第１の抗原がＣＤ２０７であり、第２の抗原がＣＤ１１ｂまたはＣＤ１ａであり、標的細胞がランゲルハンス細胞前駆細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、ランゲルハンス細胞組織球症（ＬＣＨ、Ｌａｎｇｅｒｈａｎｓ　Ｃｅｌｌ　Ｈｉｓｔｉｏｃｙｔｏｓｉｓ）が挙げられる。

ｃ３７）第１の抗原がＣＤ１２３であり、第２の抗原がＨＬＡ－ＤＲであり、標的細胞が形質細胞様樹状細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、全身性エリテマトーデスが挙げられる。

ｃ３８）第１の抗原がＣＤ１２３であり、第２の抗原がＡＳＣＴ２であり、標的細胞が形質細胞様樹状細胞、Ｔｈ１細胞およびＴｈ１７細胞から選ばれる少なくとも１である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、全身性エリテマトーデスが挙げられる。

ｃ３９）第１の抗原がＣＳＦ１Ｒであり、第２の抗原がＣＤ１４であり、標的細胞が単球系骨髄由来抑制細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、特発性肺線維症が挙げられる。

ｃ４０）第１の抗原がＣＳＦ１Ｒであり、第２の抗原がＣＤ３３であり、標的細胞が骨髄由来抑制細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。

ｃ４１）第１の抗原がＣＤ１９であり、第２の抗原がＣＤ３８であり、標的細胞がプラズマ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、全身性エリテマトーデスが挙げられる。

ｃ４２）第１の抗原がＣＤ３であり、第２の抗原がＩＬ－２３Ｒであり、標的細胞がＴｈ１細胞、Ｔｈ１７細胞およびＴｆｈ細胞から選ばれる少なくとも１である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、全身性エリテマトーデスが挙げられる。

ｃ４３）第１の抗原がＣＤ３であり、第２の抗原がＣＸ３ＣＲ１であり、標的細胞がＣＸ３ＣＲ１陽性細胞（例えば、細胞傷害性エフェクターＴ細胞等

。ＮＫ細胞除く。）である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、自己免疫疾患（例えば、クレーン病等）、動脈硬化および虚血性心疾患から選ばれる少なくとも１が挙げられる。

ｃ４４）第１の抗原がＣＸＣＲ４であり、第２の抗原がＴｙｐｅ　１　ｃｏｌｌａｇｅｎであり、標的細胞が線維細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、特発性肺線維症、全身性硬化症および肝硬変等各種線維化疾患から選ばれる少なくとも１が挙げられる。

ｃ４５）第１の抗原がＣＸＣＲ４であり、第２の抗原がＣＤ１４であり、標的細胞が単球及び線維細胞の少なくとも一方である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、特発性肺線維症が挙げられる。

ｃ４６）第１の抗原がＣＸＣＲ４であり、第２の抗原がＣＤ１６であり、標的細胞が活性化好中球である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、好中球性喘息、慢性閉塞性肺疾患およびアルツハイマーから選ばれる少なくとも１が挙げられる。

ｃ４７）第１の抗原がＣＬＥＣ１０Ａであり、第２の抗原がＣＤ１４またはＣＤ１６であり、標的細胞がｉｎｔｅｒｍｅｄｉａｔｅ単球である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、クローン病、関節リウマチおよび喘息から選ばれる少なくとも１が挙げられる。

ｃ４８）第１の抗原がＣＤ７０であり、第２の抗原がＣＤ３８であり、標的細胞が活性化Ｔ細胞及び活性化Ｂ細胞の少なくとも一方である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、多発性硬化症および視神経脊髄炎の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ４９）第１の抗原がＣＤ７０であり、第２の抗原がＣＤ４、ＣＤ１２７およびＴＩＭ－１から選ばれる１であり、標的細胞がＴｈ１細胞、Ｔｈ１７細胞および形質細胞様樹状細胞から選ばれる少なくとも１である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、全身性エリテマトーデスが挙げられる。

ｃ５０）第１の抗原がＣＤ４であり、第２の抗原がＴＩＭ－１であり、標的細胞がＴｈ１細胞、Ｔｈ１７細胞および形質細胞様樹状細胞から選ばれる少なくとも１である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、全身性エリテマトーデスが挙げられる。

ｃ５１）第１の抗原がＣＤ７０であり、第２の抗原がＣＤ５２であり、標的細胞が活性化Ｔ細胞および活性化Ｂ細胞の少なくとも一方である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、多発性硬化症が挙げられる。

ｃ５２）第１の抗原がＣＢ１であり、第２の抗原がＡＴ１Ｒであり、標的細胞がＧＰＣＲヘテロマー発現悪玉星細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、肝硬変が挙げられる。

ｃ５３）第１の抗原がＣＤ４またはＰＤ－１であり、第２の抗原がＣＤ１５３であり、標的細胞が老化Ｔ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、全身性エリテマトーデスが挙げられる。

ｃ５４）第１の抗原がＦｃεＲＩであり、第２の抗原がＣＤ３４またはＣ－ＫＩＴであり、標的細胞がマスト細胞およびマスト細胞前駆細胞の少なくとも一方である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、蕁麻疹、食物ア

レルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ、Ｍａｓｔ　Ｃｅｌｌ　Ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ　Ｓｙｎｄｒｏｍｅｓ）が挙げられる。

ｃ５５）第１の抗原がＣＤ３４であり、第２の抗原がＣＤ２０３またはＭＲＧＰＲＸ２であり、標的細胞がマスト細胞前駆細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、蕁麻疹、食物アレルギーおよび肥満細胞症から選ばれる少なくとも１を含むマスト細胞活性化症候群（ＭＣＡＳ）が挙げられる。

ｃ５６）第１の抗原がＣＤ５２であり、第２の抗原がＣＤ１２７であり、標的細胞がＴｒｅｇ以外のＴ細胞およびＢ細胞の少なくとも一方である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、多発性硬化症が挙げられる。

ｃ５７）第１の抗原がＣＤ６９であり、第２の抗原がＣＤ２１であり、標的細胞が活性化ｍａｔｕｒｅ　ｎａｉｖｅ　Ｂ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、多発性硬化症、１型糖尿病および関節リウマチから選ばれる少なくとも１が挙げられる。

ｃ５８）第１の抗原がＣＤ１０６であり、第２の抗原がＣＤ１１ｃ、ＣＤ１９、ＣＤ２１およびＣＤ７２から選ばれる１であり、標的細胞が濾胞樹状細胞（ｆｏｌｌｉｃｕｌａｒ　ｄｅｎｄｒｉｔｉｃ　ｃｅｌｌｓ）である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ、Ｓｅｃｏｎｄａｒｙ　Ｐｒｏｇｒｅｓｓｉｖｅ　Ｍｕｌｔｉｐｌｅ　Ｓｃｌｅｒｏｓｉｓ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない関節リウマチ、移植および全身性エリテマトーデスから選ばれる少なくとも１が挙げられる。

ｃ５９）第１の抗原が４－１ＢＢであり、第２の抗原がＣＤ１１ｃ、ＣＤ１９、ＣＤ２１およびＣＤ７２から選ばれる１であり、標的細胞が濾胞樹状細

胞（ｆｏｌｌｉｃｕｌａｒ　ｄｅｎｄｒｉｔｉｃ　ｃｅｌｌｓ）である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、二次進行型多発性硬化症（ＳＰＭＳ）、抗ＴＮＦ治療が有効でない関節リウマチ、移植および全身性エリテマトーデスから選ばれる少なくとも１が挙げられる。

ｃ６０）第１の抗原がＢＬＴ１であり、第２の抗原がＣＤ４９ｂであり、標的細胞がＢＬＴ１陽性ＣＤ８陽性細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、喘息が挙げられる。

ｃ６１）第１の抗原がＣＤ２２６であり、第２の抗原がＣＤ８であり、標的細胞がＣＤ２２６陽性ＣＤ８陽性ｅｆｆｅｃｔｏｒ　ｍｅｍｏｒｙ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、全身性強皮症が挙げられる。

ｃ６２）第１の抗原がＣＸＣＲ３であり、第２の抗原がＣＤ８、ＣＤ４９ａ、ＩＬ－１５ＲおよびＮＫＧ２Ｄから選ばれる１であり、標的細胞がｅｆｆｅｃｔｏｒ　ｍｅｍｏｒｙ　ＣＤ８陽性細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ６３）第１の抗原がＣＤ４９ａであり、第２の抗原がＣＤ８、ＩＬ－１５ＲおよびＮＫＧ２Ｄから選ばれる１であり、標的細胞がｅｆｆｅｃｔｏｒ　ｍｅｍｏｒｙ　ＣＤ８陽性細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ６４）第１の抗原がＩＬ－１５Ｒであり、第２の抗原がＣＤ８またはＮＫＧ２Ｄであり、標的細胞がｅｆｆｅｃｔｏｒ　ｍｅｍｏｒｙ　ＣＤ８陽性細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、尋常性白斑およ

び乾癬の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ６５）第１の抗原がＮＫＧ２Ｄであり、第２の抗原がＣＤ８であり、標的細胞がｅｆｆｅｃｔｏｒ　ｍｅｍｏｒｙ　ＣＤ８陽性細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ６６）第１の抗原がＣＤ１７７であり、第２の抗原がＰＲ３であり、標的細胞が血管外に浸潤している好中球およびＰＲ３提示好中球の少なくとも一方である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、ＡＮＣＡ（Ａｎｔｉｎｅｕｔｒｏｐｈｉｌ　Ｃｙｔｏｐｌａｓｍｉｃ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ）関連血管炎および全身性エリテマトーデスの少なくとも一方が挙げられる。

ｃ６７）第１の抗原がＣＤ４であり、第２の抗原がＣＤ１２７であり、標的細胞がＴｒｅｇ以外のＣＤ４陽性Ｔ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、Ｔ細胞依存的な免疫関連疾患が挙げられる。

ｃ６８）第１の抗原がＣＤ４０リガンドであり、第２の抗原がＩＬ－６であり、標的細胞が活性化Ｔ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、免疫関連疾患が挙げられる。

ｃ６９）第１の抗原がＩＬ－１７Ｒであり、第２の抗原が膜型ＴＮＦであり、標的細胞がＩＬ１７Ｒ及び膜型ＴＮＦ発現細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、乾癬性関節炎が挙げられる。

ｃ７０）第１の抗原がＩＬ－２３Ｒであり、第２の抗原がＣＣＲ６であり、標的細胞がＴｈ１７細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、シューグレン症候群および乾癬の少なくとも一方を含む自己免疫疾患が挙げられる。

ｃ７１）第１の抗原がＣＤ６４であり、第２の抗原がＣＤ２０６、ＣＤ１６３およびＣＤ６８から選ばれる１であり、標的細胞がＭ２マクロファージである、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。

ｃ７２）第１の抗原がＣＤ１６３であり、第２の抗原がＣＤ２０６またはＣＤ６８であり、標的細胞がＭ２マクロファージである、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。

ｃ７３）第１の抗原がＣＤ２０６であり、第２の抗原がＣＤ６８であり、標的細胞がＭ２マクロファージである、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。

ｃ７４）第１の抗原がＣＤ１４であり、第２の抗原がＣＤ４８、ＣＤ８４、ＣＤ９７およびＣＤ３０５から選ばれる１であり、標的細胞が骨髄由来抑制性細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。

ｃ７５）第１の抗原がＣＤ１５であり、第２の抗原がＣＤ４８、ＣＤ８４、ＣＤ９７およびＣＤ３０５から選ばれる１であり、標的細胞が骨髄由来抑制性細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。

ｃ７６）第１の抗原がＣＤ３３であり、第２の抗原がＣＤ４８、ＣＤ８４、ＣＤ９７およびＣＤ３０５から選ばれる１であり、標的細胞が骨髄由来抑制性細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。

ｃ７７）第１の抗原がＣＤ１１ｂであり、第２の抗原がＣＤ４８、ＣＤ８４、ＣＤ９７およびＣＤ３０５から選ばれる１であり、標的細胞が骨髄由来抑制性細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、がんが挙げられる。

ｃ７８）第１の抗原がＣＣＲ４であり、第２の抗原がＣＡＤＭ１、ＣＤ３０およびＣＤ７０から選ばれる１であり、標的細胞が腫瘍細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、白血病およびリンパ腫の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ７９）第１の抗原がＣＤ３８であり、第２の抗原がＣＤ１３８またはＢＣＭＡであり、標的細胞が腫瘍細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、白血病およびリンパ腫の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ８０）第１の抗原がＢＣＭＡであり、第２の抗原がＣＤ５６またはＣＳ１であり、標的細胞が腫瘍細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、白血病およびリンパ腫の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ８１）第１の抗原がＣＤ４０リガンドであり、第２の抗原がＣＤ３６、ＣＤ６２ＰおよびＣＤ６３から選ばれる１であり、標的細胞が異常巨核球である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、白血病およびリンパ腫の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ８２）第１の抗原がＴＩＭ－３であり、第２の抗原がＣＤ１２３、ＣＤ３３、ＣＤ４７、ＣＤ７０およびＣＬＥＣ１２Ａから選ばれる１であり、標的細胞が腫瘍細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、白血病およびリンパ腫の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ８３）第１の抗原がＣＤ１２３であり、第２の抗原がＣＤ３３、ＣＤ４７、ＣＤ７０およびＣＬＥＣ１２Ａから選ばれる１であり、標的細胞が腫瘍細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、白血病およびリンパ腫の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ８４）第１の抗原がＣＤ５であり、第２の抗原がＣＤ２３であり、標的細胞が腫瘍細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、白血病およびリンパ腫の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ８５）第１の抗原がＣＤ１０またはＣＤ５であり、第２の抗原がＣＤ２０であり、標的細胞が腫瘍細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、白血病およびリンパ腫の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ８６）第１の抗原がＣＤ４０であり、第２の抗原がＣＤ８０、ＣＤ８６、ＩＣＯＳリガンド、４－１ＢＢリガンド、ＯＸ４０リガンド、ＣＤ７０、ＧＩＴＲ、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ｂ７－ＤＣ、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ５、Ｂ７Ｈ６およびＢ７Ｈ７から選ばれる１であり、標的細胞が活性化抗原提示細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、炎症性疾患が挙げられる。

ｃ８７）第１の抗原がＰＴＰＲＳであり、第２の抗原がＩＬ－２１Ｒであり、標的細胞が形質細胞様樹状細胞（ｐＤＣ、ｐｌａｓｍａｃｙｔｏｉｄ ｄｅｎｄｒｉｔｉｃ ｃｅｌｌｓ）、Ｔ細胞およびＢ細胞から選ばれる少なくとも１である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、自己免疫疾患が挙げられる。

ｃ８８）第１の抗原がＰＴＰＲＳであり、第２の抗原がＣＤ３８であり、標的細胞が形質細胞様樹状細胞（ｐＤＣ）、活性化Ｔ細胞、Ｂ細胞および形質

細胞から選ばれる少なくとも１である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、自己免疫疾患が挙げられる。

ｃ８９）第１の抗原がＰＴＰＲＳであり、第２の抗原がＣＤ３２ａであり、標的細胞が形質細胞様樹状細胞（ｐＤＣ）およびミエロイド細胞の少なくとも一方である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、自己免疫疾患が挙げられる。

ｃ９０）第１の抗原がＯＸ４０であり、第２の抗原がＣＤ１２７またはＣＤ４０リガンドであり、標的細胞がＴｒｅｇ以外のｈｅｌｐｅｒ　Ｔ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、アレルギー疾患が挙げられる。

ｃ９１）第１の抗原がＯＸ４０であり、第２の抗原がＣＤ８またはＮＫＧ２Ｄであり、標的細胞がＣＤ８　ｍｅｍｏｒｙ　Ｔ細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、尋常性白斑および乾癬の少なくとも一方が挙げられる。

ｃ９２）第１の抗原がＯＸ４０であり、第２の抗原がＣＤ２２６であり、標的細胞がＣＤ８　ｍｅｍｏｒｙ　Ｔ細胞ある、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、強皮症が挙げられる。

ｃ９３）第１の抗原がＯＸ４０であり、第２の抗原がＣＲＴＨ２であり、標的細胞が活性化　Ｔｈ２細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、アレルギー疾患が挙げられる。

ｃ９４）第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＣＤ２であり、標的細胞がＴｈ２細胞及び自然リンパ球（ＩＬＣ２細胞）の少なくとも一方である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、アレルギー疾患が挙げられる。

ｃ９５）第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＣＤ７であり、標的細胞がＴｈ２細胞及び自然リンパ球（ＩＬＣ２細胞）の少なくとも一方である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、アレルギー疾患が挙げられる。

ｃ９６）第１の抗原がＣＲＴＨ２であり、第２の抗原がＣＤ４５であり、標的細胞がＣＲＴＨ２陽性血球細胞である、抗体組成物。

該抗体組成物を含む医薬組成物の治療対象疾患としては、アレルギー疾患が挙げられる。

[0351] [表6A]

第一の抗原	第二の抗原	治療対象となる疾患	標的細胞
CADM1	CCR4	成人T細胞白血病	成人T細胞白血病(ATL)細胞
EGFR	HER2	胃癌、乳癌等の固形癌	癌細胞
CD52	CD70	－	活性化T細胞、活性化B細胞、活性化APC
CD2	CD70	－	活性化T細胞
CD19	CD70	－	活性化B細胞
CD2	CD40リガンド	シェーグレン症候群	活性化エフェクターT細胞(活性化Teff)
PD-L1	CD19	リンパ腫・白血病	リンパ腫・白血病細胞
	CD30		
	CCR4		
	CD20		
	CD22		
	CD79b		
CD8	CCR4	がん （がん免疫療法）	制御性T細胞 (Treg)
CTLA-4	CD4		
	CCR4		
	GITR		
TIGIT	CD4		
	CCR4		
	GITR		
PD-1	CD4		
	CCR4		
	GITR		
OX40	CD127	自己免疫疾患	エフェクターT細胞 (Teff)
	CD26		
	CD70		
	CD15s		
4-1BB	CD127		
	CD26		
	CD70		
	CD15s		
GITR	CD127		
	CD26		
	CD70		
	CD15s		
CD40リガンド	CD127		
	CD26		
	CD70		
	CD15s		
CD4	CD69	ANCA関連糸球体腎炎	組織常駐メモリーT(TRM)細胞

[0352] [表6B]

第一の抗原	第二の抗原	治療対象となる疾患	標的細胞
PD-1	CD3	関節リウマチ	Peripheral helper T (TPH)細胞 及び PD-1highCD8陽性T細胞
	CD4	セリアック病	PD-1陽性T細胞
インテグリンα4β7	CCR6	炎症性腸疾患	エフェクターT細胞(Teff) 及び 自然リンパ球(ILC)
	CXCR3		
	CD161		
	CD127	炎症性腸疾患	全ての自然リンパ球(ILC) 及び Treg以外の腸管に浸潤するT細胞
	CD40リガンド	多発性硬化症、炎症性腸疾患	局所遊走活性化T細胞
インテグリンα4β1	CD40リガンド	多発性硬化症、炎症性腸疾患	局所遊走活性化T細胞
CXCR5	CD127	アレルギー疾患	自然リンパ球(ILC)
TPO受容体 (c-mpl)	CD34	原発性骨髄線維症	異常増殖造血幹細胞
	CD123		CD123陽性白血病幹細胞
CXCR3	CD3	自己免疫疾患 (クローン病等)、動脈硬化、虚血性心疾患	CX3CR1陽性細胞 (細胞傷害性エフェクターT細胞等、NK細胞除く)
	CD127	全身性エリテマトーデス	Th1細胞
	CD40リガンド		
CCR4	CD127	アレルギー疾患	Treg以外のCCR4陽性T細胞
	CD40リガンド		
CCR6	CD127	乾癬	Th17細胞
	CD40リガンド		
CRTH2	CD127	アレルギー疾患	Th2細胞
	CD40リガンド		
	CCR4	喘息, 好酸球性副鼻腔炎, アトピー性皮膚炎	
	ST2	喘息, 好酸球性副鼻腔炎	Tpath2細胞
	CCR6	アレルギー疾患	Th2/Th17細胞 (重症喘息のみで現れるヘテロ細胞)
	CCR3		好酸球、好塩基球、Th2細胞
CD207	CD11b	ランゲルハンス細胞組織球症 (LCH)	ランゲルハンス細胞前駆細胞
	CD1a		
CD123	HLA-DR	全身性エリテマトーデス	形質細胞様樹状細胞
	ASCT2		形質細胞様樹状細胞、Th1細胞、及びTh17細胞
CSF1R	CD14	特発性肺線維症	単球系骨髄由来抑制細胞
	CD33	がん	骨髄由来抑制細胞
CD19	CD38	全身性エリテマトーデス	プラズマ細胞
CD3	IL−23R	全身性エリテマトーデス	Th1細胞,Th17細胞,Tfh細胞
	CX3CR1	自己免疫疾患 (クローン病等)、動脈硬化、虚血性心疾患	CX3CR1陽性細胞 (細胞傷害性エフェクターT 細胞等、NK細胞除く)
CXCR4	Type 1 collagen	特発性肺線維症, 全身性硬化症, 肝硬変等各種線維化疾患	線維細胞
	CD14	特発性肺線維症	単球 及び 線維細胞
	CD16	好中球性喘息, 慢性閉塞性肺疾患, アルツハイマー	活性化好中球
CLEC10A	CD14	クローン病, 関節リウマチ, 喘息	intermediate単球
	CD16		
CD70	CD38	多発性硬化症, 視神経脊髄炎	活性化T細胞 及び 活性化B細胞
	CD4	全身性エリテマトーデス	Th1細胞、Th17細胞 及び 形質細胞様樹状細胞
	CD127		
	TIM-1		
CD4	TIM-1		
CD70	CD52	多発性硬化症	活性化T細胞 及び 活性化B細胞

[0353]

[表6C]

第一の抗原	第二の抗原	治療対象となる疾患	標的細胞
CB1	AT1R	肝硬変	GPCRヘテロマー発現悪玉星細胞
CD4	CD153	全身性エリテマトーデス	老化T細胞
PD-1			
FcεRI	CD34	尋麻疹、食物アレルギー、肥満細胞症などの マスト細胞活性化症候群（MCAS）	マスト細胞 及び マスト細胞前駆細胞
	C-KIT		
CD34	CD203	尋麻疹、食物アレルギー、肥満細胞症などの マスト細胞活性化症候群（MCAS）	マスト細胞前駆細胞
	MRGPRX2		
CD52	CD127	多発性硬化症	Treg以外のT細胞 及び B細胞
CD69	CD21	多発性硬化症、1型糖尿病, 関節リウマチ	活性化 mature naïve B細胞
CD106	CD11c	二次進行型多発性硬化症(SPMS), 抗TNF治療が有効でない関節リウマチ, 移植, 全身性エリテマトーデス	濾胞樹状細胞 (follicular dendritic cells)
	CD19		
	CD21		
	CD72		
4-1BB	CD11c		
	CD19		
	CD21		
	CD72		
BLT1	CD49b	喘息	BLT1陽性CD8陽性細胞
CD226	CD8	全身性強皮症	CD226陽性CD8陽性 effector memory細胞
CXCR3	CD8	尋常性白斑、乾癬	effector memory CD8陽性細胞
	CD49a		
	IL-15R		
	NKG2D		
CD49a	CD8		
	IL-15R		
	NKG2D		
IL-15R	CD8		
	NKG2D		
NKG2D	CD8		
CD177	PR3	ANCA関連血管炎、全身性エリテマトーデス	血管外に浸潤している好中球 及び PR３提示好中球
CD4	CD127	T細胞依存的な免疫関連疾患	Treg以外のCD4陽性T細胞
CD40リガンド	IL－6	免疫関連疾患	活性化T細胞
IL－17R	膜型TNF	乾癬性関節炎	IL17R及び膜型TNF発現細胞
IL－23R	CCR6	自己免疫疾患（シューグレン症候群、乾癬）	Th17細胞

[0354]

[表6D]

第一の抗原	第二の抗原	治療対象となる疾患	標的細胞
CD64	CD206	がん	M2マクロファージ
CD64	CD163		
CD64	CD68		
CD163	CD206		
CD163	CD68		
CD206	CD68		
CD14	CD48	がん	骨髄由来抑制性細胞
CD14	CD84		
CD14	CD97		
CD14	CD305		
CD15	CD48		
CD15	CD84		
CD15	CD97		
CD15	CD305		
CD33	CD48		
CD33	CD84		
CD33	CD97		
CD33	CD305		
CD11b	CD48		
CD11b	CD84		
CD11b	CD97		
CD11b	CD305		
CCR4	CADM1	白血病/リンパ腫	腫瘍細胞
CCR4	CD30		
CCR4	CD70		
CD38	CD138	白血病/リンパ腫	腫瘍細胞
CD38	BCMA		
BCMA	CD56		
BCMA	CS1		
CD40リガンド	CD36	白血病/リンパ腫	異常巨核球
CD40リガンド	CD62P		
CD40リガンド	CD63		
TIM-3	CD123	白血病/リンパ腫	腫瘍細胞
TIM-3	CD33		
TIM-3	CD47		
TIM-3	CD70		
TIM-3	CLEC12A		
CD123	CD33		
CD123	CD47		
CD123	CD70		
CD123	CLEC12A		
CD5	CD23	白血病/リンパ腫	腫瘍細胞
CD10	CD20	白血病/リンパ腫	腫瘍細胞
CD5	CD20	白血病/リンパ腫	腫瘍細胞

[0355]

[表6E]

第一の抗原	第二の抗原	治療対象となる疾患	標的細胞
CD40	CD80	炎症性疾患	活性化抗原提示細胞
	CD86		
	ICOSリガンド		
	4-1BBリガンド		
	OX40リガンド		
	CD70		
	GITR		
	PD-L1		
	PD-L2		
	B7-DC		
	B7H3		
	B7H4		
	B7H5		
	B7H6		
	B7H7		
PTPRS	IL-21R	自己免疫疾患	形質細胞様樹状細胞（pDC）、T細胞及び B細胞
	CD38		形質細胞様樹状細胞（pDC）、活性化T細胞、B細胞及び 形質細胞
	CD32a		形質細胞様樹状細胞（pDC）及びミエロイド細胞
OX40	CD127	アレルギー疾患	Treg以外のhelper T細胞
	CD40リガンド	アレルギー疾患	Treg以外のhelper T細胞
	CD8	尋常性白斑、乾癬	CD8 memory T細胞
	NKG2D	尋常性白斑、乾癬	CD8 memory T細胞
	CD226	強皮症	CD8 memory T細胞
	CRTH2	アレルギー疾患	活性化 Th2細胞
CRTH2	CD2	アレルギー疾患	Th2細胞及び自然リンパ球(ILC2細胞)
	CD7	アレルギー疾患	Th2細胞及び自然リンパ球(ILC2細胞)
	CD45	アレルギー疾患	CRTH2陽性血球細胞

[0356] 本発明の抗体組成物を含有する医薬組成物は、治療薬として単独で投与することも可能ではあるが、通常は薬理学的に許容される一つ又はそれ以上の担体と一緒に混合し、製剤学の技術分野においてよく知られる任意の方法により製造した医薬製剤として提供するのが好ましい。

[0357] 投与経路は、治療に際して最も効果的なものを使用するのが好ましい。例えば、経口投与、又は口腔内、気道内、直腸内、皮下、筋肉内及び静脈内等の非経口投与を挙げることができ、抗体組成物製剤の場合、好ましくは静脈内投与を挙げることができる。

[0358] 投与形態としては、例えば、噴霧剤、カプセル剤、錠剤、顆粒剤、シロップ剤、乳剤、座剤、注射剤、軟膏、テープ剤等が挙げられる。

[0359] 経口投与に適当な製剤としては、例えば、乳剤、シロップ剤、カプセル剤、錠剤、散剤、顆粒剤等が挙げられる。

[0360] 乳剤及びシロップ剤のような液体調製物は、水、ショ糖、ソルビトール、果糖等の糖類、ポリエチレングリコール若しくはプロピレングリコール等のグリコール類、ごま油若しくはオリーブ油、大豆油等の油類、ｐ－ヒドロキシ安息香酸エステル類等の防腐剤、又はストロベリーフレーバー若しくはペパーミント等のフレーバー類等を添加剤として用いて製造できる。

[0361] カプセル剤、錠剤、散剤又は顆粒剤等は、乳糖、ブドウ糖、ショ糖若しくはマンニトール等の賦形剤、デンプン若しくはアルギン酸ナトリウム等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム若しくはタルク等の滑沢剤、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース若しくはゼラチン等の結合剤、脂肪酸エステル等の界面活性剤、又はグリセリン等の可塑剤等を添加剤として用いて製造できる。

[0362] 非経口投与に適当な製剤としては、例えば、注射剤、座剤、噴霧剤等が挙げられる。

[0363] 注射剤は、塩溶液若しくはブドウ糖溶液又は両者の混合物からなる担体等を用いて調製される。又は、抗体組成物を常法に従って凍結乾燥し、これに塩化ナトリウムを加えることによって粉末注射剤を調製することもできる。

[0364] 座剤はカカオ脂、水素化脂肪又はカルボン酸等の担体を用いて調製される。

[0365] また、噴霧剤は該抗体組成物そのもの、ないしは受容者の口腔及び気道粘膜を刺激せず、かつ該抗体組成物を微細な粒子として分散させ吸収を容易にさせる担体等を用いて調製される。

[0366] 担体として、具体的には、乳糖、グリセリン等が例示される。該抗体組成物及び用いる担体の性質により、エアロゾル、ドライパウダー等の製剤が可能である。また、これらの非経口剤においても経口剤で添加剤として例示した成分を添加することもできる。

[0367] 投与量又は投与回数は、目的とする治療効果、投与方法、治療期間、年齢

、体重等により異なるが、有効成分の量として、通常成人１日当たり１０μｇ／ｋｇ～２０ｍｇ／ｋｇである。

[0368] また、抗体組成物の各種腫瘍細胞に対する抗腫瘍効果を検討する方法は、インビトロ実験としては、ＣＤＣ活性測定法、ＡＤＣＣ活性測定法等が挙げられ、インビボ実験としては、マウス等の実験動物での腫瘍系を用いた抗腫瘍実験等が挙げられる。

[0369] 本発明の一態様としては、第１及び第２のＩｇＧ半量体を含むキットが挙げられる。キットには、任意で、適当な容器（例えば、ボトル、バイアル、試験管）、説明等が示されたラベル、フィルター、針、注射器、及び使用説明書を含む、その他の材料を含んでいてもよい。

[0370] 上記のキットにおいては、有効成分であるＩｇＧ半量体以外に、例えば、滅菌水、生理食塩水、植物油、界面活性剤、脂質、溶解補助剤、緩衝剤、タンパク質安定剤（例えば、ＢＳＡ又はゼラチンなど）、保存剤、ブロッキング溶液、反応溶液、反応停止液、試料を処理するための試薬等が必要に応じて混合されていてもよい。

[0371] 上記キットの使用態様としては、例えば、（１）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体を予め混合した上で投与する方法、並びに（２）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体を別々に投与する方法が挙げられる。前記（２）第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体を別々に投与する方法としては、例えば、第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体を同時に又は逐次的に投与する方法が挙げられる。第１のＩｇＧ半量体及び第２の半量体の量及び比率は適宜調整できる。

[0372] また、本発明の一態様として、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体とからなり、且つ互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物の製造に用いるための、第１のＩｇＧ半量体が挙げられる。

[0373] 本発明の別の一態様として、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体とからなり、且つ互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物の製造に用いるための、第２のＩｇＧ半量体が挙げられる。

[0374] 本発明の一態様として、第２のＩｇＧ半量体と併用する、第１のＩｇＧ半量体が挙げられる。また、本発明の一態様として、第１のＩｇＧ半量体と併用する、第２のＩｇＧ半量体が挙げられる。ここで、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体とを「併用する」とは、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体を同時又は逐次的に投与して、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体とからなり、かつ互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に結合する半量体を含む抗体組成物とすることをいう。第１の半量体と第２の半量体を同時又は逐次的に投与する場合、注射用バイアルで混和する場合、点滴バック内で混和する場合、又は直接患者に投与する場合、いずれの形で投与される場合も本発明の抗体組成物の使用に含まれる。

[0375] 以下、本発明を実施例により具体的に説明するが、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

実施例

[0376] 本発明者らは本発明における抗体分子の定常領域には、通常のヒトＩｇＧ１抗体と異なる下記の要素が必要であると着想した。

１）図４に示すよう、異なる抗原分子Ｘ及びＹに対する抗体の半量体の混合物であること、すなわちヒンジ領域におけるＨ鎖間のジスルフィド結合による共有結合が存在しない「ＨＬ体」であること。

２）図３に示すように、抗原分子Ｘ、Ｙに対するそれぞれのＨＬ体が、Ｘ、Ｙの両方を発現する標的細胞表面に結合した後に会合して通常のＩｇＧと同様のＨ２Ｌ２体を形成し、ＣＤ１６ａ結合領域を構成し、抗体のエフェクター機能（例えば、ＡＤＣＣ活性）を惹起すること。

３）図３に示すように、単一の抗原分子のみを発現する細胞に対しては抗体の活性を惹起しないよう、ＸもしくはＹに対するＨＬ体同士が細胞表面で会合しても、ＣＤ１６ａ結合領域を構成しないこと。

[0377] 本実施例において、上記１）についてはヒンジドメインのシステインをアラニンに置換することにより試みた。

[0378] Ｘ線結晶構造解析により、ヒトＩｇＧ１のＦｃとＣＤ１６ａとは非対称な

結合様式を示すことが知られている（Nature 2000; 406: 267-73, J Biol Chem 2001; 276: 16469-77, Mizushima T, Genes Cells 2011; 16: 1071-80）。したがって、本発明者らは、上記２）及び３）を達成するために、上記のＨＬ体のＣＨ２ドメインに、かかる非対称の結合様式を利用した下記に述べるアミノ酸改変を導入することを着想した。

[0379] 図５に示すように、ＣＤ１６ａはＦｃ中の二つのＣＨ２ドメインに、それぞれ別の部位で接する。仮に二つのＣＨ２ドメインをＣＨ２－Ａ、ＣＨ２－Ｂと名付け、ＣＨ２－Ａ上でのＣＤ１６ａとの相互作用部位を領域１、ＣＨ２－Ｂ上でのＣＤ１６ａとの相互作用部位を領域２とする。

[0380] 領域１としてはＬ２３５、Ｇ２３６、Ｇ２３７、Ｐ２３８、Ｓ２３９、Ｄ２６５、Ｖ２６６、Ｓ２６７、Ｈ２６８、Ｅ２６９、Ｅ２９４、Ｑ２９５、Ｙ２９６、Ｎ２９７、Ｓ２９８、Ｔ２９９、Ｒ３０１、Ｎ３２５、Ａ３２７及びＩ３３２等が知られる。また、領域２としてはＬ２３５、Ｇ２３６、Ｇ２３７、Ｋ３２６、Ａ３２７、Ｌ３２８、Ｐ３２９及びＡ３３０等が知られる。

[0381] 図５に示すように、Ｆｃの構造の対称性により、実際のＦｃとＣＤ１６ａが結合している結合領域の反対側に、ＣＨ２－Ａの領域２、及びＣＨ２－Ｂの領域１からなる、実際にはＣＤ１６ａとの結合に使われていない結合領域がもう一つ存在する。

[0382] 図６に示すように、このＣＤ１６ａとの結合に使われていないＣＨ２－Ａの領域２、及びＣＨ２－Ｂの領域１を、それぞれアミノ酸改変を導入して「破壊」する。この場合、そのような改変ＣＨ２－Ａを有するＨＬ体（Ｘ）同士、あるいは改変ＣＨ２－Ｂを有するＨＬ体（Ｙ）同士がホモ会合してＨ２Ｌ２体を構成した場合（ＸＸ、ＹＹ）には、領域１のみ、あるいは領域２のみしか存在しないこととなる。したがって、これらのホモ会合体は、ＣＤ１６ａは十分な親和性を持って結合できない可能性が考えられる。これに対し、そのような改変ＣＨ２－Ａ、改変ＣＨ２－Ｂをそれぞれ構成要素として有するＨＬ体がヘテロ会合したＨ２Ｌ２体（ＸＹ）は、上記２）及び３）の条

件を満たす可能性が考えられる。

[0383] ［実施例１］

ＣＤ１６ａ結合を「破壊」したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６抗体の作製

ＣＤ１６ａの結合を減弱させることができるＣＨ２上の部位を特定するため、上記の領域１又は領域２をアミノ酸改変によって「破壊」した抗体を作製した。すなわち、図７に示すように、通常のヒトＩｇＧ１のフォーマット上で、候補となる部位のアミノ酸残基を改変した。

[0384] この場合組換え抗体としてヒトＩｇＧ１を発現させるために二つのＨ鎖は発現ベクター上で同一の遺伝子でコードされＣＨ２－ＡとＣＨ２－Ｂの区別はなく両方に同時にアミノ酸残基が改変され、ＣＤ１６ａの結合部位は表裏の二か所が同時に破壊されるため、ＡＤＣＣ活性が減弱する改変部位を探索することとなる。

[0385] なお、本実施例において、特に説明の無い限り抗体分子は全て、Ｈ鎖２９７位のアスパラギンに結合するＮ－結合型糖鎖のα１，６フコースが結合していない、ＡＤＣＣ活性が増強されている抗体を作製した。そのため抗体を発現するための宿主細胞には、フコース転移酵素（ＦＵＴ８）ノックアウトＣＨＯ細胞（国際公開第２００５／０３５５８６号、国際公開第０２／３１１４０号）を用いた。

[0386] （１）ＣＤ１６ａ結合を「破壊」したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６抗体発現ベクターの作製

図５及び６にＣＨ２ドメイン上の「領域１」及び「領域２」の模式図を示す。図６に示すように、ＣＤ１６ａに対する結合を「破壊」するために、ＣＨ２ドメイン上の「領域１」でＣＤ１６ａと結合するアミノ酸部位Ｐ２３８、Ｄ２６５、Ｓ２６７、ＣＨ２ドメイン上の「領域２」でＣＤ１６ａと結合するアミノ酸部位Ｋ３２６、Ｌ３２８、Ｐ３２９に対して、アミノ酸改変を導入したヒトＩｇＧ１抗ヒトＣＣＲ６抗体（国際公開第２０１３／００５６４９号）の発現ベクターを構築した。構築に用いた抗体の遺伝子配列とアミノ酸配列を表７に示す。

[0387] [表7]

配列名	遺伝子配列	アミノ酸配列
CCR6 (KG1684) VL	配列番号１	配列番号２
CCR6 (KG1684) VH	配列番号３	配列番号４
IgG1 CK	配列番号５	配列番号６
IgG1 CH	配列番号７	配列番号８
IgG1_P238A CH	配列番号９	配列番号１０
IgG1_D265A CH	配列番号１１	配列番号１２
IgG1_S267L CH	配列番号１３	配列番号１４
IgG1_P238A/D265A CH	配列番号１５	配列番号１６
IgG1_P238A/S267L CH	配列番号１７	配列番号１８
IgG1_D265A/S267L CH	配列番号１９	配列番号２０
IgG1_P238A/D265A/S267L CH	配列番号２１	配列番号２２
IgG1_K326W CH	配列番号２３	配列番号２４
IgG1_L328V CH	配列番号２５	配列番号２６
IgG1_P329Y CH	配列番号２７	配列番号２８
IgG1_K326W/L328V CH	配列番号２９	配列番号３０
IgG1_K326W/P329Y CH	配列番号３１	配列番号３２
IgG1_L328V/P329Y CH	配列番号３３	配列番号３４
IgG1_K326W/L328V/P329Y CH	配列番号３５	配列番号３６

[0388] 配列番号１、３、５、７に示す塩基配列からなる、ヒトＩｇＧ１抗ヒトＣＣＲ６抗体発現ベクターｐＣＩ－ＩｇＧ１_ＫＧ１６８４を鋳型に用い、ＰｒｉｍｅＳＴＡＲ Ｍａｘ ＤＮＡ Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ（タカラバイオ）及び改変部位を導入したプライマー（シグマオリゴ）を用い、ＰｒｉｍｅＳＴＡＲ Ｍａｘ ＤＮＡ Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅの添付文書に従いＰＣＲ反応を行った。

[0389] ＰＣＲ反応はＧｅｎｅＡｍｐ ＰＣＲ Ｓｙｓｔｅｍ ９７００（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を用い、９８℃、１分間にて熱変性後、９８℃にて１０秒間、５８℃にて５秒間、７２℃にて５秒間の反応を３０サイクル行った。０．８％アガロースゲルを用いた電気泳動に反応液を供し、ＱＩＡｑｕｉｃｋ Ｇｅｌ Ｅｘｔｒａｃｔｉｏｎ Ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ）を用いて、増幅断片を回収した。Ｉｎ－Ｆｕｓｉｏｎ ＨＤ Ｃｌｏｎｉ

ｎｇ　Ｋｉｔ（クロンテック）を用いてプラスミドｐＣｌ　ｖｅｃｔｏｒ（プロメガ）と連結反応を行い、該反応液を用いて大腸菌ＤＨ５αコンピテントセル（タカラバイオ）を形質転換した。

[0390] 得られた形質転換株のクローンより各プラスミドＤＮＡを調製し、ＢｉｇＤｙｅ　Ｔｅｒｍｉｎａｔｏｒ　Ｃｙｃｌｅ　Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ　Ｋｉｔ　ｖ３．１（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を用いて添付の説明書に従って反応後、同社のＤＮＡシーケンサーＡＢＩ　ＰＲＩＳＭ　３７００　ＤＮＡ　Ａｎａｌｙｚｅｒによりプラスミドに挿入されたＤＮＡの塩基配列を解析した。

[0391] （２）ＣＤ１６ａ結合を「破壊」したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６抗体の発現

以下の方法で、宿主細胞に（１）で作製された発現ベクターを導入した。宿主細胞には、ＦＵＴ８ノックアウトＣＨＯ細胞（国際公開第２００５／０３５５８６号、国際公開第０２／３１１４０号）使用した。プラスミド導入の方法は添付の説明書に従った。

[0392] 培養液量は２００ｍＬで行い、３７℃、５％CO_2、１２５ｒｐｍの設定条件下で、５日間培養した。培養後、細胞懸濁液の遠心分離を行い、０．２μｍフィルター（ＴｈｅｒｍｏＳｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を通して改変抗体を含む培養上清を回収した。

[0393] 各抗体の、精製した抗体サンプルの名称を表８に示す。

[0394]

[表8]

精製抗体（名称）	CH2の領域１	CH2の領域２
IgG1	-	-
IgG1_P238A	P238A	P238A
IgG1_D265A	D265A	D265A
IgG1_S267L	S267L	S267L
IgG1_P238A/D265A	P238A/D265A	
IgG1_P238A/S267L	P238A/S267L	
IgG1_D265A/S267L	D265A/S267L	
IgG1_P238A/D265A/S267L	P238A/D265A/S267L	-
IgG1_K326W	-	K326W
IgG1_L328V	-	L328V
IgG1_P329Y	-	P329Y
IgG1_K326W/L328V	-	K326W/L328V
IgG1_K326W/P329Y	-	K326W/P329Y
IgG1_L328V/P329Y	-	L328V/P329Y
IgG1_K326W/L328V/P329Y	-	K326W/L328V/P329Y

[0395] （３）ＣＤ１６ａ結合を「破壊」したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６抗体の精製

以下に示す、ＭａｂＳｅｌｅｃｔ　ＳｕＲｅ（ＧＥヘルスケア）を用いたアフィニティ精製により、改変抗体を精製した。レジンをＰＢＳで平衡化した後、（２）で取得された培養上清をロードし、ＰＢＳで２回洗浄した。洗浄後、溶出バッファー（１００ｍＭクエン酸、ｐＨ３．５）を用いて抗体を溶出し、中和バッファー（２Ｍ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、ｐＨ８．０）を１／１０量加えて中和した。

[0396] 続いて、Ａｍｉｃｏｎ　Ｕｌｔｒａ－４　Ｃｅｎｔｅｒｉｆｕｇａｌ　Ｆｉｌｔｅｒ　Ｕｎｉｔｓ（ミリポア）を用いて限外濾過による濃縮及びバッファー（１０ｍＭクエン酸、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ６．０）置換を行い、Ｎａｎｏｄｒｏｐ８０００（ＴｈｅｒｍｏＳｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用して２８０ｎＭにおける吸光度（Ａ２８０）を測定し、抗体溶液の濃度測定及び調製を行った。

[0397] （４）ＣＤ１６ａ結合を「破壊」したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６抗体のＳＤＳ－ＰＡＧＥによる精製度の評価

各種ＣＤ１６結合を欠損したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６抗体精製サンプルの

精製度を評価するため、約１μｇの抗体精製サンプルを用いて、公知の方法［Nature, 227 680 (1970)］に従ってＳＤＳ変性ポリアクリルアミド電気泳動（以下、ＳＤＳ－ＰＡＧＥと表記する）を行った。

[0398] その結果、還元条件下において、各種ＣＤ１６結合を欠損したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６抗体は、通常ＩｇＧ１型と同様に、Ｈ鎖が約５０キロダルトン（以下、ｋＤａと表記する）、Ｌ鎖が約２５ｋＤａ付近にバンドが認められた。また、非還元条件においては、約１５０ｋＤａ付近にバンドが認められたことから、作製した抗ＣＣＲ６ドメイン交換抗体は目的のＨ鎖及びＬ鎖から構成されていることが確認された。

[0399] 以上の結果より、本実施例の第３項で得られた各種ＣＤ１６結合を欠損したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６抗体の精製サンプル中には、それぞれＨ鎖及びＬ鎖から構成される目的のＩｇＧ分子が十分な割合で含まれることが確認された。

[0400] （５）ＣＤ１６ａ結合領域を「破壊」したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６抗体のＡＤＣＣ活性

エフェクター細胞としてＮＫ細胞株であるＮＫ－９２（ＡＴＣＣ）にヒトＣＤ１６ａ （Ｖａｌ型）をコードするＤＮＡを遺伝子導入して安定的に発現させた、ＮＫ－９２／ＣＤ１６トランスフェクタントを、標的細胞としてヒトＣＣＲ６／ＣＨＯトランスフェクタントを用いた。培養していたそれぞれの細胞を回収・細胞をカウントし、それぞれ８×１０^{5}ｃｅｌｌｓ／ｍＬ、２×１０^{5}ｃｅｌｌｓ／ｍＬになるようにＲＰＭＩ培地（５％ＦＢＳ／１％ＰＳを添加したフェノールレッド不含のＲＰＭＩ１６４０培地）を用いて調製した。

[0401] ９６ｗｅｌｌ ｐｌａｔｅに抗体溶液を５０μＬ／ｗｅｌｌずつ連続分注機で分注後、標的細胞を５０μＬ／ｗｅｌｌずつ分注した。エフェクター細胞を５０μＬ／ｗｅｌｌずつ分注し、１８００ｒｐｍで２分間遠心分離し、細胞が均等に播種されていることを確認した。

[0402] CO_2インキュベーターで３７℃、３時間１５分間静置後、Ｔｏｔａｌコン

トロールに１０分の１量の可溶化溶液を分注し、３７℃、４５分間静置した。１８００ｒｐｍで２分間遠心分離後、上清５０μＬをＥＬＩＳＡプレートに分注した。基質（粉）を懸濁バッファー１２ｍＬに溶かし発色溶液を作製し、発色溶液を５０μＬ／ｗｅｌｌずつアプライし反応させた。停止溶液５０μＬ／ｗｅｌｌ加え、プレートリーダーにて吸光度（Ａ４５０）を測定した。

[0403] なおＡＤＣＣ測定用キットとして、ＣｙｔｏＴｏｘ９６（Ｒ）Ｎｏｎ－Ｒａｄｉｏａｃｔｉｖｅ Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃｉｔｙ Ａｓｓａｙ（プロメガ）を用いた。以下の式を用いてＡＤＣＣ活性（％）を算出した。

[0404] ＡＤＣＣ活性（％）＝１００ｘ（Ｓ－Ｅ－Ｔ）／（Ｍａｘ－Ｔ）

Ｓ＝サンプル反応ウェル吸光度－培地ウェル吸光度

Ｅ＝エフェクターウェル吸光度－培地ウェル吸光度

Ｔ＝標的ウェル吸光度－培地ウェル吸光度

Ｍａｘ＝１００％反応ウェル－１００％反応対照ウェル

[0405] 結果を図８に示す。図８に示されるように、ＣＨ２の領域１ではＩｇＧ１＿Ｄ２６５Ａ、ＩｇＧ１＿Ｐ２３８Ａ／Ｓ２６７Ｌ、ＩｇＧ１＿Ｄ２６５Ａ／Ｓ２６７Ｌからなる改変体が、標的細胞に対して顕著にＡＤＣＣ活性が減弱することが確認された。

[0406] またＣＨ２の領域２では、ＩｇＧ１＿Ｐ３２９Ｙ、ＩｇＧ１＿Ｋ３２６Ｗ／Ｐ３２９Ｙ、ＩｇＧ１＿Ｌ３２８Ｖ／Ｐ３２９Ｙ、ＩｇＧ１＿Ｋ３２６Ｗ／Ｌ３２８Ｖ／Ｐ３２９Ｙからなる改変体が、顕著にＡＤＣＣ活性が減弱することが確認され、いずれの改変体においてもＰ３２９Ｙ改変が含まれることがわかった。

[0407] 以上の結果より、ＣＨ２ドメイン上の「領域１」では、Ｄ２６５Ａ又はＰ２３８Ａ／Ｓ２６７Ｌのアミノ酸改変を導入することによって、ＣＨ２ドメイン上の「領域２」では少なくともＰ３２９Ｙのアミノ酸改変を導入することによって、ＣＤ１６ａ結合部位を破壊できることが明らかとなった。

[0408] ［実施例２］

ＣＤ１６ａ結合非対称改変を導入したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６一価抗体の作製

実施例１において、ＣＤ１６ａとＦｃの非対称の結合部位を破壊できるアミノ酸配列の一例として、ＣＨ２－Ａでは「領域１」由来のＤ２６５Ａ又はＰ２３８Ａ／Ｓ２６７Ｌ、ＣＨ２－Ｂでは「領域２」由来のＰ３２９Ｙを選択した。

[0409] 本項では、ＣＨ２－ＡとＣＨ２－Ｂのみにそれぞれ上記の改変を非対称に導入してＡＤＣＣ活性を評価するために、二分子のＨ鎖をコードする個別の遺伝子を発現させ、それらをヘテロ会合させることができる「一価抗体」（国際公開第２０１１／１０８５０２号）を基本骨格に用いることとした。図９にかかる一価抗体の一態様の模式図を示す。図９中、前記ヘテロ会合体は、「非対称改変体＃１」である。

[0410] （１）ＣＤ１６ａ結合非対称改変一価抗体発現ベクターの作製

ＣＨ２－Ａ（Ｄ２６５Ａ又はＰ２３８Ａ／Ｓ２６７Ｌ）、ＣＨ２－Ｂ（Ｐ３２９Ｙ）を非対称あるいは対称に導入したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６一価抗体（国際公開第２０１１／１０８５０２号）の発現ベクターを構築した。

[0411] ヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６一価抗体発現ベクターｐＣＩ－ｍｖＧ１＿ＫＧ１６８４を鋳型に用い、ＰｒｉｍｅＳＴＡＲ Ｍａｘ ＤＮＡ Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ（タカラバイオ）及び改変部位を導入したプライマー（シグマオリゴ）を用い、ＰｒｉｍｅＳＴＡＲ Ｍａｘ ＤＮＡ Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅの添付文書に従いＰＣＲ反応を行った。

[0412] ＰＣＲ反応はＧｅｎｅＡｍｐ ＰＣＲ Ｓｙｓｔｅｍ ９７００（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を用い、９８℃、１分間にて熱変性後、９８℃にて１０秒間、５８℃にて５秒間、７２℃にて５秒間の反応を３０サイクル行った。

[0413] ０．８％アガロースゲルを用いた電気泳動に反応液を供し、ＱＩＡｑｕｉｃｋ Ｇｅｌ Ｅｘｔｒａｃｔｉｏｎ Ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ）を用いて、増幅断片を回収した。Ｉｎ－Ｆｕｓｉｏｎ ＨＤ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ｋｉｔ

（クロンテック）を用いてプラスミドｐＣｌ　ｖｅｃｔｏｒ（プロメガ）と連結反応を行い、該反応液を用いて大腸菌ＤＨ５αコンピテントセル（タカラバイオ）を形質転換した。

[0414] 得られた形質転換株のクローンより各プラスミドＤＮＡを調製し、Ｂｉｇ　Ｄｙｅ　Ｔｅｒｍｉｎａｔｏｒ　Ｃｙｃｌｅ　Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ　Ｋｉｔ　ｖ３．１（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を用いて添付の説明書に従って反応後、同社のＤＮＡシーケンサーＡＢＩ　ＰＲＩＳＭ　３７００　ＤＮＡ　Ａｎａｌｙｚｅｒによりプラスミドに挿入されたＤＮＡの塩基配列を解析した。

[0415] （２）ＣＤ１６ａ結合非対称改変一価抗体の発現

実施例１の第２項と同様の方法で、当該抗体の発現を行い、抗体を含む培養上清を回収した。各精製抗体サンプルとその改変部位を表９に示す。なお、改変部位におけるアミノ酸残基置換は実施例１と同様の方法により行った。

[0416] [表9]

精製抗体（名称）	CH2-A（領域１, 領域２）	CH2-B（領域１, 領域２）
野生型	-	-
非対称改変体＃１	D265A	P329Y
非対称改変体＃２	P329Y	D265A
非対称改変体＃３	P238A/S267L	P329Y
非対称改変体＃４	P329Y	P238A/S267L
対称改変体＃１	D265A	D265A
対称改変体＃２	P329Y	P329Y
対称改変体＃３	P238A/S267L	P238A/S267L
対称改変体＃４	D265A, P329Y	D265A, P329Y
対称改変体＃５	P238A/S267L, P329Y	P238A/S267L, P329Y

[0417] （３）ＣＤ１６ａ結合非対称改変一価抗体の精製

実施例１の第３項と同様の方法で、当該抗体の精製を行った。溶出バッファーは１００ｍＭクエン酸、ｐＨ３．９を用いた。その後、ＡＫＴＡ　ＦＰＬＣ（ＧＥヘルスケア）及びＳｕｐｅｒｄｅｘ　Ｈｉｇｈ－ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ　Ｃｏｌｕｍｎ（ＧＥヘルスケア）を用いて、該抗体溶液より単量

体画分を分取した。ＡＫＴＡシステム孔径０．２２μｍのメンブランフィルター（Ｍｉｌｌｅｘ－ＧＶ，ミリポア）で濾過滅菌することにより精製抗体を得た。Ｎａｎｏｄｒｏｐ８０００（ＴｈｅｒｍｏＳｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用して２８０ｎｍにおける吸光度（Ａ２８０）を測定した。

[0418] （４）ＣＤ１６ａ結合非対称改変を導入したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６一価抗体のＳＤＳ－ＰＡＧＥによる精製度の評価

各種ＣＤ１６ａ結合非対称改変を導入したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６一価抗体精製サンプルの精製度を評価するため、抗体精製サンプル約１μｇを用いてＳＤＳ－ＰＡＧＥを行った。

[0419] その結果、還元条件下において、すべての改変体は、野生型一価抗体と同様に、Ｈ鎖及びＦｃ融合Ｌ鎖が約５０ｋＤａ付近にバンドが認められた。また、非還元条件においては、約１００ｋＤａ付近にバンドが認められたことから、作製した非対称改変体及び対称改変体は目的のＨ鎖及びＬ鎖から構成されていることが確認された。

[0420] 以上の結果より、本実施例の第３項で得られた各種ＣＤ１６ａ結合非対称改変を導入したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ６一価抗体の精製サンプル中には、それぞれＨ鎖及びＦｃ融合Ｌ鎖から構成される目的の一価抗体分子が十分な割合で含まれることが確認された。

[0421] （５）ＣＤ１６ａ結合非対称改変一価抗体のＡＤＣＣ活性

実施例１の第５項と同様の方法で、ＡＤＣＣ活性を測定した。結果を図１０示す。図１０に示されるように、ＣＤ１６ａ結合の非対称改変を導入した一価抗体（非対称改変体＃１～４）は、抗体濃度依存的に標的細胞を傷害することが確認された。一方、ＣＤ１６ａ結合の対称改変を導入した一価抗体（対称改変体＃１～＃５）は、標的細胞に対してＡＤＣＣ活性を示さないことが確認された。

[0422] 以上の結果より、ＣＤ１６ａ結合の非対称改変を導入した一価抗体はヒトＣＤ１６ａに対する結合活性が維持され、標的細胞に対してＡＤＣＣ活性を発揮することできることが確認された。

[0423] 一方で両方のＣＨ２ドメインに同じ改変を導入した場合はＡＤＣＣ活性が失われることから、同じ改変ＣＨ２を有する抗体が細胞表面上でホモフィリックな会合をした場合にはＡＤＣＣ活性が誘導されないことが確認され、本発明が目指す二つの抗原に細胞表面上でヘテロ会合して初めてＡＤＣＣ活性を発揮するＨＬ抗体を構成するための改変ＣＨ２ドメインが見出された。

[0424] ［実施例３］

本実施例では、実施例１，２で得られたヘテロ会合して初めてＡＤＣＣ活性を誘導できる改変ＣＨ２を、異なる抗原に対する二種類の抗体の半量体（ＨＬ体）に搭載し、二種類の抗原を共発現する標的細胞特異的にＡＤＣＣ活性が誘導できるか否かを検証した。

[0425] ＣＨ３ドメイン同士の相互作用はJ Immunol 2011; 187: 3238-3246で報告されている。ヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメインの相互作用（K_D値）は３．０×１０$^{-9}$M、ヒトＩｇＧ４のＣＨ３ドメインのK_D値は４．８×１０$^{-8}$Mで、ヒトＩｇＧ４のＣＨ３ドメインの相互作用はＩｇＧ１よりも約６～７倍弱い。

[0426] この性質とヒンジ領域におけるＨ鎖間のジスルフィド結合を切断するアミノ酸改変（Ｃ２２６Ａ／Ｃ２２９Ａ：ＡＡ）を利用することで抗体の半量体の作製を試みた。半量体のＨ鎖定常領域はヒトＩｇＧ１を基本骨格とし、ＣＨ３ドメインのみをヒトＩｇＧ４配列に交換し、さらにヒンジ領域にアミノ酸改変（ＡＡ）を加えたドメイン交換抗体（以下ＩｇＧ１１１４＿ＡＡ型と称する）を用いた。

[0427] 加えて、ＡＤＣＣ活性を強化するために公知のＡＤＣＣ活性増強アミノ酸改変をＣＨ２ドメインに施し、さらにＡｓｎ２９７に結合するＮ－結合型糖鎖のα１，６フコースを除去、最後にＣＤ１６ａ結合非対称アミノ酸改変を導入した。図１１に、ＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｄ２６５Ａ（／Ｐ３２９Ｙ）型のＩｇＧ半量体の模式図を示す。二種類のモデル抗原として、ＣＤ４とＣＤ７０を用いた。

[0428] 上記に示す改変を組み合わせた、抗ＣＤ４抗体（J. Immunol. 1992; 149:1779-1787）及び抗ＣＤ７０抗体（国際公開第２００７／０３６３７号）を以

下の手順に従い作製した。ＩｇＧ１１１４＿ＡＡ型に公知のＡＤＣＣ活性増強アミノ酸改変（Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ：ＡＡＡ）改変、ＣＤ１６ａ結合非対称アミノ酸改変（Ｄ２６５Ａあるいは Ｐ３２９Ｙ）を導入したアミノ酸配列から構成されるＨ鎖定常領域を有する抗ＣＤ４及びＣＤ７０抗体をＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｄ２６５Ａ（／Ｐ３２９Ｙ）型抗ＣＤ４抗体の半量体、ＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｄ２６５Ａ（／Ｐ３２９Ｙ）型抗ＣＤ７０抗体の半量体とそれぞれ称する。

[0429] 設計された各種抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体の各ドメインが由来するサブクラス、及びＨ鎖定常領域のアミノ酸配列の対応を表１０に示す。また、用いたＣＤ４及びＣＤ７０に対する抗体の塩基配列とアミノ酸配列を表１１に示す。

[0430] [表10]

構造名	CH1	ヒンジ	CH2	CH3	遺伝子、アミノ酸配列
IgG1114_AA_AAA_D265A	G1	G1(AA)	G1(AAA_D265A)	G4	配列番号３７、３８
IgG1114_AA_AAA_P329Y	G1	G1(AA)	G1(AAA_P329Y)	G4	配列番号３９、４０

[0431] [表11]

配列名	遺伝子配列	アミノ酸配列
CD4 (ibalizumab) VL	配列番号４１	配列番号４２
CD4 (ibalizumab) VH	配列番号４３	配列番号４４
CD70 (2H5) VL	配列番号４５	配列番号４６
CD70 (2H5) VH	配列番号４７	配列番号４８

[0432] （１）抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体発現ベクターの作製

ヒトＩｇＧ１抗ＣＤ４抗体発現ベクターｐＣＩ－ＩｇＧ１＿ＣＤ４（ｉｂａｌｉｚｕｍａｂ）（配列番号５、７、４１、４３）あるいは、ヒトＩｇＧ１抗ＣＤ７０抗体発現ベクターｐＣＩ－ＩｇＧ１＿ＣＤ７０（２Ｈ５）（配列番号５、７、４５、４７）より、制限酵素ＮｈｅＩ及びＮｏｔＩを用いて、約９ｋｂｐのＤＮＡ断片を切り出し精製した。

[0433] 精製したＤＮＡ断片と、ヒトＩｇＧ１抗体のＣＨ１ドメイン、ヒンジドメイン（Ｃ２２６Ａ／Ｃ２２９Ａ改変を加えたもの）、ＣＨ２ドメイン（Ｓ２９８Ａ／Ｋ３３３Ａ／Ｅ３３４Ａ改変、Ｄ２６５ＡあるいはＰ３２９Ｙ改変を加えたもの）、ヒトＩｇＧ４抗体のＣＨ３ドメインからなる人工合成遺伝子とをＩｎ－Ｆｕｓｉｏｎ　ＨＤ　Ｃｌｏｎｉｎｇ　Ｋｉｔ（クロンテック）を用いて連結反応を行い、該反応液を用いて大腸菌ＤＨ５αコンピテントセル（タカラバイオ）を形質転換した。得られた形質転換株のクローンより各プラスミドＤＮＡを調製し、ファスマックでＤＮＡの塩基配列を解析した。

[0434] （２）各種抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１抗体並びにこれら抗体の半量体の発現

実施例１の第２項と同様の方法で、当該抗体の発現を行い、抗体を含む培養上清を回収した。

[0435] 精製した抗体サンプルの名称を表１２に示す。

[0436] [表12]

精製抗体（名称）	抗体の構造
CD4抗体	IgG1
CD70抗体	IgG1
CD4抗体の半量体１	IgG1114_AA_AAA_D265A
CD4抗体の半量体２	IgG1114_AA_AAA_P329Y
CD70抗体の半量体１	IgG1114_AA_AAA_D265A
CD70抗体の半量体２	IgG1114_AA_AAA_P329Y

[0437] （３）抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体の精製

実施例１の第３項と同様の方法で、当該抗体の精製を行い、抗体溶液の濃度測定及び調製を行った。

[0438] （４）抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体のＳＤＳ－ＰＡＧＥによる精製度の評価

調製した各種抗体サンプルの精製度を評価するため、抗体精製サンプル約１μｇを用いて、ＳＤＳ－ＰＡＧＥを行った。結果を図１２に示す。

[0439] 図１２に示すように、精製した抗体はすべて、還元条件下でＨ鎖が約５０ｋＤａ、Ｌ鎖が約２５ｋＤａ付近にバンドが認められた。また、非還元条件では、抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１抗体は約１５０ｋＤａ、抗ＣＤ４半量体及び抗ＣＤ７０半量体は約７５ｋＤａ付近にバンドが認められたことから、作製した抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１抗体は目的のＨ鎖及びＬ鎖から構成された抗体構造であること、抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体は目的のＨ鎖及びＬ鎖から構成され、半量体を形成しやすい抗体構造になっていることが確認された。

[0440] 以上の結果より、本実施例の第３項で得られた抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体精製サンプル中には、目的の抗体分子が十分な割合で含まれることが確認された。

[0441] （５）抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１抗体、並びにこれら抗体の半量体のＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞、ＣＤ４及びＣＤ７０単陽性細胞に対するＡＤＣＣ活性

実施例１の第５項と同様の方法で、ＡＤＣＣ活性を測定した。標的細胞は、ＣＤ４単陽性細胞としてＣＤ４／ＥＬ－４トランスフェクタント、ＣＤ７０単陽性細胞としてＭＴ－１、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞としてＴＬ－Ｏｍ１を用いた。これらの細胞におけるＣＤ４及びＣＤ７０の発現量を、フローサイトメーターを用いて測定した結果を図１３示す。

[0442] 図１３に示されるように、目的の抗原が細胞に発現していることが確認された。また、ＡＤＣＣ活性評価の結果を図１４に示す。陽性対照の抗体として、抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１抗体を用いた。

[0443] 図１４に示すように、予想通り、ＣＤ４／ＥＬ－４トランスフェクタントに対しては抗ＣＤ４抗体が、ＭＴ－１に対しては抗ＣＤ７０抗体が、ＴＬ－Ｏｍ１に対しては抗ＣＤ４抗体及び抗ＣＤ７０抗体がＡＤＣＣ活性を発揮することが示された。

[0444] 一方、抗ＣＤ４抗体の半量体１と抗ＣＤ７０抗体の半量体２を混合した抗体溶液、あるいは抗ＣＤ４抗体の半量体２と抗ＣＤ７０抗体の半量体１を混合した抗体溶液は、ＣＤ４及びＣＤ７０単陽性細胞に対してはＡＤＣＣ活性を示さず、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞に対してのみ特異的にＡＤＣＣ活性を発揮することが示された。

[0445] ［実施例４］

第１のＣＤ１６ａ結合領域で、ＥＵインデックスで表される２３５位、２３９位、２６５位、２６７位、２６９位、２９６位、２９８位、２９９位、３２７位を、第２のＣＤ１６ａ結合領域で、ＥＵインデックスで表される３２６位、３２８位、３２９位、３３０位をそれぞれアミノ酸残基改変することによりＣＤ１６ａ結合を破壊した改変ＣＨ２を、異なる抗原に対する二種類の抗体の半量体（ＨＬ体）に搭載し、二種類の抗原を共発現する標的細胞特異的にＡＤＣＣ活性が誘導できるか否かを検証した。

[0446] 設計された各種抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体は、実施例３と同様の方法で調製し、ＡＤＣＣ活性を評価した。抗ＣＤ４半量体と抗ＣＤ７０半量体を混合した抗体溶液は１μｇ／ｍＬとなるように添加した。同じく、陽性対照の抗体として使用した、抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１抗体も１μｇ／ｍＬとなるように添加した。設計された各種抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体の各ドメインが由来するサブクラス、及びＨ鎖定常領域のアミノ酸配列の対応を表１３に示す。

[0447]

[表13]

精製抗体（名称）	抗体の構造	配列番号	
CD4抗体の半量体３	IgG1114_AA_AAA_S239R CH	49	遺伝子配列
CD4抗体の半量体３	IgG1114_AA_AAA_S239R CH	50	アミノ酸配列
CD4抗体の半量体4	IgG1114_AA_AAA_D265N CH	51	遺伝子配列
CD4抗体の半量体4	IgG1114_AA_AAA_D265N CH	52	アミノ酸配列
CD4抗体の半量体5	IgG1114_AA_AAA_D265E CH	53	遺伝子配列
CD4抗体の半量体5	IgG1114_AA_AAA_D265E CH	54	アミノ酸配列
CD4抗体の半量体6	IgG1114_AA_AAA_S267K CH	55	遺伝子配列
CD4抗体の半量体6	IgG1114_AA_AAA_S267K CH	56	アミノ酸配列
CD4抗体の半量体７	IgG1114_AA_AAA_E269P CH	57	遺伝子配列
CD4抗体の半量体７	IgG1114_AA_AAA_E269P CH	58	アミノ酸配列
CD4抗体の半量体８	IgG1114_AA_AAA_Y296P CH	59	遺伝子配列
CD4抗体の半量体８	IgG1114_AA_AAA_Y296P CH	60	アミノ酸配列
CD4抗体の半量体９	IgG1114_AA_AAA_S298E CH	61	遺伝子配列
CD4抗体の半量体９	IgG1114_AA_AAA_S298E CH	62	アミノ酸配列
CD4抗体の半量体１０	IgG1114_AA_AAA_T299A CH	63	遺伝子配列
CD4抗体の半量体１０	IgG1114_AA_AAA_T299A CH	64	アミノ酸配列
CD4抗体の半量体１１	IgG1114_AA_AAA_L235R CH	65	遺伝子配列
CD4抗体の半量体１１	IgG1114_AA_AAA_L235R CH	66	アミノ酸配列
CD4抗体の半量体１２	IgG1114_AA_AAA_A327I CH	67	遺伝子配列
CD4抗体の半量体１２	IgG1114_AA_AAA_A327I CH	68	アミノ酸配列
CD70抗体の半量体３	IgG1114_AA_AAA_K326G CH	69	遺伝子配列
CD70抗体の半量体３	IgG1114_AA_AAA_K326G CH	70	アミノ酸配列
CD70抗体の半量体４	IgG1114_AA_AAA_L328R CH	71	遺伝子配列
CD70抗体の半量体４	IgG1114_AA_AAA_L328R CH	72	アミノ酸配列
CD70抗体の半量体５	IgG1114_AA_AAA_P329K CH	73	遺伝子配列
CD70抗体の半量体５	IgG1114_AA_AAA_P329K CH	74	アミノ酸配列
CD70抗体の半量体６	IgG1114_AA_AAA_P329W CH	75	遺伝子配列
CD70抗体の半量体６	IgG1114_AA_AAA_P329W CH	76	アミノ酸配列
CD70抗体の半量体７	IgG1114_AA_AAA_A330P CH	77	遺伝子配列
CD70抗体の半量体７	IgG1114_AA_AAA_A330P CH	78	アミノ酸配列

[0448] 図１５Ａ～図１５Ｈに示されるように、第１のＣＤ１６ａ結合領域をアミノ酸改変したＣＨ２を搭載した抗ＣＤ４抗体の半量体と、第２のＣＤ１６ａ結合領域をアミノ酸改変したＣＨ２を搭載した抗ＣＤ７０抗体の半量体を混合した抗体溶液は、ＣＤ４及びＣＤ７０単陽性細胞に対してはＡＤＣＣ活性を示さず、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞に対してのみ特異的にＡＤＣＣ活性を発揮することが示された。

[0449] [実施例５]ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変の探索

ＣＤ１６ａに対する結合を高める、公知のアミノ酸改変は、Ｓ２９８Ａ／Ｅ

３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ改変以外に多く知られている（国際公開第９９／５１６４２号、国際公開第２００６／０２０１１４号、国際公開第２００４／０９９２４９号、国際公開第２００４／０６３３５１号、国際公開第２０１３／１１８８５８号）。本実施例ではＳ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ改変以外のＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変を確認した。

[0450] （１）ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変を導入したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ４抗体発現ベクターの作製

ヒトＩｇＧ１抗ヒトＣＣＲ４抗体（国際公開第２００５／０５３７４１号）にＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変を導入した抗体の発現ベクターを構築した。ヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ４抗体発現ベクターｐＣＩ－ＩｇＧ１＿ＣＣＲ４（ＫＭ２１６０）（配列番号５、７、７９、８１）より、制限酵素ＮｈｅＩ及びＮｏｔＩを用いて、約９ｋｂｐのＤＮＡ断片を切り出し精製した。

[0451] 精製したＤＮＡ断片と、ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変を導入した抗体Ｆｃからなる人工合成遺伝子とをＩｎ－Ｆｕｓｉｏｎ ＨＤ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ｋｉｔ（クロンテック）を用いて連結反応を行い、該反応液を用いて大腸菌ＤＨ５αコンピテントセル（タカラバイオ）を形質転換した。得られた形質転換株のクローンより各プラスミドＤＮＡを調製し、ファスマックでＤＮＡの塩基配列を解析した。

[0452] （２）ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変を導入したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ４抗体の発現

以下の方法で、宿主細胞に（１）で作製された発現ベクターを導入した。宿主細胞には、ＦＵＴ８ノックアウトＣＨＯ細胞（国際公開第２００５／０３５５８６号、国際公開第０２／３１１４０号）を使用した。プラスミド導入の方法は添付の説明書に従った。

[0453] 培養液量は２００ｍＬで行い、３７℃、５％CO_2、１２５ｒｐｍの設定条件下で、５日間培養した。培養後、細胞懸濁液の遠心分離を行い、０．２μｍフィルター（ＴｈｅｒｍｏＳｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を通して改変抗体を含む培養上清を回収した。

[0454] （３）ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変を導入したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ４抗体の精製

以下に示す、ＭａｂＳｅｌｅｃｔ　ＳｕＲｅ（ＧＥヘルスケア）を用いたアフィニティ精製により、改変抗体を精製した。レジンをＰＢＳで平衡化した後、（２）で取得された培養上清をロードし、ＰＢＳで２回洗浄した。洗浄後、溶出バッファー（１００ｍＭクエン酸、ｐＨ３．５）を用いて抗体を溶出し、中和バッファー（２Ｍ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、ｐＨ８．０）を１／１０量加えて中和した。

[0455] 続いて、Ａｍｉｃｏｎ　Ｕｌｔｒａ－４　Ｃｅｎｔｅｒｉｆｕｇａｌ　Ｆｉｌｔｅｒ　Ｕｎｉｔｓ（ミリポア）を用いて限外濾過による濃縮及びバッファー（１０ｍＭクエン酸、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、ｐＨ６．０）置換を行い、Ｎａｎｏｄｒｏｐ８０００（ＴｈｅｒｍｏＳｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用して２８０ｎＭにおける吸光度（Ａ２８０）を測定し、抗体溶液の濃度測定及び調製を行った。

[0456] （４）ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変を導入したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ４抗体の精製度の評価

調製した各種抗体サンプルの精製度を評価するため、抗体精製サンプル約１μｇを用いて、ゲル電気泳動（ＬａｂＣｈｉｐ　ＧＸ，パーキンエルマー）を行った結果、精製した抗体はすべて、還元条件下でＨ鎖が約５０ｋＤａ、Ｌ鎖が約２５ｋＤａ付近にバンドが認められた。また、非還元条件では、約１５０ｋＤａ付近にバンドが認められたことから、作製した抗ＣＣＲ４ＩｇＧ１抗体は目的のＨ鎖及びＬ鎖から構成された抗体構造であることが確認された。

[0457] （５）ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変を導入したヒトＩｇＧ１抗ＣＣＲ４抗体のＡＤＣＣ活性

実施例１の（５）と同様の方法で、ＡＤＣＣ活性を測定した。標的細胞として、ＴＬ－Ｏｍ１（ＣＣＲ４陽性細胞）を用いた。用いた抗ＣＣＲ４抗体のＶＨ及びＶＬの塩基配列及びアミノ酸配列の配列番号を表１４に、ＣＤ１

６ａ結合増強アミノ酸改変を導入した抗ＣＣＲ４抗体のＣＨの塩基配列及びアミノ酸配列を表１５及び表１６にそれぞれ示す。

[0458] [表14]

配列名	塩基配列 配列番号	ｱﾐﾉ酸配列 配列番号
CCR4(KM2160) VH	79	80
CCR4(KM2160) VL	81	82

[0459] ＡＤＣＣ活性評価の結果を以下表１５及び１６に示す。Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ（ＡＡＡ）改変を有するＩｇＧ１抗体０．１μｇ／ｍＬにおけるＡＤＣＣ活性を１００として、各種アミノ酸改変を導入した抗体のＡＤＣＣ活性を算出した。

[0460]

[表15]

IgG1抗CCR4抗体に導入した CD16a結合増強アミノ酸改変	ADCC活性対比 (AAA=100)	CH 配列番号 （塩基配列）	CH 配列番号 （アミノ酸配列）
S298A/E333A/K334A(AAA)	100	83	84
S239D/I332E(DE)	201	85	86
S239D/A330F	161	87	88
S239D/K326T	179	89	90
S298A/E333A/K334A(AAA)/P247L	160	91	92
S298A/E333A/K334A(AAA)/R292P	125	93	94
S298A/E333A/K334A(AAA)/H268E	164	95	96
S298A/E333A/K334A(AAA)/K326T	136	97	98
S298A/E333A/K334A(AAA)/P247L/N421K	175	99	100
S298A/E333A/R292L/K334E	163	101	102
S298A/E333A/K334A(AAA)/P329R	5	103	104
S298A/E333A/K334A(AAA)/A330F	96	105	106
S298A/E333A/K334E	114	107	108
S298A/E333A/K334A(AAA)/A339T	36	109	110
S298A/E333A/K334A(AAA)/F372Y	70	111	112
S298A/E333A/K334A(AAA)/V379M	51	113	114
S298A/E333A/K334A(AAA)/S239D/I332E	119	115	116
S298A/E333A/K334A(AAA)/E283L	82	117	118
S298T/E333A/K334A	-97	119	120
S298A/E333A/K334A(AAA)/E294W	171	121	122
S298A/E333A/K334A(AAA)/Q295T	4	123	124
S298A/E333A/K334A(AAA)/A327D	-28	125	126
S298A/E333A/K334A(AAA)/L235T	-69	127	128
S298A/E333A/K334A(AAA)/G236S	-46	129	130
S298A/E333A/K334A(AAA)/S239D	291	131	132
S298A/E333A/K334A(AAA)/F243L	79	133	134
S298A/E333A/K334A(AAA)/K248M	165	135	136
S298A/E333A/K334A(AAA)/E258H	94	137	138
S298A/E333A/K334A(AAA)/D265G	-89	139	140
S239D	116	141	142
S239E	88	143	144

[0461]

[表16]

IgG1抗CCR4抗体に導入した CD16a結合増強アミノ酸改変	ADCC活性対比 (AAA=100)	CH 配列番号 （塩基配列）	CH 配列番号 （アミノ酸配列）
S239D/I332D	150	145	146
S239D/I332T	72	147	148
S239D/I332L	82	149	150
S239D/I332A	94	151	152
S239D/I332Y	123	153	154
S239D/I332F	93	155	156
S239D/I332W	94	157	158
S239D/I332H	84	159	160
S239D/K326L	113	161	162
S239D/K326E	147	163	164
S239D/K326I	146	165	166
S239E/I332Y	130	167	168
S239E/I332F	34	169	170
S239E/I332W	44	171	172
S239E/I332H	71	173	174
S239E/I332E	153	175	176
S239E/I332D	90	177	178
S239E/I332T	52	179	180
S239E/I332L	57	181	182
S239E/I332A	62	183	184
S239E/K326T	132	185	186
S239E/K326L	109	187	188
S239E/K326E	129	189	190
S239E/K326I	135	191	192
F243L/R292P/Y300L	3	193	194
F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L	-9	195	196
P230A/E233D/I332E	53	197	198
K288N/A330S/P396L	-131	199	200
K334E/T359N/T366S	-110	201	202
G316D/A378V/D399E	-38	203	204

[0462] 表１５及び１６に示すように、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ（ＡＡＡ）以外にも本発明の抗体組成物に適応できるＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変が確認された。

[0463] [実施例６]ＩｇＧ１のＣＨ３ドメインにおけるアミノ酸置換

実施例３において、ＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｄ２６５Ａ（／Ｐ３２９Ｙ）のＩｇＧ半量体を用いて、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞特異的にＡＤＣＣ活性を発揮することを示した。ここで用いられている抗体のＦｃ領域

のＣＨ３ドメインに相当する部分はヒトＩｇＧ４の配列を用いている。

[0464] ＣＨ３ドメイン同士の相互作用は、Ｊ Immunol 2011:187:3238-3246で報告されており、ヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメインの相互作用（K_D値）は３．０×１０$^{-9}$M、ヒトＩｇＧ４のＣＨ３ドメインのK_D値は４．８×１０$^{-8}$Mで、ヒトＩｇＧ４のＣＨ３ドメインの相互作用はヒトＩｇＧ１よりも約６～７倍弱い。

[0465] また、ヒトＩｇＧ４のＣＨ３ドメインのＲ４０９をヒトＩｇＧ１のＫに置換することにより、ＣＨ３ドメイン同士の相互作用が高まることが報告されている（Structure 2011 19: 9: 1274-1282）。

[0466] さらには、ヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン内のアミノ酸をＡＩａに置換することで、自由エネルギーの変化からヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン同士の相互作用に重要なアミノ酸部位を同定した報告もある（Biochemistry 1998:37:9266-9273）。このことから、ヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメインに公知のアミノ酸改変を加えることにより、ヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン同士の相互作用を減弱させることが可能である。

[0467] そこで、ヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメインにアミノ酸改変を加え、ヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン同士の相互作用を減弱させることにより、両陽性細胞特異的にＡＤＣＣ活性を発揮するかどうかを検証した。

[0468] ＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン同士の相互作用を減弱させた、抗ＣＤ４抗体（J.Immunol.1992;149;1779-1787）及び抗ＣＤ７０抗体（国際公開第２００７／０３６３７号）を以下の手順に従い作製した。

[0469] 設計された各種抗ＣＤ４及び抗ＣＤ７０半量体の各ドメインが由来するサブクラス、及びＨ鎖定常領域のアミノ酸配列の対応を表１７に示す。ヒトＩｇＧ１型に、ヒンジ領域におけるＨ鎖間のジスルフィド結合を切断するアミノ酸改変としＣ２６６Ａ／Ｃ２２９Ａ：ＡＡ、ＡＤＣＣ活性増強アミノ酸改変としてＳ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ：ＤＥ、ＣＤ１６ａ結合非対称アミノ酸改変としてＤ２６５Ａ、ＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させるアミノ酸改変としてＫ４０９Ｒ改変、を導入したアミノ酸配列から構成されるＨ鎖定常領

域を有する場合、「ＩｇＧ１＿ＡＡ＿ＤＥ＿Ｄ２６５Ａ＿Ｋ４０９Ｒ」と記載する。

[0470] [表17]

精製抗体名称 (CH3ドメイン間相互作用減弱改変)	抗体のCHの構造	塩基配列 配列番号	ｱﾐﾉ酸配列 配列番号
抗CD4 抗体の半量体(K409R)	IgG1_AA_DE_P329Y_K409R CH	205	206
抗CD4 抗体の半量体(Y349A)	IgG1_AA_DE_D265A_Y349A CH	207	208
抗CD4 抗体の半量体(L351A)	IgG1_AA_DE_D265A_L351A CH	209	210
抗CD4 抗体の半量体(T366A)	IgG1_AA_DE_D265A_T366A CH	211	212
抗CD4 抗体の半量体(L368A)	IgG1_AA_DE_D265A_L368A CH	213	214
抗CD4 抗体の半量体(D399A)	IgG1_AA_DE_D265A_D399A CH	215	216
抗CD4 抗体の半量体(F405A)	IgG1_AA_DE_D265A_F405A CH	217	218
抗CD4 抗体の半量体(Y407A)	IgG1_AA_DE_D265A_Y407A CH	219	220
抗CD4 抗体の半量体(K409A)	IgG1_AA_DE_D265A_K409A CH	221	222
抗CD70 抗体の半量体(K409R)	IgG1_AA_DE_P329Y_K409R CH	223	224
抗CD70 抗体の半量体(Y349A)	IgG1_AA_DE_P329Y_Y349A CH	225	226
抗CD70 抗体の半量体(L351A)	IgG1_AA_DE_P329Y_L351A CH	227	228
抗CD70 抗体の半量体(T366A)	IgG1_AA_DE_P329Y_T366A CH	229	230
抗CD70 抗体の半量体(L368A)	IgG1_AA_DE_P329Y_L368A CH	231	232
抗CD70 抗体の半量体(D399A)	IgG1_AA_DE_P329Y_D399A CH	233	234
抗CD70 抗体の半量体(F405A)	IgG1_AA_DE_P329Y_F405A CH	235	236
抗CD70 抗体の半量体(Y407A)	IgG1_AA_DE_P329Y_Y407A CH	237	238
抗CD70 抗体の半量体(K409A)	IgG1_AA_DE_P329Y_K409A CH	239	240

[0471] （１）抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体発現ベクターの作製

ヒトＩｇＧ１抗ＣＤ４抗体発現ベクターｐＣＩ－ＩｇＧ１＿ＣＤ４（ｉｂａｌｉｚｕｍａｂ）（配列番号５、７、４１、４３）あるいは、ヒトＩｇＧ１抗ＣＤ７０抗体発現ベクターｐＣＩ－ＩｇＧ１＿ＣＤ７０（２Ｈ５）（配列番号５、７、４５、４７）より、制限酵素ＮｈｅＩ及びＮｏｔＩを用いて、約９ｋｂｐのＤＮＡ断片を切り出し精製した。

[0472] 精製したＤＮＡ断片と、ヒトＩｇＧ１抗体のＣＨ１ドメイン、ヒンジドメイン（Ｃ２２６Ａ／Ｃ２２９Ａ改変を加えたもの）、ＣＨ２ドメイン（Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ改変及びＤ２６５ＡまたはＰ３２９Ｙ改変を加えたもの）、及びＣＨ３ドメイン（ＣＨ３ドメイン相互作用を減弱させるアミノ酸改変を加えたもの）からなる人工合成遺伝子とをＩｎ－Ｆｕｓｉｏｎ　ＨＤ　Ｃｌｏｎｉｎｇ　Ｋｉｔ（クロンテック）を用いて連結反応を行い、該反応

液を用いて大腸菌ＤＨ５αコンピテントセル（タカラバイオ）を形質転換した。得られた形質転換株のクローンより各プラスミドＤＮＡを調製し、ファスマックでＤＮＡの塩基配列を解析した。

[0473] （２）抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体の発現

実施例５と同様の方法で、宿主細胞に（１）で作製された発現ベクターを導入した。

[0474] （３）抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体の精製

実施例５と同様の方法で、改変抗体を精製した。

[0475] （４）抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体のＳＤＳ－ＰＡＧＥによる精製度の評価

実施例５と同様の方法で、調製した各種抗体サンプルの精製度を評価した結果、精製した抗体はすべて、還元条件下でＨ鎖が約５０ｋＤａ、Ｌ鎖が約２５ｋＤａ付近にバンドが認められた。また、非還元条件では、抗ＣＤ４ ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＤ７０ ＩｇＧ１抗体は約１５０ｋＤａ、抗ＣＤ４半量体及び抗ＣＤ７０半量体は約７５ｋＤａ付近にバンドが認められたことから、作製した抗ＣＤ４及び抗ＣＤ７０ ＩｇＧ１抗体は目的のＨ鎖及びＬ鎖から構成された抗体構造であること、抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体は目的のＨ鎖及びＬ鎖から構成され、半量体を形成しやすい抗体構造になっていることが確認された。

[0476] （５）抗ＣＤ４ ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＤ７０ ＩｇＧ１抗体、並びにこれら抗体の半量体のＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞、ＣＤ４及びＣＤ７０単陽性細胞に対するＡＤＣＣ活性

実施例５と同様の方法で、ＣＨ３ドメイン同士の相互作用を減弱させるアミノ酸改変を加えた抗ＣＤ４抗体の半量体と抗ＣＤ７０抗体の半量体を混合した抗体組成物のＡＤＣＣ活性を評価した。対照の抗体として、抗ＣＤ４ ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＤ７０ ＩｇＧ１抗体を用いた。

[0477] 図１６Ａ及びＢに示すように、ヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン同士の相互作用を減弱させるアミノ酸改変を加えた抗ＣＤ４抗体の半量体と抗ＣＤ７０

抗体の半量体を混合した抗体溶液では、ＣＤ４及びＣＤ７０単陽性細胞に対するＡＤＤＣ活性と比較して、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞に対するＡＤＣＣ活性の方が強く、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞特異的であることが示された。

[0478] [実施例７]マウス動態試験　および　ＣＨ２ドメインの熱安定性の測定

（マウス動態試験）

実施例１～３で得られたＣＤ１６ａ結合非対称改変（Ｄ２６５Ａ及びＰ３２９Ｙ）、実施例５で得られた各種ＣＤ１６ａ結合増強改変、及び実施例６で得られたヒトＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン同士の相互作用を減弱させるアミノ酸改変（Ｋ４０９Ｒ）を組み合わせた抗体組成物の動態試験を実施した。可変領域には、特定のタンパク質に反応しない、Clin Cancer Res. 11(8): 3126-3135, 2005に記載の抗２，４－ｄｉｎｉｔｒｏｐｈｅｎｏｌ（ＤＮＰ）ＩｇＧ１抗体（クローン名ＤＮＰ２）の改変領域をコードするＤＮＡ断片を用いた。抗ＤＮＰ抗体のＶＨ及びＶＬについて、塩基配列及びアミノ酸配列を表１８に示す。また、評価に用いた抗ＤＮＰ抗体の半量体１～６の塩基配列及びアミノ酸配列を表１９に示す。

[0479] [表18]

配列名	塩基配列 配列番号	アミノ酸配列 配列番号
抗DNP抗体 VH	241	242
抗DNP抗体 VL	243	244

[0480]

[表19]

精製抗体	抗体のCHの構造	塩基配列 配列番号	アミノ酸配列 配列番号
抗DNP抗体の半量体１	IgG1_AA_AAA/S239D_D265A_K409R CH	245	246
抗DNP抗体の半量体２	IgG1_AA_S239D/I332E_D265A_K409R CH	205	206
抗DNP抗体の半量体３	IgG1_AA_S239D/K326T_D265A_K409R CH	247	248
抗DNP抗体の半量体４	IgG1_AA_AAA/S239D_P329Y_K409R CH	249	250
抗DNP抗体の半量体５	IgG1_AA_S239D/I332E_P329Y_K409R CH	223	224
抗DNP抗体の半量体６	IgG1_AA_S239D/K326T_P329Y_K409R CH	251	252

[0481] 抗ＤＮＰ　ＩｇＧ１抗体及び抗ＤＮＰ抗体の半量体は実施例６に記載の方法と同様の方法にて作製した。精製した抗体はすべて、還元条件下でＨ鎖が約５０ｋＤａ、Ｌ鎖が約２５ｋＤａ付近にバンドが認められた。また、非還元条件では、抗ＤＮＰ抗体は約１５０ｋＤａ、抗ＤＮＰ抗体の半量体は約７５ｋＤａ付近にバンドが認められたことから、作製した抗ＤＮＰ抗体は目的のＨ鎖及びＬ鎖から構成された抗体構造であること、抗ＤＮＰ抗体の半量体は目的のＨ鎖及びＬ鎖から構成され、半量体を形成しやすい抗体構造になっていることが確認された。

[0482] 抗ＤＮＰ抗体の半量体１と４、半量体２と５又は半量体３と６をそれぞれ混合して本発明の抗体組成物を調製した。ＢＡＬＢ／ｃマウスに該抗体組成物（１ｍｇ／ｋｇ）を尾静脈中に投与後、１時間、４時間、２４時間、７２時間後の血液を採取した。イソフルラン麻酔下でランセットを用いて頬を刺し血液を回収後、マイクロティナ（登録商標）（ＢＤ）で８０００ｒｐｍ、室温、１０分間遠心分離することにより血清を回収した。

[0483] 血清中に存在する抗体量をＡｌｐｈａＬＩＳＡ　Ｈｕｍａｎ　Ｋａｐｐａ　ｌｉｇｈｔ　ｃｈａｉｎ　ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ　ｋｉｔ（ＡＬ３０２３、ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を用いて、血清中の抗体濃度を測定した。キット内のＫａｐｐａ　ｌｉｇｈｔ　ｃｈａｉｎで検量線を描いた。結果を図１７に示す。

[0484] 図１７に示す通り、本発明の抗体組成物の動態はＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変の違いによって様々な動態を示すことが分かった。中でも、Ｓ２３９Ｄ／Ｋ３２６Ｔを有する本発明の抗体組成物は、抗ＤＮＰ　ＩｇＧ１抗体

に近い動態を示すことがわかった。

[0485] （ＣＨ２ドメインのＴｍ値の測定）

半量体に導入した種々のＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変がＣＨ２ドメインの熱安定性に及ぼす影響を検討する為、示差走査蛍光定量法（Ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｌ Ｓｃａｎｎｉｎｇ Ｆｌｕｏｒｉｍｅｔｒｙ：ＤＳＦ）にてＴｍ値の測定を行った。ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変が導入されている表２０に示す抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体を[実施例６]と同様に調製した。調製した抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体ＣＨ２ドメインのＴｍ値を、ＮａｎｏＴｅｍｐｅｒ社製Ｐｒｏｍｅｔｈｅｕｓ ＮＴ.４８を用いて、昇温速度条件を２０～９５℃、１℃／分の条件で測定した。

[0486] [表20]

精製抗体名称 (CD16a結合増強アミノ酸改変)	抗体のCHの構造	Tm値 (°C)	塩基配列 配列番号	アミノ酸配列 配列番号
抗CD4抗体の半量体 (AAA/S239D)	IgG1_AA_AAA/S239D_D265A_K409R CH	47.4	245	246
抗CD4抗体の半量体 (S239D/I332E)	IgG1_AA_S239D/I332E_D265A_K409R CH	42.5	205	206
抗CD4抗体の半量体 (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_D265A_K409R CH	56.8	247	248
抗CD4抗体の半量体 (239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_D265A_K409R CH	66.2	271	272
抗CD70抗体の半量体 (AAA/S239D)	IgG1_AA_AAA/S239D_P329Y_K409R CH	48.5	249	250
抗CD70抗体の半量体 (S239D/I332E)	IgG1_AA_S239D/I332E_P329Y_K409R CH	44.4	223	224
抗CD70抗体の半量体 (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_P329Y_K409R CH	57.0	251	252
抗CD70抗体の半量体 (239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_P329Y_K409R CH	65.5	291	292

[0487] 図１７で示したマウスＰＫ試験の結果と表２０のＴｍ値を合わせて考察すると、ＣＨ２ドメインのＴｍ値が高いＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変ほど血中半減期が長い傾向にある。このことにより、Ｔｍ値を測定することにより、血中半減期の良好な本発明の抗体組成物を選抜できることがわかった。

[0488] [実施例８]免疫グロブリンを添加したＡＤＣＣ活性試験

実施例１の（５）に記載されるＡＤＣＣ評価系に対して、献血ヴェノグロブリン（日本血液製剤機構、＃８６７２７９６９４）を最終濃度で８質量％

になるように添加することにより、ヒト体内を模した評価系を構築した。評価した抗体組成物について表２１に示す。

[0489] [表21]

精製抗体名称 (CD16a結合増強アミノ酸改変)	抗体のCHの構造	塩基配列 配列番号	アミノ酸配列 配列番号
抗CD4 抗体の半量体 (S239D/I332E)	IgG1_AA_S239D/I332E_D265A _K409R CH	205	206
抗CD4 抗体の半量体 (S239D/K326E)	IgG1_AA_S239D/K326E_D265A _K409R CH	253	254
抗CD4 抗体の半量体 (S239D/K326I)	IgG1_AA_S239D/K326I_D265A _K409R CH	255	256
抗CD4 抗体の半量体 (AAA/H268E)	IgG1_AA_AAA/H268E_D265A _K409R CH	257	258
抗CD4 抗体の半量体 (S298A/E333A/K334E)	IgG1_AA_S298A/E333A/K334E_D265A_K409R CH	259	260
抗CD4 抗体の半量体 (AAA/S239D)	IgG1_AA_AAA/S239D_D265A _K409R CH	245	246
抗CD4 抗体の半量体 (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_D265A _K409R CH	247	248
抗CD4 抗体の半量体 (S239E/I332E)	IgG1_AA_S239E/I332E_D265A_K409R CH	261	262
抗CD4 抗体の半量体 (S239D/I332T)	IgG1_AA_S239D/I332T_D265A_K409R CH	263	264
抗CD4 抗体の半量体 (S239D/A330F)	IgG1_AA_S239D/A330F_D265A_K409R CH	265	266
抗CD4 抗体の半量 (S239D)	IgG1_AA_S239D_D265A_K409R CH	267	268
抗CD4 抗体の半量体 (AAA/S239D/L309K)	IgG1_AA_AAA/S239D/L309K_D265A_K409R CH	269	270
抗CD4 抗体の半量体 (S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_D265A_K409R CH	271	272
抗CD70抗体の半量体 (S239D/I332E)	IgG1_AA_S239D/I332E_P329Y_K409R CH	223	224
抗CD70抗体の半量体 (S239D/K326E)	IgG1_AA_S239D/K326E_P329Y_K409R CH	273	274
抗CD70抗体の半量体 (S239D/K326I)	IgG1_AA_S239D/K326I_P329Y_K409R CH	275	276
抗CD70抗体の半量体 (AAA/H268E)	IgG1_AA_AAA/H268E_P329Y_K409R CH	277	278
抗CD70抗体の半量体 (S298A/E333A/K334E)	IgG1_AA_S298A/E333A/K334E _P329Y_K409R CH	279	280
抗CD70抗体の半量体 (AAA/S239D)	IgG1_AA_AAA/S239D_P329Y_K409R CH	249	250
抗CD70抗体の半量体 (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_P329Y_K409R CH	251	252
抗CD70抗体の半量体 (S239E/I332E)	IgG1_AA_S239E/I332E_P329Y_K409R CH	281	282
抗CD70抗体の半量体 (S239D/I332T)	IgG1_AA_S239D/I332T_P329Y_K409R CH	283	284
抗CD70 抗体の半量体 (S239D/D330F)	IgG1_AA_S239D/D330F_P329Y_K409R CH	285	286
抗CD70抗体の半量体 (S239D)	IgG1_AA_S239D_P329Y_K409R CH	287	288
抗CD70抗体の半量体 (AAA/S239D/L309K)	IgG1_AA_AAA/S239D/L309K_P329Y_K409R CH	289	290
抗CD70抗体の半量体 (S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_P329Y_K409R CH	291	292

[0490] 上記抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体は、[実施例６]と同様に調製した。抗ＣＤ４抗体のＶＨ及びＶＬおよび抗ＣＤ７０抗体のＶＨ及びＶＬは表１１に示すものを用いた。

[0491] 実施例５と同様の方法で、抗ＣＤ４抗体の半量体と抗ＣＤ７０抗体の半量体を混合した抗体組成物のＡＤＣＣ活性を評価した。陽性対照の抗体として、抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１抗体を用いた。

[0492] 図１８Ａ～Ｃに示すように、本発明の抗体組成物は献血ヴェノグロブリン存在下においても、ＣＤ４／ＣＤ７０両陽性細胞に対する特異的なＡＤＣＣ活性を発揮することが確認された。

[0493] [実施例９]ヒト血液再構成系によるＡＤＣＣ活性

ヒト体内の状態に近づけたヒト血液成分を含む評価系を用いて、両陽性細胞を特異的に除去できるか検討を行った。評価抗体について表２２に示す。

[0494] [表22]

精製抗体名称 (CD16a結合増強アミノ酸改変)	抗体のCHの構造	塩基配列 配列番号	アミノ酸配列 配列番号
抗CD4抗体の半量体 (AAA/S239D)	IgG1_AA_AAA/S239D_D265A_K409R CH	245	246
抗CD4抗体の半量体 (S239D/I332E)	IgG1_AA_S239D/I332E_D265A_K409R CH	205	306
抗CD4抗体の半量体 (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_D265A_K409R CH	247	248
抗CCR6抗体の半量体 (AAA/S239D)	IgG1_AA_AAA/S239D_P329Y_K409R CH	249	250
抗CCR6抗体の半量体 (S239D/I332E)	IgG1_AA_S239D/I332E_P329Y_K409R CH	223	224
抗CCR6抗体の半量体 (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_P329Y_K409R CH	251	252

[0495] （１）抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＣＲ６抗体の半量体発現ベクターの作製

実施例５（１）と同様の方法で、ベクターを作製した。

[0496] （２）抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＣＲ６　ＩｇＧ１抗体(ＫＧ１６８４)並びにこれら抗体の半量体の発現

実施例５（２）と同様の方法で、抗体を発現させた。

[0497] （３）抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＣＲ６抗体の半量体の精製

実施例５（３）と同様の方法で、抗体を精製した。

[0498] （４）抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＣＲ６抗体の半量体の精製度の評価

実施例５（４）と同様の方法で、各抗体の精製度を評価した結果、精製した抗体はすべて、還元条件下でＨ鎖が約５０ｋＤａ、Ｌ鎖が約２５ｋＤａ付近にバンドが認められた。また、非還元条件では、抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＣＲ６　ＩｇＧ１抗体は約１５０ｋＤａ、抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＣＲ６抗体の半量体は約７５ｋＤａ付近にバンドが認められたことから、作製した抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＣＲ６　ＩｇＧ１抗体は目的のＨ鎖及びＬ鎖から構成された抗体構造であること、抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＣＲ６抗体の半量体は目的のＨ鎖及びＬ鎖から構成され、半量体を形成しやすい抗体構造になっていることが確認された。

[0499] （５）抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＣＲ６抗体の半量体を混合した抗体組成物のＣＤ４／ＣＣＲ６両陽性細胞に対するＡＤＣＣ活性

ヒト血液５０ｍＬのうち、２０ｍＬを血漿のため、３０ｍＬを末梢血単核球と顆粒球の画分回収のためにそれぞれ用いた。血漿を取得するために、１５ｍＬ遠沈管で、４℃、２０００ｒｐｍで２０分間遠心分離し、上清を回収した。

[0500] 末梢血単核球と顆粒球の画分回収のために、１０ｍＬの血液に対して２ｍＬ　Ｈｅｔａｓｅｐ（Ｓｔｅｍｃｅｌｌ　ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，＃０７８０６）を添加し、良く混和した後に、室温にて５０×ｇで１分間遠心分離した。分離するまで室温で静置した後、赤血球以外の層を回収し、ＰＢＳで５０ｍＬにメスアップし、５４０×ｇで５分間遠心分離した。

[0501] 回収した血漿と末梢血単核球と顆粒球の画分を混ぜ、５×10^{6}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに調製し、５×10^{5}ｃｅｌｌｓ／１００μＬ／ｗｅｌｌで播種した後、抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＣＲ６抗体の半量体を混合した抗体組成物２０μＬ、血漿８０μＬを添加し、３７℃で２４時間培養した。フローサイトメトリー法にて、ＣＤ３陽性Ｔ細胞あたりのＣＤ４／ＣＣＲ６両陽性細胞の割合を測定した。陰性対照として、実施例７で用いた抗ＤＮＰ抗体を用い

た。

[0502] 図１９Ａに示すように、本発明の抗体組成物は、いずれも抗体濃度依存的にＣＤ４／ＣＣＲ６両陽性細胞を除去する一方で、ＣＤ４あるいはＣＣＲ６単陽性細胞は除去しないことがわかった。

[0503] ［実施例９－２］

［実施例９］とは異なるアミノ酸改変を持つ本発明の抗体組成物を用いて、両陽性細胞を特異的に除去できるか検証した。評価抗体について表２３に示す。

[0504] [表23]

抗体組成物名	精製抗体(CD16a結合増強アミノ酸改変)	抗体のCHの構造	塩基配列配列番号	アミノ酸配列配列番号
A	抗CD4抗体の半量体(S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_D265A_K409R CH	271	272
	抗CCR6抗体の半量体(S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_P329Y_K409R CH	291	292
B	抗CD4抗体の半量体(S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_S298E_K409R CH	293	294
	抗CCR6抗体の半量体(S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_P329Y_K409R CH	251	252
C	抗CD4抗体の半量体(AAA/S239D)	IgG1_AA_AAA/S239D_S298E_K409R CH	295	296
	抗CCR6抗体の半量体(AAA/S239D)	IgG1_AA_AAA/S239D_P329Y_K409R CH	249	250
D	抗CD4抗体の半量体(S239D/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/E333A/L242C/K334C_S298E_K409R CH	297	298
	抗CCR6抗体の半量体(S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_P329Y_K409R CH	291	292

[0505] [実施例９]と同様にして、評価抗体の調製および評価を実施した。

図１９Ｂに示すように、本発明の抗体組成物は、いずれも抗体濃度依存的にＣＤ４／ＣＣＲ６両陽性細胞を除去する一方で、ＣＤ４あるいはＣＣＲ６単陽性細胞は除去しないことがわかった。

[0506] [実施例１０]第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体の抗原結合ドメインを入れ替えた際のＡＤＣＣ活性

第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体の抗原結合ドメインを入れ替えた際にＡＤＣＣ活性に与える影響を検証した。評価抗体を表２４に示す。

[0507]

[表24]

精製抗体名称 (CD16a結合増強アミノ酸改変)	抗体のCHの構造	塩基配列 配列番号	アミノ酸配列 配列番号
抗CD4 抗体の半量体A (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_D265A _K409R CH	247	248
抗CCR4 抗体の半量体A (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_P329Y _K409R CH	251	252
抗CD4抗体の半量体B (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_P329Y_K409R CH	251	252
抗CCR4 抗体の半量体B (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_D265A _K409R CH	247	248
抗CD4 抗体の半量体C (S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_D265A_K409R CH	271	272
抗CCR4 抗体の半量体C (S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_P329Y_K409R CH	291	292
抗CD4抗体の半量体D (S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_P329Y_K409R CH	291	292
抗CCR4体の半量体D (S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_D265A_K409R CH	271	272

[0508] 上記抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＣＲ４抗体の半量体、並びに陽性対照である抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＣＲ４　ＩｇＧ１抗体は[実施例５]及び[実施例６]と同様に調製した。抗ＣＤ４抗体のＶＨ及びＶＬは表１１に、抗ＣＣＲ４抗体のＶＨ及びＶＬは表１４に示すものを用いた。

[0509] それぞれ抗ＣＤ４抗体と抗ＣＣＲ４抗体の半量体Ａ～Ｄを濃度１．０μｇ／ｍＬとなるように等量で混合し、抗体溶液を調製した。それぞれの抗体溶液をＣＤ４／ＣＣＲ４両陽性細胞（ＴＬ－Ｏｍ１）、ＣＣＲ４単陽性細胞（ＭＴ－１）、ＣＤ４単陽性細胞（ＣＤ４／ＥＬ４）に対してＡＤＣＣ活性を測定した結果を図２０に示す。

[0510] 図２０に示される通り、半量体Ａ～Ｄを混合したいずれの抗体組成物も、ＣＤ４／ＣＣＲ４両陽性細胞に対する特異的なＡＤＣＣ活性を発揮することが確認された。すなわち、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体の抗原結合ドメインを入れ替えた際にも、特異的なＡＤＣＣ活性を発揮することが示された。

[0511] [実施例１０－２]

[実施例１０]とは異なるアミノ酸改変を持つ本発明の抗体組成物を用いて、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体の抗原結合ドメインを入れ替え

た際にＡＤＣＣ活性に与える影響を検証した。評価抗体を表２５に示す。

[0512] [表25]

精製抗体名称 (CD16a結合増強アミノ酸改変)	抗体のCHの構造	塩基配列 配列番号	アミノ酸配列 配列番号
抗CD4抗体の半量体E (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_S298E_K409R CH	293	294
抗CCR4抗体の半量体E (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_P329Y_K409R CH	251	252
抗CD4抗体の半量体F (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_P329Y_K409R CH	251	252
抗CCR4抗体の半量体F (S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_S298E_K409R CH	293	294
抗CD4抗体の半量体G (S239D/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/E333A/L242C/K334C_S298E_K409R CH	297	298
抗CCR4抗体の半量体G (S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_P329Y_K409R CH	291	292
抗CD4抗体の半量体H (S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_P329Y_K409R CH	291	292
抗CCR4抗体の半量体H (S239D/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/E333A/L242C/K334C_S298E_K409R CH	297	298

[0513] 上記抗ＣＤ４抗体の半量体及び抗ＣＣＲ４抗体の半量体、並びに陽性対照である抗ＣＤ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＣＲ４　ＩｇＧ１抗体は[実施例５]及び[実施例６]と同様に調製した。抗ＣＤ４抗体のＶＨ及びＶＬは表１１に、抗ＣＣＲ４抗体のＶＨ及びＶＬは表１４に示すものを用いた。

[0514] それぞれ抗ＣＤ４抗体と抗ＣＣＲ４抗体の半量体Ｅ～Ｆを濃度０．１μｇ／ｍＬとなるように等量で混合し、抗体溶液を調製した。それぞれの抗体溶液をＣＤ４／ＣＣＲ４両陽性細胞（ＨＨ）、ＣＣＲ４単陽性細胞（Ｌ４２８）、ＣＤ４単陽性細胞（ＴＡＬＬ１）に対してＡＤＣＣ活性を測定した結果を図２１に示す。

[0515] 図２１に示される通り、半量体Ａ～Ｄを混合したいずれの抗体組成物も、ＣＤ４／ＣＣＲ４両陽性細胞に対する特異的なＡＤＣＣ活性を発揮することが確認された。すなわち、第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体の抗原結合ドメインを入れ替えた際にも、特異的なＡＤＣＣ活性を発揮することが示された。

[0516] [実施例１１]

本発明の抗体組成物が、別の抗原の組合せ（ＣＣＲ４およびＣＤ７０）に

おいても、両陽性細胞に対してのみ特異的にＡＤＣＣ活性を発揮するかどうかの検証を行った。評価抗体を表２６に示す。

[0517] [表26]

抗体組成物名	精製抗体(CD16a結合増強アミノ酸改変)	抗体のCHの構造	塩基配列配列番号	アミノ酸配列配列番号
E	抗CCR4抗体の半量体(S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_D265A_K409R CH	247	248
	抗CD70抗体の半量体(S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_P329Y_K409R CH	251	252
F	抗CCR4抗体の半量体(S239D/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_D265A_K409R CH	271	272
	抗CD70抗体の半量体(S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_P329Y_K409R CH	291	292
G	抗CCR4抗体の半量体(S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_S298E_K409R CH	293	294
	抗CD70抗体の半量体(S239D/K326T)	IgG1_AA_S239D/K326T_P329Y_K409R CH	251	252
H	抗CCR4抗体の半量体(S239D/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/E333A/L242C/K334C_S298E_K409R CH	297	298
	抗CD70抗体の半量体(S239D/S298A/E333A/L242C/K334C)	IgG1_AA_S239D/S298A/E333A/L242C/K334C_P329Y_K409R CH	291	292

[0518] 上記抗ＣＣＲ４抗体の半量体及び抗ＣＤ７０抗体の半量体は、並びに陽性対照である抗ＣＣＲ４　ＩｇＧ１抗体及び抗ＣＤ７０　ＩｇＧ１抗体は[実施例５]及び[実施例６]と同様に調製した。抗ＣＣＲ４抗体のＶＨ及びＶＬの塩基配列及びアミノ酸配列は表１４に、抗ＣＤ７０抗体のＶＨ及びＶＬの塩基配列及びアミノ酸配列は表１１に示すものを用いた。

[0519] それぞれ抗ＣＣＲ４抗体と抗ＣＤ７０抗体の半量体Ａ～Ｄを濃度０．１μｇ／ｍＬとなるように等量で混合し、抗体溶液を調製した。それぞれの抗体溶液をＣＣＲ４／ＣＤ７０両陽性細胞（Ｌ４２８）、ＣＣＲ４単陽性細胞（ＰＥＥＲ）、ＣＤ７０単陽性細胞（ＳＵＰ－Ｍ２）に対してＡＤＣＣ活性を測定した結果を図２２に示す。

[0520] 図２２に示される通り、半量体Ａ～Ｄを混合したいずれの抗体組成物も、ＣＣＲ４／ＣＤ７０両陽性細胞に対する特異的なＡＤＣＣ活性を発揮することが確認された。

[0521] ［実施例１２］ＣＤ１６ａ結合解析

本発明である第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体の抗体組成物であ

る時にのみ、ＣＤ１６ａに結合することを検証した。

評価抗体として、以下を用いた。

・［実施例７］に記載の抗ＤＮＰ抗体の半量体３（２６５Ａ）

・［実施例７］に記載の抗ＤＮＰ抗体の半量体６（３２９Ｙ）

・［実施例７］に記載の抗ＤＮＰ抗体の半量体３および６を混合した抗体組成物（２６５Ａ＋３２９Ｙ）

・［実施例７］に記載の抗ＤＮＰ抗体（陽性対照）

測定には、ＢＩＡｃｏｒｅ（ＢＩＡＣＯＲＥ社製）を用い、測定方法はJ. Immunol. Methods, 200, 121 (1997)の記載に準ずる以下の方法にて行った。

[0522] ＢＩＡｃｏｒｅ Ｔ１００（ＢＩＡＣＯＲＥ社製）を用いて、各評価抗体とＣＤ１６ａとの相互作用解析を行った。ランニングバッファーにはＨＢＳ－ＥＰ＋１０Ｘ （ＧＥヘルスケア）を１０分の１に希釈して用い、測定温度は２５℃とした。Ｓｅｒｉｅｓ Ｓ Ｓｅｎｓｏｒ Ｃｈｉｐ ＣＭ５（ＧＥヘルスケア）に、Ｈｕｍａｎ Ｆａｂ Ｃａｐｔｕｒｅ Ｋｉｔ（ＧＥヘルスケア）で固定化したチップを用いた。

[0523] このセンサーチップに目的の評価抗体をキャプチャーし、ランニングバッファーで希釈したＣＤ１６ａを相互作用させて測定をおこなった。また、Ｈｕｍａｎ Ｆａｂ Ｃａｐｔｕｒｅ Ｋｉｔ（ＧＥヘルスケア）付属のバッファーを反応させることで、センサーチップにキャプチャーした評価抗体を洗浄し、センサーチップを再生して繰り返し用いた。図２３に測定結果を示す。

[0524] 図２３に示すように、抗ＤＮＰ抗体の半量体３（２６５Ａ）単独および抗ＤＮＰ抗体の半量体６（３２９Ｙ）単独の時にはＣＤ１６ａへの結合活性は確認されず、抗ＤＮＰ抗体の半量体３（２６５Ａ）と抗ＤＮＰ抗体の半量体６（３２９Ｙ）の抗体組成物の時のみ、ＣＤ１６ａへの結合活性が確認された。

[0525] 本発明を特定の態様を用いて詳細に説明したが、本発明の意図と範囲を離れることなく様々な変更および変形が可能であることは、当業者にとって明

らかである。なお、本出願は、２０２０年４月１日付けで出願された日本特許出願（特願２０２０－０６６３１３）および２０２０年１０月２９日付けで出願された日本特許出願（特願２０２０－１８１４９３）に基づいており、その全体が引用により援用される。

配列表フリーテキスト

[0526] 配列番号１：ヒトＣＣＲ６（ＫＧ１６８４）ＶＬの塩基配列

配列番号２：ヒトＣＣＲ６（ＫＧ１６８４）ＶＬのアミノ酸配列

配列番号３：ヒトＣＣＲ６（ＫＧ１６８４）ＶＨの塩基配列

配列番号４：ヒトＣＣＲ６（ＫＧ１６８４）ＶＨのアミノ酸配列

配列番号５：ヒトＩｇＧ１　ＣＫの塩基配列

配列番号６：ヒトＩｇＧ１　ＣＫのアミノ酸配列

配列番号７：ヒトＩｇＧ１　ＣＨの塩基配列

配列番号８：ヒトＩｇＧ１　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号９：ヒトＩｇＧ１＿Ｐ２３８Ａ　ＣＨの塩基配列

配列番号１０：ヒトＩｇＧ１＿Ｐ２３８Ａ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号１１：ヒトＩｇＧ１＿Ｄ２６５Ａ　ＣＨの塩基配列

配列番号１２：ヒトＩｇＧ１＿Ｄ２６５Ａ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号１３：ヒトＩｇＧ１＿Ｓ２６７Ｌ　ＣＨの塩基配列

配列番号１４：ヒトＩｇＧ１＿Ｓ２６７Ｌ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号１５：ヒトＩｇＧ１＿Ｐ２３８Ａ／Ｄ２６５Ａ　ＣＨの塩基配列

配列番号１６：ヒトＩｇＧ１＿Ｐ２３８Ａ／Ｄ２６５Ａ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号１７：ヒトＩｇＧ１＿Ｐ２３８Ａ／Ｓ２６７Ｌ　ＣＨの塩基配列

配列番号１８：ヒトＩｇＧ１＿Ｐ２３８Ａ／Ｓ２６７Ｌ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号１９：ヒトＩｇＧ１＿Ｄ２６５Ａ／Ｓ２６７Ｌ　ＣＨの塩基配列

配列番号２０：ヒトＩｇＧ１＿Ｄ２６５Ａ／Ｓ２６７Ｌ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号２１：ヒトＩｇＧ１＿Ｐ２３８Ａ／Ｄ２６５Ａ／Ｓ２６７Ｌ　ＣＨの塩基配列

配列番号２２：ヒトＩｇＧ１＿Ｐ２３８Ａ／Ｄ２６５Ａ／Ｓ２６７Ｌ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号２３：ヒトＩｇＧ１＿Ｋ３２６Ｗ　ＣＨの塩基配列

配列番号２４：ヒトＩｇＧ１＿Ｋ３２６Ｗ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号２５：ヒトＩｇＧ１＿Ｌ３２８Ｖ　ＣＨの塩基配列

配列番号２６：ヒトＩｇＧ１＿Ｌ３２８Ｖ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号２７：ヒトＩｇＧ１＿Ｐ３２９Ｙ　ＣＨの塩基配列

配列番号２８：ヒトＩｇＧ１＿Ｐ３２９Ｙ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号２９：ヒトＩｇＧ１＿Ｋ３２６Ｗ／Ｌ３２８Ｖ　ＣＨの塩基配列

配列番号３０：ヒトＩｇＧ１＿Ｋ３２６Ｗ／Ｌ３２８Ｖ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号３１：ヒトＩｇＧ１＿Ｋ３２６Ｗ／Ｐ３２９Ｙ　ＣＨの塩基配列

配列番号３２：ヒトＩｇＧ１＿Ｋ３２６Ｗ／Ｐ３２９Ｙ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号３３：ヒトＩｇＧ１＿Ｌ３２８Ｖ／Ｐ３２９Ｙ　ＣＨの塩基配列

配列番号３４：ヒトＩｇＧ１＿Ｌ３２８Ｖ／Ｐ３２９Ｙ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号３５：ヒトＩｇＧ１＿Ｋ３２６Ｗ／Ｌ３２８Ｖ／Ｐ３２９Ｙ　ＣＨの塩基配列

配列番号３６：ヒトＩｇＧ１＿Ｋ３２６Ｗ／Ｌ３２８Ｖ／Ｐ３２９Ｙ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号３７：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｄ２６５Ａ　ＣＨの塩基配列

配列番号３８：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｄ２６５Ａ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号３９：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｐ３２９Ｙ　ＣＨの塩

基配列

配列番号４０：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｐ３２９Ｙ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号４１：ヒトＣＤ４（ｉｂａｌｉｚｕｍａｂ）ＶＬの塩基配列

配列番号４２：ヒトＣＤ４（ｉｂａｌｉｚｕｍａｂ）ＶＬのアミノ酸配列

配列番号４３：ヒトＣＤ４（ｉｂａｌｉｚｕｍａｂ）ＶＨの塩基配列

配列番号４４：ヒトＣＤ４（ｉｂａｌｉｚｕｍａｂ）ＶＨのアミノ酸配列

配列番号４５：ヒトＣＤ７０（２Ｈ５）ＶＬの塩基配列

配列番号４６：ヒトＣＤ７０（２Ｈ５）ＶＬのアミノ酸配列

配列番号４７：ヒトＣＤ７０（２Ｈ５）ＶＨの塩基配列

配列番号４８：ヒトＣＤ７０（２Ｈ５）ＶＨのアミノ酸配列

配列番号４９：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｓ２３９Ｒ　ＣＨの塩基配列

配列番号５０：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｓ２３９Ｒ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号５１：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｄ２６５Ｎ　ＣＨの塩基配列

配列番号５２：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｄ２６５Ｎ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号５３：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｄ２６５Ｅ　ＣＨの塩基配列

配列番号５４：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｄ２６５Ｅ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号５５：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｓ２６７Ｋ　ＣＨの塩基配列

配列番号５６：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｓ２６７Ｋ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号５７：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｅ２６９Ｐ　ＣＨの塩

基配列

配列番号５８：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｅ２６９Ｐ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号５９：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｙ２９６Ｐ　ＣＨの塩基配列

配列番号６０：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｙ２９６Ｐ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号６１：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｓ２９８Ｅ　ＣＨの塩基配列

配列番号６２：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｓ２９８Ｅ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号６３：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｔ２９９Ａ　ＣＨの塩基配列

配列番号６４：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｔ２９９Ａ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号６５：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｌ２３５Ｒ　ＣＨの塩基配列

配列番号６６：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｌ２３５Ｒ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号６７：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ａ３２７Ｉ　ＣＨの塩基配列

配列番号６８：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ａ３２７Ｉ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号６９：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｋ３２６Ｇ　ＣＨの塩基配列

配列番号７０：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｋ３２６Ｇ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号７１：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｌ３２８Ｒ　ＣＨの塩

基配列

配列番号７２：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｌ３２８Ｒ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号７３：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｐ３２９Ｋ　ＣＨの塩基配列

配列番号７４：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｐ３２９Ｋ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号７５：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｐ３２９Ｗ　ＣＨの塩基配列

配列番号７６：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ｐ３２９Ｗ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号７７：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ａ３３０Ｐ　ＣＨの塩基配列

配列番号７８：ヒトＩｇＧ１１１４＿ＡＡ＿ＡＡＡ＿Ａ３３０Ｐ　ＣＨのアミノ酸配列

配列番号７９～８２：実施例５において用いた抗ＣＣＲ４抗体の塩基配列又はアミノ酸配列

配列番号８３～２０４：実施例５において用いた、ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変を導入した、抗ＣＣＲ４抗体の塩基配列又はアミノ酸配列

配列番号２０５～２２２：実施例６において用いた、ＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン同士の相互作用を減弱させるアミノ酸改変を導入した、抗ＣＤ４抗体の半量体の塩基配列又はアミノ酸配列

配列番号２２３～２４０：実施例６において用いた、ＩｇＧ１のＣＨ３ドメイン同士の相互作用を減弱させるアミノ酸改変を導入した、抗ＣＤ７０抗体の半量体の塩基配列又はアミノ酸配列

配列番号２４１～２５２：実施例７、実施例９、実施例１０、実施例１１、実施例１２において用いた、抗ＤＮＰ抗体のＶＨ及びＶＬ、並びに抗ＤＮＰ抗体の半量体１～６の塩基配列及びアミノ酸配列

配列番号２５３～２９２：実施例８、実施例９－２、実施例１１において用いた、ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変を導入した、抗ＣＤ４抗体の半量体又は抗ＣＤ７０抗体の半量体の塩基配列又はアミノ酸配列

配列番号２９３～２９８：実施例９－２、実施例１０－２、実施例１１において用いた、ＣＤ１６ａ結合増強アミノ酸改変を導入した、抗ＣＤ４抗体の半量体又は抗ＣＣＲ４抗体の半量体の半量体の塩基配列又はアミノ酸配列

請求の範囲

[請求項1] 第１のＩｇＧ半量体と第２のＩｇＧ半量体とからなる、互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物であって、以下の（１Ａ）～（６Ａ）である抗体組成物。

（１Ａ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、１つのイムノグロブリン軽鎖（以下、Ｌ鎖と略記する）及び１つのイムノグロブリン重鎖（以下、Ｈ鎖と略記する）からなり、前記Ｈ鎖は、Ｈ鎖可変領域、ヒンジドメイン、ＣＨ１ドメイン、ＣＨ２ドメイン及びＣＨ３ドメインを含み、前記ＣＨ２ドメインにおいて互いに異なる第１のＦｃγ受容体ＩＩＩＡ（以下、ＣＤ１６ａ）結合領域及び第２のＣＤ１６ａ結合領域を有する。

（２Ａ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（３Ａ）前記第１のＩｇＧ半量体は、前記第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ａ）前記第２のＩｇＧ半量体は、前記第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ａ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含むか、または、

前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ｂ）Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ａ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体のうち少なくとも一方は、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用

よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、前記ＣＨ３ドメインにおけるアミノ酸残基置換を含む。

[請求項2] 前記第１の抗原のみを発現する標的細胞と前記第２の抗原のみを発現する標的細胞に対するエフェクター機能と比較して、前記第１の抗原及び前記第２の抗原を共発現する標的細胞に対して特異的にエフェクター機能を発揮して傷害する、請求項１に記載の抗体組成物。

[請求項3] 前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、ＥＵインデックスで表される、Ｙ３４９Ａ、Ｌ３５１Ａ、Ｔ３６６Ａ、Ｌ３６８Ａ、Ｄ３９９Ａ、Ｆ４０５Ａ、Ｙ４０７Ａ、Ｋ４０９ＡおよびＫ４０９Ｒから選ばれる少なくとも１つのアミノ酸残基置換を含む、請求項１または２に記載の抗体組成物。

[請求項4] 前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間の相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、ＥＵインデックスで表されるＫ４０９Ｒのアミノ酸残基置換を含む、請求項３に記載の抗体組成物。

[請求項5] 前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、前記（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含む、請求項１～４のいずれか１項に記載の抗体組成物。

[請求項6] 前記第１のＩｇＧ半量体のＨ鎖定常領域（以下、ＣＨと略記する。）が配列番号２４８で示されるアミノ酸配列を含み、

前記第２のＩｇＧ半量体のＣＨが配列番号２５２で示されるアミノ酸配列を含む、請求項１～５のいずれか１項に記載の抗体組成物。

[請求項7] 前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体における、Ｆｃ領域に結合する全Ｎ－グリコシド結合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のＮ－アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合

が２０％以上である、請求項１～６のいずれか１項に記載の抗体組成物。

[請求項8] 前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体のイムノグロブリンサブクラスがＩｇＧ１である、請求項１～７のいずれか１項に記載の抗体組成物。

[請求項9] 第２のＩｇＧ半量体と会合することを特徴とする第１のＩｇＧ半量体であって、前記第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体が以下の（１Ｂ）～（７Ｂ）である、第１のＩｇＧ半量体。

（１Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物を形成する。

（２Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、１つのＬ鎖と及び１つのＨ鎖からなり、前記Ｈ鎖は、Ｈ鎖可変領域、ヒンジドメイン、ＣＨ１ドメイン、ＣＨ２ドメイン及びＣＨ３ドメインを含み、前記ＣＨ２ドメインにおいて互いに異なる第１のＣＤ１６ａ結合領域及び第２のＣＤ１６ａ結合領域を有する。

（３Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体は、前記第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ｂ）前記第２のＩｇＧ半量体は、前記第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含むか、または、

前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ

、ＥＵインデックスで表される（ｂ）Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（７Ｂ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体のうち少なくとも一方は、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、前記ＣＨ３ドメインにおけるアミノ酸残基置換を含む。

[請求項10] 第１のＩｇＧ半量体と会合することを特徴とする第２のＩｇＧ半量体であって、前記第１のＩｇＧ半量体及び第２のＩｇＧ半量体が以下の（１Ｃ）～（７Ｃ）である、第２のＩｇＧ半量体。

（１Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は互いに異なる第１の抗原及び第２の抗原に対する抗体組成物を形成する。

（２Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、１つのＬ鎖と及び１つのＨ鎖からなり、前記Ｈ鎖は、Ｈ鎖可変領域、ヒンジドメイン、ＣＨ１ドメイン、ＣＨ２ドメイン及びＣＨ３ドメインを含み、前記ＣＨ２ドメインにおいて互いに異なる第１のＣＤ１６ａ結合領域及び第２のＣＤ１６ａ結合領域を有する。

（３Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表されるＣ２２６Ａ及びＣ２２９Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（４Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体は、前記第１の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第１のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＤ２６５Ａのアミノ酸残基置換を含む。

（５Ｃ）前記第２のＩｇＧ半量体は、前記第２の抗原に結合する抗原結合ドメインを含み、且つ前記第２のＣＤ１６ａ結合領域においてＥＵインデックスで表されるＰ３２９Ｙのアミノ酸残基置換を含む。

（６Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ａ）Ｓ２３９Ｄ及びＫ３２６Ｔのアミノ酸残基置換を含むか、または、

前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体は、それぞれ、ＥＵインデックスで表される（ｂ）Ｓ２３９Ｄ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｌ２４２Ｃ及びＫ３３４Ｃのアミノ酸残基置換を含む。

（７Ｃ）前記第１のＩｇＧ半量体及び前記第２のＩｇＧ半量体のうち少なくとも一方は、ＩｇＧ１サブクラスのＣＨ３ドメイン間相互作用よりもＣＨ３ドメイン間相互作用を減弱させる改変として、前記ＣＨ３ドメインにおけるアミノ酸残基置換を含む。

[請求項11] 以下のａ）またはｂ）のアミノ酸配列をコードするＤＮＡ。

ａ）請求項９に記載の第１のＩｇＧ半量体のアミノ酸配列

ｂ）請求項１０に記載の第２のＩｇＧ半量体のアミノ酸配列

[請求項12] 請求項１１に記載のａ）のアミノ酸配列をコードするＤＮＡ及びｂ）のアミノ酸配列をコードするＤＮＡの少なくとも一方を含む組換えベクター。

[請求項13] 請求項１２に記載の組換えベクターが導入された形質転換体。

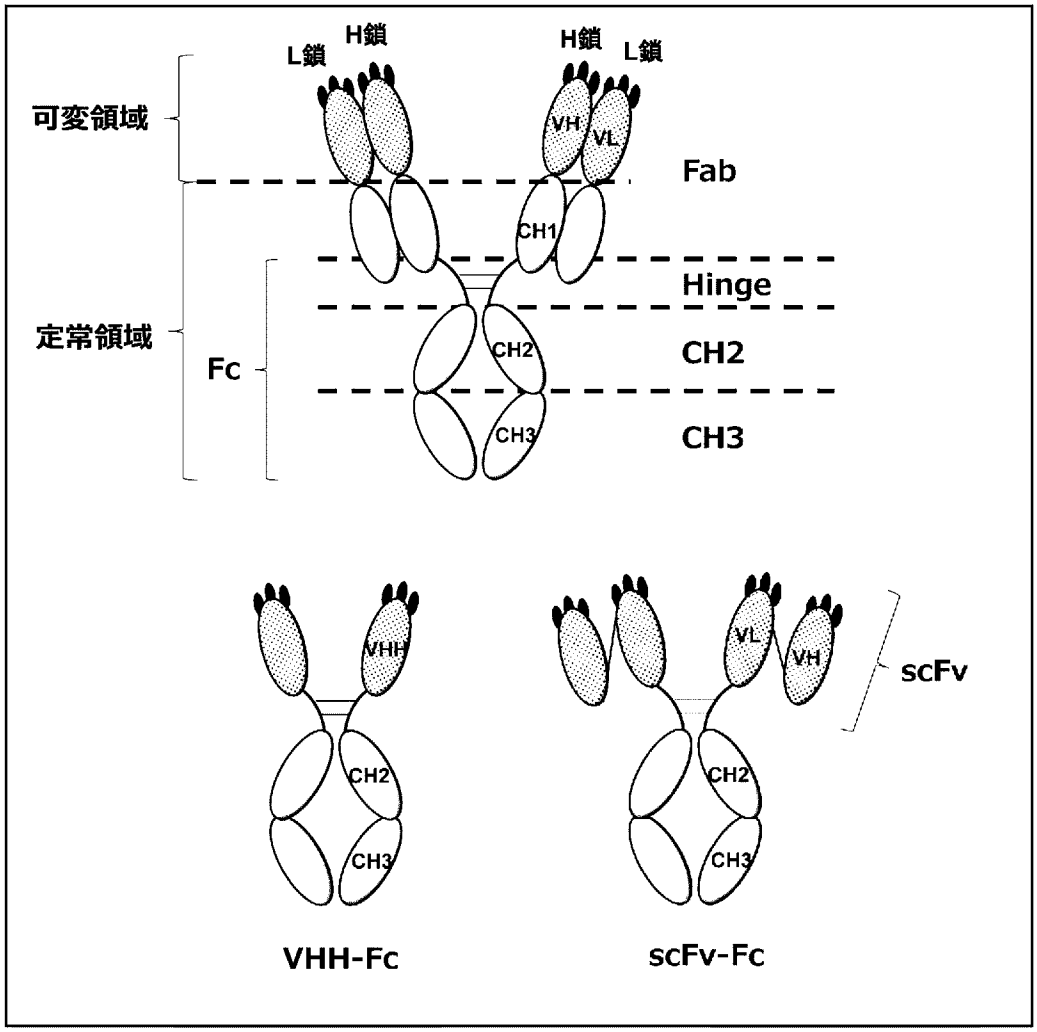
[請求項14] 請求項９に記載の第１のＩｇＧ半量体及び請求項１０に記載の第２のＩｇＧ半量体を含むキット。

[請求項15] 請求項１～８のいずれか１項に記載の抗体組成物を用いる、前記第１の抗原のみを発現する標的細胞と前記第２の抗原のみを発現する標的細胞に対するエフェクター機能と比較し、前記第１の抗原及び前記第２の抗原を共発現する標的細胞に対して特異的にエフェクター機能を誘導する方法。

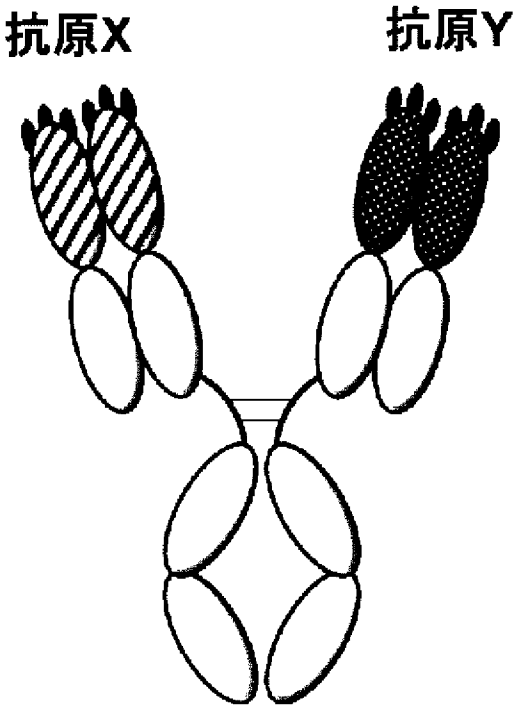
[請求項16] 請求項１～８のいずれか１項に記載の抗体組成物を含む、医薬組成物。

[請求項17] がん、自己免疫疾患又はアレルギー疾患の治療に用いるための、請求項１６に記載の医薬組成物。

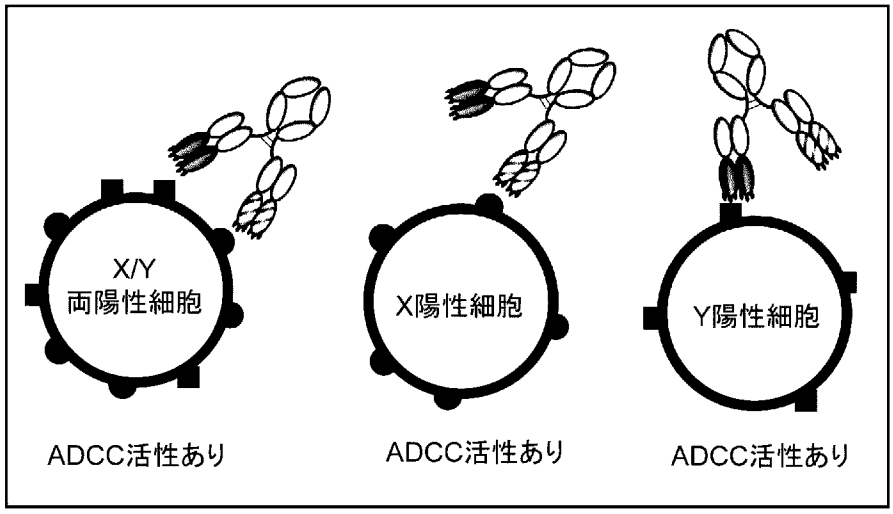
[図1]


H鎖
L鎖
H鎖
L鎖
可変領域
VH
VL
Fab
CH1
Hinge
定常領域
Fc
CH2
CH2
CH3
CH3
VHH
VL
VH
scFv
CH2
CH2
CH3
CH3
VHH-Fc
scFv-Fc

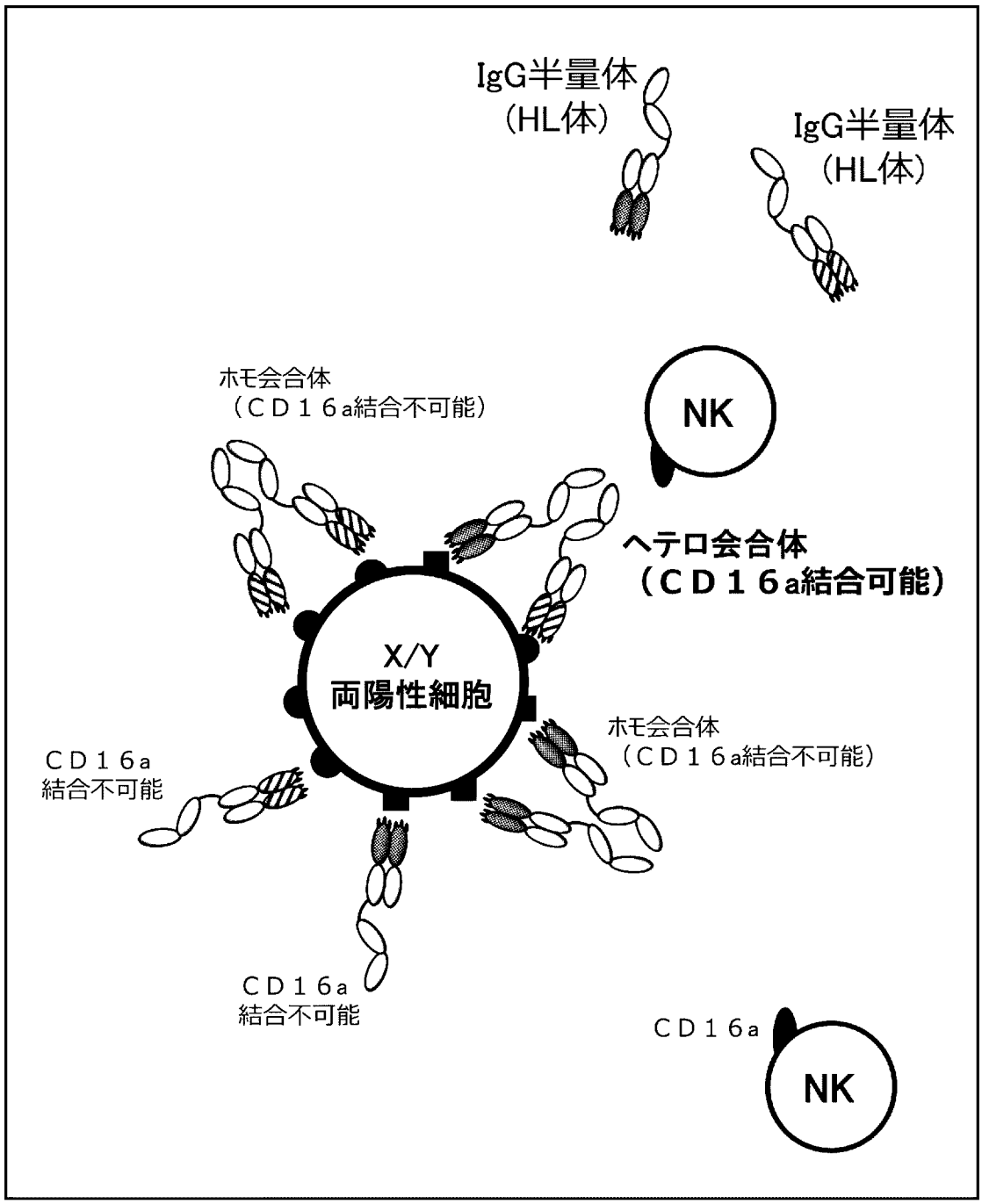
[図2A]



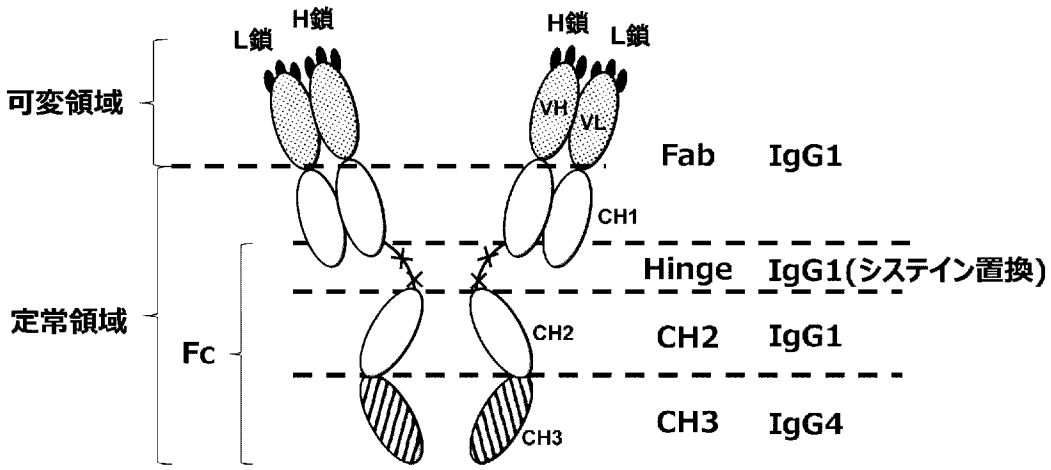
[図2B]



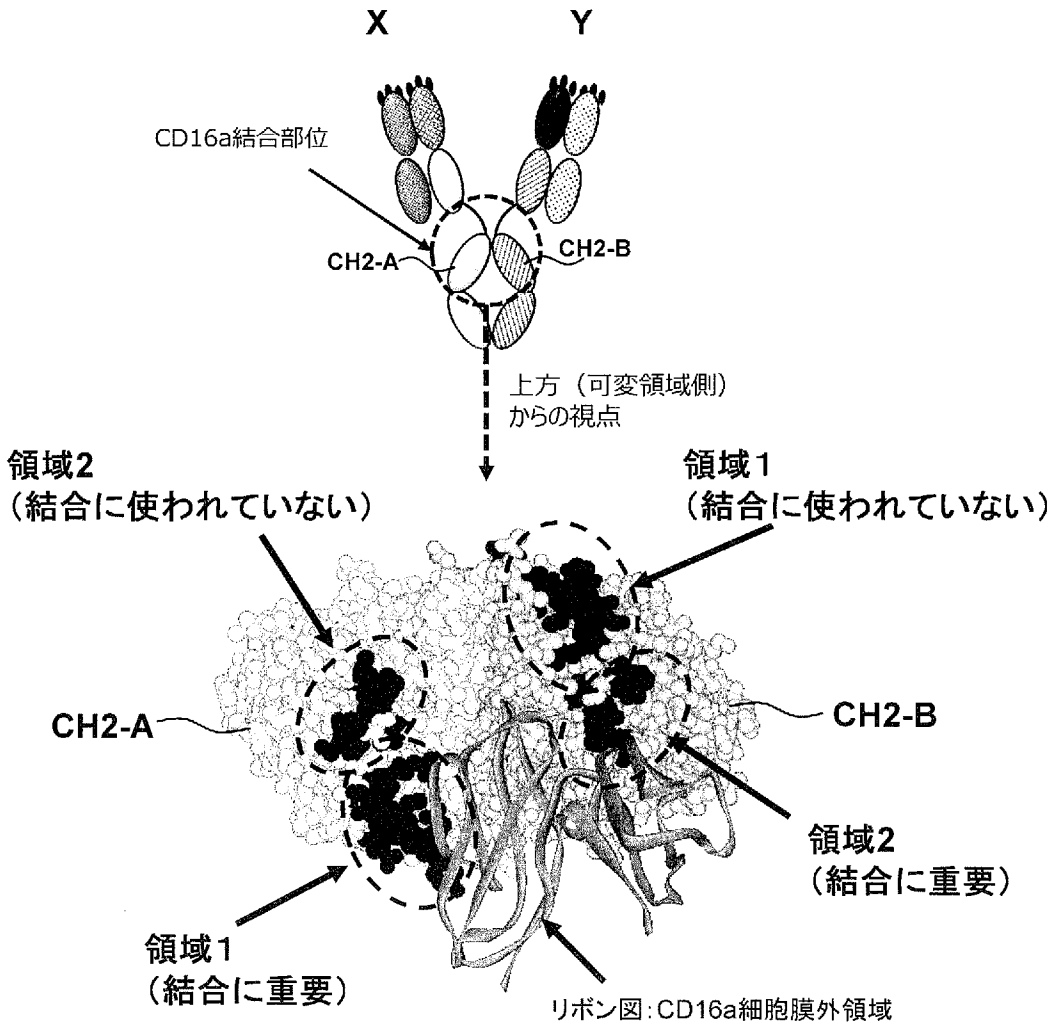
[図3]


IgG半量体
(HL体)
IgG半量体
(HL体)
ホモ会合体
（ＣＤ１６a結合不可能）
NK
ヘテロ会合体
（ＣＤ１６a結合可能）
X/Y
両陽性細胞
ホモ会合体
（ＣＤ１６a結合不可能）
ＣＤ１６a
結合不可能
ＣＤ１６a
結合不可能
ＣＤ１６a
NK

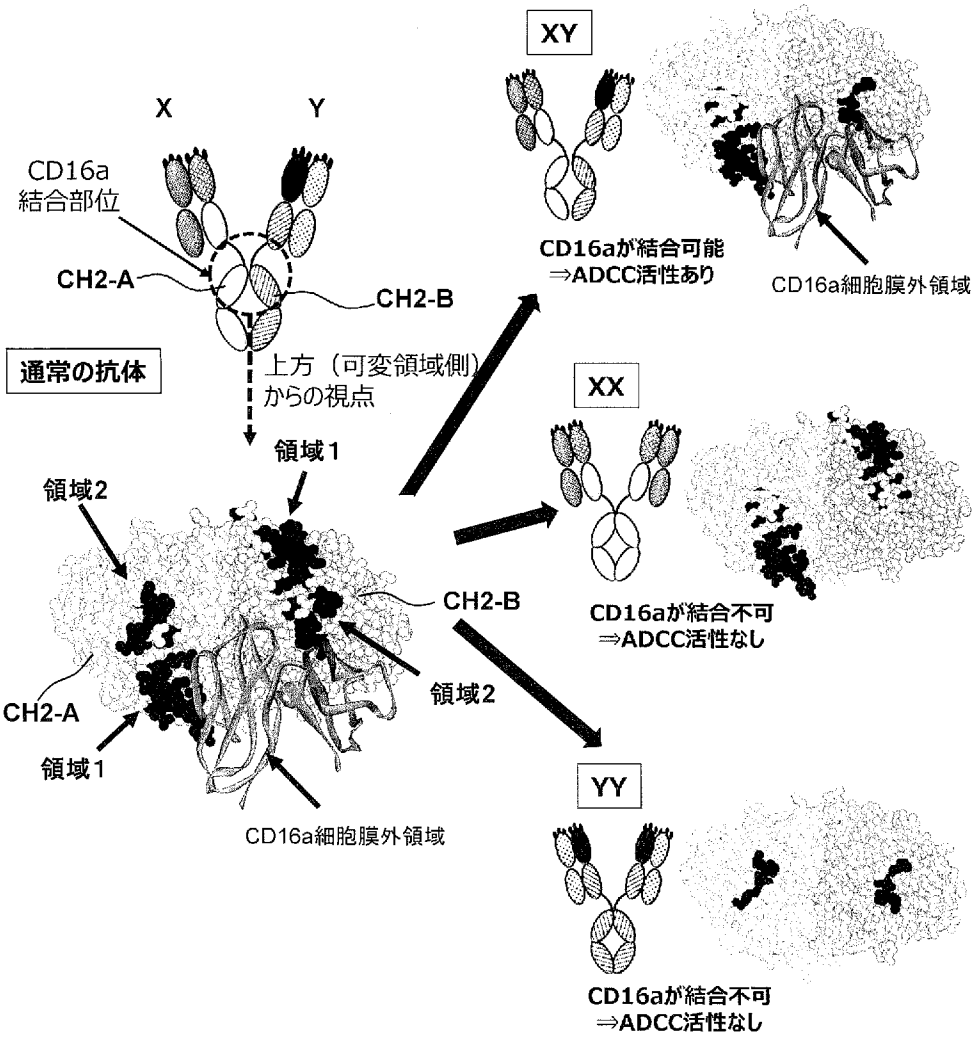
[図4]


H鎖
L鎖
H鎖
L鎖
可変領域
VH
VL
Fab IgG1
CH1
Hinge IgG1(システイン置換)
定常領域
Fc
CH2
CH2 IgG1
CH3
CH3 IgG4

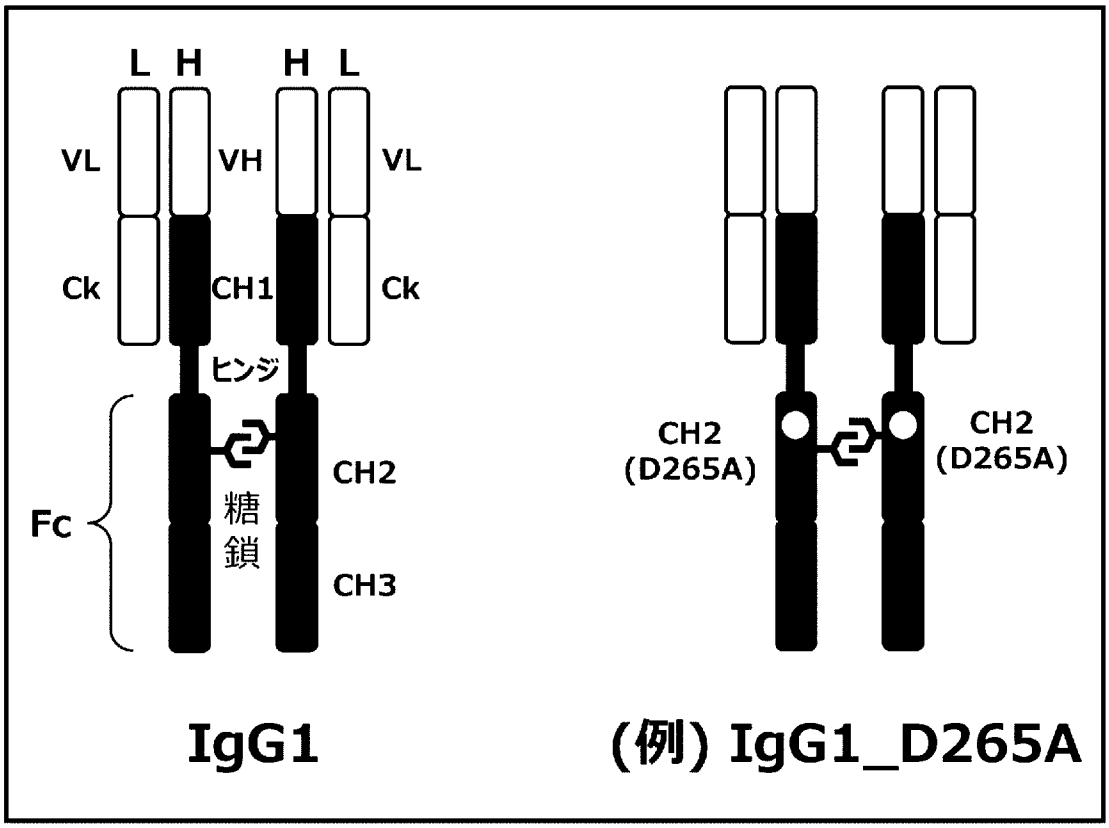
[図5]


X
Y
CD16a結合部位
CH2-A
CH2-B
上方（可変領域側）
からの視点
領域2
（結合に使われていない）
領域1
（結合に使われていない）
CH2-A
CH2-B
領域2
（結合に重要）
領域1
（結合に重要）
リボン図：CD16a細胞膜外領域

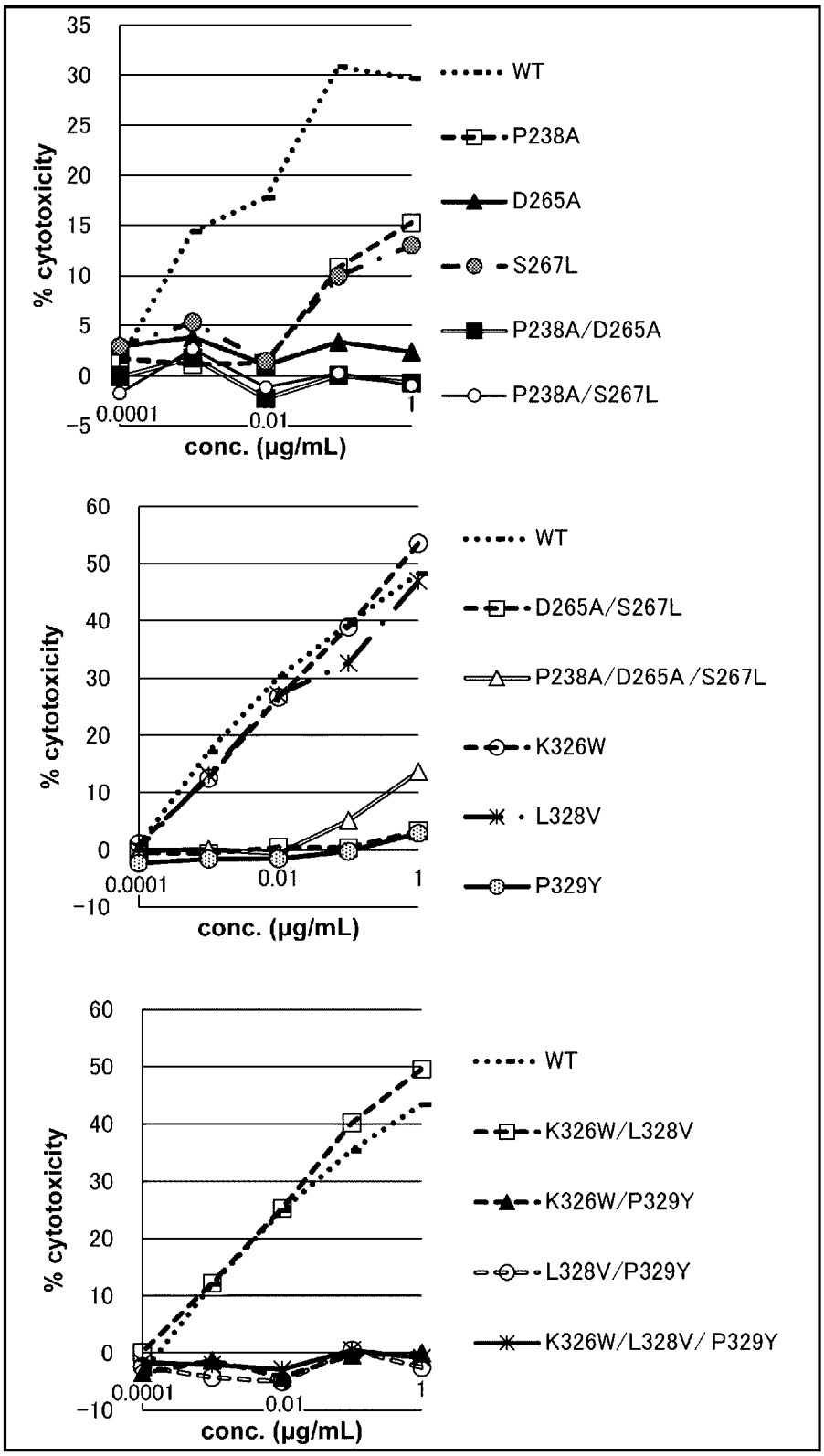
[図6]


X
Y
CD16a
結合部位
CH2-A
CH2-B
通常の抗体
上方（可変領域側）
からの視点
領域1
領域2
CH2-B
CH2-A
領域2
領域1
CD16a細胞膜外領域
XY
CD16aが結合可能
⇒ADCC活性あり
CD16a細胞膜外領域
XX
CD16aが結合不可
⇒ADCC活性なし
YY
CD16aが結合不可
⇒ADCC活性なし

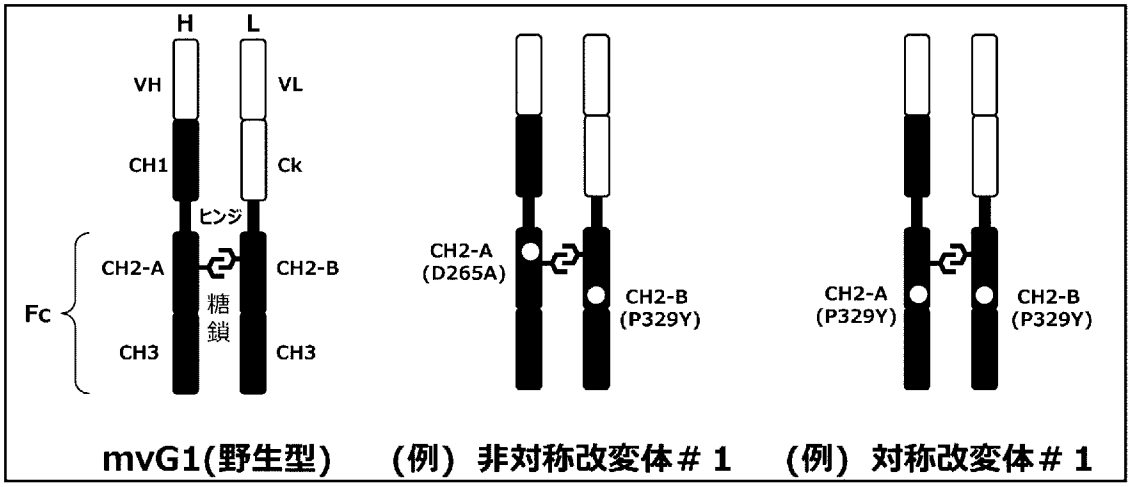
[図7]


L H
H L
VL
VH
VL
Ck
CH1
Ck
ヒンジ
Fc
CH2
糖鎖
CH3
IgG1
CH2 (D265A)
CH2 (D265A)
(例) IgG1_D265A

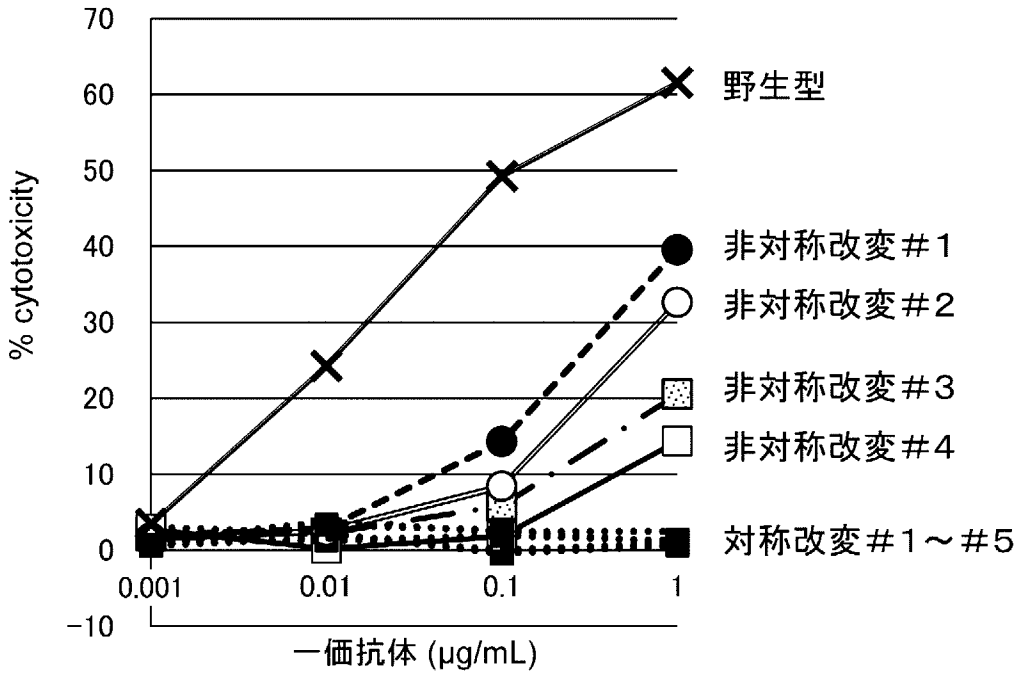
[図8]


% cytotoxicity
conc. (μg/mL)
WT
P238A
D265A
S267L
P238A/D265A
P238A/S267L
WT
D265A/S267L
P238A/D265A /S267L
K326W
L328V
P329Y
WT
K326W/L328V
K326W/P329Y
L328V/P329Y
K326W/L328V/ P329Y

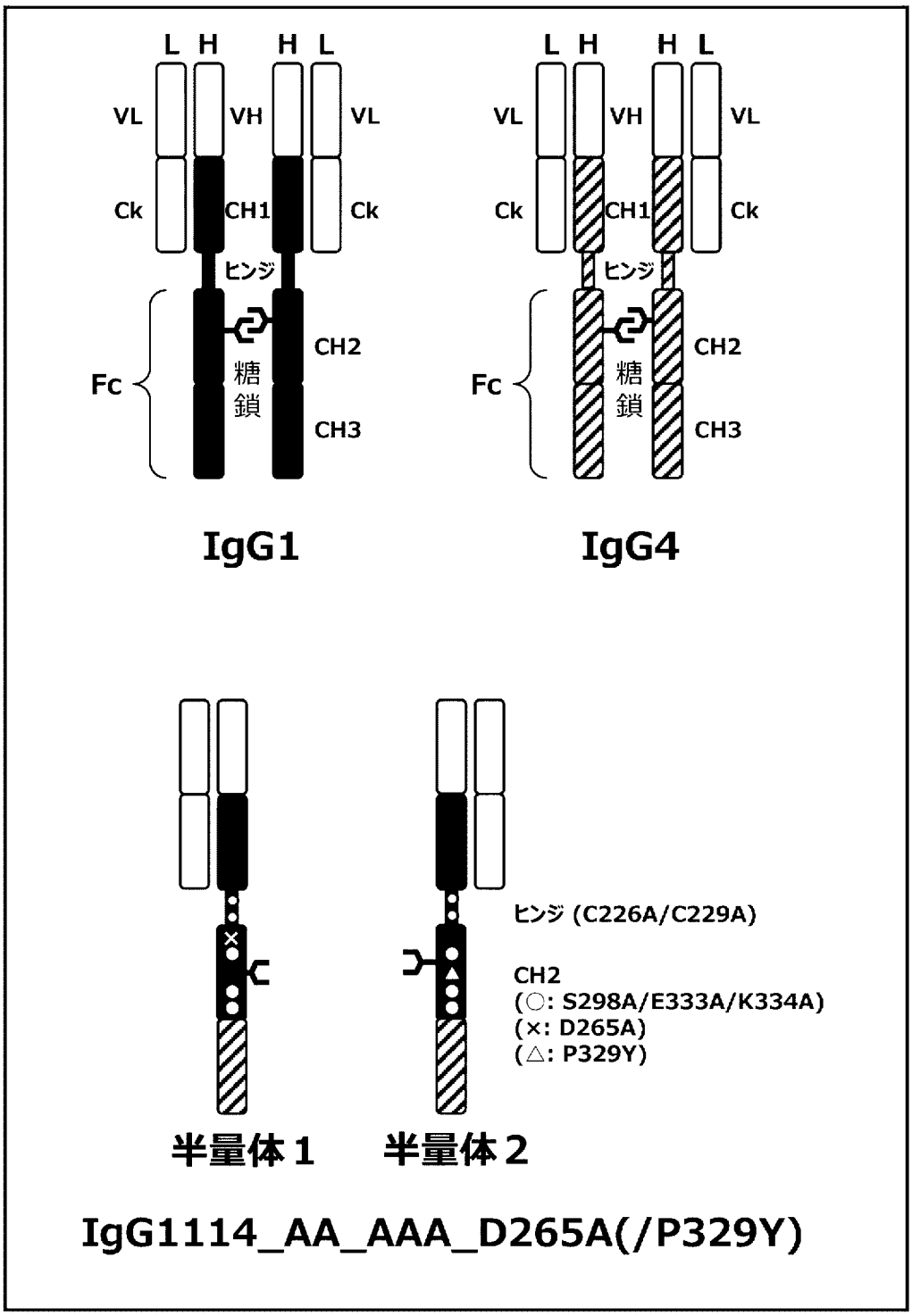
[図9]


H
L
VH
VL
CH1
Ck
ヒンジ
CH2-A
CH2-B
糖鎖
Fc
CH3
CH3
CH2-A (D265A)
CH2-B (P329Y)
CH2-A (P329Y)
CH2-B (P329Y)
mvG1(野生型)
(例) 非対称改変体＃1
(例) 対称改変体＃1

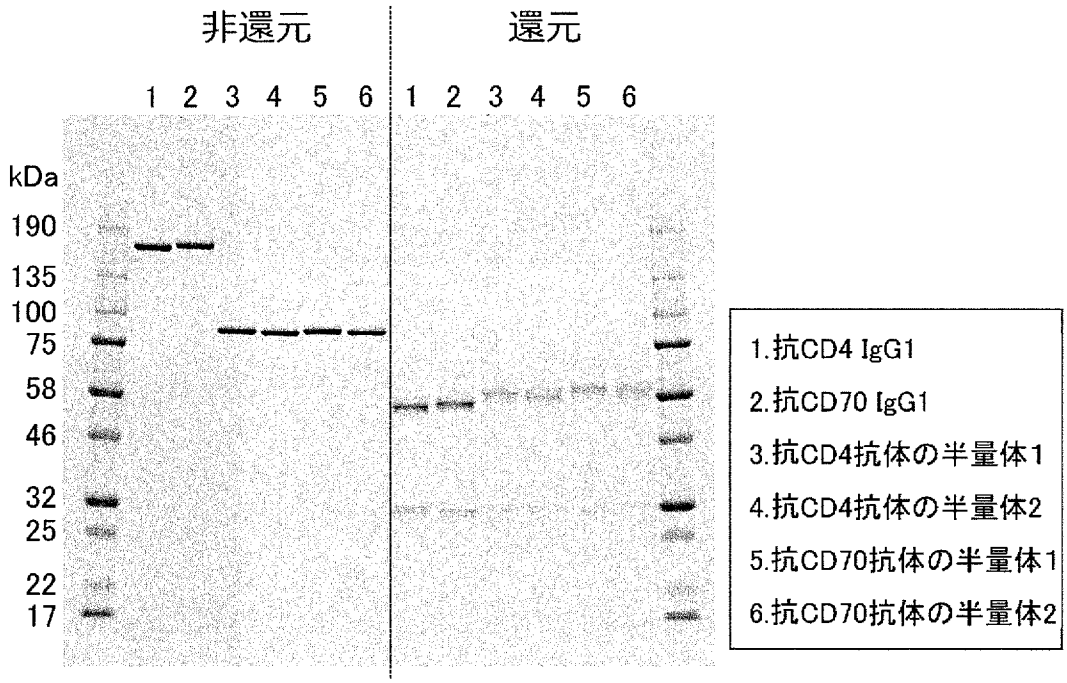
[図10]


70
60
50
40
30
20
10
0
−10
% cytotoxicity
0.001
0.01
0.1
1
一価抗体 (μg/mL)
野生型
非対称改変＃1
非対称改変＃2
非対称改変＃3
非対称改変＃4
対称改変＃1～＃5

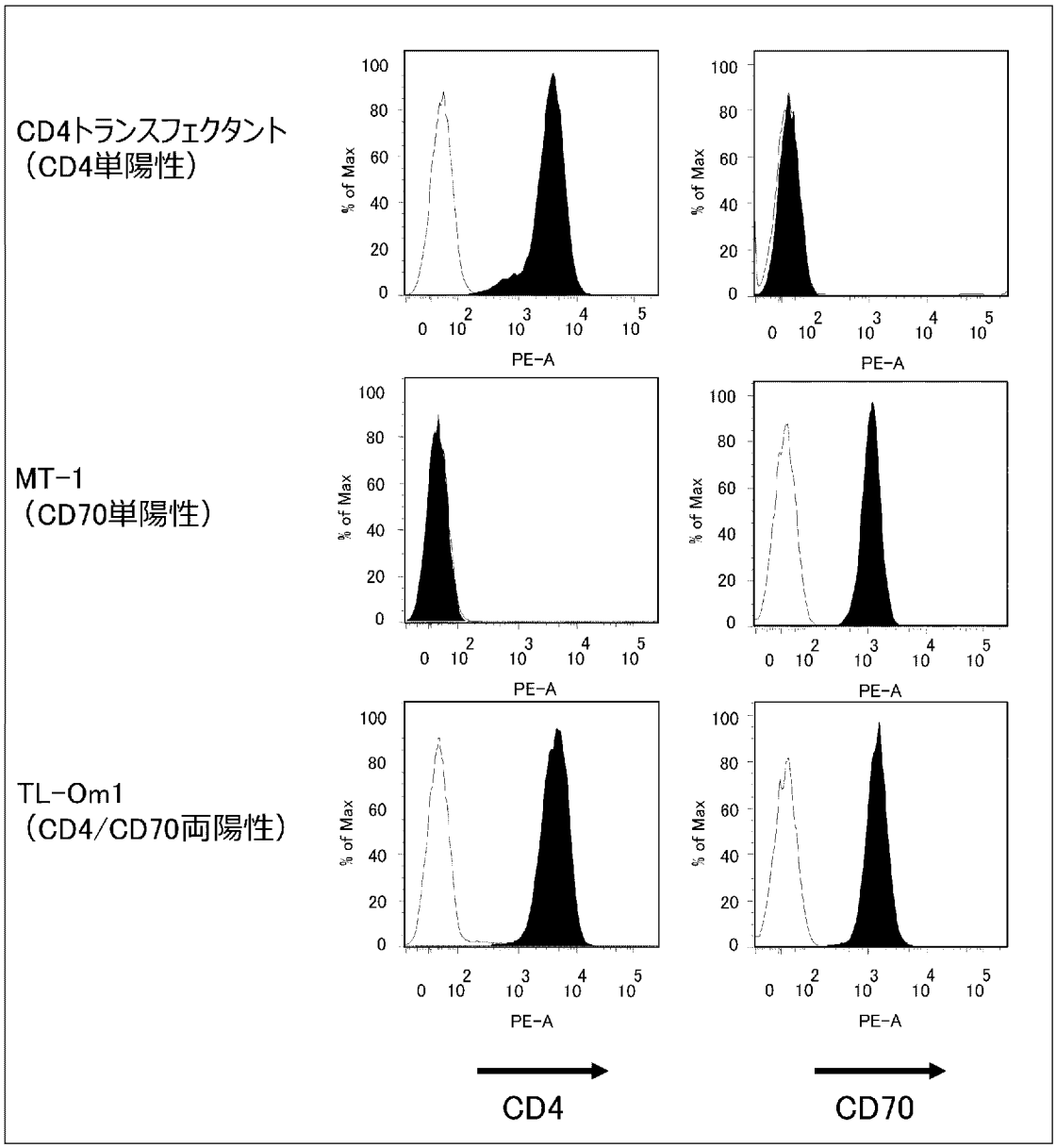
[図11]


L H H L
VL VH VL
Ck CH1 Ck
ヒンジ
Fc
糖鎖
CH2
CH3
IgG1
IgG4
ヒンジ (C226A/C229A)
CH2
(○: S298A/E333A/K334A)
(×: D265A)
(△: P329Y)
半量体１
半量体２
IgG1114_AA_AAA_D265A(/P329Y)

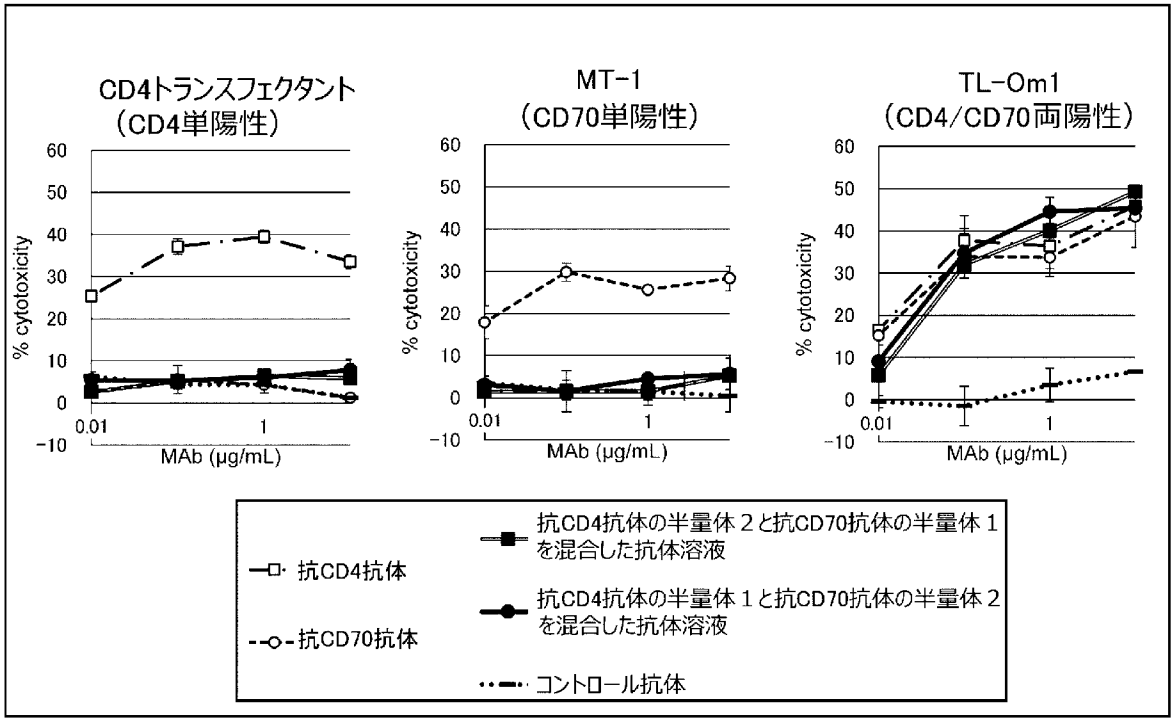
[図12]


非還元
還元
1 2 3 4 5 6 1 2 3 4 5 6
kDa
190
135
100
75
58
46
32
25
22
17
1.抗CD4 IgG1
2.抗CD70 IgG1
3.抗CD4抗体の半量体1
4.抗CD4抗体の半量体2
5.抗CD70抗体の半量体1
6.抗CD70抗体の半量体2

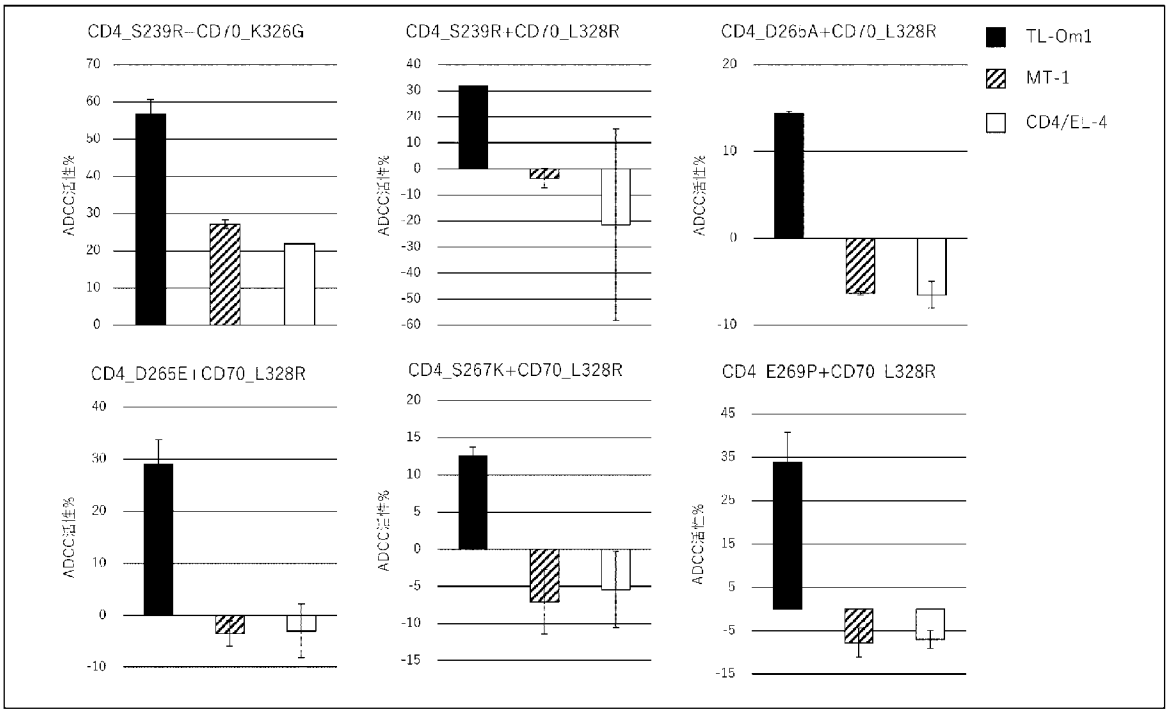
[図13]


CD4トランスフェクタント
（CD4単陽性）
MT-1
（CD70単陽性）
TL-Om1
（CD4/CD70両陽性）
% of Max
PE-A
CD4
CD70

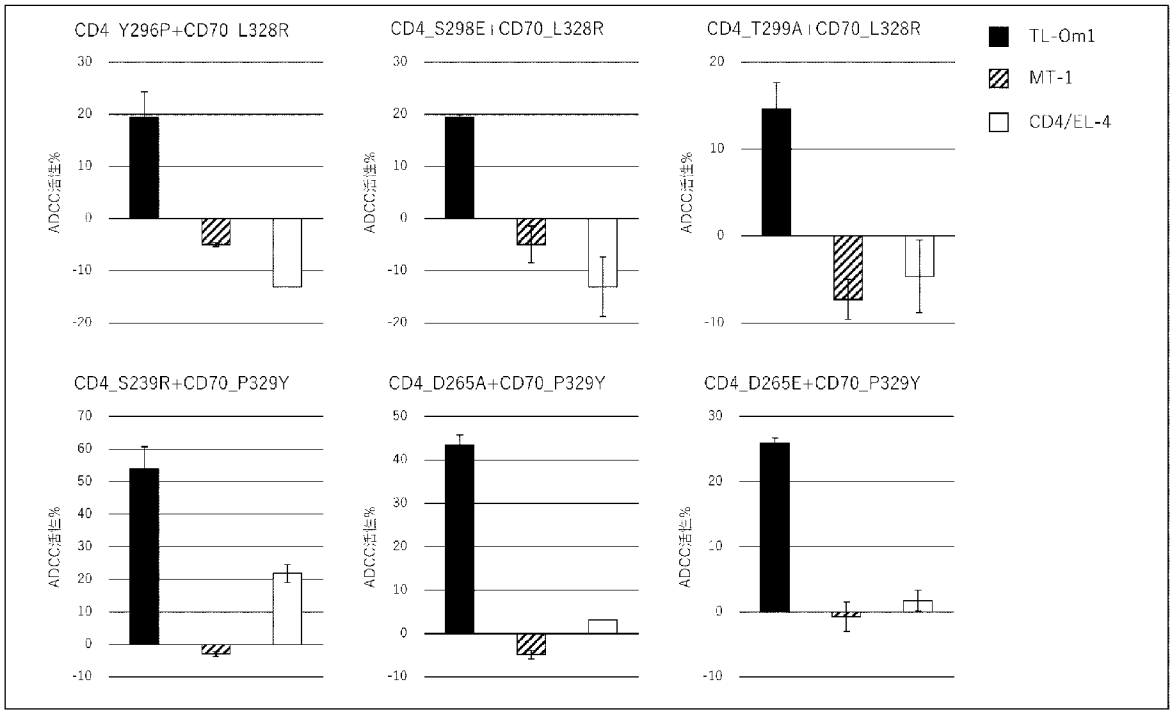
[図14]


CD4トランスフェクタント
（CD4単陽性）
MT-1
（CD70単陽性）
TL-Om1
（CD4/CD70両陽性）
% cytotoxicity
MAb (μg/mL)
抗CD4抗体
抗CD70抗体
抗CD4抗体の半量体２と抗CD70抗体の半量体１を混合した抗体溶液
抗CD4抗体の半量体１と抗CD70抗体の半量体２を混合した抗体溶液
コントロール抗体

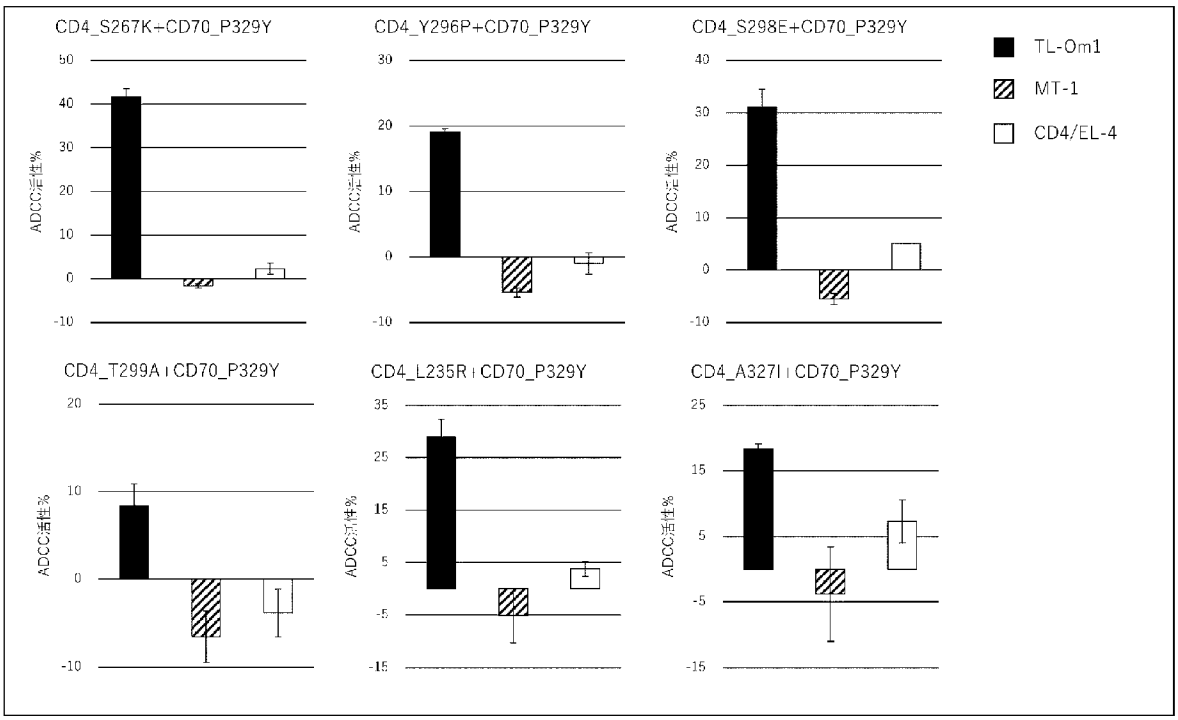
[図15A]


CD4_S239R-CD70_K326G
CD4_S239R+CD70_L328R
CD4_D265A+CD70_L328R
CD4_D265E+CD70_L328R
CD4_S267K+CD70_L328R
CD4 E269P+CD70 L328R
TL-Om1
MT-1
CD4/EL-4
ADCC活性%

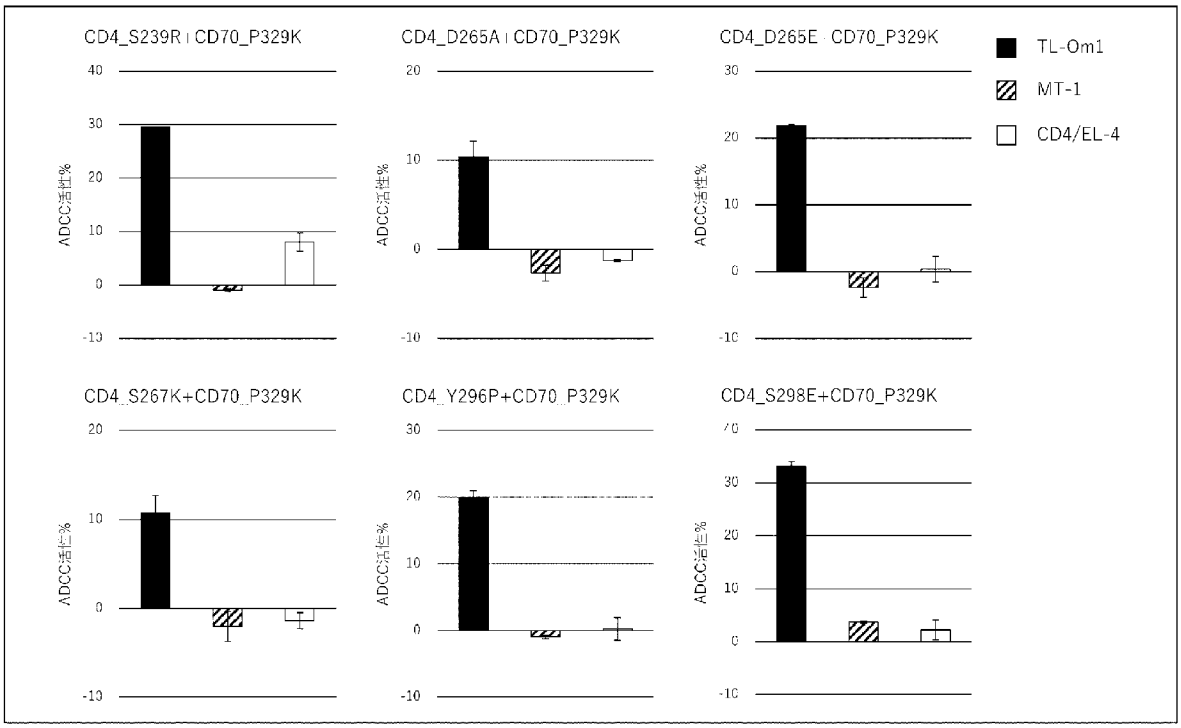
[図15B]


CD4 Y296P+CD70 L328R
CD4_S298E+CD70_L328R
CD4_T299A+CD70_L328R
CD4_S239R+CD70_P329Y
CD4_D265A+CD70_P329Y
CD4_D265E+CD70_P329Y
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL-4

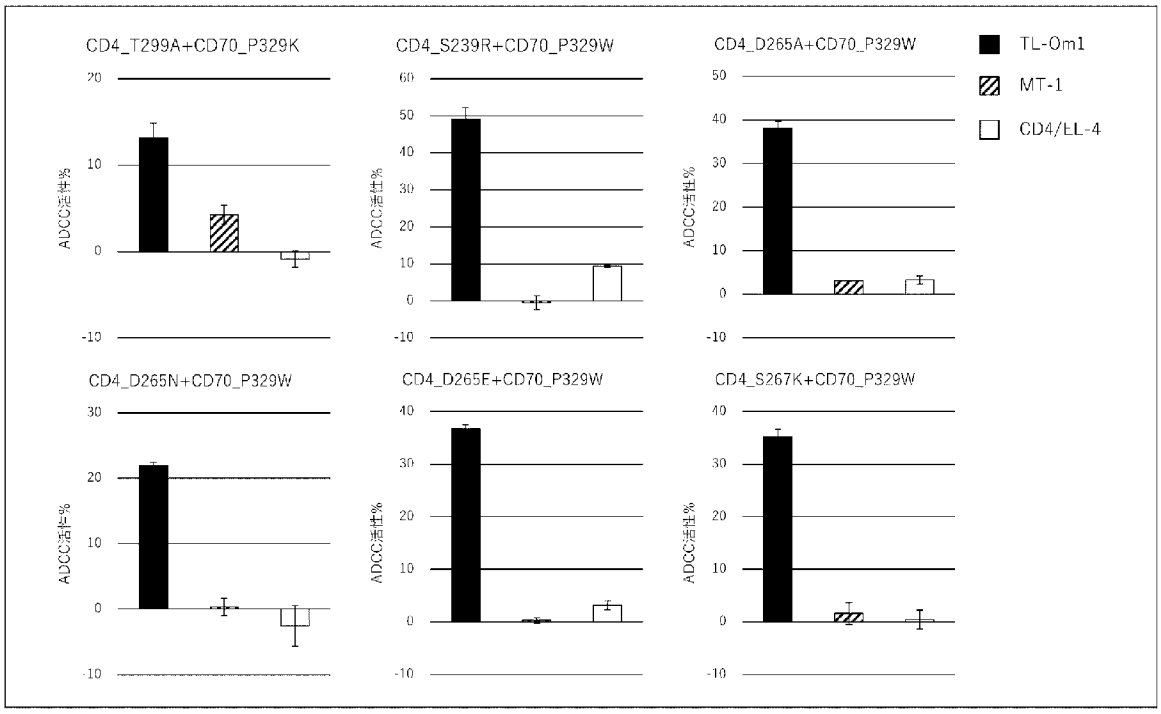
[図15C]


CD4_S267K+CD70_P329Y
CD4_Y296P+CD70_P329Y
CD4_S298E+CD70_P329Y
CD4_T299A+CD70_P329Y
CD4_L235R+CD70_P329Y
CD4_A327I+CD70_P329Y
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL-4

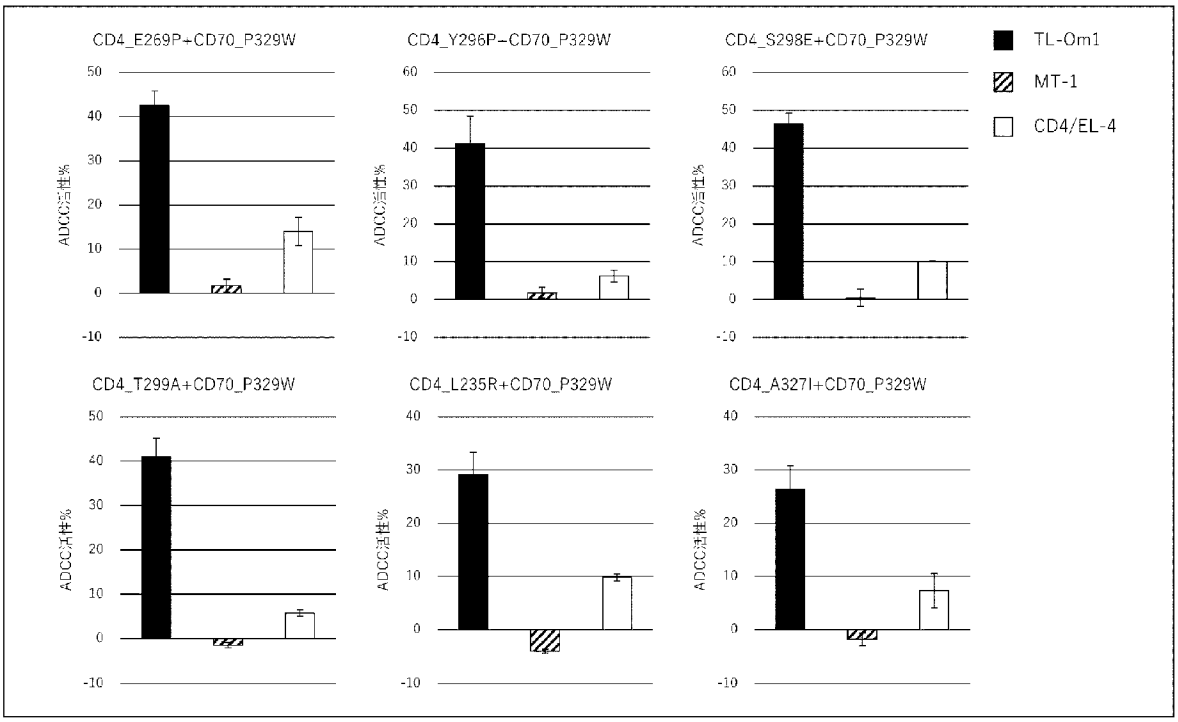
[図15D]


CD4_S239R+CD70_P329K
CD4_D265A+CD70_P329K
CD4_D265E+CD70_P329K
CD4_S267K+CD70_P329K
CD4_Y296P+CD70_P329K
CD4_S298E+CD70_P329K
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL-4

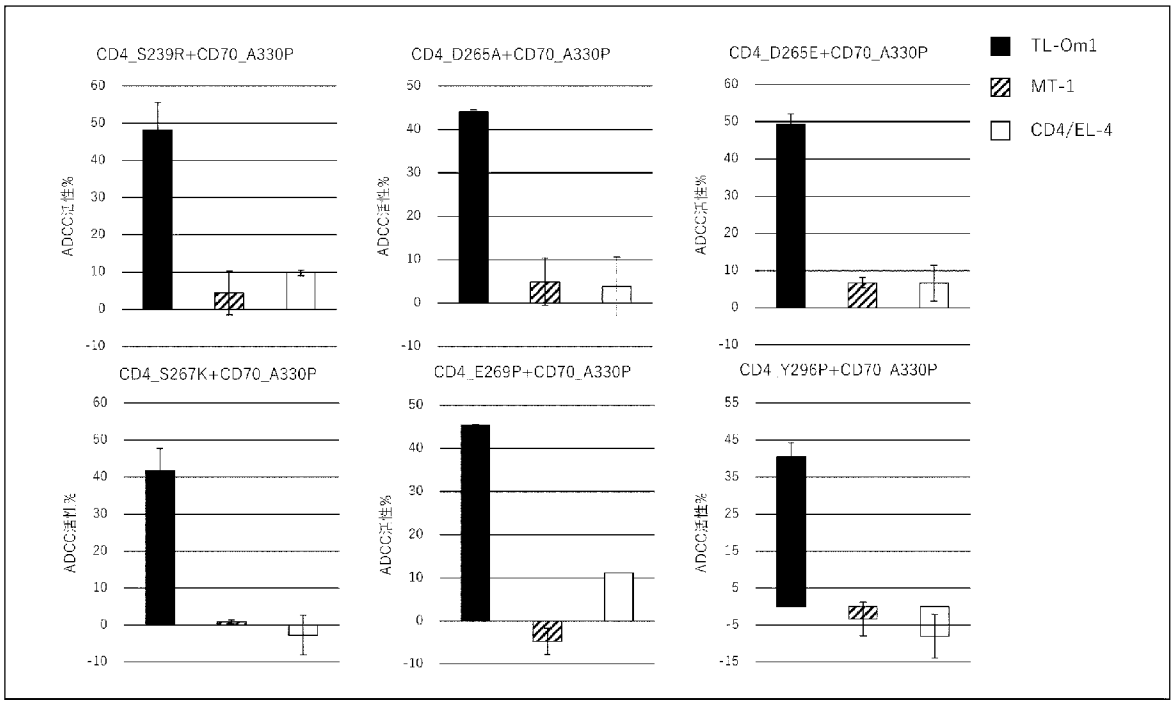
[図15E]


CD4_T299A+CD70_P329K
CD4_S239R+CD70_P329W
CD4_D265A+CD70_P329W
CD4_D265N+CD70_P329W
CD4_D265E+CD70_P329W
CD4_S267K+CD70_P329W
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL-4

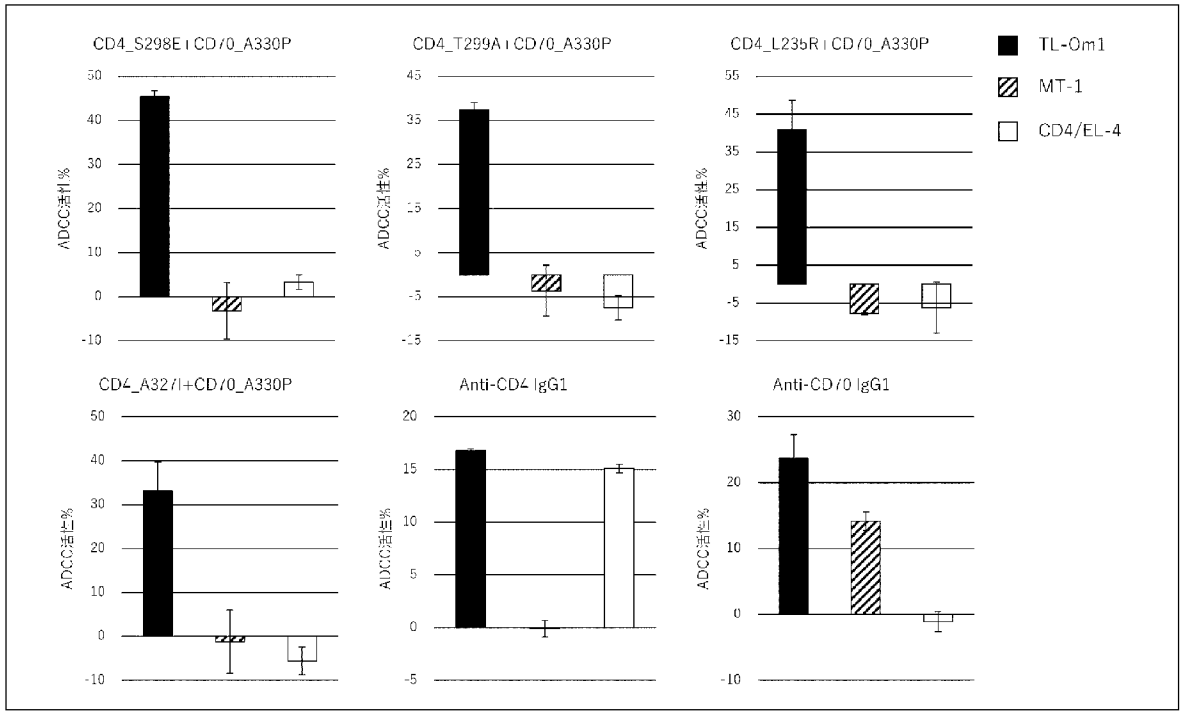
[図15F]


CD4_E269P+CD70_P329W
CD4_Y296P+CD70_P329W
CD4_S298E+CD70_P329W
CD4_T299A+CD70_P329W
CD4_L235R+CD70_P329W
CD4_A327I+CD70_P329W
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL-4

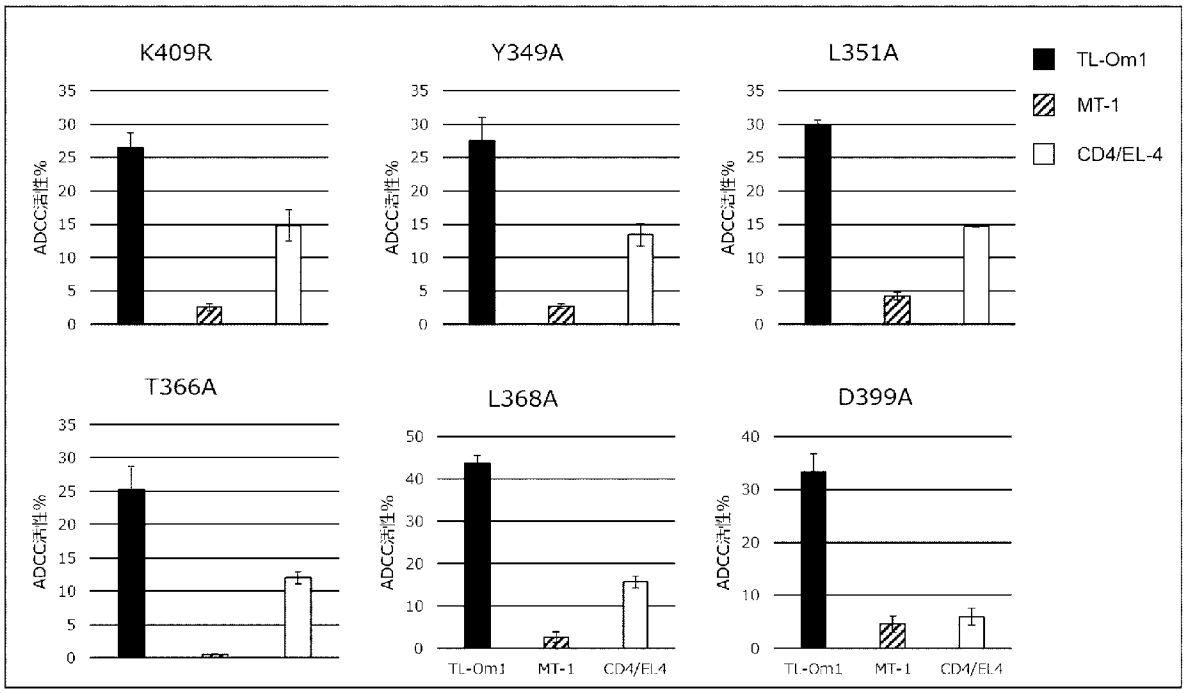
[図15G]


CD4_S239R+CD70_A330P
CD4_D265A+CD70_A330P
CD4_D265E+CD70_A330P
CD4_S267K+CD70_A330P
CD4_E269P+CD70_A330P
CD4_Y296P+CD70_A330P
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL-4

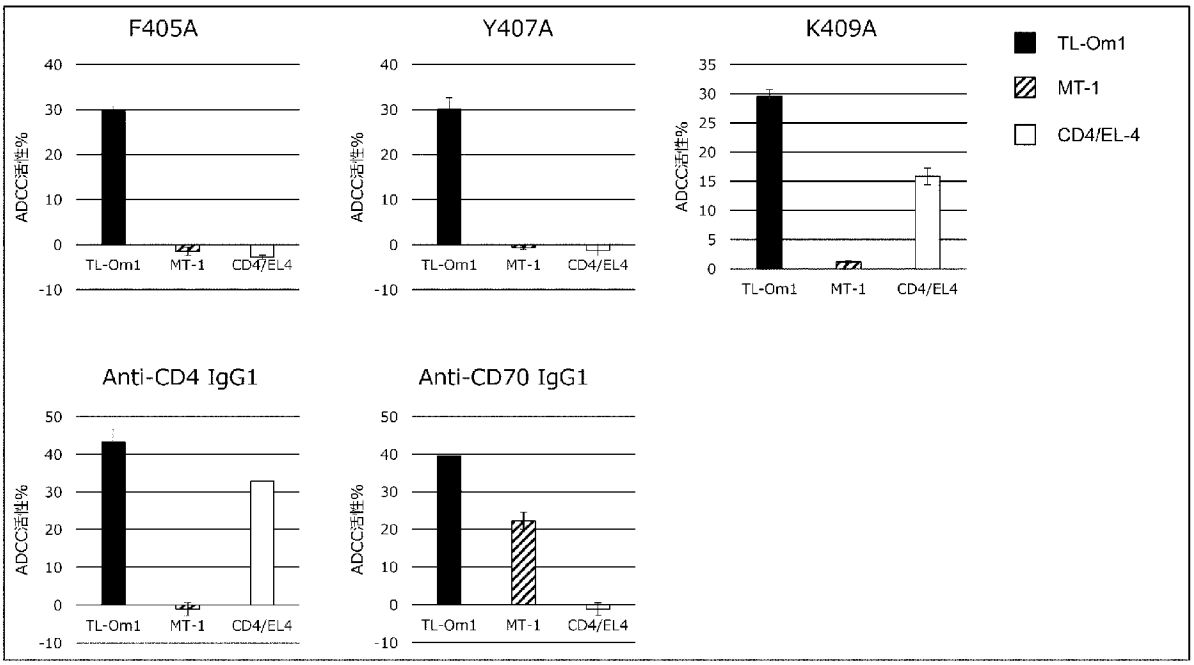
[図15H]


CD4_S298E｜CD70_A330P
CD4_T299A｜CD70_A330P
CD4_L235R｜CD70_A330P
CD4_A327I+CD70_A330P
Anti-CD4 IgG1
Anti-CD70 IgG1
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL-4

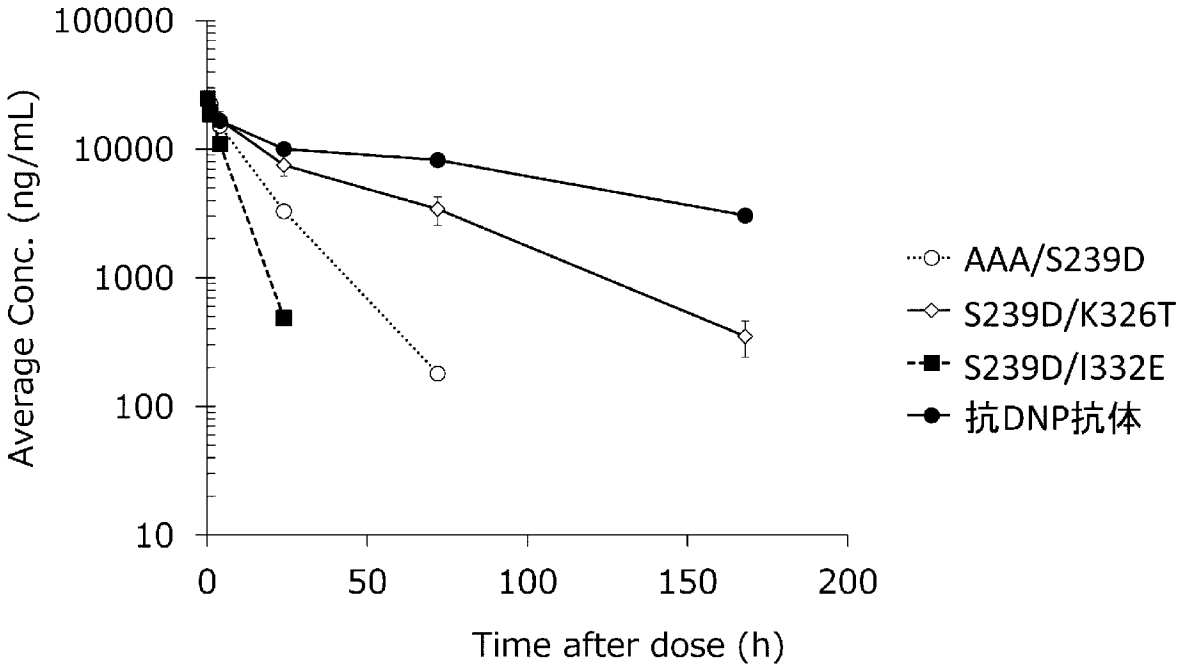
[図16A]


K409R
Y349A
L351A
T366A
L368A
D399A
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL4

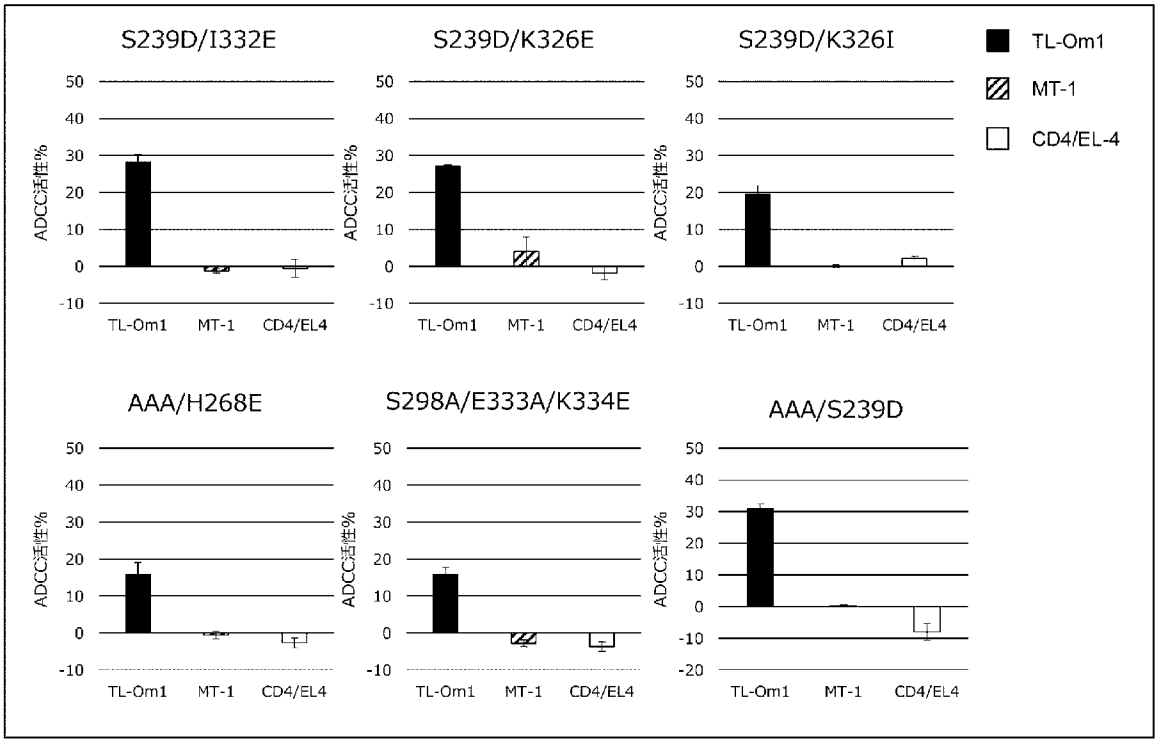
[図16B]


F405A
Y407A
K409A
Anti-CD4 IgG1
Anti-CD70 IgG1
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL4
CD4/EL-4

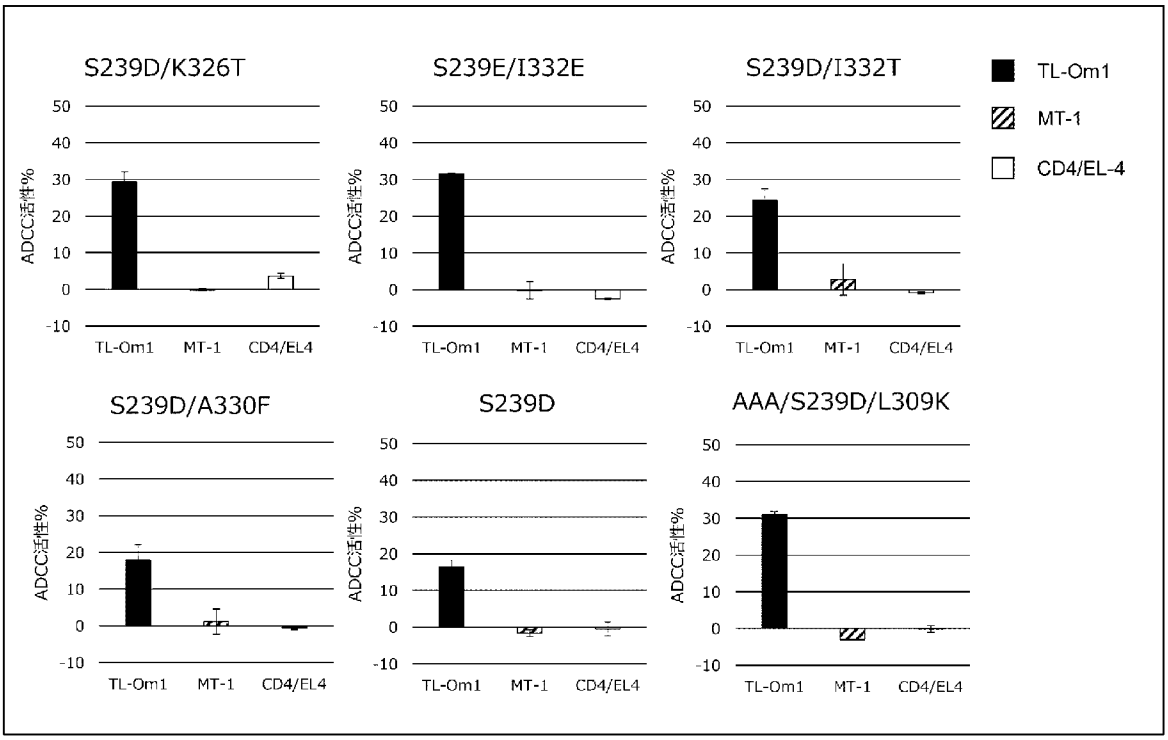
[図17]


Average Conc. (ng/mL)
Time after dose (h)
AAA/S239D
S239D/K326T
S239D/I332E
抗DNP抗体

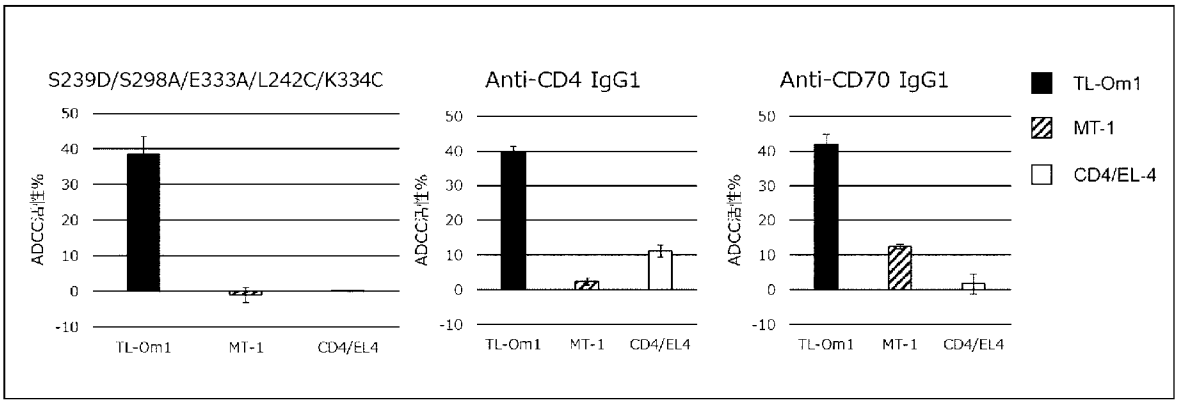
[図18A]


S239D/I332E
S239D/K326E
S239D/K326I
AAA/H268E
S298A/E333A/K334E
AAA/S239D
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL-4
TL-Om1
MT-1
CD4/EL4

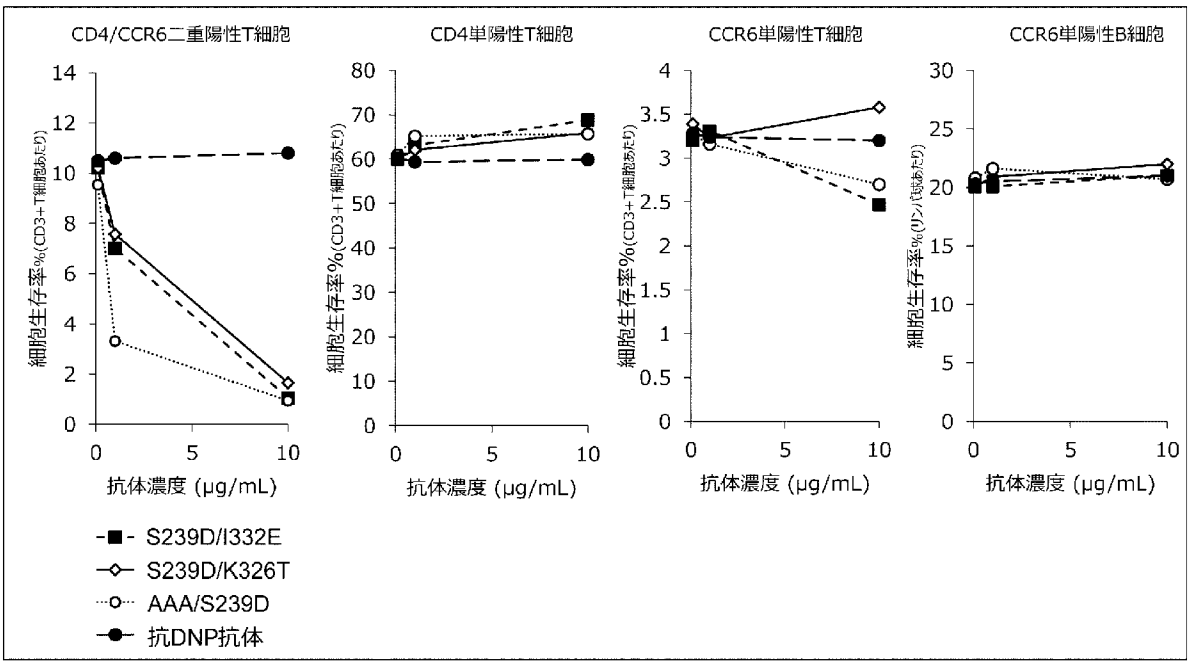
[図18B]


S239D/K326T
S239E/I332E
S239D/I332T
S239D/A330F
S239D
AAA/S239D/L309K
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL-4
TL-Om1
MT-1
CD4/EL4

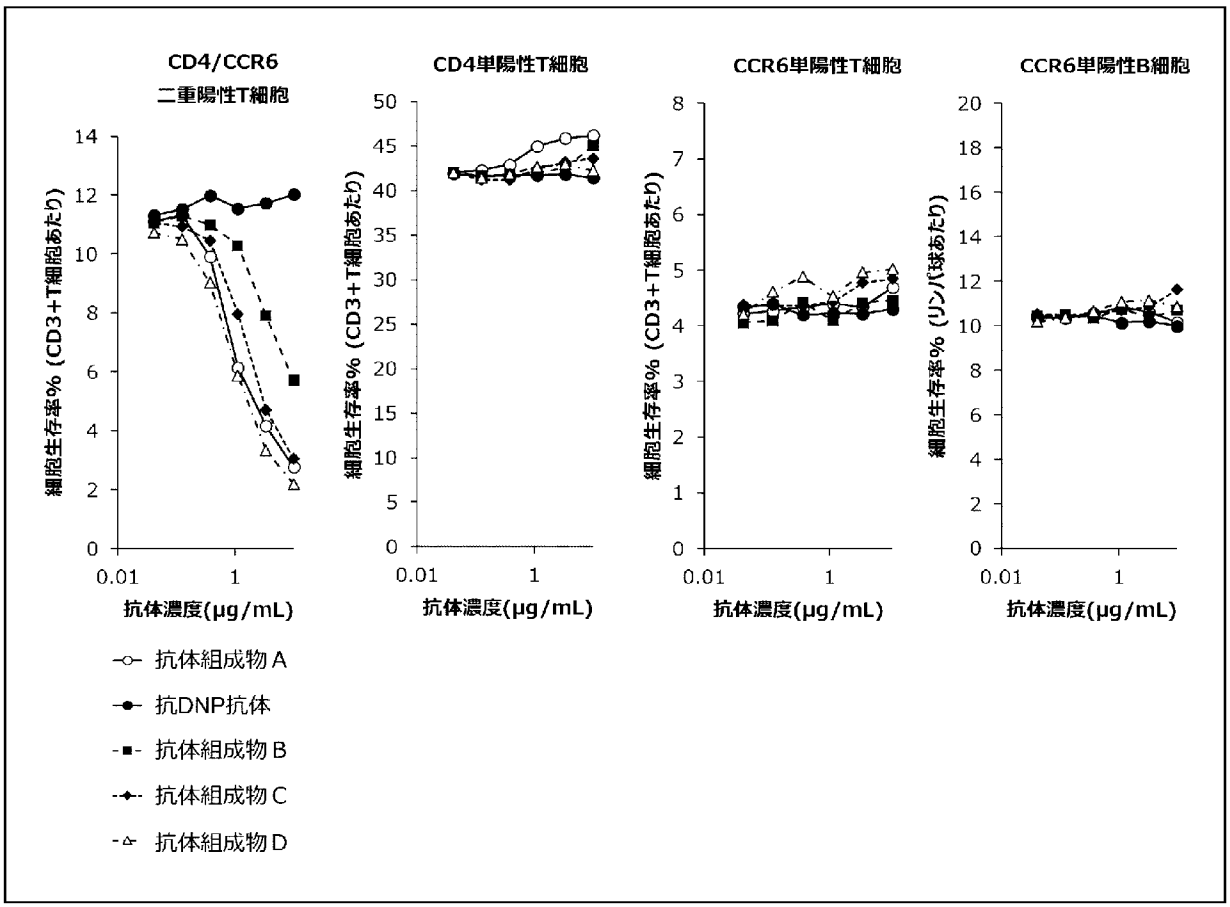
[図18C]


S239D/S298A/E333A/L242C/K334C
Anti-CD4 IgG1
Anti-CD70 IgG1
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL4
TL-Om1
MT-1
CD4/EL-4

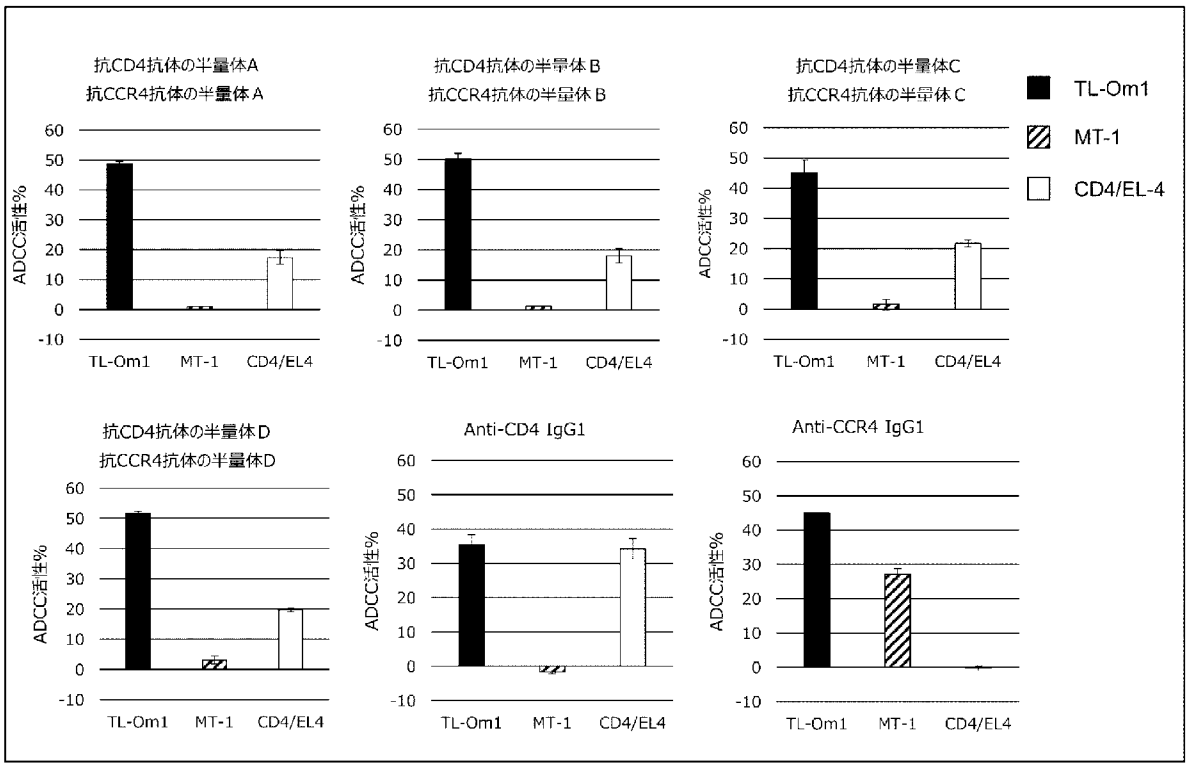
[図19A]


CD4/CCR6二重陽性T細胞
CD4単陽性T細胞
CCR6単陽性T細胞
CCR6単陽性B細胞
細胞生存率%(CD3+T細胞あたり)
細胞生存率%(リンパ球あたり)
抗体濃度 (μg/mL)
S239D/I332E
S239D/K326T
AAA/S239D
抗DNP抗体

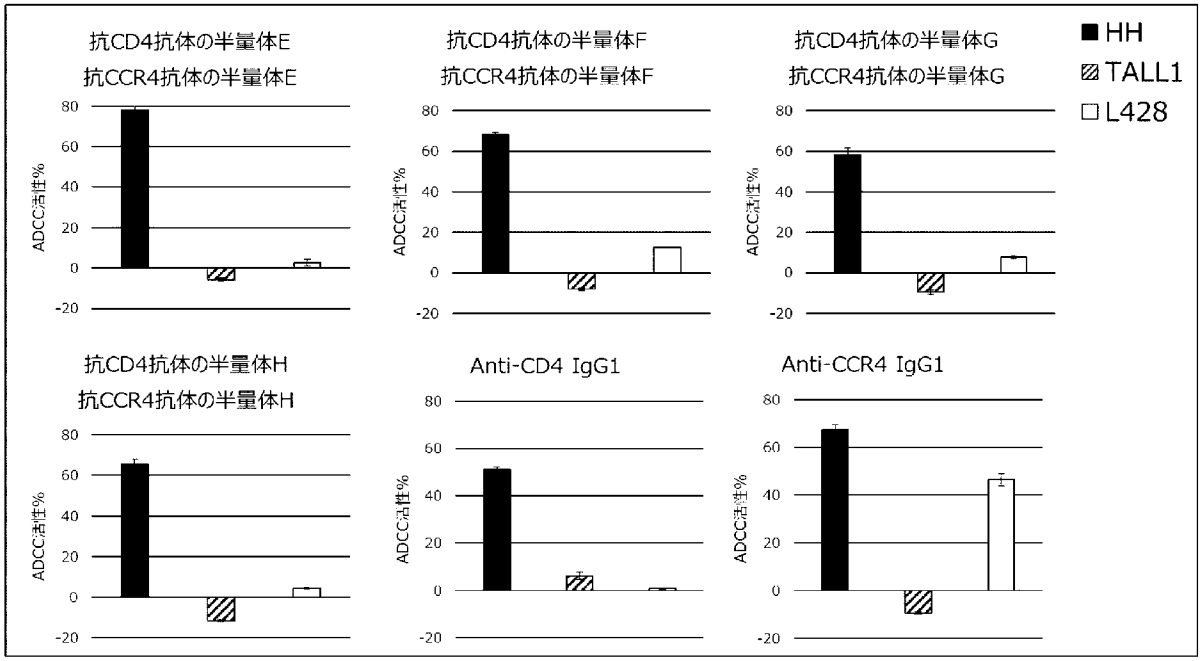
[図19B]


CD4/CCR6
二重陽性T細胞
CD4単陽性T細胞
CCR6単陽性T細胞
CCR6単陽性B細胞
細胞生存率% (CD3+T細胞あたり)
細胞生存率% (リンパ球あたり)
抗体濃度(μg/mL)
抗体組成物A
抗DNP抗体
抗体組成物B
抗体組成物C
抗体組成物D

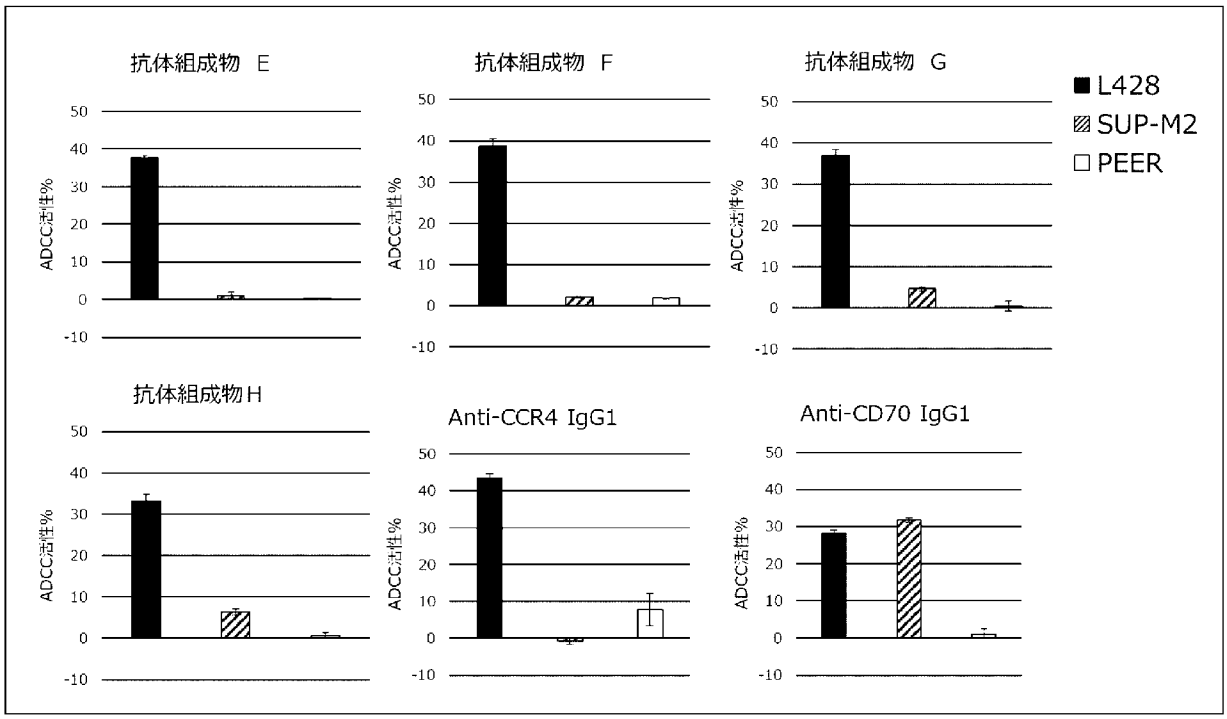
[図20]


抗CD4抗体の半量体A
抗CCR4抗体の半量体A
抗CD4抗体の半量体B
抗CCR4抗体の半量体B
抗CD4抗体の半量体C
抗CCR4抗体の半量体C
抗CD4抗体の半量体D
抗CCR4抗体の半量体D
Anti-CD4 IgG1
Anti-CCR4 IgG1
ADCC活性%
TL-Om1
MT-1
CD4/EL4

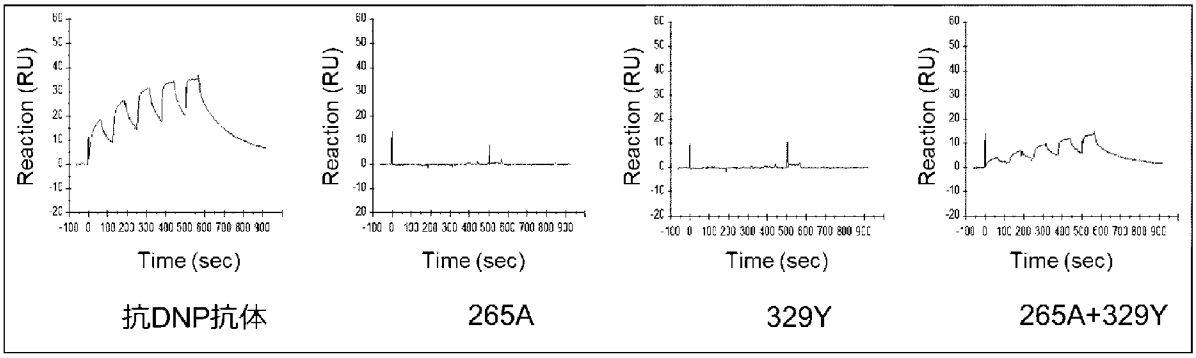
[図21]


抗CD4抗体の半量体E
抗CCR4抗体の半量体E
抗CD4抗体の半量体F
抗CCR4抗体の半量体F
抗CD4抗体の半量体G
抗CCR4抗体の半量体G
抗CD4抗体の半量体H
抗CCR4抗体の半量体H
Anti-CD4 IgG1
Anti-CCR4 IgG1
ADCC活性%
HH
TALL1
L428

[図22]


抗体組成物 E
抗体組成物 F
抗体組成物 G
抗体組成物H
Anti-CCR4 IgG1
Anti-CD70 IgG1
ADCC活性%
L428
SUP-M2
PEER

[図23]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2021/014181

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N 15/13(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 37/02(2006.01)i; A61P 37/08(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C07K 16/00(2006.01)i; C07K 16/18(2006.01)i; C12N 1/15(2006.01)i; C12N 1/19(2006.01)i; C12N 1/21(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i; C12N 15/63(2006.01)i

FI: C12N15/13 ZNA; C12N15/63 Z; C07K16/18; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10; A61K39/395 D; A61K39/395 N; A61P35/00; A61P37/02; A61P37/08; C07K16/00; A61P43/00 105

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N15/13; A61K39/395; A61P35/00; A61P37/02; A61P37/08; A61P43/00; C07K16/00; C07K16/18; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10; C12N15/63

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

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2021
Registered utility model specifications of Japan	1996-2021
Published registered utility model applications of Japan	1994-2021

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN); GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq; UniProt/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2013/002362 A1 (CHUGAI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 03 January 2013 (2013-01-03) claims, examples, paragraphs [0020]-[0030], [0121], [0142]	9-13
A	claims, examples, paragraphs [0020]-[0030], [0121], [0142]	1-8, 14-17
Y	WO 2014/104165 A1 (CHUGAI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 03 July 2014 (2014-07-03) claims, examples, paragraphs [0019]-[0029], [0118], [0126]	9-13
A	claims, examples, paragraphs [0019]-[0029], [0118], [0126]	1-8, 14-17

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
10 June 2021 (10.06.2021)	22 June 2021 (22.06.2021)

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2021/014181

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2008-511337 A (GENENTECH, INC.) 17 April 2008 (2008-04-17) claims, examples	9-13
A	claims, examples	1-8, 14-17
Y	WO 2016/159213 A1 (CHUGAI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 06 October 2016 (2016-10-06) claims, background art	9-13
A	claims, background art	1-8, 14-17
A	WO 2018/155611 A1 (CHUGAI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 30 August 2018 (2018-08-30) claims, examples	1-17
A	JP 2016-509476 A (GENMAB B.V.) 31 March 2016 (2016-03-31) examples 15, 16	1-17
A	ESCOBAR-CABRERA, Eric et al., "Asymmetric Fe Engineering for Bispecific Antibodies with Reduced Effector Function", Antibodies, 2017, vol. 6, no. 2, 7, pp. 1-16 abstract	1-17
P, X	WO 2020/067541 A1 (KYOWA KIRIN CO., LTD.) 02 April 2020 (2020-04-02) claims, examples	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2021/014181

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2013/002362 A1	03 Jan. 2013	EP 2728002 A1 claims, examples, paragraphs [0020]-[0030], [0125], [0148] US 2014/0199294 A1 KR 10-2014-0041787 A CN 103827300 A	
WO 2014/104165 A1	03 Jul. 2014	EP 2940135 A1 claims, examples, paragraphs [0020]-[0030], [0124], [0133] US 2015/0344570 A1 KR 10-2015-0097786 A CN 105102618 A	
JP 2008-511337 A	17 Apr. 2008	US 2006/0204493 A1 claims, examples WO 2006/028936 A2 EP 1789446 A2	
WO 2016/159213 A1	06 Oct. 2016	US 2018/0057607 A1 claims, background art EP 3279216 A1	
WO 2018/155611 A1	30 Aug. 2018	US 2019/0382484 A1 claims, examples EP 3586872 A1	
JP 2016-509476 A	31 Mar. 2016	US 2015/0353636 A1 examples 15, 16 WO 2014/108198 A1 EP 2943506 A1 CN 105229026 A KR 10-2016-0007478 A	
WO 2020/067541 A1	02 Apr. 2020	(Family: none)	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2021/014181

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12N 15/13(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 37/02(2006.01)i; A61P 37/08(2006.01)i; A61P 43/00(2006.01)i; C07K 16/00(2006.01)i; C07K 16/18(2006.01)i; C12N 1/15(2006.01)i; C12N 1/19(2006.01)i; C12N 1/21(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i; C12N 15/63(2006.01)i

FI: C12N15/13 ZNA; C12N15/63 Z; C07K16/18; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10; A61K39/395 D; A61K39/395 N; A61P35/00; A61P37/02; A61P37/08; C07K16/00; A61P43/00 105

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12N15/13; A61K39/395; A61P35/00; A61P37/02; A61P37/08; A61P43/00; C07K16/00; C07K16/18; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10; C12N15/63

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２１年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２１年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２１年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN); GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq; UniProt/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	WO 2013/002362 A1 (中外製薬株式会社) 03.01.2013 (2013-01-03) [特許請求の範囲][実施例][0020]－[0030][0121][0142]	9-13
A	[特許請求の範囲][実施例][0020]－[0030][0121][0142]	1-8,14-17
Y	WO 2014/104165 A1 (中外製薬株式会社) 03.07.2014 (2014-07-03) [特許請求の範囲][実施例][0019]－[0029][0118][0126]	9-13
A	[特許請求の範囲][実施例][0019]－[0029][0118][0126]	1-8,14-17
Y	JP 2008-511337 A (ジェネンテック・インコーポレーテッド) 17.04.2008 (2008-04-17) [特許請求の範囲][実施例]	9-13
A	[特許請求の範囲][実施例]	1-8,14-17

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
"E" 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
"L" 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
"P" 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
"T" 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
"X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
"Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
"&" 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
10.06.2021	22.06.2021

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
原　大樹 4B 5278
電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	WO 2016/159213 A1 (中外製薬株式会社) 06.10.2016 (2016-10-06) [特許請求の範囲][背景技術]	9-13
A	[特許請求の範囲][背景技術]	1-8,14-17
A	WO 2018/155611 A1 (中外製薬株式会社) 30.08.2018 (2018-08-30) [特許請求の範囲][実施例]	1-17
A	JP 2016-509476 A (ゲンマブ ビー. ブイ.) 31.03.2016 (2016-03-31) [実施例15][実施例16]	1-17
A	ESCOBAR-CABRERA Eric et al., Asymmetric Fc Engineering for Bispecific Antibodies with Reduced Effector Function, Antibodies, 2017, Vol.6, No.2, 7, pp.1-16 要約	1-17
P, X	WO 2020/067541 A1 (協和キリン株式会社) 02.04.2020 (2020-04-02) [特許請求の範囲][実施例]	1-17

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2021/014181

第Ⅰ欄　　ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第１ページの１．ｃの続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

a. ☑ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
　☑ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式

b. ☐ 国際出願とともに、ＰＣＴ規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表

c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
　☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(ＰＣＴ規則13の3.1(a))
　☐ 紙形式又はイメージファイル形式（ＰＣＴ規則13の3.1(b)及びＰＣＴ実施細則第713号）

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2021/014181

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2013/002362 A1	03.01.2013	EP 2728002 A1 [特許請求の範囲][実施例][0020]－[0030][0125][0148] US 2014/0199294 A1 KR 10-2014-0041787 A CN 103827300 A	
WO 2014/104165 A1	03.07.2014	EP 2940135 A1 [特許請求の範囲][実施例][0020]－[0030][0124][0133] US 2015/0344570 A1 KR 10-2015-0097786 A CN 105102618 A	
JP 2008-511337 A	17.04.2008	US 2006/0204493 A1 [特許請求の範囲][実施例] WO 2006/028936 A2 EP 1789446 A2	
WO 2016/159213 A1	06.10.2016	US 2018/0057607 A1 [特許請求の範囲][背景技術] EP 3279216 A1	
WO 2018/155611 A1	30.08.2018	US 2019/0382484 A1 [特許請求の範囲][実施例] EP 3586872 A1	
JP 2016-509476 A	31.03.2016	US 2015/0353636 A1 [実施例15][実施例16] WO 2014/108198 A1 EP 2943506 A1 CN 105229026 A KR 10-2016-0007478 A	
WO 2020/067541 A1	02.04.2020	（ファミリーなし）	