(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-535053
(P2024-535053A)
(43)公表日　令和6年9月26日(2024.9.26)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C07K	*16/28 (2006.01)*	C07K	16/28	ZNA	4B064
C12N	*15/13 (2006.01)*	C12N	15/13		4C076
A61K	*39/395 (2006.01)*	A61K	39/395	N	4C085
A61P	*35/00 (2006.01)*	A61K	39/395	D	4H045
A61P	*15/00 (2006.01)*	A61P	35/00		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全325頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-516963(P2024-516963)
(86)(22)出願日　令和4年9月16日(2022.9.16)
(85)翻訳文提出日　令和6年5月15日(2024.5.15)
(86)国際出願番号　PCT/EP2022/075849
(87)国際公開番号　WO2023/041745
(87)国際公開日　令和5年3月23日(2023.3.23)
(31)優先権主張番号　63/244,986
(32)優先日　令和3年9月16日(2021.9.16)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　522176919
ハミングバード・バイオサイエンス・プライベート・リミテッド
シンガポール国シンガポール １１７５８６，シンガポール・サイエンス・パーク２，ジ・アリエス，ナンバー０４－０１／１１
(74)代理人　100118902
弁理士　山本 修
(74)代理人　100106208
弁理士　宮前 徹
(74)代理人　100196508
弁理士　松尾 淳一
(74)代理人　100187540
弁理士　國枝 由紀子
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子を使用する、がんの処置および防止

(57)【要約】
本開示は、がんの処置または防止のための、ＶＩＳＴＡに結合する抗原結合性分子、前記分子を含む組成物、および前記分子を使用する治療および予防法を提示する。
【選択図】図１Ａ

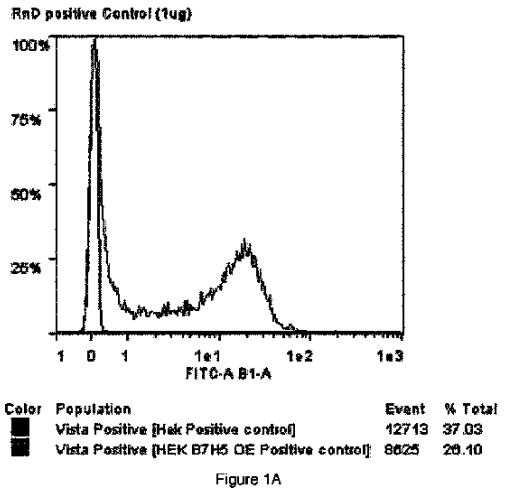


Figure 1A

【特許請求の範囲】
【請求項１】
Ｆｃ媒介性機能に依存せずに、ＶＩＳＴＡに結合し、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能な抗原結合性分子、任意選択で、単離抗原結合性分子。
【請求項２】
（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号２９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２９１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号３０９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域を含む、
請求項１に記載の抗原結合性分子。
【請求項３】
（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号２９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２９１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号２９５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域を含む、
請求項１または請求項２に記載の抗原結合性分子。
【請求項４】
配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号３１０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域
を含む、請求項１から３のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【請求項５】
配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号２９７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域
を含む、請求項１から４のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【請求項６】
以下のフレームワーク領域（ＦＲ）：
配列番号６３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号２９２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号２９３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号２８１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４
を組み込んだＶＨ領域を含む、
請求項１から５のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【請求項７】
抗原結合性分子が、

以下のフレームワーク領域（ＦＲ）：
配列番号２８８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号２９８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号２８４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４
を組み込んだＶＬ領域を含む、請求項１から６のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項８】
配列番号３３１のアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項１から７のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【請求項９】
配列番号３１７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項１から８のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【請求項１０】
請求項１から９のいずれか一項に記載の抗原結合性分子を含む組成物。
【請求項１１】
（ｉ）２ｍＭ～２００ｍＭのヒスチジン、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｉｉ）２ｍＭ～２００ｍＭのヒスチジン、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｉｉｉ）２ｍＭ～２００ｍＭのヒスチジン、１ｍＭ～２５０ｍＭの塩化ナトリウムを含み、ｐＨが４．０～７．０であり、任意選択で、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０もしくはポリソルベート８０を含むか；または
（ｉｖ）２ｍＭ～２００ｍＭのヒスチジン、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０もしくはポリソルベート８０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｖ）２ｍＭ～２００ｍＭの酢酸塩、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｖｉ）２ｍＭ～２００ｍＭの酢酸塩、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｖｉｉ）２ｍＭ～２００ｍＭのコハク酸塩、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｖｉｉｉ）２ｍＭ～２００ｍＭのコハク酸塩、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０を含み、ｐＨが４．０～７．０である、
請求項１０に記載の組成物。
【請求項１２】
（ｉ）２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．５であるか；または
（ｉｉ）２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．８であるか；または
（ｉｉｉ）２０ｍＭのヒスチジン、４％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．８であるか；または
（ｉｖ）２０ｍＭのヒスチジン、２％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．８であるか；または
（ｖ）２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）の

ポリソルベート８０を含み、ｐＨが６．３であるか；または
（ｖｉ）２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０を含み、ｐＨが５．８であるか；または
（ｖｉｉ）２０ｍＭの酢酸塩、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．５であるか；または
（ｖｉｉｉ）２０ｍＭのコハク酸塩、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．５であるか；または
（ｉｘ）２０ｍＭのヒスチジン、０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．８であるか；または
（ｘ）２０ｍＭのヒスチジン、１５０ｍＭの塩化ナトリウムを含み、ｐＨが５．８である、
請求項１０または請求項１１に記載の組成物。
【請求項１３】
２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．５である、請求項１０から１２のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１４】
約５０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子を含む、請求項１０から１３のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１５】
医薬としての使用のための、請求項１から１４のいずれか一項に記載の抗原結合性分子または組成物。
【請求項１６】
対象におけるがんを処置または防止する方法における使用のための、請求項１から１４のいずれか一項に記載の抗原結合性分子または組成物。
【請求項１７】
対象におけるがんを処置または防止するための医薬の製造における、請求項１から１４のいずれか一項に記載の抗原結合性分子または組成物の使用。
【請求項１８】
対象におけるがんを処置または防止する方法であって、治療または予防有効量の、請求項１から１４のいずれか一項に記載の抗原結合性分子または組成物を投与するステップを含む方法。
【請求項１９】
がんが、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の存在、および／またはＶＩＳＴＡを含む複合体により媒介されるシグナル伝達により特徴付けられる、請求項１６に記載の使用のための抗原結合性分子または組成物、請求項１７に記載の使用、または請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
がんが、血液がん、白血病（例えば、Ｔ細胞白血病）、急性骨髄性白血病、リンパ腫、Ｂ細胞リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、中皮腫、充実性腫瘍、肺がん、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、胃がん、胃癌、結腸直腸がん、結腸直腸癌、結腸直腸腺癌、子宮がん、子宮体部内膜癌、乳がん、トリプルネガティブ乳がん（ＴＢＮＣ）、トリプルネガティブ乳腺浸潤性癌、浸潤性乳管癌、肝がん、肝細胞癌、膵臓がん、膵管腺癌、甲状腺がん、胸腺腫、皮膚がん、黒色腫、皮膚黒色腫、腎がん、腎細胞癌、腎乳頭細胞癌、頭頸部がん、頭頸部扁平上皮がん（ＳＣＣＨＮ）、卵巣がん、卵巣癌、卵巣漿液性嚢胞腺癌、膀胱がん、前立腺がん、および／または前立腺癌から選択される、請求項１６から１９のいずれか一項に記載の使用のための抗原結合性分子もしくは組成物、使用、または方法。
【請求項２１】
がんが、トリプルネガティブ乳がん（ＴＢＮＣ）、非小細胞肺癌腫（ＮＳＣＬＣ）、および／または充実性腫瘍である、請求項１６から２０のいずれか一項に記載の使用のための抗原結合性分子もしくは組成物、使用、または方法。

【請求項２２】
方法が、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の存在、および／またはＶＩＳＴＡを含む複合体により媒介されるシグナル伝達を検出するステップを含む、請求項１６から２１のいずれか一項に記載の使用のための抗原結合性分子もしくは組成物、使用、または方法。
【請求項２３】
対象が、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の存在、および／またはＶＩＳＴＡを含む複合体により媒介されるシグナル伝達が検出される場合に、抗原結合性分子または組成物による処置のために選択される、請求項２２に記載の使用のための抗原結合性分子もしくは組成物、使用、または方法。
【請求項２４】
抗原結合性分子が、毎週、２週間ごと、または３週間ごとに投与される、請求項１６から２３のいずれか一項に記載の使用のための抗原結合性分子もしくは組成物、使用、または方法。
【請求項２５】
抗原結合性分子が、２１日間の投与サイクル内で、１、２、または３回にわたり投与され、任意選択で、処置が、最大で、３５投与サイクルを含む、請求項１６から２４のいずれか一項に記載の使用のための抗原結合性分子もしくは組成物、使用、または方法。
【請求項２６】
抗原結合性分子が、２１日間の投与サイクル内の、１、８、および／または１５日目に投与され、任意選択で、処置が、最大で、３５投与サイクルを含む、請求項１６から２５のいずれか一項に記載の使用のための抗原結合性分子もしくは組成物、使用、または方法。
【請求項２７】
処置が、投与１回当たり、３．５ｍｇ～２２００ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む、請求項１６から２６のいずれか一項に記載の使用のための抗原結合性分子もしくは組成物、使用、または方法。
【請求項２８】
処置が、投与１回当たり、３．５ｍｇ、７ｍｇ、１０．５ｍｇ、１７．５ｍｇ、２０ｍｇ、２１ｍｇ、４０ｍｇ、６０ｍｇ、７２ｍｇ、１２０ｍｇ、１８０ｍｇ、２４０ｍｇ、３６０ｍｇ、４００ｍｇ、８００ｍｇ、１２００ｍｇ、１６００ｍｇ、１９００ｍｇ、または２２００ｍｇのうちの少なくとも１つの抗原結合性分子を投与するステップを含む、請求項１６から２７のいずれか一項に記載の使用のための抗原結合性分子もしくは組成物、使用、または方法。
【請求項２９】
処置が、２１日間の投与サイクル当たり、最大で、１０．５ｍｇ、最大で、２１ｍｇ、最大で、３１．５ｍｇ、最大で、５２．５ｍｇ、最大で、６０ｍｇ、最大で、６３ｍｇ、最大で、１２０ｍｇ、最大で、１８０ｍｇ、最大で、２１６ｍｇ、最大で、３６０ｍｇ、最大で、５４０ｍｇ、最大で、７２０ｍｇ、最大で、１０８０ｍｇ、最大で、１２００ｍｇ、最大で、２４００ｍｇ、最大で、３６００ｍｇ、最大で、４８００ｍｇ、最大で、５７００ｍｇ、または最大で、６６００ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む、請求項１６から２８のいずれか一項に記載の使用のための抗原結合性分子もしくは組成物、使用、または方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、それらの内容および要素が、参照によりそれらの全体において、全ての目的のために本明細書に組み込まれる、２０２１年９月１６日に出願された、ＵＳ６３／２４４，９８６からの優先権を主張する。
発明の分野
本発明は、分子生物学の分野に関し、より具体的には、抗体技術の分野に関する。本発

明はまた、医学的な処置および予防の方法にも関する。
【背景技術】
【０００２】
免疫応答の、骨髄由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）媒介性抑制は、複数の充実性腫瘍およびリンパ腫において同定されている。ＭＤＳＣは、進行性結腸直腸がんにおいて上昇する（Ｔｏｏｒら、Ｆｒｏｎｔ Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２０１６、７：５６０）。ＭＤＳＣはまた、乳がんにおいても観察され、ＭＤＳＣの、末梢血中の百分率は、後期乳がんを伴う患者において増大する（Ｍａｒｋｏｗｉｔｚら、Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ Ｔｒｅａｔ．、２０１３年７月、１４０（１）：１３～２１）。ＭＤＳＣの存在度はまた、充実性腫瘍における予後不良とも相関する（Ｃｈａｒｏｅｎｔｏｎｇら、Ｃｅｌｌ Ｒｅｐ．、２０１７年１月３日、１８（１）：２４８～２６２）。
【０００３】
ＭＤＳＣは、反応性酸素分子種、一酸化窒素、およびアルギナーゼの産生を含む、複数の機構を介して、Ｔ細胞に対する抑制を及ぼす。これらは、最終的に、ＤＣ、ＮＫ、およびＴ細胞の活性の抑制、ならびに腫瘍負荷の増大をもたらす（Ｕｍａｎｓｋｙら、Ｖａｃｃｉｎｅｓ（Ｂａｓｅｌ）（２０１６）、４（４）：３６）。ＭＤＳＣはまた、血管新生、浸潤、増殖、および転移を促進する、マトリックスメタロプロテイナーゼ、ＶＥＧＦ、ｂＦＧＦ、ＴＧＦ－β、およびＳ１００Ａ８／Ａ９などの可溶性因子の産生を介して、腫瘍の発生および転移にも寄与する。
【０００４】
主に、ＭＤＳＣ上で発現される免疫チェックポイント分子である、Ｖ－ｔｙｐｅ ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ ｄｏｍａｉｎ－ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ｓｕｐｐｒｅｓｓｏｒ ｏｆ Ｔ－ｃｅｌｌ ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ（ＶＩＳＴＡ）のターゲティングは、エフェクター免疫細胞機能に対するＭＤＳＣ媒介性抑制を除去するための、魅力的な治療戦略である。
【０００５】
ＷＯ２０１７／１３７８３０Ａ１は、例えば、段落［００２２１］において、抗ＶＩＳＴＡ抗体であるＶＳＴＢ１１２の可変領域を含むことが開示される、抗ＶＩＳＴＡ抗体であるＶＳＴＢ１７４を開示する。段落［００３６２］は、ＶＳＴＢ１２３が、ＶＳＴＢ１７４の可変領域を含むことを開示する。段落［０４１７］および図４２Ａにおける、ＷＯ２０１７／１３７８３０Ａ１の実施例２５は、ｍＩｇＧ２ａ抗体であるＶＳＴＢ１２３が、ＭＢ４９腫瘍モデルにおいて、腫瘍増殖を阻害することが可能であったことを開示する。段落［０４１８］および図４２Ａは、これに対して、ＶＳＴＢ１２４（ＩｇＧ２ａ ＬＡＬＡフォーマットで提供される、同じ抗体である；段落［０４０８］を参照されたい）が、腫瘍増殖を阻害しなかったことを開示する。これらの結果に基づき、段落［０４１９］における実施例２５は、抗ＶＩＳＴＡ抗体による処置に関する有効性は、活性のＦｃを要求しうると結論づける。したがって、図４７において概略的に表された、抗ＶＩＳＴＡ抗体について提起される機構作用（段落［００５３］における、図４７に対するキャプションを参照されたい）は、ＮＫ細胞により発現されるＦｃγＲＩＩＩの、Ｆｃ媒介性エンゲージメントを伴う。
【０００６】
ハムスターモノクローナル抗ＶＩＳＴＡ抗体であるｍＡｂ１３Ｆ３は、Ｌｅ Ｍｅｒｃｉｅｒら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２０１４）、７４（７）：１９３３～４４において、Ｂ１６ＯＶＡおよびＢ１６－ＢＬ６黒色腫モデルにおける腫瘍増殖を阻害することが開示されている。１９４２頁、左～右段にわたる段落は、ＶＩＳＴＡ ｍＡｂの免疫原性およびＦｃＲ結合活性が、最適な標的の中和およびこれに対する治療有効性を達成するための、極めて重要な制限因子でありうることについて教示する。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００７】

第１の態様では、本発明は、Ｆｃ媒介性機能に依存せずに、ＶＩＳＴＡに結合し、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能な抗原結合性分子、任意選択で、単離抗原結合性分子を提供する。

【０００８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）以下のＣＤＲ：

配列番号２９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１

配列番号２９１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２

配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３

を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および

（ｉｉ）以下のＣＤＲ：

配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１

配列番号３０９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２

配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３

を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域を含む。

【０００９】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）以下のＣＤＲ：

配列番号２９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１

配列番号２９１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２

配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３

を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および

（ｉｉ）以下のＣＤＲ：

配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１

配列番号２９５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２

配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３

を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域を含む。

【００１０】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および

配列番号３１０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域を含む。

【００１１】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および

配列番号２９７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域を含む。

【００１２】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

以下のフレームワーク領域（ＦＲ）：

配列番号６３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１

配列番号２９２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２

配列番号２９３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３

配列番号２８１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４

を組み込んだＶＨ領域を含む。

【００１３】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

以下のフレームワーク領域（ＦＲ）：

配列番号２８８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号２９８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号２８４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４
を組み込んだＶＬ領域を含む。

【００１４】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号３３１のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号３１７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【００１５】

別の態様では、本発明は、本開示に従う抗原結合性分子を含む組成物を提供する。

【００１６】

一部の実施形態では、組成物は、
（ｉ）２ｍＭ～２００ｍＭのヒスチジン、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｉｉ）２ｍＭ～２００ｍＭのヒスチジン、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｉｉｉ）２ｍＭ～２００ｍＭのヒスチジン、１ｍＭ～２５０ｍＭの塩化ナトリウムを含み、ｐＨが４．０～７．０であり、任意選択で、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０もしくはポリソルベート８０を含むか；または
（ｉｖ）２ｍＭ～２００ｍＭのヒスチジン、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０もしくはポリソルベート８０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｖ）２ｍＭ～２００ｍＭの酢酸塩、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｖｉ）２ｍＭ～２００ｍＭの酢酸塩、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｖｉｉ）２ｍＭ～２００ｍＭのコハク酸塩、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが４．０～７．０であるか；または
（ｖｉｉｉ）２ｍＭ～２００ｍＭのコハク酸塩、２％～２０％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．００１％～０．１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０を含み、ｐＨが４．０～７．０である。

【００１７】

一部の実施形態では、組成物は、
（ｉ）２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．５であるか；または
（ｉｉ）２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．８であるか；または
（ｉｉｉ）２０ｍＭのヒスチジン、４％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．８であるか；または
（ｉｖ）２０ｍＭのヒスチジン、２％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．８であるか；または
（ｖ）２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが６．３であるか；または
（ｖｉ）２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）

のポリソルベート２０を含み、ｐＨが５．８であるか；または
（ｖｉｉ）２０ｍＭの酢酸塩、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．５であるか；または
（ｖｉｉｉ）２０ｍＭのコハク酸塩、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．５であるか；または
（ｉｘ）２０ｍＭのヒスチジン、０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．８であるか；または
（ｘ）２０ｍＭのヒスチジン、１５０ｍＭの塩化ナトリウムを含み、ｐＨが５．８である。

【００１８】

一部の実施形態では、組成物は、２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース；０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含み、ｐＨが５．５である。

【００１９】

一部の実施形態では、組成物は、約５０ｍｇ／ｍＬ（例えば、５０ｍｇ／ｍＬ）の抗原結合性分子を含む。

【００２０】

一部の態様では、医薬としての使用のための、本開示に従う抗原結合性分子または組成物が提供される。

【００２１】

一部の態様では、対象におけるがんを処置または防止する方法における使用のための、本開示に従う抗原結合性分子または組成物が提供される。

【００２２】

一部の態様では、対象におけるがんを処置または防止するための医薬の製造における、本開示に従う抗原結合性分子または組成物の使用が提供される。

【００２３】

一部の態様では、対象におけるがんを処置または防止する方法であって、治療または予防有効量の、本開示に従う抗原結合性分子または組成物を投与するステップを含む方法が提供される。

【００２４】

一部の実施形態では、がんは、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の存在、および／またはＶＩＳＴＡを含む複合体により媒介されるシグナル伝達により特徴付けられる。

【００２５】

一部の実施形態では、がんは、血液がん、白血病（例えば、Ｔ細胞白血病）、急性骨髄性白血病、リンパ腫、Ｂ細胞リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、中皮腫、充実性腫瘍、肺がん、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、胃がん、胃癌、結腸直腸がん、結腸直腸癌、結腸直腸腺癌、子宮がん、子宮体部内膜癌、乳がん、トリプルネガティブ乳がん（ＴＢＮＣ）、トリプルネガティブ乳腺浸潤性癌、浸潤性乳管癌、肝がん、肝細胞癌、膵臓がん、膵管腺癌、甲状腺がん、胸腺腫、皮膚がん、黒色腫、皮膚黒色腫、腎がん、腎細胞癌、腎乳頭細胞癌、頭頸部がん、頭頸部扁平上皮がん（ＳＣＣＨＮ）、卵巣がん、卵巣癌、卵巣漿液性嚢胞腺癌、膀胱がん、前立腺がん、および／または前立腺癌から選択される。一部の実施形態では、がんは、トリプルネガティブ乳がん（ＴＢＮＣ）、非小細胞肺癌腫（ＮＳＣＬＣ）、および／または充実性腫瘍である。

【００２６】

一部の実施形態では、がんの処置または防止は、加えて、ＶＩＳＴＡ以外の免疫チェックポイント分子により媒介されたシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤を投与するステップを含み、例えば、ＶＩＳＴＡ以外の免疫チェックポイント分子は、ＰＤ－１および／またはＰＤ－Ｌ１である。薬剤は、抗ＰＤ－１または抗ＰＤ－Ｌ１抗体でありうる。

【００２７】

一部の実施形態では、処置もしくは防止、またはそれらの方法は、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の存在、および／またはＶＩＳＴＡを含む複合体により媒介されるシグナル伝達を

検出するステップを含む。一部の実施形態では、対象は、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の存在、および／またはＶＩＳＴＡを含む複合体により媒介されるシグナル伝達が検出される場合に、抗原結合性分子または組成物による処置のために選択される。

【００２８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、本開示に従う組成物により、毎週投与される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、２１日間の投与サイクル内で、１、２、または３回にわたり投与され、任意選択で、処置は、最大で、３５投与サイクルを含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、２１日間の投与サイクル内の、１、８、および／または１５日目に投与され、任意選択で、処置は、最大で、３５投与サイクルを含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、２８日間の投与サイクル内の、１、８、１５、および／または２２日目に投与され、任意選択で、処置は、最大で、３５投与サイクルを含む。

【００２９】

一部の実施形態では、処置もしくは防止、またはそれらの方法は、投与１回当たり、３．５ｍｇ～２２００ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。

【００３０】

一部の実施形態では、処置もしくは防止、またはそれらの方法は、投与１回当たり（最大で、または少なくとも）、３．５ｍｇ、７ｍｇ、１０．５ｍｇ、１７．５ｍｇ、２０ｍｇ、２１ｍｇ、４０ｍｇ、６０ｍｇ、７２ｍｇ、１２０ｍｇ、１８０ｍｇ、２４０ｍｇ、３６０ｍｇ、４００ｍｇ、８００ｍｇ、１２００ｍｇ、１６００ｍｇ、１９００ｍｇ、または２２００ｍｇの抗原結合性分子（例えば、本開示に従う組成物中に）を、例えば、本開示の投与スケジュールに従い投与するステップを含む。

【００３１】

一部の実施形態では、処置もしくは防止、またはそれらの方法は、２１日間の投与サイクル当たり、最大で、１０．５ｍｇ、最大で、２１ｍｇ、最大で、３１．５ｍｇ、最大で、５２．５ｍｇ、最大で、６０ｍｇ、最大で、６３ｍｇ、最大で、１２０ｍｇ、最大で、１８０ｍｇ、最大で、２１６ｍｇ、最大で、３６０ｍｇ、最大で、５４０ｍｇ、最大で、７２０ｍｇ、最大で、１０８０ｍｇ、最大で、１２００ｍｇ、最大で、２４００ｍｇ、最大で、３６００ｍｇ、最大で、４８００ｍｇ、最大で、５７００ｍｇ、または最大で、６６００ｍｇの抗原結合性分子（例えば、本開示に従う組成物中に）を投与するステップを含む。

【発明を実施するための形態】

【００３２】

本発明は、公知の抗ＶＩＳＴＡ抗体と比較して、新規の特性および／または改善された特性を有する、新規のＶＩＳＴＡ結合性分子に関する。

【００３３】

本発明者らは、ＶＩＳＴＡの細胞外領域内の、特に目的となる領域に結合する抗原結合性分子を作出した。本発明のＶＩＳＴＡ結合性分子は、先行技術において開示された、ＶＩＳＴＡ結合性抗原結合性分子と比較して、所望の生物物理的特性および機能的特性の組合せを備えている。

【００３４】

特に、本明細書で記載されるＶＩＳＴＡ結合性分子は、Ｆｃ媒介性機能を要求しない機構を介して、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達をアンタゴナイズすることが可能であることが裏付けられている。本発明者らは、Ｆｃγ受容体および／またはＣ１ｑに結合する能力を欠くＦｃを含む、本明細書で記載されるＶＩＳＴＡ結合性分子が、ｉｎ　ｖｉｖｏにおいて、抗がん治療効果をもたらすことが可能であることを裏付ける。

【００３５】

本発明者らは、初めて、Ｆｃ媒介性のエフェクター機能（例えば、ＶＩＳＴＡ発現細胞に対するＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ／ＣＤＣ）を要求しない機構を通して、直接、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達をアンタゴナイズすることが可能であることを確立する。

【００３６】
本開示のＶＩＳＴＡ結合性分子は、公知の抗ＶＩＳＴＡ抗体によりターゲティングされる領域とは異なる、ＶＩＳＴＡの領域をターゲティングする。ＶＩＳＴＡの特定の領域をターゲティングする抗原結合性分子は、Ｆｃ媒介性のエフェクター機能を要求せずに、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達をアンタゴナイズすることが可能である。
【００３７】
したがって、本明細書で開示されるＶＩＳＴＡ結合性分子は、ＶＩＳＴＡ発現細胞を枯渇させずに、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害するために有用である。ＶＩＳＴＡは、枯渇させることが所望されない細胞上で発現されるため、これは重要である。したがって、本明細書で開示されるＶＩＳＴＡ結合性分子は、所望されない副作用を最小化させながら、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。
【００３８】
本明細書で開示されるＶＩＳＴＡ結合性分子はまた、Ｔ細胞を、ＶＩＳＴＡ媒介性抑制から解放することが可能であることが示されたことも有利である。具体的には、本明細書で開示されるＶＩＳＴＡ結合性分子は、Ｔ細胞の増殖、ならびに、例えば、ＶＩＳＴＡまたはＶＩＳＴＡ発現細胞の存在下で培養されたＴ細胞からの、ＩＦＮγおよびＴＮＦａの産生を増大させることが可能であることを示す。
ＶＩＳＴＡ、結合パートナー、およびＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達
Ｖ－ｔｙｐｅ ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ ｄｏｍａｉｎ－ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ｓｕｐｐｒｅｓｓｏｒ ｏｆ Ｔ－ｃｅｌｌ ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ（ＶＩＳＴＡ；例えば、Ｂ７－Ｈ５、ＳＩＳＰ１、ＰＤ－１Ｈとしてもまた公知である）は、配列番号１に示されるアミノ酸配列（Ｑ９Ｈ７Ｍ９－１、ｖ３）を有する、ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｑ９Ｈ７Ｍ９により同定されるタンパク質である。ＶＩＳＴＡの構造および機能については、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｌｉｎｅｓら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２０１４）、７４（７）：１９２４～１９３２において記載されている。ＶＩＳＴＡは、免疫チェックポイントとして機能し、Ｃ１０ｏｒｆ５４遺伝子によりコードされる、約５０ｋＤａの、Ｉ型１回膜貫通タンパク質である。ＶＩＳＴＡの細胞外ドメインは、ＰＤ－Ｌ１と相同である。
【００３９】
配列番号１の、Ｎ末端の３２アミノ酸は、シグナルペプチドを構成するので、ＶＩＳＴＡの成熟形態（すなわち、シグナルペプチドを除去するプロセシングの後における）は、配列番号２に示されるアミノ酸配列を有する。配列番号１の３３～１９４位は、細胞外ドメイン（配列番号３）を形成し、１９５～２１５位は、膜貫通ドメイン（配列番号４）を形成し、２１６～３１１位は、細胞質ドメイン（配列番号５）を形成する。細胞外ドメインは、Ｉｇ様Ｖ型ドメイン（配列番号６に示される、配列番号１の３３～１６８位）を含む。
【００４０】
本明細書では、「ＶＩＳＴＡ」とは、任意の種に由来するＶＩＳＴＡを指し、任意の種に由来する、ＶＩＳＴＡの、アイソフォーム、断片、変異体（突然変異体を含む）、または相同体を含む。
【００４１】
本明細書で使用される、タンパク質の「断片」、「変異体」、または「相同体」は、任意選択で、参照タンパク質（例えば、参照アイソフォーム）のアミノ酸配列に対する、少なくとも６０％、好ましくは、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のうちの１つのアミノ酸配列同一性を有することとして特徴付けられうる。一部の実施形態では、参照タンパク質の、断片、変異体、アイソフォーム、および相同体は、参照タンパク質により果たされる機能を果たす能力により特徴付けられうる。
【００４２】
「断片」とは、一般に、参照タンパク質の部分を指す。「変異体」とは、一般に、参照

タンパク質のアミノ酸配列と比べて、１つまたは複数のアミノ酸の置換、挿入、欠失、または他の修飾を含むが、参照タンパク質のアミノ酸配列に対する、かなりの程度の配列同一性（例えば、少なくとも６０％）を保持するアミノ酸配列を有するタンパク質を指す。「アイソフォーム」とは、一般に、参照タンパク質の種と同じ種により発現される、参照タンパク質の変異体を指す。「相同体」とは、一般に、参照タンパク質の種と比較して、異なる種により産生される、参照タンパク質の変異体を指す。相同体は、オーソログを含む。

【００４３】

「断片」は、任意の長さ（アミノ酸の数による）でありうるが、任意選択で、参照タンパク質（すなわち、断片が由来するタンパク質）の長さの、少なくとも２０％であることが可能であり、参照タンパク質の長さの、５０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％のうちの１つの、最大の長さを有しうる。ＶＩＳＴＡの断片は、１０、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、２５０、または３００アミノ酸のうちの１つの、最小の長さを有することが可能であり、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、２５０、または３００アミノ酸のうちの１つの、最大の長さを有しうる。

【００４４】

一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡは、哺乳動物に由来するＶＩＳＴＡ（例えば、霊長動物（アカゲザル、カニクイザル、非ヒト霊長動物、またはヒト）、および／または齧歯動物（例えば、ラットまたはマウス）のＶＩＳＴＡ）である。ＶＩＳＴＡの、アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、所与の種、例えば、ヒトに由来する、未成熟または成熟のＶＩＳＴＡアイソフォームのアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有することとして特徴付けられうる。

【００４５】

アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、例えば、機能的特性／活性に適切なアッセイを介する解析により決定する場合、リファレンスＶＩＳＴＡの機能的特性／活性を有する、機能的なアイソフォーム、断片、変異体、または相同体でありうる。例えば、ＶＩＳＴＡのアイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、例えば、ＶＳＩＧ－３、ＬＲＩＧ１、ＶＳＩＧ８および／またはＰＳＧＬ－１との会合を呈しうる。

【００４６】

一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡは、配列番号１または２に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡの断片は、配列番号２、３、または６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる。

【００４７】

ＶＩＳＴＡは、タンパク質のＢ７ファミリーのメンバーであり、主に、白血球により発現され、特に、ＣＤ１４＋単球（単球由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）を含む）およびＣＤ３３＋骨髄細胞により発現される。ＶＩＳＴＡはまた、ＣＤ５６＋　ＮＫ細胞、樹状細胞によっても発現され、より小さな程度で、ＣＤ４＋およびＣＤ８＋　Ｔ細胞上でも発現される。ＶＩＳＴＡは、ＭＤＳＣ、特に、腫瘍浸潤性ＭＤＳＣ上で、高度に発現され、また、腫瘍浸潤性骨髄ＤＣ上（Ｌｅ　Ｍｅｒｃｉｅｒら、Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．（２０１４）、７４（７）：１９３３～４４）のほか、腫瘍関連マクロファージ（ＴＡＭ）上および好中球上でも高度に発現される。

【００４８】

ＶＩＳＴＡは、Ｔ細胞上で、リガンドおよび受容体のいずれとしても、Ｔ細胞のエフェクター機能を阻害し、末梢における寛容を維持するように作用し、ＶＩＳＴＡを過剰発現させるように操作された腫瘍は、免疫によるコントロールを回避し、ＶＩＳＴＡを過剰発現させない腫瘍より、急速に増殖するという証拠がある（Ｗａｎｇら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ．（２０１１）、２０８（３）：５７７～９２；Ｌｉｎｅｓら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２０１４）、７４（７）：１９２４～１９３２）。ＶＩＳＴＡは、ＣＤ４＋ Ｔ細胞上の、共阻害型受容体、またはＴ細胞に対する、共阻害型リガンドであることが示されている。ＶＩＳＴＡ－／－ＣＤ４＋ Ｔ細胞野生型ＣＤ４＋ Ｔ細胞より強い抗原特異的増殖およびサイトカイン産生を呈することが報告されていることから、ＶＩＳＴＡは、ＣＤ４＋ Ｔ細胞上で、阻害型受容体として機能することが示唆される。モノクローナル抗ＶＩＳＴＡ抗体を使用して、ＶＩＳＴＡの機能を遮断することは、腫瘍微小環境における、腫瘍反応性Ｔ細胞の浸潤、増殖、およびエフェクター機能を増強することが示されている（Ｌｅ Ｍｅｒｃｉｅｒら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２０１４）、７４（７）：１９３３～４４）。

【００４９】

ＶＩＳＴＡは、ＶＳＩＧ－３（ＩＧＳＦ１１）と相互作用することが示されている（例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｗａｎｇら、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ（２０１７）、１９８（増刊１号）、１５４．１を参照されたい）。活性化Ｔ細胞上のＶＩＳＴＡを介する、ＶＳＩＧ－３のエンゲージメントは、Ｔ細胞の増殖を阻害し、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、ＩＬ－１７、ＣＣＬ５／ＲＡＮＴＥＳ、ＣＣＬ３／ＭＩＰ－１ａ、およびＣＸＣＬ１１／Ｉ－ＴＡＣなどの、サイトカインおよびケモカインの産生を低減する。

【００５０】

ＶＳＩＧ－３は、ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｑ５ＤＸ２１により同定されるタンパク質である。ヒトＩＧＳＦ１１遺伝子によりコードされるｍＲＮＡの、代替的なスプライシングは、３つの異なるアイソフォーム：アイソフォーム１（ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｑ５ＤＸ２１－１、ｖ３；配列番号７）；１～１７位において、配列番号７と異なる配列を含む、アイソフォーム２（ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｑ５ＤＸ２１－２；配列番号８）；および１～１７位において、配列番号７と異なる配列を含み、また、２１１～２３５位において、配列番号７と異なる配列も含む、アイソフォーム３（ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｑ５ＤＸ２１－３；配列番号９）をもたらす。

【００５１】

配列番号７、８、および９の、Ｎ末端の２２アミノ酸は、シグナルペプチドを構成するので、ＶＳＩＧ－３の成熟形態アイソフォーム１、２、および３（すなわち、シグナルペプチドを除去するプロセシングの後における）は、それぞれ、配列番号１０、１１、および１２に示されるアミノ酸を有する。配列番号７および８の２３～２４１位は、ＶＳＩＧ－３の細胞外ドメインアイソフォーム１および２（配列番号１３）を形成し、配列番号９の２３～２１６位は、ＶＳＩＧ－３の細胞外ドメインアイソフォーム３（配列番号１４）を形成する。ＶＳＩＧ－３の膜貫通ドメインは、配列番号１５に示され、細胞質ドメインは、配列番号１６に示される。細胞外ドメインは、Ｉｇ様Ｖ型ドメイン（配列番号１７に示される）を含み、ＶＳＩＧ－３の細胞外ドメインアイソフォーム１および２は、加えて、Ｉｇ様Ｃ２型ドメイン（配列番号１８に示される）を含む。

【００５２】

本明細書では、「ＶＳＩＧ－３」とは、任意の種に由来するＶＳＩＧ－３を指し、任意の種に由来する、ＶＳＩＧ－３の、アイソフォーム、断片、変異体（突然変異体を含む）、または相同体を含む。

【００５３】

ＶＳＩＧ－３の断片は、１０、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、または４００アミノ酸のうちの１つの、最小の長さを有することが可能であり、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、２５０、３００、３

５０、または４００アミノ酸のうちの１つの、最大の長さを有しうる。

【００５４】

一部の実施形態では、ＶＳＩＧ－３は、哺乳動物に由来するＶＳＩＧ－３（例えば、霊長動物（アカゲザル、カニクイザル、非ヒト霊長動物、またはヒト）、および／または齧歯動物（例えば、ラットまたはマウス）のＶＳＩＧ－３）である。ＶＳＩＧ－３の、アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、所与の種、例えば、ヒトに由来する、未成熟または成熟のＶＳＩＧ－３アイソフォームのアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有することとして特徴付けられうる。

【００５５】

アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、例えば、機能的特性／活性に適切なアッセイを介する解析により決定する場合、参照ＶＳＩＧ－３の機能的特性／活性を有する、機能的なアイソフォーム、断片、変異体、または相同体でありうる。例えば、ＶＳＩＧ－３のアイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、例えば、ＶＩＳＴＡとの会合を呈しうる。

【００５６】

一部の実施形態では、ＶＳＩＧ－３は、配列番号７～１２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる。一部の実施形態では、ＶＳＩＧ－３の断片は、配列番号１０～１４、１７、または１８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる。

【００５７】

ＶＩＳＴＡはまた、ＶＳＩＧ－８と相互作用することも提起されている（例えば、ＷＯ２０１６／０９０３４７Ａ１を参照されたい）。ＶＳＩＧ－８は、ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ０ＤＰＡ２（配列番号１９）により同定されるタンパク質である。配列番号１９の、Ｎ末端の２１アミノ酸は、シグナルペプチドを構成するので、ＶＳＩＧ－８の成熟形態（すなわち、シグナルペプチドを除去するプロセシングの後における）は、配列番号２０に示されるアミノ酸配列を有する。配列番号１９の２２～２６３位は、ＶＳＩＧ－８の細胞外ドメイン（配列番号２１）を形成する。ＶＳＩＧ－８の膜貫通ドメインは、配列番号２２に示され、細胞質ドメインは、配列番号２３に示される。細胞外ドメインは、Ｉｇ様Ｖ型ドメイン１（配列番号２４に示される）と、Ｉｇ様Ｖ型ドメイン２（配列番号２５に示される）とを含む。

【００５８】

本明細書では、「ＶＳＩＧ－８」とは、任意の種に由来するＶＳＩＧ－８を指し、任意の種に由来する、ＶＳＩＧ－８の、アイソフォーム、断片、変異体（突然変異体を含む）、または相同体を含む。

【００５９】

ＶＳＩＧ－８の断片は、１０、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、または４００アミノ酸のうちの１つの、最小の長さを有することが可能であり、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、または４００アミノ酸のうちの１つの、最大の長さを有しうる。

【００６０】

一部の実施形態では、ＶＳＩＧ－８は、哺乳動物に由来するＶＳＩＧ－８（例えば、霊長動物（アカゲザル、カニクイザル、非ヒト霊長動物、またはヒト）、および／または齧歯動物（例えば、ラットまたはマウス）のＶＳＩＧ－８）である。ＶＳＩＧ－８の、アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、所与の種、例えば、ヒトに由

来する、未成熟または成熟のＶＳＩＧ－８アイソフォームのアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有することとして特徴付けられうる。

【００６１】

アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、例えば、機能的特性／活性に適切なアッセイを介する解析により決定する場合、参照ＶＳＩＧ－８の機能的特性／活性を有する、機能的なアイソフォーム、断片、変異体、または相同体でありうる。例えば、ＶＳＩＧ－８のアイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、例えば、ＶＩＳＴＡとの会合を呈しうる。

【００６２】

一部の実施形態では、ＶＳＩＧ－８は、配列番号１９または２０に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる。一部の実施形態では、ＶＳＩＧ－８の断片は、配列番号２０、２１、２４、または２５のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる。

【００６３】

ＶＩＳＴＡはまた、ＰＳＧＬ－１と相互作用することも提起されている（例えば、ＷＯ２０１８／１３２４７６Ａ１を参照されたい）。ＰＳＧＬ－１アイソフォーム１は、ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｑ１４２４２－１（配列番号３２３）により同定されるタンパク質である。ＰＳＧＬ－１アイソフォーム２は、ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｑ１４２４２－２（配列番号３２４）により同定されるタンパク質であり、配列番号３２３の１位の後に、さらなる１６アミノ酸を含む点で、ＰＳＧＬ－１アイソフォーム１と異なる。

【００６４】

配列番号３２３の、Ｎ末端の１７アミノ酸は、シグナルペプチドを構成するので、ＰＳＧＬ－１の成熟形態（すなわち、シグナルペプチドを除去するプロセシングの後における）は、配列番号３２５に示されるアミノ酸配列を有する。配列番号３２３の１８～３２０位は、ＰＳＧＬ－１の細胞外ドメイン（配列番号３２６）を形成する。ＰＳＧＬ－１の膜貫通ドメインは、配列番号３２７に示され、細胞質ドメインは、配列番号３２８に示される。細胞外ドメインは、１２、１０アミノ酸のタンデムリピートを含み、リピート領域は、配列番号３２９に示される。

【００６５】

本明細書では、「ＰＳＧＬ－１」とは、任意の種に由来するＰＳＧＬ－１を指し、任意の種に由来する、ＰＳＧＬ－１の、アイソフォーム、断片、変異体（突然変異体を含む）、または相同体を含む。

【００６６】

ＰＳＧＬ－１の断片は、１０、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、または４００アミノ酸のうちの１つの、最小の長さを有することが可能であり、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、または４００アミノ酸のうちの１つの、最大の長さを有しうる。

【００６７】

一部の実施形態では、ＰＳＧＬ－１は、哺乳動物に由来するＰＳＧＬ－１（例えば、霊長動物（アカゲザル、カニクイザル、非ヒト霊長動物、またはヒト）、および／または齧歯動物（例えば、ラットまたはマウス）のＰＳＧＬ－１）である。ＰＳＧＬ－１の、アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、所与の種、例えば、ヒトに由来する、未成熟または成熟のＰＳＧＬ－１アイソフォームのアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％

、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有することとして特徴付けられうる。

【００６８】

アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、例えば、機能的特性／活性に適切なアッセイを介する解析により決定する場合、参照ＰＳＧＬ－１の機能的特性／活性を有する、機能的なアイソフォーム、断片、変異体、または相同体でありうる。例えば、ＰＳＧＬ－１のアイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、例えば、ＶＩＳＴＡとの会合を呈しうる。

【００６９】

一部の実施形態では、ＰＳＧＬ－１は、配列番号３２３または３２４に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる。一部の実施形態では、ＰＳＧＬ－１の断片は、配列番号３２５、３２６、または３２９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる。

標的分子上の、特に目的となる領域

本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡの、特に目的となる領域をターゲティングするように、特異的にデザインされた。２ステップ法では、予測される抗原性、機能、および安全性についての解析に従い、ターゲティングされるＶＩＳＴＡ領域が選択された。次いで、標的領域に対応するペプチドを、特異的モノクローナル抗体を惹起するための免疫原として使用して、ＶＩＳＴＡの標的領域に特異的な抗体が調製され、後続するスクリーニングは、ナイーブ状態において、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗体を同定した。この手法は、抗体エピトープに対する、精緻な制御をもたらす。

【００７０】

本発明の抗原結合性分子は、それらが結合する、ＶＩＳＴＡの領域を参照することにより規定されうる。本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡの、特に目的となる領域に結合しうる。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、アミノの酸連続配列（すなわち、アミノ酸の一次配列）からなる、ＶＩＳＴＡの直鎖状エピトープに結合しうる。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、アミノ酸配列のうちの、アミノ酸の不連続配列からなる、ＶＩＳＴＡのコンフォメーションエピトープに結合しうる。

【００７１】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡの細胞外領域（例えば、配列番号３に示される領域）に結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡのＩｇ様Ｖ型ドメイン（例えば、配列番号６に示される領域）に結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号１の６１～１６２位に対応する領域（配列番号３１に示される）内で、ＶＩＳＴＡに結合する。

【００７２】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号３２２に示される、ＶＩＳＴＡの領域に結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２６に示される、ＶＩＳＴＡの領域に結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７に示される、ＶＩＳＴＡの領域に結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２８に示される、ＶＩＳＴＡの領域に結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２９に示される、ＶＩＳＴＡの領域に結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号３０に示される、ＶＩＳＴＡの領域に結合する。

【００７３】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７１に示される、ＶＩＳＴＡの領域に結合しない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７２に示される、

ＶＩＳＴＡの領域に結合しない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７３に示される、ＶＩＳＴＡの領域に結合しない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７４に示される、ＶＩＳＴＡの領域に結合しない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７５に示される、ＶＩＳＴＡの領域に結合しない。

【００７４】

抗体が結合する、ペプチド／ポリペプチドの領域は、抗体－抗原複合体についてのＸ線共結晶構造解析、ペプチド走査、突然変異誘発マッピング、質量分析による水素－重水素交換解析、ファージディスプレイ、競合ＥＬＩＳＡ、およびタンパク質分解ベースの「保護」法を含む、当技術分野で周知の、多様な方法を使用して、当業者により決定されうる。このような方法については、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｇｅｒｓｈｏｎｉら、ＢｉｏＤｒｕｇｓ、２００７、２１（３）：１４５～１５６において記載されている。

【００７５】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、本明細書で記載される抗体クローンである、４Ｍ２－Ｃ１２、４Ｍ２－Ｂ４、４Ｍ２－Ｃ９、４Ｍ２－Ｄ９、４Ｍ２－Ｄ５、４Ｍ２－Ａ８、Ｖ４Ｈ１、Ｖ４Ｈ２、Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、Ｖ４－Ｃ３１、２Ｍ１－Ｂ１２、２Ｍ１－Ｄ２、１Ｍ２－Ｄ２、１３Ｄ５ｐ、１３Ｄ５－１、１３Ｄ５－１３、５Ｍ１－Ａ１１または９Ｍ２－Ｃ１２のうちの１つのＶＨ配列およびＶＬ配列を含む抗体が結合するＶＩＳＴＡの領域と同じＶＩＳＴＡ領域、または重複するＶＩＳＴＡの領域に結合することが可能である。

【００７６】

本明細書で使用される、「ペプチド」とは、ペプチド結合により連結された、２つ以上のアミノ酸単量体による鎖を指す。ペプチドは、典型的に、領域内に、約２～５０アミノ酸の長さを有する。「ポリペプチド」とは、２つ以上のペプチドによるポリマー鎖である。ポリペプチドは、典型的に、約５０アミノ酸を超える長さを有する。

【００７７】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、配列番号１、２、３、６、または３１のうちの１つのアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるポリペプチドに結合することが可能である。

【００７８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号３２２のアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるペプチド／ポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２６のアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるペプチド／ポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７のアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるペプチド／ポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２８のアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるペプチド／ポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２９のアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるペプチド／ポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号３０のアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるペプチド／ポリペプチドに結合することが可能である。

【００７９】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７１のアミノ酸配列からなるペプチドに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７２のアミノ酸配列からなるペプチドに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７３のアミノ酸配列からなるペプチドに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７４のアミノ酸配列からなるペプチドに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７５のアミノ酸配列からなるペプチドに結合することが可能ではない

。

【００８０】

抗原結合性分子が、所与のペプチド／ポリペプチドに結合する能力は、ＥＬＩＳＡ、免疫ブロット（例えば、ウェスタンブロット）、免疫沈降、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ；例えば、Ｈｅａｒｔｙら、Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ（２０１２）、９０７：４１１～４４２を参照されたい）、またはバイオレイヤー干渉法（例えば、Ｌａｄら（２０１５）、Ｊ　Ｂｉｏｍｏｌ　Ｓｃｒｅｅｎ、２０（４）：４９８～５０７を参照されたい）による解析を含む、当業者に周知の方法により解析されうる。

【００８１】

抗原結合性分子が、参照アミノ酸配列を含むペプチド／ポリペプチドに結合することが可能である実施形態では、ペプチド／ポリペプチドは、参照アミノ酸配列の、一方または両方の末端において、１つまたは複数の、さらなるアミノ酸を含みうる。一部の実施形態では、ペプチド／ポリペプチドは、参照アミノ酸配列の、一方または両方の末端において、例えば、１～５、１～１０、１～２０、１～３０、１～４０、１～５０、５～１０、５～２０、５～３０、５～４０、５～５０、１０～２０、１０～３０、１０～４０、１０～５０、２０～３０、２０～４０、または２０～５０の、さらなるアミノ酸を含む。

【００８２】

一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡのアミノ酸配列の文脈では、参照配列の一方または両方の末端（すなわち、Ｎ末端およびＣ末端）においてもたらされる、さらなるアミノ酸（複数可）は、参照配列の末端における位置に対応する。例を目的として述べると、抗原結合性分子が、配列番号２６の配列、および配列番号２６のＣ末端における、さらなる、２つのアミノ酸を含むペプチドに結合することが可能である場合、さらなる、２つのアミノ酸は、配列番号１の９０および９１位に対応する、アルギニンおよびアスパラギンでありうる。

【００８３】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、本明細書で記載される抗体クローンである、４Ｍ２－Ｃ１２、４Ｍ２－Ｂ４、４Ｍ２－Ｃ９、４Ｍ２－Ｄ９、４Ｍ２－Ｄ５、４Ｍ２－Ａ８、Ｖ４Ｈ１、Ｖ４Ｈ２、Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、Ｖ４－Ｃ３１、２Ｍ１－Ｂ１２、２Ｍ１－Ｄ２、１Ｍ２－Ｄ２、１３Ｄ５ｐ、１３Ｄ５－１、１３Ｄ５－１３、５Ｍ１－Ａ１１または９Ｍ２－Ｃ１２のうちの１つのＶＨおよびＶＬ配列を含む抗体が結合するペプチド／ポリペプチドに結合することが可能である。

骨髄由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）

骨髄由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）は、免疫抑制性表現型により特徴付けられる、骨髄系列細胞のうちの、非同種の免疫細胞群である。ＭＤＳＣの生物学については、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｋｕｍａｒら、Ｔｒｅｎｄｓ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．（２０１６）、３７（３）：２０８～２２０において総説されている。

【００８４】

ＭＤＳＣは、ＮＡＤＰＨオキシダーゼ（Ｎｏｘ２）の発現の増大、反応性酸素分子種（ＲＯＳ）（スーパーオキサイドアニオン（O^{2-}）、過酸化水素（H_2O_2）、およびペルオキシニトライト（ＰＮＴ；$ONOO^-$）など）の産生の増大；アルギナーゼ１および一酸化窒素シンターゼ２（ｎｏｓ２）の発現の増大、ならびに一酸化窒素（ＮＯ）の産生の増大；ｃ／ＥＢＰβおよびＳＴＡＴ３の発現の増大；ＩＲＦ８の発現の減少；ならびにＳ１００Ａ８／９タンパク質の産生の増大など、これらの細胞を、成熟骨髄細胞（すなわち、マクロファージ、樹状細胞、および好中球）から識別する、多数の生化学的およびゲノム的特色により特徴付けられる。

【００８５】

２つの異なる種類のＭＤＳＣ：形態的かつ表現型的に、好中球に類似する、多型核ＭＤＳＣ（ＰＭＮ－ＭＤＳＣ）と、単球により類似する、単球性ＭＤＳＣ（Ｍ－ＭＤＳＣ）とが存在する。ＭＤＳＣの、形態的かつ表現型的な特徴については、例えば、参照によりそ

の全体において本明細書に組み込まれる、ＭａｒｖｅｌおよびＧａｂｒｉｌｏｖｉｃｈ、Ｊ Ｃｌｉｎ Ｉｎｖｅｓｔ．、２０１５年９月１日、１２５（９）：３３５６～３３６４において記載されている。マウスでは、ＭＤＳＣは、広く、ＣＤ１１ｂ$^{+}$Ｇｒ１$^{+}$細胞として同定される。Ｇｒ－１^{ｈｉ}細胞は、大半が、ＰＭＮ－ＭＤＳＣであり、Ｇｒ－１^{ｌｏ}細胞は、大半が、Ｍ－ＭＤＳＣである。これらのサブセットは、Ｌｙ６ＣおよびＬｙ６Ｇマーカーに基づき、より正確に同定される場合があり、Ｍ－ＭＤＳＣは、ＣＤ１１ｂ$^{+}$Ｌｙ６Ｃ^{ｈｉ}Ｌｙ６Ｇ$^{-}$であり、ＰＭＮ－ＭＤＳＣは、ＣＤ１１ｂ$^{+}$Ｌｙ６Ｃ^{ｌｏ}Ｌｙ６Ｇ$^{+}$である。ヒトでは、ＭＤＳＣは、単核画分内で同定される。ＰＭＮ－ＭＤＳＣは、ＣＤ１４$^{-}$ＣＤ１１ｂ$^{+}$ＣＤ３３$^{+}$ＣＤ１５$^{+}$またはＣＤ６６ｂ$^{+}$細胞であり、Ｍ－ＭＤＳＣは、ＣＤ１４$^{+}$ＨＬＡ－ＤＲ$^{-}$／^{ｌｏ}細胞である。Ｌｉｎ$^{-}$ＨＬＡ－ＤＲ$^{-}$ＣＤ３３$^{+}$ＭＤＳＣの集団は、骨髄前駆細胞についてエンリッチされた混合細胞群を表す。

【００８６】

ＭＤＳＣ媒介性免疫抑制に関与する因子は、アルギナーゼ（ＡＲＧ１）、誘導性ＮＯＳ（ｉＮＯＳ）、ＴＧＦ－β、ＩＬ－１０、およびＣＯＸ２の発現、システインの封鎖、Ｔ細胞による、ｌ－セレクチンの発現の減少、ならびにＴｒｅｇの誘導を含む。Ｍ－ＭＤＳＣと、ＰＭＮ－ＭＤＳＣとは、異なる免疫抑制の機構を利用する。Ｍ－ＭＤＳＣは、ＮＯおよびサイトカインの産生を介して、抗原特異的Ｔ細胞応答および非特異的Ｔ細胞応答のいずれも抑制し、ＰＭＮ－ＭＤＳＣより、強く免疫抑制性である。ＰＭＮ－ＭＤＳＣは、ＲＯＳの産生を介して、免疫応答を、抗原特異的に抑制する。

【００８７】

ＭＤＳＣは、がんおよび感染性疾患の発症および進行に、病理学的に関与する。ＭＤＳＣの、ヒト疾患における役割については、例えば、Ｋｕｍａｒら、Ｔｒｅｎｄｓ Ｉｍｍｕｎｏｌ．（２０１６）、３７（３）：２０８～２２０（参照により本明細書に組み込まれる）；および参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｇｒｅｔｅｎら、Ｉｎｔ Ｉｍｍｕｎｏｐｈａｒｍａｃｏｌ．（２０１１）、１１（７）：８０２～８０７において総説されている。

【００８８】

ＭＤＳＣは、腫瘍組織内に豊富に存在し、複数の機構を介して、がんの発症および進行に寄与し、例えば、Ｕｍａｎｓｋｙら、Ｖａｃｃｉｎｅｓ（Ｂａｓｅｌ）（２０１６）、４（４）：３６において総説されている。ＭＤＳＣは、ケモカインの発現を介して、腫瘍部位へと動員され、腫瘍微小環境内の炎症促進性因子は、ＭＤＳＣによる、免疫抑制性機能の、著明な上方調節を結果としてもたらす。ＭＤＳＣは、エフェクター免疫細胞機能（例えば、エフェクターＴ細胞およびＮＫ細胞の機能）の抑制、制御性Ｔ細胞の産生／活性の促進、ＶＥＧＦおよびｂＦＧＦなど、増殖因子の産生、マトリックスメタロプロテイナーゼなど、ＥＣＭ修飾因子の産生を介して、腫瘍の発症、血管新生、および転移に寄与する。

【００８９】

ＭＤＳＣは、ＶＩＳＴＡの発現に対して特徴付けられうる。本発明の多様な態様についての実施形態では、ＭＤＳＣは、「ＶＩＳＴＡ発現ＭＤＳＣ」または「ＶＩＳＴＡ＋ ＭＤＳＣ」でありうる。ＭＤＳＣは、ＶＩＳＴＡを、細胞表面において発現させうる（すなわち、ＶＩＳＴＡは、細胞膜内または細胞膜において発現されうる）。

抗原結合性分子

本発明は、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗原結合性分子を提供する。

【００９０】

「抗原結合性分子」とは、標的抗原に結合することが可能な分子を指し、それらが、対象とする標的分子（複数可）への結合を呈する限りにおいて、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、単一特異性抗体および多特異性抗体（例えば、二特異性抗体）、ならびに抗体断片（例えば、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、Ｆａｂ、ｓｃＦａｂ、Ｆ（ａｂ’）$_{2}$、Ｆａｂ$_{2}$、ダイアボディー、トリアボディー、ｓｃＦｖ－Ｆｃ、ミニボディー、単一ドメイン抗体（例えば、ＶｈＨ）など）を包含する。

【００９１】
本発明の抗原結合性分子は、標的抗原（複数可）に結合することが可能な部分を含む。一部の実施形態では、標的抗原に結合することが可能な部分は、標的抗原に特異的に結合することが可能な抗体の、抗体重鎖可変領域（ＶＨ）と、抗体軽鎖可変領域（ＶＬ）とを含む。一部の実施形態では、標的抗原に結合することが可能な部分は、標的抗原に結合することが可能なアプタマー、例えば、核酸アプタマー（例えば、ＺｈｏｕおよびＲｏｓｓｉ、Ｎａｔ　Ｒｅｖ　Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖ．、２０１７、１６（３）：１８１～２０２において総説された）を含むか、またはこれからなる。一部の実施形態では、標的抗原に結合することが可能な部分は、抗原結合性ペプチド／ポリペプチド、例えば、ペプチドアプタマー、チオレドキシン、モノボディー、アンチカリン、Ｋｕｎｉｔｚドメイン、アビマー、ノッティン、フィノマー、アトリマー、ＤＡＲＰｉｎ、アフィボディー、ナノボディー（すなわち、単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ））、アフィリン、アルマジロリピートタンパク質（ＡｒｍＲＰ）、ＯＢｏｄｙ、またはフィブロネクチン（例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｒｅｖｅｒｄａｔｔｏら、Ｃｕｒｒ　Ｔｏｐ　Ｍｅｄ　Ｃｈｅｍ．、２０１５、１５（１２）：１０８２～１１０１において総説された（例えば、Ｂｏｅｒｓｍａら、Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ（２０１１）、２８６：４１２７３～８５；およびＥｍａｎｕｅｌら、Ｍａｂ（２０１１）、３：３８～４８もまた参照されたい））を含むか、またはこれからなる。

【００９２】
本発明の抗原結合性分子は、一般に、標的抗原に特異的に結合することが可能な、抗体のＶＨおよびＶＬを含む、抗原結合性ドメインを含む。本明細書では、ＶＨおよびＶＬにより形成される抗原結合性ドメインはまた、Ｆｖ領域とも称される。

【００９３】
抗原結合性分子は、抗原結合性ポリペプチド、または抗原結合性ポリペプチド複合体でありうるか、またはこれを含みうる。抗原結合性分子は、併せて、抗原結合性ドメインを形成する、１つを超えるポリペプチドを含みうる。ポリペプチドは、共有結合的に会合する場合もあり、非共有結合的に会合する場合もある。一部の実施形態では、ポリペプチドは、ポリペプチドを含むより大型ポリペプチドの一部を形成する（例えば、ＶＨおよびＶＬを含むｓｃＦｖの場合、またはＶＨ－ＣＨ１およびＶＬ－ＣＬを含むｓｃＦａｂの場合において）。

【００９４】
抗原結合性分子は、１つを超えるポリペプチド（例えば、２つ、３つ、４つ、６つ、または８つのポリペプチド）、例えば、２つの重鎖ポリペプチドと、２つの軽鎖ポリペプチドとを含む、ＩｇＧ様抗原結合性分子の、非共有結合的または共有結合的複合体を指す場合がある。

【００９５】
本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な、モノクローナル抗体（ｍＡｂ）の配列を使用して、デザインおよび調製されうる。単鎖可変断片（ｓｃＦｖ）、Ｆａｂ、およびＦ（ａｂ’）$_2$断片など、抗体の抗原結合性領域もまた、使用されうる／もたらされうる。「抗原結合性領域」とは、所与の抗体が特異的である標的に結合することが可能な抗体の、任意の断片である。

【００９６】
抗体は、一般に、重鎖可変（ＶＨ）領域内の３つ：ＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、およびＨＣ－ＣＤＲ３、ならびに軽鎖可変（ＶＬ）領域内の３つ：ＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、およびＬＣ－ＣＤＲ３である、６つの相補性決定領域であるＣＤＲを含む。６つのＣＤＲは、併せて、標的抗原に結合する、抗体の部分である、抗体のパラトープを規定する。

【００９７】
ＶＨ領域およびＶＬ領域は、各ＣＤＲのいずれの側にも、ＣＤＲのための足場をもたらす、フレームワーク領域（ＦＲ）を含む。Ｎ末端から、Ｃ末端へと、ＶＨ領域は、以下の

構造：Ｎ末端－［ＨＣ－ＦＲ１］－［ＨＣ－ＣＤＲ１］－［ＨＣ－ＦＲ２］－［ＨＣ－ＣＤＲ２］－［ＨＣ－ＦＲ３］－［ＨＣ－ＣＤＲ３］－［ＨＣ－ＦＲ４］－Ｃ末端を含み、ＶＬ領域は、以下の構造：Ｎ末端－［ＬＣ－ＦＲ１］－［ＬＣ－ＣＤＲ１］－［ＬＣ－ＦＲ２］－［ＬＣ－ＣＤＲ２］－［ＬＣ－ＦＲ３］－［ＬＣ－ＣＤＲ３］－［ＬＣ－ＦＲ４］－Ｃ末端を含む。

【００９８】

Ｋａｂａｔら、「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ」、５版、Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤ（１９９１）；Ｃｈｏｔｈｉａら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、１９６：９０１～９１７（１９８７）において記載された慣例、ならびにＲｅｔｔｅｒら、Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．、（２００５）、３３（増刊１号）：Ｄ６７１～Ｄ６７４において記載されたＶＢＡＳＥ２など、抗体のＣＤＲおよびＦＲを規定するための、いくつかの異なる慣例が存在する。本明細書で記載される抗体クローンの、ＶＨ領域およびＶＬ領域のＣＤＲおよびＦＲは、Ｌｅｆｒａｎｃら、Ｄｅｖ．Ｃｏｍｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（２００３）、２７：５５～７７において記載された、ＩＭＧＴ Ｖドメイン番号付け規則を使用する、ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＩＭＧＴ（ＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓ）ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ ｓｙｓｔｅｍ（ＬｅＦｒａｎｃら、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．（２０１５）、４３（データベース号）：Ｄ４１３～２２）に従い規定された。

【００９９】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗原結合性分子のＣＤＲを含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗原結合性分子のＦＲを含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗原結合性分子のＣＤＲおよびＦＲを含む。すなわち、一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗原結合性分子のＶＨ領域およびＶＬ領域を含む。

【０１００】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、本明細書で記載されるＶＩＳＴＡ結合性抗体クローン（すなわち、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、４Ｍ２－Ｃ１２、４Ｍ２－Ｂ４、４Ｍ２－Ｃ９、４Ｍ２－Ｄ９、４Ｍ２－Ｄ５、４Ｍ２－Ａ８、Ｖ４Ｈ１、Ｖ４Ｈ２、Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、Ｖ４－Ｃ３１、２Ｍ１－Ｂ１２、２Ｍ１－Ｄ２、１Ｍ２－Ｄ２、１３Ｄ５ｐ、１３Ｄ５－１、１３Ｄ５－１３、５Ｍ１－Ａ１１または９Ｍ２－Ｃ１２）のＶＨ／ＶＬ領域であるか、またはこれらに由来する、ＶＨ領域およびＶＬ領域を含む。

【０１０１】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、下記の（１）～（１８）のうちの１つに従うＶＨ領域を含む。

【０１０２】

（１）（４Ｍ２－Ｃ１２由来のコンセンサス）以下のＣＤＲ：
配列番号３０５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号３０６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号３０７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１０３】

（２）（Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、Ｖ４－Ｃ３１）以下のＣＤＲ：
配列番号２９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２９１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２

配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１０４】

（３）（Ｖ４－Ｃ１）以下のＣＤＲ：
配列番号３３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２７７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、またはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１０５】

（４）（Ｖ４－Ｃ９）以下のＣＤＲ：
配列番号３３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２８６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、またはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１０６】

（５）（４Ｍ２－Ｃ１２／Ｖ４Ｈ１／Ｖ４Ｈ２コンセンサス）以下のＣＤＲ：
配列番号２４４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号３４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号３５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、またはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１０７】

（６）（４Ｍ２－Ｃ１２、４Ｍ２－Ｂ４、Ｖ４Ｈ２）以下のＣＤＲ：
配列番号３３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号３４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号３５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、またはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１０８】

（７）（Ｖ４Ｈ１）以下のＣＤＲ：
配列番号５３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号３４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号３５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、またはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１０９】

（８）（２Ｍ１－Ｂ１２、２Ｍ１－Ｄ２）以下のＣＤＲ：
配列番号７２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号７３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号７４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、またはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数

における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１１０】

（９）（４Ｍ２－Ｃ９、５Ｍ１－Ａ１１）以下のＣＤＲ：

配列番号８８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１

配列番号８９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２

配列番号９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、

またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１１１】

（１０）（４Ｍ２－Ｄ９）以下のＣＤＲ：

配列番号３３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１

配列番号１０７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２

配列番号１０８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、

またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１１２】

（１１）（１Ｍ２－Ｄ２）以下のＣＤＲ：

配列番号１２０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１

配列番号１２１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２

配列番号１２２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、

またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１１３】

（１２）（４Ｍ２－Ｄ５）以下のＣＤＲ：

配列番号１４４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１

配列番号１４５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２

配列番号１４６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、

またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１１４】

（１３）（４Ｍ２－Ａ８）以下のＣＤＲ：

配列番号１５８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１

配列番号１５９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２

配列番号１６０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、

またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、またはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１１５】

（１４）（９Ｍ２－Ｃ１２）以下のＣＤＲ：

配列番号１６９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１

配列番号１７０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２

配列番号１７１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、

またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１１６】
（１５）（１３Ｄ５由来）以下のＣＤＲ：
配列番号７２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１８４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２４６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。
【０１１７】
（１６）（１３Ｄ５ｐ）以下のＣＤＲ：
配列番号７２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１８４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号１８５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。
【０１１８】
（１７）（１３Ｄ５－１）以下のＣＤＲ：
配列番号７２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１８４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号１９５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。
【０１１９】
（１８）（１３Ｄ５－１３）以下のＣＤＲ：
配列番号７２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１８４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２００のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。
【０１２０】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、下記の（１９）～（３５）のうちの１つに従うＶＨ領域を含む。
【０１２１】
（１９）（Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、Ｖ４－Ｃ３１）以下のＦＲ：
配列番号６３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号２９２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号２９３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号２８１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。
【０１２２】
（２０）（Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９）以下のＦＲ：
配列番号６３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号２７９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号２８０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３

配列番号２８１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、またはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１２３】

（２１）（４Ｍ２－Ｃ１２）以下のＦＲ：
配列番号３６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号３７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号３８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号３９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、またはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１２４】

（２２）（４Ｍ２－Ｂ４）以下のＦＲ：
配列番号４９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号３７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号３８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号３９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、またはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１２５】

（２３）（Ｖ４Ｈ１）以下のＦＲ：
配列番号５４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号５５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号５６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号３９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１２６】

（２４）（Ｖ４Ｈ２）以下のＦＲ：
配列番号６３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号６４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号６５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号３９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１２７】

（２５）（２Ｍ１－Ｂ１２）以下のＦＲ：
配列番号７５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号７６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号７７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１２８】

（２６）（４Ｍ２－Ｃ９）以下のＦＲ：
配列番号９１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号９２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号９３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号９４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１２９】

（２７）（２Ｍ１－Ｄ２）以下のＦＲ：
配列番号１０３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号７６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号７７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１３０】

（２８）（４Ｍ２－Ｄ９）以下のＦＲ：
配列番号１０９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号１１０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号１１１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号１１２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１３１】

（２９）（１Ｍ２－Ｄ２）以下のＦＲ：
配列番号１２３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号１２４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号１２５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１３２】

（３０）（５Ｍ１－Ａ１１）以下のＦＲ：
配列番号１３４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号９２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号９３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号１３５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、
またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１３３】

（３１）（４Ｍ２－Ｄ５）以下のＦＲ：
配列番号１４７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１
配列番号１４８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２
配列番号１４９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３
配列番号１３５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、

またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１３４】

（３２）（４Ｍ２－Ａ８）以下のＦＲ：

配列番号１６１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１

配列番号１６２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２

配列番号１６３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３

配列番号１３５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、

またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１３５】

（３３）（９Ｍ２－Ｃ１２）以下のＦＲ：

配列番号１７２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１

配列番号１７３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２

配列番号１７４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３

配列番号１７５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、

またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１３６】

（３４）（１３Ｄ５ｐ、１３Ｄ５－１）以下のＦＲ：

配列番号１０３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１

配列番号１８６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２

配列番号１８７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３

配列番号８６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、

またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１３７】

（３５）（１３Ｄ５－１３）以下のＦＲ：

配列番号１０３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ１

配列番号１８６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ２

配列番号２０１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ３

配列番号８６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＦＲ４、

またはＨＣ－ＦＲ１、ＨＣ－ＦＲ２、ＨＣ－ＦＲ３、もしくはＨＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。

【０１３８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、上記の（１）～（１８）のうちの１つに従うＣＤＲと、上記の（１９）～（３５）のうちの１つに従うＦＲとを含むＶＨ領域を含む。

【０１３９】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、下記の（３６）～（５７）のうちの１つに従うＶＨ領域を含む。

【０１４０】

（３６）（１）に従うＣＤＲと、（１９）、（２０）、（２１）、（２２）、（２３）、または（２４）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。

【０１４１】

（３７）（２）に従うＣＤＲと、（１９）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。

【０１４２】
（３８）（３）に従うＣＤＲと、（２０）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１４３】
（３９）（４）に従うＣＤＲと、（２０）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１４４】
（４０）（５）に従うＣＤＲと、（２１）、（２２）、（２３）、または（２４）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１４５】
（４１）（６）に従うＣＤＲと、（２１）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１４６】
（４２）（６）に従うＣＤＲと、（２２）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１４７】
（４３）（６）に従うＣＤＲと、（２４）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１４８】
（４４）（７）に従うＣＤＲと、（２３）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１４９】
（４５）（８）に従うＣＤＲと、（２５）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１５０】
（４６）（８）に従うＣＤＲと、（２７）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１５１】
（４７）（９）に従うＣＤＲと、（２６）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１５２】
（４８）（９）に従うＣＤＲと、（３０）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１５３】
（４９）（１０）に従うＣＤＲと、（２８）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１５４】
（５０）（１１）に従うＣＤＲと、（２９）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１５５】
（５１）（１２）に従うＣＤＲと、（３１）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１５６】
（５２）（１３）に従うＣＤＲと、（３２）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１５７】
（５３）（１４）に従うＣＤＲと、（３３）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１５８】
（５４）（１５）に従うＣＤＲと、（３４）または（３５）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１５９】
（５５）（１６）に従うＣＤＲと、（３４）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１６０】
（５６）（１７）に従うＣＤＲと、（３４）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１６１】
（５７）（１８）に従うＣＤＲと、（３５）に従うＦＲとを含むＶＨ領域。
【０１６２】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、下記の（５８）～（７６）のうちの１つに従うＶＨ領域を含む。
【０１６３】
（５８）配列番号２７６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。

【０１６４】
（５９）配列番号２８５のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１６５】
（６０）配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１６６】
（６１）配列番号３２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１６７】
（６２）配列番号４８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１６８】
（６３）配列番号５２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１６９】
（６４）配列番号６２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１７０】
（６５）配列番号７１のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１７１】
（６６）配列番号８７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１７２】
（６７）配列番号１０２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１７３】
（６８）配列番号１０６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。

【０１７４】
（６９）配列番号１１９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１７５】
（７０）配列番号１３３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１７６】
（７１）配列番号１４３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１７７】
（７２）配列番号１５７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１７８】
（７３）配列番号１６８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１７９】
（７４）配列番号１８３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１８０】
（７５）配列番号１９４のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１８１】
（７６）配列番号１９９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域。
【０１８２】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、下記の（７７）～（９６）のうちの１つに従うＶＬ領域を含む。
【０１８３】
（７７）（４Ｍ２－Ｃ１２由来のコンセンサス）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号３０８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された

、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０１８４】
（７８）（Ｃ２４／Ｃ２６／Ｃ２７コンセンサス）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号３０９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、またはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０１８５】
（７９）（Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号２９５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、またはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０１８６】
（８０）（Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ３０、Ｖ４－Ｃ３１）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号３００のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０１８７】
（８１）（４Ｍ２－Ｃ１２／Ｖ４Ｈ１／Ｖ４Ｈ２コンセンサス）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号２４５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、またはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０１８８】
（８２）（４Ｍ２－Ｃ１２、４Ｍ２－Ｂ４、Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２８）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号４２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０１８９】
（８３）（Ｖ４Ｈ１）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号５８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０１９０】
（８４）（Ｖ４Ｈ２）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号６７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０１９１】
（８５）（２Ｍ１－Ｂ１２、２Ｍ１－Ｄ２）以下のＣＤＲ：
配列番号８０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号８１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号８２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０１９２】
（８６）（４Ｍ２－Ｃ９）以下のＣＤＲ：
配列番号９６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号９７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号９８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０１９３】
（８７）（４Ｍ２－Ｄ９）以下のＣＤＲ：
配列番号１１４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号６７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１１５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＨ領域。
【０１９４】
（８８）（１Ｍ２－Ｄ２）以下のＣＤＲ：
配列番号１２７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１２８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１２９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０１９５】
（８９）（５Ｍ１－Ａ１１）以下のＣＤＲ：
配列番号１３７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１３８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１３９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０１９６】
（９０）（４Ｍ２－Ｄ５）以下のＣＤＲ：

配列番号１５１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１５２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１５３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、またはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０１９７】

（９１）（４Ｍ２－Ａ８）以下のＣＤＲ：
配列番号１６５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１５２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１５３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０１９８】

（９２）（９Ｍ２－Ｃ１２）以下のＣＤＲ：
配列番号１７７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１７８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１７９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０１９９】

（９３）（１３Ｄ５ｐ由来）以下のＣＤＲ：
配列番号２４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１７８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１９０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２００】

（９４）（１３Ｄ５ｐ）以下のＣＤＲ：
配列番号１８９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１７８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１９０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、もしくはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２０１】

（９５）（１３Ｄ５－１）以下のＣＤＲ：
配列番号１９７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１７８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１９０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、またはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２０２】

（９６）（１３Ｄ５－１３）以下のＣＤＲ：
配列番号２０３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１７８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２

配列番号１９０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３；
またはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２、またはＬＣ－ＣＤＲ３のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２０３】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、下記の（９７）～（１２０）のうちの１つに従うＶＬ領域を含む。

【０２０４】

（９７）（Ｖ４－Ｃ１）以下のＦＲ：
配列番号５９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号２８３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号２８４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２０５】

（９８）（Ｖ４－Ｃ９）以下のＦＲ：
配列番号２８８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号２８３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号２８４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、またはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２０６】

（９９）（Ｖ４－Ｃ２４）以下のＦＲ：
配列番号２８８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号２８３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号２９６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、またはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２０７】

（１００）（Ｖ４－Ｃ２６）以下のＦＲ：
配列番号２８８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号２９８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号２８４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、またはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２０８】

（１０１）（Ｖ４－Ｃ２７）以下のＦＲ：
配列番号２８８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号２８３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号２８４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、またはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つま

たは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２０９】

（１０２）（Ｖ４－Ｃ２８）以下のＦＲ：

配列番号２８８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１

配列番号２８３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２

配列番号２９６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３

配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、

またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２１０】

（１０３）（Ｖ４－Ｃ３０）以下のＦＲ：

配列番号２８８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１

配列番号２８３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２

配列番号２９６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３

配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、

またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、またはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２１１】

（１０４）（Ｖ４－Ｃ３１）以下のＦＲ：

配列番号２８８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１

配列番号２８３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２

配列番号３０４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３

配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、

またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、またはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２１２】

（１０５）（４Ｍ２－Ｃ１２）以下のＦＲ：

配列番号４４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１

配列番号４５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２

配列番号４６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３

配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、

またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、またはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つまたは複数における、１つまたは２つまたは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２１３】

（１０６）（４Ｍ２－Ｂ４）以下のＦＲ：

配列番号５１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１

配列番号４５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２

配列番号４６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３

配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、

またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２１４】

（１０７）（Ｖ４Ｈ１）以下のＦＲ：

配列番号５９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１

配列番号６０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号６１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２１５】

（１０８）（Ｖ４Ｈ２）以下のＦＲ：
配列番号６８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号６９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号７０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２１６】

（１０９）（２Ｍ１－Ｂ１２）以下のＦＲ：
配列番号８３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号８４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号８５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２１７】

（１１０）（４Ｍ２－Ｃ９）以下のＦＲ：
配列番号９９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号１００のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号１０１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２１８】

（１１１）（２Ｍ１－Ｄ２）以下のＦＲ：
配列番号１０５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号８４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号８５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２１９】

（１１２）（４Ｍ２－Ｄ９）以下のＦＲ：
配列番号１１６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号１１７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号１１８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置

換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０２２０】
（１１３）（１Ｍ２－Ｄ２）以下のＦＲ：
配列番号１３０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号１３１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号１３２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０２２１】
（１１４）（５Ｍ１－Ａ１１）以下のＦＲ：
配列番号１４０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号１４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号１４２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０２２２】
（１１５）（４Ｍ２－Ｄ５）以下のＦＲ：
配列番号１５４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号１５５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号１５６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０２２３】
（１１６）（４Ｍ２－Ａ８）以下のＦＲ：
配列番号１６６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号１５５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号１６７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０２２４】
（１１７）（９Ｍ２－Ｃ１２）以下のＦＲ：
配列番号１８０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号１８１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号１８２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。
【０２２５】
（１１８）（１３Ｄ５ｐ）以下のＦＲ：
配列番号１９１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号１９２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２

配列番号１９３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２２６】

（１１９）（１３Ｄ５－１）以下のＦＲ：
配列番号１９１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号１９８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号１９３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２２７】

（１２０）（１３Ｄ５－１３）以下のＦＲ：
配列番号１９１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ１
配列番号１９２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ２
配列番号２０４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ３
配列番号８６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＦＲ４、
またはＬＣ－ＦＲ１、ＬＣ－ＦＲ２、ＬＣ－ＦＲ３、もしくはＬＣ－ＦＲ４のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだＶＬ領域。

【０２２８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、上記の（７７）～（９６）のうちの１つに従うＣＤＲと、上記の（９７）～（１２０）のうちの１つに従うＦＲとを含むＶＬ領域を含む。

【０２２９】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、下記の（１２１）～（１４８）のうちの１つに従うＶＬ領域を含む。

【０２３０】

（１２１）（７７）に従うＣＤＲと、（９７）、（９８）、（９９）、（１００）、（１０１）、（１０２）、（１０３）、（１０４）、（１０５）、（１０６）、（１０７）または（１０８）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。

【０２３１】

（１２２）（７８）に従うＣＤＲと、（９９）、（１００）、または（１０１）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。

【０２３２】

（１２３）（７９）に従うＣＤＲと、（９９）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。

【０２３３】

（１２４）（７９）に従うＣＤＲと、（１００）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。

【０２３４】

（１２５）（８０）に従うＣＤＲと、（１０１）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。

【０２３５】

（１２６）（８２）に従うＣＤＲと、（９７）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。

【０２３６】

（１２７）（８２）に従うＣＤＲと、（９８）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。

【０２３７】

（１２８）（８２）に従うＣＤＲと、（１０２）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。

【０２３８】

（１２９）（８０）に従うＣＤＲと、（１０３）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２３９】
（１３０）（８０）に従うＣＤＲと、（１０４）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２４０】
（１３１）（８１）に従うＣＤＲと、（１０５）、（１０６）、（１０７）、または（１０８）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２４１】
（１３２）（８２）に従うＣＤＲと、（１０５）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２４２】
（１３３）（８２）に従うＣＤＲと、（１０６）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２４３】
（１３４）（８３）に従うＣＤＲと、（１０７）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２４４】
（１３５）（８４）に従うＣＤＲと、（１０８）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２４５】
（１３６）（８５）に従うＣＤＲと、（１０９）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２４６】
（１３７）（８５）に従うＣＤＲと、（１１１）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２４７】
（１３８）（８６）に従うＣＤＲと、（１１０）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２４８】
（１３９）（８７）に従うＣＤＲと、（１１２）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２４９】
（１４０）（８８）に従うＣＤＲと、（１１３）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２５０】
（１４１）（８９）に従うＣＤＲと、（１１４）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２５１】
（１４２）（９０）に従うＣＤＲと、（１１５）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２５２】
（１４３）（９１）に従うＣＤＲと、（１１６）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２５３】
（１４４）（９２）に従うＣＤＲと、（１１７）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２５４】
（１４５）（９３）に従うＣＤＲと、（１１８）、（１１９）、または（１２０）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２５５】
（１４６）（９４）に従うＣＤＲと、（１１８）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２５６】
（１４７）（９５）に従うＣＤＲと、（１１９）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２５７】
（１４８）（９６）に従うＣＤＲと、（１２０）に従うＦＲとを含むＶＬ領域。
【０２５８】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、下記の（１４９）～（１７３）のうちの１つに従うＶＬ領域を含む。
【０２５９】
（１４９）配列番号３１０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。
【０２６０】

（１５０）配列番号２８２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２６１】

（１５１）配列番号２８７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２６２】

（１５２）配列番号２９４のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２６３】

（１５３）配列番号２９７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２６４】

（１５４）配列番号２９９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２６５】

（１５５）配列番号３０１のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２６６】

（１５６）配列番号３０２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２６７】

（１５７）配列番号３０３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２６８】

（１５８）配列番号４０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２６９】

（１５９）配列番号５０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２７０】

（１６０）配列番号５７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２７１】

（１６１）配列番号６６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２７２】

（１６２）配列番号７９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２７３】

（１６３）配列番号９５のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２７４】

（１６４）配列番号１０４のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２７５】

（１６５）配列番号１１３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２７６】

（１６６）配列番号１２６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２７７】

（１６７）配列番号１３６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２７８】

（１６８）配列番号１５０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２７９】

（１６９）配列番号１６４のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２８０】

（１７０）配列番号１７６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２８１】

（１７１）配列番号１８８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２８２】

（１７２）配列番号１９６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２８３】

（１７３）配列番号２０２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域。

【０２８４】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、上記の（１）～（７６）のうちのいずれか１つに従うＶＨ領域と、上記の（７７）～（１７３）のうちのいずれか１つに従うＶＬ領域とを含む。

【０２８５】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および

配列番号２９７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性、より好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域

を含む。

【０２８６】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号３１５のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる、１つまたは複数の（例えば、２つの）ポリペプチド；および

（ｉｉ）配列番号３１７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる、１つまたは複数の（例えば、２つの）ポリペプチド

を含むか、またはこれらからなる。

【０２８７】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号３３１のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、少な

くとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる、１つまたは複数の（例えば、２つの）ポリペプチド；および

（ｉｉ）配列番号３１７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる、１つまたは複数の（例えば、２つの）ポリペプチド

を含むか、またはこれらからなる。

【０２８８】

１つまたは複数のアミノ酸が、別のアミノ酸で置換される、本発明に従う実施形態では、置換は、例えば、以下の表に従う、保存的置換でありうる。一部の実施形態では、中欄の同じブロック内のアミノ酸が置換される。一部の実施形態では、最も右の欄の同じ連なりのアミノ酸が置換される。

【０２８９】

【表１】

脂肪族	非極性	GAP
		ILV
	極性(非帯電)	CSTM
		NQ
	極性(帯電)	DE
		KR
芳香族		HFWY

一部の実施形態では、置換（複数可）は、機能的に保存的でありうる。すなわち、一部の実施形態では、置換は、同等の非置換分子と比較して置換を含む抗原結合性分子の、１つまたは複数の機能的特性（例えば、標的への結合）に影響を及ぼさない場合がある（またはこれに実質的に影響を及ぼさない場合がある）。

【０２９０】

抗体の抗原結合性領域の、ＶＨおよびＶＬ領域は、併せて、Ｆｖ領域を構成する。一部の実施形態では、本発明に従う抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合するＦｖ領域を含むか、またはこれらからなる。一部の実施形態では、ＦｖのＶＨおよびＶＬ領域は、リンカー領域により接合された、単一のポリペプチド、すなわち、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として提供される。

【０２９１】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、免疫グロブリンの重鎖定常配列の、１つまたは複数の領域を含む。一部の実施形態では、免疫グロブリンの重鎖定常配列は、ＩｇＧ（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４）、ＩｇＡ（例えば、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２）、ＩｇＤ、ＩｇＥ、またはＩｇＭの重鎖定常配列であるか、またはこれらに由来する。

【０２９２】

一部の実施形態では、免疫グロブリンの重鎖定常配列は、ヒト免疫グロブリンＧ１定常配列（ＩＧＨＧ１；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ０１８５７－１、ｖ１；配列番号２０５）である。配列番号２０５の１～９８位は、ＣＨ１領域（配列番号２０６）を形成する。配列番号２０５の９９～１１０位は、ＣＨ１とＣＨ２領域との間のヒンジ領域（配列番号２０７）を形成する。配列番号２０５の１１１～２２３位は、ＣＨ２領域（配列番号２０８）を形成する。配列番号２０５の２２４～３３０位は、ＣＨ３領域（配列番号２０９）を形成する。

【０２９３】

例示される抗原結合性分子は、ＣＨ３領域内に、置換である、Ｄ３５６Ｅ、Ｌ３５８Ｍ

（ＥＵ番号付けに従い番号付けされた位置）を含む、ｐＦＵＳＥ－ＣＨＩｇ－ｈＧ１を使用して調製されうる。ｐＦＵＳＥ－ＣＨＩｇ－ｈＧ１によりコードされるＣＨ３領域のアミノ酸配列を、配列番号２１０に示す。ＣＨ３領域は、本明細書で記載される抗原結合性分子のＦｃ領域への修飾に従い、さらなる置換を施されうることが理解されるであろう。

【０２９４】

一部の実施形態では、ＣＨ１領域は、配列番号２０６の配列、または配列番号２０６のアミノ酸配列に対する、少なくとも６０％、好ましくは、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％のうちの１つのアミノ酸配列同一性を有する配列を含むか、またはこれらからなる。一部の実施形態では、ＣＨ１－ＣＨ２間のヒンジ領域は、配列番号２０７の配列、または配列番号２０７のアミノ酸配列に対する、少なくとも６０％、好ましくは、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％のうちの１つのアミノ酸配列同一性を有する配列を含むか、またはこれらからなる。一部の実施形態では、ＣＨ２領域は、配列番号２０８の配列、または配列番号２０８のアミノ酸配列に対する、少なくとも６０％、好ましくは、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％のうちの１つのアミノ酸配列同一性を有する配列を含むか、またはこれらからなる。一部の実施形態では、ＣＨ３領域は、配列番号２０９もしくは２１０の配列、または配列番号２０９もしくは２１０のアミノ酸配列に対する、少なくとも６０％、好ましくは、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％のうちの１つのアミノ酸配列同一性を有する配列を含むか、またはこれらからなる。

【０２９５】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、免疫グロブリンの軽鎖定常配列の、１つまたは複数の領域を含む。一部の実施形態では、免疫グロブリンの軽鎖定常配列は、ヒト免疫グロブリンカッパ定常配列（ＩＧＫＣ；Ｃκ；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ０１８３４－１、ｖ２；配列番号２１１）である。一部の実施形態では、免疫グロブリンの軽鎖定常配列は、ヒト免疫グロブリンラムダ定常配列（ＩＧＬＣ；Ｃλ）、例えば、ＩＧＬＣ１、ＩＧＬＣ２、ＩＧＬＣ３、ＩＧＬＣ６、またはＩＧＬＣ７である。一部の実施形態では、ＣＬ領域は、配列番号２１１の配列、または配列番号２１１のアミノ酸配列に対する、少なくとも６０％、好ましくは、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％のうちの１つのアミノ酸配列同一性を有する配列を含むか、またはこれらからなる。

【０２９６】

抗体の抗原結合性領域の、ＶＬおよび軽鎖定常（ＣＬ）領域、ならびにＶＨ領域および重鎖定常１（ＣＨ１）領域は、併せて、Ｆａｂ領域を構成する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＨ、ＣＨ１、ＶＬ、ＣＬ（例えば、ＣκまたはＣλ）を含むＦａｂ領域を含む。一部の実施形態では、Ｆａｂ領域は、ＶＨとＣＨ１とを含むポリペプチド（例えば、ＶＨ－ＣＨ１融合ポリペプチド）、およびＶＬとＣＬとを含むポリペプチド（例えば、ＶＬ－ＣＬ融合ポリペプチド）を含む。一部の実施形態では、Ｆａｂ領域は、ＶＨとＣＬとを含むポリペプチド（例えば、ＶＨ－ＣＬ融合ポリペプチド）、およびＶＬとＣＨとを含むポリペプチド（例えば、ＶＬ－ＣＨ１融合ポリペプチド）を含む；すなわち、一部の実施形態では、Ｆａｂ領域は、ＣｒｏｓｓＦａｂ領域である。一部の実施形態では、ＦａｂまたはＣｒｏｓｓＦａｂの、ＶＨ、ＣＨ１、ＶＬ、およびＣＬ領域は、リンカー領域により接合された、単一のポリペプチド、すなわち、単鎖Ｆａｂ（ｓｃＦａｂ）または単鎖ＣｒｏｓｓＦａｂ（ｓｃＣｒｏｓｓＦａｂ）として提供される。

【０２９７】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合するＦａｂ領域を含むか、またはこれらからなる。

【０２９８】
一部の実施形態では、本明細書で記載される抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合する全抗体を含むか、またはこれらからなる。本明細書で使用される、「全抗体」とは、免疫グロブリン（Ｉｇ）の構造と、実質的に同様の構造を有する抗体を指す。異なる種類の免疫グロブリン、およびそれらの構造については、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、ＳｃｈｒｏｅｄｅｒおよびＣａｖａｃｉｎｉ、Ｊ Ａｌｌｅｒｇｙ Ｃｌｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ.（２０１０）、１２５（２０２）：Ｓ４１～Ｓ５２において記載されている。
【０２９９】
Ｇ型の免疫グロブリン（すなわち、ＩｇＧ）は、２つの重鎖と、２つの軽鎖とを含む、約１５０ｋＤａの糖タンパク質である。Ｎ末端から、Ｃ末端へと、重鎖は、ＶＨに続き、３つの定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２、およびＣＨ３）を含む、重鎖定常領域を含み、同様に、軽鎖は、ＶＬに続き、ＣＬを含む。重鎖に応じて、免疫グロブリンは、ＩｇＧ（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４）、ＩｇＡ（例えば、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２）、ＩｇＤ、ＩｇＥ、またはＩｇＭと分類されうる。軽鎖は、カッパ（κ）鎖の場合もあり、ラムダ（λ）鎖の場合もある。
【０３００】
一部の実施形態では、本明細書で記載される抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合するＩｇＧ（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４）、ＩｇＡ（例えば、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２）、ＩｇＤ、ＩｇＥ、またはＩｇＭを含むか、またはこれらからなる。
【０３０１】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに対して、少なくとも一価の結合性分子である。結合価とは、所与の抗原決定基についての、抗原結合性分子内の結合性部位の数を指す。したがって、一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに対する、少なくとも１つの結合性部位を含む。
【０３０２】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに対する、１つを超える結合性部位、例えば、２つ、３つ、または４つの結合性部位を含む。結合性部位は、同じ場合もあり、異なる場合もある。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに対して、例えば、二価、三価、または四価である。
【０３０３】
本発明の態様は、多特異性の抗原結合性分子に関する。「多特異性」とは、抗原結合性分子が、１つを超える標的への特異的結合をもたらすことを意味する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、二特異性の抗原結合性分子である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、少なくとも２つの、異なる抗原結合性ドメイン（すなわち、例えば、同一でないＶＨおよびＶＬを含む、少なくとも２つの抗原結合性ドメイン）を含む。
【０３０４】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ、および別の標的（例えば、ＶＩＳＴＡ以外の抗原）に結合するので、少なくとも二特異性である。「二特異性」という用語は、抗原結合性分子が、少なくとも２つの、別個の抗原決定基に特異的に結合することが可能であることを意味する。
【０３０５】
本発明に従う抗原結合性分子（例えば、多特異性抗原結合性分子）は、抗原結合性分子が特異的である標的に結合することが可能な抗原結合性分子を含みうることが理解されるであろう。例えば、ＶＩＳＴＡおよびＶＩＳＴＡ以外の抗原に結合することが可能な抗原結合性分子は、（ｉ）ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗原結合性分子、および（ｉｉ）ＶＩＳＴＡ以外の抗原に結合することが可能な抗原結合性分子を含みうる。
【０３０６】
また、本発明に従う抗原結合性分子（例えば、多特異性抗原結合性分子）は、抗原結合性分子が特異的である標的に結合することが可能な、抗原結合性ポリペプチド、または抗

原結合性ポリペプチド複合体を含みうることも理解されるであろう。例えば、本発明に従う抗原結合性分子は、例えば、（ｉ）軽鎖ポリペプチド（構造ＶＬ－ＣＬを含む）と、重鎖ポリペプチド（構造ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３を含む）とを含む、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗原結合性ポリペプチド複合体、および（ｉｉ）軽鎖ポリペプチド（構造ＶＬ－ＣＬを含む）と、重鎖ポリペプチド（構造ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３を含む）とを含む、ＶＩＳＴＡ以外の抗原に結合することが可能な抗原結合性ポリペプチド複合体を含みうる。

【０３０７】

一部の実施形態では、より大型の抗原結合性分子（例えば、多特異性抗原結合性分子）の、構成要素である抗原結合性分子は、より大型の抗原結合性分子の、例えば、「抗原結合性ドメイン」または「抗原結合性領域」と称されうる。

【０３０８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗原結合性分子と、ＶＩＳＴＡ以外の抗原に結合することが可能な抗原結合性分子とを含む。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡ以外の抗原は、免疫細胞の表面分子である。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡ以外の抗原は、がん細胞抗原である。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡ以外の抗原は、受容体分子、例えば、細胞表面受容体である。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡ以外の抗原は、細胞シグナル伝達分子、例えば、サイトカイン、ケモカイン、インターフェロン、インターロイキン、またはリンホカインである。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡ以外の抗原は、増殖因子またはホルモンである。

【０３０９】

がん細胞抗原とは、がん細胞により発現または過剰発現される抗原である。がん細胞抗原は、任意のペプチド／ポリペプチド、糖タンパク質、リポタンパク質、グリカン、糖脂質、脂質、またはこれらの断片でありうる。がん細胞抗原の発現は、がんと関連しうる。がん細胞抗原は、がん細胞により、異常に発現される場合もあり（例えば、がん細胞抗原は、異常な局在化を伴って発現されうる）、がん細胞による、異常な構造を伴って発現される場合もある。がん細胞抗原は、免疫応答を誘発することが可能でありうる。一部の実施形態では、抗原は、がん細胞の細胞表面において発現される（すなわち、がん細胞抗原は、がん細胞表面抗原である）。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子が結合する、抗原の部分は、がん細胞の外部表面上に呈示される（すなわち、細胞外にある）。がん細胞抗原は、がん関連抗原でありうる。一部の実施形態では、がん細胞抗原は、その発現が、がんの発症、進行、または症状の重症度と関連する抗原である。がん関連抗原は、がんの原因または病理と関連する場合もあり、がんの帰結として、異常に発現される場合もある。一部の実施形態では、がん細胞抗原は、その発現が、がんの細胞により、例えば、同等の非がん性細胞（例えば、同じ組織／細胞型に由来する、非がん性細胞）による発現レベルと比較して、上方調節される（例えば、ＲＮＡレベルおよび／またはタンパク質レベルで）抗原である。一部の実施形態では、がん関連抗原は、がん性細胞により、優先的に発現され、同等な非がん性細胞（例えば、同じ組織／細胞型に由来する、非がん性細胞）により発現されない場合がある。一部の実施形態では、がん関連抗原は、突然変異したがん遺伝子、または突然変異した腫瘍サプレッサー遺伝子の産物でありうる。一部の実施形態では、がん関連抗原は、過剰発現された細胞内タンパク質の産物の場合もあり、発がん性ウイルス、がん胎児抗原、または細胞表面糖脂質もしくは糖タンパク質により産生されたがん抗原の場合もある。

【０３１０】

免疫細胞の表面分子は、免疫細胞の細胞表面、または細胞表面上において発現される、任意のペプチド／ポリペプチド、糖タンパク質、リポタンパク質、グリカン、糖脂質、脂質、またはこれらの断片でありうる。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子が結合する、免疫細胞の表面分子の部分は、免疫細胞の外部表面上にある（すなわち、細胞外にある）。免疫細胞の表面分子は、任意の免疫細胞の細胞表面において発現されうる。一部の実施形態では、免疫細胞は、造血細胞由来の細胞、例えば、好中球、好酸球、好塩基

球、樹状細胞、リンパ球、または単球でありうる。リンパ球は、例えば、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、ＮＫＴ細胞、もしくは自然リンパ球細胞（ＩＬＣ）、またはこれらの前駆細胞（例えば、胸腺細胞またはプレＢ細胞）でありうる。一部の実施形態では、免疫細胞の表面分子は、共刺激分子（例えば、ＣＤ２８、ＯＸ４０、４－１ＢＢ、ＩＣＯＳ、またはＣＤ２７）またはこれらのリガンドでありうる。一部の実施形態では、免疫細胞の表面分子は、チェックポイント分子（例えば、ＰＤ－１、ＣＴＬＡ－４、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、ＴＩＧＩＴ、またはＢＴＬＡ）またはこれらのリガンドでありうる。

【０３１１】

本発明に従う、多特異性抗原結合性分子は、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、ＢｒｉｎｋｍａｎｎおよびＫｏｎｔｅｒｍａｎｎ、ＭＡｂｓ（２０１７）、９（２）：１８２～２１２において記載されたフォーマットなど、任意の適切なフォーマットで提供されうる。適切なフォーマットは、ＢｒｉｎｋｍａｎｎおよびＫｏｎｔｅｒｍａｎｎ、ＭＡｂｓ（２０１７）、９（２）：１８２～２１２の図２に示されたフォーマット：抗体コンジュゲート、例えば、ＩｇＧ$_2$、Ｆ（ａｂ’）$_2$、またはＣｏｖＸ－Ｂｏｄｙ；ＩｇＧまたはＩｇＧ様分子、例えば、ＩｇＧ、キメラＩｇＧ、κλ－ｂｏｄｙの共通ＨＣ；ＣＨ１／ＣＬ融合タンパク質、例えば、ｓｃＦｖ２－ＣＨ１／ＣＬ、ＶＨＨ２－ＣＨ１／ＣＬ；「可変ドメインだけの」二特異性抗原結合性分子、例えば、タンデムｓｃＦｖ（ｔａＦＶ）、トリプルボディー、ダイアボディー（Ｄｂ）、ｄｓＤｂ、Ｄｂ（ｋｉｈ）、ＤＡＲＴ、ｓｃＤＢ、ｄｓＦｖ－ｄｓＦｖ、ｔａｎｄＡｂ、トリプルヘッド、タンデムｄＡｂ／ＶＨＨ、四価ｄＡｂ．ＶＨＨ；非Ｉｇ融合タンパク質、例えば、ｓｃＦｖ$_2$－アルブミン、ｓｃＤｂ－アルブミン、ｔａＦｖ－アルブミン、ｔａＦｖ－毒素、ミニ抗体、ＤＮＬ－Ｆａｂ$_2$、ＤＮＬ－Ｆａｂ$_2$－ｓｃＦｖ、ＤＮＬ－Ｆａｂ$_2$－ＩｇＧ－サイトカイン$_2$、ＩｍｍＴＡＣ（ＴＣＲ－ｓｃＦｖ）；修飾Ｆｃ／ＣＨ３融合タンパク質、例えば、ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ｋｉｈ）、ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ＣＨ３電荷対）、ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ＥＷ－ＲＶＴ）、ｓｃＦｖ－ｆｃ（ＨＡ－ＴＦ）、ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ＳＥＥＤｂｏｄｙ）、ｔａＦｖ－Ｆｃ（ｋｉｈ）、ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ｋｉｈ）－Ｆｖ、Ｆａｂ－Ｆｃ（ｋｉｈ）－ｓｃＦｖ、Ｆａｂ－ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ｋｉｈ）、Ｆａｂ－ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ＢＥＡＴ）、Ｆａｂ－ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ＳＥＥＤｂｏｄｙ）、ＤＡＲＴ－Ｆｃ、ｓｃＦｖ－ＣＨ３（ｋｉｈ）、ＴｒｉＦａｂ；Ｆｃ融合体、例えば、ジダイアボディー、ｓｃＤｂ－Ｆｃ、ｔａＦｖ－Ｆｃ、ｓｃＦｖ－Ｆｃ－ｓｃＦｖ、ＨＣＡｂ－ＶＨＨ、Ｆａｂ－ｓｃＦｖ－Ｆｃ、ｓｃＦｖ$_4$－Ｉｇ、ｓｃＦｖ$_2$－Ｆｃａｂ；ＣＨ３融合体、例えば、ダイア－ダイアボディー、ｓｃＤｂ－ＣＨ３；ＩｇＥ／ＩｇＭ　ＣＨ２融合体、例えば、ｓｃＦｖ－ＥＨＤ２－ｓｃＦｖ、ｓｃＦｖＭＨＤ２－ｓｃＦｖ；Ｆａｂ融合タンパク質、例えば、Ｆａｂ－ｓｃＦｖ（バイボディー）、Ｆａｂ－ｓｃＦｖ$_2$（トリボディー）、Ｆａｂ－Ｆｖ、Ｆａｂ－ｄｓＦｖ、Ｆａｂ－ＶＨＨ、直交型Ｆａｂ－Ｆａｂ；非Ｉｇ融合タンパク質、例えば、ＤＮＬ－Ｆａｂ$_3$、ＤＮＬ－Ｆａｂ$_2$－ｓｃＦｖ、ＤＮＬ－Ｆａｂ$_2$－ＩｇＧ－サイトカイン$_2$；非対称ＩｇＧまたはＩｇＧ様分子、例えば、ＩｇＧ（ｋｉｈ）、ＩｇＧ（ｋｉｈ）共通ＬＣ、ＺＷ１　ＩｇＧ共通ＬＣ、Ｂｉｃｌｏｎｉｃｓ共通ＬＣ、ＣｒｏｓｓＭａｂ、ＣｒｏｓｓＭａｂ（ｋｉｈ）、ｓｃＦａｂ－ＩｇＧ（ｋｉｈ）、Ｆａｂ－ｓｃＦａｂ－ＩｇＧ（ｋｉｈ）、直交型Ｆａｂ　ＩｇＧ（ｋｉｈ）、ＤｕｅｔＭａｂ、ＣＨ３電荷対＋ＣＨ１／ＣＬ電荷対、ヒンジ／ＣＨ３電荷対、ＳＥＥＤ－ｂｏｄｙ、デュオボディー、ｆｏｕｒ－ｉｎ－ｏｎｅ－ＣｒｏｓｓＭａｂ（ｋｉｈ）、ＬＵＺ－Ｙ共通ＬＣ；ＬＵＺ－Ｙ　ｓｃＦａｂ－ＩｇＧ、ＦｃＦｃ＊；アペンデッド／Ｆｃ修飾ＩｇＧ、例えば、ＩｇＧ（ｋｉｈ）－Ｆｖ、ＩｇＧ　ＨＡ－ＴＦ－Ｆｖ、ＩｇＧ（ｋｉｈ）ｓｃＦａｂ、ｓｃＦａｂ－Ｆｃ（ｋｉｈ）－ｓｃＦｖ２、ｓｃＦａｂ－Ｆｃ（ｋｉｈ）－ｓｃＦｖ、ｈａｌｆ　ＤＶＤ－Ｉｇ、ＤＶＩ－Ｉｇ（ｆｏｕｒ－ｉｎ－ｏｎｅ）、ＣｒｏｓｓＭａｂ－Ｆａｂ；修飾Ｆｃ／ＣＨ３融合タンパク質、例えば、Ｆａｂ－Ｆｃ（ｋｉｈ）－ｓｃＦｖ、Ｆａｂ－ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ｋｉｈ）、Ｆａｂ－ｓｃＦｖ－Ｆｃ（ＢＥＡＴ）、Ｆａｂ－ｓｃＦｖ－Ｆｃ－ＳＥＥＤｂｏｄｙ、ＴｒｉＦａｂ；アペンデッドＩｇＧ－ＨＣ融合体、例えば、

ＩｇＧ－ＨＣ、ｓｃＦｖ、ＩｇＧ－ｄＡｂ、ＩｇＧ－ｔａＦＶ、ＩｇＧ－ＣｒｏｓｓＦａｂ、ＩｇＧ－直交型Ｆａｂ、ＩｇＧ－（ＣαＣβ）Ｆａｂ、ｓｃＦｖ－ＨＣ－ＩｇＧ、タンデムＦａｂ－ＩｇＧ（直交型Ｆａｂ）Ｆａｂ－ＩｇＧ（ＣαＣβ　Ｆａｂ）、Ｆａｂ－ＩｇＧ（ＣＲ３）、Ｆａｂ－ヒンジ－ＩｇＧ（ＣＲ３）；アペンデッドＩｇＧ－ＬＣ融合体、例えば、ＩｇＧ－ｓｃＦｖ（ＬＣ）、ｓｃＦｖ（ＬＣ）－ＩｇＧ、ｄＡｂ－ＩｇＧ；アペンデッドＩｇＧ－ＨＣ／ＬＣ融合体、例えば、ＤＶＤ－Ｉｇ、ＴＶＤ－Ｉｇ、ＣＯＤＶ－Ｉｇ、ｓｃＦｖ$_4$－ＩｇＧ、Ｚｙｂｏｄｙ；Ｆｃ融合体、例えば、Ｆａｂ－ｓｃＦｖ－Ｆｃ、ｓｃＦｖ$_4$－Ｉｇ；Ｆ（ａｂ’）２融合体、例えば、Ｆ（ａｂ’）$_2$－ｓｃＦｖ$_2$；ＣＨ１／ＣＬ融合タンパク質、例えば、ｓｃＦｖ$_2$－ＣＨ１－ヒンジ／ＣＬ；修飾ＩｇＧ、例えば、ＤＡＦ（ｔｗｏ－ｉｎ－ｏｎｅ－ＩｇＧ）、ＤｕｔａＭａｂ、Ｍａｂ^2；および非Ｉｇ融合体、例えば、ＤＮＬ－Ｆａｂ$_4$－ＩｇＧを含む。

【０３１２】

当業者は、二特異性の抗原結合性分子を、デザインし、調製することが可能である。二特異性の抗原結合性分子を作製するための方法は、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、ＳｅｇａｌおよびＢａｓｔ、２００１、「Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ Ａｎｔｉｇｅｎ－ｂｉｎｄｉｎｇ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ」、「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ」、１４：ＩＶ：２．１３：２．１３．１～２．１３．１６において記載される通りに、例えば、還元性ジスルフィド結合または非還元性チオエーテル結合により、抗原結合性分子または抗体断片を、化学的に架橋するステップを含む。例えば、Ｎ－スクシンイミジル－３－（－２－ピリジルジチオ）－プロピオネート（ＳＰＤＰ）は、例えば、ヒンジ領域のＳＨ基を介して、Ｆａｂ断片を、化学的に架橋して、ジスルフィドにより連結された、二特異性Ｆ（ａｂ）$_2$ヘテロ二量体を創出するのに使用されうる。

【０３１３】

二特異性の抗原結合性分子を作製するための、他の方法は、抗体産生ハイブリドーマを、例えば、ポリエチレングリコールと融合させて、例えば、Ｄ．Ｍ．およびＢａｓｔ，Ｂ．Ｊ．、２００１、「Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ Ａｎｔｉｇｅｎ－ｂｉｎｄｉｎｇ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ」、「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ」、１４：ＩＶ：２．１３：２．１３．１～２．１３．１６に記載された、二特異性抗体を分泌することが可能なクァドローマ細胞を作製するステップを含む。

【０３１４】

本発明に従う、二特異性抗原結合性分子はまた、例えば、それらの両方の全内容が、参照により本明細書に組み込まれる、「Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ：Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ」、２版（Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ、２０１２）、４０章：「Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ Ａｎｔｉｇｅｎ－ｂｉｎｄｉｎｇ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ：Ｄｉａｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔａｎｄｅｍ ｓｃＦｖ」（ＨｏｒｎｉｇおよびＦａｅｒｂｅｒ－Ｓｃｈｗａｒｚ）；またはＦｒｅｎｃｈ、「Ｈｏｗ ｔｏ ｍａｋｅ ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｎｔｉｇｅｎ－ｂｉｎｄｉｎｇ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ」、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ．Ｍｅｄ．、２０００、４０：３３３～３３９に記載された、抗原結合性分子のためのポリペプチドをコードする核酸構築物からの組換え発現によっても作製されうる。例えば、２つの抗原結合性断片のための軽鎖および重鎖可変ドメイン（すなわち、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗原結合性断片のための、軽鎖および重鎖可変ドメイン、ならびに別の標的タンパク質に結合することが可能な抗原結合性断片のための、軽鎖および重鎖可変ドメイン）をコードし、抗原結合性断片の間の、適切なリンカーまたは二量体化ドメインをコードする配列を含むＤＮＡ構築物は、分子クローニング法により調製されうる。その後、組換え二特異性抗体は、適切な宿主細胞（例えば、哺乳動物宿主細胞）内の、構築物の発現（例えば、ｉｎ ｖｉｔｒｏにおける）により産生され、次いで、発現された組換え二特異性抗体は、任意選択で、精製されうる。

Ｆｃ領域
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、Ｆｃ領域を含む。
【０３１５】
ＩｇＧ、ＩｇＡ、およびＩｇＤのアイソタイプでは、Ｆｃ領域は、１つのポリペプチドに由来する、ＣＨ２およびＣＨ３領域と、別のポリペプチドに由来する、ＣＨ２およびＣＨ３領域とから構成される。２つのポリペプチドに由来する、ＣＨ２およびＣＨ３領域が、併せて、Ｆｃ領域を形成する。ＩｇＭおよびＩｇＥのアイソタイプでは、Ｆｃ領域は、３つの定常ドメイン（ＣＨ２、ＣＨ３、およびＣＨ４）を含有し、２つのポリペプチドに由来するＣＨ２～ＣＨ４が、併せて、Ｆｃ領域を形成する。
【０３１６】
Ｆｃ領域は、Ｆｃ受容体と、免疫系の他の分子との相互作用をもたらして、機能的作用をもたらす。ＩｇＧ　Ｆｃ媒介性のエフェクター機能は、例えば、Ｊｅｆｆｅｒｉｓら、Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｒｅｖ、１９９８、１６３：５９～７６（参照によりその全体において本明細書に組み込まれる）において総説されており、Ｆｃ領域と、免疫細胞により発現されるＦｃ受容体との相互作用を介する、Ｆｃに媒介される、免疫細胞（例えば、マクロファージ、樹状細胞、ＮＫ細胞、およびＴ細胞）の動員および活性化、Ｆｃ領域の、補体タンパク質Ｃ１ｑへの結合を介する、補体経路成分の動員、ならびに帰結としての、補体カスケードの活性化を介してもたらされる。
【０３１７】
Ｆｃ媒介性機能は、Ｆｃ受容体への結合、抗体依存性細胞傷害作用（ＡＤＣＣ）、抗体依存性細胞媒介性食作用（ＡＤＣＰ）、補体依存性細胞傷害作用（ＣＤＣ）、膜侵襲複合体（ＭＡＣ）の形成、細胞からの脱顆粒、サイトカインおよび／またはケモカインの産生、ならびに抗原のプロセシングおよび提示を含む。
【０３１８】
当技術分野では、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｗａｎｇら、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｃｅｌｌ（２０１８）、９（１）：６３～７３に記載された修飾など、Ｆｃ媒介性機能に影響を及ぼす、抗体のＦｃ領域への修飾が公知である。特に、抗体のエフェクター機能に影響を及ぼすことが公知である、例示的なＦｃ領域の修飾は、Ｗａｎｇら、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｃｅｌｌ（２０１８）、９（１）：６３～７３の表１にまとめられている。本明細書の下記では、抗体のエフェクター活性に影響を及ぼす、Ｆｃ領域への修飾が記載される。
【０３１９】
Ｆｃ領域／ＣＨ２／ＣＨ３が、参照の置換（複数可）「に対応する」修飾（複数可）を含むものとして記載される場合、相同なＦｃ／ＣＨ２／ＣＨ３内の、同等の置換（複数可）が想定される。例示を目的として述べると、ヒトＩｇＧ１内のＬ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ置換（Ｋａｂａｔら、「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ」、５版、Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤ、１９９１に記載されている、ＥＵ番号付けシステムに従い番号付けされた）は、マウスＩｇガンマ２Ａ鎖Ｃ領域の１１７および１１８位における、ＬからＡへの置換に対応し、Ａ対立遺伝子は、配列番号２５６に従い番号付けされる。
【０３２０】
Ｆｃ領域が、修飾を含むものとして記載される場合、修飾は、併せて、Ｆｃ領域を形成する、ポリペプチド鎖の一方または両方に存在しうる。
【０３２１】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、修飾を含むＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＣＨ２および／またはＣＨ３領域のうちの１つまたは複数において、修飾を含むＦｃ領域を含む。
【０３２２】
一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｆｃ媒介性機能を増大させる修飾を含む。一部の実

施形態では、Ｆｃ領域は、ＡＤＣＣを増大させる修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＡＤＣＰを増大させる修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＣＤＣを増大させる修飾を含む。Ｆｃ媒介性機能（例えば、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、ＣＤＣ）を増大させる修飾を含むＦｃ領域を含む抗原結合性分子は、対応する非修飾のＦｃ領域を含む抗原結合性分子と比較した、関連するエフェクター機能のレベルの上昇を誘導する。

【０３２３】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｆｃ受容体への結合を増大させる修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｆｃγ受容体への結合を増大させる修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩｂ、ＦｃγＲＩＩｃ、ＦｃγＲＩＩＩａ、およびＦｃγＲＩＩＩｂのうちの１つまたは複数への結合を増大させる修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩＩＩａへの結合を増大させる修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩＩａへの結合を増大させる修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩＩｂへの結合を増大させる修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃＲｎへの結合を増大させる修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、補体タンパク質への結合を増大させる修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｃ１ｑへの結合を増大させる修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、抗原結合性分子の六量体化を促進する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、抗原結合性分子の半減期を延長する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、コエンゲージメントを増大させる修飾を含む。

【０３２４】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｓｔａｖｅｎｈａｇｅｎら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２００７）、６７：８８８２～８８９０に記載された、置換の組合せである、Ｆ２４３Ｌ／Ｒ２９２Ｐ／Ｙ３００Ｌ／Ｖ３０５Ｉ／Ｐ３９６Ｌに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｌａｚａｒら、Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ．（２００６）、１０３：４００５～４０１０に記載された、置換の組合せである、Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２ＥまたはＳ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ／Ａ３３０Ｌに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｓｈｉｅｌｄｓら、Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ．（２００１）、２７６：６５９１～６６０４に記載された、置換の組合せである、Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｍｉｍｏｔｏら、ＭＡｂｓ．（２０１３）：５：２２９～２３６に記載された、置換の組合せである、Ｌ２３４Ｙ／Ｌ２３５Ｑ／Ｇ２３６Ｗ／Ｓ２３９Ｍ／Ｈ２６８Ｄ／Ｄ２７０Ｅ／Ｓ２９８Ａに対応する、重鎖ポリペプチドのうちの１つに対する修飾と、置換の組合せである、Ｄ２７０Ｅ／Ｋ３２６Ｄ／Ａ３３０Ｍ／Ｋ３３４Ｅに対応する、他の重鎖ポリペプチドに対する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｒｉｃｈａｒｄｓら、Ｍｏｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒ．（２００８）７：２５１７～２５２７に記載された、置換の組合せである、Ｇ２３６Ａ／Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅに対応する修飾を含む。

【０３２５】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｉｄｕｓｏｇｉｅら、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．（２００１）、１６６（４）：２５７１～５に記載された、置換の組合せである、Ｋ３２６Ｗ／Ｅ３３３Ｓに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｍｏｏｒｅら、ＭＡｂｓ．（２０１０）、２（２）：１８１～９に記載された、置換の組合せである、Ｓ２６７Ｅ／Ｈ２６８Ｆ／Ｓ３２４Ｔに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｎａｔｓｕｍｅら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２００８）、６８（１０）：３８６３～７２に記載された、置換の組合せに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｄｉｅｂｏｌｄｅｒら、Ｓｃｉｅｎｃｅ（２０１４）、３４３（６１７６）：１２６０～３に記載された、置換の組合せである、Ｅ３４５Ｒ／Ｅ４３０Ｇ／Ｓ４４０Ｙに対応する修飾を含む。

【０３２６】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａら、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．（２００２）、１６９：５１７１～５１８０に記載された、置換の組合せである、Ｍ２５２

Ｙ／Ｓ２５４Ｔ／Ｔ２５６Ｅに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｚａｌｅｖｓｋｙら、Ｎａｔ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．（２０１０）、２８：１５７～１５９に記載された、置換の組合せである、Ｍ４２８Ｌ／Ｎ４３４Ｓに対応する修飾を含む。

【０３２７】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｃｈｕら、Ｍｏｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．（２００８）、４５：３９２６～３９３３に記載された、置換の組合せである、Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｓｈａｎｇら、Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ．（２０１４）、２８９：１５３０９～１５３１８に記載された、置換の組合せである、Ｎ３２５Ｓ／Ｌ３２８Ｆに対応する修飾を含む。

【０３２８】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｆｃ媒介性機能を低減／防止する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＡＤＣＣを低減／防止する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＡＤＣＰを低減／防止する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＣＤＣを低減／防止する修飾を含む。Ｆｃ媒介性機能（例えば、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、ＣＤＣ）を低減／防止する修飾を含むＦｃ領域を含む抗原結合性分子は、対応する非修飾のＦｃ領域を含む抗原結合性分子と比較した、関連するエフェクター機能のレベルの低減を誘導する。

【０３２９】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｆｃ受容体への結合を低減／防止する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｆｃγ受容体への結合を低減／防止する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩｂ、ＦｃγＲＩＩｃ、ＦｃγＲＩＩＩａ、およびＦｃγＲＩＩＩｂのうちの１つまたは複数への結合を低減／防止する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩＩＩａへの結合を低減／防止する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩＩａへの結合を低減／防止する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩＩｂへの結合を低減／防止する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、補体タンパク質への結合を低減／防止する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｃ１ｑへの結合を低減／防止する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｎ２９７に対応するアミノ酸残基のグリコシル化を低減／防止する修飾を含む。

【０３３０】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、１つまたは複数のＦｃ媒介性機能を誘導することが可能ではない（すなわち、関連するＦｃ媒介性機能（複数可）を誘発する能力を欠く）。したがって、このようなＦｃ領域を含む抗原結合性分子はまた、関連する機能（複数可）を誘導する能力も欠く。このような抗原結合性分子は、関連する機能（複数可）が欠如すると記載されうる。

【０３３１】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＡＤＣＣを誘導することが可能ではない。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＡＤＣＰを誘導することが可能ではない。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＣＤＣを誘導することが可能ではない。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＡＤＣＣを誘導することが可能ではなく、かつ／またはＡＤＣＰを誘導することが可能ではなく、かつ／またはＣＤＣを誘導することが可能ではない。

【０３３２】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｆｃ受容体に結合することが可能ではない。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｆｃγ受容体に結合することが可能ではない。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩｂ、ＦｃγＲＩＩｃ、ＦｃγＲＩＩＩａ、およびＦｃγＲＩＩＩｂのうちの１つまたは複数に結合することが可能ではない。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩＩＩａに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩＩａに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃγＲＩＩｂに結合することが可能ではない

。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＦｃＲｎに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、補体タンパク質に結合することが可能ではない。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｃ１ｑに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｎ２９７に対応するアミノ酸残基においてグリコシル化されない。

【０３３３】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｌｅａｂｍａｎら、ＭＡｂｓ．（２０１３）、５：８９６～９０３に記載された、Ｎ２９７ＡまたはＮ２９７ＱまたはＮ２９７Ｇに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ａｌｅｇｒｅら、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９２）、１４８：３４６１～３４６８に記載された、Ｌ２３５Ｅに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｘｕら、Ｃｅｌｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ．（２０００）、２００：１６～２６に記載された、置換の組合せである、Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５ＡまたはＦ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｓｃｈｌｏｔｈａｕｅｒら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ（２０１６）、２９（１０）：４５７～４６６に記載された、Ｐ３２９ＡまたはＰ３２９Ｇに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｌｏら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ（２０１７）、２９２（９）：３９００～３９０８に記載された、置換の組合せである、Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ／Ｐ３２９Ｇに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｒｏｔｈｅｒら、Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．（２００７）、２５：１２５６～１２６４に記載された、置換の組合せに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｎｅｗｍａｎら、Ｃｌｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（２００１）、９８：１６４～１７４に記載された、置換の組合せである、Ｓ２２８Ｐ／Ｌ２３５Ｅに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ａｎら、ＭＡｂｓ．（２００９）、１：５７２～５７９に記載された、置換の組合せである、Ｈ２６８Ｑ／Ｖ３０９Ｌ／Ａ３３０Ｓ／Ｐ３３１Ｓに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｖａｆａら、Ｍｅｔｈｏｄｓ．（２０１４）、６５：１１４～１２６に記載された、置換の組合せである、Ｖ２３４Ａ／Ｇ２３７Ａ／Ｐ２３８Ｓ／Ｈ２６８Ａ／Ｖ３０９Ｌ／Ａ３３０Ｓ／Ｐ３３１Ｓに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、ＵＳ２０１５／００４４２３１Ａ１に記載された、置換の組合せである、Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ｅ／Ｇ２３７Ａ／Ａ３３０Ｓ／Ｐ３３１Ｓに対応する修飾を含む。

【０３３４】

置換の組合せ「Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ」、および対応する置換（例えば、ヒトＩｇＧ４におけるＦ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａなど）は、Ｆｃの、Ｆｃγ受容体への結合を破壊し、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰを阻害し、Ｃ１ｑへの結合もまたを低減し、これにより、ＣＤＣを低減することが公知である（参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｓｃｈｌｏｔｈａｕｅｒら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ（２０１６）、２９（１０）：４５７～４６６）。置換である、「Ｐ３２９Ｇ」および「Ｐ３２９Ａ」は、Ｃ１ｑへの結合を低減する（そして、これにより、ＣＤＣを低減する）。「Ｎ２９７」の、「Ａ」、「Ｇ」、または「Ｑ」による置換は、グリコシル化を消失させ、これにより、Ｆｃの、Ｃ１ｑおよびｆｃγ受容体への結合を低減し、これにより、ＣＤＣおよびＡＤＣＣを低減することが公知である。Ｌｏら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ（２０１７）、２９２（９）：３９００～３９０８（参照によりその全体において本明細書に組み込まれる）は、置換の組合せである、Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ／Ｐ３２９Ｇが、マウスＩｇＧ２ａおよびヒトＩｇＧ１のいずれにおいても、補体の結合および固定、ならびにＦｃγ受容体依存的な、抗体依存性、細胞媒介性細胞傷害作用を消失させたことについて報告している。

【０３３５】

ＩｇＧ１ Ｆｃ内の置換の組合せである、Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ｅ／Ｇ２３７Ａ／Ａ３３０Ｓ／Ｐ３３１Ｓは、ＵＳ２０１５／００４４２３１Ａ１において、食作用、ＡＤＣＣ、およびＣＤＣの誘導を失効化させることが開示されている。

【０３３６】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、Ｓｉｌｖａら、Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ．（２０１５）、２９０（９）：５４６２～５４６９に記載された、置換である、Ｓ２２８Ｐに対応する修飾を含む。ＩｇＧ４　Ｆｃ内の置換である、Ｓ２２８Ｐは、Ｆａｂアーム交換（Ｆａｂアーム交換は、所望されない場合がある）を低減する。

【０３３７】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、置換の組合せである、Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、置換である、Ｐ３２９Ｇに対応する修飾を含む。一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、置換である、Ｎ２９７Ｑに対応する修飾を含む。

【０３３８】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、置換の組合せである、Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ／Ｐ３２９Ｇに対応する修飾を含む。

【０３３９】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、置換の組合せである、Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ／Ｐ３２９Ｇ／Ｎ２９７Ｑに対応する修飾を含む。

【０３４０】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、置換の組合せである、Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ｅ／Ｇ２３７Ａ／Ａ３３０Ｓ／Ｐ３３１Ｓに対応する修飾を含む。

【０３４１】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、例えば、ＩｇＧ４における置換である、Ｓ２２８Ｐに対応する修飾を含む。

【０３４２】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＣＨ２およびＣＨ３領域のうちの１つまたは複数における、Ｆｃ領域の会合を促進する修飾を含むＦｃ領域を含む。抗原結合性分子の構成要素であるポリペプチドの組換え共発現、および後続する会合は、いくつかの可能な組合せをもたらす。組換え作製において、抗原結合性分子内の、所望の組合せのポリペプチドの収率を改善するために、所望の組合せの、重鎖ポリペプチドの会合を促進する、Ｆｃ領域の修飾（複数可）を導入することが有利である。修飾は、例えば、異なるポリペプチド鎖の、ＣＨ２および／またはＣＨ３領域の間の疎水性および／または静電相互作用を促進しうる。適切な修飾については、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｈａら、Ｆｒｏｎｔ．Ｉｍｍｎｏｌ（２０１６）、７：３９４において記載されている。

【０３４３】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、Ｈａら、Ｆｒｏｎｔ．Ｉｍｍｎｏｌ（２０１６）、７：３９４の表１において示される、以下のフォーマット：ＫｉＨ、ＫｉＨｓ－ｓ、ＨＡ－ＴＦ、ＺＷ１、７．８．６０、ＤＤ－ＫＫ、ＥＷ－ＲＶＴ、ＥＷ－ＲＶＴｓ－ｓ、ＳＥＥＤ、またはＡ１０７のうちの１つに従う、Ｆｃ領域のＣＨ３領域内に、対をなす置換を含むＦｃ領域を含む。

【０３４４】

一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、例えば、ＵＳ７，６９５，９３６；およびＣａｒｔｅｒ、Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｍｅｔｈ、２４８、７～１５（２００１）に、記載された、「ｋｎｏｂ－ｉｎｔｏ－ｈｏｌｅ（ＫＩＨ）」または「ＫｉＨ」修飾を含む。このような実施形態では、Ｆｃ領域のうちの、ＣＨ３領域の１つは、「ノブ」修飾を含み、他のＣＨ３領域は、「ホール」修飾を含む。「ノブ」が、ポリペプチドのヘテロ二量体化を促進し（そして、ホモ二量体化を阻害し）、かつ／またはヘテロ二量体を安定化させるために、「ホール」内に配置されるように、「ノブ」修飾および「ホール」修飾は、それぞれのＣＨ３領域内に配置される。ノブは、小型鎖を有するアミノ酸を、より大型の側鎖（例えば、チロシンまたはトリプトファン）を有するアミノ酸で置換することにより構築される。ホールは、大型側鎖を有するアミノ酸を、より小型の側鎖（例えば、アラニンまたはスレオニン）を有するアミノ酸で置換することにより創出される。

【０３４５】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子のＦｃ領域のうちの、ＣＨ３領域の１つは、置換である、（本明細書における、Ｆｃ、ＣＨ２、およびＣＨ３領域の、位置／置換の番号付けは、Ｋａｂａｔら、「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ」、５版、Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤ、１９９１において記載されている、ＥＵ番号付けシステムに従う）Ｔ３６６Ｗを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｙ４０７Ｖを含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子のＦｃ領域のうちの、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｔ３６６Ｗを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｔ３６６ＳおよびＬ３６８Ａを含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子のＦｃ領域のうちの、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｔ３６６Ｗを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｙ４０７Ｖ、Ｔ３６６Ｓ、およびＬ３６８Ａを含む。

【０３４６】
一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、例えば、ＷＯ２０１４／１３１６９４Ａ１に記載された、「ＤＤ－ＫＫ」修飾を含む。一部の実施形態では、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｋ３９２ＤおよびＫ４０９Ｄを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｅ３５６ＫおよびＤ３９９Ｋを含む。修飾は、ＣＨ３領域の間の静電相互作用を促進する。

【０３４７】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、Ｌａｂｒｉｊｎら、Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ．（２０１３）、１１０（１３）：５１４５～５０において記載される通りに修飾され、「デュオボディー」フォーマットと称されるＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｋ４０９Ｒを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｋ４０５Ｌを含む。

【０３４８】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、Ｓｔｒｏｐら、Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．（２０１２）、４２０（３）：２０４～１９に記載された、「ＥＥＥ－ＲＲＲ」修飾を含むＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｄ２２１Ｅ、Ｐ２２８Ｅ、およびＬ３６８Ｅを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｄ２２１Ｒ、Ｐ２２８Ｒ、およびＫ４０９Ｒを含む。

【０３４９】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｃｈｏｉら、Ｍｏｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒ（２０１３）、１２（１２）：２７４８～５９に記載された、「ＥＷ－ＲＶＴ」修飾を含むＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｋ３６０ＥおよびＫ４０９Ｗを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｑ３４７Ｒ、Ｄ３９９Ｖ、およびＦ４０５Ｔを含む。

【０３５０】
一部の実施形態では、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｓ３５４Ｃを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｙ３４９Ｃを含む。これらのシステイン残基の導入は、Ｆｃ領域の、２つのＣＨ３領域の間のジスルフィド架橋の形成を結果としてもたらし、ヘテロ二量体を、さらに安定化させる（Ｃａｒｔｅｒ（２００１）、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ、２４８、７～１５）。

【０３５１】
一部の実施形態では、Ｆｃ領域は、「ＫｉＨｓ－ｓ」修飾を含む。一部の実施形態では、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｔ３６６ＷおよびＳ３５４Ｃを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、Ｙ４０７Ｖ、およびＹ３４９Ｃを含む。

【０３５２】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、Ｄａｖｉｓら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅ

ｎｇ　Ｄｅｓ　Ｓｅｌ（２０１０）、２３（４）：１９５～２０２に記載された、ヒトＩｇＧ１　ＣＨ３のβ鎖セグメントと、ヒトＩｇＡ　ＣＨ３のβ鎖セグメントとが交換される、「ＳＥＥＤ」修飾を含むＦｃ領域を含む。

【０３５３】

一部の実施形態では、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｓ３６４ＨおよびＦ４０５Ａを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｙ３４９ＴおよびＴ３９４Ｆ（例えば、Ｍｏｏｒｅら、ＭＡｂｓ（２０１１）、３（６）：５４６～５７を参照されたい）を含む。

【０３５４】

一部の実施形態では、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｆ４０５Ａ、およびＹ４０７Ｖを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｔ３５０Ｖ、Ｔ３６６Ｌ、Ｋ３９２Ｌ、およびＴ３９４Ｗ（例えば、Ｖｏｎ　Ｋｒｅｕｄｅｎｓｔｅｉｎら、ＭＡｂｓ（２０１３）、５（５）：６４６～５４を参照されたい）を含む。

【０３５５】

一部の実施形態では、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｋ３６０Ｄ、Ｄ３９９Ｍ、およびＹ４０７Ａを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｅ３４５Ｒ、Ｑ３４７Ｒ、Ｔ３６６Ｖ、およびＫ４０９Ｖ（例えば、Ｌｅａｖｅｒ－Ｆａｙら、Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ（２０１６）、２４（４）：６４１～５１を参照されたい）を含む。

【０３５６】

一部の実施形態では、ＣＨ３領域の１つは、置換である、Ｋ３７０ＥおよびＫ４０９Ｗを含み、Ｆｃ領域のうちの、他のＣＨ３領域は、置換である、Ｅ３５７Ｎ、Ｄ３９９Ｖ、およびＦ４０５Ｔ（例えば、Ｃｈｏｉら、ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ（２０１５）、１０（１２）：ｅ０１４５３４９を参照されたい）を含む。

【０３５７】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、Ｆｃγ受容体に結合しないＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩｂ、ＦｃγＲＩＩｃ、ＦｃγＲＩＩＩａ、およびＦｃγＲＩＩＩｂのうちの１つまたは複数に結合しないＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩｂ、およびＦｃγＲＩＩＩａのうちの１つまたは複数に結合しないＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃγＲＩＩａおよびＦｃγＲＩＩｂの一方または両方に結合しないＦｃ領域を含む。

【０３５８】

Ｆｃ領域、またはＦｃ領域を含む抗原結合性分子が、参照タンパク質（例えば、Ｆｃ受容体）に結合する能力は、ＥＬＩＳＡ、免疫ブロット、免疫沈降、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ；例えば、Ｈｅａｒｔｙら、Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ（２０１２）、９０７：４１１～４４２を参照されたい）、またはバイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ；例えば、Ｌａｄら（２０１５）、Ｊ　Ｂｉｏｍｏｌ　Ｓｃｒｅｅｎ、２０（４）：４９８～５０７を参照されたい）など、当技術分野で周知の方法に従い解析されうる。

【０３５９】

本明細書で使用された、参照タンパク質「に結合しない」Ｆｃ領域は、例えば、ＥＬＩＳＡ、免疫ブロット（例えば、ウェスタンブロット）、免疫沈降、ＳＰＲ、またはＢＬＩにより決定する場合、参照タンパク質への結合を、実質的に呈さない場合がある。「～に実質的に結合しないこと」は、所与のアッセイにおいて、互いに結合しないタンパク質について決定される、相互作用のレベルを著明に超えない、相互作用のレベルでありうる。「～に実質的に結合しないこと」は、所与のアッセイにおいて、互いに結合しないタンパク質について決定される、相互作用のレベルの、≦５倍、例えば、≦４倍、≦３倍、≦２．５倍、≦２倍、または≦１．５倍である、相互作用のレベルでありうる。

【０３６０】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃＲｎに結合するＦｃ領域を含む。

【０３６１】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃＲｎに結合するが、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩｂ、およびＦｃγＲＩＩＩａのうちの１つまたは複数に結合しないＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃＲｎに結合するが、ＦｃγＲＩＩａおよびＦｃγＲＩＩｂの一方または両方に結合しないＦｃ領域を含む。
【０３６２】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＡＤＣＣを誘導しないＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＡＤＣＰを誘導しないＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＣＤＣを誘導しないＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、またはＣＤＣを誘導しないＦｃ領域を含む。
【０３６３】
本明細書で使用される、ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ／ＣＤＣを誘導しない（すなわち、これを誘導することが可能ではない）Ｆｃ領域／抗原結合性分子は、例えば、対象とする活性に適切なアッセイにおける解析により決定する場合、ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ／ＣＤＣ活性を実質的に誘発しない。「ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ／ＣＤＣ活性を実質的に伴わない」とは、所与のアッセイにおいて、適切な陰性対照分子について決定されるＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ／ＣＤＣのレベルを著明に超えない、ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ／ＣＤＣのレベルを指す（例えば、Ｆｃ領域を欠く抗原結合性分子、または「サイレント」Ｆｃ領域を含む抗原結合性分子（例えば、参照により本明細書の上記に組み込まれる、Ｓｃｈｌｏｔｈａｕｅｒら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ（２０１６）、２９（１０）：４５７～４６６に記載された））。「活性を実質的に伴わない」とは、所与のアッセイにおいて、適切な陰性対照分子について決定される活性のレベルの、≦５倍、例えば、≦４倍、≦３倍、≦２．５倍、≦２倍、または≦１．５倍である、対象とする活性のレベルでありうる。
【０３６４】
Ｆｃ領域、またはＦｃ領域を含む抗原結合性分子が、ＡＤＣＣを誘導する能力は、例えば、Ｙａｍａｓｈｉｔａら、Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ Ｒｅｐｏｒｔｓ（２０１６）、６：１９７７２（参照によりその全体において本明細書に組み込まれる）に記載された方法に従い、解析される場合もあり、例えば、Ｊｅｄｅｍａら、Ｂｌｏｏｄ（２００４）、１０３：２６７７～８２（参照によりその全体において本明細書に組み込まれる）に記載された、^{51}Ｃｒ放出アッセイにより解析される場合もある。Ｆｃ領域、またはＦｃ領域を含む抗原結合性分子が、ＡＤＣＰを誘導する能力は、例えば、Ｋａｍｅｎら、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ（２０１７）、１９８（増刊１号）１５７．１７（参照によりその全体において本明細書に組み込まれる）に記載された方法に従い解析されうる。Ｆｃ領域、またはＦｃ領域を含む抗原結合性分子が、ＣＤＣを誘導する能力は、例えば、Ｓｃｈｌｏｔｈａｕｅｒら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ（２０１６）、２９（１０）：４５７～４６６（参照により本明細書の上記に組み込まれた）において記載された、例えば、Ｃ１ｑ結合アッセイを使用して解析されうる。
【０３６５】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２５４に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２５７に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２５９に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のア

ミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むＦｃ領域を含む。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２６０に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むＦｃ領域を含む。

【０３６６】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、Ｆｃ領域を欠く。

Ｆｃ受容体

Ｆｃ受容体とは、免疫グロブリンのＦｃ領域に結合するポリペプチドである。Ｆｃ受容体の構造および機能については、例えば、それらのいずれもが、参照によりそれらの全体において本明細書に組み込まれる、Ｍａｓｕｄａら、Ｉｎｆｌａｍｍ Ａｌｌｅｒｇｙ Ｄｒｕｇ Ｔａｒｇｅｔｓ（２００９）、８（１）：８０～８６およびＢｒｕｈｎｓ、Ｂｌｏｏｄ（２０１２）、１１９：５６４０～５６４９において総説されている。

【０３６７】

Ｆｃ受容体は、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好酸球、好塩基球、マスト細胞、およびＮＫ細胞を含む、造血細胞の表面において発現される。Ｆｃ受容体は、ＩｇＧ結合性Ｆｃγ受容体、ＩｇＥに対する高アフィニティー受容体（ＦｃεＲＩ）、ＩｇＡ受容体、ならびにＩｇＡおよびＩｇＭに対する、ポリマー性Ｉｇ受容体を含む。新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）は、ＩｇＧに対する、さらなるＦｃ受容体であり、上皮障壁を隔てたＩｇＧ輸送（トランスサイトーシス）、ＩｇＧの分解からの保護、および抗原提示に関与する。

【０３６８】

ヒトは、Ｆｃγ受容体の、６つの異なるクラス（マウスオーソログを、カッコ内に示す）：ＦｃγＲＩ（ｍＦｃγＲＩ）、ＦｃγＲＩＩａ（ｍＦｃγＲＩＩＩ）、ＦｃγＲＩＩｂ（ｍＦｃγＲＩＩｂ）、ＦｃγＲＩＩｃ、ＦｃγＲＩＩＩａ（ｍＦｃγＲＩＶ）、およびＦｃγＲＩＩＩｂを有する。

【０３６９】

ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩｃ、およびＦｃγＲＩＩＩａは、それらの細胞内ドメイン内に、免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）を含み、Ｆｃによるライゲーションは、受容体を発現する細胞の活性化をもたらす。ＦｃγＲＩＩｂは、その細胞内ドメイン内に、免疫受容体チロシンベースの阻害モチーフ（ＩＴＩＭ）を含み、Ｆｃによるライゲーション時に、細胞の活性化および脱顆粒、細胞の増殖、エンドサイトーシス、ならびに食作用を、負に調節する。

【０３７０】

本明細書では、「Ｆｃγ受容体」は、任意の種に由来することが可能であり、任意の種に由来する、アイソフォーム、断片、変異体（突然変異体を含む）、または相同体を含みうる。同様に、「ＦｃγＲＩ」、「ＦｃγＲＩＩａ」、「ＦｃγＲＩＩｂ」、「ＦｃγＲＩＩｃ」、「ＦｃγＲＩＩＩａ」、および「ＦｃγＲＩＩＩｂ」とは、それぞれ、任意の種に由来する、ＦｃγＲＩ／ＦｃγＲＩＩａ／ＦｃγＲＩＩｂ／ＦｃγＲＩＩｃ／ＦｃγＲＩＩＩａ／ＦｃγＲＩＩＩｂを指し、任意の種に由来する、アイソフォーム、断片、変異体（突然変異体を含む）、または相同体を含む。

【０３７１】

一部の実施形態では、Ｆｃγ受容体（例えば、ＦｃγＲＩ／ＦｃγＲＩＩａ／ＦｃγＲＩＩｂ／ＦｃγＲＩＩｃ／ＦｃγＲＩＩＩａ／ＦｃγＲＩＩＩｂ）は、哺乳動物（例えば、霊長動物（アカゲザル、カニクイザル、非ヒト霊長動物、またはヒト）、および／または齧歯動物（例えば、ラットまたはマウス）に由来する。アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、所与の種、例えば、ヒトに由来する、Ｆｃγ受容体（例えば、ＦｃγＲＩ／ＦｃγＲＩＩａ／ＦｃγＲＩＩｂ／ＦｃγＲＩＩｃ／ＦｃγＲＩＩＩａ／ＦｃγＲＩＩＩｂ）の、未成熟または成熟のアイソフォームのアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、

９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有することとして特徴付けられうる。

【０３７２】

アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、例えば、機能的特性／活性に適切なアッセイを介する解析により決定する場合、参照ＦｃγＲＩのアイソフォーム、断片、変異体、または相同体でありうる。例えば、ＦｃγＲＩのアイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、例えば、ヒトＩｇＧ１　Ｆｃとの会合を呈しうる。

【０３７３】

本明細書では、「ＦｃＲｎ受容体」は、任意の種に由来することが可能であり、任意の種に由来する、アイソフォーム、断片、変異体（突然変異体を含む）、または相同体を含みうる。

【０３７４】

一部の実施形態では、ＦｃＲｎ受容体は、哺乳動物（例えば、霊長動物（アカゲザル、カニクイザル、非ヒト霊長動物、またはヒト）、および／または齧歯動物（例えば、ラットまたはマウス）に由来する。アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、所与の種、例えば、ヒトに由来する、未成熟または成熟のＦｃγ受容体アイソフォームのアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有することとして特徴付けられうる。

【０３７５】

アイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、任意選択で、例えば、機能的特性／活性に適切なアッセイを介する解析により決定する場合、参照ＦｃＲｎの機能的特性／活性を有する、機能的なアイソフォーム、断片、変異体、または相同体でありうる。例えば、ＦｃＲｎのアイソフォーム、断片、変異体、または相同体は、例えば、ヒトＩｇＧ１　Ｆｃとの会合を呈しうる。

ポリペプチド

本発明はまた、抗原結合性分子の、ポリペプチド構成要素も提供する。ポリペプチドは、単離形態で提供される場合もあり、実質的な精製形態で提供される場合もある。

【０３７６】

本発明の抗原結合性分子は、ポリペプチドの複合体でありうるか、またはこれを含みうる。

【０３７７】

ポリペプチドが、１つを超えるドメインまたは領域を含む、本明細書では、複数のドメイン／領域が、同じポリペプチド鎖内に存在することが好ましいことが理解されるであろう。すなわち、１つを超えるドメインまたは領域を含むポリペプチドは、ドメイン／領域を含む融合ポリペプチドである。

【０３７８】

一部の実施形態では、本発明に従うポリペプチドは、本明細書で記載されるＶＨを含むか、またはこれらからなる。一部の実施形態では、本発明に従うポリペプチドは、本明細書で記載されるＶＬを含むか、またはこれらからなる。

【０３７９】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、加えて、１つまたは複数の、抗体の重鎖定常領域（ＣＨ）を含む。一部の実施形態では、ポリペプチドは、加えて、１つまたは複数の、抗体の軽鎖定常領域（ＣＬ）を含む。一部の実施形態では、ポリペプチドは、免疫グロブリン（Ｉｇ）のＣＨ１、ＣＨ２領域、および／またはＣＨ３領域を含む。

【０３８０】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、免疫グロブリンの重鎖定常配列の、１つまたは複数の領域を含む。一部の実施形態では、ポリペプチドは、本明細書で記載されるＣＨ１領域を含む。一部の実施形態では、ポリペプチドは、本明細書で記載される、ＣＨ１－Ｃ

Ｈ２間のヒンジ領域を含む。一部の実施形態では、ポリペプチドは、本明細書で記載されるＣＨ２領域を含む。一部の実施形態では、ポリペプチドは、本明細書で記載されるＣＨ３領域を含む。

【０３８１】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、以下のアミノ酸置換／アミノ酸置換の組合せ：Ｆ２４３Ｌ／Ｒ２９２Ｐ／Ｙ３００Ｌ／Ｖ３０５Ｉ／Ｐ３９６Ｌ；Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ；Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ／Ａ３３０Ｌ；Ｓ２９８Ａ／Ｅ３３３Ａ／Ｋ３３４Ａ；Ｌ２３４Ｙ／Ｌ２３５Ｑ／Ｇ２３６Ｗ／Ｓ２３９Ｍ／Ｈ２６８Ｄ／Ｄ２７０Ｅ／Ｓ２９８Ａ；Ｄ２７０Ｅ／Ｋ３２６Ｄ／Ａ３３０Ｍ／Ｋ３３４Ｅ；Ｇ２３６Ａ／Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ；Ｋ３２６Ｗ／Ｅ３３３Ｓ；Ｓ２６７Ｅ／Ｈ２６８Ｆ／Ｓ３２４Ｔ；Ｅ３４５Ｒ／Ｅ４３０Ｇ／Ｓ４４０Ｙ；Ｍ２５２Ｙ／Ｓ２５４Ｔ／Ｔ２５６Ｅ；Ｍ４２８Ｌ／Ｎ４３４Ｓ；Ｓ２６７Ｅ／Ｌ３２８Ｆ；Ｎ３２５Ｓ／Ｌ３２８Ｆ；Ｎ２９７Ａ；Ｎ２９７Ｑ；Ｎ２９７Ｇ；Ｌ２３５Ｅ；Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ；Ｆ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ；Ｐ３２９Ａ；Ｐ３２９Ｇ；Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ／Ｐ３２９Ｇ；Ｈ２６８Ｑ／Ｖ３０９Ｌ／Ａ３３０Ｓ／Ｐ３３１Ｓ；およびＶ２３４Ａ／Ｇ２３７Ａ／Ｐ２３８Ｓ／Ｈ２６８Ａ／Ｖ３０９Ｌ／Ａ３３０Ｓ／Ｐ３３１Ｓのうちのいずれか１つを含む、ＣＨ２および／またはＣＨ３領域を含む。

【０３８２】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、以下のアミノ酸置換／アミノ酸置換の組合せ（例えば、参照により本明細書の上記に組み込まれた、Ｈａら、Ｆｒｏｎｔ．Ｉｍｍｎｏｌ（２０１６）、７：３９４の表１に示される）：Ｔ３６６Ｗ；Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、およびＹ４０７Ｖ；Ｔ３６６ＷおよびＳ３５４Ｃ；Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ、Ｙ４０７Ｖ、およびＹ３４９Ｃ；Ｓ３６４ＨおよびＦ４０５Ａ；Ｙ３４９ＴおよびＴ３９４Ｆ；Ｔ３５０Ｖ、Ｌ３５１Ｙ、Ｆ４０５Ａ、およびＹ４０７Ｖ；Ｔ３５０Ｖ、Ｔ３６６Ｌ、Ｋ３９２Ｌ、およびＴ３９４Ｗ；Ｋ３６０Ｄ、Ｄ３９９Ｍ、およびＹ４０７Ａ；Ｅ３４５Ｒ、Ｑ３４７Ｒ、Ｔ３６６Ｖ、およびＫ４０９Ｖ；Ｋ４０９ＤおよびＫ３９２Ｄ；Ｄ３９９ＫおよびＥ３５６Ｋ；Ｋ３６０ＥおよびＫ４０９Ｗ；Ｑ３４７Ｒ、Ｄ３９９Ｖ、およびＦ４０５Ｔ；Ｋ３６０Ｅ、Ｋ４０９Ｗ、およびＹ３４９Ｃ；Ｑ３４７Ｒ、Ｄ３９９Ｖ、Ｆ４０５Ｔ、およびＳ３５４Ｃ；Ｋ３７０ＥおよびＫ４０９Ｗ；ならびにＥ３５７Ｎ、Ｄ３９９Ｖ、およびＦ４０５Ｔのうちのいずれか１つを含むＣＨ３領域を含む。

【０３８３】

一部の実施形態では、ポリペプチドのＣＨ２および／またはＣＨ３領域は、ポリペプチドの、ＣＨ２および／またはＣＨ３領域を含む、別のポリペプチドとの会合を促進するための、１つまたは複数のアミノ酸置換を含む。

【０３８４】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、免疫グロブリンの軽鎖定常配列の、１つまたは複数の領域を含む。一部の実施形態では、ポリペプチドは、本明細書で記載されるＣＬ領域を含む。

【０３８５】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、免疫グロブリンの重鎖定常配列の、１つまたは複数の領域を欠く。一部の実施形態では、ポリペプチドは、ＣＨ２領域を欠く。一部の実施形態では、ポリペプチドは、ＣＨ３領域を欠く。一部の実施形態では、ポリペプチドは、ＣＨ２領域を欠き、ＣＨ３領域もまた欠く。

【０３８６】

一部の実施形態では、本発明に従うポリペプチドは、Ｎ末端から、Ｃ末端へと、以下：

（ｉ）ＶＨ

（ｉｉ）ＶＬ

（ｉｉｉ）ＶＨ－ＣＨ１

（ｉｖ）ＶＬ－ＣＬ

（ｖ）ＶＬ－ＣＨ１

（ｖｉ）ＶＨ－ＣＬ
（ｖｉｉ）ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３
（ｖｉｉｉ）ＶＬ－ＣＬ－ＣＨ２－ＣＨ３
（ｉｘ）ＶＬ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３
（ｘ）ＶＨ－ＣＬ－ＣＨ２－ＣＨ３
のうちの１つに従う構造を含む。

【０３８７】

本発明によりまた、本発明のポリペプチドから構成される抗原結合性分子も提供される。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、以下のポリペプチドの組合せ：
（Ａ）ＶＨ＋ＶＬ
（Ｂ）ＶＨ－ＣＨ１＋ＶＬ－ＣＬ
（Ｃ）ＶＬ－ＣＨ１＋ＶＨ－ＣＬ
（Ｄ）ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＬ－ＣＬ
（Ｅ）ＶＨ－ＣＬ－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＬ－ＣＨ１
（Ｆ）ＶＬ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＨ－ＣＬ
（Ｇ）ＶＬ－ＣＬ－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＨ－ＣＨ１
（Ｈ）ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＬ－ＣＬ－ＣＨ２－ＣＨ３
（Ｉ）ＶＨ－ＣＬ－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＬ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３
のうちの１つを含む。

【０３８８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、上記の（Ａ）～（Ｉ）に示された組合せのポリペプチドのうちの、１つを超えるポリペプチドを含む。例を目的として述べると、上記の（Ｄ）を参照すると、一部の実施形態では、抗原結合性分子は、構造ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３を含む、２つのポリペプチドと、構造ＶＬ－ＣＬを含む、２つのポリペプチドとを含む。

【０３８９】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、以下のポリペプチドの組合せ：
（Ｊ）ＶＨ（抗ＶＩＳＴＡ）＋ＶＬ（抗ＶＩＳＴＡ）
（Ｋ）ＶＨ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＨ１＋ＶＬ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＬ
（Ｌ）ＶＬ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＨ１＋ＶＨ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＬ
（Ｍ）ＶＨ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＬ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＬ
（Ｎ）ＶＨ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＬ－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＬ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＨ１
（Ｏ）ＶＬ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＨ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＬ
（Ｐ）ＶＬ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＬ－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＨ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＨ１
（Ｑ）ＶＨ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＬ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＬ－ＣＨ２－ＣＨ３
（Ｒ）ＶＨ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＬ－ＣＨ２－ＣＨ３＋ＶＬ（抗ＶＩＳＴＡ）－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３
のうちの１つを含むが、この場合、「ＶＨ（抗ＶＩＳＴＡ）」とは、本明細書で記載される、例えば、（１）～（７６）のうちの１つにおいて規定される、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗原結合性分子のＶＨを指し；「ＶＬ（抗ＶＩＳＴＡ）」とは、本明細書で記載される、例えば、（７７）～（１７３）のうちの１つにおいて規定される、ＶＩＳＴＡに結合することが可能な抗原結合性分子のＶＬを指す。

【０３９０】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、配列番号２１２～２４３、２４８～２５０、２５８、２６６、または３１１～３２１のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる。

リンカーおよびさらなる配列

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子およびポリペプチドは、ヒンジ領域を含む。一部の実施形態では、ヒンジ領域は、ＣＨ１領域と、ＣＨ２領域との間にもたらされる。一部の実施形態では、ヒンジ領域は、ＣＬ領域と、ＣＨ２領域との間にもたらされる。一部の実施形態では、ヒンジ領域は、配列番号２０７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる。

【０３９１】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子およびポリペプチドは、アミノ酸配列の間に、１つまたは複数のリンカー配列を含む。リンカー配列は、抗原結合性分子／ポリペプチドの、ＶＨ、ＶＬ、ＣＨ１－ＣＨ２間のヒンジ領域、ＣＨ２領域、およびＣＨ３領域のうちの１つまたは複数の、一方または両方の末端にもたらされうる。

【０３９２】

当業者には、リンカー配列が公知であり、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｃｈｅｎら、Ａｄｖ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ Ｒｅｖ（２０１３）、６５（１０）：１３５７～１３６９において記載されている。一部の実施形態では、リンカー配列は、可動性リンカー配列でありうる。可動性リンカー配列は、リンカー配列により連結されたアミノ酸配列の、相対的運動を可能とする。当業者には、リンカー配列が公知であり、いくつかのリンカー配列は、Ｃｈｅｎら、Ａｄｖ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ Ｒｅｖ（２０１３）、６５（１０）：１３５７～１３６９において同定されている。可動性リンカー配列は、しばしば、高比率のグリシン残基および／またはセリン残基を含む。

【０３９３】

一部の実施形態では、リンカー配列は、少なくとも１つのグリシン残基、および／または少なくとも１つのセリン残基を含む。一部の実施形態では、リンカー配列は、グリシンおよびセリン残基からなる。一部の実施形態では、リンカー配列は、１～２、１～３、１～４、１～５、または１～１０アミノ酸の長さを有する。

【０３９４】

本発明の抗原結合性分子およびポリペプチドは、加えて、さらなるアミノ酸またはアミノ酸の配列を含みうる。例えば、抗原結合性分子およびポリペプチドは、抗原結合性分子／ポリペプチドの、発現、フォールディング、トラフィッキング、プロセシング、精製、または検出を容易とするアミノ酸配列（複数可）を含みうる。例えば、抗原結合性分子／ポリペプチドは、任意選択で、抗原結合性分子／ポリペプチドのＮ末端またはＣ末端において、Ｈｉｓ（例えば、６×Ｈｉｓ）、Ｍｙｃ、ＧＳＴ、ＭＢＰ、ＦＬＡＧ、ＨＡ、Ｅ、またはビオチンタグをコードする配列を含みうる。一部の実施形態では、抗原結合性分子／ポリペプチドは、検出用部分、例えば、蛍光、発光、免疫検出用、放射性、化学、核酸、または酵素標識を含む。

【０３９５】

本発明の抗原結合性分子およびポリペプチドは、加えて、シグナルペプチド（また、リーダー配列またはシグナル配列としても公知である）を含みうる。シグナルペプチドは通常、単一のアルファヘリックスを形成する、５～３０の疎水性アミノ酸の配列からなる。細胞表面で分泌されるタンパク質および発現されるタンパク質は、しばしば、シグナルペプチドを含む。

【０３９６】

シグナルペプチドは、抗原結合性分子／ポリペプチドのＮ末端に存在することが可能であり、新たに合成される抗原結合性分子／ポリペプチド内に存在しうる。シグナルペプチドは、抗原結合性分子／ポリペプチドの、効率的なトラフィッキングおよび分泌をもたらす。シグナルペプチドは、しばしば、切断により除去されるため、抗原結合性分子／ポリペプチドを発現する細胞から分泌される、成熟抗原結合性分子／ポリペプチド内に含まれない。

【０３９７】

シグナルペプチドは、多くのタンパク質について公知であり、ＧｅｎＢａｎｋ、ＵｎｉＰｒｏｔ、Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ、ＴｒＥＭＢＬ、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ Ｒｅｓｏｕｒｃｅ、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄａｔａ Ｂａｎｋ、Ｅｎｓｅｍｂｌ、およびＩｎｔｅｒＰｒｏなどのデータベースに記録されており、かつ／または例えば、ＳｉｇｎａｌＰ（Ｐｅｔｅｒｓｅｎら、２０１１、Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｔｈｏｄｓ、８：７８５～７８６）またはＳｉｇｎａｌ－ＢＬＡＳＴ（ＦｒａｎｋおよびＳｉｐｐｌ、２００８、Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ、２４：２１７２～２１７６）などのアミノ酸配列解析ツールを使用して、同定／予測されうる。

標識およびコンジュゲート

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、加えて、検出可能部分を含む。

【０３９８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、検出可能部分、例えば、蛍光標識、リン光標識、発光標識、免疫検出可能標識（例えば、エピトープタグ）、放射性標識、化学、核酸、または酵素標識を含む。抗原結合性分子は、検出可能部分で、共有結合的に標識付けされる場合もあり、非共有結合的に標識付けされる場合もある。

【０３９９】

蛍光標識は、例えば、フルオレセイン、ローダミン、アロフィコシアニン、エオシン、およびＮＤＢ、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）、ユーロピウム（Ｅｕ）、テルビウム（Ｔｂ）、およびサマリウム（Ｓｍ）など、希土類のキレート剤、テトラメチルローダミン、Ｔｅｘａｓ Ｒｅｄ、４－メチルウンベリフェロン、７－アミノ－４－メチルクマリン、Ｃｙ３、Ｃｙ５を含む。放射性標識は、ヨウ素^{123}、ヨウ素^{125}、ヨウ素^{126}、ヨウ素^{131}、ヨウ素^{133}、臭素^{77}、テクネシウム^{99m}、インジウム^{111}、インジウム^{113m}、ガリウム^{67}、ガリウム^{68}、ルテニウム^{95}、ルテニウム^{97}、ルテニウム^{103}、ルテニウム^{105}、水銀^{207}、水銀^{203}、レニウム^{99m}、レニウム^{101}、レニウム^{105}、スカンジウム^{47}、テルリウム^{121m}、テルリウム^{122m}、テルリウム^{125m}、ツリウム^{165}、ツリウム^{167}、ツリウム^{168}、銅^{67}、フッ素^{18}、イットリウム^{90}、パラジウム^{100}、ビスマス^{217}、およびアンチモニー^{211}などの放射性同位体を含む。発光標識は、放射性発光標識、化学発光標識（例えば、アクリジニウムエステル、ルミノール、イソルミノール）、および生物発光標識を含む。免疫検出可能標識は、ハプテン、ペプチド／ポリペプチド、抗体、受容体、およびビオチン、アビジン、ストレプトアビジン、またはジゴキシゲニンなどのリガンドを含む。核酸標識は、アプタマーを含む。酵素標識は、例えば、ペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、グルコースオキシダーゼ、ベーターガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼを含む。

【０４００】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、化学的部分へとコンジュゲートされる。化学的部分は、治療効果をもたらすための部分でありうる。抗体－薬物コンジュゲートについては、例えば、Ｐａｒｓｌｏｗら、Ｂｉｏｍｅｄｉｃｉｎｅｓ、２０１６年９月、４（３）：１４において総説されている。一部の実施形態では、化学的部分は、薬物部分（例えば、細胞傷害剤）でありうる。一部の実施形態では、薬物部分は、化学療法剤でありうる。一部の実施形態では、薬物部分は、カリケアミシン、ＤＭ１、ＤＭ４、モノメチルアウリスタチンＥ（ＭＭＡＥ）、モノメチルアウリスタチンＦ（ＭＭＡＦ）、ＳＮ－３８、ドキソルビシン、デュオカルマイシン、Ｄ６．５、およびＰＢＤから選択される。

抗原結合性分子についての、特定の例示的な実施形態

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号３３１のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる、１つまたは複数の（例えば、２つの）ポリペプチド；および

（ｉｉ）配列番号３１７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、少

なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれらからなる、１つまたは複数の（例えば、２つの）ポリペプチド
を含むか、またはこれらからなる。

【０４０１】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号２１２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および

（ｉｉ）配列番号２１３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４０２】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号２１４のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および

（ｉｉ）配列番号２１５のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４０３】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号２１６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および

（ｉｉ）配列番号２１７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４０４】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号２１８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および

（ｉｉ）配列番号２１９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４０５】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号２２０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２２１のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４０６】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号２２２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２２３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４０７】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号２２４のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２２５のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４０８】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号２２６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２２７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４０９】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号２２８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２２９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７

５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４１０】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号２３０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および

（ｉｉ）配列番号２３１のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４１１】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号２３２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および

（ｉｉ）配列番号２３３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４１２】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号２３４のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および

（ｉｉ）配列番号２３５のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４１３】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号２３６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および

（ｉｉ）配列番号２３７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４１４】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

（ｉ）配列番号２３８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２３９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４１５】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号２４０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２４１のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４１６】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号２４２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２４３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４１７】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号２４８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２５０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。

【０４１８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号２４９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２５０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９

７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。
【０４１９】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号２５８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２５０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。
【０４２０】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号２６６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２５０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。
【０４２１】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
（ｉ）配列番号３３０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド；および
（ｉｉ）配列番号２１３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％、好ましくは、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％のアミノ酸配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、２つのポリペプチド
を含むか、またはこれからなる。
【０４２２】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、例えば、ＧＢ２１０８４４６．２に記載された、ＡＴＣＣ特許受託番号：ＰＴＡ－１２７０６３として、２０２１年５月７日に寄託された細胞系の細胞により産生される。
抗原結合性分子の機能的特性
本明細書で記載される抗原結合性分子は、ある特定の機能的特性に言及することにより特徴付けられうる。
一部の実施形態では、本明細書で記載される抗原結合性分子は、以下の特性：
ＶＩＳＴＡ（例えば、ヒト、マウス、および／またはカニクイザルＶＩＳＴＡ）に結合すること；
ＰＤ－Ｌ１および／またはＨＥＲ３に結合しないこと；
Ｆｃγ受容体に結合しないこと；
Ｃ１ｑに結合しないこと；

ＡＤＣＣを誘導しないこと；
ＡＤＣＰを誘導しないこと；
ＣＤＣを誘導しないこと；
ＦｃＲｎ受容体に結合すること；
ＶＩＳＴＡ発現細胞に結合すること；
ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの結合パートナー（例えば、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ－３、ＶＳＩＧ－８、またはＬＲＩＧ１）との相互作用を阻害すること；
ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害すること；
Ｆｃ媒介性機能に依存せずに、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害すること；
ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅を増大させること；
ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅を誘導しない／増大させないこと；
ＶＩＳＴＡ発現細胞の数／比率を低減すること；
ＶＩＳＴＡ発現細胞の数／比率を低減しないこと；
エフェクター免疫細胞の数／活性を増大させること；
免疫抑制細胞の数／活性を低減すること；
免疫抑制細胞の増殖を低減すること；
ＶＩＳＴＡ発現細胞により媒介される免疫抑制を減少させること；
抗原提示細胞による抗原提示を増大させること；
免疫細胞によるＩＬ－６の産生を増大させること；
混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイにおいて、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、および／またはＩＬ－１７の産生を増大させること；
Ｔ細胞の増殖、ＩＦＮ－γの産生、および／またはＴＮＦａの産生を増大させること；ならびに
ｉｎ　ｖｉｖｏにおけるがんの発症および／または進行を阻害すること、ならびに
ｉｎ　ｖｉｖｏにおけるサイトカイン放出症候群を誘導しないこと
のうちの１つまたは複数を有しうる。

【０４２３】

所与の抗原結合性分子は、前出の段落で列挙された特性のうちの、１つを超える特性を呈しうることが理解されるであろう。所与の抗原結合性分子は、適切なアッセイを使用して、前出の段落で列挙された特性について査定されうる。アッセイは、例えば、無細胞アッセイの場合もあり、細胞ベースアッセイの場合もある、ｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイでありうる。代替的に、アッセイは、例えば、非ヒト動物において実施されるｉｎ　ｖｉｖｏアッセイでありうる。

【０４２４】

細胞ベースアッセイである場合、アッセイは、抗原結合性分子が、列挙された特性のうちの１つまたは複数を呈するのかどうかを決定するために、細胞を、所与の抗原結合性分子と接触させるステップを含みうる。アッセイは、それらの検出を容易とするために、検出用実体で標識化された分子種を利用しうる。アッセイは、細胞の処置後における、列挙された特性を、ある数量／濃度範囲の抗原結合性分子（例えば、希釈系列）により、個別に査定するステップを含みうる。細胞は、好ましくは、ＶＩＳＴＡ、例えば、ＭＤＳＣを発現する細胞であることが理解されるであろう。

【０４２５】

このようなアッセイの結果についての解析は、対象とする活性の最高レベルの５０％が達せられる濃度を決定するステップを含みうる。対象とする活性の最高レベルの５０％が達せられる、抗原結合性分子の濃度は、対象とする活性との関連における、抗原結合性分子の「５０％効果濃度」と称される場合があり、これはまた、「EC_{50}」とも称されうる。例示を目的に述べると、ＶＩＳＴＡへの結合についての、所与の抗原結合性分子のEC_{50}は、関連する分子種への結合の最高レベルの５０％が達成される濃度でありうる。

【０４２６】

特性に応じて、EC_{50}はまた、所与の特性の阻害の最高レベルの５０％が観察される

、抗原結合性分子の濃度である、「５０％阻害濃度」または「ＩＣ$_{50}$」とも称されうる。例示を目的に述べると、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナー（例えば、ＬＲＩＧ１、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ３、またはＶＳＩＧ８）との相互作用の阻害についての、所与の抗原結合性分子のＩＣ$_{50}$は、阻害の最高レベルの５０％が達成される濃度でありうる。

【０４２７】

本明細書で記載される抗原結合性分子は、好ましくは、ＶＩＳＴＡへの特異的結合を呈する。本明細書で使用される、「特異的結合」とは、抗原に対して選択的であり、非標的抗原への非特異的結合から区別されうる結合を指す。標的分子に特異的に結合する抗原結合性分子は、好ましくは、他の非標的分子に結合する場合より、大きなアフィニティーおよび／または長い持続時間で、標的に結合する。

【０４２８】

所与のポリペプチドが、所与の分子に特異的に結合する能力は、ＥＬＩＳＡ、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ；例えば、Ｈｅａｒｔｙら、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ（２０１２）、９０７：４１１～４４２を参照されたい）、バイオレイヤー干渉法（例えば、Ｌａｄｓら（２０１５）、Ｊ Ｂｉｏｍｏｌ Ｓｃｒｅｅｎ、２０（４）：４９８～５０７を参照されたい）、フローサイトメトリー、または放射性標識抗原結合性アッセイ（ＲＩＡ）、酵素免疫測定アッセイによる方法など、当技術分野で公知の方法に従う解析により決定されうる。このような解析によって、所与の分子への結合は、測定および定量されうる。一部の実施形態では、結合は、所与のアッセイにおいて検出される応答でありうる。

【０４２９】

一部の実施形態では、抗原結合性分子の、非標的分子への結合の程度は、例えば、ＥＬＩＳＡ、ＳＰＲ、バイオレイヤー干渉法により、またはＲＩＡにより測定される、抗体の、標的分子への結合の、約１０％未満である。代替的に、結合特異性は、抗原結合性分子が、抗原結合性分子の、非標的分子へのＫ$_{D}$を超える、少なくとも０．１の桁数（すなわち、０．１×１０^{n}［式中、ｎは、桁数を表す整数である］）である解離定数（Ｋ$_{D}$）で結合する、結合アフィニティーの点でも反映されうる。これは、任意選択で、少なくとも０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．５、または２．０のうちの１つでありうる。

【０４３０】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ヒトＶＩＳＴＡ、マウス（ｍｕｒｉｎｅ）（例えば、マウス（ｍｏｕｓｅ））ＶＩＳＴＡ、および／またはカニクイザル（Ｍａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）ＶＩＳＴＡへの結合を呈する。すなわち、一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ヒトＶＩＳＴＡ、およびマウスＶＩＳＴＡ、および／またはカニクイザルＶＩＳＴＡに対して、交差反応性である。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、非ヒト霊長動物のＶＩＳＴＡとの交差反応性をもたらす。モデル種におけるＶＩＳＴＡに対する交差反応性は、ｉｎ ｖｉｖｏの同系モデルにおける、サロゲート分子に依拠しない、有効性についての調べることを可能とする。

【０４３１】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＰＤ－Ｌ１（例えば、ヒトＰＤ－Ｌ１）への特異的結合をもたらさない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＨＥＲ３（例えば、ヒトＨＥＲ３）への特異的結合をもたらさない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、タンパク質のＢ７ファミリーの、別のメンバーへの特異的結合をもたらさない（すなわち、これらと交差反応しない）。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ２、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＩＣＯＳＬＧ、ＣＤ２７６、ＶＴＣＮ１、ＮＣＲ３ＬＧ１、ＨＨＬＡ２、および／またはＣＴＬＡ４への特異的結合をもたらさない。

【０４３２】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、ＶＴＣＮ１（Ｂ７Ｈ４）、ＮＣＲ３ＬＧ１（Ｂ７Ｈ６）、ＨＨＬＡ２（Ｂ７Ｈ７）、および／またはＣＴＬＡ４への特異的結合を呈さない。

【０４３３】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、１つまたは複数のＦｃ媒介性機能を誘導することが可能ではない（すなわち、関連するＦｃ媒介性機能（複数可）を誘発する能力を欠く）。このような抗原結合性分子は、関連する機能（複数可）が欠如すると記載されうる。
【０４３４】
本明細書の上記で説明された通り、ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ／ＣＤＣを誘導しない（すなわち、これを誘導することが可能ではない）Ｆｃ領域／抗原結合性分子は、例えば、対象とする活性に適切なアッセイにおける解析により決定する場合、ＡＤＣＣ／ＡＤＣＰ／ＣＤＣ活性を実質的に誘発しない。同様に、参照タンパク質（例えば、所与のＦｃ受容体または補体タンパク質）「に結合しない」抗原結合性分子は、適切なアッセイにおいて、参照タンパク質への結合を、実質的に呈さない場合がある。
【０４３５】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＡＤＣＣを誘導することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＡＤＣＰを誘導することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＣＤＣを誘導することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＡＤＣＣを誘導することが可能ではなく、かつ／またはＡＤＣＰを誘導することが可能ではなく、かつ／またはＣＤＣを誘導することが可能ではない。
【０４３６】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｆｃ受容体に結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｆｃγ受容体に結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩｂ、ＦｃγＲＩＩｃ、ＦｃγＲＩＩＩａ、およびＦｃγＲＩＩＩｂのうちの１つまたは複数に結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃγＲＩＩＩａに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃγＲＩＩａに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃγＲＩＩｂに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃＲｎに結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、補体タンパク質に結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｃ１ｑに結合することが可能ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｎ２９７に対応するアミノ酸残基においてグリコシル化されない。
【０４３７】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ、および／またはカニクイザルＶＩＳＴＡに結合し、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－１、Ｂ７Ｈ３、ＶＴＣＮ１（Ｂ７Ｈ４）、ＮＣＲ３ＬＧ１（Ｂ７Ｈ６）、ＨＨＬＡ２（Ｂ７Ｈ７）、および／またはＣＴＬＡ４（例えば、ヒトＰＤ－Ｌ１／ＰＤ－１／Ｂ７Ｈ３／ＶＴＣＮ１／ＮＣＲ３ＬＧ１／ＨＨＬＡ２／ＣＴＬＡ４）に結合しない。
【０４３８】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＰＤ－Ｌ１（例えば、ヒトＰＤ－Ｌ１）への特異的結合を呈さない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＨＥＲ３（例えば、ヒトＨＥＲ３）への特異的結合を呈さない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、タンパク質のＢ７ファミリーの別のメンバーへの特異的結合を呈さない（すなわち、これらと交差反応しない）。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＩＣＯＳＬＧ、ＣＤ２７６、ＶＴＣＮ１、ＮＣＲ３ＬＧ１、ＨＨＬＡ２、および／またはＣＴＬＡ４への特異的結合を呈さない。
【０４３９】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、（ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、ＶＴＣＮ１（Ｂ７Ｈ４）、ＮＣＲ３ＬＧ１（Ｂ７Ｈ６）、ＨＨＬＡ２（Ｂ７Ｈ７）、および／またはＣＴＬＡ４への特異的結合を呈さない。

【０４４０】
一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに、マイクロモル範囲のアフィニティー、すなわち、K_D＝９．９×１０$^{-4}$～１×１０$^{-6}$Ｍで結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに、マイクロモル未満のアフィニティー、すなわち、K_D＜１×１０$^{-6}$Ｍで結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに、ナノモル範囲のアフィニティー、すなわち、K_D＝９．９×１０$^{-7}$～１×１０$^{-9}$Ｍで結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに、ナノモル未満のアフィニティー、すなわち、K_D＜１×１０$^{-9}$Ｍで結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに、ピコモル範囲のアフィニティー、すなわち、K_D＝９．９×１０$^{-10}$～１×１０$^{-12}$Ｍで結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに、ピコモル未満のアフィニティー、すなわち、K_D＜１×１０$^{-12}$Ｍで結合する。

【０４４１】
一部の実施形態では、本明細書で記載される抗原結合性分子は、１０μＭ以下、好ましくは、≦５μＭ、≦２μＭ、≦１μＭ、≦５００ｎＭ、≦１００ｎＭ、≦７５ｎＭ、≦５０ｎＭ、≦４０ｎＭ、≦３０ｎＭ、≦２０ｎＭ、≦１５ｎＭ、≦１２．５ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦９ｎＭ、≦８ｎＭ、≦７ｎＭ、≦６ｎＭ、≦５ｎＭ、≦４ｎＭ、≦３ｎＭ、≦２ｎＭ、≦１ｎＭ、または≦５００ｐＭのうちの１つのK_Dで、ＶＩＳＴＡ（例えば、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ）に結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、K_D≦１０ｎＭ、≦９ｎＭ、≦８ｎＭ、≦７ｎＭ、または≦６ｎＭ、≦５ｎＭ、≦４ｎＭ、≦３ｎＭ、≦２ｎＭ、または≦１ｎＭのアフィニティーで、ＶＩＳＴＡ（例えば、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ）に結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、K_D≦５００ｐＭ、≦１００ｐＭ、≦９０ｐＭ、≦８０ｐＭ、≦７０ｐＭ、または≦６０ｐＭ、≦５０ｐＭ、≦４０ｐＭ、≦３０ｐＭ、≦２０ｐＭ、≦１０ｐＭ、≦９ｐＭ、≦８ｐＭ、≦７ｐＭ、または≦６ｐＭ、≦５ｐＭ、≦４ｐＭ、≦３ｐＭ、≦２ｐＭ、または≦１ｐＭのアフィニティーで、ＶＩＳＴＡ（例えば、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ）に結合する。一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに、≦１ｎＭ（例えば、≦９００ｐＭ、≦８００ｐＭ、≦７００ｐＭ、≦６００ｐＭ、≦５００ｐＭ、≦４００ｐＭ、≦３００ｐＭのうちの１つ）のK_D（例えば、ＳＰＲ（Ｂｉｏｃｏｒｅ）解析、例えば、本開示の実施例で記載されるＳＰＲ解析により決定される）で結合する。

【０４４２】
一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、ヒトＶＩＳＴＡに、≦１ｎＭ（例えば、≦９００ｐＭ、≦８００ｐＭ、≦７００ｐＭ、≦６００ｐＭ、≦５００ｐＭのうちの１つ）のK_D（例えば、ＳＰＲ（Ｂｉｏｃｏｒｅ）解析、例えば、本開示の実施例で記載されるＳＰＲ解析により決定される）で結合する。一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、カニクイザルＶＩＳＴＡに、≦１ｎＭ（例えば、≦９００ｐＭ、≦８００ｐＭ、≦７００ｐＭ、≦６００ｐＭ、≦５００ｐＭ、≦４００ｐＭのうちの１つ）のK_D（例えば、ＳＰＲ（Ｂｉｏｃｏｒｅ）解析、例えば、本開示の実施例で記載されるＳＰＲ解析により決定される）で結合する。一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、ラットＶＩＳＴＡに、≦１ｎＭ（例えば、≦９００ｐＭ、≦８００ｐＭ、≦７００ｐＭ、≦６００ｐＭ、≦５００ｐＭ、≦４００ｐＭのうちの１つ）のK_D（例えば、ＳＰＲ（Ｂｉｏｃｏｒｅ）解析、例えば、本開示の実施例で記載されるＳＰＲ解析により決定される）で結合する。一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、マウスＶＩＳＴＡに、≦１ｎＭ（例えば、≦９００ｐＭ、≦８００ｐＭ、≦７００ｐＭ、≦６００ｐＭのうちの１つ）のK_D（例えば、ＳＰＲ（Ｂｉｏｃｏｒｅ）解析、例えば、本開示の実施例で記載されるＳＰＲ解析により決定される）で結合する。

【０４４３】
一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに、１μＭ以下のEC_{50}（例えば、ＥＬＩＳＡ、例えば、本開示の実施例で記載されるＥＬＩＳＡにより決

定される）、例えば、≦５００ｎＭ、≦１００ｎＭ、≦５０ｎＭ、≦４０ｎＭ、≦３０ｎＭ、≦２０ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦５ｎＭ、≦４ｎＭ、≦３ｎＭ、≦２ｎＭ、≦１ｎＭ、≦５００ｐＭ、≦４００ｐＭ、≦３００ｐＭ、≦２００ｐＭ、≦１００ｐＭ、≦５０ｐＭ、≦４０ｐＭ、≦３０ｐＭ、≦２０ｐＭ、≦１５ｐＭ、≦１０ｐＭ、≦５ｐＭ、または≦１ｐＭのうちの１つで結合する。

【０４４４】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ヒトＶＩＳＴＡ、マウス（ｍｕｒｉｎｅ）（例えば、マウス（ｍｏｕｓｅ））ＶＩＳＴＡ、ラットＶＩＳＴＡ、および／またはカニクイザル（Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）ＶＩＳＴＡへの結合を呈する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ヒトＶＩＳＴＡおよびマウスＶＩＳＴＡおよびラットＶＩＳＴＡおよびカニクイザルＶＩＳＴＡに結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ヒトＶＩＳＴＡおよびマウスＶＩＳＴＡおよびラットＶＩＳＴＡおよびカニクイザルＶＩＳＴＡに対して交差反応性である。一部の実施形態では、本開示の抗原結合性分子は、非ヒト霊長動物のＶＩＳＴＡと交差反応性をもたらす。モデル種におけるＶＩＳＴＡに対する交差反応性は、ｉｎ　ｖｉｖｏの同系モデルにおける、サロゲート分子に依拠しない、有効性についての調べることを可能とする。

【０４４５】

一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、ヒトＶＩＳＴＡに、≦２０ｐＭ（例えば、≦１５ｐＭ、≦１２．５ｐＭ、≦１０ｐＭ、≦７．５ｐＭのうちの１つ）のＥＣ$_{50}$（例えば、ＥＬＩＳＡ、例えば、本開示の実施例で記載されるＥＬＩＳＡにより決定される）で結合する。一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、カニクイザルＶＩＳＴＡに、≦５０ｐＭ（例えば、≦２５ｐＭ、≦２０ｐＭ、≦１５ｐＭのうちの１つ）のＥＣ$_{50}$（例えば、ＥＬＩＳＡ、例えば、本開示の実施例で記載されるＥＬＩＳＡにより決定される）で結合する。一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、ラットＶＩＳＴＡに、≦２０ｐＭ（例えば、≦１５ｐＭ、≦１２．５ｐＭ、≦１０ｐＭ、≦７．５ｐＭのうちの１つ）のＥＣ$_{50}$（例えば、ＥＬＩＳＡ、例えば、本開示の実施例で記載されるＥＬＩＳＡにより決定される）で結合する。一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、マウスＶＩＳＴＡに、≦２０ｐＭ（例えば、≦１５ｐＭ、≦１２．５ｐＭ、≦１０ｐＭ、≦７．５ｐＭ、≦５ｐＭのうちの１つ）のＥＣ$_{50}$（例えば、ＥＬＩＳＡ、例えば、本開示の実施例で記載されるＥＬＩＳＡにより決定される）で結合する。

【０４４６】

一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ（例えば、ヒトＶＩＳＴＡ）に、ｐＨ５．５～ｐＨ７．５において、同様のアフィニティーで結合する。例えば、一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ｐＨ５．５において、ＶＩＳＴＡに対して、ｐＨ７．５における、ＶＩＳＴＡに対するアフィニティーと同様のアフィニティーを呈する。

【０４４７】

本明細書では、参照結合アフィニティーと「同様」である結合アフィニティーとは、同等の条件下で決定される、参照結合アフィニティーの、５０％以内、例えば、４０％、４５％、３０％、２５％、２０％、１９％、１８％、１７％、１６％、１５％、１４％、１３％、１２％、１１％、１０％、９％、８％、７％、６％、５％、４％、３％、２％、または１％のうちの１つ以内である結合アフィニティーを意味する。

【０４４８】

ＶＩＳＴＡ（例えば、ヒトＶＩＳＴＡ）への結合についてのＫ$_{D}$は、５．５～ｐＨ７．５のｐＨにおいて、同様でありうる。ＶＩＳＴＡ（例えば、ヒトＶＩＳＴＡ）への結合についてのＥＣ$_{50}$は、５．５～ｐＨ７．５のｐＨにおいて、同様でありうる。

【０４４９】

本明細書では、参照値と「同様の」Ｋ$_{D}$またはＥＣ$_{50}$値は、≧０．５倍であり、かつ、≦２倍であることが可能であり、例えば、参照値の≧０．７倍であり、かつ、≦１．５

倍であるか、≧０．７５倍であり、かつ、≦１．２５倍であるか、≧０．８倍であり、かつ、≦１．２倍であるか、≧０．８５倍であり、かつ、≦１．１５倍であるか、≧０．９倍であり、かつ、≦１．１倍であるか、≧０．９１倍であり、かつ、≦１．０９倍であるか、≧０．９２倍であり、かつ、≦１．０８倍であるか、≧０．９３倍であり、かつ、≦１．０７倍であるか、≧０．９４倍であり、かつ、≦１．０６倍であるか、≧０．９５倍であり、かつ、≦１．０５倍であるか、≧０．９６倍であり、かつ、≦１．０４倍であるか、≧０．９７倍であり、かつ、≦１．０３倍であるか、≧０．９８倍であり、かつ、≦１．０２倍であるか、または≧０．９９倍であり、かつ、≦１．０１倍のうちの１つでありうる。

【０４５０】

本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡの、特に目的となる領域に結合しうる。本発明に従う抗原結合性分子の抗原結合性領域は、アミノの酸連続配列（すなわち、アミノ酸の一次配列）からなる、ＶＩＳＴＡの直鎖状エピトープに結合しうる。一部の実施形態では、抗原結合性領域は、アミノ酸配列のうちの、アミノ酸の不連続配列からなる、ＶＩＳＴＡのコンフォメーションエピトープに結合しうる。

【０４５１】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡの細胞外領域内で、ＶＩＳＴＡに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｉｇ様Ｖ型ドメイン（例えば、配列番号６に示される領域）内で、ＶＩＳＴＡに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号３１に示される領域内で、ＶＩＳＴＡに結合することが可能である。

【０４５２】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号６に示されるアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号３１に示されるアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号３２２に示されるアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、ペプチドまたはポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２６に示されるアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、ペプチドまたはポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７に示されるアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、ペプチドまたはポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２８に示されるアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、ペプチドまたはポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２９に示されるアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、ペプチドまたはポリペプチドに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号３０に示されるアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、ペプチドまたはポリペプチドに結合することが可能である。

【０４５３】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＩＧＮ１７５Ａが結合する、ＶＩＳＴＡの領域（例えば、ＷＯ２０１４／１９７８４９Ａ２に記載された）に結合しない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２６７の配列からなるポリペプチドおよび配列番号２６８の配列からなるポリペプチドから構成される抗原結合性分子が結合する、ＶＩＳＴＡの領域に結合しない。

【０４５４】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＩＧＮ１７５Ａ（例えば、ＷＯ２０１４／１９７８４９Ａ２に記載された）と、ＶＩＳＴＡへの結合について競合しない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２６７の配列からなるポリペプチドおよび配列番号２６８の配列からなるポリペプチドから構成される抗原結合性分子と、ＶＩＳＴＡへの

結合について競合しない。
【０４５５】
所与の抗原結合性分子が、ＩＧＮ１７５Ａまたは配列番号２６７の配列からなるポリペプチドおよび配列番号２６８の配列からなるポリペプチドから構成される抗原結合性分子と、ＶＩＳＴＡへの結合について競合する能力は、例えば、Ａｂｄｉｃｈｅ ら、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ（２０１２）、３８２（２）：１０１～１１６（参照によりその全体において本明細書に組み込まれる）において記載されている通り、競合ＥＬＩＳＡ、またはエピトープビニングにより解析されうる。エピトープビニングは、例えば、例えば、本出願の実施例８に記載される通り、ＢＬＩ解析により実施されうる。
【０４５６】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２７５に示されるアミノ酸配列からなるペプチドに結合することが可能ではない。
【０４５７】
本明細書で使用される、「ペプチド」とは、ペプチド結合により連結された、２つ以上のアミノ酸単量体による鎖を指す。ペプチドは、典型的に、領域内に、約２～５０アミノ酸の長さを有する。「ポリペプチド」とは、２つ以上のペプチドによるポリマー鎖である。ポリペプチドは、典型的に、約５０アミノ酸を超える長さを有する。
【０４５８】
抗原結合性分子が、所与のペプチド／ポリペプチドに結合する能力は、ＥＬＩＳＡ、免疫ブロット（例えば、ウェスタンブロット）、免疫沈降、表面プラズモン共鳴、およびバイオレイヤー干渉法による解析を含む、当業者に周知の方法により解析されうる。
【０４５９】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、クローンである、４Ｍ２－Ｃ１２、４Ｍ２－Ｂ４、４Ｍ２－Ｃ９、４Ｍ２－Ｄ９、４Ｍ２－Ｄ５、４Ｍ２－Ａ８、Ｖ４Ｈ１、Ｖ４Ｈ２、Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、Ｖ４－Ｃ３１、２Ｍ１－Ｂ１２、２Ｍ１－Ｄ２、１Ｍ２－Ｄ２、１３Ｄ５ｐ、１３Ｄ５－１、１３Ｄ５－１３、５Ｍ１－Ａ１１または９Ｍ２－Ｃ１２のうちの１つのＶＨおよびＶＬ配列を含む抗体が結合するＶＩＳＴＡの領域と同じＶＩＳＴＡの領域、または重複するＶＩＳＴＡの領域に結合することが可能である。
【０４６０】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＩＧＮ１７５Ａが結合する、ＶＩＳＴＡの領域（例えば、ＷＯ２０１４／１９７８４９Ａ２に記載された）と異なる、ＶＩＳＴＡの領域に結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２６７の配列からなるポリペプチドおよび配列番号２６８の配列からなるポリペプチドから構成される抗原結合性分子が結合する、ＶＩＳＴＡの領域と異なる、ＶＩＳＴＡの領域に結合することが可能である。
【０４６１】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＩＧＮ１７５Ａが結合する、ＶＩＳＴＡの領域（例えば、ＷＯ２０１４／１９７８４９Ａ２に記載された）と重複しないＶＩＳＴＡの領域に結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２６７の配列からなるポリペプチドおよび配列番号２６８の配列からなるポリペプチドから構成される抗原結合性分子が結合する、ＶＩＳＴＡの領域と重複しないＶＩＳＴＡの領域に結合することが可能である。
【０４６２】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＳＴＢ１１２が接触するＶＩＳＴＡの残基（例えば、ＷＯ２０１５／０９７５３６Ａ２に記載された）と同一でない、ＶＩＳＴＡの残基との接触を介して、ＶＩＳＴＡに結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、配列番号２６９の配列からなるポリペプチドおよび配列番号２７０の配列からなるポリペプチドから構成される抗原結合性分子が接触するＶＩＳＴＡの残基と同一でない、ＶＩＳＴＡの残基との接触を介して、ＶＩＳＴＡに結合する。

【０４６３】
一部の実施形態では、抗原結合性分子のエピトープは、ＶＳＴＢ１１２のエピトープと同一ではない。一部の実施形態では、抗原結合性分子のエピトープは、配列番号２６９の配列からなるポリペプチドおよび配列番号２７０の配列からなるポリペプチドから構成される抗原結合性分子のエピトープと同一ではない。
【０４６４】
抗体が結合する、ペプチド／ポリペプチドの領域は、抗体－抗原複合体についてのＸ線共結晶構造解析、ペプチド走査、突然変異誘発マッピング、質量分析による水素－重水素交換解析、ファージディスプレイ、競合ＥＬＩＳＡ、およびタンパク質分解ベースの「保護」法を含む、当技術分野で周知の、多様な方法を使用して、当業者により決定されうる。このような方法については、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｇｅｒｓｈｏｎｉら、ＢｉｏＤｒｕｇｓ、２００７、２１（３）：１４５～１５６において記載されている。
【０４６５】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡが、細胞表面（すなわち、細胞膜内または細胞膜）において発現される場合、抗原結合性分子（すなわち、細胞外抗原結合性分子）にアクセス可能な領域内のＶＩＳＴＡに結合する。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の細胞表面において発現されるＶＩＳＴＡに結合することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ発現細胞（例えば、ＣＤ１４＋単球（単球由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）など）および／またはＣＤ３３＋骨髄細胞、腫瘍関連マクロファージ（ＴＡＭ）、ならびに好中球）に結合することが可能である。
【０４６６】
抗原結合性分子が、所与の細胞型に結合する能力は、例えば、結合しなかった抗原結合性分子を除去する洗浄ステップの後で、細胞を、抗原結合性分子抗原結合性分子と接触させ、細胞に結合した抗原結合性分子を検出することにより解析されうる。抗原結合性分子が、免疫細胞表面分子発現細胞および／またはがん細胞抗原発現細胞に結合する能力は、フローサイトメトリーおよび免疫蛍光顕微鏡法などの方法により解析されうる。
【０４６７】
本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡのアンタゴニストでありうる。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡおよび／またはＶＩＳＴＡの結合パートナー（例えば、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ－３、ＶＳＩＧ－８、ＬＲＩＧ１）により媒介される、機能または過程（例えば、相互作用、シグナル伝達、または他の活性）を阻害することが可能である。本明細書に、「阻害」とは、対照条件と比べた、低減、減少、または低下を指す。所与の相互作用／活性／過程を阻害する抗原結合性分子は、相互作用／活性／過程の阻害剤またはアンタゴニストと称される場合があり、相互作用／活性／過程を「遮断」または「中和」すると言われる場合がある。
【０４６８】
本明細書で記載されるＶＩＳＴＡ結合性抗原結合性分子は、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、およびＣＤＣなどのＦｃ媒介性機能を要求しない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性機能／過程を阻害することが可能である。すなわち、本明細書で記載されるＶＩＳＴＡ結合性抗原結合性分子は、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、および／またはＣＤＣを誘発する必要を伴わずに、ＶＩＳＴＡ発現細胞の免疫抑制活性を阻害することが可能である。
【０４６９】
特に、本明細書で記載されるＶＩＳＴＡ結合性抗原結合性分子は、Ｆｃγ受容体への結合および／またはＣ１ｑへの結合を要求しない機構を介して、ＶＩＳＴＡを阻害することが可能である。
【０４７０】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの結合／相互作用パートナー（例えば、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ－３、ＶＳＩＧ－８、ＬＲＩＧ１

）との相互作用を阻害することが可能である。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡと、ＰＳＧＬ－１との相互作用を阻害することが可能である。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡとＶＳＩＧ－３との相互作用を阻害することが可能である。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡと、ＬＲＩＧ１との相互作用を阻害することが可能である。

【０４７１】

抗原結合性分子が、２つの因子の間の相互作用を阻害する能力は、例えば、抗体／断片の存在下で、または相互作用パートナーの一方もしくは両方の、抗体／断片を伴うインキュベーションの後で、相互作用を解析することにより決定されうる。所与の抗原結合性分子が、２つの相互作用パートナーの間の相互作用を阻害することが可能であるのかどうかを決定するためのアッセイは、競合ＥＬＩＳＡアッセイおよびＳＰＲによる解析を含む。

【０４７２】

所与の相互作用（例えば、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの結合パートナーとの相互作用）を阻害することが可能な抗原結合性分子は、抗原結合性分子の非存在下（または適切な対照抗原結合性分子の存在下）における相互作用のレベルと比較した、抗原結合性分子の存在下（または相互作用パートナーの一方または両方の、抗原結合性分子を伴うインキュベーションの後）における、相互作用パートナー間の相互作用のレベルの低減／減少の観察により同定されうる。適切な解析は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおいて、例えば、組換え相互作用パートナーを使用するか、または相互作用パートナーを発現する細胞を使用して実施されうる。相互作用パートナーを発現する細胞は、これを、内因的に発現させる場合もあり、細胞へと導入された核酸から発現させる場合もある。このようなアッセイの目的で、相互作用パートナーの一方もしくは両方、および／または抗原結合性分子は、相互作用のレベルを検出および／または測定することを目的とする、検出可能実体で標識付けされる場合もあり、これと共に使用される場合もある。

【０４７３】

抗原結合性分子が、２つの結合パートナーの間の相互作用を阻害する能力はまた、このような相互作用の、下流の機能的帰結を解析することによっても決定されうる。例えば、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの結合パートナーとの相互作用の、下流の機能的帰結は、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を含みうる。例えば、抗原結合性分子が、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの結合パートナーとの相互作用を阻害する能力は、ＭＬＲアッセイにおける、ＩＬ－２、ＩＦＮ－γ、および／またはＩＬ－１７の産生の解析により決定されうる。

【０４７４】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの結合パートナー（例えば、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ－３、ＶＳＩＧ－８、ＬＲＩＧ１）との相互作用を、抗原結合性分子の非存在下（または適切な対照抗原結合性分子の存在下）における、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの結合パートナーと相互作用のレベルの、１倍未満、例えば、≦０．９９倍、≦０．９５倍、≦０．９倍、≦０．８５倍、≦０．８倍、≦０．７５倍、≦０．７倍、≦０．６５倍、≦０．６倍、≦０．５５倍、≦０．５倍、≦０．４５倍、≦０．４倍、≦０．３５倍、≦０．３倍、≦０．２５倍、≦０．２倍、≦０．１５倍、≦０．１倍、≦０．０５倍、または≦０．０１倍へと阻害することが可能である。

【０４７５】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害する。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達は、ＶＩＳＴＡを含むポリペプチド複合体により媒介されるシグナル伝達でありうる。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達は、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナー（例えば、ＬＲＩＧ１、ＶＳＩＧ３、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ８）とを含むポリペプチド複合体により媒介されるシグナル伝達でありうる。ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達は、例えば、本明細書の実施例に記載されたＭＬＲアッセイなど、エフェクター免疫細胞の数／活性についてのアッセイを使用して解析されうる。ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達の阻害は、例えば、ＩＬ－２、ＩＦＮ－γ、および／またはＩＬ－１７の産生の増大により決定される、エフェクタ

ー免疫細胞の数および／または活性の増大の検出により同定されうる。

【０４７６】

抗原結合性分子が、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーとの相互作用を阻害する能力は、例えば、相互作用パートナーの存在下、または相互作用パートナーの一方もしくは両方の、抗原結合性分子とのインキュベーション後における相互作用の解析により決定されうる。所与の抗原結合性分子が、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーとの相互作用を阻害することが可能であるのかどうかを決定するためのアッセイは、競合ＥＬＩＳＡアッセイおよびＳＰＲによる解析を含む。

【０４７７】

ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーとの相互作用を阻害することが可能である抗原結合性分子は、相互作用パートナーの存在下（または相互作用パートナーの一方または両方の、抗原結合性分子を伴うインキュベーション後）における、相互作用パートナー間の相互作用レベルの、抗原結合性分子の非存在下（またはこのような相互作用を阻害しないことが公知である、適切な対照抗原結合性分子の存在下）における、相互作用のレベルと比較した低減／減少の観察により同定されうる。適切な解析は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおいて、例えば、組換え相互作用パートナーを使用するか、または相互作用パートナーを発現する細胞を使用して実施されうる。相互作用パートナーを発現する細胞は、これを、内因的に発現する場合もあり、細胞へと導入された核酸から発現する場合もある。このようなアッセイの目的で、相互作用パートナーの一方もしくは両方、および／または抗原結合性は、相互作用のレベルを検出および／または測定する目的とする、検出用実体で標識化される場合もあり、これと共に使用される場合もある。

【０４７８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｆｃ媒介性機能を要求しないか、または伴わない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｆｃ媒介性機能に依存せずに、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。すなわち、一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｆｃ領域に依存せずに、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。

【０４７９】

抗原結合性分子が、Ｆｃ媒介性機能を要求しない／伴わない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害する能力は、例えば、機能的なＦｃ領域を欠くフォーマットで用意された抗原結合性分子が、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害する能力を解析することにより評価されうる。例えば、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達に対する効果は、「サイレント」Ｆｃ領域（例えば、ＬＡＬＡ　ＰＧ置換を含む）を含む抗原結合性分子を使用して調べる場合もあり、Ｆｃ領域を欠くフォーマットで用意された抗原結合性分子（例えば、ｓｃＦｖ、Ｆａｂなど）を使用して調べる場合もある。

【０４８０】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＡＤＣＣを伴わない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＡＤＣＰを伴わない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＣＤＣを伴わない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。

【０４８１】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、抗原結合性分子の、Ｆｃ受容体への結合を要求しない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、抗原結合性分子の、Ｆｃγ受容体への結合を要求しない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、抗原結合性分子の、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩｂ、ＦｃγＲＩＩｃ、ＦｃγＲＩＩＩａ、およびＦｃγＲＩＩＩｂのうちの１つまたは複数への結合を要求しない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃγＲＩＩＩａへの結合

を要求しない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃγＲＩＩａへの結合を要求しない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＦｃγＲＩＩｂへの結合を要求しない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、補体タンパク質への結合を要求しない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｃ１ｑへの結合を要求しない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｎ２９７のグリコシル化を要求しない機構により、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である。

【０４８２】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅を増大させることが可能である。ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅は、抗原結合性分子のエフェクター機能を介して増大させうる。抗原結合性分子が、Ｆｃ領域を含む実施形態では、抗原結合性分子は、補体依存性細胞傷害作用（ＣＤＣ）、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害作用（ＡＤＣＣ）、および抗体依存性細胞性食作用（ＡＤＣＰ）のうちの１つまたは複数を介して、ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅を増大させうる。

【０４８３】

ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅を増大させることが可能な抗原結合性分子は、適切なアッセイの、抗原結合性分子の非存在下（または適切な対照抗原結合性分子の存在下）において検出される細胞殺滅のレベルと比較した、抗原結合性分子の存在下（またはＶＩＳＴＡ発現細胞の、抗原結合性分子を伴うインキュベーションの後）における、ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅のレベルの上昇の観察により同定されうる。当業者には、ＣＤＣ、ＡＤＣＣ、およびＡＤＣＰについてのアッセイが周知である。ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅のレベルはまた、異なる処置条件への曝露の後における、ＶＩＳＴＡ発現細胞の、生存および／または非生存の数／比率を測定することによっても決定されうる。

【０４８４】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ発現細胞（例えば、ＶＩＳＴＡ発現ＭＤＳＣ）の殺滅を、抗原結合性分子の非存在下（または適切な対照抗原結合性分子の存在下）において観察される殺滅のレベルの、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍へと増大させることが可能である。

【０４８５】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、同等なアッセイにおいて、ＶＩＳＴＡ発現細胞（例えば、ＶＩＳＴＡ発現ＭＤＳＣ）の数を、抗原結合性分子の非存在下におけるインキュベーションの後に（または適切な対照の抗原結合性分子の存在下におけるインキュベーションの後に）検出される、ＶＩＳＴＡ発現細胞（例えば、ＶＩＳＴＡを発現させるＭＤＳＣ、ＴＡＭ、好中球）の数の、１倍未満、例えば、≦０．９９倍、≦０．９５倍、≦０．９倍、≦０．８５倍、≦０．８倍、≦０．７５倍、≦０．７倍、≦０．６５倍、≦０．６倍、≦０．５５倍、≦０．５倍、≦０．４５倍、≦０．４倍、≦０．３５倍、≦０．３倍、≦０．２５倍、≦０．２倍、≦０．１５倍、≦０．１倍、≦０．０５倍、または≦０．０１倍へと低減することが可能である。

【０４８６】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、非枯渇性抗原結合性分子である。すなわち、一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ発現細胞の、実質的な枯渇を引き起こさない。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ発現細胞に対する、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、および／またはＣＤＣを誘発しない／増大させない。

【０４８７】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、例えば、抗原結合性分子が、Ｆｃ領域を欠く実施形態、または抗原結合性分子が、Ｆｃ媒介性抗体エフェクター機能を誘導することが可能ではないＦｃ領域を含む実施形態では、ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅を誘導しない／増大させない。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ発現細胞の数／比率を低減しない。

【０４８８】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、（ｉ）ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害し、かつ、（ｉｉ）ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅を誘導しない／増大させない。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、（ｉ）ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害し、かつ、（ｉｉ）ＶＩＳＴＡ発現細胞の数／比率を低減しない。

【０４８９】

ＶＩＳＴＡは、枯渇することが所望されない細胞により発現されるために、これは、特に、有利でありうる。例えば、ＶＩＳＴＡは、死滅させるか、または数／比率を低減することが所望されない免疫細胞（例えば、ある特定の種類のＴ細胞および樹状細胞）により、低レベルで発現される。

【０４９０】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、例えば、適切なｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイ、またはｉｎ　ｖｉｖｏにおいて、陰性対照条件と比べて、エフェクター免疫細胞の数および／または活性を増大させることが可能である。説明を目的として述べると、本発明の抗原結合性分子は、エフェクター免疫細胞を、エフェクター免疫細胞の増殖および機能に対する、ＭＤＳＣ媒介性抑制から解放することが可能でありうる。一部の実施形態では、エフェクター免疫細胞は、例えば、ＣＤ８＋　Ｔ細胞、ＣＤ８＋細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＤ８＋ＣＴＬ）、ＣＤ４＋　Ｔ細胞、ＣＤ４＋ヘルパーＴ細胞、ＮＫ細胞、ＩＦＮγ産生細胞、メモリーＴ細胞、セントラルメモリーＴ細胞、抗原経験Ｔ細胞、またはＣＤ４５ＲＯ＋Ｔ細胞でありうる。

【０４９１】

細胞の数および比率は、例えば、細胞型の検出を可能とする抗体を使用するフローサイトメトリー解析により決定されうる。細胞分裂は、例えば、^{3}Ｈ－チミジンの取込みについてのｉｎ　ｖｉｔｒｏ解析により解析される場合もあり、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、ＦｕｌｃｈｅｒおよびＷｏｎｇ、Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ（１９９９）、７７（６）：５５９～５６４において記載された、ＣＦＳＥ希釈アッセイにより解析される場合もある。エフェクター免疫細胞の活性は、このような活性の相関因子を測定することにより解析されうる。一部の実施形態では、エフェクター免疫細胞の活性は、例えば、ＩＬ－２、ＩＦＮ－γ、および／またはＩＬ－１７の産生の解析により決定されうる。

【０４９２】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、エフェクター免疫細胞型の数を、抗原結合性分子の非存在下（または適切な対照抗原結合性分子の存在下）において観察される数の、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍へと増大させることが可能である。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、エフェクター免疫細胞活性の相関因子のレベルを、抗原結合性分子の非存在下（または適切な対照抗原結合性分子の存在下）において観察されるレベルの、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍へと増大させることが可能である。

【０４９３】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ発現細胞により媒介される免疫抑制のレベルを減少させることが可能である。免疫抑制のレベルの変化は、例えば、Ｏｃｈｏａら、Ａｎｎ　Ｓｕｒｇ．、２００１年３月、２３３（３）：３９３～３９９；ならびにＤｉｋａｌｏｖおよびＨａｒｒｉｓｏｎ、Ａｎｔｉｏｘｉｄ　Ｒｅｄｏｘ　Ｓｉｇｎａｌ．、２０１４年１月１０日、２０（２）：３７２～３８２において記載されている通り、ＶＩＳＴＡ発現細胞による、アルギナーゼ１の発現および／または反応性酸素分子種（ＲＯＳ）の産生を測定する方法を使用して決定されうる。

【０４９４】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、例えば、抗原提示についての適切なアッセイを使用して決定する場合、抗原提示細胞による抗原提示を増大させることが可能である。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、例えば、食作用のレベルについての適切なアッセイを使用して決定する場合、食細胞（例えば、好中球、単球、マクロファージ、マスト細胞、および／または樹状細胞）による食作用を増大させることが可能である。

【０４９５】

一部の実施形態では、本開示の抗原結合性分子は、例えば、例えば、適切なｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイにおいて、またはｉｎ　ｖｉｖｏにおいて（例えば、腫瘍内において）、抗原提示細胞（例えば、ＣＤ１１ｂ＋　ＭＨＣＩＩ＋細胞）の数および／または活性を、陰性対照条件と比べて増大させることが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、例えば、適切なｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイにおいて、またはｉｎ　ｖｉｖｏ（例えば、腫瘍内）において、マクロファージ（例えば、ＣＤ１１ｂ＋　Ｆ４／８０＋細胞）の数および／または活性を、陰性対照条件と比べて増大させることが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、例えば、適切なｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイにおいて、またはｉｎ　ｖｉｖｏ（例えば、腫瘍内）において、樹状細胞（例えば、ＣＤ１１ｃ＋細胞）の数および／または活性を、陰性対照条件と比べて増大させることが可能である。

【０４９６】

一部の実施形態では、本開示の抗原結合性分子は、前出の段落で列挙された細胞型の数を、抗原結合性分子の非存在下で（または適切な対照抗原結合性分子の存在下で）観察される数の、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍の数へと増大させることが可能である。一部の実施形態では、本開示の抗原結合性分子は、前出の段落で列挙された細胞型の活性の相関因子のレベルを、抗原結合性分子の非存在下で（または適切な対照抗原結合性分子の存在下で）観察されるレベルの、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍のレベルへと上昇させることが可能である。

【０４９７】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、免疫細胞によるＩＬ－６の産生を増大させることが可能である。免疫細胞は、例えば、ＰＢＭＣ、リンパ球、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、または単球でありうる。一部の実施形態では、免疫細胞は、単球である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、ＬＰＳで刺激した後における免疫細胞による、ＩＬ－６の産生を増大させることが可能である。抗原結合性分子が、免疫細胞による、ＩＬ－６の産生を増大させる能力は、例えば、本明細書の実施例１０に記載されるｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイにおいて解析されうる。このような方法は、単球（例えば、ＴＨＰ１細胞）を、ＬＰＳで刺激するステップと、刺激された細胞を、抗原結合性分子と共にインキュベートするステップとを含みうる。

【０４９８】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、免疫細胞（例えば、ＬＰＳにより刺激されたＴＨＰ１細胞）による、ＩＬ－６の産生を、抗原結合性分子の非存在下（または適切な対照抗原結合性分子の存在下）において観察されるレベルの、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍へと増大させることが可能である。
【０４９９】
一部の実施形態では、本開示の抗原結合性分子は、Ｔｈ１／Ｔｈ１７細胞の数および／または活性を増大させることが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｔｈ１／Ｔｈ１７応答を上方調節することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｔｈ１／Ｔｈ１７応答を、Ｔｈ２応答に対して優先する。一部の実施形態では、本開示の抗原結合性分子は、混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイにおける、Ｔ細胞の増殖、ＩＬ－２の産生、ＩＦＮ－γの産生、ＴＮＦαの産生、および／またはＩＬ－１７Ａの産生を増大させることが可能である。ＭＬＲアッセイは、Ｂｒｏｍｅｌｏｗら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ、２００１年１月１日；２４７（１～２）：１～８（参照によりその全体において本明細書に組み込まれる）に記載される通りに、または本明細書の実施例に記載される通りに実施されうる。ＩＬ－２、ＩＦＮγ、および／またはＩＬ－１７の産生は、例えば、ウェスタンブロット、免疫組織化学、免疫細胞化学、フローサイトメトリー、ＥＬＩＳＡ、ＥＬＩＳＰＯＴなど、当業者に周知の抗体ベースの方法により解析される場合もあり、レポーターベースの方法により解析される場合もある。
【０５００】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイにおける、Ｔ細胞（例えば、Ｔｈ１／Ｔｈ１７細胞）の増殖、ＩＬ－２の産生、ＩＦＮ－γの産生、および／またはＩＬ－１７の産生を増大させることが可能である。ＭＬＲアッセイは、Ｂｒｏｍｅｌｏｗら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ、２００１年１月１日；２４７（１～２）：１～８（参照によりその全体において本明細書に組み込まれる）に記載される通りに、または本明細書の実施例に記載される通りに実施されうる。ＩＬ－２、ＩＦＮγ、および／またはＩＬ－１７の産生は、例えば、ウェスタンブロット、免疫組織化学、免疫細胞化学、フローサイトメトリー、ＥＬＩＳＡ、ＥＬＩＳＰＯＴなど、当業者に周知の抗体ベースの方法により解析される場合もあり、レポーターベースの方法により解析される場合もある。
【０５０１】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＭＬＲアッセイにおける、Ｔ細胞の増殖、ＩＬ－２の産生、ＩＦＮ－γの産生、および／またはＩＬ－１７の産生を、抗原結合性分子の非存在下（または適切な対照抗原結合性分子の存在下）において観察されるレベルの、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍へと増大させることが可能である。
【０５０２】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、例えば、ＶＩＳＴＡ／ＶＩＳＴＡ発現細胞の存在下で、Ｔ細胞の増殖、ＩＦＮ－γの産生、および／またはＴＮＦａの産生を増大させることが可能である。抗原結合性分子は、例えば、本明細書の実施例に記載されるｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイにおいて、このような特性について評価されうる。
【０５０３】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、Ｔ細胞（例えば、Ｔｈ１／Ｔｈ１７細胞）の増殖、ＩＦＮ－γの産生、および／またはＴＮＦａの産生（例えば、ＶＩＳＴＡ／ＶＩＳＴＡを発現する細胞の存在下における）を、抗原結合性分子の非存在下（または

適切な対照抗原結合性分子の存在下）において観察されるレベルの、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍へと増大させることが可能である。

【０５０４】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、Ｔ細胞（例えば、ＣＤ４＋　Ｔ細胞および／またはＣＤ８＋　Ｔ細胞、例えば、Ｔｈ１／Ｔｈ１７細胞）の増殖を、先行技術において開示されたＶＩＳＴＡ結合性抗体（例えば、例えば、ＷＯ２０１５／０９７５３６Ａ２において記載されたＶＳＴＢ１１２）より大きな程度へと増大させることが可能である。Ｔ細胞の増殖は、例えば、本明細書の実施例９に記載される、ｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイにおいて評価される場合があり、アゴニスト性抗ＣＤ３抗体の存在下における培養により、Ｔ細胞増殖を刺激することを伴いうる。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、このようなアッセイにおける、Ｔ細胞の増殖を、先行技術のＶＩＳＴＡ結合性抗体（例えば、ＶＳＴＢ１１２）により誘導される増殖レベルの、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍へと増大させることが可能である。

【０５０５】

一部の実施形態では、本開示の抗原結合性分子は、がん細胞のＴ細胞媒介性溶解を、抗原結合性分子の非存在下で（または適切な対照抗原結合性分子の存在下で）観察されるレベルの、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍のレベルへと増大させることが可能である。

【０５０６】

一部の実施形態では、本開示の抗原結合性分子は、例えば、ＶＩＳＴＡ／ＶＩＳＴＡ発現細胞の存在下で、がん細胞のＴ細胞媒介性溶解を増大させることが可能である。抗原結合性分子は、例えば、本明細書の実施例において記載されるｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイにおいて、このような特性について査定されうる。

【０５０７】

一部の実施形態では、本開示の抗原結合性分子は、Ｔ細胞媒介性溶解（例えば、ＶＩＳＴＡ／ＶＩＳＴＡ発現細胞の存在下における）を、抗原結合性分子の非存在下で（または適切な対照抗原結合性分子の存在下で）観察されるレベルの、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍のレベルへと増大させることが可能である。

【０５０８】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＴＨＰ１細胞による、ＩＬ－６の産生を、先行技術において開示されたＶＩＳＴＡ結合性抗体（例えば、ＷＯ２０１５／０９７５３６Ａ２において記載されたＶＳＴＢ１１２）より大きな程度へと増大させることが可能である。ＴＨＰ１細胞による、ＩＬ－６の産生は、例えば、本明細書の実施例１０に記載される、ｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイにおいて評価される場合があり、ＴＨＰ１細胞を、ＬＰＳで刺激することを伴いうる。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、このようなアッセイにおける、ＩＬ－６の産生を、先行技術のＶＩＳＴＡ結合性抗体（例えば、ＶＳＴＢ１１２）により誘導されるレベルの、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２

倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍へと増大させることが可能である。

【０５０９】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、例えば、適切なｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイ、またはｉｎ　ｖｉｖｏにおいて、対照条件と比べて、免疫抑制細胞の数および／もしくは活性を低減し、免疫抑制細胞の増殖を阻害し、かつ／または細胞（例えば、ＣＤ４５＋細胞、例えば、腫瘍から得られたＣＤ４５＋細胞）集団内の、免疫抑制細胞の比率を低減することが可能である。

【０５１０】

免疫抑制細胞は、例えば、ＶＩＳＴＡ発現細胞、Ａｒｇ１発現細胞、ＭＤＳＣ、顆粒球型ＭＤＳＣ（ｇ－ＭＤＳＣ）、または単球型ＭＤＳＣ（ｍ－ＭＤＳＣ）でありうる。一部の実施形態では、免疫抑制細胞は、ＣＤ１１ｂ＋　ＧＲ１＋　ＭＨＣＩＩ－細胞である。

【０５１１】

一部の実施形態では、数／活性／増殖／比率の低減は、抗原結合性分子の非存在下（または適切な対照抗原結合性分子の存在下）において観察される数／活性／増殖／比率の、１倍未満、例えば、≦０．９９倍、≦０．９５倍、≦０．９倍、≦０．８５倍、≦０．８倍、≦０．７５倍、≦０．７倍、≦０．６５倍、≦０．６倍、≦０．５５倍、≦０．５倍、≦０．４５倍、≦０．４倍、≦０．３５倍、≦０．３倍、≦０．２５倍、≦０．２倍、≦０．１５倍、≦０．１倍、≦０．０５倍、または≦０．０１倍への低減である。

【０５１２】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｆｃ媒介性機能を伴わない機構により、免疫抑制細胞の数／活性／増殖／比率を低減することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｆｃ媒介性機能に依存せずに（すなわち、Ｆｃ領域に依存せずに）、免疫抑制細胞の数／活性／増殖／比率を低減することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、および／またはＣＤＣを伴わない機構により、免疫抑制細胞の数／活性／増殖／比率を低減することが可能である。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ発現細胞の枯渇を伴わない機構により、免疫抑制細胞の数／活性／増殖／比率を低減することが可能である。

【０５１３】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ｉｎ　ｖｉｖｏにおけるがんの発症および／または進行を阻害する。

【０５１４】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、エフェクター免疫細胞により、がん細胞の殺滅の増大を引き起こす。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、適切な対照条件と比較した、ｉｎ　ｖｉｖｏにおけるがん細胞の数の低減を引き起こす。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、時間経過にわたり、腫瘍サイズ／容量を測定することにより決定される、腫瘍増殖を阻害する。

【０５１５】

一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、抗原結合性分子で処置されたマウスにおける、ＩＦＮ－γおよび／またはＩＬ－２３の血清レベルを増大させることが可能である。ＩＦＮ－γおよび／またはＩＬ－２３の血清レベルは、例えば、マウスから得られた血液試料に由来する血清についてのＥＬＩＳＡにより解析されうる。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子の投与は、ＩＦＮ－γおよび／またはＩＬ－２３の血清レベルを、抗原結合性分子の非存在下において観察されるレベル（または適切な対照抗原結合性分子の投与後において観察されるレベル）の、１倍を超えて、例えば、≧１．０１倍、≧１．０２倍、≧１．０３倍、≧１．０４倍、≧１．０５倍、≧１．１倍、≧１．２倍、≧１．３倍、≧１．４倍、≧１．５倍、≧１．６倍、≧１．７倍、≧１．８倍、≧１．９倍、≧２倍、≧３倍、≧４倍、≧５倍、≧６倍、≧７倍、≧８倍、≧９倍、または≧１０倍へと増大させる。

【０５１６】
本発明の抗原結合性分子は、ＣＴ２６細胞由来モデル、４Ｔ－１細胞由来モデル、ＬＬ２細胞由来モデル、Ｂ１６細胞由来モデル、またはＥＬ４細胞由来モデルなど、適切なｉｎ　ｖｉｖｏモデル、例えば、細胞株由来異種移植モデルにおいて、がんの発症および／または進行を阻害する能力について解析されうる。がんは、ＶＩＳＴＡ発現細胞および／またはＭＤＳＣ（例えば、ＶＩＳＴＡを発現させるＭＤＳＣ、ＴＡＭ、好中球）が病理学的に関与するがんでありうる。ＭＤＳＣが「病理学的に関与する」がんは、ＭＤＳＣ、またはＭＤＳＣの数／比率の増大が、がんの発生、発症、もしくは進行、および／またはがんの、１つもしくは複数の症状の重症度と正に関連するがん、あるいはＭＤＳＣ、またはＭＤＳＣの数／比率の増大が、がんの発生、発症、または進行の危険性因子であるがんを含む。がんは、疾患の影響を受ける臓器／組織（例えば、疾患／状態の症状が顕在化する臓器／組織）内、または腫瘍内に、ＭＤＳＣを含みうる。

【０５１７】
一部の実施形態では、本発明に従う抗原結合性分子の投与は、例えば、ＣＴ２６細胞、４Ｔ－１細胞、ＬＬ２細胞、Ｂ１６細胞、またはＥＬ４細胞に由来する異種移植モデルにおいて決定する場合、がんの発症／進行の阻害、がんの発生までの遅延／がんの発生の防止、腫瘍増殖の軽減／腫瘍増殖までの遅延／腫瘍増殖の防止、転移の軽減／転移までの遅延／転移の防止、がんの症状の重症度の軽減、がん細胞数の低減、腫瘍サイズ／体積の低減、および／または生存（例えば、無増悪生存期間）の延長のうちの１つまたは複数を引き起こしうる。

【０５１８】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子の投与は、抗原結合性分子の投与の非存在下において（または適切な対照抗原結合性分子の投与後において）観察される腫瘍増殖の５％超、例えば、≧１０％、≧１５％、≧２０％、≧２５％、≧３０％、≧３５％、≧４０％、≧４５％、≧５０％、≧５５％、≧６０％、≧６５％、≧７０％、≧７５％、≧８０％、≧８５％、≧９０％、または≧９５％を阻害することが可能である。

【０５１９】
一部の実施形態では、本開示の実施例の、ＣＴ２６細胞由来モデルによる実験において記載される用量および規則性における抗原結合性分子の投与は、抗原結合性分子の投与の非存在下で（または適切な対照抗原結合性分子の投与後において）観察される腫瘍増殖のうちの、５％を超える増殖、例えば、≧１０％、≧１５％、≧２０％、≧２５％、≧３０％、≧３５％、≧４０％、≧４５％、≧５０％、≧５５％、≧６０％、≧６５％、≧７０％、≧７５％、または≧８０％の増殖を阻害する。一部の実施形態では、本開示の実施例の、４Ｔ－１細胞由来モデルによる実験において記載される用量および規則性における抗原結合性分子の投与は、抗原結合性分子の投与の非存在下で（または適切な対照抗原結合性分子の投与後において）観察される腫瘍増殖のうちの、５％を超える増殖、例えば、≧１０％、≧１５％、≧２０％、≧２５％、≧３０％、≧３５％、≧４０％、≧４５％、≧５０％の増殖を阻害する。

【０５２０】
一部の実施形態では、本開示に従う抗原結合性分子の投与は、サイトカイン放出症候群と関連しない。一部の実施形態では、抗原結合性分子の投与は、白血球（例えば、Ｂ細胞、Ｔ細胞、ＮＫ細胞、マクロファージ、樹状細胞、および／または単球）の全身性活性化と関連しない。一部の実施形態では、抗原結合性分子の投与は、白血球による、炎症性サイトカインおよび／またはケモカイン（例えば、ＩＬ－６、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－８、ＩＬ－１０、ＧＭ－ＣＳＦ、ＭＩＰ－１α／β、ＭＣＰ－１、ＣＸＣＬ９および／またはＣＸＣＬ１０）の発現の、全身性上方調節と関連しない。

【０５２１】
一部の実施形態では、本明細書で開示される抗原結合性分子または他の物品（例えば、組成物、核酸など）による対象の処置であって、例えば、抗原結合性分子／物品が、本明細書で記載される投与量で、かつ／または投与スケジュールに従い、対象へと投与される

処置は、以下の転帰：
・有害事象（ＡＥ）の非存在；
・重篤な有害事象（ＳＡＥ）の非存在；
・例えば、他の治療用抗ＶＩＳＴＡ抗体と比較して、有害事象（ＡＥ）の頻度が最小限であるか、または低減されること；
・例えば、他の治療用抗ＶＩＳＴＡ抗体と比較して、重篤な有害事象（ＳＡＥ）の頻度が最小限であるか、または低減されること；
・用量制限毒性（ＤＬＴ）の非存在；
・例えば、Ｗ０１８０およびＣＡ－１７０など、他の治療用抗ＶＩＳＴＡ抗体と比較して、用量制限毒性（ＤＬＴ）の頻度が最小限であるか、または低減されること；
・処置後における、循環腫瘍マーカー（例えば、無細胞（ｃｆ）ＤＮＡ変異対立遺伝子画分／腫瘍画分、ｃｔＤＮＡ）の、例えば、処置の前における同じ対象と比較した低減；
・例えば、Ｗ０１８０およびＣＡ－１７０など、他の治療用抗ＶＩＳＴＡ抗体と比較して、ＩＲＲ（ｉｎｆｕｓｉｏｎ　ｒｅｌａｔｅｄ　ｒｅａｃｔｉｏｎ）、例えば、サイトカイン放出症候群、および関連するサイトカインの増大が非存在であるか、これらの頻度が最小限であるか、または低減されること；
・例えば、Ｗ０１８０およびＣＡ－１７０など、他の治療用抗ＶＩＳＴＡ抗体と比較して、消化器毒性が非存在であるか、これらの頻度が最小限であるか、または低減されること；
・例えば、Ｗ０１８０およびＣＡ－１７０など、他の治療用抗ＶＩＳＴＡ抗体と比較して、発赤または皮膚炎が非存在であるか、これらの頻度が最小限であるか、または低減されること；
・例えば、Ｗ０１８０およびＣＡ－１７０など、他の治療用抗ＶＩＳＴＡ抗体と比較して、血液学的変化が非存在であるか、これらの頻度が最小限であるか、または低減されること；
・例えば、Ｗ０１８０およびＣＡ－１７０など、他の治療用抗ＶＩＳＴＡ抗体と比較して、心毒性が非存在であるか、これらの頻度が最小限であるか、または低減されること；ならびに／または
・例えば、Ｗ０１８０およびＣＡ－１７０など、他の治療用抗ＶＩＳＴＡ抗体と比較して、アルブミンの増大が非存在であるか、これらの頻度が最小限であるか、または低減されること
のうちの１つまたは複数と関連しうる。

【０５２２】

有害事象（ＡＥ）は、治験薬（ＩＭＰ）、対照薬、または承認薬を投与された患者における、任意の望ましくないか、所望されないか、計画されない医学的発生として規定されうる。ＡＥは、ＩＭＰまたは対照薬と関連する場合もあり、関連しない場合もある、徴候、症状、疾患、および／または検査による観察もしくは生理学的観察でありうる。ＡＥは、以下のリスト内のＡＥを含むがこれらに限定されない。

【０５２３】

・既存の状態の、臨床的に有意な悪化。これは、完全に消散し、次いで、再度、異常となりうる状態を含む。

【０５２４】

・偶発的であれ、意図的であれ、ＩＭＰの過剰投与から生じるＡＥ。

【０５２５】

・例えば、治験責任医師が、薬物バッチが、有効ではないことを疑う場合、または治験責任医師が、ＩＭＰが、疾患の進行に寄与したことを疑う場合に、ＩＭＰの有効性の欠如から生じるＡＥ。

【０５２６】

重篤な有害事象（ＳＡＥ）は、用量、因果関係、または予測可能性に関わらず、以下の任意のＡＥである：

・死を結果としてもたらすＡＥ；
・致死性であるＡＥ、すなわち、有害事象が生じる時点において、または患者の死を結果としてもたらしえた、デバイスまたは他の医薬品の持続的使用により、患者が死亡する、実質的な危険性にある事象；
・入院患者の入院を要求するＡＥ、または既存の入院患者の入院を延長するＡＥ（一部の入院、例えば、患者が試験に参加する前に計画された、病院による受入れ；輸血など、計画された手順のための、一晩にわたる滞在は、ＳＡＥの報告を免除される）；
・遷延するか、または著明である、無能力状態または身体障害を結果としてもたらすＡＥ；
・先天性異常または出生時欠損であるＡＥ；
・他の任意の医学的に重大な事象、すなわち、患者を脅かす場合もあり、上記で列挙された転帰のうちの１つを防止する介入を要求する場合もある、任意の事象。

【０５２７】

一部の実施形態では、本開示に従う処置に対する応答は、腫瘍／病変の応答への言及により特徴付けられうる。一部の実施形態では、腫瘍／病変の応答は、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｅｉｓｅｎｈａｕｅｒら、Ｅｕｒ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ．２００９年１月、４５（２）：２２８～４７において記載されている、ＲＥＣＩＳＴ（Ｒｅｓｐｏｎｓｅ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｃｒｉｔｅｒｉａ ｉｎ Ｓｏｌｉｄ Ｔｕｍｏｒｓ）基準、例えば、ＲＥＣＩＳＴ １．１基準に従い査定される。

【０５２８】

一部の実施形態では、本明細書で記載される抗原結合性分子または物品による対象の処置であって、例えば、抗原結合性分子／物品が、本明細書で記載される投与量で、かつ／または本明細書で記載される投与スケジュールに従い、対象へと投与される、処置は、例えば、処置の開始から、１２および／または２４カ月後における、以下の転帰のうちの１つまたは複数（必要に応じて、ＲＥＣＩＳＴ １．１基準に従い評価される；詳細および評価法については、実施例１９．９を参照されたい）と関連しうる：

・抗腫瘍応答；
・完全奏効（ＣＲ）：ＣＲとは、全ての標的腫瘍および／または非標的腫瘍の、目視レベルにおける、完全な消失を指す。ＣＲは、腫瘍マーカーレベルの正常化に関与しうる；
・完全奏効（ＣＲ）の可能性の、例えば、抗原結合性分子による処置を伴わない同じ対象、抗原結合性分子を施されなかった対象、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された対象における、ＣＲの可能性と比較した増大；
・完全奏効（ＣＲ）を呈する対象の比率の、例えば、抗原結合性分子により処置されていないか、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された、ＣＲを呈する対象の比率と比較した増大；
・全生存（ＯＳ）：ＯＳは、処置の開始から、任意の原因に起因する死まで時間として規定される；
・全生存（ＯＳ）の可能性の、例えば、抗原結合性分子による処置を伴わない同じ対象、抗原結合性分子を施されなかった対象、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された対象における、ＯＳの可能性と比較した増大；
・全生存（ＯＳ）を示す対象の比率の、例えば、抗原結合性分子により処置されていないか、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された、ＯＳを呈する対象の比率と比較した増大；
・無進行生存（ＰＦＳ）：ＰＦＳとは、処置の開始から、疾患の進行または死までの時間を指す；

無進行生存（ＰＦＳ）の可能性の、例えば、抗原結合性分子による処置を伴わない同じ対象、抗原結合性分子を施されなかった対象、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された対象における、ＰＦＳの可能性と比較した増大；

・無進行生存（ＰＦＳ）を示す対象の比率の、例えば、抗原結合性分子により処置されていないか、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された、ＰＦＳを呈す

る対象の比率と比較した増大；
・６カ月後における無進行生存（ＰＦＳ６）：ＰＦＳ６とは、処置開始の６カ月（２６週間）後において、生存し、無進行である患者の百分率を指す；
６カ月後における無進行生存（ＰＦＳ６）の可能性の、例えば、抗原結合性分子による処置を伴わない同じ対象、抗原結合性分子を施されなかった対象、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された対象における、ＰＦＳの可能性と比較した増大；
・６カ月後における無進行生存（ＰＦＳ６）を示す対象の百分率の、例えば、抗原結合性分子により処置されていないか、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された、ＰＦＳ６を呈する対象の百分率と比較した増大；
・部分奏効（ＰＲ）：ＰＲとは、全標的腫瘍直径和の、処置前に計算されたベースライン直径和と比較した、少なくとも３０％の低減を指す；
・部分奏効（ＰＲ）の可能性の、例えば、抗原結合性分子による処置を伴わない同じ対象、抗原結合性分子を施されなかった対象、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された対象における、ＰＲの可能性と比較した増大；
・部分奏効（ＰＲ）を示す対象の比率の、例えば、抗原結合性分子により処置されていないか、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された、ＰＲを呈する対象の比率と比較した増大；
・ＭＲ（ｍｉｘｅｄ　ｒｅｓｐｏｎｓｅ）：ＭＲとは、１つまたは複数の腫瘍病変が、ＰＲについての基準を満たし、他の腫瘍病変（複数可）が、進行（全腫瘍直径和の、最小腫瘍サイズからの、少なくとも２０％の増大、および／または新たな腫瘍病変の出現）についての基準を満たすことを指す；
・ＭＲ（ｍｉｘｅｄ　ｒｅｓｐｏｎｓｅ）の可能性の、例えば、抗原結合性分子による処置を伴わない同じ対象、抗原結合性分子を施されなかった対象、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された対象における、ＭＲと比較した増大の可能性；
・ＭＲ（ｍｉｘｅｄ　ｒｅｓｐｏｎｓｅ）を示す対象の比率の、例えば、抗原結合性分子により処置されていないか、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された、ＭＲを呈する対象の比率と比較した増大；
・安定（ＳＤ）：ＳＤとは、処置の開始時における腫瘍量と比較した、部分奏効でも、進行でもない状態を指す。

【０５２９】
安定（ＳＤ）の可能性の、例えば、抗原結合性分子による処置を伴わない同じ対象、抗原結合性分子を施されなかった対象、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された対象における、ＳＤの可能性と比較した増大；
・安定（ＳＤ）を示す対象の比率の、例えば、抗原結合性分子により処置されていないか、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された、ＳＤを呈する対象の比率と比較した増大；
・奏効期間（ＤｏＲ）またはＣＲ期間の、例えば、抗原結合性分子による処置を伴わない同じ対象、抗原結合性分子を施されなかった対象、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された対象における持続期間と比較した延長：奏効期間（ＤｏＲ）は、ＰＲまたはＣＲについての測定基準が最初に満たされた日付～進行（ＰＤ）についての測定基準が最初に満たされた日付の時間として規定される。ＣＲ期間（ＤｏＣＲ）は、ＣＲについての測定基準が満たされた日付～ＰＤについての測定基準が最初に満たされた日付の時間として規定される；
・奏効期間（ＤｏＲ）の延長、またはＣＲ期間の延長を示す対象の比率の、例えば、抗原結合性分子による処置を伴わないか、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された、ＤｏＲまたはＤｏＣＲの延長を呈する対象の比率と比較した増大；
・全奏効（ＯＲ）：ＯＲは、完全奏効（ＣＲ）または部分奏効（ＰＲ）の達成として規定される；
・全奏効率（ＯＲＲ）：ＯＲＲは、完全奏効（ＣＲ）または部分奏効（ＰＲ）を達成した患者の比率として規定される；

・ＯＲＲの、例えば、抗原結合性分子により処置されていないか、または異なる抗ＶＩＳＴＡ抗原結合性分子により処置された、ＯＲを呈する対象の比率と比較した増大；

腫瘍応答は、腫瘍およびその位置に応じて、適切なイメージング法、例えば、ＣＴスキャン、ＭＲＩスキャン、およびＦＤＧ－ＰＥＴを使用して査定されうる。当業者は、適切な技法に精通しており、これらは、Ｅｉｓｅｎｈａｕｅｒら、前出；および／または本明細書の実施例１９．９において記載されている。

【０５３０】

対象は、本明細書で規定される対象、例えば、本開示に従うがんまたは充実性腫瘍を、例えば、有するか、またはこれを有することが決定された対象でありうる。

キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）

本発明はまた、本発明の抗原結合性分子またはポリペプチドを含むキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）も提供する。

【０５３１】

ＣＡＲは、抗原結合およびＴ細胞活性化機能の両方をもたらす、組換え受容体である。ＣＡＲの構造および操作については、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｄｏｔｔｉら、Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｒｅｖ（２０１４）、２５７（１）において総説されている。ＣＡＲは、細胞膜アンカー領域およびシグナル伝達領域へと連結された、抗原結合性領域を含む。任意選択のヒンジ領域は、抗原結合性領域と、細胞膜アンカー領域との分離をもたらすことが可能であり、可動性リンカーとして作用しうる。

【０５３２】

本発明のＣＡＲは、本発明の抗原結合性分子を含むか、もしくはこれからなるか、または本発明に従うポリペプチドを含むか、もしくはこれからなる、抗原結合性領域を含む。

【０５３３】

細胞膜アンカー領域は、ＣＡＲの、抗原結合性領域と、シグナル伝達領域との間にもたらされ、細胞外腔に抗原結合性領域を伴い、細胞内部にシグナル伝達領域を伴う、ＣＡＲの、ＣＡＲを発現する細胞の細胞膜へのアンカリングをもたらす。一部の実施形態では、ＣＡＲは、ＣＤ３－ζ、ＣＤ４、ＣＤ８、またはＣＤ２８のうちの１つの、膜貫通領域のアミノ酸配列を含むか、これからなるか、またはこれに由来するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる細胞膜アンカー領域を含む。本明細書で使用される、参照アミノ酸配列「に由来する」領域は、参照配列に対する、少なくとも６０％、例えば、少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性のうちの１つを有するアミノ酸配列を含む。

【０５３４】

ＣＡＲのシグナル伝達領域は、Ｔ細胞の活性化を可能とする。ＣＡＲのシグナル伝達領域は、ＣＡＲ発現Ｔ細胞のリン酸化および活性化のための、免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）をもたらす、ＣＤ３－ζの細胞内ドメインのアミノ酸配列を含みうる。ＣＡＲでは、ＦｃγＲＩなど、他のＩＴＡＭ含有タンパク質の配列を含むシグナル伝達領域もまた利用されている（Ｈａｙｎｅｓら、２００１、Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ、１６６（１）：１８２～１８７）。ＣＡＲのシグナル伝達領域はまた、標的タンパク質への結合時における、ＣＡＲ発現Ｔ細胞の活性化を容易とするように、共刺激分子のシグナル伝達領域に由来する、共刺激配列も含みうる。適切な共刺激分子は、ＣＤ２８、ＯＸ４０、４－１ＢＢ、ＩＣＯＳ、およびＣＤ２７を含む。場合によって、ＣＡＲは、異なる細胞内シグナル伝達経路の共刺激をもたらすように操作される。例えば、ＣＤ２８の共刺激と関連するシグナル伝達が、ホスファチジルイノシトール３キナーゼ（Ｐ１３Ｋ）経路を優先的に活性化させるのに対し、４－１ＢＢ媒介性シグナル伝達ＴＮＦ受容体関連因子（ＴＲＡＦ）アダプタータンパク質を介する。したがって、ＣＡＲのシグナル伝達領域は、場合によって、１つを超える共刺激分子のシグナル伝達領域に由来する共刺激配列を含有する。一部の実施形態では、本発明のＣＡＲは、ＣＤ２８、ＯＸ４０、４－１ＢＢ、ＩＣＯＳ、およびＣＤ２７のうちの１つまたは複数の細胞内ドメインのアミノ酸配列を含むか、

これからなるか、またはこれに由来するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなる、１つまたは複数の共刺激配列を含む。

【０５３５】

任意選択のヒンジ領域は、抗原結合性ドメインと、膜貫通ドメインとの分離をもたらすことが可能であり、可動性リンカーとして作用しうる。ヒンジ領域は、ＩｇＧ１に由来しうる。一部の実施形態では、本発明のＣＡＲは、このＩｇＧ１のヒンジ領域のアミノ酸配列を含むか、これからなるか、またはこれに由来するアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるヒンジ領域を含む。

【０５３６】

また、本発明に従うＣＡＲを含む細胞も提供される。本発明に従うＣＡＲは、ＣＡＲ発現免疫細胞、例えば、ＣＡＲ－Ｔ細胞またはＣＡＲ－ＮＫ細胞を作出するのに使用されうる。ＣＡＲの、免疫細胞への操作は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおける培養時に実施されうる。

【０５３７】

本発明のＣＡＲの抗原結合性領域は、例えば、ｓｃＦｖ、ｓｃＦａｂなど、任意の適切なフォーマットでもたらされうる。

核酸およびベクター

本発明は、本発明に従う、抗原結合性分子、ポリペプチド、またはＣＡＲをコードする、１つの核酸または複数の核酸を提供する。

【０５３８】

一部の実施形態では、核酸は、例えば、他の核酸から、精製または単離される場合もあり、天然に存在する生物学的素材から、精製または単離される場合もある。一部の実施形態では、核酸（複数可）は、ＤＮＡおよび／またはＲＮＡを含むか、またはこれからなる。

【０５３９】

本発明はまた、本発明に従う、１つの核酸または複数の核酸を含む、１つのベクターまたは複数のベクターも提供する。

【０５４０】

ヌクレオチド配列は、ベクター、例えば、発現ベクター内に含有されうる。本明細書で使用される、「ベクター」とは、外因性核酸を、細胞へと導入するビヒクルとして使用される核酸分子である。ベクターは、細胞内で核酸を発現させるためのベクターでありうる。このようなベクターは、発現される配列をコードするヌクレオチド配列に作動可能に連結されたプロモーター配列を含みうる。ベクターはまた、終止コドンおよび発現エンハンサーも含みうる。当技術分野で公知である、任意の、適切なベクター、プロモーター、エンハンサー、および終止コドンが、ペプチドまたはポリペプチドを、本発明に従うベクターから発現させるのに使用されうる。

【０５４１】

「作動可能に連結された」という用語は、核酸配列の発現を、調節配列の影響下または制御下に置く（これにより、発現カセットを形成する）ように、選択された核酸配列と、調節的核酸配列（例えば、プロモーターおよび／またはエンハンサー）とが、共有結合的に連結された状況を含みうる。したがって、調節配列が、核酸配列の転写を実行することが可能な場合、調節配列は、選択された核酸配列に作動可能に連結されている。次いで、結果として得られる転写物（複数可）は、所望のペプチド（複数可）／ポリペプチド（複数可）へと翻訳されうる。

【０５４２】

適切なベクターは、プラスミド、二元ベクター、ＤＮＡベクター、ｍＲＮＡベクター、ウイルスベクター（例えば、ガンマレトロウイルスベクター（例えば、マウス白血病ウイルス（ＭＬＶ）由来ベクター）、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、およびヘルペスウイルスベクター）、トランスポゾンベースのベクター、および人工染色体（例えば、酵母人工染色体）を含む。

【０５４３】
一部の実施形態では、ベクターは、真核生物ベクター、例えば、真核細胞内のベクターからの、タンパク質の発現に必要なエレメントを含むベクターでありうる。一部の実施形態では、ベクターは、例えば、タンパク質の発現を駆動する、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）またはＳＶ４０プロモーターを含む、哺乳動物ベクターでありうる。
【０５４４】
本発明に従う抗原結合性分子の、構成要素であるポリペプチドは、複数の核酸のうちの、異なる核酸、または複数のベクターのうちの、異なるベクターによりコードされうる。
抗原結合性分子およびポリペプチドを含む／発現する細胞
本発明はまた、本発明に従う、抗原結合性分子、ポリペプチド、またはＣＡＲを含むか、またはこれを発現する細胞も提供する。また、本発明に従う１つの核酸、複数の核酸、１つのベクター、または複数のベクターを含むか、またはこれを発現する細胞も提供される。
【０５４５】
細胞は、真核細胞、例えば、哺乳動物細胞でありうる。哺乳動物は、霊長動物（アカゲザル、カニクイザル、非ヒト霊長動物、またはヒト）、または非ヒト哺乳動物（例えば、ウサギ、モルモット、ラット、マウスまたは他の齧歯動物（ネズミ目内の任意の動物を含む）、ネコ、イヌ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、畜牛（ウシ、例えば、乳牛、またはウシ目内の任意の動物を含む）、ウマ（ウマ目内の任意の動物を含む）、ロバ、および非ヒト霊長動物）でありうる。
【０５４６】
本発明はまた、本発明に従う核酸（複数可）またはベクター（複数可）を含む細胞を作製するための方法であって、本発明に従う１つの核酸、複数の核酸、１つのベクター、または複数のベクターを、細胞へと導入するステップを含む方法も提供する。一部の実施形態では、本発明に従う、単離核酸（複数可）または単離ベクター（複数可）を、細胞へと導入するステップは、形質転換、トランスフェクション、電気穿孔、または形質導入（例えば、レトロウイルスによる形質導入）を含む。
【０５４７】
本発明はまた、本発明に従う、抗原結合性分子、ポリペプチド、またはＣＡＲを発現する／含む細胞を作製するための方法であって、本発明に従う１つの核酸、複数の核酸、１つのベクター、または複数のベクターを、細胞へと導入するステップを含む方法も提供する。一部の実施形態では、方法は、細胞を、細胞による、核酸（複数可）またはベクター（複数可）の発現にも適する条件下で培養するステップをさらに含む。一部の実施形態では、方法は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおいて実施される。
【０５４８】
本発明はまた、本発明に従う方法により得られるか、または得られうる細胞も提供する。
抗原結合性分子およびポリペプチドの作製
本発明に従う抗原結合性分子およびポリペプチドは、当業者に公知の、ポリペプチドを作製するための方法に従い調製されうる。
【０５４９】
ポリペプチドは、化学合成、例えば、液相または固相合成により調製されうる。例えば、ペプチド／ポリペプチドは、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｃｈａｎｄｒｕｄｕら、Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ（２０１３）、１８：４３７３～４３８８において記載された方法を使用して合成されうる。
【０５５０】
代替的に、抗原結合性分子およびポリペプチドは、組換え発現によっても作製されうる。当技術分野では、それらのいずれもが、参照によりそれらの全体において本明細書に組み込まれる、ＧｒｅｅｎおよびＳａｍｂｒｏｏｋ、「Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ」（４版）、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈ

ａｒｂｏｒ　Ｐｒｅｓｓ、２０１２；ならびにＮａｔ　Ｍｅｔｈｏｄｓ．（２００８）、５（２）：１３５～１４６において明示された分子生物学法など、ポリペプチドの組換え作製に適する分子生物学法が周知である。抗原結合性分子の組換え作製のための方法はまた、それらのいずれもが、参照によりそれらの全体において本明細書に組み込まれる、Ｆｒｅｎｚｅｌら、Ｆｒｏｎｔ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．（２０１３）、４：２１７；ならびにＫｕｎｅｒｔおよびＲｅｉｎｈａｒｔ、Ａｐｐｌ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．（２０１６）、１００：３４５１～３４６１においても記載されている。

【０５５１】

場合によって、本発明の抗原結合性分子は、１つを超えるポリペプチド鎖から構成される。このような場合に、抗原結合性分子の作製は、抗原結合性分子を形成するのに、１つを超えるポリペプチドの転写および翻訳と、後続するポリペプチド鎖の会合とを含みうる。

【０５５２】

本発明に従う組換え作製のために、ポリペプチドの発現に適する、任意の細胞が使用されうる。細胞は、原核細胞の場合もあり、真核細胞の場合もある。一部の実施形態では、細胞は、古細菌または細菌の細胞などの原核細胞である。一部の実施形態では、細菌は、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒａｃｅａｅ科の細菌、例えば、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉなどのグラム陰性菌でありうる。一部の実施形態では、細胞は、酵母細胞、植物細胞、昆虫細胞、または哺乳動物細胞、例えば、ＣＨＯ、ＨＥＫ（例えば、ＨＥＫ２９３）、ＨｅＬａ、またはＣＯＳ細胞などの真核細胞である。一部の実施形態では、細胞は、一過性に、または安定的にポリペプチドを発現するＣＨＯ細胞である。

【０５５３】

場合によって、細胞は、一部の原核細胞は、真核細胞と同じフォールディングまたは翻訳後修飾を可能としないため、原核細胞ではない。加えて、真核細胞内では、極めて高度の発現レベルが可能であり、タンパク質は、適切なタグを使用する、真核細胞からの精製が容易である。タンパク質の、培地への分泌を増強する、特異的なプラスミドもまた利用されうる。

【０５５４】

一部の実施形態では、ポリペプチドは、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｚｅｍｅｌｌａら、Ｃｈｅｍｂｉｏｃｈｅｍ（２０１５）、１６（１７）：２４２０～２４３１において記載されたシステムを使用する、無細胞タンパク質合成（ＣＦＰＳ）により調製されうる。

【０５５５】

作製は、目的のポリペプチド（複数可）を発現するように修飾された、真核細胞の培養または発酵を伴いうる。培養または発酵は、栄養物、空気／酸素、および／または増殖因子の適切な供給がなされたバイオリアクター内で実施されうる。分泌されたタンパク質は、培養培地／発酵培養液を、細胞から分別し、タンパク質含有物を抽出し、個別のタンパク質を分離して、分泌されたポリペプチド（複数可）を単離することにより回収されうる。当業者には、培養、発酵、および分離法が周知であり、例えば、ＧｒｅｅｎおよびＳａｍｂｒｏｏｋ、「Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ」（４版；参照により、本明細書の上記に組み込まれた）において記載されている。

【０５５６】

バイオリアクターは、細胞が培養されうる、１または複数の反応槽を含む。バイオリアクター内の培養は、反応物の、リアクターへの、持続的な流入と、培養された細胞の、リアクターからの、持続的な流出とにより、持続的に生じうる。代替的に、培養は、バッチ内で生じうる。バイオリアクターは、培養される細胞に、最適の条件がもたらされるように、ｐＨ、酸素、反応槽への流入および反応槽からの流出の流量、ならびに反応槽内の攪拌などの環境条件をモニタリングし、制御する。

【０５５７】

抗原結合性分子／ポリペプチド（複数可）を発現する細胞の培養の後、目的のポリペプチド（複数可）は、単離されうる。当技術分野で公知の、細胞から、タンパク質を分離するための、任意の適切な方法が使用されうる。ポリペプチドを単離するために、細胞を、栄養培地から分離することが必要でありうる。目的のポリペプチド（複数可）が、細胞から分泌される場合、細胞は、分泌された目的のポリペプチド（複数可）を含有する培養培地から、遠心分離により分離されうる。目的のポリペプチド（複数可）が、細胞内に集まる場合、タンパク質の単離は、細胞を、細胞培養培地から分離する遠心分離、細胞ペレットの、溶解緩衝液による処理、および超音波処理、急速な凍結－融解、または浸透圧溶解による、細胞の破壊を含みうる。

【０５５８】

次いで、目的のポリペプチド（複数可）を、他のタンパク質および非タンパク質成分を含有しうる、上清または培養物培地を単離することが所望されうる。タンパク質成分を、上清または培養培地から分離するための、一般的な手法は、沈殿である。可溶性が異なるタンパク質は、硫酸アンモニウムなど、異なる濃度の沈殿剤で沈殿する。例えば、低濃度の沈殿剤では、水溶性のタンパク質が抽出される。したがって、増大させる、異なる濃度の沈殿剤を添加することにより、可溶性の異なるタンパク質が、識別されうる。その後、分離されたタンパク質から、硫酸アンモニウムを除去するのに、透析が使用されうる。

【０５５９】

当技術分野では、異なるタンパク質を識別するための、他の方法、例えば、イオン交換クロマトグラフィーおよびサイズクロマトグラフィーが公知である。これらは、沈殿に対する代替法として使用される場合もあり、沈殿に後続して実施される場合もある。

【０５６０】

目的のポリペプチド（複数可）が、培養物から単離されたら、ポリペプチド（複数可）を濃縮することが所望または必要でありうる。当技術分野では、限外濾過または凍結乾燥など、タンパク質を濃縮する、多数の方法が公知である。

組成物

本発明はまた、本明細書で記載される、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸、発現ベクター、および細胞を含む組成物も提供する。

【０５６１】

本明細書で記載される、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸、発現ベクター、および細胞は、臨床使用のための医薬組成物または医薬として製剤化される場合があり、薬学的に許容される担体、希釈剤、賦形剤、またはアジュバントを含みうる。組成物は、注射または注入を含みうる、局所、非経口、全身、腔内、静脈内、動脈内、筋内、髄腔内、眼内、結膜内、腫瘍内、皮下、皮内、髄腔内、経口、または経皮投与経路のために製剤化されうる。

【０５６２】

適切な製剤は、滅菌媒体中または等張性媒体中の抗原結合性分子を含みうる。医薬および医薬組成物は、ゲル形態を含む、流体中で製剤化されうる。流体製剤は、ヒトまたは動物体内の、選択された領域への、注射または注入（例えば、カテーテルを介する）による投与のために製剤化されうる。

【０５６３】

一部の実施形態では、組成物は、例えば、血管または腫瘍への、注射または注入のために製剤化される。

【０５６４】

また、本発明に従い、本明細書で記載される、薬学的に有用な組成物を作製するための方法も提供され、このような作製法は、本明細書で記載される、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（または複数の核酸）、発現ベクター（または複数の発現ベクター）、もしくは細胞を作製するステップ；本明細書で記載される、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（または複数の核酸）、発現ベクター（または複数の発現ベクター）、もしくは細胞を単離するステップ；および／または本明細書で記載される、抗原結合

性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（または複数の核酸）、発現ベクター（または複数の発現ベクター）、もしくは細胞を、薬学的に許容される担体、アジュバント、賦形剤、または希釈剤と混合するステップから選択される、１つまたは複数のステップを含みうる。

【０５６５】

例えば、本明細書で記載される、本発明のさらなる態様は、疾患／状態（例えば、がん）の処置における使用のための医薬または医薬組成物を製剤化または作製する方法であって、本明細書で記載される、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（または複数の核酸）、発現ベクター（または複数の発現ベクター）、または細胞を、薬学的に許容される担体、アジュバント、賦形剤、または希釈剤と混合することにより、医薬組成物または医薬を製剤化するステップに関する。

【０５６６】

本開示の態様および実施形態では、抗原結合性分子は、特定の化学成分を、指定された濃度／比率で含む組成物により提供されうる。

【０５６７】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、緩衝液により提供される。本明細書で使用される、「緩衝液」とは、その酸－塩基コンジュゲート成分の作用により、ｐＨの変化に抵抗する緩衝液を指す。本開示の緩衝液は、好ましくは、ｐＨが約４．５～約７．０、好ましくは、約５．０～約６．５の範囲にある。ｐＨをこの範囲内に制御する緩衝液の例は、酢酸、コハク酸、ヒスチジン、ヒスチジン－アルギニン、ヒスチジン－メチオニン、および他の有機酸緩衝液を含む。

【０５６８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子を含む組成物は、ｐＨが４．０～７．０、例えば、ｐＨ４．５～ｐＨ６．８、ｐＨ４．６～ｐＨ６．５、ｐＨ４．８～ｐＨ６．３、またはｐＨ５．０～ｐＨ６．３のうちの１つである。一部の実施形態では、組成物は、ｐＨが約５．５である。一部の実施形態では、組成物は、ｐＨが約５．８である。一部の実施形態では、組成物は、ｐＨが約６．３である。

【０５６９】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、酢酸緩衝液、すなわち、酢酸イオンを含む緩衝液により提供される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、酢酸塩を、２ｍＭ～２００ｍＭの酢酸塩、例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つである最終濃度で含む組成物により提供される。一部の実施形態では、組成物は、約２０ｍＭの酢酸塩を含みうる。緩衝液は、酢酸ナトリウムを含みうる。

【０５７０】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ヒスチジン緩衝液、すなわち、ヒスチジンイオンを含む緩衝液により提供される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ヒスチジンを、２ｍＭ～２００ｍＭのヒスチジン、例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つである最終濃度で含む組成物により提供される。一部の実施形態では、組成物は、約２０ｍＭのヒスチジンを含みうる。

【０５７１】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、コハク酸緩衝液、すなわち、コハク酸イオンを含む緩衝液により提供される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、コハク酸塩を、２ｍＭ～２００ｍＭのコハク酸塩、例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つである最終濃度で含む組成物により提供される。一部の実施形態では、組成物は、約２０ｍＭのコハク酸塩を含みうる。緩衝液は、コハク酸ナトリウムを含みうる。

【０５７２】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、リン酸ナトリウム緩衝液、すなわち、ナトリ

ウムイオンおよびリン酸イオンを含む緩衝液により提供される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、リン酸ナトリウムを、２ｍＭ～２００ｍＭのリン酸ナトリウム、例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つである最終濃度で含む組成物により提供される。一部の実施形態では、組成物は、約２０ｍＭのリン酸ナトリウムを含みうる。

【０５７３】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、酢酸ナトリウム緩衝液、すなわち、ナトリウムおよび酢酸イオンを含む緩衝液により提供される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、酢酸ナトリウムを、２ｍＭ～２００ｍＭの酢酸ナトリウム、例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つである最終濃度で含む組成物により提供される。一部の実施形態では、組成物は、約２０ｍＭの酢酸ナトリウムを含みうる。

【０５７４】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、アルギニン緩衝液、すなわち、アルギニンイオンを含む緩衝液により提供される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、アルギニンを、１ｍＭ～２５０ｍＭのアルギニン、例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つである最終濃度で含む組成物により提供される。一部の実施形態では、組成物は、約２０ｍＭのアルギニンを含みうる。

【０５７５】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ヒスチジン－アルギニン緩衝液、すなわち、ヒスチジンイオンおよびアルギニンイオンを含む緩衝液により提供される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ヒスチジンを、２ｍＭ～２００ｍＭのヒスチジン、例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つである最終濃度で含み、アルギニンを、１ｍＭ～３００ｍＭのアルギニン、例えば、１０ｍＭ～２５０ｍＭ、５０ｍＭ～２００ｍＭ、７５ｍＭ～２００ｍＭ、１００ｍＭ～１８０ｍＭ、または１２５～１７５ｍＭのうちの１つである最終濃度で含む組成物により提供される。一部の実施形態では、組成物は、約２０ｍＭのヒスチジン、および約１５０ｍＭのアルギニンを含みうる。

【０５７６】

一部の実施形態では、抗原結合性分子を含む組成物は、等張剤を含む。等張剤は、等張性製剤をもたらすのに使用されうる。等張剤の例は、例えば、塩（例えば、塩化ナトリウム、塩化カリウム）、および糖（例えば、スクロース、グルコース、トレハロース）を含む。

【０５７７】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、塩化ナトリウム、すなわち、ナトリウムイオンおよび塩化物イオンを含む組成物により提供される。組成物の塩化ナトリウム成分は、１ｍＭ～２５０ｍＭの塩化ナトリウム、例えば、１０ｍＭ～２５０ｍＭ、５０ｍＭ～２００ｍＭ、７５ｍＭ～２００ｍＭ、１００ｍＭ～１８０ｍＭ、または１２５～１７５ｍＭのうちの１つである最終濃度で提供される。一部の実施形態では、組成物は、約１５０ｍＭの塩化ナトリウムを含みうる。

【０５７８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、メチオニンを含む組成物により提供される。組成物のメチオニン成分は、１ｍＭ～２５０ｍＭのメチオニン、例えば、１０ｍＭ～２５０ｍＭ、５０ｍＭ～２００ｍＭ、７５ｍＭ～２００ｍＭ、１００ｍＭ～１８０ｍＭ、または１２５～１７５ｍＭのうちの１つである最終濃度で提供される。一部の実施形態では、組成物は、約１５０ｍＭのメチオニンを含みうる。

【０５７９】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、スクロースを含む組成物により提供される。組成物のスクロース成分は、２％～２０％、例えば、２％～１５％、３％～１２％、また

は４％～１０％のうちの１つである最終濃度（容量当たりの質量による）で提供される。一部の実施形態では、組成物は、約２、約４、約６、または約８％（ｗ／ｖ）のスクロースを含みうる。組成物のスクロース成分は、２００～３００ｎＭ、例えば、約２４０ｍＭの最終濃度で提供されうる。

【０５８０】

一部の実施形態では、抗原結合性分子を含む組成物は、界面活性剤を含む。本明細書で使用される、「界面活性剤」とは、界面張力を低下させる薬剤を指す。界面活性剤は、好ましくは、非イオン性界面活性剤である。界面活性剤の例は、ポリソルベート（ポリソルベート２０、ポリソルベート８０）、ポロキサマー（ポロキサマー１８８）、およびＴｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００を含む。界面活性剤は、好ましくは、組成物中に、約０．００１％（ｗ／ｖ）～約０．５％（ｗ／ｖ）の範囲で存在する。

【０５８１】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ポリソルベート２０を含む組成物により提供される。組成物のポリソルベート２０成分は、０．００１％～０．１％、例えば、０．００２％～０．０８％、０．００６％～０．０５％、または０．００８％～０．０４％のうちの１つである最終濃度（容量当たりの質量による）で提供される。一部の実施形態では、組成物は、約０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０を含みうる。一部の実施形態では、組成物は、約０．０５％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０を含みうる。

【０５８２】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ポリソルベート８０を含む組成物により提供される。組成物のポリソルベート８０成分は、０．００１％～０．１％、例えば、０．００２％～０．０８％、０．００６％～０．０５％、または０．００８％～０．０４％のうちの１つである最終濃度（容量当たりの質量による）で提供される。一部の実施形態では、組成物は、約０．０１％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含みうる。一部の実施形態では、組成物は、約０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含みうる。

【０５８３】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

２ｍＭ～２００ｍＭ（例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つ）のヒスチジン、より好ましくは約２０ｍＭのヒスチジン；

２％～２０％（例えば、２％～１５％、３％～１２％、または４％～１０％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のスクロース、より好ましくは約８％（ｗ／ｖ）のスクロース；

０．００１％～０．１％（例えば、０．００２％～０．０８％、０．００６％～０．０５％、または０．００８％～０．０４％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０、より好ましくは約０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０；および

ｐＨ４．０～７．０（例えば、ｐＨ４．５～ｐＨ６．８、ｐＨ４．６～ｐＨ６．４、ｐＨ４．８～ｐＨ６．２、またはｐＨ５．０～ｐＨ６．２のうちの１つ）、より好ましくは、ｐＨ約５．５

を含む組成物により提供される。

【０５８４】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、

２ｍＭ～２００ｍＭ（例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つ）のヒスチジン、より好ましくは約２０ｍＭのヒスチジン；

２％～２０％（例えば、２％～１５％、３％～１２％、または４％～１０％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のスクロース、より好ましくは約８％（ｗ／ｖ）のスクロース；

０．００１％～０．１％（例えば、０．００２％～０．０８％、０．００６％～０．０５％、または０．００８％～０．０４％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０、より好ましくは約０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０；および

ｐＨ４．０～７．０（例えば、ｐＨ４．５～ｐＨ６．８、ｐＨ４．６～ｐＨ６．４、ｐ

ＨＩＳ４．８～ｐＨ６．２、またはｐＨ５．０～ｐＨ６．２のうちの１つ）、より好ましくは、ｐＨ約５．８
を含む組成物により提供される。
【０５８５】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
２ｍＭ～２００ｍＭ（例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つ）のヒスチジン、より好ましくは約２０ｍＭのヒスチジン；
２％～２０％（例えば、１％～１５％、２％～１０％、または３％～８％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のスクロース、より好ましくは約４％（ｗ／ｖ）のスクロース；
０．００１％～０．１％（例えば、０．００２％～０．０８％、０．００６％～０．０５％、または０．００８％～０．０４％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０、より好ましくは約０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０；および
ｐＨ４．０～７．０（例えば、ｐＨ４．５～ｐＨ６．８、ｐＨ４．６～ｐＨ６．４、ｐＨ４．８～ｐＨ６．２、またはｐＨ５．０～ｐＨ６．２のうちの１つ）、より好ましくは、ｐＨ約５．８
を含む組成物により提供される。
【０５８６】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
２ｍＭ～２００ｍＭ（例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つ）のヒスチジン、より好ましくは約２０ｍＭのヒスチジン；
０．２％～２０％（例えば、０．５％～１５％、０．７５％～１０％、または１％～５％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のスクロース、より好ましくは約２％（ｗ／ｖ）のスクロース；
０．００１％～０．１％（例えば、０．００２％～０．０８％、０．００６％～０．０５％、または０．００８％～０．０４％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０、より好ましくは約０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０；および
ｐＨ４．０～７．０（例えば、ｐＨ４．５～ｐＨ６．８、ｐＨ４．６～ｐＨ６．４、ｐＨ４．８～ｐＨ６．２、またはｐＨ５．０～ｐＨ６．２のうちの１つ）、より好ましくは、ｐＨ約５．８
を含む組成物により提供される。
【０５８７】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
２ｍＭ～２００ｍＭ（例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つ）のヒスチジン、より好ましくは約２０ｍＭのヒスチジン；
２％～２０％（例えば、２％～１５％、３％～１２％、または４％～１０％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のスクロース、より好ましくは約８％（ｗ／ｖ）のスクロース；
０．００１％～０．１％（例えば、０．００２％～０．０８％、０．００６％～０．０５％、または０．００８％～０．０４％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０、より好ましくは約０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０；および
ｐＨ４．０～７．０（例えば、ｐＨ４．５～ｐＨ６．８、ｐＨ４．６～ｐＨ６．４、ｐＨ４．８～ｐＨ６．２、またはｐＨ５．０～ｐＨ６．２のうちの１つ）、より好ましくは、ｐＨ約６．３
を含む組成物により提供される。
【０５８８】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
２ｍＭ～２００ｍＭ（例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つ）のヒスチジン、より好

ましくは約２０ｍＭのヒスチジン；
２％～２０％（例えば、２％～１５％、３％～１２％、または４％～１０％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のスクロース、より好ましくは約８％（ｗ／ｖ）のスクロース；
０．００１％～０．１％（例えば、０．００２％～０．０８％、０．００６％～０．０５％、または０．００８％～０．０４％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０、より好ましくは約０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート２０；および
ｐＨ４．０～７．０（例えば、ｐＨ４．５～ｐＨ６．８、ｐＨ４．６～ｐＨ６．４、ｐＨ４．８～ｐＨ６．２、またはｐＨ５．０～ｐＨ６．２のうちの１つ）、より好ましくは、ｐＨ約５．８
を含む組成物により提供される。

【０５８９】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
２ｍＭ～２００ｍＭ（例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つ）の酢酸塩、例えば、酢酸ナトリウム、より好ましくは約２０ｍＭの酢酸塩；
２％～２０％（例えば、２％～１５％、３％～１２％、または４％～１０％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のスクロース、より好ましくは約８％（ｗ／ｖ）のスクロース；
０．００１％～０．１％（例えば、０．００２％～０．０８％、０．００６％～０．０５％、または０．００８％～０．０４％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０、より好ましくは約０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０；および
ｐＨ４．０～７．０（例えば、ｐＨ４．５～ｐＨ６．８、ｐＨ４．６～ｐＨ６．４、ｐＨ４．８～ｐＨ６．２、またはｐＨ５．０～ｐＨ６．２のうちの１つ）、より好ましくは、ｐＨ約５．５
を含む組成物により提供される。

【０５９０】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
２ｍＭ～２００ｍＭ（例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つ）のコハク酸塩、例えば、コハク酸塩ナトリウム、より好ましくは約２０ｍＭのコハク酸塩；
２％～２０％（例えば、２％～１５％、３％～１２％、または４％～１０％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のスクロース、より好ましくは約８％（ｗ／ｖ）のスクロース；
０．００１％～０．１％（例えば、０．００２％～０．０８％、０．００６％～０．０５％、または０．００８％～０．０４％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０、より好ましくは約０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０；および
ｐＨ４．０～７．０（例えば、ｐＨ４．５～ｐＨ６．８、ｐＨ４．６～ｐＨ６．４、ｐＨ４．８～ｐＨ６．２、またはｐＨ５．０～ｐＨ６．２のうちの１つ）、より好ましくは、ｐＨ約５．５
を含む組成物により提供される。

【０５９１】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
２ｍＭ～２００ｍＭ（例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つ）のヒスチジン、より好ましくは約２０ｍＭのヒスチジン；
０．００１％～０．１％（例えば、０．００２％～０．０８％、０．００６％～０．０５％、または０．００８％～０．０４％のうちの１つ）（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０、より好ましくは約０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０；および
ｐＨ４．０～７．０（例えば、ｐＨ４．５～ｐＨ６．８、ｐＨ４．６～ｐＨ６．４、ｐＨ４．８～ｐＨ６．２、またはｐＨ５．０～ｐＨ６．２のうちの１つ）、より好ましくは、ｐＨ約５．８
を含む組成物により提供される。

【０５９２】
一部の実施形態では、抗原結合性分子は、
２ｍＭ～２００ｍＭ（例えば、５ｍＭ～１００ｍＭ、１０ｍＭ～４０ｍＭ、１２ｍＭ～３０ｍＭ、１５～２５ｍＭ、または１８～２２ｍＭのうちの１つ）のヒスチジン、より好ましくは約２０ｍＭのヒスチジン；
１ｍＭ～２５０ｍＭ（例えば、１０ｍＭ～２５０ｍＭ、５０ｍＭ～２００ｍＭ、７５ｍＭ～２００ｍＭ、１００ｍＭ～１８０ｍＭ、または１２５～１７５ｍＭのうちの１つ）の塩化ナトリウム、より好ましくは約１５０ｍＭの塩化ナトリウム；および
ｐＨ４．０～７．０（例えば、ｐＨ４．５～ｐＨ６．８、ｐＨ４．６～ｐＨ６．４、ｐＨ４．８～ｐＨ６．２、またはｐＨ５．０～ｐＨ６．２のうちの１つ）、より好ましくは、ｐＨ約５．８
を含む組成物により提供される。
【０５９３】
組成物は、約０．０２５ｍｇ／ｍＬ～約１００ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子を含みうる。組成物は、約０．０５ｍｇ／ｍＬ～約８０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子を含みうる。組成物は、約０．０６ｍｇ／ｍＬ～約７０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子を含みうる。組成物は、約０．０７ｍｇ／ｍＬ～約６０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子を含みうる。組成物は、約０．０７ｍｇ／ｍＬ～約５０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子を含みうる。
【０５９４】
抗原結合性分子は、例えば、本開示に従う組成物中に、約３０ｍｇ／ｍＬ、約３５ｍｇ／ｍＬ、約４０ｍｇ／ｍＬ、約４５ｍｇ／ｍＬ、約５０ｍｇ／ｍＬ、約５５ｍｇ／ｍＬ、約６０ｍｇ／ｍＬ、約６５ｍｇ／ｍＬ、または約７０ｍｇ／ｍＬ、またはこれらの中の任意の範囲の濃度で製剤化されうる。抗原結合性分子は、例えば、本開示に従う組成物中に、約５０ｍｇ／ｍＬの濃度で製剤化されうる。
【０５９５】
本明細書で使用される、「約」とは、指定された濃度、およびこの濃度±１０％の濃度を指す。例えば、「約５０ｍｇ／ｍＬ」の濃度とは、５０ｍｇ／ｍＬの濃度を含む、４５ｍｇ／ｍＬ～５５ｍｇ／ｍＬの範囲の濃度を指す。
【０５９６】
抗原結合性分子は、例えば、本開示に従う組成物中に、少なくとも０．０５ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．１ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．１５ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．２ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．２５ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．３ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．３５ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．４ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．５ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．８ｍｇ／ｍＬ、少なくとも１ｍｇ／ｍＬ、少なくとも１．４ｍｇ／ｍＬ、少なくとも２ｍｇ／ｍＬ、少なくとも２．４ｍｇ／ｍＬ、少なくとも４ｍｇ／ｍＬ、少なくとも６ｍｇ／ｍＬ、少なくとも８ｍｇ／ｍＬ、少なくとも１０ｍｇ／ｍＬ、少なくとも１２ｍｇ／ｍＬ、少なくとも１４ｍｇ／ｍＬ、または少なくとも１６ｍｇ／ｍＬの濃度で製剤化されうる。
【０５９７】
５０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子溶液は、投与の前に、任意の適切な賦形剤を使用して希釈されうる。一部の実施形態では、５０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子溶液は、投与のために、５％のデキストロース中で希釈される。一部の実施形態では、５０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子溶液は、投与のために、例えば、５０ｍＬの容量中に、少なくとも０．０７ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．１４ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．２１ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．３５ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．４２ｍｇ／ｍＬ、少なくとも０．８ｍｇ／ｍＬ、少なくとも１．４ｍｇ／ｍＬ、少なくとも２．４ｍｇ／ｍＬの濃度へと希釈される。一部の実施形態では、５０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子溶液は、投与のために、例えば、１００ｍＬの容量中に、少なくとも２．４ｍｇ／ｍＬ、少なくとも４ｍｇ／ｍＬ、少なくとも８ｍｇ／ｍＬ、少なくとも１２ｍｇ／ｍＬ、または少なくとも１６ｍｇ／ｍＬの濃度へと希釈される。一部の実施形態では、次いで、希釈された抗原結合性分子溶液は、例えば、

例えば、本開示に従う疾患／状態を処置するのに、例えば、本開示に従う投与（ｄｏｓｅ／ｄｏｓｉｎｇ）レジメを使用して、例えば、静脈内投与を介して、対象へと投与される。一部の実施形態では、希釈された抗原結合性分子溶液は、初期希釈ステップから４８時間以内に、対象へと投与される。

【０５９８】

例えば、本明細書で記載される投与（ｄｏｓｅ／ｄｏｓａｇｅ）レジメを使用する、本開示に従う抗原結合性分子は、ＰＤ－１により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤と組み合わせて投与されうる。ＰＤ－１により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、ＰＤ－１またはＰＤ－Ｌ１ターゲティング剤でありうる。ＰＤ－１により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、例えば、ＰＤ－１またはＰＤ－Ｌ１に結合し、ＰＤ－１媒介性シグナル伝達を阻害することが可能な抗体でありうる。一部の実施形態では、薬剤は、アンタゴニスト性抗ＰＤ－１抗体である。一部の実施形態では、薬剤は、アンタゴニスト性抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。一部の実施形態では、薬剤は、ペムブロリズマブ（Ｋｅｙｔｒｕｄａ）、ニボルマブ（Ｏｐｄｉｖｏ）、セミプリマブ（Ｌｉｂｔａｙｏ）、アテゾリズマブ（Ｔｅｃｅｎｔｒｉｑ）、アベルマブ（Ｂａｖｅｎｃｉｏ）、またはデュルバルマブ（Ｉｍｆｉｎｚｉ）である。このような薬剤は、薬剤（複数可）と共に提供される薬物調製指示書に従い調製および投与されうる。

治療適用および予防適用

本明細書で記載される、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸、発現ベクター、細胞、および組成物は、治療法および予防法において使用される。

【０５９９】

本発明は、医学的処置または予防の方法における使用のための、本明細書で記載される、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（または複数の核酸）、発現ベクター（または複数の発現ベクター）、細胞、または組成物を提供する。また、疾患または状態を処置または防止するための医薬の製造における、本明細書で記載される、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（または複数の核酸）、発現ベクター（または複数の発現ベクター）、細胞、または組成物の使用も提供される。また、疾患または状態を処置または防止する方法であって、対象へと、治療または予防有効量の、本明細書で記載される、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（または複数の核酸）、発現ベクター（または複数の発現ベクター）、細胞、または組成物を投与するステップを含む方法も提供される。本明細書で記載される、全ての治療法および予防法／使用は、対象に対して実施されうる。

【０６００】

方法は、疾患／状態の発症もしくは進行の低減、疾患／状態の症状の緩和、または疾患／状態の病態の軽減に効果的でありうる。方法は、疾患／状態の進行を防止する、例えば、疾患／状態の増悪を防止するか、または疾患／状態の発症速度を遅くするのに効果的でありうる。一部の実施形態では、方法は、疾患／状態の改善、例えば、疾患／状態の症状の軽減、または疾患／状態の、重症度／活動性についての、他の一部の相関因子の低減をもたらしうる。一部の実施形態では、方法は、疾患／状態の後期（例えば、慢性期または転移）の発症を防止しうる。

【０６０１】

本発明の物品は、ＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の数および／または活性の低減から、治療または予防利益を引き出す、任意の疾患／状態の処置／防止のために使用されうることが理解されるであろう。また、本発明の治療的および予防的有用性が、ＭＤＳＣおよび／または他のＶＩＳＴＡを発現する細胞、例えば、腫瘍関連マクロファージ（ＴＡＭ）および好中球の数または活性の低減から利益を得る、任意の疾患／状態へと本質的に拡張されることも明らかであろう。ＶＩＳＴＡに対するアンタゴニズムは、エフェクター免疫細胞を、ＭＤＳＣおよび／または他のＶＩＳＴＡを発現する細胞による抑制から、効果的に解放する。

【０６０２】

例えば、疾患／状態は、ＶＩＳＴＡ（例えば、ＭＤＳＣ）を発現する細胞が、病理学的に関与する疾患／状態、例えば、ＶＩＳＴＡ（例えば、ＭＤＳＣ）を発現する細胞の数／比率の増大が、疾患／状態の発生、発症、もしくは進行、および／または疾患／状態の１つもしくは複数の症状の重症度と正に関連するか、あるいはＶＩＳＴＡ（例えば、ＭＤＳＣ）を発現する細胞の数／比率の増大が、疾患／状態の、発生、発症、または進行の危険性因子である、疾患／状態でありうる。

【０６０３】

一部の実施形態では、本発明に従い処置／防止される疾患／状態は、ＶＩＳＴＡ（例えば、ＭＤＳＣ）を発現する細胞の数／比率／活性の、例えば、疾患／状態の非存在下における、ＶＩＳＴＡ（例えば、ＭＤＳＣ）を発現する細胞の数／比率／活性と比較した増大により特徴付けられる疾患／状態である。

【０６０４】

一部の実施形態では、対象は、例えば、末梢、もしくは疾患／状態の影響を受ける臓器／組織（例えば、疾患／状態の症状が顕在化する臓器／組織）における、ＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の、数／比率／活性の増大の検出に基づき、本明細書で記載される処置に選択される場合もあり、腫瘍内の、ＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣまたは腫瘍関連マクロファージ）の存在により、これに選択される場合もある。疾患／状態は、任意の組織または臓器または臓器系に影響を及ぼしうる。一部の実施形態では、疾患／状態は、いくつかの組織／臓器／臓器系に影響を及ぼしうる。

【０６０５】

一部の実施形態では、対象は、対象が、末梢または臓器／組織における、ＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の数／比率／活性を、健常対象における、このような細胞の数／比率／活性と比べて増大させているという決定に基づき、本発明に従う治療／予防に選択される場合もあり、対象が、ＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）を含む腫瘍を有するという決定に基づき、これに選択される場合もある。

【０６０６】

一部の実施形態では、処置／防止される疾患／状態は、がんである。

【０６０７】

抗原結合性分子は、本発明の抗原結合性分子は、エフェクター免疫細胞を、ＭＤＳＣ媒介性抑制、またはＶＩＳＴＡを発現する細胞による抑制から解放し、これにより、抗がん免疫応答を増強するのに有用であるため、がん一般の処置に有用であることが理解されるであろう。

【０６０８】

がんは、任意の、望ましくない細胞増殖（または望ましくない細胞増殖により顕示される、任意の疾患）、新生物、または腫瘍でありうる。がんは、良性の場合もあり、悪性の場合もあり、原発性の場合もあり、続発性（転移性）の場合もある。新生物または腫瘍は、細胞の、任意の異常な増殖（ｇｒｏｗｔｈまたはｐｒｏｌｉｆｅｒａｔｉｏｎ）であることが可能であり、任意の組織内に位置しうる。がんは、例えば、副腎、副腎髄質、肛門、虫垂、膀胱、血液、骨、骨髄、脳、乳房、盲腸、中枢神経系（脳を含むか、または除外する）、小脳、子宮頸部、結腸、十二指腸、子宮内膜、上皮細胞（例えば、腎臓上皮）、胆嚢、食道、神経膠細胞、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺、喉頭、肝臓、肺、リンパ、リンパ節、リンパ芽球、顎、縦隔、腸間膜、子宮筋層、鼻咽頭、網、口腔、卵巣、膵臓、耳下腺、末梢神経系、腹膜、胸膜、前立腺、唾液腺、Ｓ字結腸、皮膚、小腸、軟部組織、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、扁桃腺、気管、子宮、外陰、および／または白血球に由来する組織／細胞のがんでありうる。

【０６０９】

処置される腫瘍は、神経系腫瘍の場合もあり、非神経系腫瘍の場合もある。神経系腫瘍、例えば、神経膠腫、髄芽腫、髄膜腫、神経線維腫、上衣腫、シュワン細胞腫、神経線維肉腫、星状細胞腫、および希突起神経膠腫は、中枢神経系に由来する場合もあり、末梢神経系に由来する場合もある。非神経系がん／腫瘍は、他の任意の非神経組織に由来する場

合があり、例は、黒色腫、中皮腫、リンパ腫、骨髄腫、白血病、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、ホジキンリンパ腫、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）、皮膚Ｔ細胞リンパ腫（ＣＴＣＬ）、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、肝がん、類表皮癌、前立腺癌、乳がん、肺がん、結腸がん、卵巣がん、膵がん、胸腺癌、ＮＳＣＬＣ、血液がん、および肉腫を含む。

【０６１０】

ＭＤＳＣは、進行性結腸直腸がんにおいて上昇する（Ｔｏｏｒら、Ｆｒｏｎｔ Ｉｍｍｕｎｏｌ.、２０１６、７：５６０）。ＭＤＳＣはまた、乳がんにおいても観察され、末梢血中のＭＤＳＣの百分率は、後期乳がんを伴う患者において増大する（Ｍａｒｋｏｗｉｔｚら、Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ Ｔｒｅａｔ.、２０１３年７月、１４０（１）：１３～２１）。ＭＤＳＣの存在度はまた、充実性腫瘍における予後不良とも相関し（Ｃｈａｒｏｅｎｔｏｎｇら、Ｃｅｌｌ Ｒｅｐ.、２０１７年１月３日、１８（１）：２４８～２６２）、ＭＤＳＣは、肝がんモデルにおいてエンリッチされる（Ｃｏｎｎｏｌｌｙら、Ｊ Ｌｅｕｋｏｃ Ｂｉｏｌ.（２０１０）、８７（４）：７１３～２５）。前立腺癌および乳癌、黒色腫、結腸直腸がん、ならびにＬｅｗｉｓ肺癌は、ＭＤＳＣを誘引するケモカインを産生し、免疫抑制に寄与することが報告されており（Ｕｍａｎｓｋｙら、Ｖａｃｃｉｎｅｓ（Ｂａｓｅｌ）（２０１６）、４（４）：３６）、膵がん患者におけるＭＤＳＣは、腫瘍負荷と正に相関する（Ｘｕら、Ｈｅｐａｔｏｂｉｌｉａｒｙ Ｐａｎｃｒｅａｔ Ｄｉｓ Ｉｎｔ.（２０１６）、１５（１）：９９～１０５）。ＶＩＳＴＡはまた、卵巣がん（例えば、ＵＳ９，６３１，０１８Ｂ２を参照されたい）およびリンパ腫（例えば、ＷＯ２０１７／０２３７４９Ａ１を参照されたい）の処置のための標的であることも報告されている。

【０６１１】

Ｂｌａｎｄｏら、Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ.（２０１９）、１１６（５）：１６９２～１６９７は、ＶＩＳＴＡ発現骨髄細胞の、膵がんへの著明な浸潤について最近報告し、前立腺がんでは、ＣＴＬＡ４アンタゴニストによる処置後には、ＶＩＳＴＡ発現骨髄細胞の拡大が観察され、黒色腫では、ＰＤ－Ｌ１アンタゴニストによる処置の前後いずれにおいてもＶＩＳＴＡ発現骨髄細胞の拡大が観察されることを報告した。

【０６１２】

一部の実施形態では、がんは、ＶＩＳＴＡを発現する細胞を含むがん、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の浸潤を含むがん、ＶＩＳＴＡを発現するがん細胞を含むがん、血液がん、白血病、急性骨髄性白血病、リンパ腫、Ｂ細胞リンパ腫、Ｔ細胞リンパ腫、多発性骨髄腫、中皮腫、充実性腫瘍、肺がん、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、胃がん、胃癌、結腸直腸がん、結腸直腸癌、結腸直腸腺癌、子宮がん、子宮体部内膜癌、乳がん、トリプルネガティブ乳がん（ＴＢＮＣ）、トリプルネガティブ乳腺浸潤性癌、浸潤性乳管癌、肝がん、肝細胞癌、膵臓がん、膵管腺癌、甲状腺がん、胸腺腫、皮膚がん、黒色腫、皮膚黒色腫、腎がん、腎細胞癌、腎乳頭細胞癌、頭頸部がん、頭頸部扁平上皮がん（ＳＣＣＨＮ）、卵巣がん、卵巣癌、卵巣漿液性嚢胞腺癌、膀胱がん、前立腺がん、および／または前立腺癌から選択される。

【０６１３】

一部の実施形態では、がんは、結腸直腸がん（例えば、結腸癌、結腸腺癌）、膵臓がん、乳がん（例えば、トリプルネガティブ乳がん；ＴＢＮＣ）、浸潤性乳管癌腫、肝がん、前立腺がん、卵巣がん、頭頸部がん、白血病（例えば、Ｔ細胞白血病）、リンパ腫、黒色腫、胸腺腫、肺がん、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、中皮腫、膀胱がん、子宮がん、および／または充実性腫瘍である。

【０６１４】

一部の実施形態では、がんは、進行がん、切除不能がん、または転移がんである。

【０６１５】

一部の実施形態では、がんは、転移性トリプルネガティブ乳がん（ＴＢＮＣ）である。

ＴＢＮＣは、エストロゲン受容体（ＥＲ）陰性、プロゲステロン受容体（ＰＲ）陰性、かつ、ヒト表皮増殖因子２（ＨＥＲ２）陰性として規定される場合もあり、ＥＲ陰性、ＰＲ陰性、かつ、ＨＥＲ２陽性として規定される場合もある。ＴＢＮＣがんは、エストロゲン受容体（ＥＲ）の発現が≦１０％であり、かつ、プロゲステロン受容体（ＰＲ）の発現が≦１０％であるがんとして規定されうる。

【０６１６】

一部の実施形態では、がんは、例えば、局所的に進行し、切除不能である、転移性および／または進行性の非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である。一部の実施形態では、がん、例えば、ＮＳＣＬＣは、表皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ）または未分化リンパ腫キナーゼ（ＡＬＫ）の活性化突然変異を含まない。

【０６１７】

処置／防止は、がんの症状の発症／進行を遅延させる／防止すること、がんの症状の重症度を軽減すること、がんの細胞の生存期間／増殖／浸潤／転移を低減すること、がんの細胞の数を低減すること、および／または対象の生存期間を延長することのうちの１つまたは複数を目標としうる。

【０６１８】

本開示の物品（すなわち、抗原結合性分子、組成物など）は、特に、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の存在により特徴付けられる疾患／状態（例えば、がん）、および／またはＶＩＳＴＡを含む複合体により媒介されるシグナル伝達により特徴付けられる疾患／状態（例えば、がん）の処置／防止のために有用である。

【０６１９】

ＶＩＳＴＡを発現する細胞の存在により特徴付けられるがんは、ＶＩＳＴＡを発現するがん性細胞を含みうる。すなわち、がんの細胞は、ＶＩＳＴＡを発現しうる。本明細書の実施形態では、指定された特徴を有する細胞を含むがんは、これらの特徴を有する細胞を含む腫瘍でありうるか、またはこれを含みうることが理解されるであろう。

【０６２０】

代替的に、または加えて、ＶＩＳＴＡを発現する細胞「の存在」により特徴付けられるがんは、がん細胞の近傍における（すなわち、これと近接した）、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の存在により特徴付けられうる。がんは、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の浸潤を含みうる。がんは、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の浸潤を呈する腫瘍を含みうる。このような実施形態と関連して、ＶＩＳＴＡを発現する細胞は、必ずしもがん細胞ではなく、例えば、非がん性細胞でありうる。一部の実施形態では、細胞は、免疫細胞である。ＶＩＳＴＡを発現する免疫細胞は、造血細胞由来の細胞、例えば、好中球、好酸球、好塩基球、樹状細胞、リンパ球、または単球でありうるか、またはこれを含みうる。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡを発現する免疫細胞は、リンパ球、例えば、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、ＮＫＴ細胞、自然リンパ球（ＩＬＣ）、またはこれらの前駆細胞でありうるか、またはこれを含みうる。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡを発現する免疫細胞は、エフェクター免疫細胞（例えば、ＣＤ８＋　Ｔ細胞、ＣＤ８＋細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＤ８＋　ＣＴＬ）、ＣＤ４＋　Ｔ細胞、ＣＤ４＋ヘルパーＴ細胞、ＮＫ細胞、ＩＦＮγ産生細胞、メモリーＴ細胞、セントラルメモリーＴ細胞、抗原経験Ｔ細胞、および／またはＣＤ４５ＲＯ＋　Ｔ細胞）である。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡを発現する免疫細胞は、抗原提示細胞（ＡＰＣ）、マクロファージ、樹状細胞、Ｔ細胞（例えば、ＣＤ８＋　Ｔ細胞）、および／またはＭＤＳＣである。がんが、ＶＩＳＴＡを発現する免疫細胞の浸潤を含むか、またはがんが、このような免疫細胞の浸潤を呈する腫瘍を含む実施形態では、免疫細胞は、腫瘍浸潤免疫細胞と称される場合がある。

【０６２１】

例えば、ＶＩＳＴＡを発現する細胞の存在により特徴付けられるがんは、ＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、非がん性細胞、例えば、腫瘍浸潤免疫細胞）を含む腫瘍を含みうる。

【０６２２】

ＶＩＳＴＡを発現する細胞を含むがん、がん細胞、および／または腫瘍は、ＶＩＳＴＡ陽性またはＶＩＳＴＡ　ＩＨＣ＋と記載されうる。

【０６２３】

がんの細胞「の近傍」にあるか、またはこれ「と近接」すると言われる細胞は、例えば、このようながんを有する対象のｉｎ　ｖｉｖｏにおいて、がん細胞に物理的に近接して施されることが理解されるであろう。一部の実施形態では、がん細胞の近傍にある／これと近接した細胞は、がん細胞と同じ臓器／組織内に含まれる。一部の実施形態では、がん細胞の近傍にある／これと近接した細胞は、がんの腫瘍内に含まれる。一部の実施形態では、がん細胞の近傍にある／これと近接した細胞は、がん細胞と接触する。

【０６２４】

一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡを発現する細胞を含む。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡを発現するがん細胞を含む。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡを発現する細胞は、ＭＤＳＣ（例えば、ｇ－ＭＤＳＣおよび／またはｍ－ＭＤＳＣ）である。一部の実施形態では、がんは、ＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）を含む腫瘍を含む。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＭＤＳＣを含む腫瘍を含む。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の浸潤を含む。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の浸潤を呈する腫瘍を含む。

【０６２５】

一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＭＤＳＣを、１％を超えて、例えば、≧２％、≧５％、≧１０％、≧１５％、≧２０％、≧２５％、または≧３０％含む（例えば、腫瘍の免疫プロファイリングにより決定する場合）、ＣＤ４５＋細胞の集団を含む腫瘍を含む。

【０６２６】

本明細書で記載されるＶＩＳＴＡ結合性抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナー（例えば、ＬＲＩＧ１、ＶＳＩＧ３、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ８）との相互作用を阻害しうる。さらに、本明細書で記載される抗原結合性分子を使用する、ＶＩＳＴＡと、その相互作用パートナーとの相互作用の阻害は、エフェクター免疫細胞を、それらの活性に対する、ＭＤＳＣ媒介性抑制から解放することが裏付けられる。

【０６２７】

したがって、本開示の物品（すなわち、抗原結合性分子、組成物など）は、特に、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナー（例えば、ＬＲＩＧ１、ＶＳＩＧ３、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ８）を発現する細胞の存在により特徴付けられる疾患／状態（例えば、がん）、および／またはＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーとを含む複合体により媒介されるシグナル伝達（例えば、ＬＲＩＧ１、ＶＳＩＧ３、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ８）により特徴付けられる疾患／状態（例えば、がん）の処置／防止のために有用である。

【０６２８】

ＶＩＳＴＡの相互作用パートナー（例えば、ＬＲＩＧ１、ＶＳＩＧ３、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ８）を発現する細胞の存在により特徴付けられるがんは、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現するがん性細胞を含みうる。すなわち、がんの細胞は、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現しうる。

【０６２９】

代替的に、または加えて、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナー（例えば、ＬＲＩＧ１、ＶＳＩＧ３、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ８）を発現する細胞「の存在」により特徴付けられるがんは、がん細胞の近傍における（すなわち、これと近接した）、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞の存在により特徴付けられうる。がんは、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞の浸潤を含みうる。がんは、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞の浸潤を呈する腫瘍を含みうる。このような実施形態と関連して、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞は、必ずしもがん細胞ではなく、例えば、非

がん性細胞でありうる。一部の実施形態では、細胞は、免疫細胞である。ＶＩＳＴＡの相互作用パートナー（例えば、ＬＲＩＧ１、ＶＳＩＧ３、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ８）を発現する免疫細胞は、造血由来の細胞、例えば、好中球、好酸球、好塩基球、樹状細胞、リンパ球、または単球でありうるか、またはこれを含みうる。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する免疫細胞は、リンパ球、例えば、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、ＮＫＴ細胞、自然リンパ球（ＩＬＣ）、またはこれらの前駆細胞でありうるか、またはこれを含みうる。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する免疫細胞は、エフェクター免疫細胞（例えば、ＣＤ８＋　Ｔ細胞、ＣＤ８＋細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＤ８＋　ＣＴＬ）、ＣＤ４＋　Ｔ細胞、ＣＤ４＋ヘルパーＴ細胞、ＮＫ細胞、ＩＦＮγ産生細胞、メモリーＴ細胞、セントラルメモリーＴ細胞、抗原経験Ｔ細胞、および／またはＣＤ４５ＲＯ＋　Ｔ細胞）である。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する免疫細胞は、抗原提示細胞（ＡＰＣ）、マクロファージ、樹状細胞、Ｔ細胞（例えば、ＣＤ８＋　Ｔ細胞）、および／またはＭＤＳＣである。がんが、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する免疫細胞の浸潤を含むか、またはがんが、このような免疫細胞の浸潤を呈する腫瘍を含む実施形態では、免疫細胞は、腫瘍浸潤免疫細胞と称される場合がある。

【０６３０】

例えば、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナー（例えば、ＬＲＩＧ１、ＶＳＩＧ３、ＰＳＧＬ－１、ＶＳＩＧ８）を発現する細胞の存在により特徴付けられるがんは、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞（例えば、非がん性細胞、例えば、腫瘍浸潤免疫細胞）を含む腫瘍を含みうる。

【０６３１】

本明細書の実施形態では、指定された特徴を有する細胞を含むがんは、これらの特徴を有する細胞を含む腫瘍でありうるか、またはこれを含みうることが理解されるであろう。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞（例えば、非がん性細胞、例えば、腫瘍浸潤免疫細胞でありうる）の存在により特徴付けられる腫瘍を含む。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞を含む腫瘍を含む。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞の浸潤を含む。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞の浸潤を呈する腫瘍を含む。

【０６３２】

一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞は、相互作用パートナーの発現の、例えば、非病理学的状態下における、同じ種類の細胞（例えば、同じ臓器／組織に由来する細胞）による参照発現レベルと比べた増大を呈しうる。一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞は、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを過剰発現しうる。このような細胞は、関連する分子を、同等の非がん性細胞／非腫瘍組織による発現レベルを超えるレベルで発現しうる。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーとを含む複合体により媒介されるシグナル伝達により特徴付けられる。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーとを含む複合体により媒介されるシグナル伝達のレベルの、がんの非存在下における、関連する複合体によるシグナル伝達のレベルと比較した上昇により特徴付けられる。

【０６３３】

一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、（ｉ）ＶＩＳＴＡを発現する細胞、および（ｉｉ）ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞の存在により特徴付けられる。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、（ｉ）ＶＩＳＴＡを発現する細胞、および（ｉｉ）ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞を含む。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、（ｉ）ＶＩＳＴＡを発現する細胞、および（ｉｉ）ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞の存在により特徴付けられる腫瘍を含む。一

部の実施形態では、処置／防止されるがんは、（ｉ）ＶＩＳＴＡを発現する細胞、および（ｉｉ）ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞を含む腫瘍を含む。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、（ｉ）ＶＩＳＴＡを発現する細胞、および（ｉｉ）ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞の浸潤を含む。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、（ｉ）ＶＩＳＴＡを発現する細胞、および（ｉｉ）ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞の浸潤を呈する腫瘍を含む。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーとを含む複合体により媒介されるシグナル伝達により特徴付けられるがんである。一部の実施形態では、処置／防止されるがんは、ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーとを含む複合体により媒介されるシグナル伝達のレベルの、例えば、がんの非存在下における、関連する細胞型／組織／臓器内の複合体によるシグナル伝達のレベルと比較した上昇により特徴付けられるがんである。

【０６３４】

一部の実施形態では、対象は、例えば、上記で記載されたがん／腫瘍を特徴付けるように、例えば、対象から得られる試料中における、ＶＩＳＴＡ／ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）を含むがんの検出、またはＶＩＳＴＡ／ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）を含む腫瘍の検出に基づき、本明細書で記載される処置のために選択されうる。

【０６３５】

一部の実施形態では、ＶＩＳＴＡ発現細胞が、病理学的に関与する疾患／状態は、感染性疾患、例えば、細菌、ウイルス、真菌、または寄生虫感染症である。一部の実施形態では、慢性／遷延性感染症を処置することは、例えば、このような感染症が、Ｔ細胞の機能不全またはＴ細胞の疲弊と関連する場合、特に所望されうる。Ｔ細胞の疲弊は、多くの慢性感染症（ウイルス、細菌、および寄生虫を含む）、ならびにがんにおいて生じる、Ｔ細胞の機能不全状態であることが十分に確立されている（Ｗｈｅｒｒｙ、Ｎａｔｕｒｅ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、１２巻、６号、４９２～４９９頁、２０１１年６月）。

【０６３６】

処置されうる細菌感染症の例は、Ｂａｃｉｌｌｕｓ属種、Ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ ｐｅｒｔｕｓｓｉｓ、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ属種、Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ属種、Ｖｉｂｒｉｏ ｃｈｌｏｅｒａｅ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ属種、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ属種、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ、Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ、Ｐｒｏｔｅｕｓ、Ｙｅｒｓｉｎｉａ、Ｅｒｗｉｎａ、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｌｉｓｔｅｒｉａ属種、Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ ｐｙｌｏｒｉ、抗酸菌（例えば、Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ）、およびＰｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａによる感染を含む。例えば、細菌感染症は、敗血症または結核でありうる。処置されうるウイルス感染症の例は、インフルエンザウイルス、麻疹ウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス（ＨＢＶ）、Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（ＬＣＭＶ）、単純ヘルペスウイルス、およびヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）による感染を含む。処置されうる真菌の感染症の例は、Ａｌｔｅｒｎａｒｉａ属種、Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ属種、Ｃａｎｄｉｄａ属種、およびＨｉｓｔｏｐｌａｓｍａ属種による感染を含む。真菌感染症は、真菌性敗血症またはヒストプラズマ症でありうる。処置されうる寄生虫感染症の例は、Ｐｌａｓｍｏｄｉｕｍ属種（例えば、Ｐｌａｓｍｏｄｉｕｍ ｆａｌｃｉｐａｒｕｍ、Ｐｌａｓｍｏｄｉｕｍ ｙｏｅｌｉ、Ｐｌａｓｍｏｄｉｕｍ ｏｖａｌｅ、Ｐｌａｓｍｏｄｉｕｍ ｖｉｖａｘ、またはＰｌａｓｍｏｄｉｕｍ ｃｈａｂａｕｄｉ ｃｈａｂａｕｄｉ）による感染を含む。寄生虫感染症は、マラリア、リーシュマニア症、およびトキソプラズマ症などの疾患でありうる。

【０６３７】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、Ｆｃ領域媒介性エフェクター機能（例えば、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、ＣＤＣ）を伴わない分子機構を介して、その治療／予防効果を及ぼす。一部の実施形態では、分子機構は、抗原結合性分子の、Ｆｃγ受容体（例えば、Ｆｃ

ｙＲＩ、ＦｃｙＲＩＩａ、ＦｃｙＲＩＩｂ、ＦｃｙＲＩＩｃ、ＦｃｙＲＩＩＩａ、およびＦｃｙＲＩＩＩｂのうちの１つまたは複数）への結合を伴わない。一部の実施形態では、分子機構は、抗原結合性分子の、補体タンパク質（例えば、Ｃ１ｑ）への結合を伴わない。

【０６３８】

一部の実施形態（例えば、抗原結合性分子が、Ｆｃ領域を欠く実施形態、または抗原結合性分子が、Ｆｃ媒介性抗体エフェクター機能を誘導することが可能ではないＦｃ領域を含む実施形態）では、処置は、ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅を誘導しない／増大させない。一部の実施形態では、処置は、ＶＩＳＴＡ発現細胞の数／比率を低減しない。

【０６３９】

一部の実施形態では、処置は、（ｉ）ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害し、かつ、（ｉｉ）ＶＩＳＴＡ発現細胞の殺滅を誘導しない／増大させない。一部の実施形態では、処置は、（ｉ）ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害し、かつ、（ｉｉ）ＶＩＳＴＡ発現細胞の数／比率を低減しない。

【０６４０】

本発明の物品の投与は、好ましくは、「治療有効」量または「予防有効」量であり、これは、対象に対して、治療または予防利益を示すのに十分な量である。投与される実際の量、および速度、ならびに投与の時間経過は、疾患／状態の性質および重症度、ならびに投与される、特定の物品に依存するであろう。処置の処方、例えば、投与量についての決定などは、一般的な従事者および他の医師の責任の範囲内にあり、典型的に、処置される疾患／障害、個々の対象の状態、送達部位、投与法、および従事者に公知の他の因子を考慮に入れる。上記で言及された技法およびプロトコールの例は、「Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ」、２０版、２０００、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ，Ｗｉｌｌｉａｍｓ　＆　Ｗｉｌｋｉｎｓ刊において見出されうる。

【０６４１】

投与は、処置される状態に応じて、単独でなされる場合もあり、他の処置と同時に、または逐次的に、組み合わせてなされる場合もある。本明細書で記載される抗原結合性分子または組成物と、治療剤とは、同時に投与される場合もあり、逐次的に投与される場合もある。

【０６４２】

一部の実施形態では、方法は、例えば、がんの処置／防止のための、さらなる治療的または予防的介入を含む。一部の実施形態では、治療的または予防的介入は、化学療法、免疫療法、放射線治療、手術、ワクチン接種、および／またはホルモン療法から選択される。一部の実施形態では、治療的または予防的介入は、白血球除去療法を含む。一部の実施形態では、治療的または予防的介入は、幹細胞移植を含む。

【０６４３】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡ以外の免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤と組み合わせて投与される。一部の実施形態では、免疫チェックポイント分子は、例えば、ＰＤ－１、ＣＴＬＡ－４、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、ＴＩＧＩＴ、またはＢＴＬＡである。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、共刺激受容体により媒介されるシグナル伝達を促進することが可能な薬剤と組み合わせて投与される。一部の実施形態では、共刺激受容体は、例えば、ＣＤ２８、ＣＤ８０、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ８６、ＯＸ４０、４－１ＢＢ、ＣＤ２７、またはＩＣＯＳである。

【０６４４】

したがって、本発明は、本発明に従う物品（例えば、本発明に従う抗原結合性分子）と、ＶＩＳＴＡ以外の免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤とを含む組成物を提供する。また、本発明の物品と、共刺激受容体により媒介されるシグナル伝達を促進することが可能な薬剤とを含む組成物も提供される。また、本明細書で記載される疾患／状態の、医学的な処置および予防の方法における、この

ような組成物の使用も提供される。

【０６４５】

また、本明細書で記載される疾患／状態を処置／防止するための方法であって、本発明に従う物品（例えば、本発明に従う抗原結合性分子）と、ＶＩＳＴＡ以外の免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤とを投与するステップを含む方法も提供される。また、本明細書で記載される疾患／状態を処置／防止するための方法であって、本発明に従う物品（例えば、本発明に従う抗原結合性分子）と、共刺激受容体により媒介されるシグナル伝達を促進することが可能な薬剤とを投与するステップを含む方法も提供される。

【０６４６】

当技術分野では、免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤が公知であり、例えば、免疫チェックポイント分子、またはそれらに対するリガンドに結合し、免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な抗体を含む。免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な、他の薬剤は、免疫チェックポイント分子、または免疫チェックポイント分子に対するリガンドの、遺伝子／タンパク質の発現を低減すること（例えば、免疫チェックポイント分子／リガンドをコードする遺伝子（複数可）の転写を阻害すること、免疫チェックポイント分子／リガンドをコードするＲＮＡの転写後プロセシングを阻害すること、免疫チェックポイント分子／リガンドをコードするＲＮＡの安定性を低減すること、免疫チェックポイント分子／リガンドをコードするＲＮＡの分解を促進すること、免疫チェックポイント分子／リガンドの翻訳後プロセシングを阻害すること、免疫チェックポイント分子／リガンドの安定性を低減すること、または免疫チェックポイント分子／リガンドの分解を促進することを介して）が可能な薬剤、および低分子阻害剤を含む。

【０６４７】

当技術分野では、共刺激受容体により媒介されるシグナル伝達を促進することが可能な薬剤が公知であり、例えば、共刺激受容体に結合し、共刺激受容体により媒介されるシグナル伝達を誘発するか、または増大させることが可能なアゴニスト抗体を含む。共刺激受容体により媒介されるシグナル伝達を促進することが可能な、他の薬剤は、共刺激受容体、または共刺激受容体に対するリガンドの、遺伝子／タンパク質の発現を増大させる（例えば、共刺激受容体／リガンドをコードする遺伝子（複数可）の転写を促進すること、共刺激受容体／リガンドをコードするＲＮＡの転写後プロセシングを促進すること、共刺激受容体／リガンドをコードするＲＮＡの安定性を増大させること、共刺激受容体／リガンドをコードするＲＮＡの分解を阻害すること、共刺激受容体／リガンドの翻訳後プロセシングを促進すること、共刺激受容体／リガンドの安定性を増大させること、または共刺激受容体／リガンドの分解を阻害することを介して）ことが可能な薬剤、および低分子アゴニストを含む。

【０６４８】

ＶＩＳＴＡ発現ＭＤＳＣによる免疫抑制は、免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤による処置の失敗、およびこれに対する耐性の発生に関与している。Ｇａｏら、Ｎａｔｕｒｅ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ（２０１７）、２３：５５１～５５５は、最近、ＶＩＳＴＡが、イピリムマブ（すなわち、抗ＣＴＬＡ－４抗体）療法の後に、前立腺腫瘍における代償性阻害経路でありうることを示唆した。

【０６４９】

特定の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＰＤ－１により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤と組み合わせて投与される。ＰＤ－１により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、ＰＤ－１ターゲティング剤またはＰＤ－Ｌ１ターゲティング剤でありうる。ＰＤ－１により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、例えば、ＰＤ－１またはＰＤ－Ｌ１に結合し、ＰＤ－１媒介性シグナル伝達を阻害することが可能な抗体でありうる。一部の実施形態では、薬剤は、アンタゴニスト性抗ＰＤ－１抗体である。一部の実施形態では、薬剤は、アンタゴニスト性抗ＰＤ－

Ｌ１抗体である。
【０６５０】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＣＴＬＡ－４により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤と組み合わせて投与される。ＣＴＬＡ－４により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、ＣＴＬＡ－４ターゲティング剤、またはＣＤ８０もしくはＣＤ８６など、ＣＴＬＡ－４に対するリガンドに対してターゲティングされた薬剤でありうる。一部の実施形態では、ＣＴＬＡ－４により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、例えば、ＣＴＬＡ－４、ＣＤ８０またはＣＤ８６に結合し、ＣＴＬＡ－４媒介性シグナル伝達を阻害することが可能な抗体でありうる。
【０６５１】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＬＡＧ－３により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤と組み合わせて投与される。ＬＡＧ－３により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、ＬＡＧ－３ターゲティング剤、またはＭＨＣクラスＩＩなど、ＬＡＧ－３に対するリガンドに対してターゲティングされた薬剤でありうる。一部の実施形態では、ＬＡＧ－３により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、例えば、ＬＡＧ－３またはＭＨＣクラスＩＩに結合し、ＬＡＧ－３媒介性シグナル伝達を阻害することが可能な抗体でありうる。
【０６５２】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＴＩＭ－３により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤と組み合わせて投与される。ＴＩＭ－３により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、ＴＩＭ－３ターゲティング剤、またはガレクチン９など、ＴＩＭ－３に対するリガンドに対してターゲティングされた薬剤でありうる。一部の実施形態では、ＴＩＭ－３により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、例えば、ＴＩＭ－３またはガレクチン９に結合し、ＴＩＭ－３媒介性シグナル伝達を阻害することが可能な抗体でありうる。
【０６５３】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＴＩＧＩＴにより媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤と組み合わせて投与される。ＴＩＧＩＴにより媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、ＴＩＧＩＴターゲティング剤、またはＣＤ１１３、ＣＤ１１２、もしくはＣＤ１５５など、ＴＩＧＩＴに対するリガンドに対してターゲティングされた薬剤でありうる。一部の実施形態では、ＴＩＧＩＴにより媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、例えば、ＴＩＧＩＴ、ＣＤ１１３、ＣＤ１１２、またはＣＤ１５５に結合し、ＴＩＧＩＴ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能な抗体でありうる。
【０６５４】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子は、ＢＴＬＡにより媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤と組み合わせて投与される。ＢＴＬＡにより媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、ＢＴＬＡターゲティング剤、またはＨＶＥＭなど、ＢＴＬＡに対するリガンドに対してターゲティングされた薬剤でありうる。一部の実施形態では、ＢＴＬＡにより媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、例えば、ＢＴＬＡまたはＨＶＥＭに結合し、ＢＴＬＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能な抗体でありうる。
【０６５５】
一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子と、免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤（例えば、ＰＤ－１および／またはＰＤ－Ｌ１）との組合せを利用する方法は、いずれかの薬剤が、単剤療法として使用される場合に観察される効果と比較した、処置効果の改善をもたらす。一部の実施形態では、本発明の抗原結合性分子と、免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤（例えば、ＰＤ－１および／またはＰＤ－Ｌ１）との組合せは、相乗的（すなわち、相加効果を超える）処置効果をもたらす。

【０６５６】
一部の実施形態では、（ｉ）本発明の抗原結合性分子と、（ｉｉ）免疫チェックポイント分子（例えば、ＰＤ－１および／またはＰＤ－Ｌ１）により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤とを含む組合せによる処置は、
単独で使用された、組合せの一方の構成要素について観察される処置効果と比較した、処置効果の改善；
単独で使用された、組合せの一方の構成要素について観察される処置効果と比較して、相乗的（すなわち、相加効果を超える）である処置効果；
単独で使用された、組合せの一方の構成要素による腫瘍増殖の阻害と比較した、腫瘍増殖の阻害の増大；
単独で使用された、組合せの一方の構成要素による腫瘍増殖の阻害と比較して、相乗的（すなわち、相加効果を超える）である腫瘍増殖の阻害；
単独で使用された、組合せの一方の構成要素による免疫抑制細胞の数／活性の低減と比較して大きな、免疫抑制細胞の数／活性の低減；
単独で使用された、組合せの一方の構成要素による免疫抑制細胞の数／活性の低減と比較して、相乗的（すなわち、相加効果を超える）である免疫抑制細胞の数／活性の低減；
単独で使用された、組合せの一方の構成要素による免疫抑制細胞の増殖の低減と比較して大きな、免疫抑制細胞の増殖の低減；
単独で使用された、組合せの一方の構成要素による免疫抑制細胞の増殖の低減と比較して、相乗的（すなわち、相加効果を超える）である免疫抑制細胞の増殖の低減；
単独で使用された、組合せの一方の構成要素による免疫抑制細胞の比率の低減と比較して、細胞（例えば、ＣＤ４５＋細胞、例えば、腫瘍から得られたＣＤ４５＋細胞）集団内の、大きな免疫抑制細胞の比率活性の低減；および
単独で使用された、組合せの一方の構成要素による免疫抑制細胞の比率の低減と比較して、相乗的（すなわち、相加効果を超える）である細胞（例えば、ＣＤ４５＋細胞、例えば、腫瘍から得られたＣＤ４５＋細胞）集団内の、免疫抑制細胞の比率の低減
のうちの１つまたは複数と関連しうる。
【０６５７】
一部の実施形態では、免疫チェックポイント分子（例えば、ＰＤ－１および／またはＰＤ－Ｌ１）により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、ペムブロリズマブ（Ｋｅｙｔｒｕｄａ；ＭＫ－３４７５、ラムブロリズマブ）、ニボルマブ（Ｏｐｄｉｖｏ）、セミプリマブ（Ｌｉｂｔａｙｏ）、アテゾリズマブ（Ｔｅｃｅｎｔｒｉｑ）、アベルマブ（Ｂａｖｅｎｃｉｏ）、またはデュルバルマブ（Ｉｍｆｉｎｚｉ）である。
【０６５８】
同時的投与とは、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（または複数の核酸）、発現ベクター（または複数の発現ベクター）、細胞、または組成物と、治療剤との、併せた投与、例えば、両方の薬剤を含有する医薬組成物（組合せ調製物）としての投与、または互いの直後における、任意選択で、同じ投与経路を介する、例えば、同じ動脈、静脈、または他の血管への投与を指す。逐次的投与とは、抗原結合性分子／組成物または治療剤のうちの１つの投与に後続する、所与の時間間隔の後における、他の薬剤の、別個の投与を指す。２つの薬剤が、同じ経路により投与されることは、要求されないが、一部の実施形態では、これが該当する。時間間隔は、任意の時間間隔でありうる。
【０６５９】
化学療法および放射線療法は、それぞれ、薬物またはイオン化放射線（例えば、Ｘ線またはγ線を使用する放射線療法）によるがんの処置を指す。薬物は、化学的実体、例えば、低分子医薬の、抗生剤、ＤＮＡ挿入剤、タンパク質阻害剤（例えば、キナーゼ阻害剤）、または生物学的薬剤、例えば、抗体、抗体断片、アプタマー、核酸（例えば、ＤＮＡ、ＲＮＡ）、ペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質でありうる。薬物は、医薬組成物または医薬として製剤化されうる。製剤は、１つまたは複数の薬物（例えば、１つまたは複数の活性の薬剤）を、１つまたは複数の薬学的に許容される希釈剤、賦形剤、または担

体と併せて含みうる。

【０６６０】

処置は、１つを超える薬物の投与を伴いうる。薬物は、処置される状態に応じて、単独で投与される場合もあり、他の処置と、同時に、または逐次的に組み合わせて投与される場合もある。例えば、化学療法は、それらのうちの１つまたは複数が、がんを処置することを意図されうる、２つ薬物の投与を伴う併用療法でありうる。

【０６６１】

化学療法は、１つまたは複数の投与経路、例えば、非経口、静脈内注射、経口、皮下、皮内、または腫瘍内の投与経路により投与されうる。

【０６６２】

化学療法は、処置レジメに従い投与されうる。処置レジメは、医師または医療従事者により作成されうる、化学療法投与についての、所定の時程表、計画、スキーム、またはスケジュールであることが可能であり、処置を要求する患者に適するように、微調整されうる。処置レジメは、患者へと投与される化学療法の種類；各薬物の用量または放射線の線量；投与の間の時間間隔；各処置の長さ；存在する場合、任意の休薬日の数および性質などのうちの１つまたは複数を指し示しうる。併用療法では、各薬物が、どのようにして投与されるべきであるのかを指し示す、単一の処置レジメが提示されうる。

【０６６３】

化学療法薬は、アベマシクリブ、アビラテロン酢酸塩、アビトレキサート（メトトレキサート）、Ａｂｒａｘａｎｅ（パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤）、ＡＢＶＤ、ＡＢＶＥ、ＡＢＶＥ－ＰＣ、ＡＣ、アカラブルチニブ、ＡＣ－Ｔ、Ａｄｃｅｔｒｉｓ（ブレンツキシマブ・ベドチン）、ＡＤＥ、Ａｄｏ－トラスツズマブ・エムタンシン、アドリアマイシン（ドキソルビシン塩酸塩）、アファチニブジマレイン酸塩、アフィニトール（エベロリムス）、Ａｋｙｎｚｅｏ（ネツピタントおよびパロノセトロン塩酸塩）、Ａｌｄａｒａ（イミキモド）、アルデスロイキン、Ａｌｅｃｅｎｓａ（アレクチニブ）、アレクチニブ、アレムツズマブ、Ａｌｉｍｔａ（ペメトレキセド二ナトリウム）、Ａｌｉｑｏｐａ（コパンリシブ塩酸塩）、Ａｌｋｅｒａｎ注射剤（メルファラン塩酸塩）、Ａｌｋｅｒａｎ錠（メルファラン）、Ａｌｏｘｉ（パロノセトロン塩酸塩）、Ａｌｕｎｂｒｉｇ（ブリガチニブ）、Ａｍｂｏｃｈｌｏｒｉｎ（クロランブシル）、Ａｍｂｏｃｌｏｒｉｎ（クロランブシル）、アミホスチン、アミノレブリン酸、アナストロゾール、アプレピタント、Ａｒｅｄｉａ（パミドロネート二ナトリウム）、Ａｒｉｍｉｄｅｘ（アナストロゾール）、Ａｒｏｍａｓｉｎ（エキセメスタン）、Ａｒｒａｎｏｎ（ネララビン）、三酸化ヒ素、Ａｒｚｅｒｒａ（オファツムマブ）、Ｅｒｗｉｎｉａ　ｃｈｒｙｓａｎｔｈｅｍｉ由来のアスパラギナーゼ、アテゾリズマブ、Ａｖａｓｔｉｎ（ベバシズマブ）、アベルマブ、アキシカブタゲン・シロロイセル、アキシチニブ、アザシチジン、Ｂａｖｅｎｃｉｏ（アベルマブ）、ＢＥＡＣＯＰＰ、Ｂｅｃｅｎｕｍ（カルムスチン）、Ｂｅｌｅｏｄａｑ（ベリノスタット）、ベリノスタット、ベンダムスチン塩酸塩、ＢＥＰ、Ｂｅｓｐｏｎｓａ（イノツズマブ・オゾガマイシン）、ベバシズマブ、ベキサロテン、Ｂｅｘｘａｒ（トシツモマブおよびヨウ素Ｉ－１３１トシツモマブ）、ビカルタミド、ＢｉＣＮＵ（カルムスチン）、ブレオマイシン、ブリナツモマブ、Ｂｌｉｎｃｙｔｏ（ブリナツモマブ）、ボルテゾミブ、Ｂｏｓｕｌｉｆ（ボスチニブ）、ボスチニブ、ブレンツキシマブ・ベドチン、ブリガチニブ、ＢｕＭｅｌ、ブスルファン、Ｂｕｓｕｌｆｅｘ（ブスルファン）、カバジタキセル、Ｃａｂｏｍｅｔｙｘ（カボザンチニブ－Ｓ－リンゴ酸塩）、カボザンチニブ－Ｓ－リンゴ酸塩、ＣＡＦ、Ｃａｌｑｕｅｎｃｅ（アカラブルチニブ）、Ｃａｍｐａｔｈ（アレムツズマブ）、Ｃａｍｐｔｏｓａｒ（イリノテカン塩酸塩）、カペシタビン、ＣＡＰＯＸ、Ｃａｒａｃ（外用フルオロウラシル）、カルボプラチン、カルボプラチン－ＴＡＸＯＬ、カルフィルゾミブ、Ｃａｒｍｕｂｒｉｓ（カルムスチン）、カルムスチン、カルムスチンインプラント剤、Ｃａｓｏｄｅｘ（ビカルタミド）、ＣＥＭ、Ｃｅｒｉｔｉｎｉｂ、Ｃｅｒｕｂｉｄｉｎｅ（ダウノルビシン塩酸塩）、Ｃｅｒｖａｒｉｘ（組換えＨＰＶ二価ワクチン）、セツキシマブ、ＣＥＶ、クロランブシル、クロランブシル－ＰＲＥＤ

ＮＩＳＯＮＥ、ＣＨＯＰ、シスプラチン、クラドリビン、Ｃｌａｆｅｎ（シクロホスファミド）、クロファラビン、Ｃｌｏｆａｒｅｘ（クロファラビン）、Ｃｌｏｌａｒ（クロファラビン）、ＣＭＦ、コビメチニブ、Ｃｏｍｅｔｒｉｑ（カボザンチニブ－Ｓ－リンゴ酸塩）、コパンリシブ塩酸塩、ＣＯＰＤＡＣ、ＣＯＰＰ、ＣＯＰＰ－ＡＢＶ、Ｃｏｓｍｅｇｅｎ（ダクチノマイシン）、Ｃｏｔｅｌｌｉｃ（コビメチニブ）、クリゾチニブ、ＣＶＰ、シクロホスファミド、Ｃｙｆｏｓ（イホスファミド）、Ｃｙｒａｍｚａ（ラムシルマブ）、シタラビン、シタラビンリポソーム剤、Ｃｙｔｏｓａｒ－Ｕ（シタラビン）、Ｃｙｔｏｘａｎ（シクロホスファミド）、ダラフェニブ、ダカルバジン、Ｄａｃｏｇｅｎ（デシタビン）、ダクチノマイシン、ダラツムマブ、Ｄａｒｚａｌｅｘ（ダラツムマブ）、ダサチニブ、ダウノルビシン塩酸塩、ダウノルビシン塩酸塩およびシタラビンリポソーム剤、デシタビン、デフィブロチドナトリウム、Ｄｅｆｉｔｅｌｉｏ（デフィブロチドナトリウム）、デガレリクス、デニロイキンディフチトクス、デノスマブ、ＤｅｐｏＣｙｔ（シタラビンリポソーム剤）、デキサメタゾン、デキスラゾキサン塩酸塩、ジヌツキシマブ、ドセタキセル、Ｄｏｘｉｌ（ドキソルビシン塩酸塩リポソーム剤）、ドキソルビシン塩酸塩、ドキソルビシン塩酸塩リポソーム剤、Ｄｏｘ－ＳＬ（ドキソルビシン塩酸塩リポソーム剤）、ＤＴＩＣ－Ｄｏｍｅ（ダカルバジン）、デュルバルマブ、Ｅｆｕｄｅｘ（外用フルオロウラシル）、Ｅｌｉｔｅｋ（ラスブリカーゼ）、Ｅｌｌｅｎｃｅ（エピルビシン塩酸塩）、エロツズマブ、Ｅｌｏｘａｔｉｎ（オキサリプラチン）、エルトロンボパグオラミン、Ｅｍｅｎｄ（アプレピタント）、Ｅｍｐｌｉｃｉｔｉ（エロツズマブ）、エナシデニブメシル酸塩、エンザルタミド、エピルビシン塩酸塩、ＥＰＯＣＨ、Ｅｒｂｉｔｕｘ（セツキシマブ）、エリブリンメシル酸塩、Ｅｒｉｖｅｄｇｅ（ビスモデジブ）、エルロチニブ塩酸塩、Ｅｒｗｉｎａｚｅ（Ｅｒｗｉｎｉａ　ｃｈｒｙｓａｎｔｈｅｍｉ由来のアスパラギナーゼ）、Ｅｔｈｙｏｌ（アミホスチン）、Ｅｔｏｐｏｐｈｏｓ（エトポシドリン酸塩）、エトポシド、エトポシドリン酸塩、Ｅｖａｃｅｔ（ドキソルビシン塩酸塩リポソーム剤）、エベロリムス、Ｅｖｉｓｔａ（ラロキシフェン塩酸塩）、Ｅｖｏｍｅｌａ（メルファラン塩酸塩）、エキセメスタン、５－ＦＵ（フルオロウラシル注射）、５－ＦＵ（外用フルオロウラシル）、Ｆａｒｅｓｔｏｎ（トレミフェン）、Ｆａｒｙｄａｋ（パノビノスタット）、Ｆａｓｌｏｄｅｘ（フルベストラント）、ＦＥＣ、Ｆｅｍａｒａ（レトロゾール）、フィルグラスチム、Ｆｌｕｄａｒａ（フルダラビンリン酸塩）、フルダラビンリン酸塩、Ｆｌｕｏｒｏｐｌｅｘ（外用フルオロウラシル）、フルオロウラシル注射剤、外用フルオロウラシル、フルタミド、Ｆｏｌｅｘ（メトトレキサート）、Ｆｏｌｅｘ　ＰＦＳ（メトトレキサート）、ＦＯＬＦＩＲＩ、ＦＯＬＦＩＲＩ－ベバシズマブ、ＦＯＬＦＩＲＩ－セツキシマブ、ＦＯＬＦＩＲＩＮＯＸ、ＦＯＬＦＯＸ、Ｆｏｌｏｔｙｎ（プララトレキサート）、ＦＵ－ＬＶ、フルベストラント、Ｇａｒｄａｓｉｌ（組換えＨＰＶ四価ワクチン）、Ｇａｒｄａｓｉｌ９（組換えＨＰＶ九価ワクチン）、Ｇａｚｙｖａ（オビヌツズマブ）、ゲフィチニブ、ゲムシタビン塩酸塩、ゲムシタビン－シスプラチン、ゲムシタビン－オキサリプラチン、ゲムツズマブオゾガマイシン、Ｇｅｍｚａｒ（ゲムシタビン塩酸塩）、Ｇｉｌｏｔｒｉｆ（アファチニブジマレイン酸塩）、Ｇｌｅｅｖｅｃ（イマチニブメシル酸塩）、Ｇｌｉａｄｅｌ（カルムスチンインプラント剤）、Ｇｌｉａｄｅｌウェハー剤（カルムスチンインプラント剤）、グルカルピダーゼ、ゴセレリン酢酸塩、Ｈａｌａｖｅｎ（エリブリンメシル酸塩）、Ｈｅｍａｎｇｅｏｌ（プロプラノロール塩酸塩）、Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（トラスツズマブ）、ＨＰＶ二価ワクチン、組換えＨＰＶ九価ワクチン、組換えＨＰＶ四価ワクチン、組換えＨｙｃａｍｔｉｎ（トポテカン塩酸塩）、Ｈｙｄｒｅａ（ヒドロキシウレア）、ヒドロキシウレア、Ｈｙｐｅｒ－ＣＶＡＤ、Ｉｂｒａｎｃｅ（パルボシクリブ）、イブリツモマブチウキセタン、Ｉｂｒｕｔｉｎｉｂ、ＩＣＥ、Ｉｃｌｕｓｉｇ（ポナチニブ塩酸塩）、Ｉｄａｍｙｃｉｎ（イダルビシン塩酸塩）、イダルビシン塩酸塩、イデラリシブ、Ｉｄｈｉｆａ（エナシデニブメシル酸塩）、Ｉｆｅｘ（イホスファミド）、イホスファミド、Ｉｆｏｓｆａｍｉｄｕｍ（イホスファミド）、ＩＬ－２（アルデスロイキン）、イマチニブメシル酸塩、Ｉｍｂｒｕｖｉｃａ（イブルチニブ）、Ｉｍｆｉｎｚｉ（デュルバルマブ）、イミキモド、Ｉｍｌｙｇｉｃ（タリモジェン・ラ

ヘルパレプベク）、Ｉｎｌｙｔａ（アキシチニブ）、イノツズマブ・オゾガマイシン、インターフェロンアルファ－２ｂ、組換え、インターロイキン２（アルデスロイキン）、Ｉｎｔｒｏｎ　Ａ（組換えインターフェロンアルファ－２ｂ）、ヨウ素Ｉ－１３１トシツモマブおよびトシツモマブ、イピリムマブ、Ｉｒｅｓｓａ（ゲフィチニブ）、イリノテカン塩酸塩、イリノテカン塩酸塩リポソーム剤、Ｉｓｔｏｄａｘ（ロミデプシン）、イキサベピロン、イキサゾミブクエン酸塩、Ｉｘｅｍｐｒａ（イキサベピロン）、Ｊａｋａｆｉ（ルキソリチニブリン酸塩）、ＪＥＢ、Ｊｅｖｔａｎａ（カバジタキセル）、Ｋａｄｃｙｌａ（Ａｄｏ－トラスツズマブ・エムタンシン）、Ｋｅｏｘｉｆｅｎｅ（ラロキシフェン塩酸塩）、Ｋｅｐｉｖａｎｃｅ（パリフェルミン）、Ｋｅｙｔｒｕｄａ（ペムブロリズマブ）、Ｋｉｓｑａｌｉ（リボシクリブ）、Ｋｙｍｒｉａｈ（チサゲンレクロイセル）、Ｋｙｐｒｏｌｉｓ（カルフィルゾミブ）、ランレオチド酢酸塩、ラパチニブジトシル酸塩、Ｌａｒｔｒｕｖｏ（オララツマブ）、レナリドミド、レンバチニブメシル酸塩、Ｌｅｎｖｉｍａ（レンバチニブメシル酸塩）、レトロゾール、ロイコボリンカルシウム、Ｌｅｕｋｅｒａｎ（クロランブシル）、ロイプロリド酢酸塩、Ｌｅｕｓｔａｔｉｎ（クラドリビン）、Ｌｅｖｕｌａｎ（アミノレブリン酸）、Ｌｉｎｆｏｌｉｚｉｎ（クロランブシル）、ＬｉｐｏＤｏｘ（ドキソルビシン塩酸塩リポソーム剤）、ロムスチン、Ｌｏｎｓｕｒｆ（トリフルリジンおよびチピラシル塩酸塩）、Ｌｕｐｒｏｎ（ロイプロリド酢酸塩）、Ｌｕｐｒｏｎデポ剤（ロイプロリド酢酸塩）、Ｌｕｐｒｏｎ小児用デポ剤（ロイプロリド酢酸塩）、Ｌｙｎｐａｒｚａ（オラパリブ）、Ｍａｒｑｉｂｏ（ビンクリスチン硫酸塩リポソーム剤）、Ｍａｔｕｌａｎｅ（プロカルバジン塩酸塩）、メクロレタミン塩酸塩、メゲストロール酢酸塩、Ｍｅｋｉｎｉｓｔ（トラメチニブ）、メルファラン、メルファラン塩酸塩、メルカプトプリン、メスナ、Ｍｅｓｎｅｘ（メスナ）、Ｍｅｔｈａｚｏｌａｓｔｏｎｅ（テモゾロミド）、メトトレキサート、メトトレキサートＬＰＦ（メトトレキサート）、メチルナルトレキソン臭化物、Ｍｅｘａｔｅ（メトトレキサート）、Ｍｅｘａｔｅ－ＡＱ（メトトレキサート）、ミドスタウリン、マイトマイシンＣ、ミトキサントロン塩酸塩、Ｍｉｔｏｚｙｔｒｅｘ（マイトマイシンＣ）、ＭＯＰＰ、Ｍｏｚｏｂｉｌ（プレリキサフォル）、Ｍｕｓｔａｒｇｅｎ（メクロレタミン塩酸塩）、Ｍｕｔａｍｙｃｉｎ（マイトマイシンＣ）、Ｍｙｌｅｒａｎ（ブスルファン）、Ｍｙｌｏｓａｒ（アザシチジン）、Ｍｙｌｏｔａｒｇ（ゲムツズマブオゾガマイシン）、ナノ粒子パクリタキセル（パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤）、ナベルビン（ビノレルビン酒石酸塩）、ネシツムマブ、ネララビン、Ｎｅｏｓａｒ（シクロホスファミド）、ネラチニブマレイン酸塩、Ｎｅｒｌｙｎｘ（ネラチニブマレイン酸塩）、ネツピタントおよびパロノセトロン塩酸塩、Ｎｅｕｌａｓｔａ（ペグフィルグラスチム）、Ｎｅｕｐｏｇｅｎ（フィルグラスチム）、Ｎｅｘａｖａｒ（ソラフェニブトシル酸塩）、Ｎｉｌａｎｄｒｏｎ（ニルタミド）、ニロチニブ、ニルタミド、Ｎｉｎｌａｒｏ（イキサゾミブクエン酸塩）、ニラパリブトシル酸塩一水和物、ニボルマブ、Ｎｏｌｖａｄｅｘ（タモキシフェンクエン酸塩）、Ｎｐｌａｔｅ（ロミプロスチム）、オビヌツズマブ、Ｏｄｏｍｚｏ（ソニデジブ）、ＯＥＰＡ、オファツムマブ、ＯＦＦ、オラパリブ、オララツマブ、オマセタキシンメペスクシネート、Ｏｎｃａｓｐａｒ（ペガスパルガーゼ）、オンダンセトロン塩酸塩、Ｏｎｉｖｙｄｅ（イリノテカン塩酸塩リポソーム剤）、Ｏｎｔａｋ（デニロイキンディフチトクス）、Ｏｐｄｉｖｏ（ニボルマブ）、ＯＰＰＡ、オシメルチニブ、オキサリプラチン、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン安定化ナノ粒子製剤、ＰＡＤ、パルボシクリブ、パリフェルミン、パロノセトロン塩酸塩、パロノセトロン塩酸塩およびネツピタント、パミドロネートニナトリウム、パニツムマブ、パノビノスタット、Ｐａｒａｐｌａｔ（カルボプラチン）、Ｐａｒａｐｌａｔｉｎ（カルボプラチン）、パゾパニブ塩酸塩、ＰＣＶ、ＰＥＢ、ペガスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、Ｐｅｇインターフェロンアルファ－２ｂ、ＰＥＧ

－Ｉｎｔｒｏｎ（Ｐｅｇインターフェロンアルファ－２ｂ）、ペムブロリズマブ、ペメトレキセドニナトリウム、Ｐｅｒｊｅｔａ（ペルツズマブ）、ペルツズマブ、Ｐｌａｔｉｎ

ｏｌ（シスプラチン）、Ｐｌａｔｉｎｏｌ－ＡＱ（シスプラチン）、プレリキサフォル、ポマリドミド、Ｐｏｍａｌｙｓｔ（ポマリドミド）、ポナチニブ塩酸塩、Ｐｏｒｔｒａｚｚａ（ネシツムマブ）、プララトレキサート、プレドニゾン、プロカルバジン塩酸塩、Ｐｒｏｌｅｕｋｉｎ（アルデスロイキン）、Ｐｒｏｌｉａ（デノスマブ）、Ｐｒｏｍａｃｔａ（エルトロンボパグオラミン）、プロプラノロール塩酸塩、Ｐｒｏｖｅｎｇｅ（シプリューセルＴ）、Ｐｕｒｉｎｅｔｈｏｌ（メルカプトプリン）、Ｐｕｒｉｘａｎ（メルカプトプリン）、［未記載］、ラジウム２２３二塩化物、ラロキシフェン塩酸塩、ラムシルマブ、ラスブリカーゼ、Ｒ－ＣＨＯＰ、Ｒ－ＣＶＰ、組換えヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）二価ワクチン、組換えヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）九価ワクチン、組換えヒトパピローマウイルス（ＨＰＶ）四価ワクチン、組換えインターフェロンアルファ－２ｂ、レゴラフェニブ、Ｒｅｌｉｓｔｏｒ（メチルナルトレキソン臭化物）、Ｒ－ＥＰＯＣＨ、Ｒｅｖｌｉｍｉｄ（レナリドミド）、Ｒｈｅｕｍａｔｒｅｘ（メトトレキサート）、リボシクリブ、Ｒ－ＩＣＥ、Ｒｉｔｕｘａｎ（リツキシマブ）、ＲｉｔｕｘａｎＨｙｃｅｌａ（リツキシマブおよびヒトヒアルロニダーゼ）、リツキシマブ、リツキシマブおよびヒトヒアルロニダーゼ、ロラピタント塩酸塩、ロミデプシン、ロミプロスチム、Ｒｕｂｉｄｏｍｙｃｉｎ（ダウノルビシン塩酸塩）、Ｒｕｂｒａｃａ（ルカパリブカムシル酸塩）、ルカパリブカムシル酸塩、ルキソリチニブリン酸塩、Ｒｙｄａｐｔ（ミドスタウリン）、スクレロゾール胸膜内エアゾール（タルク）、シルツキシマブ、シプリューセルＴ、ソマツリンデポ剤（ランレオチド酢酸塩）、ソニデジブ、ソラフェニブトシル酸塩、Ｓｐｒｙｃｅｌ（ダサチニブ）、ＳＴＡＮＦＯＲＤ　Ｖ、滅菌タルク粉末（タルク）、Ｓｔｅｒｉｔａｌｃ（タルク）、Ｓｔｉｖａｒｇａ（レゴラフェニブ）、スニチニブリンゴ酸塩、Ｓｕｔｅｎｔ（スニチニブリンゴ酸塩）、Ｓｙｌａｔｒｏｎ（Ｐｅｇインターフェロンアルファ－２ｂ）、Ｓｙｌｖａｎｔ（シルツキシマブ）、Ｓｙｎｒｉｂｏ（オマセタキシンメペスクシネート）、Ｔａｂｌｏｉｄ（チオグアニン）、ＴＡＣ、Ｔａｆｉｎｌａｒ（ダラフェニブ）、Ｔａｇｒｉｓｓｏ（オシメルチニブ）、タルク、タリモジェン・ラヘルパレプベク、タモキシフェンクエン酸塩、Ｔａｒａｂｉｎｅ　ＰＦＳ（シタラビン）、Ｔａｒｃｅｖａ（エルロチニブ塩酸塩）、Ｔａｒｇｒｅｔｉｎ（ベキサロテン）、Ｔａｓｉｇｎａ（ニロチニブ）、Ｔａｘｏｌ（パクリタキセル）、Ｔａｘｏｔｅｒｅ（ドセタキセル）、Ｔｅｃｅｎｔｒｉｑ（アテゾリズマブ）、Ｔｅｍｏｄａｒ（テモゾロミド）、テモゾロミド、テムシロリムス、サリドマイド、Ｔｈａｌｏｍｉｄ（サリドマイド）、チオグアニン、チオテパ、チサゲンレクロイセル、Ｔｏｌａｋ（外用フルオロウラシル）、トポテカン塩酸塩、トレミフェン、Ｔｏｒｉｓｅｌ（テムシロリムス）、トシツモマブおよびヨウ素Ｉ－１３１トシツモマブ、Ｔｏｔｅｃｔ（デキスラゾキサン塩酸塩）、ＴＰＦ、Ｔｒａｂｅｃｔｅｄｉｎ、トラメチニブ、トラスツズマブ、Ｔｒｅａｎｄａ（ベンダムスチン塩酸塩）、トリフルリジンおよびチピラシル塩酸塩、Ｔｒｉｓｅｎｏｘ（三酸化ヒ素）、Ｔｙｋｅｒｂ（ラパチニブジトシル酸塩）、Ｕｎｉｔｕｘｉｎ（ジヌツキシマブ）、ウリジン三酢酸塩、ＶＡＣ、バルルビシン、Ｖａｌｓｔａｒ（バルルビシン）、バンデタニブ、ＶＡＭＰ、Ｖａｒｕｂｉ（ロラピタント塩酸塩）、Ｖｅｃｔｉｂｉｘ（パニツムマブ）、ＶｅＩＰ、Ｖｅｌｂａｎ（ビンブラスチン硫酸塩）、Ｖｅｌｃａｄｅ（ボルテゾミブ）、Ｖｅｌｓａｒ（ビンブラスチン硫酸塩）、ベムラフェニブ、Ｖｅｎｃｌｅｘｔａ（ベネトクラクス）、ベネトクラクス、Ｖｅｒｚｅｎｉｏ（アベマシクリブ）、Ｖｉａｄｕｒ（ロイプロリド酢酸塩）、Ｖｉｄａｚａ（アザシチジン）、ビンブラスチン硫酸塩、Ｖｉｎｃａｓａｒ　ＰＦＳ（ビンクリスチン硫酸塩）、ビンクリスチン硫酸塩、ビンクリスチン硫酸塩リポソーム剤、ビノレルビン酒石酸塩、ＶＩＰ、ビスモデジブ、Ｖｉｓｔｏｇａｒｄ（ウリジン三酢酸塩）、Ｖｏｒａｘａｚｅ（グルカルピダーゼ）、ボリノスタット、Ｖｏｔｒｉｅｎｔ（パゾパニブ塩酸塩）、Ｖｙｘｅｏｓ（ダウノルビシン塩酸塩およびシタラビンリポソーム剤）、Ｗｅｌｌｃｏｖｏｒｉｎ（ロイコボリンカルシウム）、Ｘａｌｋｏｒｉ（クリゾチニブ）、ゼローダ（カペシタビン）、ＸＥＬＩＲＩ、ＸＥＬＯＸ、Ｘｇｅｖａ（デノスマブ）、Ｘｏｆｉｇｏ（ラジウム２２３二塩化物）、Ｘｔａｎｄｉ（エンザルタミド）、Ｙｅｒｖｏｙ（イピリムマブ）、Ｙｅｓｃａｒｔａ（アキシカブタゲン・シロ

ロイセル）、Ｙｏｎｄｅｌｉｓ（トラベクトジン）、Ｚａｌｔｒａｐ（Ｚｉｖ－アフリベルセプト）、Ｚａｒｘｉｏ（フィルグラスチム）、Ｚｅｊｕｌａ（ニラパリブトシル酸塩一水和物）、Ｚｅｌｂｏｒａｆ（ベムラフェニブ）、Ｚｅｖａｌｉｎ（イブリツモマブチウキセタン）、Ｚｉｎｅｃａｒｄ（デキスラゾキサン塩酸塩）、Ｚｉｖ－アフリベルセプト、Ｚｏｆｒａｎ（オンダンセトロン塩酸塩）、Ｚｏｌａｄｅｘ（ゴセレリン酢酸塩）、ゾレドロン酸、Ｚｏｌｉｎｚａ（ボリノスタット）、Ｚｏｍｅｔａ（ゾレドロン酸）、Ｚｙｄｅｌｉｇ（イデラリシブ）、Ｚｙｋａｄｉａ（セリチニブ）、およびＺｙｔｉｇａ（アビラテロン酢酸塩）から選択されうる。

用量／投与量レジメ

抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（または複数の核酸）、発現ベクター（または複数の発現ベクター）、細胞、または組成物の複数回投与がなされうる。以下の段落における、「抗原結合性分子」への言及はまた、本開示に従う、１つまたは複数の他の物品（ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（またはこれらのうちの複数）、発現ベクター（またはこれらのうちの複数）、細胞、または組成物）も包含し、この逆も成り立つ。１回もしくは複数回、または各回の投与は、別の治療剤の、同時的または逐次的投与に随伴されうる。

【０６６４】

複数回投与は、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、もしくは３１日間、または１、２、３、４、５、もしくは６カ月間のうちの１つであるように選択されうる、所定の時間間隔により隔てられうる。例のために述べると、用量は、７、１４、２１、または２８日間（±３、２、または１日間：４、５、６、８、９、もしくは１０日間；１１、１２、１３、１５、１６、もしくは１７日間；１８、１９、２０、２２、２３、もしくは２４日間；または２５、２６、２７、２９、３０、もしくは３１日間など）ごとに１回施されうる。すなわち、７日ごとに、１４日ごとに、２１日ごとに、または２８日ごとに１回の処置イベントが設定されうる。投与（ｄｏｓｅｓ／ａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｏｎｓ）間に、それぞれ、約７日間（±３、２、または１日間）、約１４日間（±３、２、または１日間）、約２１日間（±３、２、または１日間）、または約２８日間（±３、２、または１日間）の休薬日が設定されうる。

【０６６５】

本開示の一部の態様では、抗原結合性分子は、毎週１回（例えば、７±３、２、または１日ごとに１回）投与される。すなわち、毎週１回の処置イベント／投与がなされる。

【０６６６】

本開示の一部の態様では、抗原結合性分子は、２週間ごとに１回（例えば、１４±３、２、または１日ごとに１回）投与される。すなわち、２週間ごとに１回の処置イベント／投与がなされる。

【０６６７】

本開示の一部の態様では、抗原結合性分子は、３週間ごとに１回（例えば、２１±３、２、または１日ごとに１回）投与される。すなわち、３週間ごとに１回の処置イベント／投与がなされる。

【０６６８】

本開示の一部の態様では、抗原結合性分子は、１つまたは複数の、３週間／２１日間（±３、２、または１日間）の期間の中で投与される。３週間／２１日間の各期間は、１つの投与「サイクル」と称されうる、すなわち、１つのサイクルは、３週間／２１日間（±３、２、または１日間）でありうる。投与は、３、６、９、１２、１５、１８、２１、２４、２７、３０週間以上、最大で、１０５週間にわたり継続しうる。投与は、１、２、３、４、５、６サイクル以上、最大で、３５サイクル（例えば、各サイクルは、２１日間／３週間を含む）にわたり継続しうる。投与は、１、２、３、４、５、６カ月間以上、最大で、２４カ月間（例えば、各サイクルは、２１日間／３週間を含む）にわたり継続しうる。２１日間のサイクル／期間は、連続（ｃｏｎｔｉｎｕｏｕｓ／ｃｏｎｓｅｃｕｔｉｖｅ

）の場合もあり、例えば、１、２、３、４、５、６、もしくは７日間、または１、２、３、４、５、６週間以上隔てられる場合もある。

【０６６９】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、３週間／２１日間（±３、２、または１日間）の期間において、１、２、または３回にわたり投与される。すなわち、３週間／２１日間サイクル１つ当たり１、２、または３回の投与がなされうる。

【０６７０】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、３週間にわたり、１週間当たり１回投与される。抗原結合性分子は、１、２、３、４、５、６サイクル以上にわたり毎週１回（すなわち、２１日間の期間１、２、３、４、５、６つ以上にわたり毎週１回、または３、６、９、１２、１５、１８、２１、２４、２７、３０週間以上にわたり毎週１回）投与されうる。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、２１日間／３週間のサイクルの、１、８、および１５日（±３、２、または１日）目に投与される。各回の投与の間に、約７日間（±３、２、または１日間）の休薬日が設定されうる。

【０６７１】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、３週間／２１日間（±３、２、または１日間）の期間において、２回（ｔｗｉｃｅ（ｔｗｏ　ｔｉｍｅｓ））にわたり投与される。すなわち、３週間／２１日間サイクル１つ当たり２回の投与がなされうる。一部の実施形態では、２回の投与は、３週間／２１日間の期間の中で、７日間（±３、２、または１日間）を隔てて施される。抗原結合性分子は、１、２、３、４、５、６サイクル以上ごとに２回（すなわち、３週間／２１日間の期間１、２、３、４、５、６つ以上、または３、６、９、１２、１５、１８、２１、２４、２７、３０週間以上ごとに２回）投与されうる。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、２１日間／３週間のサイクルの、１および８日（±３、２、または１日）目に投与される。異なるサイクル内の投与の間に（例えば、サイクル１の８日目における投与と、サイクル２の１日目における投与との間に）、約１４日間（±３、２、または１日間）の休薬日が設定されうる。

【０６７２】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、３週間／２１日間（±３、２、または１日間）の期間において、１回（ｏｎｃｅ（ｏｎｅ　ｔｉｍｅ））投与される。すなわち、３週間／２１日間サイクル１つ当たり１回の投与がなされうる。抗原結合性分子は、１、２、３、４、５、６サイクル以上ごとに１回（すなわち、３週間／２１日間の期間１、２、３、４、５、６つごとに１回、または３、６、９、１２、１５、１８、２１、２４、２７、３０週間以上にわたり、３週間／２１日間ごとに１回）投与されうる。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、２１日間／３週間の各サイクルの、１日（±３、２、または１日）目に投与される。異なるサイクル内の投与の間に（例えば、サイクル１の１日目における投与と、サイクル２の１日目における投与との間に）、約２１日間（±３、２、または１日間）の休薬日が設定されうる。

【０６７３】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、４週間／２８日間（±３、２、または１日間）の期間において、１、２、３、または４回にわたり投与される。すなわち、４週間／２８日間のサイクル（すなわち、投与サイクルは、４週間／２８日間±３、２、または１日間でありうる）１つ当たり１、２、３、または４回の投与がなされうる。抗原結合性分子は、１、２、３、４、５、６サイクル以上ごとに１、２、３、または４回（すなわち、４週間／２８日間の期間１、２、３、４、５、６つ以上ごとに１回、または４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２週間以上にわたり、４週間／２８日間ごとに１、２、３、または４回）投与されうる。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、２８日間／４週間の各サイクルの、１、８、１５、および／または２２日（各々、±３、２、または１日）目のうちの１つまたは複数において投与される。

【０６７４】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、４週間／２８日間（±３、２、または１日間

）の期間において、２回（ｔｗｉｃｅ（ｔｗｏ　ｔｉｍｅｓ））にわたり投与される。すなわち、４週間／２８日間のサイクル１つ当たり２回の投与がなされうる。一部の実施形態では、２回の投与は、４週間／２８日間の期間の中で、７日間または１４日間（±３、２、または１日間）を隔てて施される。抗原結合性分子は、１、２、３、４、５、６サイクル以上ごとに２回（すなわち、４週間／２８日間の期間１、２、３、４、５、６つ以上ごとに２回、または４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３６、４０週間以上にわたり、４週間／２８日間ごとに２回）投与されうる。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、２８日間／４週間のサイクルの、１および１５日（±３、２、または１日）目に投与される。同じサイクル内の投与の間に（例えば、サイクル１の１日目における投与と、サイクル１の５１日目における投与との間に）、約１４日間（±３、２、または１日間）の休薬日が設定されうる。異なるサイクル内の投与の間に（例えば、サイクル１の１５日目における投与と、サイクル２の１日目における投与との間に）、約１４日間（±３、２、または１日間）の休薬日が設定されうる。

【０６７５】

一部の実施形態では、投与は、例えば、投与１回当たり、少なくとも２ｍｇ、少なくとも３ｍｇ、少なくとも５ｍｇ、少なくとも７ｍｇ、少なくとも１０ｍｇ、少なくとも１１ｍｇ、少なくとも１２ｍｇ、少なくとも１３ｍｇ、少なくとも１４ｍｇ、少なくとも１５ｍｇ、少なくとも１６ｍｇ、少なくとも１７ｍｇ、少なくとも１８ｍｇ、少なくとも１９ｍｇ、少なくとも２０ｍｇ、少なくとも２１ｍｇ、少なくとも２２ｍｇ、少なくとも２３ｍｇ、少なくとも２４ｍｇ、または少なくとも２５ｍｇを投与するステップを含む。

【０６７６】

一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、例えば、投与１回当たり、約７ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、例えば、投与１回当たり、約１０ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、例えば、投与１回当たり、約２０ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、例えば、投与１回当たり、約２．２ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、例えば、投与１回当たり、約３．３ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、例えば、投与１回当たり、約３．５ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。

【０６７７】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、本明細書で記載される通り、３．５ｍｇ～１６００ｍｇ、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たりの用量で投与される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、本明細書で記載される通り、３．５ｍｇ～２０ｍｇ、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たりの用量で投与される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、本明細書で記載される通り、２０ｍｇ～８０ｍｇ、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たりの用量で投与される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、本明細書で記載される通り、６０ｍｇ～４００ｍｇ、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たりの用量で投与される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、本明細書で記載される通り、１００ｍｇ～２５０ｍｇ、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たりの用量で投与される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、本明細書で記載される通り、３００ｍｇ～８００ｍｇ、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たりの用量で投与される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、本明細書で記載される通り、８００ｍｇ～１８００ｍｇ、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たりの用量で投与される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、例えば、本明細書で記載される通り、１０００ｍｇ～１６００ｍｇ、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たりの用量で投与される。

【０６７８】
一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たり、例えば、３週間／２１日間または４週間／２８日間の期間１つ当たり、少なくとも３．５ｍｇ、少なくとも５ｍｇ、少なくとも７．５ｍｇ、少なくとも１０ｍｇ、少なくとも１２．５ｍｇ、少なくとも１５ｍｇ、少なくとも１７．５ｍｇ、少なくとも２０ｍｇ、少なくとも２２．５ｍｇ、少なくとも２５ｍｇ、少なくとも２７．５ｍｇ、少なくとも３０ｍｇ、少なくとも３２．５ｍｇ、少なくとも３５ｍｇ、少なくとも３７．５ｍｇ、少なくとも４０ｍｇ、少なくとも４２．５ｍｇ、少なくとも４５ｍｇ、少なくとも４７．５ｍｇ、少なくとも５０ｍｇ、少なくとも５２．５ｍｇ、少なくとも５５ｍｇ、少なくとも５７．５ｍｇ、少なくとも６０ｍｇ、少なくとも６２．５ｍｇ、少なくとも６５ｍｇ、少なくとも６７．５ｍｇ、または少なくとも７０ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。
【０６７９】
一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たり、例えば、３週間／２１日間または４週間／２８日間の期間１つ当たり、少なくとも８０ｍｇ、少なくとも９０ｍｇ、少なくとも１００ｍｇ、少なくとも１１０ｍｇ、少なくとも１２０ｍｇ、少なくとも１３０ｍｇ、少なくとも１４０ｍｇ、少なくとも１５０ｍｇ、少なくとも１６０ｍｇ、少なくとも１７０ｍｇ、少なくとも１８０ｍｇ、少なくとも１９０ｍｇ、少なくとも２００ｍｇ、少なくとも２１０ｍｇ、少なくとも２２０ｍｇ、少なくとも２３０ｍｇ、少なくとも２４０ｍｇ、少なくとも２５０ｍｇ、少なくとも２６０ｍｇ、少なくとも２７０ｍｇ、少なくとも２８０ｍｇ、少なくとも２９０ｍｇ、少なくとも３００ｍｇ、少なくとも３１０ｍｇ、少なくとも３２０ｍｇ、少なくとも３３０ｍｇ、少なくとも３４０ｍｇ、少なくとも３５０ｍｇ、少なくとも３６０ｍｇ、少なくとも３７０ｍｇ、少なくとも３８０ｍｇ、少なくとも３９０ｍｇ、少なくとも４００ｍｇ、少なくとも４１０ｍｇ、少なくとも４２０ｍｇ、少なくとも４３０ｍｇ、少なくとも４４０ｍｇ、少なくとも４５０ｍｇ、少なくとも４６０ｍｇ、少なくとも４７０ｍｇ、少なくとも４８０ｍｇ、少なくとも４９０ｍｇ、少なくとも５００ｍｇ、少なくとも５１０ｍｇ、少なくとも５２０ｍｇ、少なくとも５３０ｍｇ、少なくとも５４０ｍｇ、少なくとも５５０ｍｇ、少なくとも５６０ｍｇ、少なくとも５７０ｍｇ、少なくとも５８０ｍｇ、少なくとも５９０ｍｇ、少なくとも６００ｍｇ、少なくとも６１０ｍｇ、少なくとも６２０ｍｇ、少なくとも６３０ｍｇ、少なくとも６４０ｍｇ、少なくとも６５０ｍｇ、少なくとも６６０ｍｇ、少なくとも６７０ｍｇ、少なくとも６８０ｍｇ、少なくとも６９０ｍｇ、少なくとも７００ｍｇ、少なくとも７１０ｍｇ、少なくとも７２０ｍｇ、少なくとも７３０ｍｇ、少なくとも７４０ｍｇ、少なくとも７５０ｍｇ、少なくとも７６０ｍｇ、少なくとも７７０ｍｇ、少なくとも７８０ｍｇ、少なくとも７９０ｍｇ、少なくとも８００ｍｇ、少なくとも８１０ｍｇ、少なくとも８２０ｍｇ、少なくとも８３０ｍｇ、少なくとも８４０ｍｇ、少なくとも８５０ｍｇ、少なくとも８６０ｍｇ、少なくとも８７０ｍｇ、少なくとも８８０ｍｇ、少なくとも８９０ｍｇ、少なくとも９００ｍｇ、少なくとも９１０ｍｇ、少なくとも９２０ｍｇ、少なくとも９３０ｍｇ、少なくとも９４０ｍｇ、少なくとも９５０ｍｇ、少なくとも９６０ｍｇ、少なくとも９７０ｍｇ、少なくとも９８０ｍｇ、少なくとも９９０ｍｇ、少なくとも１０００ｍｇ、少なくとも１０５０ｍｇ、少なくとも１１００ｍｇ、少なくとも１１５０ｍｇ、少なくとも１２００ｍｇ、少なくとも１２５０ｍｇ、少なくとも１３００ｍｇ、少なくとも１３５０ｍｇ、少なくとも１４００ｍｇ、少なくとも１４５０ｍｇ、少なくとも１５００ｍｇ、少なくとも１５５０ｍｇ、少なくとも１６００ｍｇ、少なくとも１６５０ｍｇ、少なくとも１７００ｍｇ、少なくとも１７５０ｍｇ、少なくとも１８００ｍｇ、少なくとも１８５０ｍｇ、少なくとも１９００ｍｇ、少なくとも１９５０ｍｇ、または少なくとも２０００ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。
【０６８０】
一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、投与１回当た

り、または投与サイクル１つ当たり、例えば、３週間／２１日間または４週間／２８日間の期間１つ当たり、（最大で、または少なくとも）３．５ｍｇ、７ｍｇ、１０．５ｍｇ、１７．５ｍｇ、２０ｍｇ、２１ｍｇ、４０ｍｇ、６０ｍｇ、７２ｍｇ、１２０ｍｇ、１８０ｍｇ、２４０ｍｇ、３６０ｍｇ、４００ｍｇ、８００ｍｇ、１２００ｍｇ、１６００ｍｇ、１９００ｍｇ、２２００ｍｇ、または２５００ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。

【０６８１】

一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たり、６０～９０ｍｇ、９０～１２０ｍｇ、１２０～１８０ｍｇ、１８０～２４０ｍｇ、または２４０～３６０ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。

【０６８２】

一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、投与１回当たり、または投与サイクル１つ当たり、例えば、３週間／２１日間または４週間／２８日間の期間１つ当たり、約０．０５ｍｇ／ｋｇ、約０．１ｍｇ／ｋｇ、約０．１５ｍｇ／ｋｇ、約０．２５ｍｇ／ｋｇ、約０．３ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ、約０．９ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、約１．５ｍｇ／ｋｇ、約２ｍｇ／ｋｇ、約２．５ｍｇ／ｋｇ、約３ｍｇ／ｋｇ、約５ｍｇ／ｋｇ、約７．５ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ、約１２．５ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ、約１７．５ｍｇ／ｋｇ、約２０ｍｇ／ｋｇ、約２２．５ｍｇ／ｋｇ、または約２５ｍｇ／ｋｇ（または列挙された用量のうちの少なくとも１つ）の抗原結合性分子を投与するステップを含む。

【０６８３】

一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、投与サイクル１つ当たり、例えば、３週間／２１日間または４週間／２８日間の期間１つ当たり、最大で、１０．５ｍｇ、最大で、２１ｍｇ、最大で、３１．５ｍｇ、最大で、５２．５ｍｇ、最大で、６０ｍｇ、最大で、６３ｍｇ、最大で、１２０ｍｇ、最大で、２１６ｍｇ、最大で、１８０ｍｇ、最大で、３６０ｍｇ、最大で、５４０ｍｇ、最大で、７２０ｍｇ、最大で、１０８０ｍｇ、最大で、１２００ｍｇ、最大で、２４００ｍｇ、最大で、３６００ｍｇ、最大で、４８００ｍｇ、最大で、５０００ｍｇ、最大で、５５００ｍｇ、最大で、５７００ｍｇ、最大で、６０００ｍｇ、最大で、６６００ｍｇ、または、最大で、７５００ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、投与サイクル１つ当たり、例えば、３週間／２１日間または４週間／２８日間の期間１つ当たり、１０．５ｍｇ～７５００ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、投与サイクル１つ当たり、例えば、３週間／２１日間の期間１つ当たり、１０．５ｍｇ～３１．５ｍｇ、３１．５ｍｇ～６６ｍｇ、６６ｍｇ～１２０ｍｇ、１２０ｍｇ～２１６ｍｇ、２１６ｍｇ～３６０ｍｇ、３６０ｍｇ～７２０ｍｇ、７２０ｍｇ～１０８０ｍｇ、１０８０ｍｇ～１２００ｍｇ、１２００ｍｇ～２４００ｍｇ、２４００ｍｇ～３６００ｍｇ、３６００ｍｇ～４８００ｍｇ、４８００ｍｇ～６０００ｍｇ、または６０００ｍｇ～７５００ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。

【０６８４】

一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、投与サイクル１つ当たり、例えば、４週間／２８日間の期間１つ当たり、最大で、１４ｍｇ、最大で、２８ｍｇ、最大で、４２ｍｇ、最大で、７０ｍｇ、最大で、８０ｍｇ、最大で、８４ｍｇ、最大で、１６０ｍｇ、最大で、２４０ｍｇ、最大で、２８８ｍｇ、最大で、４８０ｍｇ、最大で、７２０ｍｇ、最大で、９６０ｍｇ、最大で、１４４０ｍｇ、最大で、１６００ｍｇ、最大で、３２００ｍｇ、最大で、４８００ｍｇ、最大で、６４００ｍｇ、最大で、６６００ｍｇ、最大で、７２００ｍｇ、最大で、７６００ｍｇ、最大で、８０００ｍｇ、最大で、８８００ｍｇ、または、最大で、１００００ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、

投与サイクル１つ当たり、例えば、４週間／２８日間の期間１つ当たり、１４ｍｇ～１０００ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。一部の実施形態では、投与（例えば、上記のスケジュールにおける）は、投与サイクル１つ当たり、例えば、４週間／２８日間の期間１つ当たり、１４ｍｇ～４２ｍｇ、４２ｍｇ～８０ｍｇ、８０ｍｇ～１２０ｍｇ、１２０ｍｇ～１６０ｍｇ、１６０ｍｇ～２４０ｍｇ、２４０ｍｇ～４８０ｍｇ、４８０ｍｇ～７２０ｍｇ、７２０ｍｇ～９６０ｍｇ、９６０ｍｇ～１６００ｍｇ、１６００ｍｇ～３２００ｍｇ、３２００ｍｇ～４８００ｍｇ、４８００ｍｇ～６４００ｍｇ、６４００ｍｇ～７２００ｍｇ、７２００ｍｇ～８０００ｍｇ、または８０００～１００００ｍｇの抗原結合性分子を投与するステップを含む。

【０６８５】

抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（またはこれらのうちの複数）、発現ベクター（またはこれらのうちの複数）、細胞、または組成物は、第２の治療剤と組み合わせて、１回もしく複数回の投与で、または本明細書で記載される投与スケジュールで投与される。第２の薬剤は、ＰＤ－１により媒介されるシグナル伝達が可能でありうる。ＰＤ－１により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、ＰＤ－１またはＰＤ－Ｌ１ターゲティング剤でありうる。ＰＤ－１により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、例えば、ＰＤ－１またはＰＤ－Ｌ１に結合し、ＰＤ－１媒介性シグナル伝達を阻害することが可能な抗体でありうる。一部の実施形態では、薬剤は、アンタゴニスト性抗ＰＤ－１抗体である。一部の実施形態では、薬剤は、アンタゴニスト性抗ＰＤ－Ｌ１抗体である。薬剤は、ペムブロリズマブ（Ｋｅｙｔｒｕｄａ；ＭＫ－３４７５、ラムブロリズマブ）、ニボルマブ（Ｏｐｄｉｖｏ）、セミプリマブ（Ｌｉｂｔａｙｏ）、アテゾリズマブ（Ｔｅｃｅｎｔｒｉｑ）、アベルマブ（Ｂａｖｅｎｃｉｏ）、またはデュルバルマブ（Ｉｍｆｉｎｚｉ）でありうる。このような抗体の投与（ｄｏｓｅｓおよびａｄｍｉｎｉｓｔｒａｔｉｏｎｓ）レジメは、当技術分野において入手可能である。

【０６８６】

一部の実施形態では、第２の治療剤、例えば、ＰＤ－１により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤は、３週間／２１日間の期間（±３、２、または１日間）において、約２００ｍｇの用量で、１回（ｏｎｃｅ（ｏｎｅ　ｔｉｍｅ））投与される。

【０６８７】

本明細書で使用される、「約」とは、指定用量、およびこの用量からの±１０％を指す。例えば、「約３．５ｍｇ」の用量とは、３．５ｍｇの用量を含む、３．１５ｍｇ～３．８５ｍｇの範囲の用量を指す。

【０６８８】

一部の実施形態では、抗原結合性分子は、６０分間（－５分間／＋１０分間）にわたるＩＶ注入として投与される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、３０分間（－５分間／＋１０分間）にわたるＩＶ注入として投与される。一部の実施形態では、抗原結合性分子は、４５分間（－５分間／＋１０分間）にわたるＩＶ注入として投与される。抗原結合性分子は、ＩＶ注入のために、例えば、本開示に従う組成物中に製剤化されうる。

【０６８９】

抗原結合性分子は、適切な支持療法剤、例えば、造血増殖因子、コルチコステロイド、抗鬱剤、ジフェンヒドラミン、アセトアミノフェン、血小板形成剤（すなわち、ロミプロスチム、エルトロムボパグ）または顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）薬剤（すなわち、フィルグラスチム、ペグフィルグラスチム）、制吐剤および止瀉剤、食欲刺激剤、刺激剤（すなわち、モダフィニル）、抗悪液質治療（すなわち、魚油サプリメント）、抗鬱剤、アヘン系鎮痛剤および非アヘン系鎮痛剤、抗生剤、コルチコステロイドの選択的使用、血小板／好中球増殖因子、ビスホスホネート療法、抗ＲＡＮＫＬ（ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ａｃｔｉｖａｔｏｒ　ｏｆ　ｎｕｃｌｅａｒ　ｆａｃｔｏｒ　ｋａｐｐａ　β　ｌｉｇａｎｄ）療法（例えば、デノスマブ）、ゴナドトロピン放出ホルモン（ＧｎＲＨ）アゴニスト、および／またはＬＨＲＨアゴニストと共に共投与されうる。

【０６９０】

抗原結合性分子は、サイトカイン放出症候群を処置または防止する、１つまたは複数の薬剤、例えば、コルチコステロイド、抗ＩＬ－６治療（例えば、トシリズマブ）、非ステロイド系抗炎症剤、エピネフリン、静脈内輸液、抗ヒスタミン剤、ＮＳＡＩＤ、アセトアミノフェン、麻薬、酸素、および／または昇圧剤と共に共投与されうる。

検出法

本発明はまた、ＶＩＳＴＡ、またはＶＩＳＴＡ（例えば、ＭＤＳＣ）を発現する細胞を検出、位置特定、またはイメージングする方法における使用のための、本発明の物品も提供する。本明細書で記載される抗原結合性分子は、ＶＩＳＴＡに対する抗原結合性分子を伴う方法において使用されうる。このような方法は、抗原結合性分子とＶＩＳＴＡとの結合複合体の検出を伴いうる。

【０６９１】

特に、ＶＩＳＴＡの検出は、ＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）が病理学的に関与する疾患／状態を診断／予後診断し、このような疾患／状態を発症する危険性がある対象を同定する方法において有用な場合もあり、かつ／または治療介入に対する、対象の応答を予測する方法において有用な場合もある。

【０６９２】

このように、ＶＩＳＴＡを含有するか、またはこれを含有することが疑われる試料を、本明細書で記載される抗原結合性分子と接触させるステップと、抗原結合性分子と、ＶＩＳＴＡとの複合体の形成を検出するステップとを含む方法が提供される。また、ＶＩＳＴＡを発現する細胞を含有するか、またはこれを含有することが疑われる試料を、本明細書で記載される抗原結合性分子と接触させるステップと、抗原結合性分子と、ＶＩＳＴＡを発現する細胞との複合体の形成を検出するステップとを含む方法も提供される。

【０６９３】

試料は、任意の組織または体液から採取されうる。試料は、多量の血液；血液フィブリン塊および血液細胞を除去した後で得られる流体部分を含みうる、個体の血液に由来する、多量の血清；組織試料または生検；胸水；脳脊髄液（ＣＳＦ）；または前記個体から単離された細胞を含みうるか、またはこれらに由来しうる。一部の実施形態では、試料は、疾患／状態の影響を受ける、１つの組織または複数の組織（例えば、疾患の症状が顕在化するか、または疾患／状態の発症機序に関与する、１つの組織または複数の組織）から得られうるか、またはこれらに由来しうる。

【０６９４】

当技術分野では、サンドイッチアッセイ、例えば、ＥＬＩＳＡなどのイムノアッセイを含む、適する方法フォーマットが周知である。方法は、検出可能部分、例えば、本明細書で記載される、蛍光標識、リン光標識、発光標識、免疫検出可能標識、放射性標識、化学、核酸、または酵素標識により、抗原結合性分子、または標的（複数可）、またはこれらの両方を標識付けするステップを伴いうる。当業者には、検出法が周知であり、標識化剤と対応するように選択されうる。

【０６９５】

この種の方法は、疾患または状態、例えば、がんについての、診断的および／または予後診断的評価のための方法のベースをもたらしうる。このような方法は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏの患者試料に対して実施される場合もあり、患者試料の加工後に実施される場合もある。試料が回収されたら、患者は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ法の実施に立ち会うことを要求されないため、方法は、ヒトまたは動物体内に対しては行われない方法である。一部の実施形態では、方法は、ｉｎ　ｖｉｖｏにおいて実施される。

【０６９６】

試料中の検出は、疾患／状態（例えば、がん）、疾患／状態に対する素因の診断を目的として使用される場合もあり、疾患／状態、例えば、本明細書で記載される疾患／状態について予後診断する（予知する）ために使用される場合もある。診断または予後診断は、既存の（既に診断された）疾患／状態に関しうる。

【０６９７】

本発明はまた、対象を、ＶＩＳＴＡターゲティング剤による処置のために選択／層別化するための方法も提供する。一部の実施形態では、対象は、例えば、対象から得られた試料中の、ＶＩＳＴＡ、またはＶＩＳＴＡを発現する細胞の検出／定量に基づき、本発明に従う処置／防止のために、このような処置／防止から、利益を得る対象として選択されるか、または同定される。

【０６９８】

このような方法は、例えば、患者試料中で、ＶＩＳＴＡおよび／またはＶＩＳＴＡ（例えば、ＭＤＳＣ）を発現する細胞を検出または定量するステップを伴いうる。方法が、対象とする因子を定量するステップを含む場合、方法は、診断的または予後診断的評価の一部として、決定された量を、標準値または参照値に対して比較するステップをさらに含みうる。他の診断／予後診断検査は、診断もしくは予後診断の精度を増強するか、または本明細書で記載される検査を使用することにより得られる結果を確認するように、本明細書で記載される診断検査／予後診断検査と共に使用されうる。

【０６９９】

ＶＩＳＴＡレベルの増大が検出される場合、またはＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の存在（またはこれらの数／比率の増大）が、対象から得られた試料中で検出される場合、対象は、ＭＤＳＣが病理学的に関与する疾患／状態を有するか、またはこのような疾患／状態を発症する危険性があると診断されうる。このような方法では、細胞の発現のレベルまたは数／比率「の増大」とは、例えば、健常対象から得られる、同等な試料（例えば、同じ体液、組織、臓器などから得られた、同じ種類の試料）中で検出されるレベル／数／比率など、適切な対照条件について決定されるレベル／数／比率を超えるレベル／数／比率を指す。

【０７００】

ＶＩＳＴＡレベルの増大が検出される場合、またはＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の存在（またはこれらの数／比率の増大）が、対象から得られた試料中で検出される場合、対象は、同等な試料（例えば、同じ体液、組織、臓器などから得られた、同じ種類の試料）中の、ＶＩＳＴＡレベルが低レベルであるか、またはＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の数／比率を低減していると決定された対象と比較して、予後不良であると決定されうる。

【０７０１】

本発明の抗原結合性分子はまた、免疫療法に対する応答を予測する方法において有用でもある。「免疫療法」とは、一般に、疾患／状態を処置するのに、免疫系を役立てる治療介入を指す。免疫療法は、対象における、エフェクター免疫細胞（例えば、エフェクターＴ細胞（例えば、抗原特異的Ｔ細胞、ＣＡＲ－Ｔ細胞）、ＮＫ細胞）の数／比率／活性を増大させる治療介入を含む。エフェクター免疫細胞の数／比率／活性を増大させる免疫療法は、エフェクター免疫細胞の増殖および／または生存を促進し、免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害し、共刺激受容体により媒介されるシグナル伝達を促進し、抗原提示細胞による抗原提示を増強する介入などを含む。エフェクター免疫細胞の数／比率／活性を増大させる免疫療法はまた、例えば、養子細胞移入（ＡＣＴ）を介して、対象において、所望の特異性または活性を有するエフェクター免疫細胞の頻度を増大させる介入も包含する。ＡＣＴは、典型的に、免疫細胞が単離される血液試料を採取することにより、対象から免疫細胞を得ることを伴う。次いで、細胞は、典型的に、何らかの形で処理または変更され、次いで、同じまたは異なる対象へと投与される。ＡＣＴは、典型的に、ある特定の所望の特徴を伴う免疫細胞集団を、対象へと施すか、またはこの対象において、このような特徴を伴う免疫細胞の頻度を増大させることを目的とする。一部の実施形態では、ＡＣＴは、例えば、標的抗原または目的の細胞型に特異的な、キメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を含む細胞のＡＣＴである。免疫療法はまた、対象における、免疫抑制細胞の数／比率／活性（例えば、制御性Ｔ細胞、ＭＤＳＣ）を減少させる治療介入も含む。免疫抑制細胞の数／比率／活性を減少させる免疫療法は、免疫抑制細胞に対する細胞殺滅を引き起こすか、または強化し、免疫チェックポイント分子により媒介されるシグ

ナル伝達を阻害する介入を含む。

【０７０２】

ＶＩＳＴＡレベルの増大が検出される場合、またはＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の存在（またはこれらの数／比率の増大）が、対象から得られた試料中で検出される場合、対象は、対象における、エフェクター免疫細胞の数／比率／活性を増大させる免疫療法に対して、同等な試料（例えば、同じ体液、組織、臓器などから得られた、同じ種類の試料）中の、ＶＩＳＴＡレベルが低レベルであるか、またはＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の数／比率を低減していると決定された対象と比較して応答が不良であることが予測されうる。ＶＩＳＴＡレベルの増大が検出される場合、またはＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の存在（またはこれらの数／比率の増大）が、対象から得られた試料中で検出される場合、対象は、対象における、免疫抑制細胞の数／比率／活性を低減することを目的とする免疫療法に対して、同等な試料（例えば、同じ体液、組織、臓器などから得られた、同じ種類の試料）中の、ＶＩＳＴＡレベルが低レベルであるか、またはＶＩＳＴＡを発現する細胞（例えば、ＭＤＳＣ）の数／比率を低減していると決定された対象と比較して応答が改善されることが予測されうる。

【０７０３】

一部の実施形態では、方法は、免疫抑制細胞コンパートメント、およびエフェクター免疫細胞コンパートメントの相対的サイズ／活性を決定するステップを含む。例えば、一部の実施形態では、方法は、ＶＩＳＴＡ発現細胞（例えば、ＭＤＳＣ、ＴＡＭ、好中球）の、エフェクター免疫細胞に対する比を決定するための方法において、本明細書で記載される抗原結合性分子を利用する。比を増大させている対象は、免疫抑制細胞の数／比率／活性を低減することを目的とする免疫療法に対する応答を、比が低値であることが決定された対象と比較して改善することが予測される場合もあり、かつ／または、エフェクター免疫細胞の数／比率／活性を増大させる免疫療法に対する応答が、これと比較して不良であることが予測される場合もある。

【０７０４】

本発明の診断および予後診断法は、疾患および／または処置の経過を通して、複数の時点において、対象から得られた試料に対して実施される場合があり、時間経過にわたり、例えば、対象へと投与された処置に応答する、疾患／状態の発症をモニタリングするのに使用されうる。方法に従う特徴付けの結果は、いつ、どのような種類の治療を、対象へと投与するのかについての臨床的決定に情報を与えるのに使用されうる。

【０７０５】

診断法および予後診断法は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏの患者から得られた試料に対して実施される場合もあり、患者から得られた試料の加工後に実施される場合もある。試料が回収されたら、患者は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ法の実施に立ち会うことを要求されないため、方法は、ヒトまたは動物体内に対しては行われない方法である。

対象

本明細書で記載される、本発明の態様に従う対象は、任意の動物またはヒトでありうる。対象は、好ましくは、哺乳動物、より好ましくは、ヒトである。対象は、非ヒト哺乳動物でもありうるが、より好ましくは、ヒトである。対象は、雄の場合もあり、雌の場合もある。対象は、患者でありうる。対象は、処置を要求する疾患または状態（例えば、がん）を伴うと診断されている場合もあり、このような疾患／状態を有することが疑われる場合もあり、このような疾患／状態を発症する／このような疾患／状態に罹患する危険性がある場合もある。

【０７０６】

本発明に従う実施形態では、対象は、好ましくは、ヒト対象である。一部の実施形態では、本明細書における、本発明の治療または予防法に従い処置される対象は、がんを有するか、またはがんを発症させる危険性がある対象である。本発明に従う実施形態では、対象は、このような疾患／状態の、ある特定のマーカーについての特徴付けに基づく方法に従う処置のために選択されうる。

【０７０７】
本開示に従う対象は、細胞、例えば、本明細書で記載される、ＶＩＳＴＡ／ＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現または過剰発現する、例えば、免疫細胞および／または腫瘍細胞を含みうる。
【０７０８】
対象は、例えば、組織学的に（例えば、腫瘍生検に対する免疫組織化学を介して）確認された充実性腫瘍など、進行性または転移性がんを含みうる。がんは、常套的処置に対して、耐性または不応性の場合もあり、常套的治療が存在しない場合もある。対象は、免疫チェックポイントターゲティング療法、例えば、抗ＣＴＬＡ４療法および／または抗ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１療法に対して耐性であるがんを有しうる。
【０７０９】
対象は、トリプルネガティブ乳がん（ＴＢＮＣ）、例えば、進行性、転移性、耐性、または不応性ＴＢＮＣを有する場合があり、ＴＮＢＣのための前の処置を施されており、例えば、治療利益がほとんどもしくは全く見られないか、または処置時／処置後における疾患の進行を示している場合がある。
【０７１０】
対象は、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、例えば、進行性、転移性、耐性、または不応性ＴＢＮＣを有する場合があり、例えば、既に、ＮＳＣＬＣのための前の処置を施されており、治療利益がほとんどもしくは全く見られないか、または処置時／処置後における疾患の進行を示している場合がある。対象は、ＲＯＳ再配列、ＢＲＡＦ　Ｖ６００Ｅ突然変異、および／またはｍｅｔエクソン１４スキッピング突然変異を含みうる。一部の実施形態では、対象は、表皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ）または未分化リンパ腫キナーゼ（ＡＬＫ）の活性化突然変異を伴わない細胞を含む。
【０７１１】
対象は、抗ＰＤ－１または抗ＰＤ－Ｌ１療法、例えば、抗ＰＤ－１または抗ＰＤ－Ｌ１抗体による前の処置を施されている場合がある。対象は、例えば、化学療法と組み合わせた、アテゾリズマブによる前の処置を施されており、例えば、治療利益がほとんどもしくは全く見られないか、または処置時／後における疾患の進行を示している場合がある。
【０７１２】
一部の実施形態では、対象は、ＶＩＳＴＡおよび／またはＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現／過剰発現する細胞の検出、または、例えば、対象から得られる試料中に、ＶＩＳＴＡおよび／またはＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現／過剰発現する細胞を含むがん／腫瘍の検出に基づき、本明細書で記載される処置のために選択されうる。がんまたは細胞は、ＶＩＳＴＡ　ＩＨＣ＋として記載されうる。本開示に従う方法は、例えば、本明細書で記載される対象の、例えば、対象から得られる試料中に、ＶＩＳＴＡおよび／またはＶＩＳＴＡの相互作用パートナーを発現／過剰発現する細胞を含むがんまたは腫瘍を検出するステップを含みうる。
【０７１３】
一部の実施形態では、対象は、例えば、対象から得られる試料中における、ＰＤ－１および／またはＰＤ－Ｌ１を発現／過剰発現する細胞の検出に基づき、本明細書で記載される処置のために選択されうる。がんまたは細胞は、ＰＤ－１　ＩＨＣ＋かつ／またはＰＤ－Ｌ１　ＩＨＣ＋として記載されうる。
【０７１４】
本開示に従う方法は、バイオマーカー、例えば、無細胞ＤＮＡ（ｃｆＤＮＡ）変異対立遺伝子画分／腫瘍画分（例えば、ｃｔＤＮＡなどの腫瘍由来ｃｆＤＮＡ）を含む循環腫瘍マーカーを検出するステップを含みうる。本発明に従う方法は、サイトカイン、例えば、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＩＬ－８、および／またはＴＮＦαを検出するステップを含みうる。本発明に従う方法は、免疫細胞およびがん細胞についてのプロテオーム解析、例えば、ＶＩＳＴＡおよび／またはＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１の発現についてのプロテオーム解析を含みうる。方法は、腫瘍浸潤白血球、免疫関連ｍＲＮＡ発現シグネチャー、ならびにＶＩＳ

ＴＡおよびＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１発現の存在および／または変化を検出するステップを含みうる。

【０７１５】

卵巣がんにおける、ＣＡ－１２５、ＨＥ４、およびＯＶＡ１；結腸直腸がんにおけるＣＥＡ；膵がんおよび胃がんにおけるＣＡ１９－９；前立腺がんにおける、ＰＳＡ、ＰＡＰ、ＰＣＡ３、オンコタイプＤＸＧＰＳシグネチャー、およびＰｒｏｌａｒｉｓシグネチャー；膀胱がんにおける、ＢＴＡ、ＦＧＦＲ２、および／またはＦＧＦＲ３の遺伝子突然変異、ＮＭＰ２２、ならびに第３染色体、第７染色体、第１７染色体、および第９ｐ２１染色体；ＮＳＣＬＣにおける、ＡＬＫ遺伝子の再配列および過剰発現、ＥＧＦＲ遺伝子の突然変異、ＮＳＥ、ＰＤ－Ｌ１、およびＲＯＳ１の遺伝子再配列；卵巣および乳がんにおける、ＢＲＣＡ１および／またはＢＲＣＡ２；例えば、結腸直腸がんおよびＮＳＣＬＣにおける、ＢＲＡＦ　Ｖ６００（例えば、ＢＲＡＦＶ　６００Ｅ／）およびＫＲＡＳの突然変異；乳がんにおける、ＣＡ１５－３／ＣＡ２７．２９、ＥＲ／ＰＲ、ｕＰＡ、ＰＡＩ－１、およびＭａｍｍａｐｒｉｎｔシグネチャー；肺がんにおける、サイトケラチン断片２１－１；ＨＣＣにおけるＤＣＰ、乳、結腸直腸、胃、および膵がんにおける、ＤＰＤ突然変異；甲状腺がんにおけるサイログロブリン；ならびに任意の充実性腫瘍における、ＮＴＲＫ遺伝子融合を含むがこれらに限定されない、１つまたは複数の腫瘍血清マーカー（またはマーカーのパネル）が、対象が、対象のがん／腫瘍の種類に適切な処置を施される前に、この間に、かつ、この後で査定されうる。

【０７１６】

本明細書で記載される任意のバイオマーカーは、本明細書で開示される方法を使用する処置前、時、および／または後において、例えば、処置に適する対象を選択し、かつ／または処置の経過または成功をモニタリングするために検出されうる。処置後におけるバイオマーカーの検出は、処置前における、このバイオマーカーの検出と比較されうる。

キット

本発明の一部の態様では、本明細書で記載される部材キットが提供される。一部の実施形態では、キットは、所定数量の、本明細書で記載される、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（または複数の核酸）、発現ベクター（または複数の発現ベクター）、細胞、または組成物を有する、少なくとも１つの容器を有しうる。

【０７１７】

一部の実施形態では、キットは、例えば、本開示に従う組成物中に、５０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子溶液を含む。一部の実施形態では、キットは、２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０を含む、ｐＨ５．５の組成物中に、５０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子を含む。

【０７１８】

５０ｍｇ／ｍＬの抗原結合性分子を含む組成物は、使用前に希釈されうる。キットは、希釈のための指示書を含みうる。キットは、例えば、本明細書で記載される、例えば、静脈内投与に適する組成物に到達するように、組成物の希釈における使用のための５％デキストロースを含みうる。キットは、例えば、提供される通りに、またはデキストロースによる希釈の後で、少なくとも０．０７ｍｇ／ｍＬ濃度、または本開示に従う別の濃度で抗原結合性分子を含む組成物を含みうる。

【０７１９】

本開示の抗原結合性分子または他の物品は、凍結乾燥されうる（すなわち、容器は、凍結乾燥された抗原結合性分子または他の物品を含みうる）。凍結乾燥された薬剤は、例えば、本開示に従う組成物緩衝液中で、再構成されうる。キットは、抗原結合性分子／他の物品を再構成するための指示書を含みうる。

【０７２０】

容器は、任意の適切な容器、例えば、ガラス製バイアルでありうる。

【０７２１】

一部の実施形態では、キットは、本明細書で記載される、抗原結合性分子、ポリペプチ

ド、ＣＡＲ、核酸（または複数の核酸）、発現ベクター（または複数の発現ベクター）、細胞、または組成物を作製するための素材を含みうる。

【０７２２】

キットは、例えば、本明細書で記載される投与（ｄｏｓｅ／ｄｏｓｉｎｇ）レジメを使用して、指定された疾患／状態を処置し、かつ／または本明細書で記載される疾患／状態を処置するために、患者への投与のための指示書と併せて、抗原結合性分子、ポリペプチド、ＣＡＲ、核酸（またはこれらのうちの複数）、発現ベクター（またはこれらのうちの複数）、細胞、または組成物を提供しうる。

【０７２３】

一部の実施形態では、キットは、所定数量の、別の治療剤（例えば、抗感染症剤または化学療法剤）を有する、少なくとも１つの容器をさらに含みうる。このような実施形態では、キットはまた、２つの医薬または医薬組成物が、特異的な疾患または状態のための組合せ処置をもたらすよう、同時に、または個別に投与されうるように、第２の医薬または医薬組成物も含みうる。治療剤はまた、腫瘍または血液への注射または注入に適するようにも製剤化されうる。治療剤は、本明細書で記載される、任意のこのような薬剤でありうる。治療剤は、抗ＰＤ－１／抗ＰＤ－Ｌ１剤、例えば、抗体でありうる。治療剤は、アンタゴニスト性抗ＰＤ－１抗体の場合もあり、アンタゴニスト性抗ＰＤ－Ｌ１抗体の場合もある。

配列同一性

本明細書で使用される、「配列同一性」とは、配列の間で、最大の配列同一性パーセントを達成するように、配列をアライメントし、必要な場合は、ギャップを導入した後で、参照配列内のヌクレオチド／アミノ酸残基と同一な、対象配列内のヌクレオチド／アミノ酸残基のパーセントを指す。２つ以上のアミノ酸配列または核酸配列の間の配列同一性パーセントを決定することを目的とする、対での、複数の配列アライメントは、例えば、ＣｌｕｓｔａｌＯｍｅｇａ（Ｓｏｄｉｎｇ、Ｊ．２００５、Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ、２１、９５１～９６０）、Ｔ－ｃｏｆｆｅｅ（Ｎｏｔｒｅｄａｍｅら、２０００、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．（２０００）、３０２、２０５～２１７）、Ｋａｌｉｇｎ（ＬａｓｓｍａｎｎおよびＳｏｎｎｈａｍｍｅｒ、２００５、ＢＭＣ Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ、６（２９８））、およびＭＡＦＦＴ（ＫａｔｏｈおよびＳｔａｎｄｌｅｙ、２０１３、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｅｖｏｌｕｔｉｏｎ、３０（４）、７７２～７８０）ソフトウェアなど、市販のコンピュータソフトウェアを使用して、当業者に公知の、多様な形で達成されうる。このようなソフトウェアを使用する場合、例えば、ギャップペナルティーおよび伸長ペナルティーについての、デフォルトのパラメータを使用することが好ましい。

配列

【０７２４】

【表２－１】

配列番号	説明	配列
1	ヒトVISTA (Q9H7M9-1、v3)	MGVPTALEAGSWRWGSLLFALFLAASLGPVAAFKVATPYSLYVCPEGQNVTLTCRLLGPVDKGH DVTFYKTWYRSSRGEVQTCSERRPIRNLTFQDLHLHHGGHQAANTSHDLAQRHGLESASDHHG NFSITMRNLTLLDSGLYCCLVVEIRHHHSEHRVHGAMELQVQTGKDAPSNCVVYPSSSQDSENIT AAALATGACIVGILCLPLILLLVYKQRQAASNRRAQELVRMDSNIQGIENPGFEASPPAQGIPEAKV RHPLSYVAQRQPSESGRHLLSEPSTPLSPPGPGDVFFPSLDPVPDSPNFEVI
2	成熟ヒトVISTA(Q9H7M9-1、	FKVATPYSLYVCPEGQNVTLTCRLLGPVDKGHDVTFYKTWYRSSRGEVQTCSERRPIRNLTFQDL HLHHGGHQAANTSHDLAQRHGLESASDHHGNFSITMRNLTLLDSGLYCCLVVEIRHHHSEHRVH

【０７２５】

【表２－２】

	v3 33～311位)	GAMELQVQTGKDAPSNCVVYPSSSQDSENITAAALATGACIVGILCLPLILLLVYKQRQAASNRRA QELVRMDSNIQGIENPGFEASPPAQGIPEAKVRHPLSYVAQRQPSESGRHLLSEPSTPLSPPGPG DVFFPSLDPVPDSPNFEVI
3	ヒトVISTA細胞外ドメイン (Q9H7M9-1、v3 33～194位)	FKVATPYSLYVCPEGQNVTLTCRLLGPVDKGHDVTFYKTWYRSSRGEVQTCSERRPIRNLTFQDL HLHHGGHQAANTSHDLAQRHGLESASDHHGNFSITMRNLTLLDSGLYCCLVVEIRHHHSEHRVH GAMELQVQTGKDAPSNCVVYPSSSQDSENITAA
4	ヒトVISTA膜貫通ドメイン (Q9H7M9-1、v3 195～215位)	ALATGACIVGILCLPLILLLV
5	ヒトVISTA細胞質ドメイン (Q9H7M9-1、v3 216～311位)	YKQRQAASNRRAQELVRMDSNIQGIENPGFEASPPAQGIPEAKVRHPLSYVAQRQPSESGRHLL SEPSTPLSPPGPGDVFFPSLDPVPDSPNFEVI
6	ヒトVISTA Ig様V型ドメイン (Q9H7M9-1、v3 33～168位)	FKVATPYSLYVCPEGQNVTLTCRLLGPVDKGHDVTFYKTWYRSSRGEVQTCSERRPIRNLTFQDL HLHHGGHQAANTSHDLAQRHGLESASDHHGNFSITMRNLTLLDSGLYCCLVVEIRHHHSEHRVH GAMELQV
7	ヒトVSIG-3アイソフォーム1 (Q5DX21-1、v3)	MTSQRSPLAPLLLLSLHGVAASLEVSESPGSIQVARGQPAVLPCTFTTSAALINLNVIWMVTPLSNA NQPEQVILYQGGQMFDGAPRFHGRVGFTGTMPATNVSIFINNTQLSDTGTYQCLVNNLPDIGGRN IGVTGLTVLVPPSAPHCQIQGSQDIGSDVILLCSSEEGIPRPTYLWEKLDNTLKLPPTATQDQVQGT VTIRNISALSSGLYQCVASNAIGTSTCLLDLQVISPQPRNIGLIAGAIGTGAVIIIFCIALILGAFFYWRS KNKEEEEEEIPNEIREDDLPPKCSSAKAFHTEISSSDNNTLTSSNAYNSRYWSNNPKVHRNTESVS HFSDLGQSFSFHSGNANIPSIYANGTHLVPGQHKTLVVTANRGSSPQVMSRSNGSVSRKPRPPH THSYTISHATLERIGAVPVMVPAQSRAGSLV
8	ヒトVSIG-3アイソフォーム2 (Q5DX21-2)	MSLVELLLWWNCFSRTGVAASLEVSESPGSIQVARGQPAVLPCTFTTSAALINLNVIWMVTPLSNA NQPEQVILYQGGQMFDGAPRFHGRVGFTGTMPATNVSIFINNTQLSDTGTYQCLVNNLPDIGGRN IGVTGLTVLVPPSAPHCQIQGSQDIGSDVILLCSSEEGIPRPTYLWEKLDNTLKLPPTATQDQVQGT VTIRNISALSSGLYQCVASNAIGTSTCLLDLQVISPQPRNIGLIAGAIGTGAVIIIFCIALILGAFFYWRS KNKEEEEEEIPNEIREDDLPPKCSSAKAFHTEISSSDNNTLTSSNAYNSRYWSNNPKVHRNTESVS HFSDLGQSFSFHSGNANIPSIYANGTHLVPGQHKTLVVTANRGSSPQVMSRSNGSVSRKPRPPH THSYTISHATLERIGAVPVMVPAQSRAGSLV
9	ヒトVSIG-3アイソフォーム3 (Q5DX21-3)	MSLVELLLWWNCFSRTGVAASLEVSESPGSIQVARGQPAVLPCTFTTSAALINLNVIWMVTPLSNA NQPEQVILYQGGQMFDGAPRFHGRVGFTGTMPATNVSIFINNTQLSDTGTYQCLVNNLPDIGGRN IGVTGLTVLVPPSAPHCQIQGSQDIGSDVILLCSSEEGIPRPTYLWEKLDNTLKLPPTATQDQVQGT VTIRNISALSSAQPRNIGLIAGAIGTGAVIIIFCIALILGAFFYWRSKNKEEEEEEIPNEIREDDLPPKCS SAKAFHTEISSSDNNTLTSSNAYNSRYWSNNPKVHRNTESVSHFSDLGQSFSFHSGNANIPSIYA NGTHLVPGQHKTLVVTANRGSSPQVMSRSNGSVSRKPRPPHTHSYTISHATLERIGAVPVMVPA QSRAGSLV
10	成熟ヒトVSIG-3アイソフォーム1(Q5DX21-1、v3 23～431位)	LEVSESPGSIQVARGQPAVLPCTFTTSAALINLNVIWMVTPLSNANQPEQVILYQGGQMFDGAPRF HGRVGFTGTMPATNVSIFINNTQLSDTGTYQCLVNNLPDIGGRNIGVTGLTVLVPPSAPHCQIQGS QDIGSDVILLCSSEEGIPRPTYLWEKLDNTLKLPPTATQDQVQGTVTIRNISALSSGLYQCVASNAI GTSTCLLDLQVISPQPRNIGLIAGAIGTGAVIIIFCIALILGAFFYWRSKNKEEEEEEIPNEIREDDLPP KCSSAKAFHTEISSSDNNTLTSSNAYNSRYWSNNPKVHRNTESVSHFSDLGQSFSFHSGNANIPS IYANGTHLVPGQHKTLVVTANRGSSPQVMSRSNGSVSRKPRPPHTHSYTISHATLERIGAVPVMV PAQSRAGSLV
11	成熟ヒトVSIG-3アイソフォーム2 (Q5DX21-2、23～431位)	LEVSESPGSIQVARGQPAVLPCTFTTSAALINLNVIWMVTPLSNANQPEQVILYQGGQMFDGAPRF HGRVGFTGTMPATNVSIFINNTQLSDTGTYQCLVNNLPDIGGRNIGVTGLTVLVPPSAPHCQIQGS QDIGSDVILLCSSEEGIPRPTYLWEKLDNTLKLPPTATQDQVQGTVTIRNISALSSGLYQCVASNAI GTSTCLLDLQVISPQPRNIGLIAGAIGTGAVIIIFCIALILGAFFYWRSKNKEEEEEEIPNEIREDDLPP KCSSAKAFHTEISSSDNNTLTSSNAYNSRYWSNNPKVHRNTESVSHFSDLGQSFSFHSGNANIPS IYANGTHLVPGQHKTLVVTANRGSSPQVMSRSNGSVSRKPRPPHTHSYTISHATLERIGAVPVMV PAQSRAGSLV
12	成熟ヒトVSIG-3アイソフォーム3(Q5DX21-3、23～407位)	LEVSESPGSIQVARGQPAVLPCTFTTSAALINLNVIWMVTPLSNANQPEQVILYQGGQMFDGAPRF HGRVGFTGTMPATNVSIFINNTQLSDTGTYQCLVNNLPDIGGRNIGVTGLTVLVPPSAPHCQIQGS QDIGSDVILLCSSEEGIPRPTYLWEKLDNTLKLPPTATQDQVQGTVTIRNISALSSAQPRNIGLIAGAI GTGAVIIIFCIALILGAFFYWRSKNKEEEEEEIPNEIREDDLPPKCSSAKAFHTEISSSDNNTLTSSNA YNSRYWSNNPKVHRNTESVSHFSDLGQSFSFHSGNANIPSIYANGTHLVPGQHKTLVVTANRGS SPQVMSRSNGSVSRKPRPPHTHSYTISHATLERIGAVPVMVPAQSRAGSLV
13	ヒトVSIG-3アイソフォーム1および2細胞外ドメイン	LEVSESPGSIQVARGQPAVLPCTFTTSAALINLNVIWMVTPLSNANQPEQVILYQGGQMFDGAPRF HGRVGFTGTMPATNVSIFINNTQLSDTGTYQCLVNNLPDIGGRNIGVTGLTVLVPPSAPHCQIQGS QDIGSDVILLCSSEEGIPRPTYLWEKLDNTLKLPPTATQDQVQGTVTIRNISALSSGLYQCVASNAI GTSTCLLDLQVISPQPRNIG
14	ヒトVSIG-3	LEVSESPGSIQVARGQPAVLPCTFTTSAALINLNVIWMVTPLSNANQPEQVILYQGGQMFDGAPRF

【０７２６】

【表２－３】

	アイソフォーム3細胞外ドメイン	HGRVGFTGTMPATNVSIFINNTQLSDTGTYQCLVNNLPDIGGRNIGVTGLTVLVPPSAPHCQIQGSQDIGSDVILLCSSEEGIPRPTYLWEKLDNTLKLPPTATQDQVQGTVTIRNISALSSAQPRNIG
15	ヒトVSIG-3膜貫通ドメイン	LIAGAIGTGAVIIIFCIALIL
16	ヒトVSIG-3細胞質ドメイン	GAFFYWRSKNKEEEEEEIPNEIREDDLPPKCSSAKAFHTEISSSDNNTLTSSNAYNSRYWSNNPKVHRNTESVSHFSDLGQSFSFHSGNANIPSIYANGTHLVPGQHKTLVVTANRGSSPQVMSRSNGSVSRKPRPPHTHSYTISHATLERIGAVPVMVPAQSRAGSLV
17	ヒトVSIG-3 Ig様V型ドメイン	LEVSESPGSIQVARGQPAVLPCTFTTSAALINLNVIWMVTPLSNANQPEQVILYQGGQMFDGAPRFHGRVGFTGTMPATNVSIFINNTQLSDTGTYQCLVNNLPDIGGRNIGVT
18	ヒトVSIG-3 Ig様C2型ドメイン	PSAPHCQIQGSQDIGSDVILLCSSEEGIPRPTYLWEKLDNTLKLPPTATQDQVQGTVTIRNISALSSGLYQCVASNAIGTSTCLLDLQVIS
19	ヒトVSIG-8 (P0DPA2-1、v1)	MRVGGAFHLLLVCLSPALLSAVRINGDGQEVLYLAEGDNVRLGCPYVLDPEDYGPNGLDIEWMQVNSDPAHHRENVFLSYQDKRINHGSLPHLQQRVRFAASDPSQYDASINLMNLQVSDTATYECRVKKTTMATRKVIVTVQARPAVPMCWTEGHMTYGNDVVLKCYASGGSQPLSYKWAKISGHHYPYRAGSYTSQHSYHSELSYQESFHSSINQGLNNGDLVLKDISRADDGLYQCTVANNVGYSVCVVEVKVSDSRRIGVIIGIVLGSLLALGCLAVGIWGLVCCCCGGSGAGGARGAFGYGNGGGVGGGACGDLASEIREDAVAPGCKASGRGSRVTHLLGYPTQNVSRSLRRKYAPPPCGGPEDVALAPCTAAAACEAGPSPVYVKVKSAEPADCAEGPVQCKNGLLV
20	成熟ヒトVSIG-8(P0DPA2-1、v1 22～414位)	VRINGDGQEVLYLAEGDNVRLGCPYVLDPEDYGPNGLDIEWMQVNSDPAHHRENVFLSYQDKRINHGSLPHLQQRVRFAASDPSQYDASINLMNLQVSDTATYECRVKKTTMATRKVIVTVQARPAVPMCWTEGHMTYGNDVVLKCYASGGSQPLSYKWAKISGHHYPYRAGSYTSQHSYHSELSYQESFHSSINQGLNNGDLVLKDISRADDGLYQCTVANNVGYSVCVVEVKVSDSRRIGVIIGIVLGSLLALGCLAVGIWGLVCCCCGGSGAGGARGAFGYGNGGGVGGGACGDLASEIREDAVAPGCKASGRGSRVTHLLGYPTQNVSRSLRRKYAPPPCGGPEDVALAPCTAAAACEAGPSPVYVKVKSAEPADCAEGPVQCKNGLLV
21	ヒトVSIG-8細胞外ドメイン (P0DPA2-1、v1 22～263位)	VRINGDGQEVLYLAEGDNVRLGCPYVLDPEDYGPNGLDIEWMQVNSDPAHHRENVFLSYQDKRINHGSLPHLQQRVRFAASDPSQYDASINLMNLQVSDTATYECRVKKTTMATRKVIVTVQARPAVPMCWTEGHMTYGNDVVLKCYASGGSQPLSYKWAKISGHHYPYRAGSYTSQHSYHSELSYQESFHSSINQGLNNGDLVLKDISRADDGLYQCTVANNVGYSVCVVEVKVSDSRRIG
22	ヒトVSIG-8膜貫通ドメイン (P0DPA2-1、v1 264～284位)	VIIGIVLGSLLALGCLAVGIW
23	ヒトVSIG-8細胞質ドメイン (P0DPA2-1、v1 285～414位)	GLVCCCCGGSGAGGARGAFGYGNGGGVGGGACGDLASEIREDAVAPGCKASGRGSRVTHLLGYPTQNVSRSLRRKYAPPPCGGPEDVALAPCTAAAACEAGPSPVYVKVKSAEPADCAEGPVQCKNGLLV
24	ヒトVSIG-8 Ig様V型ドメイン1 (P0DPA2-1、v1 22～141位)	VRINGDGQEVLYLAEGDNVRLGCPYVLDPEDYGPNGLDIEWMQVNSDPAHHRENVFLSYQDKRINHGSLPHLQQRVRFAASDPSQYDASINLMNLQVSDTATYECRVKKTTMATRKVIVT
25	ヒトVSIG-8 Ig様V型ドメイン2 (P0DPA2-1、v1 146～257位)	PAVPMCWTEGHMTYGNDVVLKCYASGGSQPLSYKWAKISGHHYPYRAGSYTSQHSYHSELSYQESFHSSINQGLNNGDLVLKDISRADDGLYQCTVANNVGYSVCVVEVKVS
26	抗VISTA抗体クローンである、4M2-C12、4M2-B4、4M2-C9、4M2-D9、4M2-D5、4M2-A8、V4H1、V4H2、V4-C1、V4-C9、V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30およびV4-C31により認識されるエピトープ	SRGEVQTCSERRPI
27	抗VISTA抗体クローンである、2M1-B12および2M1-D2により認識されるエピトープ	FQDLHLHHGGHQAA

【０７２７】

【表２－４】

28	抗VISTA抗体クローンである、1M2-D2、13D5p、13D5-1および13D5-13により認識されるエピトープ	CLVVEIRHHHSEHR
29	抗VISTA抗体クローンである5M1-A11により認識されるエピトープ	DKGHDVTFYKT
30	抗VISTA抗体クローンである9M2-C12により認識されるエピトープ	RHHHSEHRVHG
31	ヒトVISTA (Q9H7M9-1、v3)の61～162位	DKGHDVTFYKTWYRSSRGEVQTCSERRPIRNLTFQDLHLHHGGHQAANTSHDLAQRHGLESAS DHHGNFSITMRNLTLLDSGLYCCLVVEIRHHHSEHRVHG
32	4M2-C12の重鎖可変領域	EVKLVESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITYSGNISYNPSLR SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYSCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSS
33	4M2-C12、4M2-B4、V4H2、4M2-D9、V4-C1、V4-C9の重鎖CDR1	GYSITSDYA
34	4M2-C12、4M2-B4、V4H1、V4H2の重鎖CDR2	ITYSGNI
35	4M2-C12、4M2-B4、V4H1、V4H2の重鎖CDR3	ARSLYYPWYFDV
36	4M2-C12の重鎖FR1	EVKLVESGPGLVKPSQSLSLTCTVT
37	4M2-C12、4M2-B4の重鎖FR2	WNWIRQFPGNKLEWMGY
38	4M2-C12、4M2-B4の重鎖FR3	SYNPSLRSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYSC
39	4M2-C12、4M2-B4、V4H1、V4H2、13D5p、13D5-1、13D5-13の重鎖FR4	WGAGTTVTVSS
40	4M2-C12の軽鎖可変領域	DIVITQTPAILSTSPGEKVTMTCRASSSVGYIHWYQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSGS GTSNSLTITRVEAEDAATYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK
41	4M2-C12、4M2-B4、V4H1、V4H2、V4-C1、V4-C9、V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の軽鎖CDR1	SSVGY
42	4M2-C12、4M2-B4、V4-C1、V4-C9、V4-C28の軽鎖CDR2	ATS
43	4M2-C12、4M2-B4、V4H1、V4H2、V4-C1 V4-C9、V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の軽鎖CDR3	QQWSSYPPIT
44	4M2-C12の軽鎖FR1	DIVITQTPAILSTSPGEKVTMTCRAS
45	4M2-C12、4M2-B4の軽鎖FR2	IHWYQQKPGSSPKPWIY
46	4M2-C12、4M2-B4の軽鎖FR3	NLASGVPARFSGSGSGTSNSLTITRVEAEDAATYYC
47	4M2-C12、4M2-B4、V4H1、V4H2、	FGGGTKLEVK

【０７２８】

【表２－５】

	V4-C1、V4-C9、V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の軽鎖FR4	
48	4M2-B4の重鎖可変領域	EVMLVESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITYSGNISYNPSLR SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYSCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSS
49	4M2-B4の重鎖FR1	EVMLVESGPGLVKPSQSLSLTCTVT
50	4M2-B4の軽鎖可変領域	DIVLTQTTAILSTSPGEKVTMTCRASSSVGYIHWYQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSG SGTSNSLTITRVEAEDAATYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK
51	4M2-B4の軽鎖FR1	DIVLTQTTAILSTSPGEKVTMTCRA
52	V4H1の重鎖可変領域	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTITSDYAMSWVRQAPGKGLEWVSVITYSGNISYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSS
53	V4H1の重鎖CDR1	GYTITSDYA
54	V4H1の重鎖FR1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
55	V4H1の重鎖FR2	MSWVRQAPGKGLEWVSV
56	V4H1の重鎖FR3	SYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
57	V4H1の軽鎖可変領域	EIVITQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYLAWYQQKPGQAPRPLIYDTSNRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDFAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK
58	V4H1の軽鎖CDR2	DTS
59	V4H1、V4-C1の軽鎖FR1	EIVITQSPATLSLSPGERATLSCRAS
60	V4H1の軽鎖FR2	LAWYQQKPGQAPRPLIY
61	V4H1の軽鎖FR3	NRATGIPARFSGSGSGTDNTLTISSLEPEDFAVYYC
62	V4H2の重鎖可変領域	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGYSITSDYAWSWIRQPPGKGLEWIGYITYSGNISYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYDCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSS
63	V4H2、V4-C1、V4-C9、V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31 の重鎖FR1	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVS
64	V4H2の重鎖FR2	WSWIRQPPGKGLEWIGY
65	V4H2の重鎖FR3	SYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYDC
66	V4H2の軽鎖可変領域	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVGYLNWYQQKPGKAPKPLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDNTLTISSLQPEDFATYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK
67	V4H2、4M2-D9の軽鎖CDR2	AAS
68	V4H2の軽鎖FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA
69	V4H2の軽鎖FR2	LNWYQQKPGKAPKPLIY
70	V4H2の軽鎖FR3	SLQSGVPSRFSGSGSGTDNTLTISSLQPEDFATYYC
71	2M1-B12の重鎖可変領域	EVQLQQSGAELVRPGTSVKTSCKASGYTFTNYWLGWVKERAGHGLEWIGEIFPGGGHTNYKEKF KGKATLTADTSSSTAYMKLSSLTSEDSAVYFCAQIPLYYGHYRSAYWGQGTLVTVSA
72	2M1-B12、2M1-D2、13D5p、13D5-1、13D5-13の重鎖CDR1	GYTFTNYW
73	2M1-B12、2M1-D2の重鎖CDR2	IFPGGGHT
74	2M1-B12、2M1-D2の重鎖CDR3	AQIPLYYGHYRSAY
75	2M1-B12の重鎖FR1	EVQLQQSGAELVRPGTSVKTSCKAS

【０７２９】

【表２－６】

76	2M1-B12、2M1-D2の重鎖FR2	LGWVKERAGHGLEWIGE
77	2M1-B12、2M1-D2の重鎖FR3	NYKEKFKGKATLTADTSSSTAYMKLSSLTSEDSAVYFC
78	2M1-B12、2M1-D2、1M2-D2の重鎖FR4	WGQGTLVTVSA
79	2M1-B12の軽鎖可変領域	DIQMMQSPASLSASVGETVAITCGASENIYGALNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADGMSSRFSGS GSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVLSTPYTFGGGTKLEIK
80	2M1-B12、2M1-D2の軽鎖CDR1	ENIYGA
81	2M1-B12、2M1-D2の軽鎖CDR2	GAT
82	2M1-B12、2M1-D2の軽鎖CDR3	QNVLSTPYT
83	2M1-B12の軽鎖FR1	DIQMMQSPASLSASVGETVAITCGAS
84	2M1-B12、2M1-D2の軽鎖FR2	LNWYQRKQGKSPQLLIY
85	2M1-B12、2M1-D2の軽鎖FR3	NLADGMSSRFSGSGSGRQYSLKISSLHPDDVATYYC
86	2M1-B12、4M2-C9、2M1-D2、4M2-D9、1M2-D2、5M1-A11、4M2-D5、4M2-A8、9M2-C12、13D5p、13D5-1、13d5-13の軽鎖FR4	FGGGTKLEIK
87	4M2-C9の重鎖可変領域	QVTLKECGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSL KSRLTISKDSSSNQVFLKITSVDTADTATYYCARRLDGYNDPYYFDYWGQGTTLTVSS
88	4M2-C9、5M1-A11の重鎖CDR1	GFSLSTSGMG
89	4M2-C9、5M1-A11の重鎖CDR2	IYWDDDK
90	4M2-C9、5M1-A11の重鎖CDR3	ARRLDGYNDPYYFDY
91	4M2-C9の重鎖FR1	QVTLKECGPGILQPSQTLSLTCSFS
92	4M2-C9、5M1-A11の重鎖FR2	VSWIRQPSGKGLEWLAH
93	4M2-C9、5M1-A11の重鎖FR3	RYNPSLKSRLTISKDSSSNQVFLKITSVDTADTATYYC
94	4M2-C9の重鎖FR4	WGQGTTLTVSS
95	4M2-C9の軽鎖可変領域	DIVMTQSPSSLSASLGDTVTITCHASQNVNVWLSWYQQKPGNIPKLLIYKASNLHAGVPSRFSGS GSGTGFTLTISSLQPEDIATYYCQQGQSYPLTFGGGTKLEIK
96	4M2-C9の軽鎖CDR1	QNVNVW
97	4M2-C9の軽鎖CDR2	KAS
98	4M2-C9の軽鎖CDR3	QQGQSYPLT
99	4M2-C9の軽鎖FR1	DIVMTQSPSSLSASLGDTVTITCHAS
100	4M2-C9の軽鎖FR2	LSWYQQKPGNIPKLLIY
101	4M2-C9の軽鎖FR3	NLHAGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPEDIATYYC
102	2M1-D2の重鎖可変領域	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKERAGHGLEWIGEIFPGGGHTNYKEKF KGKATLTADTSSSTAYMKLSSLTSEDSAVYFCAQIPLYYGHYRSAYWGQGTLVTVSA
103	2M1-D2、13D5p、13D5-1、13D5-13の重鎖FR1	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKAS
104	2M1-D2の軽鎖可変領域	DIVMTQSPASLSASVGETVAITCGASENIYGALNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADGMSSRFSGS GSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVLSTPYTFGGGTKLEIK

【０７３０】

【表２－７】

105	2M1-D2の軽鎖FR1	DIVMTQSPASLSASVGETVAITCGAS
106	4M2-D9の重鎖可変領域	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNRLEWMGFISYSGFTTYSPSLESRISITRDTSKNQFFLQLISVTTEDTATYYCARNHYGGSYWYFDVWGAGTSVTVSS
107	4M2-D9の重鎖CDR2	ISYSGFT
108	4M2-D9の重鎖CDR3	ARNHYGGSYWYFDV
109	4M2-D9の重鎖FR1	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVT
110	4M2-D9の重鎖FR2	WNWIRQFPGNRLEWMGF
111	4M2-D9の重鎖FR3	TYSPSLESRISITRDTSKNQFFLQLISVTTEDTATYYC
112	4M2-D9の重鎖FR4	WGAGTSVTVSS
113	4M2-D9の軽鎖可変領域	DIVMTQSPGSLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTSLMQWYLQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFRGSGSGTDFSLNIHPVEEDDIAMYFCQQSRKVPWTFGGGTKLEIK
114	4M2-D9の軽鎖CDR1	ESVEYYGTSL
115	4M2-D9の軽鎖CDR3	QQSRKVPWT
116	4M2-D9の軽鎖FR1	DIVMTQSPGSLAVSLGQRATISCRAS
117	4M2-D9の軽鎖FR2	MQWYLQKPGQPPKLLIY
118	4M2-D9の軽鎖FR3	NVESGVPDRFRGSGSGTDFSLNIHPVEEDDIAMYFC
119	1M2-D2の重鎖可変領域	EVKVEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVHQSPEKGLEWVAEIRSKANNHATYYVESVEGRFTISRDDSKSSVFLQVNSLRPEDTGIYYCTRRDGYYFAYWGQGTLVTVSA
120	1M2-D2の重鎖CDR1	GFTFSDAW
121	1M2-D2の重鎖CDR2	IRSKANNHAT
122	1M2-D2の重鎖CDR3	TRRDGYYFAY
123	1M2-D2の重鎖FR1	EVKVEESGGGLVQPGGSMKLSCAAS
124	1M2-D2の重鎖FR2	MDWVHQSPEKGLEWVAE
125	1M2-D2の重鎖FR3	YYVESVEGRFTISRDDSKSSVFLQVNSLRPEDTGIYYC
126	1M2-D2の軽鎖可変領域	DIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSSVRDMHWYQQKSGTSPKVLIYNTFNLASGVPSRFSGSGSGTFYSLTISSVEAGDAAAYYCHQWSSYPTFGGGTKLEIK
127	1M2-D2の軽鎖CDR1	SSSVRD
128	1M2-D2の軽鎖CDR2	NTF
129	1M2-D2の軽鎖CDR3	HQWSSYPT
130	1M2-D2の軽鎖FR1	DIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSA
131	1M2-D2の軽鎖FR2	MHWYQQKSGTSPKVLIY
132	1M2-D2の軽鎖FR3	NLASGVPSRFSGSGSGTFYSLTISSVEAGDAAAYYC
133	5M1-A11の重鎖可変領域	QVTLKVSGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDSSSNQVFLKITSVDTADTATYYCARRLDGYNDPYYFDYWGQGTTLTVSS
134	5M1-A11の重鎖FR1	QVTLKVSGPGILQPSQTLSLTCSFS
135	5M1-A11、4M2-D5、4M2-A8の重鎖FR4	WGQGTTLTVSS
136	5M1-A11の軽鎖可変領域	DVVMTQTPALMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQQKPRSSPKPWIYLTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWNSNPYTFGGGTKLEIK

【０７３１】

【表２－８】

137	5M1-A11の軽鎖CDR1	SSVSY
138	5M1-A11の軽鎖CDR2	LTS
139	5M1-A11の軽鎖CDR3	QQWNSNPYT
140	5M1-A11の軽鎖FR1	DVVMTQTPALMSASPGEKVTMTCSAS
141	5M1-A11の軽鎖FR2	MYWYQQKPRSSPKPWIY
142	5M1-A11の軽鎖FR3	NLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC
143	4M2-D5の重鎖可変領域	QVQLQQSGAELARPGASVRMSCKASGYTFTSYTMNWVKQRPGQGLEWIGFINPDSDYTTYDQK FKDKATLTADSSSSTAYMQLSSLTYDDSAVYYCTRHSYGNYGDYWGQGTTLTVSS
144	4M2-D5の重鎖CDR1	GYTFTSYT
145	4M2-D5の重鎖CDR2	INPDSDYT
146	4M2-D5の重鎖CDR3	TRHSYGNYGDY
147	4M2-D5の重鎖FR1	QVQLQQSGAELARPGASVRMSCKAS
148	4M2-D5の重鎖FR2	MNWVKQRPGQGLEWIGF
149	4M2-D5の重鎖FR3	TYDQKFKDKATLTADSSSSTAYMQLSSLTYDDSAVYYC
150	4M2-D5の軽鎖可変領域	DIVLTQSPKFLLVSAGDRVTITCKASQSVTNDVAWYQQKPGQSPKLLIYYASSRYTGVPDRFTGS GFGTDFTFTINTVQAEDLAVYFCQQDYSSPYTFGGGTKLEIK
151	4M2-D5の軽鎖CDR1	QSVTND
152	4M2-D5、4M2-A8の軽鎖CDR2	YAS
153	4M2-D5、4M2-A8の軽鎖CDR3	QQDYSSPYT
154	4M2-D5の軽鎖FR1	DIVLTQSPKFLLVSAGDRVTITCKAS
155	4M2-D5、4M2-A8の軽鎖FR2	VAWYQQKPGQSPKLLIY
156	4M2-D5の軽鎖FR3	SRYTGVPDRFTGSGFGTDFTFTINTVQAEDLAVYFC
157	4M2-A8の重鎖可変領域	QVQLQQSGADLARPGASVKMSCKASGYTFIDYTVHWVKQRPGQGLEWIGFINPSNDYTSYNQKF KDKASLTADTSSTTAYMQLSSLTSDDSAVYYCARHSYGNYGDYWGQGTTLTVSS
158	4M2-A8の重鎖CDR1	GYTFIDYT
159	4M2-A8の重鎖CDR2	INPSNDYT
160	4M2-A8の重鎖CDR3	ARHSYGNYGDY
161	4M2-A8の重鎖FR1	QVQLQQSGADLARPGASVKMSCKAS
162	4M2-A8の重鎖FR2	VHWVKQRPGQGLEWIGF
163	4M2-A8の重鎖FR3	SYNQKFKDKASLTADTSSTTAYMQLSSLTSDDSAVYYC
164	4M2-A8の軽鎖可変領域	DIVMTQAPKFLLVSAGDRVTITCKASQSVTNGVAWYQQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVPDRFTGS GFGTDFTFTISTVQAEDLAVYFCQQDYSSPYTFGGGTKLEIK
165	4M2-A8の軽鎖CDR1	QSVTNG
166	4M2-A8の軽鎖FR1	DIVMTQAPKFLLVSAGDRVTITCKAS
167	4M2-A8の軽鎖FR3	NRYTGVPDRFTGSGFGTDFTFTISTVQAEDLAVYFC
168	9M2-C12の重鎖可変領域	QVQLQQSGAELVKPGASVRLSCKASGYTFTSYWMHWVRQRPGLGLEWIGEIDPSDSYTNCNQR FKGKATLTVDKSSSTAYTQLSSLTSEDSAVYYCARWAYGPYAMDYWGQGTSVTVSS
169	9M2-C12の重鎖	GYTFTSYW

【０７３２】

【表２－９】

	CDR1	
170	9M2-C12の重鎖CDR2	IDPSDSYT
171	9M2-C12の重鎖CDR3	ARWAYGPYAMDY
172	9M2-C12の重鎖FR1	QVQLQQSGAELVKPGASVRLSCKAS
173	9M2-C12の重鎖FR2	MHWVRQRPGLGLEWIGE
174	9M2-C12の重鎖FR3	NCNQRFKGKATLTVDKSSSTAYTQLSSLTSEDSAVYYC
175	9M2-C12の重鎖FR4	WGQGTSVTVSS
176	9M2-C12の軽鎖可変領域	DIVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPWTFGGGTKLEIK
177	9M2-C12の軽鎖CDR1	QSLVHSNGNTY
178	9M2-C12、13D5p、13D5-1、13D5-13の軽鎖CDR2	KVS
179	9M2-C12の軽鎖CDR3	SQSTHVPWT
180	9M2-C12の軽鎖FR1	DIVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSS
181	9M2-C12の軽鎖FR2	LHWYLQKPGQSPKLLIY
182	9M2-C12の軽鎖FR3	NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC
183	13D5pの重鎖可変領域	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYTNYNEKF KGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGGYYYGSSWYFDVWGAGTTVTVSS
184	13D5p、13D5-1、13D5-13の重鎖CDR2	IYPGGGYT
185	13D5pの重鎖CDR3	ARGGYYYGSSWYFDV
186	13D5p、13D5-1、13D5-13の重鎖FR2	LGWVKQRPGHGLEWIGD
187	13D5p、13D5-1の重鎖FR3	NYNEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFC
188	13D5pの軽鎖可変領域	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEIK
189	13D5pの軽鎖CDR1	QSIVHSNGNTY
190	13D5p、13D5-1、13D5-13の軽鎖CDR3	FQGSHVPPT
191	13D5p、13D5-1、13D5-13の軽鎖FR1	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSS
192	13D5p、13D5-13の軽鎖FR2	LEWYLQKPGQSPKLLIY
193	13D5p、13D5-1の軽鎖FR3	NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYC
194	13D5-1の重鎖可変領域	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYTNYNEKF KGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCVRSGYYYGSSWYFDVWGAGTTVTVSS
195	13D5-1の重鎖CDR3	VRSGYYYGSSWYFDV
196	13D5-1の軽鎖可変領域	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSSGNTYLEWYLQKPDQSPKLLIYKVSNRFSGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEIK
197	13D5-1の軽鎖CDR1	QSIVHSSGNTY
198	13D5-1の軽鎖FR2	LEWYLQKPDQSPKLLIY
199	13D5-13の重鎖可変領域	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYTNYNEKF KGKATLTADISSSTAYMQLSSLTSEDSADYFCVRGGYYYGSSWYFDVWGAGTTVTVSS
200	13D5-13の重鎖CDR3	VRGGYYYGSSWYFDV

【０７３３】

【表２－１０】

201	13D5-13の重鎖FR3	NYNEKFKGKATLTADISSSTAYMQLSSLTSEDSADYFC
202	13D5-13の軽鎖可変領域	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSTVHSIGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDR FSGSESGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEIK
203	13D5-13の軽鎖CDR1	QSTVHSIGNTY
204	13D5-13の軽鎖FR3	NRFSGVPDRFSGSESGTDFTLKISRVEAEDLGVYYC
205	ヒトIgG1定常領域 (IGHG1; UniProt:P01857-1、v1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
206	CH1 IgG1 (P01857-1、v1の1～98位)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
207	ヒンジIgG1 (P01857-1、v1の99～110位)	EPKSCDKTHTCP
208	CH2 IgG1 (P01857-1、v1の111～223位)	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
209	CH3 IgG1 (P01857-1、v1の224～330位)	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
210	CH3(D356E、L358M;EU番号付けに従い番号付けされた位置)	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
211	Cκ CL (IGCK; UniProt: P01834-1, v2)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
212	4M2-C12 VH-CH1-CH2-CH3	EVKLVESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITYSGNISYNPSLR SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYSCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
213	4M2-C12 VL-Cκ	DIVITQTPAILSTSPGEKVTMTCRASSSVGYIHWYQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSGS GTSNSLTITRVEAEDAATYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
214	4M2-B4 VH-CH1-CH2-CH3	EVMLVESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITYSGNISYNPSLR SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYSCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
215	4M2-B4 VL-Cκ	DIVLTQTTAILSTSPGEKVTMTCRASSSVGYIHWYQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSG SGTSNSLTITRVEAEDAATYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
216	V4H1 VH-CH1-CH2-CH3	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTITSDYAMSWVRQAPGKGLEWVSVITYSGNISYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
217	V4H1 VL-Cκ	EIVITQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYLAWYQQKPGQAPRPLIYDTSNRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDFAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
218	V4H2 VH-CH1-	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGYSITSDYAWSWIRQPPGKGLEWIGYITYSGNISYNPSLKS

【０７３４】

【表２－１１】

	CH2-CH3	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYDCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
219	V4H2 VL-Cκ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVGYLNWYQQKPGKAPKPLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDNTLTISSLQPEDFATYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
220	2M1-B12 VH-CH1-CH2-CH3	EVQLQQSGAELVRPGTSVKTSCKASGYTFTNYWLGWVKERAGHGLEWIGEIFPGGGHTNYKEKF KGKATLTADTSSSTAYMKLSSLTSEDSAVYFCAQIPLYYGHYRSAYWGQGTLVTVSAASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
221	2M1-B12 VL-Cκ	DIQMMQSPASLSASVGETVAITCGASENIYGALNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADGMSSRFSGS GSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVLSTPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
222	4M2-C9 VH-CH1-CH2-CH3	QVTLKECGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSL KSRLTISKDSSSNQVFLKITSVDTADTATYYCARRLDGYNDPYYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
223	4M2-C9 VL-Cκ	DIVMTQSPSSLSASLGDTVTITCHASQNVNVWLSWYQQKPGNIPKLLIYKASNLHAGVPSRFSGS GSGTGFTLTISSLQPEDIATYYCQQGQSYPLTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
224	2M1-D2 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKERAGHGLEWIGEIFPGGGHTNYKEKF KGKATLTADTSSSTAYMKLSSLTSEDSAVYFCAQIPLYYGHYRSAYWGQGTLVTVSAASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
225	2M1-D2 VL-Cκ	DIVMTQSPASLSASVGETVAITCGASENIYGALNWYQRKQGKSPQLLIYGATNLADGMSSRFSGS GSGRQYSLKISSLHPDDVATYYCQNVLSTPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
226	4M2-D9 VH-CH1-CH2-CH3	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNRLEWMGFISYSGFTTYSPSLE SRISITRDTSKNQFFLQLISVTTEDTATYYCARNHYGGSYWYFDVWGAGTSVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
227	4M2-D9 VL-Cκ	DIVMTQSPGSLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTSLMQWYLQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDR FRGSGSGTDFSLNIHPVEEDDIAMYFCQQSRKVPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
228	1M2-D2 VH-CH1-CH2-CH3	EVKVEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVHQSPEKGLEWVAEIRSKANNHATYYV ESVEGRFTISRDDSKSSVFLQVNSLRPEDTGIYYCTRRDGYYFAYWGQGTLVTVSAASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
229	1M2-D2 VL-Cκ	DIVLTQSPAIMSASLGEEITLTCSASSSVRDMHWYQQKSGTSPKVLIYNTFNLASGVPSRFSGSGS GTFYSLTISSVEAGDAAAYYCHQWSSYPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
230	5M1-A11 VH-CH1-CH2-CH3	QVTLKVSGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSL KSRLTISKDSSSNQVFLKITSVDTADTATYYCARRLDGYNDPYYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR

【０７３５】

【表２－１２】

		TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
231	5M1-A11 VL-Cκ	DVVMTQTPALMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQQKPRSSPKPWIYLTSNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWNSNPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
232	4M2-D5 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQQSGAELARPGASVRMSCKASGYTFTSYTMNWVKQRPGQGLEWIGFINPDSDYTTYDQK FKDKATLTADSSSSTAYMQLSSLTYDDSAVYYCTRHSYGNYGDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
233	4M2-D5 VL-Cκ	DIVLTQSPKFLLVSAGDRVTITCKASQSVTNDVAWYQQKPGQSPKLLIYYASSRYTGVPDRFTGS GFGTDFTFTINTVQAEDLAVYFCQQDYSSPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
234	4M2-A8 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQQSGADLARPGASVKMSCKASGYTFIDYTVHWVKQRPGQGLEWIGFINPSNDYTSYNQKF KDKASLTADTSSTTAYMQLSSLTSDDSAVYYCARHSYGNYGDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
235	4M2-A8 VL-Cκ	DIVMTQAPKFLLVSAGDRVTITCKASQSVTNGVAWYQQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVPDRFTGS GFGTDFTFTISTVQAEDLAVYFCQQDYSSPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
236	9M2-C12 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQQSGAELVKPGASVRLSCKASGYTFTSYWMHWVRQRPGLGLEWIGEIDPSDSYTNCNQR FKGKATLTVDKSSSTAYTQLSSLTSEDSAVYYCARWAYGPYAMDYWGQGTSVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
237	9M2-C12 VL-Cκ	DIVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPWTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
238	13D5p VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYTNYNEKF KGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGGYYYGSSWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
239	13D5p VL-Cκ	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
240	13D5-1 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYTNYNEKF KGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCVRSGYYYGSSWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
241	13D5-1 VL-Cκ	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSSGNTYLEWYLQKPDQSPKLLIYKVSNRFSGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
242	13D5-13 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYTFTNYWLGWVKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYTNYNEKF KGKATLTADISSSTAYMQLSSLTSEDSADYFCVRGGYYYGSSWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【０７３６】

【表２－１３】

243	13D5-13 VL-Cκ	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSTVHSIGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDR FSGSESGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
244	4M2-C12/V4H1/ V4H2の重鎖CDR1 コンセンサス	GYX_1ITSDYA [配列中、X_1=SまたはT]
245	4M2-C12/V4H1/ V4H2の軽鎖CDR2 コンセンサス	X_2X_3S [配列中、X_2=AまたはD;X_3=TまたはA]
246	13D5p由来の重鎖 CDR3コンセンサス	X_4RX_5GYYYGSSWYFDV [配列中、X_4= VまたはA;X_5= GまたはS]
247	13D5p由来の軽鎖 CDR1コンセンサス	QSX_6VHSX_7GNTY [配列中、X_6= IまたはT;X_7= N, Sまたは]
248	4M2-C12 mIgG2a HC	EVKLVESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITYSGNISYNPSLR SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYSCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSSAKTTAPSVYPLA PVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYK NTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
249	4M2-C12 mIgG2a LALA PG HC	EVKLVESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITYSGNISYNPSLR SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYSCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSSAKTTAPSVYPLA PVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNK DLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
250	4M2-C12 LC	DIVITQTPAILSTSPGEKVTMTCRASSSVGYIHWYQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPARFSGSGS GTSNSLTITRVEAEDAATYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASV VCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA THKTSTSPIVKSFNRNEC
251	mIgG2a CH1	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI
252	mIgG2aヒンジ	EPRGPTIKPCPPCKCP
253	mIgG2a CH2	APNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYN STLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPK
254	mIgG2a CH2 LALA PG	APNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDY NSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPK
255	mIgG2a CH3	GSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSY FMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
256	マウスIgガンマ2A鎖C領域、A型対立遺伝子	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWM SGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVE WTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSR TPGK
257	mIgG2a CH2, CH3 LALA PG	APNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDY NSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLGAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
258	4M2-C12 mIgG2a NQ HC	EVKLVESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITYSGNISYNPSLR SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYSCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSSAKTTAPSVYPLA PVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPS QSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCV VVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYQSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNN KDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
259	mIgG2a CH2 NQ	APNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDY QSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPK
260	mIgG2a CH2, CH3 NQ	APNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDY QSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC SVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
261	マウスIGHG1	AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS

【０７３７】

【表２－１４】

		SSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITL TPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEF KCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNG QPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK
262	mIgG1 CH1	AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLS SSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKI
263	mIgG1ヒンジ	VPRDCGCKPCICT
264	mIgG1 CH2	VPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNST FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTK
265	mIgG1 CH3	GRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYF VYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK
266	4M2-C12 mIgG1 HC	EVKLVESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITYSGNISYNPSLR SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYSCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSSAKTTPPSVYPLA PGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWP SETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDIS KDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPA PIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQP IMNTNGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK
267	IGN175A HC	QVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYTFSTHWIEWVKQRPGHGLEWIGEILPGSGSTSYNEKF KGKATFTADTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARWLLYYYAMDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
268	IGN175A LC	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKLSNRFSGVPDR FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
269	VSTB112 HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSSYGWSYEFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
270	VSTB112 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDTRLNWYQQKPGKAPKLLIYSASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSAYNPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
271	VSTB112メジャーエピトープ1	PVDKGHDVTF
272	VSTB112メジャーエピトープ2	RRPIRNLTFQDL
273	VSTB112マイナーエピトープ1	TWYRSSRGEVQTCS
274	VSTB112マイナーエピトープ2	EIRHHHSEHRVHGAMEL
275	IGN175Aエピトープ	FKVATPYSLYVCPEGQNVTLTCRLLGPVDKGH
276	V4-C1の重鎖可変領域	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQTPGKGLEWIGYITYSGYISYNPSLRS RVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYSCARALYYPWYFDVWGTGTTVTVSS
277	V4-C1の重鎖CDR2	ITYSGYI
278	V4-C1、V4-C9、V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の重鎖CDR3	ARALYYPWYFDV
279	V4-C1、V4-C9の重鎖FR2	WNWIRQTPGKGLEWIGY
280	V4-C1、V4-C9の重鎖FR3	SYNPSLRSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYSC
281	V4-C1、V4-C9、V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の重鎖FR4	WGTGTTVTVSS
282	V4-C1の軽鎖可変領域	EIVITQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATSNRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK

【０７３８】

【表２－１５】

283	V4-C1、V4-C9、V4-C24、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の軽鎖FR2	IHWYQQKPGQAPRPLIY
284	V4-C1、V4-C9、V4-C26、V4-C27の軽鎖FR3	NRATGIPARFSGSGSGTDNTLTISSLEPEDSAVYYC
285	V4-C9の重鎖可変領域	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQTPGKGLEWIGYITYSGYVSYNPSLR SRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYSCARALYYPWYFDVWGTGTTVTVSS
286	V4-C9の重鎖CDR2	ITYSGYV
287	V4-C9の軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATSNRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK
288	V4-C9、V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の軽鎖FR1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRAS
289	V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の重鎖可変領域	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGYSITSDYTWNWIRQTPGKGLEWIGHITYSGSVSYNPSLR SRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTATYSCARALYYPWYFDVWGTGTTVTVSS
290	V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の重鎖CDR1	GYSITSDYT
291	V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の重鎖CDR2	ITYSGSV
292	V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の重鎖FR2	WNWIRQTPGKGLEWIGH
293	V4-C24、V4-C26、V4-C27、V4-C28、V4-C30、V4-C31の重鎖FR3	SYNPSLRSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTATYSC
294	V4-C24の軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYTTSYRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK
295	V4-C24、V4-C26の軽鎖CDR2	TTS
296	V4-C24、V4-C28、V4-C30の軽鎖FR3	YRATGIPARFSGSGSGTDNTLTISSLEPEDSAVYYC
297	V4-C26の軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPIIYTTSNRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK
298	V4-C26の軽鎖FR2	IHWYQQKPGQAPRPIIY
299	V4-C27の軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATYNRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK
300	V4-C27、V4-C30、V4-C31の軽鎖CDR2	ATY
301	V4-C28の軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATSYRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK
302	V4-C30の軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATYYRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK
303	V4-C31の軽鎖可変領域	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATYYRTTGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK
304	V4-C31の軽鎖FR3	YRTTGIPARFSGSGSGTDNTLTISSLEPEDSAVYYC
305	4M2-C12由来の重鎖CDR1コンセンサス	GYX$_8$ITSDYX$_9$ [配列中、X$_8$=SまたはT;X$_9$=TまたはA]
306	4M2-C12由来の重鎖CDR2コンセンサス	ITYSGX$_{10}$X$_{11}$ [配列中、X$_{10}$=S、NまたはY;X$_{11}$=VまたはI]
307	4M2-C12由来の重鎖	ARX$_{12}$LYYPWYFDV

【０７３９】

【表２－１６】

	CDR3コンセンサス	[配列中、X_{12}=AまたはS]
308	4M2-C12由来の軽鎖CDR2コンセンサス	$X_{13}X_{14}X_{15}$ [配列中、X_{13}=A、T、またはD;X_{14}=TまたはA;X_{15}=SまたはY]
309	C24/C26/C27の軽鎖CDR2コンセンサス	$X_{16}TX_{17}$ [配列中、X_{16}=TまたはA;X_{17}=SまたはY]
310	C24/C26/C27の軽鎖可変領域コンセンサス	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPX$_{17}$IYX$_{18}$TX$_{19}$X$_{20}$YNRATGIPAR FSGSGSGTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVK [配列中、X_{17}=LまたはI;X_{18}=TまたはA;X_{19}=SまたはY;X_{20}=NまたはY]
311	V4-C1 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQTPGKGLEWIGYITYSGYISYNPSLRS RVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYSCARALYYPWYFDVWGTGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
312	V4-C1 VL-Cκ	EIVITQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATSNRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
313	V4-C9 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQTPGKGLEWIGYITYSGYVSYNPSLR SRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYSCARALYYPWYFDVWGTGTTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
314	V4-C9 VL-Cκ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATSNRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
315	V4-C24/C26/C27/C28/C30/C31 VH-CH1-CH2-CH3	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGYSITSDYTWNWIRQTPGKGLEWIGHITYSGSVSYNPSLR SRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTATYSCARALYYPWYFDVWGTGTTVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
316	V4-C24 VL-Cκ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYTTSYRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
317	V4-C26 VL-Cκ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPIIYTTSNRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
318	V4-C27 VL-Cκ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATYNRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
319	V4-C28 VL-Cκ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATSYRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
320	V4-C30 VL-Cκ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATYYRATGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
321	V4-C31 VL-Cκ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVGYIHWYQQKPGQAPRPLIYATYYRTTGIPARFSGSGS GTDNTLTISSLEPEDSAVYYCQQWSSYPPITFGGGTKLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
322	4M2-C12および派生体が結合するVISTA配列	SRGEVQ
323	ヒトPSGL-1	MPLQLLLLLILLGPGNSLQLWDTWADEAEKALGPLLARDRRQATEYEYLDYDFLPETEPPEMLRN

【０７４０】

【表２－１７】

	アイソフォーム1 (UniProt:Q14242-1、v1)	STDTTPLTGPGTPESTTVEPAARRSTGLDAGGAVTELTTELANMGNLSTDSAAMEIQTTQPAATE AQTTQPVPTEAQTTPLAATEAQTTRLTATEAQTTPLAATEAQTTPPAATEAQTTQPTGLEAQTTAP AAMEAQTTAPAAMEAQTTPPAAMEAQTTQTTAMEAQTTAPEATEAQTTQPTATEAQTTPLAAME ALSTEPSATEALSMEPTTKRGLFIPFSVSSVTHKGIPMAASNLSVNYPVGAPDHISVKQCLLAILILA LVATIFFVCTVVLAVRLSRKGHMYPVRNYSPTEMVCISSLLPDGGEGPSATANGGLSKAKSPGLTP EPREDREGDDLTLHSFLP
324	ヒトPSGL-1 アイソフォーム2 (UniProt:Q14242-2)	MAVGASGLEGDKMAGAMPLQLLLLLILLGPGNSLQLWDTWADEAEKALGPLLARDRRQATEYEY LDYDFLPETEPPEMLRNSTDTTPLTGPGTPESTTVEPAARRSTGLDAGGAVTELTTELANMGNLS TDSAAMEIQTTQPAATEAQTTQPVPTEAQTTPLAATEAQTTRLTATEAQTTPLAATEAQTTPPAAT EAQTTQPTGLEAQTTAPAAMEAQTTAPAAMEAQTTPPAAMEAQTTQTTAMEAQTTAPEATEAQT TQPTATEAQTTPLAAMEALSTEPSATEALSMEPTTKRGLFIPFSVSSVTHKGIPMAASNLSVNYPV GAPDHISVKQCLLAILILALVATIFFVCTVVLAVRLSRKGHMYPVRNYSPTEMVCISSLLPDGGEGP SATANGGLSKAKSPGLTPEPREDREGDDLTLHSFLP
325	成熟ヒトPSGL-1 アイソフォーム1 (Q14242-1、v1 18～412位)	LQLWDTWADEAEKALGPLLARDRRQATEYEYLDYDFLPETEPPEMLRNSTDTTPLTGPGTPESTT VEPAARRSTGLDAGGAVTELTTELANMGNLSTDSAAMEIQTTQPAATEAQTTQPVPTEAQTTPLA ATEAQTTRLTATEAQTTPLAATEAQTTPPAATEAQTTQPTGLEAQTTAPAAMEAQTTAPAAMEAQ TTPPAAMEAQTTQTTAMEAQTTAPEATEAQTTQPTATEAQTTPLAAMEALSTEPSATEALSMEPT TKRGLFIPFSVSSVTHKGIPMAASNLSVNYPVGAPDHISVKQCLLAILILALVATIFFVCTVVLAVRLS RKGHMYPVRNYSPTEMVCISSLLPDGGEGPSATANGGLSKAKSPGLTPEPREDREGDDLTLHSF LP
326	PSGL-1細胞外ドメイン(Q14242-1、v1 18～320位)	LQLWDTWADEAEKALGPLLARDRRQATEYEYLDYDFLPETEPPEMLRNSTDTTPLTGPGTPESTT VEPAARRSTGLDAGGAVTELTTELANMGNLSTDSAAMEIQTTQPAATEAQTTQPVPTEAQTTPLA ATEAQTTRLTATEAQTTPLAATEAQTTPPAATEAQTTQPTGLEAQTTAPAAMEAQTTAPAAMEAQ TTPPAAMEAQTTQTTAMEAQTTAPEATEAQTTQPTATEAQTTPLAAMEALSTEPSATEALSMEPT TKRGLFIPFSVSSVTHKGIPMAASNLSVNYPVGAPDHISVKQC
327	PSGL-1膜貫通ドメイン(Q14242-1、v1 321～341位)	LLAILILALVATIFFVCTVVL
328	PSGL-1細胞質ドメイン(Q14242-1、v1 342～412位)	AVRLSRKGHMYPVRNYSPTEMVCISSLLPDGGEGPSATANGGLSKAKSPGLTPEPREDREGDDL TLHSFLP
329	PSGL-1細胞外ドメインリピート領域 (Q14242-1、v1 122～261位)	QTTQPAATEAQTTQPVPTEAQTTPLAATEAQTTRLTATEAQTTPLAATEAQTTPPAATEAQTTQPT GLEAQTTAPAAMEAQTTAPAAMEAQTTPPAAMEAQTTQTTAMEAQTTAPEATEAQTTQPTATEA QTTPLAAMEA
330	4M2-C12 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4	EVKLVESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYITYSGNISYNPSLR SRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYSCARSLYYPWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
331	V4-C26 hIgG4(S228P) HC	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCTVSGYSITSDYTWNWIRQTPGKGLEWIGHITYSGSVSYNPSLR SRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTATYSCARALYYPWYFDVWGTGTTVTVSSASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

番号付けされた項目

以下の番号付けされた項目（ｐａｒａ）は、本発明の関連で想定される、特色および特色の組合せについての言明をさらに提示する：

１．Ｆｃ媒介性機能に依存せずに、ＶＩＳＴＡに結合し、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能な抗原結合性分子、任意選択で、単離抗原結合性分子。

【０７４１】

２．Ｉｇ様Ｖ型ドメイン内で、ＶＩＳＴＡに結合することが可能である、項目１に記載の抗原結合性分子。

【０７４２】

３．配列番号６のアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるポリペプチドに結合することが可能である、項目１または項目２に記載の抗原結合性分子。

【０７４３】

４．配列番号３１のアミノ酸配列を含むか、またはこれからなるポリペプチドに結合することが可能である、項目１から３のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。

【０７４４】
５．ＶＩＳＴＡへの結合について、ＩＧＮ１７５Ａと競合しない、項目１から４のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７４５】
６．配列番号２７５のアミノ酸配列からなるペプチドに結合することが可能ではない、項目１から５のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７４６】
７．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号３０５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号３０６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号３０７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号３０８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７４７】
８．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号２９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２９１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号３０９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から７のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７４８】
９．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号２９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２９１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号２９５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から８のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７４９】
１０．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号２９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２９１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１

配列番号３００のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から８のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７５０】
１１．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号３３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２７７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号４２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から８のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７５１】
１２．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号３３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２８６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号４２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から８のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７５２】
１３．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号２９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２９１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号４２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から８のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７５３】
１４．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号２９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号２９１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２７８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号３００のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３

を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から８のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７５４】
１５．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号３３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号３４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号３５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号４２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から７のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７５５】
１６．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号３３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号３４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号３５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号６７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から７のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７５６】
１７．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号５３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号３４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号３５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号４１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号５８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号４３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から７のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７５７】
１８．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号７２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号７３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号７４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号８０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号８１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号８２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。

【０７５８】
１９．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号８８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号８９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号９６のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号９７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号９８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７５９】
２０．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号８８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号８９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号９０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１３７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１３８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１３９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７６０】
２１．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号３３のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１０７のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号１０８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３、
またはＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２、もしくはＨＣ－ＣＤＲ３のうちの１つもしくは複数における、１つもしくは２つもしくは３つのアミノ酸が、別のアミノ酸で置換された、これらの変異体を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１１４のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号６７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１１５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７６１】
２２．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１２０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１２１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号１２２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１２７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１２８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１２９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。

【０７６２】
２３．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１４４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１４５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号１４６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１５１のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１５２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１５３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７６３】
２４．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１５８のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１５９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号１６０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１６５のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１５２のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１５３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７６４】
２５．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１６９のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１７０のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号１７１のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１７７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１７８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１７９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７６５】
２６．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号７２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１８４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２４６のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号２４７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１７８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１９０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。
【０７６６】
２７．（ｉ）以下のＣＤＲ：

配列番号７２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１８４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号１８５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１８９のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１７８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１９０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項または項目２６に記載の抗原結合性分子。

【０７６７】
２８．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号７２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１８４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号１９５のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号１９７のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１７８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１９０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項または項目２６に記載の抗原結合性分子。

【０７６８】
２９．（ｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号７２のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ１
配列番号１８４のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ２
配列番号２００のアミノ酸配列を有するＨＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ重鎖可変（ＶＨ）領域；および
（ｉｉ）以下のＣＤＲ：
配列番号２０３のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ１
配列番号１７８のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ２
配列番号１９０のアミノ酸配列を有するＬＣ－ＣＤＲ３
を組み込んだ軽鎖可変（ＶＬ）領域
を含む、項目１から６のいずれか一項または項目２６に記載の抗原結合性分子。

【０７６９】
３０．配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号３１０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号２９４のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号２９７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または

配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号２９９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号３０１のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号３０２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号２８９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号３０３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号２７６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号２８２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号２８５のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号２８７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
配列番号３２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号４０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号５２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号５７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号６２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号６６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号４８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号５０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号８７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有する

アミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号９５のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号１０６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号１１３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号１４３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号１５０のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号１５７のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号１６４のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号７１のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号７９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号１０２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号１０４のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号１１９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号１２６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号１８３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号１８８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号１９４のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号１９６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号１９９のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
配列番号２０２のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
配列番号１３３のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有す

るアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
　　配列番号１３６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域；
または
　　配列番号１６８のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＨ領域；および
　　配列番号１７６のアミノ酸配列に対する、少なくとも７０％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むＶＬ領域
を含む、項目１から６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。

【０７７０】

３１．ヒトＶＩＳＴＡ、ならびにマウスＶＩＳＴＡおよびカニクイザルＶＩＳＴＡのうちの１つまたは複数に結合することが可能である、項目１から３０のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。

【０７７１】

３２．（ｉ）項目１から３１のいずれか一項に記載の抗原結合性分子、および（ｉｉ）ＶＩＳＴＡ以外の抗原に結合することが可能な抗原結合性分子を含む、抗原結合性分子、任意選択で、単離抗原結合性分子。

【０７７２】

３３．ＶＩＳＴＡを発現する細胞の、細胞表面に結合することが可能である、項目１から３２のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。

【０７７３】

３４．ＶＩＳＴＡと、ＶＩＳＴＡの結合パートナーとの相互作用を阻害することが可能である、項目１から３３のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。

【０７７４】

３５．ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害することが可能である、項目１から３４のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。

【０７７５】

３６．エフェクター免疫細胞の増殖、および／またはこれらによるサイトカイン産生を増大させることが可能である、項目１から３５のいずれか一項に記載の抗原結合性分子。

【０７７６】

３７．項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子を含むキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）。

【０７７７】

３８．項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子、または項目３７に記載のＣＡＲをコードする、１つの核酸または複数の核酸、任意選択で、１つの単離核酸または複数の単離核酸。

【０７７８】

３９．項目３８に記載の、１つの核酸または複数の核酸を含む、１つの発現ベクターまたは複数の発現ベクター。

【０７７９】

４０．項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子、項目３７に記載のＣＡＲ、項目３８に記載の、１つの核酸もしくは複数の核酸、または項目３９に記載の、１つの発現ベクターもしくは複数の発現ベクターを含む細胞。

【０７８０】

４１．項目３８に記載の、１つの核酸もしくは複数の核酸、または項目３９に記載の、１つの発現ベクターもしくは複数の発現ベクターを含む細胞を、抗原結合性分子またはＣＡＲの、核酸（複数可）または発現ベクター（複数可）からの発現に適する条件下で培養するステップを含む方法。

【０７８１】

４２．項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子、項目３７に記載のＣＡ

Ｒ、項目３８に記載の、１つの核酸もしくは複数の核酸、項目３９に記載の、１つの発現ベクターもしくは複数の発現ベクター、または項目４０に記載の細胞を含む組成物。

【０７８２】

４３．ＶＩＳＴＡ以外の免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤をさらに含み、任意選択で、ＶＩＳＴＡ以外の免疫チェックポイント分子が、ＰＤ－１、ＣＴＬＡ－４、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、ＴＩＧＩＴ、およびＢＴＬＡから選択される、項目４２に記載の組成物。

【０７８３】

４４．医学的処置または予防の方法における使用のための、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子、項目３７に記載のＣＡＲ、項目３８に記載の１つの核酸もしくは複数の核酸、項目３９に記載の１つの発現ベクターまたは複数の発現ベクター、項目４０に記載の細胞、または項目４２もしくは項目４３に記載の組成物。

【０７８４】

４５．がんまたは感染性疾患の処置または防止の方法における使用のための、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子、項目３７に記載のＣＡＲ、項目３８に記載の１つの核酸もしくは複数の核酸、項目３９に記載の１つの発現ベクターもしくは複数の発現ベクター、項目４０に記載の細胞、または項目４２もしくは項目４３に記載の組成物。

【０７８５】

４６．がんまたは感染症疾患の処置または防止の方法における使用のための医薬の製造における、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子、項目３７に記載のＣＡＲ、項目３８に記載の、１つの核酸もしくは複数の核酸、項目３９に記載の、１つの発現ベクターもしくは複数の発現ベクター、項目４０に記載の細胞、または項目４２もしくは項目４３に記載の組成物の使用。

【０７８６】

４７．がんまたは感染性疾患を処置または防止する方法であって、対象へと、治療または予防有効量の、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子、項目３７に記載のＣＡＲ、項目３８に記載の、１つの核酸もしくは複数の核酸、項目３９に記載の、１つの発現ベクターもしくは複数の発現ベクター、項目４０に記載の細胞、または項目４２もしくは項目４３に記載の組成物を投与するステップを含む方法。

【０７８７】

４８．がんが、結腸直腸がん、膵がん、乳がん、肝がん、前立腺がん、卵巣がん、頭頸部がん、白血病、リンパ腫、黒色腫、胸腺腫、肺がん、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、および充実性腫瘍から選択される、項目４５に記載の使用、項目４６に記載の使用、または項目４７に記載の方法のための、抗原結合性分子、ＣＡＲ、１つの核酸もしくは複数の核酸、１つの発現ベクターもしくは複数の発現ベクター、細胞、または組成物。

【０７８８】

４９．骨髄由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）が病理学的に関与する疾患を処置または防止する方法における使用のための、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子、項目３７に記載のＣＡＲ、項目３８に記載の１つの核酸もしくは複数の核酸、項目３９に記載の１つの発現ベクターもしくは複数の発現ベクター、項目４０に記載の細胞、または項目４２もしくは項目４３に記載の組成物。

【０７８９】

５０．骨髄由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）が病理学的に関与する疾患を処置または防止する方法における使用のための医薬の製造における、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子、項目３７に記載のＣＡＲ、項目３８に記載の１つの核酸もしくは複数の核酸、項目３９に記載の１つの発現ベクターもしくは複数の発現ベクター、項目４０に記載の細胞、または項目４２もしくは項目４３に記載の組成物の使用。

【０７９０】

５１．骨髄由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）が病理学的に関与する疾患を処置または防止する

方法であって、対象へと、治療または予防有効量の、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子、項目３７に記載のＣＡＲ、項目３８に記載の１つの核酸もしくは複数の核酸、項目３９に記載の１つの発現ベクターもしくは複数の発現ベクター、項目４０に記載の細胞、または項目４２もしくは項目４３に記載の組成物を投与するステップを含む方法。

【０７９１】

５２．方法が、ＶＩＳＴＡ以外の免疫チェックポイント分子により媒介されるシグナル伝達を阻害することが可能な薬剤の投与をさらに含み、任意選択で、ＶＩＳＴＡ以外の免疫チェックポイント分子が、ＰＤ－１、ＣＴＬＡ－４、ＬＡＧ－３、ＴＩＭ－３、ＴＩＧＩＴ、またはＢＴＬＡから選択される、項目４５から５１のいずれか一項に記載の、使用のための抗原結合性分子、ＣＡＲ、１つの核酸もしくは複数の核酸、１つの発現ベクターもしくは複数の発現ベクター、細胞、もしくは組成物、使用または方法。

【０７９２】

５３．ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害する方法であって、ＶＩＳＴＡ発現細胞を、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子と接触させるステップを含む方法。

【０７９３】

５４．骨髄由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）の活性を阻害するための方法であって、ＭＤＳＣを、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子と接触させるステップを含む方法。

【０７９４】

５５．エフェクター免疫細胞の数または活性を増大させるための方法であって、ＶＩＳＴＡ発現細胞の活性を、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子により阻害するステップを含む方法。

【０７９５】

５６．ＶＩＳＴＡに結合した、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子を含むｉｎ　ｖｉｔｒｏ複合体、任意選択で、単離ｉｎ　ｖｉｔｒｏ複合体。

【０７９６】

５７．ＶＩＳＴＡを含有するか、またはこれを含有することが疑われる試料を、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子と接触させるステップと、抗原結合性分子の、ＶＩＳＴＡとの複合体の形成を検出するステップとを含む方法。

【０７９７】

５８．対象を、ＶＩＳＴＡターゲティング剤による処置のために選択または層別化する方法であって、ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおいて、対象に由来する試料を、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子と接触させるステップと、抗原結合性分子の、ＶＩＳＴＡとの複合体の形成を検出するステップとを含む方法。

【０７９８】

５９．項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子の、ｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｉｎ　ｖｉｖｏにおける診断または予後診断剤としての使用。

【０７９９】

６０．任意選択で、がんが、結腸直腸がん、膵がん、乳がん、肝がん、前立腺がん、卵巣がん、頭頸部がん、白血病、リンパ腫、黒色腫、胸腺腫、肺がん、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、および充実性腫瘍から選択される、がんを検出、位置特定、またはイメージングするための方法における、項目１から３６のいずれか一項に記載の抗原結合性分子の使用。

【０８００】

本発明は、このような組合せが、明らかに許容されないか、または明示的に回避される場合を除き、記載される態様と好ましい特徴との組合せを含む。

【０８０１】

本明細書で使用される節の小見出しは、構成上の目的だけのものであり、記載される対

象物を限定するものと見なすべきではない。
【０８０２】
ここで、付属の図面を参照しながら、例を目的として、本発明の態様および実施形態が例示される。当業者には、さらなる態様および実施形態が明らかであろう。本文で言及される全ての文献は、参照により本明細書に組み込まれる。
【０８０３】
本明細書および後続の特許請求の範囲を通して、文脈によりそうでないことが要求されない限りにおいて、「～を含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」という語、ならびに「～を含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」および「～を含むこと」などの変化形は、言明された整数またはステップまたは整数もしくはステップの群の包含を含意し、他の任意の整数もしくはステップまたは整数もしくはステップの群の除外は含意しないように理解される。
【０８０４】
そうでないことが文脈により明確に指示されない限りにおいて、本明細書および付属の特許請求の範囲において使用される単数形の「ある（ａ）」、「ある（ａｎ）」、および「その」は、複数の指示対象を含むことに注意されたい。本明細書では、範囲は、「約」１つ特定の値から、かつ／または「約」別の特定の値までの範囲として表される。このような範囲が表される場合、別の実施形態は、１つ特定の値から、かつ／または他の特定の値までの範囲を含む。同様に、値が、先行詞である「約」の使用により、近似値として表される場合、特定の値は、別の実施形態を形成することが理解されるであろう。
【０８０５】
本明細書で、核酸配列が開示される場合、その逆相補体もまた、明示的に想定される。
【０８０６】
本明細書で記載される方法は、好ましくは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおいて実施されうる。「ｉｎ　ｖｉｔｒｏ」と言う用語が、培養物中の細胞に対して実施される手順を包含することが意図されるのに対し、「ｉｎ　ｖｉｖｏ」と言う用語は、無傷の多細胞生物に対する／上の手順を包含することが意図される。
【０８０７】
ここで、付属の図を参照しながら、本発明の原理を例示する、実施形態および実験が論じられる。
【図面の簡単な説明】
【０８０８】
【図１Ａ】フローサイトメトリーにより決定される、抗ＶＩＳＴＡ抗体による、細胞の染色を示すヒストグラムである。ヒストグラムは、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、ＶＳＴＢ１１２（陽性対照；ＷＯ２０１５／０９７５３６）による、ＨＥＫ２９３細胞（ＶＩＳＴＡを発現させない）、またはＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ過剰発現細胞（ＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ　Ｏ／Ｅ）の染色を示す。
【図１Ｂ】フローサイトメトリーにより決定される、抗ＶＩＳＴＡ抗体による、細胞の染色を示すヒストグラムである。ヒストグラムは、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、４－Ｍ２－Ｄ５による、ＨＥＫ２９３細胞（ＶＩＳＴＡを発現させない）、またはＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ過剰発現細胞（ＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ　Ｏ／Ｅ）の染色を示す。
【図１Ｃ】フローサイトメトリーにより決定される、抗ＶＩＳＴＡ抗体による、細胞の染色を示すヒストグラムである。ヒストグラムは、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、９Ｍ２－Ｃ１２による、ＨＥＫ２９３細胞（ＶＩＳＴＡを発現させない）、またはＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ過剰発現細胞（ＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ　Ｏ／Ｅ）の染色を示す。
【図１Ｄ】フローサイトメトリーにより決定される、抗ＶＩＳＴＡ抗体による、細胞の染色を示すヒストグラムである。ヒストグラムは、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、４Ｍ２－Ｃ１２（本明細書ではまた、「Ｖ４」とも称される）による、ＨＥＫ２９３細胞（ＶＩＳＴＡを発現させない）、またはＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ過剰発現細胞（ＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ　Ｏ／Ｅ）の染色を示す。
【図２】フローサイトメトリーにより決定される、抗ＶＩＳＴＡ抗体による、細胞の染色

を示すヒストグラムである。ヒストグラムは、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、９Ｍ２Ｃ１２、Ｖ４、およびクローンである、ＶＳＴＢ１１２、またはアイソタイプ対照抗体による、ＨＥＫ２９３細胞（ＶＩＳＴＡを発現させない）、またはＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ過剰発現細胞（ＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ　Ｏ／Ｅ）の染色を示す。非染色の細胞を、陰性対照として解析した。

【図３Ａ】抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４による、ヒト、カニクイザル、およびマウスＶＩＳＴＡに対する結合アフィニティーについての解析の結果を示すセンサーグラムである。ヒトＶＩＳＴＡへの結合を示す。K_{on}、K_{off}、およびK_Dを示す。

【図３Ｂ】抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４による、ヒト、カニクイザル、およびマウスＶＩＳＴＡに対する結合アフィニティーについての解析の結果を示すセンサーグラムである。カニクイザルＶＩＳＴＡへの結合を示す。K_{on}、K_{off}、およびK_Dを示す。

【図３Ｃ】抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４による、ヒト、カニクイザル、およびマウスＶＩＳＴＡに対する結合アフィニティーについての解析の結果を示すセンサーグラムである。マウスＶＩＳＴＡへの結合を示す。K_{on}、K_{off}、およびK_Dを示す。

【図４Ａ】抗ＶＩＳＴＡ抗体の、異なるタンパク質への結合についての解析の結果を示すグラフである。ＥＬＩＳＡにより決定される、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４による、ヒト、カニクイザル、およびマウスＶＩＳＴＡ、ヒトＰＤ－Ｌ１およびヒトＨＥＲ３への結合を示す。

【図４Ｂ】抗ＶＩＳＴＡ抗体の、異なるタンパク質への結合についての解析の結果を示すグラフである。抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４の、ヒトの、ＶＩＳＴＡ、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７、ＣＴＬＡ４、および無関係な抗原への結合を示す。

【図５】ＶＩＳＴＡと、ＶＳＩＧ－３との結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。

【図６】抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、５Ｍ１－Ａ１１および９Ｍ２－Ｃ１２による、ＶＩＳＴＡと、ＶＳＩＧ－３との結合の阻害についての解析の結果を示すグラフである。

【図７Ａ】抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５ｐによる処置の、混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイにおける、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、およびＩＬ－１７Ａの産生に対する効果についての解析の結果を示すグラフおよび棒グラフである。アッセイの終了時に、細胞培養物上清中で検出された、サイトカインのレベルを示す。

【図７Ｂ】抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５ｐによる処置の、混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイにおける、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、およびＩＬ－１７Ａの産生に対する効果についての解析の結果を示すグラフおよび棒グラフである。表示のサイトカインのレベルの倍数変化（「ＦＣ」）を示す。

【図８Ａ】抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローンである、ＭＩＨ５（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）による処置の、混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイにおける、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、およびＩＬ－１７Ａの産生に対する効果についての解析の結果を示すグラフおよび棒グラフである。アッセイの終了時に、細胞培養物上清中で検出された、サイトカインのレベルを示す。

【図８Ｂ】抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローンである、ＭＩＨ５（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）による処置の、混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイにおける、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－２、およびＩＬ－１７Ａの産生に対する効果についての解析の結果を示すグラフおよび棒グラフである。表示のサイトカインのレベルの倍数変化（「ＦＣ」）を示す。

【図９】示差走査蛍光測定解析による、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４の安定性についての解析の結果を示すグラフである。

【図１０】サイズ除外クロマトグラフィーによる、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４についての解析の結果を示すグラフである。

【図１１】ＳＤＳ－ＰＡＧＥおよびウェスタンブロットによる、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４の発現についての解析の結果を示す画像である。レーン：Ｍ１＝型番：３４５２の、ＴａＫａＲａタンパク質マーカー；Ｍ２＝型番：Ｍ００５２１の、ＧｅｎＳｃｒｉｐｔタンパク質マーカー；１＝還元条件；２＝非還元条件；Ｐ＝陽性対照：マウスＩｇＧ１、カッパ（Ｓｉｇｍａ；型番：Ｍ９２６９）である。ウェスタンブロットのために使用される一次抗体は、ヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）抗体（ＬＩ－ＣＯＲ；型番：９２６～３２２１０）であった。

【図１２】抗体血清についてのＥＬＩＳＡ解析による、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４の薬物動態解析の結果を示すグラフおよび表である。

【図１３】ｉｎ　ｖｉｖｏの、同系細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルにおける、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４の抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。

【図１４】表示のチェックポイント分子をターゲティングする、単剤療法または組合せ療法による処置後１５日目の、同系細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルにおける、腫瘍増殖の阻害を示す棒グラフである。この研究で使用された抗体は、以下の通り：抗ＶＩＳＴＡ＝クローンＶ４、抗ＰＤ－Ｌ１＝クローン１０Ｆ．９Ｇ２、抗ＴＩＧＩＴ＝クローン１Ｇ９、抗ＬＡＧ－３＝クローンＣ９Ｂ７Ｗ、および抗ＴＩＭ－３＝クローンＲＭＴ３－２３であった。

【図１５】抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４単独、抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローンである、１０Ｆ．９Ｇ２単独による処置、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４および抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローンである、１０Ｆ．９Ｇ２による組合せ処置、またはＰＢＳによる処置（陰性対照）の後における、バルク腫瘍についてのＲＮＡ－Ｓｅｑ解析により決定される、同系細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルの腫瘍バルク内の、細胞１００，０００個当たりのＭＤＳＣの数、およびＣＤ８＋　Ｔ細胞：Ｔｒｅｇの比を示す棒グラフである。

【図１６】ｉｎ　ｖｉｖｏの、同系細胞株に由来する、Ｌｅｗｉｓ肺癌についてのマウスモデルにおける、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４の抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。

【図１７】ｉｎ　ｖｉｖｏの、同系細胞株に由来する、黒色腫についてのマウスモデルにおける、単剤療法としての、または抗ＰＤ－１抗体である、ＲＭＰ１－１４（Ｂｉｏ　Ｘ　Ｃｅｌｌ）と組み合わせた、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４の抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。

【図１８】９００μｇの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４、または陰性対照としての、等容量の溶媒（ＰＢＳ）の単回投与を行った後における、白血球の数または異なる種類を示す棒グラフである。

【図１９Ａ】９００μｇの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４、または陰性対照としての、等容量の溶媒（ＰＢＳ）の単回投与を行った後における、肝機能の相関因子の評価による、肝毒性の解析を示す棒グラフである。アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）およびアスパラギン酸トランスアミナーゼ（ＡＳＴ）のレベルを示す。

【図１９Ｂ】９００μｇの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４、または陰性対照としての、等容量の溶媒（ＰＢＳ）の単回投与を行った後における、腎機能の相関因子の評価による、腎毒性の解析を示す棒グラフである。血中尿素窒素（ＢＵＮ）およびクレアチニン（ＣＲＥＡ）のレベルを示す。

【図２０】ＥＬＩＳＡにより決定される、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５－１による、ヒト、カニクイザル、およびマウスＶＩＳＴＡ、ならびにヒトＰＤ－Ｌ１への結合についての解析の結果を示すグラフである。

【図２１】ＥＬＩＳＡにより決定される、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５－１３による、ヒトおよびマウスＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示すグラフである。

【図２２】ｉｎ　ｖｉｖｏの、細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルにおけ

る、単独の、または抗ＰＤ－Ｌ１と組み合わせた、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５－１の抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。
【図２３】ｉｎ　ｖｉｖｏの、細胞株に由来する、乳癌についてのマウスモデルにおける、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５－１の抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。
【図２４】フローサイトメトリーにより決定される、抗ＶＩＳＴＡ抗体による、細胞の染色を示すヒストグラムである。ヒストグラムは、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、４Ｍ２－Ｂ４、２Ｍ１－Ｂ１２、４Ｍ２－Ｃ９、２Ｍ１－Ｄ２、４Ｍ２－Ｄ９、１Ｍ２－Ｄ２、５Ｍ１－Ａ１１、４Ｍ２－Ｄ５、４Ｍ２－Ａ８および９Ｍ２－Ｃ１２による、ＨＥＫ２９３細胞（ＶＩＳＴＡを発現しない）、またはＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ過剰発現細胞（ＨＥＫ２９３　ＶＩＳＴＡ　Ｏ／Ｅ）の染色を示す。
【図２５Ａ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ１の、マウスＦｃγＲＩＶへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２５Ｂ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ１の、マウスＦｃγＲＩＩＩへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２５Ｃ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ１の、マウスＦｃγＲＩＩｂへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２５Ｄ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ１の、マウスＦｃＲｎへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２６Ａ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａの、マウスＦｃγＲＩＶへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２６Ｂ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａの、マウスＦｃγＲＩＩＩへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２６Ｃ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａの、マウスＦｃγＲＩＩｂへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２６Ｄ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａの、マウスＦｃＲｎへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２７Ａ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧの、マウスＦｃγＲＩＶへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２７Ｂ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧの、マウスＦｃγＲＩＩＩへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２７Ｃ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧの、マウスＦｃγＲＩＩｂへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２７Ｄ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧの、マウスＦｃＲｎへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２８Ａ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＮＱの、マウスＦｃγＲＩＶへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２８Ｂ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＮＱの、マウスＦｃγＲＩＩＩへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２８Ｃ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＮＱの、マウスＦｃγＲＩＩｂへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２８Ｄ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＮＱの、マウスＦｃＲｎへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。
【図２９Ａ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ１、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧ、および４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａの、マウスＦｃγＲＩＶ、マウスＦｃγＲＩＩＩ、マウスＦｃγＲＩＩｂ、およびマウスＦｃＲｎへの結合についての解析の結果についてについてまとめる表である。計算によるK_{on}値を示す。
【図２９Ｂ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ１、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧ、および４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａの、マウス

ＦｃγＲＩＶ、マウスＦｃγＲＩＩＩ、マウスＦｃγＲＩＩｂ、およびマウスＦｃＲｎへの結合についての解析の結果についてについてまとめる表である。計算によるＫｄｉｓ値を示す。

【図２９Ｃ】４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ１、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧ、および４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａの、マウスＦｃγＲＩＶ、マウスＦｃγＲＩＩＩ、マウスＦｃγＲＩＩｂ、およびマウスＦｃＲｎへの結合についての解析の結果についてについてまとめる表である。計算によるＫＤ値を示す。

【図３０Ａ】細胞株に由来する、Ｔ細胞リンパ腫についてのマウスモデルにおける、ｍＩｇＧ２ａおよびｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧフォーマットの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、４Ｍ２－Ｃ１２の、ｉｎ　ｖｉｖｏの抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。異なる処置群についてのデータを示す。

【図３０Ｂ】細胞株に由来する、Ｔ細胞リンパ腫についてのマウスモデルにおける、ｍＩｇＧ２ａおよびｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧフォーマットの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、４Ｍ２－Ｃ１２の、ｉｎ　ｖｉｖｏの抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。溶媒対照群および４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ処置群における、個別のマウスについて得られたデータを示す。

【図３０Ｃ】細胞株に由来する、Ｔ細胞リンパ腫についてのマウスモデルにおける、ｍＩｇＧ２ａおよびｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧフォーマットの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、４Ｍ２－Ｃ１２の、ｉｎ　ｖｉｖｏの抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。溶媒対照群および４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧ処置群における、個別のマウスについて得られたデータを示す。

【図３１Ａ】ＢＬＩによる、ヒトＶＩＳＴＡへの結合についての、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体間の競合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。

【図３１Ｂ】ＢＬＩによる、ヒトＶＩＳＴＡへの結合についての、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体間の競合についての解析の結果を示すセンサーグラムである。

【図３２】抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２による、ＶＩＳＴＡと、ＶＳＩＧ－３との結合の阻害についての解析の結果を示すグラフである。

【図３３Ａ】ＣＦＳＥ希釈アッセイにより決定する場合の、抗ＶＩＳＴＡ抗体が、ＶＩＳＴＡ－Ｉｇで処置されたＴ細胞に、Ｔ細胞増殖を取り戻させる能力についての解析の結果を示す棒グラフである。１：１の比の、アゴニスト性抗ＣＤ３抗体およびＶＩＳＴＡ－Ｉｇでコーティングされたウェルを使用する条件から得られた結果を示す。ＣＦＳＥ－ｌｏｗ　ＣＤ４＋　Ｔ細胞の百分率を示す。

【図３３Ｂ】ＣＦＳＥ希釈アッセイにより決定する場合の、抗ＶＩＳＴＡ抗体が、ＶＩＳＴＡ－Ｉｇで処置されたＴ細胞に、Ｔ細胞増殖を取り戻させる能力についての解析の結果を示す棒グラフである。２：１の比の、アゴニスト性抗ＣＤ３抗体およびＶＩＳＴＡ－Ｉｇでコーティングされたウェルを使用する条件から得られた結果を示す。ＣＦＳＥ－ｌｏｗ　ＣＤ４＋　Ｔ細胞の百分率を示す。

【図３３Ｃ】ＣＦＳＥ希釈アッセイにより決定する場合の、抗ＶＩＳＴＡ抗体が、ＶＩＳＴＡ－Ｉｇで処置されたＴ細胞に、Ｔ細胞増殖を取り戻させる能力についての解析の結果を示す棒グラフである。１：１の比の、アゴニスト性抗ＣＤ３抗体およびＶＩＳＴＡ－Ｉｇでコーティングされたウェルを使用する条件から得られた結果を示す。ＣＦＳＥ－ｌｏｗ　ＣＤ８＋　Ｔ細胞の百分率を示す。

【図３３Ｄ】ＣＦＳＥ希釈アッセイにより決定する場合の、抗ＶＩＳＴＡ抗体が、ＶＩＳＴＡ－Ｉｇで処置されたＴ細胞に、Ｔ細胞増殖を取り戻させる能力についての解析の結果を示す棒グラフである。２：１の比の、アゴニスト性抗ＣＤ３抗体およびＶＩＳＴＡ－Ｉｇでコーティングされたウェルを使用する条件から得られた結果を示す。ＣＦＳＥ－ｌｏｗ　ＣＤ８＋　Ｔ細胞の百分率を示す。

【図３４Ａ】抗ＶＩＳＴＡ抗体が、ＬＰＳで刺激されたＴＨＰ－１細胞による、ＩＬ－６の産生を促進する能力についての解析の結果を示す棒グラフである。４Ｍ２－Ｃ１２を使

用して得られた結果を示す。
【図３４Ｂ】抗ＶＩＳＴＡ抗体が、ＬＰＳで刺激されたＴＨＰ－１細胞による、ＩＬ－６の産生を促進する能力についての解析の結果を示す棒グラフである。ＶＳＴＢ１１２を使用して得られた結果を示す。
【図３５】投与の２時間前、ならびに投与の０．５時間後、６時間後、２４時間後、および９６時間後において、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２を投与されたマウスから得られた血液試料中で検出された、ＩＬ－６のレベルを示す棒グラフである。
【図３６Ａ】細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルにおける、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置の、ｉｎ　ｖｉｖｏの抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。異なる処置群についてのデータを示す。
【図３６Ｂ】細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルにおける、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置の、ｉｎ　ｖｉｖｏの抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。溶媒対照群および４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ＋抗ＰＤ－１処置群における、個別のマウスについて得られたデータを示す。
【図３７】細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルの、ＰＢＳ（溶媒）、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（抗ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置（Ｃｏｍｂｏ）で処置されたマウスから得られた、２２日目における腫瘍に対する、ｇ－ＭＤＳＣである、腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の百分率を示す棒グラフである。
【図３８Ａ】細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルの、ＰＢＳ（溶媒）、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置（Ｖ４＋ＰＤ１）で処置されたマウスから、１８日目に得られた血清中の、ＩＦＮγのレベルを示す棒グラフである。
【図３８Ｂ】細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルの、ＰＢＳ（溶媒）、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置（Ｖ４＋ＰＤ１）で処置されたマウスから、１８日目に得られた血清中の、ＩＬ－２３のレベルを示す棒グラフである。
【図３８Ｃ】細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルの、ＰＢＳ（溶媒）、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置（Ｖ４＋ＰＤ１）で処置されたマウスから、１８日目に得られた血清中の、ＩＬ－１０のレベルを示す棒グラフである。
【図３８Ｄ】細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルの、ＰＢＳ（溶媒）、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置（Ｖ４＋ＰＤ１）で処置されたマウスから、１８日目に得られた血清中の、ＩＬ－４のレベルを示す棒グラフである。
【図３８Ｅ】細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルの、ＰＢＳ（溶媒）、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置（Ｖ４＋ＰＤ１）で処置されたマウスから、１８日目に得られた血清中の、ＩＬ－５のレベルを示す棒グラフである。
【図３９】細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルの、ＰＢＳ（溶媒）、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－Ｌ１抗体（ＰＤ

Ｌ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置（Ｖ４＋ＰＤＬ１）で処置されたマウスから得られた、２１日目における腫瘍内の、Ａｒｇ１　ＲＮＡの発現レベルを示す棒グラフである。

【図４０Ａ】細胞株に由来する、黒色腫についてのマウスモデルにおける、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置の、ｉｎ　ｖｉｖｏの抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。異なる処置群についてのデータを示す。

【図４０Ｂ】細胞株に由来する、黒色腫についてのマウスモデルにおける、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置の、ｉｎ　ｖｉｖｏの抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。溶媒対照群および４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ＋抗ＰＤ－１処置群における、個別のマウスについて得られたデータを示す。

【図４１】ＰＢＳ（溶媒）、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（抗ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置（Ｃｏｍｂｏ）で処置されたマウスから得られた、細胞株に由来する、黒色腫についてのマウスモデルの、１８日目における腫瘍に対する、ｇ－ＭＤＳＣである、腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の百分率を示す棒グラフである。

【図４２】細胞株に由来する、Ｔ細胞白血病／リンパ腫についてのマウスモデルにおける、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（抗ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置（Ｖ４＋抗ＰＤ１）の、ｉｎ　ｖｉｖｏの抗がん活性についての解析の結果を示すグラフである。

【図４３】ＰＢＳ（溶媒）、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－１抗体（抗ＰＤ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置（Ｃｏｍｂｏ）で処置されたマウスから得られた、細胞株に由来する、Ｔ細胞白血病／リンパ腫についてのマウスモデルの、１６日目における腫瘍に対する、ｇ－ＭＤＳＣである、腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の百分率を示す棒グラフである。

【図４４】ＰＢＳ（溶媒）、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（Ｖ４）、抗ＰＤ－Ｌ１抗体（抗ＰＤＬ１）、または４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａおよび抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置（Ｖ４＋抗ＰＤＬ１）による、細胞株に由来する、結腸癌についてのマウスモデルの処置の経過中における、マウスの体重を示すグラフである。

【図４５Ａ】バイオレイヤー干渉法により決定される、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の、ヒトＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムおよび表である。

【図４５Ｂ】バイオレイヤー干渉法により決定される、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の、マウスＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムおよび表である。

【図４５Ｃ】バイオレイヤー干渉法により決定される、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の、ヒトＰＤ－Ｌ１への結合についての解析の結果を示すセンサーグラムおよび表である。

【図４５Ｄ】４５Ａおよび４５Ｂのセンサーグラムから計算された、反応速度および熱力学定数についてまとめる図である。

【図４６Ａ】バイオレイヤー干渉法により決定される、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の、マウスＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムおよび表である。

【図４６Ｂ】４６Ａのセンサーグラムから計算された、反応速度および熱力学定数についてまとめる図である。

【図４７Ａ】バイオレイヤー干渉法により決定される、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の、ヒトＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムおよび表である。

【図４７Ｂ】バイオレイヤー干渉法により決定される、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の、マウスＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示すセンサーグラムおよび表である。

【図４７Ｃ】４７Ａおよび４７Ｂのセンサーグラムから計算された、反応速度および熱力学定数についてまとめる図である。
【図４８Ａ】バイオレイヤー干渉法により決定される、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の、ヒトＶＩＳＴＡおよびマウスＶＩＳＴＡならびにヒトＣＤ４７への結合についての解析の結果を示すセンサーグラムおよび表である。
【図４８Ｂ】４８Ａのセンサーグラムから計算された、反応速度および熱力学定数についてまとめる図である。
【図４９Ａ】ＥＬＩＳＡにより決定される、異なる抗体の、ヒトＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフおよび表である。
【図４９Ｂ】ＥＬＩＳＡにより決定される、異なる抗体の、マウスＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフおよび表である。
【図４９Ｃ】異なる抗体の、表示のタンパク質への結合についてのＥＣ５０値（ｎＭ）を示す図である。
【図５０Ａ】ＥＬＩＳＡにより決定される、異なる抗体の、ヒトＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフおよび表である。
【図５０Ｂ】ＥＬＩＳＡにより決定される、異なる抗体の、マウスＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフおよび表である。
【図５０Ｃ】異なる抗体の、表示のタンパク質への結合についてのＥＣ５０値（ｎＭ）を示す図である。
【図５１Ａ】ＥＬＩＳＡにより決定される、異なる抗体の、ヒトＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフおよび表である。
【図５１Ｂ】ＥＬＩＳＡにより決定される、異なる抗体の、マウスＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフおよび表である。
【図５１Ｃ】異なる抗体の、表示のタンパク質への結合についてのＥＣ５０値（ｎＭ）を示す図である。
【図５２Ａ】示差走査蛍光測定解析による、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の安定性についての解析の結果を示す溶融グラフおよび表である。被験抗体調製物およびタンパク質非含有対照（ＮＰＣ）調製物について得られた生データについての一次微分を、３連で示す。
【図５２Ｂ】示差走査蛍光測定解析による、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の安定性についての解析の結果を示す溶融グラフおよび表である。被験抗体調製物およびタンパク質非含有対照（ＮＰＣ）調製物について得られた生データについての一次微分を、３連で示す。
【図５２Ｃ】示差走査蛍光測定解析による、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の安定性についての解析の結果を示す溶融グラフおよび表である。被験抗体調製物およびタンパク質非含有対照（ＮＰＣ）調製物について得られた生データについての一次微分を、３連で示す。
【図５２Ｄ】示差走査蛍光測定解析による、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の安定性についての解析の結果を示す溶融グラフおよび表である。被験抗体調製物およびタンパク質非含有対照（ＮＰＣ）調製物について得られた生データについての一次微分を、３連で示す。
【図５２Ｅ】示差走査蛍光測定解析による、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の安定性についての解析の結果を示す溶融グラフおよび表である。被験抗体調製物およびタンパク質非含有対照（ＮＰＣ）調製物について得られた生データについての一次微分を、３連で示す。
【図５２Ｆ】示差走査蛍光測定解析による、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の安定性についての解析の結果を示す溶融グラフおよび表である。被験抗体調製物およびタンパク質非含有対照（ＮＰＣ）調製物について得られた生データについての一次微分を、３連で示す。
【図５２Ｇ】示差走査蛍光測定解析による、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の安定性についての解析の結果を示す溶融グラフおよび表である。被験抗体調製物およびタンパク質非含有対照（ＮＰＣ）調製物について得られた生データについての一次微分を、３連で示す。
【図５２Ｈ】示差走査蛍光測定解析による、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の安定性についての解析の結果を示す溶融グラフおよび表である。被験抗体調製物およびタンパク質非含有対照（ＮＰＣ）調製物について得られた生データについての一次微分を、３連で示す。
【図５２Ｉ】示差走査蛍光測定解析による、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の安定性についての

解析の結果を示す溶融グラフおよび表である。被験抗体調製物およびタンパク質非含有対照（ＮＰＣ）調製物について得られた生データについての一次微分を、３連で示す。
【図５２Ｊ】５２Ａ～５２Ｉの結果についてまとめる図である。
【図５３】異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体の、安全性および免疫原性についての、コンピュータによる解析の結果についてまとめる表である。
【図５４】抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２による、ＶＩＳＴＡと、ＶＳＩＧ－３との結合の阻害についての解析の結果を示すグラフである。
【図５５】抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、４Ｍ２－Ｃ１２（Ｖ４）による、ＶＩＳＴＡと、ＰＳＧＬ－１との結合の阻害についての解析の結果を示す棒グラフである。
【図５６Ａ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４の、ヒトの、ＶＩＳＴＡ、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７、ＰＤ－１、およびＣＴＬＡ－４への結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５６Ｂ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ２４の、ヒトの、ＶＩＳＴＡ、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７、ＰＤ－１、およびＣＴＬＡ－４への結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５６Ｃ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ２６の、ヒトの、ＶＩＳＴＡ、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７、ＰＤ－１、およびＣＴＬＡ－４への結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５６Ｄ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ２７の、ヒトの、ＶＩＳＴＡ、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７、ＰＤ－１、およびＣＴＬＡ－４への結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５６Ｅ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ２８の、ヒトの、ＶＩＳＴＡ、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７、ＰＤ－１、およびＣＴＬＡ－４への結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５６Ｆ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ３０の、ヒトの、ＶＩＳＴＡ、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７、ＰＤ－１、およびＣＴＬＡ－４への結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５６Ｇ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ３１の、ヒトの、ＶＩＳＴＡ、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７、ＰＤ－１、およびＣＴＬＡ－４への結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５７Ａ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４の、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ、ラットＶＩＳＴＡ、およびカニクイザルＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５７Ｂ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ２４の、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ、ラットＶＩＳＴＡ、およびカニクイザルＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５７Ｃ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ２６の、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ、ラットＶＩＳＴＡ、およびカニクイザルＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５７Ｄ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ２７の、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ、ラットＶＩＳＴＡ、およびカニクイザルＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５７Ｅ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ２８の、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ、ラットＶＩＳＴＡ、およびカニクイザルＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５７Ｆ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ３０の、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ、ラットＶＩＳＴＡ、およびカニクイザルＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５７Ｇ】ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ３１の、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ、ラットＶＩＳＴＡ、およびカニクイザルＶＩＳＴＡへの結合についての解析の

結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５７Ｈ】ＥＬＩＳＡにより決定される、アイソタイプとマッチさせた対照抗体の、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ、ラットＶＩＳＴＡ、およびカニクイザルＶＩＳＴＡへの結合についての解析の結果を示す濃度－応答グラフである。
【図５７Ｉ】異なる抗体の、表示のタンパク質への結合についてのＥＣ５０値（Ｍ）を示す図である。
【図５８Ａ】フローサイトメトリーにより決定される、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体またはアイソタイプ対照抗体による細胞の染色を示すヒストグラムである。抗体の、野生型の、非トランスフェクトＨＥＫ２９３－６Ｅ細胞への結合を示す。１＝抗体なし（非染色）、２＝ヒトＩｇＧ１アイソタイプ対照抗体、３＝ＶＳＴＢ１１２　ＩｇＧ１、４＝４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１、５＝Ｖ４－Ｃ２４　ＩｇＧ１、６＝Ｖ４－Ｃ２６　ＩｇＧ１、７＝Ｖ４－Ｃ２７　ＩｇＧ１、８＝Ｖ４－Ｃ２８　ＩｇＧ１、９＝Ｖ４－Ｃ３０　ＩｇＧ１、および１０＝Ｖ４－Ｃ３１　ＩｇＧ１である。
【図５８Ｂ】フローサイトメトリーにより決定される、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体またはアイソタイプ対照抗体による細胞の染色を示すヒストグラムである。抗体の、ヒトＶＩＳＴＡタンパク質を過剰発現させるＨＥＫ２９３－６Ｅ細胞への結合を示す。１＝抗体なし（非染色）、２＝ヒトＩｇＧ１アイソタイプ対照抗体、３＝ＶＳＴＢ１１２　ＩｇＧ１、４＝４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１、５＝Ｖ４－Ｃ２４　ＩｇＧ１、６＝Ｖ４－Ｃ２６　ＩｇＧ１、７＝Ｖ４－Ｃ２７　ＩｇＧ１、８＝Ｖ４－Ｃ２８　ＩｇＧ１、９＝Ｖ４－Ｃ３０　ＩｇＧ１、および１０＝Ｖ４－Ｃ３１　ＩｇＧ１である。
【図５８Ｃ】フローサイトメトリーにより決定される、異なる抗ＶＩＳＴＡ抗体またはアイソタイプ対照抗体による細胞の染色を示すヒストグラムである。抗体の、マウスＶＩＳＴＡタンパク質を過剰発現させるＨＥＫ２９３－６Ｅ細胞への結合を示す。１＝抗体なし（非染色）、２＝ヒトＩｇＧ１アイソタイプ対照抗体、３＝ＶＳＴＢ１１２　ＩｇＧ１、４＝４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１、５＝Ｖ４－Ｃ２４　ＩｇＧ１、６＝Ｖ４－Ｃ２６　ＩｇＧ１、７＝Ｖ４－Ｃ２７　ＩｇＧ１、８＝Ｖ４－Ｃ２８　ＩｇＧ１、９＝Ｖ４－Ｃ３０　ＩｇＧ１、および１０＝Ｖ４－Ｃ３１　ＩｇＧ１である。
【図５９Ａ】抗ＶＩＳＴＡ抗体を使用する、ヒト組織についての免疫組織化学染色を示す画像である。４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａによる、ヒト正常脾臓組織の染色を示す。
【図５９Ｂ】抗ＶＩＳＴＡ抗体を使用する、ヒト組織についての免疫組織化学染色を示す画像である。表示の拡大率における、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａによる、ヒト正常卵巣組織の染色を示す。
【図６０Ａ】抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（Ｖ４）またはＶＳＴＢ１１２が、活性化Ｔ細胞を、ＶＩＳＴＡ発現細胞による抑制を解除する能力についての解析の結果を示すヒストグラムおよび棒グラフである。５日間にわたる、ＶＩＳＴＡ発現細胞、および表示の数量の抗ＶＩＳＴＡ抗体の存在下における、Ｔ細胞増殖についてのＣＦＳＥ希釈解析の結果を示す。
【図６０Ｂ】抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（Ｖ４）またはＶＳＴＢ１１２が、活性化Ｔ細胞を、ＶＩＳＴＡ発現細胞による抑制を解除する能力についての解析の結果を示すヒストグラムおよび棒グラフである。５日間にわたる、ＶＩＳＴＡ発現細胞、および表示の数量の抗ＶＩＳＴＡ抗体の存在下における、Ｔ細胞増殖についてのＣＦＳＥ希釈解析の結果を示す。
【図６０Ｃ】抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（Ｖ４）またはＶＳＴＢ１１２が、活性化Ｔ細胞を、ＶＩＳＴＡ発現細胞による抑制を解除する能力についての解析の結果を示すヒストグラムおよび棒グラフである。５日後において、細胞培養物上清中で検出された、ＩＦＮγの濃度を示す。
【図６０Ｄ】抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（Ｖ４）またはＶＳＴＢ１１２が、活性化Ｔ細胞を、ＶＩＳＴＡ発現細胞による抑制を解除する能力についての解析の結果を示すヒストグラムおよび棒グラフである。５日後において、細胞培養物上清中で検出された、ＴＮＦａの濃度を示す。

【図６１Ａ】抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（Ｖ４）またはＶＳＴＢ１１２が、ＬＰＳで刺激されたＴＨＰ－１細胞による、サイトカインの産生を促進する能力についての解析の結果を示す棒グラフである。細胞培養物上清中で検出された、ＩＬ－６の濃度を示す。１＝非染色、２＝アイソタイプとマッチさせた対照抗体により染色された細胞、３＝２０μｇのＶ４により染色された細胞、４＝４０μｇのＶ４により染色された細胞、および５＝２０μｇのＶＳＴＢ１１２により染色された細胞である。

【図６１Ｂ】抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（Ｖ４）またはＶＳＴＢ１１２が、ＬＰＳで刺激されたＴＨＰ－１細胞による、サイトカインの産生を促進する能力についての解析の結果を示す棒グラフである。表示の数量の抗ＶＩＳＴＡ抗体の存在下で２４時間にわたり、細胞培養物上清中で検出された、ＴＮＦａの濃度を示す。１＝非染色、２＝アイソタイプとマッチさせた対照抗体により染色された細胞、３＝２０μｇのＶ４により染色された細胞、４＝４０μｇのＶ４により染色された細胞、および５＝２０μｇのＶＳＴＢ１１２により染色された細胞である。

【図６１Ｃ】抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（Ｖ４）またはＶＳＴＢ１１２が、ＬＰＳで刺激されたＴＨＰ－１細胞による、サイトカインの産生を促進する能力についての解析の結果を示す棒グラフである。ＴＨＰ１細胞が、ＶＩＳＴＡ発現細胞であることを示し、培養物中の、ＶＩＳＴＡを発現させることが決定された細胞の百分率が示される。１＝非染色、２＝アイソタイプとマッチさせた対照抗体により染色された細胞、３＝２０μｇのＶ４により染色された細胞、４＝４０μｇのＶ４により染色された細胞、および５＝２０μｇのＶＳＴＢ１１２により染色された細胞である。

【図６２】抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１または４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ４が、ＬＰＳで刺激されたＴＨＰ－１細胞による、ＩＬ－６の産生を促進する能力についての解析の結果を示す棒グラフである。細胞培養物上清中で検出された、ＩＬ－６の濃度が示される。

【図６３Ａ】抗体血清についてのＥＬＩＳＡ解析による、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１および４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ４の薬物動態解析の結果を示すグラフおよび表である。１０ｍｇ／ｋｇの抗体の投与後における結果が示される。

【図６３Ｂ】抗体血清についてのＥＬＩＳＡ解析による、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１および４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ４の薬物動態解析の結果を示すグラフおよび表である。２５ｍｇ／ｋｇの抗体の投与後における結果が示される。

【図６３Ｃ】抗体血清についてのＥＬＩＳＡ解析による、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１および４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ４の薬物動態解析の結果を示すグラフおよび表である。１００ｍｇ／ｋｇの抗体の投与後における結果が示される。

【図６３Ｄ】抗体血清についてのＥＬＩＳＡ解析による、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１および４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ４の薬物動態解析の結果を示すグラフおよび表である。２５０ｍｇ／ｋｇの抗体の投与後における結果が示される。

【図６４Ａ】５０ｍｇ／ｋｇの４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１または等容量のＰＢＳの投与の９６時間後のＢＡＬＢ／Ｃマウスにおける、代表的な血液学的プロファイルを示す表である。赤血球コンパートメントについての解析の結果を示す。ＲＢＣ＝赤血球、ＭＶＣ＝平均値赤血球容積、ＭＣＨ＝平均値赤血球ヘモグロビン、ＭＣＨＣ＝平均値赤血球ヘモグロビン濃度、ＷＢＣ＝白血球、ＡＬＴ＝アラニンアミノトランスフェラーゼ、ＡＬＰ＝アルカリホスファターゼ、ＣＲＥＡ＝クレアチニン、およびＢＵＮ＝血中尿素窒素である。

【図６４Ｂ】５０ｍｇ／ｋｇの４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１または等容量のＰＢＳの投与の９６時間後のＢＡＬＢ／Ｃマウスにおける、代表的な血液学的プロファイルを示す表である。白血球コンパートメントについての解析の結果を示す。ＲＢＣ＝赤血球、ＭＶＣ＝平均値赤血球容積、ＭＣＨ＝平均値赤血球ヘモグロビン、ＭＣＨＣ＝平均値赤血球ヘモグロビン濃度、ＷＢＣ＝白血球、ＡＬＴ＝アラニンアミノトランスフェラーゼ、ＡＬＰ＝アルカリホスファターゼ、ＣＲＥＡ＝クレアチニン、およびＢＵＮ＝血中尿素窒素である。

【図６４Ｃ】５０ｍｇ／ｋｇの４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１または等容量のＰＢＳの投与の９６時間後のＢＡＬＢ／Ｃマウスにおける、代表的な血液学的プロファイルを示す表で

ある。肝機能および腎機能の相関因子についての解析の結果を示す。ＲＢＣ＝赤血球、ＭＶＣ＝平均値赤血球容積、ＭＣＨ＝平均値赤血球ヘモグロビン、ＭＣＨＣ＝平均値赤血球ヘモグロビン濃度、ＷＢＣ＝白血球、ＡＬＴ＝アラニンアミノトランスフェラーゼ、ＡＬＰ＝アルカリホスファターゼ、ＣＲＥＡ＝クレアチニン、およびＢＵＮ＝血中尿素窒素である。

【図６５Ａ】２５０ｍｇ／ｋｇの４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１、２５０ｍｇ／ｋｇの４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ４、または等容量のＰＢＳの投与後におけるＳＤラットについての、代表的な血液学的プロファイルを示す表である。赤血球コンパートメントについての解析の結果を示す。ＲＢＣ＝赤血球、ＭＶＣ＝平均値赤血球容積、ＭＣＨ＝平均値赤血球ヘモグロビン、ＭＣＨＣ＝平均値赤血球ヘモグロビン濃度、ＷＢＣ＝白血球、ＡＬＴ＝アラニンアミノトランスフェラーゼ、ＡＬＰ＝アルカリホスファターゼ、ＣＲＥＡ＝クレアチニン、ＢＵＮ＝血中尿素窒素、ＧＬＵ＝グルカゴン、ＡＭＹ＝アミラーゼ、ＮＡ＝ナトリウム、Ｋ＝カリウム、Ｐ＝リン、およびＣＡ＝カルシウムである。

【図６５Ｂ】２５０ｍｇ／ｋｇの４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１、２５０ｍｇ／ｋｇの４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ４、または等容量のＰＢＳの投与後におけるＳＤラットについての、代表的な血液学的プロファイルを示す表である。白血球コンパートメントについての解析の結果を示す。ＲＢＣ＝赤血球、ＭＶＣ＝平均値赤血球容積、ＭＣＨ＝平均値赤血球ヘモグロビン、ＭＣＨＣ＝平均値赤血球ヘモグロビン濃度、ＷＢＣ＝白血球、ＡＬＴ＝アラニンアミノトランスフェラーゼ、ＡＬＰ＝アルカリホスファターゼ、ＣＲＥＡ＝クレアチニン、ＢＵＮ＝血中尿素窒素、ＧＬＵ＝グルカゴン、ＡＭＹ＝アミラーゼ、ＮＡ＝ナトリウム、Ｋ＝カリウム、Ｐ＝リン、およびＣＡ＝カルシウムである。

【図６５Ｃ】２５０ｍｇ／ｋｇの４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１、２５０ｍｇ／ｋｇの４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ４、または等容量のＰＢＳの投与後におけるＳＤラットについての、代表的な血液学的プロファイルを示す表である。肝機能、腎機能、および膵機能、ならびに電解質レベルの相関因子についての解析の結果を示す。ＲＢＣ＝赤血球、ＭＶＣ＝平均値赤血球容積、ＭＣＨ＝平均値赤血球ヘモグロビン、ＭＣＨＣ＝平均値赤血球ヘモグロビン濃度、ＷＢＣ＝白血球、ＡＬＴ＝アラニンアミノトランスフェラーゼ、ＡＬＰ＝アルカリホスファターゼ、ＣＲＥＡ＝クレアチニン、ＢＵＮ＝血中尿素窒素、ＧＬＵ＝グルカゴン、ＡＭＹ＝アミラーゼ、ＮＡ＝ナトリウム、Ｋ＝カリウム、Ｐ＝リン、およびＣＡ＝カルシウムである。

【図６６】抗ＶＩＳＴＡ抗体であるＶ４－Ｃ２６、１３Ｆ３、およびＶＳＴＢ１１２について、バイオレイヤー干渉法により決定される、ヒトＶＩＳＴＡおよびマウスＶＩＳＴＡへのバックグラウンド減算結合シグナルを示すセンサーグラムである。

【図６７Ａ】結腸癌についてのＣＴ２６細胞由来マウスモデルにおける、Ｖ４－Ｃ２６．ｈＩｇＧ４の投与の、マウスの腫瘍体積および生存に対する効果を示すグラフである。時間経過にわたる腫瘍体積を示す図である。

【図６７Ｂ】結腸癌についてのＣＴ２６細胞由来マウスモデルにおける、Ｖ４－Ｃ２６．ｈＩｇＧ４の投与の、マウスの腫瘍体積および生存に対する効果を示すグラフである。抗ＶＩＳＴＡ抗体であるＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４または溶媒対照を投与されたマウスについて、時間経過にわたる生存パーセントを示す。

【図６８Ａ】健常組織およびある特定のがんにおける細胞によるＶＩＳＴＡの発現、ならびにある特定のがんにおけるＶＳＩＧ３の発現を示す、散布図および画像である。６８，０００個の健常ＰＢＭＣを含む、１０Ｘ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓによるデータについての、ＲＮＡ単一細胞解析による、免疫細胞クラスターの同定である。

【図６８Ｂ】健常組織およびある特定のがんにおける細胞によるＶＩＳＴＡの発現、ならびにある特定のがんにおけるＶＳＩＧ３の発現を示す、散布図および画像である。ｃＤＣが、古典的樹状細胞を指し、ｐＤＣが、形質細胞様樹状細胞を指し、ＨＳＰＣが、造血幹／前駆細胞を指す、異なる細胞クラスター内における、ＶＩＳＴＡ発現についての、単一細胞ＲＮＡ－ｓｅｑデータの、ＵＭＡＰ（Ｕｎｉｆｏｒｍ　Ｍａｎｉｆｏｌｄ　Ａｐｐｒｏｘｉｍａｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ｐｒｏｊｅｃｔｉｏｎ）およびサマリープロットである。

【図６８Ｃ】健常組織およびある特定のがんにおける細胞によるＶＩＳＴＡの発現、ならびにある特定のがんにおけるＶＳＩＧ３の発現を示す、散布図および画像である。ｃＤＣが、古典的樹状細胞を指し、ｐＤＣが、形質細胞様樹状細胞を指し、ＨＳＰＣが、造血幹／前駆細胞を指す、異なる細胞クラスター内における、ＶＩＳＴＡ発現についての、単一細胞ＲＮＡ－ｓｅｑデータの、ＵＭＡＰ（Ｕｎｉｆｏｒｍ Ｍａｎｉｆｏｌｄ Ａｐｐｒｏｘｉｍａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｐｒｏｊｅｃｔｉｏｎ）およびサマリープロットである。

【図６８Ｄ】健常組織およびある特定のがんにおける細胞によるＶＩＳＴＡの発現、ならびにある特定のがんにおけるＶＳＩＧ３の発現を示す、散布図および画像である。０．０２ｍｇ／ｍｌの４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａにより染色された、健常な脾臓、骨髄、乳房、および肺のＴＭＡ（ｎ＝９９）についての代表的免疫組織化学染色であり；拡大率を、２００倍とする。

【図６８Ｅ】健常組織およびある特定のがんにおける細胞によるＶＩＳＴＡの発現、ならびにある特定のがんにおけるＶＳＩＧ３の発現を示す、散布図および画像である。０．０２ｍｇ／ｍｌの４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａにより染色された、トリプルネガティブ乳がん（ＴＮＢＣ；ｎ＝１２６）および非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ；ｎ＝１４０）のＴＭＡ内のＶＩＳＴＡについての代表的染色であり；拡大率を、２００倍とする。

【図６８Ｆ】健常組織およびある特定のがんにおける細胞によるＶＩＳＴＡの発現、ならびにある特定のがんにおけるＶＳＩＧ３の発現を示す、散布図および画像である。ＶＩＳＴＡについて、染色強度が、陰性（０）、低度（１）、中程度（２）、または高度（３）である、ＴＮＢＣ、ＮＳＣＬＣ、肝細胞癌（ＨＣＣ）、および中皮腫の患者％である。

【図６８Ｇ】健常組織およびある特定のがんにおける細胞によるＶＩＳＴＡの発現、ならびにある特定のがんにおけるＶＳＩＧ３の発現を示す、散布図および画像である。０．００３ｍｇ／ｍｌの抗ＶＳＩＧ３抗体により染色された、ＴＮＢＣ（ｎ＝１２６）およびＮＳＣＬＣ（ｎ＝１４０）のＴＭＡ内のＶＳＩＧ３についての代表的染色であり；拡大率を、２００倍とする。

【図６８Ｈ】健常組織およびある特定のがんにおける細胞によるＶＩＳＴＡの発現、ならびにある特定のがんにおけるＶＳＩＧ３の発現を示す、散布図および画像である。ＶＳＩＧ３について、染色強度が、陰性（０）、低度（１）、中程度（２）、または高度（３）である、ＴＮＢＣ、ＮＳＣＬＣ、ＨＣＣ、および中皮腫の患者％である。

【図６９Ａ】ＥＬＩＳＡにより評価される、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４（ＨＭＢＤ－００２）の、ＦｃγＲＩＩＩタンパク質への結合アフィニティーを示すグラフである。示されるデータは、ｎ＝３とする測定の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭである。

【図６９Ｂ】ＥＬＩＳＡにより評価される、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４（ＨＭＢＤ－００２）の、Ｃ１ｑタンパク質への結合アフィニティーを示すグラフである。示されるデータは、ｎ＝３とする測定の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭである。

【図７０Ａ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の結合特異性を示すグラフである。ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、表示のヒトＢ７ファミリー抗原である、ＰＤ－１およびＣＴＬＡ－４への結合である（示されるデータは、ｎ＝２とする測定の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭである）。

【図７０Ｂ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の結合特異性を示すグラフである。ＥＬＩＳＡにより決定される、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、ヒト、非ヒト霊長動物（ＮＨＰ）、ラット、またはマウスのＶＩＳＴＡオーソログへの結合である（示されるデータは、ｎ＝３とする測定の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭである）。

【図７０Ｃ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の結合特異性を示すグラフである。フローサイトメトリーにより決定される、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、ヒト、非ヒト霊長動物（ＮＨＰ）、ラット、またはマウスのＶＩＳＴＡオーソログを過剰発現するＨＥＫ２９３Ｔ細胞への結合である（示されるデータは、ｎ＝３とする測定の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭである）。

【図７０Ｄ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の結合特異性を示すグラフである。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、ヒト、ＮＨＰ、ラット、またはマウスのＰＢＭＣから単離された、ＣＤ１

１ｂ＋骨髄細胞への結合である（示されるデータは、ｎ＝３とする測定の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭである）。
【図７１Ａ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４による、骨髄細胞上における、ＶＩＳＴＡの遮断を示すグラフである。ＥＬＩＳＡにより測定される、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４（ＨＭＢＤ－００２）、ＶＳＴＢ１１２、またはＩｇＧ４アイソタイプ対照の存在下または非存在下で、９６時間後における、自家ＰＢＭＣと共に共培養されたＭＤＳＣからの、抗ＣＤ３抗体により誘導されるＩＦＮ－γの分泌である（示されるデータは、ｎ＝６とする測定の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭであり、Ｐ値は、二元ＡＮＯＶＡ（チューキーの多重比較検定）により得、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１とする）。
【図７１Ｂ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４による、骨髄細胞上における、ＶＩＳＴＡの遮断を示すグラフである。Ｃ５ａでコーティングされたＴｒａｎｓｗｅｌｌの下チャンバーへの、好中球の遊走の阻害であり、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏを使用して測定された（示されるデータは、ｎ＝３とする測定の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭである）。
【図７２Ａ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４によるＶＩＳＴＡ遮断の、免疫活性化に対する効果についての免疫活性化解析を示す図である。９６時間後において、同系混合リンパ球反応の上清から、Ｌｕｍｉｎｅｘにより測定された、表示のサイトカインのレベルである。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４、および抗ＰＤ－１抗体である、ペムブロリズマブ（Ｐｅｍｂｒｏとして表記される）の濃度は、μｇ／ｍｌ単位で示す。データは、アイソタイプ対照に対して正規化した。示されるデータは、ｎ＝１０とする測定の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭである。Ｐ値は、一元ＡＮＯＶＡ（チューキーの多重比較検定）により得、＊ｐ＜０．０５、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１とした。
【図７２Ｂ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４によるＶＩＳＴＡ遮断の、免疫活性化に対する効果についての免疫活性化解析を示す図である。ＭＬＲ試料（ｎ＝１０）についてのバルクＲＮＡシーケンシングによる、Ｓｐｅｅｄ２経路解析である。データは、アイソタイプ対照に対して正規化し、平均値＋ＳＤとして表し、補正ｐ値は、バルクＲＮＡ　ｓｅｑ解析から得、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１とした。
【図７２Ｃ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４によるＶＩＳＴＡ遮断の、免疫活性化に対する効果についての免疫活性化解析を示す図である。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４またはＩｇＧ４アイソタイプ対照の存在下で、９６時間にわたり培養されたＰＢＭＣからの、バルクＲＮＡ－ｓｅｑデータについての、ＫＥＧＧ経路解析の結果であり、ＴＬＲ、ＴＮＦα、ＪＡＫ－ＳＴＡＴ、およびＩＬ－１７によるシグナル伝達経路と関連する遺伝子内における、転写物レベルのエンリッチメントを示す。
【図７２Ｄ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４によるＶＩＳＴＡ遮断の、免疫活性化に対する効果についての免疫活性化解析を示す図である。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４（ＨＭＢＤ－００２）、ＩｇＧ４アイソタイプ対照、またはペムブロリズマブの存在下で実施された反応についての、ＭＬＲ試料に対するバルクＲＮＡシーケンシングによる、Ｉ型およびＩＩ型インターフェロン遺伝子と関連する遺伝子内における転写物レベルのエンリッチメントである（ｎ＝１０とする；データは、平均値＋ＳＤとして表し、補正ｐ値は、＊ｐ＜０．０５、＊＊＊ｐ＜０．００１として、バルクＲＮＡ　ｓｅｑ解析から得た）。
【図７３Ａ】ＣＤＸ（ｃｅｌｌ　ｌｉｎｅ－ｄｅｒｉｖｅｄ　ｘｅｎｏｇｒａｆｔ）モデルにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４抗腫瘍応答を示すグラフおよび棒グラフである。マウスを無作為化し、表示の時点において、複数濃度の被験薬を投与した。腫瘍体積は、１週間に２回測定した。各データ点は、ｎ＝１０のマウスによる、平均値腫瘍体積±ＳＥＭを表す。雌ＢＡＬＢ／ｃマウスの皮下に、ＣＴ２６細胞を植え込んだ、同系ＣＤＸモデルにおける結果である。
【図７３Ｂ】ＣＤＸ（ｃｅｌｌ　ｌｉｎｅ－ｄｅｒｉｖｅｄ　ｘｅｎｏｇｒａｆｔ）モデルにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４抗腫瘍応答を示すグラフおよび棒グラフである。マウスを無作為化し、表示の時点において、複数濃度の被験薬を投与した。腫瘍体積は、１週間に２回測定した。各データ点は、ｎ＝１０のマウスによる、平均値腫瘍体積±ＳＥＭを表す。雌ＢＡＬＢ／ｃマウスの同所に、ＶＩＳＴＡ過剰発現４Ｔ－１細胞を植え込ん

だ、同系ＣＤＸモデルにおける結果である。
【図７３Ｃ】ＣＤＸ（ｃｅｌｌ　ｌｉｎｅ－ｄｅｒｉｖｅｄ　ｘｅｎｏｇｒａｆｔ）モデルにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４抗腫瘍応答を示すグラフおよび棒グラフである。マウスを無作為化し、表示の時点において、複数濃度の被験薬を投与した。腫瘍体積は、１週間に２回測定した。各データ点は、ｎ＝１０のマウスによる、平均値腫瘍体積±ＳＥＭを表す。ＣＤ３４生着ヒト化雌ＨｉＭｉｃｅの皮下に、ＨＣＴ１５細胞を植え込んだ、ＣＤＸモデルにおける結果である。
【図７３Ｄ】ＣＤＸ（ｃｅｌｌ　ｌｉｎｅ－ｄｅｒｉｖｅｄ　ｘｅｎｏｇｒａｆｔ）モデルにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４抗腫瘍応答を示すグラフおよび棒グラフである。マウスを無作為化し、表示の時点において、複数濃度の被験薬を投与した。腫瘍体積は、１週間に２回測定した。各データ点は、ｎ＝１０のマウスによる、平均値腫瘍体積±ＳＥＭを表す。ＣＤ３４生着ヒト化雌ＨｉＭｉｃｅの皮下に、Ａ５４９細胞を植え込んだ、ＣＤＸモデルにおける結果である。
【図７３Ｅ】ＣＤＸ（ｃｅｌｌ　ｌｉｎｅ－ｄｅｒｉｖｅｄ　ｘｅｎｏｇｒａｆｔ）モデルにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４抗腫瘍応答を示すグラフおよび棒グラフである。マウスを無作為化し、表示の時点において、複数濃度の被験薬を投与した。腫瘍体積は、１週間に２回測定した。各データ点は、ｎ＝１０のマウスによる、平均値腫瘍体積±ＳＥＭを表す。フローサイトメトリーによる細胞プロファイリングの結果であり、ＣＴ２６　ＣＤＸモデルにおける、腫瘍微小環境内の腫瘍浸潤白血球（ＴＩＬ）集団を示す（示されるデータは、ｎ＝３の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭである）。
【図７３Ｆ】ＣＤＸ（ｃｅｌｌ　ｌｉｎｅ－ｄｅｒｉｖｅｄ　ｘｅｎｏｇｒａｆｔ）モデルにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４抗腫瘍応答を示すグラフおよび棒グラフである。マウスを無作為化し、表示の時点において、複数濃度の被験薬を投与した。腫瘍体積は、１週間に２回測定した。各データ点は、ｎ＝１０のマウスによる、平均値腫瘍体積±ＳＥＭを表す。ＥＬＩＳＡを使用して、溶解を測定するための、ＣＴ２６細胞を伴う、ＴＩＬ（ＣＤ４５＋）のｅｘ　ｖｉｖｏ培養物、またはＩＦＮ－γ分泌を介して、Ｔ細胞活性化を測定するための、ＣＴ２６細胞を伴う、腫瘍エンリッチＴ細胞（ＣＤ４＋／ＣＤ８＋）の培養物を介して測定された、ＣＴ２６抗原リコールアッセイの結果である（示されるデータは、ｎ＝３の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭである。全てのｐ値は、独立ｔ検定により得、＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１とする；各データ点は、マウスを表す）。
【図７４Ａ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の薬物動態および毒性に関するグラフである。腫瘍保有Ｂａｌｂ／ｃマウス、および非腫瘍保有Ｂａｌｂ／ｃマウスにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の血清濃度である。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４は、腹腔内注射を介する、表示の濃度における単回投与により投与した。
【図７４Ｂ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の薬物動態および毒性に関するグラフである。腫瘍保有Ｓｐｒａｇｕｅ　Ｄａｗｌｅｙラット、および非腫瘍保有Ｓｐｒａｇｕｅ　Ｄａｗｌｅｙラットにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の血清濃度である。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４は、腹腔内注射を介する、表示の濃度における単回投与により投与した。
【図７４Ｃ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の薬物動態および毒性に関するグラフである。腫瘍保有カニクイザル、および非腫瘍保有カニクイザルにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の血清濃度である。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４は、腹腔内注射を介する、表示の濃度における単回投与により投与した。
【図７４Ｄ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の薬物動態および毒性に関するグラフである。表示量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４、ＩｇＧ４アイソタイプ対照、またはブドウ球菌エンテロトキシンＢ（ＳＥＢ）による、２４時間にわたる刺激の後における、ＩＬ－２のレベルを示す、健常ドナーから得られたヒト全血液（ｎ＝１０）により実施された、ｅｘ　ｖｉｖｏサイトカイン放出アッセイからの結果である。
【図７４Ｅ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の薬物動態および毒性に関するグラフである。表示量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４、ＩｇＧ４アイソタイプ対照、またはブドウ球菌エンテ

ロトキシンＢ（ＳＥＢ）による、２４時間にわたる刺激の後における、ＩＬ－６のレベルを示す、健常ドナーから得られたヒト全血液（ｎ＝１０）により実施された、ｅｘ　ｖｉｖｏサイトカイン放出アッセイからの結果である。

【図７４Ｆ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の薬物動態および毒性に関するグラフである。表示量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４、ＩｇＧ４アイソタイプ対照、または抗ＣＤ３抗体による、２４時間にわたる刺激の後における、ＩＬ－２のレベルを示す、健常ドナーから得られた単離ＰＢＭＣ（ｎ＝１０）により実施された、ｅｘ　ｖｉｖｏサイトカイン放出アッセイからの結果である。

【図７４Ｇ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の薬物動態および毒性に関するグラフである。表示量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４、ＩｇＧ４アイソタイプ対照、または抗ＣＤ３抗体による、２４時間にわたる刺激の後における、ＩＬ－６のレベルを示す、健常ドナーから得られた単離ＰＢＭＣ（ｎ＝１０）により実施された、ｅｘ　ｖｉｖｏサイトカイン放出アッセイからの結果である。

【図７５Ａ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、ヒトＶＩＳＴＡへの結合についての、センサーグラムおよびK_{on}、K_{off}、およびK_Dの計算値を示す図である。

【図７５Ｂ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、非ヒト霊長動物（ＮＨＰ）ＶＩＳＴＡへの結合についての、センサーグラムおよびK_{on}、K_{off}、およびK_Dの計算値を示す図である。

【図７５Ｃ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、ラットＶＩＳＴＡへの結合についての、センサーグラムおよびK_{on}、K_{off}、およびK_Dの計算値を示す図である。

【図７５Ｄ】Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、マウスＶＩＳＴＡへの結合についての、センサーグラムおよびK_{on}、K_{off}、およびK_Dの計算値を示す図である。

【図７５Ｅ】ＥＬＩＳＡにより決定される、５．５～７．５のｐＨ範囲にわたる、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、ヒトＶＩＳＴＡへの結合を示すグラフおよび表（示されるデータは、ｎ＝３とする測定の平均値であり、エラーバーは、ＳＥＭである）である。

【図７６Ａ】異なる製剤Ｆ１～Ｆ１０中の、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についての、高温安定性研究からの結果を示すグラフである。Ａ２８０とする、ＵＶ光の吸光度によるタンパク質含量である。

【図７６Ｂ】異なる製剤Ｆ１～Ｆ１０中の、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についての、高温安定性研究からの結果を示すグラフである。ｐＨである。

【図７６Ｃ】異なる製剤Ｆ１～Ｆ１０中の、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についての、高温安定性研究からの結果を示すグラフである。ＨＰＬＣ－ＳＥＣにより測定された凝集である。

【図７６Ｄ】異なる製剤Ｆ１～Ｆ１０中の、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についての、高温安定性研究からの結果を示すグラフである。製剤Ｆ１についての、ＨＰＬＣ－ＳＥＣの代表的結果である。

【図７６Ｅ】異なる製剤Ｆ１～Ｆ１０中の、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についての、高温安定性研究からの結果を示すグラフである。ＨＰＬＣ－ＣＥＸにより測定された電荷変動である。

【図７６Ｆ】異なる製剤Ｆ１～Ｆ１０中の、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についての、高温安定性研究からの結果を示すグラフである。製剤Ｆ１についての、ＨＰＬＣ－ＣＥＸの代表的結果である。

【図７６Ｇ】異なる製剤Ｆ１～Ｆ１０中の、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についての、高温安定性研究からの結果を示すグラフである。ＥＬＩＳＡにより測定された抗原結合性である。

【図７６Ｈ】異なる製剤Ｆ１～Ｆ１０中の、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についての、高温安定性研究からの結果を示すグラフである。浸透圧である。

【図７７】異なる製剤Ｆ１～Ｆ１０中のＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についての、高濃度安定性研究からの結果を示すグラフである。ＨＰＬＣ－ＳＥＣにより測定された凝集である。

【図７８】ＨＰＬＣ－ＳＥＣにより測定された、凍結融解ストレス研究の後における、ＨＭＢＤ－００２製剤中の凝集を示すグラフである。
【図７９】製剤であるＦ１、Ｆ２、およびＦ５についての、ｐＨと、総電荷変動の変化との相関を示すグラフである。
【図８０】マウス同系腫瘍モデルである、ＣＴ２６およびＢ１６／ＢＬ６における、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４単剤療法、および抗ｍＰＤ－１（ＲＭＰ１－１４）抗体との組合せ療法の、ｉｎ　ｖｉｖｏ有効性を示すグラフである。マウスを、５００μｇ（約２５ｍｇ／ｋｇ）のＨＭＢＤ－００２単独で、または２００μｇ（約１０ｍｇ／ｋｇ）のＲＭＰ１－１４との組合せで処置した。
【図８１】マウス腫瘍モデルであるＣＴ２６における、異なる用量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４単剤療法の、ｉｎ　ｖｉｖｏ有効性を示すグラフである。
【図８２Ａ】腫瘍保有マウスおよび非腫瘍保有マウスにおける、異なる用量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４単剤療法の、薬物動態プロファイルを示すグラフである。
【図８２Ｂ】雄および雌のＳｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットにおける、異なる用量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４単剤療法の、薬物動態プロファイルを示すグラフである。
【図８２Ｃ】雄および雌のカニクイザルにおける、異なる用量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４単剤療法の、薬物動態プロファイルを示すグラフである。
【図８３Ａ】ＣＤＸ（ｃｅｌｌ　ｌｉｎｅ－ｄｅｒｉｖｅｄ　ｘｅｎｏｇｒａｆｔ）モデルにおける、ＨＭＢＤ－００２（Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４）、抗ＰＤ－１抗体（ａＰＤ１）、またはＨＭＢＤ－００２および抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置の、抗腫瘍応答を示すグラフである。ＣＤ３４生着ヒト化ＨｉＭｉｃｅの皮下に、Ａ５４９細胞を植え込んだ、ＣＤＸモデルにおける結果である。
【図８３Ｂ】ＣＤＸ（ｃｅｌｌ　ｌｉｎｅ－ｄｅｒｉｖｅｄ　ｘｅｎｏｇｒａｆｔ）モデルにおける、ＨＭＢＤ－００２（Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４）、抗ＰＤ－１抗体（ａＰＤ１）、またはＨＭＢＤ－００２および抗ＰＤ－１抗体による組合せ処置の、抗腫瘍応答を示すグラフである。雌ＢＡＬＢ／ｃマウスの皮下に、ＣＴ２６細胞を植え込んだ、ＣＤＸモデルにおける結果である。
【実施例】
【０８０９】
以下の実施例では、本発明者らは、ＶＩＳＴＡ分子内の、目的の特異的領域へとターゲティングされる、新規の抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンの作出、ならびにこれらの抗原結合性分子についての生物物理的および機能的特徴付け、ならびに治療的評価について記載する。
【０８１０】
実施例１
ＶＩＳＴＡ標的のデザインおよび抗ＶＩＳＴＡ抗体ハイブリドーマの作製
本発明者らは、ＶＩＳＴＡ結合性モノクローナル抗体を惹起するために、ヒトＶＩＳＴＡ（配列番号３）の細胞外領域内の領域を選択した。
【０８１１】
ＦＧループ領域は、ＶＩＳＴＡのこの領域が、ＶＩＳＴＡの阻害性機能に重要であると提起されている（Ｖｉｇｄｏｒｏｖｉｃｈら、Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、２０１３；２１（５）：７０７～７１７）ため、ターゲティングした。ＶＩＳＴＡの、正面を向くβシート領域もまた、ターゲティングした。
１．１　ハイブリドーマの作製
約６週齢の、雌ＢＡＬＢ／ｃマウスは、ＩｎＶｉｖｏｓ（Ｓｉｎｇａｐｏｒｅ）から得た。動物は、特定の無病原体条件下で飼育し、Ｉｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　Ａｎｉｍａｌ　Ｃａｒｅ　ａｎｄ　Ｕｓｅ　Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅ（ＩＡＣＵＣ）ガイドラインに準拠して処置した。
【０８１２】
ハイブリドーマの作製のために、マウスを、抗原性ペプチド、組換え標的タンパク質、

または標的タンパク質を発現する細胞の、本発明者らに所有権がある混合物で免疫化した。

【０８１３】

融合のための脾臓を採取する前に、マウスに、抗原混合物を、連続３日間にわたり追加免役した。最終追加免役の２４時間後、全脾臓細胞を単離し、製造元の指示書（Ｓｔｅｍｃｅｌｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｎａｄａ）に従い、ＣｌｏｎａＣｅｌｌ－ＨＹハイブリドーマクローニングキットを使用して、ＰＥＧにより、骨髄腫細胞株である、Ｐ３Ｘ６３．Ａｇ８．６５３（ＡＴＣＣ、ＵＳＡ）と融合させた。

【０８１４】

融合細胞は、３７℃、５％CO_2のインキュベーター内の、ＣｌｏｎａＣｅｌｌ－ＨＹ培地Ｃ（Ｓｔｅｍｃｅｌｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｎａｄａ）中で、一晩にわたり培養した。翌日、融合細胞を遠心分離し、１０ｍｌのＣｌｏｎａＣｅｌｌ－ＨＹ培地Ｃ中に再懸濁させ、次いで、ＨＡＴ成分を含有する、９０ｍｌの、半固体メチルセルロースベースの、ＣｌｏｎａＣｅｌｌ－ＨＹ培地Ｄ（Ｓｔｅｍｃｅｌｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｎａｄａ）と、静かに混合し、これにより、ハイブリドーマの選択と、クローニングとを、１つステップへと組み合わせた。

【０８１５】

次いで、融合細胞を、９６ウェルプレートへと播種し、３７℃、５％CO_2のインキュベーター内で増殖させた。７～１０日後、単一のハイブリドーマクローンを単離し、抗体産生ハイブリドーマを、酵素免疫測定アッセイ（ＥＬＩＳＡ）および蛍光標識細胞分取（ＦＡＣＳ）によって、上清をスクリーニングすることにより選択した。

１．２　抗体可変領域の増幅およびシーケンシング

製造元のプロトコールを使用する、ＴＲＩｚｏｌ試薬（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｉｎｃ．、ＵＳＡ）を使用して、全ＲＮＡを、ハイブリドーマ細胞から抽出した。製造元の指示書に従い、ＳＭＡＲＴｅｒ ＲＡＣＥ ５’／３’キット（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ（商標）、ＵＳＡ）を使用して、二本鎖ｃＤＮＡを合成した。略述すると、５’－ＲＡＣＥ ＣＤＳプライマー（キット内に提供された）、および５’アダプター（ＳＭＡＲＴｅｒ ＩＩ Ａプライマー）を使用して、全長ｃＤＮＡを作出するのに、１μｇの全ＲＮＡを使用し、次いで、製造元の指示書に従い、各ｃＤＮＡへと組み込んだ。ｃＤＮＡ合成反応物は、５倍濃度のＦｉｒｓｔ－Ｓｔｒａｎｄ緩衝液、ＤＴＴ（２０ｍＭ）、ｄＮＴＰミックス（１０ ｍＭ）、ＲＮアーゼ阻害剤（４０Ｕ／μｌ）、およびＳＭＡＲＴＳｃｒｉｂｅ逆転写酵素（１００Ｕ／μｌ）を含有した。

【０８１６】

ＳｅｑＡｍｐ ＤＮＡポリメラーゼ（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ（商標）、ＵＳＡ）を使用して、ｒａｐｉｄ ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｃＤＮＡ ｅｎｄｓ（ＲＡＣＥ）の準備ができたｃＤＮＡを増幅した。増幅反応物は、ＳｅｑＡｍｐ ＤＮＡポリメラーゼ、２倍濃度のＳｅｑ ＡＭＰ緩衝液、５’ＳＭＡＲＴｅｒ Ｒａｃｅキットで提供される、アダプター配列に相補的な、５’ユニバーサルプライマー、および、それぞれの重鎖定常領域または軽鎖定常領域のプライマーにアニーリングする、３’プライマーを含有した。５’定常領域は、Ｋｒｅｂｂｅｒら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、１９９７、２０１：３５～５５；Ｗａｎｇら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ、２０００、２３３、１６７～１７７；またはＴｉｌｌｅｒら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ、２００９、３５０：１８３～１９３により、既に報告されたプライマーミックスに基づきデザインした。以下の熱プロトコール：９４℃で、１分間にわたる、前変性サイクル；９４℃で、３０秒間、５５℃で、３０秒間、および７２℃で、４５秒間にわたる、３５サイクル；７２℃で、３分間にわたる、最終伸長を使用した。

【０８１７】

ＣｌｏｎｅＪＥＴ ＰＣＲクローニングキット（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、ＵＳＡ）を使用して、結果として得られる、約５５０ｂｐである、ＶＨおよびＶＬのＰ

ＣＲ産物を、ｐＪＥＴ１．２／ｂｌｕｎｔベクターへとクローニングし、高度にコンピテントのＥ．ｃｏｌｉ　ＤＨ５αを形質転換するのに使用した。Ｍｉｎｉｐｒｅｐキット（Ｑｉａｇｅｎｅ、Ｇｅｒｍａｎｙ）を使用して、結果として得られる形質転換体から、プラスミドＤＮＡを調製し、シーケンシングした。ＤＮＡシーケンシングは、ＡＩＴｂｉｏｔｅｃｈにより行われた。ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　ＩＭＧＴ（ＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓ）ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ　ｓｙｓｔｅｍ（ＬｅＦｒａｎｃら、Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．（２０１５）、４３（データベース号）：Ｄ４１３～２２）を使用して、これらのシーケンシングデータを解析して、個々のＣＤＲおよびフレームワーク配列を特徴付けた。ＶＨおよびＶＬの５’末端におけるシグナルペプチドは、ＳｉｇｎａｌＰ（ｖ　４．１；Ｎｉｅｌｓｅｎ；Ｋｉｈａｒａ，Ｄ（編）：「Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｆｕｎｃｔｉｏｎ　Ｐｒｅｄｉｃｔｉｏｎ」（Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ、１６１１巻）５９～７３、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ、２０１７）により同定した。

【０８１８】

次いで、抗ＶＩＳＴＡモノクローナル抗体クローンを、さらなる開発および特徴付けのために選択した。

【０８１９】

また、抗体クローンである、４Ｍ２－Ｃ１２（本明細書ではまた、「Ｖ４」とも称される）のヒト化バージョンも、抗体のＣＤＲを、ヒト抗体フレームワーク領域を含むＶＨおよびＶＬへとクローニングすることにより、標準的な方法に従い調製した。

【０８２０】

【表３】

抗体クローン	VH/VL 配列	抗体を惹起するのに使用されるペプチド免疫原
4M2-C12 (本明細書ではまた、「V4」とも称される)	VH=配列番号 32	配列番号 26
	VL=配列番号 40	
V4H1	VH=配列番号 52	
	VL=配列番号 57	
V4H2	VH=配列番号 62	
	VL=配列番号 66	
4M2-B4	VH=配列番号 48	
	VL=配列番号 50	
4M2-C9	VH=配列番号 87	
	VL=配列番号 95	
4M2-D9	VH=配列番号 106	
	VL=配列番号 113	
4M2-D5	VH=配列番号 143	
	VL=配列番号 150	
4M2-A8	VH=配列番号 157	
	VL=配列番号 164	
2M1-B12	VH=配列番号 71	配列番号 27
	VL=配列番号 79	
2M1-D2	VH=配列番号 102	
	VL=配列番号 104	
1M2-D2	VH=配列番号 119	配列番号 28
	VL=配列番号 126	
13D5p	VH=配列番号 183	
	VL=配列番号 188	
13D5-1	VH=配列番号 194	
	VL=配列番号 196	
13D5-13	VH=配列番号 199	
	VL=配列番号 202	
5M1-A11	VH=配列番号 133	配列番号 29
	VL=配列番号 136	
9M2-C12	VH=配列番号 168	配列番号 30
	VL=配列番号 176	

実施例２

抗体の作製および精製

２．１　ＶＨおよびＶＬの、発現ベクターへのクローニング：

ヒト－マウスキメラ抗体を構築するために、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンの、重および軽鎖可変領域をコードするＤＮＡ配列を、ｐｍＡｂＤＺ＿ＩｇＧ１＿ＣＨおよびｐｍＡｂＤＺ＿ＩｇＧ１＿ＣＬ（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ、ＵＳＡ）の真核生物発現ベクターへとサブクローニングした。

【０８２１】

代替的に、ヒト－マウスキメラ抗体を構築するために、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンの、重および軽鎖可変領域をコードするＤＮＡ配列を、ｐＦＵＳＥ－ＣＨＩｇ－ｈＧ１およびｐＦＵＳＥ２ｓｓ－ＣＬＩｇ－ｈｋ（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ、ＵＳＡ）の真核生物発現ベクターへとサブクローニングした。ｐＦＵＳＥ－ＣＨＩｇ－ｈＧ１によりコードされるヒトＩｇＧ１定常領域は、ＣＨ３領域内に、ヒトＩｇＧ１定常領域（ＩＧＨＧ１；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ０１８５７－１、ｖ１；配列番号２１０）と比べた置換である、Ｄ３５６Ｅ、Ｌ３５８Ｍ（ＥＵ番号付けに従い番号付けされた位置）を含む。ｐＦＵＳＥ２ｓｓ－ＣＬＩｇ－ｈｋは、ヒトＩｇＧ１軽鎖カッパ定常領域（ＩＧＣＫ；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ０１８３

４－１、ｖ２）をコードする。

【０８２２】

製造元のプロトコールに従い、ＳｅｑＡｍｐ酵素（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ（商標）、ＵＳＡ）を使用して、可変領域を、シグナルペプチドと共に、クローニングベクターから増幅した。ＶＨまたはＶＬ内の、適切な領域と重複する、１５～２０ｂｐに加えて、５’末端における、制限部位として、６ｂｐを有する、フォワードおよびリバースプライマーを使用した。ＤＮＡインサートおよびｐＦＵＳＥベクターを、製造元により推奨される制限酵素で消化して、フレームシフトが、導入されていないことを確認し（例えば、ＶＨには、ＥｃｏＲＩおよびＮｈｅＩであり、ＶＬには、ＡｇｅＩおよびＢｓｉＷＩである）、Ｔ４リガーゼ酵素（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、ＵＳＡ）を使用して、そのそれぞれのプラスミドへとライゲーションした。ＤＮＡインサートの、ベクターに対する、３：１のモル比を、ライゲーションのために使用した。

２．２ 哺乳動物細胞内の、抗体の発現

製造元の指示書に従い、１）Ｅｘｐｉ２９３一過性発現系キット（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、ＵＳＡ）、または２）ＨＥＫ２９３－６Ｅ一過性発現系（ＣＮＲＣ－ＮＲＣ、Ｃａｎａｄａ）を使用して、抗体を発現させた。

１）Ｅｘｐｉ２９３一過性発現系：

細胞株の維持：

ＨＥＫ２９３Ｆ細胞（Ｅｘｐｉ２９３Ｆ）は、Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｉｎｃ（ＵＳＡ）から得た。細胞は、３７℃、８％CO_2、振とう型プラットフォームを伴う、８０％の加湿式インキュベーター内の、５０ＩＵ／ｍｌのペニシリン５０μｇ／ｍｌのストレプトマイシン（Ｇｉｂｃｏ、ＵＳＡ）を補充した、無血清、無タンパク質の既知組成培地（Ｅｘｐｉ２９３発現培地、Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ、ＵＳＡ）中で培養した。

トランスフェクション：

Ｅｘｐｉ２９３Ｆ細胞に、その製造元のプロトコールに従い、ＥｘｐｉＦｅｃｔａｍｉｎｅ ２９３試薬キット（Ｇｉｂｃｏ、ＵＳＡ）を使用して、発現プラスミドをトランスフェクトした。略述すると、培養物をスピンダウンすることにより、抗生剤を除去するように、維持状態の細胞を、培地交換にかけ、細胞ペレットを、トランスフェクションの１日前に、抗生剤を伴わない新鮮培地中に再懸濁させた。トランスフェクション日に、各トランスフェクションのために、１ｍｌ当たりの生存細胞２．５×10^6個を、シェーカーフラスコ内に播種した。細胞へと添加する前に、血清低減培地である、Ｏｐｔｉ－ＭＥＭ（Ｇｉｂｃｏ、ＵＳＡ）中、室温で、２５分間にわたり、ＤＮＡ－ＥｘｐｉＦｅｃｔａｍｉｎｅ複合体を形成した。トランスフェクションの１６～１８時間後に、転写促進因子を、トランスフェクトされた細胞へと添加した。トランスフェクションの４日後に、等量の培地を、トランスフェクタントの上にかけ、細胞の凝集を防止した。トランスフェクタントを、４０００×ｇで、１５分間にわたる、７日目により採取し、０．２２μｍの滅菌フィルターユニットを通して濾過した。

２）ＨＥＫ２９３－６Ｅ一過性発現系

細胞株の維持：

ＨＥＫ２９３－６Ｅ細胞は、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｃｏｕｎｃｉｌ Ｃａｎａｄａから得た。細胞は、３７℃、５％CO_2、振とう型プラットフォームを伴う、８０％の加湿式インキュベーター内の、０．１％のＫｏｌｌｉｐｈｏｒ－Ｐ１８８および４ｍＭのＬ－グルタミン（Ｇｉｂｃｏ、ＵＳＡ）および２５μｇ／ｍｌのＧ－４１８を補充した、無血清、無タンパク質、既知組成のＦｒｅｅｓｔｙｌｅ Ｆ１７培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＵＳＡ）中で培養した。

トランスフェクション：

ＨＥＫ２９３－６Ｅ細胞に、その製造元のプロトコールに従い、ＰＥＩｐｒｏ（商標）（Ｐｏｌｙｐｌｕｓ、ＵＳＡ）を使用して、発現プラスミドをトランスフェクトした。略述すると、遠心分離により、抗生剤を除去するように、維持状態の細胞を、培地交換にか

け、細胞ペレットを、トランスフェクションの１日前に、抗生剤を伴わない新鮮培地と共に再懸濁させた。トランスフェクション日に、各トランスフェクションのために、１ｍｌ当たりの生存細胞１．５～２×１０^{6}個を、シェーカーフラスコ内に播種した。ＤＮＡとＰＥＩｐｒｏ（商標）とを、１：１の比で混合し、細胞へと添加する前に、ＲＴで、５分間にわたり、Ｆ１７培地中で、複合体を形成させた。トランスフェクションの２４～４８時間後に、０．５％（ｗ／ｖ）のＴｒｙｐｔｏｎｅ　Ｎ１を、トランスフェクタントへとフィードした。トランスフェクタントを、４０００×ｇで、１５分間にわたる、６～７日目により採取し、上清を、０．２２μｍの滅菌フィルターユニットを通して濾過した。

【０８２３】

細胞に、以下の組合せのポリペプチドをコードするベクターをトランスフェクトした。

【０８２４】

【表４－１】

抗原結合性分子	ポリペプチド	抗体
[1]	4M2-C12 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 212) + 4M2-C12 VL-Cκ (配列番号 213)	抗 VISTA クローンである、4M2-C12 IgG1
[2]	4M2-B4 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 214) + 4M2-B4 VL-Cκ (配列番号 215)	抗 VISTA クローンである、4M2-B4 IgG1
[3]	V4H1 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 216) + V4H1 VL-Cκ (配列番号 217)	抗 VISTA クローンである、V4H1 IgG1
[4]	V4H2 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 218) + V4H2 VL-Cκ (配列番号 219)	抗 VISTA クローンである、V4H2 IgG1
[5]	2M1-B12 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 220) + 2M1-B12 VL-Cκ (配列番号 221)	抗 VISTA クローンである、2M1-B12 IgG1
[6]	4M2-C9 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 222) + 4M2-C9 VL-Cκ (配列番号 223)	抗 VISTA クローンである、4M2-C9 IgG1
[7]	2M1-D2 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 224) + 2M1-D2 VL-Cκ (配列番号 225)	抗 VISTA クローンである、2M1-D2 IgG1
[8]	4M2-D9 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 226) + 4M2-D9 VL-Cκ (配列番号 227)	抗 VISTA クローンである、4M2-D9 IgG1
[9]	1M2-D2 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 228) + 1M2-D2 VL-Cκ (配列番号 229)	抗 VISTA クローンである、1M2-D2 IgG1
[10]	5M1-A11 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 230) + 5M1-A11 VL-Cκ (配列番号 231)	抗 VISTA クローンである、5M1-A11 IgG1
[11]	4M2-D5 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 232) + 4M2-D5 VL-Cκ (配列番号 233)	抗 VISTA クローンである、4M2-D5 IgG1

【０８２５】

【表４－２】

[12]	4M2-A8 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 234) + 4M2-A8 VL-Cκ (配列番号 235)	抗 VISTA クローンである、4M2-A8 IgG1
[13]	9M2-C12 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 236) + 9M2-C12 VL-Cκ (配列番号 237)	抗 VISTA クローンである、9M2-C12 IgG1
[14]	13D5p VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 238) + 13D5p VL-Cκ (配列番号 239)	抗 VISTA クローンである、13D5p IgG1
[15]	13D5-1　VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 240) + 13D5-1 VL-Cκ (配列番号 241)	抗 VISTA クローンである、13D5-1 IgG1
[16]	13D5-13 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 242) + 13D5-13 VL-Cκ (配列番号 243)	抗 VISTA クローンである、13D5-13 IgG1

２．３　抗体の精製

アフィニティー精製、緩衝液交換、および保管：

トランスフェクトされた細胞により、培養物上清へと分泌された抗体は、液体クロマトグラフィーシステムである、ＡＫＴＡ　Ｓｔａｒｔ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、ＵＫ）を使用して精製した。具体的には、上清を、ＨｉＴｒａｐプロテインＧカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、ＵＫ）へと、５ｍｌ／分の結合速度でロードするのに続き、カラムを、１０カラム容量の洗浄緩衝液（２０ｍＭのリン酸ナトリウム、ｐＨ７．０）で洗浄した。結合したｍＡｂを、溶出緩衝液（０．１Ｍのグリシン、ｐＨ２．７）により溶出させ、溶出液を、適量の中和緩衝液（１Ｍのトリス、ｐＨ９）を含有する回収チューブへと分画した。カットオフ分子量（ＭＷＣＯ）３０Ｋタンパク質濃縮器（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ、ＵＳＡ）またはＭＷＣＯ　３，５Ｋ透析カセット（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ、ＵＳＡ）を使用して、精製されたｍＡｂを含有する、中和溶出緩衝液を、ＰＢＳへと交換した。０．２２μｍのフィルターを通すことにより、モノクローナル抗体を滅菌し、アリコート分割し、保管のために、－８０℃で凍結させた。

２．４　抗体純度解析

サイズ除外クロマトグラフィー（ＳＥＣ）：

抗体純度を、ＡＫＴＡ　Ｅｘｐｌｏｒｅｒ液体クロマトグラフィーシステム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、ＵＫ）上の、ＰＢＳランニング緩衝液中で、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ　２００　１０／３０　ＧＬカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、ＵＫ）を使用する、サイズ除外クロマトグラフィー（ＳＥＣ）により解析した。５００μｌのＰＢＳ　ｐＨ７．２中に、１５０μｇの抗体を、室温、０．７５ｍｌ／分の流量で、カラムへと注入した。タンパク質を、それらの分子量に従い溶出させた。

【０８２６】

抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４（実施例２．２の［１］）についての結果を、図１０に示す。

ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）：

抗体純度もまた、標準的な方法に従う、還元条件下および非還元条件下における、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより解析した。略述すると、Ｍｉｎｉ－Ｐｒｏｔｅａｎ　Ｅｌｅｃｔｒｏ

ｐｈｏｒｅｓｉｓシステム（Ｂｉｏ－Ｒａｄ、ＵＳＡ）を使用して、タンパク質を分解するのに、４％～２０％のＴＧＸタンパク質ゲル（Ｂｉｏ－Ｒａｄ、ＵＳＡ）を使用した。非還元条件のために、ゲルへとロードする前に、２倍濃度のＬａｅｍｍｌｉ試料緩衝液（Ｂｉｏ－Ｒａｄ、ＵＳＡ）と混合することにより、タンパク質試料を変性させ、９５℃で、５～１０分間にわたり煮沸した。還元条件のために、５％のβ－メルカプトエタノール（βＭＥ）または４０ｍＭのＤＴＴ（ジチオトレイトール）を含有する、２倍濃度の試料緩衝液を使用した。電気泳動は、１５０Ｖの一定電圧下、ＳＤＳランニング緩衝液（２５ｍＭのトリス、１９２ｍＭのグリシン、１％のＳＤＳ、ｐＨ８．３）中、１時間にわたり行った。

ウェスタンブロット：

タンパク質試料（３０μｇ）を、上記で記載した通りに、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより分画し、ニトロセルロース膜へと転写した。次いで、膜をブロッキングし、４℃で、一晩にわたり、抗体による免疫ブロットにかけた。次いで、ＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎ中、３回にわたり洗浄した後、膜を、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）コンジュゲート二次抗体と共に、室温で、１時間にわたりインキュベートした。結果は、化学発光による、Ｐｉｅｒｃｅ　ＥＣＬ基質ウェスタンブロット検出システム（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、ＵＳＡ）によって視覚化し、オートラジオグラフィーフィルム（Ｋｏｄａｋ　ＸＡＲフィルム）へと曝露した。

【０８２７】

検出のために使用される一次抗体は、ヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）抗体（ＬＩ－ＣＯＲ；型番：９２６～３２２１０）であった。

【０８２８】

抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４（実施例２．２の［１］）についての結果を、図１１に示す。Ｖ４は、高濃度で、容易に発現され、精製され、加工された。

【０８２９】

実施例３

生物物理的特徴付け

３．１　フローサイトメトリーによる、細胞表面における抗原結合についての解析

野生型ＨＥＫ２９３細胞（高レベルのＶＩＳＴＡを発現させない）、およびヒトＶＩＳＴＡをコードするベクターをトランスフェクトされたＨＥＫ２９３細胞（すなわち、ＨＥＫ　２９３　ＨＥＲ　Ｏ／Ｅ細胞）を、２０μｇ／ｍｌの抗ＶＩＳＴＡ抗体またはアイソタイプ対照抗体と共に、４℃で、１時間にわたりインキュベートした。ＷＯ２０１５／０９７５３６において記載された、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、ＶＳＴＢ１１２を、陽性対照として、解析に組み入れた。

【０８３０】

細胞を、ＦＡＣＳ緩衝液（５ｍＭのＥＤＴＡと、０．５％のＢＳＡとを伴うＰＢＳ）で、３回にわたり洗浄し、ＦＩＴＣコンジュゲート抗ＦＣ抗体（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＵＳＡ）中、２～８℃で、４０分間にわたり再懸濁させた。細胞を再度洗浄し、ＭＡＣＳＱｕａｎｔ　１０（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ、Ｇｅｒｍａｎｙ）を使用して、フローサイトメトリー解析のために、２００μＬのＦＡＣＳフロー緩衝液（５ｍＭのＥＤＴＡを伴うＰＢＳ）中に再懸濁させた。収集の後、Ｆｌｏｗｌｏｇｉｃソフトウェアを使用して、全ての生データを解析した。前方および側方散乱のプロファイルを使用して、細胞にゲートをかけ、蛍光強度中央値（ＭＦＩ）の値を、天然および過剰発現細胞集団について決定した。

【０８３１】

結果を、図１Ａ～１Ｄ、図２、および図２４に示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体は、ヒトＶＩＳＴＡに、高度の特異性で結合することが示された。

【０８３２】

別個の実験では、１３Ｄ５ｐ（実施例２．２の［１４］）を、カニクイザルＶＩＳＴＡまたはマウスＶＩＳＴＡをコードするベクターをトランスフェクトされた細胞に結合する

、その能力について解析した。１３Ｄ５ｐは、カニクイザルＶＩＳＴＡおよびマウスＶＩＳＴＡとの交差反応性を呈することが見出された。

３．２　Ｏｃｔｅｔ　ＱＫ３８４システムを使用する、グローバルアフィニティー研究

Ｏｃｔｅｔ　ＱＫ３８４システム（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）を使用して、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）実験を実施した。抗５×ＨＩＳ（ＨＩＳ１Ｋ）でコーティングされたバイオセンサーチップ（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ、ＵＳＡ）を使用して、Ｈｉｓタグ付けした、ヒト、カニクイザル、またはマウスＶＩＳＴＡを捕捉した（２７０ｎＭ）。全ての測定は、２５℃、１０００ｒｐｍで攪拌しながら実施した。抗原への結合についての反応速度の測定は、抗ＶＩＳＴＡ抗体を、異なる濃度（図に表示の）で、１２０秒間にわたりロードするのに続き、１２０秒間の解離時間を置き、バイオセンサーを、アッセイ緩衝液を含有するウェルへと導入することにより実施した。緩衝液効果について、センサーグラムを参照し、次いで、Ｏｃｔｅｔ　ＱＫ３８４ユーザーソフトウェア（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ、ＵＳＡ）を使用して当てはめた。反応速度応答は、１部位結合モデルを使用するグローバルフィッティングにかけて、会合速度定数（ｋｏｎ）、解離速度定数（ｋｏｆｆ）、および平衡解離定数（ＫＤ）についての値を得た。ソフトウェアにより、信頼できる形で（R^2＞０．９０）当てはめうる曲線だけを、解析に組み入れた。

【０８３３】

抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４（すなわち、実施例２．２の［１］）による結合についての解析のための、代表的なセンサーグラムを、図３Ａ～３Ｃに示す。

【０８３４】

抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４は、ヒトおよびカニクイザルＶＩＳＴＡに、K_D≦１ｐＭのアフィニティーで結合し、マウスＶＩＳＴＡに、K_D＝１１３ｎＭのアフィニティーで結合することが見出された。

３．３　抗体の特異性を決定するためのＥＬＩＳＡ

ＥＬＩＳＡを使用して、抗体の結合特異性を決定した。抗ＶＩＳＴＡ抗体を、ヒトＶＩＳＴＡポリペプチド、それぞれの、マウスおよびカニクイザルの相同体、ならびにヒトＰＤ－Ｌ１およびヒトＨＥＲ３（Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｃ．、Ｃｈｉｎａ）への結合について解析した。

【０８３５】

ＥＬＩＳＡを、標準的なプロトコールに従い行った。略述すると、９６ウェルプレート（Ｎｕｎｃ、Ｄｅｎｍａｒｋ）を、３７℃で、２時間にわたり、リン酸緩衝生理食塩液（ＰＢＳ）中に１μｇ／ｍｌの標的タンパク質によりコーティングした。トリス緩衝液生理食塩液（ＴＢＳ）中、１０％のＢＳＡによる、室温で、１時間にわたるブロッキングの後、被験抗体を、最高濃度を３０μｇ／ｍｌとして系列希釈（１２点の系列希釈）し、プレートへと添加した。室温で、１時間にわたるインキュベーション後、プレートを、０．０５％のＴｗｅｅｎ　２０を含有するＴＢＳ（ＴＢＳ－Ｔ）で、３回にわたり洗浄し、次いで、ＨＲＰコンジュゲート抗マウスＩｇＧ抗体（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｉｎｃ．、ＵＳＡ）と共に、室温で、１時間にわたりインキュベートした。洗浄の後、プレートを、比色検出基質である、３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン（Ｔｕｒｂｏ－ＴＭＢ；Ｐｉｅｒｃｅ、ＵＳＡ）により、室温で、１５分間にわたり現像した。２ＭのH_2SO_4で、反応を停止させ、３０分以内に、４５０ｎｍで、ＯＤを測定した。

【０８３６】

抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４（実施例２．２の［１］）により得られた結果を、図４Ａに示す。クローンである、Ｖ４は、ヒト、カニクイザル、およびマウスＶＩＳＴＡに結合することが可能であることが見出されたが、ヒトＰＤ－Ｌ１またはヒトＨＥＲ３との交差反応性を呈さなかった（極めて高濃度であってもなお）。

【０８３７】

抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５－１（実施例２．２の［１５］）により得られた結果を、図２０に示す。クローンである、１３Ｄ５－１は、ヒト、カニクイザル、およびマウスＶＩＳＴＡに結合することが可能であることが見出された。

【０８３８】
抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５－１３（実施例２．２の［１６］）により得られた結果を、図２１に示す。クローンである、１３Ｄ５－１３は、ヒトおよびマウスＶＩＳＴＡに結合することが可能であることが見出された。
【０８３９】
さらなる実験では、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４（実施例２．２の［１］）を、ＥＬＩＳＡにより、ヒトの、ＶＩＳＴＡ、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７、およびＣＴＬＡ４に結合する能力について解析した。結果を、図４Ｃに示す。クローンである、Ｖ４は、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７、またはＣＴＬＡ４のうちのいずれとも交差反応しないことが見出された。
３．４　示差走査蛍光測定法による、熱安定性についての解析
略述すると、０．２ｍｇ／ｍＬの、３連の抗体反応ミックス、およびＳＹＰＲＯ　Ｏｒａｎｇｅ色素（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を、２５μＬのＰＢＳ中で調製し、ＭｉｃｒｏＡｍｐ　Ｏｐｔｉｃａｌ　９６ウェル反応プレート（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）のウェルへと移し、ＭｉｃｒｏＡｍｐ　Ｏｐｔｉｃａｌ　Ａｄｈｅｓｉｖｅ　Ｆｉｌｍ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）でシーリングした。ＴＡＭＲＡを、レポーターとして選択し、ＲＯＸを、受動参照として選択して、溶融曲線解析を、７５００　ｆａｓｔ　Ｒｅａｌ－Ｔｉｍｅ　ＰＣＲシステム（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）において実行した。熱プロファイルは、傾斜率を１．２％として、２５℃で、２分間の初期ステップと、９９℃で、２分間の最終ステップとを含んだ。生データの一次微分を、温度の関数としてプロットして、微分溶融曲線を得た。抗体の溶融温度（Ｔｍ）は、微分曲線のピークから抽出した。
【０８４０】
抗体クローンである、Ｖ４のＩｇＧ１フォーマット（すなわち、実施例２．２の［１］）の熱安定性に対する、示差走査蛍光測定解析について得られた生データの一次微分を、図９に示す。Ｔｍを、６７．５℃であると決定した。
【０８４１】
実施例４
機能的特徴付け
４．１　ＶＩＳＴＡとＶＳＩＧ－３との相互作用
本発明者らは、ＶＳＩＧ－３が、ＶＩＳＴＡに対するリガンドとして振る舞うのかどうかについて、Ｏｃｔｅｔ　ＱＫ３８４システム（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）を使用する、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）解析により調べた。略述すると、抗ヒトＦｃ捕捉バイオセンサーを使用して、１００ｎＭの濃度の、Ｆｃタグ付けＶＳＩＧ－３を捕捉し、捕捉されたＶＳＩＧ－３の、３０００ｎＭから始まり、３つの系列希釈を後続させる濃度で適用されたＶＩＳＴＡとの会合を測定し、ＰＢＳ対照と比較した。
【０８４２】
代表的なセンサーグラムを、図５に示す。ＶＳＩＧ－３と、ＶＩＳＴＡとの会合のアフィニティーを、K_D　５．２８μＭであると計算した。
【０８４３】
本発明者らは、次に、抗ＶＩＳＴＡ抗体が、ＶＩＳＴＡとＶＳＩＧ－３との相互作用を阻害する能力について解析した。
【０８４４】
略述すると、９６ウェルプレート（Ｎｕｎｃ、Ｄｅｎｍａｒｋ）を、４℃で、１６時間にわたり、１倍濃度のＰＢＳ中に、１μｇ／ｍｌの、非タグ付けまたはＦｃタグ付けＶＳＩＧ－３（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、ＵＳＡ）によりコーティングした。ＴＢＳ中１％のＢＳＡによる、室温で、１時間にわたるブロッキングの後、１５μｇ／ｍｌのＶＩＳＴＡ／ヒトＨｉｓタグ付け融合タンパク質（Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｃ．、Ｃｈｉｎａ）を、濃度を増大させる、抗ＶＩＳＴＡ抗体の存在下または非存在下で添加し、

室温で、１時間にわたり、インキュベートした。その後、プレートを、ＴＢＳ－Ｔで、３回にわたり洗浄し、次いで、ＨＲＰコンジュゲート抗Ｈｉｓ二次抗体と共に、室温で、１時間にわたりインキュベートした。洗浄の後、プレートを、比色検出基質である、Ｔｕｒｂｏ－ＴＭＢ（Ｐｉｅｒｃｅ、ＵＳＡ）で現像した。２ＭのH_2SO_4で、反応を停止させ、４５０ｎｍで、ＯＤを測定した。

【０８４５】

抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、５Ｍ１－Ａ１１および９Ｍ２－Ｃ１２（実施例２．２の［１０］および［１３］）について得られた結果を、図６に示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体は、ＶＩＳＴＡとＶＳＩＧ－３との相互作用の、用量依存性阻害を呈した。

【０８４６】

さらなる実験では、４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１（実施例２．２の［１］）による、ＶＩＳＴＡとＶＳＩＧ－３との相互作用の阻害について解析した。無関係な標的抗原に特異的な抗体、およびヒトＩｇＧ１アイソタイプ対照による、ＶＩＳＴＡ：ＶＳＩＧ－３間相互作用の阻害もまた、対照条件として解析した。結果を、図３２に示す。４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１は、ＶＩＳＴＡ：ＶＳＩＧ－３間相互作用を、用量依存的に阻害することが見出された。

【０８４７】

さらなる実験では、４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１（実施例２．２の［１］）による、ＶＩＳＴＡとＶＳＩＧ－３との相互作用の阻害を、ＶＩＳＴＡ－Ｆｃを、捕捉剤として使用するアッセイにおいて解析した。略述すると、３８４ウェルプレートのウェルを、０．５μｇ／ｍｌのＶＩＳＴＡ－Ｆｃ　３０μｌにより、室温で、１時間にわたりコーティングした。プレートを、ＰＢＳ－Ｔで洗浄し、室温で、ＴＢＳ中に１％のＢＳＡにより、１時間にわたりブロッキングした。４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１またはヒトＩｇＧ１アイソタイプ対照抗体の系列希釈液を、０．３μｇ／ｍｌのＶＩＳＧ３－Ｈｉｓと併せて、プレートへと添加した。室温で、１時間にわたるインキュベーションの後、プレートを、ＰＢＳ－Ｔで、５回にわたり洗浄し、ヤギ抗ＨＩＳ－ＨＲＰと共に、室温で、１時間にわたりインキュベートした。プレートを、ＰＢＳ－Ｔで、５回にわたり洗浄し、Ｔｕｒｂｏ－ＴＭＢで現像した。２ＭのH_2SO_4で、反応を停止させ、４５０ｎｍで、ＯＤを測定した。

【０８４８】

結果を、図５４に示す。４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１は、ＶＩＳＴＡ：ＶＳＩＧ－３間相互作用を、用量依存的に阻害することが見出された。

４．２　ＶＩＳＴＡと、ＰＳＧＬ－１との相互作用

本発明者らは、次に、ＰＳＧＬ－１が、ＶＩＳＴＡに対するリガンドとして振る舞うのかどうかについて、フローサイトメトリーベースのアッセイにおいて調べた。

【０８４９】

略述すると、ヒトＶＩＳＴＡタンパク質を過剰発現させるように修飾された（ヒトＶＩＳＴＡをコードする構築物のトランスフェクションにより）ＨＥＫ２９３Ｔ細胞１００，０００個を、ＨＢＳＳ、０．５％のＢＳＡ、および２ｍＭのＥＤＴＡ　ｐＨ６．０を含む緩衝液中、４℃で１５分間にわたり、濃度を、２０μｇ／ｍｌ、４０μｇ／ｍｌ、または８０μｇ／ｍｌとする、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（実施例２．２の［１］）またはアイソタイプとマッチさせた対照抗体と共インキュベートした。次いで、１５μｇ／ｍｌのＦｃタグ付けヒトＰＳＧＬ１（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、型番：３３４５－ＰＳ）または同じ量のＦｃタグ付け無関係な抗原を、細胞へと添加し、次いで、これを、４℃で、さらに４５分間にわたりインキュベートした。その後、細胞を、緩衝液で３回にわたり洗浄し、次いで、ＦＩＴＣコンジュゲート抗ＰＳＧＬ１抗体（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ；型番：１３０－１０４－７０６）を、１：１１の希釈倍率で添加するか、またはＡｌｅｘ４８８コンジュゲート抗Ｆｃ抗体を、１：２００の希釈倍率で添加し、細胞を、４℃で１５分間にわたりインキュベートした。次いで、細胞を、緩衝液で３回にわたり洗浄し、フローサイトメトリーにより解析した。

【０８５０】

結果を、図５５に示す。４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１は、ＰＳＧＬ－１の、ＶＩＳＴＡへの結合を、用量依存的に阻害することが見出された。

４．３　ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達の阻害

本発明者らは、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５ｐが、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達を阻害しうるのかどうかについて、混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイを使用する解析により調べた。

【０８５１】

略述すると、製造元の指示書に従い、Ｓｅｐｔａｍａｔｅキット（ＳｔｅｍｃｅｌｌＴｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｃａｎａｄａ）を使用して、ＰＢＭＣを、非血縁ドナーから単離した（刺激因子およびエフェクター集団を得るために）。刺激細胞を、３７℃で２０分間にわたり、５０μｇ／ｍＬのマイトマイシンＣ（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ、ＵＳＡ）により処理し、１倍濃度のＰＢＳにより、５回にわたり洗浄した後で使用した。刺激因子集団を、ウェル１つ当たりの細胞０．５×10^5個、レスポンダー集団を、ウェル１つ当たりの細胞１．０×10^5個で、２０μｇ／ｍｌの最高濃度から濃度を増大させる、被験抗体の存在下または非存在下において播種した。５日後、上清を採取し、ＩＬ－１７、ＩＬ－２Ａ、およびＩＦＮ－γのレベルを、標準的なプロトコールに従うＥＬＩＳＡにより決定した。

【０８５２】

結果を、図７Ａおよび７Ｂに示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体である、１３Ｄ５ｐは、ＩＬ－１７、ＩＬ－２、およびＩＦＮ－γのレベルの増大を結果としてもたらすことが見出された。図８Ａおよび８Ｂは、抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローンである、ＭＩＨ５（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用して、同じアッセイにおいて得られた結果を示す。

【０８５３】

実施例５

ｉｎ　ｖｉｖｏにおける解析

ｉｎ　ｖｉｖｏ研究のために、４Ｍ２－Ｃ１２を、マウスＩｇＧ２ａフォーマットで作製した。分子は、配列番号２４８に示された配列を有する、重鎖ポリペプチドと、配列番号２５０に示された配列を有する、軽鎖ポリペプチドとのヘテロマーである。４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａは、ＣＨＯ細胞内の、重鎖ポリペプチドをコードする核酸と、軽鎖ポリペプチドをコードする核酸との共発現により作製し、その後、精製した。

【０８５４】

【表５】

抗原結合性分子	ポリペプチド	抗体
[17]	4M2-C12 mIgG2a HC (配列番号 248) + 4M2-C12 CL (配列番号 250)	4M2-C12 mIgG2a

５．１　薬物動態解析

約６～８週齢のＣ５７ＢＬ／６マウスは、特定の無病原体条件下で飼育し、Ｉｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　Ａｎｉｍａｌ　Ｃａｒｅ　ａｎｄ　Ｕｓｅ　Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅ（ＩＡＣＵＣ）ガイドラインに準拠して処置した。

【０８５５】

６００μｇの抗ＶＩＳＴＡ抗体を投与し、血液は、３匹のマウスから、心臓穿刺により、ベースライン（－２時間後）、０．５時間後、投与の６時間後、２４時間後、９６時間後、１６８時間後、および３３６時間後に得た。血清中の抗体を、ＥＬＩＳＡにより定量した。

【０８５６】
薬物動態解析のためのパラメータ：最大濃度（C_{max}）、ＡＵＣ（０～３３６時間）、ＡＵＣ（０～無限大）、半減期（$t_{1/2}$）、クリアランス（ＣＬ）、定常状態における分布容積（V_{ss}）は、非コンパートメントモデルから導出した。
【０８５７】
抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４（実施例５の［１７］）について得られた結果を、図１２に示す。この抗体クローンは、１１．７日間の半減期を有することが見出された。
５．２　ｉｎ　ｖｉｖｏにおける、がんを処置する有効性についての解析
約６～８週齢の、雌ＢＡＬＢ／ｃまたはＣ５７ＢＬ／６マウスを、ＩｎＶｉｖｏｓ（Ｓｉｎｇａｐｏｒｅ）から購入した。動物は、特定の無病原体条件下で飼育し、Ｉｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　Ａｎｉｍａｌ　Ｃａｒｅ　ａｎｄ　Ｕｓｅ　Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅ（ＩＡＣＵＣ）ガイドラインに準拠して処置した。
【０８５８】
研究で使用される細胞株は、ＡＴＣＣから得られる、ＬＬ２細胞（Ｌｅｗｉｓ肺癌）、４Ｔ１細胞（乳がん）、ＣＴ２６細胞（結腸癌）、Ｃｌｏｎｅ－Ｍ３細胞（黒色腫）、およびＥＬ４細胞（Ｔ細胞白血病／リンパ腫）を含んだ。Ｂ１６－ＢＬ６細胞（黒色腫）は、Ｃｒｅａｔｉｖｅ　Ｂｉｏａｒｒａｙから得た。細胞株は、供給元の指示書に従い維持し、ＬＬ２細胞、Ｂ１６－ＢＬ６細胞、およびＥＬ４細胞は、１０％のウシ胎仔血清（ＦＢＳ）および１％のＰｅｎ／Ｓｔｒｅｐを補充したＤＭＥＭ中で培養し、４Ｔ１細胞およびＣＴ２６細胞は、１０％のＦＢＳおよび１％のＰｅｎ／ＳｔｒｅｐＳｔｒｅｐを補充したＲＰＭＩ－１６４０中で培養した。Ｃｌｏｎｅ－Ｍ３細胞は、２．５％のＦＢＳ、１５％のウマ血清、および１％のＰｅｎ／Ｓｔｒｅｐを補充したＦ１２－Ｋ培地中で増殖させた。全ての細胞は、５％のCO_2インキュベーター内、３７℃で培養した。
【０８５９】
同系腫瘍モデルは、ＬＬ２（2×10^5個）、４Ｔ１（5×10^5個）、ＣＴ２６（1×10^5～1×10^6個）、Ｃｌｏｎｅ－Ｍ３（5×10^5個）、ＥＬ４（2×10^5個）、またはＢ１６－ＢＬ６（1×10^5個）細胞を、マウスの右脇腹へと、皮下注入することにより作出した。
【０８６０】
植込みの３日後、抗ＶＩＳＴＡ抗体を、３日ごと、合計６回の投与にわたり、腹腔内投与した。対照群には、同じ用量間隔で、溶媒処置を施した。
【０８６１】
腫瘍体積は、デジタル式キャリパーを使用して、毎週３回測定し、式［Ｌ×Ｗ２／２］を使用して計算した。対照アームの腫瘍が、＞１．５ｃｍの長さと測定されたら、研究の終点に到達したと考えた。
５．２．１　ＣＴ２６細胞モデル
図１３は、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４（実施例５の［１７］）の抗がん効果を、抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローンである、１０Ｆ．９Ｇ２の抗がん効果と、ＣＴ２６細胞株に由来する、同系マウス結腸癌モデルにおいて比較する実験において得られた結果を示す。モデルは、ＣＴ２６細胞１００，０００個の、Ｂａｌｂ／ｃマウス（処置群１つ当たりのマウスのｎ＝８）の右脇腹への皮下注入により確立した。
【０８６２】
Ｖ４または抗ＰＤ－Ｌ１抗体を、３日目から、３日ごとに、投与１回当たり３００μｇで投与した。投与１回当たり３００μｇのＶ４＋３００μｇの抗ＰＤ－Ｌ１抗体による組合せ処置もまた、解析に組み入れた。
【０８６３】
抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４は、このモデルにおいて、高度に強力であり、腫瘍増殖を、約６０％阻害することが可能であることが見出された。
【０８６４】

２１日目に、腫瘍を採取し、ＮｅｗｍａｎらＮａｔ　Ｍｅｔｈｏｄｓ．（２０１５）、１２（５）：４５３～４５７に記載された方法に従う、ＲＮＡ－ｓｅｑ解析により、Ａｒｇ１　ＲＮＡ発現について評価した。結果を、図３９に示す。４Ｍ２－Ｃ１２による処置は、２１日目の腫瘍内における、Ａｒｇ１発現の著明な低減と関連した。

【０８６５】

別の実験では、ＣＴ２６細胞株に由来する、同系マウス結腸癌モデルは、ＣＴ２６細胞１００，０００個の、Ｂａｌｂ／ｃマウス（処置群１つ当たりのマウスのｎ＝８）の右脇腹への皮下注入により確立し、マウスを、３日目から、３日ごとに、投与１回当たり３００μｇの、アイソタイプ対照抗体、抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローンである、１０Ｆ．９Ｇ２、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４（実施例５の［１７］）、抗ＴＩＧＩＴ抗体クローンである、１Ｇ９、抗ＬＡＧ－３抗体クローンである、Ｃ９Ｂ７Ｗ、抗ＴＩＭ－３抗体クローンである、ＲＭＴ３－２３の投与により処置するか、または３００μｇの、抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローン１０Ｆ．９Ｇ２の、３００μｇずつの、他の抗体の各々との組合せ処置もまた、解析に組み入れた。

【０８６６】

１５日目に検出された腫瘍増殖の阻害の計算結果を、図１４に示す。この実験では、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４は、免疫チェックポイント分子に対する他の任意の単剤療法より強力な、腫瘍増殖の阻害剤であることが見出され、抗ＰＤ－Ｌ１療法と組み合わせて、良好な効能を及ぼすことが見出された。

【０８６７】

次いで、本発明者らは、ＣＴ２６腫瘍を、同じ方式で確立する、さらなる実験を実施し、マウスに、隔週で、３００μｇの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４、２００μｇの、抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローンである、１０Ｆ．９Ｇ２、３００μｇの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４＋２００μｇの、抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローンである、１０Ｆ．９Ｇ２、または対照条件としてのＰＢＳを投与した。実験の終了時に、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、ＮｅｗｍａｎらＮａｔ　Ｍｅｔｈｏｄｓ．（２０１５）、１２（５）：４５３～４５７において記載された方法に従い、腫瘍を、ＲＮＡ－ｓｅｑにより解析して、ＭＤＳＣ、ＣＤ８＋ Ｔ細胞、およびＴｒｅｇの相対数を決定した。

【０８６８】

結果を、図１５に示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４（単独の、または抗ＰＤ－Ｌ１処置と組み合わせた）による処置は、ＭＤＳＣの数を低減し、ＣＤ８　Ｔ細胞：Ｔｒｅｇ比を増大させることが見出された。抗ＶＩＳＴＡ抗体による処置と関連する、腫瘍微小環境内の、遺伝子発現の変化についての解析もまた、食作用過程（例えば、アクチンフィラメントベースの運動）に関与する遺伝子の発現の上方調節、およびアルギナーゼ１の発現の下方調節（免疫抑制性でない環境を結果としてもたらす）を明らかにした。

【０８６９】

さらなる実験では、ＣＴ２６細胞株に由来する、同系マウス結腸癌モデルを、上記で記載した通りに、Ｂａｌｂ／Ｃマウスにおいて確立し、マウスに、３日目から、３日ごとに、（ｉ）６００μｇの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５－１、（ｉｉ）２００μｇの、抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローンである、１０Ｆ．９Ｇ２、（ｉｉｉ）６００μｇの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５－１＋２００μｇの、抗ＰＤ－Ｌ１抗体クローンである、１０Ｆ．９Ｇ２、または（ｉｖ）等容量のＰＢＳ（陰性対照としての）を投与した。

【０８７０】

結果を、図２２に示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５－１（単独の、または抗ＰＤ－Ｌ１処置と組み合わせた）は、このモデルにおいて、腫瘍増殖を阻害することが可能であることが見出された。

５．２．２　ＬＬ２細胞モデル

ＬＬ２モデルは、ＬＬ２細胞２００，０００個の、Ｂａｌｂ／ｃマウス（処置群１つ当たりのマウスのｎ＝８）の右脇腹への皮下注入により確立し、その後、マウスに、隔週で

、６００μｇの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４（実施例５の［１７］）、または陰性対照としての、等容量の溶媒を投与した。

【０８７１】

実験の結果を、図１６に示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４は、このモデルにおいて、高度に強力であり、腫瘍増殖を、約４４％阻害することが可能であることが見出された。

５．２．３　Ｂ１６－ＢＬ６細胞モデル

Ｂ１６－ＢＬ６モデルは、Ｂ１６－ＢＬ６細胞２００，０００個の、Ｃ５７ＢＬ／６マウス（処置群１つ当たりのマウスのｎ＝８）の右脇腹への皮下注入により確立し、その後、マウスに、隔週（合計６回の投与にわたる）で、６００μｇの抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４（実施例５の［１７］）、２００μｇの抗ＰＤ－１抗体である、ＲＭＰ１－１４（Ｂｉｏ　Ｘ　Ｃｅｌｌ）、６００μｇの抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４＋２００μｇの抗ＰＤ－１抗体、または陰性対照としての、等容量の溶媒を投与した。

【０８７２】

実験の結果を、図１７に示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４は、このモデルにおいて、抗ＰＤ－１抗体処置と組み合わせて、高度に強力であることが見出された。

５．２．４　４Ｔ１細胞モデル

４Ｔ１細胞株に由来する、同系マウス乳癌モデルは、Ｂａｌｂ／ｃマウスにおける、４Ｔ１細胞２５０，０００個の、右脇腹への皮下注入により確立した。

【０８７３】

その後、マウスに、３日目から、３日ごとに（合計６回の投与にわたり）、３００または６００μｇの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５－１、アイソタイプ対照抗体、または陰性対照としての、等容量の溶媒を投与した。

【０８７４】

実験の結果を、図２３に示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、１３Ｄ５－１は、このモデルにおいて、高度に強力であり、腫瘍増殖を、約７０％阻害することが可能であることが見出された。

５．３　安全性についての薬理学、毒性学、および免疫毒性

抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４、ならびにヒト化バージョンである、Ｖ４Ｈ１およびＶ４Ｈ２を、ＩＭＧＴ　ＤｏｍａｉｎＧａｐＡｌｉｇｎ（Ｅｈｒｅｎｍａｎｎら、Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．、３８、Ｄ３０１～３０７（２０１０））およびＩＥＤＢ脱免疫化（Ｄｈａｎｄａら、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ．（２０１８）、１５３（１）：１１８～１３２）ツールを使用して、コンピュータにより、安全性および免疫原性について解析した。

【０８７５】

抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４Ｈ１およびＶ４Ｈ２は、ヒト重鎖および軽鎖に対して、ヒト化されたと考えるのに十分な（すなわち、＞８５％の）相同性を有し、潜在的な免疫原性ペプチドの数が、安全であると考えるのに十分なほど少なく、潜在的な開発可能性問題を引き起こしうる、他の特性を所有しなかった。

【０８７６】

本発明者らまた、実施例５．２に記載される実験の経過中に、マウスを秤量し、肉眼剖検による徴候についても解析したが、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４で処置されたマウスは、ＰＢＳで処置された対照マウスとの差違を呈さなかった。図４４は、実施例５．２．１に記載された研究の経過中に得られた結果を示す。

【０８７７】

本発明者らは、マウスに、９００μｇの、抗ＶＩＳＴＡ抗体クローンである、Ｖ４、または等容量のＰＢＳの単回投与用量を注射する実験において、血液毒性についてさらに調べた。

【０８７８】

血液試料を得、ＨＭ５　Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ　Ａｎａｌｙｓｅｒを使用して、異なる

種類の白血球の数について解析した。結果を、図１８に示すが、多数の異なる細胞型は、Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒによる参照範囲内にあり、Ｖ４処置群と、ＰＢＳ処置群との間で異ならず、異なる群間で、臨床徴候、肉眼剖検、または体重の差違は検出されなかった。

【０８７９】

マウスはまた、肝毒性および腎毒性の相関因子についても解析され、結果を、図１９に示す。検出されたレベルは、Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒによる参照範囲内にあり、Ｖ４処置群と、ＰＢＳ処置群との間で異ならなかった。

５．４　進行性充実性腫瘍の処置

ヒトにおける第一段階

標準治療による処置の後で、疾患の進行または処置の不忍容を示すが、十分な臓器機能およびＥＣＯＧ　ＰＳを示す、進行性または転移性の充実性腫瘍を伴う患者を、安全性補正型「Ｍｉｎｉｍａｌ　Ａｎｔｉｃｉｐａｔｅｄ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｅｆｆｅｃｔ　Ｌｅｖｅｌ」（ＭＡＢＥＬ）法に従い計算された用量における、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、Ｖ４（実施例２．２の［１］）、Ｖ４Ｈ１（実施例２．２の［３］）、またはＶ４Ｈ２（実施例２．２の［４］）の静脈内注射により処置する。投与後２８日間にわたり、患者をモニタリングする。

【０８８０】

次いで、Ｃｏｍｍｏｎ　Ｔｅｒｍｉｎｏｌｏｇｙ　Ｃｒｉｔｅｒｉａ　ｆｏｒ　Ａｄｖｅｒｓｅ　Ｅｖｅｎｔｓ（ＣＴＣＡＥ）に従い、患者を評価して、処置の安全性および忍容性を決定し、分子の薬物動態を決定した。

【０８８１】

抗ＶＩＳＴＡ抗体による処置は、安全かつ忍容性であることが見出される。

用量漸増：単剤療法

標準治療による処置の後で、疾患の進行または処置の不忍容を示すが、十分な臓器機能およびＥＣＯＧ　ＰＳを示す、進行性または転移性の充実性腫瘍を伴う患者（ｎ＝１８～２４）を、３＋３モデルベースの、ｅｓｃａｌａｔｉｏｎ　ｗｉｔｈ　ｏｖｅｒｄｏｓｅ　ｃｏｎｔｒｏｌ（ＥＷＯＣ）型用量漸増に従う、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、Ｖ４（実施例２．２の［１］）、Ｖ４Ｈ１（実施例２．２の［３］）、またはＶ４Ｈ２（実施例２．２の［４］）の静脈内注射により処置する。

【０８８２】

次いで、ＣＴＣＡＥ（Ｃｏｍｍｏｎ　Ｔｅｒｍｉｎｏｌｏｇｙ　Ｃｒｉｔｅｒｉａ　ｆｏｒ　Ａｄｖｅｒｓｅ　Ｅｖｅｎｔｓ）に従い、患者を評価して、処置の安全性および忍容性を決定し、分子の薬物動態および処置の有効性を評価した。最大耐量（ＭＴＤ）および最大投与量（ＭＡＤ）もまた決定した。

用量漸増：組合せ療法

標準治療による処置の後で、疾患の進行または処置の不忍容を示すが、十分な臓器機能およびＥＣＯＧ　ＰＳを示す、進行性または転移性の充実性腫瘍を伴う患者（ｎ＝９）を、抗ＰＤ－１または抗ＰＤ－Ｌ１抗体（３ｍｇ／ｋｇ）を伴う、３＋３モデルベースの漸増に従い、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、Ｖ４（実施例２．２の［１］）、Ｖ４Ｈ１（実施例２．２の［３］）、またはＶ４Ｈ２（実施例２．２の［４］）により処置する。

【０８８３】

次いで、ＣＴＣＡＥ（Ｃｏｍｍｏｎ　Ｔｅｒｍｉｎｏｌｏｇｙ　Ｃｒｉｔｅｒｉａ　ｆｏｒ　Ａｄｖｅｒｓｅ　Ｅｖｅｎｔｓ）に従い、患者を評価して、処置の安全性および忍容性を決定し、分子の薬物動態および処置の有効性を評価した。

用量拡大

処置された患者を、全応答率、腫瘍マーカーの発現、循環腫瘍細胞、無増悪生存期間、全生存期間、安全性、および忍容性について解析する。

【０８８４】

抗ＶＩＳＴＡ抗体は、安全かつ忍容性であり、がん細胞の数／比率を低減し、腫瘍細胞

マーカーの発現を低減し、無増悪生存期間を延長し、かつ、全生存期間を延長することが可能であることが見出される。

５．５　リンパ腫の処置

ヒトにおける第一段階

リンパ腫（ＮＨＬおよびＨＬ）を伴う患者であって、第一選択の化学療法から利益を得なかった患者、同種幹細胞移植を施されたことがなく、リツキシマブ（ＮＨＬ）およびニボルマブまたはペムブロリズマブ（ＨＬ）に応答する可能性が高い患者を、安全性補正型「Ｍｉｎｉｍａｌ　Ａｎｔｉｃｉｐａｔｅｄ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｅｆｆｅｃｔ　Ｌｅｖｅｌ」（ＭＡＢＥＬ）法に従い計算された用量における、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、Ｖ４（実施例２．２の［１］）、Ｖ４Ｈ１（実施例２．２の［３］）、またはＶ４Ｈ２（実施例２．２の［４］）の静脈内注射により処置する。投与後２８日間にわたり、患者をモニタリングする。

【０８８５】

次いで、Ｃｏｍｍｏｎ　Ｔｅｒｍｉｎｏｌｏｇｙ　Ｃｒｉｔｅｒｉａ　ｆｏｒ　Ａｄｖｅｒｓｅ　Ｅｖｅｎｔｓ（ＣＴＣＡＥ）に従い、患者を評価して、処置の安全性および忍容性を決定し、分子の薬物動態を決定した。

【０８８６】

抗ＶＩＳＴＡ抗体による処置は、安全かつ忍容性であることが見出される。

用量漸増：単剤療法

リンパ腫（ＮＨＬおよびＨＬ）を伴う患者であって、第一選択の化学療法から利益を得なかった患者、同種幹細胞移植を施されたことがなく、リツキシマブ（ＮＨＬ）およびニボルマブまたはペムブロリズマブ（ＨＬ）に応答する可能性が高い患者を、３＋３モデルベースの、ｅｓｃａｌａｔｉｏｎ　ｗｉｔｈ　ｏｖｅｒｄｏｓｅ　ｃｏｎｔｒｏｌ（ＥＷＯＣ）型用量漸増に従う、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、Ｖ４（実施例２．２の［１］）、Ｖ４Ｈ１（実施例２．２の［３］）、またはＶ４Ｈ２（実施例２．２の［４］）の静脈内注射により処置する。

【０８８７】

次いで、Ｃｏｍｍｏｎ　Ｔｅｒｍｉｎｏｌｏｇｙ　Ｃｒｉｔｅｒｉａ　ｆｏｒ　Ａｄｖｅｒｓｅ　Ｅｖｅｎｔｓ（ＣＴＣＡＥ）に従い、患者を評価して、処置の安全性および忍容性を決定し、分子の薬物動態および処置の有効性を査定した。最大耐量（ＭＴＤ）および最大投与量（ＭＡＤ）もまた決定した。

用量漸増：組合せ療法

リンパ腫（ＮＨＬおよびＨＬ）を伴う患者であって、第一選択の化学療法から利益を得なかった患者、同種幹細胞移植を施されたことがなく、リツキシマブ（ＮＨＬ）およびニボルマブまたはペムブロリズマブ（ＨＬ）に応答する可能性が高い患者を、抗ＰＤ－Ｌ１抗体を伴う、３＋３モデルベースの漸増に従う、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、Ｖ４（実施例２．２の［１］）、Ｖ４Ｈ１（実施例２．２の［３］）、またはＶ４Ｈ２（実施例２．２の［４］）の静脈内注射により処置する。

【０８８８】

次いで、Ｃｏｍｍｏｎ　Ｔｅｒｍｉｎｏｌｏｇｙ　Ｃｒｉｔｅｒｉａ　ｆｏｒ　Ａｄｖｅｒｓｅ　Ｅｖｅｎｔｓ（ＣＴＣＡＥ）に従い、患者を評価して、処置の安全性および忍容性を決定し、分子の薬物動態および処置の有効性を査定した。

用量拡大

処置された患者を、全応答率、がん細胞マーカーの発現、循環がん細胞、無増悪生存期間、全生存期間、安全性、および忍容性について解析する。

【０８８９】

抗ＶＩＳＴＡ抗体は、安全かつ忍容性であり、がん細胞の数／比率を低減し、腫瘍細胞マーカーの発現を低減し、無増悪生存期間を延長し、かつ、全生存期間を延長することが可能であることが見出される。

【０８９０】

実施例６
異なるＦｃ領域を含む、ＶＩＳＴＡ結合性抗体の作製および特徴付け
６．１　異なるＦｃ領域を含む、ＶＩＳＴＡ結合性抗体の作製および特徴付け
４Ｍ２－Ｃ１２を、マウスＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧフォーマットで作製した。分子は、配列番号２４９に示された配列を有する、重鎖ポリペプチドと、配列番号２５０に示された配列を有する、軽鎖ポリペプチドとのヘテロマーである。重鎖配列は、配列番号２５３に従い番号付けされた４および５位における、ＣＨ２領域内の、ロイシン（Ｌ）からアラニン（Ａ）への置換と、配列番号２５３に従い番号付けされた９９位における、プロリン（Ｐ）からグリシン（Ｇ）への置換とを含む。これらの置換は、文献において、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、およびＰ３２９Ｇと称され、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｌｏら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ（２０１７）、２９２（９）：３９００～３９０８の、マウスＩｇＧ２ａ　Ｆｃにおいて記載されている。４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧは、ＣＨＯ細胞内の、重鎖ポリペプチドをコードする核酸と、軽鎖ポリペプチドをコードする核酸との共発現により作製し、その後、精製した。
【０８９１】
【表６】

抗原結合性分子	ポリペプチド	抗体
[18]	4M2-C12 mIgG2a LALA PG HC (配列番号 249) + 4M2-C12 CL (配列番号 250)	4M2-C12 mIgG2a LALA PG

４Ｍ２－Ｃ１２はまた、マウスＩｇＧ２ａ　ＮＱフォーマットでも作製した。分子は、配列番号２５８に示された配列を有する、重鎖ポリペプチドと、配列番号２５０に示された配列を有する、軽鎖ポリペプチドとのヘテロマーである。重鎖配列は、配列番号２５３に従う、６７位における、ＣＨ２領域内の、アスパラギン（Ｎ）からグルタミン（Ｑ）への置換を含む。この置換は、文献において、Ｎ２９７Ｑと称され、例えば、Ｌｏら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ（２０１７）、２９２（９）：３９００～３９０８の、マウスＩｇＧ２ａ　Ｆｃにおいて記載されている。４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ　ＮＱは、ＣＨＯ細胞内の、重鎖ポリペプチドをコードする核酸と、軽鎖ポリペプチドをコードする核酸との共発現により作製し、その後、精製した。
【０８９２】
【表７】

抗原結合性分子	ポリペプチド	抗体
[19]	4M2-C12 mIgG2a NQ HC (配列番号 258) + 4M2-C12 CL (配列番号 250)	4M2-C12 mIgG2a NQ

４Ｍ２－Ｃ１２を、マウスＩｇＧ１フォーマットで作製した。分子は、配列番号２６６に示された配列を有する、重鎖ポリペプチドと、配列番号２５０に示された配列を有する、軽鎖ポリペプチドとのヘテロマーである。４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ１は、ＣＨＯ細胞内の、重鎖ポリペプチドをコードする核酸と、軽鎖ポリペプチドをコードする核酸との共発現により作製し、その後、精製した。
【０８９３】

【表８】

抗原結合性分子	ポリペプチド	抗体
[20]	4M2-C12 mIgG1 HC (配列番号 266) + 4M2-C12 CL (配列番号 250)	4M2-C12 mIgG1

６．２　異なるＦｃ領域を含むＶＩＳＴＡ結合性抗体の、Ｆｃ受容体への結合についての解析

異なる抗体フォーマットの４Ｍ２－Ｃ１２の、ヒト、カニクイザル、およびマウスのＶＩＳＴＡタンパク質への結合は、ＥＬＩＳＡを介して査定し、マウスＦｃγ受容体およびマウスＦｃＲｎへの結合は、Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　Ｏｃｔｅｔ　ＱＫ　３８４システムを使用する、ＢＬＩにより査定した。

【０８９４】

ヒスチジンでタグ付けされた、ｍＦｃγＲＩＶ（５００３６－Ｍ０８Ｈ）、ｍＦｃγＲＩＩＩ（５０３２６－Ｍ０８Ｈ）、ｍＦｃγＲＩＩｂ（５００３０－Ｍ０８Ｈ）、およびｍＦｃＲｎ（ＣＴ００９－Ｈ０８Ｈ）は、Ｓｉｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌから得た。抗５×ＨＩＳ（ＨＩＳ１Ｋ）バイオセンサーは、Ｆｏｒｔｅ　Ｂｉｏ（１８－５１２０）から購入した。

【０８９５】

反応速度実験のために、抗５×ＨＩＳバイオセンサーを、ＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．２）中で、６０秒間にわたりインキュベートして、第１のベースラインを得、その後、１２０秒間にわたり、ＰＢＳ（ｐＨ７．２）中に２００ｎＭのｍＦｃγＲＩＶ（ｈＦｃγＲＩＩＩａのオーソログ）、１６０ｎＭのｍＦｃγＲＩＩＩ（ｈＦｃγＲＩＩａのオーソログ）、７５ｎＭのｍＦｃγＲＩＩｂ（ｈＦｃγＲＩＩｂのオーソログ）、または１２０ｎＭのｍＦｃＲｎをロードした。ローディングの後、バイオセンサーを、ＰＢＳ緩衝液（Ｆｃγ受容体については、ｐＨ７．２とし、ＦｃＲｎについては、ｐＨ５．８とする）中で、６０秒間にわたりインキュベートして、第２のベースラインを得、ＰＢＳ（Ｆｃγ受容体については、ｐＨ７．２とし、ＦｃＲｎについては、ｐＨ５．８とする）中に被験抗体の、２倍ずつ６点の系列希釈液（ｍＦｃγ受容体への結合については、２０００ｎＭ～６２．５ｎＭとし、ＦｃＲｎへの結合については、５００ｎＭ～１５．６ｎＭとする）と共に、６０秒間にわたりインキュベートして、会合曲線を得た。最後に、バイオセンサーを、ＰＢＳ（ｍＦｃγＲについては、ｐＨ７．２とし、ｍＦｃＲｎについては、ｐＨ５．８とする）中で、１２０秒間にわたりインキュベートして、解離曲線を得た。反応速度およびアフィニティー定数は、会合および解離データの、１：１に結合モデルへのグローバルフィッティングにより計算した。

【０８９６】

４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ１の、異なるマウスＦｃγ受容体およびマウスＦｃＲｎへの結合についての解析の結果を、図２５Ａ～２５Ｄに示す。

【０８９７】

４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａの、異なるマウスＦｃγ受容体およびマウスＦｃＲｎへの結合についての解析の結果を、図２６Ａ～２６Ｄに示す。２つの個別の実験（１および２；２９Ａ～２９Ｃを参照されたい）を実施したが、図２６Ａ～２６Ｄは、実験２において得られた結果を示す。異なるＦｃγ受容体について検出された結合のレベルは、学術文献において報告されたレベルと同等であった。

【０８９８】

４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧの、異なるマウスＦｃγ受容体およびマウスＦｃＲｎへの結合についての解析の結果を、図２７Ａ～２７Ｄに示す。ｍＦｃγＲ

ＩＶ、ｍＦｃγＲＩＩＩ、およびｍＦｃγＲＩＩｂへの結合のレベルは、無視できる／検出不能のレベルであり、ｍＦｃＲｎへの結合のレベルは、４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａによる、ｍＦｃＲｎへの結合のレベルと同等であった。

【０８９９】

４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａ　ＮＱの、異なるマウスＦｃγ受容体およびマウスＦｃＲｎへの結合についての解析の結果を、図２８Ａ～２８Ｄに示す。

【０９００】

４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ１、４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａ、４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧおよび４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａ　ＮＱについて決定された、異なるＦｃ受容体への結合についての、K_{on}、K_{dis}、およびK_D値を、図２９Ａ～２９Ｃの表にまとめる。

【０９０１】

実施例７

異なるＦｃ領域を含む、ＶＩＳＴＡ結合性抗体についての、ｉｎ　ｖｉｖｏにおける解析

４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａおよび４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧ（実施例６．１を参照されたい）を、ｉｎ　ｖｉｖｏの、同系ＥＬ４　Ｔ細胞白血病／リンパ腫モデルにおいて、がんを処置する有効性について評価した。

【０９０２】

ＥＬ４細胞は、１０％のウマ血清（ＦＢＳ）および１％のＰｅｎ／Ｓｔｒｅｐを補充したＤＭＥＭ中で培養した。細胞は、５％のCO_2インキュベーター内、３７℃で培養した。

【０９０３】

約６週齢のＣ５７ＢＬ／６マウスは、ＩｎＶｉｖｏｓ（Ｓｉｎｇａｐｏｒｅ）から得た。動物は、特定の無病原体条件下で飼育し、Ｉｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　Ａｎｉｍａｌ　Ｃａｒｅ　ａｎｄ　Ｕｓｅ　Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅ（ＩＡＣＵＣ）ガイドラインに準拠して処置した。Ｃ５７ＢＬ／６マウスの右脇腹に、ＥＬ４　Ｔ細胞白血病／リンパ腫細胞2×10^5個を接種した。腫瘍の植込み後、腫瘍が、３５０～４００mm^3のサイズに到達したら、マウスを、以下の処置群：用量を２５ｍｇ／ｋｇとする、ａ）溶媒対照（ＰＢＳ）、ｂ）４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（実施例５の［１７］）、またはｃ）４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ－ＬＡＬＡ　ＰＧ（実施例６の［１８］）へと無作為化した。処置を、３日ごと、合計５回の投与にわたり、腹腔内投与した。

【０９０４】

腫瘍体積は、デジタル式キャリパーを使用して、毎週３回測定し、式［Ｌ×Ｗ２／２］を使用して計算した。溶媒対照処置群の腫瘍が、＞１．５ｃｍの長さと測定されたら、研究の終点に到達したと考えた。

【０９０５】

結果を、図３０Ａ～３０Ｃに示す。研究の最終日（植込み後２３日目）までに、４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ２ａおよび４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧ処置群のいずれにおける平均値腫瘍体積も、信頼できる測定のためのサイズを下回った（＜３０mm^3）。対照的に、溶媒（ＰＢＳ）処置群内のマウスにおける平均腫瘍体積は、１８日目までに、２０００mm^3を超え、全ての動物を安楽死させた。

【０９０６】

したがって、４Ｍ２－Ｃ１２は、ＩｇＧ２ａおよびＩｇＧ２ａ　ＬＡＬＡ　ＰＧのいずれのフォーマットでも、強力な腫瘍増殖の阻害を呈することが見出された。

【０９０７】

高度に確立されたＥＬ４腫瘍保有マウスの、抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２による処置は、単剤療法として、極めて効果的であることが見出され、腫瘍の除去を結果としてもたらした。

【０９０８】

４Ｍ２－Ｃ１２の生物学的活性は、マウスＦｃγ受容体のエンゲージメントに依存しな

いことが見出されたことから、４Ｍ２－Ｃ１２が、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達の阻害を通して、その生物学的活性を及ぼすことが強く示唆される。

【０９０９】

実施例８

抗体が結合するＶＩＳＴＡのエピトープについての解析

抗ＶＩＳＴＡ抗体が、ＶＩＳＴＡへの結合について、互いと競合するのかどうかを決定するように、それらを評価した。

【０９１０】

ＶＳＴＢ１１２は、いくつかの領域内で、ＶＩＳＴＡに結合することが示唆されている。メジャーエピトープは、配列番号１の５９～６８位および８６～９７位（すなわち、配列番号２７１および２７２）に対応することが提起されている。マイナーエピトープは、配列番号１の７１～８４位および１５０～１６６位（すなわち、配列番号２７３および２７４）に対応することが提起されている（例えば、ＷＯ２０１７／１３７８３０Ａ１、例えば、段落［０３０２］を参照されたい）。ＶＳＴＢ１１２については、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１５／０９７５３６Ａ２において記載されている。

【０９１１】

ＩＧＮ１７５Ａは、成熟タンパク質の、最初の３２アミノ酸内で（すなわち、配列番号１の３３～６４位（すなわち、配列番号２７５）内で）、ＶＩＳＴＡに結合すると考えられる。ＩＧＮ１７５Ａについては、例えば、参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１４／１９７８４９Ａ２において記載されている。

【０９１２】

Ｏｃｔｅｔ　ＱＫ３８４システム（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）を使用するＢＬＩにより、エピトープビニング実験を実施した。略述すると、ＰＢＳ中のヒトＶＩＳＴＡ－Ｈｉｓ組換えタンパク質（４．７μｇ／ｍｌ）を、５分間にわたり、抗５×ＨＩＳセンサー（ＨＩＳ１Ｋ、ＦｏｒｔｅＢｉｏ）へと固定化した。ＰＢＳ中のベースラインのシグナルを３０秒間にわたり測定してから、ＰＢＳ中の４００ｎＭの飽和抗体を、１０分間にわたり、１０００ｒｐｍの攪拌速度でロードし、ＰＢＳを使用して、１２０秒間にわたる解離ステップにかけた。その後、バイオセンサーを、ＰＢＳ中に３００ｎＭの競合抗体により、５分間にわたり、１０００ｒｐｍの攪拌速度で処理するのに続き、ＰＢＳを使用して、１２０秒間にわたる解離ステップにかけた。

【０９１３】

実験では、以下の抗原結合性分子：

・ＩｇＧ１フォーマットにおける、４Ｍ２－Ｃ１２（Ｖ４）（実施例２．２の［１］）

・ＩｇＧ１フォーマットにおける、４Ｍ２－Ｃ１２の、ヒト化／アフィニティー成熟型変異体（Ｖ４－Ｃ１）（実施例１３の［２１］）

・ＩＧＮ１７５Ａ　ＩｇＧ１（ＩＧＮ１７５Ａ　ＨＣ（配列番号２６７）＋ＩＧＮ１７５Ａ　ＬＣ（配列番号２６８）を含む）

・ＶＳＴＢ１１２　ＩｇＧ１（ＶＳＴＢ１１２　ＨＣ（配列番号２６９）＋ＶＳＴＢ１１２　ＬＣ（配列番号２７０）を含む）

について解析した。

【０９１４】

以下の抗原／飽和抗体／競合抗体の組合せについて調べた：

【０９１５】

【表９】

抗原	飽和抗体	競合抗体
ヒトVISTA	V4-C1 IgG1	IGN175A IgG1
ヒトVISTA	V4-C1 IgG1	V4-C1 IgG1
ヒトVISTA	V4-C1 IgG1	VSTB112 IgG1
ヒトVISTA	VSTB112 IgG1	IGN175A IgG1
ヒトVISTA	IGN175A IgG1	V4-C1 IgG1
ヒトVISTA	VSTB112 IgG1	V4-C1 IgG1
ヒトVISTA	IGN175A IgG1	IGN175A IgG1
なし(PBS)	V4-C1 IgG1	IGN175A IgG1

結果を、図３１Ａおよび３１Ｂに示す。

【０９１６】

Ｖ４およびＶ４－Ｃ１　ＩｇＧ１は、ＶＩＳＴＡへの結合について、ＩＧＮ１７５Ａと競合しないことが見出された。ＶＳＴＢ１１２は、ＶＩＳＴＡへの結合について、Ｖ４、Ｖ４－Ｃ１、およびＩＧＮ１７５Ａと、部分的に競合することが見出された。競合抗体の添加時における、応答（ｎｍ単位）の変化を、下記に示す。

【０９１７】

【表１０】

飽和抗体		競合抗体		
		IGN175A	V4-C1 IgG1	VSTB112
	IGN175A	0.0454	1.4362	-
	V4-C1 IgG1	1.0661	-0,0158	-0.0124
	VSTB112	0.1392	0.1579	-

結果は、４Ｍ２－Ｃ１２とＩＧＮ１７５Ａとが、ＶＩＳＴＡの、局所的に遠く離れている領域に結合し、ＶＳＴＢ１１２が、４Ｍ２－Ｃ１２およびＩＧＮ１７５Ａに対して近位の領域内で、ＶＩＳＴＡに結合することを指し示す。

【０９１８】

Ｖ１－Ｃ１とＩＧＮ１７５Ａとが、ＶＩＳＴＡへの結合について競合しないという事実は、ＶＳＴＢ１１２が、ＶＩＳＴＡへの結合について、ＩＧＮ１７５Ａと競合するという観察と併せて、４Ｍ２－Ｃ１２のＣＤＲを含む抗体が、ＩＧＮ１７５Ａが結合する、ＶＩＳＴＡのエピトープと同一ではなく、ＶＳＴＢ１１２が結合する、ＶＩＳＴＡのエピトープともまた同一でない、ＶＩＳＴＡのエピトープに結合することを指し示す。

【０９１９】

ＶＩＳＴＡについての配列、４Ｍ２－Ｃ１２を惹起するのに使用される免疫原、種交差反応性データの解析から、本発明者らは、４Ｍ２－Ｃ１２およびその派生体は、配列番号３２２に示される配列（配列番号１の７６～８１位に対応する）に結合すると結論づけた。

【０９２０】

実施例９

ＶＩＳＴＡ結合性抗体が、Ｔ細胞の増殖を、ＶＩＳＴＡ媒介性阻害からレスキューする能力についての解析

抗ＶＩＳＴＡ抗体が、ＶＩＳＴＡ媒介性シグナル伝達の阻害作用からレスキューする能

力を、ｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイにおいて解析した。
【０９２１】
略述すると、９６ウェルプレートを、濃度比を、１：１（２．５μｇ／ｍｌの抗ＣＤ３：２．５μｇ／ｍｌのＶＩＳＴＡ／対照Ｉｇ）、または２：１（２．５μｇ／ｍｌの抗ＣＤ３：１．２５μｇ／ｍｌのＶＩＳＴＡ／対照Ｉｇ）とする、抗ＣＤ３およびＶＩＳＴＡ－Ｉｇまたは対照Ｉｇでコーティングした。無関係な抗原Ｉｇを、対照条件として使用した。プレートを、４℃で、一晩にわたりインキュベートした。
【０９２２】
ＰＢＭＣは、新たに回収された血液試料から精製し、ｈｕｍａｎ　Ｐａｎ　Ｔ　Ｃｅｌｌ　Ｉｓｏｌａｔｅｄ　Ｋｉｔ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）を使用して、Ｔ細胞について、さらにエンリッチした。次いで、エンリッチされたＴ細胞集団を、ＣＦＳＥで標識付けした。
【０９２３】
ウェルを、ＰＢＳで、３回にわたり洗浄し、ＣＦＳＥで標識付けされたＴ細胞１００，０００個を、最終濃度を２０μｇ／ｍｌまたは５０μｇ／ｍｌとする、４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１（実施例２．２の［１］）の存在下で、もしくは最終濃度を２０μｇ／ｍｌとする、ＶＳＴＢ１１２の存在下で、または添加される抗体の非存在下で、各ウェルの、１０％のＦＢＳを補充した、完全ＲＰＭＩ　１６４０培地へと添加した。
【０９２４】
５日後、細胞を採取し、蛍光コンジュゲート抗ＣＤ４抗体および抗ＣＤ８抗体で標識付けし、Ｍａｃｓｑｕａｎｔ　Ａｎａｌｙｚｅｒ　１０を使用するフローサイトメトリーにより解析した。
【０９２５】
実験の結果を、図３３Ａ～３３Ｄに示す。４Ｍ２－Ｃ１２は、ＣＤ４＋　Ｔ細胞およびＣＤ８＋　Ｔ細胞のいずれもが増殖する能力を回復させることが見出された。
【０９２６】
重要なことに、４Ｍ２－Ｃ１２は、Ｔ細胞の増殖の回復において、ＶＳＴＢ１１２より効果的であることが見出された。
【０９２７】
実施例１０
ＶＩＳＴＡ結合性抗体が、ＬＰＳに応答する、ＴＨＰ１細胞による、ＩＬ－６の産生を促進する能力についての解析
ＶＩＳＴＡ結合性抗体が、ＬＰＳ刺激に応答する、ＴＨＰ１細胞による、ＩＬ－６の産生を促進する能力を、ｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイにおいて解析した。
【０９２８】
略述すると、未分化ＴＨＰ１細胞を、９６ウェルプレート内の、ＦＢＳまたはｐｅｎ／ｓｔｒｅｐを伴わないＲＰＭＩ培地中に、２連で（ウェル１つ当たりの細胞１００，０００個）播種した。その後、細胞を、２０００μｇ／ｍｌ～７．８μｇ／ｍｌの範囲の、異なる濃度の４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１（実施例２．２の［１］）、または１０００μｇ／ｍｌ～７．８μｇ／ｍｌの範囲の、異なる濃度のＶＳＴＢ１１２の存在下で、ＬＰＳ（最終濃度を１００μｇ／ｍｌとする）および$MnCl_2$（１００μＭ）により処理した。３日後、細胞培養物上清を回収し、ＩＬ－６　Ｈｕｍａｎ　ＥＬＩＳＡ　Ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用して、ＩＬ－６のレベルを決定するために、ＥＬＩＳＡにより解析した。
【０９２９】
結果を、図３４Ａおよび３４Ｂに示す。４Ｍ２－Ｃ１２は、ＬＰＳで刺激されたＴＨＰ１細胞によるＩＬ－６の産生を、ＶＳＴＢ１１２より大幅に促進することが見出された。
【０９３０】
実施例１１
ｉｎ　ｖｉｖｏにおける、ＶＩＳＴＡ結合性抗体が、ＩＬ－６の産生を促進する能力につ

いての解析
４Ｍ２－Ｃ１２による処置に応答する、ＩＬ－６の産生を、ｉｎ　ｖｉｖｏにおいて調べた。
【０９３１】
略述すると、Ｃ５７ＢＬ／６マウス（ｎ＝３）に、単一の６００μｇの、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（実施例５の［１７］）の単回投与の用量を投与し、血液試料を、マウスから、投与の２時間前、ならびに投与の０．５時間後、６時間後、２４時間後、９６時間後、１６８時間後、および３３６時間後に採取した。
【０９３２】
Ｍｏｕｓｅ　ＩＬ－６　ＥＬＩＳＡ　Ｋｉｔ（Ａｂｃａｍ；ａｂ１００７１２）を使用して、血清を、ＩＬ－６含有物について解析した。
【０９３３】
結果を、図３５に示す。ＩＬ－６は、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａを投与した０．５時間後に、血清中で検出した。
【０９３４】
実施例１２
単独の、または抗ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１抗体と組み合わせた、ＶＩＳＴＡ結合性抗体についての、ｉｎ　ｖｉｖｏにおける解析
１２．１　ＣＴ２６細胞モデル
Ｔ細胞白血病／リンパ腫の同系モデルは、ＣＴ２６細胞１×１０^{5}個を、Ｂａｌｂ／ｃマウスの右脇腹へと、皮下注入することにより作出した。
【０９３５】
マウス（処置群１つ当たり７匹）に、
・６００μｇの４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ２ａ（実施例５の［１７］）
・２００μｇの抗ＰＤ－１抗体（クローンである、ＲＭＰ１－１４（Ｂｉｏｘｃｅｌｌ））
・６００μｇの４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ２ａ＋２００μｇの抗ＰＤ－１抗体
・ＰＢＳだけ
を、３日ごと、合計７回の投与にわたり、腹腔内投与した。
【０９３６】
腫瘍体積は、デジタル式キャリパーを使用して、毎週３回測定し、式［Ｌ×Ｗ２／２］を使用して計算した。対照アームの腫瘍が、＞１．５ｃｍの長さと測定されたら、研究の終点に到達したと考えた。
【０９３７】
結果を、図３６Ａおよび３６Ｂに示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２および抗ＰＤ－１による組合せ療法は、いずれかの薬剤が、単剤療法として使用される場合より大きな程度で、腫瘍増殖を阻害した。
【０９３８】
腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞についての免疫プロファイリングを企図した。略述すると、実験の２２日目に、腫瘍を採取し、単一の細胞懸濁液へと加工し、免疫細胞表面タンパク質（ＣＤ４５、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＤ１１ｂ、Ｌｙ６Ｇ、およびＬｙ６Ｃ）に特異的な抗体で染色した。
【０９３９】
試料を、フローサイトメトリーにより解析し、以下の、異なる免疫細胞表面タンパク質についての、それらの染色に基づき、以下の免疫細胞サブセット：
・ＣＤ４細胞：ＣＤ４５$^{+}$ＣＤ４$^{+}$；
・ＣＤ８　Ｔ細胞：ＣＤ４５$^{+}$ＣＤ８$^{+}$；
・Ｔｒｅｇ細胞：ＣＤ４５$^{+}$ＣＤ４$^{+}$ＣＤ２５$^{+}$；
・顆粒球型ＭＤＳＣ（ｇ－ＭＤＳＣ）：ＣＤ４５$^{+}$ＣＤ１１ｂ$^{+}$Ｌｙ６Ｇ$^{+}$Ｌｙ６Ｃ^{lo}／－

・単球型ＭＤＳＣ（ｍ－ＭＤＳＣ）：ＣＤ４５$^{+}$ＣＤ１１ｂ$^{+}$Ｌｙ６Ｇ$^{-}$Ｌｙ６Ｃ^{hi}／$^{+}$

へと分類した。

【０９４０】

表示の表現型を有する、腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の百分率を、下記にまとめる：

【０９４１】

【表１１】

処置群	CD4 細胞	CD8 細胞	Treg	g-MDSC	m-MDSC
PBS	1.03%	5.99%	0.09%	33.08%	9.8%
4M2-C12 IgG2a	1.66%	6.51%	0.11%	26.4%	8.34%
抗 PD-1 抗体	1.05%	7.21%	0.14%	46.2%	15.25%
4M2-C12 IgG2a + 抗 PD-1 抗体	1.55%	9.98%	0.22%	15.66%	14.04%

ｇ－ＭＤＳＣであった腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の百分率を、図３７に示す。４Ｍ２－Ｃ１２（単独の、または抗ＰＤ－１と組み合わせた）による処置は、腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の中の、ｇ－ＭＤＳＣの比率を、著明に低減した。

【０９４２】

血液は、１８日目に、マウスから得、血清を、ＭＡＣＳＰｌｅｘ　ｃｙｔｏｋｉｎｅ　１０　Ｋｉｔ　ｆｏｒ　ｍｏｕｓｅ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）を使用する解析により、異なる多様なサイトカインのレベルについて解析した。

【０９４３】

結果を、図３８Ａ～３８Ｅに示す。

１２．２　Ｂ１６－ＢＬ６細胞モデル

図４０Ａおよび４０Ｂは、上記の実施例５．２．３で記載された研究（結果は、図１７に示される）の、１８日間への拡張の結果を示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２および抗ＰＤ－１による組合せ療法は、いずれかの薬剤が、単剤療法として使用される場合より大きな程度で、腫瘍増殖を阻害した。

【０９４４】

腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞についての免疫プロファイリングを企図した。略述すると、実験の１８日目に、腫瘍を採取し、単一の細胞懸濁液へと加工し、免疫細胞表面に特異的な抗体で染色し、フローサイトメトリーにより解析し、上記の実施例１２．１に記載した通りに、細胞を、免疫細胞サブセットへと分類した。

【０９４５】

表示の表現型を有する、腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の百分率を、下記にまとめる：

【０９４６】

【表１２】

処置群	CD4 細胞	CD8 細胞	Treg	g-MDSC	m-MDSC
PBS	2.72%	8.79%	1.42%	2.06%	6.68%
4M2-C12 IgG2a	2.84%	10.7%	1.58%	1.65%	13.94%
抗 PD-1 抗体	0.95%	3.43%	0.51%	36.65%	14.12%
4M2-C12 IgG2a + 抗 PD-1 抗体	3.58%	10.6%	0.82%	5.45%	14.44%

ｇ－ＭＤＳＣであった腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の百分率を、図４１に示す。

１２．３　ＥＬ４細胞モデル

Ｔ細胞白血病／リンパ腫の同系モデルは、ＥＬ４細胞２×１０^{5}個を、Ｃ５７ＢＬ／６マウスの右脇腹へと、皮下注入することにより確立した。

【０９４７】

マウス（処置群１つ当たり７匹）に、

・６００μｇの４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ２ａ（実施例５の［１７］）

・２００μｇの抗ＰＤ－１抗体（クローンである、ＲＭＰ１－１４（Ｂｉｏｘｃｅｌｌ））

・６００μｇの４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ２ａ＋２００μｇの抗ＰＤ－１抗体

・ＰＢＳだけ

を、３日ごと、合計５回の投与にわたり、腹腔内投与した。

【０９４８】

腫瘍体積は、デジタル式キャリパーを使用して、毎週３回測定し、式［Ｌ×Ｗ２／２］を使用して計算した。対照アームの腫瘍が、＞１．５ｃｍの長さと測定されたら、研究の終点に到達したと考えた。

【０９４９】

結果を、図４２に示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２および抗ＰＤ－１による組合せ療法は、いずれかの薬剤が、単剤療法として使用される場合より大きな程度で、腫瘍増殖を阻害した。

【０９５０】

腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞についての免疫プロファイリングを企図した。略述すると、実験の１６日目に、腫瘍を採取し、単一の細胞懸濁液へと加工し、免疫細胞表面に特異的な抗体で染色し、フローサイトメトリーにより解析し、上記の実施例１２．１に記載した通りに、細胞を、免疫細胞サブセットへと分類した。

【０９５１】

表示の表現型を有する、腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の百分率を、下記にまとめる：

【０９５２】

【表１３】

処置群	CD4 細胞	CD8 細胞	Treg	g-MDSC	m-MDSC
PBS	3.71%	0.55%	0.18%	19.41%	0.88%
4M2-C12 IgG2a	7.4%	1.84%	0.19%	14.51%	0.94%
抗 PD-1 抗体	4.35%	3.04%	0.09%	20.91%	0.81%
4M2-C12 IgG2a + 抗 PD-1 抗体	6.53%	2.18%	0.35%	10.16%	0.33%

ｇ－ＭＤＳＣであった腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の百分率を、図４３に示す。４Ｍ２－Ｃ１２（単独の、または抗ＰＤ－１と組み合わせた）による処置は、腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の中の、ｇ－ＭＤＳＣの比率を、著明に低減した。

１２．４　結論

ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１によるシグナル伝達の阻害が、ＣＴ２６、Ｂ１６－ＢＬ６、およびＥＬ４モデルにおいて、腫瘍浸潤性ＣＤ４５＋細胞の中の、ｇ－ＭＤＳＣの比率を増大させるのに対し、４Ｍ２－Ｃ１２による処置は、ｇ－ＭＤＳＣの拡大を抑制する。

【０９５３】

実施例１３

ＶＩＳＴＡ結合性抗体についての、さらなる特徴付け

さらなるＶＩＳＴＡ結合性抗原結合性分子を作製した。

【０９５４】

【表１４】

抗原結合性分子	ポリペプチド	抗体
[21]	V4-C1 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 311) + V4-C1 VL-Cκ (配列番号 312)	抗 VISTA クローンである、V4-C1 IgG1
[22]	V4-C9 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 313) + V4-C9 VL-Cκ (配列番号 314)	抗 VISTA クローンである、V4-C9 IgG1
[23]	V4-C24/C26/C27/C28/C30/C31 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 315) + V4-C24 VL-Cκ (配列番号 316)	抗 VISTA クローンである、V4-C24 IgG1
[24]	V4-C24/C26/C27/C28/C30/C31 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 315) + V4-C26 VL-Cκ (配列番号 317)	抗 VISTA クローンである、V4-C26 IgG1
[25]	V4-C24/C26/C27/C28/C30/C31 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 315) + V4-C27 VL-Cκ (配列番号 318)	抗 VISTA クローンである、V4-C27 IgG1
[26]	V4-C24/C26/C27/C28/C30/C31 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 315) + V4-C28 VL-Cκ (配列番号 319)	抗 VISTA クローンである、V4-C28 IgG1
[27]	V4-C24/C26/C27/C28/C30/C31 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 315) + V4-C30 VL-Cκ (配列番号 320)	抗 VISTA クローンである、V4-C30 IgG1
[28]	V4-C24/C26/C27/C28/C30/C31 VH-CH1-CH2-CH3 (配列番号 315) + V4-C31 VL-Cκ (配列番号 321)	抗 VISTA クローンである、V4-C31 IgG1

Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、およびＶ４－Ｃ３１を、ＩＭＧＴ　ＤｏｍａｉｎＧａｐＡｌｉｇｎ（Ｅｈｒｅｎｍａｎｎら、Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．、３８、Ｄ３０１～３０７（２０１０））およびＩＥＤＢ脱免疫化（Ｄｈａｎｄａら、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ．（２０１８）、１５３（１）：１１８～１３２）ツールを使用して、コンピュータにより、安全性および免疫原性について解析した。

【０９５５】

Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、およびＶ４－Ｃ３１は、ヒト重鎖およびヒト軽鎖に対して、ヒト化され

たと考えるのに十分な（すなわち、＞８５％の）相同性を有し、潜在的な免疫原性ペプチドの数が、安全であると考えるのに十分なほど少なく（図５３を参照されたい）、潜在的な開発可能性問題を引き起こしうる、他の特性を所有しなかった。

１３．１　ＢＬＩによる、結合アフィニティーの解析

Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、およびＶ４－Ｃ３１（すなわち、［２１］～［２８］）の、ヒトおよびマウスのＶＩＳＴＡタンパク質ならびにヒトＰＤ－Ｌ１への結合を、Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　Ｏｃｔｅｔ　ＱＫ　３８４システムを使用する、ＢＬＩにより査定した。

【０９５６】

略述すると、抗５×ＨＩＳバイオセンサーを、ＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．２）中で、６０秒間にわたりインキュベートして、第１のベースラインを得、その後、１２０秒間にわたり、ＰＢＳ（ｐＨ７．２）中に１８０ｎＭのｈＶＩＳＴＡ、１８０ｎＭのｍＶＩＳＴＡ、または２５０ｎＭのｈＰＤ－Ｌ１をロードした。ローディングの後、バイオセンサーを、ｐＨ７．２のＰＢＳ緩衝液中で、６０秒間にわたりインキュベートして、第２のベースラインを得、ＰＢＳ　ｐＨ７．２中の、被験抗体の、２倍ずつ６点の系列希釈液（５００ｎＭ～１５．６ｎＭ）と共に、１２０秒間または９００秒間にわたりインキュベートして、会合曲線を得た。最後に、バイオセンサーを、ＰＢＳ　ｐＨ７．２中で、１２０秒間にわたりインキュベートして、解離曲線を得た。反応速度およびアフィニティー定数は、会合および解離データの、１：１に結合モデルへのグローバルフィッティングにより計算した。

【０９５７】

Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、またはＶ４－Ｃ３１のうちのいずれも、ヒトＰＤ－Ｌ１への、著明な結合を呈さなかった（図４５Ｃ）。

【０９５８】

この実験において、Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、およびＶ４－Ｃ３１の、ヒトＶＩＳＴＡおよびマウスＶＩＳＴＡへの結合について計算された、反応速度および熱力学定数を、図４５Ｄに示す。

【０９５９】

Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、およびＶ４－Ｃ３１による、マウスＶＩＳＴＡタンパク質への結合を、ＶＳＴＢ１１２　ＩｇＧ１（ＶＳＴＢ１１２　ＨＣ（配列番号２６９）＋ＶＳＴＢ１１２　ＬＣ（配列番号２７０）を含む）についての査定を含む、別個の実験において解析した。

【０９６０】

ＶＳＴＢ１１２は、マウスＶＩＳＴＡタンパク質への著明な結合を呈さなかった（図４６Ａ）。この実験において、Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、およびＶ４－Ｃ３１の、マウスＶＩＳＴＡへの結合について計算された、反応速度および熱力学定数を、図４６Ｂに示す。

【０９６１】

さらなる実験では、Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、およびＶＳＴＢ１１２　ＩｇＧ１の、ヒトＶＩＳＴＡおよびマウスＶＩＳＴＡへの結合について解析し、反応速度および熱力学定数の計算値を、図４７Ｃに示す。

【０９６２】

別の実験では、Ｖ４（実施例２．２の［１］）およびＶＳＴＢ１１２　ＩｇＧ１（ＶＳＴＢ１１２　ＨＣ（配列番号２６９）＋ＶＳＴＢ１１２　ＬＣ（配列番号２７０）を含む）の、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡおよびヒトＣＤ４７への結合について解析した。抗５×ＨＩＳバイオセンサーを、ＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．２）中で、６０秒間にわたりインキュベートして、第１のベースラインを得、その後、１２０秒間にわたり、ＰＢＳ（ｐＨ７．２）中に１８０ｎＭのｈＶＩＳＴＡ、１８０ｎＭのｍＶＩＳＴＡ、または３００

ｎＭのｈＣＤ４７をロードした。ローディングの後、バイオセンサーを、ｐＨ７．２のＰＢＳ緩衝液中で、６０秒間にわたりインキュベートして、第２のベースラインを得、ＰＢＳ　ｐＨ７．２中の、被験抗体の系列希釈液（１５００ｎＭ～４６．９ｎＭ）と共に、１２０秒間にわたりインキュベートして、会合曲線を得た。最後に、バイオセンサーを、ＰＢＳ　ｐＨ７．２中で、１２０秒間にわたりインキュベートして、解離曲線を得た。反応速度およびアフィニティー定数は、会合および解離データの、１：１に結合モデルへのグローバルフィッティングにより計算した。

【０９６３】

Ｖ４も、ＶＳＴＢ１１２も、ヒトＣＤ４７への結合を呈さなかった。ＶＳＴＢ１１２が、マウスＶＩＳＴＡタンパク質への著明な結合を呈さなかったのに対し、Ｖ４は、これを呈した。反応速度および熱力学定数の計算値を、図４８Ｂに示す。

１３．２　ＥＬＩＳＡによる結合アフィニティーの解析

ＥＬＩＳＡを使用して、異なる抗体の、ヒトＶＩＳＴＡおよびマウスＶＩＳＴＡへの結合について評価した。ＥＬＩＳＡは、上記の実施例３．３に記載した通りに実施した。

【０９６４】

実験では、以下の抗体：

・４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１（実施例２．２の［１］；図では、「Ｖ４ｐｒ」と称される）

・Ｖ４－Ｃ１　ＩｇＧ１（実施例１３の［２１］）

・Ｖ４－Ｃ９　ＩｇＧ１（実施例１３の［２２］）

・Ｖ４－Ｃ２４　ＩｇＧ１（実施例１３の［２３］）

・Ｖ４－Ｃ２６　ＩｇＧ１（実施例１３の［２４］）

・Ｖ４－Ｃ２７　ＩｇＧ１（実施例１３の［２５］）

・Ｖ４－Ｃ２８　ＩｇＧ１（実施例１３の［２６］）

・Ｖ４－Ｃ３０　ＩｇＧ１（実施例１３の［２７］）

・Ｖ４－Ｃ３１　ＩｇＧ１（実施例１３の［２８］）

・ＶＳＴＢ１１２　ＩｇＧ１（ＶＳＴＢ１１２　ＨＣ（配列番号２６９）＋ＶＳＴＢ１１２　ＬＣ（配列番号２７０）を含む）

・アテゾリズマブ

・ヒトＩｇＧ１アイソタイプ対照

について解析した。

【０９６５】

得られた結果を、図４９Ａおよび４９Ｂに示し、抗体の、表示のタンパク質への結合についてのＥＬＩＳＡから計算されたＥＣ５０（ｎＭ）値を、図４９Ｃにまとめる。

【０９６６】

Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、Ｖ４－Ｃ３１、ＶＳＴＢ１１２、およびアイソタイプ対照抗体の、ヒトＶＩＳＴＡまたはマウスＶＩＳＴＡへの結合について解析する、さらなる実験を実施した。結果を、図５０Ａおよび５０Ｂに示し、抗体の、表示のタンパク質への結合についてのＥＬＩＳＡから計算されたＥＣ５０（ｎＭ）値を、図５０Ｃにまとめる。

【０９６７】

Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、ＶＳＴＢ１１２、およびアイソタイプ対照抗体の、ヒトＶＩＳＴＡまたはマウスＶＩＳＴＡへの結合について解析する、さらなる実験を実施した。結果を、図５１Ａおよび５１Ｂに示し、抗体の、表示のタンパク質への結合についてのＥＬＩＳＡから計算されたＥＣ５０（ｎＭ）値を、図５１Ｃにまとめる。

【０９６８】

Ｖ４、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、およびＶ４－Ｃ３１、ならびにアイソタイプ対照抗体の、ヒトの、ＶＩＳＴＡ、ＰＤ－Ｌ１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７、ＰＤ－１、およびＣＴＬＡ－４への結合に

ついて解析する、さらなる実験を実施した。結果を、図５６Ａ～５６Ｇに示す。Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、およびＶ４－Ｃ３１の各々は、ヒトＶＩＳＴＡへの強い結合を呈し、タンパク質のＢ７ファミリーの他のメンバーに対する交差反応性を呈さなかった。

【０９６９】

さらなる実験では、Ｖ４（図５７では、「Ｖ４Ｐ」と称される）、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、およびＶ４－Ｃ３１を、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ、ラットＶＩＳＴＡ、およびカニクイザルＶＩＳＴＡへの結合について解析した。得られた結果を、図５７Ａ～５７Ｈに示し、抗体の、表示のタンパク質への結合についてのＥＬＩＳＡから計算されたＥＣ５０（Ｍ）値を、図５７Ｉにまとめる。

【０９７０】

Ｖ４、ならびにＶ４由来クローンである、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、およびＶ４－Ｃ３１の全ては、ヒトＶＩＳＴＡ、マウスＶＩＳＴＡ、ラットＶＩＳＴＡ、およびカニクイザルＶＩＳＴＡに結合することが見出された。

１３．３　フローサイトメトリーによる、ＶＩＳＴＡ発現細胞への結合についての解析

抗ＶＩＳＴＡ抗体を、本質的に、上記の実施例３．１に記載した通りに、ＶＩＳＴＡ発現細胞に結合する、それらの能力について解析した。

【０９７１】

略述すると、トランスフェクト細胞、またはヒトＶＩＳＴＡもしくはマウスＶＩＳＴＡをコードするベクターをトランスフェクトされたＨＥＫ２９３細胞を、１μｇ／ｍｌの抗ＶＩＳＴＡ抗体またはアイソタイプ対照抗体と共に、４℃で１時間にわたりインキュベートした。次いで、細胞を洗浄し、１０μｇ／ｍｌのＦＩＴＣコンジュゲート抗ヒトＦｃ抗体と共に、４℃で１時間にわたりインキュベートした。細胞を、再度洗浄し、次いで、フローサイトメトリーにより解析した。

【０９７２】

実験では、以下の抗体：

・４Ｍ２－Ｃ１２　ＩｇＧ１（実施例２．２の［１］；図では、「Ｖ４Ｐ」と称される）
・Ｖ４－Ｃ２４　ＩｇＧ１（実施例１３の［２３］）
・Ｖ４－Ｃ２６　ＩｇＧ１（実施例１３の［２４］）
・Ｖ４－Ｃ２７　ＩｇＧ１（実施例１３の［２５］）
・Ｖ４－Ｃ２８　ＩｇＧ１（実施例１３の［２６］）
・Ｖ４－Ｃ３０　ＩｇＧ１（実施例１３の［２７］）
・Ｖ４－Ｃ３１　ＩｇＧ１（実施例１３の［２８］）
・ＶＳＴＢ１１２　ＩｇＧ１（ＶＳＴＢ１１２　ＨＣ（配列番号２６９）＋ＶＳＴＢ１１２　ＬＣ（配列番号２７０）を含む）
・ヒトＩｇＧ１アイソタイプ対照

について解析した。

【０９７３】

結果を、図５８Ａ～５８Ｃに示す。

１３．４　示差走査蛍光測定法による、熱安定性についての解析

異なる抗体の熱安定性を、上記の実施例３．４に記載した通りに、示差走査蛍光測定解析により評価した。

【０９７４】

Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、Ｖ４－Ｃ３１（すなわち、［２１］～［２８］）、およびＶＳＴＢ１１２の熱安定性に対する、示差走査蛍光測定解析（３連の）について得られた生データの一次微分を、図５２Ａ～５２Ｉに示し、結果を、図５２Ｊにまとめる。

【０９７５】

Ｖ４－Ｃ１、Ｖ４－Ｃ９、Ｖ４－Ｃ２４、Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ４－Ｃ２７、Ｖ４－Ｃ２８、Ｖ４－Ｃ３０、およびＶ４－Ｃ３１は、Ｆａｂ領域に対する溶融温度（Ｔｍ）が、Ｖ４と比較して高く（６７．５℃）、したがって、熱安定性が改善されていることが見出された。

【０９７６】

実施例１４

免疫組織化学における、ＶＩＳＴＡ結合性抗体の使用

抗ＶＩＳＴＡ抗体である、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａ（実施例５の［１７］）を、ヒトＶＩＳＴＡタンパク質を検出するために、免疫組織化学で使用される、その能力について評価した。

【０９７７】

切片の加工は、Ｂｏｎｄ試薬（Ｌｅｉｃａ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して実施した。正常ヒト脾臓または正常ヒト卵巣に由来する、市販のパラフィン切片を、Ｂｏｎｄ　Ｄｅｗａｘ溶液中で脱パラフィン処理し、再水和させた。次いで、切片を、ステップの間の、１倍濃度のＢｏｎｄ洗浄液による、４～５回にわたるすすぎを伴う、以下の処理：（ｉ）１００℃で、４０分間にわたる、Ｂｏｎｄ　Ｅｐｉｔｏｐｅ　Ｒｅｔｒｉｅｖａｌ溶液を伴う処理による抗原の露出；（ｉｉ）室温で、１５分間にわたる、３．５％（ｖ／ｖ）のH_2O_2を伴う処理による、内因性ペルオキシダーゼのブロッキング；（ｉｉｉ）室温で、３０分間にわたる、１０％のヤギ血清を伴う処理によるブロッキング；（ｉｖ）４℃で、一晩にわたる、９．３７ｍｇ／ｍｌ溶液の希釈率を１：５０とする、４Ｍ２－Ｃ１２　ｍＩｇＧ２ａを伴うインキュベーション；（ｖ）室温で、５分間にわたる、ＨＲＰ－ポリマーコンジュゲートヤギ抗マウス抗体を伴うインキュベーション、および（ｖｉ）室温で、７分間にわたる、Ｂｏｎｄ　Ｍｉｘｅｄ　ＤＡＢ　Ｒｅｆｉｎｅによる現像に続く、反応を停止させる、脱イオン水によるすすぎにかけた。

【０９７８】

切片を、ヘマトキシリンにより、室温で５分間にわたり対比染色し、脱イオン水および１倍濃度のＢｏｎｄ洗浄液ですすぎ、次いで、乾燥させ、合成の封入剤中でマウンティングし、高解像度で走査した。

【０９７９】

結果を、図５９Ａおよび５９Ｂに示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体は、脾臓の細胞質を染色したが、正常卵巣切片（対照）内の細胞は染色しなかった。

【０９８０】

実施例１５

さらにＶＩＳＴＡ結合性抗体が、Ｔ細胞の増殖および炎症促進性サイトカインの産生を、ＶＩＳＴＡ媒介性阻害からレスキューする能力についての解析

抗ＶＩＳＴＡ抗体を、Ｔ細胞を、ＶＩＳＴＡ媒介性抑制から解放する能力について特徴付けた。

【０９８１】

９６ウェルプレートを、濃度を２．５μｇ／ｍｌとする、抗ＣＤ３でコーティングし、４℃で、一晩にわたりインキュベートした。ＰＢＭＣを、血液試料から単離し、Ｔ細胞を、ＰＢＭＣからエンリッチし、上記の通りに、ＣＳＦＥで標識付けし、次いで、ＣＦＳＥで標識付けされたＴ細胞を、ヒトＶＩＳＴＡをコードする構築物をトランスフェクトしたＨＥＫ２９３－６Ｅ細胞と共に、２％のＦＢＳを補充したＲＰＭＩ　１６４０培地中に、２：１の比で共培養した。

【０９８２】

次いで、細胞を、濃度を０μｇ／ｍｌ（対照）、２０μｇ／ｍｌ、または５０μｇ／ｍｌとする、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（実施例２．２の［１］）またはＶＳＴＢ１１２で処置した。

【０９８３】

５日間後、細胞を採取し、フローサイトメトリーにより解析して、ＣＳＦＥ希釈プロフ

ァイルにより、細胞増殖を決定した。細胞培養物上清もまた採取し、ＩＮＦγレベルおよびＴＮＦａレベルを、ＥＬＩＳＡにより解析した。

【０９８４】

結果を、図６０Ａ～６０Ｄに示す。図６０Ａおよび６０Ｂは、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１が、Ｔ細胞を、増殖の、ＶＩＳＴＡ媒介性阻害から、用量依存的に解放したことを示す。図６０Ｃおよび６０Ｄは、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１が、Ｔ細胞を、ＩＮＦγおよびＴＮＦａの産生の、ＶＩＳＴＡ媒介性阻害から解放したことを示す。

【０９８５】

さらなる実験では、未分化ＴＨＰ１細胞を、９６ウェルプレート内の、ＦＢＳまたはｐｅｎ／ｓｔｒｅｐを伴わないＲＰＭＩ培地中に、２連で播種し、細胞を、２０００μｇ／ｍｌ～７．８μｇ／ｍｌの濃度の範囲の、系列希釈された濃度の４Ｍ２－Ｃ１２　ｈＩｇＧ１（実施例２．２の［１］）、またはＶＳＴＢ１１２の存在下で、ＬＰＳ（１００μｇ／ｍｌ）により刺激した。

【０９８６】

２４時間後、細胞培養物上清を回収し、ＥＬＩＳＡにより、ＩＬ－６およびＴＮＦａについて解析した。細胞はまた、固定し、透過処理し、フローサイトメトリーを介して、ＶＩＳＴＡの存在についても解析した。

【０９８７】

結果を、図６１Ａ～６１Ｃに示す。４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１は、ＩＬ－６およびＴＮＦａの、ＬＰＳで刺激されたＴＨＰ１細胞からの産生を、用量依存的に、ＶＳＴＢ１１２より、はるかに大きな程度で増大させることが見出された。

【０９８８】

さらなる実験では、未分化ＴＨＰ１細胞を、９６ウェルプレート内の、ＦＢＳまたはｐｅｎ／ｓｔｒｅｐを伴わないＲＰＭＩ培地中に、２連で播種し、細胞を、２０００μｇ／ｍｌ～７．８μｇ／ｍｌの濃度の範囲の、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（実施例２．２の［１］）、または４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ４（下記に示される［２９］）の存在下で、ＬＰＳ（１００μｇ／ｍｌ）および$MnCl_2$（１００μＭ）により刺激した。２４時間後、細胞培養物上清を回収し、ＥＬＩＳＡにより、ＩＬ－６について解析した。

【０９８９】

【表１５】

抗原結合性分子	ポリペプチド	抗体
[29]	4M2-C12 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (配列番号 330) + 4M2-C12 VL-Cκ (配列番号 213)	抗 VISTA クローンである、4M2-C12 IgG4

結果を、図６２に示す。ＬＰＳで刺激されたＴＨＰ１細胞による、ＩＬ－６の産生の増大は、ヒトＩｇＧ１フォーマットにおける４Ｍ２－Ｃ１２を伴う処置により誘導されるＩＬ６レベルと、ヒトＩｇＧ４フォーマットにおける４Ｍ２－Ｃ１２を伴う処置により誘導されるＩＬ６レベルとの間で、有意差が観察されなかったので、Ｆｃ非依存的であることが見出された。

【０９９０】

実施例１６

薬理学、毒性学、および免疫毒性についての、さらなる解析

急性投与研究では、ラットに、１０ｍｇ／ｋｇ、２５ｍｇ／ｋｇ、１００ｍｇ／ｋｇ、または２５０ｍｇ／ｋｇの、４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（実施例２．２の［１］）または４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ４（実施例１５の［２９］）の単回投与を行った。

【０９９１】

血液は、ベースライン（－２時間後）、投与の０．５時間後、６時間後、２４時間後、９６時間後、１６８時間後、および３３６時間後に、ラットから得た。血清中の抗体を、ＥＬＩＳＡにより定量した。

【０９９２】

薬物動態解析のためのパラメータ：最大濃度（C_{max}）、ＡＵＣ（０～３３６時間）、ＡＵＣ（０～無限大）、半減期（$t_{1/2}$）、クリアランス（ＣＬ）、定常状態における分布容積（V_{ss}）は、非コンパートメントモデルから導出した。

【０９９３】

結果を、図６３Ａ～６３Ｄに示す。

【０９９４】

別個の実験では、ＢＡＬＢ／Ｃマウスに、５０ｍｇ／ｋｇの４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（実施例２．２の［１］）、または等容量のＰＢＳの単回投与を行った。血液試料は、９６時間後に得、ＨＭ５　Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ　Ａｎａｌｙｓｅｒを使用して、異なる種類の白血球の数について解析した。血液試料はまた、肝毒性および腎毒性の相関因子についても解析した。

【０９９５】

代表的な結果を、図６４Ａ～６４Ｃの表に示す。

【０９９６】

さらなる実験では、Ｓｐｒａｇｕｅ　Ｄａｗｌｅｙラットに、２５０ｍｇ／ｋｇの４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１（実施例２．２の［１］）、または等容量のＰＢＳの単回投与を行った。血液試料は、６、２４、９６、および１６８時間後に得、ＨＭ５　Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ　Ａｎａｌｙｓｅｒを使用して、異なる種類の白血球の数について解析した。血液試料はまた、肝毒性、腎毒性、および膵毒性の相関因子についても解析した。

【０９９７】

代表的な結果を、図６５Ａ～６５Ｃの表に示す。

【０９９８】

４Ｍ２－Ｃ１２－ｈＩｇＧ１の投与は、著明な毒性と関連しないことが見出され、血中の細胞型の細胞数を、著明には変更しなかった。

【０９９９】

実施例１７

抗体であるＶ４－Ｃ２６についての解析

１７．１．Ｖ４－Ｃ２６、ＶＳＴＢ１１２、およびｍＡｂである１３Ｆ３についての、ヒトＶＩＳＴＡおよびマウスＶＩＳＴＡへの結合の比較

ヒトＶＩＳＴＡおよびマウスＶＩＳＴＡへの結合を、抗ＶＩＳＴＡ抗体であるＶ４－Ｃ２６（すなわち、実施例１３の分子［２４］）、ＶＳＴＢ１１２　ＩｇＧ１（ＶＳＴＢ１１２　ＨＣ（配列番号２６９）＋ＶＳＴＢ１１２　ＬＣ（配列番号２７０）を含む）、およびｍＡｂである１３Ｆ３（ＢｉｏＸＣｅｌｌ；型番：ＢＥ０３１０）について解析した。

【１０００】

バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）実験は、Ｏｃｔｅｔ　ＱＫ３８４　ｓｙｓｔｅｍ（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）を使用して実施した。全ての測定は、２５℃で実施した。

【１００１】

略述すると、抗Ｐｅｎｔａ－ＨＩＳ（ＨＩＳ１Ｋ）コーティングバイオセンサーチップ（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ、ＵＳＡ）を、ＰＢＳ緩衝液（ｐＨ７．２）中で、６０秒間にわたりインキュベートして、第１のベースラインを得、その後、１２０秒間にわたり、チップに、ＰＢＳ（ｐＨ７．２）中に２７０ｎＭの、ＨＩＳタグ付けされたヒトＶＩＳＴＡまたはマウスＶＩＳＴＡをロードした。

【１００２】

ローディングの後、バイオセンサーを、ＰＢＳ緩衝液ｐＨ７．２中で、６０秒間にわたりインキュベートして、第２のベースラインを得、次いで、ＰＢＳ　ｐＨ７．２中の、被

験抗体についての、４点、２倍の希釈系列（濃度：２５０ｎＭ、１２５ｎＭ、６２．５ｎＭ、および３１．３ｎＭ）と共に、１２０秒間にわたりインキュベートして、会合曲線を得た。最後に、バイオセンサー）を、ＰＢＳ　ｐＨ７．２中で、１２０秒間にわたりインキュベートして、解離曲線を得た。

【１００３】

結果を、図６６に示す。Ｖ４－Ｃ２６は、ヒトＶＩＳＴＡおよびマウスＶＩＳＴＡの両方への結合を呈することが見出された。これに対し、ｍＡｂである１３Ｆ３は、マウスＶＩＳＴＡへの結合を呈したが、ヒトＶＩＳＴＡへの結合を呈せず、ＶＳＴＢ１１２は、ヒトＶＩＳＴＡへの結合を呈したが、マウスＶＩＳＴＡへの結合を呈さなかった。

１７．２．Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４による腫瘍増殖の阻害

配列番号３３１の重鎖と、配列番号３１７の軽鎖とを含む抗原結合性分子であるＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４を、結腸癌についての同系細胞系由来マウスモデルにおいて、ｉｎｖｉｖｏにおいて、腫瘍増殖を阻害するその能力について査定した。

【１００４】

ＣＴ２６細胞は、ＡＴＣＣから得、CO_2を５％とするインキュベーター内、３７℃、１０％のウシ胎仔血清および１％のＰｅｎ／Ｓｔｒｅｐを補充されたＲＰＭＩ－１６４０中において培養した。

【１００５】

ＣＴ２６細胞由来腫瘍は、ＣＴ２６細胞1×10^5個を、約６～８週齢の雌ＢＡＬＢ／ｃマウスの右脇腹へと、皮下注入することにより確立した。

【１００６】

植込みの３日後に、かつ、これ以後隔週で、マウスに、腹腔内注射により、２５ｍｇ／ｋｇのＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４、または対照条件としての等容量の溶媒（処置群１つ当たりのマウス８匹）を投与した。

【１００７】

腫瘍体積は、デジタル式キャリパーを使用して、毎週３回測定し、式［Ｌ×Ｗ２／２］を使用して計算した。対照アームの腫瘍が、＞１．５ｃｍの長さと測定されたら、研究の終点に到達したと考えられた。

【１００８】

結果を、図６７Ａおよび６７Ｂに示す。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４を投与されたマウスは、溶媒を投与されたマウスと比べて、有意な腫瘍増殖阻害率および生存率の改善を呈した。

１７．３．ＶＩＳＴＡ発現の分布

１７．３．１．ＶＩＳＴＡは、健常組織内の、骨髄由来細胞上で、主に発現される

ＶＩＳＴＡアンタゴニストに最適の戦略を査定するために、健常組織内のＶＩＳＴＡ発現の分布について研究した。６８，０００個のＰＢＭＣを含む、１０Ｘ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓによる、単一細胞（ｓｃ）ＲＮＡ－ｓｅｑデータセット［ｗｗｗ．１０ｘｇｅｎｏｍｉｃｓ．ｃｏｍ／ｓｉｎｇｌｅ－ｃｅｌｌ－ｇｅｎｅ－ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ／ｄａｔａｓｅｔｓ］を解析した。これは、１４の主要な細胞クラスターの存在を明らかにした（図６８Ａ）。低レベルのＶＩＳＴＡ転写物は、多くの細胞集団内で同定されたが、高度の発現は、健常ヒトドナーにおける、骨髄由来単球および樹状細胞に限定され、Ｔ細胞における発現は、限定的であった（図６８Ｂ、６８Ｃ）。

【１００９】

ホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）組織マイクロアレイ（ＴＭＡ）切片上の免疫組織化学（ＩＨＣ）を使用して、健常ヒト組織内における、ＶＩＳＴＡタンパク質の発現を、さらに特徴付けた（図６８Ｄ）。最高度のＶＩＳＴＡレベルは、リンパ系臓器（例えば、脾臓および骨髄）内、および白血球による浸潤が有意な組織（例えば、乳房および肺）内で検出された。健常組織および多様な免疫細胞にわたるＶＩＳＴＡの分布は、最適の治療利益および忍容可能な安全性のために、ＶＩＳＴＡ発現細胞を枯渇させずに、ＶＩＳＴＡをアンタゴナイズする必要を、強く支持する。

１７．３．２．ＴＮＢＣおよびＮＳＣＬＣを含む充実性腫瘍は、ＶＩＳＴＡおよびＶＳＩＧ３の有意な発現を示す

トリプルネガティブ乳がん（ＴＮＢＣ）、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、肝細胞癌（ＨＣＣ）、および中皮腫を含む、４つの固形がんの、ホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）組織マイクロアレイ（ＴＭＡ）切片内の免疫組織化学を介して、ＶＩＳＴＡおよびＶＳＩＧ３の発現について評価した。免疫組織化学は、４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａ（配列番号２４８および２５０のポリペプチドから形成された）または抗ＶＳＩＧ３抗体を使用した。

【１０１０】

ＴＮＢＣおよびＮＳＣＬＣ患者は、最高度のＶＩＳＴＡ発現を示し、コアである８９％および８５％が、それぞれ、中程度～高度の染色強度を示した（図６８Ｅ、６８Ｆ）。ＶＳＩＧ３の発現を、さらに査定した。ＶＳＩＧ３は、中皮腫（９０％）、ＮＳＣＬＣ（８４％）、およびＴＮＢＣ（７４％）において、中程度～高度の染色を示した（図６８Ｇ、６８Ｈ）。ＴＮＢＣおよびＮＳＣＬＣにおいて観察される、ＶＩＳＴＡおよびＶＳＩＧ３の両方の高発現は、ＶＩＳＴＡの共阻害機能は、Ｔ細胞機能を抑制する、ＶＩＳＴＡ－ＶＳＩＧ３間相互作用を介して媒介されるという報告（Ｗａｎｇら、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２０１９）、１５６：７４～８５）と符合し、これらが、ＶＩＳＴＡアンタゴニズムの利益について探索するための優先事項を指し示しうることを示唆する。

１７．４．Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の特性についての解析

Ｖ４－Ｃ２６は、配列番号３３１の重鎖と、配列番号３１７の軽鎖とを含むＩｇＧ４アイソタイプとして開発した。

１７．４．１．ＡＤＣＣおよびＣＤＣの機能性についての解析

Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、ＡＤＣＣ／ＣＤＣ反応を引き起こす潜在的可能性を除外するために、ＦｃγＲＩＩＩおよびＣ１ｑのそれぞれのタンパク質のへの、その結合アフィニティーについて査定した。ＥＬＩＳＡにより、ＦｃγＲＩＩＩタンパク質と、Ｃ１ｑタンパク質との間で、結合が観察されなかった（図６９Ａおよび６９Ｂ）が、これは、ＶＩＳＴＡ発現細胞を枯渇させる、ＡＤＣＣまたはＣＤＣ機構を除外する。

【１０１１】

この特徴は、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４を、ＡＤＣＣおよびＣＤＣによる細胞枯渇を誘発することが公知である、ＩｇＧ１　Ｆｃアイソタイプを使用した、既開発のＶＩＳＴＡターゲティング抗体と顕著に異なる抗体とする。

１７．４．２．Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の生物物理特性

Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、ＶＩＳＴＡに対する結合特異性は、ＥＬＩＳＡにより測定した。

【１０１２】

図７０Ａは、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、Ｂ７ファミリー（Ｂ７Ｈ１／ＰＤＬ－１、Ｂ７Ｈ３、Ｂ７Ｈ４、Ｂ７Ｈ６、Ｂ７Ｈ７）の他の関連するメンバーのほか、ＰＤ－１およびＣＴＬＡ－４の中で、ＶＩＳＴＡへの、高度に特異的な結合を呈することを示す。

【１０１３】

有効性、安全性、およびＰＫについてのモデルのための、齧歯動物種および非ヒト霊長動物（ＮＨＰ）種の使用を支持するために、ＥＬＩＳＡおよびＳＰＲ（Ｂｉａｃｏｒｅ）を使用して、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、ＶＩＳＴＡオーソログに結合する能力について評価した。

【１０１４】

図７０Ｂは、ＥＬＩＳＡにより、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、それぞれ、５．１１７ｐＭ、１２．１５ｐＭ、６．６８９ｐＭ、および３．５４９ｐＭのＥＣ$_{50}$で、ヒト、ＮＨＰ、ラット、およびマウスのＶＩＳＴＡ－ＨＩＳタンパク質への用量依存的結合を示すことを示す。ＳＰＲ（Ｂｉａｃｏｒｅ）を使用して、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４はまた、それぞれ４０７ｐＭ、３６７ｐＭ、３８２ｐＭ、および５４９ｐＭの同様のピコモル単位のアフィニティー（Ｋｄ）で、ヒト、ＮＨＰ、ラット、およびマウスのＶＩＳＴＡオーソ

ログに結合することも観察された（図７５Ａ～７５Ｄを参照されたい）。
【１０１５】
ＦＡＣＳにより、細胞表面Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、組換えＶＩＳＴＡオーソログを発現するＨＥＫ２９３Ｔ細胞のほか、関連する前臨床種のＰＢＭＣの中の骨髄細胞への結合も、さらに確認された。
【１０１６】
図７０Ｃは、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、ヒト、ＮＨＰ、ラット、およびマウスのＶＩＳＴＡを発現するＨＥＫ２９３Ｔ細胞について、それぞれ、３．７３８ｎＭ、２．５７１ｎＭ、４．１３３ｎＭ、および８．９４ｎＭである、同等のEC_{50}値により、全ての被験種のＶＩＳＴＡオーソログへの用量依存的結合を示したことを示す。ＶＩＳＴＡを発現しない、野生型ＨＥＫ２９３Ｔ細胞への非特異的結合は、観察されなかった。
【１０１７】
図７０Ｄは、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４がまた、ヒト、ＮＨＰ、ラット、およびマウスのＶＩＳＴＡについて、それぞれ、１０８ｎＭ、６７．６ｎＭ、４８．６ｎＭ、および１１ｎＭのEC_{50}で、全ての前臨床被験種の骨髄細胞上で発現された、内因性ＶＩＳＴＡへの同等の用量依存的結合も示したことを示す。
【１０１８】
一部の腫瘍環境は、低酸素性であり、比較的低ｐＨにより特徴付けられることが報告されている。ＶＩＳＴＡは、プロトン化を受けやすい、多くの露出されたヒスチジン残基を含有し、抗体の結合に影響を及ぼしうるので、本発明者らは、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の結合に対する、ｐＨの影響について査定した。図７５Ｅは、ＥＬＩＳＡにより評価される通り、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、ｐＨ５．５～７．５において、ＶＩＳＴＡに、同等のアフィニティーで結合することが観察されたことは、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、生理学的に関連するｐＨ範囲にわたり、ＶＩＳＴＡに結合し、結合性部位が、ヒスチジンリッチ領域と別個であることを確認することを示す。
【１０１９】
したがって、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の結合は、高度に選択的であり、腫瘍微小環境内のｐＨ条件を表しうる、低ｐＨ条件であってもなお維持される。
１７．５．Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、ＶＩＳＴＡの機能性を遮断する能力
１７．５．１．Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４は、骨髄機能をモジュレートする
最高レベルのＶＩＳＴＡを発現する骨髄細胞に対する、ＶＩＳＴＡ遮断の効果について探索するために、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４による処置を、骨髄機能についての、いくつかのｉｎ　ｖｉｔｒｏモデルにおいて査定した。
【１０２０】
まず、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４によるＶＩＳＴＡ遮断を、ヒト単球性ＭＤＳＣの機能に対するその効果について評価した。既存の研究は、ＭＤＳＣが、ＴＭＥ内のＴ細胞機能の抑制に、著明に寄与することを報告している（Ｌ．Ｗａｎｇら、Ｏｎｃｏｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ７、ｅ１４６９５９４（２０１８））。ＧＭ－ＣＳＦおよびＩＬ－６により、７日間にわたり、ＭＤＳＣへと分化させた単球を、自家ＰＢＭＣと共に共培養した。次いで、Ｔ細胞を、抗ＣＤ３抗体で刺激し、ＥＬＩＳＡにより、培養物上清中のＩＦＮ－γレベルを測定した。
【１０２１】
図７１Ａは、ＩＦＮ－γレベルの増強により指し示される通り、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の添加は、抗ＣＤ３刺激に応答する、ＭＤＳＣ媒介性Ｔ細胞抑制の反転に成功したが、ＶＳＴＢ１１２の添加は、これに成功しなかったことを示す。
【１０２２】
好中球などの顆粒球は、自然免疫応答の不可欠の部分であるが、がんの進行に、有害な影響を及ぼしうる。顆粒球性（ｇ）ＭＤＳＣを、ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおいてモデル化することは、困難であるが、ｇ－ＭＤＳＣは、腫瘍微小環境に浸潤した好中球から生じることが公知である（Ｇ．Ｅ．Ｋａｉｋｏら、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、１２３、３２６～３３８

（２００８））。Ｔｒａｎｓｗｅｌｌアッセイを使用して、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４媒介性ＶＩＳＴＡ遮断の、好中球走化性に対する効果を探索した。このアッセイでは、好中球は、生理学的に関連する化学誘引物質である、Ｃ５ａに向かって、チャンバー間を遊走し、次いで、発光リードアウトを介して、下チャンバーへと遊走した細胞のパーセントが定量される。

【１０２３】

図７１Ｂは、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、好中球の遊走を、用量依存的に、強力に阻害したことを示す。これに対し、ＶＳＴＢ１１２は、はるかに高濃度で、好中球の遊走を抑制しえたにとどまった。

【１０２４】

まとめると、これらの結果は、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、骨髄細胞上のＶＩＳＴＡを、強力に中和し、炎症促進性サイトカインの分泌の増大、および好中球の遊走の減少をもたらすことを裏付ける。

１７．５．２．Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４は、免疫細胞環境を、$Ｔ_{Ｈ}１$／$Ｔ_{Ｈ}１７$免疫応答へと極性化させる

Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４によるＶＩＳＴＡ遮断の機能的効果について、免疫活性化についての、より複雑なｉｎ　ｖｉｔｒｏモデルにおいて探索するために、同系混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイを使用した。略述すると、自己／抗自己免疫応答をモデル化するように、５例の独立の健常ヒトドナーに由来するＰＢＭＣを、対で混合し、次いで、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の存在下または非存在下で、最長で９６時間にわたり培養してから、上清を、サイトカインレベルについて解析した。バルクＲＮＡ－ｓｅｑを使用して、細胞のトランスクリプトームもまた解析した。上清中のサイトカインレベルは、Ｌｕｍｉｎｅｘアッセイにより定量した。

【１０２５】

図７２Ａは、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、抗ＰＤ－１抗体である、ペムブロリズマブによるＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１遮断により見られる効果と同等な効果である、９６時間後におけるＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、およびＩＬ－１７Ａのレベルの有意な用量依存的上昇を誘導したが、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、およびＩＬ－１３（Ｔｈ２サイトカイン）またはＩＬ－６のレベルの有意な変化は誘導しなかったことを示す。これらのサイトカインレベルの変化は、Ｔｈ１／Ｔｈ１７応答へとシフトを指し示す。

【１０２６】

この結論は、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、およびＩＬ－１２Ａなど、Ｔｈ１関連遺伝子の転写物レベルの上昇、ならびにＴｈ２関連遺伝子である、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、およびＩＬ－９の転写物レベルの低下（図７２Ｄ）と共に、ＴＬＲ、ＴＮＦ－α、ＩＬ－１、ＪＡＫ－ＳＴＡＴ、およびＩＬ－１７のシグナル伝達経路と関連する遺伝子の転写物レベルのエンリッチメント（図７２Ｂ、７２Ｃ）を強調する、バルクＲＮＡ－ｓｅｑにより、さらに支持された。

【１０２７】

まとめると、これらの結果は、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４による、ＶＩＳＴＡの遮断が、免疫細胞環境を、Ｔｈ１／Ｔｈ１７免疫応答の増強へと極性化しうることを示す。これは、Ｔｈ１／Ｔｈ１７応答により特徴付けられることが、既に報告されている（Ｎ．Ｌｉら、Ｓｃｉ　Ｒｅｐ－ｕｋ、７、１４８５（２０１７））、乾癬および実験的自己免疫脳脊髄炎（ＥＡＥ）をもたらす、マウスＶＩＳＴＡノックアウトモデルと符合する。

１７．６．Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４による処置は、充実性腫瘍についての、複数の免疫コンピテントマウスＣＤＸモデルにおいて、強力な抗腫瘍応答を誘導する

ｉｎ　ｖｉｖｏにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の、炎症促進効果および抗腫瘍形成効果について探索するために、腫瘍増殖阻害研究を、結腸がん（ＣＴ２６）についての同系マウスＣＤＸ（ｃｅｌｌ　ｌｉｎｅ－ｄｅｒｉｖｅｄ　ｘｅｎｏｇｒａｆｔ）皮下モデル、ＶＩＳＴＡ発現性乳がん（４Ｔ１）についての、チェックポイント阻害剤耐性同所性ＣＤＸモデル、ならびにヒト肺がん（Ａ５４９）およびヒト結腸直腸がん（ＨＣＴ１５

）についての、ＣＤ３４生着ヒト化マウスモデルを含む、複数の充実性腫瘍モデルにおいて行った。

【１０２８】

まず、Ｂａｌｂ／ｃマウスの皮下（右脇腹）に、ＣＴ２６腫瘍を植え込み、５００μｇ（約２５ｍｇ／ｋｇ）のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４（腹腔内）により、植込みの３日後から、隔週で処置した。

【１０２９】

図７３Ａは、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、８４％の腫瘍増殖阻害率（ＴＧＩ）により、溶媒と比較して、有意な単剤有効性を示したことを示す。

【１０３０】

次に、Ｂａｌｂ／ｃマウスの乳腺脂肪体内に、ＶＩＳＴＡを過剰発現する４Ｔ１細胞を植え込むことにより、乳がんについてのマウス同所性モデルを確立した。マウスを、植込み後７、９、１２、１４、１６日目に、５０μｇのＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４、または抗マウスＶＩＳＴＡ抗体である１３Ｆ３により、腫瘍内処置した。１３Ｆ３は、ｉｎ　ｖｉｖｏにおける抗ＶＩＳＴＡ抗体の有効性について研究するためのマウスサロゲートとして使用されることが多い。

【１０３１】

図７３Ｂは、これもまた、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、１３Ｆ３のＴＧＩと同等である、有意なＴＧＩ（５３％）を示したことは、２つの抗体が共通の作用機構を共有しうることを示唆することを示す。

【１０３２】

最後に、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の有効性を、ＣＤ３４＋臍帯血造血幹細胞を生着させたヒト化マウスにおいて調べた。腫瘍植込みの２日前に、これらのヒト化マウスに、臓器内および血液中のＴ、Ｂ、および骨髄細胞など、複数のヒト細胞系統を安定的に再構成する、ＧＭ－ＣＳＦ／ＩＬ３によるブーストを施した（表Ｓ１）。３～４カ月間にわたる再構成の後、マウスの皮下に、ヒトＨＣＴ１５結腸直腸がん細胞、またはヒトＡ５４９肺がん細胞を植え込み、隔週で（植込みの５日後に始めて、５００μｇ（約２５ｍｇ／ｋｇ）のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４または溶媒対照により、腹腔内）処置した。

【１０３３】

図７３Ｃおよび７３Ｄは、同系モデルにおいて観察される通り、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、これらのＨＣＴ１５結腸直腸、およびＡ５４９肺ヒト化ＣＤＸモデルにおいて、それぞれ、６５％および６２％のＴＧＩの有意な単剤抗腫瘍有効性を示したことを示す。

【１０３４】

したがって、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４は、充実性腫瘍についての、複数のＣＤＸモデルにおいて、単剤として、強力な抗腫瘍応答を示す。完全免疫コンピテントマウス腫瘍モデル、およびヒト免疫コンパートメントを再現するマウス腫瘍モデルの両方の、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４による処置の後で観察された、同様の腫瘍阻害は、マウス抗腫瘍免疫応答と、ヒト抗腫瘍免疫応答との間で共有される、保存的であり、かつ、潜在的に置き換えが可能な作用機構を示唆する。

１７．７．Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４による処置は、マウスＣＤＸモデルの腫瘍微小環境をリモデリングし、活性化エフェクター免疫細胞を増大させ、抑制細胞を減少させる

マウスモデルにおいて、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４について観察された抗腫瘍有効性の機構について理解するために、ＦＡＣＳを使用して、同系ＣＴ２６結腸がんモデルに由来する腫瘍を、さらにプロファイリングした。

【１０３５】

図７３Ｅは、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４による処置が、腫瘍微小環境内における、ＣＤ１１ｂ＋　ＭＨＣＩＩ＋（抗原提示細胞）、ＣＤ１１ｂ＋　Ｆ４／８０＋（マクロファージ）、およびＣＤ１１ｃ＋（ＤＣ）の百分率を、有意に増大させることが観察されたことを示す。ＣＤ８＋　Ｔ細胞の増大もまた、観察されたが、これは、統計学的に有意ではなかった。これに対し、処置マウスの腫瘍では、広域抑制ＭＤＳＣ（ＣＤ１１ｂ＋　ＧＲ１

＋　ＭＨＣＩＩ－）の頻度が、溶媒対照と比較して、有意に低下した。

【１０３６】

免疫細胞数のこれらの変化が、腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）の機能状態と関連した機構についてさらに評価するために、本発明者らは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおいて、ＣＴ２６細胞と、ＣＤＸモデルから単離されたＴＩＬとを共培養することにより、抗原リコールアッセイを実施した。

【１０３７】

図７３Ｆは、共培養の７２時間後、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４で処置された腫瘍から単離されたＴＩＬが、ＣＴ２６細胞の、有意に高度の溶解を示したことを示す。この活性の増大は、ＥＬＩＳＡにより測定される通り、処置マウスに由来するＴ細胞が、非処置マウスと比較して、有意に高度のＩＦＮ－γレベルを示した、浸潤Ｔ細胞の、ＣＴ２６細胞を伴う、ｅｘ　ｖｉｖｏ共培養アッセイにより、さらに確認された。

【１０３８】

これらの結果は、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４によるＶＩＳＴＡの遮断は、腫瘍微小環境内の免疫抑制性ＭＤＳＣの共時的低下と共に炎症性エフェクター細胞のレベルを上昇させ、ＴＩＬの、抗原特異的細胞傷害活性を増強し、抗腫瘍Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の有効性に寄与する可能性が高いことを示唆する。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、腫瘍微小環境を、抗腫瘍形成性であり、炎症促進性である表現型へとリモデリングすることが可能であることは、一次作用機構が、高度にＶＩＳＴＡ陽性である骨髄コンパートメントの操作であることと符合する。

１７．８．Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４は、複数の種において、好適な薬物動態プロファイルを呈する

治療用抗体は、適切な投与レジメンと適合性の血漿中半減期を有するべきである。既存の抗ＶＩＳＴＡ抗体は、急速な血清クリアランスにより特徴付けられる、ＰＫ不良を示している（Ｒ．Ｊ．Ｊｏｈｎｓｔｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ、５７４、５６５～５７０（２０１９））が、これは、とりわけ、ＶＩＳＴＡ発現細胞の、急速な細胞代謝回転をもたらし、有意な抗体シンクを引き起こす、好中球によるＡＤＣＣなど、Ｆｃ－エフェクター機能により説明されうる。したがって、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の薬物動態プロファイルを、健常および腫瘍保有マウス、ならびに健常ラットおよびＮＨＰにおいて査定した。

【１０３９】

図７４Ａは、増大用量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４（５～２０ｍｇ／ｋｇ）を腹腔内投与された、腫瘍保有および非腫瘍保有Ｂａｌｂ／ｃマウスについての、代表的薬物動態プロファイルを示す。非腫瘍保有マウスは、線形ＰＫを示したが、腫瘍保有マウスにおけるプロファイルは、非線形であり、標的のより高レベル、およびＴＭＤＤ（ｔａｒｇｅｔ　ｍｅｄｉａｔｅｄ　ｄｒｕｇ　ｄｉｓｐｏｓｉｔｉｏｎ）の増大に起因する可能性が高い。腫瘍保有マウスにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の血清中半減期が、用量にわたり、２６．９～５７．２時間であると計算されたのに対し、非腫瘍保有マウスにおいて、血清中半減期は、６１．１～８０．８時間であった。

【１０４０】

Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットおよびカニクイザルにおいて、ＰＫプロファイルは、雄および雌両方の動物における測定値から決定した。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４は、１ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、および１００ｍｇ／ｋｇの単回投与で、ラットでは、尾静脈への静脈内（ＩＶ）ボーラス注入として、サルでは、末梢静脈へのＩＶボーラス注入として投与した。いずれの種でも、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４のＰＫプロファイルは、性別間で異ならず、全ての用量にわたり、Ｃｍａｘ値について、曝露の用量比例的増大が観察された。各投与群によるＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４についての血清中半減期は延長された。ラットにおいて、両方の性別にわたり観察された平均値半減期が、１、１０、および１００ｍｇ／ｋｇについて、それぞれ、６．３、２５．５、および６７．５時間であったのに対し、カニクイザルにおいて、両方の性別にわたり観察された平均値半減期は、１、１０、および１００ｍｇ／ｋｇについて、それぞれ、８．６、４１．３、および３４．９

時間であった（図７４Ｂ、７４Ｃ）。
【１０４１】
併せて、これらの結果は、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、複数の種において、ＩｇＧ１Ｆｃドメインの枯渇を伴う、他の抗ＶＩＳＴＡ抗体について言及されている、急速なクリアランスを伴わずに、好適なＰＫプロファイルを有することを裏付ける。
【１０４２】
最適の治療用抗体は、正常組織に対する最小の毒性を示し、サイトカイン放出症候群（治療用量未満における、他のＩｇＧ１アイソタイプ抗ＶＩＳＴＡ枯渇抗体（ＮＣＴ０２６７１９５５）について報告されている）など、有害な副作用を回避するべきである。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４は、ＶＩＳＴＡオーソログへの、種保存的結合を示すので、上記のＰＫ研究からの動物はまた、共時的な忍容性研究の一部として、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４投与の有害作用についてもモニタリングした。Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットおよびカニクイザルにおける、単回ＩＶ注射の後、いずれの種も、処置関連罹患／死亡または臨床徴候を示さず、体重、食物摂取、臨床用化学、または血液学パラメータの処置関連変化も示さず、これは、２８日間の観察期間の持続にわたり維持された。
【１０４３】
加えて、サイトメトリービーズアレイ法を使用して、培養物上清中のＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－６、ＩＬ－１０、ＴＮＦ－α、およびＩＦＮ－γのレベルを査定することにより、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の潜在的免疫毒性について評価するように、健常ドナーに由来するヒト全血液、および健常ドナーから単離されたＰＢＭＣにより、ｅｘ　ｖｉｖｏサイトカイン放出アッセイを行った。サイトカインレベルは、可溶性刺激フォーマットにおける、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４、陽性対照（抗ＣＤ３またはブドウ球菌エンテロトキシンＢ）、または陰性アイソタイプ対照による、２４時間にわたる刺激の後で測定した。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４は、血液中または精製ＰＢＭＣ内における、有意なサイトカイン放出を誘発しなかった（図７４Ｄ～７４Ｇ）。
【１０４４】
併せて、これらの結果は、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４が、ラットおよびカニクイザルにおいて、忍容良好であったことを裏付け、サイトカイン放出により引き起こされる、潜在的免疫毒性に対する危険性が低いことをさらに示唆する。
１７．９．Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４および抗ＰＤ－１による腫瘍増殖の阻害
Ａ５４９細胞モデル
Ａ５４９細胞は、ＡＴＣＣから得た。細胞は、７０～８０％のコンフルエンシーで採取し、１５ｍｌのＰＢＳで、３回にわたり洗浄し、血球計を使用してカウントし、ＰＢＳ中に、１ｍｌ当たりの細胞５×１０^{7}個の濃度へと再構成した。
【１０４５】
Ａ５４９細胞由来腫瘍は、Ａ５４９細胞５×１０^{6}個（０．１ｍｌの総容量中に）を、６～８週齢のＣＤ３４生着ヒト化ＨｉＭｉｃｅマウスの右脇腹皮下へと植え込むことにより確立した。
【１０４６】
植込みの３日後に、かつ、これ以後隔週で、６～７週間にわたり、マウスに、
・０．２ｍｌの総容量中に、５００μｇの用量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４（ＨＭＢＤ－００２）（２５ｍｇ／ｋｇと同等である）；
・０．２ｍｌの総容量中に、２００μｇの用量の抗ヒトＰＤ－１抗体（１０ｍｇ／ｋｇと同等である）；
・０．２ｍｌの総容量中に、５００μｇの用量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４＋２００μｇの抗ヒトＰＤ－１抗体
を、腹腔内投与した。
【１０４７】
腫瘍体積は、処置の経過にわたり測定した。
【１０４８】

結果を、図８３Ａに示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体であるＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４（ＨＭＢＤ－００２）と、抗ＰＤ－１とによる組合せ療法は、いずれかの薬剤単独より大きな程度で、腫瘍増殖を阻害した。

ＣＴ２６細胞モデル

ＣＴ２６細胞は、ＡＴＣＣから得た。細胞は、７０～８０％のコンフルエンシーで採取し、１５ｍｌのＰＢＳで、３回にわたり洗浄し、血球計を使用してカウントし、ＰＢＳ中に、１ｍｌ当たりの細胞５×１０^{6}個の濃度へと再構成した。

【１０４９】

ＣＴ２６細胞由来腫瘍は、ＣＴ２６細胞１×１０^{5}個（０．１ｍｌの総容量中に）を、６～８週齢のＢａｌｂ／ｃマウスの右脇腹皮下へと植え込むことにより確立した。

【１０５０】

植込みの３日後に、かつ、これ以後隔週で、４～５週間にわたり、マウスに、

・０．２ｍｌの総容量中に、５００μｇの用量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４（ＨＭＢＤ－００２）（２５ｍｇ／ｋｇと同等である）；

・０．２ｍｌの総容量中に、２００μｇの用量の抗マウスＰＤ－１抗体（１０ｍｇ／ｋｇと同等である）；

・０．２ｍｌの総容量中に、５００μｇの用量のＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４＋２００μｇの抗マウスＰＤ－１抗体

を、腹腔内投与した。

【１０５１】

腫瘍体積は、処置の経過にわたり測定した。

【１０５２】

結果を、図８３Ｂに示す。抗ＶＩＳＴＡ抗体であるＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４（ＨＭＢＤ－００２）と、抗ＰＤ－１とによる組合せ療法は、いずれかの薬剤単独より大きな程度で、腫瘍増殖を阻害した。

１７．１０．実施例１７のための材料および方法

ＥＬＩＳＡ結合アッセイ

３８４ウェルプレートを、ＰＢＳ中、４℃で、１６時間にわたり希釈された、１μｇ／ｍｌの標的抗原でコーティングした。トリス緩衝生理食塩液（ＴＢＳ）中に１％のＢＳＡによる、室温で、１時間にわたるブロッキングの後、１倍濃度のＰＢＳにより、中性のｐＨ７において作製された、１％のＢＳＡを使用して、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４またはヒトＩｇＧ４アイソタイプ対照（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ；型番：４０３７０２）を系列希釈し、プレートへと添加した。異なるｐＨで、被験薬の結合について調べるために、１倍濃度のＰＢＳを使用して、１％のＢＳＡを、７．５、６．５、６、５．５、または５のｐＨで作製した。室温で、１時間にわたるインキュベーションの後、０．０５％のＴｗｅｅｎ２０を含有するＴＢＳ（ＴＢＳ－Ｔ）により、プレートを、３回にわたり洗浄し、１：７０００のヤギ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ－ＨＲＰ（Ａｂｃａｍ；型番：ａｂ９７２２５）と共に、室温で、１時間にわたりインキュベートした。洗浄の後、プレートを、比色検出用基質である、３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン（Ｔｕｒｂｏ－ＴＭＢ；Ｐｉｅｒｃｅ）で、１０分間にわたり現像した。２ＭのＨ$_{2}$ＳＯ$_{4}$により、反応を停止させ、ＯＤは、ＢｉｏＴｅｋ　Ｓｙｎｅｒｇｙ　ＨＴ上、４５０ｎｍで測定した。

フローサイトメトリーおよび解析

フローサイトメトリーにより、ＶＩＳＴＡを発現するように操作された、ＰＢＭＣ上またはＨＥＫ２９３Ｔ細胞上における、細胞表面発現ＶＩＳＴＡへの、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４の結合を測定した。製造元のプロトコールに従い、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ２０００（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ；型番：１１６６８０１９）を使用して、野生型ＨＥＫ２９３Ｔ細胞に、ヒト、ＮＨＰ、ラット、およびマウスのＶＩＳＴＡをコードする、ＶＩＳＴＡ　ｃＤＮＡ発現プラスミド（Ｓｉｎｏｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ）を、一過性にトランスフェクトした。ヒト、ＮＨＰ、ラット、およびマウスに由来するＰＢＭＣは、市販品の販売元（Ａｃｃｅｇｅｎ）から調達し、染色の前に、Ｆｃ

ｂｌｏｃｋ（Ｈｕｍａｎ　ＴｒｕＳｔａｉｎ　ＦｃＸ、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ；型番：４２２３０２；Ｍｏｕｓｅ　ＴｒｕＳｔａｉｎ　Ｆｃｘ、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ；型番：１０１３２０；抗ラットＣＤ３２、ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ；型番：５５０２７０；およびＲｈｅｓｕｓ　ＦｃＲ　Ｂｉｎｄｉｎｇ　Ｉｎｈｉｂｉｔｏｒ、ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ；型番：１４－９１６５－４２）でブロッキングした。製造元のプロトコールに従い、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４またはアイソタイプ対照抗体を、アロフィコシアニン（ＡＰＣ）とコンジュゲートさせた。

【１０５３】

ＦＡＣＳのために、細胞を、図中に表示の、異なる濃度のＡＰＣタグ付けＶ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４またはアイソタイプ対照と共に、４℃で、４０分間にわたりインキュベートした。骨髄細胞を同定するために、ＰＢＭＣを、ＣＤ４５　ＦＩＴＣおよびＣＤ１１ｂ　ＰＥと共に、さらにインキュベートした。細胞を、再度洗浄し、ＭＡＣＳＱｕａｎｔ　１０（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ）を使用して、フローサイトメトリー解析のために、２００μＬのＦＡＣＳ用フロー緩衝液（５ｍＭのＥＤＴＡを伴うＰＢＳ）中に再懸濁させた。収集の後、Ｆｌｏｗｌｏｇｉｃソフトウェアを使用して、全ての生データを解析した。前方および側方散乱光を使用して、細胞にゲートをかけ、陽性細胞の百分率を決定した。

免疫組織化学

ホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）組織を含む、ＴＮＢＣ、ＮＳＣＬＣ、中皮腫、および肝がん患者の組織マイクロアレイ（ＴＭＡ）（ＵＳＢｉｏｍａｘ；型番：ＢＲ１３０１、ＬＣ１４０１、ＭＳ４８１ｄ、ＬＶ８０１３ａ）を、ＶＩＳＴＡ（４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａ；希釈率：１：８００）およびＶＳＩＧ３（ＬＳ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ；型番：ＬＳ－Ｃ３３８８５８；希釈率：１：３００）について染色し、正常ＴＭＡ（ＵＳＢｉｏｍａｘ；型番：ＦＤＡ９９９ｑ）もまた、ＶＩＳＴＡ（４Ｍ２－Ｃ１２－ｍＩｇＧ２ａ）について染色した。スライドを、乾燥機内、１５分間～１時間にわたり乾燥させ、抗原賦活化のために、９７℃で、２０分間にわたり、ＥｎＶｉｓｉｏｎ（商標）ＦＬＥＸ　Ｔａｒｇｅｔ　Ｒｅｔｒｉｅｖａｌ　Ｓｏｌｕｔｉｏｎ，ｌｏｗ　ｐＨ（Ｄａｋｏ；Ｋ８００５／ＤＭ８２９）中に浸漬した。スライドを、１０分間にわたり、Ｅｎｖｉｓｉｏｎ　Ｆｌｅｘ　Ｂｕｆｆｅｒ（１倍濃度）中に浸漬してから、染色のために、Ｏｍｎｉｓ測定器へと移した。キットベースプロトコールを使用して、スライドを、Ｄａｋｏ　Ｌｉｎｋ　Ｏｍｎｉｓ上で、Ｅｎｖｉｓｉｏｎ　Ｆｌｅｘ＋検出システム（キット：Ｋ８００）により、染色および対比染色するのに続き、すすぎ、脱水し、カバースリップ処理した。光学顕微鏡により、ＴＭＡを、半定量的に評定して、正常および腫瘍組織内における、染色の相対強度（０～３＋の強度スケール）、ＶＩＳＴＡ／ＶＳＩＧ３タンパク質発現の分布および局在を決定した。

Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４による、ＶＩＳＴＡ－ＶＳＩＧ３の遮断後における、サイトカイン放出

ＰＢＭＣを、１：０（２μｇ／ｍｌのαＣＤ３単独）および１：２（２μｇ／ｍｌのαＣＤ３：４μｇ／ｍｌのＶＳＩＧ３－Ｆｃ）の比における、αＣＤ３モノクローナル抗体（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ；型番：１６－００３７）およびＶＳＩＧ３－Ｆｃ（Ｒ＆Ｄ；型番：９２２９－ＶＳ）によりコーティングされたプレート内で培養した。次いで、細胞を、表示の濃度における、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４、ＶＳＴＢ１１２、またはＩｇＧ４アイソタイプ対照（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ；型番：４０３７０２）で処置し、プレートを、３７℃でインキュベートした。２４時間後に、上清を採取し、Ｈｕｍａｎ　ＩＦＮ－γ　Ｕｎｃｏａｔｅｄ　ＥＬＩＳＡ　ｋｉｔ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ；型番：８８－７３１６）を使用して、ＩＦＮ－γレベルを測定した。

ＭＤＳＣ－Ｔ細胞共培養物

単球は、Ｃｌａｓｓｉｃａｌ　Ｍｏｎｏｃｙｔｅ　Ｉｓｏｌａｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ、Ｇｅｒｍａｎｙ；型番：１３０－１１７－３３７）を使用するネガティブエンリッチメントを介して、採取したてのヒトＰＢＭＣから単離した。その後、ＧＭ－ＣＳＦ（１０ｎｇ／ｍｌ）（ＰｅｐｒｏＴｅｃｈ、ＵＳＡ；型番：３００－０３）、および

ＩＬ－６（１０ｎｇ／ｍｌ）（ＰｅｐｒｏＴｅｃｈ、ＵＳＡ；型番：２００－０６）の存在下で、７日間にわたり、単球を、ＭＤＳＣへと分化させた。ＭＤＳＣを採取し、ヒト抗ＣＤ３抗体（ＯＫＴ３、１μｇ／ｍｌ）（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ、ＵＳＡ；型番：３１７３２６）の存在下で、かつ、表示の被験薬の存在下または非存在下で、単離されたばかりの自家ＰＢＭＣと共に、３：１の比で培養した。９６時間後に、上清を採取し、ＥＬＩＳＡ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ、ＵＳＡ；型番：８８－７３１６－８８）を介して、ＩＦＮ－γレベルを決定した。

好中球走化性アッセイ

ＭＡＣＳｘｐｒｅｓｓ（登録商標）Ｗｈｏｌｅ Ｂｌｏｏｄ Ｎｅｕｔｒｏｐｈｉｌ Ｉｓｏｌａｔｉｏｎ Ｋｉｔ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ；型番：１３０－１０４－４３４）を使用して、好中球を、全血液から単離し、表示の濃度における、Ｖ４－Ｃ２６ ｈＩｇＧ４、ＶＳＴＢ１１２またはアイソタイプ対照と共に、３７℃で、６０分間にわたりインキュベートした。インキュベーション後、好中球を、２４ ｗｅｌｌ Ｔｒａｎｓｗｅｌｌ ｐｌａｔｅ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ；型番：１４０６２８７）の上チャンバー（ウェル１つ当たり３００μｌ）に播種し、Ｃ５ａを、５０ｎｇ／ｍｌで伴うか、またはこれを伴わない培地（Ａｃｒｏ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍ；型番：Ｃ５Ａ－Ｈ５１１６）を、下チャンバー（６００μｌ）へと添加した。細胞を、Ｔｒａｎｓｗｅｌｌ内、３７℃で、１時間にわたりインキュベートし、この後、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ（Ｐｒｏｍｅｇａ；型番：Ｇ７５７１）を使用して、下チャンバーに遊走した好中球のＡＴＰレベルを測定し、Ｖｉｃｔｏｒ Ｎｏｖａ（Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ）により、発光を測定した。

ヒト同系混合リンパ球反応（ＭＬＲ）

製造元のプロトコールに従い、Ｌｙｍｐｈｏｐｒｅｐ（Ｓｔｅｍｃｅｌｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ；型番：０７８６１）を使用して、採取したてのＰＢＭＣを、ヒト全血液（合計５例のドナー）から単離し、１ｍｌ当たりの細胞５×１０^{6}個で、ＣｅｌｌＧｅｎｉｘ ＧＭＰ ＤＣ Ｍｅｄｉｕｍ中に再懸濁させた。５０μｌのＤＣ培地を、９６ウェル丸底プレートの各ウェルへと添加するのに続き、３０、１０、および１μｇ／ｍＬにおける、５０ｕｌのＶ４－Ｃ２６ ｈＩｇＧ４またはアイソタイプ対照ｈＩｇＧ４（ＩｎｖｉｖｏＧｅｎ；型番：ｂｇａｌ－ｍａｂ１１４）の存在下、２例のドナーに由来する、５０μｌのＰＢＭＣを、１：１の比で添加した。合計１０組のドナー対を使用した。細胞を、３７℃で、９６時間にわたりインキュベートした。９６時間後に、上清を回収し、Ｌｕｍｉｎｅｘ（Ｒ＆Ｄ；型番：ＬＸＳＡＨＭ－０４／０７）により、上清中のサイトカインレベルを検出した。データは、アイソタイプ対照値を、被検試料値から減算することにより、ｈＩｇ４アイソタイプ対照に対して正規化した。

動物実験

Ｂａｌｂ／ｃマウスは、ＩｎＶｉｖｏｓまたはＪａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｓから購入し、ＣＤ３４生着ヒト化ＨｉＭｉｃｅマウスは、Ｉｎｖｉｖｏｃｕｅから購入した。全ての動物は、ＡＡＬＡＣ公認施設内の、特別な無病原体条件下で飼育し、Ｉｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ Ａｎｉｍａｌ Ｃａｒｅ ａｎｄ Ｕｓｅ Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅによるガイドラインに、厳格に準拠して処置した。

ｉｎ ｖｉｖｏ腫瘍増殖アッセイ

マウスの右脇腹の皮下に、腫瘍細胞（ＣＴ２６について、１０^{5}個、ＨＣＴ１５について、１０^{6}個、およびＡ５４９について、５×１０^{6}個）を植え込むか、または同所性乳房モデルのために、腫瘍細胞を、乳腺脂肪体へと植え込んだ（４Ｔ１細胞２×１０^{4}個）。植込みの３～６日後、マウスを、表示の用量および間隔の被験薬で、１週間に２回処置した。処置は、全ての皮下モデルには、腹腔内投与し、同所性モデルには、腫瘍内投与した。腫瘍体積は、Ｔｈａｋｋａｒら、Ｍｏｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒ（２０２０）、１９：４９０～５０１に記載される通りに、キャリパーを使用して測定した。

統計学的解析

統計学的解析は、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍを使用して実施した。２変数（用量滴定）により収集されたデータは、二元ＡＮＯＶＡ、続いてチューキーの多重比較検定によ

り解析した。２群間の比較のために、独立ｔ検定を実施した。＊ｐ≦０．０５、＊＊ｐ≦０．０１、＊＊＊ｐ≦０．００１、＊＊＊＊ｐ≦０．０００１の値を、有意であると考えた。

種間における抗体結合アフィニティーの測定

Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４のアフィニティーは、Ｂｉａｃｏｒｅを使用する表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）により決定した。アッセイは、ＣＭ５センサーチップ（Ｃｙｔｉｖａ；型番：２９１０４９８８）を使用して実施した。Ｂｉａｃｏｒｅ　ＨＩＳ　ｃａｐｔｕｒｅ　ｋｉｔ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ；型番：２８－９９５０－５６）を利用して、ヒト、ＮＨＰ、ラット、およびマウスのＶＩＳＴＡ－ＨＩＳを、オンチップ表面に固定化するか、またはバックグラウンドシグナル補正のために、単独で放置した。略述すると、ＶＩＳＴＡ－ＨＩＳは、５μｌ／分の流量で、接触時間を６０秒間として捕捉した。Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４は、ヒト、ＮＨＰ、およびラットのＶＩＳＴＡについては、５０×10^{9}Ｍ～３９０×10^{12}Ｍとし、マウスＶＩＳＴＡについては、１２．５×10^{9}Ｍ～３９０×10^{12}Ｍとする、２倍の系列希釈液中を、室温、３０μｌ／分の流量で、９０秒間にわたる会合および３０００秒間にわたる解離のために流過させた。得られたセンサーグラムは、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００ソフトウェアを使用して解析し、K_Dは、１：１結合反応速度モデルへと当てはめることにより計算した。

抗体依存性細胞傷害作用および補体依存性細胞傷害作用

９６ウェルプレートを、４℃のＰＢＳ中に、ウェル１つ当たり１μｇのヒトＣ１ｑタンパク質、またはウェル１つ当たり０．５ｕｇのヒトＣＤ１６ａでコーティングした。一晩にわたるインキュベーション後、プレートを、３回にわたり洗浄し、ブロッキング緩衝液により、室温で、１時間にわたりブロッキングした。プレートを、Ｖ４－Ｃ２６　ｈＩｇＧ４またはアイソタイプ対照と共に、室温で、１時間にわたりインキュベートし、ＨＲＰコンジュゲート抗ヒトＦｃ抗体の１：７０００希釈液と共に、室温で、１時間にわたりインキュベートした。比色反応は、ＥＬＩＳＡについて、上記で記載された、標準的プロトコールを使用して現像した。

ｓｃ－ＲＮＡ－ｓｅｑ

ＶＩＳＴＡ転写物が最高度に発現された細胞型を決定するために、公開されている６８ｋ　ＰＢＭＣデータセットを、１０Ｘ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓウェブサイト（Ｓｔｕａｒｔら、Ｂｉｏｒｘｉｖ（２０１８）、４６０１４７）から読み出し、Ｓｅｕｒａｔ　ｖ３．２（Ｓｔｕａｒｔら、Ｃｅｌｌ、（２０１９）１７７：１８８８～１９０２．ｅ２１）を使用して加工した。ミトコンドリア転写物が６％を超えるか、または別個の転写物が２００未満である細胞は除外した。データは、デフォルトのパラメータと、ＶＳＴ（ｖａｒｉａｎｃｅ－ｓｔａｂｉｌｉｚｉｎｇ　ｔｒａｎｓｆｏｒｍａｔｉｏｎ）法を、２０，０００の特徴と共に使用して同定された可変特徴とを使用して正規化した。その後、データをスケーリングし、次いで、主成分を１５とする主成分分析（ＰＣＡ）による分解にかけた。デフォルトのパラメータを使用して、ＵＭＡＰ（Ｕｎｉｆｏｒｍ　Ｍａｎｉｆｏｌｄ　Ａｐｐｒｏｘｉｍａｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ｐｒｏｊｅｃｔｉｏｎ）射影を実行し、解像度を０．８として、ＦｉｎｄＣｌｕｓｔｅｒｓ関数にかけた。クラスターにラベル付けするために、ＳｅｕｒａｔＤａｔａパッケージからのＰＢＭＣ　３ｋデータセット（ＨａｆｅｍｅｉｓｔｅｒおよびＳａｔｉｊａ、Ｂｉｏｒｘｉｖ（２０１９）、５７６８２７）を、細胞の識別をマッピングするための参照として使用した。

バルクＲＮＡ－ｓｅｑ

処置の９６時間後に、条件（Ｖ４－Ｃ２６、Ｖ９、抗ＰＤ１、およびＩｇＧ４）１つ当たりの試料１０例を、ＭＬＲアッセイから採取した。ＮＥＢＮｅｘｔ　Ｕｌｔｒａ　ＩＩ　ＲＮＡ　ｌｉｂｒａｒｙ　ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ　ｋｉｔ（ＮＥＢ；型番：Ｅ７７７０Ｓ）を使用して、これらを、ＲＮＡ－ｓｅｑのために調製し、ＮｏｖａＳｅｑ　Ｓ４　ｆｌｏｗｃｅｌｌ　ｗｉｔｈ　ｖ１．５　ｃｈｅｍｉｓｔｒｙにかけた。ＦＡＳＴＱＣ　ａｎｄ　ＭｕｌｔｉＱＣ（Ｅｗｅｌｓら、Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ（２０１６）、３２：３０４７～３０４８）を使用して、アダプターによりトリミングされ、フィルタリン

グされたデータを査定し、Ｋａｌｌｉｓｔｏ ｖ０．４６（Ｂｒａｙら、Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ（２０１６）、３４：５２５～５２７）を使用して、リードを、ＧＲＣ３７ヒト参照トランスクリプトームに対してアライメントした。ＴｘＩｍｐｏｒｔ（Ｓｏｎｅｓｏｎら、Ｆ１０００ｒｅｓｅａｒｃｈ（２０１５）、４：１５２１）を使用して、データを、Ｒへとインポートした。ＤＥＳｅｑ２（Ｌｏｖｅら、Ｇｅｎｏｍｅ Ｂｉｏｌ（２０１４）、１５：５５０）を使用して、正規化された遺伝子カウントおよび遺伝子レベルにおける示差的発現を得た。デフォルトのパラメータを使用する、ＳＰＥＥＤ２（Ｒｙｄｅｎｆｅｌｔら、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ（２０２０）、４８：Ｗ３０７～Ｗ３１２）パッケージを使用して、経路の活性を推定した。

ＣＴ２６腫瘍のプロファイリング

細断された腫瘍組織の、０．１ｍｇ／ｍｌのＤＮａｓｅ Ｉ（Ｓｉｇｍａ、ＵＳＡ；型番：１１２８４９３２００１）、および１ｍｇ／ｍｌのＣｏｌｌａｇｅｎａｓｅ（Ｓｉｇｍａ、ＵＳＡ；型番：１１０８８６６００１）による、３７℃で、４５分間にわたる消化により、単一細胞懸濁液を作出した。Ｈｕｍａｎ ＴｒｕＳｔａｉｎ ＦｃＸ（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ、ＵＳＡ；型番：４２２３０２）により、Ｆｃ受容体をブロッキングした。免疫細胞のマーカーに対するフルオロフォアコンジュゲート抗体（表Ｓ４）により、細胞を染色し、洗浄し、緩衝液（１倍濃度のＰＢＳ＋０．５％ＢＳＡ＋１ｍＭのＥＤＴＡ）中に再懸濁させた。フローサイトメトリーを介して、免疫細胞集団の頻度を決定した。データは、ＭＡＣＳＱｕａｎｔ １０（Ｍｉｌｔｅｎｙ Ｂｉｏｔｅｃ、Ｇｅｒｍａｎｙ；型番：１３０－０９６－３４３）上で収集し、ＦｌｏｗＬｏｇｉｃ ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｖ７を使用して解析した。

ＣＴ２６抗原リコールアッセイ

単一細胞腫瘍懸濁液は、既に記載された通りに作出した。ＴＩＬ（ＣＤ４５＋）またはＴ細胞（ＣＤ４＋／ＣＤ８＋）は、製造元のプロトコールに従い、ＣＤ４５ ＭｉｃｒｏＢｅａｄｓ（Ｍｉｌｔｅｎｙ Ｂｉｏｔｅｃ、Ｇｅｒｍａｎｙ；型番：１３０－１１０－６１８）、またはＣＤ４／ＣＤ８ ＭｉｃｒｏＢｅａｄｓ（Ｍｉｌｔｅｎｙ Ｂｉｏｔｅｃ、Ｇｅｒｍａｎｙ；型番：１３０－１１６－４８０）を使用して、細胞懸濁液からエンリッチした。エフェクター細胞の、標的細胞に対する比（Ｅ：Ｔ比）を、表示の通りとして、２４時間前に播種されたＣＴ２６細胞（Ｔ：標的細胞）を、腫瘍からエンリッチされたＴＩＬまたはＴ細胞（Ｅ：エフェクター細胞）と共に、７２時間にわたり共培養した。全ての条件は、三連とした。細胞生存率は、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ Ｇｌｏ（Ｐｒｏｍｅｇａ、ＵＳＡ；型番：Ｇ７５７１）により決定した。上清中のＩＦＮ－γレベルは、ＥＬＩＳＡ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ＵＳＡ；型番：ＢＭＳ６０６）により決定した。溶解率は、溶解率％＝（（Ｔ－Ｅ：Ｔ）／Ｔ）×１００として計算した。

薬物動態

Ｖ４－Ｃ２６ ｈＩｇＧ４についての、単回投与における薬物動態プロファイルを、雄および雌のＢａｌｂ／ｃマウス、Ｓｐｒａｇｕｅ Ｄａｗｌｅｙラット、およびカニクイザルにおいて査定した。Ｖ４－Ｃ２６ ｈＩｇＧ４は、マウスにおける腹腔内注射、ラットにおける尾静脈へのＩＶボーラス注入として、およびサルにおける末梢静脈へのＩＶボーラス注入を介して、表示の濃度における単回投与により投与した。血液は、投与後の異なる時点において採取し、血清中の抗体濃度は、ＥＬＩＳＡにより定量した。薬物動態解析のためのパラメータ：最大濃度（Ｃｍａｘ）、ＡＵＣ（０～３３６時間後）、ＡＵＣ（０～無限時間後）、半減期（$t_{1/2}$）、クリアランス（ＣＬ）、および定常状態における分布容積（Ｖｓｓ）は、ノンコンパートメントモデルから導出した。

【１０５４】

実施例１８

抗体製剤の開発

製剤の開発は、Ｖ４－Ｃ２６可変領域、ヒトＩｇＧ４重鎖定常領域、およびヒトＩｇＧ４カッパ軽鎖を含み、配列番号３３１の重鎖と、配列番号３１７の軽鎖とから構成される、抗原結合性分子のために実施した。抗原結合性分子は、２０２１年５月７日に、ＡＴＣ

Ｃ特許受託番号：ＰＴＡ－１２７０６３として寄託された細胞系の細胞により産生される。本実施例では、この抗原結合性分子は、「ＨＭＤＢ－００２」と称される場合がある。

１８．１．製剤

ＨＭＤＢ－００２の医薬品安定性を、異なる液体製剤により査定した。製剤の開発は、高温および２℃～８℃における、１カ月間にわたる安定性、凍結融解ストレス研究、および高濃度ストレス研究を含む。サイズ変異体、電荷変異体、および結合効力に関して、最良の分子安定性を呈する製剤を同定するように、解析用試験をデザインした。

【１０５５】

Ｓｌｉｄｅ－Ａ－Ｌｙｚｅｒ，２０ｋ　ＭＷＣＯ（型番：６６０３０、Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用して、精製された材料（ＳｕｐｅｒｄｅｘおよびＣａｐｔｏＱによりさらに精製された、ＭａｂＳｅｌｅｃｔ　ＳｕＲｅ　ＬＸ（ＬＸ；３Ｌ　ｂｉｏｒｅａｃｔｏｒ　ｒｕｎ　１））を、異なる製剤緩衝液に対して透析した。まず、試料を、標的濃度を超えて、過剰濃縮（約１～１．２５倍）し、次いで、製剤緩衝液で希釈することにより、標的濃度へと調整し直した。

【１０５６】

加工された試料は、０．１ｕｍの滅菌フィルター（型番：１６５５３；Ｓａｒｔｏｒｉｕｓ）を通して濾過し、充填容量を１ｍＬとして、バイオセイフティーキャビネット内、１．８ｍＬの低温保存用バイアル（型番：ＮＮＣ３６８６３２、Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）へと分注した。

【１０５７】

被験製剤緩衝液は、以下の組成を有した：

【１０５８】

【表１６】

製剤ID	pH	緩衝液系 (20mM)	スクロース (%、w/v)	NaCl (mM)	ポリソルベート20 (%)	ポリソルベート80 (%)
F1	5.5	ヒスチジン	8	0	0	0.02
F2	5.8	ヒスチジン	8	0	0	0.02
F3	5.8	ヒスチジン	4	0	0	0.02
F4	5.8	ヒスチジン	2	0	0	0.02
F5	6.3	ヒスチジン	8	0	0	0.02
F6	5.8	ヒスチジン	8	0	0.02	0
F7	5.5	酢酸ナトリウム	8	0	0	0.02
F8	5.5	コハク酸ナトリウム	8	0	0	0.02
F9	5.8	ヒスチジン	0	0	0	0.02
F10	5.8	ヒスチジン	0	150	0	0

１８．２．ストレス条件

１０製剤を、高温ストレス、高濃度ストレス、および凍結融解ストレス下に置いた。各製剤について、合計４本ずつのバイアル（２つのバイアルサイズ：高濃度条件のための、バイアル１本当たり４ｍＬ；残りの条件のための、バイアル１本当たり１ｍＬを含む）を調製した。２～８℃で、１濃度（１０ｍｇ／ｍＬ）、３ストレス条件、１対照群とする、１０製剤について調べたが、このうち、規定された時間にわたる安定性試験は、４０℃および２℃～８℃における保管条件について行った。

製剤のストレス条件：

・凍結融解：６サイクルにわたる、－８０℃における凍結および室温における融解を実施した。各サイクルの間、バイアルは、融解まで、急速凍結のために、－８０℃で保持した。凍結時または融解時に、各バイアルを、互いから約５ｃｍ隔てた。約８０μＬの小アリコートを、バイアルから採取し、解析まで、２～８℃で保管し、１０製剤のための試料採取の後、バイアルを、－８０℃へと戻した。

【１０５９】
・高温：各製剤から１本ずつのバイアルを、所定の時点における温度を、４０℃に設定した、Ｉｎｆｏｒｓ ＨＴ Ｍｕｌｔｉｔｒｏｎインキュベーター内に保管した。約１５０μＬを、バイオセイフティーキャビネット内で採取して、汚染を防止した。次いで、アリコート分割された試料を、解析まで、２～８℃で保管し、残りのバイアルは、インキュベーターへと戻した。
【１０６０】
・高濃度：試料を、４℃、４０００ｇのベンチトップ型遠心分離機内の、２０Ｋ ＤａＭＷＣＯ Ａｍｉｃｏｎ ｐｒｏｔｅｉｎ ｃｏｎｃｅｎｔｒａｔｏｒ（型番：ＵＦＣ９０５０９６、Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）により濃縮した。各標的濃度が超えられるまで、２０分間ごとに、濃度をモニタリングした。次いで、試料濃度を、その最近傍の標的濃度へと調整し直した。
【１０６１】
アリコート分割された試料を、目視検査による沈殿、微小電極を伴うｐＨ計によるｐＨ、Ｎａｎｏｄｒｏｐ Ｌｉｔｅ ２０００による濃度、ＨＬＰＣ－ＳＥＣによる凝集、ＨＰＬＣ－ＣＥＸによる電荷変動、抗原結合性ＥＬＩＳＡによる効力、Ｎｏｖａ Ｆｌｅｘによる浸透圧について解析した。ストレス条件および解析用アッセイを、下記に示す。
【１０６２】
【表１７】

ストレス条件	目視検査	pH	濃度	HPLC-SEC	HPLC-CEX	抗原への結合	浸透圧
37～43℃	X	X	X	X	X	X	X
2～8℃	X	X	X	X	X	X	X
高濃度	X		X	X			
凍結-融解				X			

１８．３．安定性研究
１０製剤中に、１０ｍｇ／ｍＬのＨＭＢＤ－００２の安定性を、それぞれ、４０℃±３℃における１カ月間、および５℃±３℃における６カ月間の全期間にわたり査定した。試料は、下流行程からの解放時をｔ＝０として解析した。１０、２０、３０、６０、９０、１８０日目の時点において、本明細書で記載されるアッセイを使用して、試料を解析した。
１８．４．解析法
・Ａ２８０によるタンパク質含量：ＵＶ光吸光度の測定によるタンパク質含量の決定は、タンパク質内に存在するトリプトファン、チロシン、およびシステインの存在度の特有の特徴に基づいた。ＨＭＢＤ－００２の理論的減衰係数は、１．６４ｍＬ×ｍｇ$^{-1}$×ｃｍ$^{-1}$である。
【１０６３】
・目視検査：試料を、目視可能な粒子および沈殿について検査した。
【１０６４】
・ＨＰＬＣ－ＳＥＣによる純度および凝集物含量：抗体の純度は、解析用カラムを、ＸＢｒｉｄｇｅ ＢＥＨ２００ ＳＥＣ ３．５μｍ ７．８×３００ｍｍ ｃｏｌｕｍｎ（型番：１７６００３５９６、Ｗａｔｅｒｓ）へと変化させることを、主要な改変とする、ＨＭＢＤ－００２ ＳＥＣ ＳＯＰ ｖ１．０に基づく、高速液体クロマトグラフィーにより測定した。
【１０６５】
・ＨＰＬＣ－ＣＥＸによる、電荷の不均質性：抗体の帯電分布は、ＨＭＢＤ－００２ ＳＥＣ ＳＯＰ ｖ１．０に基づく、高速液体クロマトグラフィーシステム上のイオン交

換により実施した。
【１０６６】
・ｐＨ：ｐＨの測定は、市販の標準液による、ｐＨ７．０、ｐＨ４．０、およびｐＨ１０．０における、ｐＨ計の３点較正の後に実施した。
【１０６７】
・浸透圧：浸透圧は、Ｎｏｖａ　Ｆｌｅｘにより測定し、凝固点降下法を使用して決定した。
【１０６８】
・結合ＥＬＩＳＡ：ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６　ＥＬＩＳＡ（Ａｎｔｉｇｅｎ　Ｂｉｎｄｉｎｇ）ＳＯＰ　ｖ１．０を使用する。
１８．５．結果
高温安定性研究からの結果を、図７６Ａ～７６？に示す。
【１０６９】
図７６Ａは、タンパク質濃度が、全ての製剤について、４０℃±３℃で、１カ月間にわたり安定であることが見出されたことを示す。
【１０７０】
図７６Ｂは、ｐＨの揺動が、長期保管時において、全ての製剤について、一般に許容可能である、０．３未満であることが見出されたことを示す。２０日目および３０日目から取られた測定値は、全て、標的ｐＨに対して、はるかに小さな変動を示しているので、１０日目における、製剤Ｆ５、Ｆ６、およびＦ９についての、３つの測定点（黒丸により強調される）は、外れ値であると考えられる。
【１０７１】
図７６Ｃは、ＨＰＬＣ－ＳＥＣによる凝集を示す。タンパク質試料は、４０℃のチャンバーへと入れる前に、約５．５％の凝集を示した。２０日目における凝集の測定値は、３０日目の測定値より高かったが、Ｆ５～Ｆ８およびＦ１０は、高温における長期保管時に、他の製剤と比較して、凝集物を形成しやすい、明確な傾向が見られた。図７６Ｄは、４０℃で、３０日目における、製剤Ｆ１中のＨＭＢＤ－００２についての代表的結果を示す。
【１０７２】
図７６Ｅは、酸性変異体が、一般に、ＨＰＬＣ－ＣＥＸにより測定される通り、５４％～６０％の間の範囲で揺動する、主要なアイソフォームを伴う、わずかな増大傾向を示したことを示す。抗体配列は、脱アミド化、異性体化、糖化、ラセミ化、スクシンイミド形成、所望されないグリコシル化を受けにくいので、全ての製剤中で、原薬の化学的安定性が保存される可能性が高い。通常、ＨＭＢＤ－００２原薬についての塩基性１ピークの部分に対応する凝集ピークが、さらなる増大を示さなかったことは、これらの１０製剤中における共通の因子が、凝集形成の防止（ＨＰＬＣ－ＳＥＣデータにおいて観察される）に寄与したことを確認する。
【１０７３】
図７６Ｆは、３０日目、４０℃における、製剤Ｆ１中のＨＭＢＤ－００２についての、代表的ＨＰＬＣ－ＣＥＸ結果を示し、６つの酸性ピーク、単一の主要なアイソフォームピーク、および５つの塩基性ピークは、約８分間の解析ウィンドウ内で、良好に分散しており、これは、方法が、安定性を示すのに十分な程度に高感度であることを指し示す。
【１０７４】
図７６Ｇは、２０日目以降、４０℃で、全ての製剤中において、ＨＭＢＤ－００２の、そのヒト標的（ＶＩＳＴＡ）に対するアフィニティーの増大が見られたことを示す。３０日目に、アフィニティーは、最大の１．６５倍へと、さらに増大する（Ｆ２）。抗原結合性ＥＬＩＳＡ研究からのＥＣ５０データを、下記に提示する。
【１０７５】

【表１８】

製剤	EC_{50}濃度(M)			
	0日目	10日目＋40℃	20日目＋40℃	30日目＋40℃
F1	4.00×10^{11}	3.06×10^{11}	1.72×10^{11}	2.15×10^{11}
F2	3.39×10^{11}	3.22×10^{11}	1.97×10^{11}	2.02×10^{11}
F3	3.08×10^{11}	3.48×10^{11}	1.89×10^{11}	2.27×10^{11}
F4	3.57×10^{11}	3.25×10^{11}	2.05×10^{11}	2.27×10^{11}
F5	3.10×10^{11}	3.41×10^{11}	2.39×10^{11}	2.23×10^{11}
F6	2.94×10^{11}	3.06×10^{11}	1.86×10^{11}	2.18×10^{11}
F7	2.89×10^{11}	3.39×10^{11}	2.06×10^{11}	2.17×10^{11}
F8	3.95×10^{11}	2.80×10^{11}	2.48×10^{11}	2.27×10^{11}
F9	3.15×10^{11}	3.05×10^{11}	2.23×10^{11}	2.37×10^{11}
F10	3.21×10^{11}	2.81×10^{11}	2.35×10^{11}	2.70×10^{11}
参照	3.07×10^{11}	2.53×10^{11}	3.55×10^{11}	5.27×10^{11}

図７６Ｈは、全ての製剤が、４０℃で、１カ月間にわたる保管について、最小の浸透圧変化を示したことを示す。

【１０７６】

ＨＭＢＤ－００２を、高濃度で製剤化したところ、目視検査は、ＨＭＢＤ－００２が、８製剤中で、下記で示される、最大で２００ｍｇ／ｍＬの濃度となる、良好な可溶性を示すことを明らかにした。しかし、製剤Ｆ５およびＦ９は、１００ｍｇ／ｍＬを超える、良好な可溶性を支持しなかった。

【１０７７】

【表１９】

製剤	濃度(mg/mL)				所見
	10	50	100	200	
F1	9.88	50.00	107.89	214.40	透明であり、清明である
F2	10.07	50.74	116.95	213.37	透明であり、清明である
F3	9.94	50.23	111.11	205.41	透明であり、清明である
F4	10.34	52.83	116.33	211.05	透明であり、清明である
F5	9.88	50.74	136.96	201.08	極めて混濁し、粘性である
F6	9.89	51.18	106.36	215.51	透明であり、清明である
F7	9.95	50.16	118.36	209.02	透明であり、清明である
F8	10.01	50.78	108.42	208.25	透明であり、清明である
F9	10.08	50.77	102.15	201.96	比較的混濁し、粘性である
F10	9.81	50.29	100.25	158.60	透明であり、清明である

図７７は、製剤Ｆ１、Ｆ２、Ｆ３、Ｆ４、およびＦ１０が、可溶性凝集（ＨＰＬＣ－ＳＥＣにより測定される）の変化を最小とする、高濃度への製剤化の良好な可能性を示したことを示す。Ｆ５およびＦ９について、不溶性凝集は、遠心分離により除去し、０．２２ｕｍのフィルターにより、さらに濾過し、ＨＰＬＣ－ＳＥＣには、可溶性部分だけを解析した。

【１０７８】

凍結融解ストレス下に置かれたＨＭＢＤ－００２製剤を、ＨＰＬＣ－ＳＥＣにより、凝集傾向について解析した。図７８は、ＨＭＢＤ－００２が、最大で、６サイクルにわたる凍結および融解の後、９つの製剤において、良好な安定性を示したことを示す。製剤Ｆ１０は、凍結融解の後、凝集傾向を示した。

【１０７９】

下記の表は、安定性解析からの、鍵となる結果についてまとめる。薄グレーの結果が、タンパク質の安定性が好適であることを指し示すのに対し、中程度に濃いグレーの結果は、タンパク質の安定性が好適でないことを指し示す。

【１０８０】

【表２０】

製剤ID	濃度 (30日目)	pH		凝集% (30日目)	酸性変異体		塩基性変異体		最高安定濃度	30日目における hVISTA ELISA (EC_{50})[1]
		ベースライン	30日目		ベースライン	30日目	ベースライン	30日目		
F1	10.06	5.5	5.56	5.505	15.87	18.42	28.06	26.63	214.40	2.15×10^{11}
F2	10.05	5.8	5.86	5.585	15.97	18.31	28.05	26.26	213.37	2.02×10^{11}
F3	10.01	5.8	5.88	5.545	16.96	18.57	27.61	26.33	205.41	2.27×10^{11}
F4	10.07	5.8	5.86	5.605	16.69	18.65	27.38	26.50	211.05	2.27×10^{11}
F5	10.02	6.3	6.51	5.695	17.03	19.34	28.22	26.09	136.96	2.23×10^{11}
F6	10.06	5.8	5.95	5.605	16.85	18.87	28.41	26.19	215.51	2.18×10^{11}
F7	10.10	5.5	5.64	5.665	16.43	18.65	28.50	26.52	209.02	2.17×10^{11}
F8	10.14	5.5	5.57	5.660	14.93	18.60	29.21	26.54	208.25	2.27×10^{11}
F9	10.08	5.8	6.03	5.490	16.05	18.84	27.21	26.25	102.15	2.37×10^{11}
F10	10.01	5.8	5.78	5.270	17.67	21.11	26.95	25.06	158.60	2.70×10^{11}

[1]: *参照基準5.27×10^{11}M*

下記の表は、電荷変異体プロファイルにおける、ｐＨの査定を示す。

【１０８１】

【表２１】

査定	比較群	酸性変異体 (0日目)	酸性変異体 (30日目)	デルタ (酸性)	塩基性変異体 (0日目)	塩基性変異体 (30日目)	デルタ (塩基性)	全変化 (絶対値)
pH	F1 (5.5)	15.865	18.42	2.55	28.06	26.63	-1.44	3.99
	F2 (5.8)	15.965	18.31	2.34	28.05	26.26	-1.80	4.14
	F5 (6.3)	17.030	19.34	2.31	28.22	26.09	-2.13	4.44

図７９は、製剤であるＦ１、Ｆ２、およびＦ５についての、ｐＨと、総電荷変動の変化との相関を示す。

１８．６．結論

製剤Ｆ１、Ｆ２、Ｆ３、およびＦ４は、製造時に鍵となる品質属性に関する分子的安定性の保存において、他の製剤を上回る、優れた性能を示した。さらに、４０℃の長期保管時における、電荷変異体プロファイルの変化と対比した、ｐＨ変化についての査定は、ｐＨの低下と、電荷変異体の絶対値の低下との良好な相関を指し示す。

【１０８２】

全体として、製剤Ｆ１（２０ｍＭのヒスチジン＋８％のスクロース＋０．０２％のポリソルベート８０、ｐＨ５．５）は、全ての被験条件で、抗体の完全性および安定性の保存において最良であり、臨床用材料のための上位製剤として選択されることを示した。加えて、高濃度研究における、比較的高度のスクロースレベル（８％ｗ／ｖ）およびタンパク質安定性を考慮すると、臨床用材料のために得られる、最終原薬は、５０ｍｇ／ｍＬを限度として製剤化すべきである。

１８．７．原薬の安定性

上記の製剤Ｆ１中に５０ｍｇ／ｍＬで製剤化された、臨床用原薬であるＨＭＢＤ－００２を、長期保管条件（－８０℃）、加速保管条件（５℃）、ストレス保管条件（２５℃）、および６サイクルにわたる凍結／融解条件下におけるその安定性について評価した。結果を、下記に提示する。

－８０℃における、原薬であるＨＭＢＤ－００２：

【１０８３】

【表２２】

属性	アッセイ	許容基準	時点		
			時点0[1]	1カ月後	3カ月後
色	目視法	≦Y3	<Y6[2]	<Y6	<Y6
全般	pH	5.0～6.0	5.7	5.6	5.6
含量	タンパク質含量	42.5～57.5mg/mL	52.7mg/mL	53.5mg/mL	54.5mg/mL
効力	結合アッセイ	60%～140%の相対効力	92%の相対効力	101%の相対効力	90%の相対効力
純度	SE-HPLC[3]	メインピークの%:≧92%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CE-SDS[4](還元型)	LC+HCの%[5]:≧95%	LC+HCの%[5]:98%	LC+HCの%[5]:98%	LC+HCの%[5]:99%
	CE-SDS[4](非還元型)	メインピークの%:≧90%	メインピークの%:96%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CEX-HPLC[6]	メインピークの%:報告結果	メインピークの%:58%	メインピークの%:57%	メインピークの%:59%
		酸性ピークの%:報告結果	酸性ピークの%:18%	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:17%
		塩基性ピークの%:報告結果	塩基性ピークの%:24%	塩基性ピークの%:26%	塩基性ピークの%:24%

[1]指定されない限りにおいて、時点0(T0)とは、バッチ出荷データを指す
[2]-80℃、1カ月後のデータ
[3]サイズ除外高速液体クロマトグラフィー
[4]キャピラリー電気泳動ドデシル硫酸ナトリウム
[5]軽鎖+重鎖
[6]カチオン交換高速液体クロマトグラフィー

５℃における、原薬であるＨＭＢＤ－００２：

【１０８４】

【表２３】

属性	アッセイ	許容基準	時点		
			時点0[1]	1カ月後	3カ月後
色	目視法	≦Y3	<Y6[2]	<Y6	<Y6
全般	pH	5.0～6.0	5.7	5.7	5.6
含量	タンパク質含量	42.5～57.5mg/mL	52.7mg/mL	54.5mg/mL	53.9mg/mL
効力	結合アッセイ	60%～140%の相対効力	92%の相対効力	105%の相対効力	89%の相対効力
純度	SE-HPLC[3]	メインピークの%:≧92%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CE-SDS[4](還元型)	%LC+HC[5]:≧95%	LC+HCの%[5]:98%	LC+HCの%[5]:98%	LC+HCの%[5]:99%
	CE-SDS[4](非還元型)	メインピークの%:≧90%	メインピークの%:96%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CEX-HPLC[6]	メインピークの%:報告結果	メインピークの%:58%	メインピークの%:58%	メインピークの%:59%
		酸性ピークの%:報告結果	酸性ピークの%:18%	酸性ピークの%:18%	酸性ピークの%:17%
		塩基性ピークの%:報告結果	塩基性ピークの%:24%	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:24%

[1]指定されない限りにおいて、時点0(T0)とは、バッチ出荷データを指す
[2]-80℃、1カ月後のデータ
[3]サイズ除外高速液体クロマトグラフィー
[4]キャピラリー電気泳動ドデシル硫酸ナトリウム
[5]軽鎖+重鎖
[6]カチオン交換高速液体クロマトグラフィー

２５℃、６０％の相対湿度における、原薬であるＨＭＢＤ－００２：

【１０８５】

【表２４】

属性	アッセイ	許容基準	時点			
			時点0[1]	1日後	3日後	7日後
色	目視法	≦Y3	<Y6[2]	<Y6	<Y6	<Y6
全般	pH	5.0～6.0	5.7	5.7	5.7	5.7
含量	タンパク質含量	42.5～57.5mg/mL	52.7mg/mL	52.0mg/mL	54.5mg/mL	53.3mg/mL
効力	結合アッセイ	60%～140%の相対効力	92%の相対効力	87%の相対効力	94%の相対効力	90%の相対効力
純度	SE-HPLC[3]	メインピークの%:≧92%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CE-SDS[4](還元型)	LC+HCの%[5]:≧95%	LC+HCの%[5]:98%	LC+HCの%[5]:99%	LC+HCの%[5]:98%	LC+HCの%[5]:98%
	CE-SDS[4](非還元型)	メインピークの%:≧90%	メインピークの%:96%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CEX-HPLC[2]	メインピークの%:報告結果	メインピークの%:58%	メインピークの%:57%	メインピークの%:58%	メインピークの%:59%
		酸性ピークの%:報告結果	酸性ピークの%:18%	酸性ピークの%:18%	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:17%
		塩基性ピークの%:報告結果	塩基性ピークの%:24%	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:24%

[1]指定されない限りにおいて、時点0(T0)とは、バッチ出荷データを指す
[2]-80℃、1カ月後のデータ
[3]サイズ除外/高速液体クロマトグラフィー
[4]キャピラリー電気泳動/ドデシル硫酸ナトリウム
[5]軽鎖+重鎖
[6]カチオン交換/高速液体クロマトグラフィー

凍結／融解条件下に置かれた、原薬であるＨＭＢＤ－００２：

【１０８６】

【表２５】

属性	アッセイ	許容基準	時点0[1]	凍結融解 -80℃～25℃における6サイクル
色	目視法	≦Y3	<Y6	<Y6
全般	pH	5.0～6.0	5.7	5.7
含量	タンパク質含量	42.5～57.5mg/mL	52.7mg/mL	54.1mg/mL
効力	結合アッセイ	60%～140%の相対効力	92%の相対効力	79%の相対効力
純度	SE-HPLC[2]	メインピークの%:≧92%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CE-SDS[3](還元型)	LC+HCの%[4]:≧95%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%
	CE-SDS[3](非還元型)	メインピークの%:≧90%	メインピークの%:96%	メインピークの%:95%
	CEX-HPLC[5]	メインピークの%:報告結果	メインピークの%:58%	メインピークの%:59%
		酸性ピークの%:報告結果	酸性ピークの%:18%	酸性ピークの%:17%
		塩基性ピークの%:報告結果	塩基性ピークの%:24%	塩基性ピークの%:24%

[1]指定されない限りにおいて、時点0(T0)とは、バッチ出荷データを指す
[2]サイズ除外/高速液体クロマトグラフィー
[3]キャピラリー電気泳動/ドデシル硫酸ナトリウム
[4]軽鎖+重鎖
[5]カチオン交換/高速液体クロマトグラフィー

得られた結果は、原薬が、推奨される保管条件において、最長で６カ月間にわたり、安定を維持することを裏付ける。安定性結果に基づき、割り当てられる有効期限は、１２カ月間となるであろう。

１８．８．医薬品の安定性

上記の製剤Ｆ１中に５０ｍｇ／ｍＬで製剤化された、臨床用医薬品であるＨＭＢＤ－００２を、長期保管条件（－２０℃）、加速保管条件（５℃）、ストレス保管条件（２５℃および４０℃）、および６サイクルにわたる凍結／融解条件下におけるその安定性について評価した。結果を、下記に提示する。

－２０℃における、医薬品であるＨＭＢＤ－００２：

【１０８７】

【表２６】

属性	アッセイ	許容基準	時点		
			時点0[1]	1カ月後	3カ月後
外見	目視法	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体
色	目視法	≦Y3	<Y6	<Y6	<Y6
透明度	比濁法	≦比較液IV	<比較液III	<比較液III	<比較液III
全般	pH	5.0～6.0	5.6	5.7	5.8
	液体粒状物質	≧10μm:容器1つ当たり≦6000個	≧10μm:容器1つ当たり25個	≧10μm:容器1つ当たり22個	≧10μm:容器1つ当たり11個
		≧25μm:容器1つ当たり≦600個	≧25μm:容器1つ当たり1個	≧25μm:容器1つ当たり0個	≧25μm:容器1つ当たり0個
含量	タンパク質含量	42.5～57.5mg/mL	54.5mg/mL	51.9mg/mL	52.4mg/mL
効力	結合アッセイ	60%～140%の相対効力	84%の相対効力	102%の相対効力	95%の相対効力
純度	SE-HPLC[2]	メインピークの%:≧92%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CE-SDS[3](還元型)	LC+HCの%[4]≧95%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:99%
	CE-SDS[3](非還元型)	メインピークの%:≧90%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:96%
	CEX-HPLC[5]	メインピークの%:報告結果	メインピークの%:58%	メインピークの%:57%	メインピークの%:58%
		酸性ピークの%:報告結果	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:17%
		塩基性ピークの%:報告結果	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:24%
安全性	滅菌性/容器完全性(CCI)	滅菌性:滅菌CCI:合格[6]	滅菌性:滅菌	試験なし	試験なし

[1]指定されない限りにおいて、時点0(T0)とは、バッチ出荷データを指す
[2]サイズ除外/高速液体クロマトグラフィー
[3]キャピラリー電気泳動/ドデシル硫酸ナトリウム
[4]軽鎖+重鎖
[5]カチオン交換/高速液体クロマトグラフィー
[6]合格とは、試料が、染料の浸透を示さなかったことを指し示す

５℃、正位配向性における、医薬品であるＨＭＢＤ－００２：
【１０８８】

【表２７】

属性	アッセイ	許容基準	時点			
			時点0[1]	14日後	1カ月後	3カ月後
外見	目視法	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体
色	目視法	≦Y3	<Y6	<Y6	<Y6	<Y6
透明度	比濁法	≦比較液IV	<比較液III	<比較液III	<比較液III	<比較液III
全般	pH	5.0～6.0	5.6	5.6	5.6	5.8
	液体粒状物質	≧10μm:≦6000/容器	≧10μm: 容器1つ当たり25個	≧10μm: 容器1つ当たり13個	≧10μm: 容器1つ当たり28個	≧10μm: 容器1つ当たり20個
		≧25μm:≦600/容器	≧25μm: 容器1つ当たり1個	≧25μm: 容器1つ当たり0個	≧25μm: 容器1つ当たり1個	≧25μm: 容器1つ当たり0個
含量	タンパク質含量	42.5～57.5mg/mL	54.5mg/mL	53.8mg/mL	52.0mg/mL	51.7mg/mL
効力	結合アッセイ	60%～140%の相対効力	84%の相対効力	93%の相対効力	103%の相対効力	98%の相対効力
純度	SE-HPLC[2]	メインピークの%: ≧92%	メインピークの%: 95%	メインピークの%: 95%	メインピークの%: 95%	メインピークの%: 95%
	CE-SDS[3] (還元型)	LC+HCの%[4]≧95%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%
	CE-SDS[3](非還元型)	メインピークの%: ≧90%	メインピークの%: 95%	メインピークの%: 95%	メインピークの%: 95%	メインピークの%: 96%
	CEX-HPLC[5]	メインピークの%: 報告結果	メインピークの%: 58%	メインピークの%: 57%	メインピークの%: 57%	メインピークの%: 58%

属性	アッセイ	許容基準	時点			
			時点0[1]	14日後	1カ月後	3カ月後
		酸性ピークの%: 報告結果	酸性ピークの%: 17%	酸性ピークの%: 17%	酸性ピークの%: 17%	酸性ピークの%: 17%
		塩基性ピークの%: 報告結果	塩基性ピークの%: 25%	塩基性ピークの%: 26%	塩基性ピークの%: 26%	塩基性ピークの%: 25%
安全性	滅菌性/容器完全性(CCI)	滅菌性:滅菌 CCI:合格[6]	滅菌性:滅菌	試験なし	試験なし	試験なし

[1] 指定されない限りにおいて、時点0(T0)とは、バッチ出荷データを指す
[2] サイズ除外/高速液体クロマトグラフィー
[3] キャピラリー電気泳動/ドデシル硫酸ナトリウム
[4] 軽鎖+重鎖
[5] カチオン交換/高速液体クロマトグラフィー
[6] 合格とは、試料が、染料の浸透を示さなかったことを指し示す

５℃、逆位配向性における、医薬品であるＨＭＢＤ－００２：
【１０８９】

【表２８】

属性	アッセイ	許容基準	時点			
			時点0[1]	14日後	1カ月後	3カ月後
外見	目視法	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体
色	目視法	≦Y3	<Y6	<Y6	<Y6	<Y6
透明度	比濁法	≦比較液IV	<比較液III	<比較液III	<比較液III	<比較液III
全般	pH	5.0～6.0	5.6	5.7	5.6	5.8
	液体粒状物質	≧10μm:≦6000/容器	≧10μm:容器1つ当たり25個	≧10μm:容器1つ当たり8個	≧10μm:容器1つ当たり18個	≧10μm:容器1つ当たり10個
		≧25μm:≦600/容器	≧25μm:容器1つ当たり1個	≧25μm:容器1つ当たり0個	≧25μm:容器1つ当たり0個	≧25μm:容器1つ当たり0個
含量	タンパク質含量	42.5～57.5mg/mL	54.5mg/mL	54.2mg/mL	52.4mg/mL	53.4mg/mL
効力	結合アッセイ	60%～140%の相対効力	84%の相対効力	105%の相対効力	87%の相対効力	84%の相対効力
純度	SE-HPLC[2]	メインピークの%:≧92%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CE-SDS[3](還元型)	LC+HCの%[4]≧95%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%
	CE-SDS[3](非還元型)	メインピークの%:≧90%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:96%
	CEX-HPLC[5]	メインピークの%:報告結果	メインピークの%:58%	メインピークの%:57%	メインピークの%:58%	メインピークの%:57%
		酸性ピークの%:報告結果	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:18%
		塩基性ピークの%:報告結果	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:26%	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:25%
安全性	滅菌性/容器完全性(CCI)	滅菌性:滅菌 CCI:合格[6]	滅菌	試験なし	試験なし	試験なし

[1] 指定されない限りにおいて、時点0(T0)とは、バッチ出荷データを指す
[2] サイズ除外/高速液体クロマトグラフィー
[3] キャピラリー電気泳動/ドデシル硫酸ナトリウム
[4] 軽鎖+重鎖
[5] カチオン交換/高速液体クロマトグラフィー
[6] 合格とは、試料が、染料の浸透を示さなかったことを指し示す

２５℃、６０％の相対湿度における、医薬品であるＨＭＢＤ－００２：
【１０９０】

【表２９】

属性	アッセイ	許容基準	時点				
			時点0[1]	1日後	3日後	1カ月後	3カ月後
外見	目視法	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体
色	目視法	≦Y3	<Y6	<Y6	<Y6	<Y6	<Y6
透明度	比濁法	≦比較液IV	<比較液III	<比較液III	<比較液III	<比較液III	<比較液III
全般	pH	5.0～6.0	5.6	5.7	5.6	5.6	5.8
	液体粒状物質	≧10μm:≦6000/容器	≧10μm:容器1つ当たり25個	≧10μm:容器1つ当たり13個	≧10μm:容器1つ当たり15個	≧10μm:容器1つ当たり45個	≧10μm:容器1つ当たり42個
		≧25μm:≦600/容器	≧25μm:容器1つ当たり1個	≧25μm:容器1つ当たり0個	≧25μm:容器1つ当たり0個	≧25μm:容器1つ当たり1個	≧25μm:容器1つ当たり0個
含量	タンパク質含量	42.5～57.5mg/mL	54.5mg/mL	53.9mg/mL	54.3mg/mL	52.2mg/mL	52.3mg/mL
効力	結合アッセイ	60%～140%の相対効力	84%の相対効力	100%の相対効力	96%の相対効力	95%の相対効力	91%の相対効力
純度	SE-HPLC[2]	メインピークの%:≧92%	メインピークの%:95%	メインピークの%:94%	メインピークの%:94%	メインピークの%:94%	メインピークの%:94%
	CE-SDS[3](還元型)	LC+HCの%[4]≧95%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%

属性	アッセイ	許容基準	時点				
			時点0[1]	1日後	3日後	1カ月後	3カ月後
	CE-SDS[3](非還元型)	メインピークの%:≧90%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CEX-HPLC[5]	メインピークの%:報告結果	メインピークの%:58%	メインピークの%:58%	メインピークの%:58%	メインピークの%:58%	メインピークの%:56%
		酸性ピークの%:報告結果	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:16%	酸性ピークの%:19%
		塩基性ピークの%:報告結果	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:26%	塩基性ピークの%:25%
安全性	滅菌性	滅菌	滅菌	試験なし	試験なし	試験なし	試験なし

[1] 指定されない限りにおいて、時点0(T0)とは、バッチ出荷データを指す
[2] サイズ除外高速液体クロマトグラフィー
[3] キャピラリー電気泳動ドデシル硫酸ナトリウム
[4] 軽鎖+重鎖
[5] カチオン交換高速液体クロマトグラフィー

４０℃、７５％の相対湿度における、医薬品であるＨＭＢＤ－００２：
【１０９１】

【表３０】

属性	アッセイ	許容基準	時点			
			時点0[1]	7日後	14日後	1カ月後
外見	目視法	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体
色	目視法	≦Y3	<Y6	<Y6	<Y6	<Y6
透明度	比濁法	≦比較液V	<比較液III	<比較液III	<比較液III	<比較液III
全般	pH	5.0～6.0	5.6	5.7	5.7	5.7
	液体粒状物質	≧10μm:≦6000/容器	≧10μm:容器1つ当たり25個	≧10μm:容器1つ当たり15個	≧10μm:容器1つ当たり49個	≧10μm:容器1つ当たり62個
		≧25μm:≦600/容器	≧25μm:容器1つ当たり1個	≧25μm:容器1つ当たり0個	≧25μm:容器1つ当たり0個	≧25μm:容器1つ当たり1個
含量	タンパク質含量	42.5～57.5mg/mL	54.5mg/mL	53.2mg/mL	54.0mg/mL	51.9mg/mL
効力	結合アッセイ	60%～140%の相対効力	84%の相対効力	99%の相対効力	98%の相対効力	87%の相対効力
純度	SE-HPLC[2]	メインピークの%:≧92%	メインピークの%:95%	メインピークの%:93%	メインピークの%:93%	メインピークの%:93%
	CE-SDS[3](還元型)	LC+HCの%[4]≧95%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:97%	LC+HCの%[4]:97%
	CE-SDS[3](非還元型)	メインピークの%:≧90%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%	メインピークの%:94%	メインピークの%:93%

属性	アッセイ	許容基準	時点			
			時点0[1]	7日後	14日後	1カ月後
	CEX-HPLC[5]	メインピークの%:報告結果	メインピークの%:58%	メインピークの%:57%	メインピークの%:56%	メインピークの%:45%
		酸性ピークの%:報告結果	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:15%	酸性ピークの%:16%	酸性ピークの%:27%
		塩基性ピークの%:報告結果	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:28%	塩基性ピークの%:28%	塩基性ピークの%:28%
安全性	滅菌性	滅菌	滅菌	試験なし	試験なし	滅菌

[1] 指定されない限りにおいて、時点0(T0)とは、バッチ出荷データを指す
[2] サイズ除外/高速液体クロマトグラフィー
[3] キャピラリー電気泳動/ドデシル硫酸ナトリウム
[4] 軽鎖+重鎖
[5] カチオン交換/高速液体クロマトグラフィー

凍結／融解条件下に置かれた、医薬品であるＨＭＢＤ－００２：

【１０９２】

【表３１】

属性	アッセイ	許容基準	時点0[1]	凍結融解 -20℃～25℃における6サイクル
外見	目視法	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体	粒子を実質的に含有しない液体
色	目視法	≦Y3	<Y6	<Y6
透明度	比濁法	≦比較液IV	<比較液III	<比較液III
全般	pH	5.0～6.0	5.6	5.7
	液体粒状物質	≧10μm:≦6000/容器	≧10μm: 容器1つ当たり25個	≧10μm: 容器1つ当たり12個
		≧25μm:≦600/容器	≧25μm: 容器1つ当たり1個	≧25μm: 容器1つ当たり0個
含量	タンパク質含量	42.5～57.5mg/mL	54.5mg/mL	53.5mg/mL
効力	結合アッセイ	60%～140%の相対効力	84%の相対効力	86%の相対効力
純度	SE-HPLC[2]	メインピークの%:≧92%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CE-SDS[3](還元型)	LC+HCの%[4]:≧95%	LC+HCの%[4]:98%	LC+HCの%[4]:98%
	CE-SDS[3](非還元型)	メインピークの%:≧90%	メインピークの%:95%	メインピークの%:95%
	CEX-HPLC[5]	メインピークの%: 報告結果	メインピークの%:58%	メインピークの%:57%
		酸性ピークの%: 報告結果	酸性ピークの%:17%	酸性ピークの%:17%

属性	アッセイ	許容基準	時点0[1]	凍結融解 -20℃～25℃における6サイクル
		塩基性ピークの%: 報告結果	塩基性ピークの%:25%	塩基性ピークの%:26%
安全性	滅菌性	滅菌	滅菌	滅菌

[1]指定されない限りにおいて、時点0(T0)とは、バッチ出荷データを指す
[2]サイズ除外高速液体クロマトグラフィー
[3]キャピラリー電気泳動ドデシル硫酸ナトリウム
[4]軽鎖+重鎖
[5]カチオン交換高速液体クロマトグラフィー

得られた結果は、医薬品が、推奨される保管条件において、最長で６カ月間にわたり、安定を維持することを裏付ける。６カ月後および９カ月後の時点においてもまた、各薬剤／条件について、上記の結果と同様の結果が見られた。９カ月後の時点までに得られた、全ての安定性データは、確立された仕様書合格基準内を維持した。安定性結果に基づき、割り当てられる有効期限は、１２カ月間となるであろう。

【１０９３】

実施例１９

進行性悪性充実性腫瘍を伴う患者における、ＶＩＳＴＡをターゲティングするモノクローナル抗体である、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についてのフェーズ１研究

本明細書の下記で使用される、ＨＭＤＢ－００２またはＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６とは、ヒトＩｇＧ４／Ｖκフォーマット内に、Ｖ４－Ｃ２６可変領域を含み、配列番号３３１の重鎖と、配列番号３１７の軽鎖とから構成される、ＩｇＧ４ヒト化モノクローナル抗原結合性分子を指す。

１９．１．導入

ＶＩＳＴＡは、負の免疫チェックポイント調節剤として機能する、Ｂ７タンパク質ファミリーの、膜貫通型免疫調節性糖タンパク質である。その近縁の相同体は、２４％の配列相同性を共有する、ＰＤ－Ｌ１である[1]。ＶＩＳＴＡは、Ｉｇスーパーファミリーの他のメンバーとは、遠縁であるに過ぎない[1]、[2]。

【１０９４】

近年同定されたＶＩＳＴＡの結晶構造は、ＶＩＳＴＡを、Ｂ７ファミリーメンバーの中で固有の、ＩｇＶ様折りたたみ構造とする特徴を強調している。これらは、１０本のベー

タ鎖（カノニカルの９本ではなく）、ベーターサンドイッチ構造内に配置された、３本のアルファヘリックス、および伸長ループを形成する、鎖Ｃと、鎖Ｃ’との間における、固有の２１残基のターンの存在を含む。結晶構造また、ＶＩＳＴＡが、結晶化された、他の全てのＢ７ファミリータンパク質内に存在するＩｇＣドメインを欠くことも示す。最後に、ＶＩＳＴＡは、それらのうちの１つが、臨床的に関連するタンパク質間相互作用において役割を果たしうる、固有の突出位置における伸長Ｃ－Ｃ’ループを保持する可能性が高い、２つの非カノニカルであり、保存的である、Ｃ５１／Ｃ１１３ジスルフィドを含有する[3]。

【１０９５】

初期前臨床研究は、組換えＶＩＳＴＡ処置、または抗原提示細胞（ＡＰＣ）上におけるＶＩＳＴＡ発現は、Ｔ細胞の増殖を抑制するのに十分であり、これは、ＰＤ－１経路と独立であることを示した[1]。加えて、複数の研究は、ＶＩＳＴＡが、乾癬、自己免疫脳炎、ループス、および移植片対宿主病を含む、多数の前臨床モデルにおいて、自己免疫を制圧することを示している[1、2、5、6、7、8]。ＶＩＳＴＡ遺伝子を欠くマウスは、ＰＤ－１経路の調節不全と同様の表現型である、臓器および皮膚における自己免疫を発症する[5、9、10、11]。これらのデータは、ＶＩＳＴＡが、おそらく、リンパ球および骨髄細胞、とりわけ、ナイーブＴ細胞に対する作用を介して、免疫応答を抑制するように機能することを指し示す[12、13]。したがって、ＶＩＳＴＡは、負の免疫チェックポイント調節剤として機能する、膜貫通型糖タンパク質である。

【１０９６】

ＶＩＳＴＡは、主に、骨髄および顆粒球性細胞上、とりわけ、ＭＤＳＣおよび腫瘍関連マクロファージ（ＴＡＭ）上で発現される。ＶＩＳＴＡはまた、ＣＤ４＋制御性Ｔ細胞上、ナイーブＴ細胞上のほか、一部の腫瘍細胞上でも発現されることが報告されている[14、15、16]。ＭＤＳＣによる免疫抑制およびＶＩＳＴＡの上方調節は、固形がんおよび急性骨髄性白血病における、抗細胞傷害性Ｔリンパ球関連タンパク質４（ＣＴＬＡ４）療法、および抗ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１療法に対する獲得耐性と連関している[17、18、19]。ＶＩＳＴＡのノックダウンは、ＭＤＳＣ媒介性ＣＤ８　Ｔ細胞活性を、強力に低減することが報告されている[19]。加えて、ＶＩＳＴＡは、ナイーブＴ細胞の休眠および末梢における免疫寛容の維持において、鍵となる役割を果たすことも報告されている[15]。これらの細胞上におけるＶＩＳＴＡの喪失は、転写および後生レベルにおける、ナイーブＴ細胞の休眠表現型を低減し、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）およびサイトカイン経路の活性の両方を増強した。

【１０９７】

ナイーブＴ細胞上におけるＶＩＳＴＡの発現は、ＣＴＬＡ４およびＰＤ－１など、他の十分に確立された、Ｔ細胞活性化に対する負のチェックポイント調節剤の発現に先行する[13]。ＣＴＬＡ４は、Ｔ細胞活性化の後に、細胞表面上で発現され、プライミング段階において、共刺激を制限することにより、Ｔ細胞活性化を阻害する。ＰＤ－１は、その後のプライミング時に発現され、エフェクター段階において、Ｔ細胞を阻害し、ＶＩＳＴＡは、末梢におけるＴ細胞寛容に対する、最初期のチェックポイント調節剤として機能する[13]。

【１０９８】

ＶＩＳＴＡの遺伝子機能と、ＰＤ－Ｌ１経路との類似性に基づき、腫瘍免疫におけるＶＩＳＴＡの役割は、よりよく理解されるようになりつつある。初期研究は、腫瘍細胞上における、ＶＩＳＴＡの過剰発現が、マウスにおける抗腫瘍免疫に対して保護するのに十分であることを示した[1]。次いで、マウスＶＩＳＴＡに対する遮断抗体が開発され、ＶＩＳＴＡの遮断が、腫瘍微小環境（ＴＭＥ）に対する作用を介して、抗腫瘍免疫を促進しうることを裏付けるのに利用された[18]。ＶＩＳＴＡ機能を遮断する抗体が、ＰＤ－１遮断との相乗作用を示していることもまた、ＶＩＳＴＡと、ＰＤ－１とが、独立に機能することを含意する[10]。ＶＩＳＴＡ遮断に対する抗腫瘍応答が、リンパ腫、膀胱がん、黒色腫、結腸直腸がん、卵巣がん、頭頸部扁平上皮がん、および他の悪性腫瘍についての前臨床マ

ウスモデルにおいて裏付けられていることは、この手法が、広範な有用性を有しうることを指し示す。黒色腫、膵臓がん、中皮腫、ＮＳＣＬＣ、子宮、乳腺、および前立腺腫瘍を含むヒト腫瘍もまた、腫瘍細胞自体の上で、または免疫浸潤細胞上で、ＶＩＳＴＡを発現する[1，12，14，15，18，19、21～34]。この一連の情報に基づくと、ＶＩＳＴＡが、複数のヒト悪性腫瘍にわたり、利用可能な標的でありうると推論するのに役立つ。

【１０９９】

ＶＩＳＴＡの、生理学的に関連する結合パートナーは、未だ決定されていないが、２つの独立のｉｎ ｖｉｔｒｏ研究は、ＶＳＩＧ３（Ｖ－Ｓｅｔ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ ｄｏｍａｉｎ ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ ３）またはＩＧＳＦ１１を、パートナーとして裏付けている[3、20]。ＶＳＩＧ３は、がん細胞上で発現され、発現の上昇が、結腸直腸、肝細胞、および腸型胃がんを含む、複数の悪性腫瘍において報告されている[20]。

【１１００】

加えて、ＶＩＳＴＡ－ＶＳＩＧ３間相互作用は、Ｔ細胞増殖のほか、炎症促進性サイトカインおよびケモカインの放出を阻害することが示されている[20]。ＶＩＳＴＡはまた、酸性ｐＨにおいて、ＶＩＳＴＡ自身[9]、ＬＲＩＧ１（ｌｅｕｃｉｎｅ－ｒｉｃｈ ｒｅｐｅａｔｓ ａｎｄ ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ－ｌｉｋｅ ｄｏｍａｉｎｓ １）[35]、およびＰＳＧＬ－１（Ｐ－ｓｅｌｅｃｔｉｎ ｇｌｙｃｏｐｒｏｔｅｉｎ－１）に結合することも報告されている[4、37]。

【１１０１】

複数の充実性腫瘍に対して、広範に活性である薬剤としての、免疫チェックポイント阻害剤の概念に基づき、近年では、ＶＩＳＴＡターゲティング療法の、臨床領域への橋渡しに取組みの焦点が絞られている。ＶＩＳＴＡをターゲティングするが、ＨＭＢＤ－００２と異なる薬物機構を利用する、臨床段階にある治験剤が、３つ存在する。フェーズ１の臨床段階にある、ＩｇＧ１アイソタイプを伴う抗ＶＩＳＴＡ抗体である、オンバチリマブ（ＣＩ－８９９３）は、正常造血細胞を含む、ＶＩＳＴＡ＋細胞の枯渇を引き起こすことが予測される。この化合物が、現在、Ｉｍｍｕｎｅｘｔと提携して、Ｃｕｒｉｓ，Ｉｎｃ．により開発されつつある。２０１６年に、Ｊａｎｓｓｅｎ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ＆ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔは、Ｉｍｍｕｎｅｘｔと提携して、オンバチリマブの安全性を査定する、非無作為化、オープンラベルのフェーズ１研究を開始した[39]。この研究が、１２例の患者を登録したところで、プログラムは、Ｃｕｒｉｓ，Ｉｎｃ．が、オンバチリマブの安全性および忍容性を査定するフェーズ１研究を再開した、２０２０年６月まで延期された[40]。公表された情報は、患者の募集が進行中であることを示唆する。

【１１０２】

２０２０年１１月に、Ｐｉｅｒｒｅ Ｆａｂｒｅが、抗ＶＩＳＴＡ ｍＡｂであり、また、ＩｇＧ１アイソタイプでもある、Ｗ０１８０についてのフェーズ１臨床研究を、標準治療に対して不応性である、局所進行性充実性腫瘍または転移性充実性腫瘍を伴う患者における単剤療法として、かつ、ペムブロリズマブと組み合わせて開始した[41]。この研究における募集も、進行中である。

【１１０３】

ＶＩＳＴＡをターゲティングする、臨床段階にある、別の治療剤であるＣＡ－１７０は、ＰＤ－Ｌ１およびＶＩＳＴＡに結合することが報告された低分子である[34]。多重標的型アンタゴニズムをもたらす経口低分子として、この化合物は、ＶＩＳＴＡタンパク質だけに対して高度の特異性を有するＨＭＢＤ－００２と比較して、異なる作用機構を有する。ＣＡ－１７０は、当初、Ａｕｒｉｇｅｎｅにより発見され、開発が中断されるまで、Ｃｕｒｉｓ，Ｉｎｃ．により開発された。２０１９年に、ＡＣＳ Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｌｅｔｔｅｒｓにおいて報告された、第三者機関による研究が、化合物の、ＶＩＳＴＡへの結合を再現できなかったことは、化合物についての代替的作用機構を示唆する[35]。Ｃｕｒｉｓ，Ｉｎｃ．により行われたフェーズ１用量漸増研究[42]では、薬物は、大半が免疫関連である有害事象を伴ったが、忍容良好であった[36]。

【１１０４】
まとめると、ヒトにおける、ＶＩＳＴＡのターゲティング経験は、限定的であり、現行の手法は、ＨＭＢＤ－００２と比較して、実質的に異なる作用機構を表す。
１９．２．研究の根拠
１９．２．１．研究デザインの根拠
臨床では、新たな療法に対する必要が満たされておらず、ＶＩＳＴＡは、そのロバストな阻害活性のために、免疫療法の魅力的な標的として用いられる。ＶＩＳＴＡをターゲティングすることの根拠は、抗ＰＤ－１　ｍＡｂによる前の処置が、ＶＩＳＴＡを、潜在的により重要な標的とすることを指し示す、前臨床研究の結果により、さらに強化されている。他の抗ＶＩＳＴＡ　ｍＡｂと対照的に、ＨＭＢＤ－００２は、ＩｇＧ４構築物であるので、他のＩｇＧ１抗体に関して観察される、ＣＲＳおよび／または関連の神経毒性の推定理由である、Ｔ細胞への結合後におけるＡＤＣＣの誘導が予測されないであろう。同系ＶＩＳＴＡ発現腫瘍モデルでは、ＨＭＢＤ－００２による処置は、腫瘍増殖を大幅に阻害し、かつ／または腫瘍退縮を結果としてもたらした。
【１１０５】
ＨＭＢＤ－００２についての、このＦＩＨ研究の第１の部分（第１部；用量漸増）は、ＨＭＢＤ－００２の安全性および忍容性について評価し、第２部（用量拡大）および後続の疾患指向フェーズ２研究のための用量を推奨するようにデザインする。研究はまた、ＨＭＢＤ－００２のＰＫ挙動を特徴付け、ＨＭＢＤ－００２　ＡＤＡを検出するほか、進行トリプルネガティブ乳がん（ＴＮＢＣ）および非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、ならびに他の多様ながんを含む、ＶＩＳＴＡの発現率が高い、選択悪性腫瘍の拡大を伴う、悪性充実性腫瘍を伴う患者における、抗がん活性についての予備的証拠を求めることも試みる。本研究はまた、ＨＭＢＤ－００２の、腫瘍内および血液中における、処置の前および後に採取された、免疫エフェクター細胞に対する効果についても探索するであろう。
【１１０６】
入手可能なｉｎ　ｖｉｔｒｏにおけるＰＡＤ（ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌｌｙ　ａｃｔｉｖｅ　ｄｏｓｅ）、受容体占有率（ＲＯ）のモデル化／予測、毒性学データを含む、統合型データ駆動法を使用して、適切なＦＩＨ開始用量を同定し、支持した。意図される「試験」用量を、３３％または７ｍｇ（０．１ｍｇ／ｋｇ）とする、約２０ｍｇ（約０．３ｍｇ／ｋｇ）のＦＩＨ開始用量を提起する。試験用量は、２．２ｕｇ／ｍＬの最大濃度（Ｃｍａｘ）と、それぞれ、女性および男性のヒトにおいて、１６．４～１８．３％の間の受容体占有率とに達すると予測される。
【１１０７】
開始用量は、２７．２μｇ／ｍＬの平均血清濃度（毎週２回投与される、５ｍｇ／ｋｇの最低最小有効用量で処置された、同系腫瘍保有マウスのＰＫデータから得られる；実施例１９．２．４を参照されたい）、１日当たり５３ｍＬの予測ヒト全クリアランス（ＣＬ）（ＧＬＰ毒性学研究に由来する、カニクイザルパラメータについてのアロメトリックスケーリングを使用する計算値）、および１のバイオアベイラビリティー（薬物は、静脈内送達されるので）を使用して決定されるＰＡＤに基づく。ＰＡＤ法は、約１０ｍｇ（０．１７ｍｇ／ｋｇ）の開始用量を支持する。
【１１０８】
開始用量はまた、アイソタイプ対照と比較して、サイトカインの最小限の変化が観察された～サイトカインの変化が観察されなかった、機能的同系混合リンパ球反応（ＭＬＲ）混合アッセイにおける、１ｕｇ／ｍＬの被験最低濃度にも基づいた。同系ＭＬＲアッセイは、本発明者らが混合し、次いで、抗体であるＨＭＢＤ－００２またはｈＩｇＧ４アイソタイプ対照で処置した、１０組の単一ドナー対を供給源とする末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を使用した。ＨＭＢＤ－００２は、９６時間後において、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、およびＩＬ－１７Ａのレベルの、アイソタイプ対照と比較して、有意な用量依存的上昇を誘導したが、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、およびＩＬ－１３（Ｔｈ２サイトカイン）またはＩＬ－６のレベルの、有意な変化は見られなかった。３．５２Ｌの予測（アロメトリックスケ

ーリング）ヒト中心分布容積、および予測C_{max}としての、１ｕｇ／ｍＬの使用は、３．５ｍｇ（約０．０５ｍｇ／ｋｇ）の開始用量を示唆する。

【１１０９】

提起された用量はまた、１カ月間にわたる、ラットおよびサルのＩＶにおける反復投与毒性研究によっても支持される。約１６．７ｍｇ／ｋｇの予測ヒト等価用量（ＨＥＤ）と比較して、提起されたＦＩＨ開始用量は、それぞれ、サルおよびラットについての、１００ｍｇ／ｋｇのＮＯＡＥＬ／ＨＮＳＴＤおよびＮＯＡＥＬ／ＳＴＤ１０と比べて、有意な（１６７倍の）安全性マージンをもたらすことが期待される。

【１１１０】

７ｍｇの（被験）用量と共に提起された、２０ｍｇのＦＩＨ開始用量は、ヒトにおける、ＨＭＢＤ－００２の、ＰＫ、ＰＤ、安全性、および有効性についての十分な評価を確認するであろう。用量漸増段階のコホート１内の全ての患者は、意図される用量レベルの３３％を、１日目における「被験」用量として（例えば、コホート１のサイクル１の１日目における７ｍｇ）施され、後続の全ての用量は、意図されるコホート用量（例えば、８および１５日目［サイクル１］における２０ｍｇのほか、１、８、および１５日目［サイクル２＋］における２０ｍｇ）として投与される。

１９．２．２．臨床適応の根拠

これは、進行型充実性腫瘍（すなわち、局所的に進行性であり、かつ、切除不能であるか、または転移性である）を伴う患者において静脈内（ＩＶ）投与されるＨＭＢＤ－００２について、複数の用量およびスケジュールを査定する、フェーズ１、ＦＩＨ（ｆｉｒｓｔ－ｉｎ－ｈｕｍａｎ）、２段階（第１部：用量漸増および第２部：用量拡大）研究である。

【１１１１】

ヒトがんにおける、ＶＩＳＴＡの発現と、がん免疫における、例えば、腫瘍微小環境内における免疫抑制因子としてのその役割との間における並行関係に基づき、２つの優先性適応：トリプルネガティブ乳がん（ＴＮＢＣ）および非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）を、初期臨床段階試験のために選び出した。

【１１１２】

ＴＮＢＣは、満たされていない必要、およびこの種類のがんにおける、ＶＩＳＴＡの広範な発現に基づき、ＨＭＢＤ－００２についての臨床研究のための、鍵となるがんの種類として同定されている[35、39]。最新式のＴＮＢＣ処置は、ＰＤ－Ｌ１を発現する腫瘍を伴う、局所性または転移性がんを伴う患者に適応である、アテゾリズマブと、化学療法との、承認済みの組合せである。しかし、ＴＮＢＣを伴う患者で、ＰＤ－Ｌ１を発現する悪性腫瘍を有する患者は、４０％にとどまり、進行性ＴＮＢＣ患者の大部分を、この選択肢の追求が不可能なまま放置している[40]。

【１１１３】

浸潤性乳管癌を伴う、９００例を超える患者についてのＩＨＣ研究は、症例のうちの約３０％において、免疫細胞上における、高レベルのＶＩＳＴＡ発現を明らかにした[39]。症例のうちの８％では、ＶＩＳＴＡは、がん細胞自体の上で発現された。さらに、ＶＩＳＴＡの発現は、乳がんの一部のサブセットにおいてエンリッチされる。ER^-、PR^-、および$HER2^+$乳がんは、ER^+および／またはPR^+乳がんより、ＶＩＳＴＡを高度に発現することが多いことが見出された。ＶＩＳＴＡ発現についてのエンリッチメントが最大であるサブセットは、ＴＮＢＣであり、４５％を超える患者が、ＶＩＳＴＡ陽性がんを伴うと評定された[39]。個別研究において、ＴＮＢＣ症例のうちの２０％は、がん細胞上および浸潤免疫細胞上のＶＩＳＴＡタンパク質について、中程度～高度の染色を示した[35]。とりわけ、転移性がんから採取された、全てのＴＮＢＣは、均一で高レベルのＶＩＳＴＡを発現した[35]。Ｈｕｍｍｉｎｇｂｉｒｄ製のＴＮＢＣ組織マイクロアレイの内部解析はまた、解析された１１９例のコアのうち、８９％が、ＶＩＳＴＡを発現し、これらのうちの、５０％が、中程度～高度の染色を示すことも示した。ＶＩＳＴＡの免疫調節性の役割についての証拠、およびＴＮＢＣ、とりわけ、転移性ＴＮＢＣの患者試料中におけ

る、ＶＩＳＴＡレベルの上昇についての証拠を踏まえると、ＴＮＢＣは、合理的な優先適応である。

【１１１４】

同様に、ＮＳＣＬＣにおいても、ＣＴＬＡ－４およびＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ１に対するなどの免疫チェックポイント阻害剤は、ロバストな抗腫瘍活性および臨床利益を示しているが；代替的免疫チェックポイントの克服を要求しうる、有意義な改善の余地がなおも存在する[41]。ＮＳＣＬＣにおける、高レベルのＶＩＳＴＡ発現については、十分に記録されている。６３６例の切除ＮＳＣＬＣ腫瘍試料についての研究では、ＶＩＳＴＡタンパク質は、症例のうちの９９％において検出された（主に、間質細胞内で）[27]。腫瘍免疫浸潤物中の空間的パターンを検討したところ、ＶＩＳＴＡは、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－１、ＣＤ８＋　Ｔ細胞、およびＣＤ６８＋マクロファージと正に関連した[27]。ＮＳＣＬＣ組織マイクロアレイについての解析もまた、解析された６９例のコアのうち、８５％が、ＶＩＳＴＡを発現することを示したことは、これを支持する。ＶＩＳＴＡは、そのレベルが、ＮＳＣＬＣを伴う患者における腫瘍内および末梢血中で上昇した、ＭＤＳＣ上におけるその発現を介して、ＮＳＣＬＣの処置耐性に寄与しうることが仮定されているが、これも、ＶＩＳＴＡをターゲティングすることの潜在的利益に対する、さらなる支持を付け加える。

【１１１５】

本ＦＩＨ（ｆｉｒｓｔ－ｉｎ－ｈｕｍａｎ）研究では、ＨＭＢＤ－００２による、ＶＩＳＴＡのターゲティングは、広範かつロバストな治療活性を誘導しうる。本研究は、まず、充実性腫瘍に焦点を当て、ＶＩＳＴＡを発現することが公知である、進行性ＴＮＢＣ、ＮＳＣＬＣ、および多様な進行性がんを伴う患者をターゲティングする。本ＦＩＨ研究への登録に適格である、潜在的患者は、悪性充実性腫瘍の証拠を有さなければならず、転移性であるか、または局所進行性であり、かつ、切除不能であるがんとして規定される進行性疾患を有さなければならない。患者はまた、利用可能な療法が、好適な影響を与え、臨床利益を付与する可能性が低い疾患も有さなければならない。

１９．２．３．ＨＭＢＤ－００２についての非臨床研究

ＶＩＳＴＡ発現悪性腫瘍を伴う患者の処置のためのＨＭＢＤ－００２についての、潜在的治療利益および毒性危険性プロファイルについて探索ために、ｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏにおける薬理学研究および予備的忍容性研究を行った。ＨＭＢＤ－００２の、ＶＩＳＴＡに対するアフィニティーおよび特異性を裏付け、リガンドの阻害およびサイトカインの誘導を介する作用機構を確立するための研究が完了している。これらの研究は、ＨＭＢＤ－００２が、ＦｃγＲＩＩＩおよびＣ１ｑに結合しないことを示し、ＨＭＢＤ－００２が、いくつかのマウス同系腫瘍（ＣＤＸ）モデルにおける単剤療法として、または多様なチェックポイント阻害剤と組み合わせて、注目すべき抗腫瘍活性を及ぼすことを裏付けた。

【１１１６】

ＨＭＢＤ－００２の、前臨床毒性学研究種におけるＶＩＳＴＡオーソログへの、同等のアフィニティーによる種間結合により可能とされた、マウスにおける単回投与ＰＫ研究が、ラットおよび非ヒト霊長動物（ＮＨＰ）におけるＰＫ／忍容性研究と共に完了している。これらの研究に由来するデータを使用して、安全性を指し示し、本ＦＩＨ研究のための潜在的頻度および用量を計算した。

１９．２．４．前臨床有効性

健常ドナーヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を使用して、ヒト免疫活性化についてのｉｎ　ｖｉｔｒｏモデルにおける有効性を査定した。自己／抗自己免疫応答をモデル化するように、個別のドナーに由来するＰＢＭＣを、対で混合する、同系混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイを使用した。ＨＭＢＤ－００２は、ガンマインターフェロン（ＩＦＮγ）および腫瘍壊死因子α（ＴＮＦα）を含む、サイトカイン放出により測定される、炎症促進シグナルの活性化を増強することが裏付けられた。

【１１１７】

ＨＭＢＤ－００２のｉｎ　ｖｉｖｏ有効性について評価するために、マウス同系腫瘍モ

デルである、ＣＴ２６（結腸癌）およびＢ１６／ＢＬ６（黒色腫）を、単剤療法としてのＨＭＢＤ－００２、および機能的抗マウスＰＤ－１　ｍＡｂと組み合わせたＨＭＢＤ－００２で処置した。マウスを、５００μｇ（約２５ｍｇ／ｋｇ）のＨＭＢＤ－００２単独、または２００μｇ（約１０ｍｇ／ｋｇ）の抗ｍＰＤ－１（ＲＭＰ１－１４）と組み合わせたＨＭＢＤ－００２で処置した。図８０に見られる通り、ＣＴ２６単剤療法研究では、ＨＭＢＤ－００２は、腫瘍増殖を、有意に阻害し、生存率を、有意に改善した（研究終了時において、ＨＭＢＤ－００２処置アームについて、腫瘍体積が、２００ｍｍ^{3}を下回ったのが、マウス８匹中１匹であった溶媒アームと比較して、腫瘍体積が、２００ｍｍ^{3}を下回ったのは、マウス８匹中６匹であった）。

【１１１８】

Ｂ１６／ＢＬ６モデルでは、抗ＰＤ－１と組み合わせた、ＨＭＢＤ－００２による処置は、腫瘍増殖を、有意に阻害した（研究終了時において、組合せ処置アームについて、腫瘍体積が、２００ｍｍ^{3}を下回ったのが、マウス８匹中１匹であった溶媒アームと比較して、腫瘍体積が、２００ｍｍ^{3}を下回ったのは、マウス８匹中７匹であった）。

【１１１９】

ＨＭＢＤ－００２の最小有効用量を解明するために、ＣＴ２６腫瘍モデルを選択し、マウスを、異なる用量のＨＭＢＤ－００２で処置した。図８１に見られる通り、ＨＭＢＤ－００２は、１００μｇの用量（約５ｍｇ／ｋｇ）のほか、より高用量でも、有効性を示す。これらの結果を使用して、薬理学的に活性である開始用量の計算を支持することができる。

１９．２．５．毒性学および薬理学

ＨＭＢＤ－００２についての臨床査定を支持するために、ＨＭＢＤ－００２の毒性を、一連の非臨床ｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイ、ならびにＳｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットおよびカニクイザルにおけるｉｎ　ｖｉｖｏ研究で評価した。ラットおよびサルは、ヒトＶＩＳＴＡタンパク質配列との相同性、およびＨＭＢＤ－００２の、ラットおよびサルＶＩＳＴＡに対する、ヒトＶＩＳＴＡと比較して、同様の結合アフィニティーのために、薬理学的に関連する種として選択した。

【１１２０】

マウスにおいて、ＰＫプロファイルは、腫瘍保有および非腫瘍保有マウスにおける、異なる用量のＨＭＢＤ－００２による測定値から決定した。図８２Ａは、腫瘍保有マウスにおけるＨＭＢＤ－００２のＰＫプロファイルが非線形であったのに対し、非腫瘍保有マウスは、線形ＰＫを示したことを示す。

【１１２１】

ＣｍａｘおよびＡＵＣｉｎｆにより測定される通り、非腫瘍保有マウスでは、用量比例的曝露に近い曝露が観察された。これはまた、腫瘍保有マウスにおけるＣｍａｘによっても観察されたが、腫瘍保有マウスにおけるＡＵＣｉｎｆは、曝露の用量比例的増大をわずかに超える増大を裏付けた。腫瘍保有マウスにおける、ＨＭＢＤ－００２の血清中半減期が、用量にわたり、２９．６～５８．６時間として計算されたのに対し、非腫瘍保有マウスでは、血清中半減期は、６０．９および１７８時間であった。

【１１２２】

ラットにおいて、ＰＫプロファイルは、毎週の用量を、１０ｍｇ／ｋｇ、３０ｍｇ／ｋｇ、および１００ｍｇ／ｋｇとして、５回の投与にわたる、ＨＭＢＤ－００２による研究の、雄および雌のＳｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットにおける測定値から決定した。ＨＭＢＤ－００２のＰＫプロファイルは、性別間で異ならなかった。図８２Ｂは、投与１回当たりの投与量が、１０ｍｇ／ｋｇから、１００ｍｇ／ｋｇへと増大するにつれて、両性では、１日目に、雌では、２９日目に、全身曝露が、用量比例的に増大したのに対し、雄では、２９日目に、全身曝露が、用量比例的増大を超えて増大したことを示す。いずれの用量レベルにおいても、ＨＭＢＤ－００２について、顕著な薬物蓄積は観察されなかった。

【１１２３】

カニクイザルにおいて、ＰＫプロファイルは、毎週の用量を、１０ｍｇ／ｋｇ、３０ｍｇ／ｋｇ、および１００ｍｇ／ｋｇとして、のべ５回の投与にわたる、ＨＭＢＤ－００２による研究の、雄および雌のサルにおける測定値から決定した。図８２Ｃは、ＨＭＢＤ－００２のＰＫプロファイルが、性別間で異ならないことを示す。

【１１２４】

２２日目に検出された抗薬物抗体（ＡＤＡ）力価のために、２２日目における結果は、注意深く解釈されるべきである。投与１回当たりの用量を、１０、３０、または１００ｍｇ／ｋｇとする、雄および雌のサルへの、のべ５回にわたる、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６の、毎週１回のＩＶ注射の後における、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についての、全てのＰＫパラメータについての平均値±ＳＤを、表５に提示する。

【１１２５】

低用量では、２２日目に、ＡＤＡの存在、および曝露に対するその影響のために、AUC_{0-168h}は、いずれの性別においても、用量比例的増大を超えて増大した。ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６の、雄および雌のサルへの、単回ＩＶ注射（１日目）または反復ＩＶ注射（２２日目）の後において、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６についての$T_{1/2}$値の中央値は、１日目において、５９．６～１７７．３時間の間であり、２２日目において、７．１～１３８．０時間の間であると推定されたが、これは、ＡＤＡの影響から生じた可能性がある（表１）。$T_{1/2}$値は、２９日目における、ＡＤＡ陽性の雄および雌について、それぞれ、３５．３および７０．６時間であり（表２）、２９日目における、ＡＤＡ陰性の雄および雌について、それぞれ、２８５．１および１８６．１時間である（表３）と推定された。

【１１２６】

半減期値の中央値は、１日目において、５９．６～１７７．３時間の間であり、２２日目において、７．１～２５０時間の間であると推定されたが、これは、ＡＤＡの影響から生じた可能性がある。

【１１２７】

【表３２】

表1:全ての研究動物における複数回投与に続く、HMBD-002-V4C26についてのTKパラメータの概要

用量(投与1回当たり1kg当たりのmg)	研究日	性別	C_{max} (ug/mL)	$T_{1/2}$ (時間)	AUC_{all} (時間×ug/mL)	$DNAUC_{all}$ ((時間×ug/mL)/(投与1回当たり1kg当たりのmg))	$AUC_{0\text{-}last}$ (時間×ug/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (時間×ug/mL)	CL (mL/時間/kg)	Vss (mL/kg)	T_{max} (時間)	T_{last} (時間)	C_{last} (ug/mL)
10	1	雄	243 ± 11.3	65.7 (58.4 - 73.5)	14200 ± 978	1420 ± 97.8	14200 ± 978	16900 ± 764	0.593 ± 0.0270	54.8 ± 6.21	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	28.4 ± 26.1
		雌	258 ± 19.4	59.6 (55.2 - 59.7)	13100 ± 1210	1310 ± 121	13100 ± 1210	15100 ± 1470	0.666 ± 0.0621	55.0 ± 3.44	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	23.9 ± 2.95
	22	雄	181 ± 49.2	7.1 (6.4 - 22.6)	3040 ± 2540	304 ± 254	2930 ± 2640	2990 ± 2620	5.16 ± 3.20	68.6 ± 17.3	1.0 (1.0 - 1.0)	72.0 (24.0 - 168.0)	4.77 ± 7.23
		雌	168 ± 37.6	9.3 (5.5 - 14.0)	2130 ± 1060	213 ± 106	2060 ± 1140	2080 ± 1110	5.97 ± 3.42	69.5 ± 16.1	1.0 (1.0 - 1.0)	72.0 (24.0 - 168.0)	2.64 ± 3.96
30	1	雄	667 ± 67.9	150.1 (147.9 - 155.3)	49700 ± 1050	1660 ± 35.0	49700 ± 1050	91900 ± 2660	0.327 ± 0.00946	70.3 ± 1.63	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	193 ± 5.51
		雌	723 ± 54.9	110.7 (99.5 - 125.4)	50800 ± 4350	1690 ± 145	50800 ± 4350	78300 ± 10500	0.388 ± 0.0565	61.2 ± 3.70	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	169 ± 24.3
	22	雄	627 ± 64.5	20.0 (14.6 - 46.4)	19600 ± 12200	653 ± 407	19600 ± 12200	20600 ± 13900	1.94 ± 1.14	56.9 ± 2.14	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	15.2 ± 24.6
		雌	722 ± 84.3	20.2 (9.5 - 66.0)	28600 ± 19800	953 ± 660	28600 ± 19800	32000 ± 25400	1.49 ± 1.15	42.5 ± 3.87	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (72.0 - 168.0)	37.3 ± 59.5
100	1	雄	2090 ± 285	177.3 (106.7 - 183.7)	164000 ± 16400	1640 ± 164	164000 ± 16400	312000 ± 77600	0.334 ± 0.0874	71.3 ± 10.4	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	675 ± 120
		雌	2230 ± 50.0	150.1 (103.3 - 209.4)	183000 ± 11300	1830 ± 113	183000 ± 11300	367000 ± 67100	0.279 ± 0.0554	61.3 ± 8.58	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	799 ± 59.3
	22	雄	3280 ± 810	68.2 (46.0 - 380.7)	262000 ± 139000	2620 ± 1390	262000 ± 139000	614000 ± 819000	0.510 ± 0.410	49.7 ± 12.5	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	1130 ± 884
		雌	3870 ± 354	138.0 (126.3 - 223.1)	307000 ± 15800	3070 ± 158	307000 ± 15800	590000 ± 90200	0.173 ± 0.0264	38.7 ± 4.26	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	1200 ± 131
	29	雄	3260	177.9	714000	7140	714000	764000	0.199	37.1	1.0	840.0	114
		雌	3520	110.7	623000	6230	623000	633000	0.161	31.3	1.0	924.0	39.0

データは、C_{max}、C_{last}、DNAUC、Cl、Vss、およびAUC値についての平均値または平均値±SD、ならびに$T_{1/2}$、T_{max}、およびT_{last}についての平均値または中央値(範囲)として提示される。
AUC_{all}:1および22日目については、$AUC_{0\text{-}168h}$であり、29日目については、$AUC_{0\text{-}1008h}$である

投与１回当たりの用量１００ｍｇ／ｋｇでは、顕著な薬物蓄積は観察されなかった。しかし、ＡＤＡの存在、および全体的曝露に対するその影響のために、投与１回当たりの用量１０および３０ｍｇ／ｋｇでは概して、全身曝露の減少が観察された。

【１１２８】

C_{max}ならびにAUC_{0-24h}およびAUC_{0-72}は、表２にまとめられている。

【１１２９】

【表３３】

表2:ADA陽性研究動物における複数回投与に続く、HMBD-002-V4C26についてのTKパラメータの概要

用量(投与1回当たり1kg当たりのmg)	研究日	性別	C_{max} (ug/mL)	$T_{1/2}$ (時間)	AUC_{all} (時間×ug/mL)	$DNAUC_{all}$ ((時間×ug/mL)/(投与1回当たり1kg当たりのmg))	$AUC_{0\text{-}last}$ (時間×ug/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (時間×ug/mL)	CL (mL/時間/kg)	Vss (mL/kg)	T_{max} (時間)	T_{last} (時間)	C_{last} (ug/mL)
10	1	雄	237	65.7	13600	1360	13600	16100	0.621	56.6	1.0	168.0	26.5
	22	雄	181 ± 49.2	7.1 (6.4 - 22.6)	3040 ± 2540	304 ± 254	2930 ± 2640	2990 ± 2620	5.16 ± 3.20	68.6 ± 17.3	1.0 (1.0 - 1.0)	72.0 (24.0 - 168.0)	4.77 ± 7.23
		雌	168 ± 37.6	9.3 (5.5 - 14.0)	2130 ± 1060	213 ± 106	2060 ± 1140	2080 ± 1110	5.97 ± 3.42	69.5 ± 16.1	1.0 (1.0 - 1.0)	72.0 (24.0 - 168.0)	2.64 ± 3.96
30	1	雌	691	112.45	49000	1630	49000	75500	0.4035	63.3	1.0	168.0	161
	22	雄	627 ± 64.5	20.0 (14.6 - 46.4)	19600 ± 12200	653 ± 407	19600 ± 12200	20600± 13900	1.94 ± 1.14	56.9 ± 2.14	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	15.2 ± 24.6
		雌	722 ± 84.3	20.2 (9.5 - 66.0)	28600 ± 19800	953 ± 660	28600 ± 19800	32000 ± 25400	1.49 ± 1.15	42.5 ± 3.87	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (72.0 - 168.0)	37.3 ± 59.5
100	22	雄	2700 ± 250	57.1	170000± 84700	1700 ± 847	170000± 84700	142000	0.734	56.9	1.0	168.0	577
		雌	3660 ± 215	183.9 (126.3 - 223.1)	302000 ± 8540	3020 ± 85.4	302000 ± 8540	617000 ± 109000	0.166 ± 0.0316	40.4 ± 4.47	1.0	168.0	1210
	29	雄	2470	70.6	317000	3170	317000	317000	0.316	42.5	1.0	672.0	1.85
		雌	3750	35.3	549000	5490	549000	549000	0.182	24.7	1.0	840.0	0.152

データは、C_{max}、C_{last}、DNAUC、Cl、Vss、およびAUC値についての平均値または個々の値または平均値±SD、ならびに$T_{1/2}$、T_{max}、およびT_{last}についての平均値または個々の値または中央値(範囲)として提示される。
AUC_{all}:1および22日目については、$AUC_{0\text{-}168h}$であり、29日目については、$AUC_{0\text{-}1008h}$である

【１１３０】

【表３４】

表3:ADA陰性研究動物における複数回投与に続く、HMBD-002-V4C26についてのTKパラメータの概要

用量(投与1回当たり1kg当たりのmg)	研究日	性別	C_{max} (ug/mL)	$T_{1/2}$ (時間)	AUC_{all} (時間×ug/mL)	$DNAUC_{all}$ ((時間×ug/mL)/(投与1回当たり1kg当たりのmg))	$AUC_{0\text{-}last}$ (時間×ug/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (時間×ug/mL)	CL/F (mL/時間/kg)	Vss/F (mL/kg)	T_{max} (時間)	T_{last} (時間)	C_{last} (ug/mL)
10	1	雄	246	65.95	14500	1450	14500	17300	0.5785	53.9	1.0	168.0	29.4
		雌	258 ± 19.4	59.6 (55.2 - 59.7)	13100 ± 1210	1310 ± 121	13100 ± 1210	15100 ± 1470	0.666 ± 0.0621	55.0 ± 3.44	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	23.9 ± 2.95
30	1	雄	667 ± 67.9	150.1 (147.9 - 155.3)	49700 ± 1050	1660 ± 35.0	49700 ± 1050	91900 ± 2660	0.327 ± 0.00946	70.3 ± 1.63	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	193 ± 5.51
		雌	786	110.7	54300	1810	54300	83900	0.358	57.0	1.0	168.0	185
100	1	雄	2090 ± 285	177.3 (106.7 - 183.7)	164000 ± 16400	1640 ± 164	164000 ± 16400	312000 ± 77600	0.334 ± 0.0874	71.3 ± 10.4	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	675 ± 120
		雌	2230 ± 50.0	150.1 (103.3 - 209.4)	183000 ± 11300	1830 ± 113	183000 ± 11300	367000± 67100	0.279 ± 0.0554	61.3 ± 8.58	1.0 (1.0 - 1.0)	168.0 (168.0 - 168.0)	799 ± 59.3
	22	雄	4150	380.7	400000	4000	400000	1560000	0.0641	35.2	1.0	168.0	1960
		雌	4200	137.3	314000	3140	314000	550000	0.183	36.05	1.0	168.0	1200
	29	雄	4050	285.1	1110000	11100	1110000	1210000	0.0829	31.7	1.0	1008.0	227
		雌	3290	186.1	696000	6960	696000	717000	0.140	37.9	1.0	1008.0	77.8

データは、C_{max}、C_{last}、DNAUC、Cl、Vss、およびAUC値についての平均値または個々の値または平均値±SD、ならびに$T_{1/2}$、T_{max}、およびT_{last}についての平均値または個々の値または中央値(範囲)として提示される。
AUC_{all}:1および22日目については、$AUC_{0\text{-}168h}$であり、29日目については、$AUC_{0\text{-}1008h}$である

用量を、投与１回当たり１０ｍｇ／ｋｇから、１００ｍｇ／ｋｇへと増大させたところ、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６への全身曝露（ＡＵＣａｌｌおよび／またはＣｍａｘ）は、１日目には、いずれの性別でも、用量比例的に増大したが、は、２２日目には、いずれの性別でも、ＡＤＡの存在、およびより低用量による、曝露に対するその影響のために、用量比例的増大を超えて増大した。

【１１３１】

投与１回当たりの用量を、１０、３０、または１００ｍｇ／ｋｇとする、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６の反復ＩＶ注射の後に、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６について、投与１回当たりの用量を１００ｍｇ／ｋｇとする場合のＡＵＣ０－１６８ｈにより、顕著な薬物蓄積は観察されなかった。しかし、ＡＤＡの存在、および曝露に対するその影響のために、投与１回当たりの用量１０および３０ｍｇ／ｋｇでは概して、全身曝露の減少が観察された（２２日目／１日目）。

１９．３．試験目的

主要目的：

第１部：用量漸増段階

用量漸増段階における主要目的は、ＨＭＢＤ－００２の最大耐量（ＭＴＤ）または最大試験用量を同定し、後続の疾患指向研究のための用量（すなわち、推奨フェーズ２用量［ＲＰ２Ｄ］）を推奨することである。

第２部：用量拡大段階

拡大段階における主要目的は、トリプルネガティブ乳がん（ＴＮＢＣ）、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、および他のＶＩＳＴＡ発現悪性腫瘍を伴い、既に処置された患者にお

ける、ＲＰ２Ｄの、単剤療法としてのＨＭＢＤ－００２の抗がん活性を推定することである。
副次的目的：
副次的目的は、以下の通り：
・ＨＭＢＤ－００２の薬物動態（ＰＫ）特性を特徴付けること；
・ＭＴＤまたは最大試験用量における、ＨＭＢＤ－００２の安全性プロファイルをさらに特徴付けること；
・抗ＨＭＢＤ－００２抗薬物抗体（ＡＤＡ）形成の発生率および持続期間、ならびにＨＭＢＤ－００２のＰＫプロファイルに対するこれらの影響を査定すること
である。
探索的目的：
探索的目的は、以下の通り：
・ＨＭＢＤ－００２による処置の、処置前、処置時、および処置後の、充実性悪性腫瘍検体中における、ＶＩＳＴＡおよびＰＤ－Ｌ１（ｐｒｏｇｒａｍｍｅｄ　ｄｅａｔｈ－ｌｉｇａｎｄ　１）受容体の発現に対する効果を査定し、結果を、抗がん活性と相関させること；
・血液中および腫瘍組織内における、骨髄由来抑制細胞（ＭＤＳＣ）およびＴ細胞を含む、多様な免疫エフェクター細胞に対する、ＨＭＢＤ－００２の定量的および定性的効果を査定すること
である。
１９．４．研究評価項目
安全性評価項目は、以下：
・ＤＬＴ評価期間中に、ＮＣＩ　ＣＴＣＡＥ　ｖｅｒｓｉｏｎ　５．０に従いグレード付けされた、用量制限毒性（ＤＬＴ）の発生率；
・ＡＥおよびＳＡＥの性質、頻度、および重症度、毒性に起因する処置の中止、ならびに臨床検査値異常；
・身体検診所見およびＥＣＧ所見；
・バイタルサイン（ＶＳ）の測定値；
・ＥＣＯＧ　ＰＳ（ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ　ｓｔａｔｕｓ）スコア
を含む。
【１１３２】
用量設定評価項目は、ＭＴＤまたは最大試験用量、およびＲＰ２Ｄを含む。
【１１３３】
副次的評価項目：
・ＨＭＢＤ－００２による処置期間中の多様な時点において査定される薬物動態評価項目は、以下：
・最大血清濃度（C_{max}）；
・血清濃度－時間曲線下面積（ＡＵＣ）；
・消失半減期（$t_{1/2}$）；
・クリアランス（ＣＬ）；
・分布容積（V_d）；
・ＡＤＡ
を含む。
【１１３４】
ＨＭＢＤ－００２の抗腫瘍活性は、以下により測定されるものとする（実施例１９．９もまた参照されたい）：
・全奏効率（ＯＲＲ）は、最良効果として、ＲＥＣＩＳＴ　ｖ１．１に従う、完全奏効（ＣＲ）または部分奏効（ＰＲ）を達成する患者の比率として規定される[37]。
【１１３５】
・奏効期間（ＤｏＲ）は、ＰＲまたはＣＲについての測定基準が最初に満たされた日付

～進行（ＰＤ）についての測定基準が最初に満たされた日付の時間として規定される。
【１１３６】
・ＣＲ期間（ＤｏＣＲ）は、ＣＲについての測定基準が満たされた日付～ＰＤについての測定基準が最初に満たされた日付の時間として規定される。
【１１３７】
・無進行生存（ＰＦＳ）は、研究治療の開始日～ＰＤまたは任意の原因による死亡の、いずれか最初に生じる事象についての測定基準が最初に満たされた日付の時間として規定される。
【１１３８】
・６カ月後における無進行生存（ＰＦＳ６）は、研究治療開始の６カ月（２６週間）後に、生存し、無進行である患者の百分率として規定される。
【１１３９】
・全生存（ＯＳ）は、研究治療の開始日～任意の原因による死亡の日付の時間として規定される。ＯＲＲおよびＰＦＳ６についての検定は、片側検定誤差率を１５％とする、１試料２項検定による検定とする。
【１１４０】
ＰＦＳ、ＤｏＲ、ＤｏＣＲ、およびＯＳについての分布は、カプラン－マイヤー法により推定されるものとする。有効性パラメータは、任意の薬物の、少なくとも投与１回分の全用量を施された、全ての患者を含む、改変ＩＴＴ（ｉｎｔｅｎｔ－ｔｏ－ｔｒｅａｔ）集団に基づくものとする。
１９．５．治験薬
ＨＭＢＤ－００２は、ＶＩＳＴＡタンパク質と、そのリガンドとの間の相互作用を遮断する、ヒト化ＩｇＧ４　ｍＡｂである。ＶＩＳＴＡは、主に、骨髄性コンパートメント内の免疫細胞（すなわち、骨髄由来抑制細胞）上、および多種多様ながん細胞上の両方において発現される、免疫チェックポイント受容体である。
【１１４１】
ＨＭＢＤ－００２は、高度のアフィニティーおよび特異性で、ヒトＶＩＳＴＡに結合し、予測される対構造の結合性部位を遮断するようにデザインされたｍＡｂである。標的残基は、ヒト、マウス、ラット、およびカニクイザルの間で保存的である。ＨＭＢＤ－００２は、ＦｃＲｎへの結合を可能とし、循環中の抗体半減期を延長するように、ｈＩｇＧ４Ｆｃドメインによりデザインした。このデザイン戦略は、ＨＭＢＤ－００２が、ＩｇＧ４構築物の、これらの免疫エフェクター機能を媒介する、ＦｃγＲＩＩＩおよびＣ１ｑタンパク質に対するアフィニティーの欠如に起因して、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害作用（ＡＤＣＣ）／補体依存性細胞傷害作用（ＣＤＣ）活性を回避することを可能とする。ＨＭＢＤ－００２は、ヒトおよびカニクイザルＶＩＳＴＡに対するＫｄを＜１ｎＭとする、高アフィニティーを示し、マウスのＶＩＳＴＡに対しても、同等の結合を示す。さらに、ＨＭＢＤ－００２は、ＨＥＫ２９３発現系内の他の細胞表面分子、および組換えＢ７ファミリーメンバーに対する結合の比較に基づき、高度に特異的なＶＩＳＴＡへの結合を呈する。
【１１４２】
ＨＭＢＤ－００２は、抗腫瘍有効性についての、多様な前臨床モデルにおいて調べられている。マウス結腸腺癌についての、同系ＣＴ２６モデルにおいて、このｍＡｂは、皮下脇腹移植物による腫瘍増殖を遅延させ、生存を延長することにより、単剤療法による抗腫瘍活性を示した。マウス黒色腫についてのＢ１６－ＢＬ６同系モデルにおいて、ＨＭＢＤ－００２が、ＰＤ－１遮断抗体と組み合わされた場合に限り、活性を示したのに対し、別個のＰＤ－１遮断またはＶＩＳＴＡ遮断は、有効でなかった。これらの結果は、ＶＩＳＴＡ／ＰＤ－１チェックポイントが、免疫応答を阻害する、それらの能力において、相補性であることを示唆する。ＨＭＢＤ－００２による共処置は、腫瘍へのＭＤＳＣの浸潤を低減したが、これは、抗腫瘍免疫を増大させる１つの重要な手段である。さらに、結腸直腸がん、リンパ腫、および黒色腫についての、ｉｎ　ｖｉｖｏ同系細胞系由来モデルを使用

して、抗ＰＤ－１　ｍＡｂと組み合わせたところ、ＨＭＢＤ－００２は、腫瘍増殖の阻害を、抗ＰＤ－１療法単独を上回って、実質的に増大させた。

【１１４３】

ＨＭＢＤ－００２は、５０ｍｇ／ｍＬを含有するバイアル内における、ＩＶ注入のために意図された、滅菌、単回使用の、保存剤非含有溶液として供給される。ＨＭＢＤ－００２は、２０ｍＭのヒスチジン、８％（ｗ／ｖ）のスクロース、０．０２％（ｗ／ｖ）のポリソルベート８０（Ｔｗｅｅｎ　８０）により、ｐＨ５．５で製剤化される。

【１１４４】

最終容器は、４Ｒ　ＵＳＰ　Ｉ型ガラス製バイアルであり、４ｍＬのＨＭＢＤ－００２を含有する。

【１１４５】

医薬品のために推奨される保管条件は、光から保護された、－２０±５℃（－１３～５°Ｆ）である。ＨＭＢＤ－００２の、注入用溶液および注入セットとの適合性は、裏付けられている。研究結果は、ＨＭＢＤ－００２が、臨床施設において使用される、注入用溶液および注入セットと適合性であることを指し示す。

１９．６．投与、用量、および投与レジメ

１９．６．１．全体的なデザインおよびスキーム

計画された研究である、ＨＭＢＤ－００２－Ｖ４Ｃ２６－Ｃ０１は、進行性悪性充実性腫瘍（すなわち、局所進行性かつ切除不能であるか、または転移性である）を伴い、妥当な臨床利益の可能性を付与しうる、利用可能な治療剤が存在しない患者において、ＩＶ投与されるＨＭＢＤ－００２の、複数の用量およびスケジュールについて査定する、フェーズ１、ＦＩＨ、オープンラベル、多施設、２段階（用量漸増および用量拡大）研究である。

【１１４６】

ＨＭＢＤ－００２は、単剤療法としての、３週間の処置サイクル（２１日間サイクル）の１、８、および１５日目における、６０分間にわたるＩＶ注入として投与される。忍容良好な場合、ＨＭＢＤ－００２の後続の注入が、３０分間にわたり実施されうる。

【１１４７】

研究は、２段階：第１部（用量漸増）および第２部（用量拡大）で行われるものとする。第１部では、増大用量のＨＭＢＤ－００２を投与して、安全性、忍容性、ＰＫ、およびＰＤを特徴付け、最大耐量（ＭＴＤ）または最大試験用量、および推奨フェーズ２用量（ＲＰ２Ｄ）を同定するものとする。

【１１４８】

ＨＭＢＤ－００２の単剤療法開始用量レジメン（すなわち、コホート１、サイクル１における用量レジメン）は、３週間サイクルの１日目における７ｍｇ（３３％の［試験］用量）、ならびに８および１５日目における２０ｍｇ、ならびにそれに続く１、８、および１５日目における２０ｍｇである。処置サイクルは、持続期間が２１日間であり、毎週１回×３回のＨＭＢＤ－００２処置から構成される。

【１１４９】

患者が同意し、処置を忍容しており、潜在的臨床利益が存在する場合、患者は、研究処置（複数可）を、最長で６サイクルにわたり、引き続き施されうる。研究処置は、許容不可能な毒性、ＰＤ、患者による自発的な研究の離脱、別の中止基準が満たされた場合、または研究の閉鎖により打ち切るものとする。最大サイクル数は、３５とする。

【１１５０】

第１部（用量漸増）では、患者約２５～３０例を登録し、標準的「３＋３」デザインにおける単剤療法としてのＨＢＭＤ－００２で処置するものとする。

【１１５１】

第１部で、ＨＭＢＤ－００２のＭＴＤおよび／またはＲＰ２Ｄ（ＲＰ２Ｄは、ＭＴＤと同一でありうるが、複数のサイクルにわたり忍容可能な用量を反映するものとする）を確立した後で、研究の第２部（用量拡大）は、進行性のＴＮＢＣおよびＮＳＣＬＣを含む、

選択悪性腫瘍を有する患者、および多様な悪性充実性腫瘍を伴う患者における、ＨＭＢＤ－００２の予備的抗腫瘍活性について査定する。第２部はまた、ＨＭＢＤ－００２の安全性、忍容性、ＰＫ、および薬力学もさらに査定するものとする。

【１１５２】

第２部（用量拡大）では、それらの各々が、暫定解析において、十分な示唆が得られた場合に、ＨＭＢＤ－００２の抗腫瘍活性を、より正確に推定するように、最大で患者３５例まで増大させられうる、４つの疾患指向拡大コホート：ＴＮＢＣ（暫定的に、ｎ＝１５）およびＮＳＣＬＣ（暫定的に、ｎ＝１５）についての暫定的な決行／中止決定に基づき、最大で患者１９０例を登録するものとする。ＨＭＢＤ－００２で処置された、他の悪性充実性腫瘍を伴う患者について、１つずつのさらなる拡大コホート（各々、ｎ＝５０とする）もまた設定するものとする。

【１１５３】

安全性評価項目は、ＤＬＴ、ＡＥおよびＳＡＥ、毒性に起因する処置の中止、臨床検査値異常、身体検診、ＥＣＧ所見、バイタルサイン（ＶＳ）の測定値、およびＥＣＯＧ　ＰＳ（ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ　ｓｔａｔｕｓ）スコアの記録により、研究期間中に評価されるものとする。抗腫瘍活性の評価は、ＲＥＣＩＳＴ　ｖ１．１に従い規定される、客観的奏効の類別（実施例１９．９を参照されたい）に主に焦点を当てるものとする。

１９．６．２．第１部：用量漸増

用量漸増は、単剤ＨＭＢＤ－００２により開始する。単剤療法ＨＭＢＤ－００２で処置された、少なくとも２コホートの患者を査定し、必須の忍容性を裏付けた後で、用量漸増は、毎週１回×３回のＨＭＢＤ－００２により開始されうる。

【１１５４】

用量漸増段階において、ＨＭＢＤ－００２は、第１の２１日間サイクルの１、８、および１５日目に投与されるものとする。コホート内に登録された全ての患者に由来する、全ての安全性データを審査して、任意のＤＬＴの経過如何を確認し、次のコホートへの登録を行いうるのかどうかを決定する。用量漸増段階において、患者は、処置の除外を結果としてもたらすＤＬＴまたは薬物関連毒性を経ない限りにおいて（この場合、患者は、ＤＬＴについて評価可能であったものとする）、ＤＬＴ評価に適格であるために、ＤＬＴ評価期間（サイクル１）中に、この期間の終了時までの追跡と共に、それらの予定されたＨＭＢＤ－００２投与（１、８、および１５日目）３回の全てを施されなければならない。

【１１５５】

研究期間中に、ＨＭＢＤ－００２のＰＫおよび安全性プロファイルは、薬剤が、３週間ごとの１日目および８日目のスケジュール、または３週間ごとの１日目のスケジュールなど、１～２回飛ばしの、それほど集中的ではないスケジュールにおける投与を促すことを指し示しうる。ＨＭＢＤ－００２の処置スケジュールを、３週間ごとの１日目および８日目、または３週間ごとの１日目の処置スケジュールへと改変する場合、患者は、処置の除外を結果としてもたらすＤＬＴまたは薬物関連毒性を経ない限りにおいて、ＤＬＴ評価に適格であるために、ＤＬＴ評価期間の終了時（サイクル１の２１日目）までの追跡と共に、サイクル１の１日目および８日目の両方における、ＨＭＢＤ－００２の投与（３週間ごとの１日目および８日目のスケジュール）、または１日目における、ＨＭＢＤ－００２の単回投与（３週間ごとの１日目のスケジュール）を施されなければならない。

【１１５６】

ＤＬＴが、さらなる患者の、コホートへの登録を必要とする場合、これらのさらなる患者が、ＤＬＴ評価期間を完了した後で、このコホートについての、全ての安全性データを審査するものとする。データの査定に基づき、このプロトコールで指定されていない、中程度のＨＭＢＤ－００２用量レベルにおける登録を、指定された用量レベルより控え目の用量における登録とし、次の高用量を、中程度の用量とすることを決定しうる。

【１１５７】

コホート内の、少なくとも３例中０例の患者、または少なくとも６例中≦１例の患者が、ＤＬＴを経る場合、次の高用量コホートにおける登録は、安全性審査委員会（ＳＲＣ）

の合意により開始されうる。ＳＲＣは、Ｈｕｍｍｉｎｇｂｉｒｄ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ社のＣＭＯ（Ｃｈｉｅｆ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｏｆｆｉｃｅｒ）または代任者、ＭＭ（Ｍｅｄｉｃａｌ Ｍｏｎｉｔｏｒ）または代任者、および治験責任医師のうちの少なくとも１名を含む、少なくとも３名のメンバーからなるものとする。ＳＲＣ委員会は、次の用量レベルコホートのための用量漸増について決定する前に、現行のコホートおよび前のコホートに由来する安全性データを審査するものとする。用量漸増は、所与の任意のコホート内の各患者が、サイクル１の２１日目到達し、ＳＲＣが、用量漸増を行いうることに同意した後に限り行うことができる。

１９．６．３．用量漸増工程

ＨＭＢＤ－００２の作用機構に起因する、サイトカイン放出症候群（ＣＲＳ）、他の無関係のＶＩＳＴＡ ｍＡｂによるＣＲＳの発生の潜在的可能性を踏まえ、ＨＭＢＤ－００２の用量漸増時に、以下の措置を講じるものとする：

・コホート１において投与される初回投与は、サイクル１の１日目における全用量の３３％である、「ステップ」または「試験用量」であるものとする。後続の各用量レベル（例えば、「Ｘｍｇ」用量レベル）のために、全ての患者は、サイクル１の１日目における「ステップ」または「試験用量」として、用量の５０％を施されるものとする。患者は、それらの第１の（「ステップ」または「試験」）用量を施された後、少なくとも６時間にわたり、診療所において観察されるものとする。２４時間以内に、診療所への追跡来院がなされるものとする。

【１１５８】

・第１の全用量（Ｘｍｇ）の投与について、その１週間後である、サイクル１の８日目に、処置を施した後、約２４時間にわたり、患者を入院させ、処置の４８時間後（９日目）および７２時間（１０日目）に、外来として評価するものとする。

【１１５９】

・サイクル１の１５日目における第２の全用量（Ｘｍｇ）の投与について、患者を、診療所において、処置後少なくとも６時間にわたり観察するものとする。

【１１６０】

・サイクル２＋における、後続の全ての用量の投与について、患者に、全用量を施し、処置後少なくとも１時間にわたり観察するものとする。

【１１６１】

・任意のさらなる用量の注入のために、任意のグレードの神経毒性、グレード２のＣＲＳ／ＩＲＲ（ｉｎｆｕｓｉｏｎ ｒｅｌａｔｅｄ ｒｅａｃｔｉｏｎ）を経る患者を、症状の消散について、院内において、十分にモニタリングするものとする。グレード３のＣＲＳ／ＩＲＲまたはグレード３の神経毒性を経る、任意の患者は、研究を中止されるものとする。

【１１６２】

・任意のグレード３のＣＲＳ／ＩＲＲが観察される場合、研究へと追加される全てのさらなる患者に、ＨＭＢＤ－００２による処置の６および１２時間前に、デキサメタゾン２０ｍｇを、経口またはＩＶにおいて施すものとする。

【１１６３】

・前の処置期間中における、グレード１～２の発熱、悪寒、筋肉痛／関節痛、および／または関連するＡＥの発生に基づき、患者を、以下の前投薬：ＨＭＢＤ－００２処置前３０～６０分以内の、静脈内／腹腔内における、２５～５０ｍｇのジフェンヒドラミンおよび／またはアセトアミノフェンにより処置することができる。このようなＡＥが一般的であると観察される場合、この前投薬レジメンを、全ての患者について義務づける場合がある。

【１１６４】

単剤ＨＭＢＤ－００２についての評価では、少なくとも３例の患者に、ＨＭＢＤ－００２による処置を、開始用量レベル（２０ｍｇ）において施す。３＋３デザインを活用するものとする。このコホートへのさらなる患者の追加の前に、新規の各用量漸増コホートへ

と登録された最初の患者が、サイクル１の全体を完了しなければならない。用量漸増期間中に、新規の各用量レベルにおける、最初の３例の患者は、少なくとも７日間ずつ、処置をずらさなければならない。

【１１６５】

以下の一般的な用量漸増スキームに従うものとする：

・ＨＭＢＤ－００２の用量の漸増では、少なくとも３例の患者を、２０ｍｇの開始用量レベルで処置し、３例の患者の各々に、サイクル１の１日目に、７ｍｇの「試験用量」を施なければならない。

【１１６６】

・投与コホート内の、最初の３例のＤＬＴ評価患者のいずれもが、ＤＬＴを経なければ、次の高用量コホートの登録を開始することができ、サイクル１の１日目に、各コホート内の、全ての新規の患者に、５０％の試験用量を施す。

【１１６７】

・コホート内の、１例のＤＬＴ評価患者が、ＤＬＴを経た場合は、この用量レベルにおいて、最大で全６例の安全性評価患者を登録するものとする。ＤＬＴを経る患者が、６例中１例以下の場合は、次いで、次の高用量コホートへの登録を開始することができる。

【１１６８】

・現行の用量コホートに登録された最後の患者が、ＤＬＴ評価期間を完了し、最初の３例の患者中に、ＤＬＴが見られないか、または最初の６例の新規患者中のＤＬＴが１例以下であった場合に限り、次の高用量コホートへの登録を開始することができる。

【１１６９】

・ＤＬＴが、最初の６例のＤＬＴ評価患者のうちの１例を超えて生じなかったことを条件として、コホート内の最初の６例の患者のうちのいずれかにおいて、２例目のＤＬＴが生じた場合は、ＭＴＤを超えたものとし、前のより低用量レベルを、ＭＴＤと考えるものとする。

【１１７０】

・サイクル２の処置は、毒性または他の任意の理由で、その期間の後、患者を、処置から除外しなければならない、ＤＬＴ観察期間の後に、最大で２１日間にわたり保持することができる。

【１１７１】

・ＨＭＢＤ－００２の安全性、忍容性、ＰＫ、および薬力学についての、さらなる特徴付けをもたらすように、最大で１５例の患者を、ＭＴＤ（またはＭＴＤが同定されていない場合における最大試験用量）、またはＭＴＤを下回る用量（より好適な危険性／有益性プロファイルを示唆する証拠が存在する場合）で処置することができる。これらの患者においては、５０％の試験用量を要求しないものとする。

【１１７２】

用量漸増に関する決定は、ＤＬＴ評価期間に由来するデータについての審査に基づき下すものとするが、安全性データもまた、処置を継続する全ての患者から回収し、これを、定期的に審査するものとする。度重なり検出された、任意の毒性は、その後における用量低減、投与スケジュールの変更、またはＭＴＤのさらなる精緻化を含む、他の適宜の措置を要求しうる。

【１１７３】

さらなる用量漸増を妨げる、ＤＬＴが生じ、これらのＤＬＴが、重度ではあるが、致死性ではない（すなわち、グレード３の発熱、倦怠感の遷延）状況では、ＭＭ（Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｍｏｎｉｔｏｒ）との討議の後に、初期ＨＭＢＤ－００２療法と共時的である、適切な支持療法剤（造血増殖因子、コルチコステロイド、抗鬱剤を含むがこれらに限定されない）の共投与を伴う、具体的用量コホートの再査定について検討することができる。

【１１７４】

研究の用量漸増段階のサイクル１（ＤＬＴ評価期間）における、ＨＭＢＤ－００２の用量改変は、許容されない。サイクル１において、ＤＬＴを経た患者は、用量漸増工程にお

いて、かつ、ＭＭ（Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｍｏｎｉｔｏｒ）との討議の後に、その用量が、安全であることが裏付けられた場合、低減用量で、研究を持続することができる。討議は、ＭＭ（Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｍｏｎｉｔｏｒ）およびＳＣ（Ｓｔｕｄｙ　Ｃｏｏｒｄｉｎａｔｏｒ）により記録されるものとする。ＤＬＴ評価期間の後、サイクル２＋における、用量漸増段階に参加する患者について、かつ、全てのサイクルにおける、用量拡大段階にある患者について、用量は、保持する場合もあり、特異的毒性および／または検査値異常のために、改変する場合もある。

【１１７５】

用量漸増期間中に、新規の各コホートにおける、最初の３例の患者の各々の処置は、このコホートへのさらなる患者の追加の前に、７日間ずつずらさなければならない。用量漸増は、表４に提示された簡略図式に従い行うものとする。

【１１７６】

【表３５】

表4:用量漸増についての簡略図式

条件	措置
DLT評価期間中に、用量レベルXにおいて、DLTを伴わない患者が、3例中0例であるか、または6例中≦1例の患者が、DLTを伴う	用量レベルX+1へと漸増する
DLTを伴う患者が、3例中1例である	6例の患者を、用量レベルXにおいて査定する
DLTを伴う患者が、6例中≧2例である	用量レベルX-1は、MTDである[a]

略号:DLT:用量制限毒性;MTD:最大耐量

[a]少なくとも6例の新たな患者が、この用量レベルで、処置を施され、かつ、DLT評価可能であることを条件として、DLTを経た患者が、1例以下である場合、この用量を、MTDであると考えるものとする。用量レベルは、サイクル1の1日目において、試験用量の50%(Xの50%)と規定し、他の全ての投与は、全用量(X)とする。

１９．６．４．ＨＭＢＤ－００２へと適用可能な用量漸増

医薬品安全性実施基準（ＧＬＰ）による毒性研究からの結果に基づく、ＨＭＢＤ－００２の用量漸増に関して、コホート１の患者に、ＨＭＢＤ－００２を、第１の２１日間サイクル（サイクル１）の、１日目おける７ｍｇ、ならびに８および１５日目における２０ｍｇの開始用量で施すものとする。後続する全てのサイクルの１、８、および１５日目には、２０ｍｇの用量を投与するものとする。次の計画コホートのためのＨＭＢＤ－００２の最大用量は、表５に提示される、現行のコホートからの安全性所見に依存する。

【１１７７】

【表３６】

表5:開始用量を超える最大用量

条件	措置
用量レベルX(≦80mg)で、>グレード1のAEを伴わない患者が、0例である[a]	次のコホートには、≦3.0×現行用量の用量レベルを施すものとする
用量レベルX(>80mg)で、>グレード1のAEを伴わない患者が、0例である[a]	次のコホートには、≦2.0×現行用量の用量レベルを施すものとする
グレード2の、DLT以外のAEを経る患者が、≧1例である(≦80mg)	次のコホートには、≦2.0×現行用量の用量レベルを施すものとする
グレード2の、DLT以外のAEを経る患者が、≧1例である(> 80mg)	次のコホートには、≦1.5×現行用量の用量レベルを施すものとする
≧グレード3の非DLTを経る患者が、≧1例である	次のコホートには、≦1.5×現行用量の用量レベルを施すものとする
DLTを経る患者が、6例中1例である	次のコホートには、≦1.33×現行用量の用量レベルを施すものとする
コホート1内で、**任意のグレードのDLT**[b]を経る患者が、≧2例である	次のコホート(コホート-1)には、コホート1から、50%低減された用量レベル:0.45mg/m^{2}を施すものとする
コホート-1内で、**任意のグレードのDLT**[b]を経る患者が、≧2例である	次のコホート(コホート-2)には、コホート-1から、33%低減された用量レベル:0.30mg/m^{2}を施すものとする

略号:AE=有害事象;DLT=用量制限毒性

a. 用量レベルXとは、現行の用量レベルを指す

b. DLTは、研究薬以外の原因に明確に帰せられえない事象でなければならない

次の計画コホートのためのＨＭＢＤ－００２の最大用量は、現行のコホートにおける、以下の安全性所見に依存する。「Ｘ」は、前のコホートにおいて査定された、ｍｇ単位の用量であることに注意されたい：

・患者が、グレード＞１のＨＭＢＤ－００２関連ＡＥ（外部原因［例えば、がん、ＰＤ］）に明確に帰せられえない、任意のグレード＞１のＡＥ）を経ておらず、かつ、現行の用量レベルが、≦８０ｍｇである場合：≦３．０（Ｘ）ｍｇである。

【１１７８】

・患者が、グレード＞１のＨＭＢＤ－００２関連ＡＥ（外部原因［例えば、がん、ＰＤ］）に明確に帰せられえない、任意のグレード＞１のＡＥ）を経ておらず、かつ、現行の用量レベルが、＞８０ｍｇである場合：≦２．０（Ｘ）ｍｇである。

【１１７９】

・ＤＬＴが見られておらず、少なくとも１例の患者が、グレード２のＨＭＢＤ－００２関連ＡＥを経、現行の用量レベルが、≦８０ｍｇである場合：≦２．０（Ｘ）ｍｇである。

【１１８０】

・ＤＬＴが見られておらず、少なくとも１例の患者が、グレード２のＨＭＢＤ－００２関連ＡＥを経、現行の用量レベルが、＞８０ｍｇである場合：≦１．５（Ｘ）ｍｇである。

【１１８１】

・ＤＬＴが見られておらず、少なくとも１例の患者が、グレード３のＨＭＢＤ－００２関連非ＤＬＴを経ている場合：≦１．５（Ｘ）ｍｇである。

【１１８２】

・患者６例中１例が、ＤＬＴを経ている場合：≦１．３３（Ｘ）ｍｇである。

【１１８３】
・ＤＬＴ以外のＡＥの頻度および重症度に基づき、より低度の用量増大（すなわち、２５％の増大）も検討されうる。
【１１８４】
・２５％または３３％の用量漸増の後、後続の（連続する）２つのコホートにおいて、グレード≧３のＨＭＢＤ－００２関連ＤＬＴ以外のＡＥが生じない場合は、増分のより大きな用量漸増（最大で５０％の増大）を再策定することができる。
【１１８５】
・ＤＬＴが、コホート１で処置された２例の患者において生じた場合、後続のコホート（コホート－１）は、コホート１から、５０％低減された用量で、ＨＭＢＤ－００２を施されるものとする（サイクル１の１日目に投与された用量を、３．３ｍｇとする場合に、コホート－１＝１０ｍｇ）。
【１１８６】
・ＤＬＴが、コホート－１で処置された２例の患者において生じた場合、後続のコホート（コホート－２）は、コホート－１から、約３３％低減された用量で、ＨＭＢＤ－００２を施されるものとする（サイクル１の１日目に投与された用量を、２．２ｍｇとする場合に、コホート－２＝７ｍｇ）。
【１１８７】
・３週間ごとの１、８、１５日目（毎週）のスケジュールにおける用量強度が強すぎ、臨床安全性およびＰＫデータに基づき、投与がそれほど集中的ではない（例えば、３週間ごとの１および８日目、または３週間ごとの１日目の）スケジュールが支持される状況下では、新たな患者の追加のために、３週間ごとの１および８日目、または３週間ごとの１日目のスケジュールを使用する、新規の患者コホートが開設されうる。
【１１８８】
○３週間ごとに毎週１回×２回（１および８日目）のスケジュールは、３週間ごとの１、８、１５日目のスケジュールと比較して、ＨＭＢＤ－００２用量強度の、３３％の低減を表し、３週間ごとの１日目のスケジュールは、６６％の低減を表すので、第１の患者コホートは、３週間ごとの１、８、１５日目のスケジュールにおいて安全であることが決定された、同じＨＭＢＤ－００２用量（すなわち、ＭＴＤ以下の用量）を施されるものとする。用量漸増は、３週間ごとの１、８、１５日目のスケジュールについて記載されたスキームに従い実施されるものとする。これは、サイクル１の１日目における、５０％の試験用量を含む。
【１１８９】
・さらなる患者、特に、逐次的腫瘍生検（２％以上であると推定される、患者の臨床状況および手順を完了する施設における死亡率または大きな罹患率の、著明な絶対的危険性を手順が、付与しない生検）に適し、これに同意する患者は、ＤＬＴについて十分に評価可能であり、次の高用量レベルにおける投与に関して許可された用量レベルで処置されうる。
【１１９０】
・ＤＬＴが、さらなる患者の、コホートへの登録を必要とする場合、さらなる患者が、ＤＬＴ評価期間を完了した後で、このコホートについての、全ての安全性データを審査するものとする。データの査定に基づき、ＳＲＣおよび／または治験依頼者は、このプロトコールで指定されていないが、計画された用量レベルの間にある、中程度のＨＭＢＤ－００２用量レベルで、患者を登録することを決定しうる。
【１１９１】
・サイクル２の処置は、毒性または他の任意の理由で、その期間の後、患者を、処置から除外しなければならない、ＤＬＴ観察期間の後に、最大で２１日間にわたり保持することができる。
【１１９２】
ＨＭＢＤ－００２は、例えば、抗ＰＤ－１療法または抗ＰＤ－Ｌ１療法と組み合わせた

組合せ療法において、その安全性および有効性について査定されうる。
１９．６．５．第２部：用量拡大
反復的サイクルの忍容性（すなわち、度重なる毒性の証拠）、ＰＫ研究の結果（すなわち、生体活性を指し示すＰＫパラメータを超える用量レベル）、薬力学研究の結果（すなわち、標的薬力学効果の飽和）、および／または抗がん活性などの因子に基づく、ＭＴＤを表す場合もあり、より低用量を表す場合もある、ＨＭＢＤ－００２のＭＴＤ／ＲＰ２Ｄレベルの決定の後、個別の疾患に規定された患者コホートを、ＨＭＢＤ－００２により処置する。
【１１９３】
拡大段階において登録された全ての患者について、腫瘍生検は、サイクル２の終了時近辺において、または早期の場合、ＰＤ時において要望される処置前生検であるものとする。腫瘍生検手順は、２％以上であると推定される、患者の臨床状況および手順を完了する施設における死亡率または大きな罹患率に関連する危険性として規定される、著明な絶対的危険性を引き起こしてはならない。処置の開始前に、ＶＩＳＴＡ＋免疫組織化学（ＩＨＣ）の実証は、要求されない。
【１１９４】
以下の別個の用量拡大コホートを査定するものとする：
・ＴＮＢＣ：進行性ＴＮＢＣを伴い、単剤療法としてのＨＭＢＤ－００２で処置されたが、十分な陽性シグナルが観察されれば、さらに拡大する可能性を伴う、１５例の既処置患者。
【１１９５】
・ＮＳＣＬＣ：進行性ＮＳＣＬＣを伴い、単剤療法としてのＨＭＢＤ－００２で処置されたが、十分な陽性シグナルが観察されれば、さらに拡大する可能性を伴う、１５例の既処置患者。
【１１９６】
・ＨＭＢＤ－００２で処置された、一連の生検（すなわち、生検の調達は、著明な危険性（すなわち、≧２％であると推定される、患者の臨床状況および手順を完了する施設における、大きな罹患率または死亡率）を有する手順ではない）に適する、様々な悪性腫瘍を伴う、５０例の患者。
【１１９７】
用量拡大段階では、最大で１９０例の患者を処置しうる。初回の暫定評価（１５例の患者）において、十分なレベルの活性（客観的奏効率が、≧１である）に言及されれば、拡大コホートのいずれも、各々、３５例の患者まで拡大されうる。
【１１９８】
用量は、処置関連毒性に応じて改変されうる。
１９．６．６．用量制限毒性の規定
ＤＬＴ評価期間は、２１日間（サイクル＝２１日間）である。第１部（用量漸増）に登録され、ＨＭＢＤ－００２単剤療法を施された患者は、ＤＬＴ評価に適格（すなわち、ＤＬＴ評価可能）であるために、ＤＬＴ評価期間中に、それらの予定されたＨＭＢＤ－００２の投与３回の全て（１、８、および１５日目）を施され、２１日間を通して、完全な追跡データが入手可能でなければならない。ＤＬＴ評価期間中において処置の除外を結果としてもたらす、ＤＬＴまたは他の薬物関連毒性を経た患者もまた、ＤＬＴ評価に適格であるものとする。
【１１９９】
毒性は、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ（ＮＣＩ）Ｃｏｍｍｏｎ Ｔｅｒｍｉｎｏｌｏｇｙ Ｃｒｉｔｅｒｉａ ｆｏｒ Ａｄｖｅｒｓｅ Ｅｖｅｎｔｓ（ＣＴＣＡＥ），ｖｅｒｓｉｏｎ ５．０を使用して、治験責任医師により評価されるものとする。ＡＥの、ＨＭＢＤ－００２への関係（すなわち、帰属）が評価されるものとする。
【１２００】

ＤＬＴは、ＡＥが、明確に、かつ、議論の余地なく、外部原因（例えば、がん、ＰＤ）に帰せられえない限りにおいて、治験責任医師による、ＨＭＢＤ－００２への帰属に関わらず、ＤＬＴ評価期間中に生じる、以下のＡＥのうちのいずれかとして規定される。

【１２０１】

血液学的ＤＬＴ：

・グレード３または４の発熱性好中球減少症

○単回温度を、＞３８．３℃（１０１°Ｆ）とするか、または１時間を超える時間にわたる持続温度を、≧３８℃（１００．４°Ｆ）とし、致死性帰結および適応の緊急介入を伴うか、またはこれを伴わない、１mm^3当たり＜１０００個の絶対好中球数（ＡＮＣ）として規定される。

【１２０２】

・連続＞７日間にわたり持続する（ＡＮＣが、グレード≦１へと回復するまで、２～３日間ごとに、全血算［ＣＢＣ］＋白血球分画を測定しなければならない）、グレード４の好中球減少症（１μＬ当たりのＡＮＣが、＜５００個である）

・グレード４の血小板減少症（１μＬ当たりの血小板が、＜２５，０００個である）；または実証可能な腫瘍による骨髄病変を伴わずに、患者において＞７日間にわたり持続する、グレード３の血小板減少症（１μＬ当たりの血小板が、＜５０，０００個である）；または臨床的に有意な出血と関連する、グレード３または４の血小板減少症。

【１２０３】

非血液学的ＤＬＴ：

・ＮＣＩ　ＣＴＣＡＥ，ｖｅｒｓｉｏｎ　５．０に従い、≧グレード３である、任意の非血液学的ＡＥ：

○例外は、最適未満の予防および管理が存在しており、７２時間以内に、≦１のグレードへと消散する、悪心、嘔吐、下痢、電解質／代謝／グルコース異常、便秘、発熱、または疲労感である。

【１２０４】

○例外は、Ｈｙ’ｓ　ｌａｗを満たさない、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ＡＳＴ）、および／またはアラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）の、グレード３の上昇である。Ｈｙ’ｓ　ｌａｗを満たす、グレード３のＡＳＴおよび／またはＡＬＴ上昇は、胆汁うっ滞所見の非存在（アルカリホスファターゼの、＞ＵＬＮの２倍への上昇の非存在）下で、総ビリルビンが、＞正常上限（ＵＬＮ）の２倍に増加し、かつ、ＡＬＴ／ＡＳＴおよび総ビリルビンの増大の組合せを説明する、他の理由が見出されえないことを要求する。Ｈｙ’ｓ　ｌａｗからの例外である、グレード３のトランスアミナーゼ上昇は、Ｈｙ’ｓ　ｌａｗの基準もまた満たされないことを条件として、７日間以内における、≦グレード１への消散を要求する。

【１２０５】

・ＮＣＩ　ＣＴＣＡＥ　ｖｅｒｓｉｏｎ　５．０により規定される、ＣＲＳ／免疫エフェクター細胞関連神経毒性症候群（ＩＣＡＮＳ）の、グレード３の症状。ＨＭＢＤ－００２による処置に起因する、グレード３または４のＣＲＳまたはＩＣＡＮＳを経る患者は、研究を中止されるものとする。

【１２０６】

・グレード３のＩＲＲまたはグレード３の免疫関連毒性。このような患者は、研究を中止されるものとする。

【１２０７】

血液学的ＤＬＴおよび非血液学的ＤＬＴの両方：

・サイクル１の期間中における、８もしくは１５日目、またはスケジュールが、３週間ごとの１日目および８日目のスケジュールへと改変された場合は、８日目の投与の除外を結果としてもたらす、任意の可能な薬物関連毒性。

【１２０８】

・回復基準を満たさなかったため、サイクル２の投与を、＞２１日間にわたり遅延させ

る、任意の毒性。
【１２０９】
・サイクル１の期間中において、処置の中止を引き起こす、任意の処置関連毒性。
【１２１０】
・任意のグレード５の毒性。
【１２１１】
・治験責任医師および治験依頼者のＭＲ（ｍｅｄｉｃａｌ　ｒｅｐｒｅｓｅｎｔａｔｉｖｅ）により、ＤＬＴであると考えられる、他の任意の著明な毒性。
【１２１２】
最終回投与後３０日間までのＴＥＡＥ（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ－ｅｍｅｒｇｅｎｔ　ＡＥ）は、ＭｅｄＤＲＡ（商標）Ｖｅｒｓｉｏｎ　１３．１（以降のバージョン）のＳＯＣ（ｓｙｓｔｅｍ　ｏｒｇａｎ　ｃｌａｓｓ）およびＰＴ（ｐｒｅｆｅｒｒｅｄ　ｔｅｒｍ）によりまとめられるものとする。ＰＴ（ｐｒｅｆｅｒｒｅｄ　ｔｅｒｍ）による各ＡＥを経る患者の発生率および百分率は、記述統計によりまとめられるものとする。ＡＥはまた、ＮＣＩ－ＣＴＣＡＥ，ｖ５のグレードおよび因果性（研究処置への帰属）によってもまとめられるものとする。ＤＬＴ、グレード３～４のＡＥ、ＳＡＥ、および用量の改変または処置の中止を結果としてもたらすＡＥもまた、ＰＴ（ｐｒｅｆｅｒｒｅｄ　ｔｅｒｍ）によってもまとめられるものとする。
１９．６．８．投与および再処置のための基準
過去２４時間中に、患者が、以下の事象のうちのいずれかを経た場合、処置サイクル内で、ＨＭＢＤ－００２は、任意の予定された処置日における投与を見合わされる：
ａ．最適の抗下痢治療に反する、≧グレード２の下痢
ｂ．最適の制吐剤治療に反する、≧グレード２の嘔吐
ｃ．休息により和らげられず、日常生活の自立活動を制限する≧グレード３の疲労感
ｄ．≧グレード３のトランスアミナーゼ上昇
ｅ．血小板数が、１Ｌ当たり＜５０×１０^{9}個であること
ｆ．好中球数が、１Ｌ当たり＜０．５×１０^{9}個であること
サイクル２以降の処置を開始するために、患者は、以下の基準を満たさなければならない：
ａ．ＡＮＣが、１Ｌ当たり≧１．００×１０^{9}個であること
ｂ．ヘモグロビンが、≧８ｍｇ／ｄＬであること
ｃ．血小板数が、１Ｌ当たり≧７５×１０^{9}個であること
ｄ．クレアチニンクリアランスの計算値が、＞３５ｍＬ／分であること
ｅ．総ビリルビンが、≦１．８×施設基準ＵＬＮであること
ｆ．ＡＳＴおよびＡＬＴが、≦４×施設基準ＵＬＮであるか、または、患者が、肝転移を有する場合、ＡＬＴおよびＡＳＴが、≦５×施設基準ＵＬＮであること。
【１２１３】
第１部（用量漸増）のサイクル１（ＤＬＴ評価期間）期間中における、処置サイクル内の研究処置（ＨＭＢＤ－００２）の用量改変は許容されない。患者が、ＤＬＴ患者として適格化する事象を経過した状況下では、研究処置は、同用量以下の用量で再開されうる。
【１２１４】
用量改変は、トランスアミナーゼ上昇、血小板減少症、および／または好中球減少症に基づきなされうる。
【１２１５】
ＨＭＢＤ－００２の注射時に、患者は、一過性の発熱、悪寒、悪心、疲労感、嘔吐、頭痛、および肝酵素の増大を経る可能性がある。患者はまた、発熱、悪寒、倦怠感、疲労感、食欲不振、筋肉痛、関節痛、悪心、嘔吐、頭痛、下痢、頻脈、低血圧、心拍出量の変化、脈圧の拡大、発赤、多呼吸、Ｄ－二量体の上昇、高トランスアミナーゼ血症、高尿素血症、低酸素症、出血を伴うか、またはこれを伴わない、低フィブリノーゲン血症、高ビリルビン血症、精神状態の変化、錯乱、せん妄、失語症、幻覚、振戦、ジスメトリア、歩行

異変、および／または発作を含む、ＣＲＳの症状も有しうる。ＣＲＳは、ＮＣＩ　ＣＴＣＡＥ　Ｖｅｒｓｉｏｎ　５基準に従いグレード付けされうる。

【１２１６】

軽度ＣＲＳ：軽度の初期反応（グレード１の初期反応、体質症状を伴うか、またはこれを伴わない発熱）は一般に、介入を要求しない。必要な場合、アセトアミノフェンまたは同様の抗炎症薬（非ステロイド系抗炎症薬；ＮＳＡＩＤ）を投与して、発熱および関連する体質症状を処置することができる。ＣＲＳに起因する、重度ＡＥの可能性のために、介入は、血圧サポート、およびコルチコステロイド、抗インターロイキン６（ＩＬ６）ｍＡｂトシリズマブによる処置、ならびに／または高血圧症状の管理を含みうる。

【１２１７】

中等度ＣＲＳ：グレード２以上のＣＲＳの場合、コルチコステロイドを伴うか、またはこれを伴わないトシリズマブを投与して、多様な、関連があり、かつ、潜在的に重篤なＣＲＳ症状を処置することができる。トシリズマブの推奨用量は、体重が３０ｋｇ未満である患者については、ＩＶにおいて、１２ｍｇ／ｋｇであり、体重が３０ｋｇ以上である患者については、８ｍｇ／ｋｇである。薬剤は、ＩＶ注入として、６０分間にわたり投与されるものとする。臨床の改善が、２４～４８時間以内に生じない場合、トシリズマブを再投与することができる。グレード≧２またはこれを超えるＣＲＳは、ベースライン（検査室ごとのスケジュール）、事象の発生時、および退院の前において、ＩＬ６、ＣＲＰ、およびフェリチンを測定することにより確認するものとする。後続の処置について、適応の場合、アセトアミノフェン、非ステロイド系抗炎症剤による前投薬を許容する。ＨＭＢＤ－００２に対して、このような反応が生じる場合は、低用量のコルチコステロイドを、前投薬として使用して、反応の重症度を軽減することもできるが、ＭＭ（Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｍｏｎｉｔｏｒ）との討議の後に限る。

【１２１８】

重度ＣＲＳ（グレード３）：ＣＲＳに起因する、重度ＡＥの可能性のために、介入は、血圧サポート、およびコルチコステロイド、抗インターロイキン６（ＩＬ６）ｍＡｂトシリズマブによる処置（上記を参照されたい）、ならびに／または高血圧症状の管理を含みうる。

【１２１９】

ＣＲＳのための標準的支持療法を投与することができる。

【１２２０】

ＨＭＢＤ－００２と関連するＡＥは、免疫関連有害事象（ｉｒＡＥ）を表しうる。重度／致死性のｉｒＡＥは、ＩＶコルチコステロイド、続いて経口ステロイド、例えば、初期用量を１～２ｍｇ／ｋｇとするプレドニゾンまたは同等物により処置するものとする。ｉｒＡＥが、コルチコステロイドによりコントロールされない場合、他の免疫抑制性処置を開始するものとする。ｉｒＡＥが、≦グレード１となったら、コルチコステロイドの漸減を開始し、少なくとも４週間にわたり継続するものとする。さらなる適切な医学的治療は、エピネフリン、静脈内輸液、抗ヒスタミン剤、ＮＳＡＩＤ、アセトアミノフェン、麻薬、酸素、昇圧剤、および／またはコルチコステロイドを含みうるがこれらに限定されない。

１９．６．９．前投薬および併用投薬

許容される投薬／治療

ＤＬＴ評価期間外の、血小板減少症または好中球減少症の状況下では、施設またはＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｓｏｃｉｅｔｙ　ｏｆ　Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ（ＡＳＨ）／ＡＳＣＯ（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｓｏｃｉｅｔｙ　ｏｆ　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｏｎｃｏｌｏｇｙ）によるガイドラインに従い、血小板形成剤（すなわち、ロミプロスチム、エルトロムボパグ）、または顆粒球コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）剤（すなわち、フィルグラスチム、ペグフィルグラスチム）の投与が許容される。上述のガイドラインに従い、エリスロポエチン類似体もまた許容される。ＤＬＴと符合する、重度の血球減少症が同定されない限りにおいて、ＤＬＴ評価期間中には、これらの薬剤を利用しないものとする。ＤＬＴ評価期間中に

おける好中球減少症の軽快のために使用された場合、Ｇ－ＣＳＦ剤を停止するまで、ＨＭＢＤ－００２処置を延期するものとする。

【１２２１】

研究期間中において、上記で指し示された通り、制吐剤および止瀉剤、食欲刺激剤、刺激剤（すなわち、モダフィニル）、抗悪液質治療（すなわち、魚油サプリメント）、抗鬱剤、アヘン系鎮痛剤および非アヘン系鎮痛剤、抗生剤、コルチコステロイドの選択的使用、ならびに血小板／好中球増殖因子を含むがこれらに限定されない包括的支持療法が許容される。

【１２２２】

進行中のビスホスホネート療法、または抗ＲＡＮＫＬ（ａｎｔｉ－ｒｅｃｅｐｔｏｒ ａｃｔｉｖａｔｏｒ ｏｆ ｎｕｃｌｅａｒ ｆａｃｔｏｒ ｋａｐｐａ β ｌｉｇａｎｄ）療法（例えば、デノスマブ）を施されながら、研究にエントリーする患者は、研究への参加期間中においても、引き続き、これらの薬剤を施されうる。耐性前立腺がんを伴い、医学的去勢として、ゴナドトロピン放出ホルモン（ＧｎＲＨ）アゴニストを施されつつある患者は、研究期間中においても、引き続き、ＧｎＲＨアゴニストを施されるものとする。進行性前立腺がんを伴い、ＬＨＲＨアゴニストを施されつつある患者は、研究への参加を許容され、研究処置期間中においても、これらの薬剤の使用を継続するものとする。

禁止される投薬／治療

本プロトコールに従い方向付けられる場合（例えば、抗ＰＤ－１／ＰＤ－Ｌ－１抗体）を除き、登録患者に、細胞傷害性化学療法薬剤、抗がんチロシンキナーゼ阻害剤、免疫療法、または治療用ｍＡｂを含む被験抗がん剤または承認抗がん剤を施すことはできない。既存の、非進行性転移／症状のために実施されつつあり、狭い照射ポート（例えば、孤発性骨病変）を伴うのでない限りにおいて、研究登録期間中の緩和放射線は許容されない。研究処置の初回投与の３０日以内前、および研究への参加中において、生ワクチンまたは生弱毒化ワクチンは、許容されない。全身コルチコステロイドは、以下の目的：免疫学的病因を有することが疑われるＡＥの症状をモジュレートする目的、嘔吐の防止に必要とされる場合、ＩＶ造影剤アレルギーのための前投薬、ＣＯＰＤの増悪に対する、プレドニゾン同等物の短期経口使用、もしくは１日当たりの用量を＞１０ｍｇとするＩＶ使用、または１日当たりのプレドニゾン同等物１０ｍｇを超えない、慢性全身補充療法に限り許容される。

【１２２３】

患者を、１日当たりのプレドニゾン同等物１０ｍｇより高用量の連続全身ステロイドで処置しないものとする。１日当たりのプレドニゾン同等物１０ｍｇより高用量の連続全身ステロイドが要求される場合、ステロイドが、ベースラインへと漸減されるまで、ＨＭＢＤ－００２を投与しないものとする。

１９．７．患者集団

用量漸増段階では、患者約４０～５０例を処置する。この推定値は、現在利用可能な治療に対して再発性／不応性であり、ＨＭＢＤ－００２で処置される、２５～３０例および１５～２０例の、悪性充実性腫瘍を伴う患者を含む。

【１２２４】

拡大段階は、単剤療法としてのＨＭＢＤ－００２で処置される、トリプルネガティブ乳がん（ＴＮＢＣ）および非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）を伴う、各々、１５～３０例ずつの患者（最大で３５例の患者）、ならびにＨＭＢＤ－００２で処置される、他の悪性腫瘍を伴う、最大で５０例の患者の処置を含む。任意のＮＳＣＬＣコホートまたはＴＮＢＣコホートにおいて、十分な活性が観察される場合、コホートは、少なくとも３５例の患者へと拡大されうる。

【１２２５】

全ての患者は、胸部／腹部／骨盤の処置前（研究治療投与の前における）イメージング（コンピュータ断層撮影［ＣＴ］）スキャン、または、適応の場合、磁気共鳴イメージン

グ（ＭＲＩ）を受けなければならず；それらの初回の研究治療投与の前に２１日以内に、腫瘍生検が要望される（患者が、拡大段階に登録される場合）。患者が、逐次的な腫瘍生検を受けずに登録される状況は、そのようにすることが、ＭＭ（Ｍｅｄｉｃａｌ Ｍｏｎｉｔｏｒ）により許容された場合に限り存在しうる。皮膚、皮下、またはリンパ節転移を伴う患者はまた、身体検診による腫瘍査定（定規による測定を含む）も受ける場合がある。腫瘍の測定および疾患の応答評価はまた、サイクル２の終了時にも実施され、次いで、それ以後、ＰＤの発生まで、約２サイクルごとに実施されるものとする。腫瘍の測定および疾患の応答評価はまた、ＥＯＴ来院に時にも実施されるものとする。加えて、所与の悪性腫瘍を伴う患者の臨床管理において、腫瘍マーカーが利用され、患者が、所与のマーカーの上昇を承知している状況下では、腫瘍マーカーの測定も、強く奨励される。ＨＭＢＤ－００２の投与に登録され、用量漸増段階において、ＭＴＤまたはこの近傍にある全ての患者、および拡大段階に登録された全ての患者は、手順関連の絶対的危険性である、患者の臨床状況および手順を完了する施設における死亡率または大きな罹患率が、２％以上であると推定される、著明な危険性の下に置かれない限りにおいて、サイクル１の処置前、およびサイクル２の終了時、または、早期の場合、ＰＤ時において実施される、一連の腫瘍生検を受けることが要望されるものとする。これ以外の場合は、アーカイブの腫瘍検体を提出するものとする。

１９．７．１．組入れ基準

１．患者は、悪性固形がん（任意の組織学）の組織学的または細胞学的証拠を有さなければならず、臨床利益を付与することが公知である、利用可能な療法を伴わない、進行性または転移性疾患を有さなければならない。

【１２２６】

２．用量漸増段階に登録された患者は、利用可能な標準的な全身療法に対して耐性であるか、もしくはこの後において再発性であるか、または医師の判断において、臨床利益を結果としてもたらす可能性が高い、標準的な全身療法もしくは妥当な治療が存在しないか、またはこのような治療が、患者により拒絶された疾患を有さなければならない。臨床利益を結果としてもたらす可能性が高い、標準治療が施されなかった患者については、理由の記録が提示されなければならない。

【１２２７】

３．理想的には、患者の最近の生検に由来する、腫瘍組織（最小で１０例であり、最大で１５例の非染色スライド）またはパラフィンブロックは、研究施設へと送付される計画で配置されるか、または研究治療の初回投与の前に入手可能とされなければならない。採取したての腫瘍生検が、アーカイブ試料の使用より好ましく、アーカイブ試料が、入手可能でない場合、生検手順が著明な危険性手順ではなく、２％以上であると推定される、患者の臨床状況および手順を完了する施設における死亡率または大きな罹患率を伴わない生検手順として規定される限りにおいて、これを得るものとする。生検の危険性についての記録を審査し、採取したての生検に対する要件を免除するには、ＭＭ（Ｍｅｄｉｃａｌ Ｍｏｎｉｔｏｒ）に連絡しなければならない。

【１２２８】

ａ．拡大段階に登録される患者は、手順が、上記で規定された、著明な危険性手順でない場合、スクリーニング期間中およびサイクル２の終了時（１６～２１±２日目に）、または、早期の場合、ＰＤ時において腫瘍生検を受けることが要望されるものとする。

【１２２９】

４．患者は、ＲＥＣＩＳＴ（Ｒｅｓｐｏｎｓｅ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｃｒｉｔｅｒｉａ ｉｎ Ｓｏｌｉｄ Ｔｕｍｏｒｓ），ｖｅｒｓｉｏｎ １．１（付録Ａ）により測定可能な疾患を有さなければならない。放射線療法の既往がある患者について、測定可能病変は、疾患進行が、照射後のこの部位において記録されたのでない限りにおいて、前の照射野（複数可）の外側になければならない。

【１２３０】

５．患者は、同意書式への署名日において、≧１８歳である。

【１２３１】
６．患者は、ＥＣＯＧ　ＰＳが、≦１である。
【１２３２】
７．患者は、以下により裏付けられる、十分なベースライン臓器機能を有する：
ａ．コッククロフト－ゴールトの式：
ｉ．ＣｒＣｌ（男性）＝（［１４０－年齢］×ｋｇ単位の体重）／（血清クレアチニン×７２）
ｉｉ．ＣｒＣｌ（女性）＝ＣｒＣｌ（男性）×０．８５
により計算されたクレアチニンクリアランス（ＣｒＣＬ）が、≧３０ｍＬ／分であること。
【１２３３】
ｂ．ビリルビンが、≦１．５×施設基準ＵＬＮであること。
【１２３４】
ｃ．ＡＳＴおよびＡＬＴが、≦２．５×施設基準ＵＬＮである。肝転移を有する場合、患者は、ＡＬＴおよびＡＳＴが、＜５×施設基準ＵＬＮであること。
【１２３５】
８．ワルファリンまたは他の経口抗凝固剤を服用しない患者について：国際標準比（ＩＮＲ）が、≦１．５であるか、またはプロトロンビン時間（ＰＴ）が、≦１．５×ＵＬＮであり；部分トロンボプラスチン時間または活性化部分トロンボプラスチン時間（ＰＴＴまたはａＰＴＴ）が、≦１．５×ＵＬＮである。ワルファリンを服用する患者は、＜３．５の安定ＩＮＲを結果としてもたらす安定用量であるものとする。他の経口抗凝固療法を施される患者では、ＰＴまたはａＰＴＴは、抗凝固療法および／または皮下療法について意図された治療範囲内になければならず、施設ごとの基準に応じてモニタリングされるものとする。
【１２３６】
９．患者は、以下により裏付けられる、十分なベースライン血液機能を有する：
ａ．ＡＮＣが、１Ｌ当たり≧１．５×10^9個であること。
【１２３７】
ｂ．ヘモグロビンが、≧９ｇ／ｄＬであり、過去１４日間において、赤血球（ＲＢＣ）輸血をなされていないこと。
【１２３８】
ｃ．血小板カウントが、１Ｌ当たり≧１００×10^9個であり、過去１４日間において、血小板輸血をなされていないこと。
【１２３９】
１０．患者は、心エコー法（ＥＣＨＯ）またはＭＵＧＡ（ｍｕｌｔｉｇａｔｅｄ　ａｃｑｕｉｓｉｔｉｏｎ）走査により決定される左室駆出分画（ＬＶＥＦ）が、≧４５％であること。
【１２４０】
１１．女性参加者は、妊娠しておらず、授乳中ではなく、以下の条件のうちの少なくとも１つが当てはまる場合に、参加に適格である：
ａ．ＷＯＣＢＰ（ｗｏｍａｎ　ｏｆ　ｃｈｉｌｄｂｅａｒｉｎｇ　ｐｏｔｅｎｔｉａｌ）ではないこと。
【１２４１】
ｂ．処置期間中、および研究処置の最終回投与後少なくとも１２０日間にわたり、避妊ガイダンスに従うことに同意するＷＯＣＢＰであること。
【１２４２】
ｃ．患者は、ＷＯＣＢＰである場合、処置前７２時間以内における血清または尿による妊娠検査が陰性であったこと。
【１２４３】
１２．男性患者は、処置期間中、および研究処置の最終回投与後少なくとも１２０日間

にわたり、避妊ガイダンスに従うことに同意する場合に、参加に適格である。
１９．７．２．ＨＭＢＤ－００２拡大コホートのための組入れ基準：
ＴＮＢＣ
１．患者は、転移性であるＴＮＢＣについての組織学的または細胞学的証拠を有さなければならない。ＴＮＢＣは、臨床医の評価により規定され、２０１８ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｓｏｃｉｅｔｙ ｏｆ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ（ＡＳＣＯ）／Ｃｏｌｌｅｇｅ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｐａｔｈｏｌｏｇｉｓｔｓ（ＣＡＰ）基準による、ヒト表皮増殖因子受容体２（ＨＥＲ２）陰性、≦１０％のエストロゲン受容体（ＥＲ）、および≦１０％のプロゲステロン受容体（ＰＲ）を含みうる。
【１２４４】
２．ＶＩＳＴＡ ＩＨＣ＋腫瘍の記録は、処置を開始するのに要求されないが、患者は、手順が、手順関連の絶対的危険性である、患者の臨床状況および手順を完了する施設における死亡率または大きな罹患率が、２％以上であると推定される手順として規定される、著明な危険性手順ではない場合、スクリーニング期間中およびサイクル２の終了時（１６～２１±２日目に）、または、早期の場合、ＰＤ時において、腫瘍生検を受けるものとする。これ以外の場合、患者は、アーカイブの腫瘍検体を提出するものとする。
【１２４５】
３．患者は、ＴＮＢＣのための、少なくとも１つの前のレジメンによる適切な処置を施されてなければならず、かつ、臨床利益を付与することが公知である療法が利用可能であってはならない。
ＮＳＣＬＣ
１．患者は、転移性であるか、または局所進行性であり、かつ、切除不能であるがんとして規定される、進行性疾患であるＮＳＣＬＣについての、組織学的または細胞学的証拠を有さなければならない。
【１２４６】
２．ＶＩＳＴＡ ＩＨＣ＋腫瘍の記録は、処置を開始するのに要求されないが、患者は、手順が、手順関連の絶対的危険性である、患者の臨床状況および手順を完了する施設における死亡率または大きな罹患率が、２％以上であると推定される手順として規定される、著明な危険性手順ではない場合、スクリーニング期間中およびサイクル２の終了時（１６～２１±２日目に）、または、早期の場合、ＰＤ時において、腫瘍生検を受けるものとする。これ以外の場合、患者は、アーカイブの腫瘍検体を提出するものとする。
【１２４７】
３．患者は、表皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ）または未分化リンパ腫キナーゼ（ＡＬＫ）の活性化突然変異を有してはならない。
【１２４８】
４．患者は、ＦＤＡ承認ターゲティング療法が利用可能である、他のゲノム異常（例えば、ＲＯＳ再配列、ＢＲＡＦ Ｖ６００Ｅ突然変異、ｍｅｔエクソン１４スキッピング突然変異）を保有する場合、ＦＤＡ承認ターゲティング療法による処置を施されるものとするが、前の処置を施されていない、このような患者も、このような処置により裏付けられている、全生存の改善に関する説明同意文書を与えられている場合は適格である。
【１２４９】
５．患者は、ＮＳＣＬＣのための、少なくとも１つのＦＤＡ承認標準治療または同等の標準治療において、疾患を進行させたことがなければならない。
【１２５０】
６．患者は、ＰＤ－１（ｐｒｏｇｒａｍｍｅｄ ｄｅａｔｈ ｒｅｃｅｐｔｏｒ－１）またはＰＤ－Ｌ１に対するｍＡｂによる、前の適切な処置を施されるものとするが、前の処置を施されていない、このような患者も、このような処置により、全生存の改善が裏付けられていることを通知する、適正な説明同意文書（説明同意書式）を与えられていない限りにおいて、ＨＭＢＤ－００２単剤療法に適格である。
他の複数のがん

１．患者は、臨床利益を付与することが公知である療法が利用可能でないＴＮＢＣおよびＮＳＣＬＣを除く、進行、切除不能、または転移がんについての、組織学的または細胞学的証拠を有さなければならない。

【１２５１】

２．ＶＩＳＴＡ　ＩＨＣ＋腫瘍の記録は、処置を開始するのに要求されないが、患者は、手順が、手順関連の絶対的危険性である、患者の臨床状況および手順を完了する施設における死亡率または大きな罹患率が、２％以上であると推定される手順として規定される、著明な危険性手順ではない場合、スクリーニング期間中およびサイクル２の終了時（１６～２１±２日目に）、または、早期の場合、ＰＤ時において、腫瘍生検を受けるものとする。これ以外の場合、患者は、アーカイブの腫瘍検体を提出するものとする。

【１２５２】

３．患者は、これらのがんのための適切な処置を施されてなければならず、かつ、療法が利用可能ではない。

１９．７．３．除外基準

１．患者は、抗ＰＤ－１、抗ＰＤ－Ｌ１、もしくは抗ＰＤＬ２剤、または別の刺激性もしくは共阻害性Ｔ細胞受容体（例えば、ＣＴＬＡ－４、ＯＸ４０、ＣＤ１３７）へと方向付けられた薬剤による、前の治療を施されており、グレード３以上の免疫関連有害事象（ｉｒＡＥ）に起因して、この処置から除外された。これは、細胞療法による前の処置に起因するｉｒＡＥには当てはまらない。

【１２５３】

２．患者は、処置から２週間以内に、前の放射線療法を施されている。参加者は、全ての放射線関連毒性から回復していなければならず、コルチコステロイドを要求してはならず、放射線肺炎を有してはならない。非中枢神経系（ＣＮＳ）疾患に対する放射線療法のうち、ポートを限定した、≦２週間の緩和放射線のために、１週間の休薬が許容される。

【１２５４】

３．患者は、研究投薬の初回投与から６カ月間以内に、＞３０グレイ（Ｇｙ）である、肺への放射線療法を施されている。

【１２５５】

４．患者は、研究治療の投与前１４日以内、または５半減期（前のニトロソ尿素またはマイトマイシンＣについて、４２日間；進行性前立腺がんを伴い、黄体形成ホルモン放出ホルモン（ＬＨＲＨ）アゴニストを施される患者は、研究への参加を許容され、研究処置期間中における、これらの薬剤の使用を継続するものとする）以内のいずれか短い方の期間以内に、細胞傷害性化学療法、モノクローナル抗体、および／または低分子チロシンキナーゼ阻害剤を含む抗がん治療による処置を施されている。

【１２５６】

５．患者は、同系組織／固形臓器移植を受けている。

【１２５７】

６．患者は、研究介入の初回投与前３０日以内に、生ワクチンまたは生弱毒化ワクチンを施されている。死滅化ワクチンおよびＲＮＡワクチン（例えば、ＣＯＶＩＤ－１９）の投与は、許容される。

【１２５８】

７．患者は、前のＨＭＢＤ－００２による処置、またはＶＩＳＴＡをターゲティングする別の治験剤を施されている。

【１２５９】

８．大手術を受けている場合、参加者は、研究介入を始める前に、手術手順および／または手術に由来する任意の合併症から、十分に回復していなければならない。

【１２６０】

９．患者は、現在、治験剤についての研究に参加しつつあるか、または研究処置の初回投与前４週間以内に、治験剤についての研究に参加したことがあるか、または治験デバイスを使用したことがある。

【１２６１】
１０．患者は、前の療法に起因する、全てのＡＥから、≦グレード１またはベースラインへと回復していなければならない。≦グレード２の脱毛症および／または神経障害を伴う参加者は、適格でありうる。処置またはホルモン補充を要求する、グレード≦２の内分泌系関連ＡＥを伴う参加者は、適格でありうる。検査値異常を結果としてもたらした、前の毒性は、より高グレードの異常が、組入れ基準により許容されるのでない限りにおいて、グレード≦１へと消散しているものとする。検査値異常の処置のために、医学的治療が要求される場合、用量および検査値（複数可）は、安定であるものとする。
【１２６２】
１１．患者は、過去において、全身処置を要求した、活動性の自己免疫疾患を有する。少なくとも２年間にわたり、全身処置を要求されなかった患者は、ＭＭ（ＭｅｄｉｃａｌＭｏｎｉｔｏｒ）との討議の後で、許可が与えられる場合は、登録されうる（補充療法、例えば、副腎不全または下垂体不全のための、チロキシン、インスリン、または生理学的コルチコステロイドによる補充療法は、全身処置形態とは考えられず、許容される）。
【１２６３】
１２．患者は、コントロール不能の内分泌系障害を有する。
【１２６４】
１３．患者は、臨床的に有意な心血管疾患（例えば、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ　ＨｅａｒｔＡｓｓｏｃｉａｔｉｏｎによるクラス３もしくは４である、コントロール不能であるかもしくは任意の心不全、コントロール不能の狭心症、研究へのエントリー前６カ月以内における、心筋梗塞、不安定狭心症、もしくは脳卒中の既往歴、コントロール不能の高血圧症、または投薬によりコントロールされない、臨床的に有意な不整脈）を有する。
【１２６５】
１４．患者は、ステロイドを要求した、（非感染性）肺炎または間質性肺疾患の既往歴を有するか、または進行中の肺炎または間質性肺疾患を有する。
【１２６６】
１５．患者は、治験責任医師の見解では、患者研究期間中に、肺合併症に対する、有意な危険性に陥れる、コントロール不能の、臨床的に有意な肺疾患（例えば、慢性閉塞性肺疾患、肺高血圧症）を有する。
【１２６７】
１６．患者は、ペムブロリズマブおよび／またはその賦形剤のいずれかに対する、重度の高血圧反応（≧グレード３）を示している。
【１２６８】
１７．患者は、免疫不全症の診断を有するか、または研究薬の初回投与前７日以内に、慢性全身ステロイド療法（１日当たり１０ｍｇを超える用量のプレドニゾン同等物）、もしくは免疫抑制治療の他の任意の形態を施されつつある。活動性の自己免疫疾患の非存在下における、吸入ステロイドまたは局所ステロイドは、許容される。
【１２６９】
１８．患者は、治療を要求する、コントロール不能の感染、播種性血管内凝固、精神科疾病、薬物乱用、または研究要件への準拠を制限する社会的状況を含むがこれらに限定されない、コントロール不能の併発疾病を有する。
【１２７０】
１９．処置を行う治験責任医師の見解では、研究の結果を交絡させる場合もあり、研究の全期間にわたる参加者の参加に干渉する場合もあり、参加することが、参加者の最善の利益にならない場合もある、任意の状態、治療、または検査異常の既往歴または最新の証拠を有すること。
【１２７１】
２０．患者は、ヒト免疫不全症ウイルス（ＨＩＶ）の陽性状態について承知している。地域の保健機関により義務づけられない限りにおいて、ＨＩＶ検査は要求されない。
【１２７２】

２１．Ｂ型肝炎感染（ＨＢｓＡｇ反応性として規定される）、または公知の活動性Ｃ型肝炎ウイルス感染（ＨＣＶ　ＲＮＡの検出として規定される）の既往歴について承知していること。地域の保健機関により義務づけられない限りにおいて、Ｂ型肝炎およびＣ型肝炎についての検査は要求されない。

【１２７３】

２２．患者は、酸素依存性である。

【１２７４】

２３．患者は、治験責任医師の見解では、患者を、毒性に対する、許容不可能な程度に高度の危険性に陥れる、任意の医学的状態を有する。

【１２７５】

２４．十分なワクチン接種を受けていない場合、患者は、研究処置から１週間以内に、ＣＯＶＩＤ検査が陰性でなければならない。

【１２７６】

２５．患者は、過去３年間以内に、進行しつつあるか、または能動的処置を要求した、さらなる活動性の悪性腫瘍を有する。実質的な再発可能性がある、過去におけるがん既往歴を伴う患者は、研究へのエントリーの前に、ＭＭ（Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｍｏｎｉｔｏｒ）により討議されなければならない。以下の共時的新生物性診断：非黒色腫皮膚がん、上皮内癌（移行上皮癌、子宮頸部上皮内腫瘍、乳がん、および上皮内黒色腫を含む）、進行の証拠を伴わない、器官限局前立腺がんを伴う患者は、適格である。

【１２７７】

２６．患者は、活動性のＣＮＳ転移および／または癌性髄膜炎について承知している。脳転移を既に処置された参加者は、放射線療法的に安定である、すなわち、反復イメージングにより、少なくとも４週間にわたり、進行の証拠を伴わず、研究処置の初回投与前、少なくとも１４日間にわたり、臨床的に安定であり、ステロイド処置を要求されないことを条件として参加しうる。ＣＮＳ病変の既往歴を伴う患者については、研究スクリーニング期間中に、反復イメージングを実施するものとする。しかし、ＣＮＳ病変についての臨床的疑念が存在しない限りにおいて、研究へのエントリーの前におけるＣＮＳイメージングは要求されない。

【１２７８】

２７．患者は、妊娠しているか、または授乳しつつある。

１９．７．４．安全性研究および有害事象

安全性は、研究期間中に、ＡＥ、臨床検査、身体検診、バイタルサイン（ＶＳ）の測定、心電図（ＥＣＧ）、およびＥａｓｔｅｒｎ　Ｃｏｏｐｅｒａｔｉｖｅ　Ｏｎｃｏｌｏｇｙ　Ｇｒｏｕｐ（ＥＣＯＧ）ＰＳ（ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ　ｓｔａｔｕｓ）の記録により評価するものとする。

安全性評価

安全性評価は、ＤＬＴ、ＡＥ、重篤ＡＥ（ＳＡＥ）、身体検診、バイタルサイン（ＶＳ）の測定値、ＥＣＯＧ　ＰＳ、臨床検査査定、および毒性に起因する処置の中止の理由を含む。

【１２７９】

ＡＥ報告期間は、患者または認証を受けた代理人が、説明同意書式に署名した時点において始まり、９０日間を通して継続する。事象が、ＨＭＢＤ－００２関連であると考えられる場合であれ、そうでない場合であれ、プロトコールにおいて指定されたＡＥ報告期間中に、処置された患者において生じる、全てのＡＥを報告しなければならない。ＡＥ報告期間を越えて生じ、治験責任医師が、ＨＭＢＤ－００２と関連すると評価する、任意の公知の望ましくない事象についてもまた、ＡＥとして報告するものとする。

有効性評価

有効性評価は、疾患の応答および進行、応答の持続期間、ならびに生存を含む。

生物学的／標的／相関研究

研究用量漸増段階にある患者について、患者の最近の生検に由来する腫瘍組織（非染色

スライドまたはパラフィンブロック）が、研究治療による処置前に入手可能でなければならない。採取したての生検に由来するスライドが好ましいが、アーカイブ試料が存在せず、治験責任医師により、生検が、患者の最善の利益にならない（すなわち、患者の臨床状況および手順を完了する施設における死亡率または大きな罹患率が２％以上である、関連の絶対的危険性として規定される、著明な危険性手順を要求する）と見なされる場合、ＭＭ（Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｍｏｎｉｔｏｒ）は、この要件を免除することができる。

【１２８０】

ＴＮＢＣ、ＮＳＣＬＣ、および他のがんを伴う患者について、治験責任医師は、研究についての説明同意文書を与えた後のスクリーニング期間中に、生検を得るものとする。ＶＩＳＴＡ　ＩＨＣ＋腫瘍の記録は、処置を開始するのに要求されないが、生検手順は、手順関連の絶対的危険性である、患者の臨床状況および手順を完了する施設における死亡率または大きな罹患率が、２％以上であると推定される手順として規定される、著明な危険性手順であってはならない。これ以外の場合、患者は、アーカイブの腫瘍検体を提出するものとする。既に記載された通りに、全ての生検手順適格患者は、サイクル２の終了時の前週（１６～２１日目±３日間）に、またはＰＤの方が早期の場合は、ＰＤ時に実施される、後続の腫瘍生検を受けるものとする。

【１２８１】

処置前および処置後の生検は、上記で規定された、著明な手順危険性を提起しない場合、ＶＩＳＴＡおよびＰＤ－Ｌ１の発現を査定するほか、処置前、処置時、および処置後における、ＨＭＢＤ－００２による処置の、ＶＩＳＴＡおよびＰＤ－Ｌ１受容体の発現に対する効果について研究し、測定値を、抗腫瘍活性と相関させるのに使用されるものとする。加えて、ＨＭＢＤ－００２の、循環免疫細胞、および腫瘍微小環境（ＴＭＥ）内の免疫細胞に対するに対する定量的および定性的効果についても検討するものとする。処置の、ＶＩＳＴＡ　ＩＨＣ＋免疫細胞に対する効果についても、重視するものとする。

【１２８２】

ＡＥは、医薬品を投与された、臨床研究患者における、この処置と、必ずしも、因果関係を有するわけではない、任意の望ましくない医学的発生として規定される。したがって、ＡＥは、医薬品（治験薬）と関連するのであれ、そうでないのであれ、医薬品（治験薬）の使用と一時的に関連する、任意の好ましくないおよび意図されない徴候（異常な検査所見を含む）、症状、または疾患でありうる。これは、詳細な有効性評価の下にある、電子症例報告書（ｅＣＲＦ）内の他の場所では記録されない、治験下における、既存の状態または事象の増悪、併発疾病、薬物相互作用、または有意な指標の悪化を含む。臨床的に有意な増悪または悪化を表さない、疾患（研究下の悪性腫瘍）を含む既存の状態の、想定される揺動は、ＡＥであると考える必要がない。

【１２８３】

研究下におけるがんの進行は、入院または死を結果としてもたらさない限りにおいて、ＡＥであるとは考えられない。

【１２８４】

ＡＥ事象は、研究投薬と、明確に非関連でない限りにおいて、研究投薬と関連すると見なされるものとする。

【１２８５】

ＡＥの重症度は、ＮＣＩ　ＣＴＣＡＥ　ｖｅｒｓｉｏｎ　５に従いグレード付けされるものとする。あるＡＥは、重症度に変化が見られない場合、個別の事象として記録さなければならない。したがって、ＮＣＩ　ＣＴＣＡＥに列挙されていないＡＥについて、重症度は、以下の通りに決定されうる：

【１２８６】

【表３７】

グレード1 (軽度)	研究処置の継続時に消失するか、または容易に忍容される有害事象
グレード2 (中等度)	通常の労務活動への干渉を引き起こすのに十分な程度に不快である有害事象
グレード3 (重度)	働くことも、毎日の活動を行うこともできない、無能力状態をもたらす有害事象
グレード4 (致死性)	潜在的に致死性である有害事象
グレード5 (死)	有害事象と関連する死

１９．８．薬物動態、薬力学、および生物学的評価

ＰＫ解析および薬力学解析のための、一連の血液試料は、全ての患者から回収するものとする。

【１２８７】

薬物動態は、ＨＭＢＤ－００２の血清濃度について特徴付け、ノンコンパートメント法を使用して解析するものとする。計算される薬物動態パラメータ（推定に十分なデータが入手可能な場合）は、C_{max}、ＡＵＣ、$t_{1/2}$、ＣＬ、およびV_dを含むがこれらに限定されないものとする。ＨＭＢＤ－００２の濃度およびＰＫパラメータは、記述統計を使用して、各用量レベルのコホートについてまとめられるものとする。

用量漸増段階：

・ＨＭＢＤ－００２：

○サイクル１および２において、ＨＭＢＤ－００２の血清濃度を決定する、集中スケジュールを実施するものとする。サイクル１において、血液は、１および８日目の処置後（処置前；注入の終了時、ならびに注入後における以下の時点：１、６、２４、４８、および７２時間後であり、８日目は、単剤療法コホートに限る）のほか、１５日目における処置前および注入の終了時に採取するものとし、サイクル２の以下の時点：１日目（処置前；注入の終了時、および注入後における以下の時点：１、６、２４、４８、および７２時間後）、ならびに８および１５日目（処置前および注入の終了時）に採取するものとする。臨床データが許容する場合、７２時間後におけるＰＫ時点は、除外してもよい。基本的に、ＰＫは、全ての患者において、２つの投与レベル：１日目（３３％または５０％の用量）および８日目（１００％の用量）で実施するものとする。処置スケジュールを、３週間ごとの１、８日目、または３週間ごとの１日目へと改変する場合にも、同じＨＭＢＤ－００２ＰＫ試料採取スキームを使用するものとする。いずれの場合にも、ＰＫ試料の採取は、８および１５日目に実施するものとする（薬物処置を実施しない場合、処置後における試料の採取も行わないものとする）。

【１２８８】

○血液はまた、後続のサイクルにおいても、低頻度で（サイクル３～６、８、１０、１５の１日目の処置前および注入の終了時に）採取するものとする。

用量拡大段階：

・ＨＭＢＤ－００２：

○限定的血液試料採取を実施して、表１、表２、表３、表４で言及される限定的時点において、ＨＭＢＤ－００２の血清濃度について評価するものとする。

【１２８９】

○時間経過にわたる血清濃度データを使用して、ＨＭＢＤ－００２のＰＫ動態を特徴付けて、初期投与と定常状態との間、および処置サイクル間における、ＨＭＢＤ－００２の任意のＰＫ特性の変化について評価し、ＨＭＢＤ－００２のＰＫ特徴を、毒性および抗がん活性と関連付けるものとする。

【１２９０】

バイオマーカーは、研究を通して評価するものとする。

【１２９１】

生体検体（血液成分、腫瘍素材など）を回収して、細胞、循環分子、および他のバイオマーカー（例えば、タンパク質、デオキシリボ核酸［ＤＮＡ］、リボ核酸［ＲＮＡ］、代謝物）についての解析を支持するものとする。異なる血液バイオマーカーおよび腫瘍バイオマーカーの変化は、生体活性についての証拠をもたらし、ＨＭＢＤ－００２の使用を誘導しうる洞察をもたらしうる。

【１２９２】

循環血清サイトカイン、例えば、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＩＬ－８、および／またはＴＮＦαを測定しうる。血清サイトカインは、サイクル１の１、８、１５日目、およびサイクル２の１日目に測定しうる。

【１２９３】

臨床査定は、クレアチニン、血中尿素窒素（ＢＵＮ）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ＡＳＴまたはＳＧＯＴ）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴまたはＳＧＰＴ）、アルカリホスファターゼ（ＡＰ）、総ビリルビン、血清アルブミン、血清総タンパク質（ＴＰ）、重炭酸ナトリウム、カリウム、塩化物、グルコース、リン酸、カルシウム、トリグリセリド、Ｃ反応性タンパク質、フェリチン、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球（ＷＢＣ）数（全血算および白血球分画）、赤血球（ＲＢＣ）数、血小板数、平均値赤血球容量（ＭＣＶ）、平均値赤血球ヘモグロビン量（ＭＣＨ）、および平均値赤血球ヘモグロビン濃度（ＭＣＨＣ）の血清／血中レベルを測定するステップを含むものとする。

【１２９４】

腫瘍組織および血液試料は、ＶＩＳＴＡターゲティング剤に対する、鍵となる分子変化について理解するように、ゲノム法（例えば、次世代シーケンシング、および他の技術）を使用して、特徴付けることができる。腫瘍組織内および血中における、ゲノムワイド／ターゲティングメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）発現プロファイリング／シーケンシングの両方を実施して、関連する遺伝子シグネチャーを規定することができる。臨床試験集団内における、生殖細胞系列遺伝子解析（例えば、一塩基多型解析、全エクソームシーケンシング、全ゲノムシーケンシング）もまた実施することができる。

【１２９５】

本研究による血液試料および腫瘍試料は、免疫プロファイリングおよびプロテオーム解析を受ける場合がある。本研究による腫瘍試料は、免疫細胞上およびがん細胞上におけるプロテオーム解析（例えば、ＶＩＳＴＡ、ＰＤ－Ｌ１　ＩＨＣ）を受ける場合がある。これらの組織試料はまた、デジタル病理学解析およびマルチプレックス免疫蛍光法をも受ける場合がある。加えて、腫瘍浸潤白血球の存在および変化、免疫関連ｍＲＮＡ発現シグネチャー、ならびにＶＩＳＴＡおよびＰＤ－Ｌ１の発現もまた評価しうる。

【１２９６】

腫瘍組織および血液試料（血液由来タンパク質を含む）は、イムノアッセイ、フローサイトメトリー、液体クロマトグラフィー／質量分析を含むがこれらに限定されない、様々なプラットフォームを使用する、プロテオーム解析にかけることができる。酵素免疫測定アッセイなどのアッセイは、血清中のこのようなタンパク質を測定する。

【１２９７】

上記で概括された、腫瘍／血液プロファイリングに加えて、スクリーニングおよび後続の処置時に採取された生体検体の構成要素を使用して、さらなる橋渡し研究も行うことができる。患者に由来するタンパク質または細胞は、さらなるｅｘ　ｖｉｖｏ研究（例えば、細胞増殖、細胞傷害作用など）のために、検査試薬と組み合わせることができる。

抗薬物抗体についての評価

用量漸増段階および用量拡大段階における、ＨＭＢＤ－００２に対するＡＤＡの発生および定量化について、かつ、この定量のために、全ての患者を評価するものとする。血液試料採取は、サイクル１～６の処置前、および以後２サイクルごとに実施し、かつ、研究の終了時（ＥＯＳ）に実施するものとする。

１９．９．抗腫瘍活性の評価

腫瘍の測定は、例えば、下記で記載される通りに、研究を通して行うものとする。

【１２９８】

疾患の進行および／または処置の有効性は、ＲＥＣＩＳＴ（Ｒｅｓｐｏｎｓｅ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｃｒｉｔｅｒｉａ ｉｎ Ｓｏｌｉｄ Ｔｕｍｏｒｓ）ｖ１．１に従い測定される。

【１２９９】

全奏効率（ＯＲＲ）は、最良効果として、ＲＥＣＩＳＴ ｖ１．１に従う、完全奏効（ＣＲ）または部分奏効（ＰＲ）を達成する患者の比率として規定される。奏効期間（ＤｏＲ）は、ＰＲまたはＣＲについての測定基準が最初に満たされた日付～ＰＤについての測定基準が最初に満たされた日付の時間として規定される。ＣＲ期間（ＤｏＣＲ）は、ＣＲについての測定基準が満たされた日付～ＰＤについての測定基準が最初に満たされた日付の時間として規定される。無進行生存（ＰＦＳ）は、研究治療の開始日～ＰＤまたは任意の原因による死亡の、いずれか最初に生じる事象についての測定基準が最初に満たされた日付の時間として規定される。ＰＦＳ６は、研究治療開始の６カ月（２６週間）後に、生存し、無進行である患者の百分率として規定される。全生存（ＯＳ）は、研究治療の開始日～任意の原因による死亡の日付の時間として規定される。

【１３００】

ＯＲＲおよびＰＦＳ６についての検定は、片側検定誤差率を１５％とする、１試料２項検定による検定とする。ＰＦＳ、ＤｏＲ、ＤｏＣＲ、およびＯＳについての分布は、カプラン－マイヤー法により推定されるものとする。

改訂ＲＥＣＩＳＴ（Ｎｅｗ Ｒｅｓｐｏｎｓｅ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｃｒｉｔｅｒｉａ ｉｎ Ｓｏｌｉｄ Ｔｕｍｏｒｓ）基準：改訂ＲＥＣＩＳＴガイドライン（Ｖｅｒｓｉｏｎ １．１）（参照によりその全体において本明細書に組み込まれる、Ｅ．Ａ．Ｅｉｓｅｎｈａｕｅｒら（２００９）、Ｅｕｒｏｐｅａｎ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ、４５：２２８～２４７）

１．ベースラインにおける腫瘍の測定可能性

１．１．定義

ベースラインにおいて、腫瘍病変／リンパ節は、以下の通りに、測定可能腫瘍病変／リンパ節または測定不能腫瘍病変／リンパ節に類別されるものとする：

１．１．１．測定可能腫瘍病変／リンパ節

腫瘍病変：最小サイズを、

・ＣＴスキャン（ＣＴスキャンのスライス厚を、５ｍｍ以下とする；イメージングガイダンスについての付録ＩＩを参照されたい）による１０ｍｍ

・臨床検査におけるキャリパー測定による１０ｍｍ（キャリパーにより正確に測定されえない病変は、非測定可能病変として記録されるものとする）

・胸部Ｘ線による２０ｍｍ

として、少なくとも１つの寸法（測定面内の長径を記録するものとする）において、正確に測定しなければならない。

【１３０１】

悪性リンパ節：病理学的に肥大化しており、かつ、測定可能であると考えられるために、リンパ節は、ＣＴスキャン（ＣＴスキャンのスライス厚は、５ｍｍ以下であることが推奨される）により評価される場合に、短軸が１５ｍｍでなければならない。ベースラインおよび追跡では、短軸だけを測定し、追跡するものとする。

１．１．２．測定不能腫瘍病変／リンパ節

小病変（長径を＜１０ｍｍとする病変、または短軸を１０～＜１５ｍｍとする病理学的リンパ節）のほか、真に測定不能病変を含む、他の全ての病変である。真に非測定可能であると考えられる病変は、軟膜疾患、腹水、胸水、または心膜液、炎症性乳腺疾患、皮膚または肺のリンパ管病変、再現可能なイメージング法により測定可能でない、身体検診により同定される、異常な腫瘤／異常な臓器肥大を含む。

１．１．３．病変の測定可能性に関する特殊な検討事項

骨病変、嚢胞性病変、および局所療法により既に処置された病変は、特定の注記を要求する：

骨病変：

・骨スキャン、ＰＥＴスキャン、または単純写真は、骨病変を測定するのに、十分なイメージング法であるとは考えられない。しかし、これらの技法を使用して、骨病変の存在または消失を確認することができる。

【１３０２】

・ＣＴまたはＭＲＩなどの断面イメージング法により査定されうる、同定可能な軟部組織構成要素を伴う溶解性骨病変、または混合型溶解性－芽球性病変は、軟部組織構成要素が、上記で記載された測定可能性の定義を満たす場合、測定可能病変であると考えることができる。

【１３０３】

・芽球性骨病変は、非測定可能である。

嚢胞性病変：

・放射線撮影により規定される単純嚢胞についての基準を満たす病変は、定義により、単純嚢胞であるので、悪性病変と考えない（測定可能でも、非測定可能でもない）ものとする。

【１３０４】

・嚢胞性転移を表すと考えられる「嚢胞性病変」は、上記で記載された測定可能性の定義を満たす場合、測定可能病変として考えることができる。しかし、同じ患者において、非嚢胞性病変が存在する場合、これらは、標的病変としての選択に好ましい。

前の局所処置を伴う病変：

・既に照射された領域内、または他の局所領域治療下に置かれた領域内に位置する腫瘍病変は、通例、病変内の進行が裏付けられない限りにおいて、測定可能であるとは考えられない。試験プロトコールは、このような病変が、測定可能であると考えられる条件について詳述するものとする。

１．２．測定法による仕様

１．２．１．病変の測定

全ての測定値は、臨床評価する場合、キャリパーを使用して、メートル法表記により記録するものとする。全てのベースライン査定は、可能な限り、処置開始時に近づけ、処置開始前４週間を超えないで実施するものとする。

１．２．２．評価法

同じ評価法および同じ技法を使用して、ベースラインおよび追跡期間中に同定および報告される各病変を特徴付けるものとする。追跡される病変（複数可）がイメージングされえず、臨床検査によらなければ評価可能でない場合を除き、常に、臨床検査ベースではなく、イメージングベースの査定を行うものとする。

臨床病変：

臨床病変は、表在性であり、キャリパーを使用して評価される直径が≧１０ｍｍである場合（例えば、皮膚小結節）に限り、測定可能であると考えるものとする。皮膚病変の場合、病変のサイズを推定する定規を含むカラー写真による記録が示唆される。上記で言及された通り、病変が、臨床検査およびイメージングの両方により査定されうる場合、イメージングは、より客観的であり、試験の終了時においてもまた、再検討されうるので、イメージングによる査定を企図するものとする。

胸部Ｘ線：

ＣＴは、特に、新たな病変の同定において、Ｘ線より高感度であるので、特に、進行が、重要な評価項目である場合は、胸部Ｘ線より、胸部ＣＴが好ましい。しかし、明確に規定され、曝気された肺により取り囲まれている場合は、胸部Ｘ線上の病変も、測定可能であると考えることができる。

ＣＴ、ＭＲＩ：

ＣＴは、応答評価のために選択された病変を測定するために、現在利用可能な最良な方

法であり、かつ、再現可能な方法である。このガイドラインは、ＣＴスキャン上の病変の測定可能性を、ＣＴスライス厚が、５ｍｍ以下であるという仮定に基づき規定した。ＣＴスキャンのスライス厚が、５ｍｍを超えると、測定可能病変のための最小サイズは、スライス厚の２倍となるものとする。ＭＲＩはまた、ある特定の状況（例えば、全身スキャン）においても許容可能である。ＣＴおよびＭＲＩの両方の、客観的腫瘍応答査定の評価のための使用に関する、さらなる詳細は、Ｅｉｓｅｎｈａｕｅｒらによる刊行物中に提示されている。

超音波：

超音波は、病変サイズの評価において有用ではなく、測定法として使用しないものとする。超音波検査は、後日における独立の再検討のために、それらの全体においては再現不可能であり、操作者依存的であるため、評価によって、同じ技法および測定法の採用が保証されえない（付録ＩＩで、さらに詳細に記載される）。試験の経過中において、新たな病変を、超音波により同定する場合、ＣＴまたはＭＲＩによる確認が勧められる。ＣＴにおける放射線曝露について懸念される場合は、選択された場合において、ＣＴではなく、ＭＲＩを使用することもできる。

内視鏡、腹腔鏡：

客観的腫瘍査定のための、これらの技法の利用は、勧められない。しかし、これらは、完全奏効または手術による切除の後における再発が評価項目である場合で、生検が得られる場合に、病理学的完全奏効を確認するか、または試験中における再発を決定するのに有用でありうる。

腫瘍マーカー：

腫瘍マーカーは、客観的腫瘍応答について評価するのに、単独で使用することはできない。しかし、マーカーが、当初、正常上限を上回る場合、患者が、完全奏効下にあると考えるためには、マーカーは、正常化されなければならない。

細胞診、組織学：

これらの技法を使用して、プロトコールにより要求される場合、稀少な症例（例えば、公知の残存良性腫瘍が依然として存続しうる場合の、生殖細胞腫瘍などの腫瘍型における残存病変）における、ＰＲと、ＣＲとを鑑別することができる。測定可能腫瘍が、奏効（または安定）と進行とを鑑別するための、奏効または安定についての基準を満たしている場合で、滲出液が、処置（例えば、ある特定のタキサン化合物または血管新生阻害剤による）の潜在的有害作用であることが公知である場合は、処置時に出現するか、または悪化する、任意の滲出液が、新生物由来であることについての、細胞診による確認が検討されうる。

２．腫瘍応答の査定

２．１．全腫瘍量および測定可能疾患についての評価

客観的奏効率または将来的な進行率について評価するためには、ベースラインにおける全腫瘍量を推定し、これを、後続の測定のための比較基準として使用することが必要である。測定可能疾患は、少なくとも１つの測定可能病変（上記で記載された）の存在により規定される。

２．２．ベースラインにおける、「標的」病変および「非標的」病変の記録

ベースラインにおいて、１つを超える測定可能病変が存在する場合、ベースラインにおいて、全ての病変臓器を代表する、合計で最大５つまでの病変とする、全ての病変（および臓器１つ当たり最大２つの病変）を、標的病変として同定し、記録し、測定するものとする。

【１３０５】

これは、患者の、１つまたは２つの臓器部位だけが病変している場合、それぞれ、最大で２つ（１つの部位）および４つの病変（２つの部位）を記録することを意味する。この臓器内の他の病変は、測定不能病変として記録されるものとする（それらのサイズが、ＣＴスキャンにより、１０ｍｍを超える場合であってもなお）。

【１３０６】

標的病変は、それらのサイズに基づき、選択され（病変は、長径により選択され）、全ての病変臓器を代表するが、加えて、再現可能な反復測定に適する病変でもあるものとする。時折、最大の病変が、再現可能な測定に適さない場合がありうるが、このような状況では、再現可能な形で測定されうる、２番目に大きな病変を選択するものとする。

【１３０７】

リンパ節は、腫瘍により病変していない場合であってもなお、イメージングにより目視可能な、正常の解剖学的構造であるので、特別の言及に値する。測定可能リンパ節として規定され、標的病変として同定される病理学的リンパ節は、ＣＴスキャンによる短軸を≧１５ｍｍとする基準を満たさなければならない。これらのリンパ節の短軸だけが、ベースライン和に寄与するものとする。リンパ節の短軸は、リンパ節が、充実性腫瘍により病変しているのかどうかを判断するのに、放射線医により通常使用される直径である。リンパ節のサイズは、通常、画像が得られる平面（ＣＴスキャンについて、これは、ほとんど常に、軸平面であるが；ＭＲＩについて、収集平面は、軸平面の場合もあり、矢状面の場合もあり、冠状面の場合もある）内の、２つの寸法として報告される。これらの尺度のうちの小さい方の尺度は、短軸である。例えば、２０ｍｍ×３０ｍｍであると報告される、異常なリンパ節は、短軸が、２０ｍｍであり、悪性の、測定可能リンパ節として適格とされる。本実施例では、２０ｍｍを、リンパ節測定値として記録するものとする。他の全ての病理学的リンパ節（短軸が、≧１０ｍｍであるが、＜１５ｍｍであるリンパ節）は、非標的病変であると考えられる。短軸が、＜１０ｍｍであるリンパ節は、非病理学的リンパ節であると考えられ、記録または追跡しないものとする。

【１３０８】

全ての標的病変についての直径（非リンパ節病変については、長径とし、リンパ節病変については、短軸とする）の和を計算し、ベースライン直径和として報告するものとする。リンパ節を、和に算入する場合は、上記で言及された通り、短軸だけを、和へと加算する。ベースライン直径和を、疾患の測定可能寸法において、任意の客観的腫瘍退縮をさらに特徴付けるための参照として使用するものとする。

【１３０９】

病理学的リンパ節を含む、他の全ての病変（または疾患部位）は、非標的病変として同定され、ベースラインにおいて、記録されるものとする。測定は、要求されず、これらの病変は、「存在」、「非存在」、または、稀少症例では、「疑問の余地がない進行」として追跡されるものとする。加えて、症例報告書では、同じ臓器に関与する、複数の非標的病変を、単一項目（例えば、「複数の肥大化骨盤リンパ節」または「複数の肝転移」）として記録することも可能である。

２．３．奏効基準

２．３．１．標的病変についての査定

・完全奏効（ＣＲ）：全ての標的病変の消失である。任意の病理学的リンパ節（標的リンパ節であれ、非標的リンパ節であれ）は、短軸が、＜１０ｍｍへと低減されなければならない。

【１３１０】

・部分奏効（ＰＲ）：ベースライン直径和を、参照に取った場合の、標的病変の直径和の、少なくとも３０％の減少である。

【１３１１】

・進行（ＰＤ）：研究における最小和（これは、研究において最小である場合、ベースライン和を含む）を、参照に取った場合の、標的病変の直径和の、少なくとも２０％の増大である。２０％の相対的増大に加えて、和もまた、少なくとも５ｍｍの絶対的増大を示さなければならない（注：１つまたは複数の新たな病変の出現もまた、進行であると考えられる）。

【１３１２】

・安定（ＳＤ）：研究期間中における最小直径和を、参照に取った場合に、ＰＲに適格とされるのに十分な縮小も、ＰＤに適格とされるのに十分な増大も見られないことである

。
２．３．２．標的病変の評価についての特記事項
リンパ節：標的病変として同定されたリンパ節は、研究において、リンパ節が、１０ｍｍを下回って退縮する場合であってもなお、常に、短軸の実測値（ベースライン検査同じ解剖学的平面内で測定される）が記録されるものとする。これは、リンパ節を、標的病変として算入する場合、ＣＲ基準が満たされる場合であってもなお、正常リンパ節は、短軸が、＜１０ｍｍであると規定されるので、病変の「和」が、ゼロではない場合があることを意味する。したがって、ＣＲに適格とされるために、各リンパ節が、＜１０ｍｍの短軸を達成しなければならない場合、電子症例報告書（ｅＣＲＦ）または他のデータ収集法は、標的リンパ節病変が、別個の節に記録されるようにデザインすることができる。ＰＲ、ＳＤ、およびＰＤについて、リンパ節の短軸の実測値を、標的病変の和に算入するものとする。
【１３１３】
「測定するのに小さくなりすぎる」標的病変：研究期間中に、ベースラインにおいて記録された全ての病変（リンパ節病変および非リンパ節病変）は、極小（例えば、２ｍｍ）の場合であってもなお、各後続の査定において、それらの実測値が記録されるものとする。しかし、ベースラインにおいて、標的病変として記録された病変またはリンパ節は、ＣＴスキャンにおいて、放射線医が、正確な測定値を、安心して割り当てることができず、それらを、「測定するのに小さすぎる」と報告しうるほどに、影が薄くなる場合がある。これが生じた場合、この値を、ｅＣＲＦに記録することが重要である：
・放射線医の見解で、病変は消失した可能性が高い場合、測定値は、０ｍｍとして記録されるものとする。病変が、存在すると考えられ、かすかに見えるが、測定するのに小さすぎる場合、５ｍｍのデフォルト値を、この状況にも割り当て、「測定限界未満」（ＢＭＬ）もまた点検済みとする（注：リンパ節は、正常の場合、通例、規定可能なサイズを有し、後腹膜内の脂肪などの脂肪により取り囲まれているので、この規則が、リンパ節に使用される可能性は低い；しかし、リンパ節が、存在すると考えられ、かすかに見えるが、測定するのに小さすぎる場合、５ｍｍのデフォルト値を、この状況にも割り当て、ＢＭＬもまた点検済みとする）。
このデフォルト値は、５ｍｍのＣＴスライス厚に由来する（が、ＣＴスライス厚が変動しても、変化させないものとする）。これらの病変の測定は、潜在的に再現不可能であるので、このデフォルト値の設定は、測定の誤差に基づく、偽応答または進行を防止するであろう。
【１３１４】
処置時に分裂または癒着する病変：非リンパ節病変が「断片化」する場合は、断片化部分の長径を足し合わせて、標的病変和を計算するものとする。同様に、病変が癒着する場合、病変間の平面を維持することができ、これは、各個別の病変の、最大径測定値を得る一助となるであろう。病変が、もはや分離不可能となるように、真に癒着した場合は、この場合における長径のベクターが、「癒着病変」の最大長径であるものとする。
２．３．３．非標的病変についての査定
一部の非標的病変は、実測可能でありうるが、それらは、測定される必要がなく、プロトコールにおいて指定された時点において、定性的にだけ評価されるものとする。
【１３１５】
完全奏効：全ての非標的病変の消失、および腫瘍マーカーレベルの正常化である。全てのリンパ節は、サイズが、非病理学的（短軸が＜１０ｍｍである）でなければならない。
【１３１６】
非ＣＲ／非ＰＤ：１つまたは複数の非標的病変の存続、および／または正常限界を上回る腫瘍マーカーレベルの維持である。
【１３１７】
進行：既存の非標的病変の疑問の余地がない進行である（注：１つまたは複数の新たな病変の出現もまた、進行であると考えられる）。

２．３．４．非標的疾患の進行の評価についての特記事項
非標的疾患の進行の概念は、以下の通りの、さらなる説明を要求する：
患者がまた、測定可能疾患も有する場合：
この状況において、非標的疾患に基づき、「疑問の余地がない進行」を達成するには、標的疾患におけるＳＤまたはＰＲの存在下であってもなお、全腫瘍量が、治療の中止に値する程度に十分に増大するように、非標的疾患における、全体レベルの実質的な悪化が見られなければならない。１つまたは複数の非標的病変のサイズの軽微な「増大」は、通例、疑問の余地がない進行状態に適格とされるのに十分ではない。したがって、標的疾患のＳＤまたはＰＲに対する、非標的疾患の変化だけに基づく、全体的進行の指定は、極めて稀少である。
患者が、非測定可能疾患だけを有する場合：
この状況は、測定可能疾患を有することが、試験エントリーの基準ではない、一部のフェーズＩＩＩ試験において生じる。この場合にも、上記で言及された、同じ一般概念が当てはまるが、この場合には、非測定可能疾患量の増大の解釈へと織り込むべき、測定可能疾患の評価が存在しない。非標的疾患の悪化は、容易に定量されえない（定義により：全ての病変が、真に非測定可能である場合）ため、患者を、疑問の余地がない進行について評価する場合に適用されうる、有用な検査は、非測定可能疾患の変化に基づく、全疾患量の増大が、大きさにおいて、測定可能疾患について、ＰＤを申告するのに要求される増大：すなわち、さらに７３％の「体積」の増大（測定可能病変における、直径の２０％の増大と同等である）を表す腫瘍量の増大と同等であるのかどうかについて検討することである。例は、胸水の、「微量」から、「大量」への増大、リンパ管疾患の、限局性から、広域への拡大を含むか、またはプロトコールにおいて、「治療の変化を要求するのに十分である」と記載されうる。「疑問の余地がない進行」が見られる場合、患者は、この時点において、全体的ＰＤを有したと考えられるものとする。非測定可能疾患に当てはまる、客観的基準を有することは、理想的であろうが、この疾患の性質そのものが、そうすることを不可能とするので、増大は、実質的でなければならない。
２．３．５．新たな病変
新たな悪性病変の出現は、疾患の進行を表示するので、新たな病変の検出についての、一部の注記は、重要である。Ｘ線撮影による、新たな病変の同定のための、具体的基準は存在しないが、新たな病変についての所見は、疑問の余地がないものとする：すなわち、走査法の差違、イメージングモダリティーの変化、または腫瘍以外の何物かを表す所見に帰せられない（例えば、一部の「新たな」骨病変は、既存の病変の、単純な治癒の場合もあり、再燃の場合もある）。これは、患者のベースライン病変が、部分または完全奏効を示す場合に、特に、重要である。例えば、肝病変の壊死は、ＣＴスキャン報告では、同壊死ではない、「新たな」嚢胞性病変として報告される場合がある。
【１３１８】
追跡試験時に、ベースラインにおいて走査されなかった解剖学的位置において同定される病変は、新たな病変であり、疾患の進行を指し示すと考えられる。この例は、ベースラインでは、内臓疾患を有する一方で、試験期間中に、転移を明らかにする、脳のＣＴまたはＭＲＩを指示される患者である。患者の脳転移は、ベースラインにおいて、患者が、脳のイメージングを受けなかった場合であってもなお、ＰＤの証拠であると考えられる。
【１３１９】
例えば、そのサイズが小さいために、新たな病変が曖昧である場合は、治療および追跡査定の継続が、真に新たな疾患を表すのかどうかを明らかにするであろう。リピートスキャンが、明確に新たな病変を確認する場合、初期スキャンの日付を使用して、進行を申告するものとする。
【１３２０】
（１８）Ｆ－フルオロデオキシグルコース陽電子放出断層撮影（ＦＤＧ－ＰＥＴ）：本研究の目的では、ＦＤＧ－ＰＥＴ所見だけにより、進行を定めないものとする。進行を示唆する、全てのＦＤＧ－ＰＥＴ所見は、専用の解剖学的イメージング（ＣＴまたはＭＲＩ

）により確認するものとする。本研究には、ＲＥＣＩＳＴ　ｖ１．１．への以下の改変を適用するものとする：

・追跡におけるＦＤＧ－ＰＥＴ陽性を伴う、ベースラインにおけるＦＤＧ－ＰＥＴ陰性は、新たな病変に基づく、ＰＤの徴候である。＊プロトコールに従い、ＣＴまたはＭＲＩスキャンによる、新たな病変の確認が要求される。

【１３２１】

・ベースラインにおけるＦＤＧ－ＰＥＴなし、および追跡におけるＦＤＧ－ＰＥＴ陽性：

○追跡におけるＦＤＧ－ＰＥＴ陽性が、ＣＴにより確認される、疾患の新たな徴候に対応する場合、これは、ＰＤである。

【１３２２】

○追跡におけるＦＤＧ－ＰＥＴ陽性が、ＣＴ上で、疾患の新たな部位として確認されない場合、この部位において、真に進行が生じつつあるのかどうかを決定するのに、さらなる追跡ＣＴスキャンが必要とされる（進行が生じつつある場合は、ＰＤの日付は、初期の＊ＣＴスキャン異常の日付であるものとする）。

【１３２３】

○追跡におけるＦＤＧ－ＰＥＴ陽性が、ＣＴ上で、解剖学的画像に基づき、進行していない疾患の既存の部位に対応する場合、これは、ＰＤではない。

＊ＲＥＣＩＳＴ　ｖ．１．１に対する、研究特異的改変を反映する

２．３．６．最良総合効果の査定

最良総合効果とは、確認についての任意の要件を考慮して、研究処置の開始から、処置の終了までに記録された、最良の効果である。時折、効果は、治療終了後まで記録されない場合があるので、プロトコールは、最良総合効果決定において、処置後評価が検討されるのかどうかを明確にするものとする。プロトコールは、進行の前に導入された、任意の新たな治療が、最良効果の指示に、どのような影響を及ぼすのかを指定しなければならない。患者への最良総合効果の割当ては、標的および非標的疾患の両方の所見に依存し、新たな病変の出現もまた、考慮に入れるものとする。さらに、研究の性質およびプロトコールの要件に応じて、最良総合効果の割当てはまた、確認のための測定も要求する場合がある。具体的に、応答が主要評価項目である非無作為化試験では、いずれか一方を「最良総合効果」と見なすために、ＰＲまたはＣＲの確認が必要とされる。これについては、下記で、さらに記載される。

１９．１０．実施例１９についての参考文献

全ての参考文献は、それらの全体において、本明細書に組み込まれる。

1. Wang L, Rubinstein R, Lines JL, Wasiuk A, Ahonen C, Guo Y, Lu LF, Gondek D, Wang Y, Fava RA, Fiser A, Almo S, Noelle RJ: VISTA, a novel mouse Ig superfamily ligand that negatively regulates T cell responses. J Exp Med 208:577-92, 2011.

2. Flies DB, Wang S, Xu H, Chen L: Cutting edge: A monoclonal antibody specific for the programmed death-1 homolog prevents graft-versus-host disease in mouse models. J Immunol 187:1537-41, 2011.

3. Mehta N, Maddineni S, Mathews II, Sperberg APR, Huang PS, Cochran JR: Structure and Functional Binding Epitope of V-domain Ig Suppressor of T Cell Activation. Cell Rep 28:2509-2516 e5, 2019.

4. Johnston RJ, Su LJ, Pinckney J, Critton D, Boyer E, Krishnakumar A, Corbett M, Rankin AL, Dibella R, Campbell L, Martin GH, Lemar H, Cayton T, Huang RY, Deng X, Nayeem A, Chen H, Ergel B, Rizzo JM, Yamniuk AP, Dutta S, Ngo J, Shorts AO, Ramakrishnan R, Kozhich A, Holloway J, Fang H, Wang YK, Yang Z, Thiam K, Rakestraw G, Rajpal A, Sheppard P, Quigley M, Bahjat KS, Korman AJ: VISTA is an acidic pH-selective ligand for PSGL-1. Nature 574:565-570, 2019.

5. Li N, Xu W, Yuan Y, Ayithan N, Imai Y, Wu X, Miller H, Olson M, Feng Y, Huang YH, Jo Turk M, Hwang ST, Malarkannan S, Wang L: Immune-checkpoint protein VISTA critically regulates the IL-23/IL-17 inflammatory axis. Sci Rep 7:1485, 2017.
6. Borggrewe M, Grit C, Den Dunnen WFA, Burm SM, Bajramovic JJ, Noelle RJ, Eggen BJL, Laman JD: VISTA expression by microglia decreases during inflammation and is differentially regulated in CNS diseases. Glia 66:2645-2658, 2018.
7. Han X, Vesely MD, Yang W, Sanmamed MF, Badri T, Alawa J, Lopez-Giraldez F, Gaule P, Lee SW, Zhang JP, Nie X, Nassar A, Boto A, Flies DB, Zheng L, Kim TK, Moeckel GW, McNiff JM, Chen L: PD-1H (VISTA)-mediated suppression of autoimmunity in systemic and cutaneous lupus erythematosus. Sci Transl Med 11, 2019.
8. Sergent PA, Plummer SF, Pettus J, Mabaera R, DeLong JK, Pechenick DA, Burns CM, Noelle RJ, Ceeraz S: Blocking the VISTA pathway enhances disease progression in (NZB x NZW) F1 female mice. Lupus 27:210-216, 2018.
9. Yoon KW, Byun S, Kwon E, Hwang SY, Chu K, Hiraki M, Jo SH, Weins A, Hakroush S, Cebulla A, Sykes DB, Greka A, Mundel P, Fisher DE, Mandinova A, Lee SW: Control of signaling-mediated clearance of apoptotic cells by the tumor suppressor p53. Science 349:1261669, 2015.
10. Liu J, Yuan Y, Chen W, Putra J, Suriawinata AA, Schenk AD, Miller HE, Guleria I, Barth RJ, Huang YH, Wang L: Immune-checkpoint proteins VISTA and PD-1 nonredundantly regulate murine T-cell responses. Proc Natl Acad Sci U S A 112:6682-7, 2015.
11. Keir ME, Freeman GJ, Sharpe AH: PD-1 regulates self-reactive CD8+ T cell responses to antigen in lymph nodes and tissues. J Immunol 179:5064-70, 2007.
12. Wang G, Tai R, Wu Y, Yang S, Wang J, Yu X, Lei L, Shan Z, Li N: The expression and immunoregulation of immune checkpoint molecule VISTA in autoimmune diseases and cancers. Cytokine Growth Factor Rev, 2020.
13. El Tanbouly MA, Zhao Y, Nowak E, Li J, Schaafsma E, Le Mercier I, Ceeraz S, Lines JL, Peng C, Carriere C, Huang X, Day M, Koehn B, Lee SW, Silva Morales M, Hogquist KA, Jameson SC, Mueller D, Rothstein J, Blazar BR, Cheng C, Noelle RJ: VISTA is a checkpoint regulator for naive T cell quiescence and peripheral tolerance. Science 367, 2020.
14. Le Mercier I, Chen W, Lines JL, Day M, Li J, Sergent P, Noelle RJ, Wang L: VISTA Regulates the Development of Protective Antitumor Immunity. Cancer Res 74:1933-44, 2014.
15. Borggrewe M, Kooistra SM, Noelle RJ, Eggen BJL, Laman JD: Exploring the VISTA of microglia: immune checkpoints in CNS inflammation. J Mol Med (Berl). 2020 Aug 27. doi: 10.1007/s00109-020-01968-x. Online ahead of print.
16. Li Wang 1, Rotem Rubinstein, Janet L Lines, Anna Wasiuk, Cory Ahonen, Yanxia Guo, Li-Fan Lu, David Gondek, Yan Wang, Roy A Fava, Andras Fiser, Steve Almo, Randolph J Noelle. VISTA, a novel mouse Ig superfamily ligand that negatively regulates T cell responses. J Exp Med 208(3):577-92, 2011.
17. Gao J, Ward JF, Pettaway CA, Shi LZ, Subudhi SK, Vence LM, Zhao H, Chen J, Chen H, Efstathiou E, Troncoso P, Allison JP, Logothetis CJ,

Wistuba, II, Sepulveda MA, Sun J, Wargo J, Blando J, Sharma P: VISTA is an inhibitory immune checkpoint that is increased after ipilimumab therapy in patients with prostate cancer. Nat Med 23:551-555, 2017.
18. Kakavand H, Jackett LA, Menzies AM, Gide TN, Carlino MS, Saw RPM, Thompson JF, Wilmott JS, Long GV, Scolyer RA: Negative immune checkpoint regulation by VISTA: a mechanism of acquired resistance to anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma patients. Mod Pathol 30:1666-1676, 2017.
19. Xu W, Hieu T, Malarkannan S, Wang L. The structure, expression, and multifaceted role of immune-checkpoint protein VISTA as a critical regulator of anti-tumor immunity, autoimmunity, and inflammation. Cell Mol Immunol. 15(5):438-446, 2018.
20. Wang J, Wu G, Manick B, Hernandez V, Renelt M, Erickson C, Guan J, Singh R, Rollins S, Solorz A, Bi M, Li J, Grabowski D, Dirkx J, Tracy C, Stuart T, Ellinghuysen C, Desmond D, Foster C, Kalabokis V: VSIG-3 as a ligand of VISTA inhibits human T-cell function. Immunology 156:74-85, 2019.
21. Mulati K, Hamanishi J, Matsumura N, Chamoto K, Mise N, Abiko K, Baba T, Yamaguchi K, Horikawa N, Murakami R, Taki M, Budiman K, Zeng X, Hosoe Y, Azuma M, Konishi I, Mandai M: VISTA expressed in tumour cells regulates T cell function. Br J Cancer 120:115-127, 2019.
22. Kondo Y, Ohno T, Nishii N, Harada K, Yagita H, Azuma M: Differential contribution of three immune checkpoint (VISTA, CTLA-4, PD-1) pathways to antitumor responses against squamous cell carcinoma. Oral Oncol 57:54-60, 2016.
23. Blando J, Sharma A, Higa MG, Zhao H, Vence L, Yadav SS, Kim J, Sepulveda AM, Sharp M, Maitra A, Wargo J, Tetzlaff M, Broaddus R, Katz MHG, Varadhachary GR, Overman M, Wang H, Yee C, Bernatchez C, Iacobuzio-Donahue C, Basu S, Allison JP, Sharma P: Comparison of immune infiltrates in melanoma and pancreatic cancer highlights VISTA as a potential target in pancreatic cancer. Proc Natl Acad Sci U S A 116:1692-1697, 2019.
24. Muller S, Victoria Lai W, Adusumilli PS, Desmeules P, Frosina D, Jungbluth A, Ni A, Eguchi T, Travis WD, Ladanyi M, Zauderer MG, Sauter JL: V-domain Ig-containing suppressor of T-cell activation (VISTA), a potentially targetable immune checkpoint molecule, is highly expressed in epithelioid malignant pleural mesothelioma. Mod Pathol 33:303-311, 2020.
25. Chung YS, Kim M, Cha YJ, Kim KA, Shim HS: Expression of V-set immunoregulatory receptor in malignant mesothelioma. Mod Pathol 33:263-270, 2020.
26. Hmeljak J, Sanchez-Vega F, Hoadley KA, Shih J, Stewart C, Heiman D, Tarpey P, Danilova L, Drill E, Gibb EA, Bowlby R, Kanchi R, Osmanbeyoglu HU, Sekido Y, Takeshita J, Newton Y, Graim K, Gupta M, Gay CM, Diao L, Gibbs DL, Thorsson V, Iype L, Kantheti H, Severson DT, Ravegnini G, Desmeules P, Jungbluth AA, Travis WD, Dacic S, Chirieac LR, Galateau-Salle F, Fujimoto J, Husain AN, Silveira HC, Rusch VW, Rintoul RC, Pass H, Kindler H, Zauderer MG, Kwiatkowski DJ, Bueno R, Tsao AS, Creaney J, Lichtenberg T, Leraas K, Bowen J, Network TR, Felau I, Zenklusen JC, Akbani R, Cherniack AD, Byers LA, Noble MS, Fletcher JA, Robert

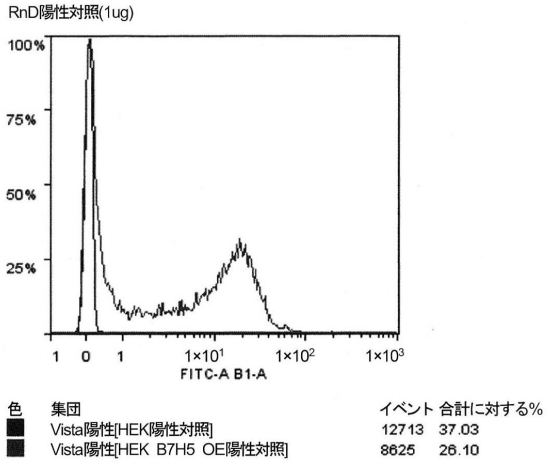
son AG, Shen R, Aburatani H, Robinson BW, Campbell P, Ladanyi M: Integrative Molecular Characterization of Malignant Pleural Mesothelioma. Cancer Discov 8:1548-1565, 2018.
27. Villarroel-Espindola, F., Yu, X., Datar, I., Mani, N., Sanmamed, M. F., Velcheti, V., ⋯ Schalper, K. A. (2017). Spatially resolved and quantitative analysis of VISTA/PD-1H as a novel immunotherapy target in human non-small cell lung cancer. Clinical Cancer Research, 24(7), clincanres.2542.2017
28. Brcic L, Stanzer S, Krenbek D, Gruber-Moesenbacher U, Absenger G, Quehenberger F, Valipour A, Lindenmann J, Stoeger H, Al Effah M, Fediuk M, Balic M, Popper HH: Immune cell landscape in therapy-naive squamous cell and adenocarcinomas of the lung. Virchows Arch 472:589-598, 2018.
29. Xiong D, Pan J, Yin Y, Jiang H, Szabo E, Lubet RA, Wang Y, You M: Novel mutational landscapes and expression signatures of lung squamous cell carcinoma. Oncotarget 9:7424-7441, 2018.
30. Manzoni M, Bolognesi MM, Antoranz A, Mancari R, Carinelli S, Faretta M, Bosisio FM, Cattoretti G: The Adaptive and Innate Immune Cell Landscape of Uterine Leiomyosarcomas. Sci Rep 10:702, 2020.
31. Bang YJ, Sosman J, Daud A, Meric-Bernstam F, Garcia-Corbacho J, Patel M, Lee J, Kim K, Brody J, Rha SY, Martin MG, Aix SP, Hamilton E, Ramchandren R, Ahn M, Spicer J, Pacey S, Falchook G, Wang H, Xu G, Adams L, Ma AWS, Gharavi R, Eves PT, Tuck D, Powderly J: Phase 1 study of CA-170, a first-in-class, orally available, small molecule immune checkpoint inhibitor (ICI) dually targeting VISTA and PDL1, in patients with advanced solid tumors or lymphomas, SITC, 2018
32. Radhakrishnan V, Banavali S, Gupta S, Kumar A, Deshmukh C, Nag S, Beniwal S, Gopichand M, Naik R, Lakshmaiah K, Mandavia D, Ramachandra M, Prabhash K: Excellent CBR and prolonged PFS in non-squamous NSCLC with oral CA-170, a dual inhibitor of VISTA and PD-L1, ESMO, 2019
33. Zauderer MG, Brody J, Marron T, Pacey S, Martell RE, Wang H, Spicer J: First-in-Class Small Molecule CA-170 Targeting VISTA: A Report on Efficacy Outcomes from a Cohort of 12 Malignant Pleural Mesothelioma (MPM) Patients in Study CA-170-101, SITC 2019. National Harbor, MD, 2019.
34. Musielak B, Kocik J, Skalniak L, Magiera-Mularz K, Sala D, Czub M, Stec M, Siedlar M, Holak TA, Plewka J: CA-170 - A Potent Small-Molecule PD-L1 Inhibitor or Not? Molecules 24, 2019.
35. Blevins DJ, Hanley R, Bolduc T, et al. In Vitro Assessment of Putative PD-1/PD-L1 Inhibitors: Suggestions of an Alternative Mode of Action. ACS Medicinal Chemistry Letters; 10 (8), 1187-1192, 2019. DOI: 10.1021/acsmedchemlett.9b00221
35. Crawley SC, Hsu JY, Tian H, Compositions and methods for targeting a pathway. Patent Cooperation Treaty (PCT) number PCT/US2015/031539. Information available from: https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2015187359 (2015).
36. Li K, Tian H. Development of small-molecule immune checkpoint inhibitors of PD-1/PD-L1 as a new therapeutic strategy for tumour immunotherapy. J Drug Target. 2019 Mar;27(3):244-256. Review.
37. Mahoney KM, Freeman GJ. Acidity changes immunology: a new VIST

A pathway. Nat Immunol. 2020 Jan;21(1):13-16.
38. KEYTRUDA™(pembrolizumab), Merck Sharp & Dohme Corp. US Prescribing Information, 05/2021. https://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/k/keytruda/keytruda_pi.pdf
39. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). Identifier NCT02671955, A study of safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics of JNJ-61610588 in participants with advanced cancer; 2016 Feb 2. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02671955
40. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). Identifier NCT04475523, Phase 1 study of CI-8993 anti-VISTA antibody in patients with advanced solid tumor malignancies; 2020 Jul 17. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02671955
41. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). Identifier NCT04564417, First-in-human (FIH) study of w0180 as single agent and in combination with pembrolizumab in adults with locally advanced or metastatic solid tumors; 2020 Sep 25. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02671955
42. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). Identifier NCT02812875, A study of ca-170 (oral pd-l1, pd-l2 and vista checkpoint antagonist) in patients with advanced tumors and lymphomas; 2016 Jun 24. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02671955
43. Disis, Mary L. Immune Regulation of Cancer. Journal of Clinical Oncology.2010; 28 (29):4531-4538
44. Dudley, Mark E., Wunderlich, John E.,Yang, James C., Sherry, Richard M., Topalian, Suzzane L., Restifo, Nicholas P., Royal, Richard E., Kammula, Udai, White, Don E., Mavroukakis, Sharon A., et al. Adoptive Cell Transfer Therapy Following Non-Myeloablative but Lymphodepleting Chemotherapy for the Treatment of Patients With Refractory Metastatic Melanoma. Journal of Clinical Oncology.2005; 0732-183
45. Hunder NN, Wallen H, Cao J, Hendricks DW, Reilly JZ, Rodmyre R, et al. Treatment of metastatic melanoma with autologous CD4+ T cells against NY-ESO-1. N Engl J Med 2008;358(25):2698-703
46. Greenwald, Rebecca J., Freeman, Gordon J., and Sharpe, Arlene H. The B7 Family Revisited. Annual Reviews.2005; 23:515-48
47. Okazaki T, Maeda A, Nishimura H, Kurosaki T, Honjo T. PD-1 immunoreceptor inhibits B cell receptor-mediated signaling by recruiting src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2 to phosphotyrosine. Proc Natl Acad Sci U S A 2001;98(24):13866-71.
48. Zhang, PD., Xuewu, Schwartz, Jean-Claude D., Guo, Xiaoling, Bhatia, Sumeena, Cao, Erhu, Chen, Lieping, Zhang, Zhong-Yin, Edidin, Michael A., Nathenson, Stanley G. Almo, Steven C. Structural and Functional Analysis of the Costimulatory Receptor Programmed Death-1. Immunity.2004; 337-347
49. Chemnitz, Jens M., Parry, Richard V., Nichols, Kim E., June, Carl H., Riley, James L., SHP-1 and SHP-2 Associate with Immunoreceptor Tyrosine-Based Switch Motif of Programmed Death 1 upon Primary Human T Cell Stimulation, but Only Receptor Ligation Prevents T Cell Activation. The Journal of Immunology.2004, 173: 945-954

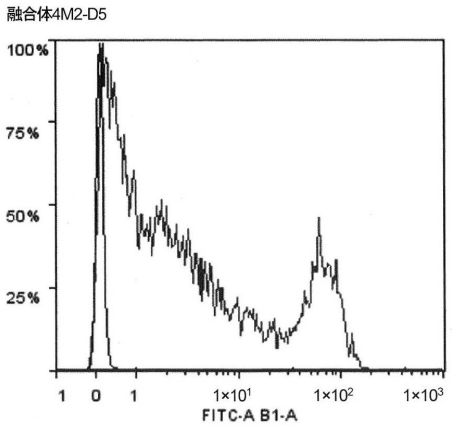
50. Shepard, Kelly-Ann., Fitz, Lori J., Lee, Julie M., Benander, Christina, George, Judith A., Wooter, Joe, Qiu, Yongchang, Jussif, Jason M., Carter, Laura L., Wood, Clive R., Chaudhary, Divya. PD-1 inhibits T-cell receptor induced phosphorylation of the ZAP70/CD3 signalosome and downstream signaling to PKC. FEBS Letters. 2004; 0014-5793
51. Riley, James L., PD-1 signaling in primary T cells. Immunological Reviews. 2009; 0105-2896
52 Parry, Richard V., Chemnitz, Jens M., Frauwirth, Kenneth A., Lanfranco, Anthony R., Braunstein, Inbal., Kobayashi, Sumire V., Linsley, Peter S., Thompson, 4 Craig B. and Riley, James L. CTLA-4 and PD-1 Receptors Inhibit T-Cell Activation by Distinct Mechanisms. MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, 2005; 0270-7306Pilon-Thomas, S., et al., Blockade of programmed death ligand 1 enhances the therapeutic efficacy of combination immunotherapy against melanoma. J Immunol, 2010. 184(7): p. 3442-9.
53. Francisco, Loise M., Sage, Peter T., and Sharpe, Arlene H. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. Immunological Reviews.2010; 0105-2896
54. Hirano, F., et al., Blockade of B7-H1 and PD-1 by monoclonal antibodies potentiates cancer
therapeutic immunity. Cancer Res, 2005. 65(3): p. 1089-96.
55. Blank, C., et al., PD-L1/B7H-1 inhibits the effector phase of tumor rejection by T cell receptor (TCR) transgenic CD8+ T cells. Cancer Res, 2004. 64(3): p. 1140-5.
56. Weber, J., Immune checkpoint proteins: a new therapeutic paradigm for cancer--preclinical
background: CTLA-4 and PD-1 blockade. Semin Oncol, 2010. 37(5): p. 430-9.
57. Strome, S.E., et al., B7-H1 blockade augments adoptive T-cell immunotherapy for squamous cell carcinoma. Cancer Res, 2003. 63(19): p. 6501-5.
58. Spranger, S., et al., Mechanism of tumor rejection with doublets of CTLA-4, PD-1/PD-L1, or IDO blockade involves restored IL-2 production and proliferation of CD8(+) T cells directly within the tumor microenvironment. J Immunother Cancer, 2014. 2: p. 3.
59. Curran, M.A., et al., PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. 107(9): p. 4275-80.
60. Pilon-Thomas, S., et al., Blockade of programmed death ligand 1 enhances the therapeutic efficacy of combination immunotherapy against melanoma. J Immunol, 2010. 184(7): p. 3442-9.
61. Nomi, T., et al., Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. Clin Cancer Res, 2007. 13(7): p. 2151-7.

【図面】

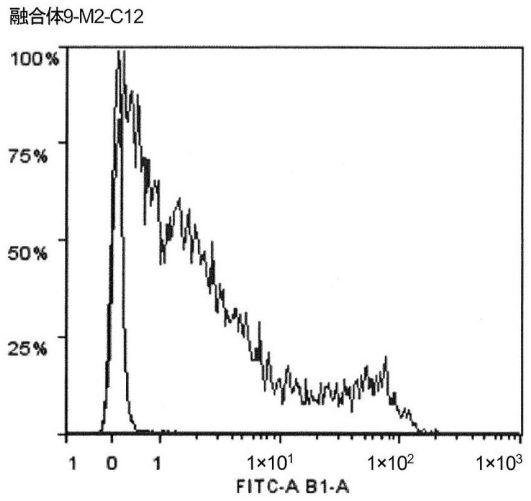
【図１Ａ】



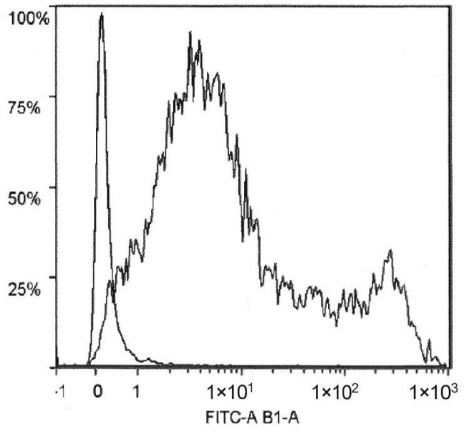
【図１Ｂ】



【図１Ｃ】

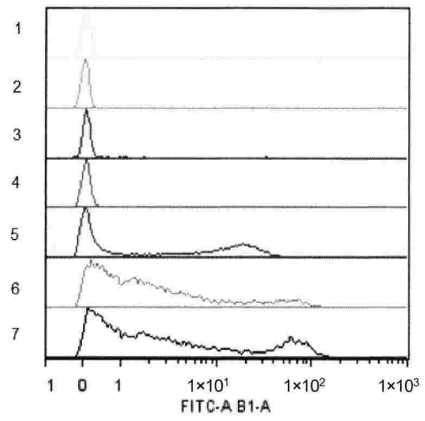


【図１Ｄ】



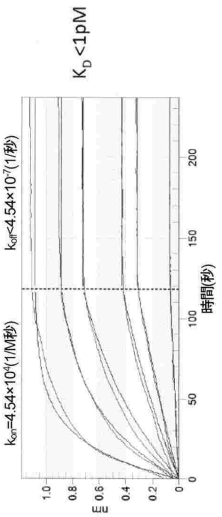
色	集団	抗体	合計に対する%
	HEK293	V4	2.25
	HEK293 VISTA O/E	V4	61.54

【図２】



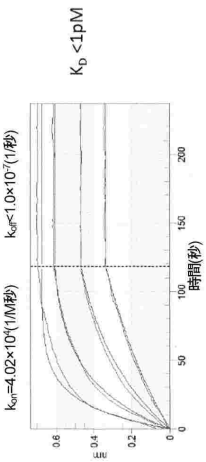
	色	集団	抗体	生細胞	MFI
1		HEK293 VISTA O/E	非染色	9604	0.12
2		HEK293 VISTA O/E	アイソタイプ	10088	0.06
3		HEK293-WT	9M2C12	8922	0.1
4		HEK293-WT	V4	9301	0.11
5		HEK293 VISTA O/E	VSTB1 12	10800	8.47
6		HEK293 VISTA O/E	9M2C12	9463	8.45
7		HEK293 VISTA O/E	V4	9398	14.91

【図３Ａ】



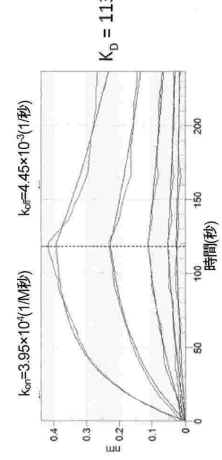
V4の濃度 (nM)	応答	KD (M)	K_Dの誤差	k_{on} (1/M秒)	k_{on}の誤差	k_{dis}(1/秒)	RMax	RMaxの誤差	k_{off}(1/秒)	Req	Req/ Rmax(%)	全χ^2	全R^2
1000	1.1009	<1.0E-12	1.73E-09	4.54E+04	1.20E+03	<1.0E-07	1.0869	0.0077	4.54E-02	1.0869	100	0.1009	0.9961
500	0.881	<1.0E-12	1.73E-09	4.54E+04	1.20E+03	<1.0E-07	0.9508	0.0114	2.27E-02	0.9508	100	0.1009	0.9961
250	0.699	<1.0E-12	1.73E-09	4.54E+04	1.20E+03	<1.0E-07	0.975	0.0185	1.13E-02	0.975	100	0.1009	0.9961
125	0.4105	<1.0E-12	1.73E-09	4.54E+04	1.20E+03	<1.0E-07	0.872	0.0228	5.67E-03	0.872	100	0.1009	0.9961
62.5	0.2962	<1.0E-12	1.73E-09	4.54E+04	1.20E+03	<1.0E-07	1.094	0.0343	2.83E-03	1.094	100	0.1009	0.9961
31.3	0.0618	<1.0E-12	1.73E-09	4.54E+04	1.20E+03	<1.0E-07	0.4238	0.0342	1.42E-03	0.4238	100	0.1009	0.9961

【図３Ｂ】



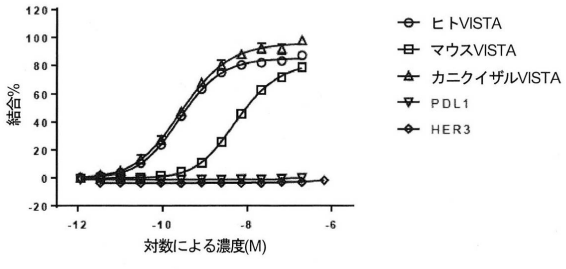
V4の濃度 (nM)	応答	KD (M)	K_Dの誤差	k_{on} (1/M秒)	k_{on}の誤差	k_{dis}(1/秒)	RMax	RMaxの誤差	k_{off}(1/秒)	Req	Req/ Rmax(%)	全χ^2	全R^2
1433	0.688	<1.0E-12	2.10E-09	4.02E+04	1.12E+03	<1.0E-07	0.6759	0.0047	5.76E-02	0.6759	100	0.0332	0.9927
716.5	0.6052	<1.0E-12	2.10E-09	4.02E+04	1.12E+03	<1.0E-07	0.6264	0.0066	2.88E-02	0.6264	100	0.0332	0.9927
358.3	0.4609	<1.0E-12	2.10E-09	4.02E+04	1.12E+03	<1.0E-07	0.5714	0.0101	1.44E-02	0.5714	100	0.0332	0.9927
179.1	0.3216	<1.0E-12	2.10E-09	4.02E+04	1.12E+03	<1.0E-07	0.5837	0.0147	7.20E-03	0.5837	100	0.0332	0.9927
1433	0.688	<1.0E-12	2.10E-09	4.02E+04	1.12E+03	<1.0E-07	0.6759	0.0047	5.76E-02	0.6759	100	0.0332	0.9927

【図３Ｃ】



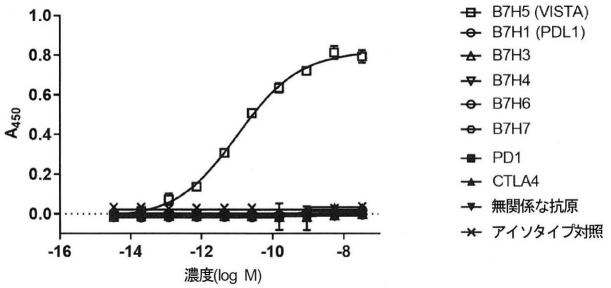
V4の濃度 (nM)	応答	KD (M)	K_Dの誤差	k_{on} (1/M秒)	k_{on}の誤差	k_{dis}(1/秒)	RMax	RMaxの誤差	k_{off}(1/秒)	Req	Req/ Rmax(%)	全χ^2	全R^2
666.5	0.4104	1.13E-07	5.65E-09	3.95E+04	1.58E+03	4.45E-03	1.34E-04	0.4719	0.0083	3.08E-02	0.4036	85.5	0.0099	0.9948
333.3	0.2261	1.13E-07	5.65E-09	3.95E+04	1.58E+03	4.45E-03	1.34E-04	0.3459	0.0097	1.76E-02	0.2584	74.7	0.0099	0.9948
166.6	0.1064	1.13E-07	5.65E-09	3.95E+04	1.58E+03	4.45E-03	1.34E-04	0.2573	0.0101	1.10E-02	0.1534	59.6	0.0099	0.9948
83.3	0.0514	1.13E-07	5.65E-09	3.95E+04	1.58E+03	4.45E-03	1.34E-04	0.207	0.0116	7.74E-03	0.0879	42.5	0.0099	0.9948
41.7	0.0275	1.13E-07	5.65E-09	3.95E+04	1.58E+03	4.45E-03	1.34E-04	0.1952	0.0172	6.10E-03	0.0527	27	0.0099	0.9948

【図４Ａ】

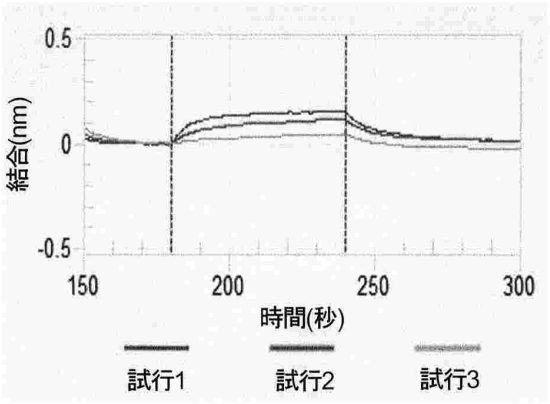


	ヒトVISTA	マウスVISTA	カニクイザルVISTA	PDL1	HER3
EC_{50} (M)	2.56×10^{-10}	5.93×10^{-9}	2.82×10^{-10}	該当なし	該当なし

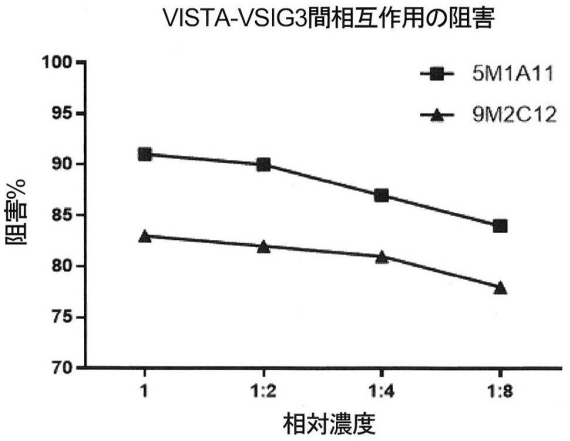
【図４Ｂ】



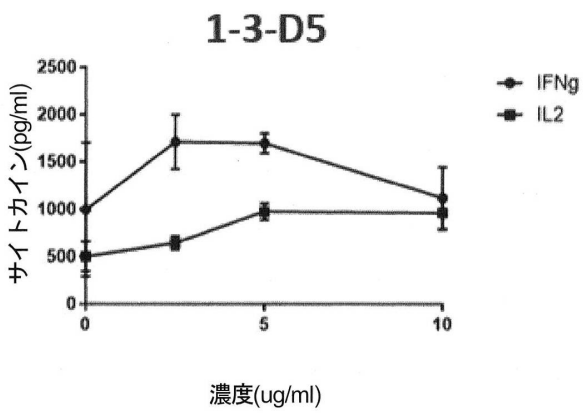
【図５】



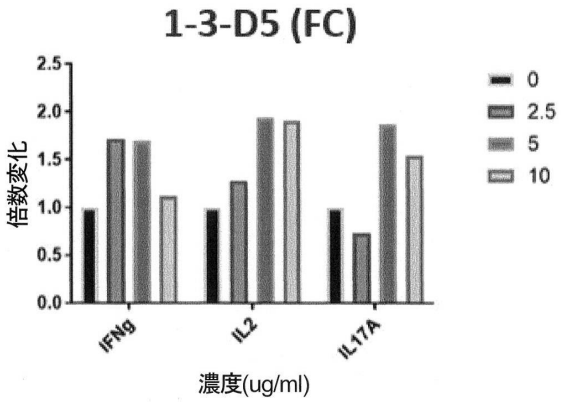
【図６】



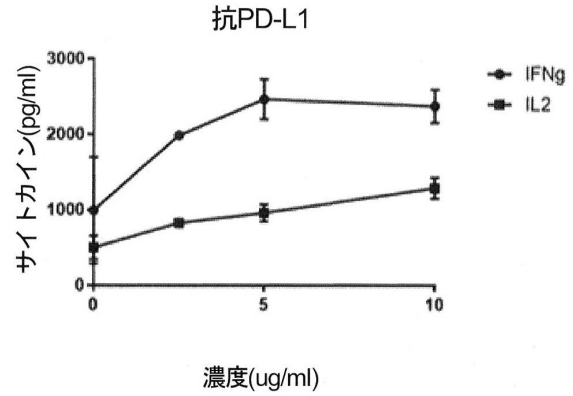
【図７Ａ】



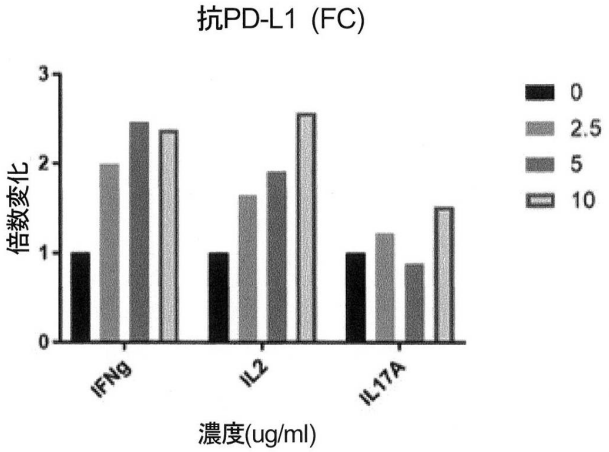
【図７Ｂ】



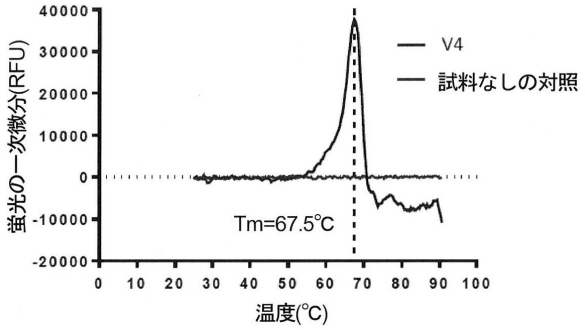
【図８Ａ】



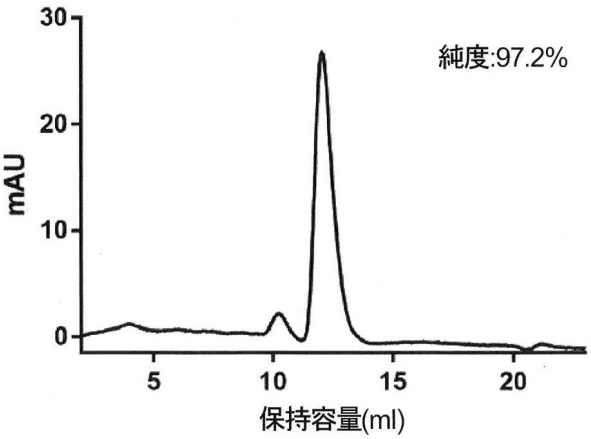
【図８Ｂ】



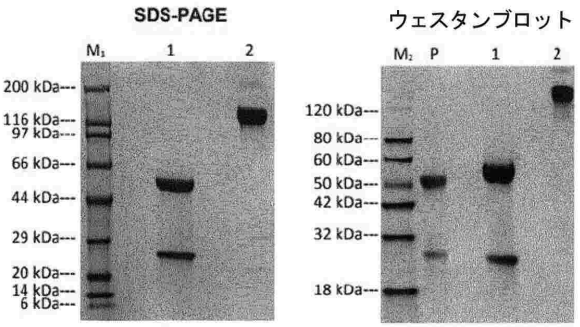
【図９】



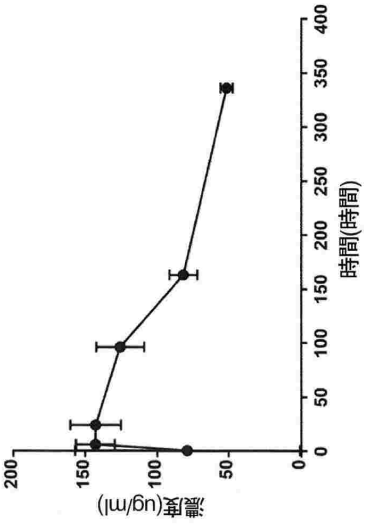
【図１０】



【図１１】

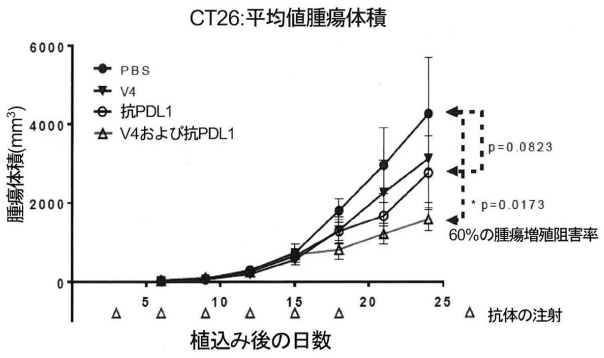


【図１２】

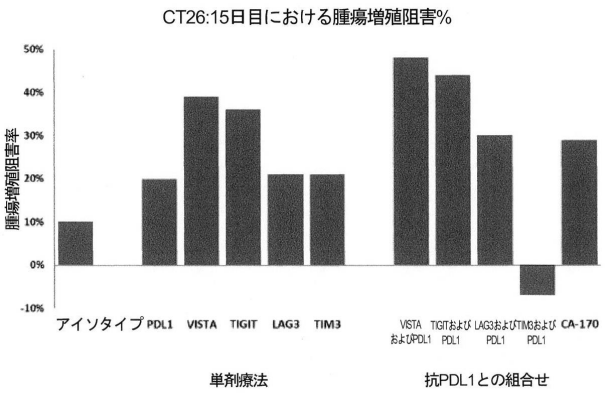


アーム	用量	Cmax (ug/ml)	T_{max}(時間)	AUC_{0-336} (ug×時間/ml)	$AUC_{0-\infty}$ (ug×時間/ml)	$T_{1/2}$ (時間)	CL (ml/時間)	Vd (mL/kg)
V4P	25mg/kg	143.05	6.00	31382.88	47118.67	211.79	0.01	3.84

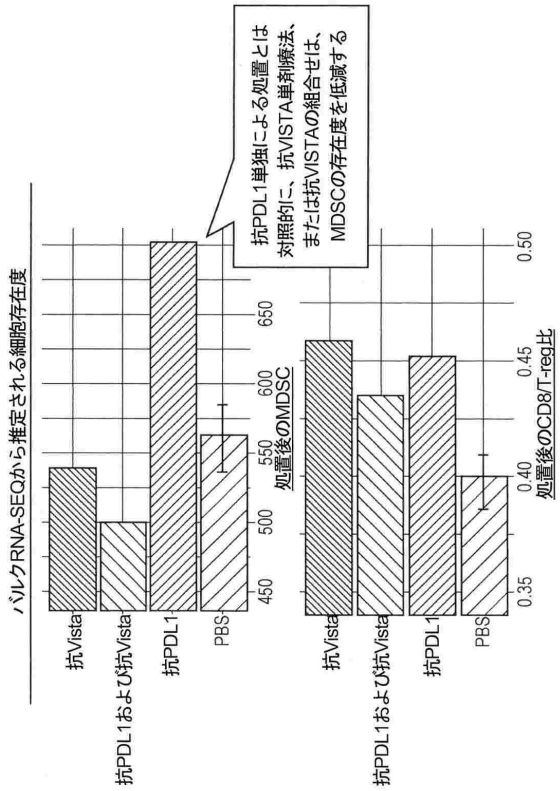
【図１３】



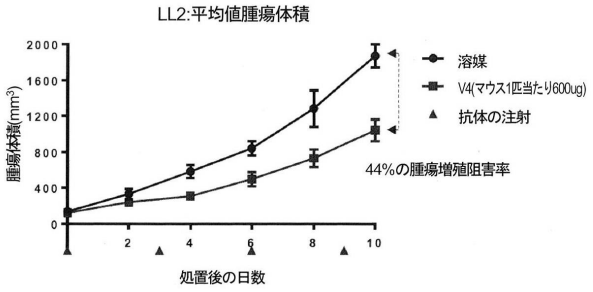
【図１４】



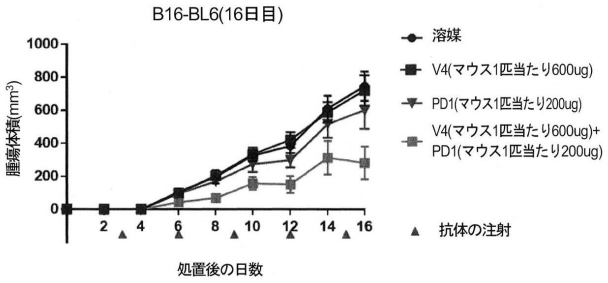
【図１５】



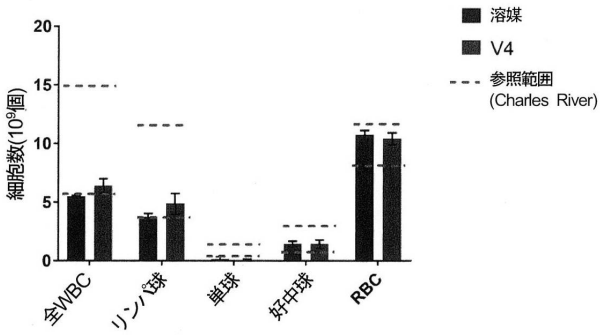
【図１６】



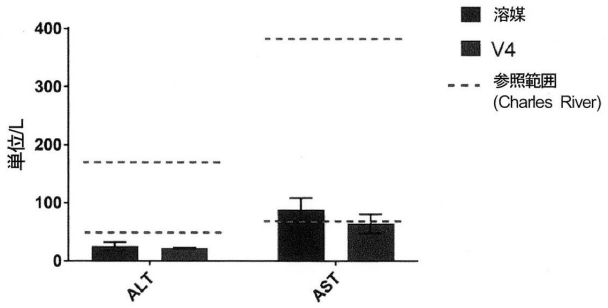
【図１７】



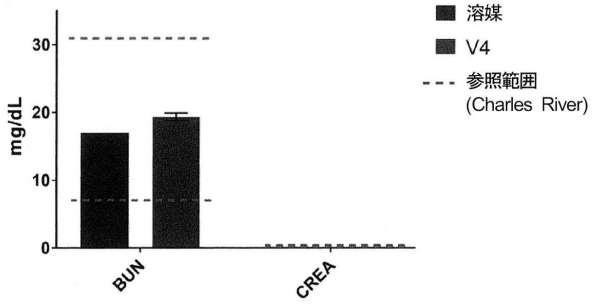
【図１８】



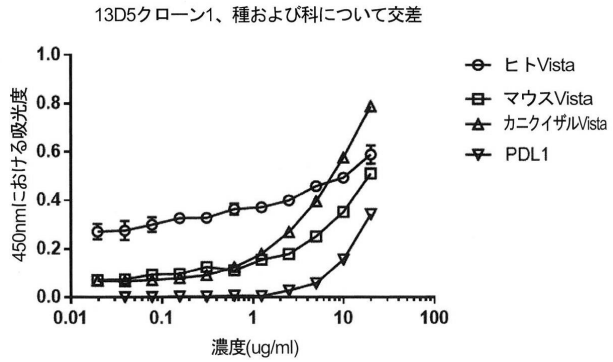
【図１９Ａ】



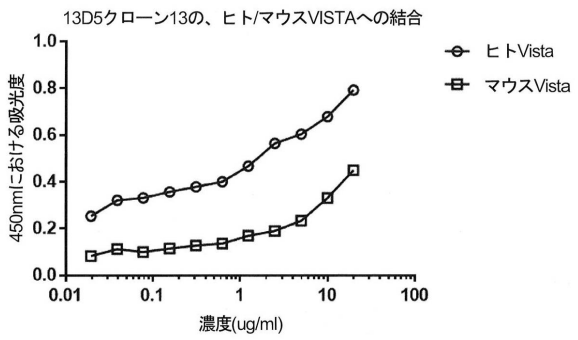
【図１９Ｂ】



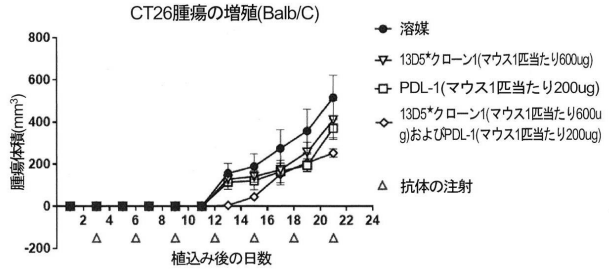
【図２０】



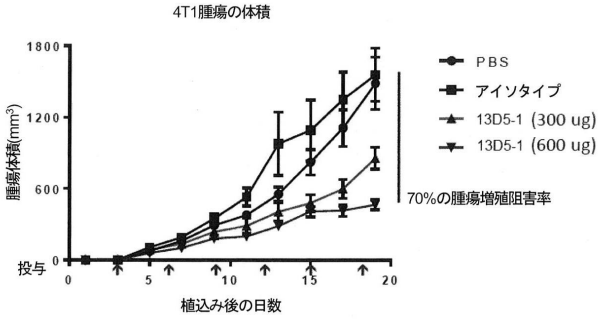
【図２１】



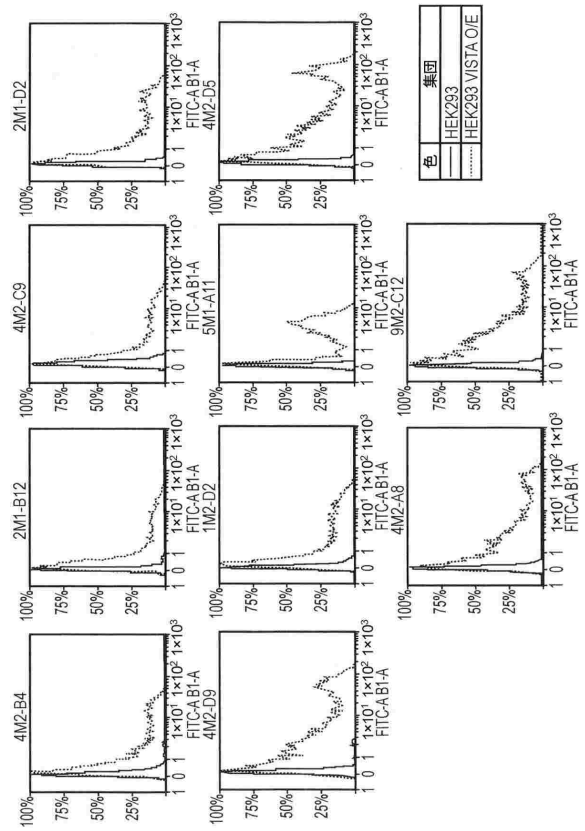
【図２２】



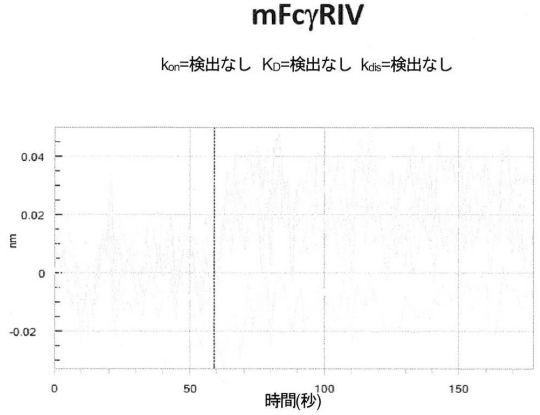
【図２３】



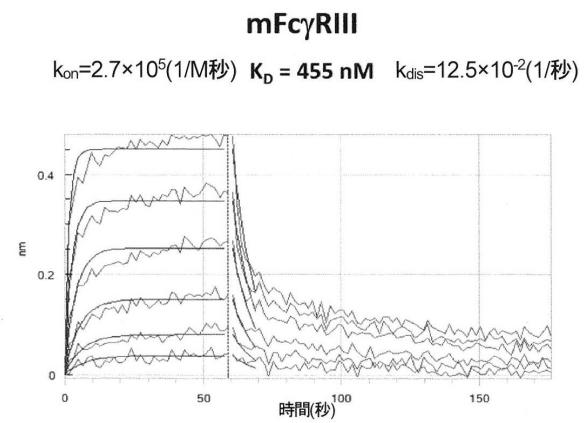
【図２４】



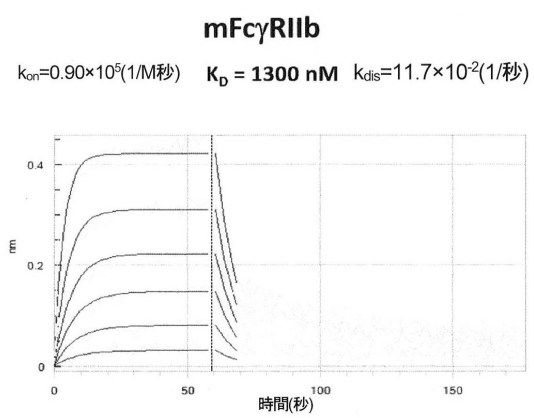
【図２５Ａ】



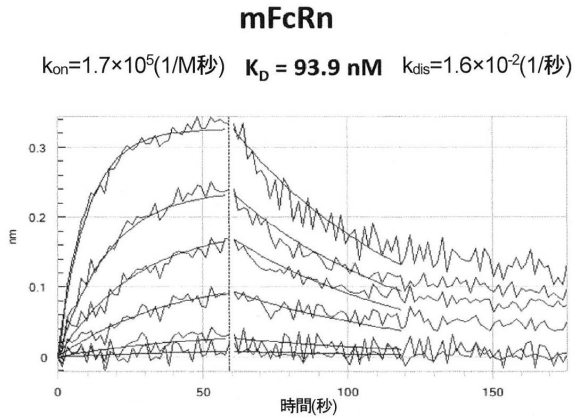
【図２５Ｂ】



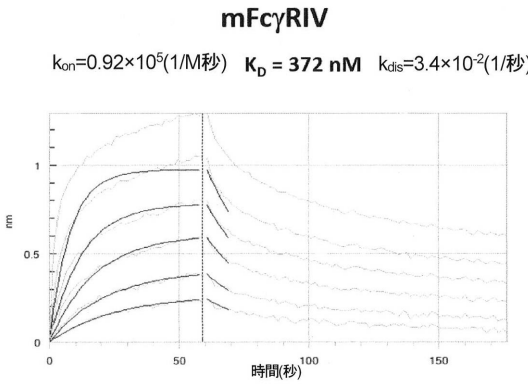
【図２５Ｃ】



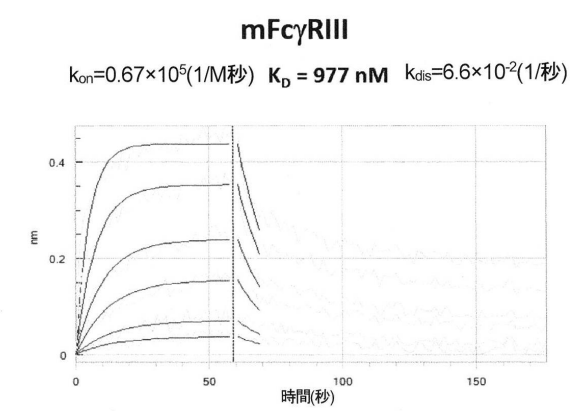
【図２５Ｄ】



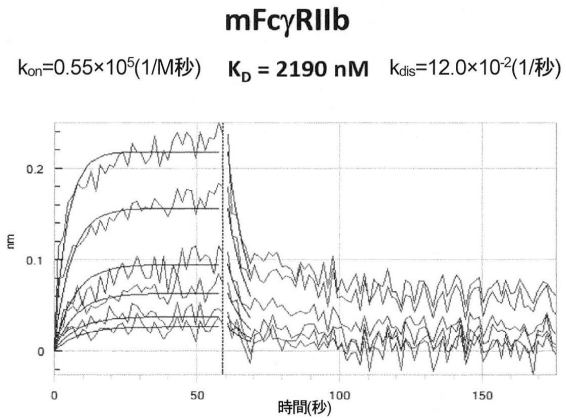
【図２６Ａ】



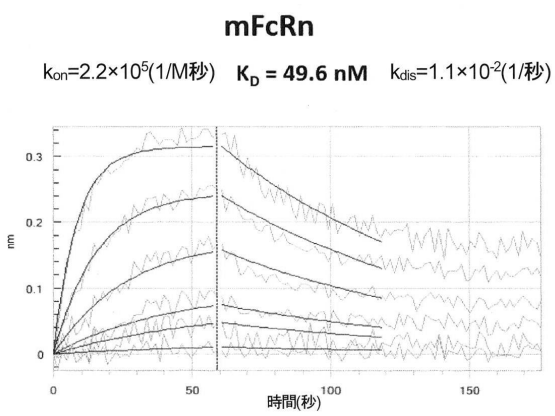
【図２６Ｂ】



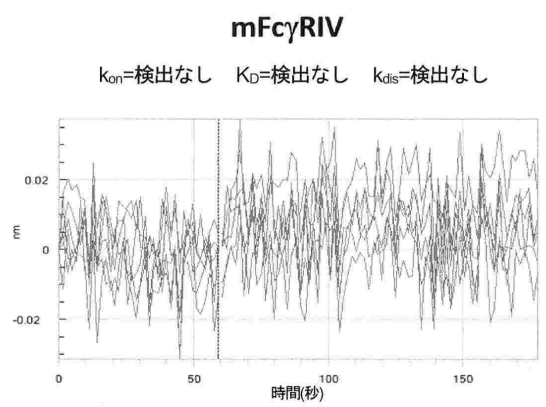
【図２６Ｃ】



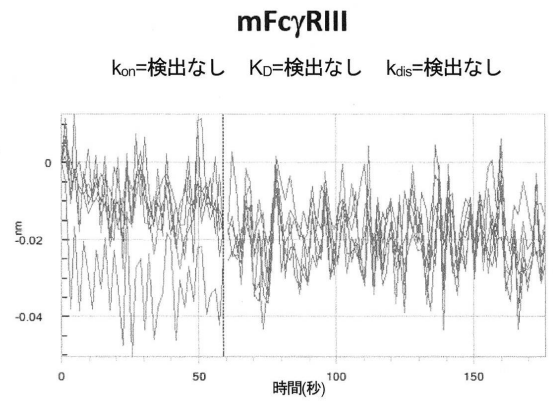
【図２６Ｄ】



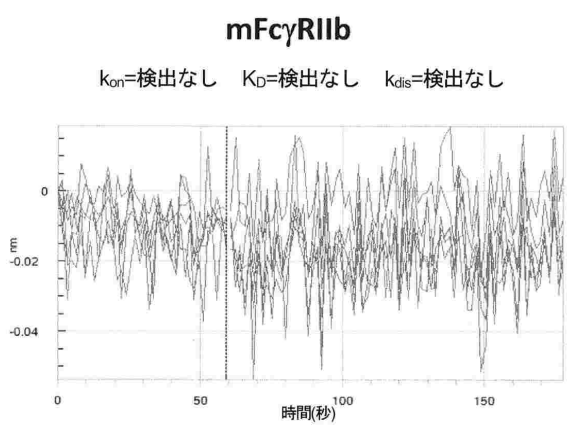
【図２７Ａ】



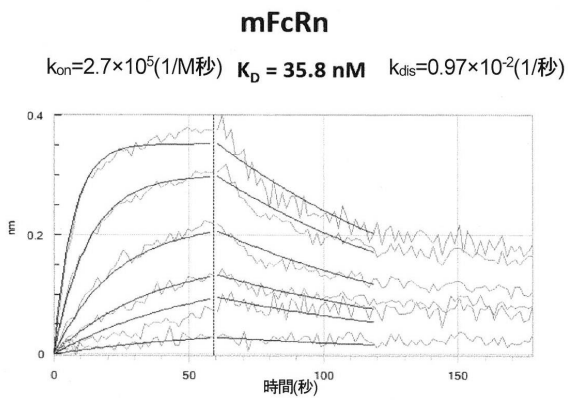
【図２７Ｂ】



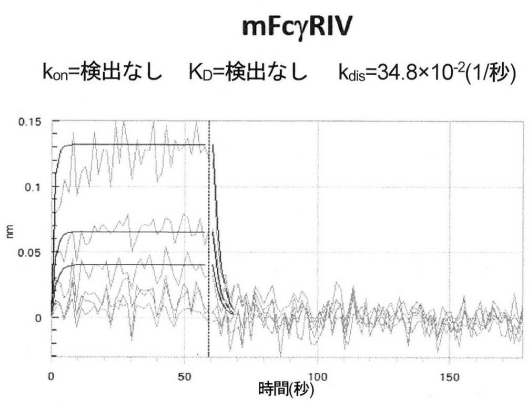
【図２７Ｃ】



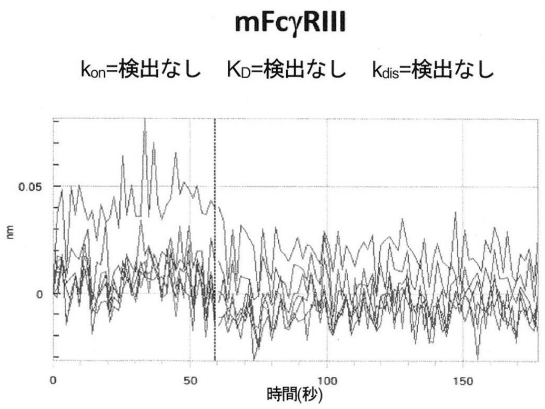
【図２７Ｄ】



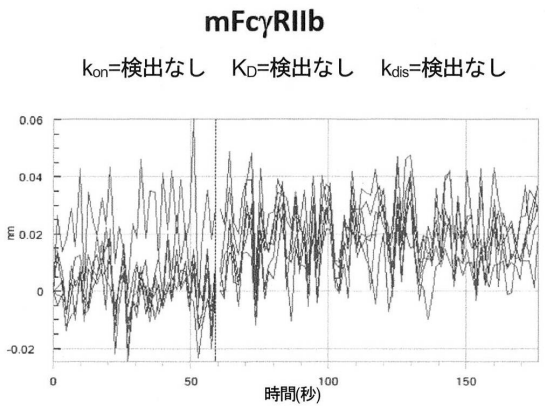
【図２８Ａ】



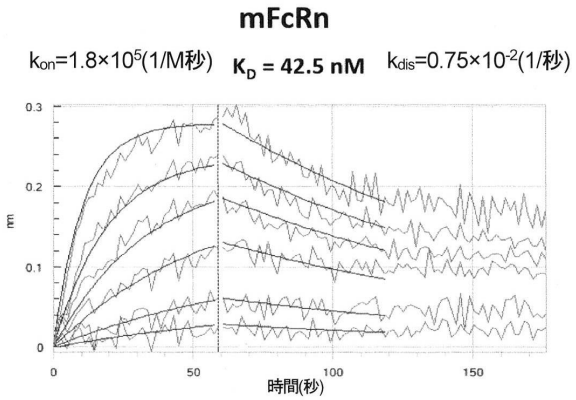
【図２８Ｂ】



【図２８Ｃ】



【図２８Ｄ】



【図２９Ａ】

kon(1/M秒)の計算値

受容体	4M2-C12 mIgG2a のkon(1/M秒)		4M2-C12 mIgG1 のkon(1/M秒)	4M2-C12 mIgG2a LALA_PG のkon(1/M秒)	4M2-C12 mIgG2a NQ のkon(1/M秒)
	1	2			
mFcRn	1.9×10^5	2.2×10^5	1.7×10^5	2.7×10^5	1.8×10^5
mFcgRIV	0.96×10^5	0.92×10^5	ND	ND	ND
mFcgRIII	0.55×10^5	0.67×10^5	2.7×10^5	ND	ND
mFcgRIIb	0.51×10^5	0.55×10^5	0.90×10^5	ND	ND

ND=低結合アフィニティーにより未決定

【図２９Ｂ】

k_{dis}(1/秒)の計算値

受容体	4M2-C12 mIgG2a のk_{dis}(1/秒)		4M2-C12 mIgG1 のk_{dis}(1/秒)	4M2-C12 mIgG2a LALA_PG のk_{dis}(1/秒)	4M2-C12 mIgG2a NQ のk_{dis}(1/秒)
	1	2			
mFcRn	0.59×10^{-2}	1.1×10^{-2}	1.6×10^{-2}	0.97×10^{-2}	0.75×10^{-2}
mFcgRIV	2.5×10^{-2}	3.4×10^{-2}	ND	ND	34.8×10^{-2}
mFcgRIII	4.4×10^{-2}	6.6×10^{-2}	12.5×10^{-2}	ND	ND
mFcgRIIb	4.5×10^{-2}	12.0×10^{-2}	11.7×10^{-2}	ND	ND

ND=低結合アフィニティーにより未決定

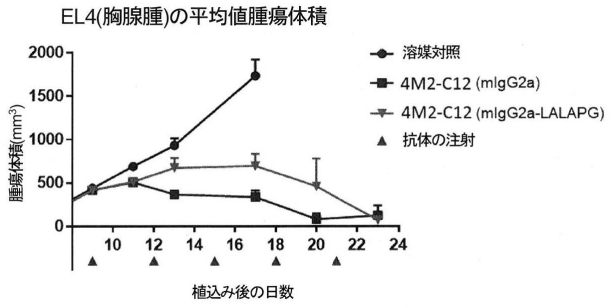
【図２９Ｃ】

K_D(nM)の計算値

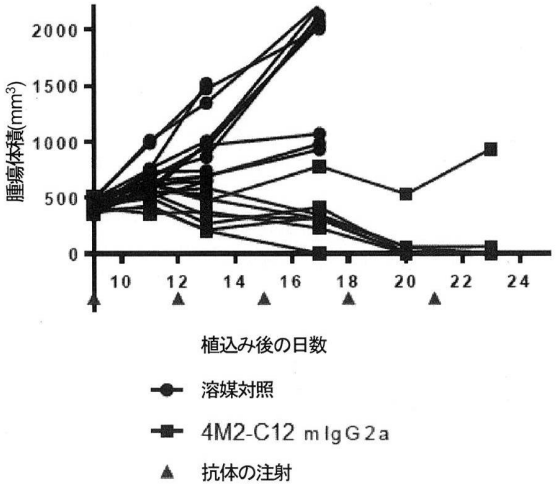
受容体	遺伝子	機能	結合アフィニティー	報告されたKd(nM)	4M2-C12 mIgG2a K_D (nM) 1	4M2-C12 mIgG2a K_D (nM) 2	4M2-C12 mIgG1 K_D (nM)	4M2-C12 mIgG2a LALA_PG K_D (nM)	4M2-C12 mIgG2a NQ K_D (nM)
mFcRn	FCGRT	リサイクリング［アフィニティーの増大→半減期の延長］	中程度	mIgG1: 1157 mIgG2a: 490 mIgG2b: 545 mIgG3: 140 hIgG1: 72 hIgG2: 63 hIgG3: 230 hIgG4: 116	31.5	49.5	93.9	35.8	42.5
mFcgRIV	CD16-2	細胞の活性化	高度	mIgG1: ND mIgG2a: 34.5 mIgG2b: 59 mIgG3: ND hIgG1: 280 hIgG2: 0 hIgG3: 170 hIgG4: 26000	258	372	ND	ND	ND
mFcgRIII	CD16	細胞の活性化	低度	mIgG1: 3200 mIgG2a: 1460 mIgG2b: 1555 mIgG3: ND hIgG1: 9300 hIgG2: 9700 hIgG3: 1300 hIgG4: 21000	794	977	455	ND	ND
mFcgRIIb	CD32	細胞の活性化	低度	mIgG1: 301 mIgG2a: 2390 mIgG2b: 448 mIgG3: ND hIgG1: 1100 hIgG2: 7900 hIgG3: 700 hIgG4: 11000	876	2190	1300	ND	ND

ND=低結合アフィニティーにより未決定

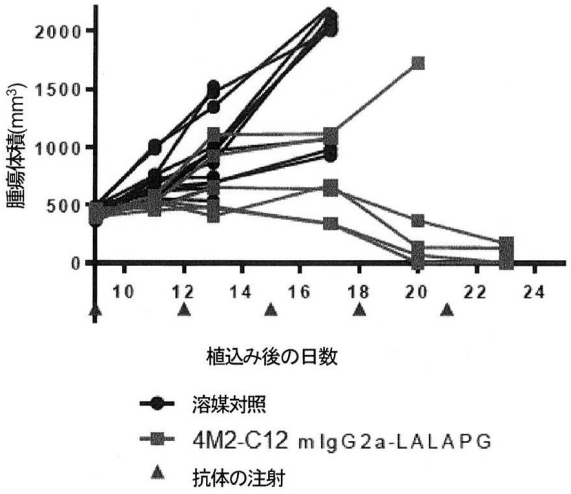
【図３０Ａ】



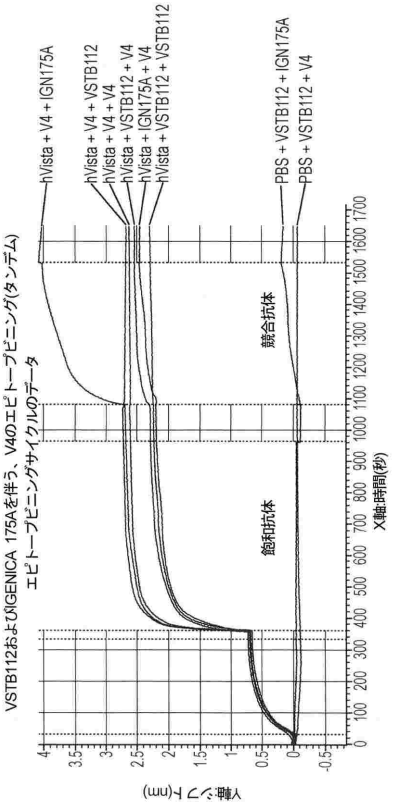
【図３０Ｂ】



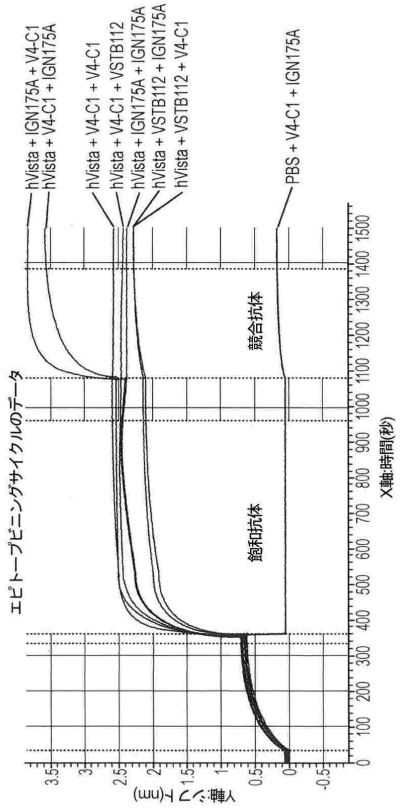
【図３０Ｃ】



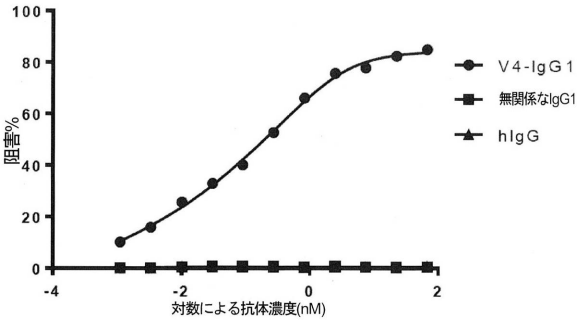
【図３１Ａ】



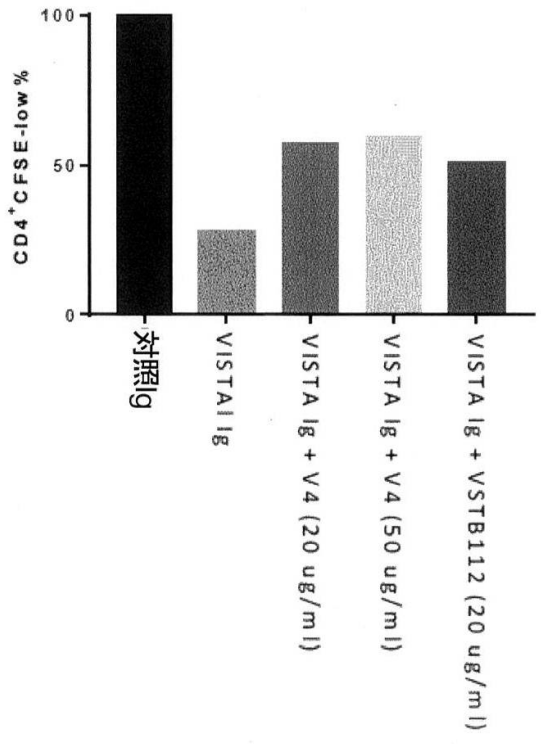
【図３１Ｂ】



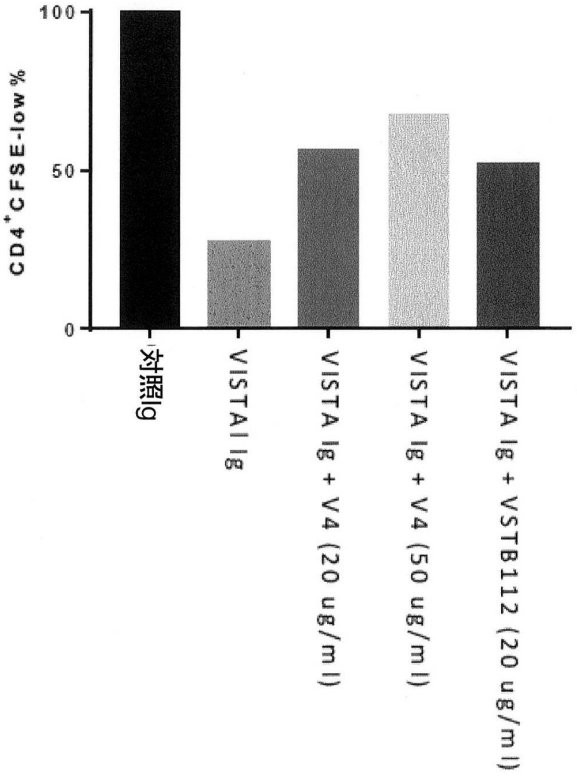
【図３２】



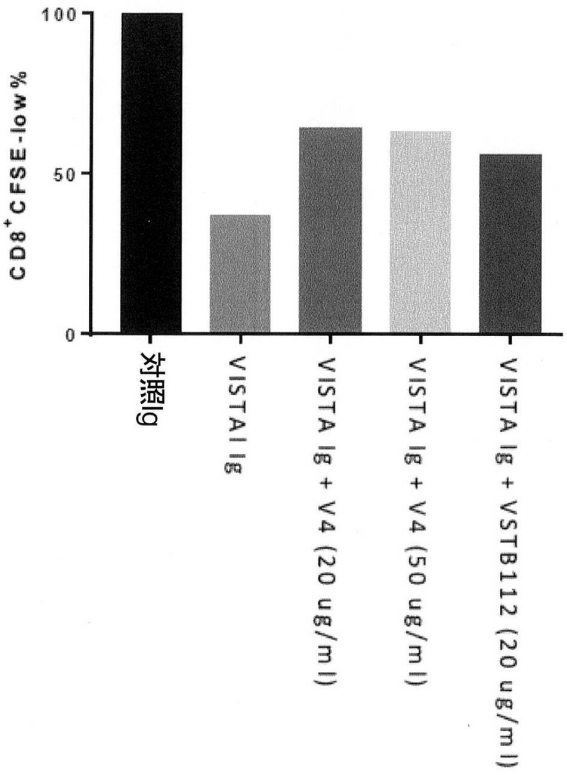
【図３３Ａ】



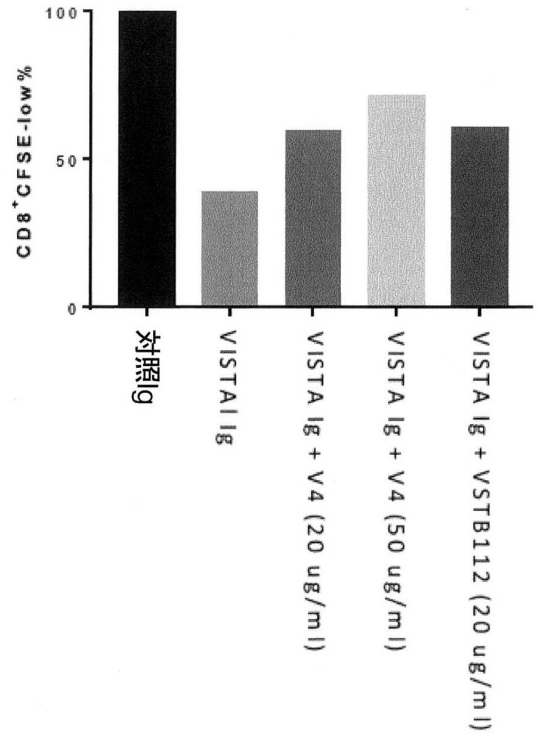
【図３３Ｂ】



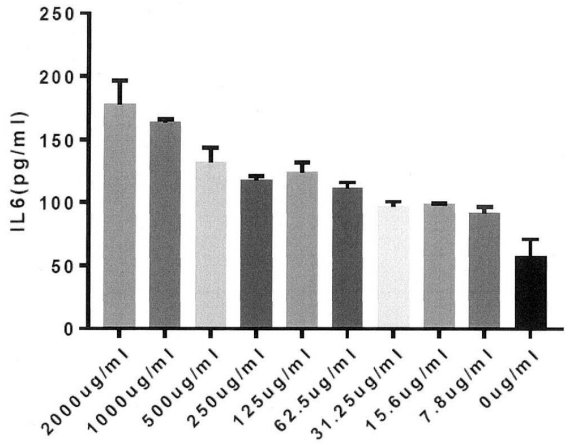
【図３３Ｃ】



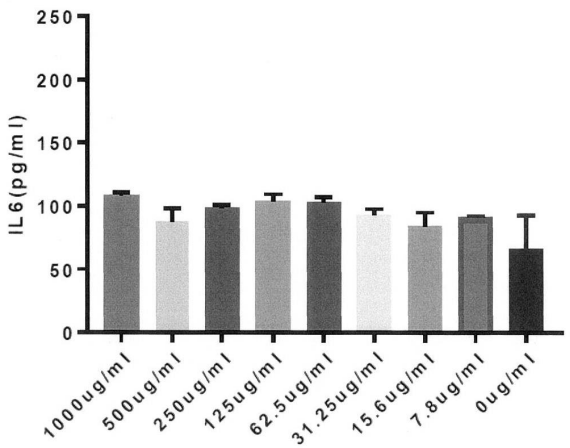
【図３３Ｄ】



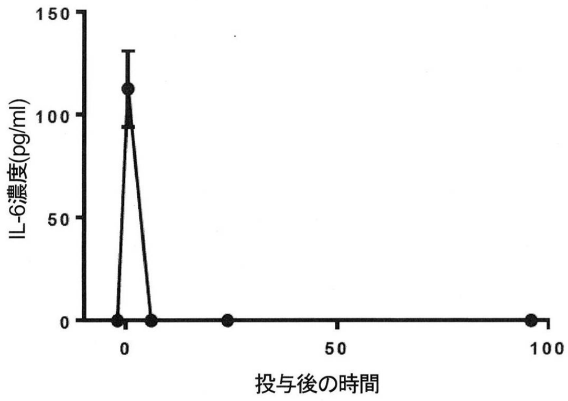
【図３４Ａ】



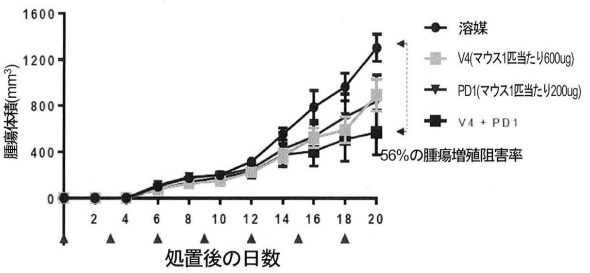
【図３４Ｂ】



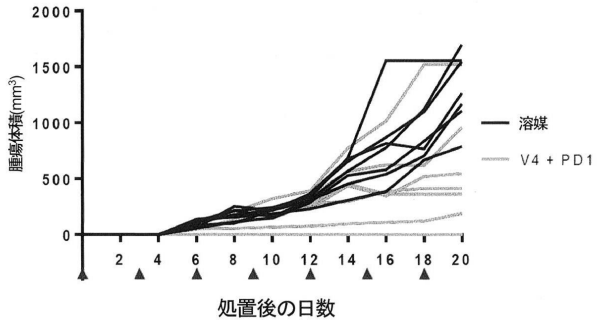
【図３５】



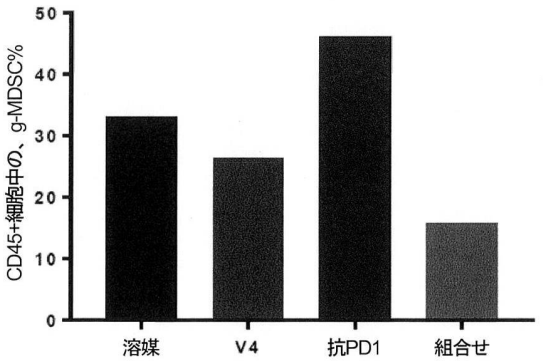
【図３６Ａ】



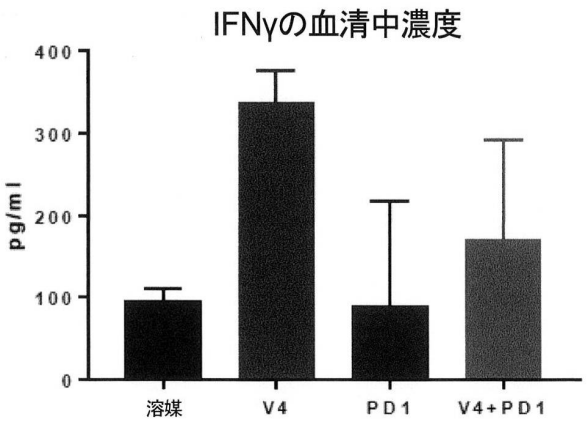
【図３６Ｂ】



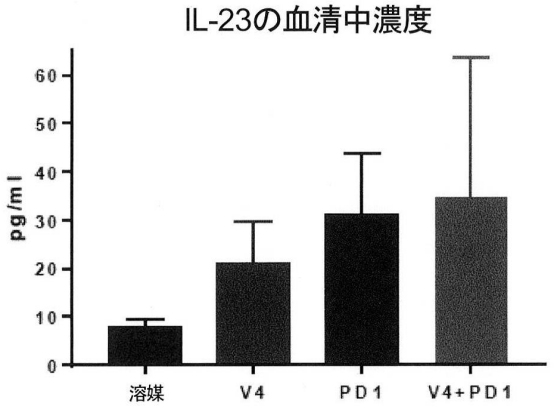
【図３７】



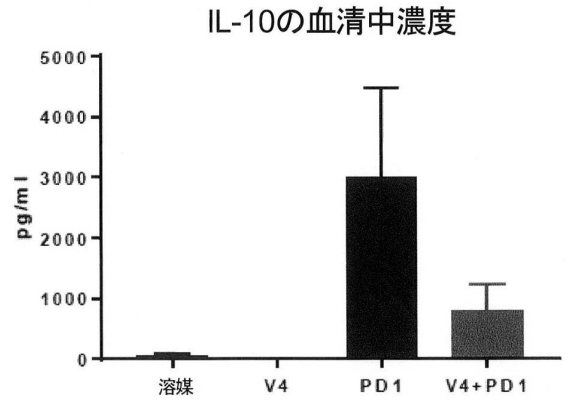
【図３８Ａ】



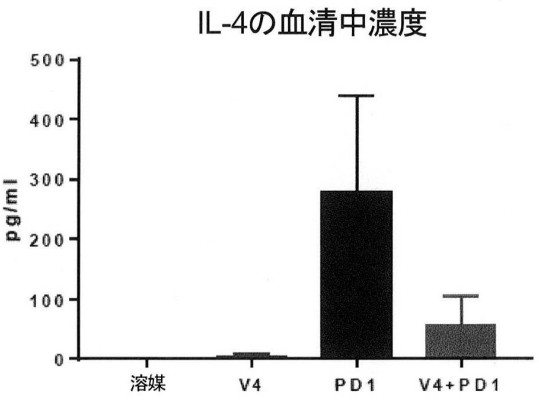
【図３８Ｂ】



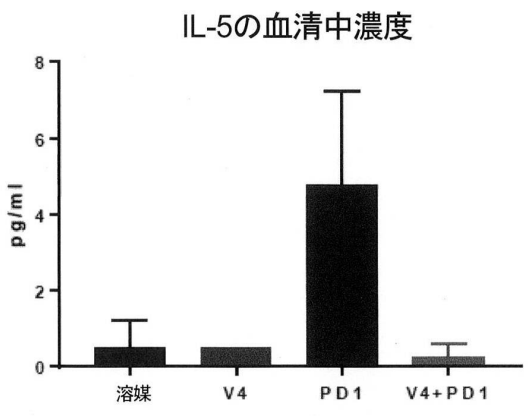
【図３８Ｃ】



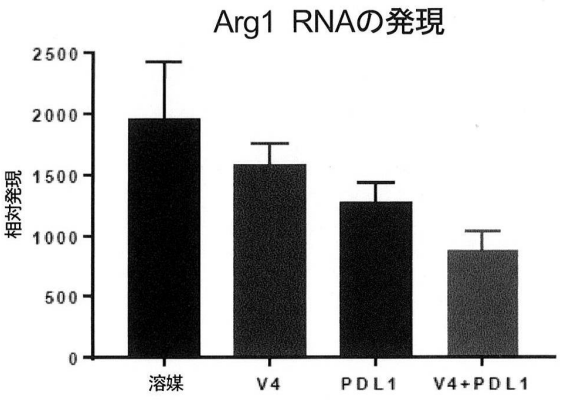
【図３８Ｄ】



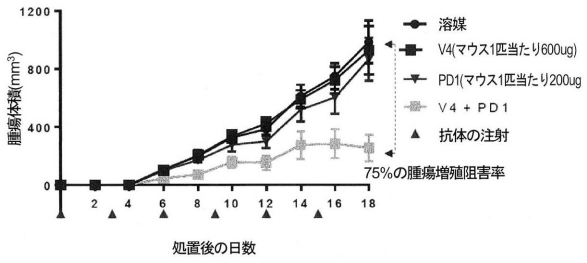
【図３８Ｅ】



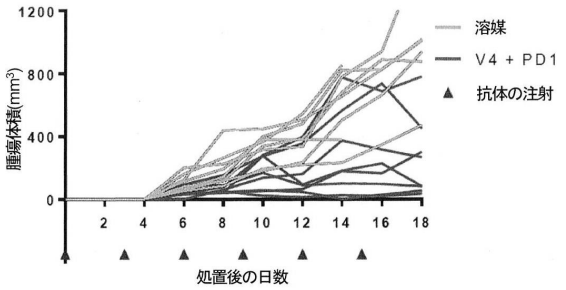
【図３９】



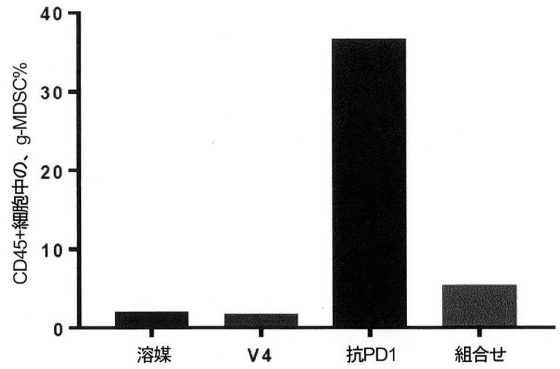
【図４０Ａ】



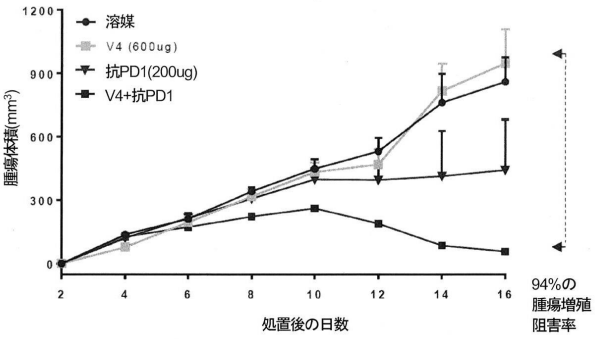
【図４０Ｂ】



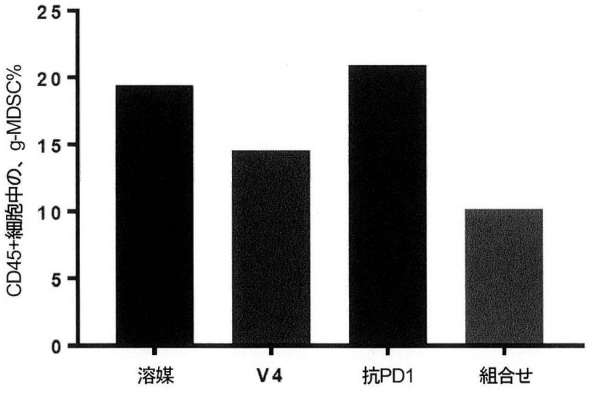
【図４１】



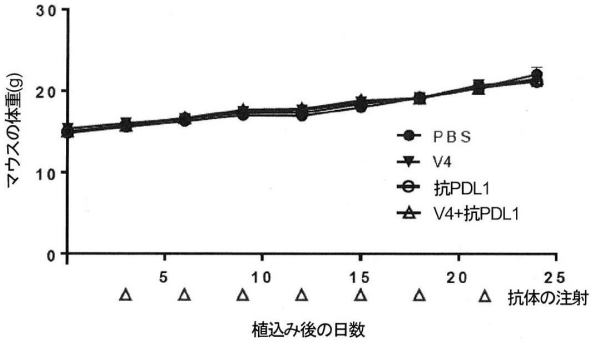
【図４２】



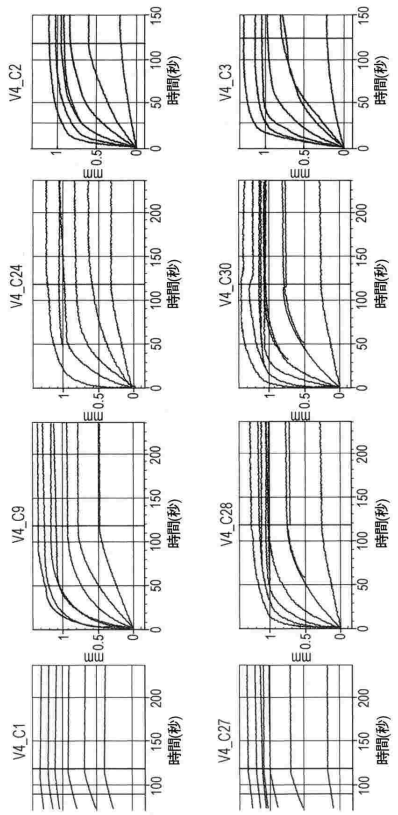
【図４３】



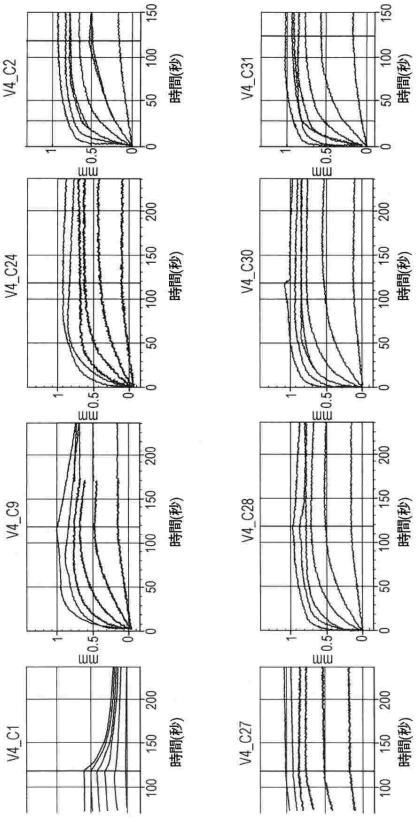
【図４４】



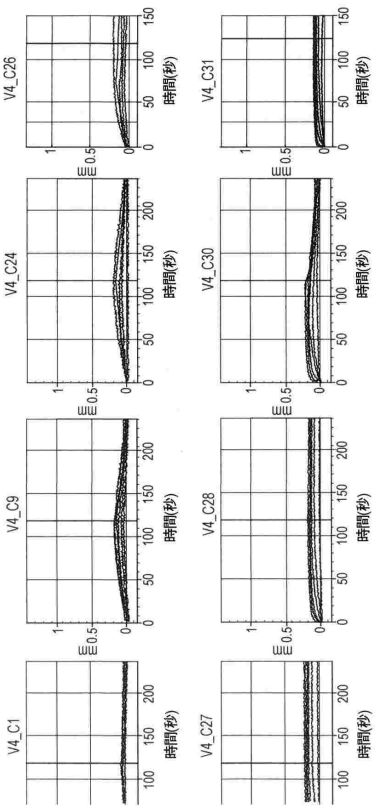
【図４５Ａ】



【図４５Ｂ】



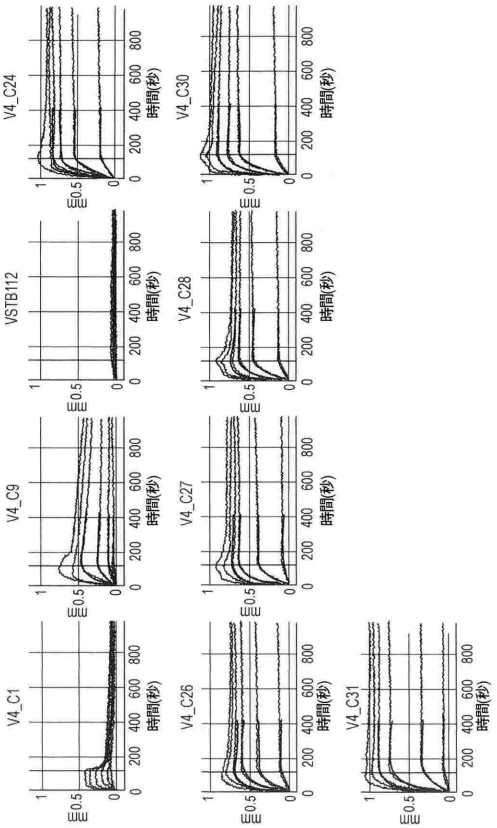
【図４５Ｃ】



【図４５Ｄ】

抗体	マウスVISTA			ヒトVISTA		
	K_D (nM)	K_{on} (1/M秒)	K_{dis} (1/秒)	K_D (nM)	K_{on} (1/M秒)	K_{dis} (1/秒)
V4_C1	60.7	2.43×10^{5}	14.7×10^{-3}	<0.001	3.43×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$
V4_C9	3.81	3.11×10^{5}	1.18×10^{-3}	<0.001	3.33×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$
V4_C24	<0.001	4.01×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$	<0.001	3.84×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$
V4_C26	<0.001	4.03×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$	<0.001	4.04×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$
V4_C27	<0.001	4.26×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$	<0.001	4.65×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$
V4_C28	0.17	4.75×10^{5}	0.082×10^{-3}	<0.001	5.07×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$
V4_C30	0.005	5.05×10^{5}	0.0028×10^{-3}	<0.001	5.93×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$
V4_C31	<0.001	5.70×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$	<0.001	6.23×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$

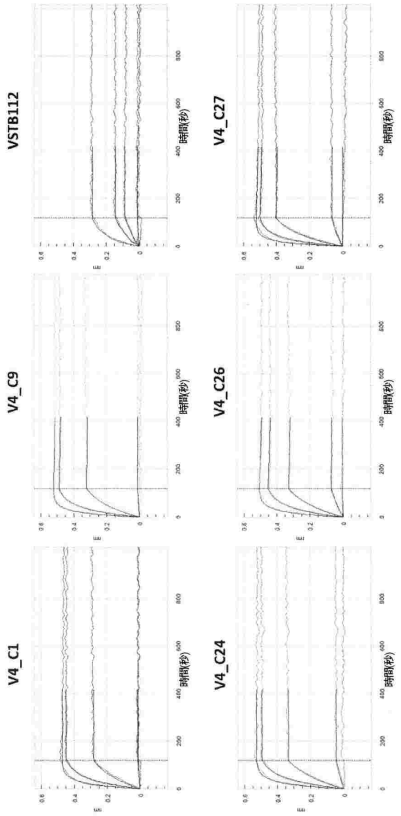
【図４６Ａ】



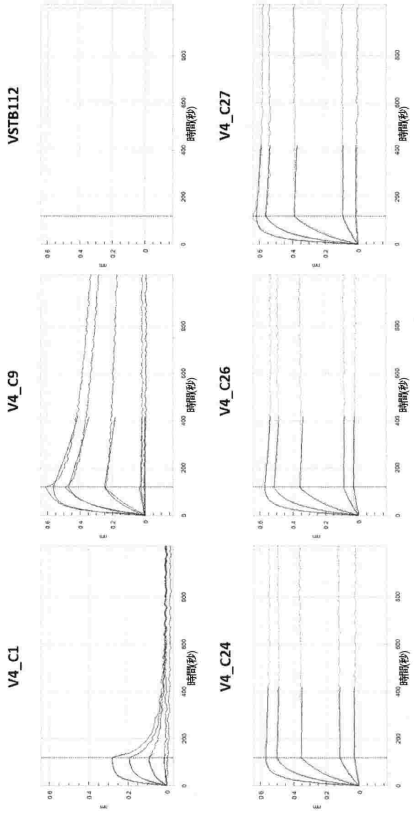
【図４６Ｂ】

抗体	マウスVISTA		
	K_D (nM)	K_{on} (1/M秒)	K_{dis} (1/秒)
V4_C1	66.7	3.30×10^{5}	22.0×10^{-3}
V4_C9	4.26	1.57×10^{5}	0.67×10^{-3}
VSTB112	センシングなし	センシングなし	センシングなし
V4_C24	<0.001	4.62×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$
V4_C26	0.183	4.13×10^{5}	0.076×10^{-3}
V4_C27	0.137	3.98×10^{5}	0.055×10^{-3}
V4_C28	0.489	5.20×10^{5}	0.25×10^{-3}
V4_C30	<0.001	5.33×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$
V4_C31	<0.001	3.44×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$

【図４７Ａ】



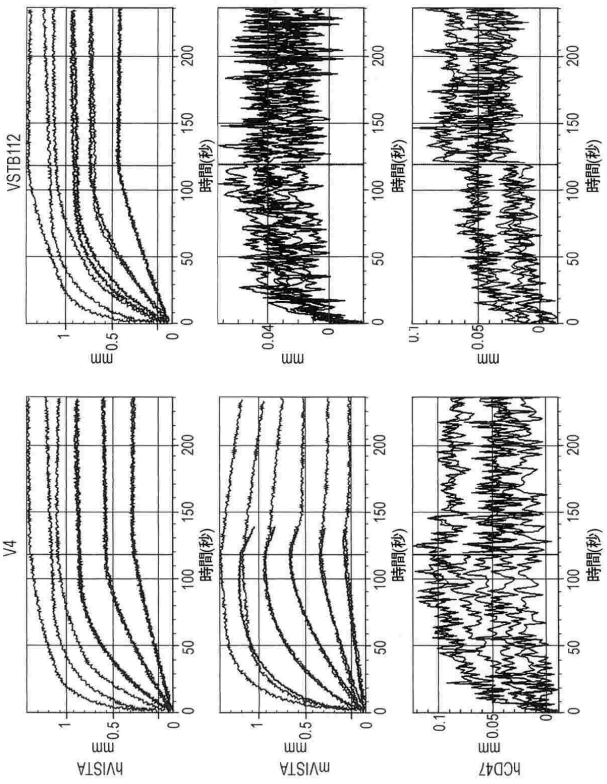
【図４７Ｂ】



【図４７Ｃ】

抗体	ヒトVISTA			マウスVISTA		
	K_D (nM)	K_{on} (1/M秒)	K_{dis} (1/秒)	K_D (nM)	K_{on} (1/M秒)	K_{dis} (1/秒)
V4_C1	<0.001	3.91×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$	58.5	2.77×10^{5}	16.2×10^{-3}
V4_C9	0.125	4.50×10^{5}	0.056×10^{-3}	2.88	3.61×10^{5}	1.04×10^{-3}
VSTB112	<0.001	1.79×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$	該当なし	該当なし	該当なし
V4_C24	<0.001	3.73×10^{5}	$<1.0\times10^{-7}$	0.202	3.78×10^{5}	0.076×10^{-3}
V4_C26	0.241	4.07×10^{5}	0.098×10^{-3}	0.530	3.82×10^{5}	0.20×10^{-3}
V4_C27	0.119	5.11×10^{5}	0.061×10^{-3}	0.395	3.92×10^{5}	0.16×10^{-3}

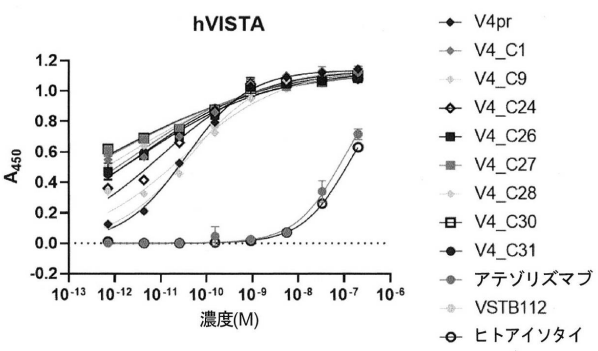
【図４８Ａ】



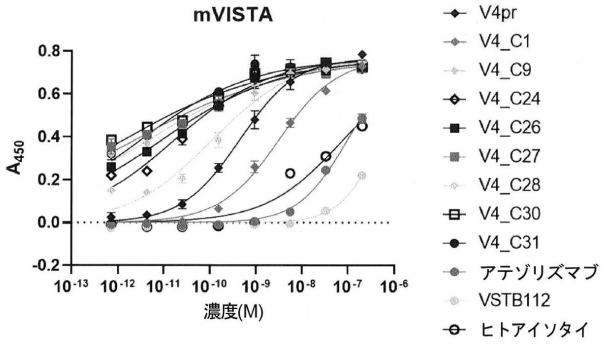
【図４８Ｂ】

	ヒトVISTA			マウスVISTA		
抗体	K_D (nM)	k_{on}(1/M秒)	k_{dis}(1/秒)	K_D (nM)	k_{on}(1/M秒)	k_{dis}(1/秒)
V4	<0.001	128×10^3	$<0.01\times10^{-5}$	108	60.9×10^3	656×10^{-5}
VSTB112	<0.001	210×10^3	$<0.01\times10^{-5}$	センシングなし	センシングなし	センシングなし

【図４９Ａ】



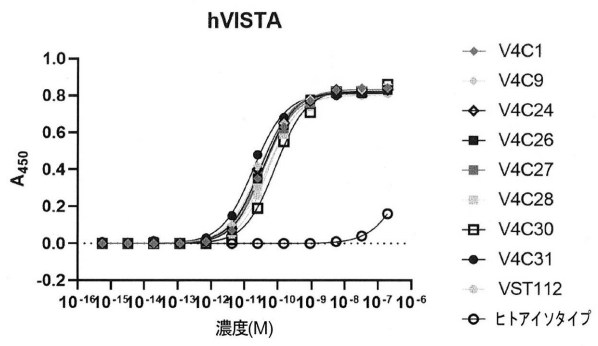
【図４９Ｂ】



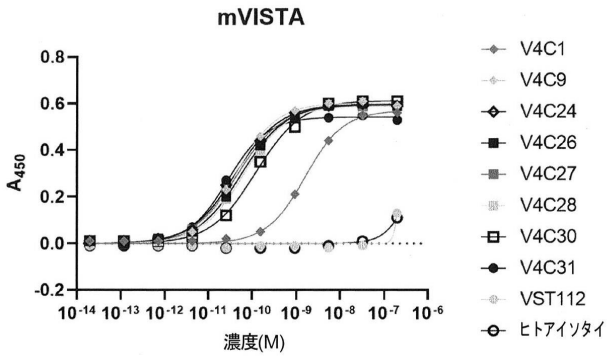
【図４９Ｃ】

	V4pr	V4_C1	V4_C9	V4_C24	V4_C26	V4_C27	V4_C28	V4_C30	V4_C31	ATZ	VSTB112	アイソタイプ
hVISTA	0.036	0.0024	0.031	0.010	0.0034	<0.0007	0.0015	<0.0007	0.0032	102	0.042	152
mVISTA	0.43	3.1	0.11	0.017	0.0089	0.0023	0.0045	0.0013	0.0030	97	>200	77

【図５０Ａ】



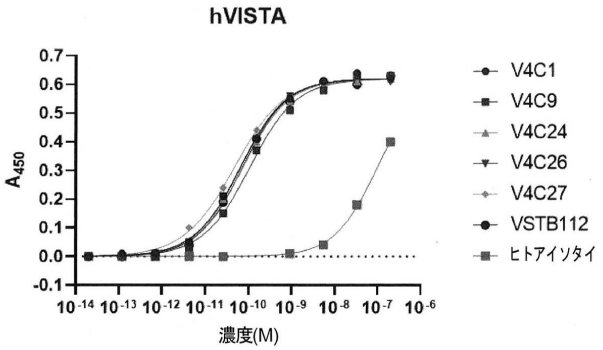
【図５０Ｂ】



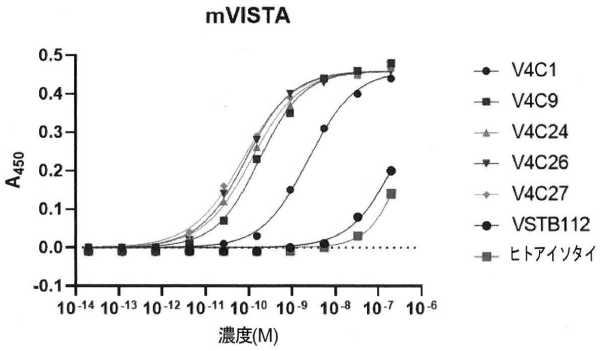
【図５０Ｃ】

	V4_C1	V4_C9	V4_C24	V4_C26	V4_C27	V4_C28	V4_C30	V4_C31	VSTB112	アイソタイプ
hVISTA	0.042	0.030	0.032	0.038	0.037	0.053	0.088	0.020	0.054	> 200
mVISTA	1.60	0.044	0.042	0.058	0.047	0.064	0.123	0.028	> 200	> 200

【図５１Ａ】



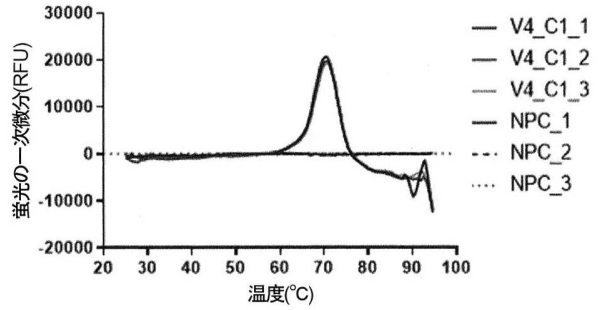
【図５１Ｂ】



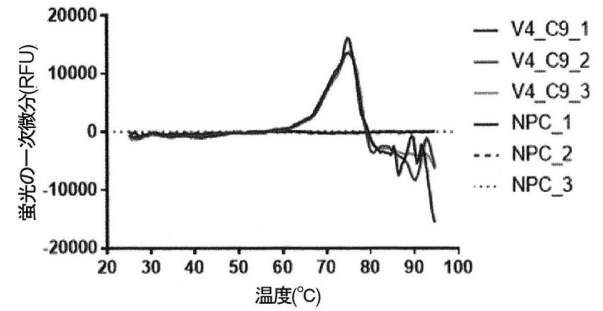
【図５１Ｃ】

	V4C24	V4C26	V4C27	V4C1	V4C9	VSTB112	ヒトアイソタイプ
hVISTA	0.073	0.064	0.047	0.065	0.107	0.072	98.5
mVISTA	0.116	0.086	0.073	2.44	0.180	>200	>200

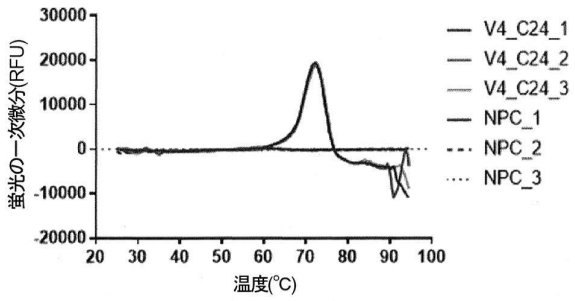
【図５２Ａ】



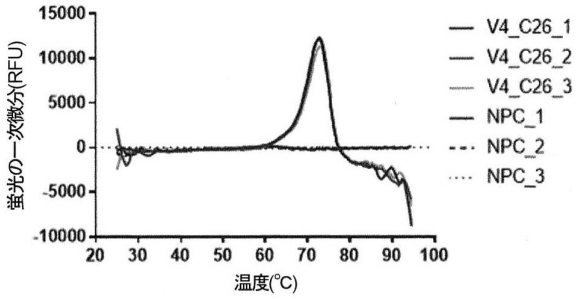
【図５２Ｂ】



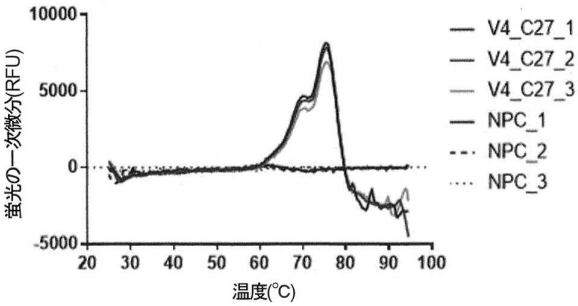
【図５２Ｃ】



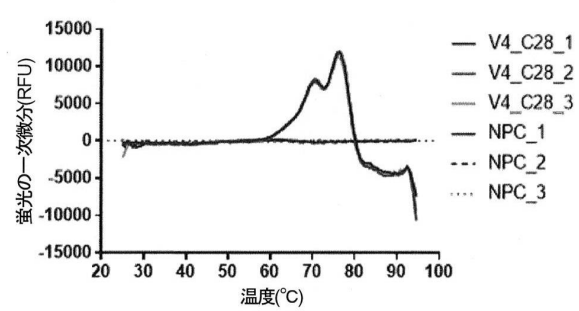
【図５２Ｄ】



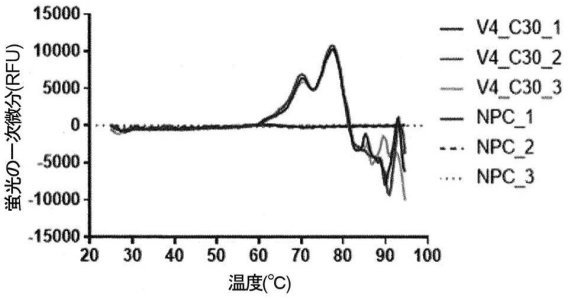
【図５２Ｅ】



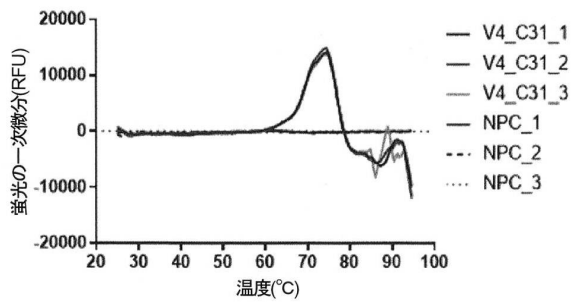
【図５２Ｆ】



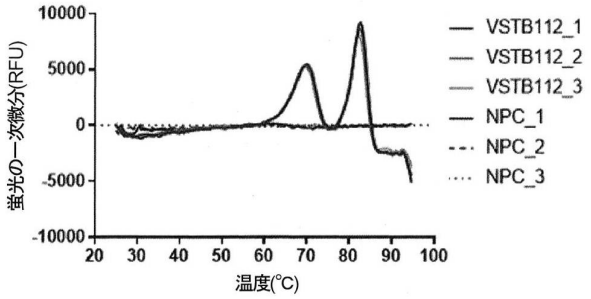
【図５２Ｇ】



【図５２Ｈ】



【図５２Ｉ】



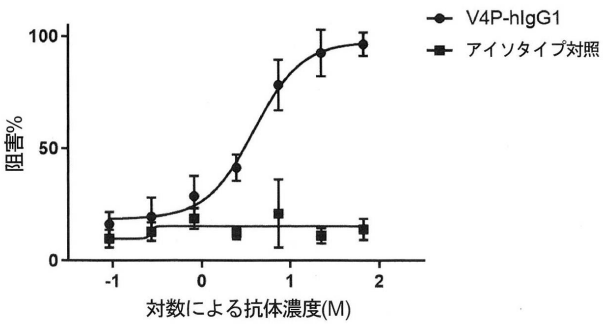
【図５２Ｊ】

	Tm		
	Fc	Fab	
抗体	Tm1 (℃)	Tm2 (℃)	ショルダー
V4p	67.5		63℃におけるショルダー
V4_C1	70.5		
V4_C9	75.1		72℃におけるショルダー
V4_C24	72.3		
V4_C26	72.9		
V4_C27	70.3	75.6	
V4_C28	70.5	76.3	
V4_C30	70.2	77.5	
V4_C31	74.5		71.5℃におけるショルダー
VSTB112	69.9	82.3	

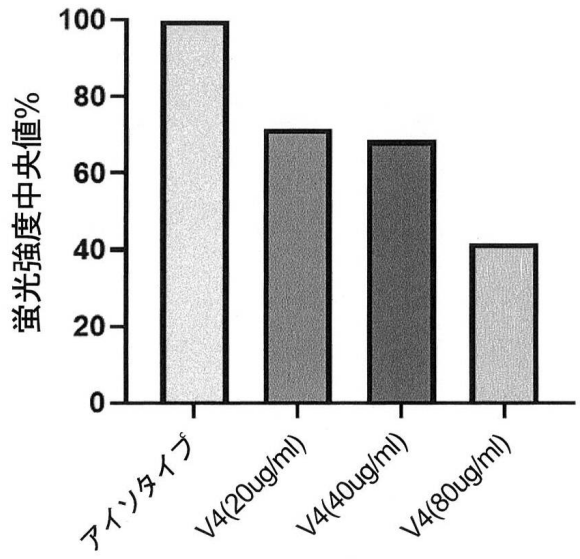
【図５３】

抗体	同一性%(ヒト)		潜在的な免疫原性ペプチド	
	HC	LC	HC	LC
V4	69.7	63.2	2	3
V4_C1	86.9	85.3	6	3
V4_C9	86.9	86.3	4	3
V4_C24	85.9	85.3	2	3
V4_C26	85.9	85.3	2	2
V4_C27	85.9	85.3	2	3
V4_C28	85.9	85.3	2	3
V4_C30	85.9	84.2	2	3
V4_C31	85.9	83.2	2	2

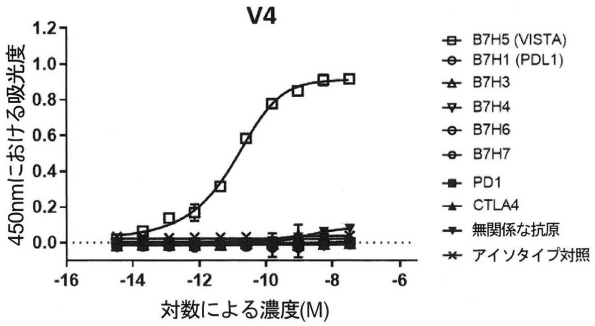
【図５４】



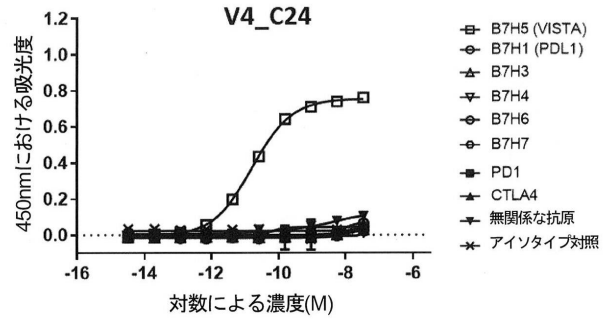
【図５５】



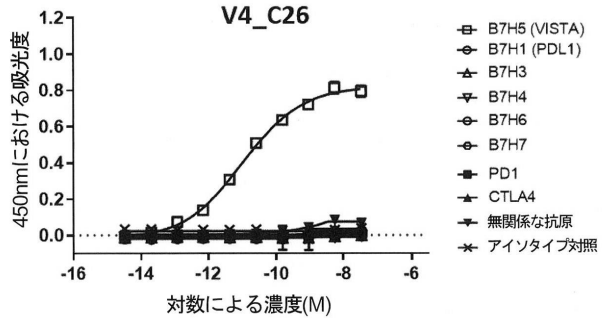
【図５６Ａ】



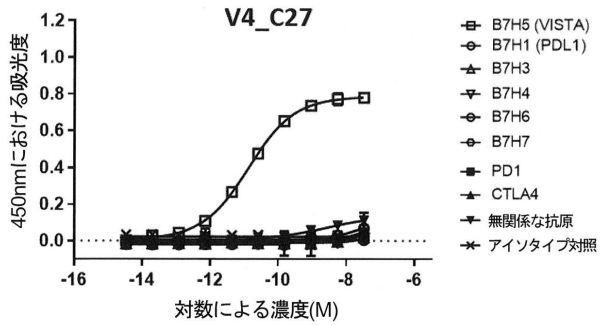
【図５６Ｂ】



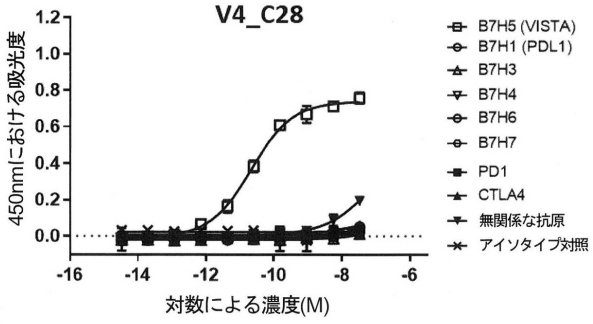
【図５６Ｃ】



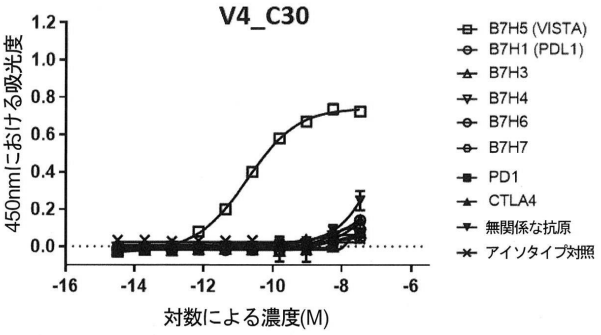
【図５６Ｄ】



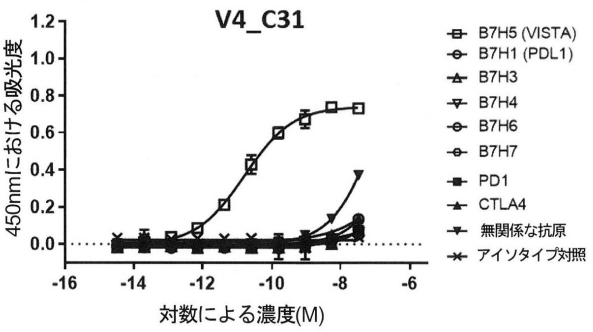
【図５６Ｅ】



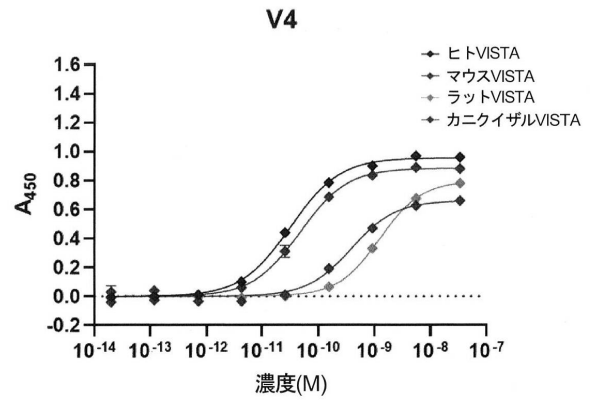
【図５６Ｆ】



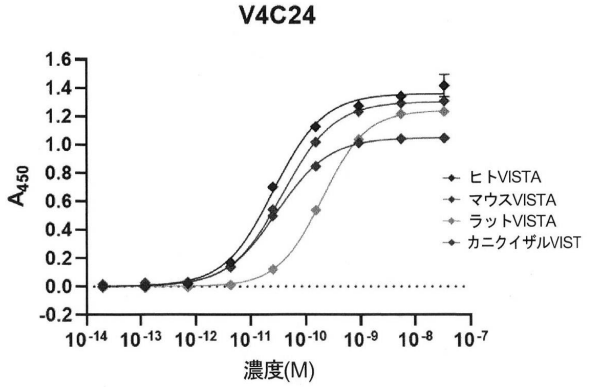
【図５６Ｇ】



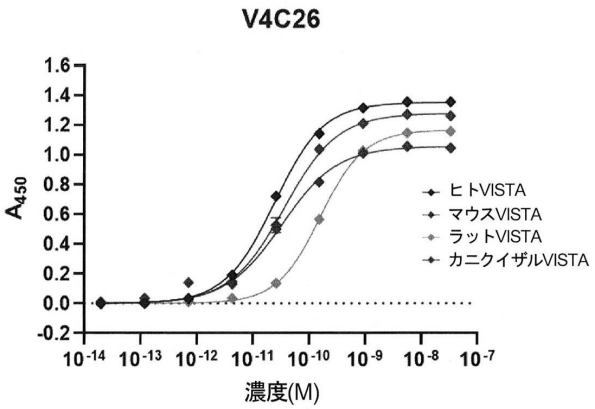
【図５７Ａ】



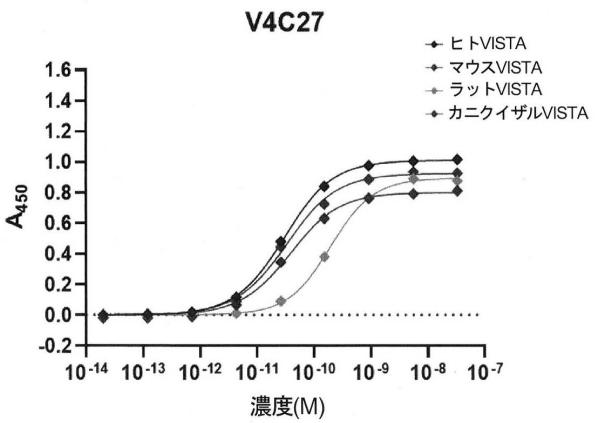
【図５７Ｂ】



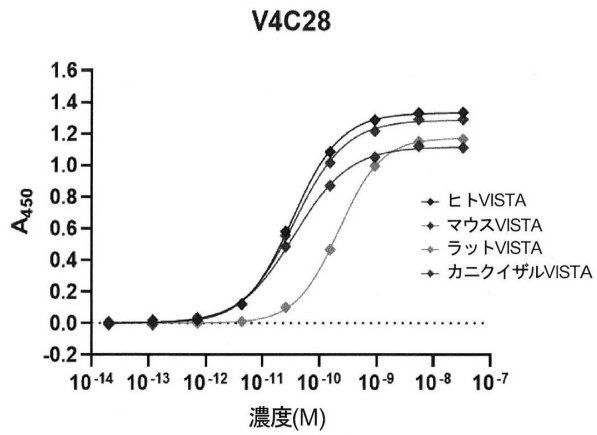
【図５７Ｃ】



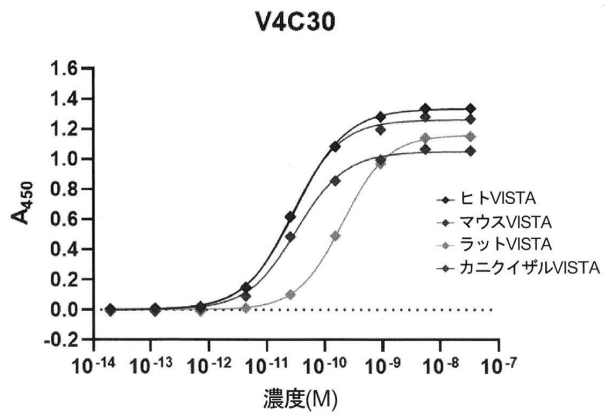
【図５７Ｄ】



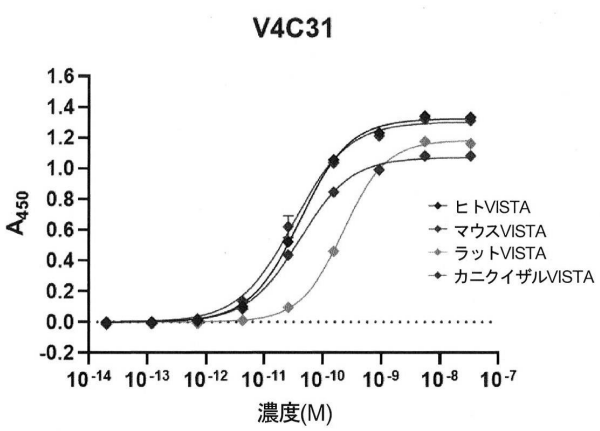
【図５７Ｅ】



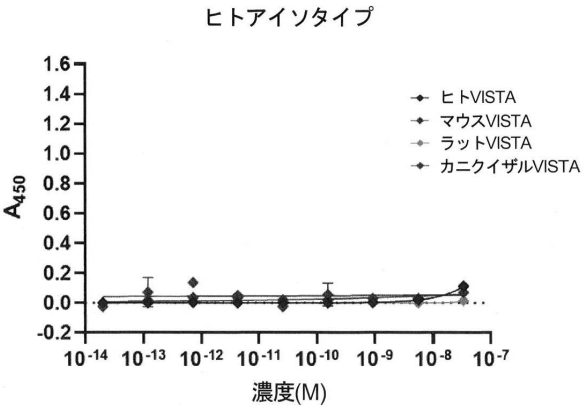
【図５７Ｆ】



【図５７Ｇ】



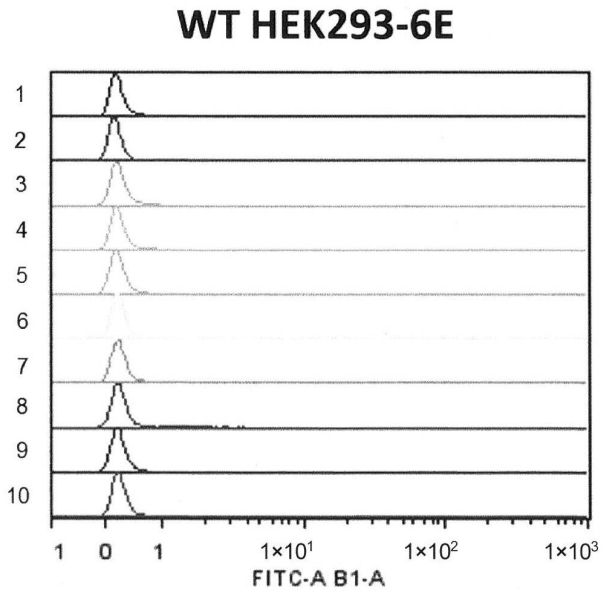
【図５７Ｈ】



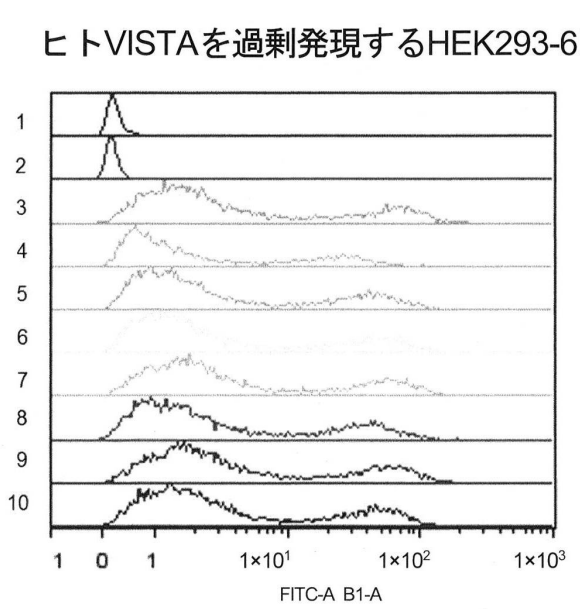
【図５７Ｉ】

EC_{50} (M)	ヒトVISTA	マウスVISTA	ラットVISTA	カニクイザル VISTA
V4	3.19×10^{-11}	3.87×10^{-10}	1.25×10^{-9}	4.72×10^{-11}
V4C24	2.68×10^{-11}	3.04×10^{-11}	2.01×10^{-10}	3.85×10^{-11}
V4C26	2.41×10^{-11}	3.25×10^{-11}	1.60×10^{-10}	3.56×10^{-11}
V4C27	2.95×10^{-11}	3.74×10^{-11}	1.96×10^{-10}	3.24×10^{-11}
V4C28	3.46×10^{-11}	3.65×10^{-11}	2.17×10^{-10}	3.67×10^{-11}
V4C30	3.18×10^{-11}	3.26×10^{-11}	2.06×10^{-10}	2.72×10^{-11}
V4C31	4.08×10^{-11}	4.00×10^{-11}	2.24×10^{-10}	3.21×10^{-11}
アイソタイプ	$>3.3\times10^{-8}$	$>3.3\times10^{-8}$	$>3.3\times10^{-8}$	$>3.3\times10^{-8}$

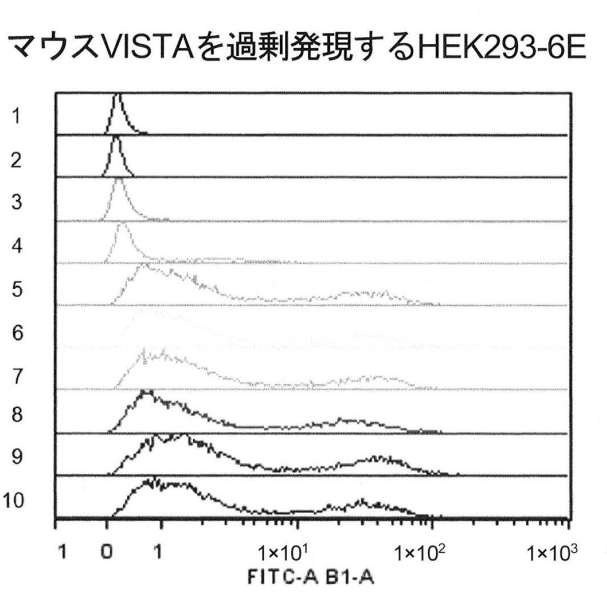
【図５８Ａ】



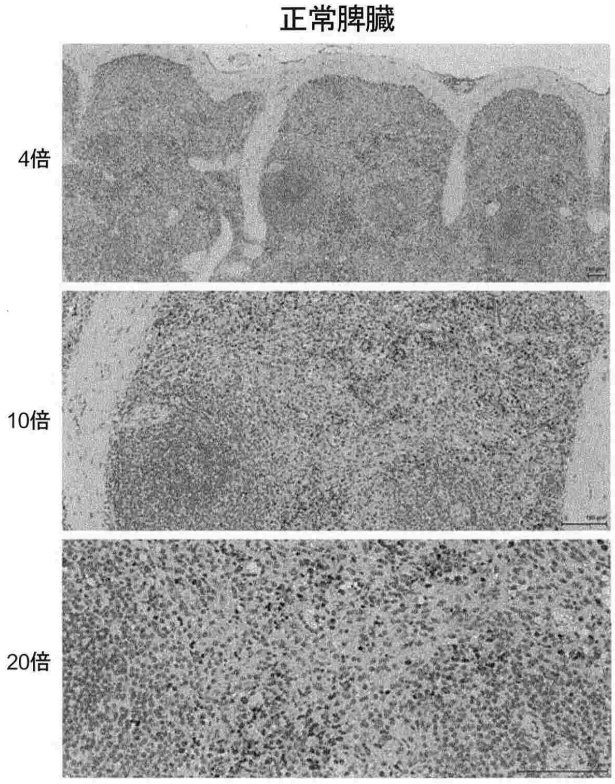
【図５８Ｂ】



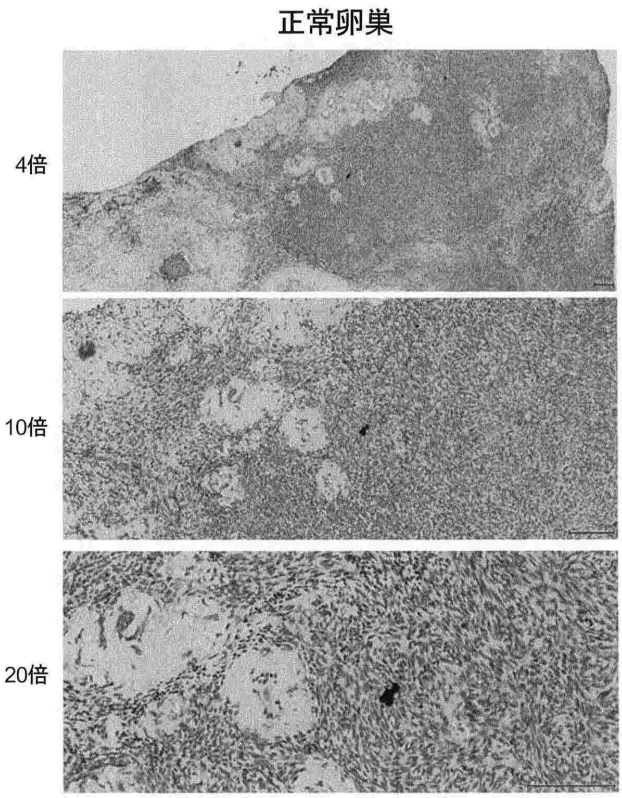
【図５８Ｃ】



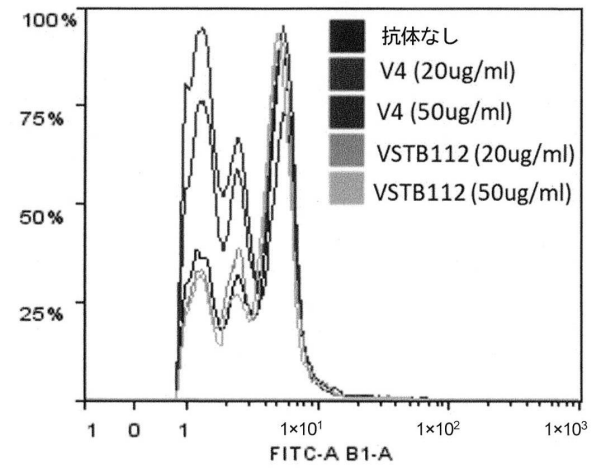
【図５９Ａ】



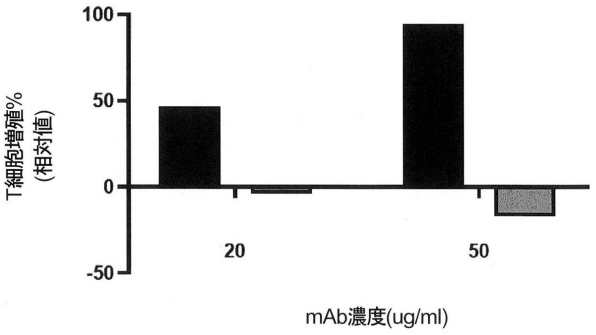
【図５９Ｂ】



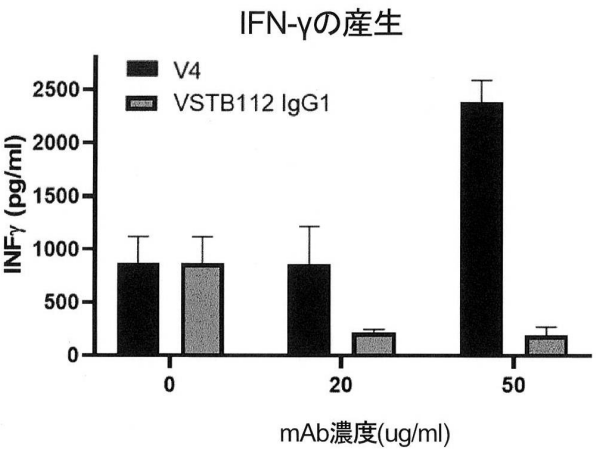
【図６０Ａ】



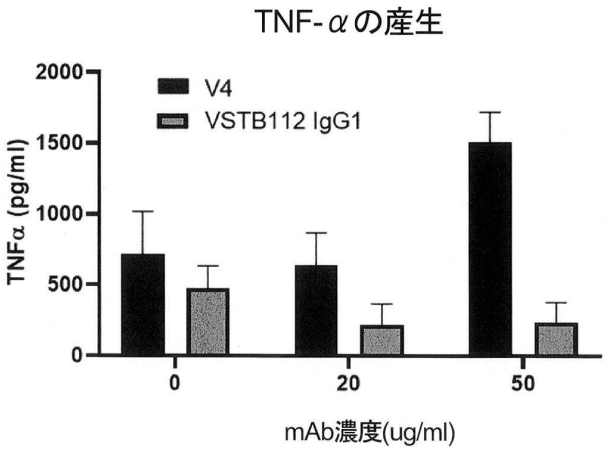
【図６０Ｂ】



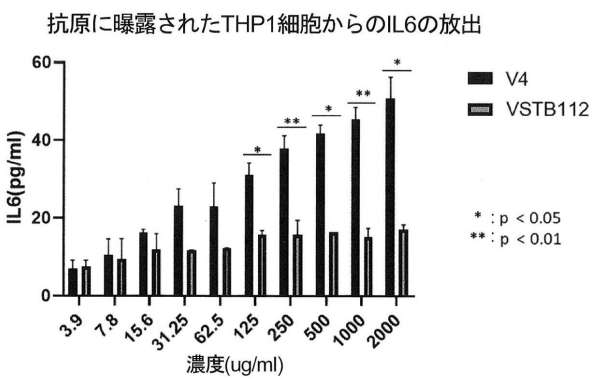
【図６０Ｃ】



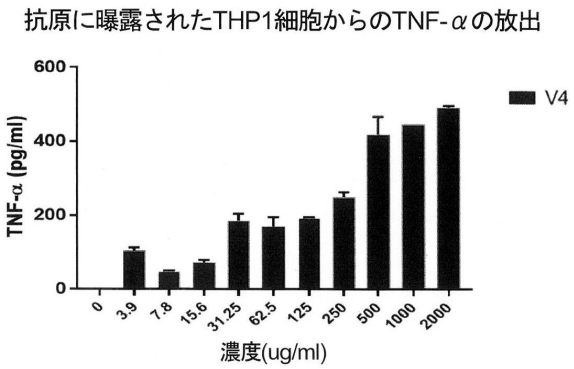
【図６０Ｄ】



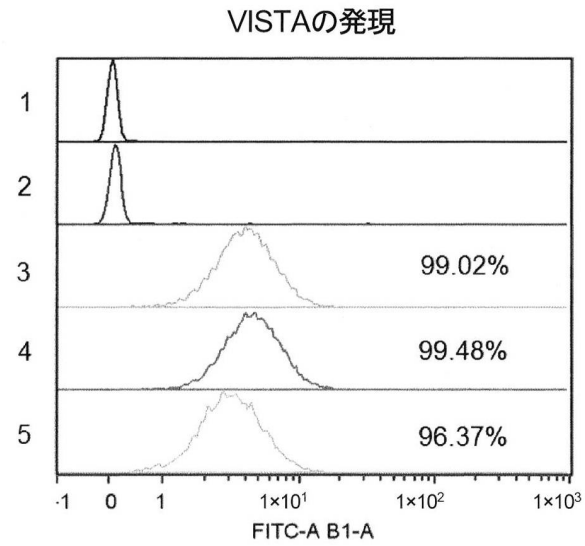
【図６１Ａ】



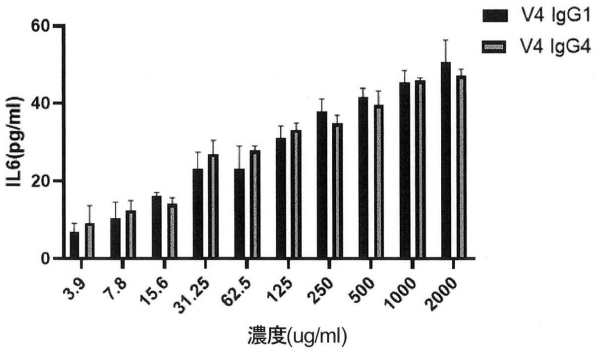
【図６１Ｂ】



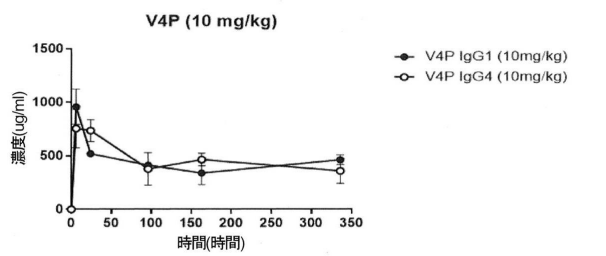
【図６１Ｃ】



【図６２】

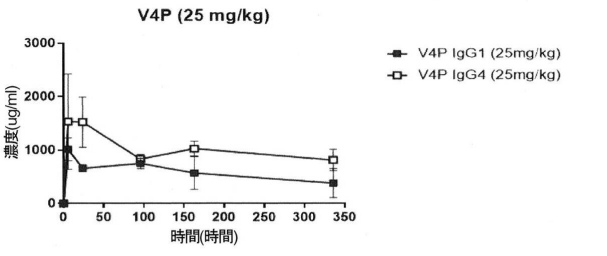


【図６３Ａ】



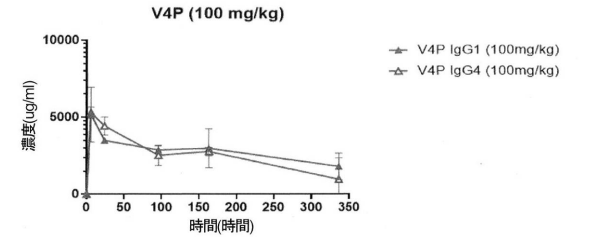
アーム	用量	Cmax (ug/ml)	T_{max} (時間)	AUC_{0-336} (ug×時間/ml)	$AUC_{0-\infty}$ (ug×時間/ml)	$T_{1/2}$ (時間)	CL (ml/時間)	Vd (mL/kg)
V4P higG1	10 mg/kg	1264.925	6.000	163820.857	535540.716	494.683	0.005	3.631
V4P higG4	10 mg/kg	756.632	6.000	157719.024	325944.397	324.881	0.008	3.726

【図６３Ｂ】



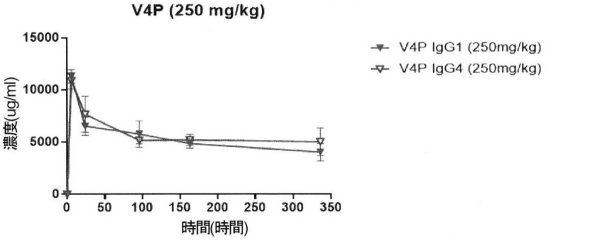
アーム	用量	Cmax (ug/ml)	T_{max} (時間)	AUC_{0-336} (ug×時間/ml)	$AUC_{0-\infty}$ (ug×時間/ml)	$T_{1/2}$ (時間)	CL (ml/時間)	Vd (mL/kg)
V4P higG1	25 mg/kg	917.691	6.000	168137.409	624496.133	637.687	0.010	9.622
V4P higG4	25 mg/kg	1532.665	6.000	343433.514	790153.226	380.006	0.008	4.467

【図６３Ｃ】



アーム	用量	Cmax (ug/ml)	T_{max} (時間)	AUC_{0-336} (ug×時間/ml)	$AUC_{0-\infty}$ (ug×時間/ml)	$T_{1/2}$ (時間)	CL (ml/時間)	Vd (mL/kg)
V4P higG1	100 mg/kg	5158.909	6.000	951642.588	1836917.880	340.466	0.014	6.425
V4P higG4	100 mg/kg	5286.726	6.000	876440.678	1078777.776	144.581	0.023	4.644

【図６３Ｄ】



アーム	用量	Cmax (ug/ml)	T_{max} (時間)	AUC_{0-336} (ug×時間/ml)	$AUC_{0-\infty}$ (ug×時間/ml)	$T_{1/2}$ (時間)	CL (ml/時間)	Vd (mL/kg)
V4P higG1	250mg/kg	11293.381	6.000	1806847.108	4415613.763	448.196	0.014	9.049
V4P higG4	250mg/kg	1532.665	6.000	343433.514	790153.226	380.006	0.008	4.467

【図６４Ａ】

処置アーム	用量	赤血球						
		RBC数 (10^6個/L)	ヘモグロビン (g/dl)	ヘマトクリット (%)	貧血パラメータ			血小板数 (10^4個/L)
					MCV (fml)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	
溶媒	0	10.73	16.3	45.67	43	15.2	35.7	774
V4P	50 mg/kg	11.02	17.2	47.64	43	15.6	36	720

【図６４Ｂ】

処置アーム	用量	白血球			
		WBC数 (10^6個/L)	リンパ球数 (10^6個/L)	単球数 (10^6個/L)	好中球数 (10^6個/L)
溶媒	0	5.57	3.4	0.05	1.7
V4P	50 mg/kg	5.98	4.22	0.05	1.71

【図６４Ｃ】

処置アーム	用量	生化学			
		肝臓(U/L)		腎臓(mg/dL)	
		ALT	ALP	CREA	BUN
溶媒	0	29	102	17	0.2
V4P	50 mg/kg	23	50	19	0.2

【図６５Ａ】

処置アーム	時間(時間)	赤血球						
		RBC数(10^6個/L)	ヘモグロビン(g/dl)	ヘマトクリット(%)	赤血球パラメータ			血小板数(10^3個/L)
					MCV (fml)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	
溶媒	0	7.94	14.97	45.50	57.33	18.87	32.87	223.3
	6	8.58	16.15	48.57	56.50	18.90	17.80	886.5
	24	8.25	15.70	46.55	56.33	19.03	33.73	427.0
	96	7.97	13.37	45.39	56.67	16.80	29.50	229.0
	168	8.27	15.87	46.96	57.00	19.20	33.80	244.7
V4 IgG1	0	7.65	14.30	43.82	57.33	18.60	41.73	172.3
	6	8.03	14.77	45.04	56.33	18.50	32.90	99.00
	24	8.14	14.73	45.84	56.33	18.17	32.23	305.7
	96	7.97	13.93	45.02	56.33	17.50	30.97	269.3
	168	8.15	15.50	45.53	55.67	19.03	34.03	151.1
V4 IgG4	0	7.94	14.23	46.23	58.00	17.83	30.63	247.0
	6	10.51	20.40	61.26	58.33	19.40	33.30	427.3
	24	8.04	14.90	45.31	56.00	18.50	32.83	293.3
	96	6.77	12.23	38.43	57.00	18.07	31.70	183.7
	168	7.69	13.73	43.65	57.00	17.97	31.53	303.0

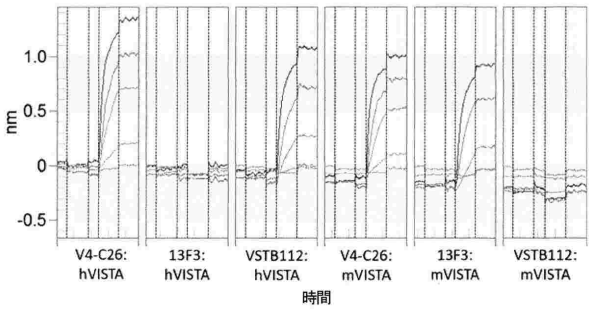
【図６５Ｂ】

処置アーム	時間(時間)	白血球			
		WBC数(10^6個/L)	リンパ球数(10^6個/L)	単球数(10^6個/L)	好中球数(10^6個/L)
溶媒	0	14.86	12.53	0.40	1.93
	6	10.88	8.63	0.21	2.03
	24	9.85	8.15	0.20	1.50
	96	11.68	8.94	0.59	2.15
	168	15.82	12.28	1.22	2.32
V4 IgG1	0	9.02	7.52	0.55	0.94
	6	8.79	5.84	0.35	2.60
	24	10.38	8.66	0.16	1.57
	96	10.89	8.91	0.35	1.63
	168	19.90	17.23	0.82	1.73
V4 IgG4	0	8.42	7.38	0.08	0.96
	6	18.20	10.76	0.62	6.82
	24	7.44	5.73	0.48	1.23
	96	7.32	5.56	0.15	1.61
	168	10.05	8.44	0.34	1.28

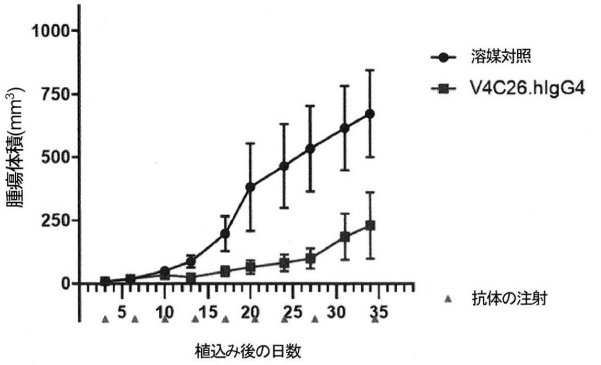
【図６５Ｃ】

生化学																				
時間(時間)	肝臓(U/L)		腎臓(mg/dL)		膵臓		電解質													
	ALT	ALP	CREA	BUN	GLU (mg/dl)	AMY (U/L)	NA (meq/L)	K (meq/L)	P (mg/dL)											
0	52.33	246.0	0.33	21.33	173.7	549.3	137.3	7.90	8.47											
6	28.67	210.7	0.37	10.33	195.7	517.7	134.0	6.00	8.20											
24	36.67	258.0	0.40	13.33	182.0	564.3	137.7	6.73	7.77											
96	32.33	218.3	0.10	12.67	178.3	532.0	134.0	5.50	8.07											
168	40.33	283.0	0.27	13.00	190.0	623.3	135.7	6.37	7.30											
0	31.00	259.0	0.27	11.67	175.3	619.0	137.3	7.23	8.33											
6	35.67	261.7	0.33	12.00	140.3	590.0	139.3	8.43	9.97											
24	33.67	257.3	0.20	12.33	154.0	639.0	136.3	7.57	8.10											
96	35.67	235.7	0.23	11.50	181.7	648.0	135.7	6.67	8.33											
168	38.67	269.7	0.23	13.33	179.7	657.0	136.7	7.00	8.20											
0	38.33	277.0	0.30	11.67	171.3	622.3	135.3	7.23	8.43											
6	57.00	217.0	0.20	10.00	138.7	469.0	144.3	44.03	8.20											
24	34.67	275.0	0.33	12.33	158.3	633.0	134.7	6.70	8.07											
96	36.00	196.3	0.23	11.67	172.0	585.7	138.0	8.90	9.23											
168	36.00	229.3	0.30	14.00	179.0	644.7	136.3	6.90	7.67											

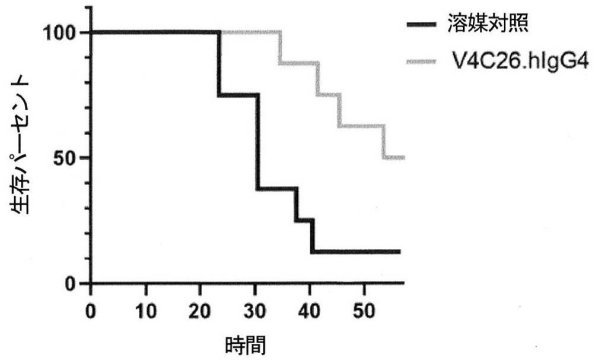
【図６６】



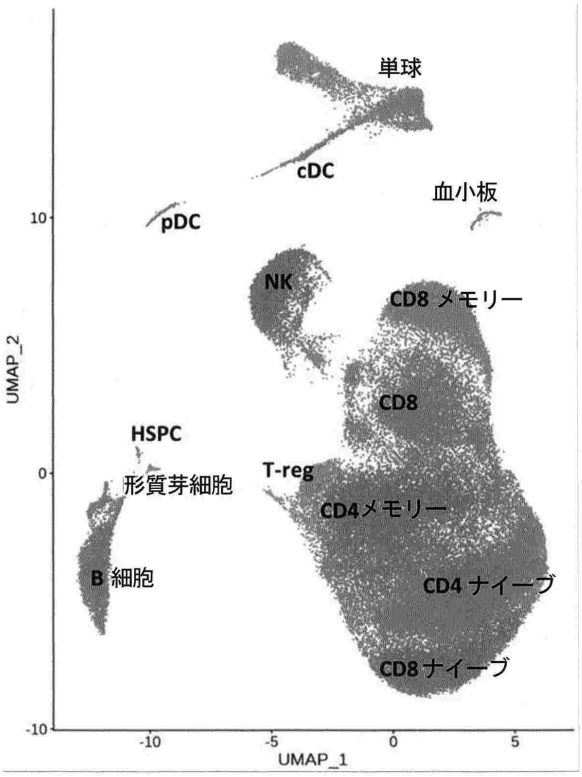
【図６７Ａ】



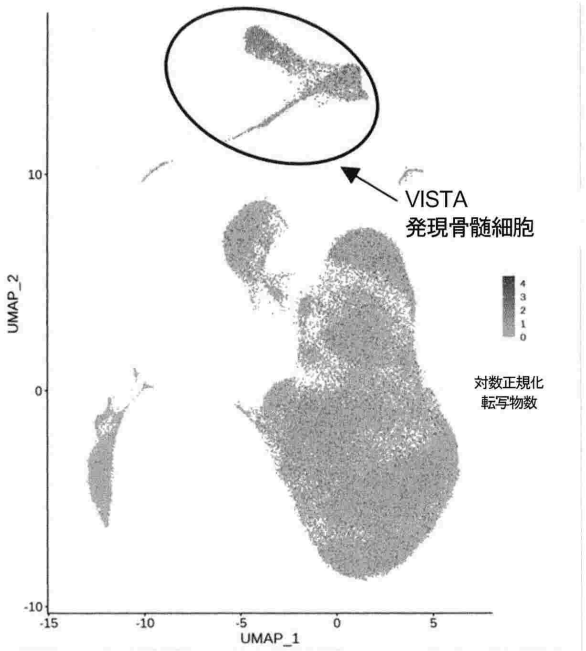
【図６７Ｂ】



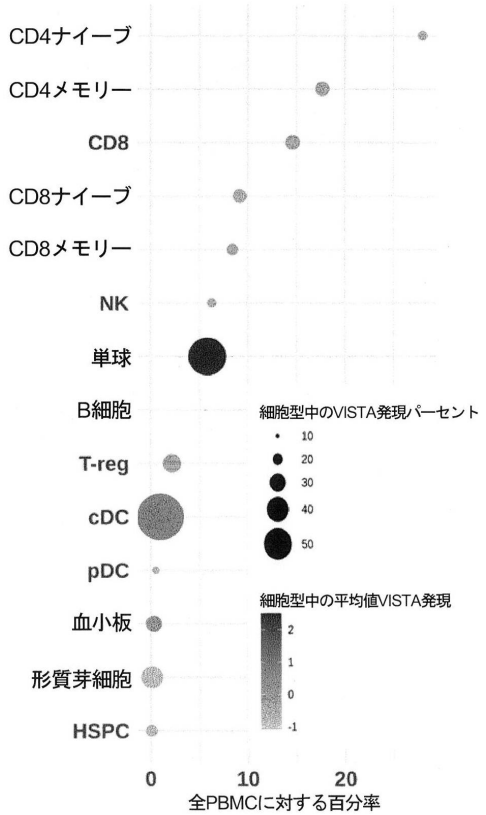
【図６８Ａ】



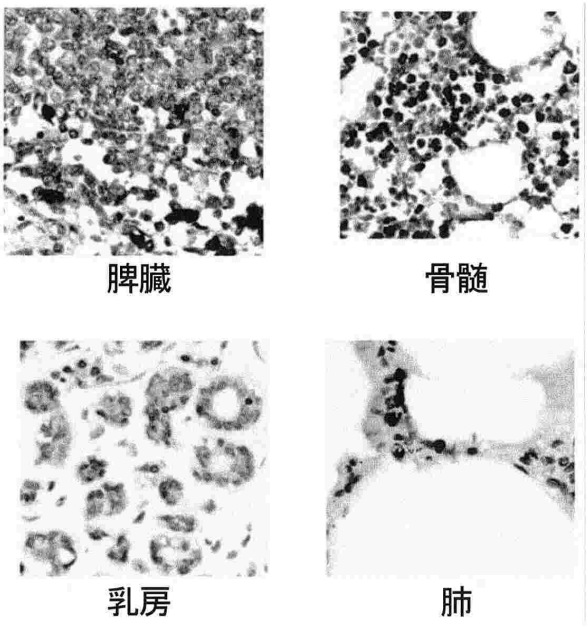
【図６８Ｂ】



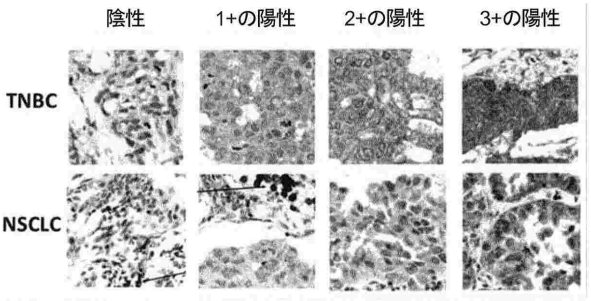
【図６８Ｃ】



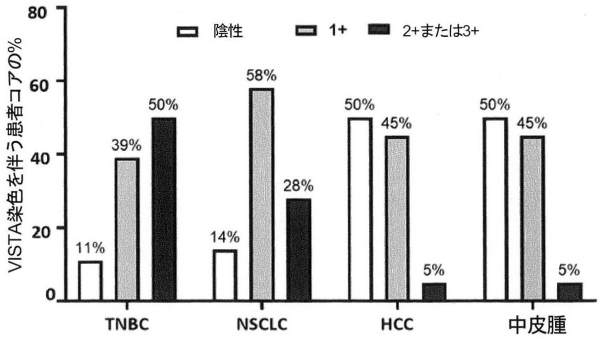
【図６８Ｄ】



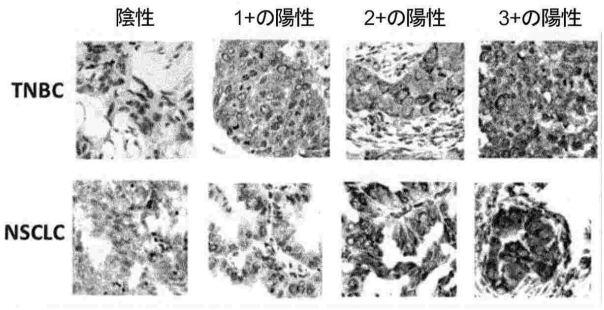
【図６８Ｅ】



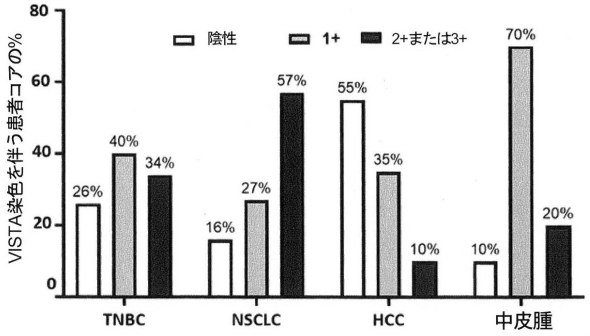
【図６８Ｆ】



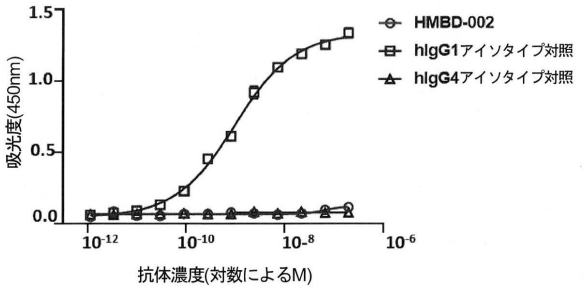
【図６８Ｇ】



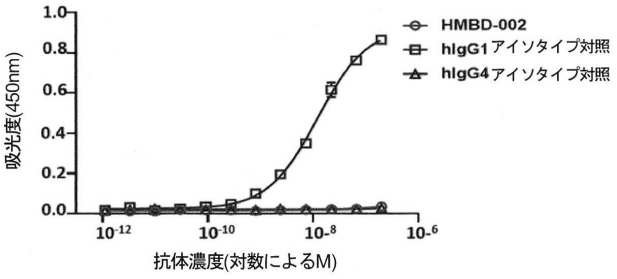
【図６８Ｈ】



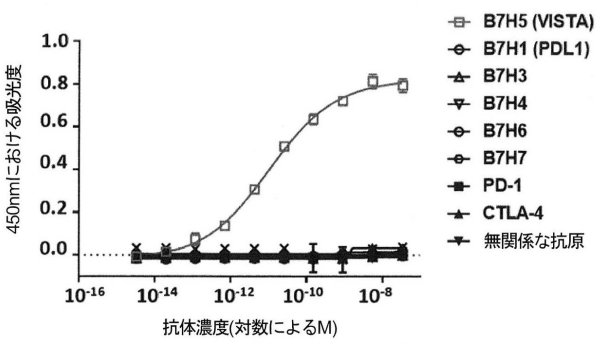
【図６９Ａ】



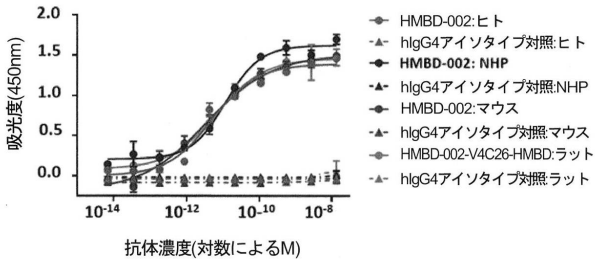
【図６９Ｂ】



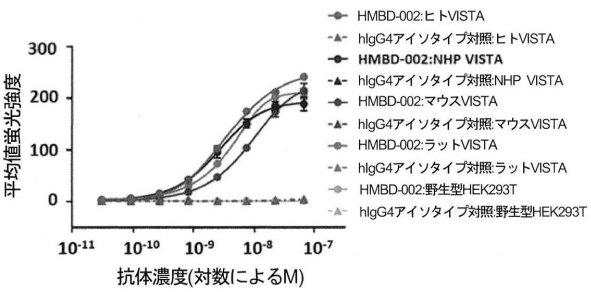
【図７０Ａ】



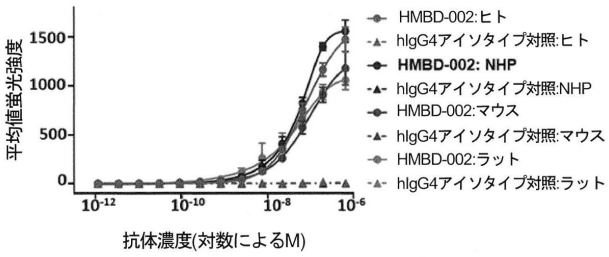
【図７０Ｂ】



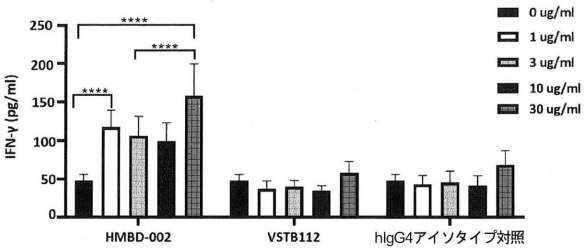
【図７０Ｃ】



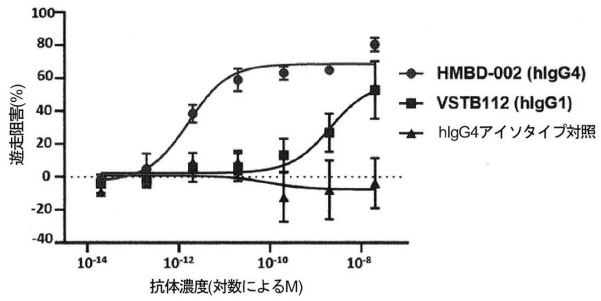
【図７０Ｄ】



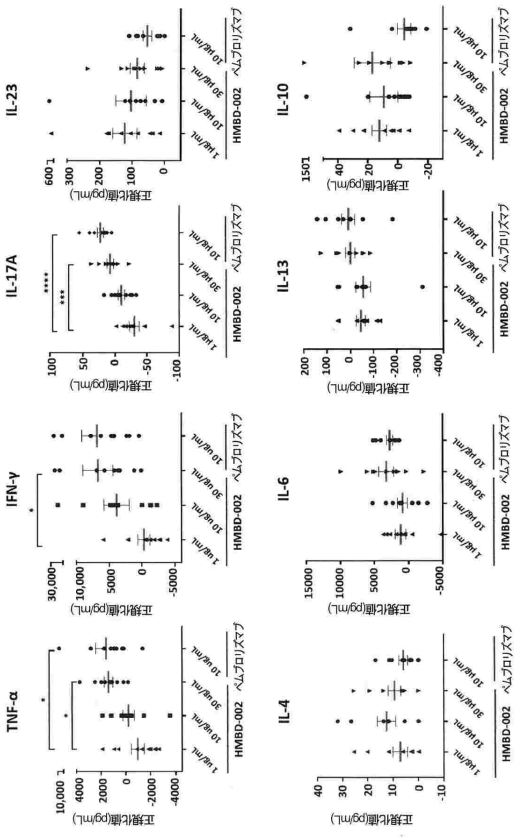
【図７１Ａ】



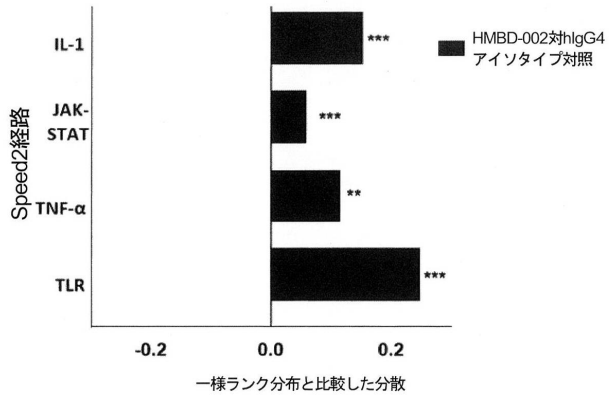
【図７１Ｂ】



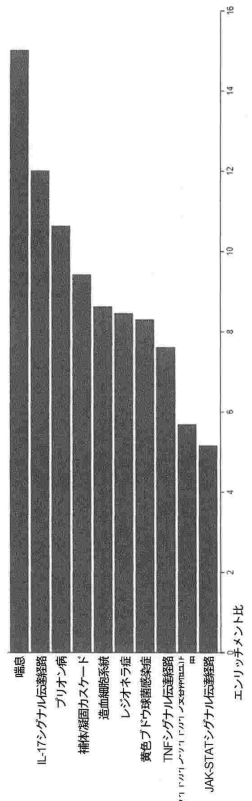
【図７２Ａ】



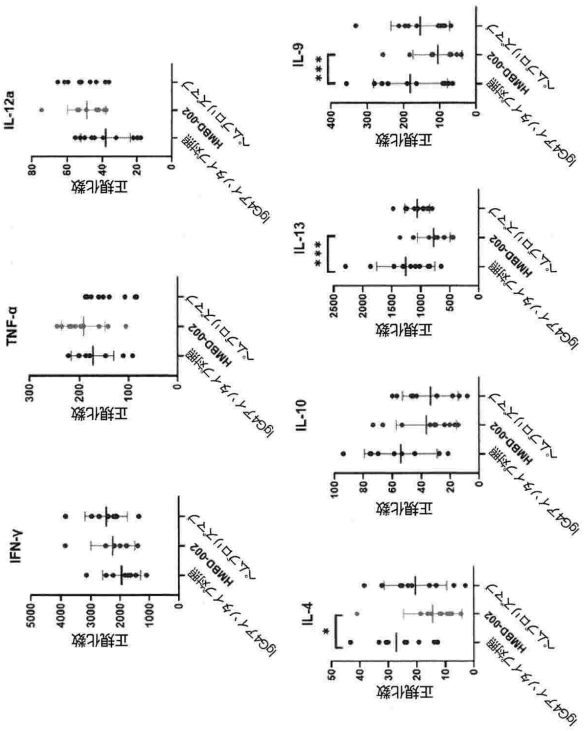
【図７２Ｂ】



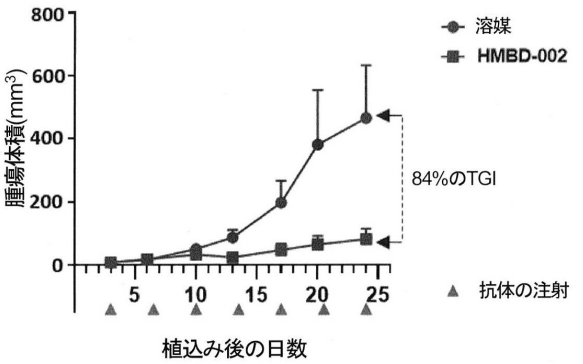
【図７２Ｃ】



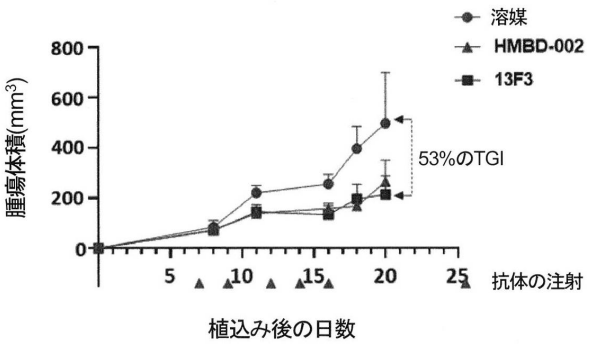
【図７２Ｄ】



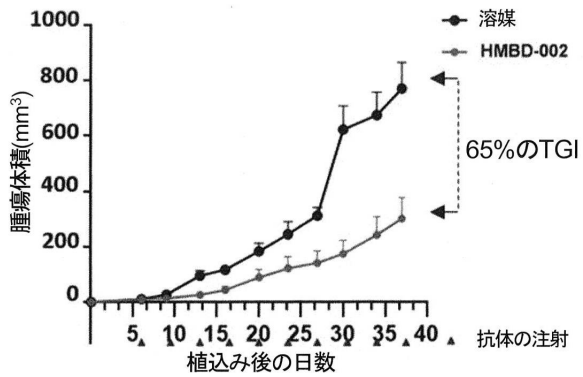
【図７３Ａ】



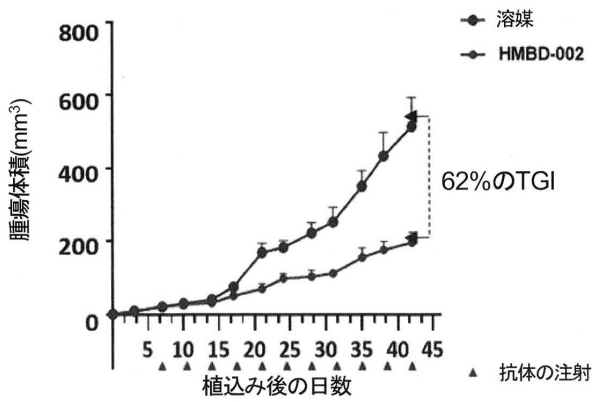
【図７３Ｂ】



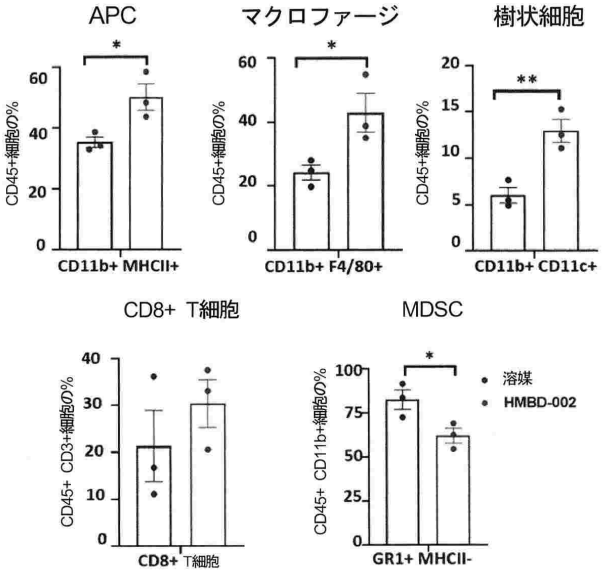
【図７３Ｃ】



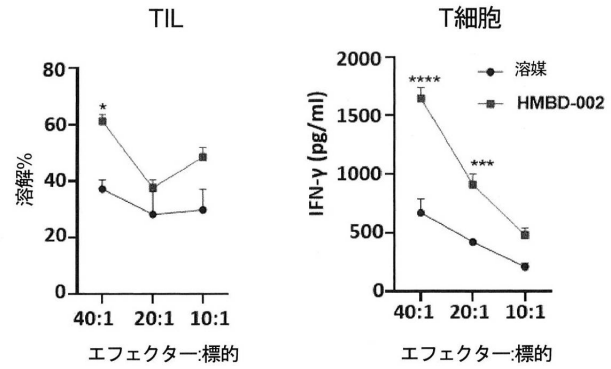
【図７３Ｄ】



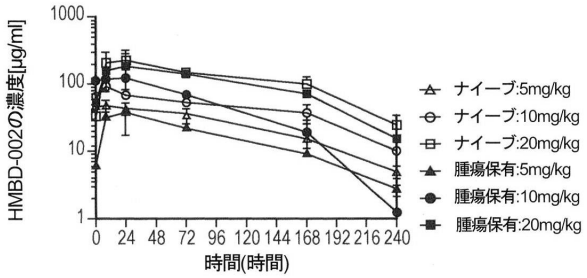
【図７３Ｅ】



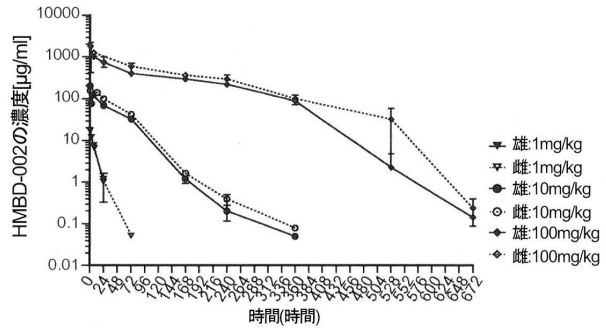
【図７３Ｆ】



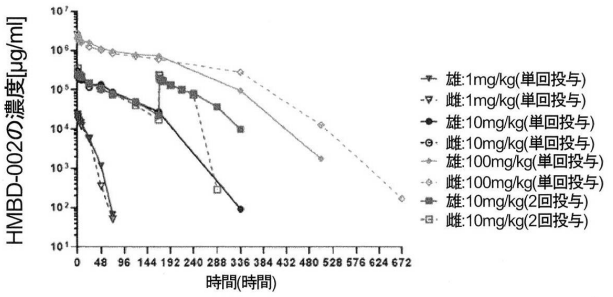
【図７４Ａ】



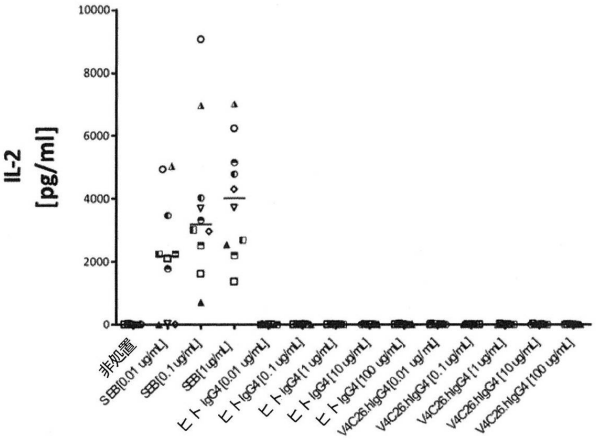
【図７４Ｂ】



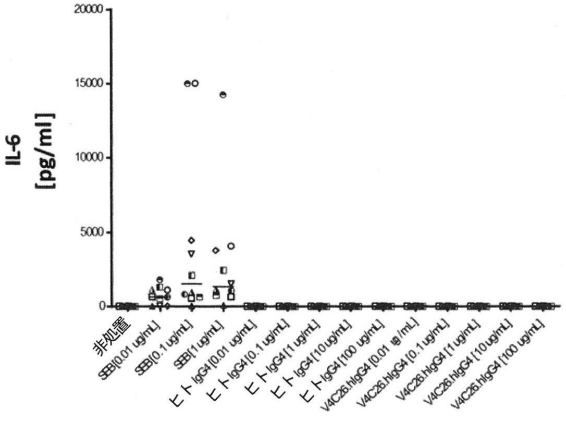
【図７４Ｃ】



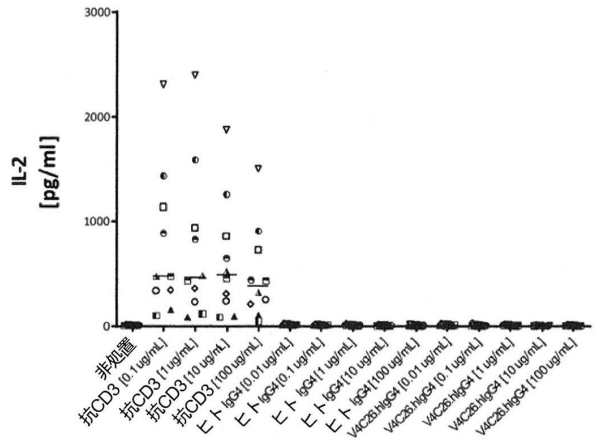
【図７４Ｄ】



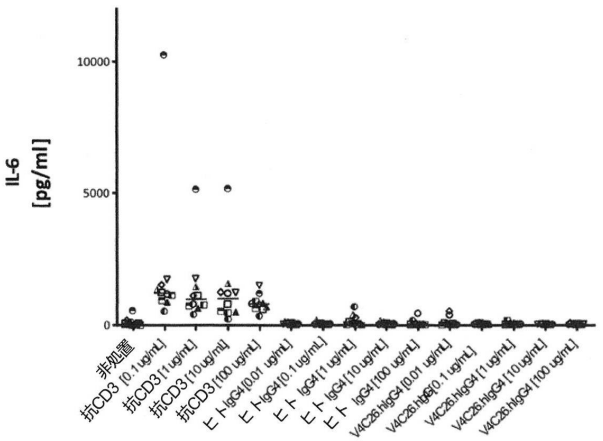
【図７４Ｅ】



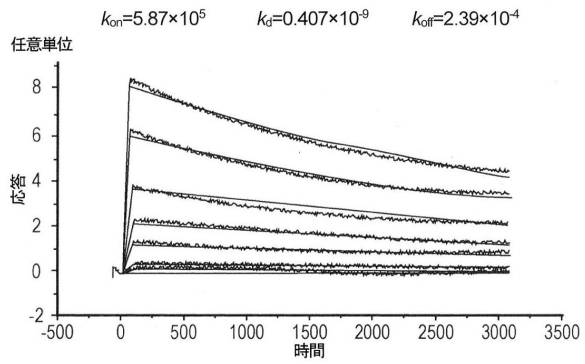
【図７４Ｆ】



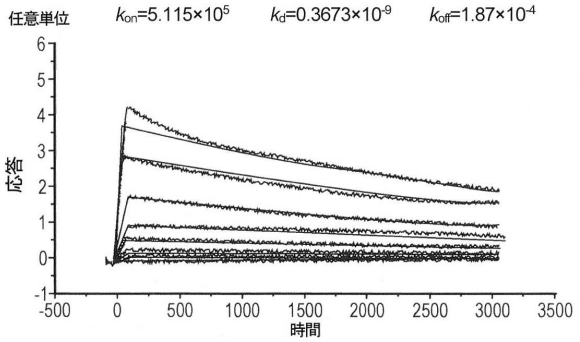
【図７４Ｇ】



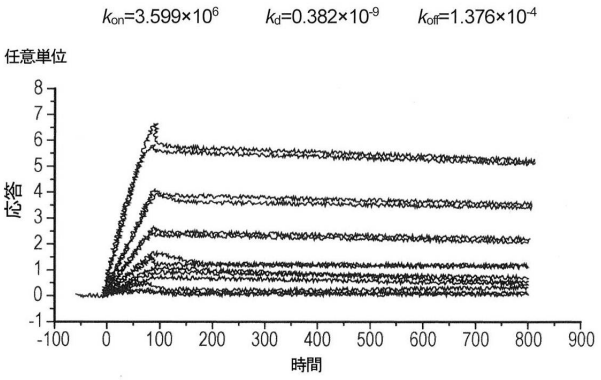
【図７５Ａ】



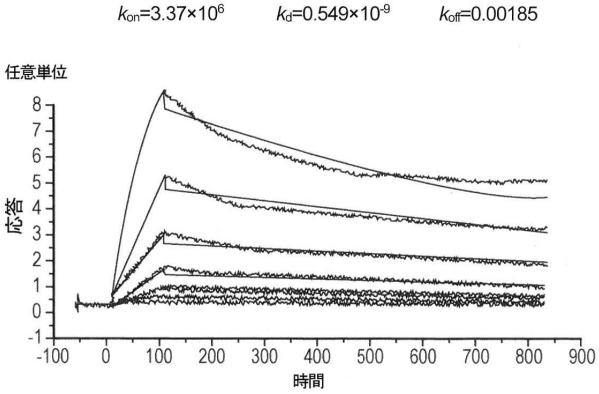
【図７５Ｂ】



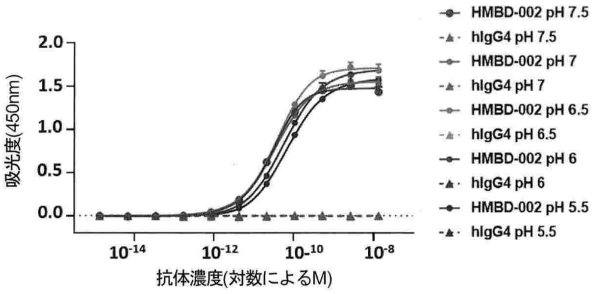
【図７５Ｃ】



【図７５Ｄ】

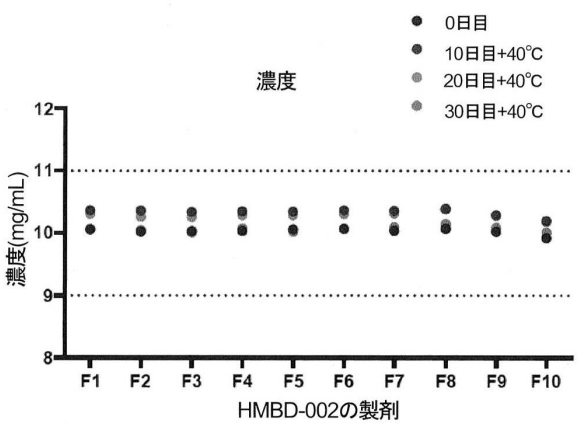


【図７５Ｅ】

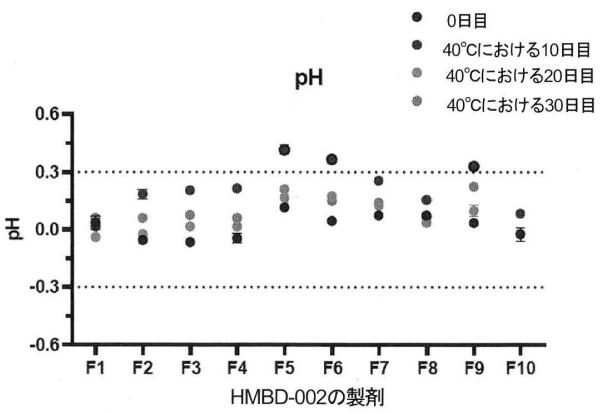


pH	EC_{50}
7.5	2.871×10^{-11}
7	3.431×10^{-11}
6.5	3.630×10^{-11}
6	5.890×10^{-11}
5.5	7.308×10^{-11}

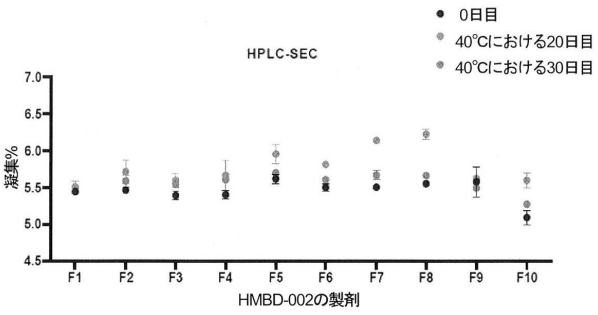
【図７６Ａ】



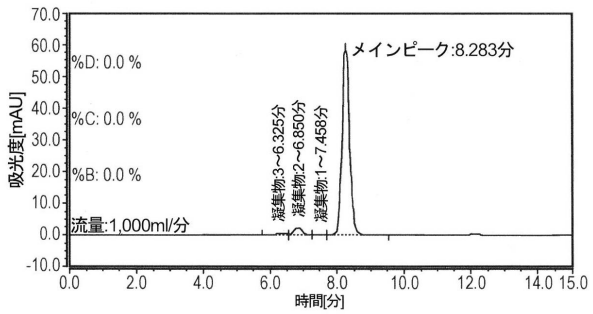
【図７６Ｂ】



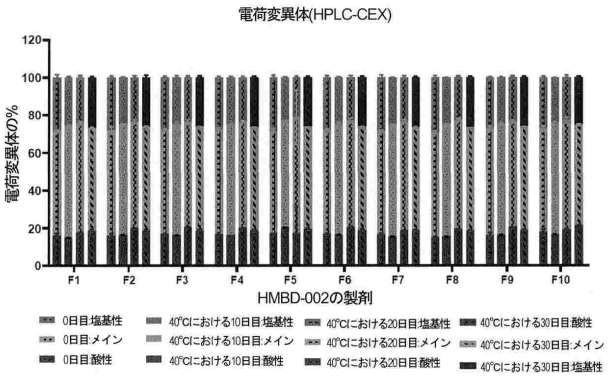
【図７６Ｃ】



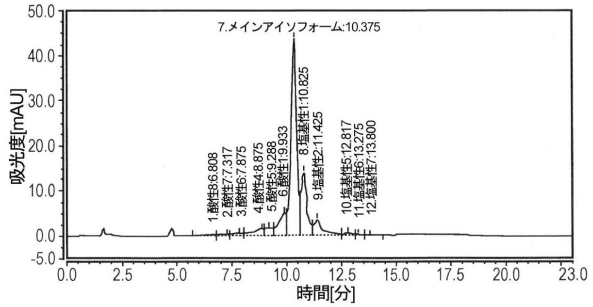
【図７６Ｄ】



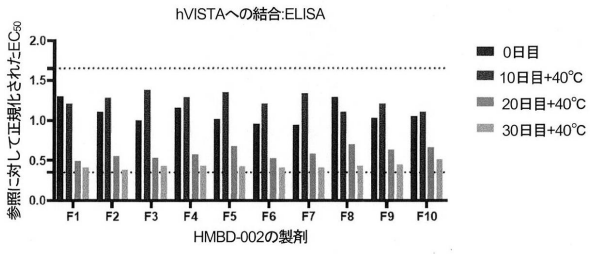
【図７６Ｅ】



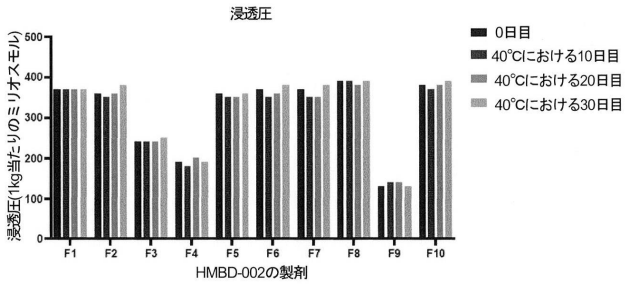
【図７６Ｆ】



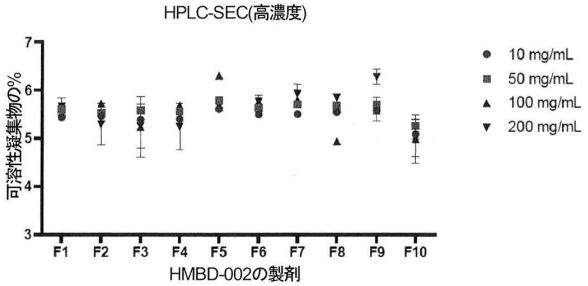
【図７６Ｇ】



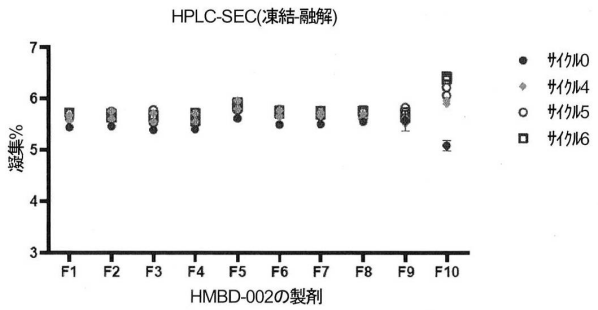
【図７６Ｈ】



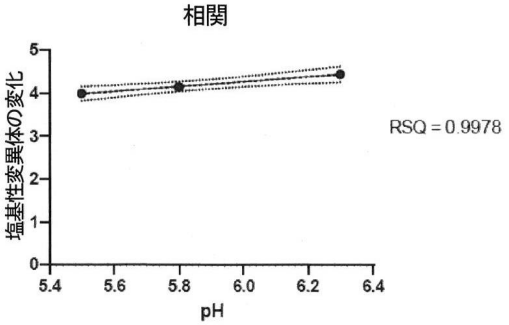
【図７７】



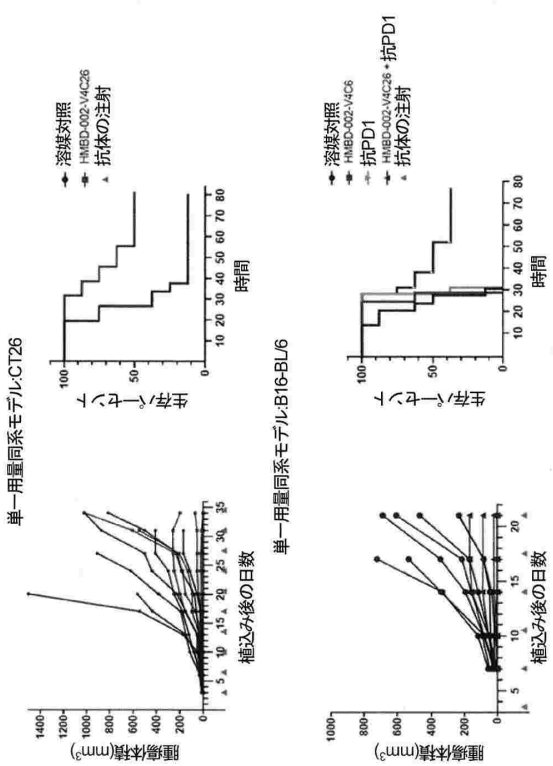
【図７８】



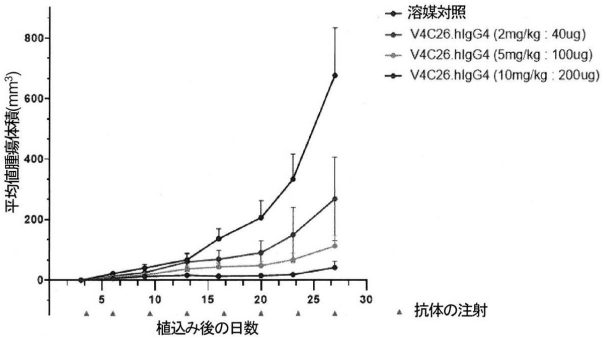
【図７９】



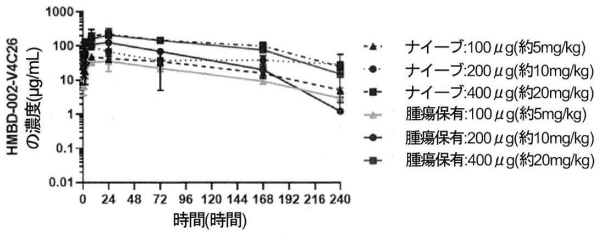
【図８０】



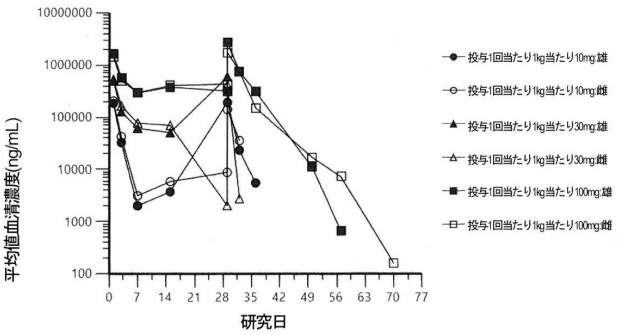
【図８１】



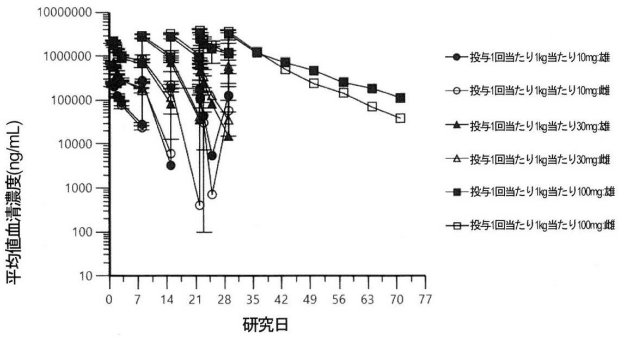
【図８２Ａ】



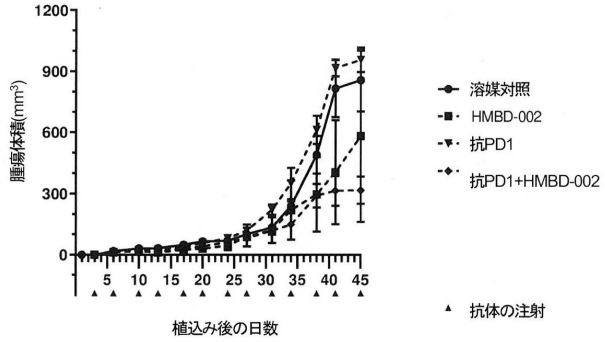
【図８２Ｂ】



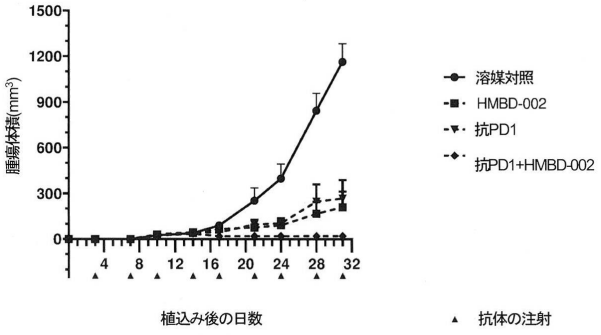
【図８２Ｃ】



【図８３Ａ】



【図８３Ｂ】



【配列表】

2024535053000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/075849

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/395 A61P35/00 C07K16/28
ADD.

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)
A61K A61P C07K

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2019/185879 A1 (HUMMINGBIRD BIOSCIENCE HOLDINGS PTE LTD [SG]; CLEGG RICHARD IAN [GB]) 3 October 2019 (2019-10-03) paragraph [0004]; claim 1; tables pag 106-122 -----	1-29 11-14
X A	WO 2015/097536 A2 (JANSSEN PHARMACEUTICA NV [BE]) 2 July 2015 (2015-07-02) claim 1 -----	1 2-29

-/--

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C. [x] 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
24 January 2023	30/01/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Patti, Gabriele

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/075849

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	VIOLA MARGARIDA ET AL: "Subcutaneous delivery of monoclonal antibodies: How do we get there?", JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 286, 2 August 2018 (2018-08-02), pages 301-314, XP085478006, ISSN: 0168-3659, DOI: 10.1016/J.JCONREL.2018.08.001	11-14
Y	paragraph [0004]	11-14
X	NEAL WHITAKER ET AL: "Subcutaneous delivery of monoclonal antibodies: How do we get there?", JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, vol. 106, no. 11, 1 November 2017 (2017-11-01), pages 3230-3241, XP055449627, US ISSN: 0022-3549, DOI: 10.1016/j.xphs.2017.06.017	11-14
Y	page 3230, column 2nd	11-14
X	UCHIYAMA SUSUMU ED - SHUGAR DAVID ET AL: "Liquid formulation for antibody drugs", BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA (BBA) - PROTEINS & PROTEOMICS, ELSEVIER, NETHERLANDS, vol. 1844, no. 11, 13 August 2014 (2014-08-13), pages 2041-2052, XP029050319, ISSN: 1570-9639, DOI: 10.1016/J.BBAPAP.2014.07.016	11-14
Y	Introduction	11-14

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2022/075849

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☐ forming part of the international application as filed.

   b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2022/075849

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2019185879 A1	03-10-2019	AU 2019240906 A1	29-10-2020
		CA 3095417 A1	03-10-2019
		CN 112513080 A	16-03-2021
		CN 114507285 A	17-05-2022
		DK 3645570 T3	26-04-2021
		EP 3645570 A1	06-05-2020
		EP 3868786 A1	25-08-2021
		ES 2869549 T3	25-10-2021
		JP 7118332 B2	16-08-2022
		JP 2021511818 A	13-05-2021
		JP 2022128604 A	02-09-2022
		KR 20200138324 A	09-12-2020
		PL 3645570 T3	02-08-2021
		PT 3645570 T	13-05-2021
		SG 11202009515R A	29-10-2020
		TW 202003568 A	16-01-2020
		US 2019300610 A1	03-10-2019
		US 2021380697 A1	09-12-2021
		WO 2019185879 A1	03-10-2019
WO 2015097536 A2	02-07-2015	AU 2014372309 A1	21-07-2016
		AU 2017228688 A1	05-10-2017
		AU 2019213384 A1	29-08-2019
		AU 2021215226 A1	02-09-2021
		BR 112016014966 A2	19-09-2017
		CA 2935378 A1	02-07-2015
		CL 2016001646 A1	09-06-2017
		CL 2019002428 A1	07-02-2020
		CL 2021000353 A1	27-08-2021
		CN 106661107 A	10-05-2017
		CN 114163529 A	11-03-2022
		DK 3087098 T3	08-06-2020
		DK 3712174 T3	25-04-2022
		DO P2016000153 A	15-08-2017
		EA 201691323 A1	30-11-2016
		EC SP16062894 A	31-01-2017
		EP 3087098 A2	02-11-2016
		EP 3712174 A1	23-09-2020
		EP 4043493 A1	17-08-2022
		ES 2920677 T3	08-08-2022
		HR P20220748 T1	02-09-2022
		IL 290972 A	01-05-2022
		JP 6590810 B2	16-10-2019
		JP 6924234 B2	25-08-2021
		JP 2017502667 A	26-01-2017
		JP 2019214619 A	19-12-2019
		JP 2021167359 A	21-10-2021
		KR 20160124086 A	26-10-2016
		KR 20210158435 A	30-12-2021
		LT 3712174 T	25-05-2022
		MX 369173 B	30-10-2019
		MY 182431 A	25-01-2021
		NI 201600090 A	26-02-2019
		NZ 721866 A	27-10-2017
		NZ 735662 A	27-11-2020
		PE 20170254 A1	12-04-2017
		PH 12016501244 A1	15-08-2016
		PL 3712174 T3	04-07-2022

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2022/075849

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		PT 3712174 T	27-05-2022
		RS 63295 B1	30-06-2022
		SA 516371402 B1	09-03-2022
		SG 10201805933T A	30-08-2018
		SG 10201912793R A	27-02-2020
		SG 10201912797X A	27-02-2020
		SG 11201605200X A	28-07-2016
		SI 3712174 T1	30-06-2022
		UA 125490 C2	13-04-2022
		US 2017051061 A1	23-02-2017
		US 2020017589 A1	16-01-2020
		US 2022144954 A1	12-05-2022
		UY 35961 A	30-06-2016
		WO 2015097536 A2	02-07-2015

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
A61P	*11/00*	*(2006.01)*	A61P	15/00		
A61K	*47/18*	*(2017.01)*	A61P	11/00		
A61K	*47/26*	*(2006.01)*	A61K	39/395	E	
C12P	*21/08*	*(2006.01)*	A61K	39/395	T	
			A61K	47/18		
			A61K	47/26		
			C12P	21/08		

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,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

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＲＩＴＯＮ

２．ＴＷＥＥＮ

(72)発明者　ボイド－カーカップ，ジェローム
シンガポール国シンガポール　１１７５８６，ジ・アリエス・ナンバー０４－０１／１１，シンガポール・サイエンス・パーク・ツー，ケア・オブ・ハミングバード・バイオサイエンス・プライベート・リミテッド

(72)発明者　グァン，シユ
シンガポール国シンガポール　１１７５８６，ジ・アリエス・ナンバー０４－０１／１１，シンガポール・サイエンス・パーク・ツー，ケア・オブ・ハミングバード・バイオサイエンス・プライベート・リミテッド

(72)発明者　パシュキェヴィチ，コンラッド
シンガポール国シンガポール　１１７５８６，ジ・アリエス・ナンバー０４－０１／１１，シンガポール・サイエンス・パーク・ツー，ケア・オブ・ハミングバード・バイオサイエンス・プライベート・リミテッド

(72)発明者　ロウィンスキー，エリック
アメリカ合衆国テキサス州７７０２１，ヒューストン，ホルコンブ・ブールバード　２４５０，スイート エックス，ティーエムシー・イノベーション，ケア・オブ・ハミングバード・バイオサイエンス・インコーポレイテッド

(72)発明者　タッカー，ディッティ
シンガポール国シンガポール　１１７５８６，ジ・アリエス・ナンバー０４－０１／１１，シンガポール・サイエンス・パーク・ツー，ケア・オブ・ハミングバード・バイオサイエンス・プライベート・リミテッド

(72)発明者　ダルマディカリ，ブーシャン
シンガポール国シンガポール　１１７５８６，ジ・アリエス・ナンバー０４－０１／１１，シンガポール・サイエンス・パーク・ツー，ケア・オブ・ハミングバード・バイオサイエンス・プライベート・リミテッド

(72)発明者　イングラム，ピアーズ
シンガポール国シンガポール　１１７５８６，ジ・アリエス・ナンバー０４－０１／１１，シンガポール・サイエンス・パーク・ツー，ケア・オブ・ハミングバード・バイオサイエンス・プライベート・リミテッド

Ｆターム（参考）　4B064　AG27 CA19 CC24 CE12 DA05
4C076　AA12 BB11 CC27 DD51 DD67 EE23
4C085　AA13 AA14 BB11 CC01 DD62 EE01
4H045　AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA76 EA28 FA74 GA26