

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6839761号
(P6839761)

(45) 発行日 令和3年3月10日(2021.3.10)

(24) 登録日 令和3年2月17日(2021.2.17)

(51) Int. Cl.	F I
C 0 7 K 1 6 / 1 8 (2006. 01)	C O 7 K 1 6 / 1 8 Z N A
A 6 1 P 3 5 / 0 0 (2006. 01)	A 6 1 P 3 5 / 0 0
A 6 1 K 3 9 / 3 9 5 (2006. 01)	A 6 1 K 3 9 / 3 9 5 E
C 1 2 N 1 5 / 1 3 (2006. 01)	A 6 1 K 3 9 / 3 9 5 T
	C 1 2 N 1 5 / 1 3

請求項の数 11 (全 44 頁)

(21) 出願番号 特願2019-530794 (P2019-530794)
 (86) (22) 出願日 平成29年12月1日(2017.12.1)
 (65) 公表番号 特表2020-504095 (P2020-504095A)
 (43) 公表日 令和2年2月6日(2020.2.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2017/064207
 (87) 国際公開番号 W02018/106529
 (87) 国際公開日 平成30年6月14日(2018.6.14)
 審査請求日 令和1年6月7日(2019.6.7)
 (31) 優先権主張番号 62/431,485
 (32) 優先日 平成28年12月8日(2016.12.8)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(73) 特許権者 594197872
 イーライ リリー アンド カンパニー
 アメリカ合衆国 インディアナ州 462
 85 インディアナポリス リリー コー
 ポレイト センター (番地なし)
 (74) 代理人 100145403
 弁理士 山尾 憲人
 (74) 代理人 100122301
 弁理士 富田 憲史
 (74) 代理人 100157956
 弁理士 稲井 史生
 (74) 代理人 100170520
 弁理士 笹倉 真奈美

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗PD-L1抗体との組み合わせのための抗Tim-3抗体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

癌の治療において、抗ヒトPD-L1(配列番号16)抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3(配列番号1)抗体を含む組成物であって、前記抗ヒトTim-3抗体が、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含む、組成物。

【請求項2】

前記抗ヒトTim-3抗体が、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む、請求項1に記載の使用のための組成物。

【請求項3】

前記抗ヒトTim-3抗体が、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖、および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む、請求項2に記載の使用のための組成物。

【請求項4】

前記抗ヒトPD-L1抗体が、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである、請求項1~3のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項5】

前記抗ヒトPD-L1抗体が、配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列

番号 18 のアミノ酸配列を有する H C D R 2、配列番号 19 のアミノ酸配列を有する H C D R 3、配列番号 20 のアミノ酸配列を有する L C D R 1、配列番号 21 のアミノ酸配列を有する L C D R 2、および配列番号 22 のアミノ酸配列を有する L C D R 3 を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項 6】

前記抗ヒト P D - L 1 抗体が、配列番号 23 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域、および配列番号 24 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む、請求項 5 に記載の使用のための組成物。

【請求項 7】

前記抗ヒト P D - L 1 抗体が、配列番号 25 のアミノ酸配列を有する重鎖、および配列番号 26 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む、請求項 6 に記載の使用のための組成物。

10

【請求項 8】

前記癌が、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項 9】

前記肺癌が非小細胞肺癌である、請求項 8 に記載の使用のための組成物。

【請求項 10】

前記抗ヒト T i m - 3 抗体および前記抗ヒト P D - L 1 抗体のうちの少なくとも 1 つが、電離放射線と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される、請求項 1 ~ 9

20

のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【請求項 11】

前記抗ヒト T i m - 3 抗体および前記抗ヒト P D - L 1 抗体のうちの少なくとも 1 つが、1 つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、医薬の分野に属する。特に、本発明は、P D - L 1 に対する抗体と組み合わせることができるヒト T 細胞免疫グロブリンおよびムチンドメイン含有タンパク質 - 3 (T i m - 3) に対する抗体、そのような抗ヒト T i m - 3 抗体または抗ヒト P D - L 1 抗体を含む組成物、ならびに固形腫瘍および血液腫瘍の治療のために、単独でまたは化学療法、電離放射線、および他の癌療法とのさらなる組み合わせで、そのような抗ヒト T i m - 3 抗体を抗ヒト P D - L 1 抗体と組み合わせて使用する方法に関する。

30

【背景技術】

【0002】

腫瘍細胞は、そのいくつかは免疫チェックポイント経路の操作を含む、複数の作用機序によって免疫系による検出および排除を回避する。免疫チェックポイント経路は自己寛容の維持および T 細胞活性化の調節において使用されるが、癌細胞はこれらの経路を操作して腫瘍の生存を延長し得る。P D - 1 / ヒトプログラム細胞死 1 リガンド 1 (P D - L 1) 経路はそのような免疫チェックポイントの 1 つである。ヒト P D - 1 は T 細胞上で発現され、P D - 1 への P D - L 1 または P D - L 2 の結合は T 細胞増殖およびサイトカイン産生を阻害することが示されている。さらに、一部の腫瘍は P D - L 1 および P D - L 2 を発現することが既知であり、そのような発現は腫瘍内免疫応答を阻害するのに寄与し得る。

40

【0003】

P D - 1 / P D - L 1 経路に加えて、腫瘍抗原を認識する T 細胞はまた、T i m - 3 などの他のチェックポイント受容体を発現することができる。特に、T i m - 3 を発現する T 細胞は、細胞傷害性機能、エフェクターサイトカイン産生、および増殖の機能障害を特徴とする疲弊表現型を示し得る。これに関して、抗 T i m - 3 抗体は、いくつかのマウス

50

癌モデルにおいて抗腫瘍免疫を回復し得ることが示されている。さらに、抗PD-1処置に対する適応耐性を示す一部の患者はまた、それらのT細胞においてTim-3のアップレギュレーションを示すことが示されている。

【0004】

ヒトTim-3に対する抗体は既知である。ヒトTim-3に対するヒト化抗体は、WO15117002に記載されている。抗ヒトTim-3抗体であるMBG453は、現在、ヒト臨床試験において、単剤としておよび抗ヒトPD-1抗体と組み合わせて試験されている。しかしながら、Tim-3を標的とする抗体はヒトでの治療的使用について認可されておらず、抗ヒトTim-3抗体が抗ヒトPD-L1抗体と組み合わせた場合にヒト腫瘍に対する有効性の増強を示すことも示されていない。したがって、抗ヒトPD-L1抗体と組み合わせることができる抗ヒトTim-3抗体、ならびにヒトの癌を処置するための他の治療法が依然として必要とされている。

10

【0005】

Tim-3(配列番号1)は、ガレクチン-9(配列番号15)、ホスファチジルセリン(C₁₃H₂₄NO₁₀P)、高移動度群ボックス1(HMGB1)、および癌胎児性抗原関連細胞接着分子1(CEACAM1)(配列番号14)と相互作用することが示されている。上述のTim-3リガンドの全てがTim-3の独占的(exclusive)リガンドではないので、これらのリガンドがTim-3とは無関係に免疫系を調節することができることから、上記リガンドの活性を区別して阻止する治療用抗Tim-3抗体を提供することが望ましい。そのような戦略は、Tim-3活性をより特異的に調節するための代替的な方法を提供することができ、必要に応じた免疫腫瘍学に基づく患者のための治療法を可能にする。さらに、そのような抗Tim-3抗体は、抗ヒトPD-L1抗体との併用療法の選択肢を提供することができる。したがって、ヒトTim-3と結合し、Tim-3といくつかのTim-3のリガンドとの相互作用を阻害するが他のものとの相互作用は阻害せず、抗ヒトPD-L1抗体と組み合わせることができる抗体を提供する必要性もまた依然として存在している。

20

【発明の概要】

【0006】

本明細書に記載の抗ヒトTim-3抗体は、ヒトTim-3(配列番号1)がヒトガレクチン-9(配列番号15)およびホスファチジルセリンに結合することを阻止することができるが、同時に、ヒトTim-3およびヒトCEACAM1(配列番号14)の結合を阻止せず、癌の治療のために抗ヒトPD-L1抗体と組み合わせることができる。

30

【0007】

癌免疫療法のためにPD-L1(配列番号16)を標的とする抗体は一部の癌に対して有効であることが証明されているが、一部の癌は経時的にPD-L1療法に対する感受性が低くなるか、または全く反応しない。いくつかの実施形態において、本発明は、抗ヒトPD-L1抗体療法の下で、進行したまたは進行中の患者に投与することができる抗ヒトTim-3抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、抗ヒトPD-L1抗体療法を以前に受けたことがない患者に抗ヒトPD-L1抗体と組み合わせて投与することができる抗ヒトTim-3抗体を提供する。

40

【0008】

本発明は、抗ヒトPD-L1抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせるための、それぞれ配列番号2、3、4、5、6、および7のアミノ酸配列からなるHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、およびLCDR3、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに/または配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む、抗ヒトTim-3(配列番号1)抗体を含む。

【0009】

既知の抗ヒトPD-L1抗体の非限定的な例には、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、およびBMS-936559が含まれる。本明細書で使用されるアテゾリズ

50

マブ、デュルバルマブ、アベルマブ、およびBMS-936559は、様々な細胞株を使用し、様々な製造方法を使用して作製することができ、結果としていくつかの違いを示し得ることを認識されたい。アテゾリズマブは、配列番号29のアミノ酸配列を有する軽鎖および配列番号30のアミノ酸配列を有する重鎖を含む抗体である。デュルバルマブは、配列番号31のアミノ酸配列を有する軽鎖および配列番号32のアミノ酸配列を有する重鎖を含む抗体である。アベルマブは、配列番号33のアミノ酸配列を有する軽鎖および配列番号34のアミノ酸配列を有する重鎖を含む抗体である。BMS-936559は、配列番号35のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)および配列番号36のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)を含む抗体、好ましくは完全ヒトIgG4抗体である。

10

【0010】

他の抗ヒトPD-L1(配列番号16)抗体の非限定的な例には、以下の(a)配列番号17のアミノ酸配列を有するHC DR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHC DR2、配列番号19のアミノ酸配列を有するHC DR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLC DR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLC DR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLC DR3、(b)配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに(c)配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの一つ以上を含む、抗ヒトPD-L1抗体が含まれる。

【0011】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3(配列番号1)抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1(配列番号16)抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHC DR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHC DR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHC DR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLC DR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLC DR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLC DR3を含む。

20

【0012】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3(配列番号1)抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1(配列番号16)抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

30

【0013】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3(配列番号1)抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1(配列番号16)抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0014】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3(配列番号1)抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1(配列番号16)抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHC DR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHC DR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHC DR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLC DR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLC DR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLC DR3を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、BMS-936559、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである。

40

【0015】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3(配列番号1)抗体を、

50

有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、BMS-936559、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである。

【0016】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、BMS-936559、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである。

10

【0017】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号19のアミノ酸を有するHCDR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。

20

【0018】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号19のアミノ酸を有するHCDR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。

30

【0019】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号19のアミノ酸を有するHCDR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖お

40

50

よび配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。

【0020】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0021】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0022】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。

【0023】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は肺癌である。癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、肺癌は非小細胞肺癌である。癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は頭頸部癌である。癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、任

10

20

30

40

50

抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトTim-3抗体および抗ヒトPD-L1抗体のうちの少なくとも1つは、電離放射線および/または1つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

【0025】

癌の治療を必要としている患者に、有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を、有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与することを含む、癌を処置する方法であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号19のアミノ酸を有するHCDR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの少なくとも1つを含み、抗ヒトTim-3抗体および抗ヒトPD-L1抗体のうちの少なくとも1つは、電離放射線および/または1つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

【0026】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含む。

【0027】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0028】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0029】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、BMS-936559、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである。

【0030】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ

10

20

30

40

50

酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、BMS-936559、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである。

【0031】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、BMS-936559、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである。

【0032】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号19のアミノ酸を有するHCDR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。

【0033】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号19のアミノ酸を有するHCDR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。

【0034】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号19のアミノ酸を有するHCDR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。

【0035】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、配列番号25のアミノ酸

10

20

30

40

50

配列を有する重鎖および配列番号 26 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【 0 0 3 6 】

抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体であって、抗ヒト Tim - 3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒト PD - L 1 抗体は、配列番号 25 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 26 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【 0 0 3 7 】

抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト Tim - 3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。

【 0 0 3 8 】

抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト Tim - 3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト Tim - 3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は肺癌である。抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト Tim - 3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト Tim - 3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト Tim - 3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は頭頸部癌である。抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト Tim - 3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は大腸癌である。抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト Tim - 3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は膵臓癌である。抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト Tim - 3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は胃癌である。抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト Tim - 3 抗体は、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は腎臓癌である。抗ヒト PD - L 1 (配列番号 16) 抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒト Tim - 3 (配列番号 1) 抗体で

10

20

30

40

50

あって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は膀胱癌である。抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は前立腺癌である。抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は乳癌である。抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は卵巣癌である。有効量の抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための有効量の本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は食道癌である。抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は軟部組織肉腫である。抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は肝臓癌である。

【0039】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトTim-3抗体および抗ヒトPD-L1抗体のうちの少なくとも1つは、電離放射線および/または1つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

【0040】

抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の(a)配列番号17のアミノ酸配列を有するHC DR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHC DR2、配列番号19のアミノ酸を有するHC DR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLC DR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLC DR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLC DR3、(b)配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに(c)配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含み、抗ヒトTim-3抗体および抗ヒトPD-L1抗体のうちの少なくとも1つは、電離放射線および/または1つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

【0041】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHC DR1、

10

20

30

40

50

配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含む。

【0042】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0043】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0044】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、BMS-936559、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである。

【0045】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、BMS-936559、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである。

【0046】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、BMS-936559、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである。

【0047】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号3のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号4のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号5のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号6のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号7のアミノ酸配列を有するLCDR3を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号19のアミノ酸を有するHCDR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。

【0048】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって

10

20

30

40

50

て、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHC DR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHC DR2、配列番号19のアミノ酸を有するHC DR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLC DR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLC DR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLC DR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。

10

【0049】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHC DR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHC DR2、配列番号19のアミノ酸を有するHC DR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLC DR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLC DR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLC DR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。

20

【0050】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0051】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

30

【0052】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。

40

【0053】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌はメラノーマである。癌処置のための医薬の製造のための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体の使用であって、該医薬は、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に投与され、任意選択により、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、癌は肺癌である。

50

【 0 0 5 4 】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒト T i m - 3 (配列番号 1) 抗体および抗ヒト P D - L 1 (配列番号 1 6) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト T i m - 3 抗体は、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 1 1 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒト T i m - 3 抗体および抗ヒト P D - L 1 抗体のうちの少なくとも 1 つは、電離放射線および/または 1 つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

【 0 0 5 5 】

癌処置のための医薬の製造のための抗ヒト T i m - 3 (配列番号 1) 抗体および抗ヒト P D - L 1 (配列番号 1 6) 抗体であって、任意選択により、抗ヒト T i m - 3 抗体は、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 1 1 のアミノ酸配列を有する軽鎖含み、抗ヒト P D - L 1 抗体は、以下の (a) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有する H C D R 1、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を有する H C D R 2、配列番号 1 9 のアミノ酸を有する H C D R 3、配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する L C D R 1、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する L C D R 2、および配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する L C D R 3、(b) 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに (c) 配列番号 2 5 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 2 6 のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの 1 つ以上を含み、抗ヒト T i m - 3 抗体および抗ヒト P D - L 1 抗体のうちの少なくとも 1 つは、電離放射線および/または 1 つ以上の化学療法剤と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて投与される。

【 0 0 5 6 】

本発明の抗ヒト T i m - 3 (配列番号 1) 抗体を含む第 1 の医薬組成物および抗ヒト P D - L 1 (配列番号 1 6) 抗体を含む第 2 の医薬組成物を含む、癌処置用キット。本発明の抗ヒト T i m - 3 (配列番号 1) 抗体を含む第 1 の医薬組成物および抗ヒト P D - L 1 (配列番号 1 6) 抗体を含む第 2 の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。

【 0 0 5 7 】

本発明の抗ヒト T i m - 3 (配列番号 1) 抗体を含む第 1 の医薬組成物および抗ヒト P D - L 1 (配列番号 1 6) 抗体を含む第 2 の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、抗ヒト T i m - 3 抗体は、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 1 1 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【 0 0 5 8 】

本発明の抗ヒト T i m - 3 (配列番号 1) 抗体を含む第 1 の医薬組成物および抗ヒト P D - L 1 (配列番号 1 6) 抗体を含む第 2 の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、抗ヒト T i m - 3 抗体は、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 1 1 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒト P D - L 1 抗体は、B M S - 9 3 6 5 5 9、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである。

【 0 0 5 9 】

本発明の抗ヒト T i m - 3 (配列番号 1) 抗体を含む第 1 の医薬組成物および抗ヒト P D - L 1 (配列番号 1 6) 抗体を含む第 2 の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、抗ヒト T i m - 3 抗体は、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 1 1 のアミノ酸配列を有する軽鎖含み、抗ヒト P D - L 1 抗体は、以下の (a) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有する H C D R 1、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を有する H C D R 2、配列番号 1 9 のアミノ酸を有する H C D R 3、配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する L C D R 1、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する L C D R 2、および配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する L C D R 3、(b) 配列番号 2 3 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに (c) 配列番号 2 5 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 2 6 のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの 1 つ以上を含む。

10

20

30

40

50

【0060】

本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物および抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体を含む第2の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0061】

本発明の抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物および抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体を含む第2の医薬組成物を含む、癌処置用キットであって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

【0062】

癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止する（block）が、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止しない。癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、抗ヒトTim-3抗体はまた、ヒトガレクチン-9（配列番号15）へのヒトTim-3の結合を阻止する。

【0063】

癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、抗ヒトTim-3抗体はまた、ヒトガレクチン-9（配列番号15）へのヒトTim-3の結合を阻止し、癌は、メラノーマ、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌、胃癌、腎臓癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、卵巣癌、食道癌、軟部組織肉腫、または肝臓癌である。

【0064】

癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、抗ヒトPD-L1抗体は、BMS-936559、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、またはアベルマブである。癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、抗ヒトTim-3抗体はまた、ヒトガレクチン-9（配列番号15）へのヒトTim-3の結合を阻止し、抗ヒトPD-L1抗体は、BMS-936559、アテゾリズ

10

20

30

40

50

マップ、デュルバルマップ、またはアベルマップである。

【0065】

癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号19のアミノ酸を有するHCDR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトホスファチジルセリンへのヒトTim-3の結合を阻止するが、ヒトCEACAM1（配列番号14）へのヒトTim-3の結合は阻止せず、抗ヒトTim-3抗体はまた、ヒトガレクチン-9（配列番号15）へのヒトTim-3の結合を阻止し、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号19のアミノ酸を有するHCDR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。

10

20

【0066】

癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトTim-3（配列番号1）の以下の50、55、62~65（両端を含む）、72、111、および113~118（両端を含む）のうちの少なくとも1個のアミノ酸残基と接触する。癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトTim-3（配列番号1）の以下の50、55、62~65（両端を含む）、72、111、および113~118（両端を含む）のうちの少なくとも1個のアミノ酸残基と接触し、抗ヒトTim-3抗体は、上記残基のうちの少なくとも2個、好ましくは上記残基のうちの少なくとも3個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも4個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも5個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも6個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも7個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも8個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも9個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも10個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも11個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも12個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも13個、またはより好ましくは上記残基の全てと接触する。癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトTim-3（配列番号1）の以下の50、55、62~65（両端を含む）、72、111、および113~118（両端を含む）のうちの少なくとも1個のアミノ酸残基と接触し、抗ヒトTim-3抗体は、上記残基のうちの少なくとも2個、好ましくは上記残基のうちの少なくとも3個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも4個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも5個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも6個、より好ましくは上記残基の

30

40

50

うちの少なくとも7個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも8個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも9個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも10個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも11個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも12個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも13個、またはより好ましくは上記残基の全てと接触し、抗ヒトTim-3抗体は、以下の56～61（両端を含む）、107、119～120（両端を含む）、および122のうちの少なくとも1つの残基とさらに接触する。癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）抗体と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体であって、抗ヒトTim-3抗体は、ヒトTim-3（配列番号1）の以下の50、55、62～65（両端を含む）、72、111、および113～118（両端を含む）のうちの少なくとも1個のアミノ酸残基と接触し、抗ヒトTim-3抗体は、上記残基のうちの少なくとも2個、好ましくは上記残基のうちの少なくとも3個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも4個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも5個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも6個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも7個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも8個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも9個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも10個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも11個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも12個、より好ましくは上記残基のうちの少なくとも13個、またはより好ましくは上記残基の全てと接触し、抗ヒトTim-3抗体は、以下のうちの少なくとも1つの残基：56～61（両端を含む）、107、119～120（両端を含む）、および122とさらに接触し、接触している残基は、X線結晶学によって決定した際に、抗ヒトTim-3抗体の6オングストローム以下以内である。

【0067】

癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）を含む第2の医薬組成物と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための、抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）を含む第2の医薬組成物と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための、抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、またはBMS-936559である。癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）を含む第2の医薬組成物と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための、抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）を含む第2の医薬組成物と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための、抗ヒトTim-3（配列番号1）抗体を含む第1の医薬組成物であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、以下の（a）配列番号17のアミノ酸配列を有するHCDR1、配列番号18のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号19のアミノ酸を有するHCDR3、配列番号20のアミノ酸配列を有するLCDR1、配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するLCDR3、（b）配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域、ならびに（c）配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖のうちの1つ以上を含む。

【0068】

癌の治療において、抗ヒトPD-L1（配列番号16）を含む第2の医薬組成物と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための、抗ヒトTim-3（配列番号

10

20

30

40

50

1) 抗体を含む第1の医薬組成物であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、配列番号23のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域および配列番号24のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【0069】

癌の治療において、抗ヒトPD-L1(配列番号16)を含む第2の医薬組成物と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための、抗ヒトTim-3(配列番号1)抗体を含む第1の医薬組成物であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。

10

【0070】

癌の治療において、抗ヒトPD-L1(配列番号16)を含む第2の医薬組成物と同時に、別々に、または逐次的に組み合わせて使用するための、抗ヒトTim-3(配列番号1)抗体を含む第1の医薬組成物であって、抗ヒトTim-3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖を含み、抗ヒトPD-L1抗体は、配列番号25のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号26のアミノ酸配列を有する軽鎖を含むか、またはアテゾリズマブ、デュルバルマブ、アベルマブ、またはBMS-936559である。

【0071】

20

本発明の抗体は、技術操作された天然に存在しないポリペプチド複合体である。本発明のDNA分子は、本発明の抗体中のポリペプチドのうちの1つのアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を含む、天然に存在しないDNA分子である。

【0072】

本発明の抗体はIgG型抗体であり、鎖内および鎖間ジスルフィド結合を介して架橋されている2つの「重」鎖および2つの「軽」鎖を有する。各重鎖は、N末端HCVRおよび重鎖定常領域(「HCCR」)からなり、同じアミノ酸配列を有する。各軽鎖は、LCVRおよび軽鎖定常領域(「LCCR」)からなり、同じアミノ酸配列を有する。ある特定の生物系で発現されるとき、天然のヒトFc配列を有する抗体はFc領域においてグリコシル化される。典型的には、グリコシル化は、高度に保存されたN-グリコシル化部位の抗体のFc領域に生じる。N-グリカンは、典型的にはアスパラギンに結合する。抗体はまた、他の位置でグリコシル化されていてもよい。

30

【0073】

任意選択により、本明細書に記載のある特定の抗Tim-3抗体は、ヒトIgG₁に由来するFc部分を含む。IgG₁は、Fcガンマ受容体ファミリー(FcR)のタンパク質、およびC1qに結合することが周知である。これらの受容体との相互作用は、抗体依存性細胞傷害(ADCC)および補体依存性細胞傷害(CDC)を誘導し得る。したがって、任意選択により、本明細書に記載のある特定の抗Tim-3抗体は、Fcエフェクター機能を欠失する完全ヒトモノクローナル抗体(IgG₁、Fc-ヌル(Fc-null))である。Fc-ヌルIgG₁抗体を達成するために、残基の選択的突然変異誘発がそのIgG₁ Fc領域のCH₂領域内で必要である。アミノ酸置換L234A、L235E、およびG237AをIgG₁ Fcに導入してFcRI、FcRIIa、およびFcRIIIへの結合を減少させ、置換A330SおよびP331Sを導入してC1q媒介性補体固定を減少させる。ヒトに投与したときの免疫応答の潜在的な誘導を減少するために、ある特定のアミノ酸は、抗体生殖細胞系配列と適合させるために復帰突然変異を必要とし得る。

40

【0074】

任意選択により、本明細書に記載のある特定の抗ヒトPD-L1抗体は、ヒトIgG₁に由来するFc部分を含み得る。IgG₁は、Fcガンマ受容体ファミリー(FcR)

50

のタンパク質、およびC1qに結合することが周知である。これらの受容体との相互作用は、抗体依存性細胞傷害(ADCC)および補体依存性細胞傷害(CDC)を誘導し得る。したがって、任意選択により、本明細書に記載のある特定の抗ヒトPD-L1抗体は、Fcエフェクター機能を欠失する完全ヒトモノクローナル抗体(IgG1、Fc-ヌル(Fc-null))である。Fc-ヌルIgG1抗体を達成するために、残基の選択的突然変異誘発がそのIgG1 Fc領域のCH2領域内で必要である。アミノ酸置換L234A、L235E、およびG237AをIgG1 Fcに導入してFc RI、Fc RIIa、およびFc RIIIへの結合を減少させ、置換A330SおよびP331Sを導入してC1q媒介性補体固定を減少させる。ヒトに投与したときの免疫応答の潜在的な誘導を減少するために、ある特定のアミノ酸は、抗体生殖細胞系配列と適合させるために復帰突然変異を必要とし得る。したがって、本明細書に記載のある特定の抗ヒトPD-L1抗体は、可変重鎖中にE1QおよびS94R変異を含み、可変軽鎖中にT76SおよびA80S変異を含む。

10

【0075】

HCVR領域およびLCVR領域は、フレームワーク領域(「FR」)と呼ばれるより保存されている領域とともに点在する、相補性決定領域(「CDR」)と呼ばれる超可変領域にさらに細分することができる。各LCVRおよびHCVRは、以下のFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順でアミノ末端からカルボキシ末端へと配置している3つのCDRおよび4つのFRからなる。本明細書では、重鎖の3つのCDRを「HCDR1、HCDR2、およびHCDR3」と称し、軽鎖の3つのCDRを「LCDR1、LCDR2、およびLCDR3」と称する。CDRは、抗原と特異的相互作用を形成する残基の大部分を含有する。現在、配列表示に使用される抗体のための3つのCDR帰属(assignment)システムがある。NorthのCDRの定義(North et al., "A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations", Journal of Molecular Biology, 406, 228-256 (2011))は、多数の結晶構造を有する親和性伝搬クラスタ化(affinity propagation clustering)に基づいている。本発明の目的のために、NorthのCDR定義を使用する。

20

【0076】

HCVR領域をコードする単離DNAは、HCVRをコードするDNAを、重鎖定常領域をコードする別のDNA分子に作動可能に連結することによって、完全長重鎖遺伝子に変換され得る。ヒトおよび他の哺乳動物の重鎖定常領域遺伝子の配列は、当該技術分野において既知である。これらの領域を包含するDNAフラグメントは、例えば、標準的なPCR増幅によって取得され得る。

30

【0077】

LCVR領域をコードする単離DNAは、LCVRをコードするDNAを軽鎖定常領域をコードする別のDNA分子に作動可能に連結することによって、完全長軽鎖遺伝子に変換され得る。ヒトおよび他の哺乳動物の軽鎖定常領域遺伝子の配列は、当該技術分野において既知である。これらの領域を包含するDNAフラグメントは、標準的なPCR増幅によって取得され得る。軽鎖定常領域は、ヒトカッパまたはラムダ定常領域であり得る。本発明の抗ヒトTim-3抗体については、軽鎖定常領域はヒトカッパ定常領域であることが好ましい。

40

【0078】

本発明のポリヌクレオチドは、配列が発現制御配列に作動可能に連結された後に宿主細胞において発現される。発現ベクターは、典型的には、エピソード、または宿主染色体DNAの一体化した部分のいずれかとして、宿主生物中で複製可能である。一般に、発現ベクターは、所望のDNA配列で形質転換されたそれらの細胞の検出を可能にするために、選択マーカー、例えば、テトラサイクリン、ネオマイシン、およびジヒドロ葉酸レダクターゼを含有する。

50

【0079】

本明細書に記載される抗体は、哺乳動物細胞で容易に産生され得、該哺乳動物細胞の非限定的な例には、CHO、NS0、HEK293、またはCOS細胞が含まれる。宿主細胞は、当該技術分野において周知の技術を使用して培養される。

【0080】

目的のポリヌクレオチド配列（例えば、抗体のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドおよび発現制御配列）を含有するベクターは、細胞宿主の種類に応じて異なる周知の方法によって宿主細胞に導入され得る。

【0081】

タンパク質精製の様々な方法が用いられ得、そのような方法は、当該技術分野において既知であり、例えば、Deutscher, Methods in Enzymology 182: 83 - 89 (1990)、およびScopes, Protein Purification: Principles and Practice, 3rd Edition, Springer, NY (1994)に記載される。

10

【0082】

本発明の別の実施形態において、抗体または抗体をコードする核酸は単離形態で提供される。本明細書で使用する場合、「単離」という用語は、細胞環境に見出される任意の他の高分子種を含まないか、または実質的に含まない、タンパク質、ペプチド、または核酸を指す。「実質的に含まない」とは、本明細書中で使用する場合、目的のタンパク質、ペプチド、または核酸が（モル基準で）80%超、好ましくは90%超、より好ましくは95%超の本発明の高分子種を含む。

20

【0083】

本発明の抗体または本発明の抗体を含む医薬組成物は、非経口経路（例えば、皮下および静脈内）によって投与することができる。本発明の抗体は、薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤と一緒に単回用量または複数回用量で患者に投与することができる。本発明の医薬組成物は、当該技術分野で周知の方法によって調製することができる（例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd ed. (2012), A. Lloyd et al., Pharmaceutical Press）、本明細書に開示される抗体、および1つ以上の薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤を含む。

30

【0084】

投薬計画は、最適な所望の反応（例えば、治療効果）を提供するように調整され得る。安全性および有効性を最適化するために処置投与量を滴定し得る。局所的もしくは全身性またはそれらの組み合わせで、静脈内（i.v.）または非静脈内投与するための、投与スケジュールは、典型的には、単一ボラス投与もしくは連続注入から、1日当たり複数回の投与（例えば、4～6時間おき）までの範囲であるか、または治療する医師および患者の状態によって示されるとおりである。

【0085】

本明細書で使用する場合、「処置すること（treating）」（「処置する（treat）」または「処置（treatment）」）という用語は、既存の症状、障害、状態、または疾患の進行または重症度を遅延、妨害、抑制、緩和、停止、軽減、または反転させることを指す。

40

【0086】

「有効量」とは、研究者、医師、または他の臨床医によって求められている組織、系、動物、哺乳動物、またはヒトの生物学的もしくは医学的応答またはそれらに対する所望の治療効果を惹起する、本発明の抗体または本発明の抗体を含む医薬組成物の量を意味する。有効量の抗体は、個人の病状、年齢、性別、および体重、ならびに個人における所望の応答を誘発する抗体の能力などの要因に応じて変動し得る。有効量はまた、抗体の任意の毒性効果または有害効果よりも治療的に有益な効果が上回る量である。

【0087】

50

抗体の作製、発現、および精製

本発明の抗体は、ファージディスプレイ、トランスジェニック動物、および/またはヒト化を用いることを含むがこれらに限定されない、既知の方法によって作製し得る。抗ヒトTim-3抗体を作製するために、ヒトTim-3タンパク質を使用前にPNGase F酵素で前処理することができる。さらに、上記のように誘導された抗体は、本明細書に記載のアッセイを用いてさらにスクリーニングすることができる。

【0088】

重鎖および軽鎖の変領域のポリペプチド、抗体AおよびBの完全な重鎖および軽鎖アミノ酸配列、ならびにそれらをコードするヌクレオチド配列は、「アミノ酸およびヌクレオチド配列」と題する項目に列挙されている。さらに、抗体AおよびBの軽鎖、重鎖、軽鎖可変領域、および重鎖可変領域の配列番号がまた、以下に示されている。抗体Aおよび抗体Bを含むがこれらに限定されない本発明の抗体は、本質的に以下のようにして作製および精製することができる。HEK293またはCHOなどの適切な宿主細胞は、最適な所定のHC:LCベクター比を用いて抗体を分泌するための発現系、またはHC(重鎖)およびLC(軽鎖)の両方をコードする単一のベクター系で、一過性でまたは安定的にトランスフェクトすることができる。抗体が分泌された清澄化培地は、多くの一般的に使用される技術のうちの一つを使用し、精製され得る。例えば、培地は、リン酸緩衝生理食塩水(pH7.4)などの適合した緩衝液で平衡化された、Fabフラグメント用のMabSelectカラム(GE Healthcare)またはKappaSelectカラム(GE Healthcare)に好都合に適用され得る。カラムは、非特異的結合成分を除去するために洗浄され得る。結合抗体は、例えば、pH勾配(20mMのTris緩衝液pH7~10mMクエン酸ナトリウム緩衝液pH3.0、またはリン酸緩衝生理食塩水pH7.4~100mMグリシン緩衝液pH3.0など)によって溶出され得る。抗体画分は、紫外線吸光度またはSDS-PAGE等によって検出され得、次いで、ブールされてもよい。意図する使用に応じて、さらなる精製は任意選択的である。抗体は、一般的な技術を使用して濃縮および/または滅菌濾過され得る。可溶性凝集体および多量体は、サイズ排除、疎水性相互作用、イオン交換、マルチモーダル、またはヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーを含む一般的な技術によって効果的に除去され得る。これらのクロマトグラフィーステップ後の抗体の純度は、典型的には、95%を超える。生成物は、-70°Cですぐに冷凍されてもよく、または凍結乾燥されてもよい。

【0089】

10

20

30

【表 1】

表 1

対応する配列番号	抗体 A (抗 Tim-3 抗体)	抗体 B (抗 PD-L1 抗体)
HCDR1	2	17
HCDR2	3	18
HCDR3	4	19
LCDR1	5	20
LCDR2	6	21
LCDR3	7	22
HCVR	8	23
LCVR	9	24
重鎖	10	25
軽鎖	11	26
DNA 重鎖	12	27
DNA 軽鎖	13	28

10

20

【0090】

WINNアッセイ

本発明の抗体は、WINNアッセイを用いて、インビボ免疫調節活性について試験することができる。WINNアッセイでは、ヒトNSCLC腫瘍細胞NCI-H292およびヒト免疫細胞(同種異系)を混合し、免疫不全マウスに同時移植し(co-implanted)、次いで免疫調節剤を投与する。免疫調節剤が腫瘍形成を阻害もしくは遅延する能力または腫瘍内持続性を支持する能力は、以下のようにして評価することができる。

30

【0091】

0日目に、Jackson LaboratoriesからのNSGマウス(7週齢、雌、8~10匹のマウス群)の側腹部に、HBSS(総体積0.2ml)中の 2×10^6 個のH292細胞または 2×10^6 個のH292細胞および 1×10^6 個のヒトPBMCの混合物を皮下移植する。0日目に開始して、マウスを10mg/kgの対照ヒトIgGまたは1mg/kgもしくは10mg/kgの抗体Aの腹腔内注射で6週間、週に1回処置する。グルーミングおよび歩行を含む動物の健康および行動を週に少なくとも2回モニタリングする。

【0092】

CD3およびCD8を染色し、Aperio ScanScope(商標)で分析することによってCD3陽性およびCD8陽性T細胞の存在を測定することより、このモデルから得た腫瘍切片を、CD3陽性およびCD8陽性T細胞の持続性について分析することができる。IHC Nuclear Image Analysis macroは、ユーザーによって選択された領域中の個々の細胞の標的色原体についての核染色を検出し、その強度を定量化する。3~5のアノテーション(annotation)が生存腫瘍領域から作られ、アルゴリズム結果によって一致した細胞同定が得られるまで、パラメータの調整に用いられる。次いで、マクロを保存し、分析のためにスライド(slide)をログインする。全細胞数のパーセントとしての%CD3陽性およびCD8陽性細胞をAperioソフトウェアによって計算する。

40

【0093】

50

本質的にこのWINNアッセイに記載されるように行った実験において、IHC分析により、NCI-H292腫瘍およびPBMCを同時移植して10mg/kgの抗体Aを投与したマウスは、NCI-H292腫瘍およびPBMCを同時移植して対照IgG(6.5%)で処置したマウスと比較して、ヒトCD3陽性CD8陽性腫瘍内T細胞の有意な増加(30%)をもたらす(P=0.03)。

【0094】

初代ヒトT細胞でヒト化したNSGマウスにおける定着ヒト腫瘍の異種移植モデル

本発明の抗体の有効性は、NCI-HCC827ヒトNSCLC(非小細胞肺癌)異種移植片モデルで試験することができ、モデルにおける定着腫瘍を遅延または破壊する能力を評価する。0日目に、 1×10^7 個のNCI-HCC827細胞をNSGマウス(7週齢、雌、1群あたりマウス8匹)の側腹部に皮下移植する。腫瘍が約400mm³の体積に達したら(約30~32日目)、マウスに 2.5×10^6 個の事前に増殖させたヒトT細胞を注入する(i.v.)。この事前に増殖させたヒトT細胞は、全血からヒトT細胞を分離し、Dynabeads(登録商標)Human T-Activator CD3/CD28を用いて10日間増殖させることによって生成される。この事前に増殖させたヒトT細胞は、後で使用するために凍結保存してもよい。T細胞注入の1日後、マウスにヒトIgGまたは抗体Aを10mg/kgで毎週(合計4回投与)、腹腔内注射により投与する。グルーミングおよび歩行を含む動物の健康および行動を週に少なくとも2回モニタリングする。

【0095】

体重および腫瘍体積を週に2回測定する。腫瘍体積を、上記のように電子キャリパーを用いて細胞移植後4日目から始めて週に2回測定した。腫瘍体積(mm³) = 長さ * 幅² / 6。抗腫瘍有効性はT/C比としてパーセントで表され、以下に要約されるようにして計算される: 幾何平均値の $T > 0$ の場合、%T/Cは式 $100 \times T / C$ によって計算される。 T = 研究最終日の薬物処置群の平均腫瘍体積 - 投与の初日の薬物処置群の平均腫瘍体積、 C = 研究最終日の対照群の平均腫瘍体積 - 投与の初日の対照群の平均腫瘍体積である。さらに、 $T < 0$ の場合、%退縮は式 $100 \times T / T_{初日}$ を用いて計算される。測定可能な腫瘍を有していない動物を完全奏効(CR)とみなし、50%超の退縮を有する腫瘍を部分奏効(PR)とみなす。

【0096】

本質的に上記のように行った実験において、抗体A(抗ヒトTim-3)による処置は、ヒトIgGによる処置と比較して、ヒト化NSGマウスにおける腫瘍増殖を有意に阻害する(表2)。76日目に、抗体Aによる処置はT/C=2%をもたらす。110日目に、抗体A処置は3/8CRをもたらす。

【0097】

10

20

30

【表 2】

表 2 : NCI-HCC827 ヒト NSCLC 異種移植片モデルにおける腫瘍体積 (mm³)

日	ヒト IgG 対照		抗体 A	
	平均値	SEM	平均値	SEM
21	152	13	164	85
28	289	24	309	160
30	332	28	358	186
34	388	32	403	209
36	414	34	505	262
40	706	59	628	326
43	752	62	733	380
47	858	71	763	396
50	932	77	747	387
55	982	81	807	418
57	1212	100	843	437
62	1324	110	553	287
65	1524	126	726	376
69	1492	124	602	312
72	1827	151	539	279
76	2030	168	375	196
79			375	196
83			414	218
85			331	175
90			192	103
93			235	128
97			173	95
100			118	65
103			125	69
106			120	67
110			131	73

10

20

30

【0098】

混合リンパ球反応

本発明の抗体によって Tim-3 シグナルを阻止する機能は、T 細胞活性化の際のサイトカインの放出を測定することによって評価することができる。T 細胞活性化が本発明の抗体による処置によって促進されるとき、IFN- γ などのある特定のサイトカインのレベルは増加すると予想される。

【0099】

ヒト単球単離キット II (Miltenyi Biotec) を用いて、健常なドナーから得た新鮮なヒト PBMC (All Cells) からのネガティブセレクションによって、CD14⁺ 単球を単離する。CD14⁺ 単球を 62.5 ng/ml の hGM-CSF および 20 ng/ml のヒト hIL-4 の存在下での完全 RPMI-1640 培地中で 7 日間培養することによって、ヒト単球由来の樹状細胞を生成する。CD4 T 細胞単離キット (Miltenyi) を用いたネガティブセレクションによって、異なる健常なドナーの新鮮なヒト PBMC (All Cells) から CD4⁺ T 細胞を精製する。次いで、2 種類の細胞を、ウェルあたり 1 × 10⁵ 個の CD4⁺ T 細胞および 2 × 10⁴ 個の未成熟 DC を含有する 100 μ l の完全 AIM-V 培地を含む 96 ウェルプレートの個々のウェル中で混合する。100 nM のヒト IgG 1 または抗体 A を含有する 100 μ l の完全 AIM-V 培地を 6 連 (replicate) で添加する。37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ で 3 日間

40

50

インキュベートした後、上清を回収し、ELISAキット(R&D Systems)を用いてヒトIFN- γ について測定する。対応のないt検定を用いて、群を比較する。

【0100】

本質的に上記のように行った実験において、抗体Aの添加は、対照ヒトIgG1の添加と比較して、IFN- γ の分泌を有意に増加させる(3, 036 \pm 367対1, 644 \pm 261pg/mLのhIFN- γ 、p=0.0384)。

【0101】

ELISA分析：抗体Aは組換えTim-3に結合する。

本発明の抗体がヒトTim-3に結合する能力は、ELISAアッセイにより測定することができる。Tim-3結合アッセイのために、96ウェルプレート(Nunc)をヒトTim-3-Fc(R&D Systems)で4 μ g/mLで一晩コーティングする。ウェルをブロッキング緩衝液(3%ウシ血清アルブミンを含有するPBS)で2時間ブロッキングする。ウェルを0.1%Tween-20を含有するPBSで3回洗浄する。次いで、抗体Aまたは対照IgG(100 μ l)を添加し、室温で1時間インキュベートする。洗浄後、プレートを100 μ lのヤギ抗ヒトIgG F(ab')₂-HRPコンジュゲート(Jackson Immuno Research)とともに室温で1時間インキュベートする。プレートを洗浄し、次いで100 μ lの3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンとともにインキュベートする。450nmにおける吸光度をマイクロプレートリーダーで読み取る。半数効果濃度(EC50)をGraphPad Prism6ソフトウェアを用いて計算する。

【0102】

本質的に上記のように行った実験において、抗体Aは、2.07 \times 10⁻¹¹MのEC50でヒトTim-3に結合する。

【0103】

フローサイトメトリー分析：抗体Aは細胞表面Tim-3に結合する

本発明の抗体が細胞表面ヒトTim-3に結合する能力は、フローサイトメトリーアッセイを用いて測定することができる。ヒトTim-3発現DO11.10細胞系であるTim-3DO11.10細胞をこのアッセイに用いる。

【0104】

Tim-3DO11.10細胞は以下のようにして得ることができる。全長Tim-3遺伝子はOrigene Technologies, Inc.から購入することができる。PCRを用いて、Cloneteck Laboratories, Inc.からのpLVX-IRES-Neoレンチウイルスベクターにクローニングすることができる。Cloneteck Laboratories, Inc.からのLenti-X(商標)システムを用いて、高力価の組換え複製不全ビリオンを作製する。このビリオンは、標的細胞を感染させるために直ちに使用されるか、または等分して使用まで-80 $^{\circ}$ Cで凍結される。マウスT細胞ハイブリドーマDO11.10細胞株は、National Jewish Health(登録商標)から入手することができる。DO11.10細胞をこの細胞株に付随したプロトコルに従って培養し、維持する。0日目に、DO11.10細胞を計数し、培地を遠沈して除去する。細胞ペレットをヒトTIM-3遺伝子またはベクター対照を含有するビリオンと混合し、37 $^{\circ}$ Cで24時間インキュベートする。細胞およびビリオンを混合するとき、最終濃度8 μ g/mLに達するまでポリブレンを添加する。24時間後、DO11.10細胞を再びペレット化し、新鮮な培地に再懸濁し、37 $^{\circ}$ Cで3日間インキュベートする。次に、DO11.10細胞を3日ごとにペレット化し、1mg/mL Geneticin(登録商標)を含有する選択培地に再懸濁して、安定して形質導入された細胞を選択する。Tim-3発現をR&D Systemsから入手した抗体を用いてフローサイトメトリーによってモニタリングする。選択培地中で2~3週間後、得られたTim-3発現DO11.10細胞を選別して単一細胞クローンを樹立する。

【0105】

DO11.10およびTim-3DO11.10細胞を、染色緩衝液(3%BSAを

有するDPBS)中、1ウェルあたり 1×10^5 個の細胞($100 \mu\text{l}$ /ウェル)で96ウェルV底プレートに添加する。細胞を、氷上にて、 $30 \mu\text{g}/\text{mL}$ のヒトIgGを含む染色緩衝液中で1時間Fcブロッキングする。抗体Aまたは対照ヒトIgGをA488(Molecular Probes(登録商標))で標識し、両方の抗体の12点滴定(titration)(1:3段階希釈)を 66.7 nM の開始濃度で染色緩衝液中で調製する。標識抗体を細胞に添加し、暗所にて4で1時間インキュベートする。1200 RPMで5分間回転させて上清をデカントすることにより、細胞をPBSで2回洗浄する。生細胞/死細胞色素7-AAD(PBS中1:1000)を $3 \mu\text{l}$ /ウェルで各ウェルに添加し、細胞を氷上で15分間インキュベートする。細胞をPBSで2回洗浄し、0.5%BSAを含有する $100 \mu\text{l}$ のDPBSに再懸濁し、IntelliCyt iQ 10
 ueで分析する。全ての染色は3つ組で行われる。データをFlowJoソフトウェアで分析して生細胞集団を同定し、AF488(FL1)検出チャンネルを用いて各サンプルの中央蛍光強度(median fluorescence intensity)を決定する。個々のMFI(すなわち中央蛍光強度)値をGraphPad Prismソフトウェアに入れて濃度応答曲線を作成し、該曲線からEC50値を外挿する。

【0106】

本質的に上記のように行った実験において、抗体Aは、 0.09 nM のEC50値で、Tim-3DO11.10細胞上の細胞結合ヒトTim-3に用量依存的に結合する。

【0107】

フローサイトメトリー分析：抗体Aは、ホスファチジルセリンとヒトTim-3との相互 20
 作用を阻止する。

本発明のある特定の抗体がTim-3へのホスファチジルセリンの結合を阻止する能力は、FACS分析によって測定することができる。この受容体-リガンド阻止アッセイのために、 1×10^6 個/mlのDO11.10細胞を $12 \mu\text{M}$ カンプトテシン(Sigma(登録商標))で37で3時間処理して、アポトーシスを誘導する。FITC-アネキシンV(Becton Dickinson(登録商標))をホスファチジルセリンの存在を検出するための陽性対照として用いる。ビオチン化hTIM-3-Fcは、カンプトテシン処理細胞に強く結合するが、非処理細胞には結合しない。カンプトテシン処理細胞を冷PBSで洗浄し、 1×10^6 個細胞/mlで結合緩衝液(Becton Dickinson(登録商標))に再懸濁する。 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ のマウスIgGおよびラットIg 30
 Gを細胞に添加し、室温で30分間インキュベートすることによって、Fc受容体をブロッキングする。抗体Aの6点滴定(1:3段階希釈)を開始濃度を 90 nM として結合緩衝液中で調製し、1mlの細胞に添加し、次いで細胞を室温で60分間インキュベートする。次いで、hTIM-3-Fcビオチンを、 $0.05 \mu\text{g}/\text{ウェル}$ で、 $200 \mu\text{l}$ の体積中の適切な試料に添加し、室温で30分間インキュベートする。次いで、1200 RPMで5分間の遠心分離により、細胞を結合緩衝液で2回洗浄する。 $2.4 \mu\text{l}/\text{ウェル}$ のストレプトアビジン-FITC(Biolegend(登録商標))を含有する溶液(DPBS中1:10希釈)および $5 \mu\text{l}/\text{ウェル}$ のヨウ化プロピジウムを各ウェルに添加し、暗所にて室温で30分間インキュベートする。細胞を結合緩衝液で2回洗浄し、 $100 \mu\text{l}$ のPBSに再懸濁する。試料をIntelliCyt iQueフローサイトメター 40
 ーで読み取り、データをFlowJoソフトウェアで分析した。個々のMFI(すなわち平均蛍光強度)値をGraphPad Prismソフトウェアに入れて濃度応答曲線を作成し、該曲線からIC50値を外挿する。

【0108】

本質的に上記のように行った実験において、抗体Aは、 0.32 nM のIC50値で、および表3にさらに示すように、ヒトTim-3とホスファチジルセリンとの相互作用を用量依存的に阻止する。

【0109】

【表 3】

表 3

	未処理の D011. 10 +hTIM-3 -Fc ビオチン	カンプトデシン処理 D011. 10+hTIM-3-Fc ビオチン						
抗体 A (nM)	0	90	30	10	3. 3	1. 1	0. 37	0
MFI	1747	1815	19655	32574	52885	96566	197146	214044

10

【 0 1 1 0 】

ガレクチン - 9 阻止アッセイ：抗体 A は、ヒトのガレクチン - 9 とヒト T i m - 3 との相互作用を阻止する。

本発明の抗体がヒトガレクチン - 9 のヒト T i m - 3 への結合を阻止する能力は、以下のようにして測定することができる。この受容体 - リガンド阻止アッセイのために、96 ウェルのストレプトアビジンでコーティングした MSD プレート (M e s o S c a l e D i a g n o s t i c s) を 150 μ l のブロッキング緩衝液 (5 % ウシ血清アルブミンを含有する P B S T) で 2 時間ブロッキングする。ウェルを、0. 2 % T w e e n - 20 を含有する 200 μ l の P B S で 3 回洗浄する。組換えヒトガレクチン - 9 (R & D S y s t e m s) を E Z - L i n k (商標) ビオチン (T h e r m o S c i e n t i f i c (商標)) を用いてビオチン化し、次いで 25 μ l の 0. 21 μ g / m l のヒト組換えガレクチン - 9 - ビオチンを次いで添加し、室温で 2 時間インキュベートする。プレートを、0. 2 % T w e e n - 20 を含有する P B S で 3 回洗浄する。ヒト T i m - 3 - F c タンパク質 (R & D S y s t e m s) を スルホ - タグ (s u l f o - t a g) N H S - エステル試薬 (M e s o S c a l e D i s c o v e r y (登録商標)) を用いてルチニル化し (r u t h i n y l a t e d) 、使用するまで少量のアリコーティングを - 80 で保存する。抗体を段階希釈し (13. 5 μ g / m l から開始) 、50 μ l の各抗体を 50 μ l の 0. 05 μ g / m l の希釈 h T i m - 3 - F c - r u t h と混合し、室温で 1 時間インキュベートする。次いで、50 μ l の各組み合わせをプレートに添加し、室温で 1. 5 時間インキュベートする。プレートを、0. 2 % T w e e n - 20 を含有する P B S で 3 回洗浄する。次いで、150 μ l の 1 x r e a d 緩衝液 (M e s o S c a l e D i a g n o s t i c s) をプレートの各ウェルに添加し、プレートを S e c t o r I m a g e r 2400 (M e s o S c a l e D i a g n o s t i c s) で読み取る。

20

30

【 0 1 1 1 】

本質的に上記のように行った実験において、7. 8 nM の I C 50 値を有する対照ポリクローナル抗ヒト T i m - 3 抗体 (R & D S y s t e m s) と比較して、抗体 A は、5. 6 nM の I C 50 値で、ヒト T i m - 3 とヒトガレクチン - 9 との相互作用を阻止する。しかしながら、ポリクローナル抗ヒト T i m - 3 抗体は、ヒトガレクチン - 9 とのヒト T i m - 3 の相互作用を最大 100 % 阻止することができるが、抗体 A は、このアッセイにおいて部分的な阻止しか達成しない。

40

【 0 1 1 2 】

C E A C A M - 1 阻止アッセイ：抗体 A は、ヒト C E A C A M 1 とヒト T i m - 3 との相互作用を阻止しない。

本発明の抗体がヒト T i m - 3 へのヒト C E A C A M 1 の結合を阻止する能力は、以下のようにして測定することができる。この受容体 - リガンド阻止アッセイのために、96 ウェル Immulon 4 H B X プレート (T h e r m o S c i e n t i f i c) を 100 μ l / ウェルの 1 μ g / m l のヒト T i m - 3 - F c で 4 でコーティングする。プレートを 0. 2 % T w e e n - 20 を含有する P B S で 3 回洗浄し、室温で 1 時間、3 %

50

B S Aを含む200 μ l / ウェルのP B Sでブロッキングする。次いでブロッキング緩衝液を除去し、50 μ lの滴定したA b (ポリクローナル抗ヒトT i m - 3、R & D S y s t e m s、抗体A、および対照ヒトI g Gを含む)を600 n Mで開始してプレートに添加し、室温で1時間インキュベートする。次いで50 μ lの20 μ g / m lのC E A C A M 1 (B I O T A N G)を直接ウェルに添加し、室温で1時間インキュベートする(抗体の最終濃度は300 n Mであり、C E A C A M 1の最終濃度は10 μ g / m lである)。プレートを0.2% T w e e n - 20を含有するP B Sで3回洗浄し、100 μ lの0.2 μ g / m lのビオチン化ヒトC E A C A M 1抗体(R & D S y s t e m s)を添加し、次いで室温で1時間インキュベートする。プレートを0.2% T w e e n - 20を含有するP B Sで3回洗浄し、次いで100 μ lのストレプトアビジンペルオキシダーゼ(J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h L a b o r a t o r i e s)を添加し、次いで室温で1時間インキュベートする。プレートを0.2% T w e e n - 20を含有するP B Sで6回洗浄し、100 μ l / ウェルの1 : 1 T M B 基質溶液AおよびB (K P L)を用いて室温で10分間発色させる。次いで、反応を100 μ l / ウェルの0.1 N H₂ S O₄を用いて停止し、S p e c t r a M a x (登録商標)プレートリーダーで450 n mで読み取る。

10

【0113】

本質的に上記のように行った実験において、以下の表4に示されるように、抗体Aは、ヒトT i m - 3へのC E A C A M 1の結合を有意に阻止しない。

20

【0114】

【表4】

表4

抗体の濃度 (nM)	0.015	0.046	0.137	0.41	1.24	3.71	11.1	33.3	100	300
ヒト IgG 対照 (O. D.)	2.05	2.02	2.13	2.03	2.04	2.03	2.05	2.07	2.12	2.08
ポリクローナル 抗Tim-3 (O. D.)	1.96	1.88	1.89	1.88	1.85	1.80	1.51	1.16	0.99	0.99
抗体A (O. D.)	1.87	1.88	1.87	1.82	1.80	1.78	1.79	1.79	1.73	1.74

30

【0115】

エピトープ

抗体AのF a bは、抗体Aを固定化(アガロース樹脂)パパイン(ThermoFisher Scientific)で酵素的に切断し(c l i p p i n g)、続いて遊離の可溶性Fcおよび切断されていないI g Gを抜き取るための標準ProAカラム(GE Healthcare Life Sciences)精製によって生成される。F a bを含有するフロースルーを収集して、濃縮し、緩衝液の交換をする。h T i m - 3 - I g V - F L A Gを、標準抗F L A G樹脂(Sigma-Aldrich)プロトコルを用いて293HEK上清から精製する。h T i m - 3 - I g Vドメインは、ヒトT i m - 3(配列番号1)のアミノ酸残基S22~K130を表す。フロースルーを樹脂カラム中に複数回戻す。各実験後、S D S - P A G E (N u P A G E Novex 4~12%ビス-Trisゲル; Invitrogen)およびH P L C (T S K g e l G 3 0 0 0 S W X L(寸法: 7.8mm、I D 3 0 C M、5 μ M; T O S H O B i o S c i e n c e)を用いて、h T i m - 3 - F L A Gタンパク質の品質を決定する。最良のラウンドのタンパク質と一緒に合わせて、最終バッチを作製する。

40

【0116】

50

pH 7.2 の TBS 緩衝液中 2.17 mg/mL の hTim-3-IgV-FLAG と 6.79 mg/mL の抗体 A-Fab とを 1:1 のモル比で混合し、複合体をサイズ排除クロマトグラフィーにより、pH 7.4 の 20 mM ヘペス (hepes) および 150 mM 塩化ナトリウム中の 6.9 mg/mL の最終濃度で単離する。Tim-3-抗Tim-3 複合体を、シッティングドロップ蒸気拡散法を用いて、5つの Qiagen grid screen にて、8 および 21 の両方でスクリーニングする。0.3 μ L のタンパク質の上部に 0.3 μ L の結晶化溶液を分注する Art Robbins Phoenix 液体操作ロボットを用いて、滴下を設定する。100 ~ 200 μ m の連晶 (integrated) プリズムが、20% PEG 3350 および 0.2 M 塩化リチウム中で 21 で得られる。結晶を採取し、液体窒素中で瞬間凍結する前に、20% エチレングリコールを補充した結晶化条件からなる溶液中で凍結防止する。データセットを Argonne National Laboratory で収集し、セルパラメータ $a = 74.62$ 、 $b = 57.85$ 、および $c = 74.71$ を有する空間群 P21 で 2.2 に回折する。

10

【0117】

ヒト Tim-3 との複合体中の抗体 A-Fab の構造を、プログラム Phaser を用いて分子置換 (Molecular Replacement) によって決定する。高解像度の一般的に入手可能な Fab 構造および マウス Tim-3 の公表されている構造を分子置換 (Molecular Replacement) モデルとして用いることができる。プログラム Refmac を用いて構造を精密化し、プログラム COOT を用いてモデルを再構築する。最終精密化 R ファクターは、 $R_{work} = 20.2\%$ 、 $R_{free} = 23.4\%$ である。ラムチャンドラン違反のものはなく、残基の 96.4% はラムチャンドランプロットの好まれる (favored) 領域にある。Tim-3 (配列番号 1) の Asn99 においてグリコシル化を示す密度がある。

20

【0118】

Biacore T200 を利用して、捕捉された抗体 A-Fab に対する hTim-3-IgV-FLAG の結合キネティクスを決定する。ランニング緩衝液としての HBS-Ep 中において、25 でのこの複合体の 1:1 結合は 3.62×10^5 1/ Ms の k_{on} 、 2.86×10^{-3} 1/s の k_{off} 、および 7.92×10^{-9} M の K_D を有する。

30

【0119】

本質的にこのアッセイに記載されるように行った実験において、抗体 A-Fab/hTim-3 複合体の解像を行い、エピトープ/パラトープが以下の表 5 に示される。以下の表 5 は、hTim-3 (配列番号 1) の列挙された残基の 6 以内にある抗体 A-Fab の残基を列挙する。抗体 A-Fab の重鎖は hTim-3 と 62 個の接触 (カットオフ 6) を有する一方、軽鎖は 34 個の接触 (カットオフ 6) を有する。

【0120】

【表 5】

表 5

Tim-3 (エピトープ)	抗体 A 重鎖 (パラトープ)	抗体 A 軽鎖 (パラトープ)
P50	S54	---
K55	---	Y32
G56	---	Y32
A57	---	Y30、Y32、N92
C58	---	Y32、A91、N92、 S93
P59	Y99、T102	Y32、A91、N92、 S93
V60	Y59、Y99、T102	Y32、Q89、Q90、 A91、N92、S93、 F94、P95、P96
F61	Y33、S35、W47、 A50、Y59、Y99、 A100、T102、F104	A91、F94、P96
E62	S31、Y33、Y59、 Y99、R101	---
C63	Y99、R101、T102	Y32
G64	T102	Y32
N65	T102	N31、Y32、A50
E72	S54	---
I107	---	T30
R111	Y33、Y59	---
Q113	Y33、S52、G53、 S54、G55、G56、 S57、Y59	---
I114	G56、S57	---
P115	G56、S57	---
G116	G56、S57、T58、 Y59	---
I117	G56、S57、T58、 Y59、Y60、K65	---
M118	S57、T58、Y59、 Y60、A61、D62、 K65	F94
N119	T58、Y59	---
D120	Y33、S57、Y59	---
K122	---	N92、F94

10

20

30

40

【0121】

抗体 A のキネティクス / 親和性研究

Biacore T100 機器を用いて、捕捉抗体 A へのヒト Tim-3-IgV-Fc 単一アーム抗原 (SAG) の結合のキネティクスを測定することができる。ヒト Fab

50

バインダー (Human Fab Binder) (GE Healthcare) を Biacore CM5 センサーチップ表面にアミンカップリングさせることにより、ヒト Fab バインダー表面を調製する。ランニング緩衝液として HBS-EP 緩衝液 (GE Healthcare) を用いて、試験抗体をチップにより捕捉する。Tim-3 SAG を 3 の希釈係数で 30 nM から開始してランニング緩衝液に希釈して、0.04、0.12、0.37、1.11、3.33、10 および 30 nM の濃度を得る。希釈した Tim-3 SAG 分析物または緩衝液を 30 μ l / 分で 180 秒間注入し、複合体の解離を 1200 秒間モニタリングする。各分析物結合サイクルの間に、30 μ l / 分の 10 mM グリシン-HCl pH 2.1 の注入を用いて、5 つの低濃度については 2 回の注入を 30 秒、および 2 つの高濃度については 2 回の注入を 60 秒にて行うことで、結合表面が再生される。所与の抗原 / Ab 相互作用の実験データを、質量輸送モデルを用いた 1 : 1 ラングミュアーを用いてフィッティングする。

10

【0122】

本質的に上記のように行った実験において、抗体 A は、表 6 に示されるキネティクスおよび親和性定数でヒト Tim-3 に結合する。

【0123】

【表 6】

表 6

抗体	K_{on} (1/MS)	K_{off} (1/s)	K_D (M)	R_{max}	χ^2
抗体 A	2.33E+06	9.27E-04	3.98E-10	17.09	0.319

20

【0124】

PBMC および抗体 B でヒト化した NSG マウスにおける定着 (established) ヒト腫瘍の異種移植モデル

抗体 B の有効性は、NCI-H827 ヒト NSCLC 異種移植片モデルで試験することができ、モデルにおける定着腫瘍を遅延または破壊する能力を評価する。0 日目に、 1×10^7 個の H827 細胞を NSG マウスの側腹部に皮下移植する (7 週齢、雌、1 群あたりマウス 10 匹)。ヒト異種移植腫瘍が定着したら、34 日目にマウスに 5×10^6 個のヒト PBMC を注入する (i.v.)。35 日目に開始して、マウスにヒト IgG または抗体 B (抗 PD-L1 抗体) のいずれかを 10 mg / kg で毎週 (合計 3 回投与)、腹腔内投与する。グルーミングおよび歩行を含む動物の健康および行動を週に少なくとも 2 回モニタリングする。体重および腫瘍体積を週に 2 回測定する。

30

【0125】

本質的にこのアッセイに記載されるように行った実験において、抗体 B による処置は、ヒト IgG による処置と比較して、ヒト化 NSG マウスにおける腫瘍増殖を有意に阻害する (表 7)。

【0126】

【表 7】

表 7 : NCI-H827 ヒト NSCLC 異種移植片モデルにおける腫瘍体積 (mm^3)

処置	日	21	28	30	34	36	40	43	47
Hu IgG	平均値	156	290	337	397	445	726	779	883
	SEM	15	13	24	34	60	59	75	78
抗体 B	平均値	163	293	336	367	379	433	557	468
	SEM	13	26	25	20	51	35	54	41

40

【0127】

【表 8】

処置	日	50	55	57	62	65	69	72	76
Hu IgG	平均値	959	1000	1241	1345	1530	1508	1854	2056
	SEM	87	69	102	91	52	90	121	123
抗体 B	平均値	503	593	580	672	625	775	772	691
	SEM	76	85	105	154	170	202	221	231

【0128】

結合キネティクスおよび親和性

表面プラズモン共鳴 (Biacore) を用いて、ヒト PD-L1 のキネティクスおよび平衡解離定数 (K_D) を抗体 B について決定する。

【0129】

センサーチップ表面へのリガンドとしての抗体 B の固定化を 25 で行う。可溶性ヒト PD-L1-Fc 融合タンパク質 (およびいくつかの場合には、カニクイザル PD-L1-Fc 融合タンパク質) を分析物として 0.0123 nM ~ 9 nM の範囲の濃度で注射する。分析を 37 で行う。各試料の接触時間は 30 μ l / 分で 180 秒である。解離時間は 240 ~ 1500 秒とした。固定化表面を 0.95 M NaCl / 25 mM NaOH を用いて 30 μ l / 分で 18 秒間再生し、次いで 30 秒間安定化させる。結合キネティクスを Biacore T200 Evaluation ソフトウェア (バージョン 3.0) を用いて分析する。データはブランクのフローセルを参照基準とし、データを 1:1 結合モデルにフィッティングする。

【0130】

本質的にこのアッセイに記載されるように行った実験において、抗体 B は、82 pM の K_D でヒト PD-L1 に結合する。

【0131】

【表 9】

表 8: SPR による抗体 B の結合

抗体 B への結合	K_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	K_D (pM)
ヒト PD-L1	1.40E+06	1.14E-04	82
カニクイザル PD-L1	1.51E+06	1.84E-04	122

【0132】

ELISA 分析: 抗体 B は組換え PD-L1 に結合する。

抗体 B がヒト PD-L1 に結合する能力は、ELISA によって測定することができる。PD-L1 結合アッセイのために、96 ウェルプレート (Nunc) をヒト PD-L1-Fc (R&D Systems) で 4 で一晩コーティングする。ウェルをブロッキング緩衝液 (5% 脱脂粉乳を含む PBS) で 2 時間ブロッキングする。ウェルを 0.1% Tween-20 を含有する PBS で 3 回洗浄する。次いで抗体 B または対照 IgG (100 μ l) を添加し、室温で 1 時間インキュベートする。洗浄後、プレートを 100 μ l のヤギ抗ヒト IgG F(ab')₂-HRP コンジュゲート (Jackson Immuno Research) とともに室温で 1 時間インキュベートする。プレートを洗浄し、次いで 100 μ l の 3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジンとともにインキュベートする。450 nm における吸光度をマイクロプレートリーダーで読み取る。半数効果濃度 (EC50) を GraphPad Prism 6 ソフトウェアを用いて計算する。

【0133】

本質的にこのアッセイに記載されるように行った実験において、抗体 B は、0.11 nM の EC50 でヒト PD-L1 に結合する。抗体 B は、4、25、および 40 の 3

10

20

30

40

50

つ全ての温度条件下で4週間後にその結合活性を保持する。

【0134】

フローサイトメトリー分析：抗体Bは細胞表面PD-L1に結合する。

抗体Bが細胞表面の発現ヒトPD-L1に結合する能力は、フローサイトメトリーによって測定することができる。MDA-MB231細胞（PD-L1陽性ヒト乳房腺癌細胞株）を、200 μ lの染色緩衝液中の1ウェル当たり 1.5×10^5 個の細胞で96ウェルU底プレートに添加し、30分間4 $^\circ$ でインキュベートする。プレートを1200rpmで5分間遠心分離し、上清を除去する。100 μ lの抗体B-ビオチン（10 μ g/mlから始めて1：4で段階希釈する）を添加する。合計6つの段階希釈物を評価する。30分間4 $^\circ$ でインキュベートした後、細胞をDPBSで2回洗浄する。5 μ lのストレプトアビジン-PEを含有する100 μ lの検出緩衝液を添加する。4 $^\circ$ でさらに30分間インキュベートした後、プレートを遠心分離し、DPBSで2回洗浄する。FACS分析のために、細胞を200 μ lのDPBSに再懸濁する。

10

【0135】

本質的にこのアッセイに記載されるように行った実験において、抗体Bは、0.14nMのEC50で、MDA-MB231細胞上の細胞表面PD-L1に用量依存的に結合する。

【0136】

ELISA分析：抗体BはPD-L1とPD-1との相互作用を阻止する。

本発明の抗体がPD-1へのPD-L1の結合を阻止する能力は、ELISAによって測定することができる。受容体-リガンド阻止アッセイのために、様々な量の抗体Bまたは対照IgGを一定量のビオチン化PD-L1-Fc融合タンパク質（100ng/ウェル）と混合し、室温で1時間インキュベートする。混合物をPD-1-Fc（1 μ g/ml）でプレコーティングした96ウェルプレートに移し、次いで室温でさらに1時間インキュベートする。洗浄後、ストレプトアビジンHRPコンジュゲートを添加し、450nmでの吸光度を読み取る。IC50は、PD-1へのPD-L1の結合の50%阻害に必要な抗体濃度を表す。

20

【0137】

本質的にこのアッセイで記載されるように行った実験において、抗体Bは、0.95nMのIC50でPD-L1とPD-1との相互作用を阻止する。抗体Bは、4、25、および40 $^\circ$ の3つ全ての温度条件下で4週間後にその阻止活性を保持する。

30

【0138】

ELISA分析：抗体BはPD-L1とB7-1との相互作用を阻止する。

ヒトPD-L1はB7-1にも結合する。抗体BがB7-1へのPD-L1の結合を阻止する能力は、ELISAによって測定することができる。PD-L1/B7-1阻止アッセイの手順は、プレートを1 μ g/mlのB7-1-Fc（R&D Systems）でコーティングすることを除いて、PD-L1/PD-1阻止アッセイと同様である。PD-1へのPD-L1の結合の50%阻害に必要な抗体濃度（IC50）を、Graph Pad Prism6ソフトウェアを用いて計算する。

40

【0139】

本質的にこのアッセイに記載されるように行った実験において、抗体Bは、2.4nMのIC50でPD-L1とB7-1との相互作用を阻止する。

【0140】

抗体Aは、抗ヒトPD-L1抗体の存在下で、インビトロで刺激されたヒトPBMCからのインターフェロン-ガンマ産生を増強する。

本発明の抗体によってTim-3シグナルを阻止する機能は、T細胞活性化の際のサイトカインの放出を測定することによって評価することができる。T細胞活性化が本発明の抗体による処置によって促進されるとき、IFN- γ などのある特定のサイトカインのレベルは増加すると予想される。

【0141】

50

ヒト単球単離キットII (Miltenny Biotec) を用いて、健常なドナーから得た新鮮なヒトPBMC (All Cells) からのネガティブセレクションによって、CD14⁺単球を単離する。CD14⁺単球を62.5 ng/mlのhGM-CSFおよび20 ng/mlのヒトIL-4の存在下での完全RPMI-1640培地中で3日間培養することによって、ヒト単球由来の樹状細胞を生成する。新鮮なヒトPBMCは異なる健常なドナーから単離された (All Cells)。次いで、1ウェル当たり7.5 × 10⁴個のPBMC細胞および1.5 × 10⁴個の未成熟DCを含有する100 μlの完全AIM-V培地を含む96ウェルプレートの個々のウェル中で、2種類の細胞を混合する。100 nMのヒトIgG1、100 nMの抗体A、4 nMまたは1.33 nMのアテゾリズマブ、0.07 nMまたは0.22 nMのLilly PD-L1抗体、抗体B、または100 nMの抗体Aをアテゾリズマブまたは抗体Bと組み合わせて含有する100 μlの完全AIM-V培地を8連で添加する。37 °C、5% CO₂で6日間インキュベートした後、上清を回収し、ELISAキット (R&D Systems) を用いてヒトIFN-γについて測定する。対応のないt検定を用いて、群を比較する。

10

【0142】

本質的に上記のように行った実験において、抗体Aまたはアテゾリズマブの添加は、ヒトIgG1の添加と比較して、IFN-γの分泌を増加させる。以下の表9に示されるように、抗体Aとアテゾリズマブとの組み合わせは、1.33 nM用量 (P = 0.0014) の用量でのアテゾリズマブ単独の添加と比較して、IFN-γの分泌を有意に増加させる。このMLRアッセイにおいて、抗体Aは、抗体Bと組み合わせたときにIFN-γの分泌を増加させる (表10)。

20

【0143】

【表10】

表9：アテゾリズマブと組み合わせた抗体AはT細胞IFN-γ産生の増加をもたらす

アテゾリズマブ	対照 IgG (100nM) +			抗体 A (100nM) +		
	0nM	1.33nM	4nM	0nM	1.33nM	4nM
IFN-γ (pg/ml)	1427.48 ± 325.3	2523.6 ± 278.8	3383.42 ± 421.04	1494.13 ± 248.03	3463.11 ± 434.43	3129.87 ± 782.92

30

【0144】

【表11】

表10：抗体Bと組み合わせた抗体AはT細胞IFN-γ分泌の増加をもたらす

	対照 IgG (100nM)	-	抗体 B		抗体 B	
			0.07nM	0.22nM	0.07nM	0.22nM
抗体 A	-	100nM	-	-	100nM	100nM
IFN-γ (pg/ml)	964.236 ± 112	1175.03 ± 100	1816.41 ± 301.1	2281.64 ± 183.8	2409.24 ± 453.5	2966.53 ± 269.9

40

【0145】

初代ヒトT細胞でヒト化したNSGマウスにおける定着ヒト腫瘍の異種移植モデル

本発明の抗体の有効性は、NCI-HCC827ヒトNSCLC (非小細胞肺癌) 異種移植片モデルで試験することができ、モデルにおける定着腫瘍を遅延または破壊する能力を評価する。0日目に、1 × 10⁷個のNCI-HCC827細胞をNSGマウスの側腹部に皮下移植する (7週齢、雌、1群あたりマウス8匹)。腫瘍が約400 mm³の体積に達したら (約30 ~ 32日目)、マウスに2.5 × 10⁶個の事前に増殖させたヒトT細胞を注入する (i.v.)。この事前に増殖させたヒトT細胞は、全血からヒトT細胞を分離し、Dynabeads (登録商標) Human T-Activator CD

50

3 / C D 2 8 を用いて 1 0 日間増殖させることによって生成される。この事前に増殖させたヒト T 細胞は、後で使用するために凍結保存してもよい。T 細胞注入の同じ日に、マウスにヒト I g G または抗体 A を 1 0 m g / k g で毎週（合計 4 回投与）、腹腔内注射により投与する。グルーミングおよび歩行を含む動物の健康および行動を週に少なくとも 2 回モニタリングする。

【 0 1 4 6 】

体重および腫瘍体積を週に 2 回測定する。腫瘍体積を、上記のように電子キャリパーを用いて細胞移植後 4 日目から始めて週に 2 回測定した。腫瘍体積 (m m ³) = / 6 * 長さ * 幅 ²。抗腫瘍有効性は T / C 比としてパーセントで表され、以下に要約されるようにして計算される：幾何平均値の T > 0 の場合、% T / C は式 1 0 0 T / C によって計算される。T = 研究最終日の薬物処置群の平均腫瘍体積 - 投与の初日の薬物処置群の平均腫瘍体積、C = 研究最終日の対照群の平均腫瘍体積 - 投与の初日の対照群の平均腫瘍体積である。さらに、% 退縮は、T < 0 の場合、式 = 1 0 0 x T / T_{初日} を用いて計算される。測定可能な腫瘍を有していない動物を完全奏効 (C R) とみなし、5 0 % 超の退縮を有する腫瘍を部分奏効 (P R) とみなす。

10

【 0 1 4 7 】

本質的に上記のように行った実験において、3 つの治療すべてが、4 回の毎週の投与後、6 3 日を経たときに腫瘍増殖阻害を示し、その後は処置停止後に腫瘍の再増殖を示した (表 1 1)。1 0 m g / k g での抗体 A 処置は、6 3 日を経たときに 5 7 % の T / C % で腫瘍増殖を遅延させる (p = 0 . 0 6 5)。抗体 B は、6 3 日を経たときに 2 9 % の T / C % で H C C 8 2 7 腫瘍の増殖を有意に阻害し、その後は腫瘍が再増殖した。抗体 A および抗体 B の組み合わせは、このモデルにおいて、抗体 B 処置単独に対して追加の抗腫瘍利益を与えなかった (p = 0 . 8 4)。

20

【 0 1 4 8 】

【表 1 2】

表 1 1 : N C I - H C C 8 2 7 ヒト N S C L C 異種移植片モデルにおける腫瘍体積 (mm³)

日	ヒト I g G 対照		抗体 B		抗体 A		抗体 B + 抗体 A	
	平均値	S E M	平均値	S E M	平均値	S E M	平均値	S E M
15	106. 22	8. 16	105. 04	8. 04	106. 91	7. 48	106. 50	5. 44
24	189. 95	10. 05	182. 32	13. 31	194. 56	8. 01	195. 97	9. 05
27	230. 81	4. 60	247. 85	10. 65	257. 03	7. 84	239. 26	16. 06
30	287. 36	3. 87	281. 06	8. 19	276. 72	8. 35	294. 67	8. 64
35	415. 25	27. 08	410. 49	60. 70	416. 23	17. 33	409. 17	48. 26
38	523. 76	34. 15	493. 53	72. 98	516. 64	21. 51	496. 85	58. 60
42	559. 33	36. 48	455. 37	67. 34	628. 06	26. 15	481. 89	56. 84
45	702. 14	45. 79	469. 50	69. 43	618. 22	25. 74	513. 69	60. 59
49	762. 12	49. 70	561. 92	83. 09	762. 93	31. 77	622. 72	73. 45
52	795. 47	51. 88	521. 83	77. 17	734. 00	30. 56	567. 45	66. 93
56	1120. 03	73. 04	748. 46	110. 68	1042. 80	43. 42	826. 84	97. 53
59	1457. 01	95. 02	687. 78	101. 71	957. 11	39. 85	737. 29	86. 97
63	1703. 79	111. 12	788. 70	116. 63	1141. 47	47. 53	856. 66	101. 05
66	1651. 37	107. 70	1032. 63	152. 70	1584. 30	65. 97	1220. 36	143. 95
70	1796. 39	123. 14	1346. 37	199. 10	1813. 35	75. 51	1399. 11	166. 60
73	2361. 95	164. 27	1605. 96	237. 49	2251. 14	93. 74	1630. 89	195. 41
77			1795. 31	265. 49			1729. 11	211. 36

10

20

30

【 0 1 4 9 】

アミノ酸およびヌクレオチド配列

配列番号 1 (ヒト T i m - 3) (ホモサピエンス)

M F S H L P F D C V L L L L L L L L T R S S E V E Y R A E V G Q N A Y L P C F Y
T P A A P G N L V P V C W G K G A C P V F E C G N V V L R T D E R D V N Y W T S
R Y W L N G D F R K G D V S L T I E N V T L A D S G I Y C C R I Q I P G I M N D
E K F N L K L V I K

40

配列番号 2 (抗体 A の H C D R 1) (人工配列)

A A S G F T F S S Y Y M S

配列番号 3 (抗体 A の H C D R 2) (人工配列)

A I S G S G G S T Y Y A D S V K G

配列番号 4 (抗体 A の H C D R 3) (人工配列)

A R Y A R T A F D L

配列番号 5 (抗体 A の L C D R 1) (人工配列)

Q A S Q D I Y N Y L N

配列番号 6 (抗体 A の L C D R 2) (人工配列)

Y A A S S L Q S

50

配列番号7 (抗体AのLCDR3) (人工配列)

QQANSFPPT

配列番号8 (抗体AのHCVR) (人工配列)

EVQLLES GGG L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y Y M S W V R Q A
P G K G L E W V S A I S G S G G S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R Y A R T A F D L W G Q G T L V T V S S

配列番号9 (抗体AのLCVR) (人工配列)

D I V M T Q S P S S L S A S V G D G V T I T C Q A S Q D I Y N Y L N W Y Q Q K P
G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C Q Q A N S F P P T F G Q G T K L E I K

10

配列番号10 (抗体AのHC) (人工配列)

E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y Y M S W V R Q A
P G K G L E W V S A I S G S G G S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R Y A R T A F D L W G Q G T L V T V S S A S T
K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S
G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C
N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E A E G A P S V
F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D
G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K
C K V S N K A L P S S I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K
N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S
D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S
L S L S P G K

20

配列番号11 (抗体AのLC) (人工配列)

D I V M T Q S P S S L S A S V G D G V T I T C Q A S Q D I Y N Y L N W Y Q Q K P
G K A P K L L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C Q Q A N S F P P T F G Q G T K L E I K R T V A A P S V F I F P P
S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q
E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G
L S S P V T K S F N R G E C

30

配列番号12 (抗体AのHCのDNA) (人工配列)

G A G G T G C A G C T G T T G G A G T C T G G C G G A G G G C T G G T G C A G C
C G G G A G G C A G C C T C A G G C T G A G C T G C G C T G C G A G C G G G T T
T A C T T T C T C G T C G T A C T A T A T G T C G T G G G T G A G A C A A G C A
C C A G G T A A A G G A C T T G A G T G G G T G T C C G C T A T C T C A G G C A
G C G G A G G A T C C A C C T A C T A C G C G G A T T C A G T C A A G G G A A G
A T T C A C T A T C T C G C G C G A C A A T T C C A A G A A C A C C C T G T A C
C T C C A G A T G A A C T C G C T G C G G G C A G A A G A T A C G G C C G T G T
A C T A C T G T G C C C G C T A C G C C C G G A C C G C C T T C G A C T T G T G
G G G T C A G G G A A C C C T G G T C A C T G T C T C C T C A G C T A G C A C C
A A G G G C C C A T C G G T C T T C C C C T G G C A C C C T C C T C C A A G A
G C A C C T C T G G G G G C A C A G C G G C C C T G G G C T G C C T G G T C A A
G G A C T A C T T C C C C G A A C C G G T G A C G G T G T C G T G G A A C T C A
G G C G C A C T G A C C A G C G G C G T G C A C A C C T T C C C G G C T G T C C
T A C A G T C C T C A G G A C T C T A C T C C C T C A G C A G C G T G G T G A C
C G T G C C C T C C A G C A G C T T G G G C A C C C A G A C C T A C A T C T G C
A A C G T G A A T C A C A A G C C C A G C A A C A C C A A G G T G G A C A A G A
G A G T T G A G C C C A A A T C T T G T G A C A A A A C T C A C A C A T G C C C
A C C G T G C C C A G C A C C T G A A G C C G A G G G G G C A C C G T C A G T C
T T C C T C T T C C C C C A A A A C C C A A G G A C A C C C T C A T G A T C T

40

50

C C C G G A C C C C T G A G G T C A C A T G C G T G G T G G T G G A C G T G A G
 C C A C G A A G A C C C T G A G G T C A A G T T C A A C T G G T A T G T G G A C
 G G C G T G G A G G T G C A T A A T G C C A A G A C A A A G C C G C G G G A G G
 A G C A G T A C A A C A G C A C G T A C C G T G T G G T C A G C G T C C T C A C
 C G T C C T G C A C C A A G A C T G G C T G A A T G G C A A G G A G T A C A A G
 T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C C T C C C A T C C T C C A T C G A G A
 A A A C C A T C T C C A A A G C C A A A G G G C A G C C C C G A G A A C C A C A
 G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C C C G G G A G G A G A T G A C C A A G
 A A C C A A G T C A G C C T G A C C T G C C T G G T C A A A G G C T T C T A T C
 C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T G G G A G A G C A A T G G G C A G C C
 G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C G C C T C C C G T G C T G G A C T C C
 G A C G G C T C C T T C T T C C T C T A T T C C A A G C T C A C C G T G G A C A
 A G A G C A G G T G G C A G C A G G G G A A C G T C T T C T C A T G C T C C G T
 G A T G C A T G A G G C T C T G C A C A A C C A C T A C A C G C A G A A G A G C
 C T C T C C C T G T C T C C G G G C A A A

10

配列番号13 (抗体AのLCのDNA) (人工配列)

G A C A T C G T G A T G A C T C A A A G C C C T T C A A G C C T C T C G G C G T
 C A G T C G G T G A T G G C G T G A C C A T T A C C T G T C A A G C A T C C C A
 A G A C A T C T A C A A C T A C T T G A A T T G G T A C C A G C A G A A G C C A
 G G G A A A G C C C C G A A G C T G C T G A T C T A C G C C G C C T C C T C A C
 T T C A G A G C G G A G T G C C A T C C C G C T T T T C C G G A T C G G G G A G
 C G G A A C G G A T T T C A C T C T G A C C A T C T C G T C G C T G C A A C C G
 G A G G A C T T C G C G A C T T A C T A T T G C C A G C A G G C T A A C T C G T
 T C C C G C C C A C T T T C G G A C A G G G C A C C A A G C T C G A A A T C A A
 A C G A A C T G T G G C T G C A C C A T C T G T C T T C A T C T T C C C G C C A
 T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A C T G C C T C T G T T G T G T
 G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G A G A G G C C A A A G T A C A
 G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A T C G G G T A A C T C C C A G
 G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A A G G A C A G C A C C T A C A
 G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G C A A A G C A G A C T A C G A
 G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A G T C A C C C A T C A G G G C
 C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T T C A A C A G G G G A G A G T
 G T

20

30

配列番号14 (ヒトCEACAM1) (ホモサピエンス)

M G H L S A P L H R V R V P W Q G L L L T A S L L T F W N P P T T A Q L T T E S
 M P F N V A E G K E V L L L V H N L P Q Q L F G Y S W Y K G E R V D G N R Q I V
 G Y A I G T Q Q A T P G P A N S G R E T I Y P N A S L L I Q N V T Q N D T G F Y
 T L Q V I K S D L V N E E A T G Q F H V Y P E L P K P S I S S N N S N P V E D K
 D A V A F T C E P E T Q D T T Y L W W I N N Q S L P V S P R L Q L S N G N R T L
 T L L S V T R N D T G P Y E C E I Q N P V S A N R S D P V T L N V T Y G P D T P
 T I S P S D T Y Y R P G A N L S L S C Y A A S N P P A Q Y S W L I N G T F Q Q S
 T Q E L F I P N I T V N N S G S Y T C H A N N S V T G C N R T T V K T I I V T E
 L S P V V A K P Q I K A S K T T V T G D K D S V N L T C S T N D T G I S I R W F
 F K N Q S L P S S E R M K L S Q G N T T L S I N P V K R E D A G T Y W C E V F N
 P I S K N Q S D P I M L N V N Y N A L P Q E N G L S P G A I A G I V I G V V A L
 V A L I A V A L A C F L H F G K T G R A S D Q R D L T E H K P S V S N H T Q D H
 S N D P P N K M N E V T Y S T L N F E A Q Q P T Q P T S A S P S L T A T E I I Y
 S E V K K Q

40

配列番号15 (ヒトガレクチン9) (ホモサピエンス)

M A F S G S Q A P Y L S P A V P F S G T I Q G G L Q D G L Q I T V N G T V L S S

50

SGTRFAVNFQTGFSGNDIAFHFNPRFEDGGYVVCNTRQNG
 SWGPEERKTHMPFQKGMFDFLCFLVQSSDFKVMVNGILFV
 QYFHRVPPFHRVDTISVNGSVQLSYISFQPPGVWPANPAPI
 TQTVIHTVQSAPGQMFSTPAIPPMYPHPAYPMPFITITIL
 GGLYPSKSIILLSGTVLP SAQRFHINLCSGNHIAFHLPNPRF
 DENAVVRNTQIDNSWGSEERSLPRKMPFVRGQSFSSVWILC
 EAHCLKVAVDGQHLEFYHRLRNLP TINRLEVGGDIQLTH
 VQT

配列番号16(ヒトPD-L1)(ホモサピエンス)

MRIFAVFIFMTYWHLLNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIE
 CKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQHS
 SYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYG
 GADYKRITVKVNAPYNKINQRILVVDPTSEHELTCQAE
 YPKAEVIWTS SDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRI
 NTTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPNERT
 HLVILGAILLCLGVALT FIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTNS
 KKQSDTHLEET

10

配列番号17(抗体BのHC DR1)(人工配列)

KASGGTFSSYAIS

配列番号18(抗体BのHC DR2)(人工配列)

GIIPIIFGTANYAQKFQG

20

配列番号19(抗体BのHC DR3)(人工配列)

ARSPDYSPY Y Y Y GMDV

配列番号20(抗体BのLC DR1)(人工配列)

SGSSSNIGSNTVN

配列番号21(抗体BのLC DR2)(人工配列)

YGNSNRPS

配列番号22(抗体BのLC DR3)(人工配列)

QSYDSSL S GSV

配列番号23(抗体BのHC VR)(人工配列)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA
 PGQGLEWMGGIIP I I FGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAY
 MELSSLRSEDTAVYYCARSPDYSPY Y Y Y GMDVWGQGT T V T
 VSS

30

配列番号24(抗体BのLC VR)(人工配列)

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQL
 PGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQ
 SEDEADY Y C QSYDSSL S GSVFGGGIKLTVLG

配列番号25(抗体BのHC)(人工配列)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQA
 PGQGLEWMGGIIP I I FGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAY
 MELSSLRSEDTAVYYCARSPDYSPY Y Y Y GMDVWGQGT T V T
 VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
 TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLG
 TQTYICNVNHKPSNTKVDKRV E P K S C D K T H T C P P C P A P E A
 EGAPSVFLFPKPKDTLMISRTP E V T C V V V D V S H E D P E V K
 FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 NGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVY T L P P S
 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV F S C S V M H E A L H N

40

50

HYTQKSLSLSPGK

配列番号26(抗体BのLC)(人工配列)

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQL
PGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQ
SEDEADYYCQSYDSSLSGSVFGGGIKLTVLGQPKAAPSVT
LFPSSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSSPVK
AGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTP EQWKSHRSYSCQVT
HEGSTVEKTVAPAECS

配列番号27(抗体BのHCのDNA)(人工配列)

CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCCAGGGGCCGAGGTCAAAAAGC
CAGGGTCCATCTGTCAAAGTGTCTTGTAAGGCATCCGGGGG
CACATTTTCCAGCTACGCTATCTCCTGGGTGAGACAGGCA
CCAGGGCAGGGTCTGGAGTGGATGGGCGGAATCATTCCCA
TCTTCGGGACCGCCAACCTACGCTCAGAAAGTTTCAGGGAAG
GGTCACTATTACCGCCGACAAAAGCACATCTACTGCTTAT
ATGGAGCTGTCTAGTCTGAGGTCTGAAGATAACCGCAGTGT
ACTATTGCGCCCGGAGTCCCGACTATAGCCCTTACTATTA
CTATGGCATGGATGTCTGGGGCCAGGGAACACAGTGACA
GTCTCATCCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCC
TGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGC
CCTGGGCTGCTGCTGGTCAAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG
ACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAAGCGGCCTGC
ACACCTTCCCCGGCTGTCTCCTACAGTCCCTCAGGACTCTACTC
CCTCAGCAGCGTGGTGACCCTGCTCCAGCAGCTTGGGGC
ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCA
ACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGA
CAAAACTCACACATGCCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCC
GAGGGGGCACCGTCAAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCA
AGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATG
CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG
TTCAACTGGTATGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA
AGACAAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAACAGCACGTACCG
TGTGGTCAAGCGTCTCACCGTCTCTGCACCAAGACTGGCTG
AATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAGCCC
TCCCATCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG
GCAGCCCCGAGAACCAACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCC
CGGGAGGGAGATGACCAAGAACCAAGTCAAGCCTGACCTGCC
TGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTG
GGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACG
CCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATT
CCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA
CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAAC
CACTACACGCAGAAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA

10

20

30

40

配列番号28(抗体BのLCのDNA)(人工配列)

CAGTCCGTCCCTGACACAGCCACCCCTCAGCCTCTGGCACCC
CTGGGCAGCGAGTGACAATCTCTTGTTCTGGGAGTTCCTC
AAAATAATTGGTAGTAACACCGTGAATTGGTACCAGCAGCTG
CCCGGCACAGCACCTAAGCTGCTGATCTATGGAAACTCAA
ATAGGCCATCCGGAGTCCCGACCGGTTCTCTGGTAGTAA
ATCAGGCACCTTCCGCCAGCCTGGCTATTAGCGGGCTGCAG

50

TCTGAGGACGAAGCCGATTACTATTGCCAGTCTTACGATT
 CCAGCCTGTCTGGAAGTGTGTTTGGCGGAGGGATCAAGCT
 GACCGTCCCTGGGCCAGCCTAAGGCTGCCCCCTCGGTCACT
 CTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGG
 CCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGC
 CGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG
 GCGGGAGTGGAGACCACCAACCCTCCAACAAGCAACA
 ACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCTGA
 GCAGTGGAAAGTCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACG
 CATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTGCAG
 AATGCTCT

10

配列番号29 (アテゾリズマブLC) (人工配列)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQK
 GKAPKLLIYSASFVLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
 EDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
 LSSPVTKSFNRGEC

配列番号30 (アテゾリズマブHC) (人工配列)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQA
 PGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAY
 LQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTVSSAS
 TKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
 SGALTSGVHTFPAVLQSSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYI
 CNVNHKPSNTKVDKKEVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
 DGVVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
 KCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
 KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD
 SDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQK
 SLSLSPGK

20

30

配列番号31 (デュルバルマブLC) (人工配列)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK
 GQAPRLLIYDASNRAATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEP
 EDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
 SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
 ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
 LSSPVTKSFNRGEC

配列番号32 (デュルバルマブHC) (人工配列)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQA
 PGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTISRDNKNTLFL
 LQMNSLRAEDTAVYYCATNDYWGQGTLVTVSSASTKGPS
 VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
 SGVHTFPAVLQSSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVLDH
 KPSNTKVDKRVESKYGPCCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
 KDTLMISRTPEVTCVVVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVVEVHNA
 KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKKG
 LPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL
 LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY
 SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGLK

40

50

配列番号33 (アベルマブLC) (人工配列)

Q S A L T Q P A S V S G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G G Y N Y V S W Y Q Q
 H P G K A P K L M I Y D V S N R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G L
 Q A E D E A D Y Y C S S Y T S S S T R V F G T G T K V T V L G Q P K A N P T V T
 L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D G S P V K
 A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T
 H E G S T V E K T V A P T E C S

配列番号34 (アベルマブHC) (人工配列)

E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y I M M W V R Q A
 P G K G L E W V S S I Y P S G G I T F Y A D T V K G R F T I S R D N S K N T L Y
 L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R I K L G T V T T V D Y W G Q G T L V T V S S
 A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S
 W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T
 Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G
 P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W
 Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K
 E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E
 L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V
 L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T
 Q K S L S L S P G K

10

20

配列番号35 (BMS - 936559 LCVR) (人工配列)

E I V L T Q S P A T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S Y L A W Y Q Q K P
 G Q A P R L L I Y D A S N R A T G I P A R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P
 E D F A V Y Y C Q Q R S N W P T F G Q G T K V E I K

配列番号36 (BMS - 936559 HCVR) (人工配列)

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K T S G D T F S T Y A I S W V R Q A
 P G Q G L E W M G G I I P I F G K A H Y A Q K F Q G R V T I T A D E S T S T A Y
 M E L S S L R S E D T A V Y F C A R K F H F V S G S P F G M D V W G Q G T T V T
 V S S

30

【配列表】

0006839761000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 イーウェン・リー
アメリカ合衆国46206-6288インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6288、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内
- (72)発明者 イー・ジャン
アメリカ合衆国46206-6288インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6288、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

審査官 馬場 亮人

- (56)参考文献 特表2013-532153(JP,A)
国際公開第2016/161270(WO,A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- | | |
|------|--------|
| C07K | 16/18 |
| A61K | 39/395 |
| A61P | 35/00 |
| C12N | 15/13 |
- CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)