

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-537438

(P2019-537438A)

(43) 公表日 令和1年12月26日(2019.12.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13 Z N A	4 B 0 6 4
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63 Z	4 B 0 6 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C 0 8 4
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 C 0 8 5
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 C 0 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 46 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2019-522850 (P2019-522850)	(71) 出願人	509234858
(86) (22) 出願日	平成29年11月1日 (2017.11.1)		アナプティスバイオ インコーポレイティ
(85) 翻訳文提出日	令和1年5月24日 (2019.5.24)		ッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/059619		アメリカ合衆国、カリフォルニア州 9 2
(87) 国際公開番号	W02018/085469		1 2 1、サン ディエゴ、スイート 2 0
(87) 国際公開日	平成30年5月11日 (2018.5.11)		0、パシフィック センター コート 1
(31) 優先権主張番号	62/416, 131		0 4 2 1
(32) 優先日	平成28年11月1日 (2016.11.1)	(71) 出願人	514118169
(33) 優先権主張国・地域又は機関			テサロ、 インコーポレイテッド
	米国 (US)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
(31) 優先権主張番号	62/427, 775		4 5 1、 ウォルサム、 ウィンター ス
(32) 優先日	平成28年11月29日 (2016.11.29)		トリート 1 0 0 0、 スイート 3 3 0
(33) 優先権主張国・地域又は機関			0
	米国 (US)	(74) 代理人	100078282
			弁理士 山本 秀策
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 T I M-3 (T細胞イムノグロブリンおよびムチンタンパク質3) に対する抗体

(57) 【要約】

本開示は、T I M-3 (T細胞イムノグロブリンおよびムチンタンパク質3) タンパク質に結合する抗体剤を提供する。特定のイムノグロブリン重鎖ポリペプチド配列およびイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド配列が明示的に提供される。また、癌、感染症もしくは自己免疫疾患などのT I M-3 阻害に応答する障害または疾患を治療する抗T I M-3 抗体剤を使用することによる、関連の核酸、ベクター、組成物、および方法も提供される。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

T I M-3 (T細胞イムノグロブリンおよびムチンタンパク質 3) を結合することができるポリペプチドであって、前記ポリペプチドが、配列番号 1 に対し、少なくとも 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の配列同一性を持つアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項 2】

配列番号 1 に対し、少なくとも 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、重鎖のポリペプチド。

【請求項 3】

前記ポリペプチドが T I M-3 (T細胞イムノグロブリンおよびムチンタンパク質 3) に結合する、請求項 2 に記載の重鎖のポリペプチド。

【請求項 4】

T I M-3 (T細胞イムノグロブリンおよびムチンタンパク質 3) を結合することができるポリペプチドであって、前記ポリペプチドが、配列番号 2 に対し、少なくとも 80 %、85 %、90 %、95 %、98 %、または 99 % の配列同一性を持つアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項 5】

配列番号 2 に対し、少なくとも 80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、軽鎖のポリペプチド。

【請求項 6】

ポリペプチドが T I M-3 (T細胞イムノグロブリンおよびムチンタンパク質 3) に結合する、請求項 5 に記載の重鎖のポリペプチド。

【請求項 7】

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のポリペプチドおよび／または請求項 4 ~ 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含むポリペプチドであって、該ポリペプチドが、第一のシステインおよび第二のシステインによって形成される少なくとも一つのジスルフィド結合を含み、

i) 前記第一のシステインが、配列番号 1 の残基 22、96、127、140、196、219、222、254、314、360 および 418 から選択され、また前記第二のシステインが、配列番号 2 の残基 23、88、134、194、および 214 から選択されるか、

i i) 前記第一のシステインが、配列番号 1 の残基 22、96、127、140、196、219、222、254、314、360 および 418 から選択され、また前記第二のシステインが、配列番号 1 の残基 22、96、127、140、196、219、222、254、314、360 および 418 から選択されるか、

i i i) 前記第一のシステインが、配列番号 2 の残基 23、88、134、194、および 214 から選択され、また前記第二のシステインが、配列番号 2 の残基 23、88、134、194、および 214 から選択されるか、

i v) 第一の残基が、配列番号 2 の残基 23 であり、また第二の残基が配列番号 2 の残基 88 であるか、

v) 第一の残基が、配列番号 2 の残基 134 であり、また第二の残基が配列番号 2 の残基 194 であるか、

v i) 第一の残基が、配列番号 2 の残基 214 であり、また第二の残基が配列番号 1 の残基 127 であるか、

v i i) 第一の残基が、配列番号 1 の残基 22 であり、また第二の残基が配列番号 1 の残基 97 であるか、

v i i i) 第一の残基が、配列番号 1 の残基 140 であり、また第二の残基が配列番号 1 の残基 196 であるか、

i x) 第一の残基が、配列番号 1 の残基 219 であり、また第二の残基が配列番号 1

10

20

30

40

50

の残基 2 2 2 であるか、

x) 第一の残基が、配列番号 1 の残基 2 5 4 であり、また第二の残基が配列番号 1 の残基 3 1 4 であるか、または

x i) 第一の残基が、配列番号 1 の残基 3 6 0 であり、また第二の残基が配列番号 1 の残基 4 1 8 である、ポリペプチド。

【請求項 8】

ポリペプチドが、グリコシル化された少なくとも一つのアスパラギンを含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 9】

配列番号 1 のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、単離された核酸配列。

10

【請求項 10】

配列番号 2 のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、単離された核酸配列。

【請求項 11】

単離された核酸であって、それがもつ配列が配列番号 3 を含む、単離された核酸。

【請求項 12】

単離された核酸であって、それがもつ配列が配列番号 4 を含む、単離された核酸。

【請求項 13】

請求項 9 ～ 12 のいずれか一項に記載の単離された核酸の配列を含む、ベクター。

【請求項 14】

請求項 13 に記載のベクターを含む、単離された細胞。

20

【請求項 15】

請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、抗体剤。

【請求項 16】

前記抗体剤が、それがもつアミノ酸配列が配列番号 1 を含むものであるポリペプチドと、それがもつアミノ酸配列が配列番号 2 を含むものであるポリペプチドとを含む、請求項 15 記載の抗体剤。

【請求項 17】

前記抗体剤が T I M - 3 に結合する、請求項 15 または 16 に記載の抗体剤。

【請求項 18】

前記抗体剤が、約 1 ピコモル (pM) から約 100 マイクロモル (μM) の K_D で T I M - 3 に結合する、請求項 15 ～ 17 のいずれか一項に記載の抗体剤。

30

【請求項 19】

(a) 請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載のポリペプチド、(b) 請求項 9 ～ 12 のいずれか一項に記載の前記単離された核酸、(c) 請求項 13 に記載の前記ベクター、(d) 請求項 14 に記載の前記単離された細胞、または (e) 請求項 15 ～ 18 のいずれか一項に記載の前記抗体剤を含む、組成物。

【請求項 20】

前記組成物が薬剤的に許容可能な担体をさらに含む、請求項 19 記載の組成物。

【請求項 21】

T I M - 3 障害に応答する、哺乳類における障害の治療方法であって、該方法は、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 9 ～ 12 のいずれか一項に記載の前記単離された核酸、請求項 13 に記載の前記ベクター、請求項 14 に記載の前記単離された細胞、請求項 15 ～ 18 のいずれか一項に記載の前記抗体剤、または、請求項 19 もしくは 20 に記載の前記組成物を効果量で、T I M - 3 障害に応答する障害を有する哺乳類に投与することを含むものであって、それによって前記哺乳類において前記障害が治療される、方法。

40

【請求項 22】

T I M - 3 障害に応答する障害を有する哺乳類における免疫応答を誘導する方法であって、該方法は、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 9 ～ 12 のいずれか一項に記載の前記単離された核酸、請求項 13 に記載の前記ベクター、請求項 14

50

に記載の前記単離された細胞、請求項 15～18 のいずれか一項に記載の前記抗体剤、または、請求項 19 もしくは 20 に記載の前記組成物からなる群から選択される T I M－3 薬剤を効果量で前記哺乳類に投与することを含むものであって、それによって前記哺乳類において免疫応答が誘導される、方法。

【請求項 23】

T I M－3 阻害に応答する障害を有する哺乳類における免疫応答を増強または免疫細胞の活性を増加する方法であって、該方法は、請求項 1～8 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 9～12 のいずれか一項に記載の前記単離された核酸、請求項 13 に記載の前記ベクター、請求項 14 に記載の前記単離された細胞、請求項 15～18 のいずれか一項に記載の前記抗体剤、または、請求項 19 もしくは 20 に記載の前記組成物からなる群から選択される T I M－3 薬剤を効果量で前記哺乳類に投与することを含むものであって、それによって前記哺乳類において免疫応答または免疫細胞の活性が増強または増加される、方法。

10

【請求項 24】

前記免疫応答が体液媒介性または細胞媒介性の免疫応答である、請求項 22 または 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記免疫応答が C D 4 T 細胞応答または C D 8 T 細胞応答である、請求項 24 記載の方法。

【請求項 26】

前記免疫応答が B 細胞応答である、請求項 24 記載の方法。

20

【請求項 27】

前記障害は、癌である、請求項 21～26 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記癌が、

- i) 高い腫瘍遺伝子変異量 (T M B) に関連する癌、
- i i) マイクロサテライト安定性 (M S S) である癌、
- i i i) マイクロサテライト不安定性を特徴とする癌、
- i v) 高いマイクロサテライト不安定性ステータス (M S I－H) を持つ癌、
- v) 低いマイクロサテライト不安定性ステータス (M S I－L) を持つ癌、
- v i) 高い T M B および M S I－H に関連する癌、
- v i i) 高い T M B および M S I－L もしくは M S S に関連する癌、
- v i i i) 欠陥のある D N A ミスマッチ修復システムを有する癌、
- i x) D N A ミスマッチ修復遺伝子に欠陥を有する癌、
- x) 超突然変異の癌、
- x i) ポリメラーゼエプシロン (P O L E) において突然変異を含む癌、
- x i i) 腺癌、子宮内膜癌、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、卵管癌、精巣癌、原発性腹膜癌、大腸癌、結腸直腸癌、胃癌、小腸癌、肛門性器部の扁平上皮細胞癌、黒色腫、腎細胞癌、肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、肺の扁平上皮細胞癌、胃癌、膀胱癌、胆嚢癌、肝癌、甲状腺癌、喉頭癌、唾液腺癌、食道癌、頭頸部癌、頭頸部の扁平上皮細胞癌、前立腺癌、膀胱癌、中皮腫、メルケル細胞癌、肉腫、神経膠芽腫、血液癌、多発性骨髄腫、B 細胞リンパ腫、T 細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫／原発性縦隔 B 細胞リンパ腫もしくは慢性骨髄性白血病、または、

30

x i i i) x i i) の癌であって、M S S もしくは M S I－L であるか、マイクロサテライト不安定性を特徴とするか、M S I－H であるか、高い T M B を有するか、高い T M B を有して M S S もしくは M S I－L であるか、高い T M B を有して M S I－H であるか、欠陥のある D N A ミスマッチ修復システムを有するか、D N A ミスマッチ修復遺伝子に欠陥を有するか、超突然変異の癌であるか、もしくは、ポリメラーゼエプシロン (P O L E) において突然変異を含む癌である、請求項 27 記載の方法。

40

x i i i) x i i) の癌であって、M S S もしくは M S I－L であるか、マイクロサテライト不安定性を特徴とするか、M S I－H であるか、高い T M B を有するか、高い T M B を有して M S S もしくは M S I－L であるか、高い T M B を有して M S I－H であるか、欠陥のある D N A ミスマッチ修復システムを有するか、D N A ミスマッチ修復遺伝子に欠陥を有するか、超突然変異の癌であるか、もしくは、ポリメラーゼエプシロン (P O L E) において突然変異を含む癌である、請求項 27 記載の方法。

【請求項 29】

50

前記障害が、感染症である、請求項 2 1 ～ 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記感染症がウイルスまたは細菌によって引き起こされる、請求項 2 9 記載の方法。

【請求項 3 1】

前記ウイルスが、ヒト免疫不全ウイルス（H I V）、R S ウイルス（R S V）、インフルエンザウイルス、デングウイルス、または B 型肝炎ウイルス（H B V）である、請求項 3 0 記載の方法。

【請求項 3 2】

前記障害が、自己免疫疾患である、請求項 2 1 ～ 2 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記自己免疫疾患が、多発性硬化症、1 型糖尿病、関節リウマチ、強皮症、クローン病、乾癬、全身性エリテマトーデス（S L E）、または潰瘍性大腸炎である、請求項 3 2 記載の方法。

【請求項 3 4】

前記哺乳類は、P D - 1 を阻害する薬剤が投与されているか、または投与されることになっているものであって、前記哺乳類が両方を受ける、請求項 2 1 ～ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 5】

P D - 1 を阻害する前記薬剤が、P D - 1 結合剤である、請求項 3 4 記載の方法。

【請求項 3 6】

前記 P D - 1 結合剤が、抗体、抗体結合体、またはその抗原結合断片である、請求項 3 5 記載の方法。

【請求項 3 7】

前記抗 P D - 1 抗体が、B G B - A 3 1 7、B I 7 5 4 0 9 1、I B I 3 0 8、I N C S H R - 1 2 1 0、J N J - 6 3 7 2 3 2 8 3、J S - 0 0 1、M E D I - 0 6 8 0、M G A - 0 1 2、ニボルマブ、P D R 0 0 1、ペムブロリズマブ、P F - 0 6 8 0 1 5 9 1、R E G N - 2 8 1 0、T S R - 0 4 2、およびそれらの誘導体からなる群から選択される抗体である、請求項 3 6 記載の方法。

【請求項 3 8】

P D - 1 を阻害する前記薬剤が、抗 P D - L 1 / L 2 薬剤である、請求項 3 4 記載の方法。

【請求項 3 9】

前記抗 P D - L 1 / L 2 薬剤が抗 P D - L 1 抗体である、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記抗 P D - L 1 抗体剤は、アテゾリズマブ、アベルマブ、C X - 0 7 2、デュルバルマブ、F A Z 0 5 3、L Y 3 3 0 0 0 5 4、P D - L 1 M i l l a m o l e c u l e、またはその誘導体である、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記哺乳類は、L A G - 3 を阻害する薬剤が投与されているか、または投与されることになっているものであって、前記哺乳類が両方を受ける、請求項 2 1 ～ 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 2】

L A G - 3 を阻害する薬剤が、L A G - 3 結合剤である、請求項 4 1 記載の方法。

【請求項 4 3】

前記 L A G - 3 結合剤が、抗体、抗体結合体、またはその抗原結合断片である、請求項 4 2 記載の方法。

【請求項 4 4】

前記哺乳類は、T I M - 3 を阻害する薬剤と、P D - 1 を阻害する薬剤と、L A G - 3 を阻害する薬剤とのそれぞれでの治療を受けているか、または受けることになっているものであって、前記哺乳類が三つすべてを受ける、請求項 4 1 ～ 4 3 のいずれか一項に記載

10

20

30

40

50

の方法。

【請求項 45】

前記哺乳類は、PARPを阻害する薬剤が投与されているか、または投与されることになっているものであって、前記哺乳類が両方を受ける、請求項 21～44のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 46】

前記PARPを阻害する薬剤が、小分子、核酸、ポリペプチド（例えば抗体）、炭水化物、脂質、金属または毒素である、請求項 45記載の方法。

【請求項 47】

前記PARPを阻害する薬剤が、ABT-767、AZD 2461、BGB-290 10
、BGP 15、CEP 8983、CEP 9722、DR 2313、E7016、
E7449、Fluzoparib (SHR 3162)、IMP 4297、INO1
001、JPI 289、JPI 547、モノクローナル抗体B3-LysPE40結
合体、MP 124、ニラパリブ (ZEUJA) (MK-4827)、NU 1025
、NU 1064、NU 1076、NU1085、オラパリブ (AZD2281)、O
NO2231、PD 128763、R 503、R554、ルカパリブ (RUBRAC
A) (AG-014699、PF-01367338)、SBP 101、SC 101
914、Simmiparib、タラゾパリブ (BMN-673)、ベリパリブ (ABT
-888)、WW 46、2- (4- (トリフルオロメチル) フェニル) -7, 8-ジヒ
ドロ-5H-チオピラノ [4, 3-d] ピリミジン-4-オール (2- (4- (Trif
luoromethyl) phenyl) -7, 8-dihydro-5H-thiopy
rano [4, 3-d] pyrimidin-4-ol)、およびその塩または誘導体 20
からなる群から選択される、請求項 45または46に記載の方法。

【請求項 48】

前記哺乳類は、TIM-3 薬剤と、PD-1 薬剤を阻害する薬剤と、PARPを阻害する薬剤とのそれぞれでの治療を受けるものであって、前記哺乳類が三つすべてを受ける、請求項 45～47のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 49】

前記方法は、前記哺乳類がLAG-3を阻害する薬剤での治療を受けることをさらに含むものであって、前記哺乳類が四つすべてを受ける、請求項 48記載の方法。 30

【請求項 50】

前記哺乳類が、PD-1を阻害する薬剤での治療に対し耐性がある、請求項 21～49のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 51】

前記哺乳類が、PD-1を阻害する薬剤での治療に対し抵抗性がある、請求項 21～50のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 52】

前記方法が、PD-1を阻害する薬剤で治療する前記哺乳類に感作する、請求項 21～51のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 53】

前記哺乳類が疲弊した免疫細胞を含む、請求項 50～52のいずれか一項に記載の方法 40

【請求項 54】

前記疲弊した免疫細胞は疲弊したT細胞である、請求項 53記載の方法。

【請求項 55】

前記哺乳類がヒトである、請求項 21～54のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 56】

前記哺乳類が、一つ以上の異なる癌治療様式で予め治療された、請求項 21～55のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 57】

前記哺乳類が、手術、放射線療法、化学療法、または免疫療法のうちの一つ以上で予め治療された、請求項 5 6 記載の方法。

【請求項 5 8】

前記哺乳類が細胞傷害性療法で予め治療された、請求項 5 6 または 5 7 に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記方法が、別の治療剤を投与することまたは別の治療を施すことをさらに含む、請求項 2 1 ～ 5 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記方法が、手術、放射線療法、化学療法、免疫療法、抗血管新生薬、または抗炎症薬のうちの一つ以上を施すことをさらに含む、請求項 5 9 に記載の方法。

10

【請求項 6 1】

宿主細胞培養においてポリペプチドをコードする核酸を発現することによって、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載のポリペプチドを製造する方法。

【請求項 6 2】

宿主細胞培養において抗体剤をコードする核酸を発現することによって、請求項 1 5 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の抗体剤を製造する方法。

【請求項 6 3】

請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 9 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の前記単離された核酸、請求項 1 3 に記載の前記ベクター、請求項 1 4 に記載の前記単離された細胞、または、請求項 1 5 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の前記抗体剤を、薬剤的に許容可能な担体と組み合わせることと、対象に投与するために調製することとによって、請求項 1 9 または 2 0 の前記組成物を製造する方法。

20

【請求項 6 4】

投与するために調製する工程が、非経口送達のための調製を含む、請求項 6 3 に記載の方法。

【請求項 6 5】

請求項 2 1 ～ 6 0 のいずれか一項に記載の方法のうちの一つにおいて用いるための、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載のポリペプチド、請求項 9 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の前記単離された核酸、請求項 1 3 に記載の前記ベクター、請求項 1 4 に記載の前記単離された細胞、請求項 1 5 ～ 1 8 のいずれか一項に記載の前記抗体剤、または、請求項 1 9

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

本出願は、2016年11月1日出願の米国仮出願第62／416,131号、および2016年11月29日出願の米国仮出願第62／427,775号の利益を主張し、その両方の内容はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

癌は重大な公衆衛生問題であり、American Cancer Society, Cancer Facts & Figures 2016 (<http://www.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/document/acspc-047079.pdf>)によれば、2016年だけでも米国の約595,690人が癌で死亡すると予測されている。

40

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0003】

【非特許文献1】American Cancer Society, Cancer Facts & Figures 2016 (<http://www.cancer.org/>

50

acs/groups/content/@research/documents/document/acspc-047079.pdf

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0004】

タンパク質であるTIM-3（T細胞イムノグロブリンおよびムチンドメイン-3）は、A型肝炎ウイルス細胞受容体2（HAVCR2）としても知られており、マウスにおけるマクロファージ活性化を調節して実験的自己免疫性脳脊髄炎の重症度を高めるようなTh1特異的細胞表面タンパク質である。TIM-3は、例えば、Th1 IFN- γ + 細胞、Th17細胞、天然キラー（NK）細胞、単球、および腫瘍関連樹状細胞（DC）を含む、複数の免疫細胞型の表面で高度に発現する（例えば、Clayton et al., J. Immunol., 192（2）：782-791（2014）；Jones et al., J. Exp. Med., 205：2763-2779（2008）；Monney et al., Nature, 415：536-541（2002）；Hastings et al., Eur. J. Immunol., 39：2492-2501（2009）；Seki et al., Clin. Immunol., 127：78-88（2008）；Ju et al., B. J. Hepatol., 52：322-329（2010）；Anderson et al., Science, 318：1141-1143（2007）；Baitsch et al., PLoS ONE, 7：e30852（2012）；Ndhlovu et al., Blood, 119：3734-3743（2012）を参照）。TIM-3はまた、さまざまな慢性ウイルス感染症（例えば、HIV、HCV、およびHBV）および特定の癌において、「疲弊した」または障害性のCD8+ T細胞において高度に発現する（例えば、McMahan et al., J. Clin. Invest., 120（12）：4546-4557（2010）；Jin et al., Proc Natl Acad Sci USA, 107（33）：14733-14738（2010）；Golden-Mason et al., J. Virol., 83（18）：9122-9130（2009）；Jones et al., 上記；Fourcade et al., J. Exp. Med., 207（10）：2175-2186（2010）；Sakuishi et al., J. Exp. Med., 207（10）：2187-2194（2010）；Zhou et al., Blood, 117（17）：4501-4510（2011）；Ngiew et al., Cancer Res., 71（10）：3540-3551（2011）を参照）。

TIM-3の推定上のリガンドには、ホスファチジルセリン（Nakayama et al., Blood, 113：3821-3830（2009））、ガレクチン-9（Zhu et al., Nat. Immunol., 6：1245-1252（2005））、高移動度群タンパク質1（HMGB1）（Chiba et al., Nature Immunology, 13：832-842（2012））、および癌胎児抗原細胞接着分子1（CEACAM1）（Huang et al., Nature, 517（7534）：386-90（2015））が含まれる。

【0005】

TIM-3は、免疫応答の様々な態様を調節する機能を果たす。TIM-3とガレクチン9（Gal-9）との相互作用は、細胞死を誘発し、インビボにおけるこの相互作用の遮断は、実験モデルにおける自己免疫性を増悪させて強化耐性を抑制するものであって、TIM-3が負の調節分子であることを強く示唆する。T細胞に対するその影響とは対照的に、TIM-3-Gal-9間の相互作用は、細胞内病原体のマクロファージクリアランスを促進することによって抗菌効果を呈する（例えば、Sakuishi et al., Trends in Immunology, 32（8）：345-349（2011）を参照）。インビボでは、TIM-3の抑制は、実験的自己免疫性脳脊髄炎の病理学的重症度を高めることがわかっている（Monney et al., 上記；および、A

Anderson, A. C. and Anderson, D. E., Curr. Opin. Immunol., 18: 665-669 (2006))。また研究により、TIM-3-ガレクチン-9間の経路の異常調節が、多発性硬化症等の慢性自己免疫疾患において役目を果たしているとされる (Anderson and Anderson、上記)。TIM-3は、その固有の結合裂を通してホスファチジルセリンと結合することによってアポトーシス細胞のクリアランスを促進する (例えば、DeKruyff et al., J. Immunol., 184 (4): 1918-1930 (2010) を参照)。

【0006】

モノクローナル抗体の使用を介するなどのTIM-3活性の阻害は、現在、前臨床試験に基づく腫瘍の免疫療法として調査されている (例えば、Ngiew et al., Cancer Res., 71 (21): 1-5 (2011); Guo et al., Journal of Translational Medicine, 11: 215 (2013); および、Ngiew et al., Cancer Res., 71 (21): 6567-6571 (2011) を参照)。

【0007】

高親和性でTIM-3と結合し、TIM-3活性を効果的に中和する、TIM-3の追加的なアンタゴニスト (例えば、抗体) に対するニーズがある。

【0008】

本開示は、例えば、ポリペプチド、核酸、細胞、および様々な方法論などを含む、抗体剤及び様々な組成物及びそれに関する方法を提供する。

【0009】

本発明は、TIM-3に結合する新規抗体を提供する。一部の実施形態では、本発明の抗体は、高い親和性でTIM-3に結合し、TIM-3活性を効果的に中和する。一部の実施形態では、抗体の重鎖ポリペプチド (配列番号1) 配列および軽鎖ポリペプチド (配列番号2) 配列が明示的に提供される。

【0010】

本開示は、配列番号1で表されるアミノ酸配列を有するポリペプチドまたは単離されたイムノグロブリン重鎖ポリペプチドを提供する。本開示は、配列番号1で表されるものと少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の全体の同一性を共有するアミノ酸配列を有するポリペプチドまたは単離されたイムノグロブリン重鎖ポリペプチドをさらに提供する。一部の実施形態では、配列番号1で表される配列に対する配列差が、CDR内にない。一部の実施形態では、ポリペプチドまたは単離されたイムノグロブリン重鎖ポリペプチドは、配列番号1の三つのCDRすべてを含む。一部の実施形態では、ポリペプチドまたは単離されたイムノグロブリン重鎖ポリペプチドは、シグナルペプチドを含む。一部の実施形態では、シグナルペプチドを含むポリペプチドまたはイムノグロブリン重鎖ポリペプチドは、配列番号5で表されるアミノ酸配列を有する。

【0011】

一部の実施形態では、提供されるポリペプチドまたはイムノグロブリン重鎖ポリペプチドは、IgG4ポリペプチドであるか、またはIgG4ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、提供されるポリペプチドまたはイムノグロブリン重鎖ポリペプチドは、ヒトIGHG4*01ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、提供されるポリペプチドまたはイムノグロブリン重鎖ポリペプチドは、IgG重鎖領域内に一つ以上の変異を含む。一部の実施形態では、提供されるポリペプチドまたはイムノグロブリン重鎖ポリペプチドは、重鎖定常領域内に1以上の変異を有するIgG4重鎖定常領域を含む。一部の実施形態では、提供されるポリペプチドまたはイムノグロブリン重鎖ポリペプチドは、ヒンジ領域内に1以上の変異を有するIgG4重鎖定常領域を含む。一部の実施形態では、IgG4ヒンジ領域内の変異は、他のIgG4分子との半分子交換を阻止しうることが想定される。一部の実施形態では、IgG4のヒンジ領域内の一つ以上の変異は、その他のIgG4分子との半分子の交換を阻止するセリンからプロリンへの安定化変異を含みうる。一部の

実施形態では、I g G 4 のヒンジ領域の一つ以上の変異は、S 2 2 8 P 変異を含みうる。例えば、J. B i o l. C h e m. 2 0 1 5 ; 2 9 0 (9) : 5 4 6 2 - 5 4 6 9 を参照されたい。

【0012】

本開示は、配列番号2で表されるアミノ酸配列を有するポリペプチドまたは単離されたイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドを提供する。本開示は、配列番号2で表されるものと少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の全体の同一性を共有するアミノ酸配列を有するポリペプチドまたは単離されたイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドをさらに提供する。一部の実施形態では、配列番号2で表される配列に対する配列差が、CDR内にはない。一部の実施形態では、ポリペプチドまたは単離されたイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドは、配列番号2の三つのCDRすべてを含む。一部の実施形態では、提供されるポリペプチドまたはイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドは、カップ軽鎖である。一部の実施形態では、提供されるポリペプチドまたはイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドは、ヒトIGKC*01ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、ポリペプチドまたはイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドは、シグナルペプチドを含む。一部の実施形態では、シグナルペプチドを含むポリペプチドまたはイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドは、配列番号6で表されるアミノ酸配列を有する。

10

【0013】

一部の実施形態では、本開示は、配列番号1で表されるアミノ酸配列を有する少なくとも一つのイムノグロブリン重鎖と、配列番号2で表されるアミノ酸配列を有する少なくとも一つのイムノグロブリン軽鎖とを含む、抗TIM-3抗体剤を提供する。いくつかの実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、配列番号1で表されるアミノ酸配列をそれぞれが有する二つのイムノグロブリン重鎖を含む。あるいは、または追加的に、いくつかの実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、配列番号2で表されるアミノ酸配列をそれぞれが有する二つのイムノグロブリン軽鎖を含む。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、カノニカル抗体形式を有する。

20

【0014】

一部の実施形態では、提供される重鎖、軽鎖および／または抗体剤は、グリコシル化され、一つ以上の部位である。一部の実施形態では、グリカンがFc領域に対してN結合されている。一部の実施形態では、抗体剤は、Asn297(Kabat番号)においてグリコシル化される。

30

【0015】

一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載される重鎖、軽鎖、および／または抗体剤の一つ以上のグリコフォームを含む組成物を提供する。一部の実施形態では、提供される組成物は、特定の絶対量および／または相対量で存在する複数のかかるグリコフォームを含む。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載される重鎖、軽鎖、および／または抗体剤の、一つ以上の特定のグリコフォームを実質的に含まないものでありうる組成物を提供する。

【0016】

一部の実施形態では、提供される重鎖、軽鎖および／または抗体剤は、一つ以上のジスルフィド結合を含む構造を持つ。一部の実施形態では、一つ以上のジスルフィド結合は、I g G 4 イムノグロブリンに対して予想される位置におけるジスルフィド結合であるか、または該位置においてジスルフィド結合を含む。

40

【0017】

一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、リンパ球活性化遺伝子3(LAG-3)またはプログラム死1(PD-1)に対して一特異性であるなどの別の抗体剤と同時投与される。

【0018】

一部の実施形態では、抗体剤は、TIM-3および別の抗原に結合し、結果として「二重反応性」抗体剤(例えば、二重特異性抗体)をもたらす。例えば抗体剤は、TIM-3

50

に結合し、かつ、例えばプログラム細胞死 1 (PD-1) またはリンパ球活性化遺伝子 3 タンパク質 (LAG-3) などの免疫系の別の負の調節因子に結合することができる。

【0019】

さらに、本開示は、前述のイムノグロブリンポリペプチドをコードする単離または精製された核酸配列、かかる核酸配列を含むベクター、前述のイムノグロブリンポリペプチドを含む抗TIM-3抗体剤、かかる抗TIM-3抗体剤をコードする核酸配列、かかる核酸配列を含むベクター、かかるベクターを含む単離された細胞、かかる抗TIM-3抗体剤またはかかるベクターを薬剂的に許容できる担体とともに含む組成物、および、かかる組成物を効果量で哺乳類に投与することによって哺乳類の癌、感染症または自己免疫疾患を治療する方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0020】

本明細書に含まれる図面は、以下の図で構成されており、また例示目的のみに限定されていない。

【0021】

【図1】図1は、原寸に比例していない、T細胞活性化のTIM-3調節の概略図を示す。

【0022】

【図2】図2は、例示的なインビトロT細胞の疲弊モデルの結果を示すものであり、図2(A)は、応答(刺激前)細胞および疲弊(刺激後)細胞における、PD-1およびTIM-3の標的発現であり、図2(B)は、抗TIM-3抗体剤(黒色の棒)およびアイソタイプ対照(無色の棒)で治療された疲弊細胞(刺激後)におけるIFN- γ の産生の定量化である。

【発明を実施するための形態】

【0023】

本開示は、例えばポリペプチド、核酸、細胞、および様々な方法論などを含む、抗体剤および様々な組成物およびそれに関連する方法を提供する。本発明の抗原結合タンパク質は、高い親和性でTIM-3に結合し、TIM-3活性を効果的に中和する。イムノグロブリン重鎖ポリペプチド(配列番号1および5)配列およびイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド(配列番号2および6)配列が明示的に提供される。一部の実施形態では、イムノグロブリン重鎖ポリペプチドおよび/またはイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドが単離される。「イムノグロブリン」または「抗体」という語は本明細書で使用される場合、脊椎動物の血液またはその他の体液中に見られるタンパク質を指すものであり、これは免疫系によって使用されて細菌およびウイルスなどの異物を特定および中和する。全イムノグロブリンは、典型的に、重(H)鎖ポリペプチドの二つの同一のコピーおよび軽(L)鎖ポリペプチドの二つの同一のコピーを含む四つのポリペプチドからなる。重鎖のそれぞれは、一つのN末端可変(V_H)領域および三つのC末端定常(C_{H1} 、 C_{H2} 、および C_{H3})領域を含有し、各軽鎖は、一つのN末端可変(V_L)領域および一つのC末端定常(C_L)領域を含有する。イムノグロブリン軽鎖は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ(κ)またはラムダ(λ)のいずれかである、二つの別のタイプのうちの一方に割り当てることができる。典型的なイムノグロブリンでは、各軽鎖はジスルフィド結合によって重鎖に連結され、二つの重鎖はジスルフィド結合によって相互に連結されている。軽鎖可変領域は、重鎖の可変領域と並列され、軽鎖定常領域は重鎖の第一の定常領域と並列する。重鎖の残りの定常領域は、相互に並列する。

【0024】

軽鎖および重鎖の各対の可変領域は、抗体の抗原結合部位を形成する。 V_H および V_L 領域は、同一の全体構造を有し、各領域は、三つの相補性決定領域(CDR)によって接続された四つのフレームワーク(FWまたはFR)領域を含む。「フレームワーク領域」という語は本明細書で使用される場合、超可変領域または相補性決定領域(CDR)の間に位置する可変領域内の相対的に保存されたアミノ酸配列を指す。典型的なイムノグロブ

10

20

30

40

50

リンでは、各可変ドメイン内に四つのフレームワーク領域があり、これはFR1、FR2、FR3、およびFR4で示される。フレームワーク領域は、可変領域の構造的フレームワークを提供するβシートを形成する（例えば、C. A. Janeway et al. (eds.), Immunobiology, 5th Ed., Garland Publishing, New York, NY (2001)を参照）。

【0025】

典型的なイムノグロブリンでは、各可変ドメイン内に三つの相補性決定領域（CDR）があり、これはCDR1、CDR2、およびCDR3で示される。CDRは、抗体の「超可変領域」を形成し、これは抗原結合に関与する。CDRは、フレームワーク領域によって形成されるβシート構造に接続するものであって一部の場合には該βシート構造の一部を含むループを形成する。軽鎖および重鎖の定常領域は抗原への抗体の結合に直接関与しないが、定常領域は可変領域の配向に影響を与える可能性がある。定常領域は、エフェクター分子および細胞との相互作用を介して、抗体依存性補体媒介性溶解または抗体依存性細胞傷害への関与など、様々なエフェクター機能も示す。

【0026】

本開示は、少なくとも部分的に、TIM-3（T細胞イムノグロブリンおよびムチンドメイン-3）に結合する抗体剤を提供する。本明細書で使用される場合、「抗体剤（antibody agent）」という語は、特定の抗原に特異的に結合する薬剤を指す。一部の実施形態では、この語は、特異的結合を与えるのに十分なイムノグロブリン構造要素を含む任意のポリペプチドまたはポリペプチド複合体を包含する。例示的な抗体剤としては、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体が挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、抗体剤は、マウス、ウサギ、霊長類、またはヒトの抗体の特徴である一つ以上の定常領域配列を含み得る。一部の実施形態では、抗体剤は、当該技術分野で知られているように、ヒト化、霊長類化、キメラなど、一つ以上の配列要素を含み得る。多くの実施形態では、「抗体剤」という語は、代替的な提示において抗体の構造的特徴および機能的特徴を利用するための、当分野で公知のまたは開発された構築物またはフォーマットのうちの一つ以上を指すために使用される。例えば、実施形態で、本発明に従って利用される抗体剤は、インタクトなIgA、IgG、IgEまたはIgM抗体；二重または多重特異的抗体（例えば、Zybody（登録商標）など）；Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片、Fd'断片、Fd断片、および単離されたCDRまたはそのセットなどの抗体断片；単鎖Fv；ポリペプチド-Fc融合体；単ドメイン抗体（例えば、IgNARまたはその断片などのサメ単ドメイン抗体）；ラクダ様（cameloid）抗体；マスク化抗体（例えば、プロボディ（登録商標））；小モジュラー免疫薬剤（「SMIPs™」）；単鎖またはタンデムのダイアボディ（TandAb（登録商標））；VHH；アンチカリン（登録商標）；ナノボディ（登録商標）ミニボディ；BiTE（登録商標）；アンキリンリピートタンパク質すなわちDARPIN（登録商標）；アビマー（登録商標）；DART；TCR様抗体；アドネクチン（登録商標）；アフリン（登録商標）；トランスボディ（登録商標）；アフィボディ（登録商標）；TrimerX（登録商標）；微小タンパク質；フィノマー（登録商標）、センチリン（登録商標）；ならびにKALBITOR（登録商標）から選択されるフォーマットであるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、抗体は、自然に生成された場合には有するはずである共有結合修飾（例えば、グリカンの付着）を欠いていてもよい。一部の実施形態では、抗体は、共有結合修飾（例えば、グリカンの付着、ペイロード [例えば、検出可能部分、治療部分、触媒部分など]、または他のペンダント基 [例えば、ポリエチレングリコールなど]）を含み得る。多くの実施形態では、抗体剤は、それがもつアミノ酸配列が、相補性決定領域（CDR）として当業者によって認識されるものである一つ以上の構造要素を含むポリペプチドであるか、または該ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、抗体剤は、それがもつアミノ酸配列が、参照抗体中に存在するものと実質的に同一である少なくとも一つのCDR（例えば、少なくとも一つの重鎖CDRおよび/または少なくとも一つの軽鎖CDR）を含むものであるポリペプチドであるか、または該ポリペプチドを含む。一

10

20

30

40

50

部の実施形態では、含まれるCDRは、それが配列的に同一であるかまたは参照CDRと比較して1～5個の間のアミノ酸置換を含むかのいずれかであるという点では、参照CDRと実質的に同一である。一部の実施形態では、含まれるCDRは、参照CDRと、少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を示すという点では、参照CDRと実質的に同一である。一部の実施形態では、含まれるCDRは、参照CDRと、少なくとも96%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を示すという点では、参照CDRと実質的に同一である。一部の実施形態では、含まれるCDRは、参照CDRと比較して含まれるCDR内の少なくとも一つのアミノ酸が欠失、付加、または置換されているが、該含まれるCDRは他の点では参照CDRと同一のアミノ酸配列を有するという点で、参照CDRと実質的に同一である。一部の実施形態では、含まれるCDRは、参照CDRと比較して含まれるCDR内の1～5個のアミノ酸が欠失、付加、または置換されているが、該含まれるCDRは他の点では参照CDRと同一のアミノ酸配列を有するという点で、参照CDRと実質的に同一である。一部の実施形態では、含まれるCDRは、参照CDRと比較して含まれるCDR内の少なくとも一つのアミノ酸が置換されているが、該含まれるCDRは他の点では参照CDRのものと同一のアミノ酸配列を有するという点で、参照CDRと実質的に同一である。一部の実施形態では、含まれるCDRは、参照CDRと比較して含まれるCDR内の1～5個のアミノ酸が欠失、付加、または置換されているが、該含まれるCDRは他の点では参照CDRと同一のアミノ酸配列を有するという点で、参照CDRと実質的に同一である。一部の実施形態では、抗体剤は、それがもつアミノ酸配列がイムノグロブリン可変ドメインとして当業者によって認識される構造要素を含むものであるポリペプチドであるか、または該ポリペプチドを含む。一部の実施形態では、抗体剤は、イムノグロブリン結合ドメインに対し相同またはほとんど相同である結合ドメインを有するポリペプチドタンパク質である。

【0027】

一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、イムノグロブリン重鎖ポリペプチドおよび／またはイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドを含む。TIM-3は、三つのドメイン、N末端Ig可変(IgV)様ドメイン、中心のSer/Thrリッチなムチンドメイン、および短い細胞内尾部を有する膜貫通ドメインから構成される60kDaの1型膜貫通タンパク質である(例えば、Kane, L. P., Journal of Immunology, 184(6):2743-2749(2010)を参照)。TIM-3は、最初に高分化型のTh1細胞において特定され、T細胞アポトーシスを誘導することによってT細胞応答を負に調節した(例えば、Hastings et al., Eur. J. Immunol., 39(9):2492-2501(2009)参照)。TIM-3はまた、活性化されたTh17およびTc1細胞上でも発現され、CD4+T細胞およびCD8+T細胞上でのTim-3発現の異常調節は、いくつかの自己免疫疾患、ウイルス感染症、および癌と関連がある(例えば、Liberal et al., Hepatology, 56(2):677-686(2012); Wu et al., Eur. J. Immunol., 42(5):1180-1191(2012); Anderson, A. C., Curr. Opin. Immunol., 24(2):213-216(2012); および、Han et al., Frontiers in Immunology, 4:449(2013)を参照)。

【0028】

TIM-3、およびその成分に結合する特定のその他の抗体は、当該技術分野で公知である(例えば、米国特許第8,101,176号;米国特許第8,552,156号;および、米国特許第8,841,418号を参照)。特定の抗TIM-3抗体はまた、例えば、Abcam社(マサチューセッツ州ケンブリッジ)およびR&D Systems社(ミネソタ州ミネアポリス)などの供給元から市販されている。

【0029】

一部の実施形態では、提供される重鎖、軽鎖および／または抗体剤は、グリコシル化さ

れ、一つ以上の部位である。本明細書で使用される場合、「グリカン」は、糖タンパク質の糖ポリマー（部分）成分である。「グリカン」という語は、糖タンパク質から切断またはその他の方法で放出されたグリカンを含む遊離型グリカンを含む。一部の実施形態では、グリカンがFc領域に対してN結合されている。一部の実施形態では、抗体剤は、Asn297（Kabato番号）においてグリコシル化される。

【0030】

一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載される重鎖、軽鎖、および／または抗体剤の一つ以上のグリコフォームを含む組成物を提供する。「グリコフォーム」という語は、糖タンパク質の特定の形態を指すために本明細書で使用される。つまり、糖タンパク質が、異なるグリカンまたはグリカンのセットに連結される可能性がある特定のポリペプチドを含む場合、それぞれの異なるバージョンの糖タンパク質（すなわち、ポリペプチドが特定のグリカンまたはグリカンのセットに連結されているものである）を、「グリコフォーム」と呼ぶ。一部の実施形態では、提供される組成物は、本明細書に記載される重鎖、軽鎖、および／または抗体剤のうちの一つ以上の複数のグリコフォームを含む。一部の実施形態では、提供される組成物は、特定の絶対量および／または相対量で存在する複数のかかるグリコフォームを含む。一部の実施形態では、本開示は、本明細書に記載される重鎖、軽鎖、および／または抗体剤の、一つ以上の特定のグリコフォームを実質的に含まないものでありうる組成物を提供する。

【0031】

一部の実施形態では、グリコフォームの量は、「パーセント」として表現される。任意の所与のパラメータに対して、「パーセント」は、ある調製のうちのグリカンの総モルに対する特定のグリカン（グリカンX）のモル数を指す。一部の実施形態では、「パーセント」は、検出されたPNGase F放出Fcグリカンの総モルに対する、PNGase F放出FcグリカンXのモル数を指す。

【0032】

一部の実施形態では、提供される重鎖、軽鎖および／または抗体剤は、一つ以上のジスルフィド結合を含む構造を持つ。一部の実施形態では、一つ以上のジスルフィド結合は、IgG4イムノグロブリンに対して予想される位置におけるジスルフィド結合であるか、または該位置においてジスルフィド結合を含む。一部の実施形態では、あるジスルフィド結合が、配列番号1の残基22、96、127、140、196、219、222、254、314、360および418から選択される位置に対応する一つ以上の残基に存在する。一部の実施形態では、あるジスルフィド結合が、配列番号2の残基23、88、134、194および214から選択される位置に対応する一つ以上の残基に存在する。一部の実施形態では、提供されるTIM-3抗体剤は、一つ以上のジスルフィド結合を含むものであって、第一のシステインが、配列番号1の残基22、96、127、140、196、219、222、254、314、360および418から選択され、また第二のシステインが、配列番号2の残基23、88、134、194、および214から選択される。一部の実施形態では、提供されるTIM-3抗体剤は、一つ以上のジスルフィド結合を含むものであって、第一のシステインが、配列番号1の残基22、96、127、140、196、219、222、254、314、360および418から選択され、また第二のシステインが、配列番号1の残基22、96、127、140、196、219、222、254、314、360および418から選択される。一部の実施形態では、提供されるTIM-3抗体剤は、一つ以上のジスルフィド結合を含むものであって、第一のシステインが、配列番号2の残基23、88、134、194、および214から選択され、また第二のシステインが、配列番号2の残基23、88、134、194、および214から選択される。

【0033】

一部の実施形態では、提供されるTIM-3抗体剤は、第一のシステインおよび第二のシステインによって形成された一つ以上のジスルフィド結合を含むものであって、一つ以上のジスルフィド結合は、（a）第一の残基が配列番号2の残基23であり、また第二の

残基が配列番号2の残基88であること、(b)第一の残基が配列番号2の残基134であり、また第二の残基が配列番号2の残基194であること、(c)第一の残基が配列番号2の残基214であり、また第二の残基が配列番号1の残基127であること、(d)第一の残基が配列番号1の残基22であり、また第二の残基が配列番号1の残基97であること、(e)第一の残基が配列番号1の残基140であり、また第二の残基が配列番号1の残基196であること、(f)第一の残基が配列番号1の残基219であり、また第二の残基が配列番号1の残基222であること、(g)第一の残基が配列番号1の残基254であり、また第二の残基が配列番号1の残基314であること、ならびに、(h)第一の残基が配列番号1の残基360であり、また第二の残基が配列番号1の残基418であること、から選択されるものである。一部の実施形態では、提供されるTIM-3抗体剤は、第一のシステインおよび第二のシステインによって形成されたジスルフィド結合を含むものであって、当該抗体剤は、(a)第一の残基が配列番号2の残基23であり、また第二の残基が配列番号2の残基88であるか、(b)第一の残基が配列番号2の残基134であり、また第二の残基が配列番号2の残基194であるか、(c)第一の残基が配列番号2の残基214であり、また第二の残基が配列番号1の残基127であるか、(d)第一の残基が配列番号1の残基22であり、また第二の残基が配列番号1の残基97であるか、(e)第一の残基が配列番号1の残基140であり、また第二の残基が配列番号1の残基196であるか、(f)第一の残基が配列番号1の残基219であり、また第二の残基が配列番号1の残基222であるか、(g)第一の残基が配列番号1の残基254であり、また第二の残基が配列番号1の残基314であるか、ならびに、(h)第一の残基が配列番号1の残基360であり、また第二の残基が配列番号1の残基418であること、のそれぞれにおいてジスルフィド結合を含むものである。

【0034】

一部の実施形態では、配列番号1または5に対し少なくとも90%同一（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一）であるアミノ酸配列を含む単離されたイムノグロブリン重鎖ポリペプチド。

【0035】

一部の実施形態では、配列番号2または6に対し少なくとも90%同一（例えば、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一）であるアミノ酸配列を含む単離されたイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド。

【0036】

本明細書に記載される核酸配列またはアミノ酸配列の「同一性」は、関心の核酸またはアミノ酸配列を参照の核酸またはアミノ酸配列と比較することによって決定することができる。パーセント同一性は、関心の配列と参照配列との間で同一であるヌクレオチドまたはアミノ酸残基の数を、最長配列の長さ（すなわち、関心の配列または参照配列のいずれかの配列の長さのいずれか長い方）で割ったものである。二つ以上の配列の間の最適なアラインメントを得て同一性を計算するための数多くの数学的アルゴリズムが公知であり、多数の利用可能なソフトウェアプログラムに組み込まれている。このようなプログラムの例には、CLUSTAL-W、T-Coffee、およびALIGN（核酸およびアミノ酸配列のアラインメント用）、BLASTプログラム（例えば、BLAST 2.1、BL2SEQ、およびその後のバージョン）およびFASTAプログラム（たとえばFASTA3x、FASTM、およびSEARCH）（配列のアラインメントおよび配列の類似性検索用）が含まれる。配列アラインメントのアルゴリズムはまた、例えば、Altschul et al., J. Molecular Biol., 215(3):403-410(1990)、Beigert et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 106(10):3770-3775(2009)、Durbin

et al., eds., Biological Sequence Analysis: Probabilistic Models of Proteins and Nucleic Acids, Cambridge University Press, Cambridge, UK (2009)、Soding, Bioinformatics, 21 (7): 951-960 (2005)、Altschul et al., Nucleic Acids Res., 25 (17): 3389-3402 (1997)、および Gusfield, Algorithms on Strings, Trees and Sequences, Cambridge University Press, Cambridge UK (1997))に開示されている。

【0037】

前述のイムノグロブリン重鎖ポリペプチドおよび／または軽鎖ポリペプチドの一つ以上のアミノ酸を、異なるアミノ酸で置き換えまたは置換できる。アミノ酸の「置き換え (replacement)」または「置換 (substitution)」とは、所与の位置または残基にある一つのアミノ酸を、ポリペプチド配列内の同じ位置または残基にある別のアミノ酸で置き換えることを指す。

【0038】

アミノ酸は、概して「芳香族」または「脂肪族」として分類される。芳香族アミノ酸は芳香環を含む。「芳香族」アミノ酸の例には、ヒスチジン (HまたはHis)、フェニルアラニン (FまたはPhe)、チロシン (YまたはTyr)、およびトリプトファン (WまたはTrp)が含まれる。非芳香族アミノ酸は、概して「脂肪族」として分類される。「脂肪族」アミノ酸の例には、グリシン (GまたはGly)、アラニン (AまたはAla)、バリン (VまたはVal)、ロイシン (LまたはLeu)、イソロイシン (IまたはHe)、メチオニン (MまたはMet)、セリン (SまたはSer)、トレオニン (TまたはThr)、システイン (CまたはCys)、プロリン (PまたはPro)、グルタミン酸 (EまたはGlu)、アスパラギン酸 (AまたはAsp)、アスパラギン (NまたはAsn)、グルタミン (QまたはGln)、リジン (KまたはLys) およびアルギニン (RまたはArg)が含まれる。

【0039】

脂肪族アミノ酸は、四つのサブグループに細分化されてもよい。「大きい脂肪族の非極性サブグループ」は、バリン、ロイシン、およびイソロイシンからなる。「脂肪族のわずかに極性のサブグループ」は、メチオニン、セリン、トレオニン、およびシステインからなる。「脂肪族の極性／電荷のサブグループ」は、グルタミン酸、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン、リジン、およびアルギニンからなる。「小さい残基のサブグループ」はグリシンおよびアラニンからなる。電荷／極性アミノ酸のグループは、リジンおよびアルギニンからなる「正電荷のサブグループ」と、グルタミン酸およびアスパラギン酸からなる「負電荷のサブグループ」と、アスパラギンおよびグルタミンからなる「極性のサブグループ」とである三つのサブグループに細分化されてもよい。

【0040】

芳香族アミノ酸は、ヒスチジンおよびトリプトファンからなる「窒素環サブグループ」と、フェニルアラニンおよびチロシンからなる「フェニルサブグループ」とである二つのサブグループに細分化されてもよい。

【0041】

アミノ酸の置き換えまたは置換は、保存的、半保存的、または非保存的でありうる。「保存的アミノ酸置換」または「保存的な (突然) 変異」という語句は、一つのアミノ酸が、共通の特性を有する別のアミノ酸と置き換わることを指す。個々のアミノ酸間の共通の特性を定義する機能的方法は、相同な生物の対応するタンパク質間のアミノ酸変化についての正規化された頻度を分析することである (Schulz and Schirmer, Principles of Protein Structure, Springer-Verlag, New York (1979))。このような分析によると、あるグループ内のアミノ酸が相互に優先的に交換し、そのため全体的なタンパク質構造へのそれ

10

20

30

40

50

らの影響が最も相互に類似している、アミノ酸のグループを定義することができる (Schulz and Schirmer、上記)。

【0042】

保存的アミノ酸置換の例には、上述のサブグループ内のアミノ酸の置換、例えば、正電荷が維持され得るようなアルギニンに対するリジンの置換およびその逆、負電荷が維持され得るようなアスパラギン酸に対するグルタミン酸の置換およびその逆、遊離-OHが維持できるようなトレオニンに対するセリンの置換、ならびに、遊離-NH₂が維持できるようなアスパラギンに対するグルタミンの置換が含まれる。

【0043】

「半保存的な(突然)変異」には、上述の同一のグループ内であるが、同じサブグループ内ではないアミノ酸のアミノ酸置換が含まれる。例えば、アスパラギンに対するアスパラギン酸の置換、またはリジンに対するアスパラギンの置換は、同じグループ内であるが、異なるサブグループであるアミノ酸に關与する。「非保存的な(突然)変異」には、例えば、トリプトファンに対するリジンの置換、またはセリンに対するフェニルアラニンの置換など、異なるグループ間におけるアミノ酸置換に關与する。

【0044】

本開示は、少なくとも部分的に、本明細書に記載される発明の単離されたアミノ酸配列を含む、実質的に該アミノ酸配列からなる、または、該アミノ酸配列からなる、単離された抗TIM-3抗体剤を提供する。本明細書で使用される場合、「単離された」(または「精製された」)という語は、その天然環境中に存在する他の成分から回収されるかまたは分離される、核酸配列(例えば、ポリヌクレオチド)またはアミノ酸配列(例えば、ポリペプチド)を意味する。例えば、単離されたポリペプチドは、それを産生した細胞の他の成分(例えば、小胞体または細胞質タンパク質およびRNA)から分離されるものである。単離されたポリヌクレオチドは、他の核成分(例えば、ヒストン)および/または上流もしくは下流の核酸配列から分離されるものである。単離された核酸配列またはアミノ酸配列は、示された核酸配列またはアミノ酸配列の天然環境中に存在する他の成分を、少なくとも60%含まない、または少なくとも75%含まない、または少なくとも90%含まない、または少なくとも95%含まない、または少なくとも98%含まない、または少なくとも99%含まないものとすることができる。

【0045】

「抗TIM-3抗体剤」とは、TIM-3タンパク質に特異的に結合する分子、好ましくはタンパク質分子を意味する。一部の実施形態では、TIM-3結合剤が、抗TIM-3抗体剤である。一部の実施形態では、単離された抗TIM-3抗体剤は、イムノグロブリン重鎖ポリペプチド(例えば、配列番号1)および/もしくはイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド(例えば、配列番号2)を含む、本質的にイムノグロブリン重鎖ポリペプチド(例えば、配列番号1)および/もしくはイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド(例えば、配列番号2)からなる、またはイムノグロブリン重鎖ポリペプチド(例えば、配列番号1)および/もしくはイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド(例えば、配列番号2)からなる。一部の実施形態では、単離された抗TIM-3抗体剤は、それがもつ配列が配列番号1を含むものであるイムノグロブリン重鎖ポリペプチドおよび/もしくはそれがもつ配列が配列番号2を含むものであるイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドを含むか、本質的にそれがもつ配列が配列番号1を含むものであるイムノグロブリン重鎖ポリペプチドおよび/もしくはそれがもつ配列が配列番号2を含むものであるイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドからなるか、またはそれがもつ配列が配列番号1を含むものであるイムノグロブリン重鎖ポリペプチドおよび/もしくはそれがもつ配列が配列番号2を含むものであるイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドからなる。

【0046】

一部の実施形態では、提供されるポリペプチドまたは重鎖ポリペプチドは、本質的に配列番号1または配列番号5のアミノ酸配列からなり、例えば、発明の重鎖ポリペプチドのTIM-3に対する親和性に影響を与えることによるなどしてポリペプチドに著しく影響

10

20

30

40

50

を与えることのないような追加的成分をさらに含む。このような成分の例としては、例えば、精製または単離を容易にするビオチンなどのタンパク質部分や、パッセンジャー変異や、遊離システイン、追加的なグリコシル化部位ならびに脱アミド化または異性化の可能性が高い部位を含めた問題のある部位を含まない配列などが挙げられる。

【0047】

一部の実施形態では、提供されるポリペプチドまたはイムノグロブリン重鎖ポリペプチドは、配列番号1または配列番号5のアミノ酸配列からなり、追加的成分（すなわち、発明のイムノグロブリン重鎖ポリペプチドに内在しない成分）を何も含まない。

【0048】

一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は変異体を含むものであって、それはアミノ酸の置換、挿入、および／または欠失の結果として抗TIM-3抗体の生物学的活性が実質的に減少されない限り（例えば、増強または改善される）、イムノグロブリン重鎖ポリペプチドおよび／またはイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド内の一つ以上のアミノ酸が、任意の組み合わせで別のアミノ酸残基で置換されているか、または、欠失もしくは挿入されていることが可能である。TIM-3結合剤の「生物学的活性」は、例えば、特定のTIM-3エピトープに対する結合親和性、その受容体に結合するTIM-3の中和または阻害、インビボのTIM-3活性の中和または阻害（例えば、IC₅₀）、薬物動態、および交差反応（例えば、TIM-3タンパク質の非ヒトホモログもしくはオルソログ、または他のタンパク質もしくは組織との）を指す。当該技術分野で認識される抗原結合剤のその他の生物学的特性または特徴には、例えば、アビディティ、選択性、溶解性、フォールディング、免疫毒性、発現、及び製剤が含まれる。前述の特性または特徴は、ELISA、競合ELISA、表面プラズモン共鳴解析（BIACORE（商標））、または結合平衡除外法（Kinetic Exclusion Assay）（KINEXA（商標））、インビトロもしくはインビボ中和アッセイ、受容体リガンド結合アッセイ、サイトカインもしくは成長因子の産生および／または分泌アッセイ、ならびにシグナル伝達および免疫組織化学アッセイを含むがこれに限定されない、標準技術を使用して観察、測定、および／または評価することができる。

【0049】

抗TIM-3抗体剤の活性に関連して本明細書において使用される「阻害される」または「中和される」という語は、例えば、TIM-3の生物学的活性もしくはTIM-3に関連する疾患もしくは症状の進行または重症度を、実質的に拮抗、阻害、予防、抑制、遅延、中断、変化、排除、停止、または逆行させる能力を指す。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤が、少なくとも約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、約98%、約99%、約100%、または前述の値のうちのいずれか二つにより規定される範囲（例えば、20%から100%、40%から100%または60%から95%等）で、TIM-3の活性を阻害または中和する。

【0050】

一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、全抗体またはその断片（例えば、抗体断片）である。一部の実施形態では、抗体または抗体断片は、野生型IgG1、IgG2、またはIgG4抗体、またはその変異体に基づく重鎖定常領域を含む。当然のことながら、各抗体クラス、すなわちアイソタイプは、認識すると、その抗原の処理または中和に関する個別のエフェクター機能のセットに関与する。したがって、一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤が抗体である場合、エフェクター分子および細胞との相互作用を介した抗体依存性補体媒介性溶解または抗体依存性細胞傷害への関与など、一つ以上のエフェクター機能を呈することができる（例えば、補体系の活性化）。

【0051】

一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、IgG4重鎖定常領域を含む。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、IgG重鎖領域内に一つ以上の変異を含む。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、重鎖定常領域内に一つ以上の変異を有するIgG4重鎖定常領域を含む。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、ヒンジ領域内に一

つ以上の変異を有する I g G 4 重鎖定常領域を含む。一部の実施形態では、I g G 4 ヒンジ領域内の変異は、他の I g G 4 分子との半分子交換を阻止しうることが想定される。一部の実施形態では、I g G 4 のヒンジ領域内の一つ以上の変異は、その他の I g G 4 分子との半分子交換を阻止する、S 2 2 8 P 変異またはセリンからプロリンへの安定化変異を含みうる。例えば、J. Biol. Chem. 2015; 290 (9): 5462-5469 を参照されたい。

【0052】

抗 T I M-3 抗体剤はまた、抗体結合体とすることも可能である。これに関して、抗 T I M-3 抗体剤は、(1) 抗 T I M-3 抗体と (2) タンパク質または非タンパク質部分との結合体とすることが可能である。例えば、抗 T I M-3 抗体剤は、ペプチド、蛍光分子、または化学療法薬と結合した抗体とすることが可能である。

10

【0053】

抗 T I M-3 抗体剤は、ヒト抗体、非ヒト抗体、もしくはキメラ抗体とすることができ、またはヒト抗体、非ヒト抗体、もしくはキメラ抗体から取得することができる。「キメラ」とは、ヒトおよび非ヒトの領域の両方を含む抗体又はその断片を意味する。一部の実施形態では、抗 T I M-3 抗体剤は、ヒト化抗体である。「ヒト化」抗体は、ヒト抗体足場と、非ヒト抗体から取得または非ヒト抗体から誘導された少なくとも一つの C D R とを含むモノクローナル抗体である。非ヒト抗体としては、例えば、齧歯類（例えば、マウスまたはラット）などの任意の非ヒト動物から単離された抗体が挙げられる。ヒト化抗体は、非ヒト抗体から取得もしくは誘導された一つ、二つ、または三つの C D R を含むことができる。一部の実施形態では、発明の T I M-3 結合材の C D R H 3 は、マウスモノクローナル抗体から取得または誘導され、一方で抗 T I M-3 抗体剤の残りの可変領域および定常領域は、ヒトモノクローナル抗体から取得または誘導される。

20

【0054】

ヒト抗体、非ヒト抗体、キメラ抗体、またはヒト化抗体は、インビトロの源（例えば、抗体を遺伝子組み換えにより生成するハイブリドーマまたは細胞株）およびインビボの源（例えば、齧歯類）を介することを含む、任意の手段によって取得することが可能である。抗体の生成方法は当該技術分野で公知であり、例えば、Kohler and Milstein, Eur. J. Immunol., 5: 511-519 (1976); Harlow and Lane (eds.), Antibodies: A Laboratory Manual, CSH Press (1988); および、Janeway et al. (eds.), Immunobiology, 5th Ed., Garland Publishing, New York, NY (2001) に記載されている。特定の実施形態では、ヒト抗体またはキメラ抗体を、一つ以上の内在性イムノグロブリン遺伝子が一つ以上のヒトイムノグロブリン遺伝子で置換されているトランスジェニック動物（例えば、マウス）を使用して生成することができる。内在性抗体遺伝子がヒト抗体遺伝子で効果的に置換されているトランスジェニックマウスの例には、限定されないが、Me darex HUMAB-MOUSE (商標)、Kirin TC MOUSE (商標)、および Kyowa Kirin KM-MOUSE (商標)（例えば、Lonberg, Nat. Biotechnol., 23 (9): 1117-25 (2005)、および Lonberg, Handb. Exp. Pharmacol., 181: 69-97 (2008) を参照）が挙げられる。当該技術分野で公知の任意の適切な方法を使用してヒト化抗体を生成することができ（例えば、An, Z. (ed.), Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey (2009) を参照）、例えば、ヒト抗体足場への非ヒト C D R の移植が含まれる（例えば、Kashmiri et al., Methods, 36 (1): 25-34 (2005); and Hou et al., J. Biochem., 144 (1): 115-120 (2008) を参照）。一部の実施形態では、ヒト化抗体は、例えば米国特許出願公開第 2011/0287485 A1 号に記載される方法を使用して生成するこ

30

40

50

とができる。

【0055】

一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、TIM-3のエピトープに結合して、その推定上のリガンド（例えば、ホスファチジルセリン、ガレクチン-9、高移動度群タンパク質1（HMG B1）、および癌胎児抗原細胞接着分子1（CEACAM1））のうちのいずれかに対するTIM-3の結合を阻害し、TIM-3媒介性のシグナル伝達を阻害する。本開示はまた、間接的またはアロステリックにその推定上のリガンドのいずれかに対するTIM-3の結合を阻止する、TIM-3の単離または精製されたエピトープも提供する。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、TIM-3のエピトープに結合し、その推定上のリガンドのうちの一つ、二つまたはそれ以上に対するTIM-3の結合を阻害する。

10

【0056】

本開示は、発明のイムノグロブリン重鎖ポリペプチド、発明のイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド、および／または発明の抗TIM-3抗体剤をコードする、一つ以上の単離または精製された核酸配列も提供する。

【0057】

「核酸配列」という語は、DNAまたはRNAのポリマーであって、すなわち、一本鎖または二本鎖であり得かつ非天然のまたは変化したヌクレオチドを含むことができるポリヌクレオチドを包含することを意図する。本明細書で使用される場合、「核酸」及び「ポリヌクレオチド」という語は、任意の長さのリボヌクレオチド（RNA）又はデオキシリボヌクレオチド（DNA）のいずれかのヌクレオチドのポリマー形態を指す。これらの語は、分子の一次構造を意味し、従って二本鎖DNAおよび一本鎖DNAを含み、また二本鎖RNAおよび一本鎖RNAを含む。当該語としては、均等物として、ヌクレオチド類似体から作製されたRNAまたはDNAいずれかの類似体、ならびにメチル化ポリヌクレオチドおよび／またはキャップされたポリヌクレオチドなどであるがこれらに限定されない改変ポリヌクレオチドが挙げられる。核酸は典型的にはリン酸結合を介して連結し、核酸配列またはポリヌクレオチドを形成するが、多くの他の結合が当技術分野で公知である（例えば、ホスホロチオエート、ボラノリン酸塩など）。発明のイムノグロブリン重鎖ポリペプチドをコードする核酸配列には、例えば、配列番号3が含まれる。発明のイムノグロブリン軽鎖ポリペプチドをコードする核酸配列には、例えば、配列番号4が含まれる。

20

30

【0058】

本開示は、発明のイムノグロブリン重鎖ポリペプチド、発明のイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド、および／または発明の抗TIM-3抗体剤をコードする、一つ以上の核酸配列を含むベクターをさらに提供する。このベクターは、例えば、プラスミド、エピソーム、コスミド、ウイルスベクター（例えば、レトロウイルスまたはアデノウイルス）、またはファージとすることができる。適切なベクターおよびベクターの調製方法は当技術分野で周知である（例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning, a Laboratory Manual, 3rd edition, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N. Y. (2001) および、Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons, New York, N. Y. (1994) を参照）。

40

【0059】

発明のポリペプチド、発明のイムノグロブリン重鎖ポリペプチド、発明のイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド、および／または発明の抗TIM-3抗体剤をコードする核酸配列に加えて、ベクターは、宿主細胞内のコード配列の発現を提供する、プロモーター、エンハンサー、ポリアダニル化シグナル、転写ターミネーター、シグナルペプチド（例えば、オステオネクチンシグナルペプチド）、配列内リボソーム進入部位（IRES）などの発現制御配列を含むことができる。例示的な発現制御配列は、当技術分野で公知であり、

50

例えばGoeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology, Vol. 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)に記載されている。

【0060】

様々な異なる源からの、構成的、誘導性、及び抑制可能なプロモーターを含む多数のプロモーターが当技術分野で周知である。プロモーターの代表的な源には、例えば、ウイルス、哺乳類、昆虫、植物、酵母、および細菌が含まれ、これらの源からの適切なプロモーターは、容易に利用可能であるか、または例えばATCCなどの保存機関およびその他の商業的または個人の供給元から公的に入手可能な配列に基づいて、合成的に作製することができる。プロモーターは、一方向性（すなわち、一方向に転写を開始する）または双方向性（すなわち、3'または5'方向のいずれかで転写を開始する）でありうる。プロモーターの非限定的な例としては、例えば、T7細菌発現系、pBAD (araA) 細菌発現系、サイトメガロウイルス (CMV) プロモーター、SV40プロモーター、RSVプロモーターが挙げられる。誘導性プロモーターには、例えば、Tet系（米国特許第5,464,758号および第5,814,618号）、エクジソン誘導系（No et al, Proc. Natl. Acad. Sci., 93:3346-3351 (1996)）、T-Rex（商標）系（カリフォルニア州カールスバッド、Invitrogen社）、LACSWITCH（商標）系（カリフォルニア州サンディエゴ、Stratagene社）、およびCre-ERTタモキシフェン誘導リコンビナーゼ系（Indra et al., Nuc. Acid. Res., 27:4324-4327 (1999); Nuc. Acid. Res., 28:e99 (2000); 米国特許第7,112,715号; および、Kramer & Fussenegger, Methods Mol. Biol., 308:123-144 (2005)）が含まれる。

【0061】

「エンハンサー」という語は、本明細書で使用される場合、例えばそれが操作可能に連結されている核酸配列の転写を増加させるDNA配列を指す。

【0062】

エンハンサーは、核酸配列のコード領域から多数のキロベース離れて位置することができる、また調節因子の結合、DNAメチル化のパターン、またはDNA構造の変化を媒介することができる。様々な異なる源からの多数のエンハンサーが当技術分野で周知であり、クローン化ポリヌクレオチド（例えば、ATCCなどの保存機関のみならず他の商業的または個人の供給元からの）としてまたは該クローン化ポリヌクレオチドの範囲内で利用可能である。プロモーター（一般的に使用されるCMVプロモーターなど）を含む多数のポリヌクレオチドもまた、エンハンサー配列を含む。エンハンサーは、コード配列の上流、その範囲内、または下流に位置することができる。

【0063】

ベクターはまた、「選択可能なマーカー遺伝子」も含むことができる。「選択可能なマーカー遺伝子 (selectable marker gene)」という語は本明細書において使用される場合、対応する選択剤の存在下で、それに関してまたはそれに対して特異的に選択される核酸配列の発現を細胞に許容する核酸配列を指す。適切な選択マーカー遺伝子は、当技術分野において公知であり、例えば、国際特許出願公開第WO1992/008796号及びWO1994/028143号; Wigler et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:3567-3570 (1980); O'Hare et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78:1527-1531 (1981); Mulligan & Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78:2072-2076 (1981); Colberre-Garapin et al, J. Mol. Biol., 150:1-14 (1981); Santerre et al, Gene, 30:147-156 (1984); Kent et al, Science, 237:901-903 (1987); Wigler et al, Cell, 11:223-232 (1977); Szybalska

& Szybalski, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 48:2026-2034 (1962); Lowy et al, Cell, 22:817-823 (1980); ならびに、米国特許第5,122,464号および第5,770,359号に記載されている。

【0064】

一部の実施形態では、ベクターは、「エピソード発現ベクター」または「エピソード」であり、これは宿主細胞で複製することができ、適切な選択圧の存在下で、宿主細胞内のDNAの染色体外セグメントとして持続する（例えば、Conese et al, Gene Therapy, 11:1735-1742 (2004)を参照）。代表的な市販のエピソード発現ベクターには、Epstein Barr Nuclear Anti 10
gen 1 (EBNA1) および Epstein Barr Virus (EBV) の複製起点 (oriP) を利用するエピソードプラスミドが含まれるが、これらに限定されない。Invitrogen社（カリフォルニア州カールスバッド）からのベクターpREP4、pCEP4、pREP7およびpcDNA3.1と、Stratagene社（カリフォルニア州ラホヤ）からのpBK-CMVとが、T抗原とEBNA1およびoriPの代わりのSV40複製起点とを使用するエピソードベクターの非限定的な例の代表である。

【0065】

その他の適切なベクターには組み込み発現ベクターが含まれるものであって、それは宿主細胞のDNAに無作為に組み込むことができるか、または、発現ベクターと宿主細胞の 20
染色体との間に特定の組み換えを可能にするための組み換え部位を含みうる。こうした組み込み発現ベクターは、宿主細胞の染色体の内因性発現制御配列を利用して、所望のタンパク質の発現をもたらすことができる。部位特異的な様式で組み込まれるベクターの例には、例えば、Invitrogen社（カリフォルニア州カールスバッド）からのFlp-Inシステム（例えば、pcDNA (商標) 5/FRT）、または例えばStratagene社（カリフォルニア州ラホヤ）からのpExchange-6コアベクターに見ることができるようなCre/loxシステムが含まれる。宿主細胞染色体に無作為に組み込まれるベクターの例には、例えば、Life Technologies社（カリ 30
フォルニア州カールスバッド）からのpcDNA3.1（T抗原の不在下で導入される場合）、Millipore社（マサチューセッツ州ビレリカ）からのUCOE、およびPromega社（ウィスコンシン州マディソン）からのpCIまたはpFN10A (ACT) FLEXI (商標) が含まれる。

【0066】

ウイルスベクターも使用できる。代表的な市販のウイルス発現ベクターには、Crucell社（オランダ王国ライデン）から市販されているアデノウイルス系Per.C6システム、Invitrogen社（カリフォルニア州カールスバッド）からのレンチウイルス系pLP1、およびStratagene社（カリフォルニア州ラホヤ）からのレトロウイルスベクターpFB-ERV+pCFB-EGSHが含まれるが、これらに限定されない。

【0067】

発明のアミノ酸配列をコードする核酸配列を、同じベクターで細胞に与えることができる（すなわち、シスで）。一方向性プロモーターを使用して、各核酸配列の発現を制御することができる。一部の実施形態では、二方向性プロモーターと一方向性プロモーターとの組み合わせを使用して、複数の核酸配列の発現を制御することができる。あるいは、発明のアミノ酸配列をコードする核酸配列を、別々のベクターで細胞の集団に与えることができる（すなわち、トランスで）。別々のベクターの各々における核酸配列の各々は、同一または異なる発現制御配列を含むことができる。別々のベクターを同時または逐次的に細胞に与えることができる。

【0068】

発明のアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクターは、任意の好適な原核細胞または

10

20

30

40

50

真核細胞を含む、それによってコードされるポリペプチドを発現することができる宿主細胞に導入することができる。このように、本開示は、発明のベクターを含む単離された細胞を提供する。宿主細胞は、簡単かつ確実に成長することができ、合理的に速い成長速度を持ち、十分特徴的な発現系があり、かつ簡単かつ効率的に形質転換またはトランスフェクションすることができる細胞を含む。

【0069】

好適な原核細胞の例としては、バチルス属 (*Bacillus*) (枯草菌 (*Bacillus subtilis*) およびブレビス菌 (*Bacillus brevis*) など)、エシェリキア属 (*Escherichia*) (大腸菌 (*E. coli*) など)、シュードモナス属 (*Pseudomonas*)、ストレプトミセス属 (*Streptomyces*)、サルモネラ属 (*Salmonella*)、およびエルウィニア属 (*Erwinia*) の細胞を含むがこれに限定されない。有用な原核細胞には、例えば、大腸菌 (*Escherichia coli*) (例えば、K12、HB101 (ATCC 番号 33694)、DH5 α 、DH10、MC1061 (ATCC 番号 53338)、および CC102) が含まれる。

【0070】

一部の実施形態では、発明のベクターは、真核細胞に導入される。適切な真核細胞は当該技術分野で公知であり、例えば、酵母細胞、昆虫細胞、及び哺乳類細胞を含む。好適な酵母細胞の例としては、クリベロマイセス属 (*Kluyveromyces*)、ピキア属 (*Pichia*)、リノスポリジウム属 (*Rhinosporidium*)、サッカロマイセス属 (*Saccharomyces*)、および分裂酵母属 (*Schizosaccharomyces*) からの酵母細胞を含む。酵母細胞には、例えば、*Saccharomyces cerevisiae* およびピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) が含まれる。

【0071】

適切な昆虫細胞については、例えば、Kitts et al, *Biotechniques*, 14:810-817 (1993); Lucklow, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 4:564-572 (1993); および Lucklow et al, *J. Virol.*, 67:4566-4579 (1993) に記載されている。昆虫細胞には、例えば、Sf-9 および HI5 (Invitrogen 社、カリフォルニア州カールスバッド) が含まれる。

【0072】

一部の実施形態では、哺乳類細胞が利用される。多くの適切な哺乳類宿主細胞が当該技術分野で公知であり、多くはアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション (ATCC、バージニア州マナッサス) から入手可能である。適切な哺乳類細胞の例には、チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) (ATCC 番号 CCL61)、CHO DHFR-細胞 (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97:4216-4220 (1980))、ヒト胚腎臓 (HEK) 293 または 293T 細胞 (ATCC 番号 CRL1573)、および 3T3 細胞 (ATCC 番号 CCL92) が含まれるが、これらに限定されない。その他の適切な哺乳類細胞株は、サル COS-1 (ATCC 番号 CRL1650) および COS-7 細胞株 (ATCC 番号 CRL1651) および CV-1 細胞株 (ATCC 番号 CCL70) である。さらなる例示的な哺乳類宿主細胞には、形質転換細胞株を含む、霊長類細胞株および齧歯類細胞株が含まれる。正常な二倍体細胞、初代組織のインビトロの培養から誘導される細胞株、および初代外植片も好適である。その他の適切な哺乳類細胞株には、マウス神経芽細胞腫 N2A 細胞、HeLa、マウス L-929 細胞、および BHK または HaK ハムスター細胞株が含まれ、そのすべてが ATCC から入手可能であるが、これらに限定されない。適切な哺乳類宿主細胞を選択する方法、ならびに細胞の形質転換、培養、増幅、スクリーニング、および精製のための方法は、当該技術分野で公知である。

【0073】

一部の実施形態では、哺乳類細胞はヒト細胞である。例えば、哺乳類細胞は、ヒトリンパ球またはリンパ系由来細胞株であって、例えばプレBリンパ球由来の細胞株などであり得る。ヒトリンパ細胞株の例としては、限定されないが、RAMOS (CRL-1596)、Daudi (CCL-213)、EB-3 (CCL-85)、DT40 (CRL-2111)、18-81 (Jack et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:1581-1585 (1988))、Raji細胞 (CCL-86)、PER.C6細胞 (オランダ王国ライデン、CruceCell社 (CruceCell Holland B.V.)) およびその誘導体が挙げられる。

【0074】

発明のアミノ酸配列をコードする核酸配列を、「トランスフェクション」、「形質転換」、または「形質導入」によって細胞に導入してもよい。「トランスフェクション」、「形質転換」、または「形質導入」は、本明細書で使用される場合、物理的または化学的方法を使用して、宿主細胞への一つ以上の外因性ポリヌクレオチドの導入を指す。多くのトランスフェクション技術は当該技術分野で公知であり、例えば、リン酸カルシウムDNA共沈法 (例えば、Murray E. J. (ed.), *Methods in Molecular Biology*, Vol. 7, *Gene Transfer and Expression Protocols*, Humana Press (1991) を参照) ; DEAE-デキストラン法 ; 電気穿孔法 ; カチオン性リポソーム介在トランスフェクション (cationic liposome-mediated transfection) ; タングステン粒子により促進されるMicroparticle Bombardment法 (Johnston, *Nature*, 346:776-777 (1990)) ; および、リン酸ストロンチウムDNA共沈法 (Brash et al., *Mol. Cell Biol.*, 7:2031-2034 (1987)) が挙げられる。ファージまたはウイルスベクターは、適切なパッケージング細胞における感染性粒子の増殖後に、宿主細胞に導入できるものであって、その多くが市販されている。

【0075】

本開示は、発明のイムノグロブリン重鎖ポリペプチド、発明のイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド、抗TIM-3結合剤、前述のいずれかをコードする発明の核酸配列、または発明の核酸配列を含む発明のベクターを効果量で含む組成物を提供する。一部の実施形態では、組成物は、薬剂的に許容可能な (例えば、生理学的に許容可能な) 組成物であって、それは担体、好ましくは薬剂的に許容可能な (例えば、生理学的に許容可能な) 担体、および発明のアミノ酸配列、抗原結合剤、またはベクターを含む。任意の適切な担体の本発明の文脈内で使用することができ、かかる担体は当該技術分野で周知である。担体の選択は、組成物が投与されうる特定の部位によって、また組成物を投与するために使用される特定の方法によって、一部決定されることとなる。組成物は随意に滅菌することができる。組成物は、使用前に適切な滅菌担体中に保存および再構成するために凍結または凍結乾燥することができる。組成物は、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA (2001) に記載の従来技術に従って生成できる。

【0076】

本開示は、TIM-3タンパク質の発現、不適切な発現 (例えば、過剰発現) もしくは増加された活性が、疾患の病理学的効果を引き起こすもしくは疾患の病理学的効果に寄与しているか、またはTIM-3タンパク質のレベルもしくは活性の減少が、ヒトなどの哺乳類において治療的な利益を有するような、任意の疾患または障害の治療方法をさらに提供するものである。哺乳類としては、例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、非ヒト霊長類、およびヒトが挙げられる。

【0077】

TIM-3は、免疫応答の負の調節因子であり、従って治療用の標的である (図1)。したがって、本開示は、TIM-3阻害または中和に応答する、哺乳類の障害を治療する

方法をさらに提供する。この方法は、TIM-3 阻害または中和に応答する障害を有する哺乳類に前述の組成物を投与することを含むものであって、それによって哺乳類において障害が治療される。「TIM-3 阻害に応答」または「TIM-3 の中和に応答」する障害は、TIM-3 レベルもしくは活性の減少が、例えばヒトである哺乳類において治療的利益を有するか、またはTIM-3 の不適切な発現（例えば、過剰発現）もしくは増加された活性が、疾患もしくは障害の病理学的効果を引き起こしているか、もしくは該病理学的効果に寄与しているような任意の疾患または障害を指す。TIM-3 阻害に応答する障害には、例えば、癌、感染症、および自己免疫疾患が含まれる。

【0078】

本開示は、TIM-3 阻害に応答する障害を有する哺乳類において、免疫応答を増強または免疫細胞の活性を増加する方法をさらに提供する。一部の実施形態では、こうした方法は、本明細書に記載される任意のTIM-3 結合剤または抗体剤を効果量で投与することを含む。一部の実施形態では、TIM-3 結合剤の投与は、哺乳類またはその組織における免疫応答または免疫細胞活性を増強または増加させる。一部の実施形態では、免疫応答は体液媒介性または細胞媒介性の免疫応答である。一部の実施形態では、免疫応答はCD4 T細胞応答またはCD8 T細胞応答である。一部の実施形態では、免疫応答はB細胞応答である。

【0079】

本発明の方法は、例えば、黒色腫、腎細胞癌、肺癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、大腸癌、胆嚢癌、喉頭癌、肝癌、甲状腺癌、胃癌、唾液腺癌、前立腺癌、膵癌、腺癌（例えば、肺の腺癌）またはメルケル細胞癌（例えば、Bhatia et al., Curr. Oncol. Rep., 13(6): 488-497 (2011) を参照）等である当技術分野で公知の任意の種類の癌を治療するために用いることが可能である。一部の実施形態では、癌は、子宮内膜癌、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌、卵管癌、精巣癌、原発性腹膜癌、大腸癌、結腸直腸癌、胃癌、小腸癌、肛門性器部の扁平上皮細胞癌、黒色腫、腎細胞癌、肺癌、非小細胞肺癌、肺の扁平上皮細胞癌、胃癌、膀胱癌、胆嚢癌、肝癌、甲状腺癌、喉頭癌、唾液腺癌、食道癌、頭頸部癌、頭頸部の扁平上皮細胞癌、腺癌、肺の腺癌、前立腺癌、膵癌、中皮腫、メルケル細胞癌、肉腫、神経膠芽腫、または、血液癌（例えば多発性骨髄腫、B細胞リンパ腫、T細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫／原発性縦隔B細胞リンパ腫または慢性骨髄性白血病）である。一部の実施形態では、本明細書に記載される発明の方法および／または組成物による治療の対象となる癌は、マイクロサテライト不安定性またはその欠如を特徴とする。マイクロサテライト不安定性（「MSI」）は、マイクロサテライト（DNAの短い反復配列）の反復回数がそれが受け継がれたDNAに含まれる反復回数とは異なるものである、特定の細胞（腫瘍細胞など）のDNAにおける変化であるか、またはその変化を含む。マイクロサテライト不安定性は、欠陥のあるDNAミスマッチ修復（MMR）システムに起因する複製関連のエラーの修復の失敗から生じる。この失敗により、ゲノム全体のミスマッチ変異の持続が許容されるが、特にマイクロサテライトとして知られる反復DNAの領域で、突然変異荷重の増加につながる。MSI-Hによって特徴付けられる少なくとも一部の腫瘍は、特定の抗PD-1薬剤に対する応答を改善することが実証されている（Lee et al., (2015) N. Engl. J. Med. 372(26): 2509-2520; Westdorp et al., (2016) Cancer Immunol. Immunother. 65(10): 1249-1259）。

【0080】

一部の実施形態では、癌は、高いマイクロサテライト不安定性のマイクロサテライト不安定性ステータス（例えば、MSI-Hステータス）を有する。一部の実施形態では、癌は、低いマイクロサテライト不安定性のマイクロサテライト不安定性ステータス（例えば、MSI-Lステータス）を有する。一部の実施形態では、癌は、マイクロサテライト安定性のマイクロサテライト不安定性ステータス（例えば、MSSステータス）を有する。一部の実施形態では、マイクロサテライト不安定性ステータスは、次世代シーケンシング

(NGS)に基づくアッセイ、免疫組織化学(IHC)に基づくアッセイ、および／またはPCRに基づくアッセイによって評価される。一部の実施形態では、マイクロサテライト不安定性はNGSによって検出される。一部の実施形態では、マイクロサテライト不安定性はIHCによって検出される。一部の実施形態では、マイクロサテライト不安定性はPCRによって検出される。

【0081】

実施形態では、癌が、高い腫瘍遺伝子変異量(TMB)と関連する。一部の実施形態では、癌が、高いTMBおよびMSI-Hと関連する。一部の実施形態では、癌が、高いTMBおよびMSI-LまたはMSSと関連する。一部の実施形態では、癌が、高いTMBと関連する子宮内膜癌である。一部の関連する実施形態では、子宮内膜癌が、高いTMBおよびMSI-Hと関連する。一部の関連する実施形態では、子宮内膜癌が、高いTMBおよびMSI-LまたはMSSと関連する。

10

【0082】

一部の実施形態では、癌が、ミスマッチ修復欠損癌である。マイクロサテライト不安定性は、欠陥のあるDNAミスマッチ修復(MMR)システムに起因する複製関連のエラーの修復の失敗から生じ得る。この失敗により、ゲノム全体のミスマッチ変異の持続が許容されるが、特にマイクロサテライトとして知られる反復DNAの領域で、特定の抗PD-1薬剤に対する応答を向上させることができる突然変異荷重の増加につながる。Id. 一部の実施形態では、癌が、超突然変異の癌である。一部の実施形態では、癌が、ポリメラーゼエプシロン(POL E)内に変異を保持する。

20

【0083】

本発明の方法は、任意の種類の感染症(すなわち、細菌、ウイルス、真菌または寄生物によって生じる疾患、または障害)を治療するために使用することができる。本発明の方法によって治療することができる感染症の例には、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、RSウイルス(RSV)、インフルエンザウイルス、デングウイルス、B型肝炎ウイルス(HBV、またはC型肝炎ウイルス(HCV))によって生じる疾患が含まれるが、これらに限定されない。

【0084】

本発明の方法は、任意の種類の自己免疫疾患(すなわち、身体が自身の組織を傷害および損傷させる免疫系の過敏性によって生じる疾患または障害)を治療するために使用でき、例えば、MacKay I. R. and Rose N. R., eds., The Autoimmune Diseases, Fifth Edition, Academic Press, Waltham, MA (2014)に記載されているような疾患等である。本発明の方法により治療できる自己免疫疾患の例には、多発性硬化症、1型糖尿病、関節リウマチ、強皮症、クローン病、乾癬、全身性エリテマトーデス(SLE)、および潰瘍性大腸炎が含まれるがこれらに限定されない。

30

【0085】

発明のイムノグロブリン重鎖ポリペプチド、発明のイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド、発明のTIM-3結合剤、前述のいずれかをコードする発明の核酸配列、または発明の核酸配列を含む発明のベクターを含む組成物の投与が、哺乳類における癌または感染症に対する免疫応答を誘導する。哺乳類としては、例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、非ヒト霊長類、およびヒトが挙げられる。「免疫応答」は、例えば、抗体産生および／または免疫エフェクター細胞(例えば、T細胞)の活性化を引き起こすことができる。

40

【0086】

本明細書で使用される場合、「治療」、「治療する」およびこれに類する語は、所望の薬理学的および／または生理学的な効果を得ることを指す。一部の実施形態では、この効果は治療的であり、すなわち、この効果は、疾患および／または該疾患に起因する有害症状を部分的にまたは完全に治癒する。この目的で、本発明の方法は、「治療効果量」のTIM-3抗体剤を投与することを含む。「治療効果量」は、望ましい治療結果を達成する

50

ために、必要な用量および期間の効果量を指す。治療効果量は、個体の病状、年齢、性別、および体重などの因子と、個体において望ましい応答を誘発するTIM-3抗体剤の能力とに応じて変化しうる。例えば、抗TIM-3抗体剤の治療効果量は、ヒトにおけるTIM-3の生物活性を減少させる量である。

【0087】

追加的または代替的に、薬理学的効果および／または生理学的効果は予防的であってもよく、すなわち、この効果が、疾患またはその症状を完全にまたは部分的に予防する。これに関して、本発明の方法は、抗TIM-3抗体剤の「予防効果量」の投与を含む。「予防効果量」は、望ましい予防的結果（例えば、疾患発症の防止）を達成するために、必要な用量および期間に有効な量を指す。

【0088】

典型的な用量は、例えば、動物またはヒトの体重に対して1pg/kg～20mg/kgの範囲内とすることができるが、しかしながら、この例示的範囲以下または該範囲を超える用量は、本発明の範囲内である。毎日の非経口投与量は、全体重に対して約0.00001μg/kgから約20mg/kg（例えば、約0.001μg/kg、約0.1μg/kg、約1μg/kg、約5μg/kg、約10μg/kg、約100μg/kg、約500μg/kg、約1mg/kg、約5mg/kg、約10mg/kg、または前述の値のうちいずれか二つにより規定された範囲）とすることができる。一部の実施形態では、全体重に対して約0.1μg/kgから約10mg/kg（例えば、約0.5μg/kg、約1μg/kg、約50μg/kg、約150μg/kg、約300μg/kg、約750μg/kg、約1.5mg/kg、約5mg/kg、または前述の値のうちいずれか二つにより規定された範囲）である。一部の実施形態では、全体重に対して約1μg/kgから約5mg/kg（例えば、約3μg/kg、約15μg/kg、約75μg/kg、約300μg/kg、約900μg/kg、約2mg/kg、約4mg/kg、または前述の値のうちいずれか二つにより規定された範囲）である。一部の実施形態では、1日当たり体重に対して約0.5から15mg/kg（例えば、約1mg/kg、約2.5mg/kg、約3mg/kg、約6mg/kg、約9mg/kg、約11mg/kg、約13mg/kg、または前述の値のうちいずれか二つにより規定された範囲）である。治療的または予防的な効能は、治療された患者の定期的な評価によって監視できる。数日以上にわたり繰り返し投与する場合、症状に応じて、疾患症状の望ましい抑制が発生するまで治療を繰り返すことができ、あるいは、患者の生涯にわたって治療を継続することができる。しかしながら、他の投与レジメンは有用であり得、本発明の範囲内であり得る。望ましい用量は、組成物の単回のボーラス投与によって、組成物の複数回のボーラス投与によって、または組成物の持続注入投与によって、送達することができる。

【0089】

発明のイムノグロブリン重鎖ポリペプチド、発明のイムノグロブリン軽鎖ポリペプチド、発明のTIM-3結合剤、前述のいずれかをコードする発明の核酸配列、または、発明の核酸配列を含む発明のベクターを効果量で含む組成物は、経口、眼内、非経口、静脈内、腹腔内、皮下、肺、気管支、頬側、皮内、皮間、経皮、局所、筋肉内、鼻腔内、頬側、舌下、経腸、動脈内、胃内、特定の臓器内（例えば、肝臓内）、直腸、皮下、舌下、気管、腔、硝子体、髄内、くも膜下腔内、脳室内、粘膜、または坐剤による投与を含む、標準的な投与技術を用いて哺乳類に投与することができる。一部の実施形態では、組成物は非経口投与に適している。「非経口」という語は、本明細書で使用される場合、静脈内、筋肉内、皮下、直腸、腔および腹腔内への投与を含む。一部の実施形態では、組成物は、静脈内、腹腔内、または皮下への注射による末梢への全身送達（peripheral systemic delivery）を使用して哺乳類に投与される。哺乳類としては、例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、非ヒト霊長類、およびヒトが挙げられる。

【0090】

哺乳類（例えば、ヒト）に投与されると、抗TIM-3抗体剤の生物学的活性を、当該

技術分野で公知の任意の適切な方法によって測定することができる。例えば、生物学的活性は、特定のTIM-3結合剤の安定性を決定することによって評価できる。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤（例えば、抗体）は、約30分～45日（例えば、約30分、約45分、約1時間、約2時間、約4時間、約6時間、約10時間、約12時間、約1日、約5日、約10日、約15日、約25日、約35日、約40日、約45日、または前述の値のいずれか二つによって規定された範囲）の生体内半減期を有する。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、約2時間～20日（例えば、約5時間、約10時間、約15時間、約20時間、約2日、約3日、約7日、約12日、約14日、約17日、約19日、または前述の値のいずれか二つによって規定された範囲）の生体内半減期を有する。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、約10日～約40日（例えば、約10日、約13日、約16日、約18日、約20日、約23日、約26日、約29日、約30日、約33日、約37日、約38日、約39日、約40日、または前述の値のいずれか二つによって規定された範囲）の生体内半減期を有する。

10

【0091】

抗TIM-3抗体剤の安定性は、例えば、血中半減期、示差走査熱量測定（DSC）、サーマルシフトアッセイ（Thermal shift assay）、およびパルスチェイスアッセイなど、当技術分野で公知の任意の他の適切なアッセイを使用して測定することができる。本発明の文脈で使用することができるインビボおよびインビトロでタンパク質安定性を測定するその他の方法が、例えばProtein Stability and Folding, B. A. Shirley (ed.), Human Press, Totowa, New Jersey (1995); Protein Structure, Stability, and Interactions (Methods in Molecular Biology), Shiver J. W. (ed.), Humana Press, New York, NY (2010); および, Ignatova, Microb. Cell Fact., 4:23 (2005)に記載されている。

20

【0092】

抗TIM-3抗体剤の安定性は、遷移の中間値（transition mid-point value）（ T_m ）によって測定することができ、該値はアミノ酸配列の50%がそのネイティブのコンフォメーションであり、その他の50%は変性している温度である。全般的に、 T_m が高いほど、タンパク質はより安定である。一部の実施形態では、発明のTIM-3結合剤は、インビトロでの遷移の中間値（ T_m ）が約60～100℃である。例えば、抗TIM-3抗体剤は、インビトロでの T_m が約65～80℃（例えば、66℃、68℃、70℃、71℃、75℃、または79℃）、約80～90℃（例えば、約81℃、85℃、または89℃）、または約90～100℃（例えば、約91℃、約95℃、または約99℃）であることが可能である。

30

【0093】

特定のTIM-3結合抗体剤の生物学的活性はまた、TIM-3またはそのエピトープに対するその結合親和性を決定することによって評価することができる。「親和性」という語は、二つの薬剤の可逆的結合に関する平衡定数を意味し、解離定数（ K_D ）として表される。エピトープに対する抗体の親和性などの、リガンドに対する結合剤の親和性は、例えば、約1ピコモル（pM）から約100マイクロモル（ μ M）（例えば、約1ピコモル（pM）から約1ナノモル（nM）、約1nMから約1マイクロモル（ μ M）、または約1 μ Mから約100 μ M）とすることができる。一部の実施形態では、TIM-3抗体剤は、1ナノモル以下（例えば、0.9nM、0.8nM、0.7nM、0.6nM、0.5nM、0.4nM、0.3nM、0.2nM、0.1nM、0.05nM、0.025nM、0.01nM、0.001nM、または前述の値のうちのいずれか二つによって規定された範囲）の K_D でTIM-3タンパク質と結合することができる。いくつかの実施形態では、TIM-3抗体剤は、200pM以下（例えば、190pM、175pM、150pM、125pM、110pM、100pM、90pM、80pM、75pM、60pM、50pM、40pM、30pM、25pM、20pM、15pM、10pM、5

40

50

pM、1 pM、または前述の値のうちのいずれか二つによって規定される範囲)の K_D でTIM-3と結合することができる。関心の抗原またはエピトープに対するイムノグロブリンの親和性は、任意の当技術分野において認識されるアッセイを使用して測定することができる。このような方法には、例えば、蛍光標識細胞分取法(FACS)、分離可能ビーズ(例えば、磁気ビーズ)、表面プラズモン共鳴法(SPR)、溶相競合法(KINEXA(商標))、抗原パニング、競合結合アッセイ、および/またはELISAを含む(例えば、Janeway et al. (eds.), Immunobiology, 5th ed., Garland Publishing, New York, NY, 2001を参照)。

[1] 抗TIM-3抗体剤は、単独で投与してもよく、他の薬剤と組み合わせて投与してもよい。例えば、TIM-3抗体剤は、癌細胞に対して細胞傷害性である薬剤、癌細胞の免疫原性を調節する薬剤、または癌細胞に対する免疫応答を促進する薬剤など、本明細書に開示される疾患の治療または予防のための他の薬剤と組み合わせて投与することができる。これに関して、例えば、抗TIM-3抗体剤は、例えば、当技術分野で公知の任意の化学療法剤、電離放射線、小分子の抗癌剤、癌ワクチン、生物学的治療(例えば、他のモノクローナル抗体、腫瘍殺傷ウイルス、遺伝子治療、およびT細胞の養子移入)、および/または外科手術等を含む、少なくとも一つの他の抗癌剤と組み合わせて使用できる。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤で治療する対象(例えば、哺乳類、例えば、ヒト)は、化学療法(例えば、白金による化学療法)で治療している、または治療することになっている。一部の実施形態では、化学療法剤は、アクチノマイシン、オールトランスレチノイン酸、アザシチジン、アザチオプリン、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、カルボプラチン、カペシタビン、シスプラチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、シタラビン、ダウノルビシン、ドセタキセル、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、エピルビシン、エポシロン、エトポシド、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素、イダルビシン、イマチニブ、イリノテカン、メクロレタミン、メルカプトプリン、メトトレキサート、ミトキサントロン、オキサリプラチン、パクリタキセル、ペメトレキセド、テニポシド、チオグアニン、トポテカン、バルルビシン、ベムラフェニブ、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシンまたはビノレルビンである。一部のかかる実施形態において、化学療法剤は、白金による化学療法剤であり、例えばシスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、ネダプラチン、四硝酸トリプラチン、フェナントリプラチン、ピコプラチン、またはサトラプラチンである。一部のこうした実施形態では、化学療法剤は、ペメトレキセドなどの葉酸代謝拮抗薬である。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤で治療する対象(例えば、哺乳類、例えば、ヒト)は、例えばベバシズマブ、イトラコナゾール、カルボキシアミドトリアゾール、TNP-470、フマギリン、CM101、IL-12、血小板第4因子、スラミン、SU5416、トロンボスポンジン、血管新生抑制ステロイド(angiostatic steroid)、ヘパリン、軟骨由来の血管新生阻害因子(例えば、ペプチドトロポニンIおよびコンドロモジュリンI)、細胞外基質分解酵素阻害剤、アンジオスタチン、エンドスタチン、2-メトキシエストラジオール、Tecogalan、テトラチオモリブデート、トロンボスポンジン、サリドマイド、プロラクチン、 $\alpha V \beta 3$ 阻害剤、レナリドマイド、リノミド、ラムシルマブ、Tasquinimod、ラニビズマブ、ソラフェニブ、スニチニブ、パゾパニブ、エベロリムス、メタロプロテアーゼの組織阻害剤(TIMP1およびTIMP2)、bFGF可溶性受容体、形質転換増殖因子ベータ、インターフェロンアルファ、インターフェロンベータ、可溶性KDRおよびFLT-1受容体、胎盤のプロリフェリン関連タンパク質(placental proliferin-related protein)、パゾパニブ、スニチニブ、ソラフェニブ、アキシチニブ、ボナチニブ、カボザンチニブ、レゴラフェニブ、バンデタニブ、レンバチニブ、セマキサニブ、SU6668、バタラニブ、チボザニブ、セジラニブ、プロタミン、ヘパリン、ステロイド、アスコルビン酸エーテル(ascorbic acid ether)、硫酸化ポリサッカリド(sulfated polysaccharide)DS 4152、フマギリン、AGM 12470、ネオバスタ

10

20

30

40

50

ット、RO4929097、MRK-003、MK-0752、PF03084014、MED10639、クルクミン、3, 3'-ジインドリルメタン(DIM)、リスベラトロール、3, 5-ビス(2, 4-ジフルオロベンジリデン)-4-ピペリドン(3, 5-bis(2, 4-difluorobenzylidene)-4-piperidone)(DiFiD)およびエピガロカテキン-3-ガラート(EGCG)、ホノキオール、Flt2-11、CBO-P11、Je-11、V1ならびにそれらの任意の組合せ等である、抗血管新生薬で治療している、または治療することになっている。一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、例えば、副腎皮質ステロイド(例えば、プレドニゾンおよびフルチカゾン)および非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)(例えば、アスピリン、イブプロフェン、およびナプロキセン)を含む抗炎症剤と組み合わせて使用することができる。

10

【0094】

一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、感染症を治療するために使用される。本発明の方法で感染症を治療する場合、抗TIM-3抗体剤は、少なくとも一つの抗菌剤または少なくとも一つの抗ウイルス剤と組み合わせて投与することができる。これに関して、抗菌剤は、当該技術分野で公知の任意の適切な抗生剤とすることができる。抗ウイルス剤は、特定のウイルスを特異的に標的とする任意の好適なタイプのあらゆるワクチンとすることができる(例えば、弱毒生ワクチン、サブユニットワクチン、組換えベクターワクチン、および小分子抗ウイルス療法(例えば、ウイルス複製阻害剤およびヌクレオシド類似体))。

20

【0095】

一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤は、自己免疫疾患を治療するために使用される。本発明の方法で自己免疫疾患を治療する場合、抗TIM-3抗体剤は、例えば、副腎皮質ステロイド(例えば、プレドニゾンおよびフルチカゾン)および非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)(例えば、アスピリン、イブプロフェン、およびナプロキセン)を含む抗炎症剤と組み合わせて使用することができる。

【0096】

一部の実施形態では、抗TIM-3抗体剤が癌または感染症を治療するために使用される場合、TIM-3結合剤は、免疫チェックポイント経路を阻害する他の薬剤と組み合わせて投与することができる。例えば、抗TIM-3抗体剤は、プログラム死1タンパク質(PD-1)、リンパ球活性化遺伝子3タンパク質(LAG-3)、および/もしくは細胞毒性Tリンパ球関連タンパク質4(CTLA-4)の経路を阻害または拮抗する薬剤と組み合わせて投与することができる。これらの免疫チェックポイント経路の二つ以上を同時に標的とする併用処置が、改善された、潜在的に相乗的な抗腫瘍活性を実証している(例えば、Sakuishi et al., J. Exp. Med., 207:2187-2194(2010); Ngiew et al., Cancer Res., 71:3540-3551(2011); および、Woo et al., Cancer Res., 72:917-927(2012)を参照)。一部の実施形態では、発明のTIM-3結合剤は、LAG-3シグナル伝達を阻害する薬剤および/またはPD-1シグナル伝達を阻害する薬剤と組み合わせて投与される。一部の実施形態では、発明のTIM-3結合剤は、LAG-3シグナル伝達を阻害する薬剤を投与しているかまたは投与することになっている対象に対して投与されるものであって、該対象が両方での治療を受けるようにする。一部の実施形態では、発明のTIM-3結合剤は、PD-1シグナル伝達を阻害する薬剤を投与しているかまたは投与することになっている対象に対して投与されるものであって、該対象が両方での治療を受けるようにする。一部の実施形態では、発明のTIM-3薬剤の治療を受ける哺乳類は、PD-1を阻害する薬剤とLAG-3を阻害する薬剤とを用いた治療を受けているか、または受けることになっているものであって、該哺乳類が三つすべてを受けるようにする。

30

40

【0097】

一部の実施形態では、発明のTIM-3結合剤は、LAG-3に結合する抗体および/

50

またはPD-1に結合する抗体と組み合わせて投与される。一部の実施形態では、抗PD-1抗体は、以下からなる群から選択される抗体である：BGB-A317、BI 754091、IBI308、INC SHR-1210、JNJ-63723283、JS-001、MEDI-0680、MGA-012、ニボルマブ、PDR001、ペムブロリズマブ、PF-06801591、REGN-2810、TSR-042、およびそれらの誘導体。一部の実施形態では、PD-1を阻害する薬剤が、抗PD-L1/L2薬剤である。一部の実施形態では、抗PD-L1/L2薬剤が、抗PD-L1抗体である。一部の実施形態では、抗PD-L1抗体剤は、アテゾリズマブ、アベルマブ、CX-072、デュルバルマブ、FAZ053、LY3300054、PD-L1 Millamolecule、またはその誘導体である。

10

【0098】

一部の実施形態では、対象は、抗TIM-3結合剤と組み合わせて一つ以上の追加療法を受けているか、または受けることになっている。一部の実施形態では、追加療法はPARP阻害剤である。一部の実施形態では、PARP阻害剤は、ABT-767、AZD 2461、BGB-290、BGP 15、CEP 8983、CEP 9722、DR 2313、E7016、E7449、Fluzoparib (SHR 3162)、IMP 4297、INO1001、JPI 289、JPI 547、モノクローナル抗体B3-LysPE40結合体、MP 124、ニラパリブ (ZEJULA) (MK-4827)、NU 1025、NU 1064、NU 1076、NU1085、オラパリブ (AZD2281)、ONO2231、PD 128763、R 503、R554、ルカパリブ (RUBRACA) (AG-014699、PF-01367338)、SBP 101、SC 101914、Simmiparib、タラゾパリブ (BMN-673)、ベリパリブ (ABT-888)、WW 46、2- (4- (トリフルオロメチル) フェニル) -7, 8-ジヒドロ-5H-チオピラノ [4, 3-d] ピリミジン-4-オール、およびその塩又は誘導体である。一部の実施形態では、PARP阻害剤は、ニラパリブ、オラパリブ、ルカパリブ、タラゾパリブ、およびベリパリブである。一部の実施形態では、追加療法には、対象が三つすべてでの治療を受けるように、PD-1を阻害する薬剤を送達する組成物による治療と、PARP阻害剤での治療とが含まれる。一部の実施形態では、追加療法には、対象が四つすべてでの治療を受けるように、PD-1を阻害する薬剤を送達する組成物による治療と、LAG-3を阻害する薬剤を送達する組成物による治療と、PARP阻害剤での治療とが含まれる。

20

30

【0099】

これに関して、哺乳類におけるTIM-3阻害に応答する障害（例えば、癌または感染症）を治療する方法は、(i) TIM-3タンパク質に結合する抗体と(ii) 薬剤的に許容可能な担体とを含む組成物、または、(i) PD-1タンパク質に結合する抗体と(ii) 薬剤的に許容可能な担体とを含む組成物を哺乳類に投与することをさらに含むことができる。哺乳類としては、例えば、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、非ヒト霊長類、およびヒトが挙げられる。

【0100】

治療用途に加えて、本明細書に記載の抗TIM-3抗体剤は、診断用途または研究用途で使用できる。これに関して、抗TIM-3抗体剤は、TIM-3の不適切な発現（例えば、過剰発現）または増加された活性が、疾患もしくは障害の病理学的効果を引き起こしているかまたは該病理学的効果に寄与しているような障害または疾患を診断するための方法で使用できる。同様の様式では、TIM-3阻害に応答する疾患または障害に対して試験される対象におけるTIM-3タンパク質レベルを監視するためのアッセイにおいて、抗TIM-3抗体剤を使用することができる。研究用途には、例えば、抗TIM-3抗体剤と、例えばヒト体液内または細胞もしくは組織の抽出液内にある、試料中のTIM-3タンパク質を検出するための標識とを利用する方法が含まれる。抗TIM-3抗体剤を、検出可能部分を用いた共有結合または非共有結合による標識などの修飾を伴って、または該修飾を伴わずに使用することができる。例えば、検出可能部分は、放射性同位体（例え

40

50

ば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、または ^{125}I ）、蛍光もしくは化学発光化合物（例えば、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、またはルシフェリン）、酵素（例えば、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、またはホースラディッシュペルオキシダーゼ）、または補欠分子団とすることができる。検出可能部分への抗原結合剤（例えば、抗体）を別々に結合するための当技術分野で公知の任意の方法を、本発明の文脈において用いてもよい（例えば、Hunter et al., Nature, 194: 495-496 (1962); David et al., Biochemistry, 13: 1014-1021 (1974); Pain et al., J. Immunol. Meth., 40: 219-230 (1981); および、Nygren, J. Histochem. and Cytochem., 30: 407-412 (1982) を参照）。

10

【0101】

TIM-3 タンパク質レベルは、当技術分野で公知の任意の適切な方法によって、発明のTIM-3 結合剤を使用して測定することができる。このような方法には、例えば、放射免疫アッセイ (RIA)、および FACS が含まれる。TIM-3 の正常または標準的な発現値は、例えば、抗原-抗体複合体を形成するのに適切な条件下でTIM-3 特異的抗体を、TIM-3 を含むサンプルまたはTIM-3 を含むことが疑われるサンプルに組み合わせることによる等の、任意の好適な技術を用いて確立することができる。抗体は、結合した抗体または結合していない抗体の検出を促進するために、検出可能な物質で直接的または間接的に標識される。適切な検出可能な物質には、様々な酵素、補欠分子団、蛍光材料、発光材料、および放射性物質が含まれる（例えば、Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, CRC Press, Inc. (1987) を参照）。その後、サンプル中で発現されたTIM-3 ポリペプチドの量が、標準値と比較される。

20

【0102】

抗TIM-3 抗体剤は、キット、すなわち、診断アッセイを実施するための指示とともに所定量の試薬を組み合わせたパッケージで提供することができる。抗TIM-3 抗体剤が酵素で標識される場合には、キットは、酵素に要求される基質および補因子（例えば、検出可能な発色団またはフルオロフォアを提供する基質前駆体）を含むことが望ましい。さらに、安定剤、緩衝液（例えば、ブロッキングバッファーまたは溶解バッファー）などのその他の添加剤を、キットに含めてもよい。様々な試薬の相対量を変化させて、アッセイの感度を実質的に最適化するような試薬の溶液の濃度を提供することができる。試薬は、乾燥粉末（典型的には凍結乾燥）として提供されてもよく、それは溶解において適切な濃度を有する試薬溶液を提供することとなる賦形剤を含む。

30

【0103】

本発明のその他の特徴は、本発明の説明のために与えられる例示的な実施形態についての以下の説明に沿って明らかになることとなるが、これはそれを限定することを意図するものではない。

【実施例】

【0104】

例示

実施例 1 - 特定の例示的な抗TIM-3 抗体の説明

本実施例は、特定の抗TIM-3 抗体重鎖ポリペプチドおよび軽鎖ポリペプチド配列、およびそれをコードする核酸について説明する。

40

【化 1】

抗T I M-3抗体重鎖ポリペプチド（配列番号1）

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAASGFTFSSYDMSWVRQAPGKGLDWVSTISGGGT
YTYQDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASMDYWGQGTTTVTSSAS
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQ
EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

10

【化 2】

抗T I M-3抗体軽鎖ポリペプチド（配列番号2）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRRYLNWYHQKPGKAPKLLIYGASTLQSGVPS
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQSHSAPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

20

【化 3】

シグナル配列を伴う抗T I M-3抗体重鎖ポリペプチド（配列番号5）

MEFGLSWLFLVAILKGVQCEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAASGFTFSSYDMSWVR
QAPGKGLDWVSTISGGGTYYTYQDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
ASMDYWGQGTTTVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY
GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS
DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

30

【化 4】

シグナル配列を伴う抗T I M-3抗体軽鎖ポリペプチド（配列番号6）

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRRYLNWY
HQKPGKAPKLLIYGASTLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQSHSAPLT
FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

40

【化 5】

抗TIM-3抗体重鎖ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（配列番号3）

GAG GTG CAG CTG TTG GAG TCT GGG GGA GGC TTG GTA CAG CCT GGG GGG
TCC CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCA GCC TCT GGA TTC ACT TTC AGT AGC TAT
GAC ATG TCT TGG GTC CGC CAG GCT CCA GGG AAG GGG CTG GAC TGG GTC TCA
ACC ATT AGT GGT GGT GGT ACT TAC ACC TAC TAT CAA GAC AGT GTG AAG GGG
CGG TTC ACC ATC TCC AGA GAC AAT TCC AAG AAC ACG CTG TAT CTG CAA ATG
AAC AGC CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCC GTA TAT TAC TGT GCG TCC ATG
GAC TAC TGG GGG CAA GGG ACC ACG GTC ACC GTC TCC TCA GCA TCC ACC
AAG GGC CCA TCG GTC TTC CCG CTA GCA CCC TGC TCC AGG AGC ACC TCC GAG
AGC ACA GCC GCC CTG GGC TGC CTG GTC AAG GAC TAC TTC CCC GAA CCA GTG
ACG GTG TCG TGG AAC TCA GGC GCC CTG ACC AGC GGC GTG CAC ACC TTC CCG
GCT GTC CTA CAG TCC TCA GGA CTC TAC TCC CTC AGC AGC GTG GTG ACC GTG
CCC TCC AGC AGC TTG GGC ACG AAG ACC TAC ACC TGC AAC GTA GAT CAC
AAG CCC AGC AAC ACC AAG GTG GAC AAG AGA GTT GAG TCC AAA TAT GGT
CCC CCA TGC CCA CCA TGC CCA GCA CCT GAG TTC CTG GGG GGA CCA TCA GTC
TTC CTG TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACT CTC ATG ATC TCC CGG ACC CCT
GAG GTC ACG TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAG GAA GAC CCC GAG GTC
CAG TTC AAC TGG TAC GTG GAT GGC GTG GAG GTG CAT AAT GCC AAG ACA
AAG CCG CGG GAG GAG CAG TTC AAC AGC ACG TAC CGT GTG GTC AGC GTC
CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAC GGC AAG GAG TAC AAG TGC
AAG GTC TCC AAC AAA GGC CTC CCG TCC TCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA
GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAG CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC
CAG GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA
GGC TTC TAC CCC AGC GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG
CCG GAG AAC AAC TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC
TCC TTC TTC CTC TAC AGC AGG CTA ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG GAG
GGG AAT GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GCT CTG CAC AAC CAC TAC
ACA CAG AAG AGC CTC TCC CTG TCT CTG GGT AAA

10

20

30

40

【化 6】

抗T I M-3抗体軽鎖ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列（配列番号4）

GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC
AGA GTC ACC ATC ACT TGC CGG GCA AGT CAG AGC ATT AGG AGG TAT TTA AAT
TGG TAT CAC CAG AAA CCA GGG AAA GCC CCT AAG CTC CTG ATC TAT GGT GCA
TCC ACC TTG CAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGT GGT AGT GGA TCT GGG
ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGT CTG CAA CCT GAA GAT TTT GCA GTG
TAT TAC TGT CAA CAG AGT CAC AGT GCC CCC CTC ACT TTC GGC GGA GGG ACC
AAG GTG GAG ATC AAA CGA ACT GTG GCT GCA CCA TCT GTC TTC ATC TTC CCG
CCA TCT GAT GAG CAA TTG AAA TCT GGA ACT GCC TCT GTT GTG TGC CTG CTG
AAT AAC TTC TAT CCC AGA GAG GCC AAA GTA CAG TGG AAG GTG GAT AAC
GCC CTC CAA TCG GGT AAC TCC CAG GAG AGT GTC ACA GAG CAG GAC AGC
AAG GAC AGC ACC TAC AGC CTC AGC AGC ACC CTG ACG CTG AGC AAA GCA
GAC TAC GAG AAA CAC AAA GTC TAC GCC TGC GAA GTC ACC CAT CAG GGC
CTC AGC TCG CCC GTC ACA AAG AGC TTC AAC AGG GGA GAG TGT

10

20

【0105】

上記の配列は、足場として、ヒトIGHG4*01重鎖遺伝子およびヒトIGKC*01カッパ軽鎖遺伝子を利用する例示的なヒト化モノクローナル抗T I M-3抗体を記述するものである。IgG4重鎖のヒンジ領域においてSerからProへの単一の点変異がある。この変異は、配列番号5の残基240に対応するカノニカルS228位置であり、これはシグナル配列を含む。理論に束縛されるものではないが、この点変異は、抗体重鎖のヒンジを安定化するように機能することが想定される。

【0106】

本実施例は、この例示的なヒト化モノクローナル抗T I M-3抗体の生物物理学的および生化学的な特徴決定をさらに説明する。Lys-Cおよびトリプシン消化ペプチドを良好に分離し、オンラインLC-MS分析によって検出した。ジスルフィド結合の結合は、非還元（NR）条件下での全イオンクロマトグラムを還元条件下のものと比較することによって確認した。ジスルフィド結合は、IgG4分子の予想されるジスルフィド結合パターンと一致する。予想される鎖間ジスルフィド結合及び鎖内ジスルフィド結合に關与する残基を以下で表にしている（表1、2および3）。

30

【表 1】

表 1－配列番号 1 に記載されるアミノ酸配列を有する例示的な抗 TIM-3 抗体剤
の重鎖のジスルフィド結合に関与する予想される残基

システイン残基 ID	抗 TIM-3 mAb HC 残基 (配列番号 1 内の位 置)
I	22
II	96
III	127
IV	140
V	196
VI	219
VII	222
VIII	254
IX	314
X	360
XI	418

10

20

【表 2】

表 2－配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列を有する例示的な抗 TIM-3 抗体剤
の軽鎖のジスルフィド結合に関与する予想される残基

システイン残基 ID	抗 TIM-3 mAb LC 残基 (配列番号 2 内の位 置)
I	23
II	88
III	134
IV	194
V	214

30

40

【 0 1 0 7 】

【表 3】

表 3－抗 T I M－3 抗体の例示的なジスルフィド結合割り当て

ジスルフィド結合番号	ジスルフィド含有ペプチド	HC における結合部位（配列番号 1 内の位置）	LC における結合部位（配列番号 2 内の位置）
DS1	VTITCR=FSGSGSGTDFTLTISLQPEDF AVYYCQQSHSAPLTFGGGTK		23 88
DS2	SGTASVVCLNNFYPR=VYACEVTHQGLSSPVTK		134 194
DS3	SFNRGEC=GPSVFPLAPCSR GEC=GPSVFPLAPCSR	127	214
DS4	LSCAAASGFTFSSYDMSWVR=AEDTA VYYCASMDYWGQGTITVTVSSASTK	22 97	
DS5	STSESTAALGCLVK=TYTCNVDHK STSESTAALGCLVK=TYTCNVDHKPSNTK	140 196	
DS6	YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK=YGPPCPPCPAPEFLGG PSVFLFPPK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK=YGPPCPPCPAPEFLGG PSVFLFPPKPK	219 222	
DS7	TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK=CK	254 314	
DS8	NQVSLTCLVK=WQEGNVFSCVMHEALHNHYTQK	360 418	

LC：軽鎖；HC：重鎖

【0108】

この例示的な抗 T I M－3 抗体は、成熟タンパク質配列（配列番号 1）の各重鎖の C H 2 ドメイン内のアスパラギン残基 290 に、占有される N－グリコシル化部位を示す。本部位で発現された N－グリコシル化は、哺乳類細胞培養で発現される I g G において典型的に観察されるオリゴ糖種の混合物であり、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（C H O）細胞中で培養されたこの例示的な抗 T I M－3 抗体の調製物からのグリカン種の相対的存在量が以下に示されている（表 4）。

10

20

30

40

【表 4】

表 4－抗 T I M－3 抗体結合剤のグリカン分析

種	存在量（総オリゴ糖の%）	グリカンの説明
G0F	20.1%	コアフコシル化アガラクト二分岐複合体型オリゴ糖
G1F	41.9%	コアフコシル化モノガラクトシル化二分岐複合体型オリゴ糖
G2F	29.0%	コアフコシル化ガラクトシル化二分岐複合体型オリゴ糖
G2FS1	3.2%	モノシアル酸付加コアフコシル化ガラクトシル化二分岐複合体型オリゴ糖
G2FS2	1.2%	ジシアル酸付加コアフコシル化ガラクトシル化二分岐複合体型オリゴ糖
M5	0.4%	オリゴマンノシド N-結合オリゴ糖、 Man ₅ GlcNAc ₂

10

20

実施例 2－組換え T I M－3 に対する例示的な抗 T I M－3 抗体の結合

【0109】

本実施例は、例示的な抗 T I M－3 抗体（配列番号 1 及び配列番号 2 にそれぞれ記載される重鎖及び軽鎖を有する）の組換え T I M－3 ポリペプチドとの結合について説明する。具体的には、本実施例は、表面プラズモン共鳴（SPR）およびフローサイトメトリーによってそれぞれ決定されるような、可溶性 T I M－3 融合および細胞で発現する組換え T I M－3 との例示的な抗体の高親和性結合を示す。

30

【0110】

B i a c o r e T 2 0 0 システムを使用して SPR 解析を実施し、B i a c o r e T 2 0 0 評価ソフトウェアを使用して運動定数を決定した。実験パラメータは、飽和度が最も高い抗原濃度に到達し、Rmax 値が 50 反応単位（RU）より下に保持されるように選択した。GE 抗マウス IgG（Fc 特異的）を、EDC 活性化アミンカップリング化学を使用して B i a c o r e C M 5 チップ上に固定した。次いで、二量体の可溶性ヒト T I M－3 m I g G 2 a F c を、この表面上におよそ 70 RU 以下の標的捕捉レベルまで捕捉した。次に、例示的な抗 T I M－3 抗体（配列番号 1 および 2 にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖を有する）を、捕捉した抗原を含む面の上に流した（T I M－3 融合）。捕捉および分析物の結合は、HBS－EP＋緩衝液中で行った。捕捉された抗原および抗体を各サイクルの間に回収して、抗原の濃度ごとに新鮮な結合表面を確保した。得られたセンサーグラムを、1：1 結合モデルを使用して全体的に当てはめを行い、オン速度およびオフ速度（それぞれ k 会合および k 解離）と、全体的な親和性の測定値としての解離定数（KD）とを計算した。SPR 測定は、例示的な抗 T I M－3 抗体が、ヒトおよびカニクイザル両方の T I M－3 に、高い親和性とそれぞれ 7 および 17 pM の KD 推定値とで結合していることを実証した（表 4）。さらなる結合解析により、例示的な抗 T I M－3 抗体が、ヒト T I M－1 ポリペプチドまたはヒト PD－1 ポリペプチドに実質的に結合しなかったと判定された（データは示さず）。

40

【0111】

完全長のネイティブのヒトまたはカニクイザル T I M－3 のいずれかが安定的にトラン

50

スフェクションされているCHO-K1細胞株クローンで、フローサイトメトリー試験を実施した。例示的な抗TIM-3抗体（配列番号1および配列番号2にそれぞれ記載される重鎖および軽鎖を有する）を、3倍希釈で希釈した。例示的な抗体の希釈をヒトまたはカニクイザルのTIM-3を発現するCHO-K1（1E5細胞）に加え、氷上でインキュベートした。細胞を二回洗浄し、氷上でPE結合ヤギ抗ヒトIgG4と共にインキュベートして、抗体結合を検出した。細胞を洗浄し、ヨウ化プロピシジウムの存在下で再懸濁して死細胞を除外し、固定した後で、BD FACSArray（BD Biosciences社）において蛍光を解析した。データは、中央値の蛍光強度を解析し、グラフ化し、そして非線形（シグモイド）回帰分析を使用してGraphPad Prism（GraphPad Software社）において、EC50値計算に関して曲線当てはめを行った。この例示的な抗TIM-3抗体は、それぞれ0.17 nMおよび0.27 nMのEC₅₀で、細胞表面のヒトおよびカニクイザルのTIM-3に結合することがわかった（表5）。

【表5】

表5 表面プラズマ共鳴（SPR）およびTIM-3発現CHO-K1細胞による、TIM-3に対する例示的な抗TIM-3抗体の結合

種	動態パラメータ (SPR)			TIM-3 発現 CHO-K1 細胞
	$K_{\text{会合}} \text{ (Ms)}^{-1}$	$K_{\text{解離}} \text{ (s}^{-1}\text{)}$	K_D (pM)	EC ₅₀ (nM)
ヒト	1.5×10^7	1.1×10^{-4}	7	0.17
カニクイザル	1.1×10^7	1.9×10^{-4}	17	0.27

$K_{\text{会合}}$ = 会合速度定数、 $K_{\text{解離}}$ = 解離速度定数、 K_D = 解離定数。

【0112】

本実施例は、本発明の範囲内の抗TIM-3抗体が、高親和性でTIM-3ポリペプチドに特異的に結合することができることを実証している。

実施例3－疲弊免疫細胞におけるT細胞の活性化を増強するTIM-3遮断

【0113】

本実施例は、PD-1およびTIM-3の発現増加によって特徴付けられるインビトロのT細胞の疲弊モデルにおける、例示的な抗TIM-3抗体剤の特徴決定を説明する（図2A）。具体的には、MBP-Trackerマウスから脾臓を取り出し、脾細胞の単一細胞懸濁液を生成するよう処理した。細胞を $3 \times 10^6 / \text{mL}$ で再懸濁し、WT-MBPまたはAPL-MBPで72時間刺激した。刺激後、T細胞をFicollで密度勾配により精製し、その後に20 U/mLのIL-2中で $2 \times 10^6 / \text{mL}$ で4日間、再び平板培養した。4日後、細胞を収集し、再懸濁し（ $4 \times 10^5 / \text{mL}$ 、ウェル当たり 2×10^4 の最終濃度）、そして照射されたAPC（B10.PL.Xc57.BL/6マウスから、 $4 \times 10^6 / \text{mL}$ 、ウェル当たり 2×10^5 の最終濃度）を用いて、単回用量のAPL-MBPペプチドを、試験物質または参照物質または適切な対照と一緒に、72時間再刺激した。培養上清を収集し、その後行う評価のために凍結保存した。

【0114】

ELISAによるサイトカイン産生についての評価により、TIM-3遮断がこの系においてIFN- γ 産生を著しく増強したことが示された（図2B）。したがって、この実施例は、抗TIM-3抗体が疲弊した免疫細胞を活性化することができることを実証している。

【0115】

このように本発明の少なくともいくつかの態様および実施形態を記載したが、様々な変更、変形および改善が当業者には容易に明白であることを認識されたい。かかる変更、変形及び改善は、本開示の一部であることが意図され、そして本発明の趣旨及び範囲内にあることが意図される。したがって、上記の記載は、単に例示によるものであり、本発明は以下の請求項により詳細に記載される。

【0116】

本明細書に引用された、公開公報、特許出願、および特許を含むすべての参考文献は、それぞれの参考文献があたかも個別に具体的に参照により組み込まれて、その全体が本明細書に記載されているかのようなものであると同程度に、参照により本明細書に組み込まれる

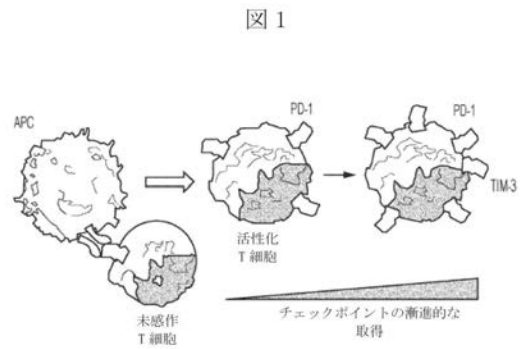
10

。本発明を説明する文脈において（特に、以下の請求項の文脈において）、「a」および「an」および「the」および「少なくとも一つ」の語ならびに類似の言及の使用は、本明細書に別段の指示がない限り、または文脈によって明らかに矛盾しない限り、単数および複数の両方を網羅するように解釈されるべきである。「少なくとも一つ」という語が一つ以上の項目の列記に続く場合（例えば、「AおよびBのうちの少なくとも一つ」など）は、本明細書に別段の指示がない限り、または文脈によって明らかに矛盾しない限り、列記された項目から選択された一つ（AまたはB）または列記された項目の二つ以上の任意の組み合わせ（AおよびB）を意味するように解釈されるべきである。「含む」、「有する」、「含む」および「含むこと」という語は、別段の記載がない限り、オープンエンドの語（すなわち、「～を含むがこれに限定されない」を意味する）として解釈されるべきである。本明細書での値の範囲の列挙は、本明細書に別段の指示がない限り、その範囲に含まれるそれぞれの別個の値を個別に言及する簡単な方法としての役目をするを意図しているだけであり、それぞれの別個の値があたかも本明細書において個別に列挙されているかのように本明細書に組み込まれる。本明細書に別段の指示がない限り、またはそうでなければ文脈によって明らかに矛盾しない限り、本明細書に記載されるすべての方法は、任意の適切な順序で実施することができる。本明細書に提供される任意の実施例およびすべての実施例、または例示的な文言（例えば、「など」）の使用は、単に本発明をより良く明らかにすることが意図されており、別段に請求されていない限り、本発明の範囲において限定を与えるものではない。本明細書の文言は、本発明の実施に必須とされる任意の請求されていない要素を示すものとして解釈されるべきではない。

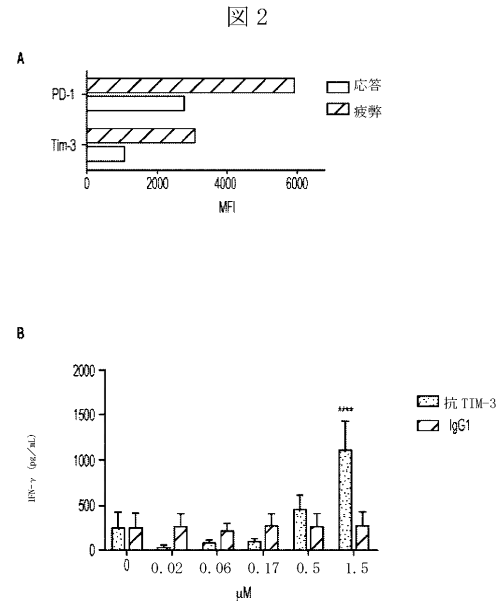
20

30

【 図 1 】



【 図 2 】



【 配 列 表 】

2019537438000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 17/59619

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - G01N 33/574, C07K 16/28 (2018.10)

CPC - C07K 16/2803, G01N 33/57407, A61K 2039/505, C07K 2317/73, G01N 2333/70503

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)

See Search History Document

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

See Search History Document

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

See Search History Document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/140240 A1 (NOVO NORDISK) 18 September 2014 (18.09.2014) abstract, claim 1, pg 7, ln 18, SEQ ID NO: 54	1-3, 9, (13-14)/9
X	US 2012/0258495 A1 (GALLO et al.) 11 October 2012 (11.10.2012) para [0155], SEQ ID NO:10	4-6, 10, (13-14)/10
A	US 2009/0093002 A1 (PFEIFER et al.) 09 April 2009 (09.04.2009) abstract, para [0280]	11, (13-14)/11
A	US 2008/0193465 A1 (DIMITROV et al.) 14 August 2008 (14.08.2008) abstract, para [0022], SEQ ID NO: 15	12, (13-14)/12
A,P	US 2017/0121409 A1 (JANSSEN BIOTECH, INC.) 04 May 2017 (04.05.2017) para [1903], Table 43, SEQ ID NO: 246	1
A,P	WO 2017/193032 A2 (MEDIMMUNE, LLC) 09 November 2017 (09.11.2017) SEQ ID NO: 67	1

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

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

06 June 2018

Date of mailing of the international search report

15 JUN 2018

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300
PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 17/59619

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

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

3. ☒ Claims Nos.: 7, 8, 15-65
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 17/59619

Box No. 1 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:
 ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 71.3).

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	4 C 0 8 7	
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	C 0 7 K	16/28	4 H 0 4 5	
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 P	21/08		
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	37/04	(2006.01)	A 6 1 P	37/04		
A 6 1 P	31/00	(2006.01)	A 6 1 P	31/00		
A 6 1 P	31/12	(2006.01)	A 6 1 P	31/12		
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04		
A 6 1 P	31/18	(2006.01)	A 6 1 P	31/18		
A 6 1 P	31/16	(2006.01)	A 6 1 P	31/16		
A 6 1 P	31/20	(2006.01)	A 6 1 P	31/20		
A 6 1 P	31/14	(2006.01)	A 6 1 P	31/14		
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/06		
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00		
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10		
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/00		
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02		
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1	
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	17/06		
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04		
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00		
A 6 1 K	48/00	(2006.01)	A 6 1 K	48/00		
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395		D
A 6 1 K	31/7088	(2006.01)	A 6 1 K	39/395		N
A 6 1 K	35/76	(2015.01)	A 6 1 K	31/7088		
A 6 1 K	35/12	(2015.01)	A 6 1 K	35/76		
A 6 1 K	38/16	(2006.01)	A 6 1 K	35/12		
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 K	38/16		
			A 6 1 P	43/00	1 1 1	
			A 6 1 P	43/00	1 2 1	

(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, 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, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

- (74)代理人 100113413
弁理士 森下 夏樹
- (74)代理人 100181674
弁理士 飯田 貴敏
- (74)代理人 100181641
弁理士 石川 大輔
- (74)代理人 230113332
弁護士 山本 健策

- (72)発明者 キング, デイビッド ジェイ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 92024, エンシニータス, コール ランチ ロード
310
- (72)発明者 ケーリー, マリリン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 92131, サンディエゴ, ロック クリーク ドライブ
10440
- (72)発明者 ゴーシュ, スリモイー
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02451, ウォルサム, ウィンター ストリート 1
000, スイート 3300, テサロ, インコーポレイテッド 気付
- (72)発明者 ファン, バオチュアン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02451, ウォルサム, ウィンター ストリート 1
000, スイート 3300, テサロ, インコーポレイテッド 気付

F ターム(参考) 4B064 AG26 AG27 BJ12 CA02 CA05 CA06 CA08 CA09 CA10 CA11
CA19 CC24 DA01 DA05
4B065 AA01X AA57X AA87X AA87Y AA90X AA90Y AB01 BA01 BA02 CA24
CA25 CA44
4C084 AA02 AA13 AA19 BA01 BA22 CA53 MA02 MA55 NA05 NA14
ZA011 ZA012 ZA661 ZA662 ZA891 ZA892 ZA961 ZA962 ZB081 ZB082
ZB091 ZB092 ZB111 ZB112 ZB151 ZB152 ZB211 ZB212 ZB261 ZB262
ZB321 ZB322 ZB331 ZB332 ZB351 ZB352 ZC351 ZC352 ZC412 ZC75
4C085 AA13 AA14 BB11 CC22 CC23 EE01 EE03
4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA02 MA03 MA04 MA55 NA14
ZA01 ZA66 ZA89 ZA96 ZB08 ZB09 ZB15 ZB21 ZB26 ZB33
ZB35 ZC35
4C087 AA01 AA02 BB65 BC83 MA02 MA55 NA14 ZA01 ZA66 ZA89
ZA96 ZB08 ZB09 ZB11 ZB15 ZB26 ZB33 ZB35 ZC35
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 DA76 EA20 EA50
FA74