

(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2019-529416

(P2019-529416A)

(43) 公表日 令和1年10月17日(2019. 10. 17)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Z	4 C 0 8 5
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 K 38/39	4 H 0 4 5
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 29/00 1 O 1	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 41 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2019-514735 (P2019-514735)	(71) 出願人	503146324
(86) (22) 出願日	平成29年9月15日 (2017. 9. 15)		ザ ブリガム アンド ウィメンズ ホス ピタル インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成31年4月24日 (2019. 4. 24)		The Brigham and Wom en's Hospital, Inc.
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/051776		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O 2 1 1 5 ポストン フランシス ストリ ート 7 5
(87) 国際公開番号	W02018/053264		
(87) 国際公開日	平成30年3月22日 (2018. 3. 22)	(71) 出願人	501475701
(31) 優先権主張番号	62/395, 551		チルドレンズ メディカル センター コ ーポレイション
(32) 優先日	平成28年9月16日 (2016. 9. 16)		アメリカ合衆国マサチューセッツ州O2 1 1 5、ポストン、シャッタック・ストリー ト55番
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 K L R G 1 枯渴療法

(57) 【要約】

被験者を治療する方法は、必要とする被験者に、有効量のキラー細胞レクチン様受容体 G 1 (K L R G 1) 枯渴剤を投与し、それによって、C D 8 + 細胞傷害性 T および / または N K 細胞を i n v i v o で枯渴させることを含み得る。被験者を治療する方法は、必要とする被験者に、有効量の、エフェクター殺滅機能を有する K L R G 1 枯渴剤を投与することを含み得る。組成物、例えば抗 K L R G 1 抗体は、K L R G 1 枯渴剤を含み得る。これらの方法および組成物は、K L R G 1 が過剰発現するさまざまな疾患、例えば自己免疫疾患、移植片拒絶、血液悪性腫瘍、および固形腫瘍のために使用され得る。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

必要とする被験者に、有効量のキラー細胞レクチン様受容体 G 1 (K L R G 1) 枯渇剤を投与し、それによって、C D 8 + 細胞傷害性 T および / または N K 細胞を i n v i v o で枯渇させることを含む、被験者を治療する方法。

【請求項 2】

前記 K L R G 1 枯渇剤は、エフェクター殺滅機能を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 K L R G 1 枯渇剤は、抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物である、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 4】

前記抗体は、モノクローナルである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物は、ヒトまたはヒト化抗体を含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6】

前記抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物は、

a . エフェクター機能の抗体依存性細胞介在性細胞傷害性 (A D C C) を有する K L R G 1 を結合させる完全長抗体の F a b 抗体 ;

b . エフェクター機能の補体依存性細胞傷害性 (C D C) を有する K L R G 1 を結合させる抗体 ;

c . エフェクター機能の抗体薬物複合体 (A D C) を有する K L R G 1 を結合させる抗体 ;

d . F c - カドヘリン融合タンパク質 ;

e . 融合タンパク質 E - カドヘリン / F c ;

f . 融合タンパク質 R - カドヘリン / F c ;

g . 融合タンパク質 N - カドヘリン / F c ;

h . キメラ抗原受容体 ; または、

i . 多特異性抗体、

を含む、請求項 3 に記載の方法。

20

30

【請求項 7】

前記キメラ抗原受容体を含み、

前記キメラ抗原受容体は、T 細胞に移植された K L R G 1 抗体の特異性部分を含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

多特異性抗体を含み、

前記多特異性抗体は、二重特異性または三重特異性抗体を含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

前記枯渇剤は、K L R G 1 の細胞外ドメインを結合させる、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 10】

前記 K L R G 1 は、ヒト K L R G 1 アイソタイプ 1 または 2 の細胞外ドメインである、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記枯渇剤は、ヒトおよびカニクイザル K L R G 1 の細胞外ドメインと交差反応する、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記枯渇剤は、前記 K L R G 1 の細胞外ドメインのエピトープに結合し、前記エピトープは、ヒトおよびカニクイザルにおいて少なくとも 90 % 同一である、請求項 9 または 1

50

0 に記載の方法。

【請求項 13】

前記枯渴剤は、K L R G 1 に結合し、かつ (a) クローン 13 F 12 F 2、14 C 2 A 07、R E A 261、13 A 2、S A 231 A 2、2 F 1、13 A 2 もしくは R E A 261；および / または (b) P C T 出願第 P C T / U S 17 / 35621 号に記載される物質ではない、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 14】

前記枯渴剤は、K L R G 1 に結合し、マウス抗体ではない、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 15】

前記枯渴剤は、K L R G 1 を結合させ、それによって、涸渴のため C D 8 + 細胞傷害性 T および / または N K 細胞を標識する、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 16】

前記枯渴剤は、K L R G 1 を結合させ、抗体依存性細胞傷害性 (A D C C) または補体依存性細胞傷害性 (C D C) を誘発する、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【請求項 17】

前記枯渴剤は、K L R G 1 を発現する T および / または N K 細胞を選択的に標的化し、枯渴させる、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記枯渴剤は、前記枯渴剤をコード化する m R N A を前記被験者に提供することによって投与される、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

前記被験者は、自己免疫疾患を有する、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記自己免疫疾患は、関節リウマチ、乾癬、封入体筋炎 (I B M)、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、リンパ球性大腸炎、特発性血小板減少性紫斑病、または 1 型糖尿病である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記被験者は、移植片拒絶を示すリスクを有するか、またはその危険にさらされている、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記移植片拒絶は、腎臓の拒絶反応である、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記腎臓の拒絶反応は、移植後の T 細胞介在性の腎臓の拒絶反応である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記被験者は、血液悪性腫瘍を有する、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 25】

前記血液悪性腫瘍は、白血病である、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記白血病は、T 細胞白血病、N K 細胞白血病、大顆粒リンパ球性白血病 (L G L L)、または慢性リンパ球性白血病 (C L L) である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記被験者は、リンパ腫を有する、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記リンパ腫は、T 細胞リンパ腫、好ましくは未分化大細胞リンパ腫である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記被験者は、固形腫瘍を有する、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

10

20

30

40

50

前記固形腫瘍は、乳がん、胃がん、卵巣がん、前立腺がん、神経膠腫、神経膠芽腫、黒色腫、肺がん、腎臓がん、または舌がんである、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

オプションとして P C T 出願第 P C T / U S 1 7 / 3 5 6 2 1 号に記載される物質のうちのいずれかを除く、細胞涸渴に使用される、キラー細胞レクチン様受容体 G 1 (K L R G 1) 枯渴剤。

【請求項 32】

前記枯渴剤は、抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物であり、

a . エフェクター機能の抗体依存性細胞介在性細胞傷害性 (A D C C) を有する K L R G 1 を結合させる完全長抗体の F a b 抗体 ;

10

b . エフェクター機能の補体依存性細胞傷害性 (C D C) を有する K L R G 1 を結合させる抗体 ;

c . エフェクター機能の抗体薬物複合体 (A D C) を有する K L R G 1 を結合させる抗体 ;

d . F c - カドヘリン融合タンパク質 ;

e . 融合タンパク質 E - カドヘリン / F c ;

f . 融合タンパク質 R - カドヘリン / F c ;

g . 融合タンパク質 N - カドヘリン / F c ;

h . キメラ抗原受容体 ; または、

i . 多特異性抗体、

20

を含む、請求項 31 に記載の枯渴剤。

【請求項 33】

請求項 31 または 32 に記載の枯渴剤をコード化する m R N A または c D N A 。

【請求項 34】

請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法において枯渴剤として使用される医薬組成物。

【請求項 35】

前記被験者に、有効量のチェックポイントモジュレーター療法を投与することをさらに含む、請求項 24 ~ 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 36】

30

前記 K L R G 1 枯渴剤およびチェックポイントモジュレーター療法は、共同作用的である、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

前記チェックポイントモジュレーター療法は、抗 P D - 1、抗 P D - L 1、または抗 C T L A - 4 療法を含む、請求項 35 または 36 に記載の方法。

【請求項 38】

前記被験者は、先行するがん療法に失敗しているか、または反応していない、請求項 24 ~ 30 または 35 ~ 37 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【開示の内容】

40

【0001】

本出願は、2016年9月16日出願の米国仮特許出願第62/395,551号の利益を主張し、その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる。

【0002】

〔発明の分野〕

本発明は、概して K L R G 1 発現細胞枯渴療法および治療用物質 (KLRG1-expressing-cell depletion therapies and therapeutics) に関する。さまざまな実施形態では、本発明は、より具体的には、自己免疫疾患、移植片拒絶、血液悪性腫瘍、および固形腫瘍のための K L R G 1 発現細胞枯渴療法および治療用物質に関する。

【0003】

50

〔背景〕

細胞傷害は、細胞傷害性T細胞の攻撃の結果として、多くの疾患で生じる。例えば、病原性細胞傷害性T細胞は、封入体筋炎という疾患で生じる筋肉の破壊における重要な要素である(Arahata and Engel, 1984, Arahata and Engel, 1986, Arahata and Engel, 1988, Amemiya et al., 2000)。細胞傷害性T細胞による組織への同様の損傷メカニズムが、他の自己免疫疾患(Blanco et al., 2005)、例えば多発性硬化症(Zang et al., 2004, Friese and Fugger, 2009)、関節リウマチ(Carvalho et al., 2014)、乾癬(Hijnen et al., 2013)、炎症性腸疾患(Muller et al., 1998, Bispington et al., 2001)、自己免疫性甲状腺疾患(Okajima et al., 2009)、1型糖尿病(Faustman and Davis, 2009)、円形脱毛症(Xing et al., 2014)、ベーチェット病(Yu et al., 2004)、強直性脊椎炎(Schirmer et al., 2002, Trevino et al., 2004)、および原発性胆汁性肝硬変(Kita, 2007)に関わっている。同様の損傷メカニズムは、CD8+T細胞による組織への攻撃と関連する移植の環境で発症する移植片対宿主病および臓器拒絶反応など、固形臓器移植にも存在し(Bueno and Pestana, 2002)、ここでは、Tエフェクターメモリー(TEM)およびTエフェクターメモリーRA(TEMRA)などの、極めて強力な増加した分化T細胞の割合が増加する(D'Asaro et al., 2006, Betjes et al., 2012)。さらに、特定の白血病およびリンパ腫も、CD8+T細胞の異常増殖を伴う。具体的には、T細胞大顆粒リンパ球性白血病(T-LGLL)は、後期分化CD8+T細胞の増殖により特徴付けられる白血病であり、NK細胞リンパ増殖性疾患は、NK細胞増殖により特徴付けられる白血病である(Lamy and Loughran, 2011)。鼻外NK/T細胞リンパ腫は、関連疾患である(Takata et al., 2015)。封入体筋炎は、実質的にT細胞大顆粒リンパ球性白血病(T-LGLL)と重なり得る。1シリーズ(one series)では、IBM患者の58%が、T-LGLLに関して公表された診断基準を満たした(Greenberg et al., 2016)。細胞傷害性T細胞によって発現される多くの細胞表面分子が、特定されている。しかしながら、これらの分子を標的化することに基づく治療法の開発は限られており、自己免疫疾患、移植片拒絶、血液悪性腫瘍、および固形腫瘍を含むさまざまな適応症のためにこれらの標的を利用する新しい治療用物質に対する必要性が残っている。

【0004】

〔発明の概要〕

本発明は、少なくとも部分的には、老化細胞傷害性T細胞上に存在することが知られる細胞表面マーカーであるキラー細胞レクチン様受容体G1(KLRG1)が、高い殺滅可能性を有する細胞傷害性T細胞上にも存在するという発見に基づいている。例えば、封入体筋炎の場合、KLRG1は、健康な筋細胞を直接殺滅しているT細胞をマーキングする。マウスおよびヒトの血液中のKLRG1発現T細胞の老化および不活性性質に関する先行研究の教示とは異なり、KLRG1発現T細胞は、病原性があり得、したがって、細胞枯渇療法の有利な標的である。例えば、必要とする被験者に、抗体依存性細胞傷害性(ADCC)のエフェクター機能を有する有効量のKLRG1枯渇剤(例えば、KLRG1発現細胞枯渇剤)を投与することにより、健康な細胞を損傷する細胞傷害性T細胞および/またはNK細胞を排除するか、またはその数を減少させることができる。

【0005】

よって、本発明には、多くの治療用途がある。例えば、本発明は、封入体筋炎(IBM)を治療するのに使用され得る。さらに一般的には、本発明は、KLRG1発現細胞と関連するさまざまな疾患を(すなわち、KLRG1発現細胞を枯渇させることにより)、場合によっては防止することも含め、治療するのに使用され得る。本発明の実施形態は、自

己免疫疾患、移植片拒絶、血液悪性腫瘍、および固形腫瘍を治療し、場合によっては防止することを含む。

【0006】

本発明の利点は、涸渇および潜在的に高い効力および副作用の減少のためにCD8+細胞傷害性Tおよび/またはNK細胞を優先的に標的化する能力を含む。KLRG1発現免疫細胞集団は、全体的なCD2+またはCD3+発現T細胞集団よりも豊富に細胞傷害性分子を発現し、CD52+より細胞傷害性T細胞に特異的であり、よって、効力が高い可能性がある。KLRG1は、抗原経験(antigen experience)と共に増加するマーカーであり、さらに特異的な抗原指向性免疫応答を、したがって、より高い効力および副作用の減少の可能性を予測する。

10

【0007】

さまざまな態様では、本発明は被験者を治療する方法を提供し、この方法は、必要とする被験者に、有効量のキラー細胞レクチン様受容体G1(KLRG1)枯渇剤(KLRG1発現細胞枯渇剤)を投与し、それによってCD8+細胞傷害性Tおよび/またはNK細胞をin vivoで枯渇させることを含む。KLRG1枯渇剤は、KLRG1を発現するCD8+細胞傷害性Tおよび/またはNK細胞を特に標的化し、枯渇させ得る。

【0008】

さまざまな態様では、本発明は被験者を治療する方法を提供し、この方法は、必要とする被験者に、有効量の、エフェクター殺滅機能(effector killing function)を有するキラー細胞レクチン様受容体G1(KLRG1)枯渇剤(KLRG1発現細胞枯渇剤)を投与することを含む。KLRG1枯渇剤は、KLRG1を発現する、病原性があるかまたは別様に有害であるかもしくは望ましくない細胞を特に標的化し、枯渇させ得る。

20

【0009】

さまざまな態様では、本発明は、キラー細胞レクチン様受容体G1(KLRG1)枯渇剤(KLRG1発現細胞枯渇剤)を使用する。

【0010】

さまざまな態様では、本発明は、枯渇剤をコード化するmRNAまたはcDNAを使用する。

【0011】

さまざまな態様では、本発明は、有効量の枯渇剤を含む医薬組成物を使用する。

30

【0012】

当業者によって理解されるように、前述した態様のいずれも、以下の特徴のうちの任意の1つ以上と組み合わせることができる。

【0013】

さまざまな実施形態では、枯渇剤は、抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物(antibody mimetic)である。

【0014】

さまざまな実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。

【0015】

さまざまな実施形態では、抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物は、ヒトまたはヒト化抗体を含む。

40

【0016】

さまざまな実施形態では、抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物は、a. エフェクター機能の抗体依存性細胞介在性細胞傷害性(ADCC)を有するKLRG1を結合させる完全長抗体のFab抗体; b. エフェクター機能の補体依存性細胞傷害性(CDC)を有するKLRG1を結合させる抗体; c. エフェクター機能の抗体薬物複合体(ADC)を有するKLRG1を結合させる抗体; d. Fc-カドヘリン融合タンパク質; e. 融合タンパク質E-カドヘリン/Fc; f. 融合タンパク質R-カドヘリン/Fc; g. 融合タンパク質N-カドヘリン/Fc; h. キメラ抗原受容体; またはi. 多特異性抗体を含む。

50

【 0 0 1 7 】

さまざまな実施形態では、キメラ抗原受容体は、T細胞に移植されたK L R G 1抗体の特異性部分を含む。

【 0 0 1 8 】

さまざまな実施形態では、多特異性抗体は、二重特異性または三重特異性抗体を含む。

【 0 0 1 9 】

さまざまな実施形態では、枯渇剤は、K L R G 1を結合させる。

【 0 0 2 0 】

さまざまな実施形態では、K L R G 1は、ヒトK L R G 1の細胞外ドメインである。

【 0 0 2 1 】

さまざまな実施形態では、枯渇剤は、ヒトおよびカニクイザルK L R G 1の細胞外ドメインと交差反応する。

【 0 0 2 2 】

さまざまな実施形態では、枯渇剤は、K L R G 1の細胞外ドメインのエピトープに結合し、エピトープは、ヒトおよびカニクイザルにおいて少なくとも90%同一である。

【 0 0 2 3 】

特定の実施形態では、枯渇剤は、K L R G 1に結合し、かつクローン13F12F2、14C2A07、REA261、13A2、SA231A2、2F1、13A2またはREA261ではない。

【 0 0 2 4 】

特定の態様では、本発明は、PCT出願第PCT/US17/35621号に記載される物質のうちのいずれか以外の、キラー細胞レクチン様受容体G1(K L R G 1)枯渇剤を使用する。

【 0 0 2 5 】

特定の実施形態では、枯渇剤はK L R G 1に結合し、マウス抗体ではない。

【 0 0 2 6 】

さまざまな実施形態では、枯渇剤はK L R G 1を結合させ、それによって、涸渇のためC D 8 + 細胞傷害性Tおよび/またはNK細胞を標識する。

【 0 0 2 7 】

さまざまな実施形態では、枯渇剤はK L R G 1を結合させ、それによって、抗体依存性細胞傷害性(A D C C)または補体依存性細胞傷害性(C D C)を誘発する。

【 0 0 2 8 】

さまざまな実施形態では、枯渇剤は、K L R G 1を発現するTおよび/またはNK細胞を選択的に標的化し、枯渇させる。

【 0 0 2 9 】

さまざまな実施形態では、枯渇剤は、枯渇剤をコード化するm R N Aを被験者に提供することによって投与される。

【 0 0 3 0 】

さまざまな実施形態では、被験者は、自己免疫疾患を有する。

【 0 0 3 1 】

さまざまな実施形態では、自己免疫疾患は、関節リウマチ、乾癬、封入体筋炎(I B M)、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、リンパ球性大腸炎、特発性血小板減少性紫斑病、原発性胆汁性胆管炎、または1型糖尿病である。

【 0 0 3 2 】

さまざまな実施形態では、被験者は、移植片拒絶を示すリスクを有するか、またはその危険にさらされている。

【 0 0 3 3 】

さまざまな実施形態では、移植片拒絶は、腎臓の拒絶反応、好ましくは移植後のT細胞介在性の腎臓の拒絶反応である。

【 0 0 3 4 】

10

20

30

40

50

さまざまな実施形態では、被験者は血液悪性腫瘍を有する。

【0035】

さまざまな実施形態では、血液悪性腫瘍は白血病である。

【0036】

さまざまな実施形態では、白血病は、T細胞白血病、NK細胞白血病、大顆粒リンパ球性白血病（LGLL）、または慢性リンパ球性白血病（CLL）である。

【0037】

さまざまな実施形態では、被験者はリンパ腫を有する。

【0038】

さまざまな実施形態では、リンパ腫は、T細胞リンパ腫、好ましくは未分化大細胞リンパ腫である。

【0039】

さまざまな実施形態では、被験者は固形腫瘍を有する。

【0040】

さまざまな実施形態では、固形腫瘍は、乳がん、胃がん、卵巣がん、前立腺がん、神経膠腫、神経膠芽腫、黒色腫、肺がん、腎臓がん、または舌がんである。肺がんは、例えば非小細胞肺がんであり得る。腎臓がんは、例えば腎細胞がんであり得る。

【0041】

さまざまな実施形態では、治療方法は、被験者に、有効量のチェックポイントモジュレーター療法を投与することをさらに含む。

【0042】

さまざまな実施形態では、KLRG1枯渇剤およびチェックポイントモジュレーター療法は共同作用的である。

【0043】

さまざまな実施形態では、チェックポイントモジュレーター療法は、抗PD-1、抗PD-L1、または抗CTLA-4療法を含む。

【0044】

さまざまな実施形態では、被験者は、先行するがん療法に失敗しているか、または反応していない。

【0045】

さまざまな実施形態では、本発明は、自己免疫疾患、移植片拒絶、血液悪性腫瘍、または固形腫瘍の治療または防止のための薬剤の調製においてKLRG1枯渇剤を使用する。

【0046】

本テクノロジーのこれらおよび他の利点は、添付図面および以下の説明を参照すれば、明らかとなるであろう。

【0047】

本発明は、多くの異なる形態の実施形態を含むが、本開示がテクノロジーの原理の例示であるとみなされ、本発明を、示された実施形態に制限することを意図していないという了解の下に、いくつかの特定の実施形態が図面に示され、詳細に本明細書に説明されている。

【0048】

〔配列の簡単な説明〕

配列ID番号1は、ヒトKLRG1細胞外ドメイン（ECD）のアイソタイプ1の配列である。

配列ID番号2は、ヒトKLRG1 ECDのアイソタイプ2の配列である。

配列ID番号3は、カニクイザルKLRG1 ECDの配列である。

【0049】

〔詳細な説明〕

本発明は、少なくとも部分的には、老化細胞傷害性T細胞上に存在することが知られる細胞表面マーカーであるKLRG1が、高い殺滅可能性を有する細胞傷害性T細胞上にも

10

20

30

40

50

存在するという発見に基づいている。封入体筋炎の場合、KLRG1は、ヒトの筋細胞を直接殺滅しているT細胞をマーキングする。マウスおよびヒトの血液中のKLRG1発現T細胞の老化および不活性性質に関する先行研究の教示とは異なり、特定のサンプルにおけるKLRG1発現T細胞は、病原性があり、したがって、枯渇療法の好標的である。例えば、必要とする被験者に、有効量の、抗体依存性細胞傷害性(ADCC)のエフェクター機能を有するキラー細胞レクチン様受容体G1(KLRG1)枯渇剤を投与すると、細胞を損傷する細胞傷害性T細胞を排除するか、またはその数を減少させることができる。よって、本発明は、特に病原性細胞のサブセットが、健康な被験者と比べて、例えば1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍および/またはそれより高く、KLRG1を過剰発現する疾患において、多くの治療用途を有する。病原性細胞のサブセットは、例えばCD8+細胞傷害性T細胞またはNK細胞であってよい。例えば、本発明は、封入体筋炎を治療するのに使用され得る。さらに一般的には、本発明は、自己免疫疾患、移植片拒絶、血液悪性腫瘍、および固形腫瘍を治療し、場合によっては防止するのに使用され得る。

10

【0050】

本発明の利点は、涸渇についてCD8+細胞傷害性Tおよび/またはNK細胞を優先的に標的化する能力を含む。本発明の利点は、高い効力および副作用の減少も含む。例えば、KLRG1発現免疫細胞集団は、全体的なCD2+またはCD3+発現T細胞集団よりも豊富に細胞傷害性分子を発現し、CD52よりも細胞傷害性T細胞に特異的であり、したがって、効力が高い可能性があり；KLRG1は、抗原経験と共に増加するマーカーであり、さらに特異的な抗原指向性免疫応答を、したがって、より高い効力および副作用の減少の可能性を予測する。

20

【0051】

さまざまな態様では、本発明は被験者を治療する方法を提供し、この方法は、必要とする被験者に、有効量のキラー細胞レクチン様受容体G1(KLRG1)枯渇剤を投与し、それによって、CD8+細胞傷害性Tおよび/またはNK細胞をin vivoで枯渇させることを含む。治療は、自己免疫疾患、移植片拒絶、血液悪性腫瘍、および固形腫瘍のためのものであってよい(例を以下に記載する)。

30

【0052】

さまざまな態様では、本発明はまた、被験者を治療する方法を提供し、この方法は、必要とする被験者に、有効量の、エフェクター殺滅機能を有するキラー細胞レクチン様受容体G1(KLRG1)枯渇剤を投与することを含む。ここでも、治療は、自己免疫疾患、移植片拒絶、血液悪性腫瘍、および固形腫瘍のためのものであってよい(例を以下に記載する)。

【0053】

さまざまな態様では、本発明は、キラー細胞レクチン様受容体G1(KLRG1)枯渇剤を使用する。さまざまな態様では、本発明は、枯渇剤をコード化するmRNAまたはcDNAを使用する。さまざまな態様では、本発明は、有効量の枯渇剤を含む医薬組成物を使用する。

40

【0054】

次に、KLRG1およびそのリガンド、枯渇剤、医薬組成物、治療および投与、ならびに例示的な実施例を含む、本発明のさまざまな特徴を、以下で論じる。

【0055】

キラー細胞レクチン様受容体G1(KLRG1)およびそのリガンド

キラー細胞レクチン様受容体G1(KLRG1)は、II型膜貫通タンパク質であり、TおよびNK細胞の活性を調整する共抑制受容体である。その細胞外部分は、既知のリガンドがカドヘリンであるC型レクチンドメインを含み、その細胞内部分は、T細胞受容体(TCR)介在性シグナリングの共抑制に反応する免疫受容抑制性チロシンモチーフ(ITIM)ドメインを含む(Tessmer et al., 2007)。さまざまな実

50

施形態では、リガンドは、E - カドヘリン、N - カドヘリン、R - カドヘリン、またはそれらの組み合わせであってよい。

【0056】

KLRG1分布および機能は、ヒトと比べ、齧歯類では異なる。もともとは齧歯類のマスト細胞株上で特定されており (Guthmann et al., 1995)、KLRG1は、ヒトのマスト細胞、好塩基球、単球、または好中球上では発現されない (Voehringer et al., 2002)。ヒトKLRG1は、マウスKLRG1よりも強い共抑制受容体である。生理学的条件下でのKLRG1介在性抑制は、KLRG1二量体が単量体より高い効力を有し、ヒトKLRG1がもっぱら二量体を形成するのに対し、マウスKLRG1は単量体および二量体として存在するため、ヒトのリンパ球でのみ観察される (Hofmann et al., 2012)。

10

【0057】

ヒトにおけるKLRG1発現は、TおよびNK細胞に限られる。これは、ヘルパーT細胞より大きな割合の細胞傷害性TおよびNK細胞上で発現される (図1、リンパ球サブセットのKLRG1発現、ヒト血液フローサイトメトリー)。具体的には、図1は、CD4 + ヘルパーT細胞よりも細胞傷害性CD8 + T細胞およびNK細胞上で多くのKLRG1発現を示す。CD8 + 細胞傷害性T細胞集団内で、KLRG1発現の増加は、図2Aおよび図2Bに示すように、抗原特異的効力の増加と相関する。具体的には、図2Aおよび図2Bは、分化の増加に伴うT細胞上でのKLRG1発現の増加を示している。図2A (CD8 + T細胞サブセットの細胞傷害性およびサイトカイン、ヒト血液遺伝子発現) は、T細胞の細胞傷害能がTN TCM TEM TEMRAと増加しているのを示す。図2B (フローサイトメトリーによるヒト血液CD8 + 分集団のKLRG1 + CD6 + T細胞の割合 (%)) は、KLRG1発現がTN TCM TEM TEMRAと増加しているのを示す。CD8 + 細胞傷害性T細胞が、抗原に応答して、ナイーブT細胞から、セントラルメモリー、エフェクターメモリー、およびエフェクターメモリーRA細胞へと分化すると、これらは、増加した量のKLRG1を発現する。よって、KLRG1は、細胞傷害性死滅 (cytotoxic killing) について高い能力で細胞をマーキングする。この細胞傷害性は、(自己免疫疾患および移植片拒絶の場合に) 望ましくないか、または(がんもしくは慢性感染性疾患の場合に) 望ましい場合がある。

20

【0058】

ヒトにおけるKLRG1機能は、マウスにおけるKLRG1機能とは実質的に異なるので、マウスのデータは、ヒトの疾患の治療に対して適用性が限られている。しかしながら、ヒトの疾患においては、公開されたKLRG1応用データ (translational data) がほぼ完全に存在しない。任意のヒトの疾患組織サンプルまたは健康組織サンプルにおける免疫組織化学的検査によるKLRG1発現の研究は公開されていない。末梢血単核細胞 (PBMC) 以外のヒトの疾患組織サンプルにおけるフローサイトメトリーによるKLRG1発現に関する小規模なデータを含む4つの研究が公開されている: 肝細胞がんにおける腫瘍浸潤リンパ球 (Brunner et al., 2015) および腎細胞がんにおける腫瘍浸潤リンパ球 (Attig et al., 2009); 黒色腫における腫瘍浸潤リンパ節 (Legat et al., 2013); ならびに関節リウマチおよび脊椎関節症における滑液T細胞 (Melis et al., 2014)。約5つの公開された研究が、疾患PBMCにおけるKLRG1発現に関する小規模なデータを含む (例えば、実施例2の参考文献を参照のこと)。

40

【0059】

KLRG1は、免疫老化のマーカーである (Akbar and Henson, 2011, Apetoh et al., 2015)。

【0060】

さまざまな態様および実施形態では、KLRG1は、任意の機能部分を含む、ヒトまたはカニクイザルKLRG1、好ましくはヒトKLRG1である。例えば、KLRG1は、任意の機能部分を含む、ヒト - KLRG1 - ECD - アイソタイプ1 (配列ID番号1)

50

であってよい。

【0061】

さまざまな態様および実施形態では、KLRG1は、任意の機能部分を含む、ヒト-KLRG1-EC-D-アイソタイプ2（配列ID番号2）である。

【0062】

さまざまな態様および実施形態では、KLRG1は、任意の機能部分を含む、カニクイザル-KLRG1（配列ID番号3）である。

【0063】

枯渇剤

さまざまな態様および実施形態では、本発明は被験者を治療する方法を提供し、この方法は、必要とする被験者に、有効量のキラー細胞レクチン様受容体G1（KLRG1）枯渇剤を投与することを含む。本明細書で使用される用語「枯渇剤」は、特定の細胞集団の数を実質的に減少させる物質である。枯渇剤の標的とされる細胞集団は、少なくとも1つの特性、例えば細胞表面マーカー（例えば、他の細胞と比べたKLRG1の存在および/または過剰発現）によって、特定される。「KLRG1枯渇剤」の場合、この物質は、KLRG1発現および/または過剰発現細胞の数を減少させる（例えば、KLRG1枯渇剤は、KLRG1を単独で枯渇させず、むしろ、KLRG1によって特徴づけられる細胞を枯渇させる）。

【0064】

さまざまな実施形態では、本発明の方法で使用される枯渇剤は、標的化された細胞集団の数を、未処理の標的細胞、もしくはIgG1アイソタイプ抗体で処理された標的細胞と比べて、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、および/または100%だけ、減少させることができる。

【0065】

さまざまな実施形態では、本発明の方法で使用される枯渇剤は、抗体依存性細胞介在性細胞傷害性（ADCC）のエフェクター機能、補体依存性細胞傷害性（CDC）のエフェクター機能を有する抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物；抗体薬物複合体（ADC）のエフェクター機能；標的化された細胞型（例えば、標的化された細胞型に特異的な受容体のリガンド）に特異的に結合し、エフェクターADCCまたはCDC機能を有する免疫グロブリンもしくは薬剤への抱合を介して細胞殺滅を行う、融合タンパク質；または、（例：例えば毒素送達もしくは代謝性変化を介して細胞死もしくは細胞破壊を誘発することによって）、細胞型を特異的に標的化（例えば結合）し枯渇させる、小分子物質である。

【0066】

さまざまな実施形態では、枯渇剤は、抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物である。用語「抗体」は、最も広い意味で使用され、例えば単一の抗KLRG1モノクローナル抗体を包含する。本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」は、は、実質的に均一の抗体の集団から得られた抗体を指し、例えば、集団を構成する個々の抗体は、若干存在し得る、可能性のある自然発生突然変異体を除き、同一である。抗体はモノクローナル抗体であってよい。抗体は、ヒトまたはヒト化抗体であってよい。

【0067】

「抗体断片」は、無傷の抗体の一部、好ましくは無傷の抗体の抗原結合または可変領域を含み得る。抗体断片の例は、Fab、Fab'、F(ab')₂、およびFv断片；二重特異性抗体；線形抗体；一本鎖抗体分子；ならびに抗体断片から形成された多特異性抗体を含む。

【0068】

「Fv」は、完全抗原認識および結合部位を含む、最小抗体断片を含む。この領域は、1つの重鎖可変ドメインおよび1つの軽鎖可変ドメインが堅い非共有結合性会合をなす二量体からなる。この構成では、各可変ドメインの3つのCDRが相互作用して、VH-VL二量体の表面上で抗原結合部位を定める。まとめて、6つのCDRは、抗原結合特異性

10

20

30

40

50

を抗体に与える。しかしながら、単一の可変ドメイン（または、抗原に特異的な3つのCDRのみを含むFVの半分）であっても、抗原を認識し結合する能力を有するが、結合部位全体よりも親和性は低い。Fab断片も、軽鎖の定常ドメイン、および重鎖の第1の定常ドメイン（ C_H1 ）を含む。Fab断片は、抗体ヒンジ領域からの1つ以上のシステインを含む重鎖 C_H1 ドメインのカルボキシ末端にいくつかの残基を追加することによって、Fab'断片とは異なる。Fab'-SHは、本明細書では、定常ドメインのシステイン残基が遊離チオール基を有するFab'の呼称である。F(ab')₂抗体断片は、もともと、ヒンジシステインを間に有するFab'断片対として生成された。抗体断片の他の化学的結合も既知である。

【0069】

それらの重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンは、異なる分類に割り当てられ得る。免疫グロブリンの5つの主要な分類：IgA、IgD、IgE、IgG、IgMがあり、これらのうちのいくつかは、下位分類（アイソタイプ）、例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgA2へとさらに分割され得る。「一本鎖Fv」または「sFv」抗体断片は、抗体の V_H および V_L ドメインを含み、これらのドメインは、1本鎖ポリペプチドに存在する。好ましくは、Fvポリペプチドは、 V_H ドメインと V_L ドメインとの間にポリペプチドリッカーをさらに含み、これは、sFvが抗原結合のための所望の構造を形成することを可能にする。

【0070】

さまざまな実施形態では、抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物は、ヒトまたはヒト化抗体を含む。非ヒト（例えばネズミ）抗体のヒト化形態は、非ヒト免疫グロブリンから得られた最小配列を含むキメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖またはその断片（例えば、抗体のFv、Fab、Fab'、F(ab')₂または他の抗原結合サブ配列）である。ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域（CDR）からの残基が、所望の特異性、親和性および能力を有する非ヒト種（ドナー抗体）、例えばマウス、ラットまたはウサギのCDRからの残基で置き換えられた、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）を含む。いくつかの場合、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、インポートされたCDRまたはフレームワーク配列にも見られない、残基も含み得る。一般的に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的にすべてを含み、CDR領域のすべてまたは実質的にすべては、非ヒト免疫グロブリンのCDR領域に対応し、FR領域のすべてまたは実質的にすべては、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のFR領域である。非ヒト抗体をヒト化する方法は、当技術分野で周知である。

【0071】

枯渇剤は、例えば当技術分野で既知の選択および/または突然変異生成方法を用いて、親和性が成熟されてもよい。一般的に、「親和性成熟」抗体は、その1つ以上の超可変領域に1つ以上の変質を有するもので、これは、それらの変質を有さない親抗体と比べて、抗原への抗体の親和性を改善させる。一実施形態では、親和性成熟抗体は、標的抗原に対し、ナノモルまたはピコモルの親和性を有する。好ましい親和性成熟抗体は、成熟抗体が準備される開始抗体（一般的にはネズミ、ヒト化またはヒト抗体）より、5倍、さらに好ましくは10倍、よりいっそう好ましくは20または30倍高い親和性を有する。

【0072】

特定のポリペプチド、または特定のポリペプチド上のエピトープに「結合する」か、「特異的に結合する」か、または「特異的である」抗体は、任意の他のポリペプチドまたはポリペプチドエピトープに実質的に結合せずに、その特定のポリペプチド、または特定のポリペプチド上のエピトープに結合するものである。したがって、KLRG1枯渇剤は、本発明による抗KLRG1抗体の機能的等価物を含む。KLRG1枯渇剤は、KLRG1（例えばヒトKLRG1）、例えば細胞表面上の自然のKLRG1に結合するか、または特異的に結合する結合剤であってよい。場合によっては、KLRG1結合剤は、さまざまな同様のKLRG1タンパク質（例えば、ヒトKLRG1などの1つに最も高い親和性を

10

20

30

40

50

有し、マウス K L R G 1 など他のものにはより低い親和性を有するもの)と交差反応し得る。

【0073】

さまざまな実施形態では、枯渴剤は、遮断薬またはアンタゴニスト結合剤である。「遮断」または「アンタゴニスト」は、その薬剤(例えば、抗体またはその結合断片/模倣物)が、結合する抗原の生物活性を阻害または低減するものであることを意味する。特定の遮断薬またはアンタゴニスト剤は、抗原の生物活性を実質的にまたは完全に阻害する。例えば、K L R G 1 結合剤は、K L R G 1 シグナリングを遮断し得る(例えば、それによって、K L R G 1 シグナリングを中断し、C D 8 + 細胞傷害性 T および / または N K 細胞を活性化する)。

10

【0074】

さまざまな実施形態では、抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物は以下を含む: a . 抗体依存性細胞介在性細胞傷害性 (A D C C) のエフェクター機能を有する K L R G 1 を結合させる完全長抗体の F a b 抗体; b . 補体依存性細胞傷害性 (C D C) のエフェクター機能を有する K L R G 1 を結合させる抗体; c . 抗体薬物複合体 (A D C) のエフェクター機能を有する K L R G 1 を結合させる抗体; d . F c - カドヘリン融合タンパク質; e . 融合タンパク質 E - カドヘリン / F c ; f . 融合タンパク質 R - カドヘリン / F c ; g . 融合タンパク質 N - カドヘリン / F c ; h . キメラ抗原受容体; または i . 多特異性抗体。

20

【0075】

さまざまな実施形態では、キメラ抗原受容体は、T 細胞に移植された K L R G 1 抗体の特異性部分を含む。

【0076】

さまざまな実施形態では、多特異性抗体は、二重特異性または三重特異性抗体を含む。

【0077】

さまざまな実施形態では、枯渴剤は K L R G 1 を結合させる。

【0078】

さまざまな実施形態では、K L R G 1 は、ヒト K L R G 1 の細胞外ドメインである。

【0079】

さまざまな実施形態では、枯渴剤は、ヒトおよびカニクイザル K L R G 1 の細胞外ドメインと交差反応する。

30

【0080】

さまざまな実施形態では、枯渴剤は、K L R G 1 の細胞外ドメインのエピトープに結合し、エピトープは、ヒトおよびカニクイザルにおいて少なくとも 90 % 同一である。

【0081】

さまざまな実施形態では、枯渴剤は、K L R G 1 に結合し、かつマウス抗体ではない。

【0082】

さまざまな実施形態では、枯渴剤は、K L R G 1 を結合させ、それによって、涸渴のため C D 8 + 細胞傷害性 T および / または N K 細胞を標識する。

【0083】

さまざまな実施形態では、枯渴剤は、K L R G 1 を結合させ、それによって、抗体依存性細胞傷害性 (A D C C) または補体依存性細胞傷害性 (C D C) を誘発する。

40

【0084】

さまざまな実施形態では、枯渴剤は、K L R G 1 を発現する T および / または N K 細胞を選択的に標的化し、枯渴させる。

【0085】

特定の実施形態では、枯渴剤は、新しく、これまでに既知でない抗体である。既知の抗 K L R G 1 抗体は、細胞外ドメインに結合し、フローサイトメトリーにおいてヒト細胞に対して証明された反応性を有する、マウス抗ヒト K L R G 1 抗体である、クローン 13 F 12 F 2 (e B i o s c i e n c e)、抗ヒト K L R G 1 抗体であると報告されているク

50

クローン 14C2A07 (Biolegend) および SA231A2 (Biolegend)、同様のエピトープをクローン 13F12F2 に結合させると言われているクローン 13A2 (EBioscience)、報告によればヒト KLRG1 を結合させる、クローン REA261 (Miltenyi Biotec)、ならびにいくつかのベンダー (例えば Biolegend) がヒトに対して反応性であると報告し、他のベンダー (例えば Abcam) がマウスのみへの反応性を報告している、ハムスター抗マウス KLRG1 抗体である、クローン 2F1、を含む。これらの抗体の試験では、ヒト KLRG1 への反応性を証明することができなかった。(既知の抗 E-カドヘリン抗体は、ベンダーによって説明され、以下の例を含む: クローン 67A4、クローン MB2、クローン HECD1 (すべて Abcam が販売); eBioscience が販売する DECMA1; BD Biosciences が販売する クローン 36/E-カドヘリン。)さまざまな実施形態では、KLRG1 アンタゴニストは、KLRG1 に結合し、かつクローン 13F12F2、14C2A07、SA231A2、または 2F1 ではない、結合剤を含む。

10

【0086】

さまざまな実施形態では、KLRG1 枯渇剤は、枯渇剤をコード化する mRNA を被験者に提供することによって投与され得る。mRNA アプローチは、Moderna Therapeutics、CureVac などによって開発されている。

【0087】

医薬組成物

さまざまな実施形態では、KLRG1 枯渇剤 (KLRG1 発現細胞枯渇剤) は、医薬組成物として、例えば薬剤として使用される医薬組成物として、調製される。さまざまな実施形態では、医薬組成物は、自己免疫疾患 (例えば、関節リウマチ、乾癬、封入体筋炎 (IBM)、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、リンパ球性大腸炎、特発性血小板減少性紫斑病、もしくは 1 型糖尿病); 移植片拒絶 (例えば、腎臓の拒絶反応、好ましくは移植後の T 細胞介在性の腎臓の拒絶反応); 血液悪性腫瘍 (例えば、T 細胞白血病、NK 細胞白血病、大顆粒リンパ球性白血病 (LGLL)、もしくは慢性リンパ球性白血病 (CLL) などの白血病、または T 細胞リンパ腫などのリンパ腫、好ましくは未分化大細胞リンパ腫); または固形腫瘍 (例えば、乳がん、胃がん、卵巣がん、前立腺がん、神経膠腫、神経膠芽腫、黒色腫、肺がん、舌がん) のための薬剤として使用される。

20

【0088】

当業者は、既知の方法に従って医薬組成物として KLRG1 枯渇剤を調合し得る。

30

【0089】

医薬組成物は担体を含み得る。本明細書で使用される「担体」は、使用される用量および濃度でこれにさらされる細胞または被験者に対して非毒性 (または比較的非毒性) である、薬学的に許容可能な担体、賦形剤、または安定剤を含み得る。しばしば、生理学的に許容可能な担体は、pH 緩衝水溶液である。生理学的に許容可能な担体の例は、緩衝剤、例えばホスフェート、シトラート、および他の有機酸; アスコルビン酸を含む抗酸化剤; 低分子量 (約 10 残基未満の) ポリペプチド; タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン; 親水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドン; アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリジン; 単糖、二糖、およびグルコース、マンノース、またはデキストリンを含む他の炭水化物; キレート剤、例えば EDTA; 糖アルコール、例えばマンニトールまたはソルビトール; 塩形成対イオン、例えばナトリウム; および / または非イオン界面活性剤、例えば TWEEN (商標)、ポリエチレングリコール (PEG)、および PLURONICS (商標) を含む。

40

【0090】

さまざまな実施形態では、KLRG1 枯渇剤は、注射可能な製剤、例えば、皮下、静脈内、筋内、髄膜下または腹膜内注射製剤で構成される。注射可能な製剤は、水溶液、例えば生理学的に適合性の緩衝剤、例えばハックス液、リンガー溶液、または生理的食塩緩衝液 (physiological saline buffer) 中であってよい。注射可能な製剤は、調合剤 (formulatory agents)、例えば懸濁化剤、安定化剤および / または分散剤を含有し得る。ある

50

いは、K L R G 1 枯渴剤は、使用前に適切なビヒクル、例えば滅菌発熱性物質除去蒸留水により構成されるように乾燥または粉末形態であってよい。

【0091】

特定の実施形態では、K L R G 1 枯渴剤は、P C T 出願第 P C T / U S 1 7 / 3 5 6 2 1 号に開示された K L R G 1 / リガンド結合剤のいずれでもない。

【0092】

治療および投与

本発明は、本明細書に開示する態様もしくは実施形態のいずれかによる K L R G 1 枯渴剤 (K L R G 1 発現細胞枯渴剤)、または本明細書に開示する態様もしくは実施形態のいずれかによる医薬組成物を、それを必要とする被験者に投与することを含む方法を提供する。さまざまな実施形態では、被験者はヒトである。さまざまな実施形態では、本発明による方法は、(例えば *ex vivo* とは対照的に) *in vivo* で実行される。本明細書で使用される「治療 (treatment)」は、治療学的治療 (therapeutic treatment) および予防的または防止的手段の両方を指すことができ、目的は、目標の病状または疾患を防止するかまたは遅らせる (軽減する) ことである。治療が必要な人は、既に疾患にかかっている人、疾患を有する傾向がある人、または疾患が防止されるべき人、を含み得る。

10

【0093】

さまざまな実施形態では、本発明は、K L R G - 1 の過剰発現に関連する健康状態を治療する方法を提供する。好適な実施形態では、本発明は、細胞、例えば通常の K L R G - 1 レベルより高く発現する T 細胞および / または N K 細胞、のサブセットを標的化する。

20

【0094】

さまざまな態様および実施形態では、本発明は、自己免疫疾患を治療する方法を提供する。自己免疫疾患は、例えば、関節リウマチ、乾癬、封入体筋炎 (I B M)、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、リンパ球性大腸炎、特発性血小板減少性紫斑病、原発性胆汁性胆管炎、または 1 型糖尿病であり得る。本明細書に記載するように、細胞傷害性 T 細胞は、これらの疾患の病因に関わる。本発明によると、このような細胞傷害性 T 細胞の過剰は、治療的有用性を提供する。

【0095】

さまざまな態様および実施形態では、本発明は、移植片拒絶を治療または防止する方法を提供する。移植片拒絶は、例えば腎臓の拒絶反応 (例えば、移植後の T 細胞介在性の腎臓の拒絶反応) であってよい。

30

【0096】

さまざまな態様および実施形態では、本発明は、血液悪性腫瘍を治療する方法を提供する。血液悪性腫瘍は、例えば、T 細胞白血病、N K 細胞白血病、大顆粒リンパ球性白血病 (L G L L)、または慢性リンパ球性白血病 (C L L) などの白血病であり得る。血液悪性腫瘍は、例えば、T 細胞リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫 (A L C L)、末梢性 T 細胞リンパ腫 (P T C L)、または血管免疫芽球型 T 細胞リンパ腫 (A I T C L) などのリンパ腫であり得る。本明細書で論じるように、K L R G 1 は、これらの白血病およびリンパ腫の T 細胞によって、大部分が K L R G 1 を発現する、正常または活性化 T 細胞と遺伝子発現が同様の程度まで、発現される。本発明によると、このような細胞傷害性 T 細胞の過剰は、治療的有用性を提供する。

40

【0097】

さまざまな態様および実施形態では、本発明は、固形腫瘍を治療する方法を提供する。固形腫瘍は、例えば、乳がん、胃がん、卵巣がん、前立腺がん、神経膠腫、神経膠芽腫、黒色腫、または肺がんであり得る。K L R G 1 は、T および N K 細胞上に存在する共抑制受容体であり、そのリガンドによる係合によって、T および N K 細胞の抑制が生じる。これらの抑制された T および N K 細胞は、さらに、(任意の特定の理論に束縛されることを望むものではないが、おそらくは、空間占拠性または他の細胞 - 細胞相互作用を通じて) 他の T および N K 細胞の機能を抑制すると思われる。例えば、K L R G 1 発現 T 細胞の、がん細胞表面上に発現された、そのリガンドである E - カドヘリンへの結合は、非 K L R

50

G 1 発現 T 細胞が、がん細胞表面に到達し、がん細胞を殺滅するのを妨げ得る。このような抑制された K L R G 1 発現細胞（例えば、無効な T および / または N K 細胞）の除去により、適切に機能する免疫システム細胞が、がん細胞を首尾よく攻撃することができる。例えば、実験では、ヒトの乳がん細胞上での E - カドヘリン発現は、N K 細胞上の K L R G 1 を通じてトラスツズマブ介在性の A D C C に影響を及ぼすことが、示唆されている（Yamauchi et al., 2011）。

【0098】

「投与（Administration）」および「治療（treatment）」は、動物、ヒト、実験の被験者、細胞、組織、臓器または生物学的流体に適用される場合、外来性の医薬品、治療薬、診断薬、または組成物を、動物、ヒト、被験者、細胞、組織、臓器または生物学的流体に接触させることを含み得る。「投与」および「治療」は、in vivo、ならびにいくつかの実施形態では in vitro または ex vivo の治療を含む。さまざまな実施形態では、方法は in vivo で実行される。

10

【0099】

「治療する（Treat）」または「治療すること（treating）」は、治療薬、例えば本発明の枯渴剤のうちのいずれかを含有する組成物を、その薬剤が治療活性を有する、1つ以上の病徴を有するか、または病気を有する疑いがある被験者または患者に、体内または体外投与することを意味する。典型的には、この薬剤は、任意の臨床的に測定可能な程度だけ、そのような病徴の進行の退行を誘発するか、またはその進行を抑制することによって、治療される被験者または集団の1つ以上の病徴を緩和するのに有効な量で投与される。任意の特定の病徴を緩和するのに有効な治療薬の量は、患者の病態、年齢、および体重、ならびに、その薬剤が被験者における所望の反応を誘発する能力などの要因に応じて、変化し得る。病徴が緩和されたかどうかは、典型的にはその病徴の深刻さまたは進行状態を評価するために医師または他の熟練した医療提供者によって使用される、任意の臨床的測定により、評価され得る。

20

【0100】

したがって、さまざまな実施形態では、用語「有効量」は、特定の定められた目的の達成をもたらす、K L R G 1 枯渴剤の濃度または量である。K L R G 1 枯渴剤の「有効量」は、経験的に決定され得る。さらに、「治療有効量」は、定められた治療効果を達成するのに有効である、K L R G 1 枯渴剤の濃度または量である。この量も、経験的に決定され得る。

30

【0101】

さまざまな実施形態では、K L R G 1 枯渴剤は、枯渴剤をコード化する m R N A を被験者に提供することによって、投与され得る。

【0102】

さまざまな実施形態では、治療は、被験者の生存を長くすることができる。さまざまな実施形態では、治療は、がんの進行および / もしくは転移を防ぐか、または減少させることができる。

【0103】

以下の実施例は、例示的なものであり、制限するものではない。テクノロジーの多くの変形体が、本開示を検討すれば、当業者には明らかになるであろう。したがって、テクノロジーの範囲は、実施例の参照によって決定すべきではなく、代わりに、特許請求の範囲を、その等価物の全範囲と共に参照することで、決定すべきである。

40

【0104】

〔実施例〕

実施例 1 : K L R G 1 への抗体

K L R G 1 を結合させる抗体を、精製組み換えタンパク質抗原でのマウスの免疫処置によって生成した : ヒト - K L R G 1 E C D アイソタイプ 1 (配列 I D 番号 1) 、 ヒト - K L R G 1 E C D アイソタイプ 2 (配列 I D 番号 2) 、 および カニクイザル - K L R G 1 E C D (配列 I D 番号 3) 。 B a l b / c および S J L マウスは、2 週間ごとに

50

組換え型 K L R G 1 タンパク質で免疫処置し、血清を、2 回目および 4 回目の免疫処置後に試験のために収集した。

【0105】

図 6 A は、免疫処置されたマウスにおけるカニクイザル K L R G 1 への特異的血清反応を示す。図 6 B は、免疫処置されたマウスにおけるヒト K L R G 1 への特異的血清反応を示す。抗 K L R G 1 抗体活性は、E L I S A で測定した。反応は、ヒトおよびカニクイザル K L R G 1 を認識する抗体がマウスにおいて生成されることにより介在されることが示された。

【0106】

図 7 は、免疫処置されたマウスから単離された 9 つのハイブリドマクロンの用量依存性結合曲線を示す。E L I S A は、最初に、免疫吸着剤を使った 96 ウェルプレート上でヒト K L R G 1 (配列 I D 番号 2) を固定し、その後、抗体の用量依存性滴定を受けさせることによって、行った。結合した抗体は、抗マウス - H R P 共役検出 (conjugated detection) により可視化した。よって、図 7 は、免疫処置されたマウスの脾臓から単離された脾細胞が、K L R G 1 を認識する抗体を生成し得ることを示す。

【0107】

実施例 2 : K L R G 1 の遺伝子発現は C D 4 + T 細胞よりも C D 8 + および N K 細胞の中で高く、K L R G 1 発現は C D 8 + T 細胞の細胞傷害能と相関する。

細胞傷害性細胞は、C D 8 + T 細胞および N K 細胞からなる。P u b M e d I D # (P M I D) が 1 2 3 9 3 7 2 3、2 0 3 9 4 7 8 8、2 3 9 6 6 4 1 3、2 6 5 8 3 0 6、および 2 7 5 6 6 8 1 8 の文献における健康なドナーからのフローサイトメトリーデータの公表された数字からの抽出を介した分析では、C D 4 + T ヘルパー細胞 (相対倍率 (relative-fold) 1 . 0) に比べて、C D 8 + (相対倍率 2 . 5) T 細胞および C D 5 6 + N K 細胞 (相対倍率 2 . 4) の中の K L R G 1 + 細胞のパーセンテージが大きいことを証明している (図 1)。抗原曝露に反応して、C D 8 + 細胞傷害性 T 細胞は、ナイーブ細胞から、セントラルメモリー (T C M)、エフェクターメモリー (T E M)、およびエフェクター (T E M R A) 細胞によって特徴づけられる、ますます強いエフェクター細胞へと分化する。細胞傷害性分子であるグランザイムおよびサイトカインの遺伝子発現により反映されるような、これらの分化サブセット内の C D 8 + T 細胞の細胞傷害能は、フローサイトメトリーにより、これらのサブセット内の K L R G 1 + 細胞の割合と大いに相関する (図 2 A および 図 2 B)。図 2 A の遺伝子発現分析は、E u r o p e a n B i o i n f o r m a t i c s I n s t i t u t e の A r r a y E x p r e s s データベースのデータセット E - T A B M - 4 0 において利用可能なマイクロアレイデータに対して行った。図 2 B のフローサイトメトリーデータは、特に、P u b M e d I D # (P M I D) が 1 2 3 9 3 7 2 3、1 6 1 4 0 7 8 9、1 8 6 5 7 2 7 4、2 2 3 4 7 4 0 6、2 4 0 2 2 6 9 2、2 4 3 9 1 6 3 9、および 2 6 6 1 1 7 8 7 であるもの、ならびに d i s c o v e r y . u c l . a c . u k / 1 3 1 7 7 7 2 / 1 / 1 3 1 7 7 7 2 . p d f . のオンラインで公開された論文に示されるような、ある範囲の文献に存在する公表された数字および表から抽出した。

【0108】

実施例 3 : 封入体筋炎 (I B M)

図 3 は、G e n e E x p r e s s i o n O m n i b u s (G E O) データセット G S E 3 9 4 5 4 からのマイクロアレイデータの分析を示す。K L R G 1 の発現の増加が、正常な筋肉に比べて、I B M の筋肉で観察される。

【0109】

図 4 は、20 人の I B M 患者からの筋生検サンプルの免疫組織化学的染色を示す。4 人の患者の代表的な免疫組織化学的染色画像を、図 4 に示し、これは、すべての患者の筋線維を攻撃する K L R G 1 + 浸潤細胞 (黒く染色) を示す。アイソタイプ対照を、陰性対照 (不図示) として使用した。

【0110】

10

20

30

40

50

図 5 は、リンパ節の C D 8 + T 細胞（黒く染色）における K L R G 1 の限られた発現を示しており、これは、K L R G 1 発現細胞の枯渇後の、保護メモリー T 細胞の予測される相対的節約（predicted relative sparing）を示す。2 つのヒトリンパ節サンプルの代表的な染色画像を示す。アイソタイプ対照を、陰性対照（不図示）として使用した。

【 0 1 1 1 】

図 8 A および図 8 B は、I B M 患者（図 8 A）および健康なドナー（図 8 B）の、代表的な例としてのフローサイトメトリー結果を示す。C D 8 + K L R G 1 + T 細胞の数の増加が、健康なドナー（図 8 B）に比べて I B M 患者（図 8 A）で観察された。各群の平均年齢は 6 5 歳であった。図 8 C は、I B M 患者および健康なドナーの全体的な血中リンパ球の平均 % を示す。

10

【 0 1 1 2 】

図 9 A および図 9 B は、ある割合の C D 8 + C D 5 7 + 白血病細胞（図 9 A で P 2 として示す）が I B M および T 細胞大顆粒リンパ球性白血病（T - L G L L）の患者において K L R G 1（図 9 B、示すように図 9 A からゲートされた細胞）を発現することを、フローサイトメトリーによって、示す。

【 0 1 1 3 】

図 1 0 A および図 1 0 B は、I B M および T - L G L L の患者と、I B M および慢性リンパ球性白血病の患者と、のそれぞれにおける、免疫組織化学的検査による、筋肉を攻撃している K L R G 1 + 浸潤細胞（黒く染色）を示している。アイソタイプ対照を、陰性対照（不図示）として使用した。

20

【 0 1 1 4 】

実施例 4：潰瘍性大腸炎

図 1 1 は、7 4 人の活動性潰瘍性大腸炎患者の腸生検からの発現データ（E - G E O D - 5 9 0 7 1）の分析を、腸が正常な 5 人の患者と比べて示している。腸が正常な患者と比べ、K L R G 1 の発現の増加が、活動性潰瘍性大腸炎患者の腸生検で、観察される（1 . 2 7 倍の割合）。データセットが、European Bioinformatics Institute の Array Express データベースから得られ、K L R G 1 発現について分析された。したがって、潰瘍性大腸炎は、本発明による療法にとって、特に魅力的な標的である。

【 0 1 1 5 】

30

実施例 5：ヒト K L R G 1 を結合させる抗体の生成

K L R G 1 の細胞外部分に結合する抗体は、以下を含むがこれらに限定されないいくつかの技術によって生成され得る：マウスハイブリドーマテクノロジー、ファージ提示法、酵母提示法（yeast display）、レトロ細胞ディスプレイ（retrocyte display）、ヒト化マウステクノロジー、リボソームディスプレイ（ribosome display）。他の方法および追加の方法が、当技術分野で既知であり、本発明の適用に関連して開発され得る。

【 0 1 1 6 】

例えば、マウスハイブリドーマテクノロジーを使用して、K L R G 1 に結合し、K L R G 1 発現細胞を枯渇させる抗体を生成することができる。抗体生成に一般的に使用されるマウス株が使用され得、例えば B a l b / c または S J L 株である。複数のマウスが、免疫応答を生じるよう、抗原を 2 週間間隔で繰り返し注射され得る。いくつかの形態の抗原が、単独で、または補助剤、例えば外来抗原に対する宿主の免疫応答を高めることが知られている K L H（キーホールリンペットヘモシアニン）と組み合わせて、また、それを追加して、注射され得る。抗原は、精製組み換え K L R G 1、K L R G 1 をコードする c D N A、表面に K L R G 1 を発現する細胞、または K L R G 1 の配列から得られたペプチドの形態であってよい。

40

【 0 1 1 7 】

マウスに抗原を投与するたびに、K L R G 1 に対する免疫応答を、E L I S A タイターによって監視することができる。E L I S A は、適切な E L I S A マイクロタイタープレート上で組み換えの K L R G 1 を最初に固定することによって行われ得る。1 2 時間イン

50

キュベーションした後、プレートを、リン酸食塩水 (phosphate saline) で洗浄し、リン酸緩衝食塩水中 1 % の B S A 溶液でブロッキングすることができる。免疫処置されたマウス由来の血清は、リン酸緩衝食塩水中で連続して希釈され、マイクロタイタープレートで表面結合抗原と相互作用させられ得る。余分な血清は、洗い流され得、結合量は、標準技術、例えば H R P に共役された抗マウス抗体の追加、を用いて、可視化され得る。マウスは、十分に高いレベルの信号がそれらの血清中で検出され得るまで、抗原でブーストされ得、その時点で、脾臓がマウスから除去され得る。免疫処置されたマウス由来の脾細胞は、当技術分野で使用される標準プロトコルを用いて得られた (S P 2 / 0) 骨髓腫と融合され得る。結果として得られるハイブリドーマ細胞は、E L I S A を用いて組み換えの K L R G 1 への結合を試験され、また F A C S を用いて、細胞が発現した K L R G 1 への結合を試験され得る、抗体を発現および分泌し得る。所望の結合特徴を有する抗体を生成するハイブリドーマ細胞株は、サブクローニングされ得、抗体の可変領域は配列が決定され得る。これらの可変マウス領域およびヒト定常領域を用いた組み換え抗体は、標準技術によって生成され得、(例えば結合および/もしくは枯渇活性について) 機能アッセイにおいて評価され得る。

10

20

30

40

50

【0118】

実施例 6 : 抗 K L R G 1 抗体を使用した C D 8 + C D 5 7 + 最終分化細胞の枯渇

図 2 7 A ~ 図 2 7 C は、I g G 1 アイソタイプ抗体 (I s o)、抗 K L R G 1 マウス / ヒト I g G 1 キメラ抗体 C H I 1 0 1 (1 0 1)、抗 K L R G 1 マウス / ヒト I g G 1 キメラ抗体 C H I 1 0 4 (1 0 4)、および、陽性対照として使用される既知の強力な T 細胞枯渇抗体である、抗 C D 2 抗体シプリズマブ (S i p) での 2 . 5 時間のインキュベーションと、ベースラインを比較して、ヘパリン中に集められたヒト全血のフローサイトメトリーを示す。抗体 C H I 1 0 1 および C H I 1 0 4 は、C D 8 + C D 5 7 + T 細胞および C D 8 + C D 5 7 + N K 細胞の選択的枯渇を生じた。

【0119】

実施例 7 : 舌がん

図 2 8 は、90 人の舌がん患者の舌生検の発現データ (G S E 3 4 1 1 5) の分析を、舌がんのない 31 人の患者と比較して示す。K L R G 1 の発現の増加 (2 . 1 6 倍の割合) が、舌がん患者の舌生検で観察された。データセットは、European Bioinformatics Institute の Array Express データベースから得られ、K L R G 1 発現について分析された。したがって、舌がんは、本発明による療法にとって、特に魅力的な標的である。

【0120】

実施例 8 : 特発性血小板減少性紫斑病

図 1 2 は、2 人の I T P 患者の血液の C D 3 + T 細胞発現データ (G S E 5 7 4) の分析を、2 人の健康な人間と比較して示している。K L R G 1 の発現の増加 (2 . 6 9 倍の割合) は、I T P 患者の C D 3 + T 細胞で観察された。データセットは、National Center for Bioinformatics の Gene Expression Omnibus データベースから得られ、K L R G 1 発現について分析された。したがって、特発性血小板減少性紫斑病は、本発明による療法にとって、特に魅力的な標的である。

【0121】

実施例 9 : リンパ球性大腸炎

図 1 3 は、4 人のリンパ球性大腸炎患者の結腸生検の発現データ (G S E 6 5 1 0 7) の分析を、4 人の健康な人間の結腸生検と比較して示している。K L R G 1 の発現の増加 (3 . 8 倍の割合) が、リンパ球性大腸炎患者の結腸生検で観察された。データセットは、National Center for Bioinformatics の Gene Expression Omnibus データベースから得られ、K L R G 1 発現について分析された。したがって、リンパ球性大腸炎は、本発明による療法にとって、特に魅力的な標的である。

【0122】

実施例10：腎移植片拒絶

図14は、腎移植片拒絶があった患者の発現データ(GSE36059)の分析を、腎摘出と比較して示している。KLRG1の発現の増加(2.69倍の割合)が、腎移植拒絶の腎臓生検で観察された。データセットは、National Center for BioinformaticsのGene Expression Omnibusデータベースから得られ、KLRG1発現について分析され、NextBioを通じて追加の分析を行った。したがって、腎移植片拒絶は、本発明による療法にとって、特に魅力的な標的である。

【0123】

実施例11：未分化大細胞リンパ腫

図15は、6人の未分化大細胞リンパ腫患者のリンパ節生検からの発現データ(GSE6338)の分析を、5人の患者のリンパ節からの正常なCD4+T細胞と比較して示している。KLRG1の発現の増加(3.55倍の割合)が、未分化大細胞リンパ腫患者のリンパ節生検で観察された。データセットは、National Center for BioinformaticsのGene Expression Omnibusデータベースから得られ、KLRG1発現について分析された。したがって、未分化大細胞リンパ腫は、本発明による療法にとって、特に魅力的な標的である。

【0124】

実施例12：関節リウマチ

図16は、関節リウマチ患者の滑膜生検からの発現データ(GSE1919)の分析を、正常な被験者と比較して示している。KLRG1の発現の増加(3.55倍の割合)が、関節リウマチ患者の滑膜生検で観察された。データセットは、National Center for BioinformaticsのGene Expression Omnibusデータベースから得られ、KLRG1発現について分析された。したがって、関節リウマチは、本発明による療法にとって、特に魅力的な標的である。

【0125】

実施例13：乾癬

図17は、乾癬患者の皮膚生検からの発現データ(GSE52471)の分析を、正常な被験者と比較して示している。KLRG1の発現の増加(1.14倍の割合)が、乾癬患者の皮膚生検で観察された。データセットは、National Center for BioinformaticsのGene Expression Omnibusデータベースから得られ、KLRG1発現について分析された。したがって、乾癬は、本発明による療法にとって、特に魅力的な標的である。

【0126】

実施例14：原発性胆汁性胆管炎

図18は、最終的に肝移植が必要であった原発性胆汁性胆管炎患者の肝生検からの発現データ(GSE79850)の分析を、正常な被験者と比較して示している。KLRG1の発現の増加(6.03倍の割合)が、原発性胆汁性胆管炎患者の肝生検で観察された。データセットは、National Center for BioinformaticsのGene Expression Omnibusデータベースから得られ、KLRG1発現について分析された。したがって、原発性胆汁性胆管炎は、本発明による療法にとって、特に魅力的な標的である。

【0127】

実施例15：1型糖尿病

図19は、1型糖尿病患者の膵臓からの発現データ(GSE72492)の分析を、正常な被験者と比較して示している。KLRG1の発現の増加(1.66倍の割合)が、1型糖尿病患者の膵臓で観察された。データセットは、National Center for BioinformaticsのGene Expression Omnibusデータベースから得られ、KLRG1発現について分析された。したがって、1型糖

10

20

30

40

50

尿病は、本発明による療法によって、特に魅力的な標的である。

【0128】

実施例16：大顆粒リンパ球性白血病

図20は、T細胞大顆粒リンパ球性白血病患者の血液からの発現データ(GSE10631)の分析を、正常な被験者と比較して示している。KLRG1の同様の発現または発現の増加(1.39倍の割合)が、T細胞大顆粒リンパ球性白血病患者の血液で観察された。データセットは、National Center for BioinformaticsのGene Expression Omnibusデータベースから得られ、KLRG1発現について分析された。したがって、これらのT細胞大顆粒リンパ球性白血病サンプルは、KLRG1を含有し、T細胞大顆粒リンパ球性白血病は、本発明による療法によって、特に魅力的な標的である。

10

【0129】

実施例17：T細胞白血病およびリンパ腫

図21は、未分化大細胞リンパ腫(ALCL)、血管免疫芽球性T細胞リンパ腫(AITCL)、および末梢性T細胞リンパ腫(PTCL)を含むさまざまなT細胞白血病およびリンパ腫の患者のリンパ腫生検からの発現データ(GSE19069)の分析を示している。正常なT細胞と比べてKLRG1の同様の発現が、さまざまなT細胞リンパ腫で観察された(範囲0.45~1.52倍の増加)。データセットは、National Center for BioinformaticsのGene Expression Omnibusデータベースから得られ、KLRG1発現について分析された。したがって、これらのT細胞リンパ腫は、KLRG1発現T細胞を含有し、本発明による療法によって、特に魅力的な標的である。

20

【0130】

実施例18：多発性硬化症

図22は、多発性硬化症患者の脳生検からの発現データ(GSE5839)の分析を、正常な脳と比較して示している。KLRG1の高い発現が、対照の脳と比較して観察された(1.23倍)。データセットは、National Center for BioinformaticsのGene Expression Omnibusデータベースから得られ、KLRG1発現について分析された。したがって、多発性硬化症は、本発明による療法によって、特に魅力的な標的である。

30

【0131】

実施例19：ヒトのがんにおけるKLRG1の発現の増加

図23は、KLRG1が、RNAseq発現によって検出されるような、広範ながんにおいて、腫瘍浸潤リンパ球によって発現されることを示している。TCGAの生RNAseqデータを、TCGAのデータベースからダウンロードした。32個のがん型にわたるがん組織サンプル(N=9,755)を分析した。X軸は \log_2 RPKM値を表し、Y軸はがん型を含み、それぞれのドットが、単一のがん組織サンプルにおけるKLRG1発現のレベルを表している。

【0132】

図23は、多くのがん型の腫瘍サンプルにおけるKLRG1の発現を示す。左から右へ列挙されたがん型は以下のとおりである：ブドウ膜黒色腫、子宮がん、子宮がん肉腫、甲状腺がん、胸腺腫、精巣胚細胞腫瘍、黒色腫、肉腫、直腸腺がん、前立腺がん、褐色細胞腫、膵臓腺がん、卵巣嚢胞腺がん(ovarian cysadenocarcinoma)、中皮腫、肺扁平上皮がん、肺腺がん、肝細胞がん、乳頭状腎細胞がん(kidney papillary cell carcinoma)、腎臓明細胞がん(kidney clear cell carcinoma)、色素嫌性腎がん(kidney chromophobe)、頭頸部扁平上皮がん、多形神経膠芽腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、結腸腺がん、胆管がん、子宮頸がんおよび子宮頸管がん、浸潤性乳がん、脳の低悪性度神経膠腫、膀胱がん、副腎皮質がん、ならびに急性骨髄性白血病。したがって、このようながんは、本発明による療法によって、特に魅力的な標的である。

40

【0133】

50

実施例 20：黒色腫

図 2 4 A ~ 図 2 4 C は、3 人の患者からのヒト黒色腫生検の免疫組織化学的検査を示す。結果は、豊富な K L R G 1 + 細胞（黒く染色）浸潤腫瘍を証明している。アイソタイプ対照を、陰性対照（不図示）として使用した。図 2 4 D は、正常な皮膚には K L R G 1 + 細胞がないことを示す。腫瘍組織における K L R G 1 + 細胞の存在は、黒色腫を、本発明による療法にとって、特に魅力的な標的にする。

【0134】

実施例 21：腎細胞がん

図 2 5 は、4 人の患者からのヒト腎細胞がん生検の免疫組織化学的検査を示す。結果は、豊富な K L R G 1 + 細胞（黒く染色）浸潤腫瘍を証明している。アイソタイプ対照を、陰性対照（不図示）として使用した。腫瘍細胞における K L R G 1 + 細胞の存在は、腎細胞がんを、本発明による療法にとって、特に魅力的な標的にする。

10

【0135】

実施例 22：非小細胞肺がん

図 2 6 は、4 人の患者からのヒト非小細胞肺がん生検の免疫組織化学的検査を示す。腫瘍に浸潤する豊富な K L R G 1 + 細胞（黒く染色）が観察された。アイソタイプ対照を、陰性対照（不図示）として使用した。腫瘍細胞における K L R G 1 + 細胞の存在は、非小細胞肺がんを、本発明による療法にとって特に魅力的な標的にする。

【0136】

参考文献

20

Akbar AN, Henson SM. Are senescence and exhaustion intertwined or unrelated processes that compromise immunity? Nat Rev Immunol. 2011;11(4):289-95.

Amemiya K, Granger RP, Dalakas MC. Clonal restriction of T-cell receptor expression by infiltrating lymphocytes in inclusion body myositis persists over time. Studies in repeated muscle biopsies. Brain: a journal of neurology. 2000;123(Pt 10):2030-9.

30

Apetoh L, Smyth MJ, Drake CG, Abastado JP, Apte RN, Ayyoub M, et al. Consensus nomenclature for CD8 T cell phenotypes in cancer. Oncoimmunology. 2015;4(4):e998538.

Arahata K, Engel AG. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. I: Quantitation of subsets according to diagnosis and sites of accumulation and demonstration and counts of muscle fibers invaded by T cells. Ann Neurol. 1984;16(2):193-208.

40

Arahata K, Engel AG. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. III: Immunoelectron microscopy aspects of cell-mediated muscle fiber injury. Ann Neurol. 1986;19(2):112-25.

Arahata K, Engel AG. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopa

50

thies. IV: Cell-mediated cytotoxicity and muscle fiber necrosis. *Ann Neurol.* 1988;23(2):168-73.

Attig S, Hennenlotter J, Pawelec G, Klein G, Koch SD, Pircher H, et al. Simultaneous infiltration of polyfunctional effector and suppressor T cells into renal cell carcinomas. *Cancer Res.* 2009;69(21):8412-9.

Betjes MG, Meijers RW, de Wit EA, Weimar W, Litjens NH. Terminally differentiated CD8+ Temra cells are associated with the risk for acute kidney allograft rejection. *Transplantation.* 2012;94(1):63-9.

Bisping G, Lugerling N, Lutke-Brintrup S, Pauels HG, Schurmann G, Domschke W, et al. Patients with inflammatory bowel disease (IBD) reveal increased induction capacity of intracellular interferon-gamma (IFN-gamma) in peripheral CD8+ lymphocytes co-cultured with intestinal epithelial cells. *Clinical and experimental immunology.* 2001;123(1):15-22.

Blanco P, Viallard JF, Pellegrin JL, Moreau JF. Cytotoxic T lymphocytes and autoimmunity. *Current opinion in rheumatology.* 2005;17(6):731-4.

Brunner SM, Rubner C, Kesselring R, Martin M, Griesshammer E, Ruemmele P, et al. Tumor-infiltrating, interleukin-33-producing effector-memory CD8(+) T cells in resected hepatocellular carcinoma prolong patient survival. *Hepatology.* 2015;61(6):1957-67.

Bueno V, Pestana JO. The role of CD8+ T cells during allograft rejection. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica [et al].* 2002;35(11):1247-58.

Carvalho H, Duarte C, Silva-Cardoso S, daSilva JA, Souto-Carneiro MM. CD8 T cell profiles in patients with rheumatoid arthritis and their relationship to disease activity. *Arthritis & rheumatology.* 2014;37(2):363-71.

D'Asaro M, Dieli F, Caccamo N, Musso M, Porretto F, Salerno A. Increase of CCR7-CD45RA+ CD8 T cells (T(EMRA)) in chron

10

20

30

40

50

ic graft-versus-host disease. Leukemia. 2006;20(3):545-7.

Faustman DL, Davis M. The primacy of CD8 T lymphocytes in type 1 diabetes and implications for therapies. Journal of molecular medicine. 2009;87(12):1173-8.

Friese MA, Fugger L. Pathogenic CD8(+) T cells in multiple sclerosis. Ann Neurol. 2009;66(2):132-41.

Greenberg SA, Pinkus JL, Amato AA, Kristensen T, Dorfman DM. Association of inclusion body myositis with T cell large granular lymphocytic leukaemia. Brain: a journal of neurology. 2016;139:1348-1360.

Guthmann MD, Tal M, Pecht I. A new member of the C-type lectin family is a modulator of the mast cell secretory response. Int Arch Allergy Immunol. 1995;107(1-3):82-6.

Hijnen D, Knol EF, Gent YY, Giovannone B, Beijin SJ, Kupper TS, et al. CD8(+) T cells in the lesional skin of atopic dermatitis and psoriasis patients are an important source of IFN-gamma, IL-13, IL-17, and IL-22. J Invest Dermatol. 2013;133(4):973-9.

Hofmann M, Schweier O, Pircher H. Different inhibitory capacities of human and mouse KLRG1 are linked to distinct disulfide-mediated oligomerizations. Eur J Immunol. 2012;42(9):2484-90.

Kita H. Autoreactive CD8-specific T-cell response in primary biliary cirrhosis. Hepatology research: the official journal of the Japan Society of Hepatology. 2007;37 Suppl 3:S402-5.

Lamy T, Loughran TP, Jr. How I treat LL leukemia. Blood. 2011;117(10):2764-74.

Legat A, Speiser DE, Pircher H, Zehn D, Fuertes Marraco SA. Inhibitory Receptor Expression Depends More Dominantly on Differentiation and Activation than "Exhaustion" of Human CD8 T Cells. Front Immunol. 2013;4:455.

Melis L, Van Praet L, Pircher H, Venken K, Elewaut D. Senescence marker killer cell lectin-like receptor G1 (KLRG1) contributes to TNF-alpha production by interaction with its soluble E-cadherin liga

10

20

30

40

50

nd in chronically inflamed joints. Ann Rheum Dis. 2014;73(6):1223-31.

Muller S, Lory J, Corazza N, Griffiths GM, Z'Graggen K, Mazzucchelli L, et al. Activated CD4+ and CD8+ cytotoxic cells are present in increased numbers in the intestinal mucosa from patients with active inflammatory bowel disease. The American journal of pathology. 1998;152(1):261-8.

10

Okajima M, Wada T, Nishida M, Yokoyama T, Nakayama Y, Hashida Y, et al. Analysis of T cell receptor Vbeta diversity in peripheral CD4 and CD8 T lymphocytes in patients with autoimmune thyroid diseases. Clinical and experimental immunology. 2009;155(2):166-72.

Schirmer M, Goldberger C, Wurznner R, Duftner C, Pfeiffer KP, Clausen J, et al. Circulating cytotoxic CD8(+) CD28(-) T cells in ankylosing spondylitis. Arthritis research. 2002;4(1):71-6.

20

Takata K, Hong ME, Sitthinsuwan P, Long F, Tan SY, Liau JY, et al. Primary cutaneous NK/T-cell lymphoma, nasal type and CD56-positive peripheral T-cell lymphoma: a cellular lineage and clinicopathologic study of 60 patients from Asia. The American journal of surgical pathology. 2015;39(1):1-12.

30

Tessmer MS, Fugere C, Stevenaert F, Naidenko OV, Chong HJ, Leclercq G, et al. KLRG1 binds cadherins and preferentially associates with SHIP-1. International immunology. 2007;19(4):391-400.

Trevino MA, Teixeira E, Bragado R. CD8+ T cells oligoclonally expanded in synovial fluid at onset of spondyloarthropathy selectively proliferate in response to self-antigens: characterization of cell specificities in nonclonal populations. The Journal of rheumatology. 2004;31(10):1962-72.

40

Voehringer D, Koschella M, Pircher H. Lack of proliferative capacity of human effector and memory T cells expressing killer cell lectinlike receptor G1 (KLRG1). Blood. 2002;100(10):3698-702.

Xing L, Dai Z, Jabbari A, Cerise JE, Higgins CA, Gong W, et al. Alopecia areata

50

is driven by cytotoxic T lymphocytes and is reversed by JAK inhibition. Nat Med. 2014;20(9):1043-9.

Yamauchi C, Fujii S, Kimura T, Kuwata T, Wada N, Mukai H, Matsumoto N, Fukayama M, Ochiai A. E-cadherin expression on human carcinoma cell affects trastuzumab-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity through killer cell lectin-like receptor G1 on natural killer cells. Int J Cancer. 2011;128(9):2125-37.

Yu HG, Lee DS, Seo JM, Ahn JK, Yu YS, Lee WJ, et al. The number of CD8+ T cells and NKT cells increases in the aqueous humor of patients with Behcet's uveitis. Clinical and experimental immunology. 2004;137(2):437-43.

Zang YC, Li S, Rivera VM, Hong J, Robinson RR, Breitbach WT, et al. Increased CD8+ cytotoxic T cell responses to myelin basic protein in multiple sclerosis. Journal of immunology. 2004;172(8):5120-7.

【0137】

〔実施の態様〕

(1) 必要とする被験者に、有効量のキラー細胞レクチン様受容体G1(KLRG1)枯渴剤を投与し、それによって、CD8+細胞傷害性Tおよび/またはNK細胞をin vivoで枯渴させることを含む、被験者を治療する方法。

(2) 前記KLRG1枯渴剤は、エフェクター殺滅機能を有する、実施態様1に記載の方法。

(3) 前記KLRG1枯渴剤は、抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物である、実施態様1に記載の方法。

(4) 前記抗体は、モノクローナルである、実施態様3に記載の方法。

(5) 前記抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物は、ヒトまたはヒト化抗体を含む、実施態様3に記載の方法。

【0138】

(6) 前記抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物は、

a. エフェクター機能の抗体依存性細胞介在性細胞傷害性(ADCC)を有するKLRG1を結合させる完全長抗体のFab抗体；

b. エフェクター機能の補体依存性細胞傷害性(CDC)を有するKLRG1を結合させる抗体；

c. エフェクター機能の抗体薬物複合体(ADC)を有するKLRG1を結合させる抗体；

d. Fc-カドヘリン融合タンパク質；

e. 融合タンパク質E-カドヘリン/Fc；

f. 融合タンパク質R-カドヘリン/Fc；

g. 融合タンパク質N-カドヘリン/Fc；

h. キメラ抗原受容体；または、

i. 多特異性抗体、

を含む、実施態様3に記載の方法。

(7) 前記キメラ抗原受容体を含み、

10

20

30

40

50

前記キメラ抗原受容体は、T細胞に移植されたKLRG1抗体の特異性部分を含む、実施態様6に記載の方法。

(8) 多特異性抗体を含み、

前記多特異性抗体は、二重特異性または三重特異性抗体を含む、実施態様6に記載の方法。

(9) 前記枯渴剤は、KLRG1の細胞外ドメインを結合させる、実施態様1~8のいずれかに記載の方法。

(10) 前記KLRG1は、ヒトKLRG1アイソタイプ1または2の細胞外ドメインである、実施態様9に記載の方法。

【0139】

(11) 前記枯渴剤は、ヒトおよびカニクイザルKLRG1の細胞外ドメインと交差反応する、実施態様9または10に記載の方法。

(12) 前記枯渴剤は、前記KLRG1の細胞外ドメインのエピトープに結合し、前記エピトープは、ヒトおよびカニクイザルにおいて少なくとも90%同一である、実施態様9または10に記載の方法。

(13) 前記枯渴剤は、KLRG1に結合し、かつ(a)クローン13F12F2、14C2A07、REA261、13A2、SA231A2、2F1、13A2もしくはREA261;および/または(b)PCT出願第PCT/US17/35621号に記載される物質ではない、実施態様9または10に記載の方法。

(14) 前記枯渴剤は、KLRG1に結合し、マウス抗体ではない、実施態様9または10に記載の方法。

(15) 前記枯渴剤は、KLRG1を結合させ、それによって、涸渴のためCD8+細胞傷害性Tおよび/またはNK細胞を標識する、実施態様9または10に記載の方法。

【0140】

(16) 前記枯渴剤は、KLRG1を結合させ、抗体依存性細胞傷害性(ADCC)または補体依存性細胞傷害性(CDC)を誘発する、実施態様9または10に記載の方法。

(17) 前記枯渴剤は、KLRG1を発現するTおよび/またはNK細胞を選択的に標的化し、枯渴させる、実施態様1~16のいずれかに記載の方法。

(18) 前記枯渴剤は、前記枯渴剤をコードするmRNAを前記被験者に提供することによって投与される、実施態様1~17のいずれかに記載の方法。

(19) 前記被験者は、自己免疫疾患を有する、実施態様1~18のいずれかに記載の方法。

(20) 前記自己免疫疾患は、関節リウマチ、乾癬、封入体筋炎(IBM)、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、リンパ球性大腸炎、特発性血小板減少性紫斑病、または1型糖尿病である、実施態様19に記載の方法。

【0141】

(21) 前記被験者は、移植片拒絶を示すリスクを有するか、またはその危険にさらされている、実施態様1~18のいずれかに記載の方法。

(22) 前記移植片拒絶は、腎臓の拒絶反応である、実施態様21に記載の方法。

(23) 前記腎臓の拒絶反応は、移植後のT細胞介在性の腎臓の拒絶反応である、実施態様22に記載の方法。

(24) 前記被験者は、血液悪性腫瘍を有する、実施態様1~18のいずれかに記載の方法。

(25) 前記血液悪性腫瘍は、白血病である、実施態様24に記載の方法。

【0142】

(26) 前記白血病は、T細胞白血病、NK細胞白血病、大顆粒リンパ球性白血病(ALL)、または慢性リンパ球性白血病(CLL)である、実施態様25に記載の方法。

(27) 前記被験者は、リンパ腫を有する、実施態様1~18のいずれかに記載の方法。

(28) 前記リンパ腫は、T細胞リンパ腫、好ましくは未分化大細胞リンパ腫である、

10

20

30

40

50

実施態様 27 に記載の方法。

(29) 前記被験者は、固形腫瘍を有する、実施態様 1 ~ 18 のいずれかに記載の方法。

(30) 前記固形腫瘍は、乳がん、胃がん、卵巣がん、前立腺がん、神経膠腫、神経膠芽腫、黒色腫、肺がん、腎臓がん、または舌がんである、実施態様 29 に記載の方法。

【0143】

(31) オプションとして PCT 出願第 PCT / US 17 / 35621 号に記載される物質のうちのいずれかを除く、細胞涸渇に使用される、キラー細胞レクチン様受容体 G1 (KLRG1) 枯渇剤。

(32) 前記枯渇剤は、抗体もしくはその抗原結合断片、または抗体模倣物であり、
a. エフェクター機能の抗体依存性細胞介在性細胞傷害性 (ADCC) を有する KLRG1 を結合させる完全長抗体の Fab 抗体；

b. エフェクター機能の補体依存性細胞傷害性 (CDC) を有する KLRG1 を結合させる抗体；

c. エフェクター機能の抗体薬物複合体 (ADC) を有する KLRG1 を結合させる抗体；

d. Fc - カドヘリン融合タンパク質；

e. 融合タンパク質 E - カドヘリン / Fc；

f. 融合タンパク質 R - カドヘリン / Fc；

g. 融合タンパク質 N - カドヘリン / Fc；

h. キメラ抗原受容体；または、

i. 多特異性抗体、

を含む、実施態様 31 に記載の枯渇剤。

(33) 実施態様 31 または 32 に記載の枯渇剤をコード化する mRNA または cDNA。

(34) 実施態様 1 ~ 18 のいずれかに記載の方法において枯渇剤として使用される医薬組成物。

(35) 前記被験者に、有効量のチェックポイントモジュレーター療法を投与することをさらに含む、実施態様 24 ~ 30 のいずれかに記載の方法。

【0144】

(36) 前記 KLRG1 枯渇剤およびチェックポイントモジュレーター療法は、共同作用的である、実施態様 35 に記載の方法。

(37) 前記チェックポイントモジュレーター療法は、抗 PD - 1、抗 PD - L1、または抗 CTLA - 4 療法を含む、実施態様 35 または 36 に記載の方法。

(38) 前記被験者は、先行するがん療法に失敗しているか、または反応していない、実施態様 24 ~ 30 または 35 ~ 37 のいずれかに記載の方法。

【図面の簡単な説明】

【0145】

【図 1】ヒト KLRG1 が、ヘルパー T 細胞よりも大きな割合の細胞傷害性 T および NK 細胞上で発現されていることを示す。

【図 2 A】分化の増加と共に T 細胞での KLRG1 の発現の増加が進むことを示す。

【図 2 B】分化の増加と共に T 細胞での KLRG1 の発現の増加が進むことを示す。

【図 3】正常な筋肉に比べて、IBM の筋肉で KLRG1 遺伝子発現が増加していることを示す。12 個の IBM の筋肉生検を、5 つの正常な筋肉生検と比較した。

【図 4】封入体筋炎における筋肉に浸潤した T 細胞に対する免疫組織化学的検査による KLRG1 の発現を示す (4 つの患者サンプルを図示)。

【図 5】リンパ節での KLRG1 の発現を示し、リンパ節の CD8 + T 細胞の圧倒的多数が KLRG1 を発現しないことを証明している。

【図 6 A】KLRG1 に対する免疫処置されたマウスの血清反応を示す。

【図 6 B】KLRG1 に対する免疫処置されたマウスの血清反応を示す。

10

20

30

40

50

【図 7】ハイブリドーマクローンから誘導された抗体の、ヒト K L R G 1 細胞外ドメインに対する結合を示す。

【図 8 A】血液中の K L R G 1 + T 細胞が、年齢を適合させた健康な個人に比べて、I B M 患者で大量に増加していることを示す。

【図 8 B】血液中の K L R G 1 + T 細胞が、年齢を適合させた健康な個人に比べて、I B M 患者で大量に増加していることを示す。

【図 8 C】血液中の K L R G 1 + T 細胞が、年齢を適合させた健康な個人に比べて、I B M 患者で大量に増加していることを示す。

【図 9】図 9 A および図 9 B は、封入体筋炎および大顆粒リンパ球性白血病の患者における C D 8 + C D 5 7 + 血液 T 細胞での K L R G 1 の発現を示す。

10

【図 10 A】大顆粒リンパ球性白血病 (L G L L) における、組織に浸潤した白血病細胞での、免疫組織化学的検査による K L R G 1 の発現を示す。

【図 10 B】慢性リンパ球性白血病 (C L L) における、組織に浸潤した白血病細胞での、免疫組織化学的検査による K L R G 1 の発現を示す。

【図 11】K L R G 1 が潰瘍性大腸炎患者の腸生検においてわずかに過剰発現されたことを示す。

【図 12】K L R G 1 が特発性血小板減少性紫斑病患者で過剰発現されたことを示す。

【図 13】K L R G 1 がリンパ球性大腸炎患者の結腸生検で過剰発現されたことを示す。

【図 14】K L R G 1 が移植後に T 細胞介在性の腎臓の拒絶反応があった患者の腎生検で過剰発現されたことを示す。

20

【図 15】K L R G 1 が、正常な C D 4 + T 細胞と比べて未分化大細胞リンパ腫患者のリンパ節で過剰発現されたことを示す。

【図 16】K L R G 1 が、関節リウマチ患者の滑液生検で過剰発現されたことを示す。

【図 17】K L R G 1 が、乾癬患者の皮膚生検で過剰発現されたことを示す。

【図 18】K L R G 1 が、原発性胆汁性胆管炎患者の肝生検で過剰発現されたことを示す。

【図 19】K L R G 1 が、1 型糖尿病患者の膵臓組織で過剰発現されたことを示す。

【図 20】K L R G 1 が、T 細胞大顆粒リンパ球性白血病患者の血液で過剰発現されたことを示す。

【図 21】K L R G 1 が、T 細胞白血病およびリンパ腫において T 細胞によって発現されたことを示す。

30

【図 22】K L R G 1 が多発性硬化症患者の脳でわずかに過剰発現されたことを示す。

【図 23】K L R G 1 発現 T 細胞による多くの腫瘍型の広がった浸潤を示す。

【図 24 A】ある患者のメラノーマ腫瘍に浸潤している K L R G 1 + 細胞を示す。

【図 24 B】別の患者のメラノーマ腫瘍に浸潤している K L R G 1 + 細胞を示す。

【図 24 C】別の患者のメラノーマ腫瘍に浸潤している K L R G 1 + 細胞を示す。

【図 24 D】正常な皮膚に K L R G 1 + 細胞がないことを示す。

【図 25】4 人の患者の腎細胞がん腫瘍に浸潤している K L R G 1 + 細胞を示す。

【図 26】4 人の患者の非小細胞肺癌腫瘍に浸潤している K L R G 1 + 細胞を示す。

【図 27 A】K L G R 1 枯渴剤を用いた C D 8 + C D 5 7 + 最終分化細胞の枯渴を示す。

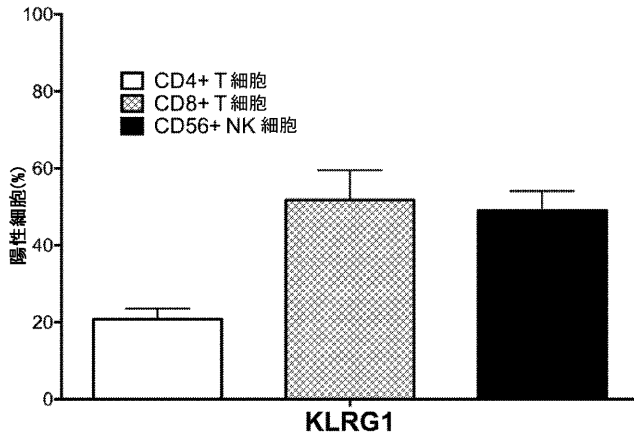
40

【図 27 B】K L G R 1 枯渴剤を用いた C D 8 + C D 5 7 + 最終分化細胞の枯渴を示す。

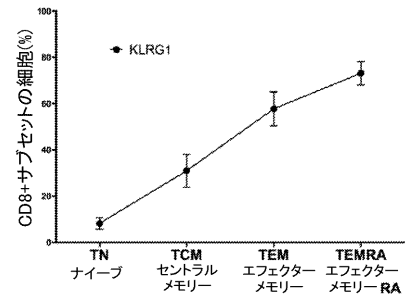
【図 27 C】K L G R 1 枯渴剤を用いた C D 8 + C D 5 7 + 最終分化細胞の枯渴を示す。

【図 28】K L R G 1 が、舌がん患者の舌生検で過剰発現されたことを示す。

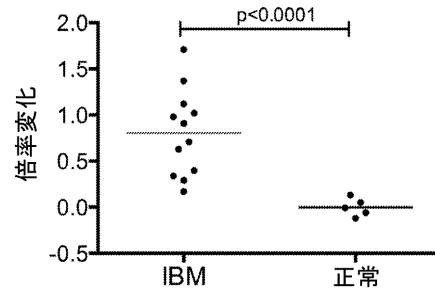
【図 1】



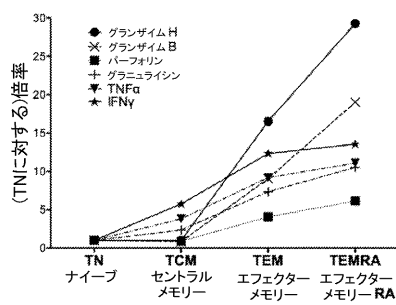
【図 2 B】



【図 3】



【図 2 A】



【図 4】

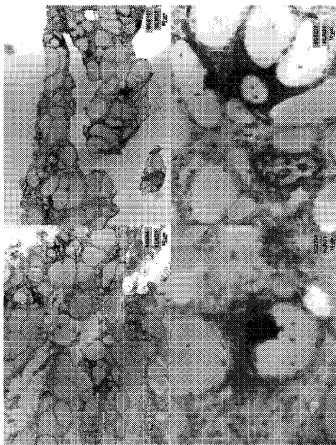
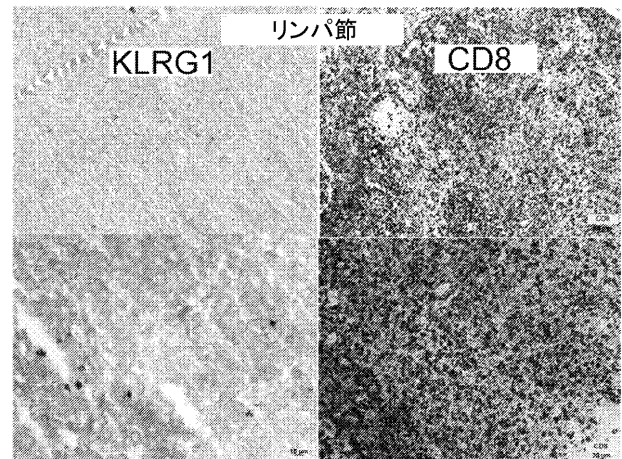
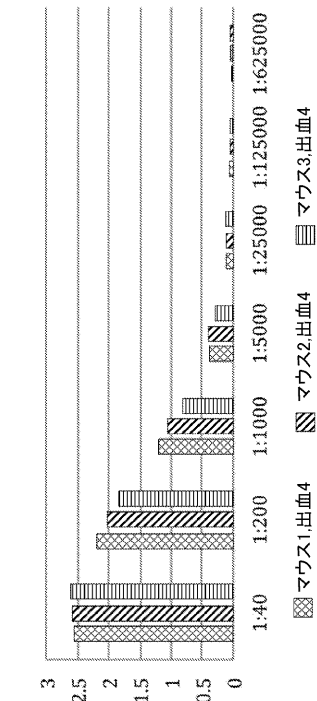


FIG. 4

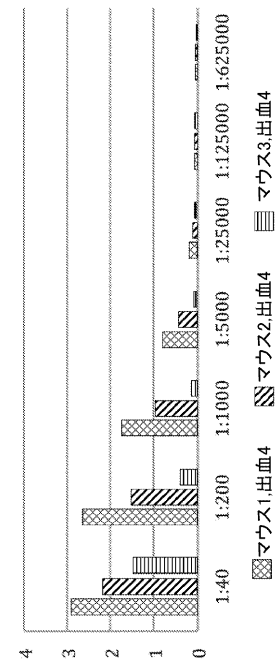
【図 5】



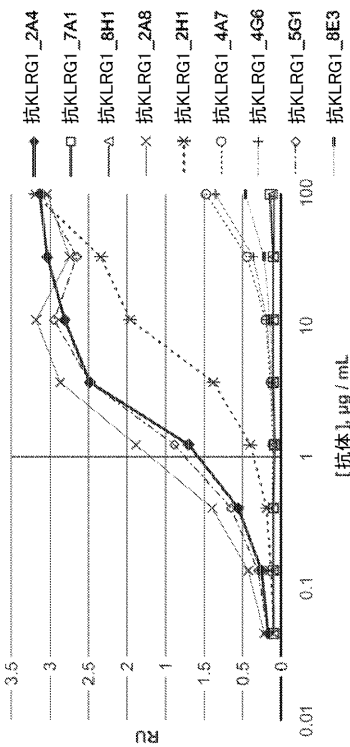
【図 6 A】



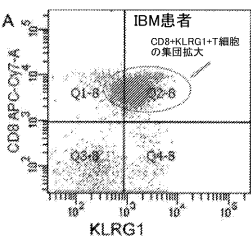
【図 6 B】



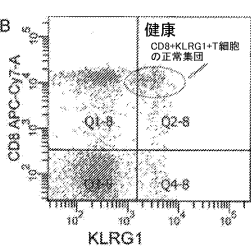
【図 7】



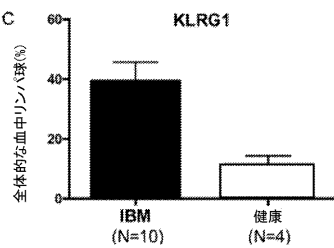
【図 8 A】



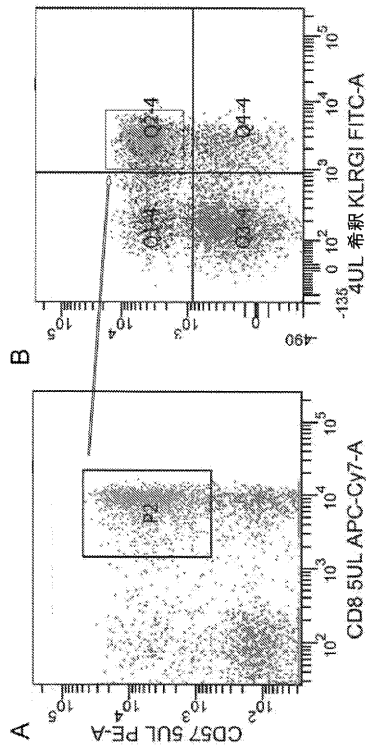
【図 8 B】



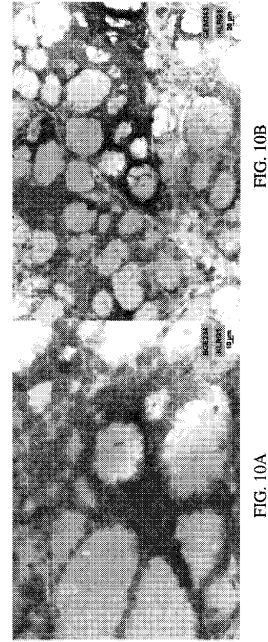
【図 8 C】



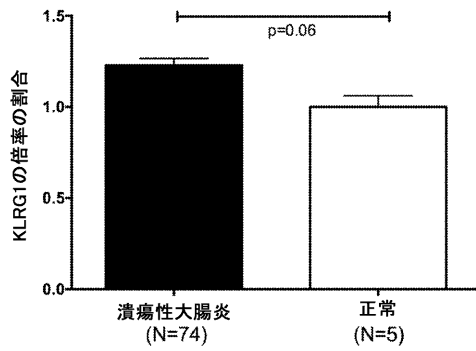
【図 9】



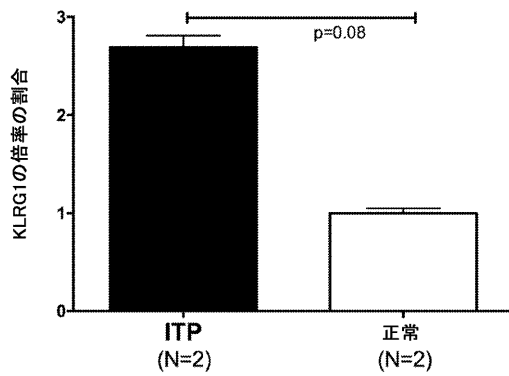
【図 10 A - 10 B】



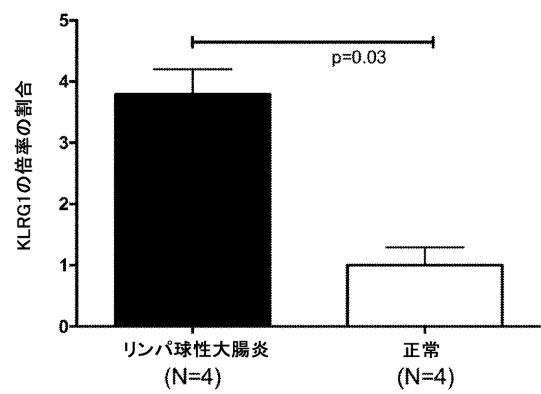
【図 11】



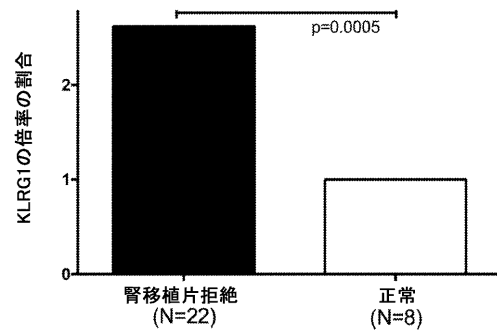
【図 12】



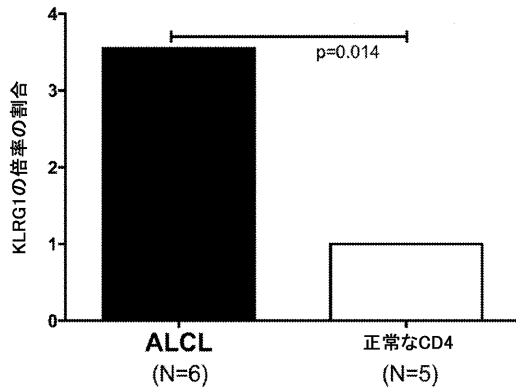
【図 13】



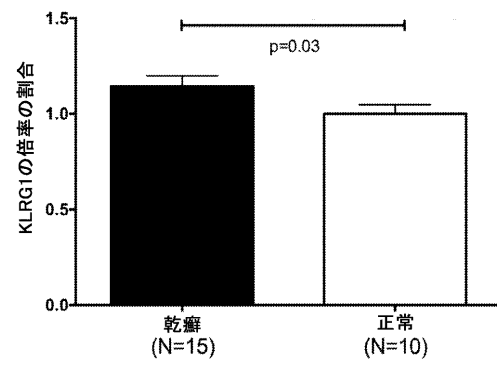
【図 14】



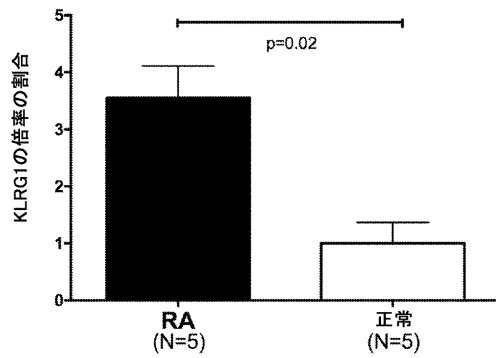
【図 15】



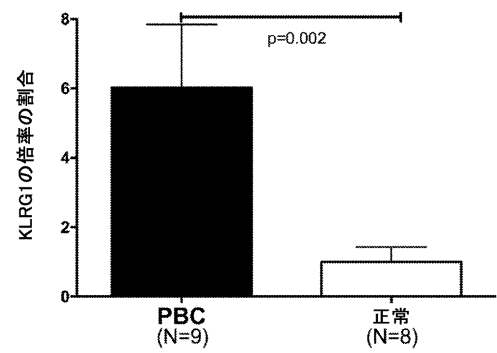
【図 17】



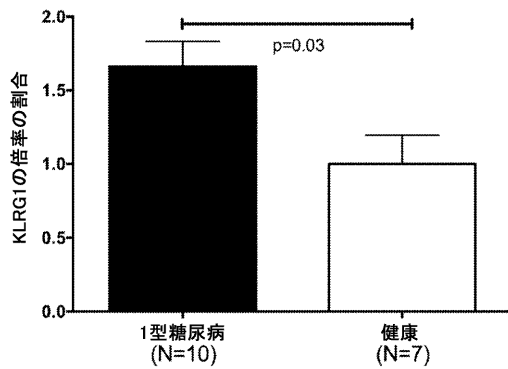
【図 16】



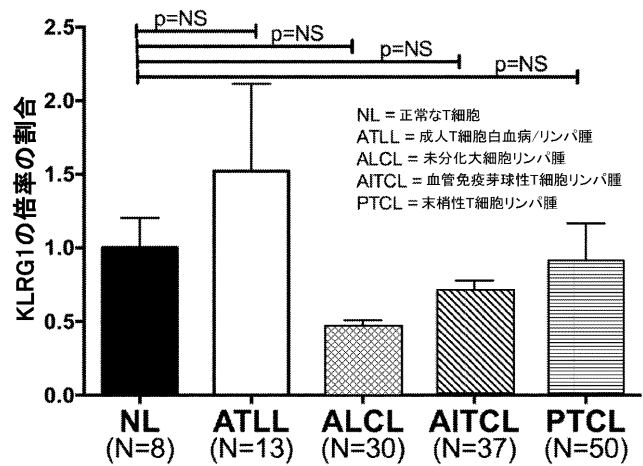
【図 18】



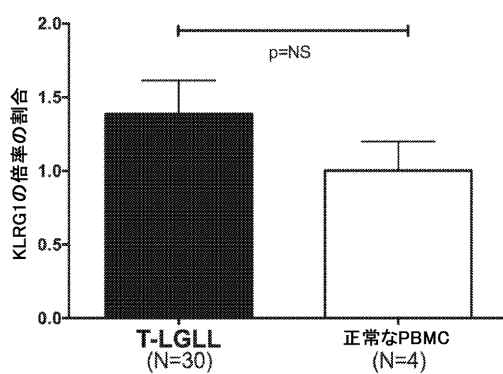
【図 19】



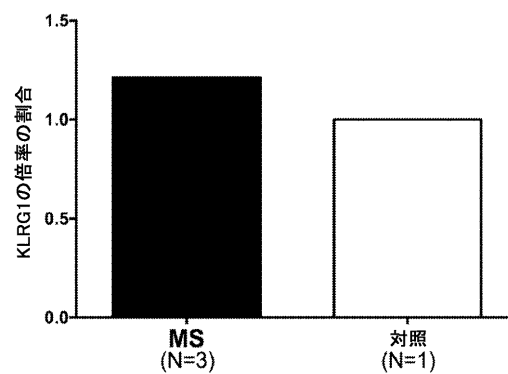
【図 21】



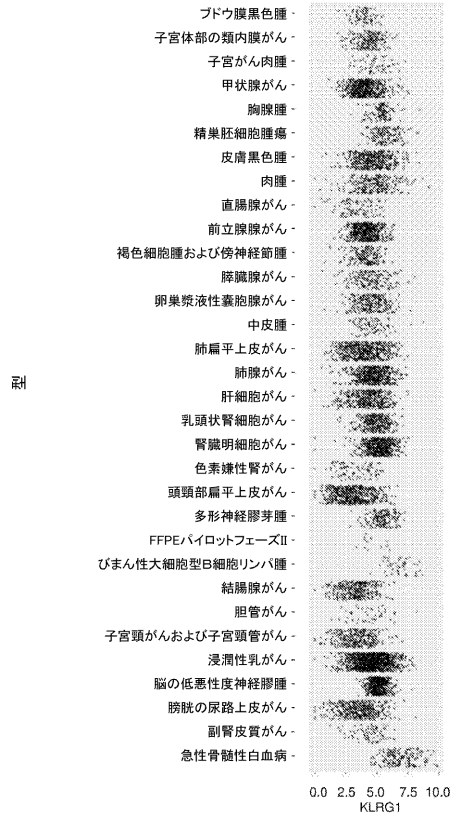
【図 20】



【図 22】



【図 2 3】



【図 2 4 A】



FIG. 24A

【図 2 4 B】

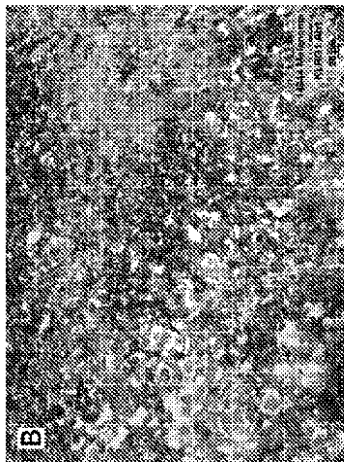


FIG. 24B

【図 2 4 C】

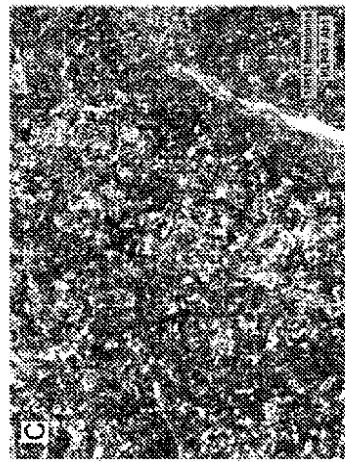


FIG. 24C

【図 2 4 D】

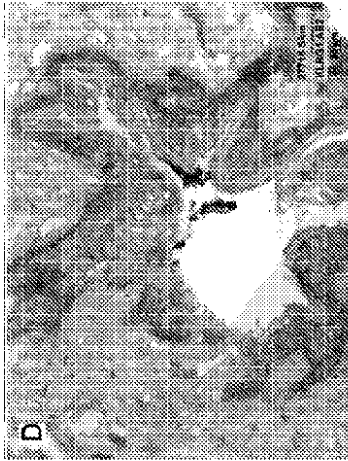


FIG. 24D

【図 2 5】

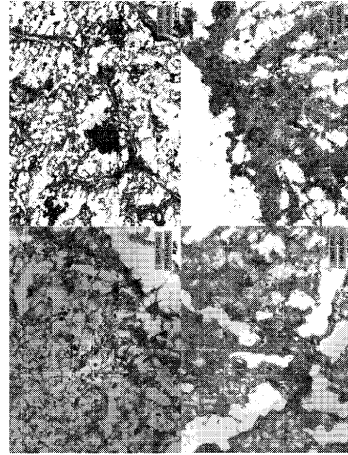


FIG. 25

【図 2 6】

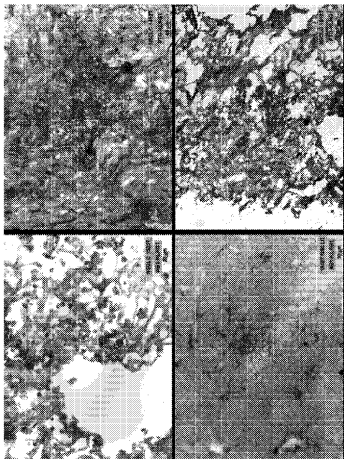
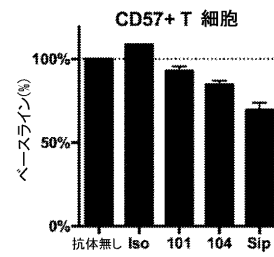
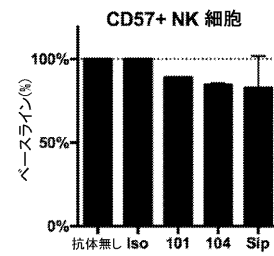


FIG. 26

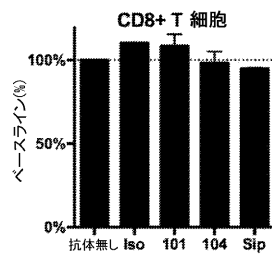
【図 2 7 B】



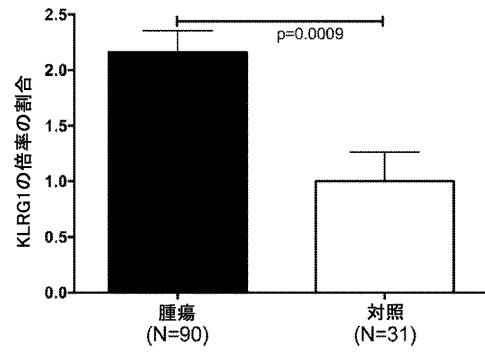
【図 2 7 C】



【図 2 7 A】



【 図 2 8 】



【 配 列 表 】

2019529416000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 17/51776
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 39/395; A61P 35/00; C12N 5/0783 (2017.01) CPC - C12N 5/0087; C07K 2317/732, 2317/73; A61K 2039/505, 2035/124, 35/17		
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 --- Y	US 2011/0091471 A1 (Yasutake et al.) 21 April 2011 (21.04.2011). Especially para [0025], [0075], [0090], claim 13	1-6, 9/(1-6) ----- 8, 9/8, 10/(1-6,8)
Y	US 5,537,242 A (Holliger et al.) 17 November 1998 (17.11.1998). Especially abstract	8, (9,10)/8
Y	Uniprot Accession Q96E93. KLRG1_human. [online] 7 September 2016 [retrieved 11 September 2017]. Available on the internet: <URL: http://www.uniprot.org/uniprot/Q96E93.txt?version=115 >. Especially pg 5	10/(1-6,8)
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 13 November 2017		Date of mailing of the international search report 02 FEB 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 17/51776

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.: 11-30, 34-38
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:

-----Go to Extra Sheet for continuation-----

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.:
1-8, 8, (9,10)/(1-6,8) limited to antibody that binds KLRG1 comprising ADCC

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 17/51776

Continuation of Box III: (Observations where certain claims were found unsearchable)

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I+: Claims 1-10, drawn to a method comprising administering a killer cell lectin-like G1 (KLRG1) depleting agent. The method of administering a KLRG1 depleting agent will be searched to the extent that the agent is the first named agent, a full length antibody Fab antibody that binds KLRG1 with effector function antibody dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) (claim 6). It is believed that claims 1-6, 8, (9-10)(in part) read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass a full length antibody Fab antibody that binds KLRG1 with effector function antibody dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC). Additional depleting agents will be searched upon payment of additional fees. Applicant must specify the claims that encompass any additional elected depleting agents. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be: chimeric antigen receptor (claims 1-7, (9-10)(in part)).

Group II: Claims 31-33, drawn to a KLRG1 depleting agent composition.

The inventions listed as Groups I+ and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features:

Group I+ has the special technical feature of administering a KLRG1 depleting agent, not required by Group II.

Group II has the special technical feature of a KLRG1 depleting agent, not required by Group I+.

Among the inventions listed as Groups I+ are the specific KLRG1 depleting agents cited within. The inventions do not share a special technical feature, because no significant structural similarities can readily be ascertained among KLRG1 depleting agents.

Common Technical Feature:

Groups I+ and II share the common technical feature of a KLRG1 depleting agent.

Group I+ inventions share the common technical feature of claim 1.

However, said common technical features do not represent a contribution over the prior art, and are obvious over US 2011/0091471 A1 to Yasutake et al. (hereinafter "Yasutake").

As to the common technical features, Yasutake teaches (claim 1) a method of treating a subject comprising administering to a subject in need thereof an effective amount of a killer cell lectin-like receptor G1 (KLRG1) depleting agent, thereby depleting CD8+ cytotoxic T and/or NK cells (para [0025]; "[1] A method for treating a living individual with epithelial cancer comprising: step (a) of selectively reducing KLRG1-positive immunocytes in the peripheral blood of a living individual with epithelial cancer ex vivo, which is positive for a cancer-specific membrane antigen expressed in epithelial cancer cells and positive for a KLRG1 ligand; and step (b) of administering, to the living individual, a therapeutic agent for cancer comprising an antibody reacting with the cancer-specific membrane antigen expressed in epithelial cancer cells and having antibody-dependent cell cytotoxicity... [8] The method according to [1], wherein the KLRG1-positive immunocytes are KLRG1-positive NK cells"). Yasutake does not teach administering the KLRG1 depleting agent in vivo. However, an artisan of ordinary skill in the art would have recognized that administering therapeutic antibodies or other binding agents in vivo was well-known and established in the art, making the claim limitation obvious.

As the common technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered common special technical features that would otherwise unify the groups. The inventions lack unity with one another.

Therefore, Groups I+ and II lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Note concerning item 4: Claims 11-30, 34-38 are multiple dependent claims and are not drafted according to the second and third sentences of PCT Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 21/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 7/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 13/08 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 1/02 (2006.01)	A 6 1 P 13/08	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/02	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	
C 0 7 K 16/46 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z
	C 0 7 K 16/28	Z N A
	C 0 7 K 19/00	
	C 0 7 K 16/46	

(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 100101890

弁理士 押野 宏

(74)代理人 100098268

弁理士 永田 豊

(72)発明者 グリーンバーグ・スティーブン

アメリカ合衆国、0 2 4 7 2 マサチューセッツ州、ウォータータウン、プレザント・ストリート
2 7 0、ナンバー・4 0 6

(72)発明者 ガラ・ステファノ・ピンチェンゾ

アメリカ合衆国、0 2 1 2 7 マサチューセッツ州、ボストン、ディー・ストリート 3 4 5、ユニ
ット・1 3

(72)発明者 トンプソン・ケネス・エバン

アメリカ合衆国、0 2 1 3 9 マサチューセッツ州、ケンブリッジ、インマン・ストリート 1 9
、アパートメント・ジー

Fターム(参考) 4C084 AA02 BA44 DA40 NA05 ZA011 ZA511 ZA661 ZA671 ZA681 ZA811

ZA891 ZA941 ZA961 ZB072 ZB081 ZB092 ZB151 ZB261 ZB271 ZC351
ZC411 ZC751
4C085 AA14 AA16 AA34 BB41 BB42 CC22 CC23 DD62 EE03
4H045 AA10 AA30 BA10 BA41 CA40 DA50 DA75 DA76 EA20 FA74