

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-536842

(P2017-536842A)

(43) 公表日 平成29年12月14日 (2017. 12. 14)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	2 G O 4 5
C O 7 K 16/28 (2006.01)	C O 7 K 16/28	4 B O 6 3
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 D	4 C O 8 4
G O 1 N 33/574 (2006.01)	G O 1 N 33/574 A	4 C O 8 5
G O 1 N 33/48 (2006.01)	G O 1 N 33/574 D	4 H O 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 147 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2017-542822 (P2017-542822)
 (86) (22) 出願日 平成27年11月2日 (2015. 11. 2)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年6月29日 (2017. 6. 29)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/058677
 (87) 国際公開番号 W02016/073380
 (87) 国際公開日 平成28年5月12日 (2016. 5. 12)
 (31) 優先権主張番号 62/074, 612
 (32) 優先日 平成26年11月3日 (2014. 11. 3)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 509012625
 ジェネンテック, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス
 サンフランシスコ ディーエヌエー
 ウェイ 1
 (74) 代理人 110002077
 園田・小林特許業務法人
 (72) 発明者
 フセニ, マールーク
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
 80-4990, サウス サンフランシ
 スコ, ディーエヌエー ウェイ 1,
 シー/オー ジェネンテック, インコー
 ポレイテッド

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 O X 4 O アゴニスト治療薬の有効性及び評価を予測するための方法及びバイオマーカー

(57) 【要約】

本開示は、1つ以上のバイオマーカーの発現レベルを測定することにより、がんを有する対象の O X 4 O アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法を提供する。1つ以上のバイオマーカーの発現レベルを測定することにより、O X 4 O アゴニスト治療薬の薬力学的活性、またはそれに対する応答性を監視する方法もまた提供される。さらに、それに関連して、対象に有効量の O X 4 O アゴニストを投与することにより、対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法も提供される。全てのかかる方法のための特定のバイオマーカーは、本明細書中に記載される。

【選択図】 図 5



FIG. 5

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

がんを有する対象の O X 4 0 アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法であって、

(a) 前記対象から得られた白血球を含む試料中の 1 つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、前記 1 つ以上のマーカー遺伝子が、C D 8 a、C D 8 b、H 2 - d、C T L A 4、C D 6 4、C X C L 9、I F N g、I D O 1、G Z M A、G Z M B、P R F 1、P D C A 1、K L R K 1、P T P R C、C X C L 1、I T G A M、及び I L 7 R からなる群から選択される、前記測定することと、

(b) 前記対象を、前記対象から得られた前記試料中の前記 1 つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、応答性または非応答性である対象として分類することであって、前記 1 つ以上のマーカー遺伝子の前記参照と比較して増加した発現レベルが、前記対象が O X 4 0 アゴニスト治療薬に対して応答性であり得ることを示す、前記分類することと、を含む、方法。

10

【請求項 2】

対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、

(a) 前記対象から得られた白血球を含む試料中の 1 つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、前記 1 つ以上のマーカー遺伝子が、C D 8 a、C D 8 b、H 2 - d、C T L A 4、C D 6 4、C X C L 9、I F N g、I D O 1、G Z M A、G Z M B、P R F 1、P D C A 1、K L R K 1、P T P R C、C X C L 1、I T G A M、及び I L 7 R からなる群から選択される、前記測定することと、

20

(b) 前記対象から得られた前記試料中の前記 1 つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルが参照よりも高い場合、前記対象に有効量の O X 4 0 アゴニストを投与することと、を含む、方法。

【請求項 3】

対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、前記対象に有効量の O X 4 0 アゴニストを投与することを含み、前記対象から得られた白血球を含む試料が、C D 8 a、C D 8 b、H 2 - d、C T L A 4、C D 6 4、C X C L 9、I F N g、I D O 1、G Z M A、G Z M B、P R F 1、P D C A 1、K L R K 1、P T P R C、C X C L 1、I T G A M、及び I L 7 R からなる群から選択される 1 つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して増加した発現を有する、方法。

30

【請求項 4】

前記 1 つ以上のマーカー遺伝子が、C D 8 a、C D 8 b、I F N g、G Z M A、G Z M B、P R F 1、及び P D C A 1 からなる群から選択される、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記 1 つ以上のマーカー遺伝子が、H 2 - d、C T L A 4、C X C L 9、P T P R C、I L 7 R、K L R K 1、及び C X C L 1 からなる群から選択される、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記 1 つ以上のマーカー遺伝子が、C D 6 4、I D O 1、及び I T G A M からなる群から選択される、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 7】

がんを有する対象の O X 4 0 アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法であって、

(a) 前記対象から得られた白血球を含む試料中の 1 つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、前記 1 つ以上のマーカー遺伝子が、C S F 2、C C L 2 2、E P C A M、G A T A 3、I L 1 3、及び V T C N 1 からなる群から選択される、前記測定することと、

(b) 前記対象を、前記対象から得られた前記試料中の前記 1 つ以上のマーカー遺伝子

50

の参照と比較した発現レベルに基づき、応答性または非応答性である対象として分類することであって、前記1つ以上のマーカー遺伝子の前記参照と比較して減少した発現レベルが、前記対象がOX40アゴニスト治療薬に対して応答性であり得ることを示す、前記分類することと、を含む、方法。

【請求項8】

対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、

(a) 前記対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、前記1つ以上のマーカー遺伝子が、CSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及びVTCN1からなる群から選択される、前記測定することと、

(b) 前記対象から得られた前記試料中の前記1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルが参照よりも低い場合、前記対象に有効量のOX40アゴニストを投与することと、を含む方法。

【請求項9】

対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、前記対象に有効量のOX40アゴニストを投与することを含み、前記対象から得られた白血球を含む試料が、CSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及びVTCN1からなる群から選択される1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して減少した発現を有する、方法。

【請求項10】

OX40アゴニスト治療薬の薬力学的活性を監視する方法であって、

(a) 前記対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、前記対象がOX40アゴニストで治療されており、前記1つ以上のマーカー遺伝子が、ARG1、CCL2、CCL22、CCL5、CCR5、CD226、CD27、CD274、CD28、CD3E、CD40、CD8A、CD8b、CXCL10、CXCL9、EOMES、FasL、Fcgr1/CD64、FOXP3、GZMA、GZMB、HAVCR2、ICAM1、IDO1、IFNg、IL10、IL12A(TDO2)、IL13、IL2、IL7R、ITGAM、KLRK1、LAG3、MAP4K1、MS4A1、PDCD1、PDCD1LG2、PRF1、PTPRC、TNF、TNFRSF14、TNFRSF9、及びTNFSF4からなる群から選択される、前記測定することと、

(b) 前記対象から得られた前記試料中の前記1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、前記治療が薬力学的活性を実証していると判定することであって、前記1つ以上のマーカー遺伝子の前記参照と比較して増加した発現レベルが、前記OX40アゴニスト治療薬に対する薬力学的活性を示す、判定することと、を含む、方法。

【請求項11】

前記1つ以上のマーカー遺伝子が、CD3、CD8、IFNg、GZMA、GZMB、PRF1、TNFa、PDCD1、及びCD274からなる群から選択される、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を監視する方法であって、

(a) 前記対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、前記対象がOX40アゴニストで治療されており、前記1つ以上のマーカー遺伝子が、BTLA、CD4、CD69、CD80、CD83、CD86、CSF2、CTLA4、CXCR3、Fcgr2b/CD32、Fcgr3/CD16、H2-a、H2-d、H2-k、ICOS、IL10、PDCA1、及びTNFRSF18からなる群から選択される、前記測定することと、

(b) 前記対象を、前記対象から得られた前記試料中の前記1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、前記治療薬に対して応答性または非応答性であるとして分類することであって、前記1つ以上のマーカー遺伝子の前記参照と比較して増加

10

20

30

40

50

した発現レベルが、反応性である対象を示す、前記分類することと、を含む、方法。

【請求項 13】

前記 1 つ以上のマーカー遺伝子が、CD80、CD86、ICOS、H2-a、及び CXCR3 からなる群から選択される、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

応答性が、免疫活性化及び／または治療の有効性を含む、請求項 12 または 13 のいずれかに記載の方法。

【請求項 15】

前記白血球が、前記対象から得られた腫瘍試料中に存在する、請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 16】

前記白血球が、前記対象から得られた末梢血試料中に存在する、請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

前記 1 つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルが、前記試料中の参照遺伝子の発現レベルに対して正規化される、請求項 1 ～ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記参照遺伝子が、ハウスキーピング遺伝子である、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記 1 つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルが、mRNA 発現レベルである、請求項 1 ～ 18 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 20】

前記 mRNA 発現レベルが、定量 PCR、半定量 PCR、ヌクレオチドマイクロアレイ、RNA-seq、インサイツハイブリダイゼーション、及びノーザンブロット法からなる群から選択されるアッセイによって測定される、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記 1 つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルが、タンパク質発現レベルである、請求項 1 ～ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記タンパク質発現レベルが、ウェスタンブロット法、ペプチドマイクロアレイ、免疫組織化学的検査、フローサイトメトリー、または質量分析法によって測定される、請求項 21 に記載の方法。

30

【請求項 23】

前記がんが、結腸直腸がん、非小細胞肺がん、腎細胞がん腫、膀胱がん、卵巣がん、膠芽腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん、胃がん、及び肝細胞がんからなる群から選択される、請求項 1 ～ 22 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

前記乳がんが、トリプルネガティブ乳がんである、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記 OX40 アゴニストが、抗体である、請求項 1 ～ 24 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 26】

前記抗体が、モノクローナル抗体である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記抗体が、ヒト化抗体またはヒト抗体である、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 28】

前記抗体が、IgG1 Fc 領域を含む、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 29】

前記抗体が、IgG4 Fc 領域を含む、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 30】

50

前記抗体が、F c 受容体との結合を減少させる変異を含むF c 領域を含む、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記抗体が、(a) 配列番号 2、8、または 9 のアミノ酸配列を含むH V R－H 1 と、(b) 配列番号 3、1 0、1 1、1 2、1 3、または 1 4 のアミノ酸配列を含むH V R－H 2 と、(c) 配列番号 4、1 5、または 1 9 のアミノ酸配列を含むH V R－H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含むH V R－L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含むH V R－L 2 と、(f) 配列番号 7、2 2、2 3、2 4、2 5、2 6、2 7、または 2 8 から選択されるアミノ酸配列を含むH V R－L 3 と、を含む、請求項 2 5 に記載の方法。

10

【請求項 3 2】

前記抗体が、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含むH V R－H 1 と、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含むH V R－H 2 と、(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含むH V R－H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含むH V R－L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含むH V R－L 2 と、(f) 配列番号 7 から選択されるアミノ酸配列を含むH V R－L 3 と、を含む、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記抗体が、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含むH V R－H 1 と、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含むH V R－H 2 と、(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含むH V R－H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含むH V R－L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含むH V R－L 2 と、(f) 配列番号 2 6 から選択されるアミノ酸配列を含むH V R－L 3 と、を含む、請求項 2 5 に記載の方法。

20

【請求項 3 4】

前記抗体が、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含むH V R－H 1 と、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含むH V R－H 2 と、(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含むH V R－H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含むH V R－L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含むH V R－L 2 と、(f) 配列番号 2 7 から選択されるアミノ酸配列を含むH V R－L 3 と、を含む、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記抗体が、M E D I 6 4 6 9 または M E D I 0 5 6 2 である、請求項 2 5 に記載の方法。

30

【請求項 3 6】

前記O X 4 0 アゴニストが、O X 4 0 L の 1 つ以上の細胞外ドメインを含む、請求項 1 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記O X 4 0 アゴニストが、M E D I 6 3 8 3 である、請求項 1 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

40

関連出願の相互参照

本出願は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、2 0 1 4 年 1 1 月 3 日出願の米国仮特許出願第 6 2 / 0 7 4 , 6 1 2 号に基づく優先権を主張する。

【0 0 0 2】

A S C I I テキストファイルでの配列表の提出

A S C I I テキストファイルでの以下の提出物の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。コンピュータ可読形態 (C R F) の配列表 (ファイル名: 1 4 6 3 9 2 0 2 8 9 4 0 S E Q L I S T . T X T、記録日: 2 0 1 5 年 1 1 月 2 日、サイズ: 1 8 5 K B)。

【0 0 0 3】

50

本開示は、OX40アゴニストを用いた治療に対する応答性を予測または監視する方法、及びそれに関連して、がんを治療する方法に関する。

【背景技術】

【0004】

OX40 (CD34、TNFRSF4、及びACT35としても知られる) は、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーのメンバーである。OX40は、ナイーブT細胞上に構造的に発現されないが、T細胞受容体 (TCR) の結合後に誘発される。OX40のリガンドであるOX40Lは、主に、抗原提示細胞上に発現される。OX40は、活性化CD4+T細胞、活性化CD8+T細胞、メモリーT細胞、及び制御性T細胞によって高度に発現される。OX40シグナルは、CD4及びCD8T細胞に共刺激性シグナルを提供することができ、増強した細胞の増殖、生存、エフェクター機能、及び移動をもたらす。OX40シグナルはまた、メモリーT細胞の発達及び機能も増強する。

10

【0005】

制御性T細胞 (Treg) 細胞は、黒色腫、NSCLC、腎がん、卵巣がん、結腸がん、膵臓がん、肝細胞、及び乳がんを含む複数のがん指標に由来する腫瘍内及び腫瘍流入領域リンパ節内で高度に濃縮される。これらの指標のサブセットにおいて、増加した腫瘍組織内Treg細胞密度は、乏しい患者の予後に関連し、これらの細胞が抗腫瘍免疫の抑制に重要な役割を担うことを示唆する。OX40陽性腫瘍浸潤性リンパ球が説明されてきた。

【0006】

OX40活性を調節する抗腫瘍治療からの利益をより得やすいであろう患者を特定するための診断、予後、及び予測方法の必要性が引き続き存在することは明確である。本明細書に記載される本発明は、その必要性を満たし、また他の利益を提供する。

20

【0007】

特許出願、特許公報、及びUniProtKB/Swiss-Prot受入番号を含め、本明細書に引用される全ての参照物は、各個別の参照物が参照により組み込まれることが具体的かつ個別に示されているかのように、それらの全体において参照により本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】

【0008】

本開示は、応答性を予測する方法、薬力学的活性または応答性を監視する方法、及びがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法を含む、OX40アゴニスト治療薬の有効性及び評価を予測するための方法及びバイオマーカーを説明する。

【0009】

特定の態様において、本開示は、がんを有する対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法であって、(a) 対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、当該1つ以上のマーカー遺伝子が、CD8a、CD8b、H2-d、CTLA4、CD64、CXCL9、IFNg、IDO1、GZMA、GZMB、PRF1、PDCA1、KLRK1、PTPRC、CXCL1、ITGAM、及びIL7Rからなる群から選択される、該測定することと、(b) 対象を、対象から得られた試料中の当該1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、応答性または非応答性である対象として分類することであって、1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して増加した発現レベルが、対象がOX40アゴニスト治療薬に対して応答性であり得ることを示す、該分類することと、を含む方法を提供する。

40

【0010】

特定の態様において、本開示は、対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、(a) 対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、当該1つ以上のマーカー遺伝子が、CD8a、CD8b、H2-d、CTLA4、CD64、CXCL9、IFNg、IDO1、GZMA

50

、GZMB、PRF1、PDCA1、KLK1、PTPRC、CXCL1、ITGAM、及びIL7Rからなる群から選択される、該測定することと、(b)対象から得られた試料中の当該1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルが参照よりも高い場合、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することと、を含む方法を提供する。

【0011】

特定の態様において、本開示は、対象のがんを治療する、またはその進行を遅らせる方法であって、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することを含み、対象から得られた白血球を含む試料が、CD8a、CD8b、H2-d、CTLA4、CD64、CXCL9、IFNg、IDO1、GZMA、GZMB、PRF1、PDCA1、KLK1、PTPRC、CXCL1、ITGAM、及びIL7Rからなる群から選択される1つ以上のマーカー遺伝子が参照と比較して増加した発現を有する方法を提供する。

10

【0012】

いくつかの実施形態では、当該1つ以上のマーカー遺伝子は、CD8a、CD8b、IFNg、GZMA、GZMB、PRF1、及びPDCA1からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、当該1つ以上のマーカー遺伝子は、H2-d、CTLA4、CXCL9、PTPRC、IL7R、KLK1、及びCXCL1からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、当該1つ以上のマーカー遺伝子は、CD64、IDO1、及びITGAMからなる群から選択される。

【0013】

特定の態様において、本開示は、がんを有する対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法であって、(a)対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、当該1つ以上のマーカー遺伝子が、CSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及びVTCN1からなる群から選択される、該測定することと、(b)対象を、対象から得られた試料中の当該1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、応答性または非応答性である対象として分類することであって、1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して減少した発現レベルが、対象がOX40アゴニスト治療薬に対して応答性であり得ることを示す、該分類することと、を含む方法を提供する。

20

【0014】

特定の態様において、本開示は、対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、(a)対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、当該1つ以上のマーカー遺伝子が、CSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及びVTCN1からなる群から選択される、該測定することと、(b)対象から得られた試料中の当該1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルが参照よりも低い場合、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することと、を含む方法を提供する。

30

【0015】

特定の態様において、本開示は、対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することを含み、対象から得られた白血球を含む試料が、CSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及びVTCN1からなる群から選択される1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して減少した発現を有する方法を提供する。

40

【0016】

特定の態様において、本開示は、OX40アゴニスト治療薬の薬力学的活性を監視する方法であって、(a)対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、対象がOX40アゴニストで治療されており、当該1つ以上のマーカー遺伝子が、ARG1、CCL2、CCL22、CCL5、CCR5、CD226、CD27、CD274、CD28、CD3E、CD40、CD8A、CD8b、CXCL10、CXCL9、EOMES、FasL、Fcgr1/CD64、FOX P3、GZMA、GZMB、HAVCR2、ICAM1、IDO1、IFNg、IL1

50

0、IL12A(TDO2)、IL13、IL2、IL7R、ITGAM、KLRK1、LAG3、MAP4K1、MS4A1、PDCD1、PDCD1LG2、PRF1、PTPRC、TNF、TNFRSF14、TNFRSF9、及びTNFSF4からなる群から選択される、該測定することと、(b)対象から得られた試料中の当該1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、治療が薬力学的活性を実証していると判定することであって、1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して増加した発現レベルが、OX40アゴニスト治療薬に対する薬力学的活性を示す、該判定することと、を含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、該1つ以上のマーカー遺伝子は、CD3、CD8、IFNg、GZMA、GZMB、PRF1、TNFa、PDCD1、及びCD274からなる群から選択される。

10

【0017】

特定の態様において、本開示は、対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を監視する方法であって、(a)対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、対象がOX40アゴニストで治療されており、当該1つ以上のマーカー遺伝子が、BTLA、CD4、CD69、CD80、CD83、CD86、CSF2、CTLA4、CXCR3、Fcgr2b/CD32、Fcgr3/CD16、H2-a a、H2-d、H2-k、ICOS、IL10、PDCA1、及びTNFRSF18からなる群から選択される、該測定することと、(b)対象を、対象から得られた試料中の当該1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、当該治療薬に対して応答性または非応答性である対象として分類することであって、該1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して増加した発現レベルが、応答性である対象を示す、該分類することと、を含む方法を提供する。いくつかの実施形態では、当該1つ以上のマーカー遺伝子は、CD80、CD86、ICOS、H2-a a、及びCXCR3からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、応答性は、免疫活性化及び/または治療の有効性を含む。

20

【0018】

いくつかの実施形態では、白血球を含む試料は、対象から得られた腫瘍試料に由来する。いくつかの実施形態では、白血球を含む試料は、対象から得られた末梢血試料に由来する。いくつかの実施形態では、該1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルは、試料中の参照遺伝子の発現レベルに対して正規化される。いくつかの実施形態では、参照遺伝子は、ハウスキーピング遺伝子である。いくつかの実施形態では、該1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルは、mRNA発現レベルである。いくつかの実施形態では、mRNA発現レベルは、定量PCR、半定量PCR、ヌクレオチドマイクロアレイ、RNA-seq、インサイツハイブリダイゼーション、及びノーザンブロット法からなる群から選択されるアッセイによって測定される。いくつかの実施形態では、該1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルは、タンパク質発現レベルである。いくつかの実施形態では、タンパク質発現レベルは、ウェスタンブロット法、ペプチドマイクロアレイ、免疫組織化学的検査、フローサイトメトリー、または質量分析法によって測定される。いくつかの実施形態では、がんが、結腸直腸がん、非小細胞肺がん、腎細胞がん腫、膀胱がん、卵巣がん、膠芽腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん、胃がん、及び肝細胞がんからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、乳がんは、トリプルネガティブ乳がんである。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、アゴニスト抗ヒトOX40抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体またはヒト抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、IgG1 Fc領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、IgG4 Fc領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、Fc受容体との結合を減少させる変異を含むFc領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、a)配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列

30

40

50

を含むHVR-L2と、(f)配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号7から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号26から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号27から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、MED I 6 4 6 9またはMED I 0 5 6 2である。いくつかの実施形態では、OX 4 0 アゴニストは、OX 4 0 Lの1つ以上の細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態では、OX 4 0 アゴニストは、MED I 6 3 8 3である。

10

【0019】

20

上記及び本明細書に記載される様々な実施形態の特性のうちの1つ、一部、または全てを組み合わせて、本発明の他の実施形態を形成してもよいことを理解されたい。本発明のこれら及び他の態様は、当業者には明らかとなるであろう。本発明のこれら及び他の実施形態は、以下に続く「発明を実施するための形態」によってさらに説明される。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1A】図1及び図2は、T細胞機能の抗OX 4 0治療の効果を示す。グラフは、抗CD 3及び抗OX 4 0治療に応答する、T細胞増殖(図1A)及びIFN γ 産生(図1B)を示す。

【図1B】図1及び図2は、T細胞機能の抗OX 4 0治療の効果を示す。グラフは、抗CD 3及び抗OX 4 0治療に応答する、T細胞増殖(図1A)及びIFN γ 産生(図1B)を示す。

30

【図2】対照治療と比較した、インビトロTre g抑制アッセイ中のTre g活性における抗OX 4 0治療の効果を示す。

【図3A】図3A～図3Cは、同系のマウス腫瘍モデル中の腫瘍体積における抗OX 4 0治療の効果を示す。EMT 6乳がん腫瘍モデル(図3A)、クラウドマン黒色腫瘍モデル(図3B)、及びCT 2 6 CRC腫瘍モデル(図3C)の結果が示される。

【図3B】図3A～図3Cは、同系のマウス腫瘍モデル中の腫瘍体積における抗OX 4 0治療の効果を示す。EMT 6乳がん腫瘍モデル(図3A)、クラウドマン黒色腫瘍モデル(図3B)、及びCT 2 6 CRC腫瘍モデル(図3C)の結果が示される。

40

【図3C】図3A～図3Cは、同系のマウス腫瘍モデル中の腫瘍体積における抗OX 4 0治療の効果を示す。EMT 6乳がん腫瘍モデル(図3A)、クラウドマン黒色腫瘍モデル(図3B)、及びCT 2 6 CRC腫瘍モデル(図3C)の結果が示される。

【図4A】図4A～図4Cは、同系のマウス腫瘍モデル中の腫瘍体積における抗OX 4 0治療の効果を示す。MC 3 8 CRC腫瘍モデル(図4A)、51Bl im 1 0 CRC腫瘍モデル(図4B)、及びJC乳がん腫瘍モデル(図4C)の結果が示される。

【図4B】図4A～図4Cは、同系のマウス腫瘍モデル中の腫瘍体積における抗OX 4 0治療の効果を示す。MC 3 8 CRC腫瘍モデル(図4A)、51Bl im 1 0 CRC腫瘍モデル(図4B)、及びJC乳がん腫瘍モデル(図4C)の結果が示される。

【図4C】図4A～図4Cは、同系のマウス腫瘍モデル中の腫瘍体積における抗OX 4 0

50

治療の効果を示す。MC38 CRC腫瘍モデル（図4A）、51Blim10 CRC腫瘍モデル（図4B）、及びJC乳がん腫瘍モデル（図4C）の結果が示される。

【図5】抗OX40治療前のマウス腫瘍モデル（標識されるように）中の遺伝子発現レベルのヒートマップを提供する。

【図6A】図6A及び6Bは、EMT6担がんマウス中の末梢血細胞における抗OX40治療の用量依存性の効果を示す。標識濃度の抗OX40抗体を用いた治療後の末梢血におけるTreg（図6A）及びCD8⁺T細胞（図6B）の割合が示される。

【図6B】図6A及び6Bは、EMT6担がんマウス中の末梢血細胞における抗OX40治療の用量依存性の効果を示す。標識濃度の抗OX40抗体を用いた治療後の末梢血におけるTreg（図6A）及びCD8⁺T細胞（図6B）の割合が示される。

【図7A】図7A及び7Bは、対照治療と比較した、EMT6腫瘍中のTreg（図7A）及びCD8⁺（図7B）細胞浸潤の数における抗OX40治療の効果を示す。

【図7B】図7A及び7Bは、対照治療と比較した、EMT6腫瘍中のTreg（図7A）及びCD8⁺（図7B）細胞浸潤の数における抗OX40治療の効果を示す。

【図8A】図8A及び8Bは、対照治療と比較した、JC腫瘍中のTreg（図8A）及びCD8⁺（図8B）の細胞浸潤の数における抗OX40治療の効果を示す。

【図8B】図8A及び8Bは、対照治療と比較した、JC腫瘍中のTreg（図8A）及びCD8⁺（図8B）の細胞浸潤の数における抗OX40治療の効果を示す。

【図9】図9A～9Dは、EMT6及びJC腫瘍モデルの両方において、対照治療と比較して、抗OX40治療後に上方制御される遺伝子を示す。IFN γ （図9A）、グランザイムA（図9B）、パーフォリン（図9C）、及びTNF α （図9D）の相対的な発現レベルが示される。

【図10】図10A～10Dは、EMT6腫瘍モデルにおいて、対照治療と比較して、抗OX40治療後に上方制御される遺伝子を示す。H2-a α （図10A）、CD86（図10B）、ICOS（図10C）、及びCXCR3（図10D）の相対的な発現レベルが示される。

【発明を実施するための形態】

【0021】

I. 一般的技法

本明細書において記載されるか、または参照される技法及び手順は、当業者によって一般に十分に理解され、従来の方法論、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, et al. eds., (2003)), the series Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR2: A Practical Approach (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed. (1987)), Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984), Methods in Molecular Biology, Humana Press, Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press, Animal Cell Culture (R. I. Freshney), ed., 1987), Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press, Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle

, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons, Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987)、PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994)、Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991)、Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999)、Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997)、Antibodies (P. Finch, 1997)、Antibodies: A Practical Approach (D. Catty, ed., IRL Press, 1988-1989)、Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000)、Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)、The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)、及びCancer: Principles and Practice of Oncology (V. T. DeVita et al., eds., J. B. Lippincott Company, 1993)に記載される、広く利用されている方法論等を使用して、一般的に用いられる。

【0022】

II. 定義

本発明を詳細に説明する前に、本発明は特定の組成物または生物系に限定されず、組成物及び生物系は当然ながら様々であり得ることを理解されたい。本明細書に使用される用語は特定の実施形態を説明することのみを目的とするものであり、限定的であるよう意図されるものではないことも理解されたい。

【0023】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される場合、「a」、「or」、及び「the」という単数形は、文脈に別段の明確な定めがない限り、複数の参照対象を含む。

【0024】

本明細書における「約」の値またはパラメータは、その値またはパラメータ自体に関する変形形態を含む（そして説明する）。例えば、「約X」を指す説明は、「X」の説明を含む。

【0025】

本明細書に記載される本発明の態様及び変形形態が、態様及び変形形態「からなる (consisting)」及び／または「から本質的になる (consisting essentially of)」を含むことは理解される。

【0026】

免疫機能障害の文脈における「機能障害」という用語は、抗原刺激に対する免疫応答性が低減した状態を指す。

【0027】

本明細書で使用される場合、「機能障害性」という用語には、抗原認識に対する不応性または無応答性、具体的には、抗原認識を、増殖、サイトカイン産生（例えば、ガンマインターフェロン）、及び／または標的細胞殺滅等の下流T細胞エフェクター機能に翻訳する能力の障害も含まれる。

【0028】

「T細胞機能を増強すること」とは、エフェクターT細胞またはメモリーT細胞が、再生、持続または増幅した生物学的機能を有することを誘発するか、その原因となるか、またはそれを刺激することを意味する。T細胞機能を増強することの例としては、介入前のレベルと比べて、CD8⁺エフェクターT細胞からのγ-インターフェロンの増加した分泌、CD4⁺メモリー及び／またはエフェクターT細胞からのγ-インターフェロンの増加した分泌、CD4⁺エフェクター及び／またはメモリーT細胞の増加した増殖、CD8⁺エフェクターT細胞の増加した増殖、増加した抗原応答性（例えば、除去）が挙げられる。一実施形態では、増強のレベルは、少なくとも50%、代替的には60%、70%、80%、90%、100%、120%、150%、200%である。この増強を測定する様式は、当業者に既知である。

10

【0029】

「腫瘍免疫」は、腫瘍が免疫認識及び除去を回避するプロセスを指す。したがって、治療的概念としては、腫瘍免疫は、かかる回避が軽減され、腫瘍が免疫系により認識され攻撃されるときに「治療される」。腫瘍認識の例としては、腫瘍結合、腫瘍収縮、及び腫瘍除去が挙げられる。

【0030】

「免疫原性」は、免疫応答を引き起こす特定の物質の能力を指す。腫瘍は免疫原性であり、腫瘍免疫原性の増強は、免疫応答による腫瘍細胞の除去を助ける。

【0031】

本明細書の目的における「アクセプターヒトフレームワーク」は、以下に定義される、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来する、軽鎖可変ドメイン（VL）フレームワークまたは重鎖可変ドメイン（VH）フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワークは、その同じアミノ酸配列を含んでもよく、またはそれは、アミノ酸配列変化を含有し得る。いくつかの実施形態では、アミノ酸変化の数は、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、または2以下である。いくつかの実施形態では、VLアクセプターヒトフレームワークの配列は、VLヒト免疫グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と同一である。

20

30

【0032】

「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、非共有性相互作用の総計の強度を指す。別途指定されない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」は、結合対（例えば、抗体及び抗原）のメンバー間の1:1の相互作用を反映する、本来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、一般に、解離定数（K_d）によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載される方法を含む、当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための具体的な例証的及び例示的な実施形態が、以下に説明される。

【0033】

本明細書で使用される場合、「アゴニスト抗体」は、それが結合する抗原の生物活性を活性化させる抗体である。

40

【0034】

「抗血管新生剤」は、血管の発達を遮断する、またはそれにある程度干渉する化合物を指す。抗血管新生剤は、例えば、血管新生の促進に関与する成長因子または成長因子受容体と結合する小分子または抗体であってもよい。一実施形態では、抗血管新生剤は、ベバシズマブ（AVASTIN）等の、血管内皮成長因子（VEGF）に結合する抗体である。

【0035】

「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害」または「ADCC」は、特定の細胞傷害性細胞（例

50

えば、NK細胞、好中球、及びマクロファージ）上に存在するFc受容体（FcRs）上に結合する分泌された免疫グロブリンが、これらの細胞傷害性エフェクター細胞が抗原保有標的細胞に特異的に結合することを可能にし、続いて、細胞毒を用いて標的細胞を死滅させる細胞傷害の一形態を指す。ADCCを媒介するための主要な細胞であるNK細胞は、FcγRIIIのみを発現するが、一方で、単球は、FcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIを発現する。造血細胞上でのFcR発現は、Ravetch and Kinetic, Annu. Rev. Immunol 9: 457-92 (1991)の464頁の表3に要約されている。目的の分子のADCC活性を評価するために、米国特許第5,500,362号、または同第5,821,337号、または米国特許第6,737,056号（Presta）に記載されるもの等のインビトロADCCアッセイを行ってもよい。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞には、PBMC細胞及びNK細胞が含まれる。代替的に、または追加的に、目的の分子のADCC活性は、インビボで、例えば、ClynesらPNAS（USA）95: 652-656（1998）に開示されるもの等の動物モデルにおいて、評価されてもよい。ADCC活性を評価するための例示的なアッセイが、本明細書の実施例に提供される。

【0036】

「抗OX40抗体」及び「OX40に結合する抗体」という用語は、抗体が診断剤及び／または治療剤としてOX40を標的とすることに有用となるような十分な親和性でOX40と結合することができる抗体を指す。一実施形態では、無関係の非OX40タンパク質への抗OX40抗体の結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定した場合に、この抗体のOX40への結合の約10%未満である。ある特定の実施形態では、OX40と結合する抗体は、 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 、または $\leq 0.001 \text{ nM}$ （例えば 10^{-8} M 以下、例えば $10^{-8} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ 、例えば $10^{-9} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ ）の解離定数（Kd）を有する。ある特定の実施形態では、抗OX40抗体は、異なる種に由来するOX40間で保存されているOX40のエピトープに結合する。

【0037】

本明細書で使用される場合、「結合する」、「～に特異的に結合する」、または「～に対して特異的な」という用語は、標的と抗体との間の結合等の測定可能及び再生可能な相互作用を指し、それは、生体分子を含む分子の不均一な集団の存在下で標的の存在を確定させる。例えば、標的（これはエピトープであり得る）に結合する、または特異的に結合する抗体は、他の標的に結合するよりも高い親和性、結合力で、より容易に、及び／またはより長い持続時間でこの標的に結合する、抗体である。一実施形態では、抗体が無関係の標的に結合する程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定した場合、標的に対する抗体の結合の約10%未満である。ある特定の実施形態では、標的に特異的に結合する抗体は、 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、または $\leq 0.1 \text{ nM}$ の解離定数（Kd）を有する。ある特定の実施形態では、抗体は、異なる種に由来するタンパク質間で保存されるタンパク質上のエピトープに特異的に結合する。別の実施形態では、特異的結合は、排他的結合を含み得るが、それを必要とはしない。

【0038】

本明細書における「抗体」という用語は、最も広範な意味で使用され、様々な抗体構造を包含し、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）、及び抗体断片を、それらが所望の抗原結合活性を示す限り含むが、これらに限定されない。

【0039】

「抗体断片」は、インタクト抗体が結合する抗原に結合する、インタクト抗体の一部を含むインタクト抗体以外の分子を指す。抗体断片の例には、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、ダイアボディ、線状抗体、単鎖抗体分子（例えばscFv）、及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が含まれるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0040】

参照抗体と「同じエピトープに結合する抗体」は、競合アッセイにおいて、参照抗体がその抗原に結合するのを50%以上遮断する抗体、及び逆に、競合アッセイにおいて、抗体がその抗原に結合するのを50%以上遮断する参照抗体を指す。例示的な競合アッセイが本明細書に提供される。

【0041】

「結合ドメイン」という用語は、別の分子に結合するポリペプチドの領域を指す。FcRの場合において、結合ドメインは、Fc領域の結合を担う、そのポリペプチド鎖の一部（例えば、そのアルファ鎖）を含んでもよい。1つの有用な結合ドメインは、FcRアルファ鎖の細胞外ドメインである。

10

【0042】

「改変された」FcR、ADCC、または食作用活性を有する変異型IgG Fcを含むポリペプチドは、親ポリペプチド若しくは天然型配列Fc領域を含むポリペプチドと比較して、増強したまたは減少したFcR結合活性（例えば、FcγR）、及び／もしくはADCC活性、及び／もしくは食作用活性を有するものである。

【0043】

本明細書で使用される場合、「OX40」という用語は、別途指定されない限り、霊長類（例えば、ヒト）及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源に由来する任意の天然型OX40を指す。この用語は、「完全長」未処理のOX40、ならびに細胞内の処理から生じるOX40の任意の形態を包含する。この用語は、OX40の天然に存在する変異型、例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型も包含する。例示のヒトOX40のアミノ酸配列は、配列番号1に示される。

20

【0044】

「OX40活性化」は、OX40受容体の活性化を指す。一般に、OX40活性化は、シグナル伝達をもたらす。

【0045】

「がん」及び「がん性」という用語は、典型的には制御されない細胞成長を特徴とする、哺乳動物における生理学的状態を指すか、または説明する。がんの例としては、がん腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病またはリンパ系の悪性病変が挙げられるが、これらに限定されない。そのようながんのより具体的な例としては、扁平上皮細胞がん（例えば、上皮系扁平上皮細胞がん）、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺の腺がん、及び肺の扁平上皮がんを含む肺がん、腹膜のがん、肝細胞がん、消化管がん、及び消化管間質がんを含む胃がん（gastric cancer）または胃がん（stomach cancer）、膵臓がん、膠芽腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝臓がん、膀胱がん、泌尿器系のがん、肝臓がん、乳がん、結腸がん、直腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜がんまたは子宮がん、唾液腺がん、腎臓がん（kidney cancer）または腎臓がん（renal cancer）、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝がん、肛門がん、陰茎がん、黒色腫、表在拡大型黒色腫、悪性黒子型黒色腫、末端黒子型黒色腫、結節型黒色腫、多発性骨髄腫及びB細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞性白血病、慢性骨髄芽球性白血病、移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、ならびに、母斑症、浮腫（例えば脳腫瘍に関連するもの等）、メイグス症候群、脳に関連する異常血管増殖、ならびに頭頸部がん、及び関連する転移が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、本発明の抗体による治療を受けることのできるがんには、乳がん、結腸直腸がん、直腸がん、非小細胞肺がん、膠芽腫、非ホジキンリンパ腫（NHL）、腎細胞がん、前立腺がん、肝臓がん、膵臓がん、軟部組織肉腫、カポジ肉腫、カルチノイドがん腫、頭頸部がん、卵巣がん、中皮腫、及び多発性骨髄腫が含まれる。いくつかの実施形態では、がんは、非小細胞肺がん、膠芽腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん（例えば、トリプルネガティブ乳がん）、胃がん、結腸直腸がん（CRC）、及び肝細胞がんから選択される。さらに、いくつかの実施形態では、がんは、それらの転移形態を含む、非小細胞肺がん、結腸直腸がん、膠芽腫、及び乳がん（例えば、ト

30

40

50

リプルネガティブ乳がん)から選択される。

【0046】

「腫瘍」という用語は、悪性か良性かを問わず、全ての腫瘍性細胞の成長及び増殖、ならびに全ての前がん性及びがん性細胞ならびに組織を指す。本明細書において称される場合、「がん」、「がん性」、「細胞増殖性障害」、「増殖性障害」、及び「腫瘍」という用語は、相互排他的ではない。

【0047】

「細胞増殖性障害」及び「増殖性障害」という用語は、ある程度の異常な細胞増殖に関連する障害を指す。一実施形態では、細胞増殖性障害は、がんである。

【0048】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖及び／または軽鎖の一部が特定の源または種に由来し、重鎖及び／または軽鎖の残りの部分が異なる源または種に由来する抗体を指す。

【0049】

抗体の「クラス」は、その重鎖によって保有される定常ドメインまたは定常領域の型を指す。抗体には、5つの主要なクラス、IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMが存在し、これらのいくつかは、サブクラス(アイソタイプ)、例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁、及びIgA₂にさらに分割され得る。免役グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、α、δ、ε、γ、及びμと呼ばれる。

【0050】

「補体依存性細胞傷害」または「CDC」は、補体の存在下での標的細胞の溶解を指す。古典的補体経路の活性化は、補体系(C1q)の第1の構成要素の、それらのコグネイト抗原に結合された(適切なサブクラスの)抗体への結合によって起こされる。補体活性化を評価するために、例えば、Gazzano-Santoro, J. Immunol. Methods 202:163 (1996)に記載されるもの等のCDCアッセイを行ってもよい。改変されたFc領域アミノ酸配列を有するポリペプチドの変異型(変異型Fc領域を有するポリペプチド)、及び増加したまたは減少したC1q結合能力が、例えば、米国特許第6,194,551B1号及び国際公開第1999/51642号に記載されており、また例えば、IdusogierらJ. Immunol. 164:4178-4184 (2000)も参照されたい。

【0051】

「細胞増殖抑制剤」という用語は、インビトロまたはインビボのいずれかにおける細胞の成長を阻止する化合物または組成物を指す。したがって、細胞増殖抑制剤は、S相における細胞の割合を著しく低減するものであってもよい。細胞増殖抑制剤のさらなる例には、G0/G1阻止またはM相阻止を誘発することで細胞周期進行を遮断する薬剤が含まれる。ヒト化抗Her2抗体トラスツズマブ(HERCEPTIN(登録商標))は、G0/G1阻止を誘発する細胞増殖抑制剤の例である。古典的M期遮断剤としては、ビンカ(ビンクリスチン及びビンブラスチン)、タキサン、及びトポイソメラーゼII阻害剤、例えば、ドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、及びブレオマイシンが挙げられる。G1を阻止する特定の薬剤、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキサート、5-フルオロウラシル、及びara-C等のDNAアルキル化剤はまた、S期阻止へと波及する。さらなる情報は、Mendelsohn及びIsrael, ed., The Molecular Basis of Cancerの「Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs」と題されるMurakami et alによる第一章(W. B. Saunders, Philadelphia, 1995)、例えば、13頁において見出され得る。タキサン(パクリタキセル及びドセタキセル)は、いずれもイチイの木に由来する抗がん薬である。ヨーロッパイチイに由来するドセタキセル(TAXOTERE(登録商標)、Rhône-Poulenc Rorer)は、パクリタキセル(TAXOL(登録商標)、Bristol-

10

20

30

40

50

Myers Squibb) の半合成類似体である。パクリタキセル及びドセタキセルは、チューブリン二量体からの微小管のアセンブリを促進し、脱重合を防止することによって微小管を安定させ、細胞内の有糸分裂の阻害をもたらす。

【0052】

本明細書で使用される場合、「細胞傷害性薬剤」という用語は、細胞機能を阻害若しくは防止する、及び／または細胞死若しくは破壊を引き起こす、物質を指す。細胞傷害性薬剤としては、放射性同位体（例えば、 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 、及びLuの放射性同位体）；化学療法剤または化学療法薬（例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカアルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルビシン、または他のインターカレート剤）；成長阻害剤；核酸分解酵素等の酵素及びそれらの断片；抗生物質；細菌、真菌、植物、または動物起源の小分子毒素または酵素活性毒素（それらの断片及び／または変異型を含む）等の毒素；ならびに以下に開示される様々な抗腫瘍または抗がん薬剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0053】

「枯渇性抗OX40抗体」は、OX40発現細胞を死滅させるまたは枯渇させる抗OX40抗体である。OX40発現細胞の枯渇は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害及び／または食作用等の様々な機構により達成することができる。OX40発現細胞の枯渇は、インビトロでアッセイされ得、インビトロADCC及び食作用アッセイの例示的な方法が本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、OX40発現細胞は、ヒトCD4+エフェクターT細胞である。いくつかの実施形態では、OX40発現細胞は、ヒトOX40を発現するトランスジェニックBT474細胞である。

【0054】

「エフェクター機能」は、抗体アイソタイプにより異なる抗体のFc領域に起因し得る生物活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、C1q結合及び補体依存性細胞傷害(CDC)、Fc受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)、食作用、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）の下方制御、ならびにB細胞活性化が挙げられる。

【0055】

薬剤、例えば、薬学的製剤の「有効量」は、所望の治療的または予防的結果を達成するために、必要な期間に亘って投与する投薬量の有効な量を指す。

【0056】

「Fc受容体」または「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を説明する。いくつかの実施形態では、FcRは、天然ヒトFcRである。いくつかの実施形態では、FcRは、IgG抗体（ガンマ受容体）を結合し、FcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIサブクラスを受容体を含むものであり、これには、これらの受容体の対立遺伝子変異型及び代替的にスプライス形態も含まれる。FcγRII受容体には、FcγRIIA（「活性化受容体」）及びFcγRIIB（「阻害性受容体」）が含まれ、これらは、それらの細胞質側ドメインが主に異なる、同様のアミノ酸配列を有する。活性化受容体FcγRIIAは、その細胞質側ドメイン内に免疫受容体チロシン系活性化モチーフ(ITAM)を含有する。阻害性受容体FcγRIIBは、その細胞質側ドメイン内に免疫受容体チロシン系阻害モチーフ(ITIM)を含有する（例えば、Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)を参照）。FcRは、例えば、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991)、Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994)、及びde Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)において概説される。他のFcRは、将来特定されるものを含め、「FcR」という用語によって本明細書に包含される。「Fc受容体」または「FcR」という用語にはまた、胎児への母体IgGの移入を担う、新生児

型受容体であるFcRn (Guyer et al., J. Immunol. 117: 587 (1976) 及びKim et al., J. Immunol. 24: 249 (1994))、及び免疫グロブリンのホメオスタシスの制御も含まれる。FcRnへの結合の測定方法は既知である (例えば、Ghetie and Ward., Immunol. Today 18 (12): 592-598 (1997)、Ghetie et al., Nature Biotechnology, 15 (7): 637-640 (1997)、Hinton et al., J. Biol. Chem. 279 (8): 6213-6216 (2004)、国際公開第2004/92219号 (Hinton et al.) を参照されたい。ヒトFcRn高親和性結合ポリペプチドのインビボでのヒトFcRnへの結合及び血清中半減期は、例えば、ヒトFcRnを発現するトランスジェニックマウス若しくはトランスフェクトヒト細胞株において、または変異型Fc領域を有するポリペプチドが投与される霊長類においてアッセイすることができる。国際公開第2000/42072号 (Presta) は、向上または減少したFcRへの結合を有する抗体変異型を記載している。また例えば、Shields et al. J. Biol. Chem. 9 (2): 6591-6604 (2001) を参照されたい。

10

【0057】

本明細書における「Fc領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部を含有する、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するように使用される。この用語は、天然配列Fc領域及び変異型Fc領域を含む。一実施形態では、ヒトIgG重鎖Fc領域は、Cys226から、またはPro230から、重鎖のカルボキシル末端までに及ぶ。しかしながら、Fc領域のC末端リジン (Lys447) は、存在する場合もあれば、しない場合もある。本明細書で別途指定がない限り、Fc領域または定常領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載される、EUインデックスとも呼ばれる、EU付番方式に従う。

20

【0058】

「機能性Fc領域」は、天然配列Fc領域の「エフェクター機能」を保有する。例示的な「エフェクター機能」としては、C1q結合、CDC、Fc受容体結合、ADCC、食作用、細胞表面受容体 (例えば、B細胞受容体、BCR) の下方制御等が挙げられる。かかるエフェクター機能は、一般に、Fc領域が結合ドメイン (例えば、抗体可変ドメイン) に結合していることを必要とし、例えば、本明細書の定義において開示される様々なアッセイを使用して評価することができる。

30

【0059】

「ヒトエフェクター細胞」は、1つ以上のFcRを発現し、エフェクター機能を実行する白血球を指す。ある特定の実施形態では、細胞は、少なくともFcγRIIIを発現し、ADCCエフェクター機能 (複数可) を実行する。ADCCを媒介するヒト白血球の例としては、末梢血単核細胞 (PBMC)、ナチュラルキラー (NK) 細胞、単球、細胞傷害性T細胞、及び好中球が挙げられる。エフェクター細胞は、天然源、例えば血液から単離されてもよい。

40

【0060】

「フレームワーク」または「FR」は、超可変領域 (HVR) 残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは、一般に、4つのFRドメイン、FR1、FR2、FR3、及びFR4からなる。したがって、HVR及びFR配列は、一般に、VH (またはVL) において次の配列、FR1-H1 (L1)-FR2-H2 (L2)-FR3-H3 (L3)-FR4で出現する。

【0061】

「完全長抗体」、「インタクト抗体」、及び「全抗体」という用語は、本明細書で、天然抗体構造と実質的に同様の構造を有するか、または本明細書に定義されるFc領域を含

50

有する重鎖を有する抗体を指すように互換的に使用される。

【0062】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」、及び「宿主細胞培養物」という用語は、互換的に使用され、外因性核酸が導入された細胞を指し、これには、かかる細胞の子孫も含まれる。宿主細胞には、初代形質転換細胞、及び継代の数に関わらずそれに由来する子孫を含む、「形質転換体」及び「形質転換細胞」が含まれる。子孫の核酸含量は親細胞と完全に同一でない場合があるが、変異を含有し得る。元々形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能または生物活性を有する変異体子孫が、本明細書に含まれる。

【0063】

「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞によって産生された、またはヒト抗体レパトリーを利用する非ヒト源に由来する、抗体のアミノ酸配列、または他のヒト抗体コード配列に対応する、アミノ酸配列を保有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を具体的に除外する。

【0064】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンVLまたはVHフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンVLまたはVH配列の選択は、可変ドメイン配列の下位群からのものである。一般に、配列の下位群は、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3にあるような下位群である。一実施形態では、VLについて、下位群は、上記のKabat et al.にあるような下位群カッパIである。一実施形態では、VHについて、下位群は、上記のKabat et al.にあるような下位群II Iである。

【0065】

「ヒト化」抗体は、非ヒトHVR由来のアミノ酸残基及びヒトFR由来のアミノ酸残基を含む、キメラ抗体を指す。ある特定の実施形態では、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含むことになり、そのHVR（例えば、CDR）の全てまたは実質的に全てが非ヒト抗体のものに対応し、そのFRの全てまたは実質的に全てがヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は任意で、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部を含んでもよい。抗体の、例えば非ヒト抗体の「ヒト化形態」は、ヒト化を経た抗体を指す。

【0066】

本明細書で使用される場合、「超可変領域」または「HVR」という用語は、配列中で超可変（「相補性決定領域」または「CDR」）であり、かつ／または構造的に画定されたループ（「超可変ループ」）を形成し、かつ／または抗原接触残基（「抗原接触体」）を含有する、抗体可変ドメインの領域の各々を指す。一般に、抗体は、VH内に3つ（H1、H2、H3）及びVL内に3つ（L1、L2、L3）の、6つのHVRを含む。本明細書における例示的なHVRには、

(a) アミノ酸残基26～32（L1）、50～52（L2）、91～96（L3）、26～32（H1）、53～55（H2）、及び96～101（H3）で発生する超可変ループ（Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)）、

(b) アミノ酸残基24～34（L1）、50～56（L2）、89～97（L3）、31～35b（H1）、50～65（H2）、及び95～102（H3）で発生するCDR（Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)）、

10

20

30

40

50

(c) アミノ酸残基 27c～36 (L1)、46～55 (L2)、89～96 (L3)、30～35b (H1)、47～58 (H2)、及び93～101 (H3)で発生する抗原接触体 (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996))、ならびに

(d) HVRアミノ酸残基 46～56 (L2)、47～56 (L2)、48～56 (L2)、49～56 (L2)、26～35 (H1)、26～35b (H1)、49～65 (H2)、93～102 (H3)、及び94～102 (H3)を含む、(a)、(b)、及び/または(c)の組み合わせを含む。

【0067】

別途指定されない限り、可変ドメインにおけるHVR残基及び他の残基(例えば、FR残基)は、本明細書において上記のKabata et al.に従って付番される。

【0068】

「免疫複合体」は、細胞傷害性薬剤を含むが、これに限定されない1つ以上の異種性分子(複数可)に複合される抗体である。

【0069】

「個体」または「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物には、家畜(例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ)、霊長類(例えば、ヒト、及びサル等の非ヒト霊長類)、ウサギ、ならびに齧歯類(例えば、マウス及びラット)が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、個体または対象は、ヒトである。

【0070】

「細胞成長または増殖を促進すること」とは、細胞の成長または増殖を、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または100%増加させることを意味する。

【0071】

「単離」抗体は、その天然環境の構成成分から分離された抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、例えば、電気泳動法(例えば、SDS-PAGE、等電点電気泳動(IEF)、キャピラリー電気泳動)またはクロマトグラフ法(例えば、イオン交換または逆相HPLC)によって決定される、95%超または99%の純度まで精製される。抗体純度の評価のための方法の概説に関して、例えばFlatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)を参照されたい。

【0072】

「単離」核酸は、その天然環境の構成成分から分離された核酸分子を指す。単離核酸は、核酸分子を通常含有する細胞内に含有される核酸分子を含むが、その核酸分子は、染色体外に、またはその天然の染色体位置とは異なる染色体位置に存在する。

【0073】

「抗OX40抗体をコードする単離核酸」は、抗体の重鎖及び軽鎖(またはそれらの断片)をコードする1つ以上の核酸分子を指し、これには、単一のベクターまたは別個のベクターにおけるかかる核酸分子(複数可)が含まれ、かかる核酸分子(複数可)は、宿主細胞内の1つ以上の位置に存在する。

【0074】

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、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、その集団を構成する個々の抗体は、同一であり、及び/または同じエピトープに結合するが、例えば、自然発生突然変異を含有する、またはモノクローナル抗体調製物の産生中に発生する、想定される変異型抗体は例外であり、かかる変異型は一般に少量で存在する。異なる決定基(エピトープ)に対する異なる抗体を典型的に含む、ポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基を対象とする。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、実質的に同種の抗体の集団から得られるという抗体の特徴を示しており、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されるものではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、ハイブリドー

10

20

30

40

50

マ法、組み換えDNA法、ファージディスプレイ法、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法を含むが、これらに限定されない、多様な技法によって作製されてもよく、モノクローナル抗体を作製するためのかかる方法及び他の例示的な方法が、本明細書に記載されている。

【0075】

「裸の抗体」は、異種性部分（例えば、細胞傷害性部分）または放射標識に複合されていない抗体を指す。裸の抗体は、薬学的製剤中に存在してもよい。

【0076】

「天然抗体」は、様々な構造を有する、自然発生免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然IgG抗体は、ジスルフィド結合されている2つの同一の軽鎖及び2つの同一の重鎖から構成される、約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。N末端からC末端まで、各重鎖は、可変重ドメイン(variable heavy domain)または重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域(VH)、続いて3つの定常ドメイン(CH1、CH2、及びCH3)を有する。同様に、N末端からC末端まで、各軽鎖は、可変軽ドメイン(variable light domain)または軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域(VL)、続いて定常軽(CL)ドメインを有する。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ(κ)及びラムダ(λ)と呼ばれる2つの型うちの1つに割り付けられ得る。「天然配列Fc領域」は、天然で見出されるFc領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。天然配列ヒトFc領域には、天然配列ヒトIgG1 Fc領域(非A及びAアロタイプ)、天然配列ヒトIgG2 Fc領域、天然配列ヒトIgG3 Fc領域、及び天然配列ヒトIgG4 Fc領域、ならびに天然に発生するそれらの変異型が含まれる。

【0077】

「添付文書」という用語は、かかる治療薬の適応症、使用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌症についての情報、及び／またはかかる治療剤製品の使用に関する警告を含有する、治療剤製品の市販パッケージに通例含まれる指示書を指すように使用される。

【0078】

参照ポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」は、いかなる保存的置換も配列同一性の部分として考慮せずに、配列同一性最大パーセントを得るために配列をアライメントし、必要な場合にはギャップを導入した後に、参照ポリペプチド配列におけるアミノ酸残基と同一である、候補配列におけるアミノ酸残基の割合として定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアライメントは、当該技術分野における技術の範囲内の様々な方式で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、またはMegalign(DNASTAR)ソフトウェア等の、公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、達成することができる。当業者は、比較されている配列の完全長に亘る最大のアライメントを得るために必要とされる任意のアルゴリズムを含む、配列をアライメントするために適切なパラメータを判定することができる。しかしながら、本明細書の目的において、アミノ酸配列同一性%値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を使用して生成される。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムは、Genentech, Inc.によって著され、ソースコードは、ユーザ文書と共に、Washington D. C., 20559の米国著作権局に出願され、米国著作権登録第TXU510087号として登録されている。ALIGN-2プログラムは、Genentech, Inc., South San Francisco, Californiaから公的に利用可能であるか、またはソースコードから編集されてもよい。ALIGN-2プログラムは、デジタルUNIX V4.0Dを含むUNIXオペレーティングシステムで使用するために編集すべきである。全ての配列比較パラメータは、ALIGN-2プログラムによって設定され、変更されない。

【0079】

アミノ酸配列比較のためにALIGN-2が用いられる場合、所与のアミノ酸配列Bに対する、それとの、またはそれと対比した、所与のアミノ酸配列Aのアミノ酸配列同一性

%（代替的に、所与のアミノ酸配列 B に対する、それとの、またはそれと対比したある特定のアミノ酸配列同一性 % を有する、またはそれを含む、所与のアミノ酸配列 A と表現され得る）は、次のように算出され、

$$100 \times \text{分数 } X / Y$$

式中、X は、配列アライメントプログラム A L I G N - 2 によって、そのプログラムの A 及び B のアライメントにおいて完全な一致としてスコア化されたアミノ酸残基の数であり、Y は、B 中のアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列 A の長さがアミノ酸配列 B の長さとは等しくない場合、B に対する A のアミノ酸配列同一性 % は、A に対する B のアミノ酸配列同一性 % と等しくはならないことが理解されよう。特に別途定めのない限り、本明細書で使用される全てのアミノ酸配列同一性 % 値は、直前の段落に記載されるように、A L I G N - 2 コンピュータプログラムを使用して得られる。

10

【0080】

「薬学的製剤」という用語は、調製物の中に含有される活性成分の生物活性が有効になるような形態であり、かつ製剤が投与される対象にとって許容できないほど有毒である追加の構成成分を何ら含有しない調製物を指す。

【0081】

「薬学的に許容される担体」は、対象にとって無毒である、活性成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される担体には、緩衝液、賦形剤、安定剤、または防腐剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0082】

本明細書で使用される場合、「治療」（及び「治療する」または「治療すること」等のその文法上の変形形態）は、治療されている個体の自然経過を変えることを目的とした臨床介入を指し、予防のために、または臨床病理過程に行うことができる。治療の望ましい効果には、疾患の発生または再発の予防、症状の緩和、疾患の任意の直接的または間接的な病理学的結果の減少、転移の予防、疾患進行速度の低減、病状の寛解または緩和、及び緩解または予後の改善が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、本発明の抗体を使用して、疾患の発達を遅延させるか、または疾患の進行を減速させる。

20

【0083】

「腫瘍」という用語は、悪性か良性かを問わず、全ての腫瘍性細胞の成長及び増殖、ならびに全ての前がん性及びがん性細胞ならびに組織を指す。本明細書において称される場合、「がん」、「がん性」、「細胞増殖性障害」、「増殖性障害」、及び「腫瘍」という用語は、相互排他的ではない。

30

【0084】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体を抗原に結合することに関する、抗体の重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン（それぞれ、VH 及び VL）は一般に、同様の構造を有し、各ドメインは、4 つの保存されたフレームワーク領域（FR）及び 3 つの超可変領域（HVR）を含む。（例えば、Kindt et al. *Immunology*, 6th ed., W. H. Freeman and Co., page 91 (2007) を参照されたい）。抗原結合特性を付与するためには、単一の VH または VL ドメインで十分であり得る。さらに、抗原に結合する抗体の VH または VL ドメインを使用して、それぞれ、相補的 VL または VH ドメインのライブラリをスクリーニングして、特定の抗原に結合する抗体を単離してもよい。例えば、Portolano et al., *J. Immunol.* 150: 880-887 (1993)、Clarkson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991) を参照されたい。

40

【0085】

「変異型 Fc 領域」は、少なくとも 1 つのアミノ酸修飾、好ましくは 1 つ以上のアミノ酸置換（複数可）の天然配列 Fc 領域のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含む。好ましくは、変異型 Fc 領域は、天然配列 Fc 領域または親ポリペプチドの Fc 領域と比較

50

して、天然配列Fc領域または親ポリペプチドのFc領域内に少なくとも1つのアミノ酸置換、例えば約1～約10個のアミノ酸置換、及び好ましくは、約1～約5個のアミノ酸置換を有する。本明細書における変異型Fc領域は、好ましくは、天然配列Fc領域及び／または親ポリペプチドのFc領域と少なくとも約80%の相同性、最も好ましくは、それらと少なくとも約90%の相同性、より好ましくは、それらと少なくとも95%の相同性を保有する。

【0086】

本明細書で使用される場合、「ベクター」という用語は、連結している別の核酸を増殖することが可能な核酸分子を指す。この用語には、自己複製核酸構造としてのベクター及び導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターが含まれる。ある特定のベクターは、作動的に連結された核酸の発現を導くことが可能である。かかるベクターは、本明細書で「発現ベクター」と称される。

10

【0087】

「VH下位群IIIコンセンサスフレームワーク」は、Kabata et al. の可変重鎖下位群IIIにおけるアミノ酸配列から得られるコンセンサス配列を含む。一実施形態では、VH下位群IIIコンセンサスフレームワークアミノ酸配列は、以下の配列、EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS（配列番号214）－H1－WVRQAPGKGLIEWV（配列番号215）－H2－RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC（配列番号216）－H3－WGQGTLVTVSS（配列番号217）の各々の少なくとも一部または全てを含む。

20

【0088】

「VL下位群Iコンセンサスフレームワーク」は、Kabata et al. の可変軽鎖カッパ下位群Iにおけるアミノ酸配列から得られるコンセンサス配列を含む。一実施形態では、VH下位群Iコンセンサスフレームワークアミノ酸配列は、以下の配列、DIQMTQSPSSLSASVGVDRVTITC（配列番号218）－L1－WYQQKPGKAPKLLIY（配列番号219）－L2－GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC（配列番号220）－L3－FGQGTKVEIK（配列番号221）の各々の少なくとも一部または全てを含む。

【0089】

本明細書で使用される場合、「細胞傷害性薬剤」という用語は、細胞機能を阻害若しくは防止する、及び／または細胞死若しくは破壊を引き起こす、物質を指す。細胞傷害性薬剤としては、放射性同位体（例えば、At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212、及びLuの放射性同位体）；化学療法剤；成長阻害剤；核酸分解酵素等の酵素及びそれらの断片；ならびに細菌、真菌、植物、または動物起源の小分子毒素または酵素活性毒素（それらの断片及び／または変異型を含む）等の毒素が含まれるが、これらに限定されない。例示的な細胞傷害性薬剤は、抗微小管剤、白金配位錯体、アルキル化剤、抗生物質、トポイソメラーゼII阻害剤、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼI阻害剤、ホルモン及びホルモン類似体、シグナル伝達経路阻害剤、非受容体チロシンキナーゼ血管新生阻害剤、免疫療法薬、アポトーシス促進薬、LDH-A阻害剤、脂肪酸生合成阻害剤、細胞周期シグナル阻害剤、HDAC阻害剤、プロテアソーム阻害剤、及びがん代謝阻害剤から選択され得る。

30

40

【0090】

一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、抗微小管剤、白金配位錯体、アルキル化剤、抗生物質、トポイソメラーゼII阻害剤、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼI阻害剤、ホルモン及びホルモン類似体、シグナル伝達経路阻害剤、非受容体チロシンキナーゼ血管新生阻害剤、免疫療法薬、アポトーシス促進薬、LDH-A阻害剤、脂肪酸生合成阻害剤、細胞周期シグナル阻害剤、HDAC阻害剤、プロテアソーム阻害剤、及びがん代謝阻害剤から選択される。一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、タキサンである。一実施形態では、タキサンは、パクリタキセルまたはドセタキセルである。一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、白金製剤である。一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、EGFRのアンタゴニストであ

50

る。一実施形態では、EGFRのアンタゴニストは、N-(3-エチニルフェニル)-6,7-ビス(2-メトキシエトキシ)キナゾリン-4-アミン(例えば、エルロチニブ)である。一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、RAF阻害剤である。一実施形態では、RAF阻害剤は、BRAF及び／またはCRAF阻害剤である。一実施形態では、RAF阻害剤は、ベムラフェニブである。一実施形態では、細胞傷害性薬剤は、PI3K阻害剤である。

【0091】

「化学療法剤」には、がんの治療に有用な化学化合物が含まれる。化学療法剤の例としては、エルロチニブ(TARCEVA(登録商標)、Genentech/OSI Pharm.)、ボルテゾミブ(VELCADE(登録商標)、Millennium Pharm.)、ジスルフィラム、没食子酸エピガロカテキン、サリノスポラミドA、カーフィルゾミブ、17-AAG(ゲルダナマイシン)、ラディシコール、乳酸デヒドロゲナーゼA(LDH-A)、フルベストラント(FASLODEX(登録商標)、AstraZeneca)、スニチブ(sunitib)(SUTENT(登録商標)、Pfizer/Sugen)、レトロゾール(FEMARA(登録商標)、Novartis)、メル酸イマチニブ(GLEEVEC(登録商標)、Novartis)、フィナスネート(finansunate)(VATALANIB(登録商標)、Novartis)、オキサリプラチン(ELOXATIN(登録商標)、Sanofi)、5-FU(5-フルオロウラシル)、ロイコボリン、ラパマイシン(Sirolimus、RAPAMUNE(登録商標)、Wyeth)、ラパチニブ(TYKERB(登録商標)、GSK572016、Glaxo Smith Kline)、ロナファミブ(Lonafamib)(SCH66336)、ソラフェニブ(NEXAVAR(登録商標)、Bayer Labs)、ゲフィチニブ(IRESSA(登録商標)、AstraZeneca)、AG1478、チオテパ及びCYTOXAN(登録商標)シクロスホスファミド(cyclophosphamide)等のアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、及びピボスルファン等のスルホン酸アルキル；ベンゾドーパ(benzodopa)、カルボコン、メツレドーパ(meturedopa)、及びウレドーパ(uredopa)等のアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド、及びトリメチロメラミンを含むエチレンイミン(ethylenimines)及びメチラメルアミン(methylamelamines)；アセトゲニン(特に、ブラタシン及びブラタシノン)；カンプトテシン(トポテカン及びイリノテカンを含む)；ブリオスタチン；カリストアチン(callystatin)；CC-1065(そのアドゼレシン、カルゼルシン、及びビゼルシン合成類似体を含む)；クリプトフィシン(特に、クリプトフィシン1及びクリプトフィシン8)；副腎皮質ステロイド(プレドニゾン及びプレドニゾロンを含む)；酢酸シプロテロン；5 α -レダクターゼフィナステリド及びデュタステリドを含む)；ボリノスタット、ロミデプシン、パノビノスタット、バルプロ酸、モセチノスタットドラスタチン；アルデスロイキン、タルクデュオカルマイシン(合成類似体KW-2189及びCB1-TM1を含む)；エリユテロビン；パンクラチスタチン(pancratistatin)；サルコジクチン；スポンジスタチン(spongistatin)；クロラムブシル、クロマファジン(chlomaphazine)、クロロホスファミド(chlorophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、塩酸メクロレタミンオキシド、メルファラン、ノベンビチン(novembichin)、フェネステリン(phenest erine)、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード等のナイトロジェンマスタード；カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及びラニムヌスチン(ranimnustine)等のニトロソ尿素；エンジイン抗生物質(例えば、カリケアマイシン、特に、カリケアマイシン γ 1I及びカリケアマイシン ω 1I(Angew Chem. Intl. Ed. Engl. 1994 33:183-186)等の抗生物質；ダイネミシンAを含むダイネミシン；クロドロネート等のビスホスホネート；エスペラミシン；ならびにネオカルジノスタチン発色団及び関連する

色素タンパク質エンジイン抗生物質発色団)、アクラノマイシン、アクチノマイシン、オー
スラマイシン (authramycin)、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマ
イシン、カラビシン (carabycin)、カミノマイシン (caminomycin)、カルジノフィリン、クロモマイシン (chromomycinis)、ダクチノマイ
シン、ダウノルビシン、デトルビシン (detorubicin)、6-ジアゾ-5-オ
キソーL-ノルロイシン、ADRIAMYCIN (登録商標) (ドキソルビシン)、モル
ホリノードキソルビシン、シアノモルホリノードキソルビシン、2-ピロリノードキソル
ビシン及びデオキシドキソルビシン)、エピルビシン、エソルビシン (esorubic
in)、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシンC等のマイトマイシン、ミコ
フェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ボルフィロマイシン 10
、ピューロマイシン、ケラマイシン (quelamycin)、ロドルビシン (rodor
ubicin)、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメク
ス、ジノスタチン、ゾルビシン、メトトレキサート及び5-フルオロウラシル (5-FU
)等の代謝拮抗薬;デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサ
ート等の葉酸類似体;フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン (thiam
iprine)、チオグアニン等のプリン類似体;アンシタビン、アザシチジン、6-ア
ザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノ
シタビン、フロクスウリジン等のピリミジン類似体;カルステロン、プロピオン酸ドロモ
スタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン等のアンドロゲン;
アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン等の抗副腎剤;フロリン酸 (frolin 20
ic acid)等の葉酸補液;アセグラトン;アルドホスファミドグリコシド;アミノ
レブリン酸;エニルウラシル;アムサクリン;ベストラブシル (bestrabucil
);ピスアントレン;エダトラキサート (edatraxate);デフォファミン (de
foffamine);デメコルチン;ジアジクオン;エルフォミチン (elfomit
hine);酢酸エリブチニウム;エポチロン;エトグルシド;硝酸ガリウム;ヒドロキ
シ尿素;レンチナン;ロニダイニン (lonidainine);マイタンシン及びアン
サマイトシン等のマイタンシノイド;ミトグアゾン;ミトキサントロン;モピダムノール
(mopidamnol);ニトラエリン (nitraerine);ペントスタチン;
フェナメット;ピラルビシン;ロソキサントロン;ポドフィリン酸;2-エチルヒドラジ
ド (ethylhydrazide);プロカルバジン;PSK (登録商標) 多糖複合体 30
(JHS Natural Products, Eugene, Oreg.);ラゾキサ
ン;リゾキシシン;シゾフラン (sizofuran);スピロゲルマニウム;テヌアゾン
酸;トリアジクオン;2, 2', 2'-トリクロロトリエチルアミン;トリコテセン (特
に、T-2毒素、ベラクリンA、ロリジンA、及びアングイジン);ウレタン;ビンデ
シン;ダカルバジン;マンノムスチン;ミトブロニトール;ミトラクトール;ピポプロマ
ン;ガシトシン (gacytosine);アラビノシド (「Ara-C」);シクロホ
スファミド;チオテパ (thiotepa);タキソイド、例えば、TAXOL (パクリ
タキセル;Bristol-Myers Squibb Oncology, Princ
eton, N. J.)、ABRAXANE (登録商標) (クレモフォア不含有)、パクリ
タキセルのアルブミン操作されたナノ粒子製剤 (American Pharmaceu 40
tical Partners, Schaumburg, Ill.);及びTAXOTE
RE (登録商標) (ドセタキセル、ドキセタキセル;Sanofi-Aventis);
クロランブシル;GEMZAR (登録商標) (ゲムシタビン);6-チオグアニン;メル
カプトプリン;メトトレキサート;シスプラチン及びカルボプラチン等の白金類似体;ビ
ンブラスチン;エトポシド (VP-16);イホスファミド;ミトキサントロン;ピンク
リスチン;NAVELBINE (登録商標) (ビノレルビン);ノパントロン;テニポシ
ド;エダトレキサート;ダウノマイシン;アミノプテリン;カベシタビン (XELODA
(登録商標));イバンドロナート;CPT-11;トポイソメラーゼ阻害剤RFS20
00;ジフルオロメチルオルニチン (DMFO);レチノイン酸等のレチノイド;ならび
に上記のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、及び誘導体が挙げられる。 50

【0092】

化学療法剤にはまた、(i) 例えば、タモキシフェン (NOLVADEX (登録商標) ; クエン酸タモキシフェンを含む)、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、ヨードキシフェン (iodoxyfene)、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン、及びFARESTON (登録商標) (クエン酸トレミフィン (toremifine citrate) を含む、抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体調節因子 (SERM) 等の腫瘍上のホルモン作用を制御または阻害するように働く抗ホルモン剤、(ii) 例えば、4 (5) -イミダゾル、アミノグルテチミド、MEGASE (登録商標) (酢酸メゲストロール)、AROMASIN (登録商標) (エキセメスタン; Pfizer)、フォルメスタニー (formestane)、ファドロゾール、RIVISOR (登録商標) (ボロゾール)、FEMARA (登録商標) (レトロゾール; Novartis)、及びARIMIDEX (登録商標) (アナストロゾール; AstraZeneca) 等の、副腎内でのエストロゲン産生を制御する、酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤; (iii) フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリン; プセレリン、トリプテレリン (tripterelin)、酢酸メドロキシプロゲステロン、ジエチルスチルベストロール、プレマリン、フルオキシメステロン、全てのトランスレチノイン酸、フェンレチニド、ならびにトロキサシタピン (1, 3-ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体) 等の抗アンドロゲン薬; (iv) タンパク質キナーゼ阻害剤; (v) 脂質キナーゼ阻害剤; (vi) 例えば、PKC-アルファ、Ral f、及びH-Ras等のアンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、異常細胞増殖に関係するシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの; (vii) VEGF発現阻害剤 (例えば、ANGIOZYME (登録商標)) 及びHER2発現阻害剤等のリボザイム; (viii) 遺伝子療法ワクチン等のワクチン、例えば、ALLOVECTIN (登録商標)、LEUVECTIN (登録商標)、及びVAXID (登録商標); PROLEUKIN (登録商標)、rIL-2; LURTOTECAN (登録商標) 等のトポイソメラーゼ1阻害剤; ABARELIX (登録商標) rmrh; ならびに (ix) 上記のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、及び誘導体も含まれる。

【0093】

化学療法剤にはまた、アテムツズマブ (Campath)、ベバシズマブ (AVASTIN (登録商標)、Genentech)、セツキシマブ (ERBITUX (登録商標)、Imclone)、パニツムマブ (VECTIBIX (登録商標)、Amgen)、リツキシマブ (RITUXAN (登録商標)、Genentech/Biogen Idec)、ペルツズマブ (OMNITARG (登録商標)、2C4、Genentech)、トラスツズマブ (HERCEPTIN (登録商標)、Genentech)、トシツモマブ (Bexxar, Corixa) 等の抗体、及び抗体薬物複合体であるゲムツズマブオゾガマイシン (MYLOTARG (登録商標)、Wyeth) も含まれる。本発明の化合物と組み合わせた薬剤として、治療能力を有する追加のヒト化モノクローナル抗体としては、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、バピネウズマブ、ビバツズマブメルタンシン、カンツズマブメルタンシン (cantuzumab mertansine)、セデリズマブ (cedelizumab)、セルトリズマブペゴール (certolizumab pegol)、シドフシツズマブ (cidfusituzumab)、シドツズマブ (cidtuzumab)、ダクリズマブ (dacilizumab)、エクリズマブ、エファリズマブ、エブラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズマブ、フォントリズマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、イノツズマブオゾガマイシン、イピリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メボリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パスコリズマブ、ペクフシツズマブ (pecfusituzumab)、ペクツズマブ (pectuzumab)、ペキセリズマブ、ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビズマブ (reslivizumab)、レスリズマブ、レシビズマブ (

resyvizumab)、ロベリズマブ(roveлизumab)、ルブリズマブ、シブロットズマブ(sibrotuzumab)、シブリズマブ、ソントズマブ(sontuzumab)、タカツズマブ(tacatuzumab)テトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバズマブ、トシリズマブ、トラリズマブ、ツコツズマブセルモロイキン(tucotuzumab celmoleukin)、ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ、ビシリズマブ、及びインターロイキン-12 p40タンパク質を認識するように遺伝子改変された組み換え排他的ヒト配列完全長IgG1λ抗体である抗インターロイキン-12(ABT-874/J695, Wyeth Research and Abbott Laboratories)が挙げられる。

10

【0094】

化学療法剤にはまた、EGFRに結合するか、または他の方法で直接相互作用し、そのシグナル伝達活性を防止または低減する化合物を指し、代替的に「EGFRアンタゴニスト」とも称される「EGFR阻害剤」も含まれる。かかる薬剤の例としては、EGFRに結合する抗体及び小分子が挙げられる。EGFRに結合する抗体の例としては、MAb 579(ATCC CRL HB 8506)、MAb 455(ATCC CRL HB 8507)、MAb 225(ATCC CRL 8508)、MAb 528(ATCC CRL 8509)(米国特許第4,943,533号、Mendelsohn et al.を参照されたい)、ならびにそれらの変異型、例えばキメラ化225(C225またはセツキシマブ; ERBUTIX(登録商標)及び再形状化されたヒト225(H225)(国際公開第96/40210号、Imclone Systems Inc.を参照されたい); 完全ヒトEGFR標的抗体(Imclone)であるIMC-11F8; II型変異体EGFRに結合する抗体(米国特許第5,212,290号); 米国特許第5,891,996号に記載される、EGFRに結合するヒト化及びキメラ抗体; ならびにABX-EGFまたはパニツムマブ等のEGFRに結合するヒト抗体(国際公開第98/50433号、Abgenix/Amgenを参照されたい); EMD 5590(Stragliotto et al. Eur. J. Cancer 32A:636-640(1996)); EGFR結合のためにEGF及びTGF-αの両方と競合するEGFRに対して向けられたヒト化EGFR抗体(EMD/Merck)であるEMD7200(マツズマブ); ヒトEGFR抗体、HuMax-EGFR(GenMab); E1.1、E2.4、E2.5、E6.2、E6.4、E2.11、E6.3、及びE7.6.3として知られ、米国第6,235,883号に記載される完全ヒト抗体; MDX-447(Medarex Inc); ならびにmAb806またはヒト化mAb806(Johns et al., J. Biol. Chem. 279(29):30375-30384(2004))が挙げられる。抗EGFR抗体は、細胞傷害性薬剤と複合され得、したがって免疫複合体を生成する(例えば、欧州第659,439A2号、Merck Patent GmbHを参照されたい)。EGFRアンタゴニストは、米国特許第5,616,582号、同第5,457,105号、同第5,475,001号、同第5,654,307号、同第5,679,683号、同第6,084,095号、同第6,265,410号、同第6,455,534号、同第6,521,620号、同第6,596,726号、同第6,713,484号、同第5,770,599号、同第6,140,332号、同第5,866,572号、同第6,399,602号、同第6,344,459号、同第6,602,863号、同第6,391,874号、同第6,344,455号、同第5,760,041号、同第6,002,008号、及び同第5,747,498号、ならびに以下のPCT公報、国際公開第98/14451号、国際公開第98/50038、国際公開第99/09016、及び国際公開第99/24037号に記載される化合物等の小分子を含む。特定の小分子EGFRアンタゴニストとしては、OSI-774(CP-358774、エルロチニブ、TARCEVA(登録商標)、Genentech/OSI Pharmaceuticals); PD183805(CI1033、2-プロペンアミド、N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)ア

20

30

40

50

ミノ] - 7 - [3 - (4 - モルホリニル) プロボキシ] - 6 - キナゾリニル] -、二塩酸塩、Pfizer Inc.) ; ZD1839、ゲフィチニブ (IRESSA (登録商標)) 4 - (3' - クロロ - 4' - フルオロアニリノ) - 7 - メトキシ - 6 - (3 - モルホリノプロボキシ) キナゾリン、AstraZeneca) ; ZM105180 ((6 - アミノ - 4 - (3 - メチルフェニル - アミノ) - キナゾリン、Zeneca) ; BIBX-1382 (N8 - (3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) - N2 - (1 - メチル - ピペリジン - 4 - イル) - ピリミド [5, 4-d] ピリミジン - 2, 8 - ジアミン、Boehringer Ingelheim) ; PKI-166 ((R) - 4 - [4 - [(1 - フェニルエチル) アミノ] - 1H - ピロロ [2, 3-d] ピリミジン - 6 - イル] - フェノール) ; (R) - 6 - (4 - ヒドロキシフェニル) - 4 - [(1 - フェニルエチル) アミノ] - 7H - ピロロ [2, 3-d] ピリミジン) ; CL-387785 (N - [4 - [(3 - ブロモフェニル) アミノ] - 6 - キナゾリニル] - 2 - ブチンアミド) ; EKB-569 (N - [4 - [(3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) アミノ] - 3 - シアノ - 7 - エトキシ - 6 - キノリニル] - 4 - (ジメチルアミノ) - 2 - ブテンアミド) (Wyeth) ; AG1478 (Pfizer) ; AG1571 (SU5271; Pfizer) ; ラパチニブ (TYKERB (登録商標)、GSK572016、または N - [3 - クロロ - 4 - [(3 - フルオロフェニル) メトキシ] フェニル] - 6 - [5 - [[2 - メチルスルホニル) エチル] アミノ] メチル] - 2 - フラニル] - 4 - キナゾリンアミン) 等の二重 EGFR/HER2 チロシンキナーゼ阻害剤が挙げられる。

【0095】

化学療法剤にはまた、前の段落に記載される EGFR 標的薬を含む「チロシンキナーゼ阻害剤」；Takeda から入手可能な TAK165 等の小分子 HER2 チロシンキナーゼ阻害剤；ErbB2 受容体 シロシンキナーゼの経口選択的阻害剤である CP-724, 714 (Pfizer 及び OSI) ; EGFR に選好的に結合するが、HER2 及び EGFR 両方の過剰発現細胞を阻害する、EKB-569 等の二重 HER 阻害剤 (Wyeth から入手可能) ; 経口 HER2 及び EGFR チロシンキナーゼ阻害剤である ラパチニブ (GSK572016 ; Glaxo-SmithKline から入手可能) ; PKI-166 (Novartis から入手可能) ; カネルチニブ (CI-1033、Pharmacia) 等の pan-HER 阻害剤；Raf-1 シグナル伝達を阻害する、ISIS Pharmaceuticals から入手可能な アンチセンス剤 ISIS-5132 等の Raf-1 阻害剤；イマチニブメシラート (GLEEVEC (登録商標)、Glaxo-SmithKline から入手可能) 等の非 HER 標的 TK 阻害剤；スニチニブ (SUTENT (登録商標)、Pfizer から入手可能) 等の多標的 チロシンキナーゼ阻害剤；バタラニブ (PTK787/ZK222584、Novartis/Schering AG から入手可能) 等の VEGF 受容体 チロシンキナーゼ阻害剤；MAPK 細胞外調節キナーゼ I 阻害剤 CI-1040 (Pharmacia から入手可能) ; PD153035, 4 - (3 - クロロアニリノ) キナゾリン等の キナゾリン；ピリドピリミジン；ピリミドピリミジン；CGP59326、CGP60261、及び CGP62706 等の ピロロピリミジン；ピラゾロピリミジン、4 - (フェニルアミノ) - 7H - ピロロ [2, 3-d] ピリミジン；クルクミン (ジフェルロイルメタン、4, 5 - ビス (4 - フルオロアニリノ) フタルイミド) ; ニトロチオフェン部分を含有する チルホスチン；PD-0183805 (Warner-Lambert) ; アンチセンス分子 (例えば、HER コード核酸に結合するもの) ; キノキサリン (米国特許第 5, 804, 396 号) ; トリホスチン (米国特許第 5, 804, 396 号) ; ZD6474 (AstraZeneca) ; PTK-787 (Novartis/Schering AG) ; CI-1033 (Pfizer) 等の pan-HER 阻害剤；アフィニタック (ISIS 3521、ISIS/Lilly) ; イマチニブメシラート (GLEEVEC (登録商標)) ; PKI-166 (Novartis) ; GW2016 (Glaxo-SmithKline) ; CI-1033 (Pfizer) ; EKB-569 (Wyeth) ; セマキシニブ (Pfizer) ; ZD6474 (AstraZeneca) ; PTK-787 (Novartis/Schering AG) ;

ng AG) ; INC-1C11 (Imclone)、ラパマイシン (シロリムス、RAPAMUNE (登録商標)) ; または以下の特許公報、米国特許第5, 804, 396号 ; 国際公開第1999/09016 (American Cyanamid) ; 国際公開第1998/43960号 (American Cyanamid) ; 国際公開第1997/38983号 (Warner Lambert) ; 国際公開第1999/06378号 (Warner Lambert) ; 国際公開第1999/06396号 (Warner Lambert) ; 国際公開第1996/30347号 (Pfizer, Inc) ; 国際公開第1996/33978号 (Zeneca) ; 国際公開第1996/3397号 (Zeneca)、及び国際公開第1996/33980 (Zeneca) のいずれかに記載されるものも含まれる。

10

【0096】

化学療法剤にはまた、デキサメタゾン、インターフェロン、コルヒチン、メトプリン (metoprine)、シクロスポリン、アンホテリシン、メトロニダゾール、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アミホスチン、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、BCG生菌、ベバクジマブ (bevacuzimab)、ベキサロテン、クラドリピン、クロファラビン、ダルベポエチンアルファ、デニロイキン (denileukin)、デクスラゾキサソ、エポエチンアルファ、エロチニブ (elotitinib)、フィルグラスチム、酢酸ヒストレリン、イブリツモマブ、インターフェロンアルファ-2a、インターフェロンアルファ-2b、レナリドマイド、レバミゾール、メスナ、メトキサレン、ナンドロロン (nandrolone)、ネララビン、ノフェツモマブ (nofetumomab)、オブレルベキン、パリフェルミン、パミドロネート、ペガデマラーゼ、ペグアスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセド二ナトリウム、プリカマイシン、ポルフィマーナトリウム、キナクリン、ラスブリカーゼ、サルグラモスチム、テモゾロミド、VM-26、6-TG、トレミフェン、トレチノイン、ATRA、バルルピシン、ゾレドロネート、及びゾレドロン酸、ならびにこれらの薬学的に許容される塩も含まれる。

20

【0097】

化学療法剤にはまた、ヒドロコルチゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、酢酸コルチゾン、ピバリン酸チキソコルトール、トリウムシノロンアセトニド、トリウムシノロンアルコール、モメタゾン、アムシノニド、ブデソニド、デソニド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、ベタメタゾン、リン酸ベタメタゾンナトリウム、デキサメタゾン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、フルオコルトロン、ヒドロコルチゾン-17-ブチレート、ヒドロコルチゾン-17-バレレート、ニプロピオン酸アクロメタゾン、吉草酸ベタメタゾン、ニプロピオン酸ベタメタゾン、プレドニカルベート、クロベタゾン-17-ブチレート、クロベタゾール-17-プロピオネート、カプロン酸フルオコルトロン、ピバリン酸フルオコルトロン、及び酢酸フルプレドニデン ; 免疫選択的抗炎症性ペプチド (ImSAID)、例えばフェニルアラニン-グルタミン-グリシン (FEG) 及びそのD-異性体 (feG) (IMULAN BioTherapeutics, LLC) ; 抗リウマチ薬、例えばアザチオプリン、シクロスポリン (シクロスポリンA)、D-ペニシラミン、金塩、ヒドロキシクロロキン、レフルノミデミノシクリン、スルファサラジン、腫瘍壊死因子アルファ (TNF α) 遮断剤、例えばエタネルセプト (Enbrel)、インフリキシマブ (Remicade)、アダリムマブ (Humira)、セルトリズマブベゴール (Cimzia)、ゴリムマブ (Simponi)、インターロイキン1 (IL-1) 遮断剤、例えばアナキンラ (Kineret)、T細胞共刺激遮断剤、例えばアパタセプト (Orencia)、インターロイキン6 (IL-6) 遮断剤、例えばトシリズマブ (ACTEMERA (登録商標)) ; レブリキズマブ等のインターロイキン13 (IL-13) 遮断剤 ; ロンタリズマブ等のインターフェロン α (IFN) 遮断剤 ; rhumabベータ7等のベータ7インテグリン遮断剤 ; 抗M1プリム等のIgE経路遮断剤 ; 抗リンパ毒アルファ (LTa) 等の、分泌されたホモ三量体LTa3及び膜結合されたヘテロ二量体LTa1/ β 2遮断剤 ; 放射性同位体 (例えば、At211、I131、I125、Y9

30

40

50

0、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212、及びLuの放射性同位体）；チオプラチン、PS-341、フェニル酪酸塩、ET-18-OC₃H₃、またはファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤（L-739749、L-744832）等の種々の調査剤；ケルセチン、レスベラトロール、ピセアタンノール、没食子酸エピガロカテキン、テアフラビン、フラバノール、プロシアニジン、ベツリン酸及びその誘導体等のポリフェノール；クロロキン等のオートファジー阻害剤；デルター9-テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、MARINOL（登録商標））；ベーターラパコン；ラパコール；コルチシン；ベツリン酸；アセチルカンブトテシン、スコボレクチン、及び9-アミノカンブトテシン）；ポドフィロトキシシン；テガフル（UFTORAL（登録商標））；ベキサロテン（TARGRETIN（登録商標））；クロドロナート（例えば、BONEFOS（登録商標）またはOSTAC（登録商標））、エチドロナート（DIDROCAL（登録商標））、NE-58095、ゾレドロロン酸／ゾレドロネート（ZOMETHA（登録商標））、アレンドロネート（FOSAMAX（登録商標））、パミドロネート（AREDIA（登録商標））、チルドロネート（SKELID（登録商標））、またはリセドロネート（ACTONEL（登録商標））等のビスホスホネート；ならびに上皮成長因子受容体（EGF-R）；THERATOPE（登録商標）ワクチン等のワクチン；ペリフォシン、COX-2阻害剤（例えば、セレコキシブまたはエトリコキシブ）、プロテオソーム阻害剤（例えば、PS341）；CCI-779；チピファルニブ（R11577）；オラフェニブ、ABT510；オブリメルセンナトリウム（GENASSENSE（登録商標））等のBcl-2阻害剤；ピキサントロン；ロナファルニブ（SCH-6636、SARASAR（商標））等のファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤；ならびに上記のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、または誘導体；ならびに上記のうちの2つ以上の組み合わせ、例えばCHOP（シクロホスファミド、ドキシソルビン、ビンクリスチン、及びプレドニゾロンの複合療法の省略形）；及びFOLFOX（5-FU及びロイコボリンと複合されたオキサリプラチン（ELOXATIN（商標））を用いる治療レジメンの省略形）も含まれる。

【0098】

化学療法剤にはまた、鎮静効果、解熱効果、及び抗炎症効果を有する非ステロイド抗炎症薬も含まれる。NSAIDには、酵素シクロオキシゲナーゼの非選択的阻害剤が含まれる。NSAIDの具体例としては、アスピリン、プロピオン酸誘導体（例えば、イブプロフェン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、フルルビプロフェン、オキサプロジン、及びナプロキセン）、酢酸誘導体（例えば、インドメタシン、スリンダク、エトドラク、ジクロフェナク）、エノール酸誘導体（例えば、ピロキシカム、メロキシカム、テノキシカム、ドロキシカム、ロルノキシカム、及びイソキシカム）、フェナム酸誘導体（例えば、メフェナム酸、メクロフェナム酸、フルフェナム酸、トルフェナム酸）、ならびにCOX-2阻害剤（例えば、セレコキシブ、エトリコキシブ、ルミラコキシブ、パレコキシブ、ロフェコキシブ、ロフェコキシブ、及びバルデコキシブ）が挙げられる。NSAIDは、関節リウマチ、変形性関節炎、炎症性関節症、強直性脊椎症、乾癬性関節炎、ライター症候群、急性痛風、月経困難症、転移性骨痛、頭痛及び偏頭痛、術後痛、炎症及び組織傷害に起因する軽度から中度の疼痛、発熱、腸閉塞、及び腎臓痛等の病態の症状緩和のために示され得る。

【0099】

「サイトカイン」という用語は、別の細胞上で細胞間媒介物として作用する、1つの細胞集団によって放出されるタンパク質の総称である。かかるサイトカインの例としては、リンフォカイン、モノカイン；IL-1、IL-1a、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-15等のインターロイキン（IL）；TNF- α またはTNF- β 等の腫瘍壊死因子；ならびにLIF及びキットリガンド（KL）及びガンマインターフェロンを含む他のポリペプチド因子が挙げられる。本明細書で使用される場合、サイトカインという用語には、天然源、または組み換え細胞培養物からのタンパク質、ならびに合成によって産生された小

分子物質及びその薬学的に許容される誘導体及び塩を含む、生物学的に活性のある天然配列サイトカインの等価物が含まれる。

【0100】

「PD-1 軸結合アンタゴニスト」という用語は、PD-1 シグナル伝達軸におけるシグナル伝達から生じる T 細胞機能障害を除去するために、PD-1 軸結合パートナーとその結合パートナーのうちの 1 つ以上との相互作用を阻害し、結果として、T 細胞機能を復元するか、または高める（例えば、増殖、サイトカイン産生、標的細胞殺滅）分子である。本明細書で使用される場合、PD-1 軸結合アンタゴニストには、PD-1 結合アンタゴニスト、PD-L1 結合アンタゴニスト、及び PD-L2 結合アンタゴニストが含まれる。

10

【0101】

「PD-1 結合アンタゴニスト」という用語は、PD-1 の、PD-L1、PD-L2 等のその結合パートナーのうちの 1 つ以上との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、無効化するか、またはそれに干渉する分子である。いくつかの実施形態では、PD-1 結合アンタゴニストは、PD-1 の、その結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-1 結合アンタゴニストは、PD-1 の、PD-L1 及び／または PD-L2 への結合を阻害する。例えば、PD-1 結合アンタゴニストには、PD-L1 及び／または PD-L2 との PD-1 の相互作用から生じるシグナル伝達を、減少させるか、遮断するか、阻害するか、無効化するか、またはそれに干渉する、抗 PD-1 抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及び他の分子が含まれる。一実施形態では、PD-1 結合アンタゴニストは、機能障害性 T 細胞の機能障害性を低下させる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ように、PD-1 を介して T リンパ球媒介シグナル伝達で発現された細胞表面タンパク質によって、またはそれを介して媒介される、負の共刺激性シグナルを低減させる。いくつかの実施形態では、PD-1 結合アンタゴニストは、抗 PD-1 抗体である。具体的な態様において、PD-1 結合アンタゴニストは、本明細書に記載される MDX-1106 である。別の具体的な態様において、PD-1 結合アンタゴニストは、本明細書に記載される Merck 3745 である。別の具体的な態様において、PD-1 結合アンタゴニストは、本明細書に記載される CT-011 である。

20

【0102】

「PD-L1 結合アンタゴニスト」という用語は、PD-L1 の、PD-1、B7-1 等のその結合パートナーのうちの 1 つ以上との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、無効化するか、またはそれに干渉する分子である。いくつかの実施形態では、PD-L1 結合アンタゴニストは、PD-L1 の、その結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-L1 結合アンタゴニストは、PD-L1 の、PD-1 及び／または B7-1 への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、PD-L1 結合アンタゴニストには、PD-L1 と、PD-1、B7-1 等のその結合パートナーのうちの 1 つ以上との相互作用から生じるシグナル伝達を、減少させるか、遮断するか、阻害するか、抑止するか、またはそれに干渉する、抗 PD-L1 抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及び他の分子が含まれる。一実施形態では、PD-L1 結合アンタゴニストは、機能障害性 T 細胞の機能障害性を低下させる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ように、PD-L1 を介して T リンパ球媒介シグナル伝達で発現された細胞表面タンパク質によって、またはそれを介して媒介される、負の共刺激性シグナルを低減させる。いくつかの実施形態では、PD-L1 結合アンタゴニストは、抗 PD-L1 抗体である。具体的な態様において、抗 PD-L1 抗体は、本明細書に記載される YW243、55、S70 である。別の具体的な態様において、抗 PD-L1 抗体は、本明細書に記載される MDX-1105 である。さらに別の具体的な態様において、抗 PD-L1 抗体は、本明細書に記載される MPDL3280A である。

30

40

【0103】

50

「PD-L2 結合アンタゴニスト」という用語は、PD-L2 の、PD-1 等のその結合パートナーのうちの1つ以上との相互作用から生じるシグナル伝達を減少させるか、遮断するか、阻害するか、無効化するか、またはそれに干渉する分子である。いくつかの実施形態では、PD-L2 結合アンタゴニストは、PD-L2 の、その結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、PD-L2 結合アンタゴニストは、PD-L2 の、PD-1 への結合を阻害する。いくつかの実施形態では、PD-L2 結合アンタゴニストには、PD-L2 の、PD-1 等のその結合パートナーのうちの1つ以上との相互作用から生じるシグナル伝達を、減少させるか、遮断するか、阻害するか、抑止するか、またはそれに干渉する、抗PD-L2 抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、オリゴペプチド、及び他の分子が含まれる。一実施形態では、PD-L2 結合アンタゴニストは、機能障害性T細胞の機能障害性を低下させる（例えば、抗原認識へのエフェクター応答を増強する）ように、PD-L2 を介してTリンパ球媒介シグナル伝達で発現された細胞表面タンパク質によって、またはそれを介して媒介される、負の共刺激性シグナルを低減させる。いくつかの実施形態では、PD-L2 結合アンタゴニストは、イムノアドヘシンである。

10

【0104】

「食作用」という用語は、細胞による、細胞または粒子状物質の内部移行を意味する。いくつかの実施形態では、食細胞または貪食細胞は、マクロファージまたは好中球である。いくつかの実施形態では、細胞は、ヒトOX40を発現する細胞である。食作用をアッセイする方法は、当該技術分野で既知であり、別の細胞内に内部移行した細胞の存在を検出するための顕微鏡検査の使用を含む。他の実施形態では、食作用は、FACSを使用して、例えば、検出可能に標識された細胞の存在を別の細胞（例えば、第1の細胞とは異なる標識を用いて検出可能に標識されていてもよい）内で検出することによって検出される。

20

【0105】

本明細書で使用される場合、抗体に関して「実質的な活性を保有しない」または「実質的に活性なし」という表現は、抗体が、正常レベル以上（いくつかの実施形態では、それは統計学的に有意な正常レベル以上である）の活性を示さないことを意味する。本明細書で使用される場合、抗体に関して「活性がほとんどまたは全くない」という表現は、抗体が、生物学的に有意な量の機能を示さないことを意味する。機能は、例えば本明細書に記載されるものを含む、当該技術分野で既知の任意のアッセイまたは技法に従って、測定または検出することができる。いくつかの実施形態では、抗体機能は、エフェクターT細胞増殖及び／またはサイトカイン分泌の刺激である。

30

【0106】

本明細書で使用される場合、「バイオマーカー」または「マーカー」という用語は、一般に、遺伝子、mRNA、タンパク質、炭水化物構造、または糖脂質を含む分子を指し、組織若しくは細胞内若しくはその上におけるこれらの発現、または分泌は、既知の方法（または本明細書に開示される方法）によって検出することができ、予測可能であるか、または治療レジームに対する細胞、組織、若しくは患者の応答性の予測する（若しくは予測を助ける）ことに使用することができる。いくつかの実施形態では、バイオマーカーは、遺伝子またはタンパク質、例えば、1つ以上の細胞で検出された遺伝子またはタンパク質の発現レベルを指してもよい。いくつかの実施形態では、バイオマーカーは、目的の細胞型、例えば、1つ以上の試料中に検出された目的の細胞型の数を指してもよい。

40

【0107】

「患者試料」とは、がん患者から得られた細胞または流体の集合を意味する。組織または細胞試料の供給源は、新鮮、凍結、及び／もしくはは保存臓器もしくはは組織試料、または生検、または吸引液から等の固形組織；血液または任意の血液組成成分；脳脊髄液、羊膜液、腹水、または間質液等の体液；対象の妊娠期間または発育における任意の時期の細胞であってもよい。組織試料は、例えば防腐剤、抗凝固剤、緩衝液、固定剤、栄養素、抗生物質等の、本来、組織とは自然に混ざり合わない化合物を含有してもよい。本明細書の腫

50

瘍試料の例には、腫瘍生検、穿刺吸引液、細気管支洗浄、胸水、唾液、尿、摘出標本、循環腫瘍細胞、血清、血漿、循環血漿タンパク質、腹水、腫瘍に由来するかまたは腫瘍様特性を示す初代細胞培養物または細胞株、ならびにホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍試料または凍結腫瘍試料等の保存腫瘍試料が含まれるが、これらに限定されない。

【0108】

本明細書で使用される場合、「～の発現に基づいて」という表現は、発現レベル、または発現の存在若しくは不在（例えば、本明細書における1つ以上のバイオマーカーの存在または不在または発現率（例えば、提示される細胞の割合）（例えば、FcR発現細胞の存在若しくは不在、またはその量若しくは発現率、あるいは、例えば、ヒトエフェクター細胞の存在若しくは不在、またはその量若しくは発現率））に関する情報が、治療決定、添付文書上で提供される情報、またはマーケティング／宣伝指針等を伝えるために使用されることを意味する。

10

【0109】

「ヒトエフェクター細胞を有する」がんまたは生体試料は、診断試験において、試料中に存在するヒトエフェクター細胞（例えば、浸潤性ヒトエフェクター細胞）を有するものである。

【0110】

「FcR発現細胞を有する」がんまたは生体試料は、診断試験において、試料中に存在するFcR発現（例えば、浸潤性FcR発現細胞）を有するものである。いくつかの実施形態では、FcRは、FcγRである。いくつかの実施形態では、FcRは、活性化FcγRである。

20

【0111】

本明細書で使用される場合、「治療を推奨する」という表現は、患者の試料中のc-metのレベルまたは存在に関して生成された情報またはデータを使用して、患者が、療法により好適に治療されていること、または好適に治療されていないことを特定することを指す。いくつかの実施形態では、療法は、c-met抗体（例えば、オナルツズマブ）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、療法は、VEGFアンタゴニスト（例えば、ベバシズマブ）を含んでもよい。いくつかの実施形態では、療法は、抗ヒトOX40アゴニスト抗体を含んでもよい。情報またはデータは、文書、音声、または電子のいかなる形態であってもよい。いくつかの実施形態では、生成された情報またはデータの使用には、伝達すること、提示すること、報告すること、保管すること、送信すること、転送すること、供給すること、送達すること、配布すること、分配すること、またはこれらの組み合わせが含まれる。いくつかの実施形態では、伝達すること、提示すること、報告すること、保管すること、送信すること、転送すること、供給すること、送達すること、配布すること、分配すること、またはこれらの組み合わせは、計算装置、分析ユニット、またはこれらの組み合わせによって行われる。いくつかのさらなる実施形態では、伝達すること、提示すること、報告すること、保管すること、送信すること、転送すること、供給すること、送達すること、配布すること、分配すること、またはこれらの組み合わせは、個人（例えば、研究または医療従事者）によって行われる。いくつかの実施形態では、情報またはデータには、FcR発現細胞の量または発現率の、参照レベルとの比較が含まれる。いくつかの実施形態では、情報またはデータには、ヒトエフェクター細胞の量または発現率の、参照レベルとの比較が含まれる。いくつかの実施形態では、情報またはデータには、ヒトエフェクター細胞またはFcR発現細胞が、試料中に存在するかまたは不在であるかの指標が含まれる。いくつかの実施形態では、情報またはデータには、FcR発現細胞及び／またはヒトエフェクター細胞が、特定の割合の細胞に存在すること（例えば、高い発現率）の指標が含まれる。いくつかの実施形態では、情報またはデータには、患者が、抗ヒトOX40アゴニスト抗体を含む療法により好適に治療されていること、または好適に治療されていないことの指標が含まれる。

30

40

【0112】

「検出」という用語は、直接的及び間接的検出を含む、任意の検出方法を含む。

50

【0113】

個体への臨床的利益の増加に関連するバイオマーカーの「量」または「レベル」は、生体試料中で検出可能なレベルである。これらは、当業者に既知であり、本明細書にも開示される方法によって測定することができる。評価されるバイオマーカーの発現レベルまたは量は、治療への応答を判定するために使用することができる。

【0114】

「上昇した発現」、「上昇した発現レベル」、または「上昇したレベル」は、例えば、疾患若しくは障害（例えば、がん）を患っていない個体（単数または複数）、治療（例えば、OX40アゴニストを用いて）に対する既知の応答性を有する腫瘍、内部対照（例えば、ハウスキーピングバイオマーカー）、または参照数値（例えば、臨床転帰データに基づく閾値等の設定された閾値）等の対照と比べた、ある個体におけるバイオマーカーの増加した発現または増加したレベルを指す。

10

【0115】

「低減した発現」、「低減した発現レベル」、または「低減したレベル」は、例えば、疾患若しくは障害（例えば、がん）を患っていない個体（単数または複数）、治療（例えば、OX40アゴニストを用いて）に対する既知の応答性を有する腫瘍、内部対照（例えば、ハウスキーピングバイオマーカー）、または参照数値（例えば、臨床転帰データに基づく閾値等の設定された閾値）等の対照と比べた、ある個体におけるバイオマーカーの減少した発現または減少したレベルを指す。いくつかの実施形態では、低減した発現は、発現がほとんどまたは全くないことである。

20

【0116】

本明細書で使用される場合、「ハウスキーピング遺伝子」または「ハウスキーピングバイオマーカー」という用語は、通常及び／または病理学的状態にある細胞内で構造的に発現すると考えられる任意の遺伝子（単数または複数）を指してもよい。かかる遺伝子は、その発現が、異なる生理学的状態に亘って一定量で検出可能であるため、例えば、参照として使用することができる。いくつかの実施形態では、ハウスキーピング遺伝子は、基本的な細胞機能及び／または維持に必要とされるタンパク質をコードし得る。

【0117】

「診断」という用語は、分子的または病理学的状態、疾患、または病態（例えば、がん）の特定または分類を指すために本明細書で使用される。例えば、「診断」は、特定の種類のがんの特定を指す場合がある。「診断」はまた、例えば、病理組織学的基準による、または分子的特徴による特定のサブタイプのがんの分類（例えば、バイオマーカー（例えば、特定の遺伝子または該遺伝子によってコードされるタンパク質）のうちの1つまたはその組み合わせの発現によって特徴付けられるサブタイプ）を指す場合もある。

30

【0118】

「診断を助けること」という用語は、本明細書において、疾患若しくは障害（例えば、がん）の特定の種類の症状または病態の存在あるいはその性質に関する、臨床的判定を行うことを補助する方法を指すように使用される。例えば、疾患または病態（例えば、がん）の診断を助ける方法は、個体からの生体試料中のある特定のバイオマーカーを測定することを含み得る。

40

【0119】

本明細書で使用される場合、「試料」という用語は、例えば、物理的、生化学的、化学的、及び／もしくは生理的特徴に基づいて特徴付けられ、ならびに／または特定されることになる、細胞的要素及び／または他の分子的要素を含有する、目的の対象及び／または個体から得られる、すなわちそれに由来する、組成物を指す。例えば、「疾患試料」という用語、及びその変形形態は、特徴付けられることになる細胞的要素及び／若しくは分子的要素を含有することが予想されるか、または含有することが知られている、目的の対象から得られた任意の試料を指す。試料としては、初代細胞もしくは培養細胞または細胞株、細胞上清、細胞溶解物、血小板、血清、血漿、硝子体液、リンパ液、滑液、卵胞液、精液、羊膜液、乳、全血、血液由来細胞、尿、脳脊髄液、唾液、痰、涙、汗、粘液、腫瘍溶

50

解物、及び組織培養培地、組織抽出物、例えば均質化組織、腫瘍組織、細胞抽出物、ならびにこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0120】

「組織試料」または「細胞試料」とは、対象または個体の組織から得られる同様の細胞の集合を意味する。組織または細胞試料の供給源は、新鮮な、凍結した、かつ／もしくは保存された器官、組織試料、生検、ならびに／または吸引液からの固形組織；血液または血漿等の任意の血液成分；脳脊髄液、羊膜液、腹水、または間質液等の体液；対象の妊娠期間または発育中のいかなる時間における細胞であってもよい。組織試料はまた、初代細胞若しくは培養細胞、または細胞株であってもよい。任意で、組織または細胞試料は、疾患組織／器官から得られる。組織試料は、例えば防腐剤、抗凝固剤、緩衝液、固定剤、栄養素、抗生物質等の、本来、組織とは自然に混ざり合わない化合物を含有してもよい。

10

【0121】

本明細書で使用される場合、組織試料の「切片」とは、組織試料の単一部分すなわち一片、例えば、組織試料から切り取られた組織または細胞の薄片を意味する。組織試料の複数の切片を、本発明に従って採取し、分析に供してもよいことが理解されるが、但し、本発明は、組織試料の同一切片を、形態学的レベル及び分子レベルの両方で分析するか、またはタンパク質若しくは核酸に関して分析する方法を含むことが理解されることを条件とする。

【0122】

「相関する」または「相関すること」とは、任意の方式で、第1の分析若しくはプロトコルの性能及び／または結果を、第2の分析若しくはプロトコルの性能及び／または結果と比較することを意味する。例えば、第1の分析若しくはプロトコルの結果を、第2のプロトコルを行う際に使用してもよいし、及び／または、第1の分析若しくはプロトコルの結果を使用して、第2の分析若しくはプロトコルを行うべきかどうかを決定してもよい。ポリペプチド分析またはプロトコルの実施形態については、ポリペプチド発現分析またはプロトコルの結果を使用して、特定の治療レジメンを行うべきかどうかを決定してもよい。ポリヌクレオチド分析またはプロトコルの実施形態については、ポリヌクレオチド発現分析またはプロトコルの結果を使用して、特定の治療レジメンを行うべきかどうかを決定してもよい。

20

【0123】

「個体応答」または「応答」は、(1)減速及び完全阻止を含む疾患進行（例えば、がん進行）のある程度の阻害、(2)腫瘍サイズの低減、(3)隣接する末梢臓器及び／もしくは組織へのがん細胞浸潤の阻害（すなわち、低減、減速、または完全停止）、(4)転移の阻害（すなわち、低減、減速、または完全停止）、(5)疾患若しくは障害（例えば、がん）に関連する1つ以上の症状のある程度の軽減、(6)全生存期間及び無増悪生存期間を含む生存期間の長さの増加もしくは延長、ならびに／または(9)治療後の所定の時点における低下した死亡率を限定することなく含む、個体への有益性を示す任意のエンドポイントを使用して評価され得る。

30

【0124】

薬品を用いた治療に対する患者の「有効な応答」または患者の「応答性」及び類似の単語は、がん等の疾患若しくは障害の危険性があるか、またはそれを患う患者に付与される臨床的または治療的有益性を指す。一実施形態では、かかる有益性には、生存期間（全生存期間及び無増悪生存期間を含む）が延長すること、客観的応答（完全奏効または部分奏効を含む）が生じること、または、がんの徴候もしくは症状が改善することのうちの任意の1つ以上が含まれる。

40

【0125】

「生存期間が延長すること」とは、未処置の患者と比べて（すなわち、薬品を用いて治療されていない患者と比べて）、または指定されたレベルでバイオマーカーを発現しない患者と比べて、及び／または承認されている抗腫瘍剤で治療された患者と比べて、治療される患者において全生存期間または無増悪生存期間が増加することを意味する。客観的応

50

答は、完全奏効（CR）または部分奏効（PR）を含む、測定可能な応答を指す。

【0126】

III. OX40アゴニスト

がんを有する対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法が、本明細書に提供される。これらの方法は、特定のバイオマーカーの発現レベルが、OX40アゴニスト治療薬に対する応答性と相関するという本明細書に記載される発見に部分的に基づく。例えば、CD8a、CD8b、H2-d、CTLA4、CD64、CXCL9、IFNg、IDO1、GZMA、GZMB、PRF1、PDCA1、KLRK1、PTPRC、CXCL1、ITGAM、及びIL7R等の遺伝子の増加した発現レベルは、OX40アゴニスト治療薬に対する応答性と相関する。追加的に、CSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及びVTCN1等の遺伝子の減少した発現レベルが、OX40アゴニスト治療薬に対する応答性と相関することもまた発見された。

【0127】

対象から得られた白血球を含有する試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することによって、対象がOX40アゴニストで治療されており、該1つ以上のマーカー遺伝子が、ARG1、CCL2、CCL22、CCL5、CCR5、CD226、CD27、CD274、CD28、CD3E、CD40、CD8A、CD8b、CXCL10、CXCL9、EOMES、FasL、Fcgr1/CD64、FOXP3、GZMA、GZMB、HAVCR2、ICAM1、IDO1、IFNg、IL10、IL12A（TDO2）、IL13、IL2、IL7R、ITGAM、KLRK1、LAG3、MAP4K1、MS4A1、PDCD1、PDCD1LG2、PRF1、PTPRC、TNF、TNFRSF14、TNFRSF9、及びTNFSF4から選択される、当該測定することと、対象から得られた試料中の当該1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、治療が薬力学的活性を実証していると判定することによって、1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して増加した発現レベルが、OX40アゴニスト治療薬に対する薬力学的活性を示す、該判定することにより、OX40アゴニスト治療薬の薬力学的活性を監視する方法が、本明細書にさらに提供される。これらの方法は、特定のバイオマーカーの発現レベルがOX40アゴニスト治療に際して上方制御されるという本明細書に記載される発見に部分的に基づく。

【0128】

対象から得られた白血球を含有する試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することによって、対象がOX40アゴニストで治療されており、該1つ以上のマーカー遺伝子が、BTLA、CD4、CD69、CD80、CD83、CD86、CSF2、CTLA4、CXCR3、Fcgr2b/CD32、Fcgr3/CD16、H2-a、H2-d、H2-k、ICOS、IL10、PDCA1、及びTNFRSF18から選択される、当該測定することと、対象を、対象から得られた試料中の当該1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、該治療薬に対して応答性または非応答性である対象として分類することによって、1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して増加した発現レベルが、応答性である対象を示す、該分類することにより、対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を監視する方法が、本明細書になおさらに提供される。これらの方法は、特定のバイオマーカーの発現レベルがOX40アゴニスト治療に際し、かかる治療に対して応答性である腫瘍において特に上方制御されるという本明細書に記載される発見に部分的に基づく。

【0129】

本明細書に記載される方法において、当該技術分野で既知の任意のOX40アゴニストを使用してもよい。一態様において、OX40アゴニストは、ヒトOX40に結合する単離抗体である。本発明の方法での使用に好適な抗体には、ヒトOX40に結合する抗体が含まれる。抗OX40抗体（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）の説明は、米国PG公開第US2015/0307617号、及び国際公開第WO/2015/153513号に見出すことができ、これらはそれぞれ参照によりその全体が本明細書に組み込まれ

る。

【0130】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、約0.45 nM以下の親和性でヒトOX40に結合する。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40抗体は、約0.4 nM以下の親和性でヒトOX40に結合する。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40抗体は、約0.5 nM以下の親和性でヒトOX40に結合する。いくつかの実施形態では、結合親和性は、ラジオイムノアッセイを使用して決定される。

【0131】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、ヒトOX40及びカニクイザルOX40に結合する。いくつかの実施形態では、結合は、FACSアッセイを使用して決定される。いくつかの実施形態では、ヒトOX40への結合は、約0.2 µg/mlのEC50を有する。いくつかの実施形態では、ヒトOX40への結合は、約0.3 µg/ml以下のEC50を有する。いくつかの実施形態では、カニクイザルOX40への結合は、約1.5 µg/mlのEC50を有する。いくつかの実施形態では、カニクイザルOX40への結合は、約1.4 µg/mlのEC50を有する。

10

【0132】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、ラットOX40またはマウスOX40には結合しない。

【0133】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、枯渇性抗ヒトOX40抗体（例えば、ヒトOX40を発現する細胞を枯渇させる）である。いくつかの実施形態では、ヒトOX40発現細胞は、CD4+エフェクターT細胞である。いくつかの実施形態では、ヒトOX40発現細胞は、Treg細胞である。いくつかの実施形態では、枯渇は、ADCC及び/または食作用によるものである。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトエフェクター細胞によって発現されたFcγRに結合し、ヒトエフェクター細胞機能を活性化させることで、ADCCを媒介する。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトエフェクター細胞によって発現されたFcγRに結合し、ヒトエフェクター細胞機能を活性化させることで、食作用を媒介する。例示的なヒトエフェクター細胞には、例えば、マクロファージ、ナチュラルキラー（NK）細胞、単球、好中球が含まれる。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、マクロファージである。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、NK細胞である。いくつかの実施形態では、枯渇は、アポトーシスによるものではない。

20

30

【0134】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、機能性Fc領域を有する。いくつかの実施形態では、機能性Fc領域のエフェクター機能は、ADCCである。いくつかの実施形態では、機能性Fc領域のエフェクター機能は、食作用である。いくつかの実施形態では、機能性Fc領域のエフェクター機能は、ADCC及び食作用である。いくつかの実施形態では、Fc領域は、ヒトIgG1である。いくつかの実施形態では、Fc領域は、ヒトIgG4である。

【0135】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40発現細胞（例えば、Treg）中でアポトーシスを誘発しない。いくつかの実施形態では、アポトーシスは、30 µg/mlの抗体濃度を使用して、例えば、アネキシンV及びプロプロジウム（propidium）ヨウ素染色Tregを使用してアポトーシスが生じたかどうかを判定することにより、アッセイされる。

40

【0136】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、例えば、CD4+エフェクターT細胞増殖を増加させる、及び/またはCD4+エフェクターT細胞によるガンマインターフェロン産生を増加させる（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体での治療前の、増殖及び/またはサイトカイン産生と比較して）ことで、CD4+エフェクターT細胞

50

胞機能を増強する。いくつかの実施形態では、サイトカインは、ガンマインターフェロンである。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体での治療前の腫瘍組織内（浸潤性）CD4+ T細胞の数と比較して、腫瘍組織内（浸潤性）CD4+エフェクターT細胞の数（例えば、CD4+エフェクターT細胞の総数、または、例えば、CD45+細胞中のCD4+細胞の割合）を増加させる。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体での治療前のガンマインターフェロンを発現する腫瘍組織内（浸潤性）CD4+ T細胞の数と比較して、ガンマインターフェロンを発現する腫瘍組織内（浸潤性）CD4+エフェクターT細胞の数（例えば、ガンマインターフェロンを発現するCD4+細胞の総数、または、例えば、総CD4+細胞中のガンマインターフェロンを発現するCD4+細胞の割合）を増加させる。 10

【0137】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体での治療前の腫瘍組織内（浸潤性）CD8+ Tエフェクター細胞の数と比較して、腫瘍組織内（浸潤性）CD8+エフェクターT細胞の数（例えば、CD8+エフェクターT細胞の総数、または、例えば、CD45+細胞中のCD8+の割合）を増加させる。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体での治療前のガンマインターフェロンを発現する腫瘍組織内（浸潤性）CD8+ T細胞の数と比較して、ガンマインターフェロンを発現する腫瘍組織内（浸潤性）CD8+エフェクターT細胞の数（例えば、例えば、総CD8+細胞中のガンマインターフェロンを発現するCD8+細胞の割合）を増加させる。 20

【0138】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、例えば、メモリーT細胞増殖を増加させる、及び／またはメモリーT細胞によるサイトカイン産生を増加させることで、メモリーT細胞機能を増強する。いくつかの実施形態では、サイトカインは、ガンマインターフェロンである。

【0139】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、例えば、エフェクターT細胞機能（例えば、エフェクターT細胞増殖、及び／またはエフェクターT細胞サイトカイン分泌）のTreg抑制を減少させることで、Treg機能を阻害する。いくつかの実施形態では、エフェクターT細胞は、CD4+エフェクターT細胞である。いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、腫瘍組織内（浸潤性）Tregの数（例えば、Tregの総数、または、例えば、CD4+細胞中のFoxp3+細胞の割合）を低減させる。 30

【0140】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、エフェクター機能を増加（例えば、野生型IgG1におけるエフェクター機能と比較して）させるように操作されている。いくつかの実施形態では、抗体は、Fcγ受容体への増加した結合を有する。いくつかの実施形態では、抗体は、Fc領域に（直接的にまたは間接的に）結合されるフコースを欠く。例えば、かかる抗体におけるフコースの量は、1%～80%、1%～65%、5%～65%、または20%～40%であってもよい。いくつかの実施形態では、Fc領域は、例えば、抗体のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖類がGlcNAcによって二分される、二分されたオリゴ糖類を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、ADCCを改善する1つ以上のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の298、333、及び／または334位（残基のEU付番）における置換を有するFc領域を含む。 40

【0141】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40を発現する標的細胞におけるOX40シグナル伝達を増加させる。いくつかの実施形態では、OX40シグナル伝達は、NFκB下流シグナル伝達を監視することで検出される。

【0142】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、二週間の40℃での治療後に安定する。

【0143】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、ヒトエフェクター細胞に結合する、例えば、ヒトエフェクター細胞によって発現されるFcγR（例えば、活性化FcγR）に結合する。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、ADCCエフェクター機能を実行する（実行することが可能である）。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞は、食作用エフェクター機能を実行する（実行することが可能である）。

【0144】

いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞への結合を排除する変異（例えば、DANA変異）を含む変異型IgG1Fcポリペプチドを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、天然配列IgG1Fc部分を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体と比べて、減少した活性（例えば、CD4+エフェクターT細胞機能、例えば、増殖）を有する。いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞への結合を排除する変異（例えば、DANA変異）を含む変異型IgG1Fcポリペプチドを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、実質的な活性（例えば、CD4+エフェクターT細胞機能、例えば、増殖）を保有しない。

【0145】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体機能において、抗体架橋が必要とされる。いくつかの実施形態では、機能は、CD4+エフェクターT細胞増殖の刺激である。いくつかの実施形態では、抗体架橋は、個体面（例えば、細胞培養プレート）に付着した抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供することにより決定される。いくつかの実施形態では、抗体架橋は、抗体のIgG1Fc部分内に変異（例えば、DANA変異）を導入し、変異抗体の機能を試験することにより決定される。

【0146】

いくつかの実施形態では、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、ヒトOX40への結合に対して、OX40Lと競合する。いくつかの実施形態では、インビトロアッセイにおいて、OX40Lの付加は、抗ヒトOX40抗体機能を増強しない。

【0147】

別の実施形態によれば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体には、以下の特性のうちの任意の1つ、任意の組み合わせ、または全てが含まれる：（1）約0.45nM以下の親和性でヒトOX40に結合し、いくつかの実施形態では、約0.4nM以下の親和性でヒトOX40に結合し、いくつかの実施形態では、約0.5nM以下の親和性でヒトOX40に結合し、いくつかの実施形態では、結合親和性は、ラジオイムノアッセイを使用して決定される、（2）ヒトOX40及びカニクイザルOX40に結合し、いくつかの実施形態では、結合は、FACSアッセイを使用して決定される、（3）約0.2ug/mlのEC50でヒトOX40に結合し、いくつかの実施形態では、約0.3ug/ml以下のEC50でヒトOX40に結合し、いくつかの実施形態では、約1.5ug/mlのEC50でカニクイザルOX40に結合し、いくつかの実施形態では、約1.4ug/mlのEC50でカニクイザルOX40に結合する、（4）ラットOX40またはマウスOX40には実質的に結合しない、（6）枯渇性抗ヒトOX40抗体（例えば、ヒトOX40を発現する細胞を枯渇させる）であり、いくつかの実施形態では、これらの細胞は、CD4+エフェクターT細胞及び／またはTreg細胞である、（7）例えば、CD4+エフェクターT細胞増殖を増加させる、及び／またはCD4+エフェクターT細胞によるガンマインターフェロン産生を増加させる（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体での治療前の増殖及び／またはサイトカイン産生と比較して）ことで、CD4+エフェクターT細胞機能を増強する、（8）例えば、メモリーT細胞増殖を増加させる、及び／またはメモリー細胞によるサイトカイン産生を増加させることで、メモリーT細胞機能を増強する、（9）例えば、エフェクターT細胞機能（例えば、エフェクターT細胞増殖、及び／またはエフ

10

20

30

40

50

エフェクターT細胞サイトカイン分泌)のTreg抑制を減少させることで、Treg機能を阻害する。いくつかの実施形態では、エフェクターT細胞は、CD4+エフェクターT細胞である、(10)OX40を発現する標的細胞におけるOX40シグナル伝達を増加させる(いくつかの実施形態では、OX40シグナル伝達は、NFkB下流シグナル伝達を監視することで検出される)、(11)二週間の40℃での治療後に安定する、(12)ヒトエフェクター細胞に結合する、例えば、ヒトエフェクター細胞によって発現されたFcγRに結合する、(13)ヒトエフェクター細胞への結合を排除する変異(例えば、N297G)含む変異型IgG1Fcポリペプチドを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、天然配列IgG1Fc部分を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体と比べて、減少した活性(例えば、CD4+エフェクターT細胞機能、例えば、増殖)を有し、いくつかの実施形態では、ヒトエフェクター細胞への結合を排除する変異(例えば、N297G)含む変異型IgG1Fcポリペプチドを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、実質的な活性(例えば、CD4+エフェクターT細胞機能、例えば、増殖)を保有しない、(14)抗ヒトOX40抗体機能において、抗体架橋(例えば、Fc受容体結合により)が必要とされる。

10

【0148】

一態様において、本発明は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

20

【0149】

一態様において、本発明は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH-HVR配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、を含む。

30

【0150】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL-HVR配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。

40

【0151】

別の態様において、本発明の抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、(a)(i)配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号4から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH-HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全て

50

の V L H V R 配列を含む V L ドメインと、を含む。

【0152】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(f) 配列番号 7 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 とを含む抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体を提供する。

【0153】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (f) 配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの H V R を含む抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体を提供する。

【0154】

別の実施形態では、抗体は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、を含む。

【0155】

別の態様において、本発明の抗体は、(a) (i) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(i i) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び (i i i) 配列番号 4 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての V H H V R 配列を含む V H ドメインと、(b) (i) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(i i) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (c) 配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての V L H V R 配列を含む V L ドメインと、を含む。

【0156】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 と、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 と、(f) 配列番号 2 6 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む抗体を提供する。

【0157】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(b) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、(c) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、及び (f) 配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの H V R を含む抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体を提供する。

【0158】

別の実施形態では、抗体は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 と、配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 と、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 と、を含む。

【0159】

別の態様において、本発明の抗体は、(a) (i) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、(i i) 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び (i i i) 配列番号 4 から選択されるアミノ酸配列を含む H V R - H 3 から選択される、少なくとも 1

10

20

30

40

50

つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b) (i) 配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii) 配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c) 配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

【0160】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b) 配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d) 配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e) 配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f) 配列番号27から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体を提供する。

10

【0161】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c) 配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d) 配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e) 配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f) 配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

20

【0162】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a) 配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c) 配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、を含む。

30

【0163】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b) 配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c) 配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a) 配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b) 配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c) 配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。

40

【0164】

別の態様において、本発明の抗体は、(a) (i) 配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii) 配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii) 配列番号4、15、または19から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくと

50

も2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

【0165】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号2、8、または9のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号3、10、11、12、13、または14のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号4、15、または19のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号7、22、23、24、25、26、27、または28から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体を提供する。

10

【0166】

一態様において、本発明は、(a)配列番号172のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号173のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号174のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号175のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。いくつかの実施形態では、HVR-H2は、DMYPDA A A A S Y N Q K F R E (配列番号222)ではない。いくつかの実施形態では、HVR-H3は、A P R W A A A A (配列番号223)ではない。いくつかの実施形態では、HVR-L3は、Q A A A A A A A T (配列番号224)ではない。

20

【0167】

一態様において、本発明は、(a)配列番号172のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号173のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号174のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、配列番号174のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号174のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号175のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号174のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、配列番号175のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、配列番号173のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a)配列番号172のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号173のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号174のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、を含む。いくつかの実施形態では、HVR-H2は、DMYPDA A A A S Y N Q K F R E (配列番号222)ではない。いくつかの実施形態では、HVR-H3は、A P R W A A A A (配列番号223)ではない。いくつかの実施形態では、HVR-L3は、Q A A A A A A A T (配列番号224)ではない。

30

40

【0168】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c)配列番号175のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体を提供する。いくつかの実施形態では、HVR-L3は、Q A A A A A A A T (配列番号224)ではない。

【0169】

別の態様において、本発明の抗体は、(a)(i)配列番号172のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号173のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号174から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメイ

50

ンと、(b) (i) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む HVR-L 1、(i i) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む HVR-L 2、及び (c) 配列番号 175 のアミノ酸配列を含む HVR-L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての VL HVR 配列を含む VL ドメインと、を含む。

【0170】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号 172 のアミノ酸配列を含む HVR-H 1 と、(b) 配列番号 173 のアミノ酸配列を含む HVR-H 2 と、(c) 配列番号 174 のアミノ酸配列を含む HVR-H 3 と、(d) 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む HVR-L 1 と、(e) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含む HVR-L 2 と、(f) 配列番号 175 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-L 3 と、を含む抗体を提供する。いくつかの実施形態では、HVR-H 2 は、DMYPDA A A A S Y N Q K F R E (配列番号 222) ではない。いくつかの実施形態では、HVR-H 3 は、A P R W A A A A (配列番号 223) ではない。いくつかの実施形態では、HVR-L 3 は、Q A A A A A A A T (配列番号 224) ではない。

【0171】

上記の置換の全ての想定される組み合わせは、配列番号 172、173、174、及び 175 のコンセンサス配列に包含される。

【0172】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H 1、(b) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-H 2、(c) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H 3、(d) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L 1、(e) 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR-L 2、及び (f) 配列番号 42 のアミノ酸配列を含む HVR-L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの HVR を含む抗ヒト OX40 アゴニスト抗体を提供する。

【0173】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H 1、(b) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-H 2、及び (c) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての VH HVR 配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H 3 を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H 3 と、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む HVR-L 3 と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H 3 と、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む HVR-L 3 と、配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-H 2 と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H 1 と、(b) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-H 2 と、(c) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H 3 と、を含む。

【0174】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L 1、(b) 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR-L 2、及び (c) 配列番号 42 のアミノ酸配列を含む HVR-L 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての VL HVR 配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L 1 と、(b) 配列番号 39 のアミノ酸配列を含む HVR-L 2 と、(c) 配列番号 42 のアミノ酸配列を含む HVR-L 3 と、を含む。

【0175】

別の態様において、本発明の抗体は、(a) (i) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H 1、(i i) 配列番号 30 のアミノ酸配列を含む HVR-H 2、及び (i i i) 配列番号 33 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-H 3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての VH HVR 配列を含む VH ドメインと、(b) (i) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L 1、(i i) 配列番号 39 の

アミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

【0176】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号30のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号42から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体を提供する。

【0177】

10

一態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号30のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

【0178】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b)配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c)配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。

20

【0179】

別の態様において、本発明の抗体は、(a)(i)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号30のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号33から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

30

【0180】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号30のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号40のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号42から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体を提供する。

【0181】

40

一態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号30、31、または32のアミノ酸配列を含むHVR-H2、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3、(d)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(e)配列番号39、40、または41のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(f)配列番号42、43、または44のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つのHVRを含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体を提供する。

【0182】

一態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号30、31、または32のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)

50

配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての VH HVR 配列を含む抗体を提供する。別の実施形態では、抗体は、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、配列番号 42、43、または 44 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、配列番号 42、43、または 44 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、配列番号 39、40、または 41 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、(b) 配列番号 30、31、または 32 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、(c) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、を含む。

10

【0183】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(b) 配列番号 39、40、または 41 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (c) 配列番号 42、43、または 44 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての VL HVR 配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、(b) 配列番号 39、40、または 41 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、(c) 配列番号 42、43、または 44 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む。

【0184】

別の態様において、本発明の抗体は、(a) (i) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(ii) 配列番号 30、31、または 32 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び (iii) 配列番号 33 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-H3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての VH HVR 配列を含む VH ドメインと、(b) (i) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(ii) 配列番号 39、40、または 41 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (c) 配列番号 42、43、または 44 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての VL HVR 配列を含む VL ドメインと、を含む。

20

【0185】

別の態様において、本発明は、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H1 と、(b) 配列番号 30、31、または 32 のアミノ酸配列を含む HVR-H2 と、(c) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、(d) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L1 と、(e) 配列番号 39、40、または 41 のアミノ酸配列を含む HVR-L2 と、(f) 配列番号 42、43、または 44 から選択されるアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む抗体を提供する。

30

【0186】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(b) 配列番号 175 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、(c) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H3、(d) 配列番号 37 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、(e) 配列番号 177 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び (f) 配列番号 178 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの HVR を含む抗ヒト OX40 アゴニスト抗体を提供する。

40

【0187】

一態様において、本発明は、(a) 配列番号 29 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、(b) 配列番号 175 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び (c) 配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 から選択される、少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または 3 つ全ての VH HVR 配列を含む抗体を提供する。別の実施形態では、抗体は、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、配列番号 177 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、配列番号 33 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 と、配列番号 178 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 と、配列番号 1

50

76のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、を含む。さらなる実施形態では、抗体は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号176のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、を含む。

【0188】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号177のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号177のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含む抗体を提供する。一実施形態では、抗体は、(a)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(b)配列番号177のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(c)配列番号178のアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む。

【0189】

別の態様において、本発明の抗体は、(a)(i)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(ii)配列番号176のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(iii)配列番号33から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVH HVR配列を含むVHドメインと、(b)(i)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(ii)配列番号177のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号178のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つ全てのVL HVR配列を含むVLドメインと、を含む。

【0190】

別の態様において、本発明は、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1と、(b)配列番号176のアミノ酸配列を含むHVR-H2と、(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3と、(d)配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1と、(e)配列番号177のアミノ酸配列を含むHVR-L2と、(f)配列番号178から選択されるアミノ酸配列を含むHVR-L3と、を含む抗体を提供する。

【0191】

上記の実施形態のいずれにおいても、抗OX40アゴニスト抗体は、ヒト化されている。一実施形態では、抗OX40抗体は、上記の実施形態のいずれか、または図11の実施形態のいずれかにあるようなHVRを含み、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークをさらに含む。別の実施形態では、抗OX40抗体は、上記の実施形態のいずれかにあるようなHVRを含み、図11に示されるFR配列を含むVH及び／またはVLをさらに含む。

【0192】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、108、114、または116のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVH配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、108、114、または116において置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号配列番号56、58、60、62、64、66、68、70、72、

74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、108、114、または116のVH配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VHは、(a) 配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c) 配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0193】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、配列番号57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、109、115、または117のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、109、115、若しくは117において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、109、115、または117のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VLは、(a) 配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b) 配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c) 配列番号7のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0194】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号56のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVH配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号56において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号56のVH配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VHは、(a) 配列番号2のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b) 配列番号3のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c) 配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0195】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、配列番号57のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持

する。ある特定の実施形態では、合計 1～10 個のアミノ酸が、配列番号 57 において置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVR の外側の領域で（すなわち、FR において）生じる。任意で、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、配列番号 57 の VL 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VL は、（a）配列番号 5 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、（b）配列番号 6 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び（c）配列番号 7 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、1 つ、2 つ、または 3 つの HVR を含む。

【0196】

別の態様において、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、配列番号 94 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の同一性を有する VH 配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、OX40 に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計 1～10 個のアミノ酸が、配列番号 94 において置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVR の外側の領域で（すなわち、FR において）生じる。任意で、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、配列番号 94 の VH 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VH は、（a）配列番号 2 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、（b）配列番号 3 のアミノ酸配列を含む HVR-H2、及び（c）配列番号 4 のアミノ酸配列を含む HVR-H3 から選択される 1 つ、2 つ、または 3 つの HVR を含む。

【0197】

別の態様において、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、配列番号 95 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン（VL）を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の同一性を有する VL 配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、OX40 に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計 1～10 個のアミノ酸が、配列番号 95 において置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVR の外側の領域で（すなわち、FR において）生じる。任意で、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、配列番号 95 の VL 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VL は、（a）配列番号 5 のアミノ酸配列を含む HVR-L1、（b）配列番号 6 のアミノ酸配列を含む HVR-L2、及び（c）配列番号 26 のアミノ酸配列を含む HVR-L3 から選択される、1 つ、2 つ、または 3 つの HVR を含む。

【0198】

別の態様において、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、配列番号 96 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 100 % の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも 90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % の同一性を有する VH 配列は、参照配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、OX40 に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計 1～10 個のアミノ酸が、配列番号 96 において置換、挿入、及び／または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVR の外側の領域で（すなわち、FR において）生じる。任意で、抗ヒト OX40 アゴニスト抗体は、配列番号 96 の VH 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VH は、（a）配列番号 2 のアミノ酸配列を含む HVR-H1、（b）配列番号 3 のアミ

ノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号4のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0199】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、配列番号97のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号97において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号97のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VLは、(a)配列番号5のアミノ酸配列を含むHVR-L1、(b)配列番号6のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び(c)配列番号27のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0200】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVH配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号配列番号118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148のVH配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VHは、(a)配列番号29のアミノ酸配列を含むHVR-H1、(b)配列番号30のアミノ酸配列を含むHVR-H2、及び(c)配列番号33のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0201】

別の態様において、抗ヒトOX40アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、配列番号119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、参照配列と比べて、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、OX40に結合する能力を保持する。ある特定の実施形態では、合計1~10個のアミノ酸が、配列番号119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149において置換、挿入、及び/または欠失された。ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、HVR

の外側の領域で（すなわち、FRにおいて）生じる。任意で、抗ヒトOX40アゴニスト抗体は、配列番号119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。特定の実施形態では、VLは、（a）配列番号37のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）配列番号39のアミノ酸配列を含むHVR-L2、及び（c）配列番号42のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される、1つ、2つ、または3つのHVRを含む。

【0202】

一実施形態では、抗体は、配列番号56及び配列番号57それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号58及び配列番号59それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号60及び配列番号61それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号62及び配列番号63それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号64及び配列番号65それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号66及び配列番号67それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号68及び配列番号69それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号70及び配列番号71それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号72及び配列番号73それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号74及び配列番号75それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号76及び配列番号77それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号78及び配列番号79それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号80及び配列番号81それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号82及び配列番号83それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号84及び配列番号85それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号86及び配列番号87それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号88及び配列番号89それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号90及び配列番号91それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号92及び配列番号93それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号94及び配列番号95それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号96及び配列番号97それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号98及び配列番号99それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号100及び配列番号101それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号108及び配列番号109それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号114及び配列番号115それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号116及び配列番号117それぞれのHV配列及びVL配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。

【0203】

一実施形態では、抗体は、配列番号118及び配列番号119それぞれのHV配列及び

V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 2 0 及び配列番号 1 2 1 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 2 2 及び配列番号 1 2 3 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 2 4 及び配列番号 1 2 5 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 2 6 及び配列番号 1 2 7 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 2 8 及び配列番号 1 2 9 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 3 0 及び配列番号 1 3 1 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 3 2 及び配列番号 1 3 3 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 3 4 及び配列番号 1 3 5 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 3 6 及び配列番号 1 3 7 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 3 8 及び配列番号 1 3 9 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 4 0 及び配列番号 1 4 1 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 4 2 及び配列番号 1 4 3 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 4 4 及び配列番号 1 4 5 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号 1 4 6 及び配列番号 1 4 7 それぞれの H V 配列及び V L 配列を含み、それらの配列の翻訳後修飾を含む。

【0204】

別の態様において、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体が提供され、この抗体は、上述の実施形態のいずれかにあるような V H、及び上述の実施形態のいずれかにあるような V L を含む。

【0205】

いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニスト抗体は、M E D I 6 4 6 9 である。いくつかの実施形態では、O X 4 0 アゴニスト抗体は、M E D I 0 5 6 2 である。

【0206】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に提供される抗ヒト O X 4 0 抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。いくつかの実施形態では、抗体は、抗ヒト O X 4 0 アゴニスト抗体である。

【0207】

本発明のさらなる態様において、上記の実施形態のいずれかに従う抗 O X 4 0 抗体は、キメラ、ヒト化、またはヒト抗体を含む、モノクローナル抗体である。一実施形態では、抗 O X 4 0 抗体は、抗体断片、例えば、F v、F a b、F a b'、s c F v、ダイアボディ、または F (a b')₂ 断片である。別の実施形態では、抗体は、完全長の抗体、例えば、インタクト I g G 1 抗体または本明細書に定義される他の抗体クラス若しくはアイソタイプである。いくつかの実施形態では、抗体は、完全長インタクト I g G 4 抗体である。

【0208】

O X 4 0 ポリペプチド及び O X 4 0 抗体に対応する例示的なアミノ酸配列が、以下に提供される。

表2. アミノ酸配列

名称	配列	配列 番号
ヒトOX40 (シグナル ペプチドを欠く)	LHCVGDTYPSNDRCCHECRPGN GMVSRCSRSQNTVCRPCGPGFY NDVVSSKPKPCTWCNLRSGSE RKQLCTATQDTVCRRCRAGTQPL DSYKPGVDCAPCPPGHFSPGDN QACKPWTNCTLAGKHTLQPASN SSDAICEDRDPPATQPQETQGP PARPITVQPTTEAWPRTSQQGPST RPVEVPGGRAVAAIILGLGLVLG LLGPLAILLALYLLRRDQRLPP DAHKPPGGGSFRTPIQEEQADA HSTLAKI	1
HVR-H1- 1A7. gr. 1 1A7. gr. 2 1A7. gr. 3 1A7. gr. 4 1A7. gr. 5 1A7. gr. 6 1A7. gr. 7 1A7. gr. NADS 1A7. gr. NADA 1A7. gr. NGDA 1A7. gr. SGDS 1A7. gr. NGSS 1A7. Ala. 1 1A7. Ala. 2 1A7. Ala. 3 1A7. Ala. 4 1A7. Ala. 5 1A7. Ala. 6 1A7. Ala. 7 1A7. Ala. 8 1A7. Ala. 9 1A7. Ala. 10 1A7. Ala. 11 1A7. Ala. 12 1A7. Ala. 13 1A7. Ala. 14 1A7. Ala. 15	DSYMS	2

10

20

30

40

1 A 7. A l a. 1 6		
HVR—H2— 1 A 7. g r. 1 1 A 7. g r. 2 1 A 7. g r. 3 1 A 7. g r. 4 1 A 7. g r. 5 1 A 7. g r. 6 1 A 7. g r. 7 1 A 7. g r. DA 1 A 7. g r. ES 1 A 7. A l a. 1 1 A 7. A l a. 2 1 A 7. A l a. 3 1 A 7. A l a. 4 1 A 7. A l a. 5 1 A 7. A l a. 6 1 A 7. A l a. 7 1 A 7. A l a. 8 1 A 7. A l a. 9 1 A 7. A l a. 10 1 A 7. A l a. 11 1 A 7. A l a. 12 1 A 7. A l a. 13 1 A 7. A l a. 14 1 A 7. A l a. 15 1 A 7. A l a. 16	DMYPDNGDSSYNQKFRE	3
HVR—H3— 1 A 7. g r. 1 1 A 7. g r. 2 1 A 7. g r. 3 1 A 7. g r. 4 1 A 7. g r. 5 1 A 7. g r. 6 1 A 7. g r. 7 1 A 7. g r. DA 1 A 7. g r. ES 1 A 7. g r. NADS 1 A 7. g r. NADA 1 A 7. g r. NGDA 1 A 7. g r. SGDS 1 A 7. g r. NGSS 1 A 7. g r. DANA	APRWYFSV	4

10

20

30

40

DA 1 A 7. A l a. 1 1 A 7. A l a. 2 1 A 7. A l a. 3 1 A 7. A l a. 4 1 A 7. A l a. 5 1 A 7. A l a. 6 1 A 7. A l a. 7 1 A 7-A l a. 1 5 1 A 7. A l a. 1 6		
HVR-L 1 - 1 A 7. g r. 1 1 A 7. g r. 2 1 A 7. g r. 3 1 A 7. g r. 4 1 A 7. g r. 5 1 A 7. g r. 6 1 A 7. g r. 7 1 A 7. g r. DA 1 A 7. g r. ES 1 A 7. g r. NADS 1 A 7. g r. NADA 1 A 7. g r. NGDA 1 A 7. g r. SGDS 1 A 7. g r. NGSS 1 A 7. g r. DANA DA 1 A 7. A l a. 1 1 A 7. A l a. 2 1 A 7. A l a. 3 1 A 7. A l a. 4 1 A 7. A l a. 5 1 A 7. A l a. 6 1 A 7. A l a. 7 1 A 7. A l a. 8 1 A 7. A l a. 9 1 A 7. A l a. 1 0 1 A 7. A l a. 1 1 1 A 7. A l a. 1 2 1 A 7. A l a. 1 3 1 A 7. A l a. 1 4 1 A 7. A l a. 1 5 1 A 7. A l a. 1 6	RASQDISNYLN	5

10

20

30

40

HVR-L 2-		6	
1 A 7. g r. 1			
1 A 7. g r. 2			
1 A 7. g r. 3			
1 A 7. g r. 4			
1 A 7. g r. 5			
1 A 7. g r. 6			
1 A 7. g r. 7			
1 A 7. g r. DA			10
1 A 7. g r. ES			
1 A 7. g r. NADS			
1 A 7. g r. NADA			
1 A 7. g r. NGDA			
1 A 7. g r. SGDS			
1 A 7. g r. NGSS			
1 A 7. g r. DANA			
DA			
1 A 7. A l a. 1			20
1 A 7. A l a. 2			
1 A 7. A l a. 3			
1 A 7. A l a. 4			
1 A 7. A l a. 5			
1 A 7. A l a. 6			
1 A 7. A l a. 7			
1 A 7. A l a. 8			
1 A 7. A l a. 9			
1 A 7. A l a. 10			30
1 A 7. A l a. 11			
1 A 7. A l a. 12			
1 A 7. A l a. 13			
1 A 7. A l a. 14			
1 A 7. A l a. 15			
1 A 7. A l a. 16	Y T S R L R S		
HVR-L 3-		7	
1 A 7. g r. 1			
1 A 7. g r. 2			40
1 A 7. g r. 3			
1 A 7. g r. 4			
1 A 7. g r. 5			
1 A 7. g r. 6			
1 A 7. g r. 7			
1 A 7. g r. DA			
1 A 7. g r. ES	Q Q G H T L P P T		

1 A 7. g r. NADS 1 A 7. g r. NADA 1 A 7. g r. NGDA 1 A 7. g r. SGDS 1 A 7. g r. NGSS 1 A 7. g r. DANA DA 1 A 7. A l a. 8 1 A 7. A l a. 9 1 A 7. A l a. 10 1 A 7. A l a. 11 1 A 7. A l a. 12 1 A 7. A l a. 13 1 A 7. A l a. 14 1 A 7. A l a. 15 1 A 7. A l a. 16		
HVR-H1- 1 A 7. g r. DA	DAYMS	8
HVR-H1- 1 A 7. g r. ES 1 A 7. g r. DANA DA	ESYMS	9
HVR-H2- 1 A 7. g r. NADS	DMYPDNADSSYNQKFRE	10
HVR-H2- 1 A 7. g r. NADA 1 A 7. g r. DANA DA	DMYPDNADASYNQKFRE	11
HVR-H2- 1 A 7. g r. NGDA	DMYPDNGDASYNQKFRE	12
HVR-H2- 1 A 7. g r. SGDS	DMYPDSGDSSYNQKFRE	13
HVR-H2- 1 A 7. g r. NGSS	DMYPDNGSSSYNQKFRE	14
HVR-H3- 1 A 7. A l a. 8	APRWYFSA	15
HVR-H3- 1 A 7. A l a. 9	APRWYASV	16
HVR-H3- 1 A 7. A l a. 10	APRWAFSV	17
HVR-H3- 1 A 7. A l a. 11	APAWYFSV	18
HVR-H3-	APRWYFAV	19

10

20

30

40

1 A 7. A l a. 1 2		
HVR-H 3 - 1 A 7. A l a. 1 3	APRAYFSV	2 0
HVR-H 3 - 1 A 7. A l a. 1 4	AARWYFSV	2 1
HVR-L 3 - 1 A 7. A l a. 1	QQGHTLPAT	2 2
HVR-L 3 - 1 A 7. A l a. 2	QQGHTAPPT	2 3
HVR-L 3 - 1 A 7. A l a. 3	QQGATLPPT	2 4
HVR-L 3 - 1 A 7. A l a. 4	QQGHALPPT	2 5
HVR-L 3 - 1 A 7. A l a. 5	QQAHTLPPT	2 6
HVR-L 3 - 1 A 7. A l a. 6	QQGHTLAPT	2 7
HVR-L 3 - 1 A 7. A l a. 7	QAGHTLPPT	2 8
HVR-H 1 - 3 C 8. g r. 1 3 C 8. g r. 2 3 C 8. g r. 3 3 C 8. g r. 4 3 C 8. g r. 5 3 C 8. g r. 5. S G 3 C 8. g r. 5. E G 3 C 8. g r. 5. Q G 3 C 9. g r. 5. D Q 3 C 8. g r. 5. D A 3 C 8. g r. 6 3 C 8. g r. 7 3 C 8. g r. 8 3 C 8. g r. 9 3 C 8. g r. 1 0 3 C 8. g r. 1 1 3 C 8. A. 1 3 C 8. A. 2 3 C 8. A. 3 3 C 8. A. 4 3 C 8. A. 5 3 C 8. A. 6 3 C 8. A. 7	NYL I E	2 9

10

20

30

40

3 C 8. A. 8 3 C 8. A. 9 3 C 8. A. 1 0		
HVR-H2- 3 C 8. g r. 1 3 C 8. g r. 2 3 C 8. g r. 3 3 C 8. g r. 4 3 C 8. g r. 5 3 C 8. g r. 5. S G 3 C 8. g r. 5. E G 3 C 8. g r. 5. Q G 3 C 8. g r. 6 3 C 8. g r. 7 3 C 8. g r. 8 3 C 8. g r. 9 3 C 8. g r. 1 0 3 C 8. g r. 1 1 3 C 8. A. 1 3 C 8. A. 2 3 C 8. A. 3 3 C 8. A. 4 3 C 8. A. 5 3 C 8. A. 6 3 C 8. A. 7 3 C 8. A. 8 3 C 8. A. 9 3 C 8. A. 1 0	V I N P G S G D T Y Y S E K F K G	3 0
HVR-H2- 3 C 8. g r. 5. D A	V I N P G S G D A Y Y S E K F K G	3 1
HVR-H2- 3 C 8. g r. 5. D Q	V I N P G S G D Q Y Y S E K F K G	3 2
HVR-H3- 3 C 8. g r. 1 3 C 8. g r. 2 3 C 8. g r. 3 3 C 8. g r. 4 3 C 8. g r. 5 3 C 8. g r. 5. S G 3 C 8. g r. 5. E G 3 C 8. g r. 5. Q G 3 C 8. g r. 5. D A 3 C 8. g r. 5. D Q	D R L D Y	3 3

10

20

30

40

3 C 8. g r. 6 3 C 8. g r. 7 3 C 8. g r. 8 3 C 8. g r. 9 3 C 8. g r. 1 0 3 C 8. g r. 1 1 3 C 8. A. 1 3 C 8. A. 2 3 C 8. A. 3 3 C 8. A. 4 3 C 8. A. 5 3 C 8. A. 6 3 C 8. A. 7		
HVR-H 3 - 3 C 8. A. 8	ARLDY	3 4
HVR-H 3 - 3 C 8. A. 9	DALDY	3 5
HVR-H 3 - 3 C 8. A. 1 0	DRADY	3 6
HVR-L 1 - 3 C 8. g r. 1 3 C 8. g r. 2 3 C 8. g r. 3 3 C 8. g r. 4 3 C 8. g r. 5 3 C 8. g r. 5. SG 3 C 8. g r. 5. EG 3 C 8. g r. 5. QG 3 C 8. g r. 5. DA 3 C 8. g r. 5. DQ 3 C 8. g r. 6 3 C 8. g r. 7 3 C 8. g r. 8 3 C 8. g r. 9 3 C 8. g r. 1 0 3 C 8. g r. 1 1 3 C 8. A. 1 3 C 8. A. 2 3 C 8. A. 3 3 C 8. A. 4 3 C 8. A. 5 3 C 8. A. 6 3 C 8. A. 7	HASQDISSYIV	3 7

10

20

30

40

3 C 8. A. 8 3 C 8. A. 9 3 C 8. A. 1 0		
HVR-L 2 - 3 C 8. g r. 1 3 C 8. g r. 2 3 C 8. g r. 3 3 C 8. g r. 4 3 C 8. g r. 5 3 C 8. g r. 5. DA 3 C 8. g r. 5. DQ 3 C 8. g r. 6 3 C 8. g r. 7 3 C 8. g r. 8 3 C 8. g r. 9 3 C 8. g r. 1 0 3 C 8. g r. 1 1 3 C 8. A. 1 3 C 8. A. 2 3 C 8. A. 3 3 C 8. A. 4 3 C 8. A. 5 3 C 8. A. 6 3 C 8. A. 7 3 C 8. A. 8 3 C 8. A. 9 3 C 8. A. 1 0	HGTNLED	3 8
HVR-L 2 - 3 C 8. g r 5. SG	HGTNLES	3 9
HVR-L 2 - 3 C 8. g r. 5. EG	HGTNLEE	4 0
HVR-L 2 - 3 C 8. g r. 5. QG	HGTNLEQ	4 1
HVR-L 3 3 C 8. g r. 1 3 C 8. g r. 2 3 C 8. g r. 3 3 C 8. g r. 4 3 C 8. g r. 5 3 C 8. g r. 5. SG 3 C 8. g r. 5. EG 3 C 8. g r. 5. QG 3 C 8. g r. 5. DA	VHYAQFPYT	4 2

10

20

30

40

3 C 8. g r. 5. DQ 3 C 8. g r. 6 3 C 8. g r. 7 3 C 8. g r. 8 3 C 8. g r. 9 3 C 8. g r. 10 3 C 8. g r. 11 3 C 8. A. 8 3 C 8. A. 9 3 C 8. A. 10		
HVR-L3- 3 C 8. A. 1	AHYAQFPYT	4 3
HVR-L3- 3 C 8. A. 2	VAYAQFPYT	4 4
HVR-L3- 3 C 8. A. 3	VHAAQFPYT	4 5
HVR-L3- 3 C 8. A. 4	VHYAAFPYT	4 6
HVR-L3- 3 C 8. A. 5	VHYAQAPYT	4 7
HVR-L3- 3 C 8. A. 6	VHYAQFAYT	4 8
HVR-L3- 3 C 8. A. 7	VHYAQFPAT	4 9
HVR-H1- 1 D 2. g r. 1 1 D 2. g r. 2 1 D 2. g r. 3	DYGV L	5 0
HVR-H2-1 D 2. g r. 1 1 D 2. g r. 2 1 D 2. g r. 3	MIWSGGTTDYNAAFIS	5 1
HVR-H3-1 D 2. g r. 1 1 D 2. g r. 2 1 D 2. g r. 3	EEMDY	5 2
HVR-L1- 1 D 2. g r. 1 1 D 2. g r. 2 1 D 2. g r. 3	RASQDISNFLN	5 3
HVR-L2- 1 D 2. g r. 1 1 D 2. g r. 2	YTSRLHS	5 4

10

20

30

40

1 D 2. g r. 3		
HVR-L 3-		5 5
1 D 2. g r. 1		
1 D 2. g r. 2		
1 D 2. g r. 3	QQGNTLPWT	
1 A 7. g r. 1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	5 6
1 A 7. g r. 1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTITSSLPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	5 7
1 A 7. g r. 2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITVDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	5 8
1 A 7. g r. 2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTITSSLPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	5 9
1 A 7. g r. 3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITVDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	6 0
1 A 7. g r. 3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTITSSLPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	6 1
1 A 7. g r. 4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITVDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG	6 2

10

20

30

40

	TLVTVSS	
1 A 7. g r. 4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKTV KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	6 3
1 A 7. g r. 5 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITVDTSTSTAYLELSSRLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	6 4
1 A 7. g r. 5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKTV KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	6 5
1 A 7. g r. 6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITVDTSTSTAYLELSSRLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	6 6
1 A 7. g r. 6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKTV KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGKDYTLTISSLQPEDFATYFC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	6 7
1 A 7. g r. 7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITVDTSTSTAYLELSSRLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	6 8
1 A 7. g r. 7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKTV KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGKDYTLTISSLQPEDFATYFC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	6 9
1 A 7. g r. DA V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDAYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSRLRS	7 0

10

20

30

40

	EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	
1 A7. g r. DA V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	7 1
1 A7. g r. ES V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTESYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSRLS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	7 2
1 A7. g r. ES V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	7 3
1 A7. g r. NADS V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNADSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSRLS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	7 4
1 A7. g r. NADS V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	7 5
1 A7. g r. NADA V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNADASYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSRLS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	7 6
1 A7. g r. NADA V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	7 7
1 A7. g r. NGDA V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDASYNQKFRE	7 8

10

20

30

40

	RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	
1 A 7. g r. NGDA V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	7 9
1 A 7. g r. SGDS V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDSDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	8 0
1 A 7. g r. SGDS V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	8 1
1 A 7. g r. NGSS V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGSSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	8 2
1 A 7. g r. NGSS V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	8 3
1 A 7. g r. DANA DA V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDAYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNADASYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	8 4
1 A 7. g r. DANA DA V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	8 5
1 A 7. A l a. 1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG	8 6

10

20

30

40

	LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	
1 A 7. A l a. 1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTITSSSLQPEDFATYYC QQGHTLPATFGQGGTKVEIK	8 7
1 A 7. A l a. 2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	8 8
1 A 7. A l a. 2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTITSSSLQPEDFATYYC QQGHTAPPTFGQGGTKVEIK	8 9
1 A 7. A l a. 3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	9 0
1 A 7. A l a. 3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTITSSSLQPEDFATYYC QQGATLPPTFGQGGTKVEIK	9 1
1 A 7. A l a. 4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	9 2
1 A 7. A l a. 4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTITSSSLQPEDFATYYC QQGHALPPTFGQGGTKVEIK	9 3
1 A 7. A l a. 5	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC	9 4

10

20

30

40

V _H	KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	
1 A 7. A l a . 5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQAHTLPPTFGQGTKVEIK	9 5
1 A 7. A l a . 6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	9 6
1 A 7. A l a . 6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQGHTLAPTFGQGTKVEIK	9 7
1 A 7. A l a . 7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	9 8
1 A 7. A l a . 7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QAGHTLPPTFGQGTKVEIK	9 9
1 A 7. A l a . 8 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSAWGQG TLVTVSS	1 0 0
1 A 7. A l a . 8 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	1 0 1

10

20

30

40

1 A 7. A l a. 9 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYASVWGQG TLVTVSS	1 0 2
1 A 7. A l a. 9 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	1 0 3
1 A 7. A l a. 1 0 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWAFSVWGQG TLVTVSS	1 0 4
1 A 7. A l a. 1 0 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	1 0 5
1 A 7. A l a. 1 1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPAWYFSVWGQG TLVTVSS	1 0 6
1 A 7. A l a. 1 1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGTKVEIK	1 0 7
1 A 7. A l a. 1 2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFAVWGQG TLVTVSS	1 0 8
1 A 7. A l a. 1 2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC	1 0 9

10

20

30

40

	QQGHTLPPTFGQGKVEIK	
1 A 7. A l a. 1 3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRAYFSVWGQG TLVTVSS	1 1 0
1 A 7. A l a. 1 3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTITSSLPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGKVEIK	1 1 1
1 A 7. A l a. 1 4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAARWYFSVWGQG TLVTVSS	1 1 2
1 A 7. A l a. 1 4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTITSSLPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGKVEIK	1 1 3
1 A 7. A l a. 1 5 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCALAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	1 1 4
1 A 7. A l a. 1 5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGTDFTLTITSSLPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGKVEIK	1 1 5
1 A 7. A l a. 1 6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTITRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVAAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	1 1 6
1 A 7. A l a. 1 6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNYLNWYQQKPGKAP KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG	1 1 7

10

20

30

40

	SGTDFTLT ISSLQPEDFATYYC QQGHTLPPTFGQGGTKVEIK	
3 C 8. g r. 1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLI EWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTITRDTSTSTAYLELSSLSRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLLV TVSS	1 1 8
3 C 8. g r. 1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKAP KLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLT ISSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 1 9
3 C 8. g r. 2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLI EWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTITADTSTSTAYLELSSLSRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLLV TVSS	1 2 0
3 C 8. g r. 2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKAP KLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLT ISSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 2 1
3 C 8. g r. 3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLI EWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSLSRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLLV TVSS	1 2 2
3 C 8. g r. 3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKAP KLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLT ISSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 2 3
3 C 8. g r. 4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLI EWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTITADTSTSTAYLELSSLSRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLLV TVSS	1 2 4
3 C 8. g r. 4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKSF	1 2 5

10

20

30

40

	KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	
3C8. gr. 5 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSSLRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV TVSS	1 2 6
3C8. gr. 5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPKGSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 2 7
3C8. gr. 5. SG V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSSLRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV TVSS	1 2 8
3C8. gr. 5. SG V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPKGSF KGLIYHGTNLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 2 9
3C8. gr. 5. EG V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSSLRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV TVSS	1 3 0
3C8. gr. 5. EG V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPKGSF KGLIYHGTNLEEGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 3 1
3C8. gr. 5. QG V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSSLRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV TVSS	1 3 2
3C8. gr. 5. QG	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT	1 3

10

20

30

40

V _L	CHASQDISSYIVWYQQKPGKSF KGLIYHGTNLEQGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	3
3 C 8. g r. 6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTITADTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV TVSS	1 3 4
3 C 8. g r. 6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGADYTLTISLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 3 5
3 C 8. g r. 7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV TVSS	1 3 6
3 C 8. g r. 7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGADYTLTISLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 3 7
3 C 8. g r. 8 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV TVSS	1 3 8
3 C 8. g r. 8 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 3 9
3 C 8. g r. 9 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTRDTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV TVSS	1 4 0

10

20

30

40

3 C 8. g r. 9 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKSP KLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 4 1
3 C 8. g r. 10 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTRDTSTSTAYLELSSLSRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV TVSS	1 4 2
3 C 8. g r. 10 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKAF KLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 4 3
3 C 8. g r. 11 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTRDTSTSTAYLELSSLSRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV TVSS	1 4 4
3 C 8. g r. 11 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKAP KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 4 5
3 C 8. A. 1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSLSRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV TVSS	1 4 6
3 C 8. A. 1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYC AHYAQFPYTFGQGGTKVEIK	1 4 7
3 C 8. A. 2 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSLSRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLV	1 4 8

10

20

30

40

	TVSS	
3 C 8. A. 2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTIISSLQPEDFATYYC VAYAQFPYTFGQGTKVEIK	1 4 9
3 C 8. A. 3 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLLV TVSS	1 5 0
3 C 8. A. 3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTIISSLQPEDFATYYC VHAAQFPYTFGQGTKVEIK	1 5 1
3 C 8. A. 4 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLLV TVSS	1 5 2
3 C 8. A. 4 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTIISSLQPEDFATYYC VHYAAFPYTFGQGTKVEIK	1 5 3
3 C 8. A. 5 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLLV TVSS	1 5 4
3 C 8. A. 5 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPGKSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTIISSLQPEDFATYYC VHYAAQAPYTFGQGTKVEIK	1 5 5
3 C 8. A. 6 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSLRS	1 5 6

10

20

30

40

	EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLLV TVSS	
3C8. A. 6 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CHASQDISSYIVWYQQKPKGSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC VHYAQFAYTFGQGTKVEIK	1 5 7
3C8. A. 7 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSLSR EDTAVYYCARDRLDYWGQGTLLV TVSS	1 5 8
3C8. A. 7 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CHASQDISSYIVWYQQKPKGSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC VHYAQFPATFGQGTKVEIK	1 5 9
3C8. A. 8 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSLSR EDTAVYYCARARLDYWGQGTLLV TVSS	1 6 0
3C8. A. 8 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CHASQDISSYIVWYQQKPKGSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGTKVEIK	1 6 1
3C8. A. 9 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG RVTLTADTSTSTAYLELSSLSR EDTAVYYCARDALDYWGQGTLLV TVSS	1 6 2
3C8. A. 9 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CHASQDISSYIVWYQQKPKGSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGQGTKVEIK	1 6 3
3C8. A. 10 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYAFTNYLIEWVRQAPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG	1 6 4

10

20

30

40

	RVTLLTADTSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCARDRADYWGQGTLLV TVSS	
3C8. A. 10 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CHASQDISSYIVWYQQKPKGSF KGLIYHGTNLEDGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC VHYAQFPYTFGGQGTKVEIK	16 5
1D2. gr. 1 V _H	EVQLVESGPGGLVKPSETLSLTC TVSGFSLTDYGVLWIRQPPGKG LEWIGMIWSGGTTDYNAAFISR VTISVDTSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYYCVREEMDYWGQGTLLV VSS	16 6
1D2. gr. 1 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNFLNWKYQQKPKGAP KLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC QQGNTLPWTFGGQGTKVEIK	16 7
1D2. gr. 2 V _H	EVQLVESGPGGLVKPSETLSLTC TVSGFSLTDYGVLWIRQPPGKG LEWIGMIWSGGTTDYNAAFISR VTISKDTSKNQVSLKLSSVTAA DTAVYYCVREEMDYWGQGTLLV VSS	16 8
1D2. gr. 2 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNFLNWKYQQKPKGAP KLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC QQGNTLPWTFGGQGTKVEIK	16 9
1D2. gr. 3 V _H	EVQLVESGPGGLVKPSETLSLTC TVSGFSLTDYGVLWVRQPPGKG LEWLGMWISGGTTDYNAAFISR LTISKDTSKNQVSLKLSSVTAA DTAVYYCVREEMDYWGQGTLLV VSS	17 0
1D2. gr. 3 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQDISNFLNWKYQQKPKGAP KLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSSLQPEDFATYYC QQGNTLPWTFGGQGTKVEIK	17 1
CON1 (1A7) HV R-H1	X ₁ X ₂ YMS、式中、X ₁ は、DまたはEであ り、X ₂ は、SまたはAである。	17 2

10

20

30

40

CON1 (1A7) HV R-H2	DMYPDX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ SYNQKFRE、式中、X ₁ は、NまたはSであり、X ₁ は、AまたはGであり、X ₃ は、DまたはSであり、X ₄ は、AまたはSである。	1 7 3
CON1 (1A7) HV R-H3	APRWX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ 、式中、X ₁ は、YまたはAであり、X ₂ は、AまたはFであり、X ₃ は、SまたはAであり、X ₄ は、AまたはVである。	1 7 4
CON1 (1A7) HV R-L3	QX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ T、式中、X ₁ は、AまたはQであり、X ₂ は、AまたはGであり、X ₃ は、AまたはHであり、X ₄ は、AまたはTであり、X ₅ は、AまたはLであり、X ₆ は、AまたはPであり、X ₇ は、AまたはPである。	1 7 5
CON2 (3C8) HV R-H2	VINPGSGDX ₁ YYSEKFKG、式中、X ₁ は、T、A、またはQである。	1 7 6
CON2 (3C8) HVR-L2	HGTNLEX ₁ 、式中、X ₁ は、S、E、またはQである。	1 7 7
CON2 (3C8) HV R-L3	X ₁ X ₂ YAQFPYX ₃ 、式中、X ₁ は、VまたはAであり、X ₂ は、HまたはAであり、X ₃ は、YまたはAである。	1 7 8
1A7 V _L	DIQMTQTSSLSASLGDRVTIS CRASQDISNYLNWYQQKPDGTV KLLIYYTSRLRSGVPSRFSGSG SGKDYFLTISNLEQEDVAAYFC QQGHTLPPTFGGGTKLEIK	1 7 9
1A7 V _H	EVQLQQSGPELVKPGASVKISC KASGYTFTDSYMSWVKQSHGKT LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE KVTLTVDKSSSTAYMEFRSLTS EDSAVYYCVLAPRWYFSVWGTG TTVTVSS	1 8 0
3C8 V _L	DILMTQSPSSMSVSLGDTVSI CHASQDISSYIVWLQQKPGKSF RGLIYHGTNLEDGIPSRFSGSG SGADYSLTISSLESEDFADYYC VHYAQFPYTFGGGKLEIK	1 8 1
3C8 V _H	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSC KASGYAFTNYLIEWVKQRPGQG LEWIGVINPGSGDTYYSEKFKG KVTLTADKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYFCARDRLDYWGQGTTL TVSS	1 8 2
1A7. gr. 5' V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG	2 2 5

10

20

30

40

	LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTLTVDSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	
1 A 7. g r. 7' V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTDSYMSWVRQAPGQG LEWIGDMYPDNGDSSYNQKFRE RVTLTVDSTSTAYLELSSLRS EDTAVYYCVLAPRWYFSVWGQG TLVTVSS	2 2 6

10

【0209】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、米国第7550140号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYTMNWVRQAPGKGLEWVSAISGSGG
STYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRYSQVHYALDYW
GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

20

(配列番号183)の配列を含む重鎖、及び／または

DIVMTQSPDSLPTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKAGQSPQLLIYLGSN
RASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQQYYNHPTTFGQGTKLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

30

(配列番号184)の配列を含む軽鎖を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの米国第7550140号に記載されるような抗体008の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、米国第7550140号に記載されるような抗体008の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0210】

40

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、米国第7550140号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

MAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYTMNWVRQAPGKGLEWVSAISGS
GGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRYSQVHYALD
YWQGQTLVTVLEGTGGSGGTGSGTGTSELDIQTQSPDSLPTPGEPASISCRSSQSL
LHSNGYNYLDWYLQKAGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE
DVG VYYCQQYYNHPTTFGQGTKLEIKRAA

50

(配列番号 185) の配列を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの米国第 7550140 号に記載されるような抗体 SC02008 の超可変領域 (HVR) 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、米国第 7550140 号に記載されるような抗体 SC02008 の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0211】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、米国第 7550140 号に記載される抗 OX40 抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、

EVQLVESGGGLVHPGGSRLRLSCAGSGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAIGTGGG
TTYADSV MGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYDNVMGLYWFDYW
GQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

(配列番号 186) の配列を含む重鎖、及び／または

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGI
PARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQQRSNWPPAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(配列番号 187) の配列を含む軽鎖を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの米国第 7550140 号に記載されるような抗体 023 の超可変領域 (HVR) 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、米国第 7550140 号に記載されるような抗体 023 の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

30

【0212】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、米国第 7960515 号に記載される抗 OX40 抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、

EVQLVESGGGLVQP GGSRLRLSCAASGFTFSSYS MNWVRQAPGKGLEWVSYISSSST
IDYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARESGWYLF DYWGQGT
LVT VSS

(配列番号 188) の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQYNSYPPTFGGGGTKVEIK

40

(配列番号 189) の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの米国第 7960515 号に記載されるような抗体 11D4 の超可変領域 (HVR) 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、米国第 7960515 号に記載されるような抗体 11D4 の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0213】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、米国第 7960515 号

50

に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNS
GSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDQSTADYYFYGM
DVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERK
CCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTVDVHQLDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT
ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(配列番号190)の配列を含む重鎖、及び／または

10

EIVVTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGI
PARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(配列番号191)の配列を含む軽鎖を含む。

20

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの米国第7960515号に記載されるような抗体18D8の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、米国第7960515号に記載されるような抗体18D8の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0214】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、国際公開第2012/027328号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYSMHWRQAPGQGLKWMGWINTE
TGEPTYADDFKGRFVFLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCANPYDYVSYYAMD
YWGQGTITVTVSS

30

(配列番号192)の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYLYTG
VPSRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDATYYCQQHYSTPRTEFGQGTKLEIK

(配列番号193)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの国際公開第2012/027328号に記載されるような抗体hu106-222の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第2012/027328号に記載されるような抗体hu106-222の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

40

【0215】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、国際公開第2012/027328号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASEYEFPSHDMSWVRQAPGKGLVLAAINSDDG
STYYPD TMERRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHYDDYYAWFAYWG
QGTMTVTSS

50

(配列番号 194) の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQAPRLLIYLASNL
ESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQHSRELPLTFGGGGTKVEIK

(配列番号 195) の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの国際公開第 2012/027328 号に記載されるような抗体 Hu119-122 の超可変領域 (HVR) 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第 2012/027328 号に記載されるような抗体 Hu119-122 の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

10

【0216】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、国際公開第 2013/028231 号に記載される抗 OX40 抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、

MYLGLNYYVFIVFLLNGVQSEVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDW
VRQSPEKGLEWVaEIRSKANNHATYYAESVNGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDT
GIYYCTWGEVFYFDYWGGTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYITCNVNHK
PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK

20

(配列番号 196) の配列を含む重鎖、及び／または

MRPSIQFLGLLLFWLHGAQCIDIQMTQSPSSLSASLGKVTITCKSSQDINKYIAWYQH
KPGKGPRLLIHYTSTLQPGIPSRFSGSGSGRDYSFISISNLEPEDIATYYCLQYDNLLTFG
AGTKLELKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C

30

(配列番号 197) の配列を含む軽鎖を含む。

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、

MYLGLNYYVFIVFLLNGVQSEVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAASGFTFSDAWMDWVRQSPE
KGLEWVAEIRSKANNHATYYAESVNGRFTISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTGIYYCTWGEV
FYFDYWGGTTTLTVSS

40

(配列番号 198) の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

MRPSIQFLGLLLFWLHGAQCIDIQMTQSPSSLSASLGKVTITCKSSQDINKYIAWYQHKPGKG
PRLLIHYTSTLQPGIPSRFSGSGSGRDYSFISISNLEPEDIATYYCLQYDNLLTFGAGTKLELK

(配列番号 199) の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの国際公開第 2013/028231 号に記載されるような抗体 Mab CH119-43-1 の超可変領域 (HVR) 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第 2013/028231 号に記載されるような抗体 Mab CH119-43-1 の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

50

【0217】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、国際公開第2013038191号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYN
DGTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCANYYGSSLSMDYWG
QGTSVTVSS;

(配列番号200)の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGV
PSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGTKLEIKR

10

(配列番号201)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの国際公開第2013038191号に記載されるような抗体クローン20E5の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第2013038191号に記載されるような抗体クローン20E5の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0218】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、国際公開第2013038191号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

20

EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYTFKDYTMHWVKQSHGKSLEWIGGIYPNNG
GSTYNQNFKDKATLTVDKSSSTAYMEFRSLTSEDSAVYYCARMGYHGPLDFDVW
GAGTTVTVSP

(配列番号202)の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIVMTQSHKFMSTSLGDRVSITCKASQDVGAaVWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHT
GVPDRFTGGSGTDFTLTISNVQSEDLTDYFCQQYINYLPLTFGGGTKLEIKR

30

(配列番号203)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの国際公開第2013038191号に記載されるような抗体クローン12H3の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第2013038191号に記載されるような抗体クローン12H3の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0219】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

40

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWMGYINPY
NDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCANYYGSSLSMDYWG
QGTLVTVSS

(配列番号204)の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGV
PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR

(配列番号205)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6

50

つの国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン20E5の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン20E5の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0220】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWMGYINPY
NDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDNAVYYCANYYGSSLSMDYWG
QGTLVTVSS

10

（配列番号204）の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSRLHSG
VPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR

（配列番号206）の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン20E5の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン20E5の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

20

【0221】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYINPYN
DGTKYNEKFKGRATITSDTSASTAYMELSSLRSEDNAVYYCANYYGSSLSMDYWGQ
GTLVTVSS

30

（配列番号207）の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGV
PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR

（配列番号205）の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン20E5の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン20E5の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

40

【0222】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYINPYN
DGTKYNEKFKGRATITSDTSASTAYMELSSLRSEDNAVYYCANYYGSSLSMDYWGQ
GTLVTVSS

（配列番号207）の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSRLHSG
VPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR

(配列番号 206) の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 20E5 の超可変領域 (HVR) 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 20E5 の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0223】

10

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、国際公開第 2014148895A1 号に記載される抗 OX40 抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYINPYN
DGTKYNEKFKGRATLTSDKSASTAYMELSSLRSED TAVYYCANYYGSSLSMDYWG
QGTLVTVSS

(配列番号 208) の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGV
PSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR

20

(配列番号 205) の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 20E5 の超可変領域 (HVR) 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 20E5 の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0224】

30

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、国際公開第 2014148895A1 号に記載される抗 OX40 抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYINPYN
DGTKYNEKFKGRATLTSDKSASTAYMELSSLRSED TAVYYCANYYGSSLSMDYWG
QGTLVTVSS

(配列番号 208) の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSRLHSG
VPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKR

40

(配列番号 206) の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 20E5 の超可変領域 (HVR) 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 20E5 の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0225】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、国際公開第 2014148895A1 号に記載される抗 OX40 抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWMGGIYPN
NGGSTYNQNFKDRVITITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARMGYHGPLDLDV
WGQGTTVTVSS

(配列番号 209) の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVGAAGVaWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYINYPLTFGGGTKVEIKR

(配列番号 210) の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 12H3 の超可変領域 (HVR) 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 12H3 の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0226】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、国際公開第 2014148895A1 号に記載される抗 OX40 抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWMGGIYPN
NGGSTYNQNFKDRVITITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARMGYHGPLDLDV
WGQGTTVTVSS

(配列番号 209) の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVGAAGVaWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTG
VPDRFSGGGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYINYPLTFGGGTKVEIKR

(配列番号 211) の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 12H3 の超可変領域 (HVR) 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 12H3 の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0227】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、国際公開第 2014148895A1 号に記載される抗 OX40 抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒト OX40 抗体は、

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNN
GGSTYNQNFKDRVITLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARMGYHGPLDLDV
WGQGTTVTVSS

(配列番号 212) の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVGAAGVaWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYINYPLTFGGGTKVEIKR

(配列番号 210) の配列を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つの国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 12H3 の超可変領域 (HVR) 配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第 2014148895A1 号に記載されるような抗体クローン 12H3 の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0228】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNN
GGSTYNQNFKDRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARMGYHGPLHDFDV
WGQGTTVTVSS

(配列番号212)の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVGAAGVaWYQQKPGKAPKLLIWASTRHTG
VPDRFSGGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYINYPLTFGGGTKVEIKR

10

(配列番号211)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン12H3の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン12H3の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0229】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNN
GGSTYNQNFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARMGYHGPLHDFDV
WGQGTTVTVSS

(配列番号213)の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVGAAGVaWYQQKPGKAPKLLIWASTRHTG
VPSRFSGGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYINYPLTFGGGTKVEIKR

30

(配列番号210)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン12H3の超可変領域(HVR)配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン12H3の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0230】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載される抗OX40抗体である。いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFKDYTMHWVRQAPGQGLEWIGGIYPNN
GGSTYNQNFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARMGYHGPLHDFDV
WGQGTTVTVSS

(配列番号213)の配列を含む重鎖可変領域、及び／または

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVGAAGVaWYQQKPGKAPKLLIWASTRHTG
VPDRFSGGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYINYPLTFGGGTKVEIKR

40

(配列番号211)の配列を含む軽鎖可変領域を含む。

いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6

50

つの国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン12H3の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、国際公開第2014148895A1号に記載されるような抗体クローン12H3の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0231】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、L106 BD（Pharmingen製品番号340420）である。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの抗体L106（BD Pharmingen製品番号340420）の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、抗体L106（BD Pharmingen製品番号340420）の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

10

【0232】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、ACT35（Santa Cruz Biotechnology、カタログ番号20073）である。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの抗体ACT35（Santa Cruz Biotechnology、カタログ番号20073）の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、抗体ACT35（Santa Cruz Biotechnology、カタログ番号20073）の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

20

【0233】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、MEDI6469である。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの抗体MEDI6469の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、抗体MEDI6469の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

【0234】

いくつかの実施形態では、アゴニスト抗ヒトOX40抗体は、MEDI0562である。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの抗体MEDI0562の超可変領域（HVR）配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、抗体MEDI0562の重鎖可変領域配列及び／または軽鎖可変領域配列を含む。

30

【0235】

他のOX40アゴニスト

本明細書に記載の方法のために有用なOX40アゴニストは、抗体に限定するものであるとは決して企図されていない。非抗体OX40アゴニストが企図され、当該技術分野では既知である。

【0236】

上述のように、OX40L（CD134Lとしても知られる）、OX40のリガンドとしての機能を果たす。かくして、OX40Lの一部または全てを発現するアゴニストは、OX40アゴニストとしての機能を果たす。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、OX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含んでもよい。OX40Lの細胞外ドメインの例としては、OX40結合ドメインが挙げられる。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、OX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含むが、タンパク質の他の不溶解性ドメイン、例えば膜貫通ドメインを欠く、OX40Lの可溶型であってもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、OX40Lに結合可能なOX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含む可溶性タンパク質である。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、例えば、効率、半減期、または他の望ましい特徴を増加させるために、他のタンパク質ドメインに結合してもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、免疫グロブリンFcドメインに結合されたOX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含んでもよい。

40

50

【0237】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、米国特許第7,696,175号に記載されるOX40アゴニストのうちのいずれか1つであってもよい。

【0238】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、オリゴマー分子または多量体分子であってもよい。例えば、OX40アゴニストは、プロテインがオリゴマー形成することを可能にする1つ以上のドメイン（例えば、ロイシンジッパードメイン）を含有してもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、1つ以上のロイシンジッパードメインと結合されたOX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含んでもよい。

【0239】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、欧州特許第EP0672141B1号に記載されるOX40アゴニストのうちのいずれか1つであってもよい。

【0240】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、三量体OX40L融合タンパク質であってもよい。例えば、OX40アゴニストは、免疫グロブリンFcドメイン及び三量体形成ドメイン（イソロイシンジッパードメインを含むが、これに限定されない）に結合したOX40Lの1つ以上の細胞外ドメインを含んでもよい。

【0241】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、国際公開第WO2006/121810号に記載されるOX40アゴニストのうちのいずれか1つであってもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニストは、MED16383である。

【0242】

さらなる態様において、上記の実施形態のいずれかに従う抗OX40アゴニスト及び／または抗体は、以下に記載される特徴のいずれかを、単独でまたは組み合わせで組み込んでもよい。

【0243】

1. 抗体親和性

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 、または $\leq 0.001 \text{ nM}$ （例えば 10^{-8} M 以下、例えば $10^{-8} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ 、例えば $10^{-9} \text{ M} \sim 10^{-13} \text{ M}$ ）の解離定数（Kd）を有する。

【0244】

一実施形態では、Kdは、放射標識抗原結合アッセイ（RIA）によって測定される。一実施形態では、RIAは、目的の抗体のFabバージョン及びその抗原を用いて行われる。例えば、抗原に対するFabの溶液結合親和性は、非標識抗原の滴定シリーズの存在下で、（125I）標識抗原の最小濃度でFabを平衡化することにより測定され、次いで、抗Fab抗体被覆プレートと結合した抗原を捕捉する（例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)を参照されたい）。アッセイのための条件を確立するために、MICROTITER（登録商標）マルチウェルプレート（Thermo Scientific）が、50mMの炭酸ナトリウム（pH9.6）中の $5 \mu\text{g/ml}$ の捕捉抗Fab抗体（Cappel Labs）で一晩コーティングされ、その後、室温（およそ23℃）で2～5時間、PBS中2%（w/v）のウシ血清アルブミンで遮断される。非吸着性のプレート（Nunc 番号269620）中で、100pMまたは26pMの[125I]抗原を、目的のFabの段階希釈液と混合する（例えば、Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)における抗VEGF抗体Fab-12の評価と一致）。目的のFabを次いで一晩インキュベートするが、インキュベーションは、平衡に到達することを確実にするために、より長い期間（例えば、約65時間）継続してもよい。その後、混合物を、室温での（例えば、1時間に亘る）インキュベーションのために、捕捉プレートに移す。溶液を次いで除去し、プレートを、PBS中0.1%のポリソルベート20（TWE

10

20

30

40

50

EN-20（登録商標）で8回洗浄する。プレートが乾燥したら、150 μ L/ウェルのシンチラント（scintillant）（MICROSCINT-20（商標）；Packard）を付加し、プレートをTOPCOUNT（商標）ガンマ計数器（Packard）上で10分間、計数する。最大結合の20%以下をもたらす各Fabの濃度を、競合結合アッセイにおいて使用するために選定する。

【0245】

別の実施形態によれば、Kdは、BIACORE（登録商標）表面プラズモン共鳴アッセイを使用して測定される。例えば、BIACORE（登録商標）-2000またはBIACORE（登録商標）-3000（BIAcore, Inc., Piscataway, NJ）を使用したアッセイは、25℃で、約10の応答単位（RU）で固定化抗原CM5チップを用いて行われる。一実施形態では、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサチップ（CM5、BIACORE, Inc.）を、供給業者の指示に従って、N-エチル-N'-（3-ジメチルアミノプロピル）-カルボジイミド塩酸塩（EDC）及びN-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）を用いて活性化させる。抗原を10mMの酢酸ナトリウム（pH4.8）で5 μ g/mL（約0.2 μ M）まで希釈した後、カップリングされたタンパク質のおよそ10応答単位（RU）を達成するように、5 μ L/分の流量で注入する。抗原の注射後、1Mのエタノールアミンを注入して、未反応基を遮断する。動態測定のために、2倍に連続希釈したFab（0.78 nM～500 nM）を、25℃でおよそ25 μ L/分の流量で0.05%のポリソルベート20（TWEEN-20（商標））界面活性剤（PBST）を有するPBS中に注入する。会合速度（kon）及び解離速度（koff）は、単純な1対1のLangmuir結合モデル（BIACORE（登録商標）Evaluation Softwareバージョン3.2）を使用して、会合センサグラムと解離センサグラムとを同時に当てはめることによって計算される。平衡解離定数（Kd）は、比率koff/konとして計算する。例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881（1999）を参照されたい。オン速度が、上記の表面プラズモン共鳴アッセイによって、106 M⁻¹s⁻¹を超える場合、オン速度は、攪拌されたキュベットを備えるストップフロー装着分光光度計（Aviv Instruments）または8000シリーズSLM-AMINCO（商標）分光光度計（Thermo Spectronic）等の分光計において測定される、漸増濃度の抗原の存在下で、25℃でのPBS（pH7.2）中の20 nM抗-抗原抗体（Fab型）の蛍光発光強度（励起=295 nm、発光=340 nm、16 nm帯域通過）の増加または減少を測定する、蛍光消光技法を使用することによって、判定することができる。

【0246】

2. 抗体断片

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片には、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、及びscFv断片、ならびに以下に記載される他の断片が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の抗体断片の概説については、Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134（2003）を参照されたい。scFv断片の概説に関して、例えばPluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315（1994）を参照されたい。国際公開第93/16185号ならびに米国特許第5,571,894号及び同第5,587,458号もまた参照されたい。エピトープ残基を結合し、増加したインビボ半減期を有するサルベージ受容体を含むFab及びF(ab')₂断片の考察に関しては、米国特許第5,869,046号を参照されたい。

【0247】

ダイアボディは、二価性または二重特異性であってもよい、2つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州第404,097号、国際公開第1993/01161

号、Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)、及びHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)を参照されたい。トリアボディ及びテトラボディもまた、Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)に記載されている。

【0248】

単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全てもしくは一部または軽鎖可変ドメインの全てもしくは一部分を含む抗体断片である。ある特定の実施形態では、単一ドメイン抗体は、ヒト単一ドメイン抗体である(Domantis, Inc., Waltham, MA、例えば、米国特許第6,248,516B1号を参照されたい)。

10

【0249】

抗体断片は、本明細書に記載されるように、インタクト抗体のタンパク質分解消化、ならびに組み換え宿主細胞(例えば、大腸菌(E. coli)またはファージ)による産生を含むがこれらに限定されない、様々な技法によって作製することができる。

【0250】

3. キメラ抗体及びヒト化抗体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、キメラ抗体である。特定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号、及びMorrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)に記載されている。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域(例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサル等の非ヒト霊長類に由来する可変領域)及びヒト定常領域を含む。さらなる例において、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のそれから変更された、「クラススイッチされた」抗体である。キメラ抗体には、それらの抗原結合断片が含まれる。

20

【0251】

ある特定の実施形態では、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的に、非ヒト抗体は、親の非ヒト抗体の特異性及び親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低減させるために、ヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、HVR、例えばCDR(またはその一部)が非ヒト抗体に由来し、FR(またはその一部)がヒト抗体配列に由来する、1つ以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体は、任意で、ヒト定常領域の少なくとも一部も含む。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体におけるいくつかのFR残基は、例えば、抗体特異性または親和性を還元若しくは向上させるために、非ヒト抗体(例えば、HVR残基が由来する抗体)由来の対応する残基で置換される。

30

【0252】

ヒト化抗体及びそれらの作製方法は、例えば、Almagro and Franss on, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)に概説され、また、例えば、Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)、Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989)、米国特許第5,821,337号、同第7,527,791号、同第6,982,321号、及び同第7,087,409号、Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005)(特異性決定領域(SDR)グラフィングを記載する)、Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991)(「リサーフェイシング」を記載する)、Dall'Acqua et al., 36:43-60, (2005)(「FRシャフリング」を記載する)、ならびにOsbourne et al., Methods 36:61-68 (2005)、及びKlimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000)(FRシャフリングへの「誘導選択」アプローチを記載する)にさらに記載されている。

40

【0253】

ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域には、「ベストフィット」法を使用して

50

選択されるフレームワーク領域（例えば、Sims et al. J. Immunol. 151:2296（1993）を参照されたい）、軽鎖または重鎖可変領域の特定の下位群のヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285（1992）、及びPresta et al. J. Immunol., 151:2623（1993）を参照されたい）、ヒト成熟（体細胞的に変異した）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系フレームワーク領域（例えば、Almagro and Franssón, Front. Biosci. 13:1619-1633（2008）を参照されたい）、及びFRライブラリのスクリーニングに由来するフレームワーク領域（例えば、Bacchetta et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684（1997）及びRosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618（1996）を参照されたい）が含まれるが、これらに限定されない。

【0254】

4. ヒト抗体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野で既知の様々な技法を使用して産生することができる。ヒト抗体は、概して、van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74（2001）及びLonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459（2008）に記載されている。

【0255】

ヒト抗体は、抗原投与に応答してインタクトヒト抗体またはヒト可変領域を含むインタクト抗体を産生するように改変されているトランスジェニック動物に、免疫原を投与することによって、調製されてもよい。かかる動物は典型的に、内在性免疫グロブリン遺伝子座を置き換える、または染色体外に存在するか、もしくは動物の染色体中にランダムに組み込まれる、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含有する。かかるトランスジェニックマウスにおいて、内在性免疫グロブリン遺伝子座は、概して、不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の概説については、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125（2005）を参照されたい。また例えば、XENOMOUSE（商標）技術を記載している米国特許第6,075,181号及び同第6,150,584号、HuMab（登録商標）技術を記載している米国特許第5,770,429号、K-M Mouse（登録商標）技術を記載している米国特許第7,041,870号、ならびにVelociMouse（登録商標）技術を記載している米国特許出願公開第US2007/0061900号を参照されたい。かかる動物によって生成されるインタクト抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによって、さらに改変されてもよい。

【0256】

ヒト抗体はまた、ハイブリドーマベースの方法によって作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒトミエローマ腫細胞株及びマウス-ヒトヘテロミエローマ細胞株が記載されている。（例えば、Kozbor J. Immunol., 133:3001（1984）、Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63（Marcel Dekker, Inc., New York, 1987）、及びBoerner et al., J. Immunol., 147:86（1991）を参照されたい。）ヒトB細胞ハイブリドーマ技術により生成されるヒト抗体もまた、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562（2006）に記載されている。追加の方法としては、例えば、米国特許第7,189,826号（ハイブリドーマ細胞株由来のモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載している）及びNi, Xiandai Mianyixue, 26（4）:265-268（2006）（ヒト-ヒトハイブリドーマを記載している）に記載されるものが挙げられる。ヒトハイブリドーマ技術（Trioma techno

logy) は、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20 (3) : 927-937 (2005)、及び Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27 (3) : 185-91 (2005) にも記載されている。

【0257】

ヒト抗体はまた、ヒト由来ファージディスプレイライブラリから選択されるFvクローン可変ドメイン配列を単離することによって生成されてもよい。かかる可変ドメイン配列は、次いで、所望のヒト定常ドメインと組み合わせられてもよい。抗体ライブラリからヒト抗体を選択するための技法が、以下に記載される。

【0258】

5. ライブラリ由来抗体

本発明の抗体は、コンビナトリアルライブラリを、所望の活性（単数または複数）を有する抗体についてスクリーニングすることによって、単離されてもよい。例えば、ファージディスプレイライブラリを生成し、かかるライブラリを、所望の結合特性を保有する抗体についてスクリーニングするための、多様な方法が当該技術分野で知られている。このような方法は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178 : 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) に概説され、例えば、McCafferty et al., Nature 348 : 552-554、Clackson et al., Nature, 352 : 624-628 (1991)、Marks et al., J. Mol. Biol. 222 : 581-597 (1992)、Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248 : 161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)、Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338 (2) : 299-310 (2004)、Lee et al., J. Mol. Biol. 340 (5) : 1073-1093 (2004)、Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101 (34) : 12467-12472 (2004)、及び Lee et al., J. Immunol. Methods 284 (1-2) : 119-132 (2004) にさらに記載されている。

【0259】

ある特定のファージディスプレイ法では、Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12 : 433-455 (1994) に記載されるように、VH及びVL遺伝子のレパートリーを、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によって別々にクローニングし、ファージライブラリ内でランダムに組み換え、次いでそれらを、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは典型的に、一本鎖Fv (scFv) 断片として、またはFab断片として抗体断片を提示する。免疫された源からのライブラリは、ハイブリドーマの構築を必要とすることなく、免疫原に対する高親和性抗体を提供する。代替的に、Griffiths et al., EMBO J, 12 : 725-734 (1993) に記載されるように、ナイーブレパートリーを（例えば、ヒトから）クローニングして、いかなる免疫も伴わずに、広範な非自己抗原及びまた自己抗原に対する単一抗体源を提供することができる。最後に、ナイーブライブラリは、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227 : 381-388 (1992) に記載されるように、再配列されていないV遺伝子セグメントを幹細胞からクローニングし、ランダム配列を含有するPCRプライマーを使用して高度可変CDR3領域をコードし、インビトロで再配列を遂行することによって、合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリを記載する特許公報には、例えば、米国特許第5, 750, 373号、ならびに米国特許公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007

10

20

30

40

50

／0292936号、及び同第2009／0002360号が含まれる。

【0260】

ヒト抗体ライブラリから単離された抗体または抗体断片は、本明細書においてヒト抗体またはヒト抗体断片と見なされる。

【0261】

6. 多重特異性抗体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば、二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも2つの異なる部位に対する結合特異性を有するモノクローナル抗体である。ある特定の実施形態では、結合特異性の一方は、OX40に対するものであり、他方は、任意の他の抗原に対するものである。ある特定の
10 実施形態では、二重特異性抗体は、OX40の2つの異なるエピトープに結合し得る。二重特異性抗体をまた使用して、細胞傷害性薬剤を、OX40を発現する細胞に局限させてもよい。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体断片として調製することができる。

【0262】

多重特異性抗体を作製するための技法には、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖－軽鎖対の組み換え共発現 (Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983))、国際公開第93／08829号、及びTraunet al., EMBO J. 10: 3655 (1991)を参照されたい)、及び「ノブインホール (knob-in-hole)」操作 (例えば、米国特許第5, 731, 168号を参照されたい)が含まれるが、これらに限定されない。多重特異性抗体は、抗体Fcヘテロ二量体分子を作製するために静電式ステアリング効果を操作すること (国際公開第2009／089004A1号)、2つ以上の抗体または断片を架橋すること (例えば米国特許第4, 676, 980、及びBrennan et al., Science, 229: 81 (1985)を参照されたい)、ロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体を産生すること (例えば、Kostelny et al., J. Immunol., 148 (5): 1547-1553 (1992)を参照されたい)、二重特異性抗体断片を作製するための「ダイアボディ」技術を使用すること (例えば、Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448 (1993)を参照されたい)、及び一本鎖Fv (sFv) 二量体を使用すること (例えば、Gruber et al., J. Immunol., 152: 5368 (1994)を参照されたい)、ならびに例えば、Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)に記載されるように三重特異性抗体を調製することによっても作製され得る。
20 30

【0263】

「オクトパス (Octopus) 抗体」を含む、3つ以上の機能的抗原結合部位を有する操作された抗体もまた、本明細書に含まれる (例えば、米国第2006／0025576A1号を参照されたい)。

【0264】

本明細書における抗体または断片にはまた、OX40及び別の異なる抗原に結合する抗原結合部位を含む、「二重作用 (Dual Acting) FAb」または「DAF」も
40 含まれる (例えば、米国第2008／0069820号を参照されたい)。

【0265】

7. 抗体変異型

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体のアミノ酸配列変異型が企図される。例えば、抗体の結合親和性及び／または他の生物学的特性を向上させることが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列変異型は、抗体をコードするヌクレオチド配列中に適切な修飾を導入することによって、またはペプチド合成によって、調製されてもよい。かかる修飾には、例えば、抗体のアミノ酸配列内での残基の欠失、及び／またはそこへの残基の挿入、及び／またはその中での残基の置換が含まれる。最終構築物に到達するように、欠失、挿入、及び置換を任意で組み合わせることができるが、但し、その最終構築物が
50

、所望の特性、例えば、抗原結合性を保有することを条件とする。

【0266】

a) 置換、挿入、及び欠失変異型

ある特定の実施形態では、1つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異型が提供される。置換型変異誘発に対する目的の部位には、HVR及びFRが含まれる。保存的置換は、表Aにおいて、「好ましい置換」の見出しの下に示される。より実質的な変化は、表Aにおいて、「例示的な置換」の見出しの下に提供され、またアミノ酸側鎖クラスを参照して以下にさらに記載される。アミノ酸置換が目的の抗体中に導入され、その産物が、所望の活性、例えば、保持された／向上した抗原結合、減少した免疫原性、または向上したADC若しくはCDCについて、スクリーニングされてもよい。

表A

原型残基	例示的な置換	好ましい置換
A l a (A)	V a l、L e u、I l e	V a l
A r g (R)	L y s、G l n、A s n	L y s
A s n (N)	G l n、H i s、A s p、L y s、A r g	G l n
A s p (D)	G l u、A s n	G l u
C y s (C)	S e r、A l a	S e r
G l n (Q)	A s n、G l u	A s n
G l u (E)	A s p、G l n	A s p
G l y (G)	A l a	A l a
H i s (H)	A s n、G l n、L y s、A r g	A r g
I l e (I)	L e u、V a l、M e t、A l a、P h e、ノルロイシン	L e u
L e u (L)	ノルロイシン、I l e、V a l、M e t、A l a、P h e	I l e
L y s (K)	A r g、G l n、A s n	A r g
M e t (M)	L e u、P h e、I l e	L e u
P h e (F)	T r p、L e u、V a l、I l e、A l a、T y r	T y r
P r o (P)	A l a	A l a
S e r (S)	T h r	T h r
T h r (T)	V a l、S e r	S e r
T r p (W)	T y r、P h e	T y r
T y r (Y)	T r p、P h e、T h r、S e r	P h e
V a l (V)	I l e、L e u、M e t、P h e、A l a、ノルロイシン	L e u

【0267】

アミノ酸は、次の一般的な側鎖特性に従って分類されてもよい。

- (1) 疎水性：N o r l o y s i n、M e t、A l a、V a l、L e u、I l e；
- (2) 中性親水性：C y s、S e r、T h r、A s n、G l n；
- (3) 酸性：A s p、G l u；
- (4) 塩基性：H i s、L y s、A r g；
- (5) 鎖の配向に影響を及ぼす残基：G l y、P r o；
- (6) 芳香族：T r p、T y r、P h e。

【0268】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴う。

【0269】

10

置換型変異型の種類の1つは、親抗体（例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体）の1つ以上の超可変領域残基を置換することを伴う。一般に、さらなる研究のために選択される、結果として生じる変異型（複数可）は、親抗体と比べて、ある特定の生物学的特性における改変（例えば、向上）（例えば、増加した親和性、低減した免疫原性）を有することになり、及び／または親抗体の、実質的に保持されたある特定の生物学的特性を有することになる。例示的な置換型変異型は、例えば、本明細書に記載されるもの等のファージディスプレイベースの親和性成熟技法を使用して、簡便に生成され得る、親和性成熟抗体である。簡潔に述べると、1つ以上のHVR残基を変異させ、変異型抗体をファージ上で提示させ、特定の生物活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングする。

【0270】

20

改変（例えば、置換）をHVRにおいて行って、例えば、抗体親和性を向上させてもよい。かかる改変は、HVR「ホットスポット」、すなわち体細胞成熟プロセスの間、高頻度で変異を経験するコドンによりコードされる残基（例えば、Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)を参照されたい）、及び／または、抗原に接触する残基において作製されてもよく、結果として生じる変異型VHまたはVLが、結合親和性について試験される。二次ライブラリを構築し、そこから再選択することによる親和性成熟は、例えば、Hoogenboom et al., in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施形態では、多様性が、多様な方法（例えば、エラープロードPCR、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指向性変異誘発）のうちのいずれかによって、成熟のために選定された可変遺伝子中に導入される。次いで、二次ライブラリが作り出される。次いでこのライブラリは、所望の親和性を有する任意の抗体変異型を特定するために、スクリーニングされる。多様性を導入するための別の方法は、いくつかのHVR残基（例えば、1回につき4～6個の残基）がランダム化される、HVR指向性アプローチを伴う。抗原結合に参与するHVR残基は、例えば、アラニンスキャニング変異誘発またはモデリングを使用して、具体的に特定され得る。特に、CDR-H3及びCDR-L3が標的とされることが多い。

【0271】

30

ある特定の実施形態では、置換、挿入、または欠失は、かかる改変が、抗原に結合する抗体の能力を実質的に低減させない限り、1つ以上のHVR内で生じててもよい。例えば、結合親和性を実質的に低減させない保存的改変（例えば、本明細書に提供される保存的置換）が、HVR内で行われてもよい。かかる改変は、例えば、HVR内の抗原接触残基の外側にあってもよい。上記に提供された変異型VH及びVL配列のある特定の実施形態では、各HVRは、未改変であるか、またはわずか1つ、2つ、若しくは3つのアミノ酸置換を含有するかのいずれかである。

【0272】

40

変異誘発のための標的とされ得る抗体の残基または領域の特定のための有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085に記載される、「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれるものである

50

。この方法では、標的残基（例えば、a r g、a s p、h i s、l y s、及び g l u 等の荷電残基）のうちのある残基または基を特定し、中性または負荷電アミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）に置き換えて、抗体の抗原との相互作用が影響を受けるかどうかを判定する。さらなる置換が、最初の置換に対する機能的感度を示すアミノ酸の場所に導入されてもよい。代替的に、または追加的に、抗体と抗原との間の接触点を特定するための抗原－抗体複合体の結晶構造。かかる接触残基及び隣接する残基は、置換の候補として標的とされるか、または排除されてもよい。変異型をスクリーニングして、それらが所望の特性を含有するかどうかを判定してもよい。

【0273】

アミノ酸配列挿入には、1個の残基から100個以上の残基を含有するポリペプチドの範囲の長さである、アミノ末端融合及び／またはカルボキシル末端融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内（i n t r a s e q u e n c e）挿入が含まれる。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入型変異型には、抗体の血清中半減期を増加させる酵素（例えば、A D E P T のための）またはポリペプチドに対する抗体のN末端若しくはC末端への融合が含まれる。

【0274】

b) グリコシル化変異体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少させるように改変される。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、1つ以上のグリコシル化部位が作り出されるか、または除去されるように、アミノ酸配列を改変することによって、簡便に遂行され得る。

【0275】

抗体がF c領域を含む場合、そこに結合した炭水化物が改変されてもよい。哺乳類細胞によって産生される天然抗体は、典型的に、概してN－結合によってF c領域のC H 2ドメインのA s n 2 9 7に結合される、分岐した二分岐オリゴ糖を含む。例えば、W r i g h t e t a l . T I B T E C H 1 5 : 2 6 - 3 2 (1 9 9 7) を参照されたい。オリゴ糖類には、様々な炭水化物、例えば、マンノース、N－アセチルグルコサミン（G l c N A c）、ガラクトース、及びシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖類構造の「幹」においてG l c N A cに結合したフコースが含まれる。いくつかの実施形態では、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾は、ある特定の向上した特性を有する抗体変異型を作り出すために行われてもよい。

【0276】

一実施形態では、F c領域に（直接的にまたは間接的に）結合されるフコースを欠いた炭水化物構造を有する、抗体変異型が提供される。例えば、かかる抗体におけるフコースの量は、1%～80%、1%～65%、5%～65%、または20%～40%であってもよい。フコースの量は、例えば、国際公開第2008/077546号に記載されるように、M A L D I - T O F 質量分析法によって測定される、A s n 2 9 7に結合した全ての糖鎖構造（例えば、複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造）の合計と比較した、A s n 2 9 7における糖鎖内のフコースの平均量を算出することによって決定される。A s n 2 9 7は、F c領域における約297位（F c領域残基のE u付番）に位置するアスパラギン残基を指すが、A s n 2 9 7はまた、抗体における小規模な配列変異に起因して、297位から約±3アミノ酸上流または下流、すなわち、294位～300位の間に位置してもよい。かかるフコシル化変異型は、向上したA D C C機能を有し得る。例えば、米国特許公開第U S 2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8号（P r e s t a , L . ）、同第U S 2 0 0 4 / 0 0 9 3 6 2 1号（K y o w a H a k k o K o g y o C o . , L t d）を参照されたい。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体変異型に関連する刊行物の例としては、米国第2003/0157108号、国際公開第2000/61739号、国際公開第2001/29246号、米国第2003/0115614号、米国第2002/0164328号、米国第2004/0093621号、米国第2004/0132140号、米国第2004/0110704号、米国第2004/0110282号、米

国第2004/0109865号、国際公開第2003/085119号、国際公開第2003/084570号、国際公開第2005/035586号、国際公開第2005/035778号、国際公開第2005/053742号、国際公開第2002/031140号、Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004)、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004) が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生することができる細胞株の例としては、タンパク質フコシル化が欠損した Lec13 CHO細胞 (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)、米国特許出願第US2003/0157108A1号 (Presta, L)、及び国際公開第2004/056312A1号 (Adams et al.) (特に実施例11における))、及びアルファ-1, 6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞等のノックアウト細胞株 (例えば、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004)、Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)、及び国際公開第2003/085107号を参照されたい) が挙げられる。

【0277】

例えば、抗体のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖類がGlcNAcによって二分される、二分されたオリゴ糖類を有する抗体変異型がさらに提供される。かかる抗体変異型は、低減したフコシル化及び/または向上したADCC機能を有し得る。かかる抗体変異型の例は、例えば、国際公開第2003/011878号 (Jean-Mairet et al.)、米国特許第6,602,684 (Umana et al.)、及び米国第2005/0123546号 (Umana et al.) に記載されている。Fc領域に結合したオリゴ糖類において少なくとも1つのガラクトース残基を有する、抗体変異型もまた提供される。かかる抗体変異型は、向上したCDC機能を有し得る。かかる抗体変異型は、例えば、国際公開第1997/30087号 (Patel et al.)、国際公開第1998/58964号 (Raju, S.)、及び国際公開第1999/22764号 (Raju, S.) に記載されている。

【0278】

c) Fc領域変異体

ある特定の実施形態では、1つ以上のアミノ酸修飾が、本明細書に提供される抗体のFc領域に導入され、それによりFc領域変異型を生成することができる。Fc領域変異型は、1つ以上のアミノ酸位置にアミノ酸修飾 (例えば、置換) を含む、ヒトFc領域配列 (例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4 Fc領域) を含んでもよい。

【0279】

ある特定の実施形態では、本発明は、全部ではなくいくつかのエフェクター機能を保有し、それにより、インビボでの抗体の半減期が重要であるが、ある特定のエフェクター機能 (補体及びADCC等) が不必要または有害である用途に関して望ましい候補となる、抗体変異型を企図する。インビトロ及び/またはインビボ細胞傷害性アッセイを実施して、CDC及び/またはADCC活性の低減/枯渇を確認することができる。例えば、Fc受容体 (FcR) 結合アッセイを実施して、抗体がFcγR結合を欠いている (よって、ADCC活性を欠いている可能性が高い) が、FcRn結合能力を保持していることを確認にすることができる。ADCCを媒介するための主要な細胞であるNK細胞はFc (RIII)のみを発現するが、一方で単球はFc (RI、Fc (RII、及びFc (RIII)を発現する。造血細胞上でのFcR発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991) の464頁の表3に要約されている。目的の分子のADCC活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5,500,362 (例えば、Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1

986)を参照されたい)及びHellsstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985)、同第5, 821, 337号(Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)を参照されたい)に記載されている。代替的に、非放射性アッセイ法が用いられてもよい(例えば、フローサイトメトリーのためのACT I (商標)非放射性細胞傷害性アッセイ(Cell Technology, Inc. Mountain View, CA、及びCytotox 96 (登録商標)非放射性細胞傷害性アッセイ(Promega, Madison, WI)を参照されたい。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞(PBMC)及びナチュラルキラー(NK)細胞が含まれる。代替的に、または追加的に、目的の分子のADCC活性は、例えば、Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998)に開示されるもの等の動物モデルにおいて、インビボで評価されてもよい。また、Clq結合アッセイを行って、抗体がClqに結合不可能であり、よってCDC活性を欠いていることを確認してもよい。例えば、国際公開第2006/029879号及び国際公開第2005/100402号におけるClq及びC3c結合ELISAを参照されたい。補体活性化を評価するために、CDCアッセイを実施してもよい(例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)、Cragg, M. S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003)、及びCragg, M. S. and M. J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)を参照されたい)。FcRn結合及びインビボ除去/半減期の判定も、当該技術分野で既知の方法を使用して行うことができる(例えば、Petkova, S. B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)を参照されたい)。

【0280】

いくつかの実施形態では、抗体は、Fc受容体への結合を減少させる変異を有するFc領域を含む。低減したエフェクター機能を有する抗体には、Fc領域残基238、265、269、270、297、327、及び329のうちの1つ以上の置換を有するものが含まれるが、これらに限定されない(米国特許第6,737,056号)。かかるFc変異体には、残基265及び297のアラニンへの置換を有するいわゆる「DANA」Fc変異体を含む、アミノ酸265位、269位、270位、297位、及び327位のうちの2つ以上における置換を有するFc変異体が含まれる(米国特許第7,332,581号)。

【0281】

FcRに対する向上または減少した結合性を有する、ある特定の抗体変異型が記載される。(例えば、米国特許第6,737,056号、国際公開第2004/056312号、及びShields et al., J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604 (2001)を参照されたい。)

【0282】

ある特定の実施形態では、抗体変異型は、ADCCを改善する1つ以上のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の298位、333位、及び/または334位(残基のEU付番)における置換を有するFc領域を含む。

【0283】

いくつかの実施形態では、改変はFc領域内で行われ、例えば、米国特許第6,194,551号、国際公開第99/51642号、及びIdusogie et al. J. Immunol. 164:4178-4184 (2000)に記載されるように、改変された(すなわち、改善したかまたは減少したかのいずれか)Clq結合性及び/または補体依存性細胞傷害(CDC)をもたらす。

【0284】

胎児への母性IgGsの移動を引き起こす、増加した半減期及び新生児Fc受容体(Fc

c R n) への改善された結合を有する抗体 (G u y e r e t a l . , J . I m m u n o l . 1 1 7 : 5 8 7 (1 9 7 6) 及び K i m e t a l . , J . I m m u n o l . 2 4 : 2 4 9 (1 9 9 4)) は、米国第 2 0 0 5 / 0 0 1 4 9 3 4 A 1 号 (H i n t o n e t a l .) に記載されている。これらの抗体は、F c R n に対する F c 領域の結合性を向上させる 1 つ以上の置換をその中に有する F c 領域を含む。かかる F c 変異形には、F c 領域残基 2 3 8、2 5 6、2 6 5、2 7 2、2 8 6、3 0 3、3 0 5、3 0 7、3 1 1、3 1 2、3 1 7、3 4 0、3 5 6、3 6 0、3 6 2、3 7 6、3 7 8、3 8 0、3 8 2、4 1 3、4 2 4、または 4 3 4 のうちの 1 つ以上における置換、例えば、F c 領域残基 4 3 4 の置換を有するものが含まれる (米国特許第 7, 3 7 1, 8 2 6 号)。

【0285】

F c 領域変異型の他の例に関しては、D u n c a n & W i n t e r , N a t u r e 3 2 2 : 7 3 8 - 4 0 (1 9 8 8)、米国特許第 5, 6 4 8, 2 6 0 号、米国特許第 5, 6 2 4, 8 2 1 号、及び国際公開第 9 4 / 2 9 3 5 1 号も参照されたい。

【0286】

d) システイン操作された抗体変異体

ある特定の実施形態では、抗体の 1 つ以上の残基がシステイン残基で置換されている、システイン操作された抗体、例えば、「チオマブ (t h i o M A b)」を作り出すことが望ましい場合がある。具体的な実施形態では、置換残基は、抗体の接触しやすい部位において生じる。これらの残基をシステインで置換することによって、反応性のチオール基がそれにより抗体の接触しやすい部位に位置付けられ、それを使用して、薬物部分またはリンカー-薬物部分等の他の部分に抗体を複合して、本明細書にさらに記載される免疫複合体を作り出してもよい。ある特定の実施形態では、以下の残基、軽鎖の V 2 0 5 (K a b a t 付番)、重鎖の A 1 1 8 (E U 付番)、及び重鎖 F c 領域の S 4 0 0 (E U 付番) のうちの任意の 1 つ以上が、システインで置換されてもよい。システイン操作された抗体は、例えば、米国特許第 7, 5 2 1, 5 4 1 号に記載されるように生成され得る。

【0287】

e) 抗体誘導体

ある特定の実施形態では、本明細書に提供される抗体は、当該技術分野で既知であり、かつ容易に入手可能な、追加の非タンパク質性部分を含有するようにさらに修飾されてもよい。抗体の誘導体化に好適な部分には、水溶性ポリマーが含まれるが、これに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、ポリエチレングリコール (P E G)、エチレングリコール/プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1, 3-ジオキソラン、ポリ-1, 3, 6-トリオキサン、エチレン/無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸 (ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか)、及びデキストランまたはポリ (n-ビニルピロリドン) ポリエチレングリコール、プロプロピレン (p r o p r o p y l e n e) グリコールホモポリマー、プロリプロピレン (p r o l y p r o p y l e n e) オキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール (例えば、グリセロール)、ポリビニルアルコール、ならびにそれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性により、製造における利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量のものであってもよく、分岐していても非分岐であってもよい。抗体に結合したポリマーの数は様々であり得、1 つを超えるポリマーが結合される場合、それらは、同じ分子または異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び/または種類は、向上させるべき抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が規定の条件下で療法において使用されるかどうか等を含むがこれらに限定されない検討事項に基づいて決定することができる。

【0288】

別の実施形態では、放射線への曝露によって選択的に加熱されてもよい、抗体と非タンパク質性部分との複合体が提供される。一実施形態では、非タンパク質性部分は、カーボンナノチューブである (K a m e t a l . , P r o c . N a t l . A c a d . S c i

10

20

30

40

50

． U S A 1 0 2 : 1 1 6 0 0 - 1 1 6 0 5 (2 0 0 5)) 。放射線は、任意の波長のものであってよく、これには、一般の細胞を害さないが、抗体－非タンパク質性部分に近位の細胞が殺滅される温度まで非タンパク質性部分を加熱する波長が含まれるが、これらに限定されない。

【 0 2 8 9 】

組み換え方法及び組成物

抗体は、例えば、米国特許第 4 , 8 1 6 , 5 6 7 号に記載されるもの等の組み換え方法及び組成物を使用して産生され得る。一実施形態では、本明細書に記載される抗 O X 4 0 抗体をコードする単離核酸が提供される。かかる核酸は、抗体の V L を含むアミノ酸配列及び／または V H を含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び／または重鎖）をコードし得る。さらなる実施形態では、かかる核酸を含む 1 つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる実施形態では、かかる核酸を含む宿主細胞が提供される。1 つのかかる実施形態では、宿主細胞は、（1）抗体の V L を含むアミノ酸配列及び抗体の V H を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（2）抗体の V L を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第 1 のベクター、及び抗体の V H を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第 2 のベクターを含む（例えば、それらで形質転換されている）。一実施形態では、宿主細胞は、真核性、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（C H O）細胞またはリンパ系細胞（例えば、Y 0、N S 0、S p 2 0 細胞）である。一実施形態では、抗 O X 4 0 抗体を作製する方法が提供され、本方法は、上記抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に好適な条件下で培養することと、任意で、抗体を宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から回収することを含む。

【 0 2 9 0 】

抗 O X 4 0 抗体の組み換え産生のために、例えば、上述のもの等の、抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内でのさらなるクローニング及び／または発現のために、1 つ以上のベクター中に挿入される。かかる核酸は、従来の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能である、オリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離され、配列決定され得る。

【 0 2 9 1 】

抗体コードベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞には、本明細書に記載される原核細胞または真核細胞が含まれる。例えば、抗体は、特にグリコシル化及び F c エフェクター機能が必要とされない場合に、細菌において産生されてもよい。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現に関して、例えば、米国特許第 5 , 6 4 8 , 2 3 7 号、同第 5 , 7 8 9 , 1 9 9 号、及び同第 5 , 8 4 0 , 5 2 3 号を参照されたい。（また、大腸菌における抗体断片の発現を記載する、C h a r l t o n , M e t h o d s i n M o l e c u l a r B i o l o g y , V o l . 2 4 8 (B . K . C . L o , e d . , H u m a n a P r e s s , T o t o w a , N J , 2 0 0 3) , p p . 2 4 5 - 2 5 4 も参照されたい。）発現後、抗体は、可溶性画分において細菌細胞ペーストから単離されてもよく、またさらに精製されてもよい。

【 0 2 9 2 】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母等の真核微生物は、抗体コードベクターに好適なクローニングまたは発現宿主であり、それには、グリコシル化経路が「ヒト化」されており、部分的または完全ヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす、真菌及び酵母株が含まれる。G e r n g r o s s , N a t . B i o t e c h . 2 2 : 1 4 0 9 - 1 4 1 4 (2 0 0 4)、及び L i e t a l . , N a t . B i o t e c h . 2 4 : 2 1 0 - 2 1 5 (2 0 0 6) を参照されたい。

【 0 2 9 3 】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物及び脊椎動物）にも由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物及び昆虫細胞が挙げられる。昆虫細胞と併せて、特にスポドプテラフルギペルダ（S p o d o p t e r a f r u g i p e r d a）細胞のトランスフェクションのために使用され得る、多数のバキュロウイルス株

が特定されている。

【0294】

植物細胞培養物もまた、宿主として利用することができる。例えば、米国特許第5,959,177号、同第6,040,498号、同第6,420,548号、同第7,125,978号、及び同第6,417,429号（トランスジェニック植物において抗体を産生するためのPLANTIBODIES（商標）技術を記載している）を参照されたい。

【0295】

脊椎動物細胞もまた、宿主として使用され得る。例えば、懸濁液中で成長するように適合される哺乳類細胞株が、有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40により形質転換されたサル腎臓CV1株（COS-7）；ヒト胚性腎臓株（例えば、Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)に記載される293または293細胞）；ベビーハムスター腎臓細胞（BHK）；マウスセルトリ細胞（例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)に記載されるTM4細胞）；サル腎臓細胞（CV1）；アフリカミドリザル腎臓細胞（VERO-76）；ヒト子宮頸がん細胞（HELA）；イヌ腎臓細胞（MDCK；パッファローラット肝臓細胞（BRL 3A）；ヒト肺細胞（W138）；ヒト肝臓細胞（Hep G2）；マウス乳房腫瘍（MMT 060562）；例えば、Mather et al., Annals N. Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)に記載されるTRI細胞；MRC 5細胞；及びFS4細胞である。他の有用な哺乳類宿主細胞株には、DHFR-CHO細胞（Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)）を含むチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、ならびにY0、NS0、及びSp2/0等のミエローマ細胞株が含まれる。抗体産生にとって好適なある特定の哺乳動物宿主細胞株の概説に関して、例えばYazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 255-268 (2003)を参照されたい。

【0296】

アッセイ

本明細書に提供される抗OX40抗体は、それらの物理的／化学的特性及び／または生物活性について、当該技術分野で既知の様々なアッセイによって、特定され、スクリーニングされ、または特徴付けられてもよい。

【0297】

1. 結合アッセイ及び他のアッセイ

一態様において、本発明の抗体は、例えば、ELISA、ウェスタンブロット等の既知の方法によって、その抗原結合活性について試験される。OX40結合性は、当該技術分野で既知の方法を使用して決定されてもよく、例示的な方法が本明細書に開示される。一実施形態では、結合性は、ラジオイムノアッセイを使用して測定される。例示的なラジオイムノアッセイは、実施例において例証される。OX40抗体をヨウ素化し、一定濃度のヨウ素化抗体及び減少した濃度の連続希釈された非標識OX40抗体を含有する競合反応混合物を調製する。OX40を発現する細胞（例えば、ヒトOX40で安定的にトランスフェクトされたBT474細胞）を、反応混合物に付加する。インキュベーションに続いて、細胞を洗浄し、遊離ヨウ素化OX40抗体を、細胞に結合したOX40抗体から分離する。例えば、細胞に関連する放射能を計数することによって結合したヨウ素化OX40抗体のレベルが決定され、標準的な方法を使用して結合親和性が決定される。別の実施形態では、OX40抗体の表面発現OX40に結合する（例えば、T細胞サブセット上で）能力を、フローサイトメトリーを使用して評価する。末梢血白血球が得られ（例えば、ヒト、カニクイザル、ラット、またはマウスから）、細胞は血清で遮断される。標識OX40抗体を連続希釈物内に付加し、T細胞サブセットを特定する（当該技術分野で既知

の方法を使用して) ためにT細胞もまた染色する。試料のインキュベーション及び洗浄に続いて、フローサイトメーターを使用して細胞を分類し、当該技術分野で周知の方法を使用してデータを分析する。別の実施形態では、表面プラズモン共鳴を使用してOX40結合性を分析してもよい。例示的な表面プラズモン共鳴方法は、実施例において例証される。

【0298】

別の態様において、競合アッセイを使用して、本明細書に開示されるOX40への結合のための抗OX40抗体のいずれかと競合する抗体を特定してもよい。ある特定の実施形態では、かかる競合抗体は、本明細書に開示される抗OX40抗体のいずれかによって結合される、同じエピトープ(例えば、直線状または立体配座エピトープ)に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的な方法は、Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)におけるMorris (1996)「Epitope Mapping Protocols」に提供されている。競合アッセイは、実施例において例証される。

【0299】

例示的な競合アッセイにおいて、固定化されたOX40を、OX40に結合する第1の標識抗体(例えば、mab 1A7. gr. 1、mab 3C8. gr 5)、及びOX40への結合について第1の抗体と競合する能力について試験されている第2の非標識抗体を含む溶液中でインキュベートする。第2の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在してもよい。対照として、固定化されたOX40を、第1の標識抗体を含むが第2の非標識抗体を含まない溶液中でインキュベートする。第1の抗体のOX40への結合を許容する条件下でのインキュベーションの後、過剰な非結合抗体を除去し、固定化されたOX40に関連する標識の量を測定する。固定化されたOX40に関連する標識の量が、対照試料と比較して試験試料中で実質的に低減される場合、それは、第2の抗体がOX40への結合について第1の抗体と競合していることを示す。Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)を参照されたい。

【0300】

2. 活性アッセイ

一態様において、生物活性を有する抗OX40抗体を特定するためのアッセイが提供される。生物活性には、例えば、OX40を結合すること(例えば、ヒト及び／またはカンイクイザルOX40を結合する)、OX40媒介シグナル伝達(例えば、NFκB媒介性転写)を増加させること、ヒトOX40を発現する細胞(例えば、T細胞)を枯渇させること、ADCC及び／または食作用によってヒトOX40を発現する細胞を枯渇させること、例えばエフェクターT細胞増殖を増加させる及び／またはエフェクターT細胞によるサイトカイン産生(例えば、ガンマインターフェロン)を増加させることでTEフェクター細胞機能(例えば、CD4+エフェクターT細胞)を増強すること、例えばメモリーT細胞増殖を増加させる及び／またはメモリーT細胞によるサイトカイン産生(例えば、ガンマインターフェロン)を増加させることでメモリーT細胞機能(例えば、CD4+メモリーT細胞)を増強すること、制御性T細胞機能を阻害すること(例えば、エフェクターT細胞機能(例えば、CD4+エフェクターT細胞機能)のTreg抑制を減少させることによって)、ヒトエフェクター細胞を結合することが含まれる。インビボ及び／またはインビトロでかかる生物活性を有する抗体もまた提供される。

【0301】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、かかる生物活性に関して試験される。

【0302】

T細胞共刺激は、当該技術分野で既知の方法を使用してアッセイされてもよく、例示的な方法が本明細書に開示される。例えば、T細胞(例えば、メモリーまたはエフェクター

T細胞)を、末梢白血球(例えば、フィコール比重遠心法を使用してヒト全血から単離された)から得てもよい。メモリーT細胞(例えば、CD4+メモリーT細胞)またはエフェクターT細胞(例えば、CD4+Teff細胞)は、当該技術分野で既知の方法を使用してPBMCから単離され得る。例えば、MiltenyiのCD4+メモリーT細胞単離キットまたはMiltenyiのナイーブCD4+T細胞単離キットを使用してもよい。単離したT細胞を、抗原提示細胞(例えば、CD32及びCD80を発現する照射L細胞)の存在下で培養し、OX40アゴニスト抗体の存在または不在下で抗CD3抗体の付加により活性化させる。T細胞増殖へのアゴニストOX40抗体の効果は、当該技術分野で既知の方法を使用して測定され得る。例えば、Cell Titer Gloキット(Promega)を使用してもよく、その結果をMultilabel Reader (Perkin Elmer)上に読み込む。T細胞機能へのアゴニストOX40抗体の効果もまた、T細胞によって産生されたサイトカインの分析によって決定され得る。一実施形態では、CD4+T細胞によるインターフェロンガンマの産生は、例えば、細胞培養液上清中のインターフェロンガンマの測定によって決定される。インターフェロンガンマを測定する方法は、当該技術分野において周知である。

10

【0303】

Treg細胞機能は、当該技術分野で既知の方法を使用してアッセイされてもよく、例示的な方法が本明細書に開示される。一例において、TregのエフェクターT細胞増殖を抑制する能力がアッセイされる。T細胞は、当該技術分野で既知の方法を使用してヒト全血から単離される(例えば、メモリーT細胞またはナイーブT細胞を単離する)。精製されたCD4+ナイーブT細胞は標識され(例えば、CFSEを用いて)、精製されたTreg細胞は異なる試薬を用いて標識される。照射抗原提示細胞(例えば、CD32及びCD80を発現するL細胞)は、標識された精製ナイーブCD4+T細胞及び精製Tregと共培養される。共培養物は、抗CD3抗体を使用して活性化され、アゴニストOX40抗体の存在及び不在下で試験される。好適な時間(例えば、6日間の共培養)の後、CD4+ナイーブT細胞増殖のレベルが、低減した標識染色(例えば、低減したCFSE標識染色)においてFACS分析を使用して色素希釈によって記録される。

20

【0304】

OX40シグナル伝達は、当該技術分野で周知の方法を使用してアッセイされてもよく、例示的な方法が本明細書に開示される。一実施形態では、ヒトOX40を発現するトランスジェニック細胞が生成され、レポーター遺伝子は、レポーター遺伝子に融合したNFkBプロモーターを含む(例えば、ベータルシフェラーゼ)。OX40アゴニスト抗体の細胞への付加は、増加したNFkB転写をもたらし、それはレポーター遺伝子のためのアッセイを使用して検出される。

30

【0305】

食作用は、例えば、単球由来マクロファージまたはU937細胞(成熟マクロファージの形態論及び特性を有するヒト組織球性リンパ腫細胞株)を使用してアッセイされてもよい。OX40発現細胞は、抗OX40アゴニスト抗体の存在または不在下で、単球由来マクロファージまたはU937細胞に付加される。好適な期間に亘る細胞の培養に続いて、1)マクロファージまたはU937細胞、及び2)OX40発現細胞のマーカーの染色が倍になった細胞の割合を考察し、これを、OX40発現細胞(例えば、GFP)のマーカーを示す細胞の総数で割ることで、食作用の割合が決定される。分析は、フローサイトメトリーによって行ってもよい。別の実施形態では、分析は、蛍光顕微鏡分析によって行ってもよい。

40

【0306】

ADCCは、例えば、当該技術分野で周知の方法を使用してアッセイしてもよい。例示的な方法は、定義の段落に記載され、例示的なアッセイは、実施例に開示されている。いくつかの実施形態では、OX40のレベルは、ADCCアッセイにおいて試験に使用されるOX40発現細胞上に特徴付けられる。細胞を、検出可能に標識された抗OX40抗体(例えば、PE標識)で染色してもよく、次いで、フローサイトメトリーを使用して蛍光

50

レベルが決定され、その結果は、蛍光強度中央値 (MFI) として提示される。別の実施形態では、ADCCをCell Titer Gloアッセイキットで分析してもよく、細胞生存率/細胞傷害性は、化学発光によって決定され得る。

【0307】

様々な抗体のFcγRIIA、FcγRIIA、FcγRIIB、及びFcγRIIIAの2つのアロタイプ (F158及びV158) への結合親和性は、それぞれの組み換えFcγ受容体を使用したELISAベースのリガンド結合アッセイによって測定され得る。精製されたヒトFcγ受容体は、C末端でGly/6xHis/グルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) ポリペプチドタグと結合する受容体γ鎖の細胞外ドメインを含む融合タンパク質として発現する。抗体のこれらのヒトFcγ受容体への結合親和性は、次のようにアッセイされる。低親和性受容体、すなわち、FcγRIIA (CD32A)、FcγRIIB (CD32B)、ならびにFcγRIIIA (CD16) の2つのアロタイプであるF-158及びV-158について、抗体は、抗体対架橋F(ab')₂が1:3である適切なモル比でヤギ抗ヒトカップ鎖のF(ab')₂断片 (ICN Biomedical; Irvine, CA) と架橋することにより、多量体として試験されてもよい。プレートは、抗GST抗体 (Genentech) でコーティングされ、ウシ血清アルブミン (BSA) で遮断されている。ELx405 (商標) プレートウォッシャー (Biotek Instruments; Winooski, VT) と共に、0.05%のTween-20を含有するリン酸緩衝食塩水 (PBS) で洗浄した後、Fcγ受容体を25 ng/ウェルでプレートに付加し、室温で1時間、インキュベートする。プレートを洗浄した後、試験抗体の連続希釈物を多量体複合体として付加し、プレートを室温で2時間、インキュベートする。非結合抗体を除去するためのプレート洗浄に続いて、Fcγ受容体に結合する抗体が、西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) で複合されたヤギ抗ヒトF(ab')₂のF(ab')₂断片 (Jackson ImmunoResearch Laboratories; West Grove, PA) によって検出され、続いて、基質であるテトラメチルベンジジン (TMB) (Kirkegaard & Perry Laboratories; Gaithersburg, MD) を付加した。発色現象を可能にするため、プレートを、試験されるFcγ受容体に応じて5~20分間、室温でインキュベートした。反応は1 M H₃PO₄で停止し、450 nmの吸光度がマイクロプレートリーダー (SpectraMax (登録商標) 190, Molecular Devices; Sunnyvale, CA) で測定された。2連の抗体希釈物の吸光度の平均値を抗体濃度に対してプロットすることで用量反応結合曲線が生成される。Fcγ受容体への結合からの最大応答の50%が検出された抗体の有効濃度 (EC₅₀) の値は、SoftMax Pro (Molecular Devices) を使用して結合曲線を4パラメータ方程式に当てはめた後に決定された。

【0308】

細胞死を誘発する抗体を選択するために、例えば、ヨウ化プロピジウム (PI)、トリパンブルー、または7AADの取り込みによって示される膜統合性の喪失が、対照と比べて評価されてもよい。PI取り込みアッセイは、補体及び免疫エフェクター細胞の不在下で行うことができる。OX40発現細胞を、培地のみ、または例えば約10 µg/mlの適切なモノクローナル抗体を含有する培地でインキュベートする。細胞を、一定期間 (例えば、1日または3日) インキュベートする。各処置に続いて、細胞を洗浄し、分取する。いくつかの実施形態では、細胞集塊の除去のために、細胞を、35 mmストレーナでキャッピングされた12×75チューブ (チューブ毎に1 ml、処置グループ毎に3チューブ) に分取する。次いで、チューブはPI (10 µg/ml) を受容する。試料を、FACSCAN (商標) フローサイトメーター及びFACSCONVERT (商標) Cell Questソフトウェア (Becton Dickinson) を使用して分析してもよい。

【0309】

上記のインビトロアッセイのいずれかにおける使用のための細胞には、OX40を天然

10

20

30

40

50

に発現する、またはOX40を発現するように操作された細胞または細胞株が含まれる。かかる細胞には、OX40を天然に発現する活性化T細胞、Treg細胞、及び活性化メモリーT細胞が含まれる。かかる細胞にはまた、OX40を発現する細胞株、及びOX40を通常発現しないがOX40をコードする核酸をトランスフェクトされた細胞株も含まれる。本明細書に提供される、上記のインビトロアッセイのいずれかにおける使用のための例示的な細胞株には、ヒトOX40を発現するトランスジェニックBT474細胞（ヒト乳がん細胞株）が含まれる。

【0310】

上記のアッセイはいずれも、抗OX40抗体の代わりに、またはそれに加えて、本発明の免疫複合体を使用して行うことができることが理解される。

10

【0311】

上記のアッセイはいずれも、抗OX40抗体及び追加の治療剤を使用して行うことができることが理解される。

【0312】

免疫複合体

本発明はまた、化学療法剤または化学療法薬、成長阻害剤、毒素（例えば、タンパク質毒素、細菌真菌、植物、若しくは動物起源の酵素活性毒素、またはそれらの断片）、若しくは放射性同位体等の1つ以上の細胞傷害性薬剤と複合された本明細書における抗OX40抗体を含む、免疫複合体を提供する。

【0313】

一実施形態では、免疫複合体は、マイタンシノイド（米国特許第5,208,020号、同第5,416,064号、及び欧州特許第EP0425235 B1号を参照されたい）；モノメチルオーリスタチン薬物部分DE及びDF（MMAE及びMMAF）等のオーリスタチン（米国特許第5,635,483号、及び同第5,780,588号、及び同第7,498,298号を参照されたい）；ドラスタチン；カリケアマイシンまたはその誘導体（米国特許第5,712,374号、同第5,714,586号、同第5,739,116号、同第5,767,285号、同第5,770,701号、同第5,770,710号、同第5,773,001号、及び同第5,877,296、Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993)、ならびにLode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)を参照されたい）；ダウノマイシンまたはドキソルビシン等のアントラサイクリン（Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006)、Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006)、Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005)、Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000)、Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002)、King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002)、及び米国特許第6,630,579号を参照されたい）；メトトレキサート；ビンデシン；ドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル（larotaxel）、テセタキセル（tesetaxel）、及びオルタタキセル（ortataxel）等のタキサン；トリコテセン；ならびにCC1065を含むがこれらに限定されない、1つ以上の薬物に抗体が複合された抗体-薬物複合体（ADC）である。

20

30

40

【0314】

別の実施形態では、免疫複合体は、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素A鎖（緑膿菌（*Pseudomonas aeruginosa*）由来）、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシンA鎖、アルファーサルシン、シナアブラギリ（*Aleurites fordii*）タンパク質、ジアンシンタンパク質、アメリカヤマゴボウ（*Phytolacca americana*）タンパク質（PAPI、PAPII、及びP

50

A P-S)、ニガウリ (*momordica charantia*) 阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ (*saponaaria officinalis*) 阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、及びトリコテセンを含むがこれらに限定されない酵素活性毒素またはその断片に複合された、本明細書に記載される抗体を含む。

【0315】

別の実施形態では、免疫複合体は、放射性原子に複合されて放射性複合体を形成する、本明細書に記載される抗体を含む。多様な放射性同位体が、放射性複合体の作製のために利用可能である。例としては、At 211、I 131、I 125、Y 90、Re 186、Re 188、Sm 153、Bi 212、P 32、Pb 212、及び Lu の放射性同位体が挙げられる。放射性複合体が検出のために使用されるとき、それは、シンチグラフィ研究のための放射性原子、例えば tc 99m 若しくは I 123、または核磁気共鳴 (NMR) 画像法 (磁気共鳴画像法、mri としても知られる) のためのスピン標識、例えば、再びヨウ素-123、ヨウ素-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガン、若しくは鉄を含んでもよい。

【0316】

抗体及び細胞傷害性薬剤の複合体は、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート (SPDP)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート (SMCC)、イミノチオラン (IT)、イミドエステルの二官能性誘導体 (アジプイミド酸ジメチル HCl 等)、活性エステル (スベリン酸ジスクシンイミジル等)、アルデヒド (グルタルアルデヒド等)、ビス-アジド化合物 (ビス (p-アジドベンゾイル) ヘキサジアミン等)、ビス-ジアゾニウム誘導体 (ビス (p-ジアゾニウムベンゾイル) -エチレンジアミン等)、ジイソシアネート (トルエン 2, 6-ジイソシアネート等)、及びビス-活性フッ素化合物 (1, 5-ジフルオロ-2, 4-ジニトロベンゼン等) 等の多様な二官能性タンパク質結合薬剤を使用して作製されてもよい。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta et al., Science 238:1098 (1987) に記載されるように調製され得る。炭素-14-標識された 1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミン五酢酸 (MX-DTPA) は、放射性ヌクレオチドを抗体に複合させるための、例示的なキレート剤である。国際公開第 94/11026 号を参照されたい。リンカーは、細胞内の細胞傷害性薬物の放出を容易にする「切断可能なリンカー」であってもよい。例えば、酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、感光性リンカー、ジメチルリンカー、またはジスルフィド含有リンカー (Charl et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992)、米国特許第 5, 208, 020 号) を使用してもよい。

【0317】

本明細書のイムヌオ複合体または ADC は、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIA B、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBS、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIA B、スルホ-SMCC、及びスルホ-SMPB、ならびに市販される (例えば、Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, U. S. A から) SVSB (スクシンイミジル-(4-ビニルスルホン) ベンゾエート) を含むがこれらに限定されない、架橋剤試薬で調製されたかかる複合体を明白に企図するが、これらに限定されない。

【0318】

IV. 応答性を予測する方法

がんを有する対象の OX40 アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する方法、及び OX40 アゴニストでの治療のためのがんを有する対象を特定または選択する方法が、本明細書に提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、対象から得られた白血球を含有する試料中の 1 つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、該 1 つ以上のマーカー遺伝子が、CD8a、CD8b、H2-d、CTLA4、CD64、CXC

L 9、I F N g、I D O 1、G Z M A、G Z M B、P R F 1、P D C A 1、K L R K 1、P T P R C、C X C L 1、I T G A M、及び I L 7 R から選択される、該測定することと、対象を、対象から得られた試料中の該 1 つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、応答性または非応答性である対象として分類することであって、該 1 つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して増加した発現レベルが、対象が O X 4 0 アゴニスト治療薬に対して応答性であり得ることを示す、あるいは、該 1 つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して減少した発現レベルが、対象が O X 4 0 アゴニスト治療薬に対して応答性でない可能性を示す、該分類することと、を含む。いくつかの実施形態では、1 つ以上のマーカー遺伝子は、C D 8 a、C D 8 b、I F N g、G Z M A、G Z M B、P R F 1、及び P D C A 1 から選択されてもよい。いくつかの実施形態では、1 つ以上のマーカー遺伝子は、H 2 - d、C T L A 4、C X C L 9、P T P R C、I L 7 R、K L R K 1、及び C X C L 1 から選択されてもよい。いくつかの実施形態では、1 つ以上のマーカー遺伝子は、C D 6 4、I D O 1、及び I T G A M から選択されてもよい。

【0319】

他の実施形態では、本方法は、対象から得られた白血球を含有する試料中の 1 つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、該 1 つ以上のマーカー遺伝子が、C S F 2、C C L 2 2、E P C A M、G A T A 3、I L 1 3、及び V T C N 1 から選択される、該測定することと、対象を、対象から得られた試料中の 1 つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、応答性または非応答性である対象として分類することであって、該 1 つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して減少した発現レベルが、対象が O X 4 0 アゴニスト治療薬に対して応答性であり得ることを示す、あるいは、該 1 つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して増加した発現レベルが、対象が O X 4 0 アゴニスト治療薬に対して応答性でない可能性を示す、該分類することと、を含む。

【0320】

本開示のある特定の態様は、1 つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することに関する。当該技術分野において既知の、遺伝子発現を測定するための任意の好適な方法を使用してもよい。いくつかの実施形態では、発現レベルは、m R N A 発現レベルを指してもよい。m R N A 発現レベルは、数々の方法によって測定され得る。かかる方法は、m R N A 特異プローブへのハイブリダイゼーションの量を測定することによって試料中に存在する特定の m R N A のコピーを定量化し得る。他の方法は、m R N A、または m R N A から生成される c D N A を増幅し、生成されたアンプリコンの量を定量化することで、試料中に存在していた m R N A の量を推定し得る。なお他の方法は、m R N A 転写物、若しくは m R N A から生成される c D N A の一部または全ての次世代配列決定に関与し得、次いで、特定の遺伝子（複数可）と対応する、検出された配列の数を定量化し得る。いくつかの実施形態では、m R N A 発現レベルは、定量 P C R、半定量 P C R、ヌクレオチドマイクロアレイ、R N A - s e q、インサイツハイブリダイゼーション、及び／またはノーザンブロット法からなる群から選択されるアッセイによって測定される。

【0321】

いくつかの実施形態では、発現レベルは、タンパク質発現レベルを指してもよい。タンパク質発現レベルは、数々の方法によって測定され得る。かかる方法は、特定のタンパク質に特異的に結合するプローブ、例えば抗体を使用して、試料中に存在するタンパク質を定量化し、次いで、試料における特異的結合の量を検出し得る。他の方法は、タンパク質を短鎖ペプチドに分解し、次いで、これらのペプチドを検出し、特定のタンパク質（複数可）に対応するペプチドの数を定量化し得る。いくつかの実施形態では、タンパク質発現レベルは、ウェスタンブロット法、ペプチドマイクロアレイ、免疫組織化学的検査、フローサイトメトリー、及び／または質量分析法によって測定される。

【0322】

本明細書に記載されるように、いくつかのマーカー遺伝子は、マウスホモログの名前で列挙される場合もある。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される 1 つ以上のマーカー遺伝子のヒトホモログの発現レベルは、ヒト試料において測定され得る。マウス遺伝

子のヒトホモログを決定する方法は、当該技術分野において既知である。いくつかの実施形態では、ホモログは、機能的に、すなわち同様の細胞機能を実行することにより決定され得る。いくつかの実施形態では、ホモログは、配列相同性によって、例えば、本明細書に記載されるBLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign (DNASTAR)、またはALIGN-2ソフトウェア等のプログラムを使用することで決定され得る。

【0323】

いくつかの実施形態では、マーカー遺伝子は、以下の表3に提供されるマーカー遺伝子のうちの1つ以上であり得る。表3は、本明細書に記載されるように、その発現レベルがOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を予測するのに有用であると発見された遺伝子のリストを提供する。表3において、陽性予測因子は、増加したレベルで発現した場合に、OX40アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する遺伝子である。陰性予測因子は、減少したレベルで発現した場合に、OX40アゴニスト治療薬に対する応答性を予測する遺伝子である。例示的な遺伝子／タンパク質の名前または別名、ならびにヒトタンパク質ホモログに対応する例示的な受入番号もまた提供される。

表 3.

番号	遺伝子	予測因子	別名 (非網羅的)	受入番号
1	C S F 2	陰性	顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子; GM-CSF; CSF;	NM__000749
2	C C L 2 2	陰性	ケモカイン (C-Cモチーフ) リガンド 2 2 ; C C ケモカイン S T C P - 1 ; 小誘導性サイトカイン A 2 2	NM__022990
3	G A T A 3	陰性	G A T A - 結合因子 3、トランス作用性 T 細胞 - 特異的転写因子 G A T A 3	NM__001002295
4	C D 8 a	陽性	T 細胞表面糖タンパク質 C D 8 アルファ鎖; O K T 8 T 細胞抗原; T 細胞抗原 L e u 2 ; C D 8 抗原、アルファポリペプチド p 3 2	NM__001145873
5	C D 8 b	陽性	T 細胞表面糖タンパク質 C D 8 ベータ鎖; C D 8 抗原、アルファポリペプチド p 3 7	NM__172213
6	H 2 - d	陽性	MHC クラス I B	NM__005514
7	C T L A 4	陽性	細胞傷害性 T リンパ球タンパク質 4 ; C D 1 5 2 アイソフォーム; セリアック病 3 ; インスリン依存性糖尿病 1 2	NM__005214
8	C D 6 4	陽性	F c ガンマ R I ; F c ガンマ R I A	NM__000566
9	C X C L 9	陽性	C - X - C モチーフケモカイン 9 ; 小誘導性サイトカイン B 9 ; ガンマインターフェロン誘導性モノカイン	NM__002416
10	I F N g	陽性	インターフェロンガンマ	NM__000619
11	I D O 1	陽性	インドールアミン 2, 3 - ジオキシゲナーゼ 1	NM__002164
12	G Z M A	陽性	グランザイム A ; h 因子; C T L トリプターゼ; フラグメンチン (f r a g m e n t i n) - 1 ; 細胞傷害性 T リンパ球プロテイナーゼ 1 ; ハヌカ (H a n u k a h) 因子セリンプロテアーゼ	NM__006144

10

20

30

40

13	GZMB	陽性	グランザイムB ; C11 ; CTLA-1 ; フラグメンチン (fragmentin) -2 ; カテプシンG様1 ; T細胞セリンプロテアーゼ1-3E ; 細胞傷害性Tリンパ球プロテイナーゼ2	NM__004131	10
14	PRF1	陽性	パーフォリン-1 ; サイトリシン ; リンパ球孔形成タンパク質	NM__001083116	
15	PDCA1	陽性	骨髄間質細胞抗原2 ; NPC-A-7 ; HM1.24抗原	NM__004335	
16	KLRK1	陽性	キラー細胞レクチン様受容体サブファミリーK、メンバー1 ; NKG2-D II型内在性膜タンパク質 ; NK細胞受容体D	NM__007360	20
17	PTPRC	陽性	受容体型チロシン-タンパク質ホスファターゼC ; CD45抗原 ; T200糖タンパク質	NM__002838	
18	CXCL1	陽性	成長調節アルファタンパク質 ; CX-Cモチーフケモカイン1 ; MGSAアルファ ; 線維芽細胞分泌性タンパク質 ; GRO1発がん遺伝子	NM__001511	
19	ITGAM	陽性	インテグリンアルファ-M ; CR-3アルファ鎖 ; 抗原CD11b (p170) ; 白血球接着因子受容体MO1 ; 好中球接着因子受容体アルファ-Mサブユニット ; マクロファージ抗原アルファポリペプチド	NM__001145808	30
20	IL7R	陽性	インターロイキン-7受容体サブユニットアルファ ; CD127抗原	NM__002185	
21	IL13	陰性	インターロイキン-13	NM__002188	
22	EPCAM	陰性	上皮細胞接着分子 ; 細胞表面糖タンパク質Trop-1 ; 腺がん関連抗原 ; GA733-2 ; 上皮糖タンパク質314	NM__002354	40
23	VTGN1	陰性	V-セットドメイン接触T細胞活性化阻害剤1 ; B7-H4	NM__024626	

【0324】

いくつかの実施形態では、mRNAまたはタンパク質の発現レベルは、参照遺伝子の発現レベルに対して正規化され得る。特定の遺伝子の発現レベルの参照に対する正規化は、試料サイズ及び／またはmRNA／タンパク質抽出物における差異を考慮することで、試料全体の再現性を増強すると考えられている。これらの例において、参照と比べた発現レベルが測定される。いくつかの実施形態では、単独で、または集合で（例えば、平均をと

10

20

30

40

50

ること) 複数の参照遺伝子を使用してもよい。他の実施形態では、mRNAまたはタンパク質の発現レベルは、絶対発現レベルを指してもよい。

【0325】

いくつかの実施形態では、参照遺伝子は、ハウスキーピング遺伝子であってもよい。ハウスキーピング遺伝子は、基本的な細胞機能及び／または維持に必要とされるタンパク質をコードする遺伝子等の、通常及び／または病理学的状態にある細胞内で構造的に発現すると考えられている。ハウスキーピング遺伝子は典型的に、それらが複数の試料に亘って検出可能な及び／または再現可能なレベルで発現することを確実にするために、参照として使用される。例示的なハウスキーピング遺伝子、及びかかる遺伝子の参照としての使用についてのさらなる記載は、例えば、de Kok, J. B., et al. (2005) Lab Invest. 85(1):154-9に見出すことができる。

10

【0326】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルは、参照と比較される。いくつかの実施形態では、参照は、がんを有する対象からの白血球を含む試料中の対応するマーカー遺伝子の発現レベルの平均(average)、平均値(mean)、または中央値である。いくつかの実施形態では、参照は、治療を受けた後にOX40アゴニスト治療薬に応答性でない、がんを有する他の対象からの白血球を含む試料中の対応するマーカー遺伝子の発現レベルの平均(average)、平均値(mean)、または中央値である。例えば、共通の特徴を有するがんから得られた試料のセット(例えば、同じ種類及び／若しくは病期のがん、またはOX40アゴニスト等の共通の治療への曝露)を、例えば、臨床転帰研究に伴って集団から研究してもよい。このセットを、対象の試料が比較され得る参照、例えば参照数値を得るために使用してもよい。

20

【0327】

いくつかの実施形態では、治療への応答性は、生存期間(全生存期間及び無増悪生存期間を含む)が延長すること、客観的応答(完全奏効または部分奏効を含む)が生じること、または、がんの徴候若しくは症状が改善することのうちの任意の1つ以上を指し得る。いくつかの実施形態では、応答性は、がん患者における腫瘍の状態、すなわち応答している、安定している、または進行しているかを判定するための公開されている一式のRECISTまたは免疫関連応答基準ガイドラインに従う、1つ以上の要因の改善を指し得る。これらのガイドラインのより詳細な考察については、Eisenhauer et al., Eur J Cancer 2009; 45:228-47、Topalian et al., N Engl J Med 2012; 366:2443-54、Wolchok et al., Clin Can Res 2009; 15:7412-20、及びTherasse, P., et al. J. Natl. Cancer Inst. 92:205-16(2000)を参照されたい。応答性である対象は、そのがん(複数可)が、例えば、RECISTまたは免疫関連応答基準に基づく1つ以上の要因に従って改善を示す対象を指し得る。非応答性である対象は、そのがん(複数可)が、例えば、RECISTまたは免疫関連応答基準に基づく1つ以上の要因に従って改善を示さない対象を指し得る。いくつかの実施形態では、応答性は、免疫活性化を含んでもよい。いくつかの実施形態では、応答性は、治療の有効性を含んでもよい。いくつかの実施形態では、応答性は、免疫活性化及び治療の有効性を含んでもよい。

30

40

【0328】

従来の応答基準は、新しい病変の出現を含む、初期の明白な放射線医学的進行に先んじられ得る、遅延した応答を生み出すこともできる免疫療法薬の抗腫瘍活性を特徴付けるのに適切でない場合がある。したがって、想定される新しい病変の出現を説明でき、続く評価において放射線医学的進行を確認することを可能にする、修正された応答基準が開発されてきた。したがって、いくつかの実施形態では、応答性は、免疫関連応答基準(irRC)に従う、1つ以上の要因の改善を指し得る。例えば、Wolchok et al., Clin Can Res 2009; 15:7412-20を参照されたい。いくつかの実施形態では、新しい病変は、既定の腫瘍量に付加され、例えば続く評価における放

50

射線医学的進行のためにフォローされる。いくつかの実施形態では、非標的病変の存在は、完全奏効評価に含まれ、放射線医学的進行の評価には含まれない。いくつかの実施形態では、放射線医学的進行は、測定可能な疾患にのみ基づいて決定され、及び／または最初に記録された日から4週間以上の連続的評価によって確認され得る。

【0329】

いくつかの実施形態では、腫瘍は、複数のがん細胞、例えば本明細書に記載されるがんのいずれかの特徴を示す細胞を含有する物理的な塊を指し得る。腫瘍の例としては、上記の種類のがんのいずれかの原発性腫瘍、または上記の種類のがんのいずれかに由来する第2の部位における転移性腫瘍を挙げてもよい。いくつかの実施形態では、腫瘍は、がん細胞及び腫瘍間質を含有してもよい。

10

【0330】

本開示のある特定の態様は、試料中の1つ以上の遺伝子の発現レベルの測定に関する。いくつかの実施形態では、試料は、白血球を含んでもよい。いくつかの実施形態では、試料は、腫瘍試料であってもよい。腫瘍試料には、がん細胞、リンパ球、白血球、間質、血管、結合組織、基底膜、及び腫瘍に関連する任意の他の細胞型が含まれ得る。いくつかの実施形態では、試料は、腫瘍浸潤性白血球を含有する腫瘍組織試料である。本明細書で使用される場合、腫瘍に関連するいかなる白血球も、腫瘍浸潤性白血球と見なしてもよい。腫瘍浸潤性免疫細胞の例としては、Tリンパ球（CD8+ Tリンパ球及び／またはCD4+ Tリンパ球等）、Bリンパ球、または顆粒球（好中球、好酸球、好塩基球）、単球、マクロファージ、樹状細胞（すなわち、互いに組み合う樹状細胞）、組織球、及びナチュ

20

【0331】

いくつかの実施形態では、試料は、1つ以上の細胞型（例えば、白血球）を分離または単離するために処理されてもよい。いくつかの実施形態では、試料は、細胞型の分離または単離を伴わずに使用されてもよい。腫瘍試料は、生検、内視鏡検査、または外科的処置を含むがこれらに限定されない、当該技術分野において既知の任意の方法によって対象から得られてもよい。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、冷凍、固定（例えば、ホルマリンまたは同様の固定剤を使用することによる）、及び／またはパラフィン包埋等の方法によって調製され得る。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、切開されてもよい。いくつかの実施形態では、新鮮な腫瘍試料（すなわち、上記の方法で調製されていないもの）を使用してもよい。いくつかの実施形態では、試料は、mRNA及び／またはタンパク質の完全性を保存するために、溶液におけるインキュベーションによって調製されてもよい。白血球を含有する腫瘍試料は、マーカー遺伝子の発現レベルを測定するための本明細書に記載される任意の技法によってアッセイされてもよい。

30

【0332】

いくつかの実施形態では、試料は、末梢血試料であってもよい。末梢血試料には、白血球、PBMC等が含まれ得る。当該技術分野において既知の、末梢血試料から白血球を単離するための任意の技法を使用してもよい。例えば、血液試料を採取し、赤血球を溶解し、白血球ペレットを単離して試料に使用することができる。別の例において、密度勾配分離を使用して、白血球（例えば、PBMC）を赤血球から分離してもよい。末梢血試料から単離された白血球は、マーカー遺伝子の発現レベルを測定するための本明細書に記載される任意の技法によってアッセイされてもよい。

40

【0333】

V. 薬力学的活性及び応答性を監視する方法

対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、対象がOX40アゴニストで治療されており、該1つ以上のマーカー遺伝子が、ARG1、CCL2、CCL22、CCL5、CCR5、CD226、CD2

50

7、CD274、CD28、CD3E、CD40、CD8A、CD8b、CXCL10、CXCL9、EOMES、FasL、Fcgr1/CD64、FOXP3、GZMA、GZMB、HAVCR2、ICAM1、IDO1、IFNg、IL10、IL12A(TDO2)、IL13、IL2、IL7R、ITGAM、KLRK1、LAG3、MAP4K1、MS4A1、PDCD1、PDCD1LG2、PRF1、PTPRC、TNF、TNFRSF14、TNFRSF9、及びTNFSF4から選択される、該測定することと、対象から得られた試料中の該1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、治療が薬力学的活性を実証していると判定することであって、1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して増加した発現レベルが、OX40アゴニスト治療薬に対する薬力学的活性を示す、該判定することにより、OX40アゴニスト治療薬の薬力学的活性を監視する方法が、本明細書に提供される。これらの方法は、特定のマーカー遺伝子（例えば、ARG1、CCL2、CCL22、CCL5、CCR5、CD226、CD27、CD274、CD28、CD3E、CD40、CD8A、CD8b、CXCL10、CXCL9、EOMES、FasL、Fcgr1/CD64、FOXP3、GZMA、GZMB、HAVCR2、ICAM1、IDO1、IFNg、IL10、IL12A(TDO2)、IL13、IL2、IL7R、ITGAM、KLRK1、LAG3、MAP4K1、MS4A1、PDCD1、PDCD1LG2、PRF1、PTPRC、TNF、TNFRSF14、TNFRSF9、及び/またはTNFSF4）の発現が、かかる治療に対して応答性である腫瘍、及びかかる腫瘍に対して非応答性である腫瘍におけるOX40アゴニスト治療に際して上方制御されるという、本明細書に記載される発見に部分的に基づく。マーカー遺伝子の発現レベルは、本明細書に記載されるように1つ以上の方法によって測定することができる。

【0334】

本明細書で使用される場合、「薬力学的(PD)活性」は、対象に対する治療薬（例えば、OX40アゴニスト治療薬）の効果を指し得る。PD活性の例としては、1つ以上の遺伝子の発現レベルの調節が挙げられ得る。理論に束縛されるものではないが、例えば遺伝子マーカーの発現を測定することによるPD活性の監視は、OX40アゴニストを試験する臨床試験中に有利であると考えられている。PD活性の監視は、例えば、治療、毒性等への応答を監視するために使用され得る。

【0335】

いくつかの実施形態では、1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルは、治療（例えば、OX40アゴニスト治療）を受けていない対象からの試料を含み得る参照と比較されてもよい。いくつかの実施形態では、参照は、治療（例えば、OX40アゴニスト治療）を受ける前の同じ対象からの試料を含んでもよい。いくつかの実施形態では、参照は、治療（例えば、OX40アゴニスト治療）を受ける他の対象の1つ以上の試料からの参照値を含んでもよい。例えば、患者の集団を治療し、1つ以上の遺伝子の発現レベルの平均値(mean)、平均(average)、または中央値を集団全体から生成してもよい。共通の特徴を有するがんから得られた試料のセット（例えば、同じ種類及び/若しくは病期のがん、またはOX40アゴニスト等の共通の治療への曝露）を、例えば、臨床転帰研究に伴って集団から研究してもよい。このセットを、対象の試料が比較され得る参照、例えば参照数値を得るために使用してもよい。本明細書に記載される参照はいずれも、PD活性を監視するための参照として使用され得る。

【0336】

いくつかの実施形態では、1つ以上のマーカー遺伝子は、CD3、CD8、IFNg、GZMA、GZMB、PRF1、TNFa、PDCD1、及びCD274から選択される。いくつかの実施形態では、マーカー遺伝子は、以下の表4に提供されるマーカー遺伝子のうちの1つ以上であり得る。表4は、本明細書に記載されるように、その発現レベルが、OX40アゴニスト治療に際して（例えば、PD活性のマーカーとして）上方制御されることが発見された遺伝子のリストを提供する。例示的な遺伝子/タンパク質の名前または別名、ならびにヒトタンパク質ホモログに対応する例示的な受入番号が提供される。

表 4.

番号	遺伝子	別名 (非網羅的)	受入番号
1	ARG 1	アルギナーゼー 1 ; 肝型アルギナーゼ	NM__0 0 1 2 4 4 4 3 8
2	CCL 2	C-Cモチーフサイトカイン 2 ; 小誘導性 サイトカイン 2 ; 単球化学誘因タンパク質 1	NM__0 0 2 9 8 2
3	CCL 2 2	ケモカイン (C-Cモチーフ) リガンド 2 2 ; CCケモカインSTCP-1 ; 小誘導 性サイトカインA 2 2	NM__0 2 2 9 9 0
4	CCL 5	C-Cモチーフサイトカイン 5 ; ベータケ モカインRANTES ; T細胞特異的タン パク質 p 2 8 8 ; 好酸球遊走性サイトカイ ン	NM__0 0 1 2 7 8 7 3 6
5	CCR 5	C-Cケモカイン受容体 5 ; HIV-1 融 合共受容体	NM__0 0 1 1 0 0 1 6 8
6	CD 2 2 6	DNAXアクセサリー分子-1 ; 血小板及 びT細胞活性化抗原 1 ; T系-特異的活性 化抗原 1	NM__0 0 6 6 5 6
7	CD 2 7	CD 2 7 L 受容体 ; T細胞活性化抗原 S 1 5 2 ; T細胞活性化抗原CD 2 7 ; 腫瘍壊 死因子受容体スーパーファミリー、メンバ ー 7	NM__0 0 1 2 4 2
8	CD 2 7 4	PD-L 1 ; B 7 -H 1 ; B 7 -4 ; B 7 -H	NM__0 1 4 1 4 3
9	CD 2 8	T細胞-特異的表面糖タンパク質CD 2 8	NM__0 0 6 1 3 9
1 0	CD 3 E	T細胞表面糖タンパク質CD 3 エプシロン 鎖 ; CD 3 -エプシロン ; T細胞表面抗原 T 3 / L e u -4 エプシロン鎖 ; CD 3 e 抗原、エプシロンポリペプチド (T i T 3 複合体) ; T細胞抗原受容体複合体、T 3 のエプシロンサブユニット	NM__0 0 0 7 3 3
1 1	CD 4 0	腫瘍壊死因子スーパーファミリーメンバー 5 ; CD 4 0 L 受容体 ; B細胞関連分子 ; 神経成長因子受容体関連Bリンパ球活性化 分子	NM__0 0 1 2 5 0
1 2	CD 8 A	T細胞表面糖タンパク質CD 8 アルファ 鎖 ; OKT 8 T細胞抗原 ; T細胞抗原L e u 2 ; CD 8 抗原、アルファポリペプチ ド p 3 2	NM__0 0 1 1 4 5 8 7 3
1 3	CD 8 b	T細胞表面糖タンパク質CD 8 ベータ鎖 ; CD 8 抗原、アルファポリペプチド p 3 7	NM__1 7 2 2 1 3

10

20

30

40

14	CXCL10	C-X-Cモチーフケモカイン10；ガンマIP10；小誘導性サイトカインB10；インターフェロン誘導性サイトカインIP-10；10kDaインターフェロンガンマ誘導タンパク質；小誘導性サイトカインサブファミリーB（Cys-X-Cys）、メンバー10	NM__001565
15	CXCL9	C-X-Cモチーフケモカイン9；小誘導性サイトカインB9；ガンマインターフェロン誘導性モノカイン	NM__002416
16	EOMES	エオメソデルミン（eomesodermin）ホモログ；Tボックス脳タンパク質2	NM__001278182
17	FasL	腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー6；CD95リガンド；fas抗原リガンド；アポトーシス（APO-1）抗原リガンド1	NM__000639
18	Fcgr1/CD64	FcガンマRI；FcガンマRIIA	NM__000566
19	FOXP3	フォークヘッド（forkhead）ボックスタンパク質P3；スクルフィン（surfing）；FOXP3デルタ7；免疫不全、多腺性内分泌障害、腸疾患、X連鎖	NM__014009
20	GZMA	グランザイムA；h因子；CTLトリプターゼ；フラグメンチン（fragmentin）-1；細胞傷害性Tリンパ球プロテイナーゼ1；ハヌカ（Hanukah）因子セリンプロテアーゼ	NM__006144
21	GZMB	グランザイムB；C11；CTLA-1；フラグメンチン（fragmentin）-2；カテプシンG様1；T細胞セリンプロテアーゼ1-3E；細胞傷害性Tリンパ球プロテイナーゼ2	NM__004131
22	HAVCR2	A型肝炎ウイルス細胞受容体2；腎臓損傷分子-3；T細胞膜タンパク質3；T細胞免疫グロブリンムチン3；T細胞免疫グロブリンムチン受容体3	NM__032782
23	ICAM1	細胞間接着分子1；細胞表面糖タンパク質P3.58；主要群ライノウイルス受容体	NM__000201
24	IDO1	インドールアミン2，3-ジオキシゲナーゼ1	NM__002164
25	IFNg	インターフェロンガンマ	NM__000619

10

20

30

40

26	IL10	インターロイキン-10 ; T細胞成長阻害因子 ; サイトカイン合成阻害因子	NM__0000572
27	IL12A (TDO2)	インターロイキン-12サブユニットアルファ ; CLMF p35 ; IL-12、サブユニットp35 ; インターロイキン-12アルファ鎖 ; NF細胞刺激因子鎖1 ; NK細胞刺激細胞鎖1 ; 細胞傷害性リンパ球成熟因子1、p35	NM__0000882
28	IL13	インターロイキン-13	NM__0002188
29	IL2	インターロイキン-2 ; アルデスロイキン ; T細胞成長因子	NM__0000586
30	IL7R	インターロイキン-7受容体サブユニットアルファ ; CD127抗原	NM__0002185
31	ITGAM	インテグリンアルファ-M ; CR-3アルファ鎖 ; 抗原CD11b (p170) ; 白血球接着因子受容体MO1 ; 好中球接着因子受容体アルファ-Mサブユニット ; マクロファージ抗原アルファポリペプチド	NM__0001145808
32	KLRK1	キラー細胞レクチン様受容体サブファミリーK、メンバー1 ; NKG2-D II型内在性膜タンパク質 ; NK細胞受容体D	NM__0007360
33	LAG3	リンパ球活性化遺伝子3タンパク質	NM__0002286
34	MAP4K1	マイトジェン活性化タンパク質キナーゼキナーゼキナーゼ1 ; MEKKK1 ; MEKキナーゼキナーゼ1 ; MAPK / ERKキナーゼキナーゼキナーゼ1 ; 造血前駆細胞キナーゼ1	NM__0001042600
35	MS4A1	Bリンパ球抗原CD20 ; 白血球表面抗原Leu-16 ; Bリンパ球細胞表面抗原B1	NM__021950
36	PDCD1	CD279 ; SLEB2	NM__0005018
37	PDCD1LG2	B7-DC ; Btdc ; CD273 ; PD-L2	NM__025239
38	PRF1	パーフォリン-1 ; サイトリシン ; リンパ球孔形成タンパク質	NM__0001083116
39	PTPRC	受容体型チロシン-タンパク質ホスファターゼC ; CD45抗原 ; T200糖タンパク質	NM__0002838
40	TNF	腫瘍壊死因子 ; TNF-a ; カケクチン (cachectin) ; APC1タンパ	NM__0000594

10

20

30

40

		ク質；TNF、単球-マクロファージ由来；腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー2	
41	TNFRSF14	腫瘍壊死因子スーパーファミリーメンバー14；CD40-様タンパク質；ヘルペスウイルス侵入媒介物A；腫瘍壊死因子スーパーファミリーメンバー-様遺伝子2	NM__003820
42	TNFRSF9	腫瘍壊死因子スーパーファミリーメンバー9；CD137抗原；T細胞抗原ILA；4-1BBリガンド受容体；リンパ球活性化により誘発（ILA）；インターロイキン活性化受容体、マウスLy63のホモログ	NM__001561
43	TNFSF4	腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー4；CD134リガンド；糖タンパク質Gp34；OX40抗原リガンド；tax転写活性化糖タンパク質1（34kD）	NM__003326

10

20

【0337】

対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、対象がOX40アゴニストで治療されており、1つ以上のマーカー遺伝子が、BTLA、CD4、CD69、CD80、CD83、CD86、CSF2、CTLA4、CXCR3、Fcgr2b/CD32、Fcgr3/CD16、H2-aa、H2-d、H2-k、ICOS、IL10、PDCA1、及びTNFRSF18からなる群から選択される、測定することと、対象を、対象から得られた試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較した発現レベルに基づき、治療薬に対して応答性または非応答性である対象として分類することであって、1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して増加した発現レベルが、応答性である対象を示す、分類することにより、対象のOX40アゴニスト治療薬に対する応答性を監視する方法が、本明細書に提供される。これらの方法は、特定のマーカー遺伝子（例えば、BTLA、CD4、CD69、CD80、CD83、CD86、CSF2、CTLA4、CXCR3、Fcgr2b/CD32、Fcgr3/CD16、H2-aa、H2-d、H2-k、ICOS、IL10、PDCA1及び/またはTNFRSF18）の発現が、かかる治療に対して応答性である腫瘍において特異的にOX40アゴニスト治療に際して上方制御されるという、本明細書に記載される発見に部分的に基づく。マーカー遺伝子の発現レベルは、本明細書に記載されるように1つ以上の方法によって測定することができる。

30

40

【0338】

いくつかの実施形態では、応答性を監視するための参照は、治療（例えば、OX40アゴニスト治療）を受けていない対象からの試料を含んでもよい。いくつかの実施形態では、応答性を監視するための参照は、治療（例えば、OX40アゴニスト治療）を受ける前の同じ対象からの試料を含んでもよい。いくつかの実施形態では、応答性を監視するための参照は、治療（例えば、OX40アゴニスト治療）を受ける他の患者の1つ以上の試料からの参照値を含んでもよい。例えば、患者の集団を治療し、1つ以上の遺伝子の発現レベルの平均値（mean）、平均（average）、または中央値を集団全体から生成してもよい。共通の特徴を有するがんから得られた試料のセット（例えば、同じ種類及び/若しくは病期のがん、またはOX40アゴニスト等の共通の治療への曝露）を、例えば

50

、臨床転帰研究に伴って集団から研究してもよい。このセットを、対象の試料が比較され得る参照、例えば参照数値を得るために使用してもよい。本明細書に記載される参照はいずれも、PD活性を監視するための参照として使用され得る。

【0339】

いくつかの実施形態では、1つ以上のマーカー遺伝子は、CD80、CD86、ICOS、H2-a a、及びCXCR3から選択される。いくつかの実施形態では、マーカー遺伝子は、以下の表5に提供されるマーカー遺伝子のうちの1つ以上であり得る。表5は、本明細書に記載されるように、その発現レベルが、かかる治療に対して応答性である腫瘍におけるOX40アゴニスト治療に際して（例えば、応答性のマーカーとして）上方制御されることが発見された遺伝子のリストを提供する。例示的な遺伝子／タンパク質の名前または別名、ならびにヒトタンパク質ホモログに対応する例示的な受入番号が提供される。

表 5.

番号	遺伝子	別名 (非網羅的)	受入番号
1	B T L A	B リンパ球及びT リンパ球アテニュエータ (a t t e n u a t o r) ; B リンパ球及びT リンパ球関連タンパク質	N M _ 1 8 1 7 8 0
2	C D 4	T 細胞表面糖タンパク質 C D 4 ; C D 4 受容体 ; C D 4 抗原 (p 5 5) ; T 細胞表面抗原 T 4 / L e u - 3	N M _ 0 0 0 6 1 6
3	C D 6 9	早期活性化抗原 C D 6 9 ; 白血球表面抗原 L e u - 2 3 ; 早期 T 細胞活性化抗原 p 6 0 ; 早期リンパ球活性化抗原 ; 活性化インデューサー分子 (A I M / C D 6 9) ; C 型レクチンドメインファミリー 2、メンバー C	N M _ 0 0 1 7 8 1
4	C D 8 0	T リンパ球活性化抗原 C D 8 0 ; 活性化 B 7 - 1 抗原 ; 共刺激因子 C D 8 0 ; C T L A - 4 対抗受容体 B 7 . 1 ; B リンパ球活性化抗原 B 7 ; 共刺激分子変異型 I g V - C D 8 0	N M _ 0 0 5 1 9 1
5	C D 8 3	C D 8 3 抗原 ; B 細胞活性化タンパク質 ; 細胞表面タンパク質 H B 1 5 ; 細胞表面糖タンパク質	N M _ 0 0 4 2 3 3
6	C D 8 6	T リンパ球 活性化タンパク質 C D 8 6 ; B U 6 3 ; F U N - 1 ; C T L A - 4 対抗受容体 B 7 . 2 ; B リンパ球活性化タンパク質 B 7 - 2	N M _ 1 7 5 8 6 2
7	C S F 2	顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子 ; G M - C S F ; C S F ;	N M _ 0 0 0 7 4 9
8	C T L A 4	細胞傷害性 T リンパ球タンパク質 4 ; C D 1 5 2 アイソフォーム ; セリアック病 3 ; インスリン依存性糖尿病 1 2	N M _ 0 0 5 2 1 4
9	C X C R 3	C - X - C ケモカイン受容体タイプ 3 ; M i g 受容体 ; I P 1 0 受容体 ; G タンパク質結合受容体 9 ; インターフェロン誘導性タンパク質 1 0 受容体	N M _ 0 0 1 5 0 4
1 0	F c g r 2 b / C D 3 2	低親和性免疫グロブリンガンマ F c 領域受容体 I I - b ; C D w 3 2 ; F c ガンマ R I I b	N M _ 0 0 4 0 0 1
1 1	F c g r 3 / C D 1 6	低親和性免疫グロブリンガンマ F c 領域受容体 I I I - A ; F c ガンマ R I I I A ; C D 1 6 a 抗原 ; 好中球特異的抗原 N A	N M _ 0 0 1 1 2 7 5 9 2
1 2	H 2 - a a	M H C クラス I I A	N M _ 0 0 2 1 2 2
1 3	H 2 - d	M H C クラス I B	N M _ 0 0 5 5 1 4
1 4	H 2 - k	M H C クラス I A	N M _ 0 0 2 1 1

10

20

30

40

			6
15	I C O S	誘導性T細胞共刺激分子；活性化誘導性リンパ球免疫調節性分子	N M__0 1 2 0 9 2
16	I L 1 0	インターロイキン-10；T細胞成長阻害因子；サイトカイン合成阻害因子	N M__0 0 0 5 7 2
17	P D C A 1	骨髄間質細胞抗原2；NPC-A-7；HM1.24抗原	N M__0 0 4 3 3 5
18	T N F R S F 1 8	腫瘍壊死因子スーパーファミリーメンバー18；活性化誘導性TNFRファミリー受容体；グルコシルチコイド誘導TNFR関連タンパク質；TNF受容体スーパーファミリー活性化誘導性タンパク質	N M__0 0 4 1 9 5

10

【0340】

いくつかの実施形態では、腫瘍は、複数のがん細胞、例えば本明細書に記載されるがんのいずれかの特徴を示す細胞を含有する物理的な塊を指し得る。腫瘍の例としては、上記の種類のがんのいずれかの原発性腫瘍、または上記の種類のがんのいずれかに由来する第2の部位における転移性腫瘍を挙げてもよい。いくつかの実施形態では、腫瘍は、がん細胞及び腫瘍間質を含有してもよい。

20

【0341】

本開示のある特定の態様は、試料中の1つ以上の遺伝子の発現レベルの測定に関する。いくつかの実施形態では、試料は、白血球を含んでもよい。いくつかの実施形態では、試料は、腫瘍試料であってもよい。腫瘍試料には、がん細胞、リンパ球、白血球、間質、血管、結合組織、基底膜、及び腫瘍に関連する任意の他の細胞型が含まれ得る。いくつかの実施形態では、試料は、腫瘍浸潤性白血球を含有する腫瘍組織試料である。例えば、腫瘍に関連する白血球は、腫瘍浸潤性白血球と見なされ得る。腫瘍浸潤性免疫細胞の例としては、Tリンパ球（CD8+ Tリンパ球及び／またはCD4+ Tリンパ球等）、Bリンパ球、または顆粒球（好中球、好酸球、好塩基球）、単球、マクロファージ、樹状細胞（すなわち、互いに組み合う樹状細胞）、組織球、及びナチュラルキラー細胞を含む他の骨髄系細胞が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、腫瘍浸潤性白血球は、腫瘍のがん細胞と関連付けられ得る。いくつかの実施形態では、腫瘍浸潤性白血球は、腫瘍間質と関連付けられ得る。

30

【0342】

いくつかの実施形態では、試料は、1つ以上の細胞型（例えば、白血球）を分離または単離するために処理されてもよい。いくつかの実施形態では、試料は、細胞型の分離または単離を伴わずに使用されてもよい。腫瘍試料は、生検、内視鏡検査、または外科的処置を含むがこれらに限定されない、当該技術分野において既知の任意の方法によって対象から得られてもよい。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、冷凍、固定（例えば、ホルマリンまたは同様の固定剤を使用することによる）、及び／またはパラフィン包埋等の方法によって調製され得る。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、切開されてもよい。いくつかの実施形態では、新鮮な腫瘍試料（すなわち、上記の方法で調製されていないもの）を使用してもよい。いくつかの実施形態では、試料は、mRNA及び／またはタンパク質の完全性を保存するために、溶液におけるインキュベーションによって調製されてもよい。白血球を含有する腫瘍試料は、マーカー遺伝子の発現レベルを測定するための本明細書に記載される任意の技法によってアッセイされてもよい。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、マクロ解剖によって腫瘍域に関して濃縮されている。

40

【0343】

いくつかの実施形態では、試料は、末梢血試料であってもよい。末梢血試料には、白血

50

球、P B M C等が含まれ得る。当該技術分野において既知の、末梢血試料から白血球を単離するための任意の技法を使用してもよい。例えば、血液試料を採取し、赤血球を溶解し、白血球ペレットを単離して試料に使用することができる。別の例において、密度勾配分離を使用して、白血球（例えば、P B M C）を赤血球から分離してもよい。いくつかの実施形態では、新鮮な末梢血試料（すなわち、上記の方法で調製されていないもの）を使用してもよい。いくつかの実施形態では、末梢血試料は、m R N A及び／またはタンパク質の完全性を保存するために、溶液におけるインキュベーションによって調製されてもよい。

【0344】

いくつかの実施形態では、治療への応答性は、生存期間（全生存期間及び無増悪生存期間を含む）が延長すること、客観的応答（完全奏効または部分奏効を含む）が生じること、または、がんの徴候若しくは症状が改善することのうちの任意の1つ以上を指し得る。いくつかの実施形態では、応答性は、がん患者における腫瘍の状態、すなわち応答している、安定している、または進行しているかを判定するための公開されている一式のR E C I S Tガイドラインに従う、1つ以上の要因の向上を指し得る。これらのガイドラインのより詳細な考察については、E i s e n h a u e r et al., Eur J Cancer 2009; 45: 228-47、T o p a l i a n et al., N Eng J Med 2012; 366: 2443-54、W o l c h o k et al., Clin Can Res 2009; 15: 7412-20、及びT h e r a s s e, P., et al. J. Natl. Cancer Inst. 92: 205-16 (2000)を参照されたい。応答性である対象は、そのがん（複数可）が、例えば、R E C I S T基準に基づく1つ以上の要因に従って改善を示す対象を指し得る。非応答性である対象は、そのがん（複数可）が、例えば、R E C I S T基準に基づく1つ以上の要因に従って改善を示さない対象を指し得る。

【0345】

従来の応答基準は、新しい病変の出現を含む、初期の明白な放射線医学的進行に先んじられ得る、遅延した応答を生み出すこともできる免疫療法薬の抗腫瘍活性を特徴付けるのに適切でない場合がある。したがって、想定される新しい病変の出現を説明でき、続く評価において放射線医学的進行を確認することを可能にする、修正された応答基準が開発されてきた。したがって、いくつかの実施形態では、応答性は、免疫関連応答基準2（i r R C）に従う、1つ以上の要因の改善を指し得る。例えば、W o l c h o k et al., Clin Can Res 2009; 15: 7412-20を参照されたい。いくつかの実施形態では、新しい病変は、既定の腫瘍量に付加され、例えば続く評価における放射線医学的進行のためにフォローされる。いくつかの実施形態では、非標的病変の存在は、完全奏効評価に含まれ、放射線医学的進行の評価には含まれない。いくつかの実施形態では、放射線医学的進行は、測定可能な疾患にのみ基づいて決定され、及び／または最初に記録された日から4週間以上の連続的評価によって確認され得る。

【0346】

いくつかの実施形態では、応答性は、免疫活性化を含んでもよい。いくつかの実施形態では、応答性は、治療の有効性を含んでもよい。いくつかの実施形態では、応答性は、免疫活性化及び治療の有効性を含んでもよい。

【0347】

V I . 治療方法

一態様において、個体のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、個体に有効量のO X 4 0アゴニストを投与することを含む方法が、本明細書に提供される。本開示の方法は、とりわけ、がんまたはT細胞機能障害性疾患の治療のための腫瘍免疫原性の増加等、免疫原性の増強が所望される病態を治療する際に、使用を見出し得る。これらの方法によって、多様ながんが治療され得るか、または、それらの進行が遅延され得る。

【0348】

10

20

30

40

50

対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、該1つ以上のマーカー遺伝子が、CD8a、CD8b、H2-d、CTLA4、CD64、CXCL9、IFNg、IDO1、GZMA、GZMB、PRF1、PDCA1、KLRK1、PTPRC、CXCL1、ITGAM、及びIL7Rから選択される、該測定することと、対象から得られた試料中の該1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルが参照よりも高い場合、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することと、によって対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法が、本明細書に提供される。対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することを含み、対象から得られた白血球を含む試料が、CD8a、CD8b、H2-d、CTLA4、CD64、CXCL9、IFNg、IDO1、GZMA、GZMB、PRF1、PDCA1、KLRK1、PTPRC、CXCL1、ITGAM、及びIL7Rから選択される1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して増加した発現を有する、方法が本明細書にさらに提供される。これらの方法は、特定の免疫活性化及びTh1マーカー（例えば、CD8a、CD8b、H2-d、CTLA4、CD64、CXCL9、IFNg、IDO1、GZMA、GZMB、PRF1、PDCA1、KLRK1、PTPRC、CXCL1、ITGAM、及び／またはIL7R）のより高い発現が、OX40アゴニスト治療薬に対するより良い応答性と関連するという本明細書に記載される発見に部分的に基づく。

10

【0349】

対象から得られた白血球を含む試料中の1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルを測定することであって、該1つ以上のマーカー遺伝子が、CSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及びVTCN1から選択される、該測定することと、対象から得られた試料中の該1つ以上のマーカー遺伝子の発現レベルが参照よりも低い場合、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することと、によって対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法が、本明細書になおさらに提供される。対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することを含み、対象から得られた白血球を含む試料が、CSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及びVTCN1から選択される1つ以上のマーカー遺伝子の参照と比較して減少した発現を有する、方法が本明細書にさらに提供される。これらの方法は、特定の免疫活性化及びTh1マーカー（例えば、CSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及び／またはVTCN1）のより低い発現が、OX40アゴニスト治療薬に対するより良い応答性と関連するという本明細書に記載される発見に部分的に基づく。

20

30

【0350】

いくつかの実施形態では、対象からの白血球を含有する試料において、CD8a、CD8b、H2-d、CTLA4、CD64、CXCL9、IFNg、IDO1、GZMA、GZMB、PRF1、PDCA1、KLRK1、PTPRC、CXCL1、ITGAM、及びIL7Rからなる群から選択される1つ以上のマーカー遺伝子の増加した発現、ならびに／またはCSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及びVTCN1からなる群から選択される1つ以上のマーカー遺伝子の減少した発現が検出された対象に、OX40アゴニストが投与される。

40

【0351】

目的のタンパク質を発現する試料または細胞（CD8a、CD8b、H2-d、CTLA4、CD64、CXCL9、IFNg、IDO1、GZMA、GZMB、PRF1、PDCA1、KLRK1、PTPRC、CXCL1、ITGAM、IL7R、CSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及びVTCN1等）は、タンパク質をコードするmRNA、またはその断片を含む、タンパク質が、試料または細胞中に存在すると決定されるものであり得る。

【0352】

がんの一種において1つ以上のマーカー（CD8a、CD8b、H2-d、CTLA4

50

、CD64、CXCL9、IFNg、IDO1、GZMA、GZMB、PRF1、PDCA1、KLRK1、PTPRC、CXCL1、ITGAM、IL7R等）の増加した発現を有する試料、細胞、腫瘍、またはがんは、その種類のがんに関する当業者によって1つ以上のマーカーの発現のレベルが増加したと見なされるものであり得る。例えば、かかる増加は、同じ種類のがんの試料、細胞、腫瘍、またはがんの集団におけるレベルと比べて、少なくとも約0.5倍、少なくとも約1倍、少なくとも約2倍、少なくとも約5倍でありうる。

【0353】

がんの一種において1つ以上のマーカー（CSF2、CCL22、EPCAM、GATA3、IL13、及び／またはVTGN1等）の減少した発現を有する試料、細胞、腫瘍、またはがんは、その種類のがんに関する当業者によって1つ以上のマーカーの発現のレベルが減少したと見なされるものであり得る。例えば、かかる減少は、同じ種類のがんの試料、細胞、腫瘍、またはがんの集団におけるレベルと比べて、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%の減少でありうる。

【0354】

いくつかの実施形態では、本開示の方法によって治療されるがんには、扁平上皮細胞がん（例えば、上皮系扁平上皮細胞がん）、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺の腺がん、及び肺の扁平上皮がんを含む肺がん、腹膜のがん、肝細胞がん、消化管がん、及び消化管間質がんを含む胃がん（gastric cancer）または胃がん（stomach cancer）、膵臓がん、膠芽腫、子宮頸がん、卵巣がん、肝臓がん、膀胱がん、泌尿器系のがん、肝臓がん、乳がん、結腸がん、直腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜がんまたは子宮がん、唾液腺がん、腎臓がん（kidney cancer）または腎臓がん（renal cancer）、前立腺がん、外陰部がん、甲状腺がん、肝がん、肛門がん、陰茎がん、黒色腫、表在拡大型黒色腫、悪性黒子型黒色腫、末端黒子型黒色腫、結節型黒色腫、多発性骨髄腫及びB細胞リンパ腫、慢性リンパ性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞性白血病、慢性骨髄芽球性白血病、移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、ならびに、母斑症、浮腫（例えば脳腫瘍に関連するもの等）、メイグス症候群、脳に関連する異常血管増殖、ならびに頭頸部がん、及び関連する転移が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、がんは、結腸直腸がんである。いくつかの実施形態では、がんは、非小細胞肺がん、腎細胞がん腫、卵巣がん、膀胱がん、膠芽腫、神経芽腫、黒色腫、乳がん、胃がん、及び肝細胞がんから選択される。いくつかの実施形態では、がんは、トリプルネガティブ乳がんである。いくつかの実施形態では、がんは、早期がんであっても後期がんであってもよい。いくつかの実施形態では、がんは、原発性腫瘍であってもよい。いくつかの実施形態では、がんは、上記の種類のがんのいずれかに由来する第2の部位における転移性腫瘍であってもよい。

【0355】

いくつかの実施形態では、がんの例としては、B細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球性（SL）NHL、中悪性度／濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽細胞性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非切れ込み核細胞性NHL、巨大腫瘤病変性NHL、マントル細胞リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、及びヴァルデンスト্রেームマクログロブリン血症を含む）；慢性リンパ性白血病（CLL）；急性リンパ芽球性白血病（ALL）；有毛細胞性白血病；慢性骨髄芽球性白血病；及び移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、ならびに母斑症、浮腫（例えば脳腫瘍に関連するもの等）、B細胞増殖性障害、及びメイグス症候群に関連する異常血管増殖がさらに含まれるが、これらに限定されない。より具体的な例としては、再発性または難治性NHL、フロントライン低悪性度NHL、第III/I V病期NHL、化学療法耐性NHL、前駆Bリンパ芽球性白血病及び／またはリンパ腫、小リンパ球性リンパ腫、B細胞慢性リンパ球性白血病及び／または前リンパ球性白血病及び／または小リンパ球性リンパ腫、B細胞前リンパ球性リンパ腫、免疫細胞腫及び／またはリンパ形質細

10

20

30

40

50

胞性リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、結節外辺縁帯-MAL Tリンパ腫、結節性辺縁帯リンパ腫、有毛細胞白血病、形質細胞腫及び／または形質細胞骨髄腫、低悪性度／濾胞性リンパ腫、中悪性度／濾胞性NH L、マントル細胞リンパ腫、濾胞中心リンパ腫（濾胞性）、中悪性度びまん性NH L、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、侵攻性NH L（侵攻性フロンラインNH L及び侵攻性再発性NH Lを含む）、自家幹細胞移植後に再発するまたはそれに対して不応性のNH L、原発性縦隔大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出性リンパ腫、高悪性度免疫芽球性NH L、高悪性度リンパ芽球性NH L、高悪性度小型非切れ込み核細胞性NH L、巨大腫瘤病変NH L、バーキットリンパ腫、前駆体（末梢）大顆粒リンパ球性白血病、菌状息肉腫及び／またはセザリー症候群、皮膚（s k i n）（皮膚（c u t a n e o u s））リンパ腫、未分化大細胞型リンパ腫、血管中心性リンパ腫が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0356】

いくつかの実施形態では、がんの例としては、B細胞増殖性障害がさらに挙げられるがこれに限定されず、それには、リンパ腫（例えば、B細胞非ホジキンリンパ腫（NH L））及び慢性リンパ性白血病がさらに含まれるがこれらに限定されない。かかるリンパ腫及びリンパ性白血病には、例えば、a）濾胞性リンパ腫、b）小型非切れ込み核細胞性リンパ腫／バーキットリンパ腫（地域性バーキットリンパ腫、散発性バーキットリンパ腫、及び非バーキットリンパ腫を含む）、c）辺縁帯リンパ腫（結節外辺縁帯B細胞リンパ腫（粘膜関連リンパ組織リンパ腫、MAL T）、結節性辺縁帯B細胞リンパ腫、及び脾臓辺縁帯リンパ腫を含む）、d）マントル細胞リンパ腫（MCL）、e）大細胞型リンパ腫（B細胞びまん性大細胞型リンパ腫（DLCL）、びまん性混合細胞型リンパ腫、免疫芽球性リンパ腫、原発性縦隔B細胞性リンパ腫、血管中心性リンパ腫、肺B細胞リンパ腫を含む）、f）有毛細胞性リンパ腫、g）リンパ球性リンパ腫、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、h）急性リンパ球性白血病（ALL）、慢性リンパ球性白血病（CLL）／小リンパ球性リンパ腫（SLL）、B細胞前リンパ球性白血病、i）形質細胞腫瘍、形質細胞骨髄腫、多発性骨髄腫、形質細胞腫、及び／またはj）ホジキン病が含まれる。

20

【0357】

方法のうちのいずれかのいくつかの実施形態では、がんは、B細胞増殖性障害である。いくつかの実施形態では、B細胞増殖性障害は、リンパ腫、非ホジキンリンパ腫（NH L）、侵攻性NH L、再発性侵攻性NH L、再発性緩慢性NH L、難治性NH L、難治性緩慢性NH L、慢性リンパ球性白血病（CLL）、小リンパ球性リンパ腫、白血病、有毛細胞白血病（HCL）、急性リンパ球性白血病（ALL）またはマントル細胞リンパ腫である。いくつかの実施形態では、B細胞増殖性障害は、緩慢性NH L及び／または侵攻性NH L等のNH Lである。いくつかの実施形態では、B細胞増殖性障害は、緩慢性濾胞性リンパ腫またはびまん性大細胞型B細胞リンパ腫である。

30

【0358】

いくつかの実施形態では、対象は、がんを有するか、またはがんを発症するリスクがある。いくつかの実施形態では、治療は、治療の休止後の対象における持続性応答をもたらす。いくつかの実施形態では、対象は、早期または後期にあり得るがんを有する。いくつかの実施形態では、対象は、ヒトである。いくつかの実施形態では、対象は、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長類（例えば、ヒト、及びサル等の非ヒト霊長類）、ウサギ、及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物である。

40

【0359】

いくつかの実施形態では、対象のがんを治療する、またはその進行を遅延させる方法であって、対象に有効量のOX40アゴニストを投与することを含み、追加の療法を施すことをさらに含む方法が提供される。追加の療法は、放射線療法、手術（例えば、乳腺腫瘍摘出術及び乳房切除術）、化学療法、遺伝子療法、DNA療法、ウイルス療法、RNA療法、免疫療法、骨髄移植、ナノ療法、モノクローナル抗体療法、または前述のものの組み合わせであってもよい。追加の療法は、アジュバントまたはネオアジュバント療法の形態であってもよい。いくつかの実施形態では、追加の療法は、小分子酵素阻害剤または抗転

50

移剤の投与である。いくつかの実施形態では、追加の療法は、副作用制限剤（例えば、治療の副作用の発生及び／または重症度を減少させることを目的とする薬剤、例えば抗悪心剤等）の投与である。いくつかの実施形態では、追加の療法は、放射線療法である。いくつかの実施形態では、追加の療法は、手術である。いくつかの実施形態では、追加の療法は、放射線療法と手術との組み合わせである。いくつかの実施形態では、追加の療法は、ガンマ線照射である。いくつかの実施形態では、追加の療法は、P I 3 K / A K T / m T O R経路を標的とする療法、H S P 9 0阻害剤、チューブリン阻害剤、アポトーシス阻害剤、及び／または化学防御剤である。追加の療法は、上述の化学療法剤のうちの1つ以上であってもよい。

【0360】

上で述べたかかる併用療法には、組み合わせ投与（2つ以上の治療剤が同じまたは別個の配合物中に含まれる）及び別個の投与が含まれ、別個の投与の場合、本発明のO X 4 0の投与は、追加の治療剤（単数または複数）の投与の前、それと同時に、及び／またはその後に行うことができる。一実施形態では、O X 4 0アゴニストの投与及び追加の治療剤の投与は、互いに約1か月以内、または約1、2、3週間以内、または約1、2、3、4、5、若しくは6日以内に発生する。本発明のO X 4 0アゴニストはまた、放射線療法と組み合わせて使用してもよい。

【0361】

いくつかの実施形態では、抗ヒトO X 4 0アゴニストは、化学療法または化学療法剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、抗ヒトO X 4 0アゴニストは、放射線療法または放射線療法剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、抗ヒトO X 4 0アゴニストは、標的療法または標的療法薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、抗ヒトO X 4 0アゴニストは、免疫療法または免疫療法剤、例えばモノクローナル抗体と併せて投与されてもよい。

【0362】

いくつかの実施形態では、O X 4 0アゴニスト（例えば、抗ヒトO X 4 0アゴニスト抗体）は、P D - 1軸結合アンタゴニストと併せて投与されてもよい。P D - 1軸結合アンタゴニストには、P D - 1結合アンタゴニスト、P D - L 1結合アンタゴニスト、及びP D - L 2結合アンタゴニストが含まれるが、これらに限定されない。「P D - 1」の代替名には、C D 2 7 9及びS L E B 2が含まれる。「P D - L 1」の代替名には、B 7 - H 1、B 7 - 4、C D 2 7 4、及びB 7 - Hが含まれる。「P D - L 2」の代替名には、B 7 - D C、B t d c、及びC D 2 7 3が含まれる。いくつかの実施形態では、P D - 1、P D - L 1、及びP D - L 2は、ヒトP D - 1、P D - L 1、及びP D - L 2である。いくつかの実施形態では、P D - 1結合アンタゴニストは、P D - 1の、そのリガンド結合パートナーに結合することを阻害する分子である。具体的な態様において、P D - 1リガンド結合パートナーは、P D - L 1及び／またはP D - L 2である。別の実施形態では、P D - L 1結合アンタゴニストは、P D - L 1の、その結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、P D - L 1結合パートナーは、P D - 1及び／またはB 7 - 1である。別の実施形態では、P D - L 2結合アンタゴニストは、P D - L 2の、その結合パートナーへの結合を阻害する分子である。具体的な態様において、P D - L 2結合パートナーは、P D - 1である。アンタゴニストは、抗体、その抗原結合断片、イムノアドヘシン、融合タンパク質、またはオリゴペプチドであってもよい。いくつかの実施形態では、P D - 1結合アンタゴニストは、抗P D - 1抗体（例えば、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体）である。いくつかの実施形態では、抗P D - 1抗体は、M D X - 1 1 0 6、M e r c k 3 4 7 5、及びC T - 0 1 1からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、P D - 1結合アンタゴニストは、イムノアドヘシン（例えば、定常領域（例えば、免疫グロブリン配列のF c領域）に融合するP D - L 1またはP D - L 2の細胞外またはP D - 1結合部分を含むイムノアドヘシンである。いくつかの実施形態では、P D - 1結合アンタゴニストは、A M P - 2 2 4である。いくつかの実施形態では、P D - L 1結合アンタゴニストは、抗P D - L 1抗体である。いくつかの実施形態で

10

20

30

40

50

は、抗PD-L1結合アンタゴニストは、YW243.55.S70、MPDL3280A、(アテゾリズマブ)、MEDI4736(デュルバルマブ)、MDX-1105、及びMSB0010718C(アベルマブ(avelumab))からなる群から選択される。BMS-936559としても知られるMDX-1105は、国際公開第2007/005874号に記載される抗PD-L1抗体である。抗体YW243.55.S70(配列番号20及び21にそれぞれ示される重鎖及び軽鎖可変領域配列)は、国際公開第2010/077634A1号に記載される抗PD-L1である。MDX-1106-04、ONO-4538、またはBMS-936558としても知られるMDX-1106は、国際公開第2006/121168号に記載される抗PD-1抗体である。MK-3475、SCH-900475、ペンブロリズマブ、及びKEYTRUDA(登録商標)としても知られるMerck 3745は、国際公開第2009/114335号に記載される抗PD-1抗体である。hBAT、hBAT-1、及びピディリズマブとしても知られるCT-011は、国際公開第2009/101611号に記載される抗PD-1抗体である。B7-DCIgとしても知られるAMP-224は、国際公開第2010/027827号及び国際公開第2011/066342号に記載されるPD-L2-Fc融合可溶性受容体である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、MDX-1106である。「MDX-1106」の代替名には、MDX-1106-04、ONO-4538、BMS-936558、ニボルマブ、またはOPDIVO(登録商標)が含まれる。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、ニボルマブ(CAS登録番号:946414-94-4)である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、MDX-1106(ニボルマブ、OPDIVO(登録商標))、Merck 3475(MK-3475、ペンブロリズマブ、KEYTRUDA(登録商標))、CT-011(ピディリズマブ)、MEDI-0680(AMP-514)、PDR001、REGN2810、BGB-108、及びBGB-A317からなる群から選択される。

【0363】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、CTLA-4(CD152としても知られる)に対するアンタゴニスト、例えば、遮断抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、イピリムマブ(MDX-010、MDX-101、またはYervoy(登録商標)としても知られる)と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、トレメリムマブ(チシリムマブまたはCP-675,206としても知られる)と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、B7-H3(CD276としても知られる)に対するアンタゴニスト、例えば、遮断抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、MGA271と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、TGFベータに対するアンタゴニスト、例えば、メテリムマブ(metelimumab)(CAT-192としても知られる)、フレソリムマブ(fresolimumab)(GC1008としても知られる)、またはLY2157299と併せて投与されてもよい。

【0364】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、キメラ抗体受容体(CAR)を発現するT細胞(例えば、細胞傷害性T細胞またはCTL)の養子移入を含む治療と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、ドミナントネガティブTGFベータ受容体、例えばドミナントネガティブTGFベータII型受容体を含むT細胞の養子移入を含む治療と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、HERCREEMプロトコル(例えば、ClinicalTrials.gov Identifier NCT0

10

20

30

40

50

0889954を参照されたい)を含む治療と併せて投与されてもよい。

【0365】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、CD137(TNFRSF9、4-1BB、またはILAとしても知られる)に対するアゴニスト、例えば活性化抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、ウレルマブ(urelumab)(BMS-663513としても知られる)と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、CD40に対するアゴニスト、例えば活性化抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、CP-870893と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、OX40(CD134としても知られる)に対するアゴニスト、例えば活性化抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、異なる抗OX40抗体(例えば、AgonOX)と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、CD27に対するアゴニスト、例えば活性化抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、CDX-1127と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、インドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ(IDO)に対するアンタゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、IDOアンタゴニストと共にあるのは、1-メチル-D-トリプトファン(1-D-MTとしても知られる)である。

【0366】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、抗体-薬物複合体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、抗体-薬物複合体は、メルタンシン(mertansine)またはモノメチルオーリスタチンE(MMAE)を含む。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)抗NaPi2b抗体-MMAE複合(DNIB0600AまたはRG7599としても知られる)と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、トラスツズマブエムタンシン(T-DM1、アドトラスツズマブエムタンシン、またはKADCYLA(登録商標)、Genentechとしても知られる)と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、DMUC5754Aと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、エンドセリンB受容体(EDNBR)に対する抗体-薬物複合体、例えばMMAEと複合されたEDNBRに対する抗体と併せて投与されてもよい。

【0367】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、血管新生阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、VEGFに対する抗体、例えばVEGF-Aと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、ベバシズマブ(AVASTIN(登録商標)、Genentechとしても知られる)と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、アンジオポエチン2(Ang2としても知られる)に対する抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト(例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体)は、MED13617と併せて投与されてもよい。

【0368】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、抗腫瘍薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CSF-1R（M-CSFRまたはCD115としても知られる）を標的とする薬剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、抗CSF-1R（IMC-CS4としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、インターフェロン、例えばインターフェロンアルファまたはインターフェロンガンマと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、ロフェロン-A（組み換えインターフェロンアルファ-2aとしても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、GM-CSF（組み換えヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、rhGM-CSF、サルグラモスチム、またはLeukine（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、IL-2（アルデスロイキンまたはProleukin（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、IL-12と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CD20を標的とする抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、CD20を標的とする抗体は、オビヌツズマブ（GA101またはGazyva（登録商標）としても知られる）またはリツキシマブである。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、GITRを標的とする抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、GITRを標的とする抗体は、TRX518である。

【0369】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、がんワクチンと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、がんワクチンは、ペプチドがんワクチンであり、いくつかの実施形態では、個別化ペプチドワクチンである。いくつかの実施形態では、ペプチドがんワクチンは、多価長ペプチド、マルチペプチド、ペプチドカクテル、ハイブリッドペプチド、またはペプチドパルス樹状細胞ワクチンである（例えば、Yamada et al., Cancer Sci, 104:14-21, 2013を参照されたい）。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、アジュバントと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、TLアゴニスト（例えば、Poly-ICLC（Hiltonol（登録商標）としても知られる）、LPS、MPL、またはCpG ODNを含む治療薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、腫瘍壊死因子（TNF）アルファと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、IL-1と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、HMGB1と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、IL-10アンタゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、IL-4アンタゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、IL-13アンタゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、HVEMアンタゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、例えばICOS-Lの投与によってICOSアゴニストと、またはICOSに向けられたアゴニスティック

10

20

30

40

50

な抗体と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CX3CL1を標的とする治療薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CXCL9を標的とする治療薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CXCL10を標的とする治療薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、CCL5を標的とする治療薬と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、LFA-1またはICAM1アゴニストと併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、セレクトインアンタゴニストと併せて投与されてもよい。

10

【0370】

いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、標的療法と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、B-Rafの阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、ベムラフェニブ（Zelboraf（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、ダブラフェニブ（Tafinlar（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、エルロチニブ（Tarceva（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、MEK1（MAP2K1としても知られる）またはMEK2（MAP2K2としても知られる）等のMEKの阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、コビメチニブ（GDC-0973またはXL-518としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、トラメチニブ（Mekinist（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、K-Rasの阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、c-Metの阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、オナルツズマブ（MetMAbとしても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、Alkの阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、AF802（CH5424802またはアレクチニブとしても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ（PI3K）の阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、BKM120と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、イデラリシブ（GS-1101またはCAL-101としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、ペリホシン（KRX-0401としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、Aktの阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、MK2206と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、GSK69069

20

30

40

50

3と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、GDC-0941と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、mTORの阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、シロリムス（ラパマイシンとしても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、テムシロリムス（CCI-779またはTorisel（登録商標）としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、エベロリムス（RAD001としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、リダフォロリムス（AP-23573、MK-8669、またはデフォロリムスとしても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、OSI-027と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、AZD8055と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、INK128と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、二重PI3K/mTOR阻害剤と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、XL765と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、GDC-0980と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、BEZ235（NVP-BEZ235としても知られる）と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、BGT226と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、GSK2126458と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、PF-04691502と併せて投与されてもよい。いくつかの実施形態では、OX40アゴニスト（例えば、抗ヒトOX40アゴニスト抗体）は、PF-05212384（PKI-587としても知られる）と併せて投与されてもよい。

【0371】

本発明のOX40アゴニスト（及び任意の追加の治療剤）は、非経口投与、肺内投与、及び鼻腔内投与、ならびに局所治療で所望される場合、病変内投与を含む、任意の好適な手段によって投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が含まれる。投薬は、投与が短時間であるか慢性的であるかに部分的に応じて、任意の好適な経路、例えば、静脈内または皮下注射等の注射によるものであってもよい。単回または様々な時点に亘る複数回投与、ボラス投与、及びパルス注入を含むがこれらに限定されない様々な投薬スケジュールが本明細書で企図される。

【0372】

本発明のOX40アゴニストは、良好な医療行為と一致した様式で、製剤化され、投薬され、かつ投与されることになる。この文脈における考慮の要因には、治療されている特定の障害、処置されている特定の哺乳動物、個々の患者の臨床的病態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与のスケジュール管理、及び医療従事者に知られている他の要因が含まれる。必然的にではなく任意で、抗体は、問題の障害を予防または治療するために現在使用される1つ以上の薬剤と共に製剤化される。そのような他の薬剤の有効量は、配合物中に存在する抗体の量、障害または治療の種類、及び上記に考察された他の要因に依存する。これらは、一般に、本明細書に記載されるのと同じ投薬量で、本明細書に記載される投与経路により、または本明細書に記載される投薬量の約1～99%、または経験的／臨床的に適切であると決定される任意の投薬量及び任意の経路によって、使用される

10

20

30

40

50

。

【0373】

疾患の予防または治療のために、本発明のOX40アゴニストの適切な投薬量は（単独でまたは1つ以上の他の追加の治療剤と組み合わせて使用されるとき）、治療対象の疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度及び経過、抗体が予防目的または治療目的で投与されるかどうか、以前の治療法、患者の病歴、抗体への反応、ならびに主治医の裁量によって決定されることになる。抗体は、患者に、1回で、または一連の治療に亘って好適に投与される。疾患の種類及び重症度に応じて、例えば、1回以上の別個の投与によるものであれ、連続注入によるものであれ、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}\sim 40\text{mg}/\text{kg}$ の抗体が、患者への投与のための初期候補投薬量であり得る。1つの典型的な1日用量は、上述の要因に応じて、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}\sim 100\text{mg}/\text{kg}$ 以上の範囲に及び得る。数日間またはそれ以上に亘る反復投与については、病態に応じて、疾患症状の所望の抑制が生じるまで治療が継続されることが一般的であろう。そのような用量は、断続的に、例えば毎週または3週間毎（例えば、患者が約2～約20回、または例えば約6回の用量の抗体を受容するように）投与されてもよい。より高い初回負荷用量を投与し、続いてより低い用量を1回以上投与してもよい。しかしながら、他の投薬レジメンも有用な場合がある。この治療の経過は、従来の技法及びアッセイによって容易に監視される。

10

【0374】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、がんは、上昇したレベルのT細胞浸潤を有する。本明細書で使用される場合、がんのT細胞浸潤は、がん組織内にあるかまたは別様にそれに関連する、腫瘍浸潤性リンパ球（TIL）等のT細胞の存在を指す場合がある。T細胞浸潤が、ある特定のがんにおいて改善された臨床転帰と関連付けられ得ることは、当該技術分野において既知である（例えば、Zhang et al., N. Engl. J. Med. 348 (3): 203-213 (2003)を参照されたい）。いくつかの実施形態では、TILは、OX40+であってもよい。いくつかの実施形態では、TILは、CD4+ OX40+ Foxp3+ TregまたはCD4+OX40+Foxp3-Teff細胞であってもよい。

20

【0375】

VIL. キット及び製品

上記に記載または示唆される用途での使用のために、キットまたは製品もまた本発明により提供される。かかるキットは、本明細書に記載されるマーカー遺伝子（例えば、表3～5に記載される遺伝子）の発現レベルを検出するのに特異的な少なくとも1つの試薬を含み、本明細書に記載される方法を実施するための指示書を含み得る。

30

【0376】

いくつかの実施形態では、本発明は、マーカー遺伝子またはその任意の特定の部分のポリヌクレオチドの特異的な増幅を可能にするプライマー及びプライマー対と、本明細書に記載される核酸分子またはその任意の部分に選択的にまたは特異的にハイブリダイズされるプローブとを含む組成物及びキットを提供する。プローブは、例えば、放射性同位体、蛍光化合物、生物発光化合物、化学発光化合物、金属キレート剤、または酵素等の検出可能なマーカーで標識されてもよい。かかるプローブ及びプライマーを使用して、ポリヌクレオチドによってコードされたタンパク質を発現する細胞を検出する方法として、試料中の、表3～5に列挙された遺伝子に対応するポリヌクレオチド等のポリヌクレオチドの存在を検出することができる。当業者に理解されるように、多数の異なるプライマー及びプローブが、本明細書に提供される配列に基づいて調製され得、mRNAの増幅、クローン作製、及び／またはその存在及び／またはレベルを判定するために有効に使用され得る。いくつかの実施形態では、キットは、増幅した核酸を検出するための捕捉プローブのための表面または基質（マイクロアレイ等）をさらに含み得る。いくつかの実施形態では、キットは、qRT-PCRを使用して1つのマーカー遺伝子の発現レベルを検出するための、少なくとも1対のプライマー及びプローブを含む。

40

【0377】

50

マーカー遺伝子のタンパク質発現レベルを検出するための試薬は、マーカー遺伝子のコードされたタンパク質に特異的に結合する抗体を含み得る。

【0378】

いくつかの実施形態では、キットは、OX40アゴニスト（例えば、抗OX40アゴニスト抗体）をさらに含む。キットは、患者がOX40アゴニスト治療薬に対して応答性であると特定された場合のOX40アゴニストの投与に関する指示書を含み得る。

【0379】

キットは、厳重な管理下で、バイアル、管等の1つ以上の容器手段を受容するように区分化された担体手段をさらに含み得、容器手段のそれぞれは、本方法において使用される別個の要素のうちの1つを含む。例えば、容器手段のうちの1つは、検出可能に標識されているか、または標識され得るプローブを含んでもよい。かかるプローブは、マーカー遺伝子に特異的な抗体またはポリヌクレオチドであってもよい。キットが核酸ハイブリダイゼーションを利用して標的核酸を検出する場合、キットは、標的核酸配列の増幅のためのヌクレオチド（複数可）を含む容器、及び／または酵素、蛍光、もしくは放射性同位元素標識等のレポーター分子に結合される、アビジンもしくはストレプトアビジン等のビオチン結合タンパク質等のレポーター手段を含む容器も有し得る。

【0380】

本発明のキットは、典型的に、上記の容器と、緩衝剤、希釈剤、フィルター、針、シリンジ、及び使用上の指示を伴う添付文書を含む、商業的及びユーザの視点から望ましい材料を含む1つ以上の他の容器と、を備える。標識は、組成物が特定の治療または非治療の用途に使用されることを示すために容器上に提示され得、上記のもの等のインビボ使用またはインビトロ使用のいずれかに関する指示も示し得る。

【0381】

キットは、組織または細胞試料を調製するため、及び試料から核酸（mRNA等）を調製するための指示書及び材料の一式をさらに含んでもよい。

【0382】

本明細書は、当業者が本発明を実践することを可能にするのに十分であると考えられる。本明細書に示され説明されるものに加えて、本発明の様々な改変形態が、前述の説明から当業者には明らかであり、それらは、添付の「特許請求の範囲」の範囲に含まれるものとする。

【0383】

本明細書に引用される全ての刊行物、特許、及び特許出願は、あらゆる目的のために、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【実施例】

【0384】

本発明は、以下の実施例を参照することによってさらに理解され得るが、実施例は、例示として提供されるものであり、限定的であることを意図するものではない。

【0385】

実施例1：OX40アゴニスト治療は、T細胞活性及び抗腫瘍活性を調節する。

OX40は、活性化CD4T細胞（Teff）及びT制御性（Treg）細胞上に発現する共刺激分子であることが知られている。TCR刺激の存在下でのOX40の連結は、Teff細胞の増強及びTreg細胞の阻害という二重機構を介してTエフェクター細胞機能を増強することが知られている。

【0386】

OX40アゴニスト治療による抗腫瘍免疫の増強は、がんを治療するための有望な治療手段である。したがって、共刺激活性を特徴付け、抗腫瘍有効性を評価し、OX40アゴニストの予測性及び薬力学的（PD）バイオマーカーを特定するために、インビトロ及びインビボでの前臨床研究を実施した。

【0387】

材料及び方法

10

20

30

40

50

インビトロT細胞共刺激アッセイ

CD4⁺T細胞を、磁気濃縮 (Miltenyi) を介して健常ドナーからのPBMCから単離した。分類したCD4⁺をPHAで刺激してOX40発現を誘発し、IL-2の存在下に静置し、次いで、プレートに固定化した形態の一定濃度の抗CD3及び可変濃度の抗OX40 (抗ヒトOX40mAb) で再刺激した。ATPレベル (Promega) の定量化によってT細胞増殖を測定し、ELISAによって上清IFN-γレベルを評価した。

【0388】

インビトロTreg抑制アッセイ

CD4⁺CD25⁺CD127⁻T細胞及びナイーブT細胞を、それぞれ、FACS及び磁気精製を介して健常ドナーから単離した。抑制アッセイ培養物は、T細胞及びCFSE標識ナイーブCD4⁺細胞 (2Treg:1ナイーブ)、APCとしての照射CD80⁺CD32⁺L細胞、抗CD3、及び抗ヒトOX40mAbで構成された。ナイーブT細胞増殖の抑制を、FACSを介して定量化した。

【0389】

インビボ腫瘍研究

同系腫瘍細胞を、C57/B16またはBalbCマウスの皮下 (CT26、5B1im10)、若しくは同所性 (EMT6、JC) のいずれかに植え付けた。予測性バイオマーカー分析のため、腫瘍を、150~250mm³の体積に達したときに採取した。有効性及び薬力学的バイオマーカー分析のため、腫瘍が150~250mm³の体積に達したとき、マウスを、3週間、週2回、10mg/kgの参照Abまたはマウス抗マウスOX40mAbのいずれかで治療した。1回目の投薬後から2日目、9日目、及び16日目に腫瘍及び末梢血を採取した。

【0390】

フローサイトメトリー

腫瘍組織を小片に切り取り、コラゲナーゼ及びDNase (Roche) と共にインキュベートし、製造者のプロトコルに従い、gentle MACS Dissociator (Miltenyi) を使用して単細胞懸濁液を調製した。製造者の指示に従い、CD45、CD3、CD4、CD8、CD25 (全てBD Biosciences)、及びFoxp3 (eBiosciences) に対する市販の抗体を用いて腫瘍浸潤性リンパ球 (TIL) の表現型決定を行った。Live/Dead Fixable Near-IR Dead Cell Stain Kit (Life Technologies) プロトコルを使用して、分析から死細胞を除外した。染色した細胞をBD FACS Cantoフローサイトメーター上で分析した。

遺伝子発現分析

【0391】

製造者から供給された完全RNA単離プロトコルに従い、mirvana miRNA Isolation kit (Life Technologies) を使用して、腫瘍ライセートからRNAを抽出した。Agilent 2100 Bioanalyzerを使用してRNAの品質を評価した。PCRサイクル条件を全増幅での14サイクルから16サイクルに変更した点を除いて、PCR製造者のプロトコルに従い、Invitrogen Platinum Taq/Reverse Transcriptaseの酵素ミックスを使用したワンステップcDNA合成/前増幅反応に、RNA (200ng) を供した。増幅に続いて、試料をTEに対して1:4で希釈し、製造者のプロトコルに従い、前述のようにBioMark (商標) HDシステムを使用してFluidigm 96.96 Dynamic Arrays上でqPCRを実施した (Shames, D. S., et al. (2013) PLoS ONE 8: e56765)。試料は2連で用い、サイクル閾値 (Ct) を、各標的遺伝子の平均値から3個の参照遺伝子の平均値を減算することによって、相対発現値 (負のデルタCt) に変換した。これらの研究で評価された全ての遺伝子のリストは、以下の表6に提供される。

表6

ア ッ セイ	遺伝子	アッ セイ	遺伝子	アッ セイ	遺伝子	アッ セイ	遺伝子
1	C D 3 E	2 5	C D 2 7 4	4 9	C C L 5	7 3	H 2 - k
2	C D 4	2 6	C D 2 7 6	5 0	C C L 2 2	7 4	F c g r 2 b / C D 3 2
3	C D 8 A	2 7	P D C D 1 L G 2	5 1	P V R	7 5	I C A M 1
4	C D 8 b	2 8	V T C N 1	5 2	C C R 5	7 6	V C A M 1
5	G A T A 3	2 9	I L 1 B	5 3	C C R 7	7 7	E P C A M
6	T B X 2 1	3 0	I L 2	5 4	C X 3 C L 1	7 8	T N F S F 4 (O X 4 0 L)
7	R O R C	3 1	I L 4	5 5	C X C R 3	7 9	T N F S F 9 (4 - 1 B B L)
8	F O X P 3	3 2	I L 6	5 6	V E G F A	8 0	T N F R S F 9 (4 - 1 B B)
9	B T L A	3 3	I L 7	5 7	C D 4 0	8 1	H A V C R 2
1 0	C T L A 4	3 4	I L 7 R	5 8	M S 4 A 1	8 2	T N F R S F 1 4
1 1	P D C D 1	3 5	I L 1 0	5 9	F c g r 3 / C D 1 6	8 3	F a s L
1 2	C D 2 8	3 6	I L 1 2 A	6 0	K L R K 1	8 4	C D 4 8
1 3	C D 2 7	3 7	I L 1 3	6 1	T I G I T	8 5	T N F R S F 1 8 (G I T R)
1 4	C D 6 9	3 8	I L 1 7 A	6 2	I F N a	8 6	P T P R C
1 5	I C O S	3 9	I L 3 3	6 3	N C A M 1	8 7	P G E 2 / P G E S 2
1 6	E O M E S	4 0	C S F 2	6 4	C D 8 3	8 8	P T G E R 4
1 7	C D 2 2 6	4 1	I F N g	6 5	C D 2 0 9 a	8 9	I D O 1
1	L A G	4 2	T G F B	6 6	P D C A	9 0	L G A L S 9

10

20

30

40

ア ッ セ イ	遺伝子	アッ セイ	遺伝子	アッ セイ	遺伝子	アッ セイ	遺伝子
8	3		1		1		
1 9	T N F R S F 4				Z b t b 4 6		
	4 3		T N F	6 7		9 1	M A P 4 K 1
2 0	G Z M A	4 4	I L 2 R A	6 8	P T G S 2	9 2	I L 9
2 1	G Z M B	4 5	C X C L 1	6 9	A R G 1	9 3	S P 2
2 2	P R F 1	4 6	C X C L 9	7 0	I T G A M	9 4	Y W H A Z
2 3	C D 8 0	4 7	C X C L 1 0	7 1	H 2 - d	9 5	G U S b
2 4	C D 8 6	4 8	C C L 2	7 2	H 2 - a a	9 6	F c g r 1 / C D 6 4

10

20

30

40

50

【0392】

データ分析

予測性バイオマーカー分析のために、各遺伝子の発現を、中央値発現に対して正規化した。より高い応答性（E M T 6 及び C T 2 6）ならびにより低い応答性（J C 及び 5 1 B l i m 1 0）モデルとの間で、統計学的に有意な（スチューデント t 検定、 $p < 0.05$ ）差次的発現の少なくとも 2 倍の平均値を示した遺伝子を、下流分析のために選択した。Cluster v 3.0 を使用した完全連結法を用いて中央値を中央に置いたデータ上で階層的クラスタリングを行い、Treeview を使用して可視化した（E i s e n , M. B. , e t a l. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. 95 : 14863-8）。

結果

【0393】

O X 4 0 は、マウス及びヒト腫瘍の T e f f 及び T r e g 細胞上に高度に発現することが知られている。かくして、O X 4 0 活性を調節することは、がんにおける T 細胞機能を調節する、すなわちがん免疫療法のための手段を提供し得る。したがって、インビトロでの T 細胞機能に対する O X 4 0 アゴニスト治療薬の効果を試験した。

【0394】

単離した C D 4 + T 細胞を P B M C から単離し、O X 4 0 発現を誘発するように刺激し、次いで、上述のようにアゴニスト抗ヒト O X 4 0 m A b の存在下において抗 C D 3 で再刺激した。図 1 A 及び 1 B は、T 細胞増殖（図 1 A）及び I F N γ 産生（図 1 B）が、対照治療と比較して、抗 O X 4 0 での治療によってどちらも増強したことを示す。

【0395】

さらに、抗 O X 4 0 治療は、上記のインビトロ T r e g 抑制アッセイにおいて T r e g 活性を低減することが発見された（図 2）。これらの結果は、O X 4 0 アゴニスト治療が、いくつかの重要な T 細胞機能を調節可能であることを示す。

【0396】

次いで、O X 4 0 アゴニズムがインビボでの腫瘍成長に効果を有するかどうかを試験す

るために、OX40アゴニスト治療薬をいくつかの同系マウス腫瘍モデル中で分析した。腫瘍を発生させるためにマウスに様々な同系腫瘍細胞型を植え付け、これらの腫瘍が閾値の大きさに達したら、上記のようにマウスをマウス抗マウスOX40mAbまたは対照抗体で治療した。

【0397】

図3A～3Cに示されるように、抗OX40アゴニスト治療薬は、EMT6乳がんモデル（図3A）、クラウドマン黒色腫瘍モデル（図3B）、及びCT26結腸直腸がん（CRC）モデル（図3C）を含む、いくつかの腫瘍モデルにおいて劇的な低減及び恒久的な退縮をもたらした。対照的に、MC38CRC腫瘍モデル（図4A）、51Blim10CRC腫瘍モデル（図4B）、及びJC乳がん腫瘍モデル（図4C）等の他のマウス腫瘍モデルは、治療に対してより低い応答性を示した。これらの結果は、マウス腫瘍モデルにおけるOX40アゴニスト治療薬の差次的抗腫瘍活性を示す。しかしながら、OX40アゴニスト治療は、いくつかの腫瘍モデルにおいて、恒久的な腫瘍退縮を含む抗腫瘍活性を導いた。

10

【0398】

実施例2：腫瘍における遺伝子発現に関連するベースライン免疫機能は、OX40アゴニスト治療薬の差次的抗腫瘍活性について予測的であり得る。

OX40アゴニスト治療薬が様々な腫瘍モデルにおける差次的発現をもたらすという所見に基づき、90超の免疫関連遺伝子の発現を試験し、OX40アゴニスト治療薬に対してより高い応答性であると発見された腫瘍モデルにおける遺伝子発現と、OX40アゴニスト治療薬に対してより低い応答性であると発見された腫瘍モデルにおける遺伝子発現とを比較した。上述のように、これらの試料は、腫瘍が閾値の大きさに達した際に、OX40アゴニストによるいかなる治療も施すより前に単離されていた。

20

【0399】

図5に示されるように、特定の免疫活性の及びTh1マーカーのより高い発現は、EMT6及びCT26腫瘍におけるより良い応答性と関連付けられ得る。例えば、CD8、IFNg、GZMB、PRF1、及びPDCA1のより高い発現は、抗OX40治療薬へのより良い応答性と関連付けられ得る。加えて、CXCL9、PTPRC、IL7R、KLK1、及びCXCL1のより高い発現もまた、抗OX40治療薬へのより良い応答性と関連付けられ得る。

30

【0400】

対照的に、CCL2、GATA3、IL13、VTCN1、及びCSF2のより高い発現は、抗OX40治療薬への乏しい応答性と関連付けられ得るが、これらの遺伝子のより低い発現は、抗OX40治療薬へのより良い応答性と関連付けられ得る。応答性及び非応答性腫瘍型において差次的に発現した遺伝子は、以下の表7に列挙される。表7に示されるように、より高レベルで発現したときにより良い応答性と相関することが発見された遺伝子を陽性予測因子として分類し、より高レベルで発現したときに乏しい応答性と相関することが発見された遺伝子を陰性予測因子として分類した。これらの陰性予測因子は、腫瘍においてより低レベルで発現したときにより良い応答性と相関し得る。

表 7. 予測性バイオマーカー評価のための差次的発現遺伝子

遺伝子	予測因子
C S F 2	陰性
C C L 2 2	陰性
G A T A 3	陰性
C D 8 a	陽性
C D 8 b	陽性
H 2 - d	陽性
C T L A 4	陽性
C D 6 4	陽性
C X C L 9	陽性
I F N g	陽性
I D O 1	陽性
G Z M A	陽性
G Z M B	陽性
P R F 1	陽性
P D C A 1	陽性
K L R K 1	陽性
P T P R C	陽性
C X C L 1	陽性
I T G A M	陽性
I L 7 R	陽性
I L 1 3	陰性
E P C A M	陰性
V T C N 1	陰性

10

20

30

【 0 4 0 1 】

要約すると、これらの結果は、特定の遺伝子の発現レベルは、O X 4 0 アゴニスト治療薬に対する応答性と関連付けられ得ることを示す。

【 0 4 0 2 】

実施例 3 : O X 4 0 アゴニスト治療薬は、異なる腫瘍モデルにおいて免疫調節を誘発する。

遺伝子発現に加えて、様々な腫瘍モデルにおける O X 4 0 アゴニスト治療薬に対する免疫調節の他のパラメータを次いで試験した。

【 0 4 0 3 】

図 6 A 及び 6 B は、E M T 6 腫瘍モデル中の末梢血細胞上での抗 O X 4 0 治療薬の用量依存的効果を示す。マウス抗マウス O X 4 0 m A b を使用した抗 O X 4 0 治療は、末梢 T r e g 細胞の用量依存的減少（図 6 A）、及び末梢 C D 8 T 細胞増殖の用量依存的増加（図 6 B）を導いた。

40

【 0 4 0 4 】

腫瘍内の T 細胞亜集団もまた分析した。抗 O X 4 0 治療は、抗 O X 4 0 治療薬へのより良い応答性を示した E M T 6 乳がん腫瘍モデル中の T r e g 細胞の低減をもたらした（図 7 A）。重要なことには、抗 O X 4 0 治療薬は、E M T 6 モデルにおける C D 8 腫瘍浸潤の持続的な増加を誘発した（図 7 B）。抗 O X 4 0 治療薬に対してより低い応答性であった J C 乳がんモデルにおいても、抗 O X 4 0 抗体は、J C 腫瘍中の T r e g 細胞の低減を

50

もたらした（図 8 A）。しかしながら、J C 腫瘍中の C D 8 T 細胞は、E M T 6 細胞におけるよりも少ない増加を示した（図 8 B）。

【0405】

免疫活性の特定のマーカーの遺伝子発現も、これらの腫瘍モデルにおいて試験した。図 9 A～9 D に示されるように、いくつかの遺伝子マーカーの発現は、両方の腫瘍モデルにおいて薬力学的（P D）活性と関連付けられ、J C モデルと比較して、E M T 6 モデルにおいてわずかに増加した活性が示された。これらの遺伝子マーカーには、I F N g（図 9 A）、グランザイム A（図 9 B）、パーフォリン（図 9 C）、及び T N F a（図 9 D）が含まれる。表 8 は、これらの実験で特定された P D 活性のためのマーカーを列挙する。

表 8. P D 活性のためのマーカー

ARG 1	I C A M 1
C C L 2	I D O 1
C C L 2 2	I F N g
C C L 5	I L 1 0
C C R 5	I L 1 2 A (T D O 2)
C D 2 2 6	I L 1 3
C D 2 7	I L 2
C D 2 7 4	I L 7 R
C D 2 8	I T G A M
C D 3 E	K L R K 1
C D 4 0	L A G 3
C D 8 A	M A P 4 K 1
C D 8 b	M S 4 A 1
C X C L 1 0	P D C D 1
C X C L 9	P D C D 1 L G 2
E O M E S	P R F 1
F a s L	P T P R C
F c g r 1 / C D 6 4	T N F
F O X P 3	T N F R S F 1 4
G Z M A	T N F R S F 9
G Z M B	T N F S F 4
H A V C R 2	

【0406】

これらの結果は、免疫活性に関連する遺伝子は、E M T 6 及び J C 腫瘍の両方において抗 O X 4 0 によって誘発されるが、この発現の増加は、J C 腫瘍において抗腫瘍活性に必要とされる閾値に達しない場合があることを示唆する。重要なことには、これらの結果は、応答性及び非応答性腫瘍の両方において P D 活性のためのマーカーとして使用され得る遺伝子を特定する。

【0407】

抗原提示、共刺激、及び I F N g 応答に関連する他の遺伝子は、E M T 6 腫瘍において差次的に上方制御された（図 10 A～10 D）。これらの遺伝子マーカーには、H 2 - a a（図 10 A）、C D 8 6（図 10 B）、I C O S（図 10 C）、及び C X C R 3（図 10 D）が含まれる。表 9 は、これらの実験で特定された、O X 4 0 アゴニスト治療薬に対する応答性のためのマーカーを列挙する。

表 9. 応答性のためのマーカー

B T L A	F c g r 2 b / C D 3 2
C D 4	F c g r 3 / C D 1 6
C D 6 9	H 2 - a a
C D 8 0	H 2 - d
C D 8 3	H 2 - k
C D 8 6	I C O S
C S F 2	I L 1 0
C T L A 4	P D C A 1
C X C R 3	T N F R S F 1 8

10

【 0 4 0 8 】

これらの結果は、J C 腫瘍と比較した、E M T 6 腫瘍における抗 O X 4 0 (マウス抗マウス O X 4 0 m A b) による増強した P D 調節は、より良い抗腫瘍応答と関連付けられ得る。さらに、これらの結果は、O X 4 0 アゴニスト治療薬に対する応答性のためのマーカーとして使用することができる遺伝子を特定する。

【 0 4 0 9 】

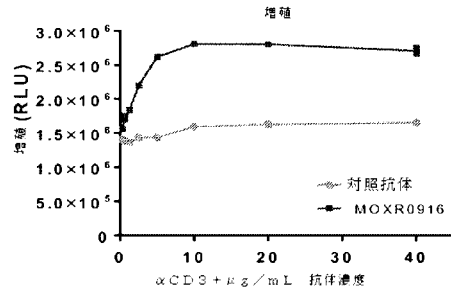
要約すると、これらの結果は、O X 4 0 アゴニストは、有効な T 細胞活性を誘発し、前臨床システムにおいて抗腫瘍免疫及び有効性を促進することを示す。加えて、これらの研究において特定されたバイオマーカーは、作用機構を確認すること、用量設定を知らせること、及び臨床試験における患者ならびに指標の選択を導くことに利用され得る。

20

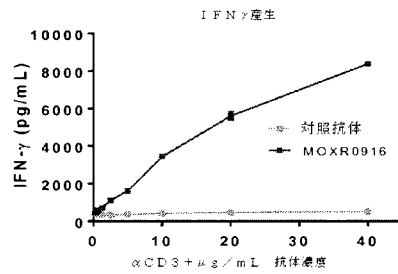
【 0 4 1 0 】

本明細書において引用される全ての特許、特許出願、文書、及び論文は、参照によりそれら全体が本明細書に組み込まれる。

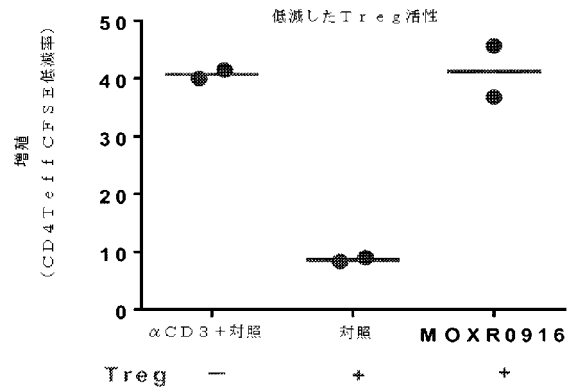
【図 1 A】



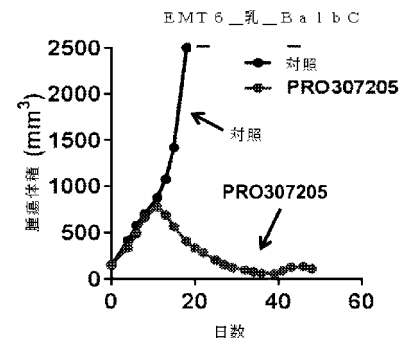
【図 1 B】



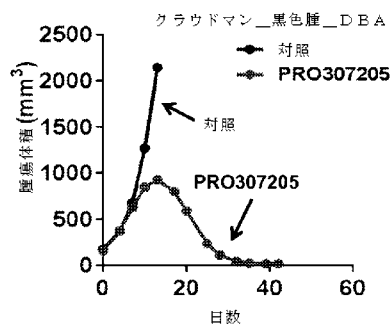
【図 2】



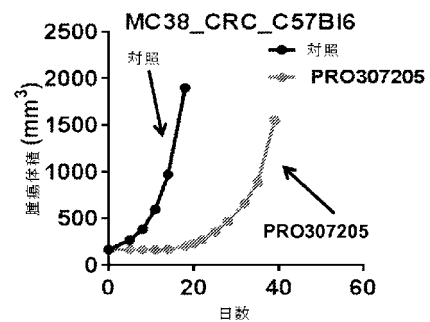
【図 3 A】



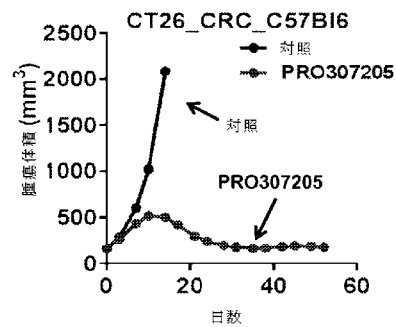
【図 3 B】



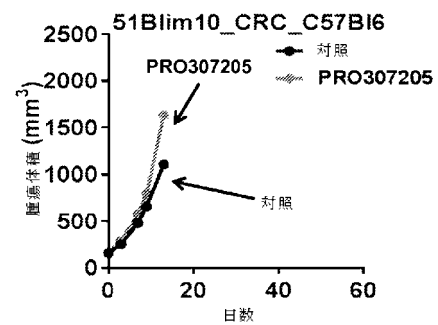
【図 4 A】



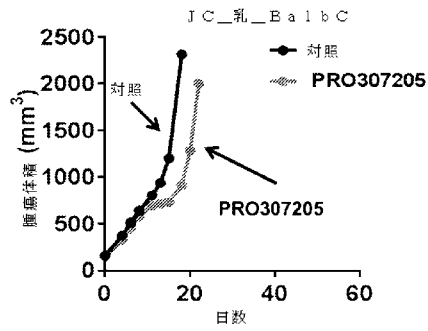
【図 3 C】



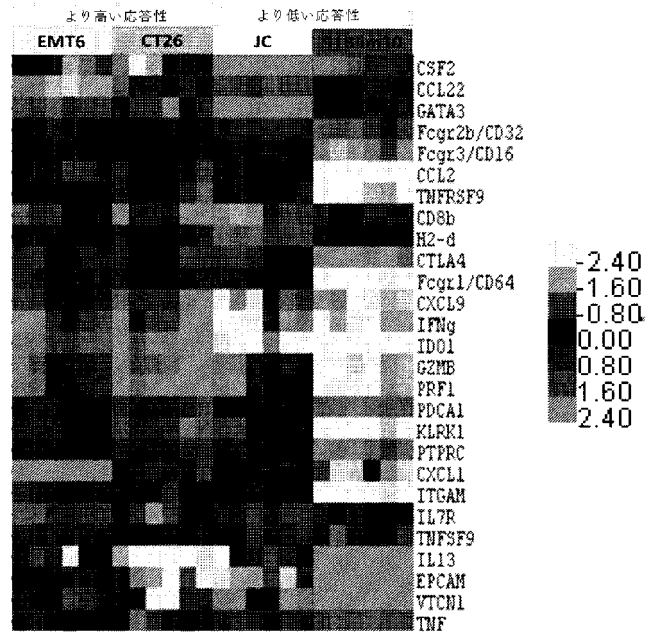
【図 4 B】



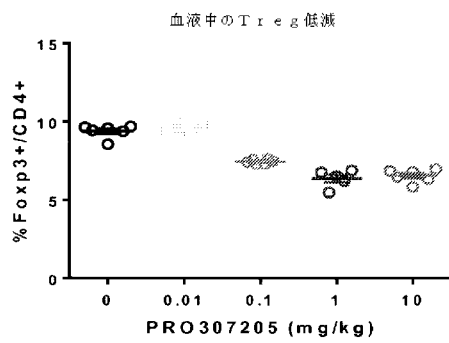
【図 4 C】



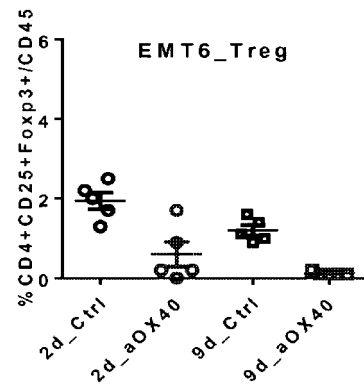
【図 5】



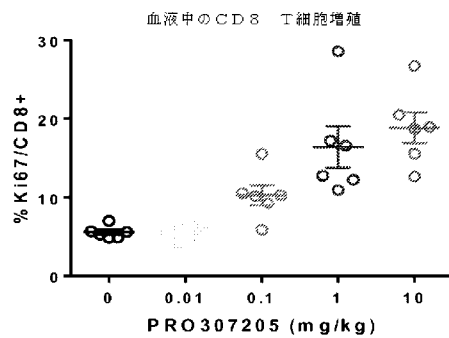
【図 6 A】



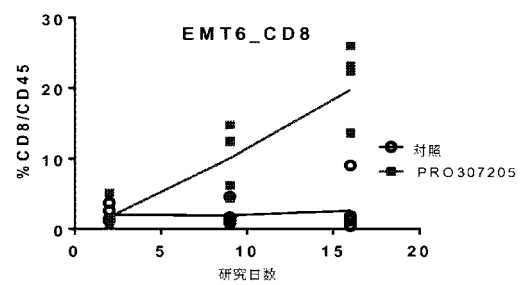
【図 7 A】



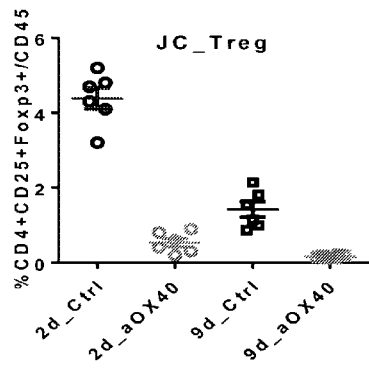
【図 6 B】



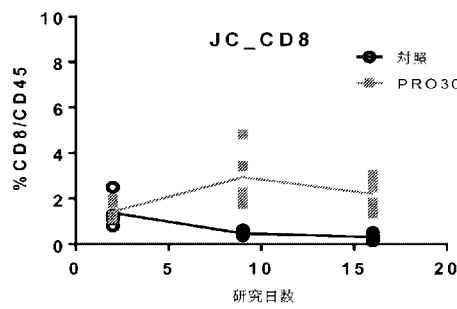
【図 7 B】



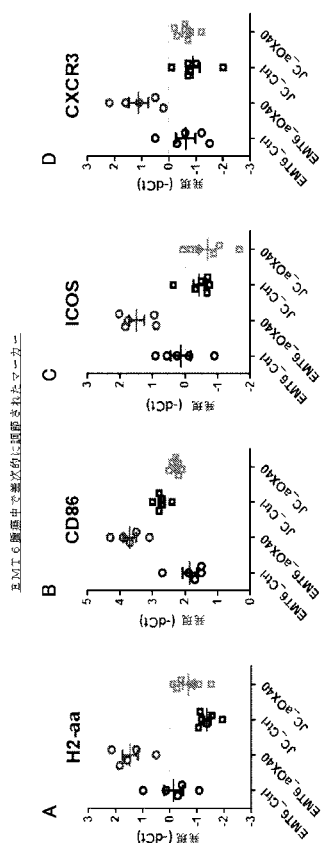
【図 8 A】



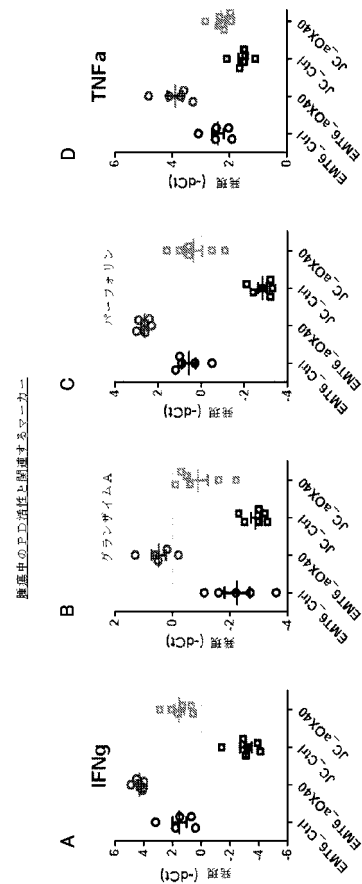
【図 8 B】



【図 10】



【図 9】



【配列表】

2017536842000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/058677

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12Q1/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EP0-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	WO 2015/095423 A2 (GENENTECH INC [US]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]) 25 June 2015 (2015-06-25) claims 1,28-36,38,85 paragraphs [0034] - [0035], [0155], [0353], [0393] - [0394], [0436] - [0445], [0465] - [0479] ----- -/--	1-37
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
29 January 2016		05/02/2016
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Bruma, Anja

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/058677

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	MAHRUKH HUSENI ET AL: "Anti-tumor efficacy and biomarker evaluation of agonistic anti-OX40 antibodies in preclinical models", JOURNAL FOR IMMUNOTHERAPY OF CANCER, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 2, no. Suppl 3, 6 November 2014 (2014-11-06), page P253, XP021202522, ISSN: 2051-1426, DOI: 10.1186/2051-1426-2-S3-P253 the whole document	1-37
Y	----- WO 2013/119202 A1 (PROVIDENCE HEALTH & SERVICES OREGON [US]; CURTI BRENDAN [US]; KOVACSOV) 15 August 2013 (2013-08-15) claims 1-19, 38-60 paragraphs [0008] - [0033], [0077] - [0120] example 4	1-37
Y	----- WO 2014/009535 A2 (INST NAT SANTE RECH MED [FR]; UNIV PARIS DESCARTES [FR]; ASSIST PUBL H) 16 January 2014 (2014-01-16) claims 12-22	1-37
A	----- GARRISON K ET AL: "The small molecule TGF-[beta] signaling inhibitor SM16 synergizes with agonistic OX40 antibody to suppress established mammary tumors and reduce spontaneous metastasis", CANCER IMMUNOLOGY, IMMUNOTHERAPY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 61, no. 4, 1 April 2012 (2012-04-01), pages 511-521, XP002752658, ISSN: 1432-0851, DOI: 10.1007/S00262-011-1119-Y [retrieved on 2011-10-05] the whole document	1-37
A	----- WEINBERG A D ET AL: "Science gone translational: the OX40 agonist story", IMMUNOLOGICAL REVIEWS, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING, INC, US, vol. 244, no. 1, 1 November 2011 (2011-11-01), pages 218-231, XP002739167, ISSN: 0105-2896, DOI: 10.1111/J.1600-065X.2011.01069.X [retrieved on 2011-10-21] the whole document	1-37

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2015/058677

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2015095423 A2	25-06-2015	US 2015190506 A1 WO 2015095423 A2	09-07-2015 25-06-2015
WO 2013119202 A1	15-08-2013	AU 2012369202 A1 CA 2863818 A1 EP 2812022 A1 US 2015098942 A1 WO 2013119202 A1	25-09-2014 15-08-2013 17-12-2014 09-04-2015 15-08-2013
WO 2014009535 A2	16-01-2014	EP 2872646 A2 JP 2015528698 A US 2015203919 A1 WO 2014009535 A2	20-05-2015 01-10-2015 23-07-2015 16-01-2014

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)		G 0 1 N 33/48		P
A 6 1 K 45/00 (2006.01)		A 6 1 P 35/00		
A 6 1 P 43/00 (2006.01)		A 6 1 K 45/00		
A 6 1 K 39/395 (2006.01)		A 6 1 P 43/00	1 1 1	
C 1 2 N 15/02 (2006.01)		A 6 1 K 39/395		E
C 1 2 N 15/09 (2006.01)		A 6 1 K 39/395		T
		C 1 2 N 15/00		C
		C 1 2 N 15/00		F

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

F ターム(参考) 2G045 AA13 AA16 AA24 AA26 AA29 BA13 BA14 BB20 BB24 CA11
 CA17 CA18 CA19 CA23 CA24 CA25 CA26 CB01 CB02 CB03
 CB07 CB08 CB11 CB12 CB14 CB17 DA14 DA20 DA36 FA16
 FA29 FA37 FB01 FB02 FB03 FB08 FB12 FB13 GC10 GC15
 JA01
 4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ53 QR36 QR40 QR48 QR62 QR72 QS25
 QS34 QX02
 4C084 AA17 MA55 MA59 MA66 NA20 ZB262 ZC422
 4C085 AA13 AA14 BB11 BB36 BB42 CC21 EE01 GG01 GG02 GG03
 GG04 GG06
 4H045 AA11 AA30 CA40 DA76 EA20 FA74