

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和5年3月29日(2023.3.29)

【国際公開番号】WO2020/198009

【公表番号】特表2022-526764(P2022-526764A)

【公表日】令和4年5月26日(2022.5.26)

【年通号数】公開公報(特許)2022-093

【出願番号】特願2021-556753(P2021-556753)

【国際特許分類】

C 12N 15/62(2006.01)

C 07K 16/46(2006.01)

C 12P 21/08(2006.01)

C 12N 15/63(2006.01)

C 12N 1/15(2006.01)

C 12N 1/19(2006.01)

C 12N 1/21(2006.01)

C 12N 5/10(2006.01)

A 61P 35/00(2006.01)

A 61K 38/16(2006.01)

A 61K 45/00(2006.01)

A 61K 39/395(2006.01)

C 07K 16/28(2006.01)

10

20

30

40

50

【F I】

C 12N 15/62 Z

C 07K 16/46 Z N A

C 12P 21/08

C 12N 15/63 Z

C 12N 1/15

C 12N 1/19

C 12N 1/21

C 12N 5/10

A 61P 35/00

A 61K 38/16

A 61K 45/00

A 61K 39/395 U

A 61K 39/395 T

C 07K 16/28

【手続補正書】

【提出日】令和5年3月17日(2023.3.17)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

二特異性抗原結合分子であって、

ヒトCD28に特異的に結合する第一の抗原結合ドメイン、および

ヒト上皮細胞増殖因子受容体（EGFR）に特異的に結合する第二の抗原結合ドメインを含む、二特異性抗原結合分子。

【請求項 2】

前記二特異性抗原結合分子が、 $1 \times 10^{-12} \text{M} \sim 1 \times 10^{-5} \text{M}$ の EC₅₀ 値で、CD₂₈ 発現ヒト T 細胞に結合するか、または前記抗原結合分子が、 $1 \times 10^{-9} \text{M} \sim 1 \times 10^{-5} \text{M}$ の EC₅₀ 値で、CD₂₈ 発現ヒト T 細胞に結合する、請求項 1 に記載の二特異性抗原結合分子。

【請求項 3】

前記抗原結合分子が、ヒト全血においてサイトカイン放出および CD₂₅ のアップレギュレートを誘導する、ならびに / または前記抗原結合分子がヒト癌細胞の T 細胞媒介性細胞殺傷を誘導する、前記請求項のいずれかに記載の二特異性抗原結合分子。

10

【請求項 4】

前記癌細胞が EGFR を発現する、請求項 3 に記載の二特異性抗原結合分子。

【請求項 5】

前記癌が、食道癌、肺扁平上皮細胞癌、肺腺癌、子宮頸扁平上皮細胞癌、子宮内膜腺癌、膀胱尿路上皮癌、肺癌、結腸直腸癌、結腸癌、子宮内膜癌、皮膚癌、脳腫瘍、乳癌、胃食道癌、前立腺癌および卵巣癌、非小細胞肺癌、頭頸部扁平上皮細胞癌、多形性膠芽腫ならびに胃食道腺癌からなる群から選択される、請求項 3 に記載の二特異性抗原結合分子。

【請求項 6】

ヒト CD₂₈ に特異的に結合する前記第一の抗原結合ドメインが、配列番号 10、59 および 63 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（H C V R）からの重鎖相補性決定領域（H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3）ならびに配列番号 16 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（L C V R）からの軽鎖相補性決定領域（L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3）を含む、前記請求項のいずれかに記載の二特異性抗原結合分子。

20

【請求項 7】

前記第一の抗原結合ドメインの H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 が、

(a) それぞれ、配列番号 12、6 および 14、

(b) それぞれ、配列番号 60、61 および 62、ならびに

(c) それぞれ、配列番号 64、65 および 66

30

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 が、それぞれ配列番号 18、20 および 22 のアミノ酸配列を含む、請求項 6 に記載の二特異性抗原結合分子。

【請求項 8】

ヒト EGFR に特異的に結合する前記第二の抗原結合分子が、配列番号 2、30、40 または 50 を含む重鎖可変領域（H C V R）からの重鎖相補性決定領域（H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3）ならびに配列番号 16 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（L C V R）からの軽鎖相補性決定領域（L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3）を含む、前記請求項のいずれかに記載の二特異性抗原結合分子。

40

【請求項 9】

前記第二の抗原結合ドメインの H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 が、

(a) それぞれ、配列番号 4、6 および 8、

(b) それぞれ、配列番号 32、34 および 36、

(c) それぞれ、配列番号 42、44 および 46、

(c) それぞれ、配列番号 52、54 および 56

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 が、それぞれ配列番号 18、20 および 22 のアミノ酸配列を含む、請求項 8 に記載の二特異性抗原結合分子。

【請求項 10】

ヒト CD₂₈ に特異的に結合する前記第一の抗原結合ドメインが、配列番号 12 のアミ

50

ノ酸配列を含む H C D R 1 を含み、 H C D R 2 が配列番号 6 のアミノ酸配列を含み、 H C D R 3 が配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含み、 L C D R 1 が配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含み、 L C D R 2 が配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含み、 L C D R 3 が配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含み、

ヒト E G F R に特異的に結合する前記第二の抗原結合分子が、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H C D R 1 を含み、 H C D R 2 が配列番号 6 のアミノ酸配列を含み、 H C D R 3 が配列番号 8 のアミノ酸配列を含み、 L C D R 1 が配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含み、 L C D R 2 が配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含み、 L C D R 3 が配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む、前記請求項のいずれかに記載の二特異性抗原結合分子。

【請求項 1 1】

前記第一の抗原結合ドメインが、

(a) 3 つの重鎖相補性決定領域 (H C D R 1 、 H C D R 2 および H C D R 3) および 3 つの軽鎖相補性決定領域 (L C D R 1 、 L C D R 2 および L C D R 3) を含む参照抗原結合タンパク質と、ヒト C D 2 8 への結合に関して競合し、 H C D R 1 が、配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含み、 H C D R 2 が配列番号 6 のアミノ酸配列を含み、 H C D R 3 が配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含み、 L C D R 1 が配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含み、 L C D R 2 が配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含み、および L C D R 3 が配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む、または

(b) 配列番号 1 0 、 5 9 および 6 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (H C V R) ならびに配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) を含む参照抗原結合タンパク質と、ヒト C D 2 8 への結合に関して競合する、
請求項 1 に記載の二特異性抗原結合分子。

【請求項 1 2】

請求項 1 に記載の二特異性抗原結合分子であって、前記第二の抗原結合ドメインが、3 つの重鎖相補性決定領域 (H C D R 1 、 H C D R 2 および H C D R 3) および 3 つの軽鎖相補性決定領域 (L C D R 1 、 L C D R 2 および L C D R 3) を含む参照抗原結合タンパク質と、ヒト E G F R への結合に関して競合し、 H C D R 1 が、配列番号 4 、 3 2 、 4 2 および 5 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、 H C D R 2 が、配列番号 6 、 3 4 、 4 4 および 5 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、 H C D R 3 が、配列番号 8 、 3 6 、 4 6 および 5 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、 L C D R 1 が、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含み、 L C D R 2 が配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含み、および L C D R 3 が配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む、二特異性抗原結合分子。

【請求項 1 3】

請求項 1 2 に記載の二特異性抗原結合分子であって、前記第二の抗原結合ドメインが、配列番号 2 、 3 0 、 4 0 および 5 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (H C V R) ならびに配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) を含む参照抗原結合タンパク質と、ヒト E G F R への結合に関して競合する、二特異性抗原結合分子。

【請求項 1 4】

ヒト C D 2 8 に特異的に結合する第一の抗原結合ドメインおよびヒト E G F R に特異的に結合する第二の抗原結合ドメインを含む二特異性抗原結合分子であって、前記第一の抗原結合ドメインが、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (H C V R) および配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) を含み、前記第二の抗原結合ドメインが、配列番号 2 、 3 0 、 4 0 および 5 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (H C V R) ならびに配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) を含む、二特異性抗原結合分子。

【請求項 1 5】

ヒト C D 2 8 に特異的に結合する第一の抗原結合ドメインおよびヒト E G F R に特異的に結合する第二の抗原結合ドメインを含む二特異性抗原結合分子であって、

10

20

30

40

50

第一の抗原結合ドメインが、配列番号 10 を含む重鎖可変領域 (H C V R) および配列番号 16 を含む軽鎖可変領域 (L C V R) を含み、

前記第二の抗原結合ドメインが、

(a) 配列番号 2 を含む H C V R ならびに配列番号 16 を含む L C V R 、

(b) 配列番号 30 を含む H C V R ならびに配列番号 16 を含む L C V R 、

(c) 配列番号 40 を含む H C V R ならびに配列番号 16 を含む L C V R 、または

(d) 配列番号 50 を含む H C V R ならびに配列番号 16 を含む L C V R を含む、二特異性抗原結合分子。

【請求項 16】

前記二特異性抗原結合分子が、配列番号 72 に記載される E G F R のアミノ酸残基 13 10 3 - 154 、または配列番号 70 に記載される E G F R のアミノ酸残基 345 - 368 、または配列番号 71 に記載される E G F R のアミノ酸残基 399 - 416 のうちの一つ以上と相互作用する、前記請求項のいずれかに記載の二特異性抗原結合分子。

【請求項 17】

前記請求項のいずれかに記載の二特異性抗原結合タンパク質および薬学的に許容可能な担体または賦形剤を含む医薬製剤。

【請求項 18】

対象における癌を治療するための、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の二特異性抗原結合分子を含む医薬組成物。

【請求項 19】

前記癌が、E G F R 発現癌である、請求項 18 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

前記 E G F R 発現癌が、食道癌、肺扁平上皮細胞癌、肺腺癌、子宮頸扁平上皮細胞癌、子宮内膜腺癌、膀胱尿路上皮癌、肺癌、非小細胞肺癌、結腸直腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、皮膚癌、頭頸部扁平上皮細胞癌、脳腫瘍、多形性膠芽腫、乳癌、胃食道癌、胃食道腺癌、前立腺癌および卵巣癌からなる群から選択される、請求項 19 に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

第二の治療剤が前記対象に投与されるものである、請求項 18 ~ 20 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

前記第二の治療剤が、抗腫瘍剤、放射線療法、抗体薬剤結合物質、チェックポイント阻害物質、同じ腫瘍標的抗原に結合する第一の抗原結合ドメインと T 細胞上の C D 3 に結合する第二の抗原結合ドメインを含む別の異なる二特異性抗体、異なる腫瘍標的抗原に結合する第一の抗原結合ドメインと T 細胞上の C D 3 に結合する第二の抗原結合ドメインを含む別の異なる二特異性抗体、またはそれらの組み合わせである、請求項 21 に記載の医薬組成物。

【請求項 23】

前記チェックポイント阻害物質がセミプリマブである、ならびに / または前記異なる二特異性抗体が、P S M A 、 M U C 16 、および S T E A P 2 からなる群から選択される異なる腫瘍抗原に結合する第一の抗原結合ドメインと、 T 細胞上の C D 3 に結合する第二の抗原結合ドメインを含む、請求項 22 に記載の医薬組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 0 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 0 0】

本発明は、本明細書に記載される特定の実施形態により、その範囲は限定されない。実際に、本明細書に記載されるものに加えて本発明の様々な改変が前述の説明および添付の図面から当業者には明白である。こうした改変は、添付の請求の範囲内にあることが意図

10

20

30

40

50

される。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

単離された多特異性抗原結合分子であって、

a) 37 で表面プラズモン共鳴により測定されたときに、ヒトCD28に約 2×10^{-7} M未満のKDで結合する第一の抗原結合ドメイン(D1)、および

b) 37 で表面プラズモン共鳴により測定されたときに、標的腫瘍細胞上のヒト上皮細胞増殖因子受容体(EGFR)に約 10^{-8} M未満のKDで特異的に結合する第二の抗原結合ドメイン(D2)、を含む、単離された多特異性抗原結合分子。

(項目 2)

前記二特異性抗原結合分子が、インビトロでのFACS結合アッセイにより測定されたときに、約 10^{-5} M未満のEC50でヒトT細胞の表面に結合する、項目1に記載の単離された多特異性抗原結合分子。

(項目 3)

前記二特異性抗原結合分子が、インビトロでのFACS結合アッセイにより測定されたときに、約 10^{-5} M未満のEC50でカニクイザルのT細胞の表面に結合する、項目1に記載の単離された多特異性抗原結合分子。

(項目 4)

前記二特異性抗原結合分子が、インビトロでのFACS結合アッセイにより測定されたときに、約 2.5×10^{-8} M未満のEC50でEGFRを発現する細胞株の表面に結合する、項目1に記載の単離された多特異性抗原結合分子。

(項目 5)

前記D2ドメインが、

(a) 配列番号2、30、40および50からなる群から選択される一つに記載されるアミノ酸配列、もしくはそのバリアントを含む重鎖可変領域のHCDRを含む免疫グロブリン鎖、および/または

(b) 配列番号16に記載されるアミノ酸配列、もしくはそのバリアントを含む軽鎖可変領域のLCDRを含む免疫グロブリン鎖、を含み、または

前記D1ドメインが、

(c) 配列番号10、59および63からなる群から選択される一つに記載されるアミノ酸配列、もしくはそのバリアントを含む重鎖可変領域のHCDRを含む免疫グロブリン鎖、および/または

(d) 配列番号16および67からなる群から選択される一つに記載されるアミノ酸配列、もしくはそのバリアントを含む軽鎖可変領域のLCDRを含む免疫グロブリン鎖、を含む、項目1~4のいずれか1項に記載の多特異性抗原結合タンパク質。

(項目 6)

前記D2ドメインが、

(a) 配列番号2、24、30、38、40、48、50および58に記載されるアミノ酸配列もしくはそのバリアントに対して少なくとも90%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、重鎖免疫グロブリンもしくはその可変領域、および/または

(b) 配列番号16および28に記載されるアミノ酸配列もしくはそのバリアントに対して少なくとも90%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、軽鎖免疫グロブリンもしくはその可変領域を含み、

または前記D1ドメインが、

(c) 配列番号10、26、59および63に記載されるアミノ酸配列もしくはそのバリアントに対して少なくとも90%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、重鎖免疫グロブリンもしくはその可変領域、および/または

(d) 配列番号16、28および67に記載されるアミノ酸配列もしくはそのバリアントに対して少なくとも90%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、軽鎖免疫グロブリンもしくはその可変領域を含む、項目5に記載の多特異性抗原結合タンパク質

10

20

30

40

50

(項目 7)前記 D 2 ドメインが、

(a) 配列番号 2、30、40 または 50 に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域の H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 を含み、配列番号 2、30、40 または 50 に記載される前記アミノ酸配列に対してそれぞれ少なくとも 90 % のアミノ酸配列同一性を有する重鎖免疫グロブリンもしくはその可変領域、および / または

(b) 配列番号 16 に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域の L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 を含み、配列番号 16 に記載される前記アミノ酸配列に対してそれぞれ少なくとも 90 % のアミノ酸配列同一性を有する軽鎖免疫グロブリンもしくはその可変領域を含み、

10

または前記 D 1 ドメインが、

(c) 配列番号 10、59 または 63 に記載されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域の H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 を含み、配列番号 10、59 または 63 に記載される前記アミノ酸配列に対してそれぞれ少なくとも 90 % のアミノ酸配列同一性を有する重鎖免疫グロブリンもしくはその可変領域、および / または

(d) 配列番号 16 または 67 に記載されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域の L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 を含み、配列番号 16 または 67 に記載される前記アミノ酸配列に対してそれぞれ少なくとも 90 % のアミノ酸配列同一性を有する軽鎖免疫グロブリンもしくはその可変領域を含む、項目 5 に記載の多特異性抗原結合タンパク質。

20

(項目 8)

(1) アミノ酸配列：G D S I I T F Y (配列番号 4、またはそのバリエント) を含む C D R - H 1、

アミノ酸配列：I Y Y S G I T (配列番号 6、またはそのバリエント) を含む C D R - H 2、

アミノ酸配列：A R V S E D S Y F H Y G M D V (配列番号 8、またはそのバリエント) を含む C D R - H 3、

ならびに

アミノ酸配列：Q S V S S S Y (配列番号 18、またはそのバリエント) を含む C D R - L 1、

30

アミノ酸配列：G A S (配列番号 20、またはそのバリエント) を含む C D R - L 2、および

アミノ酸配列：Q Q Y G S S P W T (配列番号 22、またはそのバリエント) を含む C D R - L 3、を含む D 2 ドメイン、

ならびに

アミノ酸配列：G G S I S S Y Y (配列番号 12、またはそのバリエント) を含む C D R - H 1、

アミノ酸配列：I Y Y S G I T (配列番号 6、またはそのバリエント) を含む C D R - H 2、および

アミノ酸配列：A R W G V R R D Y Y Y Y G M D V (配列番号 14、またはそのバリエント) を含む C D R - H 3、

40

ならびに

アミノ酸配列：Q S V S S S Y (配列番号 18、またはそのバリエント) を含む C D R - L 1、

アミノ酸配列：G A S (配列番号 20、またはそのバリエント) を含む C D R - L 2、および

アミノ酸配列：Q Q Y G S S P W T (配列番号 22、またはそのバリエント) を含む C D R - L 3、を含む D 1 ドメイン

(2) アミノ酸配列：G F T F S T F I (配列番号 32、またはそのバリエント) を含む C D R - H 1、

50

アミノ酸配列：I S S N G G T I (配列番号 34、またはそのバリエント) を含む CDR - H2、および

アミノ酸配列：T R G G D F W S G Y Y P F D Y (配列番号 36、またはそのバリエント) を含む CDR - H3、

アミノ酸配列：Q S V S S S Y (配列番号 18、またはそのバリエント) を含む CDR - L1、

アミノ酸配列：G A S (配列番号 20、またはそのバリエント) を含む CDR - L2、および

アミノ酸配列：Q Q Y G S S P W T (配列番号 22、またはそのバリエント) を含む CDR - L3、を含む D2ドメイン、

10

ならびに

アミノ酸配列：G G S I S S Y Y (配列番号 12、またはそのバリエント) を含む CDR - H1、

アミノ酸配列：I Y Y S G I T (配列番号 6、またはそのバリエント) を含む CDR - H2、

アミノ酸配列：A R W G V R R D Y Y Y Y G M D V (配列番号 14、またはそのバリエント) を含む CDR - H3、

ならびに

アミノ酸配列：Q S V S S S Y (配列番号 18、またはそのバリエント) を含む CDR - L1、

20

アミノ酸配列：G A S (配列番号 20、またはそのバリエント) を含む CDR - L2、および

アミノ酸配列：Q Q Y G S S P W T (配列番号 22、またはそのバリエント) を含む CDR - L3、を含む D1ドメイン、

(3) アミノ酸配列：G F S F R D A W (配列番号 42、またはそのバリエント) を含む CDR - H1、

アミノ酸配列：I R N K I D G G T T (配列番号 44、またはそのバリエント) を含む CDR - H2、および

アミノ酸配列：T T D I W N Y V L F Y Y Y Y G L D V (配列番号 46 またはそのバリエント) を含む CDR - H3、

30

ならびに

アミノ酸配列：Q S V S S S Y (配列番号 18、またはそのバリエント) を含む CDR - L1、

アミノ酸配列：G A S (配列番号 20、またはそのバリエント) を含む CDR - L2、および

アミノ酸配列：Q Q Y G S S P W T (配列番号 22、またはそのバリエント) を含む CDR - L3、を含む D2ドメイン、

ならびに

アミノ酸配列：G G S I S S Y Y (配列番号 12、またはそのバリエント) を含む CDR - H1、

40

アミノ酸配列：I Y Y S G I T (配列番号 6、またはそのバリエント) を含む CDR - H2、および

アミノ酸配列：A R W G V R R D Y Y Y Y G M D V (配列番号 14、またはそのバリエント) を含む CDR - H3、

ならびに

アミノ酸配列：Q S V S S S Y (配列番号 18、またはそのバリエント) を含む CDR - L1、

アミノ酸配列：G A S (配列番号 20、またはそのバリエント) を含む CDR - L2、および

アミノ酸配列：Q Q Y G S S P W T (配列番号 22、またはそのバリエント) を含む C

50

D R - L 3、を含む D 1 ドメイン、または

(4) アミノ酸配列：D D S I I S Y Y (配列番号 5 2、またはそのバリアント) を含む C D R - H 1、

アミノ酸配列：I Y Y S G R T (配列番号 5 4、またはそのバリアント) を含む C D R - H 2、および

アミノ酸配列：A R V S E D S Y Y H Y G M D V (配列番号 5 6、またはそのバリアント) を含む C D R - H 3、

ならびに

アミノ酸配列：Q S V S S S Y (配列番号 1 8、またはそのバリアント) を含む C D R - L 1、

アミノ酸配列：G A S (配列番号 2 0、またはそのバリアント) を含む C D R - L 2、 10
および

アミノ酸配列：Q Q Y G S S P W T (配列番号 2 2、またはそのバリアント) を含む C D R - L 3、を含む D 2 ドメイン、

ならびに

アミノ酸配列：G G S I S S Y Y (配列番号 1 2、またはそのバリアント) を含む C D R - H 1、

アミノ酸配列：I Y Y S G I T (配列番号 6、またはそのバリアント) を含む C D R - H 2、 20
および

アミノ酸配列：A R W G V R R D Y Y Y Y G M D V (配列番号 1 4、またはそのバリアント) を含む C D R - H 3、

ならびに

アミノ酸配列：Q S V S S S Y (配列番号 1 8、またはそのバリアント) を含む C D R - L 1、

アミノ酸配列：G A S (配列番号 2 0、またはそのバリアント) を含む C D R - L 2、 30
および

アミノ酸配列：Q Q Y G S S P W T (配列番号 2 2、またはそのバリアント) を含む C D R - L 3、を含む D 1 ドメイン、を含む項目 5 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の多特異性抗原結合タンパク質。

(項目 9)

(1) 配列番号 2 に記載されるアミノ酸配列 (またはそのバリアント) を含む重鎖可変領域、 30
および

配列番号 1 6 に記載されるアミノ酸配列 (またはそのバリアント) を含む軽鎖可変領域を含む D 2 ドメイン、

ならびに

配列番号 1 0 に記載されるアミノ酸配列 (またはそのバリアント) を含む重鎖可変領域、 40
および

配列番号 1 6 に記載されるアミノ酸配列 (またはそのバリアント) を含む軽鎖可変領域を含む D 1 ドメイン、

(2) 配列番号 3 0 に記載されるアミノ酸配列 (またはそのバリアント) を含む重鎖可変領域、 40
および

配列番号 1 6 に記載されるアミノ酸配列 (またはそのバリアント) を含む軽鎖可変領域を含む D 2 ドメイン、

ならびに

配列番号 1 0 に記載されるアミノ酸配列 (またはそのバリアント) を含む重鎖可変領域、 50
および

配列番号 1 6 に記載されるアミノ酸配列 (またはそのバリアント) を含む軽鎖可変領域を含む D 1 ドメイン、

(3) 配列番号 4 0 に記載されるアミノ酸配列 (またはそのバリアント) を含む重鎖可変領域、 50
および

配列番号 16 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖可変領域を含む D2 ドメイン、

ならびに

配列番号 10 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む重鎖可変領域、および

配列番号 16 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖可変領域を含む D1 ドメイン、または

（4）配列番号 50 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む重鎖可変領域、および

配列番号 16 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖可変領域を含む D2 ドメイン、

10

ならびに

配列番号 10 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む重鎖可変領域、および

配列番号 16 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖可変領域を含む D1 ドメイン、を含む、E G F R および C D 2 8 に結合する項目 5～8 のいずれか 1 項に記載の多特異性抗原結合タンパク質。

（項目 10）

（1）配列番号 24 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む重鎖、および

20

配列番号 28 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖、を含む D2 ドメイン、

ならびに

配列番号 26 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む重鎖、および

配列番号 28 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖、を含む D1 ドメイン、

（2）配列番号 38 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む重鎖、および

配列番号 28 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖、を含む D2 ドメイン、

30

ならびに

配列番号 26 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む重鎖、および

配列番号 28 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖、を含む D1 ドメイン、

（3）配列番号 48 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む重鎖、および

配列番号 28 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖、を含む D2 ドメイン、

ならびに

配列番号 26 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む重鎖、および

配列番号 28 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖、を含む D1 ドメイン、または

（4）配列番号 58 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む重鎖、および

配列番号 28 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖、を含む D2 ドメイン、

ならびに

配列番号 26 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む重鎖、および

配列番号 28 に記載されるアミノ酸配列（またはそのバリアント）を含む軽鎖、を含む D1 ドメイン、を含む、E G F R および C D 2 8 に結合する項目 5～9 のいずれか 1 項に

50

記載の多特異性抗原結合タンパク質。

(項目 1 1)

二特異性である、項目 5 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の抗原結合タンパク質。

(項目 1 2)

ヒト E G F R およびヒト C D 2 8 に特異的に結合する二特異性抗原結合分子であって、第一の抗原結合ドメインが、3 つの重鎖相補性決定領域 (H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3) および 3 つの軽鎖相補性決定領域 (L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3) を含む参照抗原結合タンパク質と、ヒト C D 2 8 への結合に関して競合し、H C D R 1 が、配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含み、H C D R 2 が配列番号 6 のアミノ酸配列を含み、H C D R 3 が配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含み、L C D R 1 が配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含み、L C D R 2 が配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含み、および L C D R 3 が配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む、二特異性抗原結合分子。

10

(項目 1 3)

ヒト E G F R およびヒト C D 2 8 に特異的に結合する二特異性抗原結合分子であって、第一の抗原結合ドメインが、配列番号 1 0、5 9 および 6 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (H C V R) ならびに配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) を含む参照抗原結合タンパク質と、ヒト C D 2 8 への結合に関して競合する、二特異性抗原結合分子。

20

(項目 1 4)

ヒト E G F R およびヒト C D 2 8 に特異的に結合する二特異性抗原結合分子であって、第二の抗原結合ドメインが、3 つの重鎖相補性決定領域 (H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3) および 3 つの軽鎖相補性決定領域 (L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3) を含む参照抗原結合タンパク質と、ヒト E G F R への結合に関して競合し、H C D R 1 が、配列番号 4、3 2、4 2 および 5 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、H C D R 2 が、配列番号 6、3 4、4 4 および 5 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、H C D R 3 が、配列番号 8、3 6、4 6 および 5 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、L C D R 1 が、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含み、L C D R 2 が配列番号 2 0 のアミノ酸配列を含み、および L C D R 3 が配列番号 2 2 のアミノ酸配列を含む、二特異性抗原結合分子。

30

(項目 1 5)

ヒト E G F R およびヒト C D 2 8 に特異的に結合する二特異性抗原結合分子であって、第二の抗原結合ドメインが、配列番号 2、3 0、4 0 および 5 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (H C V R) ならびに配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) を含む参照抗原結合タンパク質と、ヒト E G F R への結合に関して競合する、二特異性抗原結合分子。

40

(項目 1 6)

ヒト E G F R およびヒト C D 2 8 に特異的に結合する二特異性抗原結合分子であって、第一の抗原結合ドメインが、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (H C V R) および配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) を含む参照抗原結合タンパク質と、ヒト C D 2 8 への結合に関して競合し、第二の抗原結合ドメインが、配列番号 2、3 0、4 0 および 5 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (H C V R) ならびに配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) を含む参照抗原結合タンパク質と、ヒト E G F R への結合に関して競合する、二特異性抗原結合分子。

(項目 1 7)

(a) 前記抗原結合タンパク質の免疫グロブリン鎖をコードする一つ以上のポリヌクレオチドを、宿主細胞に導入すること。

(b) 前記ポリヌクレオチドの発現に好適な条件下で前記宿主細胞を培養すること、および

50

(c) 任意で、前記宿主細胞から、および / または前記宿主細胞が増殖した培地から、

前記抗原結合タンパク質または免疫グロブリン鎖を単離すること、を含む、項目1～16のいずれか1項に記載の抗原結合タンパク質を作製する方法。

(項目18)

前記宿主細胞が、チャイニーズハムスター卵巣細胞である、項目17に記載の方法。

(項目19)

項目17～18のいずれか1項に記載の方法の産物である、抗原結合タンパク質または免疫グロブリン鎖。

(項目20)

項目1～16および19のいずれか1項に記載の抗原結合タンパク質の免疫グロブリン鎖をコードするポリヌクレオチド。

10

(項目21)

項目20に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

(項目22)

項目1～16および19～21のいずれか1項に記載の抗原結合タンパク質もしくはポリヌクレオチド、および/またはベクターを含む、宿主細胞。

(項目23)

項目1～16および19のいずれか1項に記載の抗原結合タンパク質のうちの一つ以上を、任意でさらなる治療剤と関連付けて含有する組成物またはキット。

(項目24)

項目1～16および19のいずれか1項に記載の抗原結合タンパク質、ならびに薬学的に許容可能な担体または賦形剤、ならびに任意でさらなる治療剤を含む、医薬製剤。

20

(項目25)

P D - 1 阻害剤、P D - 1 抗体またはその抗原結合断片、P D - L 1 阻害剤、抗 P D - L 1 抗体またはその抗原結合断片、プラチナ系抗癌化学療法剤のパクリタキセル、ドセタキセル、ピンクリスチニン、シスプラチニン、カルボプラチニン、オキサリプラチニン、抗癌抗体またはその抗原結合断片であるペムブロリズマブ、ニボルマブ、トラスツズマブ、セツキシマブ、ベバシズマブ、およびセミプリマブからなる群から選択されるさらなる治療剤と関連付けられた、項目1～16、19、23および24のいずれか1項に記載の抗原結合タンパク質、組成物または製剤。

30

(項目26)

項目1～16、19、23、24または25のいずれか1項に記載の抗原結合タンパク質または組成物または製剤を含む、容器または注射用デバイス。

(項目27)

項目1～16、19、23、24または25のいずれか1項に記載の抗原結合タンパク質、組成物または製剤を対象に投与するための方法であって、前記抗原結合タンパク質、組成物または製剤を、前記対象の身体内に注入することを含む、方法。

(項目28)

その必要のある対象において、過増殖性疾患を治療または予防する方法であって、前記対象に、項目1～16、19、23、24または25のいずれか1項に記載の抗原結合タンパク質または組成物または製剤の有効量を投与することを含む、方法。

40

(項目29)

前記過増殖性疾患が、癌であり、ならびに前記抗原結合タンパク質を投与する前に、前記癌の細胞がE G F Rを発現するかを判定すること、または別の個人もしくは実体にそのような判定を実施することを指示すること、およびE G F R発現が存在した場合、前記対象にE G F R x C D 2 8 抗原結合タンパク質を投与することをさらに含む、項目28に記載の方法。

(項目30)

前記過増殖性疾患が、E G F R 発現癌である、項目28～29のいずれか1項に記載の方法。

(項目31)

50

前記過増殖性疾患が、食道癌、肺扁平上皮細胞癌、肺腺癌、子宮頸扁平上皮細胞癌、子宮内膜腺癌、膀胱尿路上皮癌、肺癌、非小細胞肺癌、結腸直腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、皮膚癌、頭頸部扁平上皮細胞癌、脳腫瘍、多形性膠芽腫、乳癌、胃食道癌、胃食道腺癌、前立腺癌または卵巣癌である癌である、項目30に記載の方法。

(項目32)

前記抗原結合タンパク質が、前記対象の身体内への、皮下注射、静脈内注射または筋肉内注射により投与される、項目27～31のいずれか1項に記載の方法。

(項目33)

前記抗原結合分子が、 $1 \times 10^{-12} \text{M} \sim 1 \times 10^{-5} \text{M}$ のEC₅₀値で、CD28発現ヒトT細胞に結合する、項目1～16のいずれか1項に記載の多特異性抗原結合分子。

10

(項目34)

前記抗原結合分子が、 $1 \times 10^{-9} \text{M} \sim 1 \times 10^{-5} \text{M}$ のEC₅₀値で、CD28発現ヒトT細胞に結合する、項目1～16のいずれか1項に記載の多特異性抗原結合分子。

(項目35)

前記抗原結合分子が、ヒトCD28を発現するヒト細胞、およびカニクイザルCD28を発現するカニクイザル細胞に結合する、項目33または34に記載の多特異性抗原結合分子。

(項目36)

項目33～35のいずれか1項に記載の二特異性抗原結合分子、および薬学的に許容可能な担体または希釈剤を含む、医薬組成物。

20

(項目37)

項目33～35のいずれか1項に記載の二特異性抗体をコードするスクレオチド配列を含む核酸。

(項目38)

項目37に記載の核酸を含む発現ベクター。

(項目39)

項目38に記載の発現ベクターを含有する宿主細胞。

(項目40)

対象において癌の増殖を阻害する方法であって、項目33～35のいずれか1項に記載の単離二特異性抗体、または項目36に記載の医薬組成物を、前記対象に投与し、それにより前記対象において前記癌の増殖を阻害することを含む、方法。

30

(項目41)

第二の治療剤を投与することをさらに含む、項目28または40に記載の方法。

(項目42)

抗腫瘍剤、放射線療法、抗体薬剤結合物質、チェックポイント阻害物質、同じ腫瘍標的抗原に結合する第一の抗原結合ドメインとT細胞上のCD3に結合する第二の抗原結合ドメインを含む別の異なる二特異性抗体、異なる腫瘍標的抗原に結合する第一の抗原結合ドメインとT細胞上のCD3に結合する第二の抗原結合ドメインを含む別の異なる二特異性抗体、またはそれらの組み合わせである、項目41に記載の方法。

40

(項目43)

対象において癌を治療する方法であって、前記対象に、項目24または36に記載の医薬組成物を投与することを含み、それにより前記対象において前記癌を治療することを含む、方法。

(項目44)

前記癌が、EGFR発現癌である、項目43に記載の方法。

(項目45)

前記EGFR発現癌が、食道癌、肺扁平上皮細胞癌、肺腺癌、子宮頸扁平上皮細胞癌、子宮内膜腺癌、膀胱尿路上皮癌、肺癌、非小細胞肺癌、結腸直腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、皮膚癌、頭頸部扁平上皮細胞癌、脳腫瘍、多形性膠芽腫、乳癌、胃食道癌、胃食道腺癌、前立腺癌および卵巣癌からなる群から選択される、項目44に記載の方法。

50

(項目 4 6)

前記対象に、第二の治療剤を投与することをさらに含む、項目 4 3 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 4 7)

前記第二の治療剤が、抗腫瘍剤、放射線療法、抗体薬剤結合物質、チェックポイント阻害物質、同じ腫瘍標的抗原に結合する第一の抗原結合ドメインと T 細胞上の C D 3 に結合する第二の抗原結合ドメインを含む別の異なる二特異性抗体、異なる腫瘍標的抗原に結合する第一の抗原結合ドメインと T 細胞上の C D 3 に結合する第二の抗原結合ドメインを含む別の異なる二特異性抗体、またはそれらの組み合わせである、項目 4 6 に記載の方法。

(項目 4 8)

前記チェックポイント阻害物質が、セミプリマブである、項目 4 2 または 4 7 に記載の方法。

(項目 4 9)

前記異なる二特異性抗体が、P S M A 、 M U C 1 6 、および S T E A P 2 からなる群から選択される異なる腫瘍抗原に結合する第一の抗原結合ドメインと、 T 細胞上の C D 3 に結合する第二の抗原結合ドメインを含む、項目 4 2 または 4 7 に記載の方法。

(項目 5 0)

前記二特異性抗原結合分子が、配列番号 7 2 に記載される E G F R のアミノ酸残基 1 3 3 - 1 5 4 、または配列番号 7 0 に記載される E G F R のアミノ酸残基 3 4 5 - 3 6 8 、または配列番号 7 1 に記載される E G F R のアミノ酸残基 3 9 9 - 4 1 6 のうちの一つ以上と相互作用する、項目 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の二特異性抗原結合分子。

10

20

30

40

50