



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202426503 A

(43) 公開日：中華民國 113 (2024) 年 07 月 01 日

(21) 申請案號：112139704

(22) 申請日：中華民國 112 (2023) 年 10 月 18 日

(51) Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

C07K16/46 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2022/10/19 日本

2022-167362

(71) 申請人：日商安斯泰來製藥股份有限公司 (日本) ASTELLAS PHARMA INC. (JP)
日本(72) 發明人：佐藤雅人 SATO, MASAHIRO (JP) ; 廣內惠多 HIROUCHI, KEITA (JP) ; 菊地綾
KIKUCHI, AYA (JP)

(74) 代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：27 項 圖式數：2 共 88 頁

(54) 名稱

癌症治療中與 PD-1 訊息抑制劑組合之抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體的用途

(57) 摘要

本發明的課題在於提供用於對象的癌症治療而與 PD-1 訊息抑制劑組合而使用之抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體，或者包含該雙特異性抗體的醫藥組成物，或提供包含組合抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑而投予至對象之癌症的治療方法。

在表現 CLDN4 癌細胞及 T 細胞的共培養條件下，抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑的併用相較於各自的單獨投予，顯示經由 T 細胞的干擾素- γ 產生促進作用及細胞毒性作用，在表現 CLDN4 癌細胞移植小鼠中顯示顯著的抗腫瘤作用。由此結果可知，抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑的組合對於表現 CLDN4 的癌症的治療是有用的。

【發明摘要】

【中文發明名稱】

癌症治療中與 P D - 1 訊息抑制劑組合之抗 C L D N
4 - 抗 C D 1 3 7 雙特異性抗體的用途

【中文】

本發明的課題在於提供用於對象的癌症治療而與 PD-1 訊息抑制劑組合而使用之抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體，或者包含該雙特異性抗體的醫藥組成物，或提供包含組合抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑而投予至對象之癌症的治療方法。

在表現 CLDN4 癌細胞及 T 細胞的共培養條件下，抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑的併用相較於各自的單獨投予，顯示經由 T 細胞的干擾素- γ 產生促進作用及細胞毒性作用，在表現 CLDN4 癌細胞移植小鼠中顯示顯著的抗腫瘤作用。由此結果可知，抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑的組合對於表現 CLDN4 的癌症的治療是有用的。

【指定代表圖】無

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

癌症治療中與PD-1訊息抑制劑組合之抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的用途

【技術領域】

【0001】本發明是有關於癌症治療中與PD-1訊息抑制劑組合之抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的用途。

【先前技術】

【0002】Claudin-4(CLDN4)是屬於密連蛋白家族之4次穿膜蛋白。表現於上皮細胞、內皮細胞，作為構成緊密型連結的主要分子發揮重要功能。CLDN4也在大腸癌、膀胱癌、卵巢癌等癌組織確認到高表現，暗示抗CLDN4抗體能夠應用於癌症的治療或診斷的可能性(專利文獻1、非專利文獻1)。進而，在動物模型中，顯示藉由抗CLDN4抗體與抗上皮生長因子受體(Epidermal growth factor receptor, EGFR)抗體的併用之抗腫瘤效果(非專利文獻2)。

【0003】表面抗原分化簇137(Cluster of Differentiation 137, CD137, 別名4-1BB)是屬於腫瘤壞死因子受體超家族(Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily, TNFRSF)之分子，已有報告指出其表現於T細胞、B細胞、自然殺手(NK)細胞、樹狀細胞、嗜酸性球、肥大細胞等的免疫細胞表面。特別是，已知T細胞上的CD137與抗原呈現細胞

上的CD137配體結合，作為共刺激分子，參與T細胞的活性化及生存(非專利文獻3)。抗CD137促效劑抗體顯示在動物模型中透過腫瘤微環境內的免疫細胞的活性化之抗腫瘤效果(非專利文獻4)。抗CD137促效劑抗體之優瑞路單抗(Urelumab)在臨床試驗顯示治療效果，但是也有報告其引起肝臟疾病之副作用(非專利文獻5)。

【0004】作為能夠以低抗體濃度獲得癌細胞選擇性的細胞毒性活性之劃時代的方法，已有報告各種的抗體形式的雙特異性T細胞召集抗體(bispecific T-cell-recruiting antibodies)。雙特異性T細胞召集抗體是包含針對表現於癌細胞表面之腫瘤相關抗原(Tumor-Associated Antigens；TAA)之抗體，及結合於T細胞之抗體的雙特異性抗體，正在進行研究該等抗體針對T細胞媒介免疫療法的效果(非專利文獻6)。作為結合於T細胞之抗體的抗CD3抗體被經常使用，現在針對各種TAA之雙特異性T細胞召集抗體的研究開發也正在進行中。

【0005】進而，近年來，對於CD137及TAA之雙特異性T細胞召集抗體的研究也積極地進行中。辨認TAA之磷脂醯肌醇蛋白聚糖-3(Glypican 3，GPC3)、人類上皮生長因子受體 2(Human Epidermal Growth Factor Receptor Type 2，HER2)、程序性細胞凋亡配體 1(Programmed Cell Death-Ligand 1，PD-L1)、纖維母細胞激活蛋白(Fibroblast Activation Protein，FAP)之抗GPC3-抗CD137雙特異性抗體、抗HER2-抗CD137雙特異性抗體、抗PD-L1-抗CD137

雙特異性抗體、抗FAP-抗CD137雙特異性抗體等的研究正在進行中(專利文獻2及3、非專利文獻7~9)。

【0006】程序性細胞凋亡蛋白1(Programmed cell death-1, PD-1; 也稱為PDCD1或CD279)是屬於免疫球蛋白超家族之50~55kDa的I型穿膜蛋白(非專利文獻10)。PD-1伴隨著T細胞中的持續活性化而被誘導表現,藉由結合於配體之程序性死亡配體1(Programmed death-ligand 1, PD-L1; 也稱為PDCD1LG1、B7-H1或CD274)或程序性死亡配體2(Programmed death-ligand 2, PD-L2; 也稱為PDCD1LG2、B7-DC或CD273),抑制性地調控T細胞的活性化(非專利文獻11)。一般而言,此種T細胞活性化調控機制被稱為免疫檢查點,已知是作為用於不引起過度免疫反應的負迴饋機制的一種。

【0007】在癌症發生初期,T細胞等的免疫細胞經由免疫監控機制藉由抗腫瘤免疫反應而排除癌。另一方面,癌藉由癌微環境中直接地或間接地抑制免疫細胞而獲得免疫逃避機制。作為直接的活性化T細胞抑制機制,已知PD-1/PD-L1或PD-L2(以下「PD-1訊息」)路徑、CTLA-4/CD80或CD86路徑等免疫檢查點機制。已確認到癌的腫瘤微環境內,在T細胞的PD-1的表現及在腫瘤的PD-L1的表現(非專利文獻12),認為經由此PD-1訊息的活性化,癌顯示免疫逃避。已有報導在複數的小鼠荷癌模型中,經由PD-1訊息的抑制,及經由解除免疫逃避機制而帶來抗腫瘤活性(非專利文獻13~15)。進而,作為PD-1訊息抑制劑,正大

力進行開發納武單抗、帕博利珠單抗等抗PD-1抗體等的PD-1訊息抑制劑，在黑色素瘤、肺癌、淋巴瘤等取得重大成果。再者，作為PD-1訊息抑制劑，除了抗體之外，也實施著核酸醫藥、小分子藥等的研究(非專利文獻16)。

【0008】 為了提高在癌症患者的治療有效性，全力地進行著複數的癌症免疫藥物的併用療法、癌症免疫藥物與現有的抗癌劑的併用試驗試驗(非專利文獻17及18)。例如，實施抗PD-1抗體與其他的免疫檢查點抑制抗體、抗癌劑、分子標靶藥、放射線治療、癌症疫苗、腫瘤溶解性病毒的併用試驗。

然而，到目前為止，尚未有報導關於經由抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑的併用之癌症的治療方法。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0009】

[專利文獻1]國際公開第2008/114733號

[專利文獻2]國際公開第2015/156268號

[專利文獻3]國際公開第2016/177802號

[非專利文獻]

【0010】

[非專利文獻1]Cancer Science, 2009:100(9):p.1623-1630

[非專利文獻2]Oncotarget, 2018:9(100):p.37367-37378

[非專利文獻 3]Cancer Science, 2020:111(5):p.1461-1467

[非專利文獻 4]Cancer Immunology Immunotherapy, 2012: 61 (5):p.1721-1733

[非專利文獻 5]Clinical Cancer Research, 2017:23 (8):p.1929- 1936

[非專利文獻 6]MAbs, 2017:9(2):p.182-212

[非專利文獻 7]Clinical Cancer Research, 2019:25 (19): p.5878 -5889

[非專利文獻 8]Clinical Cancer Research, 2020:26(15): p.4154 -4167

[非專利文獻 9]Journal for Immunotherapy of Cancer,2020: 8(2):e000238

[非專利文獻 10]International Immunology, 1996: Vol.8: p.765- 772

[非專利文獻 11]Annual Review of Immunology, 2008: Vol.26: p.677-704

[非專利文獻 12]Nature Medicine, 2002:8:p.793-800

[非專利文獻 13]Scientific Reports, 2021:11:p.21087-21099

[非專利文獻 14]Nature Communications, 2017: 8: p.14572- 14582

[非專利文獻 15]Journal for Immunotherapy of Cancer, 2019: 7:37:p.1-16

[非專利文獻16]Molecules, 2019:24:p.2071-2100

[非專利文獻17]Cancer Discovery, 2021:11:p.1368-1397

[非專利文獻18]Molecular Medicine Reports, 2021: 23:
p.362- 377

【發明內容】

[發明欲解決之課題]

【0011】本發明的課題在於提供一種用於對象的癌症治療而與PD-1訊息抑制劑組合而使用的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體或者包含該雙特異性抗體的醫藥組成物，或提供一種包含將抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑投予至對象之癌症的治療方法。

[用以解決課題之手段]

【0012】本發明者們，以開發使用於表現CLDN4癌症的治療之抗體或醫藥組成物為目的，基於周知的抗CLDN4抗體之KM3900抗體及抗CD137抗體的序列，製作抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體(實施例1)。獲得的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與抗PD-1抗體或抗PD-L1抗體的併用，相較於抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體、抗PD-1抗體或抗PD-L1抗體單獨的情況時，促進在體外(in vitro)的T細胞的干擾素 γ 產生(實施例2及3)。進而，在表現人類CLDN4小鼠癌細胞之荷癌小鼠中，併用抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與抗PD-1抗體，相較於抗CLDN4-抗

CD137雙特異性抗體或抗PD-1抗體單獨投予的情況，顯示顯著地抗腫瘤效果(實施例4)。由此結果可知，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑的組合對於表現CLDN4癌症的治療是有用的。

【0013】亦即，本發明是關於下述[1]~[84]，但並非限定於此。

[1] 一種醫藥組成物，其為包含抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，用於治療對象的癌症之醫藥組成物，該雙特異性抗體包含抗CLDN4抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，以及抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

[2] 如[1]所記載的醫藥組成物，抗CLDN4抗體的重鏈可變區包含由序列編號2的胺基酸編號31至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號50至66的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號99至112的胺基酸序列所形成的CDR3，抗CLDN4抗體的輕鏈可變區包含由序列編號4的胺基酸編號24至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號4的胺基酸編號51至57的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號4的胺基酸編號90至98的胺基酸序列所形成的CDR3。

[3] 如[1]或[2]所記載的醫藥組成物，抗CLDN4抗體的重鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號1至123的胺基酸序列所形成，抗CLDN4抗體的輕鏈可變區由序列編號4的胺基酸編號1至109的胺基酸序列所形成。

[4] 如 [1]~[3]的任一項所記載的醫藥組成物，抗 CLDN4-抗 CD137雙特異性抗體包含由含有抗 CLDN4抗體的重鏈可變區的重鏈及含有抗 CLDN4抗體的輕鏈可變區的輕鏈所形成的 IgG抗體(抗 CLDN4 IgG抗體)。

[5] 如 [4]所記載的醫藥組成物，於抗 CLDN4 IgG抗體的 Fc區域包含 LALA突變(L234A及 L235A)或者 P331G突變(在此，前述突變位置為人類 Ig γ 1恆定區中依照 EU索引(EU index)的胺基酸位置)的任一者或兩者。

[6] 如 [1]~[5]的任一項所記載的醫藥組成物，抗 CD137抗體的重鏈可變區包含由序列編號 2的胺基酸編號 625至 629的胺基酸序列所形成的 CDR1、由序列編號 2的胺基酸編號 644至 659的胺基酸序列所形成的 CDR2及由序列編號 2的胺基酸編號 692至 701的胺基酸序列所形成的 CDR3，抗 CD137抗體的輕鏈可變區包含由序列編號 2的胺基酸編號 486至 498的胺基酸序列所形成的 CDR1、由序列編號 2的胺基酸編號 514至 520的胺基酸序列所形成的 CDR2及由序列編號 2的胺基酸編號 553至 563的胺基酸序列所形成的 CDR3。

[7] 如 [1]~[6]的任一項所記載的醫藥組成物，抗 CD137抗體的重鏈可變區由序列編號 2的胺基酸編號 595至 712的胺基酸序列所形成，抗 CD137抗體的輕鏈可變區由序列編號 2的胺基酸編號 464至 573的胺基酸序列所形成。

[8] 如 [6]或 [7]所記載的醫藥組成物，抗 CLDN4-抗 CD137雙特異性抗體包含含有抗 CD137抗體的重鏈可變區

及輕鏈可變區的抗CD137單鏈可變區片段(抗CD137scFv)。

[9] 如[8]所記載的醫藥組成物，抗CD137scFv由序列編號2的胺基酸編號464至712的胺基酸序列所形成。

[10] 如[8]或[9]所記載的醫藥組成物，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含抗CLDN4 IgG抗體及抗CD137scFv，於抗CLDN4 IgG抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結抗CD137scFv的胺基末端。

[11] 一種醫藥組成物，其為包含抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，用於治療對象的癌症之醫藥組成物，該雙特異性抗體包含：抗CLDN4抗體的重鏈，其含有由序列編號2的胺基酸編號1至123的胺基酸序列所形成的重鏈可變區，及抗CLDN4抗體的輕鏈，其含有由序列編號4的胺基酸編號1至109的胺基酸序列所形成的輕鏈可變區，以及抗CD137scFv，其含有由序列編號2的胺基酸編號464至573的胺基酸序列所形成的抗CD137抗體的輕鏈可變區及由序列編號2的胺基酸編號595至712的胺基酸序列所形成的抗CD137抗體的重鏈可變區，於該抗CLDN4抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗CD137scFv的胺基末端，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

[12] 一種醫藥組成物，其為包含抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，用於治療對象的癌症之醫藥組成物，該雙特異性抗體包含：抗CLDN4抗體的重鏈，其由序列編號2的胺基酸編號1至453的胺基酸序列所形成，及抗CLDN4抗

體的輕鏈，其由序列編號4的胺基酸編號1至215的胺基酸序列所形成，以及抗CD137scFv，其由序列編號2的胺基酸編號464至712的胺基酸序列所形成，於該抗CLDN4抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗CD137scFv的胺基末端，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

[13] 如[10]~[12]的任一項所記載的醫藥組成物，連接子為GS連接子。

[14] 一種醫藥組成物，其為包含抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，用於治療對象的癌症之醫藥組成物，該雙特異性抗體包含：含有由序列編號2的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的重鏈及抗CD137scFv之多肽，以及由序列編號4的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的輕鏈，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

[15] 如[1]~[14]的任一項所記載的醫藥組成物，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體為經轉譯後修飾者。

[16] 如[1]~[15]的任一項所記載的醫藥組成物，其與PD-1訊息抑制劑同時地、連續地或逐次地組合而使用。

[17] 如[1]~[16]的任一項所記載的醫藥組成物，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑為(i)包含於同一個醫藥組成物而同時地投予，或(ii)包含於各別的醫藥組成物，同時地、連續地或者逐次地組合而使用。

[18] 如[1]~[17]的任一項所記載的醫藥組成物，癌症選自由大腸癌、膀胱癌及肺癌所成群組。

[19] 如[1]~[18]的任一項所記載的醫藥組成物，PD-1

訊息抑制劑為結合於選自由PD-1、PD-L1及PD-L2所成群組之1以上的蛋白質之抗體或此等的抗原結合片段。

[20] 如[1]~[19]的任一項所記載的醫藥組成物，PD-1訊息抑制劑為選自由納武單抗(Nivolumab)、帕博利珠單抗(Pembrolizumab)、匹地利珠單抗(Pidilizumab)、斯帕他珠單抗(Spartalizumab)及西米普利單抗(Cemiplimab)所成群組之抗PD-1抗體。

[21] 如[1]~[19]的任一項所記載的醫藥組成物，PD-1訊息抑制劑為選自由阿替利珠單抗(Atezolizumab)、度伐利尤單抗(Durvalumab)及阿維魯單抗(Avelumab)所成群組之抗PD-L1抗體。

[22] 一種雙特異性抗體，其為用於治療對象的癌症之抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，該雙特異性抗體包含抗CLDN4抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，以及抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

[23] 如[22]所記載的雙特異性抗體，抗CLDN4抗體的重鏈可變區包含由序列編號2的胺基酸編號31至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號50至66的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號99至112的胺基酸序列所形成的CDR3，抗CLDN4抗體的輕鏈可變區包含由序列編號4的胺基酸編號24至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號4的胺基酸編號51至57的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號4的胺基酸編號90

至98的胺基酸序列所形成的CDR3。

[24] 如[22]或[23]所記載的雙特異性抗體，抗CLDN4抗體的重鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號1至123的胺基酸序列所形成，抗CLDN4抗體的輕鏈可變區由序列編號4的胺基酸編號1至109的胺基酸序列所形成。

[25] 如[22]~[24]的任一項所記載的雙特異性抗體，包含由含有抗CLDN4抗體的重鏈可變區之重鏈及含有抗CLDN4抗體的輕鏈可變區之輕鏈所形成的IgG抗體(抗CLDN4 IgG抗體)。

[26] 如[25]所記載的雙特異性抗體，於抗CLDN4 IgG抗體的Fc區域包含LALA突變(L234A及L235A)或者P331G突變(在此，前述突變位置為人類Ig γ 1恆定區中依照EU索引的胺基酸位置)的任一者或兩者。

[27] 如[22]~[26]的任一項所記載的雙特異性抗體，抗CD137抗體的重鏈可變區包含由序列編號2的胺基酸編號625至629的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號644至659的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號692至701的胺基酸序列所形成的CDR3，抗CD137抗體的輕鏈可變區包含由序列編號2的胺基酸編號486至498的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號514至520的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號553至563的胺基酸序列所形成的CDR3。

[28] 如[22]~[27]的任一項所記載的雙特異性抗體，

抗CD137抗體的重鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號595至712的胺基酸序列所形成，抗CD137抗體的輕鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號464至573的胺基酸序列所形成。

[29] 如[27]或[28]所記載的雙特異性抗體，包含含有抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區之抗CD137單鏈可變區片段(抗CD137scFv)。

[30] 如[29]所記載的雙特異性抗體，抗CD137scFv由序列編號2的胺基酸編號464至712的胺基酸序列所形成。

[31] 如[29]或[30]所記載的雙特異性抗體，包含抗CLDN4 IgG抗體及抗CD137scFv，於抗CLDN4 IgG抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結抗CD137scFv的胺基末端。

[32] 一種雙特異性抗體，其為用於治療對象的癌症之抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，該雙特異性抗體包含：抗CLDN4抗體的重鏈，其含有由序列編號2的胺基酸編號1至123的胺基酸序列所形成的重鏈可變區，及抗CLDN4抗體的輕鏈，其含有由序列編號4的胺基酸編號1至109的胺基酸序列所形成的輕鏈可變區，以及抗CD137scFv，其含有由序列編號2的胺基酸編號464至573的胺基酸序列所形成的抗CD137抗體的輕鏈可變區及由序列編號2的胺基酸編號595至712的胺基酸序列所形成的抗CD137抗體的重鏈可變區，於該抗CLDN4抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗CD137scFv的胺基末端，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

[33] 一種雙特異性抗體，其為用於治療對象的癌症之抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體，該雙特異性抗體包含：抗 CLDN4 抗體的重鏈，其由序列編號 2 的胺基酸編號 1 至 453 的胺基酸序列所形成，及抗 CLDN4 抗體的輕鏈，其由序列編號 4 的胺基酸編號 1 至 215 的胺基酸序列所形成，以及抗 CD137scFv，其由序列編號 2 的胺基酸編號 464 至 712 的胺基酸序列所形成，於該抗 CLDN4 抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗 CD137scFv 的胺基末端，與 PD-1 訊息抑制劑組合而使用。

[34] 如 [31]~[33] 的任一項所記載的雙特異性抗體，連接子為 GS 連接子。

[35] 一種雙特異性抗體，其為用於治療對象的癌症而使用之抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體，該雙特異性抗體包含：含有由序列編號 2 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的重鏈及抗 CD137scFv 之多肽，以及由序列編號 4 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的輕鏈，與 PD-1 訊息抑制劑組合而使用。

[36] 如 [22]~[35] 的任一項所記載的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體，抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體為經轉譯後修飾者。

[37] 如 [22]~[36] 的任一項所記載的雙特異性抗體，與 PD-1 訊息抑制劑同時地、連續地或逐次地組合而使用。

[38] 如 [22]~[37] 的任一項所記載的雙特異性抗體，抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑為 (i)

包含於同一個醫藥組成物而同時地投予，或(ii)為各別的醫藥組成物，同時地、連續地或者逐次地組合而使用。

[39] 如[22]~[38]的任一項所記載的雙特異性抗體，癌症為選自由大腸癌、膀胱癌及肺癌所成群組。

[40] 如[22]~[39]的任一項所記載的雙特異性抗體，PD-1訊息抑制劑為結合於選自由PD-1、PD-L1及PD-L2所成群組之1以上的蛋白質之抗體或此等的抗原結合片段。

[41] 如[22]~[40]的任一項所記載的雙特異性抗體，PD-1訊息抑制劑為選自由納武單抗、帕博利珠單抗、匹地利珠單抗、斯帕他珠單抗及西米普利單抗所成群組之抗PD-1抗體。

[42] 如[22]~[40]的任一項所記載的雙特異性抗體，PD-1訊息抑制劑為選自由阿替利珠單抗、度伐利尤單抗及阿維魯單抗所成群組之抗PD-L1抗體。

[43] 一種治療方法，其為包含將抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑組合而投予至對象之癌症的治療方法，該雙特異性抗體包含抗CLDN4抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，以及抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區。

[44] 如[43]所記載的治療方法，抗CLDN4抗體的重鏈可變區包含由序列編號2的胺基酸編號31至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號50至66的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號99至112的胺基酸序列所形成的CDR3，抗CLDN4抗體的輕鏈可

變區包含由序列編號4的胺基酸編號24至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號4的胺基酸編號51至57的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號4的胺基酸編號90至98的胺基酸序列所形成的CDR3。

[45] 如[43]或[44]所記載的治療方法，抗CLDN4抗體的重鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號1至123的胺基酸序列所形成，抗CLDN4抗體的輕鏈可變區由序列編號4的胺基酸編號1至109的胺基酸序列所形成。

[46] 如[43]~[45]的任一項所記載的治療方法，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含由含有抗CLDN4抗體的重鏈可變區之重鏈及含有抗CLDN4抗體的輕鏈可變區之輕鏈所形成的IgG抗體(抗CLDN4 IgG抗體)。

[47] 如[46]所記載的治療方法，抗CLDN4 IgG抗體的Fc區域包含LALA突變(L234A及L235A)或者P331G突變(在此，前述突變位置為人類Ig γ 1恆定區中依照EU索引的胺基酸位置)的任一者或兩者。

[48] 如[43]~[47]的任一項所記載的治療方法，抗CD137抗體的重鏈可變區包含由序列編號2的胺基酸編號625至629的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號644至659的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號692至701的胺基酸序列所形成的CDR3，抗CD137抗體的輕鏈可變區包含由序列編號2的胺基酸編號486至498的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號514至520的胺基酸序列所形成的CDR2

及由序列編號2的胺基酸編號553至563的胺基酸序列所形成的CDR3。

[49] 如[43]~[48]的任一項所記載的治療方法，抗CD137抗體的重鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號595至712的胺基酸序列所形成，抗CD137抗體的輕鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號464至573的胺基酸序列所形成。

[50] 如[48]或[49]所記載的治療方法，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含含有抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區之抗CD137單鏈可變區片段（抗CD137scFv）。

[51] 如[50]所記載的治療方法，抗CD137scFv由序列編號2的胺基酸編號464至712的胺基酸序列所形成。

[52] 如[50]或[51]所記載的治療方法，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含抗CLDN4 IgG抗體及抗CD137scFv，於抗CLDN4 IgG抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結抗CD137scFv的胺基末端。

[53] 一種治療方法，其為包含將抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑組合而投予至對象之癌症的治療方法，該雙特異性抗體包含：抗CLDN4抗體的重鏈，其含有由序列編號2的胺基酸編號1至123的胺基酸序列所形成的重鏈可變區，及抗CLDN4抗體的輕鏈，其含有由序列編號4的胺基酸編號1至109的胺基酸序列所形成的輕鏈可變區，以及抗CD137scFv，其含有由序列編號2的胺基酸編號464至573的胺基酸序列所形成的抗CD137抗體

的輕鏈可變區及由序列編號2的胺基酸編號595至712的胺基酸序列所形成的抗CD137抗體的重鏈可變區，於該抗CLDN4抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗CD137scFv的胺基末端。

[54] 一種治療方法，其為包含將抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑組合而投予至對象之癌症的治療方法，該雙特異性抗體包含：抗CLDN4抗體的重鏈，其由序列編號2的胺基酸編號1至453的胺基酸序列所形成，及抗CLDN4抗體的輕鏈，其由序列編號4的胺基酸編號1至215的胺基酸序列所形成，以及抗CD137scFv，其由序列編號2的胺基酸編號464至712的胺基酸序列所形成，於該抗CLDN4抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗CD137scFv的胺基末端。

[55] 如[52]~[54]的任一項所記載的治療方法，連接子為GS連接子。

[56] 一種治療方法，其為包含將抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑組合而投予至對象之癌症的治療方法，該雙特異性抗體包含：含有由序列編號2的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的重鏈及抗CD137scFv之多肽，以及由序列編號4的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的輕鏈。

[57] 如[43]~[56]的任一項所記載的治療方法，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體為經轉譯後修飾者。

[58] 如[43]~[57]的任一項所記載的治療方法，抗

CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑為同時地、連續地或逐次地組合而使用。

[59] 如 [43]~[58] 的任一項所記載的治療方法，抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑為 (i) 包含於同一個醫藥組成物而同時地投予，或 (ii) 各別的醫藥組成物，同時地、連續地或者逐次地組合而使用。

[60] 如 [43]~[58] 的任一項所記載的治療方法，癌症為選自由大腸癌、膀胱癌及肺癌所成群組。

[61] 如 [43]~[60] 的任一項所記載的治療方法，PD-1 訊息抑制劑為結合於選自由 PD-1、PD-L1 及 PD-L2 所成群組之 1 以上的蛋白質之抗體或此等的抗原結合片段。

[62] 如 [43]~[61] 的任一項所記載的治療方法，PD-1 訊息抑制劑為選自由納武單抗、帕博利珠單抗、匹地利珠單抗、斯帕他珠單抗及西米普利單抗所成群組之抗 PD-1 抗體。

[63] 如 [43]~[61] 的任一項所記載的治療方法，PD-1 訊息抑制劑為選自由阿替利珠單抗、度伐利尤單抗及阿維魯單抗所成群組之抗 PD-L1 抗體。

[64] 一種抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體的用途，其為用於製備用於治療對象的癌症而與 PD-1 訊息抑制劑組合而使用之醫藥組成物，該雙特異性抗體包含抗 CLDN4 抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，以及抗 CD137 抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區。

[65] 如 [64] 所記載的用途，抗 CLDN4 抗體的重鏈可變

區包含由序列編號2的胺基酸編號31至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號50至66的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號99至112的胺基酸序列所形成的CDR3，抗CLDN4抗體的輕鏈可變區包含由序列編號4的胺基酸編號24至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號4的胺基酸編號51至57的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號4的胺基酸編號90至98的胺基酸序列所形成的CDR3。

[66] 如[64]或[65]所記載的用途，抗CLDN4抗體的重鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號1至123的胺基酸序列所形成，抗CLDN4抗體的輕鏈可變區由序列編號4的胺基酸編號1至109的胺基酸序列所形成。

[67] 如[64]~[66]的任一項所記載的用途，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含由含有抗CLDN4抗體的重鏈可變區之重鏈及含有抗CLDN4抗體的輕鏈可變區之輕鏈所形成的IgG抗體(抗CLDN4 IgG抗體)。

[68] 如[67]所記載的用途，抗CLDN4 IgG抗體的Fc區域包含LALA突變(L234A及L235A)或者P331G突變(在此，前述突變位置為人類Ig γ 1恆定區中依照EU索引的胺基酸位置)的任一者或兩者。

[69] 如[64]~[68]的任一項所記載的用途，抗CD137抗體的重鏈可變區包含由序列編號2的胺基酸編號625至629的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號644至659的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺

基 酸 編 號 692 至 701 的 胺 基 酸 序 列 所 形 成 的 CDR3， 抗 CD137 抗 體 的 輕 鏈 可 變 區 包 含 由 序 列 編 號 2 的 胺 基 酸 編 號 486 至 498 的 胺 基 酸 序 列 所 形 成 的 CDR1、 由 序 列 編 號 2 的 胺 基 酸 編 號 514 至 520 的 胺 基 酸 序 列 所 形 成 的 CDR2 及 由 序 列 編 號 2 的 胺 基 酸 編 號 553 至 563 的 胺 基 酸 序 列 所 形 成 的 CDR3。

[70] 如 [64]~[69] 的 任 一 項 所 記 載 的 用 途， 抗 CD137 抗 體 的 重 鏈 可 變 區 由 序 列 編 號 2 的 胺 基 酸 編 號 595 至 712 的 胺 基 酸 序 列 所 形 成， 抗 CD137 抗 體 的 輕 鏈 可 變 區 由 序 列 編 號 2 的 胺 基 酸 編 號 464 至 573 的 胺 基 酸 序 列 所 形 成。

[71] 如 [69] 或 [70] 所 記 載 的 用 途， 抗 CLDN4-抗 CD137 雙 特 異 性 抗 體 包 含 含 有 抗 CD137 抗 體 的 重 鏈 可 變 區 及 輕 鏈 可 變 區 之 抗 CD137 單 鏈 可 變 區 片 段 (抗 CD137scFv)。

[72] 如 [71] 所 記 載 的 用 途， 抗 CD137scFv 由 序 列 編 號 2 的 胺 基 酸 編 號 464 至 712 的 胺 基 酸 序 列 所 形 成。

[73] 如 [71] 或 [72] 所 記 載 的 用 途， 抗 CLDN4-抗 CD137 雙 特 異 性 抗 體 包 含 抗 CLDN4 IgG 抗 體 及 抗 CD137scFv， 於 抗 CLDN4 IgG 抗 體 的 重 鏈 羧 基 末 端 透 過 連 接 子 連 結 抗 CD137scFv 的 胺 基 末 端。

[74] 一 種 抗 CLDN4-抗 CD137 雙 特 異 性 抗 體 的 用 途， 其 為 用 於 製 備 用 於 治 療 對 象 的 癌 症 而 與 PD-1 訊 息 抑 制 劑 組 合 而 使 用 之 醫 藥 組 成 物， 該 雙 特 異 性 抗 體 包 含： 抗 CLDN4 抗 體 的 重 鏈， 其 含 有 由 序 列 編 號 2 的 胺 基 酸 編 號 1 至 123 的 胺 基 酸 序 列 所 形 成 的 重 鏈 可 變 區， 及 抗 CLDN4 抗 體 的 輕

鏈，其含有由序列編號4的胺基酸編號1至109的胺基酸序列所形成的輕鏈可變區，以及抗CD137scFv，其含有由序列編號2的胺基酸編號464至573的胺基酸序列所形成的抗CD137抗體的輕鏈可變區及由序列編號2的胺基酸編號595至712的胺基酸序列所形成的抗CD137抗體的重鏈可變區，於該抗CLDN4抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗CD137scFv的胺基末端。

[75] 一種抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的用途，其為用於製造用於治療對象的癌症而與PD-1訊息抑制劑組合而使用之醫藥組成物，該雙特異性抗體包含：抗CLDN4抗體的重鏈，其由序列編號2的胺基酸編號1至453的胺基酸序列所形成，及抗CLDN4抗體的輕鏈，其由序列編號4的胺基酸編號1至215的胺基酸序列所形成，以及抗CD137scFv，其由序列編號2的胺基酸編號464至712的胺基酸序列所形成，於該抗CLDN4抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗CD137scFv的胺基末端。

[76] 如[73]~[75]的任一項所記載的用途，連接子為GS連接子。

[77] 一種抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的用途，其為用於製造用於治療對象的癌症而與PD-1訊息抑制劑組合而使用之醫藥組成物，該雙特異性抗體包含：含有由序列編號2的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的重鏈及抗CD137scFv之多肽，以及由序列編號4的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的輕鏈。

[78] 如 [64]~[77]的任一項所記載的用途，抗 CLDN4-抗 CD137雙特異性抗體為經轉譯後修飾者。

[79] 如 [64]~[78]的任一項所記載的用途，醫藥組成物與 PD-1訊息抑制劑為同時地、連續地或逐次地組合而使用。

[80] 如 [64]~[79]的任一項所記載的用途，抗 CLDN4-抗 CD137雙特異性抗體與 PD-1訊息抑制劑為 (i)包含於同一個醫藥組成物而同時地投予，或 (ii)各別的醫藥組成物，同時地、連續地或者逐次地組合而使用。

[81] 如 [64]~[80]的任一項所記載的用途，癌症為選自由大腸癌、膀胱癌及肺癌所成群組。

[82] 如 [64]~[81]的任一項所記載的用途，PD-1訊息抑制劑為結合於選自由 PD-1、PD-L1及 PD-L2所成群組之 1 以上的蛋白質之抗體或此等的抗原結合片段。

[83] 如 [64]~[82]的任一項所記載的用途，PD-1訊息抑制劑為選自由納武單抗、帕博利珠單抗、匹地利珠單抗、斯帕他珠單抗及西米普利單抗所成群組之抗 PD-1 抗體。

[84] 如 [64]~[82]的任一項所記載的用途，PD-1訊息抑制劑為選自由阿替利珠單抗、度伐利尤單抗及阿維魯單抗所成群組之抗 PD-L1 抗體。

[發明的效果]

【0014】 本發明的抗 CLDN4-抗 CD137雙特異性抗體

結合於在癌症中高表現的 CLDN4 與 T 細胞表面分子之 CD137 的雙方，藉由將癌細胞周邊的免疫細胞活性化，而增強對於癌細胞的毒殺作用。本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑的組合，相較於抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體或 PD-1 訊息抑制劑的單獨投予，具有顯著地抗腫瘤效果。因此，本發明提供癌症治療中與 PD-1 訊息抑制劑組合之抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體的用途。

【圖式簡單說明】

【0015】

[圖 1-1] 圖 1-1 顯示人類大細胞肺癌細胞株 LCLC-OKT3scFv 細胞及 Expanded panT 細胞的共培養系中，添加受試抗體所致之干擾素- γ 產生量。圖的縱軸顯示添加抗體 4 天後的干擾素- γ 產生量，橫軸顯示抗體濃度。符號顯示各抗體的各濃度的干擾素- γ 產生量的平均值。誤差槓顯示標準偏差。

[圖 1-2] 圖 1-2 顯示人類大細胞肺癌細胞株 LCLC-OKT3scFv 細胞及 Expanded panT 細胞的共培養系中，添加受試抗體所致之干擾素- γ 產生量。圖的縱軸顯示添加抗體 5 天後的干擾素- γ 產生量，橫軸顯示抗體濃度。符號顯示抗體的各濃度的干擾素- γ 產生量的平均值。誤差槓顯示標準偏差。

[圖 2] 圖 2 顯示於 B-h4-1BB 小鼠經荷癌的表現人類

CLDN4 B16-F10細胞的增殖抑制效果。圖2顯示抗體投予開始後的各天數之腫瘤體積的平均值(n=10)。誤差槓顯示腫瘤體積的標準誤差。圖的縱軸顯示腫瘤體積，橫軸顯示從抗體初次投予日之天數。顯著機率P值(p value)為經由非配對學生t檢定(unpaired Student's t test)，將併用群的腫瘤體積與受試抗體單劑投予群的腫瘤體積進行比較而求取。圖中的**顯示P值比顯著意義0.01更小。

【實施方式】

【0016】以下詳細地說明本發明。

【0017】本說明書的用語只要未在下述特別定義，是以該技術領域之發明所屬技術領域具有通常知識者一般使用的涵義而使用。

【0018】抗體(或免疫球蛋白)是指2條具有單一序列之重鏈及2條具有單一序列之輕鏈所形成的具有左右對稱的Y字型的結構之以4條鏈結構作為基本結構之糖蛋白質。抗體存在IgG、IgM、IgA、IgD及IgE的5個類型(class)。抗體分子的基本結構在各類型是共通的，分子量5萬~7萬的重鏈2條與2萬~3萬的輕鏈2條經由雙硫鍵及非共價鍵而結合，形成由分子量15萬~19萬的Y字型的4條鏈結構所形成的抗體分子。重鏈由包含通常約440個的胺基酸之多肽鏈所形成，各類型具有其特徵性的結構，對應於IgG、IgM、IgA、IgD、IgE，分別被稱為Ig γ 、Ig μ 、Ig α 、Ig δ 、Ig ϵ 。進而，IgG存在IgG1、IgG2、IgG3、IgG4的次類型

(subclass)，對應的重鏈分別被稱為 $Ig\gamma 1$ 、 $Ig\gamma 2$ 、 $Ig\gamma 3$ 、 $Ig\gamma 4$ 。輕鏈通常由包含約 220 個的胺基酸之多肽鏈所形成，已知有 λ 型及 κ 型 2 種，分別稱為 $Ig\lambda$ 、 $Ig\kappa$ 。前述 2 種的輕鏈能夠搭配任一類型的重鏈而成對。

【0019】抗體分子的鏈內雙硫鍵在重鏈存在 4 個 ($Ig\mu$ 、 $Ig\epsilon$ 為 5 個)，在輕鏈存在 2 個，胺基酸每 100~110 殘基形成 1 個環(loop)。此等的立體結構在各環之間類似，稱為結構單元或結構域。重鏈、輕鏈皆將位於胺基末端(本說明書中也稱為「N 末端」)的結構域稱為可變區，已知即使是從同種動物的同一類型(或次類型)所產生的抗體也具有各式各樣的胺基酸序列，參與抗體與抗原的結合特異性的結合。比可變區更下游的 C 末端側的結構域的胺基酸序列在各類型或次類型幾乎固定，稱為恆定區。重鏈從 N 末端朝向羧基末端(本說明書中也稱為「C 末端」)具有重鏈可變區(VH)及重鏈恆定區(CH)。CH 進一步從 N 末端側分為 CH1 結構域、CH2 結構域、CH3 結構域的 3 個結構域。輕鏈從 N 末端朝向 C 末端具有輕鏈可變區(VL)及輕鏈恆定區(CL)。

【0020】存在於 VH 及 VL 的 3 個的互補決定區(CDR)的胺基酸序列為變化非常地大，參與可變區的可變性。CDR 為在重鏈及輕鏈的 N 末端分別以 CDR1、CDR2、CDR3 的順序存在且為約 5~10 胺基酸殘基所形成的區域，形成抗原結合部位。另一方面，可變區的 CDR 以外的部分稱為框架區(FR)，由 FR1~4 所形成，胺基酸序列變化較少。

【0021】將抗體以蛋白質分解酵素之木瓜酶進行處理，則能獲得3個抗體片段。N末端側的2個片段稱為Fab(抗原結合片段、Fragment,antigen binding)區域。本說明書中，「Fab區域」是指重鏈的VH及CH1結構域及輕鏈(VL及CL)所形成的區域，在構成該Fab區域的先端部分的抗原結合部位與抗原結合。本說明書中，「重鏈片段」是指構成Fab區域的重鏈的VH及CH1結構域所形成的片段。再者，C末端側的片段稱為「Fc(可結晶化片段、Fragment,crystallizable)區域」。

【0022】本說明書中，「抗原」是以一般性使用的涵義而使用，尤其是用於表示能夠與抗體、抗原結合片段等的抗原結合蛋白質特異性地結合的分子或分子的一部分的用語。抗原可為蛋白質、核酸等的分子。1個抗原也有具有1個或以上之能夠與不同抗體等進行交互作用的抗原定位的情況。

【0023】本說明書中，「IgG抗體」是指具有2個Fab區域與Fc區域所形成的Y字型結構的抗體。在一實施形態中，IgG抗體的2個Fab區域包含相同的VH及VL序列。

【0024】本說明書中，「抗原結合片段」是指包含源自抗體的具有抗原結合活性之至少一個的多肽鏈之分子。作為代表性的抗原結合片段，能夠列舉單鏈可變區片段(scFv)、Fab片段、Fab'片段、F(ab')₂片段。scFv為由以連接子連結的VH及VL所構成之一價的抗原結合片段。Fab片段為由包含輕鏈及重鏈的VH、CH1結構域的片段所構成之

一價的抗原結合片段。Fab'片段為由包含輕鏈及重鏈的VH、CH1結構域與樞紐區的一部分之片段所構成的一價的抗原結合片段，此樞紐區的部分包含構成重鏈間S-S鍵之半胱胺酸殘基。F(ab')₂片段為Fab'片段以雙硫鍵連結的二價的分子。一價是指包含1個抗原結合部位，二價是指包含2個抗原結合部位。

【0025】本說明書中，「雙特異性抗體」是指能夠特異性地結合於2個相異抗原之抗體。「抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體」是指具有對於CLDN4的結合活性及對於CD137的結合活性之雙特異性抗體。

【0026】本說明書中，只要文脈上無特殊限定，「抗體」作為包含全長抗體、抗原結合片段及任何結構的雙特異性抗體之用語而使用。

【0027】本說明書中「人類抗體」是表示具有人類免疫球蛋白胺基酸序列的抗體。本說明書中「人源化抗體」是表示CDR以外的胺基酸殘基的一部分、大部分或全部被取代為源自人類免疫球蛋白分子的胺基酸殘基之抗體。人源化的方法無特殊限制，能夠參照例如，美國專利第5225539號、美國專利第6180370號等製作人源化抗體。

【0028】本說明書中所使用的抗體的胺基酸殘基編號是指定Kabat編號或EU索引(EU index)(Kabat等人、Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed.、1991:NIH Publication:No.91-3242)，能夠遵照此等的編號系統而規定。

【0029】本說明書中，「連結」、「連結體」或「連結有」是指複數的成分(例如，IgG抗體及scFv)直接或透過仲介物(例如，胜肽連接子)而結合。本說明書中，「胜肽連接子」是指為了連接複數的成分而使用之經由基因工程的方法導入所獲得之1以上的任意的胺基酸序列。本發明所使用的胜肽連接子的長度無特殊限定，發明所屬技術領域具有通常知識者能夠根據目的適當地選擇。

【0030】本說明書中，「對象」是指需要疾病的預防或治療的人類或其他的動物。在一實施形態中，對象為需要疾病的預防或治療的人類。在一實施形態中，對象為具有癌症的人類。

【0031】本說明書中，「治療」是指以回復、緩和、改善、抑制或延遲疾病的症狀、病狀、疾病相關之生化學的徵兆的進行、發症、重症化或復發為目的，對於對象進行某種治療介入(intervention)、處置或對於對象的有效成分的投予。

【0032】本說明書中，「有效成分」是指用於疾病的預防或治療之醫藥組成物、醫藥品等所包含的物質之中，顯示某種生理活性之物。在一實施形態中，有效成分為抗體、小分子化合物、核酸、融合蛋白質、胜肽。在一實施形態中，有效成分為抗體。在一實施形態中，有效成分為雙特異性抗體。

【0033】本說明書中，「醫藥組成物」為包含有效成分及藥學上許可的賦形劑(例如，包含藥劑用賦形劑、藥

劑用擔體等但不限於此)，以對象的治療為目的而進行處方的藥劑。

【0034】本說明書中，「併用」、「組合」或「組合而使用」是指為了疾病的預防或治療，對於同一對象，將複數種有效成分同時地、連續地或逐次地投予。該複數種的有效成分可包含於同一個醫藥組成物中，亦可各別地包含於相異的醫藥組成物中。本說明書中，「同時」是指將複數種有效成分在一方的投予期間內並行地投予，「連續地」是指一方的有效成分的投予結束後，不間隔期間而進行另一方的有效成分的投予，「逐次地」是指將複數種有效成分依照投予時程依序地投予。

【0035】本說明書中，藥劑的「有效量」是指為了使被投予的細胞或組織帶來生理學上的變化所必須的藥劑的量。

【0036】本說明書中，「PD-1訊息抑制劑」是指解除經由PD-1之免疫細胞活性化抑制之藥劑。PD-1訊息抑制劑能夠結合於PD-1或其配體之PD-L1或PD-L2而阻礙免疫抑制訊息，藉此阻礙經由PD-1之免疫檢查點的功能。作為PD-1訊息抑制劑，只要具有阻斷PD-1訊息的效果，可為任何物質，例如可為抗體、小分子化合物、核酸(DNA或者RNA或亦可包含天然或者人工的核酸)、融合蛋白質、胜肽等。例如，抗PD-1抗體或抗PD-L1抗體或者抗PD-L2抗體能夠經由阻礙PD-1與PD-L1或PD-L2結合，藉此而阻礙PD-1訊息(Expert Opinion on Therapeutic Patents,

2016:Vol.26:p.555-564)。

【0037】 本發明是有關於下述的(1)~(4)：

(1)包含抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，與PD-1訊息抑制劑組合而使用之醫藥組成物(本說明書中也稱為「本發明的醫藥組成物」)；

(2)用於治療對象的癌症而與PD-1訊息抑制劑組合而使用之抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體；

(3)包含將抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑投予至對象之癌症的治療方法(本說明書中也稱為「本發明的治療方法」)；或

(4)抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的用途，其為用於製備用於治療對象的癌症而與PD-1訊息抑制劑組合而使用之醫藥組成物。

【0038】

<本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體>

本發明所使用之結合於CLDN4及CD137的雙特異性抗體(也稱為「本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體」)，包含抗CLDN4抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，以及抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區。

【0039】 本說明書中，「抗CLDN4抗體」為能夠結合於人類CLDN4的抗體，「抗CD137抗體」為能夠結合於人類CD137的抗體。能夠使用周知的結合活性測定方法而確認是否結合於人類CLDN4或人類CD137。作為測定結合活性的方法，能夠列舉例如，酶聯免疫吸附測定(Enzyme-

Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA)法、流式細胞分析法等方法。ELISA法或流式細胞分析法能夠以發明所屬技術領域具有通常知識者通常使用的方法而實施。

【0040】本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體只要是能結合於CLDN4及CD137，則任何的結構皆可，能夠列舉例如，具有記載於非專利文獻6的結構之雙特異性抗體。在一實施形態中，本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體可為抗CLDN4抗體的Fab區域與抗CD137抗體的Fab區域連結的連結體、IgG抗體型的抗CLDN4抗體(也稱為「抗CLDN4 IgG抗體」)及IgG抗體型的抗CD137抗體(也稱為「抗CD137 IgG抗體」)的連結體、抗CLDN4 IgG抗體及抗CD137抗體的抗原結合片段的連結體、抗CLDN4抗體的抗原結合片段及抗CD137 IgG抗體的連結體或抗CLDN4抗體的抗原結合片段及抗CD137抗體的抗原結合片段的連結體。

【0041】在一實施形態中，本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含：含有由序列編號2的胺基酸編號31至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號50至66的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號99至112的胺基酸序列所形成的CDR3之抗CLDN4抗體的重鏈可變區，以及含有由序列編號4的胺基酸編號24至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號4的胺基酸編號51至57的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號4的胺基酸編號90至98的胺基酸序列所形成的

CDR3之抗CLDN4抗體的輕鏈可變區。

【0042】在一實施形態中，本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含由序列編號2的胺基酸編號1至123的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的重鏈可變區及由序列編號4的胺基酸編號1至109的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的輕鏈可變區。

【0043】本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體所包含的抗CLDN4抗體亦可為IgG抗體。作為抗CLDN4抗體所包含的重鏈恆定區，能夠選擇Ig γ 、Ig μ 、Ig α 、Ig δ 或Ig ϵ 的任一者的恆定區。作為Ig γ ，能夠選自例如，Ig γ 1、Ig γ 2、Ig γ 3或Ig γ 4。作為本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體所包含的抗CLDN4抗體所包含的輕鏈恆定區，能夠選擇Ig λ 或Ig κ 的任一者的恆定區。在一實施形態中，該抗CLDN4抗體的重鏈及輕鏈分別為人類Ig γ 1及Ig κ 。在一實施形態中，本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含完全長度的抗CLDN4抗體。在一實施形態中，本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體所包含的抗CLDN4抗體為包含抗CLDN4抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區之IgG抗體(抗CLDN4 IgG抗體)。

【0044】本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含Fc區域的情況時，該雙特異性抗體中的Fc區域亦可含有降低抗體依賴性細胞媒介細胞毒性(ADCC)、補體依賴性細胞毒性(CDC)的突變。L234A是指人類Ig γ 1恆定區的胺基酸234位的白胺酸取代為丙胺酸。L235A是指人類Ig γ 1

恆定區的胺基酸 235 位的白胺酸取代為丙胺酸。人類 Ig γ 1 恆定區 L234A 及 L235A 的胺基酸突變稱為「LALA 突變」。已知該突變降低抗體的 ADCC、CDC(Mol. Immunol., 1992: Vol.29:p.633-639、J. Immunol., 2000:Vol.164(8):p.4178-4184)。P331G 或 P331S 是指人類 Ig γ 1 恆定區的胺基酸 331 位的脯胺酸取代為甘胺酸或絲胺酸。已知該突變降低抗體的 CDC(J. Immunol., 2000:Vol.164(8):p.4178-4184)。

【0045】在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體所包含的抗 CLDN4 IgG 抗體包含含有 L234A 及 L235A 的胺基酸突變 (LALA 突變) 之 Fc 區域。在一實施形態中，抗 CLDN4 IgG 抗體包含含有 P331G 或 P331S 突變的任一者之 Fc 區域。在一實施形態中，抗 CLDN4 IgG 抗體包含含有 LALA 突變及 P331G 或 P331S 突變的任一者的突變之 Fc 區域。在一實施形態中，抗 CLDN4 IgG 抗體包含含有 LALA 突變及 P331G 突變的任一者或兩者的突變之 Fc 區域。

【0046】再者，本說明書中，LALA 突變、P331G 或 P331S 突變等的胺基酸突變的記載是基於人類 Ig γ 1 恆定區中依照 EU 索引的胺基酸位置。例如，如同前述，L234A 是指人類 Ig γ 1 恆定區中依照 EU 索引的胺基酸 234 位的白胺酸取代為丙胺酸。

【0047】在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體為由序列編號 2 的胺基酸編號 1 至 453 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的重鏈及由序列編號

4的胺基酸編號1至215的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的輕鏈所形成的IgG抗體。

【0048】在一實施形態中，本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體所包含的抗CD137抗體的重鏈可變區包含由序列編號2的胺基酸編號625至629的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號644至659的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號692至701的胺基酸序列所形成的CDR3，抗CD137抗體的輕鏈可變區包含由序列編號2的胺基酸編號486至498的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號514至520的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號553至563的胺基酸序列所形成的CDR3。

【0049】在一實施形態中，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體所包含的抗CD137抗體的重鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號595至712的胺基酸序列所形成，抗CD137抗體的輕鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號464至573的胺基酸序列所形成。

【0050】在一實施形態中，本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含抗CD137抗體的scFv(本說明書中也稱為「抗CD137scFv」)。

【0051】抗CD137scFv中，連結抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區的連接子的種類及長度無特殊限定，發明所屬技術領域具有通常知識者能夠適當地選擇。作為連接子，亦可使用胜肽連接子。較佳長度為5胺基酸以上

(上限無特殊限定，通常為30胺基酸以下、較佳為20胺基酸以下)，特佳為15胺基酸。作為連接子，能夠使用例如，甘胺酸-絲胺酸連接子(GS連接子)、甘胺酸-離胺酸-脯胺酸-甘胺酸-絲胺酸連接子(GKPGS連接子)。作為本發明中的連接子，能夠列舉例如下述。

Ser

Gly-Ser

Gly-Gly-Ser

Ser-Gly-Gly

Gly-Gly-Gly-Ser(序列編號5)

Ser-Gly-Gly-Gly(序列編號6)

Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(序列編號7)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly(序列編號8)

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(序列編號9)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly(序列編號10)

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(序列編號11)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly(序列編號12)

Gly-Gly-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(序列編號
13)

(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser) n

(Ser-Gly-Gly-Gly-Gly) n

Gly-Lys-Pro-Gly-Ser(序列編號14)

(Gly-Lys-Pro-Gly-Ser) n

上述的 n 表示1以上的整數。再者，在一態樣中，上述

的 n 為 1~10、2~8 或 2~6。發明所屬技術領域具有通常知識者能夠因應目的適當地選擇連接子的長度、序列。

【0052】在一實施形態中，抗 CD137scFv 中所使用的連接子為 (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser) n 的 GS 連接子。

【0053】在一實施形態中，抗 CD137scFv 中所使用的連接子為 (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser) 4 的 GS 連接子。

【0054】在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體包含抗 CD137scFv，其由序列編號 2 的胺基酸編號 464 至 573 的胺基酸序列所形成的輕鏈可變區與由序列編號 2 的胺基酸編號 595 至 712 的胺基酸序列所形成的重鏈可變區透過 GS 連接子而連結。

【0055】在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體包含由序列編號 2 的胺基酸編號 464 至 712 的胺基酸序列所形成的抗 CD137scFv。

【0056】在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體包含抗 CLDN4 IgG 抗體及抗 CD137scFv。

【0057】本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體中，抗 CLDN4 抗體或其抗原結合片段與抗 CD137 抗體或其抗原結合片段(例如，抗 CD137scFv)亦可經由連接子連結。在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體包含抗 CLDN4 IgG 抗體及抗 CD137scFv，抗 CLDN4 IgG 抗體與抗 CD137scFv 透過連接子而連結。在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體

包含抗 CLDN4 IgG 抗體及抗 CD137scFv，於抗 CLDN4 IgG 抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結抗 CD137scFv 的胺基末端。連結抗 CLDN4 抗體或其抗原結合片段與抗 CD137 抗體或其抗原結合片段的連接子的種類及長度無特殊限定，發明所屬技術領域具有通常知識者能夠適當地選擇。作為連接子，亦可使用胜肽連接子。較佳長度為 5 胺基酸以上 (上限無特殊限定，通常為 30 胺基酸以下、較佳為 20 胺基酸以下)，特佳為 10 胺基酸。胜肽作為連接子，能夠使用例如，甘胺酸-絲胺酸連接子 (GS 連接子)、甘胺酸-離胺酸-脯胺酸-甘胺酸-絲胺酸連接子 (GKPGS 連接子)。作為本發明中的連接子，能夠列舉例如下述。

Ser

Gly-Ser

Gly-Gly-Ser

Ser-Gly-Gly

Gly-Gly-Gly-Ser(序列編號 5)

Ser-Gly-Gly-Gly(序列編號 6)

Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(序列編號 7)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly(序列編號 8)

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(序列編號 9)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly(序列編號 10)

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(序列編號 11)

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly(序列編號 12)

Gly-Gly-Gly-Gly-Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(序列編號

13)

(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)_n(Ser-Gly-Gly-Gly-Gly)_n

Gly-Lys-Pro-Gly-Ser(序列編號 14)

(Gly-Lys-Pro-Gly-Ser)_n

上述的 n 表示 1 以上的整數。再者，在一態樣中，上述的 n 為 1~10、2~8 或 2~6。發明所屬技術領域具有通常知識者能夠因應目的適當地選擇胜肽連接子的長度、序列。

【0058】 在一實施形態中，作為連結抗 CLDN4 抗體或其抗原結合片段與抗 CD137 抗體或其抗原結合片段(例如，抗 CD137scFv)的胜肽連接子而使用的連接子為由序列編號 13 的胺基酸序列所形成的連接子。

【0059】 在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體為包含抗 CLDN4 抗體的重鏈、抗 CLDN4 抗體的輕鏈及抗 CD137scFv，且於該抗 CLDN4 抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗 CD137scFv 的胺基末端之雙特異性抗體；抗 CLDN4 抗體的重鏈，包含含有由序列編號 2 的胺基酸編號 31 至 35 的胺基酸序列所形成的 CDR1、由序列編號 2 的胺基酸編號 50 至 66 的胺基酸序列所形成的 CDR2 及由序列編號 2 的胺基酸編號 99 至 112 的胺基酸序列所形成的 CDR3 之重鏈可變區；抗 CLDN4 抗體的輕鏈，包含含有由序列編號 4 的胺基酸編號 24 至 35 的胺基酸序列所形成的 CDR1、由序列編號 4 的胺基酸編號 51 至 57 的胺基酸序列所形成的 CDR2 及由序列編號 4 的胺基酸編號 90

至 98 的胺基酸序列所形成的 CDR3 之輕鏈可變區；抗 CD137scFv，包含含有由序列編號 2 的胺基酸編號 625 至 629 的胺基酸序列所形成的 CDR1、由序列編號 2 的胺基酸編號 644 至 659 的胺基酸序列所形成的 CDR2 及由序列編號 2 的胺基酸編號 692 至 701 的胺基酸序列所形成的 CDR3 之抗 CD137 抗體的重鏈可變區，以及含有由序列編號 2 的胺基酸編號 486 至 498 的胺基酸序列所形成的 CDR1、由序列編號 2 的胺基酸編號 514 至 520 的胺基酸序列所形成的 CDR2 及由序列編號 2 的胺基酸編號 553 至 563 的胺基酸序列所形成的 CDR3 之抗 CD137 抗體的輕鏈可變區。

【 0060 】 在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體為包含：抗 CLDN4 抗體的重鏈，其含有由序列編號 2 的胺基酸編號 1 至 123 的胺基酸序列所形成的重鏈可變區，及抗 CLDN4 抗體的輕鏈，其含有由序列編號 4 的胺基酸編號 1 至 109 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的輕鏈可變區，以及抗 CD137scFv，其含有由序列編號 2 的胺基酸編號 464 至 573 的胺基酸序列所形成的抗 CD137 抗體的輕鏈可變區及由序列編號 2 的胺基酸編號 595 至 712 的胺基酸序列所形成的抗 CD137 抗體的重鏈可變區；且於該抗 CLDN4 抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗 CD137scFv 的胺基末端之雙特異性抗體。

【 0061 】 在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體為包含：抗 CLDN4 抗體的重鏈，其由序列編號 2 的胺基酸編號 1 至 453 的胺基酸序列所形成，及

抗 CLDN4 抗體的輕鏈，其由序列編號 4 的胺基酸編號 1 至 215 的胺基酸序列所形成，以及抗 CD137scFv，其由序列編號 2 的胺基酸編號 464 至 712 的胺基酸序列所形成，且於該抗 CLDN4 抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗 CD137scFv 的胺基末端之雙特異性抗體。

【0062】在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體為包含：含有由序列編號 2 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的重鏈及抗 CD137scFv 之多肽，以及由序列編號 4 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的輕鏈之雙特異性抗體。

【0063】本說明書中「轉譯後修飾」是指，將抗體在細胞內表現的情況時，抗體在轉譯後受到修飾。作為轉譯後修飾的例子，能夠列舉重鏈 N 末端的麩醯胺酸或麩胺酸的焦麩胺醯化、醣基化 (glycosylation)、氧化、脫麩胺化、糖化 (saccharification) 等修飾，重鏈 C 末端的離胺酸經由羧肽酶切斷而造成離胺酸缺失。已知在各種的抗體中，產生此種的轉譯後修飾 (J.Pharm.Sci., 2008:Vol.97:p.2426-2447)。

【0064】在一實施形態中，本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體亦可進行轉譯後修飾。在一實施形態中，轉譯後修飾為重鏈可變區 N 末端的焦麩胺醯化及/或重鏈 C 末端離胺酸缺失。該技術領域已知由 N 末端的焦麩胺醯化或 C 末端離胺酸缺失導致的轉譯後修飾不影響抗體的活性 (Analytical Biochemistry, 2006:Vol.348:p.24-39)。

【0065】本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體結合於人類CLDN4及人類CD137。是否結合於人類CLDN4或人類CD137之事項能夠使用周知的結合活性測定方法進行確認。作為測定結合活性的方法，能夠列舉例如，酶聯免疫吸附測定(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay，ELISA)法、流式細胞分析法等方法。

【0066】本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體為發明所屬技術領域具有通常知識者基於本說明書所揭示的抗CLDN4抗體及抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區的序列資訊等，以該技術領域周知的方法而能夠製作。本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體中，抗CLDN4抗體及抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區可為源自人類抗體、源自人源化抗體或此等的組合。人源化抗體的製作時，亦可使用發明所屬技術領域具有通常知識者周知的方法，導入適當的回復突變(back mutation)(Bioinformatics, 2015:Vol.31:p.434-435)。本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體無特殊限定，例如能夠依照PCT/JP2022/18350所記載的方法而製造。PCT/JP2022/18350所記載的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的製作方法(包含<本發明的雙特異性抗體的多核苷酸>、<本發明的雙特異性抗體的表現載體>、<本發明的宿主細胞>、<生產本發明的雙特異性抗體的方法>及實施例，但不限於此)參照而援引至本說明書中(Incorporation by Reference)。

【0067】

<本發明的醫藥組成物>

本發明的醫藥組成物使用本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體而製造，包含本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體及藥學上許可的賦形劑。本發明的醫藥組成物能夠使用該技術領域中通常使用的賦形劑，亦即藥劑用賦形劑、藥劑用擔體等，經由通常使用的方法而調配。作為此等醫藥組成物的劑型的例子，能夠列舉例如，注射劑、點滴用劑等的非經口劑，能夠藉由靜脈內投予、皮下投予、腹腔內投予等而進行投予。製劑化時，能夠以藥學上許可的範圍，使用因應此等劑型的賦形劑、擔體、添加劑等。再者，本發明的醫藥組成物，如同前述，包含本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體及藥學上許可的賦形劑，在一實施形態中，能夠進一步包含 PD-1 訊息抑制劑。

【0068】本發明的醫藥組成物能夠包含本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體的轉譯後修飾體。例如，含有接受 C 末端離胺酸的缺失、N 末端的焦麩胺醯化的兩者或一者的抗體等的醫藥組成物亦包含於本發明。

【0069】在一實施形態中，本發明的醫藥組成物為含有下述之抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體及/或該雙特異性抗體的轉譯後修飾體之醫藥組成物：抗 CLDN4 抗體的重鏈可變區，其含有由序列編號 2 的胺基酸編號 31 至 35 的胺基酸序列所形成的 CDR1、由序列編號 2 的胺基酸編號 50 至 66 的胺基酸序列所形成的 CDR2 及由序列編號 2 的胺基酸編

號 99 至 112 的胺基酸序列所形成的 CDR3；抗 CLDN4 抗體的輕鏈可變區，其含有由序列編號 4 的胺基酸編號 24 至 35 的胺基酸序列所形成的 CDR1、由序列編號 4 的胺基酸編號 51 至 57 的胺基酸序列所形成的 CDR2 及由序列編號 4 的胺基酸編號 90 至 98 的胺基酸序列所形成的 CDR3；以及抗 CD137 抗體的重鏈可變區，其含有由序列編號 2 的胺基酸編號 625 至 629 的胺基酸序列所形成的 CDR1、由序列編號 2 的胺基酸編號 644 至 659 的胺基酸序列所形成的 CDR2 及由序列編號 2 的胺基酸編號 692 至 701 的胺基酸序列所形成的 CDR3；及抗 CD137 抗體的輕鏈可變區，其含有由序列編號 2 的胺基酸編號 486 至 498 的胺基酸序列所形成的 CDR1、由序列編號 2 的胺基酸編號 514 至 520 的胺基酸序列所形成的 CDR2 及由序列編號 2 的胺基酸編號 553 至 563 的胺基酸序列所形成的 CDR3。

【0070】在一實施形態中，本發明的醫藥組成物為含有抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體及/或該雙特異性抗體的轉譯後修飾體之醫藥組成物，該抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體包含：抗 CLDN4 抗體的重鏈，其含有由序列編號 2 的胺基酸編號 1 至 123 的胺基酸序列所形成的重鏈可變區，及抗 CLDN4 抗體的輕鏈，其含有由序列編號 4 的胺基酸編號 1 至 109 的胺基酸序列所形成的輕鏈可變區，以及抗 CD137scFv，其含有由序列編號 2 的胺基酸編號 464 至 573 的胺基酸序列所形成的抗 CD137 抗體的輕鏈可變區及由序列編號 2 的胺基酸編號 595 至 712 的胺基酸序列所形成的抗

CD137抗體的重鏈可變區；且於該抗CLDN4抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗CD137scFv的胺基末端。

【0071】 在一實施形態中，本發明的醫藥組成物為含有抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體及/或該雙特異性抗體的轉譯後修飾體之醫藥組成物，該抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含：含有由序列編號2的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的重鏈及抗CD137scFv之多肽，以及由序列編號4的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的輕鏈。

【0072】 製劑化中的本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的添加量根據患者的症狀的程度、年齡、使用的製劑的劑型或者抗體的結合力價等不同，例如，能夠將換算為對人類的投予量約0.0001mg/kg~1000mg/kg的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體用於製劑。在一實施形態中，製劑化中的本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的添加量換算為對人類的投予量為約0.0001mg/kg~1000mg/kg的範圍。在一實施形態中，製劑化中的本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的添加量換算為對人類的投予量為0.001mg/kg~100mg/kg的範圍。在一實施形態中，製劑化中的本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的添加量換算為對人類的投予量為0.01mg/kg~10mg/kg的範圍。在一實施形態中，製劑化中的本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的添加量，較佳為換算為對人類的投予量為0.01mg/kg~10mg/kg的範圍。

【0073】

<PD-1訊息抑制劑>

本發明中，PD-1訊息抑制劑是為了對象的癌症的治療而與本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體或本發明的醫藥組成物組合而使用。

該PD-1訊息抑制劑的作用機制及治療型態(modality)，只要能阻斷PD-1訊息則無特殊限定。作為作用機制，例如可為參與PD-1訊息的分子間的結合抑制、PD-1訊息分子的表現量降低(例如，蛋白質的生成抑制或分解誘導等)等作用機制。作為治療型態，例如可為抗體、小分子化合物、核酸(DNA或RNA，亦可包含天然或人工的核酸)、融合蛋白質、胜肽、其他的治療型態。

【0074】 PD-1訊息抑制劑藉由測定選自由PD-1及PD-L1或PD-L2所成群組之1以上的蛋白質的結合抑制作用、將PD-1訊息分子的表現量等作為指標之表現降低作用等的方法而能夠取得。例如，PD-1與PD-L1或PD-L2的結合抑制劑能夠在獲得結合於PD-1及PD-L1或PD-L2的抑制劑後，將獲得的抑制劑以抑制PD-1及PD-L1或PD-L2的結合的能力進行篩選。抑制劑對於蛋白質的結合能夠使用例如，流式細胞分析法(FCM)、ELISA法、表面電漿共振法(SPR)、熱位移測定法(TSA)、等溫滴定測熱法(ITC)等發明所屬技術領域具有通常知識者周知的方法進行評價。再者，例如，使PD-1、PD-L1或PD-L2等PD-1訊息分子的表現量降低的抑制劑能夠以細胞中的PD-1、PD-L1或PD-L2等的蛋白質的量作為指標而取得。PD-1訊息的抑制作用能

夠經由T細胞增殖IFN- γ 釋放或報導分析(reporter assay)等的作用而確認。使某一蛋白質的表現量降低的抑制劑的作用，能夠使用例如，ELISA法、定量PCR法、原位雜交(in situ hybridization)法、活細胞影像法等發明所屬技術領域具有通常知識者周知的方法而確認。

【0075】作為PD-1訊息抑制劑，能夠列舉例如，抗PD-1抗體、抗PD-L1抗體、抗PD-L2抗體等抑制PD-1訊息的抗體。此種抗體可為人源化抗體、嵌合抗體、小鼠抗體、人類抗體，以及此等的抗原結合片段。作為周知的抗PD-1抗體，並非用於限定，例如有記載於美國專利第8008449號、美國專利第6808710號、美國專利第7488802號、美國專利第8168757號及美國專利第8354509號，以及國際公開第2006/121168號及國際公開第2012/145493號之抗體。作為周知的抗PD-L1抗體，並非用於限定，例如有記載於國際公開第2007/005874號、國際公開第2010/077634號、國際公開第2011/066389號、國際公開第2013/079174號及美國專利第8217149號的抗體。在一實施形態中，本發明中所使用的PD-1訊息抑制劑為抗PD-1抗體、抗PD-L1抗體或者抗PD-L2抗體或此等的抗原結合片段。在一實施形態中，本發明中所使用的PD-1訊息抑制劑為抗PD-1抗體、抗PD-L1抗體或抗PD-L2抗體。在一實施形態中，抗PD-1抗體可為納武單抗(Nivolumab)、帕博利珠單抗(Pembrolizumab)、匹地利珠單抗(Pidilizumab)、斯帕他珠單抗(Spartalizumab)、西米普利單抗(Cemiplimab)

等抗PD-1抗體。在一實施形態中，抗PD-L1抗體可為阿替利珠單抗(Atezolizumab)、度伐利尤單抗(Durvalumab)、阿維魯單抗(Avelumab)等抗PD-L1抗體。

【0076】作為PD-1訊息抑制劑，能夠列舉例如，AMP-224(國際公開第2010/027827號及國際公開第2011/066342號)、BMS-1166(Oncotarget, 2017:Vol.8:p.72167-72181)等之抑制PD-1對於PD-L1結合的融合蛋白質、小分子化合物。各種的PD-1訊息抑制劑為該技術領域所周知(非專利文獻8)。

【0077】

<本發明的治療方法>

本發明的治療方法包含將本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑投予至對象之癌症的治療方法(稱為「本發明的治療方法」)。

【0078】在一實施形態中，本發明的治療方法之特徵在於，對於對象，將本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑同時地、連續地或逐次地組合而使用(投予)。

【0079】在一實施形態中，本發明的治療方法之特徵在於，對於對象，將本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑(i)包含於同一個醫藥組成物而同時地投予，或(ii)其為各別的醫藥組成物，同時地、連續地或者逐次地組合而使用。

【0080】在一實施形態中，本發明的治療方法之特徵

在於，對於對象，將本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑 (i) 包含於同一個醫藥組成物而同時地投予，或 (ii) 其為各別的醫藥組成物，同一天投予。

【0081】在一實施形態中，本發明的治療方法之特徵在於，將 (a) 對於對象，於本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體的投予結束後，開始 PD-1 訊息抑制劑的投予，或 (b) 對於對象，於 PD-1 訊息抑制劑的投予結束後，開始本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體的投予之連續地使用。

【0082】在一實施形態中，本發明的治療方法之特徵在於，對於對象，依照包含投予循環的投予計畫，進行本發明的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑的投予之逐次地使用。在一實施形態中，本發明的治療方法之特徵在於，能夠在至少一個的投予循環或全部的投予循環中，開始對於對象的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體或本發明的醫藥組成物的投予，在之後開始 PD-1 訊息抑制劑的投予。在一實施形態中，本發明的治療方法之特徵在於，能夠在至少一個的投予循環或全部的投予循環中，開始對於對象的 PD-1 訊息抑制劑的投予，在之後開始抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體或本發明的醫藥組成物的投予。

【0083】

<治療用途>

藉由本發明的醫藥組成物及治療方法等而治療的癌症

可為實質癌或血液癌的任一者。根據本發明而治療的癌症可為原發性或轉移性的任一者。根據本發明而治療的癌症無特殊限定，能夠列舉例如，各種的腹腔轉移癌、胃癌、肺癌、急性淋巴芽細胞性白血病、急性骨髓性白血病、何杰金氏淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)、非何杰金氏淋巴瘤、B細胞淋巴瘤、多發性骨髓瘤、T細胞淋巴瘤等血液癌，骨髓形成不良症候群、腺癌、扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、未分化癌、大細胞癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、間皮瘤、皮膚癌、皮膚T細胞淋巴瘤、乳癌、前列腺癌、膀胱癌、陰道癌、頸部癌、頭頸部癌、子宮癌、子宮頸癌、肝癌、膽囊癌、膽管癌、腎臟癌、胰臟癌、結腸癌、大腸癌、直腸癌、小腸癌、胃癌、食道癌、睪丸癌、卵巢癌、腦腫瘤等實質癌，以及骨組織、軟骨組織、脂肪組織、肌肉組織、血管組織及造血組織的癌之外，軟骨肉瘤、Ewing氏肉瘤、惡性血管內皮瘤、惡性許旺氏腫瘤、骨肉瘤、軟組織肉瘤等肉瘤，膠質母細胞瘤、多型性膠質母細胞瘤、肝母細胞瘤、髓母細胞瘤、腎母細胞瘤、神經母細胞瘤、胰母細胞瘤、胸膜肺母細胞瘤、視網膜母細胞瘤等母細胞瘤等。

【0084】在一實施形態中，成為根據本發明之治療對象的癌症為大腸癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、卵巢癌、乳癌、前列腺癌。在一實施形態中，成為根據本發明之治療對象的癌症為相較於正常組織，CLDN4為高表現之癌症。成為根據本發明之治療對象的癌症較佳為

相較於正常組織，CLDN4為高表現之癌症，或選自由大腸癌、直腸癌、肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、卵巢癌、乳癌、前列腺癌所成群組之癌症。

【0085】本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體或PD-1訊息抑制劑的對於對象的投予量，根據對象的症狀的程度、年齡、使用的抗體、醫藥組成物、抑制劑等的劑型或者有效成分的活性程度等不同，例如，能夠使用約0.0001mg/kg~1000mg/kg。在一實施形態中，本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的對於對象的投予量為0.0001mg/kg~1000mg/kg。在一實施形態中，本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的對於對象的投予量為0.001mg/kg~100mg/kg。在一實施形態中，本發明的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的對於對象的投予量為0.01mg/kg~10mg/kg。

【0086】在此提供為了能夠進一步理解本發明而參照之特定的實施例，但此等是以舉例為目的，並非限定本發明。

[實施例]

【0087】

[實施例1：抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體的製作]

[實施例1-1：編碼抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體之載體的製作]

已有報告抗CLDN4抗體之KM3900為相較於其他的密

連蛋白 (Claudin) 家族分子之 CLDN6 等，選擇性地結合於 CLDN4 (專利文獻 1)。因此，基於報告進行 KM3900 的人源化抗體的製作。

具體而言，基於 KM3900 的可變區的人源化胺基酸序列，進行從人類 Ig γ 1 的恆定區及人類 Ig κ 的恆定區序列之人源化抗體的設計。於人類 Ig γ 1 恆定區，設計導入 L234A、L235A 及 P331G 的胺基酸突變之抗 CLDN4 抗體序列。將設計的人源化抗 CLDN4 抗體稱為「hKM3900」。

於 AlivaMab 小鼠 (Ablexis 公司、美國專利 9346873 號)，將 PCT/JP2022/18350 的實施例 3 所記載的人類 CD137-人類 Fc 融合蛋白質及免疫佐劑投予複數次進行免疫。依據通常方法，從經免疫的小鼠的淋巴節回收淋巴球，與小鼠骨髓瘤細胞 SP2/0 進行細胞融合製作融合瘤。以自動撿料 (automatic picking) 裝置分離融合瘤的單群落 (single colony)，取得單株化融合瘤細胞 (以下稱為「選殖株」)。進行產生結合於人類 CD137 的抗體的選殖株的篩選，取得產生抗 CD137 抗體 (以下稱為「A2-32」) 的選殖株。進而從此選殖株的細胞溶解液合成 cDNA，鑑定抗體鹼基序列。基於取得的 A2-32 的重鏈可變區及輕鏈可變區的序列，設計抗 CD137scFv。

基於 hKM3900 的胺基酸序列及設計的抗 CD137scFv 的胺基酸序列設計抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體。抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體為在 IgG1 型的 hKM3900 的重鏈 C 末端連結有 GS 連接子，在 GS 連接子的 C 末端結合有

抗 CD137scFv 的 N 末端。設計的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體由含有由序列編號 2 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的重鏈及抗 CD137scFv 之多肽，及由序列編號 4 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的輕鏈所形成。製作編碼含有設計的抗 CLDN4 抗體的重鏈及抗 CD137scFv 之多肽的多核苷酸，及編碼抗 CLDN4 抗體的輕鏈之多核苷酸，分別根據通常的方法插入 pcDNA3.4 TOPO 載體(賽默飛世爾科技公司)。將製作的 2 個載體稱為「抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體表現載體」。

【0088】

[實施例 1-2：抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體的製作]

使用抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體表現載體，製作抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體。具體而言，使用 ExpiFectamine CHO Transfection Kit(賽默飛世爾科技公司、A29129)，於 ExpiCHO-S 細胞(賽默飛世爾科技公司、A29127)導入抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體表現載體，使抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體分泌至培養上清中。從獲得的培養上清，藉由使用 MabSelect SuRe(Cytiva 公司、17-5438-02)之親和純化法，進而使用 HiLoad 26/600 superdex 200 pg(GE 醫療公司、28-9893-36)之尺寸篩選層析純化法，純化抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體之 hKM3900_tA2-32LH。

實施例 1 所製作的抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體之 hKM3900_tA2-32LH 也稱為「抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性

抗體」。

【0089】

[實施例2：抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與抗PD-1抗體的體外(in vitro)併用效果]

於使用表現人類OKT3scFv的LCLC-103H細胞與Expanded panT細胞的共培養系統中，進行抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與抗PD-1抗體的體外併用效果的研究。

【0090】

[實施例2-1：Expanded PanT細胞的調製]

於RPMI-1640(Sigma公司、R8758)加入最終濃度為10%的FBS(Cytiva公司、SH30084.03)及最終濃度為1%的青黴素鏈黴素(賽默飛世爾科技公司、15070-063)，將其稱為「培養基(culture medium)」。以最終濃度成為1 μ g/mL的方式將抗CD3抗體(BioLegend公司、317325)添加至150mm/組織培養皿(IWAKI公司、3030-150)(以下稱為「培養皿」)，將抗CD3抗體進行固相化。使用人類PanT細胞分離套組(Miltenyi Biotec公司、130-096-535)，遵照製造商建議的步驟準則(protocol)從人類周邊血液單核細胞(human peripheral blood mononuclear cells)(LONZA公司、CC-2702)分離PanT細胞(包含CD4陽性T細胞及CD8陽性T細胞兩者，以下稱為「PanT細胞」)。將經分離的PanT細胞進行離心分離，去除上清後懸濁於培養基。於前述的固相化抗CD3抗體之培養皿，將懸濁於培養基的PanT細胞全

量播種。進而添加最終濃度 200U/mL 的人類 IL-2 (PeproTech公司、200-2)及最終濃度 4 μ g/mL的抗 CD28 抗體 (BioLegend公司、302934)，以 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培養箱進行培養。從培養開始 3 天後，回收 PanT 細胞，將回收的 PanT 細胞懸濁於培養基播種於培養皿。進而添加最終濃度 200U/mL 的人類 IL-2，以 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培養箱進行培養。4 天後，將 PanT 細胞全量回收進行離心分離，去除上清後，再懸濁於 CELLBANKER (Takara 公司、CB011) 分裝於小管 (tube)，於 -80 $^{\circ}$ C 冷凍保存。在此將冷凍保存的 PanT 細胞在本說明書中稱為「Expanded PanT 細胞」。

【0091】

[實施例 2-2：表現人類 CD3 抗體單鏈可變區片段 (OKT3scFv) 的 LCLC-103H 細胞的取得]

表現人類 CLDN4 的人類大細胞肺癌細胞株之 LCLC-103H 細胞，是從德國微生物及細胞培養物保存中心 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen、DSMZ、ACC384) 購入。將人類大細胞肺癌細胞株之 LCLC-103H 細胞在培養基中以 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的條件下進行培養。將依照通常方法藉由基因合成製作的編碼人類 OKT3scFv (Journal of Immunological Methods, 2010:362:p.131-141) 的多核苷酸次選殖 (subcloning) 至 pcDNA3.4-TOPO 載體。製作的表現人類 OKT3scFv 的載體使用 Lipofectamine LTX (Invitrogen、15338-100)，遵照製造商建議的步驟準則轉染 (lipofection) 至 LCLC-103H 細

胞。藉由以添加最終濃度 $600\mu\text{g}/\text{mL}$ 的Geneticin選擇性抗生素(賽默飛世爾科技公司、10131-027)的培養基進行選擇性培養及有限稀釋法，取得穩定地表現人類OKT3scFv的LCLC-103H細胞選殖株(以下稱為「LCLC-OKT3scFv細胞」)。

【0092】

[實施例2-3：於癌細胞與T細胞的共培養系統之抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與抗PD-1抗體的體外(in vitro)干擾素- γ 產生促進作用中的併用效果]

於LCLC-OKT3scFv細胞與Expanded PanT細胞的共培養系統中以干擾素 γ 產生促進功能作為指標，評價抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與抗PD-1抗體的T細胞活性增強作用。將LCLC-OKT3scFv細胞調配為在培養基中 2×10^5 個/mL，於平底96孔盤(IWAKI公司、4020-010)播種各 $50\mu\text{L}$ ，在 37°C 、5% CO_2 培養箱進行培養。次日，將調配為於培養基中 1.32×10^6 個/mL的Expanded PanT細胞以各 $30\mu\text{L}$ 播種於培養中的平底96孔盤。作為受試抗體，使用實施例1取得的hKM3900_tA2-32LH及抗人類PD-1抗體之納武單抗。納武單抗的胺基酸序列設計基於國際公開第2014/055648號所記載的納武單抗的重鏈及輕鏈的胺基酸序列而進行。由設計的胺基酸序列依據國際公開第2021/241616號的實施例11所記載的方法取得納武單抗。作為同型對照(Isotype control)(圖1-1中稱為「同型」)，調配抗溶菌酶(lysozyme)抗體而使用。作為單劑條件，添加

在培養基從最高濃度 50000ng/mL 進行約 3 倍公比的序列稀釋的 hKM3900_tA2-32LH，或在培養基從最高濃度 50000ng/mL 進行約 3 倍公比的序列稀釋的納武單抗。再者，作為併用條件，於包含濃度 50000ng/mL 的納武單抗之培養基之從最高濃度 50000ng/mL 進行約 3 倍公比的序列稀釋的 hKM3900_tA2-32LH，各添加 20 μ L。添加後的納武單抗的最終濃度為 10 μ g/mL。添加後，於 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培養箱進行培養。4 天後，使用 AlphaLISA 干擾素- γ 測定套組 (Perkin Elmer 公司、AL217C)，遵照製造商建議的步驟準則測定培養上清中的干擾素- γ 產生量。圖 1-1 顯示干擾素- γ 產生量。計算在各條件的平均值及標準偏差。hKM3900_tA2-32LH 及納武單抗在表現人類 CLDN4 癌細胞株與 Expanded PanT 細胞的共培養系統中，顯示干擾素- γ 產生促進作用。由 hKM3900_tA2-32LH 與納武單抗的併用所致之干擾素- γ 產生促進作用比 hKM3900_tA2-32LH 或納武單抗單劑更強。

【0093】

[實施例 3：抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與抗 PD-L1 抗體的體外併用效果]

基於國際公開第 2012/155019 號 (序列編號 22 及 23) 所記載的抗 PD-L1 抗體之阿替利珠單抗 (Atezolizumab) 抗體的序列，設計使用於 Fc 區域導入突變的人類 Ig γ 1 恆定區的序列之抗 PD-L1 抗體之阿替利珠單抗類似物 (以下稱為「阿替利珠單抗類似物 (Atezolizumab analog)」)，遵照

PCT/JP2022/18350 實施例 4-2 所記載的方法，取得抗體。在使用於實施例 2 取得的 LCLC-OKT3scFv 細胞及 Expanded panT 細胞的共培養系中，進行 hKM3900_tA2-32LH 及阿替利珠單抗類似物的體外併用效果的研究。具體而言，以 LCLC-OKT3scFv 細胞及 Expanded PanT 細胞的共培養系中之干擾素 γ 產生量作為指標，評價 hKM3900_tA2-32LH 及阿替利珠單抗類似物的 T 細胞活性增強作用。將 LCLC-OKT3scFv 細胞調配為於培養基中 2×10^5 個 / mL，於平底 96 孔盤各播種 $50 \mu\text{L}$ ，以 37°C 、5% CO_2 培養箱進行培養。次日，將調配為於培養基中 1.33×10^6 個 / mL 的 Expanded PanT 細胞播種於培養中的平底 96 孔盤各 $30 \mu\text{L}$ 。作為受試抗體，使用實施例 1 所取得的 hKM3900_tA2-32LH 及阿替利珠單抗類似物。作為同型對照 (圖 1-2 中稱為「同型」)，調配抗溶菌酶抗體而使用。作為單劑條件，添加於培養基從最高濃度 50000 ng/mL 進行約 3 倍公比的序列稀釋之 hKM3900_tA2-32LH，或於培養基從最高濃度 50000 ng/mL 進行約 3 倍公比的序列稀釋之阿替利珠單抗類似物。再者作為併用條件，於包含濃度 50000 ng/mL 的阿替利珠單抗類似物之培養基之從最高濃度 50000 ng/mL 進行約 3 倍公比的序列稀釋之 hKM3900_tA2-32LH，各添加 $20 \mu\text{L}$ 。添加後的阿替利珠單抗類似物的最終濃度為 $10 \mu\text{g/mL}$ 。添加後，以 37°C 、5% CO_2 培養箱進行培養。5 天後，使用 Alpha LISA 干擾素- γ 測定套組 (Perkin Elmer 公司、AL217C)，遵照製造商建議的步驟準則測定培養上清中的干擾素- γ 產生量。圖 1-2 顯示干

擾素- γ 產生量。計算各條件中的平均值及標準偏差。hKM3900_tA2-32LH及阿替利珠單抗類似物，在表現人類CLDN4癌細胞株及Expanded PanT細胞的共培養系中，顯示干擾素- γ 產生促進作用。由hKM3900_tA2-32LH及阿替利珠單抗類似物的併用所致之干擾素- γ 產生促進作用相較於hKM3900_tA2-32LH或阿替利珠單抗類似物的單劑更強。

【0094】

[實施例4：抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體及抗小鼠PD-1抗體的體內(in vivo)併用效果]

使用移植表現人類CLDN4 B16-F10細胞的B-h4-1BB小鼠(人類CD137嵌入(knockin)小鼠)，進行抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體及抗人類PD-1抗體的體內抗腫瘤效果的研討。

【0095】

[實施例4-1：表現人類CLDN4 B16-F10細胞的建構]

從美國典型培養物保存中心(American Type Culture Collection)購入小鼠黑色素瘤細胞株的B16-F10細胞(ATCC、CRL-6475)。於添加有最終濃度10%的不活化胎牛血清(FBS)(Cytiva公司、SH30084.03)的杜貝可氏經改質伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle Medium, SIGMA公司、D6429)(以下將調配後的培養基稱為「伊格爾培養基」)，在37℃、5%CO₂的條件下進行培養。使用jetPRIME(Polyplus-transfection、114-15)將CLDN4(Myc-

DDK-tagged)- Human claudin 4(CLDN4)(ORIGENE公司、RC200490)導入B16-F10細胞。藉由添加最終濃度1mg/mL的G418(Nacalai Tesque公司、09380-44)之伊格爾培養基的篩選取得安定地表現人類CLDN4的B16-F10細胞選殖株(以下稱為「表現人類CLDN4 B16-F10細胞」)。

【0096】 [實施例4-2：抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體及抗小鼠PD-1抗體的體內(in vivo)抗腫瘤作用中的併用效果]

購入B-h4-1BB雄性小鼠(C57BL/6-Tnfrsf9^{tm1(Tnfrsf9)}/Bcgen; Biocytogen公司、110004)(以下稱為「小鼠」)，使其繁殖。將表現人類CLDN4 B16-F10細胞懸濁於PBS(-)(WAKO公司、045-29795)，調配4×10⁶個/mL的細胞懸濁液。於6周齡的小鼠的背部皮下各接種細胞懸濁液2×10⁵細胞/50μL。細胞接種3天後，使用卡尺(Mitutoyo公司、CD-15AXR)測定腫瘤徑。使用下述式計算腫瘤體積[mm³]。

[腫瘤體積(mm³)]=[腫瘤的長徑(mm)]×[腫瘤的短徑(mm)]²×0.5

【0097】 以腫瘤體積成為各群均等的方式，將接種細胞的小鼠分群(n=10)，開始受試抗體的投予。投予的起始日定義為第0天。作為受試抗體，使用實施例1取得的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體之hKM3900_tA2-32LH，作為抗PD-1抗體使用抗小鼠PD-1抗體(Bio X Cell、BE0146)。作為hKM3900_tA2-32LH的同型對照抗體使用抗溶菌酶抗體，作為抗小鼠PD-1抗體的同型對照抗體使用大

鼠IgG2a同型對照抗體(Bio X Cell、BE0089)(圖2稱為「對照」)。進行試驗的4群所投予的受試抗體、投予量、投予時程等的細節如下所示。

(1)群1：對照群

於第0天及第7天，將抗溶菌酶抗體以0.3mg/kg進行腹腔內投予，於第0、4、7、11天，將大鼠IgG2a同型對照抗體以100µg/head進行腹腔內投予。

(2)群2：hKM3900_tA2-32LH投予群

於第0天及第7天，將hKM3900_tA2-32LH以0.3mg/kg進行腹腔內投予，於第0、4、7、11天，將大鼠IgG2a同型對照抗體以100µg/head進行腹腔內投予。

(3)群3：抗小鼠PD-1抗體投予群

於第0天及第7天，將抗溶菌酶抗以0.3mg/kg進行腹腔內投予，於第0、4、7、11天，將抗小鼠PD-1抗體以100µg/head進行腹腔內投予。

(4)群4：hKM3900_tA2-32LH及抗小鼠PD-1抗體的併用投予群

於第0天及第7天，將hKM3900_tA2-32LH以0.3mg/kg進行腹腔內投予，於第0、4、7、11天，將抗小鼠PD-1抗體以100µg/head進行腹腔內投予。

評價各群的第4、7、11、14天的腫瘤體積。將群2及群3的第14天的腫瘤體積與群4的第14天的腫瘤體積藉由非配對學生t檢定(unpaired Student's t-test)進行比較(圖2)。

【0098】如圖2所示，hKM3900_tA2-32LH及抗小鼠

PD-1 抗體的併用群的腫瘤體積，相較於 hKM3900_tA2-32LH 單獨投予群及抗小鼠 PD-1 抗體單獨投予群之腫瘤體積顯著地較小。此結果暗示在人類的癌症治療中，抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與抗 PD-1 抗體的併用，具有能夠獲得比分別單獨投予更高的抗腫瘤效果的可能性。

[產業上的可利用性]

【0099】本發明的經由抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑的併用之癌症的治療方法，期待可用於癌症的治療。

【0100】序列編號 2 為 hKM3900_tA2-32LH HC 的胺基酸序列，序列編號 1 所示的鹼基序列為編碼序列編號 2 所示的 hKM3900_tA2-32LH 重鏈的胺基酸序列的鹼基序列。序列編號 4 為 hKM3900 LC 的胺基酸序列，序列編號 3 所示的鹼基序列為編碼序列編號 4 所示的 hKM3900 輕鏈的胺基酸序列的鹼基序列。序列編號 5~14 為發明的詳細說明中所記載的各種連接子的胺基酸序列。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="7C1909序列表
.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0" productionDate="2024-
02-02">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>112139704</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2023-10-18</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>A23014A00</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>JP</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>2022-167362</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-10-19</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">日商安斯泰來製藥股份有限公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>ASTELLAS PHARMA INC.</ApplicantNameLatin>
  <InventorName languageCode="zh">佐藤 雅人</InventorName>
  <InventorNameLatin>MASAHITO SATO</InventorNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">癌症治療中與PD-1 訊息抑制劑組合之抗
CLDN4-抗CD137 雙特異性抗體的用途 </InventionTitle>
  <InventionTitle languageCode="en">USE OF ANTI-CLDN4-ANTI-CD137 BISPECIFIC
ANTIBODY IN COMBINATION WITH PD-1 SIGNAL INHIBITORS IN CANCER
TREATMENT</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>14</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>2136</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..2136</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier id="q1">
```

```

    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>hKM3900_tA2-32LH_HC</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..2136</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q2">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaagtgcagctggttcagtctggcgccgaagtgaagaaacctggcgccctccgtgaagatctc
ctgcaaggcttctggctacaccttaccgactactacatgaactgggtccgacaggctcctggacagggacttgagtgga
tgggagatgtggtgccaacaacggcgtgccaccctacaaccagaaattcaagggcagagtgaccatcaccgccgacaag
tctacctccaccgctacatggaactgcgagcctgagatctgaggacaccgccgtgtactactgcgccagacctacta
ctactacgccggcagatctggcgccatggattattggggacagggcaccctgggtcaccgtgtcctctgctagcacaagg
gccctctgtgttccctctggctcctagctcctaagtccacccttggcggaacagctgctctgggctgtctggtcaaggac
tacttcctgagcctgtgaccgtgtcttggaaactctggcgctctgacatccggcgtgcacacatttccagctgtgctgca
gtcctccggcctgtactctctgtcctctgtctgaccgtgccttccagctctctgggaaccagacctacatctgcaatg
tgaaccacaagccttccaacaccaaggtggacaagaaggtggaaccaagtcctgcgacaagaccacacctgtcctcca
tgtcctgctccagaagctgctggcgacccttccgtgttccgttttctccaaagcctaaggacaccctgatgatctctcg
gaccctgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtctcacgaggaccagaagtgaagttcaattggtacgtggacggcg
tggaaagtgcacaacgccaagaccaagccttagagaggaacagtacaactccacctacagagtgggtgtccgtgctgaccgtg
ctgcaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgccggcatcgaaaagac
catctccaaggccaaggccagccttagggaacccaggtttacaccttgccaccttctcgggacgagctgaccaagaacc
aggtgtccctgacctgtctcgtgaagggttctacccctccgatatcgccgtggaatgggagctaatggccagcctgag
aacaactacaagacaaccctcctgtgctggactccgacggctcattcttctgtactccaagctgacagtggacaagtc
cagatggcagcagggcaacgtgttctcctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaatcactacacacagaagtcctgtg
ctctgagccccggcaaaggtggcgaggatctggcgaggcggaatcccaatctgttctgacccaacctccttccgcctct
ggcacacctggccagagagtgaccatctcttgctccggctcctcctccaacatcggctcctaacaccgtgaactggtatca
gcagttccccggcaccgctcctaagctgctgatctactccaacaaccagcggccttccggcgtgcccgatagattctctg

```

```

gctctaagtccggcacctctgccagcctggctatctctggactgcagagcgaggacgaggccgactattattgtgccggc
tgggacgactctctgaacggccctgttttggcggtggcaccaactgacagtgcttggaggcggtgggtggatcaggcgg
cgggtggaagtgggtgggtggtagcggaggtgggtggatctcaggtgcagctccaagagtctggacctggcctcgtgaagc
cttccgagacactgtctctgacctgcacagtgtccggcggctctatctctggctactactggctcctggatcagacagcct
cctggcaagggactcgagtggatcggctacatctactactctggcttcaccaactacaacccagcctgaagtcccgcgt
gaccatcagcgtggacacctctaagaaccagttctctctgaagctgtcctccgtgaccgccgctgataccgctgtgtatt
actgcaccgggaccacagccactactactacatggacgtgtggggacaggaacaaccgtgacagtgctcctcc</INSD
Seq_sequence>

```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>712</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..712</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier id="q3">
```

```
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>Synthetic Construct</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
</INSDFeature_qual>
```

```
</INSDFeature>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..712</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier id="q4">
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
</INSDFeature_qual>
```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYTFTDYIMNWVRQAPGQGLEWMGDVVPNNGVPTYNQ
KFKGRVTITADKSTSTAYMELRSLRSED TAVYYCARPHYYYAGRSGAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAGIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGG
SQSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNI GSNTVNWYQQFPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGL
QSEDEADYYCAGWDDSLNGPVFGGGKTLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGS
ISGYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYSGFTNYPNPSLKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCTR D HSHYYYMDVW
GQGTTVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>645</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..645</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q5">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>hKM3900 LC</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..645</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q6">

```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gacatccagctgaccagctctccatcctctctgtctgcctctgtgggcgacagagtgacaat
tacctgcaccgcctcctccaccgtgtcctctacctacctgcactggtatcagcagaagcccggcaaggctcccaagctgc
tgatctactccacctccaatctggcctctggcgtgccctctagattctccgatctggctctggaaccgactataccctg
acaatctccagcctgcagcctgaggacttcgccacctactactgccaccagtaccacagatccccacctacctttggcca
gggcaccaagctggaaatcaagcgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttcccaccttccgacgagcagctgaagt
ccggcacagcttctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctaccctcggaagccaaggtgcagtggaaggtggacaatgcc
ctgcagtccggcaactccaagagtctgtgaccgagcaggactccaaggacagcacctacagcctgtcctccacactgac
cctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagtgacccatcagggcctgtctagccctgtgacca
agtctttcaaccggggcgagtgc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>215</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..215</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q7">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic Construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..215</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q8">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCTASSTVSSTYLHWYQQKPGKAPKLLIYSTSNLASGVPSR
FSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCHQYHRSPPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDS
eq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q9">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GS linker</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>PEPTIDE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>

```

```

<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q10">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier id="q11">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>GS linker</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>PEPTIDE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>

```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q12">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SGGG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q13">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GS linker</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>PEPTIDE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

```

```
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q14">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGGGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q15">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GS linker</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>PEPTIDE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q16">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SGGGG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q17">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GS linker</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>PEPTIDE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<INSDQualifier id="q18">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGGGGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q19">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GS linker</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>PEPTIDE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q20">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SGGGGG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q21">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GS linker</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>PEPTIDE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q22">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>

```

```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGGGGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q23">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GS linker</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>PEPTIDE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q24">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SGGGGG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q25">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GS linker</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>PEPTIDE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q26">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q27">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>GKPGS linker</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>PEPTIDE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q28">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
</INSDFeature>  
</INSDSeg_feature-table>  
<INSDSeg_sequence>GKPGS</INSDSeg_sequence>  
</INSDSeg>  
</SequenceData>  
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種醫藥組成物，其為包含抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，用於治療對象的癌症之醫藥組成物，該雙特異性抗體包含抗CLDN4抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，以及抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

【請求項2】如請求項1所述之醫藥組成物，其中，抗CLDN4抗體的重鏈可變區含有由序列編號2的胺基酸編號31至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號50至66的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號99至112的胺基酸序列所形成的CDR3，抗CLDN4抗體的輕鏈可變區含有由序列編號4的胺基酸編號24至35的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號4的胺基酸編號51至57的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號4的胺基酸編號90至98的胺基酸序列所形成的CDR3。

【請求項3】如請求項1或2所述之醫藥組成物，其中，抗CLDN4抗體的重鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號1至123的胺基酸序列所形成，抗CLDN4抗體的輕鏈可變區由序列編號4的胺基酸編號1至109的胺基酸序列所形成。

【請求項4】如請求項1~3的任一項所述之醫藥組成物，其中，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含由含有抗CLDN4抗體的重鏈可變區之重鏈及含有抗CLDN4抗體的輕鏈可變區之輕鏈所形成的IgG抗體(抗CLDN4 IgG抗體)。

【請求項5】如請求項4所述之醫藥組成物，其中，抗CLDN4 IgG抗體的Fc區域包含LALA突變(L234A及L235A)或者P331G突變(在此，前述突變位置為人類Ig γ 1恆定區中依照EU索引的胺基酸位置)的任一者或兩者。

【請求項6】如請求項1~5的任一項所述之醫藥組成物，其中，抗CD137抗體的重鏈可變區含有由序列編號2的胺基酸編號625至629的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號644至659的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號692至701的胺基酸序列所形成的CDR3，抗CD137抗體的輕鏈可變區含有由序列編號2的胺基酸編號486至498的胺基酸序列所形成的CDR1、由序列編號2的胺基酸編號514至520的胺基酸序列所形成的CDR2及由序列編號2的胺基酸編號553至563的胺基酸序列所形成的CDR3。

【請求項7】如請求項1~6的任一項所述之醫藥組成物，其中，抗CD137抗體的重鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號595至712的胺基酸序列所形成，抗CD137抗體的輕鏈可變區由序列編號2的胺基酸編號464至573的胺基酸序列所形成。

【請求項8】如請求項6或7所述之醫藥組成物，其中，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含含有抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區之抗CD137單鏈可變區片段(抗CD137scFv)。

【請求項9】如請求項8所述之醫藥組成物，其中，抗

CD137scFv由序列編號2的胺基酸編號464至712的胺基酸序列所形成。

【請求項10】如請求項8或9所述之醫藥組成物，其中，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體包含抗CLDN4 IgG抗體及抗CD137scFv，於抗CLDN4 IgG抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結抗CD137scFv的胺基末端。

【請求項11】一種醫藥組成物，其為包含抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，用於治療對象的癌症之醫藥組成物，該雙特異性抗體包含：抗CLDN4抗體的重鏈，其含有由序列編號2的胺基酸編號1至123的胺基酸序列所形成的重鏈可變區；及抗CLDN4抗體的輕鏈，其含有由序列編號4的胺基酸編號1至109的胺基酸序列所形成的輕鏈可變區；以及抗CD137scFv，其含有由序列編號2的胺基酸編號464至573的胺基酸序列所形成的抗CD137抗體的輕鏈可變區及由序列編號2的胺基酸編號595至712的胺基酸序列所形成的抗CD137抗體的重鏈可變區；於該抗CLDN4抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗CD137scFv的胺基末端，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

【請求項12】一種醫藥組成物，其為包含抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，用於治療對象的癌症之醫藥組成物，該雙特異性抗體包含：抗CLDN4抗體的重鏈，其由序列編號2的胺基酸編號1至453的胺基酸序列所形成；及抗CLDN4抗體的輕鏈，其由序列編號4的胺基酸編號1至215的胺基酸序列所形成；以及抗CD137scFv，其由序列編號

2的胺基酸編號464至712的胺基酸序列所形成；於該抗CLDN4抗體的重鏈羧基末端透過連接子連結該抗CD137scFv的胺基末端，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

【請求項13】如請求項10~12的任一項所述之醫藥組成物，其中，連接子為GS連接子。

【請求項14】一種醫藥組成物，其為包含抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，用於治療對象的癌症之醫藥組成物，該雙特異性抗體包含：含有由序列編號2的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的重鏈及抗CD137scFv之多肽，以及由序列編號4的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的輕鏈，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

【請求項15】如請求項1~14的任一項所述之醫藥組成物，其中，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體為經轉譯後修飾者。

【請求項16】如請求項1~15的任一項所述之醫藥組成物，其中，與PD-1訊息抑制劑同時地、連續地或逐次地組合而使用。

【請求項17】如請求項1~16的任一項所述之醫藥組成物，其中，抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑為(i)包含於同一個醫藥組成物而同時地投予，或(ii)包含於各別的醫藥組成物，同時地、連續地或者逐次地組合而使用。

【請求項18】如請求項1~17的任一項所述之醫藥組成物，癌症選自由大腸癌、膀胱癌及肺癌所成群組。

【請求項19】如請求項1~18的任一項所述之醫藥組成物，PD-1訊息抑制劑為結合於選自由PD-1、PD-L1及PD-L2所成群組之1以上的蛋白質之抗體或此等的抗原結合片段。

【請求項20】如請求項1~19的任一項所述之醫藥組成物，其中，PD-1訊息抑制劑為選自由納武單抗、帕博利珠單抗、匹地利珠單抗、斯帕他珠單抗及西米普利單抗所成群組之抗PD-1抗體。

【請求項21】如請求項1~19的任一項所述之醫藥組成物，其中，PD-1訊息抑制劑為選自由阿替利珠單抗、度伐利尤單抗及阿維魯單抗所成群組之抗PD-L1抗體。

【請求項22】一種雙特異性抗體，其為用於治療對象的癌症而使用的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，該雙特異性抗體包含抗CLDN4抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，以及抗CD137抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

【請求項23】一種雙特異性抗體，其為用於治療對象的癌症而使用的抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體，該雙特異性抗體為包含：含有由序列編號2的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的重鏈及抗CD137scFv之多肽，以及由序列編號4的胺基酸序列所形成的抗CLDN4抗體的輕鏈所形成的雙特異性抗體，與PD-1訊息抑制劑組合而使用。

【請求項24】一種治療方法，其為包含將抗CLDN4-抗CD137雙特異性抗體與PD-1訊息抑制劑投予至對象之癌

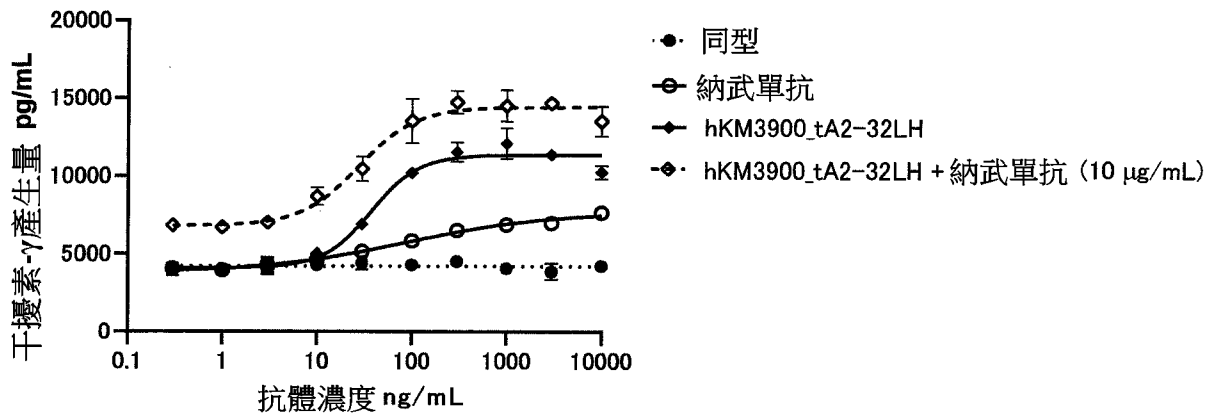
症的治療方法，該抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體包含抗 CLDN4 抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，以及抗 CD137 抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區。

【請求項 25】一種治療方法，其為包含將抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體與 PD-1 訊息抑制劑組合而投予至對象之癌症的治療方法，該雙特異性抗體包含含有由序列編號 2 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的重鏈及抗 CD137scFv 之多肽，以及由序列編號 4 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的輕鏈。

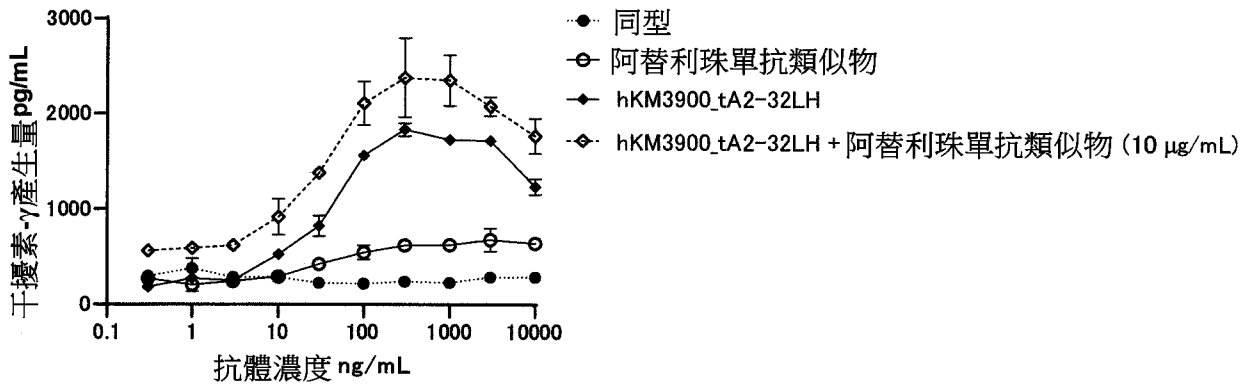
【請求項 26】一種抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體的用途，其係用於製造用於治療對象的癌症而與 PD-1 訊息抑制劑組合而使用的醫藥組成物之用途，該雙特異性抗體包含抗 CLDN4 抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，以及抗 CD137 抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區。

【請求項 27】一種抗 CLDN4-抗 CD137 雙特異性抗體的用途，其係用於製造用於治療對象的癌症而與 PD-1 訊息抑制劑組合而使用的醫藥組成物之用途，該雙特異性抗體包含：含有由序列編號 2 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的重鏈及抗 CD137scFv 之多肽，以及由序列編號 4 的胺基酸序列所形成的抗 CLDN4 抗體的輕鏈。

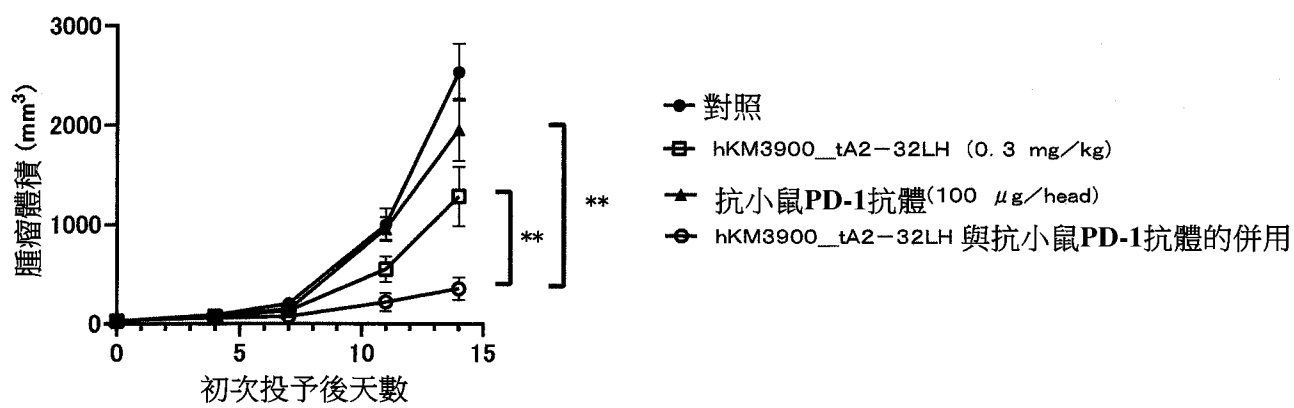
【發明圖式】



【圖 1-1】



【圖 1-2】



【圖 2】