

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-503109

(P2025-503109A)

(43)公表日 令和7年1月30日(2025.1.30)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46	Z N A	4 C 0 8 5
C 0 7 K	16/30 (2006.01)	C 0 7 K	16/30		4 H 0 4 5
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28		
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	E	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全78頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-543463(P2024-543463)	(71)出願人	506198562
(86)(22)出願日	令和5年1月24日(2023.1.24)		ノビミュン エスアー
(85)翻訳文提出日	令和6年9月6日(2024.9.6)		スイス連邦 1 2 2 8 ジュネーブ プラ
(86)国際出願番号	PCT/EP2023/051721		ン-レ-ズゥアト シュマン デュ プレ
(87)国際公開番号	WO2023/139293		-フルーリ 1 5
(87)国際公開日	令和5年7月27日(2023.7.27)	(74)代理人	100102978
(31)優先権主張番号	63/302,514		弁理士 清水 初志
(32)優先日	令和4年1月24日(2022.1.24)	(74)代理人	100205707
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 小寺 秀紀
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,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)	(74)代理人	100160923
	最終頁に続く		弁理士 山口 裕孝
		(74)代理人	100119507
			弁理士 刑部 俊
		(74)代理人	100142929
			弁理士 井上 隆一
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 サイトカインシグナル伝達経路の選択的な活性化のための組成物および方法

(57)【要約】

本開示は、免疫細胞上の選択的なサイトカイン活性化において有用な二重特異性抗体の組成物を提供する。本開示はまた、腫瘍関連抗原を発現する癌の治療に有用な二重特異性抗体の組成物を提供する。

【選択図】なし

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

腫瘍成長を阻害するための、  
以下：

a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに  
b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよび前記サイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体を含む、組成物の使用。

10

**【請求項 2】**

癌の治療における、  
以下：

a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに  
b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよび前記サイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体を含む、組成物の使用。

20

**【請求項 3】**

T細胞介在性細胞殺傷を増強するための、  
以下：

a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに  
b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよび前記サイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体を含む、組成物の使用。

**【請求項 4】**

T細胞活性化方法において使用するための組成物であって、T細胞活性化のための、  
以下：

a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに  
b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよび前記サイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体を含む、該組成物。

30

**【請求項 5】**

a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインとサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインとを含む第一の二重特異性抗体を含む、第一の組成物、および  
b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインと前記サイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインとを有する二重特異性抗体を含む、第二の組成物を含む、組成物。

40

**【請求項 6】**

前記第一の腫瘍関連抗原と前記第二の腫瘍関連抗原が、異なる腫瘍関連抗原である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物。

**【請求項 7】**

前記第一の腫瘍関連抗原および前記第二の腫瘍関連抗原が、同じ腫瘍関連抗原である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物。

50

## 【請求項 8】

前記第一の腫瘍関連抗原に結合する前記抗原結合ドメインと、前記第二の腫瘍関連抗原に結合する前記抗原結合ドメインが、同じ腫瘍関連抗原の二つの異なるエピトープに結合する、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 9】

前記第一の腫瘍関連抗原に結合する前記抗原結合ドメインおよび前記第二の腫瘍関連抗原に結合する前記抗原結合ドメインが、同一である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 10】

前記第一の腫瘍関連抗原および前記第二の腫瘍関連抗原が、同じ腫瘍細胞の表面で発現される、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の組成物。 10

## 【請求項 11】

サイトカイン受容体の前記第一のサブユニットおよびサイトカイン受容体の前記第二のサブユニットが、同じ免疫細胞の表面で発現される、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 12】

前記免疫細胞が、T細胞である、請求項 11 に記載の組成物。

## 【請求項 13】

前記第一の腫瘍関連抗原および/または前記第二の腫瘍関連抗原が、ヒト上皮成長因子受容体 2 (HER2) である、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物。 20

## 【請求項 14】

前記第一の腫瘍関連抗原および/または前記第二の腫瘍関連抗原が、メソテリン (MSLN) である、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 15】

前記サイトカイン受容体が、IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-21、IL-12、IL-23、IFN、IFN、IFN、IFN $\gamma$ 、IFN $\alpha$ 、IFN、IFN、IFN、IFN、またはIFN に結合する、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 16】

前記サイトカイン受容体の前記第一のサブユニットまたは前記サイトカイン受容体の前記第二のサブユニットが、IL-2R である、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の組成物。 30

## 【請求項 17】

前記サイトカイン受容体の前記第一のサブユニットが、IL-2R であり、かつ前記サイトカイン受容体の前記第二のサブユニットが、IL-2R である、前記請求項のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 18】

c) 第三の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびT細胞上に発現される抗原に結合する抗原結合ドメインを含む、第三の二重特異性抗体をさらに含む、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の組成物。 40

## 【請求項 19】

前記第三の腫瘍関連抗原が、前記第一の腫瘍関連抗原および前記第二の腫瘍関連抗原と異なる、請求項 18 に記載の組成物。

## 【請求項 20】

前記T細胞上に発現される前記抗原が、CD3である、請求項 18 に記載の組成物。

## 【請求項 21】

前記第一の二重特異性抗体、前記第二の二重特異性抗体、および/または前記第三の二重特異性抗体が、IgGアイソタイプを有する、前記請求項のいずれか一項に記載の組成物。

## 【請求項 22】

前記第一の二重特異性抗体、前記第二の二重特異性抗体、および/または前記第三の二重特異性抗体が、キメラ抗体、ヒト化抗体、またはヒト抗体である、前記請求項のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 23】

前記サイトカイン受容体の抗原依存性活性化を可能にする、前記請求項のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 24】

IL-2R および IL-2R を発現する免疫細胞における IL-2 受容体シグナル伝達の抗原依存性活性化を可能にする、前記請求項のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 25】

IL-2R および IL-2R を発現する免疫細胞における IL-15 受容体シグナル伝達の抗原依存性活性化を可能にする、前記請求項のいずれか一項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2022年1月24日に提出された米国特許出願第63/302,514号の優先権および利益を主張する。本出願の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

配列表の参照による組み込み

本出願に関連する配列表XMLは、XMLファイル形式で電子的に提供され、参照により本明細書に組み込まれる。配列表XMLを含むXMLファイルの名前は、NOVI\_049\_001WO\_Sequence\_List\_ST26.xmlである。XMLファイルのサイズは158,062バイトであり、2023年1月24日に作成されている。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

インターロイキン-2 (IL-2) は、免疫応答の活性化と抑制との間のバランスに必須の15kDaのサイトカインである。正常な条件下では、CD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞が、当該サイトカインの主要な産生細胞である。免疫活性化の際、CD4<sup>+</sup>とCD8<sup>+</sup>T細胞の両方が、IL-2を産生するように誘導され、この誘導は、Bリンパ球誘導成熟タンパク質1 (BLIMP1) を含む負のフィードバックループを介して制御される。

【0004】

IL-2受容体 (IL-2R) は、IL-2R (CD25)、IL-2R (CD122) および IL-2R (CD132) の三つのサブユニットを有する。三つのIL-2Rサブユニットのうち、IL-2Rのみが、IL-2Rに固有である。IL-2R (共通の鎖とも呼ばれる) は、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15およびIL-21受容体複合体と共通する。IL-2R は、インターロイキン-15 (IL-15) 受容体複合体と共通する。IL-15は、エフェクターNK細胞およびCD8<sup>+</sup>メモリーT細胞の発生、増殖、および活性化のためのサイトカインである。IL-15は、IL-15受容体 (IL-15R) に結合し、エフェクター細胞上のIL-2R-IL-2R複合体にトランスで提示される。IL-15およびIL-2は、IL-2R-IL-2R複合体への結合を共有し、STAT3およびSTAT5経路を介してシグナル伝達する。しかしながら、IL-2と異なり、IL-15は、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>制御性T (Treg) 細胞の維持を支持しないか、または活性化CD8<sup>+</sup>T細胞の細胞死を誘導しない。さらに、IL-15は、エフェクターCD8<sup>+</sup>T細胞に抗アポトーシスシグナル伝達をもたらすことが知られている唯一のサイトカインである。IL-15シグナル伝達は、実験動物モデルにおける十分に確立された固形腫瘍に対して、強力な抗腫瘍活性を示す。

10

20

30

40

50

## 【0005】

IL-2シグナル伝達は、IL-2R およびIL-2R から構成される二量体中間親和性受容体 ( $10^{-9}M$ ) を通して、または三つのサブユニットすべてを含有する高親和性三量体受容体を通して変換され得る。二量体形態は、メモリーCD8+T細胞およびNK細胞の表面で発現される。IL-2R は、IL-2 ( $10^{-8}M$ ) に対する親和性が低く、それ自体によるシグナル伝達を媒介しない。しかしながら、CD122およびCD132と組み合わせると、それは、IL-2に対する結合親和性を100倍増強して、制御性CD4+Foxp3+T細胞 (Treg)、活性化エフェクターT細胞および内皮細胞上に発現した高親和性 ( $10^{-11}M$ ) 三量体受容体を形成する。Tregは、安静条件下で最高レベルのIL-2R を発現するため、恒常的な低レベルのIL-2は、Treg細胞上のIL-2シグナル伝達を選択的に誘発し、免疫抑制を維持する。免疫活性化の間、IL-2のレベルの上昇はまた、二量体受容体を介してシグナル伝達し、T細胞およびNK細胞の活性化および増殖を維持する。

10

## 【0006】

T細胞およびNK細胞の活性化および増殖の促進におけるその役割のため、IL-2は、癌免疫療法における有望な治療標的として探究されてきた。高用量のアルデスロイキン (組換えヒトIL-2 (hIL-2)) は、転移性腎細胞癌および転移性黒色腫の治療のために承認されており、客観的奏効率は、17~20%であり、完全奏効は最大91ヶ月間持続する。しかしながら、サイトカインとしてのその分子的性質に固有のアルデスロイキンの不都合な短い半減期およびIL-2シグナル伝達の全身活性化に関連する重度の毒性作用は、アルデスロイキンの臨床使用を制限している。アルデスロイキンに関連する最も重篤な毒性は、血管漏出症候群 (VLS) であり、これは、集中的な入院患者のモニタリングおよびケアを必要とする多臓器浮腫および損傷をもたらす。前臨床試験は、VLSが、血管内皮細胞におけるIL-2シグナル伝達によって引き起こされることを示唆する。

20

## 【0007】

これらの制限を克服し、IL-2ターゲティング療法の可能性を完全に活用するために、hIL-2/mAbコンジュゲート、IL-2R への結合が低下したIL-2バリエーション、PEG化IL-2バリエーション、IL-2/IL-2R 融合タンパク質、およびIL-2R /IL-2R アゴニスト性二重特異性抗体 (bsAb) などの異なる新しいアプローチを適用して、腫瘍微小環境 (TME) におけるより長い半減期、Tregの優先的な活性化の低減および/またはより選択的なIL-2シグナル伝達活性化を有する分子が開発された。

30

## 【0008】

最も臨床的に進化したIL-2ターゲティング分子は、第III相の臨床試験 (NCT03635983およびNCT03729245) にあり、IL-2のPEG化がその半減期を延長し、高レベルの活性IL-2への全身曝露を低減する有望な結果を示したPEG化IL-2バリエーションである、ペガルデスロイキンである。しかしながら、ペナルデスロイキンは、依然として、全身IL-2シグナル伝達を誘導する可能性を有し、したがって、全身毒性を引き起こすリスクを伴う。hIL-2/mAbコンジュゲートは、組換えhIL-2を腫瘍ターゲティングmAbにライゲーションする。腫瘍ターゲティングmAbの導入は、分子の半減期を延長し、腫瘍特異性を増加させる。しかしながら、分子のhIL-2部分は、依然として全身的に活性であり、したがって、全身毒性のリスクを依然として担持する。同様に、IL-2R /IL-2R アゴニスト性bsAbは、半減期が延長され、Treg優先IL-2活性化を低減する可能性を有する。それにもかかわらず、それらは依然として、全身IL-2活性化および関連する毒性のリスクを有する。IL-2の選択的活性化のための組成物および方法に対するニーズが存在する。

40

## 【発明の概要】

## 【0009】

本開示は、腫瘍成長を阻害するための、

50

以下：

- a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに
- b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体を含む、組成物の使用を提供する。

【0010】

本開示は、癌の治療のための、

以下：

- a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに
- b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体を含む、組成物の使用を提供する。

10

【0011】

本開示は、T細胞介在性細胞殺傷を増強するための、

以下：

- a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに
- b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体を含む、組成物の使用を提供する。

20

【0012】

本開示は、T細胞活性化の方法において使用するための組成物であって、T細胞活性化のための、

以下：

- a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに
- b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体を含む組成物を提供する。

30

【0013】

本開示は、

- a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインとサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインとを含む第一の二重特異性抗体を含む、第一の組成物、および
- b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインとサイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインとを有する二重特異性抗体を含む、第二の組成物を含む組成物を提供する。

40

【0014】

一部の実施形態では、第一の腫瘍関連抗原と第二の腫瘍関連抗原が、異なる腫瘍関連抗原である。一部の実施形態では、第一の腫瘍関連抗原および第二の腫瘍関連抗原は、同じ腫瘍関連抗原である。一部の実施形態では、第一の腫瘍関連抗原および第二の腫瘍関連抗原は、同じ腫瘍細胞の表面に発現される。

【0015】

一部の実施形態では、第一の腫瘍関連抗原および/または第二の腫瘍関連抗原は、ヒト上皮成長因子受容体2(HER2)である。一部の実施形態では、第一の腫瘍関連抗原お

50

よび / または第二の腫瘍関連抗原は、メソテリン ( M S L N ) である。

【 0 0 1 6 】

一部の実施形態では、第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインと、第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインが、同じ腫瘍関連抗原の二つの異なるエピトープに結合する。一部の実施形態では、第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよび第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインは、同一である。

【 0 0 1 7 】

一部の実施形態では、サイトカイン受容体の第一のサブユニットおよびサイトカイン受容体の第二のサブユニットは、同じ免疫細胞の表面に発現される。一部の実施形態では、免疫細胞は、T細胞である。

10

【 0 0 1 8 】

一部の実施形態では、サイトカイン受容体は、I L - 2、I L - 4、I L - 7、I L - 9、I L - 15、I L - 21、I L - 12、I L - 23、I F N、I F N、I F N、I F N k、I F N o、I F N、I F N、I F N、I F N、I F N、またはI F N に結合する。

【 0 0 1 9 】

一部の実施形態では、サイトカイン受容体の第一のサブユニットまたはサイトカイン受容体の第二のサブユニットは、I L - 2 R である。一部の実施形態では、サイトカイン受容体の第一のサブユニットは、I L - 2 R であり、かつサイトカイン受容体の第二のサブユニットは、I L - 2 R である。

20

【 0 0 2 0 】

一部の実施形態では、組成物は、

c) 第三の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびT細胞上に発現される抗原に結合する抗原結合ドメインを含む、第三の二重特異性抗体をさらに含む。

【 0 0 2 1 】

一部の実施形態では、第三の腫瘍関連抗原は、第一の腫瘍関連抗原および第二の腫瘍関連抗原と異なる。一部の実施形態では、T細胞上に発現される抗原は、C D 3 である。

【 0 0 2 2 】

一部の実施形態では、第一の二重特異性抗体、第二の二重特異性抗体、および / または第三の二重特異性抗体は、I g G アイソタイプを有する。一部の実施形態では、第一の二重特異性抗体、第二の二重特異性抗体、および / または第三の二重特異性抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体、またはヒト抗体である。

30

【 0 0 2 3 】

一部の実施形態では、組成物は、サイトカイン受容体の抗原依存性活性化を可能にする。一部の実施形態では、組成物は、I L - 2 R および I L - 2 R を発現する免疫細胞における I L - 2 受容体シグナル伝達の抗原依存性活性化を可能にする。一部の実施形態では、組成物は、I L - 2 R および I L - 2 R を発現する免疫細胞における I L - 15 受容体シグナル伝達の抗原依存性活性化を可能にする。

【 0 0 2 4 】

別段の定義がない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語および科学用語は、本発明が関連する当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載のものと類似または同等の方法および材料を本発明の実施に使用することができるが、好適な方法および材料を以下に記載する。本明細書に記載されるすべての刊行物、特許出願、特許、およびその他の参考文献は、参照によりその全体が明示的に組み込まれる。矛盾がある場合、定義を含む本明細書が優先する。さらに、本明細書に記載の材料、方法、および実施例は、例示に過ぎず、限定することを意図するものではない。

40

【 0 0 2 5 】

本発明の他の特性および利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかであり、かつそれらに包含されるであろう。

50

## 【図面の簡単な説明】

## 【0026】

【図1】アゴニスト性抗IL-2R x抗TAA二重特異性抗体(b s A b)とアゴニスト性抗IL-2R x抗TAA b s A bの組み合わせによるIL-2シグナル伝達の活性化の概略図を示す。本発明者らは、二つのb s A bの組み合わせを使用した新規のIL-2アゴニストアプローチを記載する。この概念の背後にある考えは、IL-2R x TAA b s A bとIL-2R x TAA b s A bとの組み合わせを使用して、TAA陽性腫瘍細胞を含有する腫瘍微小環境においてIL-2R およびIL-2R を互いに選択的に機械的に近接させることによってIL-2シグナル伝達を活性化することである。健康な組織(すなわち、TAAを発現する細胞が存在しない場合)では、b s A bの対は、それぞれ、T細胞またはNK細胞上のIL-2R およびIL-2R に結合することができるが、二つの受容体を近接させることができず、IL-2シグナル伝達は、活性化されない(A)。TAA陽性腫瘍細胞(BおよびC)の存在下で、b s A bの対によるTAAへの結合は、b s A bの対を近接させる。T細胞またはNK細胞上のIL-2R およびIL-2R へのb s A bの対のその後の結合は、二つの受容体を互いに近接させ、IL-2シグナル伝達経路の活性化を誘発する。b s A bの対のTAAターゲティングアームは、同じTAAエピトープ(B)または二つの異なるTAAエピトープ(C)を標的とすることができる。IL-2シグナル伝達活性化のこの新規戦略は、TAA陽性腫瘍細胞を含有する腫瘍微小環境へのアゴニスト効果を制限し、全身毒性を回避する。CD25発現Treg細胞の優先的な活性化を回避することは、この新規アプローチの別の利点である。

【図2】ELISAによって評価されたそれぞれの標的に対するIL-2R x TAA およびIL-2R x TAA b s A bの結合特性を示す。ELISAによって評価された、IL-2R x HER2 KiH b s A b (P2C4 x トラストズマブおよびP2C4 x ペルツズマブ)、IL-2R x HER2 KiH b s A b (P1A3 x トラストズマブおよびP1A3 x ペルツズマブ)、およびIL-2R x IL-2R KiH b s A bの、それらの標的であるIL-2R (A)、IL-2R (B)、HER2 (C)および無関係なタンパク質(D)への濃度依存性結合特性。 - ボディ生成のため、抗IL-2R アーム(AL1~AL5)を膜遠位(ドメイン1)HER2結合アーム(N2~28)と組み合わせ、IL-2R アーム(AM1~AM11)を膜近位(ドメイン4)HER2アーム(N2~19)と組み合わせた。IL-2R アーム(AL4)およびIL-2R アーム(AM5)を、別のセットの - ボディにおける異なるエピトープ(O30、O35、O38およびO41)を標的とする異なるMSLNアームと組み合わせた。 - ボディのIL-2R (E)およびIL-2R (F)への結合特性。IL-2R - b s A bおよびIL-2R - b s A bのHER2(それぞれG左パネルおよび右パネル)ならびにMSLN(それぞれHパネルおよび右パネル)への結合特性が示される。hIgG1は、アイソタイプ対照として使用された。

【図3】Octetによって評価されたIL-2R x HER2 b s A bによる二つの標的抗原の同時共エンゲージメントを示す。共エンゲージメントは、個々の標的または対応するb s A bの二つの標的の同時の存在下で、異なるb s A bが充填されたプロテインA バイオセンサーを使用して評価された。P1A3 x ペルツズマブ(A)、P2C4 x ペルツズマブ(B)およびP2C4 x トラストズマブ(C)についての二つの標的の共エンゲージメントが示された。

【図4】IL-2R x TAA b s A bのIL-2およびIL15シグナル伝達との干渉の欠如を示す。IL-2レポーター細胞株(二量体IL-2Rを発現する)は、組換えhIL-2(0.2もしくは1nMの固定濃度)またはhIL-15(0.003nMの固定濃度)とインキュベートされた。IL-2R - ボディ(A、B)またはIL-2R - (C、D)の用量範囲のIL-2またはIL-15シグナル伝達に対する影響が評価された。hIgG1は、無関係かつ非遮断対照抗体として使用される。データは、100%に固定されたアイソタイプ対照(IL-2/IL-15シグナル伝達)の中和が存

在しない、破線)に対して正規化された。中和IL-2抗体またはIL-15抗体が、対照として含まれた。

【図5-1】図5は、可溶性HER2の存在下でのIL-2R $\times$ HER2およびIL-2R $\times$ HER2 KiH bsAbの組み合わせによるIL-2シグナル伝達の活性化を示す。アッセイフォーマット(A)の概略図。IL-2レポーター細胞株は、異なる濃度の可溶性HER2の存在下で、同じ(B、C)または二つの異なる(D)HER2エピトープのいずれかを標的とするIL-2R $\times$ HER2およびIL-2R $\times$ HER2 bsAbの組み合わせとインキュベートされた。IL-2シグナル伝達の活性化は、レポーター遺伝子の発現の増加によって表された。抗IL-2R $\times$ 抗IL-2R bsAb、P1A3 $\times$ P2C4が、陽性対照として使用された。

10

【図5-2】図5-1の説明を参照のこと。

【図6-1】図6は、HER2でコーティングされた微粒子の存在下でのIL-2R $\times$ HER2およびIL-2R $\times$ HER2 KiH bsAbの組み合わせによるIL-2シグナル伝達の活性化を示す。アッセイフォーマット(A)の概略図。IL-2レポーター細胞株は、異なる数のHER2でコーティングされたストレプトアビジン微粒子の存在下で、異なる(B、C)または同じ(D、E)HER2エピトープのいずれかを標的とするIL-2R $\times$ HER2およびIL-2R $\times$ HER2 bsAbの組み合わせとインキュベートされた。IL-2シグナル伝達の活性化は、レポーター遺伝子の発現の増加によって表された。ヒトIL-2および抗IL-2R $\times$ 抗IL-2R bsAb、P1A3 $\times$ P2C4が、陽性対照として使用された。

20

【図6-2】図6-1の説明を参照のこと。

【図7】TAAでコーティングされた微粒子の存在下でのIL-2R $\times$ TAAおよびIL-2R $\times$ TAA -ボディの組み合わせによるIL-2シグナル伝達の活性化を示す。IL-2レポーター細胞株は、HER2でコーティングされたストレプトアビジン微粒子の存在下で、二つの異なるHER2エピトープ(N2-28およびN2-19アーム)を標的とするIL-2R $\times$ HER2とIL-2R $\times$ HER2 -ボディの組み合わせとインキュベートされた(ビーズ-レポーター細胞比、6:1)。異なる組み合わせが示され、ここで、IL-2R $\times$ HER2 -ボディ(AM1N2-19~AM5N2-19)が、AL1N2-28(A)、AL2N2-28(B)、AL3N2-28(C)、AL4N2-28(D)またはAL5N2-28(E)に混合された。IL-2レポーター細胞株はまた、MSLNでコーティングされたストレプトアビジン微粒子の存在下で、二つの異なるMSLNエピトープ(F-I)を標的とするIL-2R $\times$ MSLNとIL-2R $\times$ MSLN -ボディの様々な組み合わせとインキュベートされた。異なる組み合わせが示され、ここで、IL-2R $\times$ MSLN -ボディ(AM5O30/N、AM5O35/N、AM5O41/N)が、AL4O38/N(F)、AL4O35/N(G)、AL4O30/N(H)またはAL4O41/N(I)に混合された。IL-2シグナル伝達の活性化は、レポーター遺伝子の発現の増加によって表された。ヒトIL-2抗体および無関係なhIgG1抗体が、それぞれ、陽性対照および陰性対照として使用された。

30

【図8】MSLNでコーティングされた微粒子の存在下での同じMSLNエピトープを標的とするIL-2R $\times$ MSLNとIL-2R $\times$ MSLN -ボディの組み合わせIL-2シグナル伝達の活性化を示す。IL-2レポーター細胞株は、O35(A)、O41(B)またはO30(C)アームのいずれかを使用して、MSLN内の同じエピトープを標的とするIL-2R $\times$ MSLNとIL-2R $\times$ MSLN -ボディの組み合わせとインキュベートされた。IL-2シグナル伝達の活性化は、レポーター遺伝子の発現の増加によって表された。ヒトIL-2抗体および無関係なhIgG1抗体が、それぞれ、陽性対照および陰性対照として使用された。

40

【図9-1】図9は、HER2<sup>+</sup>腫瘍細胞の存在下でのIL-2R $\times$ HER2およびIL-2R $\times$ HER2 KiH bsAbの組み合わせによるIL-2シグナル伝達の活性化を示す。IL-2レポーター細胞株は、二つの異なるHER2エピトープを標的とす

50

る IL - 2 R x HER 2 と IL - 2 R x HER 2 Ki H b s A b の組み合わせとインキュベートされた。アッセイフォーマット ( A ) の概略図。 P 1 A 3 x トラストズマブ + P 2 C 4 x ペルツズマブ ( B ) または P 1 A 3 x ペルツズマブ + P 2 C 4 x トラストズマブ ( C ) の組み合わせは、 HER 2 + BT - 4 7 4、 SK - BR - 3 および NCI - N 8 7 腫瘍細胞に添加された。 IL - 2 シグナル伝達の活性化は、レポーター遺伝子の発現の増加によって表された。ヒト IL - 2 は、陽性対照として使用された。

【図 9 - 2】図 9 - 1 の説明を参照のこと。

【図 10 - 1】図 10 は、 HER 2 + 腫瘍細胞の存在下での IL - 2 R x HER 2 および IL - 2 R x HER 2 Ki H b s A b の組み合わせによる p S T A T 5 誘導を示す。アッセイフォーマット ( A ) の概略図。 NK - 9 2 細胞株は、 HER 2 + BT - 4 7 4、 SK - BR - 3 および NCI - N 8 7 腫瘍細胞の存在下で、二つの異なる HER 2 エピトープ ( B、 C ) または同じ HER 2 エピトープ ( D、 E ) のいずれかを標的とする IL - 2 R x HER 2 および IL - 2 R x HER 2 Ki H b s A b の組み合わせとインキュベートされた。 IL - 2 アゴニスト特性はまた、四つの b s A b ( P 1 A 3 x ペルツズマブ、 P 2 C 4 x ペルツズマブ、 P 1 A 3 x トラストズマブ および P 2 C 4 x トラストズマブ ) ( F ) すべてを組み合わせることによって試験された。 NK - 9 2 細胞における IL - 2 シグナル伝達活性化は、フローサイトメトリーによって p S T A T 5 のレベルを測定することによって分析された。データは、 p S T A T 5 陽性細胞の割合として提示された。ヒト IL - 2 は、陽性対照として使用された。

10

【図 10 - 2】図 10 - 1 の説明を参照のこと。

20

【図 11】 T A A + 腫瘍細胞の存在下での IL - 2 R x HER 2 または IL - 2 R x M S L N - ボディの組み合わせによる p S T A T 5 の誘導を示す。 NK - 9 2 細胞株は、 HER 2 + BT - 4 7 4 および NCI - N 8 7 腫瘍細胞 ( それぞれ、 A、 B ) の存在下、または M S L N + NCI - H 2 2 6、 O V C A R - 3 および NCI - N 8 7 腫瘍細胞 ( それぞれ、 C、 D、 E ) の存在下で、 IL - 2 R x HER 2 と IL - 2 R x HER 2 - ボディ ( A、 B ) または IL - 2 R x M S L N と IL - 2 R x M S L N - ボディ ( C ~ E ) の組み合わせとインキュベートされた。 NK - 9 2 細胞における IL - 2 シグナル伝達活性化は、フローサイトメトリーによって p S T A T 5 のレベルを測定することによって分析された。ヒト IL - 2 が、陽性対照として使用された。 h I g G 1 と無関係な抗体 ( 波線 ) および IL - 2 R x M S L N または IL - 2 R x M S L N - ボディを用いた単回処理が、陰性対照として使用された。

30

【図 12 - 1】図 12 は、 HER 2 + 腫瘍細胞の存在下での IL - 2 R x HER 2 および IL - 2 R x HER 2 Ki H b s A b の組み合わせによるヒト初代 T 細胞における IL - 2 シグナル伝達の活性化を示す。アッセイフォーマット ( A ) の概略図。 P B M C は、二つの異なる HER 2 + 腫瘍細胞株 ( B ) である BT - 4 7 4 または NCI - N 8 7 の存在下で、 IL - 2 R x HER 2 および IL - 2 R x HER 2 Ki H b s A b の組み合わせとインキュベートされた。 P B M C データにおける IL - 2 シグナル伝達活性化は、 F A C S によってゲーティングされた異なる T 細胞サブセット : T r e g、 C D 8 + および C D 4 + T 細胞における p S T A T 5 陽性細胞の割合として提示される。ヒト IL - 2 は、陽性対照として使用された。

40

【図 12 - 2】図 12 - 1 の説明を参照のこと。

【図 13 - 1】図 13 は、 C D 3 x T A A b s A b 対および IL - 2 R x T A A b s A b 対の組み合わせによる腫瘍細胞の T 細胞再標的化殺傷 / 溶解を示す。 C D 3 x T A A b s A b および IL - 2 R x T A A b s A b 対の組み合わせは、同時に全て一緒に組み合わせられたとき ( A、 B )、または逐次的に、 IL - 2 R x T A A b s A b 対で T 細胞がまず前刺激され、続いて C D 3 x T A A b s A b を用いて刺激され ( C、 D )、それらの殺腫瘍活性について試験された。使用された各 T D C C アッセイフォーマットの概略図 ( A、 C )。 NCI - N 8 7 腫瘍細胞株は、 HER 2 および M S L N の供給源として使用された。同時に固定用量の C D 3 x HER 2 b s A b ( B ) と組み合わせられた場合の、 IL - 2 R x M S L N b s A b 対の二つの用量範囲 ( A L 4 O 3 5 / N + A M 5 O 3

50

0 / N または A L 4 O 3 8 / N + A M 5 O 3 0 / N ) による、N C I - N 8 7 細胞の T 細胞再標的化殺傷 / 溶解。用量範囲の I L - 2 または I L - 2 R × H E R 2 b s A b 対 ( P 1 A 3 × トラスツズマブ + P 2 C 4 × ベルツズマブ )、続いて固定用量の C D 3 × M S L N b s A b ( D ) による、N C I - N 8 7 細胞の逐次的 T 細胞再標的化殺傷 / 溶解。C D 3 × T A A 単回処理が、対照として使用された ( 点線 )。一部の実験では、I L - 2 と C D 3 × T A A b s A b の組み合わせが、陽性対照として使用された。I L - 2 R × I L - 2 R ( P 1 A 3 × P 2 C 4 ) または I L - 2 もしくは I L - 2 R × T A A b s A b による単回処理が、陰性対照として使用された。データは、エフェクター細胞の供給源として代表的な P B M C ドナーを使用して提示された。

【図 1 3 - 2】図 1 3 - 1 の説明を参照のこと。

10

【図 1 3 - 3】図 1 3 - 1 の説明を参照のこと。

【図 1 3 - 4】図 1 3 - 1 の説明を参照のこと。

【発明を実施するための形態】

【0027】

発明の詳細な説明

本発明は、腫瘍微小環境においてサイトカインを選択的に活性化することができる二重特異性抗体プラットフォームの一部に基づく。具体的には、本発明は、シグナル伝達が二つ以上のサイトカイン受容体サブユニットの相互作用を必要とするサイトカインの活性化に基づく。二重特異性抗体を組み合わせることによって、各二重特異性が、サイトカイン受容体サブユニットに特異的な一つの抗原結合アームおよび細胞表面抗原サブユニットに特異的な一つの結合アームを有する。二重特異性抗体の細胞表面抗原への結合は、細胞表面 (例えば、T 細胞、および / または NK 細胞) に発現されるサイトカイン受容体の異なるサブユニットを互いに近接させ、サイトカインシグナル伝達の活性化をもたらす。この二重特異性抗体 ( b s A b ) プラットフォームは、b s A b の好ましい薬物動態特性 (すなわち、天然のサイトカインまたは組換えサイトカインと比較して有意に長い半減期) を、腫瘍微小環境 ( T M E ) における選択的サイトカイン活性化と組み合わせ、サイトカイン活性化の抗腫瘍可能性を最適に利用する。さらに、本発明の b s A b プラットフォームは、天然のサイトカインまたは組換えサイトカインを使用したサイトカイン受容体活性化と比較したとき、腫瘍特異性および腫瘍外全身毒性の低減の観点から利益をもたらす。さらに、本発明はまた、受容体の二量体形態のみを標的とすることによって、T r e g (例えば、T r e g で高度に発現された I L - 2 R 三量体) などの受容体の三量体形態を発現する細胞の優先的な活性化を回避する。

20

30

【0028】

理論によって結び付けられるものではないが、本発明は、サイトカイン受容体とエンゲージするが、内因性サイトカインシグナル伝達を阻止も低減もしない b s A b を含む。治療用タンパク質は、抗薬物抗体 ( A D A ) を誘発することが多いため、I L - 2 ペプチドまたは修飾 I L - 2 ペプチドなどの組換えサイトカインのいずれかの治療的使用は、内因性 I L - 2 にも影響を与え得る、対象におけるこのような応答を誘発する可能性を生じさせ、これが、毒性および有害な作用をもたらす。このような効果は、エリスロポエチン ( E P O ) 免疫原性で観察されており、E P O 抵抗性貧血につながる可能性がある。本発明の b s A b の使用の重要な利点は、任意の A D A 形成が、b s A b の曝露および有効性を制限するが、内因性サイトカインは影響を受けないということである。例えば、本発明の二重特異性抗体を含む組成物は、I L - 2 または I L - 1 5 によって誘導される内因性シグナル伝達を阻止も阻害もしない。

40

【0029】

理論によって結び付けられるものではないが、組成物は、I L - 2 R および I L - 2 R と抗原依存性の様式でエンゲージし、T r e g を優先的に活性化しない。組成物はまた、T 細胞活性化および増殖を可能にし、標的細胞の優れた殺傷をもたらす。一部の実施形態では、T 細胞上の C D 3 と標的細胞上の腫瘍抗原に結合する第三の二重特異性抗体によるさらなる T 細胞再指向化を使用して、組成物を増強してもよい。

50

## 【0030】

様々な態様では、本発明は、一对の b s A b を含有する組成物を提供する。b s A b のうちの一つは、マルチサブユニットサイトカイン受容体の第一のサブユニットおよび細胞表面タンパク質を標的とする（すなわち、特異的な抗原結合ドメインを有する）。他の b s A b は、マルチサブユニットサイトカイン受容体の第二のサブユニットおよび第一の b s A b の標的抗原を発現する同じ細胞の表面上に発現される細胞表面タンパク質を標的とする。細胞表面タンパク質を発現する細胞は、二つの b s A b に結合し、T細胞またはNK細胞上のサイトカイン受容体を近接させ、サイトカインシグナル伝達活性化をもたらす。

## 【0031】

マルチドメインサイトカイン受容体には、例えば、IL - 2、IL - 4、IL - 7、IL - 9、IL - 15 および IL - 21 などの、共通の鎖を共有するサイトカイン受容体ならびに IL - 12 および IL - 23 などの別の共通のサブユニットを共有する他のサイトカイン受容体が含まれる。他のマルチドメインサイトカイン受容体としては、IFN、IFN、IFN、IFN $\kappa$ 、IFN $\omega$ 、IFN、IFN、IFN、IFN、IFN、および IFN が挙げられる。

## 【0032】

細胞表面受容体は、腫瘍関連抗原（TAA）である。TAAは、当該技術分野で周知であり、例えば、神経膠腫関連抗原、癌胎児抗原（CEA）、EGFRvIII、グリピカン3（GPC3）、cMet、IL - IIRa、IL - 13Ra、EGFR、FAP、B7H3、Kit、CALX、CS - 1、MUC1、BCMA、bcr - abl、HER2、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、アルファフェトプロテイン（AFP）、ALK、CD19、CD123、レクチン反応性AFP、Fos 関連抗原1、ADRB3、サイログロブリン、EphA2、RAGE - 1、RUI、RU2、SSX2、AKAP - 4、LCK、OY - TESI、PAX5、SART3、CLL - 1、フコシルGM1、GloboH、MN - CAIX、EPCAM、EVT6 - AML、TGSS、ポリシアル酸、PLAC1、RUI、RU2（AS）、腸カルボキシルエステラーゼ、ルイスY、sLe、LY6K、mut hsp70 - 2、MYCN、RhoC、TRP - 2、CYP1BI、BORIS、プロスターゼ、前立腺特異的抗原（PSA）、PAX3、PAP、NY - ESO - 1、LAGE - Ia、LMP2、NCAM、Ras 変異体、gp100、プロステイン、OR51E2、PANX3、PSMA、PSCA、Her2/neu、hTERT、HMWMAA、HAVCR1、VEGFR2、PDGFR、サバイピンおよびテロメラーゼ、レグマイン、HPV E6、E7、精子タンパク質17、SSEA - 4、チロシナーゼ、TARP、WT1、前立腺癌腫瘍抗原 - 1（PCTA - 1）、ML - IAP、MAGE、MAGE - A1、MAD - CT - 1、MAD - CT - 2、MelanA/MART1、XAGE1、ELF2M、ERG（TMPRSS2 ETS 融合遺伝子）、NA17、好中球エラスターゼ、肉腫転座切断点、NY - BR - 1、ephnnB2、CD20、CD22、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44v6、CD97、CD171、CD179a、FAP、IGF - I 受容体、GD2、o - アセチル - GD2、GD3、GM3、GPRC5D、GPR20、CXORF61、葉酸受容体（FRa）、葉酸受容体ベータ、ROR1、Flt3、TAG72、TN Ag、Tie2、TEM1、TEM7R、CLDN6、CLDN18.2、TSHR、UPK2、およびメソテリンを含む。

## 【0033】

本発明に有用な他の抗体ドメインまたは腫瘍標的結合タンパク質（例えば、TCRドメイン）としては、以下の抗原（示される癌適応症は、非限定的な例を表すことに注意）：アミノペプチダーゼN（CD13）、アネキシンA1、B7 - H3（CD276、様々な癌）、CA125（卵巣癌）、CA15 - 3（癌腫）、CA19 - 9（癌腫）、L6（癌腫）、ルイスY（癌腫）、ルイスX（癌腫）、アルファフェトプロテイン（癌腫）、CA242（結腸直腸癌）、胎盤アルカリホスファターゼ（癌腫）、前立腺特異的抗原（前立

10

20

30

40

50

腺)、前立腺酸性ホスファターゼ(前立腺)、上皮成長因子(癌腫)、CD2(ホジキン病、NHLリンパ腫、多発性骨髄腫)、CD3イプシロン(T細胞リンパ腫、肺、乳房、胃、卵巣癌、自己免疫疾患、悪性腹水)、CD19(B細胞悪性腫瘍)、CD20(非ホジキンリンパ腫、B細胞新生物、自己免疫疾患)、CD21(B細胞リンパ腫)、CD22(白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、SLE)、CD30(ホジキンリンパ腫)、CD33(白血病、自己免疫疾患)、CD38(多発性骨髄腫)、CD40(リンパ腫、多発性骨髄腫、白血病(CLL))、CD51(転移性黒色腫、肉腫)、CD52(白血病)、CD56(小細胞肺癌、卵巣癌、メルケル細胞癌、および液体腫瘍、多発性骨髄腫)、CD66e(癌腫)、CD70(転移性腎細胞癌および非ホジキンリンパ腫)、CD74(多発性骨髄腫)、CD80(リンパ腫)、CD98(癌腫)、CD123(白血病)、  
 ムチン(癌腫)、CD221(固形腫瘍)、CD22?(乳房、卵巣癌)、CD262(NSCLCおよび他の癌)、CD309(卵巣癌)、CD326(固形腫瘍)、CEACAM3(結腸直腸癌、胃癌)、CEACAMS(CEA、CD66e)(乳癌、結腸直腸癌および肺癌)、DLL4(A様-4)、EGFR(様々な癌)、CTLA4(黒色腫)、CXCR4(CD184、出血腫瘍学、固形腫瘍)、エンドグリン(CD105、固形腫瘍)、EPCAM(上皮細胞接着分子、膀胱癌、頭部癌、頸部癌、結腸、NHL前立腺、および卵巣癌)、ERBB2(肺癌、乳癌、前立腺癌)、FCGR1(自己免疫疾患)、FOLR(葉酸受容体、卵巣癌)、FGFR(癌腫)、GD2ガングリオシド(癌腫)、G-28(細胞表面抗原糖脂質、黒色腫)、GD3イデオタイプ(癌腫)、熱ショックタンパク質(癌腫)、HER1(肺、胃癌)、HER2(乳癌、肺癌および卵巣癌)、  
 HLA-DR10(NHL)、HLA-DRB(NHL、B細胞白血病)、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(癌腫)、IGF1R(固形腫瘍、血液癌)、IL-2受容体(T細胞白血病およびリンパ腫)、IL-6R(多発性骨髄腫、RA、キャッスルマン病、IL6依存性腫瘍)、インテグリン(v3、51、64、113、55、v5、様々な癌について)、MAGE-1(癌腫)、MAGE-2(癌腫)、MAGE-3(癌腫)、MAGE4(癌腫)、抗トランスフェリン受容体(癌腫)、p97(黒色腫)、MS4A1(膜貫通型4ドメインサブファミリーAメンバー1、非ホジキB細胞リンパ腫、白血病)、MUC1(乳癌、卵巣癌、子宮頸部癌、気管支癌および胃腸癌)、MUC16(CA125)(卵巣癌)、CEA(結腸直腸癌)、gp100(黒色腫)、MART1(黒色腫)、MPG(黒色腫)、MS4A1(膜貫通型4ドメインサブファミリーA、小細胞肺癌、NHL)、ヌクレオリン、Neu癌遺伝子産物(癌腫)、P21(癌腫)、ネクチン-4(癌腫)、抗(N-グリコシルノイラミン酸のパラトープ、乳癌、黒色腫癌)、PLAP様精巣アルカリホスファターゼ(卵巣癌、精巣癌)、PSMA(前立腺腫瘍)、PSA(前立腺)、ROB04、TAG72(腫瘍関連糖タンパク質72、AML、胃癌、結腸直腸癌、卵巣癌)、T細胞膜貫通型タンパク質(癌)、Tie(CD202b)、組織因子、TNFRSF10B(腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー10B、癌腫)、TNFRSF13B(腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー13B、多発性骨髄腫、NHL、他の癌、RAおよびSLE)、TPBG(トロフォブラスト糖タンパク質、腎細胞癌)、TRAIL-R1(腫瘍壊死アポトーシス誘導リガンド受容体1、リンパ腫、NHL、結腸直腸癌、肺癌)、VCAM-1(CD106、黒色腫)、VEGF、VEGF-A、VEGF-2(CD309)(様々な癌)に結合するものが挙げられるが、これらに限定されない。一部の他の腫瘍関連抗原標的が概説されている(Gerber, et al, mAbs 2009 1:247-253; Novellino et al, Cancer Immunol Immunother. 2005 54:187-207, Franke, et al, Cancer Biother Radiopharm. 2000, 15:459-76, Guo, et al., Adv Cancer Res. 2013; 119:421-475, Parmiani et al. J Immunol. 2007 178:1975-9)。これらの抗原の例としては、表面抗原分類(CD4、CD5、CD6、CD7、CD8、CD9、CD10、CD11a、CD11b、CD11c、CD12w、CD14、CD15、CD16  
 10  
 20  
 30  
 40  
 50

、CDw17、CD18、CD21、CD23、CD24、CD25、CD26、CD27、CD28、CD29、CD31、CD32、CD34、CD35、CD36、CD37、CD41、CD42、CD43、CD44、CD45、CD46、CD47、CD48、CD49b、CD49c、CD53、CD54、CD55、CD58、CD59、CD61、CD62E、CD62L、CD62P、CD63、CD68、CD69、CD71、CD72、CD79、CD81、CD82、CD83、CD86、CD87、CD88、CD89、CD90、CD91、CD95、CD96、CD100、CD103、CD105、CD106、CD109、CD117、CD120、CD127、CD133、CD134、CD135、CD138、CD141、CD142、CD143、CD144、CD147、CD151、CD152、CD154、CD156、CD158、CD163、CD166、CD168、CD184、CDw186、CD195、CD202(a、b)、CD209、CD235a、CD271、CD303、CD304)、アネキシンA1、ヌクレオリン、エンドグリン(CD105)、ROB04、アミノペプチダーゼN様4(DLL4)、VEGFR-2(CD309)、CXCR4(CD184)、Tie2、B7-H3、WT1、MUC1、LMP2、HPV E6 E7、EGFRvIII、HER-2/neu、イディオタイプ、MAGE A3、p53非変異体、NY-ESO-1、GD2、CEA、MelanA/MART1、Ras変異体、gp100、p53変異体、プロテイナーゼ3(PR1)、bcr-abl、チロシナーゼ、サバイピン、hTERT、肉腫転座切断点、EphA2、PAP、ML-IAP、AFP、EpcAM、ERG(TMPRSS2 ETS融合遺伝子)、NA17、PAX3、ALK、アンドロゲン受容体、サイクリンB1、ポリシアル酸、MYCN、RhoC、TRP-2、GD3、フコシルGM1、メソテリン、PSCA、MAGE A1、sLe(a)、CYP1B1、PLAC1、GM3、BORIS、Tn、GloboH、ETV6-AML、NY-BR-1、RGS5、SART3、STn、炭酸脱水酵素IX、PAX5、OY-TES1、精子タンパク質17、LCK、HMWMAA、AKAP-4、SSX2、XAGE1、B7H3、レグマイン、Tie2、Page4、VEGFR2、MAD-CT-1、FAP、PDGFR、MAD-CT-2、およびFos関連抗原1が挙げられる。

#### 【0034】

二つのbsAbは、所与の細胞表面タンパク質またはTAA上の同じエピトープ(図1B)または二つの異なるエピトープ(図1C)を標的とすることができる。TAAの不在下(すなわち、健康な組織において)では、bsAb対は、サイトカイン受容体サブユニットを近接させることができず、サイトカイン活性化を誘導しない(図1A)。本発明は、同じ細胞上に共発現される二つの異なる細胞表面タンパク質、特に、腫瘍細胞の表面上に共発現される二つのTAAのターゲティングをさらに提供する。

#### 【0035】

特定の実施形態では、本発明は、二つのbsAbの組み合わせを使用して、特定のタイプの細胞上での選択的IL-2シグナル伝達活性化を提供する。一つのbsAbは、IL-2Rに結合する一つの抗原結合ドメインおよびIL-2Rを発現する同じ細胞(例えば、T細胞またはNK細胞)上で発現される細胞表面タンパク質に結合する第二の抗原結合ドメインを有する。第二のbsAbは、IL-2Rに結合する一つの抗原結合ドメインおよび第一のbsAbによって標的とされる同じ細胞表面タンパク質に結合する第二の抗原ドメインを有する。細胞表面タンパク質は、T細胞、NK細胞または他のIL-2R発現細胞のサブセットに特異的であり得る。同じ細胞表面タンパク質への結合は、二つのbsAbを互いに近接させる。次いで、IL-2RおよびIL-2R結合アームは、二つの受容体に結合し、IL-2Rと細胞表面タンパク質の両方を発現する細胞においてシグナル伝達活性化を誘導することができる。

#### 【0036】

二つのIL-2受容体、IL-2R(CD122)およびIL-2R(CD132)は、シグナル伝達のためにIL-2とIL-15の両方によって共有されるため、本発

明の組成物を使用して、TMEまたは細胞の特定のサブセットのいずれかにおいてIL-2シグナル伝達経路とIL-15シグナル伝達経路の両方を選択的に活性化することができる。

【0037】

二重特異性抗体

本発明による二重特異性抗体(b s A b)は、新規に生成されてもよく、または既存の単一特異性抗サイトカイン受容体サブユニット抗体および細胞表面抗原抗体から操作されてもよい。

【0038】

本発明のb s A bは、既に記載された異なる抗体フォーマットのいずれかに基づき得る。さらに、本発明の対を形成する二つのb s A b抗体は、同じフォーマットまたは二つの異なるフォーマットに基づき得る。一般に、I g G様フォーマットは、長い半減期および潜在的に低減された免疫原性などの好ましい特性を提供するため好ましいが、任意の他の分子の二重特異性フォーマットも、本発明に使用され得る。

10

【0039】

抗体の重鎖アミノ酸配列および軽鎖アミノ酸配列は、それらのUnited States Adopted Name(USANは、例えば、<http://www.ama-assn.org>のAmerican Medical Associationを介して、またはCASレジストリーを介して入手可能である)によって同定される。

【0040】

単一特異性抗サイトカイン受容体サブユニットおよび細胞表面抗原結合可変ドメインは、例えば、ファージディスプレイライブラリーから新規に選択されてもよく、ファージは、F a b、一本鎖可変断片(s c F v)、または不対もしくは対の抗体可変領域などのヒト免疫グロブリンまたはその一部を発現するように操作され、その後、二重特異性フォーマットへと操作される。単一特異性抗サイトカイン受容体サブユニットおよび細胞表面抗原可変ドメインは、例えば、バクテリオファージp I Xコートタンパク質との融合タンパク質として抗体重鎖可変領域および軽鎖可変領域を発現するファージディスプレイライブラリーから単離され得る。

20

【0041】

抗体ライブラリーは、ヒトサイトカイン受容体サブユニットまたは細胞表面抗原細胞外ドメインへの結合についてスクリーニングされ、得られた陽性クローンがさらに特徴付けられ、F a bが、クローン溶解物から単離される。ヒト抗体を単離するためのかかるファージディスプレイ方法は、当該技術分野で確立される。例えば、米国特許第5,223,409号、第5,403,484号、および第5,571,698号、第5,427,908号、第5,580,717号、第5,969,108号、第6,172,197号、第5,885,793号、第6,521,404号、第6,544,731号、第6,555,313号、第6,582,915号および第6,593,081号を参照のこと。得られた新規可変領域結合は、当該技術分野で公知であり、本明細書に記載される方法を使用して、二重特異性フォーマットへと操作される。

30

【0042】

本発明の抗体は、二つ以上の抗原結合部位を有し、二重特異性である。本発明の二重特異性抗体は、全長抗体構造を有する抗体を含む。あるいは、本発明の二重特異性抗体は、全長未満であるが、F a b'断片などの抗原結合ドメインを含有する抗体を含む。

40

【0043】

本明細書で使用される「全長抗体」は、二つの全長抗体重鎖および二つの全長抗体軽鎖を有する抗体を指す。全長抗体重鎖(H C)は、周知の重鎖可変ドメインならびに定常ドメインV H、C H 1、C H 2、およびC H 3からなる。全長抗体軽鎖(L C)は、周知の軽鎖可変ドメインならびに定常ドメインV LおよびC Lからなる。全長抗体は、一方または両方の重鎖のいずれかにおいてC末端リジン(K)を欠いていてもよい。

【0044】

50

「F a bアーム」または「半分子」という用語は、抗原に特異的に結合する一つの重鎖 - 軽鎖対を指す。

【0045】

本発明の全長二重特異性抗体は、例えば、インビトロで細胞を含まない環境において別個の特異性を有する二つの抗体半分子のヘテロ二量体形成に有利にするために、各半分子において重鎖C H 3界面に置換を導入することによって、または共発現を使用することによって、二つの単一特異性二価抗体間でF a bアーム交換（または半分子交換）を使用して生成され得る。F a bアーム交換反応は、ジスルフィド結合異性化反応およびC H 3ドメインの解離 - 会合の結果である。親単一特異性抗体のヒンジ領域における重鎖ジスルフィド結合が低減される。親単一特異性抗体のうちの一つの結果として生じる遊離システインは、第二の親単一特異性抗体分子のシステイン残基と重鎖間ジスルフィド結合を形成し、同時に、親抗体のC H 3ドメインが放出し、解離 - 会合によって再形成する。F a bアームのC H 3ドメインは、ホモ二量体形成よりもヘテロ二量体形成を好むように操作されてもよい。得られた生成物は、各々が別個のエピトープに結合する二つのF a bアームまたは半分子を有する二重特異性抗体である。

10

【0046】

本明細書で使用される場合、「ホモ二量体形成」とは、同一のC H 3アミノ酸配列を有する二つの重鎖の相互作用を指す。本明細書で使用される場合、「ホモ二量体」とは、同一のC H 3アミノ酸配列を有する二つの重鎖を有する抗体を指す。

【0047】

本明細書で使用される場合、「ヘテロ二量体形成」とは、非同一のC H 3アミノ酸配列を有する二つの重鎖の相互作用を指す。本明細書で使用される場合、「ヘテロ二量体」とは、非同一のC H 3アミノ酸配列を有する二つの重鎖を有する抗体を指す。

20

【0048】

「ノブ・イン・ホール」戦略（例えば、P C T国際公開第2006/028936号を参照のこと）を使用して、全長二重特異性抗体を生成してもよい。簡潔に述べると、ヒトI g G中のC H 3ドメインの界面を形成する選択されたアミノ酸を、C H 3ドメイン相互作用に影響を及ぼす位置で変異させて、ヘテロ二量体形成を促進することができる。小さな側鎖（ホール）を有するアミノ酸は、第一の抗原に特異的に結合する抗体の重鎖に導入され、大きな側鎖（ノブ）を有するアミノ酸は、第二の抗原に特異的に結合する抗体の重鎖に導入される。二つの抗体の共発現後、ヘテロ二量体は、重鎖の「ホール」と重鎖の「ノブ」との優先的な相互作用の結果として形成される。ノブおよびホールを形成する例示的なC H 3置換対は、（第一の重鎖の第一のC H 3ドメインにおける修飾位置 / 第二の重鎖の第二のC H 3ドメインにおける修飾位置として表される）T 3 6 6 Y / F 4 0 5 A、T 3 6 6 W / F 4 0 5 W、F 4 0 5 W / Y 4 0 7 A、T 3 9 4 W / Y 4 0 7 T、T 3 9 4 S / Y 4 0 7 A、T 3 6 6 W / T 3 9 4 S、F 4 0 5 W / T 3 9 4 SおよびT 3 6 6 W / T 3 6 6 S \_\_ L 3 6 8 A \_\_ Y 4 0 7 Vである。

30

【0049】

米国特許公開第U S 2 0 1 0 / 0 0 1 5 1 3 3号、米国特許公開第U S 2 0 0 9 / 0 1 8 2 1 2 7号、米国特許公開第U S 2 0 1 0 / 0 2 8 6 3 7号または米国特許公開第U S 2 0 1 1 / 0 1 2 3 5 3 2号に記載される、一つのC H 3表面の正に荷電した残基および第二のC H 3表面の負に荷電した残基を置換することによる電氣的相互作用を使用した重鎖ヘテロ二量体形成の促進などの他の戦略が使用されてもよい。他の戦略では、ヘテロ二量体形成は、以下の置換（第一の重鎖の第一のC H 3ドメインにおける修飾位置 / 第二の重鎖の第二のC H 3ドメインにおける修飾位置として表される）：米国特許公開第U S 2 0 1 2 / 0 1 4 9 8 7 6号または米国特許公開第U S 2 0 1 3 / 0 1 9 5 8 4 9号に記載されるL 3 5 1 Y \_\_ F 4 0 5 A \_\_ Y 4 0 7 V / T 3 9 4 W、T 3 6 6 I \_\_ K 3 9 2 M \_\_ T 3 9 4 W / F 4 0 5 A \_\_ Y 4 0 7 V、T 3 6 6 L \_\_ K 3 9 2 M \_\_ T 3 9 4 W / F 4 0 5 A \_\_ Y 4 0 7 V、L 3 5 1 Y \_\_ Y 4 0 7 A / T 3 6 6 A \_\_ K 4 0 9 F、L 3 5 1 Y \_\_ Y 4 0 7 A / T 3 6 6 V \_\_ K 4 0 9 F、Y 4 0 7 A / T 3 6 6 A \_\_ K 4 0 9 F、またはT 3 5 0

40

50

V\_\_L351Y\_\_F405A\_\_Y407V/T350V\_\_T366L\_\_K392L\_\_T394Wによって促進され得る。

【0050】

正しい重鎖および軽鎖の対合は、国際公開第2015150447A1号に記載される、二重特異性IgG抗体の生成についての一般的なアプローチとして免疫グロブリンドメインクロスオーバーを使用して達成することができる。

【0051】

上記の方法に加えて、本発明の二重特異性抗体は、国際公開第2011/131746号に記載される方法により、二つの単一特異性ホモ二量体抗体のCH3領域に非対称変異を導入し、還元条件で二つの親単一特異性ホモ二量体抗体から二重特異性ヘテロ二量体抗体を形成して、ジスルフィド結合異性体化を可能にすることによって、細胞のない環境においてインビトロで生成することができる。本方法では、第一の単一特異性二価抗体および第二の単一特異性二価抗体は、ヘテロ二量体安定性を促進するCH3ドメインで特定の置換を有するように操作され、抗体は、ヒンジ領域中のシステインがジスルフィド結合異性化を受けることを可能にするのに十分な還元条件下で一緒にインキュベートされ、それによってFabアーム交換によって二重特異性抗体を生成する。

【0052】

さらに、本発明の二重特異性抗体は、2011年8月16日に出願された国際公開第2012/023053号に開示されているものを含む技術を使用して作製することができる、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。国際公開第2012/023053号に記載される方法は、ヒト免疫グロブリンと構造が同一である二重特異性抗体を生成する。このタイプの分子は、二つのコピーの、固有の重鎖ポリペプチド、定常カッパドメインに融合された第一の軽鎖可変領域および定常ラムダドメインに融合された第二の軽鎖可変領域から構成される。各組み合わせ部位は、重鎖と軽鎖の両方が寄与する異なる抗原特異性を示す。軽鎖可変領域は、ラムダファミリーまたはカッパファミリーのものであってもよく、好ましくは、それぞれ、ラムダ定常ドメインおよびカッパ定常ドメインに融合される。これは、非天然ポリペプチド接合部の生成を回避するために好ましい。

【0053】

しかしながら、第一の特異性のためにカッパ軽鎖可変ドメインを定常ラムダドメインに融合し、第二の特異性のためにラムダ軽鎖可変ドメインを定常カッパドメインに融合することによって、本発明の二重特異性抗体を得ることも可能である。国際公開第2012/023053号に記載される二重特異性抗体は、IgG抗体または「体」、新しい完全ヒト二重特異性IgGフォーマットと呼ばれる。この体フォーマットは、標準的なモノクローナル抗体から区別できない特徴を有し、したがって、前のフォーマットと比較して好ましい、標準的なIgG分子から区別できない二重特異性抗体の親和性精製を可能にする。

【0054】

二重特異性抗体を操作するために使用され得る例示的な抗IL-2R抗体としては、例えば、P2C4もしくはP2C4のバリエーション、P2H7もしくはP2H7のバリエーション、P2D12もしくはP2D12のバリエーション、P1G11もしくはP1G11のバリエーション(国際公開第2017/021540A1号に記載され、その全体が参照により本明細書に組み込まれる)が挙げられる。

【0055】

P2H7抗体

CDRH1 - TYAMH (配列番号155)

CDRH2 - WINTGNGNTKYSQNFQG (配列番号156)

CDRH3 - DLGQLERLYFW (配列番号157)

CDRL1 - RAGQAISSWLA (配列番号158)

CDRL2 - KASNLES (配列番号159)

10

20

30

40

50

CDRL3 - QQYQSYPTY (配列番号160)  
 VH - (配列番号161)  
 EVQLVQSGTEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYAMHWVRQA  
 PGQSLIEWMGINWNTGNGNTKYSQNFQGRVTMTTRDTSISTAY  
 MELSLRLRSDDTAVYYCARDLGLQLERLYFWGQGTLVTVSS  
 VL - (配列番号162)  
 DIQMTQSPSTLSASVGDRTVTLSCRAGQAISSWLAWYQQKP  
 GKAPKLLIYKASNLESGVPSRFSGGGSGAEFTLTISSSLQP  
 DDFATYYCQQYQSYPTYTFGGQGTKLEIR

【0056】

P2D12 抗体  
 CDRH1 - SYAMS (配列番号163)  
 CDRH2 - AISGSGGSTYYADSVKG (配列番号164)  
 CDRH3 - DLGDY (配列番号165)  
 CDRL1 - QASQDIGNYLN (配列番号166)  
 CDRL2 - DASNLET (配列番号167)  
 CDRL3 - LQLYDYPLT (配列番号168)  
 VH - (配列番号169)

HVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA  
 PGKGLEWVSAISGSGGSTYY  
 ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDL  
 GDYWGQGTLVTVSS

VL - (配列番号170)  
 DIQLTQSPSSLASVGDRTITCQASQDIGNYLNWYQLKP  
 GKAPKLLIYDASNLETGVPS  
 RFSGSGSGTDFTFITISSSLQPEDIATYYCLQLYDYPLTFGG  
 GTKVEIK

【0057】

P1G11 抗体  
 CDRH1 - GYYWS (配列番号19)  
 CDRH2 - EINHSGSTNYNPSLKS (配列番号20)  
 CDRH3 - SSSGDAFD (配列番号171)  
 CDRL1 - TRSSGSIASNYVQ (配列番号172)  
 CDRL2 - DDNQRPT (配列番号173)  
 CDRL3 - QSSHSTAVV (配列番号174)  
 VH - (配列番号175)

QVQLQQWAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQP  
 PGKGLEWIGEINHSGSTNYN  
 PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARSSS  
 GDAFDIWGQGTMTVTVSS

VL - (配列番号176)  
 NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQWYQQR  
 PGSSPTTVIFDDNQRPTGV  
 DRFSA AIDTSSSSASLTISGLTAEDEADYYCQSSHSTAVV  
 FGGGTKLTVL

【0058】

二重特異性抗体を操作するために使用され得る例示的な抗IL-2R抗体としては、  
 例えば、Hu-Mik 1 (国立がん研究所、メイヨー・クリニック、シカゴ大学医学  
 セリアック病センター)、単ドメイン抗体IL-2RB\_\_F09、IL-2RB\_\_F1  
 7、IL-2RB\_\_F18、IL-2RB\_\_F20およびIL-2RB\_\_F21 (Kat

10

20

30

40

50

herine E. Harris et al., 2021, A bispecific antibody agonist of the IL-2 heterodimeric receptor preferentially promotes in vivo expansion of CD8 and NK cells, Scientific Reports、doi.org/10.1038/s41598-021-90096-8)が挙げられる。例示的な抗IL-2R抗体はまた、表1に示される、「AL1」、「AL2」、「AL3」、「AL4」および「AL5」を含み得るが、これらに限定されない。

【0059】

二重特異性抗体を操作するために使用され得る例示的な抗IL-2R抗体としては、  
 10 例えば、P1A3、P1A3\_\_B3、P1A3\_\_E8、P1A3\_\_E9、P1A3\_\_B4、P1A3\_\_FW2、P2B9(国際公開第2017/021540A1号に記載され、その全体が参照により本明細書に組み込まれる)が挙げられる。

【0060】

P1A3\_\_B3、P1A3\_\_E8、P1A3\_\_E9、およびP1A3\_\_B4抗体  
 CDRH1 - GYYWS (配列番号19)  
 CDRH2 - EINHSGSTNYNPSLKS (配列番号20)  
 CDRH3 - SPGGYSGGYFQH (配列番号21)  
 CDRL1 - RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号15)  
 CDRL2 - LGSNRDS (配列番号16)  
 CDRL3 - MQGTHWPWT (配列番号17)

10  
20

【0061】

P1A3\_\_B3抗体  
 VH - (配列番号177)  
 QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQP  
 PGKGLEWIGEINHFGSTNYN  
 PSLKSRATISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATSPG  
 GYSGGYFQHWGQGTLVTVSS  
 VL - (配列番号178)  
 DVVMTQSPPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDW  
 YLQKPGQSPQLLIYLGSNRDS  
 GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPW  
 TFGQGTKVEIK

30

【0062】

P1A3\_\_E8抗体  
 VH - (配列番号179)  
 QVQLQQWGAGMLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQP  
 PGKGLEWIGEINHFGSTNYN  
 PSLKSRATISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATSPG  
 GYSGGYFQHWGQGTLVTVSS  
 VL - (配列番号180)  
 DVVMTQSPPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDW  
 YLQKPGQSPQLLIYLGSNRDS  
 GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPW  
 TFGQGTKVEIK

40

【0063】

P1A3\_\_E9抗体  
 VH - (配列番号181)  
 QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQP  
 PGKGLEWIGEINHFGSTNYN

50

PSLKSRA TISVDT SKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCATSPG  
GYSGGYFQHWGQGT LVTVSS

VL - (配列番号182)

DVVM TQSPLSLPVT PGE PASISCRSSQSLLHSNGYNYLDW  
YLQKPGQSPQLLIYLG SNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI  
SRVEAEDVGVYYCMQGTHWPWTFGQGTKVEIK

【0064】

P1A3\_\_B4抗体

VH - (配列番号183)

QVQLQQWGA GL LKPS ETL S L TCAVYGG S FSGYYWSWIRQP  
PGKGLEWIGE INHFGSTNYN

PSLKSRA TISVDT SKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCATSPG  
GYSGGYFQHWGQGT LVTVSS

VL - (配列番号184)

DVVM TQSPLSLPVT PGE SVSISCRSSQSLLHSNGYNYLDW  
YLQKPGQSPQLLIYLG SNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI  
SRVEAEDVGVYYCMQGTHWPWTFGQGTKVEIK

【0065】

例示的な抗IL-2R抗体はまた、単ドメイン抗体IL-2RG\_\_F05、IL-2RG\_\_F16、IL-2RG\_\_F18、IL-2RG\_\_F19およびIL-2RG\_\_F20を含み得るが、これらに限定されない(Katherine E. Harris et al., 2021, A bispecific antibody agonist of the IL-2 heterodimeric receptor preferentially promotes in vivo expansion of CD8 and NK cells, Scientific Reports, doi.org/10.1038/s41598-021-90096-8)。例示的な抗IL-2R抗体はまた、表1に示される「AM1」、「AM2」、「AM3」、「AM4」、「AM5」、「AM6」、「AM7」、「AM8」、「AM9」、「AM10」および「AM11」を含むが、これらに限定されない。

【0066】

二重特異性分子を操作するために使用され得る例示的な抗細胞表面(例えばTAA)抗体としては、当該技術分野で公知の抗腫瘍関連抗原(TAA)抗体、例えば、ベルツズマブおよびトラスツズマブ(HER-2)、セツキシマブ、ネシツムマブ、パニツムマブおよびアミバンタマブ(EGFR)、ラベツズマブおよびシビサタマブ(CEA)、アマツキシマブ(メソテリン)、コドリツズマブ(グリピカン3)、アテゾリズマブ、アベルマブおよびデュルバルマブ(PD-L1)、プリナツモマブ(CD19)、ブレンツキシマブベドチン(CD30)、ダラツムマブ(CD38)、ゲムツズマブ(CD33)、トシツモマブ9CD22)またはオビヌツズマブ、オクレリズマブ、オフアツムマブ、リツキシマブ、ならびにイブリツモマブ(CD20)が挙げられる。

【0067】

さらに、本発明の抗原結合ドメインは、当該技術分野で公知の様々な他の腫瘍特異的抗体ドメインを含み得る。癌の治療のための抗体およびそれらのそれぞれの標的には、ニボルマブ(抗PD-1Ab)、TA99(抗gp75)、3F8(抗GD2)、8H9(抗B7-H3)、アバゴボマブ(抗CA-125(模倣物))、アデカツムマブ(抗EPCAM)、アフツズマブ(抗CD20)、アラシズマブペゴル(抗VEGFR2)、アルツモマブペンテテート(抗CEA)、アマツキシマブ(抗メソテリン)、AME-133(抗CD20)、アナツモマブマフェナトックス(抗TAG-72)、アポリズマブ(抗HLA-DR)、アルシツモマブ(抗CEA)、パビツキシマブ(抗ホスファチジルセリン)、ベクツモマブ(抗CD22)、ベリムマブ(抗BAFF)、ベシレソマブ(抗CEA関連抗原)、ベバシズマブ(抗VEGF-A)、ピバツズマブメルタンシン(抗CD4

10

20

30

40

50

4 v 6 )、ブリナツモマブ ( 抗 C D 1 9 )、B M S - 6 6 3 5 1 3 ( 抗 C D 1 3 7 )、  
 プレンツキシマブベドチン ( 抗 C D 3 0 ( T N F R S F 8 ) )、カンツズマブメルタンシ  
 ン ( 抗ムチン C a n A g )、カンツズマブラブタンシン ( 抗 M U C 1 )、カプロマブペ  
 ンデチド ( 抗前立腺癌細胞)、カルルマブ ( 抗 M C P - 1 )、カツマキソマブ ( 抗 E p C  
 A M、C D 3 )、c B R 9 6 - ドキソルピシン免疫複合体 ( 抗ルイス - Y 抗原)、C C 4  
 9 ( 抗 T A G - 7 2 )、セデリズマブ ( 抗 C D 4 )、C h . 1 4 . 1 8 ( 抗 G D 2 )、c  
 h - T N T ( 抗 D N A 関連抗原)、シタツズマブボガトクス ( 抗 E p C A M )、シズツム  
 マブ ( 抗 I G F - 1 受容体)、クリバツズマブテトラキセタン ( 抗 M U C 1 )、コナツム  
 マブ ( 抗 T R A I L - R 2 )、C P - 8 7 0 8 9 3 ( 抗 C D 4 0 )、ダセツズマブ ( 抗 C  
 D 4 0 )、ダクリズマブ ( 抗 C D 2 5 )、ダロツズマブ ( 抗インスリン様成長因子 I 受容  
 体)、ダラツムマブ ( 抗 C D 3 8 ( 環状 A D P リボースヒドロラーゼ ) )、デミシズマブ  
 ( 抗 D L L 4 )、デツモマブ ( 抗 B リンパ腫細胞)、ドロジツマブ ( 抗 D R 5 )、デュリ  
 ゴツマブ ( 抗 H E R 3 )、デュシギツマブ ( 抗 I L G F 2 )、エクロメキシマブ ( 抗 G D  
 3 ガングリオシド)、エドレコロマブ ( 抗 E p C A M )、エロツズマブ ( 抗 S L A M F 7  
 )、エリシリモマブ ( 抗 I L - 6 )、エナバツズマブ ( 抗 T W E A K 受容体)、エノチマ  
 ブ ( 抗 D L L 4 )、エンシツキシマブ ( 抗 5 A C )、エピツモマブシツキセタン ( 抗エピ  
 シアリン)、エブラツズマブ ( 抗 C D 2 2 )、エルツマキソマブ ( 抗 H E R 2 / n e u、  
 C D 3 )、エタラシズマブ ( 抗インテグリン v 3 )、ファラリモマブ ( 抗インターフ  
 エロン受容体)、ファーレッツズマブ ( 抗葉酸受容体 1 )、F B T A 0 5 ( 抗 C D 2 0 )、  
 フィクラツズマブ ( 抗 H G F )、フィギツムマブ ( 抗 I G F - 1 受容体)、フランボツマ  
 ブ ( 抗 T Y R P 1 ( 糖タンパク質 7 5 ) )、フレソリムマブ ( 抗 T G F )、フツキシ  
 マブ ( 抗 E G F R )、ガリキシマブ ( 抗 C D 8 0 )、ガニツマブ ( 抗 I G F - I )、ゲム  
 ツズマブオゾガミシン ( 抗 C D 3 3 )、ジレンツキシマブ ( 抗炭酸無水酵素 9 ( C A - I  
 X ) )、グレムバツムマブベドチン ( 抗 G P N M B )、ガセルクマブ ( 抗 I L 1 3 )、イ  
 バリズマブ ( 抗 C D 4 )、イブリツモマブチウキセタン ( 抗 C D 2 0 )、イクルクマブ ( 抗  
 V E G F R - 1 )、イゴボマブ ( 抗 C A - 1 2 5 )、I M A B 3 6 2 ( 抗 C L D N 1 8  
 . 2 )、I M C - C S 4 ( 抗 C S F 1 R )、I M C - T R 1 ( T G F R I I )、イガツ  
 ズマブ ( 抗 E G F R )、インクラクマブ ( 抗セレクチン P )、インダツキシマブラブタン  
 シン ( 抗 S D C 1 )、イノツズマブオゾガミシン ( 抗 C D 2 2 )、インテツムマブ ( 抗 C  
 D 5 1 )、イピリムマブ ( 抗 C D 1 5 2 )、イラツムマブ ( 抗 C D 3 0 ( T N F R S F 8  
 ) )、K M 3 0 6 5 ( 抗 C D 2 0 )、K W - 0 7 6 1 ( 抗 C D 1 9 4 )、L Y 2 8 7 5 3  
 5 8 ( 抗 M E T ) ラベツズマブ ( 抗 C E A )、ラムプロリズマブ ( 抗 P D C D 1 )、レキ  
 サツムマブ ( 抗 T R A I L - R 2 )、リンツズマブ ( 抗 C D 3 3 )、リリルマブ ( 抗 K I  
 R 2 D )、ロボツズマブメルタンシン ( 抗 C D 5 6 )、ルカツムマブ ( 抗 C D 4 0 )、ル  
 ミリキシマブ ( 抗 C D 2 3 ( I g E 受容体 ) )、マカツムマブ ( 抗 T R A I L - R 1 )、  
 マルゲツキシマブ ( 抗 c h 4 D 5 )、マツズマブ ( 抗 E G F R )、マブリリムマブ ( 抗 G  
 M C S F 受容体 鎖 )、ミラツズマブ ( 抗 C D 7 4 )、ミンレッツモマブ ( 抗 T A G - 7 2  
 )、ミツモマブ ( 抗 G D 3 ガングリオシド)、モガムリズマブ ( 抗 C C R 4 )、モキセツ  
 モマブバドトックス ( 抗 C D 2 2 )、ナコロマブタフェナトックス ( 抗 C 2 4 2 抗原 )  
 、ナプトモマブエスタフェナトックス ( 抗 5 T 4 )、ナルナツマブ ( 抗 R O N )、ネシツ  
 ムマブ ( 抗 E G F R )、ネスバクマブ ( 抗血管ポエチン 2 )、ニモツズマブ ( 抗 E G F R  
 )、ニボルマブ ( 抗 I g G 4 )、ノフェツモマブメルペンタン、オクレリズマブ ( 抗 C D  
 2 0 )、オカラツズマブ ( 抗 C D 2 0 )、オラツマブ ( 抗 P D G F - R )、オナルツズ  
 マブ ( 抗 c - M E T )、オンツキシズマブ ( 抗 T E M 1 )、オポルツズマブモノトックス  
 ( 抗 E p C A M )、オレゴボマブ ( 抗 C A - 1 2 5 )、オトラツズマブ ( 抗 C D 3 7 )、  
 パンコマブ ( M U C 1 の抗腫瘍特異的グリコシル化 )、パルサツズマブ ( 抗 E G F L 7 )  
 、パスコリズマブ ( 抗 I L - 4 )、パトリツマブ ( 抗 H E R 3 )、ペムツモマブ ( 抗 M U  
 C 1 )、ペルツズマブ ( 抗 H E R 2 / n e u )、ピジリズマブ ( 抗 P D - 1 )、ピナツズ  
 マブベドチン ( 抗 C D 2 2 )、ピンツモマブ ( 抗アデノ癌抗原)、ポラツズマブベドチン  
 ( 抗 C D 7 9 B )、プリツムマブ ( 抗ビメンチン)、P R O 1 3 1 9 2 1 ( 抗 C D 2 0 )

10

20

30

40

50

、キリズマブ（抗 I G H E）、ラコツモマブ（抗 N - グリコリルノイラミン酸）、ラデレツマブ（抗フィブロネクチン外ドメイン B）、ラムシルマブ（抗 V E G F R 2）、リロツムマブ（抗 H G F）、ロバツムマブ（抗 I G F - 1 受容体）、ロールドマブ（抗 R H D）、ロベリズマブ（抗 C D 1 1 および C D 1 8）、サマリズマブ（抗 C D 2 0 0）、サツモマブペンデチド（抗 T A G - 7 2）、セリバンツマブ（抗 E R B B 3）、S G N - C D 1 9 A（抗 C D 1 9）、S G N - C D 3 3 A（抗 C D 3 3）、シブロツズマブ（抗 F A P）、シルツキシマブ（抗 I L - 6）、ソリトマブ（抗 E p C A M）、ソヌツズマブ（抗エピシリン）、タバルマブ（抗 B A F F）、タカツズマブテトラキセタン（抗アルファ - フェトタンパク質）、タブリツモマブパプトックス（抗 C D 1 9）、テリモマブアリトックス、テナツモマブ（抗テナシン C）、テネリキシマブ（抗 C D 4 0）、テプロツムマブ（抗 C D 2 2 1）、T G N 1 4 1 2（抗 C D 2 8）、チシリムマブ（抗 C T L A - 4）、チガツズマブ（抗 T R A I L - R 2）、T N X - 6 5 0（抗 I L - 1 3）、トシツモマブ（抗 C S 2 0）、トベツマブ（抗 C D 1 4 0 a）、T R B S 0 7（抗 G D 2）、トレガリズマブ（抗 C D 4）、トレメリムマブ（抗 C T L A - 4）、T R U - 0 1 6（抗 C D 3 7）、ツコツズマブセモルキン（抗 E p C A M）、ユブリツキシマブ（抗 C D 2 0）、ウレルマブ（抗 4 - 1 B B）、パンチクトマブ（抗 F r i z z l e d 受容体）、バパリキシマブ（抗 A O C 3（V A P - 1））、バテリズマブ（抗 I T G A 2）、ベルツズマブ（抗 C D 2 0）、ベセンクマブ（抗 N R P 1）、ビシリズマブ（抗 C D 3）、ボロキシマブ（抗インテグリン 5 1）、ボルセツズマブマホドチン（抗 C D 7 0）、ボツムマブ（抗腫瘍抗原 C T A A 1 6 . 8 8）、ザルツムマブ（抗 E G F R）、ザノリムマブ（抗 C D 4）、ザツキシマブ（抗 H E R 1）、ジラリムマブ（抗 C D 1 4 7（バシギン））、R G 7 6 3 6（抗 E T B R）、R G 7 4 5 8（抗 M U C 1 6）、R G 7 5 9 9（抗 N a P i 2 b）、M P D L 3 2 8 0 A（抗 P D - L 1）、R G 7 4 5 0（抗 S T E A P 1）、および G D C - 0 1 9 9（抗 B c l - 2）が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

## 【 0 0 6 8 】

本開示の二重特異性抗体の抗原結合ドメインの例示的なアミノ酸配列が、表 1 に示される。

## 【 0 0 6 9 】

（表 1）抗原結合ドメインのアミノ酸配列

30

40

50

抗原結合アーム名 /抗原	ドメイン	アミノ酸配列	配列識別子
共通重鎖	CDR-H1	GFTFSSYA	配列番号1
共通重鎖	CDR-H2	ISGSGGST	配列番号2
共通重鎖	CDR-H3	AKSYGAFDY	配列番号3
共通重鎖	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKSYGAFDYWGQGLTVTVSS	配列番号4
共通重鎖	HC (LALA+P3 29A変異)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCAKSYGAFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALAA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	配列番号5
P2C4/IL2Rb	LC (軽鎖)	QSALTQPASVSGSPGQSIASCTGTSSDIGHYDFVSWYQQHPGTAPK LI IYDINNRPSGISNRFSGSKSDNMA SLTISGLQPEDEADY YCSAYT SSDTLVFGGGTKLT	配列番号6
P2C4/IL2Rb	CDR-L1	TGTSSDIGHYDFVS	配列番号7
P2C4/IL2Rb	CDR-L2	DINNRPS	配列番号8
P2C4/IL2Rb	CDR-L3	SAYTSSDTLV	配列番号9
P2C4/IL2Rb	HC (重鎖)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTFTNYMHVVRQAPGQGLEW MGAIMP SRGGTSYPQKFQGRVTMTGDTSTSTVYME LSSLRSED TAVY YCARGEY YDSSGYYYWGQGLTVTVSS	配列番号10
P2C4/IL2Rb	HC-CDR1	NYYMH	配列番号11
P2C4/IL2Rb	HC-CDR2	AIMP SRGGTSYPQKFQG	配列番号12
P2C4/IL2Rb	HC-CDR3	GEYYDSSGYYY	配列番号13
P1A3/IL2Rg	LC (軽鎖)	DVVM TQSPLSLPVTGP EPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWY LQKPGQ SPQLLIY LGSNRDSGVPDRFSGSGS GDTDFTLKISRVEAEDVG VYYCM QGTHWPWTFGQGT KVEIK	配列番号14
P1A3/IL2Rg	CDR-L1	RSSQSL LHSNGYNYLD	配列番号15
P1A3/IL2Rg	CDR-L2	LGSNRDS	配列番号16
P1A3/IL2Rg	CDR-L3	MQGTHWPWT	配列番号17
P1A3/IL2Rg	HC (重鎖)	QVQLQQW GAGLLK PSETLSLTC AVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEW IGEIN HSGSTN YNPSLKRATISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVY Y CATSPGGYSGGYFQHWGQGLTVTVSS	配列番号18
P1A3/IL2Rg	HC-CDR1	GYYS	配列番号19
P1A3/IL2Rg	HC-CDR2	EIN HSGSTN YNPSLKS	配列番号20
P1A3/IL2Rg	HC-CDR3	SPGGYSGGYFQH	配列番号21

10

20

30

40

50

トラスツズマブ/HER2	LC (軽鎖)- CrossMab フォーマット	FGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALAAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWQSNQGTENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG	配列番号22
トラスツズマブ/HER2	CDR-L1	RASQDVNTAVA	配列番号23
トラスツズマブ/HER2	CDR-L2	SASFLY	配列番号24
トラスツズマブ/HER2	CDR-L3	QQHYTTPPT	配列番号25
トラスツズマブ/HER2	HC (重鎖)- CrossMab フォーマット	WGQGLTVTVSSVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号26
トラスツズマブ/HER2	HC-CDR1	GFNIKDTYIH	配列番号27
トラスツズマブ/HER2	HC-CDR2	ARIYPTNGYTRYADSVKG	配列番号28
トラスツズマブ/HER2	HC-CDR3	SRWGGDGFYAMDY	配列番号29
ペルツズマブ/HER2	LC (軽鎖)- CrossMab フォーマット	FGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALAAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWQSNQGTENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG	配列番号30
ペルツズマブ/HER2	CDR-L1	KASQDVSIGVA	配列番号31
ペルツズマブ/HER2	CDR-L2	SASYRY	配列番号32
ペルツズマブ/HER2	CDR-L3	QQYYIYPYT	配列番号33
ペルツズマブ/HER2	HC (重鎖)- CrossMab フォーマット	WGQGLTVTVSSVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号34
ペルツズマブ/HER2	HC-CDR1	GFTFTDYTMD	配列番号35
ペルツズマブ/HER2	HC-CDR2	ADVNPNSGGSIYNQRFKG	配列番号36

10

20

30

40

50

ペルツズマ ブ/HER2	HC-CDR3	GPSFYFDY	配列番号37
AL1/IL2Rb	LC (軽鎖)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLL IYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQDAND PRTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号38
AL1/IL2Rb	CDR-L1	QDISNY	配列番号39
AL1/IL2Rb	CDR-L2	DAS	配列番号40
AL1/IL2Rb	CDR-L3	QQDANDPRT	配列番号41
AL1/IL2Rb	VL (軽鎖可 変領域)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLL IYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQDAND PRTFGGQTKVEIK	配列番号42
AL2/IL2Rb	LC (軽鎖)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDIGTYLNWYQQKPGKAPKLL IYEASTLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQDGAR DDYATFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号43
AL2/IL2Rb	CDR-L1	QDIGTY	配列番号44
AL2/IL2Rb	CDR-L2	EAS	配列番号45
AL2/IL2Rb	CDR-L3	QQDGARDDYAT	配列番号46
AL2/IL2Rb	VL (軽鎖可 変領域)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDIGTYLNWYQQKPGKAPKLL IYEASTLETGVPSRFSGSGSGTDFFTISSLQPEDIATYYCQQDGAR DDYATFGGQTKVEIK	配列番号47
AL3/IL2Rb	LC (軽鎖)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDIDDYLNWYQQKPGKAPKLL IYDASNLSGVPVSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQDSMD PRTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITL LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号48
AL3/IL2Rb	CDR-L1	QDIDY	配列番号49
AL3/IL2Rb	CDR-L2	DAS	配列番号50
AL3/IL2Rb	CDR-L3	QQDSMDPRT	配列番号51
AL3/IL2Rb	VL (軽鎖可 変領域)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQASQDIDDYLNWYQQKPGKAPKLL IYDASNLSGVPVSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQDSMD PRTFGGQTKVEIK	配列番号52
AL4/IL2Rb	LC (軽鎖)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIDEYLNWYQQKPGKAPKLL IYEASKLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQDGAM DTYATFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSIT LTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号53
AL4/IL2Rb	CDR-L1	QSIDEY	配列番号54
AL4/IL2Rb	CDR-L2	EAS	配列番号55
AL4/IL2Rb	CDR-L3	QQDGAMDTYAT	配列番号56
AL4/IL2Rb	VL (軽鎖可 変領域)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIDEYLNWYQQKPGKAPKLL IYEASKLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQDGAM DTYATFGGQTKVEIK	配列番号57

10

20

30

40

50

AL5/IL2Rb	LC (軽鎖)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDEYLAWYQQKPGQAPRL IYDASERATGIPARFSGSGGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQDATD PRTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYEHKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号58
AL5/IL2Rb	CDR-L1	QSVDEY	配列番号59
AL5/IL2Rb	CDR-L2	DAS	配列番号60
AL5/IL2Rb	CDR-L3	QQDATDPRT	配列番号61
AL5/IL2Rb	VL (軽鎖可 変領域)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDEYLAWYQQKPGQAPRL IYDASERATGIPARFSGSGGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQDATD PRTFGGQTKVEIK	配列番号62
AM1/IL2Rg	LC (軽鎖)	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQSIYYLNWYQQKPGKAPKLL IYDASALQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQIDFT AGSITFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LTLKADYEHKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号63
AM1/IL2Rg	CDR-L1	QSIYY	配列番号64
AM1/IL2Rg	CDR-L2	DAS	配列番号65
AM1/IL2Rg	CDR-L3	QQIDFTAGSIT	配列番号66
AM1/IL2Rg	VL (軽鎖可 変領域)	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQSIYYLNWYQQKPGKAPKLL IYDASALQSGVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQIDFT AGSITFGGQTKVEIK	配列番号67
AM2/IL2Rg	LC (軽鎖)	DIQLTQSPFSLASVGRVITITCRASQTIDAPLRWYQQKPGKAPKLL IYLTSSLQSGVPSRFSGSGGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGYAA GPSTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号68
AM2/IL2Rg	CDR-L1	QTIDAP	配列番号69
AM2/IL2Rg	CDR-L2	LTS	配列番号70
AM2/IL2Rg	CDR-L3	QQGYAAGPST	配列番号71
AM2/IL2Rg	VL (軽鎖可 変領域)	DIQLTQSPFSLASVGRVITITCRASQTIDAPLRWYQQKPGKAPKLL IYLTSSLQSGVPSRFSGSGGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQGYAA GPSTFGGQTKVEIK	配列番号72
AM3/IL2Rg	LC (軽鎖)	DIQMTQSPSTLSASVGDVITITCRASHYITWLAWYQQKPGKAPKLL IYDVSSLESGVPSRFRGRGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQQYESY SPTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEHK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号73
AM3/IL2Rg	CDR-L1	HYITTW	配列番号74
AM3/IL2Rg	CDR-L2	DVS	配列番号75
AM3/IL2Rg	CDR-L3	QQYESYSPT	配列番号76
AM3/IL2Rg	VL (軽鎖可 変領域)	DIQMTQSPSTLSASVGDVITITCRASHYITWLAWYQQKPGKAPKLL IYDVSSLESGVPSRFRGRGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQQYESY SPTFGGQTKVEIK	配列番号77
AM4/IL2Rg	LC (軽鎖)	DIQMTQSPSTLSASVGRVITITCRASQTIYGPLNWYQQKPGKAPKLL IYTSYLESGVPSRFSGSGGTEFTLTISLQPDFATYYCQQAGYA SAPTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYE	配列番号78

10

20

30

40

50

		KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
AM4/IL2Rg	CDR-L1	QTIYGP	配列番号79
AM4/IL2Rg	CDR-L2	STS	配列番号80
AM4/IL2Rg	CDR-L3	QQAGYASAPT	配列番号81
AM4/IL2Rg	VL (軽鎖可 変領域)	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQTIYGPLNWIYQQKPGKAPKLL IYSTSYLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQAGYA SAPTFGQGTKVEIK	配列番号82
AM5/IL2Rg	LC (軽鎖)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSEVAYTALAWYQQKPG QPPKLLIYATSTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQGYGHPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号83
AM5/IL2Rg	CDR-L1	QSVLYSEVAYTA	配列番号84
AM5/IL2Rg	CDR-L2	ATS	配列番号85
AM5/IL2Rg	CDR-L3	QQGYGHPT	配列番号86
AM5/IL2Rg	VL (軽鎖可 変領域)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSEVAYTALAWYQQKPG QPPKLLIYATSTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQGYGHPTFGQGTKVEIK	配列番号87
AM6/IL2Rg	LC (軽鎖)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYDDFGNANLAWYQQKPG QPPKLLIYGSYRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQVDVGLAITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号88
AM6/IL2Rg	CDR-L1	QSVLYDDFGNAN	配列番号89
AM6/IL2Rg	CDR-L2	YGS	配列番号90
AM6/IL2Rg	CDR-L3	QQVDVGLAIT	配列番号91
AM6/IL2Rg	VL (軽鎖可 変領域)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYDDFGNANLAWYQQKPG QPPKLLIYGSYRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQVDVGLAITFGQGTKVEIK	配列番号92
AM7/IL2Rg	LC (軽鎖)	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASQDIGIELAWYQQKPGKAPKLL IYFESHLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQIRID PTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSTLTL SKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号93
AM7/IL2Rg	CDR-L1	QDIGIE	配列番号94
AM7/IL2Rg	CDR-L2	FES	配列番号95
AM7/IL2Rg	CDR-L3	QQIRIDPT	配列番号96
AM7/IL2Rg	VL (軽鎖可 変領域)	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCRASQDIGIELAWYQQKPGKAPKLL IYFESHLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQIRID PTFGQGTKVEIK	配列番号97
AM8/IL2Rg	LC (軽鎖)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQDVATRGLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYEL EHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSST LTLKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号98
AM8/IL2Rg	CDR-L1	QDVATRGL	配列番号99

10

20

30

40

50

AM8/IL2Rg	CDR-L2	GAS	配列番号100
AM8/IL2Rg	CDR-L3	QQYELEHPAT	配列番号101
AM8/IL2Rg	VL (軽鎖可 変領域)	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQDVATRGLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYEL EHPATFGGQTKVEIK	配列番号102
AM9/IL2Rg	LC (軽鎖)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQDIAGYLNWYQQKPKGKAPKLL IYTASTLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIAIYYCQQWAFG PVTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号103
AM9/IL2Rg	CDR-L1	QDIAGY	配列番号104
AM9/IL2Rg	CDR-L2	TAS	配列番号105
AM9/IL2Rg	CDR-L3	QQWAFGPVT	配列番号106
AM9/IL2Rg	VL (軽鎖可 変領域)	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCQASQDIAGYLNWYQQKPKGKAPKLL IYTASTLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIAIYYCQQWAFG PVTFGGQTKVEIK	配列番号107
AM10/IL2Rg	LC (軽鎖)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVFANLNWYQQKPGQAPRL IYDSSGRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQGFGP SLTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号108
AM10/IL2Rg	CDR-L1	QSVFAN	配列番号109
AM10/IL2Rg	CDR-L2	DSS	配列番号110
AM10/IL2Rg	CDR-L3	QQGFGPSLT	配列番号111
AM10/IL2Rg	VL (軽鎖可 変領域)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVFANLNWYQQKPGQAPRL IYDSSGRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQGFGP SLTFGGQTKVEIK	配列番号112
AM11/IL2Rg	LC (軽鎖)	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQNVNHNFLTWYQQKPGQAPRL LIYSASARATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQFNY APLTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	配列番号113
AM11/IL2Rg	CDR-L1	QNVNHN	配列番号114
AM11/IL2Rg	CDR-L2	SAS	配列番号115
AM11/IL2Rg	CDR-L3	QQFNAPLT	配列番号116
AM11/IL2Rg	VL (軽鎖可 変領域)	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQNVNHNFLTWYQQKPGQAPRL LIYSASARATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQFNY APLTFGGQTKVEIK	配列番号117
HPN536/CD3 結合アーム	重鎖	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGNTFNKYAMNWRQAPGKLEW VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA VYYCVRHGFNGDSYISYWAYWGQTLVTVSS	配列番号118
HPN536/CD3 結合アーム	軽鎖	QTVVTEQPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTHGNYPNWWQKPGQAPR GLIGGTKVLAPGTPARFSGSLLGGAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGQTKLTVL	配列番号119
HPN536 sdAb/MLSN結 合アーム	sdAb	QQQLVESGGGVVQAGGSLRLSAAASGTFPIRAMRWYRQAPGTERDL VAVIYGSSYYADAVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC NADTIGTARDYWGQTLVTVSS	配列番号120
H4G5-トラス	重鎖可変	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYFTNYIHWRQAPGQGLEW	配列番号121

10

20

30

40

50

ツズマブ /CD3結合ア ーム	領域	IGWIYPGDGNTKYNEKFKGRATLTADTSTSTAYLESSLRSEDTAVY YCARDSYSNYFDYWGQGLTVVSS	
H4G5-トラス ツズマブ /CD3結合ア ーム	軽鎖可変 領域	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSRTRKNYLAWYQQKPG QPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFLTISSLQAEDVAVYYC TQSFILRTFGQGTKVEIK	配列番号122
H4G5-トラス ツズマブ /HER2結合ア ーム	重鎖可変 領域	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEW VARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVY YCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVVSS	配列番号123
H4G5-トラス ツズマブ /HER2結合ア ーム	軽鎖可変 領域	DIQMTQSPSSLSASVGRVITICRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLL IYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQHYTT PPTFGGGTKLTVLSS	配列番号124
030/MSLN	LC (軽 鎖)	QSVLTQPPSASGTPGQRVITISCSGSSSNIHGPVNWYQQLPGTAPKL LIYATNHRPSGVPDRFSGSKSGTTASLTISGLQSEDEADYYCAAYDL TGWFAVAVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCL ISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTP EQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	配列番号125
030/MSLN	CDR-L1	SSNIAHGP	配列番号126
030/MSLN	CDR-L2	ATN	配列番号127
030/MSLN	CDR-L3	AAYDLTGWFAVAV	配列番号128
030/MSLN	VL (軽鎖 可変領 域)	QSVLTQPPSASGTPGQRVITISCSGSSSNIHGPVNWYQQLPGTAPKL LIYATNHRPSGVPDRFSGSKSGTTASLTISGLQSEDEADYYCAAYDL TGWFAVAVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTL	配列番号129
035/MSLN	LC (軽 鎖)	QPVLTPQVLSASPGASVSLTCTLRSDIRVRDYRIFWYQQKPGSPPQ YLLRYKTDSDKQQGSGVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADY YCMIWHRTTGTSLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANK ATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASS YLSTLPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	配列番号130
035/MSLN	CDR-L1	SDIRVRDYR	配列番号131
035/MSLN	CDR-L2	YKTDSDK	配列番号132
035/MSLN	CDR-L3	MIWHRTTGTSLV	配列番号133
035/MSLN	VL (軽鎖 可変領 域)	QPVLTPQVLSASPGASVSLTCTLRSDIRVRDYRIFWYQQKPGSPPQ YLLRYKTDSDKQQGSGVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADY YCMIWHRTTGTSLVFGGGTKLTVL	配列番号134

10

20

30

40

50

038/MSLN	LC (軽鎖)	QPVLTPASLSASPGASASLTCTLRSGINVRDYRIFWYQQKPGSPQ YLLRYKSASDKQQGSGVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADY YCMIWHDSEGHAFVFGGKTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQAN KATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAAS SYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	配列番号135
038/MSLN	CDR-L1	SGINVRDYR	配列番号136
038/MSLN	CDR-L2	YKSASDK	配列番号137
038/MSLN	CDR-L3	MIWHDSEGHAFV	配列番号138
038/MSLN	VL (軽鎖 可変領域)	QPVLTPASLSASPGASASLTCTLRSGINVRDYRIFWYQQKPGSPQ YLLRYKSASDKQQGSGVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADY YCMIWHDSEGHAFVFGGKTLTVL	配列番号139
041/MSLN	LC (軽鎖)	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNKIGHRAVHWYQQKPGQAPVLI YYTYERPSGIPERFSGSNGTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDWYS EGGVVFGGKTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	配列番号140
041/MSLN	CDR-L1	KIGHRA	配列番号141
041/MSLN	CDR-L2	YTY	配列番号142
041/MSLN	CDR-L3	QVWDWYSEGGV	配列番号143
041/MSLN	VL (軽鎖 可変領域)	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNKIGHRAVHWYQQKPGQAPVLI YYTYERPSGIPERFSGSNGTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDWYS EGGVVFGGKTLTVLGQPKAAPSVTL	配列番号144
N2-19/HER2	LC (軽鎖)	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSNIENTHTVHWYQQLPGTAPK LLIYDASIRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYD WLRGAQVFGGKTLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	配列番号145
N2-19/HER2	CDR-L1	SSNIENTHT	配列番号146
N2-19/HER2	CDR-L2	DAS	配列番号147
N2-19/HER2	CDR-L3	QSYDWLRGAQV	配列番号148

10

20

30

40

50

N2-19/HER2	VL (軽鎖 可変領域)	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIENTHTVHWYQQLPGTAPK LLIYDASIRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYD WLRGAQVFGGGTKLTVL	配列番号149
N2-28/HER2	LC (軽鎖)	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNTIGSTVVHWYQQKPGQAPVLVI YFDDARPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSFG LSLAPVFGGGTKLTVLGGPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	配列番号150
N2-28/HER2	CDR-L1	TIGSTV	配列番号151
N2-28/HER2	CDR-L2	FDD	配列番号152
N2-28/HER2	CDR-L3	QVWDSFGLSLAPV	配列番号153
N2-28/HER2	VL (軽鎖 可変領域)	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNTIGSTVVHWYQQKPGQAPVLVI YFDDARPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSFG LSLAPVFGGGTKLTVL	配列番号154

10

20

## 【0070】

結合アームを任意の組み合わせで組み合わせて、本発明の抗IL2R×TAA bsAbを生成することができる。本開示の例示的な二重特異性抗体が、表2に示される。マトリクス内の各二重特異性抗体は、抗原結合ドメインの特定の組み合わせを有する固有のbsAbである。特定のフォーマット(KiHまたは - ボディ)も示される。例えば、二重特異性抗体「AL1N2-28」は、 - ボディフォーマットを有し、「AL1」抗IL2R抗原結合ドメインおよび「N2-28」抗HER2抗原結合ドメインを含む。例えば、二重特異性抗体「AM5O30」は、 - ボディフォーマットを有し、「AM5」抗IL2R抗原結合ドメインおよび「O30」抗MSLN抗原結合ドメインを含む。

30

## 【0071】

本明細書に記載される例示的な - ボディフォーマット二重特異性抗体は、以下に列挙されるアミノ酸配列に示される、共通重鎖(HC)、サイトカイン受容体抗原結合ドメインの抗TAAおよび抗第一/第二のサブユニットに対する一つの銅鎖または一つのラムダ鎖、サイトカイン受容体抗原結合ドメインの抗TAAおよび抗第一/第二のサブユニットに対する一つの銅鎖および一つのラムダ軽鎖(LC)を含む。以下に記載されるサイトカイン受容体二重特異性抗体の例示的な抗TAAおよび抗第一/第二のサブユニットの各々は、以下に列挙されるアミノ酸配列に示される、共通可変重鎖ドメイン(VH)、サイトカイン受容体抗体の抗TAAおよび抗第一/第二のサブユニットに対する一つの銅鎖可変軽鎖ドメインまたは一つのラムダ可変軽鎖ドメイン、ならびにサイトカイン受容体抗原結合ドメインの抗TAAおよび抗第一/第二のサブユニットに対する一つの銅鎖および一つのラムダ可変軽鎖ドメイン(VL)を含む。

40

## 【0072】

以下の抗体配列が、例として本明細書に提供されるが、これらの配列を使用して、様々な当該技術分野で認識されている技術のいずれかを使用して二重特異性抗体を生成することができることは、理解されるべきである。二重特異性フォーマットの例としては、Fabアーム交換に基づく二重特異性IgG(Gramer et al., 2013年Mabs. 5(6))、CrossMabフォーマット(Klein et al., 2012 Mabs. 4(6))、SEEDテクノロジーなどの強制ヘテロ二量体形成アプ

50

ローチに基づく複数のフォーマット (Davis JH et al., 2010 Protein Eng Des Sel. 23(4):195-202)、静電的ステアリング (Gunasekaran K et al., J Biol Chem. 2010 285(25):19637-46) もしくはノブ・イントゥ・ホール (Ridgway JB et al., Protein Eng. 1996 9(7):617-21.) またはホモ二量体形成を阻止する変異の他のセット (Von Kreudenstein TS et al., 2013 MAbs. 5(5):646-54)、タンデム scFv (BiTE など) などの断片ベースの二重特異性フォーマット (Wolf E et al., 2005 Drug Discov Today 10(18):1237-44.)、二重特異性四価抗体 (Portner LM et al., 2012 Cancer Immunol Immunother. 61(10):1869-75.)、二重親和性再ターゲティング分子 (Moore PA et al., 2011 Blood. 117(17):4542-51)、ダイアボディ (Kontermann RE et al., Nat Biotechnol. 1997 15(7):629-31) が挙げられるが、これらに限定されない。

10

**【0073】**

組成物の bsAb 抗体は、二重特異性を達成するために抗体鎖の強制対合に依存するか (例えば、ノブ・イントゥ・ホール / Cross-Mab テクノロジー) またはヒト IgG の天然構造を維持する bsAb フォーマット (カップー - ラムダボディ テクノロジー) を使用するかのいずれかで、異なるフォーマットおよびテクノロジーを使用して生成することができる。

20

**【0074】**

(表2) 本開示の例示的な二重特異性抗体の命名法

30

40

50

		HER2抗原結合ドメイン				MSLN抗原結合ドメイン			
		トラスツ ズマブ(*)	ペルツズ マブ(*)	N2-19 (#)	N2-28 (#)	030 (#)	035 (#)	038 (#)	041 (#)
IL2R β 抗原結合 ドメイン	P2C4(*)	P2C4× トラスツ ズマブ	P2C4× ペルツズ マブ						
	AL1(#)				AL1N2-28				
	AL2(#)				AL2N2-28				
	AL3(#)				AL3N2-28				
	AL4(#)				AL4N2-28	AL4030	AL4035	AL4038	AL4041
	AL5(#)				AL5N2-28				
IL2R γ 抗原結合 ドメイン	P1A3(*)	P1A3× トラスツ ズマブ	P1A3× ペルツズ マブ						
	AM1(#)			AM1N2-19					
	AM2(#)			AM2N2-19					
	AM3(#)			AM3N2-19					
	AM4(#)			AM4N2-19					
	AM5(#)			AM5N2-19		AM5030	AM5035	AM5038	AM5041
	AM6(#)			AM6N2-19					
	AM7(#)			AM7N2-19					
	AM8(#)			AM8N2-19					
	AM9(#)			AM9N2-19		AM9030			
	AM10(#)			AM10N2- 19					
AM11(#)			AM11N2- 19						

\*CrossMab-KiHフォーマットのbsAbを生成するために使用されるアーム

#κλ-ボディフォーマットのbsAbを生成するために使用されるアーム

各bsAbは、本出願および図の凡例全体を通して「/N」として示される不活性Fc (LALA+P329A変異) を使用して生成された。

抗IL2R β × 抗IL2R γ 二重特異性抗体は、P1A3アームをP2C4アームと交差させることによって生成された。

#### 【 0 0 7 5 】

例示的な抗 I L 2 R および抗 H E R 2 二重特異性抗体

一部の実施形態では、二重特異性抗体 P 1 A 3 × トラスツズマブは、配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 0 アミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 3、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含む P 1 A 3 抗原結合ドメイン、ならびに配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 8 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む C D R H 3、配列番号 2 3 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むトラスツズマブ抗原結合ドメインを含む。

#### 【 0 0 7 6 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 P 1 A 3 × トラスツズマブは、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む P 1 A 3 抗原結合ドメイン、ならびに配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含むトラスツズマブ抗原結合ドメインを含む。

## 【 0 0 7 7 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 P 1 A 3 × ペルツズマブは、配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 0 アミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 3、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含む P 1 A 3 抗原結合ドメイン、ならびに配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 3 6 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 7 のアミノ酸配列を含む C D R H 3、配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むペルツズマブ抗原結合ドメインを含む。

10

## 【 0 0 7 8 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 P 1 A 3 × ペルツズマブは、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む P 1 A 3 抗原結合ドメイン、ならびに配列番号 3 4 のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含むペルツズマブ抗原結合ドメインを含む。

## 【 0 0 7 9 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 1 N 2 - 1 9 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 6 4 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 6 5 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 6 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 4 7 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 4 8 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

20

## 【 0 0 8 0 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 1 N 2 - 1 9 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 6 7 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 9 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

## 【 0 0 8 1 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 1 N 2 - 1 9 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 6 3 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

30

## 【 0 0 8 2 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 2 N 2 - 1 9 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 6 9 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 7 0 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 7 1 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 4 7 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 4 8 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

## 【 0 0 8 3 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 2 N 2 - 1 9 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 7 2 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 9 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

40

## 【 0 0 8 4 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 2 N 2 - 1 9 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 6 8 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

## 【 0 0 8 5 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 3 N 2 - 1 9 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸

50

配列を含むCDRH3を含む共通重鎖、配列番号74のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号75のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号76のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号146のアミノ酸配列を含むCDRL1、a 配列番号147のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号148のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むラムダ軽鎖を含む。

【0086】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM3N2-19は、配列番号4のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号77のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号149のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【0087】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM3N2-19は、配列番号5のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号73のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号145のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0088】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM4N2-19は、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDRH3を含む共通重鎖、配列番号79のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号80のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号81のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号146のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号147のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号148のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むラムダ軽鎖を含む。

【0089】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM4N2-19は、配列番号4のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号82のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号149のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【0090】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM4N2-19は、配列番号5のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号78のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号145のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0091】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM5N2-19は、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDRH3を含む共通重鎖、配列番号84のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号85のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号86のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号146のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号147のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号148のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むラムダ軽鎖を含む。

【0092】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM5N2-19は、配列番号4のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号87のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号149のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【0093】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM5N2-19は、配列番号5のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号83のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号145のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0094】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM6N2-19は、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDRH3を含む共通重鎖、配列番号89のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号90のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号91のアミノ酸配列を含む

10

20

30

40

50

む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 4 7 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 4 8 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

【 0 0 9 5 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 6 N 2 - 1 9 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 9 2 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 9 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【 0 0 9 6 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 6 N 2 - 1 9 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 8 8 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。 10

【 0 0 9 7 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 7 N 2 - 1 9 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 9 4 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 9 5 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 9 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 4 7 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 4 8 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

【 0 0 9 8 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 7 N 2 - 1 9 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 9 7 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 9 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。 20

【 0 0 9 9 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 7 N 2 - 1 9 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 9 3 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【 0 1 0 0 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 8 N 2 - 1 9 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 9 9 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 0 0 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 0 1 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 4 7 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 4 8 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。 30

【 0 1 0 1 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 8 N 2 - 1 9 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 1 0 2 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 9 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【 0 1 0 2 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 8 N 2 - 1 9 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 9 8 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。 40

【 0 1 0 3 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 9 N 2 - 1 9 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 1 0 4 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 0 5 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 0 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 4 7 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 4 8 の 50

アミノ酸配列を含むCDRL3を含むラムダ軽鎖を含む。

【0104】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM9N2-19は、配列番号4のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号107のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号149のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【0105】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM9N2-19は、配列番号5のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号103のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号145のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0106】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM10N2-19は、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDRH3を含む共通重鎖、配列番号109のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号110のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号111のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号146のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号147のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号148のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むラムダ軽鎖を含む。

10

【0107】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM10N2-19は、配列番号4のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号112のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号149のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

20

【0108】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM10N2-19は、配列番号5のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号108のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号145のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0109】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM11N2-19は、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDRH3を含む共通重鎖、配列番号114のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号115のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号116のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号146のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号147のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号148のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むラムダ軽鎖を含む。

30

【0110】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM11N2-19は、配列番号4のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号117のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号149のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【0111】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM11N2-19は、配列番号5のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号113のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号145のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

40

【0112】

例示的な抗IL2R および抗HER2二重特異性抗体

一部の実施形態では、二重特異性抗体P2C4×トラスツズマブは、配列番号11のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号12のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号13のアミノ酸配列を含むCDRH3、配列番号7のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号8のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号9のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むP2C4抗原結合ドメイン、ならびに配列番号27のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号28のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号29のアミノ酸配列を含むCDRH3、配列番号23のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号24のアミ

50

ノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号25のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むトラスツズマブ抗原結合ドメインを含む。

【0113】

一部の実施形態では、二重特異性抗体P2C4×トラスツズマブは、配列番号10のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号6のアミノ酸配列を含む軽鎖を含むP2C4抗原結合ドメイン、ならびに配列番号26のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号22のアミノ酸配列を含む軽鎖を含むトラスツズマブ抗原結合ドメインを含む。

【0114】

一部の実施形態では、二重特異性抗体P2C4×ペルツズマブは、配列番号11のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号12のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号13のアミノ酸配列を含むCDRH3、配列番号7のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号8のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号9のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むP2C4抗原結合ドメイン、ならびに配列番号35のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号36のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号37のアミノ酸配列を含むCDRH3、配列番号31のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号32のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号33のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むペルツズマブ抗原結合ドメインを含む。

10

【0115】

一部の実施形態では、二重特異性抗体P2C4×ペルツズマブは、配列番号10のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号6のアミノ酸配列を含む軽鎖を含むP2C4抗原結合ドメイン、ならびに配列番号34のアミノ酸配列を含む重鎖、および配列番号30のアミノ酸配列を含む軽鎖を含むペルツズマブ抗原結合ドメインを含む。

20

【0116】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AL1N2-28は、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDRH3を含む共通重鎖、配列番号39のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号40のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号41のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号151のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号152のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号153のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むラムダ軽鎖を含む。

30

【0117】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AL1N2-28は、配列番号4のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号42のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号154のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【0118】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AL1N2-28は、配列番号5のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号38のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号150のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0119】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AL2N2-28は、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDRH3を含む共通重鎖、配列番号44のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号45のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号46のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号151のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号152のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号153のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むラムダ軽鎖を含む。

40

【0120】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AL2N2-28は、配列番号4のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号47のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号154のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

50

## 【 0 1 2 1 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 2 N 2 - 2 8 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 1 5 0 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

## 【 0 1 2 2 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 3 N 2 - 2 8 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 4 9 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 5 1 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 5 2 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 5 3 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

10

## 【 0 1 2 3 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 3 N 2 - 2 8 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 5 2 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 1 5 4 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

## 【 0 1 2 4 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 3 N 2 - 2 8 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 4 8 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 1 5 0 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

20

## 【 0 1 2 5 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 N 2 - 2 8 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 5 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 5 1 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 5 2 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 5 3 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

## 【 0 1 2 6 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 N 2 - 2 8 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 5 7 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 1 5 4 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

30

## 【 0 1 2 7 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 N 2 - 2 8 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 1 5 0 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

## 【 0 1 2 8 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 5 N 2 - 2 8 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 5 9 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 6 0 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 6 1 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 5 1 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 5 2 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 5 3 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

40

## 【 0 1 2 9 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 5 N 2 - 2 8 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 6 2 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 1 5 4 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

## 【 0 1 3 0 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 5 N 2 - 2 8 は、配列番号 5 のアミノ酸配列

50

を含む共通重鎖、配列番号 58 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 150 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0131】

例示的な抗 I L 2 R および抗 H E R 2 二重特異性抗体

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 5 O 3 0 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 84 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 85 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 86 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 126 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 127 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 128 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

10

【0132】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 5 O 3 0 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 87 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 129 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【0133】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 5 O 3 0 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 83 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 125 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0134】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 5 O 3 5 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 84 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 85 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 86 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 131 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 132 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 133 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

20

【0135】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 5 O 3 5 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 87 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 134 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

30

【0136】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 5 O 3 5 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 83 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 130 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0137】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 5 O 3 8 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 84 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 85 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 86 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 カップー軽鎖、ならびに配列番号 136 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 137 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 138 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

40

【0138】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 5 O 3 8 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 87 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 139 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【0139】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A M 5 O 3 8 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 83 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 135 の

50

アミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0140】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM5041は、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDRH3を含む共通重鎖、配列番号84のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号85のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号86のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号141のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号142のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号143のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むラムダ軽鎖を含む。

【0141】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM5041は、配列番号4のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号87のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号144のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【0142】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM5041は、配列番号5のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号83のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号140のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0143】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM9030は、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDRH3を含む共通重鎖、配列番号104のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号105のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号106のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号126のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号127のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号128のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むラムダ軽鎖を含む。

【0144】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM9030は、配列番号4のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号107のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号129のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【0145】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AM9030は、配列番号5のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号103のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号125のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

【0146】

例示的な抗IL2R および抗HER2二重特異性抗体

一部の実施形態では、二重特異性抗体AL4030は、配列番号1のアミノ酸配列を含むCDRH1、配列番号2のアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDRH3を含む共通重鎖、配列番号54のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号55のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号56のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号126のアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号127のアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号128のアミノ酸配列を含むCDRL3を含むラムダ軽鎖を含む。

【0147】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AL4030は、配列番号4のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号57のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号129のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

【0148】

一部の実施形態では、二重特異性抗体AL4030は、配列番号5のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号53のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号125のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 4 9 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 O 3 5 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 5 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 3 1 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

## 【 0 1 5 0 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 O 3 5 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 5 7 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 4 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

10

## 【 0 1 5 1 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 O 3 5 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 1 3 0 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

## 【 0 1 5 2 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 O 3 8 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 5 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 3 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 3 7 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 3 8 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

20

## 【 0 1 5 3 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 O 3 8 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 5 7 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 1 3 9 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

## 【 0 1 5 4 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 O 3 8 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 1 3 5 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

30

## 【 0 1 5 5 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 O 4 1 は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R H 2、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R H 3 を含む共通重鎖、配列番号 5 4 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 5 6 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むカップー軽鎖、ならびに配列番号 1 4 1 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、配列番号 1 4 2 のアミノ酸配列を含む C D R L 2、および配列番号 1 4 3 のアミノ酸配列を含む C D R L 3 を含むラムダ軽鎖を含む。

40

## 【 0 1 5 6 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 O 4 1 は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む共通重鎖可変領域、配列番号 5 7 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖可変領域、および配列番号 1 4 4 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖可変領域を含む。

## 【 0 1 5 7 】

一部の実施形態では、二重特異性抗体 A L 4 O 4 1 は、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む共通重鎖、配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含むカップー軽鎖、および配列番号 1 4 0 のアミノ酸配列を含むラムダ軽鎖を含む。

## 【 0 1 5 8 】

使用方法

50

本開示は、

- a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに
  - b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体
- を含む組成物の使用を提供する。一部の態様では、組成物は、腫瘍成長を阻害するために使用される。一部の態様では、組成物は、癌の治療に使用される。一部の態様では、組成物は、T細胞介在性細胞殺傷を増強するために使用される。一部の態様では、組成物は、T細胞活性化に使用される。

【0159】

本開示は、その必要がある対象における細胞増殖性障害の少なくとも一つの症状を治療、予防または軽減するための方法を提供する。一部の態様では、方法は、その必要がある対象における細胞増殖性障害の少なくとも一つの症状を軽減する。一態様では、細胞増殖性障害は、癌である。

【0160】

一部の態様では、その必要がある対象における細胞増殖性障害の少なくとも一つの症状を治療、予防または軽減するための方法は、

- a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに
  - b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体
- を含む組成物を投与することを含む。

【0161】

一部の態様では、第一の二重特異性抗体および第二の二重特異性抗体は、対象に別個に投与される。一部の態様では、第一の二重特異性抗体および第二の抗体は、別個に製剤され、対象への投与の前に組み合わせられる。一部の実施形態では、第一の二重特異性抗体および第二の二重特異性抗体は、同時製剤され、対象に投与される。

【0162】

本明細書で使用される場合、「対象」は、任意の哺乳類、例えば、ヒト、霊長類、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ラクダであり得る。好ましい態様では、対象は、ヒトである。

【0163】

一部の態様では、「その必要がある対象」は、細胞増殖性障害を有する対象、または全体として集団全体と比較して細胞増殖性障害を発症するリスクが増加した対象である。一部の態様では、その必要がある対象は、前癌状態を有する。一態様では、その必要がある対象は、癌を有する。

【0164】

本明細書で使用される場合、「治療」は、疾患、状態、または障害と闘う目的のための患者の管理およびケアを記載し、症状もしくは合併症を減少もしくは軽減すること、または疾患、状態もしくは障害を除去することを含む。本明細書で使用される場合、「予防」は、疾患、状態または障害の症状または合併症の発症の停止を記載する。本明細書で使用される場合、「軽減」は、疾患、状態または障害の症状または合併症を低減することを記載する。

【0165】

本明細書で使用される場合、「細胞増殖性障害」という用語は、細胞の制御されていない、もしくは異常な成長、またはその両方が、癌性であっても癌性でなくてもよい、望ましくない状態または疾患の発症につながり得る状態を指す。本開示の例示的な細胞増殖性障害は、細胞分裂が脱制御される様々な条件を包含する。例示的な細胞増殖性障害としては、新生物、良性腫瘍、悪性腫瘍、前癌状態、原位腫瘍、封入腫瘍、転移性腫瘍、液体腫瘍、固形腫瘍、免疫腫瘍、血液腫瘍、癌、癌腫、白血病、リンパ腫、肉腫、および急速に

10

20

30

40

50

分裂する細胞が挙げられるが、これらに限定されない。細胞増殖性障害は、前癌または前癌状態を含む。細胞増殖性障害には、癌が含まれる。好ましくは、本明細書に提供される方法は、癌の症状を治療または軽減するために使用される。「癌」という用語は、固形腫瘍、ならびに血液腫瘍および/または悪性腫瘍を含む。「前癌細胞」または「前癌性細胞」は、前癌または前癌状態である細胞増殖性障害を示す細胞である。「癌細胞」または「癌性細胞」は、癌である細胞増殖性障害を示す細胞である。任意の再現性のある測定手段を使用して、癌細胞または前癌性細胞を特定してもよい。癌細胞または前癌性細胞は、組織試料（例えば、生検試料）の組織学的分類またはグレーディングによって同定することができる。癌細胞または前癌性細胞は、適切な分子マーカーの使用を通して同定することができる。

10

## 【0166】

例示的な癌としては、副腎皮質癌、AIDS関連癌、AIDS関連リンパ腫、肛門癌、肛門直腸癌、肛門管の癌、虫垂癌、小児小脳星状細胞腫、小児大脳星状細胞腫、基底細胞癌、皮膚癌（非黒色腫）、胆管癌、肝外胆管癌、肝内胆管癌、膀胱癌、膀胱癌、骨癌および関節癌、骨肉腫および悪性線維性組織球腫、脳癌、脳腫瘍、脳幹神経膠腫、小脳星状細胞腫、大脳星状細胞腫/悪性神経膠腫、上衣腫、髄芽腫、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、視覚路および視床下部神経膠腫、乳癌、気管支腺腫/カルチノイド、カルチノイド腫瘍、胃腸系、神経系癌、神経系リンパ腫、中枢神経系癌、中枢神経系リンパ腫、子宮頸癌、小児癌、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄増殖性疾患、大腸癌、結腸直腸癌、皮膚T細胞リンパ腫、リンパ性新生物、菌状息肉症、セザリイ症候群、子宮内膜癌、食道癌、頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外生殖細胞腫瘍、肝外胆管癌、眼癌、眼内黒色腫、網膜芽細胞腫、胆嚢癌、胃（胃）癌、胃腸カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍（GIST）、生殖細胞腫瘍、卵巣生殖細胞腫瘍、妊娠絨毛性腫瘍神経膠腫、頭頸部癌、肝細胞（肝臓）癌、ホジキンリンパ腫、下咽頭癌、眼内黒色腫、眼癌、膵島細胞腫瘍（内分泌膵臓）、カボジ肉腫、腎臓癌、腎臓癌、咽頭癌、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、ヘアリーセル白血病、唇および口腔癌、肝臓癌、肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、AIDS関連リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、ワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症、髄芽腫、黒色腫、眼内（眼）黒色腫、メルケル細胞癌、悪性中皮腫、中皮腫、転移性扁平上皮頸部癌、口腔癌、舌癌、多発性内分泌腫瘍症候群、菌状息肉症、骨髄異形成症候群、骨髄異形成/骨髄増殖性疾患、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、慢性骨髄増殖性疾患、鼻咽頭癌、ニューロblastoma、口腔癌、口腔癌、中咽頭癌、卵巣癌、卵巣上皮癌、卵巣低悪性度腫瘍、膵臓癌、膵島細胞性膵臓癌、副鼻腔癌および鼻腔癌、副甲状腺癌、陰茎癌、咽頭癌、褐色細胞腫、松果体芽腫およびテント上原始神経外胚葉性腫瘍、下垂体腫瘍、形質細胞新生物/多発性骨髄腫、胸膜肺芽細胞腫、前立腺癌、直腸癌、腎盂および尿管、移行細胞癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、ユーイング系の肉腫、カボジ肉腫、子宮癌、子宮肉腫、皮膚癌（非黒色腫）、皮膚癌（黒色腫）、メルケル細胞皮膚癌、小腸癌、軟部組織肉腫、扁平上皮癌、胃（胃）癌、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、精巣癌、咽頭癌、胸腺腫、胸腺腫および胸腺癌腫、甲状腺癌、腎盂および尿管および他の尿器官の移行細胞癌、妊娠性絨毛性腫瘍、尿道癌、子宮内膜子宮癌、子宮肉腫、子宮体癌、陰癌、外陰部癌、ならびにウィルム腫瘍が挙げられるが、これらに限定されない。例示的な癌としては、白血病、リンパ腫、乳癌、大腸癌、卵巣癌、膀胱癌、前立腺癌、神経膠腫、肺および気管支癌、結腸直腸癌、膵臓癌、食道癌、肝臓癌、膀胱癌、腎臓癌および腎盂癌、口腔および咽頭癌、子宮体癌、ならびに/または黒色腫が挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

40

## 【0167】

治療レジメンは、標準的な方法を使用して、対象、例えば、癌に罹患している（または発症するリスクがある）ヒト患者を同定することによってなされる。有効な治療は、特定の免疫関連障害を診断または治療するための任意の公知の方法に関連して決定される。免疫関連障害の一つまたは複数の症状の軽減は、抗体が臨床的利益をもたらすことを示す。

50

## 【 0 1 6 8 】

一部の態様では、癌の治療は、腫瘍のサイズの低減をもたらす。腫瘍のサイズの低減は、「腫瘍退縮」とも呼ばれ得る。好ましくは、治療後、腫瘍サイズは、治療前のそのサイズと比較して5%以上低減し、より好ましくは、腫瘍サイズは、10%以上低減し、より好ましくは、20%以上低減し、より好ましくは、30%以上低減し、より好ましくは、40%以上低減し、さらにより好ましくは、50%以上低減し、最も好ましくは、75%以上低減する。腫瘍のサイズは、任意の再現性のある測定手段によって測定されてもよい。

## 【 0 1 6 9 】

一部の態様では、癌の治療は、腫瘍体積の低減をもたらす。好ましくは、治療後、腫瘍体積は、治療前のそのサイズと比較して5%以上低減し、より好ましくは、腫瘍体積は、10%以上低減し、より好ましくは、20%以上低減し、より好ましくは、30%以上低減し、より好ましくは、40%以上低減し、さらにより好ましくは、50%以上低減し、最も好ましくは、75%以上低減する。腫瘍体積は、任意の再現性のある測定手段によって測定されてもよい。

10

## 【 0 1 7 0 】

一部の態様では、癌の治療は、腫瘍数の減少をもたらす。好ましくは、治療後、腫瘍数は、治療前のその数と比較して5%以上低減し、より好ましくは、腫瘍数は、10%以上低減し、より好ましくは、20%以上低減し、より好ましくは、30%以上低減し、より好ましくは、40%以上低減し、さらにより好ましくは、50%以上低減し、最も好ましくは、75%より高く低減する。腫瘍数は、任意の再現性のある測定手段によって測定されてもよい。

20

## 【 0 1 7 1 】

一部の態様では、癌の治療は、原発腫瘍部位から離れた他の組織または器官における転移性病変の数の減少をもたらす。好ましくは、治療後、転移性病変の数は、治療前のその数と比較して5%以上低減し、より好ましくは、転移性病変の数は、10%以上低減し、より好ましくは、20%以上低減し、より好ましくは、30%以上低減し、より好ましくは、40%以上低減し、さらにより好ましくは、50%以上低減し、最も好ましくは、75%より高く低減する。転移性病変の数は、任意の再現性のある測定手段によって測定されてもよい。

30

## 【 0 1 7 2 】

一部の態様では、癌の治療は、担体のみを受けている集団と比較して、治療された対象の集団の平均生存期間の増加をもたらす。好ましくは、平均生存期間は、30日超、より好ましくは、60日超、より好ましくは90日超、最も好ましくは、120日超増加する。集団の平均生存期間の増加は、任意の再現性のある手段によって測定され得る。一部の態様では、集団の平均生存期間の増加は、例えば、活性化化合物を用いた治療開始後の生存の平均の長さを集団について計算することによって測定され得る。一部の態様では、集団の平均生存期間の増加はまた、例えば、活性化化合物を用いた治療の第一ラウンドの開始後の生存の平均の長さを集団について計算することによって測定され得る。

## 【 0 1 7 3 】

一部の態様では、癌の治療は、治療されていない対象の集団と比較して、治療された対象の集団の平均生存期間の増加をもたらす。好ましくは、平均生存期間は、30日超、より好ましくは、60日超、より好ましくは90日超、最も好ましくは、120日超増加する。集団の平均生存期間の増加は、任意の再現性のある手段によって測定され得る。好ましい態様では、集団の平均生存期間の増加は、例えば、集団について、活性化化合物を用いた治療開始後の平均生存期間を計算することによって測定され得る。別の好ましい態様では、集団の平均生存期間の増加はまた、例えば、活性化化合物を用いた治療の第一ラウンドの開始後の生存の平均の長さを集団について計算することによって測定され得る。

40

## 【 0 1 7 4 】

一部の態様では、癌の治療は、本開示の組換えポリペプチドでない療法を受けている集

50

団と比較して、治療された対象の集団の平均生存期間の増加をもたらす。好ましくは、平均生存期間は、30日超、より好ましくは、60日超、より好ましくは90日超、最も好ましくは、120日超増加する。集団の平均生存期間の増加は、任意の再現性のある手段によって測定され得る。好ましい態様では、集団の平均生存期間の増加は、例えば、集団について、活性化化合物を用いた治療開始後の平均生存期間を計算することによって測定され得る。別の好ましい態様では、集団の平均生存期間の増加はまた、例えば、活性化化合物を用いた治療の第一ラウンドの開始後の生存の平均の長さを集団について計算することによって測定され得る。

【0175】

一部の態様では、癌の治療は、担体のみを受けている集団と比較して、治療された対象の集団の死亡率の減少をもたらす。一部の態様では、癌の治療は、治療されていない集団と比較して、治療された対象の集団の死亡率の減少をもたらす。さらなる態様では、癌の治療は、本開示の組換えポリペプチドでない薬物を用いた単独療法を受けている集団と比較して、治療された対象の集団の死亡率の減少をもたらす。好ましくは、死亡率は、2%超、より好ましくは、5%超、より好ましくは、10%超、最も好ましくは、25%超減少する。一部の態様では、治療された対象の集団の死亡率の減少は、任意の再現性のある手段によって測定され得る。一部の態様では、集団の死亡率の減少は、例えば、集団について、活性化化合物を用いた治療の開始後の単位時間当たりの疾患関連死の平均数を計算することによって測定され得る。一部の態様では、集団の死亡率の減少はまた、例えば、集団について、活性化化合物を用いた治療の第一ラウンドの完了後の単位時間当たりの疾患関連死の平均数を計算することによって測定され得る。

【0176】

一部の態様では、癌の治療は、腫瘍成長速度の減少をもたらす。好ましくは、治療後、腫瘍成長速度は、治療前の数と比較して、少なくとも5%低減され、より好ましくは、腫瘍成長速度は、少なくとも10%低減され、より好ましくは、少なくとも20%低減され、より好ましくは、少なくとも30%低減され、より好ましくは、少なくとも40%低減され、より好ましくは、少なくとも50%低減され、なおより好ましくは、少なくとも50%低減され、最も好ましくは、少なくとも75%低減される。腫瘍成長速度は、任意の再現性のある測定手段によって測定されてもよい。一部の態様では、腫瘍成長速度は、単位時間当たりの腫瘍直径の変化によって測定される。

【0177】

一部の態様では、癌の治療は、腫瘍再成長の減少をもたらす。好ましくは、治療後、腫瘍再成長は、5%未満であり、より好ましくは、腫瘍再増殖は、10%未満であり、より好ましくは、20%未満であり、より好ましくは、30%未満であり、より好ましくは、40%未満であり、より好ましくは、50%未満であり、なおより好ましくは、50%未満であり、最も好ましくは、75%未満である。腫瘍再成長は、任意の再現性のある測定手段によって測定されてもよい。一部の態様では、腫瘍再成長は、例えば、治療後の以前の腫瘍縮小後の腫瘍の直径の増加を測定することによって測定される。一部の態様では、腫瘍再成長の減少は、治療停止後に腫瘍が再発しないことによって示される。

【0178】

一部の態様では、癌の治療、予防、または軽減は、細胞増殖速度の低減をもたらす。好ましくは、治療後、細胞増殖速度は、少なくとも5%、より好ましくは、少なくとも10%、より好ましくは、少なくとも20%、より好ましくは、少なくとも30%、より好ましくは、少なくとも40%、より好ましくは、少なくとも50%、なおより好ましくは、少なくとも50%、最も好ましくは、少なくとも75%低減される。細胞増殖速度は、任意の再現性のある測定手段によって測定されてもよい。一部の態様では、細胞増殖速度は、例えば、単位時間当たりの組織試料中の分裂細胞の数を測定することによって測定される。

【0179】

一部の態様では、癌の治療、予防、または軽減は、増殖細胞の集団の低減をもたらす。

好ましくは、治療後、増殖細胞の集団は、少なくとも5%、より好ましくは、少なくとも10%、より好ましくは、少なくとも20%、より好ましくは、少なくとも30%、より好ましくは、少なくとも40%、より好ましくは、少なくとも50%、なおより好ましくは、少なくとも50%、最も好ましくは、少なくとも75%低減される。増殖細胞の集団は、任意の再現性のある測定手段によって測定されてもよい。一部の態様では、増殖細胞の割合は、例えば、組織試料中の非分裂細胞の数と比較して分裂細胞の数を定量することによって測定される。一部の態様では、増殖細胞の割合は、有糸分裂指数と同等である。

【0180】

一部の態様では、癌の治療、予防、または軽減は、細胞増殖の範囲またはゾーンのサイズの減少をもたらす。好ましくは、治療後、細胞増殖の範囲またはゾーンのサイズは、治療前のそのサイズと比較して少なくとも5%低減され、より好ましくは、少なくとも10%低減され、より好ましくは、少なくとも20%低減され、より好ましくは、少なくとも30%低減され、より好ましくは、少なくとも40%低減され、より好ましくは、少なくとも50%低減され、なおより好ましくは、少なくとも50%低減され、最も好ましくは、少なくとも75%低減される。細胞増殖の範囲またはゾーンのサイズは、任意の再現性のある測定手段によって測定されてもよい。一部の態様では、細胞増殖の範囲またはゾーンのサイズは、細胞増殖の範囲またはゾーンの直径または幅として測定され得る。

10

【0181】

一部の態様では、癌の治療、予防、または軽減は、異常な外観または形態を有する細胞の数または割合の減少をもたらす。好ましくは、治療後、異常な形態を有する細胞の数は、治療前のそのサイズと比較して少なくとも5%低減され、より好ましくは、少なくとも10%低減され、より好ましくは、少なくとも20%低減され、より好ましくは、少なくとも30%低減され、より好ましくは、少なくとも40%低減され、より好ましくは、少なくとも50%低減され、なおより好ましくは、少なくとも50%低減され、最も好ましくは、少なくとも75%低減される。異常な細胞外観または形態は、任意の再現性のある測定手段によって測定され得る。一部の態様では、異常な細胞形態は、顕微鏡によって、例えば、倒立組織培養顕微鏡を使用して測定される。一部の態様では、異常な細胞形態は、核多型の形態をとる。

20

【0182】

一部の態様では、癌または細胞増殖性障害の治療は、細胞死をもたらす、好ましくは、細胞死は、集団内の細胞数において少なくとも10%の減少をもたらす。より好ましくは、細胞死は、少なくとも20%の減少を意味し、より好ましくは、少なくとも30%の減少、より好ましくは、少なくとも40%の減少、より好ましくは、少なくとも50%の減少、最も好ましくは、少なくとも75%の減少を意味する。集団内の細胞数は、任意の再現性のある手段によって測定されてもよい。一部の態様では、集団内の細胞数は、蛍光活性化細胞ソーティング(FACS)によって測定される。一部の態様では、集団内の細胞数は、免疫蛍光顕微鏡法によって測定される。一部の態様では、集団内の細胞数は、光学顕微鏡によって測定される。一部の態様では、細胞死を測定する方法は、Li et al., (2003) Proc Natl Acad Sci USA, 100(5): 2674-8に示される。

30

40

【0183】

本開示は、細胞の集団に、

a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに  
b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体を含む組成物を提供することを含む、免疫細胞介在性細胞殺傷を増強する方法を提供する。一部の態様では、本開示は、T細胞介在性細胞殺傷を増強する方法を提供する。一部の態様では、癌T細胞介在性細胞殺傷は、細胞死をもたらす、好ましくは、細胞死は、集団内の細胞数において少なくとも10%の減少をもたらす。より好ましくは、細胞死は、少

50

なくとも20%の減少を意味し、より好ましくは、少なくとも30%の減少、より好ましくは、少なくとも40%の減少、より好ましくは、少なくとも50%の減少、最も好ましくは、少なくとも75%の減少を意味する。集団内の細胞数は、任意の再現性のある手段によって測定されてもよい。

#### 【0184】

本開示は、免疫細胞の集団に、

a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第一の二重特異性抗体、ならびに  
b) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびサイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインを含む、第二の二重特異性抗体を含む組成物を提供することを含む、免疫細胞活性化を増強する方法を提供する。一部の態様では、本開示は、T細胞活性化を増強する方法を提供する。一部の態様では、T細胞活性化は、サイトカインシグナル伝達活性化を含む。好ましくは、治療後、集団内の活性化T細胞の割合は、少なくとも5%、より好ましくは、少なくとも10%、より好ましくは、少なくとも20%、より好ましくは、少なくとも30%、より好ましくは、少なくとも40%、より好ましくは、少なくとも50%、なおより好ましくは、少なくとも50%、最も好ましくは、少なくとも75%増加される。一部の態様では、サイトカインシグナル伝達活性化は、IL2受容体シグナル伝達活性化である。一部の態様では、サイトカインシグナル伝達活性化は、IL15受容体シグナル伝達活性化である。

10

#### 【0185】

医薬組成物

本発明の抗体（本明細書では「活性化化合物」とも呼ばれる）、ならびにその誘導体、断片、類似体および相同体は、投与に適した医薬組成物に組み込まれ得る。かかる組成物は、典型的には、抗体および薬学的に許容可能な担体を含む。本明細書で使用される場合、「薬学的に許容可能な担体」という用語は、医薬投与に適合する、任意および全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などを含むことが意図される。好適な担体は、当該技術分野の標準的な参照テキストであるRemington's Pharmaceutical Sciencesの最新版に記載されており、これは参照により本明細書に組み込まれる。このような担体または希釈剤の好ましい例としては、水、生理食塩水、リンゲル溶液、デキストロース溶液、および5%ヒト血清アルブミンが挙げられるが、これらに限定されない。リポソームおよび揮発性油などの非水性ビヒクルも使用され得る。医薬的に活性な物質のためのこのような媒体および薬剤の使用は、当該技術分野で周知である。任意の従来媒体または薬剤が、活性化化合物と不適合である場合を除き、組成物におけるその使用が企図される。補助的な活性化化合物も、組成物に組み込まれ得る。

20

30

#### 【0186】

本発明の医薬組成物は、その意図される投与経路に適合するように製剤化される。投与経路の例としては、非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口（例えば、吸入）、経皮（すなわち、局所）、経粘膜、および直腸投与が挙げられる。非経口、皮内、または皮下投与に使用される溶液または懸濁液は、以下の成分：注射用水、生理食塩水溶液、揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒などの無菌の希釈剤、ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗菌剤、アスコルビン酸または亜硫酸ナトリウムなどの酸化防止剤、エチレンジアミンテトラ酢酸（EDTA）などのキレート剤、酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩などの緩衝液、および塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの浸透圧を調節するための薬剤を含み得る。pHは、塩酸または水酸化ナトリウムなどの酸または塩基で調節することができる。非経口調製物は、アンプル剤、使い捨てシリンジまたはガラスもしくはプラスチックで作製された複数回投与バイアルに封入され得る。

40

#### 【0187】

注射可能な使用に適した医薬組成物には、無菌の水溶液（水溶性の場合）または分散液

50

および無菌の注射可能な溶液または分散液の即時調製のための無菌の粉末が含まれる。静脈内投与のための、好適な担体としては、生理食塩水、静菌水、Cremophor E L (商標) (BASF, Parsippany, N. J.) またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) が挙げられる。いずれの場合も、組成物は、無菌でなければならず、容易なシリジ化性が存在する程度まで流動的であるべきである。これは、製造および保存の条件下で安定でなければならず、細菌および真菌などの微生物の混入作用に対して保存されなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール (例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど)、ならびにその好適な混合物を含有する溶媒または分散媒体であり得る。妥当な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散液の場合に必要な粒子サイズの維持によって、および界面活性剤の使用によって維持され得る。微生物の作用の阻止は、様々な抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどによって達成することができる。多くの場合、組成物中に等張剤、例えば、糖、マニトール、ソルビトール、塩化ナトリウムを含むことが好ましい。注射用組成物の持続的吸収は、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンなどの吸収を遅延させる薬剤を組成物中に含めることによってもたらされ得る。

10

#### 【0188】

無菌の注射用溶液は、必要に応じて、上記に列挙された成分の一つまたは組み合わせを有する適切な溶媒中に必要量の活性化化合物を組み込み、続いて濾過滅菌することによって調製することができる。一般的に、分散液は、活性化化合物を、塩基性分散液媒体および上記に列挙されたものから必要な他の成分を含有する無菌のビヒクルに組み込むことによって調製される。無菌の注射溶液の調製のための無菌の粉末の場合、調製方法は、真空乾燥および凍結乾燥であり、これは、従前の滅菌濾過されたその溶液からの有効成分および任意の追加の所望の成分の粉末をもたらす。

20

#### 【0189】

経口組成物は、概して、不活性希釈剤または食用の担体を含む。それらは、ゼラチンカプセル剤に封入するか、または錠剤に圧縮することができる。経口治療投与の目的で、活性化化合物は、賦形剤と共に組み込まれ、錠剤、トローチ、またはカプセル剤の形態で使用され得る。経口組成物はまた、口腔洗浄液として使用するための流体担体を使用して調製することができ、ここで、流体担体中の化合物は、経口的に適用され、嚥下され、排痰または嚥下される。医薬的に適合可能な結合剤、および/またはアジュバント材料は、組成物の一部として含まれ得る。錠剤、ピル剤、カプセル剤、トローチなどは、以下の成分、または類似の性質の化合物：微結晶セルロース、トラガカントガムもしくはゼラチンなどの結合剤、デンプンもしくはラクトースなどの賦形剤、アルギン酸、Primogel、もしくはトウモロコシデンプンなどの崩壊剤、ステアリン酸マグネシウムもしくはSterroteなどの滑沢剤、コロイド状二酸化ケイ素などの滑剤、スクロースもしくはサッカリンなどの甘味剤、またはペパーミント、サリチル酸メチル、オレンジ香味料などの香味剤のいずれかを含有することができる。

30

#### 【0190】

吸入による投与のために、化合物は、好適な噴射剤、例えば、二酸化炭素などのガスを含む加圧容器もしくはディスペンサー、またはネブライザーからエアロゾルスプレーの形態で送達される。

40

#### 【0191】

全身投与は、経粘膜的手段または経皮的手段による場合もある。経粘膜投与または経皮投与については、透過されるべきバリアに適切な浸透剤が、製剤に使用される。このような浸透剤は、当該技術分野で一般的に知られており、例えば、経粘膜投与のため、界面活性剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体を含む。経粘膜投与は、鼻スプレーまたは座薬の使用を通して達成することができる。経皮投与については、活性化化合物は、当該技術分野で一般的に知られている軟膏、軟膏、ゲル剤、またはクリーム剤に製剤される。

#### 【0192】

50

化合物はまた、直腸送達のための座薬（例えば、ココアバターおよび他のグリセリドなどの従来の座薬基材を含む）または保持浣腸の形態で調製することができる。

【0193】

一実施形態では、活性化合物は、植込錠およびマイクロカプセル化送達システムを含む制御放出製剤などの、身体からの迅速な除去から化合物を保護する担体を用いて調製される。エチレンビニルアセテート、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸などの生分解性の生体適合性ポリマーを使用することができる。このような製剤の調製方法は、当業者には明らかであろう。材料は、Alza CorporationおよびNova Pharmaceuticals, Inc. から市販で得ることができる。リポソーム懸濁液（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を有する感染細胞を標的とするリポソームを含む）も、薬学的に許容可能な担体として使用することができる。これらは、例えば、米国特許第4,522,811号に記載される、当業者に公知の方法に従って調製することができる。

10

【0194】

投与の容易さおよび投薬量の均一性のために、経口組成物または非経口組成物を投薬単位形態で製剤化することが特に有利である。本明細書で使用される場合、投薬単位形態は、治療されるべき対象のための単位投薬量として好適な物理的に別個な単位を指し、各単位は、必要な医薬担体に関連して所望の治療効果をもたらすように計算された予め決定された量の活性化合物を含有する。本発明の投薬単位形態の仕様は、活性化合物の固有の特徴および達成されるべき特定の治療効果、ならびに個体の治療のためにかかる活性化合物を配合する技術に固有の制限によって決定され、かつそれらに直接依存する。

20

【0195】

医薬組成物は、投与のための説明書と共に、容器、パック、またはディスペンサーに含まれ得る。

【0196】

併用療法

a) 第一の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインとサイトカイン受容体の第一のサブユニットに結合する抗原結合ドメインとを含む第一の二重特異性抗体、およびb) 第二の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインとサイトカイン受容体の第二のサブユニットに結合する抗原結合ドメインとを含む第二の二重特異性抗体を含む本開示の組成物が、任意の他の標準的な療法と組み合わせて投与され、このような方法は、当業者に公知であり、Remington's Pharmaceutical Sciences by E. W. Martinに記載される。望ましい場合、本開示の組成物は、免疫療法、治療用抗体、標的療法、手術、放射線療法、または化学療法を含むが、これに限定されない任意の従来の抗腫瘍療法と組み合わせて投与される。

30

【0197】

一部の実施形態では、本開示の組成物は、c) 第三の腫瘍関連抗原に結合する抗原結合ドメインおよびT細胞上に発現される抗原に結合する抗原結合ドメインを含む第三の二重特異性抗体と組み合わせて投与される。一部の態様では、T細胞上に発現される抗原は、CD3抗原である。理論によって結び付けられるものではないが、第三の二重特異性抗体の添加は、TAAおよびTCR複合体を標的とする二重特異性エンゲージャーを使用してT細胞垂集団をさらに活性化することによって、組成物の臨床結果を改善することができる。理論によって結び付けられるものではないが、本発明者らは、本開示の二重特異性抗体を組み合わせることは、腫瘍細胞のT細胞媒介性溶解を促進する（例えば、TCRをクラスター形成することによって）一次シグナル伝達経路とT細胞増殖を誘導してアネルギーを克服する第二の共刺激経路の両方を刺激できると考えている。

40

【0198】

定義

添付の特許請求の範囲を含む、本明細書で使用される場合、「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」などの単数形の単語は、文脈が別途明確に示さ

50

ない限り、それらの対応する複数の参照物を含む。

【0199】

「親和性」は、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有相互作用の合計の強度を指す。別段示されない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」とは、結合対（例えば、抗体と抗原）のメンバー間の1：1の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子Xの、そのパートナーYに対する親和性は、解離定数（ $K_{sub D}$ ）によって一般的に表すことができる。親和性は、 $K_{inExA}$ および*Biacore*を含む、当該技術分野で公知の一般的な方法によって測定することができる。

【0200】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、完全ヒト抗体、およびキメラ抗体を含むが、これらに限定されない。

【0201】

本明細書で使用される場合、別段示されない限り、「抗原結合断片」とは、抗体の抗原結合断片、すなわち、全長抗体によって結合される抗原に結合する能力を保持する抗体断片、例えば、一つまたは複数のCDR領域を保持する断片を指す。抗体結合断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv断片および個々の抗体重鎖または軽鎖、ならびに個々の重鎖または軽鎖可変領域が挙げられるが、これらに限定されない。

【0202】

「Fab断片」は、一つの軽鎖ならびに一つの重鎖のCH1および可変領域からなる。Fab分子の重鎖は、別の重鎖分子とジスルフィド結合を形成することができない。「Fab断片」は、抗体のパイン切断の産物であり得る。

【0203】

「Fc」領域は、抗体のCH1ドメインおよびCH2ドメインを含む二つの重鎖断片を含有する。二つの重鎖断片は、二つ以上のジスルフィド結合によって、およびCH3ドメインの疎水性相互作用によって一緒に保持される。

【0204】

「Fab'断片」は、一つの軽鎖ならびにVHドメインおよびCH1ドメイン、ならびにCH1ドメインとCH2ドメインとの間の領域も含有する一つの重鎖の一部または断片を含有し、それにより、鎖間ジスルフィド結合が、二つのFab'断片の二つの重鎖の間に形成されて、F(ab')<sub>2</sub>分子を形成することができる。

【0205】

「F(ab')<sub>2</sub>断片」は、二つの軽鎖およびCH1ドメインとCH2ドメインとの間の定常領域の一部を含有する二つの重鎖を含有し、それにより、鎖間ジスルフィド結合が、二つの重鎖の間に形成される。したがって、F(ab')<sub>2</sub>断片は、二つの重鎖間のジスルフィド結合によって一緒に保持される二つのFab'断片から構成される。「F(ab')<sub>2</sub>断片」は、抗体のペプシン切断の産物であり得る。「Fv領域」は、重鎖と軽鎖の両方の可変領域を含むが、定常領域を欠く。

【0206】

「単離抗体」とは、精製状態を指し、そのような文脈では、分子は、核酸、タンパク質、脂質、炭水化物、または細胞破片および成長培地などの他の材料などの他の生物学的分子を実質的に含まないことを意味する。概して、「単離された」という用語は、本明細書に記載される結合化合物の実験的または治療的使用に実質的に干渉する量で存在しない限り、かかる材料の完全な不在、または水、緩衝液、もしくは塩の不在を指すことを意図するものではない。

【0207】

本明細書で使用される場合、「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均質な抗体の集団を指し、すなわち、集団を含む抗体分子は、少量で存在し得る可能性のある天然

10

20

30

40

50

に存在する変異を除いて、アミノ酸配列において同一である。対照的に、従来の（ポリクローナル）抗体調製物は、典型的には、異なるエピトープにしばしば特異的である可変ドメイン内に異なるアミノ酸配列を有する多数の異なる抗体を含む。修飾語句「モノクローナル」は、抗体の実質的に均質な集団から得られる抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈されるべきではない。例えば、本発明に従って使用されるべきモノクローナル抗体は、Kohler et al. (1975) Nature 256: 495によって最初に記載されたハイブリドーマ法によって作られてもよいが、または組換えDNA法（例えば、米国特許第4,816,567号を参照）によって作られてもよい。「モノクローナル抗体」はまた、Clackson et al. (1991) Nature 352: 624-628およびMarks et al. (1991) J. Mol. Biol. 222: 581-597などに記載される技術を使用してファージ抗体ライブラリーから単離されてもよい。Presta (2005) J. Allergy Clin. Immunol. 116: 731を参照されたい。

10

#### 【0208】

「完全ヒト抗体」という用語は、ヒト免疫グロブリンタンパク質配列のみを含む抗体を指す。完全ヒト抗体は、マウス、マウス細胞、またはマウス細胞に由来するハイブリドーマにおいて産生される場合、マウス炭水化物鎖を含有してもよい。同様に、「マウス抗体」は、マウス免疫グロブリン配列のみを含む抗体を指す。あるいは、完全ヒト抗体は、ラット、ラット細胞、またはラット細胞に由来するハイブリドーマにおいて産生される場合、ラット炭水化物鎖を含有してもよい。同様に、「ラット抗体」は、ラット免疫グロブリン配列のみを含む抗体を指す。

20

#### 【0209】

一般に、基本的な「抗体」構造単位は、四量体を含む。単一特異性抗体では、各四量体は、二つの同一のポリペプチド鎖対を含み、各対は、一つの「軽鎖」（約25 kDa）および一つの「重鎖」（約50~70 kDa）を有する。各鎖のアミノ末端部分は、主に抗原認識に関与する約100~110個以上のアミノ酸の「可変領域」または「可変ドメイン」を含む。重鎖のカルボキシ末端部分は、主に、エフェクター機能に関与する定常領域を定義し得る。

#### 【0210】

典型的には、ヒト定常軽鎖は、カッパー軽鎖およびラムダ軽鎖に分類される。さらに、ヒト定常重鎖は、典型的には、ミュー、デルタ、ガンマ、アルファ、またはイプシロンに分類され、抗体のアイソタイプをそれぞれIgM、IgD、IgG、IgA、およびIgEとして定義する。これらのIgGのサブタイプには、例えば、IgG1およびIgG4が含まれる。

30

#### 【0211】

本明細書で使用される場合、「可変領域」、「可変ドメイン」、「V領域」、または「V鎖」は、異なる抗体間で配列が可変であるIgG鎖のセグメントを意味する。抗体の「可変領域」とは、単独または組み合わせのいずれかの、抗体軽鎖の可変領域または抗体重鎖の可変領域を指す。重鎖の可変領域は、「V.sub.H.」と呼ばれてもよい。軽鎖の可変領域は、「V.sub.L.」と呼ばれてもよい。典型的には、重鎖と軽鎖の両方の可変領域は、比較的保存されたフレームワーク領域（FR）内に位置する、相補性決定領域（CDR）とも呼ばれる三つの超可変領域を含む。CDRは、通常、フレームワーク領域によって整列され、これにより、特定のエピトープへの結合が可能になる。一般に、N末端からC末端まで、軽鎖可変ドメインと重鎖可変ドメインの両方は、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、およびFR4を含む。各ドメインへのアミノ酸の割当は、概して、Immunological Interest, Kabat, et al., National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed., NIH Publ. No. 91-3242 (1991)、Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32: 1-75、Kabat, et al., (1977) J. Biol. Chem. 252: 6609-661

40

50

6、Chothia, et al., (1987) J Mol Biol. 196: 901-917 または Chothia, et al., (1989) Nature 342: 878-883. のタンパク質の配列の定義に従う。

【0212】

「CDR」は、抗体 V<sub>sub</sub>H ベータ-シートフレームワークの非フレームワーク領域内の三つの超可変領域 (H1、H2、もしくは H3) のうちのひとつ、または抗体 V<sub>sub</sub>L ベータ-シートフレームワークの非フレームワーク領域内の三つの超可変領域 (L1、L2、もしくは L3) のうちのひとつを指す。したがって、CDR は、フレームワーク領域配列内に散在する可変領域配列である。CDR 領域は、当業者に周知であり、例えば、抗体可変ドメイン内の最も超可変性の領域として Kabat によって定義されてきた。CDR 領域配列はまた、保存されたベータシートフレームワークの一部ではなく、したがって、異なる構造に適合することができる残基として Chothia によって構造的に定義されている。両方の用語は、当該技術分野で周知である。CDR 領域配列は、AbM、Contact、および IMGT によっても定義される。標準抗体可変領域内の CDR の位置は、多数の構造の比較によって決定されている (Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol. 273: 927-48、Morea et al., 2000, Methods 20: 267-79)。超可変領域内の残基の数は、異なる抗体で異なるため、標準位置に対する追加の残基は、標準可変領域ナンバリングスキームの残基数の隣に a、b、c など従来ナンバリングされる (Al-Lazikani et al., 上記)。こうした命名法は、当業者には同様に周知である。例えば、Kabat ナンバリングおよび IMGT 固有ナンバリングシステムを含むナンバリングシステム間の対応は、当業者に周知である。いくつかの実施形態では、CDR は、Kabat ナンバリングシステムによって定義されるとおりである。他の実施形態では、CDR は、IMGT ナンバリングシステムによって定義されるとおりである。さらに他の実施形態では、CDR は、AbM ナンバリングシステムによって定義されるとおりである。なお他の実施形態では、CDR は、Chothia ナンバリングシステムによって定義されるとおりである。さらに他の実施形態では、CDR は、Contact ナンバリングシステムによって定義されるとおりである。

10

20

【0213】

配列同一性は、二つの配列が最適に整列されるとき、二つのポリペプチドのアミノ酸が、同等の位置で同じである程度を指す。

30

【0214】

配列類似性には、同一の残基および非同一の生化学的に関連するアミノ酸が含まれる。類似の特性を共有し、交換可能であり得る生化学的に関連するアミノ酸が、上で考察されている。

【0215】

「保存的に修飾されたバリエーション」または「保存的置換」とは、タンパク質の生物学的活性を変化させることなく変更を頻繁に行うことができるように、タンパク質中のアミノ酸を、類似の特性 (例えば、電荷、側鎖サイズ、疎水性/親水性、骨格構造および剛性など) を有する他のアミノ酸と置換することを指す。当業者であれば、概して、ポリペプチドの非必須領域における単一アミノ酸置換は、生物学的活性を実質的に変化させないことを認識している (例えば、Watson et al. (1987) Molecular Biology of the Gene, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.) を参照)。さらに、構造的または機能的に類似したアミノ酸の置換は、生物学的活性を破壊する可能性が低い。

40

【0216】

本明細書で使用される場合、「エピトープ」という用語は、抗体または抗原結合断片が結合する抗原上の範囲または領域を指す。本明細書に開示される抗体またはその抗原結合性断片のエピトープへの結合は、抗体またはその抗原結合性断片が、エピトープ内の一つまたは複数のアミノ酸残基に結合することを意味する。

50

## 【0217】

「単離」核酸分子またはポリヌクレオチドとは、DNAまたはRNA、例えば、ゲノム、mRNA、cDNA、もしくは合成起源のDNAまたはRNA、あるいは単離ポリヌクレオチドが自然界で見出されるポリヌクレオチドのすべてもしくは一部と関連付けられていないか、または自然界で関連付けられていないポリヌクレオチドに関連付けられている、そのいくつかの組み合わせを意味する。本開示の目的のために、特定のヌクレオチド配列「を含む（またはこれに類するもの）ポリヌクレオチド」は、インタクトな染色体を包含しないことが理解されるべきである。特定の核酸配列「を含む」単離されたポリヌクレオチドは、特定の配列に加えて、最大10個、もしくはさらに最大20個以上の他のタンパク質またはその部分もしくは断片のコード配列を含んでもよく、または列挙された核酸配列のコード領域の発現を制御する作動可能に連結された制御配列を含んでもよく、および/またはベクター配列を含んでもよい。

## 【0218】

「制御配列」という語は、特定の宿主生物における作動可能に連結されたコード配列の発現に必要なまたは有用なポリヌクレオチド配列を指す。原核生物に適した制御配列は、例えば、プロモーター、任意選択的に、オペレーター配列、およびリボソーム結合部位を含む。真核細胞は、プロモーター、ポリアデニル化シグナル、およびエンハンサーを使用することが知られている。本発明の一実施形態では、ポリヌクレオチドは、ウイルスプロモーター、CMVプロモーター、SV40プロモーターもしくは非ウイルスプロモーターもしくは伸長因子(EF)-1プロモーターなどのプロモーター、および/またはイントロンに作動可能に連結される。

## 【0219】

核酸は、別のポリヌクレオチドと機能的関係に置かれるとき、「作動可能に連結される」。例えば、プレ配列または分泌リーダーのDNAは、ポリペプチドの分泌に参与するプレタンパク質として発現される場合、ポリペプチドのDNAに作動可能に連結され、プロモーターまたはエンハンサーは、配列の転写に影響を及ぼす場合、コード配列に作動可能に連結され、またはリボソーム結合部位は、翻訳を促進するように位置付けられる場合、コード配列に作動可能に連結される。概して、必ずしもそうではないが、「作動可能に連結された」とは、連結されているポリヌクレオチド配列が連続的であり、分泌リーダーの場合、連続的であり、読み取段階にあることを意味する。しかしながら、エンハンサーは、連続的である必要はない。連結は、好都合な制限部位でのライゲーションによって達成される。こうした部位が存在しない場合、合成オリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーは、従来慣行に従って使用される。

## 【0220】

本明細書で使用される場合、「細胞」、「細胞株」、および「細胞培養物」という表現は、互換的に使用され、このよう命名のすべては、その子孫を含む。したがって、「形質転換体」および「形質転換細胞」という用語は、形質転換の数に関係なく、初代対象細胞およびそこから誘導された培養物を含む。すべての子孫が、意図的または偶発的な変異に起因して、正確に同一のDNA含有量を有するわけではないことも理解される。元々形質転換された細胞においてスクリーニングされたものと同じ機能または生物学的活性を有する変異体子孫が含まれる。別個の命名が意図されている場合、文脈から明らかになるであろう。

## 【0221】

宿主細胞には、哺乳類細胞を含む真核細胞および原核宿主細胞が含まれる。宿主細胞としては、特に、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、NSO、SP2細胞、HeLa細胞、乳児ハムスター腎臓(BHK)細胞、サル腎細胞(COS)、ヒト肝細胞癌細胞(例えば、HepG2)、A549細胞、3T3細胞およびHEK-293細胞が挙げられる。哺乳類宿主細胞としては、ヒト、マウス、ラット、イヌ、サル、ブタ、ヤギ、ウシ、ウマおよびハムスター細胞が挙げられる。使用され得る他の細胞株は、昆虫細胞株(例えば、スポドプテラ・フルギペルダ(Spodoptera frugiperda

) またはイラクサギンウワバ)、両生細胞、細菌細胞、植物細胞、および真菌細胞である。真菌細胞には、例えば、ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*)、ピキア・フィンランジカ (*Pichia finlandica*)、ピキア・トレハロフィア (*Pichia trehalophia*)、ピキア・コクラマエ (*Pichia koclamae*)、ピキア・メンブランエファシエンス (*Pichia membranaefaciens*)、ピキア・ミヌタ (*Pichia minuta*) (オガタエ・ミヌタ (*Ogataea minuta*)、ピキア・リンドネン (*Pichia lindnen*)、ピキア・オブティアエ (*Pichia opuntiae*)、ピキア・サーモトレランス (*Pichia thermotolerans*)、ピキア・サリクタリア (*Pichia salictaria*)、ピキア・グエルクウム (*Pichia guercuum*)、ピキア・ピエペリ (*Pichia pijperi*)、ピキア・スティプティス (*Pichia stiptis*)、ピキア・メタノリカ (*Pichia methanolica*)、ピキア属の種、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、サッカロマイセス属の種、ハンゼヌラ・ポリモルファ (*Hansenula polymorpha*)、クリベロマイセス属の種、クルイベロマイセス・ラクチス (*Kluyveromyces lactis*)、カンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*)、アスペルギルス・ニデュランス (*Aspergillus nidulans*)、アスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*)、アスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*)、トリコデルマ・レーゼイ (*Trichoderma reesei*)、クリソスポリウム・ルクノウエンス (*Chrysosporium lucknowense*)、フザリウム属の種、フザリウム・グラミネウム (*Fusarium gramineum*)、フザリウム・ベネナム (*Fusarium venenatum*)、ニセツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) およびニューロスポラ・クラッサ (*Neurospora crassa*) を含む、酵母細胞および糸状真菌細胞が含まれる。ピキア属の種、任意のサッカロマイセス属の種、ハンゼヌラ・ポリモルファ、任意のクリベロマイセス属の種、カンジダ・アルビカンス、任意のアスペルギルス属の種、トリコデルマ・レーゼイ、クリソスポリウム・ルクノウエンス、任意のフザリウム属の種、ヤロウイア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*)、およびニューロスポラ・クラッサ (*Neurospora crassa*)。本発明は、抗 I L T 4 抗体もしくはその抗原結合断片を含有するか、またはこのような抗体もしくは断片を含有するポリヌクレオチドを含有するか、またはポリヌクレオチドを含有するベクターを含有する、任意の宿主細胞 (例えば、CHO 細胞またはピキア細胞、例えば、ピキア・パストリス) を含む。

#### 【0222】

「治療する」または「治療すること」は、本発明の抗体またはその抗原結合断片を、抗体および抗原結合断片が、例えば、薬剤が治療活性を有する、癌または感染性疾患を有する、または癌または感染性疾患を有することが疑われる対象の治療において有効である、疾患の一つまたは複数の症状を有する対象に投与することを意味する。典型的には、抗体または断片は、治療される対象または集団における一つまたは複数の症状 (例えば、癌または感染性疾患の症状) を、そのような症状の退行もしくは除去を誘導することによって、または任意の臨床的に測定可能な程度まで、例えば、腫瘍成長もしくは転移などの癌症状などのそのような症状の進行を阻害することによって軽減するであろう、「有効量」または「有効用量」で投与される。抗体または断片の有効量は、患者の疾患段階、年齢、および体重、ならびに対象において所望の応答を誘発する薬物の能力などの因子に応じて変化し得る。

#### 【実施例】

#### 【0223】

実施例 1 : K i H 二重特異性抗体の構築および産生

1 . 1 . B s A b 構築

抗IL-2R (P1A3)、抗IL-2R (P2C4)ならびに抗HER2 (ペルツズマブおよびトラスツズマブ)の相補性決定領域(CDR)を、公開された配列(それぞれ、WO2017/021540A1およびUS2006/0275305A1)から得て、概念の実証に使用した。CDR配列をEurofinsにより合成し、不活性Fc (LALA PA変異:ロイシン234、ロイシン235およびプロリン329をアラニン残基で置換した)を用いたノブ・イン・ザ・ホール(KiH)、CrossMAbテクノロジー(US2017/0129962A1)を使用してIL-2R×HER2またはIL-2R×IL-2R bsAbへと操作した。すべてのIL-2R×HER2 bsAb構築物において、抗HER2アーム(ペルツズマブとトラスツズマブの両方)のCDR配列をノブアームに挿入した。P1A3×P2C4構築物において、抗IL-2RのCDR配列を、ノブアームに挿入した。遺伝子断片を、hCMVプロモーターの制御下、発現ベクターに、制限酵素(BsrGIおよびPshAI、XbaIおよびEcoRI、AscI並びにBamHI、AfeIおよびClaI)によってクローニングした。各クローニング工程の後、増幅およびアンピシリン耐性を使用した選択のために、新たに操作したプラスミドをXL1細菌にトランスフェクトした。プラスミド精製後、配列決定により所望の構築物を検証した。

10

#### 【0224】

##### 1.2. 発現および精製

プラスミドを、リポフェクタミン2000トランスフェクション試薬(Invitrogen、#11668-019)を使用してPEAK細胞に一過性にトランスフェクトした。BsAbを、Capture Select (商標) FcXLアフィニティマトリックス(Thermo Fisher、#194328050)およびCapture Select (商標) IgG-CH1アフィニティマトリックス(Thermo Fisher、#194320005)を連続的に使用して、トランスフェクションの5~6日後の上清から精製し、グリシンpH3.0緩衝液を使用して溶出し、50kDaのAmicon Ultra Centrifugalフィルターユニット(#ACS505024)中の25mMヒスチジン/125mM NaCl pH6.0緩衝液に対して脱塩した。最終bsAb生成物を、Nanodropを使用して定量化し、その品質を、SEC-HPLC、変性条件下での電気泳動、等電点電気泳動ゲルおよびタンパク質80キットを用いたAgilent 2100 Bionalyzerによって検証した。

20

30

#### 【0225】

実施例2:固定可変重鎖ドメインを含有するヒトscFvライブラリーを使用したIL2-RbまたはIL2-Rg Fvのファージディスプレイの選択およびスクリーニング M13バクテリオファージ上に提示したヒトscFvライブラリーの構築および取り扱いの一般的な手法は、Vaughan et al., [20]に記載されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。選択およびスクリーニングのためのライブラリーは、その全てが、同じVHドメインを共有し、VLドメイン内でのみ多様化されているscFvをコードする。固定VHライブラリーの生成方法および二重特異性抗体の同定およびアセンブリーのためのその使用は、US2012/0184716およびWO2012/023053に記載されており、その各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。ヒトIL-2RbまたはIL-2Rgに結合するscFvを同定する手法を以下に記載する。選択を、磁気ビーズ上に予めコーティングしたビオチン化ヒトIL-2RbまたはIL-2Rgタンパク質を用いて行った。選択戦略は、最大4ラウンドの選択を含んでいた。

40

#### 【0226】

##### 2.1. タンパク質の選択:

scFvファージライブラリーのアリコート、2%(w/v)スキムミルクを含有するPBSでブロックした。ブロックしたファージを、まずストレプトアビジン/ニュートラビジン磁気ビーズ(Dynabeads (商標) M-280ストレプトアビジン磁気ビーズまたはSera-Mag SpeedBeads Neutravidin

50

(商標)被覆磁気粒子)上で脱選択し、次いで、脱選択に使用した同種類のビーズ上に予め捕捉した、100 nM、10 nMまたは1 nMのビオチン化組換えヒトおよびカニクイザルIL2RbまたはIL2Rg(市販品または社内生産品)とインキュベートした。混合物をPBS/1%BSA/0.1%Tween(登録商標)20で五回、およびPBSのみで二回洗浄した。ファージを1 mg/mLのトリプシンで溶出し、AEBSFを添加してトリプシン活性を遮断した後、溶出物を、指数関数的に増殖するTG1細菌細胞に直接添加した。結果物を救出し、次の選択ラウンドに使用した。

【0227】

2.2. ヒトIL-2RへのscFv結合/非結合のスクリーニング:

IL-2RbまたはIL-2Rgへの結合についてのscFvのスクリーニングを、ビオチン化組換えタンパク質(および無関係の対照としてのビオチン化huMSLNタンパク質)を使用してELISAによって試験した。

【0228】

2.3. ELISA:

結合ELISAについては、PBS中の1%カゼイン溶液を用いて、ニュートラビジン被覆プレートをブロッキングした。ビオチン化IL-2Rb、IL-2RgおよびhuMSLN(メソテリン)を5 nMで捕捉した。選択したscFvを含有する新たに調製したペリプラズム抽出物の希釈液をプレートに適用し、マウス抗c-myc抗体とロバ抗マウスIgG-HRP抗体の組み合わせを使用して検出した。TMBの添加後、分光光度計プレートリーダーを使用して、450 nmでのODを測定した。無関係のhuMSLNタンパク質に結合できない場合、およびIL-2RbまたはIL-2Rg上のOD<sub>450</sub>がバックグラウンドOD<sub>450</sub>よりも少なくとも3倍高い場合、ヒットを、特異的な結合剤として分類した。単一クローンからのDNA抽出後にヒットを配列決定した。

【0229】

実施例3: IgGに再フォーマットし、哺乳類細胞で一過性発現する、固定VH候補

スクリーニングおよび配列決定後、所望の結合特性を有するscFv候補をIgGに再フォーマットし、PEAK細胞への一過性トランスフェクションによって発現させた。選択したscFvのVH配列およびVL配列を、特定のオリゴヌクレオチドで増幅し、重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含有する発現ベクターにクローニングした。発現ベクターを、配列決定によって検証し、製造業者の指示に従い、リポフェクタミン2000(Thermo Fisher Scientific)を使用して哺乳類細胞にトランスフェクトした。簡潔に述べると、 $4 \times 10^6$ 個のPEAK細胞を、T75フラスコにおいて、ウシ胎児血清を含有する25 mlの培養培地中で培養した。トランスフェクトした細胞を、37°Cで5~6日間培養し、IgG産生を、Octet RED96機器を使用して定量した。製造業者の指示に従って、FcXLアフィニティ樹脂(Thermo Fisher Scientific)上でIgG精製のために上清を採取した。簡潔に述べると、トランスフェクトした細胞からの上清を、適切な量のFcXL樹脂と共に4°Cで一晩インキュベートした。PBSで樹脂を洗浄した後、試料を、Amicon Proカラムに充填し、結果としてIgGを50 mMのグリシンpH 3.5で溶出した。次いで、溶出したIgG画分を、ヒスチジンNaCl pH 6.0緩衝液に対してAmicon 50kDaによって透析し、IgG含有量を、280 nmでの吸収によって定量化した。純度およびIgGの完全性を、製造業者(Agilent Technologies)の指示に従って、Agilent Bioanalyzer 2100を使用した電気泳動によって検証した。

【0230】

実施例4: ラムダおよびカッパー軽鎖を担持する二重特異性抗体の発現および精製

同じ細胞における一つの重鎖と二つの軽鎖の同時発現は、三つの異なる抗体のアセンブリーをもたらし得る。同時発現は、共発現させる鎖のうちの一つを発現する複数のベクターのトランスフェクション、または複数の遺伝子発現を推し進めるベクターを使用することなど、異なる方法で達成することができる。

10

20

30

40

50

## 【0231】

ここで、二つの軽鎖を、各々が参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、US 20120184716およびWO2012023053に記載される一つの重鎖、一つの銅軽鎖および一つのラムダ軽鎖の共発現を可能にするよう従前に生成したベクター pNovi H にクローニングした。三つの遺伝子の発現を、ヒトサイトメガロウイルスプロモーター (hCMV) によって推し進め、ベクターはまた、安定な細胞株の選択および確立を可能にするグルタミンシンターゼ遺伝子 (GS) を含有する。IL-2R $\beta$ もしくはIL-2R $\gamma$  IgG (両方とも本特許に記載する) および抗MSLN IgG (本特許WO2018215835A1による、O30、O35、O38、O41) または抗HER2 IgG (本特許に記載する、N2-19、N2-28) の共通VH遺伝子およびVL遺伝子を、哺乳類細胞における一過性発現のためにベクター pNovi H 内にクローニングした。全ての構築物を、文書中の/Nとして称される不活性Fcに基づいて生成した(LALA PA変異:ロイシン234、ロイシン235およびプロリン329を、アラニン残基で置換した)。Exp i 293細胞を、適切な数の細胞および培養培地体積を有する適切な三角フラスコにおいて懸濁液中で培養した。PEIを使用してプラスミドDNAをExp i 293細胞にトランスフェクトした。トランスフェクトした細胞の上清中の抗体濃度を、Octet RED96を使用して産生中に測定した。抗体濃度に従って、トランスフェクションの5~7日後に上清を採取し、珪藻土(Sartorius)の添加後の濾過によって清澄化した。精製は、3工程の精製プロセスに基づいていた。まず、Capture Select (商標) FcXL親和性基質(Thermo Fisher Scientific)をPBSで洗浄し、次いで清澄化した上清に添加した。+4 および20rpmで一晩インキュベーション後、上清を2000gで10分間遠心分離し、フロースルーを保存し、樹脂をPBSで二回洗浄した。次いで、樹脂をAmicon Proカラムに移し、pH3.5の50mMのグリシンを含有する溶液を溶出に使用した。いくつかの溶出画分を生成し、Tris-HCl pH7.4で中和し、プールした。総ヒトIgG(二重特異性抗体および二つの単一特異性抗体)を含有するプールを、Nanodrop分光光度計(NanoDrop Technologies)を使用して定量した。さらなる分析のために少量のアリコートを保存し、残りの試料を、適切な体積のCapture Select (商標)銅XL親和性基質(Thermo Fisher Scientific)とともに、室温で30分間、20rpmでインキュベートした。樹脂回収および洗浄、溶出および中和工程を、上記のように行った。最後の親和性精製工程を、銅精製工程と同じプロセスを適用するCapture Select (商標)ラムダFab親和性基質(Thermo Fisher Scientific)を使用して行った。あるいは、精製は、Capture Select (商標)銅XL親和性基質およびCapture Select (商標)ラムダFab親和性基質のみを使用した2工程の精製プロセスに基づいていた。すべての溶出画分をプールし、50kDaのAmicon Ultra遠心フィルターユニット(Merck Millipore)を使用して、His-NaCl pH6.0製剤緩衝液に対して脱塩した。最終生成物を、Nanodropを使用して定量した。

## 【0232】

精製した二重特異性抗体を、製造業者(Agilent Technologies)によって記載されるように、タンパク質80キットを用いて、Agilent 2100 Bioanalyzerを使用して、変性および還元条件で電気泳動によって分析した。凝集体レベルを、SEC-UPLCによって決定した。すべての試料を、Limulus Amebocyte Lysate試験(LAL; Charles River Laboratories)を使用してエンドトキシン汚染について試験した。

## 【0233】

実施例5: ELISAによる、bsAbの、その標的への結合の評価

すべてのIL-2R $\times$ TAA bsAbの結合特異性を、直接ELISAによって評価した(図2)。50 $\mu$ l/ウェルのビオチン化ヒト組換えタンパク質IL-2R、IL

- 2 R 、 H E R 2 、 M S L N 、 および無関係のタンパク質（組換えヒト癌胎児性抗原）を、ストレプトアビジン被覆 96 ウェル黒色プレート（Greiner、# 655997）上に  $1 \mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度で添加した（不完全なビオチン化を補償するために濃度を調整した）。b s A b の被覆タンパク質への結合を、H R P 結合ヤギ抗ヒト I g G - F c （# 109 - 036 - 098）および A m p l e x （商標）U l t r a R e d R e a g e n t （# A 36006）を使用して評価した。以下の波長：励起：530 / 25、発光：590 / 35 で S y n e r g y H T （B i o t e k）を使用して、データを取得した。I L - 2 R への結合を、P 2 C 4 アーム、すなわち、P 2 C 4 x ペルツズマブ、P 2 C 4 x トラスツズマブおよび P 1 A 3 x P 2 C 4 を担持する K i H b s A b について確認し（図 2 A）、I L - 2 R への結合を、P 1 A 3 アーム、すなわち、P 1 A 3 x ペルツズマブ、P 1 A 3 x トラスツズマブおよび P 1 A 3 x P 2 C 4 を担持する K i H b s A b について確認し（図 2 B）、一方で H E R 2 への結合を、抗 H E R 2 アームを担持するすべての b s A b について、すなわち、P 1 A 3 x P 2 C 4 を除くすべての b s A b について確認した（図 2 C）。b s A b のいずれも、無関係のタンパク質に結合しない（図 2 D）。

10

#### 【0234】

二つの異なる T A A : H E R 2 および M S L N を標的とする、I L - 2 R - ボディも生成した。第一のセットの I L - 2 R x H E R 2 - ボディは、同じ H E R 2 アーム（N 2 - 28）を、異なる I L - 2 R b アーム（A L 1 ~ A L 5）と、別の H E R 2 アーム（N 2 - 19）を、異なる I L - 2 R g アーム（A M 1 ~ A M 11）と、対形成することによって生成した。別のセットの I L - 2 R x M S L N - ボディは、一つの I L - 2 R b アーム（A L 4）および一つの I L - 2 R g アーム（A M 5）を、異なる M S L N アーム（特許 W O 2018215835 A 1 による、O 30、O 35、O 38、O 41）と対形成することによって生成した。同様の E L I S A アッセイを行い、それぞれの標的への結合を検証した。I L 2 R b への結合を、I L - 2 R b アーム（A L 1 ~ A L 5）を担持するすべての - ボディについて確認した（図 2 E）。I L 2 R g への結合を、I L 2 R g アーム（A M 1 ~ A M 11）を担持するすべての - ボディについて確認した（図 2 F）。H E R 2 への結合を、すべての I L - 2 R x H E R 2 - ボディ（図 2 G）について示し、M S L N への結合を、すべての I L - 2 R x M S L N - ボディ（図 2 H）について示した。

20

30

#### 【0235】

実施例 6 : バイオレイヤー干渉法による、I L - 2 R x H E R 2 および I L - 2 R x H E R 2 K i H b s A b の、その標的への共エンゲージメントの評価  
K i H b s A b によるその標的への結合を、バイオレイヤー干渉法（B L I）テクノロジー（O c t e t R E D 96）を使用して評価した。B s A b を、タンパク質 A バイオセンサー（S a r t o r i u s 、 # 18 - 5010）上に充填した動態緩衝液（S a r t o r i u s 、 # 18 - 1105）中で  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度で希釈した。バイオセンサーを、個々の標的または対応する b s A b の二つの標的のいずれかを含有するウェル中で同時にインキュベートした。結果は、P 1 A 3 x ペルツズマブが、I L - 2 R と H E R 2 の両方に別個および同時に結合し（図 3 A）、一方、P 2 C 4 x ペルツズマブおよび P 2 C 4 x トラスツズマブが、I L - 2 R および H E R 2 に別個および同時に結合することを示した（図 3 B、C）。E L I S A 結果と一致して、B L I 実験により、b s A b の、その標的に対する結合特異性を確認した。さらに、P 1 A 3 x ペルツズマブ、P 2 C 4 x ペルツズマブおよび P 2 C 4 x トラスツズマブ b s A b について得られたより高いシグナル（波長シフト）は、単一の標的を有する条件と比較して、両方の標的が同時に存在したときに、両方の標的に同時に結合する能力を示す（図 3）。

40

#### 【0236】

実施例 7 : I L - 2 R x T A A b s A b による I L - 2 および I L - 15 シグナル伝達中和の評価

本発明の各 I L - 2 R x T A A b s A b の結合を確認したら、エンゲージしている I

50

L-2RbまたはIL-2Rgが、天然のIL-2またはIL-15シグナル伝達と干渉するかどうかを決定するために実験を行った。この目的のために、IL-2-レポーター細胞株(二量体IL-2Rを発現し、IL-2とIL-15の両方に応答する)を、IL-2Rb×HER2 bsAb(図4A、B)、またはIL-2Rg×HER2 bsAb(図4C、D)の用量範囲の存在下で、IL-2(それぞれ、0.2もしくは1nM、図4A、C)またはIL15(0.003nM、図4B、D)の固定用量で刺激した。

#### 【0237】

##### 7.1. 細胞培養：

IL-2RbおよびIL-2Rgを発現するHEK Blue IL-2細胞(InvivoGen、#hkb-il2bg)を、IL-2およびIL-15シグナル伝達アッセイのためのレポーター細胞株として使用した。細胞株を、IL-2シグナル伝達の下流で分泌された胚性アルカリホスファターゼ(SEAP)を発現するように設計する(SEAP発現は、pSTAT5誘導性プロモーターによって制御される)。レポーター細胞を、DMEM 4.5g/lグルコース、2mM L-グルタミン(#11965-084)、ウシ胎児血清(10%v/v、#F7524)、ゲンタマイシン(25μg/ml、#G1397-10ML)、ノルモシン(100μg/ml、#ant-nr-2)、1×HEK-Blue CLR-Selection(#hb-csm)、およびピューロマイシン(1μg/ml、#ant-pr-1)中、5%CO<sub>2</sub>、37℃で培養した。

10

#### 【0238】

##### 7.2. IL-2レポーター細胞アッセイ：

平底96ウェルプレート(100000個の細胞/ウェル)において、DMEM 4.5g/lグルコース 2mM L-グルタミン(#11965-084)、ウシ胎児血清(10%v/v、#F7524)、ゲンタマイシン(25μg/ml、#G1397-10ML)中、異なる試験条件下、37℃、5%CO<sub>2</sub>で、20~24時間、細胞(HEK blue IL-2Rb/g)をインキュベートすることによって、アッセイを行った。透明底96ウェルプレートにおいて、180μlのQuantil Blue(商標)溶液(InvivoGen、#rep-qbs)と各ウェルの20μlの上清を37℃で60分間インキュベートすることによって、SEAPレベルを測定した。630nmでの吸光度を、Synergy HT(Biotek)を使用して取得した。

20

#### 【0239】

結果は、試験した用量範囲で、IL-2Rb×HER2 bsAb(図4A、B)またはIL-2Rg×HER2 bsAb(図4C、D)が、IL-2シグナル伝達(図4A、C)とも、IL-15シグナル伝達(図4B、D)とも干渉しないことを示した。

30

#### 【0240】

実施例8：可溶性HER2の存在下でのIL-2R×HER2およびIL-2R×HER2 KiH bsAbの組み合わせによるIL-2シグナル伝達の活性化

可溶性TAA(例えば、HER2)の存在下でのIL-2R×HER2 bsAb組み合わせのIL-2-アゴニスト活性を示すために、可溶性HER2をIL-2Rb×HER2+IL-2Rg×HER2 KiH bsAbの組み合わせの用量範囲と混合した実験を行った(図5A)。予想通り、レポーター細胞株とのP1A3×P2C4 KiH bsAbのインキュベーションは、IL-2シグナル伝達を誘導した(図5B~D)。しかしながら、二つのIL-2R×HER2 bsAbの組み合わせは、HER2の非存在下でIL-2シグナル伝達を誘導しなかった(データは示さず)。可溶性HER2の存在下では、HER2上の同じエピトープを標的とする二つのIL-2R×HER2 bsAbの組み合わせ(P1A3×ペルツズマブ+P2C4×ペルツズマブまたはP1A3×トラスツズマブ+P2C4×トラスツズマブ)は、IL-2シグナル伝達を誘導しなかった(図5B、C)。対照的に、HER2上の二つの異なるエピトープを標的とする二つのIL-2R×HER2 bsAbの組み合わせ(P1A3×トラスツズマブ+P2C4×ペルツズマブ)は、可溶性HER2とインキュベートしたときにIL-2シグナル伝達を誘導した(図5D)。さらに、経路の活性化は、可溶性HER2濃度に依存した。

40

50

## 【0241】

IL-2シグナル伝達の活性化は、IL-2R (CD122)およびIL-2R (CD132)を互いに近接させることを必要とする。可溶性HER2単量体は、HER2上の二つの別個のエピトープを標的とする二つのKihbsAbのみを一緒にすることができるため(図5A)、可溶性HER2の存在下でKihbsAbの組み合わせで得られた結果は、期待と一致する。

## 【0242】

実施例9: TAAでコーティングされた微粒子の存在下でのIL-2R x TAAおよびIL-2R x TAA bsAbの組み合わせによるIL-2シグナル伝達の活性化  
9.1. 細胞培養:

IL-2Ra、IL-2RbおよびIL-2Rgを発現するHEK Blue IL-2細胞(InvivoGen、#hkb-il2)を、IL-2シグナル伝達アッセイのためのレポーター細胞株として使用した。細胞株を、IL-2シグナル伝達の下流で分泌された胚性アルカリホスファターゼ(SEAP)を発現するように設計する(SEAP発現は、pSTAT5誘導性プロモーターによって制御される)。レポーター細胞を、DMEM 4.5g/lグルコース、2mM L-グルタミン(#11965-084)、ウシ胎児血清(10%v/v、#F7524)、ゲンタマイシン(25μg/ml、#G1397-10ML)、ノルモシン(100μg/ml、#ant-nr-2)、1xHEK-Blue CLR-Selection(#hb-csm)、およびピューロマイシン(1μg/ml、#ant-pr-1)中、5%CO<sub>2</sub>、37℃で培養した。

## 【0243】

9.2. IL-2レポーター細胞アッセイ:

平底96ウェルプレート(50000個の細胞/ウェル)において、DMEM 4.5g/lグルコース 2mM L-グルタミン(#11965-084)、ウシ胎児血清(10%v/v、#F7524)、ゲンタマイシン(25μg/ml、#G1397-10ML)中、異なる試験条件下、37℃、5%CO<sub>2</sub>で、20~24時間、ストレプトアビジン-biot-TAA被覆微粒子(30000個のビーズ/ウェル)および細胞をインキュベートすることによって、アッセイを行った。透明底96ウェルプレートにおいて、180μlのQuantilBlue(商標)溶液(InvivoGen、#rep-qbs)と各ウェルの20μlの上清を37℃で120分間インキュベートすることによって、SEAPレベルを測定した。630nmでの吸光度を、SpectraMax-i3x(Molecular Devices)を使用して取得した。

## 【0244】

前述の実施例に示したように、可溶性HER2単量体の存在下では、HER2上の二つの異なるエピトープを標的とする二つのIL-2R x HER2 bsAbの組み合わせのみが、IL-2シグナル伝達を誘導することができる。細胞表面上のHER2のクラスター化は、同じHER2エピトープを標的とする二つのIL-2R x HER2 bsAbを互いに近接させる可能性を有するため、表面クラスター化HER2の存在下で、同じHER2エピトープを標的とする二つのIL-2R x HER2 bsAbの組み合わせもIL-2シグナル伝達を誘導し得ることが予想される。この仮説を試験するために、HER2被覆微粒子(#24158-5)を使用して、IL-2レポーターアッセイにおいて細胞表面上に発現したHER2を模倣した(図6A)。HER2被覆微粒子の存在下では、二つの異なるHER2エピトープを標的とする二つのIL-2R x HER2 bsAbの組み合わせ(図6B、C)と、同じHER2エピトープを標的とする組み合わせ(図6D、E)の両方が、IL-2シグナル伝達活性化を誘導した。両方のタイプの組み合わせで、本発明者らは、測定したIL-2シグナル伝達のレベルとHER2被覆微粒子の濃度との間に正の相関を観察した。重要なことに、二つのIL-2R x HER2 bsAbの組み合わせのアゴニスト効果は、P1A3 x P2C4 bsAb(非TAA標的化)で観察したものと比較して、はるかに強力であり、組換えヒトIL-2によって誘導されるレベルに近いレベルに達した(図6B~E)。bsAbの組み合わせと、無関係のタンパク質で

10

20

30

40

50

被覆した高濃度の微粒子とのインキュベートは、IL-2シグナル伝達を活性化しなかった。

【0245】

IL-2 R $\times$  TAA - ボディの様々な組み合わせで類似の所見を得た(図7)。同じHER2アームを共有する(N2-28)が、異なるIL-2 Rbアーム(AL1~AL5)と対形成した - ボディと、同じHER2アームを共有し(N2-19、N2-28と異なるHER2エピトープを標的とする)、異なるIL-2 Rgアーム(AM1~AM5)と対形成した - ボディとを組み合わせることによって、第一のセットのIL-2 R $\times$  HER2 bsAbを試験した。HER2被覆ビーズ(6:1に固定、ビーズ:IL-2レポーター細胞株比)の存在下で、図6Aに示すように、すべての - ボディを交差で組み合わせ、試験した。データは、試験した組み合わせに関係なく、強力なIL-2アゴニスト活性を示した(図7)。興味深いことに、IL-2アゴニスト活性は、異なる組み合わせにわたって微調整することができる。AL1N2-28/NをAM52-29/Nと組み合わせたとき、IL-2シグナル伝達が誘導され得るが、AM1N2-19/Nと組み合わせたとき、一貫して弱い(図7A)。同様のデータを、AM5N2-19/NをAL2N2-28/N(図7B)、AL3N2-28/N(図7C)、AL4N2-28/N(図7D)またはAL5N2-28/N(図7E)と組み合わせることによって生成した。得られたIL-2シグナル伝達は、bsAbの組み合わせの濃度を減少させることによって、または異なる対のIL-2 R $\times$  HER2 - ボディを組み合わせることによってのいずれかで調節することができる。

10

20

【0246】

IL-2 R - bsAbの組み合わせはまた、別のTAAとエンゲージすることによってIL-2シグナル伝達を媒介し得ることを示すために、一つのIL-2 Rbアーム(AL4)および一つのIL-2 Rgアーム(AM5)を、様々なMSLNターゲットイングアーム(O30、O35、O38、O41)と対形成することによって、追加のセットの - ボディを生成し、それらの各々は、重複しないエピトープに結合する(特許WO2018215835A)。組み合わせたそれらの活性を、上記と同じだが、HER2被覆ビーズをMSLN被覆ビーズで置き換えた方法を使用して試験した(図6A)。すべての - ボディは、交差して組み合わせ、使用したMSLNアームに関係なく強力なIL-2アゴニスト活性を示した(図7F~J)。IL-2 R $\times$  HER2 bsAbについて観察されたように、IL-2アゴニスト活性は、異なる組み合わせにわたって微調整することができる。AM5O30/NをAL4O38/Nと組み合わせたとき、より高いIL-2シグナル伝達を誘導することができる(図7F)。同様のデータを、AM5O30/NをAL4O35(図7G)、AL4O30/N(図7H)またはAL4O41/N(図7I)と組み合わせることによって生成した。重要なことに、IL-2 R $\times$  HER2 bsAbについて観察したように、同じMSLNエピトープを標的とする二つのIL-2 R $\times$  MSLN bsAbのO35(図8A)、O41(図8B)またはO30(図8C)との組み合わせは、組換えヒトIL-2によって誘導されたレベルに近いレベルにIL-2シグナル伝達を誘導した(図8A~C)。

30

40

【0247】

実施例10: TAA+腫瘍細胞の存在下でのIL-2 R $\times$  TAAおよびIL-2 R $\times$  TAA bsAbの組み合わせによるIL-2シグナル伝達の活性化  
 上述の結果は、TAA被覆微粒子の存在下、および使用したbsAbフォーマット(KiH構築物または - ボディ)に関係なく、IL-2 Rb $\times$  TAAおよびIL-2 Rg $\times$  TAA bsAbの組み合わせが、IL-2シグナル伝達活性化を誘導し得ることを示し、これは、IL-2アゴニスト活性が、TAA発現腫瘍細胞の存在下でも媒介され得ることを示唆している。HER2とMSLN発現細胞株の両方を、TAAの供給源として使用した。

【0248】

10.1. 腫瘍細胞株培養:

50

三つのHER2+腫瘍細胞株：BT-474、SK-BR-3およびNCI-N87を使用した。BT-474(ATCC、#HTB-20)は、浸潤性管癌である。SK-BR-3(ATCC、#HBT-30)は、乳房腺癌細胞株である。NCI-N87(ATCC、#CRL-5822)は、胃癌細胞株である。HER2は、すべての3つの上述の腫瘍細胞において、BT-474、SK-BR-3およびNCI-N87で過剰発現し、それぞれ、624'000、587'000および552'000HER2/細胞を発現している。MSLNの供給源として、三つの腫瘍細胞株：NCI-H226、OVCA3およびNCI-N87を使用した。NCI-H226(ATCC、#CRL-5826)は、肺扁平上皮癌である。OVCA3(ATCC、#HBT-161)は、上皮卵巣癌細胞株である。HER2とは対照的に、MSLNは、NCI-H226、OVCA3およびNCI-N87細胞株でより低いレベルで発現され、それぞれ、180'000、67'000および24'000MSLN/細胞を発現している。これら5つの接着細胞株を、5%CO<sub>2</sub>、37℃で培養し、トリプシン-EDTA溶液を使用して継代培養のために剥離させた。BT-474を、ハイブリケア培地(ATCC、#46-X)、ウシ胎児血清(10%v/v、ThermoFisher #F7524)、L-グルタミン(2mM、Sigma、#G7513-100ML)および重炭酸ナトリウム(1.5g/L、Sigma #S8761-100mL)中で培養した。SK-BR-3を、McCoy's 5A(Sigma、#M9309)、10%ウシ胎児血清およびL-グルタミン中で培養した。NCI-N87を、RPMI 1640(ThermoFisher、#11875-093)、10%ウシ胎児血清および2mM L-グルタミン中で培養した。

#### 【0249】

前の実施例に示したように、HER2被覆微粒子の存在下で、二つのIL-2R×HER2 bsAbの組み合わせは、IL-2シグナル伝達を誘導することができる。二つのIL-2R×HER2 bsAbの組み合わせはまた、HER2+過剰発現腫瘍細胞の存在下で、IL-2シグナル伝達を活性化すると予想される。この仮説を試験するために、本発明者らは、HER2被覆微粒子をHER2+腫瘍細胞で置き換え、100'000個の腫瘍細胞を100'000個のHEK Blue IL-2細胞と混合したIL-2レポーターアッセイを使用した(図9A)。HER2+を過剰発現する腫瘍細胞の存在下で、試験したIL-2R×HER2 KiH bsAbの両方の組み合わせが、用量依存性IL-2シグナル伝達活性化を誘導し(図9B、C)、NCI-N87の存在下で組換えヒトIL-2によって誘導されたものに近接した。この観察は、本発明者らのIL-2R×HER2 bsAbの組み合わせが、HER2発現細胞の存在下でIL-2シグナル伝達を活性化することができることを確認する。

#### 【0250】

前の実施例では、本発明者らは、本発明者らのIL-2R×HER2 bsAbの組み合わせを通して、HER2過剰発現腫瘍細胞の存在下でレポーター細胞においてIL-2シグナル伝達が誘導され得ることを示した。この観察を免疫起源の非形質導入細胞に拡大するために、本発明者らは、ナチュラルキラーリンパ腫細胞株であるNK-92(DSMZ、#ACC 488)を選択した。NK-92細胞におけるIL-2シグナル伝達活性化を定量化するために、本発明者らは、IL-2シグナル伝達活性化を評価するために広く使用されている方法であるフローサイトメトリーによってpSTAT5のレベルを測定した。STAT5は、IL-2のシグナル伝達経路に關与する転写因子である。IL-2RおよびIL-2RへのIL-2のエンゲージメント時に、JAK1およびJAK3が動員され、STAT5をリン酸化することができる。pSTAT5は、二量体化し、転写因子として機能することができる(図10A)。

#### 【0251】

10.2. NK92細胞培養：

腫瘍細胞の培養は、6.1に記載した。NK-92を、MEMアルファ培地(ThermoFisher、#22561-021)、12.5%ウシ胎児血清、ウマ血清(1

2.5% v/v、Sigma、#H1270-500ML)、2mM L-グルタミンおよびヒト組換えIL-2(5ng/ml、Peprotech、#200-02)中、5%CO<sub>2</sub>、37℃で培養した。

【0252】

10.2.NK-92細胞におけるpSTAT5測定:

アッセイの24時間前に、NK-92細胞をDPBS(Thermo Fisher、#14190-144)中で4回洗浄し、同じ条件下で24時間培養するが、ヒト組換えIL-2を含まなかった。

【0253】

10.2.1. 図10: NK-92細胞を、DPBS中で洗浄し、DPBS、Fc Block(30μl/ml BD Biosciences、#564220)およびFixable Viability Stain 620(1μl/ml BD Biosciences、#564996)中5×10<sup>6</sup>個の細胞/mlで再懸濁し、暗所、室温で15分間インキュベートする。NK-92細胞を一回洗浄し、DPBS、ウシ血清アルブミン(2% m/v、Sigma #A3912-100G)中の抗ヒトCD45-V500(1μl/100μl BD Biosciences、#560777)で、4℃、2×10<sup>6</sup>個の細胞/mlで20~30分間染色する。NK-92細胞および採取した腫瘍細胞を二回洗浄し、それぞれ150,000個の細胞/ウェルで96ウェル丸底プレートに移す。細胞を、RPMI 1640(Thermo Fisher、#11875-093)、10%ウシ胎児血清、2mM L-グルタミン、Hepes(10mM、Sigma、#H0887)、非必須アミノ酸(1x、Sigma、#M7145-100mL)、β-メルカプトエタノール(0.050mM、Thermo Fisher、#31350-010)、ゲンタマイシン(25μg/ml、Sigma、#G1397-10ML)中、異なる試験条件下、5%CO<sub>2</sub>、37℃で1~2時間インキュベートする。細胞を、0.4%ホルムアルデヒドで12分間、37℃で固定し、次いで洗浄し、MetOH中で30分間、氷上で透過処理する。DPBS中で一回洗浄し、DPBS中のAlexa Fluor 488抗STAT5(pY694)(3μl/ウェルBD Biosciences、#562075)、2%ウシ血清アルブミンで、暗所、室温で1時間染色する。細胞をDPBS、2%ウシ血清アルブミンで二回洗浄し、フローサイトメトリー分析のため150μlのDPBS中に再懸濁する。pSTAT5<sup>+</sup>をpSTAT5<sup>-</sup>細胞から区別するための閾値を、対照の非刺激ウェルに基づいて決定する。データを、pSTAT5陽性細胞の割合として提供する。

【0254】

HER2過剰発現細胞のいずれかの存在下では、二つの異なるHER2エピトープを標的とする二つのIL-2R×HER2 bsAbの組み合わせ(図10B、C)と、同じHER2エピトープを標的とする組み合わせ(図10D、E)の両方が、IL-2シグナル伝達活性化を誘導した。さらに、本発明者らは、すべての四つのIL-2R×HER2 bsAbを同時に使用したときの経路の活性化も観察した(図10F)。重要なことに、IL-2R×HER2 bsAbの組み合わせの一部で観察したpSTAT5<sup>+</sup>細胞の割合は、組換えヒトIL-2によって誘導された割合に近かった(図10B~F)。結果は、HER2過剰発現腫瘍細胞の存在下で、試験したKiH bsAbのすべての組み合わせが、免疫源の非形質導入細胞においてIL-2シグナル伝達を誘導することができることを確認する。

【0255】

10.2.2. 本発明者らは、異なるプロトコルを使用して、専有IL-2R×TAA - ボディの様々な組み合わせを用いて類似の所見を得た(図11)。アッセイの日に、NK-92および腫瘍細胞をDPBS中で二回洗浄し、それぞれ150,000個の細胞/ウェルで96ウェル平底プレートに移す。細胞を、MEMアルファ培地(Thermo Fischer #22561-021)、12.5%ウシ胎児血清、ウマ血清(12.5% v/v、Sigma #H1270-500ML)、2mM L-グルタミ

ン中、異なる試験条件下、5% CO<sub>2</sub>、37℃で30分間インキュベートする。インキュベーション後、細胞をV底96ウェルプレートに移し、インキュベーション前に、それぞれ、37℃で5分間、Fixable Viability Stain 620 (1 μL/mL BD Biosciences、#564996)、室温で10分間、Fc Block (30 μL/mL BD Biosciences、#564220) および4℃で30分間、抗ヒトCD45-V500 (1 μL/100 μL BD Biosciences、#560777) で洗浄する。細胞を、インキュベーションの各工程の間に、DPBS、2%ウシ血清アルブミンで洗浄した。最後に、細胞を、0.4%ホルムアルデヒドで12分間、37℃で固定し、次いで洗浄し、MetOH中で30分間、氷上で透過処理する。一回洗浄後、細胞を、DPBS、2%ウシ血清アルブミン中のAlexa Fluor 488抗STAT5 (pY694) (3 μL/ウェル BD Biosciences、#562075)、暗所、室温で1時間染色し、DPBS、2%ウシ血清アルブミンで二回洗浄した後、フローサイトメトリー分析のために150 μLのDPBS中に再懸濁する。pSTAT5<sup>+</sup>をpSTAT5<sup>-</sup>細胞から区別するための閾値を、対照の非刺激ウェルに基づいて決定する。データを、CD45<sup>+</sup>細胞におけるpSTAT5の蛍光強度中央値(MFI)レベルとして提供する。

10

#### 【0256】

同じHER2アーム(N2-28)を共有する - ボディを二つの異なるIL-2Rbアーム(AL2およびAL4)と、ならびに同じHER2アーム(N2-19、N2-28と別のHER2エピトープを標的とする)を共有する - ボディを二つの異なるIL-2Rgアーム(AM5およびAM9)と組み合わせることによって、第一のセットのIL-2R×HER2 bsAbを試験した。HER2被覆ビーズ(固定比6:1、ビーズ:IL-2レポーター細胞株)の存在下で、図6Aに示すように、すべての - ボディを交差で組み合わせ、試験した。データは、試験した組み合わせに関係なく、NK92細胞においてpSTAT5誘導を示した。IL-2シグナル伝達は、両方のHER2過剰発現腫瘍細胞株:BT-474(図11A)およびNCI-N87(図11B)の存在下で増加する。IL-2シグナル伝達誘導は、試験した全ての - ボディの組み合わせにわたって類似している。

20

#### 【0257】

IL-2R-b sAbの組み合わせが、MSLN<sup>+</sup>腫瘍細胞の存在下でIL2シグナル伝達を媒介し得ることを示すために、別のセットのIL-2R×MSLN - ボディを、三つのMSLN発現細胞株の存在下で組み合わせて試験した(図11C~E)。試験したbsAbのすべての組み合わせは、NCI-H226(図11C)またはOVCA3(図11D)の存在下で、NK92細胞におけるpSTAT5の同様の増加を誘導した。興味深いことに、より弱いレベルのMSLN(24,000個のMSLN/細胞)を発現する一方で、NCI-N87はまた、試験したIL-2R×MSLN - ボディの対に関係なく、IL-2シグナル伝達を媒介することができる(図11E)。重要なことに、単剤として試験したすべての - ボディ(すなわち、組み合わせられていない)は、IL-2シグナル伝達を誘導せず、これは、IL-2Rb-およびIL-2Rg-bsAbが、組み合わせられたときにのみ活性であることを強調している(図11C~E)。

30

40

#### 【0258】

前の実施例では、本発明者らは、本発明者らのIL-2R×TAA bsAbの組み合わせが、免疫源の標的非形質導入細胞においてIL-2シグナル伝達を誘導し得ることを示した。この観察を初代ヒト免疫細胞に拡大するために、本発明者らは、ヒト末梢血単核細胞(PBMC)を使用した。hIL-2は、高親和性三量体受容体を構成的に発現するため、制御性T細胞を優先的に活性化することが知られている。本発明者らのbsAbの組み合わせが、IL-2Rのサブユニットおよびサブユニットのみを標的とするため、本発明者らは、CD8<sup>+</sup>T細胞および制御性T細胞の、本発明者らのbsAbに対する類似の感受性を観察すると予想する。この仮説を試験するために、本発明者らは、フローサイトメトリーによって異なる細胞集団におけるpSTAT5のレベルを測定した(図1

50

2 A )。

【0259】

10.3. PBMC単離、刺激、およびpSTAT5染色：

使用したプロトコルを、実施例7に記載したものから適合させた。PBMC細胞をDPBS中で洗浄し、DPBS、Fc Block (30  $\mu$ l/ml BD Biosciences、# 564220)およびFixable Viability Dye eFluor 506 (1  $\mu$ l/ml Thermo Fisher、# 65-0866-18)中、 $5 \times 10^6$ 個の細胞/mlで再懸濁し、暗所、室温で15分間インキュベートする。PBMC細胞を一回洗浄し、DPBS、2%ウシ血清アルブミン中、Alexa Fluor 594抗ヒトCD3抗体 (1  $\mu$ l/100  $\mu$ l、Biolegend、# 300446)、APC-Cy7マウス抗ヒトCD8 (1  $\mu$ l/100  $\mu$ l、BD Biosciences、# 557834)、BV421マウス抗ヒトCD4 (1  $\mu$ l/100  $\mu$ l、BD Biosciences、# 562424)、eFluor 506 eBioscience CD19モノクローナル抗体 (1  $\mu$ l/100  $\mu$ l、Thermo Fisher、# 69-0199-42)、eFluor 506 eBioscience CD14モノクローナル抗体 (1  $\mu$ l/100  $\mu$ l、Thermo Fisher、# 69-0149-42)、eFluor 506 eBioscience CD56 (NCAM)モノクローナル抗体 (1  $\mu$ l/100  $\mu$ l、Thermo Fisher、# 69-0566-42)、 $2 \times 10^6$ 個の細胞/ml、4 で20~30分間染色する。PBMC細胞および採取した腫瘍細胞を二回洗浄し、250,000個のPBMC/ウェルおよび25,000個の腫瘍細胞/ウェルで96ウェル丸底プレートに移す。細胞を、RPMI 1640、10%ウシ胎児血清、2mM L-グルタミン、10mM HEPES、1x非必須アミノ、0.050mM  $\beta$ -メルカプトエタノール、25  $\mu$ g/mlゲンタマイシン中、異なる試験条件下で、5%CO<sub>2</sub>、37 で1時間インキュベートする。細胞を、100  $\mu$ l/ウェルFix緩衝液I (BD Biosciences、# 557870)中に再懸濁し、37 で10分間インキュベートする。細胞を洗浄し、氷上で30分間、予め冷却した100  $\mu$ l/ウェルのPerm緩衝液III (BD Biosciences、# 558050)において透過処理する。DPBS中で一回洗浄し、DPBS中のAlexa Fluor 488抗STAT5 (pY694) (3  $\mu$ l/ウェルBD Biosciences、# 562075)、Alexa Fluor 647マウス抗ヒトFoxP3 (10  $\mu$ l/100  $\mu$ l、BD Biosciences、# 560045)、2%ウシ血清アルブミンで、暗所、室温で1時間染色する。細胞をDPBS、2%ウシ血清アルブミンで二回洗浄し、フローサイトメトリー分析のため150  $\mu$ lのDPBS中に再懸濁する。pSTAT5<sup>+</sup>をpSTAT5<sup>-</sup>細胞から区別するための閾値を、対照の非刺激ウェルに基づいて決定する。

【0260】

hIL-2およびIL-2R $\times$ HER2 KihbsAb対の両方は、HER2過剰発現細胞と併せて、T細胞においてIL-2シグナル伝達を活性化した。予想通り、制御性T細胞は、CD8<sup>+</sup>T細胞と比較して、hIL-2に対して有意に感受性であり、それは、100倍超低い用量で活性化されたままであった(図12B)。重要なことに、制御性T細胞とCD8<sup>+</sup>T細胞との間の感受性の差は、試験した両方のHER2過剰発現腫瘍細胞で、本発明者らのbsAb対で無効化した(図12B)。これらの結果は、三量体IL-2受容体の優先的なエンゲージメントを回避する他のアプローチと同様に、本発明者らの戦略が、免疫刺激能力についての選択性の増強を有することを示す。

【0261】

実施例11：CD3 $\times$ TAA bsAbと組み合わせたIL-2R $\times$ TAA bsAbによって媒介されるT細胞依存性細胞傷害(TDCC)

IL-2Rシグナル伝達を誘導することができる共刺激性IL-2R $\times$ TAA bsAbは、T細胞活性化の増強においてCD3 $\times$ TAA bsAbと相乗作用すると予想され、これは、T細胞依存性細胞傷害(TDCC)アッセイにおいて優れた腫瘍細胞殺傷をも

たらし得る。CD3×TAAとIL-2R×TAA bsAbとの間の結合競合を回避するために、IL-2R×MSLN bsAb対を、CD3×HER2 bsAbと組み合わせ、一方でIL-2R×MSLN bsAb対をTDCCアッセイにおいてCD3×HER2 bsAbと組み合わせた。NCI-N87腫瘍細胞株を、HER2およびMSLNのその二重発現に基づいて標的細胞として選択した。

#### 【0262】

##### 11.1.TDCCアッセイ：

MSLN×CD3またはHER2×CD3 bsAbによって誘導されたHER2/MSLN二重陽性細胞株NCI-N87のインビトロ殺傷を、それぞれ、IL-2R×HER2 bsAb対またはIL-2R×MSLN bsAb対と組み合わせで評価した。TDCCアッセイについては、PBMCを、1：1の最終E：T比で標的細胞に添加した。PBSで二回洗浄した後、標的細胞をトリプシンまたは細胞解離溶液で剥離させた。遠心分離工程後、細胞を、アッセイ培地（RPMI 1640（Thermo Fisher、#11875-093）、10%ウシ胎児血清、2mM L-グルタミン、Hepes（10mM、Sigma #H0887）、非必須アミノ酸（1x、Sigma #M7145-100mL）、ピルビン酸ナトリウム（1mM、Sigma #S8636-100mL）、β-メルカプトエタノール（0.050 mM、Thermo Fisher #31350-010）、ゲンタマイシン（25μg/ml、Sigma #G1397-10ML）中に再懸濁し、必要な濃度に調整し、96ウェルプレートに播種した。エフェクター細胞は、Lymphoprep（商標）緩衝液（Stemcell Technologies）を含むSepMate（商標）チューブ（Stemcell Technologies）を使用して、健康なヒトドナーに由来するパフィーコートから単離したヒト末梢血単核細胞（PBMC）であった。本発明の用量範囲のIL-2R×TAA bsAb対（0.3、3、10および30nM）および固定用量のCD3×TAA bsAb（0.1または0.5nM）を、予め播種した標的およびエフェクター細胞に添加した。対照として、単剤CD3×TAA bsAbを使用した。標的細胞殺傷を、37℃、5%CO<sub>2</sub>での6日間のインキュベーション後に、Promega's Cell Titer-Glo（登録商標）（G7570）を使用して、培養中の生接着細胞数を定量することによって評価した。二つの異なるTDCCアッセイフォーマットを試験した：すべてのbsAbを6日間同時に組み合わせること（図13A、混合TDCCアッセイと称する）またはIL-2R×TAA bsAb対でT細胞を3日間まず前刺激し、続いてCD3×TAA bsAbによる更なる3日間によって逐次的に試験した（図13C、逐次的TDCCアッセイと称する）。IL-2R×TAA bsAbの代わりに、CD3×TAAのIL-2との組み合わせを陽性対照として使用した。CD3×TAA bsAbの単一処理を、参照対照薬（破線）として使用した。hIgG1またはIL-2R-bsAb対を用いた単一処理（例えば、CD3×TAA bsAbの非存在下）を、陰性対照として使用した。

#### 【0263】

混合TDCC殺傷アッセイでは、二つの異なる対のIL-2R×MSLN bsAbの組み合わせ（AL4035/N+AM5030/NまたはAL4038/N+AM5030/N）が、用量依存性の様式でMSLN/HER2二重陽性NCI-N87腫瘍標的細胞のHER2×CD3 bsAb誘導性殺傷を増強することを示した（図13B）。用量範囲のIL-2R×HER2 bsAb対（P1A3×トラスツズマブ+P2C4×ペルツズマブ）に、固定用量のCD3×MSLN bsAbが続く、逐次的殺傷アッセイを使用して類似の相乗作用を観察した。重要なことに、CD3×MSLNの30nMのIL-2R×HER2 bsAbとの組み合わせは、腫瘍細胞殺傷の誘導におけるCD3×MSLN bsAbのIL-2との組み合わせと少なくとも同じ効力であった（図13D）。CD3×MSLN bsAbの非存在下では、IL-2R×HER2 bsAb対のみによって殺傷を誘導しなかった（図13D）。

#### 【0264】

10

20

30

40

50

全体として、本発明に提示するT D C Cデータは、IL - 2 R x T A AおよびIL - 2 R x T A A b s A b対が、CD 3 x T A A b s A bによって媒介されるT D C Cを、IL - 2およびCD 3 x T A A b s A bの組み合わせによって誘導されるレベルに近いレベルまで増加させることができることを示す。

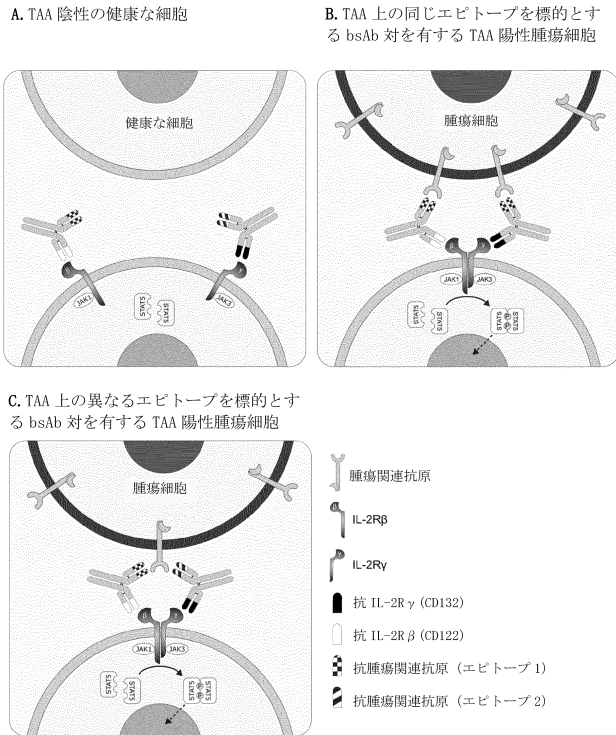
【 0 2 6 5 】

その他の実施形態

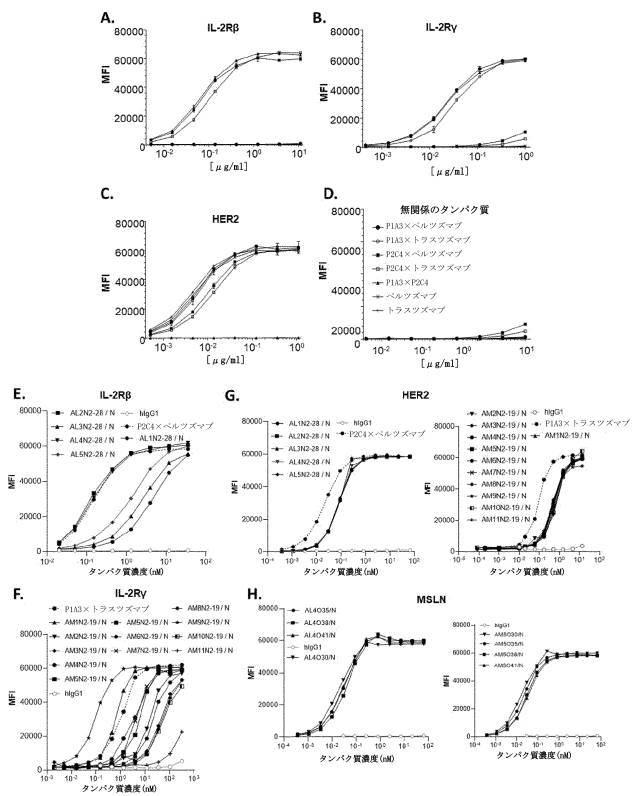
本発明は、その詳細な説明と併せて説明されてきたが、前述の説明は、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲を説明することを意図しており、限定することを意図していない。他の態様、利点、および改変は、添付の特許請求の範囲内である。

【 図 面 】

【 図 1 】



【 図 2 】



10

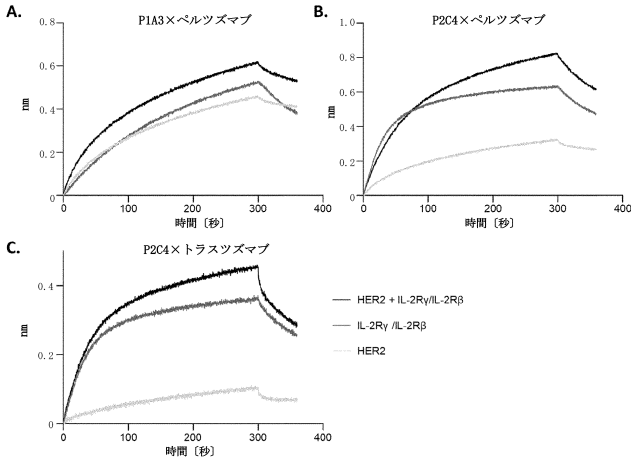
20

30

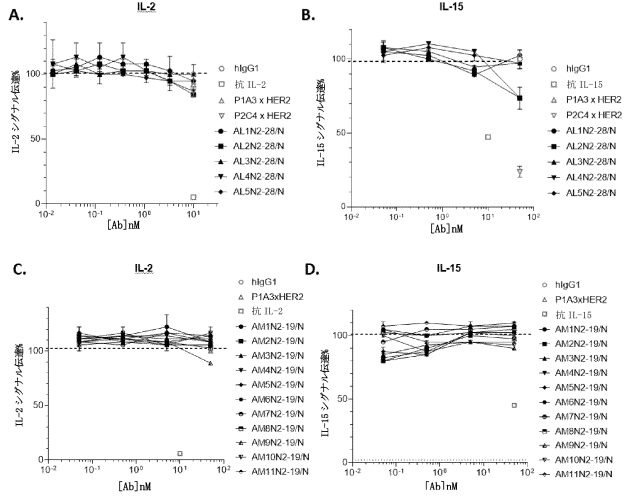
40

50

【 図 3 】

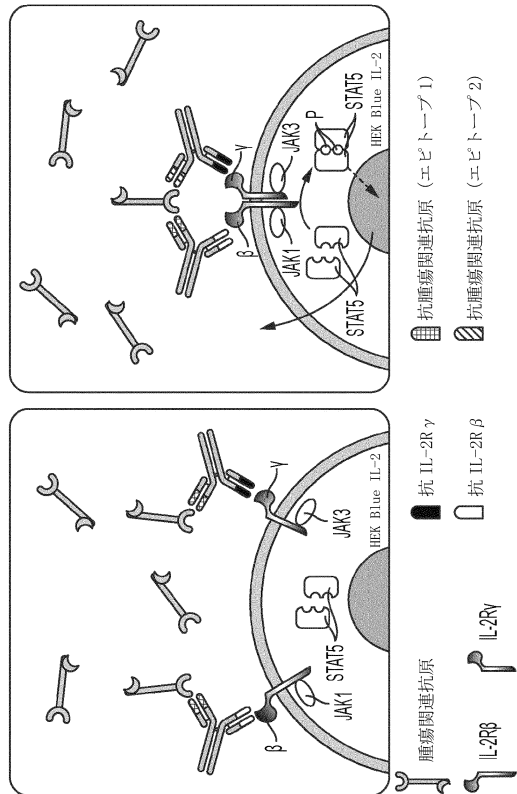


【 図 4 】



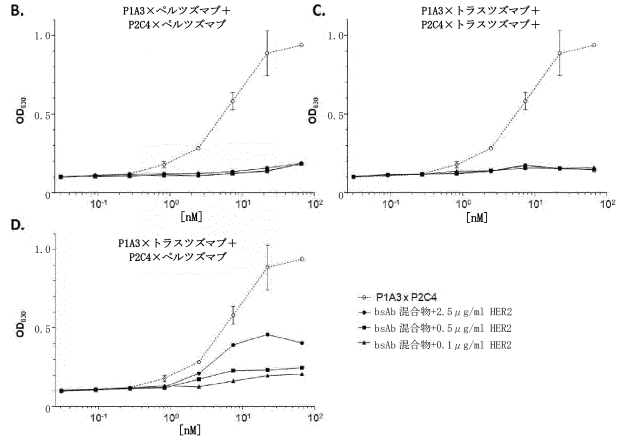
10

【 図 5 - 1 】



A.

【 図 5 - 2 】



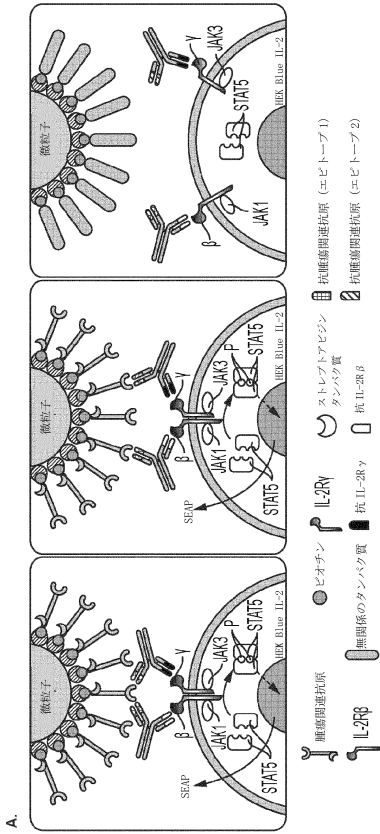
20

30

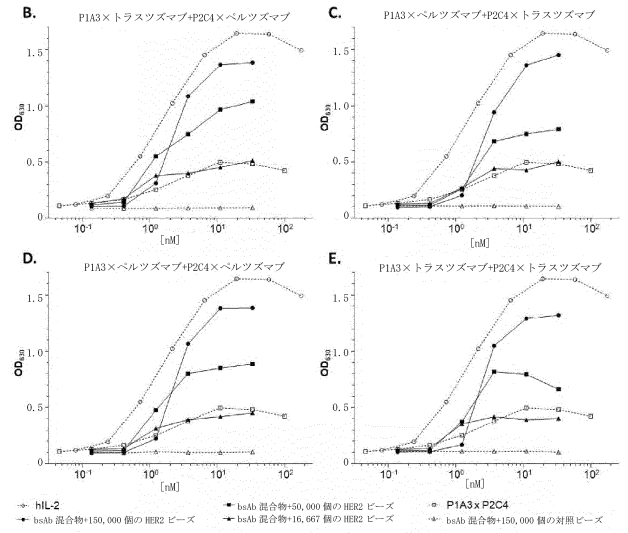
40

50

【 図 6 - 1 】



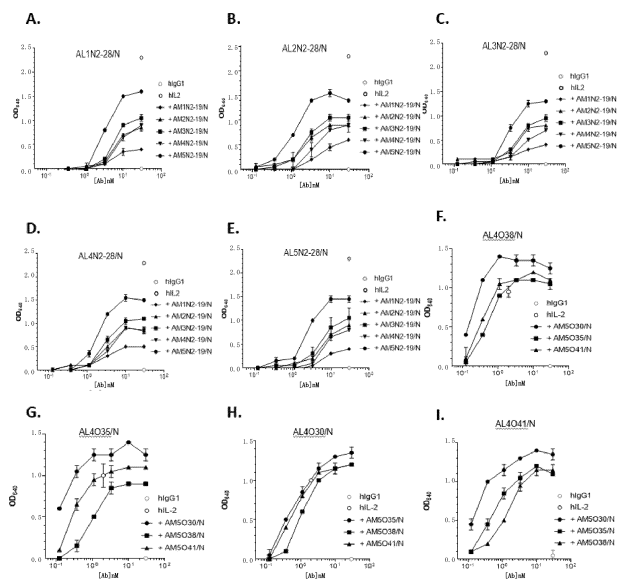
【 図 6 - 2 】



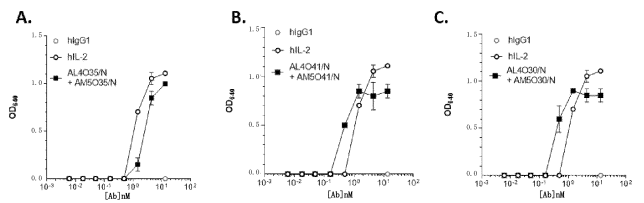
10

20

【 図 7 】



【 図 8 】

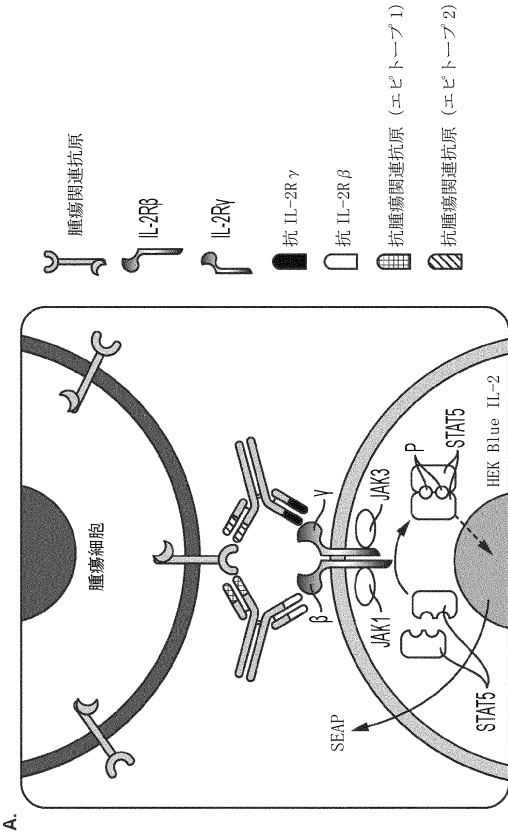


30

40

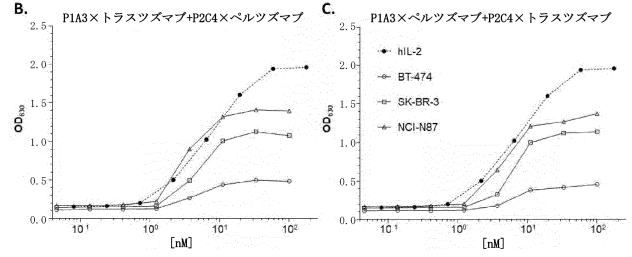
50

【 図 9 - 1 】



A.

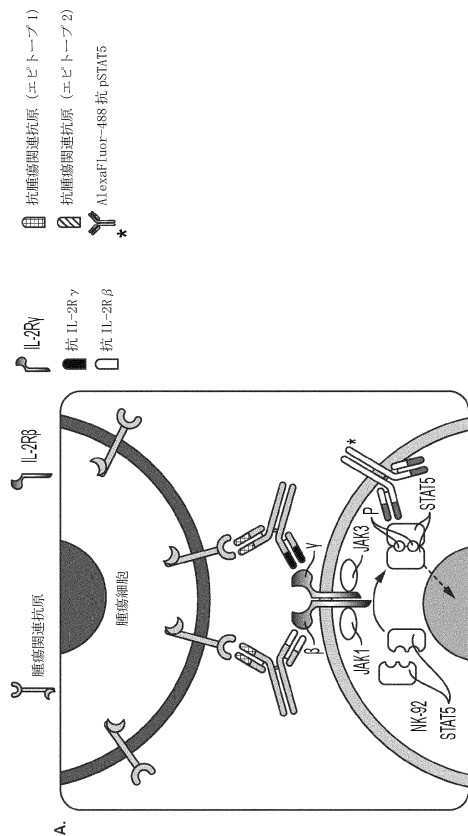
【 図 9 - 2 】



10

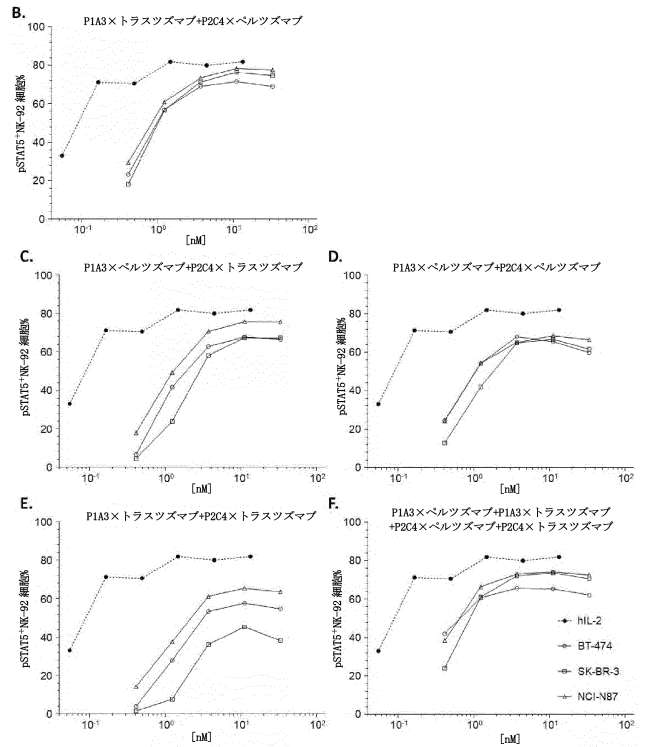
20

【 図 10 - 1 】



A.

【 図 10 - 2 】

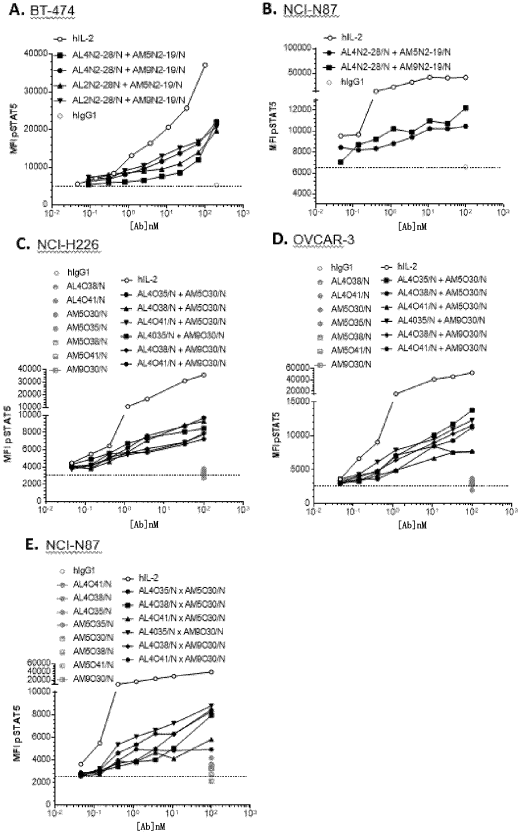


30

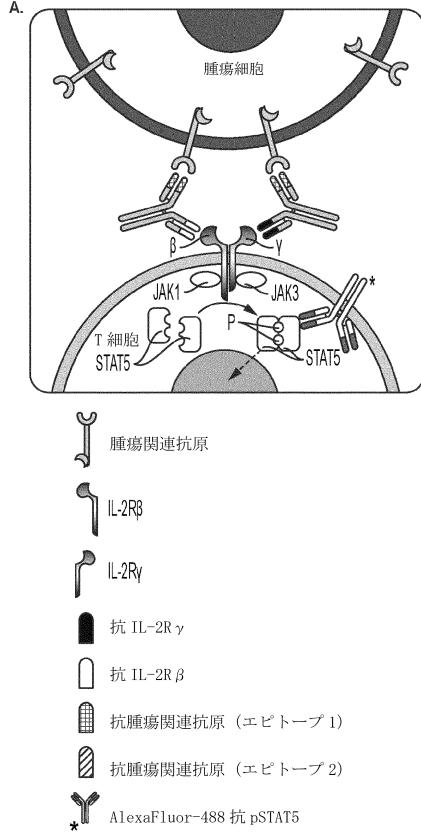
40

50

【 図 1 1 】



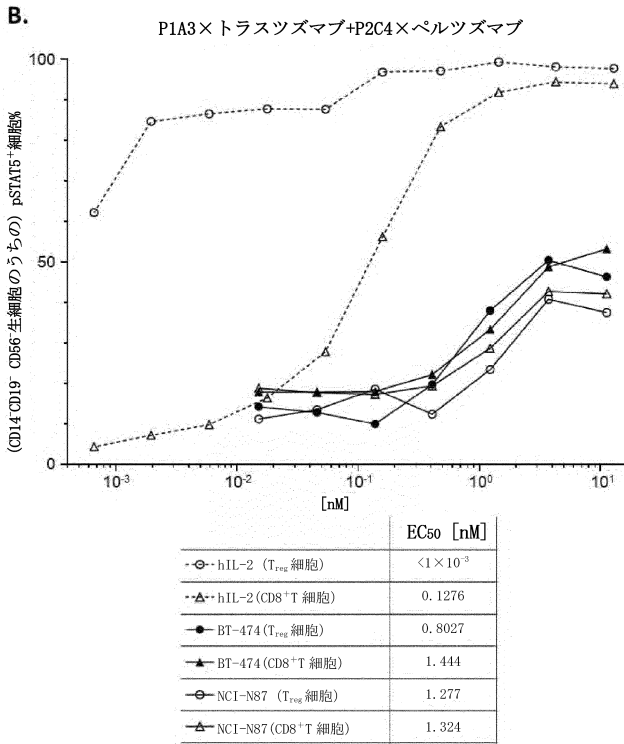
【 図 1 2 - 1 】



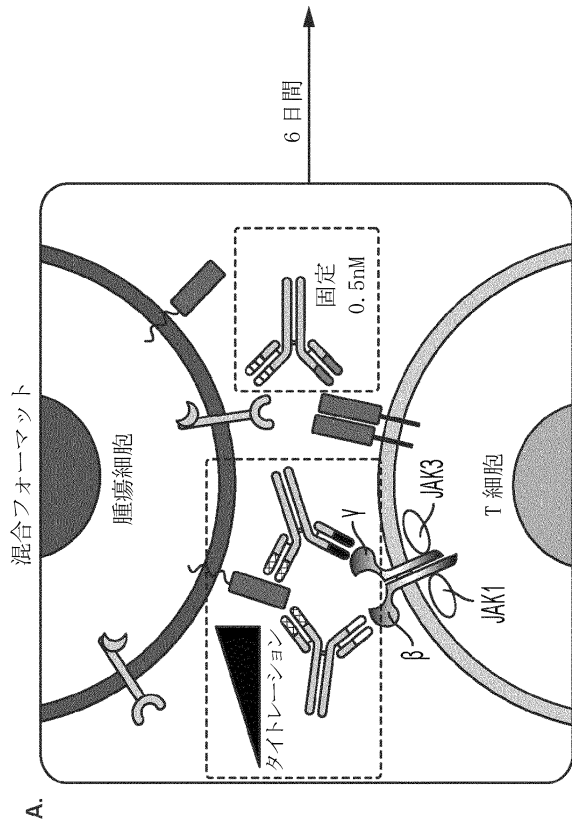
10

20

【 図 1 2 - 2 】



【 図 1 3 - 1 】

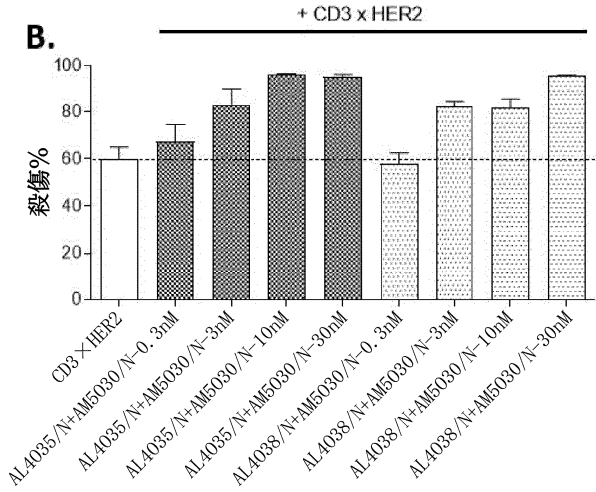


30

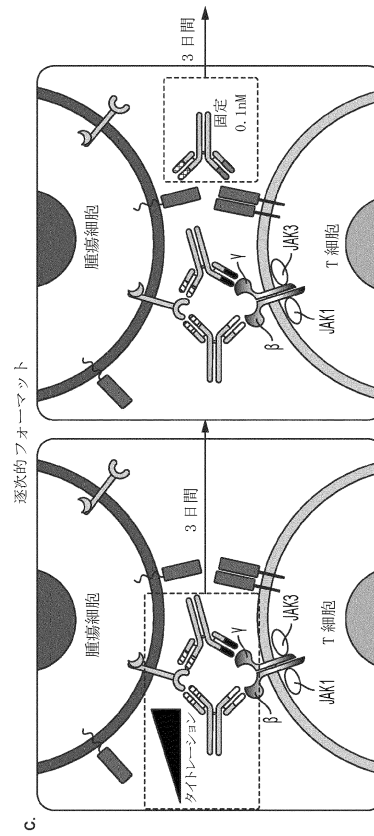
40

50

【 図 1 3 - 2 】



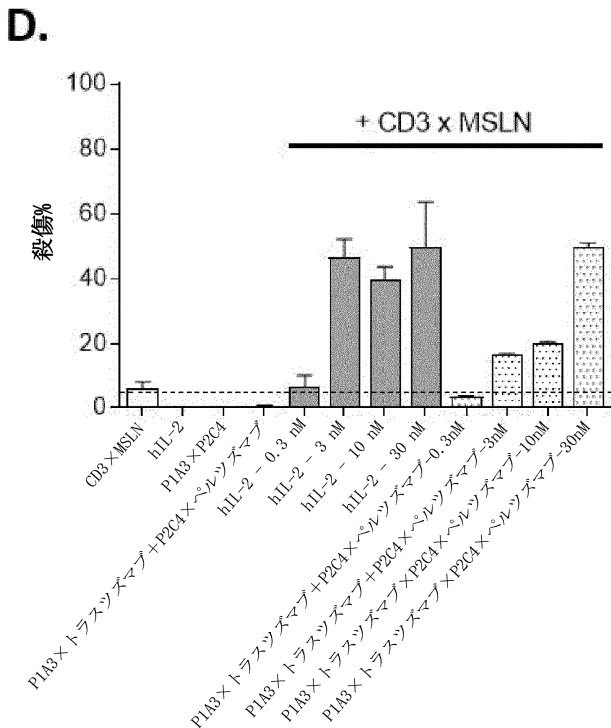
【 図 1 3 - 3 】



10

20

【 図 1 3 - 4 】



30

40

【 配列表 】

2025503109000001.xml

50



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2023/051721

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2020/131697 A2 (REVITOPÉ LTD [GB]) 25 June 2020 (2020-06-25) -----	1-25
A	DENISE SKROMBOLAS ET AL: "Challenges and developing solutions for increasing the benefits of IL-2 treatment in tumor therapy", EXPERT REVIEW OF CLINICAL IMMUNOLOGY, vol. 10, no. 2, 1 February 2014 (2014-02-01), pages 207-217, XP055225909, GB ISSN: 1744-666X, DOI: 10.1586/1744666X.2014.875856 the whole document -----	1-25
A	WO 2018/127610 A1 (F STAR BETA LTD [GB]) 12 July 2018 (2018-07-12) figure 1 -----	1-25

10

20

30

40

1

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/EP2023/051721

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

- 1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
  - a.  forming part of the international application as filed.
  - b.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
    - accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
- 2.  With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
- 3. Additional comments:

10

20

30

40

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2023/051721

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
<b>WO 2020106708 A1</b>	<b>28-05-2020</b>	<b>AU 2019384523 A1</b>	<b>22-04-2021</b>
		<b>CA 3119472 A1</b>	<b>28-05-2020</b>
		<b>CN 112912388 A</b>	<b>04-06-2021</b>
		<b>EA 202190593 A1</b>	<b>18-11-2021</b>
		<b>EP 3883956 A1</b>	<b>29-09-2021</b>
		<b>IL 283217 A</b>	<b>30-06-2021</b>
		<b>JP 2022511390 A</b>	<b>31-01-2022</b>
		<b>KR 20210094531 A</b>	<b>29-07-2021</b>
		<b>SG 11202103045S A</b>	<b>29-04-2021</b>
		<b>US 2022017588 A1</b>	<b>20-01-2022</b>
		<b>WO 2020106708 A1</b>	<b>28-05-2020</b>
<b>WO 2020131697 A2</b>	<b>25-06-2020</b>	<b>AU 2019402097 A1</b>	<b>10-06-2021</b>
		<b>CA 3120800 A1</b>	<b>25-06-2020</b>
		<b>CN 113226472 A</b>	<b>06-08-2021</b>
		<b>EP 3897851 A2</b>	<b>27-10-2021</b>
		<b>JP 2022514262 A</b>	<b>10-02-2022</b>
		<b>KR 20210105890 A</b>	<b>27-08-2021</b>
		<b>US 2020190213 A1</b>	<b>18-06-2020</b>
		<b>WO 2020131697 A2</b>	<b>25-06-2020</b>
		<b>WO 2018127610 A1</b>	<b>12-07-2018</b>
<b>CA 3047875 A1</b>	<b>12-07-2018</b>		
<b>CN 110366561 A</b>	<b>22-10-2019</b>		
<b>EP 3565838 A1</b>	<b>13-11-2019</b>		
<b>EP 4130037 A1</b>	<b>08-02-2023</b>		
<b>JP 2020503860 A</b>	<b>06-02-2020</b>		
<b>KR 20190103225 A</b>	<b>04-09-2019</b>		
<b>US 2019338049 A1</b>	<b>07-11-2019</b>		
<b>WO 2018127610 A1</b>	<b>12-07-2018</b>		

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

F I

A 6 1 K 39/395

T

A 6 1 P 37/04

テーマコード (参考)

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100188433

弁理士 梅村 幸輔

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100214396

弁理士 塩田 真紀

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(74)代理人 100221741

弁理士 酒井 直子

(74)代理人 100114926

弁理士 枝松 義恵

(72)発明者 フィッシャー ニコラス

スイス連邦 1 2 2 8 ジュネーブ プラン - レ - ズゥアト シュマン デュ プレ - フルーフ 1 5  
ノビミュン エスアー内

(72)発明者 モントルファーニ ジュリアン

スイス連邦 1 2 2 8 ジュネーブ プラン - レ - ズゥアト シュマン デュ プレ - フルーフ 1 5  
ノビミュン エスアー内

(72)発明者 シャン リミン

スイス連邦 1 2 2 8 ジュネーブ プラン - レ - ズゥアト シュマン デュ プレ - フルーフ 1 5  
ノビミュン エスアー内

(72)発明者 ハッテラー エリック

スイス連邦 1 2 2 8 ジュネーブ プラン - レ - ズゥアト シュマン デュ プレ - フルーフ 1 5  
ノビミュン エスアー内

F ターム (参考) 4C085 AA13 AA14 AA16 BB01 BB11 EE01 EE03

4H045 AA11 AA30 CA40 DA76 EA20 FA74 GA26